

引用:牧其尔,白艳秋,乌吉斯古楞,齐珺妮,萨础拉.HPLC法同时测定蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素的含量及其指纹图谱的建立[J].中医药导报,2025,31(12):83-89.

中 药

HPLC法同时测定蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素的含量及其指纹图谱的建立*

牧其尔,白艳秋,乌吉斯古楞,齐珺妮,萨础拉
(内蒙古医科大学蒙医药学院,内蒙古 呼和浩特 010110)

[摘要] 目的:建立一种高效液相色谱(HPLC)法,同时测定蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷和牡荆素的含量,并结合指纹图谱技术对其质量进行综合评价。方法:色谱柱采用Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(250.0 mm×4.6 mm, 5.0 μm),流动相:0.1%磷酸水溶液-乙腈,梯度洗脱,流速:1.0 mL/min,柱温:30 ℃,进样量:10 μL。含量测定检测波长为270 nm(龙胆苦苷)、350 nm(异荭草苷、牡荆素),指纹图谱检测波长为240 nm。结果:蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素的质量浓度分别在0.018 4~0.294 0、0.003 1~0.049 9、0.003 1~0.049 2 mg/mL范围内与色谱峰面积呈良好的线性关系($r \geq 0.999 5$),平均回收率分别为102.00%、106.72%、100.10%,RSD值分别为1.87%、1.10%、1.31%($n=3$)。在所建立的蒙药秦艽花HPLC指纹图谱中,以S1号样品色谱图作为参照图谱,通过多点校正和全谱峰匹配,生成对照指纹图谱,共确定15个共有峰,经与对照品比对指认了其中7个成分。聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)及VIP结果表明,陕西产地的秦艽花较其他产地样品存在显著差异,其中龙胆苦苷含量差异最大,异荭草苷与牡荆素含量也有所差异,但幅度不大。结论:本研究所建立的方法为蒙药秦艽花的质量控制、产地鉴别及药用价值评估提供了科学依据,并为其进一步的资源开发和利用奠定了基础。

[关键词] 秦艽花;含量测定;龙胆苦苷;异荭草苷;牡荆素;指纹图谱;高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)12-0083-07

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.12.013

Simultaneous Determination of Gentiopicroside, Isoorientin and Vitexin in Mongolian Medicine Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower) by HPLC and Establishment of Its Fingerprint

MU Qi'er, BAI Yanqiu, WU Jisiguleng, QI Junni, SA Chula

(College of Mongolian Medicine, Inner Mongolian Medical University, Hohhot Inner Mongolian 010110, China)

[Abstract] Objective: To establish a high-performance liquid chromatographic (HPLC) method for the simultaneous determination of gentiopicroside, isoorientin and vitexin in the Mongolian medicinal Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower), and to integrate it with a fingerprinting technique for comprehensive quality assessment. Methods: Chromatographic separation was performed on an Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (250.0 mm×4.6 mm, 5.0 μm) with a mobile phase consisting of 0.1% aqueous phosphoric acid solution-acetonitrile under gradient elution conditions. The flow rate was 1.0 mL/min, and the column temperature was maintained at 30 ℃, with the injection volume of 10 μL. The detection wavelength of the content test was 270 nm (gentiopicroside), and 350 nm (isoorientin and vitexin), and the detection wavelength of the fingerprint was 240 nm. Results: The mass concentrations of gentiopicroside, isoorientin, and vitexin in Mongolian medicine Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower) demonstrated excellent linearity with their respective chromatographic peak areas over the

*基金项目:2024年内蒙古医科大学蒙医学“一流学科”建设项目(2024MYYLXK006);内蒙古自治区蒙医药标准化项目(2023-[MB026])

通信作者:萨础拉,女,教授,研究方向为中蒙药药效物质基础及其质量控制

ranges of 0.018 4–0.294 0, 0.003 1–0.049 9, and 0.003 1–0.049 2 mg/mL respectively, with a good linear relationship with the chromatographic peak area ($r \geq 0.999\ 5$). The average recoveries were 102.00%, 106.72%, and 100.10%, and the relative standard deviations (RSD) were 1.87%, 1.10%, and 1.31%, respectively ($n=3$). The HPLC fingerprints of the Mongolian medicine Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower) were established. With the chromatogram of sample S1 as the reference chromatogram, the control fingerprints were generated through multi-point correction and full-spectrum peak matching, and a total of 15 common peaks were identified, of which 7 components were identified by comparison with the standards. The results of cluster analysis, principal component analysis, orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and variable importance in the projection (VIP) showed that the Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower) from Shaanxi origin was significantly different from the samples from other regions, with the most significant difference in the content of gentiopicroside, while the contents of isoorientin and isovitexin also showed differences, albeit to a lesser extent. Conclusion: The method established in this study provided a scientific basis for the quality control, identification of producing area and evaluation of medicinal value of Mongolian medicine Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower) and laid a foundation for the further resource development and utilization.

