

HPLC 法同时测定重楼属药用植物中 10 种核苷和碱基

周 浓^{1,2}, 张 杰¹, 潘兴娇², 罗 静³, 郭冬琴¹, 丁 博^{1*}, 张自钰¹

1. 重庆三峡学院生命科学与工程学院, 重庆 404000

2. 大理大学药学与化学学院, 大理 671000

3. 重庆市食品药品检验所 重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121

摘要: 目的 对不同品种、不同产地的重楼属药用植物中核苷(胞苷、尿苷、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷)和碱基(尿嘧啶、鸟嘌呤、腺嘌呤)量进行对比研究, 为合理开发利用重楼属药用植物提供理论依据。方法 采用 RP-HPLC 法, 色谱柱为 Venusil MP C₁₈ (2) 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 ℃, 检测波长 260 nm。运用上述方法对 16 批重楼药材进行测定, 并对测定结果进行聚类分析。结果 测定了重楼药材中 10 种核苷和碱基的量, 在线性范围内线性关系良好 ($r^2 > 0.999 1$), 平均回收率为 96.04%~104.34%, RSD≤2.94%。采用聚类分析能将不同产地的 16 批重楼药材分为 3 类。16 批重楼样品中 10 种核苷和碱基均可检测到, 不同品种重楼药材中 10 种核苷和碱基的质量分数及组成结构比存在着显著性差异, 各核苷和碱基总量平均值为 735.390 1~1 612.807 3 μg/g, 质量分数高低排序为巴山重楼>长药隔重楼>卵叶重楼>五指莲重楼>狭叶重楼>华重楼>滇重楼>花叶重楼>小重楼>毛重楼。同一品种不同产地重楼药材中 10 种核苷和碱基的质量分数及组成结构比亦存在着较大差异。结论 该方法简单, 准确可靠, 重复性好, 适用于重楼药材中 10 种核苷和碱基的测定。同时亦为全面客观地认识重楼药材功效物质基础, 丰富和发展重楼药材多指标评价体系研究提供科学依据。

关键词: 重楼属; 核苷; 碱基; 高效液相色谱法; 质量评价; 同时测定; 聚类分析

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)16-2927-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.16.026

Simultaneous determination of ten nucleosides and bases contents in plants of *Paris* L. by HPLC

ZHOU Nong^{1,2}, ZHANG Jie¹, PAN Xing-jiao², LUO Jing³, GUO Dong-qin¹, DING Bo¹, ZHANG Zi-yu¹

1. College of Life Science and Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China

2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China

3. Chongqing Engineering Research Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China

Abstract: Objective In order to provide a theory basis for rational development and utilization of medicinal plants from *Paris* L., this study compared nucleosides (cytidine, uridine, inosine, guanosine, thymidine, adenosine and 2'-desoxyadenosine) and bases (including uracil, guanine, and adenine) contents in the different plants of *Paris* L. which collected from different places. **Methods** RP-HPLC was applied in this study, Venusil MP C₁₈(2) chromatographic column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was a methanol and water gradient, the flow rate was 1.0 mL/min, the temperature of column was 35 ℃ and the UV detector was set at 260 nm. Sixteen batches of samples in *Paris* L. were measured by above method, and cluster analysis was used to analyze the results. **Results** Ten nucleosides and bases from the plants of *Paris* L. were measured, a good linear relationship was showed ($r^2 > 0.999 1$), and the average recovery was 96.04%—104.34%, RSD ≤ 2.94%. The samples in *Paris* L. from different places were divided into three categories by cluster analysis. All of the ten nucleosides and bases were detected in the 16 batches of samples; However, the mass fraction and component ratio of the ten substances were significantly different from each variety. The average of total nucleosides and bases content was ranged from 735.390 1 to 1 612.807 3 μg/g, and the order from high to low was: *P. bashanensis* > *P. polyphylla* var.

