

束序苎麻中的抗肿瘤活性成分及其构效关系研究

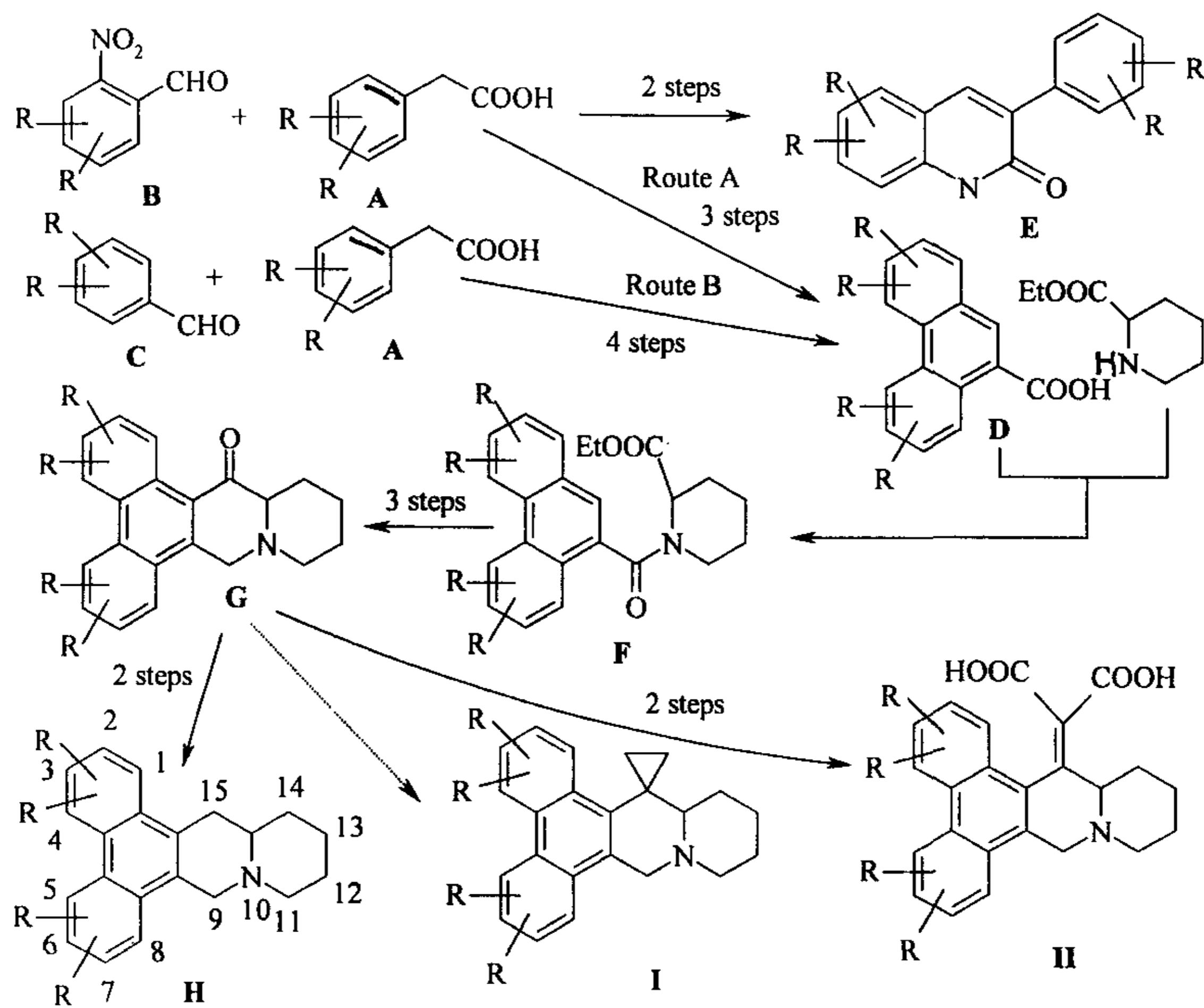
摘要

在体外活性筛选中发现蓼科苎麻属植物束序苎麻 (*Boehmeria siamensis*) 具有抗肿瘤活性。通过活性跟踪，我们从束序苎麻的乙醇提取物中分离到具有抗肿瘤活性的化合物——束序苎麻素 A，其结构鉴定为 3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定 ($GI_{50}=0.2\sim100$ ng/mL)。同时分离到抗肿瘤活性显著弱于束序苎麻素 A 的化合物——束序苎麻素 B (3,7-二甲氧基-6-羟基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定)。研究表明束序苎麻素 A 使肿瘤细胞的生长停留在 G1 期，并诱导乳腺癌细胞向正常的脂肪细胞分化。

由于束序苎麻素 A 和 B 在植物中的含量太低；加之由束序苎麻素 A 和 B 的活性看出，菲环上的取代基对抗肿瘤活性有较大影响。因此我们成功地合成了束序苎麻素 A 以及在菲环上不同位置含不同个数的甲氧基取代的类似物 **H**，目的在于深入研究此类生物碱的构效关系。

束序苎麻素 A 不稳定并有中枢神经毒性，为此我们设计并探索了 C-15 位环丙烷化的 **I** 和 C-15 位二羧基亚甲基化的菲并喹喏里西定生物碱 (**II**) 的合成。拟通过 **I** 考察 C-15 位季碳化对此类生物碱的活性和稳定性的影响，通过 **II** 探讨增加分子的极性从而降低或避免此类化合物的神经毒性的可能性。

在合成中间体 **D** 的过程中，我们获得合成具有抑制肿瘤细胞迁移、促性腺激素释放激素受体拮抗剂和 5-羟色氨拮抗剂的 3-芳基-2-喹喏酮类化合物 **E** 的新方法（总收率>80%）。



关键词：束序苎麻素 A，束序苎麻素 B，束序苎麻，抗肿瘤活性，菲并喹喏里西定生物碱，构效关系

Cytotoxic Alkaloids from *Boehmeria siamensis* and Their Structure-Activity Relationship

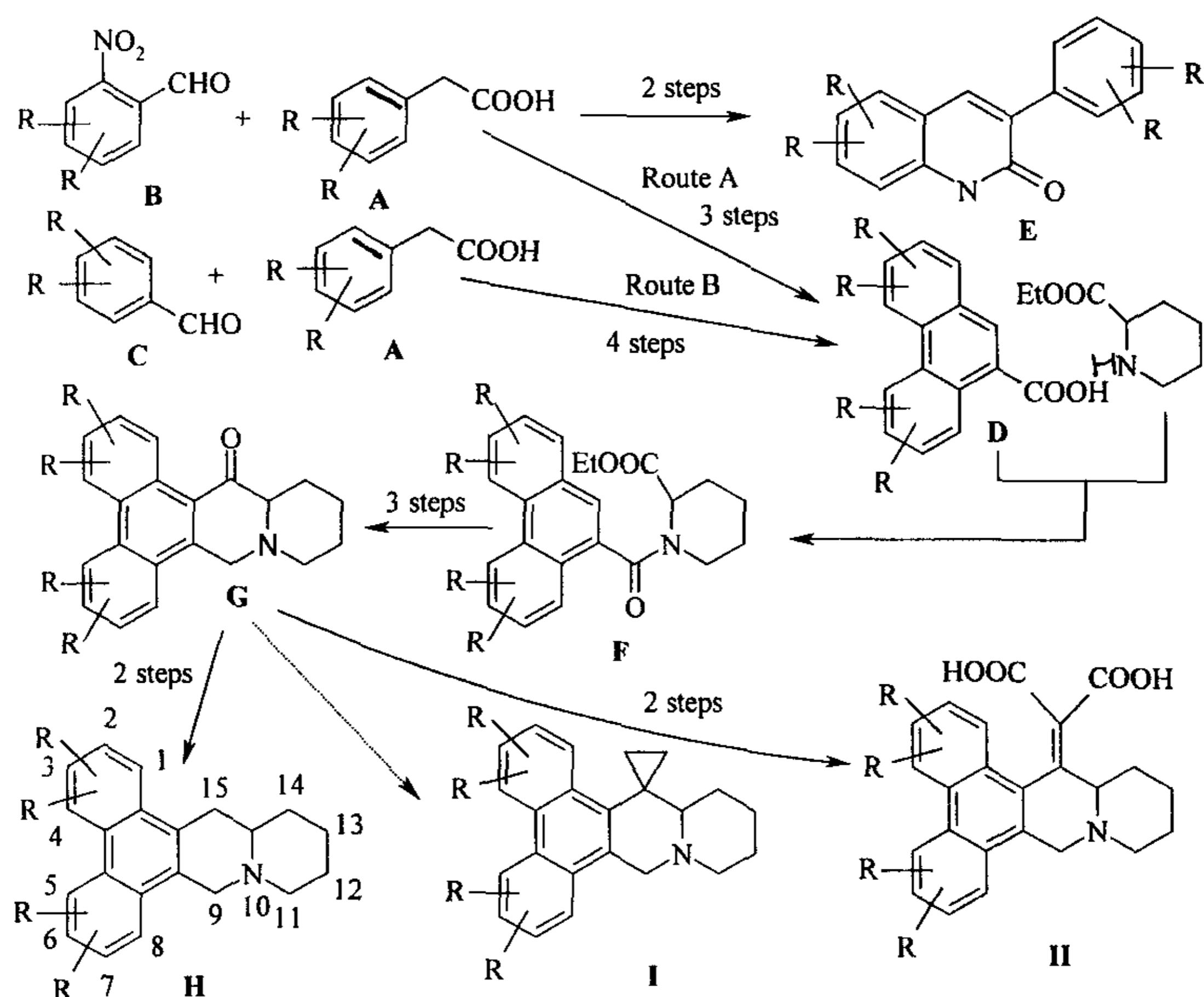
Yinggang Luo (Organic Chemistry)

Directed by Prof. Guolin Zhang

ABSTRACT

Boehmeriasin A, a cytotoxic alkaloid, was isolated along with boehmeriasin B from the aqueous ethanolic extract of *Boehmeria siamensis* Craib (Urticaceae) based on bioassay-guided fractionation. The cytotoxicity of Boehmeriasin B is lower than that of boehmeriasin A. On the basis of spectral evidence, the structures of boehmeriasins A and B were determined to be 3,6,7-trimethoxy- and 3,7-dimethoxy-6-hydroxy-11,12,13,14,14a,15-hexhydro-9*H*-phenanthro[9,10-b]quinolizidine, respectively. Boehmeriasin A possesses cytotoxic activity against 12 cell lines from 6 panels of cancer including lung cancer, colon cancer, breast cancer, prostate cancer, kidney cancer and leukemia with GI₅₀ between 0.2 and 100 ng/ml. The investigation on mechanism indicated that the cancer cells were arrested in G1 phase by boehmeriasin A. Meanwhile boehmeriasin A could induce differentiation of cancer cells.

Boehmeriasin A and its analogues with methoxy groups at different C-atoms on phenanthrene moiety (**H**) were synthesized in order to study their structure-activity relationship, considering the sharp influence of the substituents on phenanthrene moiety as shown by the cytotoxicity of boehmeriasins A and B as well as the very low contents of them in plants.



To avoid the instability and central nerve system toxicity, attempts to synthesis of derivatives of **H** corresponding to cyclopropanation (**I**) and dicarboxymethylation (**II**) were carried out.

A novel strategy to synthesis of 3-Aryl-2-quinolone (**E**) with quantitative yield was discovered in the course of transformation of 6-nitro- α -phenylcinnamic acid to 6-amino- α -phenylcinnamic acid.

At the end, the distribution, elucidation, total synthesis and biological activity of phenanthroquinolizidine alkaloids was reviewed.

Key words: Boehmeriasin A, Boehmeriasin B, *Boehmeria siamensis* Craib, cytotoxic activity, phenanthroquinolizidine alkaloids, structure-activity relationship.

目 录

·文摘

·英文文摘

第一章 束序苎麻中的抗肿瘤活性成分

·1. 结果与讨论

·1.1 化合物的结构鉴定

·1.2 束序苎麻素 A 的活性测试

·1.3 讨论

·2. 实验部分

·2.1 仪器和条件

·2.2 植物来源

·2.3 提取及分离

·2.4 结构鉴定

·2.5 束序苎麻素 A 抑制人体恶性肿瘤细胞体外生长活性实验

·2.6 束序苎麻素 A 的抗肿瘤作用机理的初步研究实验

第二章 束序苎麻 A 及其类似物的合成及构效关系研究

·1. 反合成分析

·1.1 菲环不同取代的菲并喹喏里西定型生物碱

·1.2 C-15 位环丙烷化和二羧基亚甲基化的两类菲并喹喏里西定型生物碱

·2. 全合成研究

·2.1 9-菲基甲酸类化合物（合成前体 B）的合成

·2.2 11, 12, 13, 14, 14a, 15-六氢-9H-菲[9, 10-b]并喹喏里西定-15-酮类化合物的合成

·2.3 11, 12, 13, 14, 14a, 15-六氢-9H-菲[9, 10-b]并喹喏里西定类化合物的合成(式 2-10)

·2.4 C-15 位环丙烷化（类型 I）的衍生物的合成探索(式 2-11)

·2.5 C-15 位二羧基亚甲基化(类型 II)的衍生物的合成探索

·3. 小结

·4. 实验部分

·4.1 仪器

·4.2 溶剂的无水处理

·4.3 化合物的合成

第三章 菲并喹喏里西定型生物碱的研究进展

·1. 菲并喹喏里西定型生物碱在自然界中的分布

·2. 菲并喹喏里西定型生物碱的结构鉴定、绝对构型的确定及稳定性

·3. 菲并喹喏里西定型生物碱的化学全合成

·3.1 先构建菲片段，再构建喹喏里西定片段

·3.2 先合成喹喏里西定部分后合成菲片段

·4. 菲并喹喏里西定型生物碱类似物及构效关系研究

·5. 菲并喹喏里西定型生物碱的生物活性及作用机理

·5.1 菲并喹喏里西定型生物碱的生物活性

·5.2 菲并喹喏里西定型生物碱对蛋白质合成的抑制作用

- 6. 结论
- 参考文献
- 附图
- 个人简历
- 发表文章
- 致谢

第一章 束序苎麻中的抗肿瘤活性成分

束序苎麻 (*Boehmeria siamensis* Craib, Urticaceae) 是蓼科苎麻属植物, 全植株或根供药用, 具有清热解毒、祛风除湿之功效, 主治肠痛、经闭腹痛、泄泻、风湿痛、荨麻疹、皮肤瘙痒、湿疹和痘疮^[1-3]。苎麻属植物有抗菌^[4]、细胞毒^[5]、抗病毒^[6]以及抗炎^[7]等活性。从本属植物中曾分离得到菲并喹啉里西定型生物碱、黄酮类、木脂素、三萜及其甙类^[4, 8-15]。

体外抗肿瘤活性实验表明束序苎麻的乙醇提取物显示强烈的体外抗肿瘤活性 ($GI_{50}=0.048\sim9.2\text{ }\mu\text{g/mL}$)。在活性跟踪的基础上, 我们从束序苎麻的乙醇提取物中曾分离得到一个新的二芳基取代喹啉里西定型生物碱^[16], 该化合物在体外并不显示抗肿瘤活性。在后续的研究中, 我们从束序苎麻的乙醇提取物中经过反复的硅胶柱层析分离得到了一个在体外显示强烈抗肿瘤活性的新菲并喹啉里西定型生物碱—3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定(束序苎麻素 A, 1, $GI_{50}=0.2\sim100\text{ }\text{ng/mL}$)。同时分离得到 3,7-二甲氧基-6-羟基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定(束序苎麻素 B, 2, 抗肿瘤活性比化合物 1 稍差), 束序苎麻素 B 可经过简单的甲基化反应转化为束序苎麻素 A。

1. 结果与讨论

1.1 化合物的结构鉴定

1.1.1 束序苎麻素 A (1)

白色细针晶, 在薄层板上与 Dragendorff 试剂反应显橘红色。该化合物的 APCIMS 中的准分子离子峰 m/z 378 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 及 ESIMS 中的 m/z 755 ($[2\text{M}+\text{H}]^+$) 和 378 ($[\text{M}+\text{H}]^+$) 提示该化合物可能为含氮化合物。HREIMS 给出分子式为 $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ (计算值: 377.1991, 实测值: 377.1994)。化合物 1 的 $^1\text{H NMR}$ 信号 (表 1-1) δ 4.05 (3H, s, H-6-OMe), 4.01 (3H, s, H-3-OMe), 3.97 (3H, s, H-7-OMe) 来自 3 个甲氧基。 $^1\text{H NMR}$ 信号 δ 8.15 (1H, d, $J=2.4\text{ Hz}$, H-4), 7.83 (1H, d, $J=9.2\text{ Hz}$, H-1) 和 7.30 (1H, dd, $J=9.2, 2.4\text{ Hz}$, H-2) 表明分子中有一个 1,2,4-三取代苯环 (环 A); 环 B

则由 ^1H NMR 信号 δ 8.13 (1H, s, H-5), 7.34 (1H, s, H-8) 及 H-5 与 C-7 和 C-8a 以及 H-8 与 C-6 和 C-4b 之间的 HMBC 相关信号证实 (图 1-1)。 ^{13}C NMR (DEPT) 中除相应于上述两个苯环的碳信号外, 还有位于 δ 122.6 和 120.1 的两个低场信号以及位于 52.4, 53.5, 22.0, 23.0, 30.6, 57.8, 31.2 的 7 个高场信号 (表 1-1)。综合上述信息, 化合物 1 可能是菲并喹喏里西定型生物碱 (图 1-1)。由化合物 1 的 ^1H - ^1H COSY 相关谱 (H₂-12 与 H₂-11 和 H₂-13, H₂-14 与 H₂-13 和 H-14a 之间的相关信号) 和 HMBC 相关谱 (H-14a 与 C-15a, H₂-15 与 C-8b 以及 H₂-9 与 C-14a 和 C-15a 之间的相关信号) 推断出环 D 和环 E 以及环 D 和环 C 的连接方式 (图 1-1 和表 1-1)。于是化合物 1 被鉴定为 3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定 (束序苎麻素 A, Boehmeriasin A, 3,6,7-trimethoxy-11,12,13,14,14a,15-9H-phenanthro[9,10-b]quinolizidine)。化合物 1 的 IR 光谱中位于 2850 cm^{-1} 处的特征 Bohlmann 吸收^[17]说明 D 环与 E 环是反式稠合的。化合物 1 的结构如图 1-1 所示。

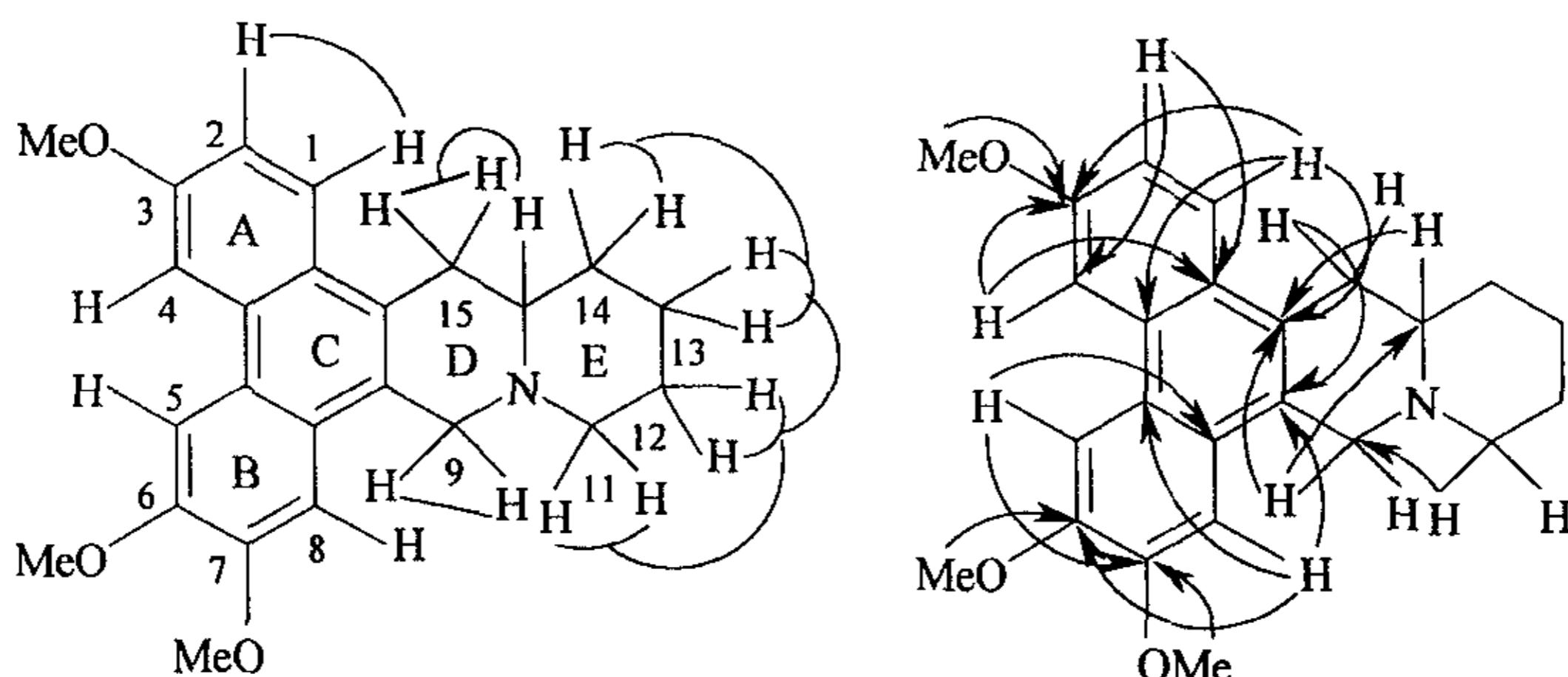


图 1-1 化合物 1 的 ^1H - ^1H COSY (—) 和 HMBC (→) 谱中重要相关

Figure 1-1 The key ^1H - ^1H COSY (—) and HMBC (→) correlation of compound 1

1.1.2 束序苎麻素 B (2)

白色粉末, 在薄层板上与 Dragendorff 试剂反应显橘红色。HREIMS 给出化合物 2 的分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_3$ (计算值: 363.1834, 实测值: 363.1830)。两个甲氧基在 ^1H NMR 谱中分别位于 δ 4.00 (3H, s, H₃-3-OMe) 和 3.98 (3H, s, H₃-7-OMe) (表 1-1)。IR 光谱中位于 3410 cm^{-1} 处的吸收峰以及当向化合物 2 的甲醇溶液中加入少

量 NaOH 后引起的约 10 nm 的紫外红移现象说明分子中存在酚羟基。化合物 2 与化合物 1 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图非常相似，差别在于化合物 2 的图谱中少一个甲氧基的信号（表 1-1）。根据 NOSY 实验结果（H-2 与 H-2 和 H₃-3-OMe，H-4 与 H₃-3-OMe 和 H-5 以及 H-8 和 H₃-7-OMe 之间的 NOESY 相关信号）确定化合物 2 中的 6-位应为羟基取代（图 1-2）。因此化合物 2 被鉴定为 3,7-二甲氧基-6-羟基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹唑里西定（束序芦麻素 B）（图 1-2）。束序芦麻素 B 可经简单的甲基化反应转化为束序芦麻素 A（见 2.4.3）。

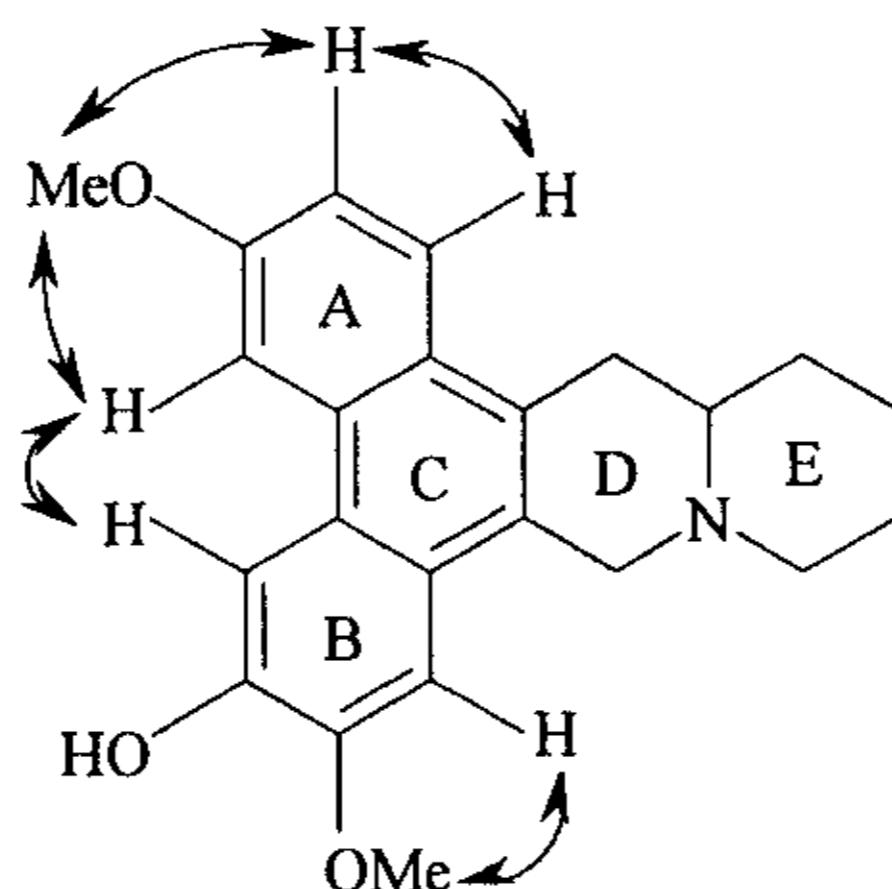


图 1-2 化合物 2 的 NOESY (\leftrightarrow) 谱中的重要相关

Figure 1-2 The key NOESY correlation of compound 2

表 1-1 束序苎麻素 A (1) 和 B (2) 的 NMR 数据

Table 1-1 NMR data of boehmeriasin A (1) and B (2)

Atom		1		2	
	$\delta_H^{a, b}$	$\delta_C^{b, c}$	$\delta_H^{a, b}$		$\delta_C^{b, c}$
1	7.83 (1H, d, 9.2)	123.8 (d)	7.80 (1H, d, 9.2)		124.8 (d)
2	7.30 (1H, dd, 9.2, 2.4)	115.2 (d)	7.26 (1H, dd, 9.2, 2.4)		116.2 (d)
3		157.8 (s)			157.8 (s)
4	8.15 (1H, d, 2.4)	105.3 (d)	7.92 (1H, d, 2.4)		108.3 (d)
4a		130.2 (s)			131.5 (s)
4b		123.8 (s)			123.2 (s)
5	8.13 (1H, s)	104.6 (d)	8.12 (1H, s)		104.8 (d)
6		149.0 (s)			147.1 (s)
7		149.8 (s)			150.6 (s)
8	7.34 (1H, s)	104.2 (d)	7.33 (1H, s)		104.3 (d)
8a		124.5 (s)			124.0 (s)
8b		122.6 (s)			122.1 (s)
9	4.97 (1H, d, 15.6) 4.49 (1H, d, 15.6)	52.4 (t)	4.97 (1H, d, 16.0) 4.51 (1H, d, 16.0)		52.4 (t)
11	3.74 (1H, d, 11.6) 3.18 (1H, d, 11.6)	63.5 (t)	3.74 (1H, d, 10.4) 3.16 (1H, d, 10.4)		54.1 (t)
12	1.92 (2H, m)	22.0 (t)	1.93 (2H, m)		22.0 (t)
13	1.80 (1H, m) 1.60 (1H, m)	23.0 (t)	1.77 (1H, m) 1.60 (1H, m)		23.0 (t)
14	2.24 (1H, d, 13.6) 1.90 (1H, d, 13.6)	30.6 (t)	2.25 (1H, d, 14.4) 1.89 (1H, d, 14.4)		30.4 (t)
14a	3.51 (1H, m)	57.8 (d)	3.51 (1H, m)		57.6 (d)
15	3.53 (1H, d, 14.0) 3.15 (1H, d, 14.0)	31.2 (t)	3.55 (1H, d, 15.2) 3.10 (1H, d, 15.2)		31.2 (t)
15a		120.1 (s)			120.0 (s)
15b		122.5 (s)			122.1 (s)
3-OMe	4.01 (3H, s)	55.6 (q)	4.00 (3H, s)		55.9 (q)
6-OMe	4.05 (3H, s)	55.8 (q)	-		-
7-OMe	3.97 (3H, s)	55.5 (q)	3.98 (3H, s)		55.5 (q)

^a *J* in Hz.^b Signals were assigned by HMQC, HMBC and ¹H-¹H COSY experiments, δ in ppm.^c Multiplicity were determined by DEPT.

1.2 束序苎麻素 A 的活性测试

1.2.1 束序苎麻素 A 的体外抗肿瘤活性

表 1-2 束序苎麻素 A (1)的抗肿瘤活性 (GI_{50} : ng/ml)

Table 1-2 The GI_{50} values of boehmeriasin A (1) against human tumor cell lines

Cell type	Compound 1	Taxol	Cell type	Compound 1	Taxol
K562	100	>100	MCF-7	5	80
HL-60	5	77	MDA-MB-231	3	40
DU-145	2	40	ACHN	0.3	>100
PC-3	5	44	UO-31	0.4	>100
A549	0.3	30	HT-29	0.2	40
NCI-H460	0.3	20	COLO-205	0.3	40

如 Table 1-2 所示, 束序苎麻素 A 对六种肿瘤共 12 个细胞系的生长具有抑制作用, 相应的 GI_{50} 值说明束序苎麻素 A 抗肿瘤作用非常强。

1.2.2 束序苎麻素 A 的抗肿瘤作用机理的初步研究

1.2.2.1 束序苎麻素 A 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞生长的影响

向乳腺癌细胞中加入不同浓度的束序苎麻素 A, 作用 24 小时后, SRB 染色法检测细胞增殖情况: 随着药物浓度从 $7 \times 10^{-5} \mu\text{g}/\text{mL}$ 上升至 $7 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{mL}$, 癌细胞的增殖随之减少。束序苎麻素 A 对乳腺癌细胞的生长抑制呈浓度依赖性, 完全生长抑制浓度为 $7 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{mL}$ 。当药物浓度继续上升 10 倍、100 倍时, 有较少细胞死亡, 死亡率不超过 20%。

向 MDA-MB-231 乳腺癌细胞中加入 $7 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{ml}$ 的束序苎麻素 A, 观察药物作用时间对癌细胞生长的影响。结果发现, 给药后 12 小时至 96 小时内, 细胞基本既没有增殖, 也没有死亡, 而空白对照组则一直处于良好的增殖状态。

1.2.2.2 束序苎麻素 A 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞生长周期的影响

为检测束序苎麻素 A 导致细胞生长滞留在哪一时期，药物处理细胞后，进行流式细胞术测定细胞周期分布时相。结果如下：

以浓度为 7×10^{-3} ug/ml 的药物处理 12 或 24 小时后，G1 期细胞比例由加药前的 45.2% 分别上升为 64.0 和 67.2%，S 期细胞则由 35.7% 下降为 24.3% 和 24.9%。

不同浓度药物处理细胞 48 小时后，亦呈现出 G1 期细胞所占比例大幅度增加，S 期细胞减少，而 G2 期细胞变化不大，而且随着药物浓度的增加，这种变化越明显。

以上结果说明束序苎麻素 A 作用 MDA-MB-231 乳腺癌细胞后，分裂相细胞减少，细胞生长滞留在 G1 期。另外，检测结果还显示，该药物作用后凋亡细胞很少，当浓度高达 7×10^{-1} ug/mL 并作用 48 小时后，诱导的凋亡细胞比例为 15.2%，而浓度为 7×10^{-3} ug/mL 的束序苎麻素 A 则基本上不诱导细胞凋亡。

1.2.2.3 束序苎麻素 A 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞形态的影响

浓度为 7×10^{-3} ug/mL 的束序苎麻素 A 作用于 MDA-MB-231 乳腺癌细胞 24 小时后，乳腺癌细胞出现明显的形态学变化，即细胞拉长呈长梭形，药物作用 3 天后，光镜下可见少数组细胞浆内开始有一些明亮的类似于脂滴的颗粒堆积。随着药物作用时间的延长，细胞进一步变细变长，且明亮的颗粒堆积愈加明显。进一步的细胞油红染色试验表明，这些明亮颗粒确实为能被油红着色的脂滴（图 1-3 到 1-5）。

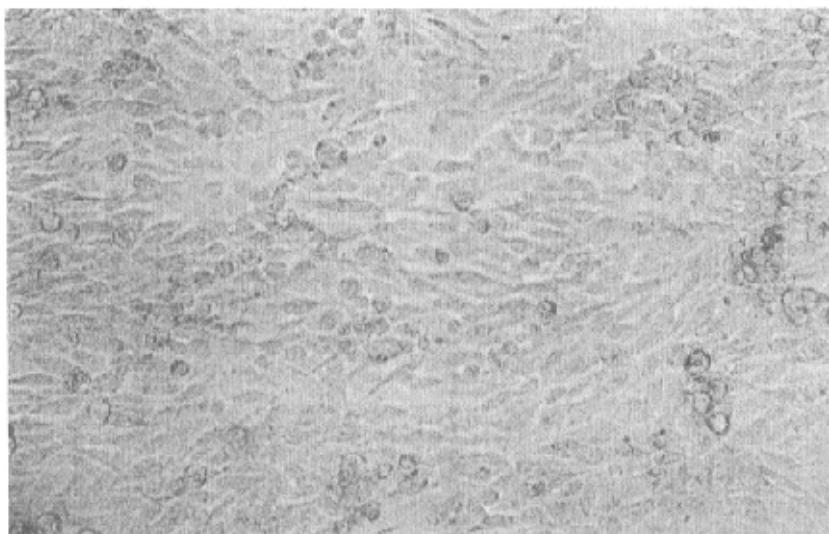


图 1-3 未经束序苎麻素 A 处理的乳腺癌细胞

Figure 1-3 Breast cancer cells

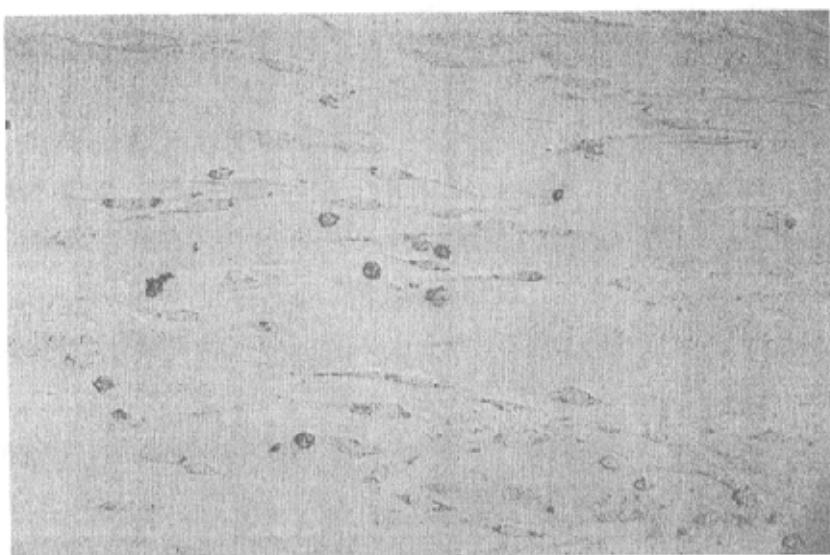


图 1-4 经束序苎麻素 A 处理 3 天后的乳腺癌细胞

Figure 1-4 Breast cancer cells treated with boehmeriasin A for 3 days

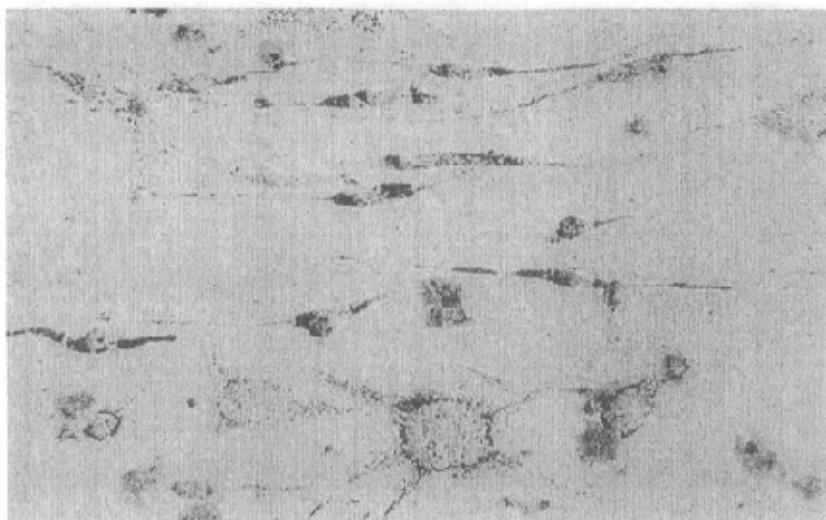


图 1-5 经束序苎麻素 A 处理 7 天后的乳腺癌细胞

Figure 1-5 Breast cancer cells treated with boehmeriasin A for 7 days

1.3 讨论

菲并喹啉里西定型生物碱是自然界中比较罕见的生物碱（见第三章）。Al-Shamma^[4]和 Saifah^[18]等分别从苎麻属的另外一种植物和白粉藤属的一种植物中分离得到 2,3,6-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定（Cryptopleurine，小穗苎麻素，又译为厚壳桂因碱）。从其它科属植物如樟科厚壳桂属（Lauraceae, *Cryptocarya*)^[19]、葡萄科白粉藤属（Vitaceae, *Cissus*)^[18]、荨麻科苎麻属（Urticaceae, *Boehmeria*)^[4]和萝藦科娃儿藤属（Asclepiadaceae, *Tylophora*)^[20]植物也得到该化合物，该化合物有类似马钱子碱的活性^[19]，是细胞有丝分裂抑制剂^[21]。小穗苎麻素由于稳定性差而未能得到应用。对该类化合物的合成也有许多报道（见第三章）。

本研究首次发现束序苎麻素 A 使肿瘤细胞的生长停止在 G1 期，是一种诱导分化剂；束序苎麻素 A 的稳定性也较差，在植物中的含量也太低，同时还发现有中枢神经毒性，因此我们对束序苎麻素 A 及其类似物进行了化学全合成（见第二

章) 以期获得活性及稳定性较为理想的菲并喹啉里西定型生物碱衍生物。

2. 实验部分

2.1 仪器和条件

熔点用 XRC-1 型显微熔点仪测定, 温度计未校正。紫外光谱用 GBC Cintra 20 型紫外光谱仪测定(甲醇作溶剂)。红外光谱用 Nicolet Protege 460 型红外光谱仪测定(KBr 压片法)。ESIMS 用 Finnigan LCQ^{DECA} 型质谱仪测定。APCIMS 用 HP110-LC/MSD 质谱仪测定。HREIMS 用 VG AutoSpec-3000 型质谱仪测定。比旋光由 Perkin Elmer Polarimeter 241 型旋光仪测定。核磁共振用 Varian^{unity}Inova-400 型波谱仪测定(¹H NMR, 400 MHz for ¹H NMR, 100 MHz for ¹³C NMR, DMSO-*d*₆ 作溶剂, TMS 作内标)。柱层析用青岛海洋化工厂出品的 200-300 目硅胶; 薄层硅胶采用 G₆₀。显色剂为 Dragendorff 试剂。

抗肿瘤活性筛选所用的细胞系为白血病细胞系(K562 和 HL-60), 前列腺癌细胞系(DU-145 和 PC-3), 肺癌细胞系(A549 和 NCI-H460), 乳腺癌细胞系(MCF-7 和 MDA-MB-231), 肾癌细胞系(ACHN 和 UO-31) 和结肠癌细胞系(HT-29 和 COLO-205)。抗肿瘤作用机制以 MDA-MB-231 乳腺癌细胞为研究对象。

2.2 植物来源

束序苎麻全草于 2000 年 8 月采自云南西双版纳, 由中国科学院西双版纳热带植物园崔景云研究员鉴定, 标本(E-26)保存于中国科学院成都生物研究所标本馆。

2.3 提取及分离

30 Kg(干重)束序苎麻全草粉碎后在室温下用 95 % 乙醇浸提(100 L/7d)三次, 减压浓缩得总浸膏 1176 g。总浸膏溶解在 3.0 L 温热水(约 50℃)中, 冷却后用乙酸乙酯萃取(1.0 L×10), 减压浓缩得乙酸乙酯部分 455 g。

乙酸乙酯部分经硅胶柱层析(1000 g 硅胶)梯度洗脱(洗脱剂为 CHCl₃, CHCl₃:CH₃OH=50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1, CH₃OH, 各 2500 mL)分成 8 个部分(每

100 mL 收集一次, TLC 作检测, 相同部分合并在一起。BSE1: 0-3000 mL, BSE2: 3000-5000 mL, BSE3: 5000-7200 mL, BSE4: 7200-11000 mL, BSE5: 11000-13200 mL, BSE6: 13200-15500 mL, BSE7: 15500-17800 mL and BSE8: 17800-20000 mL)。BSE4 (18 g) 显示强烈的体外抗肿瘤活性 ($GI_{50}=0.9\sim6.7 \text{ }\mu\text{g/mL}$)。BSE4 进一步经硅胶柱层析 (900 g 硅胶) 梯度洗脱 (洗脱剂为 $\text{CHCl}_3\text{-}(\text{CH}_3)_2\text{CO}=50:1, 25:1, 10:1$ and $5:1$, 各 2000 mL) 分成四个小部分 (每 50 mL 收集一次, TLC 作检测, 相同部分合并在一起。BSE4A: 0-3650 mL, BSE4B: 3650-4850 mL, BSE4C: 4850-5900 mL, BSE4D: 5900-8000 mL)。BSE4D (900 mg) 经硅胶柱层析 (50 g 硅胶, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:CH}_3\text{OH}=20:1$ 为洗脱剂) 分离得到 **1** (132 mg, 0.00044%, 560-1200 mL) 和 **2** (26 mg, 0.000087%, 1280-1600 mL)。

2.4 结构鉴定

2.4.1 束序苎麻素 A (1)

白色细针晶 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$). m.p.: 216-218°C. $[\alpha]_D^{20}-80.4^\circ$ (c 0.1, CH_3OH). UV (MeOH): λ_{\max} ($\log \varepsilon$)= 227 (4.36), 253 (3.85), 282 (3.27) nm. IR: ν_{\max} (cm^{-1})= 2917, 2850, 1609, 1518, 1466, 1411, 1307, 1262, 1248, 1204, 1168, 1150, 1038, 841. APCIMS (positive) m/z (rel. int.): 378 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); ESI (positive) m/z (rel. int.): 755 ($[\text{2M}+\text{H}]^+$, 30), 378 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); HREIMS (positive) m/z (rel. int.): 377.1994 ($[\text{M}]^+$, 100) (calcd. 377.1991 for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_3$). NMR data: see Table 1-1.

2.4.2 束序苎麻素 B (2)

白色粉末 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{OH}$), m.p.: 248-250°C. $[\alpha]_D^{20}-63.7^\circ$ (c 0.2, CH_3OH). UV (MeOH): λ_{\max} ($\log \varepsilon$)= 228 (4.39), 252 (3.90), 285 (3.34) nm; MeOH+NaOH : 238 (4.43), 264 (3.90), 312 (3.46) nm. IR: ν_{\max} (cm^{-1})= 3410, 2934, 1613, 1514, 1467, 1419, 1357, 1310, 1265, 1240, 1195, 1137, 1037, 819. ESI (positive) m/z (rel. int.): 364 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); ESI (negative) m/z (rel. int.): 362 ($[\text{M}-\text{H}]^-$, 65); HREIMS (positive) m/z (rel. int.): 363.1830 ($[\text{M}]^+$, 85) (calcd. 363.1834 for $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_3$). NMR data: see Table 1-1.

2.4.3 束序苎麻素 B 转化为束序苎麻素 A

束序苎麻素 B (3 mg) 溶解于 5 ml 的无水丙酮中，向此溶液中加入 1.4 mg 硫酸二甲酯，再加入无水碳酸钾 1.3 mg。搅拌并回流 30 分钟。反应液冷却后过滤，滤液与束序苎麻素 A 作薄层对照，证明束序苎麻素 Δ 的甲基化产物就是束序苎麻素 A。

2.5 束序苎麻素 A 抑制人体恶性肿瘤细胞体外生长活性实验^[22, 23]

将肿瘤细胞培养在含 5% 小牛血清的 RPMI 1640 培养基中，内含适量青、链霉素和 5 mM L-谷氨酰胺，在 5% CO₂，37℃条件下培养。试验前将细胞按一定密度接种于 96 孔培养板中，24 小时后换用含不同浓度的束序苎麻素 A（用 PBS 配置成 1 mg/ml 工作液，使用时按所需浓度用培养基稀释并加入细胞）的新鲜培养基，继续培养 48 小时。终止培养，每孔加入 50 μ l 预冷的 50% 三氯乙酸 (TCA，终浓度为 10%)，静置 5 分钟后移放于 4℃冰箱中 1 小时。用蒸馏水洗涤 5 次，空气干燥，加入 100 μ l SRB 染液（用 1% 醋酸配制成 0.4% 溶液），染色处理细胞 10 分钟，用 1% 醋酸溶液洗涤细胞 4 次，除去未结合染料，空气干燥。最后加入 150 μ l 10 mmol/L 非缓冲 Tris 溶液溶解结合染料，充分混匀后，经酶标仪在 490 nm 波长下测定并计算 GI₅₀ (50% 细胞生长抑制所需要的浓度)。

2.6 束序苎麻素 A 的抗肿瘤作用机理的初步研究实验^[22, 23]

2.6.1 细胞增殖检测

将对数生长期的细胞按 10⁴/孔的密度接种于 96 孔板上，培养 24hr 后加药。为测定细胞对药物的浓度依赖性，加入不同浓度的药物作用 48 小时后收集细胞。为测定细胞对药物作用的时间依赖性，加入在 48hr 后显示出完全抑制浓度的药物作用较长时间，于不同时间收集细胞。将收集的细胞加入 10% 三氯乙酸于 4℃ 固定 1hr，用 PBS 洗两次后用 SRB 染液(0.4% SRB, 1% 醋酸)染色 30 min，再用醋酸洗去未结合的染料，细胞于室温干燥后加入 10mM Tris-Cl (pH 10.5) 作用 5 min，然

后于 564nm 测定光吸收值。

2.6.2 流式细胞术

收获细胞用 70% 乙醇固定，测定前去乙醇，PBS 洗涤后加入 50ug/ml 碘化丙啶(propidium iodine, PI), 1%Triton X-100, 0.1M PBS 于 4℃染色 30 min 。用流式细胞仪测定结果经计算机处理，计算出各期细胞和调亡细胞百分比。

2.6.3 脂质油红染色

将常规培养的 MDA-MB-231 乳腺癌细胞接种于 24 孔板内，贴瓶后加入不同浓度的束序苎麻素 A，继续培养 3-7 天。弃培养上清，加入 10%甲醛固定细胞 1 小时，用蒸馏水洗细胞，用油红(0.16g 油红染料溶解于 80%的醋酸中) 染色 5-10 分钟，直至脂滴着红色时终止染色。

第二章 束序苎麻素 A 及其类似物的合成及构效关系研究

束序苎麻素 A (3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定, 1, 图 2-1) 和束序苎麻素 B (3,7-二甲氧基-6-羟基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定, 2, 图 2-1) 是我们从蓼科苎麻属植物束序苎麻 (*Boehmeria siamensis* Craib, Urticaceae) 中分离得到的菲并喹喏里西定型生物碱。束序苎麻素 A 是小穗苎麻素 (Cryptopleurine, 3, 图 2-1) 的同分异构体, 具有较强的体外抗肿瘤活性 ($GI_{50}=0.2\sim100$ ng/mL)。机制研究表明束序苎麻素 A 能使肿瘤细胞的生长停止在 G1 期, 同时诱导乳腺癌细胞向正常的脂肪细胞分化, 是一种很有潜力的诱导分化剂, 但是在植物中的含量特别低 (我们从束序苎麻中得到该生物碱的收率为 0.00044%); 束序苎麻素 B 可经甲基化转化为束序苎麻素 A, 在植物中的含量也很低 (我们从束序苎麻中得到该生物碱的收率为 0.000087%), 并且它的抗肿瘤活性较差; 由此说明菲环上的取代基对此类生物碱的抗肿瘤活性有较大影响。因此我们对束序苎麻素 A 进行了化学全合成, 试图找到简洁有效的合成方法为进一步活性试验提供样品; 另外还合成了菲环上甲氧基取代位置和数目不同的束序苎麻素 A 的系列类似物, 目的在于探讨菲环上甲氧基的多少对活性的影响。

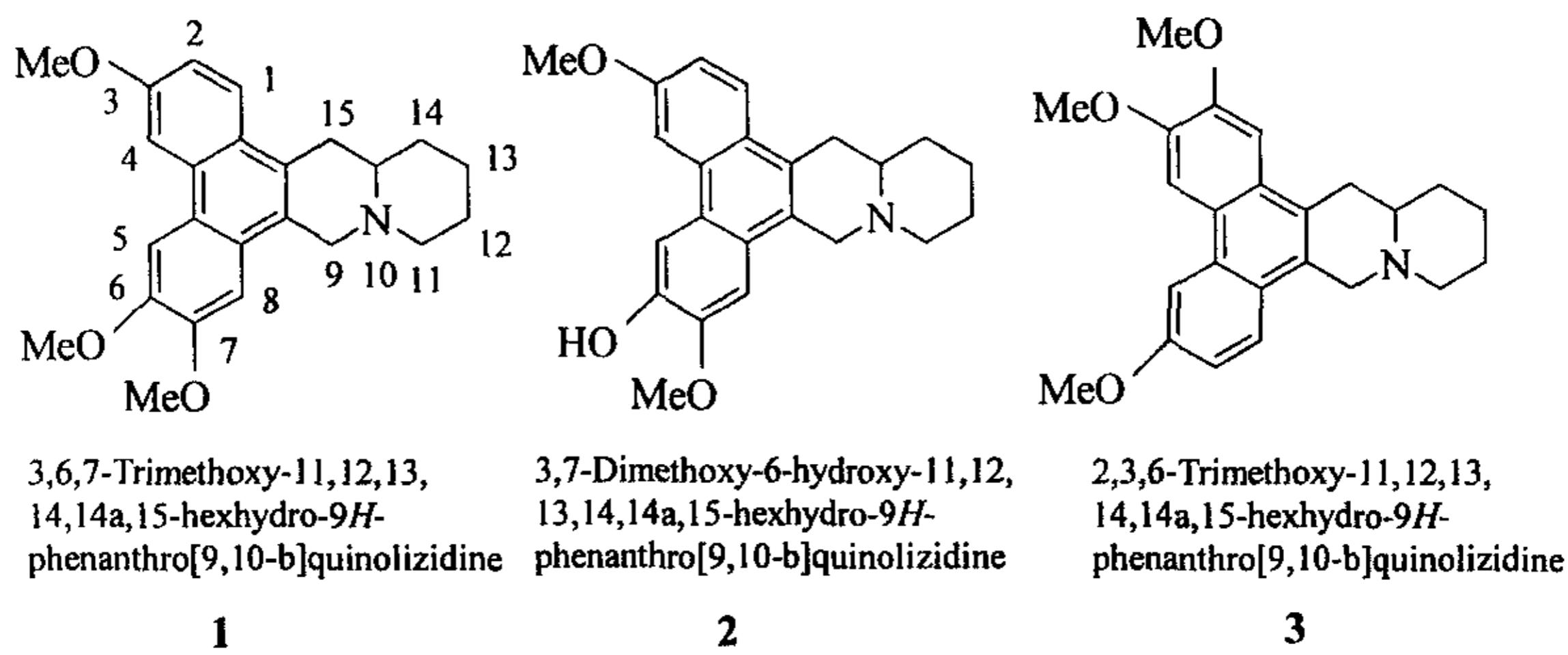


图 2-1 束序苎麻素 A (1)、束序苎麻素 B (2) 及小穗苎麻素 (3) 的结构

Fig. 2-1 The structures of boehmeriasin A (1), boehmeriasin B (2)
and cryptopleurine (3)

1971 年 Foldeak^[24]合成了小穗苎麻素及其类似物，并研究了这些化合物对 *Actinomucor repens* 的抑制作用，结果表明抑菌效果最好的是小穗苎麻素。1985 年，Hegyes 等人^[25]也合成了系列菲并喹啉里西定型生物碱并对它们的抑菌效果进行了测试，结果显示 2,3-二甲氧基-6-氯-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定有最好的抑菌效果，氯原子引入到芳环可能会增加该类生物碱的抑菌活性。同时他们还合成了 C-15-C-15a 开环的菲并喹啉里西定型生物碱类似物，研究了它们的抑菌效果，结果表明，C-15-C-15a 开环之后，该类生物碱的抑菌效果直线下降。其原因可能是开环化合物中 N 原子与菲环平面之间的关系被破坏。Muckerjee 等^[26]合成了小穗苎麻素的萘环类似物，这些化合物均不显示抗肿瘤活性。

1980 年，Sollhuber 等人^[27]研究了一系列化合物对酵母菌的蛋白质合成的抑制作用后指出，喹啉里西定本身并不显示生物活性，只有与菲或者萘环耦合后才有活性。同年，Gupta 等人^[28]在研究了一系列苄基异喹啉、菲并喹啉里西定和菲并吲哚里西定生物碱对中国仓鼠卵巢细胞 (CHO cell) 蛋白质合成的抑制后指出：上述生物碱生物活性的有无与分子中是否有一个含两个芳环的平面分子以及一个亲核性的原子比如氮原子的存在与否有关；同时，芳环上有富电性基团取代则活性提高，芳环平面与亲核原子之间必须有一定距离。Gupta 认为，小穗苎麻素是活性极高的生物碱，他们还从与受体结合的角度提出下列观点，即高活性化合物必须具备下列条件：1、有两个芳香环；2、给电性基团的取代促使分子有轻微的富电子性，3、有氮原子存在，且芳环平面与氮原子之间必须形成一种三角关系。

另外，我们在实验中发现束序苎麻素 A 极不稳定，在自然光照射下会转化成很多无活性的化合物。我们推测此类生物碱的不稳定性与 C-15 易氧化为更大共轭体系的化合物有关。从上述构效关系研究的结果来看，C-15 位并不是活性所必须的，但是不能使 C-15-C-15a 开环。所以我们认为，只要能保持菲并喹啉里西定型生物碱的骨架不变。同时使 C-15 位季碳化从而丧失还原能力，该类生物碱也许可以稳定下来。

基于上述分析，我们设计了菲并喹啉里西定型生物碱的 C-15 与环丙烷成螺环的衍生物（图 2-2, I），目的在于使 C-15 位季碳化，可以利用环丙烷的性质进行 C-15 位含其它取代基的衍生物，同时环丙烷本身作为烷化剂引入有可能提高该类

生物碱的活性。

动物实验研究表明束序苎麻 A 有神经毒性。我们推测束序苎麻 A 的神经毒性可能与该分子的极性和溶解性有关，基于此我们设计极性较大、水溶性稍好的新型菲并喹喏里西定型生物碱衍生物（图 2-2，II），拟通过增加分子的极性使得该类生物碱在体内不能透过血脑屏障，从而降低或避免中枢神经毒性。

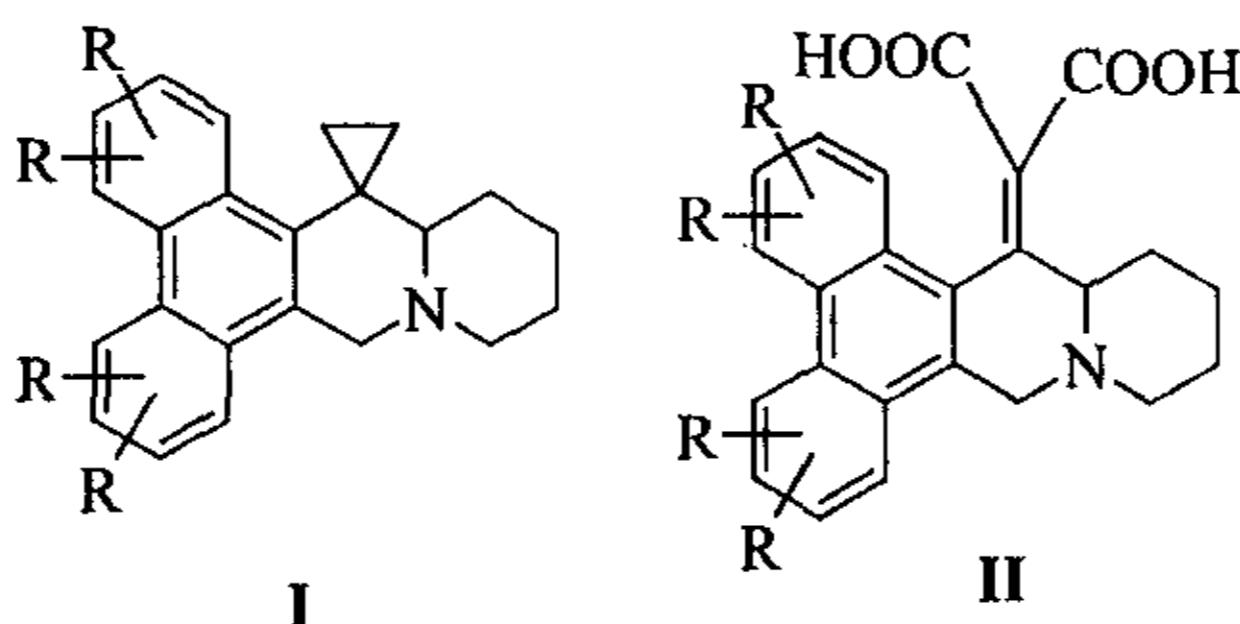


图 2-2 两类设计的菲并喹喏里西定型生物碱衍生物

Fig. 2-2 Two types of phenanthroquinolizidine alkaloid derivatives designed for stabilizing quinolizidine moiety and decreasing the central nerve system toxicity

总之，如果能够解决该类化合物的稳定性，同时不丧失活性或者提高活性，降低毒性，此类生物碱可以作为有较好应用前景的抗肿瘤药物开发。

1. 反合成分析

基于对小穗苎麻素的化学合成的文献调研，我们采用了小穗苎麻素的化学合成中的第一种合成策略，即先构建菲片段，再构建饱和环部分。我们对束序苎麻素 A 及其类似物以及 I 类和 II 类衍生物的合成路线进行了分析（式 2-1）：

