

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.01.014

# 不同种源华重楼主要生物活性成分地理变异及其相关性分析

曾平生, 厉月桥\*, 周新华, 姚甲宝, 潘文婷, 熊光康

(中国林业科学研究院亚热带林业实验中心, 江西 分宜 336600)

**摘要:** [目的] 阐明华重楼主要药用成分的地理变异规律, 为华重楼种质资源利用和原料林基地选址提供科学依据。[方法] 以我国 8 省份 10 个种源华重楼为材料, 对其根茎总酚酸、总黄酮、重楼皂苷 I、II、VI 和 VII 含量进行了测定、分析。[结果] 不同地理种源间华重楼根茎总酚酸、总黄酮、重楼 I、II、VI 和 VII 含量差异均达极显著水平。不同种源华重楼根茎中总酚酸含量变异幅度为  $1.718 \sim 5.436 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; 总黄酮含量变异幅度为  $0.780 \sim 1.457 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; 重 I、II、VI 和 VII 含量变异幅度为  $0.008 \sim 2.106$ 、 $0.000 \sim 0.646 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.000 \sim 0.521$  和  $0.000 \sim 9.170 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; 华重楼根茎中总酚酸含量与原产地海拔、皂苷 II 与 1 月均温呈中度正相关关系, 总黄酮含量与全年日照时数、皂苷 VII 与海拔呈中度负相关关系。总皂苷与海拔间呈高度负相关关系, 皂苷 II 与年均温、皂苷 VI 与 7 月均温间均呈高度正相关关系; 华重楼根茎中总酚酸与总黄酮含量、总黄酮与皂苷 I 含量、皂苷 I 与皂苷 II 含量呈中度正相关关系, 总皂苷与皂苷 VII 含量呈高度正相关关系。聚类分析表明, 10 个种源可以划分为 3 个类群, 低酚酸、低黄酮和高皂苷类群, 高酚酸、高黄酮、低皂苷类群和中酚酸、中黄酮、中皂苷类群。[结论] 广西桂林为高酚酸和高黄酮优良种源, 安徽祁门为高皂苷优良种源。

**关键词:** 华重楼; 种源; 重楼皂苷; 生物活性成分; 地理变异

**中图分类号:** S718.43

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2021)01-0114-07

华重楼 (*Paris polyphylla var. chinensis* (Franch.)) 又名七叶一枝花, 为百合科重楼属植物, 主要分布在我国长江以南江苏、浙江、江西、福建、台湾、湖北、湖南、广东、广西、四川、贵州和云南等省份<sup>[1]</sup>。华重楼为 2015 年版《中国药典》收录的重楼药材的基原植物, 以干燥根茎入药, 主要可用于消肿止痛、清热解毒、定惊凉肝等药用功能, 可治疗毒蛇咬伤、跌打伤痛、咽喉肿痛、惊风抽搐等病症<sup>[2]</sup>。现代医学药理研究表明, 华重楼化学成分包括甾体皂苷、蜕皮激素及其糖苷、黄酮等, 重楼皂苷 I、II、VI 和 VII 等是其重要的生物活性成分和衡量药材质量的重要指标<sup>[3]</sup>, 具有抗肿瘤<sup>[4-6]</sup>、止血镇痛、抗炎抑菌、调节免疫力<sup>[7]</sup>、促进骨细胞增殖分

化等多方面功能<sup>[8]</sup>, 为我国传统常用中药云南白药、宫血宁胶囊等 80 余种中成药的重要原料<sup>[9]</sup>。近年来, 随着对华重楼野生种质资源的无序开采, 许多地区种质资源已濒临灭绝、种质遗传多样性锐减。开展华重楼天然种质收集、保存和评价工作, 筛选生物活性成分高的优良种质, 对华重楼种质资源保护和合理利用具有十分重要的意义<sup>[10]</sup>。

目前, 国内外对于华重楼的研究集中在化学成分分析与药理活性研究<sup>[11-13]</sup>、有效成分提取<sup>[14]</sup>、治疗机制<sup>[15-16]</sup>和人工育苗、栽培方面<sup>[17-18]</sup>。而许多药用植物的生物活性成分与原产地气候生态因子密切相关, 并在长期进化过程中形成特有的地理种源变异模式。因此研究重楼种质变异规律, 优良种质筛

