彝药菊三七的质量标准及不同产地药材的质量评价Δ

额其小里[1,2,3]*，沈继秀[1,4]，罗　江[1,2,3]，地久此呷[1,2,3]，刘　圆[2,3,5]，杨正明[2,3,6]，李　莹[1,2,3]#（1.西南民族大学药学院，成都　610225；2.四川省羌彝药用资源保护与利用技术工程实验室，成都　610225；3.青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室，成都　610225；4.凉山州食品药品检验所，四川 西昌　615000；5.西南民族大学民族医药研究院，成都　610225；6.西南民族大学青藏高原研究院，成都　610225）

中图分类号　R917　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）03-0309-07
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.03.11

摘　要　目的　完善并提高彝药菊三七的质量标准，并评价其质量。**方法**　以不同产地的15批菊三七药材为样品，根据2020年版《中国药典》（四部）方法测定其水分、总灰分、酸不溶性灰分及水溶性浸出物含量，采用紫外分光光度法测定其总生物碱（以千里光碱计）含量，采用高效液相色谱（HPLC）法测定其千里光碱和千里光菲灵碱含量。以上述7个指标为评价指标，通过聚类热图分析法、主成分分析（PCA）法及熵权逼近理想排序（TOPSIS）法对药材质量进行综合评价。**结果**　15批菊三七的水分含量为8.88%～12.60%，总灰分含量为4.43%～11.02%，酸不溶性灰分含量为0.56%～3.45%，水溶性浸出物含量为21.71%～53.91%，总生物碱（以千里光碱计）含量为0.15%～0.39%，千里光碱、千里光菲灵碱的含量分别为0.01%～0.05%、0.01%～0.06%。根据各指标结果，初步拟定菊三七样品中水分不得过13.00%，总灰分不得过11.50%，酸不溶性灰分不得过3.70%，水溶性浸出物含量不得少于20.70%，总生物碱含量（以千里光碱计）不得少于0.15%，千里光碱、千里光菲灵碱含量均不得少于0.01%。聚类热图分析结果显示，15批样品可分为4类；PCA法和TOPSIS法分析结果显示，品质排名靠前的样品为jsq-2、jsq-5、jsq-6、jsq-10，品质排名靠后的样品为jsq-4、jsq-13、jsq-14。**结论**　本研究建立了菊三七中总生物碱（以千里光碱计）、千里光碱、千里光菲灵碱的定量分析方法，并初步拟定了各指标的限度；在15批样品中，以产自凉山彝族自治州甘洛县林杂村、凉山彝族自治州普格县螺髻山镇马厂坪村等地的样品质量相对较好。

关键词　菊三七；质量标准；千里光碱；千里光菲灵碱；总生物碱；多元统计分析

Study on quality standard of Yi medicine *Gynura japonica* and quality evaluation of medicinal materials from different producing areas

Eqixiaoli [1,2,3], SHEN Jixiu[1,4], LUO Jiang[1,2,3], Dijiuciga [1,2,3], LIU Yuan[2,3,5], YANG Zhengming[2,3,6], LI Ying[1,2,3]（1. School of Pharmacy, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China; 2. Sichuan Laboratory for Qiangyi Medical Resources Protection and Utilization Technology Engineering, Chengdu 610225, China; 3. Key Laboratory for the Protection and Utilization of Ethnic Medicinal Resources in the Qinghai-Tibet Plateau, National Ethnic Affairs Commission of the People's Republic of China, Chengdu 610225, China; 4. Liangshan Yi Autonomous Prefecture Institute for Food and Drug Control, Sichuan Xichang 615000, China; 5. Institute of Ethnic Medicine, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China; 6. Qinghai-Tibet Plateau Research Institute, Southwest Minzu University, Chengdu 610225, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To improve the quality standard of Yi medicine *Gynura japonica*, and to evaluate its quality. **METHODS** Using 15 batches of *G. japonica* from different producing areas as samples, the contents of water, total ash, acid-insoluble ash and water-soluble extract were determined according to the method stated in part Ⅳ of *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition). The contents of total alkaloid (calculated by senecionine) was determined by UV spectrophotometry. The contents of senecionine and seneciphylline were determined by HPLC. Using above 7 indexes as evaluation indexes, cluster heat map analysis, principal component analysis (PCA) and entropy weight approximation ideal ranking (TOPSIS) were used to evaluate the quality of medicinal material comprehensively. **RESULTS** Among 15 batches of *G. japonica*, the moisture contents were 8.88%-12.60%, the total ash contents were 4.43%-11.02%, the acid-insoluble ash contents were 0.56%-3.45%, the water-soluble extract contents were 21.71%-53.91%, the total

Δ **基金项目**　国家重点研发计划项目（No.2018YFC1706101；四川省药品监督管理局中药（民族药）标准提升项目（No.51020120210-2305）；西南民族大学研究生“创新型科研项目”（No.ZD2022411）

