

云南萝芙木花新吲哚生物碱

汪海波, 刘锡葵

(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)

摘要 从云南萝芙木(*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang)花乙酸乙酯提取物中分离得到 9 个化合物(其中 4 个为吲哚类生物碱), 即(18*Z*)-11-Methoxypicrinine(**1**), Caberoline(**2**), 11-Methoxystictamine(**3**)和 Strictamine(**4**), 以及 Russulamide(**5**), Ursolic acid(**6**), Urs-12(13)-en-3 α -yl acetate(**7**), β -Amyryl nonanoate(**8**)和 β -Sitosterol(**9**); 采用 UV, IR, MS 和 1D, 2D NMR 方法对化合物的结构进行了鉴定, 其中化合物 **1** 为新吲哚生物碱, 化合物 **5**, **7** 和 **8** 系首次从该植物中分离得到, 但未得到利血平和育亨宾。

关键词 云南萝芙木; 吲哚生物碱; (18*Z*)-11-Methoxypicrinine; Russulamide

中图分类号 O629.36

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2010)10-2005-05

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、广西及贵州等地^[1]。民间主要用于治疗头痛、疥癣和蛇咬伤等^[2]。自 1952 年 Muller 等^[3]从同属植物蛇根木中发现利血平(Reserpine)的降压活性以来, 对萝芙木植物化学成分和生物活性已进行了大量的研究报道^[2, 4-7], 我国有 9 种及 4 个变种萝芙木植物。云南萝芙木主要化学成分亦为吲哚生物碱, 是国内生产利血平的重要植物原料, 由于长期的破坏性采挖, 野生资源逐年减少。为了资源的持续发展和综合利用, 提高资源的利用效率, 我们开展了云南萝芙木在云南干热河谷地区的人工栽培^[8], 并对栽培云南萝芙木化学成分开展了系统分析^[9]。从云南萝芙木花中分离得到了 9 个化合物, 其中有 4 个生物碱, 化合物 **1** 为新吲哚生物碱, 化合物 **5**, **7** 和 **8** 系首次从萝芙木植物中分离得到。应用波谱技术对其结构进行了确定。

1 实验部分

1.1 药材与试剂

云南萝芙木花于 2006 年 4 月采自云南省怒江州上江乡栽培种植的萝芙木, 标本(KIB 2006-04-26)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。

1.2 仪器

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

1.3 化合物的提取与分离

将 1.0 kg 干燥的云南萝芙木花粉碎后, 用体积分数为 95% 的工业乙醇室温提取 6 次(10 L $\times$ 6, 48 h), 合并提取液减压蒸馏回收溶剂, 得乙醇粗提取物, 将其分散于 1000 mL 水中, 用 EtOAc 提取 6 次(1 L $\times$ 6), 减压蒸馏回收溶剂, 得乙酸乙酯萃取物 50 g。乙酸乙酯萃取物经硅胶(200 ~ 300 目, 1200 g)柱层析, CH₃Cl-CH₃OH(体积比 50:1 ~ 1:1)梯度洗脱, TLC 检测分为 4 个部分 Fr. 1 ~ Fr. 4。

收稿日期: 2009-12-22。

基金项目: 云南省自然科学基金(批准号: 2005B0049M)资助。

联系人简介: 刘锡葵, 男, 研究员, 主要从事野生食用蔬菜和药用植物资源化学与持续利用研究。E-mail: liuxikui@mail.kib.ac.cn

Fr. 1(16 g)经硅胶柱层析,石油醚-丙酮(体积比 100:1~25:1)洗脱,再经 Sephadex LH-20 柱层析,丙酮-甲醇(体积比 100:0~4:1)洗脱,重结晶得化合物 **7**(53 mg)和 **8**(41 mg); Fr. 2(10 g)经硅胶柱层析,石油醚-丙酮(体积比 5:1~1:1)洗脱后,再经反相硅胶 RP-18 柱层析,水-甲醇(体积分数为 30%~100%)洗脱,重结晶得到化合物 **2**(43 mg), **3**(33 mg), **5**(12 mg), **6**(77 mg)和 **9**(100 mg); Fr. 3(7 g)经碱性氧化铝脱色,氯仿洗脱,再经反相硅胶 RP-18 柱层析,水-甲醇(体积分数为 10%~80%)洗脱,重结晶得到化合物 **1**(15 mg)和 **4**(28 mg).

