

一测多评法同时测定尖叶假龙胆中龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基维菊叶龙胆酮及维菊叶龙胆酮

张 闯¹, 陈世雨¹, 周伟伟¹, 刘兴超^{1,2,3}, 杨洪霞¹, 徐耿瑞¹, 李爱英^{1,2,3*}

1. 河北中医学院, 河北 石家庄 050200

2. 河北省心脑血管病中医药防治重点实验室, 河北 石家庄 050091

3. 河北省高校中药组方制剂应用技术研发中心, 河北 石家庄 050091

摘 要: 目的 建立基于 HPLC-UV 技术的一测多评法(QAMS)同时测定尖叶假龙胆 *Gentianella acuta* 药材中维菊叶龙胆酮、龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素和去甲基维菊叶龙胆酮的含量。方法 采用 HPLC-UV 技术, 以维菊叶龙胆酮为内参物, 分别测定其与龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素和去甲基维菊叶龙胆酮的相对校正因子, 并计算含量; 通过外标法与 QAMS 法分别对 6 种成分含量进行比较, 以检验 QAMS 法的适用性、准确性和可重复性。结果 QAMS 法与外标法所测得的结果无显著性差异。结论 所建立的 QAMS 方法可满足尖叶假龙胆在缺乏对照品的情况下, 完成尖叶假龙胆中多指标成分的同时测定, 为尖叶假龙胆质量控制标准的建立提供依据。

关键词: 尖叶假龙胆; 一测多评; 维菊叶龙胆酮; 龙胆苦苷; 芒果苷; 当药醇苷; 木犀草素; 去甲基维菊叶龙胆酮

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)15-4675-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.026

Simultaneous determination of gentiopicroside, mangiferin, swertianolin, luteolin, demethylbellidifolin and bellidifolin in *Gentianella acuta* by QAMS method

ZHANG Chuang¹, CHEN Shi-yu¹, ZHOU Wei-wei¹, LIU Xing-chao^{1,2,3}, YANG Hong-xia¹, XU Geng-rui¹, LI Ai-ying^{1,2,3}

1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

2. Hebei key laboratory of Chinese Medicine Research on Cardio-Cerebrovascular Disease, Shijiazhuang 050091, China

3. Hebei Higher Education Institute Applied Technology Research Center on TCM Formula Preparation, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: Objective To detect the contents of six components in *Gentianella acuta* by establishing the method of quantitative analysis multi-components by single marker (QAMS). **Methods** Using HPLC-UV technology and taking bellidifolin as internal standard, the relative calibration factor of gentiopicroside, mangiferin, swertianolin, luteolin and demethylbellidifolin were detected respectively. The contents of the six measured components were compared by using the external standard method and the QAMS method, in order to verify the applicability, accuracy and repeatability of QAMS. **Results** There were no significant differences between QAMS method and external standard. **Conclusion** The established method can be used to simultaneous detect the multi-index components of *G. acuta* in the absence of relevant control, which could be helpful to establish the quality control specification of *G. acuta*.

Key words: *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten; quantitative analysis multi-components by single marker; gentiopicroside; mangiferin; swertianolin; luteolin; demethylbellidifolin

龙胆科假龙胆属植物尖叶假龙胆 *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten 为一年生草本植物, 广泛分布于我国东北、华北、西北各省, 据《内蒙古植物药志》记载: “尖叶假龙胆全草入药, 味苦、性凉, 有

收稿日期: 2020-12-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573698); 河北省省属高校基本科研业务费青年教师科研能力提升项目(YJZ2019001); 河北省省属高校基本科研业务费优秀学生科研能力提升项目(YXZ20190005)

作者简介: 张 闯(1989—), 男, 博士研究生, 研究方向为中药分析及心血管疾病的中医药防治。

Tel: (0311)89926533 E-mail: zhangchuang0707@sina.com

*通信作者: 李爱英(1963—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为心血管病的中医药防治。

