

白藜芦醇的研究进展

韩晶晶^{1,2}, 刘炜², 毕玉平^{1,2}

1 山东师范大学生命科学学院, 济南 250014

2 山东省农业科学院高新技术研究中心, 济南 250100

摘 要: 白藜芦醇是一种含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物。它不仅是植物遭受胁迫时产生的一种能提高植物抵抗病原性攻击和环境恶化的植物抗毒素, 还具有抗癌、抗氧化、调节血脂、影响寿命等多方面有益于人类健康的重要功能。以下对白藜芦醇的理化特性、合成、提取、纯化与检测方法进行了全面总结, 并在其作用的分子机制基础上, 对其生物学活性、基因工程研究及产业化情况进行了重点介绍。发现在传统育种的基础上, 借助于现代生物技术手段, 将白藜芦醇的天然活性保健作用应用于保健食品的开发、作物经济附加值的提高具有广阔的前景。它的开发和利用, 必将为食品及制药工业新产品的开发提供新的挑战与机遇。

关键词: 白藜芦醇, 功能, 生物学活性, 基因工程, 产业化

Advances in Resveratrol Studies

Jingjing Han^{1,2}, Wei Liu², and Yuping Bi^{1,2}

1 College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China

2 Hi-tech Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

Abstract: Resveratrol is a naturally occurring stilbene, a kind of polyphenolic compounds, found in a limited number of plant species such as grape, peanut, and pine. It has been considered as a phytoalexin in plants, and many studies have also shown its health benefits such as antioxidant activities, cancer prevention, blood thinning, and life span extension. This paper reviews the characteristics of resveratrol in aspects of synthesis, extraction, purification, and determination. In particular, the new outcomes of physiology function and the transgenic approaches have been presented. The challenges and chances for genetic engineering and health-related industries were also discussed.

Keywords: resveratrol, health benefits, physiology function, genetic engineering, industrialization

白藜芦醇(Resveratrol)是含有芪类结构的非黄酮类多酚化合物。广泛存在于葡萄、松树、虎杖、决明子和花生等天然植物或果实当中, 到目前为止至少已在 21 科、31 属的 72 种植物中被发现。它是许多植物受到生物或非生物胁迫(如真菌感染、紫外照射等)时产生的一种植物抗毒素。白藜芦醇除了能

提高植物的抗病性, 研究发现它还有有益于人类健康的多种生物学活性及药理作用, 深受生物医学界的重视。以下综述了白藜芦醇的性质特点、合成、分离、纯化和检测方法的研究进展, 并对其生物学活性、作用的分子机制、其在植物中相关基因工程研究及产业化情况进行了重点探讨。

Received: March 20, 2008; **Accepted:** June 2, 2008

Supported by: Doctoral Research Foundation from Shandong Academy of Agricultural Sciences (No. 2007YBS008).

Corresponding author: Wei Liu. Tel: +86-531-83179572; E-mail: wheiliu@163.com

山东省农业科学院博士科研启动基金项目(No. 2007YBS008)资助。

1 白藜芦醇的发现

白藜芦醇是 1940 年日本人首次从毛叶藜芦 (*Veratrum grandiflorum*) 的根中获得的^[1]。1963 年, Nonomura 等提出白藜芦醇是某些草药治疗炎症、脂类代谢和心脏疾病的有效成分^[2]。1976 年, Langcake 和 Pryce 发现在葡萄 (*Vitis riparia*) 的叶片中存在白藜芦醇, 其合成在遭受紫外线照射、机械损伤及真菌感染时急剧增加, 并且能够抵抗灰霉菌 (*Botrytis cinerea*) 的侵染, 是植物体在逆境或遇到病原侵害时分泌的一种抗毒素, 故称之为“植物杀菌素”^[3,4]。此后白藜芦醇开始受到葡萄育种学家和植物病理学家的重视。

2 性质特点

白藜芦醇化学名称为 3, 5, 4'-三羟基二苯乙烯 (3, 5, 4'-trihydroxystilbene), 分子式为 $C_{14}H_{12}O_3$, 分子量为 228.25 kD, 是无色针状晶体, 难溶于水, 易溶于乙醇、乙酸乙酯、丙酮等极性溶剂^[5]。

白藜芦醇在自然界的存在形式主要有 4 种: 顺式、反式白藜芦醇及顺式、反式白藜芦醇苷, 在紫外光照射下白藜芦醇苷反式异构体能够转化为顺式异构体, 其中反式异构体的生理活性大于顺式异构体, 单体活性大于糖苷, 植物中白藜芦醇通常以稳定的反式糖苷形式存在^[6]。白藜芦醇在光下不稳定, 反式白藜芦醇在完全避光时, 可在乙醇中稳定存在数月, 仅在高 pH (≥ 10) 下稳定性差一些; 而顺式白藜芦醇在避光条件下只有在中性 pH 下较稳定; 反式与顺式白藜芦醇在紫外光 210 nm 处有强吸收, 其第二吸收峰分别在 305 nm~330 nm 和 280 nm~295 nm^[7, 8]处。

3 白藜芦醇的合成

目前市售的白藜芦醇多是从天然植物中提取的, 但是植物提取技术面临成本高, 得率低和植物资源有限等问题。近年来, 随着人们对白藜芦醇在心血管和肿瘤等疾病的预防、人类健康保健等方面功能认识的加深, 国内外对白藜芦醇的合成研究有了很大进展。

3.1 化学合成

白藜芦醇的化学合成包括二苯乙烯骨架的形

成、顺反异构化和去保护基三步。化学合成的关键在于二苯乙烯骨架的形成。白藜芦醇的化学合成主要包括五类。

3.1.1 Wittig 反应

Wittig 反应通过 Wittig 试剂 (磷 Ylide 等) 与醛、酮的羰基发生亲核加成反应, 形成烯烃。此方法简便, 但产率较低。目前, 已有很多利用 Wittig 反应合成白藜芦醇的报道^[9,10]。

