

· 资源与质量评价 ·

关于完善 2020 年版《中国药典》重楼饮片质量标准

巨博雅^{1,2}, 李燕敏², 朱厚达^{2,3}, 房蕴歌², 王瑞¹, 陈两绵², 高慧敏^{2*}, 王智民^{2*}

(1. 山西中医药大学, 太原 030619;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700;

3. 河南中医药大学 药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 开展重楼饮片【性状】【薄层鉴别】和【含量测定】研究, 为完善 2020 年版《中国药典》重楼饮片质量标准提供参考。方法: 采用文献总结和实际样品观察进行性状描述; 采用薄层色谱法进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定市售和自制饮片中重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 的含量; 采用 UPLC 法测定自制饮片中 10 种甾体皂苷(伪原薯蓣皂苷, 重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 H, 重楼皂苷 VI, 重楼皂苷 II, 薯蓣皂苷, 纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 I 和重楼皂苷 V) 的含量。结果: 饮片外观性状上, 除了色泽、质地、气味, 增加直径 1.0~4.5 cm 的限定。薄层色谱图中正品重楼多不能检出重楼皂苷 VI, 伪品头顶一颗珠在相应位置斑点清晰。13 批市售样品中只有 5 批符合现行 2015 年版《中国药典》规定的“重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 之和不低于 0.6% 的要求”。炮制过程软化和干燥方式对甾体皂苷含量有明显影响, 以浸泡、晒干较好。结论: 建议新增性状, 将重楼皂苷 VI 从薄层鉴别删除, 以重楼皂苷 H 替代重楼皂苷 VI 进行含量限度控制, 规定“重楼皂苷 I, II, H 和 VII 之和应不低于 1.0%”。

[关键词] 重楼; 性状; 重楼皂苷; 质量标准

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)19-0093-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20191617

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190505.0907.006.html>

[网络出版时间] 2019-05-08 9:38

Improving Quality Standard of Processed Slices of *Paridis Rhizoma* of *Chinese Pharmacopoeia*

JU Bo-ya^{1,2}, LI Yan-min², ZHU Hou-da^{2,3}, FANG Yun-ge², WANG Rui¹,

CHEN Liang-mian², GAO Hui-min^{2*}, WANG Zhi-min^{2*}

(1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicine, Beijing 100700, China;

3. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the appearance description, TLC examination and content determination was carried out, in order to improve the quality standard of processed slices of *Paridis Rhizoma* in the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. **Method:** Based on the literature review and observation on the samples, the appearance description was described. TLC examination was used for the qualitative analysis. HPLC was used for the determination of polyphyllin I, II, VI and VII in the commercial and processed samples. UPLC was employed for the determination of 10 steroidal saponins, namely pseudoprotodioscin, polyphyllin VII,

[收稿日期] 20190308(004)

[基金项目] 国家重点研发计划“中医药现代化研究”专项(2017YFC1701900); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-FJ-09); 2018 年度国家药品标准提高任务(2018Z005)

[第一作者] 巨博雅, 在读硕士, 从事中药化学与质量评价研究, Tel/Fax: 010-84014128, E-mail: 873949855@qq.com

[通信作者] * 高慧敏, 研究员, 从事中药化学与质量评价研究, Tel/Fax: 010-84014128, E-mail: hmga@icmm.ac.cn;

* 王智民, 研究员, 从事中药化学与质量评价研究, Tel/Fax: 010-84014128, E-mail: zhmw123@263.net

17-hydroxygracillin, polyphyllin H, polyphyllin VI, polyphyllin II, dioscin, gracilin, polyphyllin I and polyphyllin V. **Result:** For the appearance description, color and luster, texture, odor and taste as well as the diameter of 1.0-4.5 cm were recorded. polyphyllin VI was not detected in the thin layer chromatograms of most of the tested samples derived from high-quality species but obviously detected in those of Trillium Rhizoma. Five of 13 commercial samples met the requirements that the total amounts of polyphyllin VII, VI, II, and I should be no less than 0.6% according to the current *Chinese Pharmacopoeia*. Because softening and drying had the obvious influence on the contents of steroidal saponins in the samples, soaking and sun-drying were preferred. **Conclusion:** Appearance description should be supplemented. Polyphyllin VI is not considered as one of quality markers for the TLC identification and HPLC determination of Paridis Rhizoma. Polyphyllin H was considered as a new marker for the quality control. It is recommended that the total amounts of polyphyllin VII, H, II, and I should be no less than 1.0%.

[**Key words**] Paridis Rhizoma; property; polyphyllin; quality standard

中药饮片是临床汤剂和中成药生产的原料,是保障中医临床用药和中药产业健康发展的基础^[1]。自 2010 年版《中国药典》药材与饮片标准分列之后,中药饮片质量标准呈现出明显的进步^[2],有效提升了中药饮片的质量控制水平,促进了饮片行业的良性可持续发展。不容忽视的是,影响饮片质量的突出问题依然存在,中药饮片质量标准的完善和提高工作一直在路上。因此,国家药典委员会设置专项研究,以填平补齐的方式开展 2020 年版《中国药典》饮片标准的增修订工作^[3]。

重楼为百合科植物云南重楼或七叶一枝花的干燥根茎,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊的作用^[4],是云南白药、季德胜蛇药片、宫血宁等多种中成药的主要原料。由于原药材资源紧缺,重楼饮片质量问题突出,掺伪现象普遍存在。在文献报道以及国家局组织的专项抽验行动中,多批次重楼饮片检测合格率不足 30%^[5-6]。亟需完善重楼饮片的质量标准,引导市场有序提升其整体质量,保障临床用药安全有效。2015 年版《中国药典》重楼饮片项下仅收载【炮制】项“除去杂质,洗净,润透,切薄片,晒干”,属于凡例十二“饮片炮制项为净制、切制的,其饮片名称或相关项目与药材相同”的范畴。目前该标准主要存在以下问题:①缺乏饮片性状描述;②不能有效区分掺伪品,比如头顶一颗珠,尽管两者的药材通过外观性状可以区分,但饮片不易区分;同时,现版标准中以重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 为质控指标进行鉴别和含量测定,特别是重楼皂苷 VI,在头顶一颗珠中质量分数高达 1.4%~4.0%^[7],这也是市场上常用头顶一颗珠掺伪重楼饮片的原因所在。因此,本研究在归纳和总结各省市炮制规范的基础上,对不同批次样品进行定性、定量分析,

