

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2019.06.006

大理重楼和独龙重楼的野生资源分布 和皂苷类成分评价^①

李学学¹, 黄钟杰¹, 威则日沙¹,
沈继秀¹, 张绍山^{1,2}, 刘 圆³

1. 西南民族大学 药学院, 成都 610041; 2. 四川农业大学 农学院, 成都 611130;
3. 西南民族大学 民族医药研究院, 成都 610041

摘要: 评价大理重楼和独龙重楼的野生资源分布情况和皂苷类成分。采用实地调研考察, 并根据《中国药典》2015 年版重楼项下 3 种重楼皂苷, 增加重楼皂苷 I、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 H 为指标, 以课题组已经建立的 ELSD-UPLC 法测定大理重楼和独龙重楼中 6 种皂苷成分含量。结果表明: 1) 大理重楼除模式产地云南大理, 在保山市腾冲市和贵州赫章县也发现了大理重楼的新分布, 野生资源蕴藏量较少; 独龙重楼只发现分布在云南省怒江州贡山县独龙江乡, 野生资源蕴藏量更少; 2) 二者尚未被《中国药典》2015 年版收载或者各省级药材标准中, 但是其根茎在云南、贵州等各地民间也作为重楼药材使用; 3) 10 批大理重楼根茎皂苷类成分总含量平均值高于药典规定标准 1 倍多, 主要含有重楼皂苷 VII 和重楼皂苷 H; 4) 在仅采集到的 7 批独龙重楼皂苷类成分总含量平均值达到药典规定标准, 主要含有重楼皂苷 I 和纤细偏诺皂苷, 得出大理重楼和独龙重楼资源均稀少结论, 建议高度重视开展人工繁育与资源保护工作; 大理重楼根茎主要成分为偏诺皂苷(“宫血宁”有效成分), 独龙重楼根茎主要成分为薯蓣皂苷(“抗病毒颗粒”消炎、抗菌、抗病毒有效成分), 可为大理重楼和独龙重楼的省级药材标准建立和临床用药新药资源开发提供参考依据。

关键词: 大理重楼; 独龙重楼; 野生资源分布; 皂苷类成分; 评价

中图分类号: R931.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2019)06-0037-07

大理重楼 *Paris daliensis* H. Li et V. G. Souku 和独龙重楼 *Paris dulongensis* H. Li et S. Kuritap 隶属百合科 Liliaceae 重楼属 *Paris*, 二者均没有国家和地方药材标准, 根茎在云南、贵州等各地民间也作为重楼药材使用。重楼类药材质量控制均按照《中国药典》2015 年版重楼皂苷含量评价; 重楼皂苷中的甾体皂苷分布最为广泛、种类繁多, 目前已分离出 141 种, 约占已鉴定化合物种类的 58.5%^[1-11]。目前关于大理重楼和独龙重楼的报道很少, 因此, 课题组采用实地调研考察, 并根据《中国药典》2015 年版重楼项下 3 种重楼皂苷, 增加重楼皂苷 I、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷 H 为指标, 以课题组已经建立的 ELSD-UPLC 法评价大理重楼和独龙重楼中 6 种皂苷成分, 以期大理重楼和独龙重楼的省级药材标准建立和临床用药新药资源开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器

数码相机(佳能 EOS-1D X Mark II); 挖掘工具(铁铲、斧头等); GPS(GT07); METTLER AE240 电

① 收稿日期: 2018-12-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1708005); 阿坝州科技条件能力建设和技术示范推广项目(18TJPT0004); 西南民族大学 2019 年研究生创新型科研项目硕士重点项目(CX2019SZ179)。

作者简介: 李学学(1992-), 男, 彝族, 硕士研究生, 主要从事民族药品种、品质评价和新药资源保护与利用研究。

通信作者: 刘 圆, 博士, 教授。

子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司); Waters Acquity UPLC © H-Class.

1.2 材料与试剂

水(屈臣氏蒸馏水); 甲醇(成都市科龙化工试剂厂分析纯); HPLC 级乙腈(美国 Sigma 公司). 化合物来源为本课题组已建立的方法^[12-13], 7 个对照品化学结构式见图 1.

