

对叶百部生物碱的结构研究

刘世旺¹, 付宏征, 林文翰*(北京医科大学天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083; ¹湖北黄冈师范高等专科学校, 湖北黄冈 436100)

摘要 目的: 分离鉴定对叶百部(*Stemona tuberosa* Lour)根部的生物碱成分。方法: 用 80~90% 的乙醇提取, 经硅胶柱色谱分离纯化, IR, MS, ¹H 和 ¹³CNMR 波谱方法确定化学结构。结果: 分得 4 种生物碱成分, 分别为对叶百部烯酮(tuberostemoenone)(**I**), 对叶百部酮(tuberostemonone)(**II**), 脱氢对叶百部碱(didehydrotuberostemonine)(**III**)和氧化对叶百部碱(oxotuberostemonine)(**IV**)。结论: 化合物 **I** 为新化合物, 化合物 **IV** 为首次从该植物中分得。

关键词 对叶百部; 对叶百部烯酮; 氧化对叶百部碱

中药百部为百部科植物直立百部(*Stemona sessilifolia* Miq), 蔓生百部(*Stemona japonica* Miq)和对叶百部(*Stemona tuberosa* Lour)的干燥块根, 主要用于治疗新久咳嗽, 肺劳咳嗽, 百日咳; 外用于头虱, 体虱, 蛲虫病, 阴痒等症^[1]。前文^[2,3]曾报道南方产对叶百部的生物碱成分, 为了系统研究百部生物碱成分, 本文继续报道北方产对叶百部的生物碱成分。作者从其根部分离出 4 种生物碱, 分别为对叶百部烯酮(tuberostemoenone)(**I**), 对叶百部酮(tuberostemonone)(**II**), 脱氢对叶百部碱(didehydrotuberostemonine)(**III**), 氧化对叶百部碱(oxotuberostemonine)(**IV**)。I 为一新结构骨架的百部生物碱, IV 系首次从国产对叶百部中分得, 并首次归属其¹H 和 ¹³CNMR 信号。

化合物 **I** 无色油状物, [α]_D²⁷ + 112.8(c 0.72, CHCl₃), 高分辨质谱确定分子式为 C₂₂H₂₉O₅N (M⁺, m/z 387.2043, 理论值: 387.2046), 分子不饱和度为 9, IR 谱在 1710, 1761 cm⁻¹ 分别为酮羰基和百部生物碱类结构特征的 γ -内酯吸收峰。¹³C 和 ¹H NMR 谱表现为对叶百部碱类含氮杂奥环母核的结构特征。MS 谱的基峰 m/z 288(M⁺ - 99) 为母核吡咯环 N 的 α 位脱 α -甲基- γ -内酯的特征裂解片段。¹H NMR 谱中出现一个伯甲基(δ 0.85, t, J = 7.0), 2 个仲甲基(δ 1.27, d, J = 7.5; 1.24, d, J = 8.0) 信号, DEPT ¹³C NMR 谱提示该结构含 3 个 CH₃ [δ : 10.86 (q), 14.19 (q), 14.69 (q)]; 7 个 CH₂ [δ : 53.46 (t), 40.26 (t), 33.54 (t), 31.25 (t), 27.22 (t), 25.42 (t) 和 24.34 (t)]; 6 个 CH [δ : 82.99 (d), 78.65 (d),

