

红豆杉属植物中紫杉烷化合物含量比较与分析

吴长桥^{1,2}, 蒋路园^{1,3}, 杨艳芳^{1*}, 陆 英², 唐 其², 陈段芬³, 邱德有¹

1. 中国林业科学研究院林业研究所 林木遗传育种国家重点实验室, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091

2. 湖南农业大学园艺学院, 湖南 长沙 410128

3. 河北农业大学园艺学院, 河北 保定 071001

摘要: **目的** 分析和比较 5 种红豆杉中 6 种紫杉烷类化合物含量的差异。**方法** 利用乙醇超声浸提后得到样品溶液; 通过高效液相色谱法测定和相关性分析、回归分析和聚类分析比较紫杉醇、巴卡亭 III、10-去乙酰基巴卡亭 III (10-deacetylbaccatin III, 10-DAB)、10-去乙酰基紫杉醇 (10-deacetyltaxol, 10-DAT)、三尖杉宁碱和 10-去乙酰基-7-木糖基紫杉醇 (10-deacetyl-7-xylosetaxol, DXT) 含量。**结果** 不同种红豆杉紫杉烷含量存在显著性差异, 陇南地区中国红豆杉中 10-DAB、紫杉醇、10-DAT 和三尖杉宁碱含量显著高于其他种红豆杉, 曼地亚红豆杉和湖南省南方红豆杉中 10-DAB 含量也相对较高; 相关性分析、回归分析及聚类分析均表明, 10-DAT 和三尖杉宁碱与紫杉醇含量显著相关, 且前者比后者对紫杉醇含量的影响作用更大; 聚类分析还表明温室内栽植的南方红豆杉聚为一类, 大田种植的中国红豆杉、东北红豆杉、太行山地区南方红豆杉和曼地亚红豆杉聚为一类, 表明环境因子对紫杉烷积累具有明显影响。**结论** 不同种红豆杉中紫杉烷含量具有显著差异, 种类是影响红豆杉紫杉醇等紫杉烷含量的重要因素, 紫杉醇含量随着 10-DAT 和三尖杉宁碱含量增加而增加。

关键词: 紫杉醇; 巴卡亭 III; 10-去乙酰基巴卡亭 III; 10-去乙酰基紫杉醇; 三尖杉宁碱; 10-去乙酰基-7-木糖基紫杉醇; 中国红豆杉; 东北红豆杉; 云南红豆杉; 西藏红豆杉; 南方红豆杉; 曼地亚红豆杉

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)02-0538-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.027

Comparative, regression and cluster analysis on contents of six taxanes in *Taxus* spp.

WU Chang-qiao^{1,2}, JIANG Lu-yuan^{1,3}, YANG Yan-fang¹, LU Ying², TANG Qi², CHEN Duan-fen³, QIU De-you¹

1 State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

2 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

3 College of Horticulture, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China

Abstract: **Objective** To analyze and compare the contents of six taxanes in five different *Taxus* species. **Methods** The sample solution was obtained by ultrasonic extraction with ethanol; The contents of taxol, baccatin III, 10-deacetylbaccatin III (10-DAB), 10-deacetyltaxol (10-DAT), cephalotaxine, and 10-deacetyl-7-xylosetaxol (DXT) were investigated by HPLC method, and analyzed with correlation, regression, and cluster analysis. **Results** The contents of 10-DAB, Taxol, 10-DAT and cephalotaxine in *Taxus chinensis* form Longnan Area were significantly higher than those in other *Taxus* species. The contents of 10-DAB *T. chinensis* var. *mairei* and *T. × media* were higher than the others. Moreover, with the correlation, regression, and cluster analysis results, 10-DAT and cephalotaxine were significantly correlated with taxol content, respectively. Furthermore, the cluster analysis also showed that the plants of *T. chinensis* var. *mairei* which planted in the greenhouse were clustered into one group, and the plants of *T. chinensis*, *T. cuspidata*, *T. chinensis* var. *mairei* from Taihang Mountain, and *T. × media* which planted in field were grouped together, indicating that environmental factors have obvious effects on taxanes accumulation. **Conclusion** Taxanes contents in different *Taxus* species are significantly different, and taxol content increases with the increase of 10-DAT and cephalotaxine contents.

