维普资讯 http://www.cqvip.com

R28274
R284.3

药学学报 Acta Pharmaceutica Sinica 1999, 34(8): 600～604

600-604

10

鄂贝缩醛 A 的结构解析与合成

吴继洲*，阮汉利，姚念环，孙汉董[1]，
森实千香子[2]，饭田 彰[2]，藤多哲朗[3]

（同济医科大学药学院，武汉 430030；[1] 中国科学院昆明植物研究所，昆明 650204；
[2] 京都大学药学部，京都 606-01，日本；[3] 摄南大学药学部，大阪 573-01，日本）

摘要 **目的**：研究民间药鄂北贝母 *Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji 鳞茎的非生物碱成分。**方法**：用 MeOH 提取，反复硅胶柱色谱分离与纯化，经理化常数测定、波谱解析、化学合成及降解反应，确定其结构。**结果**：从乙酸乙酯萃取物中分离鉴定了 1 个二萜，其结构为 *ent*-kauran-16β, 17-acetal *ent*-16β-kauran-17(S)-aldehyde (1)。**结论**：化合物 1 为新的对映-贝壳杉烷型缩醛聚合二萜，命名为鄂贝缩醛 A(fritillebinide A)。

关键词 贝母属；鄂北贝母；鄂贝缩醛 A；对映-贝壳杉烷二萜；聚合缩醛

合成

鄂北贝母(*Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji)系百合科贝母属植物，作者等曾从其总生物碱部位分离鉴定了浙贝甲素(peimine)，浙贝乙素(peiminine)，湖贝啶(hupehenidine)，鄂贝甲素(ebeinine)，鄂贝乙素(ebeinone)及鄂贝新(ebeiensine)等 6 种生物碱[1-3]；从其非生物碱部位分离到 10 多种对映-贝壳杉烷(*ent*-kaurane)二萜，曾报道了鄂贝酸(fritillebic acid)及鄂贝酸酯甲、乙、丙、丁(fritillebins A, B, C, D)[4,5] 4 种聚合二萜酯的结构，后来又鉴定了鄂贝醇(fritillebinol)，*ent*-kau-15-en-17-ol, *ent*-kauran-16β, 17-diol, *ent*-kauran-16β, 17-diol[6]等 4 种二萜的结构。本文继续报道新的二萜缩醛二聚体，鄂贝缩醛 A(fritillebinide A)的结构解析与合成。

鄂贝缩醛 A(1) 无色针晶(EtOAc) mp 199～201℃，$[\alpha]_D^{22}$ −76.8°(c 0.99, $CHCl_3$)。由元素分析和质谱确定分子式为 $C_{40}H_{64}O_2$[FAB-MS m/z 575 $(M-1)^+$]。IR(KBr) cm^{-1}：1382, 1365(偕二甲基)，1092, 1020(C-O-C)。CI-MS 给出特征离子峰 m/z 577$[M+1]^+$，289$[M+1-288]^+$(100%)，271$[289-H_2O]^+$。^{1}HNMR 谱图示有 6 个叔甲基 δ 0.80(6H, s)，0.85(6H, s)，0.99(3H, s)，1.01(3H, sH)，1 个氧亚甲基 δ 3.77, 3.88(2H, AB, dd, J = 7.8 Hz)和 1 个二氧次甲基 δ 4.69(1H, d, J = 6.0 Hz)，见表 1。^{13}CNMR 谱图可观察到 40 个碳原子，其 DEPT 试验表明 40 个碳分别以 6 个伯碳，19 个仲碳，8 个叔碳及 7 个季碳的形式存在，各碳的化学位移值见表 2。综上分析及从本植物已分离鉴定的 *ent*-kaurane 型二萜推断，1 是由 2 种有 *ent*-kaurane 骨架聚合而成的聚合二萜。

