

# 不同产地南方红豆杉枝叶的紫杉醇含量及其指纹图谱的比较分析

柏培磊<sup>1</sup>, 孙启武<sup>2,①</sup>, 蒋继宏<sup>3</sup>, 闫浩<sup>1</sup>, 于少帅<sup>1</sup>, 张小平<sup>1,①</sup>

- (1. 安徽师范大学 重要生物资源保护与利用研究安徽省重点实验室 生物环境与生态安全安徽省高校省级重点实验室, 安徽 芜湖 241000;
2. 中国林业科学研究院林业研究所 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091;
3. 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

**摘要:** 采用 HPLC 法对来源于 6 个产地(陕西周至和汉中;甘肃天水;安徽胡乐、聂家山和仙寓山)的 12 份野生南方红豆杉(*Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu)枝叶中的紫杉醇含量进行了比较分析,并对不同产地南方红豆杉指纹图谱的相似度进行了比较和特征指纹图谱的构建。结果表明:不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇的含量有明显差异,来源于陕西和甘肃的枝叶样品中紫杉醇含量明显高于来源于安徽的样品,以产自陕西周至的枝叶样品中紫杉醇含量最高(0.019 3 mg · g<sup>-1</sup>)。各样品的指纹图谱均有 12 个共有峰,其中 9 号共有峰的保留时间(32.75 min)与紫杉醇标准品一致,被确定为南方红豆杉指纹图谱的参照峰(s)。各共有峰相对保留时间的 RSD 值均低于 1%,但相对峰面积的 RSD 值均高于 40%,说明各样品共有峰的保留时间稳定,但相对含量差异较大。除来源于安徽聂家山的 2 个样品外,其他样品的相似度值均在 0.8 以上,说明各样品间指纹图谱的相似度较高。根据 12 个样品的指纹图谱建立了南方红豆杉枝叶的特征指纹图谱,可用于南方红豆杉的鉴定及质量控制。由测定结果推测,不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇含量的差异可能与生长环境的差异有关。

**关键词:** 南方红豆杉; 指纹图谱; 紫杉醇; 高效液相色谱法; 相似度

中图分类号: Q946.8; R284.1; S567.1<sup>+</sup>9 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)01-0064-06

**Comparative analyses of taxol content and fingerprint of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* from different locations** BO Pei-lei<sup>1</sup>, SUN Qi-wu<sup>2,①</sup>, JIANG Ji-hong<sup>3</sup>, YAN Hao<sup>1</sup>, YU Shao-shuai<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-ping<sup>1,①</sup> (1. Provincial Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui, Anhui Provincial Key Laboratory of the Conservation and Exploitation of Biological Resources, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China; 2. Key Laboratory of Forestry Cultivation of State Forestry Administration, Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; 3. Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plant of Jiangsu Province, Xuzhou 221116, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, **21**(1): 64-69

**Abstract:** Taxol content in twelve wild samples of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu from six locations (including Zhouzhi and Hanzhong of Shaanxi; Tianshui of Gansu; Hule, Niejiashan and Xianyushan of Anhui) was comparatively analyzed by HPLC, and the similarity of fingerprints of twelve samples was compared and the characteristic fingerprint of *T. chinensis* var. *mairei* was constructed. The results show that taxol content has an obvious difference among samples from different locations, that from Shaanxi and Gansu provinces is obviously higher than that from Anhui Province and that from Zhouzhi of Shaanxi is the highest with a value of 0.019 3 mg · g<sup>-1</sup>. There are twelve common peaks in fingerprints of different samples, in which, No. 9 common peak is determined as the reference peak (s) whose retention time (32.75 min) is agreement with that of taxol standard. And the RSD values of relative retention time of every common peaks all are lower than 1%, while those of

收稿日期: 2011-10-19

基金项目: 国家林业局珍稀濒危物种野外救护与繁育项目(2130211)

