· 药材与资源 ·

白桦植株中三萜前体及不同三萜分支产物积累特征

苏 欣[1]，尹 静[1]，孙建广[1]，詹亚光[1,2*]，马泓思[1]，王 艳[1]，梁 甜[1]

1. 东北林业大学生命科学学院，黑龙江 哈尔滨 150040
2. 东北林业大学林学院林木遗传育种国家重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要：目的 以三年生白桦为试材，研究白桦植株中三萜合成前体及其三萜组分积累变化，并对白桦植株中三萜组分积累消长特征进行分析。**方法** 利用高效液相色谱仪及紫外分光光度计对白桦枝皮和叶进行总三萜、白桦脂醇和黄酮等 8 种成分检测。**结果** 白桦植株枝皮和叶中三萜物质各组分积累特征显著不同。在生长季节（5～9 月）枝皮中 2, 3-氧化角鲨烯、白桦脂酸、白桦脂醇、齐墩果酸、达玛烯二醇、固醇及总三萜积累高峰基本为 7～9 月，其中 2, 3-氧化角鲨烯量较低，最高为 0.067 mg/g（7 月），白桦脂酸量达 8.34 mg/g，而齐墩果酸量高达 37.51 mg/g（9 月）；达玛烯二醇量最高为 14.18 mg/g，总三萜量达 168.17 mg/g（7 月）。叶中总三萜量为 8 月份较高，达 126.11 mg/g，而 2, 3-氧化角鲨烯、白桦脂醇和齐墩果酸量均极低，甚至未能检测到。枝皮和叶片中黄酮积累高峰分别为 5 月和 8 月，其中 2 个月份质量分数分别为 53.02 mg/g 和 58.49 mg/g。消长分析表明，白桦枝皮和叶中三萜组分积累与总三萜积累规律不相吻合，枝皮总三萜、达玛烯二醇、齐墩果酸、白桦脂酸呈 S 型曲线，白桦脂醇积累呈倒“V”曲线，且黄酮积累与总三萜积累趋势相反。叶中总三萜和黄酮物质积累趋势相近，达玛烯二醇和 2, 3-氧化角鲨烯积累趋势相近。**结论** 明确了三年生白桦枝条和叶片中三萜及黄酮物质积累、分布特征，为白桦枝条皮和叶中三萜资源的挖掘、可持续利用及代谢调控奠定了基础。

关键词：白桦; 次生代谢；总三萜；黄酮类；达玛烯二醇；齐墩果酸；白桦脂酸；积累特征

中图分类号：R282.2 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2013)24 - 3534 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.020

Accumulative characteristics of triterpenoid precursor and different triterpenoid branch products in *Betula platyphylla*

SU Xin[1], YIN Jing[1], SUN Jian-guang[1], ZHAN Ya-guang[1,2], MA Hong-si[1], WANG Yan[1], LIANG Tian[1]

1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China
2. Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology of Nation, Harbin 150040, China

Abstract: Objective Using three-year-old birch (*Betula platyphylla*) as the experimental material to study the changes of the accumulation of triterpenoid precursor and triterpenoid components in birch, and to analyze the fluctuation characteristics of triterpenoid component accumulation. **Methods** Eight compositions, such as the total triterpene, betulin, flavonoids, etc in twig barks and leaves, were analyzed by HPLC and UV spectrophotometer. **Results** The accumulative characteristics of each component in triterpenoid substances was significantly different between the twig barks and leaves. During the growing seasons (May—September), the accumulation of 2, 3-oxidized squalene, betulinic acid, betulin, oleanolic acid, dammarenediol, sterol, and total triterpene reached the peak in July—September. Among these, 2, 3-oxidized squalene had a lower content and its highest content was 0.067 mg/g in July. The content of betulinic acid was 8.34 mg/g, while the content of oleanolic acid reached 37.51 mg/g in September. The highest content of dammarenediol was 14.18 mg/g and the total triterpene content was 168.17 mg/g in July. The higher concentration of total triterpene in the leaves was 126.11 mg/g in August, while the contents of 2, 3-oxidized squalene, betulin, and oleanolic acid were very low and not detected. The accumulated peaks of flavonoids in twig barks and leaves were 53.02 and 58.49 mg/g, respectively in May and August. The fluctuation analysis showed that the accumulation of triterpenoid components did not coincide with that of total triterpene in twig barks and leaves,. The total triterpene, dammarenediol, oleanolic acid, and betulinic acid showed the S-shaped curve in twig barks, and the accumulation of betulin showed the inverted “V” curve, the while trend of flavonoid accumulation was contrary to the total triterpene. The trend of the total triterpene accumulation was similar to that of flavonoids,

