

黄花变异黄芪化学成分预试及 生物碱成分初步分析

樊月圆, 赵宝玉, 樊泽峰, 王银朝, 谭承建

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 对黄花变异黄芪的化学成分进行了系统预试, 对其总生物碱进行了提取和分段萃取, 并用 TLC 法对分段萃取物进行了检查。结果表明, 黄花变异黄芪含有糖、有机酸、酚类、鞣质、氨基酸、蛋白质、甙类或多糖、皂甙、生物碱、黄酮、萜类、香豆素、蒽类、内脂、甾体等成分, 不含挥发油、油脂、氰甙和脂肪族硝基化合物; 黄花变异黄芪的生物碱主要以强极性生物碱为主, 约占总生物碱的 97.25%; 对三段萃取物的 TLC 检查发现, 黄花变异黄芪中含有苦马豆素, 且主要存在于乙酸乙酯萃取部分和正丁醇萃取部分。

[关键词] 黄花变异黄芪; 化学成分; 生物碱; 变异黄芪

[中图分类号] S452; O656.22

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)04-0076-03

变异黄芪(*Astragalus variabilis* Bunge)是豆科黄芪属(*Astragalus*)多年生草本植物, 其根系发达, 具有抗旱、抗寒、抗病能力强及在恶劣环境下能旺盛生长的特性, 主要分布于内蒙古的伊克昭盟、巴彦卓尔盟、阿拉善盟, 宁夏的陶乐, 甘肃的民乐、民勤、景泰以及新疆等地^[1-3]。变异黄芪对畜牧业的危害主要是引起马、羊、骆驼等家畜中毒死亡, 同时严重影响母畜的繁殖及公畜的精子质量等。牲畜误食变异黄芪后, 主要表现为中枢神经机能障碍, 重者 10~15 d 死亡; 怀孕母畜误食后, 会造成流产、弱胎或胎儿畸形、发育不良等^[4-6]。黄有德等^[7]首次从变异黄芪中提取出苦马豆素(Swainsonine, SW), 并确认苦马豆素是变异黄芪的主要有毒成分; 陈绍淑等^[8]也从变异黄芪中分离出了苦马豆素。

黄花变异黄芪的生物学特性与变异黄芪相似, 主要区别在于变异黄芪花呈淡蓝色或紫红色, 而黄花变异黄芪花为黄色, 疑为变异黄芪变种, 故暂命名为黄花变异黄芪。目前, 黄花变异黄芪仅发现于内蒙古阿拉善盟的北部及西北地区。2004 年阿拉善盟左旗北部的图克木、乌力吉、银根三苏木(乡)就有 117.2 万 hm^2 草场受到侵害, 导致 6.8 万余头(只)牲畜中毒死亡, 造成直接经济损失 104 万元。

迄今为止, 对黄花变异黄芪的毒性成分及其特性还不清楚, 目前畜牧业生产中还未找到合理的防

治动物黄花变异黄芪中毒的措施。本试验试图通过对黄花变异黄芪生物碱成分的研究, 初步确定黄花变异黄芪的毒性成分, 以期为制定有效的解毒方案提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 黄花变异黄芪 2004-07 采集于内蒙古自治区阿拉善左旗草场, 晒干后运回西北农林科技大学, 粉碎, 置阴凉干燥处保存备用。

1.1.2 苦马豆素标准品 由西北农林科技大学动物科技学院生物毒素与分子毒理学研究所提供(纯度 $\geq 98\%$)。

1.2 试验方法

1.2.1 黄花变异黄芪化学成分的系統预试验 按照植物化学成分系統预试的常规方法, 采用水、乙醇、石油醚等极性不同的溶剂对样品分别进行提取, 制成相应的供试液, 用于化学成分的系統预试验。

(1) 水浸液。准确称取草粉 5 g 置于烧瓶中, 加水 60 mL, 60 °C 热回流 1 h, 过滤, 滤液分别用于进行糖、有机酸、酚类、蛋白质、皂甙、生物碱、鞣质的预试验。

(2) 乙醇提取液。准确称取草粉 10 g 置于烧瓶中, 加 10 倍体积 950 mL/L (体积分数) 乙醇热回流 1

· [收稿日期] 2005-08-05

[作者简介] 樊月圆(1979-), 女, 陕西扶风人, 在读硕士, 主要从事有毒植物成分的分离、提取及其活性研究。

[通讯作者] 赵宝玉(1964-), 男, 陕西宝鸡人, 副教授, 博士, 主要从事家畜有毒植物中毒病研究。

h, 过滤, 滤液留 2 mL 作酚、鞣质、有机酸检查, 剩余部分浓缩为浸膏。将浸膏分为两部分, 一部分加 20 mL /L HCl 使其酸化, 滤出酸液进行生物碱的检验, 残渣用少量乙醇溶解检查黄酮; 另一部分用乙酸乙酯溶解后, 将溶液置分液漏斗中, 加入适量 50 g/L NaOH, 充分振摇, 使酚性物及有机酸等转入下层 NaOH 水溶液中, 放出下层 NaOH 水溶液, 上层的乙酸乙酯溶液用蒸馏水洗至碱性即可备用。取乙酸乙酯液 3 mL 在水浴上蒸干, 以 2 mL 乙醇溶解作强心甙的检视。

