

不同居群不同部位头花蓼总黄酮含量研究

杜明凤, 陈庆富*

(贵州师范大学 生物技术与工程学院 植物遗传育种研究所, 贵阳 550001)

摘要: 以原产贵州、四川的 10 个头花蓼收集系为材料, 采用紫外分光光度法, 研究了各头花蓼收集系植株不同部位总黄酮含量的变异, 以便找出总黄酮含量较高的头花蓼收集系及其头花蓼植株上总黄酮含量较高的部位, 为头花蓼药业提供指导。结果表明, 不同部位头花蓼总黄酮含量差异很大, 其含量大小依次为老茎 > 花 > 嫩叶 > 老叶 > 嫩茎。头花蓼老茎、花中总黄酮含量在不同居群间差异显著, 其它部位差异不显著。四川都江堰居群老茎总黄酮含量最高, 达 2.761%, 显著高于其它收集系。

关键词: 头花蓼; 不同器官; 分光光度法; 总黄酮

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)04-0561-05

A study of total flavone contents on various organs of different *Polygonum capitatum* accessions

DU Ming-Feng, CHEN Qing-Fu*

(Institute of Plant Genetics and Breeding, School of Biological Technology and Engineering, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

Abstract: The variations of the total flavone contents on various organs of ten *P. capitatum* accessions native to Guizhou and Sichuan were studied by spectrophotometry, in order to search plants which contain higher contents of the total flavone in the accessions and their organs. The results showed that the differences of the total flavone contents among the different organs were great, the order of the total flavone contents was: old stem > inflorescence > young leaf > old leaf > young stem. There were significant differences of the total flavone contents in the old stems or inflorescences among ten accessions, and no significant difference in the other organs. The accession native to Dujian-gyan contained the highest total flavone content (up to 2.761%), much higher than others.

Key words: *Polygonum capitatum*; different organ; spectrophotometry; total flavone

头花蓼 (*Polygonum capitatum*) 属蓼科 (Polygonaceae) 蓼属 (*Polygonum*) 头状蓼组多年生草本植物, 又名四季红、石莽草、水绣球等, 以干燥的全草或地上部分入药 (贵州省药品监督管理局, 2003)。以黄酮类成分为主要成分 (李勇军等, 2000), 有解毒、散瘀、利尿通淋的功能。民间常将其用于治疗泌尿系统感染、血尿、湿疹、肾盂肾炎、膀胱炎、尿路结石、风湿痛、跌打损伤、疔腮、疮疡、腹泻、痢疾等 (王祥培等, 2006)。

从地理分布来看, 贵州、四川、重庆等省市是头花蓼的分布中心。来自不同地区、不同环境条件的头花蓼有不同的品质。张丽艳等 (2003) 研究表明, 不同采收期的头花蓼中总黄酮含量随月份的变化而变化, 在 8, 9 月份 (花期) 总黄酮含量达峰值, 最佳采收期为秋季。王祥培等 (2006) 的研究表明, 不同产地野生与栽培头花蓼中总黄酮含量存在一定的差异; 贵州盘县、云南昆明、西藏墨脱等地野生头花蓼中总黄酮的含量较高, 贵州施秉栽培头花蓼中总黄

收稿日期: 2007-06-06 修回日期: 2007-08-27

基金项目: 教育部新世纪人才支持计划项目 (NECT2004-0931) [Supported by Program for New Century Excellent Talents of State Ministry of Education (NECT2004-0931)]

作者简介: 杜明凤 (1979-), 女, 硕士, 主要从事植物遗传研究, E-mail: dmf1979@126.com

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: cqf1966@163.com)

酮的含量较高,四川成都栽培头花蓼中总黄酮的含量最低。以上研究集中在不同地区、不同物候条件下头花蓼总黄酮含量的变化,但针对不同地区头花蓼的不同部位中总黄酮含量的研究尚未见报道。

