

石韦孢子叶和营养叶中活性成分含量分析

陈超君¹, 尹小红¹, 黄敏¹, 李雁群¹, 覃锋², 黄荣韶^{1*}

(1. 广西大学农学院, 南宁 530005; 2. 大化农业局, 广西大化 530800)

摘要: 对石韦孢子叶和营养叶中的多糖、总黄酮和总皂甙含量进行测定和分析。结果表明:(1)孢子叶中活性成分含量的高低顺序为总黄酮>多糖>总皂甙,其中,总黄酮与多糖和总皂甙含量的差异均达到极显著水平($P<0.01$),而多糖与总皂甙含量的差异则不显著($P>0.05$);营养叶则是多糖>总黄酮>总皂甙,且各活性成分含量间的差异均达到极显著水平($P<0.01$)。(2)孢子叶与营养叶相比,多糖和总黄酮含量的差异均达到极显著水平($P<0.01$),而总皂甙含量的差异不显著($P>0.05$)。其中,多糖含量是营养叶高于孢子叶,而总黄酮含量则是孢子叶高于营养叶。(3)石韦叶片中多糖含量与总黄酮含量间存在极显著的负相关关系($P<0.01$),而总皂甙含量与多糖和总黄酮含量的相关性均未达到显著水平($P>0.05$)。

关键词: 石韦; 孢子叶; 营养叶; 多糖; 总黄酮; 总皂甙

中图分类号: S567.23 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)01-0133-04

Analysis on functional composition content in sporophyll and foliage leaves of *Pyrrosia lingua*

CHEN Chao-Jun¹, YIN Xiao-Hong¹, HUANG Min¹, LI Yan-Qun¹,
QIN Feng², HUANG Rong-Shao^{1*}

(1. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China;

2. Agricultural Bureau of Dahua of Guangxi, Dahua 530800, China)

Abstract: The contents of polysaccharides, total flavonoides and total saponins in sporophyll and foliage leaf of *Pyrrosia lingua* were determined and analyzed. The results were as follows: (1) the functional composition content in the sporophyll was in a decreasing order of total flavonoides, polysaccharides and total saponins, and the content of total flavonoides differed significantly from the content of polysaccharides and total saponins ($P<0.01$), while the content of polysaccharides had no significant difference with the content of total saponins ($P>0.05$); the functional composition content in the foliage leaf was in a decreasing order of polysaccharides, total flavonoides and total saponins, and the differences of polysaccharides, total flavonoides and total saponins content were significant ($P<0.01$). (2) The contents of polysaccharides and total flavonoides were significantly different between the sporophyll and the foliage leaf ($P<0.01$), while the contents of total saponins in the sporophyll had no significant difference comparing with that in the foliage leaf ($P>0.05$), and the contents of polysaccharides in the foliage leaf were higher than that in the sporophyll, whereas the contents of total flavonoides in the sporophyll were higher than that in the foliage leaf. (3) There was significant negative correlation between the content of polysaccharides and total flavonoides in leaves of *P. lingua* ($P<0.01$), while the content of total saponins was not significantly related to the content of polysaccharides and total flavonoides ($P>0.05$).

Key words: *Pyrrosia lingua*; sporophyll; foliage leaf; polysaccharides; total flavonoides; total saponins

收稿日期: 2008-07-21 修回日期: 2009-05-22

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 0718002-3-4) [Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi (0718002-3-4)]

作者简介: 陈超君(1958-), 女, 广西桂平人, 副教授, 主要从事作物栽培理论与技术的研究, (E-mail) chen8427@163.com。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: hrshao802@163.com)

