

• 化学成分 •

变异黄芪中 1 个新的吲哚里西啶生物碱

谭 晶¹, 杨 敏¹, 杨孙缘¹, 熊荣琴¹, 陈仁俊¹, 张雅昆¹, 曾艳荣¹, 张 振², 路 浩³, 裴国顺¹, 谭承建^{1*}

1. 贵州民族大学民族医药学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州科学院, 贵州 贵阳 550025

3. 西北农林科技大学动物医学院, 陕西 杨凌 712100

摘要: 目的 系统研究变异黄芪 *Astragalus variabilis* 的生物碱成分。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、半制备高效液相色谱等分离技术对变异黄芪生物碱进行分离纯化, 并通过波谱技术鉴定其化学结构。分别采用四氮唑盐还原法(tetrazolium salt reduction assay, MTT)和格里斯试剂法(griess reagent assay, Griess)评价化合物 1 的体外抗肿瘤活性及抗炎活性。结果 从变异黄芪二氯甲烷部位中分离得到 13 个生物碱成分, 分别鉴定为 octahydrooxireno[*a*]indolizine *N*-oxide (1)、(1*R*,8*aS*)-1-hydroxy-indolizidines (2)、苦豆碱(3)、去氢骆驼蓬碱(4)、槐胺碱(5)、苦参碱(6)、槐果碱(7)、9 α -羟基苦参碱(8)、氧化槐定碱(9)、鸭嘴花碱(10)、*L*-vasicine (11)、脱氧鸭嘴花碱(12)和鸭嘴花碱酮(13)。化合物 1 在浓度 100 μ mol/L 时, 没有表现出对人肺癌 A549 细胞、人肝癌 HepG2 细胞及巨噬细胞(NO)的抑制作用。结论 化合物 1 为 1 种新的吲哚里西啶类生物碱, 命名为变异黄芪碱 A (variabilismine A); 化合物 1~13 为首次从变异黄芪中分离得到。

关键词: 黄芪属; 变异黄芪; 生物碱; 吲哚里西啶生物碱; 变异黄芪碱 A; 苦豆碱; 去氢骆驼蓬碱; 槐胺碱; 苦参碱; 槐果碱
中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)22-8069-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.001

A new indolizidine alkaloid from *Astragalus variabilis*

TAN Jing¹, YANG Min¹, YANG Sunyuan¹, XIONG Rongqin¹, CHEN Renjun¹, ZHANG Yakun¹, ZENG Yanrong¹, ZHNAG Zhen², LU Hao³, PEI Guoshun¹, TAN Chengjian¹

1. School of Ethnic-Minority Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China

2. Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550025, China

3. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

Abstract: Objective To study the alkaloid constituents from *Astragalus variabilis*. **Methods** Alkaloids were isolated and purified using chromatographic techniques, including silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). Their chemical structures were elucidated through comprehensive spectroscopic analyses. The *in vitro* antitumor and anti-inflammatory activities of compound 1 were evaluated using the tetrazolium salt reduction assay (MTT) and the griess reagent assay, respectively. **Results** A total of 13 alkaloids were isolated from the dichloromethane extraction of *A. variabilis* and identified as octahydrooxireno[*a*]indolizine *N*-oxide (1), (1*R*,8*aS*)-1-hydroxy-indolizidines (2), aloperine (3), harmine (4), sophoramine (5), matrine (6), sophocarpine (7), 9 α -hydroxymatrine (8), oxysophoridine (9), vasicine (10), *L*-vasicine (11), deoxyvasicine (12) and *L*-vasicinone (13). Compound 1 didn't exhibit inhibitory effects against human lung cancer cell line A549, human hepatocellular carcinoma cell line HepG2, and nitric oxide (NO) production in macrophages, at 100 μ mol/L. **Conclusion** Compounds (1–13) were isolated from *A. variabilis* for the first time, while compound 1 is a new indolizidine alkaloid, designated as variabilismine A.

收稿日期: 2025-09-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(32160110); 国家自然科学基金项目(31660103); 贵州省研究生教育创新计划项目资助(2024YJSKYJJ225); 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般 201)

作者简介: 谭 晶(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物提取与分离。E-mail: 2908954200@qq.com

*通信作者: 谭承建, 男, 博士, 教授, 从事天然药物化学研究。E-mail: tcj1229@163.com

Key words: *Astragalus*; *Astragalus variabilis* Bunge; alkaloid; indolizidine alkaloid; variabilismine A; aloperine; harmine; sophoramine; matrine

变异黄芪 *Astragalus variabilis* Bunge 为豆科黄芪属多年生草本植物, 俗称瓜瓜草、醉马草, 主要分布于亚洲中部及蒙古高原荒漠地带^[1]。变异黄芪具有抗寒、耐旱、耐贫瘠、耐盐碱以及根系发达、返青早等特点, 已成为我国内蒙古、宁夏、甘肃、青海和新疆等西北地区天然草地主要优势植物之一^[2], 其在内蒙古自治区分布面积为 7.554×10^5 hm², 占可利用草地总面积的 19.96%^[3], 苏木镇分布占比高达 30%^[4], 资源储量较为丰富。

目前, 从变异黄芪中分离鉴定出 8 个化学成分, 二十二硫醇、二十八烷醇、 γ -谷甾醇、 β -胡萝卜素、软脂酸单甘油酯、苦马豆素、水仙苷和芦丁^[5-6]。通过质谱和薄层色谱从中检测到 4 种生物碱成分(苦马豆素、栗精胺、斑莩素和 1-羟基吲哚里西啶)^[7]。植物化学家们已经从黄芪属植物中发现吡咯里西

