

红豆杉中紫杉醇及其衍生物含量影响因子研究进展

王昌伟^{1,2}, 彭少麟^{1,*}, 李鸣光¹, 李文建², 林发亮²

(1. 中山大学生命科学学院生物防治国家重点实验室, 广州 510275;

2. 福建南方生物技术股份有限公司, 明溪县, 福建省 365200)

摘要: 红豆杉中紫杉醇及其衍生物的含量显著地受到多种因素的影响, 对这些影响因子的研究有利于红豆杉产业化栽培基地经济效益的实现。根据以往的研究, 综述了影响红豆杉中紫杉醇及其衍生物含量的主要因子, 包括品种、环境、季节、年龄、性别、组织部位、储藏方式、激素和代谢旁路抑制剂等不同的方面。曼地亚红豆杉是美国食品与药物管理局筛选到的最适宜栽培的品种, 目前市场上 50% 以上的 10-脱乙酰基巴卡丁Ⅲ来自于欧洲紫杉。阴湿环境生长的红豆杉紫杉醇含量较高, 冬季一般是紫杉醇及其衍生物总含量最高的季节, 年龄的增加有利于紫杉醇含量的提高, 性别不同的红豆杉紫杉醇的含量没有显著差异, 根和皮部的紫杉醇含量较高, 阴干和低温保藏能有效地减缓紫杉醇的分解速度, 一些激素和代谢旁路抑制剂的施用可以明显地提高红豆杉中紫杉醇及其衍生物的含量。并进一步提出了未来急需深入研究的重点: (1) 优良品系的筛选和栽培, 尤其是对生长速度最快和在中国分布最广的南方红豆杉; (2) 土壤中各种成分, 尤其是稀土元素对紫杉醇及其衍生物含量的影响和机理; (3) 定点与大尺度实验相结合研究宏观生态因子对含量的影响和机理; (4) 激素和代谢旁路抑制剂对含量的影响和机理; (5) 调节宏观生态因子、土壤成分、激素和代谢旁路抑制剂的配伍进一步提高产量并应用于生产实践。

关键词: 红豆杉; 紫杉醇; 10-脱乙酰基巴卡丁Ⅲ; 紫杉醇及其衍生物; 影响因子

文章编号: 1000-0933(2006)05-1583-08 **中图分类号:** Q945.948 **文献标识码:** A

Review of factors affecting the taxoids content of *Taxus* spp.

WANG Chang-Wei^{1,2}, PENG Shao-Lin^{1,*}, LI Ming-Guang¹, LI Wen-Jian², LIN Fa-Liang² (1. State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2. Fujian South Bio-tech. Co., Ltd., Mingxi County, Fujian 365200, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(5): 1583 ~ 1590.

Abstract: The taxoids content of *Taxus* spp. is significantly affected by various factors and this review summarizes the main findings from many studies during the last 20 years. As many tries to industrialize its production can't be realized due to high cost in the near future, cultivating *Taxus* spp. appears the most feasible and economical way to obtain these valuable compounds for use in medicine (chemotherapy) and basic research. The taxoids content of *Taxus* spp. responds to several factors including species, environment, season, age, sex, tissue, storage, hormones and side metabolic pathway inhibitors. Understanding the relative importance of these factors is critically important for increasing the content of taxoids in plant material, and hence the economic viability of this industry. There are large variations between species and cultivars, within and between *Taxus* spp. populations in taxoids content. A cultivar with comparatively high shoot taxol content, *Taxus × media* cv *Hicksi*, has been selected by the FDA as the best choice for cultivation whilst *Taxus baccata* L., supplies most of the world market with 10-deacetylbaccatin Ⅲ. In general, taxol accumulation is higher under shady and moist conditions whilst shoot growth (and hence taxol accumulation) is reduced in high light intensity and dry conditions. Total taxoids content usually peaks in winter while that of 10-deacetylbaccatin Ⅲ often peaks in fast-growing seasons. For mature trees, taxol content increases with the age of trees while no

基金项目: 广东省科技攻关资助项目(2004 B 20801002)

收稿日期: 2005-08-24; **修订日期:** 2006-03-13

作者简介: 王昌伟 (1977~), 男, 山东人, 博士, 主要从事红豆杉的综合开发应用研究. E-mail: wang-chwei@163.com

* 通讯联系人 Corresponding author. E-mail: lsspsl@zsu.edu.cn

Foundation item: The project was supported by the Key Science and Technology Research project of Scientific Committee of Guangdong(No. 2004B20801002)