本研究首次对西南地区10个不同居群头花蓼不同部位的总黄酮含量进行系统的比较分析,为确定头花蓼最佳药用部位及其最佳产地提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

所有头花蓼(*P. capitatum*)收集系均种植于贵州师范大学植物遗传育种研究所(IPGB)生长室,于2006年8月9日至8月10日分别采集老茎、嫩茎、老叶、嫩叶、花序作为样品(表1)。

表1 试验所用头花蓼材料

Table 1 *P. capitatum* accessions used in this study

序号 No.	居群编号 Accession	原产地 Locality	采样日期 Sampling date
1	SD	四川都江堰	2006年8月10日
2	SM	四川马尔康	2006年8月10日
3	SB	贵州施秉	2006年8月10日
4	TZ	贵州桐梓	2006年8月10日
5	LD	贵州罗甸	2006年8月9日
6	LB	贵州荔波	2006年8月9日
7	XY	贵州兴义	2006年8月10日
8	DY	贵州都匀	2006年8月9日
9	LS	贵州雷山	2006年8月9日
10	ZN	贵州镇宁	2006年8月9日

1.2 仪器及试剂

仪器:755B型紫外可见分光光度计(上分);FD-1冷冻干燥器;DHG-9140A(101-2A)不锈钢鼓风干燥箱;数显水浴恒温振荡器;梅特勒电子天平。

试剂:芦丁标准品(中国药品生物制品检定所),无水乙醇,亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯。

2 试验方法

2.1 标准溶液的制备

精密称取经冷冻真空干燥至恒重的芦丁标准品97.60 mg,置于100.00 mL容量瓶中,加70%的乙醇溶解并定容,即得到芦丁标准品溶液。

2.2 标准曲线的制备

参照张宏志等(1996)的方法,精密吸取0.00、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00 mL芦丁标准品溶液于

25.00 mL容量瓶中,加5% NaNO₂溶液1.00 mL,混匀,放置6 min;加10% Al(NO₃)₃溶液1.00 mL,混匀,放置6 min;加1 mol/L NaOH溶液10.00 mL,再加双蒸水至刻度,摇匀,放置15 min。试剂空白作参比,任取1份选择波长350~550 nm进行扫描,扫描结果在500 nm处有最大吸收,故选择500 nm为测定波长,测定吸光度A值。用最小二乘法作线性回归,得芦丁吸光度(A)与浓度(C)的关系曲线的回归方程为: $A=11.3649C-0.02$, $r=0.9999$ 。

2.3 样品总黄酮含量的测定

(1)样品制备:采摘头花蓼地上部分的花、嫩叶、老叶、嫩茎、老茎等不同部位,流水洗净后沥干,真空冷冻干燥(-50℃,24 h),研磨后过60目筛,放入鼓风干燥箱中干燥(80℃,10 h)至恒重。从约2 g均匀混合的样品干粉中精确称取50.00 mg干粉于50.00 mL容量瓶中,加入40.00 mL 70%的酒精,60℃水浴并振荡5 h,过滤,用70%的酒精定容。

(2)总黄酮的测定:样品按标准曲线操作方法进行测定。根据 $A=11.3649C-0.02$,计算样品中总黄酮的含量。测量黄酮含量时,用1 mL某样品加70%乙醇至25 mL,作为该样品的空白对照,每个样品都有相对应的空白对照。测量时,以空白对照液消除样品中色素和脂类等物质的干扰。每个居群随机选取2植株,每植株的各个部位分别测3次,以测定值的平均值作为该植株某部位的总黄酮含量,以这两个植株某部位总黄酮含量的平均值作为该居群某部位总黄酮含量。

(3)稳定性试验:精密称取样品(SD-1-老叶)50.00 mg,按样品测定方法进行,显色放置30 min后,每隔30 min测定1次,持续2 h,总黄酮平均含量为1.53%,RSD为1.24%。表明显色放置30 min后,2 h内测定稳定。