3.1.2 Wittig-Horner 反应

这是对 Wittig 反应的一种改进, 它是用亚磷酸酯代替三苯基膦所制得的磷 Ylide 与醛酮反应形成双键。该反应操作简便, 条件温和, 产率高。Wang、TaKaRa 等都在 Wittig-Horner 反应基础上进行了白藜芦醇的合成, 只是他们所用的保护碱基不同^[11,12]。

3.1.3 Perkin 反应

为有机化学中的经典反应, 具体指: 芳香醛与酸酐在同酸酐相应的酸的羧酸钠盐、钾盐 (或叔胺) 的存在下进行缩合反应, 生成 β -芳丙烯酸类化合物。该反应可以用于白藜芦醇的合成。

2003 年, solladié 等以 3,5-二异丙氧基苯甲醛和以对异丙氧基苯乙酸通过 Perkin 反应合成白藜芦醇的过程中, 将得到的单一顺式构型产物经脱羧反应后, 得到以顺式构型为主的混合构型的产物, 并以异丙基作为羟基保护基团来保持产物的立体构型, 进一步对顺式构型产物异构化得到单一反式构型产物^[13]。

3.1.4 Heck 反应

指钯催化的烯烃芳基化和烯基化偶联反应。2002 年, Guiso^[14]等使用了一种新的方法合成白藜芦醇, 即: 利用 3,5-二乙酰氧基苯乙烯与对乙酰氧基碘苯发生 Heck 反应, 接着水解即可, 总产率达到了 70%。

Heck 反应优点在于选择性较高, 且去保护容易, 但成本高, 不适合工业化生产, 使用的催化剂为含钯的络合物, 价格昂贵且毒性大。

3.1.5 利用碳负离子与羰基化合物的缩合反应制备白藜芦醇

碳负离子与羰基发生亲核加成反应, 所得的羟基消除后可形成双键, 这类反应也可用于白藜芦醇的合成。

Alonso^[15]等使 3,5-二甲氧基苯醇的硅衍生物通过强碱作用形成苯基碳负离子, 该碳负离子再进攻茴香醛的羰基, 继而脱水、去甲基, 最后得到了反式

白藜芦醇,总产率为 21%,该方法在构型选择性上有优势。

3.2 生物合成

白藜芦醇广泛存在于种子植物中,作为芪类次生代谢物,主要通过苯丙氨酸代谢途径合成的,其中最关键的调节酶为二苯乙烯合酶,又称芪合酶(Stilbene synthase,简称 STS)(图 1)^[16]。STS 在植物中多以基因家族存在,目前已克隆的 STS 可分为 2 种类型:一种为白藜芦醇合成酶(Resveratrol synthase,简称 RS)(EC 2.3.1.95),又被称为 3,4',5-三羟基二苯乙烯合酶,主要在花生或葡萄中存在,以 4-香豆酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 为底物合成白藜芦醇;另一种为赤松素合成酶(EC 2.3.1.146),以肉桂酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 为底物合成赤松素(Pinosylvin)^[17]。研究表明,RS 是白藜芦醇合成代谢途径中最后一个起作用的关键酶,也是合成途径中唯一必需的合成酶。在葡萄、花生、松树等植物中都具有诱导型 STS,如 RS 的表达机制,但大多数植物细胞中虽然有酶的底物,但缺少 RS 基因,从而缺乏在诱发因子作用下合成该类物质的能力。

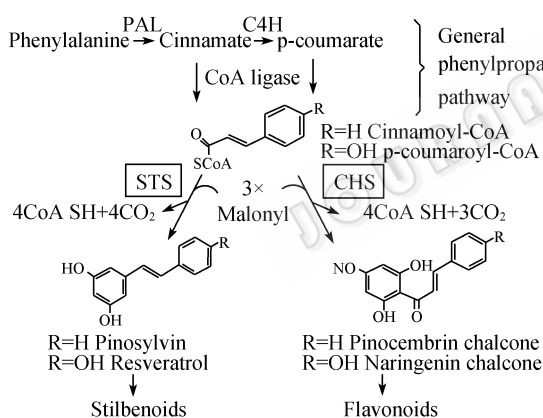


图 1 植物芪类次生代谢物生物合成途径
(引自何水林等^[16])

Fig. 1 Metabolic pathway of stilbenoid and flavonoids in plants (from Shuilin He^[16])

以往对白藜芦醇生物合成研究的主要目标是以植物抗病性的遗传改良为主。不少研究者将分离到的 STS 基因转入不含有 STS 基因的植物中,使得植物的抗病性得到增强。例如: Hain 等将 RS 基因转入烟草(*Nicotiana tabacum*)和西红柿(*L. esculentum*)中,转基因植物对葡萄孢属(*Botrytis*)和疫霉属(*Phytophthora*)病菌的抗性大大提高^[18]。Hipskind 和 Paiva 将花生

中的 RS 基因转入苜蓿(*Medicago sativa*),发现转基因苜蓿大大抑制了茎点霉属(*Phoma*)的真菌的生长^[19]。此外,许多研究者还将 RS 基因分别转入油菜、水稻、大麦、小麦等作物中,均获得了抗病性增强的转基因植株^[20]。

随着对白藜芦醇生物活性及药理功能方面认识的加深,其基因工程在植物营养、保健品质遗传改良方面的应用逐渐受到研究者的广泛关注。利用细胞培养技术,郭斌等^[21]通过 He-Ne 激光辐照用根癌农杆菌感染过的葡萄皮脱皮化组织进行诱变处理,可得到较高含量的白藜芦醇。Kobayashi 等^[22]将该类基因导入猕猴桃,希望能获得对人体健康产生有益影响的转基因猕猴桃。北京大学林忠平实验室在葡萄科植物川鄂爬山虎中克隆到了 RS 基因,导入烟草和生菜中,获得了能够产生白藜芦醇的转基因植株。

近年来,随着人们对食品营养及医疗保健需要的提高,结合基因工程手段提高目标植物中白藜芦醇含量的研究已成为白藜芦醇分子生物学的另一个热点。由此可见,生物合成白藜芦醇的方法比化学合成方法应用前景更为广阔。

