

三种龙胆属白族药用植物的品质评价及质量等同性

韩 多¹, 赵志莲², 刘卫红³, 李跃华⁴, 李海峰¹

(1. 大理大学 药学与化学学院, 云南 大理 671000; 2. 大理农林职业技术学院, 云南 大理 671003;
3. 大理大学 图书馆, 云南 大理 671000; 4. 云南省大理分析测试中心, 云南 大理 671000)

摘 要:以坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆为试材, 采用 HPLC 法, 测定了坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量, 并用单因素方差分析、聚类分析、色谱法分析对其品质及质量等同性进行评价。结果表明:微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量($P < 0.01$)与坚龙胆、头花龙胆具有极显著差异, 而坚龙胆与头花龙胆无显著差异且龙胆苦苷含量均超过国家药典标准的 5 倍, 微籽龙胆根及根茎中未检测到龙胆苦苷;坚龙胆和头花龙胆根及根茎 HPLC 色谱图相似度均达 0.997, 微籽龙胆相似度仅为 0.015;坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中主要活性成分含量及其总含量聚类分析结果相同, 坚龙胆和头花龙胆聚为一类, 微籽龙胆单独为一类。头花龙胆可以替代坚龙胆入药, 但其药理性、毒理性等还需进一步的研究;微籽龙胆不能替代坚龙胆入药。

关键词:坚龙胆;头花龙胆;微籽龙胆;品质评价;含量测定

中图分类号:R 282.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)18-0165-06

坚龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.) 属龙胆科龙胆属多年生宿根草本植物, 以干燥根及根茎入药, 且被《中

华人民共和国药典》收载。裂环烯醚萜类物质是龙胆科植物的主要活性成分, 其功效与龙胆苦苷(gentiopicroside)、獐芽菜苦苷(swertiamarin)、獐芽菜苷(sweroside)、苦龙胆酯苷(amarogentin)等成分密切相关^[1], 其中龙胆苦苷含量是《中华人民共和国药典》(2015 年版一部)质量控制的标准^[2]。近年研究发现, 坚龙胆除清热泻火、保肝、健脾、杀菌等传统功效外^[3], 还具有利尿, 抑制甲状腺功能亢进, 提高血糖, 兴奋中枢神经系统等作用^[4-6]。

野生药材资源是药厂原料的主要来源, 由于资源需求量剧增导致药材价格不断上涨^[7], 特别是经过长期的

第一作者简介:韩多(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为药用植物次生代谢和品质评价及质量控制。E-mail: handuo787079523@126.com.

责任作者:赵志莲(1972-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为药用植物生物技术及品质评价。E-mail: Lihfzh888@sina.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81102806); 大理学院 2014 年度应用开发研究基金资助项目(KYYY201405)。

收稿日期:2016-04-19

Standard Operational Procedure(SOP) for Seed Production of *Sophora tonkinensis* Gagnep.

HUANG Yongcai, WEI Kunhua, LIN Yang, MIAO Jianhua, LI Linxuan

(Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant/Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530023)

Abstract: According to the *Chinese Herbal Quality Management Practices* (GAP) guidelines, the environmental conditions, planting methods, field management, harvesting and processing, storage, packaging and transport of *Sophora tonkinensis* Gagnep. seeds were studied and regulated to formulate the plant seed production standard operating procedures (SOP), which was important for ensuring the purity and goodness of *S. tonkinensis* Gagnep., providing enough cultivated seeds, and promoting the standardization production of Chinese herbal medicine production.

Keywords: *Sophora tonkinensis* Gagnep.; seed; production; operational procedure

无序野生采挖导致野生药材资源量锐减,甚至濒临枯竭^[8]。同理,野生药材坚龙胆的资源量也越来越少。近年来,在经济利益驱使下,市场上销售的野生坚龙胆药材中常混有大量的白族民间习用药材头花龙胆和微籽龙胆,基源植物的改变势必影响到坚龙胆药材及其相关中成药的质量及品质。头花龙胆(*Gentiana cephalantha* Franch.)和微籽龙胆(*Gentiana delavayi* Franch.)与坚龙胆同科同属,在大理白族民间长期替代坚龙胆入药。为研究坚龙胆、头花龙胆和微籽龙胆的品质和质量等同性,现采用超高效液相色谱法(ultra performance liquid chromatography, HPLC)对来源于同一产地的坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量进行测定,并对头花龙胆、微籽龙胆 HPLC 色谱图与坚龙胆 HPLC 色谱图共有模式进行比对分析;同时用单因素方差分析和聚类分析,对坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆品质进行评价,以探讨头花龙胆、微籽龙胆是否可替代坚龙胆入药,从而增加龙胆属植物资源的利用率,缓解坚龙胆资源匮乏的现状。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2014年10月,在大理州漾濞县同一产地分别采集开花期坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆样品,采样点生境为红壤的荒山向阳坡草地。每个品种随机采集无病虫害的开花期植株30株,采集植株之间的株距不小于6m,采集植株经大理大学李海峰教授鉴定为龙胆科坚龙胆 *Gentiana rigescens* Franch.、头花龙胆 *Gentiana cephalantha* Franch.、微籽龙胆 *Gentiana delavayi* Franch.,采集的植株样品40℃恒温箱干燥至恒重。在坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量测定时,从每个品种中随机选取根及根茎质量相近(生长年限大致相同)的植株10株混合作为样品。

龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号分别为ZJ0701BA13, M29J4S1, PN1125SA13, Z06J6S2, 纯度均≥98%),超高效液相色谱法流动相甲醇为色谱纯,水为超纯水(Millipore 纯水处理系统制),其余试剂均为分析纯。

Agilent 1290 型超高效液相色谱仪(G1313A ALS 型自动进样器, G1315A/B 型 DAD 检测器, Agilent ChemStation 色谱工作站-美国安捷伦公司), AE240 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司), FY135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司), SK5200H 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司), Millipore 纯水处理系统等。

1.2 试验方法

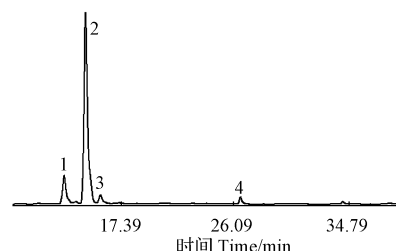
1.2.1 色谱条件 色谱柱: Eclipse XDB-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水(0~60 min: 15%~

80%甲醇); 龙胆苦苷检测波长 274 nm, 獐芽菜苦苷、獐芽菜苷和苦龙胆酯苷检测波长 243 nm; 柱温: 25℃; 流速: 1 mL·min⁻¹。

1.2.2 对照品溶液的制备 使用十万分之一的电子天平, 分别精密称取龙胆苦苷 1.92 mg、獐芽菜苦苷 1.01 mg、獐芽菜苷 0.50 mg、苦龙胆酯苷 0.49 mg, 分别置于 1、2、10、10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别取 0.40、0.10、0.16、0.16 mL 至同一个 1 mL 的容量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度。配成龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的质量浓度分别为 0.768 0、0.050 50、0.008 160、0.007 840 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。4℃冰箱保存待用。

1.2.3 供试品溶液的制备 提取制备方法参照文献[9]。分别取坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆样品粉碎, 过 100 目筛, 30℃烘箱中干燥直到恒重, 分别精密称取药材粉末 0.1 g(万分之一电子天平)于 10 mL 容量瓶中, 加入 2 mL 甲醇, 于 40 kHz、40℃超声处理 20 min, 滤纸过滤, 滤渣用 2 mL 甲醇按此步骤重复处理 1 次, 合并 2 次提取滤液至 5 mL 量瓶中, 冷却至室温, 加甲醇溶液至刻度, 混匀, 定容, 即得供试品溶液。

1.2.4 方法专属性 按照 1.2.1 的色谱条件, 分别取 1.2.2 中的对照品溶液和 1.2.3 中的供试品溶液进样测定, 得到特征峰, 供试品溶液与杂质分离良好, 无干扰(图 1、2)。



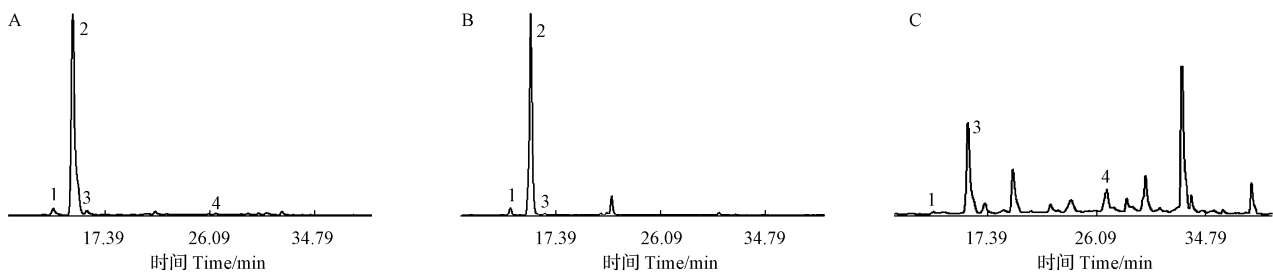
注: 1-獐芽菜苦苷; 2-龙胆苦苷; 3-獐芽菜苷; 4-苦龙胆酯苷。

Note: 1-Swertiamarin; 2-Gentiopicroside; 3-Sweroside; 4-Amarogentin.

