

不同浓度脱落酸对雷公藤悬浮细胞萜类次生代谢产物累积的影响

张睿¹ 吴晓毅¹ 马宝伟¹ 陈上¹ 王秀娟¹ 高伟¹ 黄璐琦²

(1 首都医科大学中医药学院,北京,100069; 2 中国中医科学院中药资源中心,北京,100700)

摘要 目的:研究不同浓度脱落酸(Absciscic acid, ABA)对雷公藤悬浮细胞中萜类次生代谢产物的诱导效应,探讨脱落酸的毒物效应(Hormesis)。方法:雷公藤悬浮细胞继代培养10 d后,分别加入不同浓度(10 μ M, 20 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 200 μ M, 500 μ M)的ABA诱导,并设置空白对照组,每组生物学重复4次。分别采用HPLC和UPLC检测诱导后0 h和240 h的样品,测定悬浮细胞中雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲4种萜类成分的含量。结果:当ABA浓度为10 μ M和20 μ M时,诱导组与对照组无差异;50 μ M时,与对照组比较,雷酚内酯含量明显升高,雷公藤红素含量升高至2.4倍,雷公藤内酯甲含量升高至4.7倍;当诱导浓度超过100 μ M时,与对照组比较,除雷公藤内酯甲外,雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素含量均显著降低。结论:ABA在10~500 μ M范围内对不同的雷公藤萜类成分影响作用不同,从整体趋势看,呈现为 β 曲线,符合Hormesis效应特点;50 μ M时ABA对雷公藤红素含量的积累有显著促进作用,为后期研究ABA影响雷公藤红素合成机制奠定基础。

关键词 脱落酸;雷公藤;悬浮细胞;萜类成分;Hormesis效应

Effects of Different Concentration of ABA on Terpenoid in Cell of Radix Folium seu Flos Tripterygii Wilfordii

Zhang Rui¹, Wu Xiaoyi¹, Ma Baowei¹, Chen Shang¹, Wang Xiujuan¹, Gao Wei¹, Huang Luqi²

(1 School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2 National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract Objective: To investigate the induction effect of abscisic acid (ABA) on the terpenoid secondary metabolites in the suspension cells of *Tripterygium wilfordii*, and to explore the hormesis of abscisic acid. **Methods:** After being subcultured for 10 days, the suspension cells of *Tripterygium wilfordii* were induced by ABA at different concentrations (10 μ M, 20 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 150 μ M, 200 μ M, 500 μ M), and the blank control group was set for contrast. They were repeated for 4 times. The HPLC and UPLC was used to detect the samples at 0 h and 240 h after induction, respectively, and the contents of triptolide, triptophenolide, celastrol and wilforlide A were determined in suspension cells. **Results:** When the concentration of ABA was 10 μ M and 20 μ M, there was no difference between the induction group and the control group. At 50 μ M, the content of triptophenolide significantly increased and the content of celastrol increased to 2.4 times, compared with the control group. And the content of wilforlide A increased to 4.7 times; when the induction concentration exceeded 100 μ M, compared with the control group, except wilforlide A, content of triptolide, triptophenolide and celastrol were significantly lower. **Conclusion:** The effect of ABA on different terpenoids of *Tripterygium wilfordii* differs from 10 μ M to 500 μ M. From the overall trend, ABA shows a β -curve, which is in line with the hormesis effect. The 50 μ M of ABA significantly enhances the accumulation of celastrol, which laid the foundation for later study on the mechanism of ABA affecting tripterine synthesis.

Key Words Absciscic acid; *Tripterygium wilfordii*; Suspend cell; Terpenoids; Hormesis effect

中图分类号:R284.2 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.02.006

植物在生长发育各个阶段,会通过不同的植物激素调节自身代谢,从而适应外界环境的改变。植物激素主要指在植物体内合成,并从产生部位移动到作用部位,在低浓度下对植物生长发育起显著作

用的微量有机物^[1]。目前,已知的植物激素主要有生长素、细胞分裂素、赤霉素、脱落酸、乙烯,以及近年来被称为第六大植物激素的油菜素内酯^[2]。其中,脱落酸(Absciscic acid, ABA)是一种以异戊二烯

基金项目:“十三五”时期北京市属高校高水平教师队伍建设支持计划(CIT&TCD20170324);市教委科技+社科计划重点项目(KZ201710025022);国家自然科学基金面上项目(81773830)

作者简介:张睿(1992.12—),女,硕士在读生,研究方向:中药资源和分子生药学, E-mail: anbeilihu@163.com

通信作者:王秀娟(1956.05—),女,博士,教授,研究方向:中药药效与作用机制及中药资源可持续利用, Tel: (010) 83911624, E-mail: wxj0517@sina.com; 高伟(1979.05—),男,博士研究生,教授,研究方向:中药资源和分子生药学, E-mail: weigao@ccmu.edu.cn

