

胆 红 素

K. P. M 海 韦 S. B. 布 朗 主编

沈 韬 张乃柬 译

BILIRUBIN
BILIRUBIN
BILIRUBIN

北 京 医 科 大 学 联合出版社
中 国 协 和 医 科 大 学

R313
ST

121164

121164



A1C00358290

胆红素

DZ09/12

K.P.M. 海 韦
S. B. 布 朗 主编

沈 韬 张乃束 译



北京医科大学
中国协和医科大学 联合出版社

(京)新登字号147号

胆红素

K. P. M. 海 韦 主编

S. B. 布 朗

沈 韬 张乃柬 译

责任编辑: 梁 康

* * *

北 京 医 科 大 学
联合出版社出版
中国协和医科大学

(社址: 北京医科大学院内)

新华书店总店科技发行所发行 各地新华书店经销

怀柔燕东印刷厂印刷

* * *

开本: 787×1092 1/16 印张: 10.125 字数: 240千字

1991年12月第1版 1991年12月第1次印刷 印数: 1—4000册

I S B N 7-81034-086-7/R·86

定价: 7.00元

原 序

胆红素*可由许多含有血红蛋白的动物大量生成,似乎它除了参与从生物体中排除多余血红素的一种途径之外,别无特殊功能。然而,胆红素的结构和代谢已被广泛地研究了很多年,因为它们对正常和疾病状态的诊断价值极广而激发了对它的临床和生化研究。最近,诸如X-射线结晶学及核磁共振光谱学一类技术的应用已经揭示了胆红素结构中新的化学特性,从而提示其可能具有生理作用。与临床、生化和物理化学工作的新发展同时的方法学研究也取得了很大进展,特别是在有关分析化学和各种纯胆色素及其衍生物的分离和鉴定方面。例如,现已能合成(或从天然来源分离)各种胆红素结合物的纯样品。实际上,这些方法的发展已经重新阐明了许多以前的实验,并给未来更严谨的发展打下了基础。

本书分两卷出版。第一卷主要涉及化学和结构方面,第二卷涉及代谢方面。其目的不仅是回顾有关胆红素结构和代谢的化学和生理学方面的近期工作,而且是强调方法学进展的重要性及其在未来研究中的潜力。我们一直试图以对于临床医师、生理学家和生物化学家以及直接涉及这些较基础方面的人们有帮助的方式来介绍技术上和物理化学研究中的进展。在这一方面,希望本书将有助于综合这个正变得日益多样的领域。此外,胆绿素的代谢和转运及其与蛋白质的结合的某些方面可能有助于为代谢物的结合及转运建立更一般的模型,这一点已日益明显。

各章都针对胆红素及其衍生物的结构或代谢的一个特定方面。撰稿人都积极参与了该领域里一个或多个范围的研究。因作者多,风格上的差异和叙述中的某些重迭在所难免。但是,我们希望,通过广泛的相互参照,这样的重迭将提高而不是减损文本的价值。

• 按照IUPAC和IUB的联合委员会的建议,在整部书中都将把胆红素- α 表示为胆红素,除非想要强调异构结构。

译 序

这是一套关于胆红素的专著的第一卷,由比利时的Karel P. M. Heirwegh和英国的Stanley B. Brown主编。它荟萃了国际上知名专家学者研究胆红素的成果,系统地阐述了人们对胆红素的化学(第一卷)及其代谢(第二卷)的认识,并附有大量的图表和参考文献,使读者可以简捷而又全面地了解胆红素研究的发展轮廓。虽然原著的出版时间较早,但鉴于作者的权威性,论述的综合性,以及文献的完备性,且迄今尚无类似的著作可以取代,故本书对于从事胆红素研究的专业人员,包括化学工作者、药剂师、检验人员乃至医学工作者,仍不失为一部有价值的参考书。

书中的专业术语,主要依据《英汉化学化工词汇》、《英汉医学词汇》等有关专业词典译出,对查找不到者均附原文。翻译过程中,曾得吴瑾光、徐端夫、周孝思、王夔诸先生的指教,谨致深切谢忱。限于译者水平,译文中讹谬欠妥之处在所难免,恳请方家不吝指正。

