

· 资源与鉴定 ·

# 不同种植基地滇重楼根茎和叶中甾体皂苷类有效成分的差异及相关性分析

戴雪雯, 冯丽丽, 李海峰\*

(大理大学 药学与化学学院, 药物研究所, 云南 大理 671000)

**[摘要]** **目的:**探讨不同种植基地滇重楼根茎和叶中主成分及甾体皂苷类有效成分的差异及相关性。**方法:**采用液质联用技术(LC-MS)定性分析不同种植基地滇重楼根茎和叶中甾体皂苷类有效成分、主成分的差异及相关性,流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~12 min,45%~60% B;12~25 min,60%~30% B;25~28 min,30%~100% B;28~30 min,100% B;30~35 min,100%~45% B;35~40 min,45% B),检测波长203 nm,采用电喷雾离子源(ESI),正离子模式扫描,毛细管电压4 kV,终板抵消电压500 V,雾化器压力253.8 kPa,干燥气体为氮气,气体流速 $8 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ ,干燥温度 $350 \text{ }^\circ\text{C}$ ,离子源温度 $220 \text{ }^\circ\text{C}$ 。**结果:**定性检测到不同种植基地滇重楼根茎和叶中重楼皂苷I,重楼皂苷II,重楼皂苷III(薯蓣皂苷),重楼皂苷V,重楼皂苷VI,重楼皂苷VII,重楼皂苷H,纤细薯蓣皂苷8种甾体皂苷有效成分;重楼皂苷I,重楼皂苷III(薯蓣皂苷),重楼皂苷V,重楼皂苷VII是不同种植基地滇重楼根茎中的主要存在形式,重楼皂苷V和重楼皂苷VI是不同种植基地滇重楼叶中的主要存在形式;根据不同种植基地滇重楼根茎、叶正离子模式下液质数据的主成分分析模型可将其分为4类,其中巍山、南涧、弥渡、曲靖4个种植基地滇重楼根茎中主成分和不同种植基地滇重楼叶中主成分聚为一类。**结论:**不同种植基地滇重楼根茎和叶中8种主要甾体皂苷类有效成分存在较大差异;不同种植基地滇重楼根茎中主成分差异较大,而叶中主成分无显著差异。

**[关键词]** 滇重楼;根茎;叶;液质联用;甾体皂苷;薯蓣皂苷;主成分分析

**[中图分类号]** R282;R932;R284;O657.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0041-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030041

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171114.1258.042.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-14 12:58

## Analysis of Differences and Correlation of Steroidal Saponins in Rhizomes and Leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from Different Planting Base

DAI Xue-wen, FENG Li-li, LI Hai-feng\*

(Institute of Materia Medica, School of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the differences and correlations of steroidal saponins and principal components in rhizomes and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base. **Method:** The differences and correlations of steroidal saponins and principal components in the rhizomes and leaves of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base were qualitative analysis by LC-MS. **Result:** Polyphyllin I, polyphyllin II, polyphyllin III (dioscin), polyphyllin V, polyphyllin VI, polyphyllin VII, polyphyllin H and gracillin were detected in the rhizomes and leaves of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base; polyphyllin I, polyphyllin III (dioscin), polyphyllin V and polyphyllin VII were the main existing forms of steroidal saponins in the rhizomes of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting

**[收稿日期]** 20170810(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81360616)

**[第一作者]** 戴雪雯,在读硕士,从事药用植物次生代谢、品质评价及质量控制标准研究,Tel:18869827353,E-mail:1054760448@qq.com

**[通信作者]** \*李海峰,硕士,教授,从事药用植物次生代谢、品质评价及质量控制标准研究,Tel:0872-2251475,E-mail:lihzh888@sina.com

base; polyphyllin V and polyphyllin VI were the main existing forms of steroidal saponins in the leaves of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base; it can be classified into four categories according to the principal component analysis (PCA) model of the LC-MS data under the positive ion mode of rhizomes and leaves of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base, the principal component in rhizomes of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from Weishan, Nanjian, Midu and Qujing was classified into the same category with principal component in the leaves of samples from different planting base. **Conclusion:** There are significant differences of eight main steroidal saponins in the rhizomes and leaves of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base; there is significant differences of principal component in the rhizomes of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base, but there is little differences in the leaves.

**[ Key words ]** *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*; rhizome; leaf; liquid chromatography-mass spectrometry; steroidal saponins; dioscin; principal component analysis

滇重楼以干燥根茎入药<sup>[1]</sup>,被历版《中国药典》所收载,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效<sup>[2]</sup>。现代研究还发现其具有抗肿瘤、止血、免疫调节、镇静、镇痛等作用,是中成药云南白药系列、宫血宁胶囊、季德胜蛇药片、红药胶囊、热毒清片等的主要原料<sup>[3]</sup>。滇重楼的主要有效成分为甾体皂苷类物质<sup>[4]</sup>,其中重楼皂苷 I, II, VI, VII 总量是 2015 年版《中国药典》(一部)对重楼药材质量控制的指标<sup>[1]</sup>。