* **第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药炮制与制剂。E-mail：2914186309@qq.com

\# **通信作者**　副教授，硕士生导师，博士。研究方向：民族药品质评价与青藏高原药用植物微生态。E-mail：liying@swun.cn

alkaloid contents (calculated by senecionine) were 0.15%-0.39%, and the contents of senecionine and seneciphylline were 0.01%-0.05% and 0.01%-0.06% respectively. According to the results of various indicators, it was preliminarily proposed that the water content in the sample of *G. japonica* should not exceed 13.00%, the total ash content should not exceed 11.50%, the acid-insoluble ash content should not exceed 3.70%, the water-soluble extract should not be less than 20.70%, the total alkaloid content should not be less than 0.15%, the contents of senecionine and seneciphylline should not be less than 0.01% both. The results of cluster heat map analysis showed that the 15 batches of samples could be divided into four categories; the results of PCA and TOPSIS showed that the samples with high-quality ranking were jsq-2, jsq-5, jsq-6 and jsq-10, and the samples with low-quality ranking were jsq-4, jsq-13 and jsq-14. **CONCLUSIONS** In this study, the quantitative analysis method of total alkaloids (calculated by senecionine), senecionine and seneciphylline in *G. japonica* is established, and the limits of each index are preliminarily determined. Among 15 batches of samples, the qualities of medicinal material collected from Linza Village of Ganluo County of Liangshan Yi Autonomous Prefecture, Machangping Village of Luojishan Town of Puge County of Liangshan Yi Autonomous Prefecture and other places are better.

KEYWORDS *Gynura japonica*; quality standard; senecionine; seneciphylline; total alkaloids; multivariate statistical analysis

菊三七来源于菊科植物菊三七 *Gynura japonica*（Thunb.）Juel.的干燥块根，又名见肿消、土三七、血当归、水三七、散血丹、九头狮子草等[1－4]。菊三七首载于《滇南本草》："土三七，味苦。治跌打损伤。生用破血，炙用补血"[2]。彝医临床多将菊三七用于治疗"斯色"病、跌打淤肿、骨折、大骨节刺、疮久不愈、肿瘤、便血、蛇虫咬伤等[1－3]，此外，也将其用于治疗咽喉炎、乳腺炎、扁桃体炎等[5]。该药材也是中成药跌打止痛片及四川省医疗机构制剂——彝药痛风颗粒（川药制备字Z20220392000）的组成之一，临床应用广泛。

目前，菊三七被收载于1992年版《中华人民共和国卫生部药品标准》（中药材第一册）和2005年版《云南省中药材标准》（第二册彝族药），但前一标准中仅有1项显微鉴别和1项理化鉴别，后一标准中仅有性状、薄层色谱鉴别以及水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物等常规质量标准检查项，缺少指标性成分的定量检测，专属性不强，药材质量标准亟待提高。经文献调研发现，菊三七的根及全草中主要含有生物碱类、黄酮类、核苷类、有机酸类、多糖类、三萜类、甾体及皂苷类、倍半萜及酚酸类等化学成分[6－11]。其中，千里光碱和千里光菲灵碱等生物碱类成分是菊三七的代表性活性成分，具有抗肿瘤、止血等作用[12－14]。

本研究旨在建立总生物碱、千里光碱、千里光菲灵碱的定量分析方法，完善并提高菊三七的药材质量标准；然后运用多元统计分析法，以其所含有的水溶性浸出物、总生物碱（以千里光碱计）、千里光碱、千里光菲灵碱含量为指标，对不同产地菊三七药材进行综合质量评价，从而确保其临床应用的安全、有效、稳定、可控，为菊三七的进一步开发与合理利用提供实验参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有Waters 2695型高效液相色谱（HPLC）仪（美国Waters公司）、ME204E/02型电子天平[梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司]、TU-1950型双光束紫外-可见分光光度计（北京普析通用仪器有限责任公司）、KQ-300DE型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、HG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）、HWS-12型数显恒温水浴锅（上海一恒科学仪器有限公司）、TGL-16型离心机（四川蜀客仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

菊三七药材共15批（编号jsq-1～jsq-15），经西南民族大学青藏高原研究院刘圆教授和药学院李莹副教授鉴定均为菊科植物菊三七 *G. japonica*（Thunb.）Juel.的块根，15批样品的来源信息见表1。样品采集后，洗净，切片，阴干，粉碎，过3号筛，干燥保存，备用。千里光碱对照品、千里光菲灵碱对照品为青藏高原民族药用资源保护与利用国家民委重点实验室自制（批号20200301，经HPLC法测得其纯度均不低于98%）；乙腈、磷酸均为色谱纯，水为超纯水，其他试剂均为分析纯。

