

桃儿七国内外研究进展

区 智, 屈 燕

(西南林业大学 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:桃儿七为著名的珍稀濒危药用植物。在阐述桃儿七化学成分提取及药理作用研究的基础上,综述了桃儿七生物学特性及人工栽培技术,并对其遗传多样性,鬼臼毒素生产的其它途径等方面的研究进展进行了阐述,同时对当前研究中存在的问题及今后的研究方向进行了展望。

关键词:桃儿七;研究进展;鬼臼毒素;生物学特性;人工栽培

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)18-0183-03

桃儿七(*Sinopodophyllum emodii* Ying)属小檗科(Berberidaceae)桃儿七属多年生草本植物,是一个分布范围较广、生态适应幅度大的物种,分布于喜马拉雅及邻近地区,产于云南、四川、西藏、甘肃、青海和陕西,生于林下、林缘湿地、灌丛中或草丛中,海拔1 500~4 300 m。在国外,主要分布于不丹、尼泊尔、印度北部、巴基斯坦、阿富汗及克什米尔,适于寒冷而湿润的生态环境^[1]。在分布区内它主要出现在具有次生植被的山谷中,个体在居群内的分布格局,由于受到放牧活动的影响而呈聚群式分布^[2]。赵纪峰等^[3]对西藏、青海、甘肃、四川、云南等省区的桃儿七资源进行调查,结果表明,桃儿七主要分布于我国中部从陕西太白山区由北向南沿横断山脉两侧的中高山及青藏高原地带,适生生境以海拔1 500~4 500 m的沟谷湿润林下到高原面上较为干旱的矮小灌丛植被为主,单纯的高山草甸分布密度相对较小;光照、水分、土壤、温度、海拔等从不同的角度对桃儿七的分布和生长、资源蕴藏量都有着明显的影响。桃儿七是一种传统的民间药用植物,已被《中国药典》收载^[4]。其根茎中含有大量的具有抗癌活性的木脂素类物质,其中鬼臼毒素(Podophyllotoxin)抗癌活性最高,是人工合成VP₇、VP₁₆(etoposide)和VM₂₆(teniposide)等抗癌药物的起始物质^[5-6]。随着藏药“小叶莲”(果实)和鬼臼毒素提取原料的地下部分市场需求量的增长,人类采挖活动加剧,桃儿七生境受到严重破坏,加上采挖过量,

致使种群数量迅速减少,现已处于严重濒危状态,已被列入《中国植物红皮书》和《中国珍稀濒危植物名录》^[7],并被国家列为三级保护植物。目前,国内外对于桃儿七的研究包括以下几个方面。

1 化学成分及药理作用

对桃儿七化学成分的研究主要集中在鬼臼毒素方面。鬼臼毒素在桃儿七中的分布具有一定的规律性,在根及根茎中含量最高,茎叶次之。而且,鬼臼毒素含量不仅受遗传因素的影响,还随生态环境的变化而变化,深受环境条件影响。通常,环境条件越干燥,植物生长速度越慢,植物体内鬼臼毒素含量就越高;而湿润条件下的植株由于生长速度相对较快,鬼臼毒素含量较低^[8]。熊文勇^[9]测定不同产地桃儿七不同部位中主要成分鬼臼毒素的含量,利用高效液相色谱-质谱(HPLC-ESI-MS)连用技术分析鉴定各产地桃儿七中的主要化学成分,在此基础上,建立桃儿七HPLC指纹图谱,探讨各产地品种间主要化学成分之间的变化,分析各生长地桃儿七主要化学成分间的相似性及差异程度。黄坤等^[10]采用高效液相色谱法和紫外分光光度法分别测定不同产地共126个桃儿七样品中鬼臼毒素和总木脂素含量,采用参比波长法测定桃儿七中总木脂素类成分的含量。结果表明,桃儿七中鬼臼毒素和总木脂素的含量均以产自甘肃省永登县自然保护区样地的样品含量最高,产自西藏自治区江达同普乡样地的样品含量最低。桃儿七中鬼臼毒素与总木脂素的含量呈显著正相关,且二者的含量表现出海拔较低、纬度较高地区样地含量较高的特点。国外也有关于桃儿七产地不同其中所含鬼臼毒素量不同的报道^[11]。另外陈有根等^[12]报道了鬼臼毒素化学成分和细胞毒性的研究。同时,黄坤等^[13]对桃儿七中木脂素类化学成分及其活性研究进展进行了总结,系统综述了濒危药用植物桃儿七中存在的天然木脂素类化

第一作者简介:区智(1979-),男,广西桂林人,硕士,实验师,现主要从事园林植物资源保护与开发利用等研究工作。E-mail:flyer-sw@163.com.

