

胸径、构件和季节对南方红豆杉中紫杉醇 和 10-DAB 含量的影响

王玉震,柯春婷,仝 川*,倪进治,杨红玉

(湿润亚热带生态-地理过程省部共建教育部重点实验室,亚热带资源与环境省重点实验室,福建师范大学地理科学学院,福州 350007)

摘要:系统采集了 12 个不同胸径的南方红豆杉当年生针叶和树皮样品,用超高效液相色谱(UPLC)测定其紫杉醇(taxol)和 10-去乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-deacetylbaicatin Ⅲ, 10-DAB)含量,结果显示针叶的两种被测试物质含量的平均值分别为 0.0127 mg·g⁻¹和 0.0805 mg·g⁻¹,树皮的这两种物质含量平均值分别为 0.1164 mg·g⁻¹和 0.4842 mg·g⁻¹。当年生针叶、树皮中紫杉醇含量与胸径相关性不显著。对植株不同构件(枝条、针叶、树皮和根)中紫杉醇和 10-DAB 含量的测定表明,根中紫杉醇和 10-DAB 含量最高,当年生针叶紫杉醇含量最低。天然和人工栽培南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量呈明显的季节变化,各月份间含量差异显著,人工栽培和天然植株针叶在生长速度明显减缓的 10 月份,紫杉醇和 10-DAB 含量均出现一个明显的峰值。

关键词:紫杉醇;10-DAB;构件;季节变化;胸径;南方红豆杉

Effects of diameter at breast height, modules and seasons on Taxol and 10-DAB contents in *Taxus Chinensis* var. *mairei*

WANG Yuzhen, KE Chunting, TONG Chuan*, NI Jinzhi, YANG Hongyu

Key Laboratory of Humid Sub-tropical Eco-geographical Process of Ministry of Education, Provincial Key Laboratory of Subtropical Resources and Environment, School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China

Abstract: Taxol, a diterpene with exceptional anticancer activity, occurs as a very minor component in several species of *Taxus*. By collecting the samples of 12 *Taxus chinensis* var. *mairei* trees of different diameters at breast height, the contents of taxol and 10-deacetylbaicatin Ⅲ (10-DAB) in the barks and 1-year-old needles were analyzed by UPLC. The average contents of the taxol and 10-DAB were 0.0127 and 0.0805 mg·g⁻¹ in 1-year-old needles and 0.1164 and 0.4842 mg·g⁻¹ in barks, respectively. The contents of taxol in barks and 1-year-old needles had no correlation with tree diameter at breast height. The results of analysis on different modules (branches, needle, barks and roots) showed that the contents of taxol and 10-DAB were highest (0.3527 mg·g⁻¹) in roots, and the contents of taxol were lowest in 1-year-old needles (0.0096 mg·g⁻¹). 10-DAB was not detectable in 1-year-old needles. There were significant differences in the contents of taxol among 1-year-old needles, branches and roots. The contents of taxol and 10-DAB in 1-year-old needles displayed significant seasonal variation. The contents of taxol and 10-DAB of the needle from both natural and cultivated *T. chinensis* var. *mairei* all had a significant peak value in October when plants slowed down their growth.

Key Words: taxol contents; 10-DAB contents; module; seasonal dynamics; diameter at breast height; *Taxus chinensis* var. *mairei*

红豆杉是古老的裸子植物,为常绿乔木或灌木,全世界红豆杉属植物有 11 个物种,分布于北半球温带和

基金项目:福建省“十一五”科技重大专项前期研究资助项目(2005YZ100)

收稿日期:2009-02-19; 修订日期:2009-05-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tongch@fjnu.edu.cn

亚热带地区。我国有 4 个种和 1 个变种,包括中国红豆杉(*Taxus chinensis*)、云南红豆杉(*T. yunnanensis* Cheng et L. K. Fu)、西藏(喜马拉雅)红豆杉(*T. wallichiana*)、东北红豆杉(*T. cuspidata*)和南方红豆杉(*T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Levl.)^[1])。红豆杉含有多种药用活性物质,但自从 Wani^[2]等 1971 年首次从太平洋红豆杉(*Taxus brevifolia*)树皮中分离出紫杉醇(taxol),并公布了其化学结构,以及随后在 1992 年美国食品与药物管理局正式批准紫杉醇可用于治疗晚期卵巢癌,国内外对于红豆杉资源以及其紫杉醇含量的研究日益增多,研究领域包括红豆杉属不同红豆杉天然群体紫杉醇含量比较^[3-4];红豆杉天然群体不同构件紫杉醇含量的分析^[5-6];遮光对南方红豆杉生长和紫杉醇含量的影响^[7]以及红豆杉的生态学特征研究^[8-9]等,10-脱乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-DAB)是一个二萜类紫杉烷衍生物,是合成紫杉醇最重要的前体物质,往往与紫杉醇一起被加以研究^[7,10]。

