

蜂胶化学成分研究进展*

□南 垚 郭 伽 郑莲香 周立东**

(中国医学科学院 药用植物研究所天然药物研究中心 北京 100094)
(中国协和医科大学)

摘要:本文综述 1996 年以来蜂胶化学成分研究的报道,介绍新发现的化合物及其药理活性和部分地区蜂胶的植物来源。认为,可以人为选择有杨树等首选胶源植物分布的地点放养采胶,控制蜂胶的主要成分,稳定质量。首次提出,可以用苷类化合物的存在与否作为鉴别胶源植物人工提取物与天然蜂胶的重要依据之一。

关键词:蜂胶 苷类化合物 化学成分 药理活性 植物来源

蜂胶是意蜂(*Apis mellifera* L.)采集杨树等植物的新生枝芽和愈伤组织的分泌物,并与其上腭腺和蜡腺的分泌物混合所形成的一种粘性物质。意蜂利用蜂胶填充蜂箱的缝隙、缩小巢门等,是一种天然的防卫物质。蜂胶在西方有悠久的药用历史,相关研究报道也很多。国内已经有蜂胶作为主要原料的准字药品。2005 版《中国药典》一部已经收录蜂胶。

蜂胶的化学成分非常复杂,药理活性也很多样。世界各地不同产区的蜂胶,其化学成分的组成和药理活性的特点常常有很大差异,因此需要深入的研究。本课题组曾经就 1995 年以前国际上对蜂胶化学成分的研究进行过综述^[1]。本文综述 1996 年以来的更多研究进展,介绍新发现的化合物及其药理活性,以及部分地区蜂胶的植物来源。

一、北温带地区蜂胶的化学成分

虽然新西兰位于南半球并远离其他大陆,但由于蜜蜂和很多植物都是由欧洲和北美洲引进的,因此把新西兰蜂胶列入北温带范畴。Markham 等^[2]1996 年对新西兰蜂胶香脂进行了定性和定量分析。用高效液相色谱法检测出生松素醇、生松素、生松素醇-3-乙酸酯、白杨素、高良姜素、生松素-7-甲醚、白杨素-7-甲醚和高良姜素-7-甲醚等 8 个黄酮类化合物,用合成的 5,7-二甲基-4-甲氧基黄烷酮为内标对这些黄酮成分进行定量分析。此外还用气相色谱-质谱法检测出 18 个芳香族和 10 个脂肪族化合物。其中,5-苯基-反-3-戊烯酸和 5-苯基-反-反-2,4-二烯酸为 2 个新化合物,通过与合成标准样品的比较证实了结构。

定性分析结果,新西兰蜂胶与欧洲和北美洲蜂胶的化学成分相似,表明其主要来源于从欧洲和北

收稿日期:2005-10-20

修回日期:2006-01-12

* 国家药典委员会项目:2005 版《中国药典》拟(新)增蜂胶药材标准的起草,负责人:周立东。

** 联系人:周立东,副教授,主要从事天然产物化学研究和中药现代化理论与应用研究,Tel: 010-62813152,62813152,E-mail: ldzhou@implad.ac.cn。

美洲引进的杨树。但在新西兰蜂胶中二氢黄酮类化合物的含量异常高,生松素醇、生松素和生松素醇-3-乙酸酯约占总黄酮的70%,这是欧洲和北美洲蜂胶所不具有的特点。三角叶杨(*Cassinia leptophylla*)是新西兰分布很广的当地原生植物,生松素、生松素醇和生松素醇-3-乙酸酯是其叶子分泌物中的主要成分。不排除三角叶杨作为蜂胶来源的可能性。

Bors等证明,二氢黄酮类化合物在体内有保护维生素C免受消耗的作用。Choi等证明二氢黄酮类化合物有降血脂作用。新西兰蜂胶中的二氢黄酮类化合物含量高可能是其市场销路好的原因。

Tomas-Barberan等^[1]1997年从突尼斯蜂胶中分离出2个黄酮类化合物3,7,4',5'-四甲基杨梅素和3,7,3-三甲基槲皮素(pachypodol)。前者为新化合物。这两个化合物均为岩玫瑰属植物和老鹳草属植物叶子分泌物中的特征成分。可见,在位于北温带与热带分界地区的突尼斯,蜜蜂还从杨树以外的植物采集蜂胶。

为了弄清美国亚利桑那州沙漠地区蜂胶的植物来源,Wollenweber等^[4]1997年利用薄层色谱对饲养的欧洲蜜蜂与野生欧洲蜜蜂蜂胶的成分和蜂巢附近植物分泌物的成分进行了比较研究。实验结果表明,在图森附近的沙漠地区仅有零星的佛蒙特杨树,凡是蜜蜂飞行能达到的距离(约0.5英里)内有杨树生长,蜂胶的薄层色谱图虽不与佛蒙特杨树分泌物的薄层色谱完全相同,但具有杨树分泌物的典型特征。飞行距离内无杨树生长时,蜂胶的腊含量、颜色和溶解度性质与有杨树生长地区的蜂胶不同。这类蜂胶与沙漠地区广泛分布的豚草属植物(*Ambrosia deltoidea*)的分泌物有相似的薄层色谱图。显然在无杨树地区蜜蜂会从豚草属植物上采集蜂胶。他们还发现,在既有杨树又有豚草属植物生长的地方,部分野生蜜蜂蜂胶中除了含有杨树分泌物和豚草属植物的特征成分外,还含有瘦果扁(*Encelia farinosa*)分泌物的成分。证明在亚利桑那州沙漠地区瘦果扁也是蜂胶的一种植物来源。

埃及属于亚热带气候区,但又有杨树生长,其特殊的植物分布必定会对蜂胶的化学成分发生影响。

Christov和Hegazi等^[5]在1998年利用薄层色谱和气相色谱法对巴尼斯维夫省吉萨的蜂胶进行了分析。共鉴定出39个化合物,其中咖啡酸十四烷酯、咖啡酸十二烷酯、咖啡酸十四烯酯和咖啡酸十六烷酯为4个新化合物,结构尚需要进一步的证实。 β -香树素、环阿屯醇和1-十八烷基甘油为首次在蜂胶中鉴定出的化合物。

埃及巴尼斯维夫省蜂胶与欧洲蜂胶(来自黑杨的保加利亚蜂胶和来自多种杨树的英国蜂胶)相似,主要成分都是酚酸、酚酯和黄酮类化合物;酚酸的浓度低于酚酯的浓度。但是,在埃及蜂胶中,4个新的直链醇咖啡酸酯为主要成分。埃及蜂胶的黄酮类成分与欧洲蜂胶的相似,但含量明显地低一些。与欧洲蜂胶相反,在埃及蜂胶中含有相当多的醇类化合物,其中三萜醇 β -香树素从未在欧洲蜂胶中发现过。欧洲蜂胶中含有植物甾醇,而埃及蜂胶中不含。在埃及蜂胶中含有植物甾醇的生源前体羊毛甾醇和环阿屯醇,后一化合物为一种主要成分。在埃及蜂胶中还含有高浓度的碳水化合物如葡萄糖、果糖、蔗糖和一些五碳糖如木糖、核糖、阿拉伯糖以及甘露糖醇。

埃及蜂胶的成分如此复杂,不可能只起源于一种植物。它含有高浓度的酚酸酯、咖啡酸戊烯酯和典型的二氢黄酮类化合物;在蜂巢附近生长有大量的黑杨树,黑杨应是一种植物来源。但是,在蜂胶中咖啡酸长链脂肪醇酯、甾醇前体、香树素和其他醇的存在,表明它还有其他来源。

