

1. 野生云芝中含有微量元素锗(Ge), 锗的药理活性十分引人关注, 国内外学者已合成了多种有机锗化合物, 并做了大量研究工作。在抗癌和延缓衰老等方面微量元素锗具有肯定的疗效。

2. 野生云芝多糖(CVPS)中氨基酸种类与深层培养菌丝体中得到的多糖(糖肽)中氨基酸种类相同, CVPS中总氨基酸含量较PSP低些, 可能是后者从培养液菌丝体提取多糖时带有较多的游离氨基酸。

3. 另外, 我们还对CVPS进行了限毒

实验, 大鼠口服15g/kg, 小鼠口服18g/kg均无一死亡, 说明云芝多糖(CVPS)口服无毒。

### 参 考 文 献

1. 邓文龙等, 抗生素, 1983; 8(6): 403
2. 李熙民等, 上海医科大学学报 1987; 14(5): 326
3. 穆国光等, 抗生素 1984; 9(2): 129
4. 欧惠春等, 中草药, 1983, 14(3): 13
5. 张惟杰主编, 复合多糖生化研究技术, 上海科学出版社, 1987, 第一版, P. 7.

## 用化学法从月见草油中提取 $\gamma$ -亚麻酸

解放军第208医院 张恒弼 储文功\* 王治信<sup>o</sup>

吉林省医药工业研究所 余元祥

**摘要:** 月见草油经皂化, 利用形成的饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸钠盐在乙醇中溶解度不同, 分离饱和脂肪酸, 富集 $\gamma$ -亚麻酸, 使其含量从8.1%提高到19%; 再用溴化、脱溴法, 提取高纯度 $\gamma$ -亚麻酸, 使其含量达到95%。

**关键词:** 月见草油 皂化分离 溴化、脱溴法  $\gamma$ -亚麻酸

月见草(Oenothera Biennis L.)为柳叶菜科多年生草本植物<sup>(1)</sup>, 在我国长白山区资源丰富。1949年Riley J. P.发现月见草油中含有丰富的 $\gamma$ -亚麻酸<sup>(2)</sup>。 $\gamma$ -亚麻酸在体内作为二高 $\gamma$ -亚麻酸的前体, 经生化酶反应变为前列腺素E<sub>1</sub><sup>(3)</sup>, 少量的 $\gamma$ -亚麻酸即产生显著的抗血栓、抗炎及抗癌等生理活性。而月见草油中硬脂酸、棕榈酸等饱和成份, 对心血管系统有不良影响, 降低 $\gamma$ -亚麻酸疗效。所以, 从月见草油中提取 $\gamma$ -亚麻酸具有重要意义。

### 一、实验材料

#### 1. 仪器

日本GC-9A气相色谱仪, C-R3A

\* 第二军医大学药学院

<sup>o</sup> 西藏军区

数据处理机。

美国Nicolet公司SDXFT-IR付立叶变换红外光谱仪。

### 2. 药品与试剂

月见草油(白求恩医科大学药厂提供), 经测定: 碘化值103.7, 皂化值207.3, 酸价2.90, 过氧化值8.96。油中化学成分组成的GC分析结果如下:

表1 月见草油成分(用归一法计算)

编号	脂肪酸名称	保留时间 (分)	相对含量 (%)
I	棕榈酸	11.92	6.0
II	硬脂酸	22.20	1.8
III	油酸	24.71	9.8
IV	亚油酸	29.98	74.0
V	$\gamma$ -亚麻酸	34.29	8.1

GC分析条件:柱温:190℃,进样口及检测器温度:250℃,载气:N<sub>2</sub>-40ml/min H<sub>2</sub>-0.4kg/cm<sup>2</sup>,空气0.5kg/cm<sup>2</sup>

石油醚(分析纯);乙醇(工业用);溴(分析纯);无水甲醇(分析纯);无水硫酸钠(分析纯);无水乙醚(分析纯);0.5mol/L KOH 甲醇液;锌粉(优级纯)。

## 二、实验方法

### 1. 皂化分离<sup>(1)</sup>

取月见草油20g,加乙醇75ml, NaOH 3g,置园底烧瓶中,通氮,水浴回流30分钟,冷至室温,析出皂化物,加入醇40ml,充分搅拌,置冰箱内(0℃以下)12小时,趁冷过滤,滤渣再用少许冷乙醇洗涤,合并滤液,加入蒸馏水20ml,用4mol/L HCl液调pH 1~2,再用石油醚(60~90℃沸程)30ml萃取,萃取三次,合并石油醚层,减压蒸出石油醚,即得脂肪酸约6克,经测定含γ-亚麻酸为19%。