[Keywords] Qinjiaohua (*Gentiana Mmacrophylla* Flower); content determination; gentiopicroside; isoorientin; vitexin; fingerprint; high-performance liquid chromatographic

蒙药秦艽花为龙胆科植物大叶秦艽*Gentiana macrophylla* Pall.的干燥花。夏季开花时采摘,阴干。其主要分布于陕西、甘肃、宁夏、内蒙古、青海、山西、河北等地。蒙药名:哈日-吉勒哲。其始载于蒙药本草《蒙药正典》^[1],且记载的药用部位为花。秦艽花味苦,性凉,具有除“协日乌素”、清热、消肿之功效,蒙医临床上主要用于“协日乌素”疮、湿疹、“协日乌素”病、炭疽、腑“协日”等病症^[2]。大叶秦艽的根部与花作为两种药用部位,其根部已收载于2020版《中华人民共和国药典》(简称“《中国药典》”)及1987版的《内蒙古蒙药材标准》。但现行的蒙药材及饮片地方标准里蒙药秦艽花的质量标准还未被纳入且其质控方面的研究也较为少见。因此,笔者以蒙药秦艽花为主要研究对象,对其进行质量控制研究,旨在建立准确、稳定可控的蒙药秦艽花质量控制体系。秦艽中主要含有环烯醚萜类、黄酮类、三萜类、甾体类、苯丙素类以及生物碱类成分^[3-6]。以龙胆苦苷、马钱苷酸、栝楼酸为代表的环烯醚萜类和三萜类的成分已成为《中国药典》秦艽根的主要质控成分。且这些成分为龙胆科同属植物共有的特征性成分,研究报道居多。但秦艽中黄酮类成分关注度较低且黄酮类成分富集在秦艽花中,可能成为秦艽花中主要质控成分。

基于此,本研究建立一种能够同时测定龙胆苦苷、异荭草苷和牡荆素的分析方法,能更全面地评估不同地区秦艽花的质量,还能为其综合利用提供科学依据。此外,结合指纹图谱技术,可以进一步构建秦艽花整体化学指纹图谱,为其质量控制和药物开发提供可靠的技术支持,旨在更好地挖掘秦艽花的药用价值。

1 材 料

1.1 主要仪器 Agilent 1260高效液相色谱仪、Open Lab色谱工作站、1260Infinity II VWD型检测器(美国安捷伦科技有限公司);AB135-S型电子分析天平(美国Mettler-Toledo公司);KQ-250型超声波清洗机(巩义予华仪器有限责任公司);

Genie G10型超纯水制备机(内蒙古京鼎元科技有限公司);HH-S11.4数显恒温水浴锅(江苏金怡仪器科技有限公司)。

1.2 主要药品与试剂 对照品:龙胆苦苷(批号:110770-202219,纯度98.1%)、异荭草苷(批号:111974-201401,纯度94.0%)、牡荆素(批号:111687-202306,纯度99.5%)均购于中国食品药品检定研究院;蒙药秦艽花(见表1);甲醇和乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为实验室自制蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 高效液相色谱(HPLC)法同时测定蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素的含量

2.1.1 供试品溶液的制备 将蒙药秦艽花干燥药材(批号:20240706)粉碎,通过三号筛网筛成细粉,备用。取药材粉末约0.05 g,精密称定,加入70%乙醇(刻度以下),超声处理(功率100 w,频率40 kHz)30 min,放冷,再加入70%乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

表 1 蒙药秦艽花样品信息

序号	批号	产地
S1	20240706	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S2	20240707	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S3	20240708	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S4	20240709	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S5	20240710	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S6	20240711	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S7	20240712	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S8	20240713	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S9	20240714	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S10	20240715	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S11	20240716	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S12	20240717	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S13	20240718	陕西省宝鸡市陇县关山镇

续表1:

序号	批号	产地
S14	20240719	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S15	20240720	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S16	20240721	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S17	20240722	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S18	20240723	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S19	20240724	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S20	20240725	陕西省宝鸡市陇县关山镇
S21	20240803	东乌旗宝格达山林场
S22	20240804	东乌旗宝格达山林场
S23	20240805	东乌旗宝格达山林场
S24	20240806	东乌旗宝格达山林场
S25	20240807	东乌旗宝格达山林场
S26	20240808	东乌旗宝格达山林场
S27	20240809	东乌旗宝格达山林场
S28	20240810	东乌旗宝格达山林场
S29	20240811	东乌旗宝格达山林场
S30	20240812	东乌旗宝格达山林场
S31	20240818	呼伦贝尔维纳河林场
S32	20240819	呼伦贝尔维纳河林场
S33	20240820	呼伦贝尔维纳河林场
S34	20240821	呼伦贝尔维纳河林场
S35	20240822	呼伦贝尔维纳河林场
S36	20240823	呼伦贝尔维纳河林场
S37	20240824	呼伦贝尔维纳河林场
S38	20240825	呼伦贝尔维纳河林场
S39	20240826	呼伦贝尔维纳河林场
S40	20240827	呼伦贝尔维纳河林场

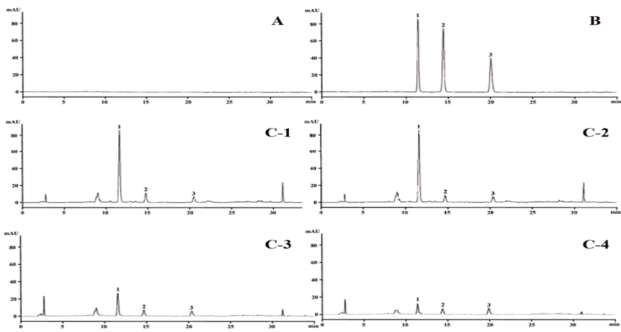
2.1.2 对照品溶液的制备 取龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为0.294 0、0.049 9、0.049 2 mg/mL的混合对照品溶液,即得。

2.1.3 色谱条件 色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),柱温:30 ℃,检测波长:270、350 nm,流动相:0.1%磷酸水(A)-乙腈(B),流速:1.0 mL/min,进样量:10 μL,梯度洗脱(洗脱程序见表2)。

表2 梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	95	5
5	85	15
20	82	18
30	55	45

2.1.4 专属性试验 取空白对照溶液(70%乙醇)、供试品溶液、混合对照品溶液各10 μL,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,并记录色谱图(见图1)。从图中可以看出,混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图上存在相同保留时间的色谱峰,且各成分分离度R均大于1.5,空白溶液在测定过程中未对结果产生干扰,这表明所采用的方法具有良好的专属性。



注:A.空白对照溶液;B.对照品溶液;C.供试品溶液(C-1:20240706,C-2:20240708,C-3:20240809,C-4:20240812);1.龙胆苦苷;2.异荛草苷;3.牡荆素。

图1 各溶液的HPLC色谱图

2.1.5 线性关系考察 取上述混合对照品溶液适量,用甲醇分别稀释2倍,分别精密吸取10 μL,注入液相色谱仪,按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录色谱图及峰面积。以峰面积为因变量(Y轴),浓度为自变量(X轴)进行线性回归分析,绘制标准曲线并得到回归方程。各成分线性回归方程及线性范围见表3。

表3 蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荛草苷及牡荆素的线性关系

对照品	线性方程	r	线性范围/(mg/mL)
龙胆苦苷	$y=10\ 211x-15.933$	0.999 9	0.018 4~0.294 0
异荛草苷	$y=28\ 278x-16.067$	0.999 5	0.003 1~0.049 9
牡荆素	$y=25\ 363x-12.025$	0.999 6	0.003 1~0.049 2

2.1.6 精密度试验 取“2.1.1”项下供试品溶液适量,按“2.1.3”项下色谱条件进样6次测定,记录峰面积。结果得龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素峰面积的RSD值分别为0.60%、0.33%、0.48%(n=3),均<2%,表明仪器精密度良好。

2.1.7 稳定性试验 将蒙药秦艽花供试品溶液分别于0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h时按“2.1.3”项下色谱条件进样测定。结果显示龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素峰面积的RSD值分别为0.49%、0.34%、0.65%(n=3),均<2%。说明供试品溶液制备后24 h内稳定性良好。

2.1.8 重复性试验 取同一批蒙药秦艽花粉末约0.5 g,共6份,“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,“2.1.3”项下色谱条件进样,测定,记录各峰面积。计算蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素的含量及其RSD值。结果龙胆苦苷含量的平均值分别为49.48、2.92、2.21 mg/g,RSD值分别为0.42%、1.15%、1.38%(n=3),表明该方法重复性良好。

2.1.9 加样回收率试验 取蒙药秦艽花供试品约0.025 g,共6份,加入1:1比例的对照品,制备供试品溶液,按“2.1.3”项下色谱条件进样,测定,记录各峰面积。结果计算得龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素的加样回收率分别为102.00%、106.72%、100.10%,RSD值分别为1.87%、1.10%、1.31%,表明该方法准确性良好。

