

应用 HPLC 色谱技术进行柃属植物化学分类学研究*

石祥刚, 李成仁, 李凯凯, 叶创兴
(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 利用高效液相色谱(HPLC)技术对24种1变种柃属植物28份样品的化学成分进行检测,并以各样品中色谱峰的相对保留时间对柃属植物的特征化学成分进行标记,最终统计到23个特征色谱峰用于化学分类研究。结果显示,柃属植物色谱峰在种内稳定出现,在种间则呈现多样性,可用于物种的鉴别。为进一步探讨种间亲缘关系及部分种的具体分类学地位,研究同时还采用UPGMA法和NJ法对色谱峰进行聚类分析,并根据两种聚类树型图讨论了化学成分的分类学意义。研究结果表明HPLC色谱技术具有快捷性、直观性和重现好的特点,可作为一种理想的标记用于柃属植物的分类鉴定。此外,本研究还能为柃属进一步的资源利用研究提供重要的参考。

关键词: 柃属; HPLC图谱; 化学分类; 聚类分析; 分类学意义

中图分类号: Q949 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2014)02-0101-07

Chemotaxonomy of *Eurya* by HPLC Chromatograms

SHI Xianggang, LI Chengren, LI Kaikai, YE Chuangxing

(School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Chemotaxonomic study of 25 taxa (24 species and 1 variety) of *Eurya*, in a total of 28 samples were carried with high performance liquid chromatograms method. Twenty-three chemical components from the whole samples were recognized according to the relative retention time of the chromatograms. The results showed that the chromatograms stabilized between same species and varied among different species, which could be used to distinguish species from each other. In order to reveal the inter-specific relationships and the taxonomic positions of these species, chromatograms data were submitted to cluster analysis using UPGMA and NJ methods and then the taxonomic significance of chemical component in genus *Eurya* were discussed based on the two dendrograms. Our study showed that the HPLC chromatograms method was rapid, intuitive and repeatable, and it could be mentioned as a good marker to classify the plants of *Eurya*. In addition, this study also provided useful data for studying the resource utilization in the genus.

Key words: *Eurya*; HPLC chromatogram; chemotaxonomy; cluster analysis; taxonomic significance

柃属(*Eurya* Thunb.)隶属于山茶科(Theaceae),目前共约130余种,为山茶科第二大属,主要分布于亚洲热带和亚热带地区、夏威夷群岛及西南太平洋各岛屿。我国有84种14变种,分布于长江流域以南各省区,是我国热带、亚热带常

绿阔叶林下常见林木^[1-2]。柃属植物因其具单性花而明显不同与山茶科其他各属,在本科系统演化上具有重要地位。国内对于柃属的研究,前期仅限于新分类群的整理和报道^[3-4]。1966年,林来官对国产柃属植物作了全面的修订,强调雄花花药是否

* 收稿日期: 2013-04-03

基金项目: 广东省教育厅资助项目(LYM10006); 中山大学青年教师基金资助项目

作者简介: 石祥刚(1978年生),男;研究方向:植物系统分类与植物资源学研究; E-mail: lssxg@mail.sysu.edu.cn

具分格的性状特征, 并据此把我国柃属植物分为格药柃组和真柃组 2 组^[5]。我们在研究中发现, 本属植物花通常细小, 结构差异不显著, 种间鉴别非常困难, 加上普遍花期较短, 并且雄花很快脱落, 完全依赖花的结构来鉴定物种常常受到制约。再者, 近年来雄花花药无格的类群中发现了亲缘关系极近的花药具格的种类^[6], 这一结果也提示柃属内部分物种的分类地位是不明确的。因此, 寻找多学科实验手段对柃属植物进行系统分类学研究已成为本属植物进一步研究的必然要求。植物化学分类是植物分类学与植物化学相互补充的一门实验分类学科, 在解决一些科属分类学疑难问题上发挥着重要作用^[7-8]。近 10 年来, 由于研究方法及设备的完善, 化学分类研究也转向于全面分析植物所含的有效成分, 高效液相色谱法是用得最为广泛的一种方法, HPLC 图谱能够直观显示生物体中的化学信

