维普资讯 http://www.cqvip.com

西北农业学报 2006,15(5):14～16,20
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

变异黄芪地上部分化学成分研究

王银朝[1,2],赵宝玉[1*],谭承建[1,2],王建军[1]
(1 西北农林科技大学动物科技学院,陕西杨凌 712100;2 中国科学院昆明植物研究所,云南昆明 650000)

摘 要:采用聚酰胺和硅胶柱层析等色谱技术对变异黄芪地上部分化学成分进行分离纯化,并利用理化常数和波谱等数据进行鉴定。从变异黄芪石油醚和正丁醇萃取部分共分离得到8个化合物,分别鉴定为二十二硫醇(Ⅰ)、二十八烷醇(Ⅱ)、γ-谷甾醇(Ⅲ)、β-胡萝卜素(Ⅳ)、软脂酸单甘油酯(Ⅴ)、苦马豆素(Ⅵ)、水仙苷(Ⅶ)和芦丁(Ⅷ)。首次从变异黄芪中分离得到化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅶ和Ⅷ;此外,化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅴ以及Ⅶ为首次从黄芪属植物中分离得到。

关键词:变异黄芪;化学成分;苦马豆素;芦丁
中图分类号:()656.22 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-1389(2006)05-0014-03

Chemical Constituents on the Overground Parts of *Astragalus variabilis*

WANG Yin-chao[1,2], ZHAO Bao-yu[1*], TAN Cheng-jian[1,2] and WANG Jian-jun[1]
(1. College of Animal Sci-Tech, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China;
2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: Eight known compounds were isolated from the over ground part of *Astragalus variabilis*, based on the data of m. p. and IR, MS and NMR, they were identified as 1-docosanethiol(Ⅰ), octacosanol(Ⅱ), γ-sitosterol(Ⅲ), β--caroten(Ⅳ), hexadecanoic acid, 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester(Ⅴ), swainsonine(Ⅵ), narcissin(Ⅶ), rutin(Ⅷ). The compounds of Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ, Ⅶ, Ⅷ were isolated from *Astragalus variabilis* for the first time, and the compounds of Ⅰ, Ⅱ, Ⅴ, Ⅶ were isolated firstly from *Astraglus*.

Key words: *Astragalus variabilis*; Chemical constituents; Swainsonine; Rutin

变异黄芪(*Astragalus variabilis* Bunge),俗称骚草、碎草、瓜瓜草,为豆科黄芪属多年生草本植物[1]。变异黄芪是疯草类植物的一种,主要分布于我国西部内蒙古、新疆、甘肃、青海、宁夏等地区,生长在海拔900～1 900 m的荒漠及半荒漠地区,半固定沙丘间、沙漠以及戈壁等地,已成为我国沙漠化草地主要优势植物之一。变异黄芪主要危害牛、羊、马、骆驼、驴、骡等家畜[2],在内蒙古有人变异黄芪中毒的报道[3]。动物采食后可引起以中枢神经机能障碍为特征的慢性中毒,甚至死亡;此外,还严重影响母畜繁殖和公畜精子品质等。仅内蒙古每年因采食变异黄芪中毒牲畜达20万头(只),近10 a来造成直接经济损失300多万元。同时由于变异黄芪大肆蔓延以及人为的挖除和化学防除造成草场严重退化、沙化,对这些地区的生态环境造成巨大威胁,严重危害这些地区畜牧业的可持续发展和草场生态平衡。目前就变异黄芪化学成分系统研究,国内外尚未见报道。本研究通过对变异黄芪化学成分进行系统研究,为变异黄芪中毒病的进一步研究及变异黄芪的开发利用提供依据。

收稿日期:2006-05-25 **修回日期**:2006-06-21
作者简介:王银朝(1981－),男,汉族,河南林州人,在读硕士,主要从事有毒植物化学成分、毒性评价和家畜中毒病研究。Email:wych8211@tom.com
*通讯作者。Email:zhaobaoyu2005@163.com

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 *植物材料*　变异黄芪地上部分于 2003 年 7 月采自甘肃省民勤县，由西北农林科技大学生命科学学院植物研究所张跃进研究员鉴定。