增补【性状】,修订其【薄层鉴别】和【含量测定】项,为 2020 年版《中国药典》重楼饮片质量标准的提高提供参考。

1 材料

LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司), UPLC ACQUITY 型超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), DHG-9140A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司), BSA2245-CW 型分析天平, TE412-L 型电子天平[(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司)], FW100 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司), 数显游标卡尺(上海美耐特实业有限公司)。

重楼(云南重楼)对照药材,重楼皂苷 I,重楼皂苷 II,重楼皂苷 VI,重楼皂苷 VII,薯蓣皂苷,伪原薯蓣皂苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 121157-201003, 111590-200402, 111591-201103, 111591-201103, 111593-201303, 111707-2-201405, 111855-201403);重楼皂苷 V 和纤细薯蓣皂苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为 Y19F7H9835, HN1126XA14);偏诺皂苷元 3-O-β-D-吡喃葡萄糖-(1→3)-[α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)]-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(17-羟基纤细薯蓣皂苷)和重楼皂苷 H 为实验室从七叶一枝花根茎中分离得到, HPLC 面积归一化法纯度 >98%;偏诺皂苷元 3β-O-α-L-吡喃鼠李糖-(1→4)-[α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)]-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(PGRR)为军事医学科学院马百平研究员馈赠。甲醇、乙腈为色谱纯(Fisher);其他试剂为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

11 批市售重楼饮片(SS-1~SS-11)购买于全国各地的医院、药店及主流药材市场,具体信息见表 1。14 批自制饮片(ZZD-1, ZZD-2 和 ZZH-1~

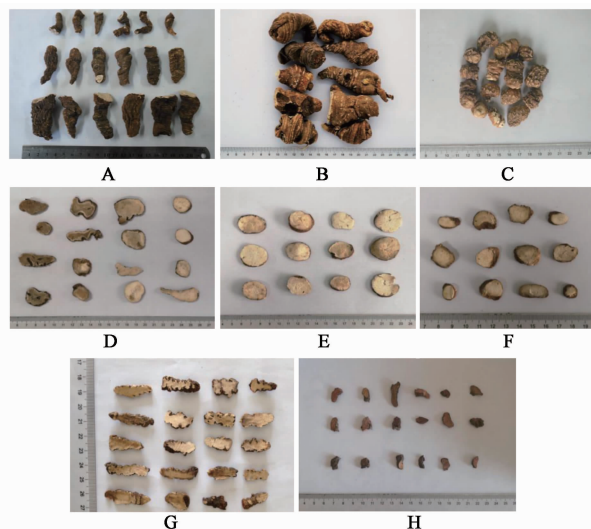
ZZH-12) 分别由 2 批原药材按照 2015 年版《中国药典》收载炮制方法进行制备, 其中 1 批原药材为云南重楼 *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* 的根茎, 购自安徽省亳州市三义堂药业有限公司, 另 1 批为七叶一枝花 *P. polyphylla* var. *chinensis* 的根茎, 购自福建承天药业光泽基地。另有 2 批饮片 (SS-12 和

SS-13) 由饮片厂按照生产工艺进行制备。为了对比正品和主流伪品, 收集了 7 批头顶一颗珠药材, 经中国医学科学院药用植物研究所郭宝林研究员鉴定为延龄草 *Trillium tschonoskii* 或吉林延龄草 *T. kamschaticum* 的根茎。重楼药材 (云南重楼和七叶一枝花), 饮片及其主流混伪品见图 1。

表 1 重楼样品信息

Table 1 Information of tested samples

编号	购买时间	采集/购买地点	备注
SS-1	2014-08	北京同仁堂药店	市售饮片
SS-2	2014-08	广州采芝林药业连锁药店	市售饮片
SS-3	2014-08	新疆和田人民医院	市售饮片
SS-4	2014-08	宝鸡医药大厦有限公司	市售饮片
SS-5	2014-08	庆阳市绿叶医药超市	市售饮片, 鉴定为伪品紫参
SS-6	2014-08	江苏省中西医结合医院	市售饮片
SS-7	2014-08	广西保民大药房连锁有限公司	市售饮片
SS-8	2014-08	四川德仁堂药房	市售饮片
SS-9	2014-08	四川科化天然药业有限公司	市售饮片
SS-10	2016-05	河南省中医药研究院附属医院	市售饮片
SS-11	2017-06	成都荷花池市场	市售饮片
SS-12	2018-12	安徽亳州沪樵饮片厂	原药材为栽培云南重楼
SS-13	2018-12	安徽亳州沪樵饮片厂	原药材为野生云南重楼
ZZH-1	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 小档, 浸泡、切片、晒干
ZZH-2	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 小档, 浸泡、切片、烘干
ZZH-3	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 小档, 浸润、切片、晒干
ZZH-4	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 小档, 浸润、切片、烘干
ZZH-5	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 中档, 浸泡、切片、晒干
ZZH-6	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 中档, 浸泡、切片、烘干
ZZH-7	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 中档, 浸润、切片、晒干
ZZH-8	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 中档, 浸润、切片、烘干
ZZH-9	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 大档, 浸泡、切片、晒干
ZZH-10	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 大档, 浸泡、切片、烘干
ZZH-11	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 大档, 浸润、切片、晒干
ZZH-12	2017-11	福建承天药业光泽县种植基地	原药材为七叶一枝花, 大档, 浸润、切片、烘干
ZZD-1	2017-09	安徽亳州三义堂药业有限公司	原药材为云南重楼, 浸泡、切片、烘干
ZZD-2	2017-09	安徽亳州三义堂药业有限公司	原药材为云南重楼, 浸泡、切片、晒干
PPY-1	2016-06	四川省雅安市荣经县	药材 (云南重楼)
PPY-2	2016-03	云南省西双版纳勐混镇	药材 (云南重楼)
PPC-1	2016-11	福建省龙岩市武平县东留乡	药材 (七叶一枝花)
PPC-2	2014-11	福建省南平市光泽龙湖	药材 (七叶一枝花)
TR-1	2015	湖北神农架地区	药材头顶一颗珠
TR-2	2016	湖北	药材头顶一颗珠
TR-3	2015	吉林延边	药材头顶一颗珠
TR-4	2016	大兴安岭	药材头顶一颗珠
TR-5	2016	陕西柞水	药材头顶一颗珠
TR-6	2016-11	河北省安国药材市场	药材头顶一颗珠
TR-7	2016-11	河北省安国药材市场	药材头顶一颗珠



