

- stereochemistry of pseudolarolide E, a novel nortriterpene lactone from *Pseudolarix kaempferi* [J]. J Nat Prod, 1990, 53(10): 1113-1114.
- [10] Chen G F, Li Zh L, Pan De Ji. The isolation and structural elucidation of four novel triterpene lactones, pseudolarolides A, B, C and D, from *Pseudolarix kaempferi* [J]. J Nat Prod, 1993, 56(7): 1114-1122.
- [11] 马忠武,何关福,印万芳,等. 中国特有植物银杉树干的中性三萜成分研究 [J]. 植物学报, 1981, 23(4): 317-321.
- [12] 高桥三雄,伊藤德三,水谷昭彦. Chemical constituents of the plants of coniferae and allid orders. XXXIV. Studies on the structure of distichin and the components of Taxodiaceae plants, *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng and Others [J]. 药学杂志 (日), 1960, 80(11): 1557-1559; Constituents of plants of coniferae and allid orders. XLIII. Distribution of flavonoids and stilbenoids *Coniferae* leaves [J]. 药学杂志 (日), 1960, 80(10): 1488-1490.
- [13] 张君增,方起程,梁晓天. 中国特有植物白豆杉化学成分的研究 [J]. 植物学报, 1996, 38(5): 399-405.
- [14] 邱运平,陈秀珍,全德建,等. 具杉中黄酮苷的研究简报 [J]. 中草药, 1981, 12(2): 7.
- [15] Gadek P A, Quinn C J. Biflavones of taxodiaceae [J]. Biochem System Ecol, 1989, 17(5): 365-372.
- [16] Li Xing-Cong, Elsohly H N. Two auronols from *Pseudolarix amabilis* [J]. J Nat Prod, 1999, 62(5): 767-769.
- [17] Takasugi M, Katui N. A biphenyl phytoalexin from *Cercidiphyllum japonicum* [J]. Phytochemistry, 1986, 25(12): 2751-2752.
- [18] 高桥孝悦,荻山弘一. Phenols of discolored sugi (*Cryptomeriz japonica* D. Don) sapwood II [J]. 木材学会志, 1985, 31(1): 28-38.
- [19] Masahiro T, Kohji S. Antimicrobial compound from *Cercidiphyllum japonicum* [J]. Phytochemistry, 1991, 30(4): 1119-1120.
- [20] Nonaka G, Ishimatsu M, Ageta M. Tannins and related compounds. isolation and characterization of cercidinins A and B and cuspinin, unusual 2, 3-(R)-hexahydroxydiphenyl glucoses from *Cercidiphyllum japonicum* and *Castanopsis cuspidata* var. sieboldii [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37, (1): 50-53.
- [21] Peter G, Waterman T, Alexander I. Chemotaxonomic significance of coumarins to the monotypic genus *Psilopeganum* [J]. Biochem System Ecol, 1988, 16(3): 291-292.
- [22] Zhang F X, Wang Z H, Pan W D, et al. A study on the antitumor plant *Cephalotaxus oliveri* Mast. [J]. Chin Wu Hsueh Pao, 1978, 20(2): 129-134.
- [23] 王成章,沈兆邦,陈祥. 落叶松和水杉针叶的聚萜烯醇 [J]. 植物资源与环境, 1996, 5(4): 21-25.
- [24] van Duk B B, van der Plas-de Wus A C, Ruijgrok H W L. Cyanogenesis Bei Den Gymnospermen [J]. Phytochemistry, 1974, 13 159-160.
- [25] Munehiro N, Koichiro A, Ko S, et al. Metaseol, A symmetrical diphenylmethane from *Metasequoia glyptostroboides* [J]. Phytochemistry, 1991, 30(3): 1034-1036.
- [26] Erguang Li, Alice M, Clark T. Antifungal evaluation of pseudolaric acid B, A major constituent of pseudolarix kaempferi [J]. J Nat Prod, 1995, 58, (1): 57.
- [27] 王伟成,陆蓉发,赵世权,等. 土荆皮甲酸和乙酸抗早孕作用和毒性的比较 [J]. 中国药理学报, 1999, 9(5): 445-448.
- [28] 中国医学科学院药物研究所药理室. 三尖杉酯碱的抗肿瘤作用及药理学研究 [J]. 中草药通讯, 1976, 28(4): 28-31.
- [29] 孙南君,薛智,梁晓天,等. 新抗癌有效成分海南粗榧内酯 (Hainanolide) 结构的研究 [J]. 药科学报, 1979, 14(1): 39-43.
- [30] 陈冲,罗思齐. 10-乙酰基果糖-5-磷酸的新药源研究 [J]. 中国医药工业杂志, 1997, 28(8): 375-376.
- [31] 应俊生. 中国植物区系的特有现象、特有属的研究 [J]. 植物分类学报, 1984, 22(4): 251-268.
- [32] Astafford H, Lester H H. Proanthocyanidins in needles from six genera of the Taxodiaceae [J]. J Bot, 1986, 73(11): 1555-1562.