为单位的类倍半萜类物质,存在于高等植物的器官及组织中,如成熟、衰老的植物组织或休眠器官中,其主要作用是调控植物的生长发育以及植物对非生物胁迫应答中的反应,从而促进器官脱落、种子的成熟休眠、抑制种子萌发、以及加速植株的生长和衰老^[3],如:在干旱、低温、盐胁迫、渗透胁迫等条件下,ABA可在植物体内迅速积累,提高细胞水平非生物胁迫忍耐力,增强植物对逆境的抵抗力^[4-7]。近年来,随着对植物激素的研究深入,学者们发现植物激素对植物次生代谢产物的累积也有一定的影响,如:不同浓度 ABA 诱导甘草植株,其有效成分甘草酸与甘草苷含量均显著提高或用 ABA 处理有损伤的采后番茄,可有效促进伤口部位总酚、类黄酮含量的积累^[8-9];外源茉莉酸甲酯诱导丹参毛状根,其酚酸类成分迅速积累^[10];外源水杨酸诱导可促进活血丹扦插苗中总黄酮、熊果酸、齐墩果酸含量的积累^[11]。

雷公藤 (*Tripterygium wilfordii* Hook. f.) 为卫矛科雷公藤属植物^[12],其根、叶、花及果实均可入药,而根的去皮木质部用作中药雷公藤使用,具有祛风湿、活血通络、消肿止痛、杀虫解毒等功效。该植物化学成分复杂多样,其中具有显著生物活性的成分主要为雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲等萜类化合物^[13-14]。已有研究表明:雷公藤甲素具有抗排异、抗肿瘤和抗生育^[15]等作用;雷酚内酯具有有抗炎、抗免疫的作用^[16];而雷公藤红素则具有抗炎、抗氧化、抗动脉粥样硬化、抗病毒,以及抗神经退行性疾病等作用^[17]。但由于气候变化、生境破坏、人为开采过度,雷公藤植物资源大幅减少,有些地区的野生资源已接近枯竭,因此,保护雷公藤现有资源,研究其资源的合理可持续利用,已成为迫在眉睫的问题。有学者报道,在雷公藤生长发育过程中,外源施加 ABA 可提高植物的抗冷性,缓解低温对雷公藤植株幼苗的伤害,控制药材产量下降等问题^[18],而组织培养等生物技术的发展也为药用植物资源的开发和利用提供了新的方向。因此,本实验旨采用不同浓度的 ABA 诱导雷公藤悬浮细胞,测定其中雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲 4 种萜类成分的含量,分析 ABA 对雷公藤悬浮细胞中萜类成分累积的影响,筛选 ABA 诱导雷公藤悬浮细胞的最适浓度,从而为进一步研究雷公藤悬浮细胞的作用机制提供数据支持,并为解决雷公藤药用资源的不足和合理利用提供新途径和新思路。

1 材料与方法

1.1 仪器 高效液相色谱仪 (Agilent 1200, Agilent Technologies 公司);超高效液相色谱仪 (Agilent 1290, Agilent Technologies 公司);微量移液器 (Eppendorf Research Plus, Eppendorf 公司);台式离心机 (1-14 型, sigma 公司);pH 计 (3510 型, JENWAY 有限公司);高压蒸汽灭菌锅 (MLS-3751-PC, 三洋公司);十万分之一电子天平 (BT25S, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司);万分之一电子天平 (BSA3202S, 赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司);数控超声波清洗器 (KQ5200DV 型, 昆山市超声仪器有限公司);电热鼓风干燥箱 (WGL-65B 型, 天津市泰斯特仪器有限公司);净化工作台 (SW-CJ-1G、SW-CJ-2FD 型, 苏州净化设备有限公司);低温冰箱 (MDF-388-C 型, SANYO 公司);CHRIST 冻干机 (Alpha 1-2 LD plus 型, 北京五洲东方科技发展有限公司)。

1.2 试剂 脱落酸 (生工生物工程 (上海) 股份有限公司, BBI, 批号: BB17BA0022)、色谱乙腈 (Fisher Chemical, A998-4, 批号: 155805)、色谱甲醇 (Fisher Scientific, A452-4, 批号: 110939)、娃哈哈纯净水、雷公藤甲素标准品 (成都普思生物有限公司, 批号: PS08060201)、雷酚内酯标准品 (百诺威公司, 批号: MUST-14071205)、雷公藤红素标准品 (Pharmacodia, 批号: R0130198)、雷公藤内酯甲标准品 (aladdin, 批号: G1404043)、Murashige&Skoog (MS) 基本培养基 (美国 PhytoTechnology Laboratories 公司, 批号: 05170010)、植物激素 KT (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, K3378, 批号: 60D10120)、2,4-D (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, D7299, 批号: 11M2036V)、IBA (北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 批号: 12B1012D)。

1.3 分析样品 雷公藤悬浮细胞, 由实验室自培^[19]。

2 方法

2.1 雷公藤悬浮细胞体系构建 以每瓶 2.0 g 的细胞量转接入 40 mL 含 0.5 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L KT + 0.5 mg/L IBA 的 MS 液体培养液中, 25 °C, 黑暗, 120 r/min 悬浮培养。

