

不同种源鱼腥草中槲皮素变异规律

张爱莲, 钱慧琴, 诸燕, 吴令上, 斯金平, 赵强

(浙江林学院天然药物研究开发中心, 浙江临安 311300)

摘要: 为了揭示鱼腥草 *Houttuynia cordata* 种质资源中槲皮素量变异规律, 为鱼腥草优良品种选育奠定基础, 用高效液相色谱法测定 22 个种源鱼腥草中槲皮素的质量分数, 并分析植物形态特征、地理位置和生长性状与槲皮素质量分数的关系。结果表明, 不同种源鱼腥草中槲皮素的质量分数存在显著差异, 与植物形态存在一定的关系, 与植株高度显著相关, 与地理位置和植株地径没有显著的相关性。鱼腥草种质资源槲皮素的质量分数存在一定的变异规律。针对鱼腥草中槲皮素选择新品种时, 应重点考虑鱼腥草植株的形态特征和植株高度。图 1 表 3 参 8

关键词: 植物学; 鱼腥草; 种源; 高效液相色谱法; 槲皮素; 中草药

中图分类号: R282.71; S718.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5692(2009)03-0314-05

Variation of quercetin content in *Houttuynia cordata* from twenty-two provenances

ZHANG Ai-lian, QIAN Hui-qin, ZHU Yan, WU Ling-shang, SI Jin-ping, ZHAO Qiang

(Center for Research and Development of Natural Medicines, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: The objective of this study was to reveal variation in quercetin content, an active ingredient of *Houttuynia cordata*, from main producing areas in China and to lay a foundation for improvement in breeding quality. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine quercetin content in *H. cordata* from 22 provenances, after which the relationship between the quercetin content and morphological characteristics, geographic location, and growth traits was tested with a correlation analysis. Results showed that quercetin from different provenances correlated positively with plant morphology and was significantly ($P < 0.05$, $r = -0.5962$) correlated with plant height. However, there was no significant correlation between quercetin and geographic location or plant diameter. Thus, to breed new cultivars of *H. cordata* for high quercetin levels, priority should be given to plant morphology and height. [Ch, 1 fig. 3 tab. 8 ref.]

Key words: botany; *Houttuynia cordata*; provenance; high performance liquid chromatography (HPLC); quercetin; Chinese herbal medicine

三白草科 Saururaceae 蕺菜属 *Houttuynia* 植物蕺菜 *Houttuynia cordata* 的新鲜全草或干燥地上部分在中药学上称为鱼腥草。鱼腥草具有清热解毒、消肿排脓和利尿通淋等功效, 主要应用于治疗肺痈吐脓、痰热咳喘、热痢热淋和痈肿疮毒等病症^[1]。现代药理与临床研究结果表明, 鱼腥草主要活性物质为挥发油类与黄酮类化合物, 其中槲皮素具有祛痰、止咳平喘、抗炎、抗过敏、扩张冠脉、降血脂、抗心律失常、抗血小板聚集、抗氧化和抗肿瘤等广泛的药理作用^[2], 其含量是衡量鱼腥草药用价值的重要指标。一些学者对不同产地、不同海拔和不同品种鱼腥草药材的槲皮素质量分数开展了研究^[3-5], 但对影响药材质量的主体——鱼腥草种质却缺乏研究。作者通过采集立地条件、栽培时间、田间管

收稿日期: 2008-09-17; 修回日期: 2008-12-09

基金项目: 浙江省科学技术攻关项目(2005C32052)

作者简介: 张爱莲, 讲师, 博士, 从事药用植物研究。E-mail: zhangailian@126.com。通信作者: 斯金平, 教授, 从事中药资源与良种选育研究。E-mail: lssjp@163.com

理、施肥种类、施肥时间与数量、采收与加工方法等均完全一致的 22 个全国主产区鱼腥草种源药材, 利用高效液相色谱法测槲皮素的质量分数, 评价全国鱼腥草主产区种质资源, 揭示其遗传变异规律, 为选育鱼腥草优良品种提供依据。

1 实验材料

1.1 仪器

Waters 515 高效液相色谱仪, 2487 型紫外检测器; BUCHI 旋转蒸发器(瑞士 BUCHI 仪器公司, 型号为 R-200/205), Hamilton 色谱微量进样器 25 μL SYRINGE(美国 Hamilton 公司, 批号为 314156); CS 501 型超级恒温水浴(中国上海锦屏仪器仪表有限公司)。