重楼皂苷 I, II, VI, VII 主要在植物的叶绿体中由异戊二烯代谢途径合成并进行储藏和分配,从叶经茎向下运输,最后主要在药用部位根茎中积累和储存<sup>[5]</sup>。本课题组前期研究发现<sup>[6-7]</sup>,不同种植基地滇重楼根茎和叶中重楼皂苷 I, II, VI, VII 含量差异较大,HPLC 指纹图谱相似度较低。因此,滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷有效成分的差异及相关性值得深入研究,本实验拟采用超高效液相色谱-电喷雾离子化-四级杆飞行时间串联高分辨质谱(UPLC-ESI-Q-TOF-MS)<sup>[8-9]</sup>对不同种植基地滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷有效成分进行快速有效分离,收集正离子模式下的数据,以对照品及文献数据为参考,对重楼甾体皂苷有效成分进行定性分析,对  $m/z$  50 ~ 2 000 的化学成分进行主成分分析(PCA)及主要差异峰分析,为研究滇重楼品质差异、生态适应的生物学本质及指导其中药材规范化种植(GAP)提供依据。

## 1 材料

UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪(美国戴安公司,包括 DGP-3600A 型双三元梯度泵,WPS-3000SL 型自动进样器,TCC-3000 型柱温箱,PDA-3000 型二极管阵列紫外检测器,Chromeleon 色谱工作站),Compact 型质谱系统(德国布鲁克·道尔顿公

司),AE240 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),FY135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),KL-UP-IV-2 型超纯水机(成都唐氏康宁科技发展有限公司)。

重楼皂苷 I, II, VI, VII 对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 111590-200402, 111591-200301, 111592-200301, 111593-200402, 纯度均  $\geq 98\%$ ),水为超纯水,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。以大理凤仪种植基地同一批次 5 年生滇重楼种苗为试验材料,经大理大学马晓匡教授鉴定为百合科植物滇重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* 的根茎和叶,分别在弥渡、楚雄、巍山、永平、凤仪、剑川、南涧、曲靖、云龙及漾濞 10 个种植基地进行栽培管理,每个基地种植 100 株;栽培 3 年后,每个种植基地随机采集无病虫害的植株 30 株,将采集样品的根茎和叶于恒温箱中 40 °C 干燥至恒重,供滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷有效成分的相关性分析用,种植基地及样品采集信息见表 1。

## 2 方法与结果

### 2.1 主要有效成分的 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 测定

**2.1.1 色谱条件** 采用 Acclaim™ 120 C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 3 μm),流动相水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 12 min, 45% ~ 60% B; 12 ~ 25 min, 60% ~ 30% B; 25 ~ 28 min, 30% ~ 100% B; 28 ~ 30 min, 100% B; 30 ~ 35 min, 100% ~ 45% B; 35 ~ 40 min, 45% B),检测波长 203 nm,柱温 30 °C,流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

**2.1.2 质谱条件** 采用电喷雾离子源(ESI),正离子模式扫描,毛细管电压 4 kV,终板抵消电压 500 V,雾化器压力 253.8 kPa,干燥气体为氮气,气体流速 8 L·min<sup>-1</sup>,干燥温度 350 °C,离子源温度 220 °C,扫描范围  $m/z$  50 ~ 2 000,碰撞气体为氩气,

表 1 不同种植基地滇重楼样品的信息

Table 1 Information of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* samples from different planting base

种植基地	样品来源	经纬度
S1	云南弥渡	N25°28.021', E100°25.536'
S2	云南楚雄	N26°03.572', E101°40.010'
S3	云南巍山	N26°53.918', E99°58.415'
S4	云南永平	N25°94.641', E100°41.827
S5	云南凤仪	N25°67.550', E99°03.183'
S6	云南剑川	N25°18.687', E100°32.467'
S7	云南南涧	N25°94.641', E100°41.827
S8	云南曲靖	N26°36.996', E104°25.613'
S9	云南云龙	N25°50.806', E99°29.320'
S10	云南漾濞	N25°59.488', E100°05.475'

注:部位均为根茎和叶,收集时间均为 2016 年 9 月。

扫描时碰撞能量 8 eV,六级杆射频 70 V<sub>pp</sub>,四级杆离子能量 8 eV,准确质量数用甲酸钠作校正液。

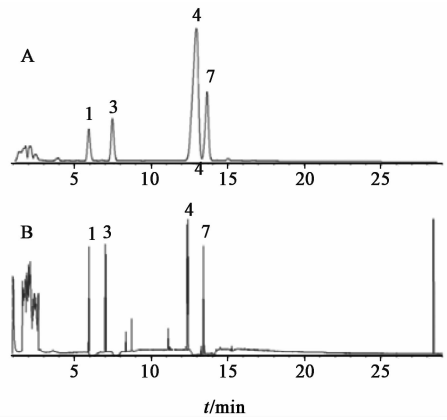
**2.1.3 对照品溶液的制备** 分别称取重楼皂苷 I, II, VI, VII 对照品适量,混合后置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,将配好的对照品溶液 4 °C 冰箱保存待用。

**2.1.4 供试品溶液的制备** 分别取不同种植基地滇重楼根茎和叶粉碎,过 100 目筛,50 °C 烘箱中干燥至恒重,分别精密称取不同种植基地滇重楼根茎和叶粉末 0.5 g 置于 50 mL 锥形瓶中,加入 75% 乙醇 4 mL,40 °C 超声(40 kHz)处理 20 min,经滤纸过滤,合并 3 次滤液,置于 10 mL 量瓶中,冷却至室温,加甲醇定容至刻度,混匀,得供试品溶液,使用前用 0.22 μm 微孔滤膜滤过。