收稿日期: 2015-03-09

基金项目: 重庆市教委科学技术研究项目资助 (KJ131109); 万州区科委自然科学基金项目 (201301024); 国家自然科学基金项目 (81260622)

作者简介: 周 浓 (1978—), 男, 重庆开县人, 副教授, 研究方向为药用植物栽培与质量控制。Tel: (023)58102522 E-mail: erhaizn@126.com

*通信作者 丁 博 Tel: (023)58102522 E-mail: 229424275@qq.com

pseudothibetica > *P. delavayi* var. *petiolata* > *P. axialis* > *P. polyphylla* var. *stenophylla* > *P. polyphylla* var. *chinensis* > *P. polyphylla* var. *yunnanensis* > *P. marmorata* > *P. polyphylla* var. *minor* > *P. mairei*. The mass fraction and component ratio of the ten substances also had a significant difference between the samples collected from different regions which were the same variety. **Conclusion** This method is simple, accurate and reliable and has good reproducibility. It is appropriate for measuring the contents of the ten nucleosides and bases. Simultaneously, this study provides a scientific basis for an objective and complete knowledge of the material basis for the efficacy, and for an enrichment and development of evaluation indicators system of in the plants *Paris* L.

Key words: *Paris* L.; nucleosides; bases; HPLC; quality evaluation; simultaneous determination; cluster analysis

重楼属 *Paris* L. 隶属于百合科多年生草本植物, 全世界 24 种, 中国 19 种, 以西南各省区居多, 其中, 三峡库区有 6 种 9 变种, 是重楼属药用植物的地理分布中心之一, 药材品种丰富^[1-2]。据调查, 三峡库区为重楼属药用植物的药材主产区, 除《中国药典》记载的品种外, 市场上有多种重楼属药用植物流通和使用^[3]。现代研究表明, 重楼具有抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、止血、镇痛、抗菌、抗炎等生物活性^[4]。

核苷类物质是生物机体细胞维持生命活动的基本组成元素, 具有抗肿瘤、抗病毒、免疫调节、抗缺血性损伤、抗菌、抗血小板聚集等多种生物活性^[5-7], 与重楼的生物活性具有一定关联性, 可作为重楼药材的质量评价指标之一。

随着重楼需求量的增加, 野生资源蕴藏量急剧减少, 现已列为二级濒危药用植物之一^[8]。商品药材依靠栽培生产提供为解决市场供需矛盾、实现重楼的有效保护和可持续利用的唯一途径^[9]。为此, 本课题组深入三峡库区的主要栽培区考察重楼资源状况, 实地采集重楼属药用植物, 鉴定品种, 比较各种重楼所含核苷和碱基类成分的差异性和同一性, 评价产地及品种因素对重楼属药用植物质量的影响, 为更好探讨重楼药效物质基础提供依据。

1 仪器与试药

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (日本岛津集团); DZF-6050MBE 型电热恒温真空干燥箱 (上海博讯实业有限公司); SB-5200DTN 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司, 功率 300 W, 频率 40 kHz); TDZ5-WS 型多管架自动平衡离心机 (湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司); CP225D 型分析天平 (德国 Sartorius 公司)。

尿嘧啶 (批号 100469-200401)、鸟嘌呤 (批号 140631-201205)、尿苷 (批号 110887-200202)、腺嘌呤 (批号 886-200001)、肌苷 (批号 140669-200903)、胸苷 (批号 101215-201401) 和腺苷 (批号 110879-200202) 对照品购自中国食品药品检定

