植物资源与环境 1997, 6(1): 48～53
Journal of Plant Resources and Environment

综述 No. 12
Review Article

红豆杉资源与紫杉醇生产概况*

刘 涤 章国瑛 王 晓 胡之璧
(上海中医药大学,上海 200032)

摘要 红豆杉属(*Taxus* L.)植物全世界共11种,分布于北半球的温带至亚热带地区。我国有4种1变种,即: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.)、中国红豆杉〔*T. chinensis* (Pilger) Rehd.〕和南方红豆杉〔*T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Lévl.) Cheng et L.K. Fu〕,分布于我国大部分地区,较为集中的产区为东北、西南和华东地区。云南省是我国红豆杉资源的主要分布区域。红豆杉树皮中含有新型抗癌药物紫杉醇,近年来,由于过度砍剥致使我国红豆杉野生资源遭到严重破坏。因此必须制定保护措施,进行人工种植。由于紫杉醇在红豆杉中含量甚微,结构异常复杂,所以研究紫杉醇的新来源成为世界性的热点,主要研究内容包括:非树皮部分的提取,人工大量种植,衍生物的寻找,化学合成和生物技术等。我国在以上研究领域内已取得多项成果,但与世界先进国家相比还有一定的差距,有待深入研究。

关键词 红豆杉;资源;紫杉醇

A survey of *Taxus* resources and taxol production Liu Di, Zhang Guo-Ying, Wang Xiao and Hu Zhi-Bi (Shanghai University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Shanghai 200032), *J. Plant Resour. & Environ.* 1997, **6**(1): 48～53
The status of *Taxus* resources and taxol production was introduced. In China, *Taxus* includes 4 species and 1 variety, e. g. *Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc., *T. yunnanensis* Cheng et L. K. Fu, *T. wallichiana* Zucc., *T. chinensis* (Pilger) Rehd. and *T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Lévl.) Cheng et L. K. Fu. Their distributions centralize in the northeast, southwest and east area in China, especially in Yunnan Province. There are about 1 350 000 of *Taxus* trees in the west region of Heng Duan mountain in the west Yunnan. But the wild resources are destroyed seriously. Therefore, the protection and artificial cultivation of the wild resources are necessary. Taxol is a new antitumor compound which exhibits the remarkable potential for the treatment of breast and ovarian cancers. Taxol production is presently an important research field because of its low content and structural complexity, the extraction from other parts of the plants besides bark, the artificial cultivation, chemical synthesis, the research on taxol derivative and biotechnology have been studied. In China, some results in taxol production have been obtained, but more works should be done in the future.

Key words *Taxus* L.; plant resources; taxol

根据世界肿瘤登记的资料,卵巢癌发病率以智利的21.0/10万名妇女为最高,日本和印度

* 本文得到国家中医药管理局和上海市教委科研基金资助
收稿日期 1996-09-22

最低,分别为 3.1/10 万和 3.2/10 万名妇女,可见这种疾病对妇女的危害程度。在我国,卵巢肿瘤也是妇科常见疾病之一,其中恶性肿瘤占 10%左右。在妇科恶性肿瘤中,一般除子宫颈癌、恶性滋养细胞肿瘤外,卵巢恶性肿瘤的发病率占第三位[1]。卵巢恶性肿瘤在诊断时 70%的病人已进入晚期,死亡率在女性生殖器恶性肿瘤中占首位,五年生存率仅为 30%～40%,对妇女的健康造成极大的危害。不幸的是,发病率还呈逐年上升的趋势,近 40 年增加了 3 倍[2]。因此妇科和肿瘤科的医生都在寻找满意的诊断和治疗方法,但目前尚无有效的手段。作为微管聚合促进剂的紫杉醇是近年来发现的新类型抗癌药物,对卵巢恶性肿瘤有比较满意的疗效,1992 年底美国 FDA 批准允许作为新药上市,引起了许多国家的关注。紫杉醇不仅对卵巢癌、乳腺癌、肺癌等癌症有较好的疗效,而且临床表明紫杉醇对治疗其他疾病也有一定的潜力,如具有抗类风湿性关节炎(RA)作用,抗疟作用,对中风、早老性痴呆和先天性多囊肾病也有一定的作用[3]。紫杉醇抗癌作用研究的兴起,也带动了与资源植物红豆杉有关的研究,本文报道红豆杉资源和紫杉醇生产的概况。