收稿日期：2013-08-08

基金项目：国家自然基金资助项目（31070531，31200428）；黑龙江省自然基金资助项目（C201110）；哈尔滨市青年创新基金项目（2012RFQXN007）

作者简介：苏 欣（1988—），女，吉林长春人，在读硕士研究生，主要研究方向为植物细胞工程。Tel: 18304625760 E-mail: sx2007031041@126.com

***通信作者** 詹亚光 Tel: (0451)82191752 E-mail: yaguangzhan@126.com

while the trends of dammarenediol and 2, 3-oxidized squalene accumulation were similar. **Conclusion** This research identifies the accumulation and distribution characteristics of triterpenoid and flavonoids in the twig barks and leaves of three-year-old birch, and lays the foundation for triterpenoid resources discovering, sustainable use, and metabolic regulation in twig barks and leaves of birch.

Key words: *Betula platyphylla* Suk.; secondary metabolism; total triterpenoid; flavonoids; dammarenediol; oleanolic acid; betulinic; accumulative characteristics

白桦 *Betula platyphylla* Suk.是我国东北地区多种地带性植被的先锋树种，因其植被量大，生长迅速，适应性强，材质优良，成为了一种重要的经济树种。近年来研究发现白桦树叶和树皮中均含有重要的次生代谢产物五环三萜，包括羽扇烷结构的白桦脂醇、白桦脂酸，齐墩果烷结构的齐墩果酸，达玛烷结构的达玛烯二醇等[1-2]。其中白桦脂醇和白桦脂酸具有抗 HIV 病毒及多种肿瘤的作用，而齐墩果酸和达玛烷物质也具有抗菌、调血脂、利胆和保肝等作用，且高效低毒，日本带畜大学与运营十胜千年森林的农业生产公司共同开发来自白桦树叶提取液的化妆品已于 2010 年 5 月在日本上市，该类产品具有保湿和抗过敏功效，可见作为极具开发潜力的药物、化妆品和保健品[3-6]，白桦资源具有广阔的应用前景。

目前关于白桦三萜物质药理活性、成分提取、化学合成及利用白桦悬浮细胞培养进行三萜物质的生产已见报道，其中本实验室前期也对白桦细胞培养过程中环境条件、营养代谢及激素组合对三萜物质积累进行了大量的研究，并取得显著进展[7-11]，但由于利用细胞培养仍存在低产和稳定性问题，因此导致三萜物质的药用成分来源主要是白桦植株。以往研究多集中在白桦树皮中的三萜来源[12-16]，然而树皮中虽三萜丰富，但依靠砍伐树木和剥皮的方式不利于树木资源的可持续利用。在进行白桦树木利用的过程中，如能充分利用白桦树叶和枝条中各种三萜成分，在不伤害植株主干的条件下，进行白桦促萌枝条和树叶的收割以及提取各种三萜物质，用来进行相关药物和保健品的开发利用，具有重要意义。本研究系统地研究了三年生白桦枝条和树叶中三萜组分及黄酮类物质的动态积累及其消长关系，以期实现白桦资源的可持续利用，为白桦药用成分合成调控提供重要的依据。

1 材料

白桦幼树选自东北林业大学帽儿山实验基地的三年生植株，由东北林业大学生命科学学院詹亚光教授鉴定，于 2012 年 5 月 14 日开始取样，此后每隔 30 d 取样 1 次，每处理重复 3～5 株，共取样 5 次。分别将叶片、茎外皮和枝皮烘干粉碎、供白桦总三萜及其组分的测定。