(3) 石油醚提取液。准确称取草粉 2 g 置于锥形瓶中, 加 20 mL 石油醚(沸程 30~ 60 °C) 浸泡过夜, 过滤, 滤液进行挥发油和油脂的检视。

(4) 氰甙的检查。准确称取草粉 5 g 置于锥形瓶中, 加体积分数 50 mL /L 硫酸溶液 30 mL 充分混合。在锥形瓶口放一条苦味酸试纸条, 立即塞紧瓶塞。在沸水浴中加热 10 min, 若滤纸条变成砖红色或红色, 表明含有氰甙。

(5) 脂肪族硝基化合物检查。准确称取草粉 20 mg 于试管中, 加 1 mol/L 盐酸 1 mL, 室温振摇 2 h。然后加 200 g/L 氢氧化钾 1 mL, 室温振摇 2 h。最后

加 2 mol/L 冰醋酸 1 mL, 格林氏试剂 1 mL, 摇匀, 观察颜色变化, 若出现淡红色或红色, 表明含有脂肪族硝基化合物。

1.2.2 黄花变异黄芪生物碱成分分析 (1) 黄花变异黄芪生物碱的提取。黄花变异黄芪干草粉先用工业乙醇热回流提出总浸膏, 再经酸化、碱化处理, 然后依次用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇等极性从小到大的溶剂分段萃取。(2) 黄花变异黄芪生物碱 TLC 检查。将萃取得到的各段生物碱用少量甲醇溶解, 毛细管点样于自制的硅胶 GF₂₅₄ 板上(原点距板下端约 1 cm 处), 用 V(氯仿):V(甲醇):V(氨水):V(蒸馏水)= 70:26:2:2 的展开剂展开, Ehrlich 试剂显色, 记录各斑点颜色并计算 R_f 值。

2 结果与分析

2.1 黄花变异黄芪化学成分系统预试结果

由表 1 可知, 黄花变异黄芪含有糖、有机酸、酚类、鞣质、氨基酸、蛋白质、甙类或多糖、皂甙、生物碱、黄酮、蒽醌、香豆素、萜类、内酯、甾体等成分, 不含挥发油、油脂、氰甙和脂肪族硝基化合物。

表1 黄花变异黄芪化学成分系统预试验结果

Table 1 Result of systematic pre-experiment on chemical composition of <i>A stragalus variabills</i> Bunge (yellow flower)			
检测物质 Detected substance	试验方法 Method	现象 Phenomena	结果 Result
糖 Saccharide	菲林氏试剂 Fehling's solution agent	黄棕色, 浑浊 Yellow ish-brown, turbid	+
有机酸 Organic acid	pH 试纸 pH test paper	6.0 左右 About 6.0	+
酚类 Polyphenolics	溴甲酚绿试剂 Bromocresol green agent	黄色斑点 Yellow blotch	+
	10 g/L FeCl ₃	墨绿色 Dark green	+
鞣质 Tannins	醋酸铅 Lead acetate	大量淡黄色沉淀 Generous pallid-flavens sediment	+
	10 g/L FeCl ₃	墨绿色 Dark green	+
氨基酸 Amino acid	茚三酮试剂 Ninhydrin agent	蓝紫色 Amethyst	+
蛋白质 Protein	双缩脲反应 Biuret reaction	紫红色 Prunous	+
甙类或多糖 Glycosides or polysaccharides	酚醛缩合反应 Pheno formaldehyde condensation reaction	紫红色环 Prunous ring	+
皂甙 Saponins	泡沫试验 Foam test	持续性泡沫 Continuous foam	+
生物碱 Alkaloid	碘化铋钾试剂 Potassium heptaiodobismuthate agent	橘黄色沉淀 Saffron yellow sediment	+
	硅钨酸 Silicotungstic acid	灰白色沉淀 Gray sediment	+
黄酮 Flavonoids	盐酸-镁粉试剂 Hydrochloric acid-mag agent	红色 Red	+
蒽醌 Anthraquinones	浓硫酸 Concentrated oil of vitriol	褐色 Brown	+
香豆素与萜类内酯 Coumarin and terpene lactone	开环-闭环试剂 Ring cleavage-ring closure agent	加 NaOH 后澄清, 加 HCl 后浑浊 Cleared with NaOH, became turbid with HCl	+
甾体或三萜类 Steroid or Triterpenoid	醋酐-浓硫酸试验 Acetic anhydride concentrated oil of vitriol test	由黄变绿 Changed from yellow to green	+
挥发油和油脂 Naphtha and lipid	挥发性检验 Evaporability test	不明显 Not obvious	-
氰甙 Cyanogenetic glycoside	苦味酸试纸 Carbazotic acid paper	不明显 Not obvious	-
脂肪族硝基化合物 Aliphatic nitro compounds	格林试剂 Green agent	不明显 Not obvious	-

