

曼地亚红豆杉中紫杉醇等与产地因子的相关性

付顺华¹, 史小娟¹, 苗国丽², 徐志明³, 张新凤¹, 何照斌³, 斯金平¹, 杜红亮³

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省宁波市林场, 浙江 宁波 315010; 3. 常山曼地亚红豆杉科技有限公司, 浙江 常山 324200)

摘要: 从国内 8 个不同产地采集曼地亚红豆杉 *Taxus media* 枝条和林下土壤, 利用高效液相色谱(HPLC)法测定了紫杉醇(taxol)和 10-脱乙酰基巴卡亭Ⅲ(10-deacetylbaicatin, 10-DAB)质量分数, 用常规方法测定了土壤的矿质元素及肥力结构等。结果表明: 不同产地的曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数差异很大, 紫杉醇有随北纬纬度增高而递减的趋势; 紫杉醇和 10-DAB 与多数土壤因子相关性不显著, 其中: 紫杉醇与有机质呈显著正相关, 与北纬纬度呈显著负相关, 10-DAB 与土壤矿质元素钴和锰质量分数呈显著负相关; 紫杉醇与 10-DAB 之间不存在相关性($r = -0.197$); 用多元逐步回归分析建立了紫杉醇质量分数的回归方程。推测: 曼地亚红豆杉的紫杉醇及其衍生物质量分数变化规律与红豆杉属其他种相似, 受生长必需环境因子影响明显。图 2 表 3 参 23

关键词: 林木育种学; 曼地亚红豆杉; 紫杉醇; 10-脱乙酰基巴卡亭Ⅲ; 矿质元素; 偏相关
中图分类号: S722.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)02-0227-07

Study on the correlation between taxol, 10-DAB of *Taxus media* and its major soil factors

FU Shun-hua¹, SHI Xiao-juan¹, MIAO Guo-li², XU Zhi-ming³, ZHANG Xin-feng¹,
HE Zhao-bin³, SI jin-pin¹, DU Hong-liang³

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Ningbo Forest Farm of Zhejiang Province, Ningbo 315010, Zhejiang, China; 3. Changshan Taxus Technology Co. Ltd., Changshan 324200, Zhejiang, China)

Abstract: To know the difference of taxol, 10-deacetylbaicatin Ⅲ (10-DAB) content of *Taxus media* at different site, about 500 g more branch and leaf of 10 individuals, 2 500 g more soil each sampled from eight different domestic origins -Qiuchuang, Jingcheng, Dongwu, Renhe, Shanghu in Zhejiang, Tianpen in Sichuan, Luolong in Henan, Xiaotangshan in Beijing- were collected, the taxol and 10-DAB content were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC), and soil mineral elements content and soil structure were determined by standard methods. Then, with the data, a stepwise multiple regression analysis by stepwise and a partial correlation analyses by the temperature when sampling as control variable were conducted. Results showed that taxol content decreased along the north latitude (north latitude from 28°55'27" up to 40°11'39", taxol content from 0.330 4 g·kg⁻¹ down to 0.030 6 g·kg⁻¹). Also, taxol and 10-DAB were merely correlated with most soil factors; taxol was significantly ($P < 0.031$) and positively correlated ($r = 0.800$) with soil organic matter, but significantly ($P < 0.047$) and negatively correlated ($r = -0.761$) with site north latitude; 10-DAB was significantly ($P < 0.026$) and negatively correlated with mineral elements Co ($r = 0.813$) and Mn ($P < 0.030$, $r = -0.801$); there was no linear correlation between taxol and 10-DAB ($r = -0.197$); and the regression equation established was: $y = 0.067 - 0.003 x_1 + 0.000 012 08 x_2 - 0.001 x_3$.

