

# 中麻黄离体培养及麻黄生物碱含量

## II. 离体培养下中麻黄的生物碱含量

李毅\* 赵绪兰 刘辉 纪兰菊

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

### 摘 要

*Ephedra intermedia* 愈伤组织最高生产率为 0.0133g. dry wt. day<sup>-1</sup> · bottle<sup>-1</sup>. 培养物中麻黄碱含量在 0.78%—0.34% 之间, 随断代培养次数增加而降低, 转移至第 4 代起基本保持稳定. 愈伤组织麻黄碱含量 (CONT) 与愈伤组织相对生长率 (Rr) 呈紧密负相关, 其回归方程为: CONT = 0.8327 - 6.6160Rr. 麻黄碱含量还与培养基和愈伤组织颜色有关, 二者共同作用可以抑制麻黄碱含量在继代培养中的“退化现象”。

关键词: 中麻黄; 组织培养; 愈伤组织; 麻黄碱

麻黄的主要有效成分是麻黄碱(崔建芳等, 1991)。麻黄碱是拟肾上腺素药, 能促进人体内去甲肾上腺素的释放, 具有中枢神经兴奋作用(北京医学院等, 1980)。除直接具有药用价值外, 对麻黄碱进行修饰的衍生物具有新的药用价值, 如抗炎药及药物释放的前体药物, 而且还可进行不对称立体化学研究(穆莉等, 1992)。

目前麻黄碱是从麻黄科植物的某些种中提取得到的, 近年来由于过度开垦和乱采滥挖, 麻黄资源日趋减少(武素功等, 1990)。用组织和细胞培养方法对麻黄进行培养, 从培养物中提取麻黄碱是保护麻黄自然资源的有效途径之一。

### 一、材料与方 法

(1) 材料 *Ephedra intermedia* 的茎段培养所获得的愈伤组织。

(2) 方法 *Ephedra intermedia* 的培养方法见李毅等, 本集。

采用中国药典(中华人民共和国卫生部药典委员会, 1978)记述的方法测定麻黄碱

\* 本文自始至终都得到了陈集贤研究员的指导和支 持并审阅了全文

\*\* 联系人, TEL.: (0971) 6143610, FAX.: (0971) 6143282

本文 1994 年 7 月 2 日收到。

含量（以麻黄碱占愈伤组织干重的百分比表示）。

干重测定：愈伤组织于 45℃ 烘箱中烘 72—100 小时至恒重，分析天平称重。

生长速率测定：生长速率分为绝对生长速率  $R_a = (W_f - W_s) / T$ ，（单位： $g \cdot day^{-1} \cdot bottle^{-1}$ ），和相对生长速率  $R_r = T^{-1} \cdot \ln (W_{df} / W_{ds})$ （单位： $日^{-1}$ ）； $W_f$  为每 100 毫升培养瓶中的终产物平均重量（单位： $g \cdot bottle^{-1}$ ）， $W_s$  为每 100 毫升培养瓶中的起始物平均重量（单位： $g \cdot bottle^{-1}$ ）， $W_{df}$  为每 100 毫升培养瓶中的终产物平均干重（单位： $g \cdot bottle^{-1}$ ）， $W_{ds}$  为每 100 毫升培养瓶中的起始物平均干重（单位： $g \cdot bottle^{-1}$ ）， $T$  为时间（单位：日）（周立刚等，1992；Singer, 1986）。