**2.1.5 方法专属性** 对重楼皂苷 I, II, VI, VII 对照品进行 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 测定,分别采用正离子和负离子 2 种电喷雾电离模式进行质谱分析,结果显示在正离子模式下显示出了较好的响应,而在负离子模式下响应较小,因此均收集在正离子模式下测定的实验数据进行分析,见图 1。

对弥渡、楚雄、巍山、永平、凤仪、剑川、南涧、曲靖、云龙、漾濞不同种植基地的滇重楼根茎和叶进行 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 测定,收集在正离子模式下测定的数据,见图 2,3。

**2.2 滇重楼根茎和叶中主要有效成分的分子式分析** 取 2.1.3 及 2.1.4 项下配制的对照品溶液和供试品溶液适量,按 2.1.1 和 2.1.2 项下条件测定,利用 Data Analysis 4.3 软件对所得数据进行分析,并



1. 重楼皂苷 VII; 3. 重楼皂苷 VI; 4. 重楼皂苷 II; 7. 重楼皂苷 I

图 1 重楼皂苷类成分对照品的 UPLC (A) 和总离子流 (B)

Fig.1 UPLC (A) of polyphyllin reference substances and total ion current (B) chromatograms

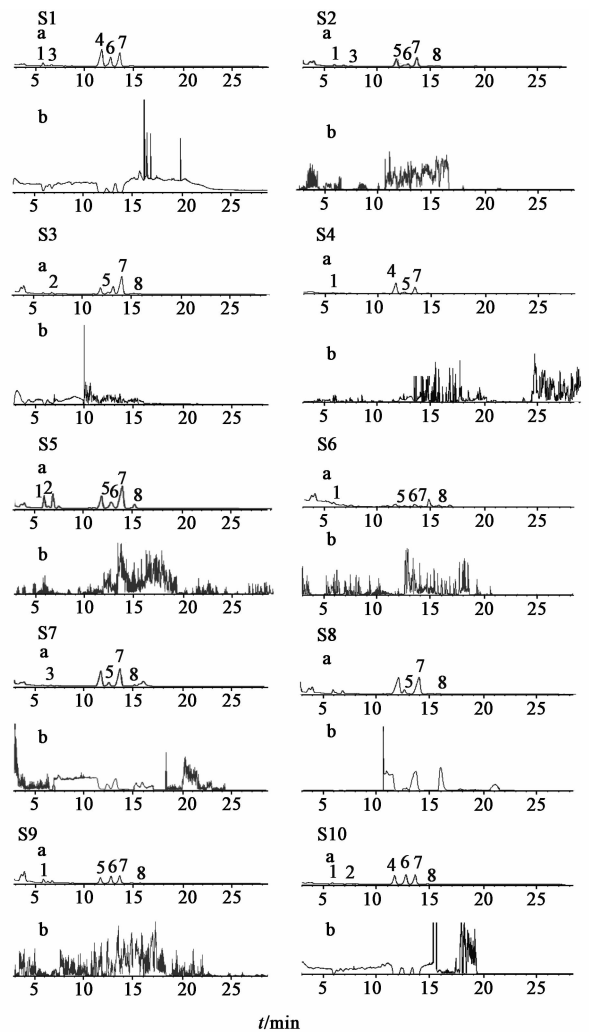


图 2 不同种植基地滇重楼根茎的 UPLC (a) 和总离子流 (b)

Fig.2 UPLC (a) and total ion current (b) chromatograms of rhizomes of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

与对照品的质谱信息进行匹配,分析并鉴定滇重楼

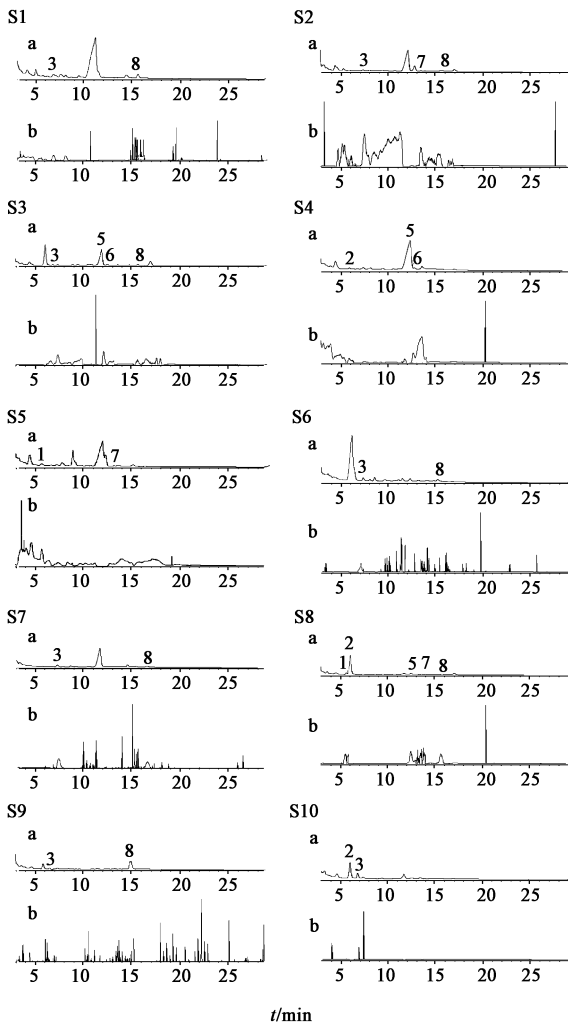


图 3 不同种植基地滇重楼叶的 UPLC (a) 和总离子流 (b)  
Fig. 3 UPLC (a) and total ion current (b) chromatograms of leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