收稿日期: 2010-05-25; 修回日期: 2010-07-06

基金项目: 浙江省重大科技专项(2008C12020)

作者简介: 付顺华, 副教授, 硕士, 从事药用植物育种与种质资源保护研究。E-mail: fushunhua66@163.com

Overall, taxol content, as a derivative of *T. media*, was similar to other *Taxus* species such as *Taxus wallichiana* var. *mairei*, with its content changing largely with soil organic matter. [Ch, 2 fig. 3 tab. 23 ref.]

Key words: forest tree breeding; *Taxus media*; taxol content; 10-deacetylbaaccatin III (10-DAB) content; mineral elements content; partial correlation

曼地亚红豆杉 *Taxus media* 是红豆杉属的天然杂交种, 从其植株提取的紫杉醇具有极好的抗癌作用, 主要用于后期乳腺癌、晚期卵巢癌等多种癌症的治疗, 被誉为“晚期癌症的最后一道防线”。也可提取如 10-脱乙酰基巴卡亭 III (10-deacetyl baccatin III, 10-DAB) 等多种化学成分, 是人工合成抗癌新药的前体, 拓展了曼地亚红豆杉新的药用领域^[1-6]。中国于 1996 年引进曼地亚红豆杉种植。经十几年发展, 目前已形成约 2 500 hm² 的人工栽植规模, 年产量近 10 万 t 鲜枝叶, 年产值超亿元。紫杉醇和 10-DAB 等在植物体内的合成代谢途径相当复杂, 导致紫杉醇和 10-DAB 等含量在不同个体内表现明显差异。了解不同产地曼地亚红豆杉的紫杉醇和 10-DAB 含量差异及其主要影响因子和影响规律, 对曼地亚红豆杉药用原料林栽培具有重要的指导作用。本研究对不同产地曼地亚红豆杉的紫杉醇和 10-DAB 质量分数进行了测定, 并测定了产地的地理因子及土壤矿质元素, 分析了紫杉醇和 10-DAB 质量分数与土壤矿质元素、土壤基本理化性状及地理位置的相关关系, 了解土壤因子与紫杉醇和 10-DAB 的作用紧密程度和作用方向, 找出影响紫杉醇和 10-DAB 质量分数的产地土壤主要因子, 研究不同产地紫杉醇和 10-DAB 质量分数变异规律。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器和试剂

材料: 试验所用样品采自全国 8 个产地, 多数在浙江省境内。采样地基本情况见表 1。于 2010 年 2-3 月采集。采集地均为人工栽植圃地, 种苗来源一致。枝叶样品在产地随机选取 5 年生植株 10 株, 在植株的上部位不同方向剪取等量 1 年生枝条, 混合。自然干燥后经粉碎, 过 100 目筛, 备用。土壤样品采集在取样地比较一致的范围内随机定位 10 个点, 深度 0 ~ 15 cm 范围挖取泥土, 混合, 带回后自然晾干, 处理备用。采样时当月平均气温由中国气象科学数据共享服务网 <http://cdc.cma.gov.cn/> 查得。

表 1 曼地亚红豆杉样品采集地点经纬度及采样时月均温

Table 1 Sample sites and monthly temperature when sampling of *Taxus media*

样品采集地点	北纬度(N)	东经度(E)	采样日期/(年-月-日)	当月平均气温/℃
浙江宁波东吴	29°59'58"	121°22'46"	2010-03-02	10.5
浙江衢州球川	28°55'27"	118°15'53"	2010-03-07	11.6
四川彭州天彭	30°58'28"	103°58'06"	2010-02-04	4.1
河南洛阳洛龙	34°37'53"	112°31'35"	2010-02-08	3.7
浙江磐安尚湖	29°11'28"	120°42'44"	2010-03-30	10.2
浙江余杭仁和	30°26'06"	120°05'23"	2010-03-08	10.2
北京昌平小汤山	40°11'39"	116°26'59"	2010-03-13	4.1
浙江临安锦城	30°15'36"	119°43'21"	2010-03-23	10.2