2.2 不同浓度 ABA 诱导雷公藤悬浮细胞 雷公藤悬浮细胞继代 10 d 后, 分别加入终浓度为 10 μM、20 μM、50 μM、100 μM、150 μM、200 μM 和 500 μM 的 ABA 进行诱导, 并设置空白对照组 (CK 组), 共设 8 个实验分组, 每组生物学重复 4 次, 诱导培养 240 h。

2.3 雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲标准曲线的绘制 依次精密称取雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲标准品 0.20 mg、0.60 mg、1.14 mg 和 0.80 mg, 分别溶于色谱甲醇, 并进行稀释, 最终配成浓度为: 0.50, 1.00, 5.00, 20.00 和 40.00 $\mu\text{g/mL}$ 的雷公藤甲素标准溶液; 0.30, 1.00, 3.00, 30.00 和 60.00 $\mu\text{g/mL}$ 的雷酚内酯系列溶液; 1.14, 5.68, 11.35, 56.75 和 113.50 $\mu\text{g/mL}$ 的雷公藤红素标准溶液; 和 8.00, 80.00, 160.00, 400.00, 和 800.00 $\mu\text{g/mL}$ 的雷公藤内酯甲标准溶液。将雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲 4 种成分的标准品系列溶液用 HPLC 检测, 并用 Excel 2007 软件绘制标准曲线。

2.4 雷公藤甲素、雷酚内酯、雷公藤红素和雷公藤内酯甲等含量测定 分别于诱导处理后 0 h 和 240 h 取样, 置于 -80°C 冰箱冷冻保存 4 h 后, 进行冷冻干燥, 24 h 后取出样品。取冷冻干燥后的悬浮细胞约 0.1 g, 加 1.5 mL 80% 色谱甲醇, 超声提取 1 h, 每隔 5 min 上下震荡, 样品离心 (12 000 r/min, 2 min), 取上清液, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 于 4°C 保存, 放置备用。

2.4.1 雷公藤甲素、雷酚内酯和雷公藤内酯甲含量测定方法 检测条件: AglientSB- C_{18} 色谱柱 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm); 检测波长为 210 nm; 柱温: 30°C ; 流动相: 0.05% 磷酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱, 0 ~ 12 min, 38% B; 12 ~ 25 min, 38% ~ 60% B; 25 ~ 30 min, 60% ~ 65% B; 30 ~ 35 min, 65% B; 35 ~ 48 min, 65% ~ 85% B; 48 ~ 52 min, 85% B; 52 ~ 54 min, 85% ~ 83% B; 54 ~ 65 min, 83% B; 流速 0.8 mL/min。

2.4.2 雷公藤红素含量测定方法 检测条件: AglientSB- C_{18} 色谱柱 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μm); 检测波长为 426 nm; 柱温: 40°C ; 流动相: 0.1% 乙酸水溶液 (A)-乙腈 (B) 梯度洗脱, 0 ~ 5 min, 30% ~ 35% B; 5 ~ 8 min, 35% B; 8 ~ 15 min, 35% ~ 70% B; 15 ~ 16 min, 70% ~ 85% B; 16 ~ 19 min, 85% B; 19 ~ 22 min, 85% ~ 90% B; 流速 0.4 mL/min。

2.4.3 数据统计 所测得的数据用 Excel 和 SPSS 20.0 软件进行统计分析。若服从正态分布, 则用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示; 组间差异采用独立样本 t 检验, 统计检验水准均为 $\alpha = 0.05$, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 雷公藤悬浮细胞中 4 种萜类化合物标准曲线 按照“2.4.1”方法测定 4 种标准品溶液的含量,