1. 红豆杉资源与存在问题

1.1　红豆杉资源

红豆杉属(*Taxus* L.)植物为红豆杉科常绿乔木或灌木,全世界共 11 种,分布于北半球的温带至亚热带地区[4,5]。如太平洋沿岸的短叶红豆杉(*Taxus brevifolia* Nutt.),美国佛罗里达地区的佛罗里达红豆杉(*T. floridana* Nutt.),加拿大西部地区的加拿大红豆杉(*T. canadensis* Marsh),欧洲大部分地区以及非洲北部和亚洲少数地区的欧洲红豆杉(*T. baccata* L.),中国东北以及日本、朝鲜、俄罗斯远东地区的东北红豆杉(*T. cuspidata* Sieb. et Zucc.),中国西南、华中、西北和华东地区的红豆杉〔*T. chinensis* (Pilger) Rehd.〕,中国西藏南部、阿富汗以及尼泊尔的西藏红豆杉(*T. wallichiana* Zucc.),中国西南地区以及不丹、缅甸北部的云南红豆杉(*T. yunnanensis* Cheng et L.K. Fu),中国西南、华南、华中、华东和西北地区的南方红豆杉〔*T. chinensis* var. *mairei* (Lemee et Lévl.) Cheng et L.K. Fu〕,此外还有分布于北美洲的球果红豆杉(*T. globose*)和杂种紫杉(*T. media* Rehd.)。

1.2　我国红豆杉的主要产区

我国红豆杉属植物资源分布于全国大部分地区,较集中的产区为东北、西南及华南地区。

1.2.1　*东北地区*　东北地区的红豆杉属植物只有 1 种,即东北红豆杉,多生于红松、鱼鳞云松、白桦、紫椴和山杨等为主的针阔混交林内,一般海拔 600～1 200 m,主要产于吉林省长白山区,即吉林安图、汪清、和龙、抚松、浑江、长白及通化地区。向南延伸至辽宁省东部山区的宽甸、恒仁、凤城和岫岩等地。向北延伸至黑龙江省张广才岭东南部、老爷岭山区、小兴安岭南部的宁安、东宁、鸡西、绥棱等地[6]。

虽然东北红豆杉的无性繁殖成活率相当高,但其自然资源情况却不容乐观,首先是自然分布地域很窄;其次,资源储量很有限,估计东北三省总蕴藏量(鲜重)不多于 300 t,年净生长量很低。而且,东北红豆杉树的枝叶、树皮采量极有限,采收量稍多即可造成植株第二年死亡。因此,除可进行少量枝叶采收外,年允收量几乎为零[6]。

1.2.2　*华南、西南地区*　在我国华南、西南地区,主要有红豆杉属植物 3 种 1 变种,即云南红

豆杉、中国红豆杉、西藏红豆杉和南方红豆杉。

西藏红豆杉主要分布于我国西藏南部海拔 2 500～3 000 m 山地及云南部分地区。云南红豆杉主要分布于云南西北部及西部(镇康、景东)、四川西南部与西藏东南部海拔2 000～3 500 m 的山地。中国红豆杉分布较为广泛,产于华中、华南、西南各省区,常生于海拔 1 000 m 或 1 200 m 以上的高山上部。南方红豆杉则是我国分布最广的红豆杉,整个南方地区均有分布,常生于海拔 1 000～1 200 m 以下的低山或溪谷[7]。

