

五柱绞股蓝总皂苷含量的生境与季节变化

唐克华^{1,2}, 尹小丽², 刘世彪²

(1. 吉首大学 林产化工工程湖南省重点实验室, 湖南 张家界 427000;

2. 吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000)

摘 要: 测定与分析武陵源区、吉首市和保靖县共 3 个生境的五柱绞股蓝总皂苷含量。结果提示: 不同生境的五柱绞股蓝其茎和叶的最高与最低总皂苷含量分别相差 17.3 倍和 14.2 倍, 总皂苷含量有随季节生长期延长而递增的趋势。不同生长时期的五柱绞股蓝, 其叶的总皂苷含量均高于同期茎的。

关键词: 五柱绞股蓝; 总皂苷; 含量; 生境

Content Changes of Total Gypenosides in *Gynostemma pentagynum* Z. P. Wang across Different Habitats and Seasons

TANG Ke-hua^{1,2}, YIN Xiao-li², LIU Shi-biao²

(1. Key Laboratory of Hunan Forest Product & Chemical Industry Engineering, Jishou University, Zhangjiajie 427000, China;

2. College of Biological Resources and Environmental Science, Jishou University, Jishou 416000, China)

Abstract: The total gypenoside contents of *Gynostemma pentagynum* Z. P. Wang in three habitats such as Wulingyuan, Jishou and Baojing were determined. The results showed that the differences between the highest and lowest contents of total gypenosides in the stems and leaves of the plant from the different habitats were 17.3 folds and 14.2 folds, respectively. For each habitat, the contents of total gypenosides in the stems and leaves revealed an increasing trend with prolonged seasonal growth period. In addition, the contents of total gypenosides in the leaves of *G. pentagynum* Z. P. Wang were higher than those in the stems during different growth periods.

Key words: *Gynostemma pentagynum* Z. P. Wang; total gypenosides; content; habitat

中图分类号: Q946.83

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)23-0074-03

葫芦科绞股蓝属(*Gynostemma* BL)植物为多年生常绿、草质藤本植物, 目前发现 16 种和 3 变种, 属于热带亚洲分布类型。我国长江流域至西南的云南是绞股蓝属植物的现代分布中心或多样化中心, 已发现 14 种和 2 变种, 其中 9 种和 2 变种为中国特有^[1]。绞股蓝皂苷对人体具有降血脂、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老等多种生理活性^[2-3], 已应用于临床治疗^[4-5]。通过多年研究, 人们已利用绞股蓝资源开发出绞股蓝茶、皂苷片、冲剂、胶囊、口服液、运动饮料、啤酒等多种产品。

绞股蓝的近缘种均含有皂苷成分且无明显差异^[1]。五柱绞股蓝(*Gynostemma pentagynum* Z.P.Wang)是绞股蓝的近缘种^[1], 主要分布在我国湖南、贵州、湖北和重庆等省市交界山区^[1-6]。湘西北地区的五柱绞股蓝野生资源蕴藏量较大, 为探索其开发利用价值, 研究该物种在不同生长时期及不同生境下的皂苷含量变化。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

野生或人工培管的五柱绞股蓝, 分别采于湘西北的吉首市、保靖县和张家界市武陵源区的 3 个样地, 每个样地按 30m² 样方记录除五柱绞股蓝之外的主要植物种类。各样方每次采集 3~5 株五柱绞股蓝地上部鲜品, 每株采集 500~1000g, 用编号塑料袋封装, 采回鲜五柱绞股蓝以自来水洗净附着泥沙, 分成茎枝、叶片两部分, 沥干余水后置 70℃ 热风干燥箱干燥 12h 以上至恒质量。每株干燥样本均粉碎并过 40 目筛, 然后各称取 100g 过筛粉末, 并再从其中各取 50g 充分混匀后作为每个样地的待测样本, 每个样地各株样本的剩余粉末混合后保存备用。

甲醇、石油醚、乙醚、香草醛、冰醋酸、高氯酸等均为分析纯; 绞股蓝总皂苷对照品(纯度 80%), 购

收稿日期: 2011-09-30

基金项目: 湖南省自然科学基金重点资助项目(09JJ3051); 湖南省高校产业化培育项目(10CY015)

作者简介: 唐克华(1965—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为植物化学与林产资源产业化开发。E-mail: tkhthllh@126.com