息, 结合相关聚类分析软件, 已在物种的鉴别上获得成功, 在探讨近缘类群的系统关系方面发挥着越来越多的作用^[9-10]。

鉴于柃属植物的化学分类研究尚属空白, 本研究尝试采用 HPLC 色谱法对柃属植物的主要化学成分进行标记分析, 并进一步探讨其分类学意义, 以期为柃属植物种类的鉴别和系统学研究提供新的证据和线索。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本研究共涉及柃属植物 24 种 1 变种共计 28 个样品, 涵盖了国产柃属植物 2 组 8 系的主要形态类群, 所有实验材料均采自于同一季节 (10 - 11 月份), 具体材料来源见表 1, 凭证标本均存放于中山大学植物标本室 (SYS)。

表 1 植物化学分类实验材料及其来源

Table 1 sources of plant materials used for chemotaxonomy

类群	凭证标本	采集地
格药柃组 Sect. Meristocheca		
华南毛柃 <i>E. ciliata</i> Merr.	石祥刚 Shi XG 3140 (SYS)	海南五指山 Hainan Wuzhishan
长毛柃 <i>E. patentipila</i> Chun	凡强 Fan Q 8250 (SYS)	广西金秀 Guangxi Jinxiu
二列叶柃 <i>E. distichophylla</i> Hemsl.	石祥刚 Shi XG 3136 (SYS)	广东信宜 Guangdong Xinyi
毛果柃 <i>E. trichocarpa</i> Korthals	石祥刚 Shi XG 3155 (SYS)	云南贡山 Yunnan Gongshan
尖萼毛柃 <i>E. acutisepala</i> Hu et Ling	石祥刚 Shi XG 3085 (SYS)	广西临桂 Guangxi Lingui
尖叶毛柃 <i>E. acuminatissima</i> Merr et. Chun	石祥刚 Shi XG 3132 (SYS)	广东封开 Guangdong Fengkai
披针叶毛柃 <i>E. henryi</i> Hemsl.	石祥刚 Shi XG 3067 (SYS)	云南马关 Yunnan Maguan
微心叶毛柃 <i>E. subcordata</i> Hu et Ling	凡强 Fan Q 8385 (SYS)	云南麻栗坡 Yunnan Malipo
肖樱叶柃 <i>E. pseudocerasifera</i> Kobuski	石祥刚 Shi XG 3156 (SYS)	云南贡山 Yunnan Gongshan
大花柃 <i>E. magniflora</i> Mao	石祥刚 Shi XG 3065 (SYS)	云南马关 Yunnan Maguan
坚桃叶柃 <i>E. persicaefolia</i> Gagnep.	石祥刚 Shi XG 3179 (SYS)	云南屏边 Yunnan Pingbian
景东柃 <i>E. jintungensis</i> Hu et Ling	石祥刚 Shi XG 3168 (SYS)	云南景东 Yunnan Jingdong
四角柃 <i>E. tetragonoclada</i> Merrill et Chun	石祥刚 Shi XG 3069 (SYS)	云南马关 Yunnan Maguan
凹脉柃 <i>E. impressinervis</i> Kobuski	石祥刚 Shi XG3075 (SYS)	广西临桂 Guangxi Lingui
真柃组 Sect. Eurya		
岗柃 <i>E. groffii</i> Merr.	石祥刚 Shi XG 3013 (SYS)	云南金平 Yunnan Jinping
偏心叶柃 <i>E. inaequalis</i> Hsu	石祥刚 Shi XG 3178 (SYS)	云南屏边 Yunnan Pingbian
米碎花 <i>E. chinensis</i> R. Br. - 1	石祥刚 Shi XG3072 (SYS)	广东新丰 Guangdong Xinfeng
米碎花 <i>E. chinensis</i> R. Br. - 2	石祥刚 Shi XG 3121 (SYS)	广西上思 Guangxi Shangsi
细齿叶柃 <i>E. nitida</i> Korthals - 1	石祥刚 Shi XG3129 (SYS)	广东封开 Guangdong Fengkai
细齿叶柃 <i>E. nitida</i> Korthals - 2	石祥刚 Shi XG 3125 (SYS)	广东珠海 Guangdong Zhuhai
卵叶柃 <i>E. ovatifolia</i> Chang	石祥刚 Shi XG 3141 (SYS)	海南五指山 Hainan Wuzhishan
红褐柃 <i>E. rubiginosa</i> Chang	廖文波 Liao WB 610020 (SYS)	广东龙门 Guangdong Longmen
窄基红褐柃 <i>E. rubiginosa</i> var. <i>attenuata</i> Chang - 1	石祥刚 Shi XG 3133 (SYS)	广东封开 Guangdong Fengkai
窄基红褐柃 <i>E. rubiginosa</i> var. <i>attenuata</i> Chang - 2	石祥刚 Shi XG 3106 (SYS)	广西融水 Guangxi Rongshui
隆林耳叶柃 <i>E. lunglingensis</i> Hu et Ling	石祥刚 Shi XG 3124 (SYS)	广西隆林 Guangxi Longlin
腺柃 <i>E. glandulosa</i> Merr.	石祥刚 Shi XG 3138 (SYS)	广东信宜 Guangdong Xinyi
短柱柃 <i>E. brevistyla</i> Kobuski	石祥刚 Shi XG 3098 (SYS)	广西临桂 Guangxi Lingui
微毛柃 <i>E. hebeclados</i> Ling	石祥刚 Shi XG 3073 (SYS)	广西桂林 Guangxi Guilin

