

文章编号 :1003-8701(2009)04-004-07

植物次生代谢物研究进展

孙立影¹,于志晶¹,李海云¹,李俊波¹,
刘洪章²,林秀峰^{1*},马瑞^{1*}

(1.吉林省农业科学院生物技术研究中心,长春 130033;2.吉林农业大学生物技术系,长春 130022)

摘要:本文综述了植物次生代谢物的主要功能、类型、应用价值、开发途径、次生代谢产物的主要合成途径以及代谢工程研究方面的最新研究进展,同时对植物代谢工程发展趋势和前景做了展望。

关键词:药用植物;次生代谢物;类型;功能;基因工程

中图分类号:S567

文献标识码:A

Advances in Secondary Metabolites of Medicinal Plant

SUN Li-ying¹, YU Zhi-jing¹, LI Hai-yun¹, LI Jun-bo¹, LIU Hong-zhang², LIN Xiu-feng¹, MA Rui¹
(1. *Biotechnology Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033 Jilin, China.* 2. *College of Biotechnology, Jilin Agriculture University, Changchun 130022, China*)

Abstract: The types, function, application, synthetic pathways of plant secondary metabolites and recent advances in genetic engineering of medicinal plant for secondary metabolites were summarized in the paper. The current trends and perspective for engineering the secondary metabolite pathways in medicinal plant were illustrated.

Keywords: Medicinal plant; Secondary metabolites; Types; Function; Genetic engineering

植物次生代谢(Plant secondary metabolism)是相对于植物初生代谢或称基本代谢(Primary metabolism)^[1]而言。次生代谢产物(Secondary metabolites)是指植物中一大类并非生长发育所必需的小分子有机化合物,这些物质在植物体内含量不等并且有自己独特的代谢途径。植物次生代谢产物通常是由初生代谢产物派生而来,其产生和分布通常有种属、器官、组织和生长发育期的特异性。植物次生代谢物(secondary metabolite)在植物生命活动的许多方面均起着重要作用,而且许多植物次生代谢产物是植物生命活动所必需的^[2]。例如,吲哚乙酸、赤霉素、木质素、叶绿素、类胡萝卜素等都是植物在各种生理生化代谢过程中不可

缺少的^[3]。

1 植物次生代谢物的主要类型及分布

植物次生代谢产物种类繁多,结构迥异,根据其化学结构和性质,一般将其分为3大类:酚类(phenolic)、萜类(terpene)和含氮化合物(nitrogen-containing compound)^[4]。而每一大类的化合物都有数千种甚至数万种以上。但其产生和分布通常有种属、器官、组织以及生长发育时期的特异性,因此往往局限在某一个或分类学上相近的几个植物种类。

1.1 酚类

酚类物质广泛地存在于高等植物、苔藓、地钱和微生物中,主要包括黄酮类、简单酚类和醌类等,主要由磷酸烯醇式丙酮酸到分支酸的生物合成途径而来,称莽草酸途径。这也是芳香族化合物的来源。

黄酮类是以苯色酮环为基础具有C₆、C₃、CH₆

收稿日期:2009-04-16

基金项目:吉林省农业科学院博士后基金和博士启动基金资助

作者简介:孙立影(1982-),女,硕士研究生,主要从事药用植物代谢工程研究。

通讯作者:林秀峰,女,研究员,E-mail:linxiufeng8581@163.com

马瑞,男,研究员,E-mail:ruimaa@yahoo.com

结构的酚类化合物。生物前体为苯氨酸和马龙基辅酶 A(malonyl CoA), 根据 B 环的连接位置又分为 2- 苯基衍生物(黄酮醇、黄酮等)、3- 苯基衍生物(异黄酮)和 4- 苯基衍生物(新黄酮)^[5]。根据三碳结构的氧化程度又分为花色苷类、黄酮类、黄酮醇类及黄烷酮等。黄酮类成分有许多用于心血管疾病的治疗如芦丁。还有一些是植保素如异黄酮类。

简单酚类是含有一个被羟基取代苯环化合物, 分布于植物各种组织、器官中, 许多简单酚类化合物在植物防御食草昆虫和真菌侵袭中起重要作用, 某些成分还具有调节植物生长的作用。

醌类是由苯式多环烃碳氢化合物(如萘、蒽等)衍生的芳香二氧化合物, 根据其环系统可分为苯醌、萘醌和蒽醌。醌类是植物主要呈色因子之一。部分醌类具有抗菌、抗癌等功效, 如胡桃醌和紫草宁等。

