

不同产地及生长年限曼地亚红豆杉中 10-脱乙酰基巴卡亭 III、三尖杉宁碱、紫杉醇量的比较分析

马生军¹, 刘建慧², 马留纯¹, 王 颖³, 曹雪琴⁴, 罗建民⁴

1. 新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆 乌鲁木齐 830052

2. 浙江丽水市农业科学研究院, 浙江 丽水 323000

3. 澄迈兴达田园农业有限公司, 海南 澄迈 571900

4. 新疆分析测试中心, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: 目的 分析和比较 5 个不同产地、不同生长年限曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类活性成分量的差异。方法 利用甲醇和三氯甲烷混合液超声浸提后再用甲醇溶解得到样品溶液; 通过高效液相色谱法测定和比较 10-脱乙酰基巴卡亭 III (10-DAB III)、三尖杉宁碱和紫杉醇量及 3 者总量。结果 不同产地、不同生长年限的曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类及其总量间存在极显著性差异 ($P < 0.01$); 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇和 3 种紫杉烷类总量相对较高的 3 个产地及生长年限分别依次为 HK4 > SM3 > SM2, ZL3 > HK4 > ZL4, ZL3 > SM2 > HK4, HK4 > ZL3 > ZL6。除 10-DAB III 与三尖杉宁碱量间不存在显著的相关性外, 其余各成分间均存在极显著的正相关关系 ($P < 0.01$); 不同产地及生长年限间紫杉醇与 3 种紫杉烷类总量间呈现出同升同降的趋势; 聚类分析表明福建福州产区紫杉醇量具有一定的特殊性, 而河南开封 3 种紫杉烷类总量有别于其他产区。结论 产地和生长年限对曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类量的变化具有明显的影响, 可以通过对生物合成途径进行调控, 继而达到获得更多紫杉醇原料药的目的。

关键词: 不同产地; 生长年限; 曼地亚红豆杉; 紫杉烷类; 10-脱乙酰基巴卡亭 III; 三尖杉宁碱; 紫杉醇

中图分类号: R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)23-4979-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.23.025

Comparative analysis on contents of 10-deacetyl-bacatin III, cephalomannine, taxol of *Taxus madia* from different habitats and growth years

MA Sheng-jun¹, LIU Jian-hui², MA Liu-chun¹, WANG Ying³, CAO Xue-qin⁴, LUO Jian-min⁴

1. College of Food and Pharmaceutical Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China

2. Lishui Agricultural Research Institute, Lishui 323000, Chian

3. Chengmai Xingda Rural Agricultural Companies, Chengmai 571900, China

4. Xinjiang Autonomous Academy of Instrumental Analysis, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To analysis and compare the content differences of three effective components of taxanes of *Taxus madia* Rehd. from five different habitats and growth years by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). **Methods** The mixed liquor of CH₃OH and CHCl₃ was used for the ultrasonic extraction of 10-deacetyl-bacatin III (10-DAB III), cephalomannine and taxol before being dissolved by CH₃OH to obtain sample solution. By HPLC, the contents of three effective components were performed and compared. **Results** There were extremely significantly differences ($P < 0.01$) among the content of three effective components of taxanes of *Taxus madia* Rehd. from different habitats and growth years. Three different habitats and growth years of 10-DAB III, cephalomannine, taxol, and taxanes that have relative higher total content were HK4 > SM3 > SM2, ZL3 > HK4 > ZL4, ZL3 > SM2 > HK4, HK4 > ZL3 > ZL6, respectively. Except for the contents of 10-DAB III and cephalomannine, there were significant positive correlations among the contents of other components ($P < 0.01$). The contents of taxol would rise or decline when the total contents of three kinds of taxanes rised or declined among different habitats and growth years. The clustering analysis results showed that the contents of taxol have certain peculiarity. In Fuzhou of Fujian, while the total contents of three kinds of taxanes were different from

收稿日期: 2017-05-19

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2016147)

作者简介: 马生军, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事中药材规范化生产及其质量调控机制的研究。

Tel: (0991)8762461 E-mail: wlmqmsj@sina.com

others in Kaifeng of Henan. **Conclusion** Habitants and growth years have a significant impact on the contents change of three effective components of taxanes from *Taxus madia* Rehd.. Therefore, regulation and control of biosynthetic pathway by choosing habitat conditions and harvest years should be considered, in order to obtain more crude drug of taxol in *T. madia*.

