



上海科学技术出版社

主编 谢启昆

药用植物组织培养

114/26

药用植物组织培养

主编 谢启昆

编写

刘 涤 杨乃博 丁家宜
韩建敏 徐竹筠



北林图 A00046212



363885

上海科学技术出版社

药用植物组织培养

主编 谢启昆

编写

刘 涑 杨乃博 丁家宜

韩建敏 徐竹筠

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路 450 号)

新华书店上海发行所发行 江苏扬中印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 9.5 字数 219,000

1986 年 8 月第 1 版 1986 年 8 月第 1 次印刷

印数 1—3,000

统一书号: 14119·1856 定价: 1.80 元

前 言

自然界丰富的植物资源包含着数量可观的次生物质,其中许多物质是具有医用价值的药物。为了开发这些宝贵的资源,除了直接从植物材料提取和进行化学合成模拟以外,如何利用植物细胞培养技术生产有用的次生物质也是许多生物技术学家感兴趣的课题。况且,植物组织和细胞培养技术经过八十余年的发展,目前已成为一门精细异常的实验技术,在无菌消毒、培养保存、突变筛选和分析鉴定等方面都已建立了标准的操作程序,这样就为次生物质的工业化生产提供了牢固的技术基础。与整株植物的栽培比较,用细胞培养方法生产次生物质有以下优点:①次生物质的生产是在可控制的条件下进行的,因此可以通过改变培养条件和筛选新细胞系得到超越整株植物产量的代谢产物,这样不仅节约能源,而且也减少所占用的可耕地面积。②培养细胞是在无菌条件下生长的,因此可以排除病菌和虫害的侵扰。③可以进行特定的生物转化反应。④可以探索新的合成路线和获得新的有用物质。因此,许多发达国家都聚集了相当数量的科学家从事有关的研究,其中特别是日本、联邦德国、英国、法国和美国更是财力雄厚,成果累累。

我国虽然具有丰富的植物资源可供利用,但由于市场需求量大,人们过度采伐造成生态环境破坏,已使某些、特别是生长缓慢和需要特殊生长条件的植物资源面临绝灭的危险。此外,我国可耕地面积日趋减少,这也给人工培植带来一定的限制。我国目前仅有少数科研单位和大学从事有关的研究,无论在规模上还是在深度上,与发达国家相比都存在着很大的差距。近年来,国内已有两篇评述性文章(见郑光植 1980,何焯培 1983)和多篇研究论文发表,并于 1983 年由中国植物生理学会在南京召开全国第一次药用植物组织培养讨论会,这对我国开展有关研究无疑起了一定的促进作用。但目前国内尚无一本专门的著作,这种情况与该领域研究的重要性和发展速度相比确实令人遗憾。正是在这种情况下,我们编写了这本书,其目的是向广大读者介绍这一领域的研究背景,目前进展和发展前途。本书主要包括以下三个方面的内容,首先介绍了植物细胞和组织培养的一般情况和从植物材料中提取和鉴定次生物质(特别是某些药物)的方法。其次,根据化合物的分类,分门别类地叙述了用植物细胞培养方法进行实验的情况。最后,讨论了用组织培养繁殖某些药用植物的技术。如果读者在读了这本书以后,对这一研究领域发生兴趣或准备从事研究的话,那么作者将感到极大的喜悦。

由于这一领域的书籍在我国系第一次出版以及作者的知识有限,欢迎广大读者对本书的错误和不足之处提出宝贵意见。

作 者

1985.7.10

目 录

1. 植物组织培养在药物生产中的应用.....	1
1.1 方法和材料	1
1.2 有效成分的形成	3
1.3 展望	4
2. 国外药用植物组织和细胞培养研究概况.....	6
2.1 生物碱	6
2.2 甾体与萜烯类	9
2.3 色素与酸类物质	9
2.4 氨基酸、肽、蛋白质.....	11
2.5 细胞.....	11
2.6 其他.....	13
3. 植物组织和细胞培养技术	14
3.1 实验室的基本设备和一般操作.....	14
3.2 愈伤组织的诱发和培养.....	20
3.3 悬浮细胞培养技术.....	21
4. 植物组织和细胞的冷冻保存技术	26
4.1 冷冻保存法的范围.....	26
4.2 冷冻保存法的一般步骤.....	26
4.3 几个重要环节.....	27
4.4 影响冷冻组织或细胞生活力的因素.....	30
5. 自发突变和诱导突变	32
5.1 自发突变.....	32
5.2 诱导突变.....	33
6. 植物组织遗传类型和形态变化对产物形成的影响	37
6.1 遗传.....	37
6.2 形态.....	37
7. 人参组织培养	39
7.1 愈伤组织的诱导和初步培养.....	39
7.2 人参愈伤组织和细胞悬浮培养.....	40
7.3 革除 2, 4-D 的研究	44
7.4 降低发酵成本.....	44
7.5 化学成分及分析.....	45
8. 雷公藤组织培养	49
8.1 起始培养.....	49
8.2 前体对雷公藤组织培养的影响.....	50

