

七子花叶片次生代谢产物含量分析

杨蓓芬, 邵红, 金则新

(台州学院 生态研究所, 浙江 临海 317000)

摘要:对七子花树冠不同层次叶片的黄酮、鞣质、生物碱、皂甙、木质素和绿原酸等6种次生代谢产物的含量进行测定。结果表明,6种次生代谢产物的总量和各次生代谢产物的含量在不同层次之间存在着一定的差异,总量以上层最高,为 $150.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;黄酮以中层最高,总生物碱是下层最高,总皂甙、绿原酸、鞣质、木质素均为上层最高。6种次生代谢产物中,绿原酸与总皂甙、总生物碱与绿原酸之间存在极显著的相关性。

关键词:七子花;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:**1001-7461(2006)02-0130-03

Analysis of Secondary Metabolism Contents in Leafblades of *Heptacodium miconioides*

YANG Bei-fen, SHAO Hong, JIN Ze-xin

(Ecology Institute of Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000, China)

Abstract: Contents of 6 secondary metabolites such as flavonoid, tannin, alkaloid, saponin, lignin and chlorogenic acid in leaves of *Heptacodium miconioides* from different crown layer were determined. The results showed that there were certain differences among 6 secondary metabolites contents and total content in the leaves from different layers. The total secondary metabolites content in the leaves from the top layer was highest ($150.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The flavonoids in the leaves from the middle layer were the highest, and the alkaloid in the leaves from the low layer was the highest. The saponin, chlorogenic acid, tannin and lignin in the leaves from the top layer were the highest. Among 6 secondary metabolites, there was significant relationship between the chlorogenic acid and the tannin, and also between the chlorogenic acid and the alkaloid.

Key words: *Heptacodium miconioides*; leafblades; secondary metabolites; content

七子花(*Heptacodium miconioides*)为我国特有的落叶小乔木,属忍冬科(Caprifoliaceae)的单种属植物,是国家首批2级重点保护植物。多生于悬崖峭壁、沟谷和山坡灌丛,分布范围窄,野生资源很少。七子花树姿优美,花朵纤小可爱,具有很高的观赏价值,可以作为园林绿化树种。有关七子花的已有较多的研究,主要集中在对其种群结构、分布格局、群落特征、物种多样性、光合生理生态特性以及细胞学等方面^[1]。而对次生代谢产物方面研究很少,仅对总黄酮含量及成分进行了分析^[2],而对其他次生代谢产物含量以及不同层次叶片黄酮含量变化的研究尚未

报道。本研究对七子花树冠不同层次叶片的黄酮、鞣质、生物碱、皂甙、木质素和绿原酸等6种次生代谢产物的含量进行了测定,为合理开发利用七子花资源提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

实验材料于2004年7月采自浙江天台山狮子岩坑的天然七子花个体。选择生长正常的七子花植株,对其树冠叶片分上、中、下3层进行采集,将各样品分别用湿布包裹,塑料袋封装,立即带回实验室。

收稿日期:2005-07-28 修回日期:2005-09-24

基金项目:浙江省自然科学基金项目(399203)、台州市科技局项目(044205)

作者简介:杨蓓芬(1965-),女,浙江临海人,讲师,主要从事植物学教学与研究工作。

将材料洗净,自然风干,100℃水蒸气固定 25 min, 70℃干燥 12 h,研磨后经过 0.25 mm 金属网筛,将烘干样品放入磨口广口瓶,置于干燥器中保存,备用^[3]。

芦丁、绿原酸、小檗碱、人参皂甙 Rb 购自中国药品生物制品检定所。

吸光度的测定在日本岛津 UV2401-PC 紫外—可见分光光度计上完成。

1.2 次生代谢产物含量的测定

1.2.1 黄酮的测定^[4] 取七子花样品 0.1 g,加入 5 mL 甲醇,80℃水浴回流提取 2 h,离心取上清液,定容至 25 mL,取 1 mL,置 10 mL 离心管中,加入 4 mL 0.1 mol/L AlCl₃-甲醇溶液,摇匀,在 420 nm 处测定吸光度。以芦丁为标准品,其回归方程为 $y=8.0362x-0.0016$, $R_2=0.9975$ 。

1.2.2 鞣质的测定^[5] 取七子花样品 0.1 g,加水 25 mL,微火煮沸 30 min,放冷过滤至干燥锥形瓶中,加水定容至 25 mL,吸取 1 mL 提取液,加入 24 mL 蒸馏水,再加入 2 滴 5% 鞣红溶液,用 0.01 mol/L KMnO₄ 溶液滴定,溶液从蓝色变以绿色再变为黄色为终点。以没食子酸为标准品,回归方程为 $y=0.0136x+0.0003$, $R_2=0.9999$ 。