生物技术在长春花研究中的应用

陈敏,廖志华,孙敏,罗学

(西南师范大学生命科学学院,四川 重庆 400715)

摘要: 长春花为重要的抗癌药用植物,对细胞组织培养、Ti和Ri质粒遗传转化等生物技术在长春花研究中的应用作一综述,并对长春花的开发利用和长春花生物碱的工业化生产存在问题和前景作了分析。

关键词: 长春花;生物技术;应用

中图分类号: Q813; R282.7 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0078-04

Application of biotechnology in studies of *Catharanthus roseus*

CHEN Min, LIAO Zhi-hua, SUN Min, LUO Xue

(Faculty of Life Science, Southwest Normal University, Chongqing Sichuan 400715, China)

Key words *Catharanthus roseus* (L.) G. Don; biotechnology; application

收稿日期: 2000-04-26 修回日期: 2000-06-07

基金项目: 重庆市科委攻关项目 (985067)

作者简介: 陈敏 (1975-), 女, 贵州省贵阳市人, 现于西南师范大学生命科学学院攻读硕士研究生。从事药用植物基因工程及其次生代谢产物获得方面的研究, 先后在核心期刊发表学术论文 10余篇, 其中《发根农杆菌对甘薯的遗传转化》获四川省细胞生物学会、四川省、重庆市人类遗传学会青年优秀科技论文奖。Tel (023) 68254061 E-mail mmincher@netease.com

长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 是夹竹桃科 (Apocynaceae) 长春花属一种重要的药用植物,它含有长春碱 (vinblastine)、长春新碱 (vindristine)、阿吗碱 (ajmalicine)、蛇根碱 (serpentine)、文朵灵碱 (vindoline)、洛克定碱、洛克辛碱等 100 多种吲哚生物碱,多数具有生物活性。其中长春碱和长春新碱是目前应用最广泛的天然植物抗肿瘤药物,可用于治疗何杰金氏病、恶性淋巴瘤等疾病,其硫酸盐已广泛用于临床^[1]。目前主要从天然植物中提取长春碱和长春新碱,但是它们在植物体中的含量极其微小,仅为百分之几至十万分之几,化学合成和半合成也不太理想。为了更有效地生产长春花生物碱,科学工作者正致力于将生物技术应用于长春花的研究与开发。笔者就长春花的组织培养、细胞培养、遗传转化的研究进展作一综述。

1 组织培养及细胞工程

长春花吲哚生物碱生物合成途径有两条^[2]: 莽草酸途径和甲羟戊酸途径。由莽草酸途径来的色胺和甲羟戊酸途径经多步反应生成的裂环马钱子苷 (secologanin) 在异胡豆苷 (strictosine) 合成酶 (SSS) 催化下偶合成吲哚生物碱的共同前体异胡豆苷。异胡豆苷经不同的途径生成文多灵、长春质碱或阿吗碱等。