Received date: 2005-08-24; **Accepted date:** 2006-03-13

Biography: WANG Chang-Wei, Ph.D., mainly engaged in multiple application of *Taxus*. E-mail: wang-chwei@163.com

significant difference in taxol content was attributed to the sex of trees. 3-4 and 7-8 year-old seedlings often had lower taxol and 10-deacetylbaccatin III contents than 1-year-old seedlings. Root and stem bark are richer in taxol than other tissues while small stems and needles often have higher 10-deacetylbaccatin III or baccatin III content. The decomposition rate of taxoids in dry plant material is reduced in shady conditions and at low temperature. Following collection, plant material should be processed quickly and carefully as studies show that heat, stacking and leaching by rain further reduce taxoids content. In addition, spraying the foliage with certain hormones and side metabolic pathway inhibitors could also increase the content of taxoids. This paper identifies several fields for further study: (1) to select and cultivate high-taxol strains, particularly of *Taxus wallichiana* var. *mairei*, the fastest growing and most widely distributed species in China; (2) to determine the mechanism responsible for the effect of soil components, particularly some rare earth elements on taxoids yield; (3) to establish how macro-ecological factors affect the production and accumulation of taxoids; (4) to identify the effects and mechanisms of hormones and side pathway inhibitors, and (5) to optimize the combination of those factors mentioned above to further improve taxoids content for application in production.

Key words: *Taxus* spp.; taxol; 10-deacetylbaccatin III; taxoids; metabolic pathway inhibitors

紫杉醇及其多烯紫杉醇除成功地应用于治疗卵巢癌和乳腺癌外,还用于肺癌、卡波氏肉瘤、肝癌的治疗,对于其它多种恶性肿瘤的疗效也在实验中^[1,2]。随着化疗和基础研究对药物需求量的日益增加,其来源已逐渐成为了制约整个产业发展的瓶颈^[2]。由 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ、巴卡丁Ⅲ、三尖杉宁碱、10-脱酰基三尖杉宁碱、7-木糖紫杉醇、10-脱酰基紫杉醇、7-木糖-10-脱酰基紫杉醇、7-戊醛基-10-脱酰基紫杉醇等为前体进行化学半合成的成功及其商业化有效地缓解了原料的危机,如何进一步扩大紫杉醇及其衍生物的产量已经成为一个越来越重要的问题^[3-7]。

至今几乎所有的临床用药都直接或间接地来源于自然资源,其它的一些尝试都还没有形成产业化的规模^[2,3]。与日益蓬勃的紫杉醇市场相反,其自然资源每况愈下,红豆杉生长缓慢的天性和极低的紫杉醇含量进一步恶化了这种状况并导致了药品供应的危机^[2-5,8-10]。人工栽培是目前获取紫杉醇及其半合成前体最简洁、可行的途径,国内外已经建立了很多栽培基地^[2-4,8,11]①。

国内从事红豆杉种植的企业很多,规模很大,已形成产业化规模。据国家林业局 2005 年 11 月不完全统计,全国共有红豆杉种植基地 145 家,总面积近 10000hm²,种植面积超过 66.7hm² 以上的至少 15 家,超过 333.3hm² 的 8 家以上^②。有关栽培技术方面的应用研究已经引起了国家相关部门的重视。

红豆杉中紫杉醇及其衍生物的含量由其遗传、后成遗传及环境因素决定,其含量随品种、分布地、季节及气候的不同而变化,组织部位及储存条件不同也会使其含量发生明显的改变^[1]。相关的研究对于增加紫杉醇及其衍生物的产量、优良品系的选育、红豆杉资源的开发、生物多样性保护和生态恢复都是至关重要的^[12]。

1 影响红豆杉生长和紫杉醇及其衍生物含量的因子

1.1 品种

在前人大量工作的基础上,Edward 等曾经总结比较了不同品种之间紫杉醇、10-脱酰基巴卡丁Ⅲ、巴卡丁Ⅲ及三尖杉宁碱含量的差异^[1]。根据含量的高低,*T. brevifolia*, *T. yunnannensis* 以及几个 *T. × media* 栽培种的枝叶最适合紫杉醇的提取, *T. baccata* 的枝叶是生产 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的最佳选择^[1]。*T. × media* cv. *Hicksii* 是 *T. baccata* 和 *T. cuspidata* 的杂交种,由于生长速度较快且紫杉醇含量较高而被美国 FDA 选为最适合大面积栽培的品种^[1]。一般而言,在相同的组织中巴卡丁Ⅲ及三尖杉宁碱的含量是紫杉醇含量的 10% ~ 30%。但对于每一种化合物,其含量都有很大的波动。紫杉醇及其衍生物在一些样品中含量极低,甚至检测不到,而在另外的样品中紫杉醇可以高达 0.05%,三尖杉宁碱达 0.22%,巴卡丁Ⅲ达 0.21%^[1]。由于枝叶可以再生,紫杉醇及其衍生物含量丰富,因而依靠采集枝叶生产紫杉醇是一种可持续发展的方法。