8.3	培养基的各种添加物对雷公藤细胞悬浮培养的影响	51
8.4	接种量的影响	51
8.5	雷公藤细胞培养的时间因素	51
8.6	培养基组成对 Td 产量的影响	51
9.	植物组织培养中甾族化合物及其代谢	54
9.1	从植物组织培养中分离的甾族化合物	54
9.2	甾族化合物的生物合成	59
9.3	甾族化合物的生物转化	60
10.	洋地黄组织培养	75
10.1	培养物的建立	75
10.2	生长素对狄戈辛产量的影响	77
10.3	前体物对狄戈辛产量的影响	77
10.4	强心甙分析	78
10.5	结语	81
11.	组织培养高产除虫菊酯	82
11.1	起始培养	83
11.2	化学分析	83
11.3	结果	84
12.	含生物碱植物的组织培养	85
12.1	吲哚生物碱	85
12.2	异喹啉生物碱	87
12.3	喜树碱	89
12.4	粗榧酯碱	89
12.5	呋喃喹啉生物碱	90
12.6	托品生物碱	90
13.	芸香愈伤组织培养物合成挥发油	101
13.1	材料与方法	101
13.2	结果	102
13.3	讨论	103
14.	甜菊叶的组织培养及有效成分的提取方法	105
14.1	甜菊叶有效成分的提取分离法	105
14.2	实例	108
15.	山草薺等植物组织培养	110
15.1	山草薺组织培养	110
15.2	三角叶薯蓣块茎愈伤组织生物合成薯蓣皂甙元	112
16.	以植物组织培养物进行芳香化合物的生物转化	113
16.1	材料与方法	113
16.2	结果	114
17.	啤酒花的组织培养及其化学成分的研究	115
17.1	起始培养	115
17.2	化学分析	115
18.	从豚草培养中获得左旋多巴	117

18.1 起始和继代培养.....	117
18.2 左旋多巴的提取.....	117
18.3 结果.....	117
19. 小阿米等植物组织培养物产生强心成分	120
19.1 方法.....	120
19.2 结果.....	122
20. 以组织培养繁殖药用植物	125
20.1 材料的选择.....	125
20.2 获得芽体.....	125
20.3 长成植株.....	126
21. 基因工程及其在植物药生产中的应用	133
21.1 一般技术.....	134
21.2 基因工程在植物科学研究中的应用前景.....	140
21.3 基因工程在植物性药物生产中的潜力.....	143

1. 植物组织培养在药物生产中的应用

从自然环境中分离出来的一种植物组织,放入含有一种合成培养基的瓶中,于无菌操作条件下使之生长或发育的方法,称为植物组织培养。这项工作于1902年开始研究,直至五十年代后才由 Steward 等实际应用,如诱导培养胡萝卜的体细胞分化成完整的植物体,再经移植开花结实。由此而使三十年代中 White 等所提出的植物细胞全能性获得了科学的证实。

这一技术已在植物学等学科广泛应用,主要在两个方面:①植物育种;②生理活性物质的生产。现仅就植物组织培养在药物生产中的应用作简要介绍。

众所周知,如阿片生物碱、强心甙、薄荷油等常用药是从全植物中提得,产量和质量难免要受到植物的遗传性、生长状况、收获季节以及贮藏和运输等因素所影响。如果能采用微生物培养类似的方法,使其成为药物的来源,就可克服上述的缺点。对那些生长条件要求严格、生长缓慢、产量小、价值贵重的植物药来说,这种培养法的意义就更为突出。近年来日本已大量培养人参,并提取其有效成分。随着培养法广泛运用,看来人们用此法来代替全植物已有可能。因而这项工作将是研究植物药的中心课题之一。

1.1 方法和材料

1. 培养基 近年采用的化学合成培养基,大致有6种成分所组成:①糖类;②大量无机盐;③微量元素;④氨基酸、酰胺、嘌呤;⑤维生素;⑥激素。此外有些培养基添加天然的汁液,例如椰子汁,酵母提取液,水解酪蛋白等。培养基中如加入琼脂即得静止培养的固体培养基,不加琼脂的液体培养称悬浮培养。