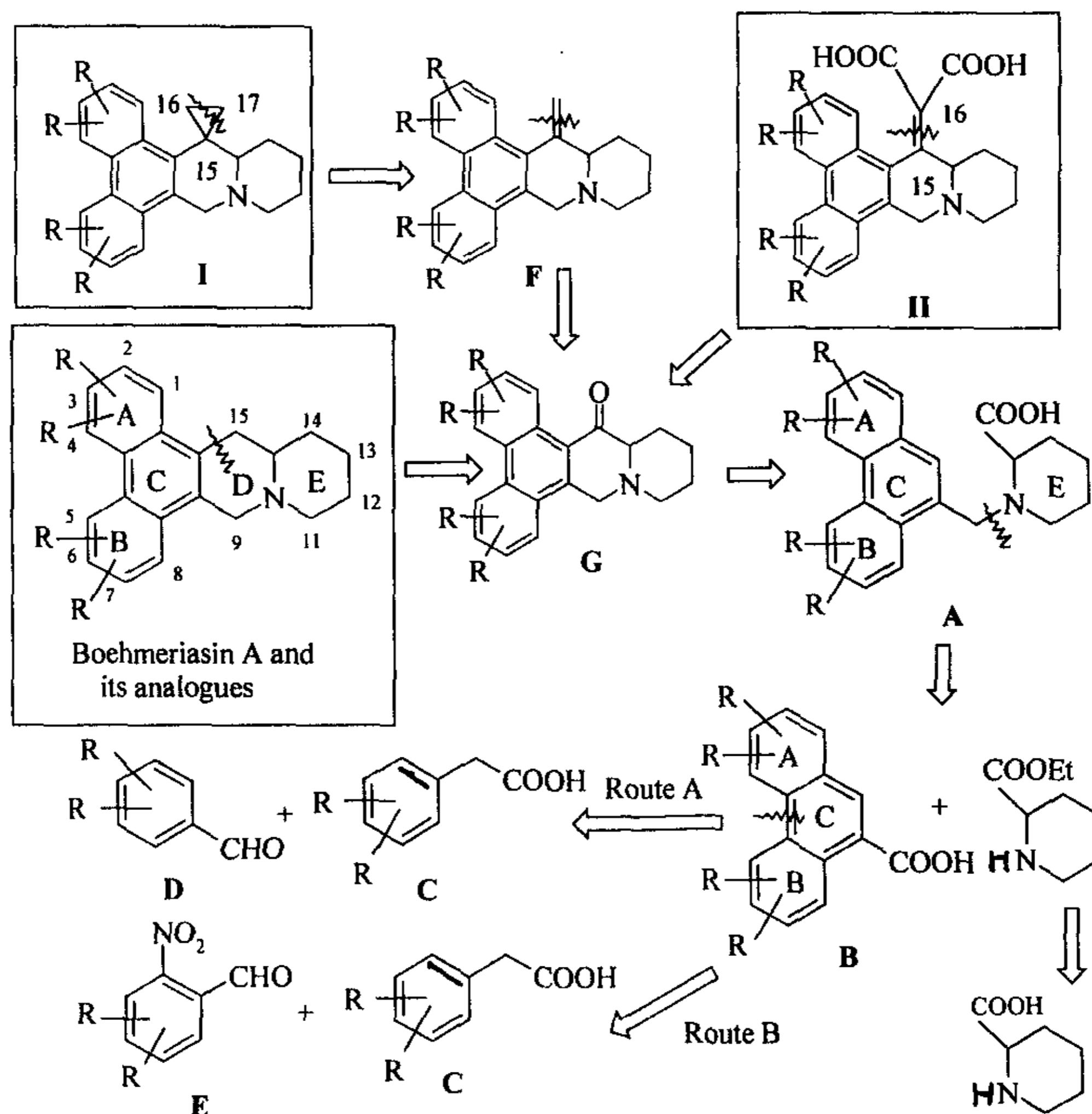
1.1 菲环不同取代的菲并喹喏里西定型生物碱

首先切断 C-15a-C-15 键得合成前体 A，A 可经过 Friedel-Crafts 反应得到菲并喹喏里西定型生物碱-15-酮，该酮类化合物经 Wolff-Kishner-Huang Minlon 还原即得各种取代的菲并喹喏里西定型生物碱。

其次再切断 C-9-N-10 键，得到菲片段——菲基甲酸类化合物（B）和构建饱

和环的原料—哌可酸。合成前体 **B** 与哌可酸乙酯经缩合和选择性还原即可得到前体 **A**。

9-菲基甲酸类化合物可通过 Pschorr 法合成，也可通过氧化偶联反应合成。前者由取代的邻硝基苯甲醛（**E**）与取代苯乙酸（**C**）经 Perkin 缩合、还原硝基为氨基、重氮化、偶联得到；后者可通过取代的苯甲醛（**D**）和合适的取代苯乙酸（**C**）经 Perkin 缩合、甲酯化、偶联得到。



式 2-1 束序苎麻素 A 及其类似物、类型 I 和类型 II 的反合成分析

Scheme 2-1 Retrosynthetic route for boehmeriasin A and its analogues

1.2 C-15 位环丙烷化和二羧基亚甲基化的两类菲并喹啉里西定型生物碱

1.2.1 C-15 位环丙烷化（类型 I）的衍生物的反合成分析（式 2-1）

首先同时切断 C-15-C-17 和 C-16-C-17 键得到合成前体 F，前体 F 与卡宾反应即可得到环丙烷类衍生物。

其次，切断 C-15-C-16 键得到合成前体 G，前体 G 经 Wittig 型反应可得到前体 F。合成前体 G 可由束序苎麻素 A 及类似物的合成中的前体 A 经 Friedel-Crafts 反应得到。

1.2.2 C-15 位二羧基亚甲基化（类型 II）的衍生物的反合成分析（式 2-1）

直接切断 C-15-C-16 键得到合成前体 G，前体 G 可由束序苎麻素 A 及类似物的合成前体 A 经 Friedel-Crafts 反应得到；前体 G 与丙二酸二乙酯经 Knoevenagel 缩合反应即可得到类型 II 类化合物。

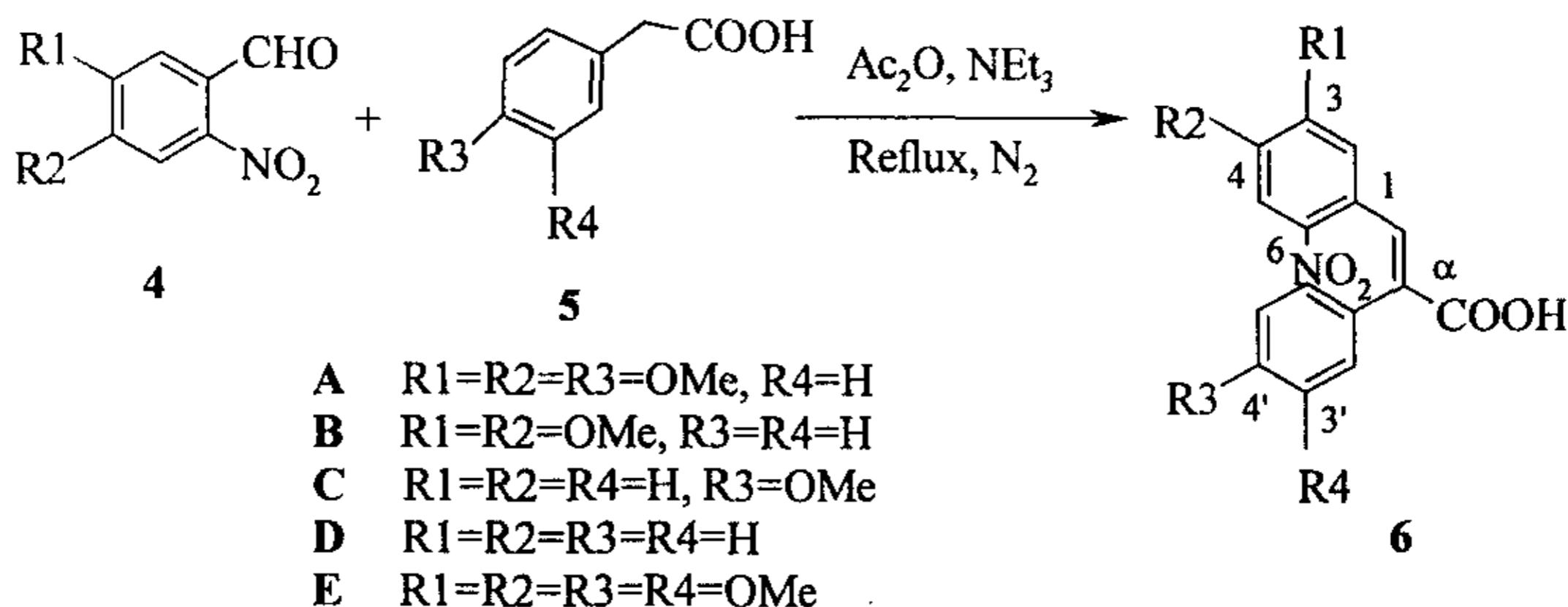
从反合成分析可看出，三条路线有相同的关键中间体—11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮类化合物（G），所以上设计具有较强的普适性，若能成功地合成 G 则可为相关化合物（类型 I 和 II）的合成奠定基础。

2. 全合成研究

2.1 9-菲基甲酸类化合物（合成前体 B）的合成

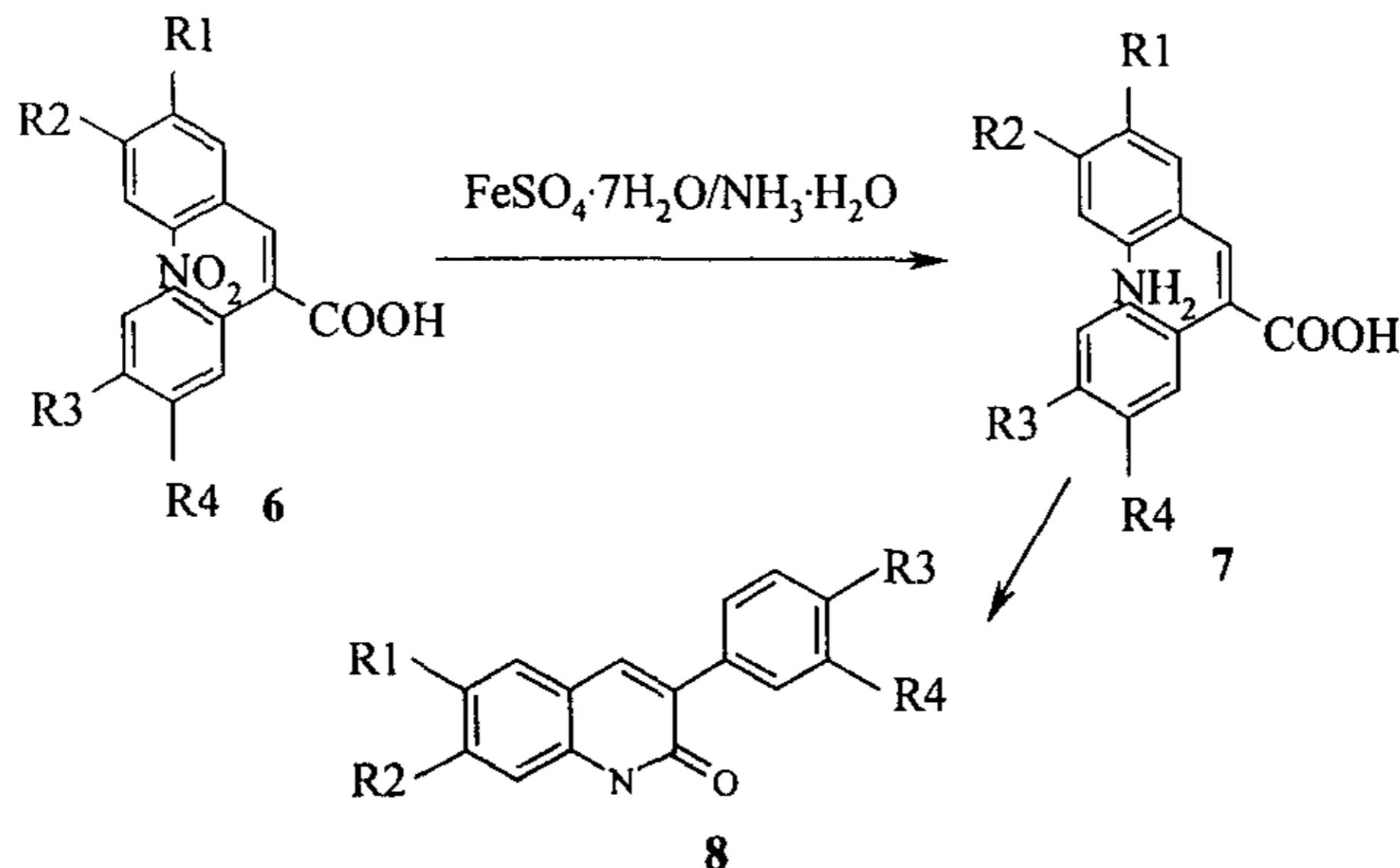
2.1.1 基于 Pschorr 法的合成^[29, 30]

以取代的邻硝基苯甲醛（4）与取代的苯乙酸（5）为起始原料，在醋酸酐-三乙胺体系中进行 Perkin 缩合得到 6-硝基- α -苯基肉桂酸类化合物（6）（式 2-2）。一般在 Perkin 缩合中，产物中两个较大的基团总是处于反式；本反应也是以反式产物为主，收率较高（都在 80% 左右），是很成功的方法。

式 2-2 6-硝基- α -苯基肉桂酸类化合物（6）的合成Scheme 2-2 Synthesis of substituted 6-nitro- α -phenylcinnamic acid (6)

由上述反应得到的 6-硝基- α -苯基肉桂酸类化合物（6）在硫酸亚铁的作用下还原为 6-氨基- α -苯基肉桂酸类化合物（7），见式 2-3。

本反应的优点是分子中的羧基不受影响。但是在此反应中，有一副产物生成，经 $^1\text{H-NMR}$ 、IR 和 ESIMS 鉴定为 3-芳基-2-噁唑酮类化合物（8）。

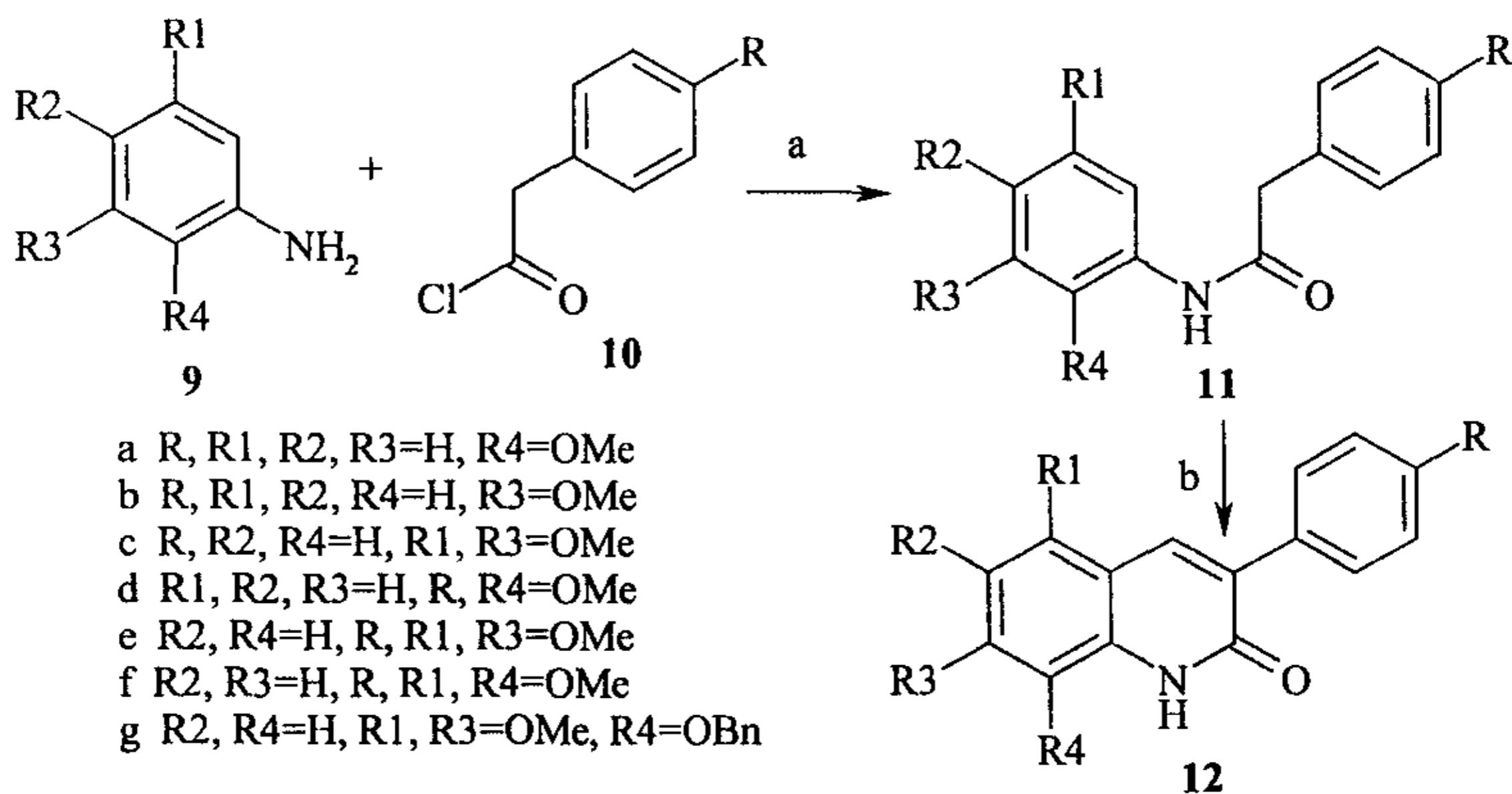
式 2-3 6-氨基- α -苯基肉桂酸类化合物（7）的合成Scheme 2-3 Synthesis of substituted 6-amino- α -phenylcinnamic acid (7)

我们发现，化合物 7 在溶液状态时很容易转变为化合物 8，特别是在酸性条件

下。若升高温度，则化合物 7 的转化速度加快，在丙酮溶液中加热回流化合物 7 可 100% 的转化为化合物 8。不同取代的化合物 7 的转变速度有所不同：**7B>7C>7A>7E**；在不同溶剂中的转变速度也不相同：丙酮>氯仿>乙醇，因此应当使化合物 7 尽快结晶，以固体状态保存于干燥器中备用。

经测试，化合物 8 并不显示体外抗肿瘤活性。

然而，Joseph 等人^[31]合成了 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（12），并发现该类化合物有抑制肿瘤细胞迁移的作用。作者们首先以取代苯胺类化合物（9）与取代苯乙酰氯（10）反应得到苯乙胺类化合物（11），反应收率均>81%；然而第二步关环反应，也就是苯乙胺类化合物在三氯氧磷-N,N-二甲基甲酰胺（POCl₃-DMF）的作用下生成 3-芳基-2-喹诺酮类化合物的反应收率均很低（10-45%）化合物 12 的总收率为 8.1-41.8%（式 2-4）。



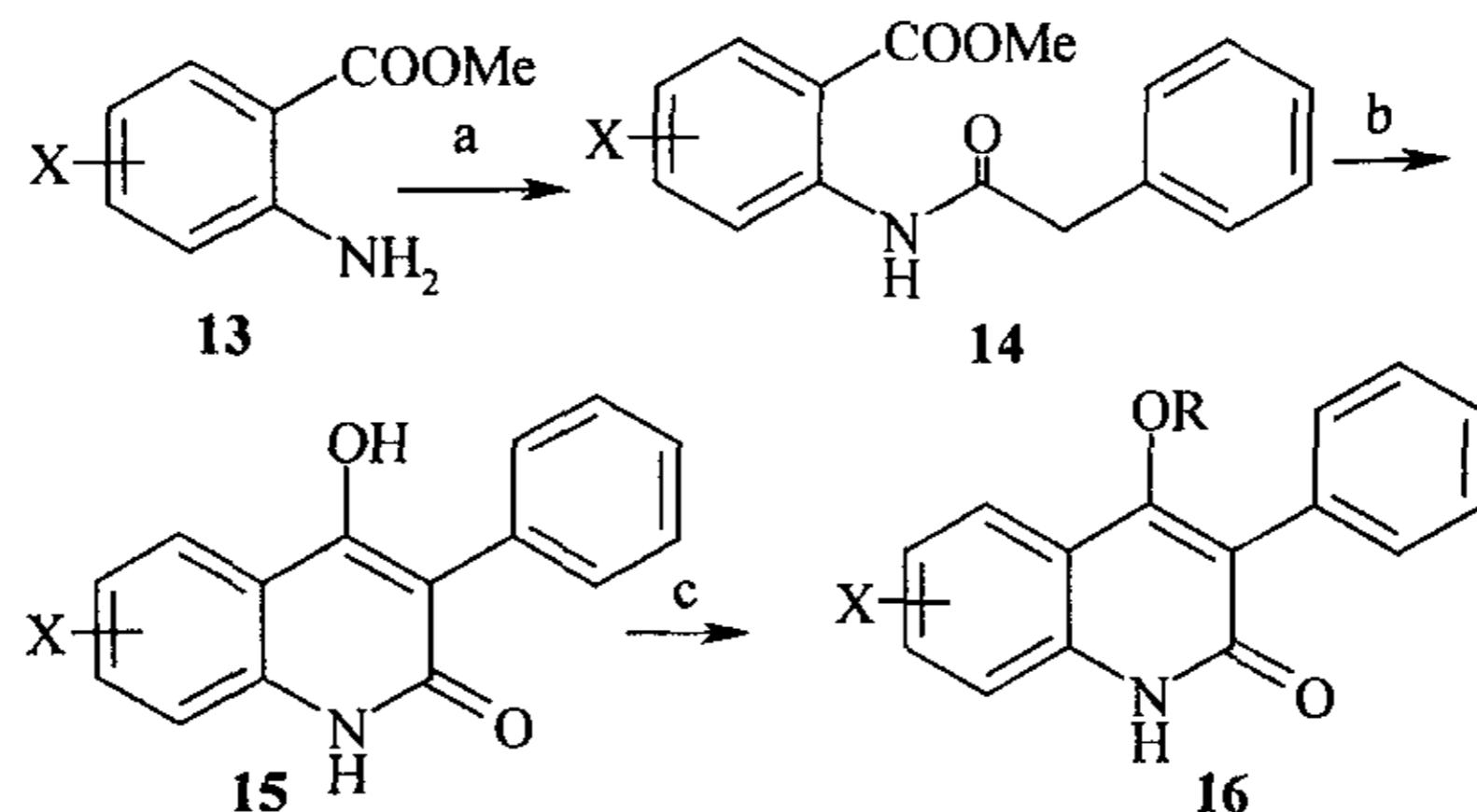
Regents and conditions: (a) Toluene, room temperature, 1 h,
 (b) (i) POCl₃, DMF, -30 to 75 °C , (ii) AcOH/H₂O, reflux 3 hrs.

式 2-4 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（12）的合成

Scheme 2-4 Synthesis of 3-aryl-2-quinolone derivatives (12)

De Vita 等人^[32, 33]则筛选到了非肽的 4-醚化的 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（16）可作为促性腺激素释放激素（GnRH, Gonadotropin releasing hormone）受体拮抗剂。他们以取代的邻氨基苯甲酸甲酯（13）为原料与苯乙酰氯反应得到苯乙胺类化合

物（14），反应收率为 50-90%；14 在双三甲硅基-氨基钠（NaHMDS, sodium bis(trimethylsilyl)amide）的作用下以 50-90% 的收率得到 3-芳基-4-羟基-2-喹诺酮类化合物（15），15 再与卤代烃反应得到了 4-醚化的 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（16，式 2-5）。15 的总收率也不高（20~81%）。

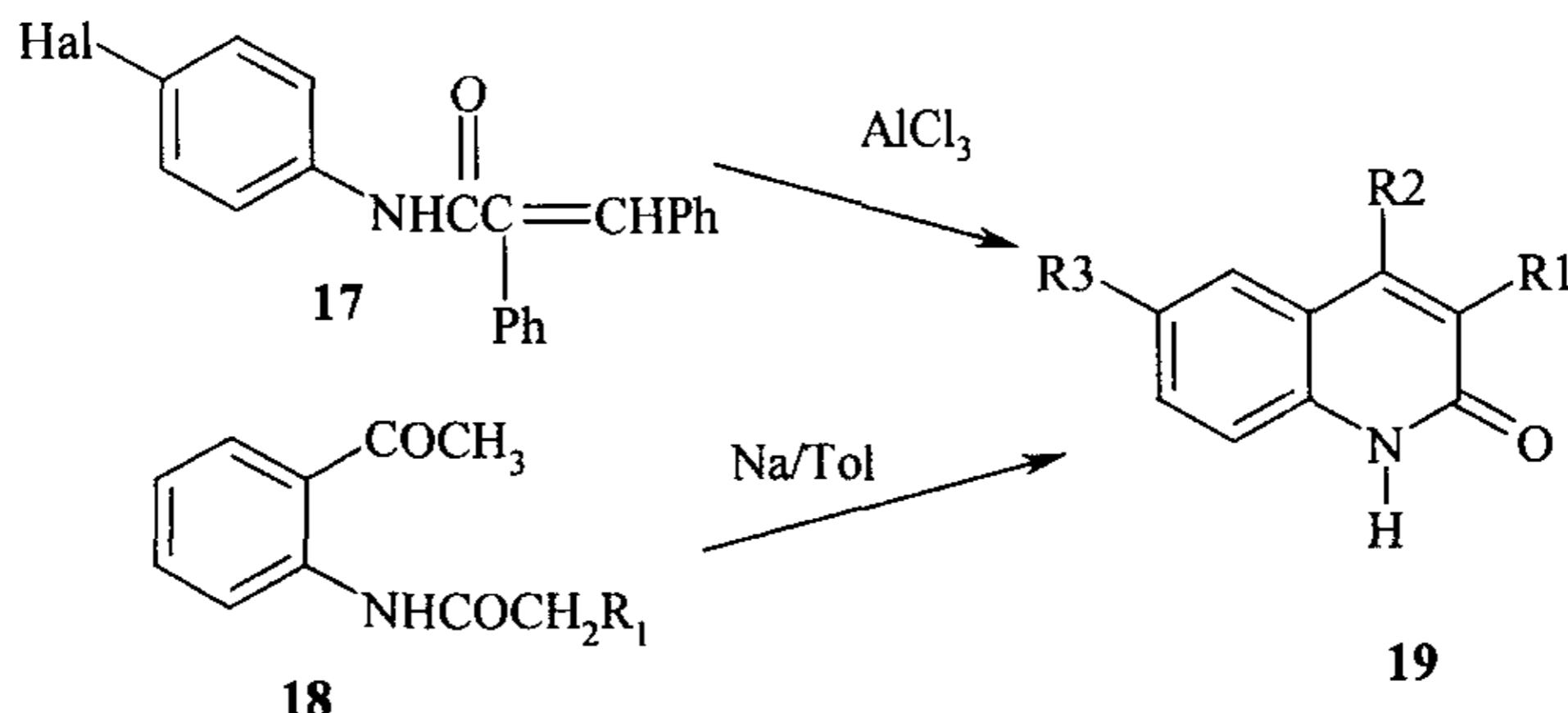


Reagents and conditions: (a) phenylacetyl chloride, 1,2-dichloroethane, reflux, 3 hrs, (b) (i) 3 equiv NaHMDS, THF, 0°C, 3 hrs; (ii) excess HCl quench, filter, (c) 2.2 equiv K₂CO₃, R-X, cat. NaI, DMF, 80°C, 16 hrs

式 2-5 4-醚化的 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（16）的合成

Scheme 2-5 Synthesis of various ether of 3-aryl-4-hydroxy-2-quinolone derivatives (16)

Blackburn 等人^[34]也合成了 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（19），并发现此类化合物有 5-羟色胺拮抗活性。苯基肉桂酰胺类（17）在三氯化铝（AlCl₃）的催化下环化得到 3-芳基-2-喹诺酮类（19），收率为 72%；而苯乙酰胺（18）则在碱金属的作用下关环得到 3-芳基-2-喹诺酮类（19），收率为 80%（式 2-6）。他们合成此类化合物的总收率不超过 80%，并且他们使用了相对苛刻的条件（强的 Lewis 酸和碱金属）、反应操作不方便。



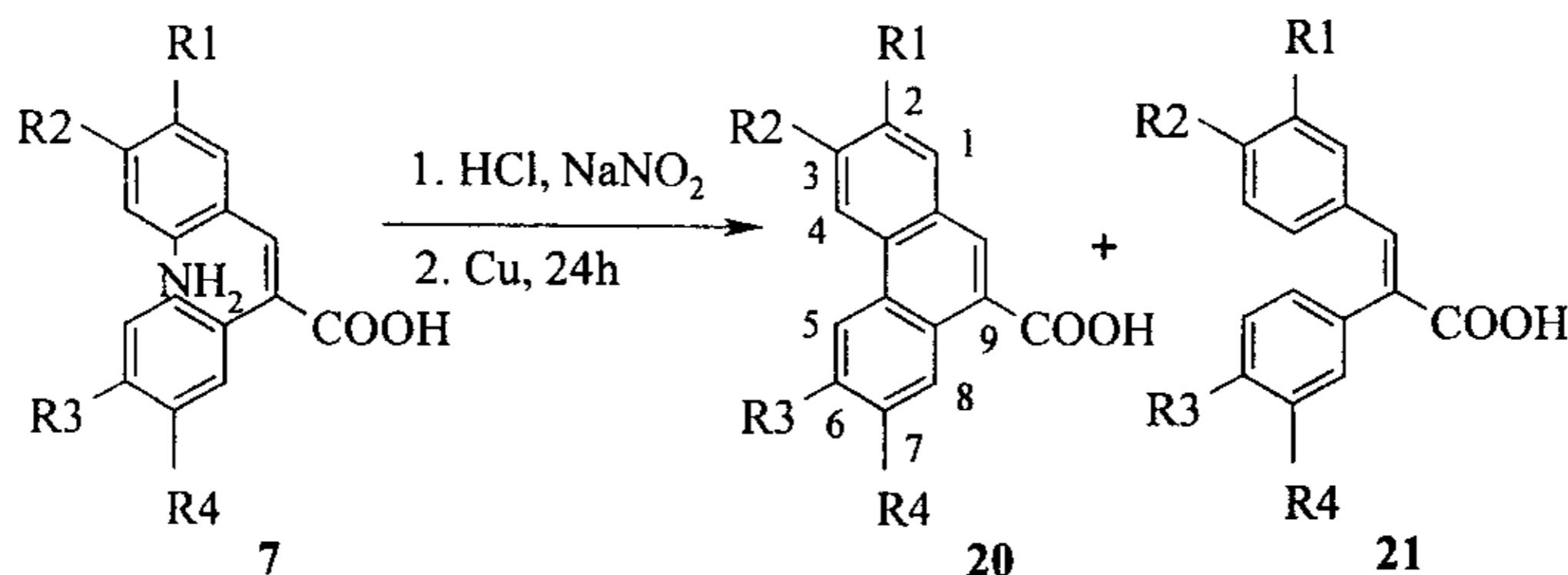
式 2-6 3-芳基-2-喹诺酮类化合物 (19) 的合成

Scheme 2-6 Synthesis of 3-aryl-2-quinolone derivatives (19)

总之，以上三个小组的合成总收率均较低。Joseph 等人的合成总收率较低（总收率为 8.1-41.8%）；De Vita 等人虽然只报道了每一步的收率为 50-90%，但总收率肯定低于 81%；Blackburn 等人合成 3-芳基-2-喹诺酮类化合物的总收率也低于 80%。

在我们的测试中，化合物 8 并不显示体外抗肿瘤活性，但有其他方面的生物活性比如抑制肿瘤细胞迁移^[31]、促性腺激素释放激素受体拮抗剂^[32, 33]和 5-羟色氨拮抗剂^[34]，我们发现的方法可方便简洁地以几乎 100% 的收率把化合物 7 转化为化合物 8，总收率 >80%，是合成 3-芳基-2-喹诺酮类化合物的一种新方法（收率高、反应条件温和、反应时间较短、操作简单、试剂便宜）。

化合物 7 在浓盐酸-亚硝酸钠的作用下发生重氮化反应，在此 Lebrun 等人^[30]把重氮盐作成安全、稳定并以固体状态存在的氟硼酸重氮盐，然后在二茂铁的作用下发生偶联反应得到 9-菲基甲酸类化合物 (20A)。而 Bradsher 小组^[29]则不分离所得到的重氮盐，使重氮盐在加特曼铜粉 (Gattermann copper powder) 的催化下进行分子内偶联反应得到 9-菲基甲酸类化合物 (20A，收率为 54%)。我们根据 Bradsher 小组的方法(式 2-7)以 50% 左右的收率得到了 9-菲基甲酸类化合物 (20)。



式 2-7 9-菲基甲酸类化合物（20）的合成

Scheme 2-7 Synthesis of various 9-phenanthroic acid (20)

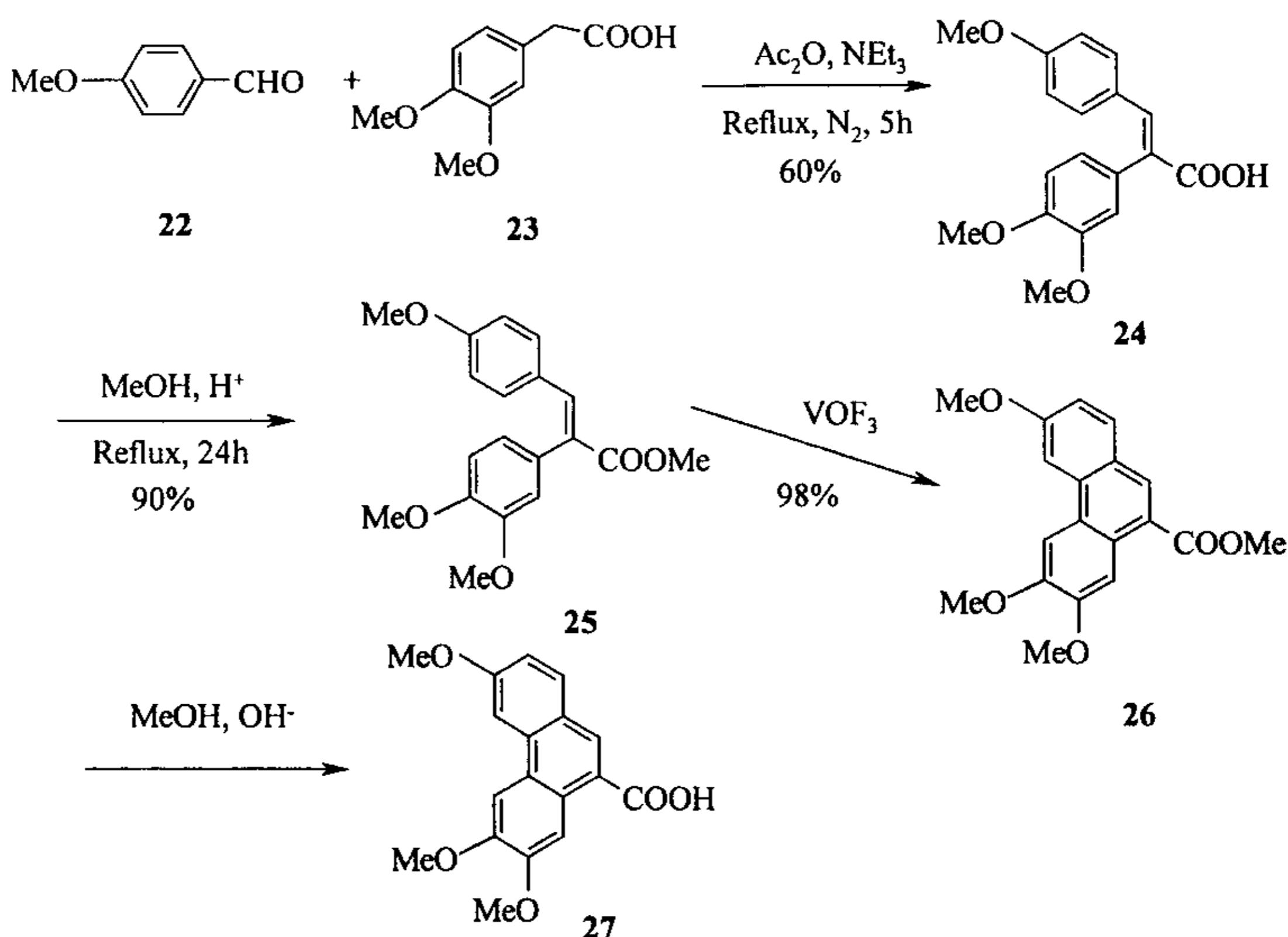
在此反应中，有未偶联的副产物——化合物 21 生成。

以 Pschorr 法经三步反应合成化合物 20 的过程中，仅 20B 的总收率为 27.8%，其余的均超过 34.9%。总收率比较低，其中的瓶颈为 6-硝基- α -苯基肉桂酸类化合物（6）还原为 6-氨基- α -苯基肉桂酸类化合物（7）反应的收率较低，原因是化合物 7 在碱性条件下也能转变为 3-芳基-2-喹诺酮类化合物（8），特别是化合物 7B 很容易转化为 8B。

2.1.2 三氟氧化钒作用下的分子内偶联反应合成 3,6,7-三甲氧基-9-菲基甲酸(27)^[35]

(式 2-8)

首先等摩尔的茴香醛（22）与 3,4-二甲氧基苯乙酸（23）在醋酸酐-三乙胺中发生 Perkin 缩合反应以 60% 的收率得到反式 4,3',4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸（24）。将后者溶解于适量甲醇中，在酸催化下进行甲酯化以 90% 的收率得到 4,3',4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸的甲酯（25）。该甲酯在 2.2 倍摩尔比的三氟氧化钒的作用下发生分子内偶联反应以 98% 的收率得到 3,6,7-三甲氧基-9-菲基-甲酸甲酯（26）。26 溶解于适量的甲醇中，在碱溶液的作用下水解得到 3,6,7-三甲氧基-9-菲基-甲酸（27）。这种方法得到 27 的总收率为 52.9%。



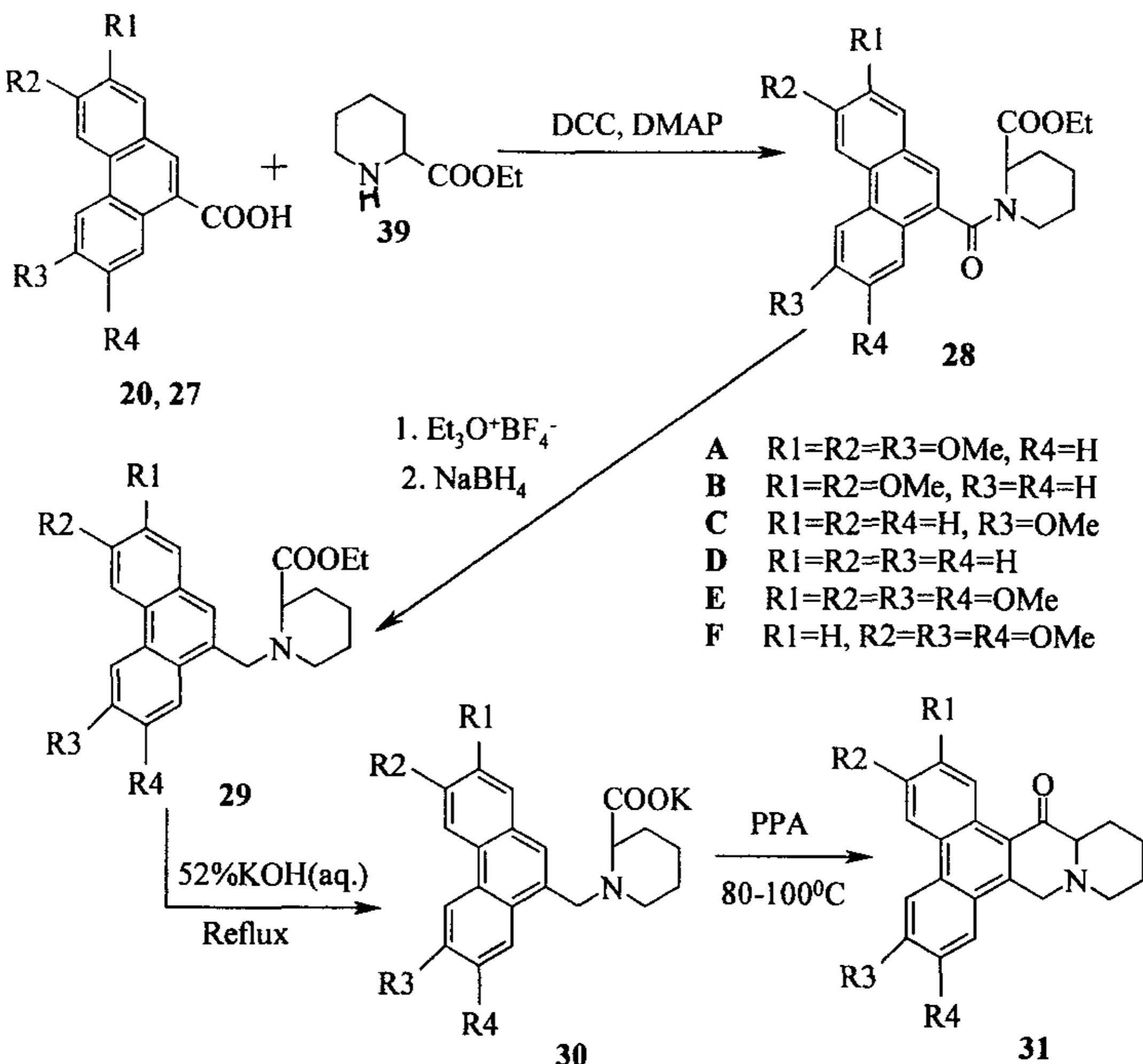
式 2-8 3,6,7-三甲氧基-9-菲基-甲酸 (27) 的合成

Scheme 2-8 Synthesis of 3,6,7-trimethoxyphenanthroic acid (27)

三氟氧化钒作用下的分子内偶联反应合成 3,6,7-三甲氧基-9-菲基甲酸(27)的总收率虽然比 Pschorr 法合成 9-菲基-甲酸类化合物高，但是三氟氧化钒是一种价格相对高的试剂并对水敏感。

2.2 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定-15-酮类化合物的合成 (式 2-9)

等摩尔的各种取代的 9-菲基-甲酸 (**20A**, **20B**, **20C**, **20D**, **20E**, **27**) 与哌可酸乙酯在 DCC (二环己基碳二酰亚胺)-DMAP (N,N-二甲基-4-氨基吡啶)^[36]的作用下分别以 95%, 88%, 83.4%, 69%, 92% 和 92.8% 的收率得到 N-(9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯类化合物 (**28**) (式 2-11)。而 Trigo 等人^[37]把 9-菲基-甲酸类化合物作成酰卤后再与哌可酸乙酯反应，仅以 80.7% 和 59.4% 的收率得到 **28A** 和 **28D**。

式 2-9 11,12,13,14,14a,15-六氢-9*H*-菲[9,10-*b*]并喹唑里西定

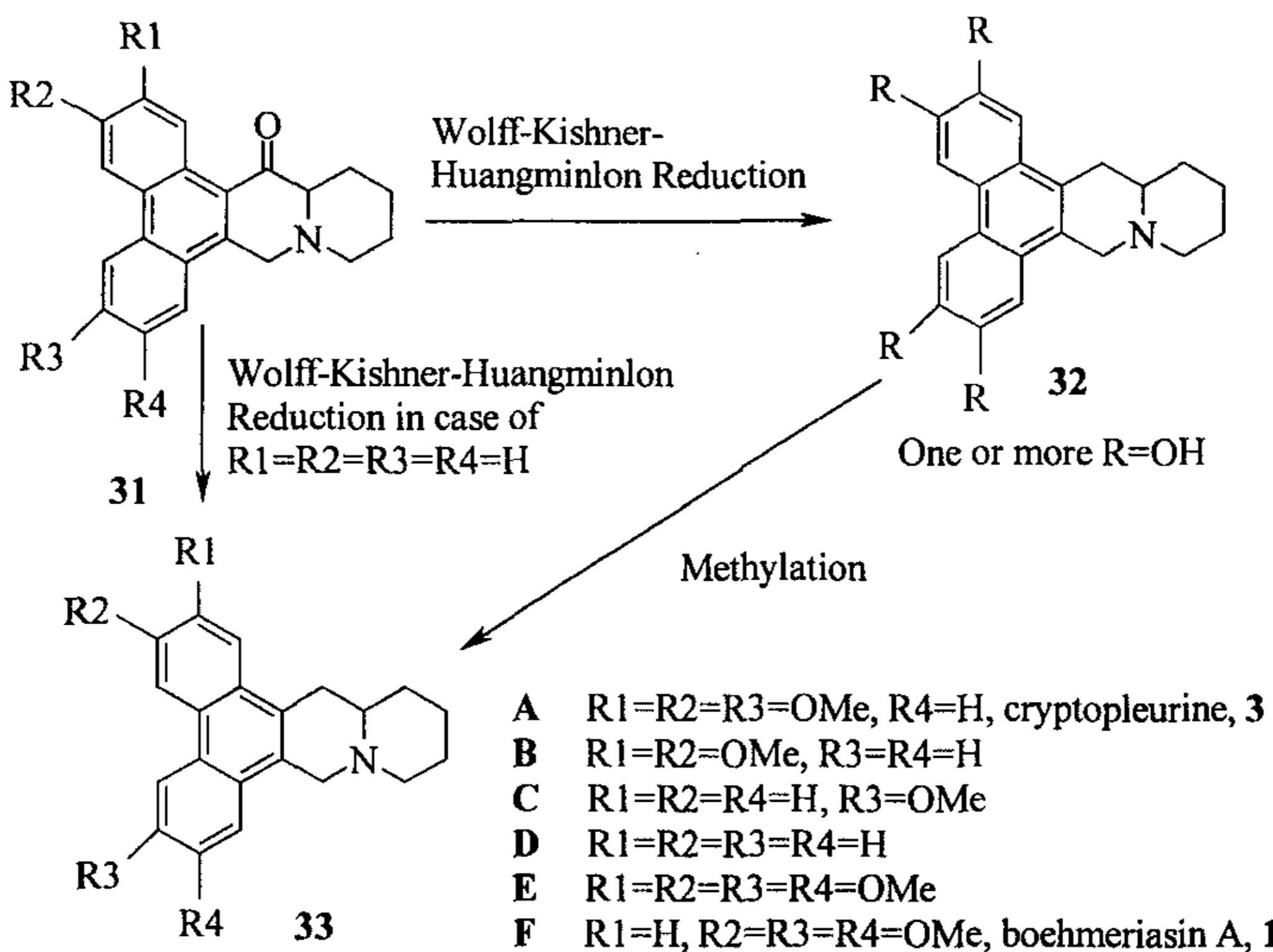
-15-酮类化合物的合成

Scheme 2-9 Synthesis of substituted 11,12,13,14,14a,15-hexhydro-
9H-phenanthro[9,10-*b*]quinolizidine

欲将 N-(9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯类化合物（28）制备为 G，必须先选择性还原 28 中的酰胺羰基得到 A——N-(9-菲基亚甲基)-2-哌可酸类化合物。在 $\text{Et}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$ （三乙基氧四氟化硼）的作用下可实现 28 的选择性还原^[37]，得到 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯类化合物（29）；化合物 29 在乙醇中进行碱水解得到 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸钾类化合物（30）；30 与适量的 PPA（多聚磷酸）在氩气保护下加热到 80-100°C、搅拌 3-7 小时得到 11,12,13,14,14a,15-六氢-9*H*-菲[9,10-*b*]并喹唑里西定-15-酮类化合物（31）^[37]。化合物 31 不稳定(由 PPA 催化 Friedel-Crafts

反应得到的产物纯度适合于下步反应), 故不经分离纯化, 直接干燥备用。

2.3 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定类化合物的合成^[38, 39] (式 2-10)

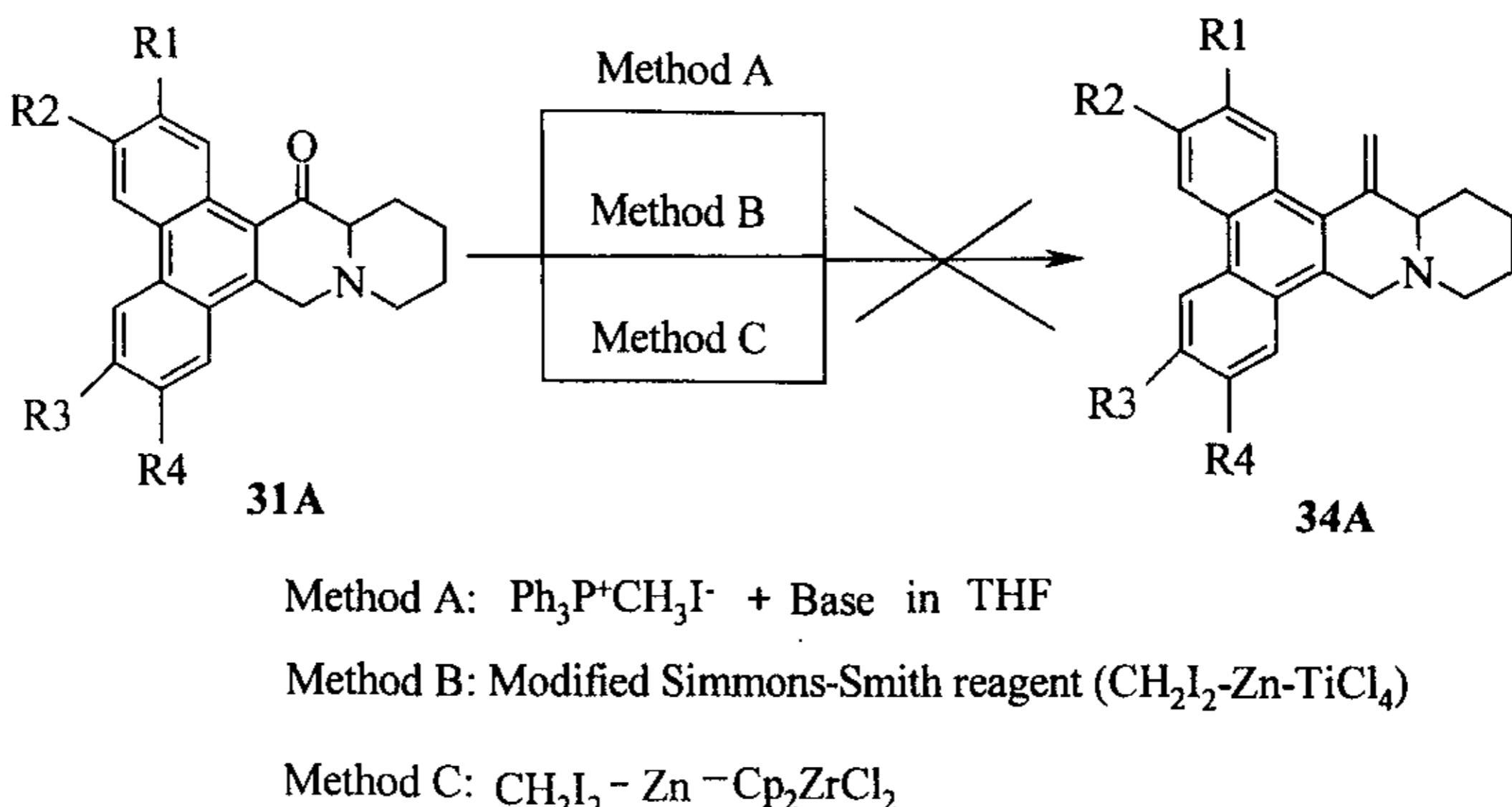


式 2-10 束序苎麻素 A 及其类似物的合成

Scheme 2-10 Synthesis of boehmeriasin A (1), cryptoleurine (3) and their analogues

化合物 31 中的酮羰基还原为亚甲基即得到束序苎麻素 A (1) 和小穗苎麻素 (3) 以及它们的一些类似物 (式 2-12)。其中, 当 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 全为 H 时, 即化合物 31D 经 Wolff-Kishner-Huangminlon 还原可直接得到目标化合物; 而 31A、31B、31C、31E 和 31F 由于分子中的甲氧基被去甲基化, 所以只能得到有一个或多个羟基取代的菲并喹喏里西定型生物碱 (32), 32 在过量的重氮甲烷作用下再甲基化即得到一个或多个甲氧基取代的菲并喹喏里西定型生物碱 (33)。

2.4 C-15 位环丙烷化 (类型 I) 的衍生物的合成探索 (式 2-11)



式 2-11 31A 的末端双键化

Scheme 2-11 Methylenation of C-15 in 31A

2.4.1 Wittig 反应^[40]（方法 A, Method A in Scheme 2-11）

首先以三苯基膦 (Ph_3P) 与碘甲烷 (CH_3I) 在无水苯中反应制备三苯基甲基碘化鎓，此鎓盐须置于五氧化二磷干燥的真空干燥器中。

考察了碱的强度 (K_2CO_3 , KOH , $t\text{-BuOK}$, $n\text{-BuLi}$)、反应时间 (8-72 小时)、反应温度 (-20°C, -10°C, 0°C, 20°C, 40°C, 60°C, reflux) 等反应条件，都不能得到期待的目标分子 34A。

2.4.2 利用路易斯酸修饰的 Simmons-Smith 试剂的亚甲基化^[41]（方法 B, Method B in Scheme 2-11）

我们推测化合物 31A 可能容易烯醇化因而与 Wittig 试剂不反应。路易斯酸修饰的 Simmons-Smith 试剂 ($\text{CH}_2\text{I}_2\text{-Zn-TiCl}_4$) 能与易烯醇化的酮类化合物反应得到亚甲基化产物。但是我们利用此方法仍然没有得到预期目标产物。

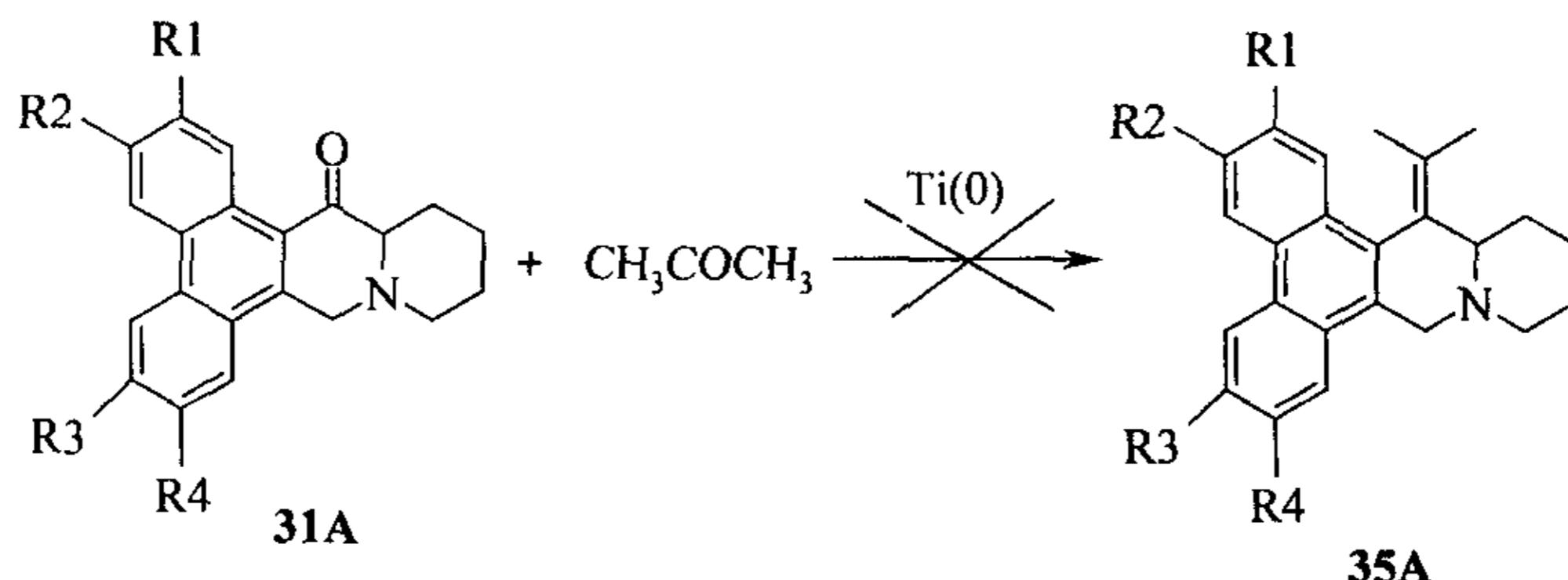
2.4.3 二氯化二茂锆 (Cp_2ZrCl_2) 促进的亚甲基化反应^[42]（方法 C, Method C in Scheme 2-11）

31A 在路易斯酸修饰的 Simmons-Smith 试剂的作用下也没有得到目标产物，

是否意味着 **31A** 对路易斯酸敏感？因此，我们考虑采用二氯化二茂锆来代替四氯化钛，因为 $\text{CH}_2\text{I}_2\text{-Zn- Cp}_2\text{ZrCl}_2$ 系统能使对路易斯酸敏感的酮类化合物实现亚甲基化^[94]。但是，我们仍然没有通过此法得到预期产物。

