

$^{\circ}\text{C}$ 。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -4.5^{\circ}$ (c, 0.5, CHCl_3) EIMS m/z (%): 412 (M^+ , 46), 397 (13), 369 (17), 351 (6), 273 (23), 271 (76), 255 (56), 229 (22), 81 (84), 55 (100), 43 (84)。 IR (KBr) cm^{-1} : 3 450, 2 958, 2 867, 1 638, 1 458, 1 382, 1 156, 1 098, 1 040, 971, 939, 846, 830 $^1\text{HNMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.55, 0.80, 0.82, 0.84, 0.86, 1.03, 1.14, 1.23, 1.29, 1.34, 1.39, 1.50, 1.53, 1.59, 1.99, 2.01, 3.59, 5.00, 5.10, 5.20 $^{13}\text{CNMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 数据见表 2

化合物 II : 白色针晶 (甲醇), mp $146^{\circ}\text{C} \sim 148^{\circ}\text{C}$ 。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -2.2^{\circ}$ (c, 0.5, CHCl_3) EIMS m/z (%): 414 (M^+ , 46), 399 (10), 353 (17), 273 (10), 255 (100), 231 (18), 229 (22), 81 (56), 55 (84), 43 (76) IR (KBr) cm^{-1} : 3 450, 2 958, 2 867, 1 638, 1 458, 1 382, 1 156, 1 098, 1 040, 939, 846, 830 $^1\text{HNMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 0.53, 0.80, 0.82, 0.84, 0.86, 1.03, 1.14, 1.20, 1.29, 1.34, 1.39, 1.50, 1.53, 1.59, 1.99, 2.01, 3.55, 5.00 $^{13}\text{CNMR}$ (100 MHz, CDCl_3) 数据见表 2

致谢: 质谱由本所于殿成老师测定, 红外光谱、核磁共振谱等均在沈阳药科大学测试中心测定。
参考文献:

- [1] 周荣汉. 中草药资源学 [M]. 北京: 中国医学科技出版社, 1993.
- [2] 王红斗, 李霞冰, 邓玉诚. 我国特有植物 文冠果化学成分、生物活性及综合利用的研究概况 [J]. 自然资源研究, 1985, (1): 22-26.
- [3] Zeng Z, Zeng L M, Su J Y. Studies on the steroids of Marine Sponge V. Steroids from the Marine Sponge Paonge Pachy-chalina sp [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatsenl, 1996, 35(1): 52-57.
- [4] Jahan N, Ahmed W, Malik A. New steroidal glycosides from Mimusops elengi [J]. Natural Products, 1995, 58(8): 1244-1247.
- [5] Itoh T, Kikuchi Y, Tamura T, *et al.* Co-occurrence of chondrillasterol and spinasterol in two Cucurbita pseeds as shown by ^{13}C NMR [J]. Phytochemistry, 1981, 20(4): 761-764.
- [6] Wright J L C, Mcinnes A G, Shimizu S, *et al.* Identification of C-24 alkyl epimers of marine sterols by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Can J Chem, 1978, 56(10): 1898-1903.
- [7] Marina D G, Lorengo M, Antonio M, *et al.* 20 (S)-4-Methyl-24-methylenecholesterol-7-en-3 β -ol, an allelopathic sterol from Typha latifolia [J]. Photochemistry, 1990, 29(6): 1797-1990.
- [8] Tsuda M, Schroepfer G J. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies of C $_{27}$ sterol precursors of cholesterol [J]. J Org Chem, 1978, 44(8): 1290-1293.
- [9] Akihisa T, Kanari M, Tamura T, *et al.* 24 R- and 24 S-14 α -Methyl-5 α -ergost-9(11)-en-3 β -ols, from Gynostemma pentaphyllum [J]. Phytochemistry, 1989, 28(4): 1271-1273.
- [10] Rubinstein I, Goad L J, Clague A D H, *et al.* The 220 MHz NMR spectra of hpytosterols [J]. Photochemistry, 1976, 15(2): 195-200.

中国粗榧果实和枝叶中三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱分离方法的研究

何洪源*

(中国人民公安大学, 北京 100038)

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)03-0201-02

三尖杉生物碱 (cephalotaxine) 具有显著的抗癌作用, 由于它的使用价值和经济价值, 近年来国内外都在争相开发, 已从三尖杉属植物中提取分离出了三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱供临床应用。但由于三尖杉植物资源有限, 其中有抗癌活性的酯类生物碱的含量又极低, 所以远不能满足临床需要。

目前, 我国主要是用海南粗榧 *Cephalotaxus hainanensis* Li. 或中国粗榧 *C. sinensis* Li. 和三尖杉 *C. fortunei* 这几种树为原料, 从中提取有效成分供临床使用。由于树木的大量采伐, 导致树种濒临枯危, 而且严重破坏生态平衡。考虑保护生态平衡, 开

