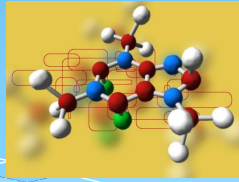


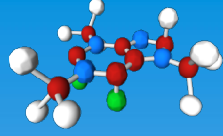
天然产物绝对构型的测定

----- 圆二色光谱法

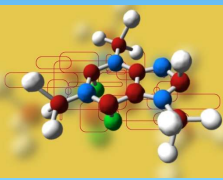


河北医科大学药学院
天然药物化学教研室

李力更 教授



Determination of Organic Stereoisomers by CD



Li Ligeng

Department of Medicinal Natural Product Chemistry
College of Pharmaceutical Science
Hebei Medical University

说 明

此课件为本人参考有关教材、文献及
在个人学习、理解和实践基础上编排完成。

由于本人水平有限，疏漏和不妥之处
在所难免，请随时赐教和指正。



3



**“没有理论上的总结和提高，
几乎所有的研究工作都是低水平
上的模仿或简单的重复”。**

by LI Ligeng



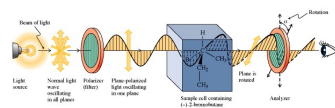
4

圆二色光谱 Circular Dichroism



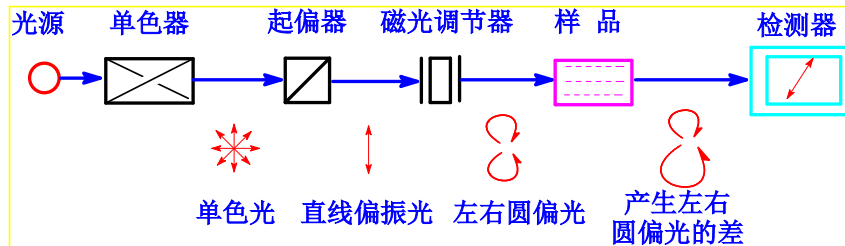
5

一、基本知识 Introduction



6

平面偏振光实际是由两个相反的圆形偏振光组成，即：左旋圆形偏振光和右旋圆形偏振光。



★ 偏振光实际为：左旋圆偏振光与右旋圆偏振光的矢量合！

7

左旋、右旋圆偏振光 通过手性分子时，手性分子对它们的吸收是不同的。

☞ 即：左旋、右旋圆偏振光 通过手性分子的速度和吸光度或吸光系数是不同的，当再矢量合成平面偏振光时就变成椭圆的了。

☞ 如果仅考虑速度（或折射率）的差，两者合成的矢量相当于在倾斜 α 度（称为旋光角）的直线上移动。

☞ 见下页图



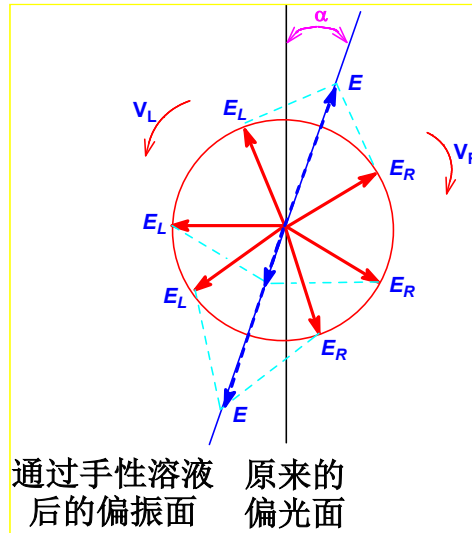
8

左旋、右旋圆偏振光的合成矢量和偏光面示意图

V_L 、 V_R 表示左右圆偏光的速度

E_L 、 E_R 表示左右圆偏光的电子矢量振幅

α 称为旋光角，表示倾斜角度



9

当圆偏振光的速度（或折射率）和光吸收率同时随左旋、右旋圆偏光的不同而变化时，两者合成的矢量在“接近直线”的椭圆圆周上移动。

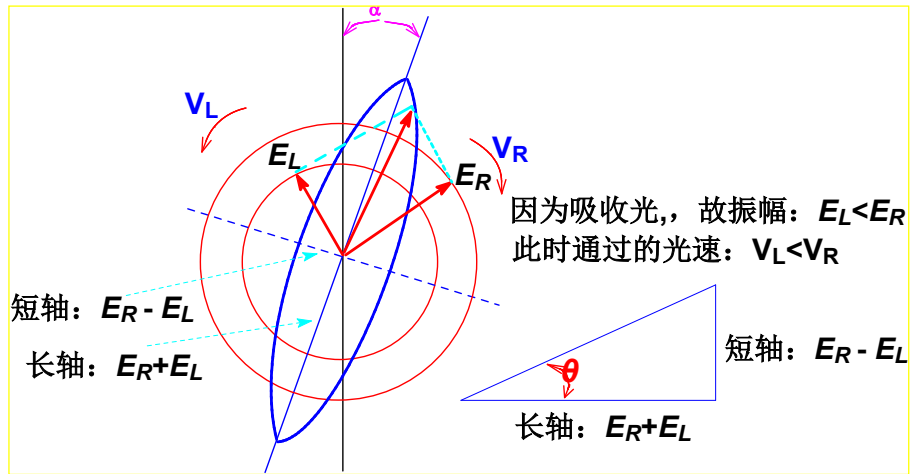
- ▶ 椭圆的长轴为左、右旋圆偏光的矢量和。
- ▶ 椭圆的短轴为左、右旋圆偏光的矢量差。
- ▶ 圆二色性的大小为椭圆长轴和短轴之比，即椭圆度 (θ)。

见下页图



10

左旋、右旋圆偏振光的合成矢量和偏光面示意图



▲ 椭圆度 θ 随样品浓度、样品池厚度而变化!

