

- 1998, 8(4): 2923021
- [20] Xu W, Hou W, Yao G, et al Inhibition of Th1 and enhancement of Th2 initiating cytokines and chemokines in trichosanthin treated macrophages [J] Biochem Biophys Res Commun, 2001, 284(1): 1621721
- [21] Mak N K, Lung H L, Wong R N, et al Expression of protein kinase C isoforms in euxanthone induced differentiation of neuroblastoma cells [J] Planta Med, 2001, 67(5): 4024051
- [22] Jia Y J, Yang Y J, Zhou Y, et al Differentiation of rat bone marrow stromal cells into neuron induced by baicalin [J] Natl Med J China (中华医学杂志), 2002, 82(19): 133213411
- [23] Zuo X J, Okada Y, Toyoda M, et al Hydrophobic extracts of a Chinese herb (CMX13) exhibit potent immunosuppressive properties and prevent acute rejection in a highly histoincompatible model of rat lung transplantation [J] Transplantation, 2000, 70(7): 109210981
- [24] Jung G D, Yang J Y, Song E S, et al Stimulation of melanogenesis by glycyrrhizin in B16 melanoma cells [J] Exp Mol Med, 2001, 33(3): 1321351
- [25] Hennessy M, Keldner D, Spiers J P, et al St Johns wort increases expression of B2 glycoprotein: implications for drug interactions [J] Br J Clin Pharmacol, 2002, 53(1): 72821
- [26] Gao C, Wang R T, Liu D W The effect of Shenmai Injection on the expression of TNF- α mRNA of the macrophages in septic mice [J] Chin J Burns (中华烧伤杂志), 2000, 16(5): 2822911
- [27] Hakamatsuka T, Tanaka N Screening for bioactive compounds targeting the cellular signal transduction pathway using a RT-PCR based assay system [J] Biol Pharm Bull, 1997, 20(4): 4624661

诱导子在药用植物细胞培养中的应用

王和勇¹, 罗恒², 孙敏^{3X}

(1 中山大学生命科学院 基因工程教育部重点实验室, 广东 广州 510275; 2 徐州医学院药理学教研室, 江苏 徐州 221002; 3 西南师范大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要: 详细地介绍了在药用植物细胞培养中诱导子的概念, 常用的诱导子种类及其生物学特征。诱导子根据防卫反应可分为内源性诱导子和外源性诱导子; 根据特异性可分为特异性诱导子和非特异性诱导子; 根据其来源可分为生物诱导子和非生物诱导子。生物诱导子主要包括真菌类诱导子、细菌类诱导子、病毒类诱导子、酵母提取物等; 而常用的非生物诱导子包括水杨酸、茉莉酸、茉莉酸甲酯、稀土元素以及重金属盐类等。同时诱导子具有专一性、快速性、浓度效应、时间效应以及协同效应。因此在实际应用中需综合考虑与灵活运用, 使诱导子在药用植物细胞培养发挥最佳促进作用。

关键词: 诱导子; 药用植物; 细胞培养; 次生代谢产物

中图分类号: R2821.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2004)08-附3-05

Application of elicitor to cell culture of medicinal plants

WANG Heyong¹, LUO Heng², SUN Min³

(1 The Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education, School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2 Department of Pharmacology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China; 3 School of Life Science, Southwest Normal University, Chongqing 400715, China)

Key words: elicitor; medicinal plant; cell culture; secondary metabolite production

生长在自然环境中的植物经常遭受不良因素如微生物入侵与伤害等胁迫, 为了抵御不良环境, 植物细胞往往产生次生代谢物质。而植物次生代谢物质的合成具有全能性和多条代谢途径^[1]。因此, 通过改变培养条件, 可定向诱导目的产物的合成。根据这个原理, 可利用诱导子诱导药用植物细胞合成目的产物及其胞外分泌。这也为研究植物次生代谢调控提供了新思路与手段。近 10 余年来, 这方面的研究一直是国内外研究的热点。本文着重以红豆杉等为例介绍药用植物细胞培养中所用的诱导子种类及其生物学特点, 为从事该研究的工作者提供参考。