1.2 试剂

槲皮素(批号为 100081-200406, 中国药品生物制品检定所, 北京), 作对照品用。浓盐酸(中国浙江杭州化学试剂有限公司, 分析纯), 甲醇(德国 Merck 公司, B & J ACS/HPLC 色谱级, 色谱纯), 磷酸(中国浙江新安化工集团股份有限公司, 分析纯), Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司, 机型为 Milli-Q Academic)。

1.3 药材

主要包括江西、贵州、云南、河南、浙江、重庆、四川等省 22 个鱼腥草种源^[6]。2006 年 10 月统一栽植于浙江省临安市浙江林学院药材试验基地。2007 年 7 月 19 - 25 日统一采收鱼腥草的地上茎部分, 每个种源采集 25 株, 自然风干后, 粉碎, 过 60 目筛备用。

2 试验方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备^[7] 精密称取 2.500 g 样品, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 加甲醇 40 mL, 再加浓盐酸 3 mL, 沸石数粒, 振摇后, 于 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 1.5 h。水解液放冷后直接滤入 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容, 作为供试品溶液。进样前经有机微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 进样量为 10 μL 。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒量的槲皮素对照品 10.0 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液(槲皮素对照品的质量浓度为 0.1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)。

2.2 色谱条件

高效液相色谱条件: Waters 515 高效液相色谱仪; Alltima C_{18} (250.0 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇: 4.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸(50:50); 检测波长: 370 nm; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

2.3 方法考察

2.3.1 标准曲线及线性范围 精密吸取槲皮素对照品溶液(0.1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)2, 4, 8, 12, 16, 20 μL 注入高效液相色谱仪, 分别进样 4 次, 以平均峰面积为纵坐标, 以绝对进样量为横坐标, 得到线性回归方程 $y = 11\ 721\ x + 429\ 891$, $R^2 = 0.999\ 2$, 进样量在 200 ~ 2 000 ng 范围内线性关系良好。

2.3.2 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 10 μL , 在所建立的测定条件下, 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 结果槲皮素峰面积积分值的相对标准偏差为 0.99%, 即槲皮素在 8 h 内比较稳定。

2.3.3 精密度试验 精密吸取同一样品供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 在所建立的测定条件下, 重复进样 5 次, 结果槲皮素峰面积积分值的相对标准偏差为 0.92%。

2.3.4 重复性试验 取同一样品, 同时制备 5 份样品供试品溶液, 精密吸取 10 μL , 注入液相色谱仪, 在所建立的测定条件下进样, 结果槲皮素峰面积积分值的相对标准偏差为 0.79%。

2.3.5 回收率试验 取 6 种已知量的样品各 1 份, 分别精密添加一定量的槲皮素对照品溶液, 按供试品溶液制备方法制备加样回收供试品溶液, 精密吸取适量供试品溶液, 注入液相色谱仪, 加样回收率测定结果均为 95.00% ~ 105.00%, 得到的平均回收率为 98.31%。

2.4 槲皮素质量分数的测定

分别精密吸取对照品溶液和各供试品溶液 10 μL 进样, 重复测定 2 次, 取平均值, 按标准曲线法

计算含量, 对照品溶液和供试品溶液色谱图见图 1。

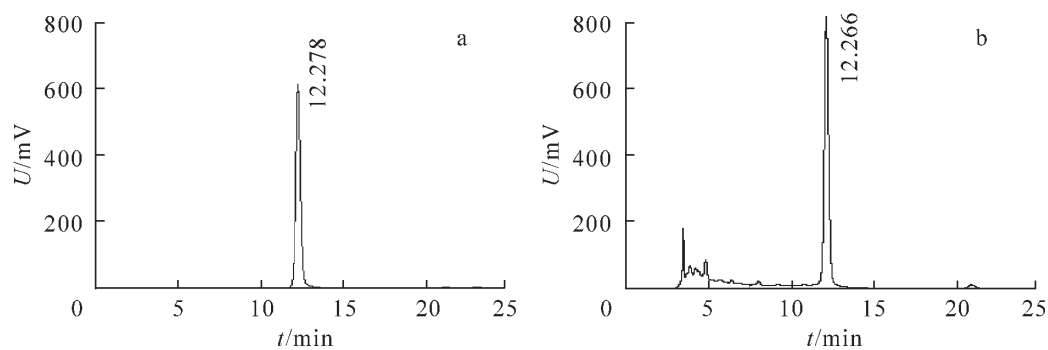


图 1 槲皮素(a)和鱼腥草样品 4(b)HPLC 色谱图

Figure 1 HPLC Chromatograms of quercetin(a)and *Houttuynia cordata*(sample 4, b)