1.4 结构鉴定数据

化合物 **1** 为白色粉末, m. p. 139~141 °C, $[\alpha]_D^{21} = 0^\circ$ (c 0.005, 0.01, CHCl₃), UV(CHCl₃), $\lambda_{\max}/\text{nm}(\lg \epsilon)$: 291(0.39), 241(0.48); IR(KBr), $\bar{\nu}_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3395, 2948, 2836, 1738, 1621, 1453, 1296, 1197, 1021, 946, 466; EI-MS, m/z : 368(45), 350(40), 337(17), 309(24), 291(26), 269(100), 232(58), 200(45), 160(37), 136(41); HR-ESI-MS, m/z : 369.1822[M + H⁺](C₂₁H₂₅N₂O₄⁺ 计算值 m/z 369.1814). ¹H 和 ¹³C NMR 数据见表 1.

Table 1 ¹H and ¹³C NMR data of (18Z)-11-methoxypicrinine(**1**) in CDCl₃

Position	δ_C (500 MHz)	δ_H (400 MHz)	HMBC (H→C)	¹ H, ¹ H-ROSEY
2	106.9(s)	—		
3	51.9(d)	3.59(br. s)	C2, C7, C15	H14
5	87.2(d)	4.84(br. s)	C2, C3, C7, C6, C21	H21, H6, H3
6	40.0(t)	3.32(d, $J=13.7$ Hz) 2.18(d, $J=13.5$ Hz)	C7, C3, C2, C9, C5, C21, C20 C9, C16, C5, C3	H21, H19 H5, H9
7	49.8(s)	—		
8	127.5(s)	—		
9	125.1(d)	6.96(d, $J=7.8$ Hz)	C7, C11, C13	H10, H6
10	105.1(d)	6.26(dd, $J=7.8, 2.0$ Hz)	C8, C12	H9, OCH ₃
11	160.0(s)	—		
12	97.4(d)	6.24(d, $J=2.0$ Hz)	C10, C8, C13, C12, C9, C11	OCH ₃
13	149.1(s)	—		
14	25.7(t)	2.08(d, $J=13.6$ Hz) 1.79(d, $J=13.8$ Hz)	C2, C3, C20, C15, C17 C15, C16, C2, C20	H15, H3, H21 H16
15	30.9(d)	3.22(br. s)	C14, C21, C16, C20, C19, C17	H16, H18, H14
16	52.1(d)	2.37(br. s)	C14, C15, C9, C6, C7, C2, C17, C20	H15, H14
17	172.4(s)	—		
18	12.7(q)	1.22(d, $J=6.0$ Hz)	C20, C19, C15, C21, C16	H15, H21, H19
19	120.7(d)	5.35(q, $J=6.0$ Hz)	C15, C18, C21	H21, H18
20	135.3(s)	—		
21	46.2(t)	3.73(d, $J=16.0$ Hz) 3.07(d, $J=16.0$ Hz)	C15, C3/16 C19, C15, C3, C5, C20, C18, C14	H14 H5, H19
AcOCH ₃	51.4(q)	3.60(s)		
OCH ₃	55.2(q)	3.64(s)	C11	H10, H12
NH		5.63(br. s)		

化合物 **5** 为白色粉末, m. p. 140~142 °C, 分子式 C₄₂H₈₅NO₅. FAB-MS, m/z : 683(5), 655(7), 639(4), 318(18), 300(6), 282(11); ¹H NMR(吡啶, 500 MHz), δ_H : 5.10(1H, d, $J=4.4$ Hz, H2), 4.60~4.62(1H, m, H2'), 4.48~4.51[H, m, H1(α)], 4.39~4.43[1H, m, H1(β)], 4.33~4.34(1H, m, H3'), 4.27(1H, m, H4'); ¹³C NMR(吡啶, 500 MHz), δ_C : 175.3(s, C1), 76.7(d, C3'), 73.0(d, C4'), 72.5(d, C2'), 62.1(t, C1'), 52.9(d, C2), 35.7(t, C3), 34.1(t, C5'), 32.1(t, C7'), 29.6~30.3(t, C8'~C17'), 29.6~30.3(t, C6~C23), 26.6(t, C6'), 25.8(t, C4), 22.9(t, C5), 14.3(q, C18'), 14.3(q, C24), 与文献[10]报道的真菌化合物 Russulamide 一致.