A. 重楼药材(七叶一枝花); B. 重楼药材(云南重楼); C. 头顶一颗珠(延龄草); D. 重楼饮片(SS-13); E. 重楼饮片(ZZD-1); F. 重楼饮片(ZZH-2); G. 市售不合格品(SS-9); H. 市售伪品紫参(SS-5)

图 1 正品重楼药材(云南重楼和七叶一枝花)和饮片及其混伪品
Fig. 1 Crude material and processed slices of *Paridis Rhizoma* (collected from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *chinensis*) and related adulterants

2 方法与结果

2.1 炮制关键工艺点与自制饮片 对 11 批市售样品进行观察,除 SS-5 很容易鉴别为伪品紫参之外,其他样品的基原鉴定特别困难,比如 SS-3, SS-4, SS-8 和 SS-10 等,但从外观性状上明显看出存在很大比例的掺伪现象。采用正本清源的实验样品,是实验结论正确的前提。因此,分别采用云南重楼和七叶一枝花的原药材进行饮片样品制备。制备方法主要参考 2015 年版《中国药典》收录的炮制方法:“除去杂质,洗净,润透,切薄片,晒干”,对炮制过程中的关键工艺点,比如炮制前药材大小分档、软化方法(浸泡或浸润)以及切片后的干燥方式(晒干或烘干)等进行了细化考察。

分档,在各省市炮制规范中,北京、上海、浙江、湖南四省规定炮制前需分档,但对分档标准没有明确要求。本研究参考部分重楼饮片生产企业实际采用的分档标准,即按照原药材直径大小分档,直径 3.0~4.5 cm 为大档,直径 1.5~2.9 cm 为中档,直径 1.0~1.4 cm 为小档。将统货药材分为大、中、小三档,进行后续的软化处理。

软化方法,法定炮制方法规定“润透”,但通过对饮片厂实际生产调研发现,重楼药材质地坚硬,特别是部分个子货较大者,浸润时间长,并且难以软化完全,切片时易产生碎片、干芯、裂芯现象,部分生产

企业实际采用浸泡法进行软化。本研究比较了浸泡和浸润两种方式的软化时间及对饮片成分含量的影响。浸泡过程净药材加 6 倍水(没过药材),浸泡,每 8 h 放掉水液,晾 2 h,再浸泡,重复上述操作,直至内外湿透。不同档的药材浸泡至透所需时间分别为小档 12 h,中档 24 h,大档 48 h。浸润过程:净药材覆盖湿布,每隔 2 h 喷洒一定量的水(每次用水量约相当于总用水量的 1/8),浸润,直至“药透水尽”。不同档的药材浸润至透所需时间分别为小档 24 h,中档 39 h,大档 85 h。

干燥方式,将大、中、小三档药材分别经浸泡和浸润软化后的切片样品,晒干或 50 °C 烘干,考察不同干燥方式对饮片成分的影响。

按照上述不同的操作处理,分别制备了 14 批重楼饮片,样品编号和不同的处理方式详见表 1。

2.2 性状特征 除 2015 年版《中国药典》和《全国中药炮制规范》外,有 18 个省市现行的炮制规范收录重楼饮片。归纳和总结上述标准或规范对重楼饮片的性状描述,主要涉及片型、片厚、片直径、色泽、质地、气味等方面。观察实际样品的特点,描述其质地和色泽,部分量化参数的测定方法参照文献[8]进行:随机抓取每批样品的 30 片,使用数显游标卡尺测定饮片直径和厚度,见表 2。

片型主要由切片方向(横切或纵切)决定。在现版各省市炮制规范中,仅有江西省规定横切,其他省市未做要求。通过对市售饮片的统计表明,大部分样品纵切和横切片混杂。对于重楼药材,从切片难易程度而言,横切的可操作性更强。关于饮片厚度,各省炮制规范多与 2015 年版《中国药典》相同,要求切薄片,仅北京市、安徽省和山西省规定为厚片,浙江省为切厚片或研成细粉。2015 年版《中国药典》规定薄片 1~2 mm,厚片 2~4 mm。由表 2 可知,不同批次市售饮片多在 2 mm 以上,厚片比例大都在 55% 以上,与“薄片”要求不符。从生产实际考虑,切厚片更有利于保证饮片的成品收率。因此,建议对饮片厚度不做特别要求。

考虑到药材项下规定直径 1.0~4.5 cm,参照实际样品性状,建议规定重楼饮片直径在 1.0~4.5 cm,以排除生长年份不足或其他混伪品(比如五指莲)的掺入。据此限定,市售样品 SS-9 和 SS-10 很容易从性状上判定为不合格,与后续含量测定的结果一致。关于色泽和质地,涵盖粉性或胶质两种重楼,粉性重楼多呈白色,胶质重楼多呈棕色。有研究表明粉性或胶质药材主要源于产地的环境因素与

表 2 部分重楼样品性状特征

Table 2 Appearance description of *Paridis Rhizoma* (collected from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *chinensis*)

