

云南萝芙木叶吲哚生物碱

耿长安^{1,2}, 刘锡葵¹

(1. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650204;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 从栽培云南萝芙木(*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang)叶的95%乙醇提取物中分离得到11个吲哚类生物碱: Caberine(**1**), 19-Ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetylajmaline(**2**), Vellosimine(**3**), β -Yohimbine(**4**), Yohimbine(**5**), Vinorine(**6**), Picrinine(**7**), Nareline(**8**), Akuammicine(**9**), Strictamine(**10**), Reserpine(**11**). 采用UV, IR, MS和1D, 2D NMR方法对它们的结构进行了鉴定, 其中化合物**2**为新的吲哚生物碱, 化合物**1**, **8**和**9**为首次从该属植物中分离得到.

关键词 云南萝芙木; 吲哚生物碱; 19-Ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetylajmaline; Caberine; 利血平; 育亨宾
中图分类号 O629.36 文献标识码 A 文章编号 0251-0790(2010)04-0731-05

云南萝芙木(*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang)又名勒毒、辣多和麻三端, 系夹竹桃科(*Apocynaceae*)萝芙木(*Rauwolfia*)属植物, 主要分布于云南、广西和贵州等地^[1]. 其主要化学成分为一系列吲哚类生物碱, 民间主要用于治疗头痛、疥癣及蛇咬伤等^[2]. 近年来, 由于野生资源持续减少, 我们在云南干热河谷地区进行了人工引种栽培^[3]. 为了实现资源的持续发展和综合利用, 提高资源的利用效率, 本文对人工栽培云南萝芙木叶的化学成分进行了分析. 从中分离得到了11个化合物, 通过光谱手段确定了其结构, 化合物**2**为新的吲哚生物碱, 化合物**1**, **8**和**9**为首次从该属植物中分离得到, 同时发现植物叶中也有育亨宾和利血平的存在.

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

云南萝芙木叶于2005年12月采自云南省怒江州上江乡栽培种植的萝芙木, 标本(KIB 2005-12-01)存放于中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室.

薄层层析和柱层析硅胶均为青岛美高公司产品; 碱性氧化铝为北京化工厂产品; Sephadex LH-20为Pharmacia公司产品; RP-18反相硅胶为Merck公司产品.

X4型显微熔点测定仪; Jasco P-1020旋光仪; UV210A型紫外分光光度计; Bio-Rad FTS-135红外光谱仪; Autospec-3000和API QSTAR Pulsar LC-Q-TOF型质谱仪; Bruker AM-400或DRX-500核磁共振仪(TMS为内标).

1.2 实验过程

将8.0 kg云南萝芙木阴干燥叶, 于室温下用5倍量的体积分数为95%的乙醇提取5次, 每次8 h, 将乙醇提取液合并减压蒸干, 得372.5 g浸膏. 将浸膏用体积分数1%的HCl溶解, 用等体积氯仿萃取3次; 酸水部分用氨水调节pH至10.0, 继续用氯仿萃取(共6次, 每次1000 mL), 回收氯仿得到氯仿萃取物(57.5 g). 氯仿萃取物用氯仿-甲醇混合溶剂溶解, 吸附在100 g粗硅胶上, 经硅胶柱(1000 g, 200~300目)层析, 氯仿-甲醇(体积比1:0~0:1)梯度洗脱, 洗脱液经TLC检查、合并, 得到3个部分(Fr. 1~Fr. 3). Fr. 1(5.0 g)经反复硅胶柱(100 g, 200~300目)层析, 用石油醚-丙酮(体积比10:1~1:1)和氯仿-甲醇(体积比1:0~8:1)梯度洗脱, 重结晶得到3个化合物: **2**(5 mg), **6**(50 mg)和**10**(5

收稿日期: 2009-05-05.

基金项目: 云南省自然科学基金(批准号: 2006C0010Z)资助.

