

anomer 中 C-2,3 的化学位移比 α, β -D-pyranoglucose 中 C-2,3 的化学位移位于较低场, 而与其相邻的 C-1,4 却位于较高场, 进一步证实了 HHDP 基位于葡萄糖核的 2,3-位。由以上分析确定该化合物的结构为 2,3-HHDP-D-glucose (IV), 负离子 FAB-MS 给出分子离子 $481[M^+ - 1]$, 与上述推测一致。

参 考 文 献

- 1 刘延泽, 等. 天然产物研究与开发, 1998, 10(1): 14
- 2 Okuda T, *et al.* Tetrahedron Lett, 1982, 23: 3937
- 3 Han L, *et al.* Chem Pharm Bull, 1994, 42(7): 1399
- 4 Yoshida T, *et al.* Chem Pharm Bull, 1992, 40(7): 1750
- 5 龚运淮. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移. 昆明: 云南科技出版社, 1986: 403

(1998-09-16 收稿)

天然紫杉醇分离难点研究

西安天诚医药生物工程有限公司(710075) 薛迎春* 陈 冲 周 佳

摘 要 从红豆杉树皮中提取分离紫杉醇, 采用 1% 柠檬酸渗漉, 柱层析分离, 最后用溴加成分离紫杉醇和 cephalomannin, 可容易得到高纯度的紫杉醇。

关键词 紫杉醇 分离 溴加成

紫杉醇(paclitaxel)^[1]是从红豆杉植物树皮和树叶中提取的二萜类化合物, 它是当今世界公认的广谱性最好, 活性最强的抗癌药物。有关它的提取分离已有较多报道^[2~6], 多采用乙醇回流提取, 柱层析分离, 再经过制备高效液相色谱, 才能得到高纯度 paclitaxel。在天然 paclitaxel 的分离过程中, 难点是如何快速有效地分离 paclitaxel(t)和 cephalomannin(c), 它们的化学结构式见图 1。

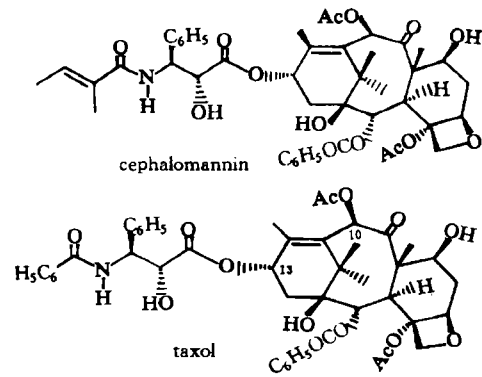


图 1 cephalomannin 和 paclitaxel 的化学结构式

可看出, 它们结构非常相似, 只有在 C₁₃ 侧链上有微小差异在薄层板上几乎同一斑

点, 这给它们分离带来很大困难。c 和 t 的部分侧链结构见图 2。

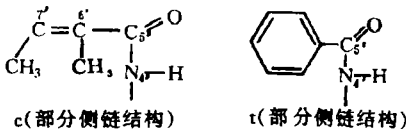


图 2 t 和 c 的部分侧链结构

在 c 的侧链结构中, 由于 C_{5'}-N_{4'} 的酰胺影响, C_{7'}-C_{8'} 的双键 π 电子云向 C_{6'} 乃至 C_{5'} 方向偏移有利于溴的进攻, 而 t 的此位置系一苯环, 相对于 c 其电子云密度比较均匀而稳定, 利用这一差异, 我们采用溴加成的办法, 改变 c 的侧链结构, 使两者极性有了差异, 可采用普通的硅胶柱层析进行分离。

1 仪器和材料

FABMS 用 JMS-S $\times$ 102 质谱仪; EIMS 用 ZAB-2F 质谱仪; IR 用 60 SXFIR 仪器(美国 Nicolet 公司); ^1H NMR 用 Fx-90Q 型仪器(日本 GEC 公司); HPLC 用 Waters 600-E 型仪; 熔点用 Koflet 熔点仪(温度计未校正); 旋光用 WZZ-1 型自动指示旋光仪(上海

物理光学仪器厂)。薄层层析用硅胶、柱层析用硅胶均用青岛海洋化工厂产品。其它试剂均用分析纯试剂。标准品 paclitaxel(t)和 cephalomannin(c)由 Sigma 公司提供。

