

一测多评法测定印度獐牙菜中 8 个呋喃类成分的含量

董惠敏^{1,2}, 许如玲², 何丹丹^{1,2}, 范君婷^{3*}, 鞠建明^{1,2*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

2. 江苏省中医药研究院, 江苏 南京 210028

3. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166

摘要: 目的 建立测定印度獐牙菜 *Swertia chirayita* 中 8 个呋喃类成分的一测多评测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 以芒果苷为内参物, 建立与 1,3,5,8-四羟基呋喃酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮、维菊叶龙胆呋喃酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮的相对校正因子 ($f_{s/i}$), 并利用 $f_{s/i}$ 计算印度獐牙菜中各成分的含量, 同时采用外标法测定该 8 个成分的含量, 比较两者的差异, 以验证一测多评法的可行性与准确性。结果 各校正因子的重复性良好, 在 12 批印度獐牙菜中运用一测多评法和外标法得到的各成分含量无显著性差异 ($RSD < 3\%$)。结论 建立的一测多评法准确性高, 可应用于印度獐牙菜的含量测定和质量评价。

关键词: 印度獐牙菜; 一测多评法; 外标法; 相对校正因子; 芒果苷; 1,3,5,8-四羟基呋喃酮; swerpunilactone A; 1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮; 1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮; 维菊叶龙胆呋喃酮; 1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮; 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮
中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)01-0241-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.01.029

Determination of eight xanthenes components in *Swertia chirayita* with quantitative analysis of multi-components by single marker

DONG Hui-min^{1,2}, XU Ru-ling², HE Dan-dan^{1,2}, FAN Jun-ting³, JU Jian-ming^{1,2}

1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Jiangsu Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. School of pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

Abstract: Objective To establish a quantitative analysis of multi-components by single marker method for the determination of eight xanthenes in *Swertia chirayita*. **Methods** The relative correction factors ($f_{s/i}$) of seven xanthenes (1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone, swerpunilactone A, 1-hydroxy-3,5-dimethoxyxanthone, 1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyxanthone, bellidifolin, 1,8-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone and 1,8-dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone) were determined by HPLC method with the mangiferin as the internal standard, which were used to calculate the content of each component in *S. chirayita*. At the same time, the external standard method was used to determine the content of the eight components, and the differences between the two methods were compared to verify the feasibility and accuracy of quantitative analysis of multi-components by single marker. **Results** The reproducibility of each correction factor was good, and there were no significant differences in the contents of the ingredients obtained by using the quantitative analysis of multi-components by single marker and the external standard method in the 12 batches of *S. chirayita* ($RSD < 3\%$). **Conclusion** The established quantitative analysis of multi-components by single marker has high accuracy and can be applied to the content determination and quality evaluation of *S. chirayita*.

Key words: *Swertia chirayita* (Roxb. ex Flemi) Karsten; multi-components by single marker; external standard method; relative correction factor; mangiferin; 1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone; swerpunilactone A; 1-hydroxy-3,5-dimethoxyxanthone; 1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyxanthone; bellidifolin; 1,8-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone; 1,8-dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone

收稿日期: 2020-06-03

基金项目: 江苏省“六大人才高峰”高层次人才对象科研资助项目 (2015-YY-011); 江苏省药学会竞赛临床药学基金项目 (210303)

作者简介: 董惠敏 (1996—), 女, 硕士研究生, 从事中药制剂研究。Tel: (025)85639640; E-mail: 1473787637@qq.com

*通信作者: 鞠建明 (1975—), 男, 研究员, 从事中药新剂型新工艺及质量控制研究。Tel: (025)85639640 E-mail: jjm405@sina.com

范君婷 (1983—), 女, 讲师, 从事天然药物活性成分及其作用机制研究。Tel: (025)86868480 E-mail: juntingfan@njmu.edu.cn

印度獐牙菜, 又称“甲蒂”, 是龙胆科植物印度獐牙菜 *Swertia chirayita* (Roxb. ex Flemi) Karsten 的干燥全草, 收载于藏医学经典著作《四部医典》中, 具有清肝利胆、退诸热的功效, 主治肝炎、胃病、退烧、缓泻等症^[1], 主要分布于印度、不丹、尼泊尔等地区^[2]。现代研究表明, 印度獐牙菜主要含有吡啶酮类、环烯醚萜类、三萜类、黄酮类、有机酸类等化学成分^[3], 其中吡啶酮类具有降血糖、抗白血病、抗氧化性、抗真菌、抗肿瘤、抗炎和保肝的作用^[4], 是印度獐牙菜中含有的一类主要活性成分。因此, 对该类成分进行质量控制, 是评价印度獐牙菜药材及其制剂质量的有效手段^[5]。