1.1 利用组织培养生产次级代谢产物: 元英进等^[3]将 1 L 固体愈伤组织培养基的剩余培养基作为附加成分加入 1 L 改进的 SH 培养基 A 中,形成含剩余培养基的愈伤组织培养基 B,培养基 B 上的愈伤组织生长速度比 A 上的快,并积累更多的生物碱。前人认为植物细胞生长与产物积累呈负相关,而元英进等利用剩余培养基所得结果呈正相关。赵剑^[4]等诱导长春花愈伤组织的过程中,叶片中含量较高的文多灵和长春质碱迅速降解至极低水平,而在叶片中含量较低的蛇根碱和阿吗碱的合成却逐渐增加。Goswami 等人^[5]用秋水仙素处理长春花形成同源四倍体,产生 4 种基因型,四倍体植株较二倍体母体叶干物质减少。所有四倍体中的生物碱含量都比二倍体母本有下降趋势。

1.2 利用细胞工程生产次级代谢产物: 虽然至今尚未从长春花培养细胞中直接得到长春碱和长春新碱,但可以得到一种单体生物碱长春质碱,所以 Endo 等人将细胞培养得来的长春质碱与另外一种单体生物碱文朵灵在长春花无细胞提取液的作用下转化成 3',4'-去羟基长春碱,再在无细胞提取液的催化下转化成长春碱^[6],因此长春花细胞大规模培养可行。1977 年长春花细胞首次在气升式反应器中大规模培养成功,1981 年规模达 100 L,1987 年搅拌反应器中培养规模已达 5 000 L^[7]。

1.3 影响因素: 组织培养及细胞生长和生物碱的合成受内部机制与外部环境共同调控,培养基组成、光、温度、pH 值、外源激素、前体物质、诱导子和通气状况、流变学特征、培养方式等都有影响。大规模培养的细胞生物碱产量往往很低^[8],Drapeau 等人认为是接种时带进 2,4-D 所致^[9],而郑珍贵等用激素自养型细胞培养得到的产量依然很低,认为是细胞密度大、氧气及营养供应不足所致^[10]。

1.3.1 培养条件的影响

(1) 初始糖浓度^[10]: 一定范围内初始糖浓度增加有利于细胞生长和生物碱生成。郑珍贵等认为初始糖浓度对细胞干重影响非常大,这是由于高浓度蔗糖不能很快被耗尽,且由于渗透压较大,对其他离子的利用速度也减慢,细胞干重持续增加,直至某些必需离子缺乏为止。同时他们认为一定范围内改变 pH 值 (4~7) 对生物碱生成没有显著影响。

(2) 光照对愈伤组织培养的影响: 在后指数期光强对细胞生长有些影响,而对生物碱含量无明显影响;以白光为基准,蓝光对细胞生长和生物碱积累均有促进作用,红光、黄光影响程度在白光之下,绿光有抑制作用^[11]。一般认为光对阿吗碱、蛇根碱比值具有调节作用。郑珍贵等^[10]认为光照显著减少了阿吗碱生成量,但光照时间对阿吗碱含量和释放量影响不大,每天光照 12 h 比 24 h 生成的蛇根碱多^[12],而阿吗碱正相反^[10]。

(3) 通气状况^[12]: 体积氧传递系数和通气速率能明显地影响细胞生长。Smart 等人^[23]在 4 L 的气升式反应器中培养长春花细胞,生物量浓度和 K_L 呈线性关系,但当 K_{LA} 大于 25 h 时,生物量浓度和次生代谢产物率均明显下降,通气速率的变化也是如此。溶解氧浓度 (DO) 与生物碱产率关系十分密切,Schlatmann^[13]等人在 15 L 搅拌式反应器中高密度培养长春花细胞时,发现当 DO 小于 29% 时,阿吗碱产率小于 $0.06 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{d})$,DO 大于 43% 时,阿吗碱产率恒为 $0.21 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{d})$,而当 DO 在 29% 与 43% 之间时,DO 与阿吗碱产量显著相关。

(4) 化学物质对生物碱生成的影响: 杨玉敏^[14]等用 EDTA 处理长春花细胞系,处于生长后期的细胞比处于指数期的细胞对外界刺激敏感,易得到更多的释放量,且处理的浓度与时间对产物没有显著影响;用甲壳素处理,浓度较低时 (小于 0.25 g/L) 有利于产物释放;氮酮处理,浓度在 0.03% 即足以促进胞内产物释放。