① 许智宏. 第五届逸仙生命论坛, 2002

② 孙启武, 梅兴国, 王春玲, 等. 我国红豆杉人工培植及加工利用情况调研报告, 2005 年 11 月

在 2000 年, Erik 等从英国和荷兰的 5 个不同的地方采集了 750 个枝叶样本并分析了每个样本中紫杉醇、10-脱酰基紫杉醇、三尖杉宁碱、巴卡丁Ⅲ和 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的含量^[13]。结果显示紫杉醇含量最高的样品采集自一些罕见的品种, 如 *T. floridana* 和 *T. globosa*。10-脱酰基巴卡丁Ⅲ含量高的样品来自于 *T. floridana*, *T. globosa*, *T. wallichiana*, *T. canadensis* 和几个 *T. baccata* 的栽培种。*T. baccata* 是欧洲最常见的红豆杉品种, 其枝叶中 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ含量丰富, 供应着市场上 50% 的 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ。*T. globosa* 的样品中三尖杉宁碱的含量最高。10-脱酰基紫杉醇含量高的样品采集自 *T. floridana*、*T. wallichiana* 和 *T. baccata* 的几个栽培种。除了采集自 *T. brevifolia* 和 *T. canadensis* 的样品含有较高的巴卡丁Ⅲ外, 其他品种巴卡丁Ⅲ的含量都较低^[1]。Veronika 等检测了匈牙利各种红豆杉枝叶中紫杉醇的含量, 得出结论 *T. baccata* 的枝叶紫杉醇的含量最高^[14]。

南方红豆杉是红豆杉属中生长速度最快的品种, 为中国特有, 分布广泛, 其紫杉醇及其衍生物的含量因其分布地的不同变化很大。在中国南部生长着很多南方红豆杉的种群, 但关于其紫杉醇及其衍生物含量的系统研究和报道很少^[15]。苏应娟等曾报道过粤北连州地区南方红豆杉不同组织中紫杉醇的含量, 并且发现与相应 *T. cuspidata* 和 *T. yunnanensis* 的组织相比含量较高^[16, 17]。最近发现种植在相同环境下的不同南方红豆杉植株中紫杉醇及其衍生物的含量差别很大, 可达到 40 倍以上, 有些单株中紫杉醇及其衍生物含量很高, 经过优选后很可能成为紫杉醇及其衍生物的一个主要供应品种。

但在比较各样品中紫杉醇及其衍生物含量时也存在一些问题。第一, 所有用于测试的样品并非都经过了可靠的鉴定, 很少有样品在标本馆留下了相应的参照; 第二, 紫杉醇及其衍生物的含量在很大的程度上随采集时间和地点变化; 第三, 样品采集后测试前所放置的时间和方法不同, 这也会引起含量的差异, 而且不同测试方法的实验误差不同, 样品间比较的结果也会因此而受到影响。所以多数研究对种间、种群内和种群间含量比较的结果最好参考使用。

1.2 环境影响

在不同的环境影响因子之中, 光照是至关重要的一个。光照强度能够显著地影响紫杉醇及其衍生物的含量。阴坡的 *T. brevifolia* 枝叶和树皮中紫杉醇和三尖杉宁碱含量是阳坡的 1.8 倍^[18]。芦占根等对 3 年生 *T. media* cv. *Hicksii* 采用不同的光照强度处理 4 个月后的实验结果也显示荫蔽的环境有利于提高紫杉醇的含量^[19, 20, 21]。但过于阴暗的环境对生物量的积累会产生负效应, Kelsey 和 Vance 也曾报道过生长在阳坡的红豆杉树皮的厚度是生长在阴坡的 1.6 倍^[6, 22]。栽培中适度的遮荫有利于红豆杉的生长和紫杉醇及其衍生物的累积, 有利于提高经济效益^[21]。

湿度和土壤肥力是影响红豆杉中紫杉醇及其衍生物含量的另外两个重要的因素。红豆杉喜欢湿润、肥沃的土壤, 生长在湿润、寒冷环境中的杉树紫杉醇的含量一般明显高于那些生长在温暖、干燥环境中的。但也有些例外, Elias 和 Korzhenevsky 的研究就发现一些生长在干燥环境中的灌木状的 *T. baccata* 紫杉醇含量明显高于旁边生长的乔木状的^[22]。

Wheeler 等发现在一些公园中虽然土壤的肥沃程度可以显著地影响紫杉醇及其衍生物的含量, 但单一一种化合物含量的变化与土壤的肥沃程度并不存在一定的相关性^[1, 23]。而最近另一项研究表明, 土壤的性质与紫杉醇及其衍生物的含量不相关^[24]。海拔高度的升高可通过温度、降水和其他气候因子的改变使红豆杉的物候期改变。生长于高海拔一般比低海拔的的红豆杉紫杉醇及其衍生物含量高^[25]。但是由于海拔的变化会影响到多种环境影响因子的改变, 除非采取严格的实验控制否则很难单独考察各个因素的影响。

1.3 季节变化与采收时间

紫杉醇及其衍生物的含量随季节而变化。在 1992 年, Wheeler 报道 4 月份采集的样品比 9 月份采集的要高得多 ($p < 0.05$), 这个结果陆续地被其它研究所证实^[19, 23, 26]。在 1996 年, Griffin 和 Hook 报道 *T. baccata* var.

