

## 宁夏贝母化学成分的研究\*

扈成浩 尚尔宁 林文翰\*\*<sup>1</sup> 蔡孟深\*\*

(宁夏医学院化学教研室, 银川 750004; \*\*北京医科大学药学院有机化学教研室, 北京 100083)

**摘要** 从宁夏贝母(*Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li var. *ningxiaensis* Y. K. Yang et. J. K. Wu)的鳞茎中分得六个异甾体生物碱成分, 鉴定为宁贝素(taipaienine, I)、川贝酮(chuanbeinone, II)、西贝素(imperialine, III)、贝母乙素(verticinone, IV)、贝母辛(peimissine, V)和异贝母甲素(isoverticine, VI), 其中I为一新C-去甲-D-高甾生物碱。应用波谱分析(IR, MS, <sup>1</sup>HNMR 和 <sup>13</sup>CNMR)等确定了它们的化学结构。

**关键词** 宁夏贝母; 异甾生物碱; 宁贝素

宁夏贝母(*Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li var. *ningxiaensis* Y. K. Yang et J. K. Wu)系近年来确定的一贝母新变种。产于宁夏六盘山区, 民间用其鳞茎祛痰止咳、治肺燥咳嗽、干咳少痰、阴虚劳嗽和咯痰带血等<sup>(1)</sup>。我国虽产20多种贝母, 但《中国药典》仅收载两种, 即暗紫贝母(*Fritillaria unibracteata*)和棱砂贝母(*F. delavayi*), 且资源奇缺, 供不应求。宁夏地区的野生贝母蕴藏量大, 对其化学成分及药理活性进行研究, 为开发利用药物资源有重要意义。

宁夏贝母的化学成分未见研究报道。我们从其鳞茎中分得六个异甾体生物碱(见图1), 经

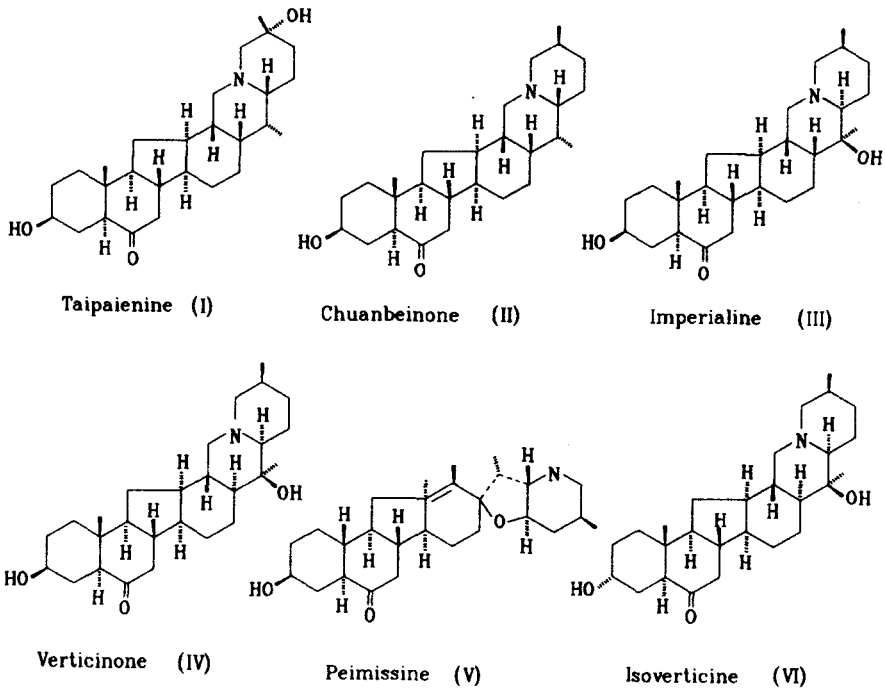


Fig 1 Structures of steroidal alkaloids from *Fritillaria taipaiensis*.

