

桃儿七质量标准的研究

刘盈盈^{1,2,3}, 许显莉^{1,2,3}, 冯海生^{1,2}, 李彩霞^{1,2*}, 马世震^{1,2*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2. 青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 青海 西宁 810008; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 目的 建立桃儿七 *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying 的质量标准。方法 分类学方法鉴别桃儿七基源性状, 显微鉴别和薄层色谱法 (TLC) 鉴别桃儿七基源, 测定杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、重金属及有害元素、农药残留、醇溶性浸出物含量, HPLC 法测定 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山柰酚、鬼臼毒素含量。结果 桃儿七显微鉴别与薄层鉴别特征显著。初步拟定桃儿七中杂质不得超过 4.00%, 水分不得超过 9.00%, 总灰分含量不得超过 4.00%, 酸不溶性灰分含量不得超过 1.00%, 铅含量不得超过 5 mg/kg, 镉含量不得超过 1 mg/kg, 砷含量不得超过 2 mg/kg, 汞含量不得超过 0.2 mg/kg, 铜含量不得过 20 mg/kg, 马拉硫磷、杀螟硫磷、抗蚜威、溴氰菊酯、甲氰菊酯含量均不得超过 0.01 mg/kg, 醇溶性浸出物含量不得少于 5.00%, 鬼臼毒素含量不得少于 2.80 mg/g。结论 该方法简便, 专属性强, 重复性好, 可有效控制桃儿七的质量。

关键词: 桃儿七; 鬼臼毒素; 质量标准

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2021)10-2743-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.10.025

Quality Standard for *Sinopodophyllum hexandrum*

LIU Ying-ying^{1,2,3}, XU Xian-li^{1,2,3}, FENG Hai-sheng^{1,2}, LI Cai-xia^{1,2*}, MA Shi-zhen^{1,2*}

(1. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2. Qinghai Provincial Key Laboratory for Research of Qinghai-Tibet Plateau Characteristic Biological Resources, Xining 810008, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

ABSTRACT: AIM To establish the quality standard for *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying.

METHODS *S. hexandrum* was subjected to the taxonomic identification, the detection of morphologic features by microscopy, and quantitative determinations of impurities moisture, total ash, acid insoluble ash, heavy metals and harmful elements, pesticide residues, and alcohol-soluble extract were determined by TLC; and the content determination of 4'-demethylpodophyllotoxin, quercetin, kaempferol, podophyllotoxin were determined by HPLC.

RESULTS The microscopic identification and TLC identification contributed significant distinguishing characteristics for *S. hexandrum*. It was preliminarily proposed that there should be no more than 4.00% impurities, 9.00% moisture, 4.00% total ash, 1.00% acid insoluble ash, 5 mg/kg Pb, 1 mg/kg Cd, 2 mg/kg As, 0.2 mg/kg Hg, 20 mg/kg Cu, 0.01 mg/kg malathion, sumithion, pirimicarb, deltamethrin, and fenproprathrin; no less than 5.00% alcohol-soluble extract and 2.80 mg/g podophyllotoxin. **CONCLUSION** This simple, specific and reproducible method can be used for the effective quality control of *S. hexandrum*.

KEY WORDS: *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying; podophyllotoxin; quality standard

收稿日期: 2020-12-14

基金项目: 青海省应用基础研究 (2019-ZJ-7061)

作者简介: 刘盈盈 (1996—), 女, 硕士生, 研究方向为药材质量标准。E-mail: 17863252860@163.com

* 通信作者: 李彩霞 (1988—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为青藏高原特色生物资源的利用与保护。E-mail: lcx@nwipb.cas.cn