作者简介: 柏培磊(1987—),女,安徽合肥人,硕士研究生,主要从事药用植物的研究。

①通信作者 E-mail: sqw@caf.ac.cn; pinghengxu@sina.com

relative peak area all are higher than 40%, indicating that retention time of common peaks of different samples is stable but their relative content has a great difference. Except of two samples from Niejiashan of Anhui, the similarity value of the other samples all are above 0.8, indicating that similarity of fingerprints among different samples is high. The characteristic fingerprint of *T. chinensis* var. *mairei* is obtained according to fingerprints of twelve samples, which should be used for identification and quality assessment of *T. chinensis* var. *mairei*. According to these results, it is conjectured that the difference of taxol content in *T. chinensis* var. *mairei* from different locations is probably related to the difference of growth environment.

**Key words:** *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu; fingerprint; taxol; HPLC; similarity

南方红豆杉 [*Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu] 又称美丽红豆杉, 属常绿植物, 为国家一级保护植物, 是红豆杉属 (*Taxus* L.) 中分布最广、生长最快的种类之一<sup>[1]</sup>。南方红豆杉主要分布于长江流域以南各省区、南岭山脉山区以及河南和陕西等省的山地或溪谷<sup>[2]</sup>, 安徽黄山是野生型南方红豆杉重要的自然分布区之一。

自 Wani 等<sup>[3]</sup>从短叶红豆杉 (*T. brevifolia* Nutt.) 中分离得到抗癌药物紫杉醇并揭示其化学结构以来, 近年来有关红豆杉属植物紫杉醇含量的研究已成为国内外学者的研究热点<sup>[4-7]</sup>; 目前对南方红豆杉的研究主要集中在化学成分、药理作用、繁殖技术、居群多样性等方面<sup>[8-11]</sup>, 而关于红豆杉化学成分指纹图谱的研究报道较少, 仅见少数学者关于东北红豆杉 (*T. cuspidata* Sieb. et Zucc.) 枝叶、南方红豆杉人工林药材活性成分及南方红豆杉三氯甲烷提取物的指纹图谱<sup>[12-14]</sup>的研究报道, 但是由于供试样品都来自同一省份, 不具有代表性, 因此无法针对南方红豆杉的化学成分建立完整、全面的指纹图谱。

为了全面反映南方红豆杉的化学成分, 确立较完善的南方红豆杉质量评价系统, 作者对来源于6个产地的12个南方红豆杉枝叶样品中紫杉醇含量和不同产地指纹图谱的相似度进行了比较, 初步建立了野生南方红豆杉的特征指纹图谱, 并结合环境因子讨论了导致不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇含量差异的因素, 以期对南方红豆杉优良种源的选育以及药材种植基地进行质量控制提供科学研究依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试南方红豆杉枝叶样品于2009年10月至11

月分别采自陕西周至县和汉中市、甘肃天水市、安徽胡乐镇、聂家山和仙寓山, 均为野生植株, 由安徽师范大学生命科学学院张小平教授鉴定; 每个产地随机选择胸径相近的样株2株, 每株为1个样品; 因南方红豆杉中紫杉醇含量与植株性别无关<sup>[15]</sup>, 故采样时不考虑性别因素。随机采集样株上的枝叶, 置于50℃烘箱中干燥24h后粉碎, 过40目筛, 待用。

主要仪器: 岛津 LC20A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司)、KQ-500DE 型医用数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)、FA2004A 电子分析天平 (上海精天仪器有限公司)、RE52-CS 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂)、80-2 离心机 (江苏省荣华仪器制造有限公司)、DFY-250 粉碎机 (温岭市林大机械有限公司) 和 Milli-Q Academic 密理博纯水器 (美国 MILLIPORE 公司)。

所用试剂: 乙腈和甲醇 (色谱纯, 购自美国迪马公司), 超纯水, 其余试剂均为分析纯; 紫杉醇标准品购自桂林晖昂生化药业有限责任公司 (产品编号 JF20090301, 纯度 99.9%)。