表1 15批菊三七样品的来源信息

编号	采集（收集）地	海拔/m	采集地经纬度	采集（收集）时间
jsq-1	甘孜藏族自治州九龙县湾坝乡草坪子村	2 560	E:102°4′3″;N:29°5′53″	2018-06-04
jsq-2	凉山彝族自治州甘洛县林杂村	2 176	E:102°45′20″;N:28°58′33″	2018-07-15
jsq-3	甘孜藏族自治州九龙县湾坝乡草坪子村	2 500	E:102°4′3″;N:29°5′53″	2019-06-07
jsq-4	凉山彝族自治州普格县螺髻山镇甘尔村	2 220	E:102°24′50″;N:27°36′11″	2019-07-08
jsq-5	凉山彝族自治州普格县螺髻山镇马厂坪村	2 083	E:102°25′46″;N:27°33′43″	2019-07-11
jsq-6	凉山彝族自治州普格县螺髻镇山波洛坪村	1 779	E:102°26′21″;N:27°32′0″	2019-07-11
jsq-7	凉山彝族自治州普格县螺髻镇山子热村	1 978	E:102°25′54″;N:27°33′26″	2019-07-11
jsq-8	凉山彝族自治州西昌市安哈镇芋旷村	2 214	E:102°19′30″;N:27°41′57″	2019-07-13
jsq-9	凉山彝族自治州西昌市安哈镇摸鱼沟村	2 034	E:102°18′46″;N:27°41′57″	2019-07-13
jsq-10	攀枝花市米易县垭口镇回箐村	2 090	E:102°0′5″;N:26°42′42″	2019-07-24
jsq-11	凉山彝族自治州会理县小黑箐乡矿山村	2 130	E:102°0′23″;N:26°42′32″	2019-07-28
jsq-12	攀枝花市米易县草坝村	2 490	E:101°47′53″;N:26°52′100″	2019-08-03
jsq-13	凉山彝族自治州金阳县放马坪中心村	1 654	E:103°4′29″;N:27°29′8″	2019-09-07
jsq-14	攀枝花市米易县垭口镇回箐村	2 110	E:102°0′8″ ;N:26°42′32″	2019-09-14
jsq-15	甘孜藏族自治州九龙县湾坝乡草坪子村	2 497	E:102°4′3″;N:29°5′53″	2019-10-15

2 方法与结果

2.1 检查

2.1.1 水分 取15批菊三七药材粉末（过2号筛），各约2 g，按2020年版《中国药典》（四部）"通则0832水分测定

法”项下第二法进行检测[15]。每个样本平行测定3次，取平均值。结果显示，15批药材的水分含量为8.88%～12.60%，平均值为10.76%，详见表2。考虑到药材来源的差异，本研究以略高于最高测定值设限[16]，初步拟定菊三七药材的水分不得过13.00%。

表2　15批菊三七样品中水分、总灰分、酸不溶性灰分、水溶性浸出物含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$，%）

编号	水分	总灰分	酸不溶性灰分	水溶性浸出物
jsq-1	10.70±0.02	6.23±0.02	1.41±0.00	34.66±0.10
jsq-2	12.60±0.07	4.59±0.10	0.96±0.09	53.91±0.22
jsq-3	11.07±0.03	6.31±0.09	1.40±0.07	39.31±0.19
jsq-4	10.24±0.04	7.69±0.11	1.62±0.10	45.86±0.80
jsq-5	10.30±0.03	9.95±0.15	3.45±0.25	44.87±0.47
jsq-6	10.63±0.03	8.41±0.31	1.40±0.20	41.73±0.72
jsq-7	10.60±0.04	11.02±0.02	2.08±0.10	21.71±0.43
jsq-8	10.82±0.02	8.94±0.51	1.79±0.47	21.71±0.23
jsq-9	9.97±0.05	7.65±0.95	1.38±0.36	47.74±1.31
jsq-10	11.89±0.15	9.19±0.13	1.47±0.08	37.77±0.95
jsq-11	11.63±0.02	8.36±0.12	0.82±0.17	37.69±0.44
jsq-12	8.88±0.04	7.20±0.06	0.89±0.14	47.10±1.46
jsq-13	11.74±0.03	4.43±0.08	1.42±0.16	50.22±1.04
jsq-14	10.09±0.07	5.94±0.04	0.56±0.21	44.62±1.61
jsq-15	10.25±0.03	5.21±0.23	0.73±0.11	48.73±0.38

2.1.2　总灰分和酸不溶性灰分　取15批菊三七药材粉末（过2号筛），各约4 g，按2020年版《中国药典》（四部）“通则2302灰分测定法”项下总灰分和酸不溶性灰分测定法进行检测[15]。每个样本平行测定3次，取平均值。结果显示，15批药材的总灰分含量为4.43%～11.02%，平均值为7.41%；酸不溶性灰分的含量为0.56%～3.45%，平均值为1.43%，详见表2。考虑到药材来源的差异，本研究以略高于最高测定值设限[16]，初步拟定菊三七药材中总灰分不得过11.50%，酸不溶性灰分不得过3.70%。

