

黄花棘豆生物碱成分研究

谭承建^{1*}, 刘丽娜², 汤洪敏¹, 石本钰¹, 冉坚强¹, 赵宝玉^{3*}

¹贵州民族大学化学与环境科学学院, 贵阳 550025;

²贵阳医学院生物与工程学院, 贵阳 550004; ³西北农林科技大学动物医学院, 杨凌 712100

摘要:采用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 等色谱手段对草原毒草黄花棘豆 (*Oxytropis ochrocephala* Bunge) 生物碱成分进行分离纯化, 从全草提取物中分离得到 8 个生物碱成分。利用 MS、¹H NMR 和 ¹³C NMR 波谱技术鉴定化合物结构为槐定碱(1)、槐胺(2)、异槐定碱(3)、苦参碱(4)、7,11-去氢苦参碱(5)、槐果碱(6)、羽扇豆碱(7)和苦马豆素(8)。化合物 1~6 为首次从棘豆属植物中分离得到。

关键词:黄花棘豆; 棘豆属; 生物碱; 疯草; 有毒植物; 天然草原

中图分类号: R93

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.009

Alkaloids from *Oxytropis ochrocephala* Bunge

TAN Cheng-jian^{1*}, LIU Li-na², TANG Hong-min¹, SHI Ben-yu¹, RAN Jian-Qiang¹, ZHAO Bao-yu^{3*}

¹College of Chemistry and Environment, Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China;

²Department of Medical Biotechnology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China;

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

Abstract: Eight alkaloids were isolated from *Oxytropis ochrocephala* Bunge. Their structures were identified as sophoridine (1), sophoramine (2), isosophoridine (3), matrine (4), 7,11-dehydromatrine (5), sophocarpine (6), lupanine (7) and swainsonine (8) by ESI-MS, ¹H NMR and ¹³C NMR analyses. Compounds 1-6 were isolated from *Oxytropis* genus for the first time.

Key words: *Oxytropis ochrocephala* Bunge; *Oxytropis*; alkaloid; locoweed; poisonous plant; grassland

黄花棘豆 (*Oxytropis ochrocephala* Bunge), 俗名马绊肠, 是豆科棘豆属多年生草本植物^[1], 为危害我国天然草原畜牧业的一种重要毒害草, 主要分布在我国青海、宁夏、甘肃、四川、西藏等省区的天然草场, 覆盖面积多达 200 余万亩。本地马、牛、绵羊、山羊等牲畜对黄花棘豆有一定的辨识能力, 一般不会采食, 但在可食牧草缺乏的地方或季节, 牲畜被迫采食黄花棘豆而引起中毒发生, 严重者导致死亡, 危害当地草原畜牧业^[2]。

对于黄花棘豆化学成分的研究, 已经发现有黄酮、三萜、生物碱类成分^[3,4], 对其毒性部位-生物碱的研究最为活跃。前人已经分离出以苦马豆素为代表的吲哚里西啶生物碱^[5], 和臭豆碱、黄华碱、羽扇豆碱和鹰爪豆碱 4 个喹诺里西啶生物碱^[6]。喹诺里

西啶生物碱是豆科植物广泛存在的一类代谢产物, 具有重要的化学生态学功能。此外, 研究报道该类生物碱具有诸如平喘、抗心律失常、抗溃疡、抗病毒、抗炎、抗菌等药理活性^[7], 作为其重要代表的氧化苦参碱, 已经被用于乙肝病毒的临床治疗^[8]。黄花棘豆在天然退化草原生长旺盛, 资源丰富。因此, 在不破坏草原生态的前提下, 开展黄花棘豆生物碱成分的研究, 为其资源合理利用奠定基础就具有重要意义。本试验对黄花棘豆生物碱成分进行了系统的研究, 从中分离到 8 个生物碱成分, 分别鉴定为: 槐定碱 (Sophoridine, 1)、槐胺 (Sophoramine, 2)、异槐定碱 (Isosophoridine, 3)、苦参碱 (Matrine, 4)、7,11-去氢苦参碱 (7,11-Dehydromatrine, 5)、槐果碱 (Sophocarpine, 6)、羽扇豆碱 (Lupanine, 7) 和苦马豆素 (Swainsonine, 8)。