2.4 数据分析方法

采用SAS v6.12统计分析软件对不同居群、不同部位头花蓼和不同居群、相同部位头花蓼中总黄酮含量之间进行方差分析、Duncan SSR多重比较和系统聚类分析。

3 结果与分析

3.1 不同居群头花蓼不同部位总黄酮含量

贵州、四川等10个不同居群头花蓼不同部位总黄酮含量及其方差分析结果见表2和表3。从表2、

3 可以看出: 不同居群间、同一居群不同植株间、同一植株不同部位间总黄酮含量都有相当的差异。总黄酮含量最高的为原产四川都江堰的 SD 居群 1 植株老茎达 3.168%, 最低为贵州桐梓 TZ 居群和镇宁 ZN 居群 1 植株嫩茎仅 0.902%。方差分析表明, 不同居群间和不同部位间总黄酮含量均有显著差异, 但居群与部位之间无显著互作。

表 2 不同头花蓼收集系不同部位的总黄酮含量

Table 2 The total flavone contents of different organs on different *P. capitatum* accessions (%)

收集系 Accession	老茎 Old stem	嫩茎 Young stem	花序 Inflorescence	老叶 Old leaf	嫩叶 Young leaf	\bar{x}_i
SD	3.168	0.946	1.716	1.562	1.430	1.670
	2.354	1.232	1.430	1.254	1.606	
\bar{x}_{1j}	2.761	1.089	1.573	1.408	1.518	
SM	2.134	1.012	1.914	1.122	1.548	1.561
	2.046	1.078	1.738	1.518	1.496	
\bar{x}_{2j}	2.090	1.045	1.826	1.320	1.522	
SB	2.552	0.902	2.090	1.166	1.430	1.615
	2.156	1.056	1.826	1.320	1.650	
\bar{x}_{3j}	2.354	0.979	1.958	1.243	1.54	
TZ	1.892	0.902	1.782	1.386	1.364	1.465
	1.672	1.034	1.716	1.408	1.496	
\bar{x}_{4j}	1.782	0.968	1.749	1.397	1.430	
LD	1.914	1.166	1.518	1.518	1.496	1.566
	2.508	1.210	1.694	1.232	1.408	
\bar{x}_{5j}	2.211	1.188	1.606	1.375	1.452	
LB	1.958	1.012	1.672	1.364	1.548	1.539
	2.464	1.122	1.518	1.254	1.474	
\bar{x}_{6j}	2.211	1.067	1.595	1.309	1.511	
XY	1.694	1.056	1.584	1.408	1.548	1.431
	1.606	1.144	1.694	1.122	1.452	
\bar{x}_{7j}	1.650	1.100	1.639	1.265	1.500	
DY	1.716	1.012	1.496	1.518	1.364	1.351
	1.562	0.990	1.166	1.254	1.430	
\bar{x}_{8j}	1.639	1.001	1.507	1.210	1.397	
LS	1.716	1.056	1.628	1.232	1.694	1.485
	1.980	1.078	1.584	1.320	1.562	
\bar{x}_{9j}	1.848	1.067	1.606	1.276	1.628	
ZN	2.090	1.122	1.562	1.122	1.496	1.434
	1.848	0.902	1.518	1.166	1.518	
\bar{x}_{10j}	1.969	1.012	1.540	1.144	1.507	
\bar{x}_j	2.052	1.052	1.660	1.295	1.501	1.512

3.2 头花蓼不同部位间总黄酮含量差异性比较

对西南地区 10 个不同居群、不同部位头花蓼总黄酮含量 Duncan 多重比较结果见表 4。

从表 4 看出, 头花蓼 5 个不同部位间总黄酮含量存在极显著差异, 不同部位总黄酮含量大小依次为: 老茎 > 花 > 嫩叶 > 老叶 > 嫩茎。头花蓼老茎总黄酮平均含量最高, 达 2.058%; 其次为花, 总黄酮