本文于1992年7月21日收到。

\* 本课题获博士后科学基金资助。\*\*通讯联系人

波谱解析,分别鉴定为宁贝素(taipainine, I)、川贝酮(chuanbeinone, II)、西贝素(imperialine, III)、贝母乙素(verticinone, IV)、贝母辛(permissine, V)和异贝母甲素(isoverticine, VI)。宁贝素为首次发现的 C-25有羟基取代的新 C-去甲-D-高甾生物碱,也是继川贝酮后又一个 C-去甲-D-高甾生物碱,其喹诺里西啉(quinolizidine)环的氮孤电子对为  $\alpha$ -构型,且 E/F 环为反式。这类生物碱有别于其它贝母生物碱的结构特征,可能有生理活性<sup>(2)</sup>。此外,宁夏贝母中的西贝素和贝母辛等主要成分亦为川贝中所共有的主要生物碱。鉴此,从化学成分角度提示宁夏贝母有可能作为川贝的代用品得以开发。两者在质量上和药理活性上的关系有待进一步研究。

晶 I 为针状结晶, mp 120~122 C,  $[\alpha]_D^{25} + 12.9^\circ$  (c 0.31, MeOH)。高分辨质谱确定其分子组成为  $C_{27}H_{43}NO_3$  ( $M^+$ , 429.0346, 理论值 429.0652)。IR (KBr)  $cm^{-1}$ : 3393(OH), 2800和 2750为 Bohlmann 带,提示喹诺里西啉环为反式构型<sup>(2)</sup>, 1707为酮羰基。DEPT 谱提示 27个碳原子中有 3个伯碳, 11个仲碳, 10个叔碳和 3个季碳。质谱主要碎片峰  $m/z$ : 114(98+16), 127(111+16, 基峰), 128(112+16), 154(136+16), 155, 180, 194, 234, 372( $M^+ - 57$ ), 344, 358, 429( $M^+$ )等信息提示为 C-去甲-D-高甾生物碱的特征质谱裂解<sup>(3)</sup>(图2)。碎片峰  $m/z$ : 114, 127, 128 等提示它

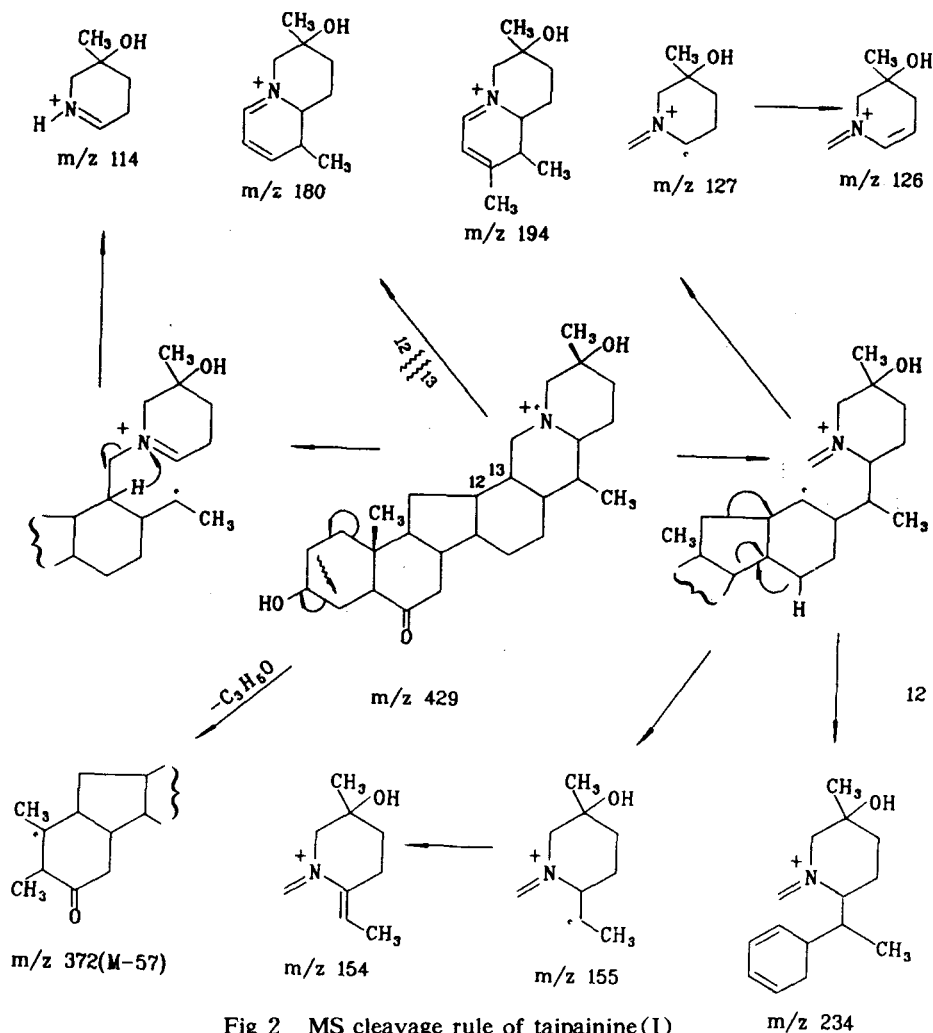


Fig 2 MS cleavage rule of taipainine (I)

