

红果萝芙木季胺碱的化学研究

林 茂 于德泉 刘 欣 付丰永 郑启泰*

贺存恒** 鲍光宏** 徐常富**

(中国医学科学院药物研究所, 北京;

*中国科学院生物物理研究所, 北京;

**中国医学科学院基础医学研究所, 北京)

提要 从红果萝芙木 *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. f. *rubrocarpa* H. T. Chang. mss. 根的水溶性碱部分, 经盐析得到的生物碱, 利用层析法, 分得二个含量较高的生物碱, 碱 II 及碱 VI。经光谱分析, 化学反应和 X 射线衍射, 证明碱 VI 为已知碱斯配加春(I, spagatrine)。碱 II 为一新生物碱, 命名为维替新拉亭(II, verticillatine)。药理研究表明斯配加春为 α -肾上腺素能受体阻断剂, 维替新拉亭则有神经节阻断作用。

关键词 红果萝芙木; 夹竹桃科; 蛇根精类生物碱; 维替新拉亭

红果萝芙木 *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. f. *rubrocarpa* H. T. Chang. mss. 系夹竹桃科植物, 分布于我国海南岛等沿海地区。其总生物碱“降压灵”已作为镇静降压药应用于临床。从总生物碱苯溶部分⁽¹⁾。分得了十个生物碱, 经药理研究证明弱碱部分及其中的利血平, 为口服主要降压成分^(2,3)。而在盐析碱部分中的一些生物碱在注射给药时具有降压作用, 其降压机理与利血平不同。大部分具有 α -肾上腺素能受体阻断作用。这部分生物碱含量较高, 与总生物碱的量相近。为了寻找新类型的降压药及“降压灵”制剂生产的综合利用, 对红果萝芙木水溶性生物碱进行了研究。

萝芙木属植物中季胺型生物碱的研究, 国内外有关资料介绍较少, 除了五十年代发现的 serpentine, serpinine, alstonine, reserpilineN⁺-methyl 等几种生物碱外, 其余的季胺生物碱很少见到报道。

我们从红果萝芙木盐析碱甲醇溶解部分, 以硅胶吸附, 二氯乙烷—甲醇 8:2, 7:3 洗脱部分, 分别得到二个含量较高的生物碱——碱 VI 和碱 II。

碱 VI 的理化常数和光谱数据(见实验部分)初步分析与斯配加春⁽⁴⁾(I)一致, 并通过与巯基乙醇作用, 脱去季胺甲基, 生成物的红外光谱与蛇根精(sarpagine)完全一致, 证实碱 VI 为斯配加春, 该碱系第一次从萝芙木属植物中提得。

碱 II 为氯化季胺碱, 紫外光谱最大吸收 (270, 300 nm) 为 2, 3 二取代吲哚类生物碱典型吸收。当加入氢氧化钠后吸收峰往长波移动, 说明芳环具有羟基, 质谱表明该碱最大离子峰为 m/e 340, 具有失去甲基(m/e 325)和水(m/e 322)的碎片峰。碱 II 的高分辨质谱测得 m/e 340 的分子组成为 C₂₀H₂₄N₂O₃ 从而确定碱 II 的分子式为 C₂₀H₂₅N₂O₃Cl[⊖]。高分辨质谱说明碎片离子 m/e 199 由 C₁₂H₁₁N₂O 组成 III, V 的甲基化物 IV 的碎片 m/e 213 由 C₁₃H₁₃N₂O 组成。由以上数据推测碱 II 结构中具有带羟基的吲哚母核。碱 II 的红外光谱不显示羰基吸

收, 与2,4-二硝基苯肼在酸性情况下也不发生作用。说明分子结构中的另二个氧原子, 可能以醚键的形式存在, 但经与硼氢化钠还原, 生成物V的分子量为342, 还原物用重氮甲烷甲基化后, 产物IV分子离子峰 m/e 356, 还原生成物V经浓硫酸作用后, 得到分子离子 m/e 324的产物, 证明结构中的双羟基失去一分子水, 环合成一个新的醚键(见图2)⁽⁵⁾, 从而推测碱II可能具有环状半缩醛的结构部分, 该化合物的核磁共振谱测得 δ 2.92 为季胺氮甲基, δ 1.62 被邻位氢裂分成双峰, 可能为 CH_3CHX 类 ($\text{X}=\text{O}$ 或 N) 的甲基峰, δ 4.74 为多重峰, 可能为 $-\text{CH}-\text{OH}$ 的氢峰, δ 3.57, 4.10 分别为醚键氧原子邻位的二个质子的信号, 各质子的化学位移归属见表1。曾用各种亲核试剂与碱II进行去季胺甲基反应, 都先后失败。可能由于结构中半缩醛基的电性影响所致。但由以上数据, 可推测化合物的骨架与斯配加春相似, 属于带有半缩醛结构的蛇根精类生物碱。用碱II氯化物单晶进行X衍射, 确定该化合物的结构为II, 其投影图见图3(另编号)。