表 2 不同种植基地滇重楼根茎中主要甾体皂苷类有效成分的相对分子质量及误差比较

Table 2 Relative molecular masses and errors of main steroidal saponins in rhizomes of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

种植 基地	No.	甾体皂苷 类成分	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>		种植 基地	No.	甾体皂苷 类成分	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>			
			m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm				m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm		
S1	1	重楼皂苷 VII	1 031.540 8	1.3	-	-	S3	2	重楼皂苷 H	871.465 4	3.4	-	-		
	3	重楼皂苷 VI	-	-	761.410 8	-3.3		5	薯蓣皂苷	869.486 8	2.9	-	-		
	4	重楼皂苷 II	1 015.547 3	3.5	-	-		7	重楼皂苷 I	855.473 8	1.7	-	-		
	6	纤细薯蓣皂苷	885.398 9	-4.1	-	-		8	重楼皂苷 V	723.430 8	0.1	-	-		
	7	重楼皂苷 I	855.469 8	4.5	-	-		S4	1	重楼皂苷 VII	1 031.543 5	-1.1	-	-	
	S2	1	重楼皂苷 VII	1 031.538 7	2.8	-			-	4	重楼皂苷 II	1 015.549 2	-3.4	-	-
		3	重楼皂苷 VI	739.429 3	-4.0	-			-	5	薯蓣皂苷	869.491 2	-0.9	-	-
	5	薯蓣皂苷	869.487 6	1.9	-	-	7	重楼皂苷 I	855.477 5	-4.4	-	-			
	6	纤细薯蓣皂苷	885.481 7	3.1	-	-	S5	1	重楼皂苷 VII	1 031.540 9	1.2	-	-		
	7	重楼皂苷 I	855.470 6	1.1	-	-		2	重楼皂苷 H	871.466 6	2.3	-	-		
	8	重楼皂苷 V	723.430 9	-0.2	-	-	5	薯蓣皂苷	869.487 2	2.5	-	-			

根茎和叶中的甾体皂苷类主要有效成分。在正离子模式下,用甲酸钠峰( $m/z$  90.976 6)进行 ESI 内部校正,模式为高效率校正模式(HPC),搜索范围 0.05,强度 1 000,设置 Q-TOF micro 外标法最大误差为 5 ppm( $m/z > 400$ )或 4 mDa( $m/z < 400$ )。对滇重楼根茎和叶中甾体皂苷类主要有效成分的分子式进行鉴定,计算质谱图中所出峰组分的分子式及某一特定质量( $m/z$ )峰的分子式,选中质谱图中对应的分子离子峰,即可输出对应的分子式及误差,见表 2,3。

分子离子峰分析结果见图 4。2 号峰,负离子模式可见  $m/z$  915.430 5 [M + HCOOH]<sup>-</sup>;正离子模式可见  $m/z$  871.468 6 [M + H]<sup>+</sup>,  $m/z$  893.450 5 [M + Na]<sup>+</sup> 和  $m/z$  413.456 6 [M + H - H<sub>2</sub>O - ara - rha - glc]<sup>+</sup>,其中  $m/z$  413 为偏诺皂苷元的特征离子<sup>[10-11]</sup>,结合出峰时间与离子碎片可推测为重楼皂苷 H (C<sub>44</sub>H<sub>70</sub>O<sub>17</sub>)。5 号峰,负离子模式可见  $m/z$  913.644 6 [M + HCOOH]<sup>-</sup>;正离子模式可见  $m/z$  869.489 3 [M + H]<sup>+</sup>,结合出峰时间与离子碎片可推测为重楼皂苷 III (C<sub>45</sub>H<sub>72</sub>O<sub>16</sub>)。6 号峰<sup>[10-11]</sup>,负离子模式可见  $m/z$  929.910 0 [M + HCOOH]<sup>-</sup>,  $m/z$  575.073 3 [M - H - rha - glc]<sup>+</sup> 和  $m/z$  413.119 8 [M - H - rha - 2glc]<sup>+</sup>;正离子模式可见  $m/z$  885.484 2 [M + H]<sup>+</sup> 和  $m/z$  907.466 2 [M + Na]<sup>+</sup>,结合出峰时间与离子碎片可推测为纤细薯蓣皂苷 (C<sub>45</sub>H<sub>72</sub>O<sub>17</sub>)。8 号峰,负离子模式可见  $m/z$  767.372 3 [M + HCOOH]<sup>-</sup>;正离子模式可见  $m/z$