平均含量为 1.660%; 嫩叶总黄酮含量平均为 1.501%; 老叶总黄酮平均含量为 1.295%; 嫩茎总黄酮含量最低, 平均为 1.052%。

表 3 不同居群头花蓼不同部位总黄酮含量双因素方差分析

Table 3 Two-factor variance analysis of the total flavone contents in the different organs of *P. capitatum* accessions

变异来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Df	均方 Mean squares	F 值 F value
A	0.805	9	0.089	3.33 **
B	11.588	4	2.897	107.80 **
A×B	2.034	36	0.056	2.10
误差(Error)	1.317	49	0.027	
总变异(Total)	15.748	99		

** 表示在 $\alpha=0.01$ 水平上差异极显著; A 表示不同居群; B 表示不同部位。

** represent significant difference at 0.01 level; A=different accessions; B=different organs.

表 4 头花蓼不同部位总黄酮含量 Duncan 多重比较

Table 4 Duncan multiple comparison of the total flavone contents among the different organs of *P. capitatum*

部位 Organ	$\alpha=0.01$	
老茎	2.058	A
花	1.660	B
嫩叶	1.501	C
老叶	1.295	D
嫩茎	1.052	E

注: 字母不相同表示表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: the different letter means significant difference at $\alpha=0.01$ level.

3.3 不同居群间头花蓼总黄酮含量间的差异性比较

对西南地区 10 个不同居群间头花蓼总黄酮含量分别进行了 Duncan 多重比较(表 5)。从表 5 可以看出: (1)老茎部位, 不同居群间总黄酮含量差异极显著, 含量最高的居群为四川都江堰 SD 居群, 达 2.761%, 最低的是贵州都匀 DY 居群, 仅 1.639%。(2)花中总黄酮含量, 不同居群间差异显著, 变幅为 1.507%~1.958%。最高的为贵州施秉 SB 居群, 最低的是贵州都匀 DY 居群。(3)嫩叶、老叶和嫩茎三个部位, 不同居群间差异不显著, 变幅都很小, 分别为 1.397%~1.628%、1.144%~1.408% 和 0.968%~1.188%。(4)总的变化趋势是老茎总黄酮含量高的居群, 其花等其它部位总黄酮含量也高。但老茎总黄酮含量的居群排序, 与花等其它部位总黄酮含量的居群排序不完全相同。比如四川都江堰 SD 居群老茎总黄酮含量最高, 但花总黄酮含量并不

是最高的。

分析(表 6、图 1)。

3.4 不同居群头花蓼总黄酮含量聚类分析

计算 10 个不同居群头花蓼总黄酮含量之间的欧式距离进行,运用最短距离法对其进行系统聚类

从表 6 和图 1 可以看出,四川都江堰 SD 居群与其它居群之间的距离较大,在聚类图上相距最远。当 T=0.3 时,可分为 4 类,类 1 为 SD 居群,其老茎

表 5 头花蓼相同部位总黄酮含量 Duncan 多重比较结果表

Table 5 Duncan multiple comparison of total flavone contents among different *P. capitatum* accessions

部位 Apparatus	居群 Population	SD	SB	LD	LB	SM	ZN	GT	LS	XY	DY
老茎	\bar{x}_i	2.761	2.354	2.211	2.211	2.090	1.969	1.782	1.848	1.650	1.639
	$\alpha=0.01$	A	AB	AB	AB	AB	AB	AB	AB	B	B
花	\bar{x}_i	1.573	1.958	1.606	1.595	1.826	1.540	1.749	1.606	1.639	1.507
	$\alpha=0.01$	AB	A	AB	AB	AB	B	AB	AB	AB	B
嫩叶	\bar{x}_i	1.518	1.540	1.452	1.511	1.522	1.507	1.430	1.628	1.500	1.397
	$\alpha=0.01$	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
老叶	\bar{x}_i	1.408	1.243	1.375	1.309	1.320	1.144	1.397	1.276	1.265	1.210
	$\alpha=0.01$	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
嫩茎	\bar{x}_i	1.089	0.979	1.188	1.067	1.045	1.012	0.968	1.067	1.100	1.001
	$\alpha=0.01$	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

注:字母不相同表示在 0.01 水平上差异显著。

Note: the different letter means significant difference at $\alpha=0.01$ level.