马世震 (1963—), 男, 研究员, 研究方向为青藏高原特色生物资源的利用与保护。E-mail: szma@nwipb.cas.cn

桃儿七为小檗科植物桃儿七 *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying 的干燥根及根茎^[1-5], 主要分布在我国青海、西藏、四川、陕西、甘肃等地, 具有祛风除湿、活血止痛、祛痰止咳之功效^[6-7]。现代药理研究还表明, 桃儿七具有抗肿瘤、祛痰止咳、抗炎、抗病毒等作用^[8-12]。桃儿七主要含有鬼臼毒素、4'-去甲基鬼臼毒素等木脂素类化合物和槲皮素、山柰酚等黄酮类化合物, 其中鬼臼毒素为主要活性成分, 同时, 鬼臼毒素是用于治疗各种恶性肿瘤抗癌药物依托泊苷 (VP-16) 和替尼泊苷 (VM-26) 的化学合成原料药^[13-15], 研究发现, 4'-去甲基鬼臼毒素对羊膜细胞培养的疱疹病毒有良好的抑制作用, 此外, 桃儿七中槲皮素和山柰酚等成分对镇咳祛痰显著效果。因此, 桃儿七药材应用广泛, 全面有效控制桃儿七药材质量具有重要意义。

目前, 桃儿七药材尚无国家标准及地方标准。仅小檗科植物桃儿七 *Sinopodophyllum hexandrum* (Royle) Ying 的干燥成熟果实在《中国药典》中以“小叶莲”之名收载, 对其性状、显微特征进行了描述, 采用 TLC 对鬼臼毒素进行了定性鉴别, 规定了水分、总灰分含量限度^[16]。张丽等^[17]对 10 批桃儿七药材进行质量标准研究, 对其植物形态、性状、显微特征进行描述, 采用 TLC 法进行定性鉴别以及对 4'-去甲基鬼臼毒素、山柰酚、鬼臼毒素 3 种成分进行含量测定。对桃儿七药材质量标准的, 尚未包括杂质、水分、总灰分、醇溶性浸出物含量等其他常规检查项, 也未包含农药残留量、重金属及有害元素等安全性内容。近年来, 中药材质量标准中有关安全性方面内容受到较大关注, 2020 年版《中国药典》主要特点之一就是提高药品安全和有效控制要求, 进一步加强对药材饮片重金属及有害元素、禁用农药残留、真菌毒素以及内源性有毒成分的控制^[16]。因此, 现有桃儿七质量标准研究不能有效地控制桃儿七药材整体质量, 还需进一步完善, 补充安全检查项目。

本研究采用显微鉴别方法和薄层色谱法 (TLC) 对桃儿七药材进行鉴别, 同时按 2020 年版《中国药典》(四部) 方法对其杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、重金属、农药残余量、醇溶性浸出物等进行考察; 采用 HPLC 法对 4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山柰酚、鬼臼毒素 4 种成分进行定量分析, 以期制定桃儿七药材质量标准体系, 为有效地控制桃儿七药材整体质量提供科学参考。

1 材料

1.1 药材 桃儿七经中国科学院西北高原生物研究所马世震研究员鉴定为正品, 样本存放于中国科学院西北高原生物研究所藏药研究重点实验室。具体信息见表 1。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	产地	来源
S1	四川	购买
S2	西藏	购买
S3	四川汶川	购买
S4	四川阿坝	购买
S5	陕西	购买
S6	青海湟中	采集
S7	湖北	购买
S8	甘肃	购买
S9	青海玉树	采集
S10	青海玉树	采集

1.2 仪器与试剂 SL-500A 高速万能粉碎机 (浙江省永康市松青五金厂); ML2047 电子天平 (梅特勒托利多仪器上海有限公司); BPG-9140A 电热鼓风干燥箱 (一恒科学仪器有限公司); SK3310LHC 超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); N-1210BV-WB 旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); 荧光显微镜尼康 CI-S (日本尼康公司); Molatom 18220DXG 超纯水系统 (重庆摩尔水处理设备有限公司); 高效 GF₂₅₄ 预制薄层板 (青岛海洋化工厂); 硅胶 HF₂₅₄ 预制薄层板 (烟台化工厂)。鬼臼毒素对照品 (纯度 ≥ 98%) (成都普菲德生物技术有限公司); 4'-去甲基鬼臼毒素对照品 (纯度 ≥ 99.2%, 中国食品药品检定研究院); 山柰酚对照品 (纯度 ≥ 98%, 成都普菲德生物技术有限公司); 槲皮素对照品 (纯度 ≥ 98%, 北京中科质检生物有限公司)。甲酸 (色谱纯, 天津市凯信化学工业有限公司); 甲醇 (色谱纯, 山东禹王实业有限公司); 二氯甲烷 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 乙酸乙酯 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 硫酸 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 香草醛 (西陇科学股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 基源鉴别 通过野外标本采集, 并借鉴《中国植物志》^[18] 进行描述。桃儿七是小檗科桃儿七属多年生草本, 植株高 20~50 cm; 根状茎粗短, 节状, 多须根; 茎直立, 单生, 具纵棱, 无毛, 基部被褐色大鳞片; 叶 2 枚, 薄纸质, 非盾状, 基部心形, 3~5 深裂几达中部, 裂片不裂或有时 2~3 小

