

• 专 论 •

天然药物化学史话：天然产物的生物合成

王 伟, 李韶静, 朱天慧, 李力更, 张嫚丽*, 史清文*

河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北 石家庄 050017

摘 要: 天然产物因其独特的化学结构, 往往具有特定靶点、专一性结合的能力而表现出良好的生物活性, 因而一直是生物活性前体化合物和新药发现的重要源泉。植物体通过一次代谢过程和二次代谢过程, 仅用简单的原料二氧化碳和水, 在酶的作用下就合成了结构千差万别的各类型天然产物。其中一些结构特异、生物活性较强的化合物也成了有机合成化学家们竞相研究的热点。阐明天然产物的生物合成途径, 不仅有助于天然产物人工合成的设计和结构推导; 同时, 生物合成的原理、反应类型及反应机制也为有机合成研究领域提供了灵感, 开拓了思路, 催生了许多新颖的合成方法; 以天然产物化学和分子生物学的发展和融合为基础的化学生物学和合成生物学的诞生将催生下一次生物技术革命。

关键词: 生物合成; 天然产物; 反应类型; 人工合成; 结构推导

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)14-3193-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.14.001

Historical story on natural medicinal chemistry: Biosynthesis of natural products

WANG Wei, LI Shao-jing, ZHU Tian-hui, LI Li-geng, ZHANG Man-li, SHI Qing-wen

College of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

Abstract: Natural products are the main resource of leading compounds and new drugs because of their unique chemical structures and strong bioactivities. Through the primary and secondary metabolic processes, the plants synthesize various types of natural products only using carbon dioxide, water, and enzymes. Some of these structure-specific bioactive compounds have become the hot spots for organic synthetic chemists. To figure out the biosynthesis pathway of natural products is helpful for the artificial synthesis and structure elucidation of natural products; Meanwhile, the principle of biosynthesis, reaction classification, and reaction mechanism also provide inspiration for the research field of organic synthesis. Chemical biology and synthetic biology based on the development and integration of natural product chemistry and molecular biology also promote the birth of new disciplines.

Key words: biosynthesis; natural products; reaction classification; artificial synthesis; structure elucidation

1804 年德国药剂师 Friedrich Wilhelm Adam Sertürner (1783—1841) 第一次从罂粟中分离得到纯的吗啡 (morphine), 开创了天然药物化学研究的先河。直至 19 世纪下半叶, 已经从自然界 (主要是植物) 中分离出一系列的天然成分。随着这些成分不断地被发现和积累, 化学家们开始对这些小分子来源及它们在植物体内的形成过程产生了兴趣。本文将对天然产物的生物合成, 从诞生到发展过程中的一些代表性合成反应进行综述, 阐明天然产物生物

合成发展的历史脉络及其在天然药物化学、有机化学及促进新学科发展的重要作用。

1 生物合成假说的提出

德国化学家瓦拉赫 (Otto Wallach, 1847—1931, 图 1) 经过短暂的兵役之后, 1872 年进入波恩大学凯库乐 (Friedrich August Kekulé, 1829—1896) 实验室开始了挥发油的研究。在从天然植物中提取挥发油的研究过程中, 瓦拉赫发现其中主要成分是具有低相对分子质量、不饱和的有机分子, 这些分子与之

收稿日期: 2018-05-11

基金项目: 河北省教育厅软科学研究及科普专项基金 (18K54803D); 英国先正达研究基金会资助 (2016-Hebei Medical University-Syngenta-05); 2016 年河北医科大学校内科研发展基金 (kyfz111); 河北省教育厅重点课题 (ZD2016093)

作者简介: 王 伟 (1972—), 女, 高级实验师, 河北医科大学药学院实验中心主任, 从事药物化学相关研究工作。

*通信作者 张嫚丽, 女, 博士, 硕士生导师, 主要从事天然产物活性成分研究。Tel: (0311)86265634 E-mail: zhang-manli@163.com

史清文, 男, 博士, 博士生导师, 主要从事天然产物活性成分研究。Tel: (0311)86261270 E-mail: shiqingwen@hebm.edu.cn

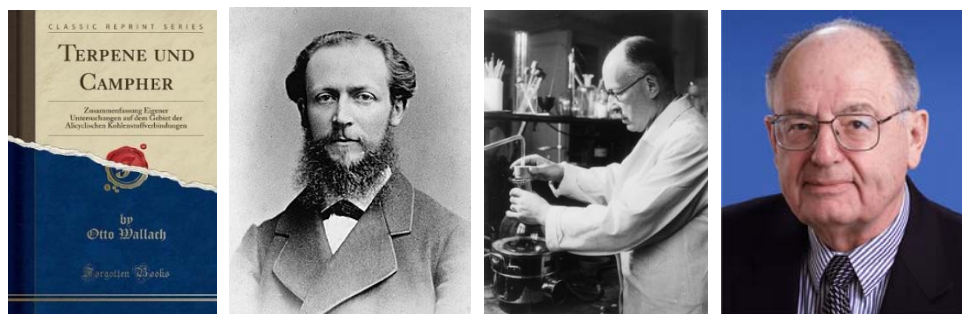


图 1 《萜类与樟脑》的封面及 Otto Wallach (左)、Leopold Ružička (中) 及 Albert Eschenmoser (右)

Fig. 1 Cover of *Terpene and Campher* and Otto Wallach (left), Leopold Ružička (middle), and Albert Eschenmoser (right)

前认识的低相对分子质量有机烃类化合物的性质大不相同,并且瓦拉赫发现,作为挥发油中主成分的这些小分子有机化合物之间存在着某种联系,大都是由 2 个或 2 个以上异戊二烯 (isoprene, C_5H_8) 单位构成的含氧聚合物 (polymers), 其将这类化合物命名为萜烯 (terpenes)。瓦拉赫曾运用最简单的化学试剂,如 HCl 、 HBr 等解析了许多天然精油中的 $C_{10}H_{16}$ 组分萜烯结构 (图 2), 于 1887 年首先总结提出了“异戊二烯规则 (isoprene rule)”：天然萜类化合物都是异戊二烯的聚合体,或者说自然界存在的萜类化合物都是由异戊二烯头尾 (head-to-tail) 相连聚合并衍变的。此规则也被称为“一般的异戊二烯规则 (general isoprene rule)”“经验的异戊二烯规则 (empirical isoprene rule)”或“化学的异戊二烯规则 (chemical isoprene rule)”。1909 年瓦拉赫发表了达 600 余页的学术著作《萜类与樟脑》(*Terpene and Campher*, 图 1)。在人类历史上,挥发油的应用由来已久,挥发油的研究在有机化学发展的初期就已经出现,但直到 19 世纪末因为瓦拉赫的研究才归纳出挥发油中萜类化合物的结构单元,也为现代香料科学的发展奠定了基础。瓦拉赫也因此获得了 1910 年的诺贝尔化学奖。

瑞士苏黎世联邦理工学院 (ETH Zürich) 化学家 Leopold Ružička (1887—1976, 图 1) 在瓦拉赫的研

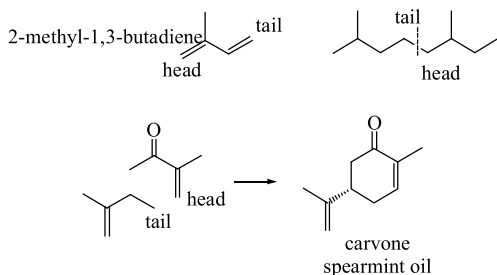


图 2 异戊二烯头尾相连合成香芹酮

Fig. 2 Carvone synthesized from isoprene units

究基础上,进一步对萜类化合物进行深入研究,发现异戊二烯本身并不直接参与萜类化合物的形成过程,而是异戊二烯的活化形式异戊烯基二磷酸 (isopentenyl pyrophosphate, IPP) 和二甲丙烯二磷酸 (dimethylallyl pyrophosphate, DMAPP) 直接参与萜类化合物的生物合成。1953 年他提出了“生源的异戊二烯规则 (biogenetic isoprene rule)”：所有天然萜类化合物都是经甲羟戊酸 (mevalonic acid, MVA) 途径衍生出来的化合物,或者说萜类化合物都有一个活性的异戊二烯前体化合物^[1], 见图 3。由于 Leopold Ružička 在萜类化合物、甾体激素、植物杀虫剂等方面的巨大成就,他的实验室成为世界有机化学的研究中心。Leopold Ružička 也因此获得了 1939 年诺贝尔化学奖。在此期间,Leopold Ružička 的博士生,世界著名化学家 Albert Eschenmoser (1925—, 图 1) 也做出了相当大的贡献^[2-4]。

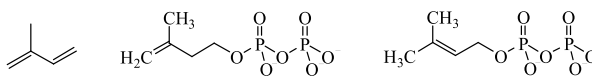


图 3 异戊二烯、异戊烯基二磷酸及二甲丙烯二磷酸的结构
Fig. 3 Structures of isoprene, isopentenyl pyrophosphate, and dimethylallyl pyrophosphate