表 6 10 个居群头花蓼总黄酮含量欧式距离

Table 6 Clustering analysis of the total flavone contents among ten *P. capitatum* accessions

居群 Accession	SD	SM	SB	TZ	LD	LB	XY	DY	LS
SM	0.724								
SB	0.595	0.313							
TZ	1.006	0.348	0.638						
LD	0.565	0.302	0.462	0.504					
LB	0.560	0.262	0.406	0.667	0.150				
XY	1.122	0.485	0.784	0.263	0.581	0.566			
DY	1.151	0.579	0.881	0.360	0.634	0.602	0.202		
LS	0.930	0.347	0.630	0.297	0.433	0.383	0.241	0.340	
ZN	0.839	0.359	0.579	0.388	0.388	0.303	0.366	0.356	0.233

头花蓼总黄酮含量最高,花中总黄酮含量也较高。类 2 只有贵州施秉 SB 居群,花中总黄酮含量最高,老茎总黄酮含量第 2 高。类 3 包括四川马尔康(SM)、贵州罗甸(LD)、贵州荔波(LB)3 个居群,头花蓼总黄酮含量中等。类 4 包括了贵州的 5 个居群:贵州兴义(XY)、贵州都匀(DY)、贵州雷山(LS)、贵州镇宁(ZN)、贵州桐梓(TZ),头花蓼总黄酮含量最低。

4 讨论

张丽艳等(2003)对贵州的 5 个地区头花蓼的总黄酮含量进行了对比研究,发现盘县头花蓼总黄酮含量较高,为 1.47%,毕节头花蓼总黄酮含量较低,为 0.87%。王祥培等(2006)研究表明,11 批不同产

地野生与栽培头花蓼中的总黄酮含量存在一定的差异;贵州盘县、云南昆明、西藏墨脱等地野生头花蓼中总黄酮的含量较高,分别为 1.41%、1.44%、1.40%,贵州施秉栽培头花蓼中总黄酮的含量较高,达 1.05%,四川成都栽培头花蓼中总黄酮的含量最低,为 0.95%。本研究以原产地不同但生长在同一条件下的不同头花蓼居群为材料,研究发现不同居群头花蓼之间的总黄酮含量有显著差异,与上述结果一致。其中四川都江堰和贵州施秉地区的头花蓼总黄酮含量相对较高,贵州兴义(XY)、贵州都匀(DY)、贵州雷山(LS)、贵州镇宁(ZN)、贵州桐梓(TZ)等地头花蓼总黄酮含量相对较低。这种差异应该主要是遗传差异所引起。通过选择其中总黄酮含量最高的居群进行栽培生产,可以为相关药业提供更优良的原材料。

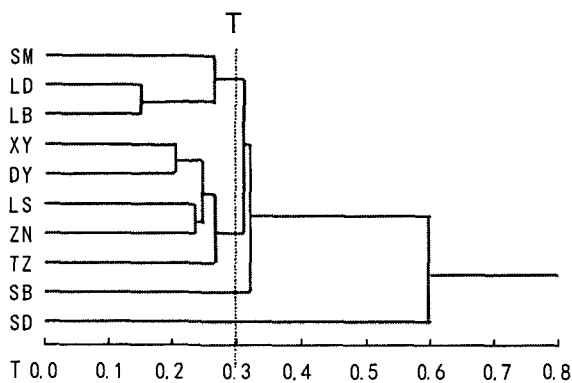


图 1 头花蓼不同居群总黄酮含量系统聚类图
Fig. 1 Clustering map of the total flavone contents among *P. capitatum* accessions