60.88 (d), 55.20 (d), 42.61 (d), 35.12 (d)] 和 6 个季碳 [δ : 203.82 (s), 178.06 (s), 177.27 (s), 138.73 (s), 125.53 (s), 68.46 (s)]。其中 δ 203.82 (s) 为酮羰基。 δ : 178.06 (s), 177.27 (s) 表明结构中含 2 个 γ -内酯环, δ 138.73 (s) 和 125.53 (s) 为烯碳信号。¹H-¹H COSY (DQF) 谱中, 质子 δ 4.35 (ddd, J = 5.5, 6.5, 12.0, 18-H) 与 δ 3.73 (ddd, J = 5.5, 7.0, 7.0, 3-H), δ 2.37 (ddd, J = 12.01, 5.5, 5.6, 19a-H) 和 δ 1.56 (ddd, J = 12.0, 12.01, 11.0, 19b-H) 偶合相关。 δ 2.65 (ddq, J = 11.0, 5.6, 7.5, 20-H) 分别与 19a-H, 19b-H 和 δ 1.27 (d, J = 7.5, Me-22) 偶合相关; 3-H (δ 3.73) 分别与 18-H 和偕二质子 δ 2.60 (dd, J = 7.5, 17.0, 2a-H), δ 2.33 (dd, J = 17.0, 7.5, 2b-H) 偶合相关, 从而归属了 N α 位的 α -甲基- γ -内酯的 ¹H NMR 信号。由偕二质子 CH₂-2 的 dd (J_{2a-H/3-H}, J_{2a-H/2b-H}, J_{2b-H/3-H}) 偶合相关信号提示, C-1 为季碳原子。 δ 3.58 (ddd, J = 2.5, 5.0, 13.5, 5a-H) 和 δ 2.82 (ddd, J = 13.5, 11.5, 2.0, 5b-H) 为偕二质子 CH₂-5 的特征信号峰, 分别与 δ 1.65 (m, 6a-H), δ 1.83 (m, 6b-H) 偶合相关。CH₂-7 [δ : 1.89 (m), 1.63 (m)] 分别与 CH₂-6 和 δ 2.08 (ddd, J = 15.5, 2.4, 2.4, 8a-H), δ 1.98 (ddd, J = 15.5, 14.0, 2.0, 8b-H) 偶合相关。C-9 位未出现质子信号, 甲基 δ 1.24 (d, J = 8.0, Me-15) 与 2.87 (t, J = 8.0, 13-H) 邻位偶合相关; 质子 δ 4.87 (d, J = 1.0, 11-H) 与 δ 2.62 (m, 10-H) 存在弱邻位偶合相关, 表明 11-H 和 10-H 键角趋于 90°。偕二质子 CH₂-16 [δ : 1.09 (m), 1.65 (m)] 分别与伯甲基 δ 0.85 (t, J = 7.0) 和 10-H 存在偶合相关点。上述波谱分析归属了各质子之间的偶合相关 (表 1), 并表明 C-9, C-9a, C-1 和 C-12 为季碳信号。HMQC 进一步归属上述质子与其相连接碳的化学位移信号

收稿日期: 1998-07-17

* 联系人 Tel: (010)62062210, Fax: (010)62015584,

E-mail: whlin@mail.bjmu.edu.cn

(表 1)。化合物中的羰基, 烯双键等各季碳信号和位置, 应用 GHMBC 谱进一步归属: 酮羰基 C-9(δ 203.82) 与 3, 2, 11-H 之间有远程偶合; C-9a(δ 68.46) 与 N 相连并与 2, 5-CH₂ 有远程偶合; C-1(δ 138.73) 和 C-12(δ 125.53) 为烯双键上的季碳, C-1 与 2, 3, 10, 11, 13-H 分别有远程偶合相关; C-12 与 11, 10-H 有远程偶合相关。证明烯双键处于由 C-10 和 C-9a 形成的五元碳环的 C-1 和 C-12 位; 酮羰基处于七元吡咯环的 C-9 位; 根据 C-14(δ 177.27) 与 11, 13-H 和 15-Me; C-21(δ 178.06) 与 20-H, 19-CH₂ 和 22-Me 的远程偶合相关信息, 确定该两个内酯羰基与环上甲基的位置和信号。另外, 由于 C-10 与 16-CH₂, 17-Me 的远程偶合相关, 进一步确定分子中的乙基处于 C-10 位。上述波谱分析确立了化合物 I 的结构式如图 1。C-9a 位的螺旋形结构通过 Dreiding 分子结构模型分析结合计算机分子模拟优化分析确定为 R 构型。根据 ¹H NMR 宽峰效应^[4]原