从该植物鳞茎中已分离鉴定 4 种酯聚合二萜的结构，它们的碳谱都有 1 个酯羰基碳信号(δ 177.4)，而化合物 1 没有这个碳信号，却有 1 个二氧次甲基碳信号(δ 105.7)，且 1 结构中的氧亚甲基氢质子的偶合常数为 J = 7.8 Hz(δ 3.77, 3.88)，表明该氧亚甲基应在五元环结构中。进一步观察 1 的 HMBC 谱图，发现氧亚甲基的氢质子(δ 3.77, 3.88)与 C-13, C-15, C-16 和 C-17′存在相关峰，而且 13-H(δ 2.13)与 C-17, 16′-H(δ 1.98)与 C-17′, 17′-H(δ 4.69)与 C-16′也都存在相关峰，见图 1。此结果表明 1 是由 2 种具有 *ent*-kaurane 骨架聚合而成的缩醛二萜衍生物。在 1 的 ^{1}H-^{1}H COSY 谱图中，没有观察到 16′-H(δ 1.98)与 13′-H(δ 2.22)的相关峰，这是由于 16′-H 与 13′-H 的二面角呈 90°的原因，表明 C-16′为 *R* 构型。

为确定 1 的结构组成，将 1 进行化学降解，1 经 40% TFA 水溶液水解得 5 和 6(图 1)。化合物 5 为无色针晶，mp 189～191℃，$[\alpha]_D^{20}$ −38.4°，$C_{20}H_{34}O_2$ (HREI-MS m/z 306.2554, M^+)。其红外光谱示有羟基(3390 cm^{-1})及偕二甲基(1382, 1365 cm^{-1})，EI-MS 显示弱的分子离子峰 m/z 306$[M]^+$ 及主要离子碎片峰 m/z 288$[M-H_2O]^+$，275$[M-CH_2OH]^+$(100%)，257$[M-CH_2OH-H_2O]^+$，

收稿日期：1998-12-01
* Tel: (027)83692738, Fax: (027)83643050
吴继洲 男，49 岁，教授，硕士生导师

维普资讯 http://www.cqvip.com

123;^{1}HNMR谱中可见3个叔甲基信号δ:0.80(3H, s), 0.84(3H, s), 1.02(3H, s)以及羟甲基信号:δ 3.65, 3.80(2H, AB, dd, J = 11.0 Hz);其^{13}CNMR谱显示有20个碳信号,DEPT试验证实20个碳分别以4个季碳,3个叔碳,10个仲碳和3个伯碳的形式存在。上述数据与文献[4]报道的 *ent*-kauran-16β, 17-diol 一致,并直接通过与标准品比较而确认。化合物 **6** 为无色糖浆状物质,$C_{20}H_{32}O$[HREI-MS m/z:288.2458(M)$^+$,计算值 288.2453],其红外光谱显示有醛羰基(1710 cm^{-1})和偕二甲基(1382, 1365)。EI-MS 显示分子离子峰m/z 288[M]$^+$ 及主要离子碎片峰m/z 273[M－CH_3]$^+$(100%), 231[M－C_3H_5O]$^+$, 123[C_9H_{15O}]$^+$。^{1}HNMR谱图示有3个叔甲基δ 0.80(3H, s), 0.85(3H, s), 1.00(3H, s)和1个醛基的氢质子 9.65(1H, d, J = 1.9 Hz)。上述数据与文献[7]报道的 *ent*-16β-kauran-17-al 一致。进一步证实 **1** 是由 *ent*-kauran-16β, 17-diol (**5**)和 *ent*-16β-kauran-17-al (**6**)聚合而成的缩醛衍生物。

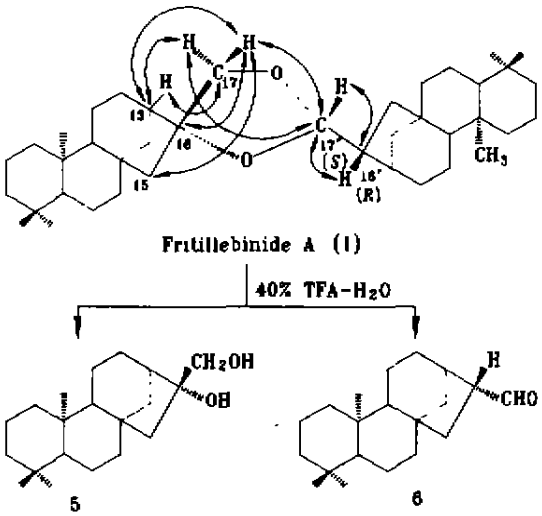

Fig 1 HMBC analysis and derivatives of **1**.

