

鸡骨常山根中的一个新吲哚生物碱

赖奇, 段云凤, 马燕华, 杨春菊, 庄敏, 吕典, 尹俊林*, 曾广智*

云南民族大学民族医药学院 民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 昆明 650500

摘要: 利用硅胶柱色谱、凝胶色谱、重结晶、HPLC 等方法对鸡骨常山根进行化学成分研究, 并通过现代波谱分析方法, 用 MS, NMR 进行化合物结构鉴定。从鸡骨常山 (*Alstonia yunnanensis* Diels) 根中分离得到 5 个化合物, 分别为 17-amino-acetoxy-sarpagane (**1**)、tetrahydroalstonine (**2**)、vinorine (**3**)、17-acetylsarpagine (**4**)、vellosimine (**5**)。其中化合物 **1** 为新的吲哚生物碱, 化合物 **3**、**5** 有一定的细胞毒活性。

关键词: 夹竹桃科; 鸡骨常山; 吲哚生物碱; 细胞毒活性

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)4-0607-05

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.4.010

A new indol alkaloid from the root of *Alstonia yunnanensis*

LAI Qi, DUAN Yun-feng, MA Yan-hua, YANG Chun-ju,
ZHUANG Min, LYU Dian, YIN Jun-lin*, ZENG Guang-zhi*

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education; School of Ethnic Medicine, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: To study chemical constituents of the root of *Alstonia yunnanensis* Diels. Five compounds were obtained by means of silica column chromatography, gel chromatography and recrystallization. Based on the modern spectral analysis methods such as mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR), the structures of these compounds were identified as 17-amino-acetoxy-sarpagane (**1**), tetrahydroalstonine (**2**), vinorine (**3**), 17-acetylsarpagine (**4**) and Vellosimine (**5**), respectively. Compound **1** was a new indole alkaloid. Compounds **3** and **5** showed cytotoxic activity against tumor cells.

Key words: Apocynaceae; *Alstonia yunnanensis* Diels; indole alkaloids; cytotoxic activity

夹竹桃科 (Apocynaceae) 是热带区植物主要类型之一, 全世界大约有 250 属, 2 000 余种, 广泛分布在亚热带与热带地区。鸡骨常山 (*Alstonia yunnanensis* Diels) 为夹竹桃科鸡骨常山属直立灌木。该属植物还有大叶糖胶树, 岩生羊角棉, 糖胶树, 黄花羊角棉, 羊角棉^[1]。其中鸡骨常山为中国特有种, 主要分布于云南省^[2], 贵州省, 广西等地。民间常用其根治头痛、发热、降压, 外用具有消肿的作用。鸡骨常山化学成分主要为单吲哚类生物碱, 如利血平、蛇根精、霹雳萝芙因等^[3-7]。宫颈癌为威胁女性健康的重要疾病, 是人类面临的重大公共安全卫生问题^[8]。天然产物中不乏抗肿瘤药物的明星分子, 如紫杉醇类、长春花类化合物^[9]。本课题组, 在前

期的调查研究中发现, 鸡骨常山根的总碱具有一定的抗肿瘤作用^[10,11], 为了从中发掘活性较好的单体化合物, 我们对鸡骨常山的根部开展了化学成分研究。

1 仪器与材料

1.1 仪器和试剂

核磁共振仪 Bruker AV400 MHz (Bruker, 美国); 1810 傅里叶 (KBr 压片) 变换红外光谱仪 (尼高力, 美国); X-4 显微熔点测试仪 (巩义市予华仪器有限责任公司, 中国); Autopol V plus 鲁道夫高精度旋光仪 (鲁道夫, 美国); Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (GE Healthcare, 美国); 柱色谱级使用硅胶 (100 ~ 200、200 ~ 300、300 ~ 400 目) 及 GF254 薄层色谱硅胶板 (青岛海洋化工厂, 中国); Waters AutoSpec Premier P776 高分辨磁质谱仪 (Waters, 美国); 提取和分离过程中所涉及到的化学试剂均为分析纯 (上海科技

收稿日期: 2020-07-02 接受日期: 2021-01-21

基金项目: 国家自然科学基金 (31760095, 81960639, 21768005)