仪器: Waters 2487 双波长检测器, Waters 515 泵, Waters 7725 I 型进样阀, HS 2000 色谱数据处理软件(杭州英谱科技开发有限公司), Milli-Q(超纯水器美国 Millipore 公司, 机型为 Milli-Q Academic), KS-600E I 型超声波清洗机(宁波海曙科生超声设备有限公司), Buchi R-210 旋转蒸发仪、AB104-N 电子分析天平(梅特勒托利多仪器上海有限公司)。6400-A 火焰分光光度计、7230G 可见光光度计(上海科学仪器厂)、勃氏消解炉(BUCHI)(瑞士勃氏公司)、六联定氮仪(中科院南京土壤研究所)、ICP 等离子光谱仪 7000DV(P.E 公司)和 pH 计 320(梅特勒托利公司)。

试剂: 紫杉醇对照品(批号 100382-200301, 中国药品生物制品鉴定所), 10-DAB III 对照品(西安和

霜生物工程有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 紫杉醇和 10-DAB 测定方法 色谱条件: 色谱柱 Symmetry C18 (250 mm × 4.6 mm); 柱温 30 ℃; 流动相甲醇: 水 (65:35), 乙腈: 水 (30:70); 流速 0.8 mL·min⁻¹; 柱温 30 ℃; 检测波长 227 nm 和 234 nm; 进样体积 10 μL; 分离度(*R*)大于 1.5, 理论塔板数大于 6 000。

对照品溶液的制备: 紫杉醇对照品和 10-DAB 对照品经五氧化二磷干燥至恒量, 精密称取紫杉醇对照品 1.2 mg, 置于 10 mL 的容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得 0.12 g·L⁻¹ 的紫杉醇对照品储备液; 精密称取 10-DAB 对照品 3.6 mg, 置于 10 mL 的容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.36 g·L⁻¹ 的 10-DAB 对照品储备液。

样品溶液制备: 样品溶液制备方法参考文献[7]并进行了优化。称取样品粉末 5 g, 加入 100 mL 甲醇, 超声处理 40 min, 静置过滤, 滤渣再以 100 mL 的甲醇超声 40 min, 如此重复 3 次, 合并滤液浓缩至 18 mL, 加入 2 mL 的水, 正己烷萃取数次, 甲醇相浓缩至干, 再以 100 mL 二氯甲烷溶解, 加入 100 mL 超纯水超声数秒, 分相后无机相再用二氯甲烷萃取数次, 直至无色, 将二氯甲烷相经真空浓缩至干, 以甲醇充分溶解并定容至 25 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液供高效液相色谱(HPLC)分析用。