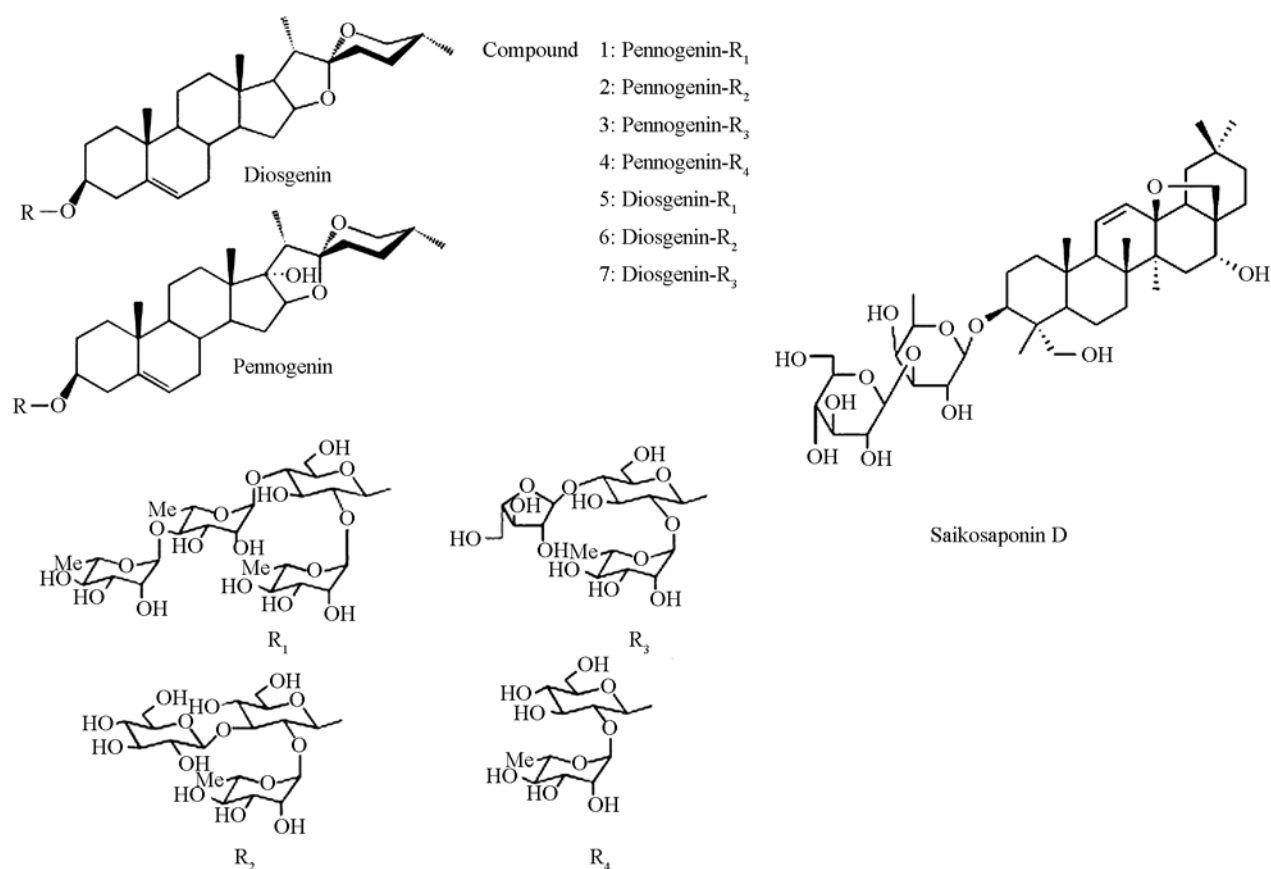


图 1 对照品化学结构式

大理重楼和独龙重楼原植物由课题组鉴定, 原植物标本及药材样品保存在西南民族大学青藏高原研究院、四川大学华西药学院. 大理重楼和独龙重楼药材来源信息见表 1.