Tel: (0311)89926335 E-mail: liaiying@hebcm.edu.cn

清热、解毒之功效，可用于治疗黄疸型肝炎、发烧、头痛等”^[1-5]，而鄂伦春族牧民将其煎煮后口服，用来治疗心律失常、冠心病、心绞痛等心血管疾病，疗效显著^[6-8]。尖叶假龙胆中成分复杂^[9-10]，包括吡啶类、黄酮类、环烯醚萜类、木脂素类、甾体类等^[2]。现代药理学研究表明，尖叶假龙胆药材及其提取液具有抑制心肌纤维化、改善心功能^[11-13]、抗肿瘤^[14-15]、护肝^[16]、抗炎^[17]、抗氧化^[18]、改善胰岛素抵抗^[19-20]等作用。因此，通过对尖叶假龙胆药材及其提取液中化合物成分进行定性与定量研究，建立尖叶假龙胆质量控制标准具有重要意义。

高效液相色谱法是现代中药研究中的重要方法，能够对中药中所含成分进行定性与定量检测^[21]。尖叶假龙胆中多数对照品价格相对较高，为了节约检测成本，探索多指标质量控制模式。本课题组采用一测多评（quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS）的方法，同时测定尖叶假龙胆中 6 种成分^[22]的含量，以雏菊叶龙胆酮为内参物，计算其与龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素和去甲基雏菊叶龙胆酮的相对校正因子，通过校正因子计算出其他成分的含量，以期对尖叶假龙胆的多成分质量控制提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪（美国沃特世科技有限公司），Ultimate 3000 双三元液相色谱仪（美国赛默飞世尔科技有限公司），SPD-M20A 高效液相色谱仪（日本岛津公司），UV-9000 紫外分光光度计（上海元析仪器有限公司），ME204E/02 型电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司），Milli-Q 超纯水机（美国密理博公司）。

1.2 试剂

对照品龙胆苦苷（批号 6480907-2）、芒果苷（批号 12759-74-8）、当药醇苷（批号 136656-07-0）、木犀草素（批号 4773-96-0）、去甲基雏菊叶龙胆酮（批号 113558-15-9）、雏菊叶龙胆酮（批号 41059-79-4），均购于南京元宝峰医药科技有限公司，各对照品质量分数均 $\geq 98\%$ ，可供含量测定用。乙腈（色谱纯，Fisher 公司），超纯水为实验室自制。

1.3 药材

药材样品于 2014 年至 2019 年每年采集 1 次，共 6 批（S1~S6），经河北中医学院药学院郑玉光

教授鉴定为龙胆科假龙胆属植物尖叶假龙胆 *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液的制备 取各对照品适量分别加甲醇配制成含龙胆苦苷 0.37 mg/mL，芒果苷 0.36 mg/mL，当药醇苷 0.44 mg/mL，木犀草素 0.33 mg/mL，去甲基雏菊叶龙胆酮 0.29 mg/mL，雏菊叶龙胆酮 0.31 mg/mL 的对照品溶液，同时分别取等体积对照品配制 6 种对照品的混合溶液，即混合对照品摇匀，4 °C 冷藏备用。

2.1.2 供试品溶液的制备 称取尖叶假龙胆粉末（过 3 号筛）约 0.5 g，精密加入甲醇 50 mL，回流提取 30 min，放冷，用提取溶剂补足减失的质量，摇匀。滤过，滤液过 0.22 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得。

2.2 色谱条件

Waters XBridge C₁₈ 色谱柱（250 mm $\times$ 4.6 mm，5 μm ）；流动相为乙腈（A）-0.1%冰醋酸（B），梯度洗脱（0~4 min，5%~16% A；4~7 min，16%~30% A；7~9 min，30%~45% A；9~17 min，45%~90% A；17~38 min，90%~100% A；38~45 min，100% A）；柱温 35 °C；体积流量 0.5 mL/min；检测波长 254 nm，进样体积 10 μL ，混合对照品和供试品溶液 HPLC 色谱图，见图 1。