裂,裂片先端急尖或渐尖,上面无毛,背面被柔毛,边缘具粗锯齿;叶柄长10~25 cm,具纵棱,无毛;花大,单生,先叶开放,两性,整齐,粉红色;萼片6,早萎。花瓣6,倒卵形或倒卵状长圆形,长2.5~3.5 cm,宽1.5~1.8 cm,先端略呈波状;雄蕊6,长约1.5 cm,花丝较花药稍短,花药线形,纵裂,先端圆钝,药隔不延伸;雌蕊1,长约1.2 cm,子房椭圆形,1室,侧膜胎座,含多数胚胎,花柱短,柱头头状;浆果卵圆形,长4~7 cm,直径2.5~4 cm,熟时桔红色;种子卵状三角形,红褐色,无肉质假种皮;花期5~6月,果期7~9月;以根及根状茎入药;秋季采挖,洗净晒干。

2.2 性状鉴别 通过野外标本采集,并借鉴《中国植物志》^[18]进行描述。桃儿七根茎呈不规则结节状,长0.5~3 cm,直径0.5~1 cm,表面灰黄色、暗灰棕色或淡褐色,上面具数个稍膨大而凹陷不甚明显的茎基,旁边有一淡棕色干燥苞芽;质硬,折断面略平坦,淡黄棕色,隐约有一圈维管束小点;根密生,细长圆柱形,较顺直,长2.3~46 cm,直径1.2~4.0 mm,表面淡棕色至棕黄色,较光滑或具纵皱褶和细根;质脆,易折断,断面黄白色,粉性,中心有一淡黄色小点;气微,味苦、微辛。

2.3 显微鉴别 取桃儿七粉末少许,置载玻片上,水合氯醛制片,于显微镜下观察,见图1。由此可知,本品淀粉粒众多,单粒类圆形,复粒由2~4分粒组成,少数5~9分粒;导管数个相聚或单个散在,大多为网纹,少数为孔纹、梯纹、螺旋纹。

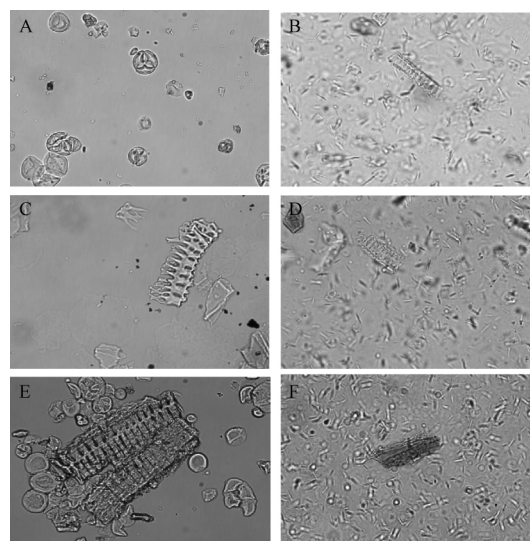
2.4 薄层色谱鉴别 取药材粉末1 g,加入40 mL甲醇超声提取21 min,放冷,摇匀,滤过,滤液水浴蒸干,残渣加5 mL甲醇溶解,即得供试品溶液。

精密称取鬼臼毒素、4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山柰酚对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg该成分溶液,即得对照品溶液。

参照2020年版《中国药典》(四部)通则0502,吸取上述供试品及4种对照品溶液各2 μL,点于同一硅胶G薄层板上,以二氯甲烷-甲醇-水(15:1.2:0.1:0.1)为展开剂,在展开缸中预饱和30 min后展开,取出,在105℃下烘干,254 nm紫外光检视,见图2。

