

## 滇重楼药材中无机元素与有效成分的相关性研究<sup>Δ</sup>

沈昱翔<sup>1\*</sup>, 李果<sup>1</sup>, 李想<sup>2</sup>, 周浓<sup>3#</sup>, 雷小宇<sup>1</sup> (1. 安顺学院农学院, 贵州安顺 561000; 2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016; 3. 重庆三峡学院生命科学与工程学院, 重庆 404000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2951-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.23

**摘要** 目的: 研究滇重楼药材中无机元素与有效成分的相关性。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC)测定药材中重楼皂苷 I、II、VI、VII 的含量; 色谱柱为 Phenomenex C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 203 nm, 柱温为 30 ℃。采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定药材中钠(Na)、镁(Mg)、钾(K)、钙(Ca)、铬(Cr)、锰(Mn)、铁(Fe)、镍(Ni)、锌(Zn)、硒(Se)、锶(Sr)、钼(Mo)、铅(Pb)、镉(Cd)、汞(Hg)、铜(Cu)、砷(As)的含量; 射频功率为 1.55 kW, 采样深度为 10 mm, 等离子气体流量为 15.0 ml/min, 载气流速为 0.86 L/min, 雾化室温度为 2 ℃, 碰撞模式为 He, 载气流量为 4.5 ml/min, 测量点数/峰为 6, 数据采集模式为跳峰采集(重复采集 3 次)。所得数据采用 SPSS 21.0 软件进行逐步回归分析, 以评价上述两者的相关性。结果: 重楼皂苷 I、II、VI、VII 检测进样量线性范围分别为 0.939~4.697 μg ( $r=0.999\ 9$ )、1.124~5.620 μg ( $r=0.999\ 6$ )、0.784~3.918 μg ( $r=0.999\ 8$ )、0.976~4.880 μg ( $r=0.999\ 9$ ); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 加样回收率分别为 96.53%~100.71% (RSD = 1.69%,  $n=6$ )、98.19%~99.55% (RSD = 0.58%,  $n=6$ )、95.45%~100.83% (RSD = 1.87%,  $n=6$ )、96.11%~102.01% (RSD = 2.07%,  $n=6$ )。17 种无机元素检测含量线性范围为 0~195.984 3 mg/kg ( $r \geq 0.999\ 3$ ); 检测限 ≤ 65.201 ng/kg。重楼皂苷 I 含量与 Mg 呈正相关, 与 Pb 呈负相关; 重楼皂苷 II 含量与 Cu 呈正相关, 与 As 呈负相关; 重楼皂苷 VI 含量与 Sr、Hg 呈正相关, 与 Mn 呈负相关; 重楼皂苷 VII 含量与 Na、Ni 呈正相关, 与 As 呈负相关; 4 种重楼皂苷总含量与 Ni、Sr 呈正相关, 与 Fe 呈负相关。结论: 滇重楼药材中无机元素含量与有效成分存在一定相关性。

**关键词** 滇重楼; 电感耦合等离子体质谱法; 高效液相色谱法; 无机元素; 重楼皂苷; 相关性

### Research on the Correlation of Inorganic Elements and Active Ingredients in *Paris polyphylla*

SHEN Yuxiang<sup>1</sup>, LI Guo<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>2</sup>, ZHOU Nong<sup>3</sup>, LEI Xiaoyu<sup>1</sup> (1. College of Agriculture, Anshun University, Guizhou Anshun 561000, China; 2. College of TCM, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3. College of Life Science and Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the correlation of inorganic elements and active ingredients in *Paris polyphylla*. METHODS: HPLC was adopted for contents determination of polyphyllin I, II, VI and VII: the column was Phenomenex C<sub>18</sub> with mobile phase of acetonitrile-water (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 203 nm, and column temperature was 30 ℃. ICP-MS was adopted for contents determination of Na, Mg, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Ni, Zn, Se, Sr, Mo, Pb, Cd, Hg, Cu and As: RF power was 1.55 kW, sampling depth was 10 mm, the plasma gas flow was 15.0 ml/min, carrier gas flow rate was 0.86 L/min, spray chamber temperature was 2 ℃, helium collision mode was He, gas flow was 4.5 ml/min, measurement points/peak was 6, sampling mode was hopping peak collection (repeated 3 times). And SPSS 21.0 software was adopted for stepwise regression analysis of correlation between the two above-mentioned. RESULTS: The linear range was 0.939-4.697 μg ( $r=0.999\ 9$ ) for polyphyllin I, 1.124-5.620 μg ( $r=0.999\ 6$ ) for polyphyllin II, 0.784-3.918 μg for polyphyllin VI, 0.976-4.880 μg for polyphyllin VII. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%, recoveries were 96.53%-100.71% (RSD = 1.69%,  $n=6$ ) for polyphyllin I, 98.19%-99.55% (RSD = 0.58%,  $n=6$ ) for II, 95.45%-100.83% (RSD = 1.87%,  $n=6$ ) for polyphyllin VI, 96.11%-102.01% (RSD = 2.07%,  $n=6$ ) for polyphyllin VII. The linear range was 0-195.984 3 mg/kg ( $r \geq 0.999\ 3$ ), detection limit was no higher than 65.201 ng/kg. Polyphyllin I showed positive correlation with Mg and negative correlation with Pb; polyphyllin II showed positive correlation with Cu and negative correlation with As; polyphyllin VI showed positive correlation with Sr and Hg and negative correlation with Mn; polyphyllin VII showed positive correlation with Na and Ni and negative correlation with As; the total contents of the 4 polyphyllins showed positive correlation with Ni and Sr and negative correlation with Fe. CONCLUSIONS: The contents of inorganic elements and *P. polyphylla* have certain correlation with active ingredient.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81260622); 贵州省科学技术厅科学技术基金资助项目(No.黔科合 J 字 LKA[2012]07 号); 贵州省大学生创新创业训练计划项目(No.201410067004); 安顺学院校级科研平台项目(No.2015AQ11)