联系人简介: 刘锡葵, 男, 副研究员, 主要从事天然产物持续利用研究. E-mail: liuxikui@mail.kib.ac.cn

mg). Fr. 2(20 g)经硅胶柱(400 g, 200~300目)层析,用氯仿-甲醇(体积比0:1~5:1)梯度洗脱;氧化铝柱层析(氯仿-甲醇), Sephadex LH-20 柱层析(甲醇), RP-C₁₈柱层析(甲醇-水),反复重结晶得到4个化合物: **1**(7 mg), **3**(100 mg), **7**(80 mg), **11**(10 mg). Fr. 3(10 g)经硅胶柱(200 g, 200~300目)层析,氯仿-甲醇(体积比9:1~1:1)梯度洗脱;氧化铝柱层析(氯仿-甲醇), RP-C₁₈柱层析(甲醇-水), Sephadex LH-20 柱层析(甲醇),得到4个化合物: **4**(5 mg), **5**(8 mg), **8**(15 mg), **9**(10 mg).

Caberine(**1**)分子式为 C₂₂H₂₈N₂O₄, 白色粉末; m. p. 181 °C; $[\alpha]_D^{21} = -17.3^\circ$ (c 0.135, CHCl₃); UV(CHCl₃), $\lambda_{\max}/\text{nm}(\lg\epsilon)$: 241(3.71), 299(3.47), 231(3.51), 224(3.51); IR(KBr), $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2952, 1737, 1619, 1460, 1206. EI-MS, m/z : 384 [M⁺], 366, 329, 283, 232, 210, 188, 187, 174, 125; 正离子 HR-ESI-MS, m/z (C₂₂H₂₉N₂O₄ 计算值): 385.2127 (385.2125) [M + H]⁺; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1.

Table 1 ¹H NMR(400 MHz) and ¹³C NMR(500 MHz) data of compounds **1**(CDCl₃), **2**(CDCl₃) and **3**(DMSO)

No.	1		2		3	
	δ_{H} (Mult., J/Hz)	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult., J/Hz)	δ_{C} (Mult.)	δ_{H} (Mult., J/Hz)	δ_{C} (Mult.)
2	2.51—2.50(m)	79.4(d)	—	182.5(s)	—	139.2
3	4.10(d, 4.9)	46.9(d)	4.14(d, 9.4)	54.8(d)*	4.31(d, 9.9)	49.6
5	α : 2.51—2.50(m) β : 3.88—3.63(m)	49.9(t)	3.98—3.95(m)	50.2(d)	3.44—3.48(m)	49.8
6	α : 2.70—2.64(m) β : 1.71—1.60(m)	33.4(t)	α : 2.80(dd, 10.0, 4.9) β : 1.60(d, 11.9)	36.9(t)	α : 3.22(d, 3.0) β : 2.62(d, 15.6)	26.9
7	—	42.2(s)	—	65.3(s)	—	102.2
8	—	132.4(s)	—	136.4(s)	—	127.1
9	6.94(d, 8.0)	121.8(d)	7.11(d, 7.4)	123.7(d)	7.45(d, 8.1)	117.6
10	6.20—6.24(m)	103.1(d)	7.22(t, 7.5)	125.6(d)	7.10(t, 7.2)	118.3
11	—	159.7(s)	7.40(t, 7.8)	128.7(d)	7.16(t, 7.4)	120.4
12	6.20—6.24(m)	97.0(d)	7.61(d, 7.6)	120.9(d)	7.34(d, 8.1)	111.1
13	—	154.8(s)	—	156.4(s)	—	136.2
14	β : 1.71—1.60(m) α : 2.54—2.50(m)	32.9(t)	α : 2.00(dd, 14.5, 9.7) β : 1.50(dd, 15.2, 5.2)	22.5(t)	α : 2.15(t, 10.8) β : 1.87(d, 11.8)	32.8
15	2.70—2.64(m)	39.0(d)	2.65—2.68(m)	26.5(d)	2.13(td, 11.5, 1.5)	26.3
16	2.92(d, 3.8)	53.7(d)	2.35—2.41(m)	50.2(d)	2.57(d, 7.6)	54.4
17	—	173.2(s)	5.00(s)	77.6(d)	9.62(s)	203.7
18	1.27(d, 5.7)	15.6(q)	1.24(d, 4.9)	17.9(q)	1.74(d, 6.8)	12.4
19	3.05(q, 5.7)	65.6(d)	3.46—3.52(m)	73.6(d)	5.31(q, 6.8)	115.3
20	—	65.6(s)	1.40—1.43(m)	49.0(d)	—	136.0
21	α : 2.27(d, 15.6) β : 3.48(d, 15.6)	55.5(t)	4.21(d, 5.8)	83.4(d)*	α : 3.50(d, 16.7) β : 3.62(d, 17.0)	55.2
22	—	—	α : 3.57(dd, 8.5, 6.7) β : 3.32(dd, 9.1, 7.0)	63.9(t)	—	—
23	—	—	1.18(t, 5.7)	15.5(q)	—	—
OAc	—	—	2.17(s)	21.1(q)	—	—
				169.8(s)		
N—H/Me	2.68(s)	33.7(q)	—	—	10.80(s)	—
11-OMe	3.77(s)	55.3(q)	—	—	—	—
17-OMe	3.74(s)	51.4(q)	—	—	—	—