1.1.2 *主要试剂*　薄层层析用硅胶 GF254，柱层析用硅胶，100～200 目，200～300 目（青岛海洋化工厂）；柱层析用聚酰胺，30～60 目，（中国医药集团上海化学试剂公司）；其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 *主要仪器*　旋转蒸发器 RE-52AA（上海亚荣生化仪器厂）；X-6 显微熔点测定仪（温度未校正，北京泰克仪器有限公司）；NICOLET AVATAR 360FT-IR 分光光度计（美国 NICOLET 公司）；VG-ZAB-HS 质谱仪（美国惠普公司）；BRUKER-500FT-NMR 光谱仪（TMS 为内标，德国 Bruker 公司）。

1.2 提取分离

10 kg 变异黄芪干草粉用 95% 乙醇室温浸泡，提取 6 次，每次 7d，回收溶剂后得乙醇提取浸膏 422.6 g。将乙醇提取浸膏分布于 500 mL 蒸馏水中，依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取得各部分萃取浸膏 131.4 g，16.4 g，17.5 g 和 206.9 g。

1.2.1 *石油醚萃取浸膏分离*　石油醚萃取浸膏（50 g）经硅胶柱层析，用 $V_{石油醚}$ ∶ $V_{丙酮}$ = 150 ∶ 1 ～1 ∶ 3 梯度洗脱，TLC 检测合并为 A、B、C、D、E、F 6 个部分。取 B 部分（15 g）经硅胶柱层析，以 $V_{石油醚}$ ∶ $V_{丙酮}$ = 200 ∶ 1～8 ∶ 1 梯度洗脱，得化合物Ⅰ（16 mg）、Ⅱ（13 mg）和Ⅲ（32 mg）。

取 C 部分（3 g）经硅胶柱层析，以 $V_{石油醚}$ ∶ $V_{乙酸乙酯}$ = 5 ∶ 1～1 ∶ 2 梯度洗脱，得化合物Ⅳ（5 mg）和Ⅴ（8 mg）。

1.2.2 *正丁醇萃取浸膏分离*　取正丁醇萃取浸膏（50 g）经聚酰胺柱色谱初步分离，得到水、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇和 95% 乙醇洗脱部分。取水洗部分（18 g）经硅胶柱层析，用 $V_{氯仿}$ ∶ $V_{甲醇}$ ∶ $V_{氨水}$ ∶ $V_{水}$ = 70 ∶ 26 ∶ 2 ∶ 2 洗脱，TLC 检测合并为 A、B、C 3 个部分。其中 B 部分用碱性氯仿处理，减压升华得到化合物Ⅵ（15 mg）。取 30% 乙醇洗脱部分（5.3 g），经硅胶柱层析，以 $V_{氯仿}$ ∶ $V_{95\%乙醇}$ = 11 ∶ 1～1 ∶ 4 梯度洗脱，得化合物Ⅶ（35 mg）和Ⅷ（28 mg）。

1.3 化合物鉴定方法

对分离得到的 8 种化合物通过波谱数据分析并结合其理化性质进行鉴定。

2 结果与分析

化合物Ⅰ　白色粉末（氯仿－丙酮），m. p. 73～75℃，5% 硫酸乙醇不显色。MS（m / e）：342（M^+），308（$M-SH_2$），111，97，83，71，57，43，29；该图谱与二十二硫醇标准图谱一致，且化合物Ⅰ与二十二硫醇标准品混合熔点不变，故鉴定为二十二硫醇（1-docosanethiol）。

化合物Ⅱ　白色粒状晶体（石油醚－丙酮），m. p. 79～81℃（文献值 81～83℃），5% 硫酸乙醇不显色，香草醛－盐酸显微弱的黄色。IRmax（KBr，cm^{-1}）：3393（O-H），2917，2849（C-H），1471，1462，1061，730，719［$(CH_2)n$，n＞4］。MS（m / e）：410（M^+），392（$M-H_2O$），364，350，336 及一系列失 14 栅栏状碎片峰，峰的强度随 m/e 增加而减弱。以上数据与文献［4～9］一致，故鉴定为二十八烷醇（octacosanol）。