南方红豆杉是亚热带常绿阔叶林、常绿与落叶阔叶混交林的特征种,常与其它阔叶树、竹类以及针叶树混生,分布海拔范围为 800—1 600 m^[1]。南方红豆杉为红豆杉属植物在中国分布最广泛的一种,主要分布于长江流域、南岭山脉山区及河南、陕西(秦岭)等省的山地或溪谷。关于南方红豆杉的研究已取得了一定的进展,包括南方红豆杉天然种群结构和生命表^[11-12]、南方红豆杉不同部位紫杉醇含量检测^[6]、生长在浙江的人工栽培南方红豆杉中紫杉醇含量的季节动态^[10]。但是,南方红豆杉不同构件中紫杉醇和 10-DAB 含量的差异,天然和人工栽培南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量的季节动态以及不同胸径对于紫杉醇和 10-DAB 含量的影响还未见系统的研究报告,深入系统地研究南方红豆杉对于不同影响因子的响应,对于南方红豆杉资源的合理开发利用具有重要的理论和实践价值。

1 材料与研究方法

1.1 植物材料

1.1.1 不同胸径南方红豆杉的取样

2007 年 8 月 22—26 日在福建龙栖山余平区选取一个南方红豆杉集中分布区,对不同胸径的南方红豆杉进行采样。采样区南方红豆杉胸径大小范围变化很大,不均匀分布,本研究不再进一步依据胸径大小进行分级,而是从小到大直接排列所有胸径大小的南方红豆杉个体。对于不同胸径的植株,采集少量枝头部位的当年生针叶和极少量树皮(距离地面 1.3 m)。由于红豆杉个体散生及数量很少的特征,多数胸径只能采集到 1 个植株的样品,只有少数胸径可以找到 2—3 个个体进行生态学 and 生物学上的重复采样,对于少数可以重复采样的,将采集到的不同个体的树皮和针叶分别进行混合,构成树皮样品和针叶样品。

1.1.2 不同构件的南方红豆杉取样

以龙栖山余平区天然南方红豆杉为研究对象,采集 3 株胸径均约为 17 cm 的红豆杉个体的当年生针叶、小枝条、主干树皮和根部,并对采集到的各构件分别进行混合。

1.1.3 不同季节南方红豆杉取样

南平市茫荡山福建三三药业有限公司茂地南方红豆杉人工种植基地 2007 年南方红豆杉植株均为 3 年生红豆杉幼株,都是 1 龄时从附近的南方红豆杉苗圃基地移植过来并生长了 2a。在福建,人工种植南方红豆杉被整株收获并立刻运输到紫杉醇提取加工车间的树龄也多为 3—5 龄。从 2007 年 5 月—2008 年 4 月,本研究对人工栽培 3 龄南方红豆杉植株进行样品取样,每次分别选取 6—8 株红豆杉个体(胸径均约为 2 cm)采集样品,采集样品部位为枝头的当年生针叶,并对采集到的针叶进行混合。为了保证取样环境条件的相对均一性,在南方红豆杉人工种植基地周边一定范围内寻找天然南方红豆杉植株,结果未发现胸径小于 5 cm 的天然南方红豆杉个体,只找到 2 株胸径为 6 cm 的天然南方红豆杉个体,同样从 2007 年 5 月—2008 年 4 月,同样按照人工南方红豆杉的取样部位对天然南方红豆杉个体进行针叶的取样。

1.2 测试方法

1.2.1 仪器和试剂

研究中的药品涉及了紫杉醇、10-DAB 标准品(云南汉德公司,纯度大于 99.9%);甲醇(禹王试剂,色谱

纯,山东禹王实业有限公司化工分公司);乙腈(色谱纯,西格玛-奥德里奇(上海)贸易有限公司),水(超纯水)。

测试仪器包括 Waters ACQUITY UPLC™ 超高效液相色谱分析系统和 ACQUITY UPLC TUV 检测器;旋转蒸发仪(BUCHI),TDL-40B 台式离心机(上海安亭科学仪器厂);固相萃取柱(Waters C₁₈小柱,200 mg);KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);Waters 20 孔真空固相萃取提取装置。