表 1 样品信息

试验号	品种	拉丁名	产地	海拔/m	采集日期	
S1	大理重楼	<i>P. daliensis</i> H. Li et V.G. Soukup	云南省腾冲市	明光乡东营村	1 895	2015/7/6
S2				官家寨	1 659	2015/7/7
S3				周家坡	1 566	2015/7/7
S4			云南省大理市	云龙县	2 171	2015/7/14
S5				松坡脚新寨	2 315	2015/7/15
S6				理巍山	1 683	2015/7/16
S7			云南省腾冲市	明光乡白沙河村	1 900	2016/6/6
S8				勐连乡	1 800	2016/7/25
S9				明光乡老寨子	1 789	2016/7/26
S10	独龙重楼	<i>P. dulongensis</i> H. Li et S. Kurita		界头镇	1 899	2016/7/26
S11				龙元村	1 604	2015/7/12
S12				三乡	1 488	2015/7/12
S13				献九当村	1 559	2015/7/12
S14			云南怒江贡山	独布卡旺孔当村	1 410	2015/7/13
S15			龙族怒族自治县		1 387	2015/7/13
S16				麻必当	1 340	2015/7/13
S17					1 335	2015/7/13

1.3 方 法

1.3.1 大理重楼和独龙重楼的野生资源分布考察

文献资料查阅: 查阅云南、四川、贵州、福建、湖南、湖北等地的重楼主产区有关重楼属植物分类、生态环境分布的相关资料和文献, 同时查阅重楼属植物标本馆藏丰富的西南地区各主要标本馆(室)的馆藏标本, 并参考中国著名重楼专家李恒老师在《重楼属植物》中提出的重楼植物形态分类系统, 初步掌握了独龙重楼和大理重楼的资源现状, 并在此基础上制定和调整考察计划。

实地考察: 2006—2016 年, 课题组先后多次开展了对云贵川三省重楼主产区的资源调查和品种整理工作。重楼花期是每年 4—7 月, 期间课题组对主产区进行野外实地考察、采集大量标本、走访调查以及后期查阅文献和相关资料, 基本摸清了大理重楼的资源分布、蕴藏量及人工抚育情况, 将云贵川的重楼属植物分布情况作为重点考察区域。本文的调查主要是 2015—2016 年在云南地区的大理重楼和独龙重楼重楼的资源调查。

本调查地区基本沿怒江自然流域、独龙江自然流域以及高黎贡山一线, 行政区划上分属云南的昆明市、禄劝县、贡山独龙族怒族自治县、武定县、元谋县、云南大理自治州、丽江地区、宁蒗县、腾冲市、龙陵县以及盐津县。该片区北连青藏高原, 南接中印半岛, 呈南北走向, 跨越 5 个纬度带, 是我国最重要的生物保护区之一, 物种繁多, 极具特色。其中, 课题主要考察品种大理重楼模式产地来自云南大理, 独龙重楼的模式产地则来自怒江州独龙江乡。

1.3.2 大理重楼和独龙重楼中 6 种皂苷成分评价

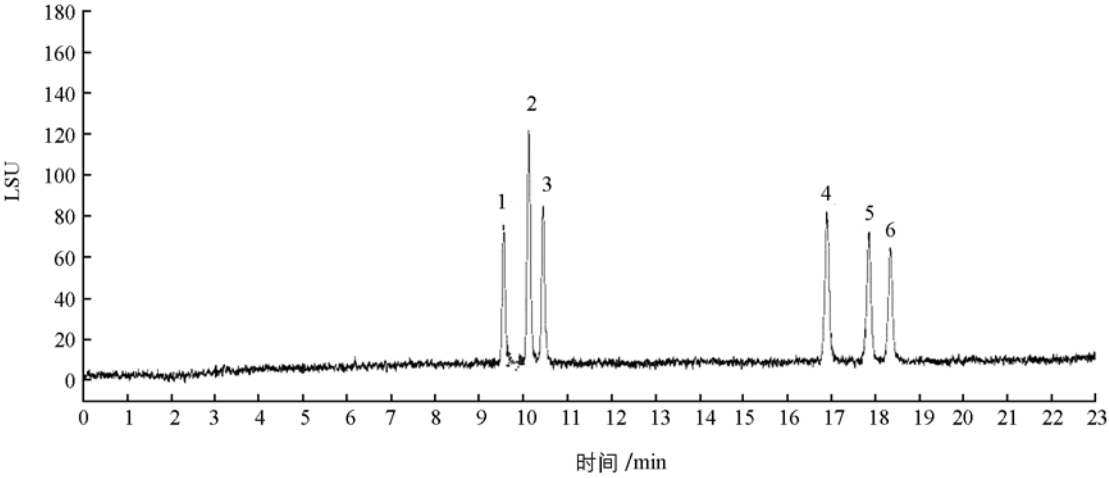
色谱条件: 色谱柱和检测器参数见表 2, 梯度洗脱程序见表 3, 混合对照品、样品见图 2—图 4。