啶类^[8]、吲哚类^[9]等生物碱, 而变异黄芪是否含有此类生物碱, 是否存在新的生物碱结构类型以及潜在的药用价值, 仍有待深入研究。基于此, 本研究采用多种色谱分离手段, 对变异黄芪生物碱成分进行系统分离与纯化, 共获得 13 个生物碱成分(结构见图 1), 分别鉴定为 variabilismine A (**1**)、(1*R*,8*aS*)-1-hydroxy-indolizidines (**2**)、苦豆碱(aloperine, **3**)、去氢骆驼蓬碱(harmine, **4**)、槐胺碱(sophoramine, **5**)、苦参碱(matrine, **6**)、槐果碱(sophocarpine, **7**)、9 α -羟基苦参碱(9 α -hydroxymatrine, **8**)、氧化槐定碱(oxyphosphoridine, **9**)、鸭嘴花碱(vasicine, **10**)、*L*-vasicine (**11**)、脱氧鸭嘴花碱(deoxyvasicine, **12**)和鸭嘴花碱酮(*L*-vasicinone, **13**); 化合物 **1** 为新的吲哚里西啶类生物碱, 化合物 **1**~**13** 均为首次从变异黄芪中分离得到。

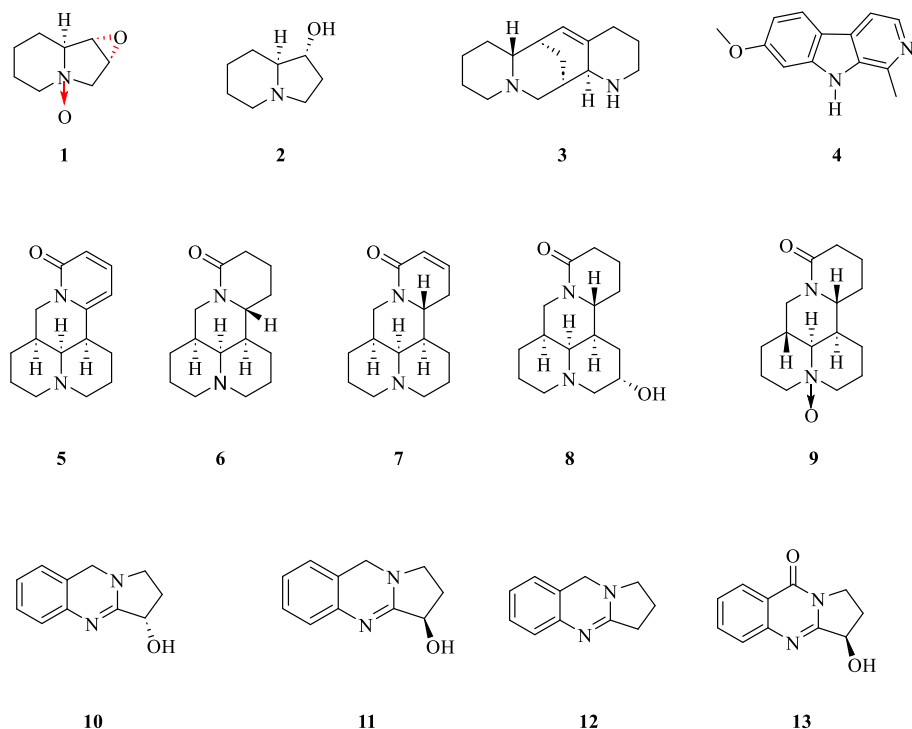


图 1 变异黄芪生物碱成分

Fig. 1 Alkaloids from *A. variabilis*

1 材料与仪器

高效液相色谱仪 Ultimate 3000(美国赛默飞世尔科技有限公司); XB bridge BEH C₁₈ 色谱柱(美国 Waters 公司); AV Neo-400 MHz 型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司); Xevo G2-S QTOF 型质谱仪

(美国 Waters 公司); UV-2700 紫外分光光度计(日本 Shimadzu Corporation); Nicolet iS10 spectrometer 傅里叶红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); Autopol AI 旋光仪(美国 Rudolph Technologies, Inc.); ZF-6 型三用紫外分析仪(中国上海嘉鹏科技

有限公司); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (中国青岛海洋化工有限公司); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 中国青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (美国 GE Healthcare); 色谱甲醇和乙腈 (中国上海星可高纯溶剂有限公司); 其余试剂均为分析纯; RAW264.7 细胞 (中国典型培养物保存中心 CCTCC); 胎牛血清 (阿根廷 Natocor-Industria Biológica 公司); DMEM、1640、MEM 培养基 (武汉普诺赛公司); MTT (北京索莱宝公司); Gen5 酶标仪 (美国基因公司); CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司); 阿霉素 (大连美仑生物技术有限公司, 批号 N1111B, 质量分数 ≥98%); 吡咯烷二硫代氨基甲酸盐 (pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC, 碧云天有限公司, 批号 s1809)。

变异黄芪植物样品, 2023 年 10 月采自内蒙古自治区阿拉善盟阿左旗巴音浩特镇, 经西北农林科技大学赵宝玉教授鉴定为变异黄芪 *A. variabilis* Bunge, 凭证标本 (编号 Tancj202310) 保存于贵州民族大学民族医药学院天然产物实验室。

2 提取与分离

取干燥的变异黄芪粗粉 40 kg, 加 95%乙醇浸泡 30 min, 热回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 滤液经过过滤、合并、减压浓缩, 得到粗浸膏 7 kg。浸膏捻溶于 11.2 L 热水中, 用 12 mol/L HCl 调 pH 2~3, 等体积二氯甲烷萃取 3 次, 酸水层用 4 mol/L NaOH 调 pH 11~12, 等体积二氯甲烷萃取 3 次, 减压浓缩, 得到二氯甲烷层总生物碱 70 g。