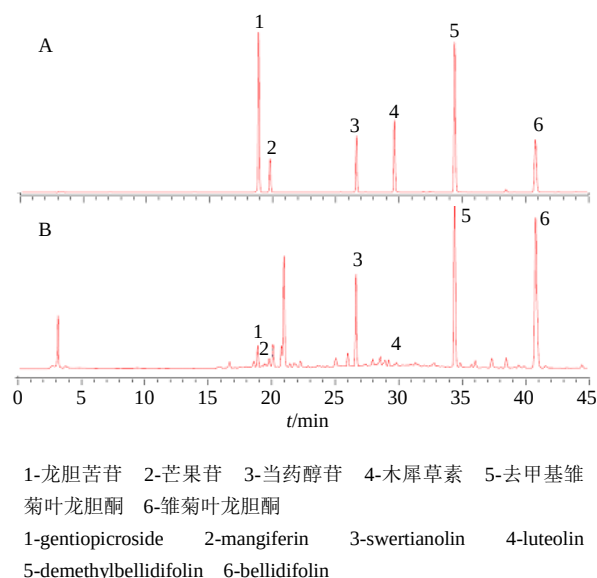


图 1 尖叶假龙胆混合对照品 (A) 和尖叶假龙胆样品 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and samples (B) of *G. acuta*

2.3 方法学验证

2.3.1 线性范围考察 将“2.1.1”项下制备的对照品溶液分别稀释至对照品溶液浓度的 1、1/2、1/4、

1/8、1/16 倍,按照“2.2”项下色谱条件依次进样,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制各对照品的回归方程,结果见表 1。

表 1 尖叶假龙胆中 6 种成分的线性关系考察结果

Table 1 Linear relationship of six detected components of *G. acuta*

对照品	线性方程	R^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
龙胆苦苷	$Y=11\,737\,959.43\,X+38\,398.67$	0.999 0	23.13~370.00	0.023	0.072
木犀草素	$Y=25\,405\,710.85\,X+65\,412.13$	0.999 8	20.63~330.00	0.021	0.058
当药醇苷	$Y=42\,387\,961.53\,X+590\,006.96$	0.999 2	27.50~440.00	0.028	0.081
芒果苷	$Y=25\,616\,958.45\,X+47\,123.13$	0.999 2	22.50~360.00	0.023	0.071
去甲基雏菊叶龙胆酮	$Y=72\,604\,909.39\,X+186\,703$	0.999 7	18.13~290.00	0.018	0.060
雏菊叶龙胆酮	$Y=46\,419\,490.38\,X-109\,537.35$	0.999 4	19.38~310.00	0.019	0.063

2.3.2 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下制备的混合对照品溶液,按照“2.2”项下色谱条件连续进样 6 次,计算得到龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的峰面积 RSD 分别为 1.13%、0.87%、1.74%、2.53%、1.44%、1.69%,表明仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取“2.1.2”项下制备的尖叶假龙胆供试品溶液,分别于溶液配好后 0、2、4、6、8、12、24、48 h,按照“2.2”项下色谱条件依次进样测定。结果龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的峰面积 RSD 分别为 1.26%、1.72%、1.38%、1.58%、0.69%、0.97%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性试验 取同一批尖叶假龙胆的粉末 6 份,按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算尖叶假龙胆中龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的平均质量分数,计算其 RSD 分别为 0.81%、1.06%、1.42%、1.28%、1.49%、0.93%,表明方法重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 取尖叶假龙胆药材粉末约 0.25 g,精密称定,平行 6 份,分别加入与尖叶假龙胆药材粉末各成分相等含量的对照品溶液,按照“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,“2.2”项下色谱条件进样检测,计算加样回收率。结果显示龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的加样回收率分别为 99.91%、100.43%、99.95%、100.56%、99.86%、100.05%,RSD 分别为 1.04%、1.51%、1.85%、2.28%、0.53%、1.48%,表明方法准确度良好。