2.2　水溶性浸出物含量测定

按2020年版《中国药典》（四部）“通则2201浸出物测定法”项下水溶性浸出物测定法中的热浸法进行测定，以水作为溶剂[15]。每个样本平行测定3次，取平均值。结果显示，15批药材中水溶性浸出物的含量为21.71%～53.91%，平均值为41.18%，详见表2。考虑到药材来源的差异，本研究以略低于最低测定值设限[16]，初步拟定菊三七药材中水溶性浸出物不得少于20.70%。

2.3　总生物碱含量测定

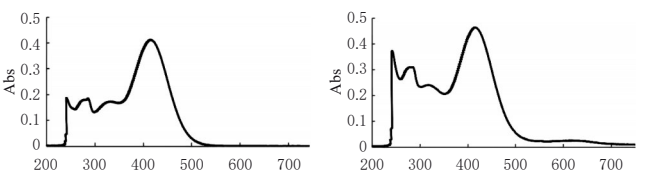
采用紫外分光光度法测定菊三七中总生物碱含量，具体方法如下。

2.3.1　显色剂的制备　称取溴甲酚绿250 mg，置于500 mL容量瓶中，加入乙酸-醋酸钠缓冲液（取醋酸钠9 g，加入冰醋酸4.9 mL，加水稀释至500 mL，即得pH为4.5的乙酸-醋酸钠缓冲液）溶解并定容，摇匀，即得显色剂——溴甲酚绿溶液。

2.3.2　千里光碱对照品溶液的制备　取千里光碱对照品10.04 mg，精密称定，置于50 mL容量瓶中，加入三氯甲烷定容，摇匀，即得。

2.3.3　供试品溶液的制备　取菊三七药材粉末（过3号筛）1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，在通风橱中加浓氨试液2 mL，浸润30 min后加入三氯甲烷-甲醇（4∶1，V/V，下同）溶剂25 mL，称定质量，超声（频率40 kHz，功率700 W）提取60 min，放冷，再次称定质量，并用三氯甲烷-甲醇溶剂补足减失的质量，摇匀，滤过，即得供试品溶液。

2.3.4　测定波长的选择　精密吸取对照品溶液和供试品溶液（jsq-15）2 mL，分别置于分液漏斗中，加入溴甲酚绿溶液和三氯甲烷各5 mL，充分振摇后静置分层，连续萃取3次，合并三氯甲烷层，加入适量无水硫酸钠脱水。将三氯甲烷层溶液转入25 mL容量瓶中，加三氯甲烷至刻度，摇匀。以三氯甲烷作为空白溶液，取对照品溶液和供试品溶液在200～760 nm波长范围内进行扫描。结果显示，对照品溶液和供试品溶液的最大吸收波长均为415 nm，故确定本研究的测定波长为415 nm，图谱详见图1。



A. 千里光碱对照品　　B. 菊三七供试品

图1　千里光碱对照品和菊三七供试品的光谱图

2.3.5　线性关系考察　精密吸取千里光碱对照品溶液0.6、0.8、1、1.2、1.4、1.6 mL，分别置于分液漏斗中，加入溴甲酚绿溶液和三氯甲烷各5 mL，充分振摇2 min，然后静置30 min；分取三氯甲烷层，连续萃取3次，合并三氯甲烷层，加入适量无水硫酸钠脱水。将三氯甲烷层转移至25 mL容量瓶中，加三氯甲烷至刻度，摇匀。以三氯甲烷作为空白溶液，采用TU-1950型双光束紫外-可见分光光度计在415 nm波长处测定各对照品溶液的吸光度。以吸光度为纵坐标（Y）、对照品质量浓度为横坐标（X）绘制标准曲线，得到线性回归方程为$Y=64.17X-0.10$（$r=0.999\ 6$）。结果显示，千里光碱对照品溶液在0.004 8～0.012 9 mg/mL范围内线性关系良好。

2.3.6　精密度试验　精密吸取1.2 mL千里光碱对照品溶液，按“2.3.5”项下方法处理后，测定其在415 nm波长处的吸光度，重复测定6次。结果显示，千里光碱吸光度的RSD为0.40%（$n=6$），表明仪器精密度良好。

2.3.7　稳定性试验　精密吸取供试品溶液（jsq-15），按“2.3.5”项下方法处理后，分别在室温下放置0、15、30、45 min，然后测定其在415 nm波长处的吸光度。结果显示，千里光碱吸光度的RSD为2.20%（$n=4$），表明供试品溶液在室温下放置45 min内稳定性较好。

2.3.8　重复性试验　取样品（jsq-15）粉末6份，每份约1 g，精密称定，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再按

