

苦马豆素的来源、药理作用及检测方法研究进展

黄鑫, 梁剑平, 高旭东, 郝宝成*

(中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业部兽用药物创制重点实验室, 甘肃省新兽药工程重点实验室, 兰州 730050)

摘要: 吡啶里西啶类生物碱苦马豆素是疯草及其内寄生真菌的代谢产物, 其有良好的抗病毒、抗肿瘤和提高机体免疫力的作用, 具有巨大的药用潜力。作者简要阐述了苦马豆素的药理作用、检测方法、药用价值和研发潜力, 并对其来源及疯草内生真菌合成苦马豆素的相关研究进展进行总结, 以期丰富苦马豆素的来源, 为其在科研和医疗上的广泛应用提供保障。

关键词: 苦马豆素; 来源; 药理作用; 检测方法; 内生菌合成

中图分类号: S859

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)06-1075-11

Research Advance on Sources, Pharmacological Effects and Detection Methods of Swainsonine

HUANG Xin, LIANG Jian-ping, GAO Xu-dong, HAO Bao-cheng*

(Key Laboratory of New Animal Drug Project of Gansu Province/Key Laboratory of Veterinary Pharmaceutical Development of Ministry of Agriculture, Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Swainsonine, one of indole quinolizidine alkaloids, is a metabolite of locoweed and its parasitic fungi. The swainsonine has good anti-virus, anti-tumor effects and can enhance the role of immunity, has great potential for medicine development. This paper briefly expounds pharmacology, detection method, medicinal value and development potential of swainsonine. And the research progress of its source and locoweed endophytic fungus synthesizing sphaerosin were summarized to enrich swainsonine's source and provide the supply of abundant raw materials for its scientific and medical application.

Key words: swainsonine; source; pharmacologic action; detection method; endophytic fungi synthesis

苦马豆素 (swainsonine, SW) 是一种吡啶里西啶类生物碱, 是从部分疯草植物及其内生真菌中提取出来的具有抗病毒、抗肿瘤和提高免疫力等生物活性的生物碱, 也是引起家畜疯草中毒的主要原因。自 20 世纪 70 年代首次分离获得苦马豆素纯品以来, 其功能和药理作用受到人们的广泛关注。据相关报道, 直接投喂或者注射 SW 均能引起山羊、绵羊、家兔和大鼠等实验动物出现相似的病理症状, 出现的病理症状均是由 SW 竞争性抑制哺乳动物细胞

内容酶体 α -甘露糖苷酶和高尔基体甘露糖苷酶 II 的活性引起的, 进而使动物体中低聚糖代谢紊乱、糖蛋白合成受阻、组织细胞空泡化, 相关组织器官的功能紊乱甚至丧失, 最终导致动物的中毒或死亡^[1-4]。

此外, SW 还具有良好的抗肿瘤、抗病毒和提高免疫力等药理作用。陈基萍等^[5]研究发现苦马豆素还有一定的抑菌作用。但由于苦马豆素来源有限、人工合成困难、提取效率低、真菌发酵技术不成熟及市场价格昂贵等原因, 限制了其在抗病毒、抗肿瘤等

收稿日期: 2015-12-07

基金项目: 中国农业科学院科技创新工程兽用天然药物创新工程 (CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-04)

作者简介: 黄鑫 (1992-), 男, 甘肃清水人, 硕士生, 主要从事新型兽用天然药物的研究, E-mail: gsau 520@sina. cn

* 通信作者: 郝宝成 (1983-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事兽用天然药物的研究与创制研究, E-mail: haobaocheng@sina. cn

领域的应用与发展^[6-7]。

1 苦马豆素的来源

苦马豆素的结构为吡啶里西啶环 1,2,8 位上各连有一个活性羟基基团,故被称为 1,2,8-三羟基八氢吡啶里西啶或吡啶里西啶三醇。SW 具有良好的抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用,因此备受相关领域的关注。但是,SW 的来源一直是限制其在各领域发展的重要因素。SW 的主要来源大概分为三种:化学合成、植物中提取和内生真菌发酵。

1.1 化学合成苦马豆素

由于 SW 具有良好的生物活性而天然来源含量很低,因此引起化学家对其实验室合成的极大兴趣。自从 1984 年对 SW 进行首次全合成以来,研究人员已经发现了四十多种化学合成路线^[8],但由于其化学结构是由两个环共同分享一个碳原子和一个氮原子,且环上含有 3 个羟基基团,构成了 4 个手性碳原子,所以对其进行手性全合成难度很大。将现有的合成方法总结归纳,可分为以下四类:

1.1.1 利用烯炔复分解反应合成 SW 的中间体吡啶里西啶环,该类反应的关键在于将含有杂原子氮和氧的环状手性烯炔化合物经过钌催化烯炔复分解反应,合成 SW 的中间体吡啶里西啶环。典型反应是 N. Buschmann 等^[9]以具有手性的噁唑烷酮类化合物作为合成原料,经过水解、酰胺烷基化、TBDM-SOTf 保护、钌催化烯炔复分解反应得到吡咯衍生物,再经过亲核取代、脱烯丙基甲酸酯后得到不饱和的吡啶里西啶环,此反应共经过 12 步,其产率达到 40%,因其应用了烯炔复分解反应产率较高,适用于工业大规模生产 SW。此外 C. W. G. Au 等^[10]利用分子内的烷基化反应合成六氢吡啶衍生物,并选择性地获得 C-8 手性构型,然后经过钌催化烯炔复分解反应合成 SW 中间体不饱和吡啶里西啶,此反应共经过 10 步,但其产率仅为 12%。I. Déchamps 等^[11]以 L-吡咯氨酸为原料经 14 步反应,总收率为 14%。

1.1.2 经 1,3-偶极环加成反应或者双羟基化不对称反应合成 SW 的关键中间体二环内酰胺类化合物,因烯炔双羟基化反应具有所需反应条件温和,对温度、水和氧气等条件要求不严格,并且大多数烯炔能获得高产率、高 ee(对映体超量)值的光学活性邻二醇等优点,所以在 SW 合成过程中双羟基化反应起到了重要作用;此外,1,3-偶极环加成反应是合成