2.1.10 样品含量测定 取蒙药秦艽花药材粉末0.05 g,分别精密称定,按“2.1.1”项下方法平行制备供试品溶液,并按“2.1.3”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,通过标准曲线计算样品含量,结果见表4。

表 4 蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荛草苷、牡荆素的
含量测定结果 (mg/g,n=3)

成分	批号	样品含量	平均含量
龙胆苦苷	20240706	3.73	49.01
		3.68	
		3.62	
	20240708	2.85	51.18
		2.95	
		2.96	
	20240809	1.71	10.75
		1.72	
		1.71	
	20240812	1.71	6.40
		1.68	
		1.71	
异荛草苷	20240706	3.73	3.68
		3.68	
		3.62	
	20240708	2.85	2.92
		2.95	
		2.96	
	20240809	1.71	1.71
		1.72	
		1.71	
	20240812	1.71	1.70
		1.68	
		1.71	
牡荆素	20240706	2.49	2.43
		2.42	
		2.36	
	20240708	2.34	2.35
		2.33	
		2.36	
	20240809	1.47	1.46
		1.46	
		1.45	
	20240812	1.81	1.82
		1.84	
		1.81	

2.2 HPLC法指纹图谱的建立

2.2.1 供试品溶液的制备 将干燥药材粉碎,通过三号筛网筛成细粉,备用。取40批药材,约0.1 g,精密称定,分别精密加入70%乙醇25 mL,称定质量,超声处理(功率100 W,频率40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取牡荆素、龙胆苦苷、马钱苷酸、异荛草苷、獐芽菜苷、獐芽菜苦苷与芹菜素对照品适量,精密称定,加甲醇制成浓度为0.840、0.380、0.336、0.846、0.731、0.728和0.724 mg/mL的混合对照品溶液,即得。

2.2.3 色谱条件 色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(250mm×4.6 mm,5 μm),柱温:30 ℃,检测波长:240 nm,流动相:0.1%磷酸水(A)-乙腈(B),流速:1.0 mL/min,进样量:10 μL,梯度洗脱,洗脱程序见表5。

表 5 梯度洗脱程序

时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	92	8
7	87	13
13	86	14
18	84	16
22	83	17
25	78	22
30	73	27
35	68	32
45	58	42

2.2.4 指纹图谱的建立及相似度评价 取40批蒙药秦艽花供试品溶液,按“2.2.3”项色谱条件进样测定,分别采集色谱图,将数据一次导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)进行分析,设定S1号样品色谱图为参照图谱,通过多点矫正和全谱峰匹配,生成对照指纹图谱,共标定15个共有峰(见图2),与对照指纹图谱比较,各批样品图谱相似度在0.504~1.000。并指认7个色谱峰,将供试品色谱图与对照指纹图谱(见图3)对比确定:依次为马钱苷酸(5号峰)、獐芽菜苦苷(7号峰)、龙胆苦苷(8号峰)、獐芽菜苷(9号峰)、异荛草苷(10号峰)、牡荆素(11号峰)、芹菜素(13号峰)。

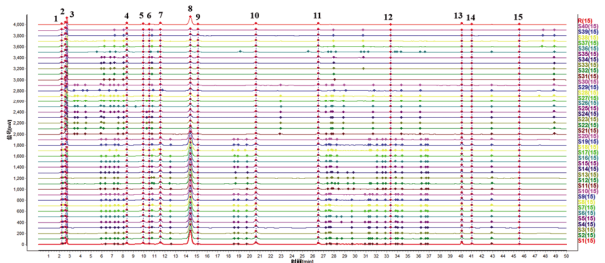
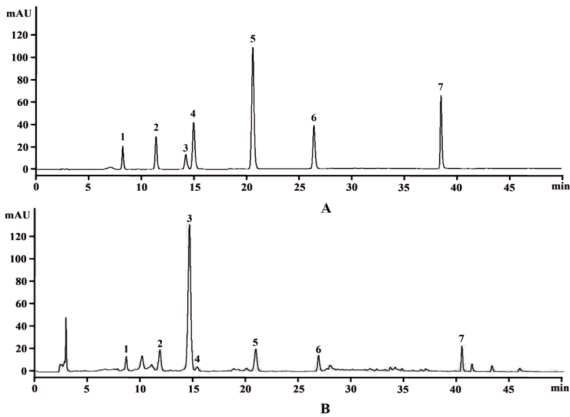


