

萝芙木化学成分的分离与鉴定

李文静^{1*}, 洪博¹, 赵春杰^{2#}(1. 齐齐哈尔医学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 沈阳药科大学, 沈阳 110016)

中图分类号 R284.1; R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0256-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.23

摘要 目的: 对萝芙木的化学成分进行分离与鉴定。方法: 采用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和重结晶等多种分离方法对萝芙木的氯仿层提取物进行分离, 并依据理化性质和波谱数据鉴定其化学结构。结果: 从萝芙木的氯仿层提取物中分离得到8个化合物, 分别鉴定为邪蒿素(1)、花椒树皮素甲(2)、丁香脂素(3)、胡萝卜苷(4)、利血平(5)、育亨宾(6)、阿马里新(7)、哈尔满(8)。其中, 化合物1、2、4为首次从该属植物中分离得到。结论: 本试验结果可为萝芙木的进一步研究提供依据。

关键词 萝芙木; 化学成分; 分离; 结构鉴定

Isolation and Identification of Chemical Constituents from *Rauvolfia verticillata*

LI Wen-jing¹, HONG Bo¹, ZHAO Chun-jie²(1. Qiqihar Medical University, Heilongjiang Qiqihar 161006, China; 2. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To isolate and identify chemical constituents of *Rauvolfia verticillata*. METHODS: The extracts of chloroform layer were isolated by chromatography on silica gel column, gel column and recrystallizing methods. The structures of these compounds were identified by the physicochemical property and NMR spectroscopic data. RESULTS: 8 compounds were isolated from chloroform extracts of *R. verticillata*, such as seselin (1), xanthyletin (2), syringaresinol (3), daucosterol (4), reserpine (5), yohimbine (6), ajmalicine (7) and harman (8). Compounds 1, 2, 4 were isolated from a plant of this genus for the first time. CONCLUSION: The trial can provide reference for further study of *R. verticillata*.

KEY WORDS *Rauvolfia verticillata*; Chemical constituent; Isolation; Structural identification

由图2可以看出, 大黄饮片在正常贮藏条件下放置6个月, 其主要化学成分含量均有不同程度的下降, 其中以大黄素甲醚损失最大(损失51.17%), 损失最小的为芦荟大黄素(损失27.11%); 大黄饮片在辐照以后各主要成分含量均有所下降, 其中以大黄素甲醚损失较大(损失15.37%), 其他几种化学成分含量变化较小。在饮片放置6个月后其主要化学成分含量较之前均有所下降, 其中辐照后贮藏的饮片含量下降程度除大黄素甲醚外均小于未辐照的饮片, 说明辐照后大黄饮片的化学成分较辐照前稳定; 而大黄素甲醚在辐照前后放置一段时间含量没有太大变化, 说明大黄素甲醚本身稳定性较差, 在贮藏的同时就会有部分损失, 射线对其影响较大。

3 讨论

⁶⁰Co- γ 辐照是将物品置于放射性同位素⁶⁰Co放射的 γ 射线中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法, 可杀灭微生物和芽孢, 不升高产品温度, 穿透力强, 灭菌效率高, 在热敏性物料和制剂灭菌中广泛适用。但其设备费用较高, 对操作人员存在潜在的危险性, 用于辐照灭菌时应注意安全防护措施^[4-5]。

在2010年版《中国药典》中大黄含量测定项下规定以5种蒽醌化合物作为大黄总蒽醌含量的评价指标, 故本试验从该5种化合物的含量变化来研究⁶⁰Co- γ 射线对大黄饮片的影响, 放

大了每个成分的变化细节, 更有助于分析射线对化学成分的影响。研究中发现, 大黄饮片在经过⁶⁰Co- γ 射线辐照以后, 其主要化学成分含量均有不同程度的降低, 因此在含有大黄为检测指标的制剂中应特别注意射线对其成分的影响。