SW 中间体二环内酰胺类化合物的重要方法之一^[12]。

1.1.3 不对称反应和还原氨基化反应是合成 SW 的重要方法。M. Trajkovic 等^[13]用 L-脯氨酸催化二恶烷酮衍生物发生不对称性羟醛缩合反应(还原胺化反应),形成具有手性的杂环化合物,再经过 8 步反应合成 SW,总产率为 24%。不对称氧化反应体系的组成简单、合成容易、原料经济、底物具有手性选择性;还原氨基化反应条件温和、产率较高、合成方便,是合成烯胺六元环的重要方法。

1.1.4 H. Guo 等^[14]将丁内酯和 2-锂喹啉经羟基保护、Noyori 不对称还原、Achmatowicz 反应、Boc 保护及其酯化反应等,终得到吡喃酮类化合物,再经糖基化反应、二羟基化反应、氧化还原及叠氮化反应,最终成功合成 SW。P. Rajasekaran 等^[15]将抗坏血酸衍生的烯丙醇进行不同的取代,然后在加热和钨催化的条件下发生 Overman 重排反应获得 SW。

SW 的化学合成路径已经超过了四十多条,其合成步骤 8 至 20 步不等,但由于 SW 结构具有两个手性碳原子,使其合成受到限制,而且合成的产物纯度较差,所以给 SW 化学合成带来了巨大的困难和挑战。如果找到一种化学合成方法,利用简单易得的合成原料,操作条件简单,能选择性的构建手性原子,这将给 SW 的高产率低成本合成提供一条捷径,这也是化学科学家一直追求的。V. Dhand 等^[8]试图找到一种独特的方法,其不需要手性分子作为合成原料,由 5-氯戊醇为底物,以有机催化和不对称 R-氯化为基础的反应可以控制反应基团选择性构成手性中心,由于其操作简单,且原料容易获得,所以这个反应过程可能会应用于一系列吡啶里西啶、吡咯环和类吡咯环等天然产物的合成。

1.2 植物中提取苦马豆素

SW 是一种具有神经毒性的生物碱,因其最初在苦马豆(*Swainsona canescens*)中被发现,因此命名为苦马豆素;其也是豆科棘豆属和黄芪属有毒植物的主要毒性成分和动物疯草中毒的根本原因,故又称疯草毒素。此外,有报道称分布于地球南半球的某些锦葵科(*Malvaceae*)黄花稔属、旋花科(*Convolvulaceae*)的植物中也含有 SW^[16-19]。

自 20 世纪 70 年代末,澳洲科学家 Colegate 首次从灰苦马豆(*Swainsona canescens*)中分离获得 SW 以来,国内外学者先后从斑莢黄芪(*Astragalus*

membranaceus Bunge)、黄花棘豆(*Oxytropis ochrocephala*)、变异黄芪(*Astragalus variabilis* Bunge)、茎直黄芪(*Astragalus strictus* Grah. Ex Bend.)、绢毛棘豆、甘肃棘豆(*Oxytropis kansuensis*)、急弯棘豆(*Oxytropis deflexa* DC.)、宽苞棘豆(*Oxytropis latibracteata* Jurtz)、冰川棘豆(*Oxytropis glacialis* Benth)等种属的植物中提取出了 SW。A. D. Vallotton 等^[20]在实验室中移植了 3 种密柔毛黄芪属(*Astragalus mollissimus*)的植物,试验发现这 3 种密柔毛黄芪属的植物都能产生 SW,但其产 SW 的能力并不相同。B. C. Hao 等^[21]采用纤维素酶法提取西藏茎直黄芪中 SW,并用气相色谱检测其含量,试验中采用单因素设计和正交试验等方法确定了提取 SW 的最佳条件:在粉碎筛为 40 目,料液比为 1:40,温度为 50 °C 的条件下加入 3.5% 的纤维素酶酶解 3 h,其提取效率最高,此种方法可以更加高效快速、方便节能地提取茎直黄芪中的 SW。宋岩岩等^[22]将急弯棘豆植物的草粉经过酸化碱化处理后,分别用氯仿、乙酸乙酯和正丁醇等萃取,然后将萃取液在薄层板上展开,用欧氏液(Ehrlich's)显色后分析,结果显示萃取物中含有 SW,这说明急弯棘豆属于疯草类植物。五爪吉祥草 [*Reineckia carnea* (Andr.) Kunth] 属于旋花科植物^[22],D. Cook 等^[23]在检测巴西草原上五爪吉祥草时发现其中含有 SW,其含量是随着季节的变化而变化。S. Takeda 等^[24]在研究中发现,蒙古西部的许多山羊、绵羊、牛和马因摄入小花棘豆而出现共济失调、全身麻痹、肌肉震颤等神经症状,因此他们将干燥的小花棘豆植物处理后进行化学分析,发现这些植物中含有 0.02%~0.05% 的 SW。

虽然从上述植物中可以提取分离到 SW,但此类植物分布面积广泛,且大多生长在寒冷或干旱的环境恶劣地区,从植物中大量提取 SW 会对草原草场造成不可恢复性的破坏。而且从植物组织中提取 SW 过程十分复杂,提取所用溶剂不仅污染环境,且对原料利用率较低,因此在植物中提取 SW 的方法,环保性和可行性较差。

1.3 内生真菌发酵

1.3.1 疯草内生真菌 内生真菌(Endophytic fungi)是指某种真菌短暂或者长期地寄生于活的植物组织内部,但对寄生植物不会造成明显的病害症状,这种内生真菌包括病原真菌、腐生真菌和菌根菌^[25]。1985 年 K. Braun^[26]首次从绿僵菌(*M. anis-*

sopliae)中分离获得 SW,开创了从内生真菌中获得苦马豆素的先例。因此,部分研究人员认为疯草内生真菌与 SW 之间也可能存在一定联系。K. Braun 从 3 种疯草植物中分离得到内生真菌,经过形态学鉴定均属于 *Undifilum* 属真菌,并将分离到的真菌在体外培养后,在代谢产物中检测到了 SW,这是首次在人工体外培养的条件下从疯草内生菌中获得 SW。据相关文献研究,金龟子绿僵菌(*Anisopliae*)、豆类丝核菌属(*Leguminicola*)和埃里格孢属(*Undifilum*)等主要真菌都能产 SW。截至目前,从各种疯草中分离出的内生真菌均为埃里格孢属真菌(*Undifilum*)^[27]。D. Cook 等^[28]为了分析 SW、疯草植物和内生真菌之间的关系,调查了豆科中黄芪属、棘豆属和苦马豆属等能产生 SW 的 3 个属的植物,结果如表 1 所示。