白桦脂醇、白桦脂酸、齐墩果酸、达玛烯二醇、2, 3-氧化角鲨烯、β-谷甾醇、芦丁对照品均购于中国食品药品检定研究院。

2 方法

2.1 三萜样品的制备及检测

白桦总三萜样品制备及检测参考李春晓等[11]方法进行。

2.2 白桦脂醇、白桦脂酸、齐墩果酸样品的制备及检测

白桦脂醇、白桦脂酸、齐墩果酸样品制备及检测参考任春林等[9]方法进行。

2.3 2, 3-氧化角鲨烯样品的制备及检测

2.3.1 样品制备 精确称取 0.4 g 样品于 50 mL 离心管中，加 20 mL 甲醇-氯仿（2∶1），静置提取 30 min，滤过，残渣再用 20 mL 氯仿提取 30 min，滤过，2 次滤液合并，用恒温水浴锅 65 ℃蒸干，用 4 mL 色谱乙腈溶解，超声 40 min，过 0.45 μm 滤膜，即得供试品溶液。

2.3.2 样品测定 2, 3-氧化角鲨烯样品溶液以高效液相色谱仪进行测定[17]。色谱条件：Waters 公司 600-717-2487 色谱系统，HiQ sil C_{18} V 色谱柱（250 mm×4.6 mm，3 μm），流动相为 100%乙腈，检测波长 195 nm，体积流量 1.5 mL/min，进样量 20 μL，柱温 25 ℃。2, 3-氧化角鲨烯量计算依据线性回归方程：Y=0.017 5 X−2 108.6，相关系数 r=0.999 9（式中 X 为色谱峰峰面积，Y 为样品质量浓度 ng/mL）。

2.4 达玛烯二醇样品的制备及检测

2.4.1 样品制备 精确称取 0.5 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 的丙酮，摇匀静置过夜，超声 40 min，滤过，将滤液 60 ℃恒温水浴蒸干，用 2 mL 色谱乙腈溶解，过 0.45 μm 滤膜，即得供试品溶液。

2.4.2 样品测定 达玛烯二醇以高效液相色谱仪进行测定[18]。色谱条件：Waters 公司 600-717-2487 色谱系统，HiQ sil C_{18} V 色谱柱（250 mm×4.6 mm，3 μm），

流动相为乙腈-水（9∶1），检测波长 202 nm，体积流量 1.0 mL/min，进样量 20 μL，柱温 25 ℃。达玛烯二醇量计算依据线性回归方程：Y＝0.001 1 X－25.593，相关系数 R^2＝0.998 3（式中 X 为液相色谱检测峰面积，Y 为样品质量浓度 μg/mL）。

2.5 黄酮样品的制备及检测

2.5.1 供试品溶液的制备 精确称取 0.1 g 样品于 50 mL 的三角瓶中，加入 20 mL 50%乙醇，密封好后超声提取 90 min，过滤并定容至 25 mL 备用。

2.5.2 样品测定 黄酮以紫外分光光度法测定。精密移取待检测样品 4 mL 至于 25 mL 量瓶中，加 5%亚硝酸钠溶液 1 mL，摇匀静置 6 min，再加入 10%硝酸铝溶液 1 mL，摇匀静置 6 min，加 4%氢氧化钠 10 mL，并用 50%乙醇定容至刻度，摇匀静置 15 min，同时以试剂为空白对照，于 550 nm 下检测吸光度（A）值。黄酮量计算依据线性回归方程：Y＝0.087 5 X＋0.000 2，相关系数 R^2＝0.999 7（式中 X 为 A 值，Y 为样品质量浓度 mg/mL）。

3 结果与分析

3.1 白桦植株中总三萜及其组分积累变化特征

分析表明，5～7 月份白桦枝皮中总三萜质量分数逐渐增加，8、9 月份时质量分数又略有降低，其中 7 月份总三萜量最高达 168.17 mg/g，比 5 月份高 51.34%。6～8 月份白桦叶中总三萜量逐渐增加，9 月份有所下降，其中 8 月份总三萜量最高达 126.11 mg/g，比 5 月份高 66.68%。

