

# 科研资料选编

(1965——1976)

第三分册

山东省医学科学研究所

一九八〇年三月

---

# 目 录

- 1、农吉利甲素的分离及其化学研究.....药物研究室等(1)
- 2、农吉利不同生长期鲜草中生物硷含量变化的研究.....药物研究室等(7)
- 3、农吉利甲素季胺盐的制备及其抑瘤研究.....药物研究室等(12)
- 4、农吉利甲素盐溶液的制备及其抑瘤研究.....药物研究室等(16)
- 5、农吉利甲素的抗瘤实验和毒性实验.....肿瘤研究室(21)
- 6、农吉利甲素对肝脏毒性的实验.....肿瘤研究室(27)
- 7、农吉利甲素毒性的防护实验及防护药物对甲素抗瘤作用的影响...肿瘤研究室(33)
- 8、农吉利甲素所致大白鼠中毒的解毒实验观察.....肿瘤研究室(36)
- 9、农吉利 N-氧化甲素抑瘤实验及亚急性毒性实验.....肿瘤研究室(38)
- 10、农吉利甲素在体内代谢的研究.....药物研究室等(42)
- 11、农吉利甲素在癌症病人尿液中排泄量的分析.....药物研究室(49)
- 12、农吉利甲素注射液稳定性的研究(附:农吉利甲素及其针剂的含量测定方法).....药物研究室(51)
- 13、抗肿瘤药顺氯氨铂研究报告.....山东省医科所等(57)
- 14、抗肿瘤药顺二氯二氨铂化学及制剂的研究.....药物研究室(59)
- 15、氯氨铂及注射用氯氨铂质量规格暂行标准.....药物研究室(69)
- 16、氯氨铂抑瘤及毒性研究.....肿瘤研究室(79)
- 17、氯氨铂临床抗癌研究.....肿瘤研究室等(86)
- 18、山东省八十二万人口的恶性肿瘤普查资料分析  
(1970—1973.6).....山东省肿瘤防办(91)
- 19、平原县六个公社十年(64—73)恶性肿瘤死亡  
回顾调查统计分析报告.....山东省肿瘤防办(107)
- 20、骨髓造血干细胞脾集落形成研究的技术探讨.....肿瘤研究室(133)
- 21、肿瘤细胞脾集落形成研究的技术探讨.....肿瘤研究室(136)

## 22、5-氟脲嘧啶的不同给药方法对艾氏癌实体型

抑制效果和造血细胞抑制的观察.....肿瘤研究室(139)

## 23、山东省德州地区平原县六个公社试点肿瘤普查

方法和普查中早诊早治问题的探讨.....肿瘤研究室等(143)

## 24、山东省太安地区食管癌病因学1976年调查研究报告

.....山东省食管癌病因学研究协作组(153)

## 25、不同种类抗癌药对元葱根尖细胞有丝分裂的影响.....肿瘤研究室(169)

## 26、甲状腺实体瘤.....曹守维、胡修德(172)

## 27、子宫颈癌的病理分型.....肿瘤研究室(176)

## 28、胶体<sup>198</sup>金治疗卵巢癌一例报告.....工业卫生研究室等(182)

## 29、<sup>90</sup>锶敷贴治疗磷状上皮细胞癌一例报告.....工研室同位素组(183)

## 30、用抗元一抗体复合物分离提纯甲胎蛋白.....微生物研究室(185)

## 31、用聚丙烯酰胺电泳提纯甲胎蛋白.....微生物研究室(190)

## 32、病毒疫苗治疗肿瘤和白血病的疗效初步总结.....微生物研究室等(197)

## 33、感冒儿童的病毒分离.....微生物研究室等(201)

## 34、麻疹减毒活疫苗治疗85例急性黄疸型传染性肝炎

临床效果观察.....微生物研究室等(211)

## 35、局部用药预防流行性脑脊髓膜炎的效果观察.....微生物研究室等(217)

## 36、平原旱地作物区(宁阳点)鼠类感染钩端螺旋体情况的调查.....微生物研究室(221)

## 37、1966年莱阳地区钩端螺旋体菌种分离及鉴定报告.....微生物研究室等(229)

## 38、静脉血、耳垂血钩端螺旋体凝溶试验结果比较.....微生物研究室等(231)

## 39、猪肾培养、尿直接镜检及血清凝溶试验关系的初步观察.....微生物研究室等(233)

## 40、猪接种396型钩端螺旋体单价菌苗的免疫效果观察.....微生物研究室等(235)

## 41、平原旱地作物区(宁阳点)钩端螺旋体病疫源

性质调查研究初步报告.....微生物研究室等(238)

# 农吉利甲素的分离及其化学研究

山东省中医药研究所

山东省医科所药研室

济南人民制药厂

农吉利 (*Crotalaria sessiliflora* L.) 为豆科猪屎豆属植物。很早以前, 我省就作为民间草药应用。1963年乳山县一位贫农社员用此药治愈了自己足背上的鳞状上皮癌。1970年后的二年来, 经我省临床治疗观察, 已治愈多例皮肤癌和子宫颈癌。进一步证明了农吉利的治癌效果

为了寻找出农吉利抗肿瘤的有效物质和进一步提高临床治疗效果, 在省卫生局的直接领导下, 组成了农吉利研究协作组, 遵照毛主席关于“运用近代科学的知识和方法来整理和研究我国旧有的中医中药以及把中医中药的知识和西医西药的知识结合起来, 创造中国统一的新医学新药学”的伟大教导, 首先着手进行了农吉利抗肿瘤有效成份的分离及其化学研究。经化学预试验, 对其中生物硷部分进行了分离和提纯, 并从总生物硷的七种生物硷中, 分离出一种白色棱状结晶, 暂称为农吉利甲素。经化学分析, 和对照有关资料, 初步证明农吉利甲素与 *monocrotaline* 为同一化合物。