1.2.3 生物碱的测定^[6] 取七子花样品 0.1 g,加入 90%乙醇 5 mL,85℃水浴回流提取 0.5 h,离心取上清液,再用 90%乙醇定容至 25 mL。取提取液 1.4 mL 置于精密加入 4 mL 氯仿的分液漏斗中,加入 7.2×10^{-4} mol/L 溴甲酚绿 pH=4.42 缓冲溶液 0.6 mL,振摇 1 min,静置 1 h,取澄清的氯仿液,以试剂空白作对照,于 417 nm 处测定吸收度。以小檗碱为标准品,其回归方程为 $y=6.6x-0.0102$, $R_2=0.9999$ 。

1.2.4 总皂甙的测定^[7] 取七子花样品 0.1 g,加入无水乙醇 5 mL,85℃回流提取 6 h,离心取上清液,挥去溶剂后加 2 mL 水使其溶解,再加 2 mL 乙醚进行萃取,取水层,放入 80℃干燥箱中,待干燥后用甲醇定容至 25 mL,取 1 mL 置 25 mL 容量瓶中,

挥去溶剂后,加入 0.2 mL 5%香草醛冰醋酸溶液,再加入 0.8 mL 高氯酸,于 70℃水浴加热 20 min,取出,冷却,加 5mL 冰醋酸,以试剂空白作对照,于 560 nm 波长处测其吸光度。以人参皂甙 Rb 为标准品,其回归方程为 $y=27.763x+0.0901$, $R_2=0.9716$ 。

1.2.5 绿原酸的测定^[8] 取七子花样品 0.1 g,加入 95%乙醇 5 mL 回流提取 2 h,离心取上清液,定容至 25 mL,取 1 mL,置 25 mL 容量瓶中,加入 0.2 mol/L HCl 定容至刻度,摇匀,以试剂空白为对照,在 324 nm 处测定吸光度。以绿原酸为标准品,其回归方程为 $y=57.868x-0.0061$, $R_2=0.9914$ 。

1.2.6 木质素的测定^[9] 取七子花样品 0.1 g,加入 1%冰乙酸 5 mL 摇匀,放置提取 0.5 h,2 500 r/min 离心 10 min,去上清液,取沉淀;沉淀中加 5 mL 丙酮同上处理,最加 5 mL 72%H₂SO₄ 同上处理;所得沉淀加 5 mL 0.5 mol/L 重铬酸钾 5 mL 放置提取 0.5 h,加入 0.1 mol/L KI 10 mL 和 1%淀粉水溶液 1 mL,用 0.5 mol/L 硫代硫酸钠滴定至亮黄色,记录滴定溶液毫升数。并作空白对照。

1.3 数据处理

试验处理及数据测定均重复 3 次,将所得数据输入 SPSS 数据分析系统进行统计分析,对不同层次之间次生代谢产物的含量进行 *t*-检验,对 6 种次生代谢产物的含量进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同层次叶片中次生代谢产物含量分析

由表 1 可知,七子花不同层次叶片黄酮平均含量为 28.70 g·kg⁻¹,其中中层叶片黄酮含量最高,上层次之,下层最低;总皂甙、绿原酸和 6 种次生代谢产物的总量的平均含量分别为 5.86、37.98、143.05 g·kg⁻¹,都是上层>中层>下层;鞣质和木质素的平均含量分别为 6.45 g·kg⁻¹和 20.98 g·kg⁻¹;均为上层>下层>中层;总生物碱的含量是 43.08 g·kg⁻¹,且是下层>中层>上层。

表 1 七子花不同层次叶片次生代谢产物的含量

| Table 1 The content of secondary metabolism in leaves of <i>H. micnioides</i> from different layer | | | | | | | g·kg ⁻¹ |
|--|-------|------|------|-------|-------|-------|--------------------|
| 层次 | 黄酮 | 总皂甙 | 鞣质 | 木质素 | 绿原酸 | 总生物碱 | 总量 |
| 上层 | 27.89 | 6.36 | 7.32 | 21.30 | 52.86 | 34.93 | 150.66 |
| 中层 | 32.41 | 5.70 | 5.60 | 20.57 | 32.41 | 42.78 | 139.47 |
| 下层 | 25.79 | 5.52 | 6.42 | 21.08 | 28.67 | 51.54 | 139.02 |
| 平均 | 28.70 | 5.86 | 6.45 | 20.98 | 37.98 | 43.08 | 143.05 |