K. Braun 等^[25]为了了解内生真菌与 SW 的关系,采集了 11 种有毒疯草植株,并从其中的 8 种有毒疯草植株的花、叶、茎和种子中分离出真菌,经检测均能产生 SW,在进行体外培养时发现,其具有很厚的横向隔,在培养基中生长速度十分缓慢,偶尔会产生分生孢子。将体外培养的 18 株菌株的菌丝体采用 PCR 技术扩增出菌丝体 B-微管蛋白编码区域 rDNA 的 ITS 序列,并对其进行序列分析,分析结果显示不同宿主植物、寄生在同一植株不同部位的所有的内生菌 ITS 序列基本相同,结果提示内生菌是通过植物种子垂直传播。形态学和 ITS 区序列的分析结果表明,内生菌与埃里格孢属真菌的关系最为密切。B. M. Pryor 等^[29]通过观察发现,疯草棘豆属产 SW 的内生真菌在形态结构上与埃里格孢属菌真菌(*Undifilum*)非常相似。结合形态学与线粒体小亚基 rDNA 基因分析,B. M. Pryor 将棘豆属疯草中产 SW 的内生真菌划分为子囊菌纲(*Ascomycetes*)假球壳目(*Pleosporales*)假球壳科(*Pleosporaceae*)埃里格孢菌属(*Undifilum*)。D. Cook 等^[30]在南美洲的旋花科植物五爪吉祥草中发现了一种产生 SW 的内生真菌,体外培养并提取 DNA,在对其 ITS1F 和 ITS4 基因序列进行测序时发现其为五爪吉祥草内生共菌,并在马铃薯琼脂培养基(PDA)上能够缓慢生长。用杀菌剂处理五爪吉祥草种子的试验证明该内生真菌通过植物种子进行垂直传播。

1.3.2 疯草内生真菌合成苦马豆素 SW 是从部分疯草植物内生真菌的次级代谢产物中也可以获得的具有生物活性的生物碱 SW。有学者报道,疯

表 1 黄芪属、棘豆属和苦马豆属疯草植物中产苦马豆素内生菌种类及检测方法^[28]Table 1 Species of the swainsonine Fungal endophyte in *Astragalus*, *Oxytropis* and *Swainsona* plant and the detection methods of these endophytes

疯草种类 Locoweed	内生菌种类 Endophyte	苦马豆素检测方法 Detection method of the swainsonine	真菌检测方法 Detection method of fungi	
			分离培养 Isolation and cultivation	PCR
<i>Astragalus allochrous</i>	<i>Undifilum</i> sp.	酶法		
<i>Astragalus asymmetricus</i>		TLC		
<i>Astragalus didymocarpus</i>		TLC		
<i>Astragalus lentiginosus</i>	<i>Undifilum fulvum</i>	TLC、LC-MS	×	×
<i>Astragalus drummondii</i>		酶法		
<i>Astragalus purshii</i>				
<i>Astragalus amphioxys</i>		LC-MS		×
<i>Astragalus variabilis</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS、LC-MS	×	×
<i>Astragalus emoryanus</i>		TLC、MS、酶法		
<i>Astragalus bisulcatus</i>		TLC、酶法		
<i>Astragalus strictus</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS	×	
<i>Astragalus missouriensis</i>		酶法		
<i>Astragalus flavus</i>		酶法		
<i>Astragalus humistratus</i>		酶法		
<i>Astragalus lonchocarpus</i>		酶法		
<i>Astragalus mollissimus</i>	<i>Undifilum cinerum</i>	TLC、LC-MS、酶法	×	×
<i>Astragalus nothoxys</i>				
<i>Astragalus oxyphysus</i>		TLC		
<i>Astragalus pycnostachyus</i>		TLC		
<i>Astragalus pehuenches</i>		TLC		
<i>Astragalus praelongus</i>		TLC/酶法		
<i>Astragalus pubentissimus</i>	<i>Undifilum</i> sp.	LC-MS	×	×
<i>Astragalus wootoni</i>	<i>Undifilum</i> sp.	TLC、LC-MS	×	×
<i>Astragalus tephrodes</i>		酶法		
<i>Astragalus thurberi</i>		酶法		
<i>Oxytropis glacialis</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS	×	
<i>Oxytropis kansuensis</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS	×	
<i>Oxytropis besseyi</i>				
<i>Oxytropis glabra</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS、LC-MS	×	×
<i>Oxytropis campestris</i>				
<i>Oxytropis sericea</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	TLC、LC-MS、酶法		
<i>Oxytropis lambertii</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	TLC、GC-MS、LC-MS、酶法	×	×
<i>Oxytropis ochrocephala</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS	×	
<i>Oxytropis sericopetala</i>	<i>Undifilum oxytropis</i>	GC-MS	×	×
<i>Swainsona greyana</i>		GC-FID		
<i>Swainsona canescens</i>	<i>Undifilum</i> sp.	GC-FID、LC-MS	×	×
<i>Swainsona galegifolia</i>		GC-FID		

“×”表示首次检测到此种真菌的检测方法

× means the method detected the fungi first time

草中 SW 的含量与疯草感染内生真菌的数量具有较高的相关性^[31]。E. Oldrup 等^[32]在一种疯草植物中发现了内生真菌 *Undifilum oxytropis*, 在利用 PCR 定量技术测定疯草植物中所含内生真菌的浓度时发现, 植物中所含内生真菌的浓度与其所含 SW 的含量成正相关; 在没有检测到 SW 的疯草植株中也没有检测到 *Undifilum oxytropis* 内生真菌的存在。结果表明, 疯草植物中 SW 是由植株中的共生内生菌合成产生。D. Cook 等^[33]指出, 内生真菌的基因型可能是影响 SW 在不同植株中含量不同的原因。其在同一生长条件下种植同种绢毛棘豆植株, 在这些植株中检测 SW 的含量时发现, 在同一生长条件下不同的植株之间 SW 的含量是有差异的, 这说明了不同植株所侵染的内生真菌的基因型不同, 其产生苦马豆素的能力不同。

