

披针叶黄华生物碱成分研究*

赵宝玉¹, 张靖飞², 哈斯巴图³, 朱忠珂¹, 周云凤¹, 曹光荣¹, 达能太³

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100; 2 西安市畜牧兽医研究所, 陕西 西安 710061;

3 内蒙古自治区阿左旗兽医站, 内蒙古 阿左旗 750300)

[摘 要] 采用 GC-MS 联用分析技术从披针叶黄华总生物碱中分离鉴定出 12 个喹诺里西啶生物碱, 即无叶豆碱, N-甲基金雀花碱, 金雀花碱, 白羽扇豆碱, 黄华碱, 臭豆碱, N-甲醛基金雀花碱, Dodecahydro-7, 14-methanodipyrido [1, 2-a: 1', 2'-e] [1, 5] diazocine, Pyridine 1-acetyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-5-(2-piperdiny), 7, 14-Methano-2H, 6H-dipyrido [1, 2-a: 1', 2'-e] [1, 5] diaz, 1, 1-Dimethyl-3-(2-nitrophenyl), 7, 14-Methano-4H, 6H-dipyrido [1, 2-a: 1', 2'-e] [1, 5] diazo。后 5 种化合物为首次从该植物中鉴定。

[关键词] 野决明属; 披针叶黄华; 生物碱; GC-MS

[中图分类号] R996.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)03-0009-04

披针叶黄华(*Themopsis lanceolate*), 别名牧马豆, 蒙古语他日巴干一希日, 为多年生草本, 属豆科(Leguminoaceae)野决明属(*Themopsis*)植物^[1~3]。分布于东北、华北及陕西、甘肃、青海、宁夏、四川等省区。生于河岸草地、砂丘、林下灌丛中以及田边、路旁, 偶进入农田。据资料记载本种为有毒植物, 种子和全草可引起牲畜中毒^[4, 5]。但也是有名的药用植物, 具有兴奋呼吸, 抗辐射及祛痰止咳等功效^[6, 7]。高文运等^[8~10]、贾忠建等^[11]报道, 该属植物富含喹诺里西啶(Quinolizidine)类生物碱, 其中全草含生物碱主要有黄华碱(Themopsine)、合模黄华碱(Homothemopsine)、臭豆碱(Anagrine)、厚果槐碱(Pachycarpine)、阿良亭(Argentine)、羽扇豆碱(Lupanine)、菱叶野决明碱(Rhombifoline)、黄华胺(Themopsamine)、金雀花碱(Cytisine); 种子主要为金雀花碱, 其次为黄华碱、鹰爪豆碱(Sparteine)、臭豆碱、N-甲基金雀花碱(N-Methylcytisine)。近期研究表明^[9], 该类生物碱具有抗癌, 抗心率失调, 抗微生物, 抗溃疡, 升高白细胞等多方面的药理作用, 特别是该类化合物较强的抗癌活性已引起人们很大的兴趣。目前, 国内对披针叶黄华生物碱成分还缺乏系统的研究, 本研究通过对披针叶黄华总生物碱的提取、薄层层析检查和气质联用分析, 揭示了披针叶黄华的生物碱种类, 以期对披针叶黄华的药用开发和毒性研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 披针叶黄华 2000 年 10~11 月, 采自宁夏回族自治区盐池县草场, 晒干, 运回西北农林科技大学, 粉碎后备用。

1.1.2 主要试剂 薄层层析用硅胶 GF254, 批号 970201, 青岛市市北区海化干燥剂厂生产; 羧甲基纤维素钠(CMCA), 批号 980318, 中国医药(集团)上海化学试剂公司生产; 黄华碱、臭豆碱标准品由孟协中惠赠; 金雀花碱购于 SIGMA 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器 FA1104 型电子天平, 上海天平仪器厂; 2573Å 短波紫外线分析仪, 上海顾村电光仪器厂; HPGC6890-MS5973 气质联用分析仪, 美国惠普公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 披针叶黄华总生物碱的提取 采用醇类溶剂提取法^[12, 13], 具体操作过程: 取披针叶黄华干草粉 200 g, 用甲醇 70℃水浴回流提取 6 次, 合并甲醇液, 减压回收溶剂得浸膏, 挥干到恒重, 称重。浸膏用 1 mol/L 盐酸溶解, 过滤, 残渣弃去, 收集酸水液。酸水液先用氯仿萃取数次, 以除去部分色素, 弃去氯仿液, 然后酸水液用氢氧化钠调 pH 至 9~11, 再用氯仿萃取, 直到氯仿液检不出生物碱为止。合并氯仿