收稿日期: 2020-02-10 修回日期: 2020-06-03

基金项目: 油茶林下七叶一枝花高效仿生栽培技术与示范 (2017 SY20)

\* 通讯作者: 厉月桥, 博士, 高级工程师. 主要研究方向: 主要从事林源药用植物研究与开发. 电话: 15979881138 Email: liyueqiao132@163.com

选和人工栽培均具有重要意义。陈铁柱等通过研究, 证实了我国华重楼西部产区四川、重庆、云南等省 7 种重楼皂苷甙体含量具有明显差异, 与气候生态因子间亦存在密切关系<sup>[19]</sup>。但现有研究还未能从全分布区尺度反映华重楼主要生物活性成分的种源差异, 并系统揭示华重楼根茎总皂苷、总酚酸、黄酮性状指标的地理种源变异模式及其与原产地地理、气候因子的相关关系, 同时关于华重楼主要生物活性成分间的相关性分析方面的研究也相对较少。而对药用植物开展种源评价、优良种质鉴定是种植基地选址和遗传改良十分基础的工作。

本研究在对我国华重楼天然分布区 10 个种源种质收集的基础上, 开展了不同种源根茎器官总酚酸、黄酮、重楼总皂苷和皂苷 I、II、VI 和 VII 的地理变异规律研究及主要生物活性成分间的相关性

分析, 旨在为华重楼遗传改良和丰产栽培提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料的收集与处理

华重楼种源种质收集点选择与地理气候因子信息的收集。首先查阅我国华重楼天然分布范围和分布地点相关资料基础上, 设置了河南、湖北、安徽、江西、广东、广西、重庆和湖南 8 省份 10 个地理种源收集地点, 所采种源样本基本覆盖了华重楼在中国主要地理分布区。各种源所在的地理、生态气候因子见表 1。计算种源地与温度相关的气象因子时, 以当地气象台站数据为依据, 按海拔每上升 100 m, 温度降低 0.55℃ 进行修正<sup>[20]</sup>。

表 1 华重楼种源采样地理位置及主要气象因子

Table 1 Geographical locations and meteorological factors of the sampled provenances of *Paris polyphylla* var. *chinensis*

种源 Provenances	E Longitude	N Latitude	海拔 Elevation/m	实际年均温 Annual mean temperature/℃	实际7月均温 Mean temperature of July/℃	实际1月均温 Mean temperature of January/℃	年均降水量 Annual precipitation/mm	无霜期 Frost free period/d	全年日照时数 Sunshine hours/h
河南新县	114.98	31.55	603	12.50	24.50	-0.40	1 287.0	222	2 012.0
湖北宜昌	111.07	31.11	991	12.14	22.94	0.14	1 138.0	295	1 215.6
重庆石柱	117.80	30.25	388	17.37	27.17	6.87	1 126.6	210	1 333.3
安徽祁门	117.62	30.10	216	15.16	26.86	3.56	1 781.4	232	1 816.6
湖南张家界	109.67	28.87	183	16.90	33.00	5.30	1 400.0	243	1 440.0
江西丰城	115.73	27.83	149	15.82	28.92	4.72	1 552.1	274	1 935.7
江西分宜	114.54	27.62	348	15.78	32.48	4.38	1 615.0	270	1 624.0
广西桂林	110.69	26.06	813	12.79	24.59	4.49	1 761.1	300	1 307.6
江西信丰	114.58	25.34	326	18.61	28.11	7.71	1 511.0	280	1 810.7
广东连州	112.63	24.94	520	17.22	26.52	6.92	1 600.0	275	1 510.6

华重楼种源种质的收集。于 2018 年 9 月—12 月, 在每一种源选择 4—5 a 生, 生长健康、发育完好的华重楼植株 30 株以上, 植株间距离 40 m 以上, 采集根茎部作为种源样品。样品采回后, 经中国林业科学研究院亚热带林业实验中心植物分类专家王燕良高级工程师鉴定, 均为华重楼植株。

### 1.2 样品检测与分析

1.2.1 总黄酮、总酚酸含量测定 先将华重楼根茎样品分单株用清水洗净, 放入 110℃ 烘箱杀青 30 min, 然后在 45℃ 条件下烘干至恒质量。将烘干的样品粉碎过 100 目筛, 作为待测样品。