1.2 方法

供试样品溶液的制备: 取适量植物叶片于 60 °C 烘干, 磨成粗粉。称取干燥、粉碎样品 0.3 g 置于 50 mL 锥形瓶中, 加入沸水 50 mL; 90 °C 下恒温水浴 30 min, 每 5 min 振摇一次使提取均匀; 水浴后取出放冷至室温, 用微孔膜过滤后定容至 100 mL 作为供试样品。

色谱条件: 色谱柱: Supelco Discovery RP Amide C16 柱 (25 cm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: $w = 0.05\%$ 磷酸水溶液; 流动相 B: 乙腈; 梯度条件: 0 ~ 40 min, 流动相 B 10% ~ 30%; 40 ~ 48 min, 流动相 B 30%; 柱温: 35 °C, 检测波长: 210 nm。

参照物的选择: 因为缺乏相应的标准品, 我们选择供试材料中的一个典型物种坚桃叶柃 *E. persicaefolia* 的色谱峰作为对照 (图 1), 其色谱峰中保留时间为 16.7, 19.2, 20.6, 42.9, 46.8 min 的 5 个色谱峰峰形稳定, 与其他峰分离良好, 在所有样品中有规律的出现, 并且保留时间适中, 故采用这 5 个峰作为参照物峰, 以考察不同材料的保留时间。

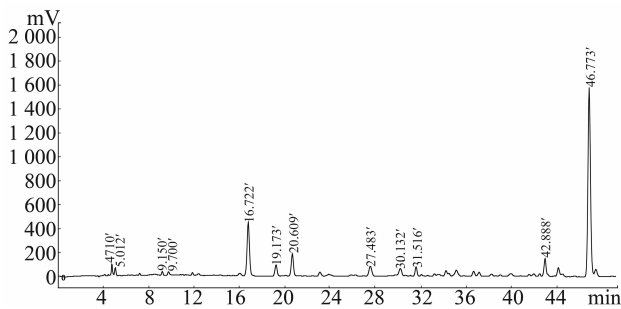


图 1 柃属植物参照物 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance in the genus *Eurya*

样品测定: 精密吸取供试样品及参照物样品溶液各 20 μL 注入高效液相色谱仪中, 按照确定的色谱条件进行实验。

方法学考察: 取本属代表物种坚桃叶柃 *E. persicaefolia* 样品提取溶液, 按上述提取方法、色谱条件和测定方法, 进行精密度试验。HPLC 色谱图结果表明, 共有峰指纹峰保留时间和相对峰面积

RSD 值均小于 3.0%, 表明该图谱方法精密符合要要求。此外, 不同实验日期及不同批次提取溶液的各共有峰相对保留时间和相对峰面积比值无明显变化 (RSD 值分别为 1.25% ~ 1.58% 和 1.92% ~ 2.33%), 说明本方法稳定且具有重现性, 可进行指纹图谱分析。

2 研究结果

2.1 HPLC 图谱的直观结果及化学性状的选取

在本实验的色谱条件下, 检测样品中的全部化学成分可以在 50 min 内检测完毕, 28 个样品的 HPLC 色谱图如图 2 所示, 所有样品色谱图整体面貌相似, 各主要成分分离良好。根据参照样品坚桃叶柃色谱峰的出峰时间, 将各样品检测到的色谱峰进行初步确认, 把所有样品各色谱峰的保留时间从小到大排列起来, 每个保留时间对应的峰标记为一种化学成分, 记录其具体保留时间和峰面积, 获得柃属植物化学成分的原始数据, 为避免过多干扰, 本研究没有将一些保留时间不确定的色谱峰统计在内, 最终确定出 23 个化学成分, 其编号及相对保留时间如下: 1: 4.7 min; 2: 5.0 min; 3: 9.2 min; 4: 9.7 min; 5: 10.3 min; 6: 16.9 min; 7: 18.5 min; 8: 19.4 min; 9: 20.8 min; 10: 21.6 min; 11: 27.3 min; 12: 27.7 min; 13: 29.9 min; 14: 30.4 min; 15: 30.9 min; 16: 31.6 min; 17: 32.6 min; 18: 34.2 min; 19: 36.6 min; 20: 41.3 min; 21: 42.3 min; 22: 42.8 min; 23: 46.8 min。其中 6、8、9、22、23 号峰为柃属植物典型峰, 在大部分样品中均有规律的出现, 并且峰形稳定, 峰面积相对较大, 为柃属植物主要化学成分。