译 者

目 录

第一章

胆红素的结构、光化学和有机化学1

David A. Lightner

第二章

胆红素结合物：分离、结构分析及合成62

Frans Compernelle

第三章

胆红素的物理化学：与大分子和膜的结合78

Rolf Brodersen

第四章

红素Rubin的分析化学127

K. P. M. Heirwegh 和 N. Blanckaert

第一章 胆红素的结构、光化学和有机化学*

David A. Lightner

目 录

I. 命名原则	3
A. 胆红素及其结合物	3
B. 来自胆红素的二吡咯偶氮衍生物	5
II. 结构	6
A. 一级结构	6
1. 降解	6
a. 间苯二酚熔化	6
b. 氧化	8
c. 重氮基裂解	10
2. 全合成	12
B. 二级结构	18
1. 内酰胺-内酰亚胺互变异构现象	18
a. X-射线结晶学	19
b. 红外光谱学	19
c. 核磁共振 (NMR) 光谱学	23
2. Z/E构型异构现象	23
C. 三级结构	31
D. 聚集	35
III. 光化学	35
A. 电子激发态	35
B. 激发态的反应	36
1. 几何构型的异构化	36
2. 结构的异构化	37
3. 对乙烯基的光化加成反应	39

- 虽然不时有人对胆红素的化学, 光化学和生物化学作出综述, 但新近的, 最全面、最完整并且非常有用的综述是由 McDonagh 提供的 [1]。而现在的这部于1980年夏天完成的著作不求全面且主要是针对胆红素的结构及其光化学的。

4. 光氧化和单态氧	40
5. 其他的光化反应	46
C. 光线疗法	49
IV. 合成方法	52
A. 从血红素和绿素(verdin)	52
B. 经左半分子-右半分子不规则组合的部分合成	52
C. 全合成	52
D. 标记的二次甲基胆色素	52
参考文献	53

I. 命名原则

A. 胆红素及其结合物

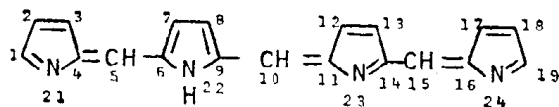
人们一直试图建立一个有用的、系统的四吡咯命名法。国际纯粹化学和应用化学联合会 (IUPAC) - 国际生物化学联合会 (IUB) 有关生物化学命名原则的联合委员会规定, 线形四吡咯化合物以所谓“吡啉” (bilin, 胆汁三烯) 的碳/氮骨架结构 (图1) 为基础来命名^[2]。目前化学文摘使用的是这种命名法的修改后方法: 改用称作21H-biline的词根来代替22H-形式的吡啉。应当注意的是, 在这两种情况下, 都没有20号位置; 一个相当于20号的另一原子 (如碳) 是在线形四吡咯变成大环卟啉结构时必需的。幸好, 虽然目前在化学文摘的索引里胆红素-IX α 具有繁琐的系统名称: 2, 17-diethenyl-1, 10, 19, 22, 23, 24-hexahydro-3, 7, 13, 18-tetramethyl-1, 19-dioxo-21H-biline-8, 12-dipropionic acid (注意: 在这个名称里, 乙烯基优先于甲基, 因此胆红素是2, 17-diethenyl而不是3, 18-diethenyl), 但还允许它保留俗名“胆红素” (这里特指IX α 结构)^[2]。而按IUPAC-IUB的建议^[2], 较为少见的一些天然胆红素, 如胆红素-III α 或胆红素-IX β , 必须按系统法命名。但是因为俗名很简单, 因此毫无疑问, 在多数情况下还要继续优先使用它们。

为了详细说明分子的立体化学特性, 需要作进一步的标示。特别是人们应该注意到, 位于4和5, 10和11, 15和16号原子之间的碳-碳双键会产生几何异构体。为了区别每个碳-碳双键的两种可能的异构体, 须使用标准符号Z(zusammen)和E(entgegen)^[3]。在这一命名法中, 与碳-碳双键两个碳原子相连的各个原子 (或基团) 的优先权分配如下: 在位置4, 因为N比C的原子序数大, 所以N(21)比C(3)优先; 在位置5, 因为C比H的原子序数大, 所以C(6)比H优先。当优先的原子 (或基团) 均位于碳-碳双键的同侧时, 构型为Z; 而当它们位于异侧时, 构型为E。图2以胆红素可能的四种几何异构体为例说明了立体化学的标示。

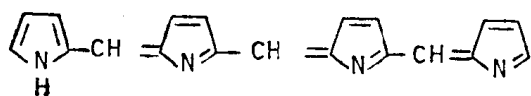
通过5和6, 9和10, 以及14和15之间碳-碳单键的旋转, 还可以发现另一些立体化学特性。当应用象上面那样识别和指定的构型异构体时, 每种Z和E异构体都可得到两种以上的形式。这是确实的, 因为在平面投影上, 集中观察某些点, 即N原子, 就能看到他们既可相互靠近 (顺, *syn*), 也可相互远离 (反, *anti*)^[4]。如图3所示。

