HPLC 法测定不同产地重楼属植物中 7 种甾体皂苷成分

付绍智[1]，李 楠[2, 3]，刘 振[2]，高文远[2, 3*]，满淑丽[4]

1. 重庆三峡医药高等专科学校，重庆 404120
2. 天津大学药物科学与技术学院，天津 300072
3. 天津中医药大学中药学院，天津 300193
4. 天津科技大学 工业发酵微生物教育部重点实验室，天津 300457

摘 要：目的 研究不同产地重楼属植物主要活性成分甾体皂苷量的差异性，为探讨品种及产地对重楼属植物活性成分的影响提供参考依据。**方法** 采用 HPLC 法测定不同产地的重楼属 6 种药材中偏诺皂苷-3-*O*-α-*L*-Rha (1→2) [α-*L*-Rha (1→4)]-β-*D*-Glc（PGRR），重楼皂苷 I、II、VI、VII、H 及纤细薯蓣皂苷的量。**结果** 不同重楼属植物中的皂苷种类及其量存在较大差异，滇重楼、巴山重楼以及长药隔重楼的皂苷种类及其量较多；同一品种不同产地的重楼药材，其皂苷的种类及其量亦不同，湖北恩施的金线重楼较重庆巫溪产的皂苷量高，贵州安顺的长药隔重楼皂苷量明显高于湖北来凤产。**结论** 重楼属植物的品种及产地对其活性成分的量及类型有很大的影响。

关键词：重楼属；甾体皂苷；重楼皂苷；纤细薯蓣皂苷；HPLC

中图分类号：R286.022 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2012)12 - 2435 - 03

Determination of seven kinds of steroidal saponins in plants of *Paris* L. from different habitats by HPLC

FU Shao-zhi[1], LI Nan[2, 3], LIU Zhen[2], GAO Wen-yuan[2, 3], MAN Shu-li[4]

1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China
2. School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
3. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
4. Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China

Key words: *Paris* L.; steroidal saponins; polyphyllin; gracillin; HPLC

重楼属 *Paris* L. 为广义百合科植物，其根茎入药，具有清热解毒、消肿止痛和凉肝定惊的功效，主要用于抗肿瘤、止血、免疫调节、镇静镇痛等。全世界有 24 种，中国有 19 种，主要分布于云南、四川、广西等地，其中滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz. 和七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 这 2 个变种被《中国药典》2010 年版收录[1-3]，但其他种类的重楼属植物亦在民间通用。目前由于医药工业生产对重楼需求量的不断增加，使得野生重楼越来越少，资源日渐枯竭。因此，本研究以重楼的活性成分甾体皂苷的量为指标，对不同产地、不同种的重楼属植物进行定量分析，为评价产地及品种对重楼药材的影响提供依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

重楼属植物购于安国药材市场或直接从产地收集，经天津大学高文远教授鉴定，详细信息见表 1。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

编号	种名	拉丁名	产地
1	滇重楼	*P. polyphylla* var. *yunnanensis*	云南丽江
2	金线重楼	*P. delavayi* var. *delavayi*	重庆巫溪
3	金线重楼		湖北恩施
4	球药隔重楼	*P. fargesii* var. *fargesii*	重庆奉节
5	巴山重楼	*P. bashanensis*	重庆城口
6	小重楼	*P. polyphylla* var. *minora*	重庆开县
7	长药隔重楼	*P. polyphylla* var. *pseudothibetica*	湖北来凤
8	长药隔重楼		贵州安顺

收稿日期：2012-02-17

基金项目：国家自然科学基金资助项目（30873378）

作者简介：付绍智（1965—），男，重庆云阳人，研究方向为中药资源与中药材规范种植。E-mail: fushaozhi@sina.com

***通讯作者** 高文远 Tel: (022)87401895 E-mail: pharmgao@tju.edu.cn

对照品重楼皂苷 I、II、VI 和 VII 均购自中国药品生物制品检定所，纤细薯蓣皂苷购自天津一方科技有限公司。重楼皂苷 H 及偏诺皂苷-3-*O*-α-*L*-Rha (1→2) [α-*L*-Rha (1→4)]-β-*D*-Glc（PGRR）由本实验室提取分离得到，经液相分析，质量分数≥90%。