根据测定结果, 利用 Excel 2007 软件对所得结果进行分析, 并绘制标准曲线, 结果见图 1-1 ~ 1-4。

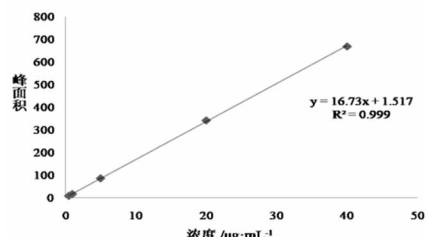


图1-1雷公藤甲素标准曲线

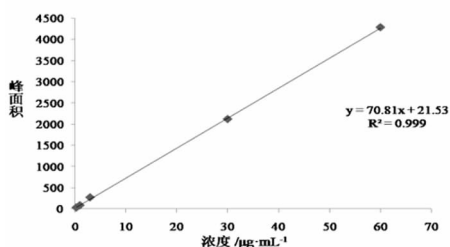


图1-2雷酚内酯标准曲线

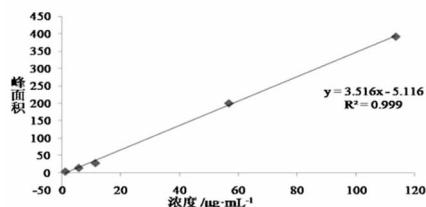


图1-3雷公藤红素标准曲线

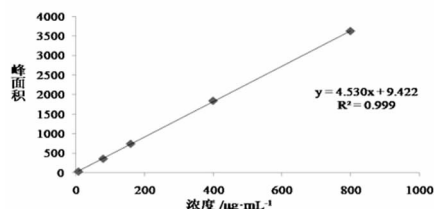


图1-4雷公藤内酯甲标准曲线

图 1-1 ~ 1-4 4 种萜类化合物标准曲线

3.2 雷公藤悬浮细胞中萜类化合物含量测定结果 雷公藤悬浮细胞及雷公藤甲素等标准品的高效液相色谱图结果见图 2、图 3。

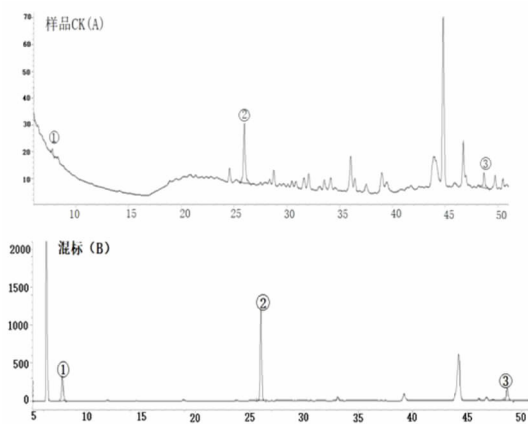


图 2 A CK-0 h HPLC 色谱图 B 混标 HPLC 色谱图

注: 1. 雷公藤甲素, 2. 雷酚内酯, 3. 雷公藤红素

3.3 不同浓度 ABA 对雷公藤悬浮细胞中 4 种萜类

化合物累积的影响 随着加入不同浓度 ABA 诱导剂,雷公藤悬浮细胞中 4 种萜类化合物的含量发生明显变化。见图 4-1 ~ 图 4-9。如图 4-1 所示,在空白对照组中,0 h 与 240 h 比较,雷酚内酯与雷公藤红素含量无明显变化,而雷公藤甲素和雷公藤内酯甲含量有明显差异,其中,雷公藤甲素的含量升高 4.0 倍;雷公藤内酯甲含量降低 17.0%。