* Weak peak.

19-Ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline(**2**) 分子式为 C₂₃H₂₈N₂O₄, 白色粉末; m. p. 104~105 °C; $[\alpha]_D^{26.2} = -68.9^\circ$ (c 0.075, MeOH); UV(MeOH), $\lambda_{\max}/\text{nm}(\lg\epsilon)$: 259(4.07), 220(4.68), 196(4.40); EI-MS, m/z : 350, 321, 308, 290, 245, 219, 197, 169, 156; ESI-MS, m/z : 397[M + H]⁺; 正离子 HR-ESI-MS (C₂₃H₂₉N₂O₄ 计算值): m/z 397.2127 (397.2118) [M + H]⁺; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1.

Vellosimine(**3**)分子式为 C₁₉H₂₀N₂O, 白色粉末; m. p. 258~260 °C; $[\alpha]_D^{25} = +55.84^\circ$ (c 0.10,

CHCl₃); UV(CHCl₃), $\lambda_{\max}/\text{nm}(\lg\epsilon)$: 290(3.77), 280(3.88), 225(4.62), 206(4.57); IR(KBr), $\tilde{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3402, 3144, 2924, 2729, 1713, 1452, 1167, 748; EI-MS, m/z : 292, 263, 249, 235, 182, 169, 156, 143, 115, 77; 应用 HMBQC 和 HMBC 对 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据进行了归属(见表1). 结构与 Banerji^[4]和 Yu 等^[5]报道的 Velloosimine 一致.

化合物 4~11 为已知化合物, 分别鉴定为 β -Yohimbine(4)^[6], Yohimbine(5)^[6], Vinorine(6)^[7], Picrinine(7)^[8], Nareline(8)^[9], Akuammicine(9)^[10], Strictamine(10)^[11], Reserpine(11)^[12] 结果参见各自对应文献. 化合物 1~11 的结构如图 1 所示.