2 实验

2.1 加成样品的准备:将树皮用 1%柠檬酸渗漉,提取所得总萜经过 2 次柱层析,得到薄层单一斑点,经 HPLC 检测含量可达 40%~50%的粗品。

2.2 溴加成:加成过程的要点是溶剂的选择,溴量的选择,润柱溶剂的选择,反应温度、时间的控制,分别作了以下实验:

2.2.1 溴量选择:称取 2 个 30 g 硅胶(100~120 目),用 CHCl₃ 湿法上柱,称取 2 个 2.0 g 待加成样品溶于少量 CHCl₃ 中,分别移取 0.1 mL 和 0.15 mL 溴,在搅拌条件下滴入样品液中,搅拌后倾入柱顶,结果见表 1。

表 1 溴加成过程的溴量选择

	硅胶量 (g)	样品量 (g)	溴用量 (mL)	HPLC 结果(%)
A	30	2.0	0.1	3.9
B	30	2.0	0.15	0.1

以上结果表明溴量要过量才可以保证一次除去 C。

2.2.2 湿法上柱溶剂选择:同上的实验,A 柱选用 CHCl₃,B 柱选用 CCl₄。上样量相同,结果表明用 CHCl₃ 分离效果不佳,用 CCl₄ 分离效果很好。

2.2.3 溶解样品的溶剂、用量选择:我们对溶样的溶剂进行选择,经过分析,应选择极性小的试剂,结果见表 2。

表 2 溶样的溶剂及用量的选择

	硅胶量 (g)	样品量 (g)	溶剂及用 量(mL)	HPLC 结果(%)
A	60	4.0	CCl ₄ 5	6.0
B	60	4.0	CHCl ₃ 5	0.1
C	60	4.0	CCl ₄ 1	有凝胶出现

由于 C Cl₄ 对 t 的溶解度很小,所以应选择少量的 CH Cl₃ 溶解。

2.2.4 溶溴溶剂的选择:将溴溶于极性小的溶剂中,有利于加成反应进行,一般选择 CH-

Cl₃ 或 CCl₄,结果见表 3。

表 3 溶溴溶剂的选择

	硅胶量 (g)	样品量 (g)	溶剂及 用量(mL)	结果
A	60	4.0	CHCl ₃ 1	有放热反应
B	60	4.0	CCl ₄ 0.5	效果很好
C	60	4.0	CCl ₄ 1	有凝胶出现

2.2.5 反应温度和时间选择:夏天做此实验时,经常在溶样烧杯中有凝胶出现,有放热现象,选择以下不同反应温度和反应时间,结果见表 4。

表 4 反应温度和时间选择

	样品量 (g)	CHCl ₃ 量(mL)	CCl ₄ 量(mL)	溴量 (mL)	温度 (℃)	时间 (min)	结果
A	4.0	5	0.5	0.3	30	1	较多凝胶
B	4.0	5	0.5	0.3	10	5	较多凝胶
C	4.0	5	0.5	0.3	0	5	较少凝胶
D	4.0	5	0.5	0.3	0	1	效果好

根据以上实验结果,我们确认最佳条件,放大至上样量为 10 g,具体操作如下:称取 150 g 100~120 目硅胶,用 CCl₄ 湿法上柱,走平。A:称取 10 g 等加成样溶于 25 mL CHCl₃ 中,使之溶解;B:取 0.75 mL 溴溶于 1.3 mL CCl₄ 中。将 B 滴入 A 中,搅拌,迅速加入柱顶,用 CCl₄ 洗脱至液无色,然后用 CHCl₃ 洗脱,至浅黄色带不再移动时,加大极性到 CHCl₃-MeOH=100:0.5,等较纯 t 分流下时,加大至 CHCl₃-MeOH=100:1,收集合并 t 分流,真空浓缩得固体 5.5 g,再用乙醇-水重结晶,得 99.21% paclitaxel。