近年来, 疯草内生真菌合成 SW 的学说已经被大多数学者所认同。为了提高疯草内生真菌产生 SW 的产量, 张蕾蕾等^[34]研究不同环境因素对内生真菌 *Undifilum oxytropis* 产生 SW 的能力及生长的影响, 设计了不同培养条件对疯草内生真菌生长的影响, 结果表明, 不同培养条件对其真菌的生长和 SW 的产量均有影响, 且 *U. oxytropis* 真菌具有自我调节适应环境的能力, 偏酸或偏碱条件均可促进 SW 合成。L-哌可酸、L-赖氨酸和 α -酮戊二酸等可能是合成 SW 的前体物质, 所以均会对 SW 的合成产生影响, 且各物质在培养基中的浓度与 SW 的产率密切相关。郭伟等^[35]设计了对产生 SW 真菌埃里格孢菌 FEL3 菌株的发酵培养条件优化试验, 最后通过测定菌丝中 SW 的含量确定最佳培养条件: 碳源为燕麦片、氮源为豆粉、无机盐为 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、培养基初始 pH 为 6.5~7.0、接种量为体积分数的 8% 时, 埃里格孢菌 FEL3 菌丝和菌液中 SW 浓度都显著高于其他组。陈基萍等^[36]对产生 SW 的内生菌菌株 *Aspergillus ustus* 的培养发酵条件进行优化筛选, 结果表明, 菌株 *Aspergillus ustus* 在豆粕培养基, 硝酸钾、麦芽糖分别为 $16.80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 为 6.0, 温度为 35 °C 的条件下培养时生长状态最佳, 且 SW 的产量显著高于其他组。真菌原生质体的制备是研究真菌遗传转化和基因组学的重要工具, 疯草内生真菌原生质体可以进一步确定疯草内生真菌合成 SW 的相关基因功能, 阐明分子调控机制, 提高疯草内生真菌合成产生 SW 的产量。张蕾蕾等^[37]对产生 SW 内生真菌 *Undifilum oxytropis* 进行酶解, 把

菌体的细胞壁用溶壁酶溶解后将原生质体释放, 然后把原生质体接种于 PDA 培养基中培养 30 d, 最后经过对原生质体再生菌丝中 SW 的含量测定, 结果显示再生菌丝中 SW 的含量略高于野生菌株的菌丝。

2 苦马豆素的药理作用

SW 具有良好的抗病毒、抗肿瘤和提高机体免疫力作用, 并能够很好地抑制肿瘤细胞的转移和增长。

2.1 抗病毒作用

SW 是内生真菌的次级代谢产物, 具有较好的抗病毒效果。Y. Tanaka 等^[38]研究证明 SW 对 3 型人副流感病毒 (HPIV3) 具有一定的抑制作用, 其作用机制是 SW 通过对内质网中 α -甘露糖苷酶抑制导致内质网功能丧失, 阻止了 HPIV3 表面蛋白血凝素—神经氨酸酶 (HN) 和融合 (F) 蛋白的表达, 降低病毒侵染细胞的能力, 从而达到抗病毒的效果。刘文明等^[39]使用 SW 治疗鸡马立克病 (MD) 的试验表明, 其可以维持鸡体内的白细胞、血清磷酸酶 (AKP) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 水平, 发挥其免疫调节作用, 同时 SW 能有效抑制 MD 肿瘤的形成和转移, 具有良好的抗肿瘤作用。吴延磊等^[40]研究金龟子绿僵菌次级代谢产物 SW 对鸡新城疫病毒 (NDV) 疫苗的影响, 试验中用 14 日龄雏鸡建立新城疫病毒模型, 将其分 SW 高、中、低剂量组 and 对照组, 再使用新城疫病毒疫苗免疫治疗, 结果显示, SW 治疗组雏鸡体内的抗新城疫病毒抗体显著高于对照组, 这说明 SW 与新城疫病毒疫苗联用可增强免疫效果, 并对新城疫病毒有一定的抑制作用。郝宝成等^[41]发现在一定剂量范围内, 体外 SW 能有效地抑制牛病毒性腹泻病毒 (BVDV) 的增殖和感染, 并推测其能直接灭活游离的牛病毒性腹泻病毒。

2.2 抗肿瘤作用

SW 能够促进肿瘤细胞凋亡, 以达到治疗癌症的效果。目前, 国外已进入药物 III 期临床阶段, P. E. Goss 等^[42]通过静脉注射 SW 的方式为肿瘤患者治疗, 在 6 周后肿瘤患者的肿瘤减小了一半, 其中 2 位淋巴瘤患者在静脉注射 SW 一周后, 临床症状有了明显减轻。J. Hamaguchi 等^[43]研究发现, SW 能阻止大肠癌细胞转移扩散, 降低其对抗癌药物 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil) 的耐受性, 能提高大肠癌的化疗效果。此外, F. M. Santos 等^[44]发现 SW 对艾

氏腹水癌(Ehrlich ascites carcinoma, EAC)的治疗药物顺铂(cisplatin)有增效作用。N. You等^[45]使用SW对HepG2、SMCC7721、Huh7、MHCC97-H和HL-7702等人肝癌细胞进行治疗的试验发现,其对肝癌细胞具有良好的抑制作用,但对人体正常的肝细胞并无损伤。由于MHCC97-H肝癌细胞具有高度的增殖性和致癌性,研究者选择使用其作为肝癌细胞模型,在对其用SW治疗时发现,其能显著抑制MHCC97-H肝癌细胞的生长,且在G0/G1细胞周期诱导癌细胞凋亡。苦马豆素是如何诱导癌症细胞的凋亡呢? N. You发现SW能使肝癌细胞在G0/G1期的细胞周期蛋白(D1和E)减少,而细胞周期蛋白依赖性激酶(Cdk2的和Cdk4的)CDK抑制剂p21和p27蛋白增加,从而导致癌症细胞凋亡。SW能增强MHCC97-H肝癌细胞中*Bax*基因表达的上调和*Bcl-2*基因表达的下调,继而导致其细胞凋亡。此外,SW还能通过限制紫杉醇诱导的核因子 κ B(NF- κ B)的积累,使其在体内外的细胞毒性作用增强,这说明SW可以直接抑制肝癌细胞的生长,减轻紫杉醇治疗肝癌细胞时的过度反应。D. Singh等^[46]用SW对HL-60白血病细胞进行治疗时发现其能减少细胞周期蛋白(D1和E)表达,增加细胞周期蛋白依赖性激酶CDK抑制剂p21和p27蛋白的表达,从而达到对HL-60白血病细胞的治疗效果。可见,SW具有巨大的药用价值和科研潜力,但是长期使用又会对机体造成一定的损伤,如何将其制成高效、安全的抗癌药物将成为当前及今后研究的热点。