* 通信作者 Tel: 86-871-65946920; E-mail: yinjunlin1979@sina.com, g.zheng@163.com

股份有限公司,中国)。Thermo Scientific 3425 二氧化碳细胞培养箱(Thermo Scientific,美国);Molecular devices Spectra Maxi3x 型酶标仪(Molecular devices, 美国);Agilent 6420 三重四极杆 LC-MS(Agilent, 美国);DMEM 高糖完全培养基、胎牛血清(FBS)、谷氨酰胺 Glutamine 均购买于(Biological Industries, 以色列);磺罗丹明 B(SRB)(上海阿拉丁试剂有限公司, 中国)。

1.2 材料

药材鸡骨常山产自云南临沧市永德县,经昆明采智公司采集植物样品并进行鉴定,植物标本保存于云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室。细胞 Hela(人宫颈癌细胞)源自于中国科学院的上海细胞库。

2 实验方法

2.1 提取与分离

干燥的鸡骨常山根 2.91 kg,经过粉碎加工后,用 95% 工业甲醇冷浸提取 3 次。将 3 次甲醇提取液通过减压浓缩合并,得到根部的浸膏为 150 g。将该浸膏混悬于适量的水中,先用适量分析纯石油醚萃取得到石油醚部分 15 g,后用冰醋酸将混悬液体调至 pH 为 3~4,使用分析纯的乙酸乙酯萃取得到 A 部分 32 g,再用氨水将萃取后的混悬液调至 pH 为 10 左右,分析纯乙酸乙酯萃取得到 B 部分为 7.2 g。将 B 部分用 60~100 目硅胶 50 g 拌样然后进行硅胶柱正向柱色谱,洗脱剂的梯度系统为石油醚-乙酸乙酯(50:1)至纯乙酸乙酯再到二氯甲烷-甲醇(50:1)到纯甲醇,TLC 检测后合并极性大概相同组分,合并后得到了 5 个组分,分别标记为 Fr. 1~Fr. 5。取 Fr. 1 部分(1.2 g)用正相硅胶柱进行色谱分离,按照石油醚-乙酸乙酯(30:1→10:1)作为流动相梯度洗脱,每 200 mL 一个馏分,经 TLC 检测后合并展板位置相同组分,得到化合物 2(120 mg)。Fr. 2 经正相硅胶柱及 Sephadex LH-20 色谱分离,再进一步经硅胶柱色谱柱分离纯化得化合物 5(100 mg)。Fr. 3 部分纯甲醇溶解经纯甲醇体系凝胶分离后,再用硅胶柱色谱分离,流动相为乙酸乙酯,得化合物 3(400 mg)。Fr. 4 部分用硅胶色谱分离,流动相为氯甲(50:1→10:1),再经过 HPLC 甲醇-水(50:50→40:60)30 min 得到化合物 1(23 mg)和化合物 4(12 mg),见图 1。

2.2 抗肿瘤活性筛选

选择对数生长期的 Hela 细胞,用含 10% FBS

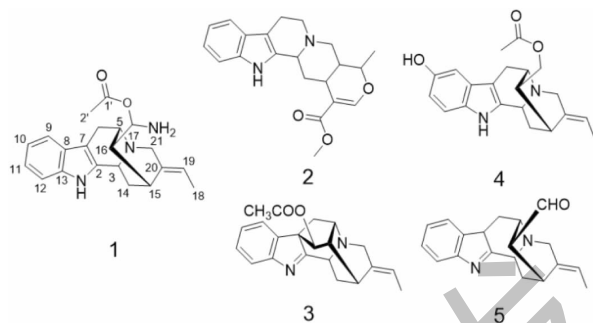


图 1 鸡骨常山中分离得到的化合物

Fig. 1 Compounds isolated from the *A. yunnanensis*

的 DMEM 培养基制成悬液,每孔 5 000 细胞均匀接种于 96 孔板中,每孔体积 100 μ L,培养 24 h 至细胞完全贴壁。将分离得到的化合物用 DMSO 配置成 10 mM 的储备液,细胞贴壁后每孔加入相应浓度待测化合物继续培养 48 h。完成培养后,每孔添加 20% 三氯乙酸 25 μ L 在 4 $^{\circ}$ C 冰箱固定 1 h,去除固定液,室温 1% 磺酰罗丹明 B(SRB)染色 1 h,1% 醋酸清洗 96 孔板 4 次,自然风干 24 h 后每孔添加 10mM 的 Tris 溶液 100 μ L 至完全溶解,然后在多功能酶标仪 490~520 nm 波长处检测其 OD 值,并用 Graph-Pad Prism 8 对数据进行统计分析,并作出图表。实验独立重复 3 次,每组 6 个副孔。