* [收稿日期] 2001-11-20

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(39770571)

[作者简介] 赵宝玉(1964-), 男, 陕西宝鸡人, 副教授, 博士, 主要从事动物有毒植物中毒病研究。

液,减压回收氯仿得总生物碱。

1.2.2 薄层层析检查 硅胶板的制备:将硅胶 GF254 与质量分数 0.5% CM CN a 水溶液按 1:3 (m/v)研匀,均匀涂铺于不同规格的玻璃板上,置室温风干 1~2 d,然后贮存于干燥箱中保存备用。

展开剂:①氯仿:甲醇=2:1;②乙酸乙酯:甲醇=1:2;③丙酮:甲醇=3:1;④乙酸乙酯:甲醇=2:1;⑤乙酸乙酯:乙醇=2:1。

显色剂:改良碘化铋钾试剂(Improved dragendoff reagent)。

层析方法:取总生物碱用甲醇溶解,然后用毛细管点样于预先制备好的硅胶 GF254 板,置展开缸中饱和 5~10 min,上行法展开。当展开剂跑至距硅胶板前沿 1~2 cm 处时,取出,挥干溶剂。先在 254 nm 紫外灯下观察荧光,然后用改良碘化铋钾试剂喷雾显色,分别计算 R_f 值。

1.2.3 气相色谱-质谱联用分析(GC-MS 分析)

进样:总生物碱用甲醇溶解后直接注入气相色谱-质谱联用仪,进样量 1~2 μL。

色谱条件:气质分析采用 HP GC 6890-M S5973 气质联用分析仪,GC-MS 接口温度 280 °C,检索谱库为 DA TABASE/N IST98 L。

GC 条件:色谱柱 HP-SE-54 石英玻璃毛细管柱(甲基硅氧烷,0.25 mm×30 m),载气 N₂,分流比 20:1,柱温 30~260 °C,程序升温 4 °C/min,进样口温度 250 °C,用峰面积归一化法计算各化合物的相对百分含量。

MS 条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 °C,倍增器电压 1.6 kV,质量扫描范围 10~425 u,扫描周期 1 s,用计算机 N IST98 L 质谱数据库自动检索总生物碱各组分的质谱数据,对机检结果与有关保留时间及标准图谱进行核对,鉴定各组分的化学结构。

2 结果

2.1 总生物碱提取结果

从表 1 可以看出,披针叶黄华生物碱平均含量为 1.89% (以干重计)。

表 1 披针叶黄华生物碱提取结果

Table 1 The extractive results of alkaloid in *Themopsis lanceolate*

序号 Number	样品质量/g Sample weight	甲醇提取浸膏/g Extractive powder with methanol	提取率/% Extractive rate	总生物碱/g Total alkaloid	生物碱含量/% Content of alkaloid
1	200	42.60	21.30	4.44	2.23
2	200	47.50	23.75	3.88	1.94
3	200	40.00	20.00	3.34	1.67
4	200	55.50	27.75	3.49	1.75

2.2 薄层层析检查结果

从表 2 可以看出,5 种溶剂系统展开效果中氯仿:甲醇、乙酸乙酯:甲醇、丙酮:甲醇系统优于乙

酸乙酯:乙醇系统,总生物碱中至少有 6 种生物碱,经与标准品对照,其中 3 种分别为黄华碱、臭豆碱和金雀花碱。

表 2 薄层层析检查结果(R_f 值)

Table 2 The results by TLC (R_f value)

样品 Sample	展开剂 Solvent system													
	氯仿：甲醇 Chloroform： methanol (2：1)			乙酸乙酯：甲醇 Acetic ether： methanol (1：2)			乙酸乙酯：甲醇 Acetic ether： methanol (2：1)			丙酮：甲醇 A cetone： methanol (3：1)		乙酸乙酯：乙醇 Acetic ether： ethanol (2：1)		
总生物碱 Total alkaloid	0.04 0.68	0.11 0.78	0.49 0.89	0.04 0.65	0.26 0.72	0.58	0.04 0.57	0.14 0.63	0.37	0.06 0.64	0.20 0.71	0.48	0.06 0.78	0.58 0.93
黄华碱 Themopsine		0.89			0.72			0.63			0.71		0.93	
臭豆碱 Anagyrene		0.89			0.58			0.37			0.48		0.93	
金雀花碱 Cytisine		0.11			0.26			0.14			0.20		0.58	