2.4.4 基于 McMurry 反应的合成^[43]（式 2-12）

在未成功合成类型 I 类化合物的情况下，我们试图使两分子酮发生分子间偶联反应得到化合物 **35A**。我们尝试了 McMurry 反应，仍未获成功。

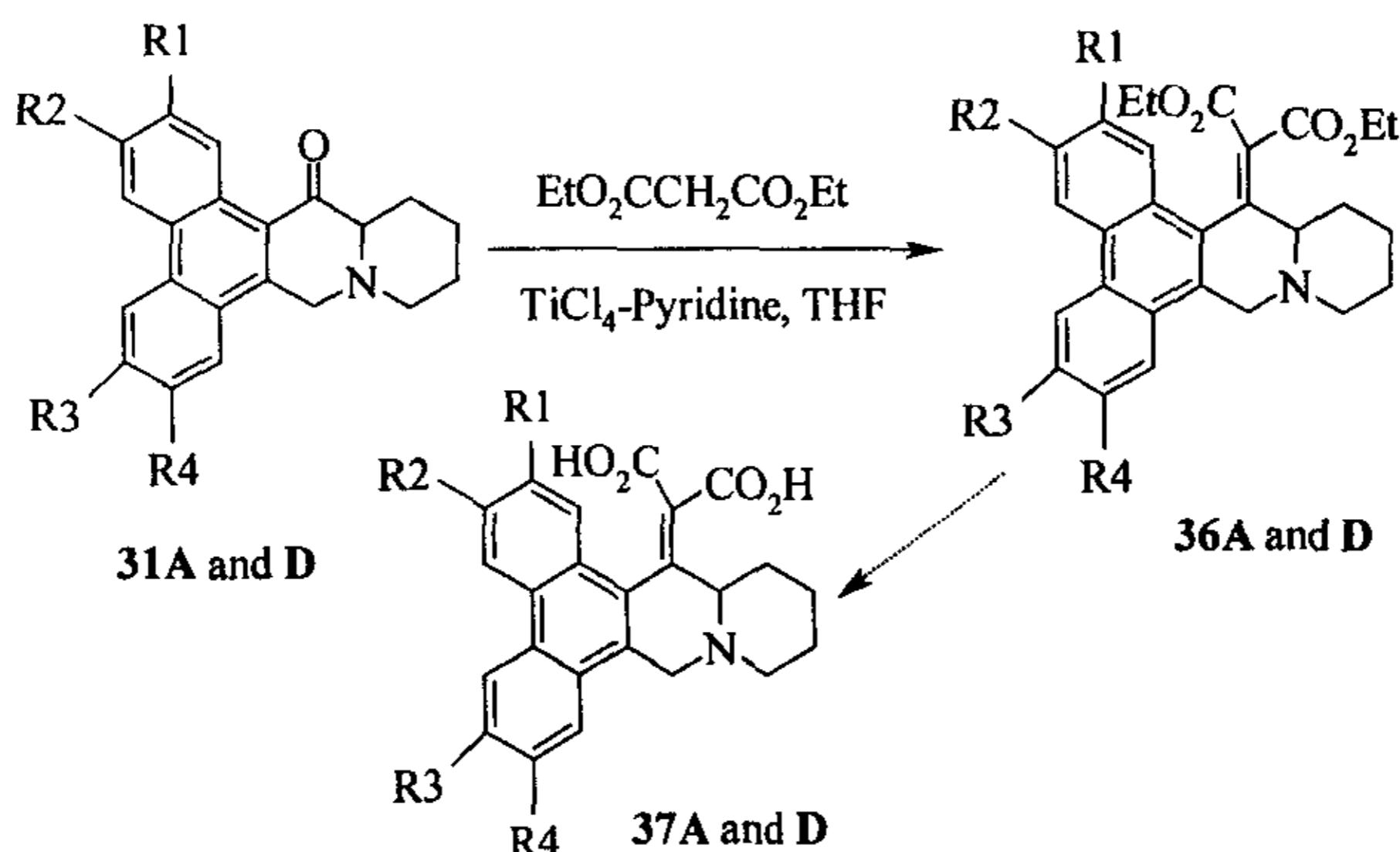


式 2-12 **31A** 的 McMurry 反应

Scheme 2-12 McMurry reaction of **31A**

2.5 C-15 位二羧基亚甲基化（类型 II）的衍生物的合成探索

2.5.1 基于 Knoevenagel 缩合反应的合成^[44]（式 2-13）



式 2-13 类型 II 类化合物的合成

Scheme 2-13 Synthesis of compounds of Type II

尝试利用丙二酸二乙酯与化合物 **31** 进行 Knoevenagel 缩合，反应得到一个新产物，ESIMS 结果表明该产物为 **36**，进一步的测试正在进行之中（式 2-13）。

对类型 I 类化合物的合成探索均不成功，我们推测反应不进行的因素有如下可能：①化合物 **31** 的空间位阻太大；②三个甲氧基的存在使得 **31A** 羧基的电正性较弱；③ $\mathbf{31}$ 可能易烯醇化。

另外类型 II 类化合物的合成有很好的苗头，将进一步实验。

3. 小结

束序苎麻素 A (**1**) 是我们在活性跟踪的基础上分离得到的具有广谱和强烈抗肿瘤活性的菲并喹啉里西定型生物碱，能诱导乳腺癌细胞分化为正常脂肪细胞；但是在植物中的含量太低（我们从束序苎麻得到该生物碱的收率为 0.00044%）。我们以茴香醛和 3,4-二甲氧基苯乙酸为原料经十步反应以总收率 7.1% 得到束序苎麻素 A。同时还合成了一系列类似物。各步反应中间体及产物的抗肿瘤活性正在测试之中。

另外，以 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定-15-酮类化合物 (**31**) 为关键中间体尝试了一些衍生物的合成，虽然很多尝试都失败了，但是以 **31A** 和 **D** 与丙二酸二乙酯进行 Knoevenagel 缩合反应得到新产物初步鉴定为 **36A** 和 **D**，正在进一步测试。如果能得到 **36**，**36** 经碱水解可得到极性较大的化合物 **37**。

4. 实验部分

4.1 仪器

熔点用 XRC-1 型显微熔点仪测定，温度计未校正。红外光谱用 Nicolet Protege 460 型和 Perkin Elmer Spectrum One 型红外仪测定 (KBr 压片)。ESIMS 用 Finnigan

LCQ^{DECA} 型质谱仪测定。核磁共振用 Varian^{unity}Inova-400 型, Brucker Avance 500 型和 Brucker Avance 600 型波谱仪测定 (TMS 作内标)。柱层析用青岛海洋化工厂出品的 200-300 目硅胶; 薄层硅胶采用 GF₂₅₄。所用石油醚的沸点为 60~90℃, 所有溶剂均经重蒸处理。

4.2 溶剂的无水处理

- 4.2.1 醋酸酐经高效精馏柱精馏制备。
- 4.2.2 向三乙胺中加入精馏过的醋酸酐, 回流 6 小时, 蒸馏后用氢化钙回流, 蒸馏制得无水三乙胺。
- 4.2.3 二氯甲烷用浓硫酸洗涤至酸层为无色后, 依次用水、5% Na₂CO₃ 水溶液、水洗涤, CaCl₂ 干燥, 最后与 CaH₂ 一起蒸馏即得无水二氯甲烷。
- 4.2.4 无水乙酸乙酯的制备: 先用 5% Na₂CO₃ 水溶液洗涤, 再用饱和食盐水洗涤, 无水硫酸镁干燥 24 小时, 最后用 CaH₂ 干燥 24 小时, 蒸馏即得。
- 4.2.5 无水乙醇的制备: 将纯度为 99.5% 的乙醇 30 mL、2.5 g 镁条和数滴四氯化碳加热回流, 镁条消失后加入 450 ml 99.5% 的乙醇, 回流 1 小时后, 蒸馏得到无水乙醇。
- 4.2.6 无水苯以钠、二苯甲酮回流至溶液变蓝后蒸馏制得。
- 4.2.7 无水硫酸钠、无水硫酸镁均在坩埚中烘焙后使用。
- 4.2.8 乙醚、四氢呋喃均以钠、二苯甲酮回流至溶液变蓝后蒸馏制得无水乙醚和无水四氢呋喃。

4.3 化合物的合成

4.3.1 6-硝基- α -苯基肉桂酸类化合物 (6) 的合成 (式 2-2)

4.3.1.1 6-硝基-3,4,4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸 (6A) 的合成

向氩气保护的干燥两颈圆底瓶 (一颈装上冷凝管, 另一颈安装通保护气的装置) 中加入 15 mL 无水醋酸酐, 2.48 g (10 mmol, 纯度为 85%) 6-硝基藜芦醛 (3,4-

二甲氧基-6-硝基苯甲醛(**4A**)，1.66 g (10 mmol) 对甲氧基苯乙酸(**5A**)，同时加入5 mL 无水三乙胺，加热、搅拌并使反应液温度维持在120℃，3小时后将反应液自然冷至100℃左右，向反应瓶中加入50 mL 热水(约60℃)，搅拌并保持20分钟后将反应液冷至室温，再将反应瓶移入冰水浴中，继续搅拌2小时。过滤收集所得固体，固体用石油醚:丙酮(约1:2)结晶，得到2.872 g **6A**(收率80%)。滤液用乙酸乙酯萃取(30 mL×5)，乙酸乙酯层经饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥，浓缩至6 mL左右，冷却结晶又得到89 mg 化合物 **6A**(收率2.5%)，共得2.96 g，总收率82.5% (lit.²⁹ 50%，lit.³⁰ 78%)。黄色针状晶体(石油醚:丙酮=1:2)，m. p.: 184-186℃ (lit.²⁹ 185-186℃, lit.³⁰ 183-184℃); IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3423, 2937, 1676, 1605, 1520, 1331, 1283, 1220, 1184 and 1071; ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 358 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.1.2 6-硝基-3,4-二甲氧基- α -苯基肉桂酸 (**6B**) 的合成

反应操作与后处理同化合物 **6A**，只是本反应中 **4B** 为 5 mmol，反应物摩尔比同 **6A**，以氮气为保护气，反应时间为5小时，共得 **6B** 1.29 g，总收率为79%。黄色针状晶体(石油醚:丙酮=1:2)，m. p.: 208-210℃; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3422, 1682, 1612, 1569, 1519, 1332, 1278, 1221 and 1069; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (1H, s), 7.63 (1H, s), 7.40 (1H, m), 7.26 (2H, m), 7.16 (2H, m), 6.25 (1H, s), 3.91 (3H, s) and 3.36 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 328 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.1.3 6-硝基-4'-甲氧基- α -苯基肉桂酸 (**6C**) 的合成

反应操作与后处理同 **6A**，本反应中 **4C** 为 5 mmol，反应物摩尔比同 **6A**，以氮气为保护气，反应时间为4小时，共得 **6C** 1.24 g，总收率为82.7%。黄色方晶(石油醚:丙酮=1:2)，m. p.: 178-180℃; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3419, 3013, 2842, 1685, 1607, 1569, 1519, 1466, 1421, 1343, 1293, 1270, 1248, 1176, 1032 and 834; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.16 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz), 8.15 (1H, s), 8.08 (1H, dd, *J*=8.0, 2.0 Hz), 7.35 (2H, m), 7.06 (2H, d, *J*=8.8 Hz), 6.76 (2H, d, *J*=8.8 Hz), 3.76 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 298 ([M-1]⁻, 100), 254 ([M-COOH]⁻, 100)。

4.3.1.4 6-硝基- α -苯基肉桂酸（6D）的合成

此处略去 **6D** 的合成，因本实验室后来有 9-氯基菲，后者可直接酸水解得到化合物 **9D**。

4.3.1.5 6-硝基-3,4,3',4'-四甲氧基- α -苯基肉桂酸（6E）的合成

反应操作与后处理同 **6A**，本反应中 **4E** 为 5 mmol，反应物摩尔比同 **6A**，以氩气为保护气，反应时间为 5 小时，共得 **6E** 1.66 g，总收率 85.6%。

4.3.2 6-氨基- α -苯基肉桂酸类化合物（7）的合成（式 2-3）

4.3.2.1 6-氨基-3,4,4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸（7A）的合成

向配有回流冷凝管和恒压滴液漏斗的两颈圆底瓶中加入 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 17.347 g (62.4 mmol)，5 mL 浓氨水（约 25%），50 mL 蒸馏水，滴加数滴正丁醇，加热搅拌。回流开始后，滴加溶有 2.872 g (8 mmol) 化合物 **6A** 的 10% 稀氨水溶液（约 30 mL，5 分钟之内滴完），其后在 2 小时之内继续滴加 45 mL 浓氨水，反应完毕，冷却至 40℃ 左右。反应液过滤，滤渣用 10% 稀氨水（40℃ 左右）洗涤（20 mL × 5），滤液用冰醋酸酸化，析出固体，固体于石油醚：丙酮 = 1:3 中结晶，得到 2.32 g **7A**，收率为 88%；滤液用乙酸乙酯萃取（50 mL × 3），有机层经饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥，浓缩，经柱层析（10 g 硅胶，石油醚：丙酮：冰醋酸 = 2:1:0.05 为洗脱剂）分离又得到 50 mg 化合物 **7A**，共得 **7A** 2.37 g，总收率为 90% (lit.²⁹ 80%，lit.³⁰ 91%)。黄色针状晶体（石油醚：丙酮 = 1:3），m. p.: 204-206℃ (lit.²⁹ 206-207℃, lit.³⁰ 207-208℃); IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 3424, 2925, 1651, 1628, 1511, 1449, 1395, 1263, 1247, 1154 and 1037; ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 330 ($[\text{M}+1]^+$, 100); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 328 ($[\text{M}-1]^-$, 100)。在此反应中有一副产物（在柱层析中先于化合物 **7A** 洗脱得到，共得 246 mg），经 $^1\text{H-NMR}$ 和 MS 推断该产物为 7,8-二甲氧基-3-(4-甲氧基苯基)-奎宁-2-酮（**8A**）。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 7.84 (1H, s), 7.77 (2H, d, J =8.8 Hz), 7.00 (1H, s), 6.99 (2H, d, J =8.8 Hz), 6.88 (1H, s), 3.99 (3H, s), 3.96 (3H, s) and 3.88 (3H, s); ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 312 ($[\text{M}+1]^+$, 100)。

4.3.2.2 6-氨基-3,4-二甲氧基- α -苯基肉桂酸（7B）的合成

反应操作与后处理同 7A，只是本反应中 6B 为 3.6 mmol，反应物摩尔比同 7A，反应时间为 4 小时，共得 7B 710 mg，总收率 66%。黄色粉末（石油醚:丙酮=1:2），m.p.: 182-184 °C；IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3422, 1665, 1515, 1456, 1267, 1226 and 1134; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.97 (1H, s), 7.24-7.36 (5H, m), 6.16 (1H, s), 6.14 (1H, s), 3.78 (3H, s) and 3.16 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 298 ([M-1]⁻, 100); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 300 ([M+1]⁺, 100)。本反应中有大量副产物 7,8-二甲氧基-3-苯基-奎宁-2-酮（8B）生成。

4.3.2.3 6-氨基-4'-甲氧基- α -苯基肉桂酸（7C）的合成

反应操作与后处理同 7A，只是本反应中 6C 为 4 mmol，反应物摩尔比同 7A，反应时间为 3 小时，共得 7C 913 mg，总收率 84.9%。浅黄色针状晶体（石油醚-丙酮（1:3）），m.p.: 141-142 °C；IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3384, 1653, 1608, 1569, 1513, 1488, 1289, 1245, 1178, 1033 and 750; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.94 (1H, s), 7.18 (2H, d, *J*=8.8 Hz), 7.03 (1H, t, *J*=7.6 Hz), 6.84 (2H, d, *J*=8.8 Hz), 6.74 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 6.65 (1H, d, *J*=7.6 Hz), 6.49 (1H, t, *J*=7.6 Hz) and 3.80 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 268 ([M-1]⁻, 100), 225 ([M-COO]⁻, 35) and 209 ([M-COO-CH₃-1]⁻, 20); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 270 ([M+1]⁺, 60), 252 ([M-H₂O+1]⁺, 100) and 224 ([M-COOH]⁺, 20)。本反应中有少量副产物 3-(4-甲氧基苯基)-奎宁-2-酮生成。

4.3.2.4 6-氨基- α -苯基肉桂酸（7D）的合成

此处略去 7D 的合成，因本实验室后来有 9-氯基菲，后者可直接酸水解得到化合物 9D。

4.3.2.5 6-氨基-3,4,3',4'-四甲氧基- α -苯基肉桂酸（7E）的合成

反应操作与后处理同 7A，只是本反应中 6E 为 4 mmol，反应物摩尔比同 7A，反应时间为 3 小时，共得 7E 1.177 g，总收率 82%。

4.3.3 9-菲基甲酸类化合物（20）的合成（式 2-7）

4.3.3.1 2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲酸 (**20A**) 的合成

向溶有 2.303 g (7 mmol) 化合物 **7A** 的 100 mL 丙酮溶液的单颈圆底瓶中加入 1.5 mL (17.5 mmol) 浓盐酸 (12 mol/L)，搅拌 20 分钟，有大量白色悬浮物出现，将此反应瓶置于冰水浴中，滴加溶有 483 mg (7 mmol) NaNO₂ 的水溶液，30 分钟之内滴完，其后继续搅拌 30 分钟，再加入 1.5 g (23.4 mmol) 铜粉，继续在冰水浴中搅拌 6 小时，其后撤去冰浴，继续搅拌 18 小时，过滤除掉无机物后将丙酮溶液浓缩至 30 mL 左右，倾入水中，析出橘红色沉淀，过滤收集固体，将固体溶于丙酮中进行结晶，得到 1.092 g **20A**，收率为 50%；滤液用乙酸乙酯萃取 (30 mL × 3)，有机层经饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥，浓缩，柱层析 (20 g 硅胶，石油醚:丙酮:冰醋酸=3:1:0.05 为洗脱剂) 分离又得到 43 mg 化合物 **20A**，共得 1.135 g，总收率为 52% (lit.²⁹ 54%，lit.³⁰ 90%)。无色细针晶 (丙酮)，m. p.: 218-220 °C (lit.²⁹ 222 °C, lit.³⁰ 219-220 °C); IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3542, 3442, 2938, 2836, 2608, 1669, 1617, 1512, 1467, 1426, 1384, 1290, 1247, 1210, 1160 and 1041; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃COCD₃): δ 9.05 (1H, d, *J*=9.2 Hz), 8.45 (1H, s), 8.11 (1H, s), 8.08 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 7.50 (1H, s), 7.26 (1H, dd, *J*=9.2, 2.0 Hz), 4.13 (3H, s), 4.04 (3H, s) and 4.03 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 311 ([M-1]⁻, 100)。本反应中有少量未偶联的副产物 **21A** 生成 (经硅胶柱层析分离得到 6 mg)，该化合物经 ¹H-NMR 和 MS 推断。
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.86 (1H, s), 7.21 (2H, d, *J*=8.8 Hz), 6.96 (2H, d, *J*=8.8 Hz) 6.86 (2H, dd, *J*=8.4, 2.0 Hz), 6.74 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 6.52 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 3.86 (3H, s), 3.83 (3H, s) and 3.47 (3H, s); ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 313 ([M-1]⁻, 100); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 315 ([M+1]⁺, 100)。

4.3.3.2 2,3-二甲氧基-9-菲基甲酸 (**20B**) 的合成

反应程序与后处理同 **20A**，本反应中 **7B** 为 2.2 mmol，反应物摩尔比同 **20A**，共得 331 mg **20B**，总收率为 53.4%。白色粉末 (丙酮)，m. p.: 260-262 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3420, 1680, 1614, 1508, 1469, 1436, 1420, 1244, 1289, 1217 and 1162; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃- CD₃COCD₃=1:1): δ 8.93 (1H, d, *J*=8.5 Hz), 8.56 (1H, d, *J*=8.5 Hz), 8.44 (1H, s), 8.00 (1H, s), 6.58 (2H, m), 7.32 (1H, s), 4.09 (3H, s) and 4.00

(3H, s); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 281 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.3.3 6-甲氧基-9-菲基甲酸 (**20C**) 的合成

反应程序与后处理同 **20A**, 本反应中 **7C** 为 3 mmol, 反应物摩尔比同 **20A**, 共得 375 mg **20C**, 总收率 49.7%。无色细针晶 (丙酮), m. p.: 240-242 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3424, 2959, 1686, 1620, 1526, 1449, 1429, 1309, 1268, 1231, 1190, 1145, 1045, 906, 823 and 744; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.75 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 8.49 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 8.26 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.96 (1H, s), 7.81 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 7.59 (1H, dd, *J*=7.6, 7.2 Hz), 7.49 (1H, dd, *J*=7.6, 7.2 Hz), 7.16 (1H, d, *J*=7.6 Hz) and 3.89 (3H, s); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 251 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.3.4 9-菲基甲酸 (**20D**) 的合成

将 2.09 g (10 mmol) 9-氰基菲 (97%, 9-cyanophenanthrene or 9-phenanthrene-carbonitrile) 悬浮于内有 150 mL 9 mol/L 硫酸水溶液的单颈圆底瓶中, 加热回流, 9-氰基菲完全溶解亦即反应完全 (约 3 小时), 自然冷却析出少量固体, 反应液倾入 750 mL 水中, 析出大量固体, 收集固体并于氯仿-甲醇 (5:1) 中结晶, 得到 2.132 g **20D**, 收率为 98%; 滤液用乙酸乙酯萃取 (100 mL×5), 有机层经水、饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥、浓缩后经硅胶柱层析分离又得到 48 mg 化合物 **20D**, 共得 2.18 g, 总收率 98.2%。无色细晶 (氯仿), m. p.: 252-256 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3436, 2929, 1684, 1529, 1497, 1444, 1417, 1292, 1259, 1213, 1170, 1158, 1144 and 738; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃COCD₃): δ 9.13 (1H, d, *J*=8.3 Hz), 9.00 (1H, d, *J*=8.2 Hz), 8.97 (1H, d, *J*=8.3 Hz), 8.74 (1H, s), 8.24 (1H, d, *J*=8.2 Hz), 7.93 (1H, m) and 7.81-7.85 (3H, m); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 221 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.3.5 2,3,6,7-四甲氧基-9-菲基甲酸 (**20E**) 的合成

反应程序与后处理同 **20A**, 本反应中 **7E** 为 3 mmol, 反应物摩尔比同 **20A**, 共得 523 mg **20E**, 总收率 51%。浅黄色粉末 (丙酮), m. p.: 230-232 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3445, 2937, 2832, 1670, 1621, 1511, 1474, 1442, 1428, 1271, 1241, 1192, 1165, 1138, 1041 and 827; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.73 (1H, s), 8.60 (1H, s), 7.83 (1H, s),

7.79 (1H, s), 7.31 (1H, s), 4.16 (3H, s), 4.15 (3H, s), 4.08 (3H, s) and 4.06 (3H, s); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 341 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.4 4,3',4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸 (**24**) 的合成 (式 2-8)

向氮气保护的干燥两颈圆底瓶 (一颈装冷凝管, 另一颈装通保护气装置) 中加入 15 mL 无水醋酸酐, 1.96 g (10 mmol) 3,4-二甲氧基苯乙酸 (**23**), 1.36 g (10 mmol) 苷香醛 (**22**, 对甲氧基苯甲醛), 加入 5 mL 无水三乙胺, 搅拌, 加热回流, 5 小时后将反应液自然冷至室温。向反应液中加入 50 mL 5% NaOH 水溶液, 将所得溶液用 20 mL 乙醚萃取一次, 水层用冰醋酸调至 pH=6, 用乙酸乙酯萃取 (30 mL × 5), 乙酸乙酯层经饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥。干燥后溶液浓缩至 20 mL, 冷却结晶得 1.88 g 化合物 **24** (收率 60% (lit. ³⁵ 58%)。浅黄色晶体, m. p.: 194-196°C (lit. ³⁵ 207-208°C); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 313 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.5 4,3',4'-三甲氧基- α -苯基肉桂酸甲酯 (**25**) 的合成 (式 2-8)

向干燥的单颈圆底瓶中加入 1.57 g (5 mmol) 化合物 **24**, 50 mL 甲醇, 2 mL 浓盐酸, 30 mL 无水苯, 装上油水分离器、冷凝管, 用氮气保护, 加热回流 24 小时 (每 8 小时添加一次无水苯和浓盐酸)。回收溶剂, 反复添加甲醇蒸馏 3 次得固体残渣, 该固体经硅胶柱层析 (80 g 200-300 目硅胶, 石油醚:丙酮=5:1 为洗脱剂) 分离得到 1.47 g 化合物 **25** (收率 90%, lit. ³⁵ 44%), 在丙酮中重结晶得无色方晶。m. p.: 110-112°C (lit. ³⁵ 111-112°C); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.29 (2H, d, *J*=8.5 Hz), 7.24 (1H, s), 6.98 (1H, d, *J*=2.0 Hz), 6.91 (1H, dd, *J*=8.5, 2.0 Hz), 6.84 (2H, d, *J*=8.5 Hz), 6.79 (1H, d, *J*=8.5 Hz), 3.86 (3H, s), 3.83 (3H, s), 3.80 (3H, s) and 3.79 (3H, s)。

4.3.6 3,6,7-三甲氧基菲基甲酸甲酯 (**26**) 的合成 (式 2-8)

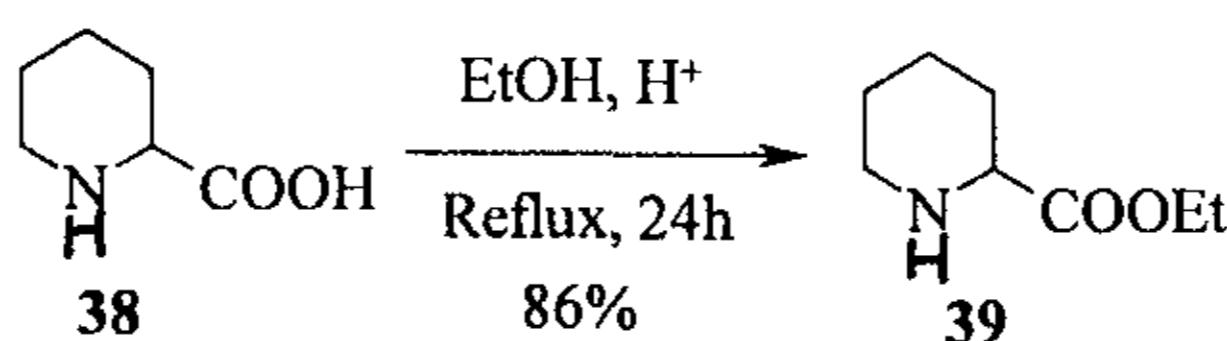
向干燥的单颈圆底瓶中加入 1.476 g (4.5 mmol) 化合物 **25**, 10 mL 无水二氯甲烷, 2 滴三氟醋酸酐, 搅拌将化合物 **25** 溶解。将反应容器置于冰盐浴中, 保持-20 °C。另将 1.228 g (9.9 mmol) 三氟氧化钒溶解于盛有 10 mL 无水二氯甲烷和 5 mL 无水乙酸乙酯的干燥恒压滴液漏斗中, 向该溶液加入 2 mL 三氟乙酸和 2 滴三氟醋酸

酐。将恒压滴液漏斗中的液体缓慢滴入圆底瓶中，反应液瞬即变为黑褐色，约 30 分钟滴加完毕。此后将反应液在冰盐浴中继续保持低温，30 分钟后倾入碎冰中，用二氯甲烷 (50 mL × 5) 萃取。萃取液经饱和食盐水洗涤并以无水硫酸镁干燥后，浓缩得固体残渣，该固体经硅胶柱层析 (80 g 200-300 目硅胶，石油醚:丙酮=5:1 为洗脱剂) 分离得到 1.43 g 化合物 **26** (收率 98%，lit.³⁵ 100%)，在丙酮中重结晶得无色方晶。m. p.: 152°C (lit.³⁵ 151-152°C); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.64 (1H, s), 8.43 (1H, s), 7.85 (1H, s), 7.84 (1H, d, J=8.8 Hz), 7.80 (1H, d, J=2.4 Hz), 7.20 (1H, dd, J=8.8, 2.4 Hz), 4.10 (3H, s), 4.07 (3H, s), 4.02 (3H, s) and 4.00 (3H, s)。

4.3.7 3,6,7-三甲氧基菲基甲酸 (**27**) 的合成 (式 2-8)

将 1.304 g (4 mmol) 化合物 **26** 溶解于 30 mL 甲醇中，并加入 10 mL 50% KOH 水溶液，以氮气保护，加热回流 30 分钟后，反应液自然冷却至室温，浓缩出去有机溶剂，残液倾入水中，搅拌，加入冰醋酸至 pH=6，收集析出的固体（纯度适合于下步反应，收率为 99%），共得 1.23 g 化合物 **27**，干燥备用。ESIMS (negative) *m/z* (rel. int.): 645 ([2(M-1)+Na]⁻, 31), 311 ([M-1]⁻, 100)。

4.3.8 (R, S)-哌可酸乙酯 (**39**) 的合成 (式 2-14)



式 2-14 (R, S)-哌可酸乙酯 (**39**) 的合成

Scheme 2-14 Esterification of (R, S)-pipecolinic acid (**39**)

将 6.45 g (50 mmol) DL-哌可酸 (**38**) 悬浮于 250 mL 无水乙醇中，加入 5 mL 浓盐酸、适量无水苯，装上油水分离器，氮气保护，加热回流 24 小时（其间每隔 6-8 小时换加新的无水乙醇、无水苯和浓盐酸）。反应完毕后浓缩蒸干，添加乙醇反复浓缩 3-5 次，固体经硅胶柱层析分离得 8.32 g 外消旋-哌可酸乙酯的盐酸盐 (**39**) 并回收未反应的 DL-哌可酸 (**38**)，总收率 86%（未反应的原料计算在内）。

ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 315 ($[2M+1]^+$, 20), 158 ($[M+1]^+$, 100) and 84 ($[M-COOEt]^+$, 24)。

4.3.9 N-(9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯类化合物 (28) 的合成 (式 2-9)

4.3.9.1 N-(2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (28A) 的合成

将 677 mg (3.5 mmol) 哌可酸乙酯盐酸盐加入干燥的单颈圆底瓶中, 加入 20 mL 无水二氯甲烷, 0.49 mL 无水三乙胺, 搅拌 10 分钟, 加入 1.092 g (3.5 mmol) 化合物 20A, 793 mg (3.85 mmol) DCC (二环己基碳二酰亚胺), 22 mg (0.175 mmol) DMAP (N,N-二甲基-4-氨基吡啶), 室温 (约 25°C) 搅拌 8 小时, 过滤, 滤液浓缩后经硅胶柱层析 (28 g 200-300 目硅胶, 洗脱剂为石油醚:丙酮=5:1) 分离得到 1.49 g 化合物 28A, 丙酮中重结晶得无色晶体 (收率为 95%, lit.³⁷ 80.7%)。m. p.: 118-120 °C (lit.³⁷ 118-120 °C); IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 2931, 2854, 1733, 1618, 1514, 1467, 1431, 1378, 1255, 1233, 1207, 1161 and 1026; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.11 (1H, d, J =8.8 Hz, H-8), 7.89 (1H, d, J =2.2 Hz, H-5), 7.87 (1H, s, H-4), 7.51 (1H, s, H-10), 7.21 (1H, dd, J =8.8, 2.2 Hz, H-7), 7.21 (1H, s, H-1), 5.75 (1H, d, J =5.2 Hz, N-CH-COO), 4.34 (2H, q, J =6.0 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.12 (3H, s), 4.04 (3H, s), 4.02 (3H, s), 3.42 (2H, m, N-CH₂), 1.42 (3H, t, J =6.0 Hz, COO-CH₂-CH₃), 1.2-1.7 (6H, m, -(CH₂)₃)。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 925 ($[2M+Na]^+$, 100), 474 ($[M+Na]^+$, 38), 452 ($[M+1]^+$, 15) and 295 ($[M-C_8H_{14}NO_2]^+$, 38)。

4.3.9.2 N-(2,3-二甲氧基-9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (28B) 的合成

操作程序与后处理同 28A, 本反应中 20B 为 1 mmol, 反应物摩尔比同 28A, 搅拌 12 小时, 共得 370 mg 28B, 总收率为 88%。无色晶体 (丙酮), m. p.: 140-142 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3437, 2945, 1736, 1633, 1530, 1509, 1467, 1446, 1421, 1258, 1214, 1199, 1158, 1142, 1040 and 1022; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.58 (1H, d, J =7.2 Hz), 8.18 (1H, d, J =7.2 Hz), 8.01 (1H, s), 7.67 (1H, t, J =7.2 Hz), 7.66 (1H, s), 7.58 (1H, t, J =7.2 Hz), 7.25 (1H, s), 5.77 (1H, d, J =4.5 Hz, N-CH-COO), 4.36 (2H, q, J =7.2 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.15 (3H, s), 4.06 (3H, s), 3.45 (2H, m, N-CH₂), 1.43 (3H, t, J =7.2 Hz,

$\text{COO-CH}_2\text{-CH}_3$), 1.08-1.95 (6H, m, -(CH_2)₃)。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 865 ($[\text{2M+Na}]^+$, 33), 444 ($[\text{M+Na}]^+$, 48), 422 ($[\text{M+1}]^+$, 43) and 265 ($[\text{M-C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2]^+$, 100)。

4.3.9.3 N-(6-甲氧基-9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (28C) 的合成

操作程序与后处理同 28A, 本反应中 20C 为 1.2 mmol, 反应物摩尔比同 28A, 搅拌 12 小时, 共得 391 mg 28C, 总收率为 83.4%。无色晶体 (丙酮), m. p.: 125-126 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3425, 2984, 2954, 1724, 1628, 1527, 1506, 1452, 1435, 1289, 1273, 1251, 1229, 1040 and 1022; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 8.63 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 8.14 (1H, d, $J=9.0$ Hz), 8.09 (1H, d, $J=2.4$ Hz), 7.90 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.68 (1H, t, $J=7.8$ Hz), 7.63 (1H, t, $J=7.8$ Hz), 7.61 (1H, s), 7.32 (1H, dd, $J=9.0, 2.4$ Hz), 5.77 (1H, d, $J=5.5$ Hz, N- CH -COO), 4.36 (2H, q, $J=7.0$ Hz, COO- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.05 (3H, s), 4.12 (2H, m, N- CH_2), 1.35 (3H, t, $J=7.0$ Hz, COO- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.26-2.19 (6H, m, -(CH_2)₃)。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 414 ($[\text{M+Na}]^+$, 13), 392 ($[\text{M+1}]^+$, 13) and 235 ($[\text{M-C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2]^+$, 100)。

4.3.9.4 N-(9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (28D) 的合成

操作程序与后处理同 28A, 本反应中 20D 为 9 mmol, 反应物摩尔比同 28A, 搅拌 12 小时, 共得 2.24 g 28D, 总收率为 69% (lit.³⁷ 59.42%)。白色固体 (氯仿), m. p.: 90-92 °C (lit.³⁷ 91-93 °C); IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 1734, 1638, 1528, 1495, 1450, 1422, 1369, 1339, 1257, 1211, 1161, 1143, 1034 and 726; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 8.74 (1H, d, $J=7.2$ Hz), 8.70 (1H, d, $J=8.4$ Hz), 8.22 (1H, d, $J=7.8$ Hz), 7.91 (1H, m), 7.58-7.77 (5H, m), 5.78 (1H, d, $J=3.6$ Hz, N- CH -COO), 4.36 (2H, q, $J=7.2$ Hz, COO- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 3.45 (2H, m, N- CH_2), 1.43 (3H, t, $J=7.2$ Hz, COO- $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 1.25-2.48 (6H, m, -(CH_2)₃)。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 745 ($[\text{2M+Na}]^+$, 15), 384 ($[\text{M+Na}]^+$, 35), 362 ($[\text{M+1}]^+$, 85) and 205 ($[\text{M-C}_8\text{H}_{14}\text{NO}_2]^+$, 100)。

4.3.9.5 N-(2,3,6,7-四甲氧基-9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (28E) 的合成

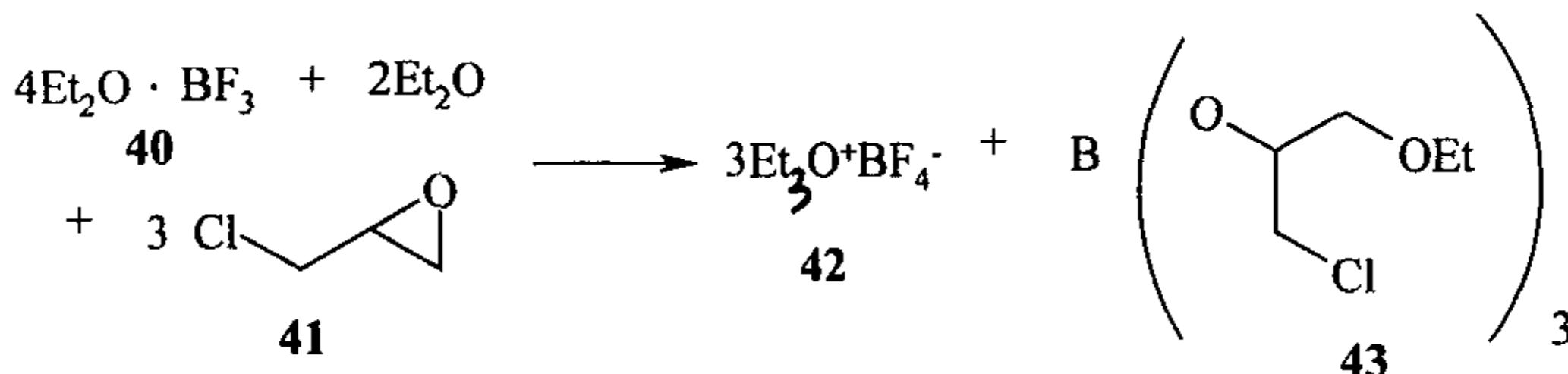
操作程序与后处理同 28A, 只是本反应中 20E 为 1.5 mmol, 反应物摩尔比同 28A, 室温搅拌 10 小时, 共得 663 mg 28E, 收率为 92%。无色晶体 (丙酮), m. p.:

225-226°C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 1736, 1627, 1509, 1474, 1429, 1371, 1339, 1252, 1199, 1167, 1142, 1108 and 1035 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.83 (1H, s), 7.82 (1H, s), 7.67 (1H, s), 7.57 (1H, s), 7.24 (1H, s), 4.32 (2H, q, *J*=7.0 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.16 (6H, s), 4.14 (3H, s), 4.06 (3H, s), 3.42 (2H, m, N-CH₂), 1.35 (3H, t, *J*=7.0 Hz, COO-CH₂-CH₃), 1.2-1.7 (6H, m, -(CH₂)₃); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 504 ([M+Na]⁺, 5), 325 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 20) and 311 ([M-C₉H₁₆NO₂]⁺, 100)。

4.3.9.6 N-(3,6,7-三甲氧基-9-菲基甲酰基)-2-哌可酸乙酯 (**28F**) 的合成

将 774 mg (4 mmol) 哌可酸乙酯盐酸盐加入干燥的单颈圆底瓶中，加入 20 mL 无水二氯甲烷，0.55 mL 无水三乙胺，搅拌 10 分钟，加入 1.248 g (4 mmol) 化合物 **20F**, 908 mg (4.4 mmol) DCC (二环己基碳二酰亚胺)，24 mg (0.2 mmol) DMAP (4-二甲氨基-吡啶)，室温 (约 25°C) 搅拌 8 小时，过滤，滤液浓缩后经硅胶柱层析 (30 g 200-300 目硅胶，石油醚:丙酮=5:1 为洗脱剂) 分离得到 1.67 g 化合物 **28F**，丙酮中重结晶得无色晶体，总收率为 92.8%。m. p.: 136-138°C; IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3443, 3328, 2934, 2853, 1734, 1629, 1577, 1511, 1466, 1439, 1370, 1338, 1255, 1207, 1156, 1109, 1032 and 994; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.92 (1H, s), 7.88 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H-4), 7.82 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H-2), 7.68 (1H, s), 7.61 (1H, s), 7.24 (1H, dd, *J*=8.4, 2.2 Hz, H-2), 5.76 (1H, d, *J*=5.4 Hz, N-CH-COO), 4.30 (2H, q, *J*=7.2 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.15 (3H, s), 4.06 (3H, s), 4.05 (3H, s), 3.45 and 3.25 (each 1H, m, N-CH₂), 1.36 (3H, t, *J*=7.2 Hz, COO-CH₂-CH₃), 1.28-1.87 (6H, m, -(CH₂)₃)。ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 925 ([2M+Na]⁺, 68), 474 ([M+Na]⁺, 40), 452 ([M+1]⁺, 23) and 295 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.10 Et₃O⁺BF₄⁻ (三乙基氧四氟化硼, **42**) 的合成^[45] (式 2-15)



式 2-15 三乙基氧四氟化硼 (42) 的合成

Scheme 2-15 Synthesis of triethyloxonium fluoborate (42)

在氩气保护下，向装有回流冷凝管的圆底三颈瓶（一颈安装回流冷凝管，第二颈装上恒压滴液漏斗，第三颈用橡皮塞封口）中加入 50 mL 无水乙醚，搅拌；另将 25.2 mL (200 mmol) 三氟化硼乙醚 (40) 通过注射器经橡皮塞加入到无水乙醚中，之后从另一恒压滴液漏斗中逐滴加入 11.9 mL (151 mmol) 环氧化丙烷 (41, epichlorohydrin)，反应剧烈进行，以保持反应沸腾状态的速度进行，约 30 分钟滴加完毕，之后回流 1 小时，静置过夜，析出晶体；在氩气保护下以抽滤方式收集晶体，以无水乙醚洗涤晶体 (50 mL × 3)，换用另一干燥的接受瓶，之后缓慢注入无水二氯甲烷以完全溶解晶体，即得 42 的二氯甲烷溶液，浓度约为 1 mol/L，收率约 80%。

4.3.11 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯类化合物 (29) 的合成 (式 2-9)

4.3.11.1 N-(2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (29A) 的合成

将 3.6 mL (3.6 mmol) 三乙基氧四氟化硼 (Triethyloxonium fluoroborate, 1 mol/L) 加入到溶有 1.353 g (3 mmol) 化合物 28A 的 8 mL 无水二氯甲烷中，室温(约 20-30°C) 搅拌 20 小时后蒸干溶剂，将得到的残渣溶于 8 mL 无水乙醇中并置于冰水浴中，分批小量加入总共 266 mg (7.5 mmol) 硼氢化钠 (NaBH₄)，室温搅拌 20 小时后将此液倾入 150 mL 水中 (搅拌)，收集所得固体，滤液用乙酸乙酯萃取 (50 mL × 3)，有机层经饱和食盐水洗涤后用无水硫酸钠干燥，浓缩后与固体一起经柱层析 (30 g 硅胶，石油醚:丙酮=5:1 为洗脱剂) 分离回收未反应的原料并得到 884 mg 化合物 29A，收率为 96.8% (lit.³⁷ 92.9%)。无色晶体 (丙酮)，m. p.: 144-146°C (lit.³⁷ 145°C); IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3424, 2937, 2839, 1724, 1616, 1515, 1464, 1435, 1376, 1256, 1207, 1159, 1106, 1035, 893 and 842; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.54 (1H, d, J=9.0 Hz, H-8), 7.89 (1H, d, J=2.5 Hz, H-5), 7.88 (1H, s, H-4), 7.45 (1H, s, H-10), 7.26 (1H, dd, J=9.0, 2.5 Hz, H-7), 7.19 (1H, s, H-1), 4.31 (1H, d, J=12.5 Hz, Ha-9), 4.23 (2H, q, J=7.0 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.11 (3H, s), 4.04 (3H, s), 4.03 (3H, s), 3.69 (1H, d,

$J=12.5$ Hz, Hb-9), 3.19 (1H, t, $J=6.0$ Hz), 2.97 (1H, m), 2.22 (1H, m), 1.86 (2H, m), 1.62 (1H, m), 1.50 (2H, m), 1.43 (1H, m) and 1.32 (3H, t, $J=7.0$ Hz, COO-CH₂-CH₃); ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 460 ([M+Na]⁺, 12), 281 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.11.2 N-(2,3-二甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (**29B**) 的合成

操作程序与后处理同 **29A**, 本反应中 **28B** 为 0.8 mmol (回收未反应的 0.4 mmol), 反应物摩尔比同 **29A**, 共得 151 mg 化合物 **29B**, 收率为 93%。无色晶体 (丙酮), m. p.: 116°C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3438, 2937, 1721, 1617, 1528, 1507, 1468, 1439, 1396, 1299, 1275, 1258, 1238, 1212, 1159, 1108, 1044 and 1028; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.55 (2H, d, $J=8.2$ Hz), 8.00 (1H, s), 7.63 (1H, t, $J=7.4$ Hz), 7.62 (1H, s), 7.60 (1H, t, $J=8.0$ Hz), 7.23 (1H, s), 4.34 (1H, d, $J=12.9$ Hz, Ha-9), 4.24 (2H, q, $J=7.1$ Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.12 (3H, s), 4.05 (3H, s), 3.77 (1H, d, $J=12.9$ Hz, Hb-9), 3.23 (1H, t, $J=5.6$ Hz), 3.00 (1H, m), 2.26 (1H, m), 1.88 (2H, m), 1.62 (1H, m), 1.53 (2H, m), 1.43 (1H, m) and 1.32 (3H, t, $J=7.1$ Hz, COO-CH₂-CH₃); ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 430 ([M+Na]⁺, 10), 408 ([M+1]⁺, 15), 251 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.11.3 N-(6-甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (**29C**) 的合成

操作程序与后处理同 **29A**, 本反应中 **28C** 为 0.9 mmol (回收未反应的 0.27 mmol), 反应物摩尔比同 **29A**, 共得 153 mg 化合物 **29C**, 收率为 64.6%。浅黄色果冻状固体; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3445, 2935, 2854, 1731, 1618, 1528, 1505, 1437, 1393, 1372, 1355, 1287, 1229, 1178, 1103, 1034 and 747; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.63 (1H, d, $J=9.2$ Hz), 8.62 (1H, d, $J=8.7$ Hz), 8.10 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-5), 7.86 (1H, d, $J=7.4$ Hz), 7.61 (2H, m), 7.57 (1H, s), 7.35 (1H, dd, $J=9.0, 2.4$ Hz, H-7), 4.39 (1H, d, $J=12.8$ Hz, Ha-9), 4.28 (2H, q, $J=7.1$ Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.04 (3H, s), 3.75 (1H, d, $J=12.8$ Hz, Hb-9), 3.24 (1H, t, $J=5.6$ Hz), 3.02 (1H, m), 2.28 (1H, m), 1.90 (2H, m), 1.65 (1H, m), 1.54 (2H, m), 1.46 (1H, m) and 1.36 (3H, t, $J=7.1$ Hz); ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 400 ([M+Na]⁺, 5), 378 ([M+1]⁺, 25), 221 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.11.4 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (**29D**) 的合成

操作程序与后处理同 **29A**, 本反应中 **28D** 为 5 mmol (回收未反应的 2.43 mmol), 反应物摩尔比同 **29A**, 共得 664 mg 化合物 **29D**, 收率为 74.5%。白色方晶(丙酮), m. p.: 90-92 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 1728, 1530, 1496, 1476, 1446, 1430, 1366, 1331, 1280, 1247, 1215, 1204, 1113, 1094, 1063, 1035, 993, 902 and 751; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.72 (1H, m), 8.67 (1H, d, *J*=8.2 Hz), 8.60 (1H, m), 7.86 (1H, d, *J*=7.8 Hz), 7.69 (1H, s), 7.67 (2H, m), 7.64 (1H, t, *J*=8.2 Hz), 7.59 (1H, t, *J*=7.2 Hz), 4.37 (1H, d, *J*=12.9 Hz, Ha-9), 4.24 (2H, q, *J*=7.1 Hz, COO-CH₂-CH₃), 3.79 (1H, d, *J*=12.9 Hz, Hb-9), 3.24 (1H, t, *J*=5.4 Hz), 3.00 (1H, m), 2.28 (1H, m), 1.88 (2H, m), 1.62 (1H, m), 1.53 (2H, m), 1.43 (1H, m) and 1.33 (3H, t, *J*=7.1 Hz, COO-CH₂-CH₃); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 348 ([M+1]⁺, 42), 191 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.11.5 N-(2,3,6,7-四甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (**29E**) 的合成

操作程序与后处理同 **29A**, 本反应中 **28E** 为 1 mmol (回收未反应的 0.52 mmol), 反应物摩尔比同 **29A**, 共得 215 mg 化合物 **29E**, 收率为 95.6%。浅黄色固体(丙酮), m. p.: 228-230 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 1735, 1620, 1510, 1475, 1430, 1372, 1248, 1181, 1152, 1104, 1065 and 1040; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.30 (1H, s), 7.80 (1H, s), 7.79 (1H, s), 7.45 (1H, s), 7.18 (1H, s), 4.37 (1H, d, *J*=12.5 Hz, Ha-9), 4.23 (2H, q, *J*=7.1 Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.14 (3H, s), 4.13 (3H, s), 4.12 (3H, s), 4.06 (3H, s), 3.59 (1H, d, *J*=12.5 Hz, Hb-9), 3.12 (1H, m), 2.90 (1H, m), 2.13 (1H, m), 1.86 (2H, m), 1.63 (2H, m), 1.47 (2H, m), 1.40 (1H, m) and 1.30 (3H, t, *J*=7.0 Hz, COO-CH₂-CH₃); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 468 ([M+1]⁺, 22), 311 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.11.6 N-(3,6,7-三甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸乙酯 (**29F**) 的合成

操作程序与后处理同 **29A**, 本反应中 **28F** 为 3 mmol (回收未反应的 0.93 mmol), 摩尔比同 **29A**, 共得 689 mg 化合物 **29F**, 收率为 96%。无色方晶(丙酮), m. p.: 224-226 °C; IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3443, 2996, 2934, 2829, 1731, 1612, 1524, 1509, 1466, 1455, 1269, 1239, 1206, 1190, 1162, 1098, 1065, 1039, 830 and 788; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.36 (1H, s), 7.92 (1H, s), 7.88 (1H, s), 7.77 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H-8), 7.49 (1H, s), 7.20 (1H, d, *J*=8.8 Hz, H-7), 4.39 (1H, d, *J*=12.5 Hz, Ha-9), 4.28

(2H, q, $J=7.1$ Hz, COO-CH₂-CH₃), 4.17 (3H, s), 4.15 (3H, s), 4.05 (3H, s), 3.60 (1H, d, $J=12.5$ Hz, Hb-9), 3.14 (1H, m), 2.93 (1H, m), 2.16 (1H, m), 1.85 (2H, m), 1.65 (1H, m), 1.50 (2H, m), 1.43 (1H, m) and 1.32 (3H, t, $J=7.0$ Hz, COO-CH₂-CH₃); ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 460 ([M+Na]⁺, 8), 438 ([M+1]⁺, 10), 281 ([M-C₈H₁₄NO₂]⁺, 100)。

4.3.12 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸钾类化合物 (**30**) 的合成 (式 2-9)

4.3.12.1 N-(2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30A**) 的合成

将 1.223 g (2.8 mmol) 化合物 **29A** 置于单颈圆底瓶中，同时加入 10 mL 乙醇和 5 mL 51.7% KOH 水溶液，氮气保护，搅拌并回流 30 分钟，冷却后收集析出的固体，共得 1.17 g 化合物 **30A**，干燥备用（收率 93.5%，lit.³⁷ quantitative）。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 1380 ([3M+K]⁺, 75), 933 ([2M+K]⁺, 100) and 486 ([M+K]⁺, 35); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 855 ([2M-K]⁻, 70) and 408 ([M-K]⁻, 100)。

4.3.12.2 N-(2,3-二甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30B**) 的合成

操作程序与后处理同 **30A**，本反应的保护气为氩气，化合物 **29B** 为 0.35 mmol，反应物摩尔比 **30A**，共得 144 mg 化合物 **29B**，反应收率为 98.4%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 456 ([M+K]⁺, 100)。

4.3.12.3 N-(6-甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30C**) 的合成

操作程序与后处理同 **30A**，本反应的保护气为氩气，化合物 **29C** 为 0.25 mmol，反应物摩尔比 **30A**，共得 96 mg 化合物 **30C**，反应收率为 99.2%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 426 ([M+K]⁺, 100)。

4.3.12.4 N-(9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30D**) 的合成

操作程序与后处理同 **30A**，本反应的保护气为氩气，化合物 **29D** 为 1.75 mmol，反应物摩尔比 **30A**，共得 618 mg 化合物 **30D**，反应收率为 99%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 753 ([2M+K]⁺, 100) and 396 ([M+K]⁺, 35); ESIMS (negative) m/z (rel.

int.): 675 ([2M-K]⁻, 100) and 318 ([M-K]⁻, 35)。

4.3.12.5 N-(2,3,6,7-四甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30E**) 的合成

操作程序与后处理同 **30A**, 本反应的保护气为氩气, 化合物 **29E** 为 0.45 mmol, 反应物摩尔比 **30A**, 共得 212 mg 化合物 **30E**, 反应收率为 98.8%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 516 ([M+K]⁺, 100); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 438 ([M-K]⁻, 100)。

4.3.12.6 N-(3,6,7-三甲氧基-9-菲基甲基)-2-哌可酸钾 (**30F**) 的合成

操作程序与后处理同 **30A**, 本反应的保护气为氩气, 化合物 **29F** 为 1.3 mmol, 反应物摩尔比 **30A**, 共得 562 mg 化合物 **30F**, 反应收率为 96.8%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 933 ([2M+K]⁺, 85) and 486 ([M+K]⁺, 100); ESIMS (negative) m/z (rel. int.): 855 ([2M-K]⁻, 25) and 408 ([M-K]⁻, 100)。

4.3.13 PPA (多聚磷酸) 的制备

将 450 g 五氧化二磷粉末通过口径较大的漏斗快速装入平底三角瓶中, 装上机械搅拌器, 慢慢添加约 280 mL 85% 磷酸 (分几次加入), 同时缓慢开动搅拌器, 当搅拌器能顺畅搅动时, 开始加热, 保持 120-140℃ 3 小时左右, 搅拌至五氧化二磷固体全溶即可。

4.3.14 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮类化合物 (**31**) 的合成 (式 2-9)

4.3.14.1 2,3,6-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮 (**31A**) 的合成

向单颈圆底瓶中加入 268 mg (0.6 mmol) 化合物 **30A**, 缓慢倾入约 500 g 多聚磷酸 (PPA), 氩气保护, 加热至 85-100℃, 搅拌 3.5 小时, 之后冷却至室温, 反应液呈果冻状, 将此反应液转移至冰水中, 当果冻状的反应混合物溶解完之后, 加入 50% KOH 水溶液 (保持溶液温度低于 20℃) 以调节 pH=8-9, 然后用氯仿萃取 (100 mL × 5), 氯仿层经水、饱和食盐水洗涤后加入无水硫酸镁干燥, 浓缩有

机层（注意水浴温度必须低于 35℃）得到 146 mg 化合物 **31A**（收率为 62.6%, lit.³⁷ 65.7%）。此化合物对光不稳定并且得到的产物纯度足够用于下步反应，故不经分离纯化而直接用于下步反应。IR: ν_{max} (cm^{-1}) = 2926, 2853, 1728, 1664, 1613, 1515, 1463, 1414, 1377, 1260, 1205, 1123, 1072, 1034, 872 and 792; ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 392 ($[\text{M}+1]^+$, 85) and 281 ($[\text{M}-\text{C}_6\text{H}_8\text{NO}]^+$, 100)。

4.3.14.2 2,3-二甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮（**31B**）的合成

操作程序与后处理同 **31A**，本反应中 **30B** 为 118 mg，反应物摩尔比 **31A**，反应时间为 5 小时，共得约 2 mg 化合物 **31B**（因反应过程中，反应温度太高约 180 ℃，持续约 10 分钟）。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 362 ($[\text{M}+1]^+$, 45)。

4.3.14.3 6-甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮（**31C**）的合成

操作程序与后处理同 **31A**，本反应中 **30C** 为 87 mg，反应物摩尔比 **31A**，反应时间为 6 小时，共得 48 mg 化合物 **31C**，反应收率为 65.2%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 332 ($[\text{M}+1]^+$, 22)。

4.3.14.4 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮（**31D**）的合成

操作程序与后处理同 **31A**，本反应中 **30D** 为 356 mg，反应物摩尔比 **31A**，反应时间为 7 小时，共得 212 mg 化合物 **31D**，反应收率为 70.6%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 302 ($[\text{M}+1]^+$, 15)。

4.3.14.5 2,3,6,7-四甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定-15-酮（**31E**）的合成

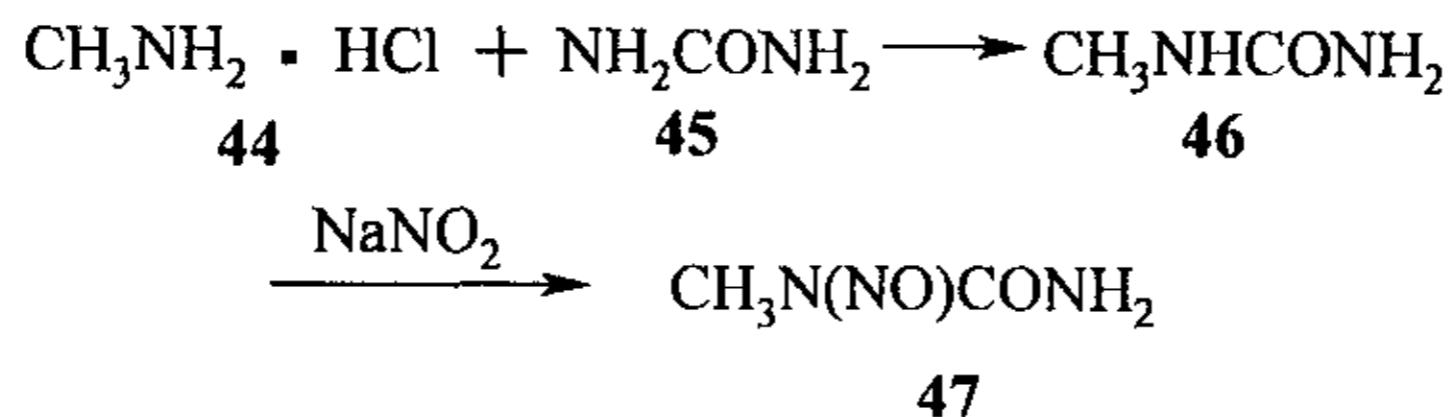
操作程序与后处理同 **31A**，本反应中 **30E** 为 168 mg，反应物摩尔比 **31A**，反应时间为 3 小时，共得约 2 mg 化合物 **31E**（因反应过程中，反应温度太高约 180 ℃，持续约 10 分钟）。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 422 ($[\text{M}+1]^+$, 100)。

4.3.14.6 3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并噁唑里西定-15-酮（31F）的合成

操作程序与后处理同 31A，本反应中 30F 为 356 mg，反应物摩尔比 31A，反应时间为 3.5 小时，共得 191 mg 化合物 31F，反应收率为 61.2%。ESIMS (positive) m/z (rel. int.): 392 ($[M+1]^+$, 100)。

4.3.15 重氮甲烷的制备^[46]

4.3.15.1 亚硝基甲基脲（47）的制备（式 2-15）



式 2-15 亚硝基甲基脲（47）的制备

Scheme 2-15 Synthesis of nitroso-N-methyl urea (47)

向两颈圆底瓶中加入 125 mL (约 1 mol) 甲胺水溶液 (25-30% w/v)，装上回流冷凝管和恒压滴液漏斗，整个装置置于冰水浴中；84 mL (1 mol) 浓盐酸 (12 mol/L) 经恒压滴液漏斗缓慢地滴入甲胺水溶液中，当盐酸滴加完毕后，根据溶液的 pH 添加盐酸至 pH=6 左右，由此得到甲胺盐酸盐（44）；另将 200 g (3.3 mol) 脲（45）加入到甲胺盐酸盐（44）的溶液中，加热回流 3 小时，之后再加入 75 g (1.1 mol) 亚硝酸钠；将反应液冷却到-10℃，在搅拌下将反应液缓慢倒入 400 g 冰和 41.5 mL (0.75 mol) 浓硫酸组成的混合物中，用冰盐浴冷却，收集析出的亚硝基甲基脲（47），冰水洗涤即得，收率为 78%。亚硝基甲基脲可存放于冰箱中备用。

4.3.15.2 从亚硝基甲基脲（47）制备 CH_2N_2 （重氮甲烷）

向单颈圆底瓶中加入 10 mL 乙醚和 3.5 mL 40% KOH 水溶液，置于冰水浴中

冷却，分批少量地加入上述制备的 1.03 g (0.01 mol) 亚硝基甲基脲 (**47**) (注意反应温度不得超过 5℃)，当加完亚硝基甲基脲后再搅拌 10 分钟，其后将得到的重氮甲烷-乙醚溶液倒出，用固体 KOH 干燥 15 分钟即可使用。