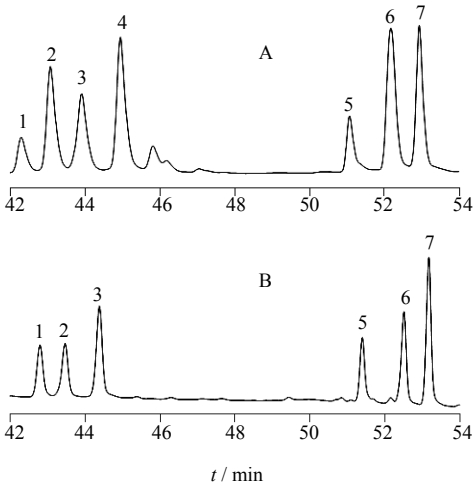
1.2　仪器

Agilent1100 液相色谱仪，G1311A 四元泵，G1322A，G1314AVWD 检测器，HPRev.A.0501 化学工作站；Sartorius BS210S 型电子天平，北京赛多利斯仪器系统有限公司；Sartorius CP225D 型电子天平，北京赛多利斯仪器系统有限公司；乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯）购自天津康科德科技有限公司；水为娃哈哈纯净水。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

Agilent1100 液相色谱仪，色谱柱为 HiQ-C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-水（B），梯度洗脱（0～10 min，20%～30% A；10～20 min，30%～40% A；20～35 min，40%～50% A；35～45 min，50%～60% A；45～55 min，60%～80% A；55～60 min，80%～90% A；60～70 min，90%～100% A）；柱温 30 ℃；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 210 nm；进样量 20 μL。色谱图见图 1。



1-重楼皂苷 VII　2-PGRR　3-重楼皂苷 H　4-重楼皂苷 VI　5-重楼皂苷 II　6-纤细薯蓣皂苷　7-重楼皂苷 I

1-polyphyllin VII　2-polyphyllin II　3-polyphyllin H　4-polyphyllin VI　5-polyphyllin II　6-gracillin　7-polyphyllin I

图 1　对照品 (A) 和滇重楼药材 (B) HPLC 色谱图

Fig. 1　HPLC chromatograms of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* (A) and reference substances (B)

2.2　对照品溶液的制备

分别精密称取恒定质量的对照品适量，加甲醇溶液分别制成一定质量浓度的对照品溶液，重楼皂苷 VII、I、II、VI、H 质量浓度分别为 0.240、1.190、0.300、0.730、0.650 mg/mL、PGRR 质量浓度为 0.640 mg/mL，纤细薯蓣皂苷质量浓度为 0.460 mg/mL。另各取上述对照品溶液 1 mL 配成混合对照品溶液。

2.3　供试品溶液的制备

将重楼药材粉碎，过 40 目筛，精密称取 10 g，置圆底烧瓶中，加入 70%乙醇 40 mL，水浴回流 2 h，滤过，取滤液，重复 3 次。合并滤液，蒸去乙醇后干燥，得粉末。将粉末溶于 250 mL 甲醇，过微孔滤膜，即得。

2.4　线性关系考察

取混合对照品溶液 5、15、20、25 μL，另取稀释 10 倍的混合对照品溶液 5、10 μL 按上述色谱条件进样，以进样量为横坐标（*X*），峰面积为纵坐标（*Y*），进行线性回归，重楼皂苷 VII，PGRR，重楼皂苷 II、 H、VI、I 和纤细薯蓣皂苷的线性回归方程分别为 $Y=89.524\ X+10.227$，$r=0.999\ 2$；$Y=223.49\ X+42.463$，$r=0.999\ 7$；$Y=78.235\ X+17.376$，$r=0.999\ 1$；$Y=77.001\ X+44.325$，$r=0.999\ 1$；$Y=32.639\ X+14.728$，$r=0.999\ 7$；$Y=48.594\ X+38.417$，$r=0.999\ 5$；$Y=207.42\ X+72.006$，$r=0.999\ 1$。

2.5　精密度试验

取滇重楼供试品溶液，连续进样 6 次，记录峰面积，计算重楼皂苷 VII，PGRR，重楼皂苷 II、H、I 和纤细薯蓣皂苷峰面积的 RSD 值分别为 1.37%、1.17%、3.31%、1.25%、1.13%和 2.15%。

2.6　稳定性试验

取滇重楼供试品溶液，分别在 0、1、2、4、8、12、24、36、48 h 进样测定，记录峰面积，计算重楼皂苷 VII，PGRR，重楼皂苷 II、H、I 和纤细薯蓣皂苷峰面积的 RSD 值分别为 1.21%、1.49%、2.71%、1.05%、1.35%和 1.76%。结果表明其在 48 h 内稳定。