Tab 1 ^{1}HNMR spectral data of 1 and related compounds

H	1	3	5	H	1	6	6a
13(br.)	2.13	2.16		13(br.)	2.22	2.66	2.83
16(m)		2.04	2.02	16(m)	1.98	2.55	2.56
17	3.77	3.52	3.65	17	4.69	4.65	9.64
(dd, J)	3.88	(m)	3.78	(d, J)	(6.0)	(1.9)	(1.8)
	(7.8)		(11.0)				
18(s)	0.84	0.88	0.85	18(s)	0.85	0.85	0.83
19(s)	0.80	0.82	0.80	19(s)	0.80	0.80	0.78
20(s)	1.01	0.94	1.01	20(s)	0.99	1.00	0.98

6a: literature[7] values

Tab 2 ^{13}CNMR spectral data (75 MHz) of 1 and related compounds

C	1	3	5	C	1
1	40.4	40.6	40.3	1	40.5
2	18.6	19.0	18.3	2	18.6
3	42.1	42.4	42.0	3	42.1
4	33.3	33.4	33.2	4	33.3
5	56.2	56.5	56.1	5	56.2
6	20.4	20.9	20.4	6	20.8
7	41.6	42.5	42.0	7	41.4
8	45.0	44.4	44.7	8	44.9
9	56.4	57.7	56.7	9	56.4
10	39.4	39.6	39.4	10	39.3
11	19.1	19.2	18.6	11	18.7
12	27.3	26.4	26.3	12	31.8
13	45.4	37.6	45.5	13	38.1
14	38.5	40.8	37.3	14	38.0
15	55.9	44.3	53.4	15	43.5
16	88.6	43.6	81.9	16	44.7
17	70.7	64.0	66.4	17	105.7
18	33.6	33.8	33.5	18	33.7
19	21.6	21.8	21.5	19	21.6
20	17.8	18.0	17.8	20	17.5

本文又用化学合成法进一步证实 **1** 的结构。首先以对映－贝壳杉烯(*ent*-kaurene, **2**)为原料,用 $KMnO_4$ 作氧化剂,经相转移催化反应得 **5**;再以对映-贝壳杉烯 **2** 为原料,经氢化和氧化反应得 *ent*-16α-kauran-17-ol (**3**), **3** 再与吡啶铬酸盐(PDC)反应,得 *ent*-16α-kauran-17-al(**4**), **4** 在 2% NaOH—MeOH 回流处理得其 C-17 表化物 *ent*-16β-kauran-17-al(**6**),化合物 **4** 和 **5** 的 C_{17} 位醛基氢分别为 δ 9.88 和 δ 9.65,前者醛基为 β 构型,后者醛基则为 α 构型[7]。**5** 和 **6** 在苯溶液中用吡啶对甲苯磺酸(PPTS)处理,缩合得 **1** 及其副产物,经分离得 **1** 和它的 C-17表化物 **1'**,见图 2。**1** 的理化常数和波谱数据与分离得到的天然产物 fritillebinide A 完全一致,混合熔点不下降,TLC 分析,Rf 值相同,斑点不分离。

在 **1** 的 NOESY 谱中,可明显地观察到17-H与17β-H(δ 3.77), 17α-H(δ 3.88)与 13-H 的 NOESY 相关峰,而没有观察到 17-H 与 17α-H(δ 3.88)的 NOESY 相关峰,因此 **1** 中 C-17的绝对构型为 S 型,见图 3。

综上所述,鉴定 **1** 的结构为 *ent*-kauran-16β, 17-acetal *ent*-16β-kauran-17(S)-aldehyde。这是在天然产物中首次发现的一种以缩醛形式聚合而成的新奇 *ent*-kaurane 型骨架的二萜,命名为鄂贝缩醋 A (fritillebinide A)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