二氯甲烷层总生物碱 (70 g) 经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇-0.05%二乙胺梯度洗脱, 得到 10 个流分 Fr. A~I。Fr. A 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 得到 6 个组分 Fr. A1~A6, Fr. A3 (359 mg) 经硅胶柱色谱 (石油醚-二乙胺 10:1) 分离得到 5 个组分 Fr. A3-1~A3-5, Fr. A3-2 (53.6 mg) 经半制备 HPLC, 甲醇-水-三氟乙酸 (trifluoroacetic acid, TFA) 9:91:0.05 为流动相, 体积流量 2.3 mL/min, 纯化得到化合物 5 (20 mg, $t_R=12.0$ min)。

Fr. B 经凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 得到 9 个组分 Fr. B1~B9, Fr. B6 (266.9 mg) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇-氨水 21:1:0.33%) 得到 3 个组分 Fr. B6-1~B6-3, Fr. B6-2 (148.9 mg) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇-二乙胺 25:1:0.1%) 得到 3 个组分 Fr. B6-1-1~B6-1-1-3, Fr. B6-1-1-2 (48.2

mg) 经凝胶柱色谱 (甲醇) 得到化合物 4 (20 mg)。Fr. B5 (964.9 mg) 经硅胶柱色谱 (石油醚-二乙胺 15:1) 分离得到 4 个组分 Fr. B5-1~B5-4, Fr. B5-3 (50.7 mg) 经凝胶柱色谱 (甲醇) 和半制备 HPLC (甲醇-水-TFA 9:91:0.05, 体积流量 2.5 mL/min) 得到化合物 6 (16 mg, $t_R=14.0$ min)。Fr. B5-2 (39.5 mg) 经凝胶柱色谱 (甲醇) 和半制备 HPLC (甲醇-水-TFA 8:92:0.05, 体积流量 2.25 mL/min) 得到化合物 7 (16.9 mg, $t_R=23.0$ min)。

Fr. C 经凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 得到 6 个组分 Fr. C1~C6, Fr. C5 (650 mg) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇-二乙胺 50:1:11%~25:1:11%) 分离得到 6 个组分 Fr. C5-1~C5-6, Fr. C5-1 (166 mg) 经 2 次凝胶柱色谱 (甲醇) 得到 2 个组分 Fr. C5-1-1~C5-1-3, Fr. C5-1-2 (46.3 mg) 经半制备 HPLC (甲醇-水-TFA 8:92:0.05, 体积流量 2.0 mL/min) 得到化合物 8 (14.7 mg, $t_R=19.0$ min)。Fr. C5-1-3 (39.1 mg) 经半制备 HPLC (甲醇-水-TFA 5:95:0.05, 体积流量 2.0 mL/min) 得到化合物 10 (23 mg, $t_R=25.0$ min)。Fr. C5-6 (133.7 mg) 经凝胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 1:1) 和硅胶柱色谱 (醋酸乙酯-甲醇-二乙胺 4:1:0.8%) 纯化得到化合物 1 (14.7 mg)。

Fr. D (9.68 g) 经 RP-18 反相色谱柱梯度洗脱 (甲醇-水 20%~100%) 得到 17 个组分 Fr. D1~D17, Fr. D3 (634.6 mg) 经 2 次凝胶柱色谱 (甲醇) 得到 4 个组分 Fr. D3-1~D3-4, Fr. D3-4 经硅胶柱色谱 (石油醚-二乙胺 8:1) 得到 3 个组分 Fr. D3-4-1~D3-4-3, 最后 Fr. D3-4-3 经凝胶柱色谱 (甲醇) 纯化得到化合物 2 (13 mg)、11 (11 mg)、12 (2.3 mg) 和 13 (3 mg)。

Fr. G 经凝胶柱色谱 (甲醇) 得到 4 个组分 Fr. G1~G4, Fr. G2 经硅胶柱色谱 (醋酸乙酯-甲醇-二乙胺 2:1:0.3%) 纯化得到化合物 9 (8 mg)。

Fr. J 经凝胶柱色谱 (甲醇) 得到 3 个组分 Fr. J1~J3, Fr. J2 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇-二乙胺 1:15:0.3%) 纯化得到化合物 3 (5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色油状物 (甲醇), 改良碘化铋钾呈暗紫色。[α]_D²⁵ +21.15 (c 0.226, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 156.102 0 [M+H]⁺ (计算值 156.102 5, C₈H₁₄NO₂), 结合 ¹H-NMR (表 1), 确定该化合物分子式为 C₈H₁₃NO₂, 有 3 个不饱和度。

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) 和 ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) 数据Table 1 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) and ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) data of compound 1

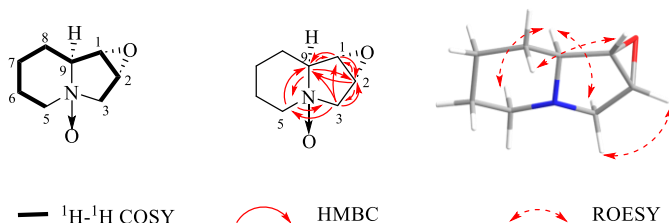
碳位	δ_{H}	δ_{C}
1	3.84 (m)	59.4
2	3.90 (t, $J = 3.3$ Hz)	55.3
3 α	3.86 (dd, $J = 10.0, 3.3$ Hz)	72.8
3 β	3.34 (d, $J = 10.0$ Hz)	
5 $\alpha, 5\beta$	3.58 (ddd, $J = 13.2, 10.8, 3.4$ Hz) 3.23 (dd, $J = 13.2, 4.6$ Hz)	66.4
6 $\alpha, 6\beta$	1.52 (m), 1.70 (m)	20.3
7 $\alpha, 7\beta$	2.03 (m), 1.64 (m)	22.0
8 $\alpha, 8\beta$	2.15 (m), 1.92 (m)	23.5
9	3.42 (t, $J = 5.2$ Hz)	78.5