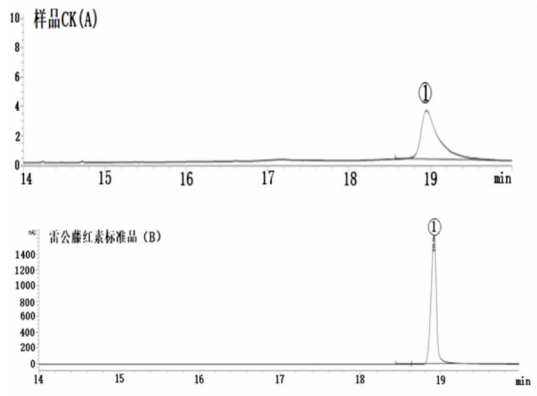


图 3 A CK-0 h UPLC 色谱图
B 雷公藤红素 UPLC 色谱图

注:1. 雷公藤红素

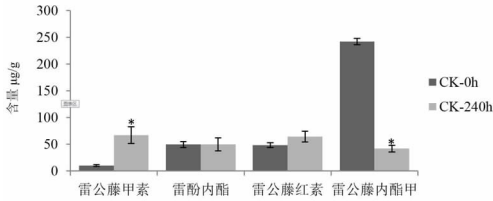


图 4-1 CK 组 0 h 和 240 h 4 种萜类化合物含量

注:n=4, * P<0.05

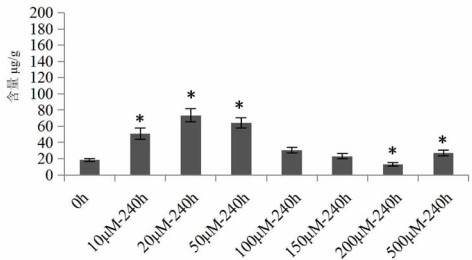


图 4-2 0 h 与 ABA 不同浓度组 240 h 雷公藤甲素含量比较

注:n=4, * P<0.05

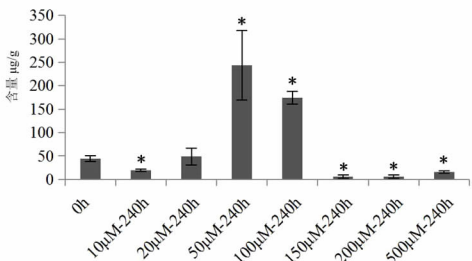


图 4-3 0 h 与 ABA 不同浓度组 240 h 雷酚内酯含量比较

注:n=4, * P<0.05

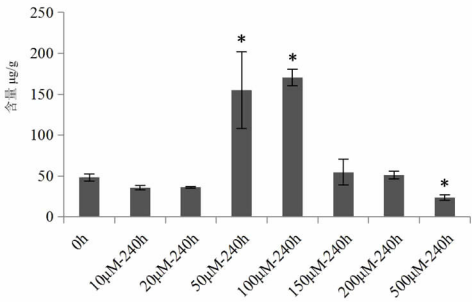


图 4-4 0 h 与 ABA 不同浓度组 240 h
雷公藤红素含量比较

注:n=4, * P<0.05

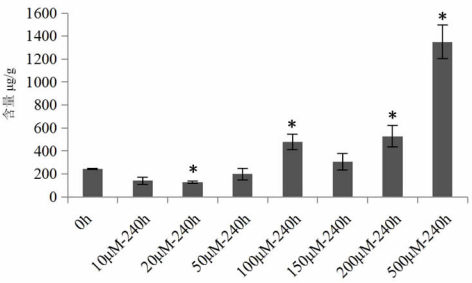


图 4-5 0 h 与 ABA 不同浓度组 240 h
雷公藤内酯甲含量比较

注:n=4, * P<0.05

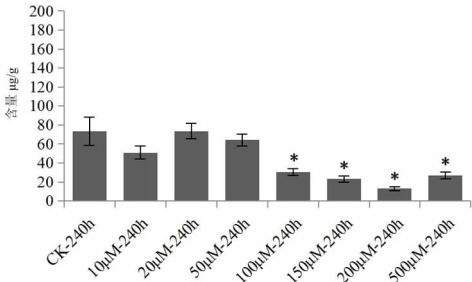


图 4-6 CK-240 h 与 ABA 不同浓度组 240 h
雷公藤甲素含量比较

注:n=4, * P<0.05

如图 4-2 ~ 4-5 所示,经不同浓度 ABA 诱导后,4 种萜类化合物的含量均较诱导前有差异性变化。其中,除 200 μM 诱导浓度外,在其他不同诱导浓度作用下,雷公藤甲素的含量均有所提高;而除 50 μM 和 100 μM 诱导浓度外,在其他不同诱导浓度作用下,雷酚内酯和雷公藤红素的含量有所下降,且雷酚内酯的含量变化具有统计学意义;当诱导浓度 ≥ 100 μM 时,雷公藤内酯甲的含量升高,并具有统计学意义。如图 4-6 所示,与 CK-240 h 比较,经不同浓度的 ABA 诱导后 240 h,雷公藤甲素的含量呈下降趋势。当 ABA 浓度在 10 ~ 50 μM 时,其含量无显著性变化;当浓度超过 100 μM 后,则存在显著性差异,雷公藤甲素含量分别是 CK 组的 41.5%、31.4%、17.6%

和36.7%。由此说明:当ABA浓度高于100 μM 时,能明显抑制雷公藤甲素的积累。

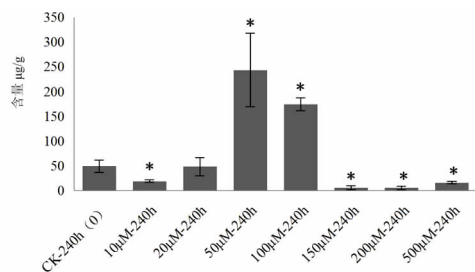


图4-7 CK-240 h 与 ABA 不同浓度组 240 h 雷酚内酯含量比较

注: $n=4$, * $P<0.05$

如图4-7所示,与CK-240 h比较,经不同浓度的ABA诱导后240 h,雷酚内酯的含量呈差异性改变。当ABA浓度为10 μM 时,其含量明显降低;随浓度增加,当ABA浓度为50 μM 和100 μM 时,其含量明显升高,分别是CK组的4.9倍和3.5倍;但当ABA浓度超过100 μM 后,雷酚内酯的含量则又显著下降,明显低于CK组,分别是CK组的12.6%、11.9%和32.7%。由此说明:雷酚内酯的含量随着ABA浓度的增大,整体呈先下降、后上升、再下降的趋势。当ABA浓度在50 μM 和100 μM 时,可促进雷酚内酯的积累,但当诱导浓度 ≥ 150 μM 时,则明显抑制雷酚内酯的累积。

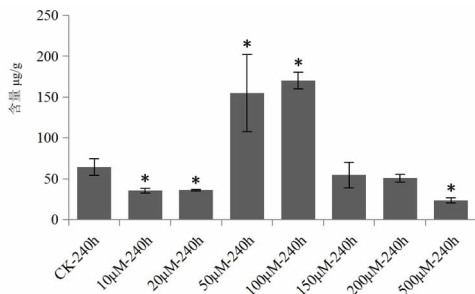


图4-8 CK-240 h 与 ABA 不同浓度组 240 h 雷公藤红素含量比较

注: $n=4$, * $P<0.05$

如图4-8所示,与CK-240 h比,经不同浓度的ABA诱导后240 h,雷公藤红素的含量呈差异性变化。当ABA浓度为10 μM 和20 μM 时,其含量明显降低;随浓度增加,当ABA浓度为50 μM 和100 μM 时,其含量明显升高,分别为CK组的2.4倍和2.6倍;但当浓度在100~200 μM 时,雷公藤红素的含量与CK组比较无显著差异,当浓度为500 μM 时,雷公藤红素含量低于CK组,为CK组的36.8%。由此说明:诱导组雷公藤红素的含量随着ABA浓度的增大,整体呈先下降、后上升、再下降的趋势。当