Key words: different habitats; growth years; *Taxus madia* Rehd.; taxanes; 10-deacetyl-baccatin III; cephalomannine; taxol

紫杉烷 (taxanes) 是以抗癌药物紫杉醇 (taxol) 为首的具有五甲基十五碳烯骨架的一类二萜类化合物的总称, 其中有些紫杉烷可以作为半合成紫杉醇的原料且具有多方面的药理活性^[1]。作为目前国际市场上公认活性最强的抗癌药物紫杉醇, 由于其资源稀缺、产量极低, 所以来源问题一直备受关注。半化学合成法是当前工业化生产紫杉醇的主要方法, 该法以从红豆杉属 *Taxus* L. 植物中提取的 10-脱乙酰基巴卡亭 III (10-deacetyl-baccatin III, 10-DAB III)、三尖杉宁碱 (cephalomannine) 等紫杉烷类作为前体合成紫杉醇, 使紫杉醇产量得到了很大的提高^[2]。因此, 对不同产地及生长年限红豆杉属植物中 10-DAB III、三尖杉宁碱和紫杉醇 3 种主要的紫杉烷类化合物量进行比较研究, 对获得最佳药源的红豆杉药材具有重要的意义。

作为植物对环境条件适应的物质基础之一, 紫杉烷也是红豆杉属植物中的一类次生代谢物质, 其产生和分布通常表现出明显的种属、生育时期等特异性, 其影响因子包括种和变种、树龄、采集季节等诸多方面, 并随着环境的变化而变化; 因此, 红豆杉属植物中紫杉烷量的测定一直是研究的热点^[3]。曼地亚红豆杉 *Taxus madia* Rehd. 是欧洲红豆杉 *T. baccata* L. 与东北红豆杉 *T. cuspidate* Sieb. et Zucc. 的杂交种, 属红豆杉科红豆杉属, 20 世纪末引入中国, 具有紫杉醇量相对较高、耐修剪

且适应性强等诸多优点, 现已成为提取紫杉醇的首选植物^[4-6]。目前, 有关不同采集时间、不同诱导子、不同栽培类型等对曼地亚红豆杉中紫杉醇量影响的研究已有报道, 而有关环境因子尤其是产地和生长年限对 10-DAB III 和三尖杉宁碱量影响的研究却鲜有报道^[7-9]。本研究采用 HPLC 法对全国 5 个产地不同栽培年限的曼地亚红豆杉样品中 10-DAB III、三尖杉宁碱和紫杉醇 3 种紫杉烷类化合物的量进行了测定, 并对比分析其差异, 继而探讨产地和生长年限对曼地亚红豆杉紫杉烷类积累的影响, 以期栽培和采收曼地亚红豆杉这一珍贵的药用植物资源提供理论支持。

1 仪器与材料

1.1 仪器

DFT-50 型高速万能粉碎机 (温岭市林大机械有限公司); DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); BT 125 型电子天平 (十万分之一, 德国赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司); SPD-10AVP 型 DAD 紫外检测器 (日本岛津公司); LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司)。

1.2 材料

于 2016 年 6 月中旬至 7 月上旬植物生长旺盛期分别在不同产地同一区域采集人工栽培 2~6 年生曼地亚红豆杉植株上无病虫害、生长健康具有代表性的枝条若干。样品采样信息见表 1。

表 1 曼地亚红豆杉样品信息

Table 1 Sample information of *Taxus madia*

样品编号	产地	经度	纬度	海拔/m	采集时间	生长年限/年
LB2~LB6	辽宁本溪	125°15'	41°03'	37	2016-06-15	2~6
HK2~HK6	河南开封	114°10'	34°44'	74	2016-06-17	2~6
ZL2~ZL6	浙江丽水	119°37'	27°45'	870	2016-06-26	2~6
FF2~FF6	福建福州	25°45'	119°38'	800	2016-06-28	2~6
SM2~SM6	四川眉山	102°49'	29°30'	750	2016-07-02	2~6