3 实验结果

3.1 化合物结构鉴定

化合物 1 白色固体(甲醇),HR-ESI-MS: m/z 352.201 9 [M + H]⁺ (calcd for C₂₁H₂₆N₃O₂, 352.202 0),推测该化合物分子式为 C₂₁H₂₅N₃O₂,不饱和度为 11;熔点为 278~282 $^{\circ}$ C;旋光度为 0。IR(KBr): 3 413, 2 361, 1 638, 1 618, 1 400, 1 262, 1 121, 1 067, 953, 617, 515 cm^{-1} ;红外光谱显示该化合物含有氨基(3 413 cm^{-1})和酯羰基官能团(1 638 cm^{-1}),吡啶环(1 618, 1 400 cm^{-1})。化合物 1 的 ¹³C NMR 和 DEPT 谱显示该物质含有 21 个碳,分别为 2 个甲基(其中一个为乙酰基上的甲基 δ 22.8,一个末端甲基信号 δ 12.9),3 个亚甲基(δ 28.3, 34.6, 56.5),10 个次甲基(δ 28.6, 46.8, 51.5, 57.0, 76.6, 111.9, 118.3, 118.7, 119.8, 122.1),6 个季碳(δ 104.2, 128.7, 130.3, 135.0, 138.6, 173.3)。化合物 1 与文献报道的 vellosiminol^[12] 相比较,两者波谱数据极为相似,具有单萜吡啶生物碱的特征,推测该化合物为一个具有(5,15)桥环单萜吡啶生物碱;这两个化合物不同之处在于: 化合物 1 在 C-17 上连接有一个乙酰

基(δ 173.3、22.8)和一个氨基(IR:3 413 cm^{-1}),根据 Scifinder 检索,推测该化合物为新的单萜吲哚生物碱。由于提取分离过程中使用了氨水和乙酸,同

时天然产物中氮氧杂缩醛类化合物较少^[13,14],因此推测化合物 **1** 可能为分离过程中化合物 **5** 和氨水乙酸反应得到的产物。

表 1 化合物 **1** 的 NMR 数据(400 MHz 和 100 MHz, CDCl_3)

Table 1 NMR data of compound **1** (400 MHz and 100 MHz, CDCl_3)

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
2	-	138.3	14a	2.14 ~ 2.05 (1H, m)	34.6
3	4.21 (1H, d, 8.0)	51.5	14b	1.83 ~ 1.77 (1H, overlap)	34.6
5	3.18 (1H, t, 5.0, 6.1)	57.0	15	2.73 (1H, t, 1.8)	28.6
6	3.08 ~ 2.94 (2H, m)	28.3	16	1.83 ~ 1.77 (1H, overlap)	46.8
7	-	104.2	17	5.08 (1H, d, 10.1)	76.6
8	-	128.7	18	1.51 (3H, d, 6.8)	12.9
9	7.40 (1H, d, 7.7)	118.7	19	5.43 (1H, q, 6.7)	118.3
10	6.92 (1H, t, 7.9, 7.2)	119.8	20	-	135.0
11	7.05 (1H, t, 7.7, 7.1)	122.1	21	3.56 ~ 3.67 (2H, m)	56.5
12	7.29 (1H, d, 8.0)	111.9	1'	-	173.3
13	-	138.6	2'	1.9 (3H, s)	22.8

在化合物 **1** 的 ^1H - ^1H COSY 谱中(图 2), H_3 -18 与 H-19 相关说明 C-18 与 C-19 相连接; H-17 与 H-16 相关说明 C-17 和 C-16 相连。而 H_2 -14 与 H-3 和 H-15 相关,说明 C-3, C-14 和 C-15 彼此相连。H-5 与 H_2 -6 相关,说明 C-5 与 C-6 相连。H-16 与 H-5 和 H-15 相关,说明 C-16 与 C-15 和 C-5 相连。在化合物 **1** 的 HMBC 谱中(图 2), H_3 -18 (δ 1.5) 甲基质子信号与季碳 C-20 (δ 135.0) 和 C-19 (δ 118.3) 信号相关,说明 C-18 与 C-19 和 C-20 彼此相连接; H_3 -2' (δ 1.5) 甲基质子信号和羰基碳 C-1' (δ 173.3) 信号相关,说明 C-2' 和 C-1' 相连接。H-17 (δ 5.0) 信号与 C-1' (δ 173.3) 信号相关,说明 C-17 通过氧原子与 C-1' 相连。H-17 (δ 5.0) 信号还与 C-16 (δ 46.8) 信号相关说明 C-17 和 C-16 相连。H-9 (δ 7.4) 信号与次甲基信号 C-8 (δ 138.6)、C-7 (δ 104.2) 信号相关,所以 C-9 和 C-8 相连, C-8 和 C-7 相连。为了确定化合物 **1** 相对立体构型,测定了化合物 **1** 的 NOESY 相关图谱(图 2),在化合物 **1** 的 NOESY 相关图谱(图 2)中, H-3 与 H-15 相关, H-3 与 H-16 相关, H-16 与 H-15 相关,说明这些质子朝向相同,定义为 β 构型, H-5 和 H-15 或 H-3 无直接相关,因此 H-5 朝向定义为 α 构型,这种结构,环系张力最小。H-19 的耦合常数为 6.7, 化合物 vellosimanol^[12] 耦合常数为 7, 两者几乎一致,说明该烯烃(C-19、C-20)为顺式构型。