11

测出椭圆度 θ 后, 可通过下列公式计算出比椭圆率 $[\theta]$ 和摩尔椭圆率 $[\psi]$ 。

$$[\theta] = \theta / c \cdot l \quad [\psi] = [\theta] \cdot M / 100$$

$[\theta]$: 比椭圆率 (specific ellipticity)

$[\psi]$: 摩尔椭圆率 (molecular ellipticity)

c : 样品浓度, 单位为 g/ml

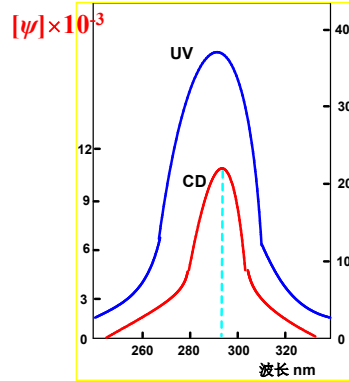
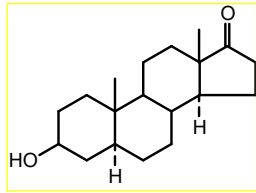
l : 样品池厚度, 单位为 dm

M : 样品的分子量

★ 以偏振光的波长为横坐标、以 $[\theta]$ 或 $[\psi]$ 为纵坐标绘图, 即得圆二色散谱图。

12

例：3 β -羟基-5 α -雄甾-17-酮的UV和CD谱。



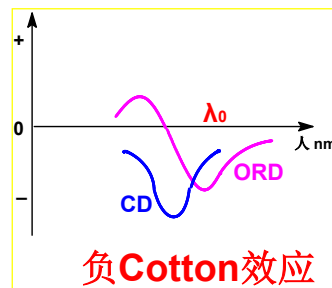
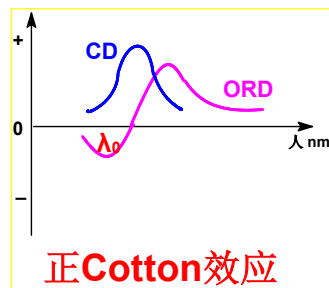
★ 手性分子在不同波长下对左、右两个圆形偏振光的不同吸收有关，所以只在UV最大吸收波长附近呈现CD谱线。

13

ORD 谱：仅不正常谱线部分呈 Cotton 效应。

CD 谱：整条谱线均呈 Cotton 效应（吸收峰向上为正Cotton效应，向下为负Cotton效应）。

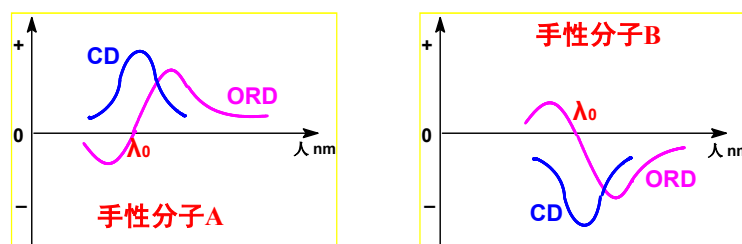
例：



14

对于同一手性分子，其ORD谱与CD谱存在对应吸收峰且相同符号的Cotton效应。

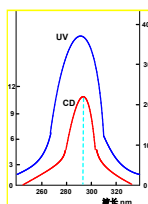
例：同一化合物的 ORD 和 CD 谱对照。



★ CD谱的最高吸收峰的波长相当于ORD中的 λ_0 （ORD谱线和零轴交点处的波长）。

15

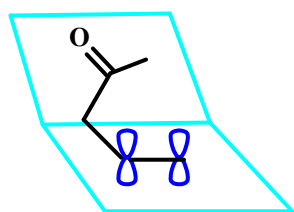
二、 β,γ -不饱和酮的经验规则



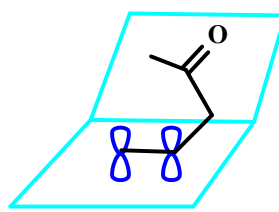
16

非平面的 β,γ -不饱和酮在280~320nm处有强的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁，因此其ORD谱和CD谱在300nm附近呈现Cotton效应也较强。

与 Cotton 效应的关系可用下模型图表示：



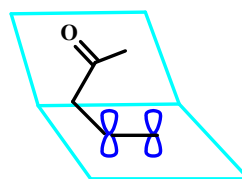
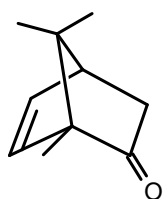
200~300nm
负Cotton效应