1.2.2 测试方法

(1)样品的提取与处理

室内阴处风干干燥处理南方红豆杉针样品叶至恒重^[5-6, 13-15],粉碎机粉碎,冰箱内避光保存。称取 3 g 粉末样品于 50 mL 玻璃离心瓶中,加入 25 mL 70% 甲醇水溶液,摇匀,超声波处理 60 min, 1500 r·min⁻¹ 的速度离心 5 min,倒出上清液于圆底烧瓶中,滤渣继续用 25 mL 70% 甲醇浸提 2 次,超声 30 min,离心,弃去滤渣,合并 3 次所得滤液于 60℃ 下减压浓缩,残渣用 5 mL 甲醇溶解并定容至 25 mL,过滤,待用^[16]。

(2)固相萃取纯化

将 C₁₈ 固相萃取柱用 100% 甲醇浸泡 30 min,然后依次用 100% 甲醇和超纯水淋洗 10 mL,进样前在萃取柱上部需保留约 1—2 mL 水。吸取 2 mL 提取液加入固相萃取柱中,然后分别用 10 mL 超纯水和 20% 甲醇淋洗,弃去洗脱液。最后用 5 mL 80% 甲醇进行洗脱,收集洗脱液即为待测液^[17]。重复 3 次以上样品的提取、处理及固相萃取纯化步骤,获得 3 份待测液。

(3)色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH Shield RP 18 (1.7 μm, 2.1 × 50 mm);流动相: $v(\text{甲醇}):v(\text{水}) = 1:9$;柱温 40℃;流速:0.4 mL·min⁻¹;进样量:1 μL;紫外检测波长:228 nm。该色谱条件下紫杉醇和 10-DAB 都能达到基线分离,样品分析时间为 8 min。

标准溶液配制:精密称取一定量的紫杉醇及 10-DAB 对照品,并用甲醇色谱纯分别配制成浓度为 1.004 mg·mL⁻¹ 及 1.0019 mg·mL⁻¹ 的标准品溶液,置冰箱低温保存,使用时各取一定量配成混标,并用甲醇色谱纯稀释配成绘制工作曲线的系列溶液。

(4)分析检测

对每一份待测液,取 1 μL 注入超高效液相色谱分析仪进行检测,标准曲线外标法定量,分别计算紫杉醇、10-DAB 质量分数。

1.3 统计分析

采用 SPSS10.0 统计分析软件的单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行胸径间紫杉醇和 10-DAB 含量差异的显著性检验,多重方差分析(LSD)进行不同构件间中紫杉醇和 10-DAB 含量两两差异性检验。

2 结果与分析

2.1 不同胸径南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 的含量

随着胸径的增加,南方红豆杉植株当年生针叶和树皮中紫杉醇和 10-DAB 含量呈现不规则的动态变化(表 1)。不同胸径南方红豆杉植株当年生针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量的平均值分别为 0.0127 mg·g⁻¹ 和 0.0805 mg·g⁻¹,变异系数分别为 58.29% 和 203.82%。不同胸径南方红豆杉植株树皮紫杉醇和 10-DAB 含量平均值分别为 0.1164 mg·g⁻¹ 和 0.4842 mg·g⁻¹,变异系数分别为 56.28% 和 115.79%。南方红豆杉树皮中紫杉醇含量(0.1164 mg·g⁻¹)远大于当年生针叶中紫杉醇含量(0.0127 mg·g⁻¹),且差异性极显著($P < 0.001$),树皮中 10-DAB 含量(0.4842 mg·g⁻¹)大于当年生针叶中 10-DAB 含量(0.0805 mg·g⁻¹),同样差异显著性($P < 0.01$)。当年生针叶和树皮的紫杉醇含量与胸径均不相关($r = 0.036, P > 0.05$; $r = 0.327, P > 0.05$),当年生针叶中 10-DAB 含量与胸径呈显著正相关($r = 0.659, P < 0.05$);树皮中 10-DAB 含量与胸径不相关($r = 0.133, P > 0.05$)。

2.2 南方红豆杉不同构件紫杉醇和 10-DAB 的含量

南方红豆杉不同构件(枝条、针叶、主干树皮和根)中紫杉醇和 10-DAB 含量见表 2。其中,根中紫杉醇含

量最高,当年生针叶紫杉醇中含量最低;根中 10-DAB 含量同样最高,当年生针叶中 10-DAB 含量未测出。

表 1 不同胸径南方红豆杉植株中紫杉醇和 10-DAB 含量(平均值 ± 标准误差)
Table 1 Contents of taxol and 10-DAB in *T. chinensis. var. mairei* of different diameters at breast height(Mean ± SE)

