

• 方药研究 •

## 八角莲性状差异与质量的相关性研究\*

邱 斌, 熊永兴, 徐 怡, 李 云, 苏 钦

(云南省药物研究所 / 云南白药集团创新研发中心 / 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111)

**摘要:** **目的** 分析八角莲外观性状差异, 探讨与其质量的相关性。**方法** 测量 12 个不同产地八角莲原植物和药材的性状指标, 采用 HPLC 方法测定鬼臼毒素、槲皮素和山奈酚含量, 用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。**结果** 叶分裂度、根重、根长、白直径、侧根数在产地间均有极显著差异; 鬼臼毒素与白径、叶片分裂两个指标呈正向相关性, 与产地和须根数呈负向相关; 槲皮素与单株干重和白节数呈正向相关性; 山奈酚与白节数、须根数呈正向相关性。**结论** 八角莲药材不同产地间存在显著的个体差异, 中东部地区与西南部地区具有明显的差异性, 有效成分含量与性状指标有一定的相关性。

**关键词:** 八角莲; 外观性状; 有效成分; 相关性

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)06-0026-06

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.06.007

八角莲(*Dysosma versipellis* (Hance) M.Cheng ex T.S.Ying) 属小檗科(Berberidaceae)八角莲属植物, 为我国特有三级濒危保护植物。分布于我国藏东南—川西—秦岭—淮河以南, 海拔 300~1 500m 的区域, 已知湖北、湖南、河南、四川、江西、安徽、浙江、广东、广西、云南、贵州, 山西诸省均有分布<sup>[1-2]</sup>。八角莲是鬼臼类生药的重要来源, 在我国应用历史悠久, 自《神农本草经》起, 历代本草如《本草纲目》等中均有记载, 其根和根茎入药, 有清热解毒、化痰散结、祛痛消肿之功效, 用于痈肿、跌打损伤、毒蛇咬伤、半身不遂、气管炎、乙型肝炎、小儿惊风等症<sup>[3-5]</sup>, 还可作杀虫剂药用<sup>[6-8]</sup>。植物化学研究表明: 八角莲的主要有效成分有木脂素类物质鬼臼毒素及其衍生物、黄酮类物质山萘酚和槲皮素等<sup>[4-9]</sup>。药理研究表明: 鬼臼毒素在药理学上具有重要价值, 以其为基本母核, 经化学结构修饰而成的依托泊苷和替尼泊苷被证明对肿瘤细胞<sup>[10-12]</sup>、白血病<sup>[13]</sup>、心血管系统疾病<sup>[14]</sup>以及抗免疫<sup>[15]</sup>、抑制中枢神经系统<sup>[13-14]</sup>等方面均有良好的疗效; 山萘酚具有抗癌、抑制生育、抗癫痫、抗炎、抗氧化、解痉、抗溃疡、利胆、止咳等作用<sup>[16]</sup>; 槲皮素有抗氧化及清除氧自由基的作用, 能降低血压, 增强免疫功能<sup>[17]</sup>。

我们在野外调查时, 发现八角莲群体间在形态上存在着较大差异, 这种差异无论是遗传上的差异, 还是环境的饰变, 都有可能对其药材的产量和质量产生影响, 有鉴于此, 为了保证八角莲的质量, 合理地利用资源, 本文调查收集不同分布区的八角莲, 对其原植物性状、根部(药用部位)性状特征指标进行测量, 分析八角莲群体存在的个体差异, 结合主要有效成分鬼臼毒素、山萘酚和槲皮素的含量进行分析, 探讨八角莲的个体性状变异与主要有效成分含量的相关性, 以期了解八角莲性状特征与其质量的关系, 为八角莲良种培育、繁殖和品质鉴定提供科学依据。

### 1 仪器与材料

#### 1.1 仪器

美国 Agilent 1100 高效液相色谱仪(四元泵、DAD 检测器、自动进样器、在线真空脱气机、智能化柱温箱及化学工作站); 恒温水浴锅; 梅特勒—托利多 AG285 电子天平。

#### 1.2 试剂

对照品槲皮素(批号: 100081-200406)、鬼臼毒素(批号: 111645-200301)、山萘酚(批号: 110861-200304)均由中国药品生物制品检定所提供; 所用

\* 基金项目: 云南省科技领军人才培养计划项目(2014HA001)