200~300nm
正Cotton效应

17

例：(+)-脱氢樟脑（dehydrocamphor）的CD谱中Cotton效应。

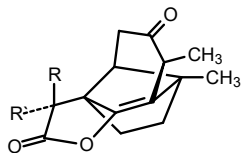


200~300nm
负Cotton效应

与模型图对照可推测其为负性Cotton效应，与实验一致。

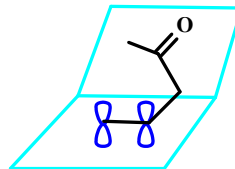
18

例：山道年酸烯醇内酯与次山道年酸烯醇内酯的立体构型。



R=CH₃ R'=H 次山道年酸烯醇内酯
R=H R'=CH₃ 山道年酸烯醇内酯

正Cotton效应

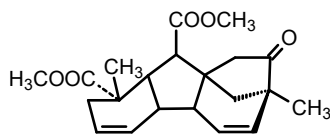


200~300nm
正Cotton效应

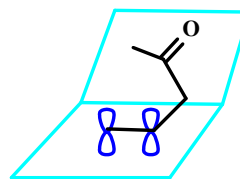
与模型图对照可推测其为正性Cotton效应，与实验一致。

19

例：赤霉酸酯的立体构型。



正Cotton效应

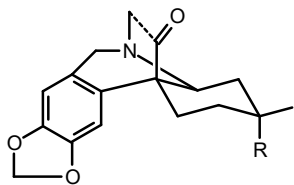


200~300nm
正Cotton效应

与模型图对照可推测其为正性Cotton效应，与实验一致。

20

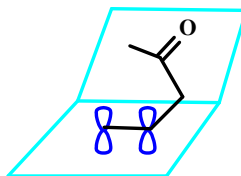
例：



R=H 氧二氢脱甲氧基网球花胺

R=OCH₃ 氧二氢网球花胺

正Cotton效应



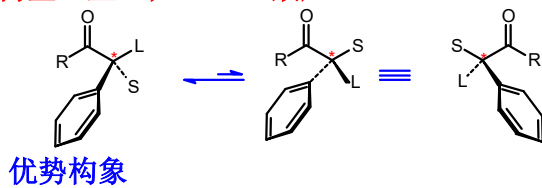
200~300nm
正Cotton效应

与模型图对照可推测其为正性Cotton效应，与实验一致。

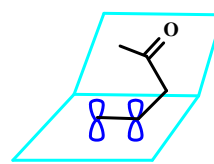
21

例：

S-构型：呈正性Cotton效应

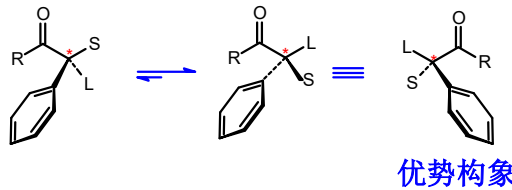


优势构象

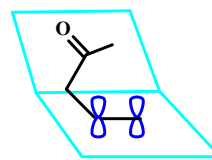


200~300nm
正Cotton效应

R-构型：呈负性Cotton效应



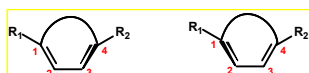
优势构象



200~300nm
负Cotton效应

22

三、共轭烯烃类化合物的螺旋规则



23

链状的共轭二烯分子中，参与共轭体系的原子是在同一平面的。

★ 但是，在环状化合物中，如同一环中的共轭二烯，其两个双键不在同一平面上，而是被扭曲的！

被扭曲的共轭双烯呈螺旋形，仅具有 C₂ 轴，具有手性。

★ 此类共轭二烯可用 CD 或 ORD 测定。

👉 见下页例 ➡

24

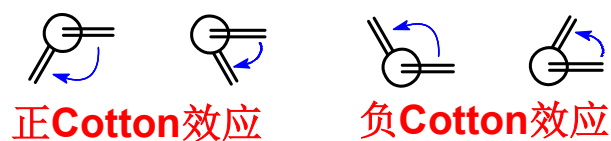
例：*cis*-1,3-环X二烯的两个扭曲的构型。



注： C_2 轴——结构中仅含一个对称轴的分子。

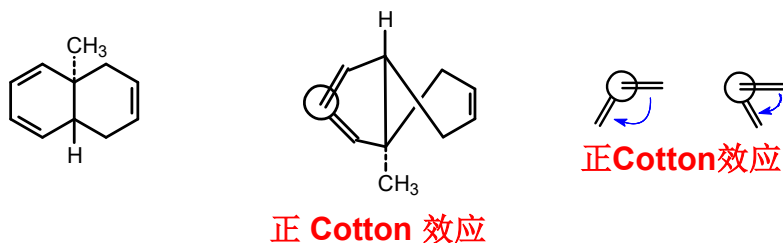
25

在测定扭曲的共轭二烯类分子时，构型和 CD 谱中 Cotton 效应 之间关系称为螺旋规则 (helicity rule) :



★ 扭曲的共轭双烯在波长 (260~283nm) 处的 Cotton 效应，符号与4个碳原子形成的螺旋手性有关，相当于右手性螺旋呈正性；反之，相当于左手螺旋呈负性。

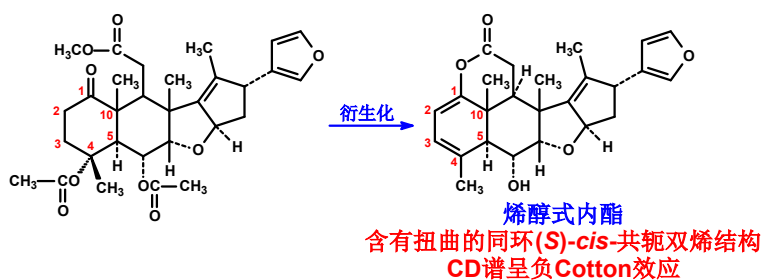
例: *(trans)*-9 α -甲基-1,4,9,10-四氢萘的 CD 谱。