### 1.2 方法

1.2.1 HPLC 色谱分析条件 采用汉邦 C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈和水, 梯度洗脱, 具体操作流程为: 0~20 min, V(水):V(乙腈)=85:15~50:50; 20~50 min, V(水):V(乙腈)=50:50~0:100; 50~60 min, V(水):V(乙腈)=0:100。流速 0.8 mL·min<sup>-1</sup>, 进样量 5 μL, 洗脱时间 60 min, 检测波长 227 nm。

1.2.2 标准品溶液制备及标准曲线绘制 精密称取紫杉醇标准品 50 mg, 用甲醇溶解并定容至 100 mL, 作为紫杉醇标准品母液。用甲醇将紫杉醇标准品母液分别稀释成质量浓度为 0.2、0.1、0.05、0.025 和 0.005 μg·mL<sup>-1</sup> 的系列标准品溶液, 按照上述色谱条

件进样分析。以峰面积为纵坐标( $Y$ )、紫杉醇标准品的质量浓度为横坐标( $X$ )绘制标准曲线,获得的线性回归方程为 $Y=12\ 016\ 277.667\ 9X-13\ 201.902\ 8$ ( $r=1.000\ 0$ ),表明在质量浓度 $0.005\sim 0.2\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内具有良好的线性关系。

**1.2.3 供试样液的制备和测定** 精密称取 $2\ \text{g}$ 样品粉末,室温下加 $20\ \text{mL}$ 体积分数 $95\%$ 乙醇浸泡 $24\ \text{h}$ 后超声处理 $2\ \text{h}$ ;  $4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $5\ \text{min}$ ,上清液过滤,沉淀分别用体积分数 $95\%$ 乙醇超声提取 $2$ 次,每次 $30\ \text{min}$ ,均经 $4\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $5\ \text{min}$ ,上清液过滤;合并 $3$ 次滤液,置于旋转蒸发仪中蒸干;然后用 $V$ (三氯甲烷): $V$ (水)= $1:1$ 混合溶剂 $10\ \text{mL}$ 进行萃取,重复萃取 $3$ 次,合并三氯甲烷相萃取液,用旋转蒸发仪于 $35\ ^\circ\text{C}$ 蒸干;浸膏用甲醇溶解并定容至 $10\ \text{mL}$ ,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,滤液即为供试样液。参照上述色谱条件进行HPLC分析,进样量 $5\ \mu\text{L}$ 。采用外标法计算紫杉醇含量。

#### 1.2.4 方法学考察

**1.2.4.1 精密度实验** 取甘肃天水 $2$ 号供试样液,按上述色谱条件进样分析,连续进样 $5$ 次,每次进样量 $5\ \mu\text{L}$ 。各色谱峰相对保留时间及峰面积比值基本一致, $RSD$ 值均小于 $3\%$ ,表明该方法精密度良好,符合指纹图谱检测要求。

**1.2.4.2 稳定性实验** 取陕西汉中 $2$ 号供试样液,按上述色谱条件分别在 $0、2、4、6、8$ 和 $24\ \text{h}$ 进样分析,进样量 $5\ \mu\text{L}$ 。各色谱峰相对保留时间及峰面积比值基本一致, $RSD$ 值均小于 $5\%$ ,表明供试样液在 $24\ \text{h}$ 内稳定。

**1.2.4.3 重现性实验** 取甘肃天水 $1$ 号样品粉末 $5$ 份,按上述提取方法制备供试样液,并按上述色谱条件进样分析,进样量 $5\ \mu\text{L}$ 。各色谱峰相对保留时间及峰面积比值基本一致, $RSD$ 值均小于 $3\%$ ,表明该方法的重现性良好,符合指纹图谱检测要求。

**1.2.4.4 参照峰的确定** 分别取适量紫杉醇标准品和样品溶液,按上述色谱条件进样分析。通过标准品与样品色谱图的对照,确定参照峰(s)。

### 1.3 数据处理和分析

采用“中药色谱图分析和数据管理系统”软件对各样品的指纹图谱进行比较,并构建南方红豆杉的特征指纹图谱;以陕西周至 $1$ 号样品指纹图谱为基准,采用相关系数法和夹角余弦法分别计算其他样品指纹图谱与之的相似度。