2 聚酮理论 (polyketide theory)

1893 年英国化学家 John Norman Collie (1859—1942, 图 4) 从地衣中分离出酚性化合物苔黑素 (orcinol), 接着在 1907 年又分离出苔色酸 (orsellinic acid, 图 5), 他和他的学生推测这类化合物可能是通过乙酰基首尾相连或烯酮 (ketene, $CH_2=C=O$) 聚合而成, 并把它们称之为聚乙酰 (polyacetyl) 类化合物, 这是聚酮理论的雏形^[5-8]。

Collie 的聚酮理论思路沉寂了近半个世纪以后, 1953 年澳大利亚化学家 Arthur John Birch (1915—

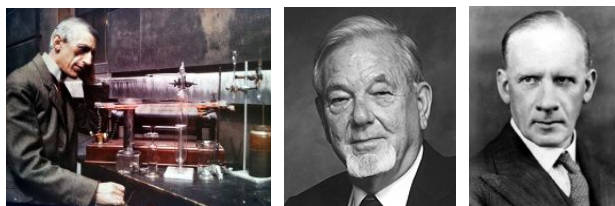


图 4 John Norman Collie, Arthur John Birch 和 Robert Robison (从左到右)

Fig. 4 John Norman Collie, Arthur John Birch, and Robert Robison (from left to right)

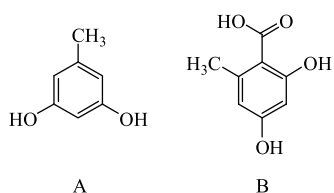


图 5 苔黑素 (A) 和苔色酸 (B) 的结构

Fig. 5 Structures of orcinol (A) and orsellinic acid (B)

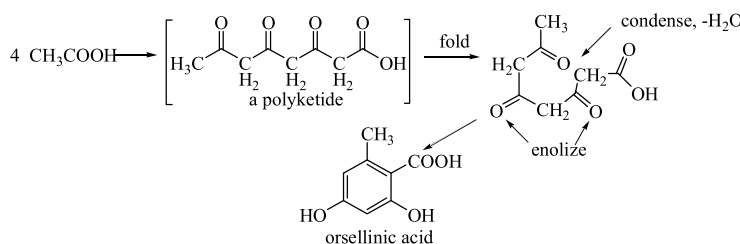


图 6 4 个乙酸单元聚合反应得到聚乙酰 (聚酮只是中间产物)

Fig. 6 Condensation reaction of four acetic acid give an acetogenin (polyketide is a formal intermediate, not always having a real existence)

Robison (1886—1975, 图 4) 发现了几类天然产物结构之间的生源关系, 1955 年牛津大学出版了其著作《天然产物的结构关系》(*The Structural Relations of Natural Products*), 提出了著名的生源学说, 包括所谓的聚酮次甲理论 (polyketonmethylen theory), 首次采用聚酮生物合成 (polyketide biosynthesis) 进行表述。

3 同位素示踪法 (isotopic tracer method)

同位素示踪法是利用放射性核素作为示踪剂对研究对象进行标记的微量分析方法。1896 年英国化学家, 也是 1921 年获诺贝尔化学奖得主 Frederick Soddy (1877—1956, 图 7) 发现了放射现象, 而后发现了同位素的存在, 1913 年正式引进同位素一词 (isotopes) [15]。1912 年瑞典化学家、核医学之父 George Charles de Hevesy (1885—1966, 图 7) 首先试用同位素示踪技术, 并陆续做了许多相关工作 [16-17], 并因其开创性贡献获得了 1943 年的诺贝尔化学奖。1932 年美国哥伦比亚大学化学家 Harold Clayton Urey (1893—1981, 图 7) 发现了重氢 (deuterium)

1995, 图 4) 进一步发展完善了 Collie 的聚酮理论 (图 6)。因缺乏实验证据被《英国化学会志》(*the Journal of the Chemical Society*) 拒稿后, Birch 转而投向了刚刚创刊不久的《澳大利亚化学会志》(*Australian Journal of Chemistry*) [9], 并陆续发表了多篇相关研究 [10-14]。1955 年开始用同位素标记的乙酸酯证实了聚酮类化合物来源于乙酰的聚合。直到 20 世纪 50 年代中期 Robert

同位素, 用于探索追踪生物合成途径, 并因发现氢的同位素氘获得 1934 年诺贝尔化学奖。1934 年法国科学家 Frederic Joliot-Curie (1900—1958, 图 7) 和 Irène Joliot-Curie (1897—1956, 图 7) 夫妇 (1935 年诺贝尔化学奖获得者) 发现了人工放射性 (artificial radioactivity), 1940 年末至 1950 年初发现了放射性同位素 ^{14}C , 为放射性同位素示踪法更快的发展和在生命科学、医学、化学等领域广泛应用提供了基本条件和有力保障, 为人们认识世界开辟了一个新的途径 [18]。

20 世纪 30 年代美国哥伦比亚大学生物化学家 Rudolph Schoenheimer (1898—1941, 图 8) 建立了用同位素追踪生物代谢产物的方法 [19-20]。Schoenheimer 团队的 Konrad Emil Bloch 博士 (1912—2000, 图 8) 掌握了这种方法, 并将其用于胆固醇的研究, 弄清楚了胆固醇的生物合成途径, 并阐明胆酸、性激素和维生素 D 均来源于胆固醇 [21-25]。德国科学家 Feodor Felix Konrad Lynen (1911—1979, 图 8) 确定了合成胆固醇的原料乙酰辅酶 A

(acetyl-coenzyme A) 的结构及其与脂肪酸的关系, 二人分享了 1964 年的诺贝尔生理学或医学奖。在此以前, Fritz Albert Lipmann (1899—1986) 因为发现辅酶 A (coenzyme A, CoA, 图 9), 获得了 1953 年的诺贝尔生理学或医学奖。其实, 在 1953 年, 美

国化学家 Robert Burns Woodward (1917—1979, 1965 年获诺贝尔化学奖获得者) 和英国化学家 Robert Robinson (1886—1975, 1947 年获诺贝尔化学奖获得者) 都对胆固醇的生物合成提出了自己的假说。

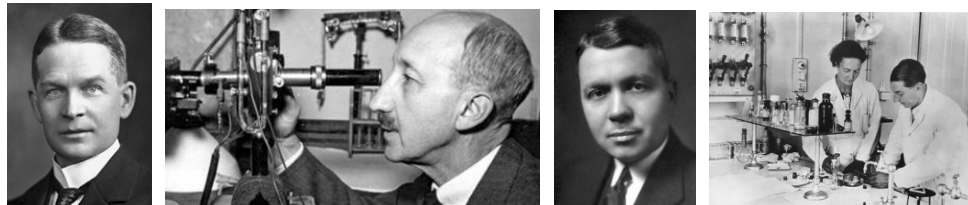


图 7 Frederick Soddy, George Charles de Hevesy, Harold Clayton Urey 和 Frederic, Irène Joliot-Curie 夫妇 (从左到右)
Fig. 7 Frederick Soddy, George Charles de Hevesy, Harold Clayton Urey, and Joliot-Curie couples (from left to right)



图 8 Rudolph Schoenheimer, Konrad Emil Bloch 和 Feodor Felix Konrad Lynen (从左到右)
Fig. 8 Rudolph Schoenheimer, Konrad Emil Bloch, and Feodor Felix Konrad Lynen (from left to right)

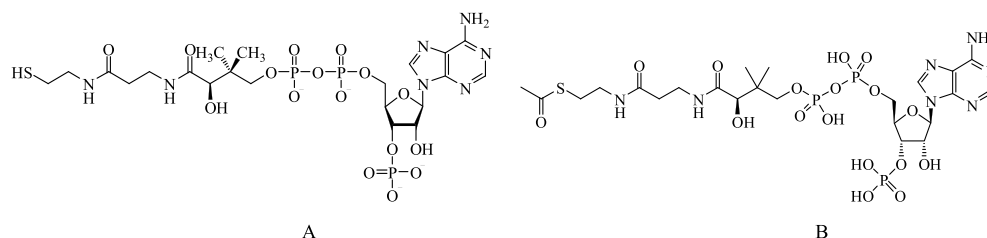


图 9 辅酶 A (A) 和乙酰辅酶 A (B) 的结构
Fig. 9 Structures of coenzyme A (A) and acetyl-coenzyme A (B)