## 一、农吉利的化学预试验

取1份农吉利全草粗粉, 加入3份95%乙醇, 水浴回流二小时, 共提取二次, 过滤, 合并乙醇液, 回收乙醇, 残渣加入适量热水, 经过滤, 滤液作为预试样品。样品液中滴入各种生物硷沉淀试剂均呈阳性反应, 对Dragendorff试剂呈橙红色沉淀, Wagner试剂为棕红色沉淀, 硅钨酸和磷钨酸试剂为白色沉淀, 磷钼酸试剂为类白色沉淀。加入3%三氯化铁试剂呈墨绿色, 表明含有酚性物质, 经聚酰胺柱层析, 其醇性冲洗液对镁粉—盐酸反应呈樱红色, 表明含有黄硷类。样品经纸上层析用茚三酮乙醇液显色, 有紫红色斑点, 表明含有氨基酸。此外尚有植物油、粘液质、鞣质、树脂等。我们根据一般植物成份生理活性的特点, 首先对生物硷类进行了分离和提纯。

## 二、农吉利总生物硷的提取

经化学预试, 农吉利植物中, 以种子含生物硷较多 (种子占全草量约10%)。因而

将种子和筛除种子的全草分别进行提取。操作手续如下：

(一) 从种子中提取总硷

取农吉利种子粗粉，加入5倍量95%乙醇，水浴回流提取4小时，共提取4次，合并乙醇液，收回乙醇，得残膏。

1. 除油：残膏加入适量水，并加入浓盐酸，调PH至2，然后用氯仿提取，每次加入大约水液的1/3体积，共提取3次。分取水液。

氯仿液收回后，得墨黑色油液，经薄层层析，仍含有少量生物硷。

2. 总硷提取：上述分出的酸性水液，加浓氨水调PH至10，用氯仿提取6次，每次加入氯仿量同上。合并收回氯仿，蒸干即得到淡黄色砂粒状总硷。

若从上述油液中分离少量生物硷，可加入适量氯仿溶解，以3%盐酸提取6次，每次加入等体积。酸液经硷化，再用氯仿提取，只得到浸膏状生物硷。若继续分离其中少量的农吉利甲素，需采用柱上层析法（方法见后述）。

(二) 从全草（已筛除种子）中提取总硷

除去种子的全草含生物硷极少，若进行分离，可使用酸性的稀乙醇为溶剂。其操作手续如下：

取农吉利粗粉，用70%乙醇（含有约0.5%乙酸）浸渍24小时后，开始缓缓渗漉，共用10倍量稀乙醇，合并和收回乙醇，并继续减压浓缩至残液为原生药的等量。将水液置冷库中二日，以分除上层硬结油脂物，并过滤水液。

1. 除油：水液酸化后，按上述操作去油。

2. 总硷提取：酸性水液，加浓氨水，调PH至10，按上述手续，用氯仿提取。氯仿液浓缩至适当体积，再用3%盐酸提取6次，盐酸加入量同上，合并酸液，再用浓氨水调PH为10，以氯仿提取6次。收回氯仿，即得沙粒状结晶性总硷。

在除油操作中，所得油液亦可按上述手续，再分离其少量生物硷，但呈浸膏状。其中农吉利甲素的分离，需用柱上层析法（方法见后所述）。

### 三、总生物硷的薄层层析

为研究上述总硷中大致含有几种生物硷成份，而进行了氧化铝薄层层析。初步表明，氯仿提出的总硷中，大约含有七种生物硷。根据薄层谱斑点面积的估计，以Rf值0.35，Rf值0.70和Rf值0.28者含量较多，并分别暂称为农吉利甲素、乙素和丙素。

薄层层析的操作手续如下：

(一) 样品制备：取不同产地的种子和全草所得的总硷，加适量氯仿溶解，作为样品液。

(二) 薄层层析条件：

中性氧化铝：活度Ⅱ级（自制）、并通过160号筛孔。

展开剂：苯—丙酮—无水乙醇（85：5：10v/v）。

玻璃板：5×20厘米

展开距离：15厘米

显色剂：改良Dragendorff试剂

(三) 薄层层析结果：见图1

从图1中可以看出，本省不同地区所产的农吉利中所含的总生物硷成份，基本是一致的。约共有七种生物硷。在全草中以农吉利甲素( $R_f 0.35$ )，乙素( $R_f 0.70$ )及丙素( $R_f 0.28$ )为多。在种子中，除含有最多的甲素外，又以 $R_f$ 值0.55者含量较多，但此种生物硷在全草中很少。油液中所含生物硷很少，除有甲素外，尚有一种 $R_f$ 值0.74者。七种生物硷的 $R_f$ 值分别为：0.03、0.28、0.35、0.45、0.55、0.70和0.74。各种生物硷的分布、与产地关系不大(如乳山、文登、日照等县)，但是植物部位不同(如全草或种子)，则各种生物硷的分布，就有显著差异。

图1 农吉利总硷的薄层层析图谱

注：

1. 农吉利甲素结晶
2. 乳山县产农吉利全草(未筛去种子)总硷
3. 日照县产农吉利全草(未筛去种子)总硷
4. 文登县产农吉利全草(已筛去种子)总硷
5. 文登县产农吉利种子总硷
6. 日照县产农吉利种子总硷
6. 日照县产农吉利全草分离出油中生物硷
7. 乳山县产农吉利全草分离出油中生物硷

## 四、农吉利甲素的提纯

总硷呈沙粒状者，可采用溶剂法重结晶，但若总硷为浸膏状，或油液中分出的生物硷，则需要采用柱上层析法提纯。现分别叙述如上：

### (一) 溶剂法提纯：

将沙粒状总硷，加入少量丙酮，研磨洗涤，过滤，即可分出白色结晶。如此，可反复洗涤结晶2~3次。所得白色结晶，用无水乙醇重结晶二次，得白色棱状结晶。无水乙醇母液经反复浓缩，亦可多次析出白色棱状结晶。

上述处理后的丙酮液，合并，蒸干，仍得到颜色更深的沙粒状浸膏。仍可按上述操作，再分离出一部分白色结晶。如此反复操作三次，蒸干后的丙酮液为深棕色少量浸膏。若从中分离甲素则需用柱上层析法。

