

## 野生珍稀药用植物七叶一枝花的成分含量分析

袁晓<sup>1</sup>, 袁萍<sup>1</sup>, 严海燕<sup>1</sup>, 李建强<sup>1</sup>, 袁友明<sup>2</sup>

(1. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; 2. 湖北省农业科学院, 武汉 430064)

**摘要:** 利用分光光度计、高效液相色谱仪和等离子光谱仪对华中地区珍稀药用植物七叶一枝花 [*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara] 根茎的化学成分薯蓣皂甙元、黄酮、19种游离氨基酸、微量元素进行了分析。结果显示: 薯蓣皂甙元含量为 0.62%, 黄酮含量为 0.0628%, 总游离氨基酸含量为 0.33%, 微量元素中钙为 0.77%, 镁为 0.20%, 钾为 0.98%, 铁为 0.20%, 锌为 44.8 mg/kg, 磷为 746 mg/kg。

**关键词:** 七叶一枝花; 根茎; 薯蓣皂甙元; 黄酮; 游离氨基酸; 微量元素

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2004)06-0575-03

## Analysis on the Constituents of Wild Rare Chinese Medicinal Plant *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara

YUAN Xiao<sup>1</sup>, YUAN Ping<sup>1</sup>, YAN Hai-Yan<sup>1</sup>, LI Jian-Qiang<sup>1</sup>, YUAN You-Ming<sup>2</sup>

(1. Wuhan Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China;

2. Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064, China)

**Abstract:** The rhizoma of *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara, which is wild rare Chinese medicinal plant in the central region of China, was analyzed quantitatively by UV-Vis, HPLC and ICP-AES. The constituents of disogenin, flavone, 19 free amino acids and trace elements in the rhizoma paridis were determined. The analytical results indicate that disogenin, flavone, total free amino acids, Ca, Mg, K and Fe are 0.62%, 0.0628%, 0.33%, 0.77%, 0.20%, 0.98% and 0.20%, respectively, and Zn 44.8 mg/kg, P764 mg/kg.

**Key words:** *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara; Rhizoma; Disogenin; Flavone; Free amino acid; Trace element

百合科重楼属植物七叶一枝花 (*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara) 的根茎 (商品名为重楼), 药用历史悠久, 其植物属华中珍稀濒危植物<sup>[1]</sup>, 以前民间主要用于治疗各种疮毒、痈疽、毒蛇咬伤等<sup>[2]</sup>。现有药理研究表明, 它还具有止血、镇静镇痛、免疫调节、抗肿瘤、抗炎、抗菌抑菌、抑制精子活性等作用<sup>[2,3]</sup>。与七叶一枝花一起列为中药“重楼”的同属植物云南重楼 (*Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.) 是云南白药的组成之一, Zhou L G<sup>[4]</sup> 和 Hisashi

Matsuda<sup>[5]</sup>等研究发现, 云南重楼的有效成分中两种寡糖有植物生长调节剂的作用, 甾体皂甙能抑制由酒精引起的胃损伤症。近几年的临床实验表明, 七叶一枝花根茎对治疗妇女子宫大量出血疗效显著<sup>[2, 6]</sup>; 对治疗咳嗽、喘症、肺胀、恶性胸水等肺系疾病和热毒引起的疾病多有奇效; 对淋巴结核溃疡、体内炎症、毒蛇咬伤、皮炎蜂蛰都有很显著的疗效<sup>[7,8]</sup>, Ma J C N 和 Lau F W 1985年研究了七叶一枝花根茎中的甾体皂甙成分, 发现与云南重楼的成分相同, 称其薯蓣皂甙为抗肿瘤和止血的有效成分<sup>[9]</sup>。近几

收稿日期: 2003-12-17, 修回日期: 2004-04-15。

基金项目: 中国科学院武汉植物园知识创新工程所长基金资助项目。

作者简介: 袁晓(1962-), 男, 副研究员, 博士在读, 研究方向为天然产物研究和新药开发。

年来对七叶一枝花根茎中有效成分的研究主要是薯蓣皂甙,鉴于这些,我们对该植物的成分作了较全面的分析,以为该植物引种驯化、迁地保护、药理研究及 GAP 种植提供基础数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

七叶一枝花材料由湖北省鹤峰县科源农业技术开发有限责任公司袁唯洲提供。九月下旬在鹤峰县海拔 500~1 300 m 的不同地点采集七叶一枝花全株,取 3~5 年生植株的根茎,经过烘干、粉碎、混匀备用。植物材料经中国科学院武汉植物园李建强博士鉴定。薯蓣皂甙元、芦丁对照品由中国药品生物制品检定所提供。

### 1.2 仪器与药品

722 型分光光度计(上海分析厂),Waters 高效液相色谱仪(PIERCE 公司),IRS advantage ICP 全谱直读等离子光谱仪(TJA 公司),JP 超声仪。试剂均为分析纯。

