

- of local plants. Part 15. Study of volatile oil of Saudi *Ruta chalepensis* L., *Juniperus procera* Hochst. ex Endl. and *Euphorbia helioscopia* L. [J]. *Herba Hungarica*, 1983, 22(1): 39-42.
- [10] Lee S H, Takashi T, Genichiro N, et al. Tannins and related compounds. XCV. Isolation and characterization of helioscopinins and helioscopins, four new hydrolyzable tannins from *Euphorbia helioscopia* L. (1) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(6): 1518-1523.
- [11] Abdulladzhanova N G, Mavlyanov S M, Dalimov D N. Polyphenols of certain plants of the Euphorbiaceae family [J]. *Chem Nat Comp (Translation Khimiya Prirodnikh Soedinenii)*, 2003, 39(4): 399-400.
- [12] Park K H, Koh D, Lee S, et al. Anti-allergic and anti-asthmatic activity of helioscopin-A, a polyphenol compound, isolated from *Euphorbia helioscopia* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2001, 11(1): 138-142.
- [13] Chen Y, Tang, Z J, Jiang F X, et al. Studies on the active principles of Ze-Qi (*Euphorbia helioscopia* L.), a drug used for chronic bronchitis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 1979, 14(2): 91-95.
- [14] Pohl R, Janistyn B, Nahrstedt A. Flavonol glycosides from *Euphorbia helioscopia*, *E. stricta*, *E. verrucosa*, and *E. dulcis* [J]. *Planta Med*, 1975, 27(4): 301-330.
- [15] Asa K, Noboru K. Some properties of a new flavonoid, tithymalin, isolated from the herbs of *Euphorbia helioscopia*. [J]. *Agric Biol Chem*, 1968, 32(1): 121-122.
- [16] Muller P, Schutte H R. m-Hydroxyphenylglycine and 3,5-dihydroxyphenylglycine, 2 new amino acids from the latex of *Euphorbia helioscopia* L. [J]. *Biologie*, 1968, 23(5): 659-663.
- [17] Muhammad N, Hammad R. Neutral lipids from the leaves of *Euphorbia helioscopia* Linn. [J]. *Pakistan J Sci Ind Res*, 1977, 20(6): 380-383.
- [18] Cai Y, Wang J, Liang B Y. Antitumor activity of *Euphorbia helioscopia* in vitro [J]. *J Chin Med Mater (中草药)*, 1999, 22(2): 85-87.
- [19] Cai Y, Wang J, Liang B Y, et al. Experimental study on antitumor activity of the root of *Euphorbia helioscopia* in vivo [J]. *J Chin Med Mater (中草药)*, 1999, 22(11): 579-582.
- [20] Sang X S, Wu H J, Qu Y B, et al. Influence of Ze-qi-san formulation on the expression of cancer tissue transforming growth factor- β_1 [J]. *Inf Tradit Chin Med (中医药信息)*, 2004, 21(3): 68-70.
- [21] Kim J J, Lee J S, Kim S Y, et al. Inhibitory effect of hydrolyzable tannins isolated from the *Euphorbia helioscopia* on mushroom tyrosinase activity in vitro [J]. *Yakhak Hoechi*, 2001, 45(2): 214-219.
- [22] Chen X W. Effect of crude extract of *Euphorbia helioscopia* L. on plant pathogeny fungus [J]. *J Zhejiang Agric Sci (浙江农业科学)*, 2005, 3: 218-219.
- [23] Nawito M, Ahmed Y F, Sami S I, et al. Dietary cancer risk from conditional carcinogens (tumor promoters) in produce of livestock fed on species of spurge (*Euphorbiaceae*) IV. Toxicologic and pathophysiologic observations in lactating goats and their suckling kids fed on the irritant herbs *Euphorbia nubica* and *Euphorbia helioscopia*; an etiologic model for investigations on the putative risk of cancer by consumption of food polluted with tumor promoters [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2001, 127(1): 34-39.
- [24] Li Y L, Song H E, Zhang X Z, et al. Effect of Bai-mao-cang-er soup and Hua-chan-ze-qi power on curing 286 patients with nasopharynx carcinoma [J]. *Chin J Pract Mod Med (中华实用中西医结合杂志)*, 2005, 18(7): 888.
- [25] Lv L Q. Clinical application of *Euphorbia helioscopia* [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med (陕西中医)*, 2001, 22(10): 623.
- [26] Shi S H. Clinic study of zhi-su power and ze-qi soup on curing cough [J]. *Heilongjiang J Tradit Chin Med (黑龙江中医药)*, 2002, (3): 16.
- [27] Liu G H. Effect of compound ze-qi cream on curing 203 patients with mumps [J]. *Jiangxi J Tradit Chin Med (江西中医药)*, 2003, 34(252): 19.