^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) 谱图中显示 5 个特征信号 δ_{H} 3.23 (1H, dd, $J = 13.2, 4.6$ Hz), 3.34 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 3.42 (1H, t, $J = 5.2$ Hz), 3.58 (1H, ddd, $J = 13.2, 10.8, 3.4$ Hz), 3.84 (1H, m)。 ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) 谱图中显示 8 个碳信号, 结合 DEPT 谱图, 表明该化合物含有 5 个亚甲基 (δ_{C} 20.3、22.0、23.5、66.4、72.8), 3 个次甲基 (δ_{C} 55.3、59.4、78.5)。信号 δ_{C} 72.8 (C-3), 78.5 (C-9), 66.4 (C-5) 分别与 N 原子相连。以上数据表明, 化合物 1 为 1 个吡咯里西啶类生物碱。化合物 1 在 C-3、C-5、C-9 的化学位移与化合物 swainsonine- N -oxide^[10]表现出较高相似度, 但较化合物 2-*epi*-lentiginosine^[10]而言, 分别向低场位移了 9.3、11.4、9.6, 故推测该化合物 4 位的氮原子应该为氮氧化物。结合化合物 1 的相对分

子质量为 155, 以及 3 个不饱和度, 化合物 1 的 C-1、C-2 位的 2 个羟基脱水形成了 1 个环醚 (图 2)。

在 ^1H - ^1H COSY 图中, 可以观察到 1 个包含 13 个质子的复杂自旋偶合系统: H-5 (δ_{H} 3.23) 与 H-6 (δ_{H} 1.70) 相关, H-6 (δ_{H} 1.52) 与 H-7 (δ_{H} 2.03)、H-7 (δ_{H} 1.64) 与 H-8 (δ_{H} 1.92) 相关, H-8 (δ_{H} 2.15, 1.92) 与 H-9 (δ_{H} 3.42) 与相关, H-9 (δ_{H} 3.42) 与 H-1 (δ_{H} 3.84) 相关, H-1 (δ_{H} 3.84) 与 H-2 (δ_{H} 3.90) 相关, H-2 (δ_{H} 3.90) 与 H-3 (δ_{H} 3.86, 3.34) 相关 (图 2)。通过 HMBC 谱图发现, H-3 与 C-5、C-9 相关, H-5 与 C-3、C-9 相关, H-9 与 C-5 相关, 这进一步证实 C-5、C-9、C-3 通过 N -4 连接。HMBC 谱图中 H-9 (δ_{H} 3.42) 与 C-1、C-2 相关, H-1 (δ_{H} 3.84) 与 C-9、C-2、C-3 相关, H-2 (δ_{H} 3.90) 与 C-9、C-3、C-1 相关, H-3 (δ_{H} 3.86) 与 C-1、C-2、C-9 相关, 说明 C-1 与 C-2 处形成环醚。通过以上分析确定了化合物 1 的平面结构。

化合物 1 的相对构型通过 ROESY 实验与生源相关化合物 2-*epi*-lentiginosine 比较来确定。H-9 位的 α 取向, 通过与化合物 2-*epi*-lentiginosine 的核磁数据对照来确定。在 ROESY 图谱中, H-9 (δ_{H} 3.42) 分别与 H-3 α (δ_{H} 3.86)、H-5 α (δ_{H} 3.58)、H-8 α (δ_{H} 2.15) 有相关信号, 表明这 4 个氢原子都处于该分子的同侧; H-3 β (δ_{H} 3.34) 与 H-2 (δ_{H} 3.90) 有关, H-8 β (δ_{H} 1.92) 与 H-1 (δ_{H} 3.84) 有关, 则表明 H-1 (δ_{H} 3.84)、H-2 (δ_{H} 3.90) 为 β 构型。综上所述, 确定化合物 1 的结构如图 2 所示。经检索为 1 个新化合物, 命名为变异黄芩碱 A (variabilismine A)。

图 2 化合物 1 的化学结构及主要 ^1H - ^1H COSY、HMBC 和 ROESY 相关信号Fig. 2 Chemical structure and key ^1H - ^1H COSY, HMBC and ROESY correlations of compound 1

化合物 2: 无色油状物 (甲醇), 改良碘化铋钾呈黑紫色。ESI-MS m/z : 142.123 15 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.76 (1H, ddd, $J = 9.1, 7.4, 4.7$ Hz, H-1), 3.21 (1H, m, H-5 α), 2.97 (1H, m, H-3 β), 2.92 (1H, dd, $J = 9.3, 2.6$ Hz, H-3 α), 2.40 (1H, q, $J = 9.4$ Hz, H-2 β), 2.20 (1H, dt, $J = 11.9, 4.5$ Hz, H-5 β),

2.17~2.11 (1H, m, H-8 β), 2.11~2.05 (1H, m, H-7 β), 1.94~1.86 (1H, m, H-8 α), 1.8 (1H, s, H-6 β), 1.75 (1H, dq, $J = 11.8, 2.8$ Hz, H-6 α), 1.63~1.55 (1H, m, H-2 α), 1.49 (1H, dddd, $J = 13.9, 9.5, 4.9, 2.3$ Hz, H-7 α), 1.24 (1H, m, H-8 α); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 75.9 (C-1), 71.9 (C-8 α), 54.0 (C-5), 53.0 (C-3), 31.8 (C-2),