将采集的样品在烘箱中 60 °C 烘干至恒定质量, 利用高速万能粉碎机将样品粉碎 (过 60 目筛), 待用。对照品 10-DAB III (美国 MCE 公司, 批号 15987)、三尖杉宁碱 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 CJ0708QA14)、紫杉醇 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 T05M7F10533), 质量分数均大于

98%。乙腈 [美国赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 批号 141252], 以上试剂质量分数均 ≥98%。水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法

参照陈立国等^[10]方法并做适当改动进行 3 种紫杉烷类成分的测定。

2.1 色谱条件

Agilent HCC-18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈 (A)-超纯水 (B) 为流动相进行梯度洗脱 (0~15 min, 30%~40%A; 15~30 min, 40%~45%A; 30~50 min, 45%~75%A; 50~60 min, 75%~100%A; 60~70 min, 100%~25%A); 检测波长 227 nm, 进样量 10 μL; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 °C。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

精密称定 3 种对照品粉末适量于 5 mL 量瓶中,

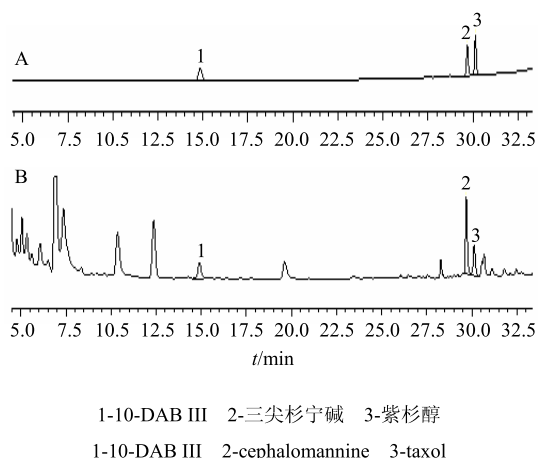


图 1 混合对照品 (A) 和供试品 (B) 色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance (A) and sample of *T. madia* (B)

甲醇溶解并稀释至刻度, 得 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇质量浓度分别为 1.500、3.000、0.840 mg/mL 的对照品溶液。摇匀, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

分别取粉碎的样品 2.0 g, 用甲醇-三氯甲烷 (1:1) 混合液于室温下超声浸提 3 次, 每次浸提 30 min; 合并浸提液, 滤过后真空浓缩, 再用 1 mL 甲醇溶解, 过微孔滤膜, 即得。

2.4 标准曲线的绘制

分别精密吸取混合对照品溶液 1、5、10、13、15、20 μL, 进样测定, 以进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。各对照品的回归方程、相关系数及线性范围见表 2。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取对照品溶液, 连续进样 6 次, 每次进样 10 μL, 按照 “2.1” 项下色谱条件进行测定, 记录保留时间与峰面积。结果 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇峰面积的 RSD 分别为 0.62%、1.01%、0.83%, 保留时间 RSD 小于 1%, 结果表明仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验 取同一供试品溶液, 按 “2.1” 项下色谱条件, 分别于 0、4、8、12、24 h 各进样 1 次, 记录峰面积, 计算质量分数。结果 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇质量分数的 RSD 分别为 1.19%、1.38%、1.41%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

表 2 曼地亚红豆杉药材中 3 种紫杉烷线性回归方程

Table 2 The linear regression equation of three taxanes contents of *T. madia*

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/μg
10-DAB III	$Y=1\,371\,704.746 X+215\,468.893$	0.999 6	1.500~30.000
三尖杉宁碱	$Y=1\,796\,848.741 X+12\,465\,925.830$	0.999 7	3.000~45.000
紫杉醇	$Y=1\,978\,259.054 X+450\,905.022$	0.999 6	0.840~16.800