Key words: taxol; baccatin III; 10-deacetylbaccatin III; 10-deacetyltaxol; cephalotaxine; 10-deacetyl-7-xylosetaxol; *Taxus chinensis* (Pilger) Rehd.; *T. cuspidata* Sieb. et Zucc.; *T. yunnanensis* Cheng et L. K. Fu; *T. Wallichiana* Zucc.; *T. Chinensis* var. *mairei* (Lemee et Levl.) Cheng et L. K. Fu; *Taxus × media* cv. Hicksii

收稿日期: 2020-03-09

基金项目: 中国林业科学研究院基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2018SY009); 国家自然科学基金项目 (31570675)

作者简介: 吴长桥 (1996—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事中药资源与开发研究。E-mail: 1515238496@qq.com

*通信作者: 杨艳芳, 副研究员, 主要从事林木次生代谢工程与调控研究。Tel: (010)62889638 E-mail: echoyyf@caf.ac.cn

紫杉醇是一种从红豆杉中提取的天然二萜类化合物,对多种癌症具有良好的疗效,如卵巢癌、乳腺癌、子宫癌等^[1-2]。然而,紫杉醇在红豆杉中含量极低,并且红豆杉生长十分缓慢,因而,紫杉醇供需矛盾激化,红豆杉野生资源遭到了严重的破坏。

红豆杉中除了紫杉醇之外,还含有上百种紫杉烷二萜类化合物^[3],这些紫杉烷化合物中,三尖杉宁碱与紫杉醇结构十分相似,同时也具有较强的抗肿瘤活性^[4],而巴卡亭 III 和 10-去乙酰基巴卡亭 III 是紫杉醇合成的中间产物,同时也是半合成法合成紫杉醇的重要原料^[5-6]。此外,近年来,科研工作者也实现利用 10-去乙酰基紫杉醇及 7-木糖基紫杉醇作为原料转化合成紫杉醇。这些工作无疑为提高紫杉醇含量,拯救更多癌症病人带来了新的转机。

红豆杉是红豆杉属 *Taxus* sp.植物的通称,我国共有 4 种 1 变种:中国红豆杉 *T. chinensis* (Pilger) Rehd.、东北红豆杉 *T. cuspidata* Sieb. et Zucc.、云南红豆杉 *T. yunnanensis* Cheng et L. K. Fu、西藏红豆杉 *T. wallichiana* Zucc.和南方红豆杉 *T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Levl.) Cheng et L. K. Fu。曼地亚红豆杉 *Taxus × media* cv. *Hicksii* 是东北红豆杉和欧洲红豆杉的杂交种,自 20 世纪 90 年代引种于我国以来,在我国四川、山东等地具有广泛栽植。目前,已经有多篇文献对红豆杉中紫杉醇含量进行了测定^[7-9],但是针对上述 6 种紫杉烷在不同种红豆杉中测定的报道较为少见。本研究对栽植范围较广的 4 种红豆杉嫩枝叶中紫杉醇等 6 种紫杉烷成分的含量进行了测定和比较,对于保护天然红豆杉,培育高紫杉烷含量新品种,实现红豆杉植物资源的高效利用具有重要意义。

1 材料与仪器

1.1 材料

东北红豆杉、太行山地区南方红豆杉、甘肃陇南地区中国红豆杉及曼地亚红豆杉 3~5 年生小苗种植于河北省廊坊市实验基地,来自浙江省和湖南省南方红豆杉 3 年生小苗种植于中国林业科学研究院科研温室。上述红豆杉均经中国林业科学研究院林业研究所杨艳芳副研究员鉴定确认为中国红豆杉 *T. chinensis* (Pilger) Rehd.、东北红豆杉 *T. cuspidata* Sieb. et Zucc.、南方红豆杉 *T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Levl.) Cheng et L. K. Fu、曼地亚红豆杉 *T. × media* cv. *Hicksii*。样品信息见表 1。