理, 当往样品中加微量 DCl 时, 18-H 产生顺磁位移 0.80 ppm, 并产生宽峰现象, 表明 18-H 与氮孤电子对空间接近, 确定为 β 构型。由 $J_{11/10} = 1$ Hz, 说明其二面角趋于 90°, 计算机分子模拟优化测得 11-H 与 10-H 之间的两面角为 95°, 确定 11-H 为 β -构型。NOESY 谱进一步确定了该化合物的立体结构: 11-H(δ 4.87(d)) 与 10-H(δ 2.62) 和 13-H(δ 2.87) 之间存在 NOE 相关, 故确定 Et-10, Me-15 为 α -构型, 11-H, 10-H 和 13-H 为 β -构型。18-H(δ 4.35) 与 2-H(δ 2.33) 存在 NOESY, 与 3-H(δ 3.73) 无 NOE 相关, 确定 δ 2.33 为 2 β -H 和 18-H 为 β 构型。3-H 为 α 构型, 则 δ 2.60(2-H) 为 α -构型。确定的立体结构见图 1。计算机分子模拟优化测得分子能量为 47.24 kcal \cdot mol⁻¹, 化合物 I 的计算机模拟结构与波谱推断结果一致, 为一新结构骨架的生物碱, 命名为对叶百部烯酮(tuberostemonone)。

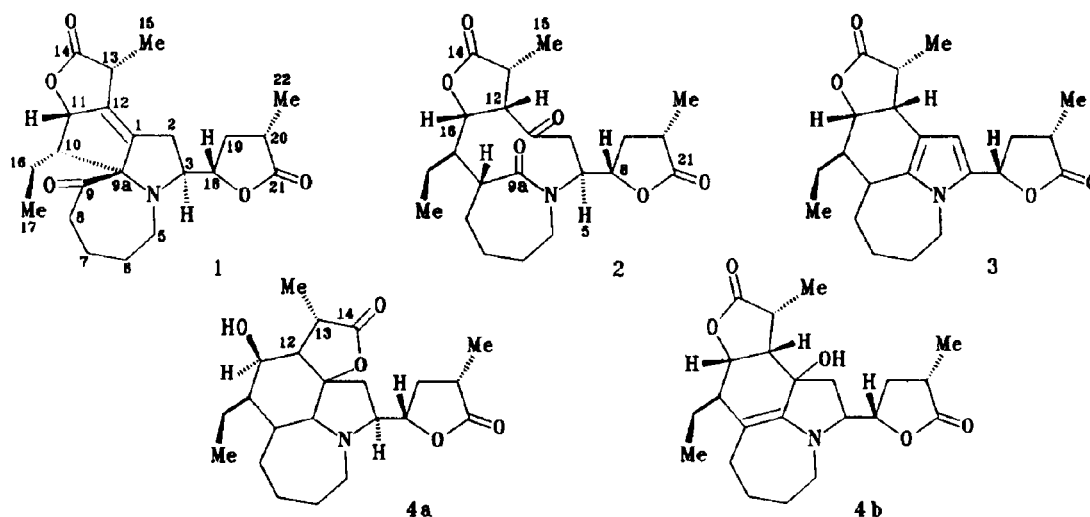


Fig 1 Proposed structures of compounds 1~4.

化合物 II 无色方形结晶, mp 208~209°C, MS 谱的分子离子峰(m/z 405) 结合 ¹H 和 ¹³C NMR 确定分子式为 C₂₂H₃₁NO₆, IR 谱在 1731, 1701, 1614 cm⁻¹ 等强吸收峰提示结构中含 γ -内酯, 酮羰基和酰胺基, 进一步对照该化合物与对叶百部酮^[3]的 ¹H 和 ¹³C NMR 谱图, 两者信号吻合, 故推断为对叶百部酮(tuberostemonone)。

化合物 III 无色针状结晶, mp 176~177°C。该化合物的 IR, ¹H 和 ¹³C NMR 与脱氢对叶百部碱(didehydrotuberostemonine)^[3]一致。

化合物 IV 白色固体, mp 90~91°C, MS 谱(m/z 389) 并结合 ¹H 和 ¹³C NMR 谱确定分子式为 C₂₂H₃₁NO₅, 不饱和度为 8。IR 谱在 1764 cm⁻¹ 和