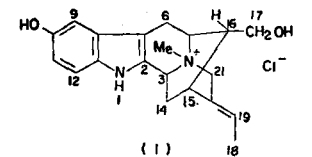


Fig 1. Structure of spogatrine

可能为 $-\text{CH}-\text{OH}$ 的氢峰, δ 3.57, 4.10 分别为醚键氧原子邻位的二个质子的信号, 各质子的化学位移归属见表1。曾用各种亲核试剂与碱II进行去季胺甲基反应, 都先后失败。可能由于结构中半缩醛基的电性影响所致。但由以上数据, 可推测化合物的骨架与斯配加春相似, 属于带有半缩醛结构的蛇根精类生物碱。用碱II氯化物单晶进行X衍射, 确定该化合物的结构为II, 其投影图见图3(另编号)。

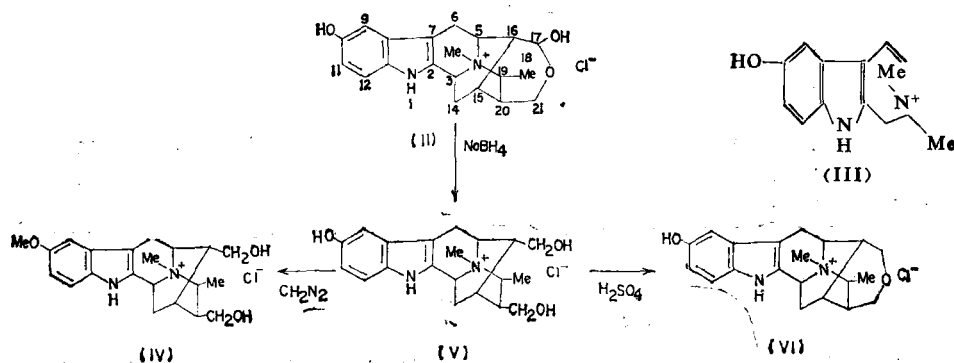


Fig 2. Reactions of verticillatine

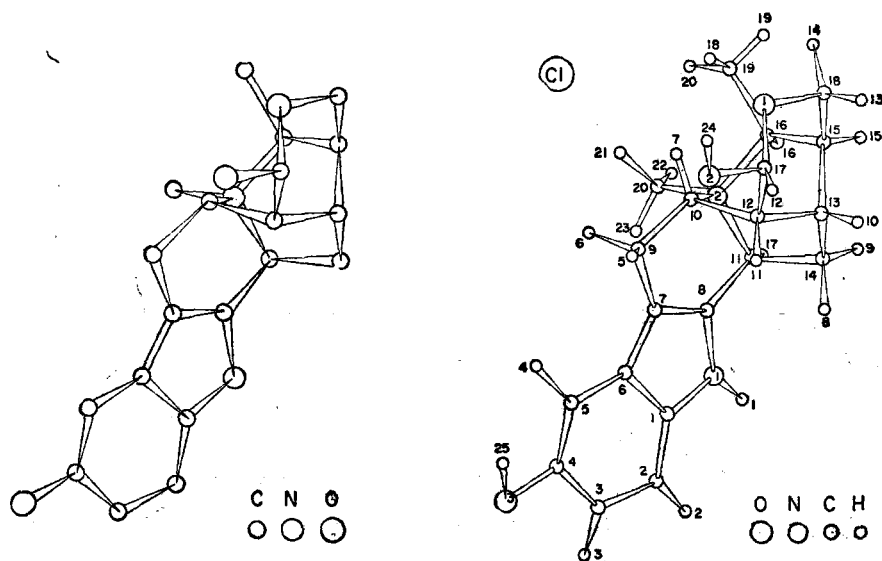


Fig 3. Projection of verticillatine chloride crystals

Tab 1 ¹H NMR of spegatrine and verticillatine

	Spegatrine				Verticillatine			
	Chemical shifts δ (ppm)	Peak shape		Coupling constant (Hz)	Chemical shift δ (ppm)	Peak shape		Coupling constant (Hz)
C ₃ -H	4.75	dd	1H	$J_{3,14\beta}=4; J_{3,4\alpha}=8$	4.74	m	2H (contain C ₁₇ -H)	
C ₅ -H	3.30	t	1H	$J_{6\alpha,5\alpha}=J_{6\beta,5\alpha}=6$	4.00	t	1H	$J_{5\alpha,6\alpha}=J_{6\alpha,6\beta}=5$
C _{6\alpha} -H	3.10	dd	1H	$J_{6\alpha,6\beta}=17$	3.11	dd	1H	$J_{6\alpha,6\beta}=17$
C _{6\beta} -H	2.86	t	2H (contain C ₁₆ -H)		2.70	d	1H	$J_{6\beta,6\alpha}=17$
C ₉ -H	6.97	t	1H	$J=2$	6.91	t	1H	$J=2$
C ₁₁ -H	6.82	dd	1H	$J=8, J=2$	6.82	dd	1H	$J=8, J=2$