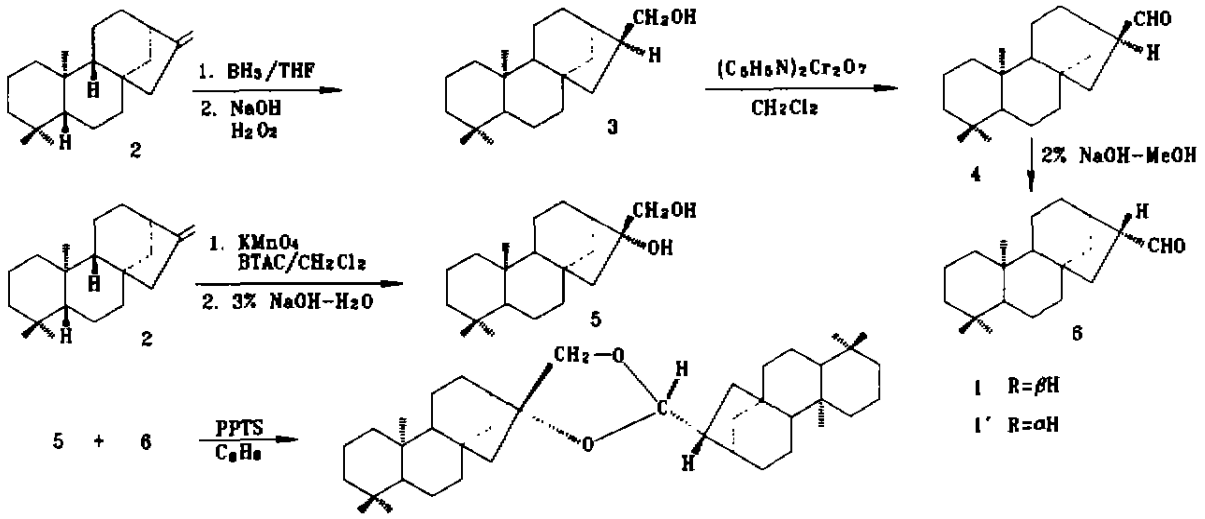

Fig 2 Route of synthesis of fritillebinide A (1).

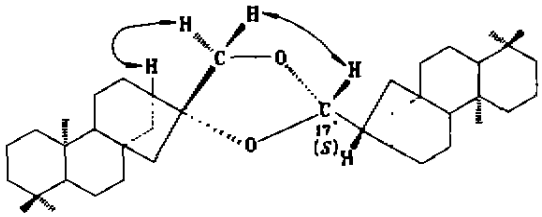

Fig 3 Diagnostic NOESY for 1.

实 验 部 分

熔点用 X_4 型显微熔点仪测定，温度未校正；旋光度用 Jasco DIP-181 旋光仪测定；红外光谱用岛津 IR-435 光谱仪测定；质谱用 JEOL JMS-HX110/110A 质谱仪测定；^{1}H, ^{13}CNMR 谱用 Bruker AM-600, Bruker AC-300 核磁共振仪测定。高效硅胶薄层色谱板和柱色谱硅胶为青岛海洋化工厂产品。实验用药材由随州市药材公司采集，经吴继洲教授鉴定。

1 提取分离

鄂北贝母粗粉 7.2 kg 用 MeOH 回流提取，得浸膏 467 g，经反复柱色谱分离纯化，得 fritillebinide A (1) 140.4 mg。分离方法详见文献[4]。

2 鄂贝缩醛 A(1)的结构测定

无色针晶 (EtOAc), mp 199～201℃, $[\alpha]_D^{22}$ −76.8°(c 0.99, $CHCl_3$)，元素分析分子式 $C_{40}H_{64}O_2$ (实验值%：C 83.21, H 11.25；计算值%：C 83.27, H 11.18)；CI-MS m/z 577 $(M+H)^+$。IR (KBr) cm^{-1}：1382, 1365 (偕二甲基), 1092, 1020 (C-O-C)。FAB-MS m/z：575 $[M-1]^+$, 271 $[(M-H)-304]^+$ (100%)；CI-MS m/z：577 $[M+H]^+$, 289 $[M+H-288]^+$ (100%), 271 $[289-H_2O]^+$。^{1}HNMR ($CDCl_3$, 600 MHz, δ) 见表 1；^{13}CNMR ($CDCl_3$, 75 MHz, δ) 见表 2。