## 二、结 果

### 1. 继代次数与麻黄碱含量

麻黄愈伤组织每 60 天左右继代培养 1 次，培养至 40 天时测定鲜重、干重和麻黄碱含量。结果见图 1。

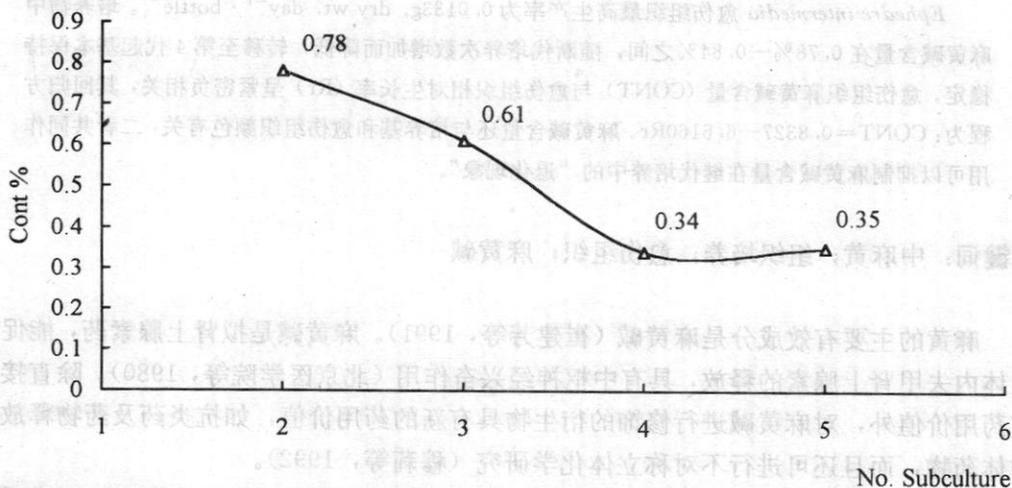


图 1 继代培养次数与麻黄碱含量

Fig. 1 The influence of subcultural times on alkaloid content of *Ephedra intermedia*

注：在 LC<sup>+</sup> 培养基上。Note: On LC<sup>+</sup> medium.

S<sub>2</sub> 代麻黄碱含量最高（0.78%），但比原采集地植物中的麻黄碱含量（1.48%）低。随着继代培养次数的增加，麻黄碱含量急剧下降，至 S<sub>4</sub> 代降到最低点（0.34）时开始稳定。

### 2. 愈伤组织生长速率与麻黄碱含量

由表 1 可知愈伤组织无论转移到 LC 培养基上还是 LC<sup>+</sup> 培养基上，绝对生长率和相对生长率总是黄色 > 绿色 > 杂合色愈伤组织。黄色愈伤组织的绝对生长率在 LC<sup>+</sup> 培养基上 > 在 LC 培养基上，而绿色愈伤组织的绝对生长率则是在 LC 培养基上 > 在 LC<sup>+</sup> 培养

基。说明 LC<sup>+</sup>培养基有利于黄色愈伤组织的高速生长, LC 培养基适合绿色愈伤组织的生长。

表 1 愈伤组织生长速率与麻黄碱含量

Table 1 The influence of callus growth rate on alkaloid content

愈伤组织 Callus		LC <sup>+</sup> 培养基 Callus on LC <sup>+</sup> medium		LC 培养基 Callus on LC medium		
		黄色愈伤 Yellow	绿色愈伤 Green	黄色愈伤 Yellow	绿色愈伤 Green	杂合色愈伤 Motley
接种量 Inoculating quantity g/bottle	鲜重 fresh wt.	0.7572 ±0.0105		0.7881 ±0.0501		
	干重 dry wt.	0.2294 ±0.0078		0.0631 ±0.0110		
愈伤产量 Yield of callus g/bottle	鲜重 fresh wt.	16.2263 ±0.1322	5.1251 ±0.0563	7.9459 ±0.1561	5.8202 ±0.1277	5.5488 ±0.8068
	干重 dry wt.	0.5617 ±0.0198	0.3843 ±0.0042	0.5477 ±0.0084	0.4952 ±0.0107	0.3560 ±0.0521
绝对生长率 Absolute gro- wth rate g. day <sup>-1</sup> . bottle <sup>-1</sup>	鲜重 fresh wt.	0.3867	0.1092	0.1789	0.1258	0.1190
	干重 dry wt.	0.0133	0.0089	0.0121	0.0108	0.0073
相对生长率 Relative growth rate day <sup>-1</sup>		0.0737	0.0643	0.0540	0.0515	0.0433
麻黄碱含量% Alkaloid content		0.35	0.40	0.47	0.50	

注: S<sub>5</sub> 代愈伤组织。Note: from S<sub>5</sub> generation callus.