中药石韦来源于水龙骨科石韦属(*Pyrrosia*)多种多年生草本植物,含芒果甙、异芒果甙、绿原酸、黄酮和木犀草素等多种活性成分(Takemoto & Hiki-ao, 1963; Wang 等, 2006; Yang 等, 2003; 张亚宁等, 2006),具有利尿通淋、清热止血的功能(中华人民共和国国家药典委员会, 2005),常用于治疗热淋、血淋、石淋、小便不利、淋沥涩痛、吐血、衄血、尿血、崩漏和肺热喘咳等病症。叶是石韦类药材最主要的药用部位,其活性成分含量的高低涉及到药材质量的优劣(商敏凤, 2002)。但目前中药石韦活性成分的研究主要集中在分离鉴定(王楠等, 2003; 徐成坤等, 1999; 郑兴等, 1998, 1999)、提取工艺(王瑞兰等, 2004; 王自军等, 2007)和含量测定(崔岚等, 2003; 马辰等, 2003; 钟小群等, 2002)等方面,并未见有关其叶片活性成分含量分析的报道。此外,在其他蕨类植物上的研究还表明蕨类植物的孢子叶与营养叶的活性成分含量存在一定的差异(阿孜古丽·克衣木等, 2006)。本研究对石韦孢子叶和营养叶中多糖、总黄酮和总皂甙含量进行了测定和分析,以期对石韦的合理开发利用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 植物材料

供试的植物材料于 2007 年 9 月采自广西藤县,经广西大学农学院植物与植物生理生化教研室鉴定为石韦(*Pyrrosia lingua*),分别取其孢子叶和营养叶,置于恒温干燥箱中,75 °C 下烘干,取出粉碎,备用。

1.2 测定项目与方法

多糖含量测定采用苯酚-硫酸比色法(杨林莎等, 2004);总黄酮含量测定采用 $\text{NaNO}_2\text{-Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaOH}$ 体系吸光光度法(黄永林等, 2006; 项昭保等, 2002);总皂甙含量的测定采用香草醛-高氯酸比色

法(黄荣韶等, 2006; 刘金磊等, 2007)。

1.3 数据处理与分析

Duncan's 新复极差法检验、单因素方差分析及相关性分析均采用 SPSS 软件。

2 结果与分析

2.1 活性成分含量的比较及差异分析

石韦孢子叶和营养叶中各活性成分的含量并不相同(表 1)。其中,孢子叶中活性成分含量的高低顺序为总黄酮>多糖>总皂甙,经检验可知,总黄酮与多糖和总皂甙含量的差异都达到了极显著水平($P<0.01$),而多糖与总皂甙含量的差异则并不显著($P>0.05$);而营养叶中活性成分含量的高低顺序则是多糖>总黄酮>总皂甙,且各活性成分含量间的差异均达到了极显著水平($P<0.01$)。此外,孢子叶与营养叶相比,多糖含量低了 35.46%,但总黄酮和总皂甙含量却分别高了 233.52%和 3.45%,单因素方差分析表明,多糖和总黄酮含量的差异均达到了极显著水平($P<0.01$),而总皂甙含量的差异则并不显著($P>0.05$)(表 2)。

2.2 各活性成分含量间的相关性分析

石韦孢子叶和营养叶中 3 种活性成分含量间的相关性分析显示,多糖含量与总黄酮和总皂甙含量均呈负相关关系,而总黄酮含量与总皂甙含量则呈正相关关系(表 3)。其中,总黄酮含量与多糖含量的相关系数为-0.990,达到了极显著水平($P<0.01$);总皂甙含量与总黄酮和多糖含量的相关系数分别为 0.385 和-0.323,均未达到显著水平($P>0.05$)。

3 结论与讨论

多糖、黄酮和皂甙是三类应用广泛的植物生物

表 1 石韦孢子叶和营养叶中活性成分的含量

Table 1 Functional composition content in sporophyll and foliage leaf of *P. lingua*

| 叶片类型 Leaf types | 多糖含量 (%) Polysaccharides content | 总黄酮含量 (%) Total flavonoides content | 总皂甙含量 (%) Total saponins content |
|------------------|-------------------------------------|--|-------------------------------------|
| 孢子叶 Sporophyll | 1.184±0.018 bB | 4.430±0.396 aA | 0.812±0.076 bB |
| 营养叶 Foliage leaf | 1.834±0.049 aA | 1.328±0.027 bB | 0.784±0.040 cC |

注:数据为平均值±标准差($n=3$),同一行数据后不同的小写字母表示差异达 0.05 显著水平,不同大写字母表示差异达 0.01 极显著水平。

Note: Data are expressed as mean±SD($n=3$), the different letters in the same row indicate significant difference at 0.05 (small letter) and 0.01 (capital letter) probability level.