化合物Ⅲ　无色针晶（丙酮），m. p. 131～133℃，5% 硫酸乙醇显红色。IRmax（KBr，cm^{-1}）：3425（O-H），2960，2868（C-H）。MS（m / e）：414（M^+），396（$M-H_2O$），255，213，145，107，81，69，55，43。红外图谱和质谱图谱与 γ－谷甾醇标准图谱对照一致，故鉴定为 γ－谷甾醇（γ-sitosterol）。

化合物Ⅳ　红色针晶（石油醚－丙酮），m. p. 164～166℃，5% 硫酸乙醇显兰色。IRmax（KBr，cm^{-1}）：3492（C＝C），2918（C-H）。该红外图谱与 β-胡萝卜素标准图谱对照一致，故鉴定为 β-胡萝卜素（β-caroten）。

化合物Ⅴ　白色蜡状固体（石油醚－丙酮），m. p. 72～74℃，5% 硫酸乙醇显白色。IRmax（KBr，cm^{-1}）：3309（O-H），2917，2850（C-H），1730（C＝O）。MS（m / e）：330（M^+），239，134，91，74。红外图谱和质谱图谱与软脂酸单甘油酯标准图谱对照一致，参考文献［10～12］鉴定为软脂酸单甘油酯（hexadecanoic acid，2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl ester）。

化合物Ⅵ　白色针状结晶，m. p. 144～145℃。IRmax（KBr，cm^{-1}）：3423（O-H），2943，2891（C-H），2828～2724（Bohlmann 带），1072（C-O）吸收峰。MS（m / e）：173（M^+），155，138，

维普资讯 http://www.cqvip.com

116,115,96,84,72,43。TLC检测与苦马豆素标准品(由西北农林科技大学生物毒素与分子毒理学研究所提供)对照,其显色和 R_f 值均与标准品相同,结合熔点确定其为苦马豆素(swainsonine)。

化合物Ⅶ 黄色粉末(氯仿—甲醇),m. p. 174～176℃。IRmax(KBr,cm^{-1}):3426(O-H),2984,2938(C-H),1668(C=O)1600,1505,1457(C_6H_5-),1455,1431,1359,1206,1168,1032,1061(glycoside C-O),926,860,836,809,711。MS(m / z):316(aglycone 苷元),287,273,245,217,157,151,106。^{1}H-NMR(DMSO, 500MHz):显示在高场δ0.98(d,3H,J=6 Hz)有一个甲基,为C-6'''上的H。δ3.84(s,3H)是3'上连OCH_3上H。δ7.85(s,1H,J=1.5 Hz),6.43(s,1H,J=1.5 Hz),7.52(dd,1H,J=2, 6.5Hz),6.20(s,1H,J=2 Hz),6.92(d,1H,J=7.5 Hz)分别为苯环上C-8,C-6,C-6',C-2',C-4'上的H。C-8与C-6互为间位,C-6'与C-2'互为间位,与C-4'互为邻位。δ12.57,10.85,9.89分别是C-5,C-7,C-4'上的H。^{13}CNMR(DMSO, 125MHz):δ156.35(C-2),132.90(C-3),177.22(C-4),161.08(C-5),98.61(C-6),164.05(C-7),93.69(C-8),156.36(C-9),103.89(C-10),120.93(C-1'),113.16(C-2'),146.77(C-3'),149.28(C-4'),115.13(C-5'),122.16(C-6'),101.06(C-1''),74.17(C-2''),76.27(C-3''),69.98(C-4''),75.81(C-5''),66.71(C-6''),100.78(C-1'''),70.47(C-2'''),70.19(C-3'''),71.61(C-4'''),68.17(C-5'''),17.59(C-6''')。参考文献[13～17],结合熔点鉴定为水仙苷(narcissin)。

