

青蒿素 (Arteannuin) 的结构和反应*

刘静明 倪慕云 樊菊芬 屠呦呦

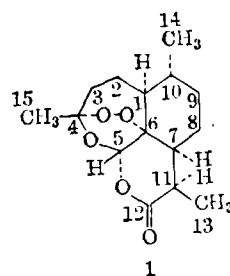
(北京中医研究院中药研究所)

吴照华 吴毓林 周维善

(中国科学院上海有机化学研究所)

青蒿素是一个含过氧基团的新型倍半萜化合物,系从黄花蒿中分得。它的结构是由红外光谱、核磁共振谱、质谱和化学反应以及 X-射线衍射等方法确定的。它的绝对构型是根据与化合物(6)构型联系以及利用氧原子的反常散射测定的。

中药青蒿又称黄花蒿 (*Artemisia annua* L.),我国民间早已用于治疗疟疾。它的化学成分据文献报导主要有挥发油^[1]、香豆素^[2]、烯炔化合物^[3]、倍半萜内酯 Arteannuin B^[4] 和 Arteannuin A^[5] 以及万寿菊黄素 Quercetagenin^[6]。我们则从这种植物的石油醚提取物中,除了得到倍半萜内酯 Arteannuin B 外,还分离到一个含过氧基团的新型倍半萜内酯^[7]和另一个倍半萜内酯,这个新型的倍半萜内酯我们称其为青蒿素 (Arteannuin),它经药理证明是抗疟的有效成分。本文仅报导青蒿素的结构及其化学反应,至于从这种植物中分离到的其他若干成分以及分离方法将另文报导。



青蒿素(1)是一种无色针状结晶,熔点 156~157°C, $[\alpha]_D^{25} + 68^\circ$, 高分辨质谱 m/e 282. 1472(M^+), 分子式为 $C_{15}H_{22}O_5$ 。它的红外光谱有 δ -内酯(1745 厘米⁻¹)及过氧(831, 881, 1115 厘米⁻¹)的吸收峰,核磁共振在 0.93(3H, 双重峰, $J=6$ 赫, $C_{14}-CH_3$)和 1.06(3H, 双重峰, $J=6.5$ 赫, $C_{13}-CH_3$)分别有一个仲甲基峰。在 δ 1.36(3H, 单峰, $C_{15}-CH_3$)有一个接于带氧原子碳上的甲基 ($CH_3-\overset{|}{C}-O$)。照射在 δ 3.08~3.44(1H, 多重峰, $C_{11}-H$)的一个质子,则 δ 1.06 的双重峰变为单峰;反之,照射在 1.06 的甲基,则 δ 3.08~3.44 的多重峰变为双重峰($J=4.5$ 赫)。因此它必是 δ 1.06 甲基邻位的一个氢,这个质子因受内酯羰基的去屏蔽效应而在较低场出现。由于这个质子在照射 δ 1.06 的甲基后由多重峰变为双重峰,足见其邻近的一个碳仅带有一个氢原子。在 δ 5.68(1H, 单峰, C_5-H)出现的一个尖峰,推定其系与两个氧原子相连的碳上的一个氢,此质子无裂分,足见这个氢上的碳是与氧原子和叔碳原子相联。

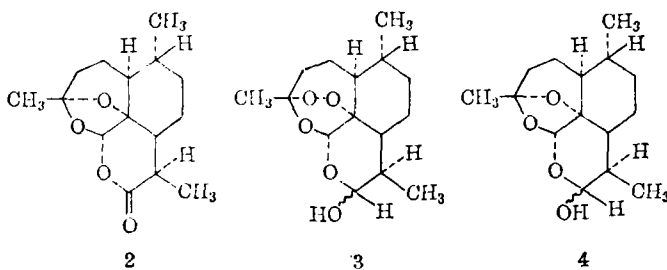
青蒿素与三苯磷反应证明含有一个当量的过氧基^[8],在质谱中 m/e 250($M^+ - 32$)出现

* 1978年4月3日收到。

表 1 青蒿素核磁共振谱(100 兆赫)

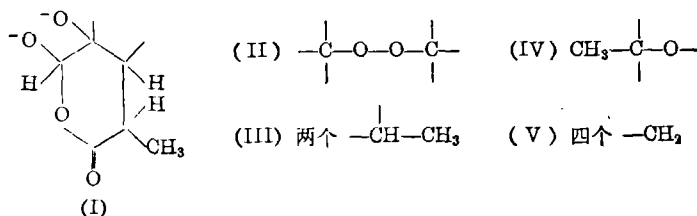
质子位置	C ₅ -H	C ₁₁ -H	C ₁₃ -CH ₃	C ₁₄ -CH ₃	C ₁₅ -CH ₃
δ 值	5.68	3.08~3.44	1.06	0.93	1.36
信号形状	单峰(1H)	多重峰(1H)	双峰(3H) J=6.5 赫	双峰(3H) J=6 赫	单峰(3H)

的峰亦清楚地表示含有一个过氧基^[9]。由于在核磁共振谱中, δ 3.44~5.68 之间没有其他质子的信号, 提示这个过氧基团是接于两个叔碳原子上。δ 1.36 的一个甲基峰可以推定其接于这个带有过氧基团的碳原子上。青蒿素用钨-碳酸钙在常温、常压下进行催化氢化^[10], 即失去过氧而成环氧化物(2), 经元素分析及质谱分子量测定, 确定其分子式为 C₁₅H₂₂O₄, 与 1 相比, 正好失去一个氧原子。在红外光谱中过氧吸收峰消失, 它的核磁共振谱峰与青蒿素十分相似。因此进一步证明青蒿素确是含有一个过氧基团的化合物。



青蒿素与盐酸羟胺反应后, 呈现饱和内酯的颜色反应^[11], 用氢氧化钠定量滴定接近于消耗 1 克分子碱, 确证其含有一个内酯基团。用硼氢化钠还原青蒿素得半缩醛化合物(3), 3 用钨-碳酸钙在常温常压下进行催化氢化则失去过氧而得环氧化物(4), 2 用二异丁基铝氢还原也得到化合物(4)。4 用铬酐-吡啶氧化复得化合物(2)。

青蒿素的质子宽带去偶的 ¹³C 核磁共振谱出现相当于倍半萜骨架 15 个碳原子的 15 个信号。在偏离共振谱中在 79.5 和 105 ppm 出现两个季碳的单峰。这两个单峰都在较低场出现, 提示过氧基是接于这两个季碳原子上, 这与质子共振谱的结果是相符的。在 32.5, 33, 45, 50 和 93.5 ppm 出现 5 个叔碳的双重峰, 其中一个叔碳的双重峰是在较低场出现, 可以推定其系与两个氧原子相连的一个碳, 这也是与质子共振谱的结果相符的。在偏离共振谱中, 还在 25, 25.1, 35.5 和 37 ppm 出现 4 个仲碳的三重峰和在 12, 19 和 23 ppm 出现三个伯碳的四重峰。在 172 ppm 出现的峰根据化学位移可以推定其系酯基中的一个碳原子。通过化合物(1)和(2)的红外光谱、核磁共振谱和质谱以及一些化学反应, 可以推定 I、II、III、IV 及 V 是青蒿素的部分结构。