“2.3.5”项下方法处理后，测定其在415 nm波长处的吸光度，并采用标准曲线法计算含量。结果，千里光碱含量的RSD为1.82%（n=6），表明本方法重复性良好。

2.3.9　加样回收率试验　精密称定已知含量的样品（jsq-15）粉末6份，每份0.5 g，精密称定，按样品中已知成分含量1∶1的质量比加入相应对照品，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.3.5”项下方法处理后，测定其在415 nm波长处的吸光度，根据标准曲线法计算千里光碱的含量，并计算其加样回收率。结果显示，6份样品的加样回收率为98.85%～105.75%，平均加样回收率为102.5%（RSD为2.61%，n=6），表明该方法准确度较好。

2.3.10　样品含量测定　取菊三七粉末（过3号筛）1 g，按“2.3.3”项下制备供试品溶液，再按“2.3.5”项下方法处理后，测定其在415 nm波长处的吸光度，根据标准曲线法计算千里光碱的含量并得到总生物碱含量（以千里光碱计）。结果显示，15批样品中总生物碱含量（以千里光碱计）为0.15%～0.39%，平均含量为0.28%，详见表3。结合15批药材测定结果，考虑到药材来源的差异，本研究以最低测定值设限[16]，初步拟定菊三七中总生物碱含量以千里光碱计不得少于0.15%。

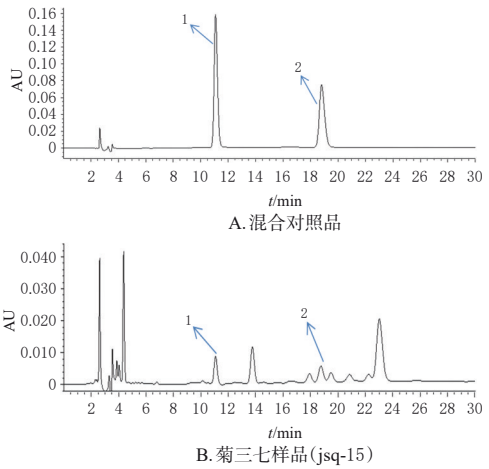
表3　15批菊三七样品中总生物碱、千里光碱和千里光菲灵碱含量测定结果（$\bar{x}\pm s$，n=3，%）

样品编号	总生物碱	千里光碱	千里光菲灵碱
jsq-1	0.25±0.01	0.02±0.32	0.04±0.40
jsq-2	0.27±0.01	0.04±0.62	0.06±1.37
jsq-3	0.28±0.02	0.04±0.21	0.02±1.10
jsq-4	0.18±0.02	0.01±0.11	0.01±0.12
jsq-5	0.32±0.02	0.05±0.96	0.05±0.53
jsq-6	0.23±0.02	0.03±0.49	0.05±0.50
jsq-7	0.26±0.03	0.03±0.61	0.02±0.25
jsq-8	0.33±0.02	0.03±0.34	0.04±0.06
jsq-9	0.39±0.03	0.02±0.08	0.03±0.32
jsq-10	0.28±0.03	0.02±0.02	0.04±0.00
jsq-11	0.23±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01
jsq-12	0.34±0.02	0.02±0.02	0.02±0.00
jsq-13	0.15±0.00	0.01±0.01	0.02±0.01
jsq-14	0.31±0.01	0.01±0.01	0.02±0.00
jsq-15	0.35±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01

2.4　千里光碱、千里光菲灵碱含量测定

采用HPLC法进行测定，具体方法如下。

2.4.1　色谱条件与系统适用性试验　色谱柱为Diamonsil C_{18}柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈-三乙胺缓冲液（取磷酸8 mL、三乙胺14 mL，加水稀释至1 000 mL，用三乙胺调节pH至3.2，即得）（14∶86，V/V）；流速为1.0 mL/min；柱温为25 ℃；检测波长为215 nm；进样量为10 μL。取“2.4.2”“2.4.3”项下溶液，按此色谱条件进样测定，记录色谱图。结果显示，理论板数按千里光碱、千里光菲灵碱计均不低于5 000，各待测成分峰与其相邻峰间的分离度均大于1.5，各成分基线分离良好，空白溶剂（乙腈-三乙胺缓冲液）对千里光碱、千里光菲灵碱的测定无干扰。结果见图2。



A.混合对照品

B.菊三七样品（jsq-15）

1：千里光菲灵碱；2：千里光碱

图2　混合对照品及菊三七样品的HPLC图

2.4.2　混合对照品溶液的制备　精密称定千里光碱对照品10 mg、千里光菲灵碱对照品12 mg，置于50 mL容量瓶中，加甲醇溶解并定容，摇匀，备用。

2.4.3　供试品溶液的制备　取不同批次菊三七药材粉末（过3号筛）各1 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加浓氨试液2 mL浸润1 h，精密加入三氯甲烷30 mL，密塞，称定质量，加热回流120 min，再次称定质量，用三氯甲烷补足减失的质量，摇匀，滤过；精密量取续滤液10 mL，40 ℃减压回收溶剂至干，残渣加甲醇适量使溶解并转移至5 mL容量瓶中，加甲醇定容，摇匀，用微孔滤膜（0.45 μm）滤过，取续滤液，即得。