另一种特别针对胆红素和胆绿素结构的命名原则已被提交国际纯粹化学和应用化学联合会 (IUPAC) - 国际生物化学联合会 (IUB) 有关生物化学命名原则的联合委员会, 并且已被化学文摘所采用^[5]。它建议保留核心名称——胆红素 (指胆红素-IX α) 和胆绿素 (指胆绿素-IX α)。对于胆红素或胆绿素的其它异构体, 核心名称须与乙烯基和丙酮基位置的标示连同使用, 如图4所示。这种命名法可以对结合物, 如胆红素葡萄糖苷酸, 以四吡咯结构和图5所示的糖衍生物的形式进行方便的命名。在多数情况下, 糖是吡喃型的, 并且通过 β -键与异头碳相连 (C-1')。有人建议, 除非键不是 β 型的, 一般不必指明其键型; 而且, 由于尚未观察到天然来源的糖有不同的形式, 所以吡喃糖的缩写符号 (p) 也应予以删除。因此, 普通的胆红素-IX α 双葡萄糖苷酸应称作胆红素-8, 12

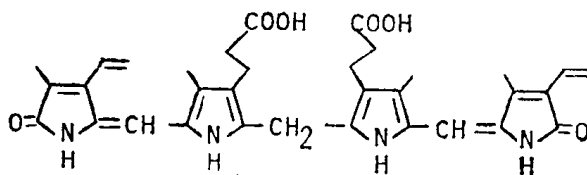
(GlcU; GlcU)。而命名胆红素单葡萄糖苷酸两种可能的位置异构体时，则是通过对连着糖的丙酸侧链所在的位置号进行斜体印刷，或在它下面划线来加以区别。但当异构位置尚属未知时，就不能对位置号进行斜体印刷或划字下线。假如所连的两个糖不同，也应在名称的括号部分标明。对于合成的酯同样也能用这种体系命名：胆红素二甲酯变



BILIN (22H FORM)



21H-BILINE



BILIRUBIN (BILIRUBIN-IX α)

图1.(上)为线形四吡咯推荐的系统命名法[2].(中)化学文摘的命名法.(下)胆红素-**Xa**具有的系统名称: 1,10,19,21,23,24-hexahydro-2,7,13,17-tetramethyl-1,19-dioxo-3,18-divinylbilin-8, 12-dipropanoic acid (1,10,19,21,23,24-六氢-2,7,13,17-四甲基-1,19-二氧代-3,18-二乙烯基吡啉-8,12-二丙酸)[2],或8,12-bis(2-carboxyethyl)-10,21,23,24-tetrahydro-2,7,13,17-tetramethyl-3,18-divinylbilin-1,19-dione [8,12-双(2-羧乙基)-10,21,23,24-四氢-2,7,13,17-四甲基-3,18-二乙烯基-吡啉-1,19-二酮] (参考文献2提出)或8,12-bis(carboxyethyl)-2,7,13,17-tetramethyl-3,18-divinyl (10H, 21H, 24H) bilin-1,19-dione[8,12-双(羧乙基)-2,7,13,17-四甲基-3,18-二乙烯基 (10H, 21H, 24H)吡啉-1,19-二酮](参考文献2提出),或2,17-diethenyl-1,10,19,22,23,24-hexahydro-3,7,13,18-tetramethyl-1,19-dioxo-21H-biline-8,12-dipropanoic acid(2,17-二乙烯基-1,10,19,22,23,24-六氢-3,7,13,18-四甲基-1,19-二氧代-21H-吡啉-8,12-二丙酸)(化学文摘),