青蒿素的化学结构及其相对构型最终为 X 射线结构分析所确定^[12]。

结晶学参数: 空间群 $D_2^7-p2_1, 2_1, 2_1$, 晶胞参数 $a=24.098 \text{ \AA}$, $b=9.468 \text{ \AA}$, $c=6.399 \text{ \AA}$, 密度实测值 $d_0=1.30 \text{ 克/厘米}^3$, 计算值 $d_c=1.294 \text{ 克/厘米}^3$, 单胞中分子数 $Z=4$. 衍射强度数据是由 Phillips 四圆衍射仪收集, 用直接法获得了全部非氢原子的结构信息, 确定了青蒿素的分子结构(图 1)。

青蒿素内酯的绝对构型是初步根据旋光色散推定的。青蒿素与从倍半萜内酯 Artemisinin B(5)^[4]经酸处理和氢化后所得的反式内酯化合物(6)^[13]均具有正的 Cotton 效应(青蒿素的 ORD: $\Phi^{200}=-11570$; $\Phi^{228}=0$; $\Phi_{\text{max}}^{268\sim 272}=+2460$,

$c=0.097$, 氯仿。化合物 6 的 ORD: $\Phi^{200}=-4696$; $\Phi^{223}=0$; $\Phi_{\text{max}}^{243}=+3730$, $c=0.23$,

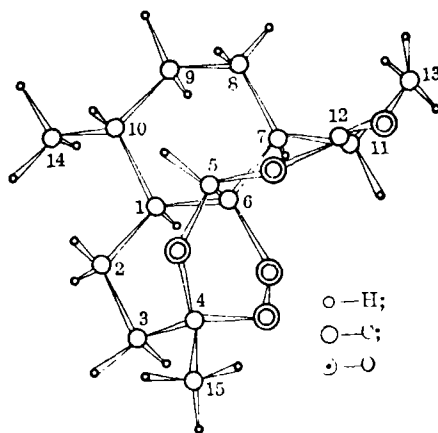
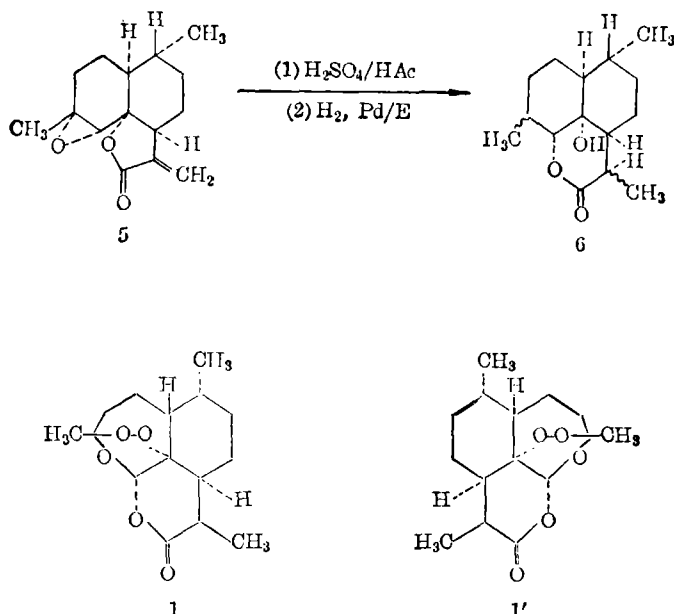


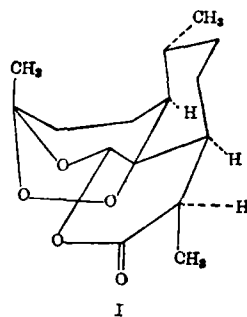
图 1 青蒿素分子结构图



氯仿), 因此似可推定青蒿素与化合物(6)的内酯具有相同的绝对构型。最近青蒿素并用氧原子的反常散射^[14]测定它的绝对构型^[12]如式 1 所示, 而非其镜体 1'^[7]。

青蒿素的 C_{12} 羰基用钠硼氢 (NaBH_4) 还原所得之半缩醛化合物(3) (因 C_{12} 酮基用钠硼氢还原时产生仲羟基混合物), 分别在 $\delta 4.6$ 及 $\delta 5.2$ 出现一个双峰。 $J_{11, 12_s} = 9$ 赫(竖-竖), $J_{11, 12_a} = 4$ 赫(竖-横), 所以根据(3)的 C_{12} 上质子的 J 值, 可以推定 C_{11} 的

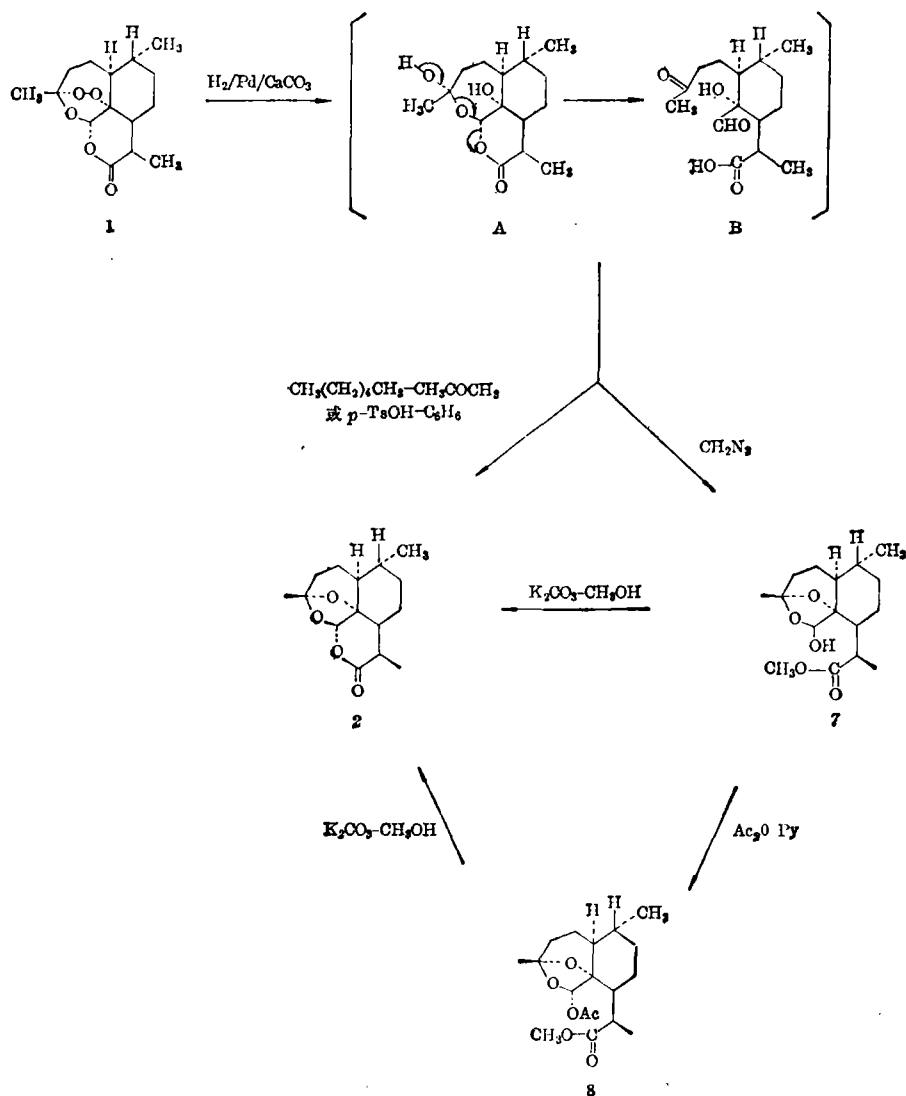
氢应是竖键的氢。照射在 $\delta 1.06$ 的 $C_{11}-CH_3$ 则在 $\delta 3.08 \sim 3.44$ 的多重峰变为双重峰, $J_{7,11} = 4.5$ 赫, 根据 J 值可推定 C_7-H 是横键的氢^[15]。从分子内核 Overhauser 效应 (NOE) 的实验, 即照射 $C_{10}-H$ ($\delta 1.7$) 时, 可以观察到 C_5-H $\delta 5.8$ 信号面积增益 11%, 所以 H_5 与 H_{10} 应是顺式的关系, 均应在分子的 β 面。在照射 H_7 时, 未观察到与 H_5 的分子内核 Overhauser 效应, 因此两者应是反式的关系, H_7 应是在分子的 α 面。青蒿素应具有如图 2 所示的立体结构式。