表1-1 所列的 MS 培养基为目前常用的一种基本培养基。

表 1-1 用于细胞悬浮培养的合成培养基
(MS 培养基) pH5.7~5.8

成 分	mg/L	成 分	mg/L
NH_4NO_3	1650	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
KNO_3	1900	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	400	蔗糖	30×10^3
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	胰酶水解乳蛋白	1×10^3
KH_2PO_4	170	甘氨酸	2.0
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.3	吲哚乙酸(IAA)	1~30
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	激动素	0.04~10
H_3BO_3	6.2	肌醇	100
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3	烟酸	0.5
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6	盐酸吡哆醇	0.5
KI	0.83	盐酸硫胺素	0.1
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25		

2. 培养条件

(1) 温度 对大多数植物组织, $20\sim 28^{\circ}\text{C}$ 即可满足生产所需, 其中以 $26\sim 27^{\circ}\text{C}$ 最适合。

(2) 酸碱度 一般植物组织生长的最适 pH 在 $5\sim 6.5$ 之间。但也有例外, 如菜豆悬浮培养最适 pH 为 $4.5\sim 4.7$, 在培养过程中 pH 可发生变化, 加进磷酸氢盐或二氢盐, 可起稳定作用。

(3) 光 组织培养通常是在散射光线下进行, 有些次生物的形成, 光是决定因素。

(4) 通气 悬浮培养中细胞的旺盛生长必须具备良好的通气条件。对小量悬浮培养经常转动或往复振荡, 可以起到通气和搅拌作用。在大量培养中则采用专门的通气和搅拌装置。

3. 材料 从植物根、茎、叶或其他部位(花、果)中取出组织块, 将其培养在固体培养基上, 培养出愈伤组织后再接种于悬浮培养基中, 也有将植物直接接种或交替进行。通过一段时间的培养, 按其生长速度添加新的营养物。这些细胞具有高度的活性, 也就是它们能传递具有种的特性的合成信息。从理论上讲, 在原植物上所产生的代谢物可以通过细胞培养获得, 只要这种培养能诱使细胞如象原植物那样发生生化 and 结构上的变化。另外, 如果对一植物的次生代谢物的合成和积累进行局部观察, 可以在根和芽的初生部位发现一个具有活跃增生作用的空白区。作为适宜于次生代谢物的细胞培养, 要求它们不是极度增生的, 但具有一定程度的变化而不失去增殖的能力。

组织培养材料主要是用愈伤组织, 即利用受伤组织切口表面的一种脱分化的植物细胞块, 除此之外, 还有冠瘿肿瘤组织(由根癌病农杆菌引起)、病毒肿瘤组织(病毒感染所致)。此外在选择材料时还应考虑到需要的次生物质在全植物中的合成部位, 如果选材和培养方法适当, 则可达到预期的目的。

