

黄花棘豆毒性生物碱的分离与鉴定

宁夏分析测试中心(银川 750021) 孟协中* 胡向群 张如明 尤艺涛

摘要 从宁夏有毒植物黄花棘豆的地上部分总生物碱中首次分得4种生物碱单体,经光谱分析并与标准品或文献对照,证实它们同属喹诺里西啶(quinolizidine)衍生物类,分别鉴定为黄华碱、臭豆碱、白羽扇豆碱和鹰爪豆碱。

关键词 黄花棘豆 黄华碱 臭豆碱 白羽扇豆碱 鹰爪豆碱

黄花棘豆 *Oxytropis ochrocephala* Bunge 系豆科棘豆属多年生草本有毒植物,主要分布在我国西北地区,也生长在华北、西南部分省区天然草场上。牲畜采食后会引引起慢性中毒并产生嗜好性,除导致死亡外还引起母畜不孕、流产、胎儿畸形等病症。近来通过抗癌药理筛选,发现该植物醇浸液有抑制肿瘤的作用^[1]。为了寻找有毒或活性成分,国内学者曾对该植物的化学成分进行过研究^[2~4],而对其生物碱成分的研究未见文献报道。我们首先将该植物地上部分用乙醇提取后,按常规的有机溶剂纯化法得到的总生物碱成分进行了小鼠急性毒性实验,测得LD₅₀为73.3mg/kg,确定该部位为致毒成分后,就进一步进行了分离鉴定。目前,已分离出4个喹诺里西啶类生物碱,根据其物理常数、光谱数据并与标准品或文献对照,分别确定为黄华碱(thermopsine, C)、臭豆碱(anagyrine, D)、白羽扇豆碱(lupanine, E)和鹰爪豆碱(sperterine, F)。这些化合物均为首次从该植物中分得。总生物碱的得率在0.005%左右。

1 材料和仪器

黄花棘豆采自宁夏海原县南华山草场,取地上部分风干后置阴凉处备用。薄层层析用江苏福山生化试剂厂产硅胶G板,展开剂为氯仿-甲醇-氨水(90:9:1),在254nm紫外灯下观察荧光,以碘化铋钾试剂显色。柱层析用上海五四化学试剂厂产180~200目中性氧化铝。熔点用国产XRC显微熔点测定仪(未校正);比旋光用国产WZZ-T₁型旋光仪;折光率用国产WZS-1型阿贝折光仪测定。紫外光谱用岛津UV-360型紫外分光光度计;红外光谱用Perkin-Elmer 580B型红外分光光度计;质谱用MAT-312型色质谱联用仪测定。

2 总生物碱的提取及薄层层析

取干燥的黄花棘豆样品20kg,粉碎后用80%的乙醇充分浸泡提取3次,减压回收乙醇,得浸膏。用2%硫酸溶解,过滤,将酸液用乙醚脱脂后,以浓氨水碱化至pH9~10,氯仿提取6次,合并氯仿提取液,水洗至中性,用无水Na₂SO₄干燥,减压回收氯仿,得褐色膏状总碱粗品(约2g左右)。再将此粗品用无水乙醚回流提取纯化,减压回收乙醚后,得桔黄色油状物(约1g左右),溶油状物于少量苯中进行薄层层析,显色后即出现2个桔黄色斑点(A, B)和4个桔红色斑点(C~F)。显色前在紫外灯下观察荧光时,前2个斑点(A, B)分别显灰绿和兰紫色荧光外,其余4个斑点均无荧光,其薄层层析色谱见图。

3 生物碱单体的分离和纯化

将总生物碱溶于少量苯中,用中性氧化铝(活性Ⅱ—Ⅲ级)进行柱层析,以苯和苯中逐渐增加甲醇(0.4%~2%)的溶剂洗脱,分段收集,薄层检查,依次得到以生物碱单体E、C、D、F(其得量比约为2:8:8:1)为主的4种粗品。各粗品经再次柱层析后分别进一步纯化:碱C用石油醚重结晶得微黄色结晶,碱D用无水乙醚热提得淡黄色油状液体,碱E