图 2 40 批蒙药秦艽花样品的 HPLC 指纹图谱



注:1.马钱苷酸;2.獐芽菜苦苷;3.龙胆苦苷;4.獐芽菜苷;5.异荛草苷;6.牡荆素;7.芹菜素。

图 3 秦艽花药材(A)和对照品(B)HPLC 指纹图谱

2.2.5 聚类分析 将40批蒙药秦艽花额15个共有峰面积SPSS 27.0版软件,进行聚类分析,利用链接的方法,欧式距离

为测度。结果为图4,当欧式距离为25时,40批不同批次蒙药秦艽花药材聚为2类,其中S1~S20聚为第一类,样品来自陕西省宝鸡市陇县关山镇,为一个产地不同批次,因此,质量上有较高的相似性;S21~S40聚为第二类,样品来自东乌旗宝格达山林场与呼伦贝尔维纳河林场。结果表明,陕西省宝鸡市陇县关山镇样品与其他产地存在一定差异。

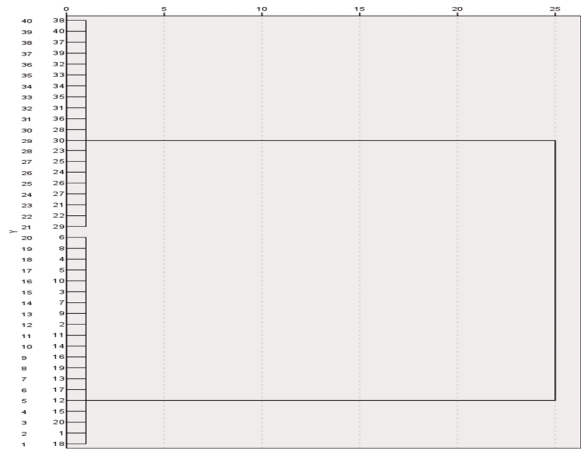


图 4 40 批蒙药秦艽花聚类分析图

2.2.6 主成分分析 本研究使用SPSS 27.0版软件,将原始数据进行标准化(Z-score法)处理,得到新的数据,然后通过KOM检验法和Bartlett球体检验法进行因子分析的适用性检验。KOM值等于0.791,说明各指标间存在一定的相关性。Bartlett球体检验的Sig值小于0.001,说明拒绝相关系数都是单位阵,即各个指标是相关的。两项结果都表明了该数据适用因子分析法。

由表6可知,3个主成了解释了全部方差的89.812%,说明提取的3个主成分能够代表40批的89.812%,因此,提取3个主成分,分别为Y₁、Y₂、Y₃。根据主成分分析因子载荷矩阵结果(见表7)可知,8个变量与主成分因子1呈正相关,其中峰7、8、13、14对其贡献较大;7个变量与主成分因子2呈正相关,其中峰4对其贡献最大;8个变量与主成分因子3呈正相关,其中峰6对其贡献最大。为区分40批蒙药秦艽花之间的质量差异,采用主成分方差贡献率作为权重系数计算各主成分因子综合得分,如表8。

表 6 主成分特征值及贡献率

主成分	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%	特征值
1	71.524	71.524	10.729
2	11.478	83.003	1.722
3	6.809	89.812	1.021

表 7 主成分分析因子载荷矩阵

共有峰	主成分Y ₁	主成分Y ₂	主成分Y ₃
1	-0.985	-0.009	0.043
2	-0.821	-0.507	-0.159
3	-0.883	-0.394	-0.044
4	-0.456	0.850	0.130
5	0.928	-0.152	0.050
6	-0.026	-0.250	0.839
7	0.969	-0.121	0.072
8	0.995	-0.006	-0.045

续表7:

共有峰	主成分Y ₁	主成分Y ₂	主成分Y ₃
9	-0.829	0.419	0.221
10	0.937	0.087	0.057
11	0.938	0.311	0.103
12	0.858	-0.221	-0.173
13	0.990	0.012	-0.072
14	0.971	0.189	-0.045
15	-0.452	0.350	-0.401