### 1.3 方法与条件

①量取 20 mL 甲醇于 250 mL 三角瓶中,逐滴加入 80 mL 浓硫酸(比例 1:4),搅拌均匀后即薯蓣皂甙元显色剂。②黄酮显色剂用 5% 的  $\text{AlCl}_3$  甲醇溶液 250 mL 配制。③将七叶一枝花根茎在干燥箱内 80℃ 鼓风干燥 2 h,粉碎后过 80 目筛,再于 80℃ 干燥至衡重,待用。④精密称量处理后的七叶一枝花根茎样品 5 g 于 100 mL 圆底烧瓶中,加入 20 mL 去离子水置入 40℃ 恒温箱内发酵 24 h,取浓硫酸 5 mL 逐滴加入并不断摇动,加热回流 4 h 水解;水解液加氢氧化钠溶液中和至 pH 为 7,水解液抽滤,滤渣置 80℃ 的烘箱内干燥 2 h,并用 100 mL 石油醚索氏提取 2 h,石油醚溶液定容于 100 mL 容量瓶中,待测薯蓣皂甙元。⑤精密称量处理后的七叶一枝花根茎样品 5 g,加 100 mL 甲醇超声提取 30 min,过滤,重复 2 次,合并滤液,浓缩,定容于 100 mL 容量瓶中,待测样品中的黄酮成分。⑥精密称量处理后的七叶一枝花根茎样品 2 g,加去离子水超声提取 20 min,过滤,定容于 100 mL 容量瓶中,待测样品中的氨基酸成分。⑦精密称量处理后的七叶一枝花根茎样品 0.5 g 置于 30 mL 瓷坩埚中,于 550℃ 马福炉干灰化,取出冷却后加 1:1 HCl(浓盐酸:水) 5 mL,加热溶解,并用去离子水定容至 25 mL 容量

瓶中,待测样品中的微量元素。⑧精密称量薯蓣皂甙元标准品 5 mg,用石油醚(60~90℃)溶解定容至 100 mL 为薯蓣皂甙元标准液。⑨精密称量芦丁标准品 2.5 mg,用甲醇溶解并定容至 25 mL 为芦丁的标准液。⑩用 10% HCl 配制 Ca、Mg、K、Zn、P 标准溶液。⑪氨基酸分析柱前处理:Waters AccQ-Tag 柱前衍生法制成氨基酸标准溶液及样品溶液。⑫ HPLC 的分析条件:液相色谱柱为  $\text{C}_{18}$  NoVaPak(直径 4.6 mm,长 20 mm),检测波长为 248 nm,柱压为 8.3 Mpa,流速为 1.0 mL/min。⑬等离子光谱仪工作参数:高频功率 1.15 kw,Ar 气 0.5 L/min,泵速为 130 r/min,载气压力为 30 Pa;检测器为 CID。

## 2 结果与讨论

### 2.1 实验结果

**薯蓣皂甙元标准曲线制作** 取标准溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于试管中,置水浴上挥发去溶剂,然后加显色剂 5 mL 摇匀,放置 30 min,于分光光度计 412 nm 处,读取吸光度数值。以显色剂为空白,回归方程为  $Y = 8.784X - 0.0164$ ,  $R = 0.9937$ 。

**薯蓣皂甙元样品测定** 取样品溶液 0.1 mL 于试管中,置水浴上挥发去溶剂,然后加显色剂 5 mL 摇匀,放置 30 min,于分光光度计 412 nm 处,以显色剂为空白,读取吸光度数值。计算结果:薯蓣皂甙元为 0.62%,RSD 为 1.08%,平均回收率 100.5%( $n=5$ )。

**芦丁标准曲线制作** 取芦丁标准液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,加  $\text{AlCl}_3$  显色剂定容于 10 mL 容量瓶,于分光光度计 425 nm 处,读取吸光度数值,以  $\text{AlCl}_3$  显色剂为空白,回归方程为  $Y = 3.712X + 0.0196$ ,  $R = 0.99899$ 。

**黄酮样品测定** 取样品溶液 5 mL 加  $\text{AlCl}_3$  显色剂定容于 10 mL 容量瓶,于分光光度计 425 nm 处,以  $\text{AlCl}_3$  显色剂为空白,读取吸光度数值( $n=5$ )。计算结果:黄酮含量为 0.0628%,RSD 为 1.03%,平均回收率 100.3%( $n=5$ )。