基金项目:云南省西南林业大学省部级园林植物与观赏园艺重点学科资助项目;云南省高校重点实验室及校实验室共享平台资助项目。

收稿日期:2013-05-30

学成分、人工合成鬼臼毒素衍生物及其生物活性、作用机理,并指出以鬼臼毒素为前体物质合成和发现低毒高效的抗肿瘤活性衍生物方面将是今后的主要研究方向。马越兴等^[14]对桃儿七鬼臼毒素提取分离及抗癌作用进行了总结。

2 生物学特性及人工栽培技术

自然条件下,桃儿七每朵花中的胚珠数为12~181,平均为64枚,结实率高达90%以上^[15]。在对分布于云南的5个桃儿七居群种子产量的研究中发现各种群中每花平均胚珠数、每果实平均种子数及种群平均结实率与种群所在的海拔高度呈正相关^[16]。但桃儿七种子在自然条件下休眠期长达10个月^[17]、萌发速率慢,易丧失活力的生理特征导致自然种群更新率低。因此对于桃儿七种子休眠及萌发的生理特性研究较多,但各研究结果间存在争议。有研究发现引起桃儿七种子休眠的主要原因是种皮和胚乳的限制以及生理后熟,可采用GA₃溶液浸种或低温层积再用GA₃处理便能在一定程度上解除休眠促进萌发^[18]。而另外的研究则发现致密的种皮、果皮内容物以及种胚的发育和生理等并不是引起桃儿七种子休眠的主要原因。不做任何处理的情况下,4℃贮存了6个月的桃儿七种子萌发率可达到92%。而且,将23粒不经低温储存的成熟桃儿七种子直接播种在花盆内,1个多月后,约有26%(6粒)的种子萌发^[19]。最新的研究采用气质联用仪(GC-MS)对桃儿七种子的乙醚浸提物进行分离与鉴定,结果表明脂肪类、烷类、酸类等19种化合物中,多数化合物已被前人研究证明具有生物抑制活性,这也正是桃儿七种子萌发不良、休眠产生的主要原因及机理。另外还有在桃儿七种子分离胚培养基中添加苯二酚对促进其生长发育具有类似植物生长激素的作用^[20]。尚海琳等^[21]对云南中甸县不同居群的传粉生物学特性观察发现其独特的适应于自花授粉的传粉机制。同时,徐正尧等^[22]研究涉及桃儿七形态与光合生理特征的地理变异。另外,郭琪等^[23]以桃儿七种子诱导的无菌苗为材料,研究了外源激素对芽诱导、增殖和生根的影响,建立了桃儿七离体培养再生体系。刘世巍等^[24]研究表明不同的种植密度和不同氮与磷配比施用对桃儿七产量都会有影响。

3 遗传多样性

吴刚等^[25]对分布于云南的6个桃儿七居群进行DALP分析,其结果均表明桃儿七居群间的分化大于居群内的分化。陈大霞等^[26]采用新型分子标记SCoT,对来源于我国的6个桃儿七野生居群,共45个个体进行遗传多态性检测。结果表明野生桃儿七具有较丰富的遗传多样性,在物种水平上,桃儿七6个野生居群的遗传多样性较为丰富;在居群水平上,遗传多样性水平较低。

相同地理来源或相似生境的材料具有聚为一类的倾向。这些研究对于了解桃儿七物种遗传水平高低及群体遗传结构提供了基础数据。

4 鬼臼毒素生产的其它途径

开发利用其它途径生产鬼臼毒素,可减轻对野生资源的依赖和破坏。研究热点包括通过桃儿七的组织培养和愈伤细胞诱导方法,建立了细胞和固定化技术生产药用成分-鬼臼毒素的实验室工艺^[27-28]。张琨等^[29]通过桃儿七内生真菌发酵法可以获得鬼臼类物质。另外还可利用代谢工程手段实现鬼臼毒素的生产,Burlat等^[30]研究克隆鬼臼毒素生物合成途径上多个基因,并采用异源表达并纯化重组蛋白,结合前体饲喂验证功能,证明了获得的目的基因是鬼臼毒素合成途径上的功能基因。