(5) 激素对组织分化和生物碱生成的影响: 杨玉敏^[15]等用正交实验法研究不同浓度 6-BA、NAA 和间苯三酚对长春花细胞分化的影响,获得高分化率的最优配比为: 6-BA 7.0 mg/L , NAA 0.5 mg/L , 间苯三酚 $1.0 \sim 5.0 \text{ mg/L}$ 。赵剑^[4]等在诱导长春花愈伤组织的过程中使用不同种类和水平的激素对生物碱的合成影响较大,发现 2,4-D 显著抑制生物碱合成。

1.3.2 前体物质的添加: 适度添加生物合成中的前体物质可以提高次生代谢物的产量。Whitme 等人^[16]将裂环马钱子苷 (secologanin) 添加到带有 STRcDNA 的转基因细胞系 S_{10} 的培养物中,在低 TDC 情况下,色胺合成速率高,只要有少量色胺存在即可提高裂环马钱子苷合成速率。色胺促进吲哚碱的合成,前体物质供应不足影响 STR 的催化作用。

1.3.3 诱导子的应用: Claudine 等人^[17]用低浓度腐霉菌 *pythium* 培养产生的诱导子处理长春花悬浮细胞,发现可以刺激生物碱的产生,诱导子与生物碱合成可能存在一种长期效应。Gregorio^[18]等人用 PC2500 感染长春花得到的肿瘤细胞进行液体培养,在得到的细胞悬浮系中分别加入不同浓度 ($0.5 \sim 2.0 \text{ mmol/L}$) 的诱导子乙酰水杨酸 (ASA), 1 mmol/L ASA 促使总碱含量增加 5.05 倍,总酚含量增加 15.78 倍,呋喃香豆素类增加 14.76 倍。ASA 与匀浆的曲霉素及反肉桂酸联用并未显著提高次生代谢产物含量。王淑芳^[19]研究了 6 种不同来源的诱导子对培养了 15 d 的长春花冠瘿瘤细胞次级代谢产物的刺激效果,发现均不同程度地促进了细胞总吲哚生物碱的积累。其中在 100 mL 细胞培养液中加入 5 mL 大丽花轮枝孢菌制备的诱导子效果最好。此外,用二乙氨基二氯苯酰、5-氮胞苷、真菌多糖、甘露醇等物质作为诱导子也有报道。可见诱导子在很多情况下不仅能提高某些次生代谢产物的产量,有时有的还能产生新的化合物。

1.3.4 培养技术的改进: 植物细胞大规模培养^[12]主要有悬

浮培养与固定化培养,悬浮培养又分为批式培养、饲喂批式培养、半连续培养、二步培养和连续培养。采用的反应器有搅拌式、气升式、气泡柱式、流化柱式、旋转柱式和生物膜式等。

从大规模生产考虑,目前最经济的培养方式为批式培养^[20],连续培养工艺较复杂,固定化细胞培养需要将产物排放到培养物中,因而目前大规模生产还有一定难度。Asada等人在研究中发现,用固定化反应器连续培养次生产物,贮存在液泡中的长春花细胞生产次生代谢物是可行的^[21]。

Nuutila^[22]等人比较了 3 种类型的生物反应器,在喷气式 (air-sparged) 反应器中长春花发根生长和吲哚生物碱合成均最好,在搅拌式和基质环流 (medium circulation) 反应器中发根不能生长。植物细胞膜固定培养中,细胞层厚度 7~8 mm 时生产能力可达到较高水平,孔径为 80 μ m 的不锈钢丝是适合的固定长春花细胞膜材料,压力脉冲是促进胞内生物碱释放的有效手段^[23]。

2 遗传转化工程

遗传转化是利用重组 DNA 组织培养或种质系统转化等技术将外源基因导入植物细胞或组织中获得转基因植物的技术。根癌农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 的 Ti 质粒和发根农杆菌 *A. rhizogens* 的 Ri 质粒含有控制生长素合成所必需的 DNA 片段,用 Ti 质粒和 Ri 质粒感染培养组成或细胞,获得自身能够合生长素的转化体,它们在没有任何外源激素的培养中也能正常增殖,并且是已分化、具有组织特异性的组织。