\* 讲师, 硕士。研究方向: 药用植物资源及中药材质量标准化。电话: 0851-32214210。E-mail: sshenyuxiang@sina.com

# 通信作者: 副教授, 硕士生导师。研究方向: 药用植物栽培与质量控制。电话: 023-58102522。E-mail: erhaizn@126.com

KEYWORDS *Paris polyphylla*; ICP-MS; HPLC; Inorganic elements; Polyphyllin; Correlation

滇重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* Franch. Hand.-Mazz. 为延龄草科植物,以干燥根茎入药,为2015年版《中国药典》(一部)“重楼”项下收载品种<sup>[1]</sup>,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊之功效,常用于治疗疔疮肿毒、咽喉肿痛、蛇虫咬伤、跌扑伤痛、惊风抽搐等证,临床应用较为广泛,同时亦是生产云南白药、宫血宁胶囊等著名中成药的主要原料<sup>[2]</sup>,具有庞大的市场需求。滇重楼药材内含有钾(K)、镁(Mg)、铅(Pb)、铜(Cu)、铁(Fe)、铬(Cr)、锌(Zn)和锰(Mn)等大量无机元素<sup>[3]</sup>。现代研究表明,一些必需无机元素在许多大分子中具有特殊的生理功能,能够影响药用植物本身次生代谢产物的合成,如已发现土壤中的磷、K可能与滇重楼药材中皂苷含量呈正相关<sup>[4]</sup>;同时,其在维持人体正常生理功能以及疾病防治方面具有重要作用<sup>[5-6]</sup>。因此,药材中部分无机元素也应被视为中药内在物质加以研究。另外,植物源药材因生长过程中的吸收与富集作用以及不合理的加工贮藏过程,常导致有害金属超标而影响患者健康,该问题极大地限制了中药材的出口贸易,一直是制约中药产业发展的瓶颈<sup>[7]</sup>。因此,金属元素的检测也是控制中药质量的关键步骤。为此,笔者收集了云南、贵州和四川3个滇重楼自然分布区<sup>[8]</sup>共17个不同产地的滇重楼药材,采用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)对样品中钠(Na)、Mg、K、钙(Ca)、Cr、Mn、Fe、镍(Ni)、Zn、硒(Se)、锶(Sr)、钼(Mo)、Pb、镉(Cd)、汞(Hg)、Cu、砷(As)17种无机元素含量进行测定,并用高效液相色谱法(HPLC)测定样品中4种重楼皂苷的含量,进而通过相关性分析评价其中无机元素与有效成分的相关性,为综合评价滇重楼药材质量和保证临床用药安全提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 Series型HPLC仪(含G1312B四元梯度泵、G1322A脱气机、G1316B柱温箱、G1329B自动进样器、G1315C二极管阵列检测器)、7700X型ICP-MS仪(美国Agilent公司);MDS-8G型微波消解仪(上海新仪微波化学科技有限公司);Milli-Q型超纯水机(美国Millipore公司);BP-211D型电子天平(德国Sartorius公司);AB204-N型电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);GZX-9146MBE型恒温鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司)。

### 1.2 试剂

重楼皂苷I、II、VI、VII对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111590-200402、111591-200402、111592-200402、111593-200402,纯度均>92%);Na、Mg、K、Ca、Cr、Mn、Fe、Ni、Zn、Se、Sr、Mo、Pb、Cd、Hg、Cu、As标准溶液(国家标准物质研究中心,质量浓度:1 000 μg/ml);标准调谐液[美国Agilent公司,每1 L含铈(Ce)、钴(Co)、锂(Li)、Mg、钛(Ti)、钇(Y)各1 μg];硝酸、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 药材

因重楼药材基源较多且易混,本研究所收集样品多为自采,或购买其地上部分,能够进行分类鉴定的新鲜、完整植株<sup>[8]</sup>(见表1)。所有样品均经成都中医药大学尹鸿翔教授鉴定为真品。选择生长周期接近(依据根茎上残留茎痕判断)、大小一致的植株,将根茎依次用自来水、去离子水冲洗干净,35℃烘干至恒质量,粉碎过80目筛,备用。

## 2 方法与结果

### 2.1 重楼皂苷含量测定<sup>[9]</sup>

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~40 min, 30%→

60% A; 40~50 min, 60%→30% A);流速:1.0 ml/min;检测波长:203 nm;柱温:30℃。

表1 重楼来源

Tab 1 Origin of *P. polyphylla*

No.	采集地点	生长方式
S1	云南省鹤庆县云鹤镇	野生
S2	云南省南华县雨露乡	野生
S3	云南省易门县铜厂乡	栽培3年
S4	云南省彝良县小草坝乡	栽培3年
S5	云南省罗平县板桥镇	野生
S6	四川省冕宁县沙坝镇	野生
S7	云南省巍山县马鞍山乡	栽培3年
S8	云南省宣威市西泽乡	野生
S9	贵州省安顺市幺铺镇	野生
S10	贵州省安顺市幺铺镇	栽培3年
S11	贵州省普定县鸡场乡	野生
S12	贵州省清镇市卫城镇	野生
S13	贵州省安顺市新场乡	野生
S14	贵州省黔西县中坪镇	栽培5年
S15	贵州省晴隆县莲城镇	野生
S16	贵州省普定县余官乡	野生
S17	贵州省盘县大山镇	野生