表 2 石韦孢子叶与营养叶中多糖、总黄酮和总皂甙含量的方差分析
Table 2 Variance analysis of polysaccharides, total flavonoides and total saponins between sporophyll and foliage leaf of *P. lingua*

| 差异源 Source of variation | 多糖含量 (%) Polysaccharides content | | | | 总黄酮含量 (%) Total flavonoides content | | | | 总皂甙含量 (%) Total saponins content | | | |
|----------------------------|-------------------------------------|----|-------|-----------|--|----|--------|-----------|-------------------------------------|----|-------|-------|
| | SS | df | MS | F | SS | df | MS | F | SS | df | MS | F |
| 组间 Between groups | 0.634 | 1 | 0.634 | 472.024** | 14.430 | 1 | 14.430 | 183.625** | 0.001 | 1 | 0.001 | 0.300 |
| 组内 Within groups | 0.005 | 4 | 0.001 | | 0.314 | 4 | 0.079 | | 0.015 | 4 | 0.004 | |
| 总计 Total | 0.640 | 5 | | | 14.744 | 5 | | | 0.016 | 5 | | |

** 表示达 0.01 极显著水平, 下同。 ** Significant at 0.01 level, the same below.

表 3 石韦叶片中多糖、总黄酮和总皂甙含量的相关系数
Table 3 Coefficients of polysaccharides, total flavonoides and total saponins content in the leaves of *P. lingua*

| 活性成分 Functional composition | 总黄酮 Total flavonoides | 总皂甙 Total saponins |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 多糖 Polysaccharides | -0.990** | 0.385 |
| 总皂甙 Total saponins | | -0.323 |

活性物质(韩慧等, 2005), 在石韦孢子叶中含量最高的是总黄酮, 其次为多糖, 最低的是总皂甙, 而在营养叶中含量最高的则是多糖, 其次为总黄酮, 最低也是总皂甙。在两种叶片中, 总黄酮与总皂甙含量的差异均达到了极显著水平, 这表明了在石韦叶片中黄酮类和皂甙类物质的生物合成、运输、积累和消耗均具有相对的独立性(何水林等, 2002), 这可能就是总黄酮含量与总皂甙含量相关性不显著的原因。此外, 多糖与总黄酮含量的差异也都达到了极显著水平, 并且两者表现出了极显著的相关性, 这可能是因为黄酮类化合物的前体丙二酸单酰 CoA (malonyl-CoA) 和香豆酰 CoA (coumaroyl-CoA) 与糖代谢有关(张华峰等, 2006), 而且这在一定程度上也反映出了初生代谢与次生代谢的密切关系, 同时也提示在石韦人工驯化的过程中, 协调好初生代谢与次生代谢的关系, 有利于其活性成分的积累。

石韦孢子叶与营养叶相比, 多糖和总黄酮含量的差异均达到了极显著的水平, 而总皂甙含量的差异并不显著。其中, 多糖的含量是营养叶高于孢子叶, 这可能是因为多糖或其转化产物参与了孢子的形成, 从而导致了孢子叶中多糖含量的下降; 而总黄酮含量则是孢子叶高于营养叶, 与阿孜古丽·克衣木等(2006)对同科植物欧亚水龙骨科 (*Polypodium vulgare*) 研究的结果相一致, 这可能是石韦在长期进化中与环境相互作用的结果, 因为次生代谢产物在植物提高自身保护和生存竞争能力、协调与环境关系上充当着重要的角色(阎秀峰等, 2007), 石韦在

孢子叶中形成较多的黄酮类物质可直接影响植食性昆虫的取食并表现出毒性或排趋性(高巍巍等, 2006), 达到躲避虫害而顺利繁衍的目的, 具有重要的生态学意义。

中药材的药用功效都是建立在其活性成分基础之上的(董群等, 2001; 李广等, 2003; 周新等, 2007), 本研究中石韦孢子叶和营养叶活性成分含量表现出的差异可为石韦药材的合理采收提供了依据, 具体为: 若要发挥多糖的功效则以采收营养叶为主; 若要发挥总黄酮的功效则以采收孢子叶为主; 若要发挥总皂甙的功效则采收孢子叶和营养叶均可。但如果要真正实现有针对性的发挥以上 3 种活性成分的功效, 还需进一步对其具体成分及相关的药理特性做深入的研究。此外, 石韦药材的原植物种类较多, 除石韦外, 还有庐山石韦 (*P. sheareri*)、有柄石韦 (*P. petiolosa*)、毡毛石韦 (*P. drakeana*)、北京石韦 (*P. davidii*) 和西南石韦 (*P. gralla*) 等, 这在一定程度上造成了石韦药材使用的混乱。因此, 十分有必要对石韦药材各原植物的活性成分进行研究。