研究中还发现, 经⁶⁰Co- γ 射线辐照后的饮片和未经辐照的饮片同时放置一段时间后, 其主要成分的含量虽都呈现下降趋势, 但以未辐照饮片中化学成分含量下降较为明显, 这可能是由于饮片中含有的分解酶类成分经高能射线辐照以后变性失活, 延长了饮片的贮藏时间。中药中的化合物是一个复杂的群体, 在应用高能射线灭菌时, 性质各异的化合物的稳定性将受到不同程度的影响, 故对灭菌后的制剂应重新对其检测指标进行定量分析, 确保指标含量在国家标准范围内。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 22.
- [2] 许世霞. RP-HPLC法测定神曲胃痛胶囊中大黄素、大黄酚的含量[J]. 中国药房, 2008, 19(18): 1411.
- [3] 钱木水, 韩鹏, 叶兴发. HPLC法测定妇炎洁洗液中 1 大黄素与 1 大黄酚的含量[J]. 西北药学杂志, 2009, 24(4): 264.
- [4] 彭晓霞, 张振巍. 二次正交旋转组合设计法优化赤芍醇提工艺[J]. 中药材, 2010, 33(6): 991.
- [5] 彭晓霞, 张振巍. 赤芍药材辐照前后芍药苷含量变化研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(3): 522.

(收稿日期: 2012-09-19 修回日期: 2012-11-16)

* 助教, 硕士。研究方向: 中药化学成分及质量标准。E-mail: bohong200630174@163.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师。研究方向: 中西药质量及药动学。E-mail: zcjilj@sina.com

萝芙木为夹竹桃科植物萝芙木 *Rauvolfia verticillata* (Lour.) Baill. 的根, 又名山辣椒、山马蹄、萝芙藤等。在传统中医药中, 萝芙木具有降压、镇静、活血、止痛、清热解毒之功效, 很早就民间用于治疗高血压、头晕、失眠、癫痫、头痛、斑痧、发热、蛇咬伤、跌打损伤等症。根据文献报道^[1-2], 治疗高血压病的“降压灵”的原料即为萝芙木根中总生物碱提取物, 其主要成分之一的利血平具有降血压作用, 其他生物碱如利血胺、坎尼生、罗尼生、蛇根亭守、萝芙甲素等也有降压作用。我国对萝芙木属植物的研究甚少, 化学成分仅报道了有单萜类生物碱40多种, 约占萝芙木总成分质量的0.89%~2.74%, 熊果酸占0.2%, 应该还有大量的生物碱或是其他类活性成分有待发掘。笔者意图对萝芙木中化学成分进行全面系统的研究, 故采用多种色谱分离方法对萝芙木的氯仿层进行了初步分离, 通过硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和重结晶等方法从中分离得到了8个化合物(化学结构式见图1), 并根据其理化性质和波谱数据及分别与参考文献对照进行鉴定, 其中化合物1、2、4为首次从该属植物中分离得到。

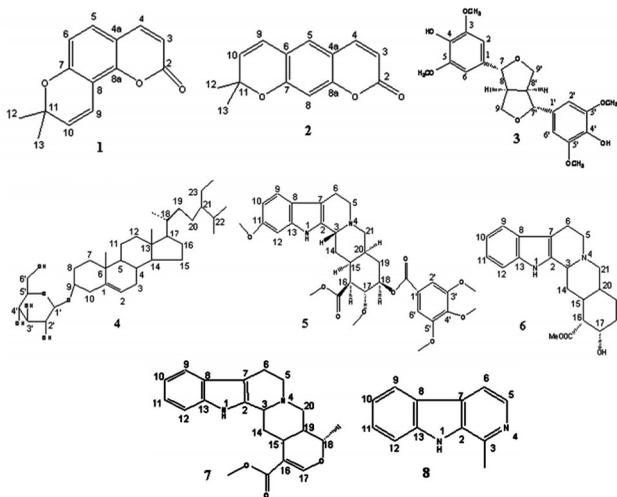


图1 化合物1~8的结构式

1. 邪蒿素; 2. 花椒树皮素甲; 3. 丁香脂素; 4. 胡萝卜苷; 5. 利血平; 6. 育亨宾; 7. 阿马里新; 8. 哈尔满

Fig 1 Structures of compounds 1-8

1. seselin; 2. xanthyletin; 3. syringaresinol; 4. daucosterol; 5. reserpine; 6. yohimbine; 7. ajmalicine; 8. harman