表 8 主成分因子得分及排序

样品编号	主成分Y ₁ 得分	主成分Y ₂ 得分	主成分Y ₃ 得分	综合得分	排名
S1	1.07	-0.21	4.48	0.74	6
S2	1.11	0.54	0.17	0.85	5
S3	1.11	0.54	0.18	0.86	8
S4	1.10	0.62	-0.54	0.86	3
S5	1.11	0.64	-0.54	0.87	4
S6	1.15	0.66	-0.53	0.90	9
S7	1.11	0.50	0.13	0.85	2
S8	1.11	0.64	-0.59	0.87	7
S9	1.12	0.50	0.40	0.86	10
S10	1.09	0.62	-0.63	0.85	1
S11	0.86	0.44	-0.68	0.67	13
S12	0.88	-0.14	-1.04	0.62	11
S13	0.97	0.16	-0.27	0.71	15
S14	0.87	0.12	0.06	0.64	16
S15	0.89	0.28	-0.06	0.67	20
S16	0.88	0.33	0.07	0.67	17
S17	0.87	0.20	-0.04	0.65	14
S18	0.56	-0.02	-1.09	0.40	19
S19	0.84	0.30	0.07	0.64	12
S20	0.87	0.32	0.13	0.66	18
S21	-0.92	-1.77	-0.04	-0.86	37
S22	-0.92	-1.73	-0.56	-0.86	38
S23	-0.88	-1.56	-0.20	-0.81	39
S24	-0.87	-1.60	-0.20	-0.80	40
S25	-0.86	-1.58	-0.24	-0.80	34
S26	-0.90	-1.58	-0.30	-0.82	33
S27	-0.92	-1.56	-0.20	-0.84	32
S28	-0.96	-1.43	-0.76	-0.85	31
S29	-0.98	-1.40	-1.12	-0.86	35
S30	-0.90	-1.47	-0.72	-0.81	36
S31	-1.01	0.47	2.26	-0.67	24
S32	-1.04	0.77	0.48	-0.66	25
S33	-1.05	0.83	0.47	-0.65	23
S34	-1.04	0.92	0.46	-0.64	30
S35	-1.07	0.85	0.42	-0.67	26
S36	-1.23	1.15	-1.95	-0.75	27
S37	-1.01	0.95	0.59	-0.61	28
S38	-1.01	0.94	0.65	-0.61	21
S39	-1.00	0.83	0.62	-0.62	22
S40	-1.01	0.93	0.65	-0.62	29

2.2.7 OPLS-DA 分析 采用 SIMCA 14.1 版软件对 40 批样品 15 个共有峰峰面积进行正交偏最小二乘法分析,获得相模型,如图 5, S1~S20 的样品为一类, S21~S40 为一类,与聚类分析结果一致。模型的自变量模型参数 $R^2(X)$ 为 0.996, 因变量 $R^2(Y)$ 为 0.969, 均 >0.5 , 表明模型稳定性及预测力较好; 累计预测能力参数 Q^2 为 0.955 (>0.5), 表明预测模型具有较好准确性和可靠性。

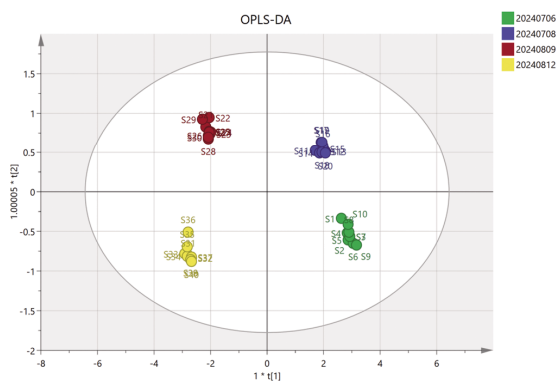


图 5 40 批蒙药秦艽花 OPLS-DA 得分图

VIP >1.0 时, 表示该变量对于所建模型的贡献度高于平均水平, 基于这一筛选标准, 共筛选出 4 种具有显著贡献的成分, 分别是獐芽菜苷 (9 号峰)、牡荆素 (11 号峰)、马钱苷酸 (5 号峰)、异荭草苷 (10 号峰), 结果见图 6。

3 讨 论

3.1 流动相与波长的选择 本研究根据文献^[7-10]记载, 考察了多种流动相, 包括甲醇-水、甲醇-0.5% 甲酸水溶液、乙腈-0.1% 磷酸水溶液。结果当采用乙腈-0.1% 磷酸水溶液时, 色谱峰出峰稳定、峰型尖锐且分离程度较好, 故选择乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相进行梯度洗脱。

根据文献报道^[12-16], 采用 VWD 检测器分别对龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素等成分进行光谱扫描 (190~400 nm)。选择各成分的最大吸收波长, 结果显示龙胆苦苷在 270 nm 处具有较大吸收值, 异荭草苷与牡荆素在 350 nm 处具有较大吸收值。指纹图谱的检测波长建立在 240 nm 处的色谱峰分离度较好, 响应值均最佳。

3.2 含量测定与指纹图谱结果分析 本研究通过测定蒙药秦艽花中龙胆苦苷、异荭草苷、牡荆素等成分, 发现其中龙胆苦苷的平均含量分别为 49.01、51.18、10.75、6.40, 异荭草苷的