研究院; 对照品胞苷、鸟苷、2'-脱氧腺苷均购自南京都莱生物技术有限公司, 质量分数经 HPLC 峰面积归一化法计算均大于 98%。

重楼新鲜根茎采集于重庆市开县满月乡等地, 每份样品均取自 10 株成熟植株根茎以保证样品代表性, 由中国科学院昆明植物研究所李恒研究员鉴定 (表 1)。色谱纯甲醇为德国默克公司, 其他试剂均为分析纯, 水为娃哈哈牌纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Venusil MP C₁₈ (2) 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 (A)-水 (B), 梯度洗脱, 0~10 min, 1%~5% A; 10~15 min, 5%~15% A; 15~20 min, 15%~20% A; 20~30 min, 20%~30% A; 检测波长 260 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温 35 °C。按照上述色谱条件进行分析, 各成分分离度良好, 对照品和药材色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取减压干燥至恒定质量的尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷对照品适量, 加纯净水溶解并制成质量浓度分别为 1 039.0、1 040.4、992.4、1 057.2、618.0、1 061.0、486.0、1 080.0、1 040.4、1 020.8 μg/mL 的对照品贮备液。取各对照品贮备液适量, 加纯净水定容至 50 mL 制成混合对照品溶液, 各对照品质量浓度分别为 10.390 0、52.020 0、36.718 8、158.580 0、46.350 0、15.915 0、28.431 0、172.800 0、93.636 0、91.872 0 μg/mL。并逐级稀释, 得到一系列不同质量浓度的 10 种混合对照品溶液, 置于 4 °C 的冰箱内, 临用前以 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 供分析用。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取重楼粉末 (过 50 目筛) 1.0 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加纯净水 10 mL, 称定质量, 混匀, 密封, 室温下超声提取 15 min (超声功率 300 W,

表 1 重楼样品来源
Table 1 Sources of samples in *Paris* L.

编号	种名	采集地点	经纬度	栽培方式	海拔/m	采集日期
S1	华重楼 <i>Paris polyphylla</i> var. <i>chinensis</i>	重庆市开县满月乡双坪村 1 组	108°42.912'/31°61.967'	林下栽培	1 209	2012-08-22
S2	华重楼	重庆市开县满月乡双坪村 4 组	108°42.625'/31°60.943'	露地栽培	1 195	2012-08-22
S3	华重楼	重庆市万州区铁峰乡	108°21.080'/30°55.489'	林下栽培	1 230	2013-10-28
S4	滇重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>yunnanensis</i>	重庆市开县满月乡马营村	108°31.177'/31°35.627'	林下栽培	1 895	2013-07-08
S5	滇重楼	重庆市城口县咸宜乡	108°42.645'/31°42.395'	林下栽培	2 379	2013-07-09
S6	滇重楼	重庆市石柱县马武镇	108°16.758'/29°44.531'	露地栽培	1 217	2013-07-11
S7	滇重楼	重庆市万州区铁峰乡	108°22.113'/30°54.621'	露地栽培	1 200	2013-10-28
S8	狭叶重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>stenophylla</i>	重庆市城口县咸宜乡	108°42.611'/31°42.417'	林下栽培	2 360	2013-07-09
S9	狭叶重楼	重庆市石柱县马武镇	108°16.751'/29°44.517'	露地栽培	1 211	2013-07-11
S10	小重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>minor</i>	重庆市开县满月乡双坪村 1 组	108°42.566'/31°61.842'	露地栽培	1 206	2012-08-22
S11	毛重楼 <i>P. mairei</i>	重庆市开县满月乡马营村	108°31.425'/31°35.788'	林下栽培	1 862	2013-07-08
S12	巴山重楼 <i>P. bashanensis</i>	重庆市城口县岚天乡	108°92.226'/31°95.148'	露地栽培	1 550	2012-08-24
S13	卵叶重楼 <i>P. delavayi</i> var. <i>petiolata</i>	重庆市石柱县马武镇	108°16.693'/29°44.517'	露地栽培	1 235	2013-07-11
S14	花叶重楼 <i>P. marmorata</i>	重庆市石柱县马武镇	108°16.742'/29°44.494'	露地栽培	1 220	2013-07-11
S15	长药隔重楼 <i>P. polyphylla</i> var. <i>pseudothibetica</i>	重庆市渝北区兴隆镇	106°68.612'/29°94.788'	露地栽培	526	2013-06-07
S16	五指莲重楼 <i>P. axialis</i>	重庆市渝北区兴隆镇	106°69.501'/29°93.027'	露地栽培	526	2013-06-07