图 1 对照品色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance

1.2.5 线性关系 将龙胆苦苷对照品浓度依次配成 1.536、1.152、0.768 0、0.384 0、0.307 2、0.153 6 mg·mL⁻¹, 将獐芽菜苦苷对照品浓度依次配成 0.101 0、0.075 75、0.050 50、0.025 25、0.005 050、0.002 525 mg·mL⁻¹, 将獐芽菜苷对照品浓度依次配成 0.065 28、0.032 64、0.016 32、0.004 080、0.001 632、0.000 408 0 mg·mL⁻¹, 将苦龙胆酯苷对照品浓度依次配成 0.007 840、0.003 920、0.001 568、0.000 784 0、0.000 392 0、0.000 156 8 mg·mL⁻¹, 在 1.2.1 色谱条件下, 每次进样 10 μL, 分别测定龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷对照品峰面积, 再分别以对照品进样含量(μg)对峰面积进行线性回归, 绘制



注:A-坚龙胆;B-头花龙胆;C-微籽龙胆;1-獐芽菜苦苷;2-龙胆苦苷;3-獐芽菜苷;4-苦龙胆酯苷。

Note: A-*Gentiana rigescens* Franch. ;B-*Gentiana cephalantha* Franch. ;C-*Gentiana delavayi* Franch. ;1-Swertiamarin;2-Gentiopicroside;3-Sweroside;4-Amarogent.

图 2 样品色谱图

Fig. 2 HPLC Chromatograms of sample substance

标准曲线,得到回归方程。同时以信噪比 3 和 10 为标准考察检测限(LOD)和定量限(LOQ),见表 1。

1.2.6 精密度试验 取 1.2.2 中的对照品溶液在 1.2.1 中的色谱条件下,每次进样 10 μ L,重复进样 6 次,测

得龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的平均峰面积分别为 5 373、746.5、254.0、146.2,RSD 分别为 0.442 9%、1.312%、1.203%、1.250%(n=6),结果表明精密度良好。

表 1 龙胆中 4 种对照品标准曲线、检测限与定量限

Table 1 Calibration curves,LODs and LOQs of four reference substances of *Gentiana* (Tourn.)L.

成分 Component	线性方程 Regression equation	相关系数 r	线性范围 Linear range/ μ g	检测限 LOD/ μ g	定量限 LOQ/ μ g
龙胆苦苷 Gentiopicroside	$Y=800.04X+40.197$	1.000 0	1.536~15.36	0.103 2	0.340 4
獐芽菜苦苷 Swertiamarin	$Y=1\,704.3X-57.269$	0.999 7	0.050 5~1.010	0.015 06	0.050 15
獐芽菜苷 Sweroside	$Y=3\,014.0X+6.815\,4$	0.999 8	0.001 632~0.081 60	0.000 473 6	0.001 577
苦龙胆酯苷 Amarogentin	$Y=1\,763.9X+7.483$	0.999 8	0.001 568~0.078 40	0.000 470 1	0.001 565

1.2.7 重复性试验 精密称取同一批样品 6 份,按 1.2.3 中的方法分别制备 6 份供试样品溶液,在拟定色谱条件下,每次进样 10 μ L,测定 6 份供试样品溶液中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量,测得平均峰面积分别为 8 512、329.9、57.40、20.72;RSD 分别为 2.314%、2.095%、1.649%、1.965%(n=6),表明试验重复性较好。

1.2.8 稳定性试验 取供试样品溶液 1 份,在 1.2.1 的色谱条件下,每次进样 10 μ L,分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,考察供试样品溶液中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量变化,测得平均峰面积分别为:8 494、328.8、56.01、20.43;RSD 分别为 0.424 9%、