1 仪器与材料

Bruker AM-400 型核磁共振仪, Finnigan MAT 90 型质谱仪, Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (DAD 检

收稿日期: 2015-01-27 接受日期: 2015-04-20

基金项目: 农业部“十二五”公益性行业(农业)科研专项(201203062); 国家自然科学基金(31360084); 国家留学基金(2012-5030); 贵州省科技厅科学技术基金(2010-2273); 贵州民族大学引进人才科研基金(2012-22)

* 通讯作者 E-mail: tcj1229@163.com

测器),柱色谱硅胶(200~300,300~400目)及薄层板 GF₂₅₄均为青岛海洋化工厂生产,Sephadex LH-20为 Amersham Biosciences 公司产品。

黄花棘豆植物样品,2012年8月采自青海省湟中县,由青海大学莫重辉教授鉴定为黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala* Bunge),凭证标本(ZhaoBY-201203),保存于西北农林科技大学动物医学院有毒植物研究所。

2 提取与分离

黄花棘豆全株 10 kg,粉碎后用 95% 乙醇 40 L 热回流提取 3 次,每次 2 h,提取液减压浓缩后得到浸膏 2 kg。捻溶于 6 L 沸水中,用 2 mol/L HCl 溶液调节水溶液 pH1~3,氯仿萃取 3 次,每次 7 L。酸水液再用 2 mol/L NaOH 的溶液调节至 pH10~11,用氯仿萃取 3 次,每次 8 L。回收氯仿得到总生物碱 50 g。总生物碱用硅胶柱层析进行粗分,氯仿-甲醇系统(10:0~0:10)梯度洗脱,得到 5 个部分(Frs. A~E)。其中 Fr. B(10.6 g)经硅胶柱层析、Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **1**(2 g)、**2**(50 mg)和 **3**(16 mg);Fr. C(9.7 g)经 Sephadex LH-20,半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **4**(16 mg)和 **5**(12 mg);Fr. D(12.5 g)经 Sephadex LH-20,硅胶柱层析分离得化合物 **6**(35 mg)和 **7**(18 mg);Fr. E(6 g)经硅胶柱层析分离,重结晶得化合物 **8**(48 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色针状结晶(丙酮)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 249 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.20~3.42 (3H, m, H-11, H₂-17), 2.72~2.82 (2H, m, H-2a, 10a), 2.20 (3H, m, H₂-14, H-6), 2.14 (2H, m, H-2b, 10b), 2.00 (2H, m, H-3a, 5), 1.86 (2H, m, H-4a, 12a), 1.60~0.90 (10H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 169.9 (C-15), 63.2 (C-6), 55.8 (C-2), 55.6 (C-11), 50.2 (C-10), 47.4 (C-17), 40.9 (C-7), 32.4 (C-14), 30.7 (C-5), 30.1 (C-12), 28.1 (C-4), 23.6 (C-3), 21.7 (C-8), 21.4 (C-9), 18.9 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[9],故化合物 **1** 鉴定为槐定碱。

化合物 2 无色结晶(丙酮)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 245 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.28 (1H, m, H-13), 6.43 (1H, d, J

= 8.8 Hz, H-14), 6.23 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-12), 4.18 (1H, dd, J = 14.8, 6.8 Hz, H-17a), 3.81 (1H, m, H-6), 2.90 (1H, t, J = 12.9 Hz, H-17b), 2.80 (2H, m, H-2a, H-10a), 2.32 (1H, m, H-6), 2.21 - 1.47 (14H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 163.8 (C-15), 148.0 (C-11), 138.3 (C-13), 116.3 (C-14), 103.2 (C-12), 60.3 (C-6), 56.7 (C-2), 56.4 (C-10), 43.5 (C-17), 38.4 (C-7), 32.0 (C-5), 27.9 (C-8), 26.9 (C-4), 21.1 (C-9), 20.3 (C-3)。碳谱数据与文献报道基本一致^[10],故该化合物鉴定为槐胺。