①芦占根. 曼地亚红豆杉对不同光照条件和自然降温的适应性研究. 西南师范大学硕士论文, 2002

②芦占根. 曼地亚红豆杉对不同光照条件和自然降温的适应性研究. 西南师范大学硕士论文, 2002

fastigiata 叶子中紫杉醇最高的季节在 2 月与 4 月之间,在 4 月与 5 月间含量迅速降低^[21]。随后 Ingrid 等对爱尔兰红豆杉的研究证实了这一点。但 Erik 等的研究结果显示紫杉醇在秋天的含量最高^[13]。Kelsey 和 Vance 也报道太平洋红豆杉树皮中紫杉醇和三尖杉宁碱的含量以 8 月最高,树皮中紫杉醇的含量从 5 月份到 8 月份一直上升^[8]。巴卡丁Ⅲ在针叶中的含量以 6 月份最高,在树皮中 8 月份最高^[6]。Glowniak 等在从秋天到春天的时间段连续测试了 *T. baccata* 针叶和主干中紫杉醇及其衍生物的含量,结果显示紫杉醇和巴卡丁Ⅲ的含量在研究的时间段内呈现相似的变化规律,除了在 11 月份和 12 月份以三尖杉宁碱的含量最高外,10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的含量在所研究的时间段内一直是最高^[6]。

Vance 等研究了 *T. brevifolia* 叶子中 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的含量并报道其含量一般比紫杉醇的含量高^[27]。这个与 ElSohly 等对 *T. media* var. *Hicksii* 和 Ingrid Hook 等对爱尔兰红豆杉研究的结果相似^[28]。Appendino 等发现在冬天从意大利采集的叶子样品 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的含量很低^[29]。以往的研究显示 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ含量的高峰一般在红豆杉生长最旺盛的季节而紫杉醇及其衍生物总量的高峰一般在冬季,尤其是在 11 月和 12 月份。这也证实了红豆杉枝叶一般在冬天的几个月里对动物的毒性最大。Erik 等的研究表明 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ和 10-脱酰基紫杉醇的含量是紫杉烷类化合物中最丰富的^[13],而 ElSohly 等的研究表明 10-脱酰基巴卡丁Ⅲ和紫杉醇的含量是最丰富的^[1]。Ho 等研究了 *T. mairei* 针叶在不同季节中紫杉醇及其衍生物的含量。得出结论紫杉醇、三尖杉宁碱、10-脱酰基紫杉醇、7-别-10-脱酰基紫杉醇的含量以及这 6 种化合物的总含量在春天和冬天最高。10-脱酰基巴卡丁Ⅲ的含量在春、夏、秋三季相似,在早冬含量增加 3~4 倍而在晚冬的含量最低^[30]。

1.4 年龄与性别

紫杉醇及其衍生物的含量与植物的生长年龄密切相关,而性别差异不显著。对同一棵树的不同部位,紫杉醇随年龄的变化也有所不同。例如,叶子越老紫杉醇的含量越高而茎越嫩含量越高^[18,26,31]。对于小树,ElSohly 等发现 3~4 年生和 7~8 年生的栽培红豆杉单位干生物量中紫杉醇及其衍生物的含量比 1 年生的低^[32]。

虽然在一些研究中发现一系列年龄段中雄性红豆杉树皮中紫杉醇的含量比雌性的高,但两性之间紫杉醇含量的差异达不到显著的程度^[31,33,34]。一个研究显示红豆杉树皮中紫杉醇的含量呈现了一个有趣的现象,成年树树皮紫杉醇的含量比小树和老树树皮的含量都要低,并且以老树树皮含量最高^[35]。另外一些研究都坚持红豆杉的树皮和叶子越老,紫杉醇的含量越高^[14,16,17,31]。

1.5 组织类型与生长方式

红豆杉中紫杉醇及其衍生物的含量随组织部位的不同而变化。Strobell 等人的研究发现相对于主干的树皮而言,树梢、根、根状茎和侧枝的树皮紫杉醇合成的能力较低^[16]。而在树皮中以形成层的合成能力最强^[16,25]。对 *T. brevifolia* 中 7 种化合物含量的研究表明,其含量从主干基部到侧枝的尖部逐渐减低^[25]。一般而言,紫杉醇在根和主干皮中的含量比在木质部、小枝条、针叶、假种皮等其它各组织都高;10-脱酰基巴卡丁Ⅲ在针叶中的含量最高;巴卡丁Ⅲ在木质部、嫩茎和针叶中的含量较高而根和皮中的含量较

表 1 紫杉醇的含量与红豆杉树龄的关系^[11,14,16,17]