*Address: Meng Xiezhong, Ningxia Center of Analysis and Test, Yinchuan

用石油醚溶出得近无色玻璃状物，碱F用石油醚溶出得近无色的粘性状油物（在空气中很快转暗而变成褐色）。

4 鉴定

生物碱C：微黄色似正八面体的光亮晶结（石油醚），mp 206.5~208℃， $[\alpha]_D^{25} - 160^\circ$

（c, 0.498, EtOH）。难溶于冷石油醚，可溶于乙醚和苯，易溶于氯仿、乙醇和水。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm $^{-1}$ ：2924，2850（-CH $_2$ -），2800，2760（Bohlmann吸收峰），1654，1547（ α -吡啶酮），795（苯环上有3个邻接H）；在2800~2700cm $^{-1}$ Bohlmann吸收区有2个以上明显的吸收峰，为反式串联的喹诺里西啶的特征^[5]。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm（log ϵ ）：234（3.37），310（3.21），显示分子中有一个 α -吡啶酮环^[6]。EI-MS m/z（%）：244（M $^+$ ，35），160（10），147（6），146（16），136（19），122（10），98（100），97（20），96（18），碎片离子m/z 160，147，146的同时出现是含有 α -吡啶酮环的羽扇豆生物碱的特征^[7]。根据质谱和元素分析结果推定其分子式为C $_{15}$ H $_{20}$ N $_2$ O，不饱和度是7，除上述光谱数据已经证实分子内有 α -吡啶酮外，不饱和度尚余3，因此可以推定它为四环结构化合物。基于上述理化数值和光谱分析并经文献印证^[8~10]，确定C为黄华碱，再将C与黄华碱标准品共薄层层析R $_f$ 值一致，测混合熔点不下降，二者的红外光谱、质谱完全相符，故证明生物碱C即黄华碱（异名野决明碱）。

生物碱D：淡黄色油状液体，水合盐酸盐结晶mp 234~236℃， $[\alpha]_D^{25} - 164^\circ$ （c, 0.506, EtOH）。难溶于石油醚，可溶于乙醚和苯，易溶于仿氯、乙醇和水。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{液膜}}$ cm $^{-1}$ ：2923，2850（-CH $_2$ -），2800（sh），1655，1547（ α -吡啶酮），795（苯环上有3个邻接H）；在2800~2700cm $^{-1}$ Bohlmann吸收区无峰或仅有不明显的肩，为顺式串联的喹诺里西啶^[5]。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm（log ϵ ）：253（3.38），309（3.34），表明分子中含有一个 α -吡啶酮环^[6]。EI-MS m/z（%）：244（M $^+$ ，26），160（8），147（6），146（12），136（10），98（100），97（19），96（13），碎片离子m/z 160，147，146的同时出现是含有 α -吡啶酮环的羽扇豆生物碱的特征^[7]。根据质谱和元素分析结果推定分子式亦为C $_{15}$ H $_{20}$ N $_2$ O，不饱和度7，应仍为分子中含有 α -吡啶酮环的四环结构化合物。经与文献报道的黄华碱的差向异构体——臭豆碱对照基本吻合^[8~12]，将碱D与臭豆碱标准品共薄层层析R $_f$ 值一致，二者红外光谱、质谱完全相同，因此确定生物碱D为臭豆碱（即安那吉碱）。