本课题组^[6]在1999年利用硅胶、聚酰胺柱层析和葡聚糖凝胶柱层析法从北京蜂胶香脂中分离出球松素、乔松素、柚木杨素、白杨素、良姜素和高良姜素6个黄酮类化合物。

Usia等在2002年^[7]从中国蜂胶中分离得到了14种黄酮类化合物,其中3-O-[(S)-2-甲基丁酰基]生松素醇和6-苯丙烯盐基白杨素是新化合物。他们还通过5种不同的肿瘤细胞对所得到的化合物进行了抗增值作用的筛选。结果表明,苯基咖啡酸酯和苯乙基咖啡酸酯有较强的抗增值作用,在实验的5种肿瘤细胞中,对结肠26-L5癌细胞作用最强,EC50分

别为 1.01 和 0.30 M。

Chen 等^[9] 2003 年从台湾蜂胶中发现 2 个新的含异戊二烯基的黄酮类化合物,命名为 propolinA 和 propolinB。其中 A 具有显著的诱导癌细胞凋亡的作用。A 和 B 都具有较强的清除自由基的作用。

Hamasaka 等^[9]在 2004 年对日本北海道、秋田、福岛、岐阜、长野、东京、神奈川、静冈、冈山、Tottori、福冈以及冲绳地区的蜂胶样品的抗氧化能力进行比较。秋田和冲绳的蜂胶具有较强的抗氧化能力,与其含有丰富的多酚类物质有关。秋田的蜂胶中含有大量的抗氧化物质,如:咖啡酸以及苯乙基咖啡酸酯。冲绳的蜂胶具有最强的抗氧化能力。

为了深入了解不同欧洲国家蜂胶的化学成分与它们的抗菌活性的关系,Hegazi 等^[10]2000 年用气相色谱—质谱法对奥地利(维也纳)、德国(汉诺威)和法国(蒙彼利埃)的蜂胶进行了化学相关研究。在 3 种蜂胶中共检测出 41 个化合物,其中 11 个为首次从蜂胶中检出。这 3 种蜂胶的化学成分在定性方面明显类似,表明它们的植物来源相同。它们在定量方面的差别则是由于来自不同的杨树品种。在 3 个样品中,反-对-香豆酸是含量最高的芳香酸。4-甲基-扁桃酸是首次检出,而 2-苯基-2-羟基丙烯酸为首次在奥地利和德国蜂胶中检出。这 3 种蜂胶均含有高浓度的咖啡酸苯乙酯、阿魏酸苄酯和反-对-香豆酸苄酯。在法国蜂胶中咖啡酸苄酯的含量最高(14.5%)。法国蜂胶中的苯丙酸乙酯和德国蜂胶中的咖啡酸丁酯与咖啡酸苯乙酯(17%)为 3 个首次在蜂胶中检测出的化合物。二氢黄酮类化合物是杨树型蜂胶中的典型成分。生松素和生松素醇乙酸酯是欧洲蜂胶中的主要二氢黄酮化合物。德国蜂胶中的 5,7-二羟-3-戊烯酸基-黄烷是首次在蜂胶中检出。这 3 种蜂胶均含有羟基乳酸、5-羟基-正戊酸、2,3-丁二醇、quiacol 和甲基葡萄糖,均为首次从蜂胶中鉴定的化合物。

德国蜂胶中的黄酮类化合物的含量最高,其中高良姜素的含量高达 21%。德国蜂胶的特征是阿魏酸苄酯和高良姜素的含量高。法国蜂胶中的黄酮化合物含量次之。法国蜂胶的特征是苯甲酸、咖啡酸、

香豆酸苄酯、咖啡酸苄酯和生松素的含量最高。

这 3 种蜂胶的化学成分特征也反映在它们的抗菌活性上。德国蜂胶抗金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的活性最高。奥地利蜂胶抗白色念珠菌的活性最高。法国蜂胶能抑制上述 3 种病原菌的生长,但其活性低于德国蜂胶和奥地利蜂胶的活性。

地中海沿岸为北温带与热带的分界地区。Velikova 等^[11]在 2000 年用气相色谱—质谱法分析了保加利亚(洛维奇与艾托斯两个地区)、希腊(尼格里塔地区)、土耳其(布尔萨、穆拉、伊兹密尔和安塔利亚 4 个省)和阿尔及利亚(姆西拉省)4 个国家的蜂胶香脂。结果表明,所有样品均为杨树型,都含有黑杨组杨树幼芽的分泌物,如生松素、生松素醇和其乙酸酯、咖啡酸与阿魏酸的异戊烯酯。由于在上述地区均有杨树生长,这也是预期的结果。但是,阿尔及利亚和土耳其的蜂胶含有二萜酸,而且二萜酸明显地为前者的主要成分。此前,仅在巴西蜂胶中发现了二萜酸。在土耳其的 2 个蜂胶样品中含有少量的海松酸、异海松酸、松香酸和二氢松香酸。这些成分显然来源于杨树以外的植物。

这些蜂胶样品虽然在化学成分上存在着差异,但它们在生物活性方面没有明显的差异,均具有好的抗金黄色葡萄球菌活性。

Hegazi 等^[12]2001 年对埃及贝尼斯维夫省(A)、法尤姆省(B)、艾斯尤特省(C)和索哈杰省(D)的蜂胶进行了化学成分与抗微生物活性研究。这 4 个省属于靠近地中海的上埃及地区,乔木和灌木的品种各不相同。根据气相色谱—质谱分析,4 个样品均含有乳酸、3,4-二甲氧基肉桂酸、咖啡酸和磷酸。B 中乳酸的含量特别高(18.5%)。苯甲酸、反-对-香豆酸、阿魏酸、咖啡酸二甲基烯丙酯、咖啡酸苄酯和咖啡酸的 4 个长链脂肪醇酯仅出现在 A 中。A 中含有球松素、生松素醇-3-乙酸酯、白杨素和高良姜素。A 中还含有三萜醇-香树素、未鉴定结构的香树素类似物、羊毛甾醇和环阿屯醇。B 中含有的 2,3,4,5-四羟基戊酸-1,4-内酯、3-羟基-3-甲氧基-2-丙烯酸甲酯、琥珀酸单甲酯和苄基甲基酮是首次在蜂胶中检出。B 的另一特点是含有球松素查耳酮、生松素查耳酮和野

樱素查耳酮。C的特点是含4个咖啡酸异戊二烯酯、4-甲氧基肉桂酸、咖啡酸-3-甲-2-丁烯酯、2-甲基丙基苯,后一化合物是首次从蜂胶中检出。B和C不含三萜醇。D的特点是含15个脂肪酸。其中2-羟基环己烷-1-羧酸、3-甲基-3-羟基戊二酸和2,3-二羟基戊二酸是首次从蜂胶中鉴定出的新化合物。D中含有的1,2-二羟基环己烯、1,2,3-三羟基丁烷、1,2,4-三羟基丁醛、2,4-双(二甲基苄基)-6-叔丁基苯酚和1,8-二羟基-3-甲基蒽醌也是首次从蜂胶中检出。除了球松素查耳酮和一个六甲氧基黄酮外,D不含其他的黄酮类和芳香酸酯类化合物。

从上面的化学成分分析结果可以看出,A、B和C 3个样品均来源于杨树。在样品A中含有高浓度的酚酸酯、咖啡酸戊烯酯和典型的二氢黄酮类化合物,显然起源于黑杨。B和C起源于其他品种的杨树。A中含有的甾醇前体和 β -香树素不是杨树特有的分泌物,表明还有其他植物是A的来源。