28.7 (C-8), 25.3 (C-6), 24.6 (C-7)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 (1*R*,8*aS*)-1-hydroxy-indolizidines。

化合物 **3**: 白色固体 (丙酮), ESI-MS m/z : 249.3 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.57 (1H, m, H-17), 3.32 (2H, m, H-13), 3.29 (1H, d, $J = 6.2$ Hz, H-10 β), 3.24 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-2 β), 3.14 (1H, s, H-2 α), 2.88 (1H, m, H-10 α), 2.72 (2H, tt, $J = 12.7, 2.9$ Hz, H-15), 2.63~2.53 (2H, m, H-8), 2.35 (1H, dd, $J = 14.2, 4.6$ Hz, H-11), 2.18 (2H, s, H-14); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 138.3 (C-16), 125.7 (C-17), 61.1 (C-11), 58.7 (C-6), 55.3 (C-2), 47.9 (C-10), 46.7 (C-13), 35.8 (C-7), 33.0 (C-9), 33.0 (C-14), 27.8 (C-5), 25.9 (C-15), 25.7 (C-3), 25.3 (C-4), 20.5 (C-8)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为苦豆碱。

化合物 **4**: 针状晶体 (甲醇), ESI-MS m/z : 213.103 62 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Pyridine- d_5) δ : 12.44 (1H, s, H-3), 8.61 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-5), 8.21 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-4), 7.97 (1H, s, H-8), 7.11 (1H, dd, $J = 8.6, 2.2$ Hz, H-6), 3.76 (3H, s, OCH_3), 2.94 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, Pyridine- d_5) δ : 161.4 (C-7), 143.5 (C-1), 142.5 (C-8*a*), 139.0 (C-3), 136.3 (C-9*a*), 128.8 (C-4*a*), 123.3 (C-5), 116.5 (C-4*b*), 112.7 (C-4), 109.9 (C-6), 95.7 (C-8), 55.7 (OCH_3), 21.2 (C-10)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为去氢骆驼蓬碱。

化合物 **5**: 白色结晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 245.2 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.59 (1H, dd, $J = 9.1, 7.2$ Hz, H-13), 6.64 (1H, dd, $J = 7.3, 1.8$ Hz, H-14), 6.57 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-12), 4.32 (1H, dt, $J = 16.4, 8.2$ Hz, H-17 α), 3.56~3.45 (1H, m, H-17 β), 3.20~3.01 (3H, m, H-10, 2 β), 2.76 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-2 α), 2.65~1.31 (11H, m, H-3~9); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 166.5 (C-15), 145.8 (C-11), 142.0 (C-13), 118.9 (C-14), 107.6 (C-12), 61.7 (C-6), 57.2 (C-2), 56.9 (C-10), 44.3 (C-17), 38.2 (C-7), 31.6 (C-5), 26.5 (C-4), 26 (C-8), 21.9 (C-3), 21.0 (C-9)。以上核磁数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为槐胺碱。

化合物 **6**: 白色针状结晶 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 249.195 93 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.46 (1H, dd, $J = 14.2, 4.8$ Hz, H-17 α), 3.66 (1H, m, H-11), 3.42 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-17 β), 3.40~3.31 (2H, m, H-2 β , 10 β), 3.21 (1H, m, H-

14 β), 2.95 (2H, dd, $J = 12.3, 4.3$ Hz, H-6, 7), 2.88~2.77 (1H, m, H-14 α), 2.30 (1H, dt, $J = 17.4, 5.0$ Hz, H-2 α), 2.21 (1H, dd, $J = 11.0, 5.6$ Hz, H-8 β), 2.18~2.09 (1H, m, H-10 α), 2.05~1.90 (2H, m, H-3 α , 12 β), 1.89~1.73 (4H, m, H-8 α , 9 α , 13 α , 4 β), 1.73~1.63 (4H, m, H-13 β , 9 β , 3 β , 5), 1.58 (1H, m, H-4 α), 1.43 (1H, m, H-12 α); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 173.1 (C-2), 65.6 (C-6), 57.5 (C-10), 57.4 (C-15), 54.4 (C-11), 43.1 (C-7), 41.7 (C-17), 35.6 (C-5), 33.9 (C-14), 28.7 (C-12), 26.9 (C-4), 25.3 (C-8), 20.7 (C-9), 20.3 (C-3), 20.0 (C-13)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为苦参碱。

化合物 **7**: 白色晶体 (丙酮), ESI-MS m/z : 246.2 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.66 (1H, ddd, $J = 9.4, 5.1, 3.3$ Hz, H-13), 5.84 (1H, dt, $J = 9.9, 1.8$ Hz, H-14), 4.26 (1H, dd, $J = 14.4, 5.0$ Hz, H-17 β), 3.82 (1H, m, H-11), 3.50 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-17 α), 3.46~3.37 (2H, m, H-2 β , 10 β), 3.32 (1H, s, H-2 α), 3.28 (3H, m, H-12 β , 10 α , 3 α), 3.02 (2H, ddd, $J = 17.4, 11.0, 5.2$ Hz, H-4 β , 9 α), 2.95~2.85 (1H, m, H-8 α), 2.78 (1H, dt, $J = 18.5, 5.9$ Hz, H-8 β), 2.31 (1H, m, H-9 β), 2.14 (1H, td, $J = 14.5, 13.1, 6.5$ Hz, H-3 β), 2.06~1.98 (1H, m, H-7), 1.78 (3H, d, $J = 3.8$ Hz, H-4 α , 5, 6), 1.38~1.22 (1H, m, H-12 α); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 167.4 (C-15), 140.5 (C-13), 123.4 (C-14), 63.8 (C-6), 56.3 (C-2), 56.1 (C-10), 51.2 (C-11), 40.7 (C-7), 40.3 (C-17), 33.4 (C-5), 28.0 (C-12), 25.6 (C-4), 24.1 (C-8), 19.4 (C-3), 19.1 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为槐果碱。