目前印度獐牙菜的质量控制方法主要有薄层色谱法^[6]、指纹图谱法^[7]、HPLC 法^[8]和 HPLC-ESI-MS 法^[9]等。定量方法中, 虽然对其主要活性成分环烯醚萜类和吡啶酮类成分进行了含量测定, 但这些方法所用的对照品只有少部分在市场上购买到, 因此难以被广泛地采纳控制药材质量。一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS) 是指在药材中只测定某个代表性成分 (易得、廉价、有效), 即可计算出其他待测有效成分含量的方法^[10]。近年来, 该方法被广泛地应用到黄酮类、三萜酸类、皂苷类、木脂素类、萜醌类等大类成分含量测定中^[11-16]。杨晓泉等^[17]采用一测多评法测定了印度獐牙菜中环烯醚萜类活性成分, 但用该方法测定印度獐牙菜中吡啶酮类化合物还未见报道。吡啶酮类化合物是一类难分离纯化的黄酮类化合物, 课题组前期从印度獐牙菜中分离纯化得到了 8 个含量较高的吡啶酮类化合物^[17-18], 仅芒果苷能从市场上买得到。因此, 为较好地控制印度獐牙菜的质量, 本研究采用 QAMS 法, 以芒果苷为参照, 通过建立其与 1,3,5,8-四羟基吡啶酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡啶酮、雏菊叶龙胆吡啶酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶酮的相对校正因子, 实现 8 个吡啶酮类成分含量的同时测定, 为该药材资源的进一步开发奠定了坚实的基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters Alliance 高效液相色谱系统: 配有 2695 溶剂管理系统、2996 二极管阵列检测器和

Empower 色谱工作站; KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Milli-Q 型纯水器 (美国 Millipore 公司); AT2011/10 万电子天平 (瑞士 Mettler 公司)。

1.2 试药

甲醇 (色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司); 甲酸 (分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 对照品芒果苷 (批号 wkq18050201, 维克奇生物科技有限公司); 1,3,5,8-四羟基吡啶酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡啶酮、雏菊叶龙胆吡啶酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶酮由江苏省中医药研究院中药质量和代谢组研究室从印度獐牙菜全草中分离制得, 经面积归一化法计算质量分数均大于 98%。12 批印度獐牙菜药材来源见表 1, 经江苏省中医药研究院钱士辉研究员鉴定为龙胆科植物印度獐牙菜 *Swertia chirayita* (Roxb. ex Flemi) Karsten 的干燥全草。

表 1 样品信息

Table 1 Sources of 12 batches of *S. chirayita*

编号	产地	购买时间
S1	印度	2019-02
S2	青海西宁	2019-03
S3	青海西宁	2019-08
S4	喜马拉雅山	2018-09
S5	西藏	2014-11
S6	西藏	2019-03
S7	S1、S2 各 50% 勾兑而成	2019-10
S8	S2、S3 各 50% 勾兑而成	2019-10
S9	S3、S4 各 50% 勾兑而成	2019-10
S10	S4、S5 各 50% 勾兑而成	2019-10
S11	S5、S6 各 50% 勾兑而成	2019-10
S12	S1、S6 各 50% 勾兑而成	2019-10

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 (A)-0.4% 甲酸水溶液 (B); 梯度洗脱, 0~20 min, 20%~40% A; 20~32 min, 40%~44% A; 32~36 min, 44%~50% A; 36~44 min, 50%~60% A; 44~62 min, 60%~70% A; 62~72 min, 70%~90% A; 72~73 min, 90%~20% A; 73~83 min, 20% A; 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长 254 nm, 进样量 10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液制备 分别精密称取芒果