1 诱导子的定义与种类

诱导子(elicitor), 从植物病理学的角度来讲, 是指在抗病生理过程中诱发植物产生植保素(phytoalexin)和引起植物过敏反应(hypersensitive reaction, HR)的因子。从细胞培养的角度来讲, 是指能促进植物细胞产生目的产物的因子。这表明细胞诱导培养与植物防卫反应的机制是一致的。

根据防卫反应可分为内源性诱导子(endogenous elicitor)和外源性诱导子(exogenous elicitor), 前者指来自植物细胞的诱导子, 后者指来自植物细胞以外的其他可诱导防卫反应的因子^[2];

X 收稿日期: 2003 12 05

作者简介: 王和勇(1973), 男, 四川达县人, 在读博士研究生, 主要从事药用植物分子生物学与代谢基因工程研究。

E-mail: Heyongwang@hotmail.com

* 通讯作者 Tel: (023) 68254061

根据特异性可分为特异性诱导子 (specific elicitor) 和非特异性诱导子 (non-specific elicitor)^[3]; 根据其来源可分为生物诱导子 (bioelicitor) 和非生物诱导子 (abiotic elicitor), 生物诱导子主要包括病原菌 (真菌、细菌、病毒与酵母) 与植物细胞成分, 其中主要是细胞壁水解产物, 而非生物诱导子主要是起诱导作用的理化因子^[4]。

利用诱导子来提高次生代谢产物, 是目前在药用植物细胞培养中常用的方法, 其中最常用的是生物诱导子和非生物诱导子。

11.1 生物诱导子

11.1.1 真菌类诱导子: Cruickshank (1968 年) 在菜豆细胞培养时将从从梗孢科链核盘属链合盘菌 *Monilinia fructicola* (Winter) Honey 菌丝体中分离出的一种多肽链核盘素 A (monilicolin A) 加入培养基, 其后发现 monilicolin A 能够诱导菜豆内果皮的发生与菜豆素 (phasedlin) 的积累。这是最早有关诱导子促进植物次生代谢和防卫反应的报道^[5]。

真菌诱导子主要是真菌的细胞表面结构或分泌物, 在化学结构上它主要包括: 多糖、多肽、糖蛋白与不饱和脂肪酸。目前已有对多种不同来源的真菌诱导子的研究, 用真菌桔青霉 *Penicillium citrinum* Thom 的菌丝体和花生四烯酸诱导子均能提高红豆杉悬浮细胞中紫杉醇的含量^[6]; 利用刺盘孢菌 *Codletotrichum nicotianae* Av2 Sacca、尖孢镰刀菌 *Fusarium oxysporum* Schlechtendahl、黑曲霉 *Aspergillus niger* Van Tieghem 与米曲霉 *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn 的菌丝体诱导紫草细胞时发现, 4 种菌丝体均能提高它的紫草素含量, 其中黑曲霉的菌丝体效果最好^[7]; 用刺盘孢菌、尖孢镰刀菌与黑曲霉的菌丝体诱导西洋参细胞可促进皂碱与多糖的合成; 黄花蒿 *Artemisia annua* L1 内生炭疽菌 *Codletotrichum spl B501* 细胞壁寡糖提取物可促进青蒿素的合成, 经 20 mg/L 寡糖诱导处理 4 d 后, 青蒿素含量达 11.15 mg/g^[8]; 用蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl: Fr. Kummer) 诱导子处理延胡索 *Corydalis yanhusuo* Wl T1 Wang 培养物, 可促进其生物碱的积累。

11.1.2 细菌类诱导子与病毒类诱导子: Wei 从梨火疫病菌 *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al 中分离出一种对酸与热都比较稳定的胞外蛋白质 (harpin), 能诱导烟草叶片产生过敏性坏死, 这是最早从细菌中找到的诱导子^[9]。几年后, Mukherjee 从胡萝卜软腐欧氏杆菌 *Erwinia carotovora* (Jones) Bergey et al 中发现一种与 harpin 生物活性相似的蛋白质^[10]。

11.1.3 酵母提取物: 研究表明, 把酵母提取物加入鹰嘴豆 *Cicer arietinum* L1 的细胞培养基中可诱导异黄酮的积累, 进而引起紫檀烷、美迪紫檀烷和高丽槐素含量的增加^[11]; 在培养丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 细胞时, 加入 1 g/L 酵母提取物和 100 mg/L 蜜环菌发酵液, 有非常明显促进丹参酮积累的效果, 其含量可达到生药样品的 3 倍以上^[12]; 同样, 在野葛 *Pueraria lobata* (Willd) Ohwi 悬浮细胞中加入酵母提取物可促进异黄酮的合成^[13]。