续表 2

种植 基地	No.	甾体皂苷 类成分	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>		种植 基地	No.	甾体皂苷 类成分	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>	
			m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm				m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm
S6	6	纤细薯蓣皂苷	885.482 2	2.3	-	-	S9	7	重楼皂苷 I	855.470 7	3.4	-	-
	7	重楼皂苷 I	855.475 4	-2.0	-	-		8	重楼皂苷 V	-	-	745.416 5	-4.2
	8	重楼皂苷 V	-	-	745.413 9	-0.8		1	重楼皂苷 VII	1 031.541 1	1.0	-	-
	1	重楼皂苷 VII	1 031.540 7	1.4	-	-		5	薯蓣皂苷	869.488 6	0.9	-	-
	5	薯蓣皂苷	869.491 1	-2.0	-	-		6	纤细薯蓣皂苷	885.480 4	4.3	-	-
	6	纤细薯蓣皂苷	885.482 8	1.7	-	-		7	重楼皂苷 I	-	-	877.459 2	-4.1
	7	重楼皂苷 I	855.469 6	-4.4	-	-		8	重楼皂苷 V	-	-	745.416 4	-2.6
	8	重楼皂苷 V	723.433 3	-2.6	-	-		S10	1	重楼皂苷 VII	1 031.538 7	3.3	-
S7	3	重楼皂苷 VI	-	-	761.407 4	1.2	2		重楼皂苷 H	871.464 7	4.5	-	-
	5	薯蓣皂苷	869.485 3	4.6	-	-	4		重楼皂苷 II	1 015.550 2	-2.9	-	-
	7	重楼皂苷 I	855.469 7	4.7	-	-	6		纤细薯蓣皂苷	885.484 6	-0.4	-	-
	8	重楼皂苷 V	-	-	745.409 6	5.0	7		重楼皂苷 I	855.473 5	0.1	-	-
S8	5	薯蓣皂苷	869.487 5	2.1	-	-	8		重楼皂苷 V	723.434 1	-3.8	-	-

表 3 不同种植基地滇重楼叶中主要甾体皂苷类有效成分的相对分子质量及误差比较

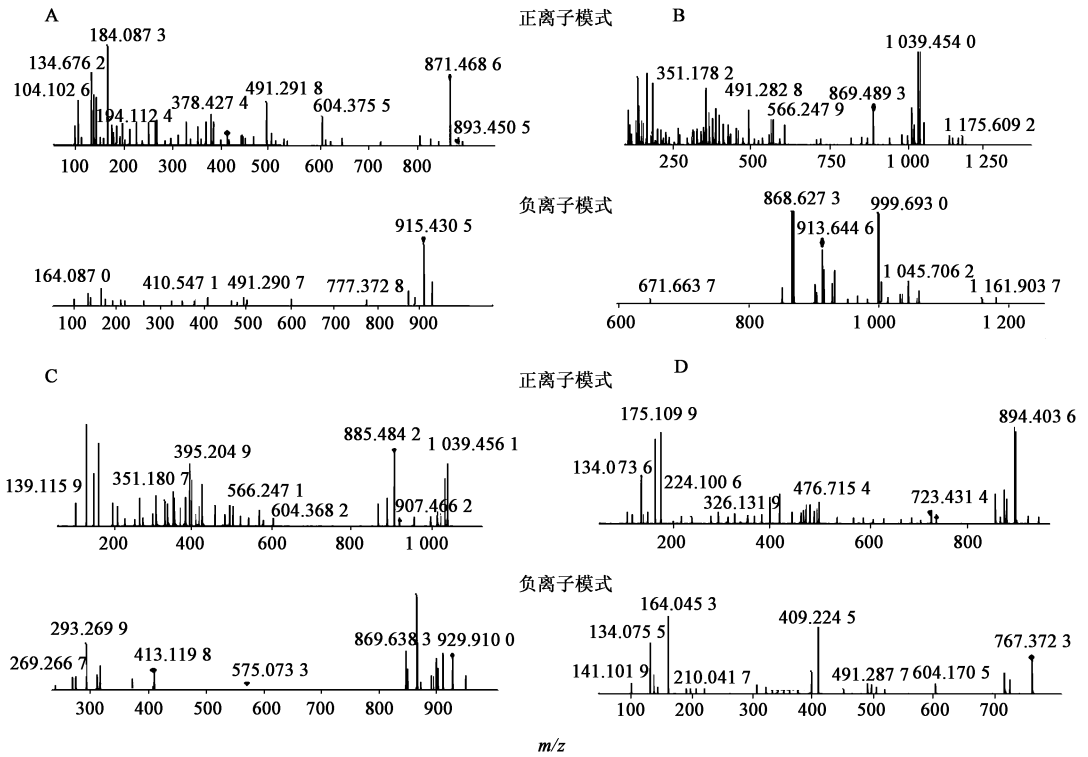
Table 3 Relative molecular masses and errors of main steroidal saponins in leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