4 提取、纯化与检测

4.1 提取

鉴于虎杖中白藜芦醇含量较高,最初魏萌等在从天然植物中直接提取白藜芦醇时,多是以虎杖为材料,通过有机溶剂浸提法进行的,白藜芦醇的提取率为 0.388%^[23]。

近年来,随着理论的成熟及体系的完善,可广泛用于白藜芦醇提取的植物材料逐渐增多,如花生、葡萄、桑椹等,同时,提取技术也更加优化。以往传统的提取方法中,有机溶剂浸提法所需的时间较长,溶剂用量大,提取效率不高;而加热回流提取时回流所需的温度较高,易造成活性成分的分解或挥发,对白藜芦醇的提取不利^[24]。相对于这些传统的提取方法,新近出现的用微波和超声波技术辅助提取白藜芦醇的方法具有较多的优点:它们能够提高提取率,缩短提取时间,缩短生产周期;另外,超临界 CO₂ 萃取法中超临界 CO₂ 具有性质稳定、无毒、不污染环境等特点,也是常用方法之一^[25]。这些新型提取方法的出现,对于白藜芦醇的纯化以及检测技术的发展都有很大的推动作用。

4.2 纯化

白藜芦醇是植物体中的一种次生代谢产物,在植物组织中含量很低,白藜芦醇含量较高的葡萄皮中,其含量仅为 10 $\mu\text{g/g}$ ~100 $\mu\text{g/g}$,为了得到高纯度的白藜芦醇产品,必须将提取物进行分离、纯化^[26]。白藜芦醇的纯化目前常采用硅胶柱层析、高速逆流色谱和大孔吸附树脂纯化,其中,硅胶柱层析价格便宜、提取量大、但操作相对繁琐、得率较低、产物杂质多^[27];高速逆流色谱纯化技术具有分离效率高、产品纯度高、没有载体对样品的吸附和污染、制备量大且溶剂消耗少等特点;大孔吸附树脂分离纯化技术广泛用于纯化黄酮类、生物碱类等活性成分^[28]。

4.3 检测

目前普遍使用的检测方法有高效液相色谱、毛细管电泳、薄层色谱等技术。高效液相色谱具有高灵敏度、高效能和高速度的特点,广泛应用于葡萄酒、虎杖、花生、毛脉酸模、何首乌等样品中白藜芦醇的检测。毛细管电泳是近几年来发展迅速的一种分离检测技术,与 HPLC(High-Performance Liquid Chromatographic, HPLC)相比,毛细管电泳具有柱效更高,分离速度更快,几乎不消耗溶剂,样品用量少等特点,它能够同时进行白藜芦醇顺、反异构体的分离和检测^[29]。另外,白藜芦醇属于二苯乙烯化合物,在葡萄酒、虎杖、花生等样品中都含有与其结构相似的化合物,因此在进行分析鉴定时,仅使用单一的测定方法是不能达到特殊要求的精度和灵敏度。栾天罡等应用固相微萃取和甲硅化处理葡萄酒样品,然后利用 GC/MS(Gas Chromatograph/Mass Spectrometer, GC/MS)对样品中的反式白藜芦醇进行了定性和定量分析^[30]。与固相萃取相比,固相微萃取具有色谱峰分离明显、杂峰干扰小、峰面积大等特点,而且既可用于气相色谱,也可用于液相色谱^[31]。有文献报道的色谱联用技术还有薄层荧光扫描法、毛细管电化学检测等^[26]。

5 白藜芦醇的生物活性研究

1989年,世界卫生组织(WHO)主持的心血管疾病控制系统的调查结果显示的“法国悖论”(French Paradox),引起了人们的兴趣,即:同样以三高食品(高蛋白、高脂肪、高热量)为主食的法国人,其冠心病、高血脂等心血管疾病的发病率远远低于其他饮

食习惯类似的国家,原因在于法国人爱喝葡萄酒,葡萄酒内高含量的白藜芦醇是法国人心血管疾病发病率低的重要原因之一^[32]。

近十几年来,人们从多方面对白藜芦醇的研究结果证实,其具有许多重要的生理活性及功能,因而引起全世界科学家的高度重视^[33]。

5.1 白藜芦醇生物学活性的分子机制

白藜芦醇作为一类重要的植物次生代谢产物,本身即具有重要的保健作用与多种生物学功能。随着对其功能研究的深入,人们对其作用的分子机制也有了初步了解。Howitz 等研究发现:植物中多种多酚类小分子物质,如白藜芦醇、漆树黄酮(Fistein)、紫柳因(Butein)等具有的较强的抗氧化、抗自由基作用,主要是通过激活组蛋白去乙酰化酶(Sirtuin, silent mating type information regulation 2 homolog)的活性,进而调控下游基因转录及活性来实现的^[34]。SIRT1(Sirtuin type 1)为 Sirtuins 家族成员之一,是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的组蛋白脱乙酰酶,可以许多转录因子,如抑癌基因(Tumour suppressor gene, p53)、叉头转录因子(Forkhead box class O, FOXO)等,作为底物,具有调控基因沉默、影响寿命长短及调节代谢过程等功能。哺乳动物中 SIRT1 与酵母染色质沉默因子 Sir2(Silent information regulator 2)同源^[35,36],主要通过一些相关的细胞因子相互作用来发挥其功能。

SIRT1 可通过使抑癌基因 p53 特异位点的赖氨酸残基发生去乙酰化,从而抑制 p53 介导的细胞凋亡,使细胞能够继续分裂生长^[37]。而肿瘤抑制因子 DBC1 是 SIRT1 的一个负调控因子,通过抑制 SIRT1, DBC1 促进肿瘤抑制因子 p53 发生更多乙酰化反应,并促使人类细胞发生由 p53 诱导的自杀^[38]。此外, SIRT1 还能够作用于与 Bax 结合的 DNA 修复因子 Ku70,使之不被乙酰化,阻止 Bax 转位到线粒体,从而抑制细胞凋亡^[39]。但也有研究认为 SIRT1 可增强 p19^{ARF}/p53 信号通路的活性,诱导体内细胞进入复制性凋亡^[40]。因此, SIRT1 是否通过延缓细胞衰老来影响生命周期进程尚有待进一步研究。