比该类其它生物碱的质量数多16,说明有一羟基取代在F环。基峰  $m/z$  127(111+16)提示C-20无羟基取代<sup>(1)</sup>。强碎片峰  $m/z$  372( $M^+ - 57$ )提示A环存在羟基<sup>(3)</sup>。<sup>1</sup>H NMR谱中,甲基信号  $\delta$  0.65(3H, s, 19-CH<sub>3</sub>)提示19-CH<sub>3</sub>为直立键,  $\beta$ -构型,且A/B环为反式构型<sup>(5)</sup>。从羟基质子的化学位移及半峰宽  $\delta$  3.58(1H,  $W_{1/2} = 23.0$  Hz, 3-H)判断C-3羟基为  $\beta$ -构型。甲基信号  $\delta$  1.00(3H, d,  $J = 6.5$  Hz, 21-CH<sub>3</sub>)证实C-20无羟基取代。甲基信号  $\delta$  1.12(3H, s, 27-CH<sub>3</sub>)提示F环上的羟基取代在C-25。IR谱的特征峰  $1707\text{ cm}^{-1}$ 及<sup>13</sup>C NMR谱的信号  $\delta$  210.20 ppm提示C-6为酮羰基。与生物碱 delavinone的信号  $\delta$  0.83(3H, d,  $J = 6.5$  Hz, 21-CH<sub>3</sub>)相比, I的21-CH<sub>3</sub>信号顺磁低移到  $\delta$  1.00(3H) ppm,这是由于21-CH<sub>3</sub>受到  $\alpha$ 氮孤电子对各向异性效应所致(图3)。在测<sup>1</sup>H NMR谱时,加微量无机酸(DCl),21-CH<sub>3</sub>信号产生顺磁位移,低移了  $\delta$  0.15 ppm且峰形变宽。但未观察到27-CH<sub>3</sub>的宽峰效应行为<sup>(7)</sup>。判断21-CH<sub>3</sub>与  $\alpha$ 氮孤电子对空间接近,确定21-CH<sub>3</sub>为  $\alpha$ -构型。



Fig 3 Different E/F ring configuration between  $\alpha$  and  $\beta$  N lone pair.

27-CH<sub>3</sub>远离氮孤电子对,处于e键(即为  $\beta$ -构型)。在<sup>13</sup>C NMR谱中,反式喹啉里西啶氮孤电子对的  $\alpha$ 或  $\beta$ 取向对邻近碳原子的化学位移有明显的影响。I的C-21受  $\alpha$ 孤电子对的  $\gamma$ -gauche效应<sup>(8)</sup>影响,  $\delta$ 值高场位移至11.3 ppm,而孤电子对为  $\beta$ -取向的 delavinone的  $\delta_{C-21}$ 值则为15.6 ppm。此外, I氮邻近碳的化学位移如C-18, C-22, C-26及C-16(分别为  $\delta$  67.65, 65.34, 59.15和25.07 ppm)等产生不同程度的顺磁位移。对照 I与 II的<sup>13</sup>C NMR信号<sup>(2)</sup>,两者的C-1至C-22的化学位移基本一致(表1)。表明 I与 II环骈构型相同。由于 II的化学结构已经过X-单晶衍射证实<sup>(2)</sup>。故 I的环骈方式为A/B反式, B/C反式, C/D顺式, D/E顺式, E/F反式。I为迄今发现的贝母生物碱中唯一的C-25有羟基取代的C-去甲-D-高甾生物碱,命名为宁贝素(taipainenine),并进一步归属其<sup>13</sup>C NMR信号(表1)。

Tab 1 <sup>13</sup>C NMR chemical shifts of taipainenine and chuanbeinone (CDCl<sub>3</sub>)

