

## 喜树生物碱在喜树植株中的分布

杨磊, 李晓娟, 赵春建, 李佳慧, 祖元刚\*

东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

**摘要:** 采用高效液相法测定喜树植株不同部位的生物碱(喜树碱、10-羟基喜树碱)含量的结果表明, 十年生喜树叶中的喜树碱含量最高(0.1102%), 非木质化茎的(0.0588%)略高于木质化茎的(0.0491%), 主干上部(0.0604%)和主干近根部(0.0641%)高于主干中部(0.0447%), 根部一级侧根(0.0968%)中含量也较高。10-羟基喜树碱在二级侧根中含量最高(0.4950%), 木质化茎(0.0473%)明显高于非木质化茎(0.0125%), 主干中含量分布与喜树碱相似, 叶中含量为0.0905%。

**关键词:** 喜树; 10-羟基喜树碱; 喜树碱; 高效液相色谱

## Distribution of Camptothecin and 10-hydroxycamptothecin in Plant of *Camptotheca acuminata* Decne.

YANG Lei, LI Xiao-Juan, ZHAO Chun-Jian, LI Jia-Hui, ZU Yuan-Gang\*

Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** Contents of two main alkaloids [camptothecin (CPT) and 10-hydroxycamptothecin (HCPT)] in plant of *Camptotheca acuminata* were detected by HPLC. The results showed that CPT content in leaves of 10 years old *C. acuminata* was the highest (0.1102%), CPT content in non-lignified stem (0.0588%) was higher than that in lignified stem (0.0491%), and CPT content in the middle trunk was lower than those in the other parts. And also CPT content in first lateral roots (0.0968%) was higher. HCPT content in the sub lateral roots was the highest (0.4950%). And HCPT content in the lignified stem (0.0473%) was higher than that in non-lignified stem (0.0125%) obviously. The distribution of HCPT in the trunk was the same as CPT. HCPT content in leaves was 0.0905%.

**Key words:** *Camptotheca acuminata*; 10-hydroxycamptothecin; camptothecin; HPLC

喜树是蓝果树科(Nyssaceae)喜树属(*Camptotheca*)多年生亚热带落叶阔叶树, 主要分布于我国长江流域和西南各省(区), 是我国特有树种(中国植物志编委会 1983)。因其全株含有喜树碱(camptothecin, CPT)和10-羟基喜树碱(10-hydroxycamptothecin, HCPT)等多种具有抗肿瘤活性的生物碱而倍受关注(Sakato等 1974)。10-羟基喜树碱是喜树碱天然衍生物, 是抗癌活性最强的一种, 且毒副作用更小(袁云和骆志义 1979)。虽然茜草科(Rubiaceae) (Tafur等 1976)、马钱科(Loganiaceae) (Dai等 1999)等多种植物中也含有喜树碱, 但含量均较低。喜树的不同器官中喜树碱含量分布已有过报道(林隆泽等 1977; 徐任生等 1977; Liu和Adams 1996; Buta和Worley 1976; Lopez-Meyer等 1994), 但由于采样时间、部位、分析方法等原因, 结果并不一致。本文采用高效液相色谱法(HPLC), 分析了十年生喜树植株、幼苗和发芽前果实不同部位的生物碱(喜树碱、10-羟基喜树

碱)含量, 查明其在植株内的分布状况, 以期合理利用其资源时参考。

### 材料与方法

十年生喜树(*Camptotheca acuminata* Decne.)和喜树幼苗均采自我校温室。

十年生喜树分为根(主根、一级侧根、二级侧根)、主干(上部、中部、近根部)、茎(木质化茎、非木质化茎)、叶(叶柄、主脉、去主脉的叶片), 其中主干(上部、中部、近根部)和木质化茎按皮、木质部、髓再分为三部分。喜树果实于2005年12月采自四川省广汉市林业局苗圃, 2006年2月分别作3种处理: (1)测定果皮、种皮和胚中喜树碱和10-羟基喜树碱含量; (2)种子温水