3 结果与分析

3.1 不同种源鱼腥草中槲皮素质量分数的差异

通过高效液相色谱法对 22 个鱼腥草样品中槲皮素进行测定, 结果表明不同种源鱼腥草中槲皮素存在显著差异, 最高的是云南会泽样品, 达到 $2.528 2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 最低的是湖南长沙, 为 $0.519 2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 两者相差了 5 倍(表 1)。即使是同一个省(如浙江省)不同地区的鱼腥草中槲皮素质量分数也存在显著差异, 最高的是浙江青田, 达到 $2.384 1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 最低的是浙江莲都, 为 $0.706 9 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。不同种源间槲皮素质量分数达到极显著差异。方差分析结果见表 2。

3.2 鱼腥草槲皮素质量分数与植物形态特征的关系

根据不同种源鱼腥草主要形态特征将 22 个种源的鱼腥草分为 2 种类型^[8]: 类型 1 形态特征主要表现为生长初期叶绿色, 茎节间较长, 生长盛期叶翠绿色, 叶缘波状, 茎浅红色; 类型 2 形态特征主要表现为生长初期叶带紫红色, 茎节间较短, 生长盛期叶墨绿色, 叶近全缘, 茎紫红色、浅红色或绿色。类型 1 鱼腥草中槲皮素质量分数均值为 $1.274 1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 类型 2 鱼腥草中槲皮素均值为 $1.689 1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。2 种类型鱼腥草中槲皮素量

表 1 不同种源鱼腥草类型、槲皮素及植株高度与地径

Table 1 Quercetin contents, types, heights and diameters of *Houttuynia cordata* from 22 provenances

| 编号 | 种源 | 类型 | 植株高度/ cm | 植株地径/ cm | $\rho_{\text{槲皮素}} / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ ($\bar{x} \pm s$) |
|----|------|----|-------------|-------------|--|
| 1 | 江西永丰 | 1 | 23.80 | 0.29 | $0.921 0 \pm 0.003 6$ |
| 2 | 贵州贵阳 | 1 | 25.00 | 0.29 | $0.827 5 \pm 0.000 1$ |
| 3 | 福建沙县 | 2 | 23.20 | 0.31 | $0.999 6 \pm 0.000 1$ |
| 4 | 云南会泽 | 2 | 17.00 | 0.37 | $2.528 2 \pm 0.000 3$ |
| 5 | 贵州安顺 | 2 | 20.10 | 0.29 | $1.404 0 \pm 0.000 9$ |
| 6 | 浙江莲都 | 1 | 28.80 | 0.29 | $0.706 9 \pm 0.009 9$ |
| 7 | 河南正阳 | 2 | 17.30 | 0.23 | $1.874 9 \pm 0.000 1$ |
| 8 | 浙江庆元 | 1 | 23.10 | 0.32 | $1.470 3 \pm 0.014 2$ |
| 9 | 湖南长沙 | 1 | 28.60 | 0.28 | $0.519 2 \pm 0.000 2$ |
| 10 | 广西柳州 | 2 | 23.00 | 0.36 | $1.406 2 \pm 0.000 1$ |
| 11 | 重庆开县 | 2 | 16.20 | 0.25 | $1.076 1 \pm 0.009 5$ |
| 12 | 浙江嘉善 | 1 | 18.10 | 0.29 | $1.895 1 \pm 0.031 8$ |
| 13 | 四川西昌 | 2 | 8.10 | 0.20 | $2.345 7 \pm 0.028 5$ |
| 14 | 浙江开化 | 2 | 9.20 | 0.27 | $1.162 0 \pm 0.000 0$ |
| 15 | 安徽绩溪 | 2 | 11.30 | 0.24 | $2.405 4 \pm 0.000 8$ |
| 16 | 浙江永康 | 1 | 21.30 | 0.31 | $1.166 0 \pm 0.003 4$ |
| 17 | 浙江泰顺 | 1 | 23.10 | 0.26 | $0.791 4 \pm 0.000 5$ |
| 18 | 浙江嵊州 | 1 | 19.60 | 0.25 | $1.449 4 \pm 0.005 6$ |
| 19 | 浙江长兴 | 1 | 20.70 | 0.20 | $2.013 7 \pm 0.035 9$ |
| 20 | 浙江缙云 | 1 | 22.40 | 0.30 | $1.077 1 \pm 0.000 8$ |
| 21 | 浙江云河 | 1 | 21.50 | 0.23 | $1.341 6 \pm 0.000 0$ |
| 22 | 浙江青田 | 1 | 23.20 | 0.34 | $2.384 1 \pm 0.000 4$ |
| | 种源均值 | | 20.20 | 0.28 | $1.443 9$ |