1640 cm⁻¹ 处出现百部生物碱特征的 γ -内酯吸收峰和烯双键吸收峰。MS 谱在 m/z 290 基峰表明氮 α -位连接有 α -甲基 γ -内酯。¹³C NMR 谱在 δ 179.49(s) 和 δ 178.28(s) 表明含两个 γ -内酯, δ 111.38(s) 和 δ 145.20(s) 为烯碳信号。¹H NMR 谱中, δ 1.02(t, $J = 6.6$), δ 1.29(d, $J = 6.9$), δ 1.36(d, $J = 7.2$) 分别为 1 个伯甲基和两个仲甲基。5-H 的特征峰信号 δ 2.80(ddd, $J = 10.5, 9.90, 1.8$) 和 δ 3.01(ddd, $J = 10.5, 3.9, 3.0$) 表明含氮杂奥环的母核结构。12-H(δ 2.83, dd, $J = 8.1, 11.7$) 信号结合 Dreiding 结构模型判断, 确定 12-H, 10-H 和 13-H 为 *cis* 构型。¹H-¹H COSY 谱进一步归属各质子之间的偶合关系, 并推断该化合物为两种可能结构(图 1 中 4a, 4b)。

^{13}C NMR谱中的剩余两碳信号 δ 81.28(s)和 δ 67.64(d)分别归属为 C-11 和 C-1;HMBC 谱提示, δ 67.64(d)分别与 10-H(δ 2.47), 12-H(δ 2.83)和 13-H(δ 2.45)存在偶合相关点; δ 81.28(s)与 3-H(δ 3.26)存在远程偶合相关点。由化学位移值判断, δ 81.28

Tab 1 ^1H and ^{13}C NMR data of tuberostemoenone (CDCl_3)

No.	^{13}C δ	^1H δ	J(Hz)
1	138.73(s)	—	
2	40.26(t)	2.60(dd) 2.33(dd)	5.0, 17.0 7.0, 17.0
3	60.88(d)	3.73(ddd)	5.5, 7.0, 5.0
5	53.46(t)	3.58(ddd) 2.82(ddd)	13.5, 2.5, 5.0 13.5, 11.5, 2.0
6	27.22(t)	1.83(m), 1.65(m)	
7	31.25(t)	1.89(m)	
8	25.42(t)	2.08(ddd) 1.98(ddd)	15.5, 2.4, 2.4 15.5, 14.0, 2.0
9	203.82(s)	—	
9a	68.46(s)	—	
10	55.20(d)	2.62(m)	
11	82.99(d)	4.87(d)	1.0
12	125.53(s)	—	
13	42.61(d)	2.87(q)	8.0
14	177.27(s)	—	
15	14.19(q)	1.24(d)	8.0
16	24.34(t)	1.09(m), 1.65(m)	
17	10.86(q)	0.85(t)	7.0
18	78.65(d)	4.35(ddd)	5.5, 6.5, 12.0
19	33.54(t)	2.37(ddd) 1.56(ddd)	12.0, 6.5, 8.0 12.0, 11.0, 12.0
20	35.12(d)	2.65(m)	
21	178.06(s)	—	
22	14.69(q)	1.27(d)	7.5

实 验 部 分

熔点用 XT4A 型显微熔点测定仪测定; EIMS 和 HRMS 用 MAT-711 型质谱仪测定; 核磁共振用 Varian-500 MHz 和 Varian-300 MHz 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, CDCl_3 为溶剂; 红外光谱用 Perkin-Elmer-559B 型红外光谱仪测定(KBr 压片)。色谱用硅胶系青岛海洋化工厂产品。所用溶剂均为分析纯, 为北京化工厂或北京金星化工厂产品。原植物购自河北省安国药材市场, 由林文翰教授鉴定, 标本收藏于北京医科大学天然药物及仿生药物国家重点实验室。

1 提取分离

取对叶百部干燥根部 5.0 kg, 碾成粉末, 用 5% Na_2CO_3 湿润, 凉干。先用 80%~90% EtOH 4 000

(s)应为内酯化碳信号, δ 67.64(d)应为羟基化碳信号。故推断 C-11 位应连接羟基, 结构应为 α 结构。波谱分析结构与氧化对叶百部碱一致^[5]。系首次从国产百部中获得, 并首次归属该结构的 ^1H 和 ^{13}C NMR 信号(表 2)。

Tab 2 ^1H and ^{13}C NMR data of oxotuberostemonine (CDCl_3)