这4种蜂胶对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌均有抑制作用。A对3种微生物的抑制活性最强。B具有中等抑制活性。C和D的抑制活性最低。

Sorkum等^[13]2001年用气相色谱-质谱法对土耳其布尔萨省、爱尔祖鲁姆省、居米什哈内省和特拉布宗省出产的蜂胶进行了化学成分分析。布尔萨省蜂胶含有大量的黄酮类、芳香酸与芳香酸酯、酮类和萜类化合物。特拉布宗省和居米什哈内省蜂胶主要含二氢黄酮类、醇类、酮类和芳香酸酯类化合物,萜类化合物的含量很低。爱尔祖鲁姆省蜂胶的主要成分为芳香酸酯类化合物,与前两种蜂胶相比,该蜂胶中的二氢黄酮类化合物的含量特别低,其另一特点是氨基酸含量高(4.46%)。

Velikova等^[14]2001年又用气相色谱-质谱法对保加利亚布加斯地区和土耳其伊兹密尔与布尔萨省的蜂胶进行了化学成分分析。结果表明,这3种蜂胶均为杨树型,都含有黑杨组杨树幼芽分泌物中的特征成分,如生松素、生松素醇与其乙酸酯和咖啡酸与阿魏酸的异戊二烯酯。但土耳其的两种蜂胶之间有明显的区别。布尔萨蜂胶与保加利亚蜂胶更相似一些,

主要的黄酮类成分为生松素和生松素醇。伊兹密尔蜂胶含有大量的3,4-二甲氧基肉桂酸,其主要的黄酮类成分为高良姜素。这些差别是由于采自黑杨组不同品种的杨树引起的。

这3种蜂胶的抗菌与抗真菌活性相似。由于在布尔萨蜂胶中酚酸酯和咖啡酸苯乙酯的含量高,它的抗真菌活性和细胞毒性也最大。

乌拉圭位于南美洲,所处的地区属于南温带而且也有杨树生长。Bonvehi等^[15]2000年用高效液相色谱法对乌拉圭的6个蜂胶和安徽的9个蜂胶的化学成分进行了分析比较。结果证明,乌拉圭蜂胶与安徽蜂胶的化学成分相似,同属于北温带类型。乌拉圭蜂胶的抗微生物活性和清除游离基活性也与安徽蜂胶的相似。

Kumazawa等^[16]2002年从乌拉圭蜂胶中分离得到了18个黄酮类、4个芳酸类和11个酚酯类。其中2个黄酮类和1个酚酸酯类化合物是新的,分别是:生松素醇-3-(2-甲基)丁酸盐、生松素醇-3-异丁酸盐和2-甲基-2-丁烯基 ferulate。

二、热带地区蜂胶的化学成分

1. 南美洲蜂胶的化学成分

Bankova等^[17]在1996年对巴西巴拉那州普鲁登托波利斯的蜂胶进行了分析。用硅胶柱层析法从蜂胶香脂的乙醚提取物中分离出黄酮山奈甲素和一个新苯并呋喃木脂素类化合物。结构为10,11-二乙酰基去氢二聚松柏醇。Popravko曾从俄罗斯欧洲地区出产的蜂胶中鉴定出山奈甲素,它来源于桦树幼芽的分泌物。在巴西蜂胶中,这两个化合物的来源尚不清楚。但新化合物的发现为确定这种蜂胶的植物来源提供了重要的线索。

Tatefuji等^[18]1996年对巴西亚马逊州玛瑙斯的蜂胶进行了化学成分研究。用硅胶柱层析和制备高效液相色谱从蜂胶的水溶性部分首次分离出6个奎尼酸的咖啡酰衍生物。分别是5-咖啡酰基奎尼酸、绿原酸、4-咖啡酰基奎尼酸、4,5-二咖啡酰基奎尼酸、3,5-二咖啡酰基奎尼酸和3,4-二咖啡酰基奎尼酸。这6个化合物与咖啡酸一样均能增强巨噬细胞的移

动性和传布性,也是蜂胶的活性成分。

Monishita 等曾从青咖啡豆中分离出这 6 个化合物,因此咖啡树的嫩芽也有可能是这种蜂胶的植物来源之一。

Basnet 等^[10]1996 年利用葡聚糖凝胶柱层析和制备薄层层析从巴西蜂胶的水溶性部分分离出 3,4-二咖啡酰基奎尼酸、3,4-二咖啡酰基奎尼酸甲酯、4,5-二咖啡酰基奎尼酸甲酯和 3,5-二咖啡酰基奎尼酸。该 2 个酯类化合物是首次从蜂胶中分离出的成分。动物实验显示,这 4 个化合物均具有强的保肝活性,而 3,4-二咖啡酰基奎尼酸甲酯的保肝活性最强。

Bankova 等^[20]1997 年对巴西圣保罗州博图卡图的蜂胶进行了化学成分研究。用硅胶柱层析和制备薄层层析从蜂胶香脂的乙酸乙酯提取物中分离出 3,5-二异戊烯基-对-香豆酸、3 个黄酮类和 2 个新苯并呋喃类化合物。3 个黄酮类化合物分别是山奈甲素、5,6,7-三羟基-3,4-二甲氧基黄酮和二氢山奈素-4-甲醚。后 2 个化合物是首次从蜂胶中分出。2 个苯并呋喃衍生物分别是 9-E-2,2-二甲基-6-羧乙烯基-8-异戊烯基-2-H-1-苯并吡喃和它的 9-Z 异构体,都是新化合物,它们在蜂胶中的比例为 2:1。

Matsuno 等^[21]在 1997 年利用制备高效液相色谱从巴西南方的巴拉那州、圣保罗州和圣卡塔林纳州等地的混合蜂胶中分离出两个二萜类化合物 13Z-symphoreticulinic acid 和 13E-symphoreticulinic acid。两者为在 C-13 位上的几何异构体。它们具有细胞毒性,能抑制 HuH13(人肝细胞癌)、KB、HeLa 和 HLC-2(人肺癌)细胞生长并破坏这些细胞(ID50 约为 20-30 μ g/ml)。

人体内过氧化物阴离子和其他游离基的过量形成会引起机能失调和组织破坏,从而加快衰老过程并使各种疾病与癌症易于发生。具有清除游离基性质的化合物具有保健和治疗作用。Basnet 等^[22]1997 年用巴西蜂胶的水提取物、甲醇提取物和氯仿提取物进行了清除游离基试验。发现水提取物清除游离基的作用最强。以清除游离基试验为指导,用高效液相色谱从蜂胶水提取物中分离出新化合物 propol。

Propol 比常见的抗氧化剂如维生素 C、维生素 E 和咖啡酸具有更强的清除游离基活性。

Matsuno 等^[23]1997 年用制备高效液相色谱从巴西圣保罗州、巴拉那州和圣卡塔林纳等州的混合蜂胶中分离出 3,5-二异戊烯基-4-羟基肉桂酸(artepillin C)。该化合物对肿瘤细胞有明显的细胞毒性,它的抗肿瘤活性高于 5-氟尿嘧啶。