3 鄂贝缩醛 A(1)的水解反应

取 1 25 mg 溶于 $CHCl_3$ 2.5 mL 中，加入 TFA 2.0 mL 和 H_2O 0.5 mL 的混合液，在室温下于超声震荡器中反应 10 min，反应液置冰中用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液中和至中性，加适量水和 $CHCl_3$ 分配，合并 $CHCl_3$ 萃取液，用无水 Na_2SO_4 干燥，减压浓缩，所得浓缩物用硅胶柱色谱分离，hexane—EtOAc (85:15) 作洗脱剂，以 TLC 检测合并相同组份，得化合物 5 和 6。

5 为无色针状结晶 (MeOH), mp 189～190℃, $[\alpha]_D^{20}$ −37.6°(c 0.8, $CHCl_3$)。$C_{20}H_{34}O_2$ [HREI-MS m/z：306.2554 $(M)^+$，计算值 306.2559]。IR (KBr) cm^{-1}：3390 (OH), 1382, 1365 (偕二甲基), 1010 (C-O-C)。EI-MS m/z：306 $[M]^+$, 275 $[M-CH_2OH]^+$ (100%), 257 $[M-CH_2OH-H_2O]^+$, 123。^{1}HNMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 见表 1；^{13}CNMR ($CDCl_3$, 75 MHz, δ) 数据见表 2。

6 为无色糖浆状物质，$C_{20}H_{32}O$ [HREI-MS m/z：288.2458 $(M)^+$，计算值 288.2453]。IR (KBr) cm^{-1}：1710 (CHO), 1382, 1365 (偕二甲基)。EI-MS m/z：288 $[M]^+$, 273 $[M-CH_3]^+$ (100%), 231 $[M-C_3H_5O]^+$, 123 $[C_9H_{15}]^+$。^{1}HNMR ($CDCl_3$, 300 MHz, δ) 数据见表 1。

4 鄂贝缩醛 A(1)的化学合成

维普资讯 http://www.cqvip.com

4.1 *ent*-16α-kauran-17-ol(3)的合成

取对映－贝壳杉烯(*ent*-kaurene, **2**) 2 g 溶于无水四氢氟喃(THF) 10 mL 中，在冰浴中搅拌 20 min，通入氩气，于 20 min 内滴加等克分子浓度的 BH_3 的 THF 溶液 14.7 mL，然后在室温放置 1 h，直到无氢气产生。于反应物中加 H_2O 6 mL，并在冰冷下依次加入 3 mol NaOH 水溶液 1.2 mL 和 30% H_2O_2 1.3 mL，在室温下搅拌 1 h。反应毕加入 NaCl，H_2O 和 EtOAc，使反应物溶解，分取 EtOAc 层，然后用无水 Na_2SO_4 干燥，减压浓缩，得无色固体物 2 g。所得固体物经硅胶柱色谱分离，用 hexane—EtOAc(8∶2)洗脱，合并物用 EtOAc 重结晶，得无色板状结晶(**3**) 1 g，mp 162～163℃，$[\alpha]_D^{19}$ －39.3°(c 0.88, $CHCl_3$)。元素分析分子式 $C_{20}H_{34}O$，实验值%：C 82.43，H 12.01；计算值%：C 82.69，H 11.80；EI-MS m/z 290 $[M]^+$。IR(KBr) cm^{-1}：3350(OH)，1382，1365(偕二甲基)，1030，1010(C-O-C)。EI-MS m/z：290 $[M]^+$，275 $[M-CH_3]^+$ (100%)，257 $[M-CH_3-H_2O]^+$，123。^{1}HNMR(C_6D_6，600 MHz，δ)数据见表 1；^{13}CNMR(C_6D_6，75 MHz，δ)数据见表 2。