### 2. 溴化与脱溴<sup>(2)</sup>

#### (1) 溴化

往上述脂肪酸中,按脂肪酸:无水乙醚为1:10的比例(w/v)加入无水乙醚,移至三颈瓶中,置-10℃以下的冰盐水中,剧烈搅拌下,滴加溴液,至溶液颜色不褪为止,得桔黄色沉淀,在0℃下放置三小时,倾去上层溴醚液,用乙醚洗涤沉淀,反复操作,洗至乙醚液无色为止,将沉淀晾干,测得此反应物m.p.192~194℃。<sup>(2)</sup>

将沉淀碾碎,按溴化物:无水乙醚为1:10比例(w/v)加入无水乙醚,水浴回流,使四溴化物溶解,倾出上清液,得醚不溶性溴化合物(白色粉末,m.p.为196~198℃)

#### (2) 脱溴

将六溴化物研成细粉,按六溴化物:锌粉:无水甲醇为1:1(w/w):10(w/v)的比例,加入锌粉和无水甲醇,置三颈瓶中,在75~80℃水浴中,充氮回流,同时

剧烈搅拌8小时,停止回流。

将脱溴液用滤纸过滤,滤渣以适量甲醇洗涤,合并甲醇液,充氮在水浴浓缩至 $\frac{1}{3}$ 体积,加3倍体积的水稀释,4mol/L HCl酸化,调至pH 3。用乙醚提取3~4次,合并乙醚液,以无水硫酸钠干燥,再充氮浓缩除尽乙醚,得γ-亚麻酸及γ-亚麻酸甲酯的混合物。

### (3) 水解转酸

取上述混合物,加10倍量1mol/L氢氧化钾甲醇液,充氮水浴回流约1h(硅胶薄层检定),水解完全后,停止回流,减压浓缩除去部分甲醇,加三倍水稀释,以4mol/L HCl酸化至pH 3,以乙醚提取,取醚层用水洗至pH 5~6,醚层用无水硫酸钠干燥,充氮减压浓缩,除尽乙醚,得γ-亚麻酸成品。充氮避光、冷藏。

### 3. γ-亚麻酸的定性与定量分析

(1) 定性:经甲酯化后。a、红外检测γ-亚麻酸甲酯。b、紫外检测 脱溴后的γ-亚麻酸经20% KOH-乙二醇170℃30分钟异构化后, $\lambda = 269\text{nm}$ 有强烈吸收峰<sup>(7)</sup>,证明此化合物有共轭三烯。

(2) 定量 成品甲酯化后,气相检测,提取后的γ-亚麻酸,每次进样0.4ml,色谱条件同前。

表2 提取前后月见草油中γ-亚麻酸含量比较

提取前	皂化分离后	溴化脱溴后
8.1%	19%	95.1%

得率:溴化、脱溴后得脂肪酸0.8g。γ-亚麻酸得率为:

$$\frac{95.1\% \times 0.8}{8.1\% \times 20} = 46.96\%$$

结果:γ-亚麻酸甲酯的红外图谱和气相色谱的保留时间,均与美国Sigma公司的标准品(γ-亚麻酸甲酯相对含量为98%)一致。

## 三、讨 论

### 1. 月见草油经皂化, 0℃以下冷冻分

离,可除去大部分饱和脂肪酸,使 $\gamma$ -亚麻酸得到初步富集,是利用饱和脂肪酸钠盐在乙醇中溶解度小,而不饱和脂肪酸钠盐在乙醇中溶解度大的原理。与脂肪酸经低温冷冻( $-30^{\circ}\text{C}$ 以下),分离相比,本法操作简便,不需特殊设备;与尿素包合法相比,还具有得率多纯度高的优点。

2. 溴化、脱溴法的提取过程,简便易行,快速。

3. 脱溴后 $\gamma$ -亚麻酸,经红外检测在 $970(\text{Cm}^{-1})$ 处有少量反式双键,是本法不足之处,但其数量极少,不影响产品质量。