2.4 相对校正因子 ($f_{s/i}$) 的建立

本实验采用多点矫正法。根据 $f_{s/i}=f_s/f_i=A_s\times C_i/(A_i\times C_s)$ 计算 QAMS 的 $f_{s/i}$,式中 $f_{s/i}$ 为内标物对待测组分 i 的校正因子, A_s 为内标物峰面积, C_s 为内标物浓度, A_i 为待测组分 i 峰面积, C_i 为待测组分 i 浓度。以雏菊叶龙胆酮为内参物,根据公式分别计算雏菊叶龙胆酮对龙胆苦苷(A)、芒果苷(B)、当药醇苷(C)、木犀草素(D)和去甲基雏菊叶龙胆酮(E)的 $f_{s/i}$,结果见表 2。

表 2 各组分的 $f_{s/i}$ 测定结果

Table 2 $f_{s/i}$ values of each component

编号	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
S1	0.643	0.447	0.854	0.304	1.366
S2	0.661	0.445	0.844	0.296	1.373
S3	0.654	0.437	0.841	0.302	1.382
S4	0.642	0.452	0.847	0.307	1.346
S5	0.650	0.443	0.862	0.292	1.358
S6	0.662	0.449	0.858	0.308	1.365
平均值	0.652	0.446	0.851	0.302	1.365
RSD/%	1.32	1.17	0.97	2.10	0.91

2.5 $f_{s/i}$ 耐用性评价

2.5.1 不同高效液相色谱仪和色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响 分别考察了 Waters e2695、Ultimate 3000 和 SPD-M20A 3 种液相色谱仪和 Waters XBridge C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX Extend-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 2 种色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响,结果显示各成分在不同高效液相色谱仪和不同色谱柱上的 $f_{s/i}$ 的 RSD 分别为 1.52%、0.58%、2.02%、0.69%、1.75%,均小于 3%,见表 3,说明不同高效液相色谱仪和不同色谱柱对各成分的 $f_{s/i}$ 无明显影响。

2.5.2 不同进样体积对 $f_{s/i}$ 的影响 分别精密吸

取不同体积(1、2、4、8、10、15、20 μL)的混合对照品溶液,依次注入高效液相色谱仪中进行检测,记录1~6号色谱峰峰面积,考察不同进样

体积对 $f_{s/i}$ 的影响。结果表明,进样体积的改变对尖叶假龙胆各成分 $f_{s/i}$ 无明显影响,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于3%,结果见表4。

表3 不同仪器与色谱柱对各成分 $f_{s/i}$ 的影响

Table 3 Effect of different instruments and columns on $f_{s/i}$ of each component

仪器	色谱柱	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
Waters e2695	Waters XBridge C ₁₈	0.658	0.456	0.850	0.304	1.364
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	0.639	0.451	0.847	0.289	1.357
Ultimate 3000	Waters XBridge C ₁₈	0.647	0.454	0.847	0.303	1.364
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	0.638	0.446	0.844	0.297	1.348
SPD-M20A	Waters XBridge C ₁₈	0.657	0.457	0.847	0.309	1.366
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	0.640	0.445	0.843	0.298	1.349
平均值		0.647	0.452	0.846	0.300	1.358
RSD/%		1.41	1.13	0.30	2.31	0.59

表4 不同进样体积对各组分 $f_{s/i}$ 的影响

Table 4 Effect of different injection volumes on $f_{s/i}$ of each component

进样体积/ μL	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
1	0.648	0.457	0.858	0.307	1.364
2	0.648	0.452	0.846	0.299	1.357
4	0.653	0.458	0.855	0.302	1.350
8	0.649	0.455	0.854	0.307	1.359
10	0.650	0.456	0.848	0.294	1.366
15	0.652	0.460	0.843	0.313	1.365
20	0.656	0.455	0.860	0.306	1.380
平均值	0.651	0.456	0.852	0.304	1.363
RSD/%	0.46	0.56	0.75	2.05	0.69

2.5.3 不同色谱柱柱温对 $f_{s/i}$ 的影响 精密吸取等量“2.1.1”项下制备的尖叶假龙胆混合对照品溶液5份,采用Waters e2695高效液相色谱仪,Waters XBridge C₁₈色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),分别使用不同柱温(25、30、35、40、45 $^{\circ}\text{C}$)对混合对照品溶液进行检测,记录龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基维菊叶龙胆酮、维菊叶龙胆酮的峰面积,考察不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响。结果表明,柱温的改变对尖叶假龙胆各个成分 $f_{s/i}$ 无明显影响,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于2%,结果见表5。