总黄酮的测定采用三氯化铝法进行测定<sup>[21]</sup>。称取粉碎样品 0.2 g, 3 mL 95% 乙醇, 50℃ 水浴超声处理 30 min, 收集至 10 mL 容量瓶, 重提 3 次, 合并上清液, 冷却至刻度, 备用。取 7 mL 上清液于 25 mL 的比色管中, 加入 1.5% AlCl<sub>3</sub> 8 mL 和醋酸-醋酸钠的缓冲液 (PH 5.5) 4 mL, 并用 50% 乙醇水溶液定容至刻度, 摇匀, 静置 0.5 h, 于 415 nm 下测试吸光度值。配置一系列浓度的标准溶液, 按照上述样品溶液的显色方法同步显色, 于 415 nm 下测试吸光度值, 以吸光度为纵坐标, 显色液中芦丁的质量 (mg) 为横坐标, 作标准曲线, 将得到

的标准曲线方程计算样品中总黄酮含量。

总酚酸含量采用高效液相色谱法测定<sup>[22]</sup>。对照品溶液的制备,取迷迭香酸对照品和丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加水制成每 1 mL 含迷迭香酸 7  $\mu\text{g}$ 、丹酚酸 B 60  $\mu\text{g}$  的混合溶液,即得。供试品溶液的制备取供试品 5 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加水使溶解,并稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。测定时,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,测定。色谱条件为十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(柱长为 25 cm,内径为 4.6  $\mu\text{m}$ ,粒径为 5  $\mu\text{m}$ );以乙腈为流动相 A,以 0.05% 磷酸溶液为流动相 B;检测波长为 286 nm;柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ ;流速为每分钟 1.0 mL。

1.2.2 重楼皂苷含量测定 重楼皂苷含量采用高效液相色谱法测定<sup>[23]</sup>。对照品溶液的制备,取重楼皂苷 I 对照品、重楼皂苷 II 对照品、重楼皂苷 VI 对照品及重楼皂苷 VII 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.4 mg 的混合溶液,即得。供试品溶液的制备,取样品粉末(过三号筛),称取 0.5 g 左右样品,精密加入乙醇 25 mL,称定质量,加热回流 30 min,待冷却后再称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,进样。色谱条件以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈为流动相 A,以水为流动相 B,梯度洗脱,检测波长为 203 nm,进样量 10  $\mu\text{L}$ 。以下为华重楼样品皂苷的 HPLC 色谱图(图 1)。

### 1.3 数据分析

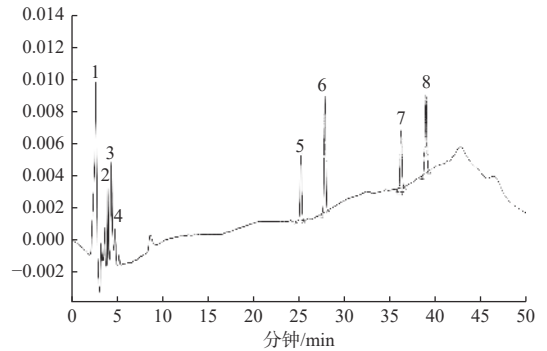
利用 WPS EXCEL 软件进行原始数据的整理、统计;利用 SPSS 20.0 软件进行方差分析、多重比较、相关和聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 华重楼根茎主要生物活性成分含量的种源差异

不同种源华重楼根茎主要生物活性成分含量比较(表 2)。由表 2 可以看出,不同种源华重楼根茎生物活性成分含量具有很大差异,总酚酸含量的变异范围为 1.718~5.436  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,广西桂林种源总酚酸含量最高,达 5.436  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,是总酚酸含量最低江西新余种源的 3.16 倍。总黄酮含量的变异范围为 0.780~1.457  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,含量最高的广西桂林种源与含量最低的安徽祁门种源间相差了 1.87 倍。不同种源总重楼皂苷(I+II+VI+VII)含量变异幅度为

0.107~7.399  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,其中江西丰城种源含量最高,河南新县种源含量最低,前者是后者的 69.149 倍。