成胆红素-8, 12 (Me, Me)。在图6和表1中可以找到这种命名法的应用实例, 更多各式各样的例子示于参考文献5。

B. 来自胆红素的二吡咯偶氮衍生物

胆红素可与芳香重氮盐反应, 生成二吡咯偶氮衍生物(偶氮吡咯亚甲基, azopyrro-

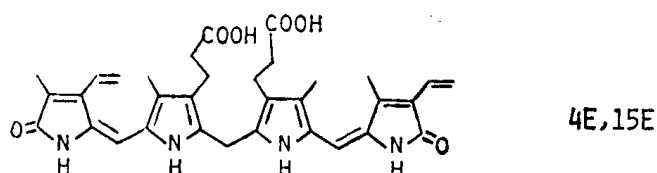
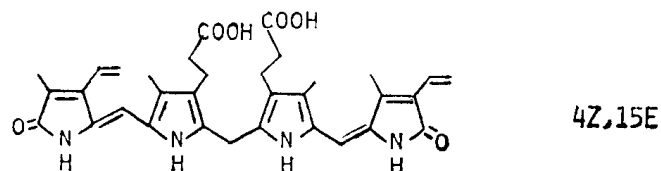
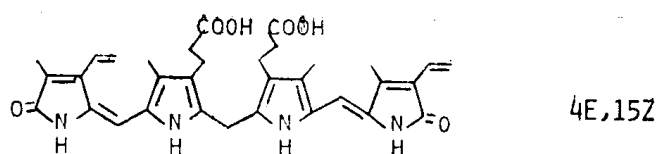
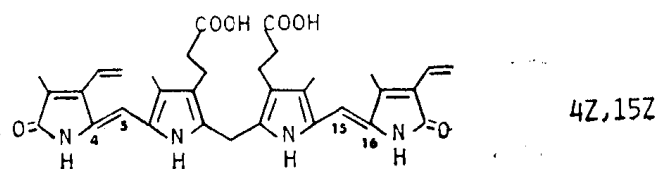
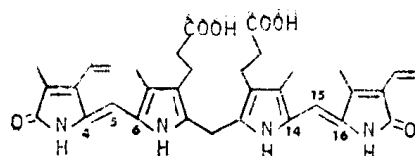
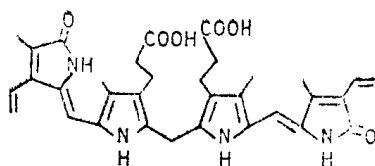


图2. 胆红素-IX α 的双键几何构型异构体

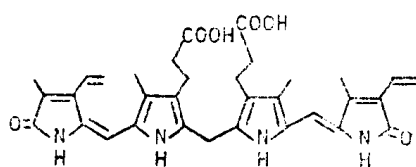
methene), 这一反应对表征鉴定, 特别对确定吡咯 β -取代基的顺序很有用处。例如, 重氮邻氨基苯甲酸乙酯可与胆红素在位置9和11两处反应, 生成两个异构的偶氮吡咯亚甲基, 如图7所示。在为这些物质所推荐的命名法中^[5], 偶氮吡咯亚甲基缩写作“azpm”。假如需要区分不同类型的重氮试剂, 可将所使用的重氮盐的类型标明在圆括号内, 例如 (o-CO₂Et) azpm 表示从重氮邻氨基苯甲酸乙酯的反应中得到的偶氮衍生物。假若人们的处理对象仅涉及胆红素 IX α 、IX β 、IX γ 和IX δ 异构体的偶氮色素衍生物, 那么命名就简化了, 只需标示出丙酸基的位置; 假如它们都不存在, 就标出乙烯基的位置。表2提供了一些例子, 应当注意的是, 对“非天然的”胆红素偶尔会碰到一些困难(或许每个 β -取代基都必须标出来)。给名称加上特定的后缀即可命名偶氮吡咯亚甲基的结合物、酯和酰胺。因此, 假若两个如图7所示的偶氮吡咯亚甲基是从胆红素双葡萄糖苷酸[胆红素



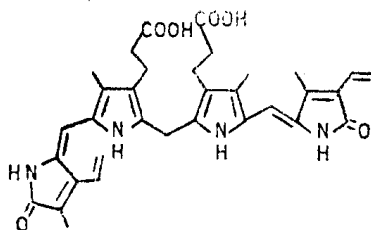
SYN-4Z, SYN-15Z



ANTI-4Z, SYN-15Z



SYN-4E, SYN-15Z



ANTI-4E, SYN-15Z

图3. 胆红素-IX α 的双键几何构型异构体(C4-C5)和内旋(转)异构体(C π -C6),由于结构不是平的,因此对于C14-C15和C15-C16的类似描绘(未显示)也是可以允许的。

-8, 12 (GlcU; GlcU)] 衍生出来的,则应称之为 Azpm-8 (GlcU) 和 Azpm-12 (GlcU)。有关此间所讨论的,由Bergstrom和Blumenthal推荐的命名原则[5]的例子示于表3。