2019 年 10 月中下旬采集植株当年生及 1 年生

表 1 红豆杉样品信息

Table 1 Sample information of *Taxus*

编号	种名	产地	方式
DB	东北红豆杉	黑龙江牡丹江	大田种植
TH	南方红豆杉	陕西长治	大田种植
LN	中国红豆杉	甘肃陇南	大田种植
MDY	曼地亚红豆杉	山东济南	大田种植
ZJ	南方红豆杉	浙江丽水	温室种植
HN	南方红豆杉	湖南永州	温室种植

健康叶片若干,自然干燥,采用粉碎机磨碎,过筛,用于后续紫杉烷类物质提取。

对照品巴可亭 III (批号 20160902)、10-去乙酰基巴卡亭 III (10-deacetylbaicatin III, 10-DAB, 批号 20160219)、紫杉醇 (批号 20160227)、三尖杉宁碱 (批号 20170222)、10-去乙酰基紫杉醇 (10-deacetyltaxol, 10-DAT, 批号 20170114) 和 10-去乙酰基-7-木糖基紫杉醇 (10-deacetyl-7-xylosetaxol, DXT, 批号 20170702) 购自坛墨质检标准物质中心,质量分数均大于 98%。乙醇、甲醇、乙腈 (国药集团化学试剂有限公司) 均为分析纯。

1.2 主要仪器

AUW220D 型电子天平和 LC-20A 高效液相色谱仪购自日本岛津公司; KM5200DE 型超声波清洗器购自昆山美美超声仪器有限公司。

2 方法

2.1 混合对照品溶液的制备

分别精密称取巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 对照品 7.0 mg, 分别用甲醇配制成质量浓度为 0.70 mg/mL 的对照品母液, 各取母液 1.0 mL, 配成质量浓度为 0.10 mg/mL 混合对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

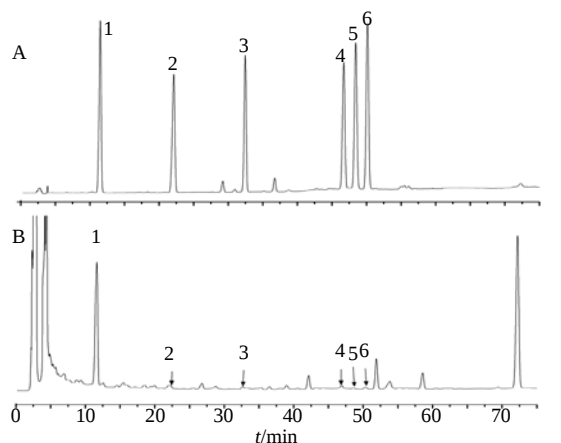
准确称取样品粉末 0.50 g, 加入体积分数 80% 乙醇 25 mL, 50 °C 超声提取 1 h, 冷却至室温, 用提取溶液补足至超声前质量, 摇匀过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得供试品溶液。

2.3 HPLC 色谱条件

色谱柱为 GL Sciences (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (B)-水 (A), 洗脱梯度, 0~75 min, 30%~63% B; 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 227 nm; 柱温为 30 °C; 进样量为 50 μL。色谱图见图 1。

2.4 标准曲线绘制

取混合对照品溶液母液, 将母液逐级稀释, 每



1-10-DAB 2-巴可亭 III 3-DXT 4-三尖杉宁碱 5-10-DAT 6-紫杉醇
1-10-DAB 2-baccatin III 3-DXT 4-cephalomannine
5-10-DAT 6-taxol

图 1 混合对照品 (A) 和样品的溶液 (B) 色谱图

Fig. 1 HPLC of multiple standards (A) and samples (B)

个浓度混合对照品进样 10 μ L, 在上述“2.3”项条件, 以峰面积为纵坐标 (Y), 各紫杉烷对照品的质量浓度为横坐标 (X) 确定标准曲线。巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 的线性回归方程、相关系数 (R^2)、见表 2。