曼地亚红豆杉研究进展

冯巍, 谈锋*, 谢峻

(西南大学生命科学学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715)

摘要:曼地亚红豆杉 *Taxus media* 是东北红豆杉 *T. cuspidata* 和欧洲红豆杉 *T. baccata* 的天然杂交种。其枝叶中的紫杉醇含量高, 是利用红豆杉树皮提取抗癌药物紫杉醇的最佳替代原料。综述了曼地亚红豆杉的生物学特性及品系、生理生态、繁殖技术、细胞培养、紫杉醇生物合成相关酶基因的克隆及表达和分离纯化工艺等方面的研究进展。

关键词:曼地亚红豆杉; 紫杉醇; 生物合成

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)10-1589-05

Advances in studies on *Taxus media*

FENG Wei, TAN Feng, XIE Jun

(Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Key Laboratory of Plant Ecology and Resources in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Key words: *Taxus media* Rehd.; taxol; biosynthesis

收稿日期: 2007-03-23

基金项目: 国家“863”课题资助项目(2002AA212191)

作者简介: 冯巍(1983—), 女, 生化与分子生物学硕士研究生。

Tel: (023)68367091 Fax: (023)68252365 E-mail: feng2@swu.edu.cn

*通讯作者 谈锋 Tel: (023)68252698 Fax: (023)68252365 E-mail: tanfeng@swu.edu.cn

从红豆杉中提取的紫杉醇是继阿霉素和顺铂之后,世界上最好的抗癌药物之一,其销售量在抗肿瘤药物中排名全球第一。但红豆杉属植物生长缓慢,紫杉醇量仅为0.004%~0.01%(干质量),且主要分布在树皮中。因此,寻找红豆杉树皮的替代资源是当务之急。曼地亚红豆杉 *Taxus media* Rehd. 是美国学者于1918年发现的一种天然杂交品种,其母本为东北红豆杉 *T. cuspidata* Sieb. et Zucc., 父本为欧洲红豆杉 *T. baccata* L.。曼地亚红豆杉适应性强,生长速度快,不仅树皮中含有紫杉醇,而且枝叶中紫杉醇的量为0.017%~0.051%^[1],甚至有高达0.069%的报道^[2]。这使其成为利用红豆杉树皮提取抗癌药物紫杉醇的最佳替代原料。

1 生物学特性及品系

1.1 生物学特性:曼地亚红豆杉是红豆杉科红豆杉属常绿灌木,形态自然多样,有直立型,也有匍匐型,主根不明显,侧根发达,枝叶茂盛,萌发力强,耐修剪,生长速度快,对环境适应能力强,能在多种气候和土壤条件下生长,能耐-25℃的低温,抗病能力强。但以气候温和,空气湿度大,海拔800~1500 m的地区生长最佳。

1.2 品系:自发现曼地亚红豆杉中紫杉醇量较高以来,经过栽培选育,已发展到近20个品系。Enaksha等^[3]通过测定黑斯雷庄园里的14个曼地亚红豆杉栽培变种的叶和根中的紫杉醇发现,Hicksii和Number 8的成熟根中紫杉醇的量最高,分别是424和427 mg/kg(干质量);而在叶中,Fieldii和Number 8的紫杉醇的量最高,分别是231和249 mg/kg。Guy等^[2]研究了27种不同品种和杂交种的红豆杉,发现曼地亚红豆杉 *Sargentii* 针叶中的紫杉醇量高达0.069%(干质量),其愈伤组织中达0.032%。Wang等^[4]根据曼地亚红豆杉生长特点,将17种曼地亚红豆杉栽培变种分成4个类群,其中第一类群的 *Coleana* 紫杉醇的量最高。同时,作为第一类群中的3个栽培变种 *Coleana*、*Stovekenii* 和 *Hicksii*,不仅紫杉醇和10-去乙酰巴卡亭Ⅲ量高,而且直立型生长迅速,单位面积上栽培株数多,可作为提取紫杉烷类化合物的首选品种。其中 *Hicksii* 已被美国FDA批准为提取紫杉醇的红豆杉品种之一。