收稿日期: 2016-09-21

作者简介: 邱斌(1976-), 男, 云南镇雄人, 高级工程师, 主要从事天然药资源的研究与开发。E-mail: yyqiubin@aliyun.com

流动相甲醇、磷酸为色谱纯,处理样品的甲醇为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 材料

十二批八角莲药材经中国科学院昆明植物研究所李恒研究员鉴定为小檗科植物八角莲(*Dysosma versipellis* (Hance) M.Cheng ex T.S.Ying),见表1。

表1 八角莲药材样品信息

| 编号 | 产地      | 地理信息                                |
|----|---------|-------------------------------------|
| 1  | 湖北恩施双河  | N30°09'23.9" E108°45'23.2";H1756m   |
| 2  | 湖北恩施双河  | N30°09'7.7" E108°44'51.9";H1803m    |
| 3  | 安徽天堂寨   | N31°09'38.9" E115°46'4.23";H1821m   |
| 4  | 湖北神农架   | N31°31'24.10" E110°01'15.28";H2300m |
| 5  | 江西彭泽县   | N29°46'30.74" E116°34'28.63";H390m  |
| 6  | 湖南天子山   | N29°22'7.25" E110°26'31.30";H1100m  |
| 7  | 云南文山麻栗坡 | N23°14'51" E104°70'43";H1659m       |
| 8  | 四川峨眉山   | N29°34'4.74" E103°19'33.83";H1250m  |
| 9  | 云南文山马关  | N22°91'66" E104°05'06";H11320m      |
| 10 | 湖北十堰武当山 | N32°29'46" E111°06'7.7";H1354m      |
| 11 | 湖北利川    | N30°17'32" E109°4'4";H1365m         |
| 12 | 重庆金佛山   | N29°13'13" E107°21'74";H1852m       |

## 2 方法

### 2.1 鬼臼毒素、槲皮素和山奈酚含量的测定

#### 2.1.1 色谱条件

色谱柱:Wasters Sunfire C18 柱(5 $\mu$ m,4.6 $\times$ 150mm);流动相:甲醇-0.4%磷酸溶液(45:55,v/v);流速:1.0 mL/min;检测波长:290nm;进样量:10 $\mu$ L;柱温:30 $^{\circ}$ C,理论塔板数按槲皮素计算不低于4 000,在该色谱条件下,供试品、对照品分离较好,与其他杂质峰均能达到基线分离(见图1)。

#### 2.1.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品适量,加甲醇制成每1mL中含槲皮素0.1mg、鬼臼毒素0.1mg、山奈酚0.1mg的溶液,作为对照品溶液。

#### 2.1.3 供试品溶液的制备

取样品0.5g(过4号筛),精密称定,置150mL圆底烧瓶中,精密量取甲醇25mL,称重,80 $^{\circ}$ C水浴回流30min,放至室温后,用甲醇补重,摇匀,用0.45 $\mu$ m微孔滤膜滤过,取续滤液即得。

#### 2.1.4 样品含量测定

取12批样品按上述供试品制备方法制备,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,按上述“2.1.1”项色谱条件测定,记录峰面积,以外标法计算样品中槲皮素、鬼臼毒素、山奈酚的含量。见表2。

### 2.2 性状指标的测量

用精度为0.1cm的直尺测定叶的分裂度、根长度、白的直径,用千分之一的天平称量根重,统计侧根数,测定了12个不同产地,同一产地平行3份,共36份样品,并计算平均值。

### 2.3 数据处理

采用叶的分裂度、根长度、直径和根重等5个性状指标值,应用SPSS 19.0软件进行相关统计方法。多重比较的方法采用LSD-t法。

## 3 结果与分析

### 3.1 产地间的有效成分含量差异分析

利用HPLC方法对12批八角莲的槲皮素、鬼臼毒素、山奈酚3种有效成分进行含量测定,不同产地间八角莲的指标性成分鬼臼毒素的含量差异较为显著,鬼臼毒素最高的可达3.142%,最低的仅

