

靶向轮廓分析核磁定量法测定4种 秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸

杨晓瑞¹, 张凯¹, 李泽运², 王峥涛^{2*}

(1. 郑州大学附属郑州中心医院, 郑州 450000;

2. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203)

[摘要] **目的:**建立靶向轮廓分析核磁定量法(TP-qHNMR)同时测定秦艽、麻花苳、粗茎秦艽、小秦艽4种秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸的含量。**方法:**采集龙胆苦苷、马钱苷酸标准核磁共振氢谱,采用Chenomx NMR suit自建龙胆苦苷与马钱苷酸核磁共振氢谱数据库;秦艽药材采用甲醇超声法提取,提取液吹干以氘代甲醇复溶,同等条件下记录核磁共振氢谱;基于Chenomx对谱图进行预处理与靶向轮廓分析定量;并采用HPLC-UV法验证TP-qHNMR法测定结果。**结果:**基于Chenomx的TP-qHNMR法测定秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸含量测定结果准确可靠,与HPLC-UV法无显著差异。所考察的4种秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸含量高低依次为:粗茎秦艽>秦艽>麻花苳>小秦艽。**结论:**所建立的TP-qHNMR法准确、可靠,可用于秦艽的质量控制,促进了核磁定量技术在中药质量控制中的应用。

[关键词] 秦艽; 龙胆苦苷; 马钱苷酸; 靶向轮廓分析核磁定量法; 高效液相色谱-紫外检测

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0098-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060098

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1341.050.html>

[网络出版时间] 2016-12-28 13:41

Targeted Profiling qHNMR for Determination of Gentiopicroside and Loganic Acid in 4 Species of Gentianae Macrophyllae Radix

YANG Xiao-rui¹, ZHANG Kai¹, LI Ze-yun², WANG Zheng-tao^{2*}

(1. Zhengzhou Central Hospital Affiliated Zhengzhou

University, Zhengzhou 450000, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a targeted profiling qHNMR (TP-qHNMR) method for content determination of gentiopicroside and loganic acid in 4 kinds of Gentianae Macrophyllae Radix (*Gentiana macrophylla*, *G. straminea*, *G. crassicaulis* and *G. dahurica*). **Method:** TP-qHNMR software of Chenomx NMR suit was employed and standard ¹H-NMR spectra of gentiopicroside and loganic acid were collected. Gentianae Macrophyllae Radix was extracted by using methanol ultrasonic method and the dried extraction was reconstituted in CH₃OD before spectra were recorded. All spectra were recorded in the same condition, and then targeted profiling quantification was achieved in reference to chemical shape indicator (CSI) by Chenomx profiler and further validated by HPLC-UV method. **Result:** The established TP-qHNMR method was accurate and reliable for

[收稿日期] 20160421(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81603287)

[第一作者] 杨晓瑞, 硕士, 药师, 从事中药分析研究, Tel: 0371-67690201, E-mail: yangrui31@126.com

[通讯作者] *王峥涛, 教授, 从事中药材资源鉴定活性成分与质量标准有毒中药的研究, Tel: 021-51322507, E-mail: wangzht@hotmail.com

determination of gentiopicroside and loganic acid in *Gentianae Macrophyllae Radix*, showing no significant difference with HPLC-UV method. The contents of gentiopicroside and loganic acid in 4 kinds of *Gentianae Macrophyllae Radix* were as follows; *G. crassicaulis* > *G. macrophylla* > *G. straminea* > *G. dahurica*. **Conclusion:** TP-qHNMR was accurate and reproducibly for quality control of *Gentianae Macrophyllae Radix*, and can be widely applied for quality control of traditional Chinese medicine.