2 生理生态研究

紫杉醇是曼地亚红豆杉的次生代谢产物之一,其生理生态方面的研究,对曼地亚红豆杉的栽培管理中如何提高紫杉醇产量有一定的指导作用。

向邓云等^[5]通过测定在自然降温过程中膜保护系统(如超氧化物歧化酶、过氧化物酶、维生素C等)的变化,表明曼地亚红豆杉通过提高体内膜保护系统的活性来维持膜结构的完整性和稳定性,从而增强植物的抗寒适应性。研究还发现曼地亚红豆杉的低温半致死温度随冬季的来临而降低。芦站根等^[6]用生理化的方法研究了不同光强对曼地亚红豆杉栽培变种 *Hicksii* 抗寒性的影响,结果表明在自然光下,曼地亚红豆杉的抗寒性最大。芦站根等^[7]研究发现随着气温的降低,曼地亚红豆杉低温半致死温度不断降低,由秋季的-8.13℃降低到冬季最冷的1月中旬的-13.01℃,这与向

邓云^[5]的报道一致;通过对可溶性总糖、可溶性蛋白质、游离脯氨酸、淀粉等渗透调节物质及内源激素ABA、GA_{1/3}、IAA、ZRs量的测定,表明在自然降温过程中,正是这些物质的变化导致了曼地亚红豆杉低温半致死温度的降低。赵昌琼等^[8]研究了土壤水分胁迫对 *Hicksii* 光合作用的影响,结果表明土壤含水量维持在田间最大持水量的80%以上,有利于曼地亚红豆杉光合作用的正常进行。周周杰等^[9]研究了 *Hicksii* 叶片蒸腾速率与影响因子的关系,发现影响曼地亚红豆杉蒸腾速率的主要因子是叶温、气温,其次是光量子通量密度、空气相对湿度、气孔阻力。

3 繁殖技术

3.1 种子繁殖:曼地亚红豆杉为雌雄异株,异花授粉植物,结实率低。其种子具有深休眠特性,自然条件下需经二冬一夏才能萌发。即使种子萌发,形成的幼苗抗逆性也差,成活率很低。且种子在圃地内时间过久,极易腐烂变质或遭鼠害,发芽率极低,导致人工实生繁殖较为困难。

3.2 无性繁殖

3.2.1 扦插繁殖:目前,曼地亚红豆杉的扦插繁殖主要是以1~2年生的枝条为插穗,以珍珠岩、河沙、黄心土、泥炭等多种单一基质或组合基质为扦插基质,同时施用生根促进剂来促进生根。常用的生根促进剂有IBA、ABT、NAA等。王建军等^[10]通过对 *Hicksii* 穗条扦插时间及覆膜与否、扦插基质等因子进行对比试验,得出剪取长5~7 cm的粗壮插穗在春冬季扦插成活率最佳,而在夏秋高温季节则发根速度最快,但成活率偏低,基质以细纯沙床中成活率最高。谢志远^[11]发明的“RT促生技术”,通过向曼地亚红豆杉插苗枝叶喷洒一种含有特殊诱导剂的混合溶液,可使其生长量增加一倍。刘建慧等^[12]采用植物快繁计算机自动控制温、湿度扦插曼地亚红豆杉,可使曼地亚红豆杉50 d生根,80 d移栽,生根率达98%,周年繁殖,实现工厂化生产。陈嫣嫣等^[13]分析了IBA及ABT对曼地亚红豆杉扦插的影响,结果表明室内扦插以500 mg/L IBA或500 mg/L ABT处理的生根效果最好,不仅生根率高而且根系发达,生根所需时间也较短。自1999年引种栽培曼地亚红豆杉以来,对其扦插繁殖进行了一系列研究,并开发了TR1水溶性生根粉,可使其扦插生根率达97.1%。

3.2.2 利用组织培养快繁育苗:马均等^[14]利用腋芽增殖的方法,通过选择腋芽增殖过程中不同阶段的最优培养基和培养技术获得了完整的曼地亚红豆杉试管苗。同时,对带侧芽茎段外植体进行愈伤组织诱导再分化,发现带侧芽茎段外植体基部愈伤组织产生了1~2个不定芽,个别外植体在茎段去除叶片处长出不定芽,但不定芽没有萌发。何磐琰等^[15]以曼地亚红豆杉带侧芽茎段为外植体,比较了WPM、MS、B₅ 3种基本培养基,发现WPM为离体培养最适基本培养基;初代培养最适培养基为WPM+4.0 mg/L 2-ip(细胞分裂素异戊烯腺嘌呤)+30.0 mg/L Ad(腺素);芽继代增殖最适培养基则为WPM+4.0 mg/L 2-ip+1.0 mg/L IAA;生根壮苗最适培养基为1/2 WPM+0.5 mg/L IBA+0.1 mg/L NAA,但是增殖率较低,有待进一步深入研究。