No.	^{13}C δ	^1H δ	J(Hz)
1	81.28(s)	—	
		2.33(dd)	9.9, 13.8
2	33.89(t)	1.85(dd)	13.8, 1.2
3	54.98(d)	3.26(ddd)	9.9, 5.1, 1.2
5	52.25(t)	3.12(ddd) 2.98(ddd)	3.9, 4.2, 13.2 9.9, 13.2, 2.0
6	30.24(t)	1.60(m), 1.51(m)	
7	28.37(t)	1.59(m)	
8	33.57(t)	2.69(m)	
9	145.20(s)	—	
9a	111.38(s)	—	
10	37.06(d)	2.47(m)	
11	67.64(d)	4.78(dd)	8.1, 0.9
12	38.36(d)	2.83(dd)	8.1, 11.7
13	50.25(d)	2.45(m)	
14	178.28(s)	—	
15	17.65(q)	1.36(d)	7.2
16	26.919(t)	1.59(m)	
17	12.67(q)	1.02(t)	6.6
18	80.36(d)	4.48(ddd)	5.4, 5.1, 10.5
19	33.98(t)	2.48(ddd) 2.07(m)	10.5, 9.9, 12.0
20	35.31(d)	2.75(m)	
21	179.49(s)	—	
22	15.04(q)	1.29(d)	6.9

ml 浸泡 3 d, 过滤, 药渣再用 75% EtOH 浸提 3 次, 每次浸泡 1 d。合并滤液减压浓缩得浸膏 800 g。浸膏用 4% HCl 水溶液充分溶解, 过滤, 滤液用 NH_4OH 调 pH 至 10~11 后依次用 EtOAc 和 *n*-BuOH 萃取 3 次, 萃取液经减压浓缩后得 EtOAc 膏(45 g)和 *n*-BuOH 膏(105 g)。

取 EtOH 膏 20 g, Me_2CO 溶解后拌样, 经硅胶柱色谱(石油醚— Me_2CO 3:1 洗脱), 其中 Fr 12~16 合并蒸干后得 A(6.26 g)。

取 A(5.0 g)拌样后经硅胶柱色谱(CHCl_3 — MeOH 25:1 洗脱), 其中 Fr 3~6 合并后再经 2 次硅胶柱色谱(石油醚—EtOAc 2:1, 环己烷— CHCl_3 1:1 分别洗脱)得化合物 **III**(95 mg)和 **IV**(17 mg); Fr 7~9 合并后再经硅胶柱色谱(石油醚—EtOAc 1:1)得化合物 **I**(13 mg); Fr 10~12 合并后重结晶

(Me₂CO)得化合物 **II**(58 mg)。

2 鉴定

化合物 **1** 无色油状物, $[\alpha]_D^{27} + 112.8$ (c 0.72, CHCl₃)。IR(KBr) cm⁻¹: 2918, 1761, 1710, 1660, 1457, 1159, 1023, 690。EI-MS(m/z): 387(M⁺), 358, 330, 302, 288, 260, 214, 186, 144, 117, 91, 67, 41。¹H和¹³CNMR数据见表1。

化合物 **2** 无色方状结晶, mp 208~209°C。IR(KBr) cm⁻¹: 2969, 2930, 1777, 1701, 1614, 1490, 1412, 1294, 1224, 1140, 1084, 1030, 984, 958, 932, 798。EI-MS(m/z): 405(M⁺), 306, 278, 264, 250, 166。¹HNMR δ: 3.14(dd, J = 12.2, 12.2), 2.39(dd, J = 3.7, 12.2), 5.37(ddd, J = 3.71, 5.7, 12.2), 3.51(ddd, J = 2.6, 4.6, 12.1), 3.80(ddd, J = 2.9, 9.2, 12.1), 1.91(m), 1.77(m), 1.51(m), 1.75(m), 1.70(m), 1.52(m), 3.08(ddd, J = 7.8, 6.0, 1.8), 2.32(m), 5.08(dd, J = 9.9, 7.1), 3.56(dd, J = 9.9, 7.7), 2.90(dq, J = 7.7, 7.0), 1.28(d, J = 7.0), 1.80(m), 1.27(m), 0.94(dd, J = 7.2, 7.4), 4.46(ddd, J = 5.7, 5.7, 10.9), 1.78(m), 2.48(ddd, J = 5.7, 5.5, 11.2), 2.72(m), 1.23(d, J = 7.1)。¹³CNMR δ: 205(s), 44.56(t), 56.25(d), 39.67(t), 23.701(t), 21.09(t), 26.06(t), 51.47(d), 176.57(s), 44.56(d), 79.41(d), 59.78(d), 39.67(d), 178.18(s), 15.15(q), 18.87(t), 12.16(q), 77.01(d), 34.10(t), 35.50(d), 178.18(s), 14.79(q)。