生物合成理论研究的辉煌时代是在 20 世纪 60 年代中期, 其重要的标志是异戊二烯途径和氨基酸途径的确立。用放射性同位素追踪标记方法验证了 Ruzicka 提出的生源异戊二烯规则 (biogenetic isoprene rule), 发现 MVA 可作为乙酸替代物而起作用, 进而确立了异戊二烯途径 (isoprene pathway) 在萜和甾体类化合物生物合成中的重要作用。1950 年德国生物化学家 Feodor F. Lynen 发现了焦磷酸异戊烯酯 (IPP) 的存在。1956 年美国默克公司化学家 Karl August Folkers (1906—1997, 图 10) 发现了 MVA 的存在, 由此证明了“生源的异戊二烯规则”假设成立 (图 11)。1993 年法国学者 Rohmer 等^[26]又发现了新的非甲戊二羟酸合成途径 (non-mevalonic acid pathway,

mevalonate-independent pathway, 图 12), 并进行了相关研究^[27-29]。

20 世纪 50 年代中期 Robison 还提出了氨基酸是生物碱的生物合成前体物假说, 1960 年被英国剑桥大学 Alan Rushton Battersby 等学者用放射性同位素标记方法所证实。迄今为止, 生物合成已经发展成为颇具生命力的学科, 其研究范围已几乎涉及所有类型的天然产物。

4 三羧酸循环 (tricarboxylic acid cycle)

最初, 生物化学和天然药物化学联系非常密切。因对细胞化学 (特别是蛋白质和核酸) 有卓越的研究成就而获得 1910 年诺贝尔生理学或医学奖的德国著名的生物化学家 Albrecht Kossel (1853—1927, 图 13), 细胞化学的奠基人, 于 1891



图 10 Karl August Folkers, Michel Rohmer 和 Alan Rushton Battersby (从左到右)

Fig. 10 Karl August Folkers, Michel Rohmer, and Alan Rushton Battersby (from left to right)

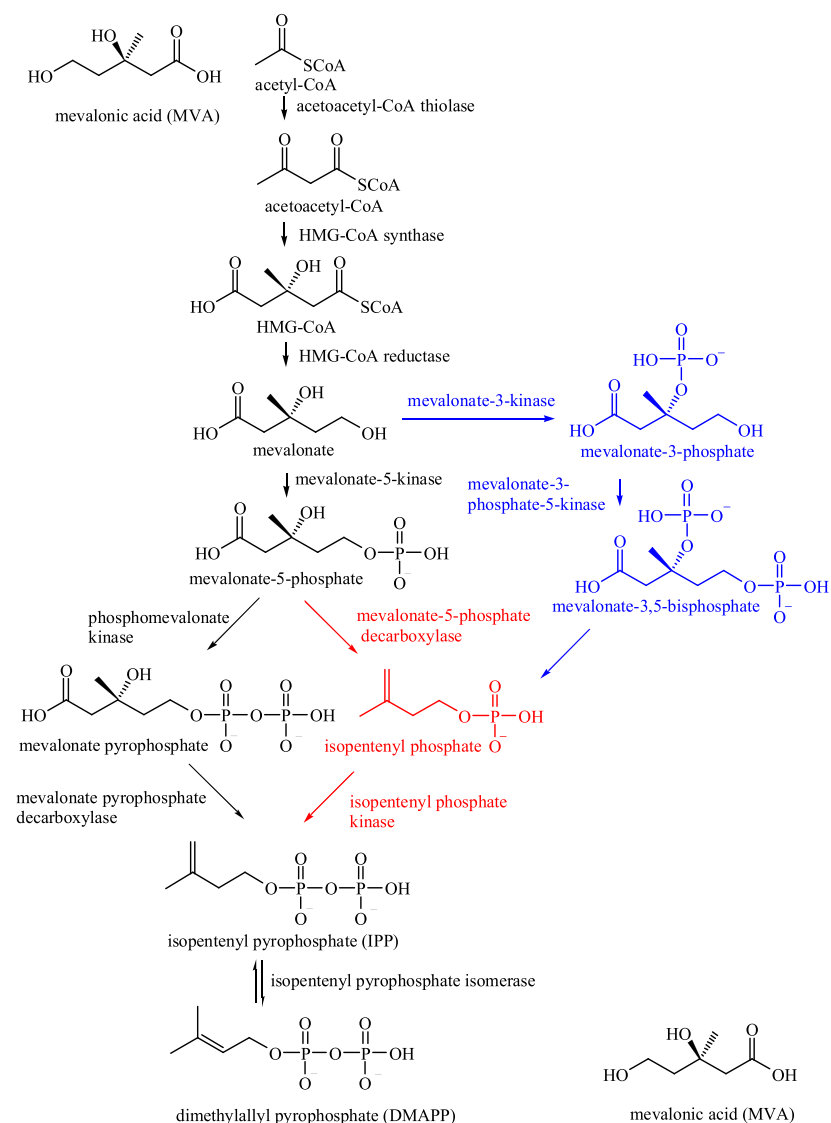


图 11 MVA 合成途径

Fig. 11 MVA biosynthetic pathway

年首次提出一级代谢产物 (primary metabolites) 和二级代谢产物 (secondary metabolites) 的概念。Kossel 还首次分离出了茶碱 (theophylline), 茶碱为茶叶和咖啡的有效成分。绿色植物和藻类植物体内碳的代谢途径均是从光合作用开始的, 通常

可将代谢过程大致分为 4 个区 (A~D): A 区是光合作用产生的葡萄糖及其糖酶解, 这部分是全部代谢的基源; B 区主要是葡萄糖代谢产生的有机酸; C 区是前体物; D 区是二级代谢产物。三羧酸循环在其中起了重要作用。

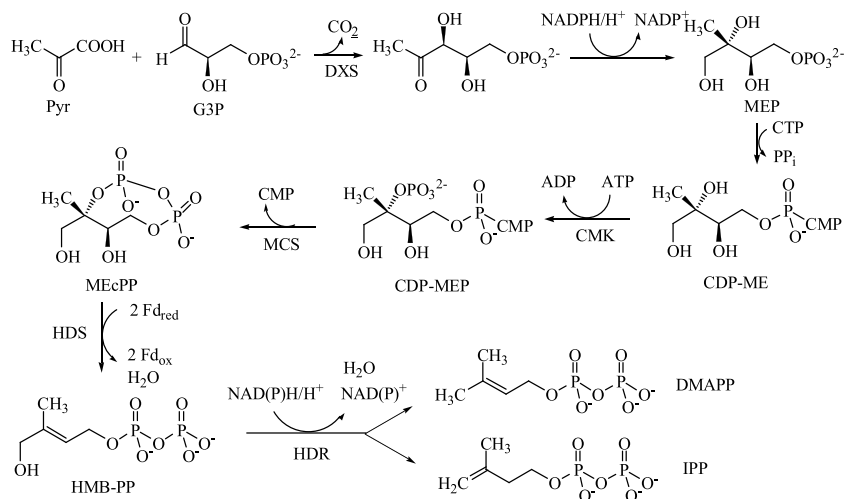


图 12 非甲戊二羟酸合成途径

Fig. 12 Non-mevalonic acid pathway

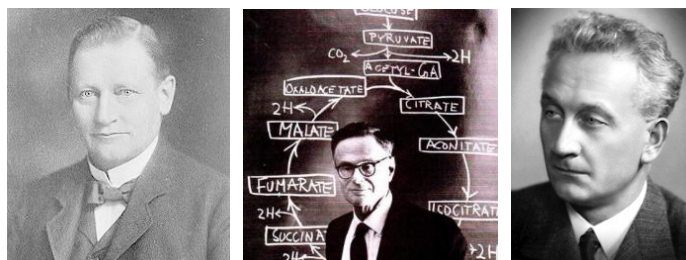


图 13 Albrecht Kossel, Hans Adolf Krebs 和 Albert Szent-Györgyi (从左到右)

Fig. 13 Albrecht Kossel, Hans Adolf Krebs, and Albert Szent-Györgyi (from left to right)

三羧酸循环以循环中一个重要中间体柠檬酸 (citric acid) 命名, 亦称作柠檬酸循环 (citric acid cycle, CAC), 因柠檬酸本身是一种三元羧酸 (tricarboxylic acid), 因此称为三羧酸循环。该循环是 1937 年由德裔英国生物化学家 Hans Adolf Krebs (1900—1981, 图 13) 发现, 因而也被称为 Krebs cycle^[30-31]。因此, Krebs 获得 1953 年诺贝尔生理学或医学奖。早在 20 世纪 30 年代, 匈牙利生物化学家 Albert Szent-Györgyi (1893—1986, 图 13) 就因阐明了 CAC 中的一个重要中间体延胡索酸 (fumaric acid) 的研究, 获得了 1937 年诺贝尔生理学或医学奖。

葡萄糖经糖酵解 (glycolysis) 产生的丙酮酸 (pyruvic acid) 经过丙酮酸脱氢酶系氧化, 生成乙酰辅酶 A 后, 与由苹果酸 (malic acid) 生成的四碳二元羧酸草酰乙酸 (oxaloacetic acid) 缩合, 生成柠檬酸, 进入 CAC。随后, 经过一系列反应, 2 个碳原子转化为二氧化碳 (CO₂) 分子, 柠檬酸中蕴藏的化学能释放转化至还原的辅酶中。CAC 的终产物仍