到目前为止,关于头花蓼不同部位总黄酮含量的研究尚未见相关报道,而对蓼科植物荞麦不同部位总黄酮含量的研究报道较多。唐宇等(2001)的研究表明,荞麦花的黄酮含量最高,达到 7.4%;叶片中的黄酮含量次之,达到 5.3%;茎中的黄酮含量最低,达到 1.0%。赵玉平等(2004)对苦荞麦各器官中总黄酮含量的研究显示,含量大小依次为:花>叶>茎>根。韩志萍等(2005)对甜荞不同部位总黄酮含量的研究表明,甜荞地上部分黄酮类含量高于地下部分,其中花、叶含量远高于茎。本研究首次对头花蓼的花、嫩叶、老叶、嫩茎、老茎等 5 个部位的总黄酮含量进行了研究,发现头花蓼不同部位总黄酮含量差异很大,其含量大小依次为老茎 2.058%>花 1.660%>嫩叶 1.501%>老叶 1.295%>嫩茎 1.052%。即老茎总黄酮含量最高,其次是花,与上述荞麦研究结果不同。暗示不同种类植物次生代谢产物积累部位有一定种属特异性。

致谢 本研究得到贵州师范大学生物技术与工程学院龚宁老师和实验中心在器材上的支持,并得到该校 04 级研究生李光及植物遗传育种研究所所有研究生的协助和指导,在此一并致以衷心的感谢。

参考文献:

孙长生,梁斌,王传芳等. 2005. 头花蓼研究进展[J]. 中药研究

与信息,7(4):26-28

李孟林,梁斌,等. 2005. 苗药—头花蓼研究综述[J]. 中国医院用药评价与分析,5(6):383-384

许乾丽. 2001. 头花蓼及其单方制剂的宏量和微量元素[J]. 微量元素与健康研究,18(1):36-38

张丽艳,杨玉琴,高言明,等. 2003. 贵州不同产地不同物候期头花蓼中总黄酮的动态变化研究[J]. 中国中药杂志,28(9):889-890

贵州省药品监督管理局. 2003. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社:147

俞建军,马小琴,等. 2002. 热淋清颗粒治疗尿路感染的疗效评价[J]. 浙江中医杂志,37(3):135

Han ZP(韩志萍),Cao YP(曹艳萍). 2005. Determination of the total content of flavones in different parts of buckwheat(甜荞麦不同部位总黄酮含量测定)[J]. Food Res Develop(食品研究与开发),26(3):147-148

Huang YL(黄永林),Zhao ZG(赵志国),Weng YX(文永新),et al. 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 YJ(李勇军),Luo HF(骆宏丰),Wang YL(王永林),et al. 2000. Studies on the chemical constituents of flavonoids from *Polygonum capitatum*(头花蓼黄酮类化学成分的研究)[J]. China Pharm J(中国药学杂志),35(5):300-302

Tang Y(唐宇),Zhao G(赵钢). 2001. A study on the flavone content of buckwheat(荞麦中黄酮含量的研究)[J]. J Sichuan Agric Univ(四川农业大学学报),19(4):352-354

Wang XP(王祥培),Wan DG(万德光),Wang XS(王祥森),et al. 2006. Determination of the contents of the total flavone in the wild and cultivated *Polygonum capitatum* from different producing areas(不同产地野生与栽培头花蓼中总黄酮的含量分析)[J]. Lishizhen Med Mat Med Res(时珍国医国药),17(19):1713-1714

Zhang HZ(张宏志),Guan ZX(管正学),Tian XY(田晓娅),et al. 1996. Determination of rutin in fagopyrum by spectrophotometric method(分光光度法测定荞麦中芦丁含量)[J]. Chin J Spectroscopy Lab(光谱实验室),13(3):24-27

Zhao YP(赵玉平),Xiao CL(肖春玲). 2004. Determination of total flavones on *Fagopyrum Gaertn* of variety organs(苦荞麦不同器官总黄酮含量测定及分析)[J]. Food Sci(食品科学),25(10):264-266