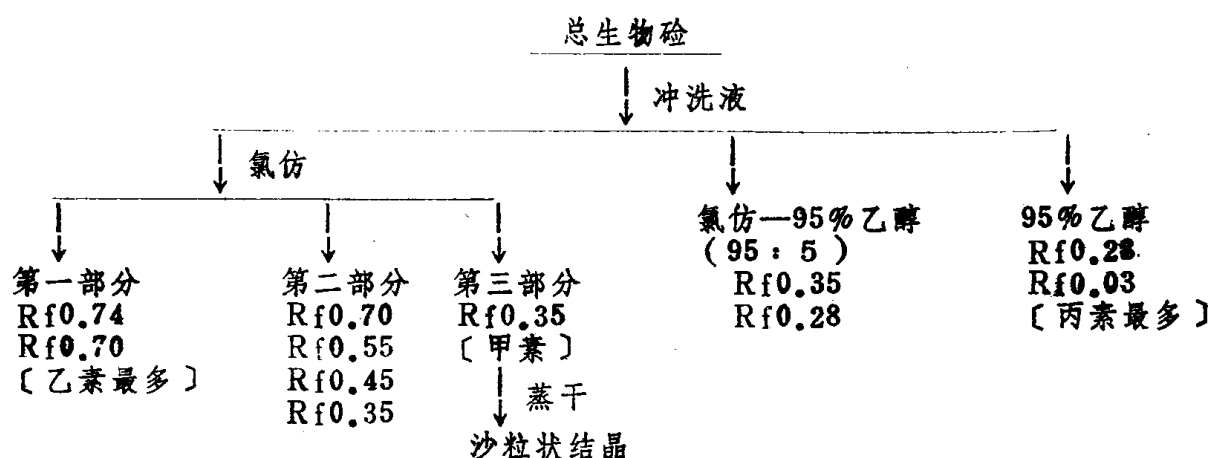
### (二) 柱上层析法提纯：

将浸膏状生物硷与适量中性氧化铝拌合，低温烘干，并研成粉末，作为样品。柱层析采用中性氧化铝，活度Ⅲ级，粒度100目者。样品层与氧化铝柱层体积比约为1:7。分别按下列溶剂冲洗，每200毫升收集一次，并用上述薄层层析法检定冲洗液。至冲洗液中 $R_f$ 值为单一0.35者，集中收集，蒸干溶剂，即析出沙粒状粗晶，[然后按溶剂法提精制。

根据本省各地区产农吉利的提纯，所得甲素含量大致如下：种子中约提出甲素为0.4%，未筛出种子的全草为0.02%，以日照所产者最低，约0.002%，究其原因，发现

该草结荚少，种子更少，而且种粒瘦瘪。可以推测收集期过早，皂素的含量将很低。

氧化铝柱层析流程图如下：



## 五、农吉利甲素的化学研究

### (一) 农吉利甲素的性质：

用无水乙醇重结晶的甲素为白色棱晶，不溶于石油醚，微溶于苯和水，略溶于乙醚和丙酮，可溶于无水乙醇和甲醇等，易溶于氯仿。

熔点 196—198°C (分解，未校正)

比旋度  $[\alpha]_D^{16} = -56.4$  (1% 氯仿液)

纸上层析 Rf值0.43 [新华滤纸，展开剂为正丁醇—甲酸—水 (13:3:2)，显色剂为Dragendorff试剂]。

薄层层析，Rf值0.35 [中性氧化铝，Ⅱ级160目者，展开剂为苯—丙酮—无水乙醇 (85:5:10: )，显色剂为改良Dragendorff试剂]。

对各种生物硷沉淀试剂均呈阳性反应。

Dragendorff试剂为橙红色沉淀。

Wagner试剂为棕红色沉淀。

Mayer试剂为类白色沉淀。

硅钨酸和磷钨酸试剂均为类白色沉淀。

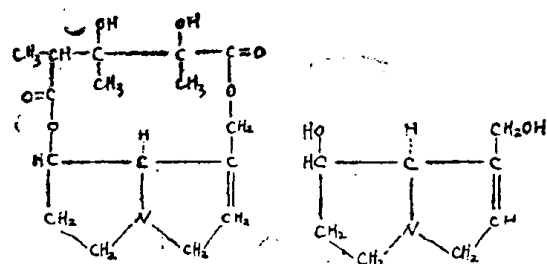
苦味酸试剂为金黄色沉淀。

### (二) 关于农吉利甲素的化学结构：

由于豆科猪屎豆属植物，多含有双稠吡咯啉类生物硷，根据农吉利甲素的性质和一些常数值，以及各种盐类的制备，水解产物的测定，红外吸收光谱、紫外吸收光谱的鉴定，和元素分析等，对照有关资料的记载，初步表明农吉利甲素与Monocrotaline为同一物质。

由于这种生物硷为酯类物质，所以农吉利甲素经水解后，生成的另一种生物硷，拟称为农吉利甲素次硷，经熔点测定，初步表明与Retronecine为同一物质。

Monocrotaline和Retronecine的化学结构如下:



Monocrotaline      Retronecine

关于农吉利甲素各种测出的数据与Monocrotaline比较, 参见表1。

表1      农吉利甲素与Monocrotaline的比较

| 项 目      |         | 农 吉 利 甲 素               | Monocrotaline         |
|----------|---------|-------------------------|-----------------------|
| 比 旋 度    |         | $[\alpha]_D^{16} -56.4$ | $[\alpha]^{26} -54.7$ |
| 碳 氢 测 定  |         | C 59.24, H 7.08         | C 59.06, H 7.12       |
| 熔点测定(分解) | 甲 素     | 196—198°C               | 196—197°C             |
|          | 盐 酸 盐   | 184°C                   | 184°C                 |
|          | 苦味酸盐    | 229—231°C               | 231—231.5°C           |
|          | 碘化甲基季铵盐 | 202—204°C               | 205°C                 |
|          | 甲素次碱盐酸盐 | 158—160°C               | 161°C                 |