化合物 3 无色晶体(丙酮)。ESI-MS m/z 249 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.56 (1H, dd, J = 11.2, 4.5 Hz, H-17a), 3.03~2.93 (5H, m), 2.45-1.01 (18H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 170.1 (C-15), 61.6 (C-6), 59.8 (C-11), 53.3 (C-10), 46.2 (C-17), 44.3 (C-2), 35.7 (C-5), 33.1 (C-7), 32.0 (C-14), 27.1 (C-12), 25.8 (C-8), 24.9 (C-3), 22.2 (C-4), 18.6 (C-9), 18.2 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[11],故化合物 **3** 鉴定为异槐定碱。

化合物 4 :无色晶体(氯仿)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 249 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.31 (1H, dd, J = 12.7, 4.1 Hz, H-17a), 3.83 (1H, m, H-11), 3.00 (1H, t, J = 11.7 Hz, H-17b), 2.89 (2H, m, H-2a, H-10a), 2.34~2.03 (7H, m), 1.95~1.35 (14H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.9 (C-15), 63.0 (C-6), 58.3 (C-2), 58.2 (C-10), 54.7 (C-11), 44.5 (C-17), 42.8 (C-7), 36.8 (C-5), 33.4 (C-14), 28.7 (C-12), 28.0 (C-4), 27.2 (C-8), 22.1 (C-3), 21.6 (C-9), 19.6 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[12],故化合物 **4** 鉴定为苦参碱。

化合物 5 无色针状结晶(丙酮)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 247 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.25 (1H, m, H-17a), 3.31 (1H, m, H-17b); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 170.6 (C-15), 135.8 (C-11), 109.0 (C-7), 61.7 (C-6), 58.2 (C-10), 56.5 (C-2), 41.6 (C-17), 33.2 (C-14), 33.0 (C-5), 29.6 (C-12), 28.0 (C-4), 27.5 (C-8), 25.4 (C-9), 22.2 (C-3), 20.8 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致^[9],故化合物 **5** 鉴定为 7,11-去氢苦参碱。

化合物 6 无色晶体(乙醚)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 247 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.62 (1H, m, H-13), 5.65 (1H, dt, $J = 9.0, 1.9$ Hz, H-14), 4.00 (1H, dd, $J = 12.9, 4.7$ Hz, H-17 α), 3.90 (1H, m, H-11), 3.14 (1H, t, $J = 12.9$ Hz, H-17b), 2.78 (2H, m, H-2a, H-10a), 2.59 (1H, m, H-6), 2.31 ~ 1.47 (16H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.3 (C-15), 141.4 (C-13), 123.8 (C-14), 64.3 (C-6), 57.8 (C-10), 57.5 (C-2), 52.5 (C-11), 42.6 (C-17), 41.9 (C-7), 35.6 (C-5), 28.4 (C-4), 28.0 (C-12), 26.8 (C-8), 22.0 (C-3), 21.2 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故化合物 6 鉴定为槐果碱。

化合物 7 白色固体。ESI-MS 显示准分子离子峰为 249 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.39 (1H, dd, $J = 12.6, 4.5$ Hz, H-17b), 3.84 (1H, m, H-9), 3.64 (1H, m, H-11), 3.03 (1H, m, H-10b), 2.98 (1H, t, $J = 12.6$ Hz, H-17a), 2.83 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-2), 2.43 (1H, t, $J = 16.9, 4.4$ Hz, H-14b), 2.25 (1H, m, H-14a), 1.83 (1H, t, $J = 10.3$ Hz, H-10a), 1.31 (1H, dd, $J = 12.3, 4.7$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 171.3 (C-15), 63.9 (C-11), 60.8 (C-6), 55.4 (C-15), 52.9 (C-17), 44.8 (C-7), 46.7 (C-10), 34.8 (C-7), 33.6 (C-12), 33.0 (C-3), 32.3 (C-9), 27.3 (C-8), 26.7 (C-5), 25.3 (C-14), 24.4 (C-13), 19.6 (C-4)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故化合物 7 鉴定为羽扇豆碱。

