

伊贝母中伊贝碱甙 C 的分离和结构鉴定*

徐雅娟 徐东铭 崔东滨 高继山 黄恩喜 刘诗月 于德泉**

(吉林省中医中药研究院, 长春 130021, ** 中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

提要 自吉林栽培的伊贝母(*Fritillaria pallidiflora* Schrenk)中分得一种新的甙体生物碱甙, 命名为伊贝碱甙 C(yibeinoside C)。根据红外、质谱、氢谱、碳谱、 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 和 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ COSY 谱确定其结构为 22,26-环亚胺胆甙-6-酮-3-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙(I)。

关键词 伊贝母; 伊贝碱甙 C; 甙体生物碱

前文^(1~4)曾报道自吉林栽培伊贝母(*Fritillaria pallidiflora* Schrenk)的鳞茎中分得九种甙体生物碱。在继续研究中, 又分到一种新甙体生物碱甙——伊贝碱甙 C(I), 本文报告 I 的结构测定。

伊贝碱甙 C(I)为无色针状结晶, mp 209~211 $^{\circ}\text{C}$ 。FD-MS m/z : 739(M^+), 415(甙元)。IR (KBr) cm^{-1} : 3430(OH), 1700($>\text{C}=\text{O}$)。 ^1H NMR δ : 0.73(3H, s, 19- CH_3), 0.77(3H, s, 18- CH_3), 0.94(3H, d, $J=0.6$ Hz, 21- CH_3), 1.12(3H, d, $J=7.4$ Hz, 27- CH_3), 4.41(1H, d, $J=7.3$ Hz, 1'-H), 4.26(1H, d, $J=8.0$ Hz, 1''-H)。EI-MS 主要碎片有 m/z : 415(甙元), 126, 98 分别相当于甙元(II)中 a 和 b 部分的结构⁽⁵⁾, 从而推测 I 是 verazine(II)生物碱甙。

I 用矿酸水解得甙元(II), 并在水解液中检出 β -D-葡萄糖和 β -D-半乳糖。II 的 MS m/z : 415(M^+), 126, 98。 ^1H NMR δ : 0.75(3H, s, 19- CH_3), 0.78(3H, s, 18- CH_3), 0.95(3H, d, $J=6.8$ Hz, 21- CH_3), 1.10(3H, d, $J=7.2$ Hz, 27- CH_3), 3.75(1H, m, $W_{1:2}=24$ Hz, 3- αH), 支持 I 是 verazine 生物碱的推测。在 II 的宽带去偶谱中可以分辨出 27 条谱线, 再结合 DEPT 谱可清楚的看出伯、仲、叔和季碳原子分别为 4, 11, 9 和 3。II 的各碳信号的化学位移参照相关的胆甙酮和 verazine 生物碱的位移值进行了归属(见表 1)^(6,7)。从 ^{13}C NMR 谱中看出 II 的 C-1 至 C-19 的化学位移与 3 β -羟基-5 α -胆甙-6-酮(III)颇为相近⁽⁶⁾。证明 II 的 A, B, C 和 D 环的结构与 3 β -羟基-5 α -胆甙-6-酮相同。I 和 II 的 MS 均出现碎片离子 m/z 98 和 126, 表明 E 环上无取代。II 的 20-H 的信号为多重峰, 在 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱上该质子信号除与 21-H 相关外, 还与 17-H 和 22-H 有偶合。25-H 的信号也为多重峰, 与 27-H, 26-H 和 24-H 有偶合。与前述 C-20 至 C-27 各碳的归属是一致的。综上所述, 推定 II 的结构为 3 β -羟基-22,26-环亚胺胆甙-6-酮。与 I 的 ^{13}C NMR 谱比较, 可见 II 的 C₃ 化学位移较甙 I 的向高场位移 6.1 ppm, 而 C-2 和 C-4 则分别向低场位移 1.0 及 3.2 ppm。其余碳原子水解前后均无明显变化, 说明糖链是连接在 3-OH 上。I 的 DEPT 谱在 δ 97~106 ppm 的范围内出现两个双峰的糖体端基信号 δ 102 和 104 ppm, 提示 I 的糖链部分是由二个糖组成(见表 1)。I 的 FD-MS 得出分子 739(M^+), 减去甙元质量数 415, 余 324, 也支持上述推断。I 水解后的水溶液用薄层层析和纸层析法检出 β -D-葡萄糖和 β -D-半乳糖。由 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ COSY 谱、DEPT 谱和 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱, 以及 methyl- β -D-glucopyranoside 和 methyl- β -D-galactopyranoside 的碳谱数据⁽⁸⁾, I 的糖链中碳谱信号指定见表 1。由表 1 看出, 葡萄糖只在 C-1'' 成甙, 说明