1.2 萜类

萜类化合物(terpenoid)是由异戊二烯(五碳)单元组成的化合物及其衍生物^[6], 也称为异戊间二烯化合物(isoprenoid)或萜烯类化合物(terpenoid)、或萜烯(terpene)。目前在植物中已经发现了数千种萜烯类化合物, 以侧链重复连接方式递增, 分开链类和环萜类两种。包括由 2 个异戊二烯单元头尾相连形成的单萜 (C_{10} , monoterpane)、3 个异戊二烯单元构成的倍半萜 (C_{15} , sesquiterpene)、4 个异戊二烯单元构成的二萜和多萜 ($[C_5]_n$, $n > 10$, polyterpenoid)等, 通常分为低等萜类和高等萜类。单萜、单萜及其简单含氧衍生物是挥发油的主要成分, 而植物体内释放的挥发性精油(包括异戊二烯本身)的量是非常惊人的。据测算, 每年地球上植物释放出的挥发性物质大约有 14 亿 t, 其中大部分为碳氢类萜烯化合物。仅橘皮中就存在着 71 种挥发性的植物精油, 其中大部分是单萜, 主要是柠檬油精。最知名的一种植物精油是存在于松属(Pinus)植物的松节油, 其中含有大量的单萜类化合物。双萜是形成树脂的主要成分, 倍半萜是萜类的最大一族, 约有 7 000 多种, 作用广泛。二萜、三萜多以皂甙形式存在。双萜类以上也称“高萜类化合物”, 一般不具挥发性。植物萜类广泛分布于植物、微生物的初级代谢物和次级代谢物中^[7]。

1.3 含氮化合物

大多数含氮化合物是从普通氨基酸合成的, 主要有生物碱、胺类、非蛋白氨基酸、生氰苷和芥子油苷, 多具有防御作用。

生物碱是植物中广泛存在的一类含氮次生代

谢物, 分子结构中具有多种含氮杂环, 多为药用植物主要有效成分。自然界 20%左右的维管植物含有生物碱, 其中大多数是草本双子叶植物, 单子叶植物和裸子植物很少含生物碱。目前已经分离到 12 000 余种, 其中许多种类是药用植物的有效成分。如喜树(*Camptotheca acuminata*)中喜树碱为一种有效的抗癌药物; 罂粟(*Papaver somniferum*)中可待因具有止痛、镇咳功效; 金鸡纳树(*Cinchona of-ficinalis*)中奎宁为传统的抗疟疾药物, 用来消除对其他抗疟疾药物产生的抗性; 长春花(*Catharanthus roseus*)中长春花碱为抗肿瘤药物, 可用于治疗淋巴瘤等^[8]。

胺类是 NH_3 中的氢的不同取代物, 通常由氨基酸脱羧或醛转氨而产生, 在植物中分布广泛, 常存在于花部, 具臭味。有些胺类与植物的生长发育有关, 如离体条件下多巴胺能促进石斛提前开花。

非蛋白氨基酸是不组成植物蛋白的氨基酸, 常有毒, 多存在于豆科。因与蛋白氨基酸相似, 易被错误掺入蛋白质, 多为代谢拮抗物。

生氰苷是一类由脱羧氨基酸形成的 O- 糖苷, 它是植物生氰过程中产生 HCN 的前体。其本身无毒性, 当含生氰苷的植物被损伤后, 则会释放出有毒的氢氰酸(HCN)气体。现已鉴定结构的达 30 种左右, 存在于多种植物内, 最常见的有豆科植物、蔷薇科植物等。如苦杏仁苷和亚麻苦苷。

1.4 其他

除了上述的主要 3 大类外, 植物还产生多炔类、有机酸等次生代谢物质, 多炔类是植物体内发现的天然炔类, 有机酸广泛地分布于植物各个部位。

2 植物次生代谢物的功能及应用

植物次生代谢是植物在长期进化中对生态环境适应的结果。其代谢产物具有多种复杂的生物学功能, 在提高植物对物理环境的适应性和种间竞争能力、抵御天敌的侵袭、增强抗病性等方面起着重要作用^[9]。植物次生代谢物也是人类生活、生产中不可缺少的重要物质, 为医药、轻工、化工、食品及农药等工业提供了宝贵的原料^[10]。尤其是医药生产, 作为天然活性物质的植物次生代谢物, 是解决目前世界面临的医药毒副作用大, 一些疑难疾病(如癌症、艾滋病等)无法医治等难题的一条重要途径。植物次生代谢产物具有一定的生理活性及药理作用, 如生物碱具有抗炎、抗菌、扩张血管、强心、平喘、抗癌等作用; 黄酮类化合物具有抗