种植 基地	No.	甾体皂苷	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>		种植 基地	No.	甾体皂苷	[M + H] <sup>+</sup>		[M + Na] <sup>+</sup>	
			m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm				m/z	δ/ppm	m/z	δ/ppm
S1	3	重楼皂苷 VI	-	-	761.410 8	-3.3	S6	3	重楼皂苷 VI	739.425 7	0.8	761.410 4	-2.8
	8	重楼皂苷 V	723.431 1	0.4	-	-		8	重楼皂苷 V	723.434 0	-3.6	-	-
S2	3	重楼皂苷 VI	739.426 1	0.3	-	-	S7	3	重楼皂苷 VI	-	-	761.408 7	-0.5
	7	重楼皂苷 I	855.473 9	-0.2	-	-		7	重楼皂苷 I	855.474 6	-1.1	-	-
	8	重楼皂苷 V	-	-	723.415 0	-2.3		8	重楼皂苷 V	723.437 7	-3.1	-	-
S3	3	重楼皂苷 VI	-	-	761.409 2	-1.3	S8	1	重楼皂苷 VII	1 031.545 1	-2.4	-	-
	5	薯蓣皂苷	869.482 8	3.2	-	-		2	重楼皂苷 H	-	-	893.449 6	1.1
	6	纤细薯蓣皂苷	855.480 7	4.0	-	-		5	薯蓣皂苷	869.487 3	2.3	-	-
	8	重楼皂苷 V	-	-	745.414 8	-2.0		7	重楼皂苷 I	-	-	877.457 9	-2.6
S4	2	重楼皂苷 H	871.472 6	-4.6	-	-	S9	8	重楼皂苷 V	-	-	745.410 5	3.5
	5	薯蓣皂苷	869.490 0	-0.8	-	-		3	重楼皂苷 VI	739.422 4	5.3	-	-
	6	纤细薯蓣皂苷	-	-	907.464 5	1.8		8	重楼皂苷 V	723.429 9	2.1	-	-
S5	1	重楼皂苷 VII	1 031.544 1	-2.8	-	-	S10	2	重楼皂苷 H	871.465 6	3.5	-	-
	7	重楼皂苷 I	855.470 7	3.4	-	-		3	重楼皂苷 VI	-	-	761.408 7	-0.6

723.431 4 [M + H]<sup>+</sup> 和 m/z 745.413 3 [M + Na]<sup>+</sup>, 结合出峰时间与离子碎片可推测其为重楼皂苷 V (C<sub>39</sub>H<sub>62</sub>O<sub>12</sub>)。其中 rha 表示鼠李糖, ara 表示阿拉伯糖, glc 表示葡萄糖, 甾体皂苷类成分的结构式见图 5。

不同种植基地滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷类有效成分的检测结果见表 4。结果发现不同种植基地滇重楼根茎中均能检测到重楼皂苷 I, 除 S1

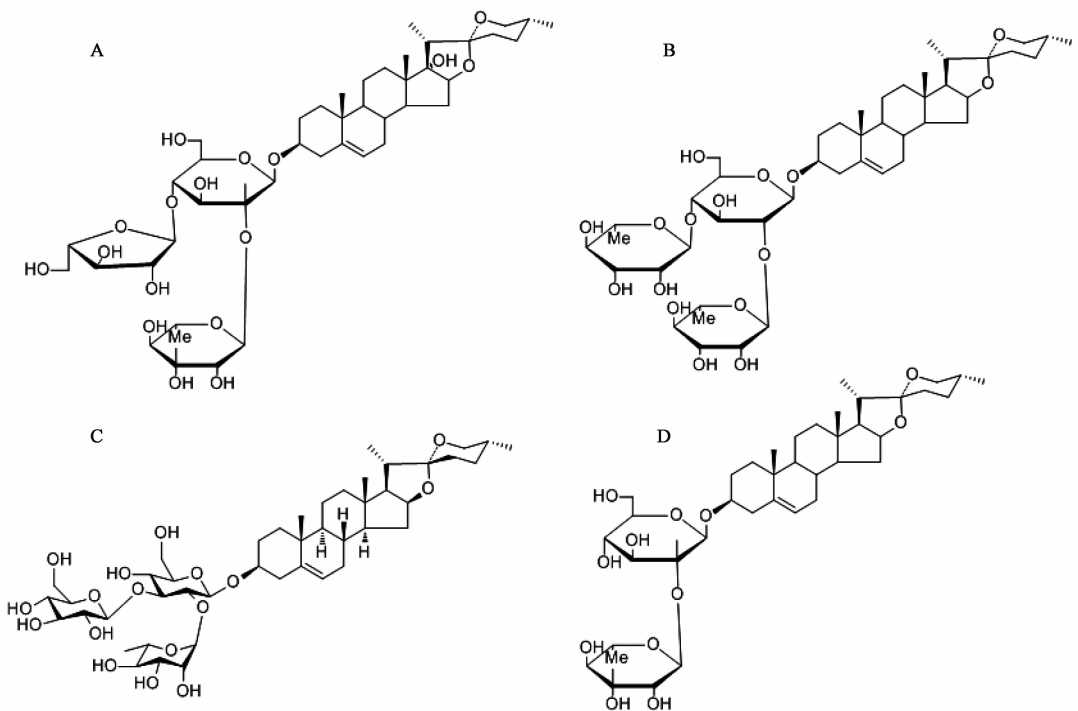
(弥渡), S4(永平)外, 其他种植基地滇重楼根茎中均检测到了重楼皂苷 V; 除 S1(弥渡), S10(漾濞)外, 其他种植基地滇重楼根茎中均检测到了重楼皂苷 III(薯蓣皂苷); 除 S3(巍山), S7(南涧), S8(曲靖)外, 其他种植基地滇重楼根茎中均检测到重楼皂苷 VII; 除 S3(巍山), S4(永平), S7(南涧), S8(曲靖)外, 其他种植基地滇重楼根茎中均检测到纤细