[Key words] *Gentianae Macrophyllae Radix*; gentiopicroside; loganic acid; TP-qHNMR; RP-HPLC

传统氢谱核磁定量方法(qHNMR)有一定的局限性,尤其是当测定体系过于复杂导致难以选取单个的定量信号时。而复杂或混合体系,信号密集、信噪比不佳的情况下,去卷积算法(deconvolution)则为复杂信号的识别、定量提供了可能。去卷积算法建立数学模型,模拟目标信号线形、频率、峰宽、强度,进而从复杂体系中对目标信号进行识别与定量^[1]。目前,基于去卷积算法实现定量的核磁软件有 Chemomx 与 Amix 等。靶向轮廓分析核磁定量法(targeted profiling qHNMR, TP-qHNMR)为去卷积定量法的进一步发展,其不再聚焦于个别定量信号,将整个目标化合物的核磁共振曲线考虑在内,通过去卷积算法系统模拟目标化合物核磁共振信号,对比目标化合物核磁共振曲线与参比化合物核磁共振曲线响应之比,进而从复杂核磁共振曲线中对目标化合物辨识定量,其同时具有去卷积定量与内标定量的特点,为复杂体系核磁定量提供了可靠的技术方法^[2]。

秦艽为重要的传统药材,始载于《神农本草经》,列为中品,其性味苦、平,微寒,具有祛风湿、止痹痛、退虚热、清湿热等功效,传统用于风湿痹痛、筋脉拘挛、骨节酸痛、中风手足不遂及骨蒸潮热、小儿疳积发热、湿热黄疸等^[3-4]。《中国药典》2015 年版(一部)收载其为龙胆科植物秦艽、麻花秦艽、粗茎秦艽或小秦艽的干燥根,以秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸为指标成分进行质量评价^[5],龙胆苦苷、马钱苷酸等类成分共同构成了秦艽抗炎、镇静、降压、保肝等治疗作用的主要药效物质基础^[6-8]。本实验以秦艽为例,尝试 TP-qHNMR 测定秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸的含量,对秦艽的质量评价具有重要意义。所得结果采用 HPLC-UV 方法进行验证。

1 材料

AV 400 型 NMR spectrometer(德国 Bruker 公司);Scientific Heraeus Labofuge 300 小型医用离心机(美国 Thermo 公司);单通道可调微量移液器(20~200 μL,德国 Eppendorf 公司);Vortex Genie 2 型涡旋仪(美国 Thermo 公司);Topspin 3.0 工作站

(德国 Biospin 公司);NMR suit version 7.6(加拿大 Chemomx 公司);1260 series 系列 HPLC, Chemstation 软件(美国 Agilent 公司)。

线形指示剂 1,4-对二硝基苯(CSI,纯度 99.0%,GC 内标)购自日本东京化成工业株式会社;龙胆苦苷(纯度 98.0%,LC-UV, dried,批号 110770-200712),马钱苷酸(纯度 98.0%,LC-UV, dried,批号 111865-201001)购自中国食品药品检定研究院;CH₃OD(99.5%)购自英国 Cambridge Isotope Laboratories, Inc;秦艽、麻花秦艽、粗茎秦艽、小秦艽均收集自药材市场,经上海中医药大学吴立宏研究员鉴定为正品,见表 1,以上药材均取适量粉碎,过五号筛为细粉;甲醇、乙腈、磷酸色谱纯去离子水由美国 Milli-Q system 自制。