5～7 月份枝皮中白桦脂醇量逐渐增加，8、9 月份时质量分数又迅速降低，其中 7 月份白桦脂醇质量分数最高达 36.03 mg/g，比 9 月份高 11.84 倍，叶片中白桦脂醇质量分数很低，甚至未检测到。

5～9 月份白桦枝皮中白桦脂酸质量分数逐渐增加，9 月份时质量分数最高，为 8.34 mg/g，比最低质量分数 5 月份高 15.89 倍。叶中白桦脂酸质量分数 6～8 月质量分数较高，6 月份时质量分数最高，为 3.72 mg/g，比 9 月（0.18 mg/g）高 20.26 倍（图 1）。

分析表明，5～9 月份枝皮中齐墩果酸质量分数逐渐增加，9 月时质量分数为 37.51 mg/g，比 5 月份高 13.29 倍，叶片中齐墩果酸质量分数很低，甚至未检测到。

5～8 月份枝皮中达玛烯二醇质量分数逐渐增加，9 月份有所降低，其中 8 月份达玛烯二醇质量分数最高，为 14.18 mg/g，比 5 月份（最低质量分数）高 19.65 倍。6～9 月份叶片中均可检测到达玛烯二醇的质量分数，但积累高峰出现在 7 月份，质量分数为 12.54 mg/g，为 9 月份的 19.04 倍。6 月份未检测到叶片中 2, 3-氧化角鲨烯积累，而 7～9 月

