

## UPLC 法测定云南省不同地区云南重楼及多芽品系中 7 种甾体皂苷量及其指纹图谱建立

张绍山<sup>1</sup>, 刘璇<sup>1</sup>, 王景富<sup>1</sup>, 余孟杰<sup>1</sup>, 黄钟杰<sup>1</sup>, 刘圆<sup>2\*</sup>, 张浩<sup>3\*</sup>

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 西南民族大学民族医药研究院, 四川 成都 610041

3. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041

**摘要:** 目的 以云南省不同地区云南重楼及多芽品系为材料, 采用 UPLC-ELSD 法同时测定 7 种甾体皂苷量并建立高黎贡山地区样品 UPLC 指纹图谱, 评价其质量。方法 采用 UPLC-ELSD 法, ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱, 体积流量 0.2 mL/min, 漂移管温度 55 °C, 氮气压力 275.8 kPa, 增益 500, 以乙腈-水为流动相梯度洗脱。结果 样品在 23 min 内能完全被分离, 方法学考察均符合要求; 23 份样品中 19 份符合《中国药典》2015 年版要求, 《中国药典》项下 4 个皂苷平均质量分数为 1.42%, 其中高黎贡山地区的样品平均质量分数高达 1.660%; 10 批次高黎贡山地区云南重楼(多芽品系)样品间相似度小于 0.9, 标定了 8 个共有特征峰, 并对 4 个特征峰进行了归属; 样品中 7 个皂苷的种类和量经 PCA 分析和系统聚类分析均不能明显分类。结论 该方法简便、快速、灵敏度高, 可用于云南重楼的质量快速评价; 云南重楼及其多芽品系在化学成分种类和量上并无明显区别; 高黎贡山地区的云南重楼(多芽品系)是一个值得推广栽培和深入研究的品种。

**关键词:** 云南重楼; 多芽品系; UPLC-ELSD; 甾体皂苷; 指纹图谱; 质量评价; 重楼皂苷 VII; 重楼皂苷 H; 重楼皂苷 VI; 重楼皂苷 II; 纤细薯蓣皂苷; 重楼皂苷 I; 重楼皂苷 V

中图分类号: R286.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)23-4257-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.23.024

## Determination of seven steroidal saponins in *Paridis Rhizoma* and polygerm varieties from different regions in Yunnan province by UPLC and establishment of fingerprint

ZHANG Shao-shan<sup>1</sup>, LIU Xuan<sup>1</sup>, WANG Jing-fu<sup>1</sup>, YU Meng-jie<sup>1</sup>, HUANG Zhong-jie<sup>1</sup>, LIU Yuan<sup>2</sup>, ZHANG Hao<sup>3</sup>

1. School of Pharmacy, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

2. Ethnic Medicine Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

3. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China

**Abstract: Objective** To establish a quantitative analysis method of seven steroidal saponins in *Paridis Rhizoma* and its polygerm varieties from different regions in Yunnan province, to simultaneously determine the contents of seven steroidal saponins, to establish the fingerprint for the polygerm varieties in Gaoligong Mountain by UPLC-ELSD, and to evaluate the qualities. **Methods** It was detected with an Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm) column, and gradually diluted with acetonitrile-water at a flow rate of 0.2 mL/min, drift tube temperature of 55 °C, nitrogen pressure 275.8 kPa, and gain 500 by UPLC-ELSD. **Results** The 23 samples could be separated and analyzed of seven steroids within 23 min. All the indexes of the methodological investigation met the requirements. The results showed that the contents of saponins from 19 samples met the requirement in *Chinese Pharmacopoeia* 2015. The average content of four saponins was 1.42% and among them the content from the sample in Gaoligong Mounta was up to 1.660%. The similarity was lower than 0.9 in the samples of Gaoligong Mountain, and there were eight common peaks in the fingerprints, which were identified four characteristic peaks. The type and content of seven saponins in the samples could not be clearly classified by PCA

收稿日期: 2016-06-24

基金项目: 四川省科技支撑计划(15ZC0473); 四川省重点技术创新项目计划(2014XM041); 阿坝州应用技术与开发资金(2015)

作者简介: 张绍山(1990—), 男, 云南腾冲人, 硕士研究生, 主要从事民族药物研究。Tel: 13880684249 E-mail: 1007354550@qq.com