11.1.4 其他: 除以上讨论的真菌、细菌诱导子与酵母提取物外, 病毒外壳蛋白和复制酶也起诱导子的作用, 如 TMV 外壳蛋白

和复制酶、PVX 外壳蛋白能诱导带 N 基因的烟草、带 Rx 基因的马铃薯产生抗病反应。同时, 植物细胞壁水解产物, 如低聚糖、多糖^[14] 和低聚半乳糖^[15] 也具有诱导子功能。

11.2 非生物诱导子: 研究发现, 一些理化因子也能诱导药用植物细胞产生次生产物, 目前已证实可诱导植物产生防卫反应且能提高次生代谢产物的化学物质约有 100 多种, 主要有水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmnate, JA) 与茉莉酸甲酯 (methyl jasmnate, MJ); 其次是稀土元素以及重金属盐类。SA、JA 与 MJ 将在阐述诱导子的生物学特性时介绍, 在此主要介绍稀土元素与重金属盐类。

在诱导培养中, 稀土元素一方面改变细胞膜通透性, 从而使次生代谢产物迅速分泌到培养基中; 另一方面还可能促进次生代谢中特有基因的转录, 从而提高次生产物的合成。

梅兴国在研究东北红豆杉细胞培养时发现, 在细胞生长的指数晚期加入稀土化合物能显著提高紫杉醇的含量; 硝酸镧和硫酸铈铵可显著提高 T1 细胞株紫杉醇的产量与渗透率, 其中硫酸铈铵的作用更为明显。硝酸亚铈对细胞株 D4、TN、TF2、NF、E2、E2B 都有显著的促紫杉醇释放作用。表明硝酸亚铈能有效作用于红豆杉细胞的生物膜系统, 包括细胞膜、液泡膜甚至质体膜, 增加膜透性而提高紫杉醇渗透率; 另外硝酸亚铈还有明显促进 T1、TD5、E2、E2B 细胞产生紫杉醇的能力, 使培养物中紫杉醇的含量大幅度提高。因此硝酸亚铈可能是一种在悬浮培养红豆杉细胞时促进紫杉醇生产与渗透释放的代谢调节剂^[16]。另外元英进的研究表明在长春花细胞培养时加入稀土元素镧可促进其细胞生长与次生代谢产物的积累; Smith 通过研究发现, 硫酸钆可以促使长春花细胞合成长春花碱和阿吗碱。此外, 胡国武研究表明, 在东北红豆杉细胞培养时加入硝酸铈铵能有效地提高紫杉醇合成酶基因转录, 从而促进紫杉醇合成^[17]。这说明不同稀土化合物对细胞作用机制与效果是不同的。

重金属盐类在细胞诱导培养方面主要涉及 Cu^{2+} 与 Ag^+ 。在红豆杉细胞悬浮培养 20 d 即指数生长晚期, 加入 Cu^{2+} 可促进紫杉醇的形成^[18]; Morimoto 发现 Cu^{2+} 可以促进日本黄连 *Coptis japonica* Makino 细胞产生小檗碱^[19]; 宁文研究也发现, Cu^{2+} 对紫草 *Onosma paniculatum* Bur et Franchl 细胞产生紫草素有较大的促进作用^[20]; Rouxel 认为 Cu^{2+} 能提高芸薹属植物细胞中吲哚类物质的产量^[21]。

未作君用 AgNO_3 诱导南方红豆杉细胞合成紫杉醇时, 通过动力学模型对 AgNO_3 的作用靶点进行分析, 确定了 AgNO_3 在紫杉醇代谢途径中的作用靶点是在 Baccatin 0 向紫杉醇转变的过程中^[22]; 苗志奇认为 AgNO_3 通过加快 Baccatin 0 向紫杉醇转化速度来提高紫杉醇的合成^[23]。

但迄今为止, 有关重金属盐类与稀土元素诱导药用植物细胞产生目的产物的具体作用机制目前还不十分清楚。另外一些物理因子如机械损伤、电磁处理、X 射线以及紫外线等均能诱导植物产生高含量的次生代谢物质。