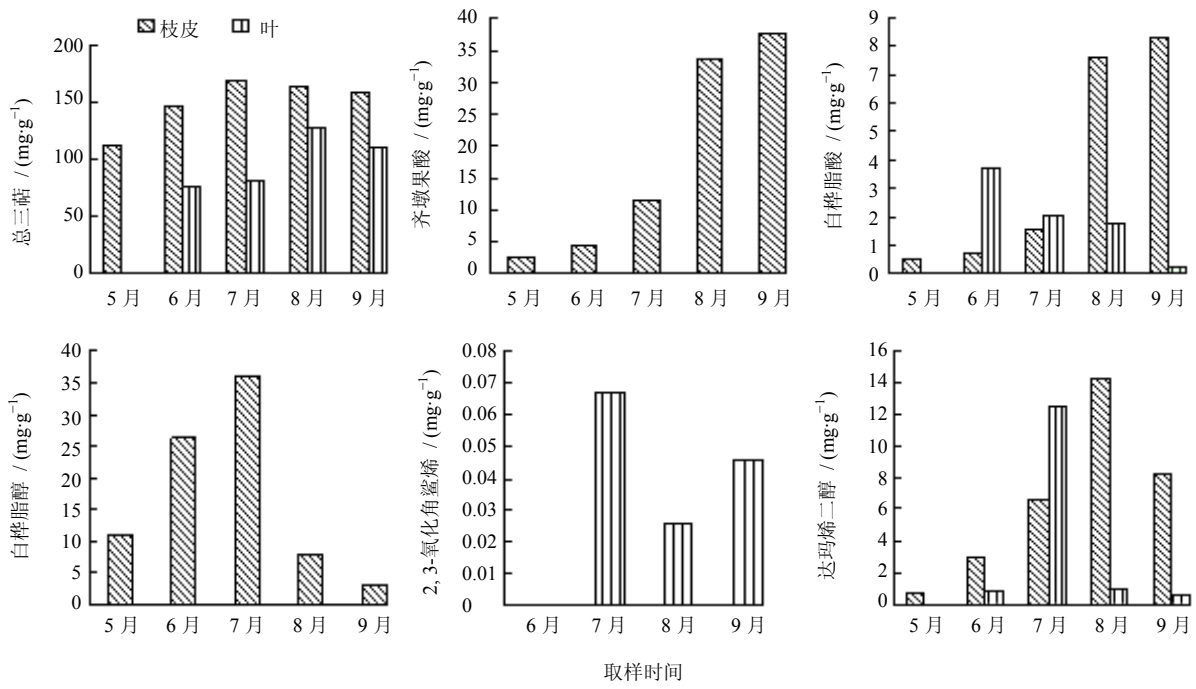

图 1 白桦植株中总三萜及其组分质量分数变化

Fig. 1 Changes of contents of total triterpenoids and its components in birch

均有积累，其中 7 月份质量分数最高，达 0.067 mg/g，为 8 月份的 1.63 倍。但 2, 3-氧化角鲨烯整体质量分数都很低，可能由于其为合成三萜各组分（齐墩果酸、白桦脂酸、达玛烯二醇等）的共同前体，其在叶中合成后主要供应下游产物的合成，因此积累较少（图 1）。

3.2 白桦植株中黄酮积累的变化

分析表明，5～8 月份枝皮中黄酮质量分数逐渐降低，9 月份略有升高，其中 5 月份黄酮质量分数最高，为 53.02 mg/g，比 8 月份高 1.63 倍。6～8 月份叶中黄酮质量分数逐渐增加，9 月份有所降低，其中 8 月份黄酮质量分数最高，达 58.49 mg/g，比 6 月份高 83.77%（图 2）。

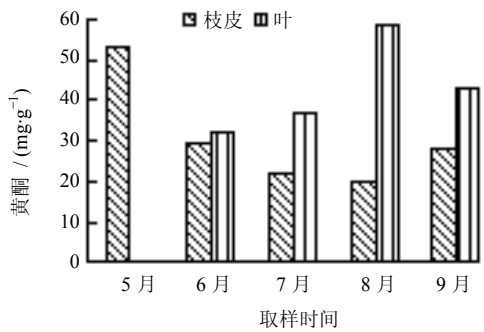

图 2 白桦枝皮和叶中黄酮的质量分数变化

Fig. 2 Changes of contents of flavonoids in twig barks and leaves

3.3 白桦枝皮中次生代谢产物质量分数消长分析

白桦枝皮中次生代谢产物质量分数消长分析结果表明，枝皮中不同三萜物质及组分积累存在显著差异，总三萜、达玛烯二醇、齐墩果酸、白桦脂酸均呈 S 型曲线，即各组分质量分数逐渐增加到达高峰，然后趋于平稳或下降，不同的是 3 种物质积累峰值时间和积累速率不同，仅总三萜积累峰值在 7 月，而后三种物质积累峰值出现在 8 月。白桦脂醇积累呈倒“V”曲线，积累峰值出现在 7 月。这一点与白桦脂醇在茎皮中积累规律一致[19]。而枝皮中黄酮质量分数积累与总三萜积累趋势相反，即 5～9 月份枝皮中黄酮呈降低趋势，见图 3。

与枝皮中不同的是，叶中总三萜和黄酮物质均 6～8 月份不断积累，并于 8 月份达高峰，此后下降。叶中达玛烯二醇和 2, 3-氧化角鲨烯积累趋势相近，即 6～7 月为快速积累期，于 7 月份达峰值，此后降低。白桦脂酸质量分数 6～9 月呈降低趋势。综述分析表明，不管是白桦叶片还是枝条的采集应主要集

