

1.20 (1 H, s, 19-H), 0.84 (3 H, s, 18-H)。

致谢:本实验室仪器组测定理化数据和
本课题组杨庆雄先生在甾体皂苷的光谱解析
方面提供的支持。

参考文献

- 1 江苏新医学院编著. 中药大辞典. 上海:上海人民出版社, 1977:926
- 2 王锦亮, 等. 云南植物研究, 1995, 17(3):336
- 3 Mimaki Y, et al. Phytochemistry, 1996, 42(6):1609
- 4 Korkashvili T Sh, et al. Soobshch Aked Nauk Gruz SSR 1985, 120(3):561

(1999-02-01)

紫花鄂北贝母含氯元素二萜成分的结构

同济医科大学药学院(武汉 430030)	吴继洲*	文玉屏**	阮汉利	姚念环
中国科学院昆明植物研究所	赵勤实	孙汉董		
日本京都大学药学部	森实千香子	饭田	彰	
日本摄南大学药学部	藤多哲朗			

摘要 从紫花鄂北贝母 *Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea* G. D. Yu et P. Li 磷茎非生物碱部分中分离到 4 种 *ent*-kaurane 骨架的二萜。晶 I $C_{20}H_{33}OCl$, mp 153 C ~ 154 C, 经波谱分析鉴定其结构为 *ent*-kauran-16 β -hydroxy-17-chloride, 命名为鄂贝新醇 (fritillaziebinol)。晶 I、II 和 N 经波谱解析及与标准品对照, 分别鉴定为 *ent*-kauran-16 β , 17-diol, *ent*-kauran-3 β , 16 β , 17-triol, *ent*-3 β -acetoxy-kauran-16 β , 17-diol, I 系新的天然含氯二萜, I ~ N 在该植物中首次得到。

关键词 贝母属 紫花鄂北贝母 鄂贝新醇 对映-贝壳杉烷 含氯二萜

Structure of a New Chloro-substituted Diterpenoid, Fritillaziebinol from Zihua Ebei Beimu Bulbs (*Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea*)

Wu Jizhou, Zhao Qinshi, Fujita Tetsuro, et al. (College of Pharmacy, Tongji University of Medical Sciences, Wuhan 430030)

Abstract The bulb of *Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea* G. D. Yu et P. Li is a liliaceous plant growing in the Suizhou district of Hubei province, China. This Plant, easily cultivable in the district, has high alkaloid content and shows conspicuous antitussive and expectorant effects. The bulbs treated with lime and then bleached in the sun, are called "Ebeibeimu", and are commercially available as a substitute for the principal Chinese traditional medicine "Beimu". With regard to the alkaloid constituents of the bulbs, we have already reported the presence of six *C*-nor-*D*-homo steroidal alkaloids, but the non basic constituents have not been reported. In our continuing studies on its chemical constituents, a novel *ent*-kaurane diterpenoid with chloro-substituted C-17 fritillaziebinol (I) was isolated with three known diterpenoids, II, III and N from bulbs of *Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea* G. D. Yu et P. Li. The compounds I ~ N have been identified as the known diterpenoids *ent*-kauran-16 β , 17-diol, *ent*-kauran-3 β , 16 β , 17-triol, and *ent*-3 β -acetoxy-kauran-16 β , 17-diol on the basis of spectral data, TLC and mixed mp comparison with authentic samples. Compound I, $C_{20}H_{33}OCl$, mp 153 C ~ 154 C, named fritillaziebinol, is a new *ent*-kauran diterpenoid with chloro-substituted C-17 has been established as *ent*-kauran-16 β -hydroxy-17-chloride on the basis of spectral methods including 2D-NMR techniques

* Address: Wu Jizhou, College of Pharmacy, Tongji University of Medical Sciences, Wuhan
** 96 级研究生

紫花鄂北贝母 *Fritillaria ebeiensis* var. *purpurea* G. D. Yu et P. Li 系百合科贝母属植物,是鄂北贝母 *F. ebeiensis* G. D. Yu et G. Q. Ji 的变种,原为野生,现已栽培成功。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),鄂贝甲素 (ebeinine),鄂贝乙素 (ebeinone) 及鄂贝新 (ebeiensine) 紫鄂贝碱 (ziebeimine) 等 6 种生物碱^[1-3]。但非生物碱的成分研究未见报道。为了全面评价其品质,并与中药贝母品种比较,我们对其非生物碱部位的化学成分进行了研究,并分离鉴定了 4 种具有 *ent*-kauran 骨架的二萜成分,晶 I ~ IV。现报告研究结果。