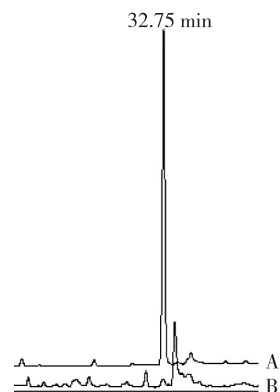
## 2 结果和分析

### 2.1 不同产地南方红豆杉紫杉醇含量的比较

采用外标法计算 $12$ 个南方红豆杉枝叶样品的紫杉醇含量,并得出同一产地紫杉醇含量的平均值。结果表明:来源于陕西周至的南方红豆杉枝叶中紫杉醇含量最高,平均为 $0.019\ 3\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;来源于陕西汉中的南方红豆杉枝叶样品中紫杉醇含量也较高,平均为 $0.016\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;来源于甘肃天水的样品中紫杉醇含量居中,平均为 $0.011\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ;来源于安徽省 $3$ 个产地的样品中紫杉醇含量均较低,采自胡乐、聂家山以及仙寓山的样品中紫杉醇的平均含量分别为 $0.005\ 9、0.007\ 0$ 和 $0.002\ 5\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

### 2.2 不同产地南方红豆杉指纹图谱中共有峰的标定及分析

采用“中药色谱图分析和数据管理系统”软件对 $6$ 个产地 $12$ 个南方红豆杉枝叶样品的指纹图谱进行分析和比较,共确定了 $12$ 个共有色谱峰;根据标准品与样品色谱图的对照(图1),发现样品指纹图谱中保留时间为 $32.75\ \text{min}$ 的色谱峰与紫杉醇标准品的色谱峰保留时间一致,且分离度良好,因此,选定此峰为南方红豆杉指纹图谱的参照峰(s),即编号为 $9$ 的共有峰。



A: 紫杉醇标准品 Taxol standard; B: 样品 Sample.

图1 紫杉醇标准品与南方红豆杉枝叶样品色谱图的比较  
Fig. 1 Comparison of chromatograms of taxol standard and sample of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lév.) Cheng et L. K. Fu

设定参照峰的保留时间和峰面积为 $1$ ,并据此计算其他共有峰的相对保留时间和相对峰面积,结果见

表 1 和表 2。分析结果表明:不同样品 12 个共有峰相对保留时间的 *RSD* 值均小于 1%,说明各共有峰的保留时间稳定,可以确定共有峰的存在;但是,12 个

样品各共有峰相对峰面积的 *RSD* 值均大于 40%,说明各共有峰的相对含量差异较大,这一现象可能与样品的差异有关。

表 1 不同产地南方红豆杉枝叶样品指纹图谱共有峰的相对保留时间

Table 1 Relative retention time of common peaks in fingerprint of samples of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu from different locations