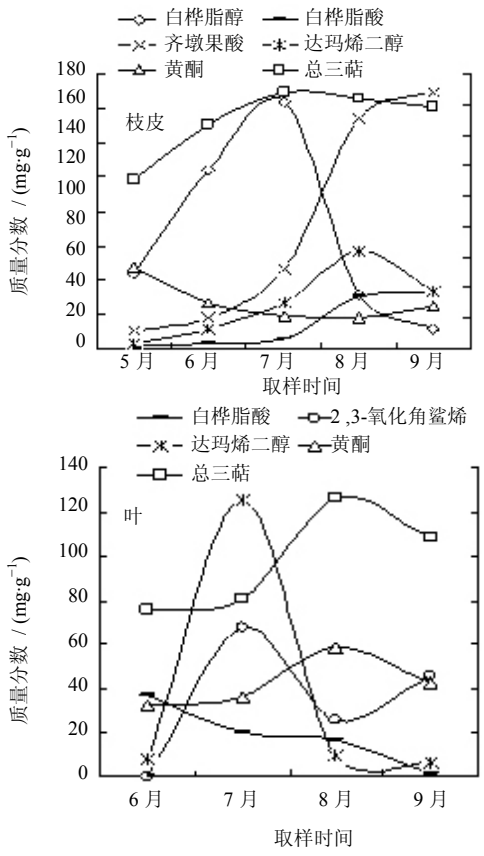

图 3 白桦枝皮和叶中次生代谢产物质量分数消长分析

Fig. 3 Fluctuation analysis of contents of secondary metabolites in twig barks and leaves

中在 7～8 月份，此时生长旺盛，枝叶繁茂，次生物质积累也更为丰富。

4 讨论

三萜类代谢产物的一个主要特征是具有组织特异性，而这些化合物在某一植物体内的不同器官、组织、细胞或细胞器中质量分数差异大[20]。刘萍等[21]对夏枯草研究发现，总黄酮、熊果酸、齐墩果酸、迷迭香酸和咖啡酸在夏枯草根、茎、叶和花中均有分布，但质量分数不同，总黄酮在叶中质量分数最高，齐墩果酸在根中质量分数最高，熊果酸、迷迭香酸和咖啡酸在花中质量分数最高。范桂枝等[12]以 13 种八年生白桦为试材，研究不同部位及种源间白桦脂醇质量分数的结果表明，在白桦不同部位的质量分数分布差异显著，依次分别为：外皮＞枝皮＞内皮＞芽＞叶＞根＞花粉；13 种八年生白桦种源树皮内白桦脂醇的干品质量分数为 132.45～257.11 mg/g，且种源间差异呈极显著水平，并认为白桦脂醇的质量分数属于基因与环境互作的表现性状。李春晓等[11]研究结果表明，一年半生白桦幼树植株中总三萜主要分

布在茎皮和叶片，平均质量分数分别为 71.94 mg/g 和 81.60 mg/g，根皮中最低，平均为 25.45 mg/g。叶片中总三萜积累高峰出现在 6、7 月份；茎皮和根皮中总三萜积累高峰分别出现在 8 月和 7 月。水分、氮肥和茉莉酸甲酯（MeJA）处理对白桦三萜物质积累具有重要的影响。Yin 等[19]以不同树龄白桦植株为试材，研究白桦幼树生长过程中白桦脂醇和齐墩果酸在白桦树体中的分布特征和时空变化模式，研究结果表明，一年生白桦植株具有白桦脂醇和齐墩果酸三萜的合成能力，三萜物质主要积累于茎皮部，积累高峰为 7 月末期～8 月末期，根皮和叶片中质量分数均很低，甚至不能被检测到，且 2 种物质积累显著受季节和环境因子调控，这一点与本研究结果类似，即在白桦树叶中未能检测到齐墩果酸和白桦脂醇。本研究首次系统地对三年生白桦枝条和树叶中各种三萜物质，包括三萜合成前体 2, 3-氧化角鲨烯及三萜组分白桦脂酸、齐墩果酸、达玛烯二醇及黄酮进行检测，研究结果表明，白桦植株枝皮和叶中三萜物质各组分积累特征显著不同。在生长季节枝皮中 2, 3-氧化角鲨烯、白桦脂酸、白桦脂醇、齐墩果酸、达玛烯二醇及总三萜积累高峰基本为 7～9 月，白桦脂酸的质量分数达 8.34 mg/g，而齐墩果酸质量分数高达 37.51 mg/g（9 月）；达玛烯二醇质量分数最高为 14.18 mg/g，总三萜质量分数达 168.17 mg/g（7 月）。叶中总三萜质量分数为 8 月份较高，达 126.11 mg/g，枝皮和叶片中黄酮积累高峰分别为 5 月和 8 月，其中 2 个月份质量分数分别为 53.02 和 58.49 mg/g。消长分析结果进一步明确了上述不同物质在白桦枝条和叶中分布和积累特征，确定了在进行白桦叶片和枝条的采集应主要集中在 7～8 月份。