平均含量分别为 3.86、3.07、1.80、1.79, 牡荆素的平均含量分别为 2.43、2.35、1.46、1.82, 且稳定性、精密度、加样回收率均符合 2020 年版《中国药典》第四部的相关规定。与此同时, 建立了蒙药秦艽花 HPLC 指纹图谱, 共确定 15 个共有峰, 指认了其中 7 个成分。从图 2 中可以看出, 3~6 min 的时间段, S21~S30 的成分多于其他批次, 18~20 min、27~37 min 的时间段, S1~S20 的成分多于其他批次。此外, 从出峰的保留时间我们可以推测, 环烯醚萜类成分可能集中于 0~17 min 的时间段, 黄酮类成分可能集中于 18~50 min 的时间段。基于此, 从整体角度来看, S1~S20 的秦艽花因其独特的地理环境和气候条件, 在质量和有效成分含量上显著优于其他地区。陕西地处中国西北部, 拥有适宜的海拔、温度、湿度和土壤条件, 这些因素为其生长提供了理想的环境。相比之下, 其他地区秦艽花由于生长环境的不同, 其有效成分含量和质量可能存在一定差异。因此, 陕西产地的秦艽花在市场上备受青睐。这种地域性优势不仅体现了“道地药材”的重要性, 也为秦艽花进一步开发和利用提供了坚实的基础。

另外, 对于秦艽, 以龙胆苦苷、马钱苷酸、栝楼酸为代表环烯醚萜类及三萜类的成分已成为《中国药典》秦艽根的主要质控成分。且这些成分为龙胆科同属植物共有的特征性成分, 研究报道居多。如现代药理研究表明, 龙胆苦苷能明显减轻大鼠关节肿胀和骨破坏, 可以有效地抑制大鼠的炎症反应^[17]。苦味活性的龙胆苦苷具有抗炎、镇痛、保肝等作用^[18]。龙胆苦苷的抗炎活性与传统中药的“祛风除湿”功效契合。但秦艽中黄酮类成分关注度较低且黄酮类成分富集在秦艽花中, 可能成为秦艽花中主要质控成分。如异荭草苷能有效清除 DPPH 自由基, 保护肝细胞免受 H_2O_2 诱导的细胞功能障碍, 减轻氧化应激诱导的细胞损伤^[19-20]。异荭草苷预处理可有效抑制白细胞介素-8 (IL-8) 和基质金属蛋白酶-1 (MMP-1) 的合成, 从而抑制炎症并抑制炎症性疾病的进展^[21]。这些黄酮类成分的抗氧化和抗炎活性为传统蒙药的祛除“协日乌素”的功效提供了现代诠释。这种分布-活性相关性进一步促进了药材资源的综合利用。基于这些成分的现代药理活性、大叶秦艽花的传统功效以及我们的实验结果, 笔者预测以异荭草苷和牡荆素为代表的黄酮类化合物将成为大叶秦艽花的质量标志物。

综上所述, 本研究所建立的基于龙胆苦苷、异荭草苷与牡荆素的含量同时测定方法及指纹图谱技术, 能够全面、准确

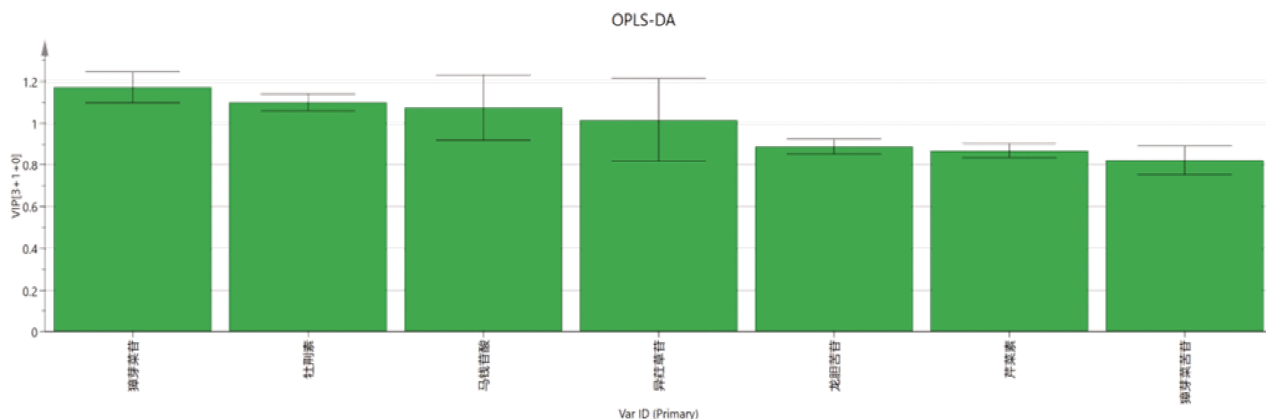


图 6 40 批蒙药秦艽花 7 个指认峰 VIP 值

地展示不同地区秦艽花在化学成分上的显著差异。此外,通过该方法可以清晰地观察到陕西产地的秦艽花中异荭草苷和牡荆素的含量明显高于其他地区。同时,该方法的应用为不同地区秦艽花的鉴别、质量控制和药用价值评估提供了可靠的技术手段。通过进一步优化和推广该方法,可以为秦艽花的资源开发、种植规划及药物研发提供科学支持,从而推动其在中医药领域的更广泛应用和产业化发展。