表 2 6 个紫杉烷类化合物的线性方程和相关系数

Table 2 Regression equations and correlation coefficient of six taxanes

化合物	线性方程	R^2
巴可亭 III	$Y=1\,348\,966\,749\,X-235\,846$	0.999\,992
10-DAB	$Y=1\,578\,478\,187\,X-268\,789$	0.999\,985
紫杉醇	$Y=1\,807\,422\,196\,X-313\,943$	0.999\,987
三尖杉宁碱	$Y=1\,648\,006\,882\,X-284\,300$	0.999\,996
10-DAT	$Y=1\,388\,863\,578\,X-240\,913$	0.999\,996
DXT	$Y=1\,277\,860\,808\,X-226\,802$	0.999\,998

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 取混合对照品溶液, 按照“2.3”项条件连续进样 6 次, 巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 色谱峰峰面积的 RSD 分别为 0.70%、0.80%、0.80%、1.00%、0.90%、0.70%, 结果表明仪器精密度良好。

2.5.2 重复性试验 取样品 (DB) 粉末约 0.5 g, 平行 6 份, 精密称定, 按“2.2”项方法制备供试品溶液, 按照“2.3”项条件分析, 计算样品中巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DX 质量分数的 RSD, 结果分别为 1.2%、0.95%、1.9%、

2.2%、0.70%、0.54%, 结果表明重复性良好。

2.5.3 稳定性试验 取供试品溶液 (DB) 分别于 0、2、4、8、16、24、48、72 h 进样测定, 供试品溶液中巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 的色谱峰峰面积的 RSD 值分别为 0.10%、0.50%、1.30%、0.90%、1.20%、0.60%, 结果表明供试品溶液在 3 d 内稳定性良好。

2.5.4 加样回收率试验 取已测定的东北红豆杉粉末, 精密称定, 按照相当于样品中紫杉烷 80%、100%、120% 的比例, 分别精密加入混合对照品溶液, 按照“2.2”项供试品的制备方法, 在上述的色谱条件下进行分析, 计算 baccatin III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 的回收率和 RSD 值, 巴可亭 III、10-DAB、紫杉醇、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 加样回收率分别为 98.20%、101.82%、97.00%、100.71%、94.01%、100.01%; RSD 值分别为 1.7%、1.0%、1.1%、1.4%、0.62%、0.64%。

2.6 样品测定

取各样品按照“2.2”项制备供试品溶液, 按照“2.3”项方法进行 HPLC 分析, 记录峰面积, 并根据各标准曲线计算样品中各成分的含量。

2.7 数据处理

应用 Excel 进行数据整理和绘图, 用 SPSS 22.0 进行相关性分析、多元回归统计和聚类分析。

3 结果与分析

3.1 不同类型红豆杉紫杉烷类成分的比较

对大田种植的 4 种红豆杉中 6 种紫杉烷类成分含量测定, 结果如图 2 所示, 6 种成分中 10-DAB 含量最高, 其他几种成分含量相近。此外, 在 4 个种中, 陇南地区中国红豆杉的 6 种成分均较高, 10-DAB、紫杉醇、10-DAT 和三尖杉宁碱含量显著高于其他种红豆杉。曼地亚红豆杉中 10-DAB 的含量也显著高于东北红豆杉 (DB) 和太行山地区红豆杉 (TH), 但其 10 株单株中均未检测出巴可亭 III。4 种红豆杉中 DXT 含量差异不显著, 而东北红豆杉和中国红豆杉中巴可亭 III 含量差异也不显著。

对温室种植的湖南和浙江 2 个省份的 3 年生南方红豆杉小苗中 6 种紫杉烷类成分含量进行了测定。结果如图 3 所示, 6 种成分中 10-DAB 和 DXT 含量较高, 其他 4 种成分含量相近。比较这 2 个地区, 湖南产南方红豆杉中 10-DAB 显著高于浙江产南方红豆杉。