注: +. 表示检测结果呈阳性; -. 表示检测结果呈阴性。

Note: +. means positive result; -. means negative result

2.2 黄花变异黄芪生物碱提取结果

黄花变异黄芪的出膏率为88.00%,分段萃取后得氯仿萃取部分0.60 g,乙酸乙酯萃取部分2.25 g,正丁醇萃取部分100.80 g,分别占总生物碱的0.58%,2.17%和97.25%,可见黄花变异黄芪所含的生物碱以强极性生物碱为主。

2.3 黄花变异黄芪生物碱TLC检查结果

由表2可知,氯仿萃取部分和正丁醇萃取部分均出现2个显色斑点,乙酸乙酯萃取部分出现4个显色斑点。通过与苦马豆素标准品比较发现,苦马豆素存在于乙酸乙酯萃取部分和正丁醇萃取部分。从展开效果看,2次展开优于1次展开。

表2 黄花变异黄芪生物碱TLC检查结果

Table 2 Result of TLC on the Alkaloids of *Astragalus variabilis* Bunge (yellow flower)

样品编号 Samples number	1次展开的 R_f 值及斑点颜色 Firstly developed of R_f and the colour of the blotch	2次展开的 R_f 值及斑点颜色 Secondly developed of R_f and the colour of the blotch
1	0.34 紫红 0.34 Violet red	0.45 紫红 0.45 Violet red
2	0.40 紫色; 0.78 紫色 0.40 Purple; 0.78 Purple	0.65 紫色; 0.92 紫色 0.65 Purple; 0.92 Purple
3	0.05 紫色; 0.34 紫色; 0.43 紫色; 0.52 蓝色 0.05 Purple; 0.34 Purple; 0.43 Purple; 0.52 Blue	0.08 紫色; 0.45 紫色; 0.57 紫色; 0.66 蓝色 0.08 Purple; 0.45 Purple; 0.57 Purple; 0.66 Blue
4	0.05 紫色; 0.34 紫色 0.05 Purple; 0.34 Purple	0.08 紫色; 0.45 紫色 0.08 Purple; 0.45 Purple

注: 1 苦马豆素标准品; 2 碱化后氯仿萃取部分; 3 碱化后乙酸乙酯萃取部分; 4 碱化后正丁醇萃取部分。

Note: 1 Swainsonine; 2 The agent of extracting the alkalified liquid with chloroform; 3 The agent of extracting the alkalified liquid with acetoacetate; 4 The agent of extracting the alkalified liquid with n-butanol

3 讨论

疯草 (*Lycoweed*) 是棘豆属 (*Oxytropis*) 和黄芪属 (*Astragalus* L.) 有毒植物的总称。黄花变异黄芪是目前在内蒙古发现的又一种黄芪属有毒植物。在疯草中毒研究中,国内外学者根据疯草对动物毒性作用的不同,将其有毒成分分为3大类,即脂肪族硝基化合物、硒与硒化合物和疯草毒素。大量研究^[9-11]结果表明,我国疯草中毒地区多是缺硒区或条件性缺硒区,不能构成聚硒植物的生存条件,故疯草中毒与硒及硒化合物无关。另外,黄花变异黄芪系统预试未检测出脂肪族硝基化合物,故可排除脂肪

族硝基化合物引起中毒的可能,因此只能从生物碱方面来考虑。通过对生物碱的系统处理,采用TLC检查发现,常规显色剂(如改良碘化铋钾)显色不明显,而多羟基吡啶里西啶类生物碱(Ehrlich's试剂)显色明显,且呈紫红色,说明黄花变异黄芪的毒性成分可能是多羟基吡啶里西啶类生物碱。三段萃取物与苦马豆素标准品比较发现,黄花变异黄芪的乙酸乙酯萃取部分和正丁醇萃取部分与苦马豆素标准品相同,在 R_f 值为0.34(一次展开)处均出现紫色斑点,可以判断黄花变异黄芪中含有苦马豆素,并且苦马豆素是其主要有毒成分。

[参考文献]