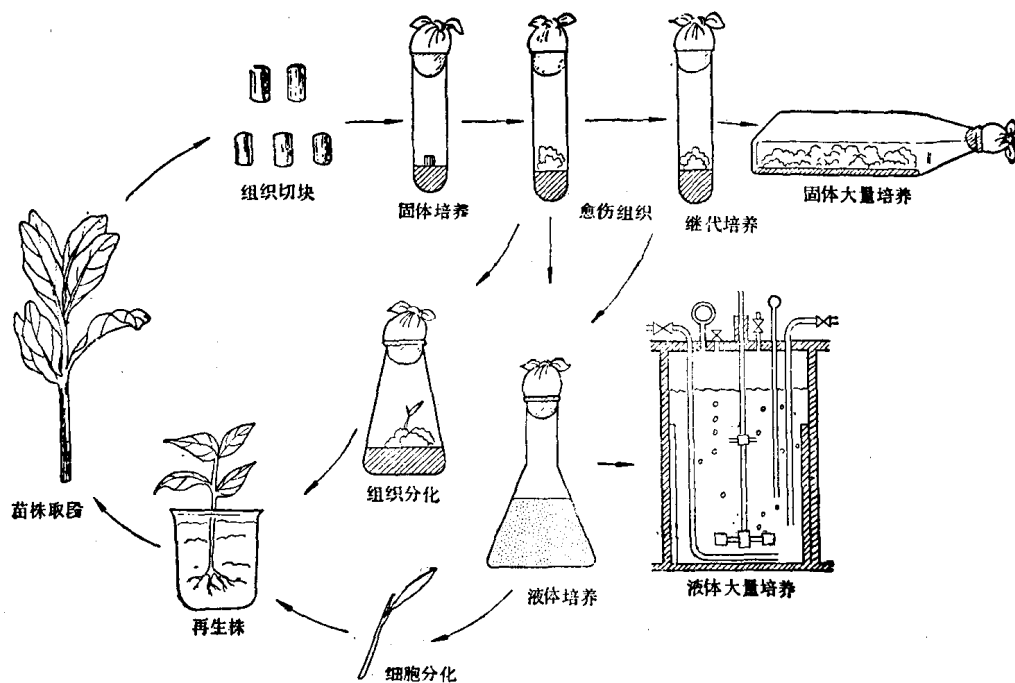


图 组织培养示意图

1.2 有效成分的形成

迄今为止,在许多药用植物组织培养的实验中,大部分的结果是组织培养物有效成分的含量低于原植物中的含量。甚至有的愈伤组织并不含有原植物所含有的药用成分。例如,罂粟的细胞培养中未能获得吗啡类衍生物;长春花的组织培养中并未获得长春碱或长春新碱;许多含挥发油的药用植物组织培养中并未得到可供药用的挥发油。

是哪些因素影响培养物中有效成分的形成呢?我们认为对这个问题作一些讨论是十分必要的。

1. 分化与有效成分的形成 一般认为,培养细胞不断的增生,而在细胞分化时往往伴随着次生代谢的合成和积累。实际上在许多情况中,次生代谢物的生物合成可以认为是分化过程的一部分。在烟草、黄连和罂粟科植物的组织培养中,愈伤组织中生物碱的含量往往较原植物的生物碱含量少,但是再分化后,它们的生物碱含量提高了,可与原植物的含量相当。黄芩的小檗碱型生物碱以及洋地黄中的强心甙等,在愈伤组织中不能检查到,但一旦再分化,这些成分就会出现;在颠茄、莨菪及曼陀罗愈伤组织中生物碱的生成与愈伤组织根的再分化有关,伴随着根的分化,出现正常的莨菪烷成分。从这些例子说明,一些没有产生原植物所含有的次生代谢物的愈伤组织,仍保持着这种遗传能力,只是由于某种未知原因,使得这种遗传能力未被表现出来。一般认为,分化细胞的组织化往往能阻断酶对积累代谢物的降解。如果在培养情况下没有这种对于酶和底物之间的间隔,就不可能有次生代谢物的积累。另外,在次生代谢物中有一些成分对细胞质是有毒的,这就尤其需要分化细胞形成有效的组织结构以使这些次生代谢物在其间积累或降解。象液泡、树脂导管和胶乳导管等往往就是次生代谢物积累的场所。

但是无需细胞分化而产生化学分化的例子也是不无仅有,例如,紫草(*Lithospermum erythrorrhizon*)的细胞培养中在缺少皮层细胞的情况下依旧能积累紫草素(Shikonin),而这类成分在原植物中是由初生根的皮层细胞中产生的。又如芸香(*Ruta graveolens*)的培养物中,抑制其细胞分化仍能获得含量较高的呋喃香豆素,尽管如此,组织培养中,次生代谢物的产生与细胞分化的关系一直受到人们的高度重视。

2. 化学添加物对细胞培养合成次生代谢物的影响 在通常应用的基本培养基中适当添加生长激素、维生素或其他化学药品有时能使代谢物增加。如:白花曼陀罗(*Datura metel*)组织培养时在培养基中加进0.1%酪氨酸可使阿托品的产量增加7倍多;芸香组织培养时在培养基中添加4-羟基-2-喹啉酚,可促进白藜碱的合成和积累,在这两例中,添加物被认为是生物合成的前体。

还有一类生长激素类的添加物,如吲哚乙酸(IAA),萘乙酸(NAA),2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)等。各种植物的组织培养物对生长激素的反应是不同的。毛花洋地黄(*Digitalis lanata*)组织培养中添加2,4-D,其蒽醌和色素含量远远低于添加IAA后所得的量;人参组织培养中,添加2,4-D后所得人参皂甙量显著提高;2,4-D也促进左旋多巴的生成。但2,4-D对相当多的次生代谢物有抑制作用,紫草培养中,紫草素的形成可被低浓度的2,4-D完全抑制,这是由于2,4-D阻断了紫草素的中间体牻牛儿基氢醌的合成所致;烟草愈伤组织在含IAA的培养基中,虽然形成烟碱,毒藜碱等生物碱,但在含2,4-D培养基中,就

检查不到这些代谢产物。各种生长素,包括天然生长素 IAA 和 2, 4-D 等,它们对次生代谢物的影响因植物种类不同而有所差异,另外,由于剂量的不同有时也会产生两种截然相反的结果。这些作用的机理尚待进一步研究。