表 1 秦艽药材种属、产地及来源

Table 1 Tested *Gentianae Macrophyllae Radix* samples and collection information

No.	来源	产地	收集地点
S1	粗茎秦艽 <i>Gentiana crassicaulis</i>	云南	河北安国药材市场
S2	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	四川成都药材市场
S3	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	云南昆明药材市场
S4	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	安徽亳州药材市场
S5	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	云南丽江
S6	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	安徽亳州
S7	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	四川	四川木里
S8	粗茎秦艽 <i>G. crassicaulis</i>	云南	四川成都药材市场
S9	秦艽 <i>G. macrophylla</i>	云南	重庆药材市场
S10	秦艽 <i>G. macrophylla</i>	甘肃	浙江中医药大学
S11	秦艽 <i>G. macrophylla</i>	甘肃	上海中医药大学
S12	小秦艽 <i>G. dahurica</i>	内蒙古	浙江中医药大学
S13	小秦艽 <i>G. dahurica</i>	湖北	河北安国药材市场
S14	小秦艽 <i>G. dahurica</i>	黑龙江	黑龙江哈尔滨药材市场
S15	麻花秦艽 <i>G. straminea</i>	青海	青海互助
S16	麻花秦艽 <i>G. straminea</i>	青海	青海海北

2 方法与结果

2.1 核磁定量对照品溶液的制备 分别取龙胆苦苷、马钱苷酸对照品适量,精密称定,加入 1,4-对二

硝基苯 (IS) 约 1.0 mg, 精密称定。各对照品与内标共溶于约 0.5 mL CH₃OD, 超声使充分溶解, 转移至 5 mm 内径核磁管中待测。

2.2 核磁测定供试品溶液的制备 取各批次秦艽细粉约 0.5 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定, 超声提取 30 min, 放冷, 补足缺失的质量, 滤过。精密量取提取液 600 μL 转移至 2.0 mL EP 管中, 35 °C 下氮气流吹干。另取 1,4-对二硝基苯约 1.0 mg, 精密称定, 置于含氮吹残余物的 EP 管中, 精密加入 CH₃OD 500 μL, 涡旋 2 min, 超声 2 min, 使提取残渣与内标充分溶解。2 000 g 离心 5 min, 移取上清液 450 μL 至 5 mm 内径核磁管中, 以备分析。每批次秦艽样品平行制备 3 份。

2.3 核磁共振实验条件 核磁定量实验要求所有测试图谱与对照品图谱均在同一测试条件下完成。本实验仪器参数: AV-400 MHz 核磁共振光谱仪, 使用 5 mm 多核宽带观测 (BBO) 探头, 脉冲序列 Zg 30, 观测频率 400.13 MHz, 窗口宽度 (SW) δ 20.0, 激发偏置 (O1P) δ 7.98, 采集时间 (AQ) 4.09 s, 扫描延迟 (D1) 2 s, 激发脉冲 (P1) 4.27 μs, 时间域 (TD) 32 K, 空扫次数 (DS) 2, 扫描次数 (NS) 128, 温度 (Te) 298 K, 线宽因子 (LB) 0.3 Hz。典型光谱图见图 1。

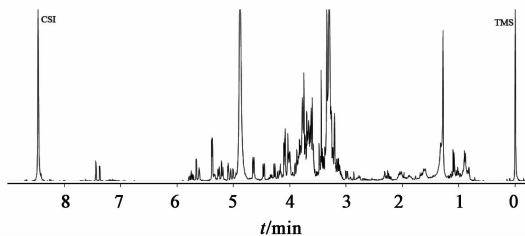


图 1 秦艽核磁定量典型光谱

Fig. 1 Representative ¹H-NMR spectrum for Gentianae Macrophyllae Radix sample

2.4 测定原理 本实验 TP-qHNMR 依赖核磁定量软件 Chenomx NMR suit 实现。Chenomx NMR suit 是一款由加拿大 Chenomx 公司针对代谢物定性定量分析需求推出的分析软件, 能够实现混合体系复杂核磁共振图谱中目标代谢物共振曲线的识别和定量。该软件 TP-qHNMR 的一般原理如下^[9]:

$$\bar{I}(x) = \sum_{i=1}^{n\text{metabolites}} c_i \sum_{j=1}^{n\text{clusters}} \sum_{k=1}^{n\text{peaks}} \frac{h_{i,j,k} \cdot w_{i,j,k}^2}{4[x - (\delta_{i,j,k} + \Delta\delta_{i,j})]^2 + w_{i,j,k}^2}$$