1:样品皂苷Ⅶ; 2:样品皂苷Ⅵ; 3:样品皂苷Ⅱ; 4:样品皂苷Ⅰ; 5:标准品皂苷Ⅶ; 6:标准品皂苷Ⅵ; 7:标准品皂苷Ⅱ; 8:标准品皂苷Ⅰ

图 1 华重楼 4 种皂苷标准品的 HPLC 色谱

Fig. 1 The HPLC chromatography of phloridzin and trilobatin in *Paris polyphylla* var. *chinensis* sample

在华重楼根茎重楼皂苷 I、皂苷 II、皂苷 VI 和皂苷 VII 含量中,皂苷 I 的变异范围为 0.008~2.106  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,皂苷 II 的变异范围为 0.000~0.646  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,皂苷 VI 的变异范围为 0.000~0.521  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,皂苷 VII 的变异范围为 0.00~9.170  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。其中河南新县种源未能检出皂苷 II、皂苷 VI 和皂苷 VII 号含量,广西桂林种源未能检出皂苷 II、VI 含量。方差分析表明,不同种源华重楼根茎总酚酸、总黄酮、总皂苷(I+II+VI+VII)、皂苷 I、II、VI 和皂苷 VII 的含量均存在极显著差异( $P < 0.01$ )。

### 2.2 华重楼根茎主要活性成分含量与气候生态因子相关性分析

对华重楼根茎主要活性成分含量与气候生态因子间的相关性的显著性检验表明,华重楼根茎总酚酸含量与海拔、总黄酮含量与全年日照时数、皂苷 II 含量与 1 月均温间相关性显著( $P < 0.05$ ),相关系数值分别为 0.662、-0.708 和 0.752。说明总酚酸含量与海拔、皂苷 II 含量与 1 月均温间存在中度正相关关系,总黄酮含量与全年日照时数间存在中度负相关关系。总皂苷含量与海拔、皂苷 II 与年均温、皂苷 VI 含量与 7 月均温、皂苷 VII 含量与海拔的相关性极显著( $P < 0.01$ ),其相关系数分别达到 -0.840、0.877、0.821 和 -0.766,表明总皂苷与海拔间呈高度负相关,皂苷 II 与年均温、皂苷 VI 与 7 月均温间存在高度正相关关系,皂苷 VII 含量与海拔存在中度正相关关系。总酚酸含量与东经和全年日照时数、总黄酮与东经、皂苷 I 与东经相关系数

表2 不同种源华重楼主要生物活性成分含量差异

Table 2 The difference of main medicinal active constituents contents of *Paris polyphylla* var. *chinensis* from different provenances

种源 Provenances	总酚酸 Phenolic acid/ (mg·g <sup>-1</sup> )	总黄酮 Total flavone / (mg·g <sup>-1</sup> )	皂苷 Saponin/(mg·g <sup>-1</sup> )				
			总皂苷 Total saponin (I+II+VI+VII)	皂苷 I Saponin I	皂苷 II Saponin II	皂苷 VI Saponin VI	皂苷 VII Saponin VII
河南新县	2.824 ± 0.747 bc	0.990 ± 0.316 abc	0.107 ± 0.058 f	0.107 ± 0.058 b	0.000 ± 0.000 e	0.000 ± 0.000 b	0.000 ± 0.000 e
湖北宜昌	3.186 ± 0.895 bc	1.128 ± 0.275 abc	0.690 ± 0.252 ef	0.025 ± 0.030 b	0.244 ± 0.138 cd	0.008 ± 0.022 b	0.414 ± 0.210 de
重庆石柱	3.090 ± 0.824 bc	1.363 ± 0.576 ab	2.868 ± 1.776 de	0.684 ± 0.596 b	0.598 ± 0.650 abc	0.088 ± 0.117 b	1.497 ± 1.756 cde
安徽祁门	2.045 ± 0.991 c	0.780 ± 0.199 c	9.494 ± 2.739 a	0.008 ± 0.017 b	0.266 ± 0.180 bcd	0.051 ± 0.043 b	9.170 ± 2.629 a
湖南张家界	2.743 ± 0.598 bc	1.437 ± 0.661 a	6.597 ± 1.100 bc	2.106 ± 2.684 a	0.646 ± 0.586 ab	0.521 ± 0.858 a	3.324 ± 1.623 ab
江西丰城	2.167 ± 0.753 bc	0.977 ± 0.205 abc	7.399 ± 3.382 ab	0.035 ± 0.035 b	0.235 ± 0.065 cd	0.004 ± 0.011 b	7.123 ± 3.356 a
江西分宜	1.718 ± 0.303 c	0.893 ± 0.234 bc	4.478 ± 2.665 cd	0.102 ± 0.088 b	0.325 ± 0.147 bcd	0.243 ± 0.388 b	3.807 ± 2.177 ab
广西桂林	5.436 ± 2.579 a	1.457 ± 0.522 a	0.806 ± 0.521 ef	0.682 ± 0.544 b	0.000 ± 0.000 e	0.000 ± 0.000 b	0.123 ± 0.080 e
江西信丰	2.000 ± 0.480 c	0.992 ± 0.309 abc	5.207 ± 2.219 bc	0.366 ± 0.274 b	0.640 ± 0.475 ab	0.074 ± 0.142 b	4.128 ± 2.057 b
广东连州	3.594 ± 1.318 b	1.395 ± 0.424 a	5.205 ± 1.968 bc	1.811 ± 1.652 a	0.715 ± 0.402 a	0.042 ± 0.039 b	2.639 ± 2.903 bcd
均值	2.964 ± 1.569**	1.125 ± 0.430**	4.041 ± 3.706**	0.491 ± 0.967**	0.326 ± 0.391**	0.068 ± 0.215**	3.155 ± 3.690**