1 材料

1.1 仪器

ARX-300型核磁共振光谱(NMR)仪(以TMS为内标, 瑞士Bruker公司); 柱色谱用硅胶和薄层色谱(TLC)硅胶G、H、GF₂₅₄(青岛海洋化工有限公司); 凝胶Sephadex LH-20(瑞典Pharmacia公司)。

1.2 试剂

氯仿、甲醇、石油醚、丙酮、乙醇、乙酸乙酯、正丁醇(分析纯, 山东禹王实业有限公司化工分公司); 氘代氯仿、吡啶(美国剑桥同位素实验室); 水为蒸馏水。

1.3 药材

萝芙木于2008年采自云南元阳县, 由沈阳药科大学贾明教授鉴定为萝芙木 *R. verticillata* (Lour.) Baill. 的根, 阴干存放于实验室。

2 提取与分离

取萝芙木药材12 kg, 适当切碎, 加入6倍量75%乙醇浸泡一晚, 加热回流提取4次, 每次3 h; 合并滤液后蒸干得浸膏约2.0 kg, 用水分散后依次用3倍量的石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 萃取液减压浓缩得4个萃取部分。取氯仿萃取物约200 g, 经反复硅胶柱色谱、凝胶柱色谱和重结晶等方法分离纯化, 从氯仿-甲醇系统的100:1(V/V)部分分离得到化合物1(12 mg)、2(25 mg)、3(17 mg), 从100:5(V/V)部分分离得到化合物4(20 mg), 从100:3部分分离得到化合物5(19 mg)、6(14 mg)、7(50 mg)、8(5 mg)。

3 结构鉴定

化合物1(C₁₄H₂₂O₃): 无色方晶(丙酮), mp 119~120 °C, 365 nm紫外光灯下显绿色荧光, 薄层板上喷10%的硫酸-乙醇溶液后显黄色斑点。紫外光谱(UV)λ_{max}(MeOH) nm: 262, 326。红外光谱(IR)(KBr) cm⁻¹: 1 710, 1 680(C=O); 1 600, 1 580, 1 512(Ar-C)。电喷雾质谱(ESI-MS)(m/z): 228[M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 7.60(1H, d, J=9.5 Hz, H-4), 7.21(1H, d, J=8.4 Hz, H-5), 6.88(1H, d, J=10.1 Hz, H-9), 6.72(1H, d, J=8.4 Hz, H-6), 6.23(1H, d, J=9.5 Hz, H-3), 5.73(1H, d, J=10.1 Hz, H-10), 1.48(6H, s, 2-CH₃)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 161.0(C-2), 156.3(C-7), 150.1(C-8a), 143.9(C-4), 130.7(C-5), 127.7(C-10), 115.0(C-9), 113.5(C-6), 112.6(C-3), 112.6(C-4a), 109.3(C-8), 77.6(C-11), 28.1(2-CH₃)。以上数据与参考文献^[3]报道一致, 故鉴定该化合物为邪蒿素(seselin)。

化合物2(C₁₄H₂₂O₃): 棱柱状无色结晶(丙酮), mp 131~132 °C, 254 nm紫外光灯下显蓝色荧光, 薄层板上喷10%的硫酸-乙醇溶液后显蓝绿色斑点。UVλ_{max}(MeOH) nm: 324。IR(KBr)cm⁻¹: 1 703, 1 690(C=O); 1 605, 1 512(Ar-C)。ESI-MS(m/z): 228[M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 7.59(1H, d, J=9.5 Hz, H-4), 7.05(1H, s, H-5), 6.72(1H, s, H-8), 6.34(1H, d, J=9.9 Hz, H-10), 5.69(1H, d, J=9.9 Hz, H-9), 5.67(1H, d, J=9.5 Hz, H-3), 1.47(6H, s, 2-CH₃)。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 161.2(C-2), 156.8(C-8a), 155.4(C-7), 143.3(C-4), 131.2(C-10), 124.7(C-9), 120.8(C-6), 118.5(C-5), 113.0(C-3), 112.7(C-4a), 104.4(C-8), 77.7(C-11), 28.3(2-CH₃)。以上数据与参考文献^[4]报道一致, 故鉴定该化合物为花椒树皮素甲(xanthyletin)。