收稿 2008-05-28 修定 2008-08-05

资助 国家科技支撑计划项目(2006BAD18B04)。

\* 通讯作者(E-mail: zygorl@vip.hl.cn; Tel: 0451-82191517)。

浸泡 24 h 后放在气候箱中, 发芽后第 20 天测定子叶、胚轴、胚根和果壳中的喜树碱和 10- 羟基喜树碱含量; (3)果实种子发芽后播种, 此后每月采集一次, 共 4 次, 每次取 4 株苗, 测定根、茎、叶中的喜树碱和 10- 羟基喜树碱含量。所有材料采后均用蒸馏水洗净, 于 80 °C 中烘至恒重, 粉碎, 放在干燥器中避光保存备用。

仪器为日本 Jasco 高效液相色谱仪、PU-980 型泵、Jasco UV-975 型紫外检测、DT 系列电子天平(江苏常熟长青仪器仪表厂)、分析天平(北京赛多利斯天平有限公司)、KQ-250DB 型超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司)。色谱纯乙腈购自 Sigma 公司, 其余试剂均为国产分析纯, 自制双重蒸馏水。喜树碱和 10- 羟基喜树碱的标准样品购自日本和光纯药工业株式会社, 纯度均为 98%。

准确称取样品, 以 55% 乙醇为提取液, 按每克样品 50 mL 抽提液的液固相比加入提取液, 超声(功率 250 W, 频率 40 kHz)提取 30 min 后, 取 1 mL 于室温下以 13 201×g 离心 5 min, 取 10 μL 上清液进样分析。

生物碱含量测定参照祖元刚等(2004)文中的方法。生物碱平均含量  $\bar{X}_n$  计算方式为:  $\bar{X}_n = \sum(X_n \times W_n) / \sum W_n$ 。X<sub>n</sub>: 同一器官各组织含量; W<sub>n</sub>: 同一器官各组织干重。

## 结果与讨论

### 1 喜树不同组织和部位的生物碱含量

从图 1 和表 1 可见: (1)喜树全株均含喜树碱和 10- 羟基喜树碱, 各器官中存有较大差异。叶中平均喜树碱含量最高(0.11102%), 一级侧根次之(0.0968%), 二级侧根最低(0.0630%)。与喜树碱分

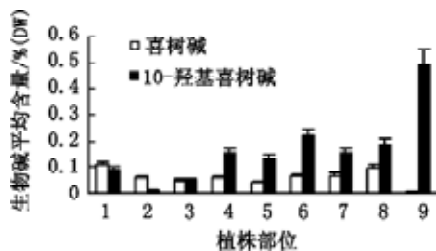


图 1 喜树体内喜树碱和 10- 羟基喜树碱平均含量的分布  
Fig.1 Distribution of CPT and HCPT in plant of *C. acuminata*

1: 叶部; 2: 非木质化茎; 3: 木质化茎; 4: 主干上部; 5: 主干中部; 6: 主干下部; 7: 主根; 8: 一级侧根; 9: 二级侧根。

布相反, 二级侧根中 10- 羟基喜树碱含量最高(0.4950%); 主根和一级侧根含量相差不大; 近根部主干>上部主干>中部主干; 茎中含量最低, 其中非木质化的茎中更低(0.0125%), 木质化的茎中为 0.0473%; 叶中为 0.0905% (图 1)。

(2)不同组织间 2 种生物碱含量有差异, 叶部去主脉的叶片中 2 种生物碱含量比主脉和叶柄的高, 主脉中喜树碱含量比叶柄稍低, 而 10- 羟基喜树碱含量高于叶柄。木质化茎中 2 种生物碱含量是皮部>髓部>木质部。喜树主干中喜树碱含量为髓部>皮部>木质部, 10- 羟基喜树碱含量是皮部>木质部>髓部, 由外至内逐渐降低。无论主根还是一级侧根, 喜树碱含量均是皮部>维管柱, 10- 羟基喜树碱含量与喜树碱正好相反, 为维管柱>皮部 (表 1)。