Bohlman 和 Huneck 等曾分别从香根菊属植物和蒿属植物中分离出 artepillin C,这两属植物有可能是巴西蜂胶的植物来源。

Marcucci 等^[24]1998 年用气相色谱-质谱法检测了巴西圣保罗州莫日-达斯克鲁济斯(A)和马瑞波拉(B)两地蜂胶的化学成分。在 2 种样品中共检测出 39 个化合物,其中 8 个新化合物为二氢阿魏酸、去氢松香酸、松香酸、羊毛甾-9(11)-烯醇、3-香草基丙醇、 β -香树素和 2 个结构尚未确定的香树素型三萜醇。这 2 种蜂胶的成分在定性方面相似,都含有二氢肉桂酸、对-香豆酸、阿魏酸、咖啡酸、单异戊烯基-对-香豆酸、双异戊烯基-对-香豆酸以及在生源上与异戊烯基香豆酸有联系的羧乙基苯并吡喃类化合物。但是,在 B 中这些化合物的含量明显地要高一些。在 A 中,三萜醇为主要成分(含量高于 30%)。

由于异戊烯基香豆酸和生源上有关的苯并吡喃类化合物都是香根菊属植物的成分,两种蜂胶又都含有此类成分,香根菊属植物显然是上述蜂胶的植物来源。样品 A 中的三萜醇类则来源于别种植物。

Bankova 等^[25]1998 年利用气相色谱-质谱法分析了巴西皮奥伊州皮卡斯地区(A)和巴拉那州普鲁登托波利斯地区(G2 与 G3)3 个品种土蜂蜂胶的化学成分。在 3 种样品中共鉴定出 50 多个化合物。与其他的蜂胶样品相似,它们都含有乳酸、磷酸和长链脂肪酸。其中,十五烷酸、棕榈油酸、十七烷酸和羟基丙烯酸是首次从蜂胶中检出。它们也像欧洲蜜蜂采集的蜂胶一样,含有芳香酸、芳香醛和芳香醇。奇怪的是它们既不含巴西蜂胶中特有的成分二氢肉桂酸,也不含委内瑞拉土蜂蜂胶中的典型成分异戊烯基二苯酮类化合物。对-羟基苯乙酮仅存在于样品 G1 中。G1 中所含的去氢松香酸也是首次从蜂胶中检

出的化合物。

这3种土蜂蜂胶均含巴西蜂胶中的成分二萜酸类化合物,北温带蜂胶不含这些成分。在G2中含有的二萜烃16-贝壳杉烯和对-乙炔基苯酚是在蜂胶中首次检出。在G2中还含有许多五环三萜醇类化合物,以 β -香树素为主要成分;friedooleanane-3-one为首次在蜂胶中检出的成分。与G2相反,其他2个样品仅含微量的三萜醇。G2和G3不含黄酮类化合物。G1含有生香素醇和一个三羟基甲氧基黄酮。

Tomas-Barberan^[26]曾证明,南美洲蜂胶的化学成分与蜜蜂品种没有关系,欧洲蜜蜂蜂胶与土蜂蜂胶的组成类似。但是,这3个品种土蜂蜂胶的成分并不相同,与上述结论不一致。G1与G2和G3样品的采集地区不同,可以用地理位置不同来解释。G2与G3样品在同一地区采集,它们的成分不同也许可以用土蜂的品种来解释。G2含有大量的三萜类化合物,而G3仅含微量的三萜类化合物,这表明它们具有不同的植物来源。

Matsuno等^[27]1998年以HuH13(人肝癌细胞)细胞毒性为指导从巴西圣保罗州、巴拉那州和圣卡塔林纳等州的蜂胶中分离出1个新的苯并-吡喃衍生物(PM-3)。他们以artepillin C为原料用氧化环合反应合成了PM-3。PM-3抑制HuH13、HeLa、KB(人口腔表皮癌)和HLC-Z(人肺癌)细胞的生长并在高浓度时破坏这些细胞(ID₅₀约为20g/ml)。

Banskota等^[28]1998年用硅胶柱层析与制备薄层层析从巴西蜂胶(Yukari蜂胶)中分离出一个新的异戊烯基二氢苯并吡喃衍生物3-羟基-2,2-二甲基-8-异戊烯基二氢苯并吡喃-6-丙烯酸和22个已知的化合物。在22个已知的化合物中,2,2-二甲基苯并吡喃-6-羧酸、4-羟基-3-异戊烯基肉桂酸、贝壳杉酸、贝壳杉酸-15-甲酯、agathalic acid、cupressic acid、tremetone、viscidone、12-acetoxyviscidone、betulelol和3,5,7-三羟基-4-甲氧基黄烷醇是首次从蜂胶中检出。这种蜂胶中所含的松柏醛、betuletol、山奈甲素和ermahin对人HT-1080纤维肉瘤细胞和鼠结肠26-L5癌细胞有强的细胞毒性(ED₅₀为等于或低于10 μ g/ml)。

由于在这种蜂胶中所含有的2,2-二甲基苯并吡喃-6-丙烯酸、artepillin、4-羟基-3-异戊烯基肉桂酸、tremetone、viscidone、12-acetoxyviscidone和10,11-二乙酰基二氢二聚松柏醇也是南美热带地区香根菊属植物中的成分,该属植物应是蜂胶的可能来源。

Tazawa等^[29]1998年用制备高效液相色谱从巴西米纳斯吉拉斯州的蜂胶中分离22个已知化合物和2个新化合物。两个新化合物分别为(E)-3-(2,2-二甲基-3,4-二氢-3-羟基-8-异戊烯基-2H-1-苯并吡喃-6-基)-2-丙烯酸和(E)-3-[2,3-二氢-2-(1-羟基-1-甲基乙基)-7-异戊烯基-苯并吡喃-5基]-2-丙烯酸。在22个已知化合物中,二氢山奈甲素、(+)-苏-1-C-愈创木基丙三醇和3-异戊烯基-4-(2-甲基丙炔酸基)肉桂酸为3个首次从蜂胶中分出的化合物。

在这24个化合物中,生松素、二氢山奈甲素、3-异戊烯基-4-(2,3-二氢肉桂酸基)-肉桂酸、3-异戊烯基-4-羟基肉桂酸、3-异戊烯基-4-(2-甲基丙酸基)肉桂酸和3,5-二异戊烯基-4-羟基肉桂酸(artepillin)为香根菊属植物的成分。香根菊属植物可能是巴西米纳斯吉拉斯州蜂胶的植物来源。

Negri等^[30]1998年用气相色谱法对巴西塞阿腊、米纳斯吉拉斯、圣保罗、巴拉那和南里约格朗德州的23个蜂胶样品中的蜡质进行了成分分析。他们发现巴西蜂胶中的蜡主要是由单酯类化合物和烃类化合物组成的。蜡中的主要烃类化合物为正-二十七烷烃、正-二十九烷烃和正-三十三烷烃。在部分样品中含有少量这些烃的异构体。组成单酯的羧酸主要为十六烷酸、十八烷酸和油酸。组成单酯的醇类为含24个碳原子至34个碳原子的一级醇,其中三十烷醇为主要成分。蜂胶中蜡的组成与蜂巢蜡的组成类似。表明蜂胶中的蜡可能是蜜蜂分泌的,而不是直接来源于植物。

为了确定巴西蜂胶的植物来源,Bankova等^[31]1999年对巴西圣保罗州博图卡图蜂胶的化学成分与蜂巢附近的*Baccharis dracunculifolia*(香根菊属)、*Araucaria angustifolia*(南洋杉属)和*Eucalyptus citriodora*(桉属)3种植物分泌物的化学成分进行了比较