2.3 调节机体免疫力

苦马豆素不仅具有良好的抗癌、抗病毒作用,同时还是一种具有较强活性的免疫调节剂。O. A. Oredipe等^[47]研究发现SW能够刺激骨髓细胞增殖,提高骨髓细胞转化为淋巴细胞的能力,增强机体的免疫系统功能。张志敏等^[48]研究发现SW能激活小鼠腹腔免疫系统生成巨噬细胞,提高一氧化氮合酶的活性和TNF- α 的水平,提高机体免疫系统功能。试验还表明高剂量的SW能抑制巨噬细胞的形成。因此,SW可以通过双向调节腹腔巨噬细胞发挥免疫作用。

淋巴细胞是体现机体免疫系统功能的表征之一,T淋巴细胞是免疫系统最为多样和多效的一种免疫细胞。T细胞按其表面表达CD分子的不同一般分为CD₄⁺T淋巴细胞和CD₈⁺T淋巴细胞两

大类。CD₄⁺T淋巴细胞在机体免疫应答反应中主要起免疫调节作用,通过此作用,使机体针对不同抗原的免疫应答朝着定向类型发展,达到完全清除体内病原体的目的;CD₈⁺T淋巴细胞主要通过细胞毒作用发挥作用,杀死体内被病毒(细菌)感染的细胞、胞内寄生菌感染的细胞和肿瘤细胞等,并将其吞噬消化。张建军等^[49]给小鼠灌服一定剂量的SW,利用流式细胞仪分析血液中T淋巴细胞的种类和数量,发现适当剂量SW给药的小鼠体内CD₄⁺/CD₈⁺的比值比正常数值显著提高。这说明,低剂量SW能提高小鼠的免疫能力,而中、高剂量SW只能在短时间内提高小鼠的免疫机能,高剂量长时间给药反而会降低小鼠的免疫能力。

3 苦马豆素的检测方法

根据文献报道,现有的检测SW方法主要有薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)、气相色谱法(gas chromatography, GC)、气相-质谱联用法(GC-MS)、高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)、液相-质谱联用法(LC-MS)、 α -甘露糖苷酶活性抑制分析法(α -mannosidase activity inhibition analysis, α -MIA)等^[50-51]。

R. J. Molyneux等^[52]采用薄层色谱法检测SW,其建立了SW的Ehrlich's试剂显色方法,该方法不仅具有特异性,而且灵敏度较高、应用广泛、操作方便、经济实用,但检测时易受硅胶板薄厚、硅胶粒度、板面平整度及边缘效应等因素影响。气相色谱法(GC)和气质联用法(GC-MS),采用气相色谱法检测SW前,需将样品制备为容易气化并且稳定的衍生物,比薄层色谱方法操作复杂,但检出率较高、灵敏度较高。气质联用检测SW主要是用于定性分析,可用于检测SW是否存在^[53]。在检测SW的方法中,LC-MS和HPLC法应用广泛,其优点是迅速、连续、高效、灵敏。HPLC法需根据检测物质的性质选择适当的检测器,目前常用检测器为DAD、MS、ELSD和PAD等。LC-MS法检测SW时,对于样品的处理要求不高,且具有极高的灵敏度,但是仪器成本过高。由于SW阳离子与甘露糖苷水解过程中形成的甘露糖阳离子的半椅式空间结构非常相似,SW竞争性抑制 α -甘露糖苷酶活性, α -MIA法就是按这一原理间接分析SW的含量。该法对检测样品的要求较低,方法简单快捷,适用于大

量样品的检测,但是准确度较差,检测范围较窄。此外还有荧光光谱法、离子抑制色谱法等^[54-55],各种检

测方法对照如表 2 所示。

表 2 各种检测方法的比较

Table 2 Comparison of the detection methods of swainsonine

检测方法 Method	适用范围 Sample	样品条件要求 Requirement	最低检出限/(mg·g ⁻¹) Lowest detection limit	文献来源 Reference
薄层色谱	各种样品	不严格	0.50×10 ⁻³	[56]
气相质谱联用	提取物	需制备衍生物	0.10×10 ⁻⁹	[57]
液相质谱联用	提取物	需制备衍生物	0.10×10 ⁻⁹	[58]
酶分析法	血清、乳样品	pH、温度限制	0.50×10 ⁻³	[59]
荧光光谱	食糜样品、提取物	需除杂	0.10×10 ⁻⁸	[54]
离子抑制色谱	提取物	不严格	0.29×10 ⁻⁴	[55]

4 结论与展望

SW 具有良好的抗病毒、抗肿瘤和提高免疫力等药用作用和科研价值,其发展前景广阔。近年来,国内外学者对其抗病毒作用研究主要集中在 3 型人副流感病毒^[38]、牛腹泻病毒^[41]、鸡马立克病毒^[39-40]等研究上,并且证明 SW 能通过抑制内质网和高尔基体中 α -甘露糖苷酶的活性,阻止病毒自身蛋白质的合成,并发挥免疫调节作用,提高机体的防御系统来实现抗病毒作用;但其抗病毒作用机制阐述并不是十分清楚,适用范围也有待进一步发掘。SW 抗肿瘤效果显著,受到国内外学者的广泛关注,在美国 SW 已经进入抗肿瘤药物 III 期临床阶段^[61],但在国内 SW 抗肿瘤研究属于起步阶段,其抗肿瘤的作用机制尚不明确,在细胞水平上的作用靶点和代谢通路等相关研究鲜有报道。虽然 SW 在抗病毒、抗肿瘤方面效果显著,但其在植物体内的含量较低,加之提取工艺落后,提取效率较低,人工合成的成本过高,产率较低,导致 SW 的价格高昂、使用范围有限^[61]。SW 的来源将成为限制其发展和应用的最大难题,因此拓宽其新的来源将成为今后研究的主要方向。目前,许多研究人员通过真菌发酵方法来解决其来源短缺问题,疯草内生真菌、金龟子绿僵菌和豆类丝核真菌均能合成 SW,但是 SW 是如何在这些菌中合成代谢的,其合成机制与代谢途径也不完全清楚。

