

## 濒危植物香果树叶片次生代谢产物含量分析

金则新, 李钧敏, 陈丽 (台州学院生态研究所, 浙江临海317000)

**摘要** 对不同样地香果树叶片的鞣质、生物碱、皂甙、绿原酸、总黄酮、总酚和游离蒽醌等7种次生代谢产物的含量进行了测定与分析。结果表明: 香果树叶片中均含有这7种次生代谢产物, 其次生代谢产物总量以干坑最高, 大盘山次之, 庐山最低。其大小顺序为干坑 > 大盘山 > 华顶山 > 括苍山 > 钱江源 > 庐山。7种次生代谢产物在不同样地的含量不同; 其中, 鞣质以大盘山样地最高, 生物碱、总黄酮、游离蒽醌的含量以庐山样地最高, 皂甙、绿原酸的含量以括苍山样地最高, 总酚的含量以干坑样地最高。不同样地各次生代谢产物具有一定的相关性, 生物碱、游离蒽醌与总黄酮之间具有极显著正相关, 游离蒽醌与生物碱之间具有显著正相关, 游离蒽醌与总酚之间具有显著负相关。系统聚类分析显示, 6个样地可聚为3类, 大盘山、华顶山、钱江源、括苍山聚成一类, 庐山、干坑分别单独成一类。

**关键词** 香果树; 叶片; 次生代谢产物; 含量

中图分类号 Q946.8 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)21-5521-02

### Analysis of the Secondary Metabolites Matter in the Leaf of *Emmenopterys henryi*

JIN Ze-xin et al (Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000)

**Abstract** The content of seven secondary metabolites, such as tannin, alkaloid, saponin, chlorogenic acid, total flavonoids, total phenol and emodin in the leaf of *Emmenopterys henryi*, an endangered plant, collected from different plots (GK, DPS, HDS, KCS, QJY and LS) was determined and analyzed. The results showed that firstly, the total content of seven secondary metabolites in the leaf from GK was the highest. That in the leaf from DPS took the second place and that in the leaf from LS was the lowest. The content was in a decreasing order of GK, DPS, HDS, KCS, QJY and LS. Secondly, there was difference in the content of the seven secondary metabolites from different plots. The content of tannin in the leaf from DPS was the highest, while the content of alkaloid, total flavonoids and emodin in the leaf from LS was the highest. The content of saponin and chlorogenic acid in the leaf from KCS was the highest, while the content of total phenol in the leaf from GK was the highest. Thirdly, there was certain correlation among the content of seven secondary metabolites from different plots. There was extremely significant positive correlation between alkaloid or emodin and total flavonoids and significant positive correlation between emodin and alkaloid, while there was significant negative correlation between emodin and total phenol. Fourthly, systematic cluster analysis showed that six plots could be clustered into three groups. DPS, HDS, QJY and KCS were clustered into one group while LS and GK became one group by itself.

**Key words** *Emmenopterys henryi*; Leaf; Secondary metabolites; Content

香果树(*Emmenopterys henryi*) 是茜草科(*Rubiaceae*) 的单种属植物, 为我国所特有, 是第4纪冰川幸存的古老孑遗树种之一, 现存数量有限, 濒于灭绝, 被列为国家2级保护植物。目前仅有对香果树的种子生理<sup>[1]</sup>、群落结构<sup>[2]</sup>、组织培养<sup>[3]</sup>等方面的研究报道, 有关香果树次生代谢产物含量的研究很少报道, 仅对其树干的化学成分进行了研究<sup>[4]</sup>, 对它的开发利用相当有限。

笔者通过对不同样地香果树叶片的鞣质、生物碱、皂甙、绿原酸、黄酮、总酚和游离蒽醌等7种次生代谢产物的含量进行测定与分析, 为深入了解香果树次生代谢产物的分布规律, 合理开发利用香果树自然资源提供基础资料。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 试验材料采自浙江的磐安大盘山(DPS)、临安干坑(GK)、天台华顶山(HDS)、开化钱江源(QJY)、临海括苍山(KCS)以及江西庐山(LS)等6个样地, 各样地环境条件见表1。于2005年7月采集香果树树冠顶层叶片, 塑料袋封装, 立即带回实验室。将材料洗净, 自然风干, 105℃杀青15 min, 75℃下烘干至恒重, 研磨后过0.25 mm金属网筛, 将烘干样品放入广口瓶中, 置于-20℃冰箱中保存, 备用<sup>[5]</sup>。标准品芦丁、没食子酸、绿原酸、小檗碱、3,5-二羟基蒽醌、人参皂甙Re购自中国药品生物制品检定所, 纯度为定量分析用。