三萜化合物是通过 MVA 途径，以 2, 3-氧化角鲨烯为共同的三萜前体，由不同的三萜合酶，其中包括 *LUS*、*DS*、*CAS*、β-*AS* 和多功能三萜合酶作用下合成的。一些三萜合成酶能催化生成若干种三萜产物，这种多功能的三萜合成酶是植物中多种三萜组分和类型同时存在的根本原因。三萜合成酶是受三萜合酶基因控制的，有表达的时空特异性，在特定的细胞和组织中表达，并受到独立的调控，这与生物合成关键酶的定位密切相关[22]。Hiroaki 等[20]发现，甘草中甘草皂苷（齐墩果烷类三萜皂角苷）是植物根中产生的，仅在增厚的根和匍匐枝的木质部合成，大豆皂苷（齐墩果烷类三萜皂苷）大体分布在甘草的种子和枝根中。甘草中的白桦脂酸主要分布在粗根的软木层。干草悬浮培养细胞不具备生产甘草皂苷的能力，但能够产生甾醇类、大豆皂苷和白桦脂酸三萜化合物。这种现象与其相应的组织中的三萜基因表达是相吻合的。Yin 等[19]在生长季节内，白桦叶片中 *LUS* 和 β-*AS* 表达量较低；茎皮中 β-*AS*、*LUS* 基因在 7 月末～9 月末表达量较高；根中 β-*AS* 基因表现在 7 月末和 10 月末表达量较高，*LUS* 基因在 8 月表达量最高，根中 *CAS*1 基因在 8 月末出现高峰，但整体表达量较低。三萜基因的表达同三萜成分的积累和分布类似，显著受季节的调控。本研究中不同三萜物质在白桦枝条和叶中分布和积累特征，可能也与其相应基因在树体中的时空表达特征有关，有待进一步验证。本研究通过对枝皮和叶中次生产物的消长分析可明确白桦脂酸、齐墩果酸、达玛烯二醇这 3 种物质合成趋势一致，共同决定总三萜积累，白桦脂醇占总三萜比例较大，其中白桦枝皮中白桦脂酸质量分数逐月增加，9 月时质量分数达到最高，而白桦脂醇从 7 月到 9 月逐月递减，9 月份到达最低，可能是由于白桦脂醇为白桦脂酸的合成前体，前者逐渐转化成后者所致[1,5,7,19]。在叶中检测出 2, 3-氧化角鲨烯质量分数的积累，而枝皮中未检测到，可能与其在合成的同时便迅速转化成下游不同的三萜组分储存有关，另外叶中虽总三萜质量分数较高，但白桦脂醇和齐墩果酸质量分数极低（甚至未检测到），而本研究中所检测的其他三萜组分如达玛烯二醇、白桦脂酸质量分数均相对较低，这与总三萜的高质量分数不相吻合，暗示还有更为丰富的三萜成分未被分析或检测到。另外，白桦脂醇和齐墩果酸是否在叶中合成，而后转移进入枝皮和茎皮（高质量分数部位），还是以其他形式在枝皮（或茎皮）中合成并积累，尚不清楚。本研究结果可为白桦三萜组分合成、积累、分配的机制及通过 MVA 途径的改造，促使其前体物质向目标产物的转移提供了线索。

参考文献

[1] Zhang H, Shibuya M, Yokota S, *et al*. Oxidosqualene cyclases from cell suspension cultures of *Betula platyphylla* var. *japonica*: molecular evolution of oxidosqualene cyclases in higher plants [J]. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(5): 642-650.

[2] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie R E, *et al*. Anti-AIDS agents, 11. betulinic acid and platanic acid as anti-HIV

principles from *Syzigium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. *J Nat Prod*, 1994, 57(2): 243-247.

