

不同产地沙氏鹿茸草全株中黄酮类和苯乙醇苷类成分含量的比较

李峰卿, 刘素贞, 唐 艳, 周新华, 曾满生^①

(中国林业科学研究院亚热带林业实验中心, 江西 分宜 336600)

Comparison on contents of flavonoids and phenylethanoid glycosides in whole plant of *Monochasma savatieri* from different locations LI Fengqing, LIU Suzhen, TANG Yan, ZHOU Xinhua, ZENG Mansheng^① (Experimental Center of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fenyi 336600, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(3): 78-80

Abstract: Taking whole plant of *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim. from 9 locations in Zhejiang, Fujian, Hunan and Jiangxi Provinces as material, contents of flavonoids and phenylethanoid glycosides were assayed. The results show that the differences in contents of total flavonoids, luteolin, total phenylethanoid glycosides, acteoside and isoacteoside in whole plant of *M. savatieri* from different locations are extremely significant, and the contents are 26.96-133.74, 0.83-4.03, 19.23-63.93, 0.34-15.98 and 0.17-5.41 mg · g⁻¹, respectively. In which, contents of above five components in whole plant of *M. savatieri* from 3 locations in Fenyi, Anfu and Leping of Jiangxi Province are relatively high.

关键词: 沙氏鹿茸草; 黄酮类; 苯乙醇苷类

Key words: *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim.; flavonoids; phenylethanoid glycosides

中图分类号: Q946; S567.23 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)03-0078-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.03.10

沙氏鹿茸草(*Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim.)的干燥全草可药用,具有抑菌、抗炎和抗病毒等功效^[1-2]。目前,已从沙氏鹿茸草中分离出黄酮类(木犀草素)、苯乙醇苷类(类叶升麻苷、异类叶升麻苷和 torenoside B 等)、酚酸类和三萜类化合物^[3-5],其中,苯乙醇苷类是其全草的代表性化学成分,对治疗呼吸道感染或肺炎有意义^[6];类叶升麻苷,具有抗骨质疏松、抗炎和抗衰老等药理活性^[7-9];木犀草素是主要的黄酮类成分之一,具有抗氧化、抗菌、抗炎和抗肿瘤等药理作用^[10]。药用植物的活性成分含量除与其本身的遗传因子有关外,还受生境条件显著影响^[11]。因此,了解不同产地沙氏鹿茸草全株中有效成分含量的差异有助于评价其药材质量。

作者以来源于不同产地的沙氏鹿茸草全株为材料,对其黄酮类和苯乙醇苷类成分的含量进行了测定,以期对沙氏鹿茸草药材的质量控制提供基础研究数据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试野生沙氏鹿茸草多年生成成年全株于2019年5月分别

采自浙江的莲都和龙泉,福建宁化,湖南茶陵以及江西的修水、乐平、信丰、安福和分宜9个产地,经江西省林业科学研究院朱培林研究员鉴定为沙氏鹿茸草。以10株为1个样品,每产地采集3个样品,共27个样品。将全株洗净,于70℃烘干至恒质量,粉碎后过筛(40目),于干燥条件下保存、备用。

主要仪器和试剂:Waters 1525-2998 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Waters C18 反相色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),VGT-2227QTD 超声波提取仪(苏州江东精密仪器有限公司),UV1800 紫外可见分光光度计(日本 Shimadzu 公司)。类叶升麻苷(批号 61276-17-3)、异类叶升麻苷(批号 61303-13-7)、木犀草素(批号 491-70-3)标准品均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均大于98%;乙腈和甲醇为色谱纯(德国 Merck 公司),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 总黄酮含量测定 参考肖作为等^[12]的方法并略作修改,制备芦丁标准品溶液,并计算总黄酮含量。按料液比 1:100(m:V)的比例在样品粉末中加入体积分数60%乙醇,于60℃下震荡提取60 min。取540 μL 提取液,加入质量分数

收稿日期: 2020-11-19

基金项目: 中国林业科学研究院基本科研业务费专项资金项目(CAFYBB2018MB003)

作者简介: 李峰卿(1980—),女,山东德州人,博士,高级工程师,主要从事林木、药用植物生物技术与培育技术研究。

^①通信作者 E-mail: manshengz@163.com

引用格式: 李峰卿, 刘素贞, 唐 艳, 等. 不同产地沙氏鹿茸草全株中黄酮类和苯乙醇苷类成分含量的比较[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(3): 78-80.