化合物 **2~9** 为已知化合物, 结构分别鉴定为 Caberoline(**2**)^[11,12], 11-Methoxystictamine(**3**)^[13], Strictamine(**4**)^[14], Ursolic acid(**6**)^[15], Urs-12(13)-en-3 α -yl acetate(**7**)^[16], β -Amyryl nonanoate(**8**)^[17~19]和 β -Sitosterol(**9**); 化合物 **1~5** 的结构如图 1 所示.

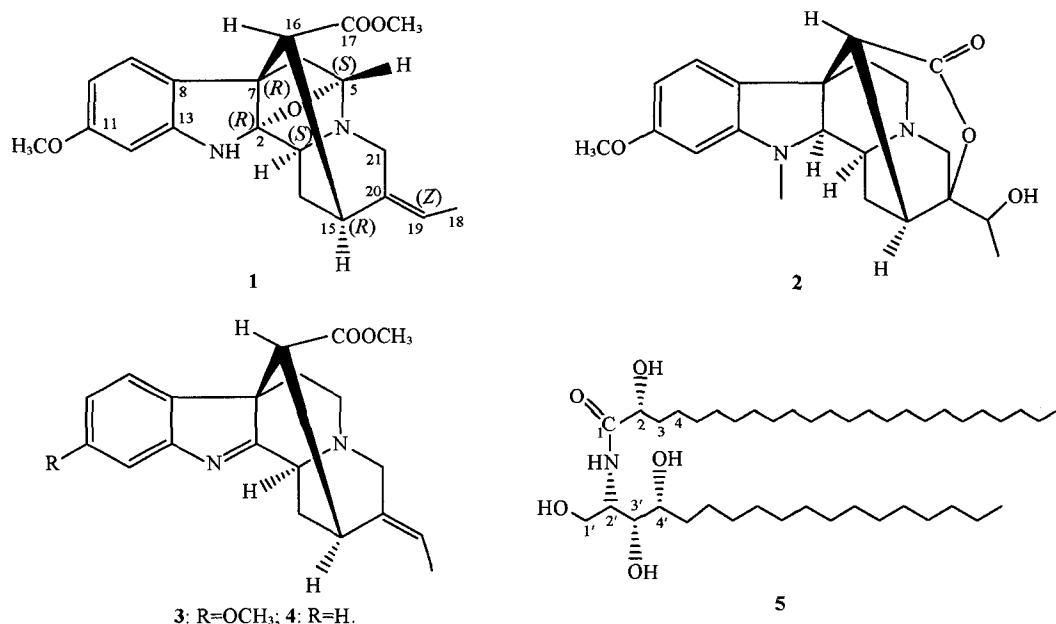


Fig. 1 Structures of compounds 1—5

2 结果与讨论

化合物 **1** 为白色粉末, 对碘化铋钾试剂呈阳性, 由 EI-MS 谱得到 m/z 368 分子离子峰, 由 HR-ESI-MS 谱(m/z 369. 1822[$M + H^+$], 计算值 m/z 369. 1814) 得到 $C_{21}H_{24}N_2O_4$ 的分子式, 不饱和度为 10. UV 光谱在 241 和 291 nm 的特征强吸收揭示该化合物具有二氢吲哚生物碱的分子骨架^[9]. IR 光谱在 1621 和 1453 cm^{-1} 的强吸收显示化合物为吲哚生物碱, 在 3395 和 1738 cm^{-1} 的强吸收表明分子中有 NH 和 C=O 官能团存在. ^{13}C NMR (见表 1) 揭示分子中有 1 个 CH_3 、2 个 OCH_3 基团 [δ_c 51. 4 (q), 55. 2 (q)], 1 个 C=O 基团 [δ_c 172. 4 (s)] 以及 8 个 CH、3 个 CH_2 和 6 个季碳原子信号存在, 尤其是 δ_c 106. 9 (s) 季碳原子信号, 与文献[20]报道的化合物 Picrinine 和 12-Demethoxytabernulosine 类似. 进一步比较发现, 化合物 **1** 比 Picrinine 多 1 个甲氧基基团; 虽与化合物 12-Demethoxytabernulosine 的信号基本一致, 但吲哚环上不饱和原子化学位移信号有较大偏移, 高场移到了 δ_c 97. 4 (d), 低场移到了 δ_c 160. 0 (s); 推测化合物 **1** 为 Picrinine 的甲氧基取代产物或 12-Demethoxytabernulosine 的异位取代化合物, 只是甲氧基的取代位置发生了改变. 1H NMR 谱 (见表 1) 显示分子中有一组明显的吲哚苯环单取代氢信号 [δ_H 6. 