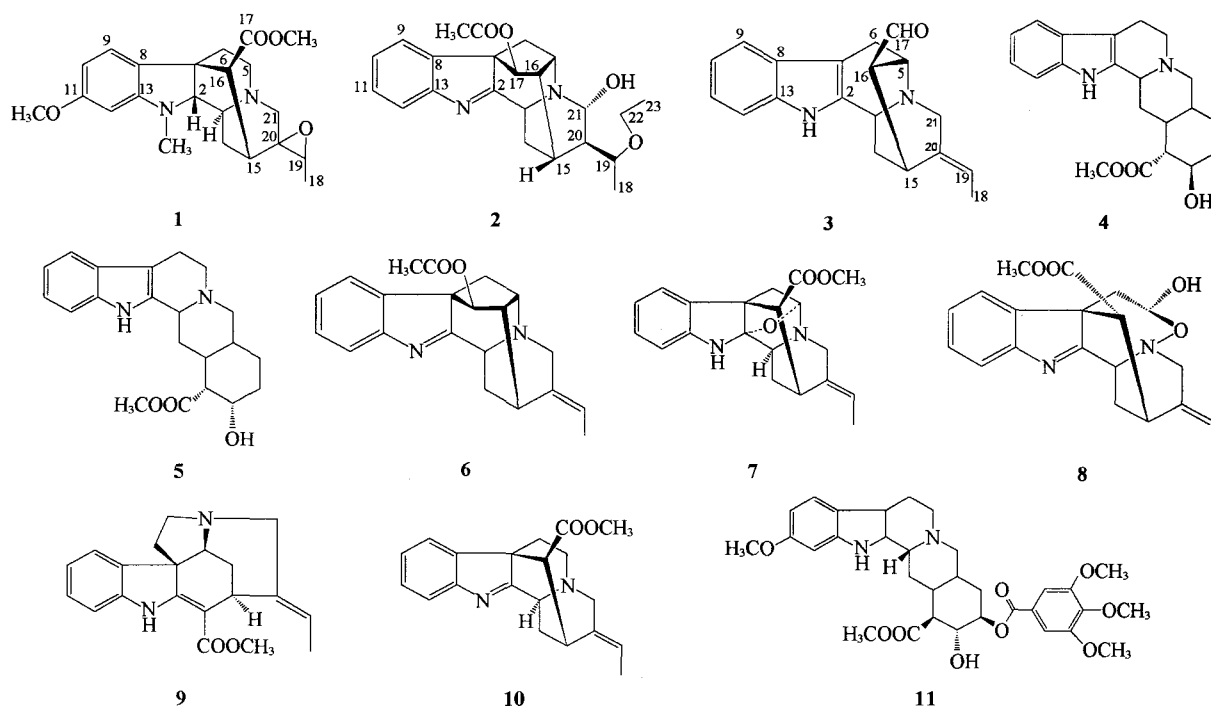


Fig. 1 Structures of compounds 1—11

2 结果与讨论

2.1 化合物 1 的结构鉴定

化合物 1 为白色粉末, 由 EI-MS 给出分子离子峰 m/z : 384[M^+], 由正离子高分辨 HR-ESI-MS 推定分子式为 C₂₂H₂₈N₂O₄, 不饱和度为 10. UV 光谱在 241, 299, 231 及 224 nm 处有最大吸收, 为具有含氧取代二氢吲哚环的特征吸收^[13], 表明该化合物属于二氢吲哚生物碱结构类型. IR 光谱在 1619, 1489 及 1460 cm⁻¹处有强吸收, 说明化合物 1 有吲哚苯环结构存在; 1737 cm⁻¹处的强吸收, 证明分子中有羰基存在. 化合物 1 的 ¹H NMR 谱在低场区有 2 组取代吲哚质子信号 [δ_{H} 6.94(d, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.20~6.24(m, 2H)] 和 2 个甲氧基质子信号 [δ_{H} 3.74(s, 3H), 3.77(s, 3H)] 以及 1 个 N—CH₃ 信号 [δ_{H} 2.68(s, 3H)], 1 个末端甲基信号 [δ_{H} 1.27(d, $J=5.7$ Hz, 3H)]. 化合物 1 的 ¹³C NMR 谱和 DEPT 谱在低场区出现了 6 个吲哚环碳信号 [δ_{C} 97.0(d), 103.1(d), 121.8(d), 132.4(s), 154.8(s), 159.7(s)] 及 1 个酯基碳信号 [δ_{C} 173.2(s)]; 高场区出现了 2 个甲氧基碳信号 [δ_{C} 51.4(q), 55.3(q)] 以及 1 个 N—CH₃ 信号 [δ_{C} 33.7(q)] 和 1 个末端甲基信号 [δ_{C} 15.6(q)], 还有 5 个 CH(其中 2 个与 O 或 N 相连, δ_{C} 79.4, 65.6), 4 个 CH₂(其中 2 个与 N 相连, δ_{C} 49.9, 55.5) 和 2 个季碳(其中 1 个与 N 相连, δ_{C} 65.6) 信号. 结合 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据, 可见, 化合物 1 属于 Akuammiline 型吲哚生物碱, 与从 *Rauwolfia salicifolia* 植物中分离得到的化合物(-)-Raucubainine^[14] 相似, 但在低场区 δ_{H} 6.63~7.12 之间少 1 个芳氢质子信号, 在 δ_{H} 3.77(3H, s) 和 δ_{C} 55.3(q) 处多一组甲氧基信号; 比较二者的分子式相差 CH₂O, 推测化合物 1 可能为(-)-Raucubainine 的甲氧基取代物. 与从 *Cabucala*