研究。蜂胶的薄层色谱图与 *B. dracunculifolia* 叶子分泌物的薄层色谱图的相似性令人吃惊。他们用气相色谱-质谱法证实了这一实验结果。根据气相色谱-质谱分析,在蜂胶与 *B. dracunculifolia* 叶子分泌物中被鉴定的主要成分几乎是相同的。二氢肉桂酸、对-香豆酸、异戊烯基-对-香豆酸、二异戊烯基-对-香豆酸和黄酮类化合物具有相似的浓度。他们还利用硅胶柱层析从 *B. dracunculifolia* 叶子分泌物中分离出山奈甲素、二氢山奈素(aromadendrine)-4-甲酯和 5,6,7-三羟基-3,4-二甲氧基黄酮。这 3 个黄酮也都是 Bankova 从圣保罗州蜂胶中分离出来的化合物。这些实验结果证明,与过去的假设一致,*B. dracunculifolia* 叶子分泌物是圣保罗州博图卡图蜂胶的主要来源。另一方面,在蜂胶中还鉴定出一些在 *B. dracunculifolia* 叶子分泌物中并不存在的化合物,如 α -香树素和环阿屯醇。但这 2 个化合物也不存在于 *A. angustifolia* 和 *E. citriodora* 的分泌物中。这表明,还有别种植物是这种蜂胶的次要植物来源。

蜂胶被认为是蜂巢中具有抗传染病作用的防御物质。因此,把蜂胶与植物分泌物的抗菌活性和抗真菌活性进行比较可以确定蜜蜂对植物分泌物的选择是否正确。实验证明,这 4 种物质的抗金黄色葡萄球菌的活性相似。但是,它们的抗真菌活性有差别。蜂胶与 *B. dracunculifolia* 叶子分泌物的抗白色念珠菌的活性最高(两者的活性相同),*E. citriodora* 的活性较低,而 *A. angustifolia* 没有抗白色念珠菌活性。这表明,蜜蜂为了防止蜂巢受细菌与真菌感染而分别选择了最好的植物分泌物来制造蜂胶。

高温高分辨气相色谱(HT-HRGC)是一种分离高分子量混合物的新技术,工作温度可高达 420℃。把常规气相色谱的工作温度从 320℃提高到 420℃在理论上并没有重要意义,但在实际应用方面却很重要,使被分离的化合物分子量范围超过 600Da,把高温高分辨气相色谱与质谱结合可以对分子量在 500-1000Da 范围内的化合物进行鉴定。

Pereira 等^[32]1999 年用高温高分辨气相色谱和高温高分辨气相色谱-质谱对巴西米纳斯吉拉斯州哥伦比亚蜂胶的己烷提取物进行了分析。他们首次在

蜂胶中鉴定出两个系列的五环三萜类酯。一个系列的酯为 6-22 个碳原子脂肪酸与 α -和 β -香树素生成的脂肪酸酯,另一个系列的酯为 10-19 个碳原子脂肪酸与蒲公英甾醇生成的脂肪酸酯。上述成分均为新化合物。

Hayashi^[33]1999 年用硅胶柱层析法从巴西蜂胶香脂的乙醚提取物中分离出 12 个化合物。其中 11 个已知的化合物为 3,5,7-三羟基-4,6-二甲氧基黄酮(betuletol)、山奈甲素、artepillin C、4-二氢肉桂酸基-3-异戊烯基肉桂酸、6-(2-羧乙基)-2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃、4-羟基-3-异戊烯基肉桂酸、4-羟基-3-异戊烯基苯甲酸、6-甲氧基山奈素、4-羟基-3-(E)-(4-羟基-3-甲基-2-丁烯基)-5-异戊烯基肉桂酸、3-甲基山奈素和山奈素。分离出的新化合物为 3,4-二羟基-5-异戊烯基肉桂酸。新化合物的抗氧化活性最强。在所采用的实验条件下,新化合物比防老化剂 2,6-二叔丁基对甲苯酚(BTH)具有更强的抗氧化活性。

Tazawa 等^[34]1999 年用硅胶柱层析和制备高效液相色谱又从巴西米纳斯吉拉斯州蜂胶 75%乙醇提取物中分离出 24 个化合物。其中 7 个新化合物为(E)-2,3-二氢松柏醇-对-香豆酸酯、(E)-3-{2,3-二氢-2-[2-[(E)-对-香豆酸基]-1-甲基乙烯基]-5-苯并呋喃基}-2-丙烯酸、(E)-4-(2,3-二氢肉桂酸基)肉桂酸、(E)-3-(2,2-二甲基-3,4-二氢-3-羟基-1-苯并吡喃-6-基)-2-丙烯酸、(E)-3-[2,3-二氢-2-(1-甲基乙烯基)-5-苯并呋喃]-2-丙烯酸、(E)-3-[2,3-二氢-2-(1-甲基乙烯基)-7-异戊烯基-5-苯并呋喃基]-2-丙烯酸和(E)-3-[3-[(E)-4-(2,3-二氢肉桂酸基-3-甲基-2-丁烯基)]-4-羟基-5-异戊烯基苯基]-2-丙烯酸。二氢山奈素、6-甲氧基山奈素、4-羟基-3-异戊烯基苯甲酸、plicatin B 和 capillartemisin A 是首次从蜂胶中分离出的化合物。

米纳斯吉拉斯州蜂胶中所含的柑橘素、野樱素、去氢松香酸、plicatin B、3-(2,2-二甲基-2H-1-苯并吡喃-6-基)-2-丙烯酸和(E)-3-[2,3-二氢-2-(1-甲基乙烯基)-5-苯并呋喃]-2-丙烯酸的甲酯也存在于巴西广泛分布的香根菊属植物中,又一次证明该属

植物为蜂胶的重要植物来源。

Hirota 等^[35]2000 年又从巴西圣保罗、巴拉那和圣卡塔林纳等州的混合蜂胶中分离出 1 个新的(Z)-2,2-二甲基-8-(3-甲基-2-丁烯基)-苯并吡喃-6-丙烯酸(1)和已知的苯并吡喃衍生物(E)-2,2-二甲基-8-(3-甲基-2-丁烯基)-苯并吡喃-6-丙烯酸(2)。化合物 2 在紫外光(365nm)照射下迅速地转变为化合物 1, 化合物 1 也可以转化为化合物 2。在平衡状态, 化合物 1 与化合物 2 的比例为 2.3:1。化合物 1 为(Z)型异构体, 化合物 2 为(E)型异构体。化合物 1 对人肺癌细胞(HLC-2)的细胞毒性比化合物 2 的毒性约大 7 倍。

Banskota 等^[36]2000 年用硅胶柱层析和制备薄层层析法又从巴西蜂胶(Yukari 蜂胶)的甲醇提取物中分离出 2 个新化合物蜂胶-苯并吡喃 A 与蜂胶-苯并吡喃 B 和 2 个已知化合物(E)-3-[2,3-二氢-2-(1-甲基乙炔基)-7-异戊烯基-5-苯并吡喃基]-2-丙烯酸与(E)-3-[4-羟基-3-[(E)-4-(2,3-二氢肉桂酸基)-3-甲基-2-丁烯基]-异戊烯基苯基]-2-丙烯酸。这 2 个新化合物对鼠结肠 26-L5 癌细胞和人 HT-1080 纤维肉瘤细胞有微弱的细胞毒性。