氧化、抗癌、抗艾滋病、抗菌、抗过敏、抗炎等多种生理活性及药理作用,且无毒副作用,对人类的肿瘤、衰老、心血管疾病的防治具有重要意义。几个世纪以来,人类一直从植物中获得大量的次生代谢产物用于医药卫生。目前,世界 75% 的人口依赖从植物中获取药物,除化学合成之外,人类大量依赖植物次生代谢产物作为药物。

2.1 植物次生代谢物的功能

2.1.1 植保素

20 世纪 60 年代发现,许多植物在受到微生物,特别是真菌侵染时会产生并积累一些小分子抗菌物质,用以增强自身的抵抗力,抵御病原菌的入侵。这些次生代谢物则被称为植保素。其产生速度和积累的量与植物的抗病性有关。第一个被分离鉴定的植保素是异黄酮豌豆素。目前已鉴定的植保素有 200 多种。

植保素多为一些有毒物质如棉酚,其大量的积累能导致病原微生物的死亡或生理功能的紊乱。如非蛋白氨基酸作为代谢拮抗物的作用。目前关于植保素许多抗病机制还未见详细报道,这也是次生代谢物发展的方向。

2.1.2 木质化作用

在已研究的真菌病害中都可见病原菌感染引起的木质化作用。这是植物的一种特殊防御反应,为阻止病原菌的进一步侵染提供了防护层。木质化增强了细胞抗酶溶的作用,同时增强细胞壁抗真菌穿透能力。真菌的菌类和毒素向寄主扩散受到限制,而水和营养物质向真菌的扩散也受到了抑制,除了屏障作用,低分子量酶类前体及多聚作用时产生的游离基还可以钝化真菌的膜、酶和毒素。

2.1.3 信号分子作用

植物受病原微生物侵染后,引起局部防御反应和过敏反应,导致植物侵染部位附近积累抗病物质,既限制或杀伤病原菌,又破坏自身细胞结构,最后变褐生成枯斑。这种局部防御反应还导致信号分子产生,信号分子传输又使植物其他部分引发抗性,如水杨酸等。

2.1.4 趋避捕食作用

植物能合成一些次生代谢物,这些产物对昆虫和草食动物是有毒的,如菊的叶和花中含有的单萜脂拟除虫菊酯是很强的杀虫剂。此外还有许多次生代谢产物可以防止昆虫、草食动物取食,如松树脂中的双萜冷杉酸、橡胶等,流出后可防止昆虫继续取食,并封闭伤口。

2.1.5 其他功能

有些植物体内合成的某些次生代谢物通过分泌、挥发或淋溶作用进入环境,对周围其它植物(植株)的生长产生抑制作用,即异株相克现象。例如,黑胡桃树能将生长于邻近或树冠下的番茄和苜蓿毒杀;白叶鼠尾草能抑制雀麦、狐茅等的生长,黄瓜、大豆的某些品系能抑制其周围杂草的生长,等等。群落中的某些种群通过克生作用应付其他种群的竞争或避免与其他种群的竞争,从而维护自己种群的稳定性。

2.2 植物次生代谢物的价值

2.2.1 医药价值

有些植物的次生代谢产物还是具有独特功能和生物活性的化合物,是疾病防治、强身健体的物质基础。植物药是化学药品中的重要一类,包括从植物中提取的有效成分(如麻黄素等)、植物提取物再进行合成的药物(如薯蓣皂素合成的体激素类药品)和全合成的以及植物药成分相同的药物(如合成黄连素)。进入 20 世纪 80 年代以来,天然药物越来越受到世界医药界的关注。世界卫生组织(WHO)和联合国工业开发组织(UNIDO)十分重视植物药的工业开发。在非洲、亚洲和北非洲的热带地区,人们利用从植物中提取的次生代谢物来治疗疟疾,取得了很好的疗效^[11]。在我国,也有利用植物治疗疾病的传统,如新疆紫草根中含有多种萘醌类化合物,为我国传统药草,可用于烧伤、冻伤以及因细菌、真菌和病毒引起的各种皮肤病,此外还具有抗肿瘤性;再比如心脑血管药开发的降压灵、西地兰等,抗癌药的长春新碱、长春花碱、高三尖杉酯碱等。我国植物资源丰富,从植物中寻找高效、低毒和价廉的药物已越来越受到人们的重视。