化合物3(C₂₂H₂₆O₃): 白色结晶(丙酮), mp 180~182 °C, 254 nm紫外光灯下显暗斑, 薄层板上喷10%的硫酸-乙醇溶液后显紫色斑点。UVλ_{max}(MeOH) nm: 237, 272。IR(KBr)cm⁻¹: 3 440(OH), 1 615, 1 520(芳环)。EI-MS(m/z): 418[M]⁺。¹H-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 6.58(4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.73(2H, d, J=4.2 Hz, H-7, 7'), 4.28(2H, dd, J=9.0, 6.9 Hz, H-9e, 9' e), 3.90(12H, s, 4-OCH₃), 3.90(2H, H-9a, 9' a), 3.10(2H, m, H-8, 8')。 ¹³C-NMR(CDCl₃, 300 MHz): 147.1(C-3, 3', 5, 5'), 134.3(C-4, 4'), 132.1(C-1, 1'), 102.7(C-2, 2', 6, 6'), 86.1(C-7, 7'), 71.8(C-9, 9'), 56.4(4-OCH₃), 54.3(C-8, 8')。以上数据与参考文献^[5]报道一致, 故鉴定该化合物为丁香脂素(syringaresinol)。

化合物4(C₃₆H₆₀O₆): 灰白色粉末(甲醇), mp 286~289 °C, 紫外光灯下无暗斑, 薄层板上喷10%的硫酸-乙醇溶液后显紫红色斑点。IR(cm⁻¹): 3 415(-OH), 1 643(C=O), 1 022(C-O)。电子轰击质谱(EI-MS)(m/z): 414[M-Glu]⁺, 396

[M-Glu-H₂O]⁺。¹H-NMR (Pyridine-*d*₅, 300 MHz): 5.33 (1H, m, H-2), 4.79 (1H, m, H-1'), 3.99~4.55 (6H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 高场区信号较多, 其中 0.64~1.05 (18H, m, 6-CH₃), 2.72 (1H, m, H-9), 2.46, 2.08 (2H, m, H-10)。¹³C-NMR (Pyridine-*d*₅, 300 MHz): 140.9 (C-1), 121.9 (C-2), 102.6 (C-1'), 78.6 (C-9), 78.5 (C-5'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 75.4 (C-2'), 62.9 (C-6'), 56.9 (C-14), 56.3 (C-17), 50.4 (C-5), 46.1 (C-21), 42.5 (C-13), 40.0 (C-10), 39.4 (C-12), 37.5 (C-6), 37.0 (C-7), 36.4 (C-18), 34.2 (C-19), 32.2 (C-3), 32.1 (C-4), 30.3 (C-22), 30.1 (C-8), 28.6 (C-20), 26.3 (C-15), 24.5 (C-16), 23.4 (C-23), 21.4 (C-11), 21.3, 20.0 (C₂₂-2-CH₃), 19.5 (C₁₅-CH₃), 19.2 (C₆-CH₃), 12.2 (C₂₃-CH₃), 12.0 (C₁₃-CH₃)。通过 TLC 分析检测, 该化合物 R_f 值与胡萝卜苷对照品基本一致, 故鉴定该化合物为胡萝卜苷 (daucosterol)。