2.5 检查

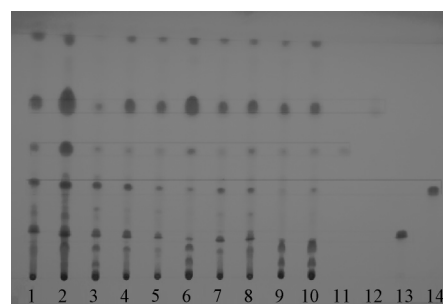
2.5.1 杂质 按照2020年版《中国药典》(四部)通则2301项测定,结果见表2,可知10批药材杂质范围为1.19%~4.98%,平均为3.13%。因



注: A~F分别为淀粉粒、环纹导管、孔纹导管、梯纹导管、网纹导管、维束管。

图1 桃儿七显微鉴别图

Fig. 1 Microscopic identification of *S. hexandrum*



注: 1~10为不同产地桃儿七, 11为4'-去甲基鬼臼毒素对照品, 12为鬼臼毒素对照品, 13为槲皮素对照品, 14为山柰酚对照品。

图2 样品及对照品TLC色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of samples and reference substances

此,暂将杂质限度定为不得超过4.00%。

2.5.2 水分 按照2020年版《中国药典》(四部)通则0832项第二法测定,取供试品粉末2~5 g,平铺于干燥至恒定质量的扁形称量瓶中,厚度不超过5 mm,疏松品不超过10 mm,精密称定质量,开启瓶盖,在100~105℃下干燥5 h,瓶盖盖好,移到干燥器中,放冷30 min,精密称定,再在上述温度干燥1 h,放冷,称定质量,至连续2次质量差异不超过5 mg为止,根据减失的质量计算含水量,结果见表2,可知10批药材水分范围为5.28%~8.46%,平均为7.24%。以平均值的变差系数20%核算,确定水分不得超过9.00%。

2.5.3 灰分 按照2020年版《中国药典》(四部)通则2302项第二法测定,取供试品粉末3~

表2 杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量测定结果

Tab. 2 Results of content determination for impurities, water, total ash, acid-insoluble ash and extract

编号	杂质/%	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	浸出物/%
S1	4.37	7.01	2.50	0.74	4.45
S2	4.00	8.46	2.20	0.74	6.01
S3	3.31	7.82	4.20	1.96	10.99
S4	4.98	6.92	3.70	1.25	4.04
S5	2.18	7.75	4.40	1.48	6.45
S6	2.33	7.63	3.50	0.25	5.12
S7	2.38	6.80	4.50	1.24	8.28
S8	2.19	6.58	3.00	0.25	8.94
S9	2.00	8.10	4.00	0.74	4.57
S10	3.51	5.28	3.70	0.25	4.52

5 g, 置炽灼至恒定质量的坩埚中, 称定质量 (准确至 0.01 g), 缓缓炽热, 注意避免燃烧, 至完全炭化时逐渐升高温度至 500~600 °C, 使完全灰化并恒定质量, 根据残渣质量计算总灰分含量。取所得灰分, 在坩埚中小心加入稀盐酸约 10 mL, 用表面皿覆盖坩埚, 置水浴上加热 10 min, 表面皿用热水 5 mL 冲洗, 洗液并入坩埚中, 用无灰滤纸过滤, 坩埚内的残渣用水洗于滤纸上, 并洗涤至洗液不显氯化物反应为止。滤渣与滤纸移到同一坩埚中, 干燥, 炽灼至恒定质量, 根据残渣质量计算酸不溶性灰分的含量, 结果见表 2, 可知 10 批药材总灰分含量范围为 2.20%~4.50%, 平均为 3.57%; 酸不溶性灰分含量范围为 0.25%~1.96%, 平均为 0.89%。以平均值的变差系数 20% 核算, 拟定总灰分含量不得超出 4.00%, 酸不溶性灰分含量不得超过 1.00%。