注:表中数据为平均值 ± 标准差。用Duncan法进行多重比较。同列标有不同小写字母表示组间差异显著( $P < 0.05$ ), 同列标有相同小写字母表示组间差异不显著( $P > 0.05$ ), \*\*表示差异极显著( $P < 0.01$ )。

Note: The data in the table are average and standard deviation(Mean ± SE). Multiple comparison was carried out by using Duncan method. The data with different small letters in column means significant difference( $P < 0.05$ ), The data with same small letters in column means insignificant difference ( $P > 0.05$ ), \*\*means extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

较小且未达到显著水平( $P > 0.05$ )但存在较弱的负相关性, 而总皂苷含量与年均温和7月均温, 皂苷VII含量与年均降雨量间存在一定的正相关性(表3)。

### 2.3 华重楼根茎主要药物活性成分含量相关分析

由表4可以看出, 华重楼根茎中总酚酸与总黄酮含量、皂苷I与皂苷II含量间相关性显著, 其相关系数分别为0.753、0.777和0.637。说明华重楼根茎中总酚酸与总黄酮含量、总黄酮与皂苷I含

量、皂苷I与皂苷II含量呈中度正相关。总黄酮与皂苷I含量和总皂苷与皂苷VII间的相关性达极显著水平, 总皂苷与皂苷VII的相关系数为0.941, 说明总皂苷与皂苷VII含量呈高度正相关。其它指标间的相关性均未达到显著性水平, 但总酚酸含量与总皂苷、总酚酸与皂苷VII含量、总黄酮与皂苷VII含量相关系数均存在负相关性, 皂苷I与皂苷VI呈正相关性。

### 2.4 不同种源华重楼药用成分含量聚类分析

以华重楼根茎总酚酸、黄酮和皂苷含量为特征

表3 华重楼主要生物活性成分与产地气候生态因子相关性分析

Table 3 Correlation analysis of main medicinal active constituent and ecological factors of *Paris polyphylla* var. *chinensis*

项目 Items	E Longitude	N Latitude	海拔 Elevation/m	年均温 Annual mean temperature/°C	7月均温 Mean temperature of July/°C	1月均温 Mean temperature of January/°C	年均降雨量 Annual precipitation/mm	无霜期 Frost free period/d	全年日照时数 Sunshine hours/h
总酚酸 Phenolic acid	-0.522	-0.210	0.662*	-0.426	-0.531	-0.039	0.070	0.335	-0.591
总黄酮 Total flavone	-0.587	-0.269	0.298	0.087	-0.058	0.331	-0.204	0.113	-0.708*
总皂苷 Total saponin	0.328	-0.228	-0.840**	0.602	0.582	0.466	0.504	-0.162	0.375
皂苷 I Saponin I	-0.535	-0.376	-0.151	0.429	0.348	0.48	0.010	-0.050	-0.39
皂苷 II Saponin II	-0.007	-0.379	-0.428	0.877**	0.467	0.752*	-0.159	-0.135	-0.213
皂苷 VI Saponin VI	-0.375	-0.004	-0.458	0.388	0.821**	0.247	-0.049	-0.215	-0.194
皂苷 VII Saponin VII	0.494	-0.107	-0.766**	0.415	0.428	0.280	0.535	-0.131	0.515