通过限制营养摄取来延长寿命被称为限制热量摄取(Caloric restriction, CR),研究认为该过程也与 SIRT1 的活性有关。摄取较少热量会使生命周期延长,但却易引起许多副作用。而 SIRT1 最近被证明可

通过调控与脂肪代谢密切相关的 FOXO 家族成员的表达, 达到介导寿命延长的效果^[41]。FOXO 家族成员在与动物的长寿、繁殖、代谢、肿瘤发生及免疫过程相关的细胞凋亡调控中起重要作用^[42,43]。哺乳动物中 FOXO 是 SIRT1 的直接和功能性的调控靶点, SIRT1 通过使 *FOXO3a* 以及其他 FOXO 家族成员发生去乙酰化, 抑制了其转录调控活力, 起到促存活、抗凋亡的作用^[44]。SIRT1 还可通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferators activataed receptor- γ , PPAR- γ) 消耗白色脂肪组织(White adiposetissue, WAT), 从而降低体内脂质过氧化积累, 在胰岛素敏感性治疗方面起作用^[45]。

白藜芦醇作为 SIRT1 的激活剂, 也具备以上生理功能, 通过激活 SIRT1 调控的不同信号及代谢途径从而发挥生物学功能(图 2)。

5.2 白藜芦醇的生物学功能

5.2.1 抗肿瘤活性

在白藜芦醇的各项药理作用中, 最引人注目的是其在抗肿瘤中的作用。Jang 等^[46]首先发现白藜芦醇有抗癌活性。进一步研究发现, 白藜芦醇可对癌症发生的 3 个阶段(起始、增殖、发生)进行抑制乃至

逆转^[47]。近几年研究表明: 白藜芦醇通过抑制由 MAPK (Mitogenactivated protein kinase) 或 NF- κ B 途径调节的信号转导来促进癌细胞的自溶^[48,49]。

5.2.2 对心血管系统的作用

白藜芦醇可以通过减少心肌缺血-再灌注损伤、舒张血管、抗动脉粥样硬化^[50]等发挥心血管保护作用。生理浓度(0.1 μ mol/L)的白藜芦醇能够使血管舒张, 因而能降低血压和降低心血管病的风险^[51]。在民间, 早已用富含白藜芦醇的中药如虎杖、首乌治疗和预防高血脂症、动脉硬化。最近的研究也表明, 白藜芦醇是一种有效的和有前途的预防心脏功能紊乱的分子^[52]。

5.2.3 抗氧化、抗自由基作用

近年来发现多酚物质大多具有显著的抗氧化、抗自由基的作用。Kimura 等报道, 白藜芦醇在 1.3 μ g/mL 时, 能明显抑制大鼠红细胞的自氧化溶血和由 H_2O_2 引起的氧化溶血, 并对小鼠心、肝、脑、肾的体内外过氧化脂质的产生有明显抑制作用^[53]。多酚能够显著增加 LDL(Low-density lipoproteins, LDL)的抗氧化活性, 其中白藜芦醇的活力最强。研究表明, 白藜芦醇对于防治衰老相关的氧化胁迫具有很好的作

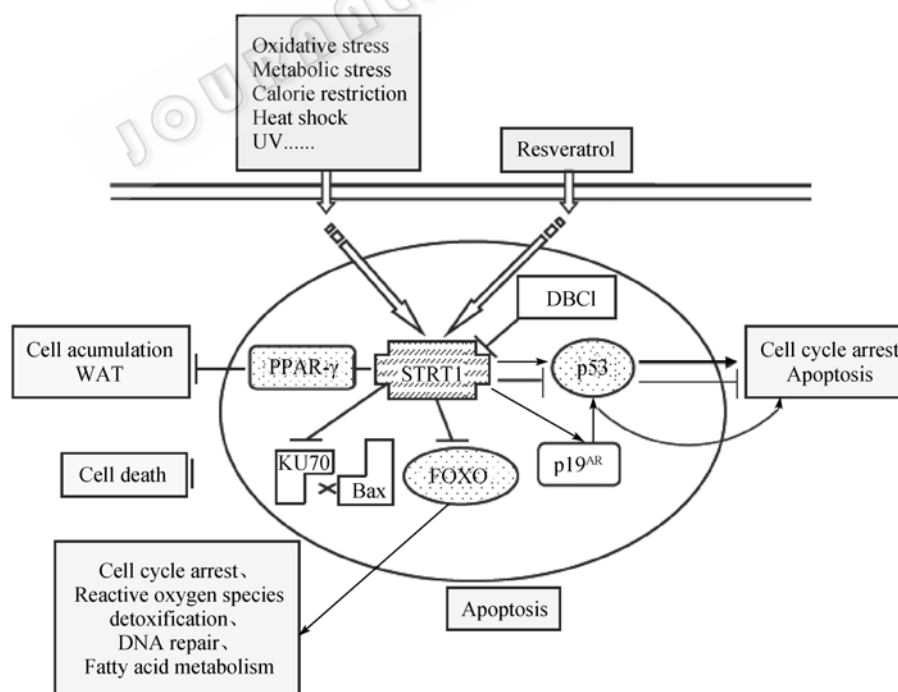


图 2 SIRT1 与 FOXO、p19、p53、Ku70、PPAR- γ 等相关因子之间的互作关系网络图
Fig. 2 Interaction network of SIRT1 with FOXO, p19, p53, Ku70 and PPAR- γ

用^[54]。由于白藜芦醇有抗氧化作用,它可能通过调节乙酰胆碱酯酶来改善 AD(Alzheimer's disease)小鼠的认知能力^[55]。

5.2.4 抗菌作用

白藜芦醇最初作为一种葡萄类植物在受到真菌感染、紫外线照射等不利条件作用时产生的植物抗菌剂而为人所认识^[56]。Hain 等分离葡萄茎的 *STS* 基因并将其转到烟草中,发现这些烟草在受到病原菌感染时,感染部位有反式白藜芦醇的聚集,且其合成与烟草抗灰霉(*B. cinerea*)的能力正相关^[57]。从哥伦比亚买麻藤(*Gnetum pariculatum*)中提取的白藜芦醇对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、耻垢分支杆菌有抑制作用^[58]。Chan 研究表明,白藜芦醇对人的皮肤真菌和皮肤细菌也有抑制作用^[59]。