3. 物理因素的影响

(1) 研究表明,在物理因素中,光照对次生代谢产物影响极大。光照下培养,芸香愈伤组织的甲基-正壬基甲醇、甲基-正壬基甲酮、甲基-正壬基乙酰化物含量较暗处培养增加 1.5~3.6 倍。橘子和柠檬皮的愈伤组织中, Cinesetin 和川皮酮(nobiletin)的合成需要光诱导。这是由于光照可活化苯丙氨酸胺裂解酶。

欧芹 (*Petroselinum hortense*) 愈伤组织培养,光对黄酮类物质的产生具有极灵敏的作用,此外,光还促进花青素、叶绿素、芸香挥发油、强心甙、黄体酮、多酚等的形成。也有光使次生代谢物受阻的例子,如使紫草显著降低的情况,据研究证明,这是由于蓝光与白光使参与紫草合成的光氧化还原酶的辅酶—磷酸核黄素(FMN)结构发生变化而失效,使紫草素合成受阻。相反,加入 FMN 进行暗培养则可大大促进紫草素的合成。

1976 年, Negel 和 Reinhard 证明蓝光或强烈白光抑制愈伤组织的萜烯类、geizeerene 和 Pregeizerene 的合成,而这些物质在红光与暗培养中均能合成。

(2) 通气也能影响代谢物的产生,在厌氧条件下,豆科植物愈伤组织大量累积 γ -氨基丁酸,反之,在有氧条件下则不累积此物。

1975 年 Bary 证明,无氧条件抑制降解反应,有利于酚化合物的葡萄糖基化(glycosylation)。

通常,在生长循环的后期,溶解的二氧化碳会影响细胞的通透性,氧会影响分化过程,从而会影响代谢物的产生。

4. 生长与产物的关系 生长过程与代谢产物的关系有 3 种类型。

第一类 细胞生长与代谢物产量呈平行关系,如烟碱、托品碱、莨菪碱等。

第二类 细胞停止生长或死亡时代谢物产量最高,如多酚与紫草素等。

第三类 产物的产生曲线比细胞生长线推迟一些,如薯蓣皂甙元。

1977 年, M.H. Zenk 等报道长春花愈伤组织蛇根碱的产生与细胞生长的关系因培养器不同而有差异。在 25 ml 培养基的三角瓶振荡培养时,产量与生长是平行关系;在含有 22 L 培养基的发酵罐中,产量与生长的关系则属于第二类。

为了增加产量必须缩短产物产生的诱导期,某些多酚类化合物累积过程中的起始速度受生长素水平的控制,例如,花青素、紫草素的产生,可通过降低生长素浓度而缩短诱导期。

1.3 展 望

植物细胞培养在工业上成功地应用受到其固有的生物学问题的限制。这些问题与对细胞产生特殊化的一些因素缺乏了解有关。在全植物中,这些变化是通过细胞内部关系来调节和诱导的。在组织培养能实际应用于工业生产以前,以下几个问题尚有待解决:①在培养和长期贮藏过程中,细胞株系遗传特性的稳定;②生产速度及最终产物产量的改进;③所需产物生物合成途径的阐明;④发酵成本的降低。

而仅就迄今为止的工作中,可以看出组织培养具有如下的一些优点:

(1) 从组织培养的定性分析中发现新化合物,例如,芸香培养中,合成和积累了芸香素(Rutacultin),它是一个至今尚未能从原植物或其他植物的呋喃香豆素中检测到的化合物。因而,组织培养将是新的生理活性化合物的一个来源。

(2) 组织培养除了应用于产生次生代谢物以外,还可应用于生物转化,例如,烟草细胞培养中蒂巴因去甲基后可变成吗啡;

(3) 一般情况下,组织培养是异养的。但也有自养的细胞系株,它们具有光合作用的能力而不依赖外界的糖类供应,这种特性使细胞培养技术优越于全植物,并更为经济。

目前我国有关单位已成功地将麦角菌和灵芝等真菌进行工业化生产,但植物组织培养在工业化生产中的应用,目前还在试验阶段。

植物组织培养这一新技术在药学的应用前景是宽广的,它不仅有利于探讨和阐明药用植物生理、遗传和生物合成等一系列理论问题,而且在一旦工业化生产问题得到解决,将可为防病治病做出重大贡献。

主要参考文献

- [1] Constabel F et al: Planta Medica, 25, 158, 1974
- [2] Puhon Z et al: Prog Ind Microbiol, 9, 13, 1971