胸径 DBH /cm	10-DAB/(mg·g ⁻¹)		紫杉醇 Taxol/(mg·g ⁻¹)	
	当年生针叶 One-year-old-needle	树皮 Bark	当年生针叶 One-year-old-needle	树皮 Bark
4.1	0.0175 ± 0.0009	0.3980 ± 0.0053	0.0190 ± 0.0001	0.1545 ± 0.0023
7.3	0.0006 ± 0.0000	0.1936 ± 0.0137	—	0.0809 ± 0.0223
10.5	0.1302 ± 0.0193	0.0638 ± 0.0025	0.0066 ± 0.0009	0.0588 ± 0.0147
11.8	—	1.1875 ± 0.0817	0.0091 ± 0.0007	0.0729 ± 0.0233
14	—	0.0218 ± 0.0010	0.0173 ± 0.0013	0.1506 ± 0.0015
17	—	0.0221 ± 0.0005	0.0096 ± 0.0004	0.0756 ± 0.0036
22.6	0.0015 ± 0.0005	1.2970 ± 0.1141	0.0121 ± 0.0005	0.0471 ± 0.0110
31.8	—	0.1135 ± 0.0176	0.0261 ± 0.0022	0.2050 ± 0.0099
39.2	0.0017 ± 0.0010	0.8127 ± 0.0040	0.0107 ± 0.0052	0.0756 ± 0.0074
59.5	0.0133 ± 0.0002	0.0818 ± 0.0006	0.0173 ± 0.0012	0.2314 ± 0.0024
79.6	0.5026 ± 0.0041	1.5517 ± 0.1507	0.0044 ± 0.0001	0.0544 ± 0.0150
99.3	—	0.0670 ± 0.0003	—	0.1899 ± 0.0059
变异系数 CV/%	203.82	115.79	58.29	56.28

“—”表示未检测出含量

表 2 南方红豆杉不同构件紫杉醇及 10-DAB 含量(平均值 ± SE)
Table 2 Contents of taxol and 10-DAB in different modules of *T. chinensis. var. mairei*

构件 Module	当年生针叶/(mg·g ⁻¹) One-year-old-needle	小枝/(mg·g ⁻¹) Branch	树皮/(mg·g ⁻¹) Bark	根/(mg·g ⁻¹) Root
紫杉醇 Taxol	0.0096 ± 0.0004 ^a	0.0261 ± 0.0046 ^a	0.0756 ± 0.0036 ^b	0.3527 ± 0.1720 ^b
10-DAB	—	0.7442 ± 0.0476 ^a	0.0221 ± 0.0005 ^a	3.9566 ± 0.2985 ^b

注:同一行数字右上角相同字母表示差异性不显著($P < 0.05$)

2.3 南方红豆杉不同季节紫杉醇和 10-DAB 含量

天然和栽培南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量呈明显的季节变化(图 1,2)。天然南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇含量最高峰值出现在 10 月份(0.0297 mg·g⁻¹),8 月份含量最低(0.0003 mg·g⁻¹),栽培南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇含量最高峰出现在 6 月份(0.1834 mg·g⁻¹),次高峰出现在 10 月份(0.1498 mg·g⁻¹),7 月份含量最低(0.0021 mg·g⁻¹),各个月份之间含量差异性显著($P < 0.05$);天然南方红豆杉当年生针叶 10-DAB 含量最高峰值也出现在 10 月份(0.3288 mg·g⁻¹),8 月份含量最低(0.0032 mg·g⁻¹),而栽培南方红豆杉 10-DAB 含量最高峰出现在 5 月份(5.7425 mg·g⁻¹),次高峰出现在 10 月份(3.8329 mg·g⁻¹),7 月份含量最低(0.3196 mg·g⁻¹),各个月份之间含量差异性显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 植物样品的取样和重复

在本研究区对于南方红豆杉中紫杉醇含量对若干影响因子响应的研究中,有的在取样时可以做到生态学 and 生物学上的重复采样,有的很难做到重复取样(特别是研究不同胸径的影响时)。重复取样时将采集到的不同植株的针叶或树皮样品进行分别混合,再分出若干份构成测定时的平行样,进行测定时的平行,这实际上同土壤研究取样时常用的混合四分法原理一致。对于无法重复取样的情况,只好将采集的 1 个或 2 个植株上的样品先均匀混合后分为若干份测定平行样,做到测定时的平行。目前国内外对于红豆杉中紫杉醇含量影响的研究中做到重复取样的文献报道极少,或先取不同的植株然后均匀混合再分为测定时的平行样^[18],或对 1 个处理的样品直接分为若干个测定时的平行样^[3,15,19],或对每一个“处理”只取 1 个样品并不做测定时的平行