C	I	II <sup>(2)</sup>	C	I	II <sup>(2)</sup>	C	I	II <sup>(2)</sup>
1	37.11	37.6	10	38.02	38.2	19	12.24	12.4
2	30.34	30.6	11	31.81	32.0	20	37.81	37.4
3	70.59	70.9	12	36.20	36.6	21	11.35	11.4
4	29.76	30.3	13	37.01	37.7	22	65.34	66.9
5	56.17	56.4	14	42.85	43.3	23	24.69	30.1
6	211.30	211.1	15	24.69	24.4	24	36.23	33.6
7	16.64	16.8	16	25.07	24.8	25	67.40	31.1
8	36.92	38.2	17	48.08	48.0	26	59.15	59.9
9	54.53	54.8	18	67.65	65.7	27	26.51	19.8

## 实验部分

熔点用 Büch-510 微量熔点测定仪测定(未校正), 红外光谱用 Perkin-Elmer 599 型红外仪测定; 紫外光谱用岛津 UV-365 型。核磁共振氢谱与碳谱用 Brüker Am-400 型核磁共振仪测定, 质谱用 MAT-44 型质谱仪测定。层析硅胶用青岛海洋化工厂产品。

### 提取与分离

宁夏贝母的鳞茎粗粉 7.5 kg, 以 5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 l) 碱化, 混匀后晾干, 以  $\text{C}_6\text{H}_6$  冷浸 1 wk, 渗漉液经减压浓缩得浸膏 (12.0 g)。以硅胶 H 减压柱层析, 用  $\text{Et}_2\text{O}-\text{Et}_2\text{NH}$  梯度洗脱。每份收集 5 ml, 合并相同组分, 得四个部分。第一部分  $\text{Et}_2\text{O}-\text{Et}_2\text{NH}$  (50:1), 经硅胶 H 减压柱层析, 以  $n\text{-C}_6\text{H}_{14}-\text{Me}_2\text{CO}-\text{Et}_2\text{NH}$  (500:12.5:5) 洗脱, 每份收集 4 ml, TLC 检识, 展开剂为石油醚- $\text{Me}_2\text{CO}-\text{Et}_2\text{NH}$  (2:1:0.1), 合并有相同斑点的第 4~10 流份, 减压浓缩, 得针状结晶 II ( $\text{Me}_2\text{CO}$ ) 11.0 mg, 合并第 13~21 流份, 得晶 III 420 mg, 合并其余部分, 经反复减压柱层析, 得晶 IV 25.0 mg。第二部分  $\text{Et}_2\text{O}-\text{Et}_2\text{NH}$  (30:1), 经硅胶 H 低压柱层析, 用  $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}$  (50:1) 洗脱, 得一针状结晶 I 17.0 mg。合并第三  $\text{Et}_2\text{O}-\text{Et}_2\text{NH}$  (25:1) 和第四  $\text{Et}_2\text{O}-\text{Et}_2\text{NH}$  (10:1) 部分, 减压浓缩得 1.12 g, 经硅胶 H 减压柱层析, 以  $\text{CHCl}_3-\text{MeOH}$  (40:1) 洗脱, 分别得晶 V 650 mg 和晶 VI 8.0 mg。

### 鉴定

晶 I 无色针晶 ( $\text{Me}_2\text{CO}$ ), mp 120~122 C,  $[\alpha]_D^{25} + 12.9^\circ$  (c 0.31,  $\text{MeOH}$ )。UV 出现末端吸收, IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3400 (OH), 2925, 2800, 2750 (*trans* quinolizidine), 1707 (C=O), 1553, 1453, 1372, 1204, 1100, 1064, 962, 909, 889, 737, 637。HRMS (m/z): 429.0346 ( $\text{M}^+$ , 理论值 429.0652,  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_3$ ), 400, 358, 372, 344, 234, 194, 180, 155, 154, 128, 127, 114, 90, 84。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.65 (3H, s, 19-H), 1.00 (3H, d, J=6.5 Hz, 21-H), 1.12 (3H, s, 27-H), 3.58 (1H, m, 3-H)。 $^{13}\text{C}$ NMR 数据见表 1。