5.2.5 雌激素作用

美国的 Gehm.B 博士等 1997 年发现白藜芦醇的化学结构与一种雌性激素-二乙基乙烯雌酚非常相像,可以竞争其受体的结合空间,对受体进行活化,起雌性激素的信号转导作用^[33]。女性在绝经期后,因为体内雌激素分泌不足,从而产生骨质疏松、子宫及乳腺癌等疾病发病率高的情况;因此,白藜芦醇作为一种植物雌性激素添加剂添加到药物或食品中,可防止女性在绝经期后体内雌激素分泌不足而引起的一系列疾病^[60]。

5.2.6 对代谢及生命周期的影响

Rodgers 等研究表明, *SIRT1* 能够通过转录共激活因子 *PGC-1 α* 调节许多物种的衰老和控制肝脏糖原异生/糖酵解途径^[61]。Heilbronn 等研究表明: *CR* 能够调节葡萄糖的利用率和胰岛素的敏感性,并且提高人体的代谢速率。白藜芦醇可通过 *SIRT1* 的介导,来行使以上相关功能^[62]。白藜芦醇还可提高胰岛素的敏感性,从而对防治 II 型糖尿病有一定作用,这一过程也是通过 *SIRT1* 在染色质水平下调 *PTP1B* 基因的转录来实现的^[63]。

5.2.7 其他生物学功能

随着对白藜芦醇研究的不断深入,发现白藜芦醇还具有调节免疫、抗病毒、抗变态反应、预防急性传染性非典型肺炎(非典)等药用价值^[64]。此外,白藜芦醇可以被用作添加剂加到药品、酒类或化妆品中,作为一种新型美容保健品以延缓人的衰老,保持肌肤水分,祛除疮类、黄褐斑等^[65]。

6 白藜芦醇的基因工程研究及其产业化

芪类化合物中白藜芦醇具有多种生物活性,作为芪类化合物合成途径中的关键酶,对芪合酶功能的深入研究具有重要意义与应用价值。许多学者利用基因工程的方法对芪合酶进行了研究,并取得了一定的成果。

北京大学林忠平实验室将川鄂爬山虎(*Parthenocissus henryana*)的编码 *STS* 的 cDNA 与组成型启动子 35S CaMV 融合,转入生菜中,通过 HPLC 和 ESI-MS(Electrospray ionization-mass spectrometry, ESI-MS)检测发现,转基因生菜叶中的白藜芦醇含量为 (56.40 ± 5.52) mg/g 鲜重,其含量相当于葡萄皮中的白藜芦醇含量^[66]。Lo 等将高粱 *SbSTS1* 转入拟南芥突变体 *tt4* 中,通过 LC-MS/MS(Liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, LC-MS/MS)检测发现:转基因拟南芥中顺式白藜芦醇糖苷的含量为 580 mg/g 鲜重,这为进行药理学研究的顺式聚合物提供了来源^[67]。2007 年, Schwekendiek 等将葡萄的 *STS* 基因在 CaMV35S 启动子的作用下,转入啤酒花中,检测发现在转基因啤酒花的球果中,白藜芦醇糖苷的主要代谢物的含量达到 560 mg/g 鲜重;而在野生型啤酒花的球果中,没有检测到芪类化合物^[68]。目前,本实验室正在开展以花生和马铃薯为生物反应器制备白藜芦醇的研究,在花生中已获得白藜芦醇合成酶基因,通过与组织特异性启动子构建组织特异性表达载体,对花生及马铃薯进行转化,期望提高花生子叶中白藜芦醇的含量,并使马铃薯块茎能够合成白藜芦醇,从而提高花生和马铃薯的营养价值与保健品质,满足人们对保健性食品日益增长的需要。

然而伴随着 *RS* 基因的转入,有的植物体也发生了某些异常的反应。Fischer 等(1997)从葡萄中分离到 *RS* 基因并转入烟草中,获得了高含量白藜芦醇的烟草,但转基因烟草的花粉失去活力,花色改变^[69]。Kobayashi 等(2000)将从 3 种葡萄(*V. vinifera*, *V. labrusca*, *V. riparia*)中分离到 *RS* 基因转入猕猴桃(*Actinidia deliciosa*),结果表明这些基因的确在植物体内得到表达,但转化体的叶子中产生的却是云杉新苷(Piceid)而不是白藜芦醇,推测可能是由于植物体内糖基转移酶的作用从而使产物发生了改变^[22]。

Hipskind 和 Paiva(2000)在转基因苜蓿中也发现了上述现象^[19]。这种转基因植物形态、生理生化改变的具体机制仍待深入研究。

同时,白藜芦醇的产业化研究也得到人们普遍重视。通过组织培养和微生物发酵等方法进行白藜芦醇的大规模制备,已成为使其进行产业化生产的有效手段。西北大学生命科学院首先论证了植物组织培养大规模制备白藜芦醇在理论及生产上的可行性:在产量提高的基础上,可人为控制植物组织的生长周期且生产不受季节限制。在此基础上,郭斌等以葡萄皮脱分化组织为最初材料,用 He-Ne 激光辐照对其进行诱变处理,通过继代选育得到优良细胞系,其白藜芦醇含量比对照组提高 40%^[21]。上海纳贝生物技术公司也利用相似技术实现了植物细胞在生物反应器中制备白藜芦醇的产业化。微生物工程方面,曹庸等在虎杖组织培养过程中分离出 1 株真菌,对其发酵液提取物进行 TLC 和 HPLC 分析,证明其能产生白藜芦醇,在适宜的培养条件下白藜芦醇产量能达 8.6617 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ ^[70]。