化合物 **8**: 针状结晶 (二氯甲烷-甲醇)。ESI-MS m/z : 265.2 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 4.54 (1H, dd, $J = 14.0, 4.7$ Hz, H-17 β), 3.95 (1H, tt, $J = 11.6, 4.3$ Hz, H-9), 3.66 (1H, ddd, $J = 11.7, 8.5, 5.7$ Hz, H-11), 3.53 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-10 β), 3.50~3.47 (2H, m, H-17 α , 2), 3.30 (1H, m, H-14 β), 3.11 (1H, td, $J = 12.2, 3.2$ Hz, H-14 α), 2.89 (1H, d, $J = 13.7$ Hz, H-10 α), 2.85~2.75 (1H, m, H-6), 2.44~2.35 (1H, m, H-5), 2.24~2.12 (13H, m, H-2~4, 7, 8, 12, 13); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 172.6 (C-15), 64.4 (C-10), 60.9 (C-9), 60.9 (C-6), 57.4 (C-2), 54.5 (C-11), 43.0 (C-7), 41.3 (C-17), 34.7 (C-8), 34.3 (C-5), 33.4 (C-14), 28.3 (C-12), 26.5 (C-4), 20.0 (C-3), 19.5 (C-13)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合

物 **8** 为 9 α -hydroxymatrine。

化合物 **9**: 淡黄色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 265.2 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.93 (1H, dd, $J = 13.4, 7.8$ Hz, H-17 α), 3.73 (1H, dt, $J = 12.7, 3.1$ Hz, H-17 β), 3.56~3.48 (1H, m, H-11), 3.43~3.30 (2H, m, H-2 β , 10 β), 3.29 (2H, d, $J = 2.3$ Hz, H-14), 3.21 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-10 α), 3.18 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-2 α), 2.97 (2H, dt, $J = 17.8, 8.9$ Hz, H-3 α , 12 β), 2.74~2.64 (1H, m, H-9 α), 2.38~2.26 (3H, m, H-13 α , 8 α , 13 β), 2.08~1.64 (5H, m, H-8 β , 9 β , 3 β , 7, 5), 1.49~1.23 (4H, m, H-6, 4 α , 12 α , 4 β); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 172.3 (C-15), 73.3 (C-6), 71.3 (C-3), 60.1 (C-11), 59.0 (C-10), 47.8 (C-17), 36.4 (C-7), 32.7 (C-14), 30.4 (C-5), 29.1 (C-12), 27.9 (C-4), 24.2 (C-3), 22.7 (C-8), 19.7 (C-9), 18.5 (C-13)。以上核磁数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **9** 为氧化槐定碱。

化合物 **10**: 白色晶体 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 189.0 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.33 (1H, td, $J = 7.7, 1.5$ Hz, H-5), 7.29~7.24 (1H, m, H-6), 7.19 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.14 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-8), 5.12 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3), 3.75 (1H, m, H-9 α), 3.66 (1H, dt, $J = 11.0, 7.7$ Hz, H-9 β), 3.34 (1H, s, OH), 3.03 (1H, m, H-1 β), 2.65 (1H, m, H-2 α), 2.11 (1H, m, H-2 β), 1.29 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-1 α); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 164.6 (C-3a), 131.9 (C-4a), 130.3 (C-6), 128.2 (C-8), 128.0 (C-7), 118.1 (C-5), 117.9 (C-8a), 72.3 (C-3), 51.8 (C-9), 47.3 (C-1), 30.5 (C-2)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **10** 为鸭嘴花碱。

化合物 **11**: 白色针簇状晶体 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 189.0 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.18 (1H, td, $J = 7.5, 1.6$ Hz, H-5), 7.04 (2H, dtd, $J = 7.3, 3.6, 1.3$ Hz, H-6, H-7), 6.98 (1H, dd, $J = 7.8, 1.5$ Hz, H-8), 4.68~4.65 (2H, m, H-9), 4.65~4.62 (1H, m, H-3), 3.47 (1H, m, H-1 α), 3.37 (1H, m, H-1 β), 3.32 (1H, m, H-2 α), 2.43 (1H, m, H-2 β), 2.01 (1H, s, OH); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 164.5 (C-3a), 143.2 (C-4a), 129.6 (C-6), 127.4 (C-8), 125.9 (C-7), 124.4 (C-5), 120.7 (C-8a), 72.4 (C-3), 50.3 (C-9), 48.0 (C-1), 30.5 (C-2)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **11** 为 *L*-vasicine。

化合物 **12**: 白色无定型粉末, ESI-MS m/z :

173.10643 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.25 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-8), 6.96 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-6), 3.69 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-5, 7), 3.26 (2H, s, H-9), 2.95 (2H, m, H-3), 2.23 (2H, m, H-1), 1.28~1.20 (2H, m, H-2); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 164.4 (C-3a), 133.4 (C-4a), 130.3 (C-6), 128.1 (C-8), 127.8 (C-7), 118.4 (C-5), 118.2 (C-8a), 54.6 (C-3), 47.1 (C-9), 31.1 (C-1), 19.3 (C-2)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **12** 为脱氧鸭嘴花碱。