erythrocarpa 植物中分离得到的化合物 Caberine^[15] 基本一致, 从而鉴定化合物 **1** 为 Caberine. 进一步应用 HMQC 对化合物 **1** 的碳氢进行了全归属 (见表 1), 应用 HMBC 和 ROESY 技术对其碳氢和氢氢相关进行了比较 (见图 2), 进一步证实该化合物即为 Caberine.

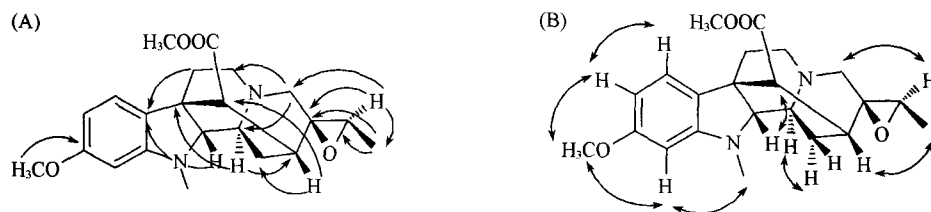


Fig. 2 Key HMBC(A) and ROESY(B) of compound 1

2.2 化合物 2 的结构鉴定

化合物 **2** 为白色粉末, ESI-MS 得到 $[M + H]^+$ 峰 m/z 397, 由正离子 HR-ESI-MS 谱推定其分子式为 $C_{23}H_{28}N_2O_4$, 不饱和度为 11. IR 光谱显示分子中具有 $C=O$ (1744 cm^{-1}) 和 $C=N$ (1619 cm^{-1}) 结构. ^1H NMR 谱可知分子中有 3 个甲基信号: δ_{H} 1.18 (t, $J=5.7\text{ Hz}$, 3H), 1.24 (d, $J=4.9\text{ Hz}$, 3H), 2.17 (s, 3H), 结合 IR 光谱表明分子中有 1 个乙酰基基团存在; 一组吲哚环信号 δ_{H} 7.4 (d, $J=7.4\text{ Hz}$, 1H), 7.22 (t, $J=7.5\text{ Hz}$, 1H), 7.40 (t, $J=7.8\text{ Hz}$, 1H), 7.61 (d, $J=7.6\text{ Hz}$, 1H). ^{13}C NMR 谱显示分子中共有 23 个碳信号, 其中有 3 个甲基; 3 个亚甲基 (有 1 个亚甲基与氧相连); 12 个次甲基 (3 个次甲基与氧相连); 5 个季碳原子信号均处于低场区. 推测该化合物为 Ajmaline 型吲哚生物碱. 经与化合物 1-Demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline 数据^[16] 进行比较, 结果非常相似, 但多了一组乙氧基信号 δ_{H} 1.18 (t, $J=5.7\text{ Hz}$, 3H), 3.57 (dd, $J=8.5, 6.7\text{ Hz}$, 1H), 3.32 (dd, $J=9.1, 7.0\text{ Hz}$, 1H), δ_{C} 63.9 (t, C22), 15.5 (q, C23); C19 信号转变成了次甲基信号, δ 26.0 (t) 移至 73.6 (d), 结合二者的分子式相差 C_2H_4O , 推测该化合物为 1-Demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline 的 19 位乙氧基取代物. 应用 HMQC 对化合物 **2** 的 C—H 进行了归属. HMBC 实验中 H22 与 C23, C19 具有明显的相关性 (见图 3), 进一步证明了乙氧基连在 C19 位上. 采用 ^1H - ^1H COSY 谱进一步对以上结构进行了验证. 从而确定化合物 **2** 的结构为 19-Ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline.