随白藜芦醇产业化程度的提高,其在制药工业及食品工业中的应用越来越多。日本率先将从植物中提取的白藜芦醇作为食品添加剂使用,美国的 Life Extension 及加拿大的 Natrol Resveratrol 等均为含有白藜芦醇的保健产品。国内某些胶囊,如“天狮活力康胶囊”、“紫金胶囊”等,均为白藜芦醇相关的保健品。白藜芦醇在某些酒类中含量的高低也成为许多厂家检测酒类品质的重要标准之一^[6]。

7 结束语

综上所述,白藜芦醇不仅能够提高植物的抗病能力,对人类的健康也有多方面有益的作用。今后在继续深入研究其作用分子机制的同时,应进一步明确其具体生物活性及药用机理,将之更有效的应用于心血管、肿瘤等疾病的预防、治疗及代谢的调节和延长寿命中。同时,可在挖掘富含白藜芦醇的植物品种或通过人工栽培和育种手段获得高含量白藜芦醇的新品种的基础上,通过植物细胞克隆技术、基因工程技术,将芪合酶基因转入植物细胞或水稻、小麦、大豆、花生、马铃薯等重要粮食作物和经济作物等方法,结合分离、提取白藜芦醇的工艺技术的提高,进一步加强白藜芦醇的综合开发,

提高白藜芦醇及其相关产品的市场竞争力,并保护白藜芦醇资源的可持续开发利用,在带来巨大经济效益的同时造福人类。

REFERENCES

- [1] Zhao X, Lu Y, Chen ZN. Recent development of chemistry and pharmacology effect of resveratrol. *Chin Traditional Herbal Drug*, 1998, **29**(12): 837–839.
赵霞, 陆阳, 陈泽乃. 白藜芦醇的化学药理研究进展. 中草药, 1998, **29**(12): 837–839.
- [2] Nonomura S, Kanagawa H, Makimoto A. Chemical constituents of polygonaceous plants. I. Studies on the components of KO-J O-KON. (*Polygonum Cuspidatum* Sieb. et Zucc.). *Yakugaku Zasshi*, 1963, **83**: 988–990.
- [3] Langcake P, Pryce R. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the vitaceae as a response to infection or injury. *Physio Plant Path*, 1976, **9**(1): 77–86.
- [4] Jeandet P, Bessis R, Maume BF, et al. Effect of enological practices on the resveratrol isomer content of wine. *J Agric Food Chem*, 1995, **43**(2): 316–319.
- [5] Zhang LS, Liu GM. Reviews of research on resveratrol. *J Da Li Univ*, 2007, **16**(4): 72–74.
张兰胜, 刘光明. 白藜芦醇的研究概述. 大理学院学报, 2007, **16**(4): 72–74.
- [6] Cheng LY, Liu SX. The application prospect and research status of resveratrol. *Food Res Dev*, 2005, **26**(1): 25–27.
程丽英, 刘树兴. 白藜芦醇研究现状与应用展望. 食品研究与开发, 2005, **26**(1): 25–27.
- [7] Guo JN, Liu CH, Pan X, et al. Advances in research on resveratrol in *vitis* spp. *J Fruit Sci*, 2002, **19**(3): 199–204.
郭景南, 刘崇怀, 潘兴, 等. 葡萄属植物白藜芦醇研究进展. 果树学报, 2002, **19**(3): 199–204.
- [8] Soleas GL, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: A molecule whose time has come? And gone? *Clin Biochem*, 1997, **30**(2): 91–113.
- [9] Orsini F, Pelizzoni F, Bellini B, et al. Synthesis of biologically active polyphenolic glycosides (combretastatin and resveratrol series). *Carbohydr Res*, 1997, **301**(3): 95–109.
- [10] Orsini F, Verotta L, Lecchi M, et al. Resveratrol derivatives and their role as potassium channels modulators. *J Nat Prod*, 2004, **67**(3): 421–426.
- [11] Wang M, Jin Y, Ho CT. Evaluation of resveratrol derivatives as Potential antioxidants and identification of a reaction product of resveratrol and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *J Agric Food Chem*, 1999, **47**: 3974–3977.
- [12] Yoshiaki Takaya, Kenji Terashima, Junko Ito, et al. Biomimic transformation of resveratrol. *Tetrahedron*, 2005, **61**(43): 10285–10290.
- [13] Solladié G, Pastural-jacopé Y, Maignan J. A reinvestigation of resveratrol synthesis by Perkins reaction. Application to the synthesis of aryl cinnamic acids. *Tetrahedron*, 2003, **59**(18): 3315–3321.