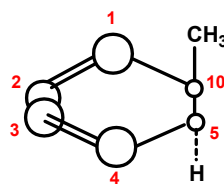
与模型图对照可推测其为正性Cotton效应，与实验一致。

27

例: 印楝酸 (nimbic acid) 结构中C-5 和 C-10构型的测定。

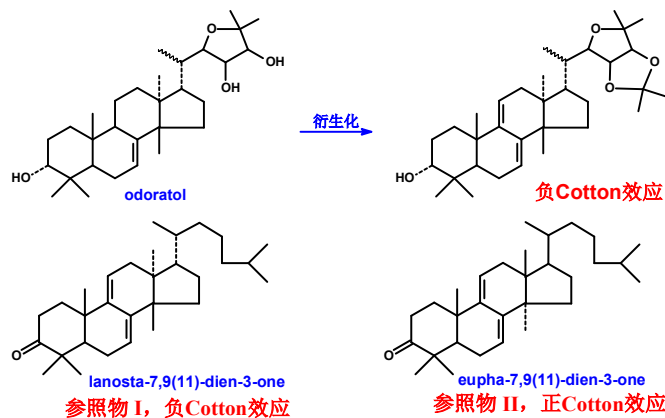


烯醇式内酯衍生物的CD谱呈负性Cotton效应，由此可知其共轭双烯呈左手螺旋。所以H-5为 α -构型，C10-CH₃为 β -构型。



28

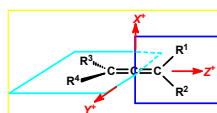
例：化合物 odoratol 构型的确定。



👉 衍生物与参照物相比较，有相同的负Cotton效应，所以Odoratol有类似参照物I的构型（衍生物具有 *(S)-trans*-共轭双烯构型）。

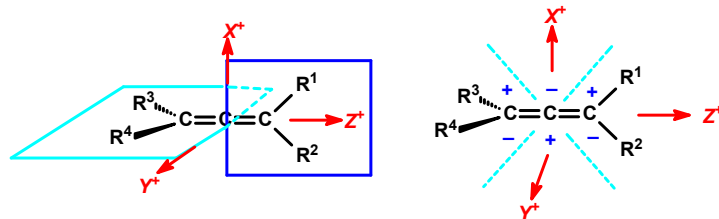
29

**四、丙二烯类化合物中的扇形规则
(两叉象限规则)**



30

扇形规则：手性丙二烯类分子构型与CD谱、ORD谱中Cotton效应符号之间的关系，可用下图示意：

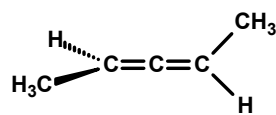


★ 在XZ平面前半部分（Y⁺部分），各象限的旋光分担如上右式。而后半部分（Y⁻部分），各象限旋光分担符号正好相反。虚线所示锥形旋光分担（在X⁺部分为负，在X⁻部分为正）。

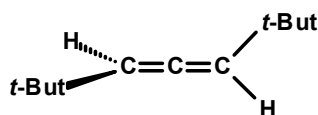
31

由**扇形规则**可预测下列手性丙二烯类化合物的CD谱均呈正性效应，与实测相符。

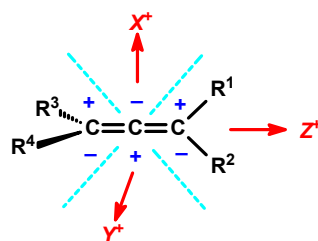
例：



223nm处有正Cotton效应

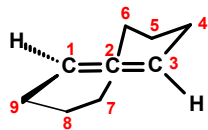


219nm处有正Cotton效应

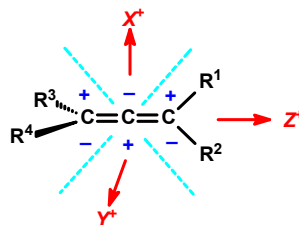


32

例：1,2-环壬二烯。



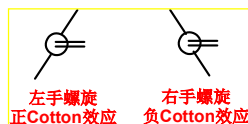
236nm处有正Cotton效应



☞ C8-C9、C4-C5等有正性旋光分担，仅C6-C7处于X⁺和锥形区有负性旋光分担，所以总的还是正性Cotton效应。

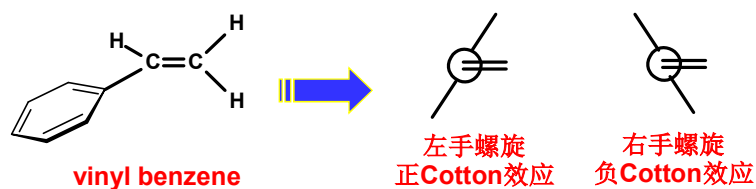
33

五、苯乙烯及相关化合物的螺旋规则



34

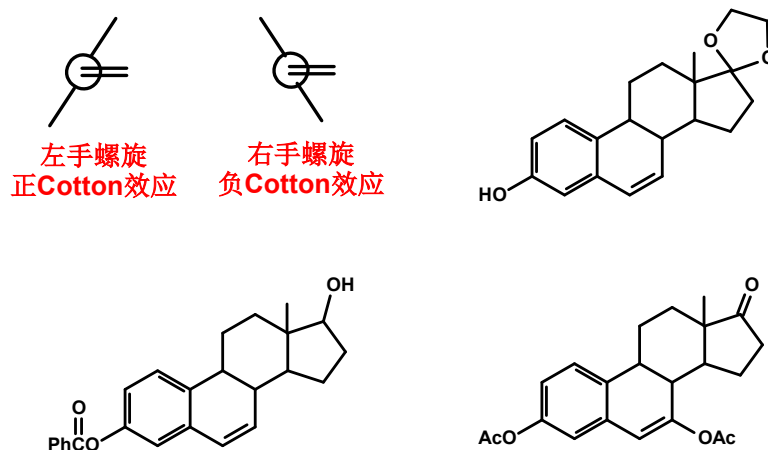
手性苯乙烯类分子 ORD、CD 谱在 270~280 nm 处吸收带（苯的 1L_b 带）的 Cotton 效应符号也存在螺旋规则：