3 鉴定

paclitaxel:白色结晶,mp213 ℃~215 ℃。IR cm⁻¹:3 460, 1 730, 1 720, 1 710, 1 650。FABMS m/z:854, 794, 569。EIMS m/z:550, 490, 430, 404, 386, 326, 308, 222, 210, 193, 165, 147, 122, 105, 91, 77。¹HNMRδ:1.16(3 H, s), 1.25(3 H, s), 1.69(3 H, s), 1.81(3 H, d, J=1.1), 2.24, 2.39(各 3 H, s), 1.86(1 H, m), 2.33(2 H, m), 2.55(1 H, ddd, J=6.6, 9.7, 14.9), 3.80(1 H, d, J=7.0), 4.20, 4.30(各 1 H, d, J=8.5), 6.24(1 H, brt, J

=8.3), 6.27(1 H, s), 6.96(1 H, d, J=8.8), 7.40(5 H, m), 7.61(2 H, t, J=7), 7.74(2 H, d, J=7), 8.14(2 H, d, J=7)。

4 讨论

溴加成的办法分离 c, t 同制备色谱法相比, 可形成规模化生产, 同 O_5O_4 氧化法^[7]相比, 具有安全化, 成本低, 操作简单易行等优点。实验的关键处溴加成控温 $<20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 反应时间不超过 5 min。

致谢: 旋光、熔点、HPLC、UV 均由本公

司检测中心检测; IR, MS, ^1H NMR 由 204 所代测。

参考文献

- 1 Wani M C, *et al.* J Am Chem Soc, 1971, 93:2325
 - 2 Harrey S D, *et al.* J Chromatogr, 1991, 587:300
 - 3 Witherup K M, *et al.* J Liq Chromatogr, 1989, 12: 2117
 - 4 Shiff P B, *et al.* Nature (London), 1979, 277:665
 - 5 陈未名, 等. 药科学报, 1991, 26(10):747
 - 6 Stasko M W, *et al.* J Liq Chromatogr, 1989, 12(11): 2133
 - 7 David G1, *et al.* J Nat Prod, 1992, 55(2):259
- (1998-09-22 收稿)

板蓝根抗流感病毒有效部位的筛选[△]

山东中医药大学药学院(济南 250014) 刘思贞* 祝希娴 邵玉芹 马天波

摘要 利用系统溶剂分离法和阳离子树脂吸附交换, 对板蓝根的化学成分进行了分离, 再利用鸡胚羊膜腔半体内法进行抗流感病毒活性实验, 最后证明活性部位为亲水性的、被阳离子吸附部分。

关键词 板蓝根 抗流感病毒 有效部位

靛青系十字花科植物 *Isatis indigotica* Fort., 其根作为板蓝根入药, 具有清热解毒, 凉血之功效。临床上广泛用于治疗肝炎、腮腺炎、流感、丹毒、流脑和扁桃体炎等病毒、细菌性疾病。药理研究证实: 板蓝根的水提液对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、八联珠菌、大肠杆菌等 8 种细菌均有强烈的抑制作用。长期以来, 人们一直认为靛苷是板蓝根抗病毒、抗菌的有效成分, 并把它含量作为控制板蓝根制剂质量的指标^[1~3], 但实验表明, 靛苷在动物的胃、小肠和盲肠中均被分解破坏, 而且自体内排出很快, 体外也无明显的抗菌、抗病毒活性。为了搞清板蓝根抗流感病毒的有效成分, 同时也为了给板蓝根制剂的质量控制提供真实可靠的指标, 我们在预实验即板蓝根的水提液和乙醇提取液对抗流感病毒活性实

验取得肯定结果的基础上, 做了进一步的有效部位的筛选工作, 除确定其有效部位为阳离子树脂吸附部分外, 还证实有效部位经酸水解后, 立即丧失活性, 即有效部位为结合氨基酸。

1 材料

板蓝根: 市售, 为十字花科植物 *Isatis indigotica* Fort. 的根; 鸡胚: 济南养鸡场购进时为 4 日龄, 室内再孵化 5 d; 阳离子交换树脂: 市售, 732 型, 郑州市化学试剂三厂; 盐酸吗啉双胍: 市售。实验用的流感病毒毒株: 甲型流感病毒株, 在样品 I ~ VI 中用国家代表株 A/津防/78/77; 在样品 VII, VIII 中用国家代表株 A/粤防/44/89。乙型流感病毒毒株, 在样品 I, II 中用国家代表株乙/青岛/37/90; 在样品 III ~ VI 中用国家代表株乙/粤防/3/91; 在样品

* Address: Liu Sizhen, College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan

[△]山东省自然科学基金资助项目