

各种酶的活性,造成 DNA 复制与修复的错误,影响基因表达的平衡,从而导致肿瘤的发生。

参 考 文 献

- 1 赵保路,张建中. 生物化学与生物物理进展,1984;(3):9
- 2 Lohman W *et al.* *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*. London: Academic Press, 1982: 55
- 3 Trump B F *et al.* *Methods in cell biology*. New York: Academic Press, 1980; 21A: 1—14
- 4 Oyanagui Y. *Anal Biochem*, 1984; 142: 290
- 5 Paglia O E *et al.* *J Lab Clin Med*, 1967; 70: 158
- 6 Aebi H. *Methods in Enzymology*, 1984; 105: 121
- 7 Kazantzis G. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 1989; 22: 159
- 8 International Agency for Research in Cancer, *Supplement 7 to IARC Monographs on the evaluation of Carcinogenic risk of chemical to human*, Lyons, 1987: 80
- 9 Stier A *et al.* *Free radicals, lipid peroxidation and cancer*, London: Academic Press, 1982: 329
- 10 李益新等. 生物化学与生物物理学报 1984;(5): 472
- 11 魏慧娟等. 中国医学科学院学报 1989;11(3): 185

福斯可林的分离、纯化、结构和生物活性鉴定*

刘纯益 姚文贞 孟 琨 刘亚兵 张世荣

(中国科学院动物研究所,北京 100080)

曾 淑 君

卢思聪 李海燕

(中山医科大学药理教研组,广州 510089)

(中国科学院北京植物园,北京 100093)

关键词 毛喉鞘蕊花,福斯可林,化学结构,生物活性,腺苷酸环化酶

福斯可林 (Forskolin) 是从唇形科毛喉鞘蕊花 (*coleus forskohlii briq.*) 块茎中分离的双萜烯类化合物^[1], 其化学结构如图 1 所示。分子式为 $C_{22}H_{34}O_7$, 分子量为 410。药理学研究表明,福斯可林具有强心、降血压^[2-4]、降低眼内压、抑制肿瘤生长^[5]、抗血小板聚集^[6]和消炎等作用,临床用于治疗心血管疾病,青光眼^[7],支气管哮喘及癌症等,显示高效低毒的特点^[8,9]。福斯可林是腺苷酸环化酶激活剂,在体内起着广泛的调节作用,是生物化学、生理学、细胞生物学和药理学研究的良好工具。国外研究福斯可林已有许多年,但国内有关福斯可林的分离、提纯、药理及临床研究尚未见报道。本文从栽培的毛喉鞘蕊花块茎分离纯化福斯可林,并对它的化学结构和生物活性,进行了鉴定,为福斯可林的药理学研究和临床应用打下良好基础。

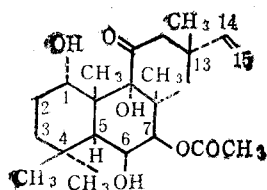


图 1 福斯可林的化学结构

1 材 料 和 方 法

1.1 一年生毛喉鞘蕊花块茎 由中国科学院北京植物园提供。

1.2 药品 苯、石油醚、甲醇、己烷、乙酸乙酯、硅胶,均为化学纯。

1.3 仪器:

色谱仪 (Varian Gas Chromatography) Model 3700; 色质联用仪 GC-MS, American Finnigan Mat 4510; 高分辨色质联用仪 GC-FABMS, 英国 VG 公司, VGZAB-HS 型; 紫外光谱仪 (UV) Ultrosper II 型; 红外光谱 (IR) 美国 PE 公司 1620 系列 FTIR; 核磁共振仪 (NMR) 日本 JEOL FX-90Q 型; 液闪仪 (Liquid Scintillation Counter) 瑞典 LKB wallac 81000 型。

1.4 福斯可林的分离提纯 一年生毛喉鞘蕊花块茎,经凉干、粉碎、以苯提取、石油醚去脂后,甲醇提取物通过硅胶层分离纯化,以薄层及色谱鉴定,产物经己烷-乙酸乙酯结晶,供 GC-MS, IR, NMR 化学结构测定和腺苷酸环化酶活性测定。

1.5 腺苷酸环化酶的活性测定 按 Ho 和 Suthc

* 本课题曾获得中国科学院院长特别基金资助。

收稿日期: 1990-11-14 修回日期: 1991-03-15

rland 方法^[10], 略加改变进行测定, 总反应体积为 500 μ l, 内含 50mmol/L Tris-HCl 缓冲液, (pH 7.4), 5mmol/L ATP, 10mmol/L $MgSO_4$ 等, 6mmol/L MIX 以及加入按等比级数配制的、不同剂量的分离纯化样品 Forskolin 和标准品 Forskolin, Calbiochem-Behring, 反应由加入粗制肝细胞质膜(蛋白含量 4mg/ml) 开始, 在 30 $^{\circ}C$ 保温 10min, 加热煮沸 3min, 终止反应。每一样品中生成的 cAMP 按 Gilman 的蛋白结合方法测定^[11]。