2.1.2 混合对照品溶液的制备 取重楼皂苷I、II、VI、VII对照品各适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含重楼皂苷I、II、VI、VII分别为0.469 7、0.562 0、0.391 8、0.488 0 mg的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过3号筛)约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入乙醇25 ml,称定质量,加热回流30 min,放冷,再次称定质量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 系统适用性试验 取“2.1.2”“2.1.3”项下混合对照品溶液、供试品溶液各适量,分别按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。结果,理论板数以重楼皂苷I、II、VI、VII峰计均>5 000,分离度>1.5。



图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;1.重楼皂苷VII;2.重楼皂苷VI;3.重楼皂苷II;4.重楼皂苷I

Fig 1 Chromatograms of *P. polyphylla*

A.mixed reference substance; B.test sample; 1.polyphyllin VII; 2.polyphyllin VI; 3.polyphyllin II; 4.polyphyllin I

2.1.5 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下混合对照品溶液2、4、6、8、10 μl,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。分别以重楼皂苷 I、II、VI、VII进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程分别为 $y=295\ 084.90x+731.67$ ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=450\ 796.54x-377.23$ ( $r=0.999\ 6$ )、 $y=245\ 072.82x+3\ 363.97$ ( $r=0.999\ 8$ )、 $y=314\ 897.13x+3\ 078.43$ ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,重楼皂苷 I、II、VI、VII 检测进样量线性范围分别为0.939~4.697、1.124~5.620、0.784~3.918、0.976~4.880 μg。

2.1.6 精密度的试验 取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,重楼皂苷 I、II、VI、VII峰面积的RSD分别为0.56%、0.74%、0.42%、0.64%( $n=6$ ),表明仪器精密度的良好。

2.1.7 稳定性试验 取“2.1.3”项下供试品溶液(No. S1)适量,分别于室温下放置0、1、2、4、8、16、24 h时按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,重楼皂苷 I、II、VI、VII峰面积的RSD分别为0.67%、0.87%、1.03%、0.85%( $n=7$ ),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

2.1.8 重复性试验 精密称取同一批样品(No.S1)适量,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,重楼皂苷 I、II、VI、VII峰面积的RSD分别为1.14%、0.76%、1.01%、0.76%( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取已知含量样品(No.S1)适量,共6份,分别加入一定质量的重楼皂苷 I、II、VI、VII 对照品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 2 Result of recovery test( $n=6$ )

待测成分	取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
重楼皂苷 I	0.250 1	1.318 3	1.225 4	2.501 2	96.53	98.32	1.69
	0.251 1	1.323 5	1.225 4	2.520 2	97.65		
	0.250 6	1.320 9	1.225 4	2.530 1	98.68		
	0.250 7	1.321 4	1.225 4	2.506 5	96.71		
	0.250 5	1.320 4	1.225 4	2.541 5	99.65		
	0.250 7	1.321 4	1.225 4	2.555 6	100.71		
	0.250 1	0.747 5	0.758 2	1.502 3	99.55		
0.251 1	0.750 5	0.758 2	1.502 1	99.12			
0.250 6	0.749 0	0.758 2	1.503 1	99.45			
0.250 7	0.749 3	0.758 2	1.501 2	99.16			
0.250 5	0.748 7	0.758 2	1.493 2	98.19			
0.250 7	0.749 3	0.758 2	1.494 7	98.31			
0.250 1	1.111 4	1.100 6	2.221 2	100.83	98.49	1.87	
0.251 1	1.115 9	1.100 6	2.201 3	98.62			
0.250 6	1.113 7	1.100 6	2.187 9	97.60			
0.250 7	1.114 1	1.100 6	2.164 6	95.45			
0.250 5	1.113 2	1.100 6	2.210 2	99.67			
0.250 7	1.114 1	1.100 6	2.201 3	98.78			
0.250 1	2.857 6	2.556 2	5.384 5	98.85			98.83
0.251 1	2.869 1	2.556 2	5.362 1	97.53			
0.250 6	2.863 4	2.556 2	5.377 4	98.35			
0.250 7	2.864 5	2.556 2	5.321 2	96.11			
0.250 5	2.862 2	2.556 2	5.421 3	100.11			
0.250 7	2.864 5	2.556 2	5.472 1	102.01			

2.1.10 样品中重楼皂苷含量测定 取17批样品各适量,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并计算样品中重楼皂苷的含量,结果见表3。

表3 样品中重楼皂苷的含量测定结果( $n=3, \%$ )

Tab 3 Results of contents determination of polyphyllin in samples( $n=3, \%$ )