96 (d, J = 7. 8 Hz), 6. 26 (dd, J = 7. 8, 2. 0 Hz), 6. 24 (d, J = 2. 0 Hz), 系 ABM 偶合系] 以及二组甲氧基氢信号 [δ_H 3. 60 (s, 3H), 3. 64 (s, 3H)]; 较化合物 Picrinine 多 1 个甲氧基, 少 1 个苯环氢信号, 为典型的 Picrinine 吲哚环单取代化合物, 推测化合物 **1** 可能为 C10 或 C11 甲氧基取代产物; 进一步与 C10 位甲氧基取代化合物 12-Demethoxytabernulosine 比较发现: 吲哚环低场氢信号向低场移动了 δ 0. 2, 高场氢向高场移动了 δ 0. 4; NH 信号向低场移动了约 δ 1. 0, 与 12-Demethoxytabernulosine 有较大的差异, 推测化合物 **1** 为 C11 位甲氧基取代产物 11-Methoxypicrinine. 应用 HMQC 技术对化合物 **1** 的 C 和 H 信号进行了全面归属 (见表 1). 化合物 **1** 的 HMBC 实验表明, 甲氧基氢 δ_H 3. 64 (s) 与 δ_c 160. 0 (s) 有明显的相关 (见图 2 和表 1), 进一步证实甲氧基取代位置在 C11 位. 由于该类化合物分子结构中具有 7 个手性原子, 一般都具有旋光性, 但在 0. 005 和 0. 01 mol/L 浓度下化合物 **1** 无旋光性 [$[\alpha]_D^{21} = 0^\circ$ ($CHCl_3$)], 与 Picrinine 及其 C16 位差向异构体 Picralstonine^[21] 和 12-Demethoxytabernulosine 有较大差异, 且当 Picrinine 的 16 位酰基与氢异构为 Picralstonine 时旋光值加大 ($[\alpha]_D^{21} = -44^\circ \rightarrow -90^\circ$). 一方面可能是在 11 位连接 1 个甲氧基基团后旋光值降低, 另一方面也可能是存在 1 个外消旋化合物, 但应用 TLC 和 HPLC 均未发现有杂质峰存在. 1H - 1H COSY 实验表明, H16 仅与 H15 相关, H15 则与 H14 和 H16 相关; 1H - 1H ROESY 表明 H16 与 H14 和 H15 相关, H15 与 H16 和 H18 相关, 均

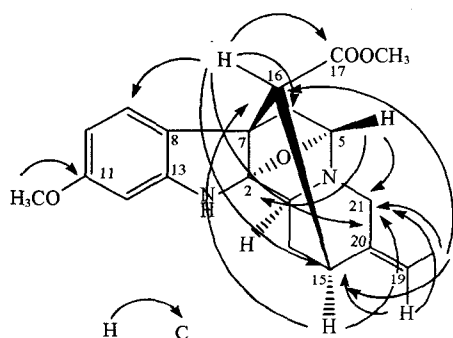
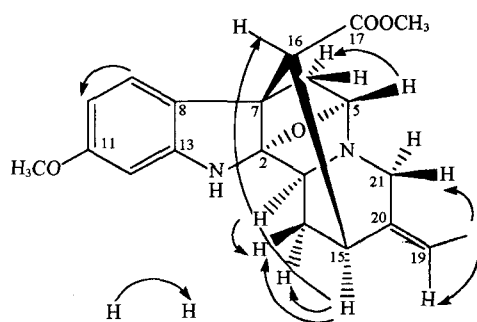