2.5.4 重金属及有害元素 2020 年版《中国药典》(四部) 通则 2321 项下规定了铅、镉、砷、汞、铜检测方法, 故选定此 5 种重金属进行含量测定。采用原子吸收分光光度法, 铅、镉均采用石墨炉法进行测定, 砷采用氢化物法进行测定, 汞采用冷蒸汽吸收法进行测定, 铜采用火焰法进行测定, 结果见表 3, 可知 10 批药材铅含量为 0.24~1.16 mg/kg, 镉含量为 0.011~0.054 mg/kg, 砷含量为 0.077~0.53 mg/kg, 汞含量为 0.000 9~0.005 5 mg/kg, 铜含量为 5.33~14.53 mg/kg, 平均值分别为 0.69、0.037、0.247、0.002 7、8.17 mg/kg。2020 年版《中国药典》(四部) 规定, 铅不得超过 5 mg/kg, 镉不得超过 1 mg/kg, 砷不得超过 2 mg/kg, 汞不

表3 重金属及有害元素含量测定结果

Tab. 3 Results of content determination for heavy metals and harmful elements

编号	铅/ (mg·kg ⁻¹)	镉/ (mg·kg ⁻¹)	总砷/ (mg·kg ⁻¹)	总汞/ (mg·kg ⁻¹)	铜/ (mg·kg ⁻¹)
S1	0.74	0.034	0.120	0.005 5	5.33
S2	0.95	0.044	0.130	0.001 3	6.91
S3	0.62	0.039	0.300	0.000 9	8.32
S4	0.86	0.021	0.370	0.002 5	5.64
S5	0.84	0.011	0.530	0.005 0	7.51
S6	0.31	0.028	0.077	0.001 4	14.53
S7	0.93	0.051	0.480	0.004 8	5.86
S8	1.16	0.053	0.230	0.002 4	5.92
S9	0.24	0.054	0.140	0.001 7	11.10
S10	0.26	0.035	0.094	0.001 2	10.60

得超过 0.2 mg/kg, 铜不得超过 20 mg/kg, 本实验 10 批药材五者含量均在上述范围内。

2.5.5 农药残留量 由于桃儿七病虫害主要是蚜虫和田鼠^[19], 故选取常用于防治蚜虫的农药马拉硫磷、杀螟硫磷、抗蚜威、溴氰菊酯、甲氰菊酯进行农药残留量测定。按照 2020 年版《中国药典》(四部) 通则 2341 项下方法检测, 结果 5 种农药均未检出。2020 年版《中国药典》(四部) 通则 2321 项下规定, 农药残留量不得超过 0.01 mg/kg, 故拟定桃儿七 5 种农药残留量亦然。

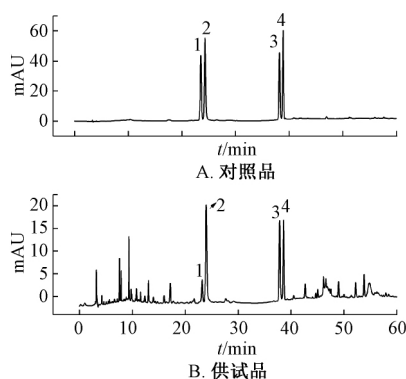
2.6 浸出物检查 取 10 批药材粉末适量, 精密称定, 按 2020 年版《中国药典》(四部) 通则 2201 项下醇溶性浸出物测定法(热浸法)测定, 结果见表 2, 可知 10 批药材醇溶性浸出物含量为 4.04%~10.99%, 平均为 6.34%, 以平均值的变差系数 20% 核算, 拟定浸出物含量不得少于 5.00%。

2.7 含量测定

2.7.1 色谱条件 JADE-PAK ODS 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈 (A) - 0.04% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 5%~25% A; 5~15 min, 25%~28% A; 15~30 min, 28% A; 30~40 min, 28%~45% A; 40~60 min, 45%~70% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 254 nm; 进样量 10 μL。在该条件下各色谱峰分离情况良好, 见图 3。

2.7.2 对照品溶液制备 精密称取鬼臼毒素、4'-去甲基鬼臼毒素、山柰酚、槲皮素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 1.0、0.5、0.1、0.1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.7.3 供试品溶液制备 精密称取药材干燥粉末