样品编号 <sup>1)</sup> No. of sample <sup>1)</sup>	共有峰的相对保留时间 Relative retention time of common peaks											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9(s) <sup>2)</sup>	10	11	12
S1	0.160	0.242	0.382	0.431	0.543	0.827	0.848	0.870	1.000	1.021	1.249	1.350
S2	0.160	0.243	0.383	0.433	0.545	0.829	0.849	0.871	1.000	1.025	1.254	1.355
S3	0.160	0.242	0.382	0.431	0.545	0.829	0.849	0.872	1.000	1.023	1.251	1.353
S4	0.159	0.241	0.381	0.424	0.541	0.827	0.846	0.875	1.000	1.018	1.246	1.348
S5	0.159	0.241	0.381	0.428	0.542	0.827	0.847	0.869	1.000	1.020	1.248	1.349
S6	0.160	0.242	0.382	0.430	0.543	0.827	0.856	0.871	1.000	1.021	1.249	1.350
S7	0.158	0.239	0.378	0.425	0.537	0.822	0.840	0.863	1.000	1.012	1.237	1.338
S8	0.160	0.243	0.383	0.433	0.545	0.829	0.849	0.871	1.000	1.025	1.254	1.355
S9	0.159	0.238	0.382	0.421	0.537	0.831	0.846	0.869	1.000	1.015	1.241	1.343
S10	0.160	0.241	0.382	0.429	0.542	0.830	0.849	0.871	1.000	1.021	1.249	1.351
S11	0.160	0.242	0.381	0.432	0.545	0.829	0.848	0.870	1.000	1.020	1.245	1.346
S12	0.160	0.243	0.382	0.436	0.537	0.827	0.844	0.870	1.000	1.023	1.251	1.350
<i>RSD</i> /%	0.405	0.575	0.330	0.970	0.566	0.273	0.437	0.319	0.000	0.358	0.382	0.330

<sup>1)</sup> S1, S12: 陕西周至 Zhouzhi of Shaanxi; S2, S3: 甘肃天水 Tianshui of Gansu; S4, S5: 陕西汉中 Hanzhong of Shaanxi; S6, S7: 安徽胡乐 Hule of Anhui; S8, S9: 安徽聂家山 Niejiashan of Anhui; S10, S11: 安徽仙寓山 Xianyushan of Anhui.

<sup>2)</sup> 参照峰 Reference peak.

表 2 不同产地南方红豆杉枝叶样品指纹图谱共有峰的相对峰面积

Table 2 Relative peak area of common peaks in fingerprint of samples of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu from different locations

样品编号 <sup>1)</sup> No. of sample <sup>1)</sup>	共有峰的相对峰面积 Relative peak area of common peaks											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9(s) <sup>2)</sup>	10	11	12
S1	0.375	0.127	0.042	18.180	1.655	0.774	1.681	2.194	1.000	18.248	5.833	1.818
S2	0.286	0.176	0.230	75.989	6.960	1.296	0.324	0.729	1.000	16.713	5.147	3.504
S3	1.300	1.067	3.905	94.764	5.673	2.008	3.867	1.979	1.000	34.736	10.108	6.149
S4	0.402	0.194	0.240	19.314	2.948	1.762	2.065	1.273	1.000	15.866	6.381	2.575
S5	1.252	0.217	0.201	20.495	2.223	1.161	1.271	0.771	1.000	22.617	6.961	2.310
S6	0.641	0.241	0.897	132.510	0.989	1.615	6.204	3.189	1.000	22.304	36.659	9.309
S7	1.899	0.456	1.307	49.386	6.464	1.897	2.567	2.250	1.000	9.879	6.798	6.818
S8	1.302	0.432	0.273	77.177	13.600	3.256	4.624	4.511	1.000	10.473	10.779	12.477
S9	1.977	1.264	3.679	207.085	2.365	0.267	5.107	4.100	1.000	16.020	9.710	8.151
S10	0.642	0.223	0.924	15.274	2.686	0.648	1.213	1.433	1.000	5.998	3.955	4.535
S11	1.063	0.664	0.819	30.470	6.130	1.473	2.124	4.696	1.000	7.449	7.088	11.214
S12	0.208	0.436	0.403	81.081	0.757	0.113	0.284	1.556	1.000	24.845	27.008	6.538
<i>RSD</i> /%	64.690	80.170	123.030	83.760	83.470	63.610	73.550	58.960	0.000	48.140	87.830	55.950

<sup>1)</sup> S1, S12: 陕西周至 Zhouzhi of Shaanxi; S2, S3: 甘肃天水 Tianshui of Gansu; S4, S5: 陕西汉中 Hanzhong of Shaanxi; S6, S7: 安徽胡乐 Hule of Anhui; S8, S9: 安徽聂家山 Niejiashan of Anhui; S10, S11: 安徽仙寓山 Xianyushan of Anhui.