表 2 色谱柱和检测器参数

色谱柱	ELSD 检测器 漂移管温度/℃	氮气压力/ Pa	增益	模式	柱温/ ℃
ACQUITY BEH C18 色谱柱(2.1 mm×50 mm, 1.7 μm)	55	40	500	冷却	40

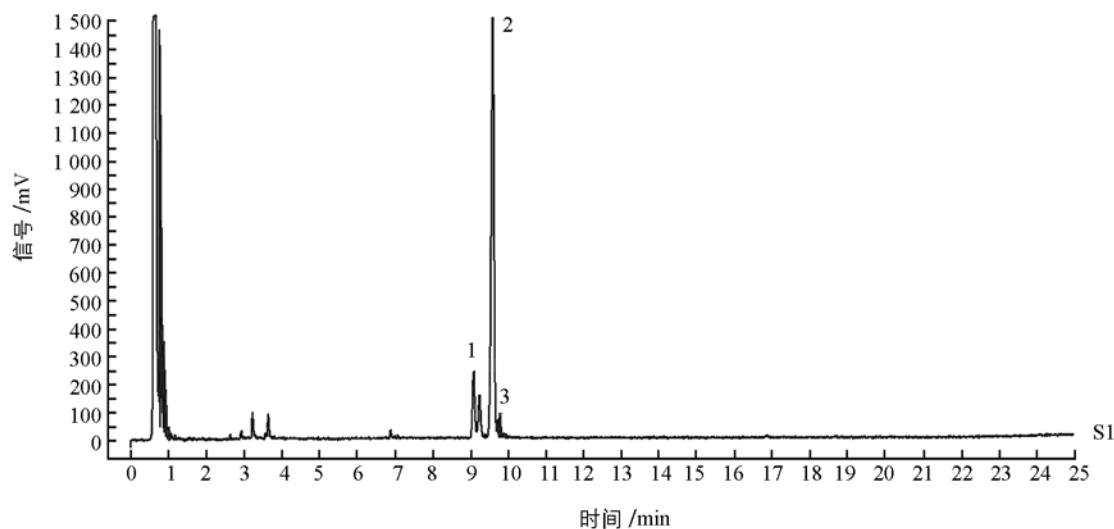
表 3 梯度洗脱程序

时间/min	乙腈/%	水/%	时间/min	乙腈/%	水/%
0~1	10~30	90~70	8~20	40A~50	60~50
1~3	30~30	70~70	20~22	50A~70	50~30
3~4	30~40	70~60	22~23	70A~90	30~10
5~8	40~40	60~60			



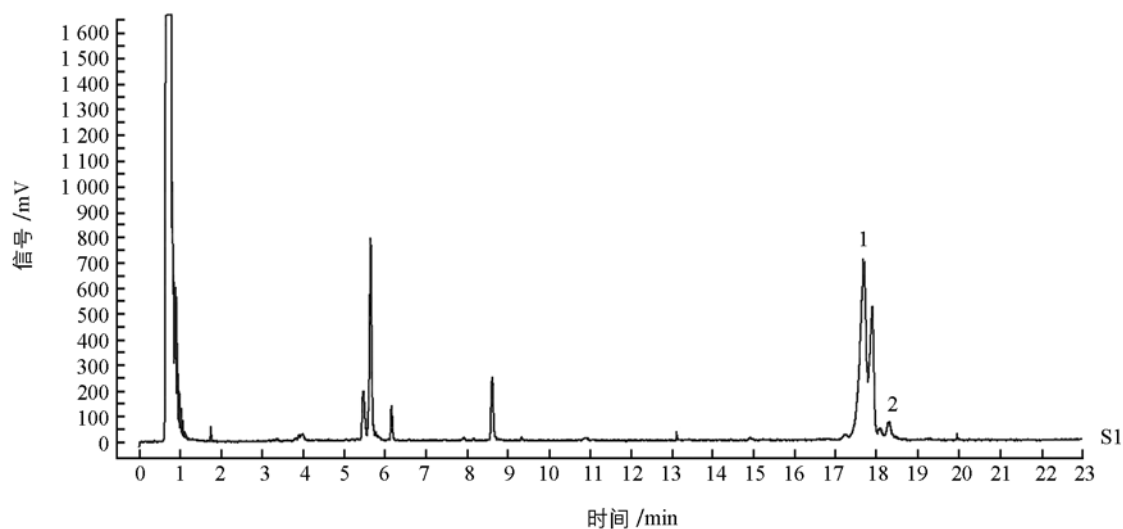
1. 重楼皂苷Ⅶ; 2. 重楼皂苷 H; 3. 重楼皂苷Ⅵ; 4. 重楼皂苷Ⅱ; 5. 纤细薯蓣皂苷; 6. 重楼皂苷Ⅰ。

图 2 混合对照品



1. 重楼皂苷Ⅶ; 2. 重楼皂苷 H; 3. 重楼皂苷Ⅵ.