4.3.16 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定类化合物 (**33**) 的合成 (式 2-10)

4.3.16.1 3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定 (**33F** 即 **1**) 的合成

将 118 mg (0.3 mmol) 化合物 **31F**、168 mg (3 mmol) KOH、2 mL 乙二醇和 0.28 mL (5.4 mmol) 水合肼置于干燥的单颈圆底瓶中，装上空气冷凝管，氩气保护，搅拌并加热回流，1 小时后改为蒸馏装置以蒸出水分，当蒸汽温度达到 195℃时撤除蒸馏装置改回到原有装置，继续加热到 200℃，保持反应 6 小时后停止加热，反应液自然冷却至室温，将反应液直接在预先装好的碱性氧化铝柱 (8 g, 石油醚 (60-90 ℃) :丙酮=5:1, 丙酮, 甲醇为洗脱剂) 上进行分离，收集三氯化铁显色反应为阳性的洗脱液，浓缩得到残渣，将此残渣溶解于 6 mL 甲醇-乙醚 (1:1) 溶液中，加入过量的预先制备的重氮甲烷-乙醚溶液，室温搅拌 16 小时，其后蒸干溶剂得到油状反应产物，将此油状产物溶解与 20 mL 乙醚中，用 10% HCl 溶液萃取 (15 mL×5)，向得到的溶液中缓慢加入氨水，调节 pH 在 7-8 之间，此时有橘黄色沉淀生成，用乙醚萃取 (30 mL×5)，有机层经水洗涤、饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥后浓缩至干，将残渣溶解于 6 mL 左右的丙酮中，与分离得到的化合物 **1** 作共薄层对照，确证合成的化合物与分离得到的已知品相同，共得 53 mg 化合物 **1**，总收率为 46.9%。

4.3.16.2 6-甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定 (**33C**) 的合成

操作程序与后处理同 **33F**，本反应中 **31C** 为 38 mg，反应物摩尔比 **33F**，共得 18 mg 化合物 **33C**，反应收率为 50.3%。IR: ν_{max} (cm⁻¹) = 3425, 2918, 2957, 2850, 1764, 1619, 1527, 1464, 1379 and 1084; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 9.15 (1H, d,

J=8.0 Hz), 8.69 (1H, d, *J*=8.4 Hz), 8.45 (1H, d, *J*=8.0 Hz, H-8), 8.10 (1H, d, *J*=2.4 Hz, H-5), 8.00 (2H, m), 7.44 (1H, dd, *J*=8.0, 2.4 Hz, H-7), 4.23 (1H, d, *J*=15.6 Hz, Ha-9), 4.06 (3H, s, 6-OMe), 3.82 (1H, d, *J*=15.6 Hz, Hb-9), 3.57 (1H, d, *J*=10.8 Hz, Ha-11), 3.15 (1H, d, *J*=10.8 Hz, Hb-11), 3.00 (1H, m, H-14a), 2.35 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.00 (1H, m), 1.87 (1H, m), 1.80 (2H, m), 1.54 (1H, m) and 1.41 (1H, m); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 340 ([M+Na]⁺, 80) and 318 ([M+1]⁺, 40)。

4.3.16.3 11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定 (**33D**) 的合成

操作程序与后处理同 **33F**, 本反应中 **31D** 为 298 mg, 反应物摩尔比 **33F**, 只是本反应不必进行甲基化, 反应液直接倾入适量水中, 用乙醚萃取 (50 mL×5), 有机层经饱和食盐水洗涤、无水硫酸钠干燥后浓缩至干, 将得到的固体残渣溶解于氯仿-甲醇 (20:1) 中结晶即得 189 mg 无色针状晶体 **32D**, 反应收率为 66.2% (lit.³⁸ 62.9%)。m. p.: 168-170°C (lit.³⁸ 169-170°C); IR: ν_{max} (cm⁻¹)= 3413, 3074, 2927, 2855, 1757, 1692, 1637, 1607, 1519, 1496, 1447, 1387, 1348, 1243, 1191, 1132, 1087, 754 and 723; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 8.66 (2H, d, *J*=7.7 Hz), 7.93 (1H, d, *J*=8.0 Hz), 7.79 (1H, d, *J*=6.9 Hz), 7.55-7.60 (4H, m), 4.43 (1H, d, *J*=15.5 Hz, Ha-9), 3.60 (1H, d, *J*=15.5 Hz, Hb-9), 3.57 (1H, d, *J*=10.9 Hz, Ha-11), 3.15 (1H, d, *J*=10.9 Hz, Hb-11), 2.94 (1H, m, H-14a), 2.35 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.00 (1H, m), 1.87 (1H, m), 1.80 (2H, m), 1.54 (1H, m) and 1.41 (1H, m); ESIMS (positive) *m/z* (rel. int.): 288 ([M+1]⁺, 100)。

第三章 菲并喹喏里西定型生物碱的研究进展

1948年, de la Lande^[19]从厚壳桂属植物 *Cryptocarya pleurosperma* 中分离得到第一个菲并喹喏里西定型生物碱(Phenanthroquinolizidine alkaloids)——小穗苎麻素(Cryptopleurine, 又译为厚壳桂因碱, 3, 图 3-1)。菲并喹喏里西定型生物碱有抗菌、抗病毒和抗肿瘤等活性, 对该类生物碱的研究从未间断。然而, 菲并喹喏里西定型生物碱在自然界中分布太少, 作者们经常把该类生物碱与菲并吲哚里西定型生物碱、喹喏里西定型生物碱或者与苄基异喹啉生物碱一起讨论^[47-52]。本文拟对菲并喹喏里西定型生物碱在自然界中的分布、结构鉴定、化学合成、生物活性等方面进行全面概述。

1. 菲并喹喏里西定型生物碱在自然界中的分布

菲并喹喏里西定型生物碱是在自然界中分布稀少的一类生物碱, 散见于樟科厚壳桂属(Lauraceae, *Cryptocarya*)^[19, 5, 53]、荨麻科苎麻属(Urticaceae, *Boehmeria*)^[4, 5, 13, 14]、葡萄科白粉藤属(Vitaceae, *Cissus*)^[18]和萝藦科娃儿藤属(Asclepiadaceae, *Tylophora*)^[20]植物中。

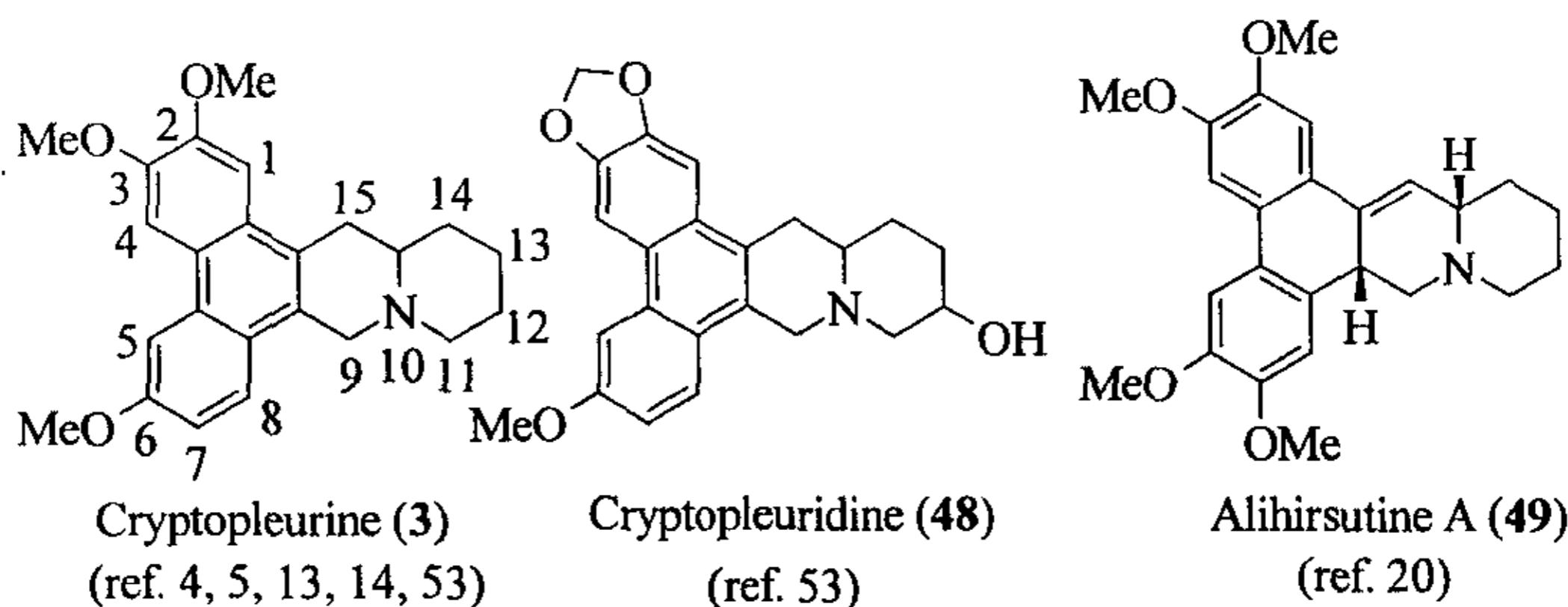


图 3-1 一些菲并喹喏里西定型生物碱的结构

Fig. 3-1 Structures of phenanthroquinolizidine alkaloids

2. 菲并喹喏里西定型生物碱的结构鉴定、绝对构型的确定及稳定性

菲并喹喏里西定型生物碱骨架的确定经历了较长的时间。1948 年 de la Lande^[19]分离并确定了该生物碱的分子式为 $C_{24}H_{29}NO_3$, 指出分子中含有三个甲氧基, 然而他并没有确定该化合物的化学结构。1954 年 Gellert 和 Riggs^[54]的研究表明小穗苎麻素的分子式是 $C_{24}H_{27}NO_3$ 而不是 de la Lande 确定的 $C_{24}H_{29}NO_3$; 他们也没有能够确定该化合物的结构, 但是他们指出分子中有三个甲氧基, 没有末端甲基或亚甲基, 没有活泼质子, 分子中可能含有菲环。1954 年, Fridrichsons 等^[55]将 MeI 与小穗苎麻素反应从而引进“重原子”得到了小穗苎麻素的甲基化产物—Isocryptopleurine, 该化合物易于结晶, 但是得到的是非常细的针晶, 不适合于 X-ray 单晶衍射。然而他们把 Isocryptopleurine 在 20% KOH 水溶液中煮沸后结晶、重结晶得到了适合于 X-ray 单晶衍射的晶体; 虽然是消旋化的产物, 他们也由此确定了 *dl*-Isocryptopleurine 的结构, 作者比较了小穗苎麻素与 Isocryptopleurine 的理化常数后认为二者的结构相似, 差别仅在于 N 原子周围的立体排列不同。由此小穗苎麻素的化学结构确定为 2,3,6-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定(图 3-2)。

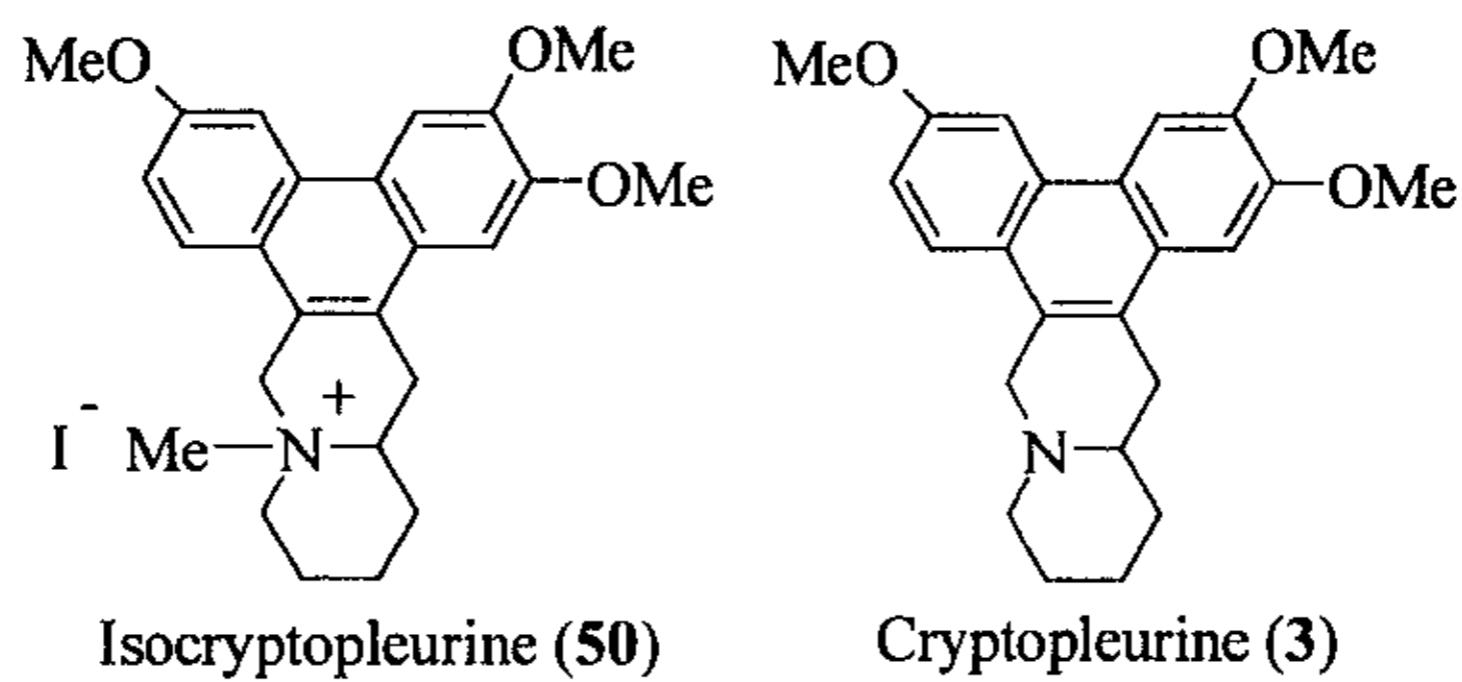


图 3-2 X-单晶衍射确定的 Isocryptopleurine 的结构

Fig. 3-2 The structure of isocryptopleurine determined by X-ray crystallography

其后, Gellert^[56, 57]对一些喹喏里西定型的生物碱进行了化学降解, 利用化学降解(主要是 Hofmann 降解)和光谱测试(主要是 UV 光谱)相结合的方法也证实了小穗苎麻素具有上述结构。

以上工作仅仅确定并证实了小穗苎麻素的结构, 并没有涉及该化合物的立体化

学，直到 1974 年，Foldeak 和 Hegyes^[58]对化合物 **33D** 的 C-9 位 α -键和 ϵ -键质子的化学位移进行比较，同时与化合物 **51** 对比，指出化合物 **33D** 的 D 环和 E 环呈反式稠合，这一结论与该化合物在 IR 中有特征的 Bolzman 吸收现象相吻合。他们由此确定了菲并喹啉里西定型生物碱的相对立体化学，如图 3-3 所示：

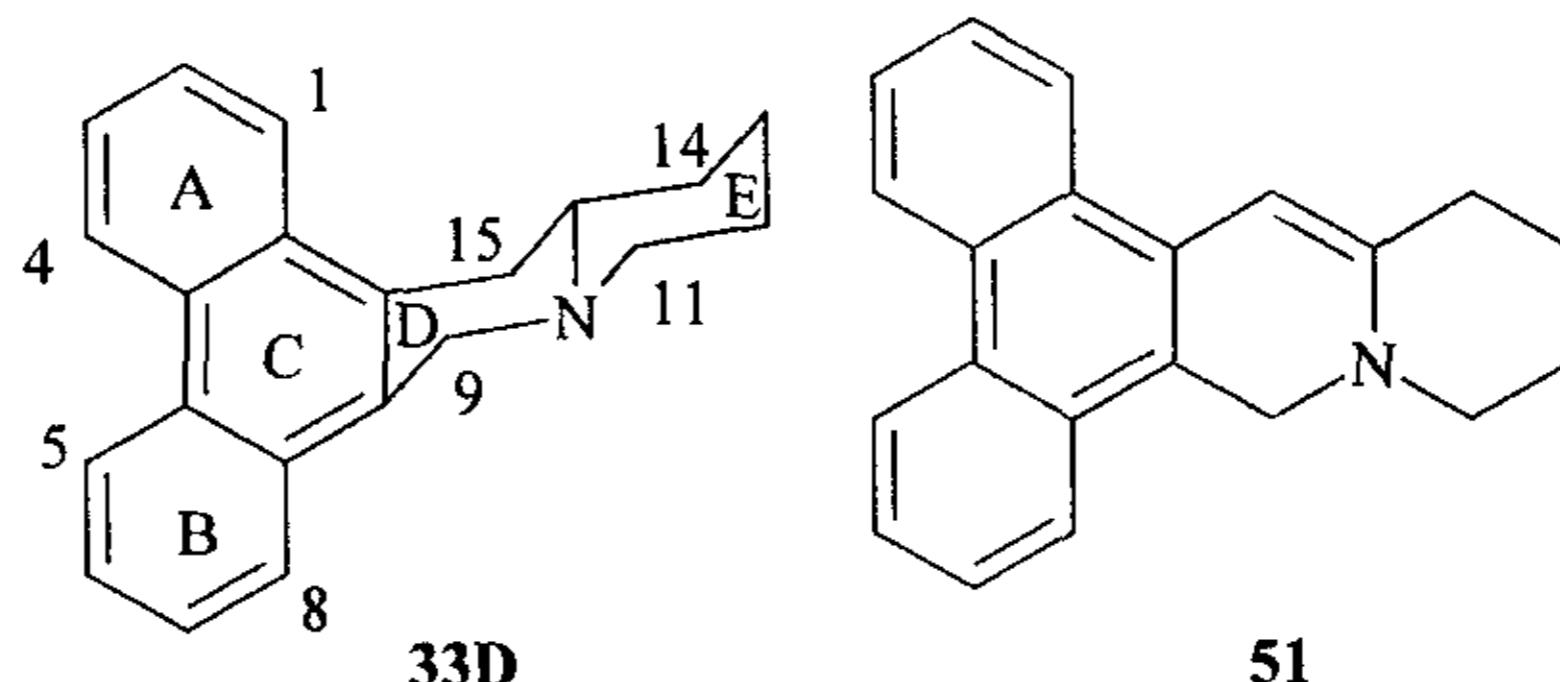


图 3-3 菲并喹啉里西定型生物碱的相对构型

Fig. 3-3 The relative configuration of phenanthroquinolizidine alkaloids

1978 年，Gellert 等人^[59]与已知绝对构型的化合物娃儿藤碱（Tylophorine）的 ORD 和 CD 谱相比较确定了天然分离得到的小穗芦麻素 14a-位的绝对构型为 *R*（图 3-4）。

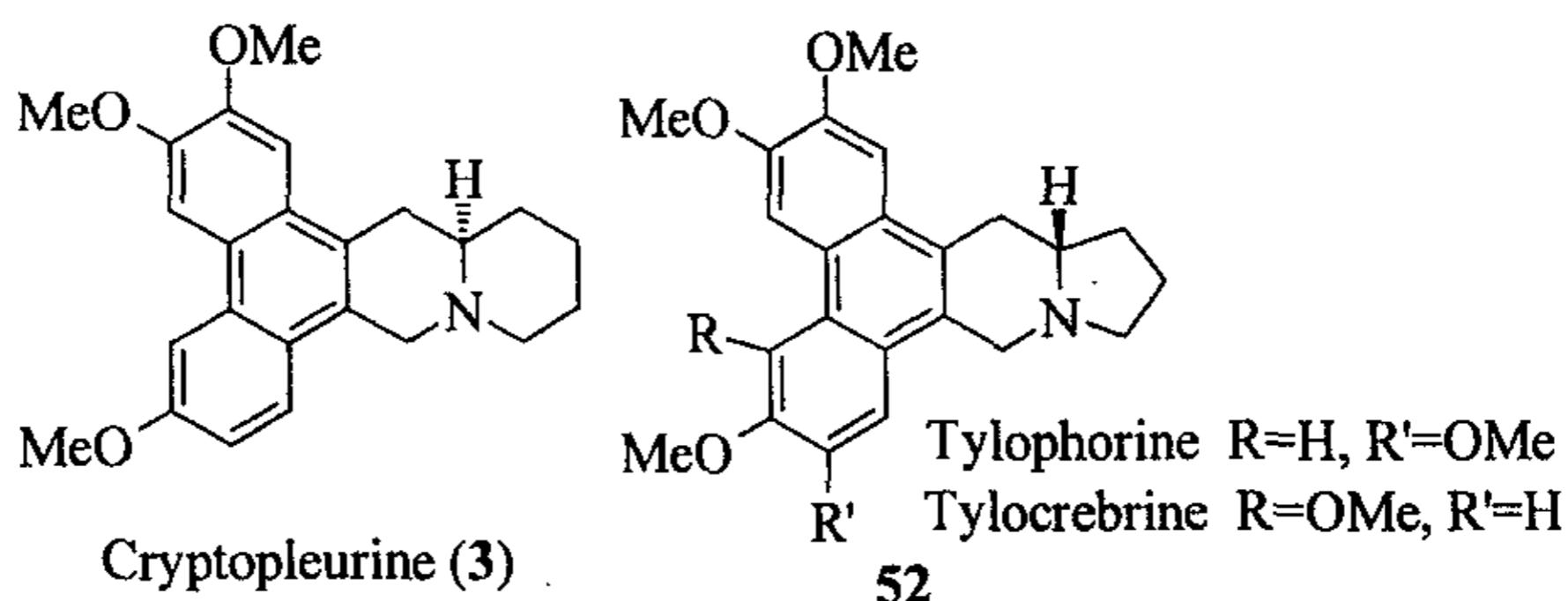


图 3-4 小穗芦麻素的绝对构型

Fig. 3-4 The absolute configuration of cryptopleurine

1979 年，Kozma 等^[60]注意到了菲并喹啉里西定型生物碱在自然光照射下的变化：在自然光的照射下，化合物 **53** 变化为化合物 **54**，化合物 **54** 进一步变化为化合物 **55**，化合物 **55** 还要继续变化为共轭体系更大的化合物（图 3-5）。

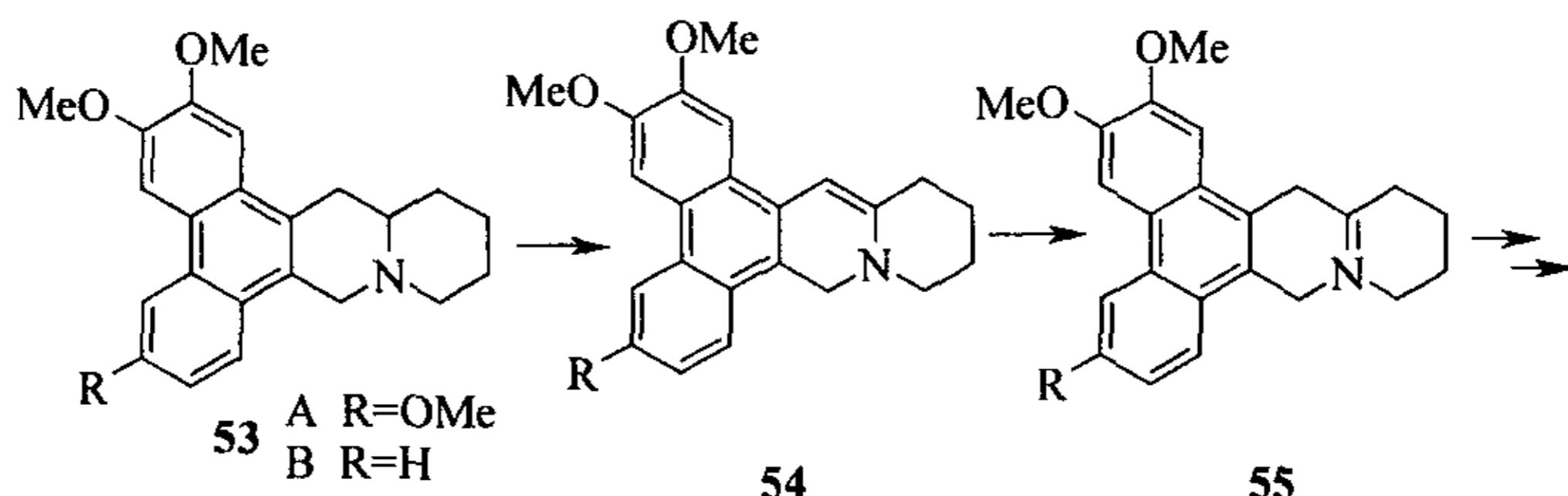
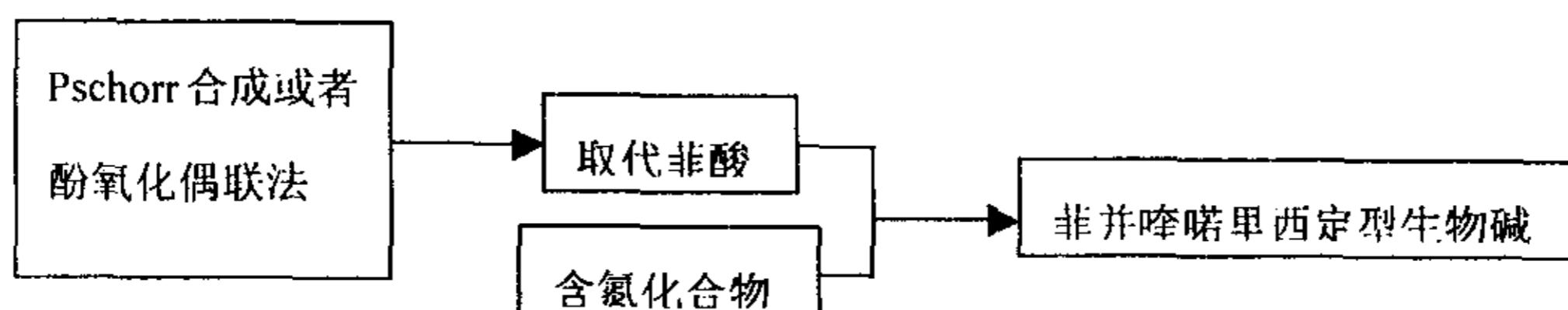


图 3-5 菲并喹啉里西定型生物碱的光化学变化

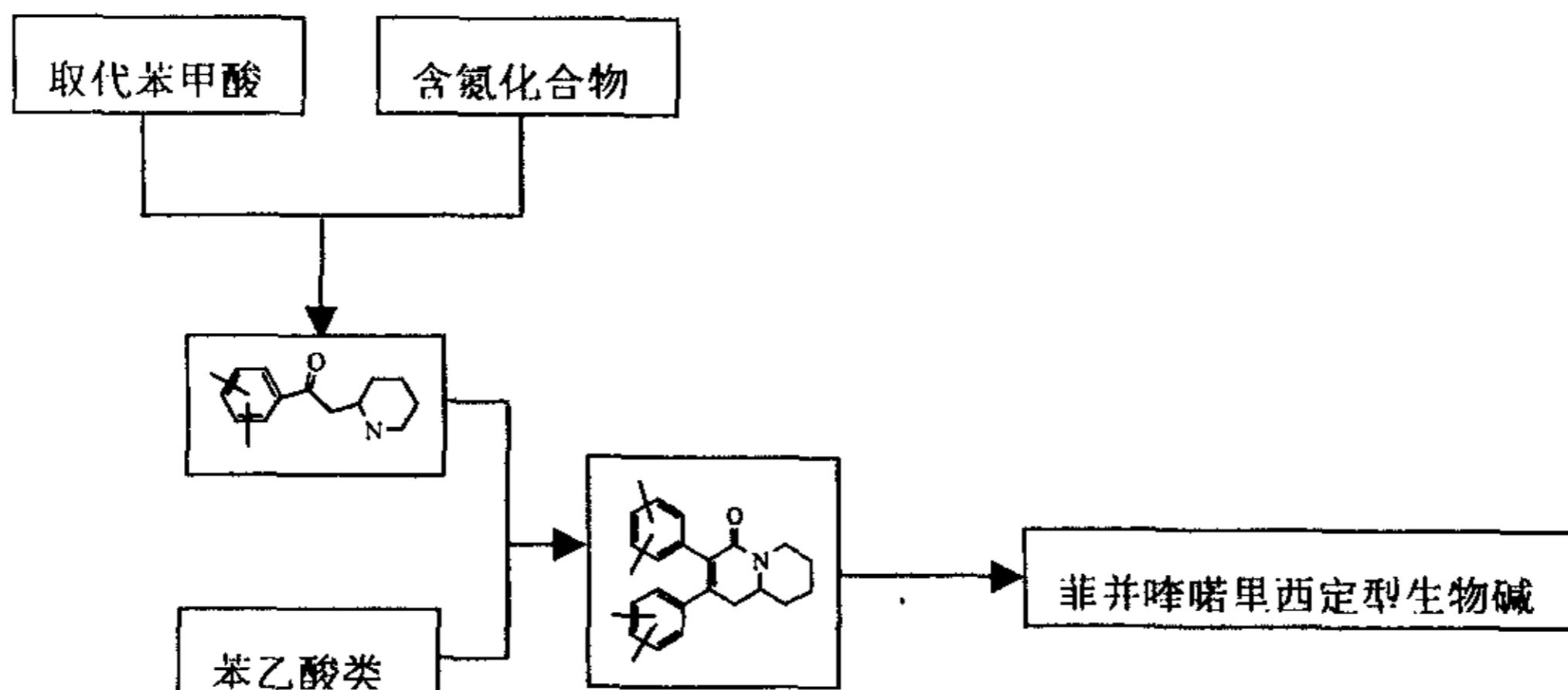
Fig. 3-5 Photolytic conversion of phenanthroquinolizidine alkaloids

3. 菲并喹啉里西定型生物碱的化学全合成

菲并喹啉里西定型生物碱的合成大致有两种思路：（一）先构建菲再构建喹啉里西定：以 Pschorr 法或者酚氧化偶联反应首先得到取代菲酸，菲酸再与含氮化合物反应以引入喹啉里西定部分，再经一系列反应合成得到菲并喹啉里西定型生物碱，示意如下：

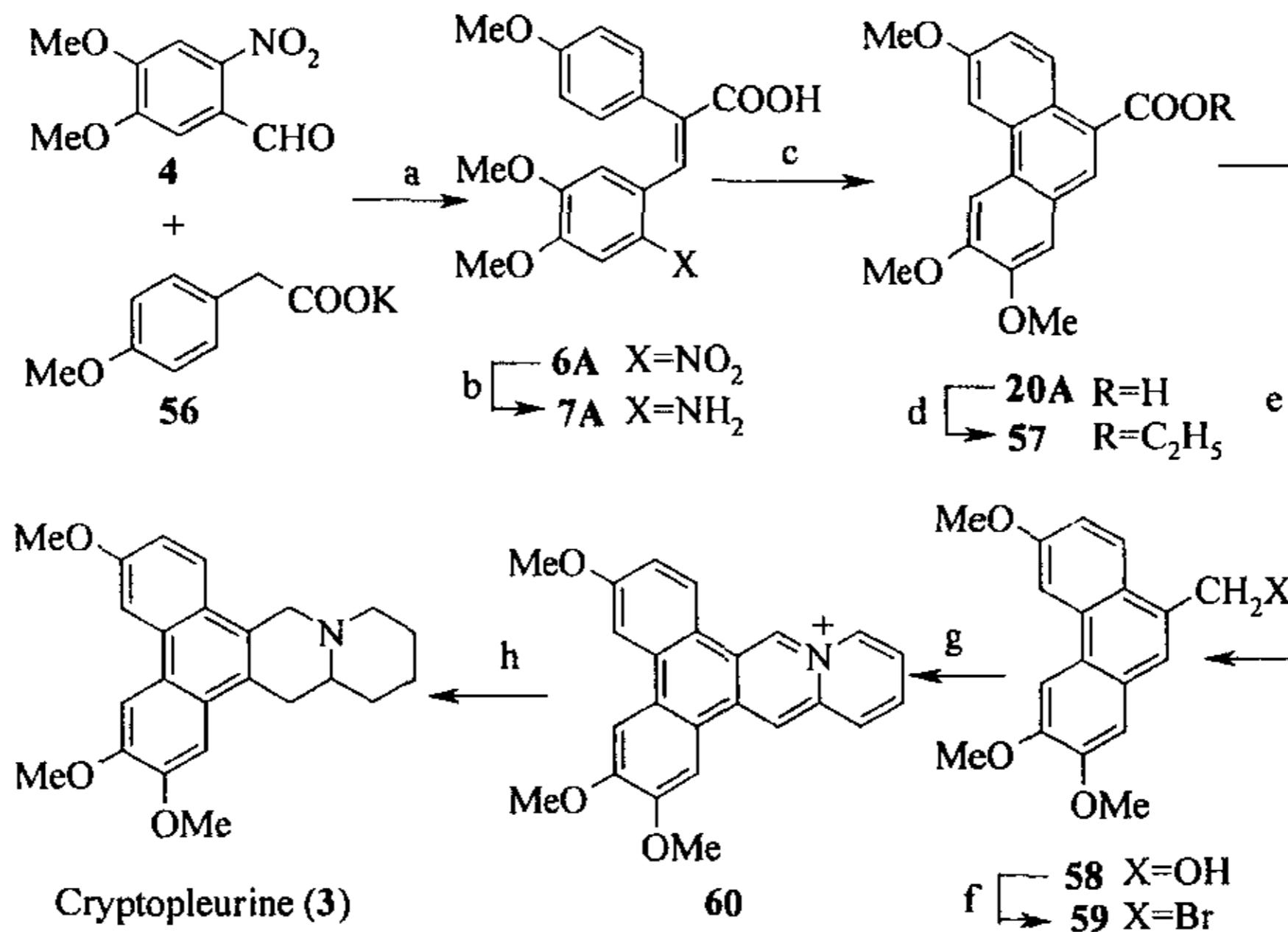


（二）先构建喹啉里西定再构建菲：以取代苯甲酸等与含氮化合物反应，产物再与苯乙酸类反应得到二芳基取代的喹啉里西定，后者经偶联反应得到菲并喹啉里西定型生物碱，如下图所示：



3.1 先构建菲片段，再构建喹啉里西定片段

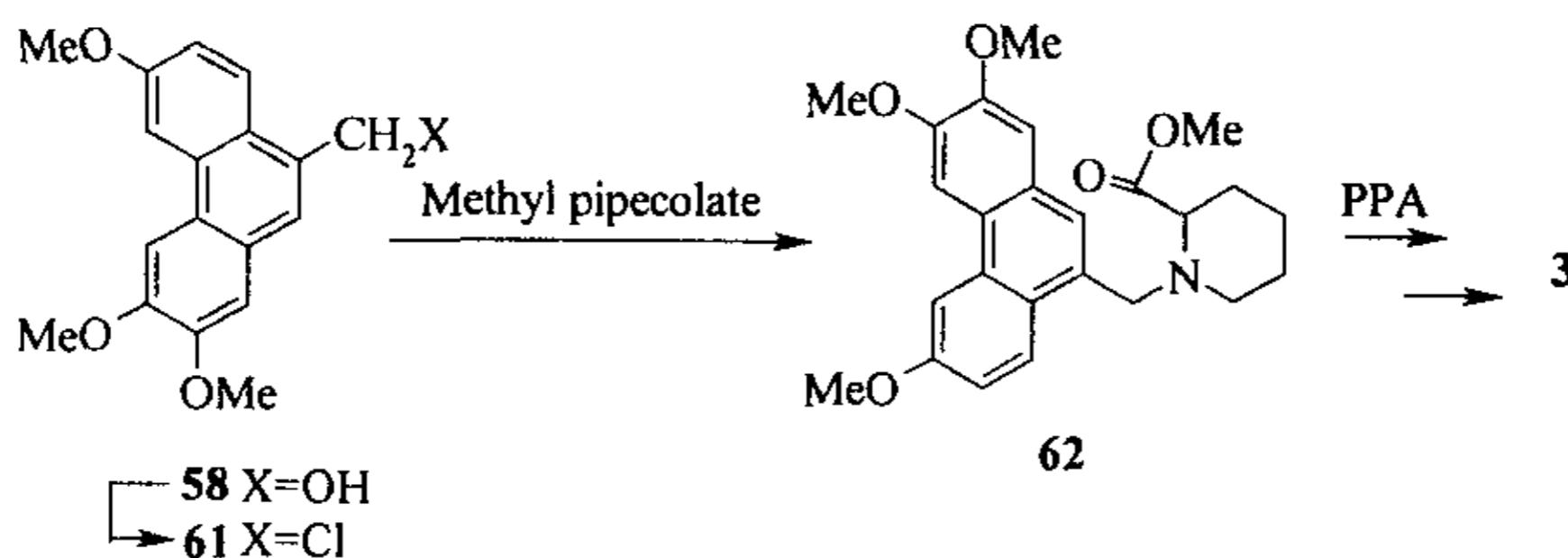
3.1.1 Bradsher 等人^[29, 61]采用 Pschorr 法首先构建了取代菲酸（20A），然后再引入喹啉里西定从而首次全合成了小穗芦麻素（Scheme 3-1）。



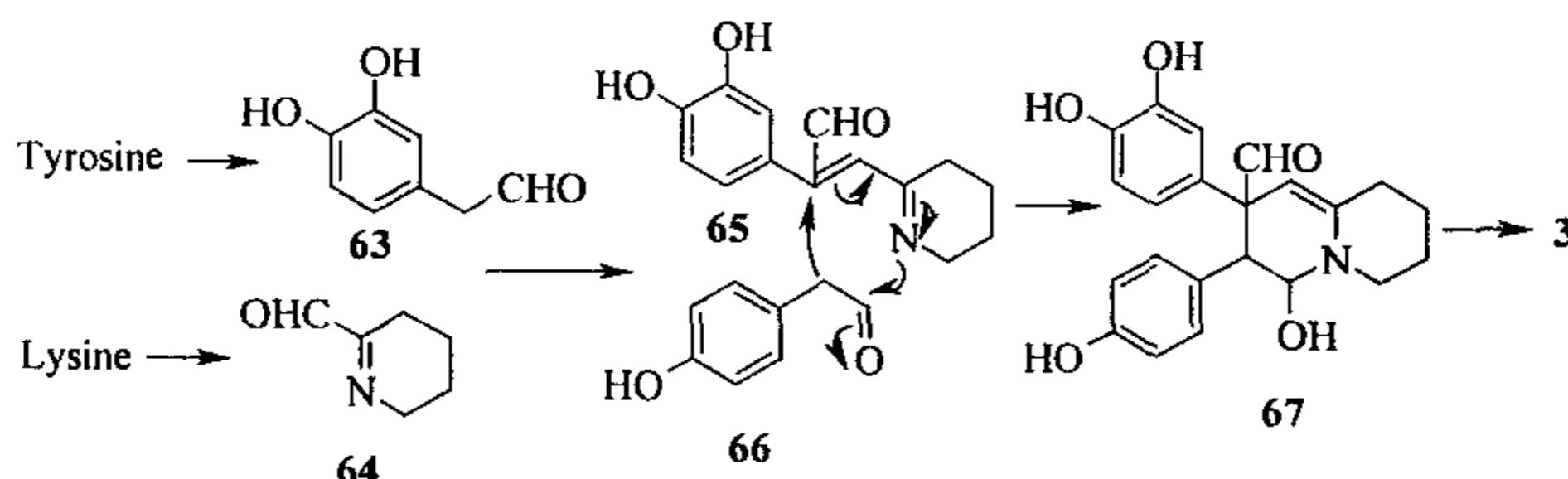
Scheme 3-1 *Reagents and conditions:* (a) Ac_2O , NEt_3 , reflux for 8 hrs (50%); (b) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (80%); (c) i. H_2SO_4 , isoamyl nitrite; ii. Cu (54%); (d) EtOH , H_2SO_4 (89%); (e) LiAlH_4 (98%); (f) HBr (the product not isolated); (g) i. Picolinic aldehyde; ii. PPA ; (h) H_2/PtO_2 .

1964 年 Bradsher 和 Desai^[62]利用他们合成小穗芦麻素的方法合成了 33B 和 33C 两个菲并喹啉里西定型生物碱。

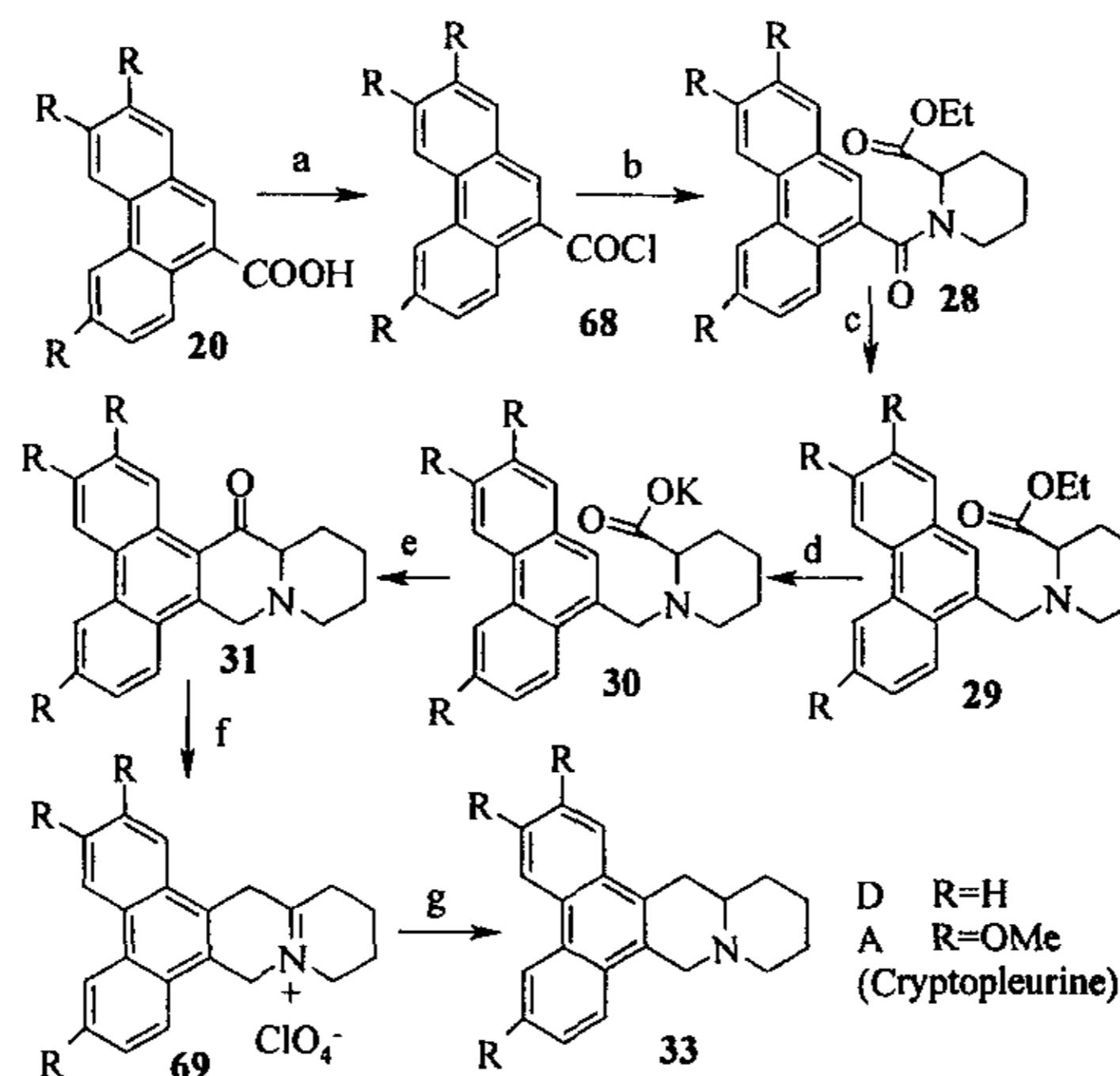
3.1.2 几乎同时, Marchini 等^[38]采用与 Bradsher 等人相似的方法实现了小穗芦麻素的全合成。不同之处在于卤代化合物 61 与哌可酸甲酯反应得到化合物 62, 之后进行关环、还原得到小穗芦麻素（Scheme 3-2）。

**Scheme 3-2**

同时，他们还提出了此类生物碱可能的生物合成途径（Scheme 3-3）：

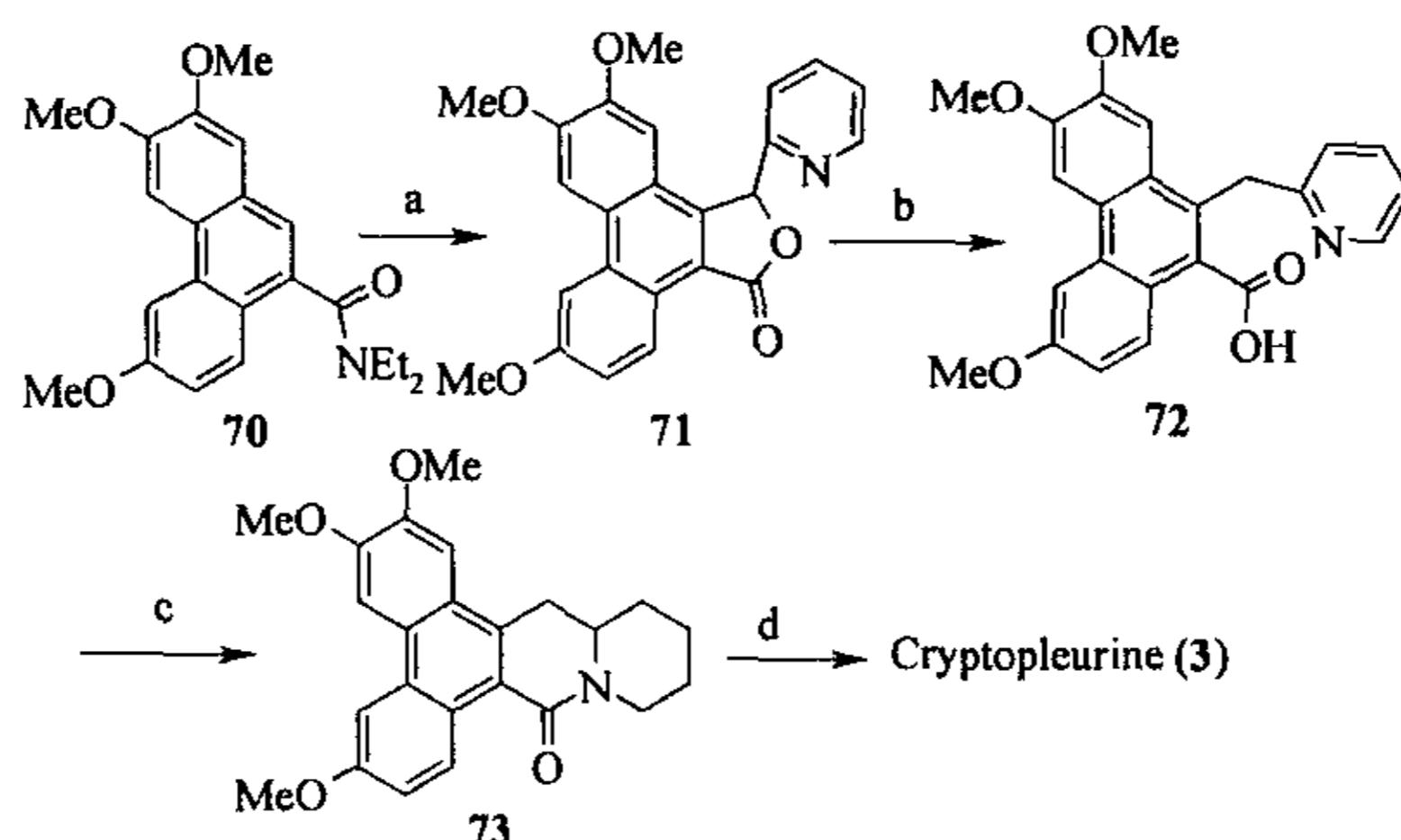
**Scheme 3-3** Possible biosynthesis of phenanthroquinolizidine alkaloids

3.1.3 1980 年，Trigo 等人^[37]首先利用 Pschorr 法合成取代菲酸，再把取代菲酸做成酰卤与哌可酸乙酯反应，经过还原、水解、缩合、还原合成了(±)-小穗芸麻素及相关类似物(Scheme 3-4)。



Scheme 3-4 Reagents and conditions: (a) SOCl_2 (98.1%); (b) ethyl pipecolate (80.7%); (c) i. $\text{Et}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$; ii. NaBH_4 (92.9%); (d) KOH (quantitative); (e) PPA (65.7%); (f) HClO_4 ; (g) LiAlH_4 (65%)

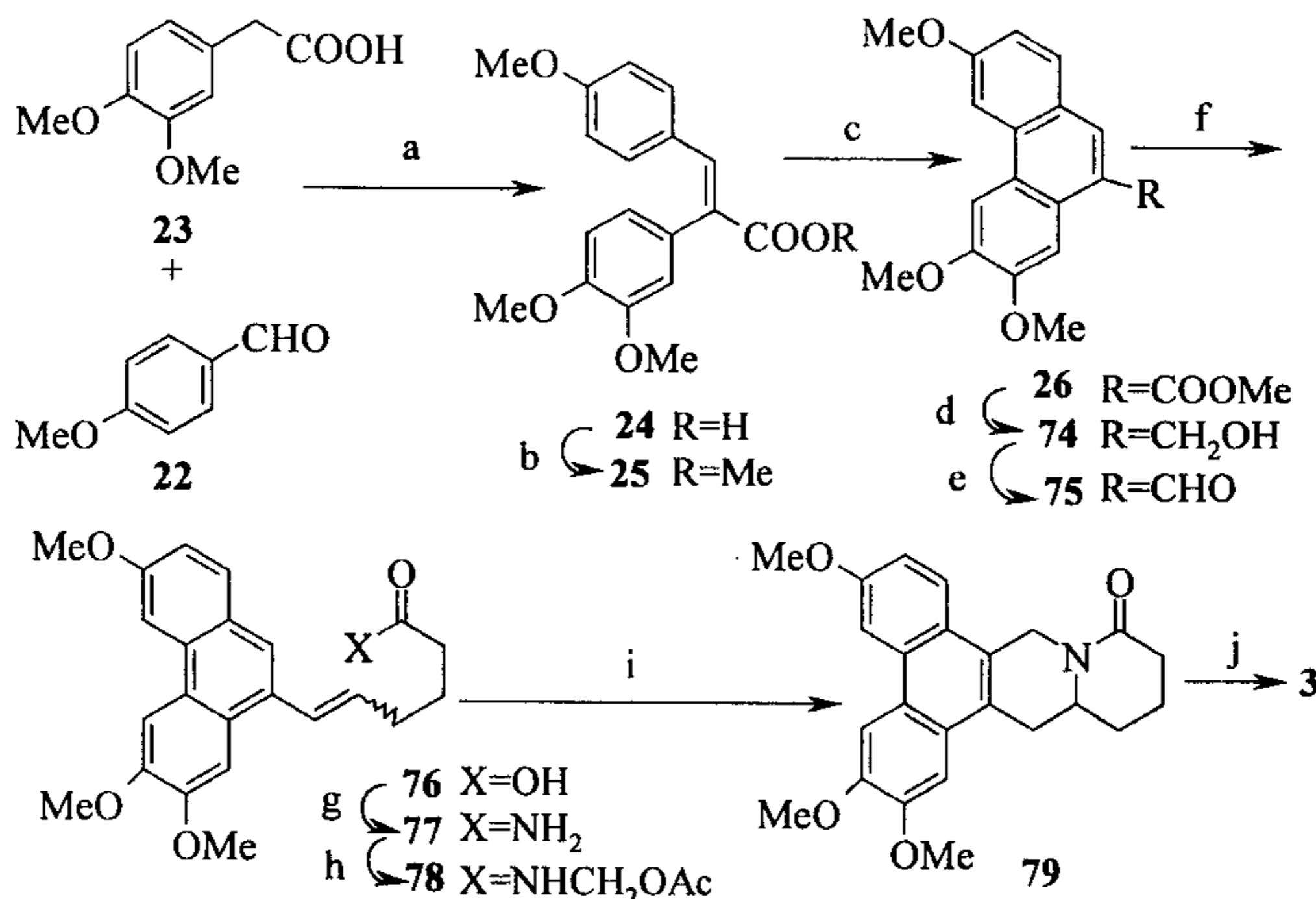
3.1.4 1981年, Iwao 等人^[63, 64]利用 sec-BuLi 使菲酰胺 (70) 的 10-位直接金属化, 之后与吡啶-2-甲醛反应得到 71, 72 再经过一系列反应进而合成了菲并喹啉里西定生物碱—小穗苎麻素 (Scheme 3-5)。他们以同样的方法合成了菲并吲哚里西定生物碱 Antofine。



Scheme 3-5 Reagents and conditions: (a) i. sec-BuLi/TMEDA, Et_2O -THF/-78°C; ii. Pyridine-2-CHO; iii. $\text{TsOH}/\text{PhMe}/\text{Heat}$ (72%); (b) $\text{Zn}(\text{Cu})$, 10% $\text{KOH}/\text{Pyridine}$ (96%); (c) i. $\text{H}_2/\text{Pt}/\text{HOAc}/\text{HCl}$; ii. Xylene/Heat (71%); (d) $\text{LiAlH}_4/\text{THF}$ (92%).

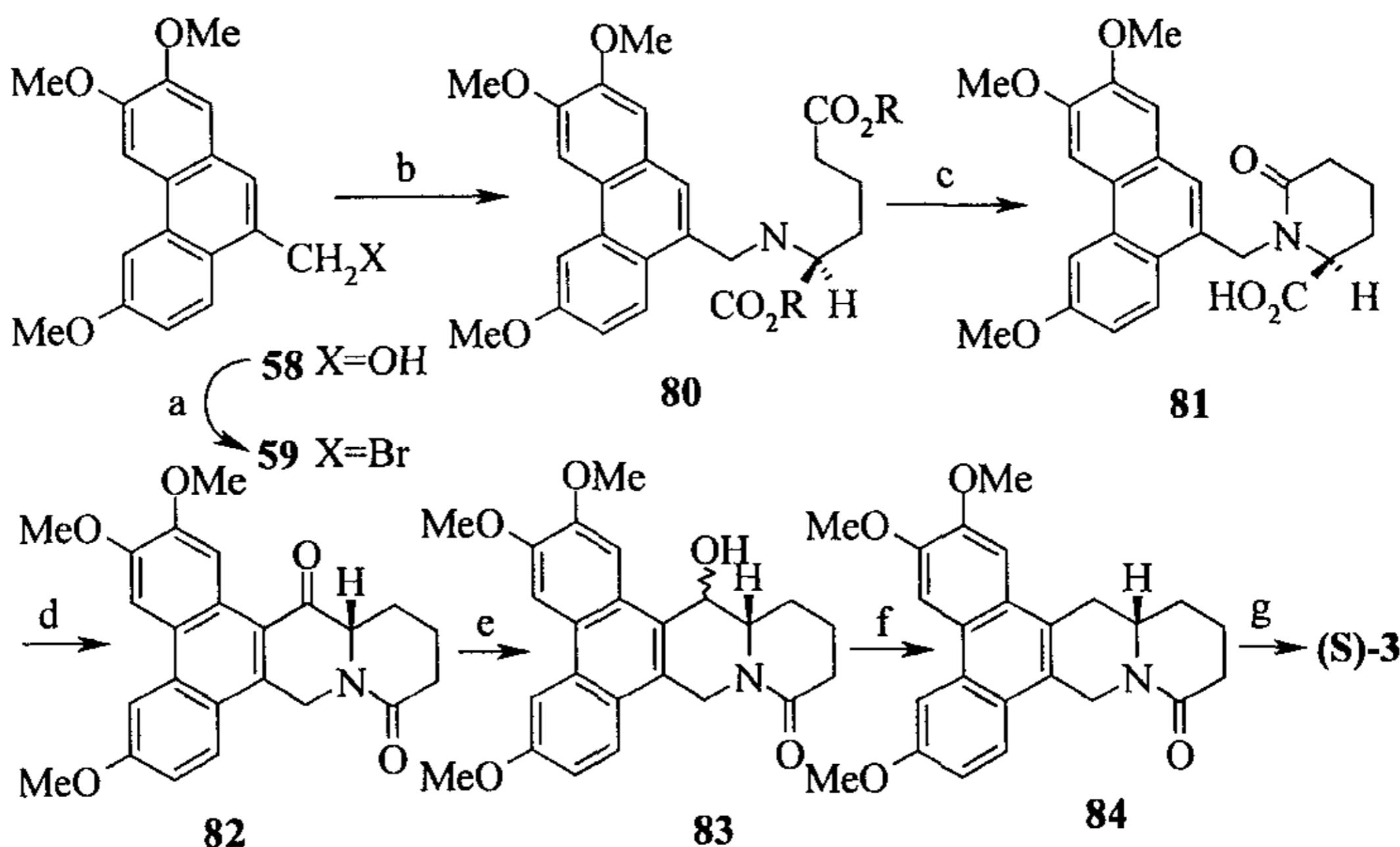
以上合成方法都是以取代的邻硝基苯甲醛与取代的苯乙酸进行缩合得到 Perkin 缩合产物, 之后再还原硝基为氨基, 氨基重氮化后进行 Pschorr 反应得到取代的菲类化合物; 之后与合适的氮杂化合物反应得到菲并喹啉里西定生物碱和菲并吲哚里西定生物碱。

3.1.5 1983年, Bremmer 等人^[65, 66]使 1,2-二芳基取代的丙烯酸酯在三氟氧化矾的作用下发生酚氧化偶联反应得到取代的菲类化合物 26, 26 经还原、氧化得取代醛 75, 75 与 Wittig 试剂反应得 76, 76 经官能团转化为 77, 然后再利用分子内亚氨基与 1,3-双烯进行 Diels-Alder 反应合成了小穗苎麻素 (Scheme 3-6)。



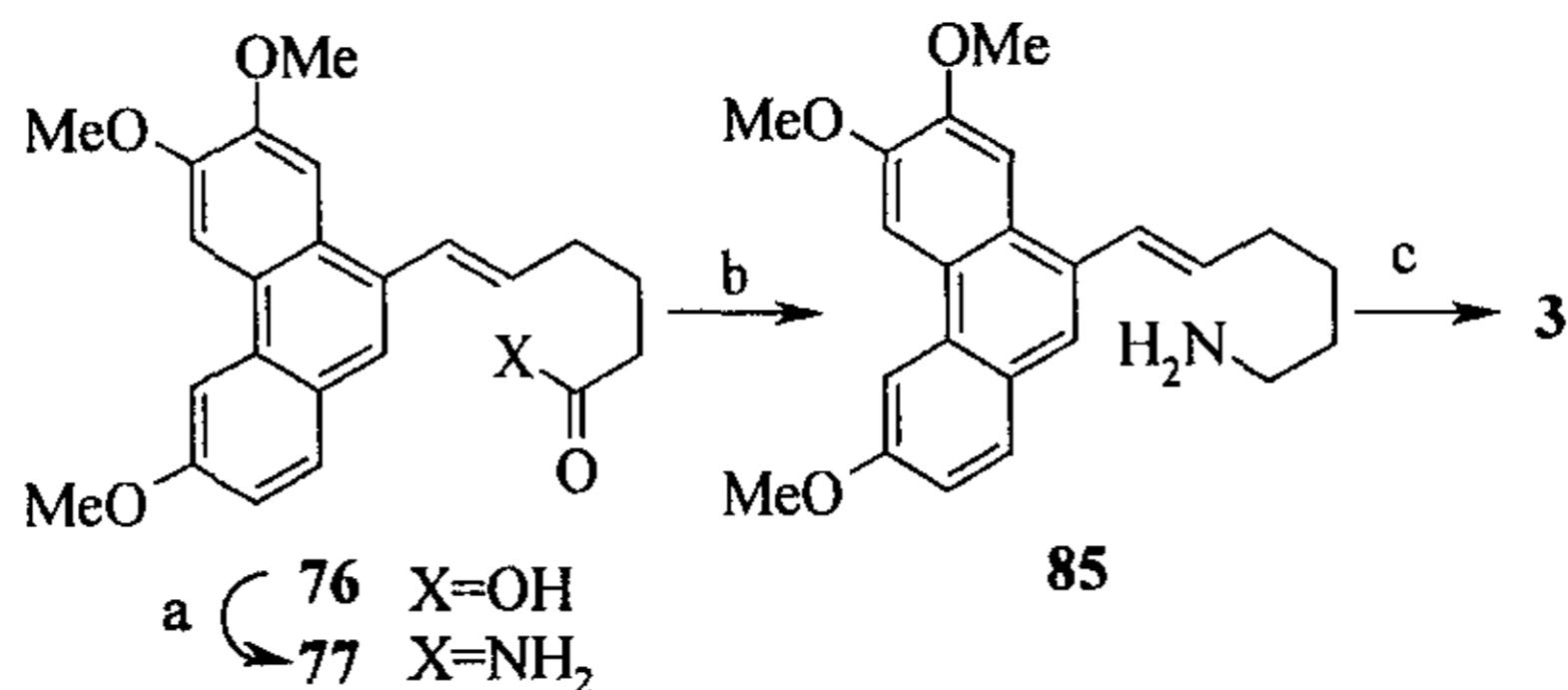
Scheme 3-6 Reagents and conditions: (a) Ac_2O , NEt_3 (58%); (b) MeOH , H^+ (44%); (c) VOF_3 (100%); (d) LiAlH_4 (96%); (e) pyridinium chlorochromate (85%); (f) $\text{Ph}_3\text{P}^+(\text{CH}_2)_4\text{COOH Br}^-$ (60%); (g) i. pyridine, ethyl chloroformate; ii. concentrated ammonium hydroxide (89%); (h) Cs_2CO_3 /paraformaldehyde (57%); (i) heated for 70 min in *o*-dichlorobenzene at 210°C (60%); (j) LiAlH_4 (53%).