\*通信作者 刘圆, 博士, 教授, 博士生导师, 从事少数民族药物的研究和教学。Tel: 028-85528812 E-mail: 499769896@qq.com

张浩, 硕士, 教授, 博士生导师, 从事药植物的研究和教学。Tel: 13709055858 E-mail: zhanghxx@vip.sina.com

analysis and system cluster analysis. **Conclusion** The method is convenient, accurate, and suitable for the quantitative analysis of *Paridis Rhizoma* and polygerm varieties. There is no obvious difference between *Paridis Rhizoma* and polygerm varieties in chemical components and contents. *Paridis Rhizoma* (polygerm varieties) in Gaoligong Mountain is a variety worth popularization and in-depth researches.

**Key words:** *Paridis Rhizoma*; polygerm varieties; UPLC-ELSD; steroidal saponin; fingerprint; quality evaluation; polyphyllin VII; polyphyllin H; polyphyllin VI; polyphyllin II; gracillin; polyphyllin I; polyphyllin V

《中国药典》2015 年版一部收载重楼品种为百合科(Liliaceae)植物重楼 *Paridis Rhizoma* 为云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz. 或七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎<sup>[1]</sup>, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊的功效。现代研究表明, 重楼具有抗肿瘤、止血、免疫调节、镇静、镇痛等作用, 甾体皂苷成分为主要活性成分<sup>[1-4]</sup>。近年来, 因重楼市场需求巨大、野生资源濒危及人工繁育技术要求高、栽培周期长等多因素导致重楼价格飙升, 从 2006 年的 50 元/kg 上涨到 700~900 元/kg<sup>[5-6]</sup>。目前重楼人工种植市场上, 尚无优质、稳定的种源供给, 已成为制约云南白药、宫血宁等著名中成药可持续发展的瓶颈, 人工种植重楼日益受到制药企业和种植企业等的高度关注。

云南重楼多芽品系是近几年新发现的一类具有典型的云南重楼植物学特征的新品系, 如花瓣上部常扩大为宽 2~5 mm 的狭匙形, 药隔凸出部分明显等<sup>[7]</sup>, 但与云南重楼相比其根茎具有众多的丛生芽, 每个芽可作为栽培材料, 因此, 可以快速繁殖和显著增产。高产量和高繁育率的云南重楼多芽品系越来越受重视, 但其质量评价却鲜有研究报道。高黎贡山是著名的国家自然保护区, 山脉南段的西面与外界物种之间的杂交被天然隔断<sup>[8-9]</sup>, 导致该地区的云南重楼(多芽品系)不论在植株的形态特征、丛生芽的形态和数量等方面与其他地方的云南重楼多芽品系均有较大差别。因此, 本实验以 UPLC-ELSD 法测定高黎贡山地区的云南重楼(多芽品系)和其他地区的云南重楼及多芽品系中 7 个甾体皂苷量, 评价和比较云南省不同栽培地区的云南重楼及多芽品系质量; 建立高黎贡山地区的云南重楼(多芽品系)的 UPLC-ELSD 指纹图谱, 为云南重楼(多芽品系)开发利用及重楼人工种植提供科学依据。

## 1 仪器和材料

Waters Acquity UPLC<sup>®</sup> H-Class 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); KQ-5200E 型超声波清洗器(40 kHz、250 W, 昆山超声仪器有限公司);

BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司); METTLER AE240 电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。乙腈为色谱纯(美国 Sigma 公司); 水为屈臣氏蒸馏水; 甲醇为分析纯(成都市科龙化工试剂厂)。

重楼皂苷 I(批号 MUST-15061611, 质量分数 98.34%)、II(批号 MUST-15060801, 质量分数 98.45%)、VI(批号 MUST-14071904, 质量分数 98.67%)、VII(批号 MUST-14060302, 质量分数 99.03%), 纤细薯蓣皂苷(批号 MUST-15081110, 质量分数 98.86%)均购自成都曼思特生物科技有限公司; 对照品重楼皂苷 H 和重楼皂苷 V 为四川大学华西药学院生药学教研室自制, 结构鉴定为重楼皂苷 H 和重楼皂苷 V, HPLC 检测质量分数均 $\geq 98.00\%$ 。