C ₁₂ -H	7.35	d	1H	$J=8$	7.32	d	1H	$J=8$
C _{14\alpha} -H	1.92	dd	1H	$J_{14\alpha,14\beta}=14, J_{3\alpha,14\alpha}=8$	2.47	d	1H	$J_{14\alpha,14\beta}=12$
C _{14\beta} -H	1.83	dd	1H	$J_{14\beta,14\alpha}=14, J_{3\alpha,14\beta}=4$	1.80	dd	1H	$J_{14\alpha,14\beta}=12, J_{3\alpha,14\beta}=5$
C ₁₅ -H	2.37	t	1H		1.74	br	1H	
C ₁₆ -H	2.86	t	2H (contain C _{6\beta} -H)	$J_{8\alpha,8\beta}=17, J_{18,17}=5$	1.90	m	1H	$J_{8\alpha,8\beta}=17$
C ₁₇ -H	3.48	m	2H	$J_{17\alpha,17\beta}=11, J_{18,17\beta}=5$	4.74	m	1H	
C ₁₈ -H	1.59	d	3H	$J=6$	1.62	d	3H	$J=6$
C ₁₉ -H	5.59	q	1H	$J=6$	4.05	m	1H	
C ₂₀ -H					2.76	m	1H	
C _{21\alpha} -H	4.27	d	1H	$J_{21\alpha,21\beta}=16$	3.57	dd	1H	$J_{21\alpha,21\beta}=12$
C _{21\beta} -H	4.06	d	1H	$J_{21\beta,21\alpha}=16$	4.10	d	1H	$J_{21\beta,21\alpha}=12$
N-CH ₃	2.86	s	3H		2.92	s	3H	

实 验 部 分

熔点由 Kofler 型熔点测定器测定，温度计读数未加校正。红外光谱由 Perking Elmer21 型光谱仪测定。紫外光谱用 ORD/uv-5 型光谱仪测定。核磁共振谱用重水为溶剂，于法国 Orsay 基础电子学研究所的 400 MHz 仪测定。质谱用 JMS-02 B 质谱仪测定。高分辨质谱用 A. E. I. M. S-50 仪测定。薄层层析用青岛海洋化工厂出品的薄层层析用硅胶 G。展开剂系统(a) 丙酮—甲醇—1% 盐酸(0.4:4.5:0.1)。(b) 甲醇—丙酮—三羟甲基氨基甲烷(1:4:0.2)。柱层用硅胶为青岛海洋化工厂出品的 100 目硅胶。显色剂用改良的碘化钾铯加等量的碘化钾试剂和浓硫酸溶液(喷射后在荧光灯下显黄色荧光)。