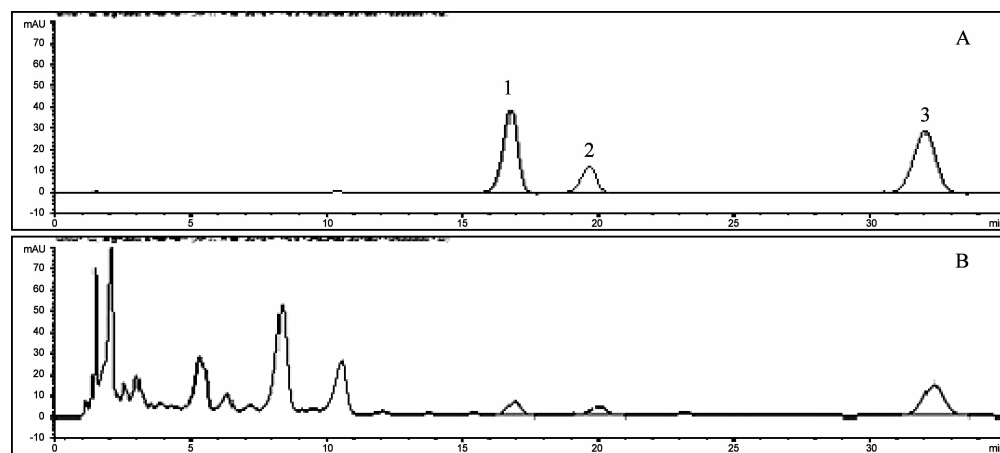


图1 (A—对照品溶液 B—供试品溶液;1—槲皮素 2—鬼臼毒素 3—山奈酚)

为 0.091%, 相差近 5~35 倍。其中, 中东部地区含量最高, 鬼臼毒素含量都可达到 1.000% 以上, 含量偏低的为西部地区, 鬼臼毒素的含量都不足 0.500%,