2.2.2 农用价值

人们对野生植物中次生代谢产物的应用,可追溯到远古时代,人们在很早就有直接利用植物或其粗提物,来杀死昆虫和微生物的历史,在农业生产中积累了宝贵的经验。次生性代谢产物是植物对昆虫进行防御的一个主要手段。由于植物本身缺乏移动的能力,在进化的过程中不得不依赖次生性代谢物质来避免动物的侵害,此即为这些有防御效应的物质最原始、最主要的生态功能^[12]。近年来的一些研究表明,有些次生代谢产物是生物毒素的主要来源,可以用于杀虫、杀菌,而对环境和人畜无害,为研制环保型抗虫害药剂提供了理想的原料^[13-14]。人们已从 20 多种蕨类植物和紫

杉、罗汉松等很多植物中分离到了具昆虫蜕皮素的活性物质,当昆虫取食这些物质时,便影响到昆虫的变态发育过程,导致不育或死亡。再如香豆素一般分布在植物的根和种皮中,对病毒、细菌、真菌、脊椎动物和无脊椎动物都具有毒性。由此可见,次生代谢物作为农药在农业生产中具有广泛的应用价值。

2.2.3 食用价值

在天然植物次生代谢物中,很多具有生物活性,它们的活性功能是合成物质无法替代的,随着人们生活水平的提高,人们便转向从自然界的植物材料直接获取天然绿色物质,应用于食品工业。如从甜菜汁中提取色素用于冰淇淋,留兰香油中提取香精用于口香糖。花青素作为食用色素,香兰素作为食品调味剂,辣椒素用于辛辣食品添加剂等^[15]。

2.2.4 植物次生代谢物的生态学意义

次生代谢是一个研究难度大但又极具潜力的研究领域。随着对次生代谢生理生化及生态适应方面认识的深入,以及分子生物学手段的渗透,植物次生代谢分子调控的研究发展迅速,人们已着手从次生代谢角度在分子水平上探讨植物与环境的关系。植物次生代谢生态学关于次生代谢过程与环境关系的探索和阐明,既有利于提高资源植物生物工程的效率和质量,也有助于传统中药药源植物的标准化和目标化种植。植物的次生代谢是植物在长期进化中与环境(生物的和非生物的)相互作用的结果,次生代谢产物在植物提高自身保护和生存竞争能力、协调与环境关系上充当着重要的角色,其产生和变化比初生代谢产物与环境有着更强的相关性和对应性^[16-19]。因此,有必要建立植物次生代谢生态学的概念,重视从次生代谢角度去探讨植物与环境的关系,并且要从生态学的角度去认识植物的次生代谢过程。在植物对物理、化学环境的反应和适应,植物与植物之间的相互竞争和协同进化,植物对昆虫、草食动物甚至人类的化学防御以及植物与微生物的相互作用等过程中,次生代谢产物都起着重要作用。从动态发展的角度看,植物与环境的关系就是植物对环境的适应与进化的过程。因此加强对植物次生代谢物的研究,保护我国植物资源具有重要的生态学意义。

3 植物次生代谢物的合成途径

绿色植物利用光能,通过光合作用将二氧化碳和水转化为糖类物质,经初生代谢,以合成并利

用糖类、氨基酸类、核酸类以及脂肪酸类以及由它们聚合形成的多糖类、蛋白质类、酯类等初生代谢产物,这些产物是植物生命活动必需的化合物,又是植物次生代谢产物的前体。初生代谢与次生代谢是紧密相连的。植物次生代谢有3种主要的前体:乙酸、莽草酸和氨基酸。乙酸为脂肪酸类、多酮类、多酚类、大环抗菌素、萜类、类化合物的前体;莽草酸是很多芳香族化合物,包括芳香氨基酸、肉桂酸和某些多酚化合物的前体,氨基酸是形成生物碱及肽类抗菌素类的前体。次生代谢物产生途径是多种多样,而且产量极少,其产物具有不稳定性难以分离,许多途径目前仍不清楚。目前,已知的途径主要有以下几种:

3.1 乙酸-丙二酸途径

这条途径的主要次生代谢产物为脂肪酸、多酮等化合物。脂肪酸是非营养物,植物中大约有20种共同的脂肪酸,其中常见的是16碳和18碳的脂肪酸。植物次生代谢所产生的脂肪酸通常是比较不常见或不普遍的脂肪酸。一般与甾醇或长链脂肪醇形成酯。