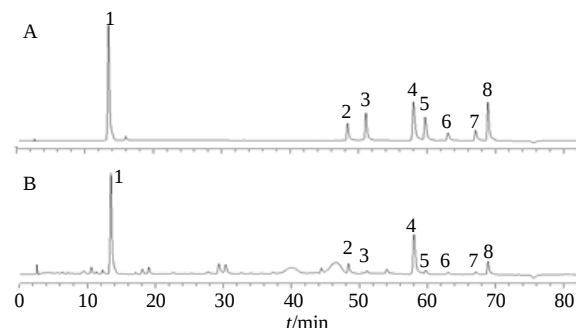
昔、1,3,5,8-四羟基呋喃酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮、雏菊叶龙胆呋喃酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮适量，加甲醇制成质量浓度分别为 252.0、31.5、80.0、16.05、42.3、78.0、64.8 和 20.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，摇匀，滤过，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存，备用。

2.2.2 供试品溶液制备 取印度獐牙菜粉末（过 60 目筛）约 0.4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，称定质量，超声提取（功率 100 W，温度 25 $^{\circ}\text{C}$ ）30 min，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液即得。

2.3 QAMS 法学考察

2.3.1 系统适应性试验 在“2.1”项的色谱条件下，供试品中 8 个待测成分色谱峰峰形良好，与相邻峰的分离度大于 1.5。混合对照品及供试品的色谱图见图 1。

2.3.2 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 2、4、8、10、15、20 μL ，按“2.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积积分值为纵坐标（Y），



1-芒果昔 2-1,3,5,8-四羟基呋喃酮 3-swerpunilactone A 4-雏菊叶龙胆呋喃酮 5-1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮 6-1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮 7-1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮 8-1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮
1-mangiferin 2-1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone 3-swerpunilactone A 4-bellidifolin 5-1-hydroxy-3,7,8-trimethoxyxanthone 6-1-hydroxy-3,5-dimethoxyxanthone 7-1,8-dihydroxy-3,7-dimethoxyxanthone 8-1,8-dihydroxy-3,5-dimethoxyxanthone

图 1 混合对照品 (A) 和印度獐牙菜供试品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed references (A) and samples (B)

进样量为横坐标（X），进行线性回归分析，回归方程见表 2。结果表明，8 种呋喃酮类成分在相应范围内线性关系良好。

表 2 8 种呋喃酮类成分的线性回归方程

Table 2 Linear regression equations of eight xanthenes

成分	回归方程	线性范围/ μg	r^2
芒果昔	$Y=3.27 \times 10^6 X + 4.11 \times 10^4$	0.504 0~5.040 0	1.000 0
1,3,5,8-四羟基呋喃酮	$Y=4.42 \times 10^6 X - 3.42 \times 10^4$	0.063 0~0.630 0	0.999 9
swerpunilactone A	$Y=2.47 \times 10^6 X + 7.95 \times 10^4$	0.160 0~1.600 0	0.999 9
1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮	$Y=4.52 \times 10^6 X - 1.82 \times 10^4$	0.032 1~0.321 0	0.999 6
1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮	$Y=5.52 \times 10^6 X - 4.38 \times 10^4$	0.084 6~0.846 0	0.999 8
雏菊叶龙胆呋喃酮	$Y=5.00 \times 10^6 X - 2.30 \times 10^4$	0.156 0~1.560 0	0.999 9
1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮	$Y=4.57 \times 10^6 X - 1.82 \times 10^4$	0.129 6~1.296 0	0.999 9
1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮	$Y=4.72 \times 10^6 X - 1.11 \times 10^4$	0.040 0~0.400 0	0.999 7

2.3.3 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液（S1），按“2.1”项下色谱条件，连续进样 6 次，每次 10 μL ，记录峰面积，计算 RSD。结果芒果昔、1,3,5,8-四羟基呋喃酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮、雏菊叶龙胆呋喃酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮峰面积的 RSD 值分别为 1.5%、1.1%、1.5%、2.1%、2.6%、1.1%、1.4%和 1.8%，表明仪器的精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取同一供试品溶液（S1），分别于制备后的 0、2、4、6、8、10、12 h 进样 10 μL ，记录峰面积，计算得到芒果昔、1,3,5,8-四羟基呋喃酮、swerpunilactoneA、1-羟基-3,5-二甲氧

基呋喃酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮、雏菊叶龙胆呋喃酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮峰面积的 RSD 值分别为 1.4%、1.9%、2.5%、3.6%、2.0%、1.2%、1.2%、1.8%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 精密称取同批次（S1）样品粉末 6 份，按“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液，按照“2.1”项下色谱条件，分别进样测定。计算得到芒果昔、1,3,5,8-四羟基呋喃酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基呋喃酮、雏菊叶龙胆呋喃酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基呋喃酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基呋喃酮的平均质量分数（ $n=6$ ）分别为 6.271 9、0.4681、0.061 1、0.136 8、