编号	片厚/mm	片直径/cm	表面颜色	周边表皮颜色	质地	厚片比例/%	备注
SS-1	2.35 ~ 6.95	1.09 ~ 3.61	黄白色/灰黄色	棕褐色	粉性/胶质	≥55	
SS-2	2.54 ~ 4.19	1.05 ~ 3.61	黄白色	棕褐色	粉性	≥85	
SS-3	2.15 ~ 5.74	0.532 ~ 1.30	黄白色	棕褐色	粉性	≥40	掺入伪品
SS-4	2.24 ~ 7.21	0.776 ~ 1.42	黄白色	棕褐色	粉性	≥75	掺入伪品
SS-5	2.24 ~ 4.21	0.637 ~ 1.23	红棕色	红褐色	-	≥70	紫参
SS-6	2.02 ~ 5.01	0.879 ~ 1.59	黄白色/灰棕色	棕褐色	粉性/胶质	≥55	
SS-7	2.77 ~ 5.90	1.09 ~ 1.99	棕黄色	棕褐色	胶质	≥75	
SS-8	2.92 ~ 6.44	0.450 ~ 1.60	黄白色	棕褐色	粉性	≥80	掺入伪品
SS-9	2.71 ~ 5.38	0.760 ~ 1.30	黄白色	棕褐色	粉性	≥95	
SS-10	1.89 ~ 5.22	0.470 ~ 1.00	黄白色	棕褐色	粉性	≥70	掺入伪品
SS-11	2.70 ~ 6.45	0.810 ~ 1.80	黄白色/黄棕色	棕褐色	粉性/胶质	≥75	
SS-12	2.89 ~ 3.85	1.20 ~ 3.40	白色	棕褐色	粉性	≥65	
SS-13	2.72 ~ 3.72	1.30 ~ 3.60	灰白色/白色	棕褐色	粉性/胶质	≥65	

初加工过程^[9],传统认为粉性重楼质量优于胶质重楼,两者在皂苷成分组成上存在一定差异但在总皂苷含量和药理作用上差别不大^[10]。因此,两者均纳入描述范畴。

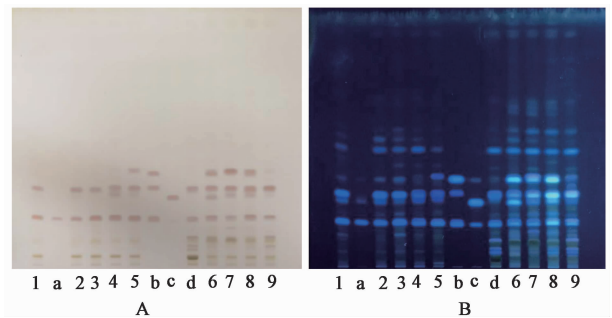
综上所述,重楼饮片性状描述为:“本品为近圆形、椭圆形或不规则片状,直径 1.0 ~ 4.5 cm。表面白色、黄白色或黄棕色,周边表皮黄棕色或棕褐色,粉性或胶质,气微,味微苦、麻。”

2.3 薄层鉴别 参照 2015 年版《中国药典》重楼药材薄层鉴别方法略作改进。

2.3.1 对照品溶液的制备 取重楼皂苷Ⅶ,重楼皂苷Ⅵ,重楼皂苷Ⅱ,重楼皂苷Ⅰ对照品适量,制成质量浓度分别为 0.444,0.456,0.380,0.420 g·L⁻¹的混合对照品溶液。另取 17-羟基纤细薯蓣皂苷和 PGRR 对照品适量,精密称定,用甲醇溶解并定容,制成质量浓度分别为 0.379,0.401 g·L⁻¹的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备及薄层鉴别 取本品粉末约 0.5 g,加 95% 乙醇 10 mL,加热回流 30 min,离心,上清液作为供试品溶液。称取重楼对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。吸取供试品溶液、对照药材溶液及 2.3.1 项下的对照品溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,使成条状,以三氯甲烷-甲醇-水(15:5:1)下层溶液为展开剂,展开 18 cm,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰,分别置日光和紫外光灯(365 nm)下检视。各样品和对照品的 TLC 图见图 2,3。

由图 2 可知,基原明确的自制饮片(滇重楼或



1. ZZH-3; 2. ZZD-1; 3. ZZD-2; 4. ZZH-7; 5. ZZH-11; 6. SS-1; 7. SS-3; 8. SS-11; 9. SS-13; a. 17-羟基纤细薯蓣皂苷; b. 混合对照品(从上至下依次为重楼皂苷Ⅵ, I, II 和Ⅶ); c. PGRR; d. 对照药材(云南重楼); A. 日光; B. 紫外光

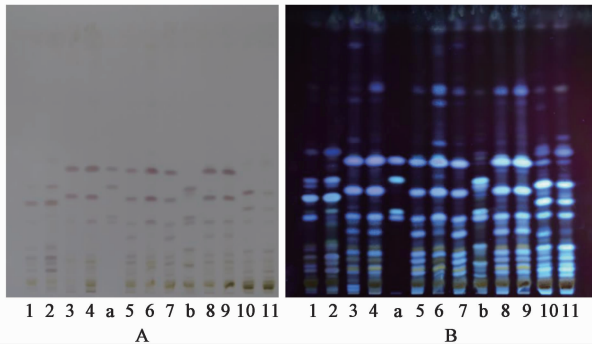
图 2 重楼饮片的 TLC

Fig. 2 TLC profiles of reference substances and samples

七叶一枝花)除 ZZH-11 外,均未检出重楼皂苷Ⅵ,这与文献报道大部分正品重楼中不能检出重楼皂苷Ⅵ是一致的^[11-16]。市售饮片 SS-1, SS-3 和 SS-11 能明显检出重楼皂苷Ⅵ的斑点,并且均检出了伪品头顶一颗珠的特征性成分 PGRR。将云南重楼、七叶一枝花和头顶一颗珠共薄层展开,正品重楼不含有 PGRR,进一步验证头顶一颗珠是市售重楼饮片掺伪的主要来源,见图 3。可以考虑将 PGRR 作为对照品进行薄层鉴别,作为重楼饮片的补充检验方法。