注: \*表示在0.05水平(双侧)上显著相关。\*\*在0.01水平(双侧)上极显著相关, 下同。

Note: \* means significant correlation was found at 0.05 level (2-tailed). \*\*means significant correlation was found at 0.01 level (2-tailed), the same as below.



表4 华重楼根茎中主要生物活性成分的相关性分析

Table 4 Analysis of correlation between main medicinal active constituent of *Paris polyphylla* var. *chinensis*

项目 Items	总酚酸 Phenolic acid	总黄酮 Total flavone	总皂苷 Total saponin	皂苷 I Saponin I	皂苷 II Saponin II	皂苷 VI Saponin VI	皂苷 VII Saponin VII
总酚酸 Phenolic acid	1	0.753*	-0.568	0.324	-0.273	-0.259	-0.63
总黄酮 Total flavone		1	-0.339	0.777**	0.318	0.254	-0.588
总皂苷 Total saponin			1	0.146	0.425	0.321	0.941**
皂苷 I Saponin I				1	0.637*	0.597	-0.190
皂苷 II Saponin II					1	0.467	0.165
皂苷 VI Saponin VI						1	0.085
皂苷 VII Saponin VII							1

指标,对10个华重楼种源聚类分析结果(图2)。从图2可以看出,以欧式距离15为分界阈值,可将华重楼种源聚类为3个类群,分别为低酚酸、低黄酮、高皂苷含量类群,高酚酸、高黄酮、低皂苷类群和中酚酸、中黄酮、中皂苷类群。其中安徽祁门种源属低总酚酸、低黄酮和高皂苷含量类群,河南新县、湖北宜昌和重庆石柱属高酚酸、高黄酮、低皂苷类群,其余种源属中酚酸、中黄酮、中皂苷类群。

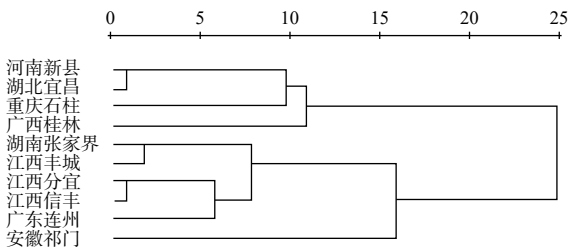


图2 不同种源华重楼总皂苷、黄酮和总皂苷含量聚类分析

Fig. 2 Cluster Analysis of phloridzin and trilobatin and total saponin contents in *Paris polyphylla* var. *chinensis* of different provenances

### 3 讨论

重楼皂苷 I、II、VI、VII 等 4 种活性成分含量是中药材重楼质量的主要评价标准。本研究表明不同种源间华重楼根茎中总酚酸、总黄酮和重楼皂苷 I、II、VI、VII 4 个重楼皂苷及其总含量差异极显著。从种源所处的地理位置来看,华重楼分布区北部种源重楼皂苷含量总体低于中南部种源含量。因此,今后在华重楼的中南部种源开展优良种质选择或开展人工仿生栽培,将取得较好的效果。

本研究通过对华重楼根茎中总酚酸、总黄酮和重楼皂苷 I、II、VI、VII 4 个重楼皂苷及其总含量与其原产地气候地理因子的相关分析表明,原产地

海拔分布高的华重楼种源,具有较高的总酚酸含量,但其总皂苷含量和皂苷 VII 较低,年均温和 1 月均温较高的种源根茎中皂苷 II 含量相应较高,7 月均温高的种源皂苷 VI 含量相应较高,而全年日照数高的种源总黄酮含量较低。因此,在海拔低、年均温、1 月均温和 7 月均温高的地区开展华重楼优良种质筛选工作,更易于获得重楼总皂苷、皂苷 II、皂苷 VI 和皂苷 VII 含量高的优良种质,而在海拔高和全年日照时数少的地区更容易筛选到高总酚酸和总黄酮含量的优良种质。