样^[4, 6, 13-14]。当然,在条件允许的情况下,对于天然南方红豆杉红豆杉中紫杉醇含量的研究,如果可以做到生物学上的重复取样和测定是最理想的。

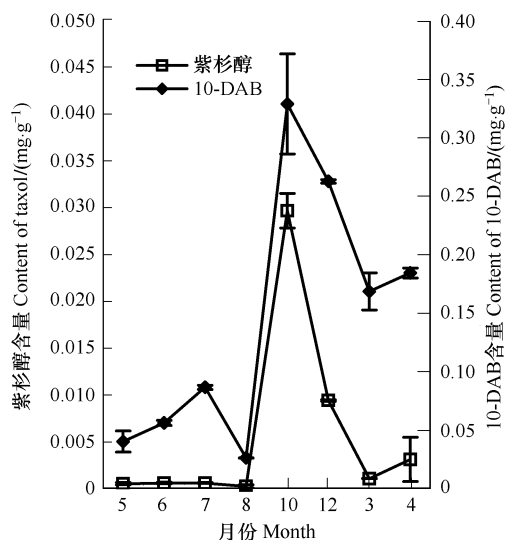


图1 天然南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量季节变化(2007-05—2008-04)

Fig. 1 Seasonal variation of the contents of taxol and 10-DAB in needles of *T. chinensis var. mairei*

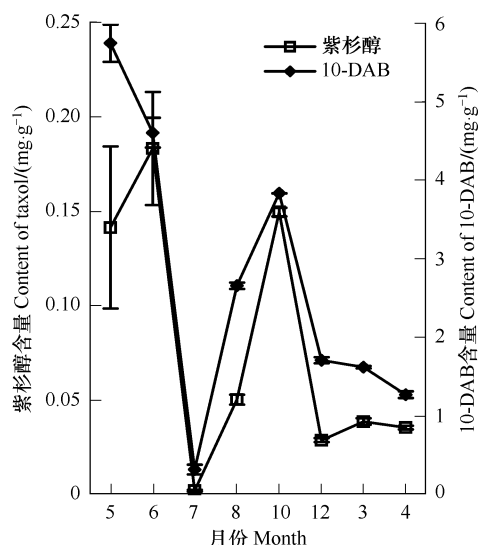


图2 人工栽培南方红豆杉当年生针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量季节变化(2007-05—2008-04)

Fig. 2 Seasonal variation of the contents of taxol and 10-DAB of needles of cultivated *T. chinensis var. mairei*

3.2 胸径对红豆杉中紫杉醇含量的影响

树龄对于红豆杉中紫杉醇含量具有影响,但是到底紫杉醇含量与红豆杉树龄的关系如何,研究的结论并不完全一致。南方红豆杉为国家一级保护植物,本研究区内南方红豆杉植株胸径大小范围变化很大,由于不能钻孔测定个体树龄,又无解析木材材料,无法直接研究红豆杉树龄对于紫杉醇含量的影响,仅探讨了胸径与紫杉醇含量的关系,研究表明,不同胸径南方红豆杉中紫杉醇含量基本为波动状态,并没有呈现随胸径的增长而含量增加的结果。

Nadeem 等^[13]对欧洲红豆杉(*T. baccata*)的研究表明小枝中紫杉醇含量与树龄成正比关系,紫杉醇含量随着树龄的增长而增加;程广有等^[20]对 8—56 年生之间的 6 株东北红豆杉紫杉醇含量测定也表明紫杉醇含量随着树龄的增长而增加,8 年生红豆杉树皮中紫杉醇含量仅为 0.0007%,而 56 年生的含量为 0.0047%,增加了 6.8 倍;Strobel 等^[21]对太平洋红豆杉(*T. brevifolia*)的研究同样表明紫杉醇含量随年龄的增加而增加。但是,苏建荣等^[14]对 10 株云南红豆杉针叶中紫杉醇含量的研究却发现紫杉醇含量并不是随着树龄的增长而持续地增加,树龄对紫杉醇含量的影响主要体现在较年轻植株,对于成熟植株,树龄的影响不大。McGuire 等^[22]研究也显示红豆杉树皮中紫杉醇的含量呈现了一个有趣的现象,虽然老树树皮含量最高,但是,成年个体树皮紫杉醇含量比小树树皮的含量低。