I

青蒿素用钯-碳酸钙行催化氢化, 过氧化物被还原成化合物 (2), 已如上所述, 此氢化产物开始所得系油状物, 若将其溶于含

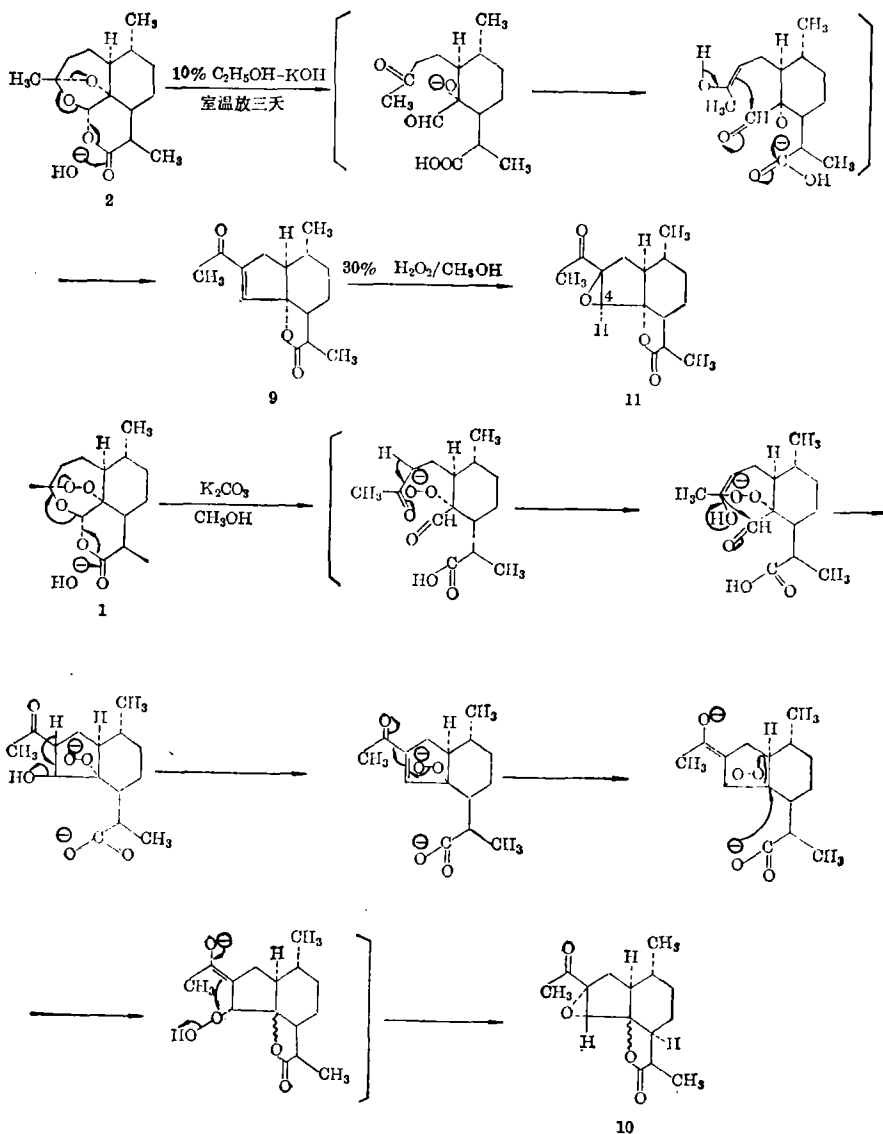
图 2 青蒿素的立体结构式



有少量丙酮的正己烷中,须放置 4~5 天,才变为晶体(2),若将其溶于含有少量对甲苯磺酸的苯中,则很快就全部变为晶体(2),得率高至 96%,若将新鲜的氢化油状物用重氮甲烷甲酯化即得甲酯化合物(7)。(7)的红外光谱有甲酯(1735 厘米⁻¹)及羟基(3400 厘米⁻¹)的吸收峰。核磁共振在 δ 3.6(3H, 单峰, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_3$) 有一个甲酯的甲基峰,在 δ 5.3 有



两个峰,用重水交换后,一个峰消失,剩下另一个峰,推定其系 C₅ 的氢。(7)用醋酐-吡啶在室温乙酰化即得乙酰甲酯化合物(8),**8** 的红外光谱羟基峰消失而成乙酰基峰(1740 厘米⁻¹)。核磁共振在 δ 2.1(3H, 单峰 $-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$)及 δ 3.6(3H, 单峰, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$) 分



别有一个甲基峰, 在 δ 6.28 出现一个单峰可以推定其系 C_5 上的一个质子, 这个质子因受乙酰氧基及环氧的去屏蔽效应而往低场移动. **7** 和 **8** 分别用碳酸钾-甲醇在室温水解均环化成氢解物(2), 已知双烷基过氧化物用钨-碳酸钙催化还原即成双羟基化合物(A)^[16], 此物发生去缩醛反应(deacetalization)而成不稳定的化合物(B), **B** 在室温放置或有少量酸催化即定量地发生内分子醇酮和醇醛反应, 最后内酯化而成 **2**.