2.2 化学成分的聚类结果

在 waters 色谱工作站下进一步对色谱峰比较分析发现, 同一物种不同产地或不同生态型的材料在化学成分的含量上有高低不同变化, 但化学成分有无特性则保持相对稳定 (见图 2 中所示窄基红褐柃、米碎花与细齿叶柃 3 个物种的不同样品)。因此为进一步探讨柃属植物化学成分的分类学意义, 本研究将所选定的化学成分进行标准化处理 (Range 0 to 1), 具体编码数据矩阵见表 2。

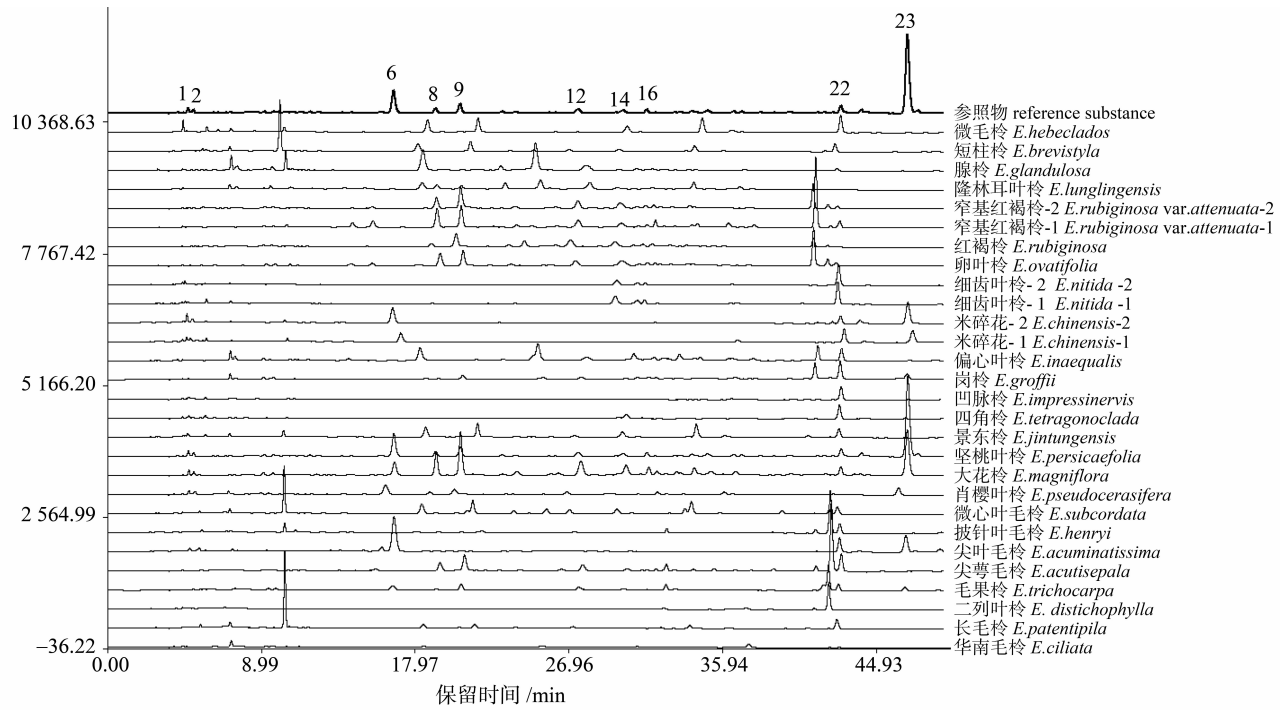


图 2 柃属 28 个样品的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of 28 samples in the genus *Eurya*