华重楼根茎中总酚酸与总黄酮含量、总黄酮与皂苷 I 含量、皂苷 I 与皂苷 II 含量呈中度正相关关系,总皂苷与皂苷 VII 含量呈高度正相关关系。这说明通过对这些具有相关性次生代谢物二者中一个指标的检测,可以初步评估另外一个指标含量的高低。这种方法在野外样品选优评价的初选阶段,可以有效降低样品检测的工作量,提高评价效率。本研究中总酚酸与总黄酮,总黄酮与皂苷 I 类别之间的显著正相关性,可能与这些次生代谢物对原产地复杂生态环境因子响应具有高度相似性有关,此方面还有待于进行更深入的研究。

本研究证实了不同种源华重楼根茎主要生物活性成分含量存在极显著差异,然而对华重楼生物活性成分形成地理种源差异的机制尚不明确,有待于在其全分布区进行多点种源试验,解析其主要生物活性成分的形成机制。

### 4 结论

不同种源间华重楼根茎中总酚酸、总黄酮和重楼皂苷 I、II、VI、VII 4 个重楼皂苷及其总含量差异极显著。广西桂林为总酚酸和总黄酮含量最高的种源,安徽祁门为总重楼皂苷含量最高的种源。华

重楼根茎中总酚酸含量与原产地海拔、皂苷Ⅱ与1月均温呈中度正相关关系,总黄酮含量与全年日照时数、皂苷Ⅶ与海拔呈中度负相关关系。总皂苷与海拔间呈高度负相关关系,皂苷Ⅱ与年均温、皂苷Ⅵ与7月均温间均呈高度正相关关系;华重楼根茎中总酚酸与总黄酮含量、总黄酮与皂苷Ⅰ含量、皂苷Ⅰ与皂苷Ⅱ含量呈中度正相关关系,总皂苷与皂苷Ⅶ含量呈高度正相关关系。通过聚类分析可将华重楼种源划分为三个类群,安徽祁门属低酚酸、低黄酮、高皂苷类群;河南新县、湖北宜昌和重庆石柱属高酚酸、高黄酮、低皂苷类群;湖南张家界、江西丰城、江西分宜、广西桂林、江西信丰和广东连州属中酚酸、中黄酮和中皂苷类群。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1978: (15): 092.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 260.
- [3] 丁立帅, 赵猛, 李燕敏, 等. 华重楼根茎和地上部分提取物镇痛抗炎作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(5): 832-839.
- [4] 任可, 周静, 李振麟, 等. 重楼提取物抗骨肉瘤作用及机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(1): 120-128.
- [5] 倪博然, 董晓旭, 刘艺, 等. 重楼皂苷Ⅵ对肝癌HepG2细胞凋亡的作用[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(4): 1391-1395.
- [6] 张鸿飞, 梅其炳, 张峰, 等. 重楼皂苷Ⅶ抑制结肠癌细胞迁移、侵袭及机制研究[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(4): 286-293.
- [7] 陈清, 阎姝. 重楼的药理作用及其毒性反应的研究进展[J]. 医药导报, 2012, 31(07): 886-888.
- [8] 刘永立, 程富礼, 景小博, 等. 重楼皂苷对新生大鼠成骨细胞增殖、分化及Smurf1、Cthrc1、BMP-2表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2018, 34(3): 72-76.
- [9] 张万超, 罗敏, 章文伟, 等. 药用植物重楼栽培和种子处理技术专利信息分析[J]. 中国药房, 2016, 27(7): 1002-1004.
- [10] 成莉, 甄艳, 陈敏, 等. 扩大重楼药用资源研究进展[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3121-3124.
- [11] 赵志莲, 刘立敏, 李海峰. 重楼属9种植物根茎中甾体皂苷有效成分的差异[J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1-10[2019-11-14]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20200416>.
- [12] 杨远贵, 张霁, 张金渝, 等. 重楼属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(18): 3301-3323.
- [13] 黄贤校, 高文远, 满淑丽, 等. 重楼属药用植物皂苷类化学成分及其生源途径的研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(3): 483-489.
- [14] 孙治国, 张琳, 李凌军, 等. 重楼总皂苷提取工艺研究[J]. 中药材, 2007(6): 726-729.
- [15] 罗吉, 罗燕, 李勇敏, 等. 重楼皂苷Ⅰ对结肠癌HCT116细胞凋亡及Bax, Bcl-2, Caspase-3蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(6): 172-176.
- [16] 洪星辉, 王靓, 梁梦茹, 等. 重楼总皂苷对LiCl诱导人胃癌MKN-45细胞迁移及侵袭的影响[J]. 中草药, 2019, 50(13): 3134-3139.
- [17] 叶霄, 孙佩, 童文, 等. 重楼根茎与须根中4种皂苷含量的HPLC分析[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(2): 461-463.
- [18] 陈瑶, 周寒梅, 何兵, 等. 华重楼离体胚培养及植株再生初探[J/OL]. 广西植物: 1-12[2019-11-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20190613.0855.002.html>.
- [19] 陈铁柱, 文飞燕, 张涛, 等. 华重楼皂苷类化学成分与生态因子的相关性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 46-51.
- [20] 厉月桥, 刘炳响, 冯慧, 等. 不同种源杏兔耳风绿原酸与芦丁含量变异分析[J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(1): 107-113.
- [21] 何书美, 刘敬兰. 茶叶中总黄酮含量测定方法的研究[J]. 分析化学, 2007(9): 1365-1368.
- [22] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 397.
- [23] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 59.