后续紫杉醇和 10-DAB 测定分析步骤见文献[8-9]。对照品溶液和样品高效液相色谱(HPLC)图见图 1 和图 2。

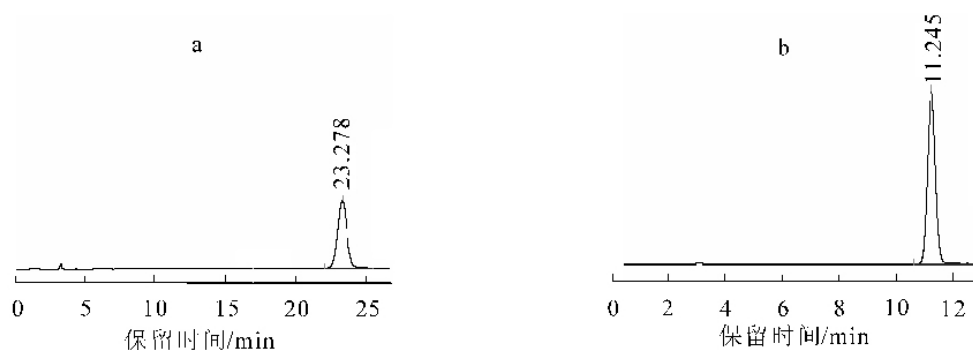


图 1 紫杉醇(a)和 10-DAB(b)对照品 HPLC 图

Figure 1 Taxol(a) and 10-DAB(b) standard HPLC maps

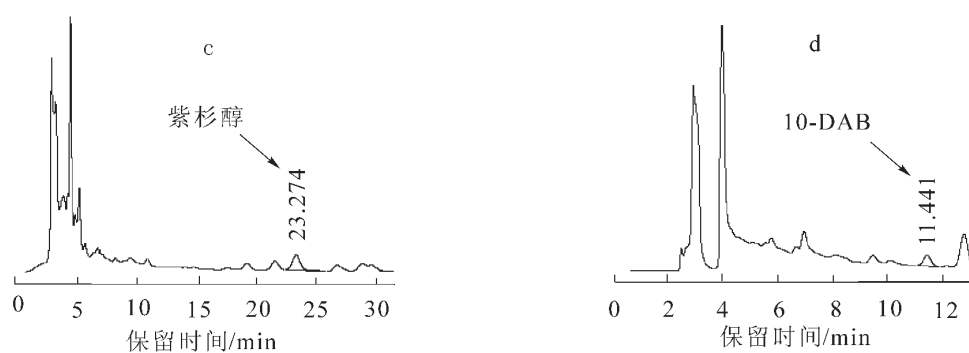


图 2 样品 HPLC 图(c, d)

Figure 2 Samples HPLC maps(c, d)

1.2.2 土壤样品分析方法 土壤样品分析方法见参考文献[10]。

1.2.3 数据分析 采用 SPSS Statistics 17.0 软件进行数据统计计算, 偏相关分析和回归分析。

2 结果与分析

2.1 不同产地曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数差异

研究表明: 不同产地曼地亚红豆杉的紫杉醇和 10-DAB 质量分数差异明显, 其中紫杉醇质量分数最

高的浙江磐安尚湖, 为 $0.3304 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最小的为北京昌平小汤山, $0.0306 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 两者相差 10.79 倍。10-DAB 质量分数差异更大, 最高的为浙江余杭仁和, $0.7589 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 最低的为河南洛阳洛龙点, 仅 $0.0293 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 两者相差达 25.94 倍。反映出曼地亚红豆杉的紫杉醇、10-DAB 质量分数在不同产地水平的变异巨大性。从表 2 数据看, 偏南方产地的样品紫杉醇质量分数较高, 从紫杉醇生产的角度考虑, 采用偏南方栽培地的原料似乎更有经济性。10-DAB 质量分数地理变异规律性不强, 较高的是浙江余杭、宁波点, 较低的却是河南洛龙和浙江衢州点, 地理变异的趋势性不明。

表 2 不同产地曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数

Table 2 Taxol, 10-DAB content in *Taxus media* of different sites

采样地	紫杉醇/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	10-DAB/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	采样地	紫杉醇/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	10-DAB/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
浙江宁波东吴	0.177 5	0.509 7	浙江余杭仁和	0.221 9	0.758 9
浙江衢州球川	0.265 9	0.079 4	北京昌平小汤山	0.030 6	0.272 7
四川彭州天彭	0.267 3	0.131 7	浙江临安锦城	0.144 6	0.478 3
河南洛阳洛龙	0.098 6	0.029 3	平均值	0.192 1	0.341 7
浙江磐安尚湖	0.330 4	0.473 6	最大值/最小值	10.79	25.94

2.2 紫杉醇和 10-DAB 质量分数与产地各因子的偏相关性

为进一步了解紫杉醇和 10-DAB 质量分数与产地的关系, 明确土壤因子和地理位置等对紫杉醇和 10-DAB 的影响, 寻找主要影响因子及影响规律, 以采样地采样时的月平均气温作控制因子, 排除采样时间先后引起的气温因子差异的影响, 研究了紫杉醇和 10-DAB 质量分数与立地各因子的偏相关性, 结果见表 3。从表 3 看到, 紫杉醇与土壤矿质元素质量分数间的相关性不明显, 均未达到显著水平。偏相关系数稍高的是镉(0.660)和钼(0.657), 但未达统计显著水平。与土壤肥力结构因子中的有机质质量分数呈显著正相关, 偏相关系数为 0.800, 表明紫杉醇合成与有机质关系密切, 具体是哪种有机质成分, 本研究结果并不明确。分析了紫杉醇质量分数与栽培地的经纬度相关性发现, 紫杉醇与地理位置相关显著, 与北纬纬度的偏相关系数为-0.761, 达到显著水平, 与东经经度的偏相关为-0.729(未达到显著水平), 显示在国内偏南产地的曼地亚红豆杉中紫杉醇质量分数较高。