农吉利甲素的红外吸收光谱图, 见图2

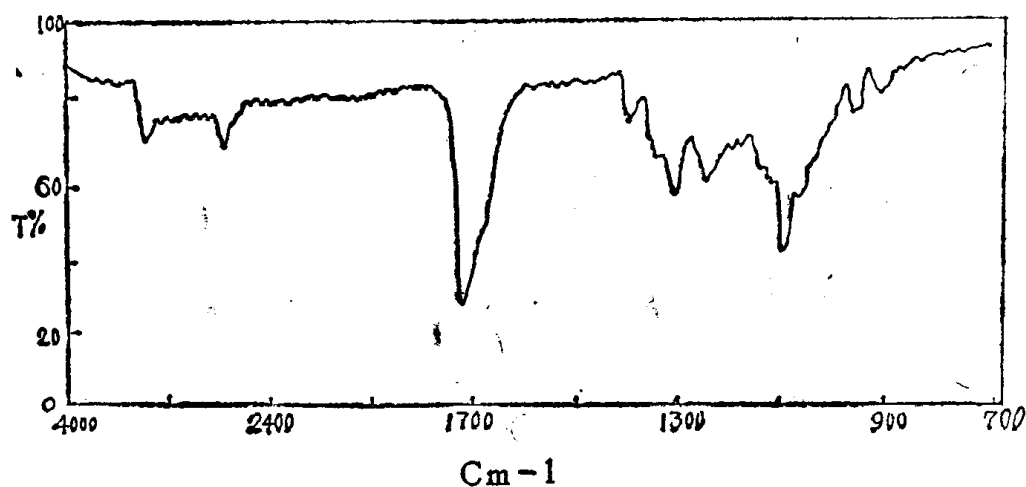


图2 农吉利甲素的红外吸收光谱

其羟基吸收峰为 $3350\text{cm}^{-1}$ 和 $2800\text{cm}^{-1}$ , 羰基吸收峰为 $1718\text{cm}^{-1}$ 。紫外吸收光谱的最大吸收峰为 $217\text{m}\mu$ 。

### (三) 各种农吉利甲素盐类及甲素次硷的制备:

1. 盐酸盐: 取100毫克农吉利甲素, 溶于20毫升甲醇, 滴入3%盐酸, 调PH为3, 然后水浴蒸干, 得粘膏状物, 用约2毫升无水乙醇溶解, 再加入约20毫升乙醚, 使混浊放置2日, 逐渐形成簇针状结晶。熔点 $184^{\circ}\text{C}$  (分解)。易吸湿, 若将粘膏物直接用氯仿重结晶, 则得熔点为 $270\sim 208^{\circ}\text{C}$  (分解)。

2. 苦味酸盐: 取100毫克农吉利甲素, 加热溶于20毫升无水乙醇中, 并滴加饱和苦味酸的无水乙醇液, 放置片刻, 徐徐析出黄色针晶。熔点 $229\sim 231^{\circ}\text{C}$  分解。

3. 碘化甲基季胺盐: 取100毫克农吉利甲素, 加热溶于20毫升无水乙醇中, 加入0.5毫升碘甲烷, 水浴蒸干, 为油状液。再加少量无水乙醇, 即变为白色固体, 过滤, 用无水乙醇重结晶, 为白色针晶。熔点 $202\sim 204^{\circ}\text{C}$ 。

### (四) 农吉利甲素次硷的制备:

取500毫克农吉利甲素与3克氢氧化钡 $[\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}]$ 共研成细粉, 置于小烧瓶中, 加入50毫升水, 水浴回流3小时。然后过滤, 滤液用氯仿提取三次。水液再用3%盐酸, 仔细调PH为4; 水浴浓缩。在浓缩过程中, 析出的红色絮状沉淀, 过滤除去。至水液均为15毫升时, 置索氏提取器中, 用乙醚连续提取7小时。放出水液, 水液蒸干, 加均5毫升无水乙醇溶解, 并加入20毫升乙醚, 则发生白色浑浊。放置二日, 即析出羽针状白色结晶。熔点为 $158\sim 160^{\circ}\text{C}$  (分解)。

## 六、农吉利乙素和丙素部分的分离

利用上述柱上层析法, 分别将乙素 ( $R_f$ 值0.70) 和丙素 ( $R_f$ 值0.28) 部分收集。并作成注射剂 ( $50\text{mg}/2\text{mL}$ ), 供动物抗肿瘤试验, 结果对小白鼠S 180肉瘤无抑制作用, 故未继续进行分离和提纯。

## 小 结

1. 农吉利全草经化学预试验, 表明有生物硷, 黄碱素、氨基酸、酚性物质和油类等。

2. 所提出的总生物硷中, 经薄层层析鉴定, 约共有七种生物硷, 其中以农吉利甲素 ( $R_f$ 值0.35) 最多。其含量在种子中约0.4%; 未筛出种子的全草中约0.02%, 已筛出种子的全草中尚不足0.01%。若采集期过早, 种子尚未成熟, 则甲素含量显著下降。

3. 农吉利甲素为白色棱晶, 熔点 $196\sim 198^{\circ}\text{C}$  (分解), 经盐类制备, 水解生成物、元素分析和光谱鉴定, 初步证实, 农吉利甲素与Monocrotaline为同一物质。其水解生成的甲素次硷与Retronecine一致。

## 致 谢

在工作中得到浙江省卫生实验院大力协助。元素分析得到上海药物研究所帮助则定, 特致感谢!

# 农吉利不同生长期 鲜草中生物硷含量变化的研究

山东省医科所药研室

山东省中医药研究所

济南人民制药厂

农吉利 (*Crotalaria sessiliflora* L.) 已从治疗皮肤癌转用于试治其他癌症, 且已从中分离出治癌有效成分农吉利甲素用于临床 [1]。几年来的临床经验已证明鲜草捣烂外敷、口服、注射和离子透入等的治疗效果与农吉利甲素相似 [2]; 但我们在实验中用薄层层析法鉴定, 鲜草及其粗制针剂中农吉利甲素含量甚微。因此必须借助于化学定量的方法研究农吉利鲜草中生物硷含量的特点, 以探索农吉利鲜草的治癌原理。

研究证明, 农吉利甲素为双稠吡咯啉类生物硷 [1], 它的天然衍生物主要为 N—氧化物 [3]。为此, 我们分析植物不同生长期和植株不同部位的生物硷及其 N—氧化物含量的差异。结果表明农吉利鲜草中 N—氧化物在总生物硷含量中占重要比重, 且在叶和根茎中随着植物的生长而含量增加。但花和荚角反之, 随植物的生长 N—氧化物含量逐渐下降, 生物硷却在上升, 且当荚角中种子成熟后生物硷含量急剧增加, 成熟后的荚角中集中了全植物生物硷含量的 75%。

经研究证明, 大叶猪屎青 (*C. assamica* Benth) 种子中含农吉利甲素达 3% 以上 [4]。由分析得到, 其生长期鲜草中的生物硷含量比农吉利鲜草中的高数倍到 80 多倍, 且含有大量 N—氧化物。