图 3 大理重楼色谱图



1. 纤细薯蓣皂苷; 2. 重楼皂苷 I.

图 4 独龙重楼色谱图

对照品溶液的制备、供试品溶液的制备按照课题组已经建立的方法^[12-13]。

2 结果与分析

2.1 大理重楼和独龙重楼的野生资源分布考察

大理重楼除模式产地云南大理,在保山市腾冲市和贵州赫章县也发现了大理重楼的新分布,野生资源蕴藏量较少;独龙重楼只发现分布在云南省怒江州贡山县独龙江乡,野生资源蕴藏量更少;二者尚未被《中国药典》2015 年版收载或者在各省级药材标准中,但是其根茎在云南、贵州等各地民间也在作为重楼药材使用。

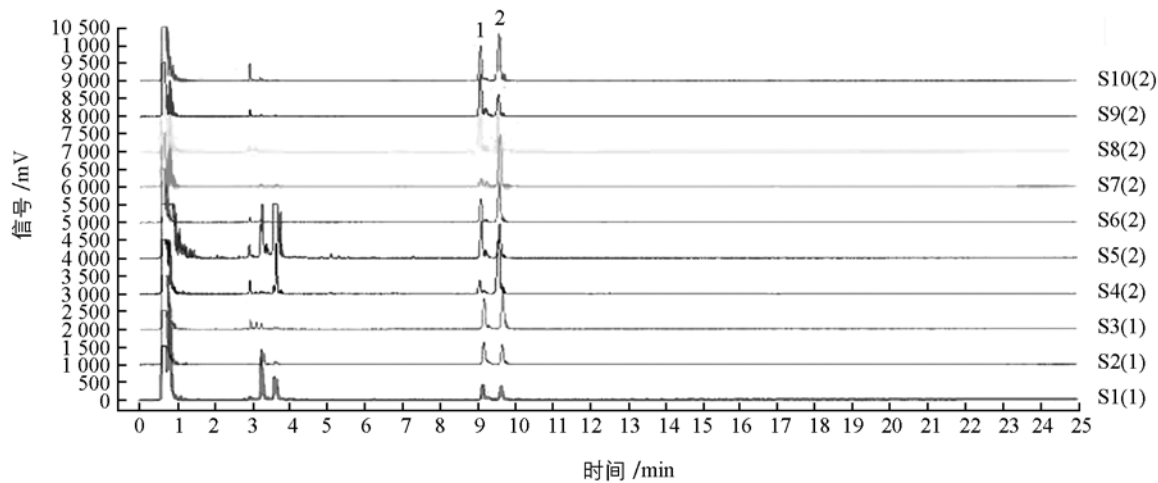
2.2 大理重楼和独龙重楼中 6 种皂苷成分评价

按照课题组已经建立的方法^[12-13],测定和计算样品中重楼皂苷含量,大理重楼皂苷含量结果见表 4,独龙重楼皂苷含量结果见表 5。其大理重楼色谱图见图 5,独龙重楼色谱图见图 6。