生物碱E：近无色玻璃状物，水合盐酸盐mp 127~128℃， $[\alpha]_D^{25} - 80^\circ$ （c, 0.70, EtOH）。可溶于石油醚，易溶于乙醚、苯、氯仿、乙醇和水。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{液膜}}$ cm $^{-1}$ ：2930，2855（-CH-），2800，2760（Bohlmann吸收峰，反式喹诺里西啶）^[5]，1640（内酰胺羰基）。EI-MS m/z（%）：248（M $^+$ ，56），219（10），150（42），149（54），136（100），110（34），98（34），97（30），显示分子中氮原子与羰基构成酰胺的无叶豆碱类化合物的特征裂解^[10]。质谱和元素分析结果推定分子式为C $_{15}$ H $_{24}$ N $_2$ O，不饱和度是5。从上述各种数据可以推出该碱为分子中含有内酰胺羰基的具四环结构的化合物，与已知的由2个喹诺里西啶环串联而成的含氧化合物白羽扇豆碱的资料相比较^[8~12]，基本相符。将生物碱E推定为白羽扇豆碱（即羽扇豆烷宁）。

生物碱F：近无色粘性油状物，二苦味酸盐（C $_{15}$ H $_{20}$ N $_2$ ·2C $_6$ H $_5$ O $_7$ N $_3$ ）为淡黄色针状结晶，mp 201~203℃（分解，甲醇中一次结晶品）。 $[\alpha]_D^{25} + 17.80$ （c, 4.20, EtOH），

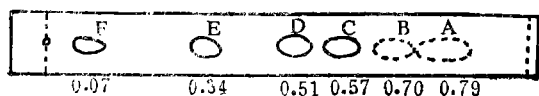


图 总生物碱的层析图

n_D^{25} 1.5278。可溶于石油醚、苯、乙醚，易溶于氯仿、乙醇，略溶于水。IR ν_{max} cm^{-1} ：2930, 2860 ($-\text{CH}_2-$)，2795, 2720 (Bohlmann吸收峰，反式喹诺里西啉)^[5]。EI-MS m/z (%)：234 (M^+ , 25)，193 (24)，137 (91)，136 (39)，110 (23)，98 (100)，97 (62)，显示无叶豆碱类裂解特征^[10]。质谱和元素分析结果确定分子式为 $C_{15}H_{28}N_2$ ，不饱和度是4，为四环结构化合物，与已知的天然化合物鹰爪豆碱的文献值相符^[8~12]，将碱F与鹰爪豆碱标准品共薄层层析 R_f 值相同，二者红外光谱、质谱完全一致，因而确证生物碱F为鹰爪豆碱（即无叶豆碱）。

从薄层层析检测中可以看出，斑点A和B与已鉴定的4种生物碱（斑点C~F）性质有些不同，柱层析也未能完全分离纯化，有待进一步寻找适合条件分离纯化后再作鉴定。

致谢：本中心各仪器组代测各种光谱，实验样品由宁夏海源县畜牧局草原站协助采集。

参 考 文 献

- 1 张守信，等。中国兽医科技，1991，21(2)：32
- 2 程东亮，等。植物学报，1986，24(4)：404
- 3 孙荣奇，等。化学学报，1987，45：145
- 4 李平，等。化学学报，1991，49(12)：1510
- 5 谢晶曦。红外光谱在有机化学和药物化学中的应用。北京：科学出版社，1987。368
- 6 Murakoshi I, et al. Phytochemistry, 1986, 25(8)：2900
- 7 Murakoshi I, et al. Phytochemistry, 1977(16)：1460
- 8 国家医药管理局中草药情报中心站。植物药有效成分手册。北京：人民卫生出版社，1986
- 9 Library of Congress Cataloging in Publication Data. Dictionary of Organic Compounds. 5th-ed. London: Chapman and Hall, 1982
- 10 Вульфсон Н С, и др. Хим Гетероцикл Соедин, 1974(2)：251
- 11 Weast R C, CRC Handbook of Chemistry and Physics. 66th-ed. Boca Raton Florida: CRC Press, Inc, 1985-1986
- 12 Asres K, et al. Phytochemistry, 1986, 25(6)：1449

(1992-10-05收稿)

1993-07-17修回)

(上接第60页)