2. 国外药用植物组织和细胞培养研究概况

目前,世界各国,特别是日本、美国等国家,对植物药的应用和研究颇为重视。就以美国来说,其成药中有 47% 是以植物药制成的。最近由于从植物中筛选出不少抗肿瘤药物,更引起人们普遍注意,例如从美登木中提出的美登素(Maytansine),是目前公认的一种较理想的高效、低毒的抗癌药物。但由于其含量极低,产率仅为 0.00002% 左右,虽能勉强化学合成,因成本太高,不能大量生产,所以同样存在着药源不足的问题,人们想努力通过植物细胞培养的工业生产途径加以克服。而目前这一领域的研究,尚处于萌芽状态,估计在不久的将来,将会成为医药工业发展的一条捷径。

植物组织培养技术的发展,各种类型的有效培养基的制成,使科研工作者比较容易地取得愈伤组织与培养细胞。加之,液体振荡培养、成批培养(大罐发酵培养)、半连续培养、连续培养技术的进展与成功,为植物培养细胞能象微生物那样进行工业发酵生产准备了较好的基础。另外,单细胞平板培养技术的发展为诱变育种提供了方便。自 1950 年 Bonner 等对用银胶菊愈伤组织生产天然橡胶进行研究以来,许多科研工作者围绕着愈伤组织能产生哪些有用物质,如何提高有效成分的得率等问题,进行了不少工作,并取得了一些成果,越来越多的人认为利用植物培养细胞有可能生产用于治疗各种疾病的生物碱、色素、作为生产甾体激素原料的甾醇、皂甙元以及作为滋补剂的人参甙等。近年来,还从培养组织中提取各种有用的肽与蛋白质物质。其中,较有希望用于工业化生产的有:以人参叶柄培养细胞生产人参;从薯蓣、山萇蓣,苦瓜培养细胞生产薯蓣皂甙元;从喜树茎培养细胞生产喜树碱;从十蕊商陆(*Phytolacca americana* L)培养细胞生产病毒抑制剂;骆驼蓬培养细胞生产蛋白酶抑制剂;豚草培养细胞生产变应原;莨菪培养细胞生产天仙子胺、L-莨菪碱、红赤豆碱;烟草 B-Y 细胞株生产辅酶 Q₁₀; 苦瓜培养细胞生产类胰岛素以及利用筛选的洋地黄培养细胞进行强心甙的转化等等。

2.1 生 物 碱

目前,从植物愈伤组织和培养细胞中检查到各种生物碱(详见表 2-1),其含量通常比原植物低,其中喜树愈伤组织产生的喜树碱为原植物含量的 1/20。烟草愈伤组织的烟碱、曼陀罗等 6 种曼陀罗属植物产生的阿托品、莨菪产生的莨菪胺、天仙子胺;黄连愈伤组织产生的小檗碱等都是原植物含量的 1/10。超过 1/10 的有骆驼蓬愈伤组织的哈尔碱。

在愈伤组织和培养细胞中还常常检查不到原来植物中含有的生物碱,如罂粟植物中的吗啡、蒂巴因;长春花植物中的长春碱,长春新碱;白药子(*Stephanic cephalantha*)植物中的玉咲葛藤碱,异倒地拱素;苦参植物中的苦参碱等。随着培养技术和分析水平的提高,有些原来未被检出的药用有效成分也相继发现,例如在大红罂粟(*Papaver bracteatum*)的愈伤组织中发现了蒂巴因,在洋地黄的培养物中检出了早先难以测得的强心甙。