- ★ 右手螺旋构型与负性Cotton效应有关。
- ★ 左手螺旋构型与正性Cotton效应有关。

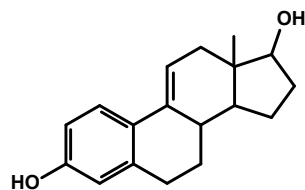
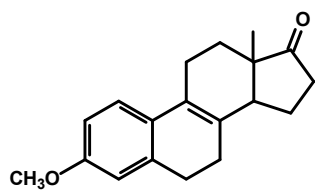
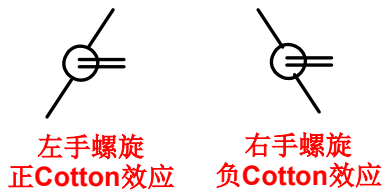
35

例：右手螺旋，负性 Cotton 效应。



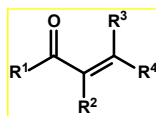
36

例：左手螺旋，正性 Cotton 效应。



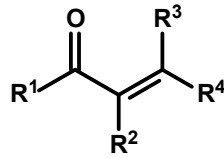
37

六、 α,β -不饱和酮类化合物的经验规则



38

α,β -不饱和酮中的羰基与碳-碳双键共轭：

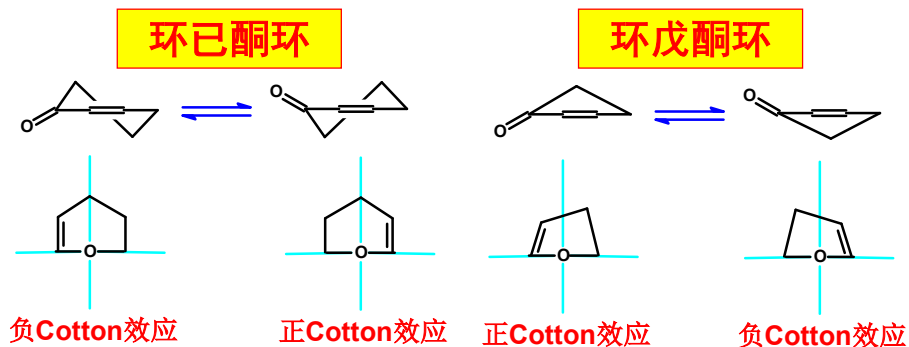


☞ 羰基的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁向长波方向位移，约在 320~350 nm 处出现吸收。

☞ 共轭双键的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁约在 220~230 nm 处出现的强吸收带。

39

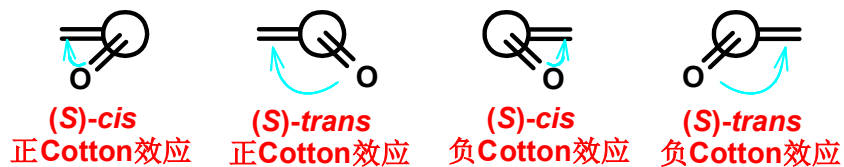
α,β -不饱和酮在相当于 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的波区，其 CD 谱中所呈现的 Cotton 效应信号与非平面结合的 *trans*- α,β -不饱和酮的构象有关。



☞ 由此模型图可推测分子构型。

40

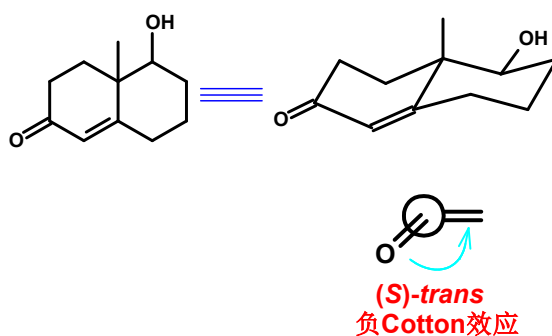
对于具有环己-2-烯酮、环戊-2-烯酮结构的分子，在 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁波区其CD谱中的Cotton效应属性遵循同一螺旋规则，见下模型图：



具有环己烯酮结构分子，同一化合物的在 $n \rightarrow \pi^*$ 、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁范围内的Cotton效应符号多数是相反的。

41

例：(8*S*)-羟基-(9*S*)-甲基- $\Delta^{4(10)}$ -八氢萘-3-酮。



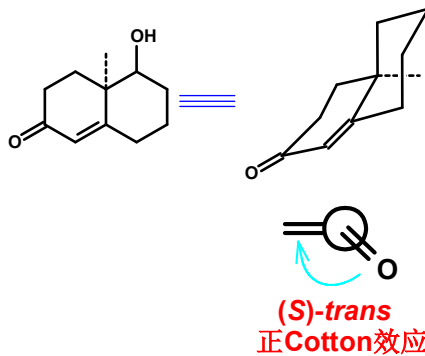
CD谱：

$n \rightarrow \pi^*$ 负性 Cotton 效应。

$\pi \rightarrow \pi^*$ 正性 Cotton 效应。

42

例：(8*S*)-羟基-(9*R*)-甲基- $\Delta^4(10)$ -八氢萘-3-酮。



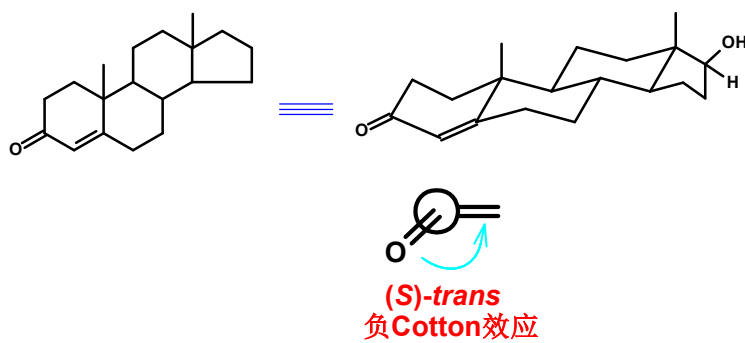
CD谱:

$n \rightarrow \pi^*$ 正 Cotton 效应。

$\pi \rightarrow \pi^*$ 负 Cotton 效应。

43

例：睾酮。



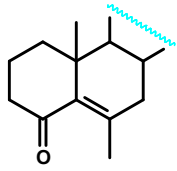
CD谱:

$n \rightarrow \pi^*$ 负 Cotton 效应。

$\pi \rightarrow \pi^*$ 正 Cotton 效应。

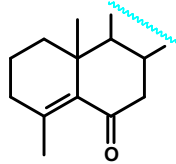
44

例：一些具有 (*S*)-*cis* 结构的甾烯酮类化合物。



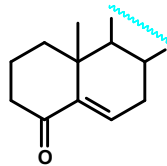
CD谱:

225 nm 负 Cotton 效应
335 nm 正 Cotton 效应



CD谱:

234 nm 正 Cotton 效应
334 nm 正 Cotton 效应



CD谱:

210 nm 正 Cotton 效应
331 nm 负 Cotton 效应

45



七、内酯类化合物的经验规则

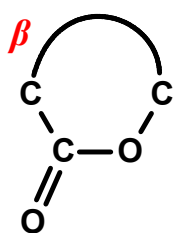


正Cotton效应

46

羧基、酯、内酯、酰胺等在210~220nm范围内有一弱吸收带（相应为 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁）。

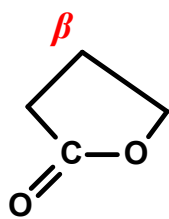
★ 有关 γ -内酯、 δ -内酯的ORD和CD谱中的Cotton效应与构型的经验规则：



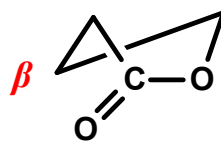
将倾向于呈平面构象的环中内酯基团按左方式排列，其环内 β 碳原子相对于该内酯平面的位置（平面上或下）与其CD谱的Cotton效应有关。