2.5.3 重复性试验 精密称取同一批次样品适量 5 份, 分别按照 “2.3” 项下方法制备供试品溶液, 按 “2.1” 项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算质量分数。结果 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇质量分数的 RSD 分别为 1.16%、1.12%、1.31%, 结果表明重复性良好。

2.5.4 加样回收率试验 分别取红豆杉样品 5 份, 每份 2 g, 精密称定, 分别精密加入 1 mg/mL 的混合对照品溶液 220 μL, 按 “2.3” 项下方法制备供试品溶液, 按 “2.1” 项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算回收率及 RSD。结果

10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇的平均回收率分别为 96.25%、97.81%、95.78%, RSD 分别为 1.17%、1.12%、1.38%, 表明该方法回收率良好。

2.6 样品测定

每个样品取 3 份, 按照 “2.3” 项下方法制备供试品溶液, 按 “2.1” 项下色谱条件进行测定, 记录峰面积, 计算样品中 10-DAB III、三尖杉宁碱、紫杉醇量。

2.7 数据处理

应用 Excel 进行数据计算与表格绘制, 运用 SPSS 19.0 软件进行相关性、聚类及回归统计分析。

3 结果与分析

3.1 不同产地及生长年限 3 种紫杉烷类成分的比较

不同产地及生长年限曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类成分的量的对比结果见表 3。

根据表 3 方差分析结果可知, 不同产地及生长年限的曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类成分及其总量间存在极显著性差异 ($P < 0.01$)。在所有测定的产地及生长年限中, 10-DAB III 量相对更高的 3 个产地及生长年限依次为 HK4 > SM3 > SM2,

而其量最低的为 FF4, HK4 量是 FF4 的 3.83 倍; 三尖杉宁碱量相对更高的 3 个产地及生长年限依次为 ZL3 > HK4 > ZL4, 而其量最低的为 LB3, ZL3 量是 LB3 的 4.59 倍; 紫杉醇量相对更高的 3 个产地及生长年限依次为 ZL3 > SM2 > HK4, 而其量最低的为 LB2, ZL3 量是 LB2 的 2.17 倍; 3 种紫杉烷类总量相对更高的 3 个产地及生长年限依次为 HK4 > ZL3 > ZL6, 而其量最低的为 LB6, HK4 量是 LB6 的 2.77 倍。