4 细胞培养

4.1 愈伤组织诱导和培养

4.1.1 外植体的选择:同一种植物器官、组织、生长部位不同,其诱导能力也不尽相同,到目前为止,常用来诱导曼地亚红豆杉的愈伤组织的外植体有针叶、嫩茎、树皮、幼嫩根、种胚、雌配子体等。Gibson等^[14]研究发现外植体中紫杉醇的量对于愈伤组织的诱导及以后的继代培养均无抑制作用,因此,选择紫杉醇量高的外植体可获得高产的细胞系。

4.1.2 培养基及培养条件的选择:使用过的诱导培养基有B₅、SH、WPM、MS等。其中最常用的是B₅培养基。培养基中激素不同浓度和不同种类的组合对愈伤组织的诱导有重要作用。常用的激素有2,4-D、NAA、KT、6-BA等。Spela等^[17]研究表明加入10 μmol/L 2,4-D和1 μmol/L KT的B₅培养基的诱导效果最好。马均等^[18]研究结果表明曼地亚红豆杉愈伤组织诱导培养基中生长素与细胞分裂素的比例应在10:1左右;2,4-D与NAA的比例应在2:1左右(MS为基本培养基)。

一般以蔗糖作为培养基中的碳源,质量浓度为0.01~0.3 g/mL,以0.6%~1.0%琼脂作为凝固剂。有人认为用液体培养基进行愈伤组织的诱导,可以缩短从诱导到悬浮培养的生产周期。但这种方法的紫杉醇产量很低,有待进一步改进。通常愈伤组织暗培养的效果要优于光培养,因为在愈伤组织的继代过程中光照抑制其生长。

4.1.3 组织褐化现象:曼地亚红豆杉细胞生长一段时间过后,常出现组织褐化生长停滞的现象,这是由于细胞生长过程中分泌了一些酚类物质,该物质被氧化成醌类物质造成的。向培养基中添加一定量的维生素C、活性炭、CA、GA、ABA、果糖和葡萄糖等外源物质能比较明显地抑制过氧化物酶和多酚氧化酶的活性,可部分解决此问题^[19]。马均等^[18]用35℃温水浸泡外植体30 min对抑制外植体褐化现象有理想效果。胡凯等^[20]发现在愈伤组织发生后第20天就转移继代和提高愈伤组织与培养基接触面的氧气供给,能够较好地克服褐化现象。

4.2 细胞悬浮培养

4.2.1 培养基及培养条件:愈伤及继代用的培养基和培养条件也基本适用于悬浮培养,通常以改进的B₅培养基居多。至于培养基的组成成分和激素浓度对曼地亚红豆杉悬浮细胞的影响报道较少,但对东北红豆杉及欧洲红豆杉的研究较多,可以参考。

4.2.2 提高细胞产生紫杉醇的方法:细胞悬浮体系的建立,为大规模工业化生产紫杉醇提供了可能,但紫杉醇产率太低,成为了实现其工业化生产的最大障碍。近年来,各国科学家针对这个问题不断提出了新方法、新技术。主要有以下几种。

(1)诱导子的使用:在植物细胞的培养中引入诱导子一般可以提高次生代谢产物的产量。现常用的有茉莉酸、茉莉酸甲酯、毒莠定、花生四烯酸、硫代硫酸银等。Baebler等^[21]在继代培养7 d后的曼地亚红豆杉悬浮细胞中加入100 mmol/L的茉莉酸,细胞中和培养基中的紫杉烷类的量有很

大的提高,其中最高时紫杉烷的量是未加诱导子时细胞中的19倍。Mercedes等^[22]向曼地亚红豆杉悬浮细胞中分别加入花生四烯酸、茉莉酸甲酯、硫酸银,发现茉莉酸甲酯可以使巴卡亭Ⅲ、10-去乙酰紫杉醇、紫杉醇分别增加到3倍、5倍、12倍。而硫酸银和花生四烯酸则可以使10-去乙酰巴卡亭Ⅲ及三尖杉宁碱分别增加到40倍和4倍。