No.	重楼皂苷 I	重楼皂苷 II	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 VII	总皂苷
S1	0.527 1	0.298 9	0.444 4	1.142 6	2.413 1
S2	0.151 4	0.125 3	0.810 2	1.487 0	2.573 9
S3	0.371 8	1.967 4	0.069 7	0.145 6	2.554 4
S4	0.295 1	0.156 1	0.151 6	0.484 0	1.086 7
S5	0.205 8	0.116 0	0.144 3	0.462 5	0.928 6
S6	0.283 4	0.177 5	0.763 1	0.456 8	1.680 8
S7	0.193 3	0.234 0	0.612 4	1.572 8	2.612 5
S8	0.398 7	0.532 8	0.385 4	0.990 1	2.306 9
S9	0.315 0	0.015 0	0.108 0	0.353 0	0.791 0
S10	0.308 0	0.014 0	0.173 0	0.414 0	0.908 0
S11	0.668 0	0.024 0	0.403 0	0.913 0	2.008 0
S12	0.680 6	0.059 0	0.243 0	0.775 0	1.757 2
S13	0.214 0	0.014 0	0.133 0	0.352 0	0.713 0
S14	0.351 0	0.028 0	0.166 0	0.523 0	1.068 0
S15	0.389 0	0.024 0	0.143 0	0.579 0	1.135 0
S16	0.514 0	0.025 0	0.254 0	0.959 0	1.752 0
S17	0.983 0	0.025 0	0.076 0	0.632 0	1.716 0

由表3可知,所有滇重楼药材中4种重楼皂苷总含量均达到2015年版《中国药典》(一部)“重楼”项下要求(不低于0.60%)<sup>[1]</sup>,其平均含量为1.65%,提示滇重楼有效成分含量高,是优良的药用品种。但是,不同产地样品之间有效成分含量差异较大,其中S7(云南省巍山县马鞍山乡)样品含量约是S9(贵州省安顺市幺铺镇)的3倍多,云南省样品的平均含量高于贵州省;同时,栽培样品4种重楼皂苷含量并不比野生样品低,贵州省安顺市幺铺镇从当地引种栽培后的药材含量甚至高于当地野生药材,提示在一定栽培条件下种植滇重楼药材足以媲美野生药材。

## 2.2 无机元素含量测定<sup>[10]</sup>

2.2.1 试验条件 射频功率:1.55 kW; 采样深度:10 mm; 等离子体流量:15.0 ml/min; 载气流速:0.86 L/min; 雾化室温度:2 °C; 碰撞模式:He; 载气流量:4.5 ml/min; 测量点数/峰:6; 数据采样模式:跳峰采集(重复采集3次)。

2.2.2 混合标准溶液的制备 精密量取Na、Mg、K、Ca、Cr、Mn、Fe、Ni、Zn、Se、Sr、Mo、Pb、Cd、Hg、Cu、As标准溶液各适量,用10%硝酸稀释制成不同质量浓度(质量浓度范围用表4线性范围)的系列混合标准溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 将样品于60 °C干燥2 h,粉碎成粗粉,取约0.5 g,精密称定,置于微波消解罐中,加硝酸10 ml进行消解。升温程序:0~10 min,0→120 °C;11~15 min,120~150 °C;16~20 min,150→180 °C。消解完全后,取出消解罐,冷却至室温,溶液应澄清、透明、无沉淀。将消解液转入60 ml PET医用透明塑料瓶,用重量法加水至50 g,摇匀,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下系列混合标准溶液各适量,按“2.2.1”项下试验条件进样测定,记录仪器响应值。以待测元素含量(x, mg/kg)为横坐标、仪器响应值(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程与线性范围,详见表4。

2.2.5 检测限考察 以18 MΩ·cm的高纯度水进样,测量质量数9、115、209处的离子计数,积分时间0.1 s,分别测量11个数据,用测量结果的标准差Sa的3倍除以Be、In、Bi的灵敏度S,结果即为各元素检测限。

2.2.6 样品中无机元素含量测定 取17批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下试验条件进样测定并计算样品中17种无机元素含量,结果见表5。

表4 回归方程、线性范围与检测限

待测元素	回归方程	r	线性范围,mg/kg	检测限,ng/kg
Na	$y=4.870 8x+1.452 1$	0.999 4	0~17.381 8	8.215
Mg	$y=2.866 0x+0.022 4$	0.999 5	0~30.017 12	5.123
K	$y=4.689 0x+0.154 1$	0.999 5	0~195.984 3	15.325
Ca	$y=2.368 3x+0.011 8$	0.999 3	0~4.141 188	6.325
Cr	$y=23.885 6x+0.001 9$	0.999 4	0~0.227 735	25.662
Mn	$y=22.256 3x+0.006 5$	0.999 3	0~1.002 835	51.220
Fe	$y=24.632 3x+0.0177 4$	0.999 4	0~15.494	34.225
Ni	$y=17.576 1x+0.007 2$	0.999 8	0~4.107 227	65.201
Cu	$y=20.562 2x+0.004 3$	0.999 7	0~0.603 299	32.215
Zn	$y=8.249 7x+0.038 2$	0.999 9	0~0.839 025	15.302
As	$y=6.831 6x+2.204 2 \times 10^{-4}$	0.999 9	0~18.596 39	9.985
Se	$y=1.037 8x+0.001 2$	0.999 9	0~0.405 529	6.548
Sr	$y=8.677 7x+0.001 5$	0.999 7	0~3.190 293	6.548
Mo	$y=2.974 4x+2.501 9 \times 10^{-5}$	0.999 6	0~0.311 638	10.256
Cd	$y=1.372 2x+4.089 3 \times 10^{-6}$	0.999 8	0~0.541 2	41.23
Hg	$y=0.002 0x+2.204 2 \times 10^{-5}$	0.999 0	0~8.038 659	44.442
Pb	$y=18.851 6x+0.006 8$	0.999 8	0~0.443 485	32.321