青蒿素(1)的氢解物(2)在 10% 氢氧化钾乙醇溶液中室温放置三天, 然后用稀盐酸酸化, 得到无色晶体(9), 此物经元素分析和质谱测定确定其分子式为 $C_{15}H_{20}O_3$. 从红外光谱(1610, 1680, 1770 cm^{-1})、紫外光谱 231 nm, $\epsilon=16500$ 和核磁共振谱(δ 2.2, 6.68), 可以推定其具有 5 元环内酯的 α , β 不饱和甲基酮的结构, 这个结构可能系经过醛酮反应而形成.

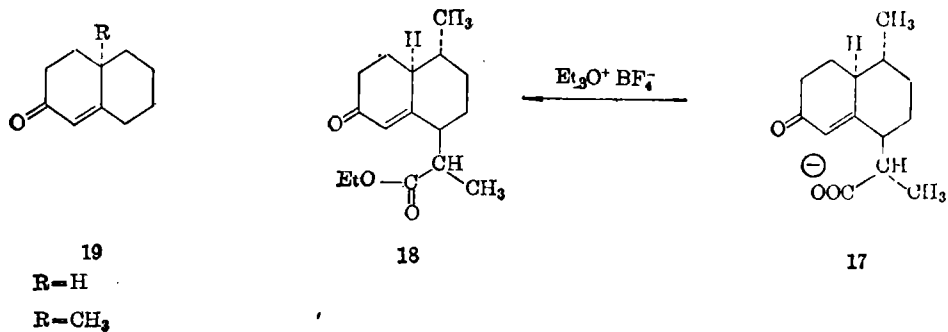
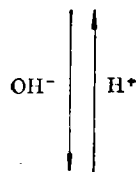
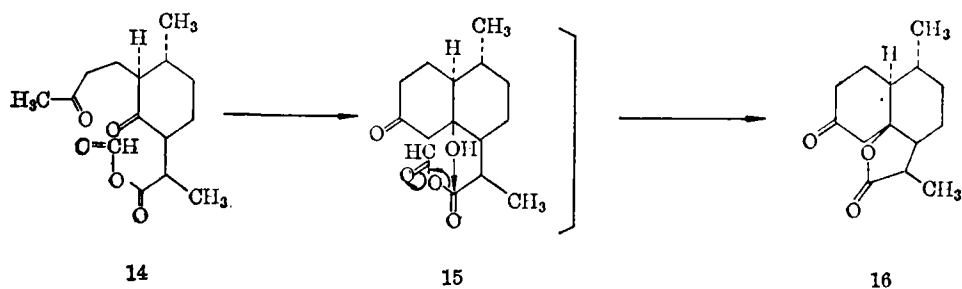
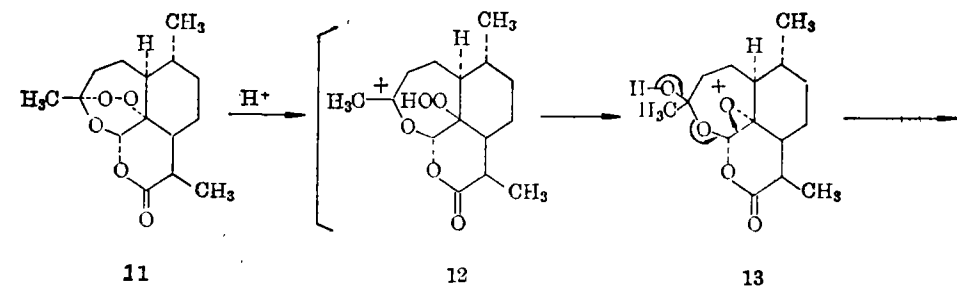
青蒿素在碳酸钾-甲醇溶液中在室温(22~25°C)放置 1 小时, 然后用稀盐酸酸化得到针状结晶(10), 经元素分析和质谱分子量测定确定其分子式为 $C_{15}H_{20}O_4$. 此物与 **2** 用氢氧化钾乙醇处理所得之物(9)不同. 在紫外光谱中无 α , β 不饱和酮的吸收峰而出现一个羰基吸收峰(292 nm, $\epsilon=29.6$), 在 NMR 中无 α , β 不饱和酮 β 位的质子吸收峰, 而在 δ 3.98 出现一个单峰. 根据化合物(10)不含双键以及与化合物(9)相比多一个氧原子, 可以推定其系环氧的结构, δ 3.98 单峰可认为其系连接于环氧碳的质子. 化合物(10)含有一个环氧的事实, 从以下实验更得到证实. 将氢解青蒿素 **2** 用氢氧化钾乙醇处理所得的化合物(9)用 30% 过氧化氢-氢氧化钠处理, 亦获得一个含有环氧的化合物(11), 核磁共振在 δ 3.66 也有一个单峰. 从青蒿素得到环氧化合物(10)也可认为其系经过上述醛酮反应和内分子加入环氧而形成. 至于环氧的构型, 根据 NMR 中 C_4 -H 的化学位移数值可以推定从青蒿素所得的化合物(10)具有 α -环氧的结构, 而化合物(11)具有 β 环氧的结构, 因为在分子模型中, 这两种环氧中 C_4 -H 与内酯环的距离不同, β 环氧基的 C_4 -H 因与内酯距离较近, 受到内酯中羰基的去屏蔽效应, 因而向低场移动. 两种环氧中的 C_{13} -和 C_{14} - CH_3 也由于受环氧构型的影响不同而出现不同的化学位移(表 2).

表 2 α 环氧(10)与 β 环氧(11)的 NMR

化 合 物	C_4 -H	C_{13} - CH_3	C_{14} - CH_3
10 (α)	3.66	1.14	1.08
11 (β)	3.98	1.35	0.88

青蒿素用硫酸-醋酸(1:10)处理得无色片状结晶, 经元素分析和质谱分子量测定, 确定其分子式为 $C_{14}H_{20}O_3$. 红外光谱有酮基(1710 cm^{-1})和内酯(1770 cm^{-1})的吸收峰, 在核磁共振中青蒿素(1)的 C_{15} - CH_3 及 C_5 - H 均已消失, 产物(16)的形成过程可推定如下页所示.

从 A/B 反式酮醇化合物(15)的形成, 可以推定(14)中 C_{15} - CH_3 是向空间障碍较小的 C_5 位后面进攻, 因而有利于形成 5β -OH 化合物(15)^[17]. 所以化合物(16)的五元内酯环应是顺式的.



化合物(16)用稀碱处理,即生成不饱和酮化合物(17), λ_{max} 243 nm ($\epsilon=16800$), 酸化后之物经薄层层析、混合熔点及红外光谱测定证明与化合物(16)完全一致. 这也进一步证明 **16** 的五元内酯环是顺式的, 因为顺式的内酯环较反式的易于形成.

化合物(17)在碱性溶液中与 $\text{Et}_3\text{O}^+\text{BF}_4^-$ 反应可得乙酯(18). 根据(18)的旋光色散, **18** 的 A/B 环可以用 **19** 的结构表示, 即 **18** 中 C_1 氢是在 α -位的^[18], 由此也进一步证明了青蒿素 C_1 的绝对构型.