为了对巴西蜂胶进行分类, 找出蜂胶的化学成分与蜂胶产地和植物分布间的关系, Marcucci 等^[37]2000 年利用高效液相色谱法对巴西米纳斯吉拉斯州、里约热内卢州、圣保罗州、巴拉那州、圣卡塔林纳州和南里约格朗德州出产的 40 个蜂胶样品进行了分析。根据这些样品的色谱图, 对其中的 18 个主要成分进行了定性与定量分析。定量分析结果, 发现这 40 个蜂胶样品可以分为 3 组。第一组为来自巴西东南部米纳斯吉拉斯、里约热内卢和圣保罗州的蜂胶样品。的特征是山奈素衍生物的含量高, 含相当量的 6-丙烯酸基-2,2-二甲基-8-异戊烯基-2H-1 苯并吡喃 (DPB) 和不含或仅含少量的 2,2-二甲基-6-羧乙基-2H-1-苯并吡喃(DCBEN)。第二组为来自南里约格朗德州和巴拉那州的蜂胶样品。特征为 DPB 的含量高, 但山奈素衍生物和 DCBEN 的含量低或不含这两个化合物。第三组为来自巴拉那州和圣卡塔林那州的蜂胶样品。特征是 DCBEN、对-香

豆酸、3,5-二异戊烯基-4-羟基肉桂酸 (DHCA) 和 DPB 的含量高。除了 3 个样品外, 其余样品均不含山奈素衍生物。

巴西有 200 多种无刺蜜蜂(Meliponinae)。在哥伦比亚发现美洲大陆之前, 那里就饲养无刺蜜蜂并用无刺蜜蜂的蜂胶来治疗外伤、胃炎和痔等疾病。Velikova 等^[38]2000 年用气相色谱-质谱法对 12 种无刺蜜蜂的蜂胶进行了化学成分分析。为了确定植物分布对蜂胶化学组成的影响, 所采集的样品还包括同一种蜜蜂在不同地区所产的蜂胶。他们共鉴定出 50 个主要成分。根据所含的主要成分类型, 这些蜂胶可以分为 4 种类型。第一种为含苯甲酸类化合物的蜂胶, 主要成分为五倍子酸。第二种为含二萜类化合物的蜂胶, 主要成分为二萜酸, 异贝壳杉烯酸存在于所有的样品中。第三种为含三萜类化合物的蜂胶, 主要成分为香树素类型的醇。其余的样品为混合类型的蜂胶。

Velikova 的分析结果表明, 无刺蜜蜂的品种与地理分布都对蜂胶的化学组成没有影响。他们认为这可能是由于无刺蜜蜂的采食距离近(最大为 500 米), 把最先遇到的植物分泌物作为蜂胶的来源引起的。

同时还分析了 1 个欧洲蜜蜂蜂胶样品。这是唯一含异戊烯基取代的对-香豆酸类化合物和它们的环状衍生物的样品。这类化合物是巴西蜂胶中的常见成分, 来源于香根菊属植物。奇怪的是所有无刺蜜蜂蜂胶中均不含这类成分。另外, 巴西欧洲蜜蜂蜂胶的特点是在同一地区其定性组成大致恒定。而无刺蜜蜂蜂胶的成分多少带有随意性。这可能是由于两类蜜蜂的行为差别引起的。

Marcucci 等^[39]2001 年利用葡聚糖凝胶柱层析和高效液相色谱法从巴西巴拉那州曼迪瑞图巴蜂胶甲醇提取物中分离出 3-异戊烯基-4-羟基肉桂酸 (PHCA)、2,2-二甲基-6-羧乙基-8-2H-1-苯并吡喃 (DCBEN)、3,5-二异戊烯基-4-羟基肉桂酸 (DHCA) 和 2,2-二甲基-6-羟乙基-8-异戊烯基-2H-1-苯并吡喃(DPB) 4 个化合物。这 4 个化合物均具有抗克鲁斯锥虫活性。DCBEN、DHCA 和 DPB 还具有抗大肠杆菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌和粪

链球菌活性。

Popova 等^[40]2001 年第一次从巴西萨尔瓦多省蜂胶中分离得到了苷类物质 ent-8 (17)-labden-15-O- α -L-鼠李糖甙和 ent-8 (17)-labden-15-O-(3'-O-乙酰基)- α -L-鼠李糖甙。

Furukawa 等^[41]2002 年从巴西 Alecrim 蜂胶中分离得到了三萜、 α -香树精、 β -香树精、环阿屯醇、lanosta-7,24-二烯-3 β -醇、羽扇豆醇和 2 个新的长链脂肪酸羽扇豆醇酯。

Ito 等^[42]2001 年从巴西蜂胶中分离得到 1 个新的三萜类化合物,命名为 melliferone。同时分离得到的还有 3 个已知的三萜、moronic acid, anwuweizonic acid, and betulonic acid, 和 4 个芳香类化合物。用 H9 胸腺依赖性细胞对分得的化合物进行抗艾滋病活性的筛选, moronic acid 显示出了较强的活性 (EC₅₀ < 0.1 μ g/mL, TI >186)。

Valcic 等^[43]1998 年首次对智利蜂胶的化学成分进行了研究。用葡聚糖凝胶柱层析和高效液相色谱从皮切来姆蜂胶中分离 5 个木脂素类化合物。3 个新的化合物为 1-(4-羟基-3-甲氧苯基)-1,2-双 {4-[(E)-3-乙酰基-1-丙烯基]-2-甲氧基苯氧基} 丙-3-醇-乙酰酯(1)、1-(4-羟基-3-甲氧苯基)-2-{4-[(E)-3-乙酰基-1-丙烯基]-2-甲氧基苯氧基} 丙-1,3-二醇-3-乙酰酯(苏式, 2)和 3-乙酰基甲基-5[(E)-2-甲酰-1-乙炔基]-2-(4-羟基-3-甲氧苯基-7-甲氧基-2,3-二氢苯并呋喃(3))。两个已知的化合物为化合物 2 的赤式异构体(4)和 3-乙酰基甲基-5-[(E)-3-乙酰基-1-丙烯基]-2-(4-羟基-3-甲氧苯基)-7-甲氧基-2,3-二氢苯并呋喃(5)。

Valcic 等^[44]1999 年又对该地区蜂胶的化学成分进行了更深入的研究。共分离出 17 个化合物。除了前面提到的 5 个化合物外, 首次从蜂胶中分离出的化合物是 viscidone, viscidone acetate, 14-hydroxytremendone, 14-hydroxytremendone acetate, 2,2-二甲基-6-乙酰基-2H-苯并吡喃与其羟基化前体、松柏醇-9-乙酸酯、松柏醛和 9,9-二乙酰基-橄榄树脂素。其余的 3 个化合物为阿魏酸乙酯、tremendone 和香草醛。

Viscidone acetate、松柏醛和 3-乙酰基甲基-5-[(E)-2-甲酰基-1-乙炔基]-2-(4-羟基-3-甲氧苯基)-7-甲氧基-2,3-二氢苯并呋喃具有中等抗结核杆菌和结核杆菌活性。2,2-二甲基-6-乙酰基-2H-苯并吡喃、阿魏酸乙酯和松柏醛对白色念珠菌具有中等抑制活性。

Munoz 等^[45]2001 年利用葡聚糖凝胶柱层析和硅胶柱层析从智利中部(南纬 33°, 西经 71°)出产的蜂胶中分离出 6 个化合物。这 6 个化合物是 viscidone、香草醛、3,4-次甲二氧基苯乙醛、3-乙氧基-4-甲氧基苯甲醛、肉桂酸和肉桂酸甲酯。

Munoz 等^[46]接着又用硅胶柱层析从智利中部(南纬 33°, 西经 71°)蜂胶的乙酸乙酯提取物中分离出 7 个化合物。2 个新化合物分别是香豆素类化合物 prenyletin 和反-3,5-二羟基-1,7-二苯基-1-庚烯。5 个已知的黄酮类化合物为生松素、刺槐素、高良姜素、良姜素和山奈甲素。Prenyletin 具有抗炎活性。