A. 重楼皂苷 H; B. 薯蓣皂苷; C. 纤细薯蓣皂苷; D. 重楼皂苷 V

图 4 滇重楼中甾体皂苷类成分的 MS

Fig. 4 MS of steroidal saponins in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*



A. 重楼皂苷 H; B. 薯蓣皂苷; C. 纤细薯蓣皂苷; D. 重楼皂苷 V

图 5 滇重楼中甾体皂苷类成分的结构式

Fig. 5 Structural formula of steroidal saponins in *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*

薯蓣皂苷; 仅在 S3(巍山), S5(凤仪), S10(漾濞) 种

种植基地滇重楼根茎中检测到重楼皂苷 H; 仅在 S1

(弥渡), S2(楚雄), S7(南涧) 种植基地滇重楼根茎中检测到重楼皂苷 VI; 仅在 S1(弥渡), S4(永平), S10(漾濞) 种植基地滇重楼根茎中检测到重楼皂苷 II。除 S4(永平), S5(凤仪), S10(漾濞) 外, 其余种植基地滇重楼叶中均能检测到重楼皂苷 V; 除 S4(永平), S5(凤仪), S8(曲靖) 外, 其余种植基地滇重楼叶中均检测到重楼皂苷 VI; 仅在 S5(凤仪), S8(曲靖) 种植基地滇重楼叶中能检测到重楼皂苷 VII; 仅在 S3(巍山), S4(永平) 种植基地滇重楼叶中检测到纤细薯蓣皂苷; 仅在 S4(永平), S8(曲靖), S10(漾濞) 种植基地滇重楼叶中检测到重楼皂苷 H; 仅在 S3(巍山), S4(永平), S8(曲靖) 种植基地滇重楼叶中检测到重楼皂苷 III(薯蓣皂苷); 不同种植基地滇重楼叶中均未检测到重楼皂苷 II。

表 4 不同种植基地滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷类有效成分分析

Table 4 Analysis of main steroidal saponins in rhizomes and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

种植基地	部位	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 H	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II	重楼皂苷 III(薯蓣皂苷)	纤细薯蓣皂苷	重楼皂苷 I	重楼皂苷 V
S1	根茎	√		√	√		√	√	
	叶			√					√
S2	根茎	√		√		√	√	√	√
	叶			√				√	√
S3	根茎		√			√		√	√
	叶			√		√	√		√
S4	根茎	√			√	√	√	√	
	叶		√			√	√		
S5	根茎	√	√			√	√	√	√
	叶	√						√	
S6	根茎	√				√	√	√	√
	叶			√					√
S7	根茎			√		√		√	√
	叶			√				√	√
S8	根茎					√		√	√
	叶	√	√			√	√	√	√
S9	根茎	√				√	√	√	√
	叶			√					√
S10	根茎	√	√		√		√	√	√
	叶		√	√					

2.3 主成分分析(PCA)模型的建立 将 2.2 项下原始数据导入 Profile Analysis 软件, 根据不同种植基地滇重楼根茎和叶进行单因素分组建模, 建立

PCA 模型, 分析不同种植基地滇重楼根茎和叶中所含化学成分的差异。时间范围 0.2~40 min, 质量范围  $m/z$  50~2 000, 时间容差 2 min, 质量容差  $m/z$  1.0, 强度归一化, 无数据前处理、无干扰峰扣除、无背景扣除。PCA 分析结果显示窗口见图 6, 主要差异峰分析见图 7。

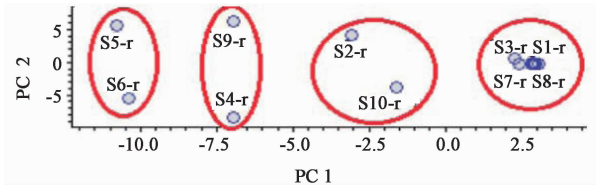


图 6 不同种植基地滇重楼根茎、叶中化学成分差异的 PCA 分析  
Fig. 6 PCA analysis of differences in chemical components in rhizomes and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

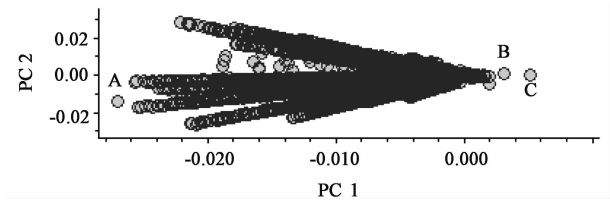


图 7 不同种植基地滇重楼根茎、叶中主要差异峰的分析  
Fig. 7 Analysis of major differences peak in rhizomes and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* from different planting base