在一些研究中以胸径结构代替年龄结构^[11,23],但是考虑到环境和土壤营养条件也会造成胸径大小的差异,本文研究的结果不能直接体现年龄对于红豆杉中紫杉醇含量的影响。不过,研究结果还是可以间接支持紫杉醇含量并不是随着树龄的增长而持续地增加的观点。关于紫杉醇含量与红豆杉树龄的关系仍需深入研究,研究中应注意以下几点:尽可能地对于每一年龄(段)的植株加大取样量,取样要严格注意取样位置的一致性,尽可能选取相同生境条件的(包括同一坡向、遮光程度等)下的植物样品。

极少数样品中未检测出 10-DAB 或紫杉醇,原因是多方面的,可能原因如 Ballero 指出的那样,基因突变导致 10-DAB 或者紫杉醇被其他的紫杉烷类化合物所代替^[24]。但目前这一假设尚未得到证实。

3.3 红豆杉不同构件的紫杉醇含量

红豆杉不同部位(根、小枝、树皮、针叶和木质部等)紫杉醇含量不同已为许多研究所证明,并形成了较为一致的结论,即树皮和根部的含量相对较高。Vidensek 等^[25]系统地分析了太平洋红豆杉、欧洲红豆杉、东北红豆杉(*T. cuspidata*)和曼地亚红豆杉(*T. media*)不同部位:树皮、根、枝条(b ranches)、嫩枝(twigs)、针叶、树苗(seedling)和木质部的紫杉醇含量,结果显示树皮中含量最高(0.018%)、树苗和根部其次(0.004%)、其它构件含量较小且相差不大,含量最低的为木质部(0.0004%)。苏建荣等^[14]对云南红豆杉的研究也表明,树皮的紫杉醇含量分别为针叶和侧枝的 3.1 倍和 3.8 倍,郑德勇^[6]对南方红豆杉的研究表明树皮中紫杉醇平均含量 0.0302%,针叶和木质部中的平均含量分别仅为 0.0043% 和 0.0031%,树皮为针叶和木质部的 7 倍和 9.8 倍。赵春芳等^[19]进一步研究发现侧茎中紫杉醇含量最高的部位是紧邻木质形成层的次生木质层区而不是一般认为的树皮。本文研究结果也表明,南方红豆杉树皮中的紫杉醇含量高于枝条和针叶,但根部紫杉醇含量高于树皮。

但是,也有不同的研究结果,Fett Neto 等^[26]报道东北红豆杉针叶中的紫杉醇含量最高,并明显高于树皮;Witherup^[5]的研究也表明太平洋红豆杉针叶中紫杉醇含量高于树皮中。出现不同学者的研究结果不尽一致的现象也说明红豆杉不同构件紫杉醇含量的高低是一个复杂的问题,也说明取样条件的统一一致性在比较红豆杉不同构件紫杉醇含量时的重要性。

3.4 季节变化对红豆杉中紫杉醇含量的影响

红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量呈明显的季节动态,已为不少测定所证实。本研究中南方红豆杉针叶中紫杉醇及 10-DAB 含量均具有明显的季节变化。3 龄人工栽培南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量均具有 2 个明显的峰值,出现的时间也几乎一致,紫杉醇的 2 个峰值分别出现在 6 月份和 10 月份,10-DAB 则分别出现在 5 月份和 10 月份。10 龄天然南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量的最高峰值很明显,均出现在 10 月份,但第 2 个次高峰值不明显,在盛夏的 8 月份出现了最低值。人工栽培和天然南方红豆杉均在针叶生长速度明显减缓的 10 月份,其紫杉醇和 10-DAB 含量出现一个明显峰值。这说明亚热带地区人工栽培南方红豆杉针叶的最佳采集时间是秋季,这一结果对我国南方地区南方红豆杉种植企业制定红豆杉收获的标准操作规程以及红豆杉资源的合理开发具有重要的指导意义。

杨逢建和庞海河等^[10]对南方红豆杉的研究也发现紫杉醇等药用活性物质含量季节变化明显,研究结果为出现 3 个峰值,分别在 5、8 月份和 10 月份,含量依次是 0.515、0.264 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 0.217 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。与本研究结果不同的是,其生长旺季的 8 月份也出现了一个峰值,而本研究中,8 月份的含量最低。南方红豆杉 4 月份休眠芽开始萌发,5 月份出现一个紫杉醇含量的峰值,也验证了随着光照的增强和时间延长,可刺激或者激活一些紫杉醇生物合成酶(如苯丙氨酸转氨酶)来合成新的紫杉醇的观点^[27]。杨逢建和庞海河认为大量的紫杉醇累积在细胞中会抑制红豆杉自身细胞微管的解聚,必然会引起红豆杉机体作出应激反应,将紫杉醇以结合态糖基化的形式贮存于植物体内,造成了植物体内游离态的紫杉醇含量减少,呈现周期性变化^[10]。