5% NaNO₂ 溶液 30 μL, 反应 6 min; 加入质量分数 10% Al(NO₃)₃ 溶液 30 μL, 反应 5 min; 加入 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液 400 μL, 静置 15 min; 于波长 510 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标 y 、芦丁质量浓度为横坐标 x 绘制标准曲线, 线性回归方程为 $y = 5.028 2x + 0.000 7$ ($R^2 = 0.999 6$), 线性范围 25.44~152.64 μg·mL⁻¹。

1.2.2 总苯乙醇苷含量测定 由于类叶升麻苷在沙氏鹿茸草全株中含量较高, 故选其为苯乙醇苷类成分的对照品。精密称取类叶升麻苷对照品适量, 用适量甲醇溶解并配制成 0.352 mg·mL⁻¹ 类叶升麻苷对照品母液; 分别精密吸取对照品母液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 和 5.0 mL, 用甲醇分别定容至 10 mL, 于波长 330 nm 处测定吸光度。以吸光度为纵坐标 y 、类叶升麻苷质量浓度为横坐标 x 绘制标准曲线, 线性回归方程为 $y = 29.894 3x - 0.020 4$ ($R^2 = 0.999 5$), 线性范围 3.25~176.00 μg·mL⁻¹。

称取样品粉末约 0.2 g (精确至 0.000 1 g), 准确加入体积分数 70% 甲醇 25 mL, 称量, 超声 (250 W) 提取 40 min; 冷却后用体积分数 70% 甲醇补足质量, 并用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 滤液为样品溶液。按上述类叶升麻苷对照品测定方法于波长 330 nm 处测定吸光度, 并根据标准曲线计算样品溶液中总苯乙醇苷的浓度。

1.2.3 类叶升麻苷、异类叶升麻苷和木犀草素含量测定 按照 1.2.2 中方法分别制备对照品和样品溶液, 分别得到 0.218 mg·mL⁻¹ 类叶升麻苷、0.236 mg·mL⁻¹ 异类叶升麻苷和 0.220 mg·mL⁻¹ 木犀草素对照品母液。精密吸取各对照品母液 2 mL, 混合后用甲醇进行 5、10、25、50 和 100 倍梯度稀释, 配制成系列浓度混合标准品溶液, 用于 HPLC 分析。

色谱条件: 采用 Waters C18 反相色谱柱, 流动相 A 为甲

醇、流动相 B 为质量体积分数 0.4% 磷酸水溶液, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 330 nm, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μL。分别精密吸取各标准品溶液和样品溶液, 按照上述色谱条件测定。以峰面积为纵坐标 y 、对照品质量浓度为横坐标 x 绘制标准曲线。类叶升麻苷线性回归方程为 $y = 4.397 5 \times 10^3 x + 1.688 2 \times 10^4$ ($R^2 = 0.999 8$), 线性范围 2.18~218.00 μg·mL⁻¹; 异类叶升麻苷线性回归方程为 $y = 9.580 4 \times 10^3 x + 1.507 5 \times 10^4$ ($R^2 = 0.999 6$), 线性范围 2.36~236.00 μg·mL⁻¹; 木犀草素线性回归方程为 $y = 8.742 6 \times 10^3 x + 3.502 3 \times 10^4$ ($R^2 = 0.999 8$), 线性范围 2.20~220.00 μg·mL⁻¹。根据标准曲线并依据峰面积换算样品中 3 个成分的含量。

1.2.4 方法学考察 对上述 HPLC 方法进行方法学考察, 精密密度考察中类叶升麻苷、异类叶升麻苷和木犀草素峰面积的 RSD 值依次为 0.50%、2.82% 和 1.38%, 重复性考察中 3 个成分峰面积的 RSD 值依次为 0.86%、2.20% 和 1.56%, 稳定性考察中 3 个成分峰面积的 RSD 值依次为 0.38%、0.51% 和 1.09%, 表明仪器的精密密度、方法的重复性和供试品溶液的稳定性均良好。