表 2-1 愈伤组织中的生物碱

成 分	植 物	成 分	植 物
莨菪烷生物碱(Fropane alkaloids)		哈尔碱(Harmine)	骆驼蓬
阿托品(Atropine)	曼陀罗; 紫花曼陀罗; 光曼陀罗; 山莨菪 颠茄	血根碱(Sanguinarine)	罂粟
莨菪胺(Scopolamine)	曼陀罗; 颠茄; 三分三; 莨菪	降血根碱(Norsanguinarine)	罂粟
烟草碱(Nicotine)	烟草; 黄花烟草(Virginia; Wisconsin38)	二羟基血根碱(Dihydrosanguinarine)	罂粟
新烟草碱(Anabaine)	黄花烟草	氧血根碱(Oxysanguinarine)	罂粟
毒蓼碱(Anabesine)	黄花烟草	原鸦片碱(Protopine)	罂粟
α -毒芹碱(Coniceine)	Conium maculatum	隐品碱(Cryptopine)	罂粟
N-甲基毒芹碱(Methylconiceine)		木兰花碱(Magnofloin:)	罂粟; 黄连; 黄蘗
长春花生物碱(Vinca alkaloids)	长春花	小蘗碱(Berberine)	黄连
长春花朵灵(Vindoline)	长春花	药根碱(Jateorhizine)	黄连
长春花朵宁(Vindolinine)	长春花	巴马亭(Palmatine)	黄连; 黄蘗
阿马碱(Ajmalicine)	长春花	黄连碱(Coptisine)	
利血平(Reserpine)	罗芙木; 鸭脚树	十蒴胺(Berbamine)	白药子(金线吊乌龟)
阿马灵(Ajmaline)	罗芙木	阿莫灵(Aromoline)	白药子
蛇根碱(Serpentine)	长春花	茄介定(Solasodine)	黄茄果
咽喉生物碱(Indolalkaloids)	甘薯的一种 Rivea corymbosa	香豆素腐胺(Coumaroyl putresine)	黄花烟草
麦角碱(Ergoalkaloids)		阿魏腐胺(Feruloyl putresine)	黄花烟草
Skytantine	Skythanthus acutus	咖啡腐胺(Coffeoyl putresine)	黄花烟草
加锡果宁(Edulnine)	芸香	蒂巴因(Thebaine)	大红罂粟
茵芋碱(Skimmianine)	芸香	番茄碱(Tomatine)	番茄
香草木宁(Kokusaginine)	芸香	喜树碱(Camptothecin)	喜树
8-甲氧基白藜碱(8-Methoxydictamnine)	芸香	10-甲氧基喜树碱(10-Methoxycamptothecin)	喜树

表 2-2 愈伤组织中的甾体化合物与萜烯类

成分	植物	成分	植物
谷甾醇	烟草, 乌药, 金线吊乌龟(白药子), 稻	角鲨烯	乌药
豆甾醇	长蒴黄麻, 芝麻, 山草薹	乌药内酯, 乌药烷	紫花曼陀罗
菜油甾醇	粉录丝兰, 三角叶薯芋	桦木酸	银胶菊
胆甾醇	芝麻, 三角叶薯芋, 山草薹, 苦瓜, 粉录丝兰, 止泻木	天然橡胶	黄茄果
羊毛甾醇	芝麻, 薔薇, 苦瓜	羽扇醇	印度娃儿藤, 薔薇
环状阿吾醇	烟草	β -香树精	三角叶薯芋, 苦瓜, 黄茄果, 多花薯芋
24-甲叉环阿吾醇	烟草	薯芋皂甙元	山草薹, 胡罗巴
28-去甲-环阿吾醇	烟草	约诺皂甙元	山草薹
	烟草	山草薹皂甙元	山草薹
	烟草	Furostanol	山草薹
	烟草	原山草薹素甙	山草薹
	烟草	杨吉皂甙元	胡罗巴
	烟草	麦毒皂甙元	粉录丝兰
24-甲叉胆甾-7, 烯-3 β -醇	烟草	茄甾醇	黄茄果
24-甲叉胆甾醇	Withania somnifera; 止泻木	人参甙 R _b , R _g	人参
麦角甾-4 烯-3-酮	白药子	人参二醇, 人参三醇	人参
麦角甾-4 烯 3, 6, 二酮	白药子	齐墩果酸(油烷酸)	人参
豆甾-4, 22 二烯-3-酮	白药子	洋地黄强心甙	洋地黄
豆甾-4-烯-3-酮	白药子, 似大麻夹竹桃, 桂竹香	番茄素	番茄
豆甾 4-22-二烯 3, 6 二酮	白药子		
被菜甾醇			

在愈伤组织中也检查到一些原植物中未检查到的生物碱,如菜豆培养细胞中检得新生物碱,从长春花愈伤组织中检得一种未定名的新生物碱。

2.2 甾体与萜烯类

薯蓣皂甙元是生产副肾皮质激素和性激素的原料,需量较大。三角叶薯蓣(*Dioscorea deltoidia*)的愈伤组织中含量高达1.6%。胡芦巴(*Trigonella*)的愈伤组织中含1.8%(是种子的18倍),黄果茄(*Solanum xanthocarpum*)的愈伤组织中含有0.008%(是果子的8倍)。山萇蓣(*Dioscorea tokoro*)愈伤组织中含有薯蓣皂甙元达0.1%,此外,尚检得育诺皂甙元,山萇蓣皂甙元;苦瓜(*Momordica charantia*)悬浮培养物含有占干重1.4%的薯蓣皂甙元,值得注意的是薯蓣皂甙元以甙的(薯蓣素)形式存在。