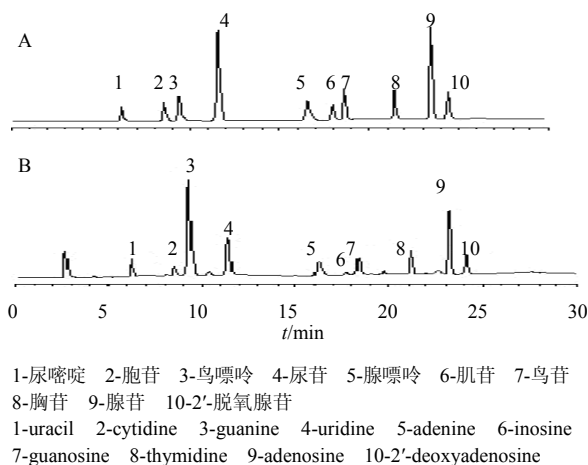


图 1 混合对照品 (A) 及 S8 号样品 (B) 的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and S8 Sample (B)

工作频率 40 kHz), 取出, 放至室温, 用纯净水补足减失质量, 倒入离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液以 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系的考察

精密吸取“2.2”项下的不同质量浓度的系列混合对照品溶液各 20 μ L, 在“2.1”项下色谱条件下测定, 以对照品的峰面积 (Y) 对相应的质量浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程和线性范围: 尿嘧啶 $Y=$

91 737 $X-6$ 198.3, $r^2=0.999$ 3, 线性范围 0.519 5~10.390 0 μ g/mL; 胞苷 $Y=38$ 337 $X-2$ 577, $r^2=0.999$ 8, 线性范围 2.601 0~52.020 0 μ g/mL; 鸟嘌呤 $Y=5$ 608.1 $X-1$ 019.1, $r^2=0.999$ 9, 线性范围 1.835 9~36.718 8 μ g/mL; 尿苷 $Y=51$ 423 $X+24$ 962, $r^2=0.999$ 3, 线性范围 7.929 0~158.580 0 μ g/mL; 腺嘌呤 $Y=108$ 249 $X+4$ 140.6, $r^2=0.999$ 4, 线性范围 2.317 5~46.350 0 μ g/mL; 肌苷 $Y=14$ 466 $X+2$ 267.7, $r^2=0.999$ 6, 线性范围 0.795 8~15.915 0 μ g/mL; 鸟苷 $Y=73$ 426 $X+9$ 797.7, $r^2=0.999$ 1, 线性范围 1.421 6~28.431 0 μ g/mL; 胸苷 $Y=43$ 699 $X+15$ 039, $r^2=0.999$ 7, 线性范围 8.640 0~172.800 0 μ g/mL; 腺苷 $Y=78$ 096 $X-12$ 577, $r^2=0.999$ 1, 线性范围 4.681 8~93.636 0 μ g/mL; 2'-脱氧腺苷 $Y=67$ 858 $X+15$ 905, $r^2=0.999$ 9, 线性范围 4.593 6~91.872 0 μ g/mL。

2.5 精密度试验

精密吸取混合对照品溶液 20 μ L, 连续进样 6 次。结果尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷峰面积的 RSD 分别为 0.12%、0.19%、0.07%、0.07%、0.74%、0.66 %、0.62%、0.11%、0.08%、0.12%, 表明本方法精密度良好。

2.6 重复性试验

取同一重楼样品 (S8) 6 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 依 “2.3” 项下方法平行制备供试品溶液, 依 “2.1” 项下色谱条件进行分析, 记录其色谱峰面积。结果尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷质量分数的 RSD 分别是 1.64%、1.06%、1.74%、2.73%、2.22%、2.37%、2.89%、2.45%、1.61%、1.40%, 表明样品制备方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

将制成的供试品溶液 (S8) 在室温条件下密闭放置, 分别在 0、2、4、8、12、16 h 进样, 记录其色谱峰面积。结果尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷峰面积的 RSD 分别是 1.38%、2.21%、2.37%、2.36%、2.89%、1.22%、0.61%、2.87%、1.51%、1.30%, 表明样品溶液 16 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