表 2 23 种化学成分矩阵

Table 2 Matrix of 23 chemical constituents

类群	化学成分编码																						
格药柃组 Sect. Meristocheca																							
华南毛柃 <i>E. ciliata</i>	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
长毛柃 <i>E. patentipila</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
二列叶柃 <i>E. distichophylla</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
毛果柃 <i>E. trichocarpa</i>	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	
尖萼毛柃 <i>E. acutisepala</i>	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	
尖叶毛柃 <i>E. acuminatissima</i>	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	
披针叶毛柃 <i>E. henryi</i>	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	
微心叶毛柃 <i>E. subcordata</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	
肖樱叶柃 <i>E. pseudocerasifera</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	
大花柃 <i>E. magniflora</i>	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	
坚桃叶柃 <i>E. persicaefolia</i>	1	0	1	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	
景东柃 <i>E. jintungensis</i>	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
四角柃 <i>E. tetragonoclada</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	
凹脉柃 <i>E. impressinervis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
真柃组 Sect. Eurya																							
岗柃 <i>E. groffii</i>	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	
偏心叶柃 <i>E. inaequalis</i>	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	
米碎花 <i>E. chinensis</i> -1	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	
米碎花 <i>E. chinensis</i> -2	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	
细齿叶柃 <i>E. nitida</i> -1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	
细齿叶柃 <i>E. nitida</i> -2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	
卵叶柃 <i>E. ovatifolia</i>	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
红褐柃 <i>E. rubiginosa</i>	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	
窄基红褐柃 <i>E. rubiginosa</i> var. <i>attenuata</i> -1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	
窄基红褐柃 <i>E. rubiginosa</i> var. <i>attenuata</i> -2	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	
隆林耳叶柃 <i>E. lunglingensis</i>	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	
腺柃 <i>E. glandulosa</i>	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
短柱柃 <i>E. brevistyla</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	
微毛柃 <i>E. hebeclados</i>	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	