分布在我国北方的东北红豆杉在生长旺季植物生长较快,紫杉醇含量较低,进入休眠期含量明显增高^[20]。付玉杰等^[18]对东北红豆杉针叶和茎中紫杉醇含量的研究也表明其紫杉醇含量在 7 月份和 11 月份达到 2 个峰值(0.032 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 0.029 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$),从出现的月份看,分别比生长在南方的南方红豆杉推迟了 1 个月。事实上,红豆杉中紫杉醇含量出现峰值的时间同样也是具有较大不确定性,Hook 等^[15]研究指出生长在巴黎附近的欧洲红豆杉针叶中 10-DAB 含量 8 月份和 9 月份达到最高的含量,而生长在爱尔兰都柏林的欧洲红豆杉针叶中紫杉醇含量在 2 月份和 4 月份达到最高。可以认为红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 具有明显的季节动态应是定论,但峰值出现在哪个月份、具有几个峰值可能与不同的品种、不同的生长地环境条件密切相关。

References:

- [1] Bao W K, Chen Q H. Present status, problems, and future development strategies on natural taxus resources and their exploitation in China. Journal

- of Natural Resources, 1998, 13(4): 375-380.
- [2] Wani M C, Taylor H L, Wall M E, Coggon P, Mcphail A T. Plant antitumor agents VI. the isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. Journal of the American Chemical Society, 1971, 93:2325-2327.
- [3] Németh-Kiss V, Forgács E, Cserhádi T, Schmidt G. Taxol content of various *Taxus* species in Hungary. Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis, 1996, 14:997-1001.
- [4] Zheng D Y. Study on the taxol content in different parts of *Taxus* growing in China. Journal of Fujian College of Forestry, 2003, 23:160-163.
- [5] Witherup K M, Look S A, Stasko M W. *Taxus* spp. : needles contain amounts of taxol comparable to the bark of *Taxus brevifolia*; analysis and isolation. Journal of Natural Product, 1990, 53:1249-1255.
- [6] Su Y J, Wang T, Li X Y, Fan G G, Ke Y Y, Niu J M, Liao W B. Analysis of taxol content in different parts of *Taxus chinensis*. Natural Product Research and Development, 2001, 13(2): 19-20.
- [7] Wang C W, Tong C, Li W J, Xiong D J. Effects of shading on *Taxus chinensis* var. *mairei* growth and its taxol content. Chinese Journal of Ecology, 2007, 27(8): 1269-1273.
- [8] Busing R T, Halpern C H, Spies T A. Ecology of Pacific Yew in Western Oregon and Washington. Conservation Biology, 1995, 9:1199-1207.
- [9] Li X G, Xiang W S, Su Z M. Structure and dynamics of *Taxus chinensis* var. *mairei* clonal population. Journal of Applied Ecology, 2004, 15(2): 177-180.
- [10] Yang F J, Pang H H, Zhang X K, Liu J Y, Zu Y G. Quantitative changes of anti-cancer active components in *Taxus chinensis* var. *mairei* branches and leaves. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(4): 911-914.
- [11] Hong W, Wang X G, Wu C Z, He D J, Liao C C, Cheng Y, Feng L. Life table and spectral analysis of endangered plant *Taxus chinensis* var. *mairei* population. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(6): 1109-1112.
- [12] Zhang Z Q, Liao W B, Zhong Y, Chen Z M. Biological study on seed Germination of *Taxus mairei*. Forest Research, 2006, 3(13): 280-285.
- [13] Nadeem M, Rikhari H C, Kumar A, Palni L M S, Nandi S K. Taxol content in the bark of Himalayan Yew in relation to tree age and sex. Phytochemistry, 2002, 60:627-631.
- [14] Su J R, Zhang Z J, Deng J. Study on the Taxol content in *Taxus yunnanensis* of different age and different provenance. Forest Research, 2005, 18(4): 369-374.
- [15] Hook I, Poupat C, Alain A, Gueritte M T. Seasonal variation of neutral and basic taxoid contents in shoots of European Yew (*Taxus baccata*). Phytochemistry, 1999, 52:1041-1045.
- [16] Luo L N, Dong H R, Zheng Y, Zhao J C. Ripid determination of toxol and its analogues in taxus by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. Chines Journal of Analysis Laboratory, 2005, 24(7): 80-84.
- [17] Mattina M J I, MacEachern G J. Extraction, purification by solid-phase extraction and high performace liquid chromatographic analysis of taxanes from ornamental *Taxus* needles. Journal of Chromatography A, 1994, 697:269-275.
- [18] Fu Y J, Sun R, Li S M, Zu U G. Dynamic space-time variation of the content of paclitaxel in renewable parts of *Taxus cuspidata*. Chinese Bulletin of Botany, 2007, 24(4): 465-469.
- [19] Zhao C F, Yu L J, Liu Z, Sun Y P, Li W P. Distribution of taxol and taxanes in Yew tree. Chemistry and Industry of Forest Products, 2005, 25(1): 89-93.
- [20] Cheng G Y, Gao F, Ge C H, Tang X J. Variation regularity of taxol content in natural populations of *Taxus cuspidate* Sieb. et Zucc in China. Journal of Beijing Forestry University, 2005, 27(4): 7-11.
- [21] Strobel G A, Stiede A, van Kuikj J G M. Factors influencing the in vitro production of radiolabeled taxol by Pacific yew, *Taxus brevifolia*. Plant Sciences, 1992, 84:65-74.
- [22] 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.
- [23] Brodie C, Howle G, Fortin M J. Development of a *Populus balsamifera* clone in subarctic quebec reconstructed from spatial analyses. Journal of Ecology, 1995, 83:309-320.
- [24] Ballero M, Loi M C, van Rozendaal E L M, B eek T A. Analysis of pharmaceutically relevant taxoids in wild yew trees from Sardinia. Fitoterapia, 2003, 74:34-39.
- [25] Vidensek N, Lira P, Campbell A, Carlson C. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig, and seedling from several *Taxus* species. Journal of Natural Products, 1990, 53:1609-1610.
- [26] Fett-Neto A G, DiCosmo F. Distribution and amount of taxol in deferent shoot parts of *Taxus cuspidate*. Planta Med, 1992, 58:464-466.
- [27] Fleming P E, Mocek U, Floss H G. Biosynthesis of taxoids; Mode of formation of taxol side chain. Journal of the American Chemical Society, 1993, 115:805-807.