以上研究表明桃儿七濒危的因素包括以下几方面:一是桃儿七自然居群所处的生态环境,遗传多样性研究表明居群间遗传分化明显,但居群生境破碎化严重,居群间缺乏有效的基因交流,从而进一步降低了物种的遗传多样性。另一方面,桃儿七的繁育方式以自交为主,桃儿七种子在自然条件下具有休眠期长、萌发速率慢,易丧失活力的生理特征导致自然种群更新率低等生物学特性。以上研究为桃儿七的保护生物学研究提供了基础资料,但要更为科学合理地开展利用桃儿七药材资源,实施GAP种植从根本上解决桃儿七药材资源紧缺的源头问题,还需要从以下几个方面进一步深入研究。一是目前研究结果多集中于国内地区性的局部研究,必须重视桃儿七居群分化剧烈之遗传特点,结合各居群在形态、生理、繁育和遗传等多层次的分化趋势,注重不同生态地理种源取样保存为主,兼顾优秀单株取样保存为辅。全面的收集各桃儿七自然种群生态地理分布格局、种群动态、生活史及其生殖对策的全面资料,扩大对各居群种源的收集。二是需要进一步进行大孢子和小孢子的胚胎发育的动态观察以确定桃儿七是否存在生殖上或遗传上的障碍。三是应进一步确定各居群自交率的高低,开展居群间的杂交育种试验,为选育GAP种植的优良品种提供参考。四是对于桃儿七种子休眠问题中研究结果存在的差异,除了与试验条件有关以外,也可能与种源地有密切的关系。因此,有必要以居群为单位,分析桃儿七种子是否真的存在休眠,或存在,引起的萌发抑制物质及其休眠机理又是什么,在居群间是否存在差异等,这将是筛选桃儿七优良种源,进行驯化、大面积栽培与资源再生的关键。五是国外有报道称通过定期采取桃儿七叶片可获得鬼臼毒素,同时不影响其自身的生长研究。这使得我们感兴趣了解桃儿七药用化学成分(尤其是鬼臼毒素)在植株中的定位和分布,以及随桃儿七生长年龄的积累,其叶部、根部和果部呈现的动态积累过程,这将为种植过程中通过采摘叶片更有效的

获得鬼臼毒素提供可能,为解决桃儿七资源开辟了一个新的途径。以上 5 个方面,是解决制约桃儿七生存和发展的主要因子和环节,对这些资料的掌握和深入研究,是对桃儿七及其居群进行保护和资源可持续利用的关键。同时,由于居群间遗传分化明显,各居群在形态变异式样、化学成分含量、种子萌发等方面均存在差异,因此,对于居群间各层次差异和相互关系的研究有助于为桃儿七各种质资源的鉴定提供更全面的参考。居群是物种在自然界存在的基本形式。该研究的开展均以居群为材料,以居群差异为研究的重点,以试验和野外观察为手段,解决桃儿七生存和发展的主要制约因子,为该珍稀濒危药用植物的资源保护、引种驯化、遗传育种、繁育栽培和 GAP 种植提供基础材料。