说明产地对八角莲鬼臼毒素的含量具有较大的影响。12 批八角莲药材性状指标与 3 种有效成分含量测定结果见图 2、表 2。

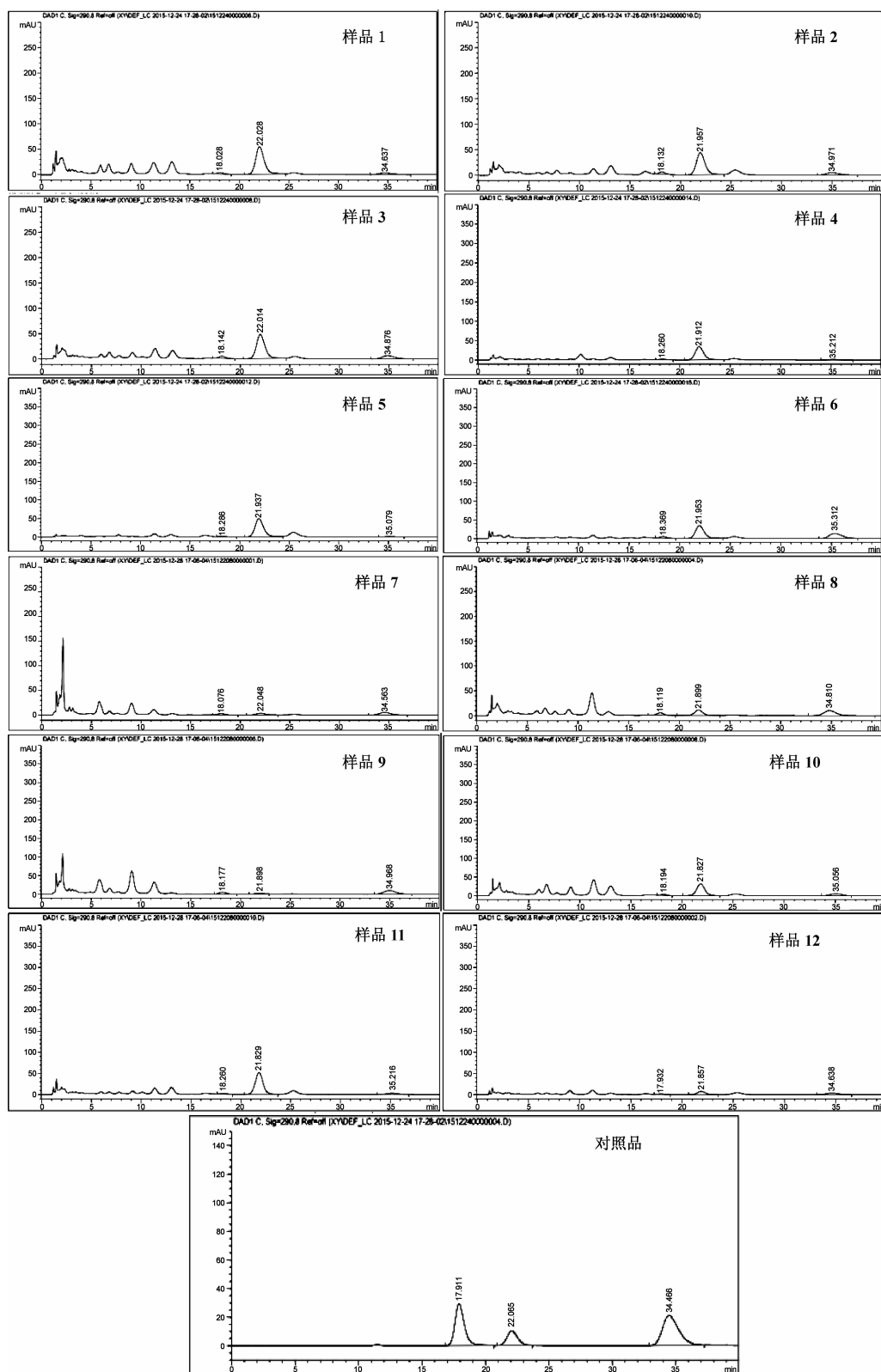


图 2 12 批八角莲药材 3 种有效成分含量测定色谱图

表 2 12 批八角莲药材性状指标与 3 种有效成分含量测定(平均值)

| 编号 | 槲皮素/% | 鬼臼毒素/% | 山柰素/% | 单株干重/g | 白径/cm | 白节数/个 | 须根数/条 | 叶片分/裂 |
|----|-------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|-------|
| 1  | 0.049 | 3.142  | 0.092 | 23.56  | 1.59  | 10    | 29    | 2.30  |
| 2  | 0.072 | 2.899  | 0.165 | 46.12  | 1.50  | 10    | 20    | 2.25  |
| 3  | 0.068 | 2.744  | 0.121 | 45.55  | 1.67  | 10    | 48    | 1.84  |
| 4  | 0.018 | 3.115  | 0.030 | 15.28  | 1.56  | 8     | 13    | 2.37  |
| 5  | 0.029 | 2.162  | 0.046 | 28.87  | 1.89  | 5     | 30    | 1.89  |
| 6  | 0.070 | 2.149  | 0.363 | 16.64  | 1.11  | 10    | 58    | 1.39  |
| 7  | 0.050 | 0.220  | 0.130 | 45.96  | 1.98  | 12    | 82    | 2.01  |
| 8  | 0.075 | 0.624  | 0.238 | 23.20  | 1.36  | 13    | 37    | 1.55  |
| 9  | 0.074 | 0.091  | 0.228 | 42.51  | 1.23  | 13    | 87    | 1.28  |
| 10 | 0.035 | 1.830  | 0.121 | 15.68  | 1.07  | 9     | 28    | 1.80  |
| 11 | 0.037 | 2.970  | 0.086 | 25.07  | 1.71  | 6     | 22    | 2.69  |
| 12 | 0.032 | 0.465  | 0.098 | 20.29  | 1.40  | 11    | 42    | 1.54  |

将 12 个不同产地的样品有效成分含量测定数据导入 SPSS 19.0 统计软件, 利用系统聚类法中的 Ward 法, Euclidean 距离, 卡房度量, 平方 Euclidean 距离进行聚类分析, 聚类结果见图 3。