实 验

所有熔点均未校正. 薄层层析用自制硅胶板(硅胶:石膏 = 4:1, 加 1% 硅酸锌), 显色剂用碘蒸气, 或直接在紫外灯下观察颜色. 红外光谱用 UR-10 型仪测定, 一般用石蜡油. 比旋用 Hilger 旋光仪测定. 紫外光谱用 751 型分光光度计(上海分析仪器厂出品)测定. 核磁共振谱用 JEOL PS-100 型 100 兆周测定, 以四甲基硅为内标, δ 值单位为 ppm, J 值为赫. 质谱用 JMS-OIU 型仪测定.

1. 青蒿素过氧基团的测定

0.3066 克三苯基磷(1.17 毫克分子)加 10 毫升二甲苯(无过氧化物), 另称 0.2847 克青蒿素(1)(1.01 毫克分子)溶于 10 毫升二甲苯中, 将上述溶解的反应物放在三颈瓶中, 先通 15 分钟氮气, 然后在氮气流下回流 2 小时. 反应物冷却后加 5 毫升盐酸及 5 毫升 3% 甲醛溶液搅拌三十分钟, 再加 40 毫升水继续搅拌十五分钟, 分出水层. 有机溶剂层用水洗至近中性. 合并水层和酸性洗液, 加 20 毫升 4*N* 氢氧化钠溶液, 然后用无过氧化物的乙醚提取三次, 每次 25 毫升. 乙醚层用水洗二、三次至中性, 再用无水硫酸钠干燥, 减压除去乙醚, 得三苯基磷 0.0915 克. 接近于消耗一克分子的三苯基磷.

2. 青蒿素的氢解 (1)→(2)

3 克青蒿素加 1.2 克含 5% 的钨-碳酸钙和 75 毫升甲醇, 在常温、常压下氢化, 吸 210 毫升氢后就不再吸收, 滤过, 将 120 毫升滤液分成三部分, 分别减压浓缩. 第一部分抽干, 重 1 克, 先加少许丙酮溶解, 再加 4~5 毫升正己烷, 放置 4~5 天, 有针状结晶物(2)析出, 重 0.55 克. 精制一次得 0.45 克, 熔点 109~111°C, 母液放置数日又析出 200 毫克结晶物(2), 熔点 105~107°C, 得率 75%. $[\alpha]_D^{25} = -133.7^\circ$ (c.0.98, 氯仿).

[分析] $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4$ 计算值: C, 67.72; H, 8.33. 实测值: C, 68.05; H, 8.59.

红外光谱: 1750(六元环内酯)厘米⁻¹.

核磁共振: 1.40(3H, 单峰, $\text{C}_{15}-\text{CH}_3$), 5.5(1H, 单峰, C_5-H), 3.02(1H, 多重峰, $\text{C}_{11}-\text{H}$), 0.88(3H, 双峰, $J=6$, $\text{C}_{14}-\text{CH}_3$), 1.07(3H, 双峰, $J=6$, $\text{C}_{13}-\text{CH}_3$).

质谱 m/e : 266(M^+).

第二部分油状物重 1 克, 溶于 10 毫升苯, 再加 30 毫克对甲苯磺酸稍加热使溶解, 在 15°C 室温放置 16 小时, 反应液用少量水洗数次, 至完全中性, 无水硫酸钠干燥, 减压抽去溶剂, 得无色针晶物(2), 重 0.96 克, 熔点 106.8°C, 得率 96%, 与上述氢解青蒿素(2)测混熔不降低.

重氮甲烷甲酯化: (1)→(7)

上述氢化得到的 1 克第三部分油状物加 3 毫升无水乙醚使溶, 加入新鲜制备的重氮甲烷乙醚溶液 20~30 毫升, 在冰浴(0~5°C)放置 2 小时, 减压抽去乙醚, 得无色油状物 1.02 克。

将所得油状物用丙酮溶解分取半量(约 0.5 克), 用丙酮:正己烷精制得 200 毫克细针状结晶物(7), 熔点 91~93°C, 母液放置后又析出 220 毫克, 熔点 86~89°C, 得率 84%。 $[\alpha]_D^{25} - 65.1^\circ$ (c.1.06, 氯仿), 将此结晶与氢解青蒿素(2)测混熔, 有降低。

红外光谱: 1260, 1735(甲酯), 3480(羟基)厘米⁻¹。

核磁共振: 0.88(3H, 双峰, $J=6$, C₁₄-CH₃), 1.25(3H, 双峰, $J=7$, C₁₃-CH₃), 1.46(3H, 单峰, C₁₅-CH₃), 5.3(1H, 双峰, $J=6$, C₅-OH), 3.6(3H, 单峰, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$).

质谱 m/e : 281(M⁺-17).

化合物(7)的乙酰化: (7)→(8)

从上述氢解得到的 0.5 克第三部分甲酯油状物, 加 2 毫升无水吡啶及 2 毫升醋酐, 在常温下放置过夜, 然后按常法处理得 0.4 克油状物, 用酸处理过的硅胶(100 目以下)柱上层析分离, 用 9:1 正己烷:乙酸乙酯洗脱, 每一洗脱部分收集约 15 毫升, 在 11~14 洗脱部分收集得约 200 毫克无色油状物(8)。

[分析] C₁₈H₂₈O₆ 计算值: C, 63.50; H, 8.29. 实测值: C, 63.50; H, 8.47.

红外光谱: 1725, 1230(醋酸酯), 1210, 1740(甲酯)厘米⁻¹。

核磁共振谱 δ 值: 0.90(3H, 双峰, $J=6$, C₁₄-CH₃), 1.32(3H, 双峰, $J=7$, C₁₃-CH₃), 1.46(3H, 单峰, C₁₅-CH₃), 2.1(3H, 单峰, $-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$), 3.6(3H, 单峰,

$-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$), 6.28(1H, 单峰, $-\text{O}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\text{OAc}$).

质谱 m/e : 340(M⁺).