参考文献:

- 中华人民共和国国家药典委员会. 2005. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 61
- Aziguli Keyimu(阿孜古丽·克衣木), Sultan Ababkri(苏力坦·阿巴白克力), Gulsimayi Abaydulla(古丽斯玛依). 2006. Study on the total flavone of some pteridophytes in Xinjiang(新疆天山三种蕨类植物的总黄酮含量研究)[J]. *J Xingjiang Univ: Nat Sci*(新疆大学学报: 自然科学版), 23(2): 201-202
- Cui L(崔岚), Li XL(李肖玲), Zhu DQ(祝德秋). 2003. Determination of chlorogenic acid in Qingyan Granules by RP-HPLC (RP-HPLC 法测定石韦药材中绿原酸的含量)[J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*(中国中医药信息杂志), 10(12): 31-32
- Dong Q(董群), Fang JN(方积年). 2001. Application of polysaccharides in pharmaceutical field(多糖在医药领域中的应用)[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 36(10): 649-652
- Gao WW(高巍巍), Tong JM(佟建明), Guo SX(郭顺星). 2006. Advance in ecological functions of plant secondary metabolism

- (植物次生代谢产物的生态学功能研究进展)[J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志),41(13):961-964
- Han H(韩慧),Zhang PP(张平平),Wu ZL(吴兆亮). 2005. Application and exploitation on saponin, polysaccharide and flavone of plant(植物皂甙、多糖和类黄酮的应用与开发)[J]. *J Tianjin Agric Coll*(天津农学院学报),12(3):58-61
- He SL(何水林),Zheng JG(郑金贵),Wang XF(王晓峰),et al. Plant secondary metabolism: function, regulation and gene engineering(植物次生代谢:功能、调控及其基因工程)[J]. *Chin J Appl Environ Biol*(应用与环境生物学报),8(5):558-563
- Huang RS(黄荣韶),Luo YM(罗永明),Hu Y(胡彦),et al. 2006. Study on the content of total saponins and its variation in *Abrus mollis* in different growth stages(毛鸡骨草总皂甙含量测定及其动态变化研究)[J]. *Guangdong Agric Sci*(广东农业科学),6(6):28-30
- Huang YL(黄永林),Zhao ZG(赵志国),Wen YX(文永新). 2006. Determination of total flavonoid in different sections of *Blumea balsanifera*(不同部位艾纳香中总黄酮的含量测定)[J]. *Guihaia*(广西植物),26(4):453-455
- Li G(李广),Li HB(李浩波),Liu L(刘璐),et al. 2003. Physiological activation of saponins and its progress in applied study(皂甙的生理活性及其应用研究进展)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报),19(6):3-6
- Liu JL(刘金磊),Li DP(李典鹏),Huang YL(黄永林). 2007. Determination of mogrol glycosides and mogroside V content in the fresh fruit of some *Siraitia grosvenorii* varieties from different places in North Guangxi(桂北地区不同品种、不同产地鲜罗汉果中总甙、甙 V 含量测定)[J]. *Guihaia*(广西植物),27(2):281-284
- Ma C(马辰),Zhou Y(周圆),Liu A R(刘爱茹). 2003. Determination of chlorogenic acid and eriodictyol-7-O- β -D-glucuronide in *Pyrrosia* by RP-HPLC(高效液相色谱法测定中药石韦 2 种成分的含量)[J]. *Acta Pharm Sin*(药学学报),38(4):286-289
- Shang MF(商敏凤). 2002. Research and development of drugs made of fresh leaf medicinal plants(叶类植物药鲜用研究与开发)[J]. *Prim J Chin Mater Med*(基层中药杂志),16(1):60-61
- Takemoto T, Hikio H. 1963. Isolation of diploptene from *Pyrrosia lingua* Farwell[J]. *Chem Pharm Bull*,11:409-410