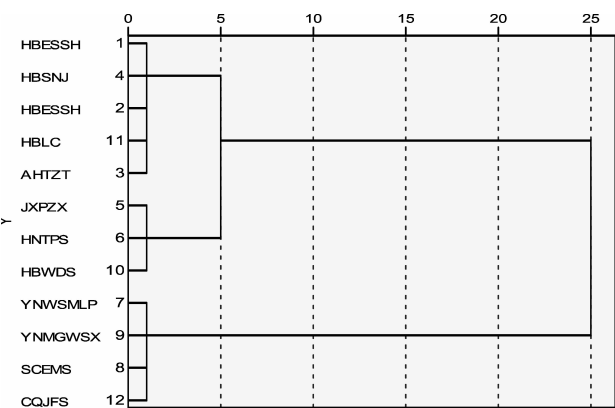


图 3 八角莲不同产地有效成分含量聚类图

从图 3 中可以看出, 12 批不同产地的样品可分为两个大类即湖北恩施、神农架、利川、武当山, 安徽天堂寨, 江西彭泽, 湖南天平山等中东部地区聚为第一类; 云南文山马关、麻栗坡, 重庆金佛山, 四川峨眉山等西部地区聚为第二类。说明地域的差异性对样品的主要有效成配比具有较大的影响。

3.2 产地间的性状差异分析

3.2.1 方差分析

对 12 个产地八角莲样品之间各性状指标的方差分析, 见表 3。

方差分析表明, 叶分裂度、根重、根长、白直径、侧根数在产地间均有极显著差异 ( $P<0.01$ )。

采用 LSD-t 方法进行多重比较表明, 西部地区

表 3 不同产地八角莲各指标 的方差分析

|      |     | Sum of Squares | df | Ms       | F      | Sig    |
|------|-----|----------------|----|----------|--------|--------|
| 单株重  | 产地间 | 9639.887       | 11 | 876.353  | 22.71  | 0.0001 |
|      | 产地内 | 2199.519       | 57 | 38.588   |        |        |
| 白径   | 产地间 | 4.738          | 11 | 0.431    | 4.413  | 0.0001 |
|      | 产地内 | 5.562          | 57 | 0.098    |        |        |
| 节数   | 产地间 | 179.036        | 11 | 16.276   | 2.583  | 0.0098 |
|      | 产地内 | 359.167        | 57 | 6.301    |        |        |
| 须根数  | 产地间 | 30876.424      | 11 | 2806.948 | 31.253 | 0.0001 |
|      | 产地内 | 5119.442       | 57 | 89.815   |        |        |
| 叶片分裂 | 产地间 | 4.738          | 11 | 0.431    | 4.413  | 0.0001 |
|      | 产地内 | 5.562          | 57 | 0.098    |        |        |

注: \* $P<0.01$

的云南、四川、重庆与中东部地区的湖北、湖南、安徽、江西、湖南在白径、节数、叶片分裂程度方面都具有显著性差异; 云南产八角莲须根数与其他产地相比具有显著性差异; 八角莲单株干重在西部地区与中东部地区相比, 差异性不显著。

3.2.2 相关性分析

12 组八角莲样品指标存在显著或极显著性差异。结果见表 4。

由相关分析可以看出, 鬼臼毒素与白径、叶片分裂两个指标呈正向相关, 与产地和须根数呈负向相关; 槲皮素与单株干重和白节数呈正向相关; 山柰酚与白节数、须根数呈正向相关。

3.1.3 变异系数

不同产地之间单株干重的平均值为 15.28~

表 4 不同产地间八角莲性状指标的相关性分析

|       | 产地      | 单株干重    | 白径     | 白节数     | 每节须根数   | 叶片分裂    | 槲皮素     | 鬼臼毒素   | 山柰素   |
|-------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|---------|--------|-------|
| 产地    | 1.000   |         |        |         |         |         |         |        |       |
| 单株干重  | -0.373  | 1.000   |        |         |         |         |         |        |       |
| 白径    | -0.380  | 0.441   | 1.000  |         |         |         |         |        |       |
| 白节数   | 0.081   | 0.309   | -0.360 | 1.000   |         |         |         |        |       |
| 每节须根数 | 0.201   | 0.485   | -0.043 | 0.632*  | 1.000   |         |         |        |       |
| 叶片分裂  | -0.333  | -0.008  | 0.560  | -0.590* | -0.632* | 1.000   |         |        |       |
| 槲皮素   | -0.217  | 0.731** | -0.032 | 0.728** | 0.573   | -0.334  | 1.000   |        |       |
| 鬼臼毒素  | -0.593* | 0.151   | 0.601* | -0.556  | -0.590* | 0.913** | -0.244  | 1.000  |       |
| 山柰素   | 0.082   | 0.565   | 0.079  | 0.740** | 0.733** | -0.327  | 0.784** | -0.337 | 1.000 |