样品于 2015 年 7~8 月采于云南省不同地区, 见表 1, 所有样品均经四川大学华西药学院张浩教授、西南民族大学民族医药研究院刘圆教授鉴定为百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz.。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); ELSD 检测器漂移管温度 55  $^{\circ}\text{C}$ , 氮气压力 275.8 kPa, 增益 500, 冷却模式; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 体积流量 0.2 mL/min; 进样量 3  $\mu\text{L}$ ; 流动相为乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱程序为 0~1.0 min, 10%~25% A; 1.0~2.5 min, 25%~30% A; 2.5~4.0 min, 30%~35% A; 4.0~6.0 min, 35%~40% A; 6.0~8.0 min, 40%~42% A; 8.0~21.0 min, 42%~50% A; 21.0~23.0 min, 50%~90% A。对照品和样品色谱图见图 1。

### 2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取各重楼皂苷对照品, 用色谱甲醇溶解, 混合对照品溶液中重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 I、重楼皂苷 V 质量浓度分别为 1.051、1.026、1.024、1.006、1.009、1.129、0.311 mg/mL, 经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过, 备用。

表 1 样品来源

Table 1 Origins of samples

批号	品种	来源	采集时间
S1	云南重楼 (多芽品系)	云南省腾冲市腾越镇关东村	2015-07
S2		云南省腾冲市曲石镇聂家寨	2015-07
S3		云南省腾冲市界头镇周家坡	2015-07
S4		云南省腾冲市界头镇东华村官家寨	2015-07
S5		云南省腾冲市明光镇顺龙村	2015-07
S6		云南省腾冲市明光镇沙河村多雨坝	2015-07
S7		云南省腾冲市明光镇小草坝社	2015-07
S8		云南省腾冲市明光镇沙河村老寨子社	2015-07
S9		云南省腾冲市滇滩镇棋盘石社 1 号	2015-07
S10		云南省腾冲市滇滩镇棋盘石社 2 号	2015-07
S11		云南省腾冲市滇滩镇淡酒沟社	2015-07
S12		四川省彭州市小鱼洞镇	2016-02
S13		云南省保山市龙陵县郝场社	2015-08
S14		云南省保山市龙陵县龙新乡	2015-08
S15		云南省保山市龙陵县松坡脚	2015-08
S16		云南省丽江市永胜县西边山脚	2015-08
S17		云南省丽江市维西县攀天阁乡美诺村	2015-08
S18	云南重楼	云南省迪庆藏族自治州霞若乡夺松村	2015-08
S19		云南省丽江市华坪县中心镇左岔村	2015-08
S20		云南省丽江市华坪县兴泉镇青龙村	2015-08
S21		云南省丽江市华坪县永兴乡基度村	2015-08
S22		云南省丽江市宁蒗县蝉站河乡甘子	2015-08
S23		云南省丽江市宁蒗县跑马坪乡二村	2015-08

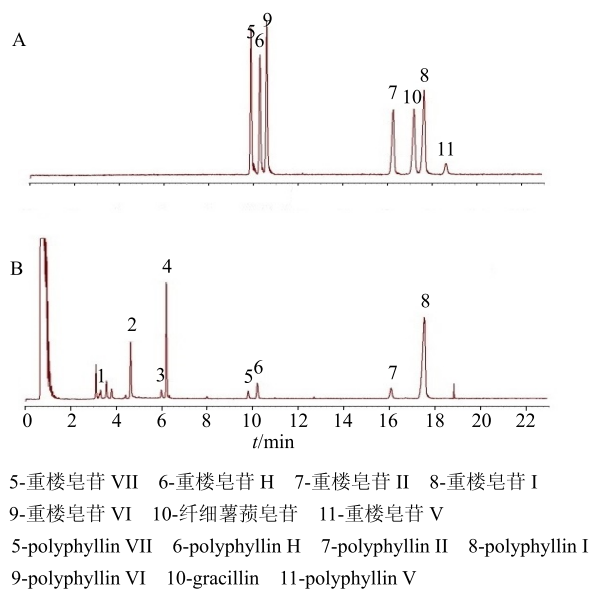


图 1 混合对照品 (A) 和 S6 批次样品 (B) UPLC 图  
 Fig. 1 UPLC of reference substances (A) and S6 sample (B)