Table 1 Relation of taxol contents and tree age ^[11,14,16,17]			
品种	组织部位	紫杉醇含量 (%)	备注
<i>T. wallichiana</i> var. <i>mairei</i>	枝叶	0.01905 (1 年生)	采集于中国 连州高山镇
		0.00902 (2 年生)	
		0.01033 (3 年生)	
	皮	0.01930 (嫩茎)	
		0.01640 (30~40 年生)	
<i>T. baccata</i> “Overeyndenn” <i>T. baccata</i> “a” sign	皮	0.01762 (60 年生)	
		0.024 (1 年生)	
	枝叶	0.039 (2 年生)	雄株的无性 系
		0.027 (1 年生)	
		0.041 (2 年生)	
<i>T. wallichiana</i> var. <i>yunnanensis</i>	针叶	0.00514 (100 年生)	
		0.01370 (1000 年生)	
	皮	0.00151 (100 年生)	
		0.00899 (1000 年生)	
	枝条	0.00107 (100 年生)	枝条非常细
<i>T. baccata</i>	雄株的皮	0.00179 (1000 年生)	
		0.0512 (20~30 年生)	
		0.0417 (50~60 年生)	
	雌株的皮	0.1155 (100~110 年生)	1998 年九月 采集于印度 的 Jageshwar 地区
		0.0333 (20~30 年生)	
		0.0161 (50~60 年生)	
		0.0778 (100~110 年生)	

低^[1,16,17,36-38]。但是对于不同的品种和栽培种有所不同。Fett Neto 等报道 *T. cuspidata* 针叶中紫杉醇含量最高,显著高于树皮^[31]。较早的研究表明任何一种红豆杉针叶中紫杉醇的含量都可能高于 *T. brevifolia* 树皮中的含量^[1,39]。植株的生长形状也会影响到紫杉醇及其衍生物的含量。灌木状的红豆杉一般比乔木状的紫杉醇含量高^[7]。

1.6 储藏条件

原料的保存对紫杉醇及其衍生物的含量至为关键,但不同的研究所得结果不同,错综不一。Wheeler 等报道在室温下红豆杉芽组织中紫杉醇的含量降低了 60%,其它的衍生化合物降低率高达 80%^[1,24,40]。Georg 等报道在储藏一年后紫杉醇的含量下降得更多^[41]。但 ElSohly 等的研究表明原封不动的干剪枝或粉碎的粉末在室温或冰冻的条件下保存 15 个月后紫杉醇的含量没有发生大的变化^[32]。鲜剪枝放置在冰冻的条件下,其紫杉醇的含量在至少十个星期内是稳定的。他们随后的研究证明保存干剪枝有利于紫杉醇的保存^[42,43]。

在室温下(约 22℃)放置 6 个栽培种分离的叶子 21d,所有红豆杉干叶中的紫杉醇含量都比鲜叶下降了 60%。在另一个实验中,科研人员将两个栽培种的鲜叶分别放在货仓(约 30~40℃,2 d)、温室(约 23~41℃,6d)、阴暗的房间(约 22~40℃,10d)和办公室(约 22~25℃,15 d)中,测试结果显示温室和货仓的条件能够显著提高紫杉醇的含量^[29]。另外一个对比实验显示采集的鲜枝叶分别置于 -12℃,25℃真空和 60℃的条件下 96h,只有置于 60℃下的处理引起了紫杉醇的部分分解^[31]。根据生产经验,一般而言新采集的样品不宜放置太长时间,热、堆积和雨淋会加速紫杉醇的分解。

1.7 代谢旁路抑制剂

研究还发现通过对栽培的红豆杉喷洒合适浓度的激素或抑制剂来促进初生代谢向次生代谢转变,抑制一些代谢支路以及与紫杉醇合成途径相竞争的其他次生代谢途径也可以促进紫杉醇及其衍生物的生物合成。额外施加甾族化合物的生物合成抑制剂氯化氯胆碱(矮壮素)和其它的紫杉醇生物合成竞争途径抑制剂多效唑、嘧啶醇等能提高紫杉醇的产量^[36]。Chee 的研究小组发现对大田栽培的 *Taxus × media* 叶面喷施赤霉素可以显著提高针叶中紫杉醇的含量^[36]。在所有的细胞分裂素中,只有激动素有微弱的促进紫杉醇合成的作用。叶面喷施嘧啶醇,一种植物生长的滞后剂,虽然也可以促进紫杉醇及其衍生物的合成,但其效果比赤霉素差许多^[36]。根据对这些现象的分析,已形成了一些假说来解释这些激素和代谢旁路抑制剂的作用机理,但并不完善。

2 讨论

大量组织和细胞培养的工作中采用的许多诱导子有效地促进了细胞和组织的生长,提高了紫杉醇及其衍生物的含量^[44]。对环境影响和栽培技术的初步研究也证明可以通过人工调节提高栽培红豆杉紫杉醇及其衍生物的含量与产量^[1,36]。但由于其作用途径和机理太复杂,至今不清楚的环节仍然很多。进一步的探索有利于栽培环境的选择和技术的提高、有利于更好地阐明这些因子的作用机理^[45]。

2.1 优良品系的筛选和培育

随着几种简单、廉价而且高效的筛选和繁殖方法的建立^[46-50],相对短时间内依靠产业化栽培红豆杉获取紫杉醇已经成为可能。根据紫杉醇及其衍生物含量高低可以在一定程度上遗传的特性^[35],可以筛选高含量的克隆进行繁育栽培。中国境内分布有红豆杉的 4 个种和 1 个变种,在各地筛选适合本地生长的优良品种和品系是必要的,尤其是对红豆杉属中生长速度最快、在中国分布最广的南方红豆杉。这相对于从国外以高投入引种其它的品种,可以大幅度地降低生产成本。