表 4 10 批大理重楼样品中 6 个甾体皂苷含量 %

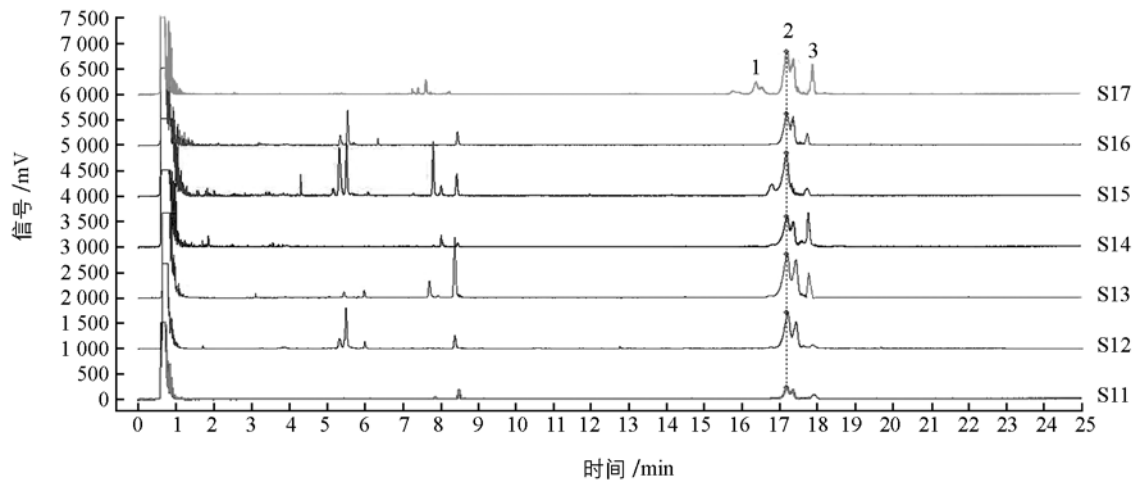
编号	VII	H	VI	II	纤细薯蓣皂苷	I	VII、VI、II、I 6 个皂苷总和
S1	0.792	0.705	—	—	—	—	1.497
S2	1.558	1.474	—	—	—	—	3.032
S3	1.780	1.923	—	—	—	—	3.703
S4	0.631	1.936	—	—	—	—	2.567
S5	1.532	1.461	—	—	—	—	2.993
S6	1.175	1.543	—	—	—	—	2.718
S7	0.354	1.987	—	—	—	—	2.341
S8	1.602	1.670	—	—	—	—	3.272
S9	1.523	0.350	—	—	—	—	1.873
S10	1.187	0.875	0.019	—	—	—	2.062

注: “—”表示无.



1. 重楼皂苷 VII; 2. 重楼皂苷 H.

图 5 大理重楼 UPLC 色谱图



1. 重楼皂苷 II; 2. 纤细薯蓣皂苷; 3. 重楼皂苷 I.

图 6 独龙重楼 UPLC 色谱图

表 5 7 批独龙重楼样品中 6 个甾体皂苷含量

%

编号	VII	H	VI	II	纤细薯蓣皂苷	I	VII、VI、II、I	6 个皂苷总和
S11	—	—	—	—	0.807	0.109	0.109	0.916
S12	—	—	—	—	1.462	0.133	0.133	1.595
S13	—	—	—	—	1.612	1.101	1.101	2.713
S14	—	—	—	—	2.811	1.765	1.765	4.576
S15	—	—	—	—	1.625	0.223	0.223	1.848
S16	—	—	—	—	2.013	0.351	0.351	2.364
S17	—	—	—	0.331	3.211	0.798	1.129	4.340

注：“—”表示无。

10 批大理重楼根茎皂苷类成分总含量平均值高于药典规定标准 1 倍多, 主要含有重楼皂苷 VII 和重楼皂苷 H; 在仅采集到的 7 批独龙重楼皂苷类成分总含量平均值达到药典规定标准, 主要含有重楼皂苷 I 和纤细偏诺皂苷。

3 结论与讨论

大理重楼除了模式重楼大理外, 发现在高黎贡山、腾冲市和贵州省赫章县有野生资源。大理重楼和独龙重楼野生资源濒危, 建议开展人工栽培和加大保护力度, 并作为种质资源予以保存。大理重楼根茎主要成分为偏诺皂苷^[14] (“宫血宁”有效成分), 独龙重楼根茎主要成分为薯蓣皂苷 (“抗病毒颗粒”消炎、抗菌、抗病毒有效成分), 可为大理重楼和独龙重楼的省级药材标准建立和临床用药新药资源开发提供参考依据。