3.1.6 以上合成方法均没有考虑手性问题，在1983年，Buckley 和 Rapoport^[66]以 α -氨基酸为手性原料，首次实现了小穗苎麻素和娃儿藤碱的手性合成，确定了他们的立体构型（Scheme 3-7）。作者们仍以Pschorr法合成取代菲酸，后者经还原、卤化得菲类化合物59，化合物59与手性 α -氨基酸进行取代反应得80，80关环得到手性的化合物82，82经还原即得(S)-(+)-小穗苎麻素。



Scheme 3-7 *Reagents and conditions:* (a) HBr (not isolated); (b) Diisopropyl (S)- α -amino adipate, K_2CO_3 (94%); (c) 6 N KOH/MeOH (86%); (d) oxalyl chloride/DMF (93%); (e) L-Selectride (87%); (f) i. NaI, Me_3SiCl , ii. $NaCNBH_3$ (89%); (g) $LiAlH_4$ (88%).

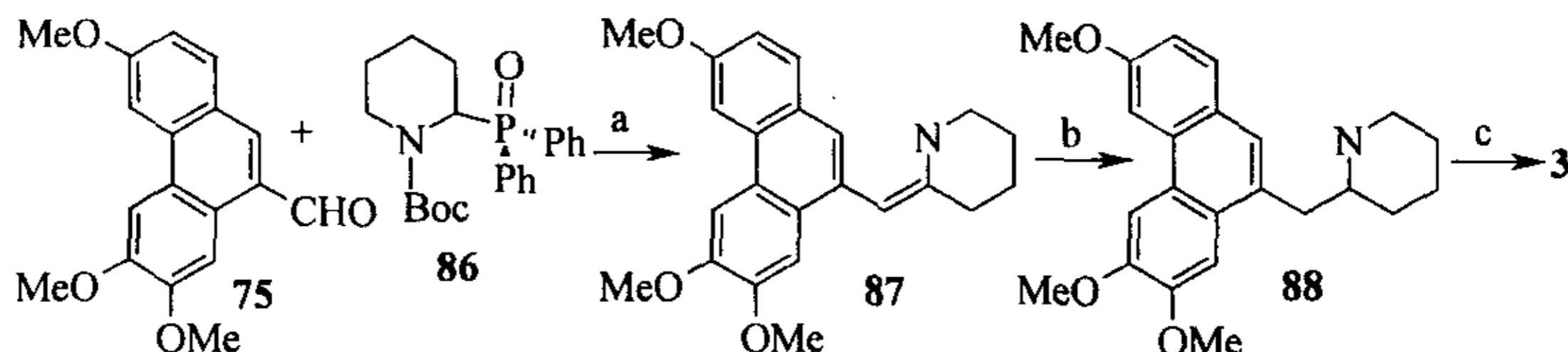
3.1.7 1988年, Grieco 和 Parker^[67]采用 Bremmer 等人^[35, 65]的方法合成了化合物 76, 76 经官能团转化为 77, 与 Bremmer 等人不同, 他们不是把 77 作成亚氨基而是把它还原为伯胺 85, 85 在 37% 的甲醛水溶液中发生分子内亚胺阳离子的 Diels-Alder 反应, 实现了小穗芦麻素 (3) 及相关类似物的合成 (Scheme 3-8)。



Scheme 3-8 *Reagents and conditions:* (a) i. pyridine, ethyl chloroformate; ii. concentrated ammonium hydroxide (95%); (b) $LiAlH_4$ (48%); (c) 4.0 equiv of 37% aqueous formaldehyde solution in water-ethanol (1:1), sealed tube, 180°C, 10 hrs

(84%)。

3.1.8 1999 年, Lebrun 等人^[30]以 Horner 试剂 (86) 与合适的取代菲基甲醛 (75) 进行 Horner 反应生成烯氨基甲酸酯, 后者再脱保护、还原得到化合物 88, 88 通过 Pictet-Spengler 环化得到菲并喹啉里西定和菲并吲哚里西定型生物碱 (Scheme 3-9)。

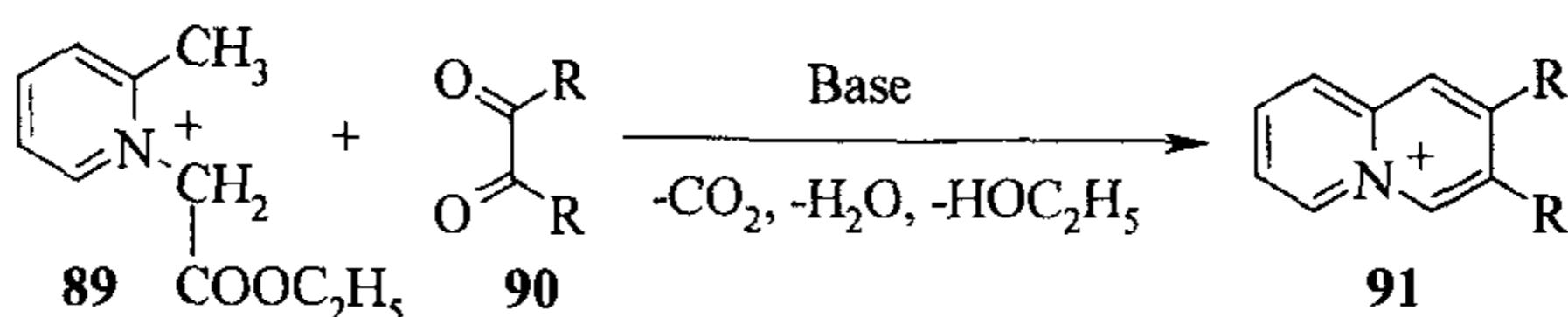


Scheme 3-9 Reagents and conditions: (a) n-BuLi, THF, -78 °C (75%); (b) i. $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, ii. NaBH_4 (85%); (c) $(\text{CH}_2\text{O})_x$, HCl , EtOH (69%).

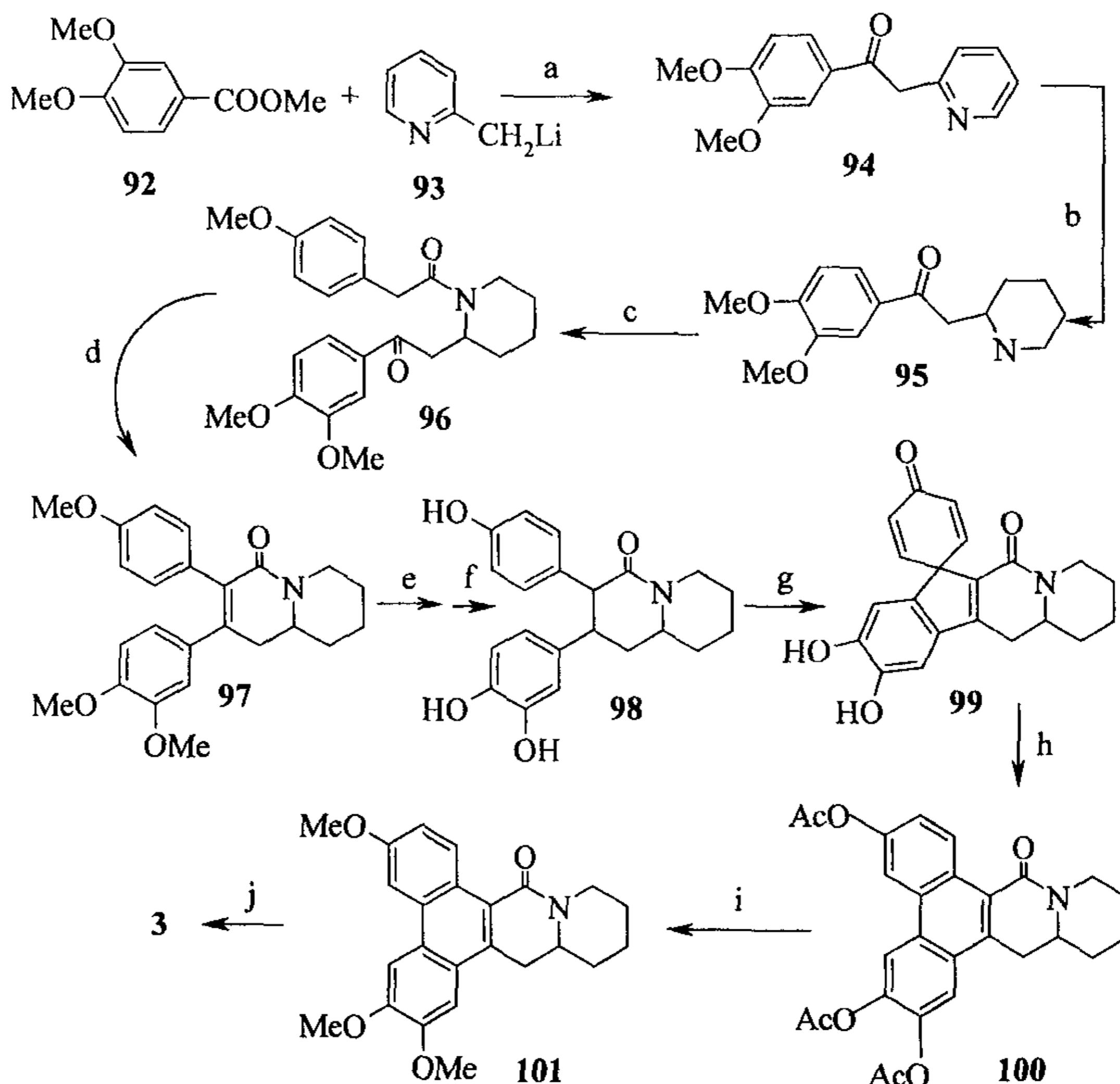
在这一类合成方法中, 以 Pschorr 法合成菲类化合物的选择性较强 (只生成单一产物), 但收率较低 (50%左右); 以三氟氧化矾作为氧化剂促使取代二苯乙烯发生酚氧化偶联反应得到菲类化合物的通用性较差 (Buckley 等人^[66]的研究表明, 1,2-二- (3,4-二甲氧基-苯基) -丙烯氯在三氟氧化矾的作用下可以 98%的收率得到 2,3,6,7-四甲氧基-9-氯基菲, 后者经酸水解可得 2,3,6,7-四甲氧基-9-菲基甲酸, 以同样的方法却不能得到 2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲酸; 然而 Bremmer 等人^[26, 49]以三氟氧化矾为偶联剂使 2- (3,4-二甲氧基苯基) -3-对甲氧基苯基-丙烯酸甲酯发生分子内偶联反应得到 2,3,6-三甲氧基-9-菲基甲酸甲酯), 但收率较高 (>90%)。

3.2 先合成喹啉里西定部分后合成菲片段

3.2.1 1961 年 Westphal 等^[68]报道了合成喹啉里西定型生物碱的新方法, 利用邻二碳基化合物 90 与吡啶季铵盐 89 反应得到化合物 91。当 R 为芳基时, 91 在紫外光照射下关环成菲并喹啉里西定型生物碱, 由此合成了小穗苎麻素 (Scheme 3-10)。

**Scheme 3-10**

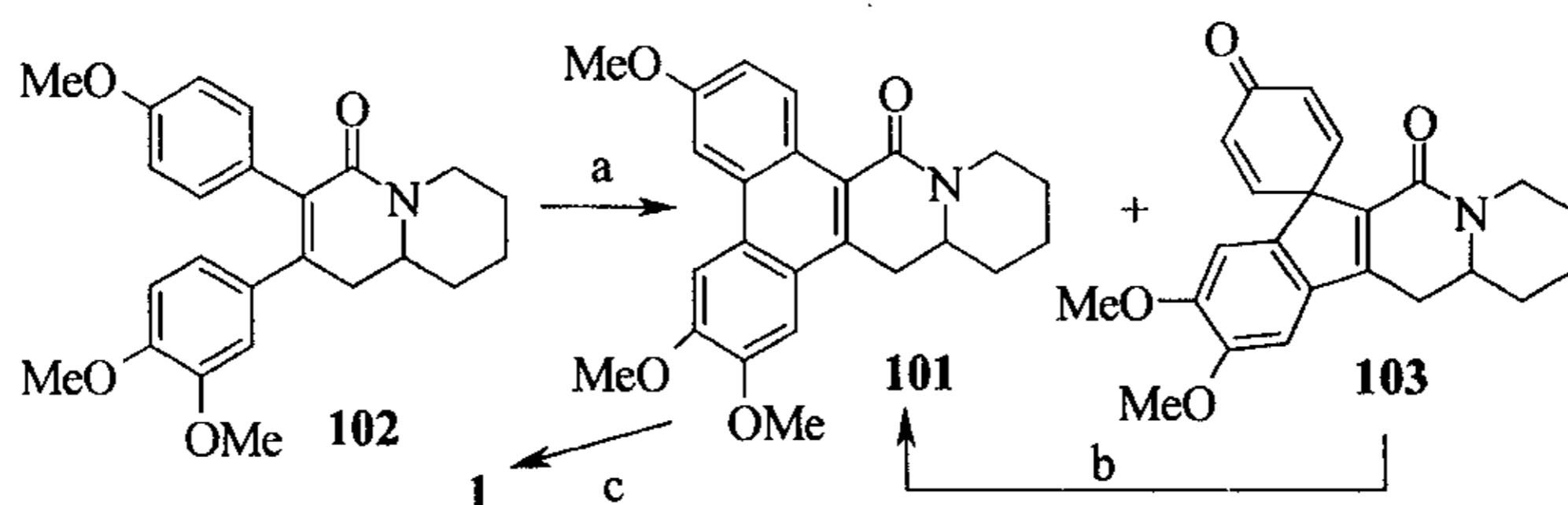
3.2.2 1969年Paton等^[69]以3,4-二甲氧基苯甲酸甲酯(92)与1-甲基吡啶基锂(93)反应得化合物94, 94经还原后与对甲氧基苯乙酰氯反应得化合物95, 95在叔丁醇钾的作用下缩合后经钯碳还原、三溴化硼脱甲基、硅胶-二氧化锰氧化偶联等反应, 首次从生物合成的角度合成了小穗苎麻素(Scheme 3-11)。



Scheme 3-11 Reagents and conditions: (a) reflux in ether for 1 hr. (54%); (b) PtO₂/H₂ (80%); (c) Pyridine (95%); (d) t-BuOK, benzene, reflux for 4 hr. (45%); (e) Pd-C/H₂

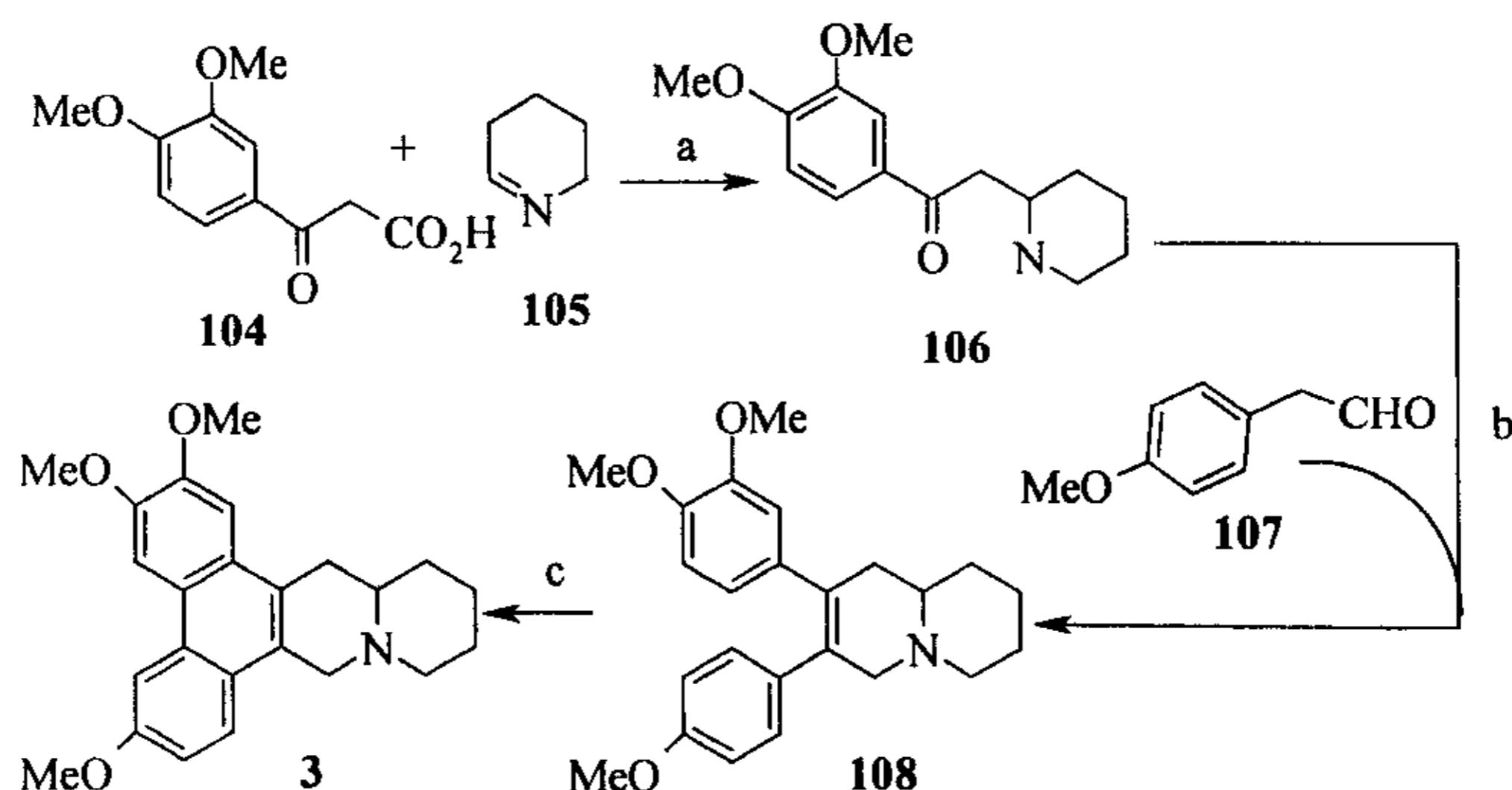
(95%); (f) BBr_3 , 0°C (90%); (g) Si-MnO₂ (20%); (h) H_2SO_4 , Ac_2O (52%); (i) Me_2SO_4 , 40% KOH (31%); (j) LiAlH_4 .

3.2.3 1974年, Kotani 等人^[70]运用阳极氧化法成功地合成了小穗芦麻素。首先, 利用已有方法合成喹喏里西酮 102, 在电流作用下 102 转化为 101 和 103, 化合物 103 可经三步反应转化为所需的重要中间体 101, 101 经还原即得到小穗芦麻素 (3) (Scheme 3-12)。



Scheme 3-12 Reagents and conditions: (a) 42% HBF_4 , CH_3CN , r. t., 1.07 V, 30 min (31% for 101, 60% for 103); (b) i. Ac_2O , H_2SO_4 (98%); ii. KOH, MeOH (94%); iii. CH_2N_2 (quantitative); (c) LiAlH_4 (98%).

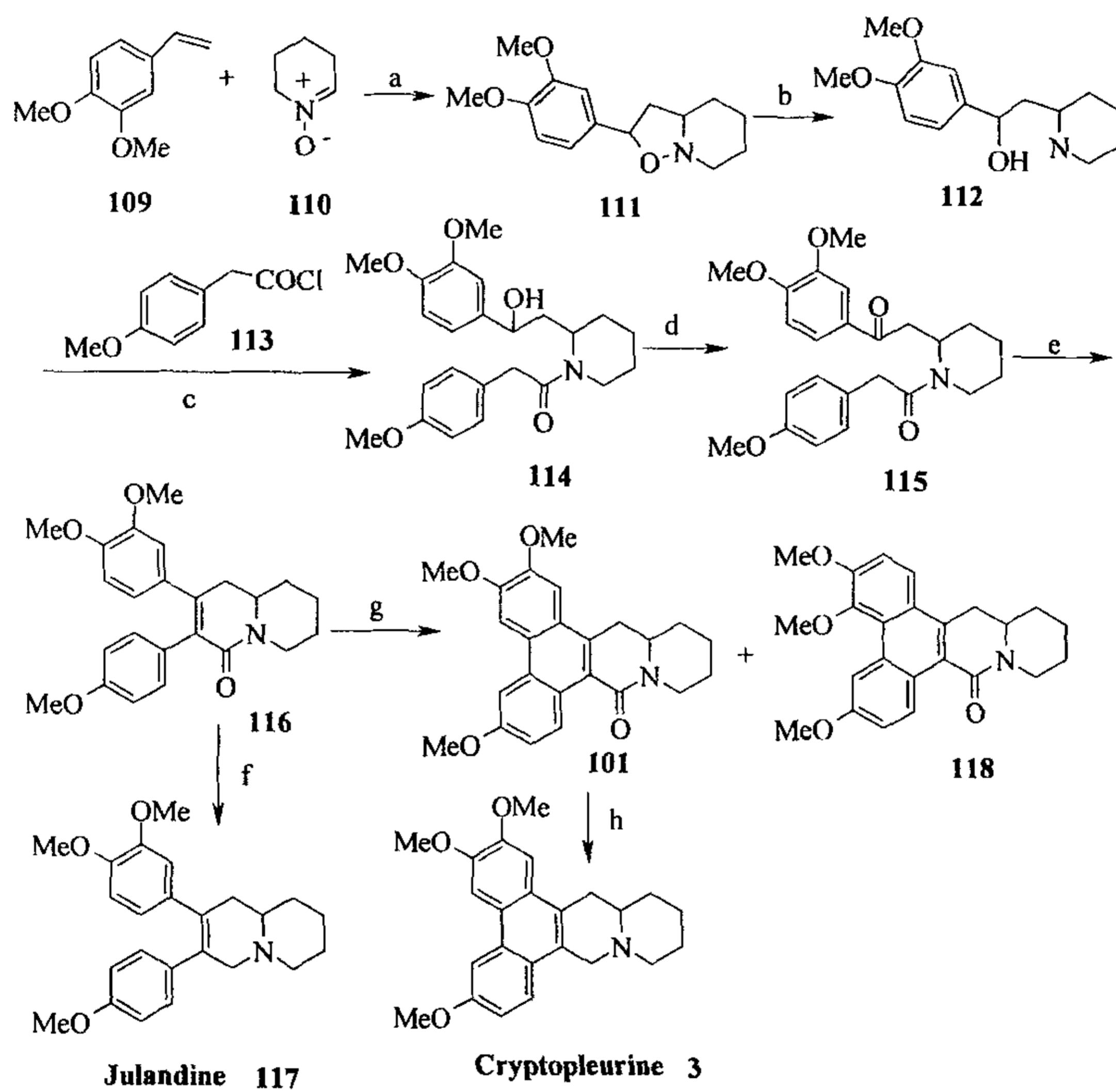
3.2.4 1978年, Herbert 等人^[71, 72]以三氟醋酸铊为氧化剂实现化合物 108 的分子内偶联, 得到了小穗芦麻素 (Scheme 3-13)。



Scheme 3-13 Reagents and conditions: (a) Phosphate buffer, pH=7 (quantitative); (b)

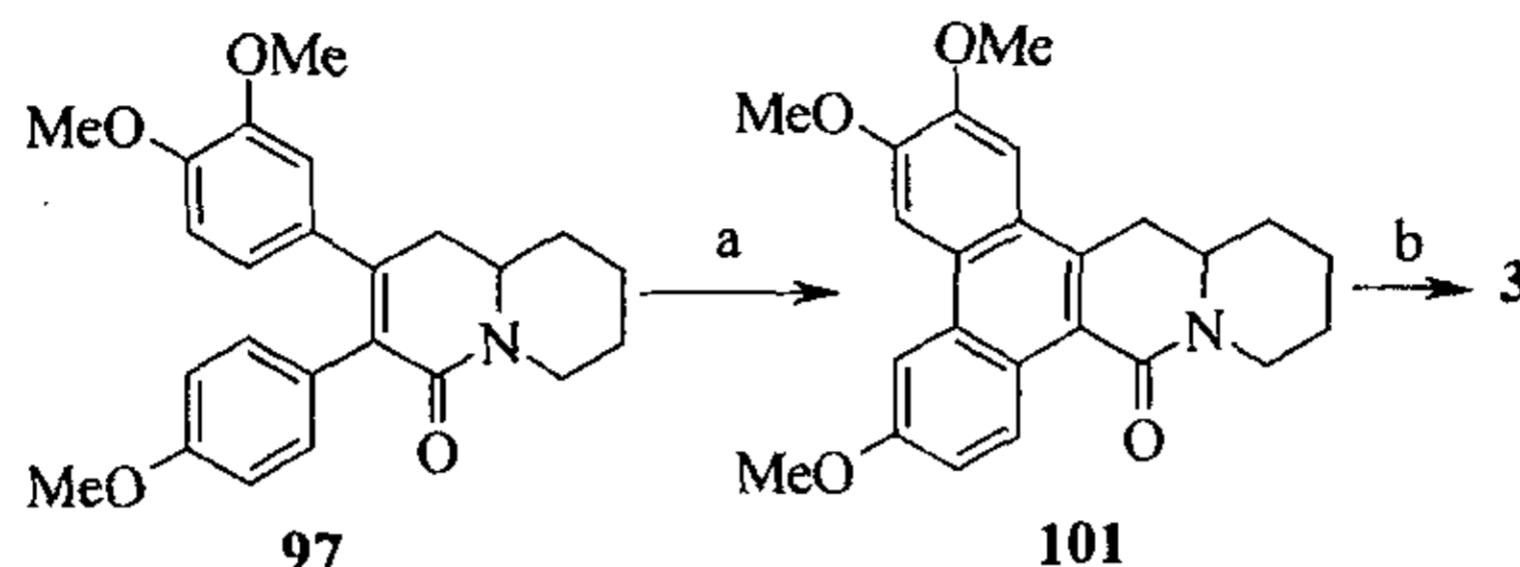
i. stirring in dry benzene for 30 min at r. t.; ii. TiCl_4 ; iii. NaBH_4 (40%); (c) $\text{Ti}(\text{CF}_3\text{CO}_2)_3$ (95%).

3.2.5 1981年, Iida 和 Kibayashi^[73, 74]以 N,O-1,3-偶极 (110) 与 3,4-二甲氧基苯乙烯 (109) 通过氮杂 Diels-Alder 反应等合成了一系列菲并喹啉里西定和吲哚里西定型生物碱, 包括(±)-娃儿藤碱, (±)-小穗芦麻素, (±)-Septicine 和 (±)-Julandine (Scheme 3-14)。



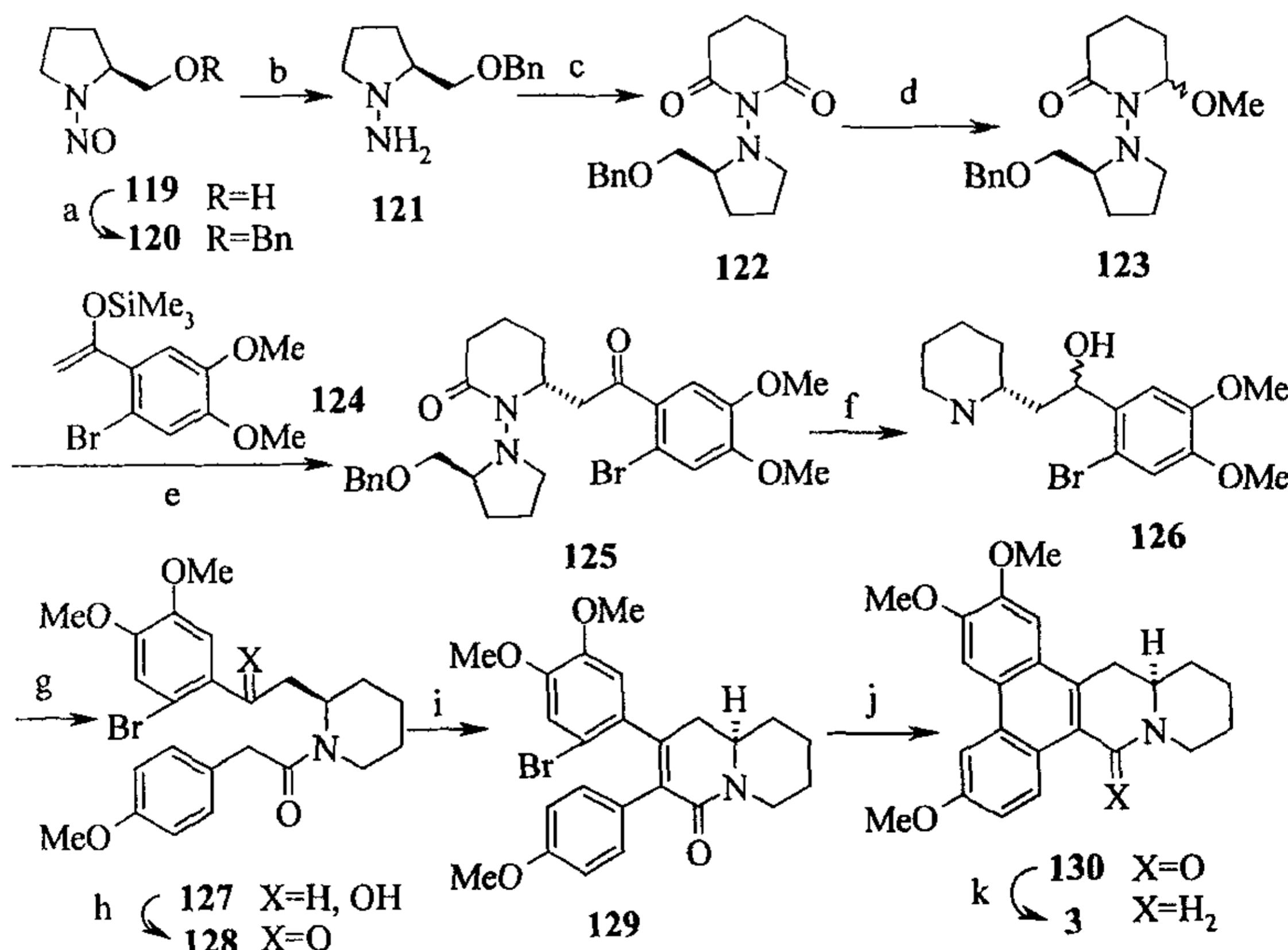
Scheme 3-14 Reagents and conditions: (a) toluene (93%); (b) Zn/HOAc (90%); (c) K_2CO_3 , CH_2Cl_2 (64%); (d) Collins oxidation (82%); (e) NaOEt (67%); (f) LiAlH_4 (63%); (g) High pressure Hg lamp, dioxane, I_2 , r. t., 20 hrs (49% for 101, 14% for 118); (h) LiAlH_4 (95%).

3.2.5 1986年, Murase 等^[75]以铁复合物—Tris(2,2'-bipyridyl)iron(III) Perchlorate 为氧化剂使芳烃通过氧化偶联反应从而实现了小穗苎麻素的合成 (Scheme 3-15)。



Scheme 3-15 Reagents and conditions: (a) $\text{Fe}(\text{bpy})_3(\text{ClO}_4)_3 \bullet 3\text{H}_2\text{O}$ (60%); (b) LiAlH_4 (good yield).

3.2.6 1995年, Suzuki 等人^[76, 77]以烯醇硅醚 124 为亲核试剂与化合物 123 反应, 以>99.5% de 得到手性化合物 125, 125 经四步反应得到化合物 129, 129 可在高压汞灯的照射下关环, 再经 LiAlH_4 还原得到小穗苎麻素, 也可以进行 Still 反应从而实现小穗苎麻素的立体选择性合成 (Scheme 3-16)。



Scheme 3-16 Reagents and conditions: (a) BnBr, NaH, DMF-THF, r. t. (94%); (b) LiAlH₄, THF, reflux; (c) glutaric anhydride, CH₂Cl₂, r. t., then Ac₂O, cat. NaOAc, reflux (93% from 105); (d) i. LiEt₃BH, THF, -78°C (80%); ii. MeOH, cat. PPTS, r. t. (80%); (e) BF₃•Et₂O, CH₂Cl₂, r. t. (70%); (f) i. BF₃•THF, THF, reflux; ii. 10% NaOH, reflux; (g) p-MeOC₆H₄CH₂COCl, 5% NaOH, CH₂Cl₂, 0°C to r. t., then K₂CO₃, MeOH-H₂O, reflux (55% from 110); (h) PDC, CH₂Cl₂, 4Å sieves, r. t. (77%); (i) KOH, EtOH, reflux (60%); (j) method A: hν (high-pressure Hg lamp), Et₃N, dioxane (54%); method B: Bu₃SnH, AIBN, benzene, reflux (87%); (k) LiAlH₄, THF, reflux (55%).

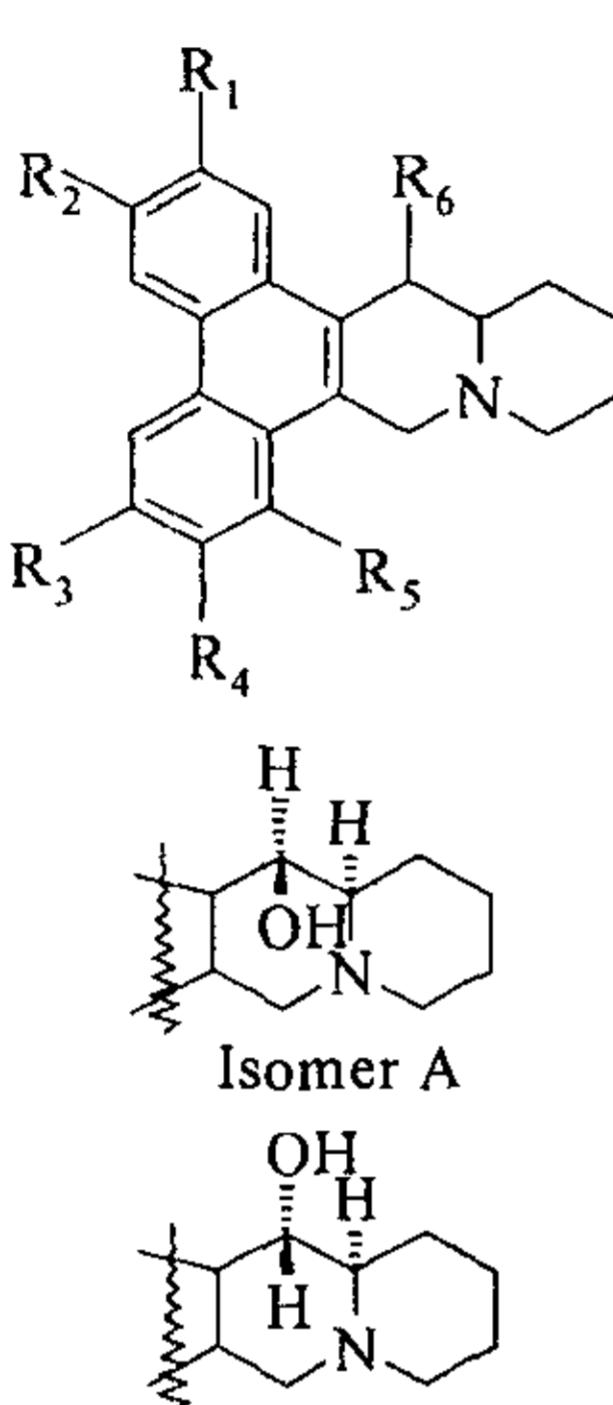
以上方法主要模拟了菲并喹啉里西定型生物碱的生物合成途径，采用多种手段合成了这类生物碱。总的来说，以高压汞灯法（UV 法）、硅胶-二氧化锰氧化偶联法和铁复合物—Tris(2,2'-bipyridyl)iron(III) Perchlorate 为氧化剂的酚氧化偶联法进行关环的产率较低（分别为 50% 左右，60% 和 20%）；而以三氟醋酸铊为氧化剂的酚氧化偶联法、阳极氧化法和 Still 法的收率较高（均>90%）。

4. 菲并喹啉里西定型生物碱类似物及构效关系研究

1971 年 Foldeak^[24]在 Bradsher 和 Marchini 的合成方法基础上略加修改合成了小穗苎麻素及类似物，并研究了这些化合物对 *Actinomucor repens* 的抑制作用，结果表明抑菌效果最好的是小穗苎麻素，其最小抑菌浓度（MIC）为 0.004μg/ml（表 3-1）。

表 3-1 不同取代菲并喹啉里西定型生物碱对 *Actinomucor repens* 的抑制作用
(MIC: ug/mL)

Table 3-1 The MIC values of various phenanthroquinolizidine alkaloids
against *Actinomucor repens* (ug/mL)



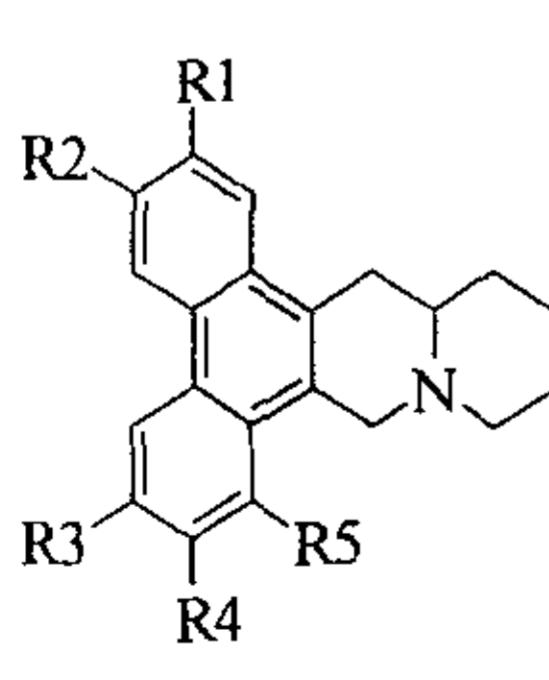
The table lists 16 different phenanthroquinolizidine alkaloids, each with its chemical structure and MIC value against *Actinomucor repens*. The structures show varying degrees of substitution at positions R₁ through R₆.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Isomer	MIC
H	H	H	H	H	OH	B	20
H	H	H	H	H	OH	A	5
OMe	OMe	H	H	H	OH	B	5
OMe	OMe	H	H	H	OH	A	2.5
H	H	OMe	H	H	OH	B	5
H	H	OMe	H	H	OH	A	5
H	H	OMe	OMe	H	OH	B+A	10
H	H	H	H	OMe	OH	B	∞
H	H	Cl	H	H	OH	A	∞
OMe	OMe	Cl	H	H	OH	A	0.6
OMe	OMe	OMe	H	H	OH	-	0.16
H	H	H	H	H	H	-	5
OMe	OMe	H	H	H	H	-	0.05
H	H	OMe	H	H	H	-	0.6
H	H	OMe	OMe	H	H	-	-
H	H	H	H	OMe	H	-	20
OMe	OMe	OMe	H	H	H	-	0.04

1985 年, Hegyes 等人^[25]合成了系列菲并喹啉里西定型生物碱并对它们的抑菌效果进行了测试, 其结果如表 3-2 所示:

表 3-2 小穗苎麻素及类似物的抑菌作用

Table 3-2 The MIC values of cryptopleurine and its analogues



The table lists five analogues of cryptopleurine, each with its chemical structure and MIC values against *Saccharomyces cerevisiae* and *Actinomucor repens*.

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	MIC (mol/l)	
					<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Actinomucor repens</i>
H	H	H	H	H	1.25×10^{-5}	2×10^{-4}
H	H	OMe	H	H	7.5×10^{-7}	3×10^{-6}
OMe	OMe	H	H	H	1.8×10^{-7}	7.5×10^{-7}
OMe	OMe	OMe	H	H	1.8×10^{-7}	1.8×10^{-7}
OMe	OMe	Cl	H	H	9×10^{-8}	9×10^{-8}

以上结果显示 2,3-二甲氧基-6-氯-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹啉里西定有最好的抑菌效果，氯原子引入到芳环可能会增加该类生物碱的抑菌活性。同时他们还合成了 C-15-C-15a 开环的菲并喹啉里西定型生物碱类似物，研究了他们的抑菌效果，结果表明，C-15-C-15a 开环之后，该类生物碱的抑菌效果直线下降。其原因可能是开环化合物中 N 原子与菲环平面之间的关系被破坏。

Muckerjee 等^[26]合成了小穗芦麻素的萘环类似物，这些化合物均不显示抗肿瘤活性。

1980 年，Sollhuber 等人^[27]研究了一系列化合物对酵母菌的蛋白质合成的抑制作用后指出，喹啉里西定本身并不显示生物活性，只有与菲或者萘环稠合后才有活性。同年，Gupta 等人^[28]在研究了一系列苄基异喹啉、菲并喹啉里西定和菲并吲哚里西定生物碱对中国仓鼠卵巢细胞（CHO cell）蛋白质合成的抑制后指出：上述生物碱生物活性的有无与分子中是否有一个含两个芳环的平面分子以及一个亲核性的原子比如氮原子的存在与否有关；同时，芳环上有富电性基团取代则活性提高，芳环平面与亲核原子之间必须有一定距离。Gupta 认为，小穗芦麻素是活性极高的生物碱，他们还从与受体结合的角度提出下列观点，即高活性化合物必须具备下列条件：1、有两个芳香环；2、给电性基团的取代促使分子有轻微的富电子性，3、有氮原子存在，且芳环平面与氮原子之间必须形成一种三角关系。

5. 菲并喹啉里西定型生物碱的生物活性及作用机理

5.1 菲并喹啉里西定型生物碱的生物活性

5.1.1 细胞毒活性

1948 年 de la Lande^[19]首先发现小穗芦麻素有很高的类似马钱子碱的生物活性。其后，Barnard^[21]的研究表明小穗芦麻素是细胞有丝分裂抑制剂，该结论由 Cleland^[78]的研究予以证实，同时 Cleland 还指出小穗芦麻素的作用机理与甘油一乙酸酯相似而与秋水仙素不同。1978 年，Hoffmann^[5]等人的研究表明小穗芦麻素能抑制鼻咽表皮样癌，其 ED₅₀ 为 10⁻⁵ μg/ml。

5.1.2 抗菌活性

前已述及（见第四部分）。

5.1.3 抗病毒活性

1972 年 Krmpotic 等人^[6]从 *Boehmeia cylindrica* 中分离得到了小穗苎麻素，并证明其能抑制疱疹病毒的生长。

5.2 菲并喹啉里西定型生物碱对蛋白质合成的抑制作用

5.2.1 作用方式

1971 年 Battaner 和 Vazquez^[79, 80]研究了小穗苎麻素抑制酵母菌核糖体中大亚基的作用，他们认为小穗苎麻素是 80s 核糖体上的蛋白质合成抑制剂，小穗苎麻素阻止酰化的 tRNA 与核糖体的结合，抑制肽转移酶中心，从而抑制肽键的形成，阻断蛋白质的合成。其后，Pestka 等人^[81]的研究证实小穗苎麻素能阻断肽基-嘌呤霉素的合成，从而抑制蛋白质的合成。Entner 和 Grollman^[82]在研究吐根碱及相关类似物的抗阿米巴活性实验中指出，小穗苎麻素没有抗阿米巴活性，却能抑制蛋白质的合成。Leibowitz^[83]1982 年报道，蛋白质合成抑制因子小穗苎麻素能杀死酵母菌中的细胞质内病毒是由于它们能抑制蛋白质的合成。

1973 年 Skogerson 等人^[84]采用对小穗苎麻素有抗性的酵母菌突变株为材料研究小穗苎麻素怎样阻断蛋白质合成，结果是小穗苎麻素阻止蛋白质合成过程中的延长反应。同年 Vazquez^[85]等研究了各种抗生素对人扁桃体中核糖体上蛋白质合成的影响后指出：小穗苎麻素与娃儿藤碱的作用一样都是抑制蛋白质合成过程中的移位，从而阻断肽键的形成。其后，Vazquez 等人^[86-88]在人扁桃体核糖体蛋白质合成的研究中发现小穗苎麻素抑制肽基-tRNA 从 A 位向 P 位的转移，并阻碍 EF-2•GTP 复合体与核糖体的结合，从而阻碍蛋白质的合成。1976 年，Buchner^[89, 90]证实小穗苎麻素是核糖体 40S 亚基抑制因子，抑制移位。1974 年 Grant 等人^[91]从酿酒酵母中分离得到对菲并喹啉里西定型生物碱有抗性的突变株，研究结果表明小穗苎麻素抑制蛋白质的合成主要是作用于核糖体 40s 亚基，同时他们认为此过程受单一的核基因控制。1977 年 Sanchez 等人^[92, 93]在研究小穗苎麻素在酿酒酵母中

的遗传和生物学特性中发现，抗小穗苎麻素的突变株是等位的，在特别情况下，多向性的表现型是 CRY1 部位表达的结果；同时，抗小穗苎麻素的突变株也能抗 tubulosine 与吐根碱，突变株是等位的，突变位点是 40s 核糖体的 CRY1 基因突变。

5.2.2 作用位点

1977 年，Gupta 和 Siminovitch^[94]首次采用中国仓鼠卵巢细胞系（Chinese hamster ovary cells）进行交叉-抗性实验证明娃儿藤碱、小穗苎麻素、吐根碱和 Tubulosine 对蛋白质合成的作用位点是一致的。同年，Vazquez 等人^[95]基于酵母菌核糖体的酶和非酶催化的移位研究指出，小穗苎麻素、吐根碱和 Tubulosine 不影响由 K⁺-诱导的非酶催化移位，同时指出，小穗苎麻素、吐根碱和 Tubulosine 的作用位点一致。1980 年，Dolz 等人^[96]采用 Trigo 等的合成方法合成了[14a-³H]小穗苎麻素，研究它的生物活性及在核糖体上的结合部位，以直接证据证明了小穗苎麻素的作用位点是核糖体 40S 亚基；[14a-³H]小穗苎麻素的高亲和性的单一位点位于 80s 和 40s 核糖体亚基，低亲和性的作用靶点位于 40s、60s、80s 或 70s 核糖体亚基，低亲和性位点是非专一性的，40s 亚基上的高亲和性位点能解释低浓度小穗苎麻素对蛋白质合成中的转移的抑制，与之对比，存在于 60s 核糖体上的多作用点对药物有低的亲和性能解释高浓度小穗苎麻素对肽键形成的抑制^[97]。

5.2.3 基因克隆

1983 年，Larkin 和 Woolford^[98]利用酵母菌 mat (mating type locus) 为探针，利用染色体步行技术分离到原型 CRY 抗性基因，并证明 CRY1 基因与编码核糖体蛋白 59 的基因相同，同时利用 intergration excision method 克隆了隐性基因 CRYR1。次年，Himmelfarb 等人^[99]从酿酒酵母中也克隆得到了 CRY1 基因，并证明 CRY1 就是 RP59 基因，他们还对其生物合成的调节进行了研究。1993 年，Paulovich 等人^[100]的研究表明 CRY1 基因编码核糖体 40S 亚基的 rp59 蛋白从而导致酵母菌的蛋白质合成对小穗苎麻素敏感。

6. 结论

菲并喹喏里西定型生物碱特别是小穗苎麻素有广泛的生物活性，抗肿瘤活性显著，但是由于小穗苎麻素自身的不稳定导致未能得到更好的开发与应用。最近，我们^[101, 102]从蓼科苎麻属植物束序苎麻（*Boehmeria siamensis* Craib, Urticaceae）中分离得到了小穗苎麻素的异构体即，3,6,7-三甲氧基-11,12,13,14,14a,15-六氢-9H-菲[9,10-b]并喹喏里西定（束序苎麻 A），该生物碱显示强烈的体外抗肿瘤活性，并能诱导乳腺癌细胞向脂肪细胞分化；同样，我们在实验中也发现束序苎麻 A 不稳定，即在自然光照射下也会发生变化；同时动物实验表明束序苎麻 A 有神经毒性。如果能够解决该类化合物的稳定性，同时不丧失活性或者提高活性，降低毒性，此类生物碱可以作为有良好应用前景的抗肿瘤药物开发。

参考文献

1. 中国科学院植物研究所主编. 中国高等植物图鉴补编第一册. 1982年12月第一版, 1995年3月第四次印刷. 北京: 科学出版社, 1992. 203-204
2. 《全国中草药汇编》编写组编. 全国中草药汇编(下册). 1978年4月第一版第一次印刷, 1988年2月第一版第二次印刷. 北京: 人民卫生出版社, 1988. 731
3. 云南省药材公司编. 云南中药资源名录. 1993年9月第一版第一次印刷. 北京: 科学出版社, 1993. 82
4. Al-Shamma, A., Drake, S. D., Guagliardi, L. E., Mitscher, L. A. and Swayze, J. K.. Antimicrobial alkaloids from *Boehmeria cylindrical*. *Phytochemistry*, 1982 (21): 485-487
5. Hoffmann, J. J., Luzbetak, D. J., Torrance, S. J. and Cole, J. R.. Cryptopleurine, cytotoxic agent from *Boehmeria caudate* (Urticaceae) and *Cryptocarya laevigata* (Lauraceae). *Phytochemistry*, 1978 (17): 1448
6. Krmpotic, E., Farnsworth, N. R. and Messmer, W. M.. Cryptopleurine, an active antiviral alkaloid from *Boehmeria cylindrica* (Urticaceae). *J. Pharm. Sci.*, 1972 (61): 1508-1509
7. Lin, C. C., Yen, M. H., Lo, T. S. and Lin C. F.. The anti-inflammatory and liver protective effects of *Boehmeria nivea* and *B. nivea* subsp. *nippononivea* in rats. *Phytomedicine*, 1997 (4): 301-308
8. Takemoto, T., Miyase, T., Kusano, G. Boehmenan, a new ligan from the roots of *Boehmeria tricuspidata*. *Phytochemistry*, 1975 (14): 1890-1891
9. Takemoto, T., Miyase, T., Kusano, G.. Flavones and other compounds of *Boehmeria tricuspidata* and *B. holosericea*. *Phytochemistry*, 1975 (14): 2534
10. Talapatra, B., Mallik, A. K. and Talapatra, S. K.. Terpenoid constituents of *Boehmeria platyphilla* Don.: Sodium borohydride reduction of 5 α -stigmastan-3, 6-dione. *J. Indian Chem. Soc.*, 1981 (58): 815-817
11. Matsuura, S. and Lee, L. T.. Studies on the components of *Boehmeria* sp. II. Studies on the components of the roots of *Boehmeria frutescens* Thunb. var. *frutescens*.