在红豆杉天然资源分布区中,云南省占显著地位。高黎贡山西坡、怒江中上游流域、澜沧江上游流域和金沙江上游流域,在地域上连成一片,覆盖了整个滇西至滇西北的横断山区;而在滇东北、滇东南及滇西南地区亦有间断分布。红豆杉主要产区为滇西横断山区的 5 地州 16 个县,总面积约 9×10^4 km^2,主要树种为云南红豆杉。据调查估算,在滇西横断山区约有红豆杉 135 万株;小枝叶蕴藏量约为 $4\ 050\times10^4$ kg,每年可采摘量为 $1\ 350\times10^4$ kg[7]。

1.3 存在问题和解决途径

红豆杉树皮中紫杉醇含量甚微(约干重的万分之一),有人[8]计算过,处理一个卵巢癌患者需要 6 棵树龄 60～100 年的红豆杉树。每年 200 kg 紫杉醇的消耗量意味着要砍伐 100 万棵树,随着今后应用范围的扩大,所需红豆杉数量将十分可观,这就给红豆杉资源带来严重威胁。此外,由于红豆杉的分布特点是天然散生,无纯林,以“混生、复层、异龄”为主要存在特征,加之生长缓慢,自然更新困难,属于国家严格控制采伐的树种之一。但是,近几年大量的药品需求和巨额的商业利润,使红豆杉资源遭到了严重破坏。云南省有数以万计的红豆杉被剥去树皮,砍去枝叶,仅志奔山一地便损失 9.2 万多株,初步测算被盗剥红豆杉树皮 132.1×10^4 kg,使这一地区的红豆杉树种濒临灭绝[9]。

加强红豆杉资源的保护和引种栽培实验是从根本上解决紫杉醇来源的重要措施。云南腾冲、威信、个旧、昆明等地区较长的栽培历史可以作为红豆杉大规模种植技术研究的借鉴[7]。此外,东北红豆杉繁殖技术的研究也获得了一定的进展[10],为扩大栽种范围提供了有力的手段。目前东北和浙江地区正在进行引种和种植试验。

2. 紫杉醇药源及生产的可能性

从美国农业部 1962 年将短叶红豆杉提供给美国国家癌症研究所(NCI)全美肿瘤化疗服务中心(CCNSC)作为抗癌筛选植物起,到 1992 年底美国 FDA 正式批准紫杉醇作为治疗晚期卵巢癌新药 Paclitaxel 上市前后经历了 30 年的研究,从中也可感受到开发一种新药的艰难。紫杉醇由于对癌细胞的特殊作用机理而开创了新一代抗癌药物,因此各国特别是美国在开发过程中投入了巨大的人力和财力,在 Cragg 等人[11]的文章中提到美国 NCI 已通过每年超过 430 万美元共计 35 项的资助项目,估计以后还会不断增加。除了上面讲的红豆杉植物中紫杉醇含量非常低下以外,还面临着生产周期长(从订货到交货至少要 18 个月到 24 个月)和价格昂贵(每克约 1 000 美元)的问题。因此从 1992 年底新药 Paclitaxel 上市之日起,就存在如何解决材料来源的日益尖锐的问题。

2.1 国外研究概况

国外正在研究紫杉醇生产的可能途径,归纳起来有以下 5 种:

2.1.1　从红豆杉非树皮部位提取　目前主要通过树皮生产紫杉醇,但这对野生资源无疑是一种破坏,不足为取。因此,人们开始通过比较红豆杉不同部位紫杉醇含量来寻找替代树皮的来源,结果发现修剪物或针叶也是提取紫杉醇的较好材料[12~14]。

2.1.2　大量种植经过筛选的优良品种　通过比较研究选择优良品种,如美国宾州大学国家天然产物技术开发中心筛选出高产量红豆杉栽培品种,大规模种植,可以满足部分市场需求。BMS 已与一家木材公司合作建立种植园,1991 年开始栽种 400 万棵幼苗,以后两年再开辟两个种植园,各栽种 1 000 万棵幼苗[15]。