表5 不同柱温对各组分 $f_{s/i}$ 的影响

Table 5 Effect of different column temperatures on $f_{s/i}$ of each component

柱温/ $^{\circ}\text{C}$	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
25	0.649	0.457	0.863	0.301	1.358
30	0.650	0.456	0.856	0.299	1.366
35	0.653	0.447	0.857	0.302	1.376
40	0.651	0.458	0.864	0.307	1.359
45	0.656	0.450	0.858	0.295	1.363
平均值	0.650	0.454	0.860	0.301	1.364
RSD/%	0.72	1.06	0.42	1.46	0.53

2.5.4 不同流动相体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响 精密吸取等量混合对照品溶液5份,分别注入高效液相色谱仪中,使用不同流动相体积流量(0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL/min)进行检测,记录龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基维菊叶龙胆酮、维菊叶龙胆酮的峰面积,考察不同流动相体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响。结果表明,流动相体积流量的改变对尖叶假龙胆各成分 $f_{s/i}$ 无明显影响,各成分 $f_{s/i}$ 的RSD均小于2%,结果见表6。

2.5.5 检测波长的微小改变对 $f_{s/i}$ 的影响 精密吸

表6 不同流动相体积流量对各组分 $f_{s/i}$ 的影响

Table 6 Effect of different flow rates on $f_{s/i}$ of each component

体积流量/(mL $\cdot$ min ⁻¹)	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
0.3	0.642	0.445	0.863	0.298	1.362
0.4	0.654	0.457	0.864	0.302	1.367
0.5	0.654	0.456	0.865	0.305	1.380
0.6	0.660	0.452	0.863	0.303	1.358
0.7	0.664	0.446	0.860	0.293	1.366
平均值	0.655	0.451	0.863	0.300	1.367
RSD/%	1.27	1.29	0.22	1.59	0.61

取等量“2.1.1”项下制备的尖叶假龙胆混合对照品溶液 3 份,分别注入高效液相色谱仪中,分别在 252、254、256 nm 波长下检测,记录龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的峰面积,考察不同波长对 $f_{s/i}$ 的影响。结果表明,检测波长的微小改变对尖叶假龙胆各成分 $f_{s/i}$ 无明显影响,各成分 $f_{s/i}$ 的 RSD 均小于 1%,结果见表 7。

2.6 待测成分的色谱峰定位

通过计算在不同色谱仪和不同色谱柱中,尖叶假龙胆各组分的色谱峰与雏菊叶龙胆酮色谱峰的相对保留时间 ($t_{s/i}$),对各待测组分进行定位,结果见

表 7 不同检测波长对各组分 $f_{s/i}$ 的影响

Table 7 Effect of different detection wavelengths on $f_{s/i}$ of each component

检测波长/nm	$f_{s/A}$	$f_{s/B}$	$f_{s/C}$	$f_{s/D}$	$f_{s/E}$
252	0.662	0.454	0.862	0.299	1.364
254	0.656	0.451	0.863	0.302	1.363
256	0.659	0.452	0.868	0.303	1.365
平均值	0.659	0.452	0.864	0.301	1.364
RSD/%	0.46	0.34	0.37	0.69	0.07

表 8。结果显示,不同仪器与色谱柱测得的 $t_{s/i}$ 的 RSD 分别为 1.06%、0.76%、0.62%、1.08%、0.94%,均小于 2%,表明可以以 $t_{s/i}$ 对尖叶假龙胆中各组分的色谱峰进行定位。