- Yakugaku Zasshi*, 1974 (94): 150-152
12. Takemoto, T. and Miyase, T.. Studies on the constituents of *Boehmeria tricuspis* Makino. I. *Yakugaku Zasshi*, 1974 (94): 1597-1602
13. Farnsworth, N. R., Hart, N. K., Johns, S. R. and Lamberton, J. A.. Alkaloids of *Boehmeria cylindrical* (Family Urticaceae): Identification of a cytotoxic agent, highly active against eagle's 9KB carcinoma of the nasopharynx in cell culture, as cryptopleurine. *Aust. J. Chem.*, 1969 (22): 1805-1807
14. Hart, N. K., Johns, S. R. and Lamberton, J. A.. Minor alkaloids of *Boehmeria platyphylla* Don. (Family Urticaceae) II: Isolation of cryptopleurine and a new seco-phenanthroquinolizidine alkaloid. *Aust. J. Chem.*, 1968 (21): 2579-2581
15. Hart, N. K., Johns, S. R. and Lamberton, J. A.. 3,4-Dimethoxy- ω -(2'-piperidyl)-acetophenone, a new alkaloid from *Boehmeria platyphylla* Don. (Family Urticaceae). *Aust. J. Chem.*, 1968 (21): 1397-1398
16. Luo, Y. G., Li, B. G. and Zhang, G. L.. A new quinolizidine alkaloid from *Boehmeria siamensis*. *Chin. Chem. Lett.*, 2001 (12): 337-338
17. Bohlman, F.. Zur Konfigurationsbestimmung von Chinolizidin-Derivaten (On the determination of configurations of quinolizidine derivatives). *Chem. Ber.*, 1958 (91): 2157-2167
18. Saifah, E., Kelley, C. J. and Leary, J. D.. Constituents of the leaves of *Cissus rheifolia*. *J. Nat. Prod.*, 1983 (46): 353-358
19. de la Lande, I. S.. The alkaloids of *Cryptocarya pleurosperma*. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1948 (26): 181-187
20. Ali, M. and Bhutani, K. K.. Alihirsutine A, a new phenanthroquinolizidine alkaloid from *Tylophora hirsute*. *Fitoterapia*, 1992 (63): 243-4
21. Barnard, C.. The c-mitotic activity of cryptopleurine. *Aust. J. Sci.*, 1949 (12): 30-31
22. Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monk, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M. R.. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug-screening. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990 (82): 1107-1112
23. Rubinstein, L. V., Shoemaker, R. H., Paull, K. D., Simon, R. M., Tosini, S., Skehan,

- P., Scudiero, D. A., Monk, A. and Boyd, M. R.. Comparison of *in vitro* anticancer-drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1990 (82): 1113-1118
24. Foldeak, S.. Synthesis of analogues of cryptopleurine. *Tetrahedron*, 1971 (27): 3465-3476
25. Hegyes, P., Foldeak, S. and Feher, L.. Investigation of phenanthroquinolizidine analogues. *Arzneim.-Forsch.*, 1985 (35): 1758-1759
26. Mukerjee, Y. N., Gaur, S. P., Jain, P. C. and Anand, N.. Synthesis of naphthoquinolizidines—analogs of cryptopleurine. *Indian J. Chem., Sect. B*, 1985 (24B): 985-987
27. Sollhuber, M., Grande, M. T., Trigo, G. G. and Vaquez, D.. Structure-activity relationships between cryptopleurine and related compounds acting on yeast cell-free system. *Curr. Microbiol.*, 1980 (4): 81-84
28. Gupta, R. S., Krepinsky, J. J. and Siminovitch, L.. Structural determinants responsible for the biological activity of (-)-emetine, (-)-cryptopleurine, and (-)-tylocrebrine: Structure-activity relationship among related compounds. *Mol. Pharmacol.*, 1980 (18): 136-143
29. Bradsher, C. K. and Berger, H.. Aromatic cyclodehydration. XXXVI. The synthesis of (\pm)-cryptopleurine. *J. Am. Chem. Soc.*, 1958 (80): 930-932
30. Lebrun, S., Couture, A., Deniau, E. and Grandclaudon, P.. Total synthesis of (\pm)-cryptopleurine, (\pm)-antofine and (\pm)-deoxyp ergularinine. *Tetrahedron*, 1999 (55): 2659-2670
31. Joseph, B., Darro, F., Béhard, A., Lesur, B., Collignon, F., Decaestecker, C., Frydman, A., Guillaumet, G. and Kiss, R.. 3-Aryl-2-quinolone derivatives: Synthesis and characterization of *in vitro* and *in vivo* antitumor effects with emphasis on a new therapeutical target connected with cell migration. *J. Med. Chem.*, 2002 (45): 2543-2555
32. De Vita, R. J., Hollings, D. D., Goulet, M. T., Wyvratt, M. J., Fisher, M. H., Lo, J-L.,

- Yang, Y. T., Cheng, K. and Smith, R. G.. Identification and initial structure-activity relationships of a novel non-peptide quinolone GnRH receptor antagonist. *Bio. Med. Chem. Lett.*, 1999 (9): 2615-2620
33. De Vita, R. J., Goulet, M. T., Wyvatt, M. J., Fisher, M. H., Lo, J-L., Yang, Y. T., Cheng, K. and Smith, R. G.. Investigation of the 4-O-alkylamine substituent of non-peptide quinolone GnRH receptor antagonist. *Bio. Med. Chem. Lett.*, 1999 (9): 2621-2624
34. Blackburn, T. P., Cox, B., Guildford, A. J., Le Count, D. J., Middlemiss, D. N., Pearce, R. J. and Thornber, C. W.. Synthesis and 5-hydroxytryptamine antagonist activity of 2-[[2-(Dimethylamino)ethyl]thio]-3-phenylquinoline and its analogues. *J. Med. Chem.*, 1987 (30): 2252-2259
35. Bremmer, M. L., Khatri, N. A. and Weinreb, S. M.. Quinolizidine alkaloid synthesis via the intramolecular imino Diels-Alder reaction. *epi-Lupinine and Cryptopleurine*. *J. Org. Chem.*, 1983 (48): 3661-3666
36. 黄惟德, 陈常庆. 多肽合成. 1985 年 9 月第一版, 1985 年 9 月第一次印刷. 北京: 科学出版社, 1985. 103-105
37. Trigo, G. G., Gálvez, E. and Söllhuber, M. M.. Contribution to the synthesis of (\pm)-cryptopleurine and related phenanthroquinolizidines. *J. Heterocyclic Chem.*, 1980 (17): 69-72
38. Marchini, P. and Belleau, B.. The synthesis of cryptopleurine and related phenanthroquinolizidines. *Can. J. Chem.*, 1958 (36): 581-588
39. Huang, M. L.. A simple modification of the Wolff-Kishner reduction. *J. Am. Chem. Soc.*, 1946 (68): 2487-2488
40. Hanaoka, M., Yoshida, S. and Mukai, C.. Chemical transformation of protoberberines. XV. A novel and efficient method for the introduction of alkyl groups on the C-13 position in the protoberberine skeleton. *Chem. Pharm. Bull.*, 1989 (37): 3264-3267
41. Hibino, J., Okazoe, T., Takai, K. and Nozaki, H.. Carbonyl methylenation of easily enolizable ketones. *Tetrahedron Lett.*, 1985 (26): 5579-5580

42. Tour, J. M., Bedworth, P. V. and Wu, R. L.. A zirconium-promoted methylenation of aldehydes, ketones, and enones. *Tetrahedron Lett.*, 1989 (30): 3927-3930
43. McMurry, J. E.. Carbonyl-coupling reaction using low-valent titanium. *Chem. Rev.*, 1989 (89): 1513-1524
44. Utley, J. H. P. and Ling-Chung, S. K.. Electroorganic reactions, part 47. The cathodic hydrogenation of azafluoren-9-ylidine probases. *Electrochimica Acta*, 1997 (42): 2109-2115
45. Meerwein, H.. Triethyloxonium fluoborate. *Org. Synth.*, 1973, Coll. Vol.5, 1080
46. 李述文, 范如霖. 实用有机化学手册. 1981 年 12 月第一版, 1981 年 12 月第一次印刷. 上海: 上海科学技术出版社, 1981. 433
47. Saxton, J. E.. Quinolizidine alkaloids. *Alkaloids* (London), 1971 (1): 55-58
48. Wolfgang, W.. Phenanthroindolizidine Alkaloids. *Pharm. Ztg.*, 1972 (117): 1509-1515
49. Bick, I. R. C. and Sinchai, W.. Phenanthroindolizidine and phenanthroquinolizidine alkaloids. *Alkaloids* (N. Y.), 1981 (19): 193-220
50. Gupta, R. S.. Emetine, Cryptopleurine, tylocrebrine and other functionally related alkaloids. *Antibiotics* (N. Y.), 1983 (6): 46-70
51. Gupta, R. S.. Emetine, cryptopleurine, tylocrebrine, and related protein synthesis inhibitors. *Drug Resist. Mamm. Cells*, 1989 (2): 175-186
52. Li, Z. G., Jin, Z. and Huang, R. Q.. Isolation, total synthesis and biological activity of phenanthroindolizidine and phenanthroquinolizidine alkaloids. *Synthesis*, 2001 (16): 2365-237
53. Johns, S. R., Lamberton, J. A., Sioumis, A. A. and Willing, R. I.. New alkaloids from *Cryptocarya pleurosperma*; structures of cryptopleuridine and cryptopleuospermine. *Aust. J. Chem.*, 1970 (23): 353-355
54. Gellert, E. and Riggs, N. V.. Cryptopleurine: An alkaloid of *Cryptocarya pleurosperma*. *Aust. J. Chem.*, 1954 (7): 113-120
55. Fridrichsons, J. and Mathieson, A. M.. Structure of a derivative of cryptopleurine. *Nature*, 1954 (173): 4406-4407

56. Gellert, E.. The Hofmann degradation of some quinolizidine alkaloids. *Chemistry & Industry*, 1955: 983-984
57. Gellert, E.. The structure of cryptopleurine and hofmann degradation of some quinolizidine alkaloids. *Aust. J. Chem.*, 1956 (9): 489-496
58. Foldeak, S. and Hegyes, P.. Conformational analysis of phenanthroquinolizidine. *Acta Phys. Chem.*, 1974 (20): 111-113
59. Gellert, E., Rudzats, R., Craig, J. C., Roy, S. and Woodard, R. W.. The absolute configuration of cryptopleurine and tylocrebrine. *Aust. J. Chem.*, 1978 (31): 2095-2097
60. Kozma, L., Foldeak, S., Molnar, M., Farkas, E. and Hegyes, P.. Spectral-fluoresce studies of the photodisintegration of organic substances. *Zh. Prikl. Spektrosk.*, 1979 (30): 281-286
61. Bradsher, C. K. and Berger, H.. Synthesis of (\pm)-cryptoleurine. *J. Am. Chem. Soc.*, 1957 (79): 3287-3288
62. Bradsher, C. K. and Desai, R. B.. Synthesis of some analogs of cryptopleurine. *Rec. Trac. Chim.*, 1964 (83): 593-596
63. Iwao, M., Watanabe, M., de Silva, S. O. and Snieckus, V.. Directed metallation of tertiary benzamides. Abbreviated syntheses of phenanthro-quinolinizidine and -indolizidine alkaloids. *Tetrahedron Lett.*, 1981 (22): 2349-2352
64. Iwao, M., Mahalanabis, K. K., Watanabe, M., de Silva, S. O. and Snieckus, V.. Directed ortho metallation of tertiary aromatic amides. A new N-heteroring annelation method and synthesis of phenanthro-quinolizidine and -indolizidine alkaloids. *Tetrahedron*, 1983 (39): 1955-1962
65. Bremmer, M. L.. The total synthesis of slaframine, epi-lupinine, and cryptopleurine via the intramolecular imino Diels-Alder reaction. *Diss. Abstr. Int. B*, 1984 (45): 1776
66. Buckley III, T. F. and Rapoport, H.. α -Amino acids as chiral educts for asymmetric products. Chirally specific syntheses of tylophorine and cryptopleurine. *J. Org. Chem.*, 1983 (48): 4222-4232

67. Grieco, P. A. and Parker, D. T.. Quinolizidine synthesis via intramolecular immonium ion based Diels-Alder reaction: Total syntheses of (\pm)-lupinine, (\pm)-epilupinine, (\pm)-cryptopleurine, and (\pm)-julandine. *J. Org. Chem.*, 1988 (53): 3325-3330
68. Westphal, O., Jann, K. and Heffe, W.. Eine neue Synthese des Chinolizid-Ringsystems. *Arch. Pharm.*, 1961 (294): 37-45
69. Paton, J. M., Pauson, P. L. and Stevens, T. S.. Cryptopleurine, a synthesis based on biogenetic considerations. *J. Chem. Soc. (C)*, 1969 (10): 1309-1314
70. Kotani, E., Kitazawa, M. and Tobinaga, S.. A new synthesis of the alkaloid (\pm)-cryptopleurine via anodic oxidation. *Tetrahedron*, 1974 (30): 3027-3030
71. Herbert, R. B.. An economical synthesis of the alkaloids, 3,4-dimethoxy- ω -(2-piperid-yl)-acetophenone, julandine, and cryptopleurine. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, 1978 (18): 794-795
72. Herbert, R. B., Knagg, E., Organ, H. M., Pasupathy, V. and Towlson, D. S.. A biogenetically patterned synthesis of deoxycryptopleurine. *Heterocycles*, 1987 (25): 409-418
73. Iida, H. and Kibayashi, C.. Synthesis of (\pm)-julandine and (\pm)-cryptopleurine. *Tetrahedron Lett.*, 1981 (22): 1913-1914
74. Iida, H., Watanabe, Y., Tanaka, M. and Kibayashi, C.. General synthesis of phenanthroindolizidine, phenanthroquinolizidine, and related alkaloids: Preparation of (\pm)-tylophorine, (\pm)-cryptopleurine, (\pm)-septicine, and (\pm)-julandine. *J. Org. Chem.*, 1984 (49): 2412-2418
75. Murase, M., Kotani, E., Okazaki, K. and Tobinaga, S.. Application of iron (III) complexes, Tris(2,2'-bipyridyl)iron (III) perchlorate and some iron (III) solvates, for oxidative aryl-aryl coupling reactions. *Chem. Pharm. Bull.*, 1986 (34): 3159-3165
76. Suzuki, H., Aoyagi, S. and Kibayashi, C.. Enantioselective synthesis of (R)-(-)-cryptopleurine. *Tetrahedron Lett.*, 1995 (36): 935-936
77. Suzuki, H., Aoyagi, S. and Kibayashi, C.. Asymmetric total synthesis of (R)-(-)-cryptopleurine and (R)-(-)-julandine via highly enantioselective amidoalkylations

- with N-acylhydrazone salts. *J. Org. Chem.*, 1995 (60): 6114-6122
78. Cleland, K. W.. Effect of cryptopleurine on cell division. *Aust. J. Sci.*, 1950 (12): 144-145
79. Battaner, E. and Vazquez, D.. Inhibitors of protein synthesis by ribosomes of the 80-S type. *Biochim. Biophys. Acta*, 1971 (254): 316-330
80. Battaner, E. and Vazquez, D.. Subunit and site of action of some inhibitors acting on 80S type ribosomes. *Advan. Antimicrob. Antineoplastic Chemother., Proc. Int. Congr. Chemother.*, 7th 1971 (Pub. 1972), 1 (Pt. 2), 801-802
81. Pestka, S., Rosenfeld, H., Harris, R. and Hintikka, H.. Studies on transfer ribonucleic acid-ribosome complexes XXI. Effect of antibiotics on peptidyl-puromycin synthesis by mammalian polyribosomes. *J. Biol. Chem.*, 1972 (247): 6895-6900
82. Entner, N. and Grollman, A. P.. Inhibition of protein synthesis: A mechanism of amebicide action of emetine and other structurally related compounds. *J. Protozool.*, 1973 (20): 160-163
83. Leibowitz, M. J.. Role of protein synthesis in the replication of the killer virus of yeast. *Curr. Genet.*, 1982 (5): 161-163
84. Skogerson, L., McLaughlin, C. and Wakatama, E.. Modification of ribosomes in cryptopleurine-resistant mutants of yeast. *J. Bacteriol.*, 1973 (116): 818-822
85. Vazquez, D., Barbacid, M. and Carrasco, L.. Inhibitors of mammalian protein synthesis. *Mod. Trends Hum. Leuk.*, [workshop], 1973 (Pub. 1974), 327-340
86. Vazquez, D., Barbacid, M. and Carrasco, L.. Inhibitors of mammalian protein synthesis. *Haematol. Bluttransfus.*, 1974 (14): 327-340
87. Barbacid, M., Fresno, M. and Vazquez, D.. Inhibitors of polypeptide elongation on yeast polysomes. *J. Antibiot.*, 1975 (28): 453-462
88. Carrasco, L., Fernandez-Puentes, C. and Vazquez, D.. Antibiotics and compounds affecting translation by eukaryotic ribosomes. Specific enhancement of aminoacyl-tRNA binding by methylxanthines. *Mol. Cell. Biochem.*, 1976 (10): 97-122

89. Buchner, K.. Cryptopleurine: A 40S ribosomal subunit inhibitor of translocation.
Diss. Abst. Int. B, 1976 (37): 2816
90. Buchner, K. and Skogerson, L.. Cryptopleurine—an inhibitor of translocation.
Biochemistry, 1976 (15): 4755-4759
91. Grant, P., Sánchez, L. and Jiménez, A.. Cryptopleurine resistance: Genetic locus for a 40S ribosomal component in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, 1974 (120): 1308-1314
92. Sanchez, L., Vazquez, D. and Jimenez, A.. Genetics and biochemistry of cryptopleurine resistance in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, 1977 (156): 319-326
93. Sanchez, L.. Study of *Saccharomyces cerevisiae* mutants altered in protein synthesis.
Ser. Univ.-Fund., 1977 (44): 49
94. Gupta, R. S. and Siminovitch, L.. Mutants of CHO cells resistant to the protein synthesis inhibitors, cryptopleurine and tylocrebrine: Genetic and biochemical evidence for common site of action of emetine, cryptopleurine, tylocrebrine, and tubulosine. *Biochemistry*, 1977 (16): 3209-3214
95. Jimenez, A., Carrasco, L. and Vazquez, D.. Enzymic and nonenzymic translocation by yeast polysomes. Site of action of a number of inhibitors. *Biochemistry*, 1977 (16): 4727-4730
96. Dölz, H., Söllhuber, M., Trigo, G. G., Vázquez, D. and Jiménez, A.. Synthesis and biological activity of [14a-³H] cryptopleurine. *Anal. Biochem.*, 1980 (108): 215-219
97. Dölz, H., Vázquez, D. and Jiménez, A.. Quantitation of the specific interaction of [14a-³H] cryptopleurine with 80S and 40S ribosomal species from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemistry*, 1982 (21): 3181-3187
98. Larkin, J. C. and Woolford, Jr, J. L.. Molecular cloning and analysis of the CRY1 gene: A yeast ribosomal protein gene. *Nucleic Acids Res.*, 1983 (11): 403-420
99. Himmelfarb, H. J., Vassarotti, A. and Friesen, J. D.. Molecular cloning and biosynthetic regulation of the CRY1 gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, 1984 (195): 500-506

100. Paulovich, A. G., Ryan Thompson, J., Larkin, J. C., Li, Z. and Woolford, Jr, J. L.. Molecular genetics of cryptopleurine resistance in *Saccharomyces cerevisiae*: Expression of a ribosomal protein gene family. *Genetics*, 1993 (135): 719-730
101. 罗应刚, 刘燕, 田雅娟, 高小平, 顾建, 周敏, 李伯刚, 张国林. 新型抗肿瘤植物提取物、其提取方法及其类似物. 申请号: 02133304.1, 申请日: 2002 年 6 月 18 日
102. Luo, Y. G., Liu, Y., Luo, D. X., Gao, X. P., Li, B. G. and Zhang, G. L.. Cytotoxic alkaloids from *Boehmeria siamensis* Craib. *Planta Med.*, in press

附图

HREIMS of Compound 1

Elemental Composition

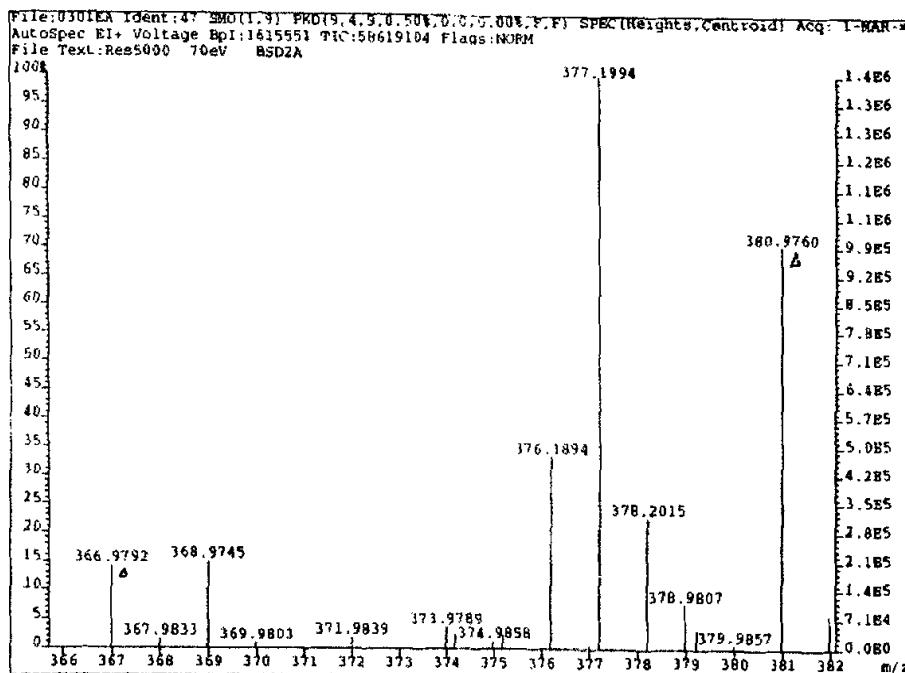
Date : 1-MAR-2002

File:0301PA Ident:47 SMD(1,9) PKD(9,4,9,0.50%,0,0,0.00%,F,F)
 AutoSpec EI+ Voltage Bpi:1615551 TIC:58619104 Flags:NORM

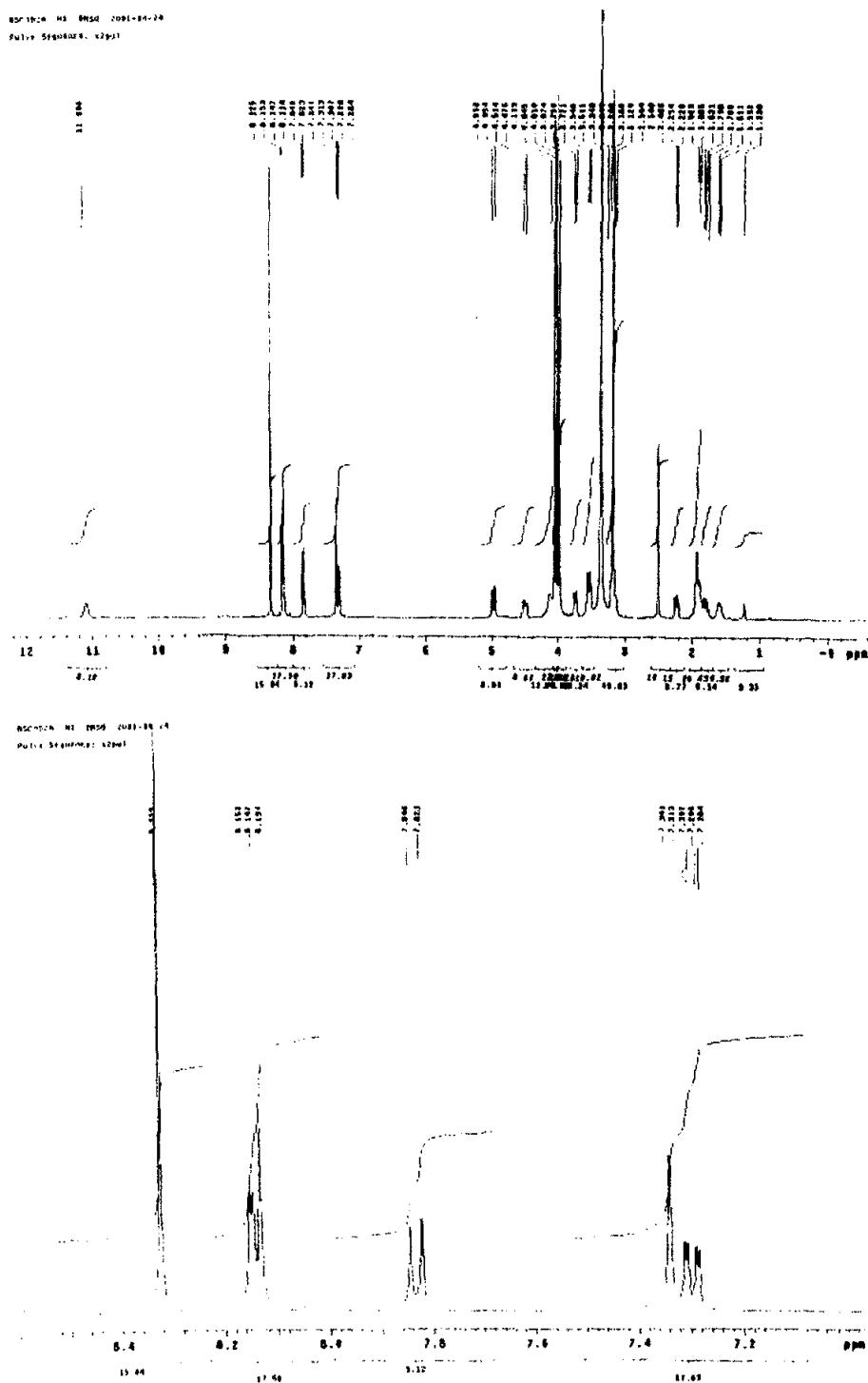
File Text:Res5000 70eV BSD2A

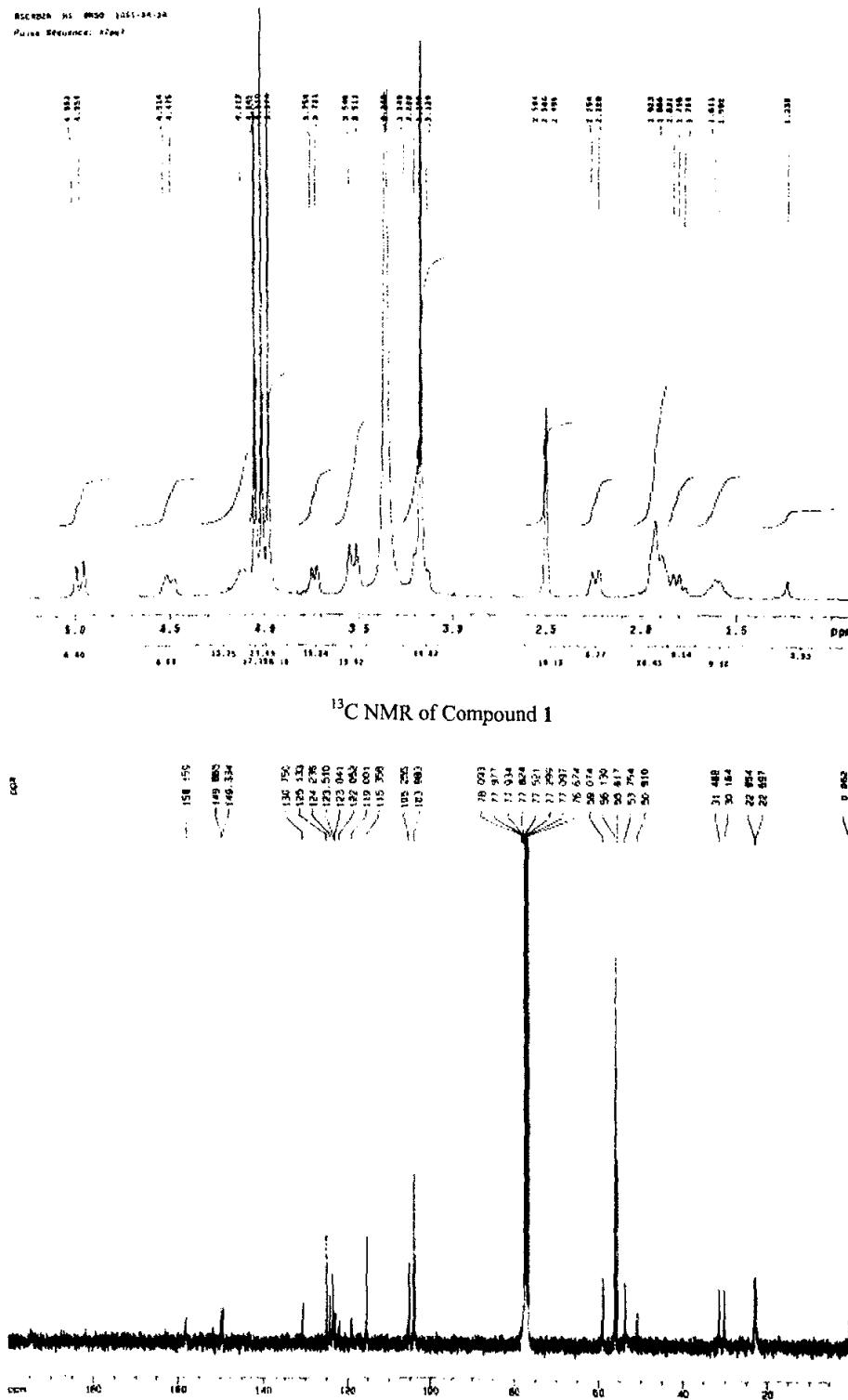
Heteroatom Max: 60 Ion: Both Even and Odd
 Limits:

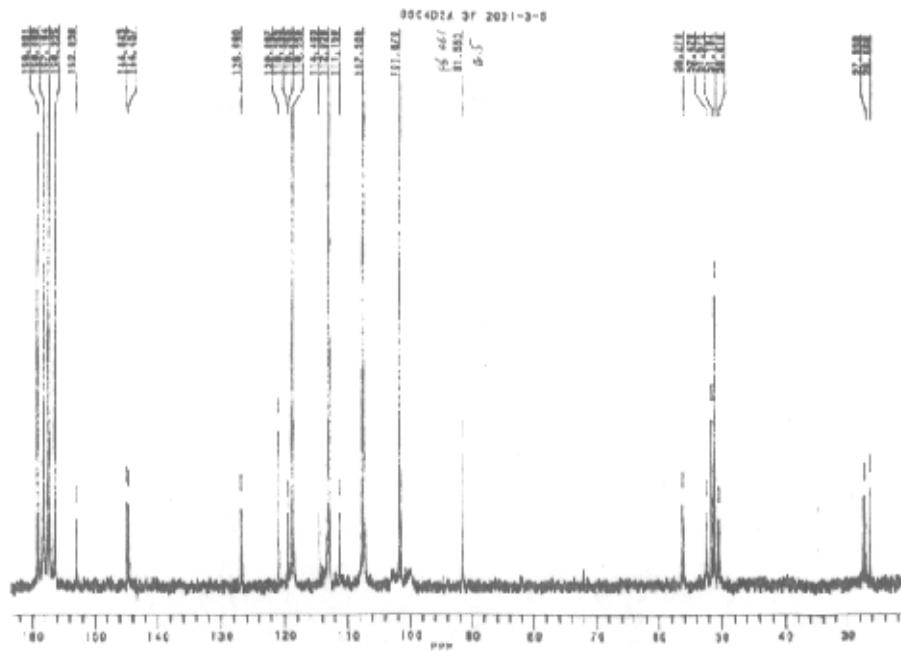
			-0.5	0	0	0	0	
Mass	mDa	PPM	Calc. Mass	DBE	C	H	N	O
377.199440	10.0		377.199094	12.0	24	27	1	3
	-0.3	-0.9	377.190541	16.5	28	25		1



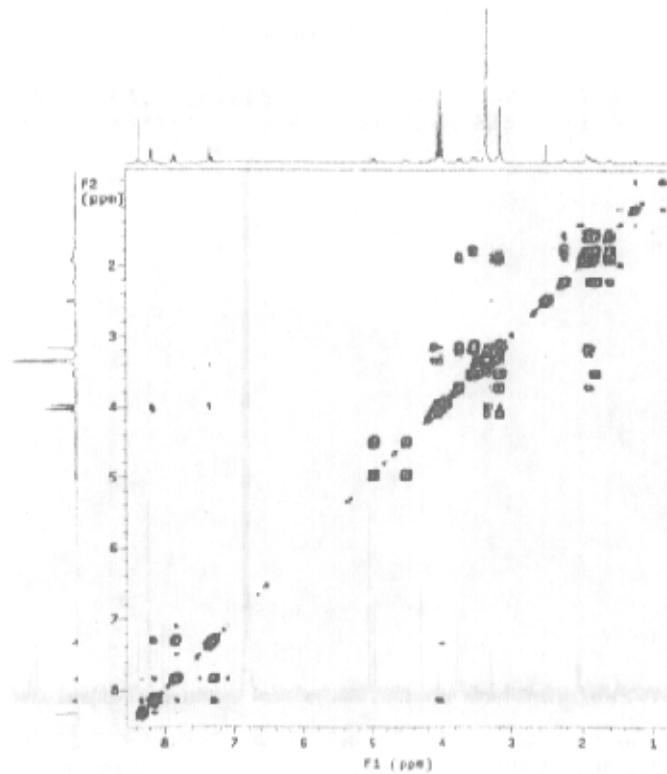
¹H NMR of Compound 1

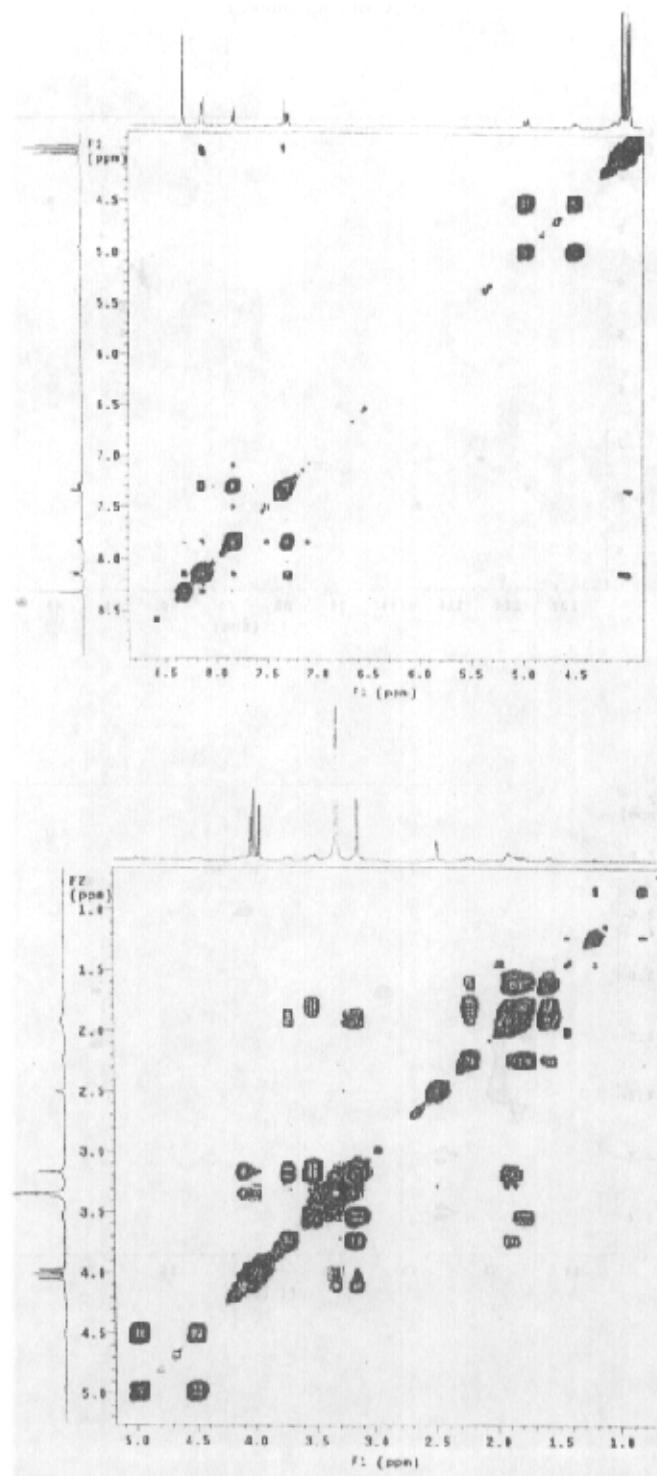




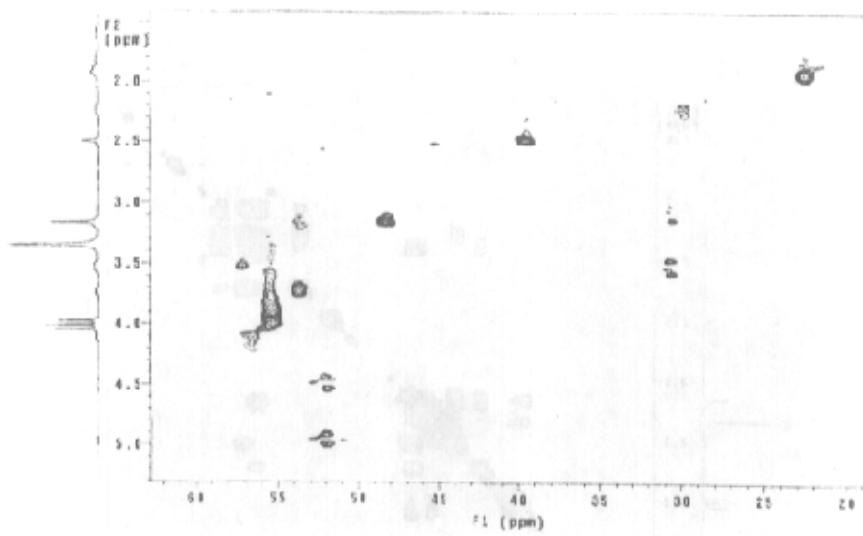
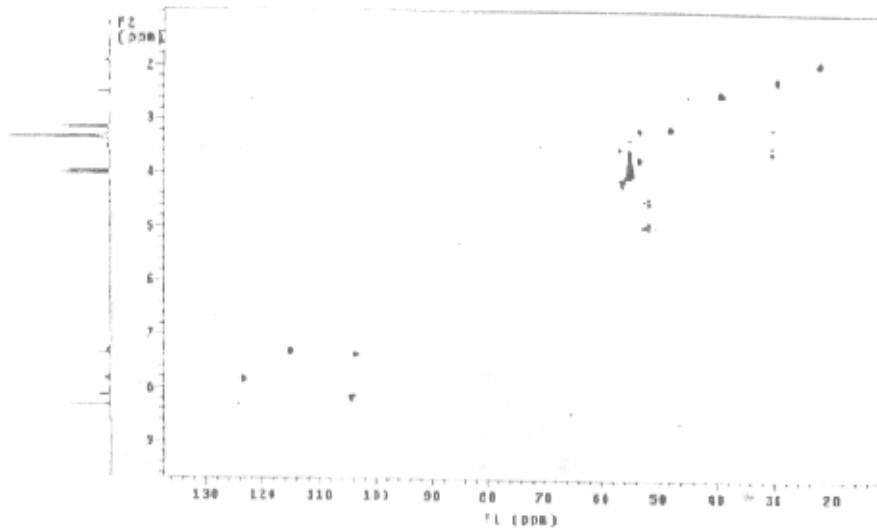


¹H-¹H COSY of Compound 1

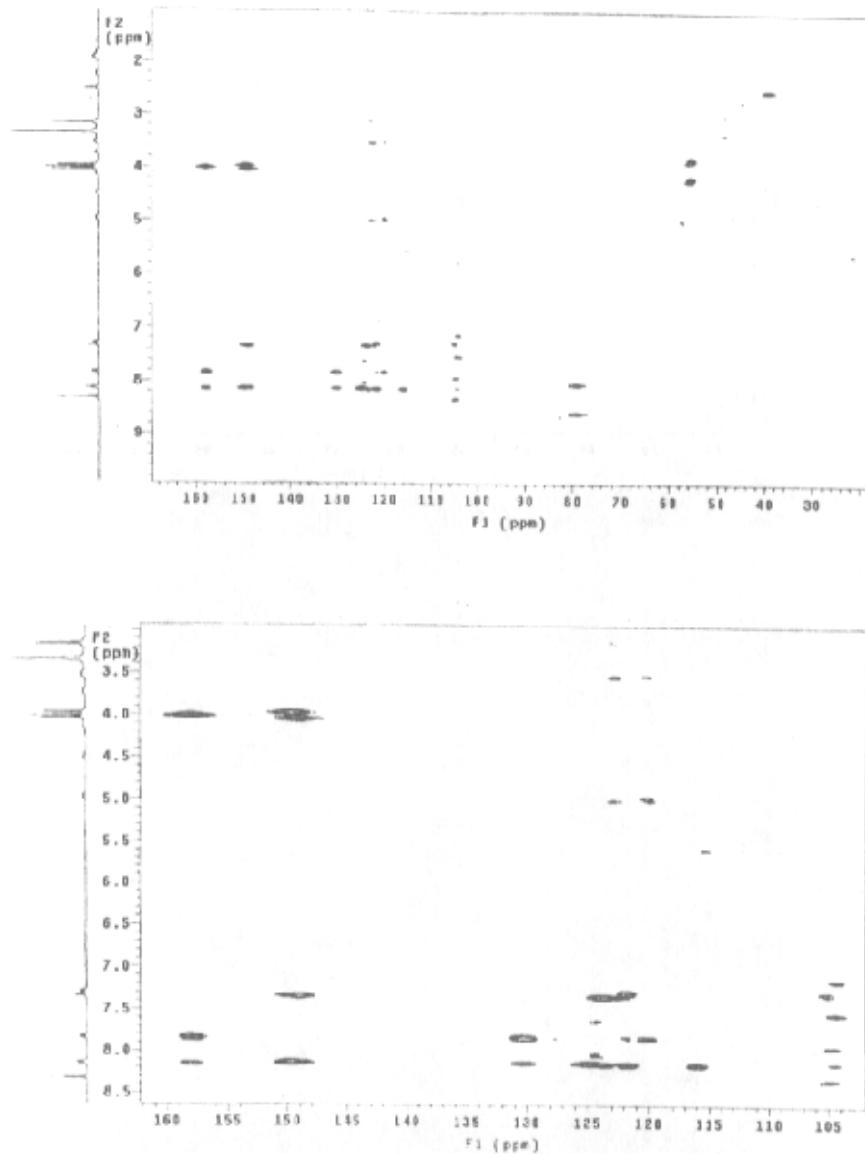


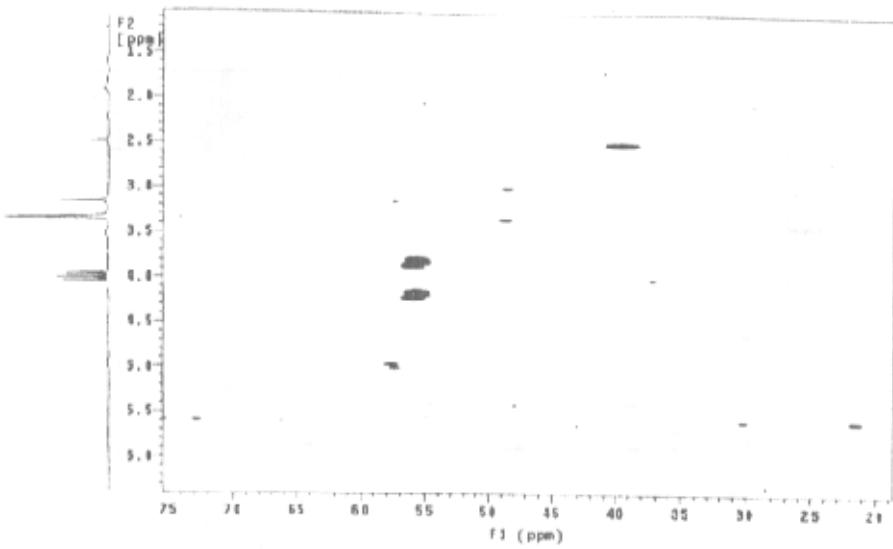


HMQC of Compound 1



HMBC of Compound 1





HREIMS of Compound 2

Elemental Composition

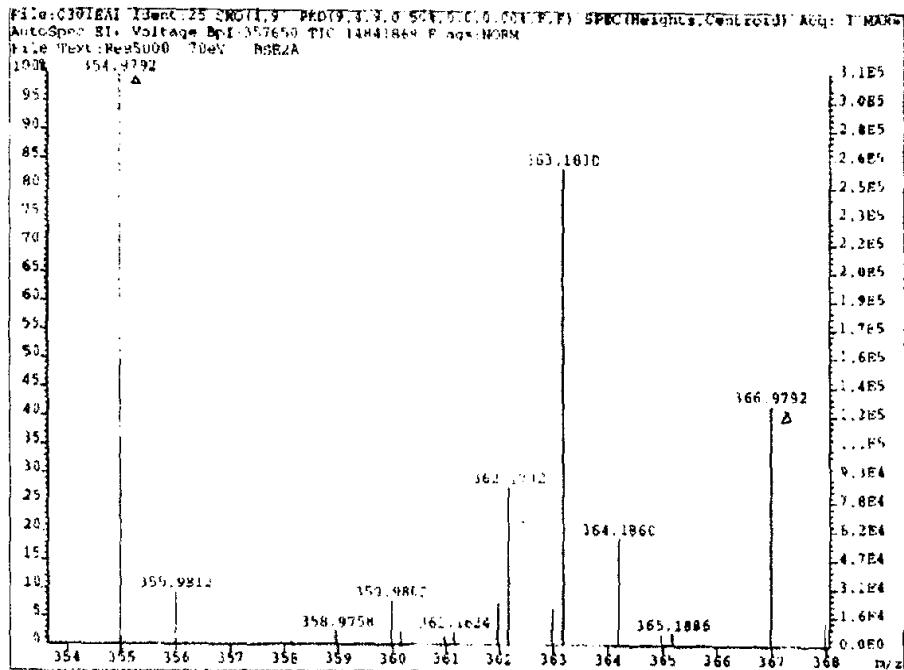
Date : 1-MAR-2002

File:0301EAI Ident:25 SMD(1,9) PKD(9,4,9,0.50%,0.0,0.00%,F,F)
 AutoSpec EI+ Voltage BPI:357650 TIC:14841869 Flags:NORM

File Text:Res5000 70eV BSE2A

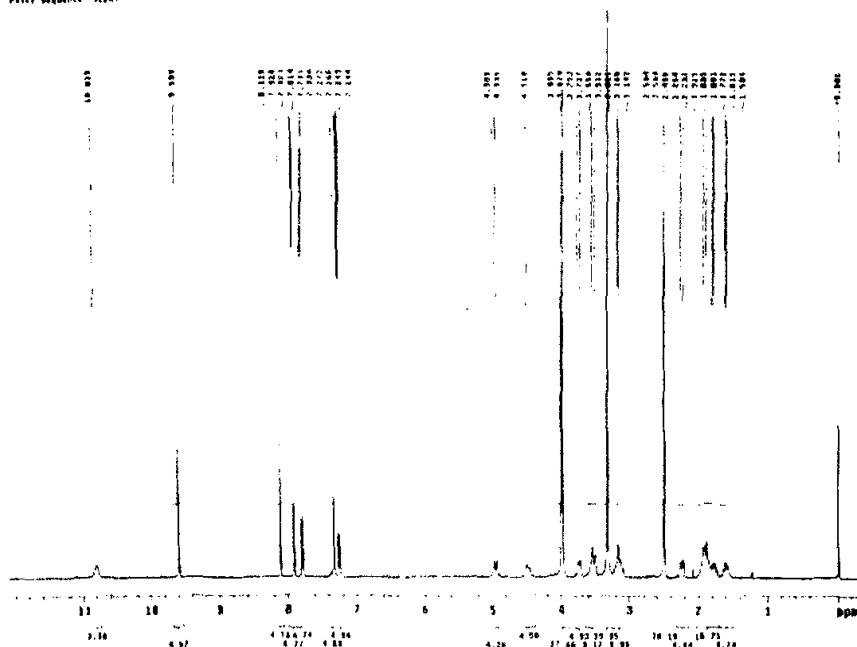
Heteroatom Max: 60 Ion: Both Even and Odd
 Limits:

			-0.5	0	0	0	0	
Mass	mDa	PPM	Calc. Mass	DBE	C	H	N	O
363.182991	10.0			30.0	200	400	1	5
363.182991	0.5	1.2	363.183444	12.0	23	25	1	3
	-8.1	-22.3	363.174891	16.5	27	23		1

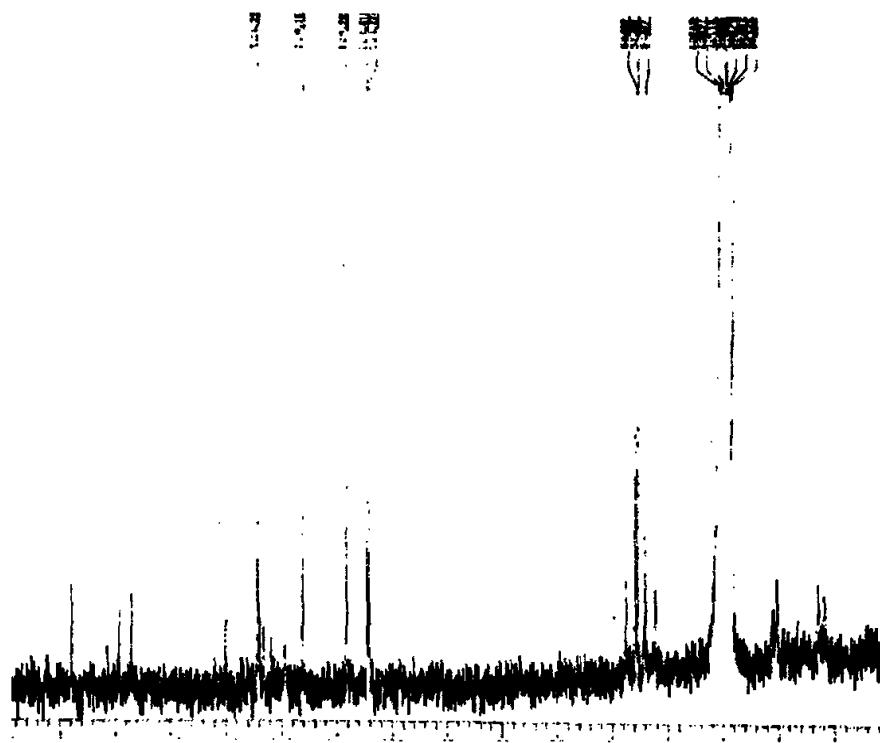


¹H NMR of Compound 2

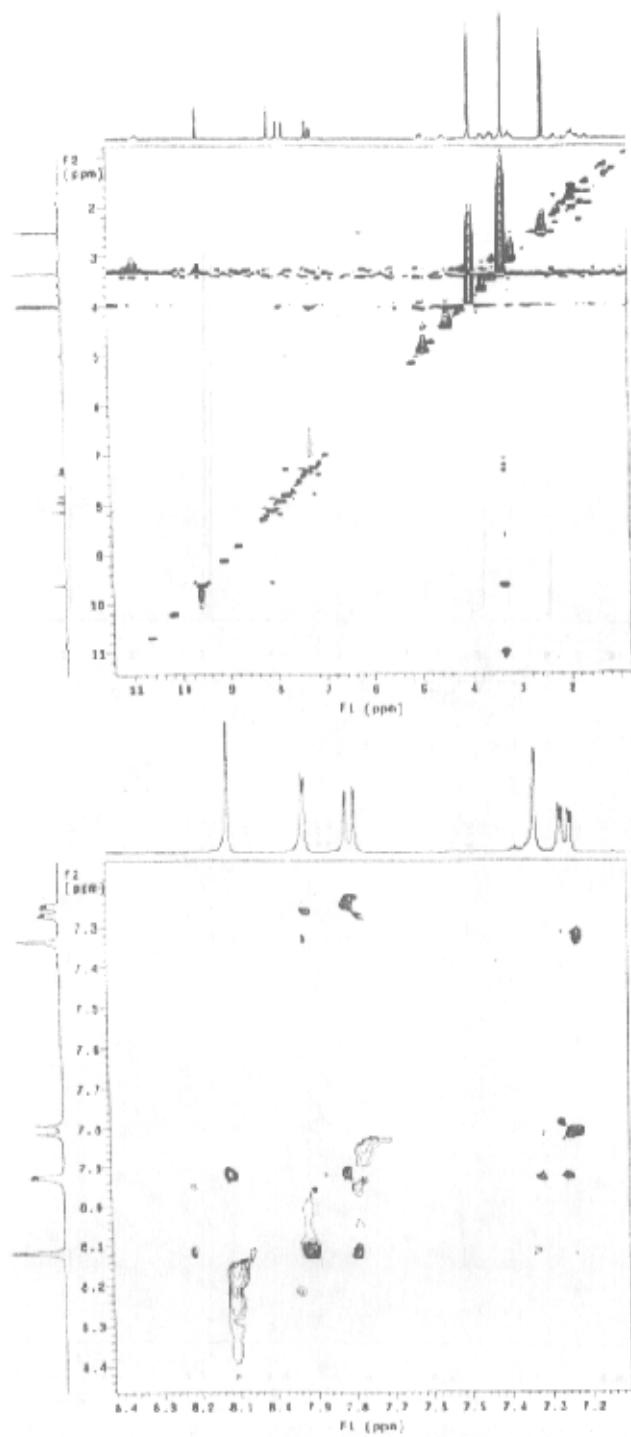
HSCT2a-DESHD1-2401-4-7a
Pulse Sequence: Slab1



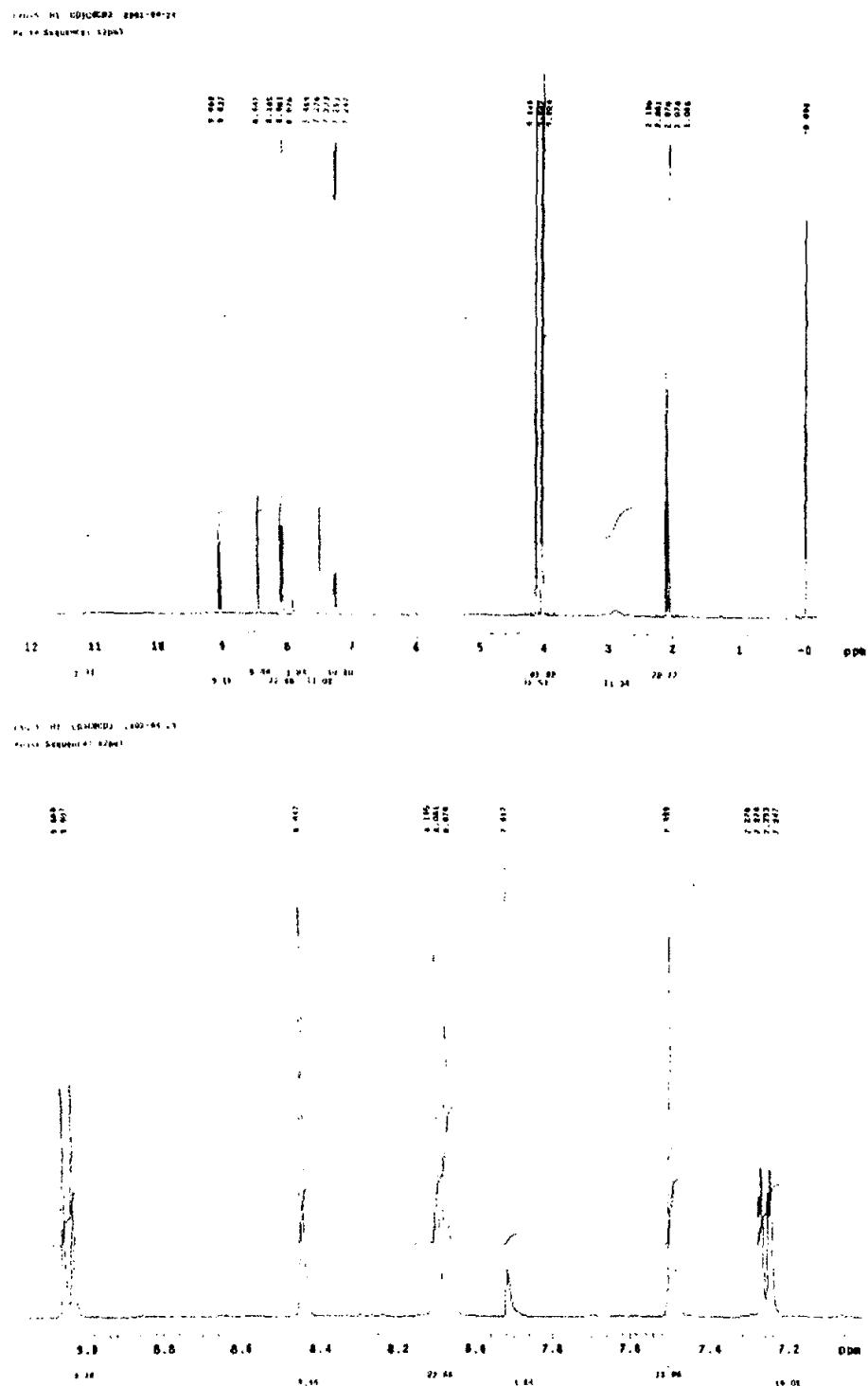
¹³C NMR of Compound 2



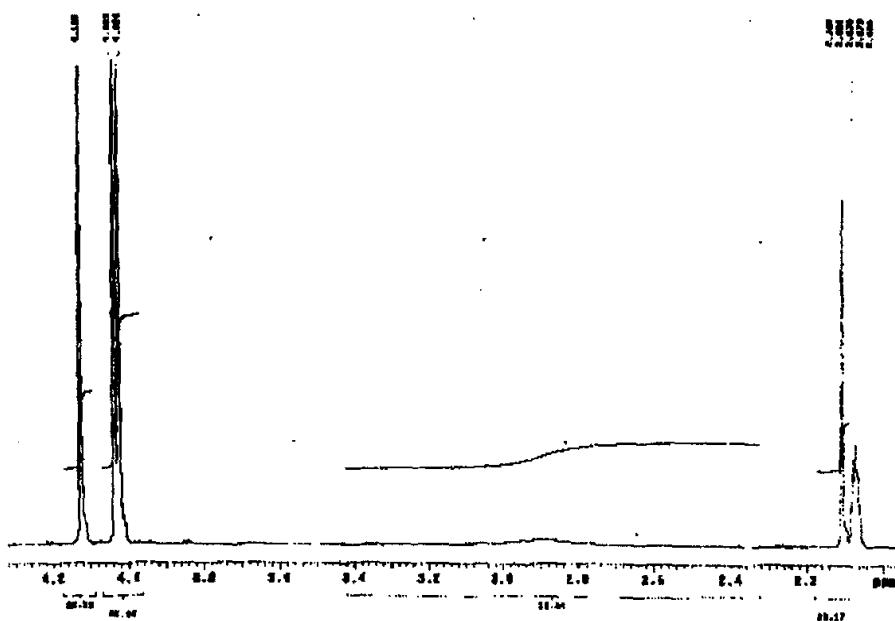
NOESY of Compound 2



¹H NMR of Compound 20A



D:\work\AI\ESIMS\2016-04-04
Peter\Esims001.msp



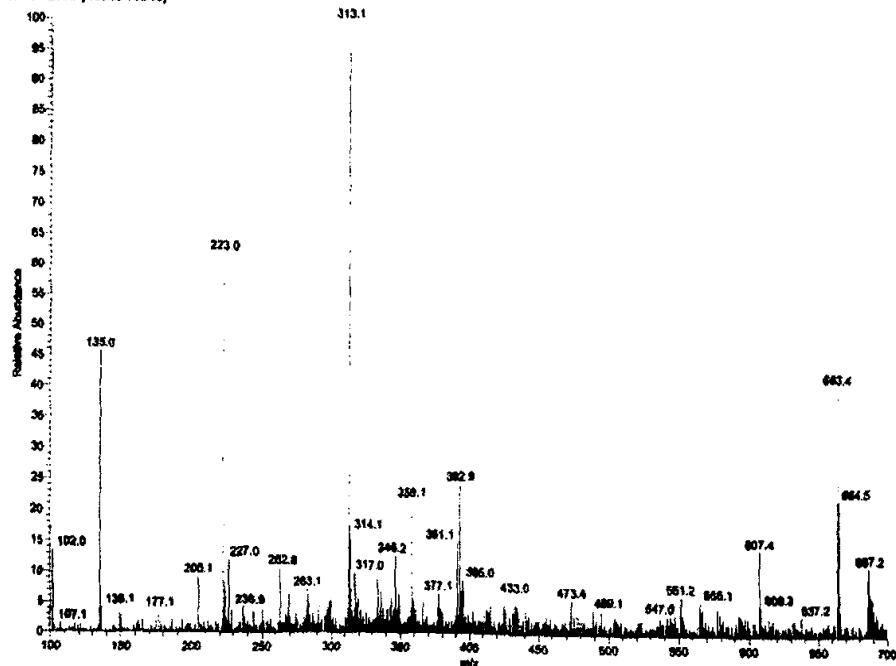
ESIMS of Compound 20A

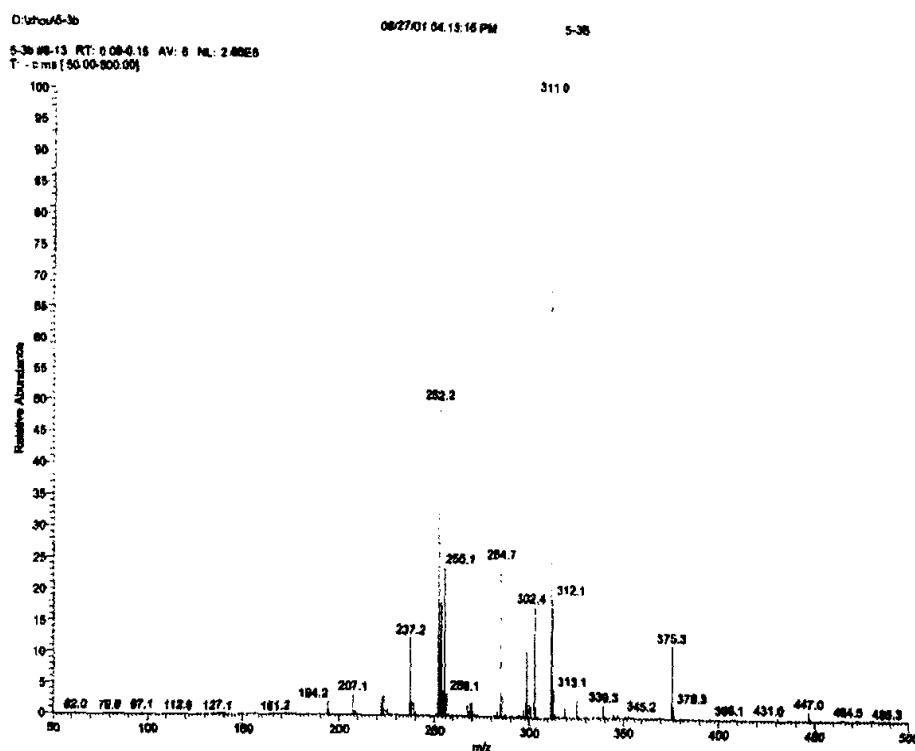
D:\work\AI\

09/03/07 04:32:44 PM

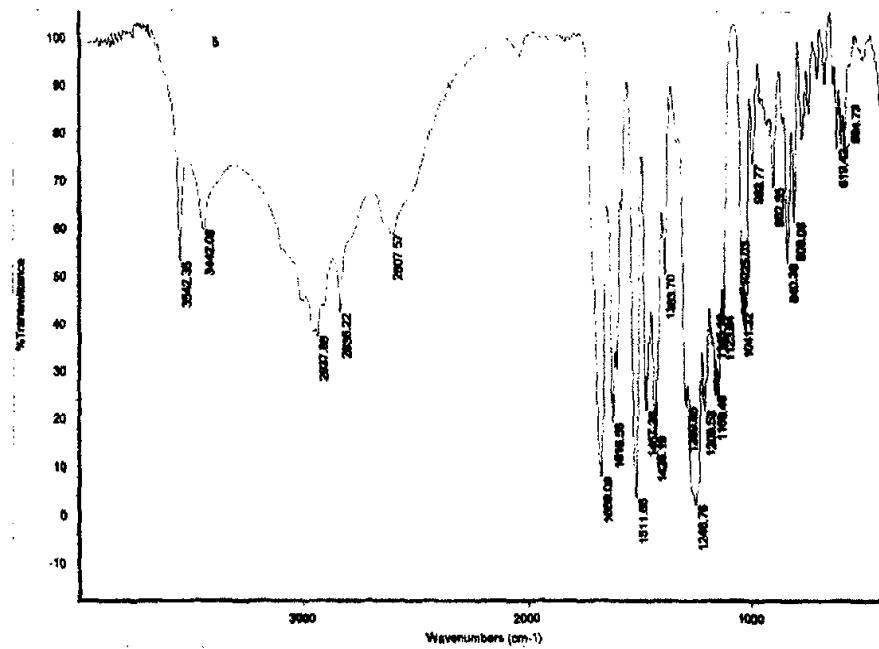
5.2A

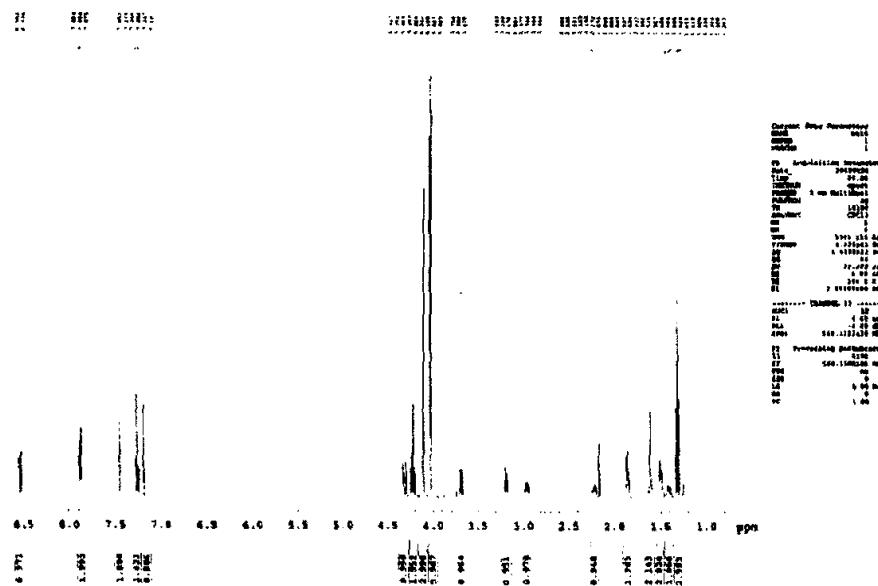
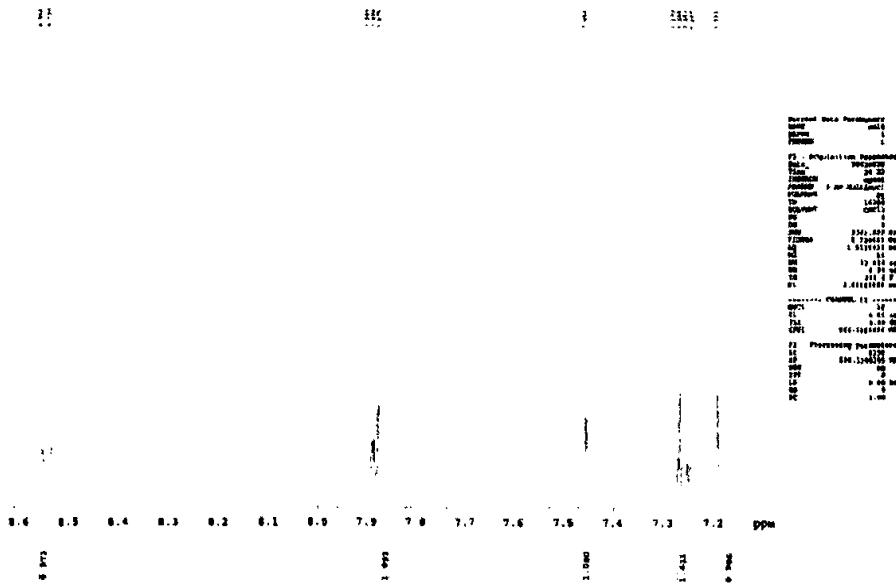
5-2A #22-29 RT: 0.28-0.36 AV: 8 NL: 9.00E7
T: + c Full ms [100.00-700.00]

