

人体代谢青蒿素转化物的分离和鉴定

朱大元 黄宝山 陈仲良 殷梦龙 杨一鸣 戴曼丽 王保德 黄知恒

(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 报道青蒿素的另一个生物代谢转化物晶8的结构鉴定。通过光谱特别是核磁共振谱和质谱的解析, 推定晶8的结构为9,10-二羟基氢化青蒿素。

关键词 青蒿素; 生物转化; 光谱分析; 9,10-二羟基氢化青蒿素

为了给临床使用抗疟药青蒿素提供合理的用药常规, 并搞清青蒿素体内代谢转化及转化

物的生理活性, 以便为青蒿素结构改造提供依据, 我们对疟疾病人及正常人 po 青蒿素后的代谢转化物进行了分离和鉴定、前报⁽¹⁾中曾报道以硅胶层析从小便中分离4个转化物, 其中3个已鉴定为氢化青蒿素、还原氢化青蒿素和五员环内酯甲酮化合物(V)。这些化合物经小鼠伯氏疟(*P. berghei*)试验均无效, 提示青蒿素体内代谢转化是一失活过程。这些代谢转化物的结构特征均是失去过氧桥, 因此过氧桥键是抗

活性的重要基团。另一个转化物是在第 37 流分中分得，称为晶 8，其熔点为 167–170°C。本文报道该结晶的结构鉴定。

晶 8：用石油醚丙酮重结晶得白色针状结晶，熔点 167–170°C。高分辨质谱确定分子式为 $C_{15}H_{22}O_6$ (实测 298.1427；计算: 298.1416)。红外光谱提示有羟基 ($3400, 3450 \text{ cm}^{-1}$) 及 δ -内酯 (1720 cm^{-1}) 吸收。核磁共振谱 (氘代丙酮， δ): 1.10 (3 H, d, $J = 6 \text{ Hz}$), 1.28 (3 H, s), 1.46 (3 H, s), 3.12 (1 H, m), 4.16 (1 H, d, $J = 3 \text{ Hz}$, D_2O 交换消失), 3.92 (1 H, bs, D_2O 交换消失), 3.76 (1 H, dd, $J = 4 \text{ Hz}$), 2.64 (1 H, m), 6.44 (1 H, s), 1.60–1.80 (6 H, m)，质谱裂片峰中无带过氧基团的青蒿素衍生物系列中的 (M-32) 的碎片峰，提示晶 8 已无过氧基团。晶 8 的红外光谱亦无过氧基团的特征吸收峰，进一步证明了上述的特征，晶 8 的分子式与青蒿素的分子式 $C_{15}H_{22}O_5$ 比较仅多一个氧原子、根据红外光谱提示晶 8 有二个羟基吸收 ($3400, 3450 \text{ cm}^{-1}$)，核磁共振谱证明有二个羟基吸收峰 (δ 3.92 和 4.26)，因此晶 8 与青蒿素相比较少了一个过氧基团中的氧原子，增加了二个羟基。由于晶 8 的核磁共振谱具有青蒿素或氢化青蒿素相应的特征吸收，因此晶 8 很可能保留了青蒿素的基本骨架，是青蒿素在体内脱氧并羟化的二羟基氯化青蒿素。

为了阐明晶 8 的二个羟基的位置，进一步分析了青蒿素与晶 8 的核磁共振谱：青蒿素的 C_{10} , C_{11} 位有二个叔碳甲基峰，化学位移分别为 δ 0.98 (3 H, d, $J = 6 \text{ Hz}$, $C_{10}-CH_3$), 1.10 (3 H, d, $J = 6.5 \text{ Hz}$, $C_{11}-CH_3$)； C_4 位上有一个季碳甲基，化学位移为 1.36 (3 H, s)。在晶 8 的核磁共振谱上 $C_{10}-CH_3$ 变为单峰，且向低场位移至 δ 1.46 (3 H, s)，说明 C_{10} 位引入一个羟基。从青蒿素分子的 Stuart 模型上可以明显地看到 C_5 和 C_{10} 位的碳原子非常接近，若 C_{10} 位上引入一个羟基，必然会引起 C_5 质子向低场位移，青蒿素的 C_5-H 为 δ 5.72 (1 H, s)，晶 8 的 C_5-H 为 δ 6.44 (1 H, s)，因此进一步