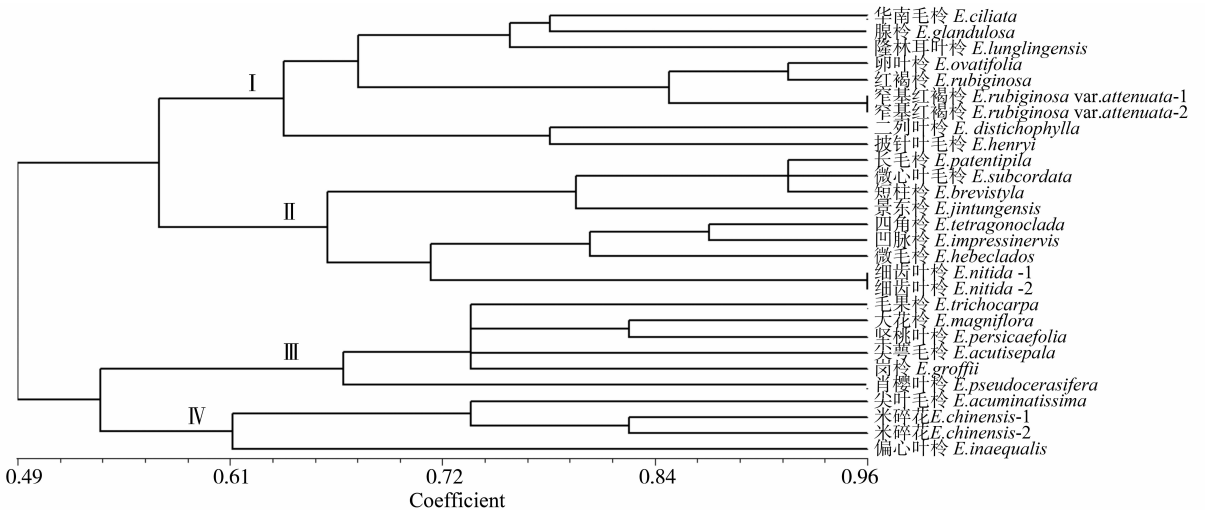


图 3 柃属基于化学成分的 UPGMA 聚类图

Fig. 3 UPGMA dendrogram of *Eurya* based on chemical constituents

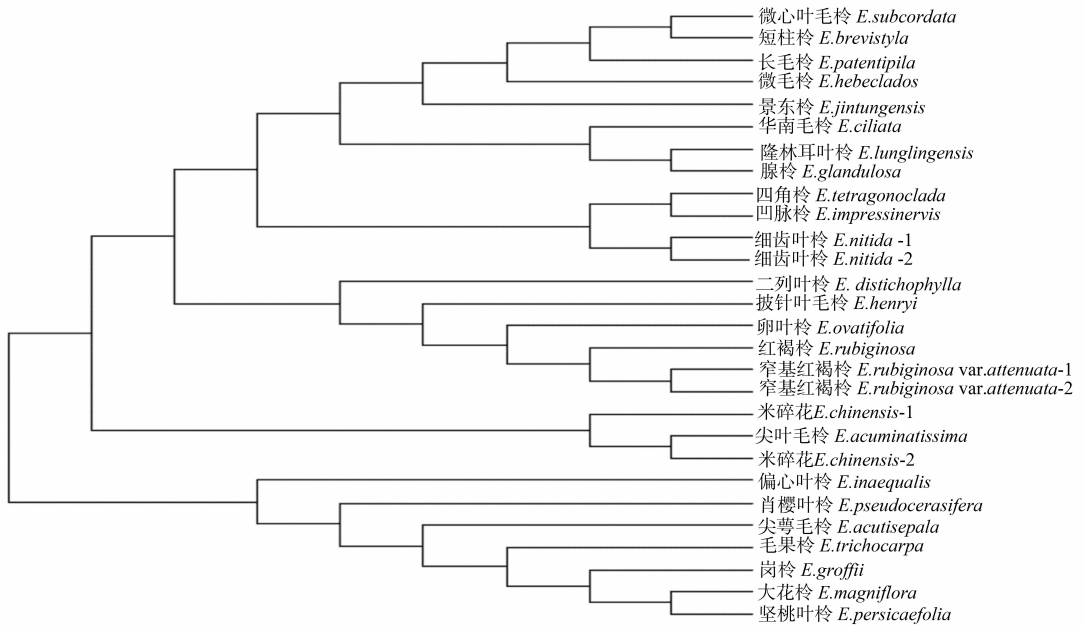


图 4 柃属基于化学成分的 NJ 聚类图

Fig. 4 NJ dendrogram of *Eurya* based on chemical constituents

将表 2 将所得矩阵分别采用 UPGMA 法和 NJ 法进行聚类分析，所得聚类树形图如图 3 和图 4 所示。

UPGMA 聚类树形图显示根据化学成分可将研究的柃属植物分为 4 个分支：第 I 分支包括华南毛柃、腺柃、隆林耳叶柃、卵叶柃、红褐柃、窄基红褐柃、二列叶柃、披针叶毛柃 8 个种类；第 II 分支包括长毛柃、微心叶毛柃、短柱柃、景东柃、四角柃、凹脉柃、微毛柃、细齿叶柃 8 个种类；第 III 分支包括毛果柃、大花柃、坚桃叶柃、尖萼毛柃、岗柃和肖樱叶柃 6 个种类；第 IV 分支包括尖

叶毛柃、米碎花、偏心叶柃 4 个种类。

NJ 聚类图与 UPGMA 聚类图相似，近缘种的分支两个聚类图基本相同，如微心叶毛柃、短柱柃、景东柃，华南毛柃、隆林耳叶柃、腺柃，卵叶柃、红褐柃、窄基红褐柃，偏心叶柃、岗柃、肖樱叶柃、大花柃、坚桃叶柃这些分支。

综合两种聚类图结果，化学成分分析所得种间关系和柃属现有的分类安排有一定关联，特别是在近缘类群方面表现突出，能较好解释部分种的亲缘关系，但不能很好地解决柃属属内系统演化路线。

3 讨论

3.1 HPLC 图谱在柃属分类学研究中的可行性

作为山茶科的第二大属, 长期以来, 柃属植物的分类学研究主要以形态性状为主, 缺乏从实验数据中获取分类依据的相关研究。鉴于植物物种的变异式样和进化关系呈现出错综复杂的现象, 就不能单凭某些证据完全了解和掌握, 综合利用各方面的信息才有可能得到符合客观实际的结论。植物的化学成分是植物生理化学特性演化路线的内在表现, 每一个种与其在遗传上有联系的种共同分享它们的生理化学特征, 这正是化学分类研究的理论基础^[11]。作为目前化学分类研究中用得最为广泛的一种测定方法, HPLC 色谱图能够直观显示生物体中的化学信息, 与基于分子标记的 DNA 指纹图谱研究类似, HPLC 图谱其本质正是对化学成分的一种显性标记, 能够对物种进行辅助鉴别, 选择合适的聚类分析软件, 可用于探讨种间亲缘关系^[12-14]。