2.2 不同层次叶片次生代谢产物含量的差异性

从表 2 可知,七子花的上层与中层之间,黄酮、绿原酸、生物碱具有极显著的差异,木质素具有显著差异,皂甙、鞣质和总量则没有显著差异;上层与下层之间,黄酮、皂甙、绿原酸、生物碱存在极显著差

异,总量具有显著差异,鞣质无差异;上层和下层之间,黄酮与总生物碱存在着极显著的差异,木质素、绿原酸存在显著差异,总皂甙、鞣质和总量没有显著差异。

表 2 七子花不同层次次生代谢产物含量的 t 检验

Table 2 The test of content of secondary metabolism in leaves of *H. miconioides* from different layers

| 层次 | 黄酮 | 总皂甙 | 鞣质 | 木质素 | 绿原酸 | 总生物碱 | 总量 |
|-------|-----------|---------|--------|---------|----------|-----------|--------|
| 上层~中层 | -31.241** | 2.157 | 2.513 | 3.309* | 10.592** | -49.516** | 3.900 |
| 上层~下层 | 13.660** | 6.349** | 1.219 | 1.267 | 13.537** | -82.604** | 4.596* |
| 中层~下层 | 59.691** | 0.614 | -1.240 | -3.129* | 3.041* | -67.252** | 0.234 |

注:*, $p<0.05$,差异显著;**, $p<0.01$,差异极显著(下表同)

2.3 不同层次叶片次生代谢产物含量的相关性

从表 3 中可以看出,6 种次生代谢产物的总量与总皂甙、鞣质、绿原酸存在极显著的相关性,与木质素、总生物碱存在显著相关性,而与黄酮则没有显著相关性。总生物碱与绿原酸之间存在极显著相关

性,与总皂甙之间存在显著相关性,与黄酮、鞣质、木质素没有显著相关性。绿原酸与总皂甙之间存在极显著相关性,与黄酮、鞣质、木质素之间不存在显著相关性。木质素与黄酮、总皂甙和鞣质之间均存在显著相关性。总皂甙与黄酮之间没有显著相关性。

表 3 七子花不同层次叶片次生代谢产物含量的相关性分析

Table 3 The correlations analysis of content of secondary metabolism in the leaves of *H. miconioides* from different layer

| | 黄酮 | 总皂甙 | 鞣质 | 木质素 | 绿原酸 | 总生物碱 | 总量 |
|------|-------|--------|--------|---------|---------|----------|---------|
| 黄酮 | 1.000 | -0.010 | -0.449 | -0.639* | -0.061 | -0.341 | -0.151 |
| 总皂甙 | | 1.000 | 0.660 | 0.667* | 0.855** | -0.772* | 0.891** |
| 鞣质 | | | 1.000 | 0.702* | 0.652 | -0.363 | 0.816** |
| 木质素 | | | | 1.000 | 0.565 | -0.230 | 0.667* |
| 绿原酸 | | | | | 1.000 | -0.907** | 0.956** |
| 总生物碱 | | | | | | 1.000 | -0.794* |
| 总量 | | | | | | | 1.000 |

3 结论与讨论

次生代谢是植物的重要特征,其产物既具有重要的生态学意义又可决定各类植物在进化过程中的兴衰成败、生死存亡等问题。合成和利用次生代谢产物是植物适应环境的重要对策之一,植物可以通过次生代谢产物来阻止其他生物的侵袭,抑制与其竞争生存条件的其他植物种群的生长发育^[10]。

七子花叶片中 6 种次生代谢产物的总量在不同层次之间存在着一定的差异,其中各次生代谢产物的含量也具有一定的差异。黄酮以中层最高,表明叶片黄酮的含量并不是随着光照强度的增加而线性增加,而是存在一个最适光照强度,处在这一临界光照条件的叶片黄酮含量最高,大于或小于这一临界光照强度黄酮的含量下降^[11];总生物碱是下层最高,这与范卓文的结论一致^[12];总皂甙、绿原酸、鞣质、木质素均为上层最高,表明总皂甙、绿原酸、鞣质、木

质素的形成需要较强的光照,可能与次生代谢产物的合成途径有一定的关系^[13]。

七子花叶片中绿原酸与总皂甙之间、绿原酸与总生物碱之间具有极显著的相关性;木质素与黄酮、总皂甙、鞣质之间,总皂甙和总生物碱之间具有显著相关性,这可能与它们是否具有相同的代谢中间产物有一定的关系^[13]。