其中 $\bar{I}(x)$ 为模拟信号在 x 频率的强度, c_i 为物质 i 的浓度, $\delta_{i,j,k}$ 为物质 i 基团 j 信号 k 的共振频率化学位移, $\Delta\delta_{i,j}$ 为该信号允许的偏移值, $h_{i,j,k}$ 与 $w_{i,j,k}$ 分别为对应信号的强度与线宽。其中 $h_{i,j,k}$ 与 $w_{i,j,k}$ 为

与目标化合物标准核磁共振氢谱相关的常数。Chenomx 软件自建目标化合物数据库, 获取目标化合物以及内标的 $h_{i,j,k}$ 与 $w_{i,j,k}$, 对待测核磁共振氢谱实行手动去卷积, 系统比较目标化合物逐个信号与参比信号的核磁共振曲线响应之比, 进而实现靶向轮廓分析定量。

Chenomx NMR suit 有以下模块组成: processor, compound builder, library manager, profiler 等。其中 processor 模块对所有 ¹H-NMR 光谱进行预处理, 以保证所有核磁谱具有相同的匀场、线宽等参数条件; compound builder 模块建立定量化合物的标准 ¹H-NMR 光谱, 以获取目标化合物的 $h_{i,j,k}$ 与 $w_{i,j,k}$ 等参数; library manager 模块对所建立的标准 ¹H-NMR 进行管理和调用, 以供靶向轮廓分析模式进行目标化去卷积; profiler 模块根据 library manager, 对混合体系混合 ¹H-NMR 光谱进行去卷积计算, 根据去卷积模拟信号与参比物质信号强度比, 计算目标化合物的平均浓度。

2.5 谱图预处理 TP-qHNMR 试验中的所有核磁共振氢谱必先经过统一规格的相位调整、基线校正与线形匹配, 以确保轮廓分析定量结果的准确精密。本实验所有核磁共振氢谱均依靠 Chenomx NMR suit 中 processor 模块进行统一的相位调整、基线校正和线形匹配。其中相位调整和基线校正功能通过软件自动进行, 更为精细, 克服了手动处理的主观性; 依靠线形指示剂 (chemical shape indicator, CSI) 对谱图进行线形匹配, 克服核磁共振图谱受匀场文件、温度等采集状态变化导致的线形变化。Chenomx NMR suit 为生物体液样品而开发, 默认 CSI 为 DSS。本实验通过 Chenomx 软件自建数据库, 实现秦艽甲醇提取液中龙胆苦苷等成分定量, 调整 CSI 为 1,4-对二硝基苯。

2.6 标准谱库建立 Compound builder 模块根据 processor 处理后的标准样品核磁共振图谱, 排除杂质与溶剂信号, 提取所有对照品质子核磁共振信息建立标准核磁共振氢谱。该操作过程中, Chenomx 获得目标化合物各共振信号对应的 $h_{i,j,k}$ 与 $w_{i,j,k}$ 等参数, 以供目标化去卷积 (非开源软件, 以上参数未提供)。本实验龙胆苦苷标准核磁共振氢谱建立过程见图 2。同理, 笔者建立马钱苷酸标准核磁共振氢谱。

2.7 标准核磁共振氢谱调用 Library manager 模块用以对标准核磁共振氢谱管理调用。本实验将 compound builder 建立的标准核磁共振氢谱导入