- Wang N(王楠),Wang J H(王金辉),Cheng J(程杰),et al. 2003. Chemical constituents of *Pyrrosia petiolosa* (Christ) Ching(有柄石韦的化学成分)[J]. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报),20(6):425-427
- Wang N, Wang JH, Li X, et al. 2006. Flavonoids from *Pyrrosia petiolosa*(Christ) Ching[J]. *J Asian Nat Prod Res*,8(8):753-756
- Wang RL(王瑞兰),Yi S(易俗),Tan XZ(谭新中),et al. 2004. The study on extraction procedure of general flavonoids in *Pyrrosia sheareri*(庐山石韦中总黄酮的提取工艺)[J]. *Nat Sci J Xiangtan Univ*(湘潭大学自然科学学报),26(4):77-79
- Wang ZJ(王自军),Yang HB(杨红兵),Qi Y(齐誉),et al. 2007. Study of ethanol extraction process for total flavonoids and tannin containment of *Folium pyrrosiae* by orthogonal design(正交设计研究石韦总黄酮和鞣质提取工艺)[J]. *Lishizhen Medicine Medical Res*(时珍国医国药),18(2):463-464
- Xiang ZB(项昭保),Ren SG(任绍光),Shi YS(石铁松),et al. 2002. Absorption photometric determination of total flavones in stems and leaves of buckwheat(吸光光度法测定荞麦茎中总黄酮)[J]. *Phys Test and Chem Anal(Part B: Chem Anal)*(理化检验:化学分册),38(9):436-437
- Xu CK(徐成坤),Wang JZ(王建中). 1999. Study on the chemical constituents of *Pyrrosia davidii*(Bak.) Ching(北京石韦的化学成分研究)[J]. *J Guangdong Coll Pharm*(广东药学院学报),15(1):21-22
- Yan XF(阎秀峰),Wang Y(王洋),Li YM(李一蒙). 2007. Plant secondary metabolism and its response to environment(植物次生代谢及其与环境的关系)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),27(6):2554-2562
- Yang C, Shi JG, Mo SY, et al. 2003. Chemical constituents of *Pyrrosia petiolosa*[J]. *J Asian Nat Prod Res*,5(2):143-150
- Yang LS(杨林莎),Li YX(李玉贤),Li ML(李明丽),et al. 2004. Determination for the content of polysaccharides in the *Lilium brownie* by phenol-vitriolic(苯酚-硫酸比色法测定百合多糖的含量)[J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*(中国中医药信息杂志),11(8):704-705
- Zhang HF(张华峰),Wang Y(王瑛),Huang HW(黄宏文). 2006. Evolution of flavonoid biosynthetic pathway and prospect of its research in plants of *Epimedium*(黄酮类化合物生物合成途径的进化及其在淫羊藿中的研究进展)[J]. *Chin Tradit Herb Drug*(中草药),37(11):1745-1751
- Zhang YN(张亚宁),Wu B(吴博),Yang JG(杨吉刚),et al. 2006. Quantitative determination of luteolin in *Pyrrosia lingua* by HPLC(HPLC法测定石韦中木犀草素的含量)[J]. *J Pharm Pract*(药学实践杂志),24(6):359-361
- Zheng X(郑兴),Xu YL(许云龙),Xu J(徐军). 1998. Chemical studies on *Pyrrosia gralla*(Gies.) Ching(西南石韦化学成分的研究)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志),23(2):98-99
- Zheng X(郑兴),Yu L(余麟),Liao DF(廖端芳),et al. 1999. Study on the chemical constituents of *Pyrrosia clavata* (Bak.) Ching(光石韦的化学成分研究)[J]. *Chin Tradit Herb Drug*(中草药),30(4):253-254
- Zhong XQ(钟小群),Cai QS(蔡庆顺),Han XX(寒勋衍). 2002. Quantitative determination of chlorogenic acid in *Folium pyrrosiae* by HPLC(HPLC法测定石韦药材中绿原酸的含量)[J]. *J Jiangxi Coll Trad Chin Med*(江西中医学院学报),14(2):16-17
- Zhou X(周新),Li HJ(李宏杰). 2007. Bioactivities and clinical applications of flavonoids(黄酮类化合物的生物活性及临床应用进展)[J]. *Chin J New Drug*(中国新药杂志),16(5):350-355