4. 溴化时必需无水操作。如有水份,

将减少产品收率,

### 参 考 文 献

1. 吉林省中医中药研究所编:长白山植物志第一版 长春:吉林人民出版社,1980:772
2. Riley J P. J Chemsoc 1949:2728
3. 傅方浩等:白求恩医科大学学报1987;13(1):1
4. 王建中:医药工业 1988,19(3):109
5. 张恒弼等:药学情报通讯 1988,6(3):47
6. R. Daniel, et al: Handbook of Analytical Derivatization 164
7. 张恒弼等:中国药学杂志 1989,24(6):350

## 蓝萼甲素在体外对DNA, RNA和蛋白质生物合成的影响

解放军202医院 张淑香 俞惠然 杨淑云 刘淑琴 杨晶华\* 邵泽生\* 隋全正\*

本实验采用 $^3\text{H}$ -TdR、 $^2\text{H}$ -udR、 $^3\text{H}$ -Leucine在体外掺入 $\text{S}_{180}$ 腹水癌细胞放射性同位素示踪法,探讨蓝萼甲素对DNA、RNA和蛋白质合成的抑制作用,抑制程度呈剂量相关性。对DNA、RNA的抑制发生较早,恢复较快,对蛋白质作用持久、且均为可逆性抑制。

蓝萼甲素(glaucoclyxinA)为唇形科,香茶菜属植物蓝萼香茶菜(*Isodom glaucocalyx kudo*)的一种二萜类成份,经药理实验证明:蓝萼甲素具有细胞毒作用<sup>(2)</sup>,对艾氏腹水癌有一定抑制作用<sup>(3)</sup>,体内对 $\text{S}_{180}$ 实体瘤实验抑制率达30.4%(10mg/kg $\times$ 7d),但抗癌作用机理尚未见报道。本文探讨蓝萼甲素对 $\text{S}_{180}$ 腹水癌细胞的DNA、RNA和蛋白质生物合成的影响,并以冬凌草甲素为阳性对照,研究其抗癌作用机理。

### 实验材料

蓝萼甲素由中国科学院林土所提供,冬凌草甲素由郑州化学制药厂提供, $^3\text{H}$ -TdR比放射性为18ci/mM, $^3\text{H}$ -udR比放射性为20ci/mM, $^3\text{H}$ -leucine比放射性为1.33ci/mM,均为中国原子能研究所产品,FJ-353型双道液体闪烁计数仪为西安262厂生品。

### 方法与结果

#### 一、对体外培养的 $\text{S}_{180}$ 腹水癌细胞生

\* 沈阳药学院、天津二医大、上海二军大药学院实习生

长的影响

取含药的RPMR $_{1640}$ 培养液1ml(含药量分别为20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )于试管内,然后加入含 $\text{S}_{180}$ 腹水癌细胞悬液0.2ml(含 $1 \times 10^6$ 个细胞)于 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内孵育1hr,取出一滴加台氏蓝液,在镜下统计蓝染率。

结果表明,在药物浓度为20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时蓝染率分别为93%、76%、53%,具有较强的细胞毒作用。

二、在体外掺入 $\text{S}_{180}$ 腹水癌的放射性同位素示踪法

取常规接种 $\text{S}_{180}$ 腹水癌后9天的小白鼠一只,在无菌条件下取出腹水、将癌细胞离心沉降(1000rpm,3min),用生理盐水洗涤一次悬浮液于RPMI $_{1640}$ 培养液(含2.5%小牛血清)以供实验用。实验分给药组(蓝萼甲素)、阳性对照组(冬凌草甲素)及阴性对照组,每组设三个平行管。操作步骤如下:给药组每管加入含药的RPMI $_{1640}$ 培养液1ml、0.2ml细胞悬液(含 $1 \times 10^6$ 个癌细胞),于 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养1hr后,离心弃去上清液,加入3mlssc溶液(0.15MNaCl、0.015M柠檬酸钠),离心(1000rpm、3min)弃去上清液,然后每管加入1ml新鲜的RPMI $_{1640}$ 培养液、2 $\mu\text{Ci}$  $^3\text{H}$ -TdR、 $^3\text{H}$ -UdR、或 $^3\text{H}$ -leucine,继续于 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内依次培养0.5、1、2、4、8hr,立即放入冰水浴中停止其作用,用