2.2 土壤成分的影响

根据以往细胞培养研究的结果,一些稀土金属离子和重金属离子包括 Ce^{3+} 、 La^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Ag^{+} 、 Cu^{2+} 等在适当的浓度下可以显著地促进组织和细胞的生长,提高紫杉醇及其衍生物的含量,诱导植物次生代谢化合物的产生^[21,51,52]。但稀土元素离子及土壤成分对栽培红豆杉生长和紫杉醇及其衍生物含量的研究报道很少。土壤肥力也可以显著影响含量和产量,深入研究土壤成分对紫杉醇合成的影响并进一步阐明其作用机理对提高

栽培红豆杉的技术是非常必要的。

2.3 宏观生态因子的影响

定点与大尺度实验可以结合起来研究宏观生态因子对红豆杉生长和紫杉醇及其衍生物含量的影响。结合以往野生资源调查的大量数据和定点实验的结果,可归纳出宏观生态因子对生长和含量影响的模型。这种研究方法对其它中草药的研究、开发和种植也有一定的借鉴作用并有利于推动国家正在大力提倡的中草药开发和研究。

2.4 激素和代谢旁路抑制剂的影响

一些激素和代谢旁路抑制剂在组织、细胞培养及栽培实验中显示了良好的作用效果,但具体的机理还不明确。在栽培实验中可以尝试筛选更多有效的诱导子并检测由此而引起的生理生态生化变化,探索其作用部位和机理。

2.5 不同因子搭配的影响

不同因子促进红豆杉生长和作用于紫杉醇生物合成代谢的时间、部位和机理都有所不同^[7],通过不同影响因子的配伍可以进一步提高紫杉醇及其衍生物的含量,关键在于如何搭配并应用于生产实践。目前已有许多关于不同作用因子正负效应的报道,一些组织和细胞培养的实验证明随机选择诱导子配伍有时很难达到促进生长和目的化合物累积的目的。因此,有必要深入研究各种因子的配伍方案及其协同作用的原理,作为栽培技术开发应用。

References:

- [1] Suffness M, Ed. Taxol: Science and Applications, New York: CRC Press, Inc., 1995. 37 ~ 70.
- [2] Walsh V, Goodman J. Cancer chemotherapy, biodiversity, public and private property: the case of the anti-cancer drug Taxol. Soc. Sci. Med., 1999, 49:1215 ~ 1225.
- [3] Collin H A. Secondary product formation in plant tissue cultures. Plant Growth Regul., 2001, 34:119 ~ 134.
- [4] Guenard D, GueAritte-Voegelein F, Potier P. Taxol and Taxotere: discovery, chemistry and structure-activity relationships. Accounts Chem. Res., 1993, 26:160 ~ 167.
- [5] Hook I, Poupat C, Ahond A, et al. Seasonal variation of natural and basic taxoid contents in shoots of European Yew (*Taxus baccata*). Phytochem., 1999, 52:1041 ~ 1045.
- [6] Kelsey R G, Vance N C. Taxol and cephalomannine concentrations in the foliage and bark of shade grown and sun exposed *Taxus brevifolia* trees. J. Nat. Prod., 1992, 55:912 ~ 917.
- [7] Miao Zh Q, Yuan Y J, Ren D F, et al. Acting point in taxol biosynthesis pathway of elicitor in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *mairei*. Acta Botanica Sinica, 2004, 41 (8):829 ~ 832.
- [8] Wu J Y, Wang C G, Mei X G. Stimulation of taxol production and excretion in *Taxus* spp. cell cultures by rare earth chemical lanthanum. J. Biotech., 2001, 85:67 ~ 73.
- [9] Yang L X, Xu J C, Li L F. The distribution and the present situation of *Taxus* L. resources in Yunnan Province and its protection and sustainable utilization. Plant Res. Environ, 1999, 8(3):39 ~ 43.
- [10] Zhang Z Q, Yang J X, Chen C, et al. Resources and exploitation of *Taxus* spp. in Qinba Mountainous area. Shanxi. Forest Sci. Tech., 1996, 3:37 ~ 39.
- [11] Wu Z L, Yuan Y J, Liu J X, et al. Study on enhanced production of taxol from *Taxus chinensis* var *mairei* in biophasic-liquid culture. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(10):1108 ~ 1113.
- [12] Holton R A, Somoza C, Kim H B, et al. First total synthesis of taxol. 1. Functionalization of the B ring. J. Am. Chem. Soc., 1994, 116:1597 ~ 1598.
- [13] Erik L M, Gerrit P L, Teris A van Beek. Screening of the needles of different yew species and cultivars for paclitaxel and related taxoids. Phytochem, 2000, 53:383 ~ 389.
- [14] Veronika N K, Esther F, Tibor C, et al. Taxol content of various *Taxus* species in Hungary. J. Pharm. Biomed. Anal., 1996, 14:997 ~ 1001.
- [15] He R, Chen D. Taxol content of Lechang's *Taxus mairei*. Chin. Trad. Med., 1999, 22(8):388.
- [16] Strobel G A, Stierle A, Fijm van Kuijk. Factors influencing the in vitro production of radiolabeled taxol by Pacific yew, *Taxus brevifolia*. Plant Sci., 1992, 84:65 ~ 74.