- [1] 陈善科, 萨仁. 阿拉善盟荒漠草场毒草分布及危害现状的调查[J]. 中国草地, 1992(3): 60-62
- [2] 万国栋, 胡发成, 周顺成. 武威地区天然草地有毒植物及其防除[J]. 草业科学, 1996, 13(1): 4-7
- [3] 刘娥心. 中国沙漠植物志: 第四卷[M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [4] 穆罕默德·阿不来提, 程宏伟. 马鬃山一带天然草地毒草变异黄芪及其危害现状的调查[J]. 草业科学, 1999, 16(1): 48-50
- [5] 赵宝玉, 曹光荣. 疯草中毒研究进展[J]. 动物毒理学, 2000, 15(1): 17-22
- [6] 孙启忠, 高淑静. 疯草与家畜疯草中毒[J]. 草与畜杂志, 1993, 10(1): 32-34
- [7] 黄有德, 肖志国, 孟聚成, 等. 变异黄芪有毒成分的分离与分析[J]. 中国医药杂志, 1992(4): 3-6
- [8] 陈绍淑, 樊月圆, 赵宝玉, 等. 变异黄芪中苦马豆素的分离与鉴定[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(10): 59-61
- [9] 曹光荣, 李绍君, 段得贤. 黄花棘豆有毒成分分析[J]. 中国兽医科技, 1988, 18(3): 41-43
- [10] 李祚煌, 关亚农, 杨桂云. 小花棘豆与Se关系的研究[J]. 动物毒理学, 1991(1): 8-9
- [11] 邵树勋, 郑宝山, 赵成章, 等. 河西走廊棘豆毒草中的硒及其与牲畜中毒关系研究[J]. 地球科学进展, 2004, 19(6): 502-505

(下转第82页)

- [9] 吴龙云, 凌桂生, 许学建, 等. 板栗毛壳的抗菌活性成分[J]. 中草药, 1991, 22(8): 370.
- [10] 戴忠, 王钢力, 刘燕, 等. 思茅蛇菰的化学成分研究 II [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(14): 1131-1132.
- [11] 石建辉, 王金辉, 车东, 等. 核桃楸树皮化学成分研究[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(1): 7-8.
- [12] 周法兴, 梁培瑜. 广西蛇药中藤桔及铁扫帚的酸性成分分离[J]. 中草药, 1980, 11(11): 523.
- [13] 文志明, 徐礼荣. 山丹芍药汤化学成分的分离与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(6): 406-408.
- [14] 都述虎, 冯芳, 刘文英, 等. 茅莓化学成分的分离鉴定[J]. 中国天然药物, 2005, 3(1): 17-20.
- [15] 孙宏伟, 陈殿学, 李晓燕. 复方蛇床子使君子对阴道毛滴虫体外作用的研究[J]. 中医药学刊, 2002, 20(3): 367.

Chemical constituents isolated from *Fructus quisqualis*

HUANG Wen-qiang¹, SHIM ing-feng², SONG Xiao-ping¹, SU Guo-qiang²

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract: Twelve compounds were isolated by column chromatography on silica gel and Sephadex LH-20 from the ethanol extracts of fruit of *Quisqualis indica* L., and their structures were identified by chemical evidence and spectral analysis. The compounds were Glycerol Monostearate (I), glycerol monopalmitate (II), Cholesterol (III), 1-linoleoyl-3-palmitoylglycerol (IV), stigmasterol (V), Methylursolate (VI), Betulinic acid (VII), ethyl gallate (VIII), Gallic acid (IX), Butanedioic acid (X), Benzoic acid (XI), Sucrose (XII). Compounds IV, V, VIII, XI were obtained from this plant the first time.

Key words: *Fructus quisqualis*; benzoic acid; cholesterol; stigmasterol; ethyl gallate

(上接第78页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)04-0076-EA

Systematic pre-experiment on chemical composition and preliminary analysis on alkaloids of *Astragalus variabilis* Bunge (yellow flower)

FAN Yue-yuan, ZHAO Bao-yu, FAN Ze-feng, WANG Yin-chao, TAN Cheng-jian

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: Through systematic pre-experiment on chemical composition (yellow flower), and extraction of general alkaloids of *Astragalus variabilis* Bunge, test of extraction by TLC, the result indicated that it contained saccharide, organic acid, polyphenolics, tannins, amino acid, protein, glycosides or polysaccharides, saponins, alkaloid, Flavonoids, anthraquinones, coumarin, terpenoids, steroids, naphthalene and lipid, cyanogenetic glycoside and aliphatic nitro compounds. The Alkaloids of *Astragalus variabilis* Bunge (yellow flower) was the main high polar part, accounting for about 97.25%. Swainsonine was detected in *Astragalus variabilis* Bunge (yellow flower) when tested by TLC in its extraction in three parts, and was mainly in Ethyl acetate and n-Rutanol.

Key words: *Astragalus variabilis* Bunge (yellow flower); chemical composition; alkaloids; *Astragalus variabilis* Bunge