2.1 Ti 质粒转化:王宁宁等人^[24]用根癌农杆菌 C₈转化长春花愈伤组织获得冠瘿组织。实验表明,冠瘿组织中阿吗碱的最高含量是愈伤组织的 2.6 倍。得到的冠瘿组织在相同培养条件下与处于最佳生长条件下的愈伤组织相比,在细胞产量、总吲哚生物碱含量和药用成分阿吗碱含量等方面都有很强的优势。

Hallard 等人^[25]将长春花编码色氨酸脱羧酶 (TDC) 和异胡豆苷合酶 (STR) 的 cDNA 用 CaMV 35S RNA 启动子转入烟草中,并进行悬浮培养,一个生长周期内,转基因烟草细胞 TDC (色氨酸脱羧酶) 活力基本不变。STR 活力提高 2~6 倍,未转化烟草中不能检测到酶活力。饲喂裂环马钱子苷后,转化物中积累了异胡豆苷,表明 TDC 与 STR 这两种由 T-DNA 编码的酶能单独起作用。用色胺与裂环马钱子苷联合饲喂能增强这种作用。STR 活力不能在培养基中检测到,说明裂环马钱子苷的作用及异胡豆苷的合成都在细胞内进行。编码酶的 cDNA 的克隆转化技术的快速发展,为次生代谢产物的生产提供了更多的可能性和更广泛的空间。

2.2 Ri 质粒转化:用发根农杆菌侵染植物使 Ri 质粒的 T-DNA 整合到植物的基因组中,诱发被感染植物的受伤部位长出毛状根 (hairy root),利用毛状根筛选有利的变异性质的克隆以提高次生代谢物的含量。Parr 等人^[26]通过 HPLC 及放射免疫检测到长春花毛状根中含有长春碱,但其含量相当低,仅有 0.05 μ g/g dw。也有报道认为长春花毛状根不能合成长春碱,如 Toivonen 等人^[27]用 15834 R1000 等 6 种菌株感染长春花,从感染的长春花根中筛选出 47 个无性系,没有一个检测到长春碱。1998 年 Moreno^[28]将无激素的

Phillips & Collins 液体培养基中的微量元素增加 5 倍得到脱分化细胞,于 B5 培养基上得到再分化根,将根分离培养于与原根相同条件下,脱分化根的吲哚生物碱含量下降 5 倍,而再分化根又回到原来水平。目前发根农杆菌诱导产生的长春花发根培养物中含有文朵灵、长春花碱和阿吗碱,而

且检测到 DAT 酶活性。Parr 等人^[28]等转化长春花得到的发根培养物在 28 d 的生长期,发根质量增加了 320 倍,并合成了高产量的吲哚生物碱,包括阿吗碱、文多灵和长春质碱。Moreno 等人^[28]研究了无机盐成分对发根生长与长春花碱积累的影响,发现硝酸盐对发根生长和长春花碱生成均有利,铵和磷酸盐则产生相反作用,硼酸盐和钼盐对发根生长和长春质碱生成均有抑制作用,碘化钾硫酸盐和铁盐没有太大的影响。因此关于 Ri 质粒转化技术生产长春花生物碱,还有待于科技工作者进一步研究。

3 展望

目前利用细胞工程和遗传工程等生物技术在改良长春花品质、提高生物碱含量等方面取得了一些成绩。但是细胞培养单位产出成本高,高密度培养时生物碱含量降低,细胞培养不能产生吲哚生物碱二聚体长春碱和长春新碱,甚至不能产生它们的前体之一文朵灵;利用遗传转化技术获得的转化体中尚未得到可用于工业化生产的高产株系。随着培养技术的不断改进和设计出更合理的反应器,以及将控制长春碱、长春新碱、文多灵合成的关键酶基因克隆出来并转化成功,不久的将来,得到高产的长春花植株或细胞株一定会成为现实。

参考文献:

- [1] 季宇彬. 中药有效成分药理与应用 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995.
- [2] 赵 剑, 朱蔚华. 长春花生物碱生物合成途径和相关酶及其基因调控的研究进展 [J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 60-68.
- [3] 元英进, 胡宗定. 剩余培养基对长春花愈伤组织和细胞培养的影响 [J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(3): 185-187.
- [4] 赵 剑, 朱蔚华, 胡 秋, 等. 长春花叶片中愈伤组织诱导及培养过程中生物碱合成类型的变化调节及有关酶的分析 [J]. 中草药, 1999, 30(7): 533-538.
- [5] Goswami R, Tyagi B R, Rain A, et al. Colchicine induced auto-tetraploids in periwinkle *Catharanthus roseus* [J]. J. Medicinal Aromatic Plant Sci, 1996, 18(1): 38-45.
- [6] Endo T, Goodbody A, Vukovic J, et al. Biotransformation of anhydrovinblastine to vinblastine by a cell-free extract of *Catharanthus roseus* cell suspension cultures [J]. Phytochemistry, 1987, 26: 3233-3234.
- [7] 陈士云, 候嵩生. 植物细胞培养生产抗癌药物研究进展 [J]. 天然产物开发与研究, 1993, 5(1): 61-65.
- [8] Schlattmann J E, Moreno P R H, Ten Hoopen H J G, et al. Effect of oxygen and nutrient limitation on ajmalicine production and related enzyme activities in high density cultures of *Catharanthus roseus* [J]. Biotechnol Bioeng, 1994, 44(4): 461-468.
- [9] Drapeau D, Blanch H W, Wilke C R. Ajmalicine, serpentine and catharanthine accumulation in *Catharanthus roseus* bioreactor cultures [J]. Planta Med, 1987, 53: 373-376.
- [10] 郑珍贵, 缪 红, 杨文杰, 等. 营养和环境因子对长春花激素自养型细胞生长和阿吗碱生成的影响 [J]. 植物学报, 1999, 41(2): 184-189.
- [11] 元英进, 胡宗定. 光强和单色光对长春花愈伤组织培养的影响 [J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(6): 471-473.
- [12] 郑珍贵, 刘 涤, 胡之璧. 长春花细胞大规模培养生产生物碱的研究现状 [J]. 国外医药·植物药分册, 1996, 11(5): 204-208.
- [13] Schlattmann J E, Koolhasas C M A, Vinke J L, et al. The role of glucose in ajmalicine production by *Catharanthus roseus* cell cultures [J]. Biotechnol Bioeng, 1995, 47(5): 525-534.
- [14] 杨玉敏, 元英进, 胡宗定. 化学法研究长春花细胞内产物释放行为 [J]. 天然产物开发与研究, 1996, 8(2): 1-7.