2.4.4　线性关系考察　精密量取“2.4.2”项下混合对照品溶液0.1、0.5、1.0、1.5、2.0、5.0 mL，分别置于10 mL容量瓶中，加甲醇定容，摇匀，备用。分别精密吸取上述不同浓度梯度的线性工作液及对照品母液各10 μL，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱峰。以峰面积为纵坐标（A）、对照品质量浓度为横坐标（X）绘制标准曲线，得到千里光碱的回归方程为A=1.00×10^7X−4 896.3（r=0.999 8），千里光菲灵碱的回归方程为A=1.00×10^7X−110.8（r=0.999 7），可知千里光碱和千里光菲灵碱分别在质量浓度为0.002～0.200、0.002～0.240 mg/mL范围内线性关系良好。

2.4.5　精密度试验　精密吸取混合对照品溶液10 μL，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，重复进样测定6次，并记录峰面积。结果显示，千里光碱峰面积的RSD为1.24%（n=6），千里光菲灵碱峰面积的RSD为0.77%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.4.6　稳定性试验　取供试品溶液（jsq-15），在室温下放置0、4、8、12、24 h，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果显示，千里光碱峰面积的RSD为1.25%（n=5），千里光菲灵碱峰面积的RSD为0.91%（n=5），表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.7　重复性试验　取同一样品(jsq-15)6份，每份1 g，精密称定，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，然后按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，根据标准曲线法计算含量。结果显示，千里光碱含量的RSD为1.89%(n=6)，千里光菲灵碱含量的RSD为1.36%(n=6)，表明该方法重复性良好。

2.4.8　加样回收率试验　取同一样品(jsq-15)6份，每份0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，按样品中已知成分含量1∶1的质量比加入相应对照品，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，然后按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，根据标准曲线法计算含量，并计算加样回收率。结果显示，千里光碱的加样回收率为96.00%～98.50%，平均值为97.49%(RSD为1.00%，n=6)；千里光菲灵碱的加样回收率为98.29%～101.33%，平均值为99.91%(RSD为1.11%，n=6)，表明该方法准确度良好。

2.4.9　样品中千里光碱、千里光菲灵碱含量测定及限量拟定　取15批药材，分别按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.4.1”项下色谱条件进样测定，根据标准曲线法计算样品中2个成分的含量。结果显示，15批样品中千里光碱含量在0.01%～0.05%之间，平均值为0.02%；千里光菲灵碱的含量在0.01%～0.06%之间，平均值为0.03%，详见表3。结合15批样品的实际测得值，考虑到药材来源的差异，本研究以最低测定值设限[16]，初步拟定菊三七药材中千里光碱、千里光菲灵碱含量均不得少于0.01%。

2.5　多元统计分析

2.5.1　聚类热图分析　以水分(X_1)、总灰分(X_2)、酸不溶性灰分(X_3)、水溶性浸出物(X_4)、总生物碱(以千里光碱计，X_5)、千里光碱(X_6)、千里光菲灵碱(X_7)含量为指标，利用SPSS 21.0软件进行数据归一化分析，并采用Heml 1.0软件进行聚类热图分析[17]。结果显示，15批样品可分为4类：第1类为jsq-1、jsq-2，这2批样品的总灰分含量较低；第2类为jsq-3、jsq-5、jsq-7、jsq-8，这4批样品的水溶性浸出物含量较低，千里光碱含量较高；第3类为jsq-4、jsq-6、jsq-10、jsq-11、jsq-13，这5批样品的总生物碱(以千里光碱计)和千里光碱含量均较低；第4类为jsq-9、jsq-12、jsq-14、jsq-15，这4批样品的总生物碱(以千里光碱计)含量较高，水分含量较低，详见图3。结果提示，不同产地菊三七药材的各指标均存在一定差异，即使相同产地的药材也不一定能聚为一类。

2.5.2　主成分分析　采用SPSS 21.0软件对水分(X_1)、总灰分(X_2)、酸不溶性灰分(X_3)、水溶性浸出物(X_4)、总生物碱(以千里光碱计，X_5)、千里光碱(X_6)、千里光菲灵碱(X_7)含量进行主成分分析(principal component analysis，PCA)。结果显示，特征值>1的主成分有3个，其累计方差贡献率达78.35%，基本可以客观反映菊三七的品质信息。其中，总灰分和酸不溶性灰分含量对主成分1的贡献率较大；水分和千里光菲灵碱含量对主成分2的贡献率较大；水溶性浸出物和总生物碱(以千里光碱计)含量对主成分3的贡献率较大。各指标的公因子方差均不低于0.665(水分的公因子方差最大，为0.874；酸不溶性灰分的公因子方差最小，为0.665)。