目前 HPLC 图谱方法尚未引入到柃属植物研究领域, 我们参考了本实验室在对同科植物茶的研究中建立的 HPLC 图谱相关技术^[15], 并在其基础上对色谱条件进行多次调整和优化, 最终建立了适合于柃属植物的 HPLC 标记方法, 结果表明, 在此条件下柃属植物叶水提取物中的化学信息丰富, 各主要色谱峰保留时间适中, 分离度较好, 基线平稳, 能明确标记柃属植物叶中的主要化学成分。

由于缺乏相应的标准品, HPLC 图谱中的各色谱峰对应的化合物没有得到确认, 但这并不妨碍根据保留时间进行化学成分的显性标记, 本研究是基于化学性状显性标记的原理并结合聚类软件进行化学分类分析的一种尝试和探索。对于聚类分析的数据处理, 我们还尝试利用原始数据直接进行分类, 但效果并不理想, 因为同一物种因产地的不同, 其化学成分的含量常有大幅的变化, 为消除变量变化幅度的影响, 研究中将原始数据进行标准化处理。从研究结果来看, 该方法在柃属内是切实可行的, 并且具有操作简单快捷、重现好的特点, 可为本属物种分类研究提供重要参考。

3.2 HPLC 图谱在柃属植物中的分类学意义

柃属是山茶科中较为特殊的一个类群, 种间差异不显著, 已有的分子数据表明, 柃属的叶绿体基因在种间几无变异, 核基因 ITS 序列种间距离为 0~16^[16], 在探讨系统发育中存在不足, 因此, 挖掘其他实验数据的分类学意义是十分必要的。本研究结果表明, HPLC 图谱具有直观性和可重现性,

化学成分对应的色谱峰在种内稳定出现, 在种间呈现多样性, 特别是 1、2、6、8、9、22、23 这 7 个色谱峰在柃属内有规律的出现, 应为本属主要化学成分, 适合用于物种的辅助鉴别。一些在形态学上较难区分的种类, 在 HPLC 图谱上也有着明显的区别。如毛果柃、尖萼毛柃和尖叶毛柃这三个种, 从形态特征上来看, 这 3 个种非常相似, 区别仅在于花的一些细微结构上, 毛果柃和尖萼毛柃雄花花药具格, 而尖叶毛柃花药无格, 若无雄花, 很难准确鉴定这 3 个物种。而从 HPLC 图谱来看, 毛果柃与尖萼毛柃的色谱峰更为接近, 都具有 9、12、16 这几个峰, 相反, 尖叶毛柃则无, 此外, 毛果柃与尖叶毛柃均具有 23 号峰, 而尖萼毛柃则无此峰, 因此, 结合这几个特征峰, 即使只有叶片, 也可以很容易且直观地将这 3 个种区别开来。同样的例子也存在于其他近缘种, 如卵叶柃与窄基红褐柃等。本研究表明, 借助于 HPLC 法建立的指纹图谱可作为鉴定物种的一种简便而行之有效的辅助方法, 在应用上有着其他手段不可替代的作用。

两种聚类树形图的结果表明化学成分在分析柃属近缘种类方面具有一定优势, 如卵叶柃、红褐柃和窄基红褐柃、二列叶柃和披针叶毛柃, 长毛柃与微心叶毛柃、四角柃与凹脉柃, 毛果柃和尖萼毛柃、大花柃与坚桃叶柃等亲缘关系极近的物种在化学分类方面均得到了较好的聚类, 特别是毛果柃与尖萼毛柃聚在了同一分支, 尖叶毛柃则聚在了另一分支, 与形态学证据相吻合。当然, 化学分类在柃属种类的亲缘关系的比较上亦具有一定的局限性, 一些亲缘关系较近的种类并没有得到很好的聚类, 如细齿叶柃及米碎花是两个亲缘关系较近的种类, 在化学性状聚类图上分别聚到了不同分支上。整体上看, 化学分类的结果与形态学结果相比, 既有相似之处又存在一定的矛盾, 这也恰恰表明植物的系统演化是一个复杂的过程, 不同性状之间的演化存在不同步性。总之, 柃属植物化学分类结果能在一定程度上弥补形态学的不足, 在本属系统分类研究上具有重要意义。

为了进一步探讨柃属植物内化学成份的稳定性, 本研究还同时对不同产地且形态变异较大种类作了对照研究, 如米碎花、细齿叶柃、窄基红褐柃等种, 这些种不同分布地的类群在外部形态上有着较大的生态变异, 如米碎花存在大叶型 (*E. chinensis*-1) 与小叶型 (*E. chinensis*-2) 两种生态变异, 细齿叶柃存在厚叶粗齿型 (*E. nitida*-1) 与薄叶细齿型 (*E. nitida*-2) 两种变异, 窄基红褐柃