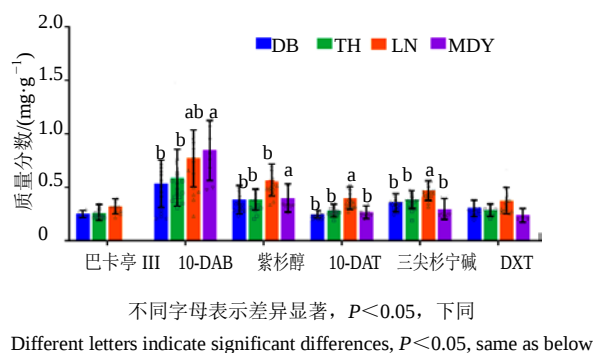


图 2 4 种红豆杉中 6 种紫杉烷类化合物含量
Fig. 2 Contents of six taxanes in *Taxus* species

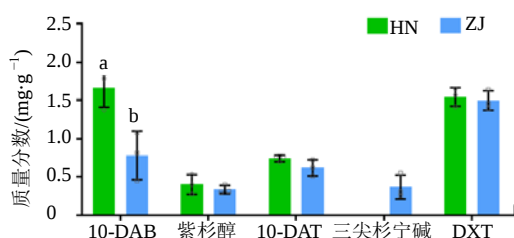


图 3 湖南和浙江产南方红豆杉中紫杉烷含量
Fig. 3 Contents of six taxanes in *T. chinensis* var. *mairei* from Zhejiang and Hunan Provinces

3.2 红豆杉 5 种紫杉烷类成分相关性分析

为了更好地研究红豆杉中 5 种紫杉烷化合物含量之间的相互关系, 对其进行了相关性分析。结果如表 3 所示, 三尖杉宁碱与紫杉醇和 10-DAT 呈极显著相关 ($r=0.575$, $P < 0.01$; $r=0.368$, $P < 0.01$), 与巴卡亭 III 和 10-DAB 呈显著相关 ($r=0.458$, $P < 0.05$; $r=0.266$, $P < 0.05$), 与 DXT 则不相关; 紫杉醇与 10-DAT 和 DXT 呈极显著相关 ($r=0.576$, $P < 0.01$; $r=0.480$, $P < 0.01$), 与巴卡亭 III 呈显著相关 ($r=0.392$, $P < 0.05$), 与 10-DAB 则不相关; 此外, 10-DAT 和 DXT 呈极显著相关 ($r=0.624$, $P < 0.01$)。

表 3 6 种紫杉烷类成分相关性分析
Table 3 Correlation analysis of six taxanes

成分	巴卡亭 III	10-DAB	紫杉醇	10-DAT	三尖杉宁碱	DXT
巴卡亭 III	1.000	0.219	0.392*	0.357	0.458*	-0.154
10-DAB		1.000	0.171	0.193	0.266*	-0.112
紫杉醇			1.000	0.576**	0.575**	0.480**
10-DAT				1.000	0.358**	0.624**
三尖杉宁碱					1.000	0.132
DXT						1.000

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.3 红豆杉中紫杉烷类化合物线性回归预测模型

将紫杉醇含量作为因变量, 以上述相关性分析中显著相关的成分巴卡亭 III、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 为自变量, 应用逐步回归法建立预测模型。经过逐步拟合, 10-DAT 和三尖杉宁碱 2 个自变量进入回归方程, 形成最优模型, 模型的判定系数 (R^2) 为 0.461, 估计值的标准误差为 0.127, Durbin-Watson 检验统计量为 2.346, 表明残差独立。逐步回归拟合的多元线性方程结果表明 10-DAT 和三尖杉宁碱对紫杉醇含量的影响可达到 43.1%。因此, 基于 10-DAT (X_1) 和三尖杉宁碱 (X_2) 2 个关键因子与紫杉醇 (Y) 构建的线性回归模型为 $Y=0.765 X_1+0.486 X_2+0.005$ 。参数经 t 检验, 其概率 P 值分别为 0.001 和 0.035, 具有显著性。共线性统计量显示了变量的容差 (Tolerance) 为 0.839, 方差膨胀因子 (VIF) 为 1.192, 表明自变量之间不存在多重共线性。紫杉醇含量均随着 10-DAT (X_1) 和三尖杉宁碱 (X_2) 含量的增加而增加, 与三尖杉宁碱 (X_2) 含量相比, 10-DAT (X_1) 含量的增加对紫杉醇含量的影响更大。