然是草酰乙酸, 这使得该循环能源源不断地氧化输入循环的乙酰辅酶 A。乙酰辅酶 A 既可通过脂肪酸的 β -氧化生成, 也可以作为脂肪酸的前体合成脂肪酸 (图 14)。

5 遗传学引导的天然产物生物合成研究

通过研究天然产物的生物合成能够了解这些千变万化的小分子在自然界是怎样形成的。天然产物生物合成的研究大致经历了 3 个阶段: 第 1 阶段主要是在 20 世纪初到 50 年代之间, 是根据结构特点结合化学性质提出生源假说, 如醋酸假说、异戊二烯规则等; 第 2 个阶段是在 20 世纪 50 年代到 80 年代, 主要是通过同位素标记前体喂饲实验来确定生物合成途径, 这一阶段的研究使得生物合成的研究从假说变成可通过实验验证的科学, 此后又发展出了刺激实验法、洗涤菌丝法、无细胞提取液转化、遗传诱变等方法来确定生物合成途径; 第 3 个阶段主要是 20 世纪 80 年代以后, 结合现代分子遗传学方法和生物化学的方法来具体地研究天然产物的生物合成, 即 modern genetic-guided 生物合

成研究。一般以英国 John Innes Centre 的 David Alan Hopwood 于 1984 年在《自然》(Nature) 发表成果为标志^[32], 将天然产物与对应的生物合成基因联系了起来, 这方面尤以聚酮合酶 (PKS) 和诺娜基二磷酸合酶 (NPPS) 类化合物的生物合成机制研究最为突出, 近年来已经取得了重大的突破, 期间还发展出了组合生物合成、全生物合成等新的研究方向^[33-34]。

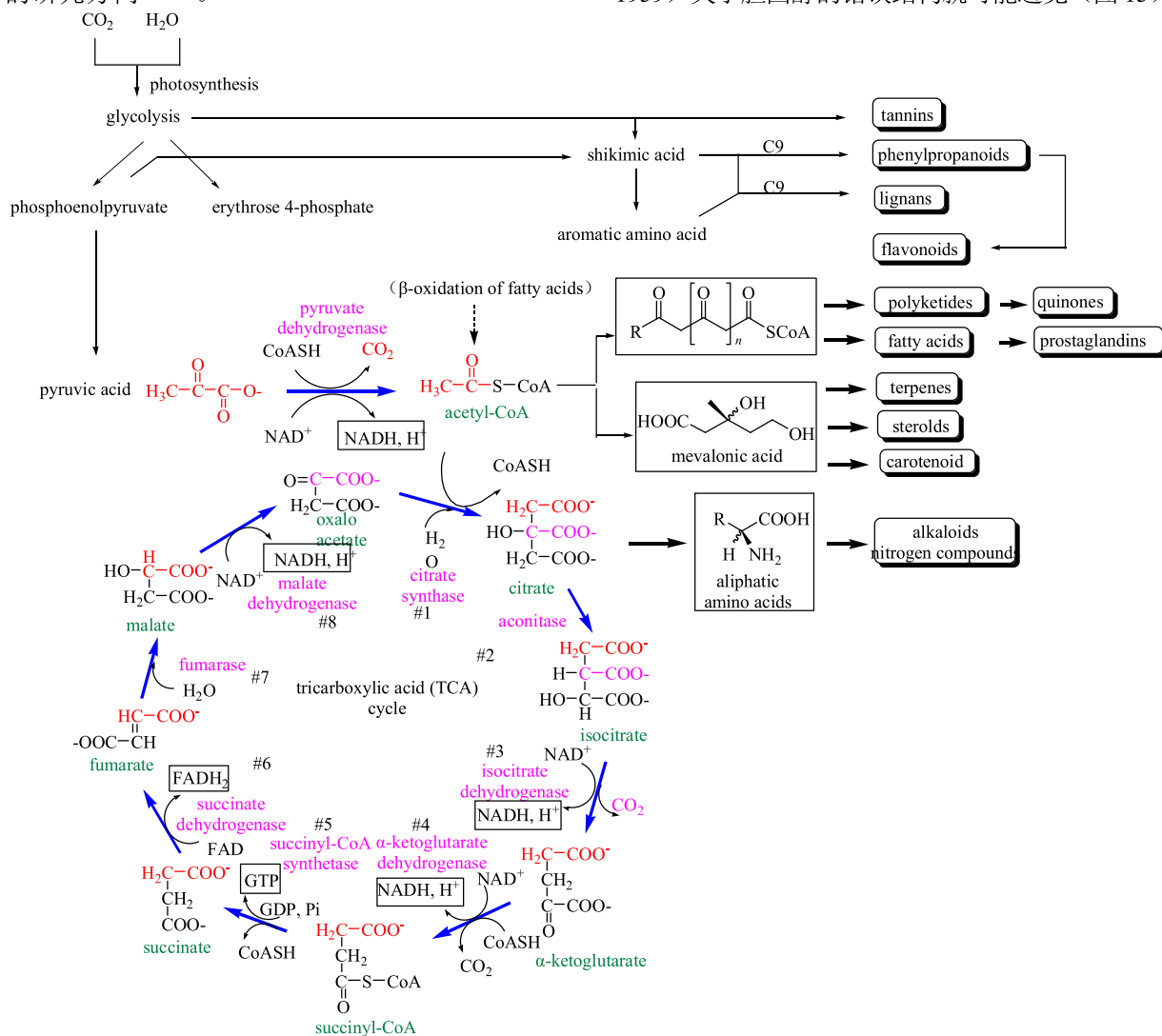


图 14 CAC 得到的一级及二级代谢产物

Fig. 14 Primary and secondary metabolites from CAC

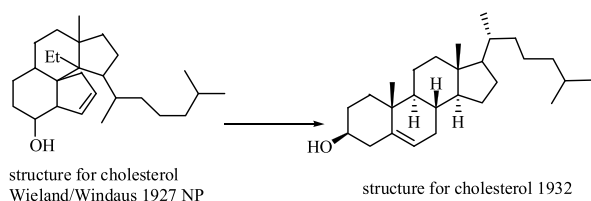


图 15 胆固醇最初确定的结构及正确的结构

Fig. 15 Original structure of cholesterol and corrected one

6 生物合成研究的意义

6.1 有助于天然产物的结构鉴定

在 NMR 和 X-ray 衍射技术高度发展的今天, 二者的应用虽然已显得无足轻重, 但在 1950 年以前还很重要, 是天然产物结构推测的重要手段。若在 1920 年以前就搞清了胆固醇和甾体化合物的生物合成途径, 1928 年诺贝尔化学奖获得者 Reinhold Windaus (1876—1959) 关于胆固醇的错误结构就可能避免 (图 15)。

6.2 有助于天然产物的仿生合成 (biomimetic synthesis)

在一个天然产物的生物合成途径被阐明后, 按照其生源合成途径, 模仿合成步骤对其进行化学合成的方法称之为仿生合成。仿生合成作为生源假说提供真实的证据。1917 年 Robert Robinson (1886—1975) 利用曼尼希反应 (Mannich) 进行的第一次仿生合成颠茄碱 (又称阿托品) 标志着仿生合成的开始^[35] (图 16)。

20 世纪 50~70 年代是甾体化合物研究的辉煌时代,继 Woodward 和 Carl Djerassi 合成可的松后,20 世纪 50 年代,哥伦比亚大学 Gilbert Stork (1921—2017, 图 17)、瑞士化学家苏黎世联邦理工学院 Albert Eschenmoser (1925—) 和斯坦福大学的 William Summer Johnson (1913—1995, 图 17) 等人在胆固醇生物合成的基础上,提出一个多烯环合的假说^[36]。20 世纪 70 年代哥伦比亚大学 Ronald Charles D. Breslow (1931—2017, 图 17) 提出了仿生化学的概念^[37-41]。William Summer Johnson 博士把甾体化合物的全合成推向了极致,采用巧妙的仿生合成方法完成了孕甾酮 (progesterone) 的全合成,这是天然产物全合成历史上的一个里程碑^[42-43] (图 18)。英国 Nottingham 大学的 Gerald Pattenden (1940—, 图 17) 发明了用一步反应合成甾体化合物 4 个环和 7 个手性中心的简易巧妙方法^[44] (图 19)。1992 年加利福尼亚大学 Clayton H. Heathcock 等人依据仿生合成原理合成了虎皮楠生物碱 (daphniphyllum alkaloid) dihydro-proto-daphniphylline^[45-46],在烯醇化合物合成中的立体选择性做了大量研究^[47-49]。他们采用甲酰化的角鲨烯经曼尼希反应,环合、水解合成得到 dihydro-proto-daphniphylline,合成路线见图 20。诺贝尔化学奖得主,哈佛大学的