2.1.3　化学合成　(1) 半合成:从红豆杉植物中分离出 10-去乙酰浆果赤霉素Ⅲ,虽然活性远低于紫杉醇,但可以从针叶中提取。经四步反应合成紫杉醇,为解决紫杉醇来源取得了一次重大进展[16]。以后也有从浆果赤霉素Ⅲ合成紫杉醇的专利发表[17]。

(2) 全合成:以 Nicolaou 博士为首的一个美国研究小组在 1994 年报道通过化学方法全合成紫杉醇的结果,但目前尚不具有应用价值[18]。

2.1.4　寻找紫杉醇类似物　法国科学家从大量化学合成的紫杉醇衍生物中找到了一种满意的替代物 Taxotere, 水溶性较好,且副作用较低,1991 年开始进入二期临床试验[19]。

2.1.5　生物技术　(1) 细胞培养:自从 Christen 等人[20]在 1991 年登记了有关红豆杉组织培养的第一个专利以来,全世界已有数十家实验室进行 10 种红豆杉属植物的组织培养研究,通过细胞筛选,加入前体和诱导子,改变培养基成分和培养方式等方法,不同程度提高了细胞中紫杉醇的含量,有的还进行大规模培养实验。但是由于化学合成方法的进展和培养细胞本身含量低且生长缓慢,利用红豆杉细胞培养技术生产紫杉醇的目标仍困难重重。由康奈尔大学、美国农业部、植物催化公司、克罗拉多州立大学和豪色化学公司组成的集团在这方面进行了卓有成效的工作,他们筛选的细胞系可以产生 1～20 mg/L 紫杉醇[11]。此外,日本的三井石油化学和日本钢铁也进行红豆杉细胞培养技术的研究[21,22]。最近 Zhiri[23]从欧洲红豆杉分离得到了 10-去乙酰浆果赤霉素Ⅲ后,再采用半合成方法合成紫杉醇可能是一种较可行的方法。

(2) 基因工程:由于紫杉醇生物合成的精确途径尚不清楚,目前还难以利用分子生物学和基因工程方法进行基因表达的研究。但是随着植物中类异戊二烯生物合成的分子生物学研究的进展,已有多个单萜和二萜生物合成有关的基因被克隆[24]。相信不久,作为二萜化合物的紫杉醇基因工程的研究也会取得进展。

(3) 微生物生产:Stierle 等[25]从短叶红豆杉韧皮部分离到一种寄生真菌(*Taxomyces andreanae*),可以在特定的培养基中产生紫杉醇及其相关的化合物,但由于目前产量极低(24～50 ng/L),还没有应用价值。相信通过改变培养条件和应用重组 DNA 技术,必将提高 *T. andreanae* 中紫杉醇的产量。为此,美国细胞克隆公司出价 100 万美元支持蒙大拿州立大学的这项研究。

2.2　国内研究概况

近几年来,在国际"紫杉醇研究热"的加温下,我国有不少单位先后开展了有关的研究。主要研究内容有以下几个方面。

2.2.1　红豆杉植物化学成分的研究　中国医学科学院陈未名等对云南红豆杉的化学成分进行了较详细的研究,从我国 4 种红豆杉植物中分离鉴定了 110 个与紫杉醇结构类似的紫杉烷类化合物,其中 36 个为新化合物,但仍以紫杉醇抗肿瘤活性最强[26]。

2.2.2 紫杉醇的分离提取 中国医学科学院药物所和有关制药厂合作,从红豆杉树皮中分离得到紫杉醇再制成药剂"紫素"用于癌症的治疗[27]。上海医工院等单位最近也通过了鉴定以"特素"商品名进行生产。紫杉醇的分离提取也逐渐转向以枝条和针叶为原料进行,这对于保护我国红豆杉资源具有重要意义。