3.4 聚类分析

利用大田种植的 3 种红豆杉 5 种紫杉烷类成分进行聚类分析, 结果发现紫杉烷类化合物分成 2 类, 其中 10-DAB 为一类, 紫杉醇、10-DAT、DXT 和三尖杉宁碱聚为一类 (图 4)。

此外, 利用大田 4 种红豆杉和温室的浙江和湖南省南方红豆杉 5 种紫杉烷含量数据, 对不同种类红豆杉进行聚类分析。结果发现, 测试样品中, 东北红豆杉、中国红豆杉、太行山南方红豆杉和曼地亚红豆杉聚为一类, 而浙江和湖南省的南方红豆杉聚为一类 (图 5)。

4 讨论

红豆杉是获取紫杉醇最主要的药源植物, 因此,

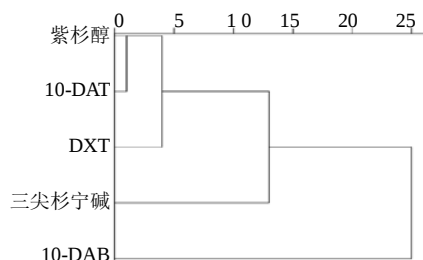


图 4 紫杉烷含量聚类分析

Fig. 4 Dendrogram of cluster analysis of contents of taxanes

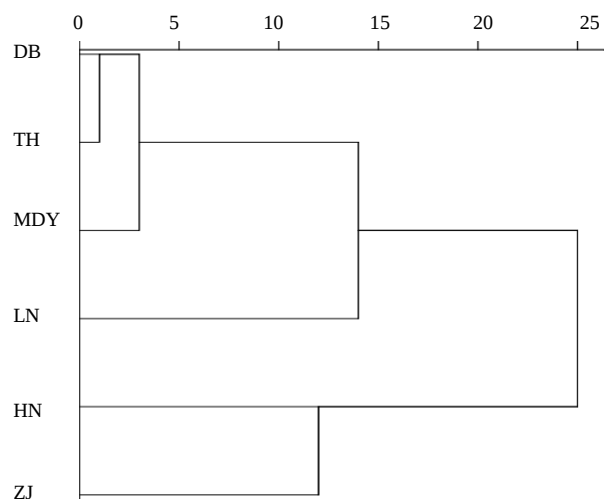


图 5 红豆杉聚类分析

Fig. 5 Dendrogram of cluster analysis of five taxus species

获取高紫杉醇等紫杉烷含量的红豆杉新品种一直都是各大药企及红豆杉育种工作者所追求的目标之一。目前已有多篇关于不同种类、地区、年限、组织及发育时期等因素下红豆杉中紫杉烷类化合物含量检测的报道^[7,9-13]。例如,姜艳等^[14]报道曼地亚红豆杉中紫杉醇含量最高,云南红豆杉中 10-DAB 含量最高,而东北红豆杉中三尖杉宁碱和紫杉烷总量最高。而朱慧芳等^[15]则报道与中国红豆杉和东北红豆杉相比,在南方红豆杉树皮中紫杉醇含量最高,10-DAB 在中国红豆杉中较高。由于植物次生代谢物质的合成是植物长期与适应环境的进化结果,上述诸多因素及气候、温度、土壤等环境因素都会造成红豆杉紫杉醇等紫杉烷含量有所不同。本研究中,对露地种植的中国红豆杉、东北红豆杉、太行山地区南方红豆杉和曼地亚红豆杉中的 6 种紫杉烷类化合物成分进行检测比较,发现中国红豆杉 6 种成分均显著高于其他 3 个种和太行山地区南方红豆杉。研究结果与前人结果一致,表明不同种类红豆杉之间紫杉烷含量具有显著差异。