取已测定的重楼样品 (S8) 6 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别依次加入 “2.2” 项下的对照品贮备液适量, 按 “2.3” 项下方法制备加样回收

率的供试品溶液, 在 “2.1” 项下色谱条件下进样, 计算各成分的加样回收率和 RSD, 结果尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤、肌苷、鸟苷、胸苷、腺苷、2'-脱氧腺苷平均回收率 97.50%、97.57%、104.34%、96.04%、97.18%、97.17%、99.21%、97.26%、99.32%、98.92%, RSD 分别为 2.04%、1.34%、2.94%、1.21%、1.73%、1.20%、2.50%、1.36%、1.73%、2.63%。

2.9 样品的测定

取 16 批重楼药材粉末, 按 “2.3” 项下方法各制备 3 份供试品溶液, 在 “2.1” 项下色谱条件下进样, 进行峰面积测定, 标准曲线法计算重楼药材中 10 种成分的量, 结果见表 2。

测定结果表明, 不同产地、不同品种重楼药材均含有 10 个核苷及碱基类成分, 表明 10 种重楼属药用植物中核苷和碱基类成分较为相似。其中, 尿苷、鸟苷、胸苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷量相对较高, 胞苷、鸟嘌呤、腺嘌呤和肌苷量次之, 而尿嘧啶量较低, 说明从质量分数上看尿苷、鸟苷、胸苷、腺苷和 2'-脱氧腺苷为主要核苷和碱基类成分。

表 2 不同产地重楼中 10 种成分的量 ($n=3$)

Table 2 The content of 10 analytes in *Paris* sample from different location ($n=3$)

编号	质量分数/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)										合计
	尿嘧啶	胞苷	鸟嘌呤	尿苷	腺嘌呤	肌苷	鸟苷	胸苷	腺苷	2'-脱氧腺苷	
S1	19.161 1	116.615 5	43.185 8	232.025 3	104.719 8	47.875 4	271.341 1	183.479 3	172.247 5	132.160 6	1 322.811 4
S2	19.265 0	44.140 8	25.391 8	124.881 6	66.550 7	9.507 5	155.836 1	105.114 8	113.005 4	85.729 5	740.731 7
S3	9.773 8	82.406 4	24.976 0	166.078 8	60.893 8	32.314 4	153.708 6	129.914 5	171.540 1	104.817 8	936.424 4
S4	7.148 1	110.505 4	66.540 7	229.713 2	57.239 6	42.941 1	136.346 6	219.296 5	243.349 9	152.239 3	1 265.323 4
S5	18.323 5	55.893 4	65.860 1	135.121 1	142.256 3	70.924 8	20.906 5	93.432 1	85.165 8	57.219 8	735.390 1
S6	36.084 6	54.590 8	63.092 1	154.624 9	51.352 8	72.917 0	79.358 4	148.190 7	138.434 2	82.201 4	880.846 9
S7	7.775 6	44.610 2	20.153 6	146.893 7	34.460 0	25.480 5	136.365 2	154.111 6	153.399 3	110.126 1	833.375 7
S8	26.298 7	89.322 5	92.983 3	249.649 9	53.638 5	128.697 8	123.714 8	99.162 8	237.859 6	87.040 2	1 179.771 8
S9	11.051 5	62.681 1	28.885 2	162.774 2	56.127 4	74.147 6	148.189 1	166.733 0	147.490 1	107.008 2	969.659 8
S10	32.918 6	47.953 1	62.239 6	163.782 7	49.983 4	10.383 0	70.909 5	157.105 3	152.396 2	135.505 7	883.177 2
S11	44.650 7	44.742 3	51.820 4	102.359 9	42.850 1	18.089 3	116.777 4	203.741 2	108.499 7	120.597 6	854.128 6
S12	12.950 3	143.894 0	169.952 8	341.911 5	169.587 7	22.050 3	78.119 1	279.057 3	162.522 4	229.761 7	1 612.807 3
S13	13.679 3	28.770 9	21.115 6	267.530 4	61.927 0	159.885 5	183.401 1	213.453 5	231.898 5	97.704 7	1 241.151 2
S14	11.872 7	77.815 3	90.871 4	159.750 4	34.407 2	42.224 1	25.949 8	132.986 8	200.263 1	108.383 3	892.038 7
S15	105.216 8	143.966 0	129.653 4	339.466 9	76.861 9	106.326 5	140.721 5	148.085 7	68.798 0	53.513 0	1 312.609 5
S16	15.862 5	92.728 5	46.016 3	193.013 4	43.471 7	53.801 6	148.424 3	159.005 0	206.885 4	138.464 9	1 112.541 3
平均值	24.502 1	77.539 8	62.671 1	198.098 6	69.145 5	57.347 9	124.379 3	162.054 4	162.109 7	112.654 6	1 048.299 3