Fig. 3 Key HMBC(A) and ROESY(B) of compound 2

参 考 文 献

- [1] SONG Li-Ren (宋立仁). *Zhonghuabencao*, Vol. 17 (中华本草, 第 17 卷) [M], Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 308
- [2] Hu X. J., He H. P., Zhou H., *et al.*. *Helv. Chim. Acta* [J], 2006, **89**: 1344—1350
- [3] LIU Xi-Kui (刘锡葵), ZHANG Fang-Jin (张方进), ZU Ju-Xiong (祖炬雄). *J. Chinese Medicinal Materials (中药材)* [J], 2007, **30**(6): 631—633
- [4] Banerji J., Shoolery J. N.. *Indian. J. Chem.* [J], 1987, **26B**: 709—711
- [5] Yu J. M., Wang T., Liu X. X., *et al.*. *J. Org. Chem.* [J], 2003, **68**(20): 7565—7581
- [6] Wenkert E., Chang C. J., Chawla H. P. S., *et al.*. *J. Am. Chem. Soc.* [J], 1976, **98**: 3645—3655
- [7] Libot F., Miet C., Kunesch N., *et al.*. *Ann. Pharmaceut. Fr.* [J], 1986, **44**: 477—485
- [8] Batista C. V. F., Schripsema J., Verpoorte R., *et al.*. *Phytochemistry* [J], 1996, **41**(3): 969—973
- [9] Fumiko A. B. E., Chen R. F., Yamauchi T., *et al.*. *Chem. Pharm. Bull.* [J], 1989, **37**: 887—890
- [10] Hu W., Zhu J., Hesse M.. *Phytochemistry* [J], 1989, **28**: 1963—1966
- [11] Rahman A. U., Rehman H. U.. *Planta. Med.* [J], 1986, **3**: 230—231

- [12] Levin R. H., Lallemand J. Y., Roberts J. D. . J. Org. Chem. [J], 1973, **38**: 1983—1986
- [13] XU Ren-Sheng(徐任生). Natural Product Chemistry, 2nd Ed. (天然产物化学, 第二版)[M], Beijing: Science Press, 1997: 201
- [14] Sierra P., Novotny L., Samek Z., et al. . Collection Czechoslovak Chem. Commun. [J], 1982, **47**: 2912—2921
- [15] Zouzoua L., Mansour M., Debray M. M., et al. . Phytochemistry[J], 1974, **13**: 1994—1995
- [16] Libot F., Kunesch N., Poisson J. . Phytochemistry[J], 1980, **19**: 989—991

Indole Alkaloids from the Leaves of *Rauwolfia yunnanensis*

GENG Chang-An^{1,2}, LIU Xi-Kui^{1*}

(1. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract *Rauwolfia yunnanensis* Tsiang are commonly used as a folklore herb to treat hypertension, snake bites, and insanity in the southwest of China, and an important industrial raw material of reserpine and vertical. But the wild resources of it reduced gradually in recent years, thus we have introduced and cultivated it to the arid-hot valley region of Yunnan Province, China, and investigated the chemical constituents variety of it for the sustainable utilization. The dried leaves powder(8.0 kg) of *R. yunnanensis* was extracted with 95% (volume fraction) EtOH(40 L×5, 8 h each), and led to the isolation of eleven indole alkaloids by column chromatography(silica, alumina and Sephadex LH-20 gel) methods. Their structures were identified as caberine(**1**), 19-ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline(**2**), vellosimine(**3**), β -yohimbine(**4**), yohimbine(**5**), vinorine(**6**), picrinine(**7**), nareline(**8**), akuammicine(**9**), strictamine(**10**), reserpine(**11**) by spectral analysis(UV, IR, MS and 1D, 2D NMR), respectively. Among them, compound **2** was a new indole alkaloids, compounds **1**, **8** and **9** were firstly isolated from this plant.

Keywords *Rauwolfia yunnanensis*; Indole alkaloid; 19-Ethoxyl-1-demethyl- Δ^1 -17-acetyljmaline; Caberine; Reserpine; Yohimbine

(Ed.: H, J, Z)