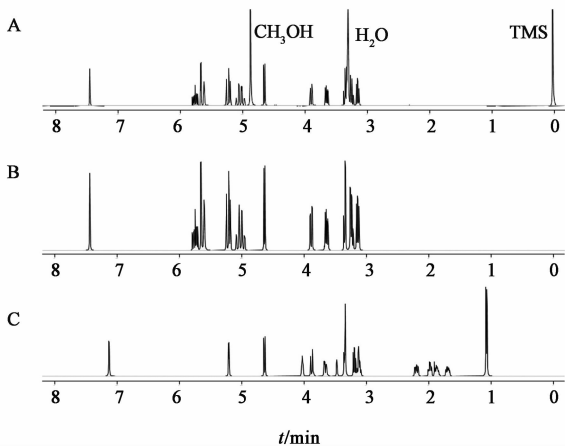


图 2 龙胆苦苷对照溶液核磁共振氢谱 (A) 去除溶剂峰与杂质峰得到龙胆苦苷 (B) 纯粹核磁共振氢谱, 同法得到马钱苷酸 (C) 纯粹核磁共振氢谱

Fig. 2 Establishment of pure¹H-NMR spectrum of gentiopicroside (B) form standard solution spectrum (A) by compound builder and pure¹H-NMR spectra of loganic acid (C)

library manager, 自建命名为“Qinjiao library”的对照品核磁共振氢谱数据库, 以便秦艽提取液定量测定时调取。

2.8 靶向轮廓分析定量 Profiler 模块 是 Chemomx NMR suit 用于定量的计算步骤。该模块自动化的去卷积和多元线性拟合, 从混合核磁共振氢谱中对目标化合物的核磁共振曲线进行辨识与定量。本实验中通过 library manager 调取“Qinjiao library”数据库匹配秦艽提取液核磁共振图谱, 对龙胆苦苷和马钱苷酸进行去卷积模拟建立单个化合物图谱, 并根据 CSI 强度与浓度计算以上成分含量, 实验结果见表 2。本实验通过 Chemomx NMR suit 对秦艽药材提取液中龙胆苦苷与马钱苷酸成分靶向轮廓分析见图 3。

2.9 HPLC-UV 法验证 取同批次秦艽, 按照《中国药典》2015 年版(一部)秦艽质量标准含量测定项下测定秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸含量, 实验结果见表 2。对所建立的 TP-QHNMR 法实验结果进行验证。

3 讨论

3.1 TP-qNMR 法供试品溶液的制备与参比物的选择 供试品溶液的制备务必最终溶解在完全氘代溶剂中, 以期减少水峰或溶剂残余峰的干扰, 尽可能的保留总提取物与定量化合物有效信息, 从而提高定量的专属性。若最终不能使样品溶于完全氘代溶剂中, 核磁共振氢谱应采取预饱和压制脉冲序列采集, 以最大程度减小溶剂峰影响。本实验秦艽采取超声

提取后, 吹干以氘代甲醇复溶方法制备供试品溶液, 避免了甲醇溶剂峰的干扰, 基线平稳, 提供了较好的定量条件。参比化合物 (CSI&IS), 应当信号独特, 具有好的抗干扰性, 不受提取液复杂图谱信号的干扰, 本实验以对二硝基苯为内标, 其信号远离秦艽中化合物质子信号, 具有较好的抗干扰性。

表 2 秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸 TP-qHNMR 与 HPLC-UV 测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Test Result of gentiopicroside and loganic acid in Gentianae Macrophyllae Radix by TP-qHNMR and HPLC-UV ($\bar{x} \pm s, n=3$)