2.10 聚类分析

分别对 16 批重楼属药用植物的测定结果进行聚类分析。以表 2 中重楼药材中 10 种核苷和碱基量为依据,利用 SPSS19.0 版本软件欧式距离平方(squared Euclidean distance)计算样品间的相似系数,并用离差平方和法(Ward 法)进行系统聚类。结果见图 2。由图 2 可见,当分类距离为 15 时,可将 16 批重楼药材分为 3 类:第 1 类有 9 批药材,即 S2、S3、S5~S7、S9~S11、S14,此类样品中 10 种核苷及碱基量均较低,均低于平均值;第 2 类有 5 批药材,即 S1、S4、S8、S13、S16,此类药材中 10 种被测成分各质量分数较均衡,与平均值无较大差异;第 3 类有 2 批药材,即 S12、S15,此类药材中 10 种被测成分总量较高,尤其尿嘧啶、胞苷、鸟嘌呤、尿苷、腺嘌呤量均远高于其他样品,这 5 个成分几乎是其他样品的 2 倍。

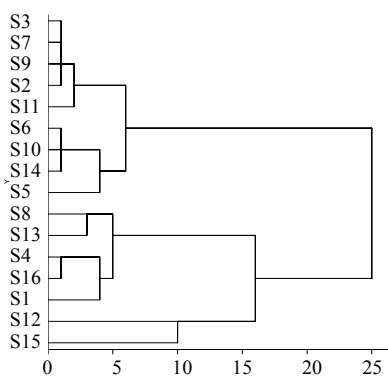


图 2 16 批重楼药材聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of 16 batches of samples in *Paris L.*

3 讨论

3.1 提取条件的选择与优化

本实验考察了回流提取法和超声提取法 2 种方法,结果显示超声提取法明显高于回流提取法,故选择超声提取法。由于分析物的高极性,故采用不同体积比的甲醇水溶液进行提取溶剂效率的优化。结果显示以纯净水为提取溶剂时的提取液出峰多、目标化合物量高。另外,本实验还对提取时间、提取次数和提取溶剂用量分别进行了考察,最终确定了“2.3”项中的方法。此法步骤简单,易操作,误差小,更能真实地反映出重楼药材中核苷和碱基类成分的量。

3.2 色谱条件的选择与优化

核苷和碱基类化合物极性大,较难分离,本实验比较了以下 4 种色谱柱 Innoval AQ C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Venusil XBP C₁₈ (L) 柱(250

mm×4.6 mm, 5 μm), Durashell C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Venusil MP C₁₈ (2) 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。实验结果表明, Venusil MP C₁₈ (2) 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 对 10 种核苷和碱基类成分达到了良好的分离,第 2~3 种色谱柱不能很好的分离 10 种核苷和碱基类成分,而第 1 种色谱柱峰形较差。同时比较了不同的流动相组成如乙腈-水、甲醇-水、乙腈-甲酸水溶液和甲醇-甲酸水溶液,结果显示甲醇-水做流动相时分析物的分离效果较好,因此最终选择了 Venusil MP C₁₈ (2) 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和甲醇-水系统梯度洗脱。