取紫花鄂北贝母 5 kg 用 95% EtOH 于水浴上回流提取,回收 EtOH 至无醇味,得浸膏 895 g。然后加适量水,用乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,减压回收乙酸乙酯溶剂,得浸膏 60.5 g。浸膏用硅胶柱层析反复分离纯化,得 I 150 mg, II 450 mg, III 36.4 mg 和 IV 558.9 mg。

晶 I 为无色方晶 (EtOAc), mp 153°C ~ 154°C, $[\alpha]_D^{25}$ -58.2° (c, 0.97, CHCl₃), 由元素分析和 HREI-MS [m/z 324.2213 (M⁺), 计算值 324.2220] 确定分子式为 C₂₀H₃₃OCl。IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3 450 (OH), 1 382, 1 367 (偕二甲基)。EI-MS 给出分子离子峰 m/z 324 [M]⁺ 及特征离子碎片峰 m/z 306 [M-H₂O]⁺, 291 [306-CH₃]⁺, 271 [306-Cl]⁺, 231, 123 (100%), 109。¹HNMR 谱图示有 3 个叔甲基 δ 0.85 (3 H, s, 18-H), 0.80 (3 H, s, 19-H), 1.01 (3 H, s, 20-H), 一个亚甲基 δ 3.78, 3.84 (2 H, AB, dd, $J=11.0$ Hz) 的存在。¹³CNMR 谱图可观察到 20 个碳原子,其 DEPT 试验表明 20 个碳分别以 3 个伯碳, 10 个仲碳, 3 个叔碳及 4 个季碳的形式存在,并在充分分析同核及异核相关谱的基础上指定

各个氢和碳的信号,其化学位移值见表 1。根据以上分析结果,并结合同属植物已分离鉴定的二萜基本骨架考虑,晶 I 也是一种具有 *ent*-kaurane 型骨架的二萜。

表 1 晶 I 的氢 (600 MHz) 和碳 (75 MHz) 数据 (氯仿)

H	δ (J, Hz)	C	δ
1 α	1.77 dt(br, 12.4, 3.2)	1	40.3
1 β	0.72 td(13.0, 3.6)	2	18.3
2 α	1.44 m	3	42.0
2 β	1.68 m	4	33.2
3 α	1.36 m	5	56.1
3 β	1.11 td(13.5, 4.3)	6	20.3
5	0.77 dd(4.1, 1.7)	7	41.7
6 α	1.30 ddd(12.3, 12.3, 3.1, 3.1)	8	45.2
6 β	1.53 m	9	56.6
7 α	1.64 m	10	39.3
7 β	1.48 m	11	18.5
9	0.99 d(4.3)	12	26.1
11 α	1.39 m	13	46.3
11 β	1.65 m	14	37.0
12 α	1.60 m	15	53.8
12 β	1.60 m	16	80.5
13	2.04 br, m	17	51.9
14 α	1.95 d(11.9)	18	33.5
14 β	1.63 m	19	21.5
15 α	1.56 br, s	20	17.7
15 β	1.56 br, s		
17 α	3.76 d(11.0)		
17 β	3.84 d(11.0)		
18	0.85 s		
19	0.80 s		
20	1.01 s		
OH	2.21 s		

晶 I 结构中存在亚甲基氢信号 (δ 3.78, 3.84), 一般 C₁₇, C₁₈ 或 C₁₉ 位甲基常氧化成羟甲基的形式而存在, 因此其甲基有可能存在 C₁₇, C₁₈ 或 C₁₉ 位。但据红外光谱、氢谱和碳谱提供的信息分析, C-18 和 C-19 仍为甲基, 故亚甲基只能在 C₁₇ 位。而且 I 在冰醋酸-吡啶条件下不发生乙酰化反应, 表明 I 结构中的 C₁₇ 亚甲基不是以可供酰化的羟甲基形式存在, 而是羟甲基中的羟基被其它杂原子取代。后经元素分析认定杂原子为氯元素, 即结构中唯一可供酰化的羟甲基的羟基被 Cl 取代。