2.4 含量测定

2.4.1 HPLC 测定样品中重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 的含量 参照 2015 年版《中国药典》重楼药材含量测定项下的方法测定不同批次样品中重楼皂苷 I,



1. PPY-1; 2. PPY-2; 3. TR-1; 4. TR-2; 5. TR-3; 6. TR-4; 7. TR-5; 8. TR-6; 9. TR-7; 10. PPC-1; 11. PPC-2; a. 混合对照品 (从上至下依次为重楼皂苷 VI, I, II 和 VII); b. 对照药材 (云南重楼); A. 日光; B. 紫外光

图 3 重楼与头顶一颗珠 TLC

Fig. 3 TLC profiles of *Paridis Rhizoma* (collected from *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *chinensis*) and *Trillium Rhizoma*

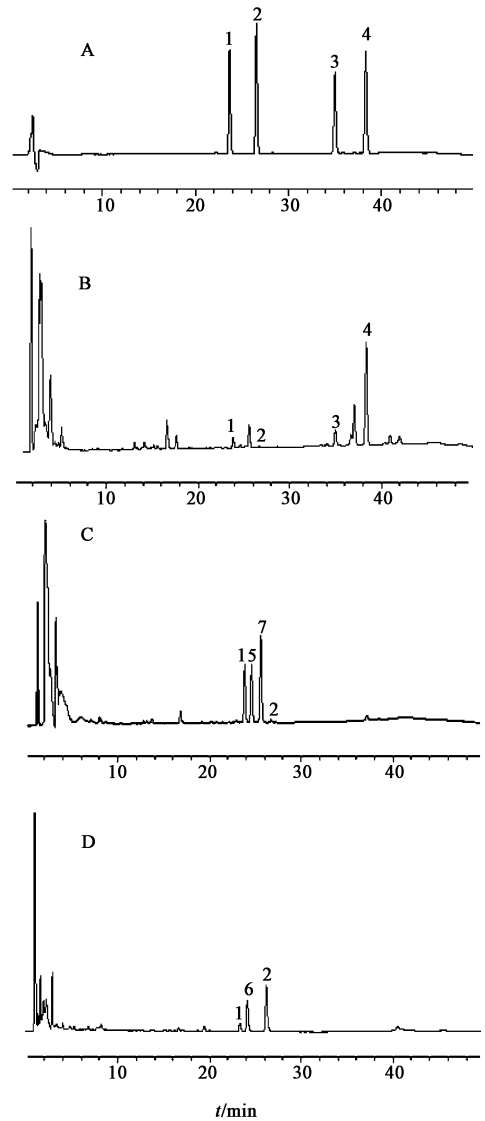
II, VI 和 VII 的含量。混合对照品、典型样品的 HPLC 色谱图见图 4。不同样品中 4 种指标成分的含量见表 3。13 批市售样品中只有 5 批符合现版《中国药典》规定的“重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 之和不低于 0.6% 的要求”。由云南重楼制备的饮片样品 (ZZD-1, ZZD-2) 以薯蓣皂苷组重楼皂苷 I 和 II 为主, 由七叶一枝花制备的饮片样品 (ZZH-1 ~ ZZH-12) 以偏诺皂苷组重楼皂苷 VII 为主, 各成分含量受不同炮制处理方式影响较大。伪品头顶一颗珠 (TR-6 和 TR-7), 在检测的 4 种成分中以重楼皂苷 VI 为主, 质量分数为 0.5% 左右。

2.4.2 UPLC 测定样品中 10 种甾体皂苷的含量

为了明确炮制过程除 4 种法定检测指标以外的其他成分变化情况, 采用 UPLC 方法进行 10 个甾体皂苷 (伪原薯蓣皂苷, 重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 H, 重楼皂苷 VI, 重楼皂苷 II, 薯蓣皂苷, 纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 I 和重楼皂苷 V) 的含量测定。

色谱条件: Waters BEH C_{18} 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m), 流动相乙腈 (B) 和水 (A) 梯度洗脱 (0 ~ 6 min, 27% ~ 30% B; 6 ~ 9 min, 30% ~ 37% B; 9 ~ 28 min, 37% ~ 52% B), 检测波长 203 nm, 流速 0.3 mL · min⁻¹, 柱温 35 °C。上述条件下混合对照品、典型样品 UPLC 图见图 5。

对照品溶液的制备: 取伪原薯蓣皂苷, 重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 H, 重楼皂苷 VI, 重楼皂苷 II, 薯蓣皂苷, 纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 I, 重楼皂苷 V 对照品适量, 精密称定, 用甲醇溶解并定容至刻度, 制成质量浓度分别为 0.442, 0.446,



A. 混合对照品; B. 饮片 (云南重楼 SS-13); C. 饮片 (七叶一枝花 ZZH-1); D. 头顶一颗珠 (TR-6); 1. 重楼皂苷 VII; 2. 重楼皂苷 VI; 3. 重楼皂苷 II; 4. 重楼皂苷 I; 5. 17-羟基纤细薯蓣皂苷; 6. PGRR; 7. 重楼皂苷 H

图 4 混合对照品和重楼样品及其混伪品头顶一颗珠的 HPLC
Fig. 4 HPLC profiles of reference substances and *Paridis Rhizoma* (collected from *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and *P. polyphylla* var. *chinensis*) and *Trillium Rhizoma*

0.452, 0.450, 0.438, 0.638, 0.520, 0.441, 0.482, 0.480 g · L⁻¹ 的对照品溶液。精密量取上述各对照品溶液适量, 混合、定容, 制成质量浓度为 0.044 2, 0.044 6, 0.045 2, 0.045 0, 0.043 8, 0.063 8, 0.052 0, 0.044 2, 0.048 2, 0.048 0 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