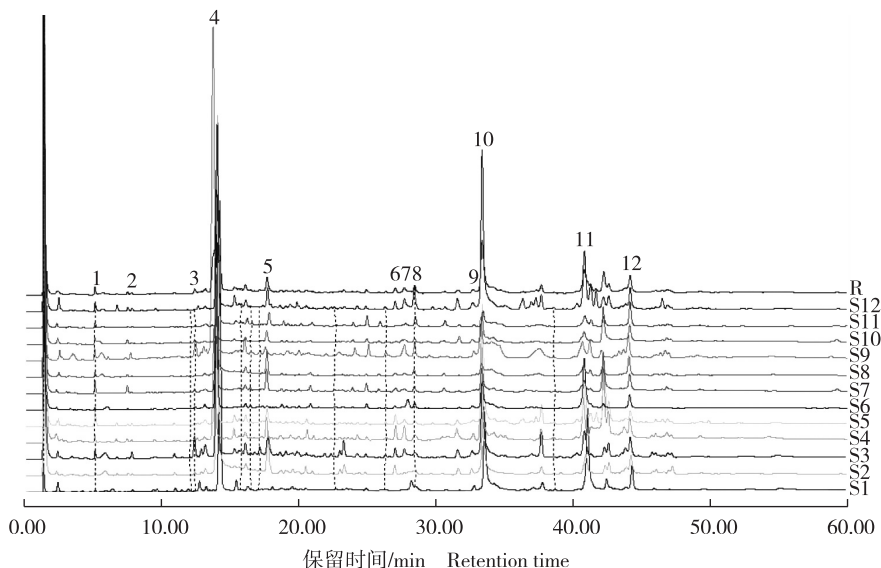
<sup>2)</sup> 参照峰 Reference peak.

### 2.3 不同产地南方红豆杉指纹图谱的相似度分析和特征指纹图谱的建立

根据 6 个产地 12 个南方红豆杉枝叶样品的色谱

图建立的南方红豆杉的特征指纹图谱见图 2。其中, S1 ~ S12 为各样品的色谱图, R 为根据 12 个样品的色谱图分析结果建立的南方红豆杉特征指纹图谱。





S1, S12: 来源于陕西周至的样品 Samples from Zhouzhi of Shaanxi; S2, S3: 来源于甘肃天水的样品 Samples from Tianshui of Gansu; S4, S5: 来源于陕西汉中中的样品 Samples from Hanzhong of Shaanxi; S6, S7: 来源于安徽胡乐的样品 Samples from Hule of Anhui; S8, S9: 来源于安徽聂家山的样品 Samples from Niejiashan of Anhui; S10, S11: 来源于安徽仙寓山的样品 Samples from Xianyushan of Anhui; R: 特征指纹图谱 Characteristic fingerprint.

图 2 不同产地南方红豆杉枝叶样品的指纹图谱及其特征指纹图谱

Fig. 2 Fingerprint of samples of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu from different locations and its characteristic fingerprint

以陕西周至 1 号样品(S1)的色谱图为基准,分别将其他样品的色谱图与之比较,得到各样品的相似度值,详见表 3。结果表明:除了安徽聂家山 2 个样品的相似度值较低外,其余样品的相似度均较高,相似度值均大于 0.8,说明 12 个共有峰在各样品中均能稳定

出现,吻合度较好。由此可以确定:图 2 中的南方红豆杉枝叶的特征指纹图谱(R)可用于南方红豆杉真伪的鉴别。

### 3 讨论和结论

南方红豆杉枝叶成分复杂,因而,采用适宜的提取分离及分析方法才能使其指纹图谱能全面反映南方红豆杉的化学成分。为此,作者在前期研究中对样品的提取溶剂、洗脱剂及流速进行了优化。其中,采用体积分数 95% 的乙醇超声提取,色谱峰数量较多、分离度和重现性较好;采用乙腈和水(体积比)梯度洗脱系统可以很好地分离各种成分,能提供丰富的色谱信息,且简单易制;而采用  $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  的流速,则各成分峰的分离程度好且峰形好。因此,在本研究中作者均采用了优化的提取及色谱分析条件。