表 3 表明, 10-DAB 与土壤矿质元素间的偏相关系数中, 钴和锰质量分数达到了显著负相关水平, 偏相关系数为-0.813 和-0.801。与土壤肥力结构因子、栽培地的经纬度相关性均不显著。偏相关系数较大的是有机质(-0.615)和全氮(-0.648), 但未达到统计显著相关水平。

2.3 曼地亚红豆杉紫杉醇与 10-DAB 质量分数的相关性

一般认为, 10-DAB 是紫杉醇生物合成的前体之一, 那么两者之间是否存在着线性相关性? 为此本研究计算了紫杉醇与 10-DAB 质量分数的偏相关。结果表明: 紫杉醇与 10-DAB 质量分数的偏相关系数很小, 为-0.197。表明, 紫杉醇的生物合成可能是 10-DAB 等多种成分共同参与的复杂代谢结果, 两者间并不存在简单的线性相关性。

2.4 曼地亚红豆杉紫杉醇、10-DAB 质量分数与产地因子的回归关系

根据本研究测定数据, 用逐步回归法筛选了北纬纬度 $x_1(^{\circ})$, 土壤矿质元素铝质量分数 $x_2(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ 和钴质量分数 $x_3(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ 3 个因子, 建立了曼地亚红豆杉紫杉醇质量分数 $y(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$ 的回归方程: $y = 0.067 - 0.003 x_1 + 0.000 012 08 x_2 - 0.001 x_3$ (F 检验、 t 检验均达到显著)。其预测准确性有待生产实践中验证。

3 结论与讨论

3.1 不同产地的曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数变异较大

从本研究结果看, 不同产地的曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数变异很大, 最高与最低值差异可达 10 倍以上, 尤其是 10-DAB 质量分数差异变化更大。提示在实践中药用原料的采购要多加重视不同产地的差异性。从变异趋势上看, 似乎紫杉醇有随纬度的增高而递减的趋势变异规律, 而这种变异是否与有机质质量分数的差异所引起的代谢差异有关, 尚待验证。

表 3 紫杉醇、10-DAB 与产地各因子的偏相关系数

Table 3 Partial correlation coefficients of taxol, 10-DAB content to site factors

项目	偏相关系数		项目	偏相关系数	
	紫杉醇	10-DAB		紫杉醇	10-DAB
土壤矿质元素	铝	0.468	硅	- 0.310	0.304
	砷	- 0.187	土壤矿质元素 锡	- 0.193	0.602
	硼	0.404	锌	0.479	- 0.209
	钙	- 0.162	pH 值	0.204	- 0.147
	镉	0.660	有机质	0.800*	- 0.615
	钴	0.113	水解氮	0.290	- 0.030
	铬	0.465	速效磷	0.414	0.073
	铜	0.086	土壤肥力结构 速效钾	- 0.039	- 0.483
	铁	0.247	全氮	0.713	- 0.648
	镁	0.035	全磷	0.396	0.084
	锰	- 0.087	全钾	0.085	- 0.472
	钼	0.657	颗粒大小	0.313	- 0.095
	钠	- 0.294	地理位置 东经经度	- 0.729	0.422
	镍	0.475	北纬纬度	- 0.761*	0.229
	铅	0.499			
	硫	- 0.215			

