

决明毛状根化学成分的研究

周宇红, 尤 勇, 赵毅民, 袁珊琴

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 目的 研究决明毛状根的化学成分。方法 应用毛状根培养技术, 在实验室摇瓶积累生产决明毛状根干重 90 g。结果 从中分离得到 1 个化合物, 根据其理化性质和波谱分析, 鉴定为 betulinic acid (桦木酸)。结论 此化合物为决明毛状根和该属植物中首次分离得到。通过决明毛状根与其干燥种子、根、茎、叶的化学成分在薄层层析上比较, 结果表明: 决明毛状根培养可代谢产生桦木酸或大幅度提高桦木酸的含量。

关键词: 决明; 毛状根; 三萜; 桦木酸

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-0975-02

Studies on chemical constituents of hairy root of *Cassia tora*

ZHOU Yu-hong, YOU Yong, ZHAO Yi-min, YU AN Shan-qin

(Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Key words *Cassia tora* L.; hairy root; triterpenoids; betulinic acid

决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子, 是我国重要的传统药材。具有清肝明目、润肠通便的作用, 配伍于许多复方和中成药中, 每年需求量达几百万公斤。由于野生资源逐年减少和人工栽培品种品质下降, 给临床应用和中成药制造带来一定的困难。由发根农杆菌 *Agrobacterium rhizogenes* 感染双子叶植物形成的毛状根, 由于生长迅速, 生长性质和遗传性能稳定等特点, 近年来, 在植物基因工程和植物细胞工程相互融合的基础上发展成为又一新的培养系统——毛状根培养技术^[1]。为了实现利用毛状根培养系统工业化生产决明而开辟中药材新资源, 我们在实验室培养规模的基础上进行了初步探索工作。本文报道了利用摇瓶积累毛状根培养技术生产的决明毛状根化学成分分离、纯化、结构鉴定以及决明毛状根与干燥的种子、根、茎、叶化学成分的薄层层析对照的实验结果。

1 仪器和材料

熔点用天津分析仪器厂的 RY-1 熔点仪测定, 温度计未校正, IR 用 Nicolet SDX 型仪测定, KBr 压片。¹H NMR ¹³C NMR 用 JEOL JNM-GX400 型核磁共振仪测定, 内标 TMS, 溶剂为 CDCl₃。CD₃OD EI-MS 用 JMS-DX300 型质谱仪测定。薄层层析用青岛海洋化工厂生产的硅胶 GF₂₅₄ 板, 柱层析

硅胶用青岛海洋化工厂生产的硅胶 (200~300 目), 显色采用 3% 浓硫酸-乙醇溶液。决明原植物由本所赵毅民老师、杨明老师采自福建省厦门地区, 由本所马其云老师鉴定。

2 方法和结果

2.1 毛状根培养: 通用培养基为 MS 培养基^[2], 培养基 pH 为 6.0, 培养条件为 26℃, 光照, 摇床转速 110 r/min, 培养基体积为 100 mL (250 mL 三角瓶), 15 d 继代培养一次。

2.2 提取和分离

决明毛状根干品粉末 90 g, 以 95% 乙醇温浸 (50℃) 6 次, 每次 8 h, 浸出液减压浓缩得醇浸膏 10 g, 用氯仿-丙酮-乙醇混合溶剂溶解后, 用 5 倍硅胶吸附, 依此用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇洗脱。氯仿洗脱部分 (2 g) 经硅胶柱层析, 在氯仿-丙酮 (32:1) 洗脱液中得化合物 I, 在甲醇中反复重结晶, 得化合物 I 200 mg (得率 0.22%)。

2.3 结构鉴定

化合物 I: 白色针状结晶 (甲醇), mp 300℃~302℃, 分子式为 C₃₀H₄₈O₃ IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3 448, 3 185, 3 075, 2 943, 2 869, 1 688, 1 642, 1 451, 1 376,; EI-MS m/z (%): 456 (50), 248 (51), 207 (61), 189 (100), 呈羽扇豆烷型五环三萜的特征裂解。¹H NMR δ (CDCl₃): 4.73 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-

收稿日期: 2001-03-04

作者简介: 周宇红 (1967-), 女, 北京人, 医学硕士。现为军事医学科学院毒物药物研究所助理研究员, 《中国药理学与毒理学杂志》编辑。Tel (010) 68276743