2.3 气质联用(GC-MS)分析结果

按气质联用分析仪条件测得 14 个单体,总离子

流色谱图见图 1,质谱鉴定结果见表 3。由表 3 可知,14 个单体经 N IST98 L 质谱数据库鉴定出 12 种化

合物, 有 2 种化合物待定。

表 3 总生物碱 GC-MS 分析结果

Table 3 The analysis results of total alkaloid by GC-MS

峰号 Number	保留时间/min in Retention time	化合物名称 Name of compounds	分子式 Molecular formula	分子质量/u Molecular weight	相对含量/% Relative content
1	33.425	Sparteine(鹰爪豆碱, 无叶豆碱)	C ₁₅ H ₂₆ N ₂	234	4.062
2	34.475	Dodecahydro-7, 14-Methanodipyrido[1, 2-a: 1', 2'-e][1, 5] diazocine	C ₁₅ H ₂₆ N ₂	234	0.254
3	35.006	Pyridine, 1-acetyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-5-(2-piperdiny)	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O	208	12.635
4	37.924	Caulophylline (Methylcytisine) (N-甲基金雀花碱, N-甲基野靛碱)	C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O	204	2.480
5	38.620	7, 14-Methano-2H, 6H-dipyrido[1, 2-a: 1', 2'-e][1, 5]diaz	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	248	1.073
6	38.856	1, 1-Dimethyl-3-(2-nitrophenyl)	C ₉ H ₁₀ N ₂ O ₃	209	0.561
7	39.660	Cytisine(金雀花碱, 野靛碱)	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	190	48.385
8	41.492	7, 14-Methano-4H, 6H-dipyrido[1, 2-a: 1', 2'-e][1, 5]diaz	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O	246	6.751
9	42.365	Lupanine(羽扇豆烷宁, 羽扇豆毒碱, 白羽扇豆碱)	C ₁₅ H ₂₄ N ₂ O	248	6.420
10	45.909	d-Themopsine(野决明碱, 黄华碱)	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O	244	4.827
11	47.377	Anagyrine(臭豆碱, 安那吉碱)	C ₁₅ H ₂₀ N ₂ O	244	11.164
12	47.784	未鉴定	—	—	0.737
13	47.920	Cytisine N-formyl (N-甲醛基金雀花碱)	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	218	0.203
14	48.260	未鉴定	—	—	0.448

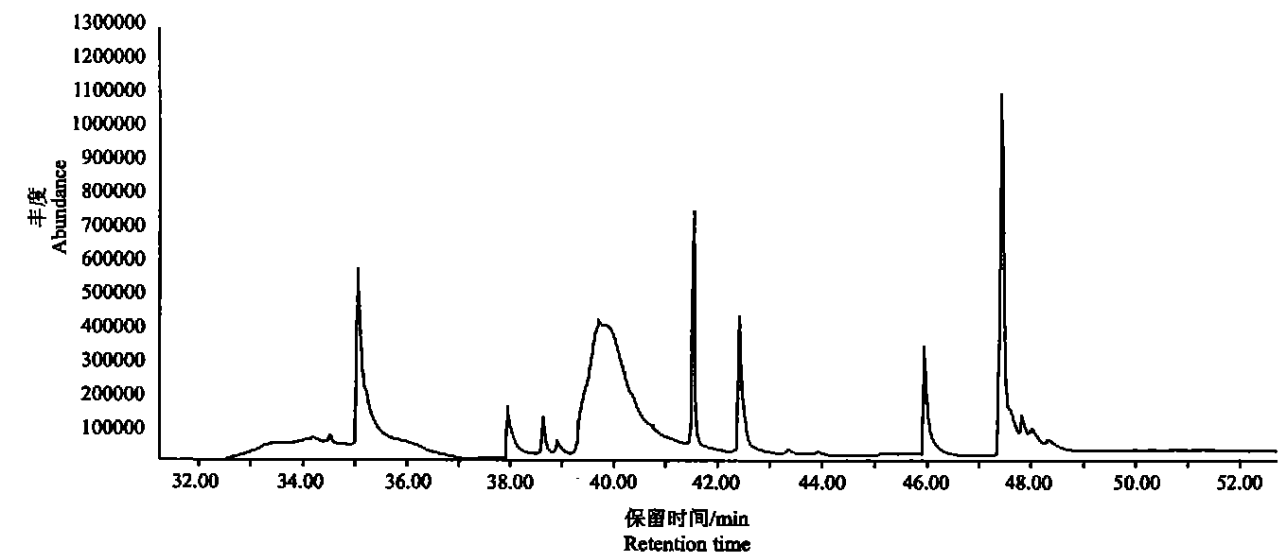


图 1 总生物碱总离子流色谱图

Fig 1 The GC spectrum of total alkaloid from *Themopsis lanceolate*

3 分析与讨论

3.1 影响披针叶黄华生物碱提取的因素

影响生物碱提取的因素很多, 如回流时间、回流温度、回流次数、酸化程度、溶剂选择、萃取次数及是否乳化等。本研究通过增加回流次数, 控制温度, 提高酸化时研磨的程度, 增加萃取次数, 减少乳化发生等措施来提高生物碱含量。在试验过程中, 没有套用一般的热回流 3~4 次的方法, 而是依照过滤甲醇液几乎无色为标准来确定回流的次数。在酸化时, 通过增加研磨次数, 使浸膏研细并均匀分散于酸液中, 有