供试品溶液的制备: 取样品粉末 (过三号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定质

表 3 不同批次重楼饮片中重楼皂苷 VII, VI, II 和 I 的质量分数 (n = 3)

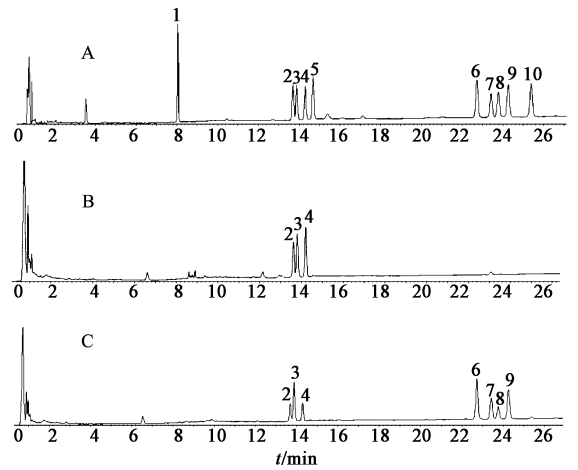
Table 3 Content of polyphyllin VII, VI, II and I in different samples (n = 3) %

编号	重楼皂苷 VII	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II	重楼皂苷 I	VII + VI + II + I
SS-1	0.320	0.766	0.160	0.868	2.11
SS-2	0.128	LOQ	0.327	0.615	1.08
SS-3	0.102	LOQ	0.168	0.112	0.388
SS-4	0.073 5	0.000	0.013 0	0.038 6	0.125
SS-5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
SS-6	0.244	0.226	0.233	0.989	1.69
SS-7	0.071 0	0.010 0	0.147	0.362	0.590
SS-8	0.114	0.000	LOQ	0.00	0.118
SS-9	LOQ	0.000	0.252	0.115	0.367
SS-10	0.084 7	LOQ	0.000	0.000	0.087 4
SS-11	0.276	0.318	0.175	0.000	0.769
SS-12	0.038 8	0.010 0	0.093 5	0.113	0.255
SS-13	0.117	LOQ	0.218	1.19	1.53
ZZD-1	0.286	0.000	1.03	1.50	2.82
ZZD-2	0.098 7	0.000	0.881	1.81	2.79
ZZH-1	0.945	0.022 6	0.000	0.000	0.968
ZZH-2	0.560	0.013 6	0.000	0.000	0.574
ZZH-3	0.462	0.012 9	0.000	0.000	0.475
ZZH-4	0.401	0.000	0.000	0.000	0.401
ZZH-5	0.512	0.030 4	0.000	0.064 4	0.607
ZZH-6	0.560	0.013 6	0.000	0.000	0.574
ZZH-7	0.472	0.031 7	0.000	0.063 0	0.567
ZZH-8	0.379	0.027 8	0.000	0.105	0.512
ZZH-9	0.721	0.058 6	0.023 7	0.067 8	0.871
ZZH-10	0.913	0.033 5	0.063 1	0.120	1.13
ZZH-11	0.765	0.061 9	0.000	0.072 9	0.900
ZZH-12	0.477	0.029 0	0.000	0.055 6	0.561
TR-6	0.134	0.520	0.000	0.000	0.655
TR-7	0.101	0.499	0.000	0.000	0.600

注:自制饮片 ZZD-1, ZZD-2 和 ZZH-1 ~ ZZH-12 采取的不同炮制处理方式见表 1。

量,用乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

方法学验证:UPLC 同步测定伪原薯蓣皂苷,重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷,重楼皂苷 H,重楼皂苷 VI,重楼皂苷 II,薯蓣皂苷,纤细薯蓣皂苷,重楼皂苷 I 和重楼皂苷 V 的方法学验证过程略,详见文



A. 混合对照品; B. 重楼饮片 (七叶一枝花, ZZH-1); C. 重楼饮片 (云南重楼, ZZD-1); 1. 伪原薯蓣皂苷; 2. 重楼皂苷 VII; 3. 17-羟基纤细薯蓣皂苷; 4. 重楼皂苷 H; 5. 重楼皂苷 VI; 6. 重楼皂苷 II; 7. 薯蓣皂苷; 8. 纤细薯蓣皂苷; 9. 重楼皂苷 I; 10. 重楼皂苷 V

图 5 混合对照品和重楼样品的 UPLC

Fig. 5 UPLC profiles of reference substances and Paridis Rhizoma

献 [17]。

样品测定:精密吸取混合对照品溶液 2 μL 和样品溶液 2 ~ 4 μL,进样分析,计算含量。不同批次样品中各成分的含量见表 4。七叶一枝花主要含有偏诺皂苷,样品 ZZH-1 ~ ZZH-12 含量结果主要反映了不同炮制处理对偏诺皂苷组分重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷,重楼皂苷 H 和重楼皂苷 VI 的影响,样品 ZZD-1 和 ZZD-2 含量结果反映了 10 个甾体皂苷 (偏诺皂苷和薯蓣皂苷) 的含量变化,但两种基原药材制备的样品中均未检测到呋甾皂苷组伪原薯蓣皂苷。

3 讨论

重楼为临床上多种中成药的重要组成药味之一,为历版《中国药典》收载品种。国内外学者对重楼药材活性成分的定性、定量分析多有报道 [11-16, 18-21], 但对其饮片的质量控制尚未见系统研究。本研究在归纳和总结重楼炮制规范或标准的基础上,对饮片的炮制方法、性状和薄层鉴别进行了描述和分析,并测定了其中多种皂苷的含量,为制定涵盖【性状】【鉴别】和【含量测定】等检测内容的重楼饮片整体质量标准提供参考。

3.1 炮制关键工艺点 各省市炮制规范收载重楼饮片的炮制方法各有异同,主要区别点在于炮制前是否大小分档、软化方法、片型及厚度。通过对来源于七叶一枝花的统货药材的炮制发现,药材大小不同,软化时间上差异较大。由大、中、小不同档次