化合物 8 无色针晶(甲醇)。ESI-MS 显示准分子离子峰为 m/z 174 $[M + H]^+$ 。 1H NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 4.58 (1H, dd, $J = 6.0, 4.0$ Hz, H-1), 4.42 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-2), 3.24 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3a), 2.41 (1H, dd, $J = 9.8, 7.0$ Hz, H-3b), 2.90 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-5a), 1.87 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-5b), 1.67 (1H, qt, $J = 13.0, 3.9$ Hz, H-6a), 1.57 (1H, dt, $J = 12.5, 4.0$, H-6b), 1.49 (1H, qd, $J = 12.1, 3.6$ Hz, H-7a), 2.25 (1H, dd, $J = 12.8, 3.5$ Hz, H-7b), 4.40 (1H, dd, $J = 9.9, 4.6$ Hz, H-8), 1.99 (1H, dd, $J = 8.0, 4.5$ Hz, H-8a); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 75.5 (C-8a), 70.6 (C-1), 69.5 (C-2), 66.7 (C-8), 63.3 (C-3), 52.4 (C-5), 34.8 (C-7), 24.7 (C-6)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故化合物 8 鉴定为苦

马豆素。

4 讨论

前人从黄花棘豆中分离得到臭豆碱、黄华碱、羽扇豆碱、鹰爪豆碱和苦马豆素 5 个生物碱^[5,6], 而本次试验从青海采集的黄花棘豆也分离到羽扇豆碱和苦马豆素。除此之外, 还得到了 6 个苦参碱类似物, 为第一次从黄花棘豆中发现这一系列生物碱。从生源角度上讲, 羽扇豆型和苦参碱型生物碱生物合成前体都为赖氨酸, 只是成环过程中稠合方式不一样^[15,16], 由此, 也不难理解两种骨架类型的喹诺里西啶生物碱共存于黄花棘豆植株之中。

苦参碱及其类似物的应用由来已久, 不仅作为医药用途如“复方苦参注射液”, 也用作生物农药如“苦参碱水剂”等, 其主要源于从豆科槐属植物苦参 (*Sophora flavescens* Ait) 中分离提取。本次研究证实棘豆属植物黄花棘豆也含有苦参碱类似物, 具有重要的药用资源学意义。研究资料表明, 从该植物中分离得到的另外一种喹诺里西啶生物碱-苦马豆素是强的 α -甘露糖酶抑制剂, 具有抗癌和免疫增强等生物活性^[17], 并作为一个抗肿瘤候选药物进入到临床实验^[18]。此外, 以槐定碱(2 g)为先导化合物, 我们成功得到一个具有显著抗癌活性的化学分子(数据待发表)。以上的研究结果为草原有毒植物-黄花棘豆的有效利用奠定了良好的基础。近年来, 由于过度放牧、乱采乱挖、气候等人为和自然因素, 导致天然草原生态环境和生物多样性破坏严重, 黄花棘豆大量生长, 许多地方已经成为优势种群。如果能在不破坏当地生态环境的前提下进行合理、适度的利用与开发, 不仅能促进人类健康, 还可加速当地经济发展。

参考文献

- 1 Academia Sinica (中国科学院). Botany of China (中国植物志). Beijing: Science Press, 1998. 42(2), 21.
- 2 Lu H, Wang SS, Zhou QW, et al. Damage and control of major poisonous plants in the western grasslands of China—a review. *Rangel J*, 2012, 34:609-615.
- 3 Li X, Zhang SD, Jin HZ, et al. A new flavonol from *Oxytropis ochrocephala* Bunge. *Nat Prod Res*, 2013, 27:554-557.
- 4 Sun RQ, Jia ZJ, Cheng DL, et al. Four saponins from *Oxytropis ochrocephala*. *Planta Med*, 1992, 58:211-213.

(下转第 1373 页)