- [14] Guiso M, Marra C, Farina A. A new efficient resveratrol synthesis. *Tetrahedron Lett*, 2002, **43**(4): 597–598.
- [15] Alonso E, Ramon DJ, Yus M. Simple synthesis of 5-substituted resorcinols: A revisited family of interesting bioactive molecules. *J Org Chem*, 1997, **62**(2): 417–421.
- [16] He SL, Zheng JG, Lin M, *et al.* Advances of biological function, regulatory mechanism of biosynthesis and genetic engineering of stilbenes in plant. *J Agric Biotechnol*, 2004, **12**(1): 102–108.
何水林, 郑金贵, 林明, 等. 植物芪类次生代谢物的功能、合成调控及基因工程研究进展. *农业生物技术学报*, 2004, **12**(1): 102–108.
- [17] Schwekendiek A, Pfeffer G, Kindl H. Pine stilbene synthase cDNA, a tool for probing environmental stress. *FEBS Lett*, 1992, **301**(1): 41–44.
- [18] Hain R, Reif HJ, Krause E, *et al.* Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*, 1993, **361**: 153–156.
- [19] Hipskind JD, Paiva NL. Constitutive accumulation of a resveratrol glucoside in transgenic alfalfa increases resistance to *Phoma medicaginis*. *Mol Plant Microbe Interac*, 2000, **13**(5): 551–562.
- [20] Tian WZ, Ding L, Cao SY, *et al.* Rice transformation with a phytoalexin gene and bioassay of the transgenic plants. *Acta Bot Sci*, 1998, **40**(9): 803–808.
田文忠, 丁力, 曹守云, 等. 植物抗毒素转化水稻和转基因植株的生物鉴定. *植物学报*, 1998, **40**(9): 803–808.
- [21] Guo B, Wei YH, Cao W. Breeding variety cells of resveratrol by He-Ne laser induced. *Acta Photon Sin*, 2002, **31**(3): 277–280.
郭斌, 尉亚辉, 曹伟. He-Ne 激光诱变选育高产白藜芦醇细胞系. *光子学报*, 2002, **31**(3): 277–280.
- [22] Kobayashi S, Ding CK, Nakamura Y, *et al.* Kiwifruits (*Actinidia deliciosa*) transformed with a vitis stilbene synthase gene produce piceid (resveratrol-glucoside). *Plant Cell Rep*, 2000, **19**(2): 904–910.
- [23] Wei M, Wang SX, Lu Y. Study on separation, extraction and detection of resveratrol in polyonum cuspidatum. *Food Sci Technol*, 2006, **31**(8): 118–120.
魏萌, 王水兴, 陆豫. 虎杖中的白藜芦醇分离、提取及 HPLC 检测的研究. *食品科技*, 2006, **31**(8): 118–120.
- [24] Zhang M, Cao Y, Yu HZ, *et al.* Preliminary study on extraction process of resveratrol from ploygonum cuspidatum. *J Chem Ind Forest Prod*, 2004, **38**(3): 629.
张敏, 曹庸, 于华忠, 等. 虎杖白藜芦醇提取工艺的初步研究. *林产化工通讯*, 2004, **38**(3): 629.
- [25] Tena MT, Rios A, Valcarcel M. Supercritical fluid extraction of t-resveratrol and other phenolics from a spiked solid. *Anal Bioanal Chem*, 1998, **361**(2): 143–148.
- [26] Jiang RQ, Li JL. Advances on isolation, purification and detection of resveratrol. *J Chin Med Mater*, 2007, **30**(3): 367–371.
姜瑞清, 黎继烈. 白藜芦醇分离纯化及检测技术研究进展. *中药材*, 2007, **30**(3): 367–371.
- [27] Bai Y, Pan JL, Su WW. Advances in the research of resveratrol and polydatin. *J Chin Med Mater*, 2004, **27**(1): 55–59.
白杨, 潘隽丽, 苏薇薇. 白藜芦醇与白藜芦醇甙的研究进展. *中药材*, 2004, **27**(1): 55–59.
- [28] Liu SX, Cheng LY, Geng W. Study on the Purification of Resveratrol by HSCCC. *Acad Period Farm Prod Proc*, 2005, **9**: 121–123.
刘树兴, 程丽英, 耿伟. 高速逆流色谱纯化白藜芦醇的研究. *农产品加工学刊*, 2005, **9**: 121–123.
- [29] Fan EG, Zhang K, Yao CY, *et al.* Determination of trans-resveratrol in China Great Wall “Fazenda” red wine by use of micellar electrokinetic chromatography. *Chromatographia*, 2005, **62**(5-6): 289–294.
- [30] Luan TG, Li GK, Zhang ZX. Gas-phase postderivatization following solid-phase microextraction for rapid analysis of polyphenols in wine by gas chromatography-mass spectrometry. *Acta Sci Nat Univ Sunyat*, 2001, **40**(1): 54–57.
栾天罡, 李攻科, 张展霞. 固相微萃取-衍生化法与气相色谱-质谱联用分析葡萄酒中多酚类化合物. *中山大学学报*, 2001, **40**(1): 54–57.
- [31] Antolovich M, Prenzler P, Robards K, *et al.* Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *Analyst*, 2000, **125**: 989–1009.
- [32] Liu T, Ma L, Du NS. The survey of the grape’s biological action. *Chin J Nat*, 2002, **24**(2): 81–87.
刘涛, 马龙, 堵年生. 葡萄的生物学作用研究进展. *自然杂志*, 2002, **24**(2): 81–87.
- [33] Fu JT, Zhang R, Huang BK, *et al.* The development of the study on the function of resveratrol in natural plants. *Res Pract Chin med*, 2005, **19**(2): 62–64.
傅喆喆, 张蓉, 黄宝康, 等. 天然植物中活性成分白藜芦醇的作用研究进展. *现代中药研究与实践*, 2005, **19**(2): 62–64.
- [34] Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, *et al.* Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 2003, **425**: 191–196.
- [35] Cheng HL, Mostoslavsky R, Saito S, *et al.* Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(19): 10794–10799.
- [36] Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **273**(2): 793–798.
- [37] Luo J, Nikolaev AY, Imai S-i, *et al.* Negative control of p53 by Sir2 alpha promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001, **107**(2): 137–148.
- [38] Zhao W, Kruse JP, Tang Y, *et al.* Negative regulation of the deacetylase SIRT1 by DBC1. *Nature*, 2008, **451**(7178): 587–590.
- [39] Fulco M, Schiltz RL, Iezzi S, *et al.* Sir2 regulates skeletal muscle differentiation as a potential sensor of the redox state. *Mol Cell*, 2003, **12**(1): 51–62.
- [40] Chua K, Mostoslavsky R, Lombard D, *et al.* Mammalian SIRT1 limits replicative lifespan in response to chronic genotoxic stress. *Cell Metab*, 2005, **2**(1): 67–76.
- [41] Cohen HY, Lavu S, Bitterman KJ, *et al.* Acetylation of the C terminus of Ku70 by CBP and PCAF controls Bax-mediated apoptosis. *Mol Cell*, 2004, **13**(5): 627–638.
- [42] Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, *et al.* hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*,