化合物 **13**: 白色针状晶体 (二氯甲烷-甲醇), ESI-MS m/z : 203.117 8 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.17 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 7.78 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-6), 7.60 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 7.48 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-7), 4.17 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-3), 4.15 (1H, s, OH), 3.32 (2H, s, H-1), 2.28 (2H, m, H-2); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 162.1 (C-3a), 161.8 (C-9), 149.4 (C-4a), 135.1 (C-6), 128.9 (C-7), 127.0 (C-5), 126.5 (C-8), 120.6 (C-8a), 71.1 (C-3), 46.7 (C-1), 32.5 (C-2)。以上核磁数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **13** 为鸭嘴花酮碱。

4 化合物 **1** 抗肿瘤活性筛选

根据文献方法^[20], 采用 MTT 法检测化合物 **1** 抗肿瘤活性。将 A549 细胞和 HepG2 细胞分别以 1.0×10^4 个/孔的浓度接种于 96 孔板上, 置于 37 $^{\circ}C$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。弃去上清液后, A549 细胞孔加入含 10 μL 化合物 **1** 的 90 μL 1640 培养基, HepG2 细胞孔加入含 10 μL 化合物 **1** 的 90 μL MEM 培养基, 终浓度分别为 100.00、10.00、1.00 $\mu mol/L$, 继续培养 24 h。每孔加入 20 μL MTT (5 mg/mL) 溶液, 继续培养 4 h。每孔加入 50 μL 三联液, 继续培养 16 h。使用 Gen5 酶标分析仪, 在 570 nm 处测其吸光度 (A) 值, 并按照公式计算细胞增值抑制率。结果显示, 化合物 **1** 浓度为 100.00 $\mu mol/L$ 时对 A549 细胞和 HepG2 细胞的抑制率分别为 $(3.78 \pm 4.60)\%$ 、0 (表 2)。与阳性对照阿霉素相比, 化合物 **1** 对 A549 细胞表现出较弱的效果, 对 HepG2 细胞无抑制活性。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{对照}} - A_{\text{化合物 1}}) / A_{\text{对照}}$$

5 化合物 **1** 抗炎活性测定

根据文献方法^[21], 通过脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 体外炎症模型进行抗炎活性测试, 采用 Griess 测定法检测化合物 **1** 对 NO 释放量的影响。

表 2 化合物 1 对 A549 细胞和 HepG2 细胞的抑制作用
Table 2 Inhibitory activity of compound 1 against A549 and HepG2 cells

化合物	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	A549 细胞抑制率/%	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	HepG2 细胞抑制率/%
1	100.00	3.78 \pm 4.60	100.00	0
	10.00	1.91 \pm 2.71	10.00	0
	1.00	5.25 \pm 2.18	1.00	0
阿霉素	50.00	54.04 \pm 2.15	10.00	62.52 \pm 3.41
	25.00	43.04 \pm 7.97	5.00	53.07 \pm 1.25
	12.50	34.61 \pm 0.76	2.50	40.02 \pm 2.10

取对数生长期的 RAW264.7 细胞,以每孔 2.0×10^4 个细胞的密度接种于 96 孔板中,置于 37℃、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。随后,将化合物 1 用 DMSO 溶解(DMSO 终浓度小于 0.1%),梯度稀释浓度为 100.00、10.00、1.00 $\mu\text{mol/L}$ 的溶液。各取 100 μL 不同浓度的化合物 1 加入 96 孔板中,作用 24 h。每孔加入 20 μL MTT (5 mg/ml),继续培养 4 h,每孔加入 50 μL 三联液,继续培养 16 h 于 570 nm 处测定 A 值。除对照组外,其余各组加入 LPS,终质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$,继续培养 24 h。培养结束后,取上清使用 NO 检测试剂盒检测 NO 的含量,操作按试剂盒说明书进行。根据公式计算 NO 释放抑制率。结果显示,化合物 1 在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时,对巨噬细胞的增殖抑制率和 LPS 诱导的 NO 释放抑制率分别为 (1.60 \pm 1.38)%和 (6.75 \pm 3.82)% (表 3)。与阳性对照 PDTC 相比,化合物 1 表现出较弱的效果。

抑制率 = (LPS 组 NO 含量 - 样品组 NO 含量) / LPS 组 NO 含量

表 3 化合物 1 对 LPS 诱导巨噬细胞 NO 释放抑制作用
Table 3 Inhibitory activity of compound 1 on LPS-induced nitric oxide (NO) release in macrophages

化合物	浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	细胞增殖抑制 率/%	NO 释放抑 制率/%
1	100.00	1.60 \pm 1.38	6.75 \pm 3.82
	10.00	0	0
	1.00	0	0
PDTC	5.00	0.46 \pm 1.49	54.05 \pm 4.98
	2.50	2.42 \pm 1.18	42.31 \pm 1.00
	1.00	3.37 \pm 0.17	29.71 \pm 5.38

6 讨论

变异黄芪是广泛分布于我国西部地区草场的有毒植物,家畜误食可引起中毒和死亡,严重制约草原畜牧业可持续发展。变异黄芪化学成分预试结果表明其含有生物碱、萜类、黄酮等成分;哈斯巴图通过高