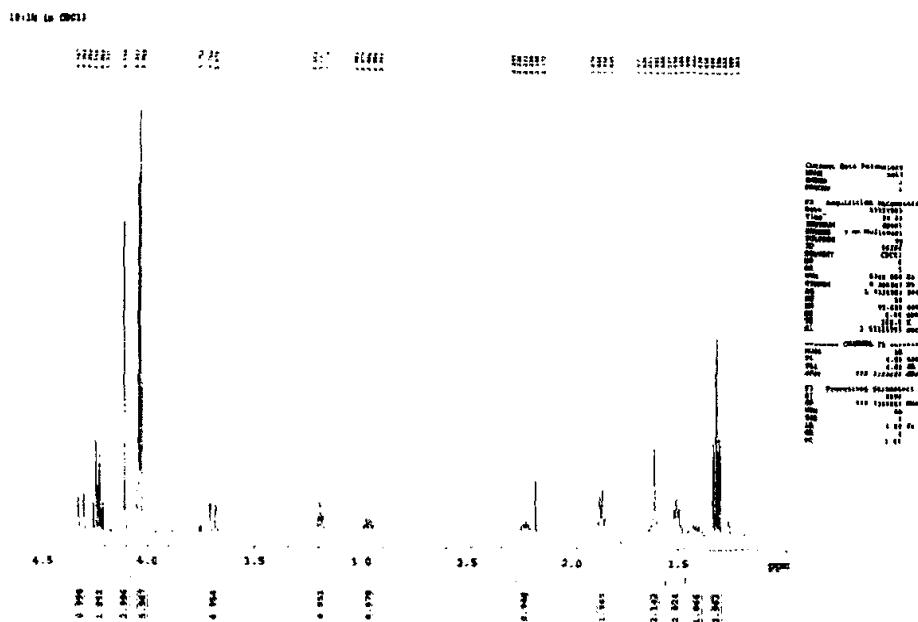




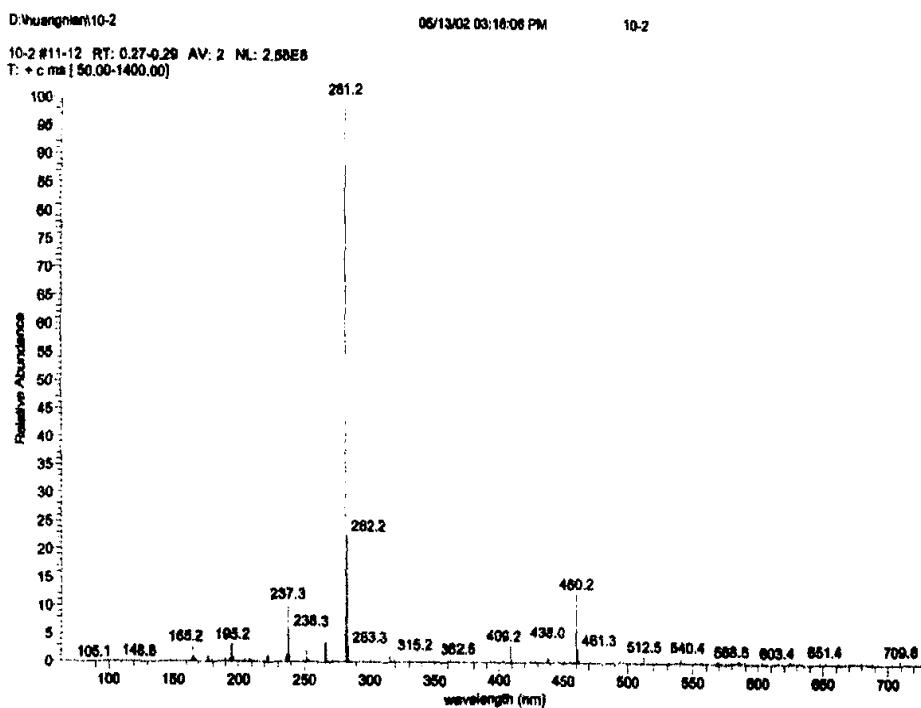
IR of Compound 20A



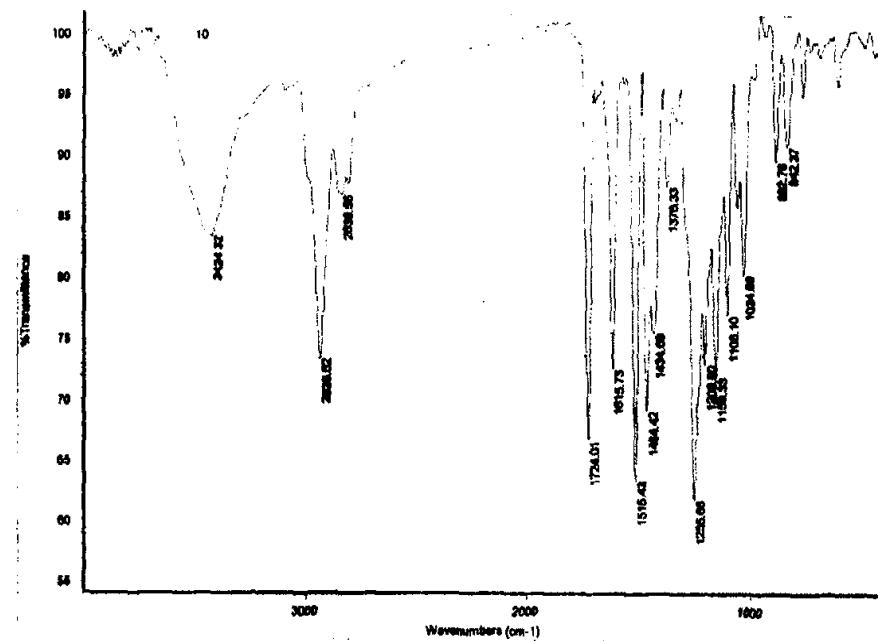
¹H NMR of Compound 29A1H-NMR in CDCl₃1H-NMR in CDCl₃



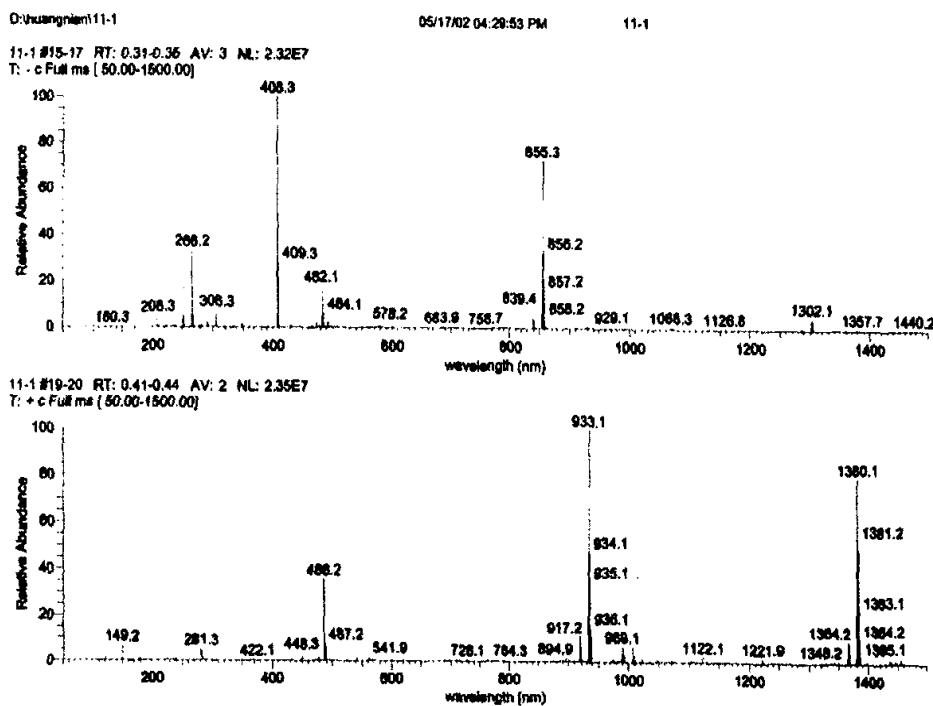
ESIMS of Compound 29A



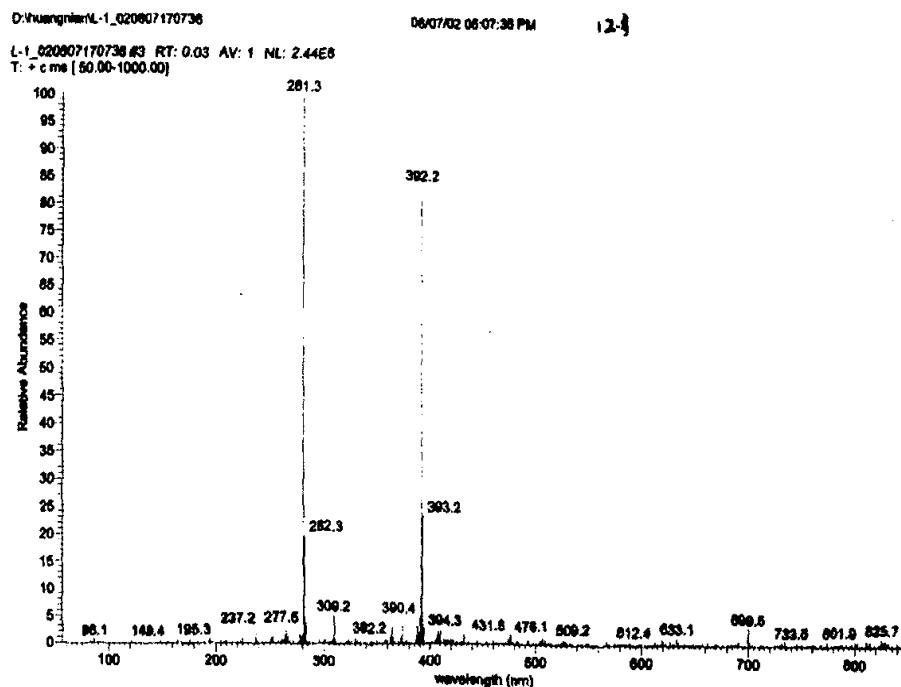
IR of Compound 29A



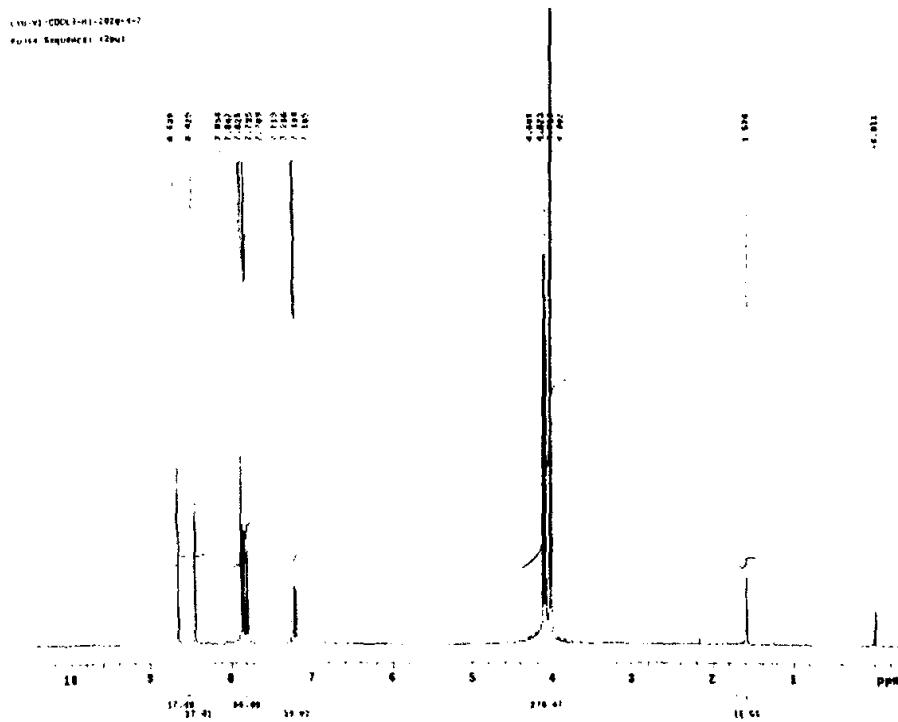
ESIMS of Compound 30A



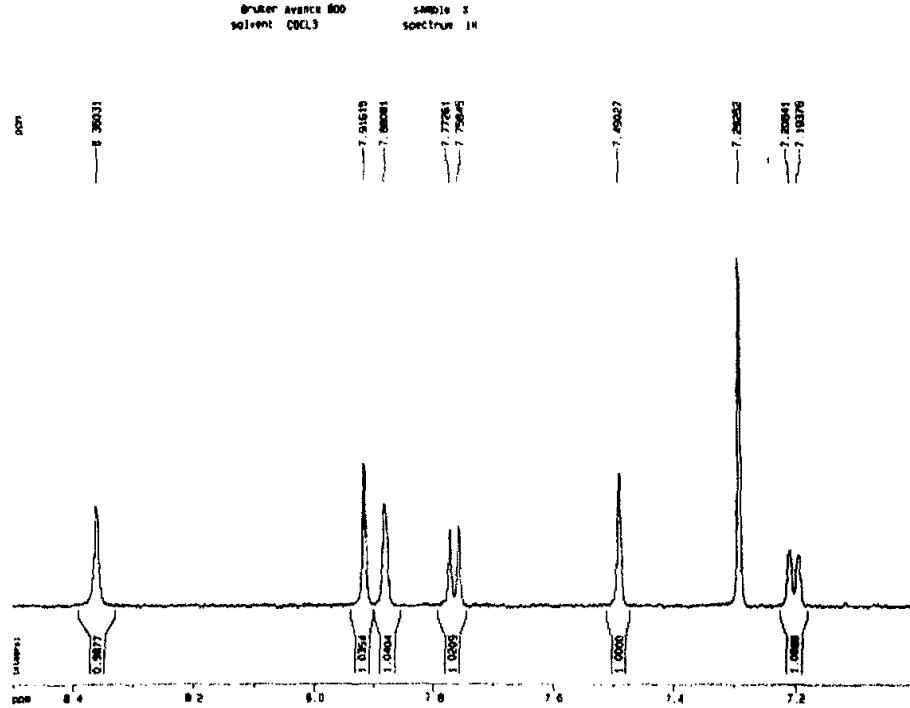
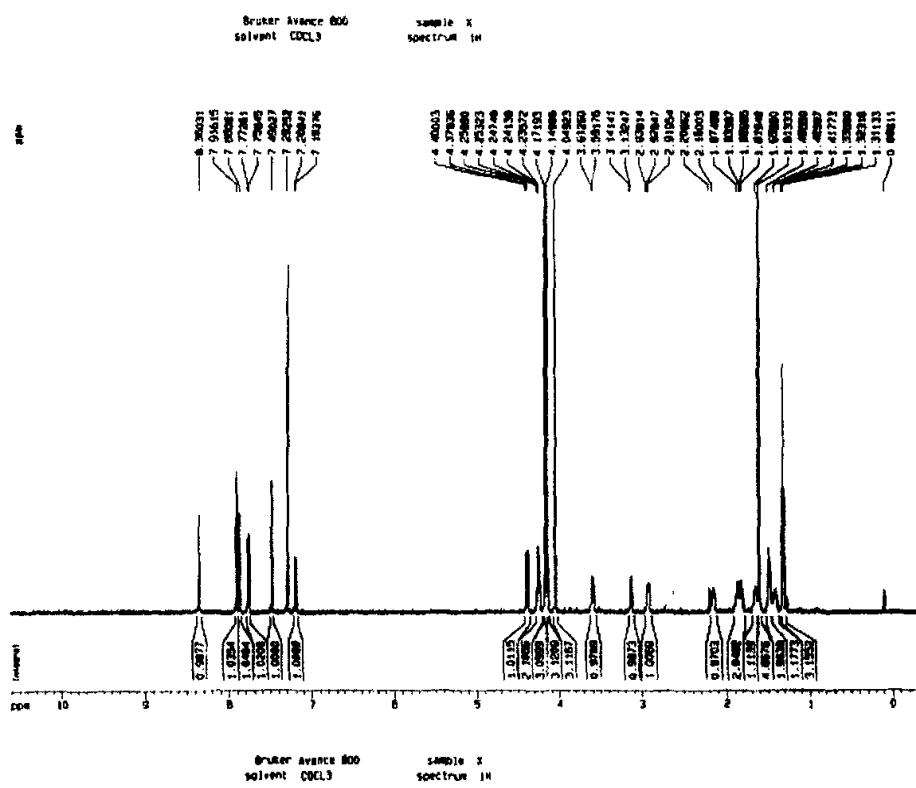
ESIMS of Compound 31A