本文于 1993 年 4 月 2 日收到。

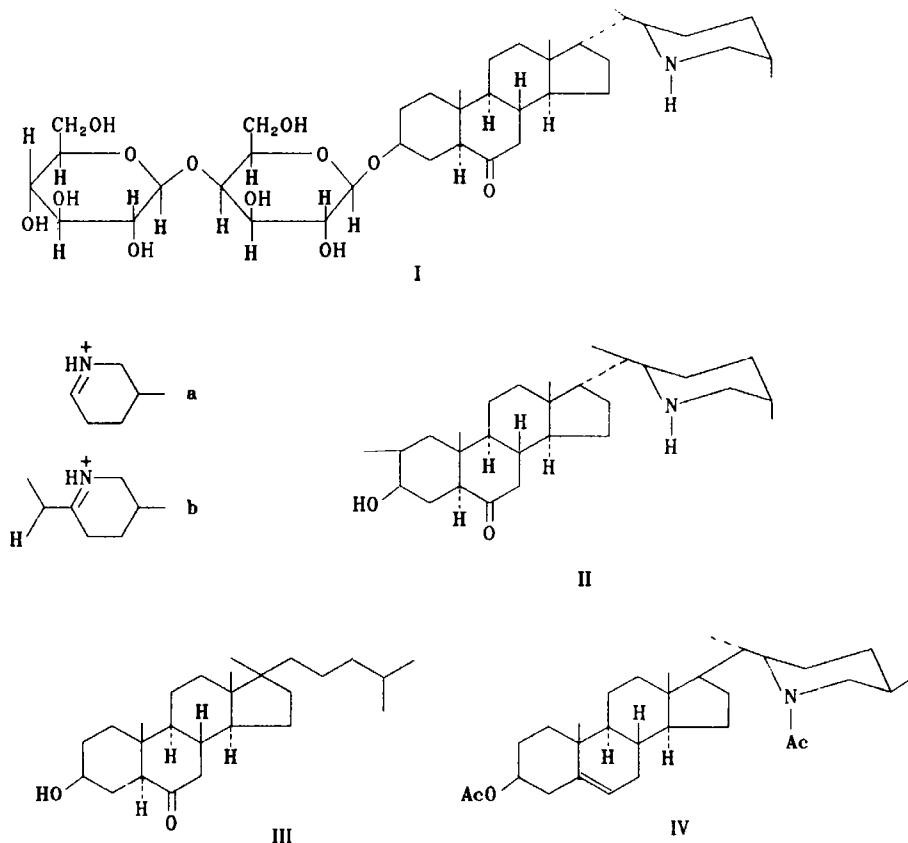
* 国家自然科学基金资助项目

它处于糖链末端,半乳糖除 C-1' 外,C-4' 比游离半乳糖向低场位移 8.3 ppm。由此推测葡萄糖与半乳糖的连接位置为 1-4。I 的氢谱中二个端基质子[δ 4.41(J=7.3 Hz)和 4.26(J=8.0 Hz) ppm]的偶合常数,表明二个糖甙链均为 β 构型。综合分析,I 的结构是 22,26-环亚胺胆甾-6-酮-3-O- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖甙 [22, 26-epiminocholest-6-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside]。

Tab 1 ^{13}C NMR chemical shifts of steroid alkaloids I~V.

C	III	I	II	IV	V*
1	36.7	36.7	37.2	37.0	
2	30.6	30.2	29.2	27.8	
3	70.4	79.7	71.0	74.0	
4	30.0	29.9	26.7	38.1	
5	56.8	56.2	57.1	139.8	
6	210.6	209.7	210.0	122.6	
7	46.6	46.6	47.0	31.8	
8	37.9	37.7	38.6	31.8	
9	53.9	53.7	54.3	50.1	
10	40.9	40.8	41.7	36.6	
11	21.5	21.5	21.9	21.0	
12	39.5	39.6	39.7	39.7	
13	42.9	43.1	43.7	43.3	
14	56.8	56.0	56.6	56.5	
15	23.9	24.2	24.6	24.6	
16	27.9	27.7	27.7	28.4	
17	56.2	52.3	52.6	53.1	
18	12.0	12.2	12.5	12.5	
19	13.1	13.1	13.3	19.3	
20	35.6	39.5	39.5	37.0	
21	18.7	16.6	16.7	14.8	
22	36.0	49.5	49.6	53.7	
23	23.8	24.2	24.6	23.2	
24	39.4	27.7	27.8	26.4	
25	27.9	33.4	33.5	28.8	
26	22.5	49.6	49.6	47.8	
27	22.7	17.3	16.8	18.3	
1'		104.5			104.5
2'		70.9			71.7
3'		74.2			73.8
4'		78.0			69.7
5'		76.7			76.0
6'		62.3			62.0
1''		102.9			
2''		74.3			
3''		77.2			
4''		70.9			
5''		77.2			
6''		62.3			
CH ₃					58.7