王朝晖等<sup>[16]</sup>的研究结果表明:南方红豆杉中紫杉醇含量在 6 月份达到最大值,然而 6 月份容易发生洪涝,土壤含水量长期过多可能在一定程度上抑制根系的呼吸作用,从而影响南方红豆杉的生长并间接影响紫杉醇的积累。植物次生代谢产物的产生是植物

表 3 不同产地南方红豆杉枝叶样品指纹图谱的相似度分析<sup>1)</sup>  
Table 3 Similarity analysis of fingerprint of samples of branch and leaf of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Lemée et Lévl.) Cheng et L. K. Fu from different locations<sup>1)</sup>

样品编号 No. of sample	产地 Location	S I	S II
S1	陕西周至 Zhouzhi of Shaanxi	1.000	1.000
S2	甘肃天水 Tianshui of Gansu	0.812	0.814
S3	甘肃天水 Tianshui of Gansu	0.931	0.931
S4	陕西汉中 Hanzhong of Shaanxi	0.926	0.927
S5	陕西汉中 Hanzhong of Shaanxi	0.977	0.977
S6	安徽胡乐 Hule of Anhui	0.832	0.831
S7	安徽胡乐 Hule of Anhui	0.887	0.888
S8	安徽聂家山 Niejiashan of Anhui	0.634	0.627
S9	安徽聂家山 Niejiashan of Anhui	0.715	0.709
S10	安徽仙寓山 Xianyushan of Anhui	0.874	0.873
S11	安徽仙寓山 Xianyushan of Anhui	0.858	0.853
S12	陕西周至 Zhouzhi of Shaanxi	0.871	0.868

<sup>1)</sup> S I: 用相关系数法计算的相似度值 Similarity value calculated by correlation coefficient method; S II: 用夹角余弦法计算的相似度值 Similarity value calculated by angle cosine method.

在长期进化过程中适应生态环境变化的结果,许多植物在受到病虫害的侵染或环境胁迫后能够产生并积累大量的次生代谢产物,以增强自身的免疫力和抵抗力。Paolini 等<sup>[17]</sup>的研究结果表明:萜类化合物可以吸引传粉者和食草动物,帮助植物进行花粉传播,而且在抗氧化和耐热性调节以及防御微生物和害虫等方面有重要作用。作者的研究结果表明:不同产地南方红豆杉枝叶中紫杉醇含量差异较大,推测这一差异可能与生长环境有关。来源于陕西和甘肃的样品中紫杉醇含量较高,而来源于安徽3个产地的样品中紫杉醇含量均较低,其原因可能是陕西和甘肃属于温带季风气候,夏季高温少雨、冬季寒冷干燥;而安徽属于亚热带季风气候,夏季高温多雨、冬季温和少雨。夏季的高温少雨容易造成土壤干旱,从而引发水胁迫致使南方红豆杉体内的紫杉醇合成途径开启以加强其自身的防御能力。

相似度分析结果表明:除了安徽聂家山的2个样品外,其他样品指纹图谱的相似度值均大于0.8,说明供试12个样品的指纹图谱中主要峰群的整体特征基本一致,但由于各化学成分相对峰面积的RSD值都大于40%,差异主要表现在峰高上,并且产地相近的样品指纹图谱的相似度并不接近,导致样品间的指纹图谱不完全一致,说明不同产地的样品中各成分含量的差异较大。药用植物的化学组成受外界环境(如生长环境、土壤性质)及遗传因素等方面的影响<sup>[18]</sup>,使植物体内的成分和含量有所不同,在HPLC色谱图上则表现为某些峰的差异以及相似保留时间上峰面积的差异。