取红果萝芙木根粉 20 kg，以 0.1% 盐酸—乙醇溶液提取，氨水沉淀。过滤，得总生物碱(377 g)。其滤液加入氯化钠 16 kg，放置，析出黄色沉淀，倾泻过滤，得盐析碱部分 368 g，取其 184 g(相当 10 kg 生药量)。用甲醇溶解，得 136 g 提取物。于 1.4 kg 硅胶(干法装柱)，进行层析。以二氯乙烷—甲醇 9:1; 8:2; 7:3 和甲醇分别洗脱，按分收集。每分 1000 ml。1~5 分为 9:1 二氯乙烷—甲醇洗脱物; 17~21 分为 8:2 二氯乙烷—甲醇洗脱物。析出 15.5 g，称碱 VI。43~55 分为 7:3 二氯乙烷—甲醇洗脱物，析出另一结晶 15.2 g 称碱 II。29~42 分为碱 VI 和碱 II 的混合物。

斯配加春(碱 VI) 用丙酮—水及甲醇—丙酮二种混合溶剂分别结晶，得方块状无色结晶。于系统(a)展开 Rf 0.56，系统(b) Rf 0.71。mp 271~272°C(d)(甲醇—丙酮)。于乙醇重结晶 mp 为 296~305°C(d)，在甲醇重结晶 mp 324~326°C。[α]_D + 33.05°(C=1.1, H₂O)。UV: $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ nm(log ϵ) 272(3.98), 300(3.68)。加氢氧化钠后 $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 为 267, 324。IR(KBr)

cm^{-1} 3000—3350, 1620, 1580, 1550, 1430。HNMR(D_2O)见表 1。MS $m/e(\%)$ 324(40), 310(100), 279(23), 199(33), 185(86), 184(90)。元素分析 $\text{Cl}^-(\%)$, 实测值 9.60, 9.68。计算值, 9.89。HRMS 324.1871($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ 符合 304.1874)。分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3^-\text{Cl}^-$ 。

斯配加春的去甲基反应⁽⁶⁾

取新鲜配制甲醇钠溶液(含金属钠 15 mg/ml) 2 ml, 加入过量巯基乙醇 0.11 ml 混合均匀后, 加入碱 VI 200 mg, 在氮气流下, 水浴回流 6 h, 放冷后有结晶析出, 仍为碱 VI, 过滤除去, 母液用离心薄层分离, 以 1 mm 厚的硅胶(GF)薄板, 二氯甲烷—甲醇(9:1)展开。收集第二个紫色荧光带的流分。回收溶剂, 得少量结晶。经甲醇重结晶后, 以硅胶薄板甲醇—丙酮—1% 盐酸(4.5:0.4:0.1)展开 R_f 0.69。与蛇根精标准品一致。IR 与蛇根精标准品重合。根据以上数据证明碱 VI 为斯配加春。

维替新拉亭 取碱 II 用甲醇—水(1:1)混合溶剂及少量骨炭脱色结晶, 得无色针状结晶。mp 324~326°C(分解)。于系统(a)展开, R_f 0.39, (b)系统 R_f 0.33。喷浓硫酸后在荧光灯下显黄色荧光。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ) 272(3.92), 298(3.71)。加氢氧化钠后 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 为 270, 317。IR(KBr) cm^{-1} 2800—3500(br) 1610(m), 1590(m), 1475(sh), 1440, 1420, 1390, 1350, 1330, 1300, 1250(w), 1160(w), 1130, 1110(sh), 1080, 1040, 1010(w), 1205, 1190, 965, 930, 905, 895, 875, 800, 760。 $[\alpha]_D^{25} + 11.4^\circ$ ($C=0.9, \text{H}_2\text{O}$)。HNMR(D_2O)见表 1。MS $m/e(\%)$ 340(75), 322(75), 241(40), 199(100), 185(50), 184(40), 172(40)。元素分析 $\text{Cl}^-(\%)$, 实测值 9.88, 10.13, 计算值 10.47。HRMS m/e 340.1786($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ 符合 340.1787)。分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3^-\text{Cl}^-$ 。

二氢维替新拉亭(V)⁽⁶⁾

取碱 II 200 mg, 溶于 50% 乙醇 15 ml 中, 冷却后加入硼氢化钠 400 mg, 溶液为 pH 8, 放置 30 分钟后, 水浴回流一小时, 不待冷却完全即有结晶析出, 过滤, 用 50% 乙醇洗至中性, 甲醇—水重结晶后, 得 180 mg 白色结晶, 薄层系统(b)展开 R_f 0.30。mp 300°C 以上分解变黑。MS $m/e(\%)$ 342(19), 325(9), 213(14), 199(61), 185(18), 184(25), 170(100)。HRMS m/e 342.1895($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ 符合 342.1943)。分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3^-\text{Cl}^-$ 。