化合物(7)的皂化: (7)→(2)

50 毫克(7)溶于 4 毫升甲醇, 加入 1 毫升的 10% 碳酸钾溶液. 室温 18°C 放置 1 小时半, 加等体积水, 用乙醚提取三次, 醚层用水洗至中性, 无水硫酸钠干燥, 蒸除溶媒, 得无色针状结晶(2), 重 20 毫克, 熔点 103~105°C, 与氢解青蒿素混合熔点不降低. 皂化物(2)薄层层析的 R_f 值与氢解青蒿素(2)的 R_f 值一致. 红外光谱与氢解青蒿素相同。

化合物(8)的皂化: (8)→(2)

50 毫克油状物(8)溶于 4 毫升甲醇, 加 2 毫升 10% 碳酸钾溶液, 室温 18°C 放置 6 小时. 加入两倍体积的水, 发现水层中逐渐析出针状结晶. 10 分钟后过滤, 水洗二、三次. 所得结晶放干燥器中干燥, 得 30 毫克(2), 熔点 109~110°C, 与氢解青蒿素(2)混合熔点不降低. 红外光谱与氢解青蒿素(2)相同. 薄层层析的结果与氢解青蒿素(2)的 R_f 值一致。

3. 青蒿素的硼氢化钠还原: (1)→(3)

1.5 克青蒿素溶于 120 毫升甲醇, 置冰浴中(0~5°C), 在搅拌下分次慢慢地加入 1.5

克的固体硼氢化钠。加完后继续搅拌半小时。反应液用冰醋酸中和,减压(25°C)除去溶媒,得 1.33 克粗结晶产物,用丙酮-正己烷精制,得 0.71 克针状结晶(3),熔点 153~154°C, $[\alpha]_D^{25}$ 154.4°(c. 1.03, 氯仿)。母液放置后又析出 0.35 克结晶(3)。

[分析] $C_{15}H_{24}O_3$: 计算值: C, 63.43; H, 8.52。实测值: C, 63.31, H, 8.60。

红外光谱: 3400 厘米⁻¹。

质谱 m/e : 267($M^+ - 17$)。

化合物(3)的催化氢化: (3)→(4)

1.15 克(3)加 1 克含 5% 的钯-碳酸钙及 65 毫升甲醇,在常温、常压下氢化,至不再吸氢为止。过滤,滤液减压除去溶媒得 1.2 克粗晶(4),用丙酮-正己烷精制得 0.78 克,熔点 142~143°C, $[\alpha]_D^{25}$ -44.2°(c. 0.95, 氯仿),与原料测混熔有降低。

红外光谱: 3400(羟基)厘米⁻¹。

质谱 m/e : 268(M^+)。

氢解物(2)用二异丁基铝氢还原: (2)→(4)

称 0.13 克氢解青蒿素(2)溶于 5 毫升甲苯,用干冰丙酮冷却至 -70°C,在氮气流下滴加 1.5 毫升的 20% 二异丁基铝氢正己烷溶液,滴完后再反应 1 小时,然后按常法处理^[19],用乙醚-四氢呋喃提取多次,有机溶媒层用无水硫酸钠干燥,减压除去溶媒得 100 毫克结晶(4),熔点 140~141°C。

与从化合物(3)得到的结晶物(4)混合熔点不降。薄层层析的 R_f 与化合物(4)的 R_f 值一致。红外光谱与化合物(4)的完全相同。

化合物(4)的氧化: (4)→(2)

0.1 克化合物(4)溶于 3 毫升无水吡啶。另取 3 毫升无水吡啶在冰浴中冷却至 15°C,在搅拌下将 0.3 克铬酐分五、六次加至反应瓶中,加完后再继续搅拌 15 分钟左右,然后加入上述化合物(4)的吡啶溶液,再搅拌半小时使均匀混和。在 25°C 放置 24 小时。反应液中加入等体积的水,用苯:乙醚 = 1:1 的混合溶媒提取三次。提取液用水洗数次,加无水硫酸钠干燥,减压抽去溶媒得柱状结晶(2),熔点 107~108°C,与氢解青蒿素混合熔点不降。红外光谱与氢解青蒿素的完全相同。

4. 氢解青蒿素(2)用氢氧化钾乙醇液处理 (2)→(9)

称 3 克氢解青蒿素(2)溶于 180 毫升的 10% 氢氧化钾乙醇(95%)溶液中,在 20~25°C 放置 72 小时,反应液加 60 毫升水,在冰浴中冷却,用稀盐酸酸化至 pH 2,并继续在冰箱中放置 24 小时,最终反应液用乙醚提取三次,乙醚层用水洗至中性。

上述乙醚层用冷的 3% 碳酸氢钠溶液洗三次(每次约用 20~30 毫升),然后用少量水洗乙醚层至完全中性,用无水硫酸钠干燥,减压除去溶剂,得 1.5 克黄色固体,用 160 目硅胶柱层析分离,以苯作洗脱溶剂,收集第 55~105 馏分所得的结晶部分,用丙酮-己烷重结晶三次,得针状结晶(9),熔点 126~127°C, $[\alpha]_D^{25}$ +69.6°(c. 1.12, 氯仿)。

[分析] $C_{15}H_{20}O_3$: 计算值: C, 72.55; H, 8.12。实测值: C, 72.74; H, 8.37。

紫外光谱: 231 毫微米(ϵ 16500)。

红外光谱: 1610(C=C), 1680(α, β 不饱和酮), 1770(五元环内酯)厘米⁻¹。

核磁共振: 0.96 (3H, 双峰, $J=6$, $C_{14}CH_3$), 1.06 (3H, 双峰, $J=6$ $C_{13}CH_3$),

2.2(3H, 单峰, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 6.68(1H, 单峰, $\text{C}=\text{CH}-$).

质谱 m/e : 249($\text{M}^+ + 1$).

化合物 9 与碱性过氧化氢的反应: (9) \rightarrow (11)

0.2 克化合物(9)溶于 20 毫升甲醇, 冷却至 0°C 加入 0.4 毫升 4*N* 氢氧化钠溶液, 在搅拌下逐滴滴入 0.8 毫升 30% 过氧化氢, 加完后即放入冰箱中($0\sim 5^\circ\text{C}$), 放置 24 小时. 然后将反应液倒入冰水中, 搅动片刻, 有针状结晶析出. 过滤, 结晶用水洗至中性, 干燥之, 得 120 毫克(11), 用丙酮-正己烷重结晶, 熔点 $160\sim 161^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{25} - 20^\circ$ (c. 1.15, 氯仿).

紫外光谱: 280 毫微米(ϵ 36.2).

红外光谱: 1710(酮), 1770(五元环内酯)厘米 $^{-1}$.

核磁共振: 0.88 (3H, 双峰, $J=6$, $\text{C}_{14}-\text{CH}_3$), 1.14 (3H, 双峰, $J=6$, $\text{C}_{13}-\text{CH}_3$), 2.04(3H, 单峰, $\text{CH}_3-\text{C}-$), 3.66(1H, 单峰, β 环氧边上 H).



5. 青蒿素与碱的反应 (1) \rightarrow (10)

2 克青蒿素加 80 毫升甲醇溶解. 另取 2 克碳酸钾溶于 20 毫升水, 将此碳酸钾溶液在搅拌下缓缓加入青蒿素甲醇溶液, 使均匀混和成澄清液, 在 $20\sim 22^\circ\text{C}$ 恒温 1 小时, 然后加 50 毫升水, 用乙醚提取二次. 醚层用少量水洗二次(洗下的水仍合并至上述水层中). 水层用 10% 盐酸酸化至 pH 2, 再用乙醚提取三次. 乙醚层用水洗至中性, 经无水硫酸钠干燥 2~3 小时, 乙醚层减压抽干, 所得残余物放冰箱过夜. 有半固体析出, 加入少许甲醇, 冷却之, 析出针状结晶. 过滤, 结晶产物(10)重 200 毫克, 熔点 $215\sim 219^\circ\text{C}$, 再结晶一次, 熔点 $222\sim 223^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{25} - 26.5^\circ$ (c. 1.47, 氯仿).