2 诱导子的生物学特征

2.1 专一性

2.1.1 同一诱导子对不同植物诱导作用不同: 不饱和脂类诱导

子主要诱导茄科植物产生倍半萜类物质,对其他植物一般无效^[21]。大雄疫霉 *Phytophthora megasperma* Drechsler 的葡萄糖诱导子能使大豆产生植保素,却不能使欧芹产生植保素^[24]。

21112 同一诱导子对同一植物的不同细胞株的诱导作用不同:余龙江等用真菌 F5 诱导子诱导红豆杉产生紫杉醇时发现不同细胞株对诱导子的反应能力不一样,即细胞株 TF、TD₂、TD₃、TD₂与 E₂ 中紫杉醇的含量,与无处理的细胞相比显著提高;而 TD₂ 细胞株在诱导前后均无紫杉醇合成^[25]。

21113 同一植物对不同的诱导子的反应不同:在研究桔青霉、灰绿犁头霉 *Absidia glauca* Hagem、鲁氏毛霉 *Mucor rouxianus* (Calmette) Wehmer 和灰葡萄孢霉 *Botrytis cinerea* Pers. 4 种真菌诱导子诱导云南红豆杉细胞产生紫杉醇时发现,桔青霉菌丝的效果最好,其紫杉醇含量和产量分别比对照组高 1131.2% 和 1041.0%,达到干细胞 01356% 和 5106 mg/L;其次是灰葡萄孢霉菌,其紫杉醇含量和产量分别比对照组提高了 58.7% 和 511.2%;鲁氏毛霉菌丝和灰绿犁头霉菌丝作用不显著^[26]。在银杏 *Ginkgo biloba* L1 悬浮细胞培养诱导时,10 种真菌诱导子中仅选出效果比较好的日本根霉 *Rhizopus japonicus* Vuill. 诱导子,能使银杏细胞产生银杏内酯 B^[27]。

21114 同一植物的不同细胞株对不同诱导子的反应不同:梅兴国等研究表明,不同红豆杉细胞株对不同稀土元素处理的反应是不同的。细胞株 TD₅、E₂、E₂B 与 T1 给以稀土元素硝酸镧与硫酸铈铵处理后,它们对紫杉醇的合成明显增加,尤其 T1 细胞株,加入硫酸铈铵后紫杉醇合成量为 7156 mg/L,对照组仅为 0114 mg/L;而 D4 细胞株紫杉醇的合成量几乎没有什么变化。TN、TF₂ 与 NF 3 个细胞株对不同稀土化合物的反应也不同:硝酸镧可促进 TF₂ 合成紫杉醇,硫酸铈铵和硝酸亚铈却减少 TN 与 TF 的紫杉醇合成;硝酸镧、硫酸铈铵、硝酸亚铈都使 NF 细胞紫杉醇合成能力下降^[19]。

21115 其他:研究发现,同一红豆杉细胞用同一真菌制成的不同类型诱导子处理,细胞具有不同的防卫反应。概括为 3 种植物真菌互作模式:极不相容(细胞抗性强,受损小),不相容(抗性强,受损也较严重)和相容(细胞抗性小,受损严重)。极不相容和不相容的互作模式中,细胞的紫杉醇产量明显较对照组高,而相容互作模式的细胞不含有紫杉醇^[25]。

212 快速性:张长平等在研究真菌诱导子对悬浮培养南方红豆杉细胞态势及紫杉醇合成的影响时发现,在细胞悬浮培养指数生长晚期加入真菌诱导子(尖孢镰刀菌的胞壁组份粗提物),能在短期内激发细胞的防御性应答反应;在诱导子处理后,4 h 时苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性就达到了峰值,紫杉醇产量在 36 h 内就有明显提高,峰值出现在诱导后第 4 天,总产量提高了 5 倍左右,紫杉醇含量达到 67 mg/L^[28]。

213 浓度效应:诱导子浓度效应有两种类型:一种是反应饱和型,即次生产物的合成随诱导子浓度增加而增加,达到最大值后稳定;另一种是最适浓度型,即诱导反应要求最适浓度,此浓度下诱导子表现出最强的活性^[18]。在药用植物细胞诱导培养中主要是最适浓度型。