近年来,合成生物学的概念逐渐被引入到天然产物学领域,已经应用于青蒿素、紫杉醇等多种天然

药物的合成^[62]。将合成生物学、基因工程学、蛋白质组与代谢组学等多种方法相结合,研究这些真菌合成 SW 的代谢途径,找到与合成 SW 相关的关键基因。一方面,可利用基因工程技术、蛋白质组学技术和微生物诱变技术等,将关键基因导入高表达目标载体,改造出一株生长周期短、产量高的菌株,以便 SW 的大规模工业生产与应用,解决其来源问题。另一方面,可以利用基因敲除技术、RNA 干扰等,将内生菌中合成 SW 的关键基因敲除,或转录后沉默与其相关的基因表达,培育营养价值高且无毒“疯草”新品种。

参考文献 (References):

- [1] 路浩,荣杰,赵宝玉,等. 苦马豆素对 SD 大鼠血液生化指标的影响[J]. 中国兽医学报, 2012, 32(3): 451-456.
LU H, RONG J, ZHAO B Y, et al. Effects of swainsonine on biochemical indicators of blood in SD rat [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2012, 32(3): 451-456. (in Chinese)
- [2] 王姗姗,王保海,杨晓雯,等. 疯草自然中毒羊组织病理学观察及苦马豆素检测[J]. 西南农业学报, 2014, 27(2): 873-877.
WANG S S, WANG B H, YANG X W, et al. Pathological observation and swainsonine determination on spontaneous locoweeds intoxication of goats [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 27(2): 873-877. (in Chinese)
- [3] 王帅,陈根元,张玲,等. 苦马豆素抗血清治疗家兔小花棘豆中毒[J]. 中国兽医学报, 2013, 33(12):

- 1912-1916,1922.
- WANG S, CHEN G Y, ZHANG L, et al. Treatment effects of serum against swainsonine on rabbits poisoned by *Oxytropis glabra* DC[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2013, 33 (12): 1912-1916, 1922. (in Chinese)
- [4] 郝宝成, 杨贤鹏, 王学红, 等. 速康解毒口服液对家兔茎直黄芪中毒的疗效研究[J]. 畜牧兽医杂志, 2014, 33(2): 1-5.
- HAO B C, YANG X P, WANG X H, et al. Effect and efficacy assessment of Su-Kang detoxification oral liquid on *Astragalus strictus* poisoned rabbits[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2014, 33(2): 1-5. (in Chinese)
- [5] 陈基萍, 赵宝玉, 路浩, 等. 中国主要疯草内生真菌分离鉴定及其抑菌活性研究[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(9): 1471-1478.
- CHEN J P, ZHAO B Y, LU H, et al. Study on isolation, identification and the antibacterial activity of endophytic fungi from the major locoweed in China[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2012, 43(9): 1471-1478. (in Chinese)
- [6] 马尧, 路浩, 赵宝玉, 等. 产苦马豆素真菌的筛选与鉴定[J]. 畜牧兽医学报, 2010, 41(5): 621-629.
- MA Y, LU H, ZHAO B Y, et al. Screening and identification of swainsonine-secreting fungal[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2010, 41(5): 621-629. (in Chinese)
- [7] 崔振, 李彦忠. 豆科植物疯草中内生真菌及其作用[J]. 草业科学, 2014, 31(9): 1686-1695.
- CUI Z, LI Y Z. An overview of study on legume plant locoweed endophyte[J]. *Pratacultural Science*, 2014, 31(9): 1686-1695. (in Chinese)
- [8] DHAND V, DRAPER J A, MOORE J, et al. A short, organocatalytic formal synthesis of (-)-swainsonine and related alkaloids[J]. *Org Lett*, 2013, 15(8): 1914-1917.
- [9] BUSCHMANN N, RÜCKERT A, BLECHERT S. A new approach to (-)-swainsonine by ruthenium-catalyzed ring rearrangement[J]. *J Org Chem*, 2002, 67 (12): 4325-4329.
- [10] AU C W G, PYNE S G. Asymmetric synthesis of anti-1, 2-amino alcohols via the borono-mannich reaction; a formal synthesis of (-)-swainsonine [J]. *J Org Chem*, 2006, 71(18): 7097-7099.
- [11] DÉCHAMPS I, PARDO D G, COSSY J. Enantioselective ring expansion of prolinol derivatives. Two formal syntheses of (-)-swainsonine [J]. *Tetrahedron*, 2007, 63(37): 9082-9091.
- [12] BENNETT R B, CHOI J R, MONTGOMERY W D, et al. A short, enantioselective synthesis of (-)-swainsonine[J]. *J Am Chem Soc*, 1989, 111(7): 2580-2582.
- [13] TRAJKOVIC M, BALANAC V, FERJANCIC Z, et al. Total synthesis of (+)-swainsonine and (+)-8-*epi*-swainsonine[J]. *RSC Adv*, 2014, 4: 53722-53724.
- [14] GUO H, O' DOHERTY G A. De novo asymmetric synthesis of the anthrax tetrasaccharide by a palladium-catalyzed glycosylation reaction [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, 46(27): 5206-5208.
- [15] RAJASEKARAN P, ANSARI A A, VANKAR Y D. Diastereoselective overman rearrangement of an L-ascorbic-acid-derived allylic alcohol: application in the synthesis of (+)-1, 2-Di-*epi*-swainsonine and a tetrahydroxypyrrrolizidine[J]. *Eur J Org Chem*, 2015(13): 2902-2913.
- [16] DE BALOGH K K, DIMANDE A P, VAN DER LUGT J J, et al. A lysosomal storage disease induced by *Ipomoea carnea* in goats in Mozambique[J]. *J Vet Diagn Invest*, 1999, 11(3): 266-273.
- [17] DANTAS A F, RIET-CORREA F, GARDNER D R, et al. Swainsonine-induced lysosomal storage disease in goats caused by the ingestion of *Turbina cordata* in Northeastern Brazil [J]. *Toxicon*, 2007, 49 (1): 111-116.
- [18] COLODEL E M, GARDNER D R, ZLOTOWSKI P, et al. Identification of swainsonine as a glycoside inhibitor responsible for *Sida carpinifolia* poisoning[J]. *Vet Hum Toxicol*, 2002, 44(3): 177-178.
- [19] 赵清梅, 余永涛, 何生虎, 等. 苦马豆素的来源及其生物合成研究进展[J]. 农业科学研究, 2012, 33(4): 82-88.
- ZHAO Q M, YU Y T, HE S H, et al. Research advances in sources and biosynthesis swainsonine[J]. *Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 33(4): 82-88. (in Chinese)
- [20] VALLOTTON A D, MURRAY L W, DELANEY K J, et al. Water deficit induces swainsonine of some locoweed taxa, but with no swainsonine-growth trade-off[J]. *Acta Oecologica*, 2012, 43: 140-149.
- [21] HAO B C, YANG X P, WANG X H, et al. Cellulase extraction and gas chromatography detection technology of swainsonine from *Astragalus strictus* in Tibet[J]. *Agric Sci Technol*, 2013, 14(8): 1163-1166.
- [22] 宋岩岩, 赵宝玉, 路浩, 等. 急弯棘豆生物碱成分薄