表 3 不同产地及生长年限曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类成分测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Determination of three taxanes of *T. madia* from different habitats and growth years ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品编号	质量分数/%			
	10-DAB III	三尖杉宁碱	紫杉醇	总量
LB2	0.040 1 ± 0.002 1 BCDEF	0.102 0 ± 0.003 9 ABCDE	0.025 3 ± 0.001 5 F	0.167 4 ± 0.007 5 BCD
LB3	0.037 9 ± 0.009 4 CDEFG	0.026 3 ± 0.017 7 G	0.027 2 ± 0.006 0 DEF	0.091 4 ± 0.033 0 E
LB4	0.040 5 ± 0.002 2 BCDEF	0.048 9 ± 0.018 2 FG	0.041 4 ± 0.004 0 ABCDEF	0.130 7 ± 0.024 4 DE
LB5	0.028 3 ± 0.001 3 DEFG	0.033 4 ± 0.014 4 G	0.030 1 ± 0.001 2 CDEF	0.091 8 ± 0.014 3 E
LB6	0.030 7 ± 0.001 3 DEFG	0.032 3 ± 0.009 6 G	0.026 3 ± 0.002 5 EF	0.089 3 ± 0.013 3 E
HK2	0.036 0 ± 0.000 4 DEFG	0.086 3 ± 0.008 3 ABCDE	0.045 4 ± 0.002 4 ABCDE	0.167 7 ± 0.010 4 BCD
HK3	0.025 5 ± 0.000 9 EFG	0.081 2 ± 0.004 7 BCDEF	0.042 2 ± 0.010 0 ABCDEF	0.148 9 ± 0.015 6 BCDE
HK4	0.078 9 ± 0.020 8 A	0.120 3 ± 0.027 0 A	0.047 8 ± 0.016 6 ABC	0.247 1 ± 0.064 4 A
HK5	0.024 7 ± 0.002 5 EFG	0.080 8 ± 0.009 1 BCDEF	0.031 1 ± 0.006 7 BCDEF	0.136 7 ± 0.018 3 DE
HK6	0.034 9 ± 0.003 0 DEFG	0.093 2 ± 0.001 8 ABCDE	0.038 8 ± 0.002 5 ABCDEF	0.166 9 ± 0.007 3 BCD
ZL2	0.034 7 ± 0.003 5 DEFG	0.101 2 ± 0.003 2 ABCDE	0.039 9 ± 0.003 0 ABCDEF	0.175 8 ± 0.009 7 BCD
样品编号	质量分数/%			
	10-DAB III	三尖杉宁碱	紫杉醇	总量
ZL3	0.040 3 ± 0.003 6 BCDEF	0.120 6 ± 0.002 8 A	0.054 8 ± 0.003 0 A	0.215 7 ± 0.009 3 AB
ZL4	0.023 0 ± 0.001 2 EFG	0.116 9 ± 0.007 9 AB	0.040 8 ± 0.002 2 ABCDEF	0.180 7 ± 0.011 2 BCD
ZL5	0.025 4 ± 0.004 3 EFG	0.075 1 ± 0.023 7 DEF	0.027 0 ± 0.007 1 DEF	0.127 4 ± 0.035 1 DE
ZL6	0.046 6 ± 0.001 4 BCD	0.113 5 ± 0.002 4 ABC	0.046 8 ± 0.000 9 ABCD	0.206 8 ± 0.001 9 ABC
FF2	0.022 0 ± 0.000 2 FG	0.105 7 ± 0.002 6 ABCD	0.028 9 ± 0.001 9 CDEF	0.156 6 ± 0.000 4 BCDE
FF3	0.024 1 ± 0.000 4 EFG	0.114 6 ± 0.012 6 AB	0.037 4 ± 0.008 1 ABCDEF	0.176 1 ± 0.021 0 BCD
FF4	0.020 6 ± 0.001 7 G	0.102 9 ± 0.004 3 ABCDE	0.032 6 ± 0.002 5 BCDEF	0.156 1 ± 0.008 5 BCDE
FF5	0.038 7 ± 0.007 3 CDEFG	0.113 2 ± 0.015 6 ABC	0.043 9 ± 0.009 5 ABCDEF	0.195 7 ± 0.032 4 ABCD
FF6	0.039 6 ± 0.008 5 BCDEF	0.111 6 ± 0.001 2 ABC	0.044 7 ± 0.006 1 ABCDEF	0.195 9 ± 0.015 8 ABCD
SM2	0.054 8 ± 0.000 3 BC	0.071 1 ± 0.001 4 CDE	0.050 7 ± 0.000 2 AB	0.176 5 ± 0.002 0 BCD
SM3	0.056 6 ± 0.004 1 B	0.077 6 ± 0.000 9 CDEF	0.040 0 ± 0.002 4 ABCDEF	0.174 1 ± 0.005 6 BCD
SM4	0.030 5 ± 0.004 1 DEFG	0.069 5 ± 0.006 1 DEF	0.041 7 ± 0.005 5 ABCDEF	0.141 7 ± 0.015 8 CDE
SM5	0.040 9 ± 0.002 6 BCDE	0.077 3 ± 0.013 0 CDEF	0.042 1 ± 0.006 3 ABCDEF	0.160 3 ± 0.021 9 BCD
SM6	0.036 0 ± 0.004 3 DEFG	0.067 2 ± 0.001 3 EF	0.042 9 ± 0.007 4 ABCDEF	0.146 1 ± 0.001 8 BCDE

不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)

different capital letters indicate very significances at 1% level

3.2 不同产地及生长年限紫杉烷类成分量间相关性检验

为了更好地说明不同产地及生长年限曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类化合物量及其总量间的相互关系，对其进行相关性分析，结果见表 4。