## 实 验 方 法

### 一、鲜草的采集和处理:

#### 1. 采集:

自 8 月份到 10 月份共采集农吉利鲜草 3 次, 采集大叶猪屎青鲜草 1 次, 采集完整的植株。见表 1。

表 1 鲜草采集时间、地点和形态

| 名称    | 采集时间       | 间隔时间 | 采集地点      | 形 态                                            |
|-------|------------|------|-----------|------------------------------------------------|
| 农吉利   | 1972.8.23  | —    | 山东文登县文城公社 | 全株长 20—30 厘米, 根约 10 厘米, 地上部分高大, 分蘖多且茂盛。        |
|       | 1972.9.12  | 21 天 | 山东文登县小观公社 | 全株长 20—25 厘米, 根约 15 厘米, 地上部分匍伏且矮小, 根系粗大。已开花结荚。 |
|       | 1972.10.10 | 28 天 | 山东文登县文城公社 | 同 8 月 23 日采集者。花已凋落, 结荚, 个别荚青嫩, 其余为棕色。          |
| 大叶猪屎青 | 1972.10.8  | —    | 山东宁津县     | 全株长 50 厘米左右、粗壮、开花结荚、种子青嫩。                      |

## 2. 处理:

称取一定量(若干克)采集之鲜草,然后按根、茎、叶、花、荚角(包括荚壳和种子,农吉利草两者合并,大叶猪屎青分取荚壳和种子)和全草,分别称取重量(克),再剪碎或于乳钵中砸烂,置三角瓶中;用95%乙醇洗涤乳钵数次,洗液并入三角瓶中,再加95%乙醇使浸过样品1~2厘米,80°C水浴温浸30分钟,共温浸提取5次(亦可先剪碎后用乙醇提1~2次后再砸烂)。过滤、合并提取液,水浴蒸除乙醇至小体积,放冷后精确量取体积(毫升),即得鲜草各部分提取液,名为“样品醇提液”,密塞于暗处保存。

## 二、样品醇提液化学测定前操作:

农吉利甲素为双稠吡咯啉生物硷,它可与N-氧化物同时存在于植物中,因此应予分别化学定量。其操作是:精密吸取样品醇提1.0毫升(视样品中含生物硷及其N-氧化物多少而定)置于蒸发皿中,水浴蒸去乙醇,残渣加3%盐酸5.0毫升充分研磨、过滤(过滤器材为洁净干燥者),滤液收集于试管中用。再分别进行下述操作:

### 1. 样品中生物硷的测定:

精密吸取上述酸性滤液1.0毫升置于50毫升分液漏斗中,补加水4毫升,加石油醚抽提3次,以除去油脂及叶绿素,酸水液加20%(V/V)氢氧化铵1毫升硷化,用氯仿抽提5次,合并氯仿抽提液于具塞锥形瓶中,用无水硫酸钠脱水,水浴挥去氯仿至干,冷后加甲醇5.0毫升,取2.0毫升两份平行比色测定。

### 2. 样品中N-氧化物的测定。

精密吸取同样酸性滤液1.0毫升于另一试管中,加锌粒数枚,于室温或冰冷水中反应30分钟,然后定量转移到50毫升分液漏斗中,洗涤试管数次,合并洗涤液到分液漏斗中。其余操作按前述“加20%(V/V)氢氧化铵1毫升硷化……”方法操作即可。

## 三、比色操作:

按“吡咯显色法”操作进行〔2〕。其中二乙二醇二甲醚改用醋酸异戊酯〔5〕。分析结果按农吉利甲素计算含量。

# 结 果 和 讨 论

## 一、不同生长期农吉利鲜草各部位的重量关系:

在8、9和10月采集的农吉利鲜草各部位的重量比,见表2。由此可见,随着植株

表 2 农吉利不同生长期鲜草各部位的重量比

| 采 集 时 间     | 鲜草各部位重量比(%) |    |    |       |     |
|-------------|-------------|----|----|-------|-----|
|             | 根 茎         | 叶  | 花* | 荚 角** | 合 计 |
| 1972年8月23日  | 28          | 52 | 20 | —     | 100 |
| 1972年9月12日  | 34          | 26 | 6  | 34    | 100 |
| 1972年10月10日 | 33          | 14 | —  | 53    | 100 |

\* \* 荚角应为荚壳和种子。\* 花包括花蕾和花托。

的生长，根茎、叶、花、荚角的重量比例发生明显变化，其中以叶、花和荚角变化尤甚。叶子随着气候转冷（8月到10月），重量比例在下降，根茎变化不明显，而花和荚角比例在增加，特别到10月份时叶子和花逐渐凋落，植株已经结荚，此时荚角的重量占整个植株的一半以上。

## 二、农吉利鲜草各部位生物硷及其 N—氧化物的含量变化：

用微克/每克样品为计算单位测定结果表明随着植株的生长，叶中生物硷及其 N—氧化物的含量均增加，根茎更为明显。但花和荚角相反，N—氧化物含量下降，生物硷含量增加，且生物硷含量随着荚角中种子的成熟而急剧上升。

同时可知，在8—10月份农吉利草的开花结荚期中，花和荚期中生物硷及其 N—氧化物的含量比根茎、叶为高，其中花的含量又可高于青嫩未实的荚角。

荚角是全植株生物硷的汇集部位，特别以成熟种子的荚角为甚。8、9月间虽然农吉利草开始开花结荚，但取其嫩荚剖之，内中种子青嫩。而到10月份时秋意已浓，开花期过去，剖其荚角，种子为深棕色且硬度变坚，颗粒饱满，以上事实说明农吉利草中生物硷及其 N—氧化物的含量在植株的不同部位是有明显差异的。一般来讲8月份的农吉利草中 N—氧化物略多于生物硷，而到9月份以后生物硷含量快速上升，花盛开期以花内