化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载(www.trew.ac.cn)。

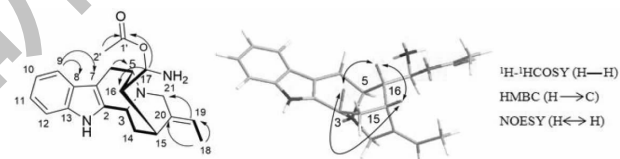


图 2 化合物 **1** 的主要 ^1H - ^1H COSY, HMBC, NOESY 相关

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC, NOESY correlations of compound **1**

化合物 **2** 白色或微黄色固体; 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$, ESI-MS: m/z 352 [M]⁺; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.90 (1H, s, N-H), 7.57 (1H, s, H-17), 7.44 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-9), 7.20 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-12), 7.14 ~ 7.05 (2H, m, H-10, 11), 4.53 ~ 4.47 (1H, m, H-19), 3.75 (3H, s, H-23), 3.35 (1H, d, J = 11.5 Hz, H-3), 3.11 (1H, dd, J = 12.3, 1.9 Hz, H-21), 2.99 ~ 2.88 (6H, overlap, H-5, 6, 15, 21), 2.58 ~ 2.50 (2H, overlap, H-5, 14), 1.70 (1H, m, H-20), 1.54 (1H, dd, J = 24.6, 12.1 Hz, H-14), 1.41 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-18); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 168.0 (C-22), 155.8 (C-17), 135.9 (C-13), 134.5 (C-2), 127.1 (C-8), 121.3 (C-11), 119.3 (C-10), 118.0 (C-9), 110.8 (C-12), 109.5 (C-

16), 108.0 (C-7), 72.5 (C-19), 59.8 (C-3), 56.2 (C-21), 53.5 (C-5), 51.2 (C-23), 38.3 (C-20), 34.1 (C-14), 31.4 (C-15), 21.7 (C-6), 18.5 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[15], 鉴定其为 tetrahydroalstonine。

化合物 3 透明油状; 分子式 $C_{21}H_{22}N_2O_2$, ESI-MS: m/z 335 $[M+H]^+$, 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.62 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-9), 7.45 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 7.39 (1H, td, $J = 7.7, 1.3$ Hz, H-11), 7.22 (1H, td, $J = 7.5, 1.0$ Hz, H-10), 5.31 (1H, q, $J = 6.7$ Hz, H-17), 2.17 (3H, s, H-16), 1.67 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-23); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 183.7 (C-3), 169.9 (C-22), 156.6 (C-13), 137.9 (C-8), 136.4 (C-18), 128.6 (C-11), 125.4 (C-10), 123.8 (C-9), 120.9 (C-12), 115.6 (C-17), 77.7 (C-7), 64.4 (C-3), 58.03 (C-20), 56.1 (C-21), 54.1 (C-19), 49.0 (C-5), 37.3 (C-6), 27.5 (C-15), 26.4 (C-14), 21.1 (C-23), 12.9 (C-16)。以上数据与文献报道一致^[16], 鉴定其为 vinorine。

化合物 4 白色固体; 分子式 $C_{21}H_{24}N_2O_3$, ESI-MS: m/z 353 $[M+H]^+$, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.46 (1H, s, Ar-OH), 8.54 (1H, s, N-H), 7.06 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-12), 6.67 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-9), 6.51 (1H, dd, $J = 9.0, 2.1$ Hz, H-11), 3.94 (2H, d, $J = 10.1$ Hz, H-17), 1.98 (3H, s, H-23), 1.53 (3H, d, $J = 7.1$ Hz, H-18); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 170.3 (C-22), 150.2 (C-10), 139.8 (C-20), 136.4 (C-2), 130.5 (C-13), 127.8 (C-8), 115.5 (C-19), 111.2 (C-12), 110.0 (C-11), 101.8 (C-7), 101.7 (C-9), 65.5 (C-17), 55.3 (C-21), 53.6 (C-5), 49.5 (C-3), 40.5 (C-16), 33.0 (C-14), 27.4 (C-15), 26.4 (C-16), 20.6 (C-23), 12.3