由表 4 可知，10-DAB III 量与三尖杉宁碱量间不存在显著的相关关系 ($P>0.05$)，但与紫杉醇和 3 种成分总量间存在极显著的正相关关系 ($P<0.01$)；三尖杉宁碱量与紫杉醇和总量间存在极显著的正相关关系 ($P<0.01$)；紫杉醇量与 3 种紫杉烷类总量间亦存在极显著的正相关关系 ($P<0.01$)。

表 4 紫杉烷类量间 Pearson 相关系数
Table 4 Pearson correlation coefficient among the contents of taxanes

指标	10-DAB III	三尖杉宁碱	紫杉醇	总量
10-DAB III	1.000	0.169	0.535**	0.576**
三尖杉宁碱		1.000	0.479**	0.886**
紫杉醇			1.000	0.749**
总量				1.000

**在 0.01 水平上相关性显著 (双尾检测)
**indicate very significances at 1% level (2-tailed)

3.3 不同生长年限曼地亚红豆杉中紫杉烷类线性回归分析

3.3.1 一元线性回归分析 在 SPSS 中进行多元回归分析前必须确定因变量服从正态分布，故首先需对 Y 进行正态性检验，当其显著水平大于 0.05 时，方可进行多元回归分析。

分别以不同生长年限的曼地亚红豆杉枝条为自变量，对应测得各成分质量分数为因变量进行一元线性回归分析，分别得各个成分一元线性回归方程，10-DAB III: $Y=0.039-0.001 X$, $r=0.055$ ($P=0.706$)；三尖杉宁碱: $Y=0.097-0.003 X$, $r=0.135$ ($P=0.351$)；紫杉醇: $Y=0.040+0.001 X$, $r=0.028$ ($P=0.847$)；紫杉烷类总量: $Y=0.175-0.003 X$, $r=-0.122$ ($P=0.399$)。由此可知，各个成分 P 值均大于 0.05，说明在不同生长年限间各成分量间无显著的差异，符合正态分布，可以继续多元线性回归分析。

3.3.2 多元线性回归分析 以紫杉醇量为因变量 (Y)，其他各成分量为自变量 (X_1 、 X_2 、 X_3) 进行多元线性回归分析，其中 X_1 、 X_2 、 X_3 分别代表 10-DAB III 量、三尖杉宁碱量和 3 种紫杉烷类总

量，得回归方程为 $Y=2.563 \times 10^{-7}-1.000 X_1-1.000 X_2+1.000 X_3$ ($P<0.01$)。由此说明紫杉醇量与其他 3 种成分间存在显著的相关关系 (此结果与表 4 分析结果基本一致)，与 10-DAB III 量和三尖杉宁碱量间存在极显著的负相关性，而与 3 种紫杉烷类总量间存在极显著的正相关性；紫杉醇量与总量间表现出同升同降的趋势，即在不同产地及生长年限间 3 种紫杉烷类总量越高紫杉醇量也相应更高。

3.4 不同产地曼地亚红豆杉中主要活性成分聚类分析

鉴于紫杉醇为红豆杉属植物中提取抗癌活性的主要成分，且又属于紫杉烷类化合物，因此选择生长中期曼地亚红豆杉采集样品即 4 年生枝条中紫杉醇和 3 种紫杉烷类总量分别为变量进行聚类分析，结果见图 2。

由图 2 可见，以紫杉醇量为变量，当分类距离为 25 时，可将 5 个产地的曼地亚红豆杉分为 2 类，FF4 单独聚为一类，其余产地聚为一类，这可能与福建属亚热带气候有关。以 3 种紫杉烷类总量为变量，当分类距离为 25 时，可将 5 个产地的曼地亚红豆杉分为 2 类，HK4 单独聚为一类，其余产地聚为一类，这可能与紫杉烷类是一大类物质有关，其他物质对紫杉烷类总量的构成亦有影响。