0.206 5、2.326 6、0.639 7、0.131 4 mg/g, RSD 分别为 2.8%、2.6%、1.6%、2.4%、2.7%、2.8%、2.9%、2.8%。

2.3.6 加样回收率试验 精密称定已知含量的同一批印度獐牙菜粉末 6 份, 分别精密加入混合对照品溶液适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得到芒果苷、1,3,5,8-四羟基吡酮、swerpunilactone A、1-羟基-3,5-二甲氧基吡酮、1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡酮、雏菊叶龙胆吡酮、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡酮和 1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡酮的加样回收率平均值分别为 101.3%、99.2%、99.7%、99.3%、98.3%、97.5%、99.0%、98.8%, RSD 分别为

2.8%、3.0%、2.1%、2.5%、2.1%、1.6%、2.7%、1.4%。

2.4 相对校正因子 ($f_{s/i}$) 的计算

采用多点校正法, 按照公式 $f_{s/i}=f_s/f_i=(W_s \times A_i)/(W_i \times A_s)$, 以芒果苷为内参物, 取混合对照品溶液按“2.1”项下色谱条件进样 2、4、8、10、15、20 μL , 计算待测组分 1,3,5,8-四羟基吡酮 (B)、swerpunilactone A (C)、1-羟基-3,5-二甲氧基吡酮 (D)、1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡酮 (E)、雏菊叶龙胆吡酮 (F)、1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡酮 (G)、1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡酮 (H) 与内参物芒果苷 (A) 的 $f_{s/i}$, 结果 7 个待测成分与内参物的 $f_{s/i}$ 的 RSD 值均小于 5%, 见表 3。

表 3 7 个待测成分与芒果苷的 $f_{s/i}$

Table 3 Relative correction factors ($f_{s/i}$) of seven components to mangiferin

进样体积/ μL	$f_{B/A}$	$f_{C/A}$	$f_{D/A}$	$f_{E/A}$	$f_{F/A}$	$f_{G/A}$	$f_{H/A}$
2	0.811	1.150	0.787	0.671	0.731	0.730	0.758
4	0.809	1.217	0.764	0.610	0.656	0.714	0.760
8	0.759	1.283	0.755	0.611	0.658	0.711	0.692
10	0.761	1.269	0.769	0.607	0.662	0.716	0.701
15	0.751	1.289	0.741	0.599	0.657	0.715	0.700
20	0.753	1.309	0.727	0.602	0.659	0.717	0.703
平均值	0.774	1.253	0.757	0.617	0.671	0.717	0.719
RSD/%	3.63	4.72	2.80	4.39	4.44	0.90	4.32

2.5 $f_{s/i}$ 的重复性考察

2.5.1 不同仪器和不同色谱柱考察 实验分别考察了 Waters 2695 I 和 Waters 2695II 2 种高效液相色谱及 Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Alltima C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 Alltima C₁₈TM (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 3 种色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响, 并计算 RSD, 结果均小于 5%, 表明 $f_{s/i}$ 在不同的仪器和色谱柱适用性良好。结果见表 4。

2.5.2 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响 采用 Waters 2695 色谱仪和 Agilent C₁₈ 色谱柱考察了体积流量为 0.8、1.0、1.2 mL/min 时的 $f_{s/i}$, 并计算 RSD, 结

果均小于 5%, 表明体积流量的波动对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。结果见表 5。

2.5.3 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响 采用 Waters 2695 色谱仪和 Agilent C₁₈ 色谱柱考察了柱温为 25、30、35 $^{\circ}\text{C}$ 时的 $f_{s/i}$, 并计算 RSD, 结果均小于 3%, 表明柱温的波动对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。结果见表 6。

2.6 待测组分色谱峰定位

根据“2.5.1”项中得到的保留时间计算待测成分与芒果苷的相对保留值 ($r_{i/s}$, $r_{i/s}=t_{Ri}/t_{Rs}$), 对待测组分进行定位, 并计算 RSD, 结果各待测成分相对保留值的 RSD 均小于 5%, 表明采用相对保留值法对待测成分定位是合理的。结果见表 7。