晶 II 无色针晶 ( $\text{Me}_2\text{CO}$ ),  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_2$ , mp 150~152 C,  $[\alpha]_D^{25} - 62.0^\circ$  (c 0.30,  $\text{CHCl}_3$ )。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3455 (OH), 2926, 2800, 2750, 1700 (C=O), 1457, 1381, 1260, 1240, 1057, 962。EI-MS (m/z): 413 ( $\text{M}^+$ ), 398, 395, 306, 288, 273, 112, 111 (基峰)。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.69 (3H, s, 19-H), 0.84 (3H, d, J=6.0 Hz, 27-H), 0.98 (3H, d, J=7.2 Hz, 21-H), 3.57 (1H, m,  $\text{W}_{\frac{1}{2}} = 23$  Hz, 3- $\alpha$ H)。 $^{13}\text{C}$ NMR 数据见表 1<sup>(2)</sup>。以上数据与川贝酮 (chuanbeinone)<sup>(2)</sup> 一致。

晶 III 无色棱晶 ( $\text{EtOH}$ ),  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_3$ , mp 266~268 C,  $[\alpha]_D^{25} - 34.2^\circ$  (c 0.70,  $\text{CHCl}_3$ )。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3431 (OH), 2938, 2800, 2770 (*trans* quinolizidine), 1707 (C=O), 1446, 1337, 1289, 1206, 1062, 964, 938, 801。EI-MS (m/z): 429 ( $\text{M}^+$ ), 414, 412, 411, 386, 372, 288, 237, 194, 180, 162, 140, 112 (基峰), 98, 82, 69。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.74 (3H, s, 19-H), 1.06 (3H, s, 21-H), 1.07 (3H, d, J=7.0 Hz, 27-H), 3.55 (1H,  $\text{W}_{\frac{1}{2}} = 23$  Hz, 3- $\alpha$ H)。 $^{13}\text{C}$ NMR 数据与文献西贝素 (imperialine)<sup>(6)</sup> 一致。

晶 IV 无色针晶 ( $\text{Et}_2\text{O}$ ), mp 116~118 C,  $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{NO}_3$ ,  $[\alpha]_D^{25} - 18^\circ$  (c 1.0,  $\text{CHCl}_3$ )。IR (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3415 (OH), 2936, 2800, 2755, 1702, 1449, 1376, 1291, 1261, 1161, 1129, 1059, 964, 904, 687。EI-MS (m/z): 429 ( $\text{M}^+$ ), 413 ( $\text{M}^+ - \text{CH}_3$ ), 412, 386, 384, 356, 286, 216, 201, 173, 149, 112 (基峰), 98, 82, 69。 $^1\text{H}$ NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm: 0.76 (3H, s, 19-H), 1.03 (3H, s, 21-H), 1.07 (3H, d,

$J=6.6$  Hz, 27-H), 3.58(1H, m,  $W_{\frac{1}{2}}=24$  Hz, 3- $\alpha$ H)。以上数据与文献贝母乙素(verticinone)<sup>(6)</sup>一致。

晶 V 无色粗针晶( $Me_2CO$ )。C<sub>27</sub>H<sub>41</sub>NO<sub>3</sub>, mp 250~252 C,  $[\alpha]_D^{25} -35.2^\circ$  (c 0.25, MeOH)。IR (KBr)cm<sup>-1</sup>: 3265(OH), 2930, 2885, 1691(C=O), 1419, 1369, 1243, 1204, 1123, 979, 928(四氢吡喃环)<sup>(6)</sup>, 851, 690。UV 未显示  $\alpha, \beta$ -不饱和酮吸收。EI-MS(m/z): 427(M<sup>+</sup>), 412, 326, 314, 285, 159, 125, 124, 110(基峰), 96, 83, 68。<sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 0.68(3H, s, 19-H), 0.92(3H, d,  $J=6.3$  Hz, 21-H), 0.95(3H, d,  $J=7.2$  Hz, 27-H), 1.64(3H, s, 18-H), 3.59(1H, m,  $W_{\frac{1}{2}}=24$  Hz, 3- $\alpha$ H)。以上波谱数据为介藜芦碱型基本骨架, 与贝母辛<sup>(9)</sup>对照两者几乎完全吻合。进一步确定 E 环的螺环形式, 测定了 NOESY 谱, 发现 21-CH<sub>3</sub> 与 18-CH<sub>3</sub> 之间有较强的 NOE 相关点, 但未发现 21-CH<sub>3</sub> 与 14-H 及 16-H 之间的 NOE 相关点。在 NOE 差谱中, 分别照射 21-CH<sub>3</sub> 及 18-CH<sub>3</sub>, 均未观察到对应甲基的 NOE 谱益现象。提示 NOESY 谱中的相关点为假象行为。Dreiding 分子结构模型亦提示 21-CH<sub>3</sub> 与 18-CH<sub>3</sub> 空间远离。故“贝母辛的结构修正”<sup>(9)</sup>所示两甲基的 NOE 相关性 & 21-CH<sub>3</sub> 与 14-H 的 NOE 相关性的图解有误。