分辨质谱分析鉴定变异黄芪中有 4 种吲哚里西啶生物碱成分,并证明其主要有毒成分为生物碱-苦马豆素。文献调研发现变异黄芪中分离到的不同类型生物碱均具有潜在的生物学意义。如吲哚里西啶生物碱苦马豆素可通过下调 Twist 1 和失活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) / 蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号通路来抑制食管癌细胞的侵袭^[22]。喹诺里西啶类生物碱苦参碱(化合物 6)能促进肝癌细胞自噬,还能抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭能力^[23]。喹啉类生物碱鸭嘴花碱(化合物 10)通过减少肥大细胞浸润、降低 Th2 型细胞因子及促炎因子的表达,发挥抗炎活性^[17]; β -咔啉类生物碱去氢骆驼蓬碱(化合物 4)可抑制 COX-2 的表达,从而抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,发挥抗肿瘤作用^[24]。这些研究结果提示变异黄芪所含多类型生物碱可能在毒性之外,兼具多样化的药理作用。

本研究首次从变异黄芪二氯甲烷总生物碱中分离鉴定出 13 个生物碱成分,包括吲哚里西啶类(化合物 1~2)、喹诺里西啶类(化合物 3、5~9)、 β -咔啉类(化合物 4)及喹啉类(化合物 10~13)生物碱类型。化合物 1 为新的吲哚里西啶生物碱成分,化合物 1~13 首次从变异黄芪中分离得到。该研究不仅丰富了变异黄芪的化学成分基础,揭示了其生物碱类物质的多样性与潜在活性基础,还有望推动变异黄芪由“毒草”向“资源植物”的转化,为草原生态经济提供新的增长点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄睿杰. 变异黄芪适生区分布预测与饲用添加安全阈值确定及效果评价 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023.
- [2] 谭承建. 变异黄芪化学成分研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [3] 李博, 莫日根别力格, 乌云嘎, 等. 阿拉善左旗天然草原有毒植物分布及危害调查 [J]. 草地学报, 2025,

- 33(4): 1267-1273.
- [4] 格日勒吉雅, 澈丽莫格, 乌云嘎, 等. 草原毒害草变异黄芪除草剂筛选与评价 [J]. 农业工程技术, 2024, 44(19): 41-42.
- [5] 王银朝, 赵宝玉, 谭承建, 等. 变异黄芪地上部分化学成分研究 [J]. 西北农业学报, 2006, 15(5): 14-16.
- [6] 赵宝玉, 王建军, 谭承建, 等. 变异黄芪毒性成分苦马豆素的分离与鉴定 [J]. 中国草地学报, 2006, 28(5): 66-71.
- [7] 哈斯巴图, 达能太, 娜日苏, 等. 变异黄芪中毒病及其生物碱分析 [J]. 动物医学进展, 2002, 23(5): 107-108.
- [8] 马晓丰. 蒙古黄芪的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.
- [9] Bel-Kassaoui H, Lamnaouer D, Jossang A, *et al.* Role of hypaphorine in the toxicity of *Astragalus lusitanicus* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(5): 453-457.
- [10] 王亭亭, 张雅昆, 张洪艳, 等. 黄花棘豆喹啉里西啶类生物碱成分研究 [J]. 动物医学进展, 2023, 44(12): 71-75.
- [11] 刘斌, 石任兵. 苦参汤中生物碱部位的化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(7): 557-560.
- [12] 陈秋铃, 范春林, 敖运林, 等. 普约狗牙花枝叶的生物碱类成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1680-1687.
- [13] 薛站, 霍晓敏, 张雅昆, 等. 黄花棘豆生物碱成分及其抗斜纹夜蛾活性研究 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(19): 110-116.
- [14] 魏鑫, 张卫, 杨欣, 等. 越南槐根的抗 HIV 活性成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(3): 417-423.
- [15] 宋萍, 邓士豪, 洪喜莲, 等. 苦豆子化学成分研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2023, 57(3): 386-392.
- [16] 邱天雯, 张东东, 施银仙, 等. 白刺花花蕾化学成分及其抑制丁酰胆碱酯酶活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(6): 980-988.
- [17] Zhang Y, Du W X, Zhu D F, *et al.* Vasicine alleviates 2, 4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis and passive cutaneous anaphylaxis in BALB/c mice [J]. *Clin Immunol*, 2022, 244: 109102.
- [18] Joshi B S, Bai Y L, Puar M S, *et al.* ¹H- and ¹³C-nmr assignments for some pyrrolo{2, 1b}quinazoline alkaloids of *Adhatoda vasica* [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(7): 953-962.
- [19] 段金殿, 车镇涛, 周荣汉, 等. 多裂骆驼蓬化学成分研究 II. 地上部分化合物的分离鉴定 [J]. 中国药科大学学报, 1998, 29(2): 100-104.
- [20] Zhang Y K, Tong J B, Zhang H Y, *et al.* Design, synthesis, and antitumor evaluation of sophoridine derivatives as topoisomerase I inhibitors based on the topomer CoMFA model [J]. *J Mol Struct*, 2025, 1335: 142005.
- [21] 张雪, 解盈盈, 刘琦, 等. 五加皮中二萜类化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(23): 7709-7716.
- [22] Ma J X, Wang L J, Li J Y, *et al.* Swainsonine inhibits invasion and the EMT process in esophageal carcinoma cells by targeting Twist1 [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(8): 1207-1213.
- [23] 谢步善, 张玉莲, 罗威, 等. 苦参碱通过 p53/AMPK/ULK1-WIP1 信号通路调控肝癌 HepG2 细胞自噬的分子机制 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2025, 65(4): 8-13.
- [24] Zhang H, Sun K, Ding J, *et al.* Harmine induces apoptosis and inhibits tumor cell proliferation, migration and invasion through down-regulation of cyclooxygenase-2 expression in gastric cancer [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(3): 348-355.

[责任编辑 王文倩]