3.2 乙酰-甲羟戊酸途径

这条途径主要次生代谢产物为异戊二烯类化合物,包括萜类化合物、甾类化合物。植物合成这些物质是植物防御植食性动物的重要策略之一。由于产物作为植保素在植物抗病中的重要作用以及作为特殊性药物在人类抗肿瘤和抗疟疾等疾病的临床运用上有较高的价值,近年来成为植物次生代谢研究领域的热点。

萜类化合物是由一个以上异戊二烯单位构成的化合物,它包括单萜、倍半萜、二萜及多倍萜等等。萜类化合物多具有挥发性。对于合成这些物质的植物是作为毒性剂、取食阻碍剂、产卵阻碍剂等防御植食性动物,或引诱昆虫协助授粉以传种接代。人类多用它作为天然的香料和调味物。

甾类化合物包括胆汁酸类、维生素D、激素类、强心苷类、甾体皂苷类和某些具有甾族结构的碱类。

3.3 莽草酸途径

这一途径主要产生芳香族化合物,能够提供合成蛋白质所需要的芳香族氨基酸,并且有些芳香族化合物是进一步合成次生代谢产物的前体。植物中的两大类酚聚合物木质素和单宁都是经过莽草酸合成的次生代谢物,其在植物中都有利于防御植食性昆虫的攻击。

3.4 氨基酸途径

高等植物中氨基酸有许多种代谢途径,可以生成许多不同类型的代谢产物,生物碱是其中一大类代谢产物,目前已知结构的生物碱大约有 10 000 多种。多数生物碱是通过脂肪族氨基酸(鸟氨酸、赖氨酸),芳香族的氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸)的代谢产生的。这类化合物很多是有毒的或具有苦味的,可对植物起到保护作用。部分生物碱还是治疗肿瘤和癌症的有效药物。

3.5 复合途径

这类代谢产物是指由两条或两条以上途径同时提供亚单元组成的化合物^[20],分布较广的有类黄酮和聚异戊二烯苯醌。

4 植物次生代谢物的开发途径

植物次生代谢物的应用,其历史悠久,各民族传统草药和香料的有效成分大多是植物次生代谢物。现在,这些天然产物仍在人的生活中起着重要的作用,尤其是为医药、轻工、化工、食品及农药等工业的发展所必不可少的。以医药为例,至今人们依赖于从植物中提取的重要的药物就有 50 多种。随着“重返大自然”的呼声日益高涨,人们已认识到:现在是从高等植物的次生代谢产物中寻找、开发新药的时代。然而,长期不当采集致使生态环境受到破坏,许多野生植物趋于濒危,有些需要特殊环境的植物人工引种困难。能够引种栽培的植物要占用大量的农田,加之人工栽培受环境的制约,次生物的含量和质量不稳定。此外,在通常的情况下,天然植株中目的次生产物含量过低(如紫杉醇^[21]),在对资源植物有效成分分析的基础上,采用化学合成的方法,又会遇到工艺流程复杂、成本高、合成过程中形成同分异构体及造成环境污染等许多问题。近年来,随着对植物代谢生理生化及生态适应方面认识的深入,以及分子生物学的渗透,将外源新基因转入植物现在已属常规的操作,基因枪轰击和根癌农杆菌介导是最常用的方法,植物次生代谢分子生物学研究发展迅速。以基因工程大规模生产次生代谢产物,其具有诱人的前景。

4.1 从天然植物中直接提取次生代谢物

利用先进的萃取技术,可以直接从植物中获得含较少毒素的天然次生代谢物,直接用于消费,具体方法有溶剂萃取、蒸汽萃取和超临界萃取等。随着新材料新技术的不断发明,分离萃取手段和工艺也在不断提高,人们将从天然植物次生代谢产物中获得更多的有用物质。

4.2 利用细胞工程获得次生代谢物

4.2.1 植物细胞固定化培养

采用固定化植物细胞培养技术可以克服细胞大量培养中的许多困难,以小规模的培养细胞大量生产胞外目的产物^[22]。细胞固相法培养通常要求细胞相对于培养基缓慢移动或保持静止,就是将细胞固定附着在基质或流化或固定床中的培养系统。一些植物细胞固相培养会产生更多的代谢物,究其原因可能是聚集的细胞团使得细胞间发生了相互作用,这种作用导致细胞发生了一定程度的分化。吕华等^[23]发现固定化培养的硬紫草(*Lithospermum erythrorhizon*)细胞中色素产量达 20 mg/g (FW),高于悬浮细胞 17 mg/g (FW);M9 培养基中固定化硬紫草细胞能在长达 80 d 的时间内不断形成色素,而悬浮细胞在 40 d 时基本解体,不再产生色素。