孙彬贤等在研究代谢中间产物和诱导子对南方红豆杉细

胞生长和紫杉醇含量的影响时发现,加入花生四烯酸(312 Lmol/L)和茉莉酸甲酯(MJ, 100 Lmd/L)可分别提高紫杉醇含量 1 倍和 10 倍^[29]。梅兴国在研究水杨酸(SA)对红豆杉细胞的诱导作用发现,在实验的浓度范围内,添加不同浓度 SA 均有利于紫杉醇的积累,最适浓度为 20 mg/L 时,SA 对紫杉醇合成的诱导效应最显著,约为对照组的 13 倍^[30]。施中东等利用短期诱导实验考察了几种诱导子的最佳诱导浓度,结果表明:在南方红豆杉细胞培养体系中分别加入 110 mmol/L 硝酸铈铵、0101 mmol/L 硝酸银、011 mg/L 花生四烯酸、011 mg/L SA 以及 1010 mg/L MJ,最有利于紫杉醇产量提高^[31]。李家儒在研究 Cu²⁺ 对红豆杉培养细胞中紫杉醇形成影响时发现,在细胞悬浮培养物中添加 30 Lmd/L CuCl₂ 时,诱导效果最佳^[18]。宋经文研究发现,培养基中蜜环菌的浓度为 119 md/L 时可从丹参的悬浮细胞中获得 147 mg/L 的丹参酮^[32]。

一般而言,由于诱导产生的抗毒素对细胞自身大多具有毒性,诱导子对细胞生长有抑制作用,因而添加诱导子时其浓度需严格控制,使之既能在一定程度上刺激细胞发生过敏反应,合成次生代谢物,又不严重影响细胞的生长。

214 时间效应:在药用植物细胞培养中,不少植物细胞在指数生长期以后,才逐渐由初生代谢进入次生代谢。细胞感受外界刺激,调节内部代谢与所处的生长阶段有关。不同时期的细胞对诱导子的反应灵敏度不同,只有处于一定生长时期的细胞才能有效地接受诱导子信号,此时诱导子表现出最强的活性。一般根据植物细胞的生长速度将植物细胞培养的一个周期分为延迟(滞)期、对数期(指数生长期)、稳定期、衰亡期 4 个时期。延迟期到指数生长期早期为自发诱导阶段,在指数生长期的中期,细胞对诱导子的反应最不敏感;在指数生长期晚期到稳定期早期细胞对诱导子的反应敏感。在指数生长期晚期加入诱导子,细胞次生代谢物的含量最高,而在指数早期或延迟期加入诱导子,次生代谢物合成量并没有明显的提高。原因可能是在生长早期还没有足够的前体可用于合成蛋白(包括次生代谢物合成途径的关键酶),或是提高生物合成量的酶还未受到激活。

李家儒的研究表明红豆杉细胞悬浮培养的延滞期为 0~ 8 d,指数生长期为 8~ 20 d,稳定期为 20~ 32 d。分别于细胞悬浮培养的第 5、20、25 天时加入 2 mL 桔青霉诱导子,35 d 1 Lg/g; 5.25 d 时加入诱导子,紫杉醇含量分别为 6159 和 9185 Lg/g,均不及 20 d 时效果好,这正说明在指数生长期晚期红豆杉培养细胞对诱导子具有最强的反应能力。李家儒还发现在指数生长期晚期红豆杉培养细胞对 Cu²⁺ 诱导处理也具有最强的反应能力^[18]。

215 协同效应:研究表明,不同诱导子之间存在协同效应。苏湘鄂等研究 MJ 与真菌诱导物、SA 组合诱导红豆杉细胞产生紫杉醇时发现,单独加 F5, MJ 与 SA 以及联合加 F5+ MJ 与 MJ+ SA, 各组细胞的紫杉醇含量均增加,其中 MJ+ SA 对紫杉醇合成的诱导作用最显著,约为 MJ 的 10 倍,达到细胞干重的 0104%^[33]。余龙江研究发现,红豆杉悬浮细胞培养加入 100