ABA浓度在50 μM 和100 μM 时,可促进雷公藤红素的积累,但诱导浓度高于150 μM 时,则明显抑制雷公藤红素的累积。

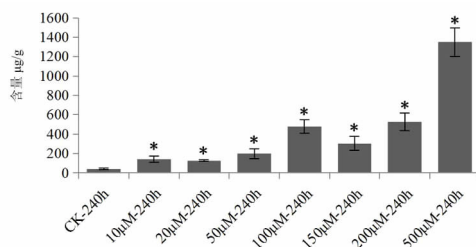


图4-9 CK-240 h 与 ABA 不同浓度组 240 h 雷公藤内酯甲含量比较

注: $n=4$, * $P<0.05$

如图4-9所示,与CK组比较,经不同浓度的ABA诱导后240 h,雷公藤内酯甲的含量呈上升趋势。当ABA浓度为10~500 μM 时,雷公藤内酯甲含量与CK组比较,差异均有统计学意义,且浓度越大,上升幅度越大;当浓度为500 μM 时,雷公藤内酯甲含量最大,是CK组的32.1倍。由此说明,ABA能明显促进雷公藤内酯甲含量的积累。

4 讨论

经ABA诱导240 h后,雷公藤甲素的含量升高,但低于CK-240 h,其中,当诱导浓度超过100 μM 时,雷公藤甲素的含量较对照组有显著性差异,降幅高达58.6%~82.4%。故当使用浓度大于100 μM 的ABA诱导雷公藤悬浮细胞后,雷公藤甲素的累积被抑制,且随诱导剂浓度的升高,其抑制程度逐渐加大。

经ABA诱导240 h后,雷酚内酯的含量呈差异性变化,当诱导浓度低于50 μM 时,雷酚内酯含量均不高于CK组,当浓度为50 μM 和100 μM 时,雷酚内酯的含量显著高于CK组,是CK组的4.9倍和3.5倍,而当浓度超过100 μM 后,雷酚内酯含量明显低于CK组,降幅为67.3%~88.1%。故当采用50~100 μM 的ABA诱导雷公藤悬浮细胞时,可有效促进雷酚内酯含量的积累,超过150 μM ,雷酚内酯含量积累被明显抑制。

经ABA诱导240 h后,雷公藤红素含量呈差异性变化,当诱导浓度低于50 μM 时,雷公藤红素含量均明显低于CK组,随着诱导浓度增加,当诱导浓度为50 μM 和100 μM 时,ABA浓度为50 μM 和100 μM 时,雷公藤红素含量明显升高,分别为CK组的2.4倍和2.6倍,当诱导浓度超过150 μM 后,雷公藤红素含量逐渐降低,最低含量为CK组的36.0%,故当使用50~100 μM 的ABA诱导雷公藤悬浮细

胞,可明显促进雷公藤红素的积累,超过 $100\ \mu\text{M}$,雷公藤红素的含量积累被明显抑制,且随诱导剂浓度的升高,其抑制程度逐渐加大。

未诱导前,CK 组的雷公藤内酯甲含量在 240 h 时间内呈下降趋势,经不同浓度 ABA 诱导 240 h 后,雷公藤内酯甲含量均显著高于 CK-240 h 组,且随着诱导浓度增大,雷公藤内酯甲含量的积累幅度越大,当浓度超过 $100\ \mu\text{M}$ 后,雷公藤内酯甲含量均高于 CK-0 h 组,最大是 CK-0 h 时的 5.62 倍,是 CK-240 h 的 31.14 倍。故 ABA 在 $10\sim 50\ \mu\text{M}$ 时,可有效抑制雷公藤内酯甲含量的下降,当 ABA 浓度超过 $100\ \mu\text{M}$ 时,ABA 可促进雷公藤内酯甲含量的积累。

生物体在不同剂量化学物质刺激下,会产生 Hormesis 效应——以双相剂量-反应曲线为特征的一种适应性反应,即有毒化学物质对生物体在高剂量时表现负面影响,但在低剂量时却表现为有益作用的现象^[19]。该效应最常见的量效曲线有 2 种,即 β 型曲线和 U 型曲线,其中 β 型曲线主要反映低剂量浓度下表现适度兴奋作用,而高剂量表现为抑制作用的 Hormesis 效应;而 U 型曲线所呈现的 Hormesis 效应模型,主要反映毒物在低剂量时对肿瘤等疾病的抑制反应^[20]。