表 4 部分重楼饮片中 10 种皂苷类成分的含量

Table 4 Content of ten steroid saponins in processed slices of Paridis Rhizoma

%

编号	重楼皂苷 VII	17-羟基 纤细薯 蓣皂苷	重楼皂苷 H	重楼皂苷 VI	重楼皂苷 II	薯蓣皂苷	纤细薯 蓣皂苷	重楼皂苷 I	重楼皂苷 V	VII + VI + II + I	VII + H + II + I	总偏诺	总薯蓣	总皂苷
ZZD-1	0.285	0.686	0.324	0.000	0.963	0.546	0.300	1.55	0.029 2	2.80	3.12	1.29	3.39	4.68
ZZD-2	0.076 1	0.929	0.0957	0.000	0.772	0.225	0.217	1.94	0.303	2.79	2.88	1.10	3.46	4.56
ZZH-1	0.959	0.791	0.523	0.028 0	0.000	0.000	0.058 9	0.000	0.000	0.987	1.48	2.30	0.058 9	2.36
ZZH-2	0.535	0.668	0.377	0.023 9	0.000	LOQ	0.00	0.000	0.000	0.559	0.912	1.60	0.000	1.60
ZZH-3	0.469	0.699	0.575	0.017 3	0.000	0.00	0.045 6	0.000	0.000	0.486	1.04	1.76	0.045 6	1.81
ZZH-4	0.416	1.280	0.672	LOQ	0.000	0.00	LOQ	0.000	0.000	0.416	1.09	2.37	0.000	2.37
ZZH-5	0.532	0.882	0.943	0.025 0	LOQ	0.018 9	0.085 6	0.061 8	0.000	0.619	1.54	2.38	0.166	2.55
ZZH-6	0.507	0.865	0.923	0.023 8	0.000	0.023 5	0.085 6	0.000	0.000	0.531	1.43	2.32	0.109	2.43
ZZH-7	0.466	0.459	0.972	0.029 7	0.000	LOQ	0.056 7	0.050 2	0.000	0.546	1.49	1.93	0.107	2.03
ZZH-8	0.385	0.549	1.160	0.030 4	0.000	0.020 2	0.072 5	0.088 7	0.000	0.504	1.63	2.12	0.181	2.31
ZZH-9	0.730	1.500	0.943	0.028 7	0.018 8	0.021 5	0.275	0.073 7	0.000	0.851	1.76	3.20	0.389	3.59
ZZH-10	0.934	2.140	1.000	0.040 8	0.060 0	LOQ	0.275	0.109	0.000	1.14	2.10	4.11	0.444	4.56
ZZH-11	0.757	1.190	0.917	0.045 7	0.000	0.000	0.147	0.057 0	0.000	0.860	1.73	2.91	0.204	3.11
ZZH-12	0.475	0.778	1.130	0.028 6	0.000	LOQ	0.082 8	0.052 4	0.000	0.556	1.66	2.41	0.135	2.55

注:原薯蓣皂苷质量分数均为 0。总偏诺·重楼皂苷 VII, 17-羟基纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 H 和重楼皂苷 VI 之和; 总薯蓣·重楼皂苷 II, 薯蓣皂苷, 纤细薯蓣皂苷, 重楼皂苷 I 和重楼皂苷 V 之和; 总皂苷·总偏诺皂苷和总薯蓣皂苷之和; LOQ 指低于定量限。自制饮片 ZZD-1, ZZD-2 和 ZZH-1 ~ ZZH-12 采取的不同炮制处理方式见表 1。

的七叶一枝花制备的不同批次样品 (ZZH-1 ~ ZZH-12) 含量测定结果看, 主成分重楼皂苷 VII 和 4 种法定检测指标 (重楼皂苷 VII, VI, II 和 I) 之和均显示采用浸泡的方式优于浸润 (ZZH-10 和 ZZH-12 除外, 表 3)。尽管炮制讲究“少泡多润”, 但本研究支持生产企业实际采用的浸泡方式, 以缩短药材软化时间。在干燥方式比较上, 晒干和烘干样品中各个甾体皂苷的含量变化趋势不同, 但 4 种法定检测指标含量之和表明晒干优于烘干, 而且烘干更有可能引起四糖苷 (重楼皂苷 VII 或 II) 到三糖苷 (17-羟基纤细薯蓣皂苷或重楼皂苷 H 或薯蓣皂苷或纤细薯蓣皂苷或重楼皂苷 I) 以及二糖苷 (重楼皂苷 VI 或重楼皂苷 V) 的转化, 见表 4。这种成分间的转化现象在由选货云南重楼采用浸泡方式制备的样品 ZZD-1 和 ZZD-2 中同样观察到。基于上述结果, 结合 2.2 项下对饮片厚度的分析, 在【炮制】项修订方面, 建议药材炮制前增加分档, 采用浸泡进行软化, 改“切薄片”为“切片”。

3.2 质量控制指标的选择 重楼主要活性成分为甾体皂苷, 按苷元母核结构又可分为呋甾皂苷、偏诺皂苷和薯蓣皂苷。薯蓣皂苷以活血化瘀和抗肿瘤为主, 偏诺皂苷在止血和消炎抑菌等方面具有更明显

的优势, 两者在抗炎镇痛方面均具有较强的作用^[22]。从 2 种法定基原植物的化学组成来看, 云南重楼以薯蓣皂苷类为主, 七叶一枝花以偏诺皂苷类居多。目前 2015 年版《中国药典》重楼标准采用 2 个偏诺皂苷 (重楼皂苷 VII 和 VI) 和 2 个薯蓣皂苷 (重楼皂苷 II 和 I) 作为质量控制指标, 一定程度上能够反映出药材或饮片的质量优劣, 但越来越多的研究表明该标准导向的重楼质量问题突出, 致使重楼产业发展误入歧途。主要问题表现在重楼皂苷 VI 在正品云南重楼或七叶一枝花中含量较低或不^[11-12, 14]含^[11-12, 14], 薄层鉴别时很多样品不能检出^[5], 与现版标准薄层要求不符; 同时, 该指标在近缘种植物球药隔重楼及延龄草或吉林延龄草中含量较高, 球药隔重楼中高达 1.33% (未发表数据), 头顶一颗珠 (延龄草或吉林延龄草) 中在 1.4% 以上^[7]。为了正本清源, 避免近缘植物的“有序添加”, 建议现版标准项下的薄层鉴别和含量测定项删除重楼皂苷 VI。如此以来, 潜在的新问题产生, 以 3 个指标重楼 VII, II 和 I 之和进行含量限度控制时, 可能会导致以偏诺皂苷类成分为主的七叶一枝花样品合格率降低, 加剧云南重楼和七叶一枝花种植业的不均衡发展, 带来更多的产业发展问题。基于此, 考虑去除重楼