相对生长率 (Rr) 和麻黄碱含量 (CONT) 间的关系如图 2 所示。

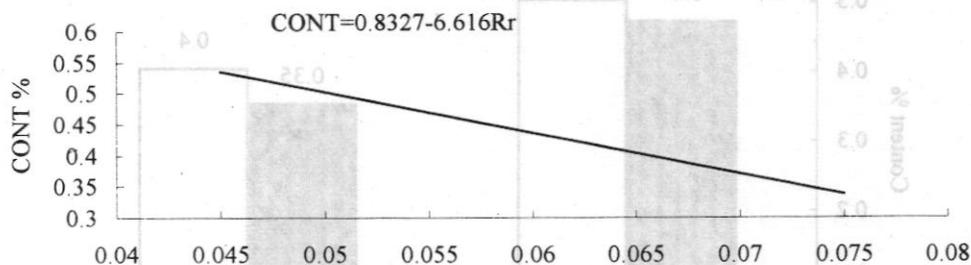


图 2 相对生长率 (Rr) 和麻黄碱含量 (CONT)

Fig. 2 The influence of relative growth rate of callus (Rr) on alkaloid content (CONT)

从图 2 看出, 麻黄碱含量与相对生长率密切相关, 两者间呈负线性关系, 其回归方程为  $CONT = 0.8327 - 6.616Rr$ , 相关系数 = -0.9938。

### 3. 培养基与麻黄碱含量

S<sub>4</sub>、S<sub>5</sub> 代, 在 LC 培养基上的愈伤组织的麻黄碱含量均高于在 LC<sup>+</sup> 培养基上的 (图 3)。

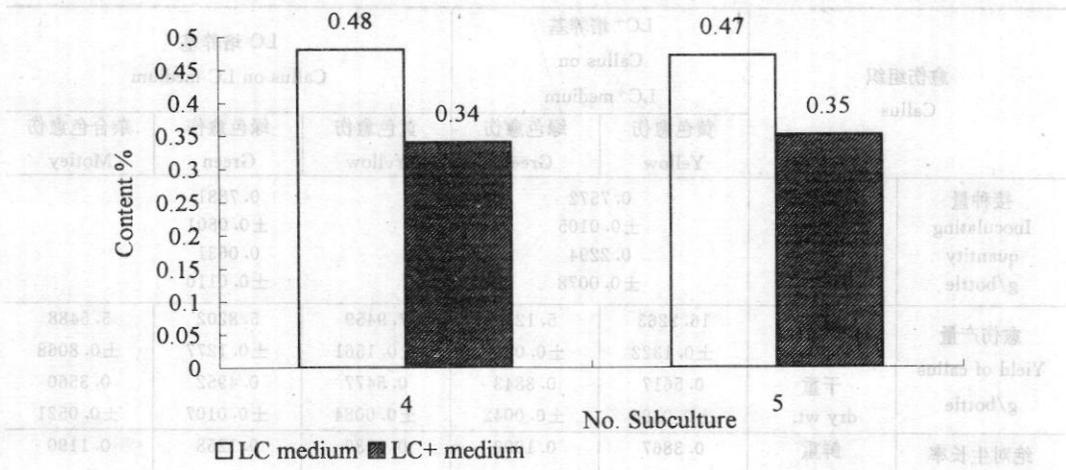


图 3 培养基与麻黄碱含量  
Fig. 3 The influence of different media on alkaloid content.

注: 黄色愈伤组织。Note: The yellow calli.

### 4. 愈伤组织颜色与麻黄碱含量

无论在何种培养基上, 绿色愈伤组织的麻黄碱含量总是高于黄色愈伤组织。这与黄色愈伤组织生长速率高有关 (图 4)。

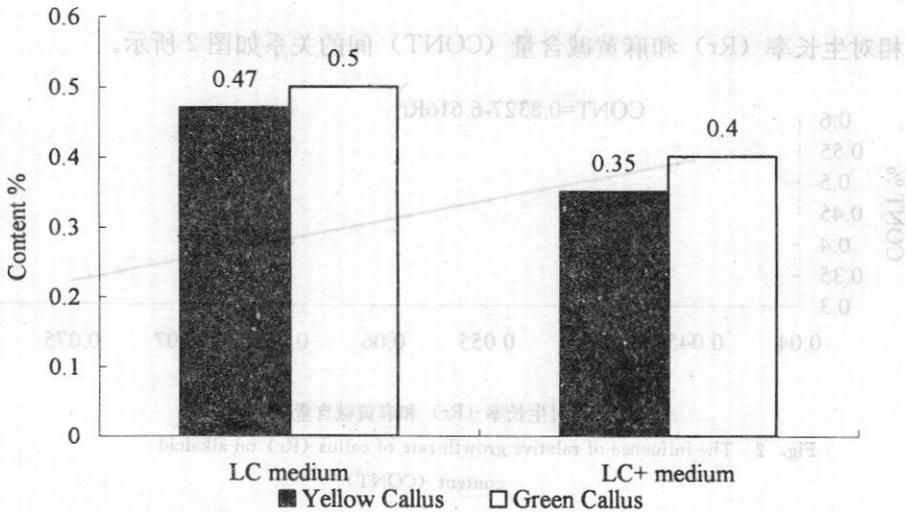


图 4 愈伤组织颜色与麻黄碱含量  
Fig. 4 The influence of calli with different color on alkaloid content

注: S<sub>5</sub> 代。 Note: S<sub>5</sub> subculture.