4.2 *ent*-16β-kauran-17-al(4)的合成

取上述制备的化合物 **3** 300 mg，溶于无水 CH_2Cl_2 4 mL 中，再加入 3 Å 分子筛粉 800 mg，于冷冻下加入 3 mL 溶有 583 mg 吡啶铬酸盐(pyridochromate, PDC)的 CH_2Cl_2 溶液，通入氩气，在室温下搅拌 1 h。反应液用硅藻土过滤，再用 Et_2O 洗涤，减压回收滤液，得 **4** 的粗制品。^{1}HNMR($CDCl_3$，300 MHz，δ)数据 9.88(1H, s, CHO)。

4.3 *ent*-16β-kauran-17-al(6)的合成

取上述制备的粗品 **4**，加入 2% NaOH-MeOH 溶液 15 mL，在 70℃ 回流 3 h。放冷，加入 Et_2O 和饱和 NaCl 水溶液，分取 Et_2O 层，用水洗至中性，无水 Na_2SO_4 干燥，减压浓缩，得无色糖浆状物质 **6**，$C_{20}H_{32}O$[HREI-MS m/z：288.2458 $(M)^+$，计算值 288.2453]。IR(KBr) cm^{-1}：1710(CHO)，1382，1365(偕二甲基)。EI-MS m/z：288 $[M]^+$，273 $[M-CH_3]^+$ (100%)，231 $[M-C_3H_5O]^+$，123 $[C_9H_{15}]^+$。^{1}HNMR($CDCl_3$，300 MHz，δ)数据见表 1。上述数据与水解产物 **6** 完全一致。

4.4 *ent*-kauran-16β, 17-diol(5)的合成

取 $KMnO_4$ 260.7 mg 苄基三乙基氯化铵(benzyltriethylammonium chloride) 384 mg 悬浮于 CH_2Cl_2 20 mL 中，在 0℃ 下通入氩气，然后在 40 min 内滴加完溶有 300 mg *ent*-kaurene (**2**)的 CH_2Cl_2 溶液 10 mL。在室温下搅拌 21 h 后，加入 3% NaOH 水溶液 15 mL，再在室温下搅拌 6 h，反应液用硅藻土过滤，Et_2O 洗涤，减压回收滤液，所得残留物在 H_2O 与 Et_2O 中分配，取 Et_2O 层，无水 Na_2SO_4 干燥，减压浓缩，得无色固体物 256 mg。所得无色固体物经硅胶柱色谱分离，用 hexane—EtOAc(1∶3)洗脱，合并物用 MeOH 重结晶，得无色针状结晶(**5**)，mp 189～190℃，$[\alpha]_D^{20}$ －37.6°(c 0.8, $CHCl_3$)。$C_{20}H_{34}O_2$ [HREI-MS m/z：306.2563 $(M)^+$，计算值 306.2559]。IR(KBr) cm^{-1}：3390(OH)，1382，1365(偕二甲基)，1010(C-O-C)。EI-MS m/z：306 (M^+)，275 $[M-CH_2OH]^+$ (100%)，257 $[M-CH_2OH-H_2O]^+$，123。^{1}HNMR($CDCl_3$，300 MHz，δ)数据见表 1；^{13}CNMR($CDCl_3$，75 MHz，δ)数据见表 2。

4.5 鄂贝缩醛 A(1)的合成

取化合物 **5** 30 mg 和 **6** 30 mg，溶于无水苯 4 mL 中，加入吡啶对甲苯磺酸(pyridine *p*-toluenesulfonic acid, PPTS) 50 mg 和 3 Å 分子筛粉 50 mg，通入氩气，在油浴中 130℃ 回流 1 h。反应液放冷后常法过滤，减压回收滤液，得残留物 59 mg。残留物经 TLC 分析显示 1∶1 的 2 个斑点，经柱色谱分离，用 hexane—EtOAc(95∶5)洗脱，TLC 指导合并，得化合物 **1** 18 mg 及其 C-17′的表化物 15 mg。**1** 为无色针晶(EtOAc)，mp 199～201℃，$[\alpha]_D^{20}$ －40.0°(c 0.15, $CHCl_3$)，$C_{40}H_{64}O_2$ [CI-MS m/z：577.4984 $[M+H]^+$，计算值($C_{40}H_{65}O_2$) 577.4993]。其 ^{1}HNMR($CDCl_3$，600 MHz)，^{13}CNMR($CDCl_3$，75 MHz)与天然产物 **1** 完全一致，见表 1，表 2。