Fig. 2 Key HMBC correlations of compound 1

Fig. 3 ^1H - ^1H COSY correlations of compound 1

未出现 H15 与 C17 位酯甲氧基相关的证据, 进一步表明化合物 1 的 C17 位构型与化合物 Picrinine 一致. 对化合物 1 与 12-Demethoxytabernulosine 的数据进行比较发现, 除了吲哚环差异外, 其余的氢原子信号几乎都稍向高场移动, 但变化幅度小于 $\delta 0.1$, 只有 18 位的甲基信号向高场移动变化大于 $\delta 0.1$, 为 $\delta 0.26$, 另外 NH 氢信号向低场移动 $\delta 0.96$; 碳原子信号除了吲哚环差异外, 只有 16 位和 19 位略向低场移动 ($\delta 0.4$ 和 0.3), 其余的全部向高场移动, 但变化幅度大部分都小于 $\delta 0.5$, 仅有 6 位 ($\delta 0.5$)、7 位 ($\delta 2.0$)、20 位 ($\delta 0.8$) 和 11 位甲氧基 ($\delta 0.7$) 位移大于 $\delta 0.5$. 应用 ^1H - ^1H COSY 实验对化合物 1 的邻近氢相关进行了测定, 结果发现, H18 甲基氢除了与 H19 双键氢有相关外, 还与 H21 具有相关性 (见图 3), 表明 18 位甲基与 21 位比较接近, 推测 18 甲基应该为 *E* 式. 进一步应用 ^1H - ^1H ROESY 对化合物进行测定 (见表 1 和图 4), 结果表明, H18 甲基与 H19 和 H21 相关. 结合 HMBC 推测化合物 1 结构为 (18*Z*)-11-Methoxypicrinine, 并且 C21, C15 和 C20 的平面应与 C18, H19 和 C19 的平面垂直. 进一步利用 CS Chem 3D Pro Version 6.0 软件对化合物 1 的空间进行了模拟, 结果见图 5.

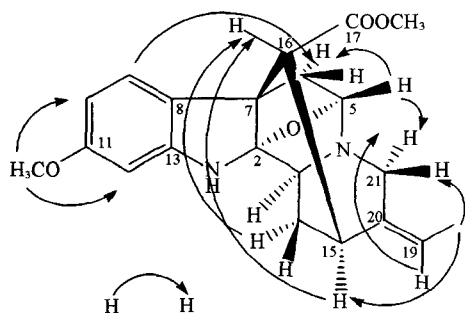
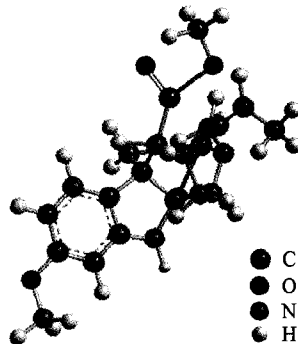
Fig. 4 Key ^1H - ^1H ROESY correlations of compound 1