注: \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ 

46.12g,相差 3 倍;白径的平均值为 1.07~1.98cm,相差 0.91cm;茎节数的平均值为 8~13 节,相差 5 节;须根数的平均为 19~87 条,相差近 5 倍;叶片最大径长比最小茎长的平均值为 1.28~2.69,最大比值与最小比值相差 1.41。单株干重、白径、白节数、须根数和叶片分裂程度的变异系数分别为 15%~25%、9%~41%、16%~40%、12%~39%和 5%~21%。从 12 组八角莲样品的平均值变异系数来看,在同一产地内不同植株的生长状况差异十分明显,不同产区之间变异程度也并非完全一致,其中变异程度最大的为须根数,其次为单株干重、叶片分裂程度、白径和茎节数。

#### 4 讨论

(1)由于物种遗传上的原因,任何动、植物药种类都有特定的外观性状及某些特性<sup>[18]</sup>。植物的遗传特性不仅决定其代谢类型,也决定其区别于其它生物的形态特征。每一个物种的代谢产物类型以及形态特征均是人类认识生物的特征,而环境饰变作用又会引起生物的表现型变化。生物体的形态特征能够反映其遗传特性和环境饰变的情况,在一定程度上表征次生代谢产物的情况。因此,形态学特征可用于评价药材的真、伪、优、劣。如肖培根等研究,大黄属植物中叶缘不同程度的分裂与具有明显泻下作用的有效成分番泻苷和大黄酸的有无及含量高低间呈正相关关系<sup>[19-20]</sup>;王凌诗等研究发现,绵性大的内蒙古黄芪多糖及黄芪甲苷高于绵性小者<sup>[21]</sup>。

本文基于八角莲中、西部两个群体在形态上存在着差异,开展其与质量的相关性研究,结果表明八角莲因地理分布不同,形成了不同的种质资源

类型,具有不同程度的质量差异,可按原植物形态特征划将八角莲分成浅裂型和深裂型两种类型。结合药材的有效成分测定数据,进行性状特征与有效成分的聚类和相关性分析,结果表明,八角莲中东部地区与西部地区具有明显的差异性,其主要的活性成分与产地和叶片的分裂程度均存在显著的相关性,中东部地区的八角莲药材有效成分鬼臼毒素含量与西部地区相比相差 5~35 倍,具有显著的地域性。综上所述,本研究可证实八角莲植物形态和药材性状特征与其有效成分存在相关性,可以为指导八角莲药材的采购、栽培、品种选育与品质评价提供依据。

(2)八角莲的叶分裂度、根重、根长、白直径、侧根数在产地间均有极显著差异( $P<0.01$ ),表明不同地域间八角莲药材外观性状存在着显著的个体差异。相关性分析发现,产地、性状指标和化学指标之间具有显著或极显著水平,表明八角莲药材的质量与八角莲叶分裂程度、产地等个体指标具有密切相关性。本文选择八角莲有效成分鬼臼毒素、山柰酚和槲皮素为八角莲的质量控制指标,研究发现,影响 3 种成分含量的因素互不相同,鬼臼毒素主要与白径和叶片分裂相关,山柰酚与白节数和须根数相关,而槲皮素与单株干重和白节数相关。由于八角莲的有效成分及毒性成分主要与鬼臼毒素有关,因此在八角莲的栽培和品种选育上应该重视产地和植株外观形态对药材品质的影响,优先对产地和叶片的分裂程度等性状进行选择,从而保障药材的品质获得较好的丰产目标。此外,通过对不同批次药材的测定观察发现,无论是在产地内,还是产地间,

八角莲的须根数、单株干重、叶片分裂程度、白径和茎节数等变异系数都相对较大,推测可能八角莲药材的各种性状指标可能还与各地区的气候特征、土壤类型、栽培技术等相关联,说明产地环境、种植技术对八角莲药材可能也存在一定的影响需要进一步对其进行研究。