No.	龙胆苦苷		马钱苷酸	
	TP-qHNMR	HPLC-UV	TP-qHNMR	HPLC-UV
S1	2.79 ± 0.03	2.60 ± 0.04	0.90 ± 0.01	0.98 ± 0.04
S2	3.10 ± 0.01	2.91 ± 0.03	1.74 ± 0.03	1.93 ± 0.03
S3	3.14 ± 0.02	3.29 ± 0.04	1.51 ± 0.02	1.80 ± 0.04
S4	2.83 ± 0.02	2.75 ± 0.08	1.94 ± 0.02	2.21 ± 0.08
S5	3.41 ± 0.08	3.55 ± 0.05	0.70 ± 0.01	0.88 ± 0.12
S6	2.65 ± 0.03	2.45 ± 0.07	0.78 ± 0.01	0.82 ± 0.03
S7	2.07 ± 0.02	2.03 ± 0.04	0.62 ± 0.01	0.74 ± 0.06
S8	2.61 ± 0.03	2.51 ± 0.04	1.60 ± 0.02	1.79 ± 0.03
S9	3.42 ± 0.02	3.34 ± 0.12	0.92 ± 0.01	1.35 ± 0.03
S10	4.25 ± 0.13	4.27 ± 0.49	1.02 ± 0.01	1.20 ± 0.10
S11	0.82 ± 0.01	1.01 ± 0.04	0.73 ± 0.01	0.89 ± 0.02
S12	1.94 ± 0.02	2.00 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.23 ± 0.02
S13	1.22 ± 0.02	1.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.28 ± 0.02
S14	1.94 ± 0.03	2.02 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.06 ± 0.01
S15	2.52 ± 0.04	2.31 ± 0.03	1.70 ± 0.01	1.68 ± 0.01
S16	1.20 ± 0.01	1.36 ± 0.01	1.30 ± 0.01	1.49 ± 0.01

3.2 TP-qHNMR 和 HPLC-UV 测定结果的相关性 TP-qHNMR 和 HPLC-UV 测定秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸含量结果相关性见图 4。由以上结果可知 TP-qHNMR 和 HPLC-UV 所得二系列结果之间有良好的相关性。测定秦艽中龙胆苦苷(平均质量分数约为 3.0%), 马钱苷酸(平均质量分数约为 1.0%) 含量时, 两种方法所得结果相关系数 (r) 等于 0.995, 0.971。这表明对于药材中含量较大的成分, 基于 Chemomx NMR suit 的 TP-qHNMR 法具有较高的准确性; TP-qHNMR 与 HPLC-UV 测定结果分别进行 Shapiro-Wilk 检验服从正态分布 ($P > 0.05$), 配对样本 t 检验表明对于龙胆苦苷和马钱苷酸的含量测定 2 种方法无显著性差异。

3.3 测定结果分析 《中国药典》2015 年版(一部)秦艽测定项下规定, 药材中龙胆苦苷与马钱苷酸含量不得少于 2.5%。由以下测定结果可知, 秦

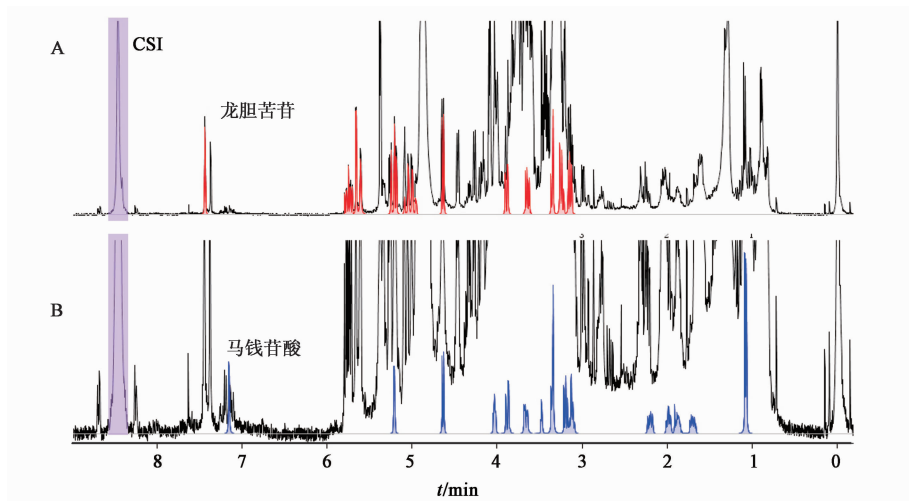


图 3 秦艽提取物氢谱(黑色)中龙胆苦苷(A,红色)与马钱苷酸(B,蓝色)的 TP-qHNMR 定量

Fig. 3 Targeted profiling of gentiopicroside (A, red) and loganic acid (B, blue) from *Gentianae Macrophyllae Radix* ^1H -NMR spectrum (black)