化合物 5 (C₃₃H₄₀N₂O₉): 无色粒晶 (丙酮), mp 264~265 °C, 365 nm 紫外光灯下显绿色荧光, 薄层板上喷 10% 的硫酸-乙醇溶液后显棕红色斑点, 喷碘化铋钾后显桔黄色斑点。IR (cm⁻¹): 3 304 (-NH), 2 968, 2 941 (-OCH₃)。ESI-MS (*m/z*): 608[M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.62 (1H, s, -NH), 7.34 (3H, m, H-9, 2', 6'), 6.85 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-12), 6.78 (1H, dd, *J*=8.5, 2.1 Hz, H-10), 5.06 (1H, m, H-3), 4.49 (1H, s, H-18), 3.93 (9H, s, -OCH₃), 3.83 (6H, s, -OCH₃), 3.51 (3H, s, -OCH₃), 3.19 (2H, m, H-5β, 21β), 3.05 (1H, m, H-5α), 2.70 (1H, dd, *J*=11.1, 4.6 Hz, H-6α)。¹³C-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 172.8 (C₁₆-C=O), 165.4 (C₁₇-C=O), 156.2 (C-11), 152.9 (C-3', 5'), 136.3 (C-13), 130.2 (C-2), 125.3 (C-1'), 122.1 (C-8), 118.5 (C-9), 109.0 (C-10), 108.0 (C-7), 106.8 (C-2', 6'), 95.2 (C-12), 77.9 (C-17), 77.8 (C-18), 60.9 (C-4'), 60.7 (C₁₇-OCH₃), 56.2 (C_{3'}-OCH₃), 55.8 (C₁₁-OCH₃), 53.7 (C-3), 53.7 (C₄-OCH₃), 51.7 (C-5), 51.7 (CO-OCH₃), 51.2 (C-16), 49.0 (C-21), 34.0 (C-20), 32.2 (C-15), 29.7 (C-19), 24.3 (C-14), 16.8 (C-6)。以上数据与参考文献^[6]报道一致, 故鉴定该化合物为利血平 (reserpine)。

化合物 6 (C₂₁H₂₆N₂O₃): 黄色粉末 (丙酮), mp 240~242 °C, 紫外光灯下有暗斑, 薄层板上喷 10% 的硫酸-乙醇溶液后显灰紫色斑点, 喷碘化铋钾后显黄色斑点。IR (cm⁻¹): 3 310 (-NH), 1 612, 1 518 (Ar-C)。ESI-MS (*m/z*): 354[M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 7.77 (1H, s, -NH), 7.47 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-9), 7.31 (1H, d, *J*=7.5 Hz, H-12), 7.06~7.16 (2H, m, H-10, 11), 4.23 (1H, s, H-17), 3.82 (3H, s, -OCH₃), 3.34 (1H, d, *J*=11.1 Hz, H-3), 2.94~3.12 (4H, m, C-6β, 21α, 21β, 5α), 2.74 (1H, m, H-6α), 2.59~2.69 (2H, m, H-5β, 16α), 2.36 (1H, m, H-15), 1.98~2.29 (2H, m, H-18α, 19β), 1.35~1.58 (2H, m, H-18β, 19α)。¹³C-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 175.6 (C=O), 136.0 (C-13), 134.4 (C-2), 127.3 (C-8), 121.4 (C-11), 119.4 (C-10), 118.1 (C-9), 110.7 (C-12), 108.2 (C-7), 66.9 (C-17), 61.3 (C-21), 59.9 (C-3), 52.9 (C-5), 52.3 (C-16), 51.9 (-OCH₃), 40.7 (C-20), 36.7 (C-15), 34.2 (C-14), 31.4 (C-18), 23.3 (C-19), 21.7 (C-6)。以上数据与参考文献^[7]报道一致, 故鉴定该化合物为育亨宾 (yohimbine)。

化合物 7 (C₂₁H₂₄O₃N₂): 无色针晶 (甲醇), mp 290~291 °C, 紫外光灯下有暗斑, 薄层板上喷 10% 的硫酸-乙醇溶液后显紫红色斑点, 喷碘化铋钾后显淡桔黄色斑点。IR (cm⁻¹): 3 308