1. 4'-去甲基鬼臼毒素 2. 槲皮素 3. 山柰酚 4. 鬼臼毒素
1. 4'-demethylpodophyllotoxin 2. quercetin 3. kaempferol
4. podophyllotoxin

图3 各成分HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of various constituents

0.1 g, 过40目筛, 置于具塞试管中, 在料液比1:40、超声时间21 min、超声温度56℃、82%甲醇下提取, 共3次, 抽滤得提取液, 定容至25 mL量瓶中, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 即得。

2.7.4 线性关系考察 吸取“2.7.2”项下对照品溶液, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 在“2.7.1”项色谱条件下进样2、4、6、8、10、12、14、16 μL。以峰面积为纵坐标(Y), 进样量为横坐标(X)进行回归, 结果见表4, 可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表4 各成分线性关系

Tab. 4 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/μg
4'-去甲基鬼臼毒素	$Y=638.31X+66.732$	0.999 9	1~8
槲皮素	$Y=4.975.2X-0.153 6$	0.999 9	0.2~1.6
山柰酚	$Y=3.113.8X+4.467 9$	0.999 9	0.2~1.6
鬼臼毒素	$Y=337.91X+108.67$	0.999 8	2~16

2.7.5 精密度试验 精密吸取“2.7.2”项下对照品溶液10 μL, 在“2.7.1”项色谱条件下进样5次, 测得4种成分峰面积RSD分别为0.20%、0.39%、0.26%、0.21%, 表明仪器精密度良好。

2.7.6 重复性试验 取同一批药材(S1)6份, 每份约0.1 g, 精密称定, 按“2.7.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.7.1”项色谱条件下进样, 测得4种成分含量RSD分别为1.07%、2.00%、1.86%、3.00%, 表明该方法重复性良好。

2.7.7 稳定性试验 取同一批药材(S1)约0.1 g, 精密称定, 按“2.7.3”项下方法制备供试品溶液, 于0、2、4、6、8、12、24 h在“2.7.1”

项色谱条件下进样, 测得4种成分峰面积RSD分别为0.52%、0.96%、0.86%、0.42%, 表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.7.8 加样回收率试验 取各成分含量已知的药材(S1)9份, 每份约0.1 g, 精密称定, 按样品含量-对照品量1:0.5、1:1、1:1.5比例分别加入各对照品溶液, 按“2.7.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.7.1”项色谱条件下进样, 计算回收率, 结果见表5。

2.7.9 样品含量测定 取10批药材提取物, 平行3组, 按“2.7.3”项下方法制备供试品溶液, 在“2.7.1”项色谱条件下进样, 计算含量, 结果见表6。由此可知, 4种成分含量差异较大, 可能是受植物生长环境及采集时间的影响; 鬼臼毒素含量最高, 故以其为指标成分, 拟定含量不得少于2.80 mg/g。

3 讨论

3.1 TLC条件筛选 《中国药典》中小叶莲TLC鉴别方法采用环己烷-水饱和的正丁醇-甲酸(6.5:2.5:0.8)的上层溶液为展开剂, 但只对一种成分。张丽等^[17]采用氯仿-甲醇(15:1)下层液为展开剂展开, 也只针对3种成分。本实验比较了不同的展开剂系统、不同点样量、不同检视方法下的色谱, 同时, 采用3个不同厂家的薄层板对此方法的耐用性进行了考察, 发现在不同的薄层板上4种成分的斑点均可达到有效分离, 表明该方法耐用性强。综合实验结果分析, 最终确定TLC展开条件。

3.2 浸出物测定方法考察 本实验先采用冷浸法, 分别使用8种不同溶剂测定桃儿七浸出物含量, 发现使用50%乙醇浸出物含量最高。然后, 将50%乙醇作为溶剂, 对比热浸法和冷浸法不同方法下桃儿七浸出物含量, 发现热浸法条件下浸出物含量较高。因此, 选择热浸法, 并以50%乙醇作为溶剂, 对10批桃儿七进行浸出物含量测定。