利用生物碱充分形成生物碱盐, 直到剩余物酸溶完全, 经反复处理至生物碱沉淀反应为阴性。酸液用氯仿萃取时, 应尽可能的把杂质萃取完全。碱化后用氯仿萃取, 直到最后 1 次萃取液检验无生物碱为止(经改良碘化铋钾试剂喷雾不显色)。结果披针叶黄华总生物碱平均含量为 1.89%, 几乎是高文运等^[9]报道所得结果 0.77% (30 kg 全草提取总生物碱 230 g) 的 2.5 倍。

3.2 关于 GC-MS 分析

经典柱层析分离生物碱需要的量多, 对于量少的生物碱很难分离出来。而气质联用分析仪只需很

少量总生物碱,就能把总生物碱中较微量的单体分离出来。本研究通过对总生物碱进行气相色谱—质谱联用分析仪得到 14 种单体化合物,鉴定出 12 种化合物的化学结构,还有 2 种化合物质谱数据库未鉴定出化学结构,这可能与气相色谱—质谱联用仪

数据库大小有关。对鉴定出的 12 种化合物进行分析,发现金雀花碱的相对含量最高,占披针叶黄华总生物碱的 48.385%,N-甲醛基金雀花碱含量最低,占 0.203%。

[参考文献]

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴(第二册)[M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [2] 傅坤俊, 张振万, 何善宝, 等. 中国植物志(第 42 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [3] 李扬汉. 中国杂草志[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [4] 陈冀胜, 郑 硕. 中国有毒植物[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [5] 萧运峰, 严文海. 草场有毒植物—披针叶黄华的化学防除[J]. 四川草原, 1996, (4): 22- 25.
- [6] 国家中医药管理局,《中华本草》编委会. 中华本草(第 4 卷)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1996.
- [7] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [8] 高文运, 朱大元. 野决明属植物化学研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(6): 79- 84.
- [9] 高文运, 李医明, 朱大元, 等. 牧马豆生物碱成分研究[J]. 中草药, 1998, 29(12): 796- 798.
- [10] 高文运, 李医明, 蒋山好, 等. 牧马豆生物碱成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(2): 1- 4.
- [11] 贾忠建, 宋广泽, 刘自民. 光叶黄华化学成分研究(I) [J]. 高等学校化学学报, 1990, 11(9): 1014- 1015.
- [12] 徐任生, 陈仲良. 中草药有效成分提取与分离[M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.
- [13] 徐任生. 天然产物化学[M]. 北京: 科学出版社, 1997.

Studies on chemical constitution of alkaloid from *Themopsis lancenolate*

ZHAO Bao-yu¹, ZHANG Jing-fei², HA Sibatu³, ZHU Zhong-ke¹, ZHOU Yun-feng¹,
CAO Guang-rong¹, DA Neng-tai³

(1 College of Animal Sciences and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Xi'an Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Xi'an, Shaanxi 710061, China;

3 Inner Mongolia Aoshanzuoqi Veterinary Station, Aoshanzuoqi, Inner Mongolia 750300, China)

Abstract: Twelve quinolizidine-type alkaloids were isolated and identified from the total alkaloids of *Themopsis lancenolate* by GC-MS. They are sparteine, caulophylline, cytisine, lupanine, themopsine, anagryne, N-formylcytisine, dodecahydro-7, 14-methanodipyrido [1, 2-a: 1', 2'-E] [1, 5] diazocine, pyridine 1-acetyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-5-(2-piperidyl), 7, 14-methano-2H, 6H-dipyrido [1, 2-a: 1', 2'-E] [1, 5] diaz, 1, 1-dimethyl-3-(2-nitrophenyl), 7, 14-methano-4H, 6H-dipyrido [1, 2-a: 1', 2'-E] [1, 5] diaz. The last five compounds were determined from this species for the first time.

Key words: themopsis; *Themopsis lancenolate*; alkaloids; GC-MS