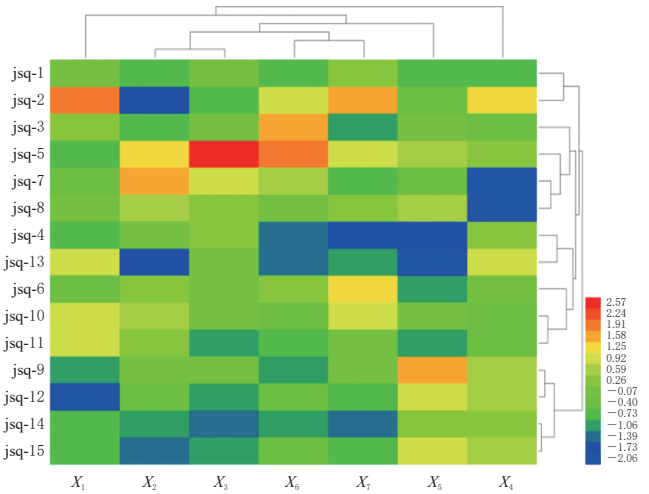


图3　15批菊三七样品的聚类热图分析结果

以上述3个主成分代替7个指标所表达的信息进行综合评价，得到各主成分得分(分别记为F_1、F_2、F_3)[18]。各主成分得分与方差贡献率的乘积之和即为综合得分(F)，即F=35.582F_1+23.960F_2+18.809F_3。F值越大，说明菊三七药材中各待测成分的综合含量越高，即菊三七药材的品质越好。结果显示，F值大小的排序为jsq-5>jsq-2>jsq-10>jsq-6>jsq-8>jsq-3>jsq-7>jsq-9>jsq-1>jsq-15>jsq-11>jsq-12>jsq-13>jsq-14>jsq-4。

2.5.3　熵权逼近理想排序法分析　以水分(X_1)、总灰分(X_2)、酸不溶性灰分(X_3)、水溶性浸出物(X_4)、总生物碱(以千里光碱计，X_5)、千里光碱(X_6)、千里光菲灵碱(X_7)含量为评价指标，采用客观赋权的变异系数法测定各指标的权重。在赋权过程中，指标观测值差异越大，表明该指标越重要，其权重也就越大[19]。结果显示，X_1、X_2、X_3、X_4、X_5、X_6、X_7的权重分别为0.040、0.123、0.227、0.107、0.108、0.202、0.193。

采用熵权逼近理想排序法(technique for order preference by similarity to an ideal solution，TOPSIS)法对各指标的数据进行归一化处理，根据各指标的权重计算样品中各指标的最优值和最劣值。其中，最优值为各评价指标的标准化最大值，最劣值为各评价指标的标准化最小值。按各指标与最优值的接近程度(C_i值)大小进行排序，C_i值越大表明药材品质越佳，反之则表明药材品质越劣[20]。结果显示，菊三七C_i值的大小顺序为jsq-2>jsq-6>jsq-5>jsq-10>jsq-1>jsq-8>jsq-9>jsq-11>jsq-15>jsq-12>jsq-7>jsq-3>jsq-14>jsq-4>jsq-13。

3 讨论

3.1 现有标准与本研究制定标准的比较

本研究所用的15批药材均采集自四川省。本研究根据测定结果，以略高于测定结果的最大值设限，规定水分限度不得过13.00%，该标准低于《云南省中药材标准》的规定（16%）[1]；并规定总灰分的限度不得过11.50%，也高于《云南省中药材标准》的规定（7%），表明本研究中15批药材所含灰化后遗留的不挥发性无机盐类成分以及表面附着的无机盐类成分和微量氧化硅的含量较高。同时，本研究根据略低于测定结果的最低值设限，规定菊三七样品中水溶性浸出物的含量不得少于20.70%，高于《云南省中药材标准》的规定（13%）[1]。浸出物含量与药材质量密切相关，该结果提示，本研究中15批药材的品质均较佳。此外，本研究在已有标准基础上，增加了总生物碱（以千里光碱计）的紫外含量测定以及千里光碱与千里光菲灵碱的HPLC含量测定方法，并初步拟定了其含量限度，可更加有效地控制菊三七的药材质量。