Corey, 在 1997 年首次报道了运用仿生方法立体选择性地合成了 scalarane 型二倍半萜类化合物达马烷二烯醇 (dammaranediol)^[50] (图 21)。二倍半萜类化合物是海洋萜类天然产物中的一个大家族,在陆生植物中极其少见,其结构主要有 3 种类型: manolide 型、hyrtiosane 型和 scalarane 型。其中 scalarane 型最为常见,具有很好的抗肿瘤、抗感染活性。土楠酸类化合物结构中虽然有很多不对称中心,但整个分子是消旋的,因此人们设想这类化合物在生物合成的前几步是由一系列非手性的非酶的电环合反应中产生的。这一设想在 1982 年被 Nicolaou 所证实^[51]。在相当温和的条件下,经过土楠酸 (endiandric acid) 串联反应生成了土楠酸 A~C (图 22)。

6.3 有利于定向合成所需的天然产物——从青霉素到头孢霉素

青霉素 (penicillin) 和头孢霉素 (cephalosporin) 的共同特点是它们都含有 β -内酰胺环 (β -lactam), 这两类抗生素约占了整个抗生素市场的 65%^[52]。它们在结构上有许多相似之处,均由类似的母核与侧链组成。所不同的是青霉素拼合的是五元环噻唑啉环 (thiazolidine ring), 而头孢霉素拼合的是六元二氢噻唑啉环 (dihydrothiazolidine ring)。头孢霉素不易被青霉

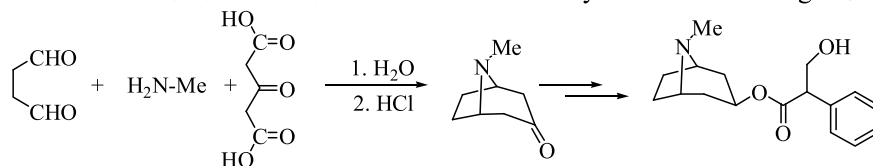


图 16 阿托品的仿生合成

Fig. 16 Biomimetic synthesis of atropine



图 17 Gilbert Stork、William Summer Johnson、Ronald Charles D. Breslow 和 Gerald Pattenden (从左到右)

Fig. 17 Gilbert Stork, William Summer Johnson, Ronald Charles D. Breslow, and Gerald Pattenden (from left to right)

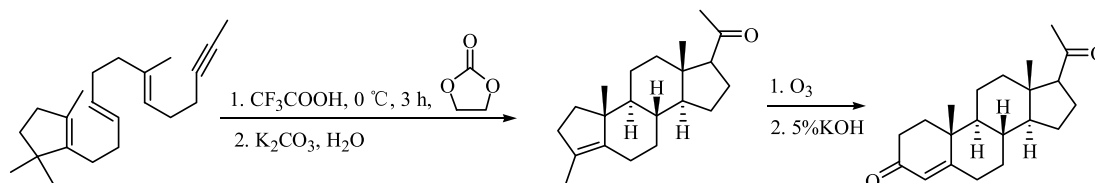


图 18 孕甾酮的仿生合成

Fig. 18 Biomimetic synthesis of progesterone

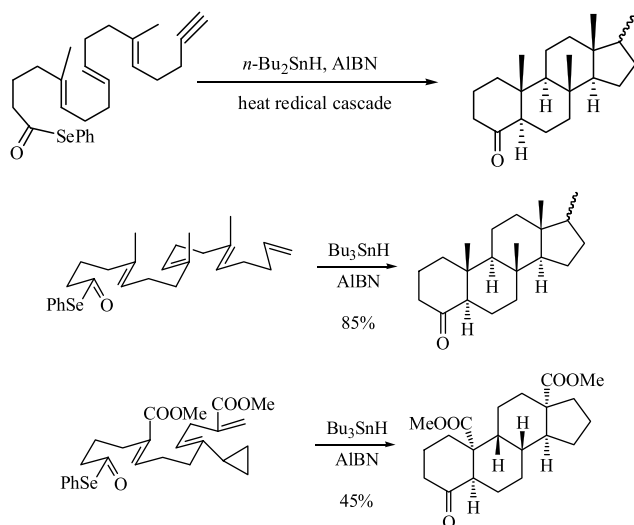


图 19 甾体母核的一步合成

Fig. 19 Synthesis of steroid skeleton for one step

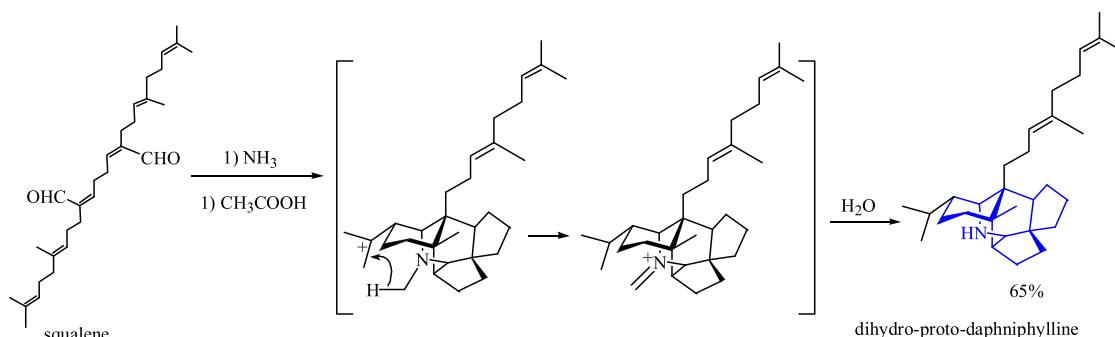


图 20 虎皮楠生物碱 dihydro-proto-daphniphylline 仿生合成

Fig. 20 Biomimetic synthesis of dihydro-proto-daphniphylline

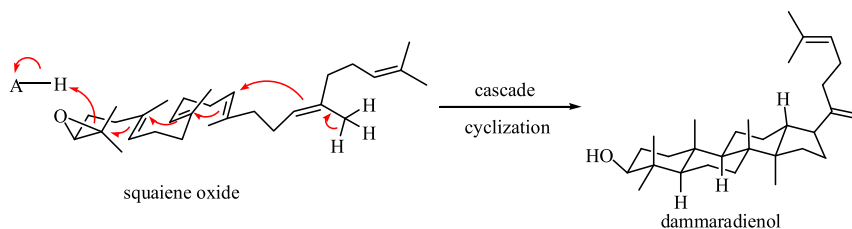


图 21 达马烷二烯醇的仿生合成

Fig. 21 Biomimetic synthesis of dammaradienol

素酶 (penicillinase) 降解, 因此, 与青霉素相比, 不易产生耐药性^[53-54]。很早以前就发现, 在使用青霉菌发酵青霉素时, 发酵液中同时还存在头孢霉素。青霉素和头孢霉素的生物合成途径均已清楚, 在合成的开始阶段青霉素和头孢霉素有共同的前体, 它们是 3 个氨基酸: *L*- α -氨基己二酸 (*L*- α -aminoadipic acid)、半胱氨酸 (*L*-cystein) 和缬氨酸 (*L*-valine)。它们在氨基头孢烷酸 (ACV) 合成酶和 isopenicillin N 合成酶的作用下形成第一个有活性的共同前体物 isopenicillin N, 而后在合成路径上出现了分支, 在分支点上有一个重

要的“调节阀门”扩环酶 (DAOC synthase), 母核的五元环不扩大, 直接进入了青霉素合成, 如果扩大成为六元环, 则进入头孢霉素合成。因此, 目前人们利用基因工程方法, 增加扩环酶基因, 相当于将“调节阀门”打开, 同时利用基因工程方法使流向青霉素合成的基因“关闭”, 使头孢霉素的合成“流”加大, 既可增加头孢霉素的合成产量, 青霉菌经过这样的技术改造, 可以在工业上大量生产头孢霉素^[55-56]。同样头孢霉素也可以将侧链切掉, 获得母核, 然后再接上新的侧链, 获得半合成头孢霉素 (图 23)。