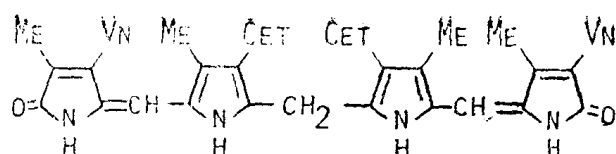
II. 结 构

A. 一级结构

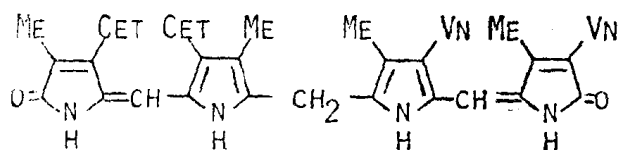
1. 降解

a. 间苯二酚熔化

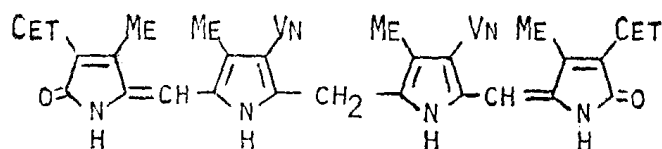
已经确定,从血红素分解代谢中衍生出来的胆红素-IX α 具有分子式: $C_{33}H_{36}O_6N_4$ [6]。因此它比原卟啉-IX ($C_{34}H_{34}O_4N_4$) 前体少一个碳原子而多两个氧原子。在有关胆红素-IX α 研究的基础上进行的推断表明,它的结构具有一个“四吡烷”(tetrapy-



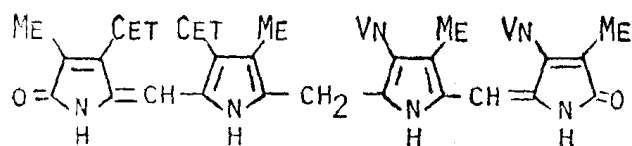
BILIRUBIN (BILIRUBIN-IX α)



13,18-VN₂-BILIRUBIN-3,7 (BILIRUBIN-IX β)



8,13-VN₂-BILIRUBIN-2,18 (BILIRUBIN-IX γ)



12,17-VN₂-BILIRUBIN-3,7 (BILIRUBIN-IX δ)

图4. Bergstrom 和 Blumenthal 为胆红素和胆绿素推荐的命名法 [5], 如各种胆红素异构体的图示, (ME, 甲基; VN, 乙烯基; CET, 羧乙基)。

rrane) 骨架 (图8)。中胆红素是用乙基代替了乙烯基的胆红素的一种四氢衍生物, 它通过对胆红素进行有控制的催化氢化而制备[7]。将中胆红素-IX α 置于熔融的间苯二酚中进行短时间处理可生成氧代二吡咯亚甲基(oxodipyrromethene)衍生物。起初, 分离出两种类型的氧代二吡咯亚甲基: 一种在吡咯的 α -位置没有取代基, 另一种的吡咯 α -位置被甲基取代。前者属于新黄胆红素酸(neoxanthobilirubinic acid)类, 而后者属于黄胆红素酸(xanthobilirubinic acid)类 (图8)。据认为甲基来源于中胆红素的中央亚甲基, 因此, 两部分恰好可吻合在一起而形成一個目前已被认识得很好的四吡咯骨架。可是, Fischer和Hess[8]推断, 象现在通称XIII α 的结构——它的产生取决于黄胆红素酸和新黄胆红素酸的重新组合——一样, 中胆红素-IX α 及其前体胆红素-IX α 一定具有对称顺序的 β -取代基。后来, Fischer和Siedel[9]测出, 每种类型的氧代二吡咯亚甲基实际上