多14个质量单位，即一个 CH_2 ，故Ⅵ为二十五烷酸 α -单甘油酯。其 ^{13}C NMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, DEPT)：173.59(C_1 , C)，70.87(C_2' , CH)，66.63(C_1' , CH_2)，64.24(C_3' , CH_2)，34.42(C_2 , CH_2)，32.15(C_{23} , CH_2)，25.30(C_3 , CH_2)，22.93(C_{24} , CH_2)，14.32(C_{25} , CH_3)和30.00至29.41(C_4 至 C_{22} ，重迭，共19个 CH_2)，进一步确定化合物V为二十五烷酸 α -单甘油酯，是一个新化合物。

化合物Ⅶ：无色粒状结晶，mp 87.5℃。IR、 ^1H 及 ^{13}C NMR光谱与化合物Ⅵ极相似，只是 ^1H 及 ^{13}C NMR分别于1.32至1.23ppm处多2个H及30.00至29.41ppm处多一个C(CH_2)峰，故Ⅶ为Ⅵ之同系物，多一个 CH_2 ，并且其MS m/z ：471($M^+ + 1$)，396，336，308，280，252，224，196，168，134，98，74，57，表明Ⅶ比Ⅵ多14个质量单位，故Ⅶ确定为二十六烷酸 α -单甘油酯，系首次从植物中分得。

参 考 文 献

- 1 中科院云南热带植物研究所。西双版纳植物名录。昆明：云南民族出版社，1984。176
- 2 江苏新医学院。中药大辞典。上册。上海：上海科学出版社，1977。847
- 3 Wright J L. Can J Chem, 1978, 56(14)，1898
- 4 Kodali D R, et al. Biochem, 1985, 24：519
- 5 CA 104, p116113j

(1992-11-10收稿)

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Studies on the Chemical Components of Daguoyoumateng (*Mucuna macrocarpa*)

Hu Wangyun, Luo Shide, and Cai Jianxun

Seven compounds were isolated from the stems of *Mucuna macrocarpa* Wall. (*Fabaceae*). On the basis of spectral data and chemical reactions, their structures were elucidated as lupenone (I), friedelin (II), β -sitosterol (III), $\Delta^{6,22}$ -stigmasten-3 β -ol (IV), tetracosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (V), pentacosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (VI), hexacosanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester (VII). VI is a new compound, while V and VII were obtained from nature for the first time.

(Original article on page 59)

The Isolation and Identification of Toxic Alkaloids from Yellowflower Crazyweed (*Oxytropis ochrocephala*)

Meng Xiezhong, Hu Xiangqun, Zhang Ruming, et al

Four quinolizidine alkaloids were isolated from the total alkaloid of the aerial part of *Oxytropis ochrocephala*. They were identified by UV, IR, EI-MS and physico-chemical properties as thermopsine, anagyrine, lupanine and sparteine. All of them were isolated for the first time from this plant.

(Original article on page 61)

Studies on the Tannin Constituents of Dahurian Rose (*Rosa davurica*)

Jin Zhexiong and Piao Yingai

Ten compounds were isolated from the fruit of *Rosa davurica* Pall.. They were elucidated by spectroscopic and chemical methods as casuarictin, 1,2,3,6-tetra-O-galloyl- β -D-glucose, 1,2,3,4,6-Penta-O-galloyl- β -D-glucose, agrimoniin, laevigatins D, laevigatins F, davuriciin M₁, davuriciin D₁, davuriciin D₂ and davuriciin T₁.

(Original article on page 64)

Quantitative Determination of Sarsasapogenin in "Antivirotic Oral Liquid" by Double-Wavelength TLC Scanner

Zhang Guogang, Xu Suixu, Zhou Mi, et al

Sarsasapogenin in "antivirotic oral liquid" made by different factories was determined quantitatively by double-wavelength TLC scanner. The method is simple, accurate, sensitive, and reproducible. The average recovery was 102.8%, coefficient of variation was 3.7%, and coefficient of correlation was 0.9997. Results showed that this method is suitable for the quality control of "antivirotic oral liquid".

(Original article on page 69)