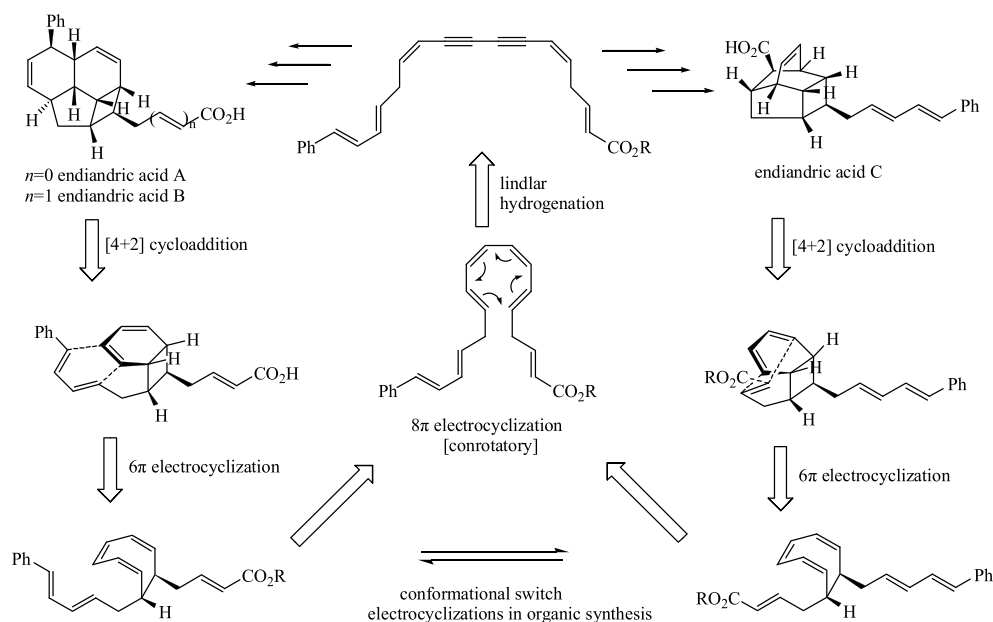
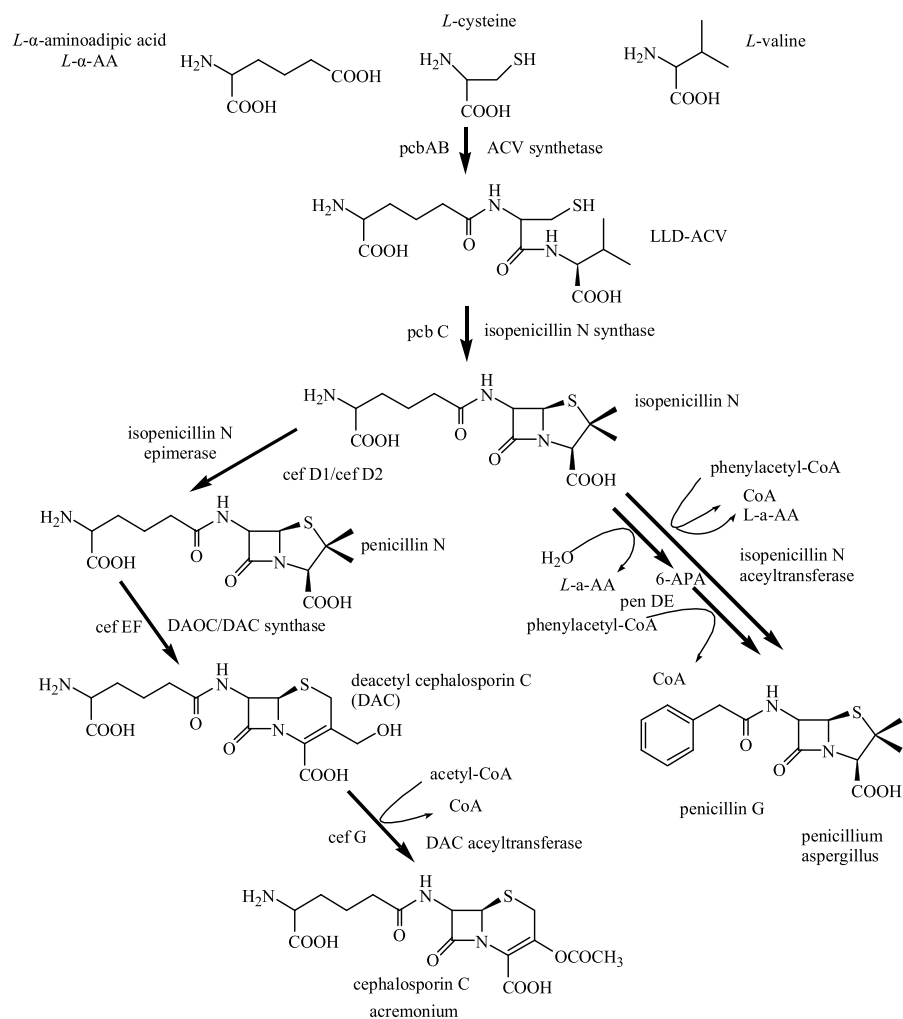


图 22 土楠酸 A~C 的合成路线

Fig. 22 Synthesis of endiandric acids A—C

图 23 青霉素和头孢霉素的生物合成途径^[57]Fig. 23 Biosynthetic pathways for penicillin and cephalosporin^[57]

6.4 狄尔斯-阿尔德反应的发现

狄尔斯-阿尔德反应 (Diels-Alder reaction) 又叫双烯加成反应, 1928 年德国化学家 Otto Paul Hermann Diels (1876—1954, 图 24) 及其学生 Kurt Alder (1902—1958, 图 24) 首次发现并报道了该反应^[58], 他们也因此获得了 1950 年的诺贝尔化学奖。狄尔斯-阿尔德反应是现代有机合成特别是天然产物全合成常用的一个反应, 被伍德沃德和 Nicolaou 等合成大师们青睐^[59-62]。近 20 年, 约有 400 余个天然的狄尔斯-阿尔德反应加成物被不断分离、鉴定^[63], 探究植物中存在的狄尔斯-阿尔德反应加成酶也成为化学家和生物学家研究的热点^[64-72]。

6.5 基于生物合成作用机制的药物发现——他汀 (statins)

20 世纪 50 年代美国生化学家即 1964 年的诺贝尔生理学或医学奖获得者 Konrad Emil Bloch (1912—2000) 阐明了胆固醇生物合成途径^[73-74] (图 25)。当时胆固醇超标和心脏疾病之间具有一定联系

的观点已经得到共识。1973 年, 高尔斯坦和布朗教授成功建立了胆固醇合成速度分析技术, 就是通过分析成纤维细胞 HMG-CoA 还原酶 (HMGR) 的活性, 间接了解了细胞合成胆固醇的能力。然后利用这一简单技术, 确定了血液中低密度脂蛋白是抑制胆固醇合成的关键因子。二人也因此获得了 1985 年诺贝尔医学奖^[75-76]。

受发现青霉素和链霉素的启发, 日本科学家远藤章 (Akira Endo, 图 26) 认为某种菌类可能会产生可以抑制胆固醇合成的物质。这些微生物代谢产物有可能抑制 HMGR。1972 年, 远藤章在筛选了 3 800 种真菌后, 终于发现了桔青酶 *Penicillium citrinum* 提取物能够有效地抑制胆固醇的合成, 1 年后成功从桔青酶中提纯了活性物质, 命名为 ML-236B, 也就是世界上第一个调血脂的天然化合物——美伐他汀 (mevastatin)。他汀又称为 HMG-CoA 还原酶抑制剂 (HMG-CoA reductase inhibitors)。而 HMGR 正是胆固醇生物合成过程中的一个关键限速酶。他汀类药物的活性部位就是甲瓦龙酸相似的羟基戊酸部分。1979 年远藤章首次从红曲霉 *Monascus ruber* 中分离出具有 HMGR 抑制作用的化合物 monacolin K。几乎同一时间, 默克公司的 Alfred Alberts 博士从土曲霉 *Aspergillus terreus* 中也分离出一个对于 HMGR 有抑制作用的化合物, 命名为 mevinolin。后来证实 monacolin K 与 mevinolin 为同一物质, 即洛伐他汀 (lovastatin)。1987 年, 洛伐他汀 (商品名美降脂 Mevacor[®]) 被



图 24 Otto Paul Hermann Diels (左) 和 Kurt Alder (右)
Fig. 24 Otto Paul Hermann Diels (left) and Kurt Alder (right)

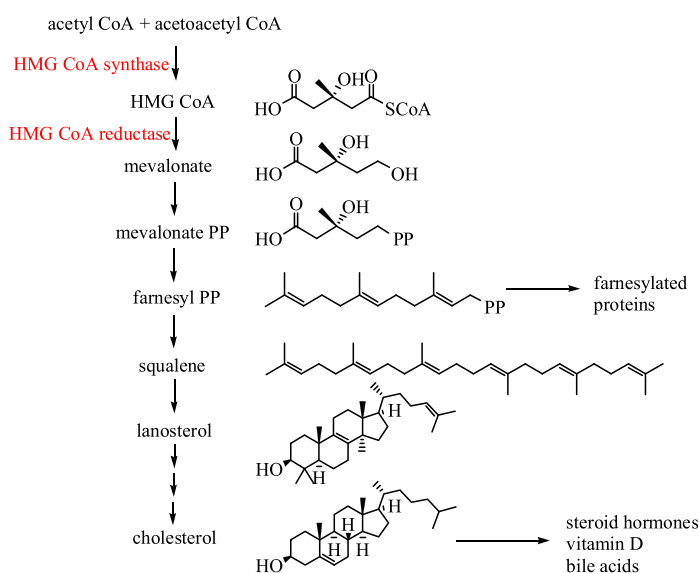


图 25 胆固醇的生物合成
Fig. 25 Biosynthesis of cholesterol



图 26 远藤章 (左) 和 Bruce D. Roth (右)

Fig. 26 Akira Endo (left) and Bruce D. Roth (right)