4 讨论

植物的次生代谢产物是植物在长期进化与环

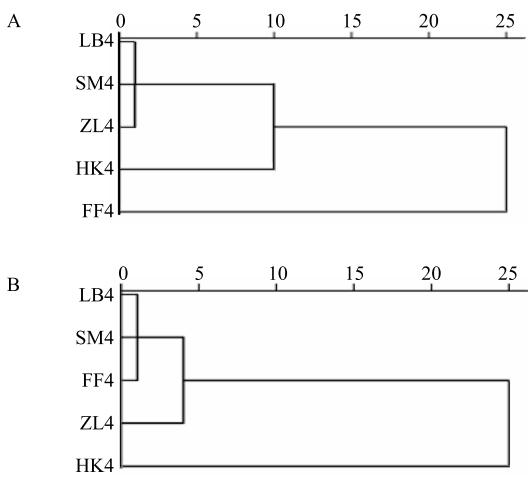


图 2 不同产地曼地亚红豆杉紫杉醇量 (A) 和 3 种紫杉烷类总量 (B) 聚类分析树状图
Fig. 2 Dendrogram of cluster analysis on the contents of taxol (A) and total contents of three taxanes (B) of *T. madia* from different habitats

境相互作用的结果,其量的高低受到各种复杂因子的调控,既包括产地环境、气候、温度、土壤等生态因子,也受采收年限、品种选育等为因子的影响^[11-15]。唐慧勤等^[16]对不同产地、生长期和商品规格的罗汉果药材止咳作用的对比发现,果实生长期和商品规格对罗汉果的止咳作用影响很大。朱慧芳等^[17]对 3 种红豆杉属植物中 3 种紫杉烷类化合物量的检测与分析发现,紫杉烷类化合物总量最高的为东北红豆杉,紫杉醇量最高的为南方红豆杉。王达明等对生长在不同海拔高度的云南红豆杉紫杉烷量的研究发现,其林木枝叶紫杉烷量与海拔高度间存在极显著的相关性^[18]。柏培磊等^[19]对不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇量的比较分析证明,不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇的量差异明显。

本研究通过对不同产地、不同生长年限曼地亚红豆杉中 3 种紫杉烷类量的测定与分析表明,样品中的 3 种紫杉烷类及其总量间存在极显著性差异($P < 0.01$) (表 3),由此说明产地环境和采收年限对紫杉烷类物质的形成和积累具有重要的影响。10-DAB III 量和 3 种紫杉烷类总量最高的均为河南开封地区 4 年生红豆杉枝条,三尖杉宁碱和紫杉醇量最高的均为浙江丽水地区的 3 年生红豆杉枝条,由此表明并非生长年限越长曼地亚红豆杉中紫杉烷类量就越高。对不同产地及生长年限曼地亚红豆杉中上述几种化合物量的相关分析也表明,除 10-DAB III 量与三尖杉宁碱量间不存在显著的相关性外,其余各成分彼此间均存在显著的相关性,进一步回归分析也很好地说明了这一点。进一步的分析发现,不同产地及生长年限间紫杉醇量与 10-DAB III 量和三尖杉宁碱量间存在极显著的负相关,而与 3 种紫杉烷类总量间则呈现出同升同降的趋势,从而也再次证明紫杉烷类化合物之间的同源性和互相转化的复杂性^[20]。不同年限含量变化的不规律,提示除产地、生长年限外,是否还有其他因素影响曼地亚红豆杉植株中紫杉烷类的积累,还有待进一步的研究。

同时对 4 年生曼地亚红豆杉枝条中紫杉醇的聚类分析发现福建福州产区紫杉醇含量的特殊性,究其原因可能与福建独特的地理气候环境有关。由于福建地处热带北缘属于亚热带海洋性季风气候,雨量充沛、热量丰富,可能导致了其紫杉醇形成和积

累速率与其他产地的差异。而对 3 种紫杉烷类总量的聚类分析表明河南开封有别于其他几个产地,这可能是由于除紫杉醇外其他 2 种物质量的变化对紫杉烷类总量亦会产生影响的缘故。由此再一次提示,紫杉醇及紫杉烷类物质的积累可以通过对其生物合成途径进行调控加以实现,这样可以从根本上解决紫杉醇资源稀缺和产率偏低的窘迫现状,为大量生产具有抗癌活性的紫杉醇提供一条更加便捷的途径,同时又可以避免野生资源遭到破坏性采挖,造福更多的癌症患者。