**1.2 方法** 次生代谢产物含量的测定。鞣质、生物碱、皂甙、绿原酸、总黄酮、总酚、游离蒽醌含量参照文献[6-12]测

定, 分别以各类标准品为标样, 制定标准曲线, 得回归方程, 具体见表2。

表1 不同样地的环境条件

样地	地点	地理位置	海拔 m
大盘山(DPS)	浙江省磐安县大盘山	N28°59', E120°32'	720
干坑(GK)	浙江省临安市颊口镇干坑	N30°08', E119°01'	980
华顶山(HDS)	浙江省天台县华顶山国家森林公园	N29°15', E121°06'	940
钱江源(QJY)	浙江省开化县齐溪镇钱江源国家森林公园	N29°26', E118°17'	530
括苍山(KCS)	浙江省临海市括苍山	N28°49', E120°55'	920
庐山(LS)	江西省庐山国家森林公园	N29°35', E115°58'	910

表2 香果树叶片各类次生代谢产物的回归方程

次生代谢产物	标准品	回归方程	相关系数(r)
鞣质	没食子酸	$y = 0.0181x + 0.6881$	0.9995
生物碱	小檗碱	$y = 0.0048x + 0.0057$	0.9986
皂甙	人参皂甙Re	$y = 0.0181x + 0.0002$	0.9999
绿原酸	绿原酸	$y = 11.55x - 0.0468$	0.9984
总黄酮	芦丁	$y = 0.0154x - 0.0045$	0.9969
总酚	没食子酸	$y = 0.0498x - 0.005$	0.9931
游离蒽醌	3,5-二羟基蒽醌	$y = 0.0256x - 0.0006$	0.9994

**1.3 数据处理** 试验处理及数据测定均重复3次, 取平均值。平均值及标准差采用Excel软件计算, 单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)、Duncan新复极差法检验、相关系数、系统聚类分析均采用DPS统计软件<sup>[13]</sup>完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同样地香果树叶片次生代谢产物含量分析(表3)

从次生代谢产物的总量来看, GK最高, DPS次之, LS最低, 其高低顺序依次为 GK > DPS > HDS > KCS > QJY > LS。不同样地香果树的叶片鞣质、生物碱、皂甙、绿原酸、总黄酮、总酚、

基金项目 浙江省自然科学基金资助项目(399203); 台州市科技局资助项目(044205)。

作者简介 金则新(1960-), 男, 浙江临海人, 硕士, 教授, 从事植物生态学研究。

收稿日期 2006-08-07

游离蒽醌含量之间具有极显著差异, F 值分别为 24.137、120.071、63.621、96.812、301.581、89.966、41.180。Durcan 新复极差法检验显示, 不同样地香果树叶片的 7 种次生代谢产物的含量并不相同, 鞣质的含量以 DPS 最高, GK 次之, LS 最低, DPS、GK、KCS 之间的差异不显著, HDS、QJY、LS 之间的差异也不显著, 而 DPS、GK 与 HDS、QJY、LS 之间的差异均极显著, KCS 与 HDS 之间差异显著, 与 QJY、LS 之间的差异极显著。生物碱的含量以 LS 最高, QJY 次之, DPS 最低, LS 与其他样

地间的差异均极显著。皂甙含量以 KCS 最高, DPS 次之, HDS 最低, KCS 与其他样地间的差异均极显著。绿原酸以 KCS 最高, GK 次之, QJY 最低, KCS 除与 GK 差异显著外, 与其他样地间的差异均极显著。总黄酮含量以 LS 最高, KCS 次之, DPS 最低, LS 与其他样地间的差异均极显著。总酚的含量以 GK 最高, HDS 次之, LS 的含量最低, GK 与其他样地间的差异均极显著。游离蒽醌的含量以 LS 最高, KCS 次之, DPS 最低, LS 与其他样地间的差异均极显著。