1.3 数据处理和分析

利用 SPSS 22.0 软件对相关数据进行产地间的方差分析, 并采用 Duncan's 新复极差法对相关数据进行多重比较。

2 结果和分析

不同产地沙氏鹿茸草全株中黄酮类和苯乙醇苷类成分的含量见表 1。

由表 1 可见: 不同产地沙氏鹿茸草全株中总黄酮和木犀草素的含量分别为 26.96~133.74 和 0.83~4.03 mg·g⁻¹。其

表 1 不同产地沙氏鹿茸草全株中主要活性成分的含量 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 1 Content of main active components in whole plant of *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim. from different locations ($\bar{X} \pm SD$)

样号 No. of sample	产地 Location	各成分的含量/(mg·g ⁻¹) ¹⁾ Content of each component ¹⁾				
		总黄酮 Total flavonoids	木犀草素 Luteolin	总苯乙醇苷 Total phenylethanoid glycosides	类叶升麻苷 Acteoside	异类叶升麻苷 Isoacteoside
S1	浙江莲都 Liandu of Zhejiang	37.76±0.47de	0.83±0.01d	23.56±1.84de	2.12±0.03d	0.54±0.03bc
S2	浙江龙泉 Longquan of Zhejiang	58.73±3.62c	1.28±0.01bcd	33.82±1.20c	2.58±0.03cd	0.68±0.01b
S3	福建宁化 Ninghua of Fujian	55.13±2.99c	1.39±0.18bcd	35.24±2.51c	1.73±0.05de	0.45±0.04cd
S4	湖南茶陵 Chaling of Hunan	26.96±1.79e	1.14±0.15cd	19.23±1.95e	0.34±0.04e	0.17±0.05e
S5	江西修水 Xiushui of Jiangxi	64.50±3.71c	1.94±0.02bc	38.04±0.81c	1.12±0.02de	0.24±0.02e
S6	江西乐平 Leping of Jiangxi	133.74±7.27a	2.24±0.01b	63.93±6.93a	15.98±0.09a	5.41±0.13a
S7	江西信丰 Xinfeng of Jiangxi	47.56±4.32cd	1.43±0.16bcd	30.54±3.21cd	1.36±0.08de	0.29±0.03de
S8	江西安福 Anfu of Jiangxi	97.49±3.17b	4.03±0.39a	51.92±3.46b	3.77±0.06c	0.56±0.04bc
S9	江西分宜 Fenyi of Jiangxi	121.32±5.83a	3.39±0.67a	58.93±4.73ab	5.57±0.21b	0.57±0.05bc
均值 Average		71.47±3.57	1.96±0.22	39.47±1.53	3.84±0.08	0.99±0.03
F 值 F value		61.43**	18.31**	21.94**	92.81**	695.47**

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示在 0.01 水平上差异显著 Different lowercases in the same column indicate the significant difference at 0.01 level. **: P<0.01.

中,江西的乐平、分宜和安福的样品中总黄酮含量均位居前3位,分别为133.74、121.32和97.49 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;而湖南茶陵的样品中总黄酮含量最低(含量为26.96 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),前三者分别为后者的4.96、4.50和3.62倍。木犀草素含量以江西安福的样品中最高(4.03 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),以浙江丽水的样品中最低(0.83 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$),前者是后者的4.86倍。

由表1还可见:不同产地沙氏鹿茸草全株中总苯乙醇苷、类叶升麻苷和异类叶升麻苷的含量分别为19.23~63.93、0.34~15.98和0.17~5.41 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。其中,总苯乙醇苷、类叶升麻苷和异类叶升麻苷含量均以江西乐平的样品中最高,以湖南茶陵的样品中最低,前者的总苯乙醇苷、类叶升麻苷和异类叶升麻苷含量分别为后者的3.32、47.00和31.82倍。

方差分析结果表明:不同产地沙氏鹿茸草全株中总黄酮、木犀草素、总苯乙醇苷、类叶升麻苷和异类叶升麻苷的含量均存在极显著差异。总体上看,江西乐平、安福和分宜的样品中总黄酮和总苯乙醇苷含量显著高于其他产地的样品,且木犀草素、类叶升麻苷和异类叶升麻苷的含量也较高。