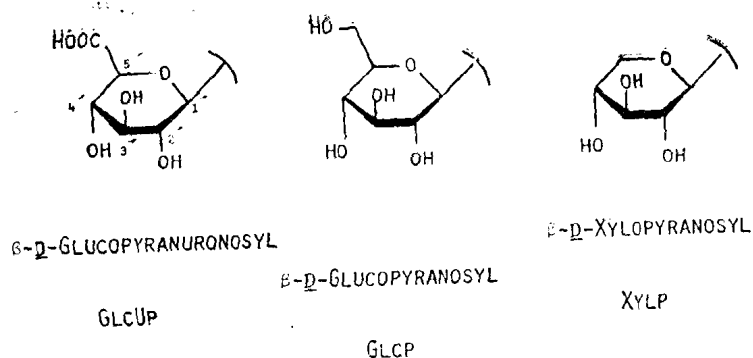


图5. 结合糖(胆红素的)以及它们依据 Bergstrom 和 Blumenthal 命名法[5]的缩写。

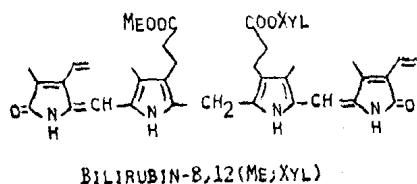
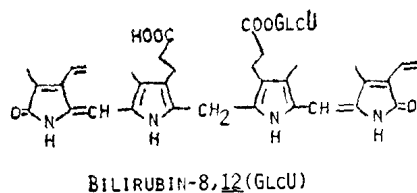
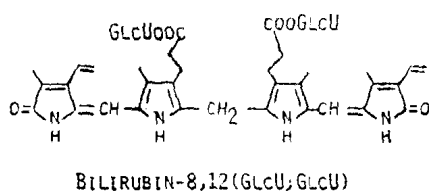


图6. 按 Bergstrom 和 Blumenthal 推荐的命名法[5]所图示的胆红素-IX α 的酯。

都是由两种物质组成的：那种吡咯 α -位置未被取代的物质是新黄胆红素酸和异新黄胆红素酸的混合物；而那种吡咯 α -位置有取代甲基的物质是由黄胆红素酸和异黄胆红素酸所组成的混合物(图8)。于是，他们(正确地)推断出中胆红素-IX α ，进而断定胆红素-IX α 一定具有顺序不对称的末端环取代基。现已通过全合成明确地证实了各种各样黄胆红素酸的结构(图8)[10]，并确认在胆红素-IX α (不对称)中，吡咯 β -取代基(侧链)的排列与原卟啉-IX和羟高铁血红素是一样的。

b. 氧化

胆色素的氧化降解能够生成单吡咯衍生物。对衍生物的鉴定在解释吡咯 β -取代基的

表1. 用缩写指明胆红素-8,12单木糖苷的端基异构构型和糖形式的实例

缩写

胆红素-8, 12 (Xyl)	吡喃型木糖; 异头碳为 β 构型; 羧乙基与位置8相连 (8-Cet)。
胆红素-8, 12 (α Xyl)	吡喃型; α 构型; 接于8-Cet。
胆红素-8, 12 (α Xylf)	呋喃型; α 构型; 接于12-Cet。
胆红素-8, 12 (α, β Xyl)	吡喃型; α 和 β 构型的混合物; 接于8-Cet。

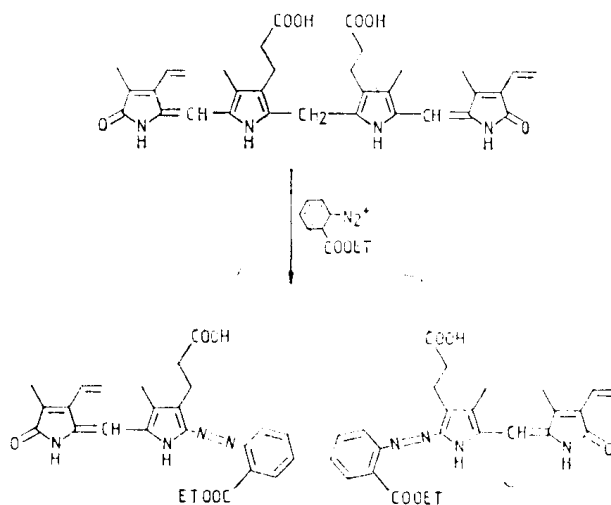
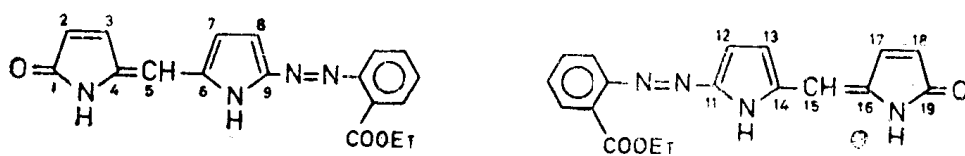


图7. 胆红素- $\text{K}\alpha$ 与重氮化的邻氨基苯甲酸乙酯反应, 生成两个异构的偶氮吡咯亚甲基。

表2. 从四种胆红素异构体与重氮化邻氨基苯甲酸乙酯的反应中衍生出来的偶氮吡咯亚甲基



取代基和定位

起始胆红素	偶氮吡咯亚甲基	2	3	7	8	12	13	17	18
$\text{K}\alpha$ Azpm-8	缩写	Me	Vn	Me	Cet				
Azpm-12						Cet	Me	Me	Vn
$\text{K}\beta$ Azpm-3, 7 ^a		Me	Cet	Cet	Me				
13, 18-Vn ₂ -Azpm						Me	Vn	Me	Vn
$\text{K}\gamma$ Azpm-2		Cet	Me	Me	Vn				
Azpm-18						Me	Vn	Me	Cet
$\text{K}\delta$ Azpm-3, 7		Me	Cet	Cet	Me				
12, 17-Vn ₂ -Azpm						Vn	Me	Vn	Me