在培养基中含有2,4-D时,黄果茄愈伤组织能产生黄果茄宁(*Solasanine*),这种皂甙由甾体生物碱茄介定(*Solasodine*)和蔗糖,D-葡萄糖,L-鼠李糖,D-半乳糖等组成,培养中也产生薯蓣皂甙元、谷甾醇。如果在培养基中以吡啶乙酸或吡啶丁酸替代2,4-D,就不产生茄介定。

最近,Komatsu等,证明甜叶菊(*Stevia rebaudiana*)叶愈伤组织,在含IAA的琼脂培养基上,以25°C照光下(3000勒克斯)培养。愈伤组织和悬浮培养物中均可提取甜味剂甜菊甙(*Stevioside*),它是一种皂甙,比蔗糖甜300倍。

人参叶柄、根愈伤组织含有与原植物相同的人参甙 R_{b1} 、 R_{g1} 、以及人参二醇、人参三醇、油烷酸等。据古谷力报道,含量约为原植物含量的一半、药效与药理与生药相似,具有工业生产价值,并进行过工业生产尝试。洋地黄愈伤组织中,分离得到洋地黄皂甙元,昆虫变态激素,和15种强心甙。

倍半萜烯中,乌药愈伤组织中有乌药内酯(*Linderalactone*)。乌药烷(*Linderan*)等4种。穿心莲(*Andrographis paniculata* Nees)愈伤组织中查到原植物中没有的Paniculoid A、B、C,其他还鉴定得到由 β -谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇混合组成的植物甾醇,和环阿吞醇,24-亚甲基环阿吞醇等。甘草的甜味成分—甘草甜素,近来也已查到。

薄荷醇、香芹醇、沉香醇等单萜烯系挥发油,还未能从愈伤组织中检查到,看来低级萜烯类较难生成。不过,最近从未分化的细胞培养物中分离到少量的单萜烯,例如:2-蒎烯、里哪醇化合物等。

2.3 色素与酸类物质

从植物愈伤组织中已检查到的色素如表3所示,这里仅就含量较多的介绍一下。

苦参愈伤组织中含有1.18%的L-maakiain。鹰嘴豆愈伤组织中含7-羟基-4'-甲氧基异黄酮达0.14%;小阿米愈伤组织含呋喃香豆素衍生物维斯那啶达0.31%;酸藤子愈伤组织含没食子酸乙酯达0.36%;番泻汁愈伤组织产生蒽醌占干重6%,大黄甙、大黄素比原植物多10倍。紫草宁及其衍生物与紫草植物大致相同。狭叶番泻树愈伤组织含蒽醌达10%。油麻藤(*Mucuna*)愈伤组织在培养基中大量积累左旋多巴高达2g/kg。

另一方面,甘草愈伤组织中检查到刺毛甘草素,洋地黄愈伤组织中检查到4-羟基洋地

表 2-3 愈伤组织中的天然色素

成 分	植 物	成 分	植 物
类胡萝卜素	胡萝卜; 单冠毛菊; 爬山虎的一种; 薄荷蔷薇, 小阿米	7-羟基-4'-甲氧基异黄酮	甘草的一种; <i>Cicer arietinum</i>
叶黄素	胡萝卜; 薄荷蔷薇	紫檀素	苦参
叶绿素	胡萝卜; 单冠毛菊; 爬山虎的一种	4-羟基洋地黄萜、醌	苦参
	洋地黄	洋地黄萜醌	洋地黄
花青甙	胡萝卜; 单冠毛菊; 爬山虎的一种	3-甲基红紫素	洋地黄
香豆灵	草木犀	3-甲基醌茜	洋地黄
莨菪亭	烟草(品种: <i>Wisconsin 38</i>); 黄花烟草	3-甲基茜素	洋地黄
莨菪灵	烟草(品种: <i>Wisconsin 38</i>); 黄花烟草	白花青素	洋地黄
莨菪亭-7-龙胆二糖	烟草(品种: <i>Wisconsin 38</i>)	白花色素	桐叶槭
香豆灵和呋喃香豆素	芸香	单宁	杜松
	芸香	木质素	杜松
	芸香	左旋多巴	北美乔松
维斯那定 (<i>Visnadin</i>)	小阿米 (<i>Ammi. visnaga</i>)	甜菜宁 (<i>Betaine</i>)	油麻藤
拟维生素 P	柠檬	刺毛甘草素	十蕊商陆, 甜菜, 菠菜
芹菜素	大豆	蒽醌	甘草
大豆甙	大豆	紫草素	狭叶番泻树
染料木甙	大豆		紫草