1.5 μmol/L MJ、7.5 mg/L 乙烯利与 10 mg/L 精胺为最优组合, 此时紫杉醇产量最高, 达 81.73 mg/L, 比对照组提高了 91.03 倍^[25]。Linden 研究发现, 在红豆杉的悬浮细胞培养 MJ、几丁质与脱乙酰壳多糖对紫杉醇合成也具有协同作用^[34]。苗志奇通过 SA 和硝酸银的配伍诱导, 实现了诱导子之间的协同作用, 获得 39 mg/L 紫杉醇, 比两个诱导子单独作用时紫杉醇最高含量之和还高出 50%^[35]。同样在 MJ 与花生四烯酸的配伍实验中, 第 10 天测量结果显示: MJ 与花生四烯酸的配伍实验中紫杉醇最高产量达到 821.1 mg/L, 比两个诱导子单独作用时的最高含量之和还高出 54%, MJ 与花生四烯酸的配伍实验表明诱导子具有明显的协同效应^[23]。

3 展望

在适宜条件下, 利用诱导子来调节药用植物的次生代谢途径, 而提高植物细胞中有用的次生代谢产物的含量, 带来了良好的经济和社会效益。众多研究和临床表明植物所含的丹参酮、银杏酮、黄酮等在治疗和预防心、脑、肾疾病方面有明显作用; 大豆异黄酮是雌激素受体的部分激动剂, 对改善女性更年期综合症有明显的优点; 紫杉醇是常用的抗癌药物, 尤其对乳腺癌和卵巢巢瘤效果好。提高上述物质产量, 无疑为人类健康作出贡献。

对诱导子的研究虽取得了一些进展, 但还存在着一些不完善的地方, 在诱导子作用机制以及作用靶点方面, 目前还研究得不透彻。如果知道诱导子与次生代谢产物的结构与功能关系, 就可用现代分子生物学技术如差别显示和异源表达等技术来研究诱导子作用于靶基因的调控机制以及对靶基因进行功能鉴定, 从分子水平来阐明次生代谢产物的合成机制, 为今后诱导培养提供更可靠的理论依据。此外, 在诱导子的纯化和结构分析、诱导子受体的提取纯化, 诱导子与胞膜上受体的结合情况等方面有待进一步研究。

发展诱导技术, 深化诱导子理论研究, 不仅为中草药事业的发展提供新思路, 为经济发展增添力量, 更重要的是能更好地为人类健康服务, 带来巨大的社会效益和经济效益。

References:

[1] Verpoort R, Heijden R, Memelink JI Engineering the plant cell factory secondary metabolite production [J] Transgenic Res, 2000, 9: 323-343

[2] Weinberger F, Friedlander M Endogenous and exogenous elicitors of a hypersensitive response in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta) [J] J Appl Phycol, 2000, 12: 139-145

[3] Wäckers FL, Wunderlin RI Induction of cotton extrafloral nectar production in response to herbivory does not require a herbivore-specific elicitor [J] Entomol Exp Appl, 1999, 91: 149-154

[4] Ebel JI Phytoalexin synthesis: the biochemical analysis of the induction process [J] Ann Rev Phytopathol, 1986, 24: 232-264

[5] Cruickshank I A M, Perrin D R I The isolation and partial characterization of monilicolin A, a polypeptide with phaseolimitoxin inducing activity from *Monilinia fructicola* [J] Life Sci, 1968, 7: 449-458

[6] Miao Z Q, Wei Z J, Yuan Y J Studies on the acting point of arachidonic acid in taxol biosynthetic pathway [J] Chin Tradit Herb Drugs

(中草药), 2000, 31(6): 418-421

[7] Liu C J, Hou S S Effects of fungal elicitors on the cell growth and the shikonin biosynthesis in *Arndia euchroma* cells in suspension culture [J] Acta Phytophysiol Sin (植物生理学报), 1998, 24(1): 62-66

[8] Wang J W, Xia H, Tan R X Elicitation on artemisin biosynthesis in *Artemisia annua* hairy roots by the oligosaccharide extract from the endophytic *Colletotrichum sp1 B50* [J] Acta Bot Sin (植物学报), 2002, 44(10): 1232-1238

[9] Wei Z M, Laby R J, Zumoff C H, et al Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora* [J] Science, 1992, 257: 828-831

[10] Mukherjee A, Cui Y, Liu Y, et al Molecular characterization and expression of the *Erwinia rostrata* HrpNec gene, which encodes an elicitor of the hypersensitive reaction [J] Mol Plant Microbe Interact, 1997, 10: 462-471