[分析] $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ 计算值: C, 68.24; H, 7.63. 实测值: C, 67.80; H, 7.71.

紫外光谱: 292 毫微米(ϵ 29.6).

红外光谱: 1710(酮) 1770(五元环内酯)厘米 $^{-1}$.

核磁共振: 1.08 (3H, 双峰 $J=4$, $\text{C}_{14}-\text{CH}_3$), 1.35 (3H, 双峰 $J=6$, $\text{C}_{13}-\text{CH}_3$), 2.04(3H, 单峰, $\text{CH}_3-\text{C}-$), 3.98(1H, 单峰, α 环氧边上 H).



质谱 m/e : 264(M^+).

6. 倍半萜内酯(Arteannuin B) (5) 的酸处理 (5) \rightarrow (6)

2 克倍半萜内酯(5)溶于 85 毫升硫酸和冰醋酸(1:9)的混合液中, 摇匀后室温 (20°C) 放置 16 小时. 反应液内加入等体积水, 用氯仿提取三次. 氯仿层再用水洗至完全中性, 经无水硫酸钠干燥, 除去有机溶剂, 得白色固体, 重 0.6 克, 用丙酮-己烷精制三次, 得 0.4 克柱状晶体, 熔点 $186\sim 189^\circ\text{C}$.

红外光谱: 1625 ($\text{C}=\text{C}$), 1710 ($\text{C}=\text{O}$), 3400 (叔羟基) 厘米 $^{-1}$ (文献 [4] 红外光谱 1625, 1715, 3570 厘米 $^{-1}$, 其他常数均与文献一致).

质谱 m/e : 248(M^+).

100 毫克上述用酸处理得到的结晶, 加入 120 毫克 5% 钼/碳及 10 毫升无水乙醇, 在

常温、常压下氢化,吸 14 毫升氢后就不再吸收,除去有机溶媒,得片状结晶,用丙酮-正己烷重结晶二次,得 40 毫克产物(6),熔点 129~132°C.

红外光谱: 1710(—C=O), 3430(—OH 基)厘米⁻¹.

质谱 m/e : 252(M⁺).

ORD (0.23% 氯仿溶液): $\Phi_{\text{氯仿}}^{243} = +3730$, $\Phi^{223} = 0$, $\Phi^{200} = -4696$, $\Phi^{300} = +106$, $\Phi^{400} = -160$, $\Phi^{500} = -213$.

7. 青蒿素与酸的反应 (1)→(16)

1 克青蒿素加 110 毫升冰醋酸-浓硫酸混合液(100 毫升冰醋酸加 10 毫升浓硫酸)摇匀,使溶解. 在 25°C 放置 16~17 小时,溶液呈浅棕黄色微带蓝光. 将反应液慢慢倒入等体积的冰水中,搅匀,用氯仿提取三次,氯仿层水洗至中性,无水硫酸钠干燥,减压除去有机溶剂得粗结晶 0.9 克,用丙酮-正己烷重结晶二次,得 200 毫克片状结晶(16),熔点 144~146°C. $[\alpha]_D^{20} = -16.2^\circ$ (c. 2.1, 氯仿).

[分析] C₁₄H₂₀O₃. 计算值: C, 71.19; H, 8.53. 实测值: C, 71.10; H, 8.18.

红外光谱: 1710(酮), 1770(五元环内酯)厘米⁻¹.

核磁共振: 0.94(3H, 双峰, $J=4$, C₁₄CH₃), 1.11(3H, 双峰, $J=7$, C₁₃-CH₃).

质谱 m/e : 237(M⁺-1).

产物(16)的开环与闭环: (16)→(17)

0.2 克产物(16),溶于 20 毫升 0.25 *N* 氢氧化钠甲醇溶液,放水浴上加热 20 分钟,减压除去甲醇,得淡棕色半固体. 放置后,析出不饱和酮化合物(17),紫外光谱 λ_{max} : 243 nm (ϵ 16800). 加 10 毫升水溶解,然后用 10% 盐酸酸化至 pH 2 左右,用乙醚提取三次. 醚层用水洗至中性,无水硫酸钠干燥,除去溶剂得片状结晶,用丙酮-正己烷重结晶二次,产物熔点 144~146°C, $[\alpha]_D^{20} = -15.8^\circ$ (c. 1.14 氯仿),与原料(16)混合熔点不降,薄层层析的 R_f 值及红外光谱都与原料(16)一致.

用 Et₃O⁺BF₄⁻ 制成酯化物: (17)→(18)

称取 50 毫克化合物(17)溶于 5 毫升 80% 乙醇中(内含 100 毫克氢氧化钾),加热至沸,冷却,室温减压除去乙醇,加水 5 毫升(内含 400 毫克氢氧化钾)放冰浴冷却,加 10 毫升乙醚搅拌,分批加入过量 Et₃O⁺BF₄⁻ 固体,生成的乙酯随时进入乙醚层,分出乙醚层,用无水碳酸钾干燥,减压除去乙醚,得无色油状乙酯(18).

ORD (0.4%, 二氧六环): $\Phi_{\text{二氧六环}}^{300} = -18480$, $\Phi^{342} = 0$, $\Phi_{\text{二氧六环}}^{350} = +4750$, $\Phi_{\text{二氧六环}}^{358} = +2112$, $\Phi_{\text{二氧六环}}^{364} = +3200$, $\Phi^{374} = 0$, $\Phi^{400} = -3432$, $\Phi^{500} = -2640$.

在工作中承蒙中国医学科学院药物研究所梁晓天教授提供了宝贵的意见,在核磁共振谱解释方面中国科学院上海有机化学研究所王绮文同志也提出了宝贵的意见,北京化工研究院、中国科学院化学研究所协助做 ¹³C 核磁共振谱及高分辨核磁共振谱,上海药物研究所、上海医药工业研究院做核磁共振谱,中国医学科学院药物研究所作旋光色散,均志谢意.