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] 李 恒, 杨兴华, 梁汉兴. 重楼属植物 [M]. 北京: 科学出版社. 1998.
- [3] 陈昌祥, 周 俊. 滇产植物皂素成分的研究 V. 滇重楼的甾体皂苷和 β -蜕皮激素 [J]. 云南植物研究, 1981, 3(1): 89-93.
- [4] 陈昌祥, 周 俊. 五指莲重楼的甾体皂甙(2) [J]. 云南植物研究, 1987, 9(2): 239-245.
- [5] 徐学民, 钟焜昌. 华重楼化学成分研究-I. 分离及其皂甙 A、B、D 的结构测定 [J]. 中草药, 1988, 19(5): 2-6.
- [6] TOSHIHIRO N, YOSHIKO I, HARUKO S, et al. Study on the Consituents of *Paris quadrifolia* L [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1982, 30(5): 1851-1856.
- [7] 戴雪雯, 冯丽丽, 李海峰. 不同种植基地滇重楼根茎中甾体皂苷有效成分差异的研究 [J]. 中药材, 2018, 41(4): 777-783.
- [8] 刘 翊, 杜连祥, 高文远, 等. 滇重楼活性物质的分离鉴定与体外药理作用的研究 [J]. 药物生物技术, 2008, 15(6): 481-484.
- [9] ZHU L C, TAN J, WANG B C, et al. In-Vitro Antitumor Activity and Antifungal Activity of Pennogenin Steroidal Saponins from *Paris Polyphylla* Var. *Yunnanensis* [J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR, 2011, 10(2): 279-286.
- [10] 赵希娟, 刘青桥, 刑天天. 柑橘种子类柠檬苦素的分析及质谱裂解途径——基于 UPLC-Q-TOF-MS 的新方法 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(11): 20-29.
- [11] 胥秀英, 陈海芹, 郑一敏, 等. 牛蒡子提取物中咖啡酰奎宁酸类化合物的分离与结构确证 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(11): 172-176.
- [12] 张绍山. 云南重楼及其多芽品系资源调查、栽培技术和质量评价研究 [D]. 成都: 西南民族大学, 2017.

- [13] 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.
- [14] 尹鸿翔, 文飞燕, 张 浩. 彝药“麻补”止血活性物质基础及机理研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(1): 177-180.

On Distribution of the Wild Resources of *Paris daliensis*

H. Li et V. G. Souku and *P. dulongensis* H. Li et

S. Kuritap and Evaluation of Saponins in Them

LI Xue-xue¹, HUANG Zhong-jie¹, WEI Zerisha¹,
SHEN Ji-xiu¹, ZHANG Shao-shan^{1,2}, LIU Yuan³

1. College of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China;

2. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

3. Ethnic Medicine Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610041, China

Abstract: To evaluate the distribution of wild resources and steroid saponins of *Paris daliensis* H. Li et V. G. Souku and *P. dulongensis* H. Li et S. Kuritap, an on-the-spot investigation was made, and six kinds of steroid saponins, including the three polyphyllins listed in the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, and polyphyllin I, gracillin, and polyphyllin H, in them were determined with the ELSD - UPLC method established by our research group. The results were as follows. 1) The model of *P. daliensis* H. Li et V. G. Souku originated from Dali, Yunnan province. In this investigation, this plant species was newly found to be distributed in Tengchong and Baoshan of Yunnan and in Hezhang of Guizhou as well. Its wild resources were not abundant. *P. dulongensis* was only found in Dulongjiang township, Nujiang prefecture, Yunnan province, with still less wild resource storage. 2) Neither *P. daliensis* or *P. dulongensis* was recorded in the 2015 edition of the *Chinese Pharmacopoeia* or in the standards of various provincial medicinal materials, but their rhizome was also used as *Paridis Rhizoma* among the local people in Yunnan and Guizhou. 3) The average total content of saponins in 10 batches of *P. daliensis* rhizoma was more than 1 time higher than the standard stipulated in *Pharmacopoeia*, mainly containing polyphyllin VII and polyphyllin H. 4) The average value of the total content of saponins in only 7 batches of the *P. dulongensis* collected was up to the standard specified in *Pharmacopoeia*, and mainly containing polyphyllin I and slender steroidal pennogenin. It is concluded that *P. daliensis* and *P. dulongensis* are endangered species with rare resource storage, and their artificial multiplication and resource protection are necessary. The main component of *P. daliensis* is pennogenin, which is the active ingredient of “Gongxuening”; and that of *P. dulongensis* is dioscin, which is the active ingredient of the anti-inflammatory, antibacterial and antiviral medicine “Kangbingdu keli”.

Key words: *Paris daliensis* H. Li et V. G. Soukup; *Paris dulongensis* H. Li; wild resource distribution; saponins; evaluation

责任编辑 汤振金