表 4 不同仪器和色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 4 $f_{s/i}$ of different instruments and different columns

仪器	色谱柱	$f_{A/B}$	$f_{A/C}$	$f_{A/D}$	$f_{A/D}$	$f_{A/F}$	$f_{A/G}$	$f_{A/H}$
Waters 2695 I	Agilent C ₁₈	0.761	1.269	0.769	0.607	0.662	0.716	0.701
	Alltima C ₁₈	0.805	1.241	0.739	0.660	0.683	0.676	0.693
	Alltima C ₁₈ TM	0.774	1.300	0.725	0.618	0.682	0.695	0.695
Waters 2695 II	Agilent C ₁₈	0.769	1.250	0.726	0.583	0.692	0.717	0.693
	Alltima C ₁₈	0.810	1.321	0.787	0.593	0.690	0.737	0.695
	AlltimaC ₁₈ TM	0.783	1.327	0.778	0.590	0.703	0.735	0.671
平均值		0.784	1.285	0.754	0.609	0.685	0.713	0.691
RSD/%		2.52	2.84	3.62	4.62	2.00	3.30	1.53

表 5 不同体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 5 $f_{s/i}$ factor of different flow rates

体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{A/B}$	$f_{A/C}$	$f_{A/D}$	$f_{A/D}$	$f_{A/F}$	$f_{A/G}$	$f_{A/H}$
0.8	0.737	1.295	0.767	0.607	0.665	0.708	0.720
1.0	0.761	1.269	0.769	0.607	0.662	0.716	0.701
1.2	0.756	1.212	0.738	0.604	0.670	0.711	0.731
平均值	0.751	1.259	0.758	0.606	0.666	0.712	0.717
RSD/%	1.69	3.36	2.30	0.27	0.58	0.56	2.11

表 6 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 6 $f_{s/i}$ of different column temperatures

柱温/°C	$f_{A/B}$	$f_{A/C}$	$f_{A/D}$	$f_{A/D}$	$f_{A/F}$	$f_{A/G}$	$f_{A/H}$
25	0.762	1.271	0.738	0.593	0.694	0.716	0.706
30	0.787	1.300	0.739	0.573	0.676	0.680	0.702
35	0.761	1.269	0.769	0.607	0.662	0.716	0.701
平均值	0.770	1.280	0.748	0.591	0.678	0.704	0.703
RSD/%	1.92	1.33	2.38	2.88	2.39	2.93	0.41

表 7 不同仪器和色谱柱对 $r_{i/s}$ 的影响

Table 7 Relative retention values measured ($r_{i/s}$) in different instruments and chromatographic columns

仪器	色谱柱	$r_{B/A}$	$r_{C/A}$	$r_{D/A}$	$r_{E/A}$	$r_{F/A}$	$r_{G/A}$	$r_{H/A}$
Waters 2695 I	Agilent C ₁₈	3.234	3.348	4.215	3.993	3.879	4.606	4.486
	Alltima C ₁₈	2.881	2.950	3.841	3.627	3.488	4.045	4.001
	Alltima C ₁₈ TM	3.039	3.117	4.047	3.841	3.706	4.246	4.196
Waters 2695 II	Agilent C ₁₈	3.040	3.224	3.975	3.774	3.649	4.359	4.240
	Alltima C ₁₈	2.890	2.965	3.873	3.642	3.494	4.088	4.042
	AlltimaC ₁₈ TM	3.080	3.168	4.130	3.910	3.754	4.339	4.288
	平均值	3.027	3.129	4.013	3.798	3.662	4.281	4.209
	RSD/%	4.34	4.90	3.63	3.84	4.16	4.78	4.19

2.7 QAMS 法与外标法测定结果比较

取 12 批次的印度獐牙菜粉末，按“2.2.2”项下制备供试品溶液，在“2.1”项的色谱条件下进样测定，分别采用外标法（external standard method, ESM）和 QAMS 法测定样品中 8 个吡啶的含量，并以差异比（percent difference）为参数^[11,19]，对 2 种方法的结果进行比较，见表 8。结果各待测成分的 RSD 值均小于 3%，表明 ESM 和 QAMS 法无显著性差异，QAMS 法可代替 ESM 法进行含量测定。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方式选择