(2)前体的饲喂:依据细胞合成紫杉醇的代谢途径,向培养基中加入前体物,可促进紫杉醇的合成。常用的前体物有苯丙氨酸、N-苯甲酰甘氨酸和甲羟戊酸等。Chen等^[23]在细胞悬浮培养开始时,向其中加入1.0 mmol/L或2.0 mmol/L苯丙氨酸,在第28天时向其中加入73.0 mmol/L蔗糖和173.3 mol/L甘露醇,则可明显促进细胞生长,并且与对照比,紫杉醇产量提高了9~10倍,巴卡亭Ⅲ提高了2.5~3.0倍,10-去乙酰巴卡亭Ⅲ提高了7倍。

(3)培养策略的改进:细胞的快速生长与紫杉醇的大量合成并不同步,而这两个过程所需培养条件也不一致,因此,有人提出了两步培养法,就是将培养细胞的生长培养基和生产培养基分开。Tabata^[24]用两步法大规模培养曼地亚红豆杉细胞时,紫杉醇的最高产量可达295 mg/L。另外,由于紫杉醇具有疏水性质,且影响细胞本身的活性,采用双液相法可减少紫杉醇对胞内代谢的反馈抑制作用,从而提高紫杉醇的产量。

5 紫杉醇生物合成相关基因的克隆及表达

随着分子生物学技术的不断发展及紫杉醇生物合成途径的逐步阐明,越来越多的关键酶和相关酶基因被克隆,并进行了重组和功能表达,为利用基因工程方法对曼地亚红豆杉进行分子水平的改造,获得高紫杉醇产量的植株奠定了基础。

Kai等^[25]从曼地亚红豆杉的嫩叶中克隆了一个在紫杉醇合成过程中催化乙酰化反应第一步的紫杉二烯-5α-醇-乙酰基转运酶基因(*TmTAT*)的cDNA全长。并对其进行了组织表达定位和系统进化分析。Kai等^[26]还从曼地亚红豆杉的嫩叶中克隆了编码紫杉二烯合酶(该酶在紫杉醇生物合成途径的第一个定向反应步骤中起催化作用)的cDNA全长,并对其进行了一系列的实验和分析,结果表明该基因是组织表达特异性基因,与欧洲红豆杉的亲缘关系最近,且受诱导子的影响比较大。

牻牛儿苗牻牛儿苗基焦磷酸(GGPP)是紫杉醇合成过程中的一个关键前体。为研究牻牛儿苗基焦磷酸合成酶(GGPPS)在紫杉醇合成过程中的作用,Liao等^[27]从曼地亚红豆杉中获得了GGPPS基因(*TmGGPPS*)的cDNA全长。并将该基因在没有GGPPS活性的酵母突变株(SFNY368)中表达,结果表明*TmGGPPS*是功能基因。用茉莉酸甲酯处理曼地亚红豆杉悬浮培养细胞可提高*TmGGPPS*的表达。10-去乙酰巴卡亭Ⅲ-10-O-乙酰基转移酶(DBAT)是将10-去乙酰巴卡亭Ⅲ催化成巴卡亭Ⅲ的一种酶。Guo等^[28]从曼地亚红豆杉中分离克隆到编码该酶基因(*TmDBAT*)的cDNA全长,并将*TmDBAT*在大肠杆菌中异源表达,表明其是一个功能基因。组织表达定位分析显示该基因是一个组织表达

特异性基因。用不同诱导子处理悬浮培养的曼地亚红豆杉细胞后,分析 *TmDBAT* 的表达量,结果表明该基因是一个诱导子响应基因;并结合其实验室以前的研究^[25,26],认为在远古的裸子植物当中,紫杉醇合成途径是高度保守的。Jin 等^[29]从曼地亚红豆杉中分离克隆到了 2-甲基赤藓糖-2,4 环二磷酸合成酶(MECS)的基因,系统进化树分析得知该基因比其他植物的 MECSs 要古老。

6 紫杉醇的分离纯化工艺研究

从曼地亚红豆杉中提取纯化紫杉醇时,由于紫杉醇的量极低,且其提取物中含有大量的植物蜡、色素和树脂等杂质,特别是其中共存许多与紫杉醇的分子结构和理化性质极其相近的紫杉烷系列化合物,给紫杉醇的分离纯化工作带来了很大的障碍。为此,国内外的许多学者围绕这个问题开展了大量的工作,取得了一定的进展。