参考文献

- [1] 虞泓. 珍稀植物桃儿七[J]. 植物杂志, 1999(3): 6-7.
- [2] 马绍宾, 胡志浩. 桃儿七分布格局与生态适应的初步研究[J]. 武汉植物学研究, 1996, 14(1): 47-54.
- [3] 赵纪峰, 刘翔, 王昌华, 等. 珍稀濒危药用植物桃儿七的资源调查[J]. 中国中药杂志, 2011, 10(2): 123-126.
- [4] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典[M]. 1 部. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [5] Roy C, Brown D L, Little J E, et al. The topoisomerase II inhibitor teniposide (VM-26) induces apoptosis in unstimulated mature murine lymphocytes[J]. Experimental cell Research, 1992, 200(2): 416-424.
- [6] 权红, 马和平, 兰小中. 鬼臼毒素的研究进展[J]. 现代农业科技, 2009(23): 111-112.
- [7] 傅立国. 中国植物红皮书—稀有濒危植物[M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [8] 马绍宾, 胡志浩, 李俊. 桃儿七生化生态适应的初步研究[J]. 生态学杂志, 1997, 16(3): 67-70.
- [9] 熊文勇. 濒危植物桃儿七化学成分及其资源研究[D]. 西安: 西北大学, 2010.
- [10] 黄坤, 蒋伟, 赵纪峰, 等. 濒危药用植物桃儿七中鬼臼毒素和总木脂素含量测定[J]. 中国中药杂志, 2012, 29(10): 245-249.
- [11] Ndeem M, Palni L M, Purohit A N, et al. Propagation and conservation of Podophyllum hexandrum Royle: An important medicinal herb[J]. Biological Conservation, 2000, 92: 121-29.
- [12] 陈有根, 张丽芳, 刘育辰, 等. 桃儿七化学成分和细胞毒性研究[J]. 中草药, 2010, 41(10): 1619-1622.
- [13] 黄坤, 蒋伟, 赵纪峰, 等. 桃儿七中木脂素类化学成分及其活性研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 29(2): 341-345.
- [14] 马越兴, 张文雪, 贺瑾, 等. 藏药桃儿七鬼臼成分提取分离及抗癌作用研究进展[J]. 赣南医学院学报, 2012, 29(6): 87-112.
- [15] 马绍宾, 徐正尧, 胡志浩. 桃儿七繁殖生物学研究[J]. 西北植物学报, 1997b, 17(1): 49-55.
- [16] 马绍宾, 姜汉桥, 黄衡宇. 药用植物桃儿七不同种群种子产量初步研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(3): 363-368.
- [17] Bdhwar R L, Sharma B K. A note on germination of Podophyllum seeds[J]. Indian Forester, 1963, 89: 445-447.
- [18] 李城德, 李唯, 栗孟飞, 等. 桃儿七种子休眠与萌发特性的研究[J]. 中国种业, 2008(2): 52-53.
- [19] 尚海琳. 桃儿七形态与生理特征的地理变异及种子萌发生理[D]. 西安: 西北大学, 2009.
- [20] 栗孟飞, 李唯, 杜微, 等. 桃儿七种子休眠机理及种子内含物对苯二酚的生物活性研究[J]. 植物研究, 2010(2): 112-114.
- [21] 尚海琳, 李方民, 林玥, 等. 桃儿七光合生理特性的地理差异研究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(7): 1440-1447.
- [22] 徐正尧, 马绍宾, 胡昌平, 等. 桃儿七传粉生物学特性及其在进化上的意义[J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(3): 223-227.
- [23] 郭琪, 张军, 赵小峰, 等. 濒危药用植物桃儿七的离体培养研究[J]. 植物研究, 2012(4): 95-99.
- [24] 刘世巍, 丁建海, 张守宗, 等. 不同种植密度对桃儿七产量的影响[J]. 湖北农业科学, 2012(17): 132-137.
- [25] 吴刚, 虞泓, 崔光芬. 云南桃儿七遗传多样性的 DALP 分析[J]. 中草药, 2009, 40(6): 951-954.
- [26] 陈大霞, 赵纪峰, 刘翔, 等. 濒危药用植物桃儿七野生居群遗传多样性与遗传结构的 SCOT 分析[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 278-283.
- [27] 杨显志, 郭仕平. 鬼臼类植物产鬼臼毒素内生真菌的筛选[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(5): 419-422.
- [28] 漆燕玲, 栗孟飞, 孙萍, 等. 桃儿七成熟胚的离体培养研究[J]. 生物学杂志, 2008, 25(4): 39-41.
- [29] 张琨, 黄建新, 曹莉, 等. 桃儿七内生菌及产鬼臼类物质菌株的筛选[J]. 西北大学学报, 2008, 38(3): 431-434.
- [30] Burlat V, Kwon M, Davin L B, et al. Dirigent proteins and dirigent sites in lignifying tissues[J]. Phytochemistry, 2001, 57(6): 883-897.

Research Progress on *Sinopodophyllum emodi*

OU Zhi, QU Yan

(Landscape Faculty, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224)

Abstract: *Sinopodophyllum emodi* is a traditional medicine plant and now it belongs to rare and endangered plant. On the basis of a discussion about the chemical constituents and pharmacological effects of *Sinopodophyllum emodi*, the biological characteristics and artificial cultivation, genetic diversity and the ways to produce podophyllotoxin were described. The problems in the current researches and forecast, and the research trends in the future were discussed.

Key words: *Sinopodophyllum emodi*; research progress; podophyllotoxin; biological characteristics; artificial cultivation