晶 I 的红外光谱示有不发生酰化的叔羟基 (3450 cm^{-1}), 从指定为季碳的 C-16 的化学位移值在中场 $\delta 80.6$ 可知, 结构中的叔羟基与氯甲基偕接于 C₁₆ 位。当晶 I 与 C₁₆ 偕接有羟甲基和叔羟基的已知二萜 *ent*-kaurane-16 β , 17-diol (II) 和 *ent*-kaurane-16 α , 17-diol (V)^[4,5] 的碳化学位移值比较时发现, I 的 C-17 除比 II 向高场位移 14.6 的差异外, 所有碳的化学位移值都接近一致; 但 I 与 V 比较, C-8, C-13, C-14, C-15 和 C-17 都存在有差异。且在 I 的远程偶合碳氢相关谱图 (图 1) 中可观察到 H-17 α ($\delta 3.76$) 与 C-13 及 C-16, C₁₆-OH 上的 H ($\delta 2.21$) 与 C-13 及 C-15 的偶合相关峰, H-17 β ($\delta 3.84$) 与 C-15, H-15 ($\delta 1.56$) 与 C-16 及 C-17 的偶合相关峰也可观察到 (图 1), 由此可进一步确定 C₁₆ 位偕接有 OH 和 CH₂Cl。在 I 的 NOESy 相关谱中 (图 2), 可清楚地观察到 H-20 与 H-14 之间的 NOE 相关峰, 没有发现 H-20 与 H-11 之间的 NOE 相关峰, 因此结构中 C 环为椅式构型。

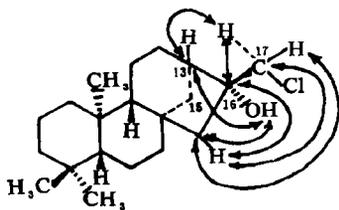


图 1 晶 I 碳-氢远程偶合相关谱

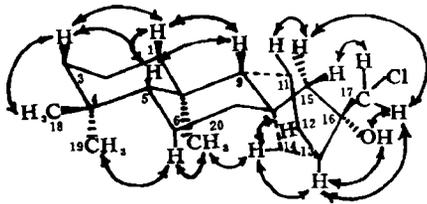


图 2 晶 I 的 NOESy 相关谱

根据以上分析结果, I 的结构鉴定为 *ent*-kaurane-16 β -hydroxy-17-chloride, 是首次发现的新天然含氯元素二萜, 命名为鄂贝新醇 (fritillaziebinol)。

化合物 I ~ IV 的结构, 经理化常数测定

及波谱解析, 并与文献^[4,5] 比较和与标准品直接对照, 分别鉴定为 *ent*-kaurane-16 β , 17-diol (II), *ent*-kaurane-3 β , 16 β , 17-triol (III), *ent*-3 β -acetoxy-kaurane-16 β , 17-diol (IV)。

1 仪器和材料

熔点用 X4 型显微熔点仪测定, 温度计未校正; 旋光用 WZZ-1 自动显示旋光仪测定; 红外光谱用 IR-460 型仪测定; 核磁共振用 Bruker-600 Bruker-400 Bruker-300 型测定; 质谱用 Autospec 型质谱仪测定; 薄层层析用高效硅胶 H 板和柱层层析硅胶为青岛海洋化工厂生产, 展开剂为正己烷-乙酸乙酯, 显色剂为 5% 茴香醛-10% 硫酸甲醇溶液。药材由随州市中药材公司提供, 吴继洲鉴定。

2 提取与分离

取紫花鄂贝母 5 kg 用 95% EtOH 回流提取, 回收 EtOH 至无醇味, 得浸膏 895 g。加适量水, 用乙酸乙酯和正丁醇依次萃取, 减压回收乙酸乙酯溶剂, 得浸膏 60.5 g。经硅胶柱层析, 以极性递增的环己烷-乙酸乙酯系统洗脱、TLC 指导合并, 得 I 150 mg, II 450 mg, III 36.4 mg 和 IV 558.9 mg。

3 鉴定

晶 I: 无色方晶 (EtOAc), mp $153\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 154\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{19} -58.2^{\circ}$ ($c, 0.97, \text{CHCl}_3$), 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{OCl}$ [元素分析测定值 (%): C, 73.71; H, 10.50; Cl, 10.78; $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{OCl}$ 计算值 (%): C, 73.93; H, 10.24; Cl 10.91; HREIMS m/z 324.2213 (M^+), 计算值 324.2220]。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3450 (OH), 1382, 1367 (偕二甲基)。EI-MS m/z : 324 [M^+], 306 [$\text{M}-\text{H}_2\text{O}^+$], 291 [$306-\text{CH}_3^+$], 271 [$306-\text{Cl}^+$], 231, 123 (100%), 109。 $^1\text{HNMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ : 见表 1。