2.2.3 红豆杉植物细胞培养的研究 我国红豆杉组织培养的研究,目前主要集中于愈伤组织诱导以及外界条件对增加紫杉醇含量的影响等[28]始发性的工作。目前已有少数文章涉及到液体培养方面,如甘烦远等[29]进行的中国红豆杉液体培养实验,生长速度为0.28 g/L·d,紫杉醇含量为0.012%。王红强等[30]证实中国红豆杉悬浮培养物紫杉醇含量在静止期(24 d)达到最大值(0.244 mg/L)。此外,红豆杉细胞大规模培养的研究也在进行之中[31],并已列入"九五"研究计划。

2.2.4 紫杉醇抗癌研究 近年来我国也开展了紫杉醇治疗恶性肿瘤的研究,发现适当剂量的紫杉醇,单独使用或与其他药剂联合使用,可以对卵巢癌、乳腺癌、睾丸胚胎癌、食管癌、肺癌等多种晚期癌症有一定的效果,有效率在百分之十几到三十几之间,无疑为治疗晚期恶性肿瘤病人提供了一条有效的途径[32~35]。

总之,我国在红豆杉资源和紫杉醇生产领域,虽然个别项目取得了较大的进展,但总的来说还处于起步阶段。今后应加强有关紫杉醇生产和临床的研究,特别应进一步开展红豆杉资源调查和保护方面的研究,尽快使我国的红豆杉资源和紫杉醇的生产和研究赶上世界水平。

参考文献

1 康映巢,沈祝萱. 卵巢肿瘤. 见:王淑贞主编. 中国医学百科全书,妇产科学,上海:上海科技出版社,1992年版,94~99.

2 曹泽毅. 妇科肿瘤专业的回顾与展望. 中华妇产科杂志,1993,28(8):463~466.

3 梅兴国,鲁明波. 紫杉醇的抗癌作用及治疗其它疾病的潜力. 国外医学·药学分册,1996,23(3):136~140.

4 孙启时,戴振复,于庆海等. 抗癌新药紫杉的资源. 沈阳药学院学报,1993,10(4):305~307.

5 Burte J N. *Taxus*. Le Bon Jardinier Vol. III. Paris: La Maison Rustique, 1992, 2588~2589.

6 张晓伟,王喜军主编. 抗癌植物红豆杉. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1995,59~61.

7 尹嘉庆,王达明,李莲芳. 云南省红豆杉资源及发展策略. 云南林业,1995,(81):9~10.

8 Cragg G M, Schepartz S A, Suffness M *et al*. The taxol supply crisis. New NCI policies for handling the large-scale production of novel natural product anticancer and anti-HIV agents. J Nat Prod, 1995, 56(10): 1657~1668.

9 赵奇治,邵宇平. 红豆杉,你好命苦. 云南林业,1995,(84):10~13.

10 马小军,丁万隆,陈 震等. 东北红豆杉繁殖技术研究进展. 天然产物研究与开发,1995,7(3):75~77.

11 Shuler M L. Bioreactor engineering as an enabling technology to tap biodiversity. Ann N Y Acad Sci, 1994, 745: 455~461.

12 Stull D P, Scales T A, Daughebaugh R *et al*. Strategies to increase the supply of a new anticancer drug. Appl Biochem Biotechnol, 1995, 54(1~3): 133~140.

13 Vidensek N, Lim P, Campbell A *et al*. Taxol content in bark, wood, root, leaf, twig and seedling from several *Taxus* species. J Nat Prod, 1990, 53(6): 1609~1610.

14 Witherrup K M, Look S A, Stasko M W *et al*. *Taxus* spp. needles contain amounts comparable to the bark of *Taxus brevifolia*: analysis and isolation, J Nat Prod, 1990, 53(5): 1249~1255.

15 刘木叶,叶和春,李国凤. 抗癌新药紫杉醇的研究概况. 植物学通报,1995,12(3):8~14.