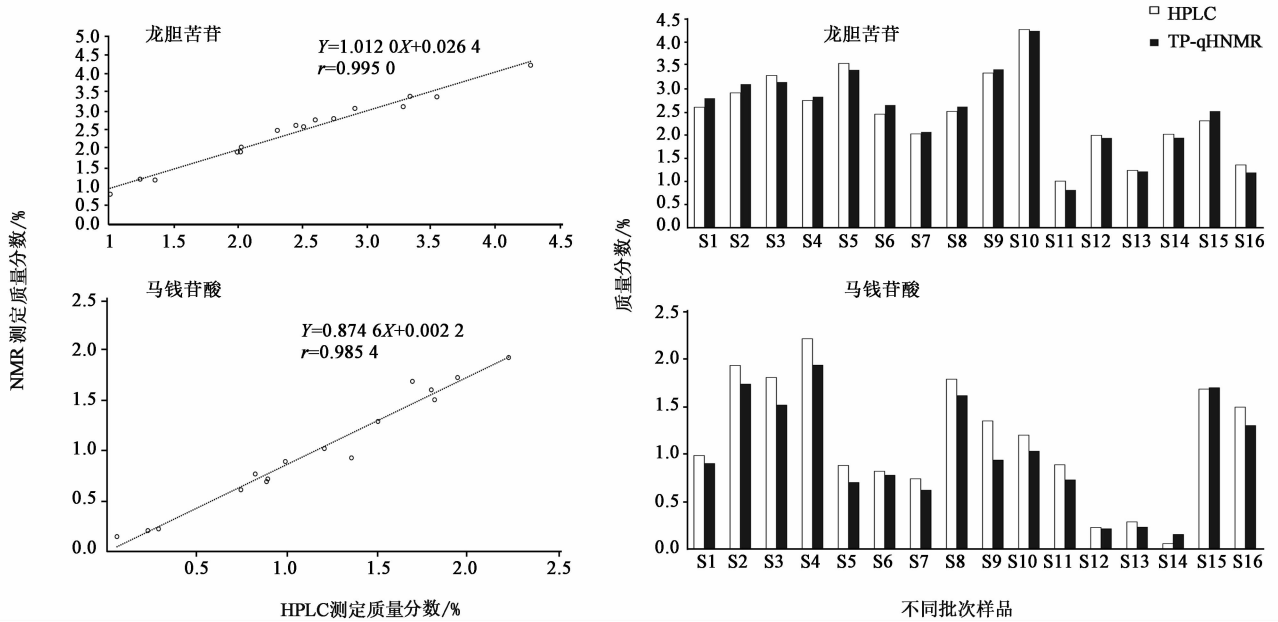


图 4 秦艽中龙胆苦苷与马钱苷酸 TP-qHNMR 法与 HPLC-UV 法测定相关性分析

Fig. 4 Correlation plot and column plot of percent weight of gentiopicroside and loganic acid from *Gentianae Macrophyllae Radix* by TP-qHNMR and HPLC

艽药材 S11 ~ S14 为不合格样品。本研究所测定秦艽的 4 种环烯醚萜成分中,龙胆苦苷质量分数最高(1.028% ~ 4.552%),与之前文献报道相一致^[10]。龙胆苦苷与马钱苷酸在 4 种秦艽中含量顺序依次为:粗茎秦艽 > 秦艽 > 麻花艽 > 小秦艽,该顺序与之前报道相一致^[11]。马钱苷酸含量低于龙胆苦苷。

3.4 核磁共振实验条件的讨论 去卷积核磁定量方法要求对照品核磁共振图谱与供试品核磁共振图谱在相同条件下采集,基于数学算法去卷积而定量。其不要求定量质子完全弛豫,因而 D1 的设定参照

