

- 2 Lotlikar M M. Indian J Pharm, 1966, 28(5): 129
- 3 方乍浦,曾宪仪,熊淑玲.天然产物研究与开发,1996,8(3): 20
- 4 Cahoon E B and Lynch D V. Plant Physiol, 1991, 95 58
- 5 Shibuya H, Kawashima K, Sakagami M, *et al.* Chem Pharm Bull, 1990, 38(11): 2933
- 6 陈英杰,徐缓绪,马启凤,等.药学报,1987,22(9): 685
- 7 Guevara A P, Lin-Sylianco C Y, Dayrit F M. Phytochemistry, 1989, 28(6): 1721
- 8 Sucrow W. Tetrahedron Lett, 1965, 26 2217
- 9 陈靖宇,陈建民,肖培根.中国协和医科大学中国医学科学院博士学位论文.1997 31

(1999-06-10收稿)

芸香科植物飞龙掌血愈伤组织细胞培养物生物碱成分的研究

中国医学科学院 医药生物技术研究所(北京 100050) 司书毅*

中国协和医科大学 日本国东京 理科大学综合研究所 生田安喜良

摘要 目的:为研究芸香科各亚科及属之间的亲缘关系及化学分类基础。方法:对药用植物飞龙掌血(*Toddalia asiatica*)愈伤组织进行诱导生长和继代培养,收获培养7周的组织块,甲醇和乙酸乙酯提取物通过多次硅胶柱层析和 Sephadex LH-20凝胶柱层析等方法进行生物碱等化学成分的分离与结构鉴定。结果:为采用药用植物飞龙掌血愈伤组织细胞培养的方法制备喹啉咪喃类药用生物碱提供依据。

关键词 飞龙掌血 愈伤组织 细胞培养 生物碱

芸香科植物飞龙掌血为产于亚洲、非洲及澳洲等地的一种药用植物^[1,2],其有效成分主要为生物碱和香豆素等。本科植物中所含的生物碱已被用来作为化学分类的重要依据。利用愈伤组织进行培养,对于研究生物碱等成分的生物合成途径以及用简单培养方法获得有效成分都是很有意义的。

1 实验材料与仪器

愈伤组织的诱生与继代培养:将新采集的原植物的茎与叶无菌操作下用刀片切成小块,经10%次氯酸钠消毒后,植于含有生长激素 NAA(3 mg/L)和 Kin(0.1 mg/L)或 2,4-D(3 mg/L)和 Kin(0.1 mg/L)的 MS培养基上,在26℃下无菌孵育诱生约4周后,将新生愈伤组织转植于含有 2,4-D(1 mg/L)和 Kin(0.1 mg/L)的 MS培养基上进行继代培养,经数次继代扩大培养后收获(每一代培养周期为6~7周)。

JEOL JMS-SX102A质谱仪;GSX-500核磁共振仪,CDCl₃为溶液,TMS为内标。层析用硅胶(日本产,100~160目和160~200目),纯化用 Sephadex LH-20凝胶(瑞典 Pharmacia公司);薄层层析板(Merck产,Kieselgel 60 F₂₅₄, Art. 5715)显色剂:Dragendorff显色剂。

2 提取与分离

将收获的愈伤组织块(湿重2.77 kg,干重约140 g)首先用冷甲醇4 000 mL浸泡一夜,去糖苷类成分,滤渣强力搅拌后依次用甲醇(4 000 mL×2)、甲醇-乙酸乙酯(1:1)(4 000 mL×3)、乙酸乙酯(4 000 mL×2)加热回流提取,冷却后过滤,滤液经减压浓缩后得黄棕色油状物,油状物分别加氯仿和水各600 mL进行萃取,分层后,水层再用氯仿萃取3次,合并氯仿中,减压浓缩至干得约6 g油状物。

将3.5 g提取物溶于10 mL氯仿中,上样于150 g硅胶柱(200目),分别用正己烷-乙酸乙酯(50:1;20:1;10:1)、氯仿-氯仿-乙酸乙酯(5:1)、氯仿-甲醇(20:1;10:1;1:1)和甲醇等梯度洗脱。其中,氯仿-乙酸乙酯(5:1)洗脱的第8组分和第9~12组分经薄层层析分析发现有生物碱成分存在。氯仿-乙酸乙酯(5:1)洗脱的第8组分经两次 Sephadex LH-20凝胶柱分离得到化合物I 纯品。氯仿-乙酸乙酯(5:1)洗脱的第9~12组分经再一次硅胶柱层析,用苯-乙酸乙酯(20:1;12:1;10:1)梯度洗脱,根据薄层层析分析结果,将苯-乙酸乙酯(20:1)洗脱的第6组分和苯-乙酸乙酯(12:1)洗脱的第1组分合并,再经1次 Sephadex LH-20凝胶

* Address: Si Shuyi, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing
司书毅 男,1961年生,博士,副研究员,国家微生物新药筛选实验室(筹)副主任,主要从事天然药物化学和微生物药物筛选工作。1982年1月毕业于南京药学院。1989年8月获得中国协和医科大学生物及微生物药物学专业硕士学位。曾先后参加了亚胺硫霉素的研究、降胆固醇新药 F-400的研究及云南土壤微生物资源前期开发等“八·五”攻关项目,并获得过中国医学科学院科技进步奖一、二等奖各一次。1995年6月至1998年5月曾留学日本,从事心血管药物的筛选和药用植物化学等工作。