16 Denis J N, Green A E, Gerenard D *et al*. A highly efficient, practical approach to natural taxol. J Amer Chem Soc, 1988, 110(17): 5917~5919.

17 Colin M, Guenard D, Gueritte-Voegelein F *et al*. Preparation of baccatin Ⅲ derivatives as antitumor agents. Europe Patent, 1989. 336, 841.

18 Nicolaou K C, Yang Z, Liu J J *et al*. Total synthesis of taxol. Nature, 1994, 367(6464): 630～634.

19 Guenard D, Gueritte-Voegelein F, Potier P. Taxol and taxotere: discovery, chemistry and structure-activity relationship. Acc Chem Res, 1993, 26(4): 160～167.

20 Christen A A, Gibson D M, Bland J B. Production of taxol or taxol-like compounds in cell culture. US Patent, 1991, 5, 019, 504.

21 Japan Steel. Production of taxol. Japan Patent, 1994, 06296-493.

22 Mitsui PetroChem. *Taxus baccata* callus culture. Japan Patent, 1994, 06181-785.

23 Zhiri A, Jagiri A, Guo Y *et al*. Tissue cultures of *Taxus baccata* as a source of 10-deacetyl baccatin-Ⅲ, a precursor for the hemisynthesis of taxol. Biol Chem Hoppe Seyler, 1995, 376(10): 583～586.

24 Cheppel J. Biochemistry and molecular biology of the isoprenoid biosynthetic pathway in plants. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1995, 46: 521～547.

25 Stierle A, Strobel G, Stierle D. Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of pacific yew. Science, 1993, 260(5105): 214～216.

26 方起程,韩　锐,陈未名等. 抗肿瘤新药紫杉醇及其注射液的研究与开始. 中国医学科学院学报,1996,18(4):251.

27 佚名. 紫杉醇注射液(紫素). 中国药学杂志,1996,31(8):505.

28 甘烦远,郑光植. 红豆杉的细胞工程研究进展. 国外医学·植物药分册,1994,9(4):156～159.

29 甘烦远,郑光植,彭丽萍. 红豆杉细胞培养的研究. 云南植物研究,1996,18(2):134～138.

30 王红强,钟键江,陈旭峰等. 中国红豆杉悬浮细胞培养动力学的研究. 见:虞星炬等编,第七届全国生物化工学术会议论文集. 北京:化工出版社,1996,541～544.

31 佚名. 采用细胞培养技术成功获得抗癌药紫杉醇. 中国医药工业杂志信息版,1994,2:28.

32 李龙云,姜先雁,朱元钰等. 紫杉醇治疗二例晚期肺癌. 中国新药杂志,1996,5(4):258～260.

33 周美珍,李文举,伍健宇等. 紫杉醇治疗恶性肿瘤Ⅱ期临床观察. 中国新药杂志,1996,5(4):255～257.

34 蔡树模. 紫杉醇治疗耐药性卵巢上皮癌. 实用妇产科杂志,1995,11(3):127.

35 蔡树模,汤　洁,范建平等. 紫杉醇治疗难治性卵巢癌和输卵管癌的临床疗效(附 30 例分析). 中华肿瘤杂志,1995,17(2):135～138.

(责任编辑:许定发)

《植物资源与环境》入编《中国学术期刊(光盘版)》

《植物资源与环境》学报 1996 年起入编《中国学术期刊(光盘版)》(CAJ-CD)。《中国学术期刊(光盘版)》是我国第一个具有权威性的集成化、多功能电子学术期刊,由光盘国家工程研究中心、北京清华信息系统工程公司联合组建的学术电子出版物编辑部主办,清华大学出版社出版。该刊遴选国内中英文近二千种核心期刊和二千多种专业特色期刊,参照中国图书分类法进行分类集成,配以最先进的全文检索、编辑和查询软件,分八个专辑按月定期出版,1996 年 1 月起公开发行。