47

★ γ -内酯中的环内 β -C处若处于该平面之上则呈正Cotton效应。



正Cotton效应



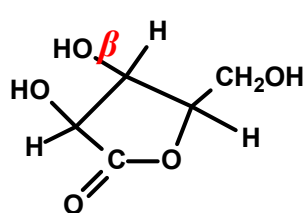
负Cotton效应

★ 若处于该平面之下则呈负Cotton效应。

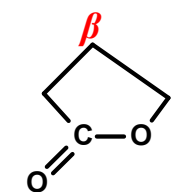
见下页例

48

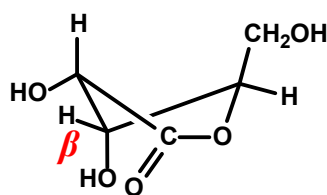
例：



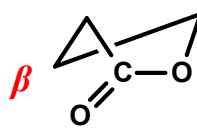
D-阿拉伯糖酸-*r*-内酯
ORD / CD 均呈正Cotton效应



正Cotton效应



D-核糖酸-*r*-内酯
ORD / CD 均呈负Cotton效应

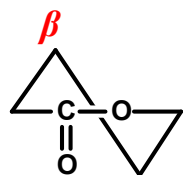


负Cotton效应

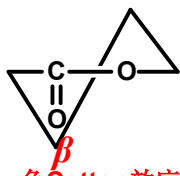
49

δ -内酯的环系可呈半椅式或半船式构象，
其 β -C处于内酯基团平面之上呈正性Cotton效应，
处于内酯基团平面之下呈负性Cotton效应。

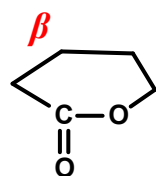
👉 模型示意图：



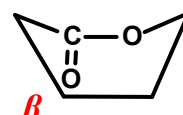
正Cotton效应



负Cotton效应



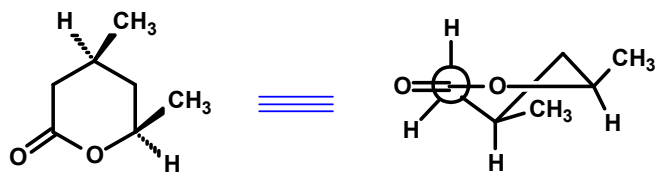
正Cotton效应



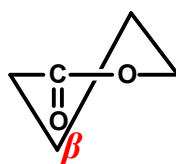
负Cotton效应

50

例：(5*R*)-羟基-(3*S*)-甲基己酸- δ -内酯。



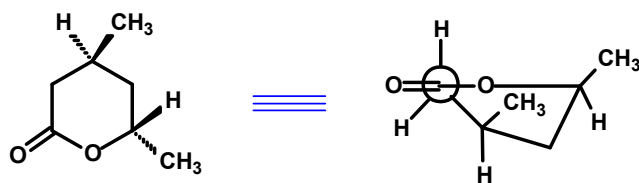
CD谱呈负Cotton效应



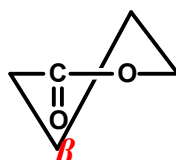
负Cotton效应

51

例：(5*S*)-羟基-(3*S*)-甲基己酸- δ -内酯。



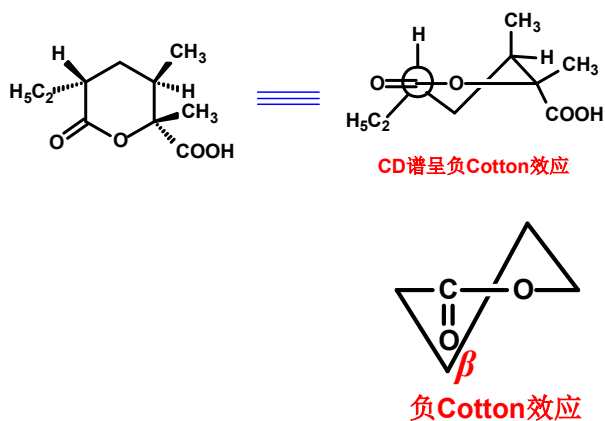
CD谱呈负Cotton效应



负Cotton效应

52

例：(2*R*)-羟基-(2*R*,3*R*)-二甲基-(5*R*)-乙基己二酸-2,6- δ -内酯。



53

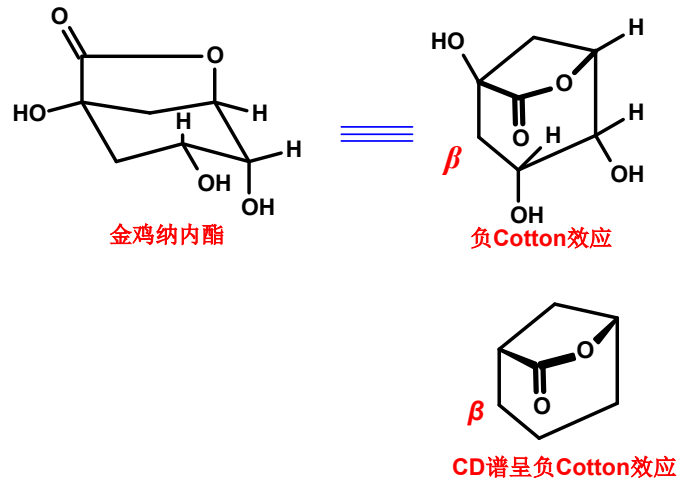
对于桥环内酯，如：7-氧杂双环[3,2,1]辛-6-酮，其既是 γ -内酯也是 ϵ -内酯，当内酯基团处于平面状态时，可能有两种构型：



★ 一般主要以 ϵ -内酯为观察对象， β -C在平面之上的呈正性Cotton效应， β -C处于平面之下的呈负性Cotton效应。

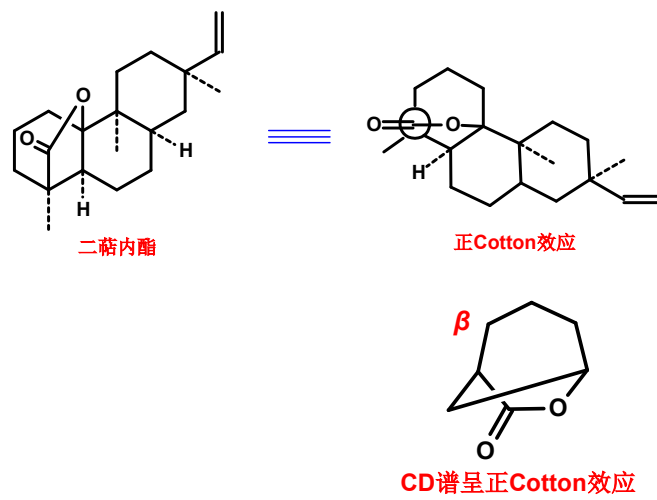
54

例：




55

例：



56



八、不含发色团的化合物


此类化合物的紫外吸收均在200nm 以下，所以其ORD呈平坦谱线，而CD没有任何意义。

57

对于不含发色基团的化合物，其绝对构型可采取以下两个方法测定：

<p>① 与已知构型的同系物 ORD 谱进行对比。</p> <p>☞ 若具有相类似平坦谱线则具有相同构型。</p>	<p>② 将其转化为含有发色团的衍生物，然后测定 ORD 或 CD。</p> <p>☞ 若类似化合物各自的衍生物具有相同的 Cotton 效应，则具有相同的构型。</p>
---	---

58



旋光色散谱 (ORD) 和圆二色散谱 (CD) 基于同一原理, 有关经验规则等在实际工作中可以通用。

CD 虽然较晚被研究发现, 但近年来发展迅速。对于吸收带清楚的化合物, CD 在研究分子结构方面更好一些。

对于在紫外光谱上不发生吸收的醇、胺、醚等化合物, 可以利用延长于波段的旋光色散光谱曲线的末端区域, 此时应用 ORD 较好。



59

但是, ORD 和 CD 法毕竟只是一种经验方法。

有的可以很好的解释, 有的就只是一个测试结果, 运用八区律解释起来也不是很容易, 甚至出现了预计的结果和实际测试的结果相反的现象。



60

利用手性化合物的光学性质最新研究出的圆二色散激子手性法 (ECCD, Exction-Coupling Circular Dichroism) 的论文, 最早报道可以参考 1982 年的《东京化学同仁》上《有机立体化学应用》。这是一种非经验的方法。

ECCD 的特点是原理简单, 结果准确, 有学者认为可以与 x-ray 衍射法相比。

详细知识请参考有关专著。

课外阅读:

王思明, 付 炎, 刘 丹, 王于方, 李力更, 霍长虹, 李 勇, 刘 江, 张嫚丽, 史清文*.