目前,世界上通常的纯化方法都是将液液萃取、色谱分离和重结晶等手段有机结合,并反复多次使用色谱手段。祝顺琴等^[30]通过对曼地亚红豆杉枝叶中紫杉醇的提取进行中试条件探索,结果表明利用 95% 工业酒精作为提取溶剂,在减压回流提取的条件下,每次提取 3 h,重复 4 次即可基本将紫杉醇提取出来,并对上述浸膏进行了一系列的柱色谱研究。采用串联色谱技术将大孔离子交换树脂和氧化铝柱色谱联用可将紫杉醇纯度提高到 72.3%,总回收率为 90.5%,串联柱色谱后经浸渍加成,成功分离了三尖杉宁碱和紫杉醇。利用高速逆流色谱技术,经过一次分离,使紫杉醇量由 5.08% 上升到 85.5%,回收率达到 98.7%,通过脱色和重结晶技术,使紫杉醇的纯度达到 98.5% 以上,总回收率达 94.5%,已符合出口标准。Yang 等^[31]提出了工业制备液相色谱法,并用该方法对南方红豆杉的氯仿粗提物中的紫杉醇进行预纯化,一次上样 5 kg 粗提物,经过 3 次色谱分离,即可获得纯度在 99% 以上的紫杉醇 50 g,紫杉醇的回收率大于 80%,且不浪费有机溶剂。

Jeon 等^[32]认为,对于从植物中提取紫杉醇的前期纯化来说,局部沉淀法是一个简单而有效的方法。该方法^[33,34]所用溶剂最少,但获得的紫杉醇的纯度和产量比较高。经过预纯化之后,再用 HPLC 得到高纯度的紫杉醇时,则只需进行两次 HPLC 分离,第一次是反相 C_{18} 柱分离,第二次是正相硅胶柱分离,即可获得纯度在 99.5% 以上的紫杉醇。据报道,红豆集团的科技人员研制出了一套提炼紫杉醇的新工艺。该工艺采用全株发酵的方式,浓缩液直接经大孔吸附树脂色谱,突破“重复结晶”的传统,只需两次结晶。这项新技术与目前世界常用的技术相比,可降低成本 30%,紫杉醇总收率达到了 85% 以上,而且紫杉醇量达到 99.0% 以上。

7 结语

曼地亚红豆杉作为利用红豆杉树皮提取紫杉醇的最佳替代资源,在多方面的研究已取得可喜成就,这将在一定程度上有效缓解紫杉醇药源短缺的问题。为了促进曼地亚红豆杉产业链的发展,今后对曼地亚红豆杉的研究还可从以下几个方面进一步深入:1)优良品质的筛选和培育;2)稳定高

产细胞系的筛选和低成本培养工艺的开发;3)遗传转化及植株再生体系的进一步研究;4)高效、低成本的紫杉醇提取纯化工艺的开发和完善。总之,这些问题的解决将对曼地亚红豆杉产业链的发展具有重要意义。