一般氢谱实验即可,本实验中设置 D1 为 2.0 s。本实验在完全氘代环境中进行测定,无需压制溶剂峰,因而采用简单的氢谱采集。若氢谱在不完全氘代溶剂中采集,则需要压制溶剂峰,比如测定尿液样本中代谢物小分子的含量,要求用 Noesypr1d 以压制水峰。SW 覆盖总提取物所有信号即可,以避免峰折返和基线校正过程中定量的影响。本实验 SW 设定为 δ 20.0。NS 宜考虑实验时间和 S/N,本实验设定 NS 为 128,满足定量试验信噪比同时又兼顾了分析时间,使每样本分析时间在 10 min 左右。

3.5 TP-qHNMR 法的优势与意义 TP-qHNMR 法具有能从复杂混合核磁共振氢谱抽离特定化合物核磁共振氢谱的能力,相比于传统的单一信号核磁定量法,该方法具有较好的适用性与专属性。相比于 HPLC-UV 方法 TP-qHNMR 不依赖色谱分离,基于质子的响应而实现定量,无歧视效应,其对紫外吸收弱或检测器响应差的成分检测具有得天独厚的优势。此外 TP-qHNMR 定量同时可体现提取物全部化学信息,定量同时兼具定性特征,其为混合体系(植物提取物)中成分的含量测定提供了新的优越的方法。本实验尝试利用 Chenomx NMR Suit 自建秦艽中龙胆苦苷、马钱苷酸准核磁共振氢谱数据库,并利用去卷积定量模块实现秦艽中以上成分的定量。本实验是去卷积核磁定量在中药质量控制中应用的具体实践,对核磁定量方法应用于中药质量控制具有一定的积极意义。

[参考文献]

[1] Crockford D J, Keun H C, Smith L M, et al. Curve-fitting method for direct quantitation of compounds in complex biological mixtures using $^1\text{H-NMR}$: application in metabonomic toxicology studies [J]. *Anal Chem*, 2005, 77(14):4556-4562.

[2] Weljie A M, Newton J, Mercier P, et al. Targeted profiling: quantitative analysis of $^1\text{H-NMR}$ metabolomics data [J]. *Anal Chem*, 2006, 78(13):4430-4442.

[3] 苏晓聆, 李福安, 魏全嘉. 秦艽临床应用研究概况 [J]. *青海医药杂志*, 2009, 39(6):93-96.

[4] 蔡秋生, 张志红, 高慧琴. 秦艽药理作用及临床应用研究进展 [J]. *甘肃中医学院学报*, 2010, 27(6):55-58.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:270.

[6] Dinda B, Chowdhury D R, Mohanta B C. Naturally occurring iridoids, secoiridoids and their bioactivity. An updated review, part 3 [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2009, 57(8):765-796.

[7] Ozturk N, Korkmaz S, Ozturk Y, et al. Effects of gentiopicroside, sweroside and swertiamarine, secoiridoids from gentian (*Gentiana lutea* ssp. *symphyandra*), on cultured chicken embryonic fibroblasts [J]. *Planta Med*, 2006, 72(4):289-294.

[8] 穆祯强, 于洋, 高昊, 等. 龙胆属秦艽组植物的化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(16):2012-2017.

[9] Mercier P, Lewis M J, CHANG D, et al. Towards automatic metabolomic profiling of high-resolution one-dimensional proton NMR spectra [J]. *J Biomol NMR*, 2011, 49(3/4):307-323.

[10] 吴靳荣, 吴立宏, 赵志礼, 等. 中药秦艽和习用品中5种环烯醚萜类成分的 HPLC 含量测定 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(4):715-720.

[11] 曹晓燕, 王政军, 王喆之. 4种秦艽属植物不同器官中4种环烯醚萜苷成分含量的比较分析 [J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21(1):58-63.

[责任编辑 顾雪竹]