表5 样品中无机元素的含量测定结果(n=3,mg/kg)

Tab 5 Results of contents determination of inorganic elements(n=3,mg/kg)

No.	Na	Mg	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Zn	Se	Sr	Mo	Pb	Cd	Hg	Cu	As
S1	46.986	2 530.278	4 746.226	424.870	1.627	19.664	184.603	0.685	24.799	0.028	4.588	0.339	0.363	0.035	0.099	5.421	0.135
S2	845.251	1 703.369	7 373.704	379.915	1.428	40.076	522.076	1.154	77.424	0.173	40.920	0.373	1.257	0.100	0.084	6.633	1.152
S3	75.175	381.715	3 238.902	220.317	0.932	26.839	297.000	1.677	22.019	0.037	23.938	0.186	0.419	0.091	0.050	8.241	0.189
S4	22.710	1 392.514	5 639.108	169.263	0.602	7.290	81.801	0.371	26.346	0.024	2.370	0.201	0.135	0.009	0.072	1.827	0.074
S5	21.370	1 026.542	4 985.658	196.483	0.863	10.516	216.763	0.610	19.418	0.034	5.480	0.102	0.275	0.016	0.063	3.582	0.148
S6	157.117	1 872.162	5 574.716	746.098	3.356	29.940	934.434	1.240	34.024	0.092	28.141	0.561	1.007	0.112	0.011	7.974	0.802
S7	224.279	2 082.642	8 317.468	434.296	2.150	41.994	713.852	2.876	50.511	0.082	23.314	0.077	1.468	0.095	0.071	2.882	0.267
S8	58.766	1 130.930	4 655.985	561.990	1.793	49.866	310.433	2.797	60.075	0.101	13.294	0.230	0.912	0.680	0.131	4.168	0.502
S9	15.042	1 675.473	4 918.477	259.900	0.800	30.346	268.323	0.560	20.877	0.066	2.352	0.218	0.812	0.052	0.108	2.310	0.255
S10	271.227	3 268.627	8 294.925	625.120	3.369	62.418	1 345.588	1.610	31.818	0.164	22.806	0.389	1.772	0.132	0.106	5.886	1.429
S11	51.331	861.136	8 976.516	280.444	1.551	20.880	407.227	0.762	13.474	0.059	9.949	0.115	0.425	0.059	0.051	2.905	0.144
S12	303.204	2 907.321	12 096.198	678.766	1.429	31.984	470.653	0.956	34.958	0.152	19.741	0.541	0.666	0.135	0.074	2.072	0.249
S13	49.079	849.860	8 814.684	275.328	1.519	19.789	394.512	0.731	12.747	0.059	9.836	0.108	0.411	0.059	0.048	2.087	0.138
S14	200.272	1 958.642	7 164.781	356.143	1.109	19.869	327.492	0.580	25.547	0.079	4.243	0.262	0.428	0.021	0.040	2.067	0.182
S15	56.313	1 460.261	4 689.477	422.142	1.462	23.702	204.010	0.588	126.456	0.045	4.072	0.172	0.408	0.041	0.084	2.489	0.162
S16	37.794	1 091.574	4 974.892	334.591	0.675	12.638	120.050	0.554	29.328	0.028	12.179	0.286	0.263	0.039	0.048	1.352	0.091
S17	38.872	3 235.317	4 582.674	590.611	1.987	12.407	272.464	0.636	28.506	0.037	5.799	0.324	0.377	0.059	0.054	2.364	0.239

性,结合相关性分析的结果,遴选出最优的回归方程模型。

2.3.2 无机元素与重楼皂苷含量的相关性 重楼皂苷 I 含量与各无机元素相关性不显著;重楼皂苷 II 含量与 Cu 呈极显著性正相关( $r=0.584$ ),与 Mg、K 呈显著性负相关( $r=-0.419$ 、 $-0.422$ );重楼皂苷 VI 含量与 Na、Sr 呈极显著性正相关( $r=0.603$ 、 $0.682$ ),与 Cr、Cu、As、Se、Pb 呈显著性正相关( $r=0.433$ 、 $0.460$ 、 $0.454$ 、 $0.438$ 、 $0.504$ );重楼皂苷 VII 含量与 Na 呈显著性正相关( $r=0.501$ );4 种重楼皂苷总含量与 Ni 呈极显著性正相关( $r=0.561$ ),与 Sr、Cu 呈显著性正相关( $r=0.448$ 、 $0.541$ ),详见表 6。

但是,仅从相关性进行简单分析,并不能说明上述无机元素对各重楼皂苷的含量有显著影响,而其他无机元素没有影响。所以,本研究进一步采用多元逐步回归分析法进行变量的剔除、筛选,以选择最优的回归方程模型。利用 SPSS 21.0 统计软件计算得到不同的逐步回归方程模型,根据  $R^2$ (越接近 1 越好,无机元素对皂苷含量变化的影响越大)、 $F$  和  $t$  值(Sig. 值越小显著性水平越高, $<0.01$  为最佳),从得到的不同模型中综合选取最优回归方程模型,最后得到重楼皂苷 I、II、VI、VII