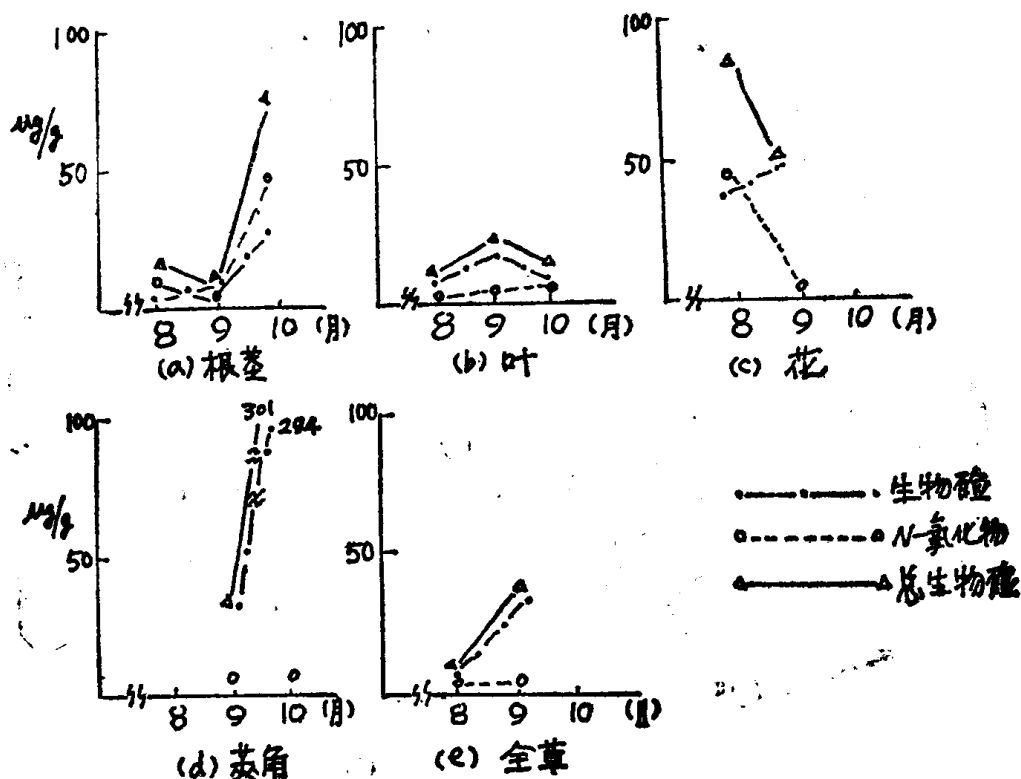


图1 农吉利草各部位在不同生长期中生物硷含量变化

最多，种子成熟时以种子中最多。已经证明，N—氧化物也有抗癌作用〔6,7〕因此，农吉利鲜草外敷治疗皮肤癌时应注意这些特点。

### 三、农吉利鲜草全株形态与生物硷含量的关系：

9月份在文登县小观公社采集的农吉利鲜草和8、10月份在文登县文城公社采集的外观相似，但全株地上部分和地下根部不尽相同。在小观公社采集的鲜草，地上部分矮小，分蘖少，茎叶不茂盛，但地下根系粗壮而长；而在文城公社采集的则地上部分茎叶茂盛，分蘖多且多数直立，植枝粗壮，地下根系比地上部分稍短。此两地鲜草中生物硷及其N—氧化物的含量亦有差异，以在文城公社采集的为高。究其原因，可能是土壤、环境对植物的生长提供的营养不同，在小观公社采集的采于山坡等水源相对缺乏的沙土地，而在文城公社采集的则采于水源较为丰富的土质地。因此选用农吉利草宜用生长茂盛、地上部分粗大者为好。

### 四、大叶猪屎青鲜草中生物硷及其N—氧化物的含量：

10月份在宁津县采集大叶猪屎青鲜草一次，此时正是它生长旺盛期（和野生在胶东沿海地区的农吉利生长期不相同），花叶正茂，已有部分结荚，但荚内种子青嫩。分析比较10月份的大叶猪屎青和农吉利草中生物硷及其N—氧化物含量见表3。

表3 10月份大叶猪屎青和农吉利鲜草中生物硷及其N—氧化物含量的比较

| 植株部位 | 分 析 结 果 （微克/每克样品） |        |         |       |         |        |
|------|-------------------|--------|---------|-------|---------|--------|
|      | 生 物 硷             |        | N—氧 化 物 |       | 总 量     |        |
|      | 大叶猪屎青             | 农吉利    | 大叶猪屎青   | 农吉利   | 大叶猪屎青   | 农吉利    |
| 根 茎  | 210.00            | 27.09  | 518.00  | 46.34 | 728.40  | 73.43  |
| 叶    | 120.40            | 6.92   | 66.92   | 6.32  | 183.32  | 13.24  |
| 花    | 203.50            | —      | 31.82   | —     | 235.32  | —      |
| 荚 壳  | 163.79            | 294.10 | 69.34   | 6.92  | 233.13  | 301.02 |
| 种 子  | 1027.07           |        | 1291.62 |       | 2318.69 |        |

从上表可知，在10月份大叶猪屎青的不同部位每克重的生物硷总含量比农吉利草高15~85倍左右，估计鲜用外敷治癌效果较好。

由于大叶猪屎青植株各部位皆含有大量生物硷，特别以种子为甚，又经我们用薄层层析法检查种子中提得的总硷，发现仅有和农吉利甲素相同Rf值的单一显色斑点，可见利用大叶猪屎青草及种子作为农吉利甲素的药源是很理想的。为提高提取农吉利甲素的收得率，应该在酸性条件下使N—氧化物还原成甲素，这一点在提应取中加以重视。

### 五、总生物硷与农吉利甲素含量的关系：

研究表明农吉利草中分离纯化的农吉利甲素为抗癌有效成分，根据薄层层析谱斑点面积和色泽深浅，估计农吉利甲素占全草中总生物硷（7种）的 $\frac{1}{3}$ 左右，而大叶猪屎青种子在薄层谱上初试除甲素斑点外未出现其他生物硷。

因此，本实验所称的农吉利生物硷包括以甲素为主的双稠吡咯啉生物硷，而大叶猪屎青生物硷是指甲素而言。若先用生物硷薄层层析法分离各生物硷，收集农吉利甲素斑点区、洗脱后比色定量，即可测得农吉利草内单纯甲素的含量。

## 小 结

1. 农吉利鲜草随着植株的生长和成熟，叶子的重量比例在减少，花和荚角的重量比例在增加，最后荚角占总重量的一半。

2. 农吉利鲜草随着植株的生长，生物硷含量在增加，以成熟种子内含量最多。N—氧化物在植株中占重要比重，随植株生长，叶和根茎中其含量增加、而在花和荚角中则下降。但此时生硷却急剧上升。鲜草中的N—氧化物亦为重要的抗癌有效成分。