参 考 文 献

- [1] 竹本常松, 中岛正, 药学杂志, **77**, 1307, 1310, 1339, 1344(1957); L. Ruzicker, T. Reichstein, R. Pulver, *Helv. Chim. Acta* **19**, 646(1936).
- [2] C. A. **74**, 95433h(1971).
- [3] F. Bohlmann, N. Hinz, A. Seyberlich, J. Reppinger, *Chem. Ber.* **97**, 809(1964); F. Bohlmann, C. Zdero, *Phytochem.* **11**, 2329(1972).
- [4] D. Jeremic, A. Jokić, A. Behbud, M. Stefanovic, *Tetrah. Lett.* 3039(1973).
- [5] D. Jeremic, A. Jokić, M. Stefanovic, "The 8th International Symposium On Chemistry of Natural Products," p. 222, New Delhi, 1972(cited from[6]).
- [6] M. Djermanović, A. Jokić, S. Mladenović, M. Stefanović, *Phytochem.* **14**, 1877(1975).
- [7] 青蒿素结构研究协作组, 科学通报 **22**, 142(1977).
- [8] L. Dulog, K. H. Burg, *Zeit. Anal. Chim.* **203**, 184(1964).
- [9] D. Swern, "Organic Peroxides" vol. II, p. 737, New York, John Wiley & Son Ltd., 1971.
- [10] G. Rücker, *Chem. Ber.* **102**(3), 2691(1969).
- [11] K. Paech, M. V. Tracey, "Modern Method of Plant Analysis" II, p. 583, Berlin, Springer-Verlag, 1955.
- [12] 中国科学院生物物理研究所, 待发表.
- [13] D. G. Leppard, M. Rey, A. S. Dreiding, *Helv. Chim. Acta* **57**, 602(1974).
- [14] S. E. Falick, D. van der Helm, A. J. Weimheimer, *Acta Cryst.* **B31**, 1618 (1975).
- [15] 梁晓天, "核磁共振, 高分辨质谱的解析和应用," p. 296, 科学出版社, 1976.
- [16] D. Swern, "Organic Peroxides", vol. I, p. 56, New York, John Wiley & Son Ltd., 1971.
- [17] T. A. Spencer, K. K. Schmiegel, K. L. Williamson, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 3785(1963); J. A. Marshall, W. I. Fanta, *J. Org. Chem.* **29**, 2501(1964).
- [18] C. Djerassi, "Optical Rotatory Dispersion", p. 69, 84, McGraw-Hill Book Co. Inc., 1960.
- [19] J. Schmidlin, A. Wettstein, *Helv. Chem. Acta.* **46**, 2799(1963).

附注: 最近梁晓天教授做了青蒿素的圆二色散发现同时存在正和负的 Cotton 效应 ($\Delta\epsilon_{260} + 0.131$, $\Delta\epsilon_{230} - 0.613$), 这可能因两种构象所引起(O. Korver, *Tetrahedron*, **23**, 2391, 1970), 或由于其他原因, 我们正进一步研究中。

STRUCTURE AND REACTION OF ARTEANNUIN

LIU JING-MING NI MU-YUN FAN JU-FEN TU YOU-YOU
(*Institute of Chinese Materia Medica, Academy of Chinese Traditional Medicine, Peking*)

WU ZHAO-HUA WU YU-LIN CHOU WEI-SHAN
(*Institute of Organic Chemistry, Academia Sinica, Shanghai*)

ABSTRACT

Arteannuin (1), a new sesquiterpene containing a peroxide group, has been isolated from *Artemisia annua* L. It crystallizes in colorless needle. The high resolution mass spectrum indicated the molecular formula, $C_{15}H_{22}O_5$. Its infra red spectrum shows a δ -lactone group at 1745cm^{-1} and a peroxide group at 831, 881, 1115cm^{-1} . The NMR spectrum of Arteannuin (1) has a tertiary methyl group at δ 1.36 and two secondary methyl group at δ 0.93 ($J=6\text{Hz}$) and δ 1.06 ($J=6.5\text{Hz}$) respectively and a multiplet at δ 3.08~3.44. A sharp proton singlet at δ 5.68 is assigned to an acetal hydrogen. Irradiation of the multiplet proton at δ 3.08~3.44 in the spectrum of (1) causes three proton doublet at δ 1.06 to collapse to a singlet. Furthermore, irradiation of the methyl group signal at δ 1.06 causes the multiplet at δ 3.08~3.44 to change into an one proton doublet ($J=4.5\text{Hz}$) which can be assigned to a proton on the carbon adjacent to methyl group and it appears clearly that only one proton is attached to the adjacent carbon. The wide band ^1H decoupled at ^{13}C NMR data of Arteannuin (1) has 15 carbon resonances. The off resonance ^{13}C NMR data allows the observed resonances to be assigned to three methyl-, four methylene-, five methine- and two quaternary carbons together with one carbonyl-carbon.

The presence of peroxide group is further proved by quantitative reaction with triphenyl phosphine^[8]. Catalytic hydrogenation of Arteannuin (1) over palladium-calcium carbonate catalyst yields the epoxy compound (2)^[10] with loss of one oxygen atom. When compound (1) is reduced with sodium borohydride, it gives the hydroxy compound (3) which can be further hydrogenated under the above mentioned condition to yield compound (4). Compound (4) also obtained by reduction of compound (2) with diisobutylaluminum hydride can be reoxidized with chromic anhydride-pyridine into compound (2)

The partial structures I, II, III, IV and V have been deduced by the chemical and spectroscopic evidences. The structure and relative configuration was ultimately determined by X-ray diffraction^[12]. The structure picture of I is shown in Figure 1. The trans configuration of the lactone ring was deduced as (1) by comparison of its

ORD spectrum with that of compound (6)^[13] obtained from arteannuin B^[4]. The absolute configuration of arteannuin (1) was determined using anomalous dispersion of Cu-radiation by oxygen atoms and was shown in 1^[12]. Stereoview of 1 is shown in Figure 1.

It is known that the reduction of dialkyl peroxides to the corresponding alcohols and/or ethers may be carried out with a variety of reducing agents such as titanium trichloride, lithium aluminum hydride and hydrogen with catalysts^[10]. Arteannuin (1) furnished the dihydroxy compound (A) in catalytic hydrogenation over palladium calcium carbonate, and underwent deacetalization to give unstable compound (B) which quantitatively converted into the lactone (2), in the presence of trace amount of acid. Its formation may be considered as a result of an intramolecular ketal and acetal formation.

Arteannuin (1) on treatment with potassium carbonate in methanol at room temperature for an hour undergoes an intramolecular epoxidation to give the α -epoxide (10). The hydrogenolytic product (2) is converted by 10% alcoholic potassium hydroxide solution at room temperature through a keto-aldehyde reaction into α, β -unsaturated ketone(9) which on treating with 30% hydrogen peroxide affords the β -epoxide (11). From the NMR spectra of **10** and **11** (Table 2) it is evident that H-4 of β -epoxide undergoes the rather down field shift arising from deshielding effect of the lactone carbonyl group, since from the molecular model the H-4 seems much closer to the lactone ring. With 10% sulfuric acid in glacial acetic acid at room temperature, Arteannuin (1) gives the compound(16). This reaction seems to proceed through a carbonium-ion intermediate (12) formed by carbon-oxygen fission in acid. Compound (16) on treatment with dilute alkali gives α, β -unsaturated carbonyl compound (17), which on further acidification is retransformed into the original compound (16). This further proves that the γ -lactone ring of compound(16) is in the cis-form, because the formation of cis lactone ring is much easier than the trans one. Compound (17) on treatment with triethyl oxonium fluoroborate gives the ethyl ester of (18). Since its optical rotatory dispersion coincides with that of compound (19)^[18], therefore, the C₁-H of Arteannuin (1) is also α -orientated.