参考文献:

- [1] 包维楷,陈庆恒.中国的红豆杉资源及其开发研究现状与发展对策.自然资源学报,1998,13:375-380.
- [4] 郑德勇.我国 3 种红豆杉各部位紫杉醇含量的比较.福建林学院学报,2003,23:160-163.
- [6] 苏应娟,王艇,李雪雁,范国宽,柯亚永,牛建明,廖文波.南方红豆杉不同部位紫杉醇含量的分析.天然产物研究与开发,2001,13(2):19-20.
- [7] 王昌伟,全川,李文建,熊道金.遮光对南方红豆杉生长及紫杉醇含量的影响.生态学杂志,2008,27(7):1269-1273.
- [9] 李先琨,向悟生,苏宗明.南方红豆杉无性系种群结构和动态研究.应用生态学报,2004,15(2):177-180.
- [10] 杨逢建,庞海河,张学科,孙佳音,祖元刚.2008.南方红豆杉枝叶中药用抗癌活性物质含量.应用生态学报,19(4):911-914.
- [11] 洪伟,王新功,吴承祯,何东进,廖成章,程煜,封磊.濒危植物南方红豆杉种群生命表及谱分析.应用生态学报,2004,15(6):1109-1112.
- [12] 张志权,廖文波,钟翎,陈志明.南方红豆杉种子萌发生物学特性研究.林业科学研究,2006,3(13):280-285.
- [14] 苏建荣,张志均,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.林业科学研究,2005,18(4):369-374.
- [16] 雒丽娜,董慧茹,郑云,赵京城.固相萃取高效液相色谱法快速测定红豆杉枝叶中的 3 种紫杉烷类化合物.分析测试室,2005,24(7):80-84.
- [18] 付玉杰,孙蕊,李双明,祖元刚.东北红豆杉可生部位紫杉醇含量时空动态变化规律.植物学通报,2007,52:465-469.
- [19] 赵春芳,余龙江,刘智,孙友平,李文兵.中国红豆杉中主要紫杉烷类物质的分布研究.林产化学与工业,2005,5(1):89-93.
- [20] 程广有,高峰,葛春华,唐晓杰.中国境内东北红豆杉天然群体紫杉醇含量变异规律.北京林业大学学报,2005,27(4):7-11.