3. 农吉利草地上部分茂盛者生物硷含量多，生物硷的含量和草的生长环境有关。

4. 大叶猪屎青全株各部位每克重含生物硷及其N—氧化物均较农吉利草高好多倍，以种子更甚。提取生物硷时应注意使N—氧化物还原而提高甲素收得率。

## 参 考 资 料

1. 山东省革委卫生局肿瘤防治办公室：农吉利治癌研究资料（一），1972.1。
2. 山东省革委卫生局肿瘤防治办公室：农吉利治癌研究资料（二），1972.8。
3. Mattocks, A. R, Anal. Chem. 39: 443, 1967。
4. 武汉医学院肿瘤研究组：大叶猪屎青硷对几株实验性肿瘤的作用及其毒性观察 1972.8。
5. Bingley, J. B, Anal. Chem. 40: 1116, 1968。
6. Culvemor, C. C. J., J. Pharm. Sci. 57: 7.1112—7.1968。
7. 山东省医学科学研究所：待发表材料，1973。

# 农吉利甲素季胺盐的制备及其抑瘤研究

山东省医学科学研究所 药研室  
肿瘤室

我们曾合成了一系列农吉利甲素及其次衍生物,并进行了动物抑瘤试验,初步研究表明,所合成的各种化合物抑瘤效果不十分满意〔1,2〕。由于Mattocks〔3〕从为双稠吡咯啉生物硷体内代谢生成的去氢吡咯为“肝毒”重要物质。在形成脱氢吡咯过程中一般经过N—氧化和去氢的化学变化过程〔4,5〕,故设想制成农吉利甲素季胺盐以防止N—氧化反应的进行,来阻断“肝毒”作用。但季胺盐化合物抑瘤试验表明对小鼠移植性肿瘤肉瘤180并没有抑制作用。

## 实验部分

### 一、原料来源:

1.农吉利甲素:按材料所述方法〔6〕从大叶猪屎青(*Crotalaria assamica* Benth)种子中分离得无色棱晶(无水乙醇重结晶)。熔点:198~200°C。薄层层析:Rf=0.70〔中性氧化铝,苯:无水乙醇(2:1)展开,改良 Dragendorff 试剂显色〕。

2.碘乙烷:分析纯化学试剂。

3.溴甲烷:实验室制备。其方法如下:

溴化钠(或溴化钾)55克置于甲瓶中,加入甲醇35毫升,瓶上装有分液漏斗。在乙瓶中放适量粒状氢氧化钠(或氢氧化钾),导管插入粒状固体中。甲、乙瓶相连后,将44克浓硫酸由分液漏斗滴入甲瓶,然后在80°C水浴中加热,即有溴甲烷棕色气体产生,经氢氧化钠滤过后可制得纯溴甲烷气体。用以直接导入生物硷溶液进行季胺化反应。

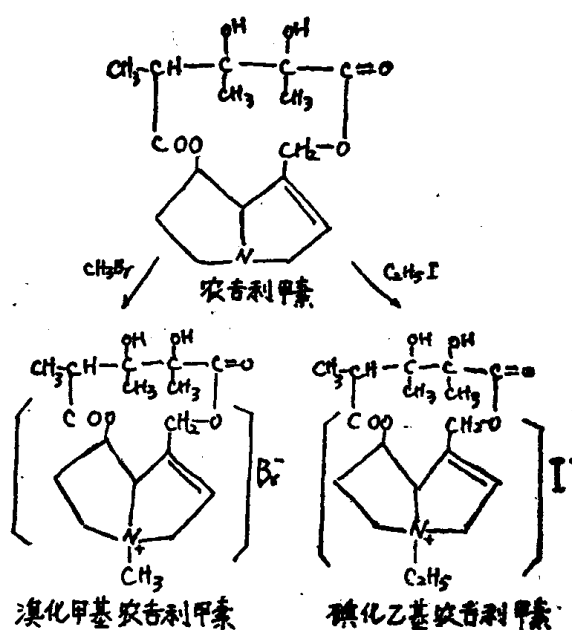
### 二、合成方法:

1.合成路线:

2.操作步骤:

(1)溴化甲基农吉利甲素季胺盐的

制备



在烧杯中称取农吉利甲素粉末10克。溶于100毫升无水乙醇中，开动搅拌并通入已制备的溴甲烷气体，搅拌片刻即有大量白色沉淀，抽滤得白色粗晶，母液水浴浓缩又得少量粗晶。合并粗晶，用乙醇洗涤数次，抽干，无水乙醇重结晶2次，得无色针晶，熔点214~216°C。

元素分析：理论值(%)：N, 3.33; C, 48.57; H, 6.24; Br, 19.72

实测值(%)：N, 3.52; C, 46.05; H, 6.61; Br, 18.90

### (2) 碘化乙基农吉利甲素季胺盐的制备：

在烧杯中称取农吉利甲素粉末10克，溶于100毫升无水乙醇中，开动搅拌并滴入碘乙烷溶液(约用生物硷的2~3倍量)，滴完后，有大量白色沉淀产生，抽滤得粗晶后。其余操作同上，得无色结晶，熔点201~202°C。

元素分析：理论值(%)：N, 2.91; C, 44.91; H, 5.86; I, 26.37

实测值(%)：N, 3.19; C, 44.96; H, 5.59; I, 26.47

### 三、理化性质：

#### 1. 一般性质：

溴化甲基及碘化乙基农吉利甲素季胺盐皆为无色结晶，见光能分解且易吸水潮解，极易溶于水，能溶于甲醇、乙醇，难溶于石油醚、苯、氯仿等溶媒。

2. 和农吉利甲素的鉴别：见表1和图1、2所示。

表1 农吉利甲素和溴化甲基及碘化乙基农吉利甲素季胺盐的鉴别

| 项目     | 化合物 | 农吉利甲素                                            | 溴化甲基农吉利甲素季胺盐                                          | 碘化乙基农吉利甲素季胺盐                                          |
|--------|-----|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 晶形     |     | 无色棱晶(无水乙醇)                                       | 无色针晶(无水乙醇)                                            | 无色结晶(无水乙醇)                                            |
| 熔点(°C) |     | 198~200                                          | 214~216                                               | 201~202                                               |
| 对水溶解度  |     | 难溶                                               | 易溶                                                    | 易溶                                                    |
| 薄层层析   |     | Rf0.70(条件前述)                                     | Rf0.21(同左)                                            | Rf0.13(同左)                                            |
| 紫外光谱   |     | $\lambda_{max} 210m\mu$                          | $\lambda_{max} 194m\mu$                               | $\lambda_{max} 194_{227}m\mu$                         |
| 红外光谱   |     | $\nu_{KBr} 3350.2800$<br>$\mu_{max} 1718Cm^{-1}$ | $\nu_{KBr} 3175.2941.1709$<br>$\mu_{max} 1344Cm^{-1}$ | $\nu_{KBr} 3226.2857.1709$<br>$\mu_{max} 1362Cm^{-1}$ |