4.2.2 两相培养技术

在培养体系中加入水溶性或脂溶性有机物或者具有吸附作用的多聚物使培养体系分为上下两相,细胞或组织在水相中生长和合成次生代谢物质,次生代谢物质分泌出后再转移到有机相中,然后再从有机相分离植物次生代谢物的技术,称为两相培养技术。迄今为止,已有 18 种植物细胞应用此项技术获得成功。例如 Buitelaar 等^[24]在孔雀草(*Tagetes patula*)发状根培养体系中加入正十六烷可促使 30%~70%的噻吩分泌出来,而对对照组只有 1%左右分泌到培养基中;梅兴国等^[25]用两相系统培养红豆杉细胞,紫杉醇产量却有较大提高,达到 30.19 mg/L。

4.2.3 反义技术

根据碱基互补原理,人工合成或生物体合成特定互补 DNA 或 RNA 片段,抑制或封闭某些基因表达的技术,通过此技术,可以将反义 DNA 或 RNA 片段导入植物细胞,使催化某一分支代谢的关键酶活性受抑制或加强,从而提高目的物的含量,同时抑制其他化合物合成。通过反义技术调节亚麻属植物 *Lomimsvavum* 发根中内植醇脱氢酶的活性,可以抑制分支代谢中木质素分子的合成而使抗癌物 5-甲氧基鬼臼毒素的含量提高。反义技术是近年发展起来的,许多问题有待于解决,问题的关键在于对次生代谢途径及关键酶的了解和反义片段如何有效地起作用两方面。

4.2.4 发根培养技术

利用植物细胞培养技术生产次生代谢物真正实现商品性工业化生产的还为数甚少,其主要原

因在于培养的植物细胞生长缓慢,次生代谢物含量太低,以及生产能力不稳定等,因而工业化生产成本太高。由于这一原因发根培养技术得以发展并应用^[26]。发根(hairy root)是整体植株或其某一器官、组织(包括愈伤组织)、单细胞甚至原生质体受发根农杆菌(*Agrobacterium rhizogenes*)的感染所产生的一种病理现象(形成多分枝的不定根)。自从这一技术应用于次生代谢物生产以来,已有不少植物被诱导产生了发根,且次生代谢物的含量也大大提高^[27],如青蒿发根培养产生青蒿素^[28],丹参发根培养生产丹参酮等^[29]。

4.2.5 添加诱导子和引导物技术

植保素是植物受到微生物侵害时产生的一类具有抗病原活性的低分子量化合物,植物受到外来侵害会产生植保素。诱导子是植物抗病生理过程中诱发植物产生植保素和引起植物过敏反应的因子。诱导子在植物与微生物的相互作用中,能快速、高度专一地诱导特定基因的表达^[30]。近年来,愈来愈多的研究证明诱导子可作为研究植物次生代谢信号识别及其细胞内信息传递的良好实验体系^[31]。人们利用诱导子的作用特点,不断尝试、探索次生代谢物生物合成的途径及提高代谢产物含量的方法,以寻找新的活性成分。张长平等^[32]用尖孢镰刀菌的胞壁组分粗提物对红豆杉细胞进行诱导,紫杉醇的产量明显提高。人参悬浮细胞被金爪炭细胞壁激发子(CIe)诱导会使查尔式酮酶(CHS)积累和细胞壁上抗性相关蛋白基因羟脯氨酸富裕糖蛋白基因hrgp(Hydroxyp rolin-rich glycop roteins)的表达^[33]。总之,诱导子在植物细胞培养物中对次生代谢产物的作用还有待于更进一步的系统研究。

4.3 利用基因工程技术

植物基因工程就是把有用的基因转移到受体基因组,并在受体中能稳定表达和遗传。将一些有用的目的基因导入药用植物中,可在短时期内实现药用植物某些遗传特性的定性改良。20世纪80年代以来,人们在细胞工程的基础上利用植物基因工程广泛开展提高植物次生代谢物质的研究,已经取得了可喜的成绩,具体表现在四个方面:①用发根农杆菌诱导培养毛状根;②用根癌农杆菌诱导培养冠瘿瘤;③转基因再生植物;④反义RNA技术。