于西安神农生化研究所。

1.2 仪器与设备

CS101-3D 热风干燥箱 重庆试验设备厂; DSY-2 恒温水浴锅 北京国华医疗器械厂; 1029-B 植物样品粉碎机 吉田工业公司; SF-6 脂肪提取装置 三信电器公司; AEG-200 电子天平、UV-160A 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司; eTrex-summit 桂冠 GPS 台湾国际航电公司; 8200 超声波清洗器 日本大和公司。

1.3 方法

1.3.1 样地生境选择

样地 1: 位于武陵源区张家界国家森林公园的金鞭溪溪沟内, 泥砂土, N 29°19'645''、E 110°26'176'', 海拔 589m。溪沟两侧林地群生三叶槭(*Acer henryi* Pax.)、枫杨(*Pterocarya stenoptera* C.DC.)、灯台树(*Cornus controversa* Hemsl.)等高大乔木, 样方内主要分布有冷水花(*Pilea cadierei*)、金荞麦(*Fagopyrum cymosum* (Trev.) Meisn)、水麻(*Debegeasia orientalis*)等草本植物; 其五柱绞股蓝的叶形以五裂叶占主要, 嫩茎和幼叶多被长绒毛。

样地 2: 位于吉首大学校区内的溪沟路旁, 山地黄壤, N 28°17'257''、E 109°43'223'', 海拔 230m。该样地因地处校内, 每年有人工修剪和杂草清除等培管处理。样方内主要分布有少花桂(*Cinnamomum pauciflorum* Nees)、银杏(*Ginkgo biloba*)等乔木和芭茅(*Boehmeria nivea*)、一年蓬(*Erigeron annuus* (Linn.) Pers)等草本植物; 其五柱绞股蓝的叶形以 7 裂叶占主要。

样地 3: 位于湘西自治州保靖县夯沙乡哈比河的溪谷边缘, 砂质土壤, N 28°41'972''、E 109°66'973'', 海拔 411m。该地样方内主要分布有蝴蝶花(*Zris jsponica*)、拔堇(*Smilax china* L.), 葛(*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi), 鸭儿芹(*Cryptotaenia japonica* Hassk.)等草本和藤本植物, 以极少量灰白毛莓(*Rubus tephrodes*)、水麻(*Debegeasia orientalis*)等灌木; 其五柱绞股蓝的叶形以七裂叶占主要。

1.3.2 总皂苷对照品溶液的制备

准确称取 105℃ 干燥至恒质量的绞股蓝皂苷对照品 20mg, 加甲醇溶解并摇匀, 定容于 10mL 容量瓶中, 配成质量浓度为 2.0mg/mL 的绞股蓝皂苷对照品溶液。精确移取该对照品溶液 1.0mL, 置 10mL 容量瓶中以甲醇定容, 得质量浓度为 0.2mg/mL 标准品溶液。

1.3.3 标准曲线的绘制

参照文献[7]方法测定绘制标准曲线。精确吸取 0.2mg/mL 绞股蓝总皂苷对照品溶液 0、0.1、0.2、0.3、

0.4、0.5、0.6mL, 分置于 10mL 具塞试管内, 热风挥干溶剂, 每管分别加 5% 香草醛-冰醋酸溶液 0.2mL、高氯酸 0.8mL, 混合摇匀, 密塞并置于 60℃ 水浴中加热 15min, 取出并用自来水快速冷却至室温, 再加入冰醋酸 5mL 显色, 充分摇匀。以 0mL 试管为空白对照, 扫描测定显色液在 400~600nm 范围的最大光吸收波长及吸光度, 每延长放置 30min 时再测定一次最大光吸收, 确定该显色液在 120min 内的显色稳定性。以在 30min 内测定的显色液最大光吸收波长下的吸光度(A)为纵坐标, 以绞股蓝总皂苷对照品溶液的质量浓度(ρ)为横坐标, 计算回归方程, 绘制标准曲线。