3.3 色谱条件选择 本实验前期发现4'-去甲基鬼臼毒素、槲皮素、山柰酚和鬼臼毒素的最大吸收波长均不同, 因此, 比较不同波长下的色谱图, 为最大可能的兼顾4种成分的峰形及灵敏度, 试验最终选择254 nm为检测波长^[20]。选择了不同比例及组合的流动相, 通过比较色谱图中各成分峰形情况, 最终确定乙腈-0.04%甲酸水为流动相, 梯度洗脱, 这一与叶耀辉等^[21]的研究结果一致。

表5 各成分加样回收率试验结果 (n=9)

Tab. 5 Results of recovery tests for various constituents (n=9)

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
4'-去甲基鬼臼毒素	0.100 3	0.086	0.046	0.130	96.49	97.95	2.90
	0.100 4	0.087	0.046	0.130	94.30		
	0.100 8	0.086	0.046	0.130	96.49		
	0.100 3	0.087	0.080	0.170	104.0		
	0.100 7	0.090	0.080	0.170	100.3		
	0.100 4	0.091	0.080	0.170	99.00		
	0.100 5	0.090	0.134	0.220	97.02		
	0.100 7	0.090	0.134	0.220	97.02		
槲皮素	0.100 3	0.200	0.104	0.300	96.15	101.30	3.20
	0.100 4	0.200	0.104	0.300	96.15		
	0.100 8	0.212	0.104	0.320	103.9		
	0.100 3	0.200	0.208	0.410	101.0		
	0.100 7	0.212	0.208	0.430	104.8		
	0.100 4	0.213	0.208	0.430	104.3		
	0.100 5	0.212	0.312	0.530	101.9		
	0.100 7	0.213	0.312	0.530	101.6		
山柰酚	0.100 3	0.204	0.115	0.320	100.9	102.30	2.30
	0.100 4	0.204	0.115	0.320	100.9		
	0.100 8	0.214	0.115	0.330	100.9		
	0.100 3	0.212	0.230	0.450	103.5		
	0.100 7	0.213	0.230	0.450	103.0		
	0.100 4	0.214	0.230	0.440	98.26		
	0.100 5	0.213	0.345	0.570	103.5		
	0.100 7	0.212	0.345	0.570	103.8		
鬼臼毒素	0.100 3	0.839	0.528	1.390	104.4	97.34	3.00
	0.100 4	0.894	0.528	1.410	97.73		
	0.100 8	0.898	0.528	1.410	96.97		
	0.100 3	0.894	1.056	1.900	95.27		
	0.100 7	0.898	1.056	1.910	95.83		
	0.100 4	0.899	1.056	1.940	98.58		
	0.100 5	0.839	1.590	2.350	95.03		
	0.100 7	0.894	1.590	2.400	94.72		
0.100 7	0.899	1.590	2.450	97.55			

表6 各成分含量测定结果 (mg/g)

Tab. 6 Results of content determination for various constituents (mg/g)

编号	4'-去甲基鬼臼毒素	槲皮素	山柰酚	鬼臼毒素
S1	1.421	2.012	2.023	13.586
S2	13.844	3.493	3.868	62.548
S3	1.031	1.142	2.013	2.881
S4	1.178	1.343	2.075	24.069
S5	1.303	0.793	1.217	17.315
S6	4.188	0.296	0.871	59.722
S7	0.336	1.065	1.561	15.642
S8	2.124	0.814	1.183	20.256
S9	3.081	0.310	0.565	15.125
S10	1.176	0.426	0.700	26.540
平均值	2.968	1.169	1.608	25.768

2.881~62.548 mg/g, 平均值 25.768 mg/g, 含量差异较大, 这可能是由于药材的不同生长年限及不同的生长发育环境^[22]。李运等^[23]在甘肃产马尾连药材的质量标准研究中, 由于马尾连中盐酸小檗碱含量范围差异较大, 故以最低盐酸小檗碱含量设为含量限度。因此, 本实验也以鬼臼毒素最低测定值为含量限度, 即不得少于2.80 mg/g。

4 结论

本实验建立了桃儿七药材中4种成分的TLC鉴别方法, 方法简便易行, 结果可靠, 并对10批不同产地的桃儿七药材进行了杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、重金属及有害元素、农药残留量、醇溶性浸出物检测及4种成分含量测定, 初步