参考文献

- [1] 占布拉道尔吉. 无虞蒙药鉴[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988: 234.
- [2] 罗布桑. 蒙药学[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1988: 165.
- [3] 杨洋. 大叶秦艽的化学成分、抗非酒精性脂肪肝的作用及药效物质研究[D]. 西安: 西北大学, 2019.
- [4] 贾娜. 大叶秦艽花的化学成分及生物活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2011.
- [5] MU Q-E, YI-SA A, BAI Y-Q, et al. *Gentiana macrophylla* Pall.: A review of the basic source, traditional use, chemical components, pharmacological activities and quality control[J]. Tradit Med Res, 2024, 9(12): 69.
- [6] 谢欣娟, 王丽华, 刘红艳, 等. 大叶秦艽研究现状[J]. 现代农业科技, 2022(2): 65-67, 70.
- [7] 李卓航, 冯志营, 陈斌, 等. 三叶青藤叶中总黄酮、荭草苷和异荭草苷提取分离方法及HPLC检测条件的研究[J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(12): 48-52.
- [8] 李晓敏, 梁淑明, 陈菊英. 一测多评法测定线叶金雀花及其制品中3种黄酮类成分的含量[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 279-287.
- [9] 萨日呼, 道力格玛, 陈圆圆, 等. HPLC法同时测定蒙药苏格木勒-3有效部位中7种成分的含量[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(12): 7435-7439.
- [10] 王紫洁, 马灵珍. 基于HPLC多指标成分含量测定结合化学计量学的小儿康颗粒质量评价[J]. 实用药物与临床, 2021, 24(6): 536-542.
- [11] 吴勇, 刘燕, 丁茹, 等. HPLC法同时测定金胆片中龙胆苦苷等4种主成分的含量[J]. 中国药品标准, 2024, 25(1): 94-98.
- [12] 韩剑, 贾志伟, 刘健. 黄龙舌草颗粒薄层色谱鉴别与含量测定[J]. 中国医药科学, 2024, 14(23): 70-73, 87.
- [13] 王健芬, 孟纯燕, 尹兴章, 等. HPLC法测定龙胆泻肝片中龙胆苦苷等6种活性成分[J]. 云南化工, 2024, 51(9): 77-81.
- [14] 白艳秋, 阿伊萨, 牧其尔, 等. HPLC法同时测定蒙药清肝玛努-4醇提取物中6种成分的含量及指纹图谱的建立[J]. 中国药师, 2024, 27(5): 739-746.
- [15] 代敏, 吴良发, 李柯城, 等. HPLC法测定清火胶囊中异牡荆素、异金雀花素含量[J]. 化学工程师, 2024, 38(4): 22-25, 68.
- [16] 朱顺娟, 王小鹏, 卢建龙, 等. 小秦艽花和根中指标性成分含量比较研究[J]. 中兽医医药杂志, 2023, 42(4): 20-24.
- [17] 冯苗苗, 李梦含, 党琳洁, 等. 龙胆中龙胆苦苷的提取工艺及药理活性研究进展[J]. 山东化工, 2023, 52(8): 104-107.
- [18] 陈静, 支张, 索朗次仁, 等. 2种藏药秦艽的对比研究及HPLC法测定花中龙胆苦苷含量[J]. 中医药导报, 2016, 22(2): 29-31.
- [19] YUAN L, REN X M, WU Y C, et al. Isoorientin protects BRL-3A rat liver cell against hydrogen peroxide-induced apoptosis by inhibiting mitochondrial dysfunction, inactivating MAPKs, activating Akt and scavenging ROS and NO[J]. Biomed Aging Pathol, 2013, 3(3): 153-159.
- [20] FLORES G, DASTMALCHI K, DABO A J, et al. Antioxidants of therapeutic relevance in COPD from the neotropical blueberry *Anthopterus wardii*[J]. Food Chem, 2012, 131(1): 119-125.
- [21] MA M, CIREN D, FENG M K, et al. *Gentiana macrophylla* flavonoids from Tibetan medicine decreases circ_0059665 to alleviate the progression of non-small cell lung cancer under hypoxia[J]. Thorac Cancer, 2024, 15(1): 77-88.

(收稿日期: 2025-03-18 编辑: 刘国华)