# Geographical Variation and Correlation Analysis of the Main Bioactive Components of *Paris polyphylla* from Different Provenances

ZENG Ping-sheng, LI Yue-qiao, ZHOU Xin-hua, YAO Jia-bao, PAN Wen-ting, XIONG Guang-kang

(Experimental Center for Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fenyi 336600, Jiangxi, China)

**Abstract:** [Objective] To clarify the geographical variation of main medicinal components of *Paris polyphylla*, and provide data for the utilization of germplasm resources and site selection of raw material forest base of *P. polyphylla*.

[Method] The contents of total phenolic acids, total flavonoids, saponin I, II, VI and VII in rhizomes of 10 *P. polyphylla* provenances from 8 provinces of China were determined and analyzed. [Result] There were significant differences in the contents of total phenolic acid, total flavonoids, saponin I, II, VI and VII in rhizomes among these provenances. The variation range of total phenolic acid content in rhizomes among provenances was 1.718-5.436 mg·g<sup>-1</sup>; the variation range of total flavone content was 0.780-1.457 mg·g<sup>-1</sup>; the variation ranges of contents of saponin I, II, VI and VII were 0.008-2.106 mg·g<sup>-1</sup>, 0.000-0.646 mg·g<sup>-1</sup>, 0.000-0.521 mg·g<sup>-1</sup>, and 0.000-9.170 mg·g<sup>-1</sup>. The content of total phenolic acid in rhizome of *P. polyphylla* was positively correlated with the altitude of origin, the content of saponin II was positively correlated with the average temperature of January, and the content of total flavone was negatively correlated with the sunshine hours of the whole year, and the content of saponin VII was negatively correlated with the altitude. There was a highly negative correlation between total saponin and altitude, a highly positive correlation between saponin II and annual average temperature, a highly positive correlation between saponin VI and the average temperature in July, a moderate positive correlation between total phenolic acid and total flavone content, between total flavone and saponin I content, between saponin I and saponin II content, a highly positive correlation between total saponin and saponin VII content. Cluster analysis showed that the 10 provenances could be divided into three groups: low phenolic acid, low flavone and high saponin groups, high phenolic acid, high flavone, low saponin groups and middle phenolic acid, middle flavone and middle saponin groups. [Conclusion] The provenance from Guilin of Guangxi Zhuang Autonomous Region is a elite provenance with high phenolic acid and high flavone, and the provenance from Qimen of Anhui Province is a elite provenance with high saponins.

**Keywords:** *Paris polyphylla*; provenance; polyphyllin; bioactive components; geographical variation

(责任编辑: 崔 贝)