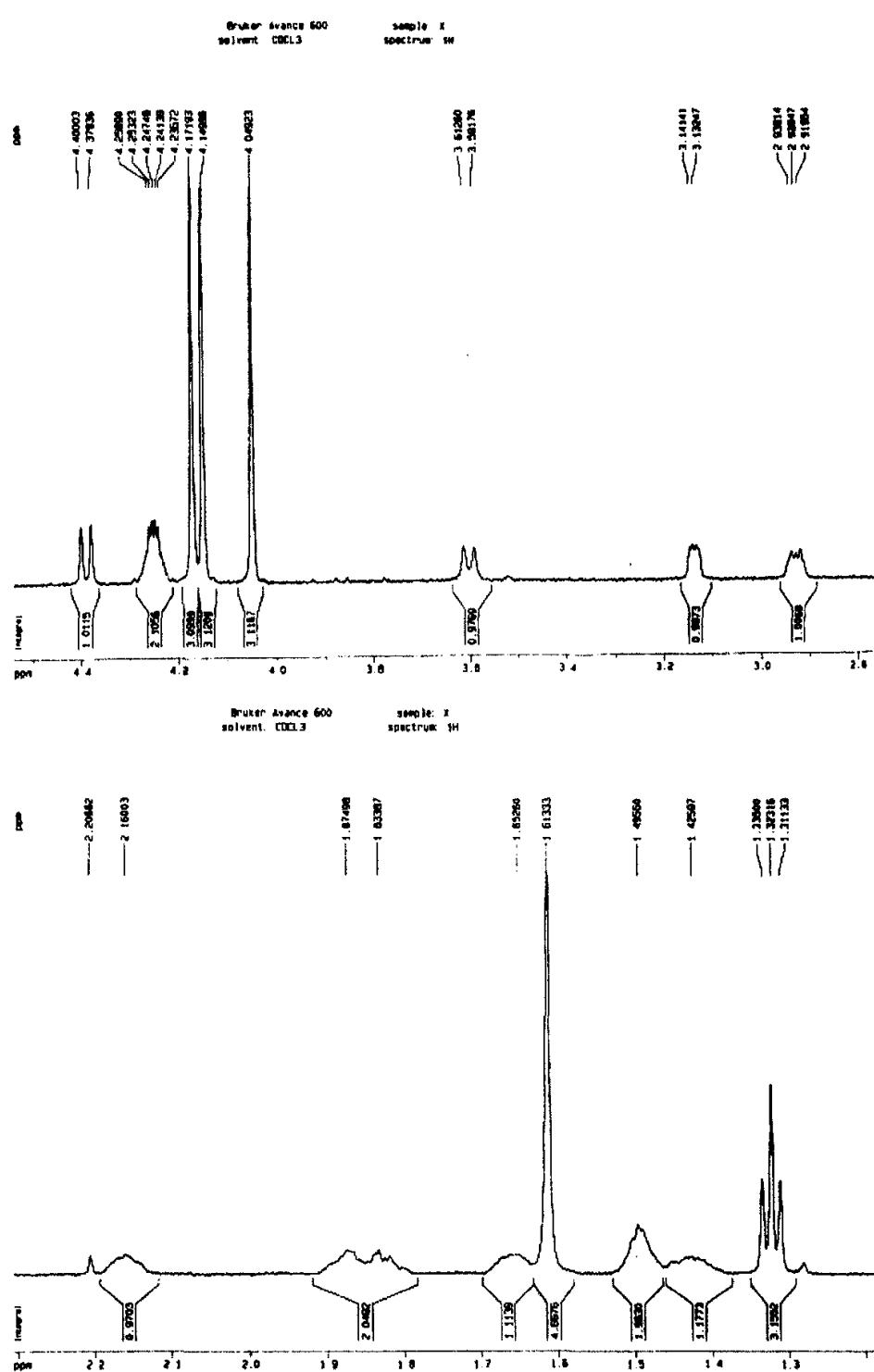


¹H NMR of Compound 26

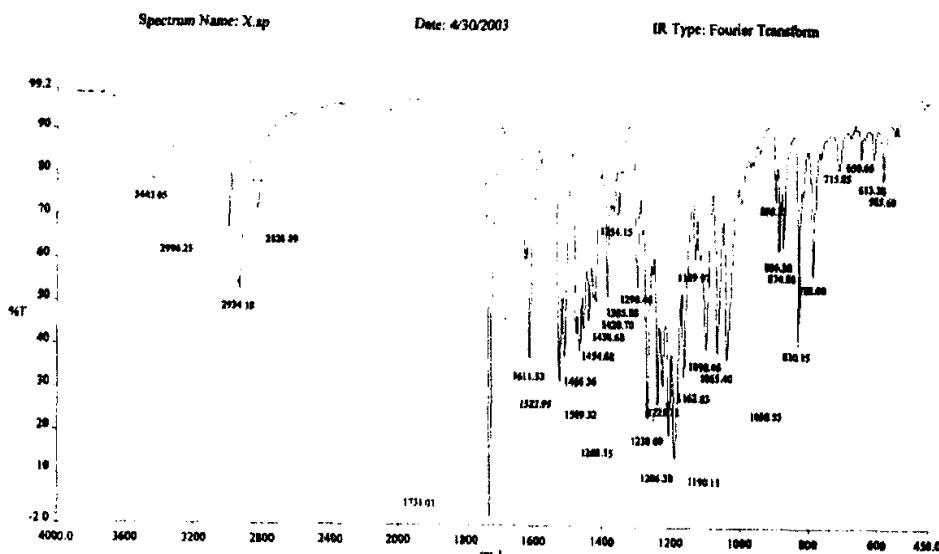


¹H NMR of Compound 29F

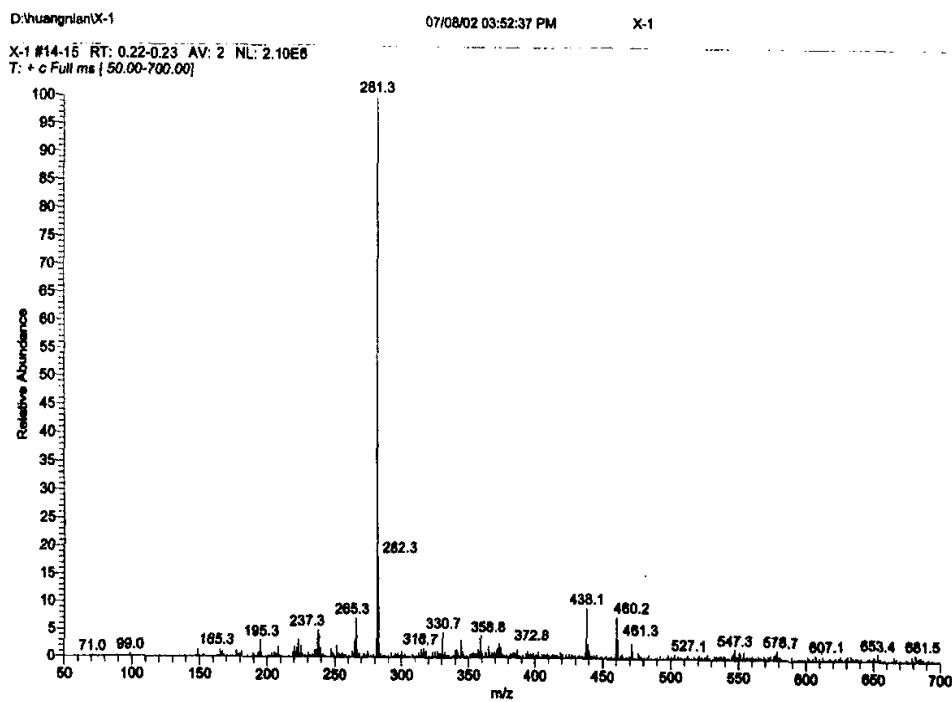




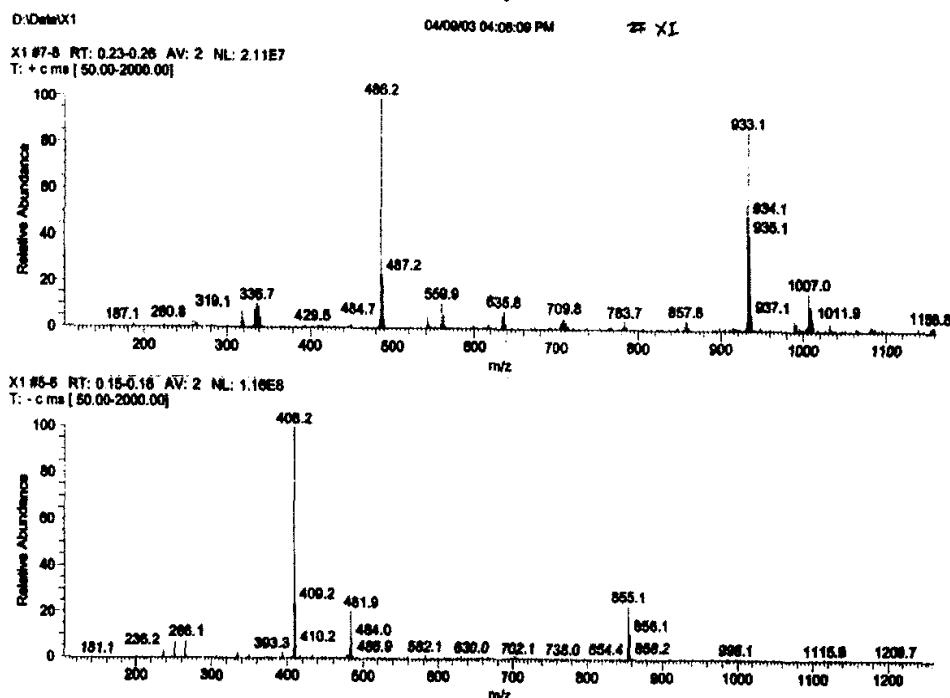
IR of Compound 29F



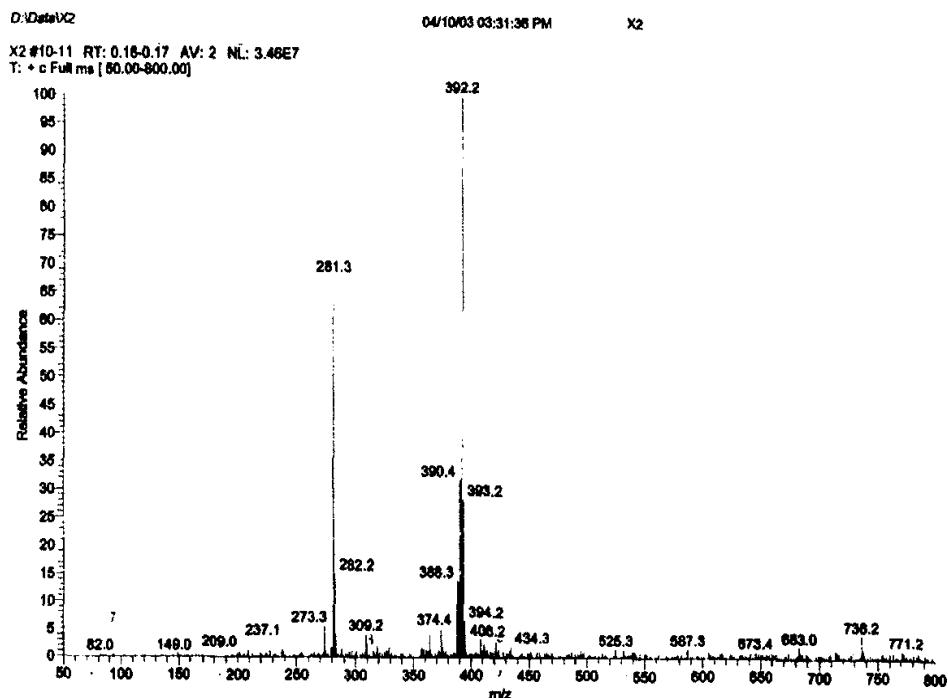
ESIMS of Compound 29F

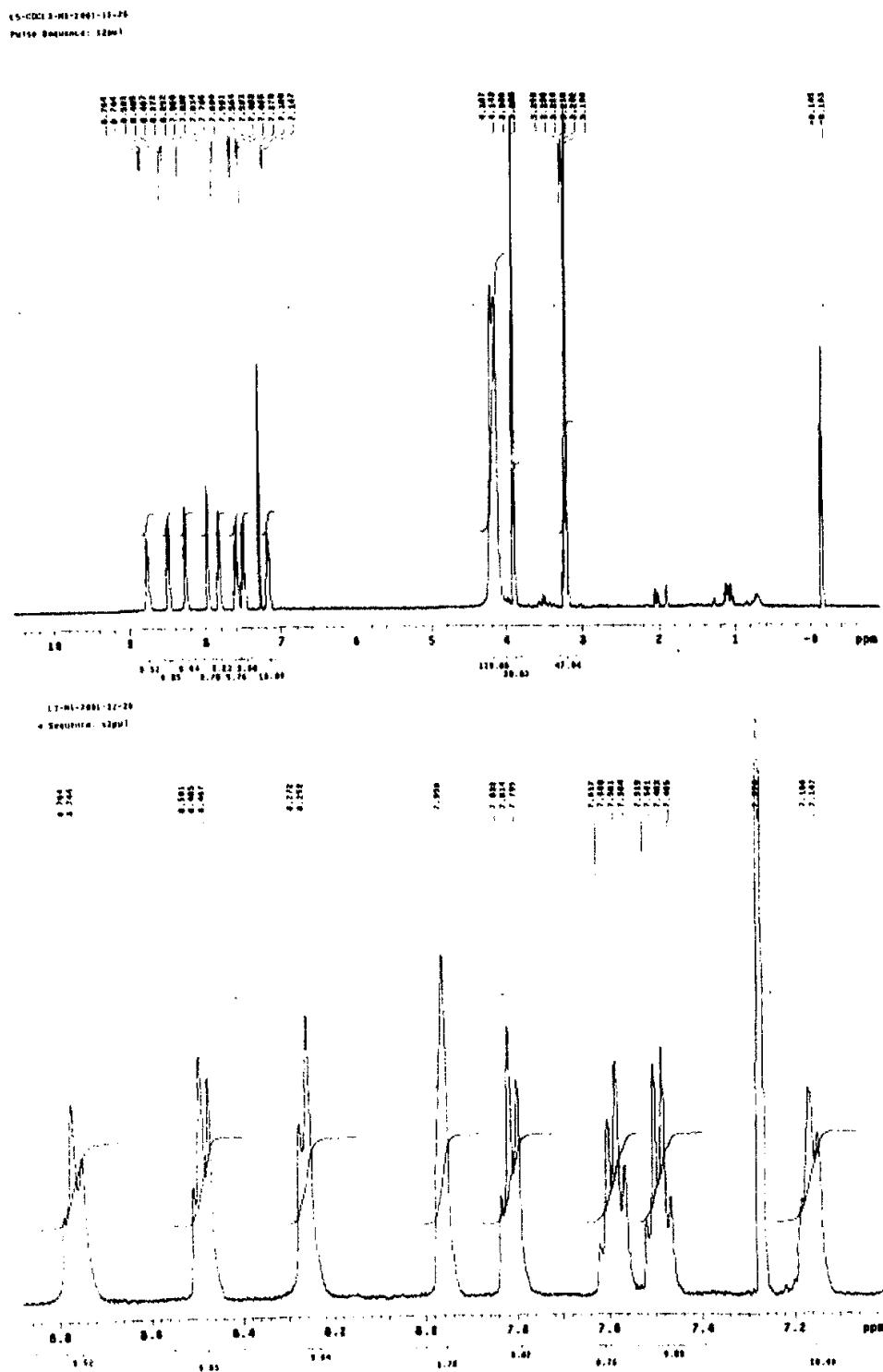


ESIMS of Compound 30F

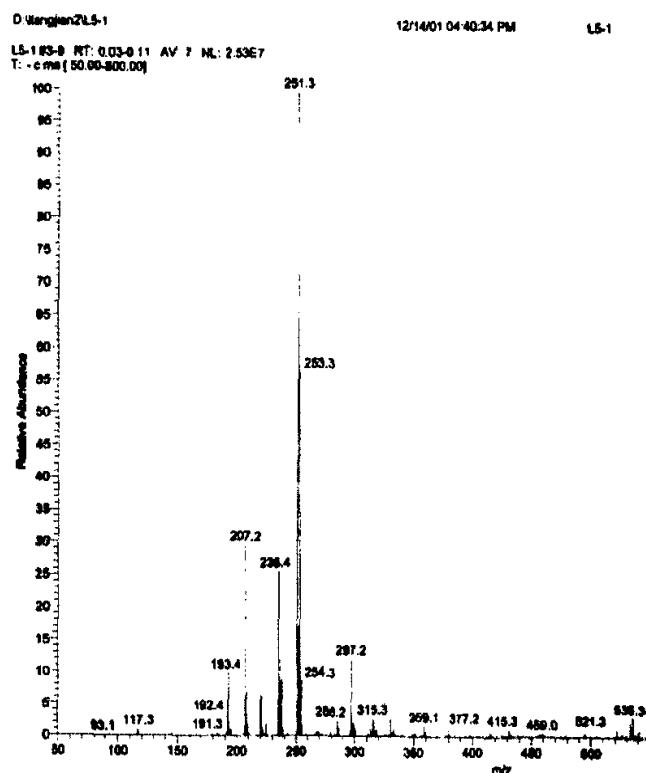


ESIMS of Compound 31F

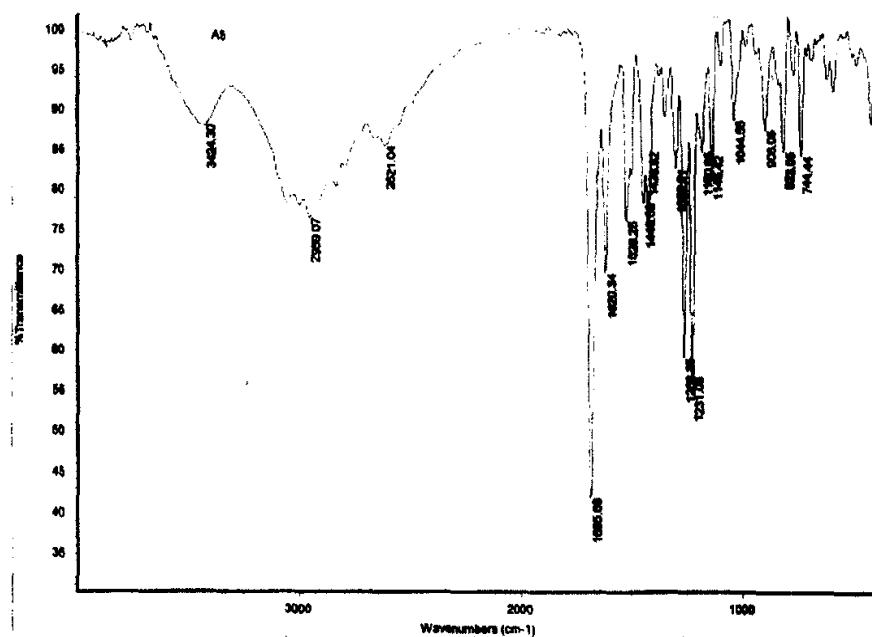


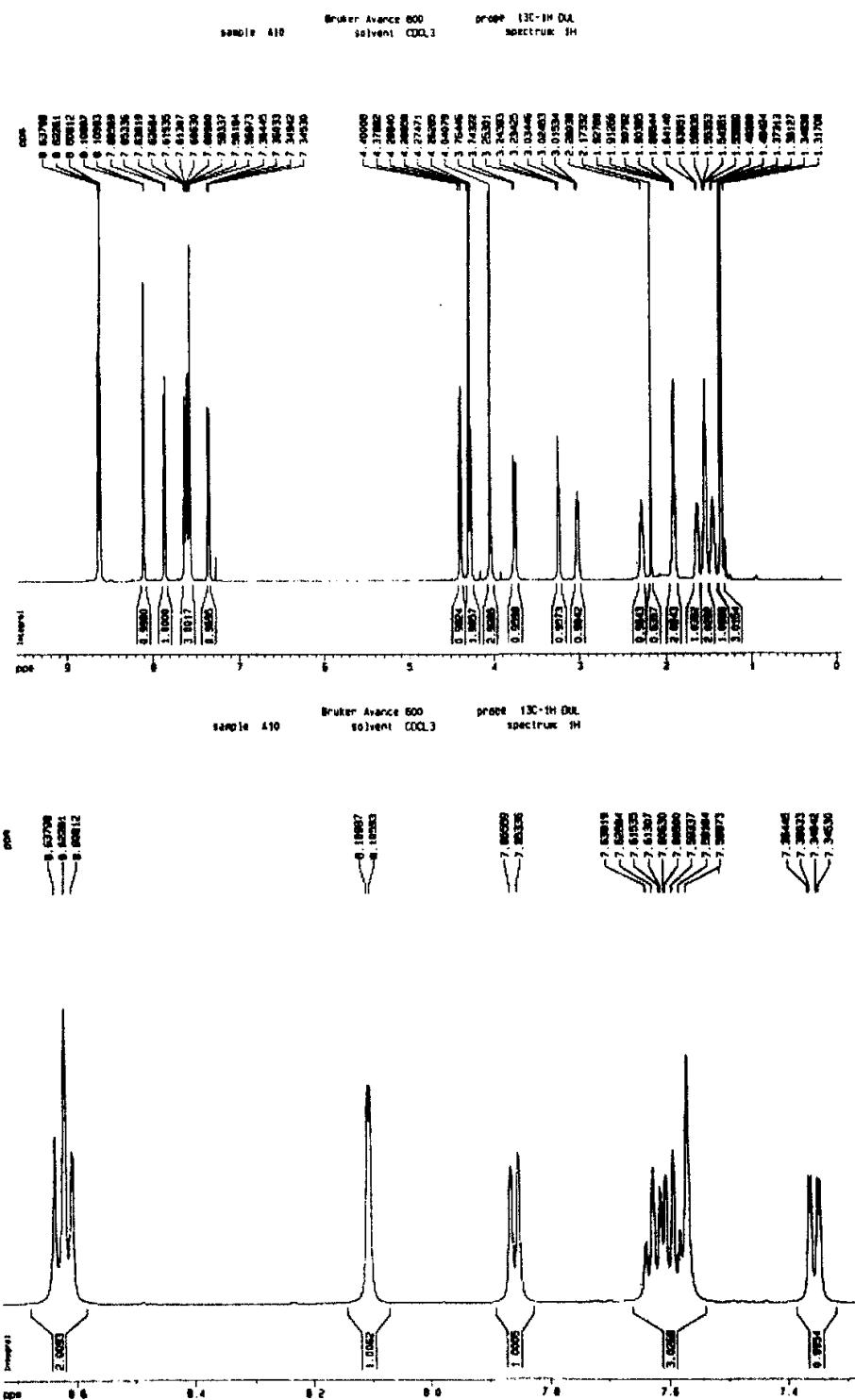
¹H NMR of Compound 20C

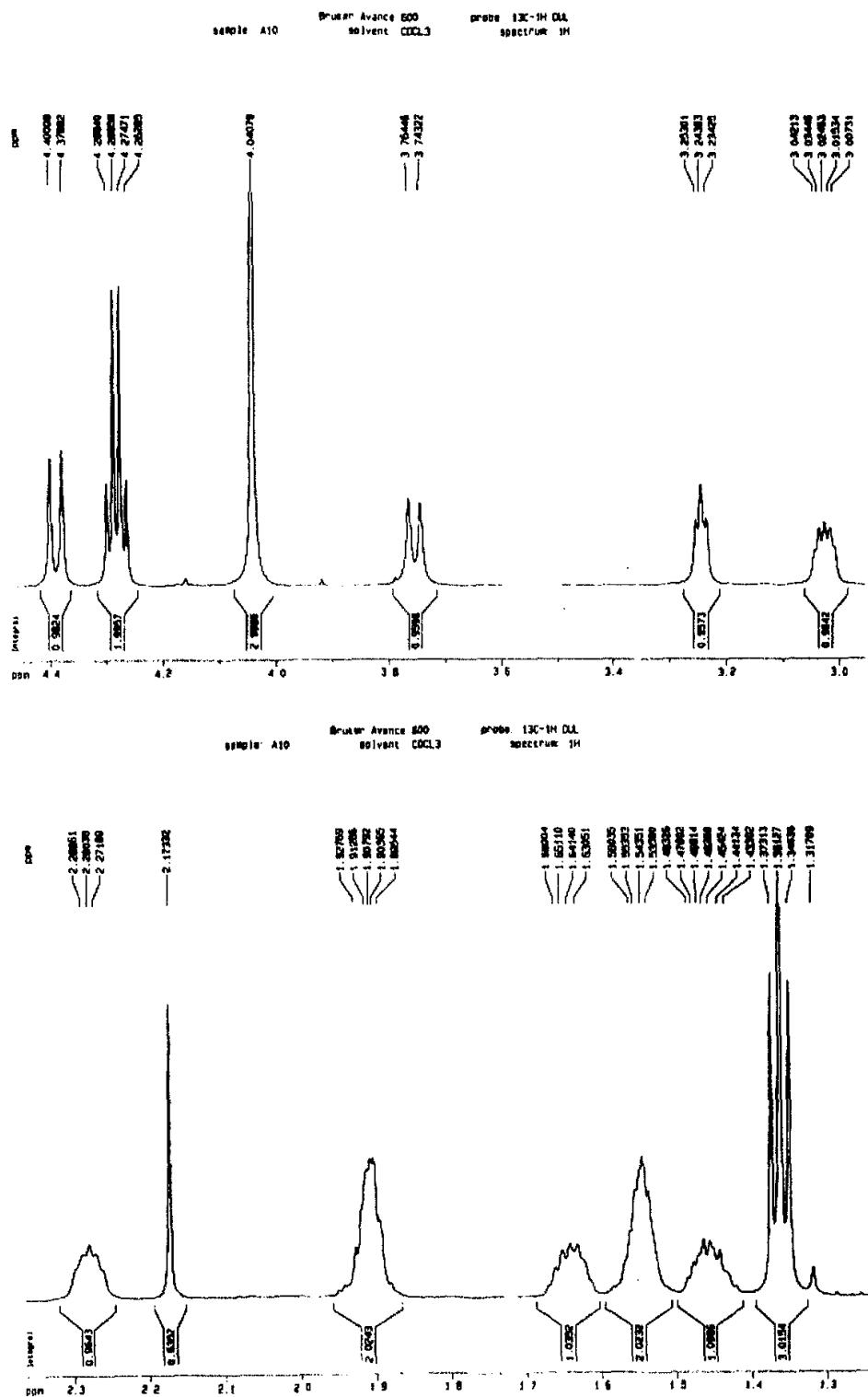
ESIMS of Compound 20C



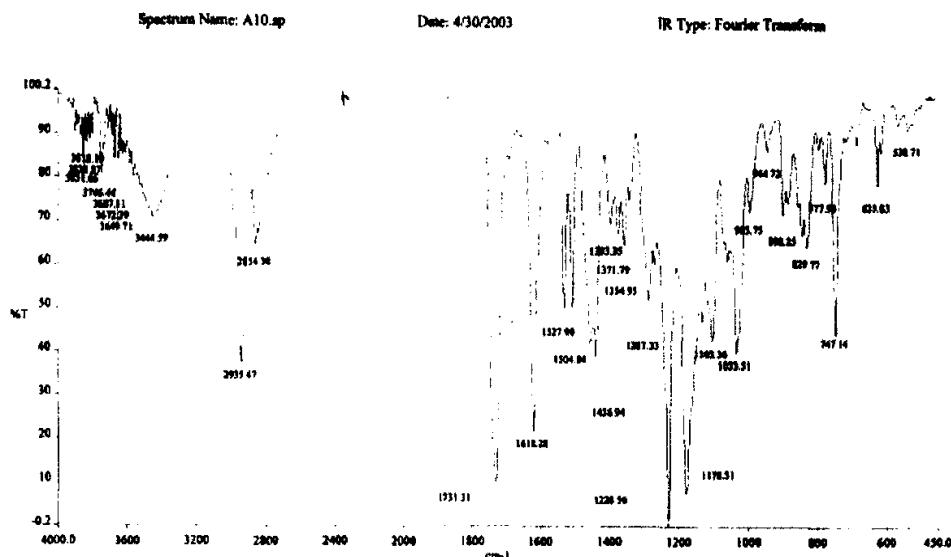
IR of Compound 20C



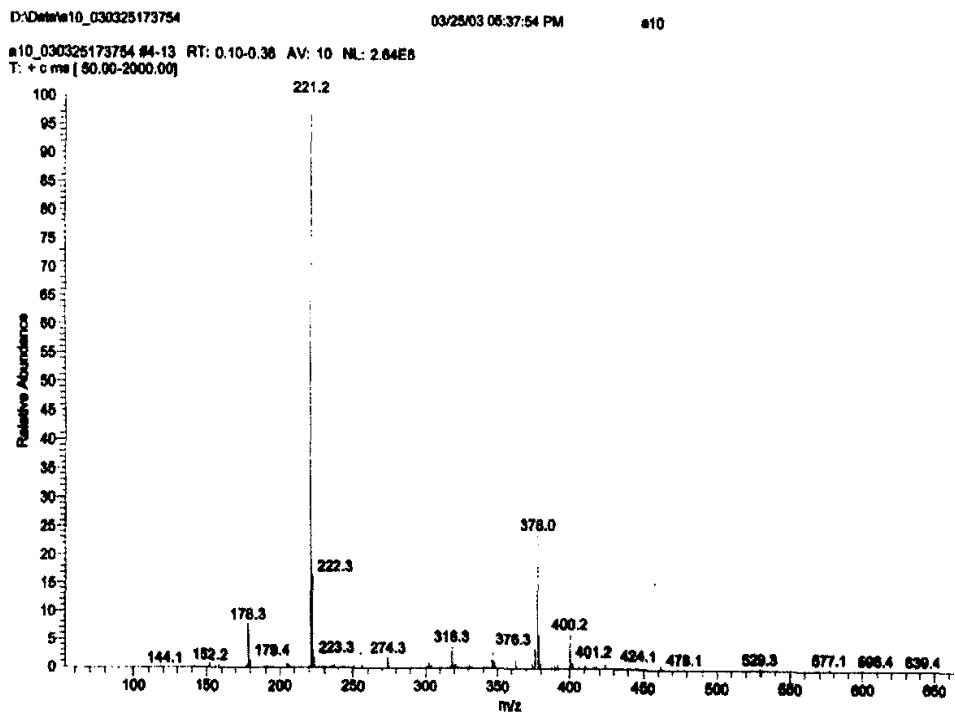
¹H NMR of Compound 29C



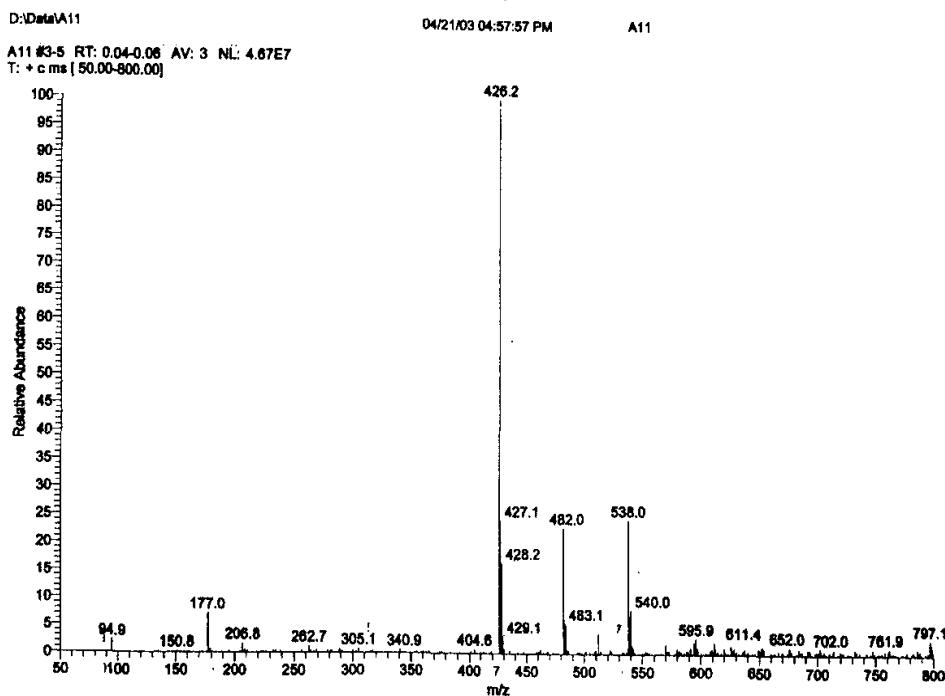
IR of Compound 29C



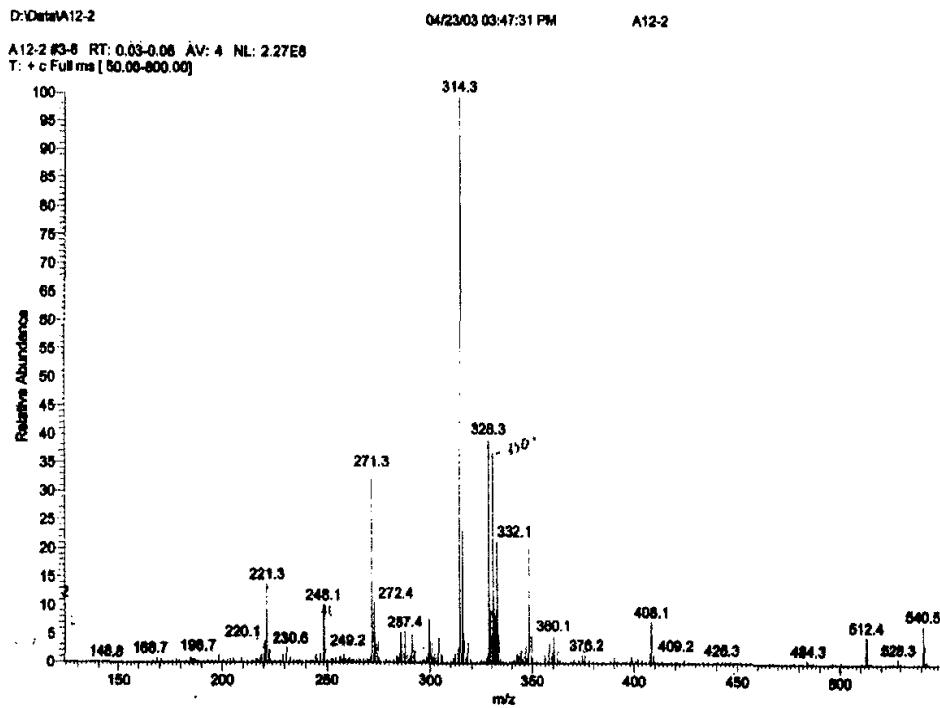
ESIMS of Compound 29C

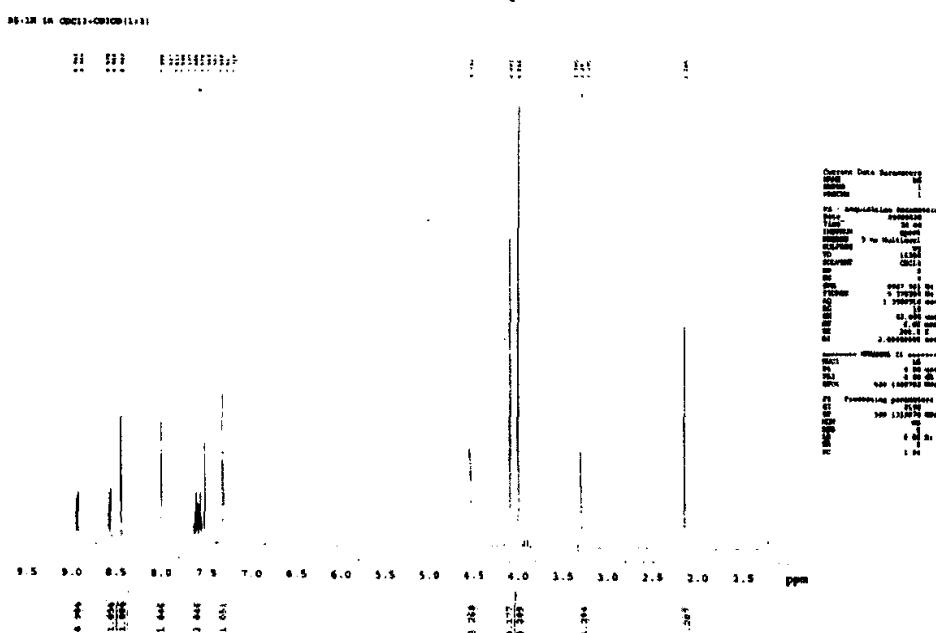


ESIMS of Compound 30C

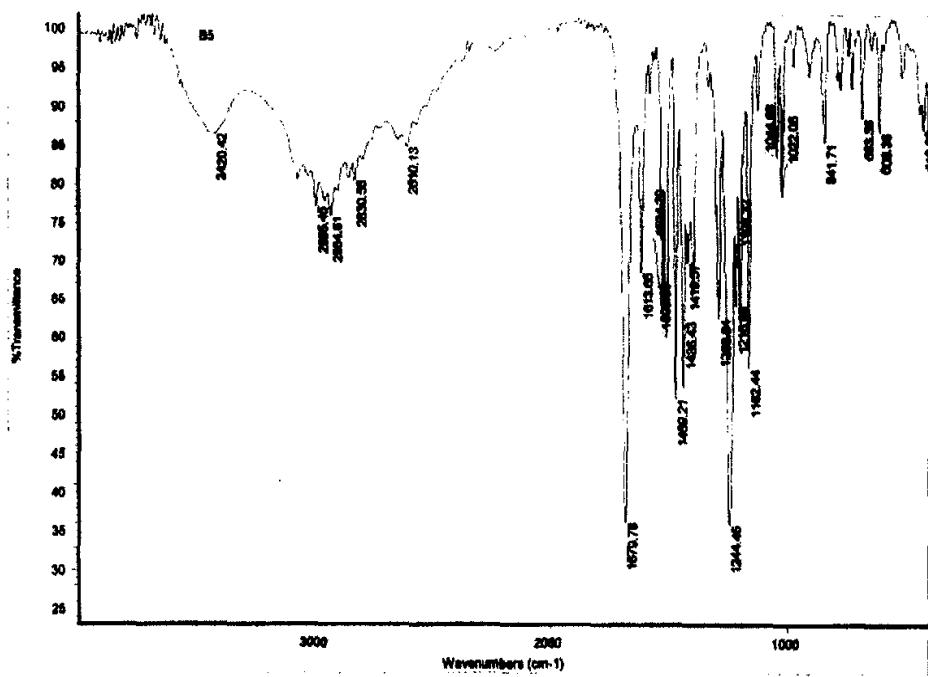


ESIMS of Compound 31C

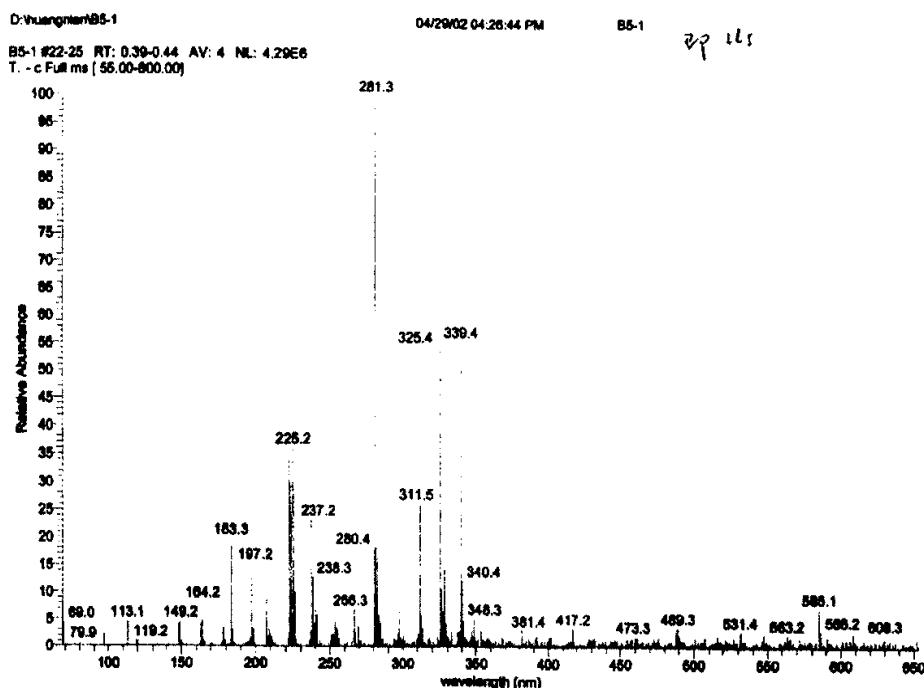


¹H NMR of Compound 20B

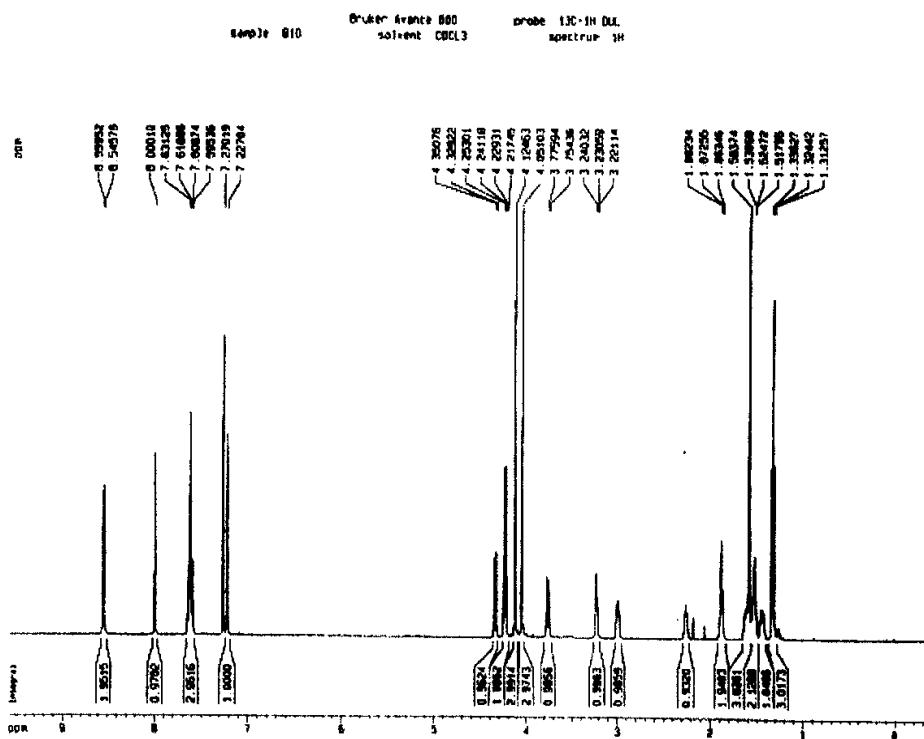
IR of Compound 20B

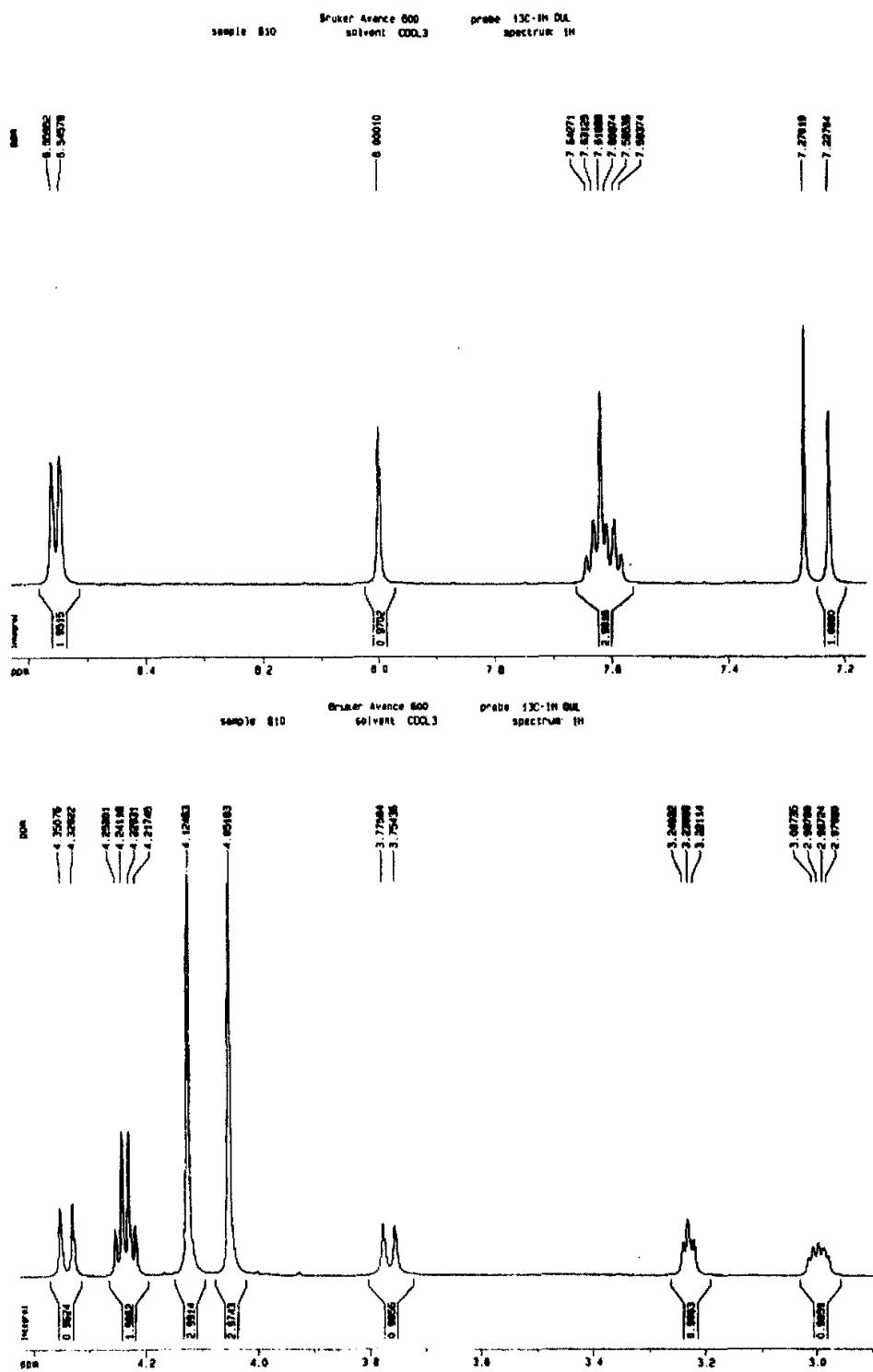


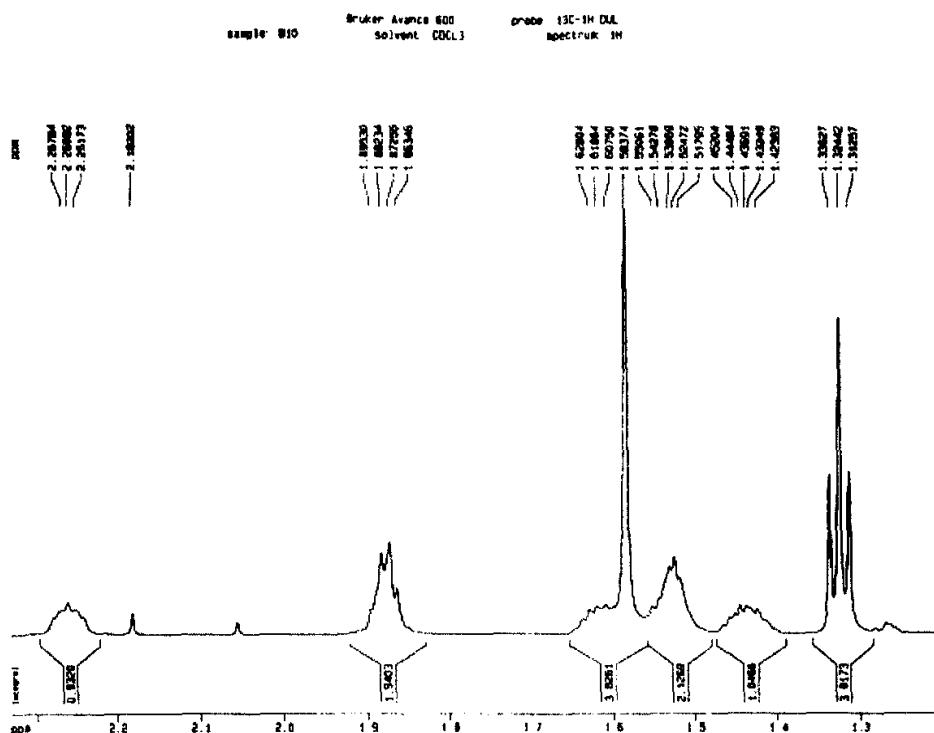
ESIMS of Compound 20B



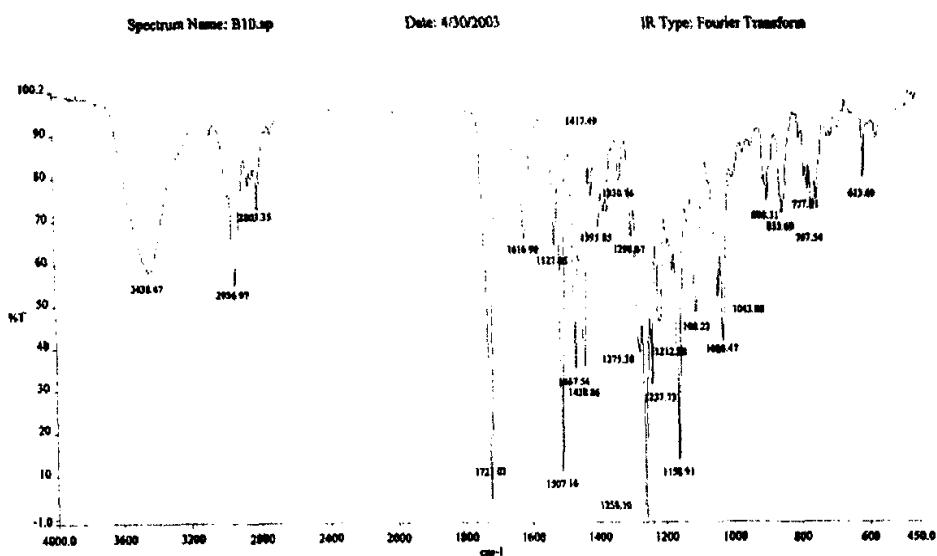
¹H NMR of Compound 29B



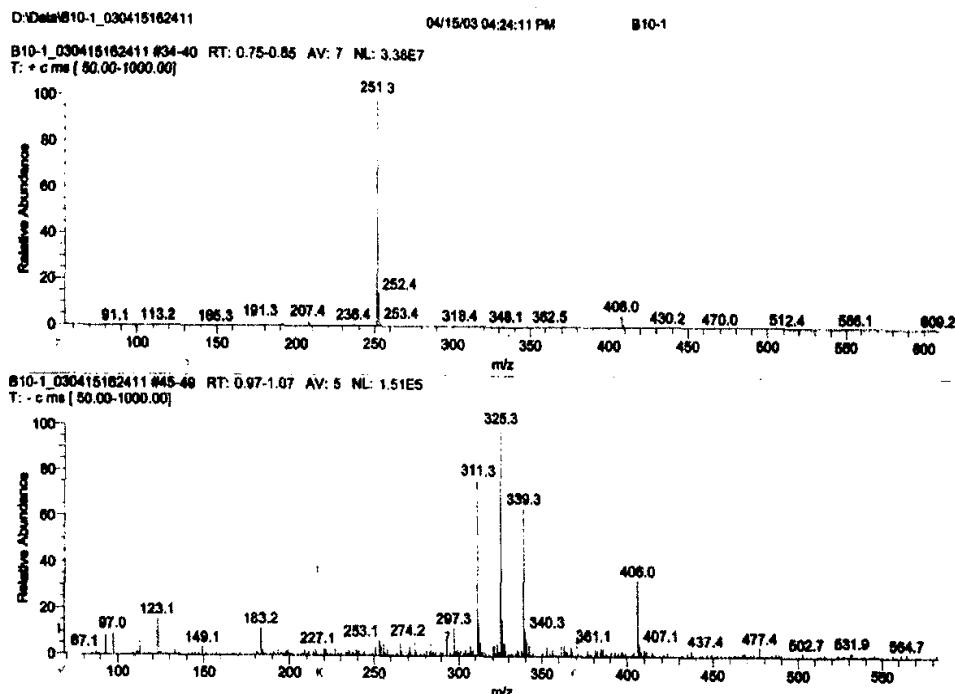




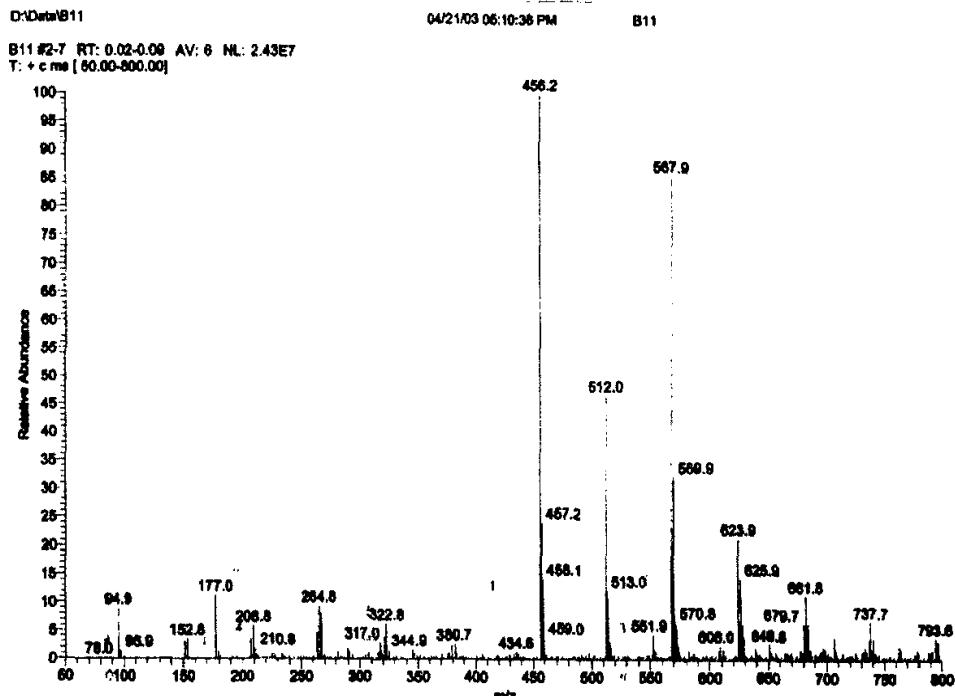
IR of Compound 29B



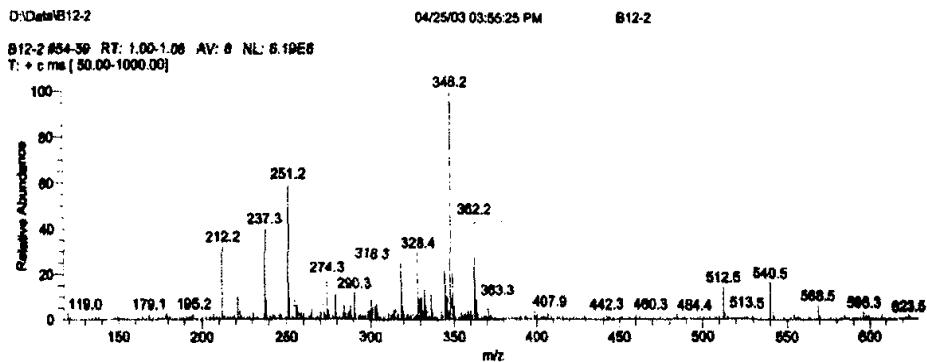
ESIMS of Compound 29B



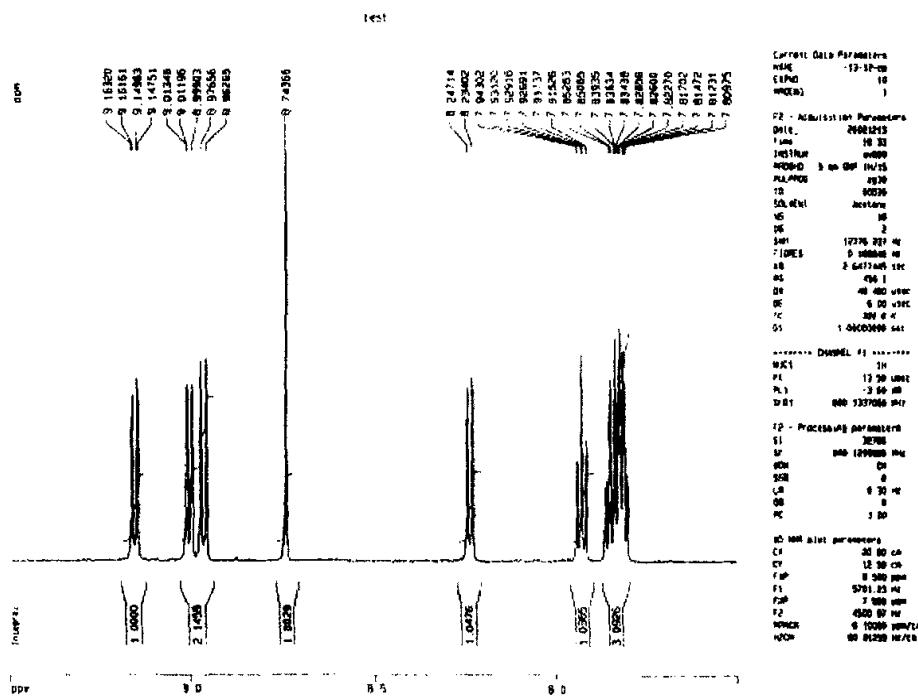
ESIMS of Compound 30B



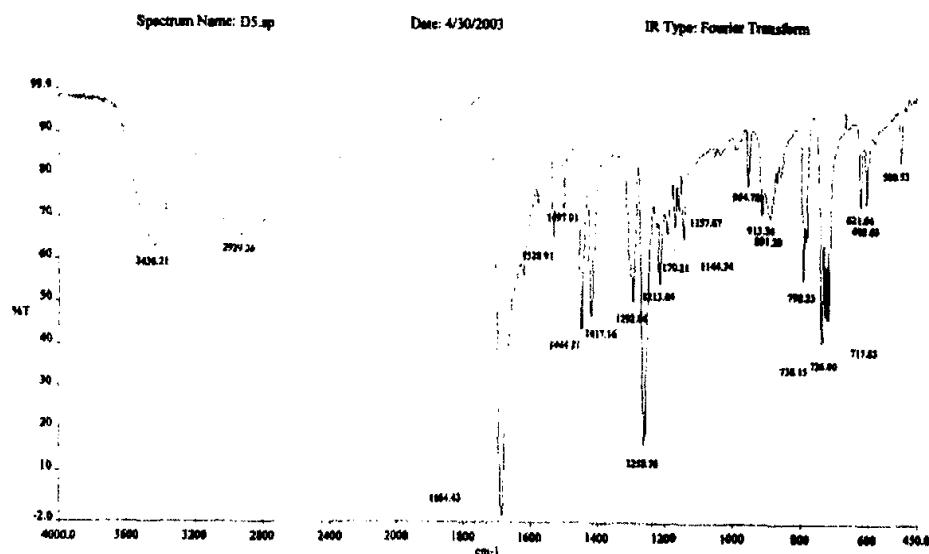
ESIMS of Compound 31B



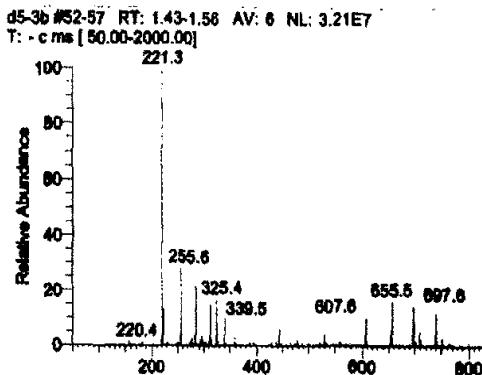
¹H NMR of Compound 20D



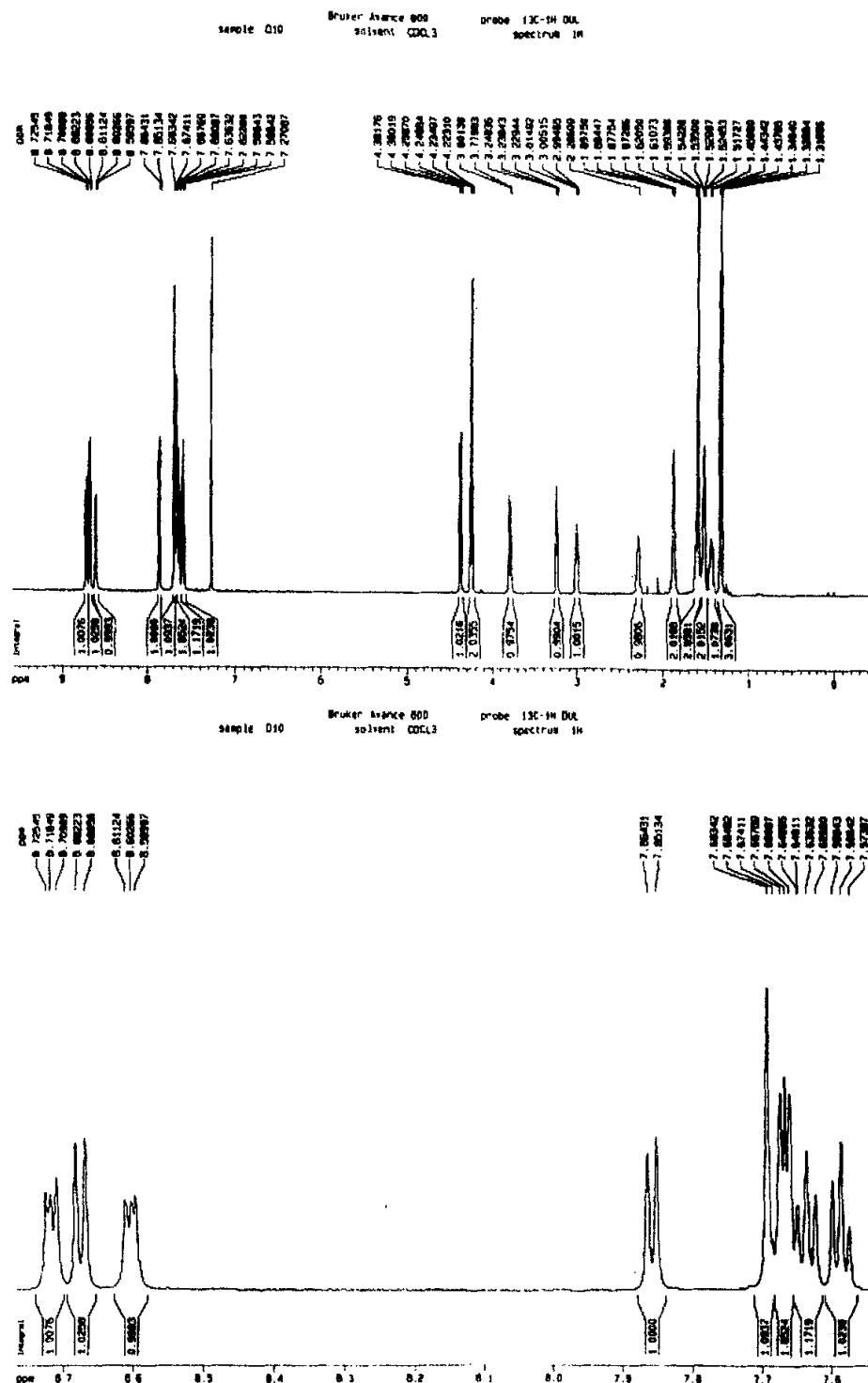
IR of Compound 20D

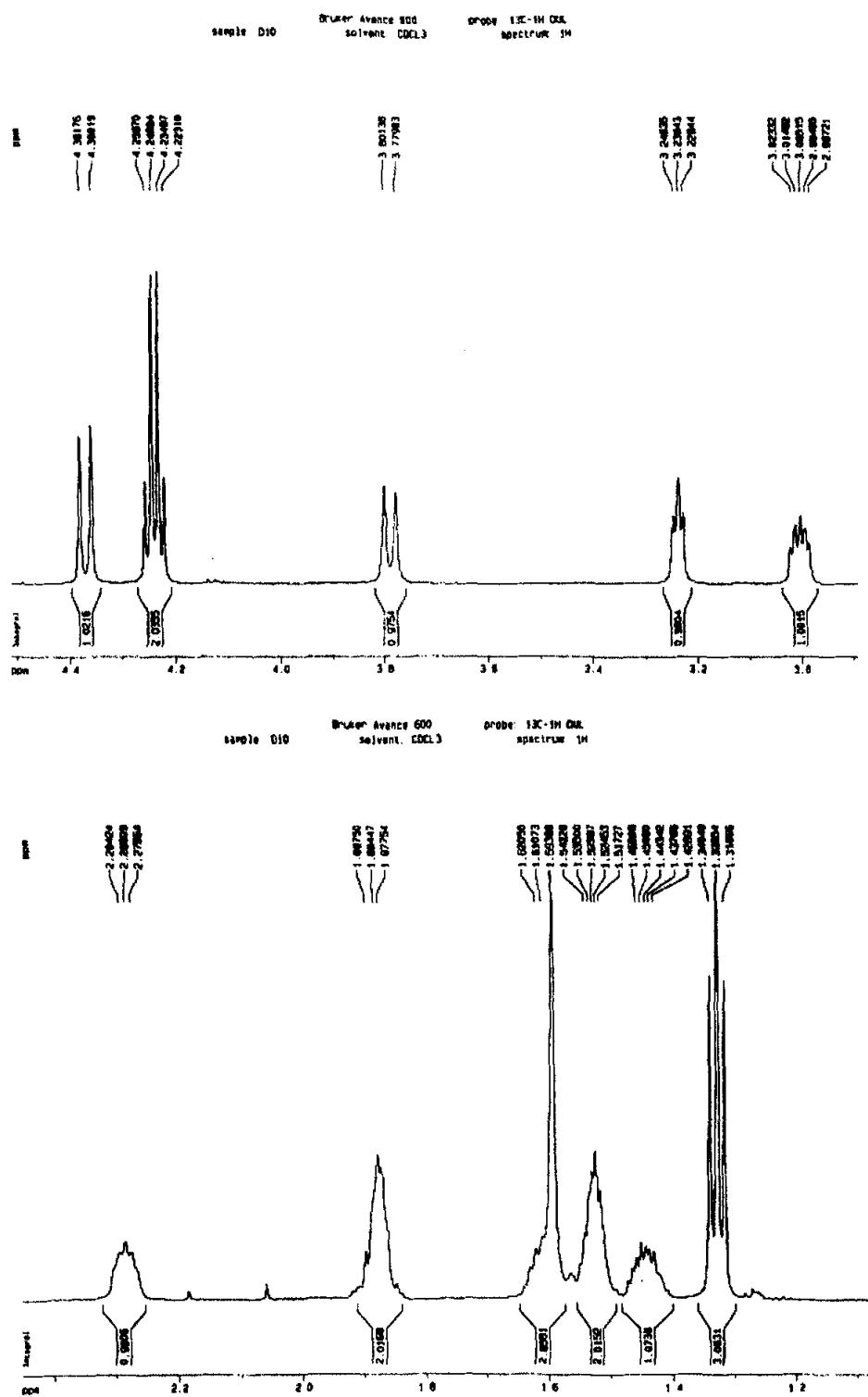


ESIMS of Compound 20D

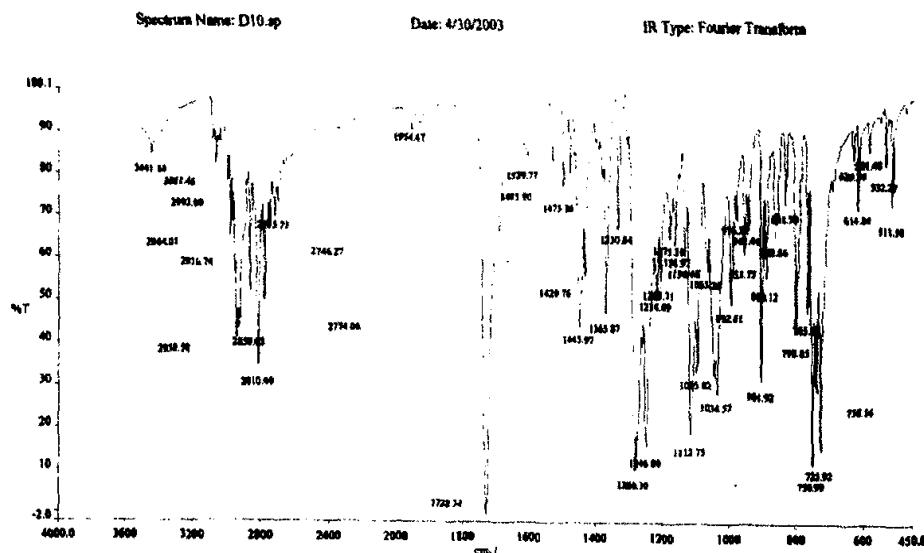


¹H NMR of Compound 29D

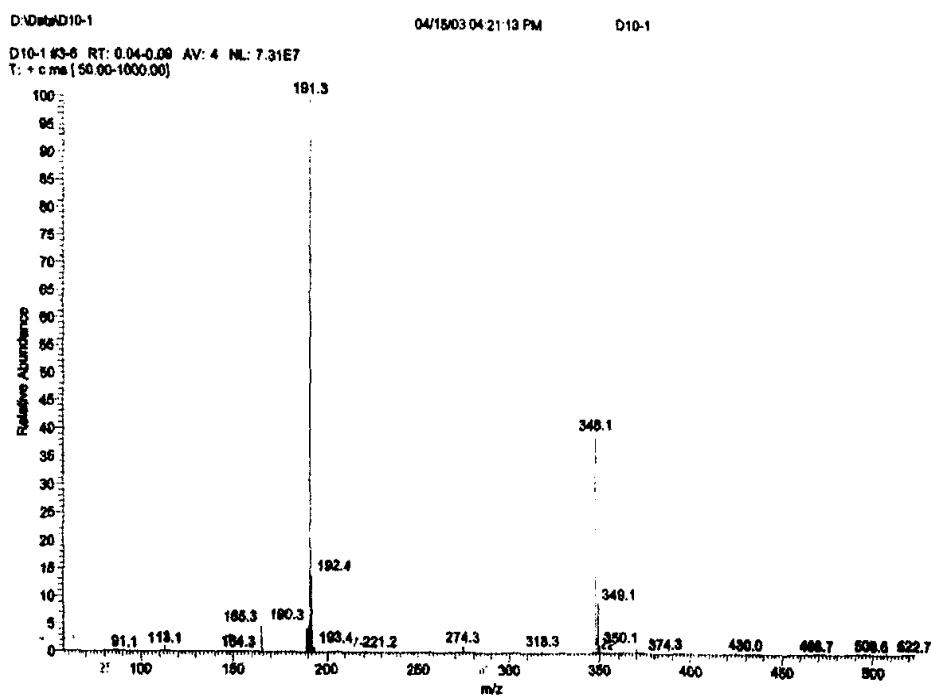




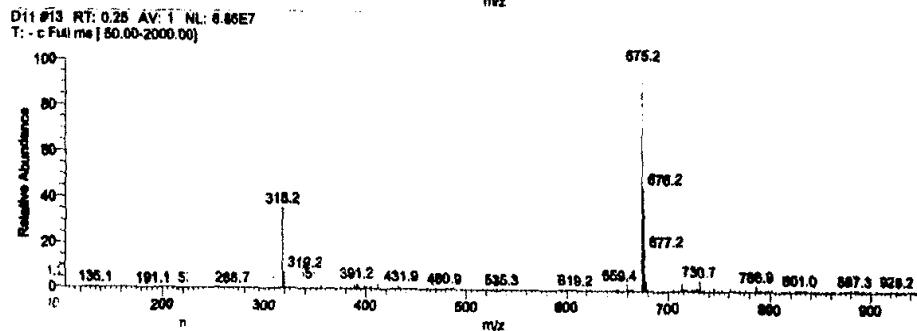
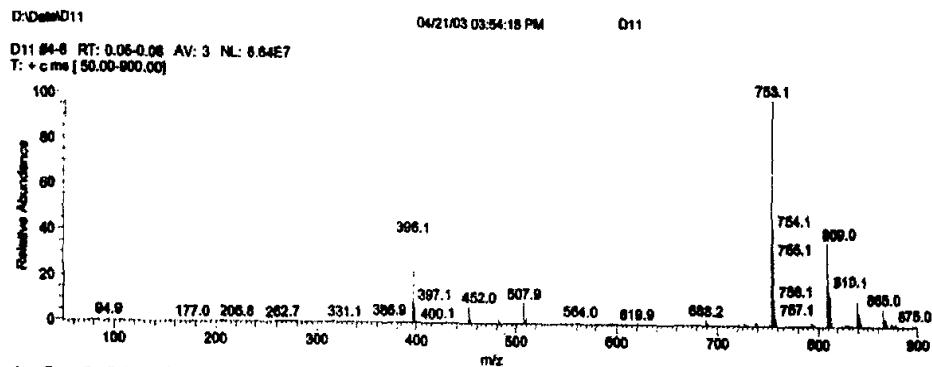
IR of Compound 29D



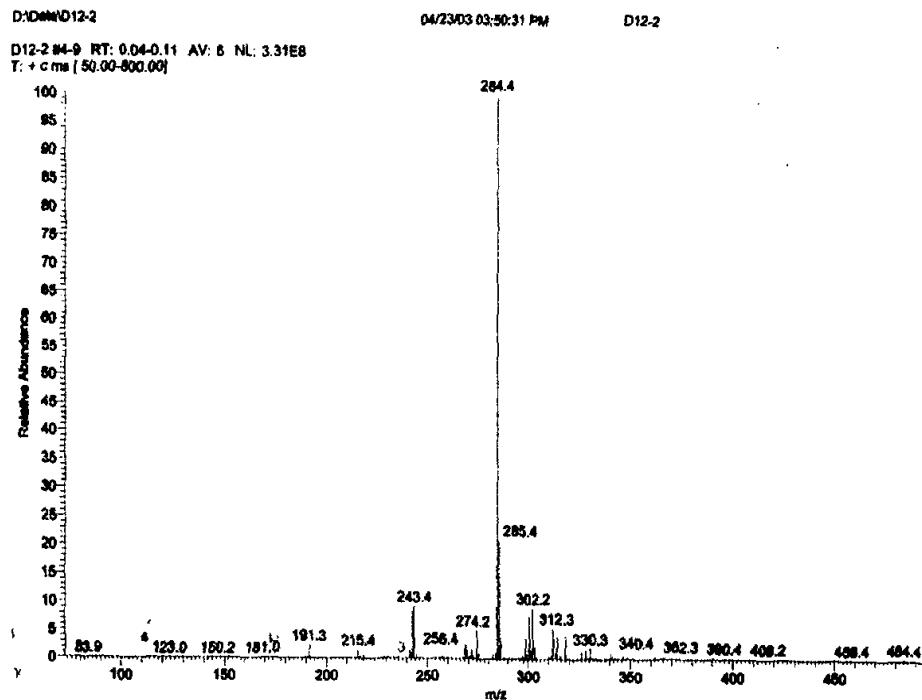
ESIMS of Compound 29D



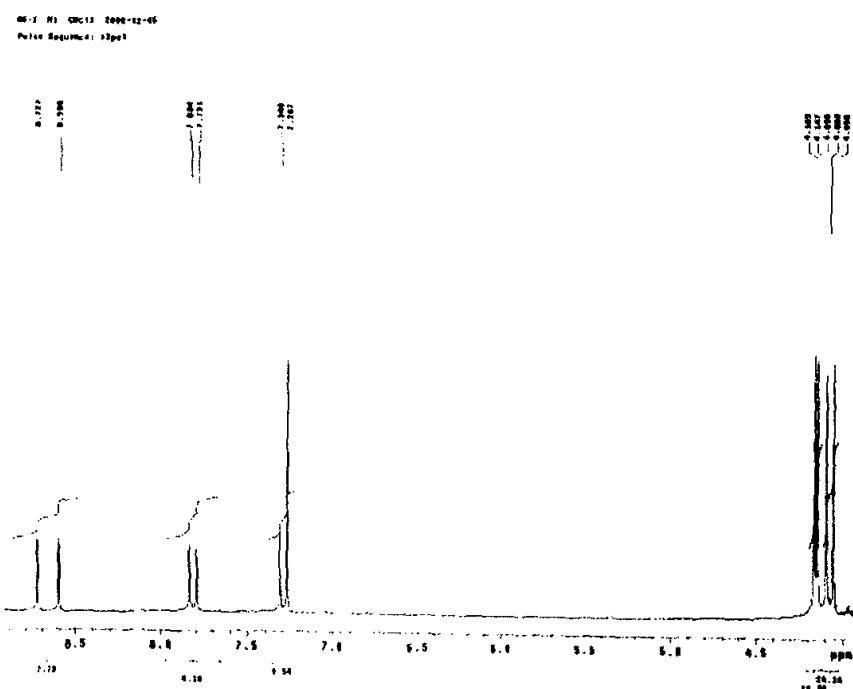
ESIMS of Compound 30D



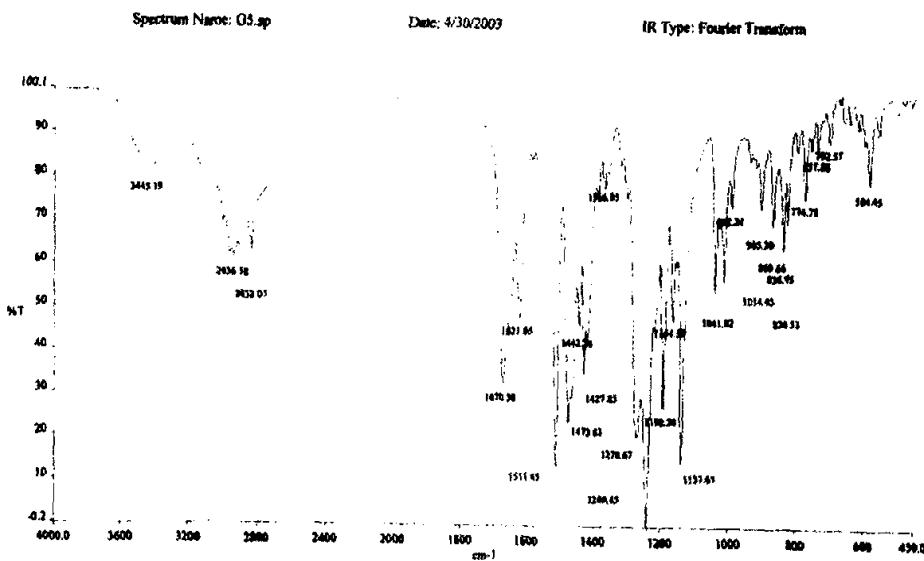
ESIMS of Compound 31D



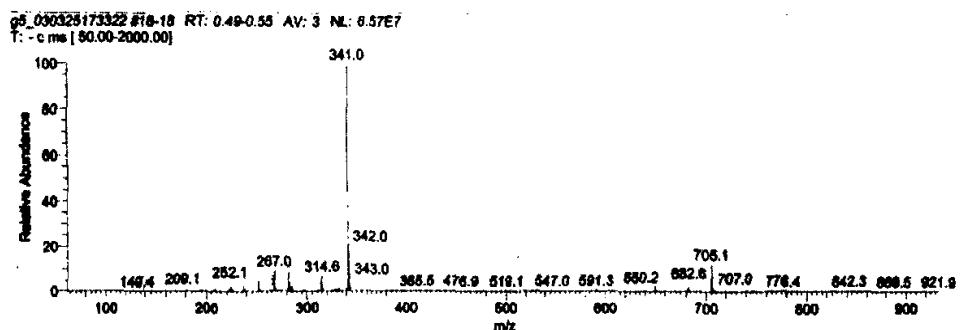
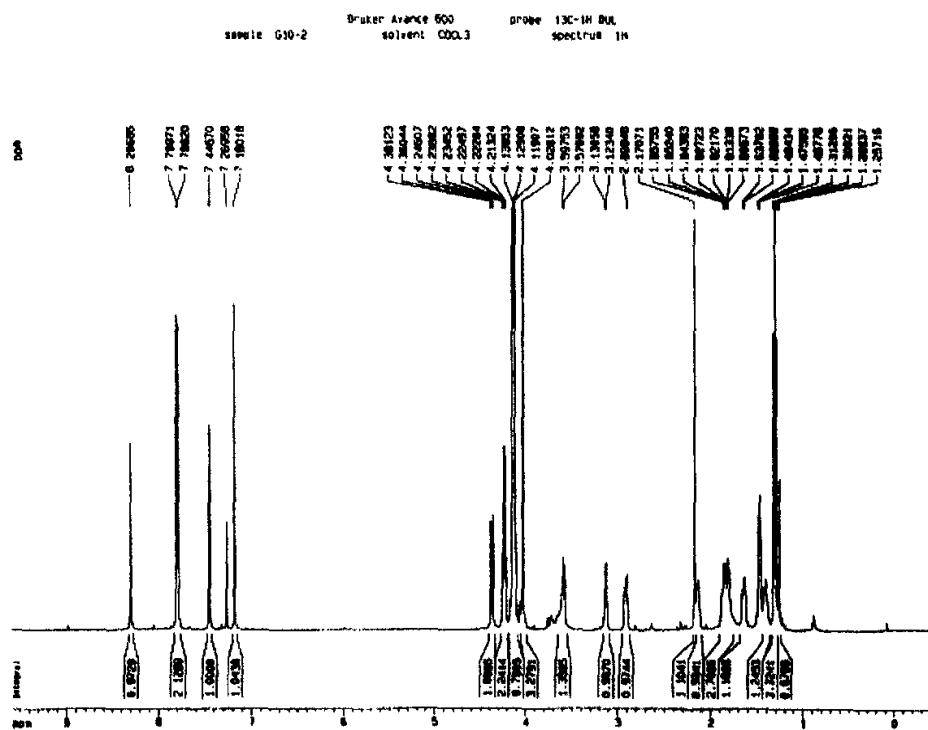
¹H NMR of Compound 20E

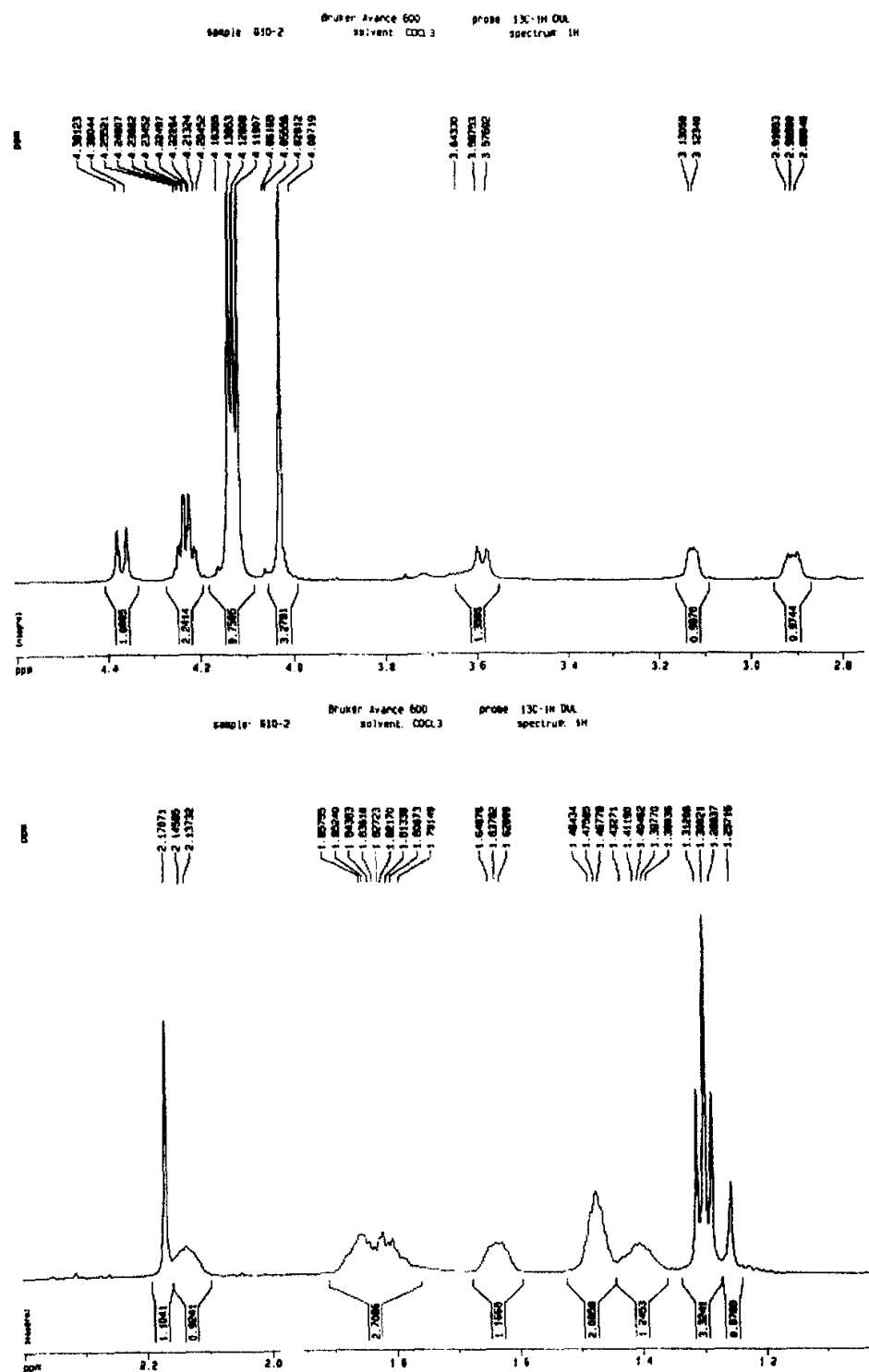


IR of Compound 20E

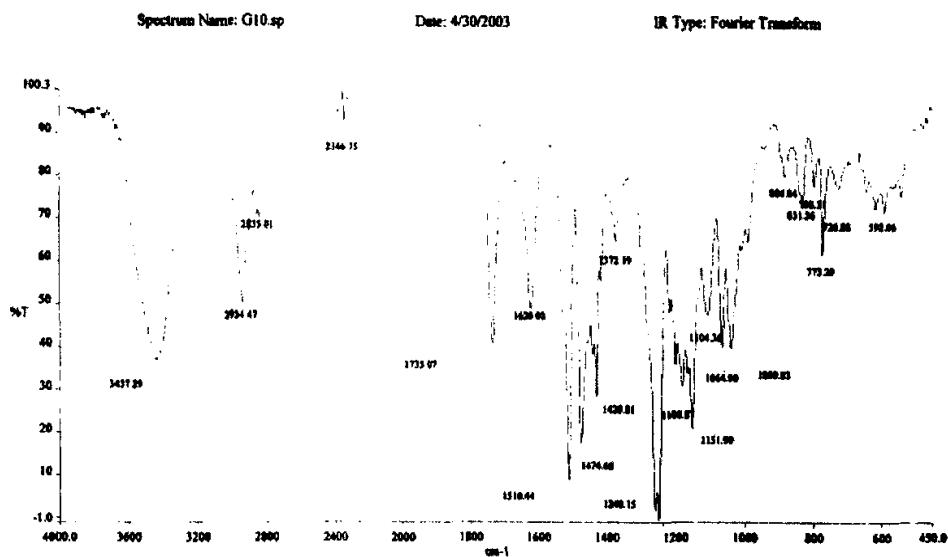


ESIMS of Compound 20E

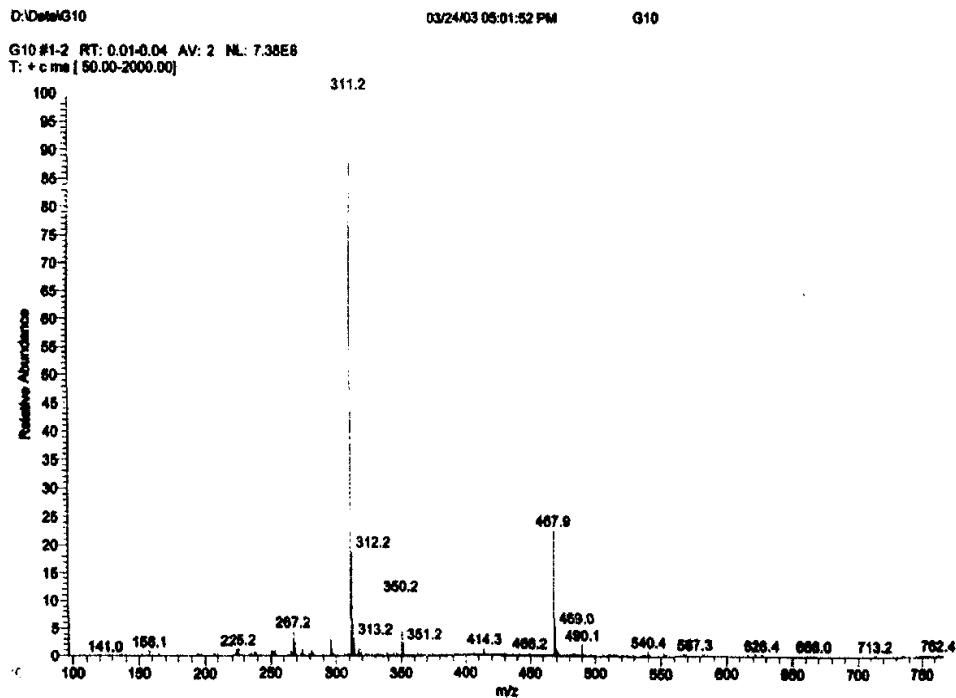
¹H NMR of Compound 29E



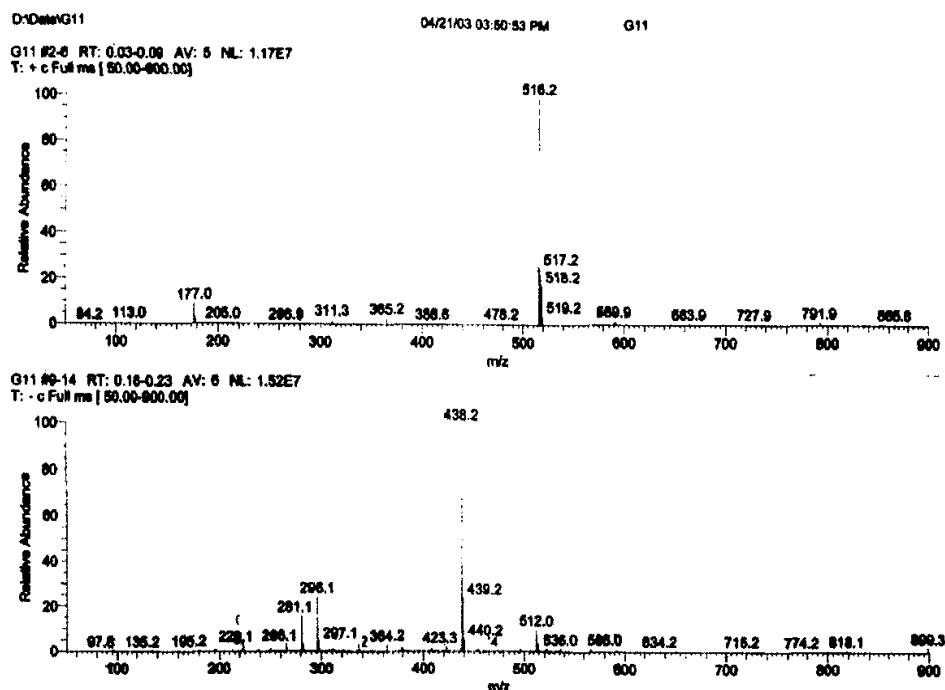
IR of Compound 29E



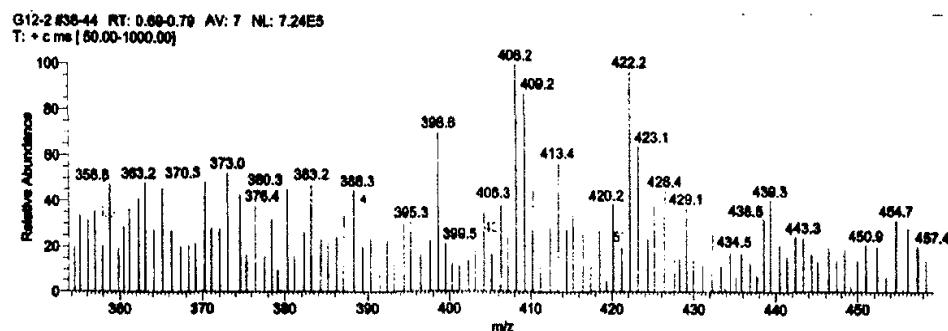
ESIMS of Compound 29E



ESIMS of Compound 30E



ESIMS of Compound 31E



个人简历

罗应刚，男，汉族，1974年10月生于四川省资中县。1993年9月考入西南师范大学生命科学学院学习，于1997年获得生物学理学学士学位，同年考入中国科学院成都生物研究所，师从张国林研究员，从事天然产物方面的研究，于2000年获得植物学理学硕士学位，同年考入中国科学院成都有机化学研究所攻读有机化学博士学位，师从中国科学院成都生物研究所张国林研究员，从事天然抗肿瘤活性化合物及构效关系的研究。

发表文章

1. Yinggang Luo, Yan Liu, Duxiang Luo, Xiaoping Gao, Bogang Li and Guolin Zhang, Cytotoxic Alkaloids from *Boehmeria siamensis* Craib, *Planta Medica*, in press
2. Yinggang Luo, Chun Feng, Yajuan Tian, Bogang Li and Guolin Zhang, Three Novel Nortriterpenoids from *Notochaete hamosa* Benth. (Labiatae), *Tetrahedron*, submitted
3. 罗应刚, 高小平, 张国林, 束序苎麻中的抗肿瘤活性成分, 中国科协首届博士生学术交流大会论文集, 深圳, 2002, 304-308
4. Yinggang Luo, Chun Feng, Yajuantian and Guolin Zhang, Glycosides from *Dicliptera riparia*, *Phytochemistry*, 2002, 61(4), 449-454
5. 罗应刚, 刘燕, 田雅娟, 高小平, 顾建, 周敏, 李伯刚, 张国林, 新型抗肿瘤植物提取物、其提取方法及其类似物, 申请号: 02133304.1, 申请日: 2002年6月18日
6. Yinggang Luo, Bogang Li, Guolin Zhang, Four New Glycosides from *Pleurospermum franchetianum*, *Journal of Asian Natural Products Research*, 2002, 4(2), 155-163

致 谢

本论文是在导师张国林研究员的悉心指导下完成的。首先衷心地感谢张老师对我的学习和实验的精心指导。张老师实事求是、严谨治学的精神和态度是我学习的楷模；张老师勇于创新、雷厉风行的作风是我学习的榜样；张老师广博的理论知识和丰富的实验经验为我钦佩。在此，学生谨向张老师表示最衷心的感谢和崇高的敬意！

中国科学院成都生物研究所天然产物研究中心的丁立生研究员、吴风锷研究员、王明奎研究员和彭树林研究员等对本论文的完成也给予了热情地关心和帮助，学生在此一并表示深深的谢意！

感谢易近海博士、周一博士、广兵博士、周向葛博士、陈斌博士和陈绍农博士等对我工作的关心与帮助！

中国科学院成都生物研究所天然产物研究中心张国林研究员课题组全体同仁对我的研究工作给予了极大地支持和帮助，在此一并致谢！

同时我还要感谢成都地奥制药集团药物筛选中心高小平老师课题组完成了抗肿瘤活性测试实验；中国科学院西双版纳植物园崔景云研究员对植物样品进行了鉴定；中国科学院上海有机化学研究所余亦华老师、四川大学药学院周游和苏甫老师以及中国科学院成都生物研究所戚华溢和任维检老师完成了一维和二维核磁共振谱的测试；中国科学院昆明植物研究所质谱室梁惠玲老师和中国科学院成都生物研究所质谱室周燕和梁健老师完成了质谱的测试；中国科学院成都有机化学研究所不对称合成联合开放实验室完成了旋光的测试。

最后，感谢中国科学院成都有机化学研究所人事教育处陈恩惠和钟灵老师及中国科学院成都生物研究所人教处位东、王宁霞和李杰等老师对我学习、工作和生活所给予热情地关心和帮助，借此机会，向他们表示我深深的谢意！