2.7　重复性试验

取滇重楼样品 6 份，制备供试品溶液，按照上述色谱条件测定重楼皂苷 VII，PGRR，重楼皂苷 II、H、I 和纤细薯蓣皂苷的峰面积，计算其质量分数的 RSD 值分别为 1.29%、1.33%、3.01%、1.15%、1.24%和 1.95%。

2.8　样品测定

取各批次重楼属植物样品，按照“2.3”项下制备供试品溶液，按照“2.1”项条件测定重楼皂苷 VII、II、H、VI、I，PGRR 和纤细薯蓣皂苷的量。结果见表 2。

表 2 不同产地不同品种重楼属植物中甾体皂苷的量

Table 2 Determination of steroidal saponins in plants of *Paris* L. from different habitats

样品编号	质量分数 / (mg·g^{-1})						
	重楼皂苷 VII	PGRR	重楼皂苷 H	重楼皂苷 II	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 I	纤细薯蓣皂苷
1	24.235	9.376	3.801	29.068	0.000	95.609	1.527
2	4.730	0.000	0.270	0.000	0.000	0.000	0.000
3	11.892	5.215	1.187	0.000	0.000	0.000	0.000
4	49.005	4.661	8.733	1.730	192.670	0.000	0.000
5	2.973	1.048	0.219	3.770	0.000	73.976	4.772
6	17.450	12.211	2.811	0.000	0.000	0.000	0.000
7	18.469	7.060	3.505	0.000	0.000	23.919	0.000
8	35.531	8.145	1.867	30.041	0.000	183.560	0.026

3 讨论

从表 2 可以看出，重楼属植物中重楼皂苷 VII 和重楼皂苷 H 在这 6 种植物中均含有，PGRR 除重庆巫溪产地的金线重楼未检测到外，其他几种均含有，而重楼皂苷 II 在金线重楼、小重楼及长药隔重楼（湖北来凤）中未检测到，重楼皂苷 VI 仅在球药隔重楼（奉节）中检测到，重楼皂苷 I 在金线重楼、小重楼、球药隔重楼中未被检测到，纤细薯蓣皂苷则只在滇重楼、巴山重楼及长药隔重楼（安顺）中检测到。这说明不同种的重楼属植物在皂苷种类上存在很大差别。

重楼属不同种植物的皂苷量上也存在很大的差异。奉节产地的球药隔重楼中重楼皂苷 VII 的量最高，其次为贵州安顺产的长药隔重楼，最低的为重庆城口产的巴山重楼；重楼皂苷 H 分布和重楼皂苷 VII 类似，以奉节产地的球药隔重楼最高，城口的巴山重楼的量最低。

不同产地的同种重楼属植物皂苷量及种类亦不相同。重庆巫溪产地的金线重楼与湖北恩施产地的金线重楼皂苷种类相同，皂苷种类较少，且量均较低，但湖北恩施产地的重楼皂苷量高于重庆巫溪的；湖北来凤及安顺的长药隔重楼在皂苷种类及量上均存在很大差别，安顺产地的长药隔重楼含有较高的重楼皂苷 II 及微量的纤细薯蓣皂苷，并且其含有的重楼皂苷 I 及重楼皂苷 VII 明显高于湖北来凤的长药隔重楼。

重楼皂苷作为重楼属植物的药效成分，其种类及量不同活性亦不同[4-5]，以上结果表明不同种重楼药材中皂苷量种类差异很大，但药效活性的差异性需要进一步研究。从产地上来说，环境对其影响也很大，如果扩大重楼资源对其进行栽培种植，需要选择合适的地域。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[2] 黄贤校, 高文远, 满淑丽, 等. 重楼属药用植物皂苷类化学成分及其生源途径的研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 483-489.

[3] 武珊珊, 高文远, 段宏泉, 等. 重楼化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 344-347.

[4] Man S L, Gao W Y, Zhang Y J, *et al*. Antitumor and anti-metastatic activities of *Rhizoma Paridis* saponins [J]. *Steroids*, 2009, 74(13/14): 1051-1056.

[5] Man S L, Gao W Y, Zhang Y J, *et al*. Qualitative and quantitative determination of major saponins in *Paris* and *Trillium* by HPLC-ELSD and HPLC-MS/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878(29): 2943-2948.