1.3.4 五柱绞股蓝中总皂苷供试品样液的制备及测定

综合参考文献[7-9]中的绞股蓝总皂苷提取方法, 提取制备供试品液: 准确称待测的五柱绞股蓝粉末样本 2.0g 并用滤纸包裹, 先用 70% 甲醇 50mL 浸提并超声处理 30min, 再置于索氏提取装置进行 3h 热回流提取; 收集五柱绞股蓝提取液, 旋转蒸发浓缩并回收甲醇, 残留液转入三角瓶并置电热板上蒸干, 吸取 70℃ 蒸馏水 25mL, 分数次加入三角瓶中以使残留物充分溶解, 溶解液置分液漏斗并用石油醚反复振荡萃取、静置分层, 每次弃去石油醚层(上层)直至醚层无色, 将萃取精制后的水液(下层)蒸干, 其干燥残留物即为五柱绞股蓝总皂苷, 用甲醇将其溶解并转移至 25mL 容量瓶定容, 摇匀, 得供试品液。

精密吸取供试品液 0.5mL, 参照 1.3.2 节的显色与测定吸光度操作, 每个样本进行 3 次重复测定, 取吸光度平均值代入标准曲线的回归方程, 计算各样品的总皂苷质量浓度, 并换算成五柱绞股蓝干品的总皂苷含量(%)。

2 结果与分析

2.1 不同生境五柱绞股蓝的总皂苷含量

绞股蓝总皂苷对照品溶液与五柱绞股蓝总皂苷供试品液, 通过 1.3.2 节方法显色后进行光谱吸收扫描, 测定结果均显示在波长 556.5nm 处有最大吸收波长, 显色液在显色后 2h 内的测定结果稳定(RSD 为 2.1%)。测定和计算得绞股蓝总皂苷对照品溶液显色液在波长 556nm 处的标准曲线线性回归方程: $A = 2.7614\rho + 0.0004$, $R^2 = 0.9984$, 绞股蓝皂苷对照品溶液质量浓度在 0.02~0.10mg/mL 间与吸光度成较好线性关系。利用回归方程计算不同生境五柱绞股蓝的总皂苷含量。自 2006 年 4 月 9 日和 2006 年 5 月 2 日起, 以不同时间间隔采集的野生五柱绞股蓝(样地 1)与人工培管五柱绞股蓝(样地 2)总皂苷含量测定结果见表 1。

表1 不同生境五柱绞股蓝的总皂苷含量
Table 1 Total gypenoside contents of *G. pentagynum* Z. P. Wang in different habitats and seasons

样地及其地理数据	采样时间	皂苷含量/%	
		茎	叶
样地1(N 29°19'645'', E 110°26'176'', 海拔 589m)	2006-04-09	0.052	0.068
	2006-04-24	0.054	0.075
	2006-05-16	0.153	0.170
	2006-05-29	0.177	0.195
样地2(N28°17'257'', E109°43'223'', 海拔 230m)	2006-05-02	0.732	0.871
	2006-05-19	0.852	0.953
	2006-05-29	0.954	1.035
样地3(N28°41'972'', E109°66'973'', 海拔 411m)	2005-07-18	0.407	0.551

由表1可见,采于吉首大学校内且有人工修剪除草等近似培管措施的五柱绞股蓝(样地2),其茎、叶总皂苷含量均明显高于同时期的野生五柱绞股蓝(样地1)的;同一样地但不同时期采集的五柱绞股蓝,其叶的总皂苷含量均高于茎的,呈现出与绞股蓝在总皂苷含量变化的相似规律性^[5]。而不同生境的五柱绞股蓝茎和叶的最高与最低总皂苷含量分别相差17.3倍和14.2倍。

2.2 五柱绞股蓝总皂苷含量的季节变化

由表1可见,五柱绞股蓝茎、叶的总皂苷含量,呈现随季节(间隔采样时间的延长)而递增的趋势。其中,野生五柱绞股蓝(样地1)从初次采样至50d之后止,茎和叶的总皂苷含量增长幅度分别高达2.4倍和1.8倍,总皂苷含量呈现出快速提升的趋势;近似人工培管的五柱绞股蓝(样地2),其茎、叶的总皂苷含量虽然高出野生五柱绞股蓝(样地1)茎、叶的十余倍,但在27d的采样间隔期内的增幅很小,最高不超过0.3倍。

3 讨 论

绞股蓝属于昼夜连续生长型植物,关于其皂苷含量的变化研究已开展较广泛。何维明等^[3]认为,影响绞股蓝种群皂苷动态的主导环境因子是降雨,而光照和温度的影响较小;在绞股蓝整个生活史中,皂苷的产量既受到其含量的影响,又受到种群生物量的影响。邓铭等^[10]认为,绞股蓝在光(以全光照为100%)照度70%左右时的干物质生产量和总皂苷含量最高。