2 结果与讨论

2.1 毛喉鞘蕊花块茎的甲醇提取物, 经色谱分析 共有五种成分: A, B, C, D 和 E, 见图 2。A 为主要成分(含量约干重的 0.10—0.14%) 紫外最大吸收峰

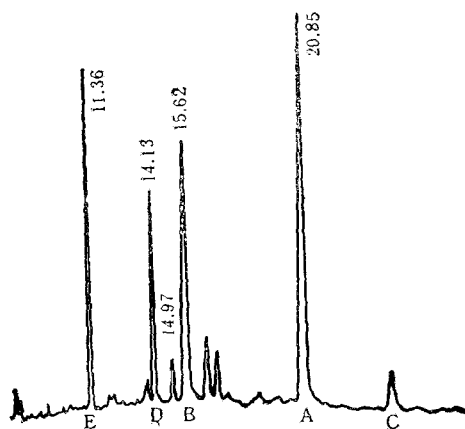


图 2 毛喉鞘蕊花块茎甲醇提取物色谱图

柱长: 17m (3%) OV-1 内径 0.25mm; 色谱条件: 柱温 185—250 $^{\circ}C$, 气化 270 $^{\circ}C$, 检测 250 $^{\circ}C$; 氢火焰检测器: 空气 450ml/min, 氢气 400ml/min, 氮气 20ml/min

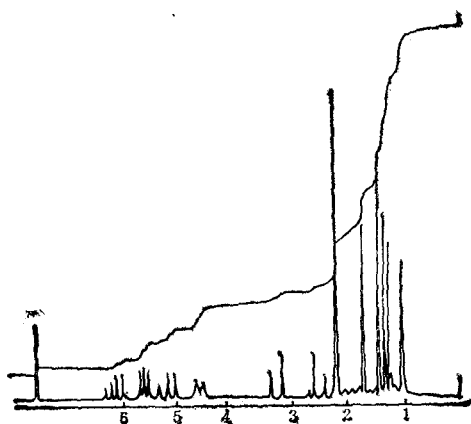


图 3 福斯科林 90MHz 1H -NMR 图谱 (CDCl₃, ppm TMS 内标)

$\lambda_{max} = 212nm$, 薄板层析 (TLC) $R_f = 0.35$, (己烷: 乙酸乙酯 = 7:3) 白色晶体, 熔点: 226—228 $^{\circ}C$, 红外光谱 (1R, cm⁻¹, KBr 压片) 3428 (OH) 2925, 1383, 1215,

1195 (CH₂), 1716, 1628, 1262 (C=O, C—O—), 1106, 1052 (环氧基), 1458, 995, 913 (—C=C—), 分子式: C₂₂H₃₄O₆, 高分辨 GC-FABMS 质谱测定 $M^+ = 410.23$, 主要碎片, m^+/e 393 (C₂₂H₃₃O₆, $M^+ - OH$), 392 (C₂₂H₃₂O₆, $M^+ - H_2O$), 377, 374, 364 ($M^+ - H_2O - CO$), 324 (C₂₁H₂₄O₆, $M^+ - H_2O - C_2H_5$), 299, 289, 279, 254, 242, 237, 219, 208, 191, 187, 163, 139, 123, 109, 99, 95, 85, 81, 69, 55, 43,

核磁共振谱 90MHz 1H -NMR par (CDCl₃, ppm TMS 为内标) 见图 3。有五个第三碳甲基, 单峰: 1.05, 1.27, 1.36, 1.46, 1.74; 一个乙酰基, 单峰: 2.20; 二个 CH₂C=O 质子, 两对单峰: 3.16, 3.36, 乙烯基连接在一个季碳原子上; 质子的化学位移, 双重峰, 5.45, $J = 4Hz$, 两个 CHOH 质子, 两个九重峰, 一个在 4.50, 乙酰化后移至 5.55, 另一个在 4.64, 重氢交换后消失, 其 NMR 图谱与福斯科林标准品图谱相同。

2.2 腺苷酸环化酶的活性测定 分别加入不同浓度的分离纯化样品与肝细胞膜保温, 并以标准的福斯科林作对照, 测定它们对腺苷酸环化酶的活性, 结果(图 4) 表明, 分离纯化样品对该酶呈显著的激活作用, 与标准福斯科林比较, 对腺苷酸环化酶活性无明显差异, 并且两者的剂量与效应之间存在明显的量效关系。