### 2 喜树幼苗生长初期各部位中的生物碱含量

图 2 和图 3 显示: (1)不同时期喜树幼苗中生物碱含量有差异。气候箱中培养 20 d 的喜树幼苗, 其子叶已完全展开, 真叶尚未长出, 此时喜树碱在子叶中分布最多(0.2901%), 胚轴中次之(0.0951%), 果壳和胚根中分别为 0.04197% 和 0.0246%, 全株为 0.0814%; 10- 羟基喜树碱含量以子叶和胚根中居多, 分别是 0.1626% 和 0.1327%, 胚轴和果壳中较少为 0.0220%、0.0193%, 平均含量为 0.0454% (图 2)。这与张玉红等(2002)报道的喜树真叶出现前, 子叶中喜树碱含量最高, 胚轴和胚根中次之的结果相一致。

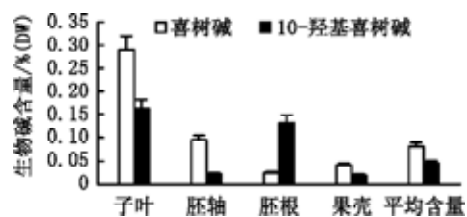


图 2 喜树幼苗生长初期不同部位中生物碱含量的比较  
Fig.2 Comparison of alkaloids contents in different parts of seedling of *C. acuminata*

(2)不同时期喜树幼苗中生物碱含量有差异(图 3)。除 1 月份的苗中喜树碱含量分布为根>叶>茎以外, 2~4 月的苗均是叶>茎>根; 10- 羟基喜树碱含量则是 1 月为叶>茎>根, 2 月为茎>叶>根, 3、4 月为茎>根>叶。其中, 1~4 月的叶中喜树碱含量分别

表1 喜树不同组织和部位中生物碱的含量

Table 1 Contents of alkaloids in different tissues and parts of *C. acuminata*

组织和部位		喜树碱含量/%	10-羟基喜树碱含量/%	干重/g	
叶部	叶柄	0.0725	0.0132	1.25	
	主脉	0.0614	0.0508	3.21	
	去主脉叶片	0.1205	0.1018	5.39	
	平均含量 $\bar{X}_n$	0.1102	0.0905	—	
茎部	非木质化茎	0.0588	0.0125	3.38	
	木质化茎	皮	0.0811	0.0493	10.78
		木质部	0.0291	0.0461	16.71
		髓	0.0389	0.0450	1.04
平均含量 $\bar{X}_n$	0.0491	0.0473	—		
主干	上部	皮	0.1050	0.1809	3.77
		木质部	0.0407	0.1461	8.72
		髓	0.1081	0.0563	0.0764
		平均含量 $\bar{X}_n$	0.0604	0.1560	—
	中部	皮	0.0828	0.1992	4.51
		木质部	0.0301	0.1070	11.83
		髓	0.0939	0.0567	0.0211
		平均含量 $\bar{X}_n$	0.0447	0.1323	—
	近根部	皮	0.1002	0.2929	8.29
		木质部	0.0485	0.1876	19.32
		髓	0.2655	0.5514	0.0107
		平均含量 $\bar{X}_n$	0.0641	0.2193	—
根部	主根	主根皮	0.0719	0.1390	5.85
		主根维管柱	0.0678	0.1617	17.71
		平均含量 $\bar{X}_n$	0.0688	0.1561	—
	一级侧根	一级侧根皮	0.1293	0.1650	4.89
		一级侧根维管柱	0.0680	0.2081	5.52
	平均含量 $\bar{X}_n$	0.0968	0.1879	—	
	二级侧根	0.0630	0.4950	3.26	

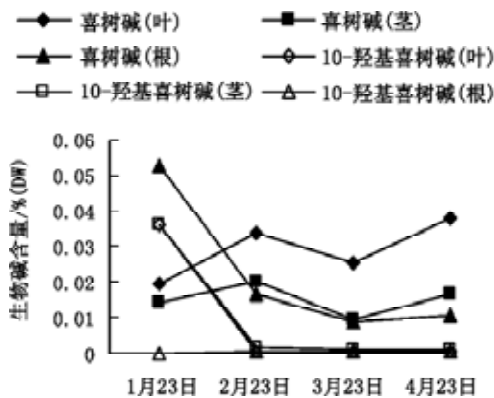


图3 喜树幼苗生长初期各部位中生物碱含量的比较  
Fig.3 Comparison of alkaloids contents in various parts of seedling of *C. acuminata*