(C-18)。以上数据与文献报道的一致^[17], 鉴定其为 17-acetylsarpagine。

化合物 5 白色固体; 分子式 $C_{19}H_{20}N_2O$, ESI-MS: m/z 292 $[M]^+$, 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 10.86 (1H, s, H-N), 9.57 (1H, s, H-17), 7.45 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-9), 7.34 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-12), 7.16 (1H, $J = 7.4$ Hz, H-11), 7.10 (1H, $J = 7.2$ Hz, H-10), 5.31 (1H, $J = 6.8$ Hz, H-19), 4.31 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-3), 3.62 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-21), 3.50 (1H, d, $J = 16.7$ Hz, H-21), 3.44 ~ 3.48 (1H, m, H-5), 3.22 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-5), 2.62 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-5), 2.57 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-16), 2.15 (1H, t, $J = 10.8, 1.3$ Hz, H-14), 2.13 (1H, td, $J = 11.5, 1.5$ Hz, H-15), 1.87 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-14); ^{13}C NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 203.1 (C-17), 139.1 (C-2), 136.1 (C-13), 135.9 (C-20), 127.0 (C-8), 120.3 (C-11), 118.2 (C-10), 117.4 (C-9), 115.2 (C-19), 111.0 (C-12), 102.1 (C-8), 55.1 (C-16), 54.4 (C-16), 49.8 (C-5), 49.5 (C-1), 32.7 (C-14), 26.8 (C-6), 26.3 (C-15), 12.3 (C-18)。以上数据与文献报道一致^[18], 鉴定其为 vellosimine。

3.2 体外肿瘤细胞毒活性筛选

本实验对化合物 1 ~ 5 进行了细胞毒活性的筛选, 细胞毒活性检测采用黄酰罗丹明 B (SRB) 染色法进行测定, 测试细胞株为 HeLa。在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下进行初筛, 化合物 1、2、4 无明显细胞毒性, 而 3、5 具有较强的细胞毒性, 抑制率分别为 $60.3\% \pm 2.5\%$ 和 $85.3\% \pm 4.5\%$, 喜树碱为阳性对照浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 。为进一步验证 3、5 的细胞毒性, 对 3、5 进行细胞毒活性实验, 实验结果表明化合物 3、5 对

表 2 鸡骨常山单体化合物对 HeLa 细胞株毒活性

Table 2 Cytotoxicity of compounds on HeLa

化合物 Compound	初筛抑制率 Initial screening inhibition rate (%)	半数抑制率 IC ₅₀ ($\mu\text{mol/L}$)
1	98.3 \pm 3.2	-
2	94.2 \pm 5.3	-
3	60.3 \pm 2.5	89.4 \pm 1.2
4	96.3 \pm 6.2	-
5	85.3 \pm 4.5	15.6 \pm 0.7
喜树碱 Camptothecin*	56.4 \pm 1.1	5.21 \pm 1.3

注: * 阳性对照。

Note: * Positive control.

Hela 细胞具有一定的细胞毒性,化合物 **3** IC_{50} 为 $89.4 \pm 1.2 \mu\text{mol/L}$, 化合物 **5** IC_{50} 为 $15.6 \pm 0.7 \mu\text{mol/L}$, 阳性药物喜树碱 IC_{50} 为 $5.21 \pm 1.3 \mu\text{mol/L}$ 。

4 讨论与结论

本次研究从鸡骨常山根的乙酸乙酯萃取 B 部分分离得到 5 个单萜吲哚生物碱, 其中化合物 **1** 为新的吲哚单萜生物碱, 化合物 **3**、**5** 磺酰罗丹明 B 染色法^[19] 结果显示对宫颈癌细胞存在一定程度的细胞毒性及抗肿瘤活性, 化合物 **3** 对坐骨神经损伤具有一定治疗作用^[20], 本研究一定程度上丰富了该属植物的化学成分及其活性的研究内容。宫颈癌为近年来对女性生命健康危害较大的一种疾病, 因此找到有效的治疗药物, 研究清楚其机理尤为关键, 下一步拟针对各化合物进一步开展相关的生物活性及机理研究。综上所述, 本研究确定了鸡骨常山根具有抗肿瘤活性的吲哚生物碱, 对其化学成分展开研究具有一定应用价值, 将天然产物与疾病治疗联系起来, 对天然产物开发与研究具有一定的帮助。