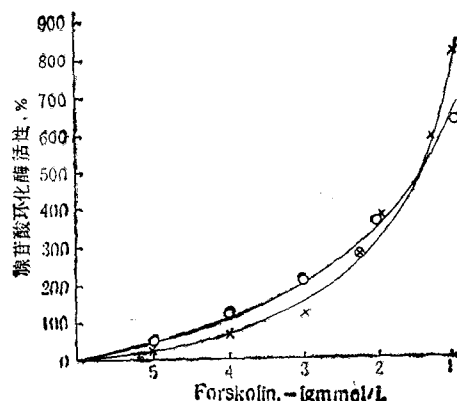


图 4 福斯科林 (Forskolin) 对 SD 大鼠肝细胞腺苷酸环化酶作用反应曲线
 (x—x) 标准 Forskolin, (o—o) 样品 Forskolin, 基础环酶 (cAMP) 活性: $6.10 \pm 0.55 pmol/mg \cdot min$

本工作采用栽培的毛喉鞘蕊花块茎为材料, 其福斯科林含量较文献报道(从野生采集的)略高, 这可能

与地理生态条件、光照、管理等因素改变有关，它有利于植物体内合成活性成分。为获得较高含量的福斯可林，充分利用这一自然资源，造福人类，改良和培育毛喉鞘蕊花新品种，是一条行之有效的途径。

本工作色谱分析得到北京大学化学系黄爱今副教授的协助，本所张一芳同志绘图，在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Bhat S V *et al.* *Tetrahedron Letters*, 1977; 19: 1669
- 2 Noel J de Souza, *et al.* *Chem Wkly*, 1989; March 7, 34(26): 70
- 3 Noel J de Souza *et al.* *Medicinal Research Reviews*, 1983; 3(2): 201
- 4 Nippon Kayaku Co. *Jpn Chem Week*, 1989; March 2, 30(1507), 4
- 5 Filash, K Agarwal C. Robert E Parks. *Int J Cancer*, 1983; 32: 801
- 6 Agarwal Kailash *et al.* *Thromb Haemostasis*, 1989; 61(1): 106
- 7 Caprioli Joseph *et al.* *J Ocul Pharmacol*, 1989; 5(3): 181
- 8 Rupp R H *et al.* *Proceedings of the international symposium on forskolin: Its chemical, biological and medical potential*. 1985: 1—191
- 9 Mark E Goldman *et al.* *Life Sciences*, 1988; 42: 1307
- 10 HO R J, Sutherland E W. *Proc Natl Acad Sci*, 1975; 72: 1773
- 11 Gilman A G. *Cell*. 1984; 36: 577

人低分子肿瘤抑制物对 HL-60 细胞膜磷脂分子的作用

魏启胜 孙存普 丛建波 吴祖泽

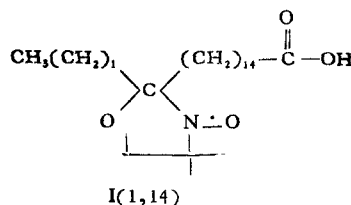
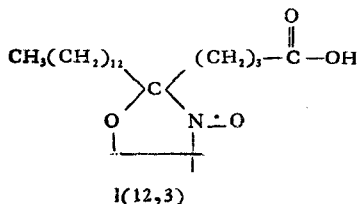
(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

关键词 人胎脑上清液, 低分子肿瘤抑制物, 脂肪酸自旋标记物, 电子自旋共振 (ESR) 波谱

胎儿脑组织中存在一种天然的低分子肿瘤抑制物, 这种抑制物可以选择性地抑制人和小鼠白血病细胞系, 而对正常人和小鼠的造血细胞影响较小^[1]。低分子肿瘤抑制物抑制肿瘤的首要条件是要与细胞膜接触, 这种接触是否会影响细胞膜的结构与功能, 进而抑制细胞的生长, 尚不清楚。为了分析抑制物的作用机理, 本文以 HL-60 作为靶细胞, 用电子自旋标记方法, 在 ESR 波谱仪上分别测定了胎脑上清液对细胞膜深、浅层磷脂分子的作用。

1 材 料 和 方 法

1.1 脂肪酸自旋标记物 I(12,3) 和 I(1,14) 均购自美国 Aldrich 公司, 分子式分别为:



1.2 人胎脑低分子上清液的制备 孕龄 4—5 个月水囊引产的胎儿, 取出全脑组织, 用组织粉碎器制成匀浆, 按 20% (W/V) 的比例浸于双蒸水中, 于 4℃ 冰箱内放置 24h, 9600r/min 离心 20min, 分离出的上清液经滤膜 (MW = 10000) 超滤后, 取分子量小于 10000 道尔顿组分, 冰冻干燥, 即为冻干的低分子胎脑上清液 (FBS)。

1.3 人早幼粒白血病细胞系 (HL-60) 细胞的体外琼脂培养 在每个直径 30mm 的平皿中加入 1ml 由 RP MI-1640 培养液组成的培养体系, 其中含 30% 小牛血清, 0.2% 琼脂和适量的 HL-60 细胞, 置于 37℃,