### 2.3 供试品溶液的制备

将干燥的重楼药材粉碎, 过 40 目筛, 取药材粉末 0.500 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 按料液比 1 : 100 加入甲醇, 摇匀, 静置 4 h 后, 超声 30 min, 滤过, 取滤液, 重复上述操作 2 次。合并滤液, 真空旋转蒸干, 残渣用色谱甲醇复溶, 定容于 25 mL 量瓶, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

### 2.4 指纹图谱方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 取供试品溶液 (S6), 连续进样 6 次, 记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各共有峰相对保留时间 RSD < 2%, 各共有峰相对峰面积 RSD < 3%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取样品 (S6) 共 6 份, 按“2.3”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各共有峰相对保留时间的 RSD < 2%, 各共有峰相对峰面积的 RSD < 3%。

**2.4.3 稳定性试验** 取供试品溶液 (S6), 按“2.1”项下色谱条件, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各共有峰相对保留时间  $RSD < 2\%$ , 各共有峰相对峰面积  $RSD < 3\%$ 。

**2.5 高黎贡山地区云南重楼多芽品系指纹图谱的建立**

取高黎贡山地区云南重楼多芽品系供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样, 进行 UPLC 分析, 选取共有峰峰面积相对较大的 10 批样品, 得到高黎贡山地区云南重楼多芽品系指纹图谱, 采用《2012 年版中药色谱指纹图谱相似度评价系统》分析, 得到 8 个共有峰, 见图 2; 采用中位数法, 时间窗宽度为 0.50, 经过多点矫正生成对照指纹图谱, 见图 3。计算样品间及指纹图谱与对照指纹图谱的相似度, 结果见表 2。由结果可知, 相似度计算结果小于 0.9, 表明样品间差异较大。

**2.6 7 种皂苷成分测定**

**2.6.1 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液适量均稀释到 2 mL, 制成不同稀释倍数的混合对照品

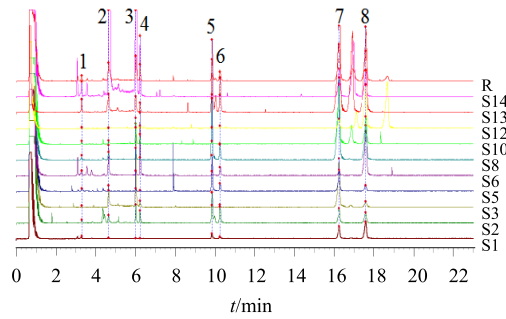
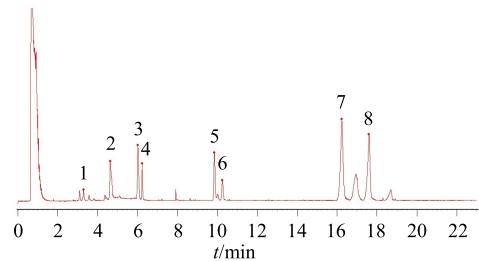


图 2 不同产地样品指纹图谱

Fig. 2 Fingerprint of samples from different habitats



5-重楼皂苷 VII 6-重楼皂苷 H 7-重楼皂苷 II 8-重楼皂苷 I  
5-polyphyllin VII 6-polyphyllin H 7-polyphyllin II 8-polyphyllin I

图 3 对照指纹图谱

Fig. 3 Fingerprint of reference

表 2 不同产地样品相似度

Table 2 Similarity of samples from different habitats

样品	S1	S2	S3	S5	S6	S8	S10	S12	S13	S14	R
S1	1.000										
S2	0.822	1.000									
S3	0.628	0.620	1.000								
S5	0.869	0.807	0.737	1.000							
S6	0.758	0.910	0.621	0.912	1.000						
S8	0.826	0.621	0.301	0.485	0.390	1.000					
S10	0.846	0.784	0.781	0.996	0.895	0.450	1.000				
S12	0.837	0.663	0.868	0.927	0.730	0.489	0.947	1.000			
S13	0.832	0.585	0.762	0.920	0.683	0.489	0.933	0.979	1.000		
S14	0.873	0.541	0.311	0.580	0.409	0.907	0.541	0.577	0.628	1.000	
R	0.945	0.811	0.793	0.964	0.829	0.652	0.963	0.959	0.941	0.716	1.000

溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定。以进样量为纵坐标 (Y), 峰面积为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 结果见表 3。

**2.6.2 精密度试验** 取 S12 批次供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 I、重楼皂苷 V 峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各重楼皂苷峰的相对保留时间  $RSD < 2\%$ , 各重楼皂苷峰的相对峰面积  $RSD < 3\%$ 。

**2.6.3 重复性试验** 取 S12 批次样品共 6 份, 按

“2.3”项下平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 记录重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 I、重楼皂苷 V 峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各重楼皂苷峰的相对保留时间  $RSD < 2\%$ , 各重楼皂苷峰的相对峰面积  $RSD < 3\%$ 。

**2.6.4 稳定性试验** 取 S12 批次供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 I、

重楼皂苷 V 峰的相对保留时间和相对峰面积。结果各重楼皂苷峰的相对保留时间 RSD<2%，各重楼皂苷峰的相对峰面积 RSD<3%，表明该供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.6.5 加样回收试验** 取已测定的重楼药材 S12 批次样品 5 份，分别精密称量加入重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 II、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 I、重楼皂苷 V 对照品，按“2.3”项下步骤操作制样，25 mL 量瓶定容，测定，计算回收率。

7 种重楼皂苷平均加样回收率分别为重楼皂苷 VII 97.31%，RSD 为 0.91%；重楼皂苷 H 96.83%，RSD 为 0.65%；重楼皂苷 VI 99.73%，RSD 为 0.56%；重楼皂苷 II 97.42%，RSD 为 1.03%；纤细薯蓣皂苷 96.62%，RSD 为 0.94%；重楼皂苷 I 为 95.91%，RSD 为 0.76%；重楼皂苷 V 95.18%，RSD 为 1.75%。

**2.6.6 样品测定** 精密吸取按“2.3”项下方法制得的 23 批供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件测定，结果见表 4。

表 3 对照品的线性回归方程

Table 3 Linear regression equation of reference substances

化合物	t/min	线性回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/μg
重楼皂苷 VII	9.9	$Y=6 \times 10^{-8} X+0.037 74$	0.999 1	0.021 02~1.051
重楼皂苷 H	10.3	$Y=1 \times 10^{-7} X+0.015 15$	0.998 9	0.025 00~1.024
重楼皂苷 VI	10.6	$Y=7 \times 10^{-8} X+0.031 95$	0.999 0	0.020 52~1.026
重楼皂苷 II	16.3	$Y=6 \times 10^{-8} X+0.057 78$	0.999 0	0.020 12~1.006
纤细薯蓣皂苷	13.3	$Y=6 \times 10^{-8} X+0.056 60$	0.998 8	0.020 18~1.009
重楼皂苷 I	17.7	$Y=6 \times 10^{-8} X+0.058 40$	0.999 0	0.022 58~1.129
重楼皂苷 V	18.7	$Y=9 \times 10^{-8} X+0.022 62$	0.999 4	0.006 22~0.311