2. 中美洲和其他地区蜂胶的化学成分

Rubio 等^[47]1999 年用高效液相色谱对古巴蜂胶的化学成分进行了研究。他们从卡巴圭省北部努韦维斯塔出产的蜂胶中分离出 1 个新的带 2 个异丙烯基的二苯酮类化合物 propolone A。这一化合物具有抗革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌的活性。

Popova 等^[48]2001 年对中美洲萨尔瓦多东区乌苏卢坦省出产的蜂胶进行了化学成分研究。用柱层析与薄层层析从蜂胶香脂的乙醚提取物中分离出 2',3-二羟基 4', 4-二甲氧基查尔酮和 2',3',4-三羟基-4-甲氧基查尔酮, 是首次从蜂胶中分离出的 2 个新化合物。它们具有明显的抗金黄色葡萄球菌和白色念珠菌活性, 但没有抗大肠杆菌活性。

目前尚不知这种蜂胶的植物来源。但其中所含的 2 个新查尔酮为研究植物来源提供了重要的线索。

加那利群岛为西班牙的海外省, 位于非洲西北部的大西洋上, 属亚热带地中海气候, 岛上无杨树生长。Bankova 等^[49]在 1997 年利用气相色谱-质谱法对加那利群岛大加那利岛蜂胶的香脂与挥发油进行了分析。在蜂胶香脂中除了含有与其他地区蜂胶香脂

成分相同的低分子量有机酸和磷酸外, 检测出大量的糖类化合物和酚类化合物。糖类化合物为 D-呋喃木糖、D-吡喃甘露糖、D-吡喃山梨糖、D-半乳糖、D-果糖、 β -D-吡喃葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖和密二糖; 糖醇为赤藓醇、木糖醇和肌醇。在加那利蜂胶中共鉴定出 13 个酚类化合物。与北温带蜂胶中的酚类化合物不同, 加那利群岛蜂胶中的酚类化合物为呋喃并呋喃环结构的木脂素化合物。其中含量最高的两个成分为异芝麻素和 methyl xantoxyl, 另外 11 个成分的结构尚未最后确定下来。

在加那利群岛蜂胶中, 挥发油的成分与其他地区蜂胶挥发油的成分相似, 其主要成分为倍半萜烯和倍半萜醇类化合物。

Christov 等^[5]1999 年又从大加那利群岛蜂胶香脂中分离出呋喃并呋喃环结构的 4 个木脂素类化合物芝麻素、aschantin、sesartemin 和 yangambin。实验证明, 虽然加那利群岛蜂胶的化学成分与欧洲和其他热带地区蜂胶的化学成分相差很大, 其抗菌活性几乎与其他地区蜂胶的相同。这又一次证明, 蜂胶是蜜蜂用于进行自我保护的防御物质。

四、讨 论

大量的文献显示, 影响蜂胶化学成分的主要原因是植被组成, 而不是简单的地域差异。蜜蜂倾向于从几种它们首选的胶源植物采集蜂胶。因此, 通过人为控制采集地点的方法, 选择有杨树等首选胶源植物分布的地点放养采胶, 可以有效地控制蜂胶的主要成分, 稳定蜂胶的质量。

回顾过去数十年的蜂胶研究文献, 可以看到, 除了极个别例外, 几乎所有研究者均没有报道过在蜂胶中分离到苷类化合物。所有研究文献中报道的都是各种苷元类化合物或者是有机酸的酯类化合物。所有资料给予我们一种共同的启示: 蜂胶中极可能不含有任何苷类化合物。课题组认为, 胶源植物嫩叶组织中的苷类化合物可能是在蜜蜂咀嚼的过程中被蜜蜂分泌的水解酶类物质降解, 变成了苷元和单糖。

课题组测定了 10 个典型的国产蜂胶样品中的

芦丁和水杨苷的含量, 结果均为不能检出。而芦丁和水杨苷是杨树叶子中的成分。据此, 课题组首次提出, 可以用苷类物质的存在与否作为鉴别胶源植物树叶人工提取物和天然蜂胶的重要依据。上述测定结果具体内容另文报道。

参考文献

- 1 郭伽, 周立东. 蜂胶的化学成分研究进展. 中国养蜂, 2000, 51(2): 17~18, (3):21~22, (4):18~20.
- 2 K.R. Markham, et al. HPLC and GC-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis. *Phytochemistry*, 1996, 42(1): 205~211.
- 3 F.A. Tomas-Barberan, et al. Flavonoid composition of Tunisia honeys and propolis. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, 45(8): 2824~2829.
- 4 E. Wollenweber et al., Feral honey bees in the Sonoran Desert: propolis sources other than populars (Populus spp). *Z. Naturforsch.*, 1997, 52(7~8): 530~535.
- 5 R. Christov, et al. Chemical composition of Egyptian propolis. *Z. Naturforsch.*, 1998; 53(3~4): 197~200.
- 6 周立东, 郭伽, 余竞光. 北京蜂胶的黄酮类成分. 中国中药杂志, 1999, 24(3): 162~163.
- 7 Usia Tepy, Banskota Arjun H., Tezuka Yasuhiro, et al. Constituents of Chinese Propolis and Their Antiproliferative Activities. *Journal of Natural Products*, 2002, 65(5): 673~676.
- 8 Chen Chia Nan, Wu Chia Li. Shy, et al. Horng-Shing. Cytotoxic Prenylflavonones from Taiwanese Propolis. *Journal of Natural Products*, 2003, 66(4): 503~506.
- 9 Hamasaka, Tomoko; Kumazawa, Shigenori; Fujimoto, Takunori. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Japan. *Food Science and Technology Research*, 2004, 10(1), 86~92.
- 10 A.G. Hegazi et al. Chemical composition of antimicrobial activity of European propolis. *Z. Naturforsch.*, 2000, 55(1~2): 70~75.
- 11 M. Velikova et al. Propolis from the Mediterranean Region: chemical composition and antimicrobial activity. *Z. Naturforsch.*, 2000, 55(9~10): 790~793.
- 12 A.G. Hegazi, et al. Egyptian propolis: antimicrobial activity and Chemical composition of Upper Egypt propolis. *Z. Naturforsch.*, 2001, 56(1~2): 82~88.
- 13 K. Sorkum et al. Determination of chemical composition of Turkish propolis. *Z. Naturforsch.*, 2001, 56(7~8): 666~668.
- 14 M. Velikova et al. Chemical composition and biological activity of propolis from Turkish and Bulgarian Origin. *Mellibera*, 2001, (1): 57~59.