3.4 含量限度确定 本研究中, 鬼臼毒素含量

完成了桃儿七的质量标准研究, 以期为科学制定桃儿七的药材质量标准提供借鉴, 利于有效控制桃儿七药材品质。

参考文献:

- [1] 徐文华, 徐文军, 李艳玲. 藏药桃儿七种子离体培养条件优化研究[J]. 中药材, 2019, 42(4): 725-729.
- [2] Naik P K, Alam M A, Singh H, et al. Assessment of genetic diversity through RAPD, ISSR and AFLP markers in *Podophyllum hexandrum*: a medicinal herb from the Northwestern Himalayan region [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2010, 16(2): 135-148.
- [3] Alam M A, Naik P K. Impact of soil nutrients and environmental factors on podophyllotoxin content among 28 *Podophyllum hexandrum* populations of northwestern Himalayan region using linear and nonlinear [J]. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 2009, 40(15-16): 2485-2504.
- [4] Nag A, Choudhary S, Masand M, et al. Spatial transcriptional dynamics of geographically separated genotypes revealed key regulators of podophyllotoxin biosynthesis in *Podophyllum hexandrum* [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 147: 112247.
- [5] Wu A L, Li M, Zhang S W, et al. Effect of topographical factors on podophyllotoxin content in *Sinopodophyllum hexandrum* and study on ecological suitability [J]. *China J Chin Mater Med* 2015, 40(12): 2299-2303.
- [6] 泽仁旺姆, 于顺利, 尼珍, 等. 13个藏药植物种在西藏的分布和资源量调查[J]. 北京农业, 2010(12): 56-59.
- [7] Li M F, Li G, Kang T L, et al. High-elevation cultivation increases anti-cancer podophyllotoxin accumulation in *Podophyllum hexandrum* [J]. *Ind Crops Prod*, 2018, 121: 338-344.
- [8] 熊文勇. 濒危植物桃儿七化学成分及其资源研究[D]. 西安: 西北大学, 2010.
- [9] 秦杨. 桃儿七化学成分的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2009.
- [10] 刘盈盈, 李彩霞, 冯海生, 等. 响应面法优化桃儿七鬼臼毒素的超声提取工艺[J]. 中国野生植物资源, 2020, 39(4): 11-16; 31.
- [11] Zhang X, Rakesh K P, Shantharam C S, et al. Podophyllotoxin derivatives as an excellent anticancer aspirant for future chemotherapy: A key current imminent needs [J]. *Bioorgan Med Chem*, 2017, 26(2): 340-355.
- [12] Zi C, Yang L, Xu F Q, et al. Synthesis and anticancer activity of dimeric Podophyllotoxin derivatives [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3393-3406.
- [13] Sultan P, Shawl A S, Ramteke P W, et al. Assessment of diversity in *Podophyllum hexandrum* by genetic and phytochemical markers [J]. *Sci Horticulturae*, 2007, 115(4): 398-408.
- [14] 杨涛. 桃儿七根生物反应器生产鬼臼毒素的研究[C] // 中国植物学会八十五周年学术年会论文摘要汇编. 中国植物学会: 云南省科学技术协会, 2018.
- [15] Lv M, Xu H. Recent advances in semisynthesis, biosynthesis, biological activities, mode of action, and structure-activity relationship of podophyllotoxins: an update (2008-2010) [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2011, 11(10): 901-909.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [17] 张丽, 张娇, 白玮, 等. 桃儿七质量标准研究[J]. 中南药学, 2017, 15(7): 951-955.
- [18] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志-第四十卷[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 249-251.
- [19] 梁世君. 桃儿七人工育苗技术[J]. 农业科技与信息, 2014, (9): 56-57.
- [20] 蒋晓明. 神农架地区鬼臼类药材的化学指纹图谱研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园), 2015.
- [21] 叶耀辉, 马越兴, 张恩慧, 等. 藏药桃儿七与小叶莲 HPLC 分析及其毒性差异研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(18): 80-84.
- [22] 李敏, 钟国跃, 伍奥林, 等. 桃儿七中鬼臼毒素、总木脂素的含量与生态因子的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(9): 1831-1836.
- [23] 李运, 张彩霞, 徐雪梅, 等. 甘肃产马尾连药材质量标准提升研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(11): 1338-1342.