References

- [1] Tan F, Pang Y Z, Xiong N X, et al. Introduction, propagation and taxol's accumulation in leaves of *Taxus media* [J]. *J Southwest China Norm Univ: Nat Sci* (西南师范大学学报:自然科学版), 2000, 25(4): 448-451.
- [2] Guy Parc, Aure' lie Canaguier, Pierre Landre', et al. Production of taxoids with biological activity by plants and callus culture from selected *Taxus* genotypes [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59: 725-730.
- [3] Enaksha R M, Wichremesinhe, Arteca R N. Effects of plant growth regulators applied to the roots of hydroponically grown *Taxus media* plants on the production of taxol and related taxanes [J]. *Plant Sci*, 1996, 121: 29-38.
- [4] Wang X, Huang Y, Mort A J, et al. Variation of taxane content in needles of *Taxus media* cultivars with different growth characteristics [J]. *Z Naturforsch*, 2006, 61(9-10): 619-642.
- [5] Xiang D Y, Xie J R, Tan F. The relation between the membrane protective system and semilethal temperature of *Taxus media* leaves as temperature fell [J]. *J Southwest China Norm Univ: Nat Sci* (西南师范大学学报:自然科学版), 2001, 26(4): 452-456.
- [6] Lu Z G, Zhou W J, Zhao C Q, et al. Effect of different light on the leaf cold resistance abilities of *Taxus media* cv. Hicksii [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2003, 23(3): 285-289.
- [7] Lu Z G, Zhou W J, Zhao C Q, et al. Studies on the adaptation of *Taxus media* cv. Hicksii to natural temperature reduction [J]. *Acta Phytoecol Sin* (植物生态学报), 2004, 28(1): 73-77.
- [8] Zhao C Q, Lu Z G, Pang Y Z, et al. Effects of soil water stress on photosynthesis characteristic on *Taxus media* [J]. *J Southwest China Norm Univ: Nat Sci* (西南师范大学学报:自然科学版), 2003, 28(1): 126-129.
- [9] Zhou W J, Lu Z G, Wei S Z. Diurnal variation of transpiration rate of *Taxus media* cv. Hicksii and factor analysis [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2004, 24(4): 425-427.
- [10] Wang J J, Zhou D, Song X Y. Analysis of factors influencing the cutting propagation survival rate of *Taxus media* [J]. *J Zhejiang Forest Coll* (浙江林学院学报), 2004, 21(3): 357-360.
- [11] Xie Z Y, Fang Q C, Zhong J. Introduction, culture of *Taxus media* and study on the rapid stimulator [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(2): 143.
- [12] Liu J H, Wang Y H. Studies of non-tube rapid propagation technology from *Taxus media* [J]. *Wenzhou Agric Sci Technol* (温州农业科技), 2005(3): 31-34.
- [13] Chen Y Y, Peng F, Xia B. Effects of IBA and ABT on rooting of *Taxus media* 'Hicksii' cuttings [J]. *J Plant Resour Envir* (植物资源与环境学报), 2005, 14(3): 61-62.
- [14] Ma J. Study on rapid propagation technique system of *Taxus media* cv. Hicksii [A]. *Dissertation of Master Degree of Sichuan Agricultural University* (四川农业大学硕士论文) [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2006.
- [15] He B Z, Lin Y Z, He G R, et al. In vitro culture and plantlet regeneration of *Mandipia yew* (*Taxus chinensis* var. *mandipia*) [J]. *J Fujian Agric Forest Univ: Nat Sci* (福建农林大学学报:自然科学版), 2003, 32(4): 482-485.
- [16] Gibson D M, Ketchum R E B, Vance N C, et al. Initiation and growth of cell lines of *Taxus brevifolia* (Pacific yew) [J]. *Plant Cell Rep*, 1993, 12: 479-482.
- [17] Baebler S, Hren M, Camloh M, et al. Establishment of cell suspension cultures of yew (*Taxus media* Rehd.) and assessment of their genomic stability [J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 2005, 41: 338-343.
- [18] Ma J, Ma M D, Zhou Y J. Callus induction of *Taxus media* [J]. *Forest Sci Technol* (林业科技), 2006, 31(1): 12-14.
- [19] Sheng C Z, Wang S F, Wang N N, et al. Preliminary studies on decreasing browning in *T. chinensis* var. *mairiei* tissue cultures [J]. *Acta Sci Nat Univ Nankaiensis* (南开大学学报)