- 15 J.S. Bonvehi et al. Study on propolis quality from China and Uruguay. *Z. Naturforsch.*, 2001, 55(9-10): 778~784.
- 16 Kumazawa, Shigenori; Hayashi, Katsumi; Kajiya, Katsuko; Studies of the Constituents of Uruguayan Propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(17): 4777~4782.
- 17 V.Bankova et al. A new lignan from Brazilian propolis. *Z.Naturforsch.*, 1996, 51b: 735~737.
- 18 T.Tatefuji et al. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which chance macrophage spreading and mobility. *Biol. Pharm. Bull.*, 1996,19(7): 966~970.
- 19 P.Basnet et al. Four di-o-coffeoyl quinic acid derivatives from propolis. *Biol. Pharm. Bull.*, 1996,19(11): 1479~1484.
- 20 V. Bankova et al. Phenolics from Brazilian propolis. *Z. Naturforsch.*, 1997, 52(9-10): 676~679.
- 21 T. Matsuno et al. Isolation and identification of cytotoxic diterpenoid isomers from propolis. *Z. Naturforsch.*, 1997, 52 (9~10): 702~704.
- 22 P. Basnet et al. Potent free radical scavenging activity of propolis isolated from brazilian propolis. *Z. Naturforsch.*, 1997, 52 (10~11): 828~833.
- 23 T. Matsuno et al. Preferential cytotoxicity to tumor cell of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis. *Anticancer Research*, 1997, 17(5A): 3565~3568.
- 24 M.C. Marcucci et al. Chemical composition of brazilian propolis from Sao Paulo State. *Z. Naturforsch.*, 1998, 53(1~2): 117~119.
- 25 V. Bankova et al. Constituents from brazilian geopropolis. *Z. Naturforsch.*, 1998, 53(5~6): 402~406.
- 26 F. Tomas-Barberan et al. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from venezuela. *Phytochemistry*, 1993, (1): 191~196.
- 27 T. Matsuno et al. A new benzo-r-pyran derivative isolated from propolis. *Z. Naturforsch.*, 1998, 53(11~12): 1037~1039.
- 28 A.H. Banskota et al. Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities. *J. Nat. Prod.*, 1998, 61(7): 896~900.
- 29 S. Tazawa et al. Studies on the constituents of brazilian propolis. *Chem. Pharm. Bull.*, 1998, 46(9): 1477~1479.
- 30 G. Negri et al. Hydrocarbons and monoesters of propolis waxes from Brazil. *Apidologie*, 1998, 29: 305~314.
- 31 V. Bankova et al. Phytocemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis. *Z. Naturforsch.*, 1999, 54(5~6): 401~405.
- 32 A.S. Pereira et al. Pentacyclic triterpenoid alkanooates in propolis. *Z. Naturforsch.*, 1999, 54(11~12): 1115~1118.
- 33 K. Hayashi et al. Isolation of antioxidative compounds from propolis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic anovel potent antioxidant. *Chem. Pharm. Bull.*, 1999, (11): 1521~1524.
- 34 S. Tazawa et al. Studies on the constituents of Brazilian propolis II. *Chem. Pharm. Bull.*, 1999, 47(10): 1388~1392.
- 35 M. Hirota et al. Enhanced cytotoxicity in a Z-photoisomer of a benzopyran derivative of propolis. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63 (3): 366~370.
- 36 A.H. Banskota et al. Two nevol cytotoxic benzofuran derivatives from Brazilian propolis. *J. Nat. Prod.*, 2000, 63(9): 1277~1279.
- 37 M.C. Marcucci et al. Evaluation of phenolic compounds in Brazilian propolis from different geographic regions. *Z. Naturforsch.*, 2000, 55 (1~2): 76~81.
- 38 M. Velikova et al. Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae. *Z. Naturforsch.*, 2000, 55(9~10): 785~789.
- 39 M.C. Marcucci et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J. Ethnopharm.*, 2001, 74(2): 105~112.
- 40 Popova Milena, Bankova Vassya, Tsvetkova Iva, et al. The first glycosides isolated from propolis: diterpene rhamnosides. *Zeitschrift fuer Naturforschung, C: Journal of Biosciences*, 2001, 56 (11~12): 1095~1107.
- 41 Furukawa Satomi, Takagi Naomichi, Ikeda Tsuyoshi, et al. Two novel long-chain alkanolic acid esters of lupeol from Alecrim-propolis. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2002, 50(3): 439~440.
- 42 Ito Junko, Chang Fang Rong, Wang Hui Kang, et al. Anti-AIDS Agents. 48. Anti-HIV Activity of Moronic Acid Derivatives and the New Melliferone-Related Triterpenoid Isolated from Brazilian Propolis. *Journal of Natural Products*, 2001, 64(10), 1278~1281.
- 43 S. Valcic et al. Lignans from Chilean propolis. *J. Nat. Prod.*, 1998, 61(6): 771~775.
- 44 S. Valcic et al. Phytochemical morphological and biological investigations of propolis from Central Chile. *Z. Naturforsch.*, 1999, 54 (5~6): 406~416.
- 45 O. Munoz et al. Propolis from Chilean matorral hives. *Z. Naturforsch.*, 2001, 56(4~5): 269~272.
- 46 O. Munoz et al. Phenolic compounds of propolis from Central Chilean matorral. *Z. Naturforsch.*, 2001, 56(4~5): 273~277.
- 47 O. C. Rubio et al. A polyisoprenylated benzophenone from Cuban propolis. *J. Nat. Prod.*, 1999, 62(7): 1013~1015.
- 48 M. Popova et al. New bioactive chalcones in propolis from El Salvador. *Z. Naturforsch.*, 2001, 56(7~8): 593~596.
- 49 V.S. Bankova et al. Lignans and other constituents of propolis from the Canary Islands. *Phytochem.*, 1998, 49(5): 1411~1415.
- 50 R. Christov et al. Antibacterial furofurans from Canary Islands propolis. *Fitoterapia*, 1999, 70(1)1:89~92.

(下转第 56 页)

This article presents the study on the method for analyzing 70% (v/v) ethanolic extract of *Rhezoma lycopi* by means of reversephase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) and the impact of different wavelengths, the concentration of inhibitors, the gradients of mobile phase and the injection volumes on the effect of the separation of the components of the said medicinal plant. In the study the following methods have been used: Hypersil ODS2 chromatographic column (5 μ m, 4.6mm, i.d. \times 250mm), mobile phase acetomitrile-water-formic acid (0.5%,v%), 0-5min (10%B) and 5-70 min (10%-60%B) of elution gradient, 1.0ml/min of flow velocity, detection wavelength 280nm, injection volume 3 μ L and the temperature of chromatographic column 30 $^{\circ}$ C. The chromatogram obtained by the said method appears with rather high separative degree and stable base line so that the analysis of chemical components and the quality control of *Rhezoma lycopi* can be effectively conducted on by it.

Key words: *Rhezoma lycopi*, RP-HPLC, analytical method

(责任编辑:周立东,英文译审:秦光道)

(上接第 71 页)

Advances in Studies on Chemical Constituents of Propolis

Nan Yao, Guo Jia, Zheng Lian-Xiang, Zhou Li-Dong

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of

Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100094, PRC)

The advances in propolis studies in recent years since 1996, including chemical constituents, bioactivities and plant sources is reviewed (with 50 references). It's indicated by the first time that natural propolis can be distinguished from extraction of propolis source plants by analysis of glucosides.

Key word: Propolis; glycoside; chemical constituents; bioactivity; plant source.

(责任编辑:王 瑀,英文译审:熊艳艳)

(上接第 83 页)

Ideas and practice in improvement of production output and quality of Chinese Medicinal Materials

Gao Shanlin (School of Traditional Chinese Medicine, China University of Materia Medica, Nanjing 210038)

By summarizing the gradational results achieved in the breeding of medicinal plants and the improved varieties of Chinese medicinal materials in China in Recent 20 years and in combination with the research results made by the authors in the breeding of 10 quality varieties of Chinese medicinal crops, the author of this article hold that it is a feasible way of rapidly increasing the production output and improving the quality of Chinese medicinal plants to breed good varieties of Chinese medicinal materials by the application of bio-technology, and put forward their proposals in the breeding of improved varieties of Chinese medicinal materials and technical training concerned in the future in China.

Key words: Chinese medicinal materials, improved variety, bio-technology, breeding

(责任编辑:刘维杰 张志华,英文译审:秦光道)

56 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]