表 2 不同种源鱼腥草槲皮素质量分数方差分析表

Table 2 Variance analysis table of the quercetin content in *Houttuynia cordata* from 22 provenances

| 性状 | 差异源 | 离差平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | 显著水平 |
|------|-----|----------|-----|---------|-----------|---------------|
| 槲皮素量 | 种源间 | 15.254 1 | 21 | 0.726 4 | 108.810 1 | ** $P < 0.01$ |
| | 误差 | 0.146 9 | 22 | 0.006 7 | | |
| | 总计 | 15.401 0 | 43 | | | |

说明: $F_{0.01}(21, 22) = 2.805 2$ 。

存在一定的差异, 类型 2 的均值大于类型 1。

3.3 不同种源鱼腥草中槲皮素量与地理位置和生长性状的关系

对 22 个鱼腥草样品中槲皮素质量分数与地理位置和生长性状的关系进行分析。结果槲皮素量与种源经度无显著相关, 与种源纬度无显著相关, 与植株高度呈极显著负相关, 与植株地径无显著相关。一般植株低的鱼腥草中槲皮素质量分数较高, 例如植株最低(8.10 cm)的四川西昌鱼腥草中槲皮素质量分数较高 ($2.345 7 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 植株较高

(28.60 cm)的湖南长沙鱼腥草中槲皮素最少 ($0.519 2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 不过也有个别植株高的种源槲皮素质量分数高, 例如浙江青田种源(植株高度为 23.20 cm)槲皮素的质量分数较高($2.384 1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。选择槲皮素质量分数高的鱼腥草新品种可优先考虑在植株较低的地区进行, 以提高选择效率。

4 结果与讨论

研究表明, 不同种源鱼腥草中槲皮素质量分数存在显著差异, 云南会泽种源鱼腥草中槲皮素最高。与经纬度、地径没有显著相关性; 与植株的高度有极显著的负相关, 植株低的鱼腥草中槲皮素一般较高; 与植物形态存在一定的关系, 生长初期叶带紫红色, 生长盛期叶墨绿色, 叶近全缘, 茎节间较短类型的鱼腥草中槲皮素较高。因此, 在针对鱼腥草有效成分槲皮素选择新品种时, 应优先考虑植物的形态特征和植株高度。

本研究中不同种源鱼腥草槲皮素质量分数差异水平比已有的报道更加显著, 主要原因可能是样品来源区域广泛, 研究种源采集范围包括 $24^{\circ}03' \sim 32^{\circ}07' \text{ N}$, $102^{\circ}03' \sim 120^{\circ}09' \text{ E}$, 基本包括了全国鱼腥草主产区, 较为完整地代表鱼腥草遗传多样性, 而前人研究多局限于某一区域。作者采集栽培条件、田间管理、施肥种类、采收与加工方法等完全一致的 22 个鱼腥草种源药材, 与已有的研究相比, 方法更科学, 尽可能消除一些其他因素的干扰, 结果更可靠。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 155.
- [2] 王艳芳, 王新华, 朱宇同. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2003, **15** (2): 171 - 173.
WANG Yanfang, WANG Xinhua, ZHU Yutong. Advancement of researches in quercetin[J]. *Nat Prod Res & Dev*, 2003, **15** (2): 171 - 173.
- [3] 刘雷, 吴卫, 郑有良, 等. 峨眉山不同海拔高度鱼腥草居群槲皮素含量变化[J]. 时珍国医国药, 2007, **18** (7): 1601 - 1603.
LIU Lei, WU Wei, ZHENG Youliang, et al. Variations on the quercetin content of *Houttuynia cordata* Thunb. popula-