由表 5 可知,滇重楼药材中最多的无机元素依次为 K、Mg、Fe、Ca、Na,平均含量分别为 6 414.38、1 731.08、415.96、409.19、145.58 mg/kg;栽培药材与野生药材中无机元素丰度差异不显著,这可能与滇重楼栽培环境一般选择山区生地种植有关。2015 年版《中国药典》(一部)“重楼”项下没有对其有害重金属元素含量进行限量规定,但是参考 2001 年版《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》规定的限量( $Pb \leq 5.0$  mg/kg、 $Cd \leq 0.3$  mg/kg、 $Hg \leq 0.2$  mg/kg、 $Cu \leq 20.0$  mg/kg、 $As \leq 2.0$  mg/kg、重金属总量  $\leq 20.0$  mg/kg),所有被测样品基本能够达到要求,仅有样品 S8 中 Cd 含量超标,详见图 2。

### 2.3 相关性研究

2.3.1 统计学方法 首先对滇重楼药材中重楼皂苷 I、II、VI、VII 及总皂苷含量与 17 种无机元素含量作相关性分析,考察不同皂苷含量与各无机元素含量之间的线性关系;再利用 SPSS 21.0 统计软件对测定数据进行多元线性逐步回归分析,从而完成影响滇重楼药材有效成分含量的无机元素的剔除、筛选,得到多个回归方程模型;最后根据各回归方程模型的贡献率指标  $R^2$ 、方差分析  $F$  检验以及回归方程系数  $t$  检验的显著

及总皂苷含量( $y$ )与无机元素含量的回归方程,结果见表 7。

### 3 讨论

本研究对 17 批云南、贵州和四川主产区滇重楼药材进行了含量测定,结果显示所测药材中 4 种重楼皂苷含量均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的要求,表明滇重楼药材品质良好,是重楼药材中的优良种质资源。但是,不同产地滇重楼药材中 4 种重楼皂苷含量差异较大,其中云南主产区样品品质较好,符合传统道地药材观点;而贵州产样品均一性较好、品质稳定,与文献报道相符<sup>[11]</sup>。重楼皂苷含量受产地、生长环境因素影响较大,其品质表现出一定的地域及环境依赖性,这与罗静等<sup>[9]</sup>研究结果相一致。同时,本研究所测定的 5 份人工栽培样品品质均能够媲美野生样品,提示滇重楼通过适当的栽培方式进行人工栽培具有可行性,进一步表明了人工栽培是滇重楼资源可持续利用的重要手段。

因 ICP-MS 法用于药物中无机元素含量测定具有准确、高效的特点,故本研究采用该方法测定。结果显示,17 批样品的无机元素含量也存在较大差异,且差异的地域性并不显著,与李燕等<sup>[12]</sup>对四川不同产地滇重楼根茎的测定结果类似。滇重

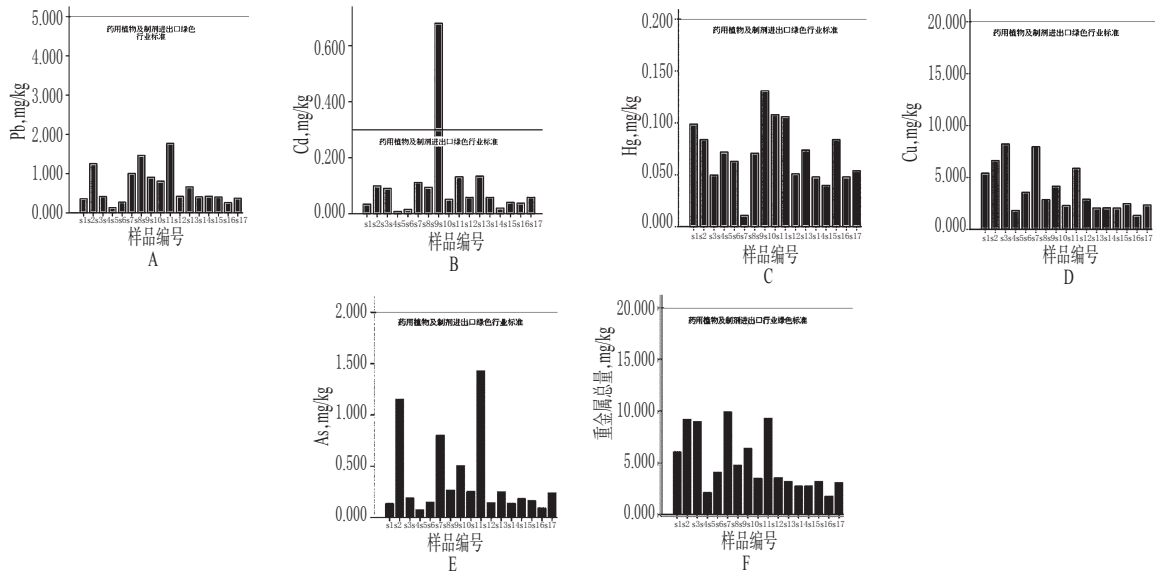


图2 样品中主要重金属元素超标情况( $n=3$ )

A.Pb; B.Cd; C.Hg; D.Cu; E.As; F.重金属总量

Fig 2 The main heavy metals in the sample exceeded the standard( $n=3$ )