我国将转基因技术应用于药用植物主要通过转基因改良药用植物的遗传特性,在改进植物品质及适应性、抗虫和抗病毒、抗除草剂、生产药用

有效成分等几个方面开展工作,其中某些领域已取得明显进展。如贺红^[34]等把胚轴作为转化外植体,以带有外源目的基因-柑桔衰退病病毒外壳蛋白基因(CTV-CP)的农杆菌质粒转化植株并用乙酰丁香酮(Acetosyringone)提高转化效率,转化再生频率为27.5%,建立了农杆菌介导,为利用基因工程的手段进行枳壳的抗病育种奠定了基础。王慧中等^[35]已成功地将外源卡那霉素抗性基因通过根癌农杆菌介导的基因转移技术导入了宁夏枸杞的幼茎外植体,并能在植株水平上表达出相应的性状。到目前为止,转基因已获成功的药用植物(毛状根和畸形芽除外)有烟草、羽扁豆、辣根、颠茄、菊苣、茴香、埃及莨菪、龙葵、骆驼蓬、毛地黄、天仙子、长春花、菘蓝及甘草等。

5 药用次生代谢物的发展趋势

植物的次生代谢产物是药物(如长春花生物碱等)和化工原料(如橡胶等)的重要来源,对人类的生产和生活具有重要的影响,一些次生代谢产物则与机体的抗性、信号传导、适应调节、生长发育以及植物的花色香味等现象有关。由于人们非常重视植物次生代谢产物的应用价值,因而有很多的工作集中在植物次生代谢过程的阐明以及植物次生代谢产物的细胞工程,其目的在于利用植物进行医药工程及天然产物的开发。近年来,随着天然药物的开发日渐兴起,天然植物资源日渐匮乏,如何有效、合理地利用天然植物资源也日渐迫切。细胞工程和植物转基因工程已成为解决这一问题的有效手段,而要使细胞工程和转基因工程能够真正应用于实际生产,对于植物次生代谢的途径和作用的研究就极为重要,同时,由于植物的次生代谢产物在自然状态下含量低,如何提高植物次生代谢产物的产量,是关系到天然药物的开发能否应用于实际生产的关键环节。次生代谢研究是一个难度大但又极具潜力的研究领域^[36]。

近年来由于化学药物新药创制的难度加大,以及某些化学药物的副作用和细菌的耐药性增加。天然药物日益受到国内外科学家的重视。我国幅员辽阔,药用植物资源丰富,被公认为是植物药大国,植物生产技术也有一定基础,大力发展植物药具有广阔前景。

地球上被子植物有约400科,10 000多属,近30万种。大多数的属在次生代谢途径上或多或少有所特异。30万种植物的次生代谢产物是一个巨大的宝藏。在基因组学、代谢组学和转基因技术

等快速发展的今天,有必要对一些重要次生代谢产物的代谢途径及其调控进行深入研究,通过各种技术手段,更合理有效地发掘利用并保护植物资源^[37]。

参考文献:

- [1] J 曼. 曹日强译. 次生代谢作用[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] KUTCHAN T M. Ecological arsenal and developmental dispatcher: The paradigm of secondary metabolism [J]. *Plant Physiology*, 2001, 125: 58-60.
- [3] 付洋, 王洋, 阎秀峰. 萜类化合物的生理生态功能及经济价值[J]. *东北林业大学学报*, 2003, 31(6): 59-62.
- [4] 陈晓亚, 刘培. 植物次生代谢的分子生物学及基因工程[J]. *生命科学*, 1996, 8(2): 8-9.
- [5] 姚新生. 天然药物化学(第4版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004, 173-177.
- [6] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991, 323-374.
- [7] 李薇, 李岩, 金雄杰. 白桦三萜类物质的抗肿瘤作用及其对免疫功能的增强效应[J]. *中医中药与免疫*, 2000, 16(9): 485-487.
- [8] 王莉, 史玲玲, 张艳霞, 等. 植物次生代谢物及其研究进展[J]. *武汉植物学研究*, 2007, 25(5): 500-508.
- [9] 戴勋. 植物次生代谢[J]. *昭通师范高等专科学校学报*, 2002, 24(5): 35-38.
- [10] 杜近义, 胡国斌, 秦际威. 植物次生代谢物的生态学意义[J]. *生物学杂志*, 1999, 16(5): 9-10.
- [11] 叶和春, 李国风. 获取植物次生代谢产物的新途径[J]. *植物杂志*, 1998(4): 16-17.
- [12] 钦俊德. 昆虫与植物的关系[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [13] 吴文君. 从天然产物到新农药创制-原理. 方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [14] 高丽君, 崔建华, 刘风云, 等. 植物次生代谢产物的应用和开发[J]. *生物学通报*, 2004, 39(7): 15-17.
- [15] 李雄彪, 张金钟. 简明植物生物化学[M]. 天津: 南开大学出版社, 1992, 305-364.
- [16] Gershenzon, J. Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress [J]. *Recent Advances in Phytochemistry*, 1984, 18: 273-320.
- [17] Josep, P., L. Joan. Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonally on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1997, 23: 979-993.
- [18] Wink, M. Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology[J]. *Annual Plant Reviews*, 1999b(3).
- [19] Shelton, A. L. Variable chemical defences in plants and their effects on herbivore behaviour [J]. *Evolutionary Ecology Research*, 2000, 2: 231-249.
- [20] 唐建军, 项田夫, 张禄源, 等. 植物次生代谢、离体培养条件下次生代谢产物积累及其调控研究进展[J]. *中国野生植物资源*, 1995, 17(4): 1-6.
- [21] 饶卫芳. 南方红豆杉濒危机制研究[J]. *现代农业科学*, 2008, 15(7): 11-12.
- [22] 李森, 吴新, 等. 药用植物次生代谢物细胞工程的新进展[J]. *西北药学杂志*, 1998, 13(4): 173-175.
- [23] 吕华, 赵群华, 曹日强, 等. 固定化培养和产物释放促进剂对硬紫草细胞代谢的影响[J]. *植物生理学报*, 1995, 21(2): 111-116.
- [24] 吴兆亮, 元英进, 王传贵. 植物细胞培养一分离耦合过程研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 1998, 10(1): 79-83.
- [25] Mei X. G., Huang W., Wang C. G., et al. Production of taxol by two-phase culture *Taxus* cell suspension[J]. *Biotechnology*, 2000, 10(1): 10-12(in chinese).
- [26] 戴均贵, 朱蔚华. 发根培养技术在植物次生代谢物生产中的应用[J]. *植物生理学通讯*, 1999, 35(1): 69-76.
- [27] 闫玉清, 汪洋, 朱绿松, 等. 发根农杆菌介导实现药用植物遗传转化的进展[J]. *中国药业*, 2006, 15(1): 25-26.
- [28] LIU B. Y., YE H. C., LI G. F., et al. Studies on dynamic of growth and artemisinin biosynthesis of hairy root of *Artemisia annua* L [J]. *Chin J of Biotechnol*, 1998, 14(4): 401-404.
- [29] Shimomura K, et al. Tanshinone production in adventitious roots and regenerates of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *J Nat Prod*, 1991, 54(6): 1583.
- [30] 肖春秋, 张华香, 高洪, 等. 促进植物细胞培养生产次生代谢物的几种途径[J]. *武汉化工学院学报*, 2005, 27(1): 28-31.
- [31] Radman R, Saez T. Elicitation of plants and microbial cell systems[J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2003, 37: 91-102.
- [32] Zhang C.P., Li C., Yuan Y.J., et al. Effects of fungal elicitor on cell status and taxol production in cells suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. *Chin J Biotech*, 2001, 17: 436-440.
- [33] Hu X.Y., Steven J., Neil L, et al. The mediation of defense responses of ginseng cells to an elicitor from cell walls of *Colletotrichum lagerarium* by plasma membrane NAD(P)H oxidases[J]. *Acta Bot Sin*, 2003, 45: 32-39.
- [34] 贺红, 韩美丽, 李耿光, 等. 农杆菌介导转化法构建转CTV-cp的积壳植株[J]. *中国中药杂志*, 2001, 26(1): 21-23.
- [35] 王慧中, 黄发灿, 李安生, 等. 枸杞转基因植株的再生[J]. *生物工程学报*, 1991, 7(3): 230-223.
- [36] 王红星, 乔传英, 古红梅. 影响植物次生代谢产物形成的因素[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(35): 11376-11377, 11405.
- [37] 陈晓亚. 植物次生代谢研究 [J]. *世界科技与发展*, 2006, 28(5): 1-4.