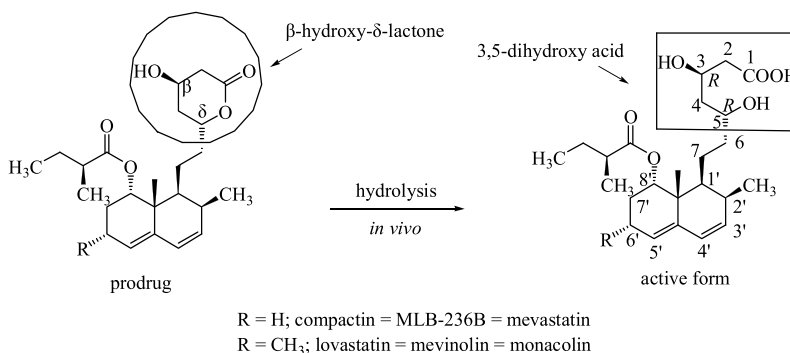


图 27 美伐他汀、洛伐他汀的结构及体内活性形式

Fig. 27 Structures and *in vivo* active forms of mevastatin and lovastatin

销售冠军纪录达 10 年, 且是第一个年销售额突破百亿大关的畅销药物, 也是迄今药物史上销售额最大的药物, 成了史上最成功的 me-best 药物。

7 结语

天然产物来源于自然界, 其化学结构和功能是在自然界长期的进化过程中得以选择和优化的结果, 它们所具有的独特结构特征赋予了天然产物与特定靶点专一性结合的能力并表现出良好的生物活性, 是生物活性前体化合物和药物发现的重要源泉。自然界的天然产物已逾 10 万余种, 结构千差万别。天然产物生物合成研究把这些包罗万象的结构从生源上进行系统分类, 理清了这些天然产物内在的联系。天然药物化学的任务之一是阐明具有生物活性的天然产物的结构及进行全合成, 生物合成的理论有助于天然产物合成的设计和结构的推导, 如 Robinson 对吗啡结构的推导就是典型的案例之一。在生物体内, 一次代谢形成的几百个化合物中只有几个是二次代谢产物的原料, 由这些简单的原料进一步转化形成数目庞大、结构各异的天然化合物, 如何对其形成的原理、涉及反应的类型及机制进行科学的分类引起了人们极大的兴趣。生物合成的反应很多也符合有机化学反应机制, 甚至包括立体化学机制。通过生源合成途径研究, 阐明一类化合物的生物合成的每个步骤, 探索天然产物的形成规律, 阐明天

FDA 批准成为第一个上市的他汀药物 (图 27)。受天然他汀类药物的活性部位的启发, 1985 年 Warner-Lambert 公司的青年化学家 Bruce D. Roth (图 26) 成功地研发出辉瑞 (Pfizer Inc.) 的第一个人工合成的他汀类药物——阿托伐他汀 (atorvastatin)。1996 年底, 美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准了阿托伐他汀, 商品名为立普妥, 开始了一段药品发展史上的传奇。自 1996 年上市以来, 立普妥连续保持

然化合物结构之间的联系及一次代谢和二次代谢产生的生源关系, 解释复杂多变的天然药物化学成分之间的内在逻辑, 为天然产物的全合成具有指导意义。天然产物化学和分子生物学的发展和融合为基础的化学生物学 (chemical biology) 和合成生物学 (synthetic biology) 的诞生将催生下一次生物技术革命^[77-80]。

本文为《天然药物化学史话》系列文章之一。文中部分图片源自网络, 在此向原作者表示衷心感谢。

参考文献

- [1] Ruzicka L. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds [J]. *Experientia*, 1953, 9(10): 357-367.
- [2] Eschenmoser A, Arigoni D. Revisited after 50 years: The 'Stereochemical interpretation of the biogenetic isoprene rule for the triterpenes' [J]. *Helv Chim Acta*, 2005, 88(12): 3011-3050.
- [3] Eschenmoser A, Ruzicka L, Jeger O, et al. Triterpenes. CXC. A stereochemical interpretation of the biogenetic isoprene rule of the triterpenes [J]. *Helv Chim Acta*, 1955, 38(1): 1890-1904.
- [4] Sorensen E J. Albert Eschenmoser [J]. *Helv Chim Acta*, 2000, 83(8): 1673-1677.
- [5] Norman C J. The production of naphthalene derivatives from dehydracetic acid [J]. *J Chem Soc*, 1893, 63(1):

- 329-337.
- [6] Norman C J. Derivatives of the multiple keten group [J]. *J Chem Soc*, 1907, 91(1): 1806-1813.
- [7] Bentley R, Bennett J W. Construction polyketides: From Collie to combinatorial biosynthesis [J]. *Annual Rev Microbiol*, 1999, 53(1): 411-466.
- [8] Davies A G, Norman C J. The inventive chemist [J]. *Sci Prog*, 2014, 97(Pt 1): 62-71.
- [9] Birch A J, Donovan F W. Studies in relation to biosynthesis. I. Some possible routes to derivatives of orcinol and phloroglucinol [J]. *Aust J Chem*, 1953, 6(1): 360-368.
- [10] Birch A J, Lahey F N. The structure of aromadendrene. I [J]. *Aust J Chem*, 1953, 6(1): 379-384.
- [11] Birch A J, Donovan F W. Studies in relation to biosynthesis. III. The structure of eleutherinol [J]. *Aust J Chem*, 1953, 6(1): 373-378.
- [12] Bauer L, Birch A J, Ryan A J. Studies in relation to biosynthesis. VI. Rheosmin [J]. *Aust J Chem*, 1955, 8(1): 534-538.
- [13] Birch A J. Biosynthesis of polyketides and related compounds [J]. *Science*, 1967, 156(3772): 202-206.
- [14] Birch A J. Biosynthetic relations of some natural phenolic and enolic compounds [J]. *Fortschr Chem Org Naturst*, 1957, 14(1): 186-216.
- [15] Davies M. Frederick Soddy: The scientist as prophet [J]. *Annals Sci*, 1992, 49(4): 351-367.
- [16] Hevesy G. The absorption and translocation of lead by plants: A contribution to the application of the method of radioactive indicators in the investigation of the change of substance in plants [J]. *Biochem J*, 1923, 17(17): 439-445.
- [17] Myers W G. Georg Charles de Hevesy: The father of nuclear medicine [J]. *J Nuclear Med: Soci Nuclear Med*, 1979, 20(6): 590-594.
- [18] Ruben S K, Martin D. Radioactive carbon of long half-life [J]. *Physical Rev*, 1940, 57(1): 549-549.
- [19] Schoenheimer R, Rittenberg D. Application of isotopes to the study of intermediary metabolism [J]. *Science*, 1938, 87(1): 221-226.
- [20] Schoenheimer R, Rittenberg D. Deuterium as an indicator in the study of intermediary metabolism [J]. *Science*, 1935, 82(2120): 156-157.
- [21] Woodward R B, Bloch K. The cyclization of squalene in cholesterol synthesis [J]. *J Am Chem Soc*, 1953, 75(1): 2023-2024.
- [22] Bloch K, Rittenberg D. On the utilization of acetic acid for cholesterol formation [J]. *J Biol Chem*, 1942, 145(1): 625-636.
- [23] Bloch K, Berg B N, Rittenberg D. The biological conversion of cholesterol to cholic acid [J]. *J Biol Chem*, 1943, 149(1): 511-517.
- [24] Bloch K. The biological conversion of cholesterol to pregnanediol [J]. *J Biol Chem*, 1945, 157(1): 661-666.
- [25] Vance D E, Goldfine H. Konrad Bloch—A pioneer in cholesterol and fatty acid biosynthesis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 292(5): 1117-1127.
- [26] Rohmer M, Knani M, Simonin P, *et al.* Isoprenoid biosynthesis in bacteria: A novel pathway for the early steps leading to isopentenyl diphosphate [J]. *Biochem J*, 1993, 295(2): 517-524.
- [27] Rohmer M. The discovery of a mevalonate-independent pathway for isoprenoid biosynthesis in bacteria, algae and higher plants [J]. *Nat Prod Rep*, 1999, 16(5): 565-574.
- [28] Rohmer M. Mevalonate-independent methylerythritol phosphate pathway for isoprenoid biosynthesis. Elucidation and distribution [J]. *Pure Appl Chem*, 2003, 75(2/3): 375-387.
- [29] Eisenreich W, Bacher A, Arigoni D, *et al.* Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway [J]. *Cell Mole Life Sci*, 2004, 61(12): 1401-1426.
- [30] Krebs H A, Johnson W A. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues [J]. *Enzymologia*, 1937, 4(1): 148-156.
- [31] Krebs H A, Johnson W A. Metabolism of ketonic acids in animal tissues [J]. *Biochem J*, 1937, 31(4): 645-660.
- [32] Malpartida F, Hopwood D A. Molecular cloning of the whole biosynthetic pathway of a Streptomyces antibiotic and its expression in a heterologous host [J]. *Nature*, 1984, 309(5967): 462-464.
- [33] Hopwood D A. Genetic contributions to understanding polyketide synthases [J]. *Chem Rev*, 1997, 97(7): 2465-2498.
- [34] Bentley S D, Chater K F, Cerdeno-Tarraga A M, *et al.* Complete genome sequence of the model actinomycete Streptomyces coelicolor A3 (2) [J]. *Nature*, 2002, 417(6885): 141-147.
- [35] Robinson R. LXIII. A synthesis of tropinone [J]. *J Chem Soc Transact*, 1917, 111(1): 762-768.
- [36] Stork G, Burgstrahler A W. The stereochemistry of polyene cyclization [J]. *J Am Chem Soc*, 1955, 77(19): 5068-5077.
- [37] Breslow R. Biomimetic chemistry: Centenary lecture [J]. *Chem Soc Rev*, 1972, 1(4): 553-580.
- [38] Breslow R. Biomimetic chemistry [J]. *Pure Appl Chem*, 1994, 66(8): 1573-1582.
- [39] Breslow R. Biomimetic chemistry and artificial enzymes:

- Catalysis by design [J]. *Accounts Chem Res*, 1995, 28(3): 146-153.
- [40] Breslow R. Biomimetic chemistry: A frontier at the chemistry/biology interface [J]. *Chem Biol*, 1998, 5(2): 27-28.
- [41] Breslow R. Biomimetic chemistry: Biology as an inspiration [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(3): 1337-1342.
- [42] Johnson W S, Marshall J A, Keana J F W, *et al.* Steroid total synthesis-hydrochrysene approach. XVI. Racemic conessine, progesterone, cholesterol, and some related natural products [J]. *Tetrahedr Suppl*, 1966, 22(1): 541-601.
- [43] Johnson W S, Gravestock M B, McCarry B E. Acetylenic bond participation in biogenetic-like olefinic cyclizations. II. Synthesis of dl-progesterone [J]. *J Am Chem Soc*, 1971, 93(17): 4332-4334.
- [44] Pattenden G, Gonzalez M A, McCulloch S, *et al.* A total synthesis of estrone based on a novel cascade of radical cyclizations [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(33): 12024-12029.
- [45] Heathcock C H, Piettre S, Ruggeri R B, *et al.* Daphniphyllum alkaloids. 12. A proposed biosynthesis of the pentacyclic skeleton. Proto-daphniphylline [J]. *J Organic Chem*, 1992, 57(9): 2554-2566.
- [46] Piettre S, Heathcock C H. Biomimetic total synthesis of proto-daphniphylline [J]. *Science*, 1990, 248(4962): 1532-1534.
- [47] Heathcock C. The enchanting alkaloids of Yuzuriha [J]. *Angewandte Chem*, 1992, 31(6): 665-681.
- [48] Heathcock C H. Modern enolate chemistry: Regio- and stereoselective formation of enolates and the consequence of enolate configuration on subsequent reactions [J]. *Modern Synth Methods*, 1992, 6(1): 1-102.
- [49] Heathcock C H. Nature knows best: An amazing reaction cascade is uncovered by design and discovery [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(25): 14323-14327.
- [50] Corey E J, Luo G L, Linus S Z. A simple enantioselective synthesis of the biologically active tetracyclic marine sesterterpene scalarenedial [J]. *J Am Chem Soc*, 1997, 119(41): 9927-9928.
- [51] Nicolaou K C, Petasis N A, Zipkin R E, *et al.* The endiandric acid cascade. Electrocyclizations in organic synthesis. I. Stepwise, stereocontrolled total synthesis of endiandric acids A and B [J]. *J Am Chem Soc*, 1982, 104(20): 5555-5557.
- [52] Elander R P. Industrial production of beta-lactam antibiotics [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 61(5/6): 385-392.
- [53] Demain A L. Production of beta-lactam antibiotics and its regulation [J]. *Proceed Nat Sci Council: Life Sci*, 1991, 15(4): 251-265.
- [54] Joklik W K. The story of penicillin: the view from Oxford in the early 1950s [J]. *FASEB*, 1996, 10(4): 525-528.
- [55] Volpato G, Rodrigues R C, Fernandez-Lafuente R. Use of enzymes in the production of semi-Synthetic penicillins and cephalosporins: Drawbacks and perspectives [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(32): 3855-3873.
- [56] Loknath G, Jan A K W K, Roel A L B, *et al.* Biosynthesis of active pharmaceuticals: beta-lactam biosynthesis in filamentous fungi [J]. *Biotechnol Gen Eng Rev*, 2010, 27(1): 1-32.
- [57] Mufiiz C C, Esquivel G R, Zelaya T E C. Penicillin and cephalosporin production: A historical perspective [J]. *Revista Latinoam Microbiol*, 2007, 49(3): 4-14.
- [58] Diels O, Alder K. Synthesen in der hydroaromatischen Reihe, I [J]. *Justus Liebigs Annalen Chem*, 1928, 460(1): 98-122.
- [59] Woodward R B, Sondheimer F, Taub D, *et al.* The total synthesis of steroids [J]. *J Am Chem Soc*, 1952, 74(17): 4223-4251.
- [60] Corey E J, Weinshenker N M, Schaaf T K, *et al.* Stereo-controlled synthesis of prostaglandins F-2a and E-2 (dl) [J]. *J Am Chem Soc*, 1969, 91(20): 5675-5677.
- [61] Corey E J. Catalytic enantioselective Diels—Alder reactions: Methods, mechanistic fundamentals, pathways, and applications [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41(10): 1650-1667.
- [62] Nicolaou K C, Snyder S A, Montagnon T, *et al.* The Diels-Alder reaction in total synthesis [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2002, 41(10): 1668-1698.
- [63] Oikawa H. Nature's strategy for catalyzing Diels-Alder reaction [J]. *Cell Chem Biol*, 2016, 23(4): 429-430.
- [64] Takao K I, Munakata R, Tadano K I. Recent advances in natural product synthesis by using intramolecular Diels-Alder reactions [J]. *Chem Rev*, 2005, 105(12): 4779-4807.
- [65] Kelly W L. Intramolecular cyclizations of polyketide biosynthesis: mining for a "Diels-Alderase"? [J]. *Org Biomol Chem*, 2008, 6(24): 4483-4493.
- [66] Nawrat C C, Moody C J. Quinones as dienophiles in the Diels-Alder reaction: History and applications in total synthesis [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(8): 2056-2077.
- [67] Ran H Y, Huang G L. The Diels-Alder reaction and its applications in the total synthesis of natural products [J]. *Curr Org Synth*, 2016, 13(6): 847-860.

- [68] Kim H J, Ruszczycky M W, Liu H W. Current developments and challenges in the search for a naturally selected Diels-Alderase [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2012, 16(1/2): 124-131.
- [69] Oikawa H. Diels-alderase, a novel C-C bond formation enzyme involving natural products biosynthesis [J]. *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi*, 2004, 62(8): 778-789.
- [70] Minami A, Oikawa H. Recent advances of Diels-Alderase involved in natural product biosynthesis [J]. *J Antibiot*, 2016, 69(7): 500-506.
- [71] Stocking E M, Williams R M. Chemistry and biology of biosynthetic Diels-Alder reactions [J]. *Angew Chem Int*, 2003, 42(27): 3078-3115.
- [72] Klas K, Tsukamoto S, Sherman D H, *et al*. Natural Diels-Alderase: Elusive and irresistible [J]. *J Org Chem*, 2015, 80(23): 11672-11685.
- [73] Tchen T T, Bloch K. The mechanism of cyclization of squalene [J]. *J Am Chem Soc*, 1956, 78(1): 1516-1517.
- [74] Pendse A, Lockyer P, Schisler J, *et al*. Konrad Bloch, PhD understanding of cholesterol metabolism [J]. *Labmedicine*, 2011, 42(6): 370-373.
- [75] Goldstein J L B, Michael S. Familial hypercholesterolemia. Identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1973, 70(10): 2804-2808.
- [76] Brown M S, Dana S E, Goldstein J L. Regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in human fibroblasts by lipoproteins [J]. *From Proceed Nat Acad Sci USA*, 1973, 70(7): 2162-2163.
- [77] Schwab W. Metabolome diversity: Too few genes, too many metabolites? [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 837-849.
- [78] Bhushan B. Biomimetics: Lessons from nature—An overview [J]. *Philosoph Transact Series A Mathem Physic Eng Sci*, 2009, 367(1893): 1445-1486.
- [79] Roberts A A, Ryan K S, Moore B S, *et al*. Total (bio)synthesis: Strategies of nature and of chemists [J]. *Topics Curr Chem*, 2010, 297: 149-203.
- [80] Rodrigues T, Reker D, Schneider P, *et al*. Counting on natural products for drug design [J]. *Nat Chem*, 2016, 8(6): 531-541.