[11] Zhao H L, Yu R M Progress in the application of elicitor in the plant cell culture [J] J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2000, 17(2): 152-156

[12] Song J Y, Zhang Y L, Qi J J, et al Selection of a high tanshinone production crown gall strain and production of tanshinone in the strain [J] Chin J Biotechnol (生物工程学报), 1997, 13(3): 317-319

[13] Park H H, Hakamatsuka T, Sankawa U, et al Rapid metabolism of isoflavonoids in elicitor treated cell of suspension cultures of *Pueraria lobata* [J] Phytochemistry, 1995, 38(2): 373-380

[14] Nock L P, Smith C J Identification of polysaccharide hydrolyses involved in autolytic degradation of *Zea* cell walls [J] Plant Physiol, 1987, 84: 1044-1050

[15] Dixon R A, Harrison M J Early events in the activation of plant defense response [J] Annu Rev Phytopathol, 1994, 32: 472-501

[16] Mei X G, Tian Z X, Wang C G, et al Increased accumulation of taxol by some cell lines of *Taxus* in response to addition of lanthanide [J] Nat Prod Res Dev (天然产物开发与研究), 2000, 12(5): 382-411

[17] Hu G W, Ma Z, Wang Y D, et al Effects of rare earths on taxadiene synthase gene transcription of *Taxus* cell [J] J Chin Rare Earths Soc (中国稀土学报), 2000, 18(4): 362-364

[18] Li J R, Guan Z Y, Liu M X, et al Effects of Cu^{2+} on taxol formation in cell cultures of *Taxus chinensis* [J] J Huazhong Agric Univ (华中农业大学学报), 1999, 18(2): 112-120

[19] Morimoto T, Hara Y, Katoy Y, et al Berberine production by cultured *Coptis japonica* cells in a one-stage culture using medium with a high copper concentration [J] Agric Biol Chem, 1989, 52(7): 1832-1836

[20] Ning W, Cao R Q Effect of $CuCl_2$ on shikonin derivative formation in *Onosmodium paniculatum* cell culture [J] J Nanjing Univ (南京大学学报), 1995, 31(2): 334-337

[21] Rouxel T, Kollman A, Boudard L, et al Abiotic elicitation of indole phytoalexins and resistance to *Leptosphaeria maculans* within *Braea siceae* [J] Planta Med, 1991, 184: 271-278

[22] Wei Z J, Hu Z D, Yuan Y J Study on kinetics of taxol production in *Taxus chinensis* var *maiira* suspension culture by silver nitrate [J] Chem React Eng Technol (化学反应工程与工艺), 2000, 16(4): 312-318

[23] Miao Z Q, Wei Z J, Yuan Y J Study on the effect of salicylic acid on

- taxol biosynthesis [J] Chin J Biotechnol (生物工程学报), 2000, 16 (4): 5025131
- [24] Ning W, Cao R Ql Regulation of fungal elicitor in plant secondary metabolism [J] Plant Physiol Comm (植物生理学通讯), 1993, 29 (5): 32123291
- [25] Yu L J, Qin W M, Lan W Z, et al Defense response induced by fungal elicitor and its correlation with taxol biosynthesis in Taxus cells [J] Chin J Appl Environ Biol (应用与环境生物学报), 2002, 8(3): 2525281
- [26] Chan Y Q, Zhu W H, Wu Y Q, et al Effects of fungus elicitors on taxol production in suspension cells of Taxus yunnanensis [J] Chin J Biotechnol (生物工程学报), 1999, 15(4): 5225241
- [27] Dai J G, Zhu W H, Wu Y Q, et al Effects of precursors and fungal elicitors on GKB production in suspension culture cells of Ginkgo biloba L1 [J] Acta Pharm Sin (药学报), 2000, 35(2): 1521551
- [28] Zhang C P, Li C, Yang Y J, et al Effects of fungal elicitor on cell status and taxol production in cells suspension cultures of Taxus chinensis var1 mairei [J] Chin J Biotechnol (生物工程学报), 2001, 17 (4): 4324401
- [29] Sun B X, Wei Y Q, Liu D, et al Influence of metabolic intermediate products on culture cell growth and taxol content of Taxus chinensis var1 mairei [J] Shanghai J Tradit Chin Med (上海中医药杂志), 2000, 14(3): 542561
- [30] Mei X G, Zhang Z M, Su X E, et al Effect of salicylic acid on the cell suspension of Taxus chinensis [J] Biotechnology (生物技术), 2000, 10(6): 12201
- [31] Shi Z D, Wei Z J, Yuan Y J Concentration optimization of elicitors on taxol production in plant cell culture of Taxus chinensis var1 mairei [J] Nat Prod Res Dev (天然产物开发与研究), 2000, 12(4): 32401
- [32] Song J Y, Qi J J, Lei H T, et al Effect of Armillaria mella elicitor on accumulation of tanshinones in crow gall cultures of Salvia miltiorrhiza [J] Acta Bot Sin (植物学报), 2000, 42(3): 3123201
- [33] Su X E, Mei X G, Gong W, et al Effects of the combination of methyl jasmonate with salicylic acid or fungal elicitor on the cell suspension of Taxus chinensis [J] Biotechnology (生物技术), 2001, 11 (1): 12131
- [34] Linden J C, Phisalpong Ml Oligosaccharides potentiate methyl jasmonate induced production of paclitaxel in Taxus canadensis [J] Plant Sci, 2000, 158: 42511
- [35] Miao Z Q, Wei Z J, Yuan Y J Studies on the acting point of methyl jasmonate in taxol biological synthesis pathway and its compatibility [J] Acta Biophys Sin (生物物理学报), 2000, 16(2): 2022111