参考文献

- 1 Tian JP, Hu YY, Yang WL, et al. Research of characteristics of leaf epidermis for Apocynaceae[J]. Act Bot Sin(西北植物学报), 2013, 33: 1151-1158.
- 2 Li S, Zhang CY, Liu LQ, et al. Karyomorphology of three species in *Alstonia*(Apocynaceae)[J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 2007, 29: 434-438.
- 3 Zhang JP, Wang XJ, Wang ZW, et al. Research progress on alkaloids of genus *Alstonia*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31: 166-171.
- 4 Feng T, Li Y, Cai XH, et al. Monoterpenoid indole alkaloids from *Alstonia yunnanensis*[J]. J Nat Prod, 2009, 72: 1836-1841.
- 5 Cao P, Liang Y, Gao X, et al. Monoterpenoid indole alkaloids from *Alstonia yunnanensis* and their cytotoxic and anti-inflammatory activities [J]. Molecules, 2012, 17: 13631-13641.
- 6 Wang S, Duan M, Guan KY, et al. Developmental neurotoxicity of reserpine exposure in zebrafish larvae (*Danio rerio*) [J]. Comp Biochem Phys, 2019, 223: 115-123.
- 7 Wei M C, Yang YP, Liang XT, et al. Alkaloids from roots of *Alstonia yunnanensis*[J]. Planta Med, 1983, 49: 62.

- 8 Ryu JM, Choi YS, Bae JY. Prognostic factors in women with cervical cancer stage IIIc1r treated with concurrent chemoradiotherapy[J]. J Obstet Gynaecol Re, 2020, 46: 1165-1172.
- 9 Gracia M, Helga S, Quoc A, et al. The biological activity of the novel vinca alkaloids 4-chlorochablastine and 4-chlorochacristine[J]. Curr Cancer Drug Tar, 2019, 19: 222-230.
- 10 Li CJ, Chen S, Sun C, et al. Cytotoxic monoterpenoid indole alkaloids from *Alstonia yunnanensis* Diels [J]. Fitoterapia, 2016, 117: 79-83.
- 11 Chen WM, Yan YP, Ma XM, et al. Isolation and identification of the Alkaloids from the stems and leaves of *Alstonia yunnanensis*[J]. Act Pharm Sin(药学学报), 1986, 21: 187-190.
- 12 Mbeunkui F, Grace MH, Lategan C, et al. In vitro antiplasmodial activity of indole alkaloids from the stem bark of *Geissospermum vellosii* [J]. J Ethnopharmacology, 2012, 139: 471-477.
- 13 Yin WP, Zhao TZ, Gao LJ, et al. Two alkaloids from Chinese bittersweet *Celastrus angulatus* [J]. Phytochemistry, 1999, 52: 1731-1734.
- 14 Lian Y, Lin L, Bin L, et al. Menverins H-L, new highly oxygenated guaiane lactones from the gorgonian coral *Menella kanisa*[J]. Helv Chim Acta, 2015, 98: 710-718.
- 15 Li CM, Su J, Mu Q, et al. Indole alkaloids from roots of *Alstonia mairei*[J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 1998, 20: 119-121.
- 16 Fadaeinasab M, Basiri A, Kia Y, et al. New indole alkaloids from the bark of *Rawolfia reflexa* and their cholinesterase inhibitory activity [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 37: 1997-2011.
- 17 Chen WM, Yan YP, Wang YJ, et al. Isolation and identification of three new alkaloids from the roots of *Alstonia yunnanensis* Diels Indiana [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1985, 12: 906-912.
- 18 Geng CA, Liu XK. Indole alkaloids from the leaves of *Rawolfia yunnanensis*[J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 2010, 31: 731-735.
- 19 Jiang Ge, Luo F, Gao RQ, et al. The effect of 4-thio-5-(2-thiophen) uridine on melanin cells proliferation *in vitro*[J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 2016, 33: 307-312.
- 20 Guo DD, Lu XG, Xu XL, et al. Therapeutic effect of vinorine on sciatic nerve injured rat [J]. Neurochem Res, 2018, 43: 375-386.