结合图1看出,麻黄碱含量:LC培养基上S<sub>5</sub>代的绿色愈伤组织(0.50%)高出S<sub>4</sub>代LC<sup>+</sup>培养基上的黄色愈伤组织(0.34%)很多,接近S<sub>3</sub>代(0.61%)。

### 三、讨 论

通常认为用组织培养方法产生生物碱是格外地困难(郑光植,1980)。困难之一是在培养物中测不到生物碱或生物碱含量很低。Ramawat等(1979)在麻黄*Ephedra foliata*培养物中没有测到麻黄碱,在*Ephedra gerardiana*培养物中麻黄碱含量0.17%,仅为原植物(1.7%)的1/10。在我们的试验中*Ephedra intermedia*培养物中麻黄碱含量最低点降到0.34%,为原植物(1.48%)的1/4。另一个困难是培养物的生长和药物含量随继代培养次数的增加而下降的“退化现象”(郑光植等,1983)。我们得到了不同的结果:麻黄碱含量与培养物的相对增长率间呈密切的负相关。麻黄碱含量随继代培养次数增加而下降,与我们逐代选择高速生长的愈伤组织有关。

研究还表明,培养基与愈伤组织颜色的共同作用,至少可以抑制继代中麻黄碱含量的“退化”,这样,我们就可以采用2步法来生产麻黄碱:第1步在LC<sup>+</sup>培养基上扩增愈伤组织,第2步在LC培养基上实现高的愈伤组织转化(本文第I部分)。通过2步法既可以获得多的愈伤组织,又可以得到高麻黄碱产量。

### 参 考 文 献

- 中华人民共和国卫生部药典委员会,1978,中华人民共和国药典,1977年版一部,第1版,人民卫生出版社,553—554。
- 北京医学院、北京中医学院,1980,中草药成分化学,第一版,人民卫生出版社,114—115。
- 武素功、费 愚、夏 榆,1990,喀喇昆仑山-昆仑山植物区系的一般特征及植物资源的保护与开发利用,自然资源学报,5: 376—381。
- 周立刚、郑光植、王世林,1992,三七细胞大量(发酵)培养的研究,植物学报,34: 76—80。
- 郑光植,1980,药用植物组织培养在工业生产上应用研究的进展,植物生理学通讯,(4): 1—11。
- 郑光植、何静波、王世林,1983,药用植物组织培养的研究植物生理学报,9: 129—134。
- 崔建芳、张 群、张建生,1991,麻黄中麻黄生物碱的气相色谱测定法,药学学报,26: 852—857。
- 穆 莉、蔡聚馨、张清德,1992,麻黄生物碱衍生物恶唑烷的合成与前药研究,药学学报,27: 336—344。
- Ramawat K G, Arya H C, 1979, Alkaloid content of *Ephedra* in vivo and in vitro, *Indian J Exp Biol.* 17: 106—107。
- Singer S R, 1986, Analyzing growth in cell cultures, *Canad J Bot.* 64: 23—237。

# EPHEDRA INTERMEDIA IN VITRO CULTURE AND ITS ALKALOID CONTENT

## I. The ALKALOID CONTENT OF *EPHEDRA INTERMEDIA* CALLUS

Li Yi, Zhao Xulan, Liu Hui and Ji Lanju

(Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

The alkaloid content of *Ephedra intermedia* cultures went down from 0.78% of dry weight in the 2nd subculture to 0.34% in the 4th subculture, but became stable after the 4th subculture. The absolute growth rate was 0.0133g dry wt. day<sup>-1</sup>. bottle<sup>-1</sup>. When the relative growth rate (Rr) was decreased, the alkaloid content (CONT) increased and showed  $CONT = 0.8327 - 6.6160Rr$ . Different media and colors of callus had an influence on alkaloid content.

**Key words:** *Ephedra intermedia*; Plant tissue culture; Callus; Alkaloid