晶 VI 无色方晶(Et<sub>2</sub>O), C<sub>27</sub>H<sub>45</sub>NO<sub>3</sub>, mp 135~137 C,  $[\alpha]_D^{20} -45.0^\circ$  (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>)。IR (KBr)cm<sup>-1</sup>: 3453(OH), 2980, 2830, 2750(trans quinolizidine), 1458, 1350, 1200, 1068, 1000, 980, 820。EI-MS(m/z): 431(M<sup>+</sup>), 416, 412, 388, 386, 156, 155, 154, 140, 125, 112(基峰), 111, 98。<sup>1</sup>HNMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1.03(3H, s, 19-H), 1.08(3H, s, 21-H), 1.10(3H, d,  $J=7.0$  Hz, 27-H), 3.50(1H, m,  $W_{\frac{1}{2}}=24$  Hz, 3- $\alpha$ H), 3.78(1H, m,  $W_{\frac{1}{2}}=8.2$  Hz, 6- $\alpha$ H)。以上数据与异贝母甲素(isoverticine)<sup>(10)</sup>一致。

致谢 宁夏贝母品种由宁夏药品检验所邢世瑞主任药师鉴定。

## 参 考 文 献

- 1 江苏省植物研究所, 等. 新华本草纲要(第二册). 上海: 上海科学技术出版社, 1991:524~529.
- 2 Kaneko K, et al. Chuanbeinone, a novel D/E cis-(22R, 25S)-5-cevanine alkaloid from Chinese herbal drug, Chuan-Bei-Mu. *Tetrahedron Lett* 1986;27:2387.
- 3 濮全龙, 等. 新贝母碱 湖贝甲素的质谱分析. 科学通报 1983;18:1145.
- 4 吴继洲, 等. 湖北贝母化学成分的研究. VI 应用<sup>13</sup>C 谱解析湖贝啞的结构. 中草药 1989;20:194.
- 5 Kitajima J, et al. Steroid alkaloids of fresh bulbs of *Fritillaria thumbergii* Miq and of crude drug "Bai-Mo" prepared therefrom. *Heterocycles* 1981;15:791.
- 6 Kaneko K, et al. Steroidal alkaloids from *Fritillaria delavayi*. *Chem Pharm Bull* 1988;36:4700.
- 7 林文翰, 等. <sup>1</sup>HNMR 宽峰效应及其在生物碱结构解析中的应用. 化学学报 1990;7:567.
- 8 Beierbeck H, et al.  $\beta$ -Carbon shifting effects in carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Can J Chem* 1975;53:1.
- 9 王锋鹏, 等. 贝母辛的结构修正. 药学报 1992;27:273.
- 10 Kaneko K, et al. <sup>13</sup>CNMR studies on the cevanine alkaloids. The application of <sup>13</sup>CNMR spectrum for structure elucidation of new alkaloids baimonidine and isoverticine. *Tetrahedron Lett* 1979;39:3737.

## STUDIES ON THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF *FRITILLARIA TAIPAIENSIS* L.

CH Hu, EN Shang, WH Lin\* and MS Cai\*

(Department of Chemistry, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004; \* Department of Organic Chemistry,  
School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University, Beijing 100083)

**ABSTRACT** A new C-nor-D-homo-steroidal alkaloid named taipaienine, together with five known alkaloids namely chuanbeinone, imperialine, verticinone, perimissine and isovorticine were isolated from the bulbs of *Fritillaria taipaiensis* L. var. *ningxiaensis* Y. et W.. The unusual structure of taipaienine was a first sample with a hydroxyl group substituted at C-25 of (22)*R-trans* quinolizidine moiety with orientation of nitrogen lone pair. Their structures were determined by various spectral analyses.

**Key words** *Fritillaria taipaiensis* L. var. *ningxiaensis* Y. et W.; C-Nor-D-homo-steroidal alkaloid; Taipaienine