证明了上述推测，即 C_{10} 上引入了一个羟基，而且该碳上的甲基仍为 β 构型。

另一个羟基的化学位移为 δ 4.30，双峰，说明该羟基的同碳上有一个质子，而在 δ 3.76 恰好出现一个质子信号，该质子必然与羟基同碳，因而这个羟基必定取代在仲碳上。这样羟基可能取代的位置为 C_2 , C_3 , C_8 和 C_9 ， δ 3.76 信号为双双峰，其偶合常数均为 4 Hz，因此该质子应为 e 键取向，即与邻位质子有 J_{e-e} 和 J_{e-a} ，而 J_{e-a} 接近于零，另一个 J 值为 J_{e-OH} ，若为 a 键取向，则应有 J_{a-a} 和 J_{a-e} 的关系，其 J_{a-a} 偶合常数应较大，如果羟基取代在 C_2 或 C_8 位，则有 C_8-He 或 C_2-He ，在这两种情况下， C_8-He 或 C_2-He 的邻位质子的二面角在分子模型上明显地看到均不等于或接近于 90°。因此不存在 $J = 0$ ，故在此两种取代情况时， δ 3.76 的信号应出现 4 个 J 值， D_2O 交换后应有 3 个 J 值，这与实验数据不符，因此，该羟基不可能取代在 C_2 或 C_8 位。至此羟基的可能取代位置只有在 C_3 或 C_9 ，所以晶 8 的可能结构为 (A) 或 (B)。见 Fig 1

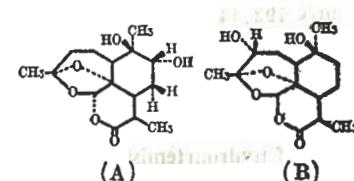
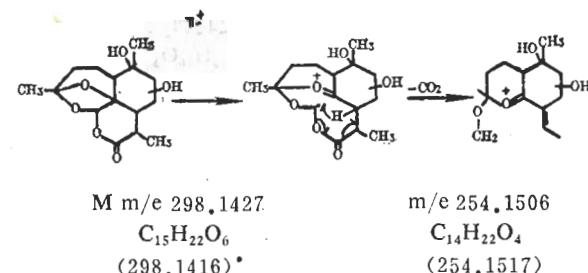
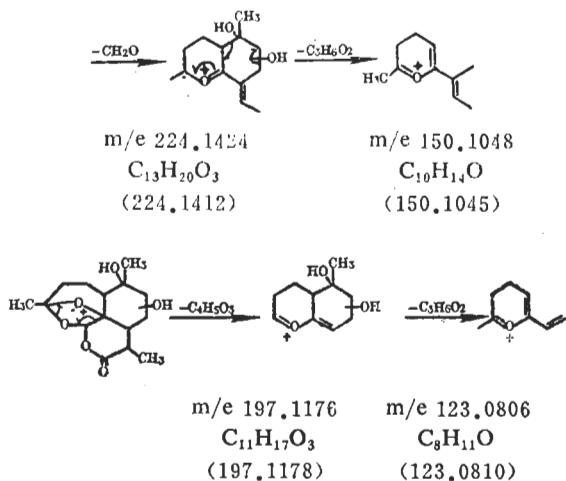