皂苷Ⅵ的同时,增加重楼皂苷 H 作为含量测定指标。重楼皂苷 H 是偏诺三糖苷,其在七叶一枝花中含量在千分之三以上(表 4),也即是图 4 中的色谱峰 7。基于表 4 的数据,建议以重楼皂苷Ⅶ, H, II 和 I 之和不少于 1.0% 进行限度控制。

3.3 补充检验方法 据全国主要药材市场和饮片厂调研发现,头顶一颗珠是重楼饮片屡禁不止的掺伪品种。本研究发现,正品重楼中不能检出头顶一颗珠的特征性成分 PGRR(见图 2)。许多研究报道了七叶一枝花或重楼属植物中多种甾体皂苷的含量测定,不同研究呈现的色谱图模式基本相似,但基于保留时间比对的色谱峰认定不同, PGRR^[19-20] 或重楼皂苷 D^[21] 或 17-羟基纤细薯蓣皂苷^[12]。笔者的研究发现,重楼色谱图(图 4C)的峰 5 为 17-羟基纤细薯蓣皂苷,头顶一颗珠色谱图(图 4D)的峰 6 为 PGRR,两者在相同色谱条件下完全重合为一个色谱峰,在尝试不同色谱条件和色谱柱情况下,两者亦不能很好分离,这可能是不同含量分析研究中将两者相混淆的原因。与 HPLC 分析不同,薄层检查展示了可鉴别的结果,17-羟基纤细薯蓣皂苷与 PGRR 在不同位置的呈现显色或荧光斑点。因此,可以考虑将 PGRR 作为对照品进行薄层鉴别,作为重楼饮片的补充检验方法,以排查是否有头顶一颗珠的混入。

[参考文献]

[1] 屠鹏飞,黄璐琦,陈万生,等.《中华人民共和国药典》2020 年版中药材和中药饮片质量标准增修订工作思路[J]. 中国现代中药,2018,20(12): 1459-1464.

[2] 赵重博,吴纯洁. 中药饮片品质评价与炮制过程质量监控新技术[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2014,16(3): 529-531.

[3] 曹晖,黄璐琦. 关于中药饮片质量和质量标准及《中国药典》2020 年版饮片标准修订的思考与建议[J]. 中国食品药品监管,2018,16(6): 11-16.

[4] 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.

[5] 肖聪,饶伟文,吴萌,等. 20 批重楼药材皂苷类成分分析与其 TLC 鉴别方法探讨[J]. 中国药品标准,2016,17(6): 403-405.

[6] 魏锋,刘薇,严华,等. 我国中药材及饮片的质量情况及有关问题分析[J]. 中国药学杂志,2015,50(4): 277-283.

[7] 杨印军,孙欣光,杨杰,等. 延龄草与吉林延龄草根茎

及须根中 3 种皂苷成分的含量测定[J]. 中国中药杂志,2017,42(6): 1146-1151.

[8] 陈小红,陈康,潘超美,等. 化橘红药材商品规格等级标准分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(11): 23-28.

[9] 周浓,夏从龙,邹亮. 影响滇重楼产量和品质诸因素的研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,5(9): 167-170.

[10] 王飞飞,马骁,李振彪,等. 胶质和粉质重楼总皂苷的超声提取工艺及活性成分的含量差异研究[J]. 解放军药学报,2017,33(4): 315-318.

[11] 李懿,何佳,赵庭周,等. HPLC 同时测定不同产地滇重楼中的 6 种重楼皂苷[J]. 中成药,2012,34(1): 113-116.

[12] 陈铁柱,文飞燕,张涛,等. 21 个产地七叶一枝花中皂苷类成分的评价[J]. 中成药,2017,39(11): 2345-2350.

[13] 吴建平,叶方,陈黎,等. 武当山地区栽培重楼根茎与须根中九种重楼皂苷含量比较[J]. 海南医学,2016,27(22): 3613-3617.

[14] 张绍山,刘璇,王景富,等. 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[J]. 中草药,2016,47(23): 4257-4263.

[15] 管珂,高宇明,崔淦,等. 基于特征图谱及多指标成分含量的云南重楼野生与栽培品比较研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(15): 3011-3016.

[16] 戴雪雯,冯丽丽,李海峰. 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[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(3): 41-48.

[17] 巨博雅. 重楼药材和饮片质量标准及商品规格等级标准研究[D]. 太原:山西中医药大学,2019.

[18] 黄圆圆,刘大会,彭华胜,等. 15 种重楼属植物中 8 种甾体皂苷的含量测定[J]. 中国中药杂志,2017,42(18): 3443-3451.

[19] 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]. 中药材,2012,43(12): 2435-2437.

[20] 梁玉勇,刘振,高文远,等. HPLC 测定贵州不同产地的七叶一枝花中 9 种甾体皂苷的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(15): 2309-2312.

[21] 管珂,高宇明,崔淦,等. UPLC 法同时测定云南重楼栽培品中 11 种皂苷的含量[J]. 药物分析杂志,2017,37(9): 1572-1577.

[22] 丁立帅,赵猛,李燕敏,等. 七叶一枝花根茎和地上部分提取物镇痛抗炎作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(5): 832-839.

[责任编辑 顾雪竹]