表3 不同样地香果树叶片次生代谢产物含量 %

样地	鞣质	生物碱	皂甙	绿原酸	总黄酮	总酚	游离蒽醌	总量
DPS	1.802 8 ± 0.193 5 aA	0.832 2 ± 0.011 9 dD	0.697 1 ± 0.024 6 bB	0.415 8 ± 0.014 8 cdBC	0.924 5 ± 0.009 9 eE	21.714 3 ± 1.677 1 bB	0.188 1 ± 0.010 3 cC	26.574 8
GK	1.664 7 ± 0.128 3 aA	0.947 1 ± 0.024 8 cC	0.673 6 ± 0.053 2 bB	0.497 3 ± 0.015 0 bA	1.097 1 ± 0.264 0 dD	28.346 9 ± 0.382 3 aA	0.214 8 ± 0.017 5 bcBC	33.441 5
HDS	1.167 4 ± 0.143 8 bBC	1.057 8 ± 0.008 0 bB	0.416 2 ± 0.011 2 cD	0.442 5 ± 0.014 0 cB	1.103 1 ± 0.032 4 dCD	22.061 2 ± 0.282 9 bB	0.217 1 ± 0.010 8 bcBC	26.465 3
QJY	1.075 4 ± 0.105 5 bC	1.078 0 ± 0.031 0 bB	0.510 1 ± 0.009 4 cCD	0.389 8 ± 0.012 3 dC	1.174 5 ± 0.012 9 cC	20.408 2 ± 0.491 1 bB	0.247 0 ± 0.028 6 bB	24.883 0
KCS	1.604 8 ± 0.069 1 aAB	1.045 3 ± 0.001 3 bB	0.913 9 ± 0.028 2 aA	0.526 1 ± 0.012 0 aA	1.297 3 ± 0.017 4 bB	19.551 0 ± 0.777 7 bB	0.255 5 ± 0.012 2 bB	25.193 9
LS	0.891 2 ± 0.105 5 bC	1.200 5 ± 0.021 2 aA	0.640 4 ± 0.063 6 bBC	0.394 0 ± 0.008 5 dC	1.500 8 ± 0.005 9 aA	13.040 8 ± 0.401 5 cC	0.341 4 ± 0.003 4 aA	18.009 1

注: 采用 Durcan 新复极差法检验进行同一次生代谢产物不同器官间的多重比较, 表中不同大、小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著。

## 2.2 不同样地香果树叶片次生代谢产物含量的相关性分析

由表 4 可见, 不同样地香果树叶片 7 种次生代谢产物之间具有一定的相关性, 除生物碱与总黄酮、游离蒽醌与总黄酮之间具有极显著正相关, 游离蒽醌与生物碱之间具有显著正相关, 游离蒽醌与总酚之间具有显著负相关外, 其他次生代谢产物之间的相关性不显著。

表4 香果树叶片次生代谢产物含量的相关性

	鞣质	生物碱	皂甙	绿原酸	总黄酮	总酚	游离蒽醌
鞣质	-						
生物碱	0.182 4	-					
皂甙	0.575 4	- 0.207 8	-				
绿原酸	0.604 6	- 0.248 6	0.624 0	-			
总黄酮	- 0.667 0	0.903 4	0.194 2	- 0.057 9	-		
总酚	0.646 9	- 0.691 5	- 0.064 4	0.491 8	- 0.738 9	-	
游离蒽醌	0.727 7	0.885 3	0.101 5	- 0.267 6	0.972 2	- 0.816 7	-

注: \* \* 表示极显著相关性; \* 表示显著相关性。

## 2.3 不同样地香果树叶片次生代谢产物含量的系统聚类分析

根据不同样地香果树叶片 7 种次生代谢产物的含量计算欧氏距离, 运用 UPGMA 法进行系统聚类, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 7 个样地可聚为 3 类, DPS、HDS 与 QJY、KCS 聚成一类, 而 GK、LS 则各自单独成一类。