吴茱萸属植物化学成分和生理活性的研究近况

王奇志, 梁敬钰^X

(中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 对吴茱萸属植物化学成分和生理活性研究概况予以综述, 发现成分类别主要为吲哚类生物碱、喹诺酮类生物碱、苦味素、苯并色原酮和挥发油等。其中吲哚类生物碱 17 个, 喹诺酮类生物碱 17 个, 苦味素类化合物 12 个, 苯并色原酮类化合物 10 个。生理活性显示吴茱萸属植物具有扩张血管、降压、强心、止泻、收缩子宫、杀虫、抗菌、抗病毒、抗溃疡、抗胆碱酯酶、抗遗忘症和诱导人子宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的作用。

关键词: 芸香科; 吴茱萸属; 吲哚类生物碱; 喹诺酮类生物碱; 苯并色原酮

中图分类号: R2821.71

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)08-附 7-04

Survey on chemical constituents and physiological activities of Evodia Forstl plants

WANG Qizhi, LIANG Jingyu

(Department of Phytochemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Key words: Rutaceae; Evodia Forstl; indole alkaloids; quinolone alkaloids; benzchromones

芸香科 (Rutaceae) 吴茱萸属 (Evodia Forstl) 植物全世界有 150 种, 我国有 20 余种。分布于广东、广西、贵州、陕西、浙江等地。5 中华人民共和国药典 2000 年版收载品种主要有: 吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Jussl) Benth1、石虎 *E1 rutaecarpa* (Jussl) Benth1 var1 *odimieri* (Dode) Huang 3 种。药用部位为 8~10 月采收的果实, 始载于《神农本草经》, 列为中品。具有散寒、止痛、降逆、助阳、止泻的功效, 近代药理研究发现尚具有扩张血管、降压、强心、止泻、收缩子宫、杀虫、抗菌、抗病毒、抗溃疡、抗胆碱酯酶、治疗遗忘症和诱导人子宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的作用。本文主要综述该属已报道的化学成分和生理活性, 为深入研究来自吴茱萸属植物提供参考。

1 吴茱萸属植物的化学成分

111 生物碱^{1~7)}

1111 吴茱萸属植物中生物碱类的骨架: 吴茱萸属中生物碱主要有吲哚和喹诺酮两类, 前者结构中具有吲哚母核, 根据化合物 A~E5 环中具有 C、D 环或只有 C 环或只有 D 环或 C、D 都裂环及无 D、E 环, 其骨架可分为 6 类型 (图 1- $\tilde{N} \sim \tilde{O}$)。后者依据酮基与 N₁ 的相对位置及羰基的还原分 A、B、C 三类, 结构骨架如图 1- A~C。

1112 已发现的吲哚类和喹诺酮类生物碱: 各为 17 个, 见表 1。