- 报: 自然科学), 2001, 34(4): 120-122.
- [20] Hu K, Zhu S Q, Tan F, *et al.* Studies on callus induction of *Taxus media* and darkening inhibition in callus subculture [J]. *J Southwest China Norm Univ, Nat Sci* (西南师范大学学报: 自然科学版), 2004, 29(4): 659-663.
- [21] Baebler S, Camloh M, Kovac M, *et al.* Jasmonic acid stimulates taxane production in cell suspension culture of yew (*Taxus media*) [J]. *Planta Med*, 2002, 68(5): 475-480.
- [22] Bonfill M, Palazon J, Rosa M, *et al.* Influence of elicitors on taxane production and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in *Taxus media* cells [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2003, 41: 91-96.
- [23] Chen Y, Wu Y, Hu Q, *et al.* Effects of phenylalanine, sucrose and mannitol on the growth and production of taxol, baccatin III and 10-deacetyl baccatin III in suspension cells of *Taxus media* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1998, 33(2): 132-138.
- [24] Tabata H. Paclitaxel production by plant-cell-culture technology [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2004, 87: 1-23.
- [25] Kai G Y, Miao Z Q, Qiu C X, *et al.* Molecular cloning and characterization of a taxadienol acetyl transferase cDNA from *Taxus media* [J]. *Plant Sci*, 2004, 167(4): 759-764.
- [26] Kai G, Zhao L, Zhang L, *et al.* Characterization and expression profile analysis of a new cDNA encoding taxadiene synthase from *Taxus media* [J]. *J Biochem Mol Biol*, 2005, 38(6): 668-675.
- [27] Liao Z H, Gong Y F, Kai G Y, *et al.* An intron-free methyl jasmonate inducible geranylgeranyl diphosphate synthase gene from *Taxus media* and its functional identification in yeast [J]. *Mol Biol*, 2005, 39(1): 11-17.
- [28] Guo B H, Kai G Y, Gong Y F, *et al.* Molecular cloning and heterologous expression of a 10-deacetyl baccatin III-10-O-acetyl transferase cDNA from *Taxus media* [J]. *Mol Biol Rep*, 2007, 34(2): 89-95.
- [29] Jin H, Gong Y, Guo B, *et al.* Isolation and characterization of a 2C-methyl-D-erythritol 2, 4-cyclodiphosphate synthase gene from *Taxus media* [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2006, 40(6): 1013-1033.
- [30] Zhu S Q. Studies on the dynamic change on taxol content in branches of *Taxus media* and technology of extraction and purification of taxol [A]. *Dissertation of Master Degree of Southwest Normal University* (西南师范大学硕士论文) [D]. Chongqing: Southwest Normal University, 2005.
- [31] Yang X F, Liu K L, Xie M. Purification of taxol by industrial preparative liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1998, 813(1): 201-204.
- [32] Jeon S I, Mun S Y, Kim J H. Optimal temperature control in fractional precipitation for paclitaxel pre-purification [J]. *Process Biochem*, 2006, 41(2): 276-280.
- [33] Kim J H, Kang I S, Choi H K, *et al.* A novel prepurification for paclitaxel from plant cell cultures [J]. *Process Biochem*, 2002, 37: 679-682.
- [34] Pyo S H, Park H B, Song B Y, *et al.* A large-scale purification of paclitaxel from cell cultures of *Taxus chinensis* [J]. *Process Biochem*, 2004, 39(12): 1985-1991.

蜂胶对糖脂代谢的调节作用及机制研究进展

李雅晶¹, 胡福良^{2*}, 陈民利³

(1. 浙江经贸职业技术学院, 浙江 杭州 310018; 2. 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310029;

3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

摘 要: 蜂胶具有广泛的生物学活性和药理学活性。论述了蜂胶对高脂血症及糖尿病的防治作用及调节糖、脂代谢的作用机制, 以期对蜂胶在高脂血症及糖尿病防治领域的进一步研究和开发利用提供参

关键词: 蜂胶; 糖代谢; 脂代谢; 糖尿病; 高脂血症

中图分类号: R286.72; R286.73

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)10-1593-04

Advances in studies on regulation effects and mechanisms of propolis on glycometabolism and lipid metabolism

LI Ya-jing¹, HU Fu-liang², CHEN Min-li³

(1. Zhejiang College of Economic & Trade Polytechnic, Hangzhou 310018, China; 2. College of Animal Science,

Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 3. Zhejiang University

of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

Key words: propolis; glycometabolism; lipid metabolism; diabetes; hyperlipidemia

蜂胶(propolis)是蜜蜂从植物幼芽及树干上采集树脂, 并混入其上腺分泌物、蜂蜡和少量花粉经咀嚼加工而成的一种具有芳香气味的固体胶状物。蜂胶中含有丰富的活性成分, 如多酚黄酮类化合物、芳香酸及芳香酯、醛及酮类化合

物、萜类化合物、甾体化合物、烃类化合物等^[1]。蜂胶具有抗菌消炎、抗病毒、抗肿瘤、促进组织再生、降血糖、调节血脂、抗氧化等药理作用^[2]。随着生活水平的提高和饮食结构的变化, 肥胖、糖尿病、高脂血症等疾病的发病率逐年增高, 成为

收稿日期: 2006-12-22

基金项目: 浙江省重大科技攻关资助项目(2003C12021)

作者简介: 李雅晶(1980—), 女, 浙江省金华市人, 营养与食品卫生学硕士, 从事食物中有效成分的营养学研究。

Tel: (0571)86929768 E-mail: jcyly@163.com

* 通讯作者 胡福良 Tel/Fax: (0571)86971952 E-mail: flhu@zju.edu.cn