- [15] 杨玉敏,元英进,胡宗定. 正交实验法优化长春花分化培养基[J]. 天然产物开发与研究, 1993, 5(3): 34-47.
- [16] Whitte Srape, Camilo Canel, Didier Hallard, *et al.* Influence of precursor availability on alkaloid accumulation by transgenic cell line of *Catharanthus roseus* [J]. Plant Physiology (Rockville), 1998, 116(2): 853-857.
- [17] Claudine N C, Marie-France P, Pierr T, *et al.* Long term effect of a pythium elicitor treatment on the growth and alkaloid production of *Catharanthus roseus* cell suspension [J]. Planta Med, 1994, 60(2): 149-152.
- [18] Gregorio Godoy-Hernandez, Victor M. Effect of acetylsalicylic acid on secondary metabolism of *Catharanthus roseus* tumor suspension cultures [J]. Plant Cell Reports Plant Cell Reports, 1997, 16: 287-290.
- [19] 王淑芳,王宁宁,王 勇,等. Elicitor对长春花冠瘿细胞次级代谢的影响[J]. 南开大学学报(自然科学版), 1996, 29(1): 107-109.
- [20] Verpoorte R, Van der Heijden R, Schripsema J, *et al.* Plant biotechnology for the production of alkaloids: present status and prospects [J]. J Nat Prod, 1993, 56(2): 186-207.
- [21] Asada M. Ajmalicine production with cultured *Catharanthus roseus* cells: Stimulation of productivity by enhanced release of metabolites from cells [J]. Seibutsu-Kogaku Kaishi, 1994, 72(6): 473-479.
- [22] Nuutila A, Toivonen L, Kauppinen V. Bioreactor studies on hairy root cultures of *Catharanthus roseus*: Comparison of three bioreactor types [J]. Biotechnol Techniques, 1994, 8(1): 61-64.
- [23] 袁其朋,元英进,胡宗定. 植物细胞膜固定化培养及产物释放行为研究[J]. 中草药, 1996, 27(5): 271-274.
- [24] 王宁宁,王淑芳,田俊英,等. 土壤农杆菌转化的长春花冠瘿细胞培养[J]. 生物工程学报, 1994, 10(3): 244-239.
- [25] Hallard D, Van der Heijden R, Verpoorte R, *et al.* Suspension cultured transgenic cells of nicotiana tabacum expressing tryptophan decarboxylase and strictosidine synthase cDNAs from *Catharanthus roseus* produce strictosidine upon secologanin feeding [J]. Plant Cell Reports, 1997, 17: 50-54.
- [26] Parr A J, Peertess, Hamill J D, *et al.* Alkaloid production by transformed root culture of *Catharanthus roseus* [J]. Plant Cell Rep, 1988, 7: 309-312.
- [27] Toivonen L, Balsevich J, Kurz W G W. Indole alkaloid production by hairy root cultures of *Catharanthus roseus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1989, 18: 79-94.
- [28] Moreno O A, Valenzuela, Galaz-Avalos R M, *et al.* Effect of differentiation on the regulation of indole alkaloid production in *Catharanthus roseus* hairy roots [J]. Plant Cell Reports, 1998, 18: 99-104.

硬胶囊封口技术的应用

王春龙¹,石 宁²,张志北³,史金星⁴

(1. 天津药物研究院,天津 300193; 2. 西安美辰制药有限责任公司,陕西 西安 710043; 3. 天津南华制药有限公司,天津 300452; 4. 山西省医药物资供销公司,山西 太原 030012)

摘要: 结合笔者的工作介绍了硬胶囊的封口技术,分析了影响硬胶囊剂内装药物稳定性的外界因素及解决办法;对硬胶囊封口技术在提高药物稳定性、防止假冒和保证挥发性药物质量等方面的应用进行了综述,认为该技术不仅在已生产品种上具有重要的应用价值,而且在新药研究与开发中也会有深远的意义。

关键词: 硬胶囊;稳定性;封口技术

中图分类号: R944. 5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0081-03

Application of sealing technique in hard gelatin capsule

WANG Chun-long¹; SHI Ning²; ZHANG Zhi-bei³; SHI Jin-xing⁴

(1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Xi'an Meichen Pharmaceutical CO., Ltd.; 3. Tianjin Nanhua Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300452, China; 4. Shanxi Supply and Marketing Corporation of Medicinal Goods and Materials, Taiyuan Shanxi 030012, China)

Key words hard gelatin capsules; stability; sealing technique

硬胶囊剂是口服给药的重要剂型之一,在我国已有数十年的生产、应用历史。到目前为止,在我国药用胶囊的生产上,还一直没有从根本上解决对灌装药物后的胶囊进行封口这一难题。国家药品监督管理局“每季度的药品抽检通报”显示,我国药品经营中有一些不合格品种,其中胶囊剂含量、水

分超标和泄漏等问题仍是影响胶囊剂药品质量的重要因素。同时,药品市场也有一定的胶囊剂假冒伪劣产品,使患者用药缺乏安全感。近几十年,在加拿大和美国先后就发生了由于罪犯分子向市售的某胶囊内混入氰化物,导致患者服用后中毒死亡的故事。因此,近几年来,硬胶囊封口技术已受到

② 收稿日期: 2000-08-17

作者简介: 王春龙(1960-),男,辽宁省鞍山市人,1983年毕业于沈阳药学院,现任天津药物研究院制剂研究室副主任,副研究员。研究方向: 药物缓控释制剂、靶向制剂、微粒制剂、中药制剂现代化、药物制剂应用技术等。
Tel (022)23006880; 23006879(传真) E-mail: chunlongwang@263.net