本实验中,ABA 诱导浓度在 $10\sim 500\ \mu\text{M}$ 范围内,对雷公藤中 4 种萜类化合物的累积有不同影响。 $10\sim 50\ \mu\text{M}$ 时,雷公藤甲素的含量无明显变化,随着浓度升高,当浓度 $\geq 100\ \mu\text{M}$ 时,雷公藤甲素含量显著降低,其积累被明显抑制。从整体趋势看,雷公藤甲素含量变化符合 β 型曲线。但是,雷公藤内酯甲则与之相反,在 $10\sim 500\ \mu\text{M}$ 时,雷公藤内酯甲的含量与诱导浓度成正相关,随浓度增加,其含量的增长幅度越大,说明 ABA 可促进雷公藤内酯甲的积累。

与此同时,随着 ABA 浓度的上升,雷酚内酯含量和雷公藤红素的含量呈规律性变化。当诱导浓度低于 $20\ \mu\text{M}$ 时,雷酚内酯含量均不超过 CK 组, $50\sim 100\ \mu\text{M}$ 时,雷酚内酯含量的积累被促进,超过 $150\ \mu\text{M}$ 后,雷酚内酯含量的积累被抑制,从整体趋势看,其含量变化符合 β 型曲线;在 $10\sim 20\ \mu\text{M}$ 时,雷公藤红素的含量均低于 CK 组, $50\sim 100\ \mu\text{M}$ 时,随着诱导浓度升高,雷公藤红素含量大幅提高,超过 $150\ \mu\text{M}$,雷公藤红素的积累被抑制,从整体变化看,雷公藤红素的含量变化在一定程度上同样符合 β 型曲线。雷公藤甲素、雷酚内酯和雷公藤红素的含量变化说明本实验中的浓度范围可以表现 ABA 的 Hormesis 效应。通过分析,较低浓度的 ABA 可促进

雷公藤红素和雷酚内酯的含量积累,当超过 $100\ \mu\text{M}$ 时,雷公藤红素和雷酚内酯的含量降低,起抑制作用;而雷公藤甲素在低浓度 ABA 诱导时无明显变化,超过 $100\ \mu\text{M}$ 时含量的积累被抑制,ABA 则对雷公藤内酯甲的积累一直起促进作用,说明除了 ABA 的作用外,雷公藤甲素和雷公藤内酯甲的积累还可能同时受到其他因素的影响。

大多数研究人员认为 Hormesis 效应是普遍存在的,人们在多种生物、毒物及生命现象中均发现了 Hormesis 效应。如研究发现轻度干旱胁迫下甘草酸含量明显升高^[21];低浓度的盐胁迫能提高广藿香幼苗根系的活力,而高浓度的盐胁迫作用对根系活力则起抑制作用^[22];低浓度 Cd 可显著促进青蒿中青蒿素含量的提高^[23]。所以在明确量效关系曲线的基础上,利用 Hormesis 效应,可以在药用植物生长发育与次生代谢产物的积累方面实现双赢。在检测诱导后雷公藤悬浮细胞中的 4 种萜类成分时发现,从整体趋势上,当 ABA 浓度达到 $50\ \mu\text{M}$ 时,悬浮细胞中雷公藤红素的含量积累达到一个最高点,而该浓度下,雷公藤甲素无明显变化,推测 $50\ \mu\text{M}$ 浓度可作为后期实验中研究 ABA 影响雷公藤红素合成机制的一个重要条件,同时为研究 ABA 影响雷公藤萜类合成机制奠定基础。

参考文献

- [1] Wolters H, Jurgens G. Survival of the flexible; Hormonal growth control and adaptation in plant development[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(5): 305-317.
- [2] Santner A, Calderon-Villalobos LI, Estelle M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth[J]. Nat Chem Biol, 2009, 5(5): 301-307.
- [3] 段娜, 贾玉奎, 等. 植物内源激素研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 159-165.
- [4] Rock C. Pathways to abscisic acid-regulated gene expression[J]. New Phytol, 2000, 148(3): 357-396.
- [5] Xiong L, Zhu J-K. Abiotic stress signal transduction in plants: Molecular and genetic perspective[J]. Physiologia Plantarum, 2001, 112(2): 152.
- [6] Lackindale J, Knight M. Protection against heat stress-induced oxidative damage in Arabidopsis involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid[J]. Plant physiol, 2002, 128(2): 692-695.
- [7] Osakabe Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K, et al. ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity[J]. New Phytologist, 2014, 202(1): 35-49.
- [8] 项好, 刘春生, 刘勇, 等. 脱落酸对甘草化学成分含量和颜色的影响[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1688-1692.
- [9] 陶晓亚, 李家寅, 韩雪源, 等. 脱落酸对采后番茄愈伤次生代谢物质合成的影响[J]. 食品工业科技, 2016, 16(37): 330-334.