马生军等^[12]利用不同产地、不同生长年限的曼地亚红豆杉作为实验材料,发现三尖杉宁碱和 10-DAB 与紫杉醇呈极显著相关。本研究中紫杉烷含量相关性分析并未发现 10-DAB 与紫杉醇存在显著相关性,发现巴可亭 III、三尖杉宁碱、10-DAT 和 DXT 与紫杉醇含量具有显著或极显著相关(表 1),而回归分析也表明三尖杉宁碱、10-DAT 与紫杉醇具有显著相关。紫杉烷成分聚类分析也进一步显示 10-DAT 和三尖杉宁碱与紫杉醇关系密切,三

者聚为一类(图 4)。由此可见,不同种类与不同地区、年限的同一种中红豆杉中紫杉烷类化合物之间的关系并不完全一致。

本研究对所涉及的红豆杉进行聚类分析,发现温室种植的湖南和浙江南方红豆杉聚为一类,而露地种植的东北红豆杉、中国红豆杉、太行山地区南方红豆杉和曼地亚红豆杉明显聚为一类(图 5)。表明,可能是由于湖南和浙江省南方红豆杉种植于温室,与大田种植的红豆杉生长环境极大不同而造成。产地是影响红豆杉中紫杉醇含量的一个重要环境因子,研究表明不同产地的红豆杉叶中紫杉醇含量相差数倍甚至十几倍^[16]。由此可见,生长环境极大地影响紫杉醇等紫杉烷类的积累。此外,尽管东北红豆杉、中国红豆杉、太行山地区南方红豆杉和曼地亚红豆杉组成一大类,但也可以看出,东北红豆杉、太行山地区南方红豆杉和曼地亚红豆杉聚成一个小的亚类,表明种类可能是影响红豆杉紫杉醇等紫杉烷含量的重要因素。

参考文献

- [1] 李媛,李振宇.天然抗癌药物-紫杉醇[J].中山大学研究生学刊:自然科学与医学版,2006(4):58-62.
- [2] Yang C H, Horwitz S B. Taxol®: the first microtubule stabilizing agent[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): E1733.
- [3] 杨春,孔令义,汪俊松.加拿大红豆杉中紫杉烷类成分的研究进展及药源危机解决方法探讨[J].中国中药杂志,2014,39(11):1961-1971.
- [4] 刘同祥,张艳平,徐羽,等.紫杉醇联合三尖杉宁碱诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(9):115-118.
- [5] Denis J N, Greene A E, Guenard D, et al. Highly efficient, practical approach to natural taxol[J]. *J Am Chem Soc* 1988, 110(17): 5917-5919.
- [6] 孔建强,王伟,朱平,等.紫杉醇生物合成的研究进展[J].药学学报,2007,42(4):358-365.
- [7] 张洁,徐小平,刘静,等.我国不同种类红豆杉不同部位紫杉醇的含量分布研究[J].药物分析杂志,2008,28(1):16-19.
- [8] Nasiri J, Naghavi M R, Alizadeh H, et al. Seasonal-based temporal changes fluctuate expression patterns of TXS, DBAT, BAPT and DBTNBT genes alongside production of associated taxanes in *Taxus baccata* [J]. *Plant Cell Rep*, 2016, 35(5): 1103-1119.
- [9] 陈立国.红豆杉属植物中主要紫杉烷类化合物的分离纯化研究[D].大连:大连工业大学,2007.
- [10] 张九东,雷颖虎,冯宁,等.陕西省秦巴山区红豆杉中

- 紫杉醇含量研究 [J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2009, 37(4): 76-81.
- [11] 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.
- [12] 马生军, 刘建慧, 马留纯, 等. 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 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4979-4985.
- [13] 何佳奇, 郑敏霞, 盛振华, 等. 温度对南方红豆杉紫杉烷类化合物含量的影响 [J]. 中国中医药科技, 2018, 25(5): 681-685.
- [14] 姜艳, 沈晨佳, 周丹英, 等. 红豆杉属植物中紫杉烷类物质含量比较 [J]. 浙江农业科学, 2018, 59(12): 2280-2282.
- [15] 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.
- [16] 苏建荣, 张志钧, 邓疆. 不同树龄、不同地理种源云南红豆杉紫杉醇含量变化的研究 [J]. 林业科学研究, 2005, 18(4): 369-374.

[责任编辑 时圣明]