[3] Sun I C, Chen C H, Kashiwada Y, *et al*. Anti-AIDS agents 49. synthesis, anti-HIV, and anti-fusion activities of IC9564 analogues based on betulinic acid [J]. *J Med Chem*, 2002, 45(19): 4271-4275.

[4] Zuco V, Supino R, Righetti, S C, *et al*. Selective cytotoxicit of betulinic acid on tumor cell lines but not on normal cells [J]. *Cancer Lett*, 2002, 175(1): 17-25.

[5] Zhukova N A, Semenov D E, Sorokina I V, *et al*. Effect of betulonic acid and its derivative [3-oxo-20(29)-lupene-28-oyl]-3-aminopropionic acid on liver structure in mice with RLS lymphoma [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 140(3): 361-364.

[6] Kovalenko L P, Balakshin V V, Presnova G A, *et al*. Immunotoxicity and allergenic properties of betulin-containing birch bark dry extract [J]. *Pharm Chem J*, 2007, 41(1): 18-20.

[7] 尹 静, 詹亚光, 肖佳雷. 白桦三萜的合成和调控 [J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(5): 520-526.

[8] 翟俏丽, 范桂枝, 詹亚光. 桦树生物技术研究进展 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(4): 93-98.

[9] 任春林, 潘亚婕, 尹 静, 等. 水杨酸对白桦悬浮细胞中齐墩果酸积累及防御酶活性的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 972-977.

[10] 范桂枝, 翟俏丽, 于海娣, 等. 白桦细胞悬浮培养产三萜及其营养成分消耗的动态 [J]. 林业科学, 2011, 47(1): 62-67.

[11] 李春晓, 尹 静, 詹亚光, 等. 水分、氮肥及 MeJA 处理对白桦三萜积累特性的影响 [J]. 西北植物学报, 2012, 32(1): 155-161.

[12] 范桂枝, 詹亚光, 王 博, 等. 白桦不同部位及种源间白桦酯醇含量的差异分析 [J]. 林产化学与工业, 2007, 27(4): 103-106.

[13] Yoshiki K, Michiko S, Kimihisa Y, *et al*. Triterpenoids from the floral spikes of *Betula platyphylla* var. *japonica* and their reversing activity against multidrug-resistant cancer cells [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(4): 623-627.

[14] Zhao G L, Yan W D, Cao D. Simultaneous determination of betulin and betulinic acid in white birch bark using RP-HPLC [J]. *J Pharm Biom Anal*, 2007, 43(3): 959-962.

[15] 李 岩, 金雄杰, 谢湘林, 等. 白桦三萜类物质抗黑色素瘤 B16, S180 肉瘤作用及其机制的实验研究 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(3): 279-281.

[16] 张 泽, 孙 宏. 高效液相色谱法测定白桦树皮中白桦酯醇的含量 [J]. 林产化学与工业, 2004, 24(1): 61-63.

[17] 陈全斌, 程忠泉, 杨建香, 等. 罗汉果种仁油中角鲨烯的高效液相色谱分析 [J]. 广西科学, 2006, 13(2): 118-120.

[18] 徐立新. MeJA 对人参 DS 基因表达的影响及 DS 在酵母中的表达 [D]. 长春: 吉林大学, 2011.

[19] Yin J, Ren C L, Zhan Y G, *et al*. Distribution and expression characteristics of triterpenoids and OSC genes in white birch (*Betula platyphylla* Suk.) [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(3): 2321-2328.

[20] Hiroaki H, Pengyu H, Satoko T, *et al*. Differential expression of three oxidosqualene cyclase mRNAs in *Glycyrrhiza glabra* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(7): 1086-1092.

[21] 刘 萍, 袁保刚, 尹丹丹, 等. 夏枯草不同器官主要药用成分积累规律 [J]. 西北农业学报, 2010, 19(10): 137-140.

[22] Lange B M, Wildung M R, Stauber E J, *et al*. Probing essential oil biosynthesis and secretion by functional evaluation of expressed sequence tags from mint glandular trichomes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(6): 2934-2939.