二氢维替新拉亭甲基物(IV)

取(V) 90 mg, 溶于 100 ml 甲醇, 搅拌情况下, 逐滴加入新配制的重氮甲烷乙醚溶液。至溶液呈浅黄色不退。放置 48 小时析出方块状结晶 70 mg。薄层系统(b)展开, R_f 0.30。mp 300°C 以上分解变黑。MS $m/e(\%)$ 356(5), 342(40), 213(21), 199(100), 185(40), 184(30)。HRMS 199.0894($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}$ 符合 199.0896); 213.1005($\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}$ 符合 213.1002); 342.1926($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$ 符合 342.1943)。356.2078($\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$ 符合 356.2076)。分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_3^-\text{Cl}^-$ 。

脱氧维替新拉明(VI)⁽⁶⁾

取(V) 50 mg, 加入 70% 硫酸 0.6 ml, 温热 10 min。结晶由黄色变为浅棕色, 倒入 10 ml 冰水中, 加入碳酸钡固体, 水浴加热, 赶去二氧化碳, 并调节 pH 至中性, 得硫酸钡沉淀, 过滤, 滤液蒸干, 甲醇溶解并通过凝胶柱(sephadex LH₂₀ 型)按分收集, 合并结晶部分, 以甲醇重结晶后得少量白色结晶。mp 320°C 以上分解变黑。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm 270, 307(sh), MS $m/e(\%)$ 324(3), 231(2), 199(3), 213(2)。

致谢 本文得到梁晓天教授指导, 原料由付舜莫同志采集。植物鉴定由张海道、冯毓秀两同志协助

蛇根精的标准品由陈未名同志供给。核磁共振谱由法国 Orsay 基础电子学研究所 Kan Siew-kwong 教授和化工部化工研究院代测。HRMS 由法国天然产物化学研究所代测。其他光谱由本所仪器室代作。

参 考 文 献

1. 于德泉等. 红果萝芙木弱碱部分的化学研究. 药化学报 1982; 17: 309.
2. 曾贵云等. 中国萝芙木的药理研究. II. 海南岛萝芙木的降压作用和毒性试验. 药化学报 1959; 7: 361.
3. 曾贵云等. 中国萝芙木的药理研究. VII. 蛇根精季胺碱的降压作用和对麻醉犬血流动力的作用. 中华医学杂志 1977; 57: 56.
4. Orazi OO, et al. Studies on plants. XI. alkaloids of *Aspidosperma spegazzinii*. *Can J Chem* 1966; 44: 1523.
5. Kiang AK, et al. The structures of peraksine (Rp-5) and Rp-7 constituents of the leaves and stems of *Rauwolfia perakensis*. *Tetrahedron* 1966; 22: 3293.
6. Burnell RH, et al. Quaternary bases from *Hunteria eburnea* Pichon. *Can J Chem* 1974; 52: 2327.

CHEMICAL STUDIES ON THE QUATERNARY ALKALOIDS OF *RAUVOLFIA VERTICILLATA* (LOUR.) BAILL. *f. RUBROCARPA* H. T. CHANG. MSS.

LIN Mao, YU De-Quan, LIU Xin [FU Feng-Yong], ZHENG Qi-Tai* HE Cun-Heng,** Bao Guang-Hong** and XU Chang-Fu**

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing; *Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing; **Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing*)

ABSTRACT Two quaternary alkaloids were isolated from the water soluble fraction of the root of *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. *f. rubrocarpa* H. T. Chang. mss. On the basis of spectral analysis and chemical reaction, alkaloid VI was identified to be a known alkaloid, spegiatrine (I). It was isolated from R. species for the first time, Alkaloid II named verticillatine, and was assigned as (II) by IR, UV, MS and ¹HNMR spectral data, chemical reaction and X-ray crystallographic analysis. Spegiatrine was shown to be an α -adrenergic blocking agent and verticillatine exhibited ganglionic blocking effect.

Key words *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. *f. rubrocarpa* H. T. Chang. mss.; Apocynaceae; Sarpagine-type alkaloids; Verticillatine