表 4 23 份样品中 7 个甾体皂苷量

Table 4 Contents of seven steroidal saponins in 23 samples

编号	质量分数%							重楼皂苷 VII、VI、II、I 7 个皂苷总和	
	重楼皂苷 VII	重楼皂苷 H	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II	纤细薯蓣皂苷	重楼皂苷 I	重楼皂苷 V		
S1	0.110	0.084	—	0.280	—	0.354	—	0.744	0.828
S2	0.334	0.255	—	0.314	—	0.263	—	0.911	1.165
S3	0.083	—	—	0.813	—	0.184	—	1.080	1.080
S4	0.348	0.146	—	0.772	—	0.400	—	1.520	1.666
S5	0.368	0.146	—	0.395	—	0.192	—	0.955	1.101
S6	0.105	0.149	—	0.184	—	0.892	—	1.181	1.329
S7	0.201	0.131	—	0.739	0.173	0.699	—	1.639	1.943
S8	0.602	0.208	—	1.602	—	0.655	—	2.859	3.067
S9	—	—	—	1.661	0.135	1.438	—	3.099	3.234
S10	0.087	—	—	1.126	0.121	0.508	0.095	1.721	1.937
S11	0.071	—	—	1.314	—	0.699	—	2.083	2.083
S12	0.071	0.077	0.047	0.237	0.357	0.870	1.356	1.225	3.015
S13	0.498	0.321	—	1.776	—	1.300	—	3.574	3.895
S14	0.081	0.073	0.045	0.524	—	—	—	0.650	0.723
S15	0.080	0.089	0.062	0.394	0.502	0.170	0.084	0.705	1.380
S16	0.113	0.092	—	0.177	—	0.172	—	0.462	0.554
S17	0.108	0.098	0.098	—	—	0.203	0.157	0.409	0.664
S18	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S19	0.114	0.099	—	0.320	0.212	0.282	—	0.715	1.026
S20	—	0.113	—	0.434	—	0.337	0.092	0.770	0.976
S21	0.085	0.075	—	0.199	—	0.356	—	0.640	0.715
S22	0.101	—	—	0.213	—	0.229	—	0.543	0.543
S23	0.132	0.112	—	0.287	—	0.444	0.093	0.863	1.068

“—” 为未检测出

"—" undetected

**2.6.7 主成分分析 (PCA)** 采用 SPSS 软件对上述 23 份样品的 7 个皂苷成分数据集进行 PCA, 前 3 个主成分 (PC1、PC2、PC3) 分别表征了原始数据 37.72%、25.32%、16.16%, 累计 79.20% 的信息量。PC1 中重楼皂苷 VII、II、H、I 贡献值最大, PC2 中重楼皂苷 V、I、VI、纤细薯蓣皂苷贡献值最大, PC3 中重楼皂苷 H、VI、VII 贡献值最大。计算 PC1、PC2、PC3 的主成分得分, 据此绘制样品在三维空间的分布情况 (图 4)。结果显示, 23 个样品在主成分得分图上不均匀分布, 未被明显地分类, 云南重楼及其多芽品系也未被明显地分类, 这说明不同地区云南重楼及多芽品系间的化学成分种类及量总体特征差异较大。

**2.6.8 系统聚类分析** 对上述数据集, 在 SPSS 软件中以平方 Euclidean 距离为度量标准, 采用 Ward 联接法绘制 23 个样品的系统聚类树状图 (图 5)。

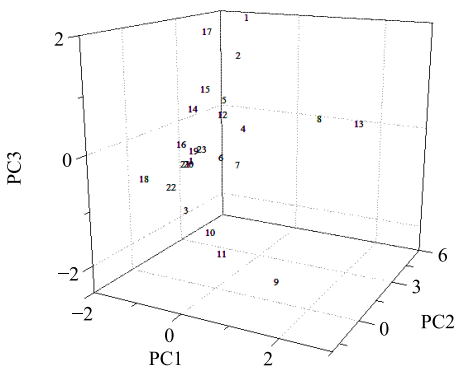


图 4 不同产地样品在主成分得分图上的聚类情况

Fig. 4 Cluster result of principal component analysis in samples from different habitats

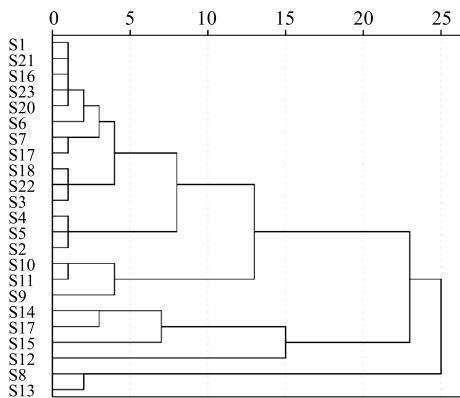


图 5 不同产地样品系统聚类树状图

Fig. 5 Dendrogram of hierarchical cluster analysis in samples from different habitats

结果显示, 23 份样品未被明显分类。进一步证实了不同地区云南重楼及多芽品系间的化学成分种类及量总体特征差异较大。

### 3 讨论

云南是云南重楼的道地产区, 云南重楼几乎分布于云南各地, 其多芽品系主要分布于丽江、大理、腾冲等滇西地区, 本实验采集了 23 份云南各地区的云南重楼药材, 对其药效成分进行了测定。因甾体皂苷结构近似, 极性较大, 不易分离, 且无紫外吸收或只有紫外末端波长吸收, 因此, 不宜采用紫外检测器检测。