化合物 **3** 无色针状结晶, mp 176~177°C, IR(KBr) cm⁻¹: 2963, 2933, 2872, 2845, 1754, 1584, 1502, 1473, 1380, 1202, 1185, 1021, 994, 831, 753。EI-MS(m/z): 371(M⁺), 327, 272, 228, 216, 174,

168, 134, 99, 78, 71, 55。¹HNMR δ: 6.0(s), 3.64(ddd, J = 14.2, 10.7, 2.0), 4.20(ddd, J = 14.2, 6.0, 2.0), 1.99(m), 1.56(m), 2.07(m), 1.98(m), 1.86(m), 1.55(m), 2.58(m), 1.83(ddd, J = 5.8, 7.5, 7.5), 4.58(dd, J = 7.5, 6.9), 3.07(dd, J = 6.9, 5.8), 2.58(dq, J = 7.2, 5.8), 1.38(d, J = 7.2), 1.60(dq, J = 5.8, 7.5), 1.00(t, J = 7.5), 5.38(dd, J = 5.3, 11.0), 2.16(ddd, J = 11.1, 11.7, 12.0), 2.66(ddd, J = 5.3, 5.4, 12.0), 2.78(ddq, J = 5.4, 11.7, 7.0), 1.32(d, J = 7.0)。¹³CNMR δ: 113.84(s), 105.20(d), 129.86(s), 46.33(t), 31.67(t), 30.26(t), 35.46(t), 37.52(d), 134.48(s), 36.35(d), 80.24(d), 41.28(d), 44.67(d), 179.01(s), 14.90(q), 23.87(t), 11.37(q), 72.11(d), 35.87(t), 44.05(d), 178.57(s), 14.51(q)。

化合物 **4** mp 90~91°C, IR(KBr)cm⁻¹: 3439, 2919, 1764, 1451, 1170, 1015。EI-MS(m/z): 389(M⁺), 371, 360, 290, 272, 234, 198, 160, 134, 109, 69, 43。¹H和¹³CNMR数据见表2。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院编. 中药大辞典(上). 上海: 上海科学技术出版社, 1986. 858
- 2 Lin WH, Xu RS, Wang RJ, *et al.* Crystal and molecular structure of tuberostemonone. *J Crystallogr Spectro Res*, 1991, **21**:189
- 3 Lin WH, Ye Y, Xu RS. Studies on new alkaloids from *Stemona tuberosa* Tour. *J Nat Prod*, 1992, **55**:57
- 4 贺湘, 林文翰, 徐任生. ¹HNMR 宽峰效应及其在生物碱结构测定中的应用. 化学学报, 1990, **38**:694
- 5 Huber CP. The structure of oxotuberostemonine. *Tetrahedron Lett*, 1968, **38**:4081

ALKALOIDS FROM THE ROOTS OF *STEMONA TUBEROSA*

Liu Shiwang (Liu SW)¹, Fu Hongzheng (Fu HZ) and Lin Wenhan (Lin WH)*

(National Research Laboratories of Natural and Biomimetic Drugs, Beijing Medical University, Beijing 100083; ¹Department of Biochemistry, Huanggang Teachers College, Huanggang, Hubei, 436100)

ABSTRACT AIM: Isolation and structural identification of alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* Tour, collected in Hebei province, North China. **METHODS:** The crude alkaloids was extracted by using cold EtOH percolation. The structures were identified by IR, MS as well as various 2D NMR spectra including proton line broadening effect. **RESULTS:** Four alkaloids, namely tuberostemoenone (**1**), tuberostemonone (**2**), didehydrotuberostemonine (**3**) and oxotuberostemonine (**4**) were isolated. **CONCLUSION:** Tuberostemoenone is a new alkaloid with novel skeleton.

KEY WORDS *Stemona tuberosa*; tuberostemoenone; oxotuberostemonine