#### 参考文献:

- [1] 应俊生,陈德昭. 中国植物志(第29卷:木通科,小檗科)[M]. 北京:科学出版社,2001:50-51.
- [2] 庄平,吴荭,邬家林. 峨眉山八角莲属植物的生态学与生物学特性研究[J]. 武汉植物学研究,1993,11(1):41-46.
- [3] 应俊生. 小檗科八角莲属和桃儿七属(新属)的研究[J]. 植物分类学报,1979,17(1):15-23.
- [4] 吕敏,苏艳芳,郭增军,等. 八角莲属植物化学成分及生物活性研究概况[J]. 西北药学杂志,2006,22(3):152-153.
- [5] 夏提古丽·阿不利孜,贾晓光,熊元君,等. 八角莲的研究进展[J]. 新疆中医药,2010,28(3):69-72.
- [6] Inamori Y, Kubo M, Tsujibo H, et al. The biological activities of podophyllotoxin compounds [J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(9):3928-3932.
- [7] 高蓉,田喧,张兴. 3种鬼臼毒类物质杀虫活性测试[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2001,29(1):71-74.
- [8] 高蓉,狄旭东,杨振德,等. 4种鬼臼毒素类似物对分月扇舟蛾的生物活性研究[J]. 农药,2004,43(9):424-426.
- [9] 孙彦君,李占林,陈虹,等. 鬼臼类植物化学成分和生物活性研究进展[J]. 中草药,2012,43(8):1626-1634.
- [10] 钱伯文. 抗癌中草药的临床效用[M]. 上海:上海翻译出版公司,1987:6.
- [11] 尚明英,徐珞珊,李萍,等. 鬼臼类中药及其木脂素类成分的药效学研究[J]. 中草药,2002,33(8):722-724.
- [12] 殷梦龙,陈仲良,顾泽圣,等. 贵州八角莲有效成分分离鉴定[J]. 植物学报,1990,32(1):45-48.
- [13] 万明香,张丽艳,何顺志,等. 八角莲属(小檗科)药用植物的研究进展[J]. 贵阳中医学院学报,2007,29(1):51-54.
- [14] 应春燕,钟成. 八角莲中毒机理探讨[J]. 广东药学,1997(3):43.
- [15] 栗晓黎,林瑞超,王兆基,等. 毒性中药鬼臼质量标准研究[J]. 中成药,2006,28(3):342-346.
- [16] 俞培忠,姚莉韵,王丽平. HPLC法测定八角莲注射液中山奈酚的含量[J]. 中成药,1998,20(6):19-20.
- [17] 姚莉韵,王丽平. 八角莲水溶性有效成分的分离与搞病毒活性的测定[J]. 上海第二医科大学学报,1999,19(3):234-237.
- [18] 谢宗万. 中药品种传统经验鉴别“辨状论质论”[J]. 时珍国药研究,1994,5(3):19-21.
- [19] 肖培根,陈碧珠,王立为,等. 大黄属植物的亲缘关系、化学成分与疗效间联系性的初步研究 [J]. 药学报,1980,15(1):33-39.
- [20] 肖培根,徐克学,宋晓明,等. 大黄属植物的外形、成分与泻下作用间联系性的多元分析 [J]. 中西医结合杂志,1982,2(4):231-234.
- [21] 王凌诗,王良信. 中药材性状特征的质量评价 [J]. 中草药,1999,30(5):371-374.

(编辑:徐建平)

## Research on Relevance between the Difference of the Characters and the Quality of *Dysosma Versipellis*

QIU Bin, XIONG Yongxing, XU Yi, LI Yun, SU Tai

(Yunnan Institute of Materia Medica/Yunnan Baiyao Group Innovation and R&D Center/Yunnan Province Company  
Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To analyze the appearance differences of *Dysosma versipellis*, and explore the relevance between the appearance differences and qualities. **Methods** The plant and medicinal traits of *Dysosma versipellis* from 12 habitats were measured as index. The effective components content of podophyllotoxin, quercetin and kaempferol were determined by HPLC. The data were analyzed by SPSS 19.0 software. **Results** The leaf division, root weight, root length, root diameter and lateral root number of 12 habitats had significant differences. Podophyllotoxin content was positively correlated with root diameter, leaf division and was negatively correlated with habitat, root number. Quercetin content was positively correlated with dry weight per plant and root section number. Kaempferol content was positively correlated with root section number and lateral root number. **Conclusion** There are significant individual differences in *Dysosma versipellis* and significant differences between mid-eastern and southwestern regions. The content of active ingredients has a certain correlation with the plant and medicinal traits.

**KEY WORDS:** *Dysosma versipellis*; appearance traits; active ingredient; correlation