^a 既可得自 $\text{K}\beta$ 异构体, 也可得自 $\text{K}\delta$ 异构体。

表3. 说明 Bergstrom 和 Blumenthal 所推荐的命名法[5]的实例

俗名	系统名称	指定的取代基的位置
胆红素-Ⅲ α	胆红素	
胆红素-Ⅲ β	13, 18-Vn ₂ -胆红素-3, 7	
胆红素-Ⅲ γ	8, 13-Vn ₂ -胆红素-2, 18	
胆红素-Ⅲ δ	12, 17-Vn ₂ -胆红素-3, 7	
偶氮色素 α_F	13, 18-Vn ₂ -Azpm	
偶氮色素 α_F	12, 17-Vn ₂ -Azpm	
偶氮色素 α_0	Azpm-12	
偶氮色素 α_0	Azpm-8	
偶氮色素 α_{eM}	Azpm-12(Me)	12-CH ₂ CH ₂ CO ₂ Me
偶氮色素 α_{eM}	Azpm-8(Me)	2-CH ₂ CH ₂ CO ₂ Me
偶氮色素 α_{eN}	Azpm-12(amide)	12-CH ₂ CH ₂ CONH ₂
偶氮色素 α_{eN}	Azpm-8(amide)	2-CH ₂ CH ₂ CONH ₂
偶氮色素 α_2	Azpm-12(Xyl)	12-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-Xyl
偶氮色素 α_2	Azpm-8(Xyl)	2-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-Xyl
偶氮色素 α_3	Azpm-12(Glc)	12-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-Glc
偶氮色素 α_3	Azpm-8(Glc)	2-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-Glc
偶氮色素 β_x	Azpm-3, 7	
偶氮色素 δ	Azpm-12(GlcU)	12-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-GlcU
偶氮色素 δ	Azpm-8(GlcU)	2-CH ₂ CH ₂ CO ₂ - β -D-GlcU

性质时是有价值的。Rudiger发明了一种特别有用的方法, 使用重铬酸盐-铬酸生成环状亚胺和甲酰吡咯^[11, 12]。胆红素-Ⅲ α 与铬酸反应会生成如图9所示的环状亚胺产物, 但也会产生胆红素的其它异构体, 如Ⅲ α , Ⅲ γ 等等。重铬酸盐氧化可以提供更多的信息。应用重铬酸盐, 将生成甲基乙烯基顺丁烯二酰亚胺 (methylvinylmaleimide) 和吡咯二醛 (图9), 观测可清楚地表明, 胆色素至少有一个带有甲基和丙酸基的中央环, 并至少有一个带有甲基和乙烯取代基的末端环。假定未能生成其它的环状亚胺和吡咯二醛, 则一个四吡咯将有 (每个末端环) 只带一个甲基和一个乙烯基的末端环以及每个环只带一个甲基和一个丙酸基的中央环。只有胆红素的Ⅲ α 、Ⅲ α 和Ⅲ α 异构体符合这些标准。其它的氧化降解方法也在使用: 碱性高锰酸盐 (从中央环上) 生成吡咯-2, 5-二羧酸^[13, 14], 仲高碘酸能够生成环状亚胺和吡咯二醛^[15]。

c. 重氮基裂解

胆红素和其它的4, 15-二次甲基胆色素 (4, 15-biladiene) 可与重氮化的芳香胺反应, 生成红色到紫色的氧代二吡咯亚甲基偶氮化合物, 这一反应在结构测定中是很有价值的。因此, 象图10表示的那样, 胆红素-Ⅲ α 能够生成两种异构的偶氮二吡咯各一摩尔当量〔异构现象是由于乙烯取代基的定位不同^[16-19]; 当把几何的顺-反 (*cis-trans*) 和 (构象的) 顺-反 (*syn-anti*) 异构体都包括进去时, 异构体的理论数目是八〕。另一方面, 对称的胆红素-Ⅲ α 和Ⅲ α 异构体都只能生成一种偶氮色素 (两摩尔当量), 如图所示。而胆红素的其它异构体, 如Ⅲ β 、Ⅲ γ 和Ⅲ δ 均能生成所预期的不同的异构偶氮色素 (表 2)^[20]。