化合物Ⅷ 黄色粉末(氯仿—甲醇),m. p. 185～187℃。IRmax(KBr,cm^{-1}):3426(O-H),2985,2938(C-H),1656(C=O)1599,1505,1457(C_6H_5-)。MS(m / e):303(苷元+1),302(苷元),285,137。由1H-NMR可知该化合物有30个质子:^{1}H-NMR(DMSO, 500MHz),δ12.59(s,1H),10.81(s,1H),9.65(s,1H),9.16(s,1H),分别为C-5,C-7,C-3',C-4'羟基上的H;δ7.55(d,1H,J=2.0, 8.0 Hz),7.53(s,1H,J=2.0 Hz),6.84(d,1H,J=8.0 Hz),6.38(s,1H,J=1.2 Hz),6.19(s,1H,J=1.2 Hz),分别为苯环上C-6',C-2',C-5',C-8,C-6的H。δ0.98(s,3H)为C-6'''上的H。^{13}CNMR(DMSO, 125MHz):δ156.57(C-2),133.34(C-3),177.36(C-4),161.22(C-5),98.64(C-6),164.03(C-7),93.54(C-8),156.42(C-9),103.98(C-10),121.19(C-1'),115.21(C-2'),144.73(C-3'),148.38(C-4'),116.27(C-5'),121.56(C-6'),101.21(C-1''),74.08(C-2''),76.49(C-3''),70.02(C-4''),75.93(C-5''),66.98(C-6''),100.71(C-1'''),70.59(C-2'''),70.36(C-3'''),71.88(C-4'''),68.19(C-5'''),17.68(C-6''')。参考文献[18～21],结合熔点鉴定为芦丁(rutin)。

3 讨 论

目前,对变异黄芪化学成分研究主要集中在其毒性成分上,经过研究发现其主要毒性成分为疯草毒素—苦马豆素。苦马豆素是高尔基体内α-甘露糖苷酶II的抑制剂,近年来作为一种崭新的抗癌药物而得到了极大的关注。其特点在于既具有杀伤肿瘤细胞作用又具有免疫调节的双重作用,因此是一种很有前途的肿瘤治疗药物。

芦丁(rutin)又叫芸香苷、维生素P、紫槲皮苷,是槲皮素(quercetin)的3-O-芸香糖苷。芦丁及其衍生物具广泛的药理活性。临床用于防止脑溢血、高血压等心脑血管疾病。

变异黄芪本身具有毒性,但植物本身营养价值较高,试验表明变异黄芪中粗蛋白含量为14.40%,干物质含量为91.40%,营养价值几乎与优良牧草苜蓿相当。本试验首次对变异黄芪化学成分进行系统研究,并得到了8个单体化合物,为变异黄芪植物资源的综合利用提供了试验依据,同时也丰富了黄芪属植物化学成分研究的内容。

参考文献:

[1] 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研究[J].草业科学,1999,16(1):48～50.

[2] 谭承建,赵宝玉,董 强,等.变异黄芪石油醚浸提物化学成分的GC—MS分析[J].天然产物研究与开发,2005,17(增刊):15～16.

[3] 达能太,娜日苏,侯智胜,等.人变异黄芪中毒病例介绍[J].动物毒物学,2004,19(1):44.

[4] 胡幼华,李 瑜.灰苞篙化学成分研究[J].中国中药杂志,1994,19(3):164～165.

[5] 胡幼华.宽果丛菔化学成分的研究[J].哈尔滨师范大学自然科学学报,1995,11,(2):71～74.

(下转第20页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

工合成抗原的分子量相差很大，故采用ELISA法测抗体。试验中，为提高酶标反应板的吸附性能，用SPF鸡的卵清蛋白包被酶标反应板之后再包被抗原。抗原的包被量主要决定于抗原的免疫反应性和所要检测抗体的浓度。一般纯化抗原所需包被量以每孔20～200 μg为宜。本试验将抗原以包被液作1∶200～1∶2000稀释，酶标抗体作1∶500～1∶2000稀释，用方阵法检测抗原及酶标抗体工作浓度，均取得了理想的结果。

参考文献：

[1] Heizman R J. Veterinary Drug Residues[M]. Report Eur. 15126-EN Published on behalf of European Communities, 1994. 24～26.