说明：* 为 $P < 0.05$ 显著水平。

3.2 不同产地的土壤因子与曼地亚红豆杉紫杉醇和 10-DAB 质量分数的影响作用不明显

从研究不同产地的土壤因子与曼地亚红豆杉紫杉醇、10-DAB 质量分数的相关性结果得出，其紫杉醇、10-DAB 与绝大多数的土壤因子相关性均不明显。其中，紫杉醇仅与有机质质量分数及纬度相关明显，这与苏建荣等^[11]的研究结论相似，可能有有机质中的氮、磷元素是紫杉醇合成不可缺少的。纬度对紫杉醇的影响则可能是反映了温度、日照的南北差异实质。10-DAB 与矿质元素中的锰、钴呈显著负相关。锰是植物生长重要的微量元素，大多存在于叶片中，且不容易转移，对生物体起抗氧化保护作用，适量的锰对植物生长有利，但过量的锰则对植物起金属毒害作用。锰与 10-DAB 呈显著负相关，表明锰在 10-DAB 的代谢过程中可能有一定作用，但作用机制不明。钴与锰在土壤中正相关紧密，因而表现与 10-DAB 也显著负相关。上述也表明紫杉醇和 10-DAB 是作为植株生长过程中的代谢中间产物而动态存在，其质量分数是众多因子的综合效应。刘智等^[12]认为紫杉醇及其前体物质在植物体内存在转移现象，这也可能是引起紫杉醇质量分数与土壤矿质元素相关性不强的原因之一。紫杉醇的抗癌作用机制表现为对目标细胞的微管二聚体的“凝固”作用，延缓细胞分裂至死亡^[13-14]。这是否意味着植株体内组织不同阶段适量的紫杉醇存在是对组织细胞的正常分裂的保护机制，以防止外界因子对处于正常分裂阶段细胞的损害作用？有待更多研究证实。一般认为 10-DAB 是紫杉醇生物合成的前体，但本研究表明紫杉醇及 10-DAB 质量分数两者之间不存在线性相关($r = - 0.197$)，两者各自的紧密相关因子也不相同。是否存在锰、钴元素对 10-DAB 的抑制合成或促进分解代谢作用，有待试验的进一步明确。

3.3 曼地亚红豆杉的紫杉醇、10-DAB 质量分数变异规律与同属各红豆杉种相似

国内外有众多的学者以不同红豆杉种，从不同方面研究了紫杉醇、10-DAB 质量分数变异规律及其影响因子，得出不同的结论。柯春婷等^[15]研究了南方红豆杉紫杉醇、10-DAB 质量分数及其影响因子，认为与大多产地土壤因子相关不显著，与本研究结论相同。但他们认为相关的因子为钙($r = - 0.902$)和铁($r = 0.961$)，与本研究结果不一致，也与全川等^[16]、杨志钢^[17]的研究结果不一致。王朝晖等^[18]研究湘产南方红豆杉认为枝叶中紫杉醇含量最高为 6 月份，与本研究结果接近(另文发表)，可能是随植株生长

活动的增强,正常细胞分裂需要更多的紫杉醇所致。石鹏等^[19]文中提到,适当遮光和脱落酸 ABA 的增加会增加紫杉醇的含量。此外,王昌伟等^[20]、曾志平^[21]、Silvia 等^[22]和 Zhang 等^[23]的研究结果也不一致。本文推测:曼地亚红豆杉的紫杉醇及其衍生物如 10-DAB 等的含量变异规律与其他红豆杉种相似,受生长必需环境因子影响明显。影响其生物合成的因素众多复杂,且远未被透彻研究,还需进一步深入。

参考文献:

- [1] 邱德有, 吴小红, 黄璐琦. 木本药用植物红豆杉研究的新进展[J]. 林业科学研究, 2009, **22** (3): 439 - 445.
QIU Deyou, WU Xiaohong, HUANG Luqi. Recent advances in research of the woody medicinal plant *Taxus* [J]. *For Res*, 2009, **22** (3): 439 - 445.
- [2] 应站明, 李媛, 李振宇. 抗癌药物——紫杉醇合成和应用研究进展[J]. 萍乡高等专科学校学报, 2006 (6): 6 - 17.
YING Zhanming, LI Yuan, LI Zhenyu. The anticancer medicine: research situation of the synthesis and application of taxol [J]. *J Pingxiang Coll*, 2006 (6): 6 - 17.
- [3] 谢峻, 谈锋. 植物来源抗肿瘤药物研究进展[J]. 中草药, 2007, **38** (2): 285 - 289.
XIE Jun, TAN Feng. Advances in studies on antitumor drugs originated from plant [J]. *Chin Trad Herbal Drug*, 2007, **38** (2): 285 - 289.
- [4] 肖颖, 赵玉斌. 红豆杉中紫杉醇抗癌研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, **17** (35): 5557 - 5558.
XIAO Ying, ZHAO Yubin. Advances in research of anticancer by taxol from *Taxus* [J]. *Mod J Integrated Trad Chin Western Med*, 2008, **17** (35): 5557 - 5558.
- [5] 李存芳, 刘勇, 董玫, 等. 南方红豆杉化学成分的研究进展[J]. 中草药, 2007, **38** (8): 1121 - 1132.
LI Cunfang, LIU Yong, DONG Mei, et al. Advances in studies on chemical constituents in *Taxus chinensis* var. *Mairei* [J]. *Chin Trad Herbal Drug*, 2007, **38** (8): 1121 - 1132.
- [6] KATARZYNA S B, AGNIESZKA P, ANNA K, et al. Enhancement of taxane production in hairy root culture of *Taxus × media* var. *hicksii* [J]. *J Plant Physiol*, 2009, **166**: 1950 - 1954.
- [7] 王志刚. 曼地亚红豆杉中紫杉醇的提取分离工艺及测定研究[D]. 长沙: 中南大学, 2007.
WANG Zhikang. *Extraction Process and Determination Method of Paclitaxel in Taxus media* [D]. Changsha: Central South University, 2007.
- [8] 李俊, 牙启康, 苏小建, 等. 人工栽培南方红豆杉紫杉醇的含量分析[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2005, **23** (2): 68 - 70.
LI Jun, YA Qikang, SU Xiaojian, et al. Determination of taxol in barks, seeds, needles and twigs of cultivated *Taxus chinensis* var. *mairei* by high performance liquid chromatography [J]. *J Guangxi Norm University*, 2005, **23** (2): 68 - 70.
- [9] 张美珍, 应群芳. 南方红豆杉中 10-脱乙酰巴卡亭 III (10-DAB) 的测定[J]. 江西中医药, 2009, **40** (5): 68 - 69.
ZHANG Meizhen, YING Qunfang. Determination of the 10 - deacetylbaicatin III (10-DAB) in *Taxus mairei* [J]. *Jiangxi J Trad Chin Med*, 2009, **40** (5): 68 - 69.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [11] 苏建荣, 张志钧, 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[J]. 林业科学研究, 2005, **18** (4): 369 - 374.
SU Jianrong, ZHANG Zhijun, DENG Jiang. Study on the taxol content in *Taxus yunnanensis* of different age and different provenance [J]. *For Res*, 2005, **18** (4): 369 - 374.
- [12] 刘智, 余龙江, 栗茂腾, 等. 紫杉醇及其前体在中国红豆杉植株中合成和积累部位探讨[J]. 华中农业大学学报, 2006, **25** (3): 313 - 317.
LIU Zhi, YU Longjiang, LI Maoteng, et al. Sites of taxol and its precursor biosynthesis and accumulation in *Taxus chinensis* [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2006, **25** (3): 313 - 317.
- [13] 张英锋, 范林. 抗癌药物紫杉醇的制备、抗癌机理和应用前景[J]. 化学教育, 2007 (1): 7 - 10.
ZHANG Yingfeng, FAN Lin. Preparation, anticancer mechanism and application prospects of taxol [J]. *Chem Edu*, 2007 (1): 7 - 10.