本实验考察了不同提取溶剂乙醇、甲醇以及不同超声时间 30、45、60 min 对印度獐牙菜提取效果的影响，结果表明用甲醇提取 30 min，吡啶含量即可达到最高，提取效果达到最佳。因此，本研究选择甲醇提取 30 min 作为供试品溶

液制备方法。

3.2 检测波长的选择

本实验选用二极管阵列器全波长扫描，分别提取了各吡啶类成分的最大吸收波长，结果显示除芒果苷最大吸收波长为 258 nm 外，其余成分均在 254 nm 处有较大响应值，为了兼顾 8 种吡啶类成分的紫外吸收，故选用 254 nm 作为检测波长。

3.3 内参物的选择

参照 QAMS 法建立的技术指南^[10]，内参物应选择含量较高，性质稳定，较易获得的物质。芒果苷在供试品溶液中具有以上优点，因此本实验选择芒果苷为内参物，建立与其他待测成分的 $f_{s/i}$ ，在考察不同仪器、体积流量、柱温等对校正因子的影响时，结果显示 RSD 均小于 5%，说明选择芒果苷作为内参物，建立印度獐牙菜的 QAMS 法可行。

本研究首次建立了 QAMS 法测定印度獐牙菜

表 8 QAMS 法与 ESM 法测定 12 批印度獐牙菜中 8 种吡啶酮的含量

Table 8 Content of eight xanthone in 12 batches of *S. chirayita* by QAMS and ESM

批号	芒果苷/(mg·g ⁻¹)	1,3,5,8-四羟基吡啶酮/(mg·g ⁻¹)			swerpunilactone A/(mg·g ⁻¹)			1-羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮/(mg·g ⁻¹)		
		ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%
1	7.40	0.53	0.54	2.86	0.37	0.38	2.65	0.12	0.12	0.99
2	4.31	0.24	0.25	1.00	0.35	0.36	2.90	0.13	0.13	1.00
3	6.51	0.49	0.50	2.73	0.43	0.43	1.58	0.14	0.15	1.49
4	6.05	0.47	0.48	2.66	—	—	—	0.08	0.08	0
5	5.75	0.48	0.49	2.67	0.36	0.37	2.79	0.25	0.26	2.70
6	9.96	0.54	0.56	2.95	0.38	0.39	2.51	0.08	0.07	1.08
7	6.29	0.50	0.52	2.76	0.40	0.41	2.09	0.12	0.13	1.03
8	5.36	0.35	0.35	2.03	0.37	0.38	2.53	0.14	0.14	1.41
9	4.58	0.31	0.31	1.70	0.40	0.41	1.93	0.08	0.08	0.94
10	5.99	0.42	0.43	2.43	0.74	0.73	1.46	0.09	0.09	0.22
11	6.20	0.43	0.45	2.52	0.37	0.38	2.60	0.21	0.21	2.35
12	5.21	0.34	0.34	1.96	0.39	0.40	2.26	0.20	0.20	2.21

批号	1-羟基-3,7,8-三甲氧基吡啶酮/(mg·g ⁻¹)			维菊叶龙胆酮/(mg·g ⁻¹)			1,8-二羟基-3,5-二甲氧基吡啶酮/(mg·g ⁻¹)			1,8-二羟基-3,7-二甲氧基吡啶酮/(mg·g ⁻¹)		
	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%
1	0.16	0.16	1.17	3.23	3.31	2.25	0.63	0.63	0.58	0.09	0.09	0.78
2	—	—	—	1.39	1.42	1.94	0.54	0.55	0.54	—	—	—
3	0.20	0.20	0.22	2.44	2.49	2.18	0.65	0.65	0.54	0.16	0.16	2.03
4	0.48	0.49	2.19	0.72	0.73	1.72	0.50	0.51	0.67	0.32	0.33	2.76
5	0.85	0.87	2.91	2.65	2.71	2.17	1.19	1.19	0.27	0.43	0.45	2.95
6	0.13	0.13	2.19	0.90	0.92	1.93	0.34	0.34	1.08	0.04	0.04	2.45
7	0.13	0.12	2.65	2.71	2.77	2.20	0.61	0.61	0.57	0.12	0.12	1.50
8	0.14	0.13	2.17	1.86	1.90	2.08	0.60	0.60	0.54	0.08	0.08	0.62
9	0.25	0.25	0.51	1.01	1.03	1.83	0.52	0.52	0.59	0.16	0.17	1.99
10	0.31	0.32	1.29	1.50	1.53	2.05	0.53	0.54	0.63	0.22	0.23	2.45
11	0.58	0.60	2.50	2.53	2.58	2.18	0.96	0.97	0.36	0.43	0.44	2.96
12	0.50	0.51	2.22	2.06	2.11	2.10	0.90	0.90	0.34	0.36	0.37	2.82