Fig 1. Possible structures of crystal 8

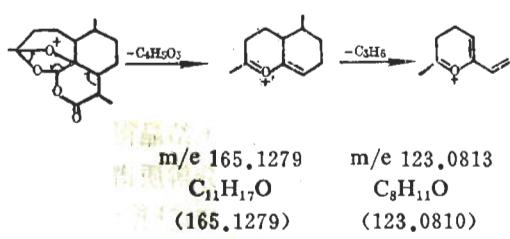
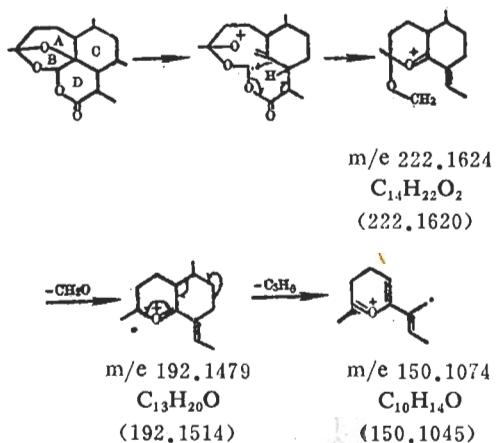
晶 8 的质谱主要碎片峰为 254.1506, 236.1397, 224.1424, 197.1176, 179.1065, 150.1048, 123.0806。

晶 8 的开裂方式：(*为计算值)





氢化青蒿素开裂方式：



从上述二个化合物的质谱裂片峰的比较中，明显地看到当丢失C环后的裂片峰在二个化合物中是相同的，即都有m/e 123, 150。而当保留C环时二个化合物相对应的裂片峰相差32质量单位，由此推测另一个羟基应该取代在C环的9位上，即晶8的结构应为(A)式所示。

氢化青蒿素和9,10-二羟基氢化青蒿素的高分辨质谱数据见表1。为了进一步确证上述结构，对晶8进行了X射线结构分析⁽²⁾，结果与推测的结果完全一致。

参 考 文 献

- 朱大元、黄宝山、陈仲良、殷梦龙。药学学报 1980年8月；15(8)：509
- 梁丽。待发表。

Tab 1. Data of hydroartemisinine and 9,10-dihydroxyhydroartemisinine in high-resolution mass spectrometry

(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)
M 266 (22%)	222.1624 (46%)	192.1479 (33%)	150.1074 (100%)	149 (16.5%)	165.1279 (65%)	123.0813 (56%)
(266)	(222.1620)	(192.1514)	(150.1045)	(149)	(165.1279)	(123.0810)
C ₁₅ H ₂₂ O ₅	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	C ₁₃ H ₂₀ O	C ₁₀ H ₁₄ O		C ₁₁ H ₁₇ O	C ₈ H ₁₁ O
M 298, 1247 (17%)	254.1506 (29%)	224.1427 (29%)	150.1048 (21%)	149.0962 (38%)	197.1176 (95%)	123.0806 (66%)
(298.1416)	(254.1518)	(224.1412)	(150.1045)	(149.0966)	(197.1178)	(123.0810)
C ₁₅ H ₂₂ O ₆	C ₁₄ H ₂₂ O ₄	C ₁₃ H ₁₆ O ₃	C ₁₀ H ₁₄ O	C ₁₀ H ₁₃ O	C ₁₁ H ₁₇ O	C ₈ H ₁₁ O

Acta Pharmacologica Sinica 1983 Sep; 4 (3) : 194-197

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF THE METABOLITE OF ARTEMISININE IN HUMAN

ZHU Da-yuan, HUANG Bao-shan, CHEN Zhong-liang, YIN Meng-long, YANG Yi-ming,
DAI Man-li, WANG Bao-de, HUANG Zhi-heng

(Shanghai Institute of Materia Medica. Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT Artemisinine, a new potent anti-malarial component isolated from *Artemisia annua* L., was given orally to malarial patients. From their urine another metabolite was isolated and identified as 9,10-dihydroxyhydro-

artemisinine by spectroscopic methods.

KEY WORDS artemisinine; biotransformation; spectrum analysis; 9,10-dihydroxyhydroartemisinine