3 讨论和结论

本研究中,沙氏鹿茸草全株中总黄酮含量(26.96~133.74 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)明显高于杨蓓芬等^[13]的测定结果,这种现象除与样品的种类、提取方法和采收时间等因子的差异有关外,还与生长条件不同有关。张舒婷等^[14]的研究结果显示:在不同产地鹿茸草(*M. shearerii* Maxim. ex Franch. et Savat.)中,浙江宁波和江西丰城的鹿茸草中木犀草素含量较高;而本研究中,江西的安福和分宜的沙氏鹿茸草全株中木犀草素含量显著高于其他产地,表明同一种类不同产地间木犀草素含量差异较大。从2个苯乙醇苷单体成分看,不同产地的沙氏鹿茸草全株中类叶升麻苷含量的变幅高于异类叶升麻苷,说明类叶升麻苷含量的地理变异程度高于异类叶升麻苷。

不同产地的沙氏鹿茸草全株中总黄酮、木犀草素以及类叶升麻苷、异类叶升麻苷和总苯乙醇苷的含量均有极显著差异,且总体上看,江西的乐平、安福和分宜的沙氏鹿茸草全株中各成分的含量相对较多,从药用活性成分含量角度看,这3个产地的沙氏鹿茸草药用价值较高。受遗传和环境因子的影响,药用植物活性成分含量变化的性质和程度各不相同,这种差异也可能与采收时间以及保存方式等有关。因此,还有待于对沙氏鹿茸草野生资源进行全面的调研,并针对采收时间和保存方式等方面对其活性成分含量进行更细致的比较分析,同时探讨地理因子与其活性成分含量的相关性,以期筛选出优良的沙氏鹿茸草种源。

参考文献:

- [1] 傅建兴,王利祥,吴军. 炎宁颗粒治疗急性上呼吸道感染临床观察[J]. 海峡药学, 2010, 22(10): 171-173.
- [2] SHI M, HE W, LIU Y, et al. Protective effect of total phenylethanoid glycosides from *Monochasma savatieri* Franch on myocardial ischemia injury [J]. Phytomedicine, 2013, 20: 1251-1255.
- [3] ZHENG W, TAN X Q, GUO L J, et al. Chemical constituents from *Monochasma savatieri* [J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2012, 10(2): 102-104.
- [4] LI M, SHI M F, LIU Y L, et al. Phenylethanoid glycosides from *Monochasma savatieri* and their anticomplement activity through the classical pathway[J]. Planta Medica, 2012, 9: 1381-1386.
- [5] 崔言坤,杨树林,许琼明,等. 鹿茸草中3种苯乙醇苷的分离制备工艺研究[J]. 中草药, 2017, 48(2): 288-293.
- [6] LIU Y L, HE W J, MO L, et al. Antimicrobial, anti-inflammatory activities and toxicology of phenylethanoid glycosides from *Monochasma savatieri* Franch. ex Maxim [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 149: 431-437.
- [7] 陈微娜,李飞,朱盼盼,等. 毛蕊花糖苷对新生大鼠体外培养成骨细胞增殖与分化作用研究[J]. 海峡药学, 2012, 24(4): 23-24.
- [8] XIE G, YANG J, WEI X, et al. Separation of acteoside and linarin from Buddlejaceae Flos by high-speed counter-current chromatography and their anti-inflammatory activities [J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(8): 1-26.
- [9] WANG J, MA C, WANG S. Effects of acteoside on lipopolysaccharide-induced inflammation in acute lung injury via regulation of NF- κ B pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2015, 285: 128-135.
- [10] LÓPEZ-LÁZARO M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin [J]. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, 2009, 9: 31-59.
- [11] 李佳伟,吕寒,刘艳,等. HPLC法比较不同产地枇杷叶中倍半萜苷A含量的差异[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(1): 69-71.
- [12] 肖作为,谢梦洲,甘龙,等. 山银花、金银花中绿原酸和总黄酮含量及抗氧化活性测定[J]. 中草药, 2019, 50(1): 210-216.
- [13] 杨蓓芬,崔敏燕. 绵毛鹿茸草的次生代谢产物含量与抑菌活性分析[J]. 浙江中医药大学学报, 2009, 33(2): 265-267.
- [14] 张舒婷,任恒鑫,吴洪斌,等. 鹿茸草中木犀草素含量测定[J]. 黑龙江医药科学, 2012, 35(3): 32-33.

(责任编辑:郭严冬)