中 8 个吡啶酮类成分的含量,考察了在不同情况下校正因子的耐用性。共测定了 12 批印度獐牙菜,与 ESM 法所测值无显著性差异,说明本实验建立的 f_{si} 具有较好的重现性和准确性。该法能高效地测定印度獐牙菜中吡啶酮的含量,为该药材质量控制提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kumar V, Van Staden J. A Review of *Swertia chirayita* (Gentianaceae) as a traditional medicinal plant [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 308.
- [2] 靳有才, 魏立新, 林蓉香. 等. 印度獐牙菜化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中国生化药物杂志*, 2010, 31(06): 431-434.
- [3] Fan G, Luo W Z, Luo S H, et al. Metabolic discrimination of *Swertia mussoitii* and *Swertia chirayita* known as "Zangyinchen" in traditional Tibetan medicine by (1)H NMR-based metabolomics [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 98: 364-370.
- [4] 周永福, 黄琼俭, 吴明珠. 吡啶酮类化合物在獐牙菜属植物中的研究进展 [J]. *广州化工*, 2014, 42(11): 9-11.
- [5] 阳勇, 罗维早, 刘翔, 等. 藏药“甲蒂(印度獐牙菜)”中龙胆苦苷和獐牙菜苷等 10 种成分的含量测定与质量评价 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(20): 3141-3146.
- [6] 肖远灿, 魏立新, 杨红霞, 等. 藏药材印度獐牙菜质量标准研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(4):21-24.
- [7] 刘丽娜, 孙磊, 乔菲, 等. 双标线性校正结合 PDA 辅助色谱峰定性用于印度獐牙菜指纹图谱分析 [A] // 中华中医药学会中药分析学术交流会会议论文集 [C]. 北京: 中华中医药学会中药分析学术交流会, 2014.
- [8] 徐康平, 申健, 李福双, 等. 多波长 HPLC 同时测定 3 种獐牙菜属植物中 6 种活性成分 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(11): 1384-1392.
- [9] 张大业, 陈丽娟, 刘健. HPLC-ESI-MS 法同时测定印度獐牙菜中 5 种吡啶酮类化合物的含量 [J]. *中国药房*,

- 2016(18): 2579-2582.
- [10] 王智民, 钱忠直, 张启伟, 等. 一测多评法建立的技术指南 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657-658.
- [11] 毛艳, 蔡晓翠, 古丽白热木·玉素因, 等. 一测多评法同时测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4170-4175.
- [12] 班永生, 于江泳, 张亚中, 等. 一测多评法测定蓄中 3 个黄酮类成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 1093-1101.
- [13] 蔡雪萍, 李振华, 华俊磊, 等. 一测多评法测定枇杷叶有效部位中 6 种三萜酸成分的量 [J]. 中草药, 2013, 44(21): 3057-3062.
- [14] 孙玲, 王宁, 刘金权, 等. 一测多评法测定知母中皂苷类成分的含量 [J]. 中药材, 2015, 38(5): 997-1000.
- [15] 刘移兰, 蔡卫华, 窦志华, 等. 一测多评法同时测定五味子中 12 个木脂素类成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(7): 1207-1216.
- [16] 赵文文, 吴智敏, 吴霞, 等. 一测多评法测定新疆紫草中主要萘醌类成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(20): 3792-3797.
- [17] 杨晓泉, 夏从龙. 一测多评法测定獐牙菜属植物中 4 种环烯醚萜类成分 [J]. 亚太传统医药, 2003, 15: 56-59.
- [18] 陈雪晴, 尤蓉蓉, 何丹丹, 等. 藏药印度獐牙菜化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(24): 5112-5116.
- [19] 王萍萍, 陈现民, 肖远灿, 等. 藏药印度獐牙菜石油醚部位化学成分及体外活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19): 2265-2275.
- [20] 刘移兰, 蔡卫华, 窦志华, 等. 一测多评法同时测定五味子中 12 个木脂素类成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2019, 39(7): 1207-1216.

[责任编辑 时圣明]