- [14] 张燕, 董建红. 紫杉醇抗肿瘤作用机制研究现状[J]. 现代中西医结合杂志, 2005, **14** (24): 3312 – 3313.
ZHANG Yan, DONG Jianhong. Present studies on anti-tumor mechanism with paclitaxel [J]. *Mod J Integrated Trad Chin Western Med*, 2005, **14** (24): 3312 – 3313.
- [15] 柯春婷, 仝川, 王玉震, 等. 不同地理种源南方红豆杉中紫杉醇和 10-DAB 含量及影响因子[J]. 生态学杂志, 2009, **28** (2): 231 – 236.
KE Chunting, TONG Chuan, WANG Yuzhen, *et al.* Taxol and 10-DAB contents of different provenance *Taxus chinensis* var. *mairei* and related affecting factors [J]. *Chin J Ecol*, 2009, **28** (2): 231 – 236.
- [16] 仝川, 王玉震, 王昌伟, 等. 叶面施肥对南方红豆杉针叶中紫杉醇和 10-DAB 含量的影响[J]. 生态学报, 2009, **29** (2): 553 – 562.
TONG Chuan, WANG Yuzheng, WANG Changwei, *et al.* Impacts of leaf fertilizer application on taxol and 10-DAB contents in the needles of cultivated *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. *Acta Ecol Sin*, 2009, **29** (2): 553 – 562.
- [17] 杨志钢. 红豆杉叶片营养分析与屏边土壤营养元素比较研究[J]. 云南农业科技, 2005 (2): 19 – 20.
YANG Zhigang. Yew leaf nutrient analysis and comparison of soil nutrients of Pingbian [J]. *Yunnan Agric Sci Technol*, 2005 (2): 19 – 20.
- [18] 王朝晖, 周日宝, 刘湘丹, 等. 湘产南方红豆杉中紫杉醇含量动态变化的研究[J]. 中南药学, 2010, **8** (1): 15 – 17.
WANG Zhaohui, ZHOU Ribao, LIU Xiangdan, *et al.* Dynamic change of taxol content in *Taxis chinensis* var. *mairei* in Hunan [J]. *Cent South Pharm*, 2010, **8** (1): 15 – 17.
- [19] 石鹏, 赵天忠, 吴颖. 自然生态因子对曼地亚红豆杉紫杉醇产量的影响综述[J]. 林业资源管理, 2009 (3): 88 – 91.
SHI Peng, ZHAO Tianzhong, WU Ying. Summary of the effects of natural ecological factors on taxol production of *Taxus media* [J]. *For Resour Manage*, 2009 (3): 88 – 91.
- [20] 王昌伟, 彭少麟, 李鸣光, 等. 红豆杉中紫杉醇及其衍生物含量影响因子研究进展[J]. 生态学报, 2006, **26** (5): 1583 – 1590.
WANG Changwei, PENG Shaolin, LI Mingguang, *et al.* Review of factors affecting the taxoids content of *Taxus* spp.[J]. *Acta Ecol Sin*, 2006, **26** (5): 1583 – 1590.
- [21] 曾志平, 王实强. 高效液相色谱法测定不同生长年限南方红豆杉中紫杉醇的含量[J]. 中南药学, 2008, **6** (1): 56 – 57.
ZENG Zhiping, WANG Shiqiang. HPLC determination of paclitaxel in *Taxus chinensis* var. *mairei* with different growth years [J]. *Cent South Pharm*, 2008, **6** (1): 56 – 57.
- [22] SILVIA F, DAVIDE D E, ALBERTO N O, *et al.* Taxol transport in *Taxus baccata* cell suspension cultures [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2002, **40**: 81 – 88.
- [23] ZHANG Changhe, PEDRO S F, HE Guangyuan, *et al.* Enhanced paclitaxel productivity and release capacity of *Taxus chinensis* cell suspension cultures adapted to chitosan [J]. *Plant Sci*, 2007, **172**: 158 – 163.