表 3 不同种源鱼腥草中槲皮素质量分数与地理位置及生长性状相关分析表

Table 3 Relevance analysis between the quercetin content in *Houttuynia cordata* from 22 provenances and geographic position, growth traits

| 因子 | 槲皮素 | 经度 | 纬度 | 植株高度 | 植株地径 |
|------|------------|----------|-----------|---------|------|
| 槲皮素 | 1 | | | | |
| 经度 | -0.160 1 | 1 | | | |
| 纬度 | 0.242 4 | 0.449 0 | 1 | | |
| 植株高度 | -0.596 2** | 0.261 3 | -0.323 3 | 1 | |
| 植株地径 | -0.064 7 | -0.095 4 | -0.610 0* | 0.402 7 | 1 |

说明:** 表示 0.01 水平上显著相关。

- tions from different altitudes of Mt. Emei [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2007, **18** (7): 1601 - 1603.
- [4] 边清泉, 刘家琴, 李松. 不同品种鱼腥草中槲皮素含量的检测与比较[J]. 光谱实验室, 2005, **22** (5): 1118 - 1120.
BIAN Qingquan, LIU Jiaqin, LI Song. Determination and comparison of the content of ouercetin in different kinds of *Houttuynia cordata* Thunb.[J]. *Chin J Spectrosc Lab*, 2005, **22** (5): 1118 - 1120.
- [5] 刘文尧, 梁爱君, 白皓. 高效液相色谱法测定鱼腥草中槲皮素的含量[J]. 解放军药学报, 1999, **15** (6): 40 - 41.
LIU Wenyao, LIANG Aijun, BAI Hao. Determination of quercetin in *Houttuynia cordata* Thunb. by HPLC [J]. *Pharm J Chin PLA*, 1999, **15** (6): 40 - 41.
- [6] 蓝云龙, 吴令上, 裘波音, 等. 鱼腥草 RAPD 分子标记的多态性[J]. 浙江林学院学报, 2008, **25** (3): 309 - 313.
LAN Yunlong, WU Lingshang, QIU Boyin, et al. *Houttuynia cordata* analysis with RAPD markers[J]. *J Zhejiang For Coll*, 2008, **25** (3): 309 - 313.
- [7] 宗晓萍. 鱼腥草有效成分的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2005: 20 - 23.
ZONG Xiaoping. *Studies on the Effective Components of Houttuynia cordata* [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2005: 20 - 23.
- [8] 吴令上, 斯金平, 周惠, 等. 不同种源鱼腥草中甲基正壬酮变异规律研究[J]. 中草药, 2008, **39** (6): 22 - 26.
WU Lingshang, SI Jinping, ZHOU Hui, et al. Study on the content variation of methyl-n-nonyl ketone in *Houttuynia cordata* from different provenances [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2008, **39** (6): 22 - 26.



浙江省科技厅领导来校考察省级重点实验室建设工作

2009年3月18日, 浙江省科技厅丁康生副厅长来浙江林学院考察省级重点实验室的建设和运行工作。

周国模校长主要从森林生态系统碳汇机制、森林生态系统碳汇计量系统开发、森林生态系统碳汇提升技术以及森林产品的碳平衡及碳汇交易机制等4个研究方向汇报了浙江省森林碳汇研究重点实验室的筹建工作。该实验室将深入开展森林碳汇研究, 评估全省森林在全球气候变化中的调节能力和贡献, 在应对森林碳汇国际交易等热点问题的研究方面具有重要的意义。浙江省现代森林培育技术重点实验室、竹业科学与技术部省共建实验室、竹产业科技创新服务平台、国家木质资源综合利用工程技术研究中心、木材加工产业科技创新服务平台等单位负责人汇报了建设成果。

丁康生仔细听取汇报后指出, 目前, 浙江省重点实验室的建设工作已经取得了显著的成效, 今后将大力发展政府、高校以及企业联合共建重点实验室的模式, 要摸清楚省内以及全国相关重点实验室的建设情况, 避免重复建设, 要把社会效益放在首位。汇报结束后, 丁康生一行实地考察了各个科技条件平台, 对取得的建设成果表示满意。