- 层色谱分析及苦马豆素分离[J]. 西北农业学报, 2012, 21(7): 25-29.
- SONG Y Y, ZHAO B Y, LU H, et al. The alkaloids analysis of *Oxytropis deflexa* by the thin-layer chromatography and separation of swainsonine[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2012, 21(7): 25-29. (in Chinese)
- [23] COOK D, OLIVEIRA C A, GARDNER D R, et al. Changes in swainsonine, calystegine, and nitrogen concentrations on an annual basis in *Ipomoea carnea* [J]. *Toxicon*, 2015, 95: 62-66.
- [24] TAKEDA S, TANAKA H, SHIMADA A, et al. Cerebellar ataxia suspected to be caused by *Oxytropis glabra* poisoning in western Mongolian goats[J]. *J Vet Med Sci*, 2014, 76(6): 839-846.
- [25] BRAUN K, ROMERO J, LIDDELL C, et al. Production of swainsonine by fungal endophytes of locoweed [J]. *Mycol Res*, 2003, 107(Pt 8): 980-988.
- [26] BRAUN K. Fungal endophyte infection and swainsonine toxicity in locoweed[D]. New Mexico State University, 1999.
- [27] 陈基萍, 马 尧, 路 浩, 等. 疯草内生真菌研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 77-81.
- CHEN J P, MA Y, LU H, et al. Progress on locoweed-fungal endophyte [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2011, 32(2): 77-81. (in Chinese)
- [28] COOK D, GARDNER D R, PFISTER J A. Swainsonine-containing plants and their relationship to endophytic fungi[J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(30): 7326-7334.
- [29] PRYOR B M, CREAMER R, SHOEMAKER R A, et al. *Undifilum*, a new genus for endophytic *Embellisia oxytropis* and parasitic *Helminthosporium bornmuelleri* on legumes[J]. *Botany*, 2009, 87(2): 178-194.
- [30] COOK D, BEAULIEU W T, MOTT I W, et al. Production of the alkaloid swainsonine by a fungal endosymbiont of the Ascomycete order Chaetothiales in the host *Ipomoea carnea* [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(16): 3797-3803.
- [31] COOK D, GARDNER D R, RALPHS M H, et al. Swainsonine concentrations and endophyte amounts of *Undifilum oxytropis* in different plant parts of *Oxytropis sericea* [J]. *J Chem Ecol*, 2009, 35(10): 1272-1278.
- [32] OLDRUP E, MCLAIN-ROMERO J, PADILLA A, et al. Localization of endophytic *Undifilum* fungi in locoweed seed and influence of environmental parameters on a locoweed *in vitro* culture system[J]. *Botany*, 2010, 88(5): 512-571.
- [33] COOK D, GRUM D S, GARDNER D R, et al. Influence of endophyte genotype on swainsonine concentrations in *Oxytropis sericea* [J]. *Toxicon*, 2013, 61: 105-111.
- [34] 张蕾蕾, 余永涛, 何生虎, 等. 不同因素对疯草内生真菌合成苦马豆素的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(1): 163-173.
- ZHANG L L, YU Y T, HE S H, et al. Influence of different factors on swainsonine production in fungal endophyte from locoweed [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnical Sinica*, 2015, 46(1): 163-173. (in Chinese)
- [35] 郭 伟, 李勤凡, 孔祥雅, 等. 埃里格孢菌 FEL3 产 SW 发酵培养条件的优化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(8): 34-38.
- GUO W, LI Q F, KONG X Y, et al. Optimization of fermentation conditions for producing SW by *Undifilum oxytropis* FEL3 [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2011, 39(8): 34-38. (in Chinese)
- [36] 陈基萍, 赵宝玉, 路 浩, 等. 产苦马豆素菌株 *Aspergillus ustus* 发酵工艺研究[J]. 中国兽医学报, 2013, 33(3): 423-427.
- CHEN J P, ZHAO B Y, LU H, et al. The fermentation condition optimization of swainsonine-producing endophyte *Aspergillus ustus* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2013, 33(3): 423-427. (in Chinese)
- [37] 张蕾蕾, 何生虎, 余永涛, 等. 产苦马豆素疯草内生真菌 *Undifilum oxytropis* 原生质体的制备和再生[J]. 动物医学进展, 2015, 36(2): 54-58.
- ZHANG L L, HE S H, YU Y T, et al. Preparation and regeneration of protoplasts of the swainsonine-producing endophytic fungi *Undifilum oxytropis* [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2015, 36(2): 54-58. (in Chinese)
- [38] TANAKA Y, KATO J, KOHARA M, et al. Antiviral effects of glycosylation and glucose trimming inhibitors on human parainfluenza virus type 3 [J]. *Antiviral Res*, 2006, 72(1): 1-9.
- [39] 刘文明, 童德文, 李 立, 等. 苦马豆素对鸡马立克氏病血液学指标的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(3): 85-89.
- LIU W M, TONG D W, LI L, et al. Effects of swainsonine on hematology of Marek's disease [J]. *Journal*