3.3 结果分析

不同栽培品种重楼药材中核苷和碱基类成分总量具有显著差别,相差近 2 倍。各核苷和碱基总量平均值高低排列顺序为巴山重楼(S12) > 长药隔重楼(S15) > 卵叶重楼(S13) > 五指莲重楼(S16) > 狭叶重楼(S8~S9) > 华重楼(S1~S3) > 滇重楼(S4~S7) > 花叶重楼(S14) > 小重楼(S10) > 毛重楼(S11)。同时,不同产地、不同品种重楼药材中 10 种核苷和碱基类成分量及组成结构比存在着较大差异,与杨德全等^[10]和付绍智等^[11]对重楼属药用植物中甾体皂苷的报道类似,非药典品种(巴山重楼、长药隔重楼等)中核苷类量甚至超过药典品种(滇重楼、华重楼),进一步表明重楼属药用植物具有一定的化学等同性,在民间代用重楼具有一定的科学性,但药效的差异性有待进一步研究。

同一栽培品种在不同栽培地区的重楼药材,各核苷类成分及总核苷的量亦不相同。其中以重庆市开县(S4)与其他栽培区域滇重楼中 10 种核苷和碱基量相差近 2 倍,而 2 个不同栽培区域的狭叶重楼量相差甚微,表现出一定的地域及生境依赖性。但来源于同一栽培区域不同种植基地的华重楼量相差近 2 倍,进一步表明重楼品质的形成受小气候影响较大^[9]。造成以上差异的原因,可能与栽培技术、产地环境等有关,表明需加大对重楼药材的人工栽培技术和产地适宜性研究,以确保重楼药材资源可持续利用和重楼医药产业可持续发展。

鉴于核苷和碱基类成分在重楼药材中质量分数为 735.390 1~1 612.807 3 μg/g,进一步探讨以其含量高低作为重楼药材质量优劣的衡量指标,很有必要。本方法专属性强,简便可靠,可为全面客观地认识重楼属药用植物功效物质基础、丰富和发展重楼药材多指标评价体系研究提供新的方法参考。

志谢: 中国科学院昆明植物研究所李恒研究员在植物标本鉴定中给予了帮助。

参考文献

- [1] 刘欢, 何忠俊, 梁社往, 等. 滇重楼高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1846-1851.
- [2] 张植玮, 刘正宇, 陈玉菡, 等. 重庆三峡库区重楼属药用植物资源调查 [J]. 资源开发与市场, 2008, 24(3): 254-256.
- [3] 刘银花, 王跃华, 唐旭, 等. 华重楼植株的快速繁殖研究 [J]. 中草药, 2015, 46(19): 2925-2931.
- [4] 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): 344-345.
- [5] 张雪梅, 杨丰庆, 夏之宁. 食品中核苷类成分的药理作用研究进展 [J]. 食品科学, 2012, 33(9): 277-282.
- [6] Lee J, Chuang T H, Redecke V, *et al.* Molecular basis for the immunostimulatory activity of guanine nucleoside analogs: activation of Toll-like receptor 7 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(11): 6646-6651.
- [7] Kinahan J J, Kowal E P, Grindey G B. Biochemical and antitumor effects of the combination of thymidine and 1- β -D-arabinofuranosylcytosine against leukemia L1210 [J]. *Cancer Res*, 1981, 41(2): 445-451.
- [8] 黄璐琦, 肖培根, 王永炎. 中国珍稀濒危药用植物资源调查 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2011.
- [9] 杨永红, 戴丽君, 何昆鸿, 等. 土壤营养与人工栽培滇重楼品质相关性评价 [J]. 中药材, 2012, 35(10): 1557-1561.
- [10] 杨德全, 杨勤, 周浓. 多基源重楼的质量等同性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 91-94.
- [11] 付绍智, 李楠, 刘振, 等. HPLC 法测定不同产地重楼属植物中 7 种甾体皂苷成分 [J]. 中草药, 2012, 43(12): 2435-2437.