29b), 4.60 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-29a), 3.18 (1H, dd, $J = 4.88$ Hz, H-3x), 2.99 (1H, ddd, $J = 4.39$, 4.37, 4.40 Hz, H-19), 1.69 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-26), 0.93 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-25), 0.75 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ δ (CDCl_3 , CD_3OD): 14.5 (C-27), 15.2 (C-24), 15.7 (C-25), 15.9 (C-26), 18.1 (C-6), 19.1 (C-30), 20.7 (C-11), 25.4 (C-12), 26.9 (C-2), 27.7 (C-23), 29.5 (C-21), 30.5 (C-15), 32.1 (C-16), 34.2 (C-7), 37.0 (C-10), 38.2 (C-1), 38.6 (C-4), 40.5 (C-8), 42.3 (C-14), 46.9 (C-18), 49.1 (C-19), 50.4 (C-9), 55.3 (C-5), 56.1 (C-17), 78.7 (C-3), 109.93 (C-29), 150.6 (C-20), 178.9 (C-28). 其中 38.6 (C-13), 37.0 (C-22) 被掩盖在相对应的峰中, 表现为相对应的峰强增加, 其核磁共振氢谱、碳谱数据与文献基本一致^[3]。故化合物I 鉴定为 betulinic acid (桦木酸)。

2.4 毛状根化学成分与原植物薄层层析对照: 将决明毛状根及原植物的根、茎、叶、种子分别依次用石油醚、氯仿、乙醇回流或温浸 (50°C) 3次, 浸出液分别浓缩。取化合物I 纯品, 毛状根石油醚、氯仿提取物, 根、茎、叶、种子的氯仿提取物, 用氯仿溶解样品, 应用薄层层析方法进行化学成分对照分析, 展开剂为氯仿-丙酮 (32: 1), 显色剂为 5% 浓硫酸-乙醇溶液。

结果表明, 化合物I 在毛状根的氯仿提取部位, 作为主要成分存在, 而在毛状根的石油醚提取部位及原植物根、茎、叶、种子的氯仿提取物中仅微量存在或不存在。

3 小结与讨论

3.1 本实验所得纯品化合物I 经结构鉴定, 确定为 betulinic acid (桦木酸), 但在决明毛状根及决明原植物中分离得到尚属首次。

3.2 通过本实验的毛状根培养系统可以大幅度提高桦木酸的含量或诱导其代谢产生原植物中不存在的桦木酸, 但此定量数据还有待于在进一步的定量分析实验中阐明。近年来, 有文献报道桦木酸有抗 HIV 病毒^[4]、抗黑色素瘤^[5]及较强的抗癌活性^[6]。

3.3 在实验室摇瓶积累的基础之上, 将培养条件作适当的改变以实现培养罐放大培养, 实现药用活性成分的工业化生产, 这才是我们的目标所在。总之, 用此毛状根培养技术生产药用活性成分将是一个很有前景的领域。

致谢: 波谱数据均由本院仪器中心测定

参考文献:

- [1] Shiao T L, Doran P M. Root hairiness effect on fluid flow and oxygen transfer in hairy root cultures [J]. Biotechnol, 2000, 83(3): 199-210.
- [2] Sansberro P, Rey H, Bernardis A, et al. Plant regeneration of *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae) by in vitro culture of nodal segments [J]. Biocell, 2000, 24(1): 53-63.
- [3] Bringmann G, Saeb W, Assi L A, et al. Betulinic acid isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus*, antimalarial activity, and crystal structure of the benzyl ester [J]. Planta Med, 1997, 63(3): 255-257.
- [4] Kashiwada Y, Hashimoto F, Cosentino L M, et al. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents [J]. J Med Chem, 1996, 39(5): 1016-1017.
- [5] Pisha E, Chai H, Lee I S, et al. Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis [J]. Nat Med, 1995, 1(10): 1046-1051.
- [6] Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, et al. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy [J]. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(13): 1042-1053.

超临界流体 CO_2 萃取酸枣仁脂肪油化学成分的研究

陈振德, 许重远, 谢立

(第一军医大学南方医院药学部, 广东 广州 510515)

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)11-0976-02

中药酸枣仁为鼠李科植物酸枣 *Zizyphus jujuba* Mill. var. *spinosa* Hu ex H. F. Chou 的干燥成

熟果仁, 具有补肝、宁心、敛汗、生津的功能, 多用于虚烦不眠、惊悸多梦、津伤口渴等症。酸枣仁主要含

收稿日期: 2000-12-10

作者简介: 陈振德 (1964-), 男, 福建南安籍, 副主任药师, 副教授, 博士, 硕士生导师。长期从事天然药物研究与开发, 承担国家自然科学基金及国家新药基金项目各 1 项, 省部级基金项目多项, 获得国家发明专利 1 项和军队科技进步二等奖 1 项, 发表学术论文 30 余篇。