参考文献

- [1] 程立超, 谢孝坤, 韩小冰, 等. 红豆杉属植物中紫杉烷类物质含量影响因素综述 [J]. 中国林副特产, 2013, 126(5): 103-106.
- [2] 彭涛, 林军, 胡海峰, 等. 生物合成紫杉醇的研究进展 [J]. 世界临床药物, 2015, 36(3): 197-203.
- [3] 常醉, 周志强, 夏春梅, 等. 天然东北红豆杉枝中紫杉醇和三尖杉宁碱含量变化特征 [J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(2): 71-77.
- [4] Onrubia M, Cusido R M, Ramirez K, et al. Bioprocessing of plant in vitro systems for the mass production of pharmaceutically important metabolites: paclitaxel and its derivative [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20: 880-891.
- [5] 冯巍, 谈锋, 谢峻. 曼地亚红豆杉研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1589-1593.
- [6] 董艳, 孙利鑫, 尹翠, 等. 曼地亚红豆杉栽培管理及应用的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(29): 14-16.
- [7] 黄玺, 李远. 不同采集时间曼地亚红豆杉中紫杉醇含量分析 [J]. 现代医药卫生, 2013, 29(12): 1806-1808.
- [8] 胡蕾, 梅忠, 李真. 不同诱导子对曼地亚红豆杉紫杉醇含量的影响 [J]. 现代农业科技, 2012(5): 12-13.
- [9] 刘柿良, 杨秀丽, 马明东, 等. 曼地亚红豆杉 (*Taxus media* cv "Hicksii") 栽培基质中适宜的锰、锌、铜浓度及采收时期研究 [J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(2): 439-448.
- [10] 陈立国, 刘程惠, 何克江, 等. HPLC 法对 5 种红豆杉属植物中紫杉烷类化合物成分的分析 [J]. 分析实验室, 2007, 26: 58-61.
- [11] 王春丽, 梁宗锁. 外源刺激对植物次生代谢的调节及其信号转导途径研究进展 [J]. 西北植物学报, 2009, 29(5): 867-873.
- [12] 段传人, 王伯初, 徐世荣. 环境应力对植物次生代

- 谢产物形成的作用 [J]. 重庆大学学报, 2003, 26(10): 67-71.
- [13] 宋秋烨. 南方红豆杉与引种德国曼地亚红豆杉茎、叶中紫杉醇和 10-脱乙酰巴卡亭 III 含量的比较 [J]. 西北药学杂志, 2014, 29(2): 129-132.
- [14] 高银祥, 杨逢建, 张玉红, 等. 南方红豆杉枝叶中 6 种紫杉烷类化合物含量季节变化 [J]. 植物研究, 2014, 34(2): 266-270.
- [15] 樊如强, 傅宏征, 金学英, 等. 刺五加有效成分提取工艺考察及不同产地刺五加中有效成分量的比较 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 3051-3054.
- [16] 唐慧勤, 龙 颖, 董 威, 等. 产地、生长期、商品规格等不同因素对罗汉果止咳作用的影响 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 260-264.
- [17] 朱慧芳, 郑文龙, 王玉亮, 等. 三种红豆杉属植物中紫杉烷类化合物含量的检测与分析 [J]. 上海交通大学学报: 农业科学版, 2010, 28(1): 9-13.
- [18] 王达明, 周 云, 张裕农, 等. 不同海拔高度及植被类型的云南红豆杉林木枝叶紫杉烷含量分异性研究 [J]. 西部林业科学, 2008, 37(4): 1-7.
- [19] 柏培磊, 孙启武, 蒋继宏, 等. 不同产地南方红豆杉枝叶的紫杉醇含量及其指纹图谱的比较分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(1): 64-69.
- [20] 高明波, 阮成江, 李 贺, 等. 紫杉醇和紫杉烷的生物合成途径研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(24): 1900-1903.