Fig. 5 Structure model and key of compound 1

参 考 文 献

- [1] SONG Li-Ren (宋立仁). Chinese Herbs, Vol. 17 (中华本草) [M], Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 308
- [2] Hu X. J., He H. P., Zhou H., Di Y. T., Yang X. W., Hao X. J., Kong L. Y.. *Helv. Chim. Acta* [J], 2006, **89**: 1344—1350
- [3] Muller J. M., Schlitter E., Bein H. J.. *Experientia* [J], 1952, **8**: 338—339
- [4] Cancelieri N. M., Curcino Vieira I. J., Schripsema J., Mathias L., Braz-Filho R.. *Tetrahedron Lett.* [J], 2002, **43**: 1783—1787
- [5] Kato L., Braga R. M., Koch I., Kato S., Kinoshita L.. *Phytochemistry* [J], 2002, **60**: 315—320
- [6] Abaul J., Philogene E., Bourgeois P., Merault G.. *J. Nat. Prod.* [J], 1986, **49**: 829—832
- [7] Salkin R., Hosansky N., Jaret R.. *J. Pharm. Sci.* [J], 1961, **50**: 1038—1041
- [8] 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
- [9] GENG Chang-An (耿长安), LIU Xi-Kui (刘锡葵). *Chem. J. Chinese Universities (高等学校化学学报)* [J], 2010, **31**(4): 731—735
- [10] Gao J. M., Dong Z. J., Liu J. K.. *Lipids* [J], 2001, **36**: 175—180
- [11] Douzoua L., Mansour M., Debray M. M., Oliver L. L. M., Men J. L.. *Phytochemistry* [J], 1974, **13**: 1994—1995
- [12] Jacquier M. J., Vercauteren J., Massiot G., Olivier L. L. M., Pusset J., Sevevet T.. *Phytochemistry* [J], 1982, **21**: 2973—2977

- [13] Subhadhirasakul S., Takayama H., Aimi N., Ponglux D., Sakai S.. Chem. Pharm. Bull. [J], 1994, **42**: 1427—1431
- [14] Proksa B., Uhrfn D., Grossmann E., Votický Z., Fуска J.. Planta Medica[J], 1988, **54**: 214—218
- [15] Tursch B., Savoir R., Ottinger R., Chiurdoglu G.. Tetrahedron Lett. [J], 1967, **8**: 539—543
- [16] Gupta D. K., Ali M., Bhutani K. K.. Indian J. Chem. [J], 1996, **35B**: 1079—1084
- [17] Soldi C., Pizzolatti M. G., Luiz A. P., Marcon R., Meotti F. C., Miotto L. A., Santos A. R. S.. Bioorganic & Medicinal Chemistry [J], 2008, **16**: 3377—3386
- [18] Pereira A. D., Neto F. R. D.. J. Chrom. Sci. [J], 2000, **38**: 369—376
- [19] Elias V. O., Simoneit B. R. T., Pereira A. S., Cardoso J. N.. J. Mass Spectr. [J], 1997, **32**: 1356—1361
- [20] Batista C. V. F., Schripsema J., Verpoorte R., Rech S. B., Henriques A. T.. Phytochemistry[J], 1996, **41**(3): 969—973
- [21] Banerji A., Chakrabarty M., Mukherjee B.. Phytochemistry[J], 1972, **11**: 2605—2607

Novel Indole Alkaloid from the Flowers of *Rauvolfia yunnanensis*

WANG Hai-Bo, LIU Xi-Kui *

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

Abstract *Rauvolfia 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. The phytochemical constituents of the rhizome of it have been investigated intensively. Reserpine and yohimbine are two effective biological activities compounds isolated from the rhizome of *Rauvolfia yunnanensis*. 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, China, and investigated the chemical constituents variety of it for the sustainable utilization. In the present work, the chemical constituents of the flowers of *R. yunnanensis* have been investigated for extending the utilizable efficiency of resources. The dried flowers powder(1.0 kg) of *R. yunnanensis* was extracted with 95% EtOH(10 L×6, 48 h each) at room temperature, and then extracted successively with EtOAc(1 L×6). The EtOAc portion(50 g) led to the isolation of nine compounds by column chromatography (silica, alumina and Sephadex LH-20 gel) methods. Their structures were identified as(18*Z*)-11-methoxypicrinine(**1**), caberoline(**2**), 11-methoxystrictamine(**3**), strictamine(**4**), russulamide(**5**), ursolic acid(**6**), urs-12(13)-en-3 α -yl acetate(**7**), β -amyril nonanoate(**8**) and β -sitosterol(**9**) by spectral analysis(UV, IR, MS and 1D, 2D NMR), respectively. Among them, compound **1** is a new indole alkaloids, compounds **5**, **7** and **8** are firstly isolated from it. But reserpine and yohimbine haven't been isolated.

Keywords *Rauvolfia yunnanensis*; Indole alkaloid; (18*Z*)-11-Methoxypicrinine; Russulamide

(Ed.: H, J, Z)