表 8 不同仪器与色谱柱测得各成分 $t_{s/i}$

Table 8 Relative retention time of different instruments and columns

仪器	色谱柱	$t_{s/A}$	$t_{s/B}$	$t_{s/C}$	$t_{s/D}$	$t_{s/E}$
Waters e2695	Waters XBridge C ₁₈	2.206	2.095	1.551	1.396	1.206
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	2.167	2.068	1.536	1.371	1.183
Ultimate 3000	Waters XBridge C ₁₈	2.209	2.093	1.554	1.399	1.205
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	2.166	2.069	1.534	1.368	1.188
SPD-M20A	Waters XBridge C ₁₈	2.201	2.098	1.551	1.397	1.206
	Agilent ZORBAX Extent-C ₁₈	2.159	2.063	1.534	1.372	1.185
平均值		2.185	2.081	1.543	1.384	1.196
RSD/%		1.06	0.76	0.62	1.08	0.94

2.7 QAMS 与外标法测定结果的比较

取 6 批不同采集时间的尖叶假龙胆药材粉末制成供试品溶液,精密吸取 10 μ L 注入液相色谱仪进行测定。分别采用 QAMS 和外标法计算 6 批尖叶假龙胆中龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、木犀草素、去甲基雏菊叶龙胆酮、雏菊叶龙胆酮的含量,每批 3 份,结果见表 9。将 QAMS 法与外标法测得的各组分含量进行比较,发现 2 种方法测得的 6 种组分含量基本一致,RSD 小于 3%,说明该 QAMS 法可以替代外标法用于尖叶假龙胆药材的含量测定。

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法考察

本实验前期考察了尖叶假龙胆提取条件和高效液相色谱条件,应用超声与回流 2 种提取方法,在不同提取溶剂(甲醇、乙醇、水、醋酸乙酯),不同提取时间下(20、30、40、60、90 min)进行尝试,最终确定以甲醇溶液回流提取 30 min 为最佳提取方法。应用此法方法提取尖叶假龙胆 6 种成分效果最好。

3.2 不同年份采集的尖叶假龙胆中 6 种成分的比较

HPLC 检测方法采用紫外检测器,在 254 nm 检

表 9 QAMS 法与外标法测定 6 批尖叶假龙胆中 6 种成分含量

Table 9 Content of six components in six batches of *G. acuta* by QAMS and ESM

编号	雏菊叶龙胆酮/(mg·g ⁻¹)	龙胆苦苷/(mg·g ⁻¹)		芒果苷/(mg·g ⁻¹)		当药醇苷/(mg·g ⁻¹)		木犀草素/(mg·g ⁻¹)		去甲基雏菊叶龙胆酮/(mg·g ⁻¹)	
		外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS	外标法	QAMS
S1	16.27	1.53	1.48	1.22	1.18	10.14	10.32	0.51	0.58	12.85	12.88
S2	16.54	1.68	1.59	1.23	8.79	10.23	10.71	0.56	0.60	12.78	12.79
S3	16.63	1.55	1.56	1.16	8.71	9.87	10.18	0.48	0.51	12.87	12.50
S4	16.14	1.56	1.49	1.27	8.80	10.05	10.26	0.48	0.46	12.65	12.48
S5	15.87	1.61	1.53	1.19	8.71	9.89	9.91	0.56	0.57	12.58	12.63
S6	16.98	1.48	1.50	1.18	8.83	10.03	10.09	0.52	0.53	12.86	12.95

测波长下,以乙腈-0.1%冰醋酸水溶液为流动相,梯度洗脱。本实验考察了最近 6 年收集的尖叶假龙胆中 6 种组分含量差异。结果表明,最近 6 年的尖叶假龙胆药材中 6 种组分含量没有明显变化,说明尖叶假龙胆可长期放置。