- [10] 李文渊, 高伟, 赵静, 等. 基于茉莉酸甲酯诱导的丹参毛状根酚酸类成分次生代谢机制研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(1): 13-16.
- [11] 刘丽, 李资, 马雪莲, 等. 外源水杨酸处理对活血丹中次生代谢产物积累的影响[J]. 南京农业学报, 2016, 39(3): 379-385.
- [12] Titov DV, Gilman B, He QL, et al. XPB, a subunit of TFIIH, is a target of the natural product triptolide[J]. Nat Chem Biol, 2011, 7(3): 182.
- [13] 张倩, 彭广操, 朱明军. 雷公藤的药理作用及毒性研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(15): 1753-1754.
- [14] 许永亮. 雷公藤甲素抗生育作用研究进展[J]. 海峡药学, 2015, 27(11): 11-13.
- [15] 刘劝, 王友群. 雷公藤甲素的药理作用研究[J]. 药学进展, 2005, 29(4): 156-161.
- [16] 杨峻, 许静亚, 李东真, 等. 雷酚内酯的抗炎免疫药理作用[J]. 中草药, 1995, 26(1): 24-27.
- [17] 吴丹, 寇芳, 吕春明. 雷公藤红素抗癌作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 356-361.
- [18] 黄宇, 林智勇, 荣俊冬, 等. 脱落酸对低温下雷公藤幼苗光合作用及叶绿素荧光的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(12): 3150-3156.
- [19] 李琰, 冯俊涛, 马志卿, 等. 一种由雷公藤细胞培养法生产雷公藤甲素和生物碱的方法[P]. 中国, CN200810150709.4. 2009-2-24.
- [19] 郭兰萍, 张小波, 杨光, 等. Hormesis 及其在药用植物生产中的应用[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 525-529.
- [20] Stebbing AR. Hormesis the stimulation of growth by low level of inhibitors[J]. The Science of the Total Environment, 1982, 22(3): 213-34.
- [21] 徐鹏, 刘长利, 许利平, 等. 干旱胁迫下甘草酸合成与脱落酸的相关性初步研究[J]. 中草药, 2010, 41(8): 1375-1377.
- [22] 郭巧生, 吴友根, 林尤奋. 广藿香苗期生长及其抗氧化酶活性对盐胁迫的响应[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(05): 530.
- [23] 韩晓丽. 土壤重金属污染及其化学修复对青蒿生长及青蒿素含量的影响[D]. 开封: 河南大学硕士论文, 2008.

(2017-12-05 收稿 责任编辑: 张文婷)

《世界中医药》杂志中药研究栏目征稿通知

《世界中医药》杂志(CN 11-5529/R; ISSN 1673-7202)由国家中医药管理局主管, 世界中医药学会联合会主办, 创刊于2006年, 是中国第一本面向国内外公开发行的中医药类综合性学术期刊, 月刊。2009年被国家科技部收录为“中国科技核心期刊”。杂志全文收录在《中国期刊全文数据库》《中文科技期刊数据库》《中国核心期刊数据库》《中文科技期刊综合评价数据库》《美国乌利希期刊指南收录期刊数据库》《美国化学文摘CA收录期刊数据库》等一系列检索系统。《世界中医药》杂志为世界中医药学会联合会的会刊, 目前, 该会已经成立了26个中药相关专业(如中药、中药新剂型、中药药剂、中药分析、中药化学、中药药理、药材资源、中药鉴定、方剂、中药饮片等)委员会, 这些专业委员会在各自的学科建设、学术交流、人才培养等方面都发挥着重要的作用, 本杂志与各专业委员会联手, 产、学、研、用、政结合, 优化学科建设, 解决中药领域面临的实际困难, 实现“学术、创新、转化、共赢”为目的, 共同推动学科的发展, 在中药领域的推广应用等方面做出了突出贡献。

本杂志近几年稳步发展, 办刊质量逐步提升, 影响不断

扩大, 2016年度科技核心期刊的各项指标统计数据, 《世界中医药》杂志(中文刊)核心影响因子为0.697, 在同类期刊中上升至第4名, 自2009年9月进入统计源期刊以来, 连续第9年被评定为中国科技核心期刊。杂志设置“中药研究”栏目, 陆续宣传展示国内外中药学研究进展和最新动态, 是中药研究高学术水平的交流平台。如果您致力于中药领域的研究, 请将您在新药研发、中药资源与鉴定、中药分析、药剂学、中药化学、药理、不良反应等方向的新成果、新技术、新方法与新思路撰写成有创新性的文章或综述, 在本杂志上发表, 内容以8500字符以上为宜, 稿件一经录用, 优先安排发表。

欢迎您踊跃投稿!

投稿请通过《世界中医药》杂志社官方网站: www.sjzyyz.com, “在线投稿”入口注册投稿, 并注明“中药征稿”字样。

联系电话: 0086-10-58650023, 58239055。

传真: 0086-10-58650236; E-mail: sjzyyz@vip.126.com