七子花叶片中黄酮、总生物碱、总皂甙、绿原酸、鞣质、木质素的最高含量分别为 32.41、51.54、6.36、52.86、7.32、21.30 g · kg⁻¹。

据文献资料可知,银杏叶中黄酮的含量最高为 27.4 g · kg⁻¹^[14],金银花中绿原酸的平均含量为 56.92 g · kg⁻¹^[15],苦参叶中总生物碱含量分别为 7.1 g · kg⁻¹,沙枣中鞣质的含量为 77.3 g · kg⁻¹^[17]。黄瓜经诱导和未诱导叶片中木质素含量分别为 84.0 g · kg⁻¹和 70.0 g · kg⁻¹^[18]。不难看出,七子花叶片中的黄酮、绿原酸、总生物碱的含量较高,

可能具有一定的开发前景,有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 俞建,于明坚,金孝锋,等.浙江省七子花资源现状及保护建议[J].浙江大学学报(理学版),2003,30(3):314-326.
- [2] 金则新,李钧敏.七子花总黄酮含量及成分分析[J].浙江林学院学报,2003,20(4):357-359.
- [3] 何维明,钟章成.纹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.
- [4] 彭晓春,王辉亮,刘文萍,等.湘西杜仲花根黄酮类化合物含量测定[J].吉首大学学报(自然科学版),2000,21(1):11-12.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 丁之恩,严平.西洋参茎叶总皂甙的提取分离研究[J].经济林研究,2000,18(1):58-59.
- [8] 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.
- [9] 骆桂芬,邹艳华,张伟.黄瓜叶片中木质素含量与抗霜霉病的关系[J].吉林农业大学学报,1995,17(2):18-21.
- [10] 杜近义,胡国赋,秦际威.植物次生代谢产物的生态学意义[J].生物学杂志,1999,16(5):9-10.
- [11] 王田华,谢宝东,姜岳忠,等.光照强度对银杏叶片发育及黄酮和内酯含量的影响[J].江西农业大学学报,2002,24(5):618-622.
- [12] 范卓文,雷捷.日照强度对贝母总生物碱含量的影响[J].哈尔滨师范大学学报(自然科学版),2003,19(2):98-99.
- [13] 唐建军,项田夫,张禄源,等.植物次生代谢、离体培养条件下次生代谢物积累及其调控研究进展[J].中国野生植物资源,1998,17(4):1-6.
- [14] 张迪清,何照范.银杏叶资源[M].北京:中国轻工业出版社,1999.
- [15] 李海鹰,周凤琴,张照荣,等.不同批次商品金银花绿原酸含量比较[J].山东中医学院学报,1995,19(2):134-135.
- [16] 周维仁,李优琴,薛飞,等.苦参植株中总生物碱的分布及含量测定[J].氨基酸和生物资源,2001,23(2):57-58.
- [17] 江发寿,赵继红.沙枣鞣质的含量测定[J].基层中药杂志,2002,16(2):25-26.
- [18] 骆桂芬,崔俊涛,张莉,等.黄瓜叶片中糖和木质素含量与霜霉病诱导抗性的关系[J].植物病理学报,1997,27(1):65-69.

(上接第129页)

参考文献:

- [1] 何芬奇,张荫荪,吴勇,等.鄂尔多斯桃力庙-阿拉善湾海子湿地鸟类群落研究与湿地生境评估[A].见:陈宜瑜主编.中国湿地研究[C].长春:吉林科学技术出版社,1995.
- [2] 何芬奇,乔振忠,罗伟仁.面临考验的不止是鄂尔多斯遗鸥[J].大自然,2004,5:32-34.
- [3] 罗娅萍.心系鄂尔多斯高原[J].大自然,2004,(5):34-36.
- [4] 张荫荪,何芬奇,陈容伯,等.遗鸥繁殖生境选择及其繁殖地湿地鸟类群落研究[J].动物学研究,1993,14(2):128-135.
- [5] 高铁军,吴勇,吴兆军,等.遗鸥在鄂尔多斯中部的分布暨一新巢群的发现[J].动物学杂志,1992,27(5):31-33.
- [6] 何芬奇,张荫荪,吴勇.遗鸥鄂尔多斯种群研究的最新报道[J].生物多样性,1994,2(2):88-90.
- [7] 何芬奇,张荫荪,叶恩琦,等.鄂尔多斯桃力庙-阿拉善湾海子湿地鸟类群落研究与湿地生境评估[J].生物多样性,4(4):187-193.
- [8] 国家自然科学基金委员会.物种濒危机制和保育原理[M].北京:中国科学出版社,2005.