为了建立较为全面地对尖叶假龙胆质量评价方法,本实验选择尖叶假龙胆中含量较高的 3 类化合物:吡啶类化合物、黄酮类化合物和环烯醚萜化合物作为质量评价指标,其中吡啶类化合物选择当药醇苷、芒果苷、龙胆山酮酚和雏菊叶龙胆酮为研究对象,黄酮类化合物选择木犀草素为研究对象,环烯醚萜类化合物选择龙胆苦苷为研究对象。本实验建立了 QAMS 法结合 HPLC-UV 技术,同时测定尖叶假龙胆药材提取液中吡啶、黄酮和环烯醚萜 3 类共 6 种组分的含量方法,以尖叶假龙胆中含量较高且性质稳定的雏菊叶龙胆酮为内标物,根据内标物的含量结合各组分之间的 $f_{s/i}$ 计算尖叶假龙胆中其他 5 种组分的含量。结果显示,该 QAMS 法与外标法测得的各组分含量基本一致,所测结果具有较高的可信度和较好的可行性,为尖叶假龙胆质量控制提供了较为全面的理论参考,也为尖叶假龙胆的多指标质量控制模式提供了新方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 庞宇航,管伟,胡晓阳,等. 尖叶假龙胆的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(22): 5468-5476.
- [2] 匡海学,王斌,吴倩倩,等. 尖叶假龙胆化学成分的研究 [J]. 中成药, 2017, 39(12): 2546-2550.
- [3] 高彦宇,张雪,谢建先,等. HPLC 法同时测定尖叶假龙胆中三种山酮类化合物的含量 [J]. 中医药学报, 2016, 44(2): 16-18.
- [4] 张雪. 尖叶假龙胆血清药物化学及 DMB 药代动力学研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [5] 吴琼. 尖叶假龙胆化学成分及 酮类成分药代动力学研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [6] 孙佳欢. 尖叶假龙胆防治 ISO 诱导的急性心肌梗死的作用机制研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [7] 翟亚东. 尖叶假龙胆化学成分及抗心肌缺血作用研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [8] 王晶晶. 尖叶假龙胆对心肌纤维化的影响及其作用机

制 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.

- [9] Feng C Y, Wu Q, Yin D D, et al. Determination of xanthenes and flavonoids of methanol extracts obtained from different parts of the plants of three Gentianaceae species [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 161: 455-463.
- [10] Ding Z J, Liu Y X, Ruan J Y, et al. Bioactive constituents from the whole plants of *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten [J]. *Molecules*, 2017, 22(8): E1309.
- [11] Ren K, Su H, Lv L J, et al. Effects of four compounds from *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten on hydrogen peroxide-induced injury in H9c2 cells [J]. *BioMed research international*, 2019, 2019: 2692970.
- [12] Wang Z B, Wu G S, Liu H, et al. Cardioprotective effect of the xanthenes from *Gentianella Acuta* against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart [J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2017, 93: 626-635.
- [13] Li A Y, Wang J J, Yang S C, et al. Protective role of *Gentianella acuta* on isoprenaline induced myocardial fibrosis in rats via inhibition of NF- κ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 733-741.
- [14] 刘洋洋. 尖叶假龙胆乙酸乙酯部位化学成分研究及含量测定 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [15] 魏茜. 尖叶假龙胆化学成分及含量测定研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [16] 胡晓阳, 蒋皓, 邹尚亮, 等. 尖叶假龙胆对酒精性肝损伤大鼠的保护作用 [J]. 中医药信息, 2018, 35(2): 13-16.
- [17] 董壮, 李冀. 尖叶假龙胆与秦艽配伍对类风湿性关节炎模型大鼠血清 IFN- γ 和 IL-4 的影响 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2016, 50(3): 210-213.
- [18] 吕丽娟, 任凯, 那木汗, 等. 尖叶假龙胆有效成分的活性追踪分离及对 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞氧化损伤的保护作用研究 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 1957-1963.
- [19] 高佳琪. 尖叶假龙胆乙酸乙酯部位改善胰岛素抵抗作用机制研究及成分分析 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [20] 高佳琪, 魏颖, 屈玲霞, 等. 尖叶假龙胆乙酸乙酯部位对胰岛素抵抗 HepG2 细胞 IRS-1、Akt 的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(5): 768-773.
- [21] 白梓静. 高效液相色谱在中药含量测定中的应用 [J]. 分析仪器, 2014(6): 8-11.
- [22] Li-Juan L, Li M H. Terpenoids, flavonoids and xanthenes from *Gentianella acuta* (Gentianaceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2009, 37(4): 497-500.

[责任编辑 时圣明]