3.2 总生物碱、千里光碱和千里光菲灵碱含量测定方法的建立与优化

在菊三七总生物碱（以千里光碱计）测定方法的建立过程中，笔者考察了不同提取溶剂[三氯甲烷、70%乙醇、70%甲醇、三氯甲烷-甲醇（4∶1，*V*/*V*）]的提取效果，结果发现不同提取溶剂的提取效果差别较大，其中以三氯甲烷-甲醇（4∶1，*V*/*V*）的提取效果最好，因此本研究以其为提取溶剂。同时，本研究还考察了不同超声提取时间（30、60、90、120 min）对总生物碱提取效果的影响，结果发现随着提取时间的延长，总生物碱的提取率呈先升后降的趋势，因此本研究选定超声时间为60 min。此外，本研究还考察了1∶25、1∶50、1∶75、1∶100（g/mL）4种料液比对总生物碱提取效果的影响，结果发现当料液比为1∶25（g/mL）时总生物碱的提取率最高，故本研究最终确定料液比为1∶25（g/mL）。在千里光碱、千里光菲灵碱HPLC含量测定方法的建立过程中，笔者分别考察了不同提取方法（回流提取、超声提取）、不同提取时间（30、60、120、150 min）和不同料液比[1∶20、1∶30、1∶40、1∶50、1∶60（g/mL）]对其含量的影响，结果发现采用回流提取方法时提取效果更优，且在回流提取120 min、料液比为1∶30（g/mL）时，千里光碱和千里光菲灵碱的含量均可达到最高，因此确定了本研究中的检测条件。

3.3 多元统计分析结果对比与分析

编号为jsq-4、jsq-5、jsq-6、jsq-7的样品均采集自凉山彝族自治州普格县螺髻山镇，但本研究聚类热图分析结果显示，编号为jsq-4与jsq-6的样品聚为一类，而编号为jsq-5、jsq-7的样品却聚为另一类。经分析热图可知，编号为jsq-5、jsq-7的样品中总灰分、酸不溶性灰分、千里光碱含量均高于编号为jsq-4、jsq-6的样品。以上结果表明，编号为jsq-4、jsq-5、jsq-6、jsq-7的样品虽来源于同一产地，但其化学成分组成及成分比例具有较大差异，这可能是导致其未被聚为一类的原因。

PCA和TOPSIS分析结果均显示，质量相对较好的4个样品分别为jsq-2、jsq-5、jsq-6、jsq-10，其分别采集自凉山彝族自治州甘洛县林杂村、凉山彝族自治州普格县螺髻山镇马厂坪村、凉山彝族自治州普格县螺髻山镇波洛坪村和攀枝花市米易县垭口镇回箐村；质量相对较差的3个样品为jsq-4、jsq-13、jsq-14，其分别采集自凉山彝族自治州普格县螺髻山镇甘尔村、凉山彝族自治州金阳县放马坪中心村和攀枝花市米易县垭口镇回箐村的另一采集地。在2种评价结果中排名第一的样品分别为jsq-2、jsq-5，分别采集自凉山彝族自治州甘洛县林杂村和凉山彝族自治州普格县螺髻山镇马厂坪村，这2批药材的差异在于采集地不同、海拔不同。

综上，本研究建立了总生物碱（以千里光碱计）、千里光碱、千里光菲灵碱的定量分析方法，并初步拟定了各指标的限度，提高和完善了菊三七的现有质量标准。此外，本研究采用3种多元统计分析法对15批菊三七药材进行综合品质评价，发现凉山彝族自治州甘洛县林杂村、凉山彝族自治州普格县螺髻山镇马厂坪村等地产的样品质量相对较好，凉山彝族自治州普格县螺髻镇山甘尔村、凉山彝族自治州金阳县放马坪中心村等产地的样品质量相对较差。

参考文献

[1] 云南省食品药品监督管理局.云南省中药材标准：第二册：彝族药[S].2005年版.昆明：云南科技出版社，2007：313-317.

[2] 《滇南本草》整理组.滇南本草：整理本：第二卷[M].昆明：云南人民出版社，1975：306.

[3] 李耕冬，贺廷超.彝医植物药[M].成都：四川民族出版社，1990：141-142.

[4] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志：第七十七卷[M].北京：科学出版社，1999：312-313.

[5] 贾敏如，李星炜.中国民族药志要[M].北京：中国医药科技出版社，2005：310.

[6] 蒋娟娟，徐德然，濮社班，等.菊三七地下部分的化学成分[J].药学与临床研究，2008，16(3)：178-180.

[7] 刘玉芬，孙凤英，张尔志.菊三七的化学成分[J].中草药，1988，19(2)：56-58.

[8] 孙凤英，刘晓秋，孙彤伟，等.菊三七化学成分的研究：Ⅱ[J].中草药，1992，23(2)：102.

[9] LIN W Y，KUO Y H，CHANG Y L，et al. Anti-platelet aggregation and chemical constituents from the rhizome of *Gynura japonica*[J]. Planta Med，2003，69(8)：757-764.

[10] TAKAHIRA M，KONDO Y，KUSANO G，et al. Four new 3α -hydroxy spirost-5-ene derivatives from *Gynura japonica* makino[J]. Tetrahedron Lett，1977，18(41)：3647-3650.

（下转第320页）