结果显示在 PC1 维度, 不同种植基地滇重楼根茎、叶中主成分能够得到较好的区分, 大致可聚为 4 类。S3(巍山), S7(南涧), S1(弥渡) 和 S8(曲靖) 4 个种植基地滇重楼根茎(r) 中主成分和 10 个不同种植基地滇重楼叶中主成分分布较集中, 可聚为第 1 类; S2(楚雄) 和 S10(漾濞) 2 个种植基地滇重楼根茎(r) 中主成分可聚为第 2 类, 与第 1 类距离较近; S4(永平) 和 S9(云龙) 2 个种植基地滇重楼根茎(r) 中主成分可聚为第 3 类; S5(凤仪) 和 S6(剑川) 2 个种植基地滇重楼根茎(r) 中主成分可聚为第 4 类, 与第 1 类距离最远。因此不同种植基地滇重楼根茎中主成分差异较大, 而叶中主成分聚在一起, 差异较小, 且不同种植基地滇重楼根茎中主成分和叶中主成分差异较小。其中 S5(凤仪) 和 S6(剑川) 2 个种植基地滇重楼根茎距离中心最远, 说明其与其他种植基地滇重楼根茎中主成分存在较大主要差异峰差异, 其他类别滇重楼根茎中主成分也存在一定差异, 且从分析结果可知, 主要差异峰在 1.70 min,  $m/z$  164.500 (A); 3.70 min,  $m/z$  235.500 (B) 及 7.70 min,  $m/z$  219.500 (C) 3 个时间点的差异最大。

### 3 讨论

应用 UPLC-MS 联用方法能够更好地对滇重楼主要有效成分进行检测,本研究利用其高灵敏度、高分离度及高特异性等特点定性检测到不同种植基地滇重楼根茎和叶中重楼皂苷 I,重楼皂苷 II,重楼皂苷 III(薯蓣皂苷),重楼皂苷 V,重楼皂苷 VI,重楼皂苷 VII,重楼皂苷 H,纤细薯蓣皂苷 8 种甾体皂苷类有效成分,使得一些通过一般液相色谱很难检测出来的成分也能被检测到。分析结果表明在根茎中,10 个种植基地均检测到重楼皂苷 I,8 个种植基地检测到重楼皂苷 III(薯蓣皂苷),7 个种植基地中检测到重楼皂苷 VII;而在叶中,7 个种植基地检测到了重楼皂苷 VI,且滇重楼根茎和叶中均有较多种植基地检测到重楼皂苷 V,其余甾体皂苷类成分均仅在较少基地检测到。因此,重楼皂苷 I,重楼皂苷 III(薯蓣皂苷)和重楼皂苷 VII 是不同种植基地滇重楼根茎中的主要存在形式,重楼皂苷 VI 是不同种植基地滇重楼叶中的主要存在形式,而重楼皂苷 V 则是滇重楼根茎和叶二者的主要存在形式。甾体皂苷类有效成分主要在滇重楼根茎中积累和储存<sup>[5,12]</sup>,主要原因可能是甾体皂苷类有效成分在滇重楼叶绿体中合成并进行储藏和分配,甾体皂苷类有效成分容易从叶经茎向下运输。同时,虽然同样来源于道地产区,不同种植基地的滇重楼根茎和叶中主要甾体皂苷类有效成分也存在较大差异,而这种差异可能是不同的土壤、生态因子的共同作用下所造成的,这也正是不同产地药材品质优劣形成的本质,其形成原因也值得进一步深入探讨。

根据不同种植基地滇重楼根茎、叶正离子模式下得到的液质数据的 PCA 模型可知,不同种植基地滇重楼根茎中主成分存在较大差异,而不同种植基地滇重楼叶中主成分无显著差异,仅巍山、南涧、弥渡、曲靖 4 个种植基地滇重楼根茎中主成分和不同种植基地滇重楼叶中主成分聚为一类,且差异较小。

因此,仅利用此依据不能完全说明大理白族民间利用滇重楼叶替代根茎入药是可行的,还需进一步作相关的药理、毒性研究证明。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:260.
- [2] 王跃虎,牛红梅,张兆云,等. 重楼属药用植物的药用价值及其化学物质基础[J]. 中国中药杂志,2015,40(5):833-839.
- [3] 李恒,苏豹,张兆云,等. 中国重楼资源现状评价及其种植业的发展对策[J]. 西部林业科学,2015,44(3):1-7,15.
- [4] 李恒. 重楼属植物[M]. 北京:科学出版社,1998:118.
- [5] 李海涛,罗先文,管燕红,等. 云南省不同地区滇重楼皂苷含量的对比及影响因子分析[J]. 中国中药杂志,2014,39(5):803-806.
- [6] 冯丽丽,张琳,李海峰,等. 滇重楼次生代谢产物甾体皂苷活性成分代谢规律的研究[J]. 中国药学杂志,2015,50(8):664-670.
- [7] 冯丽丽,张琳,李海峰,等. 滇重楼品质评价及其甾体皂苷类成分积累规律分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(13):41-45.
- [8] 高佳,程晓昆,班璐,等. 液质联用技术的应用与发展[J]. 当代化工研究,2016(5):86-87.
- [9] 陈莉. LC-Q-TOF-MS 在中药中的应用研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析,2016,16(1):292.
- [10] 谢俊大,孙磊. 重楼药材多指标含量分析及化学计量学综合质量评价[J]. 药物分析杂志,2015,35(9):1585-1590.
- [11] 毕葳,沈旻,王鹏龙,等. 重楼中几个甾体皂苷类成分对鸡胚绒毛尿囊膜血管生成的影响[J]. 中成药,2012,34(8):1536-1541.
- [12] 刘立敏,韩多,赵志莲,等. 重楼属药用植物叶中主要次生代谢产物积累差异的研究[J]. 中国药学杂志,2016,51(11):875-879.

[责任编辑 刘德文]