[2] Nielsem M, Bjrnsdóttir S, HØyer P E, *et al*. Ontogeny of oestrogen receptor a in gonads and sexducts of fetal and newborn mice[J]. Reprod Fertil, 2000, 118: 195～204.

[3] 王振国，宋广义，王君双. 食品农药残留免疫学检测技术[J]. 吉林农业大学报，1997，19(3)：113～120.

[4] Gosling J P. Immunoassays-A practical approach[M]. Oxford University Press. 2000. 174.

[5] 姜 玲，章文才，柯 云，等. 抗解皮素抗体的研制[J]. 免疫学杂志，2000，16(5)：383～386.

[6] 朱立平，陈学清. 免疫学常用实验方法[M]. 上海：人民军医出版社，1997. 11～26.

[7] 梁宋平，生物化学与分子生物学实验教程[M]. 北京：高等教育出版社，2003，126～138.

[8] Bailey N C, Fidanza V, Mayer R, *et al*. Activation of clones producing self-reactive antibodies by foreign antigen and anti-idiotype antibody carrying the internal image of the antigen[J]. Clin Invest, 1989, 84(3): 744～756.

[9] 李俊锁，钱传范. 兽药残留免疫分析及其进展[J]. 中国兽医学报，1998，18(4)：411～413.

[10] 崔治中，崔保安. 兽医免疫学[M]. 北京：中国农业出版社，2004，247.

（上接第16页）

[6] 连 珠，张承忠，李 冲，等. 蒙药广枣化学成分的研究[J]. 中药材，2003，26(1)：23～24.

[7] 陈孟兰，阮金兰. 乌金草化学成分研究[J]. 医药导报，2005，24(4)：270～272.

[8] 苏 亮，楼凤昌，郑卫平，等. 银杏枝皮化学成分的研究[J]. 药物生物技术，1999，(4)：245～248.

[9] 浮光苗，余伯阳，朱丹妮. 月腺大戟化学成分的研究[J]. 中国药科大学学报，2003，34(4)：377～379.

[10] 唐京生，陈 谨，田 军，等. 峨眉海桐化学成分的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版)，2002，39(3)：338～341.

[11] 王恒山，王光荣，谭明雄，等. 中药马骝卵的化学成分研究[J]. 广西植物，2004，24(2)：155～157.

[12] 刘法锦，孙冬梅. 中药蜂蜡降血脂有效成分的研究[J]. 中国中药杂志，1996，21(9)：553～554.

[13] 中国科学院上海药物研究所植物化学研究室编译. 黄酮体化合物鉴定手册[M]. 北京：科学出版社，1981.

[14] Tulyaganov TS, Nazarov O M, Makhmudov O E, *et al*. N-ALLYLISONITRARINE AND NARCISSIN FROM PLANTS OF THE Nitraria GENUS[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2001, 37(5): 470～473.

[15] Hong Liang, Yan-Jing Bai, Yu Ying Zhao, *et al*. The Chemical Constituents from the Roots of Bupleurum chinense DC[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences 1998, 7(2): 98～99.

[16] Yu-Biao CHENG, Dong-Ming ZHANG, Shi-Shan YU. Chemical Constituents of Smilaxperfoliata[J]. ActaBotanicaSinica, 2004, 46(5): 618～620.

[17] 彭江南，冯孝章，梁晓天. 耳草属植物的化学研究Ⅵ. 黄毛耳草化学成分的分离和鉴定[J]. 中草药，1999，30(3)：34～36.

[18] 柴兴云，李 萍，唐力英. 山银花化学成分研究[J]. 中国中药杂志，2004，29(9)：865～867.

[19] 张雯洁，刘玉清，李兴从，等. 云南"生态茶"的化学成分[J]. 云南植物研究，1995，17(2)：204～208.

[20] 斯建勇，高光跃，陈迪华. 云南山碴果化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发，1994，6(2)：49～51.

[21] 梁侨丽，丁林生. 枳椇叶的化学成分研究(Ⅰ)[J]. 中草药，1996，27(10)：581～583.