发一种新药源, 我们对中国粗榧的果实和枝叶进行了开发研究, 从中提取出药用有效成分三尖杉总生物碱, 分离出三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱。按生药计, 三尖杉酯碱得率为 0.09% 左右, 高三尖杉酯碱得率为 0.03%。在研究过程中发现生物碱的分布非常奇妙, 即果实中三尖杉酯碱的分布绝对的多, 大于 0.15%, 而根、茎、叶中高三尖杉酯碱的分布绝对的多, 大于 0.06%, 这样就利于较好的分离两个难分离的同系物, 即三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱。使用本方法可以容易得到高纯度的产品, 经高压液相检测, 纯度可达 97% 以上。

1 中国粗榧的枝叶中三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的分离和提取

1.1 试验材料: 中国粗榧的干燥枝叶, 粉碎。试剂: 乙醇、氯仿、乙醚均为化学纯, 柠檬酸、磷酸氢二钠标准品购于中国药品生物制品检定所。

1.2 实验方法

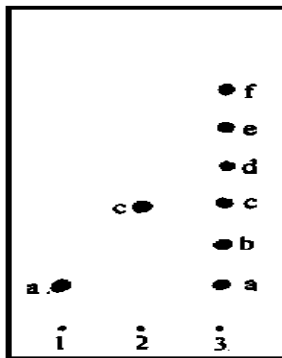
1.2.1 回流提取: 将粉碎枝叶用 90% 乙醇浸没, 加热回流提取 3 次, 提取液合并置浓缩器中, 减压浓缩回收乙醇至流浸膏。

1.2.2 梯度萃取^[1]: 将流浸膏用 5% 醋酸溶解, 浓氨水调节 pH 值。用氯仿在 pH= 3, 6, 9 时梯度萃取, pH= 3, 9 的萃取物为杂质, 另浓缩; pH= 6 的氯仿萃取液减压浓缩至膏, 为所要总生物碱。

1.2.3 逆流分布法分离三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱: 用柠檬酸和磷酸氢二钠配制 pH= 4 左右的缓冲液为固定相, 流动相为氯仿, 二相互相饱和。用流动相把 pH= 6 获得的样品溶解, 放在分离器中进行逆流分布。用薄层跟踪检查各分离器的上、下层溶液, 至获得三尖杉酯碱或高三尖杉酯碱的单一成分的粗制品时分别收集, 待精制。

1.2.4 精制——吸附柱层析法^[2]: 用 Al_2O_3 作吸附剂, 将三尖杉酯碱 (或高三尖杉酯碱) 抽松后的粗品用适量二氯甲烷溶解上柱, 用乙醚洗脱, 等量收集流出液, 流出液用薄层检查, 所得三尖杉酯碱 (或高三尖杉酯碱) 即为纯品。

1.2.5 薄层层析检测: 硅胶 G 加 1% NaOH, 湿法制板, 晾干过夜。展开剂: 乙醚-丙酮 (2: 1), 显色剂: 改良碘化铋钾试液, 呈红色棕色。结果见图 1。经质谱和红外光谱鉴定, 所分离样品与标准品一致。



1, 2 标准品 3 中国粗榧枝叶
a 三尖杉酯碱 b 羟基粗榧碱
c 高三尖杉酯碱 d 异三尖杉酯碱
e 桥氧粗榧碱 f 三尖杉碱

图 1 提取液 TLC 图谱

2 中国粗榧的果实中三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的分离和提取

2.1 生药处理: 将果实脱去果肉、果壳, 取果仁榨去油, 残渣用石油醚脱去残存油脂, 挥发去溶剂, 得果仁脱脂粉末。

2.2 提取总生物碱^[3]: 用 95% 乙醇冷浸果仁粉末, 渗滤至渗漉液无生物碱沉淀反应, 渗漉液减压浓缩回收乙醇至流浸膏。

2.3 梯度萃取: 同 1.2.2。

2.4 逆流分布法分离三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱: 同 1.2.3。

2.5 精制——吸附柱层析法: 同 1.2.4。

2.6 薄层层析检测: 同 1.2.5。

三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的质谱图和红外光谱图与标准品相同, 此处不再重复。

致谢: 实验所用中国粗榧系西北京大学杨教授鉴定, 从秦岭采集。

参考文献:

- [1] 北京医学院. 中草药成分化学 [M]. 北京: 中国科学出版社, 1985.
- [2] 马广恩, 陆春娥, 范广进. 三尖杉种子中三尖杉酯碱和其它生物碱的分离及鉴定 [J]. 药学通报, 1982, 17(4): 205-207.
- [3] 沙世炎, 徐礼. 中草药有效成分分析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本, 包括: 1974~ 1976 年, 1978 年, 1979 年, 1985 年, 1986 年, 1988~ 1990 年, 1992~ 1994 年 (80 元/年); 1995~ 1997 年 (110 元/年); 1998 年 (120 元); 1999 年 (135 元); 1996 年增刊 (50 元); 1997 年增刊 (45 元); 1998 年增刊 (55 元); 1999 年增刊 (70 元); 2000 年增刊 (70 元)。欢迎来函来电订购, 电话: (022) 27474913; 23006821(传真)。

专业生产中试、大型层析柱系统 规格齐全

同时生产提取、浓缩、喷雾干燥等设备

江阴市金确药用层析设备有限公司

电话: 0510-6682598 总经理: 於红军 13506163779 13057295335 传真: 0510-6682598

天津办事处: 022-27451796 13506163779 13802107305 传真: 022-27451796