柱层析纯化得到化合物II 纯品

3 鉴定

化合物I: 无色结晶, EI-MS 259 (M^+), 244 ($M - CH_3$)⁺, 230 UV, λ_{max} (MeOH): 218, 316, 319 (sh), 337 nm⁻¹ ¹HNM R (CDCl₃) δ 4.03 (3H, s, -OCH₃), 4.11 (3H, s, -OCH₃), 4.44 (3H, s, -OCH₃), 7.05 (1H, d, J = 3.0 Hz), 7.23 (1H, d, J = 9.0 Hz), 7.59 (1H, d, J = 3.0 Hz), 8.02 (1H, d, J = 9.0 Hz) 分析以上数据, 将化合物I 鉴定为茵芋碱 (skimmianine)

化合物II: 白色结晶, 229 (M^+), 214 ($M - CH_3$)⁺, 200 ¹HNM R (CDCl₃) δ 4.09 (3H, s, -OCH₃), 4.46 (3H, s, -OCH₃), 7.06 (1H, dd, J = 1.0, 7.5 Hz), 7.09 (1H, d, J = 3.0 Hz), 7.36 (1H, dd, J = 8.5, 7.5 Hz), 7.66 (1H, d, J = 3.0 Hz), 7.86 (1H, dd, J = 1.0, 8.5 Hz) 根据以上数据, 并与文献对照^[3], 化合物II 鉴定为 γ -崖椒碱 (γ -fagarine)

4 结果与讨论

本文对芸香科植物飞龙掌血的愈伤组织进行了诱导生长和继代培养, 对培养 7 周的组织块的主要成分进行了化学提取与结构鉴定研究, 发现两个常见喹啉呋喃类生物碱茵芋碱和 γ -崖椒碱 另外, 还分离得到若干甾醇类化合物, 而未能检测到香豆素类衍生物。这表明愈伤组织的培养物与原植物的主要化学成分是有区别的^[1]。但从生物碱成分来讲, 至少可以肯定飞龙掌血愈伤组织的培养, 可以产生喹啉呋喃类生物碱。能否产生其他类型的生物碱, 还需要做进一步的大量实验, 以便为利用愈伤组织细胞培养物的生物碱成分作为原植物的化学分类依据奠定基础

参考文献

- 1 石井永, 小林纯一, 石川宗一, 等. 药学杂志(日), 1991, 111: 365
- 2 《全国中草药汇编》编写组编写. 全国中草药汇编. 上册. 北京: 人民卫生出版社, 1992 70
- 3 Narasimhan N S, Mali R S. Tetrahedron, 1974, 30 4153

(1999-10-08收稿)

透骨草挥发油成分分析[△]

中国科学院兰州化学物理研究所 OSSO 国家重点实验室 (730000) 高海翔 鲁润华 魏小宁 汪汉卿* 孔杰

透骨草是大戟科地构叶属植物地构叶 *Speranskia tuberculata* (Bunge.) Baill. 在甘肃中部干旱地区有大量分布, 民间主要用于治疗跌打损伤, 风湿痹痛, 并且该药在《本草原始》、《本草纲目》中均有记载^[1], 本实验室曾对该植物丙酮提取部分作过系统的分离和结构鉴定, 其化学成分主要有生物碱、有机酸等^[2, 3], 还见有甾醇、嘧啶类化合物的报道^[4], 但未见研究其挥发油, 故有必要对之进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料: 本实验所用透骨草购自甘肃陇南地区, 经兰州大学生物系张国梁教授鉴定为 *Speranskia tuberculata* 全草

1.2 挥发油提取: 取干燥的透骨草全草 200 g, 粉碎后加入乙醚 1 800 mL, 冷浸 24 h 后于 50℃ 水浴回流提取 4 h, 倾出乙醚提取液再加乙醚 1 500 mL, 如此回流提取 3 次, 合并 3 次乙醚提取液, 回收乙醚至 100 mL 左右, 放冷后加入 300 mL 水。进行水蒸气

蒸馏, 收集流出液用等量乙醚萃取 6 次, 合并乙醚萃取液, 回收乙醚后得到淡黄色有特殊气味的油状物 0.41 g, 得率为 0.203%。

1.3 GC-MS 实验条件: 仪器: HP6980 气相色谱仪, HP5973 质谱仪, HP-5MS 石英毛细管柱 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m) 条件: 柱温 60℃~ 280℃, 3.5℃/min, 气化室温度 300℃, 载气为氮气, 柱前压 59.8 kPa, 分流比 15: 1, 柱流量 1.2 mL/min, 进样量 0.4 μ L 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子源温度 230℃, 扫描范围 33~ 550 质量单位, 扫描速度 0.5 s/dec

2 结果和讨论

2.1 挥发油气相色谱图 (从略) 共有 112 个峰, 用面积归一化法计算出有关组分的相对含量, 相应质谱图经计算机检索并结合文献调研^[5], 共鉴定出 68 个化合物, 鉴定出的化合物占总挥发油的 75.08%, 结果见表 1

* 通信联络人

[△]中国科学院“西部之光”人才培养计划资助项目