A.Pb; B.Cd; C.Hg; D.Cu; E.As; F.total amount of heavy metals

表6 样品中重楼皂苷与无机元素含量的相关性分析

Tab 6 Correlation analysis of polyphyllin and inorganic elements

待测成分	相关性	Na	Mg	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	As	Se	Sr	Mo	Cd	Hg	Pb
重楼皂苷VII	$r$	0.501*	0.169	0.243	0.159	0.071	0.246	0.019	0.399	-0.043	0.329	0.130	0.277	0.367	0.006	0.201	0.118	0.338
	$P$	0.020	0.258	0.174	0.271	0.393	0.171	0.471	0.056	0.435	0.098	0.310	0.141	0.074	0.491	0.220	0.326	0.092
重楼皂苷VI	$r$	0.603**	0.064	0.187	0.361	0.433*	0.353	0.375	0.397	0.460*	0.250	0.454*	0.438*	0.682**	0.338	0.190	0.365	0.504*
	$P$	0.005	0.404	0.236	0.077	0.041	0.082	0.069	0.057	0.032	0.167	0.034	0.039	0.001	0.093	0.232	0.075	0.020
重楼皂苷II	$r$	-0.092	-0.419*	-0.422*	-0.206	-0.153	0.087	-0.110	0.384	0.584**	-0.089	-0.092	-0.179	0.267	-0.132	0.203	-0.066	-0.083
	$P$	0.363	0.047	0.046	0.213	0.279	0.370	0.337	0.064	0.007	0.368	0.363	0.246	0.150	0.307	0.217	0.401	0.376
重楼皂苷I	$r$	-0.293	0.392	0.031	0.322	0.000	-0.287	-0.242	-0.253	-0.283	-0.163	-0.302	-0.203	-0.310	0.252	-0.004	-0.216	-0.363
	$P$	0.127	0.060	0.453	0.104	0.500	0.132	0.175	0.163	0.136	0.266	0.119	0.217	0.113	0.165	0.494	0.203	0.076
重楼总皂苷	$r$	0.351	-0.043	-0.072	0.179	0.087	0.238	-0.011	0.561**	0.448*	0.170	0.076	0.129	0.541*	0.109	0.325	0.083	0.204
	$P$	0.083	0.435	0.391	0.246	0.370	0.179	0.483	0.010	0.036	0.257	0.387	0.311	0.012	0.338	0.102	0.376	0.216

注：“\*\*”为在0.01水平(单侧)上显著相关;“\*”为在0.05水平(单侧)上显著相关

Note: “\*\*” means significantly related at the 0.01 level(unilateral); “\*” means significantly related at the 0.05 level(unilateral)

表7 重楼皂苷与无机元素含量的回归方程分析

Tab 7 Analysis of the regression equation of the content of polyphyllin and inorganic elements

待测成分	回归方程	$R^2$	$F$	( $F$ )Sig.	非标准化系数	$t$	( $t$ )Sig.
重楼皂苷I	$y=0.000166Mg-0.295Pb+0.312$	0.492	6.767	0.009	常量	0.312	3.260 0.006
					Mg	0.000166	3.146 0.007
					Pb	-0.295	-3.051 0.009
重楼皂苷II	$y=0.208Cu-0.802As-0.269$	0.634	12.131	0.001	常量	-0.269	-1.802 0.093
					Cu	0.208	4.893 0.000
					As	-0.802	-3.352 0.005
重楼皂苷VI	$y=0.019Sr+0.260Hg-0.007Mn-0.078$	0.606	6.653	0.006	常量	-0.078	-0.304 0.766
					Sr	0.019	3.835 0.002
					Hg	0.260	2.121 0.054
重楼皂苷VII	$y=0.002Na+0.232Ni-0.561As+0.446$	0.494	4.239	0.027	常量	0.446	-1.655 0.122
					Na	0.002	3.118 0.008
					Ni	0.232	2.935 0.012
总皂苷	$y=0.449Ni+0.042Sr-0.001Fe+1.160$	0.658	8.325	0.002	常量	1.160	3.299 0.006
					Ni	0.449	2.601 0.022
					Fe	-0.001	-0.001 0.999

续表7

Continued tab 7

待测成分	回归方程	$R^2$	$F$	( $F$ )Sig.	非标准化系数	$t$	( $t$ )Sig.
总皂苷					Sr	0.042	3.126 0.008
					Fe	0.001	-3.117 0.008

楼根茎中含K、Ca量比较高,表明其是一种喜钾、喜钙植物,K、Ca营养元素对其根茎的生长特别重要。而其中5种有害重金属元素虽然在所有样品中均有检出,但根据2001年版《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》,仅有样品S8(云南省宣威市西泽乡)中Cd超标,且该样品来源于野生居群,可能与Cd是生物迁移性很强的重金属元素、极易被重楼吸收并累积有关。这与周浓等<sup>[13]</sup>对三峡库区重楼属药材的测定结果类似。

通过对17批样品的各重楼皂苷与无机元素含量进行逐步回归筛选并进行相关性分析可知:与重楼皂苷I含量相关的无机元素为Mg和Pb,其中Pb为负相关;与重楼皂苷II含量相关的无机元素为Cu和As,其中As为负相关;与重楼皂苷VI含量相关的无机元素为Sr、Hg和Mn,其中Mn为负相关;与重楼皂苷VII含量相关的无机元素为Na、Ni和As,其中As为负相关;与4种重楼皂苷总含量相关的无机元素为Ni、Sr和Fe,其中Fe为负相关。由此可知,云南产药材中重楼皂苷II含量普

# 佛甲草的化学成分研究<sup>Δ</sup>

田立文\*, 苏建伟, 钟 钺, 谢 扬<sup>#</sup>(南方医科大学药学院, 广州 510515)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2956-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.24