(-NH), 1 615 (Ar-C)。ESI-MS (*m/z*): 352[M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 8.03 (1H, s, -NH), 7.53 (1H, d, *J*=1.4 Hz, H-17), 7.46 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-9), 7.29 (1H, d, *J*=7.7 Hz, H-12), 7.05~7.16 (2H, m, H-10, 11), 4.42 (1H, m, H-3), 3.74 (3H, s, -OCH₃), 1.18 (3H, d, -CH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 167.7 (C=O), 154.7 (C-17), 135.9 (C-13), 134.4 (C-2), 127.3 (C-8), 121.4 (C-11), 119.3 (C-10), 118.0 (C-9), 110.8 (C-12), 107.8 (C-16), 106.6 (C-7), 73.7 (C-18), 60.1 (C-3), 56.9 (C-20), 51.0 (-OCH₃), 53.2 (C-5), 41.0 (C-19), 32.9 (C-14), 30.6 (C-15), 21.8 (C-6), 14.9 (C₁₈-CH₃)。以上数据与参考文献^[8]报道一致, 故鉴定该化合物为阿马里新 (ajmalicine)。

化合物 8 (C₁₂H₁₀N₂): 无色针晶 (丙酮), mp 230~232 °C, 365 nm 紫外光灯下显蓝色荧光, 碘化铋钾反应呈阳性。IR (cm⁻¹): 3 312 (-NH), 1 613, 1 515 (Ar-C)。ESI-MS (*m/z*): 182[M]⁺。¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 8.75 (1H, s, -NH), 8.37 (1H, d, *J*=5.3 Hz, H-5), 8.12 (1H, d, *J*=7.9 Hz, H-9), 7.83 (1H, d, *J*=5.3 Hz, H-6), 7.55 (2H, m, H-11, 12), 7.31 (1H, m, H-10), 2.84 (3H, -CH₃)。 ¹³C-NMR (CDCl₃, 300 MHz): 141.7 (C-3), 140.2 (C-13), 138.4 (C-5), 134.6 (C-2), 128.4 (C-10), 128.2 (C-8), 122.0 (C-7), 121.8 (C-9), 112.9 (C-6), 120.1 (C-11), 112.9 (C-12), 20.2 (-CH₃)。以上数据与参考文献^[9]报道一致, 故鉴定该化合物为哈尔满 (harman)。

4 讨论

萝芙木中的成分除了吲哚类生物碱以外, 其他类型的化合物很少有文献报道。本文所报道的化合物只是对萝芙木分离初期得到的氯仿层进行分离的结果, 远远不能代表其成分组成, 故笔者还将继续对萝芙木中的化学成分进行分离提纯。

参考文献

- [1] 霍秀敏, 刘国和. 对抗高血压药: 降压灵的评价[J]. 天津药学, 2002, 14(5): 64.
- [2] 伍小燕, 蒙万香, 王进声, 等. 四叶萝芙木和催吐萝芙木的显微鉴别研究[J]. 中国药房, 2010, 21(43): 4 097.
- [3] Patra A, Mitra AK. Carbon-¹³NMR signals of some natural coumarins and their derivatives[J]. *Org Magn Reson*, 1981, 17(3): 222.
- [4] Nicoletti M, Delle MF, Marini B, et al. Carbon-13 spectral data of prenylated coumarins[J]. *Planta Medica*, 1982, 45(4): 250.
- [5] 李敏华, 俞世杰, 杜上鑑. 岗梅根化学成分的研究[J]. 中草药, 1997, 28(8): 454.
- [6] Yu DQ, Yang JS. *Analytic Chemistry Handbook*[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1999: 256.
- [7] Yu DQ, Yang JS. *Analytic Chemistry Handbook*[M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 1999: 703.
- [8] Levin RH, Lallemand JY, Roberts JD. Nuclear magnetic resonance spectroscopy. Application of pulse and Fourier transform carbon-13 nuclear magnetic resonance techniques to structure elucidation. *Rauwolfia alkaloids* [J]. *J Org Chem*, 1973, 38(71): 1 983.
- [9] Li L, He HP, Zhou H, et al. Indole alkaloids from *Rauwolfia vomitoria*[J]. *Nat Prod Res Dev*, 2007, 19(2): 235.

(收稿日期: 2012-01-07 修回日期: 2012-05-03)