References

1 Wu JZ (吴继洲), Li HB (李宏斌), Zhu JX (朱家新). Studies on the chemical constituents from *Fritillaria* in Hubei IX. Isolation and identification of alkaloids from *Fritillaria ebeiensis*. *Chin Trad Herb Drugs* (中草药), 1989, **20**: 533

2 Wu JZ (吴继洲), Kou B (寇冰), Zhang YE (张玉娥). Studies on the chemical constituents from *Fritillaria* in Hubei XI. Structural elucidation of ebeiensine. *Acta Univ Med Tongji* (同济医科大学学报), 1991, **20**: 89

3 Wu JZ (吴继洲), Zhang LR (张了容), Luo BS (罗保生). Studies on the chemical constituents from *Fritillaria* in Hubei XII. Stereo-structural determination of ebeiensine by X-ray. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1992, **13**: 658

维普资讯 http://www.cqvip.com

4 Wu JZ, Iida A, Fujita T, *et al*. Structures of three new diterpenoids, fritillebic acid and fritillebins A and B, from bulbs of *Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji. *Chem Pharm Bull*, 1995, **43**: 1448

5 Wu JZ, Ran HL, Sun HD, *et al*. Structures of two new diterpenoid dimers from bulbs of *Fritillaria ebeiensis*. *Asian J Nat Prod Reserch*, 1999, **4**: 401

6 Ruan HL (阮汉利), Wu JZ (吴继洲), Sun HD (孙汉董), *et al*. Structural elucidation of fritillebinol from *Fritillaria ebeiensis*. *Chin Trad Herb Durgs* (中草药), 1999, **30**: 401

7 Bohlmann F, Karmp W, Jakupovic J, *et al*. Diterpenes from *Baccharis* species. *Phytochemistry*, 1982, **21**: 399

STRUCTURAL ELUCIDATION AND SYNTHESIS OF FRITILLEBINIDE A FROM BULBS OF *FRITILLARIA EBEIENSIS*

Wu Jizhou (Wu JZ), Ruan Hanli (Ruan HL), Yao Nianhuan (Yao NH), Sun Handong (Sun HD)[1], Morizane C[2], Iida A[2] and Fujitd T[3]

(*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tongji Medical University, Wuhan 430030*;
[1]*Kunming Institute of Bonaty, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204*;
[2]*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyoto University, Kyoto 606-01 Japan*;
[3]*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Setsunan University, Osaka 573-01, Japan*)

ABSTRACT **AIM**: To sutdy the non-basic constituents of the Chinese herbal drug "Ebeibeimu", the bulus of *Fritillaria ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji, in order to appraise its quality systematically. **METHODS**: MeOH extraction and silica gel column chromatography were to isolate pure compound, its structure was determined with various spectral analysis including 2D-NMR techniques and chemical methods. **RESULTS**: A diterpenoid has been isolated from the EtOAc fraction of the bulus of *Fritillaria ebeiensis*, growing in the Suizhou disrtict of Hubei province, China. It was established as *ent*-kauran-16β, 17-acetal *ent*-16β-kauran-17 (S)-aldehyde (1) on the basis of physicochemical and spectral data and chemical synthesis. **CONCLUSION**: Compound 1 is a novel acetal diterpenoid dimer with *ent*-kaurane skeleton, named fritillebinide A.

KEY WORDS *Fritillaria*; *Fritillaria ebeiensis*; fritillebinide A; *ent*-kaurane; diterpenoid dimer