**摘要** 目的:研究佛甲草的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱、薄层色谱、结晶等方法对佛甲草中化学成分进行分离、纯化,根据化合物的理化性质和波谱数据分析和鉴定其结构。结果:从佛甲草的乙醇提取物石油醚部位中共分离得到6个甾醇类化合物和2个三萜类化合物,分别鉴定为豆甾-5-烯-3 $\beta$ -醇-7-酮(1)、豆甾-5-烯-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -二醇(2)、胡萝卜苷(3)、胡萝卜苷棕榈酸酯(4)、 $\beta$ -谷甾醇(5)、豆甾-7-烯-3 $\beta$ -醇(6)、 $\delta$ -香树脂醇(7)、 $\delta$ -香树脂酮(8)。结论:化合物3、4、7为首次从佛甲草中分离得到,其中化合物4为首次从佛甲草属植物中分离得到。该研究为佛甲草的质量评价奠定了一定基础。

**关键词** 佛甲草;甾醇;三萜

## Study on the Chemical Constituents of *Sedum lineare*

TIAN Liwen, SU Jianwei, ZHONG Cheng, XIE Yang (School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the chemical constituents of *Sedum lineare*. METHODS: Silica gel column chromatography, TLC and crystallization were adopted to isolate the chemical constituents of *S. lineare*. And chemical structures were analyzed and identified based on physicochemical properties and spectral data of compounds. RESULTS: A total of 6 sterols and 2 triterpenoids were isolated from petroleum ether fraction of *S. lineare*, which were identified as stigmaster-5-ene-3 $\beta$ -ol-7-one(1), stigmaster-5-ene-3 $\beta$ , 7 $\alpha$ -diol(2), daucosterol(3), daucosterol palmitate(4),  $\beta$ -sitosterol(5), stigmaster-7-ene-3 $\beta$ -ol(6),  $\delta$ -amyrin(7), and  $\delta$ -amyrone(8) respectively. CONCLUSIONS: Compounds 3, 4 and 7 are isolated from *S. lineare* for the first time, and compound 4 is isolated from genus *S. lineare* for the first time. The study has laid certain foundation for the quality evaluation of *S. lineare*.

**KEYWORDS** *Sedum lineare*; Sterols; Triterpenoids

佛甲草 *Sedum lineare* Thunb 为景天科 Crassulaceae 佛甲草属多年生草本植物,自然分布广泛,南北各省均有分布。其全草药用,具有清热解毒、散瘀消肿、止血之功效。在民间常用佛甲草治疗咽喉肿痛、痈肿、蛇咬伤、黄疸、痢疾等病症<sup>[1]</sup>。目

前报道的佛甲草属植物的化学成分有生物碱<sup>[2]</sup>、黄酮<sup>[3]</sup>、香豆素<sup>[4]</sup>、单宁<sup>[5]</sup>、甾体<sup>[6]</sup>以及三萜<sup>[7-9]</sup>等。

笔者对佛甲草全草进行了较系统的化学成分研究,从石油醚部位中分离得到了6个甾醇类化合物和2个三萜类化合

物。与其中 Cu 含量较高有一定关系。而剔除与有效成分含量呈正相关的有害元素,在栽培过程中适当添加 Mg、Sr、Na、Ni 等 4 种元素能否提高滇重楼药材中 4 种重楼皂苷的含量,值得进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015 年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:260.
- [2] 何俊, 张舒, 王红, 等. 滇重楼植物的研究进展[J]. 云南植物研究, 2006, 28(3):271.
- [3] 张金渝, 王元忠, 金航, 等. ICP-AES 法测定滇重楼中微量元素[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 8(29):2247.
- [4] 杨永红, 戴丽军, 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, 2010, 35(10):1557.
- [5] 黎晓敏, 贾仁勇, 王健, 等. 中药不同药性与无机元素关系

- 的研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(8):502.
- [6] 曾白林, 陈启霞, 居明乔. 微量元素与中药功效的相关性分析[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(7):658.
- [7] 常晓红, 李静. 浅谈中药与重金属[J]. 中国药业, 2011, 20(10):79.
- [8] 李恒. 重楼属植物[M]. 北京:科学出版社, 1998:35.
- [9] 罗静, 沈昱翔, 周浓, 等. HPLC 法测定 14 个不同产地滇重楼中薯蓣皂苷元的含量[J]. 中国药房, 2015, 26(21):2965.
- [10] 黄训瑞. ICP-MS 法测定生脉注射液中 5 种重金属元素的含量[J]. 中国药房, 2014, 25(17):1619.
- [11] 沈昱翔, 汪杨丽, 尹鸿翔, 等. 贵州省产滇重楼的资源调查与品质评价[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(6):688.
- [12] 李燕, 丁春邦, 张利, 等. 四川不同产地重楼中无机元素的测定[J]. 中草药, 2009, 40(6):968.
- [13] 周浓, 张杰, 郭冬琴, 等. 三峡库区栽培重楼中重金属元素的含量与评价[J]. 环境化学, 2015, 34(9):1758.

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31240045);南方医科大学青年科研人员启动基金(No.C1031887)

\* 讲师。研究方向:天然药物化学。电话:020-62789419。E-mail:lwitian@smu.edu.cn

<sup>#</sup> 通信作者:教授,硕士生导师,博士。研究方向:药用植物资源的开发与利用。电话:020-61648593。E-mail:yxie201203@126.com

(收稿日期:2016-02-23 修回日期:2016-03-23)

(编辑:张 静)