- [17] Su Y J, Wang T, Li X Y, *et al.* Taxol content analysis of different tissues of *Taxus mairei*. *Nat. Prod. Devel.*, 2001, 13(2):19 ~ 20.
- [18] Li J C, Ma Z H, Yuan Y J, *et al.* The effects of Cerium on solvable protein and taxol synthesis dynamic of *Taxus mairei* suspension cultured cell. *J. Chin. Rare Earth Soc.*, 2001, 4:162 ~ 166.
- [19] Zhang H, Yang M H. Several affecting factors of taxol contents of yew bark. *Chin. Trad. Herb. Drugs*. 2002, 33(1):39 ~ 41.
- [20] Zhu X X, Liu G M, Fu M Z. The relationship of taxol content and ecological environment in *Taxus* spp. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1998, 28 (Suppl.):17 ~ 20.
- [21] Griffin J, Hook I. Taxol content of Irish yews. *Planta Med.*, 1996, 62:370 ~ 372.
- [22] Elias T S, Korzhenevsky V V. The presence of taxol and related compounds in *T. baccata* native to the Ukraine (Crimea), Georgia, and Southern Russia. *Aliso*, 1992, 13(3): 463.
- [23] Wheeler N C, Jeck K, Master S, *et al.* Effect of genetic, epigenetic and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species. *J. Nat. Prod.*, 1992, 55:432-440.
- [24] Ballero M, Loi M C, Rozendaal, *et al.* Analysis of pharmaceutically relevant taxoids in wild yew trees from Sardinia. *Fitoterapia*, 2003, 7(4):34 ~ 39.
- [25] Mukherjee S, Ghosh B, Jha T B, Jha S. Variation in content of taxol and related taxanes in Eastern Himalayan populations of *Taxus wallichiana*. *Planta Med.*, 2002, 68(8):757 ~ 759.
- [26] Dou W H, Zhao Y Q, Dou C R. The *Taxus* resources in Shaanxi and its utilization strategies. *Shaanxi Forest Sci. d Tech.*, 1995, 4:31 ~ 35.
- [27] Vance N C, Kelsey R G, Sabin T E. Seasonal and tissue variation in taxane concentrations of *Taxus brevifolia*. *Phytochem.*, 1994, 36(5):1241 ~ 1244.
- [28] Ballero M, Loi M C, Rozendaal, *et al.* Analysis of pharmaceutically relevant taxoids in wild yew trees from Sardinia. *Fitoterapia*, 2003, 7(4):34 ~ 39.
- [29] Appendino G, Gariboldi P, Pisetta A, *et al.* Taxanes from *Taxus baccata*. *Phytochem.*, 1992, 31:4253 ~ 4257.
- [30] Ho C K, Chang S H, Tsai J Y. Seasonal variation in taxane concentrations of different-aged needles from wild trees and ortets of *Taxus mairei* (Lemee & Levl.) Hu ex Liu. *Taiwan J. Forest Sci.*, 2000, 15 (3):365 ~ 377.
- [31] Fett-Neto A G, DiCosmo F. Distribution and amount of taxol in deferent shoot parts of *Taxus cuspidata*. *Planta Med.*, 1992, 58:464 ~ 466.
- [32] ElSohly H N, Croom E M Jr, Kopycki W J, *et al.* The effect of plant age on taxane content of cultivated *Taxus*. *Journal of Herbs, Spices Med. Plants*, 2000, 7(1): 33 ~ 42.
- [33] Mukherjee S, Ghosh B, Jha T B, Jha S. Variation in content of taxol and related taxanes in Eastern Himalayan populations of *Taxus wallichiana*. *Planta Med.*, 2002, 68(8):757 ~ 759.
- [34] Nadeem M, Rikhari H C, Kumar A, *et al.* Taxol content in the bark of Himalayan Yew in relation to tree age and sex. *Phytochem.*, 2002, 60:627 ~ 631.
- [35] McGuire W P, Rowinsky E K, Rosenshein N B, *et al.* Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in metastatic breast cancer. *J. Nat. Cancer Inst.*, 1989, 83:1797 ~ 1805.
- [36] Qiu D Y, Zhu H. The anti-cancer plant: yew. *Peking University Press*, 1996. 10 ~ 14.
- [37] Shen Y C, Chen Y J, Chen C Y. Taxane diterpenoids from the seeds of Chinese yew *Taxus Chinensis*. *Phytochem.*, 1999, 52:1565 ~ 1569.
- [38] Vidensek N, Lira P, Campbell A, *et al.* Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species. *J. Nat. Prod.*, 1990, 53:1609 ~ 1610.
- [39] Witherup K M, Look S A, Stasko M W, *et al.* *Taxus* spp.: needles contain amounts of taxol comparable to the bark of *Taxus brevifolia*: analysis and isolation. *J. Nat. Prod.*, 1990, 53:1249 ~ 1255.
- [40] Wheeler N C, Piesch R F. Intensive cultivation of *Taxus* species for the production of taxol. *Combined Proceed. Int. Plant Propagators' Soc.* 1993, 43:222 ~ 227.
- [41] Georg G I, Gollapudi S R, Gunn C W, *et al.* A reinvestigation of the taxol content of Himalayan *Taxus wallichiana* Zucc. and a revision of the structure of brevifoliol. *Bioorg. Med. Chem Lett.*, 1993, 3:1345.
- [42] ElSohly H N, Croom E D, Kopycki W J, *et al.* Concentrations of taxol and related taxanes in the needles of different *Taxus cultivars*. *Phytochem Anal.*, 1995, 6:149 ~ 156.
- [43] ElSohly H N, El-Kashoury, Croom E M Jr, *et al.* Effect of drying *Taxus* needles on their taxol content: the impact of drying intact clippings. *Planta Med.*, 1995, 61(3):290 ~ 291.
- [44] Nandi S K, Rikhari H C, Nadeem M, *et al.* Clonal propagation of *Taxus baccata* L.: Himalayan asset under threat. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 1997, 3:15 ~ 24.
- [45] Thomas P A, Polwart A. *Taxus baccata* L. *J. Ecol.*, 2003, 91:489 ~ 524.
- [46] Flores T, Wagner L J, Flores H E. Embryo culture and taxane production in *Taxus* spp. — *Taxus brevifolia*, *Taxus × media*, *Taxus baccata* and *Taxus cuspidata* callus culture, somatic embryogenesis and propagation. *In Vitro Plant*, 1993a, 29(4):160 ~ 65.
- [47] Flores T, Wagner L J, Flores H E. In vitro germination and taxane production of *Taxus* spp. — embryo culture and propagation (conference abstract) *Plant Physiol.*, 1993b, 102(1) Suppl.: 98.