晶 II: 无色针晶 (EtOAc), mp $187\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 188\text{ }^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -38.4^{\circ}$ ($c, 0.76, \text{CHCl}_3$)。分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$ (HREIMS m/z : 306.254, 计算值: 306.2535)。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$: 3390 (OH), 1382, 1367 (偕二甲基)。EIMS m/z : 306,

288, 275 (100%), 257, 231。

晶 III: 无色针晶 (MeOH), mp 214 C ~ 216 C, $[\alpha]_D^{25}$ -39.1 C (c, 0.47, MeOH)。分子式为 $C_{20}H_{34}O_3$ (HREI-MS m/z: 322. 2514, 计算值: 322. 2512)。IR $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3 400 (OH)。EI-MS m/z: 322 $[M]^+$, 304 $[M-H_2O]^+$ (100%), 291 $[M-CH_2OH]^+$, 273 $[M-CH_2OH-H_2O]^+$, 255。

晶 IV: 无色针晶 (EtOAc), mp 163 C-164 C, $[\alpha]_D^{25}$ -112.5° (c, 0.49, $CHCl_3$)。分子式为 $C_{22}H_{36}O_4$ (HREIMS m/z: 364. 2613, 计

算值: 364. 2613, 计算值: 364. 2612), IR $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 3 420 (OH), 1 722, 1 250 (OAc)。EI-MS m/z: 364 $[M]^+$, 346 $[M-H_2O]^+$, 333 $[M-CH_2OH]^+$, 286 $[346-CH_3COOH]^+$, 273 $[333-CH_3COOH]^+$ 。

参考文献

- 1 吴继洲, 等. 药学报 1989, 24(8): 600
- 2 吴继洲, 等. 同济医科大学学报 1991, 20(2): 893
- 3 吴继洲, 等. 高等学校化学学报 1992, 13(5): 658
- 4 Wu Jizhou, et al. Chem Pharm Bull, 1995, 43(9): 1448
- 5 阮汉利, 等. 中草药 1999, 30(6): 404

(1998-12-27 收稿)

天花粉蛋白质与苦瓜子蛋白质改变 DNA 构型的活性[△]

I. DNA 解旋与链结

中国医学科学院基础医学研究所
中国协和医科大学

医学生物学国家重点实验室 (北京 100005)

琦祖和* 蒋效松**

香港中文大学中药研究中心

杨显荣

李慧云

摘要 为研究中药有效成分天花粉蛋白质 (TCS) 与苦瓜子蛋白质 (MMC) 的生物学活性, 以细胞遗传物质 DNA 为底物, 经分子生物学技术分析, 发现超盘旋双链 DNA 发生解旋和链结, 单链 DNA 发生断链, 在合适条件下, 已解旋和断链的分子还可重新盘绕, 再成超盘旋, 极微量的蛋白质即表现出很强的作用。这一活性与 I 型 DNA 拓扑异构酶相同。

关键词 天花粉蛋白质 苦瓜子蛋白质 DNA 解旋 链结

The Action of Trichosanthin and Mommorcharin on DNA Configuration

I. Despiralization and Catenation of DNA

Qi Zuhe, Yang Xianrong, Jiang Xiaosong, et al. (National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS & PUMC, Beijing 100005)

Abstract Trichosanthin (TCS) and mommorcharin (MMC) are ingredients of Tianhuafen and Kuguazi respectively of Chinese traditional medicinal materials. TCS has been used clinically for inducing abortion. Recently their antitumor and antiviral activities were also reported. Especially the inhibition of HIV RNA in the cultured cells and the experimental treatment of AIDS with TCS had shed lights on the potential of Chinese medicinal materials to block HIV infection both in HIV carriers and AIDS patients. The MMC has the same characteristics as TCS. They all belong to the ribosome inactivating proteins (RIP) and perform ribonucleosidase activities similar to ricin. We found that the supercoiled double strand DNA could

* Address: Qi Zuhe, Department of Biochemistry, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS & PUMC, National Laboratory of Medical Molecular Biology, Beijing

琦祖和, 女, 1957 年毕业于北京医学院药系, 在中国医学科学院基础医学研究所生物化学与分子生物学室, 医学分子生物学国家重点实验室工作, 研究员。近年来以基因表达调控异常与疾病的发生为线索, 探讨载脂蛋白 E 异常与心脑血管病的关系, 建立了人突变载脂蛋白 apoE7 与 apoE4 转基因小鼠模型, 证明 apoE 基因突变使整体发生多系统方面的病理变化。

** 首钢总医院

[△]国家自然科学基金资助项目 No 39470218