天然药物化学史话: “四大光谱”在天然产物结构鉴定中的应用

[J]. 中草药, 2016, 47(16): 2779-2796.

作者单位: 河北医科大学药学院

· 专 论 ·

天然药物化学史话: “四大光谱”在天然产物结构鉴定中的应用

王思明^{1,2}, 付 炎¹, 刘 丹¹, 王于方², 李力更², 霍长虹², 李 勇¹, 刘 江¹, 张嫚丽¹, 史清文^{2*}

1. 河北医科大学基础医学院 药理学, 河北省 石家庄市 050017
2. 河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北省 石家庄市 050017

天然产物是自然界的生物在千万年的进化过程中通过自然选择合成以及保留下来的结构多样的次生代谢产物, 这些次生代谢产物由于结构的多样性而具有多种多样的生物活性, 天然产物对人类最大的贡献之一就是成为药物, 在人类历史上, 天然药物一直是人们防病治病的主要手段。天然产物具有结构多样性、生物活性多样性和类别广泛成为新药开发研究的重点, 临床上应用的许多药物都直接或间接来源于天然产物, 天然产物在新药开发、绿色生物农药研制、保健食品和天然化妆品开发中发挥了非常重要的作用^[1]。

对天然产物的研究一直是科学家们特别关注的领域, 尤其是天然产物的结构鉴定更被作为其中最为关键、而尚的工作之一。天然产物数量巨大、结构类型繁多, 特别是立体化学结构的鉴定尤为困难。早期研究中, 天然产物的结构确定主要是通过制备和化学试剂如制备衍生物、化学降解及混合方法对照等手段来完成, 最初一个复杂化合物的结构鉴定

关键词: 2016-24
基金项目: 河北省自然科学基金 (81620401)、河北省中医学重点专项 (20160401)、河北省教育厅项目 (201610615)、河北省自然科学基金 (201510605)、河北省自然科学基金 (201510611)、2016 河北省自然科学基金项目 (H161011)
* 通信作者: 王思明 (1984-), 女, 河北省石家庄市人, 副主任医师, 740311462@qq.com, E-mail: 740311462@qq.com
* 通信作者: 刘 江 (1968-), 女, 河北省邯郸市人, 主任药师。
* 通信作者: 史清文 (1964-), 男, 河北省邯郸市人, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物结构鉴定的研究。
DOI: 10.13388/j.issn1674-5520.1602014

62

• 专 论 •

天然药物化学史话：Mosher 法测定天然产物的绝对构型

李力更^{1*}, 王于方¹, 付炎¹, 律涛¹, 顾玉诚^{1,2}, 史清文^{1*}

1. 河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北 石家庄 050017
2. Jodrell's Hill International Research Centre, Syngenta, Berkshire, RG429EY, UK

李力更^{1*}, 王于方¹, 付炎¹, 律涛¹, 顾玉诚^{1,2}, 史清文^{1*}

1. 河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北 石家庄 050017
2. Jodrell's Hill International Research Centre, Syngenta, Berkshire, RG429EY, UK


李力更^{1*}, 王于方¹, 付炎¹, 律涛¹, 顾玉诚^{1,2}, 史清文^{1*}

1. 河北医科大学药学院 天然药物化学教研室, 河北 石家庄 050017
2. Jodrell's Hill International Research Centre, Syngenta, Berkshire, RG429EY, UK

课外阅读：

天然药物化学史话：
Mosher法测定天然产物的绝对构型

[J].中草药, 2017, 48(2): 225-231



作者单位：河北医科大学药学院

Chinese Traditional and Herbal Drugs, 第 48 卷 第 2 期 2017 年 1 月 - 225 -

product chemistry published in this journal.

Key words: historical story on natural medicinal chemistry; natural products; Mosher's method; absolute configuration; determination of stereochemistry

结构测定是对天然产物研究时必须完成的困难工作之一。构型 (configuration) 指分子的立体构型, 即分子在三维空间的结构或分子中原子、基团在三维空间的相对位置或排列方式。有机化合物的数据庞大, 结构类型繁多, 原因就在于其结构上的加合性 (同源性) 和异构性。就立体构型即构型的不同又是其中最主要的根源之一^[1]。

无论在有机合成、药物开发、天然产物研究还是涉及与生命有关的化学问题, 如天然产物立体构型与生物活性的关系、生化反应过程的分子立体构型与立体选择性之间的关系、药物分子立体构型与受体之间相互关系等, 都必须在三维空间明确分子的结构和性能^[2]。例如, 从河豚鱼肝脏中分离出来的河豚毒素^[3] (tetrodotoxin, TTX, 图 1), 其毒性与其分子中 C²-OH 的构型有关, C²-OH 为 S-构型的天然产物分子毒性较强, 而人工合成的 C²-OH 为 R-构型的分子则毒性很小; 又如曾引发惨剧的反应停 (thalidomide, 沙利度胺, 图 2), 化学名称为 N-(2,6-二氧-3,4-吡嗪基) 邻苯二甲酰亚胺沙利度胺, 是一个人工合成化学分子。在 20 世

63

Thanks for your attention

注：本课件中除个别图像外，所用结构式、图表均为本人绘制。

64