是0.0196%、0.0339%、0.0258%、0.0383%；10-羟基喜树碱则为0.0368%、0.0007%、0.0004%、

0.0005%。1~4月的茎中喜树碱含量分别是0.0145%、0.0200%、0.0095%、0.0167%；10-羟基喜树碱含量分别是0.0361%、0.0015%、0.0011%、0.0014%。茎与叶中这两种生物碱的含量变化相似，1~2月喜树碱明显增加，之后先下降后上升；10-羟基喜树碱含量均是1月和2月有显著下降，之后无明显变化。1~4月根中喜树碱含量分别是0.0530%、0.0165%、0.0088%、0.0104%，前三个月逐渐减少，第4个月略有上升；10-羟基喜树碱含量分别是0、0.00035%、0.00043%、0.00074%，逐渐增高。

### 3 喜树果实各部分的生物碱含量

从图4可见，果皮、种皮和胚中的喜树碱含量分别是0.0041%、0.0590%、0.1954%；10-羟基喜树碱含量是0.0122%、0.0585%、0.1468%。

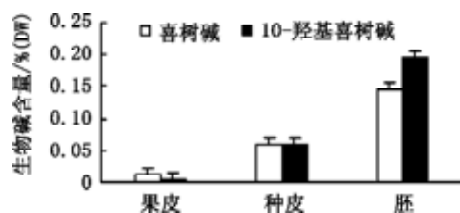


图4 喜树果实各部位的生物碱含量比较

Fig.4 Comparison of alkaloids contents in various parts of fruit of *C. acuminata*

这两种生物碱含量由外至内(果皮、种皮、胚)均是逐渐增高的。

#### 参考文献

林隆泽, 赵志远, 徐任生(1977). 抗癌植物喜树化学成分的研究. I. 喜树根中的化学成分. 化学学报, 35 (3, 4): 227~230  
 徐任生, 赵志远, 林隆泽, 胥传凤(1977). 抗癌植物喜树化学成分的研究. II. 喜树果中的化学成分. 化学学报, 35 (3, 4): 193~199  
 袁云, 骆志义(1979). 抗癌新药 10-羟基喜树碱国内研究概况. 华中医学杂志, 4: 88~91  
 张玉红, 王洋, 阎秀峰(2002). 喜树种子萌发和幼苗发育过程中喜树碱含量的变化. 植物生理学通讯, 38 (6): 575~577

中国植物志编委会(1983). 中国植物志. 北京: 科学出版社, 52 (2): 145  
 祖元刚, 赵春建, 付玉杰, 李庆勇, 李春英(2004). 改变检测波长高效液相色谱法测定喜树碱和羟基喜树碱的含量. 分析化学, 32 (11): 1441~1444  
 Buta JC, Worley JF (1976). Camptothecin, a selective plant growth regulator. J Agricul Food Chem, 24 (5): 1085~1086  
 Dai JR, Hallock YF, Cardellina JH, Boyd MR (1999). 20-O- $\beta$ -Glucopyranosyl camptothecin from *Mostuea brunonis*: a potential camptothecin pro-drug with improved solubility. J Nat Prod, 62: 1427~1429  
 Liu Z, Adams J (1996). Camptothecin yield and distribution within *Camptotheca acuminata* trees cultivated in Louisiana. Can J Bot, 74 (3): 360~365  
 Lopez-Meyer M, Nessler CL, Mcknight TD (1994). Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin in *Camptotheca acuminata*. Planta Med, 60: 558~560  
 Sakato K, Tanaka H, Mukai N, Misawa M (1974). Isolation and identification of camptothecin from cells of *Camptotheca acuminata* suspension cultures. Agricul Biol Chem, 38 (1): 217~218  
 Tafur S, Nelson JD, DeLong DC, Svoboda GH (1976). Antiviral components of *Ophiorrhiza mungos*. Isolation of camptothecin and 10-methoxycamptothecin. Lioydia, 39 (4): 261~262