本研究中,野生五柱绞股蓝总皂苷含量明显低于同时期有人工培管措施的五柱绞股蓝的。不同生境五柱绞股蓝总皂苷含量明显差异的原因可能有几个方面:第一种影响是每个样地的土壤质地差异。样地2为山地黄壤,其土壤肥力要比样地1含少量泥的砂壤的肥力高,且持水力强,五柱绞股蓝生长与皂苷等成分积累所需的持续肥、水需求等综合性能较优。第二种影响是样地的幽闭度。样地1为垂直高差近三百米、宽度不足一百

米的溪沟谷地,样方两侧均为被保护很好的乔木林带,沟内样方在夏季白天仅能接受3~4h的直射阳光;样地3为较开阔沟谷地,虽然缺少高大乔木的遮蔽,但伴生的灌木、藤本及草本植物数量丰富,每天的阳光能直射到五柱绞股蓝的时间并不长;而样地2仅有少量人工种植的小乔木,幽闭度低,五柱绞股蓝在夏季白天能获得比样地1光照时间更长的直射阳光,能满足绞股蓝幼叶及嫩茎生长的光、温度积累的更多需要,皂苷合成所需要的碳水化合物前体物质积累相应更多。第三种影响是每个样地的海拔差异。虽然不是在同一年度的同一季节采集的样本,但五柱绞股蓝茎和叶的总皂苷含量都是海拔越低者其值越大。至于降雨量的影响则难以断定,因为样地1、样地2及样地3都地处年均降雨量1100mm以上的县(市或区)境内,年均降雨量应该都能满足五柱绞股蓝生长的水分供给需求。所以,只有进一步开展不同生境五柱绞股蓝的光合效率、叶的结构特征、施肥水平等因素与总皂苷含量变化的相关性研究,才能确定以上哪些因素的影响占主要。

文献[5]报道,绞股蓝地上部分总皂苷含量呈现出伴随“营养生长→开花→结果”的生长期延长的“低→高→低”变化趋势,总皂苷含量一般以每年的7、8、9月开花期达到季节生长的顶峰;绞股蓝叶的形态结构特征与其总皂苷含量相关,可作为选育绞股蓝优良品种的指标。本研究的测定结果提示,样地1和样地2的五柱绞股蓝茎、叶,其总皂苷含量均呈现出随季节生长期延长的递增趋势。但限于采样周期较短,测定结果还不能完全肯定五柱绞股蓝也存在类似于绞股蓝总皂苷含量季节变化趋势的特征性^[5]。尽管如此,五柱绞股蓝在低海拔及人工培管措施下的总皂苷含量较高,提示其仍具有一定的资源开发利用价值。

参考文献:

- [1] 陈书坤. 绞股蓝属植物的分类系统和分布[J]. 植物分类学报, 1995, 33(4): 403-410.
- [2] 刘欣, 叶文才, 萧文鸾, 等. 绞股蓝的化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(1): 21-23.
- [3] 何维明, 钟章成. 绞股蓝种群次生代谢产物的动态及其生态学意义[J]. 云南植物研究, 1998, 20(4): 434-438.
- [4] 谭华炳, 赵世印, 赵斌. 绞股蓝的基础研究与组方应用研究概况[J]. 医学理论与实践, 2005, 18(5): 532-534.
- [5] 林如, 刘世彪, 曹玉芳, 等. 绞股蓝总皂甙含量与其营养器官和生长期相关性的研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(7): 1173-1177.
- [6] 郑小江, 刘金龙. 恩施州绞股蓝属植物及绞股蓝类型调查[J]. 中国野生植物资源, 2002, 21(2): 20-22.
- [7] 张阿慧, 安彩贤, 侯鸿军, 等. 正交实验优选绞股蓝总皂苷的提取方法[J]. 西北药学报, 2001, 16(6): 252-253.
- [8] 郑小江, 刘金龙. 甜味绞股蓝人参总皂甙、总氨基酸、总多糖综合提取工艺[J]. 农业工程学报, 2002, 18(6): 144-145.
- [9] 宋小妹, 崔九成, 强军, 等. 超声法提取绞股蓝总皂苷的工艺研究[J]. 中成药, 1998, 20(5): 4-5.
- [10] 邓铭, 钟山, 任波, 等. 光照强度对绞股蓝总皂甙含量的效应研究[J]. 湖北医科大学学报, 2000, 21(2): 102-103.