通过本研究获得的6个产地野生南方红豆杉枝叶化学成分的指纹图谱与杨水平等<sup>[13]</sup>的研究结果差异较大,共有峰数量明显减少,指纹图谱的相似度也有差异。造成这种差异的原因可能是由于本研究中的供试样品均为野生植株,且来源于不同产地,生长环境差异较大;而后的研究样品来自同一种植基地,气候和土壤环境差异不大。由于作者的测定结果具有明显的产地差异,因此,获得的特征指纹图谱不但具有一定的代表性,也更能全面反映南方红豆杉的化学成分特征,对南方红豆杉药材质量控制具有一定的参考价值。

#### 参考文献:

[1] 余琨,丁艳涛,孟宪璟,等. 紫杉醇在我国的应用近况[J]. 肿瘤防治杂志, 2001, 8(4): 440-443.

- [2] WU M B, WU Y L, ZHOU J, et al. Structural characterisation of a water-soluble polysaccharide with high branches from the leaves of *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1020-1024.
- [3] WANI M C, TAYLOR H L, WALL M E, et al. Plant antitumor agents VI: the isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia* [J]. Journal of the American Chemical Society, 1971, 93(9): 2325-2327.
- [4] 郭晓静,王俊鹏,宋晓平,等. 南方红豆杉产紫杉醇内生真菌的分离鉴定[J]. 西北植物学报, 2007, 27(9): 1874-1878.
- [5] 杨逢建,庞海河,祖元刚,等. 南方红豆杉生长发育及其紫杉醇含量与环境因子的关系[J]. 植物研究, 2010, 30(6): 742-746.
- [6] 王昌伟,彭少麟,李鸣光,等. 红豆杉中紫杉醇及其衍生物含量影响因子研究进展[J]. 生态学报, 2006, 26(5): 1583-1590.
- [7] 李乃伟,彭峰,冯煦,等. 不同施肥处理对曼地亚红豆杉‘Hicksi’生长和紫杉醇含量的影响[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(2): 28-33.
- [8] LI C F, HUO C H, ZHANG M L, et al. Chemistry of Chinese yew, *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2008, 36(4): 266-282.
- [9] 赵丁,秦葵,曹聪梅,等. 南方红豆杉和东北红豆杉中的单体化合物对乳腺癌细胞增殖的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 635-638.
- [10] 韩国勇. 南方红豆杉嫩枝扦插育苗技术[J]. 林业科技开发, 2006, 20(5): 87-88.
- [11] 李乃伟,贺赞安,束晓春,等. 基于ISSR标记的南方红豆杉野生种群和迁地保护种群的遗传多样性和遗传结构分析[J]. 植物资源与环境学报, 2011, 20(1): 25-30.
- [12] 杜智敏,陈瑞玲,杨宝峰. 东北红豆杉枝叶HPLC指纹图谱研究[J]. 中草药, 2005, 36(1): 106-108.
- [13] 杨水平,杨宪,张雪,等. 南方红豆杉人工林药材活性成分指纹图谱鉴别研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(4): 110-113.
- [14] 李效贤,熊耀康,余陈欢,等. 高效液相色谱指纹图谱法分析南方红豆杉药材的氯仿提取物[J]. 色谱, 2010, 28(11): 1067-1070.
- [15] 项伟,阮德春,张宏杰,等. 不同产地云南红豆杉紫杉醇的含量分析[J]. 西部林业科学, 1996, 75(2): 74-76.
- [16] 王朝晖,周日宝,刘湘丹,等. 湘产南方红豆杉中紫杉醇含量动态变化的研究[J]. 中南药学, 2010, 8(1): 15-17.
- [17] PAOLINI J, BARBONI T, DESJOBERT J M, et al. Chemical composition, intraspecific variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2010, 38(5): 865-874.
- [18] 柯春婷,全川,王玉震,等. 不同地理种源南方红豆杉中紫杉醇和10-DAB含量及影响因子[J]. 生态学杂志, 2009, 28(2): 231-236.

(责任编辑:佟金凤)