已经假设了一种合乎情理的反应机制, 它包括重氮离子对中央吡咯环的 9 或 11 位 (图11, 步骤1) 以一种与生成芳香偶氮染料相似的方式进行亲电进攻^[21]。当最初的亲

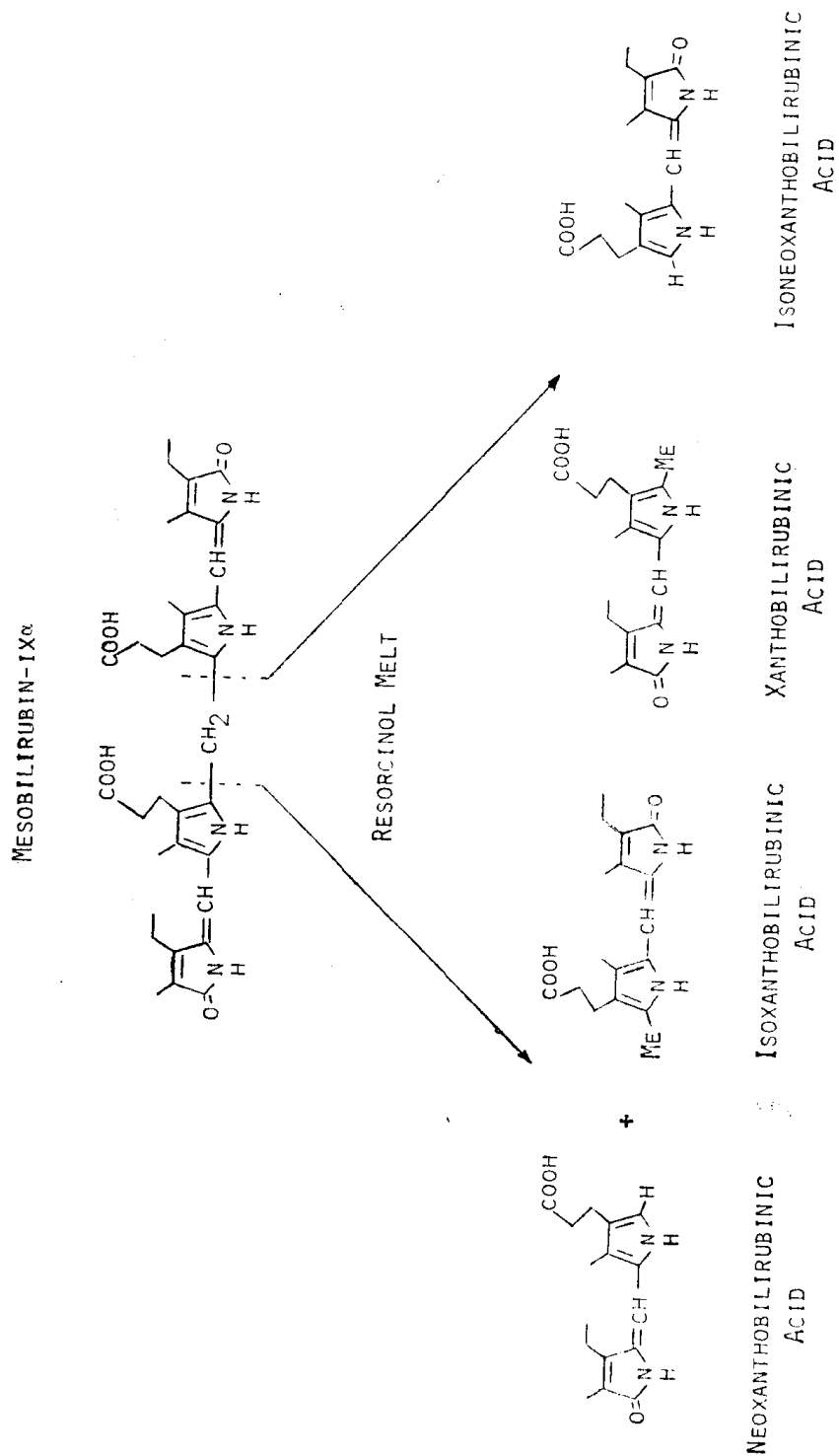


图8. 中胆红素-IX α 在熔融的间苯二酚中的反应产物[6,9].