V* : Methyl- β -D-galactopyranoside



实 验 部 分

熔点用 X₄ 型显微熔点测定仪测定, 温度未校正, IR 用 IR-450 型仪测定, MS 用 VG-7070 E 型仪测定, ¹H NMR, ¹³C NMR, DEPT, ¹H-¹H COSY 和 ¹H-¹³C COSY 用 JNM-GX 400 型仪测定, 以 CDCl₃ 或 CDCl₃-CD₃OD 为溶剂, TMS 为内标。柱层析用 Walcogel C-300 硅胶(日本和光纯药工业株式会社产品)。TLC 用硅胶为青岛海洋化工厂产品, 硅胶 HF₂₅₄ 板为 Merck 公司产品。

提取分离

取伊贝母 10 kg, 95% EtOH 冷浸, 浸膏用 3% HCl 溶解, 酸液以 Na₂CO₃ 调至 pH 10, CHCl₃ 抽提 6 次, 得总生物碱 A 25 g, 继续用 CHCl₃-EtOH(1:1) 抽提 6 次, 得总生物碱 B 16 g。总生物碱 B 经 Sephadex LH-20 柱分离, 用 MeOH 洗脱, 得 A, B 和 C 三个部分。A 部分进行硅胶干柱层析, 以 CHCl₃-Me₂CO-MeOH-10% NH₄OH(2:3.5:6:0.2) 洗脱, 从第 7~30 流份中得碱 I(50 mg)。

鉴定

碱 I 无色针状结晶, mp 209~211°C (MeOH)。FD-MS m/z: 739(M⁺), 415(M-324)。EI-MS m/z: 415, 395, 379, 329, 324, 317, 212, 162, 149, 126, 98, 91, 55(100%), 43, 41。IR (KBr)cm⁻¹: 3430(OH), 1700(>C=O)。¹H NMR(400 MHz, CDCl₃-CD₃OD) δ: 0.73(3H, s, 19-CH₃), 0.77(3H, s, 18-CH₃), 0.94(3H, d, J=6.8 Hz, 21-CH₃), 1.12(3H, d, J=7.2 Hz, 27-CH₃), 4.26(1H, m, J=8.0 Hz, 1''-H), 4.41(1H, m, J=7.3 Hz, 1'-H)。¹³C NMR 见表 1。

I 的水解产物 取 I 约 50 mg 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_2\text{SO}_4$ 水解, 水解液用 Et_2O 萃取, 萃取液蒸干, 经 Sephadex LH-20 柱分离, 得晶形粉末甙元(II) (8 mg)。 Et_2O 提取后的水溶液用 BaCO_3 中和过滤, 滤液在水浴上蒸干, 用 MeOH 溶解, TLC 和纸层析用苯胺邻苯二甲酸显色剂加热显色, 与标准品半乳糖和葡萄糖一致。

碱 II mp $179\sim 182.5^\circ\text{C}$ 。EI-MS m/z : 415(M^+), 395, 379, 329, 317, 149, 126, 98(100%), 91。 ^1H NMR δ : 0.75(3H, s, 19- CH_3), 0.78(3H, s, 18- CH_3), 0.95(3H, d, $J=6.8 \text{ Hz}$, 21- CH_3), 1.10(3H, d, $J=7.2 \text{ Hz}$, 27- CH_3), 3.75(1H, m, $W_{1/2}=24 \text{ Hz}$, 3-H)。 ^{13}C NMR 见表 1。

致谢 中国科学院长春应用化学研究所代测质谱和核磁共振谱, 日本德岛文理大学药学院代测部分核磁共振谱, 农业科学院左家特产所常维春副研究员鉴定生药。

参 考 文 献

- 1 徐东铭, 等. 伊贝母甙体生物碱的研究. 植物学报 1990;9:708.
- 2 徐东铭, 等. 伊贝碱甙 A 的分离和鉴定. 药学报 1990;25:795.
- 3 徐雅娟, 等. 伊贝辛的分离和鉴定. 同上 1992;27:121.
- 4 徐东铭, 等. 伊贝碱甙 B 的分离和鉴定. 同上 1993;28:212.
- 5 Mizuo M, et al. Two steroidal alkaloid glycosides from *Veratrum taliense*. *Phytochemistry* 1990;29:359.
- 6 龚运淮. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移. 昆明:云南科技出版社, 1986:247.
- 7 Bird G J, et al. Assignment of the ^{13}C NMR spectra of some 22, 26-epiminocholestanes, 22, 26-epiminocholest-22(N)-enes and some 3 β -amino steroidal alkaloids. *Aust J Chem* 1979;32:797.
- 8 王宪楷, 等. 天然药物化学. 北京:人民卫生出版社, 1988:220.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF YIBEINOSIDE C FROM *FRITILLARIA PALLIDIFLORA*

YJ Xu, DM Xu, DB Cui, JS Gao, EX Huang, SY Liu and DQ Yu*

(Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021; * Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050)

ABSTRACT A new C-nor-D-homosteroidal alkaloid named yibeinoside C was isolated from the bulb of *Fritillaria pallidiflora* Schrenk by column chromatographic techniques. The structure has been determined as 22,26-epiminocholest-6-one-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside on basis of spectral and chemical data.

Key words *Fritillaria Pallidiflora* Schrenk; Yibeinoside C; Steroidal alkaloid