- of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2008, 36(3): 85-89. (in Chinese)
- [40] 吴延磊, 杨鸣琦, 商育锦, 等. 苦马豆素对新城疫疫苗免疫效果的影响[J]. 西北农业学报, 2011, 20(8): 25-29.
WU Y L, YANG M Q, SHANG Y J, et al. Effects of the secondary metabolites of *Metarhizium anisopliae* on newcastle disease vaccine[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2011, 20(8): 25-29. (in Chinese)
- [41] 郝宝成, 武凡琳, 邢小勇, 等. 苦马豆素抗牛病毒性腹泻病毒的研究[J]. 中国农业科学, 2014, 47(1): 170-181.
HAO B C, WU F L, XING X Y, et al. Study on inhibitory effect of the swainsonine from alkaloid of *Astragalus strictus* Grah. Ex bend on bovine viral diarrhoea virus[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47(1): 170-181. (in Chinese)
- [42] GOSS P E, BAPTISTE J, FERNANDES B, et al. A phase I study of swainsonine in patients with advanced malignancies [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(6): 1450-1457.
- [43] HAMAGUCHI J, NAKAGAWA H, TAKAHASHI M, et al. Swainsonine reduces 5-fluorouracil tolerance in the multistage resistance of colorectal cancer cell lines[J]. *Mol Cancer*, 2007, 6: 58.
- [44] SANTOS F M, LATORRE A O, HUEZA I M, et al. Increased antitumor efficacy by the combined administration of swainsonine and cisplatin *in vivo* [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(12): 1096-1101.
- [45] YOU N, LIU W, WANG T, et al. Swainsonine inhibits growth and potentiates the cytotoxic effect of paclitaxel in hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Rep*, 2012, 28(6): 2091-2100.
- [46] SINGH D, KAUR G. The antileukaemic cell cycle regulatory activities of swainsonine purified from *Metarhizium anisopliae* fermentation broth [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(22): 2044-2047.
- [47] OREDIPE O A, FURBERT-HARRIS P M, GREEN W R, et al. Swainsonine stimulates bone marrow cell proliferation and differentiation in different strains of inbred mice [J]. *Pharmacol Res*, 2003, 47(1): 69-74.
- [48] 张志敏, 王建华, 赵兴华, 等. 苦马豆素对小鼠腹腔巨噬细胞免疫功能的影响 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(10): 3422-3428.
ZHANG Z M, WANG J H, ZHAO X H, et al. Effects of swainsonine on immune function of peritoneal macrophages in mice [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(10): 3422-3428. (in Chinese)
- [49] 张建军, 韩敏, 王宇, 等. 小花棘豆生物碱对小白鼠外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄⁺, CD₈⁺ 免疫功能的影响 [J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 34(4): 3-6.
ZHANG J J, HAN M, WANG Y, et al. Effects of *Oxytropis glabra* alkaloids on mice peripheral blood T lymphocyte subsets CD₄⁺ and CD₈⁺ immune function [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2013, 34(4): 3-6. (in Chinese)
- [50] 郝宝成, 杨贤鹏, 胡永浩, 等. 苦马豆素提取工艺及检测方法研究进展 [J]. 动物医学进展, 2014, 35(2): 85-90.
HAO B C, YANG X P, HU Y H, et al. Progress on extraction technology and detecting methods of swainsonine [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2014, 35(2): 85-90. (in Chinese)
- [51] 刘忠艳, 赵宝玉, 孙莉莎, 等. 苦马豆素来源及其检测方法的研究进展 [J]. 中国兽医科学, 2008, 38(2): 175-180.
LIU Z Y, ZHAO B Y, SUN L S, et al. Research advances in swainsonine resources and its detection methods [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2008, 38(2): 175-180. (in Chinese)
- [52] MOLYNEUX R J, ROITMAN P N. Specific detection of pyrrolizidine alkaloids on thin layer chromatograms [J]. *J Chromatogr*, 1980, 195: 412-415.
- [53] LU H, WANG S S, ZHAO B Y. Isolation and identification of swainsonine from *oxytropis glabra* and its pathological lesions to SD rats [J]. *Asian J Anim Vet Adv*, 2012, 7(9): 822-831.
- [54] ANDERSON D M, RAYSON G D, OBEIDAT S M, et al. Use of fluorometry to differentiate among clipped species in the genera *Astragalus*, *Oxytropis*, and *Pleuraphis* [J]. *Rangeland Ecology & Management*, 2006, 59(5): 557-563.
- [55] 郭治安, 张小辉, 赵景婵, 等. 离子抑制色谱法测定棘豆属植物提取物中的苦马豆素 [J]. 色谱, 2006, 24(6): 656.
GUO Z A, ZHANG X H, ZHAO J C, et al. Swainsonine extraction by ion suppression chromatography determination of *Oxytropis* plants [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, 24(6): 656. (in Chinese)
- [56] 童德文, 曹光荣, 耿果霞, 等. 薄层扫描测定 5 种疯草中苦马豆素含量 [J]. 中国兽医学报, 2003, 23(2): 183-184.

- TONG D W, CAO G R, GENG G X, et al. Determination on content of swainsonine in five locoweeds[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2003, 23(2): 183-184. (in Chinese)
- [57] MOLYNEUX R J, JAMES L F. Swainsonine, the Locoweed Toxin; Analysis and Distribution[M]. // Keebler R F, Tu A T. *Toxicology of Plant and Fungal Compounds*. Ames Iowa: Iowa State University Press, 1988. 191-210.
- [58] GARDNER D R, MOLYNEUX R J, RALPHS M H. Analysis of swainsonine; extraction methods, detection, and measurement in populations of locoweeds (*Oxytropis spp.*) [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(10): 4573-4580.
- [59] SIM K L, PERRY D. Swainsonine production by *Metarhizium anisopliae* determined by means of an enzymatic assay [J]. *Mycol Res*, 1995, 99(9): 1078-1082.
- [60] 路 浩, 王建军, 孙莉莎, 等. 苦马豆素抗肿瘤作用研究进展[J]. *动物医学进展*, 2009, 30(9): 87-90.
- LU H, WANG J J, SUN L S, et al. Progress on antineoplastic activity of swainsonine [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2009, 30(9): 87-90. (in Chinese)
- [61] 叶思杰, 刘建利, 黄伟平. 抗癌天然产物苦马豆素的合成研究进展[J]. *有机化学*, 2009, 29(5): 689-695.
- YE S J, LIU J L, HUANG W P. Progress in the synthesis of anticancer natural product swainsonine [J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2009, 29(5): 689-695. (in Chinese)
- [62] 林章凜, 张 艳, 王 胥, 等. 合成生物学研究进展[J]. *化工学报*, 2015, 66(8): 2863-2871.
- LIN Z B, ZHANG Y, WANG X, et al. Recent advances in synthetic biology [J]. *CIESC Journal*, 2015, 66(8): 2863-2871. (in Chinese)

(编辑 白永平)