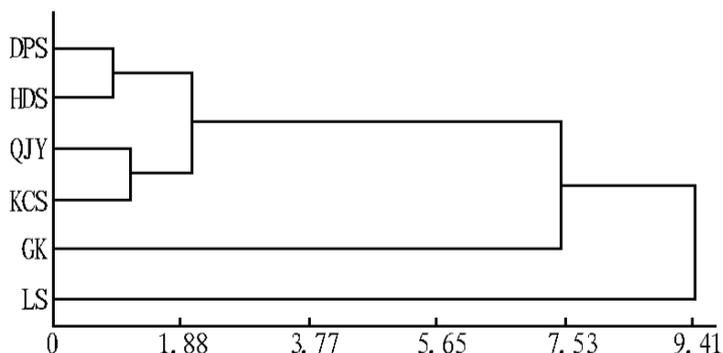


图1 香果树叶片次生代谢产物含量的系统聚类

## 3 讨论

同种植物, 由于所处的生长环境不同, 对环境将会产生不同的反应。植物对所处生境的反应不仅体现在外部形态上, 在代谢水平上也有反应, 也就是环境不同会导致其所含的化学成分产生差异<sup>[14]</sup>。该研究结果表明, 不同样地香果树叶片 7 种次生代谢产物总量差异较大, 以干坑样地最高,

大盘山样地次之, 庐山样地最低。表明不同生境对次生代谢产物的形成有一定的影响。不同样地香果树叶片的 7 种次生代谢产物的含量差异较大; 其中, 鞣质以大盘山样地最高, 生物碱、总黄酮、游离蒽醌的含量以庐山样地最高, 皂甙、绿原酸的含量以括苍山样地最高, 总酚的含量以干坑样地最高。系统聚类分析显示, 江西庐山与浙江省内的几个样地的地理距离较远, 其环境因子的差距相对较大, 其次生代谢产物含量也有明显差异, 因此, 庐山单独成一类; 此外, 浙北的干坑与浙江省内其他样地相差较大, 也单独成一类; 浙江省内其他样地的次生代谢产物含量比较一致, 因此它们聚成一类。这些都说明了不同生境可影响次生代谢产物的合成和积累, 生态因素也是调节次生代谢产物形成的重要因素。

## 参考文献

- [1] 汪祖潭, 赵伟明, 钱领元. 香果树种子发芽条件及胚的后熟作用[J]. 浙江林业科技, 1991, 11(4): 35-38.
- [2] 徐小玉, 姚崇怀, 潘俊. 湖北九宫山香果树群落结构特征研究[J]. 西南林学院学报, 2002, 22(1): 5-8.
- [3] 韦小丽, 朱忠荣, 廖明, 等. 香果树组织培养技术[J]. 种子, 2005, 24(10): 27-29.
- [4] 马忠武, 何关福. 我国特有植物香果树化学成分的研究[J]. 植物学报, 1989, 31(8): 620-625.
- [5] 何维明, 钟章成. 绞股蓝种群次生代谢产物的动态及其生态学意义[J]. 云南植物研究, 1998, 20(4): 434-438.
- [6] 王璐, 王晓, 施大文. 中药锁阳鞣质含量的测定[J]. 上海医科大学学报, 1996, 23(2): 150.
- [7] 李惠芬, 卢继新, 张晓梅, 等. 五种不同产地天仙子总生物碱的含量分析[J]. 中草药, 1999, 30(8): 582-583.
- [8] 宋永良. 复方乳鸽胶囊中绞股蓝总皂甙含量测定[J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(3): 77.
- [9] 邢俊波, 李萍, 温德良. 不同物候期金银花中总绿原酸的积累动态研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 456-459.
- [10] 庄高平, 虞杏英, 更生, 等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992, 23(3): 122-124.
- [11] 张军, 杨庆凯, 王守义, 等. 大豆抗SCN<sub>2</sub>过程中总酚含量动态分析[J]. 大豆科学, 2002, 21(1): 71-74.
- [12] 陈红红, 黄丽玫. 德庆等地巴戟天中蒽醌及多糖的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2002, 6(2): 103-105.
- [13] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其DPS数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [14] 曾波, 钟章成. 四川大头茶黄酮类化合物的聚酰胺薄膜层析分析[J]. 植物生态学报, 1997, 21(1): 90-96.