本实验采用 UPLC-ELSD 检测技术建立了高黎贡山地区云南重楼多芽品系指纹图谱和对不同地区云南重楼药材中 7 个甾体皂苷进行了分析。实验结果表明, 在 23 min 内可将甾体皂苷完全分离分析, 此方法极大地缩短了重楼类药材甾体皂苷分析的时间, 方法的精密性、稳定性、重复性和加样回收试验等均表明所建方法稳定可靠。使用蒸发光散射检测器避免了紫外末端吸收波长造成的基线漂移等不稳定因素, 提高了检测的灵敏度。

《中国药典》2015 年版以重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VI 和重楼皂苷 VII 的质量分数作为评价重楼质量指标, 以其总量  $\geq 0.6\%$  为合格<sup>[1]</sup>。本实验检测的 23 份样品中 19 份符合《中国药典》要求, 4 个皂苷平均量达 1.42%, RSD 高达 62.7%, 说明不同样品间 4 个皂苷量差别较大; 云南重楼及其多芽品系以《中国药典》项下 4 个皂苷或 7 个皂苷比较, 二者不论化合物种类还是量均无规律性变化; 定量测定的 PCA 分析及系统聚类分析显示 23 份样品均未被明显地分类, 说明样品间差异较大, 这与刘欢等<sup>[10]</sup>的研究结果一致。以上结果说明, 云南重楼作为药典品种, 其药材质量总体较好。

高黎贡山地区的多芽品系从指纹图谱、PCA 分析及系统聚类分析结果均显示该地区的多芽品系的化学成分和质量分数有明显差异, 这可能由以下原因所致: 不同的采集点, 农户对重楼的肥水等管理方式不一; 高黎贡山地区广泛分布各重楼品种, 重楼种间可能进行了杂交; 环境对云南重楼化学累积有显著影响, 样品采集点的气温、海拔等气候特征有差异; 高黎贡山地供试的 14 份多芽品系样品均合格, 《中国药典》项下 4 个皂苷平均量为 1.660%, 高于其他地区的 0.64%; 7 个皂苷平均量为 1.93%, 高于其他地区的 0.87%; 该地区的多芽品系丛生芽

较多,进行光合作用的地上植株较多,能积累更多的次生代谢产物。以上说明该地区的云南重楼多芽品系是一个值得推广栽培和深入研究的品种。

云南各地区的云南重楼及其多芽品系中普遍具有重楼皂苷 VII、重楼皂苷 H、重楼皂苷 II 及重楼皂苷 I 这 4 个甾体皂苷,重楼皂苷 VI 仅在 4 份样品中检测到,而《中国药典》2015 年版以重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VI 和重楼皂苷 VII 的质量分数作为评价重楼质量指标,因此,建议用重楼皂苷 H 替代重楼皂苷 VI 或增加重楼皂苷 H 来评价重楼类药材的质量。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Man S, Gao W, Zhang Y, *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): 2943-2950.
- [3] Man S, Gao W, Zhang Y, *et al.* Antitumor and antimetastatic activities of *Rhizoma Paridis* saponins [J]. *Steroids*, 2009, 74(13/14): 1051-1059.
- [4] 张亚茹, 彭献娜, 王彩虹, 等. 重楼活性化学成分与药理作用研究进展 [J]. *亚太传统医药*, 2015, 11(2): 39-40.
- [5] 姚荣林. 云南重楼资源分布应用研究 [J]. *首都医药*, 2013(2): 54-55.
- [6] 杨丽英, 杨 斌, 王 馨, 等. 滇重楼新品种选育研究进展 [J]. *农学学报*, 2012, 2(7): 22-24.
- [7] 李 恒. 重楼属植物 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1998.
- [8] 孟广涛, 柴 勇, 袁春明, 等. 云南高黎贡山中山湿性常绿阔叶林的群落特征 [J]. *林业科学*, 2013(3): 144-151.
- [9] 徐成东, 冯建孟, 王襄平, 等. 云南高黎贡山北段植物物种多样性的垂直分布格局 [J]. *生态学杂志*, 2008, 27(3): 323-327.
- [10] 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.