- [48] Minore D, Weatherly H G, Cartmill M. Seeds, seedlings and growth of Pacific Yew (*Taxus brevifolia*). Northwest Sci., 1996, 70(3):223 ~ 229.
- [49] Mitchell A K. Propagation and growth of Pacific yew (*Taxus brevifolia* Nutt.) cuttings. Northwest Sci., 1997, 71(1):56 ~ 63.
- [50] Nandi S K, Palni L M S, Rikhari H C. Chemical induction of adventitious root formation in *Taxus baccata* cuttings. Plant Growth Regul., 1996, 19:117 ~ 122.
- [51] Xiang W, Yuan D C, Zhang H J, et al. Taxol content analysis of *Taxus yunnanensis* of different producing place. Yunnan Forest Sci. Tech., 1996, (2): 74 ~ 76.
- [52] Yuan Y J, Hu G W, Wang C G. Effect of rare earth compounds on the growth, Taxol biosynthesis and release of *Taxus cuspidata* cell culture. J. Chin. Rare Earth Soc., 1998, 16(1):56 ~ 60.

参考文献:

- [9] 杨立新, 许建初, 李莲芳. 云南省红豆杉资源的分布、利用现状与保护和可持续利用. 植物资源与环境学报, 1999, 8(3):39 ~ 43.
- [10] 张宗勤, 杨金祥, 陈冲, 等. 秦巴山区红豆杉属植物资源及其利用. 陕西林业科技, 1996, 3:37 ~ 39.
- [17] 苏应娟, 王艇, 李雪燕. 红豆杉不同组织紫杉醇含量的分析. 天然产物研究与开发, 2001, 13(2):19 ~ 20.
- [18] 李景川, 马忠海, 元英进, 等. 钼对悬浮培养南方红豆杉细胞可溶性蛋白和紫杉醇合成动态的影响. 中国稀土学报, 2001, 4:162 ~ 166.
- [19] 张鸿, 杨明惠. 影响红豆杉树皮中紫杉醇含量的若干因素. 中草药, 2002, 33(1):39 ~ 41.
- [20] 朱旭祥, 刘光明, 傅美珍. 红豆杉中紫杉醇含量与生态环境的关系. 中草药, 1998, 28(增刊):17 ~ 20.
- [36] 邱德有, 朱徵. 抗癌植物红豆杉. 北京: 北京大学出版社, 1993. 10 ~ 14.
- [51] 项伟, 阮德春, 张宏杰, 等. 不同产地云南红豆杉含量分析. 云南林业科技, 1996, 2:74 ~ 76.
- [52] 元英进, 胡国武, 王传贵. 钼、钼对红豆杉细胞生长及紫杉醇合成与释放的影响. 中国稀土学报, 1998, 16(1):56 ~ 60.