在叶基上均有着不同变异。所得结果表明,柃属植物内化学成分种类的有无在种内表现为较高的稳定性,各物种均得到了较好的聚类结果。

值得注意的是,柃属植物还是一种稀有药用植物,体外抗肿瘤活性研究发现,从本属植物叶中提取的苯丙素苷类化合物对人骨髓细胞白血病癌细胞(HL-60)及小鼠巨噬细胞瘤细胞(RAW264.7)具有明显抑制作用,近年来相关研究多有报道^[17-18]。柃属植物在我国具有丰富的野生资源,在我国分布的 84 种柃属植物中,约有 63 种为我国特有分布,占总数的 75%,蕴藏着极为丰富的野生可利用资源,因此,本研究有关柃属 HPLC 图谱研究不仅可以用于柃属物种鉴别、种间亲缘关系和分类的探讨,还可以为本属种质资源的开发利用提供重要的参考。

参考文献:

- [1] 林来官. 山茶科(二),厚皮香亚科[M] // 中国植物志:第 50 卷第 1 分册.北京:科学出版社,1998.
- [2] MING Tianlu, BARTHOLOMEW B. Theaceae [M] // WU Z Y, RAVEN P H. Flora of China: vol. 12. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2007.
- [3] 张宏达. 中国柃属植物志[J]. 植物分类学报, 1954, 3(1): 1-60.
- [4] 徐炳声. 中国柃属植物小志[J]. 植物分类学报, 1964, 9(1): 85-98.
- [5] 林来官. 中国柃属植物的订正[J]. 植物分类学报, 1966, 11(3): 263-342.
- [6] WU Chichih, HSU Zhifu, TSOU Chihhua. Studies of *Eurya* (Ternstroemiaceae) in Taiwan (1), a new endemic species, *Eurya septata* [J]. Botanical Bulletin of Academia Sinica, 2003, 44: 67-72.
- [7] 赵利琴, 罗玉明. 八角属萆类成分及其化学分类意义 [J]. 广西植物, 2007, 27(2): 272-276.
- [8] 周荣, 任吉君, 王艳. POD、PPO 指纹图谱在芸薹属蔬菜分类上的研究 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2010, 49(4): 106-110.
- [9] STEFAN S, SERHAT S C, VALERIO P, et al. Metabolic fingerprinting of *Leontopodium* species (Asteraceae) by means of H NMR and HPLC-ESI-MS [J]. Phytochemistry, 2011, 72: 1379-1389.
- [10] SUN Feng, CAI Zheng, MUHAMMAD I C, et al. Distribution of the triterpenoid saponins and chemotaxonomy of the genus *Clematis* L. by high-performance-liquid-chromatography-mass spectrometry [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2010, 38: 1018-1025.
- [11] 周荣汉, 段金廛. 植物化学分类学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [12] 袁菊红, 彭峰, 冯煦, 等. 应用 HPLC 图谱进行石蒜属种间关系与分类研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(11): 2195-2201.
- [13] 张雪辉, 陈建民. 高效液相色谱-系统聚类分析方法在风轮菜属药材分类中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(9): 812-816.
- [14] 李海燕, 李宏博, 郝宁, 等. 白头翁属药用植物的 HPLC 指纹图谱特征与化学分类研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(11): 1478-1482.
- [15] PENG Li, SONG Xiaohong, SHI Xianggang, et al. An improved HPLC method for simultaneous determination of phenolic compounds, purine alkaloids and heanine in *Camellia* species [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2008, 21: 559-563.
- [16] WU Chichih, HSU Zhifu, TSOU Chihhua. Phylogeny and taxonomy of *Eurya* (Ternstroemiaceae) from Taiwan, as inferred from ITS sequence [J]. Botanical Studies, 2007, 48: 97-116.
- [17] PARK S Y, YANG H C, JI Y M, et al. Induction of the apoptosis of HL-60 promyelocytic leukemia cells by *Eurya emarginata* [J]. Cancer Letters, 2004, 205: 31-38.
- [18] PARK S Y, LEE H J, YOON W J, et al. Inhibitory effects of eutigosides isolated from *eurya emarginata* on the inflammatory mediators in RAW264.7 Cells [J]. Archives of Pharmacal Research, 2005, 28(11): 1244-1250.