**氨基酸的含量测定** 氨基酸的含量测定见表 1。

**微量元素测定** 微量元素测定中,标准溶液与样品溶液酸介质浓度一致,对实际样品平衡测定 10 次;RSD 分别为 1.04%、1.48%、1.13%、1.78%、2.33%,微量元素含量见表 2。

表1 七叶一枝花根茎中的游离氨基酸及其含量

Table 1 The contents of free amino acids in the rhizoma paridis

名称 Name	含量(%) Content	名称 Name	含量(%) Content	名称 Name	含量(%) Content
天门冬氨酸 ASP	0.012	甘氨酸 GLY	0.004	亮氨酸 LEU	0.005
苏氨酸 THR	0.034	丙氨酸 ALA	0.019	蛋氨酸 MET	0.006
丝氨酸 SER	0.020	精氨酸 ARG	0.120	色氨酸 TRP	0.005
酪氨酸 TYR	0.012	缬氨酸 VAL	0.007	鸟氨酸 ORN	0.011
谷氨酸 GLU	0.013	胱氨酸 CYS	0.005	赖氨酸 LYS	0.008
脯氨酸 PRO	0.041	异亮氨酸 ILE	0.006	氨基酸总 含量 Total	0.33
组氨酸 HIS	0.002	苯丙氨酸 PHE	0.006		

表2 七叶一枝花根茎中的微量元素及含量

Table 2 The contents of trace elements in rhizoma paridis

微量元素名称 Name of element	单位 Unit	检测结果 Analytical result
Ca	%	0.77
Mg	%	0.20
K	%	0.98
Fe	%	0.2
Zn	mg/kg	44.8
P	mg/kg	746

## 2.2 讨论

(1) 七叶一枝花根茎中的甾体皂甙主要以薯蓣皂甙元的多种糖甙为主。我们用分光光度法测试七叶一枝花根茎中的薯蓣皂甙元含量为0.62%，与韦建荣<sup>[10]</sup>报道的云南元阳、绿川、红河等地区云南重楼的薯蓣皂甙元含量相近，其含量都较高。湖北省鹤峰县科源农业技术开发有限责任公司已将七叶一枝花作为重点药材进行大面积栽培。今后我们的重点是将野生七叶一枝花和人工栽植七叶一枝花的化学成分进行比较，用分析测试等手段跟踪检测，使其达到规范化种植。另外，在本实验中我们用高压液相色谱法，参照中国药典(2000年版)<sup>[11]</sup>及其它资料，在样品的制备上有所改进，改进后的方法简单可行并且重现性好，适合基层单位分析测定。

(2) 微量元素测试结果显示七叶一枝花根茎中钙、钾、铁、镁的含量都较高，其中钾的含量达到近1%，这些元素不仅对人体有重要的生理调节作用，

而且对植物自身也有重要的生理调节作用<sup>[12]</sup>。

从本研究结果可知，七叶一枝花根茎中含有丰富的微量元素，薯蓣皂甙元含量也较高，并含有多种游离氨基酸，药效也较广泛，因此，可对该植物进行引种驯化，迁地保护，丰富其资源，并对其进行有针对性地开发。

## 参考文献:

- [1] 王诗云,赵子恩,彭辅松,蒋祖德. 华中珍稀濒危植物及其保存[M]. 北京:科学出版社,1995. 139.
- [2] 边洪荣,李小娜,王会教. 重楼的研究及应用进展[J]. 中药材,2002, 25(3):218-220.
- [3] 季申,周坛树,张锦哲. 中药重楼和云南白药中抗肿瘤细胞毒活性物质 Cracillin 的测定[J]. 中成药,2001, 23(2):212-215.
- [4] Zhou L G, Yang C G, Li J Q, et al. Heptasaccharide and octasaccharide isolated from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and their plant growth-regulatory activity[J]. *Plant Science*, 2003, 165: 571-575.
- [5] Matsuda H, Pongpiriyadacha Y, Morikawa T, et al. Protective effects of steroid saponins from *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* on ethanol-or indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats: structural requirement for activity and mode of action [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2003, 13:1101-1106.
- [6] 叶燕萍,易金莉. 蚤休粉治疗女性生殖道衣原体感染的初步研究——附80例分析[J]. 实用中西医结合杂志,1996,9(4):226-227.
- [7] 邵利平. 重楼疗肺系疾病[J]. 四川中医,2000,18(7):15.
- [8] 石小枫,杜德极,谢定城,冉长清. 重楼总皂甙对 H<sub>22</sub> 动物移植性肿瘤的影响[J]. 中草药,1992,15(2):33-36.
- [9] Ma J C N, Lau F W. Structure characterization of haemostatic diosgenin glycosides from *Paris polyphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(7): 1561-1565.
- [10] 韦建荣,董讯. 重楼中薯蓣皂甙元的反相高效液相色谱法测定[J]. 色谱,1999,17(5):498-499.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000. 214.
- [12] 胡家金,肖浪涛,彭志红,洪亚辉. 植物钾吸收基因及其遗传转化的研究进展[J]. 生物技术通讯,2003,14(2):165-168.