- 2001, **107**(2): 149–159.
- [43] Picard F, Guarente L. Molecular links between aging and adipose tissue. *Int J Obes(Lond)*, 2005, **29**(1): S36–S39.
- [44] Sauve AA, Celic I, Avalos J, *et al.* Chemistry of gene silencing: the mechanism of NAD⁺-dependent deacetylation reactions. *Biochemistry*, 2001, **40**(51): 15456–15463.
- [45] Picard F, Kurtev M, Chung N, *et al.* Sirt 1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR—gamma. *Nature*, 2004, **429**(6993): 771–776.
- [46] Jang M, Pezzuto J. Effect of resveratrol on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate induce oxidative events and gene expression in mouse skin. *Cancer Lett*, 1998, **134**(1): 81–89.
- [47] Aziz, MH, Kumar R, Ahmad N. Cancer chemoprevention by resveratrol: *In vitro* and *in vivo* studies and the underlying mechanisms. *Int J Oncol*, 2003, **23**: 17–28.
- [48] Holme AL, Pervaiz S. Resveratrol in cell fate decisions. *J Bioenerg Biomembr*, 2007, **39**(1): 59–63.
- [49] Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic cell death induction pathways in anti-cancer chemotherapy. *Oncogene*, 2006, **25**: 4798–4811.
- [50] Norata GD, Marchesi P, Passamonti S, *et al.* Anti-inflammatory and anti-atherogenic effects of catechin, caffeic acid and trans-resveratrol in apolipoprotein E deficient mice. *Atherosclerosis*, 2007, **191**(2): 265–271.
- [51] Nicholson SK, Tucker GA, Brameld JM. Effects of dietary polyphenols on gene expression in human vascular endothelial cells. *Proc Nutr Soc*, 2008, **67**(1): 42–47.
- [52] Mokni M, Limam F, Elkahoui S, *et al.* Strong cardioprotective effect of resveratrol, a red wine polyphenol, on isolated rat hearts after ischemia/reperfusion injury. *Arch Biochem Biophys*, 2007, **457**(1): 1–6.
- [53] Kimura Y, Ohminami H, Okuda H, *et al.* Effects of stilbene components of roots of *Polygonum* ssp. on liver injury in peroxidized oil-fed Rats. *Planta Med*, 1983, **49**(9): 51–54.
- [54] Jefremov V, Zilmer M, Zilmer K, *et al.* Antioxidative effects of plant polyphenols: from protection of G protein signaling to prevention of age-related pathologies. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, **1095**: 449–457.
- [55] Luo L, Huang YM. Effect of resveratrol on the cognitive ability of Alzheimer mice. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2006, **31**(4): 566–569.
罗莉, 黄忆明. 白藜芦醇对老年性痴呆小鼠认知功能的影响. *中南大学学报(医学版)*, 2006, **31**(4): 566–569.
- [56] Langcake P, Pryce RJ. The production of resveratrol by *Vitis vinifera* and other members of the vitaceae as a response to infection or injury. *Physiol Plant Path*, 1976, **9**: 77–86.
- [57] Hain R, Reif HJ, Krause E, *et al.* Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature*, 1993, **361**(6408): 153–156.
- [58] Hain R, Bieseler B, Kindl H, *et al.* Expression of a stilbene gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of the phytoalexin resveratrol. *Plant Mol Biol*, 1990, **15**(2): 325–335.
- [59] Chun MM. Antimicrobial effect of resveratrol on dermatophytes and bacterial pathogens of the skin. *Biochem pharmacol*, 2002, **63**(2): 99–104.
- [60] Gehm BD, McAndrews JM, ChienPY, *et al.* Resveratrol, a polyphenolic compound found in and grapes wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad sci USA*, 1997, **94**: 14138–14143.
- [61] Rodgers JT, Lerin C, Haas W, *et al.* Nutrient control of glucose homeostasis through a complex PGC-1 α and SIRT1. *Nature*, 2005, **434** (7029): 113–118.
- [62] Heilbronn LK, de Jonge L, Frisard MI, *et al.* Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2006, **295**(13): 1539–1548.
- [63] Sun C, Zhang F, Ge X, *et al.* SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab*, 2007, **6**(4): 247–249.
- [64] Jin SJ, Duan L, Huang M, *et al.* Protective effect of resveratrol and ascorbic acid on lymphocyte DNA damage in mice induced by prescriptions I and VI of Chinese materia medica against SARS. *Chin Tradit Herbal Drug*, 2003, **34**(12): 114–117.
金顺姬, 段链, 黄梅, 等. 白藜芦醇和抗坏血酸对预防非典型肺炎方剂 I 和 VI 所致小鼠外周血液淋巴细胞 DNA 损伤的保护作用. *中草药*, 2003, **34**(12): 114–117.
- [65] Zhang M, Yang L. Research progression on the biological role of resveratrol. *J North China Coal Med College*, 2007, **9**(3): 333–335.
张梅, 杨林. 白藜芦醇生物学作用的研究进展. *华北煤炭医学院报*, 2007, **9**(3): 333–335.
- [66] Liu SJ, Hu YL, Wang XL, *et al.* High content of resveratrol in lettuce transformed with a stilbene synthase gene of *Parthenocissus henryana*. *J Agric Food Chem*, 2006, **54**(21): 8082–8025.
- [67] Yu CK, Lam CN, Springob K, *et al.* Constitutive accumulation of cis-piceid in transgenic *Arabidopsis* overexpressing a sorghum stilbene synthase gene. *Plant Cell Physiol*, 2006, **47**(7): 1017–1021.
- [68] Schwekendiek A, Spring O, Heyerick A, *et al.* Constitutive expression of a grapevine stilbene synthase gene in transgenic hop (*Humulus lupulus* L.) yields resveratrol and its derivatives in substantial quantities. *J Agric Food Chem*, 2007, **55**(17): 7002–7009.
- [69] Fischer R, Budde I, Hain R. Stilbene synthase gene expression causes changes in flower colour and male sterility in tobacco. *Plant J*, 1997, **11** (3): 489–498.
- [70] Cao Y, Tang YH, Lu CY, *et al.* Study on isolation of resveratrol-producing fungus and its accumulating characteristics. *Food Sci*, 2007, **28**(5): 245–248.
曹庸, 唐永红, 卢成英, 等. 一株产白藜芦醇真菌的培养及调控研究. *食品科学*, 2007, **28**(5): 245–248.