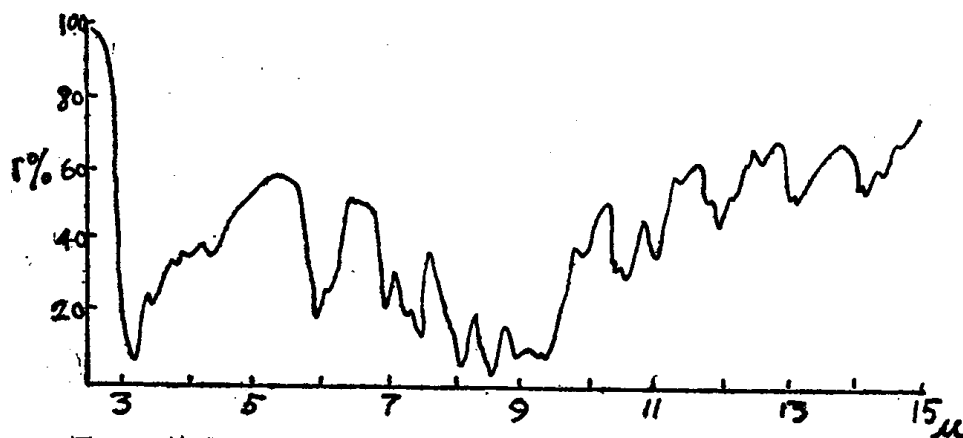


图1 溴化甲基农吉利甲素季胺盐红外吸收光谱

#### 四、抑瘤试验:

动物实验条件和方法参阅资料(6), 动物移植性肿瘤是肉瘤180, 结果见表2。

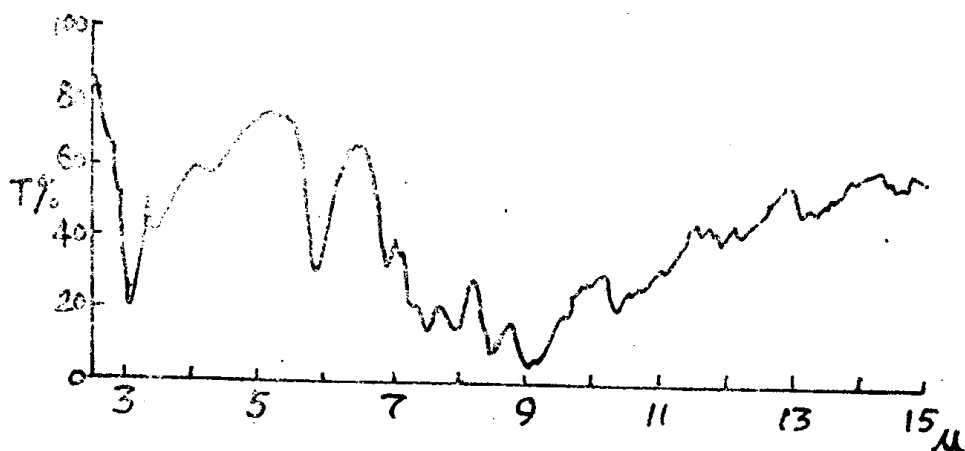


图2 碘化乙基农吉利甲素季胺盐红外吸收光谱

表2 溴化甲基和碘化乙基农吉利甲素季胺盐抑瘤试验

| 药 物          | 试验动物 | 肿 瘤   | 剂 量          | 治疗天数 | 对 照 组 |    |               |      |       |     | 治 疗 组 |    |               |    |       |     | 抑制率% | P 值 |    |    |
|--------------|------|-------|--------------|------|-------|----|---------------|------|-------|-----|-------|----|---------------|----|-------|-----|------|-----|----|----|
|              |      |       |              |      | 只 数   |    | 平均体重<br>(克/只) |      | 瘤重(克) |     | 只 数   |    | 平均体重<br>(克/只) |    | 瘤重(克) |     |      |     |    |    |
|              |      |       |              |      | 开始    | 结束 | 开始            | 结束   | 平均    | 最小  | 最大    | 开始 | 结束            | 开始 | 结束    | 平均  |      |     | 最小 | 最大 |
| 碘化乙基农吉利甲素季胺盐 | 小鼠   | S 180 | 150<br>mg/Kg | 10   | 17    | 16 | 20            | 19.4 | 1.4   | 0.2 | 3.5   | 10 | 10            | 20 | 18.3  | 1.7 | 1.0  | 3.5 | /  | /  |
| 溴化甲基农吉利甲素季胺盐 | "    | S 180 | 150<br>mg/Kg | 10   | 17    | 16 | 20            | 19.4 | 1.4   | 0.2 | 3.5   | 10 | 10            | 20 | 19.3  | 1.9 | 1.1  | 4.5 | /  | /  |

## 讨 论

1、合成的溴化甲基和碘化乙基农吉利甲素季胺盐并没有明显的改变农吉利甲素本身的结构, 仅在N原子上接上季胺盐基团, 增加了农吉利甲素的水溶性。但抑瘤实验表明, 这两个化合物已失去抗癌活性。从这结果来看, 似乎农吉利甲素分子中V NV结构与抗癌活性有着密切关系。同时这和Culvenor(7)认为的双稠吡咯啉生物硷水溶性者毒性及抗癌活性皆小似乎亦有关系。

2、农吉利甲素外治皮肤癌显示肯定疗效, 当外用结晶粉末敷贴时未见对肝脏的毒性反应。但在N原子上接上其它基团, 其疗效及动物抑瘤率则皆有明显下降, 如制成N—氧化农吉利甲素后动物试验业已证实(8)。本实验合成的季胺盐在动物试验中又失去抗癌活性。因此探讨农吉利甲素游离硷和制成各种盐后的抑瘤规律性值得深入研究。