0.493 4%、1.896 2%、2.946 7%(n=6),结果表明供试样品溶液在 12 h 内稳定。

1.2.9 回收率试验 精密称取同一批次样品约 0.05 g 3 份,分别加入浓度为 1.92 mg \cdot mL⁻¹ 的龙胆苦苷对照品溶液 1.36、1.70、2.04 mL,再精密称取同一批次样品约 0.1 g 9 份,取 3 份分别加入浓度为 0.505 mg \cdot mL⁻¹ 的獐芽菜苦苷对照品溶液 0.18、0.22、0.27 mL,另取 3 份分别加入浓度为 0.051 mg \cdot mL⁻¹ 的獐芽菜苷对照品溶液 0.16、0.20、0.24 mL,剩下的 3 份分别加入浓度为 0.049 mg \cdot mL⁻¹ 的苦龙胆酯苷对照品溶液 0.24、0.30、0.36 mL,按 1.2.3 下供试品溶液制备方法制备,在 1.2.1 的色谱条件下,分别自动进样 10 μ L 测定峰面积,见表 2。

表 2 龙胆中 4 种指标成分的加样回收率试验结果(n=3)

Table 2 Result of recovery tests of four index components in *Gentiana* (Tourn.)L. (n=3)

成分 Component	样品中量 m(Background)/mg	加入量 m(Added)/mg	测得量 m(Found)/mg	回收率 Recovery/%	平均回收率 Average recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
龙胆苦苷 Gentiopicroside	3.237	2.611	5.848	98.59	100.9	2.511
	3.237	3.264	6.732	103.6		
	3.237	3.917	7.179	100.4		
獐芽菜苦苷 Swertiamarin	0.112 5	0.090 90	0.202 2	99.40	98.03	1.486
	0.112 5	0.111 1	0.219 5	98.20		
	0.112 5	0.136 4	0.240 2	96.50		
獐芽菜苷 Sweroside	0.010 50	0.008 160	0.020 14	107.9	105.3	2.334
	0.010 50	0.010 20	0.021 33	103.0		
	0.010 50	0.012 24	0.023 89	105.1		
苦龙胆酯苷 Amarogentin	0.015 10	0.011 76	0.025 88	96.40	97.70	1.282
	0.015 10	0.014 70	0.029 15	97.80		
	0.015 10	0.017 64	0.032 38	98.90		

1.3 项目测定

测定龙胆属 3 种白族药用植物根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量,每个样品均做 3 组平行试验。

1.4 数据分析

所得数据用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析、聚类分析,建立 3 种龙胆的 HPLC 色谱图共有模式并对相似度进行评价。

2 结果与分析

2.1 含量比较分析

坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中主要活性成分龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量及总含量见表 3。对坚龙胆(S2)、头花龙胆(S3)、微籽龙胆(S1)根及根茎中 4 个活性成分含量进行显著性检验,结果

表 3 龙胆属 3 种白族药用植物根及根茎中主要活性成分含量比较分析($n=3, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison analysis of the contents of main active ingredient in the roots of three Gentianeaceae medicinal plants of Bai Nationality($n=3, \bar{x} \pm s$)

样品 Sample	龙胆苦苷 Gentiopicroside	獐芽菜苦苷 Swertiamarin	獐芽菜苷 Sweroside	苦龙胆酯苷 Amarogentin	总质量分数 Total content/ %	相似度 Similarity
S1-root	ND	0.027 0 \pm 0.000 7Cc	0.378 7 \pm 0.019 7Aa	0.053 0 \pm 0.002 1Aa	0.458 7 \pm 0.018 4Bb	0.015
S2-root	8.922 0 \pm 0.386 0Aa	0.137 2 \pm 0.005 1Aa	0.048 0 \pm 0.000 8Bb	0.006 3 \pm 0.000 4Bb	9.113 \pm 0.391 9Aa	0.997
S3-root	8.876 0 \pm 0.332 6Aa	0.115 4 \pm 0.001 8Bb	0.009 1 \pm 0.000 5Bc	ND	9.001 \pm 0.314 4Aa	0.997

注:采用最小显著差异法进行方差分析,不同 A,B,C 表示差异极显著($P<0.01$),不同 a,b,c 表示差异显著($P<0.05$)。ND 表示未检出。S1-微籽龙胆, S2-坚龙胆, S3-头花龙胆。

Note: A, B, C, a, b, c show significant differences in LSD at the 0.01 and 0.05 level. ND represents no detected. S1-*Gentiana delavayi* Franch. S2-*Gentiana rigescens* Franch. S3-*Gentiana cephalantha* Franch.

2.2 聚类分析

以表 3 中坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量及其总含量为依据,通过 SPSS 17.0 软件平方欧式距离计算样品间的相似系数,并用 Ward 法进行系统聚类。树状聚类结果见图 3,坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量及其总含量聚类结果一致,都将其分为 2 类:第一类是头花龙胆(S2)和坚龙胆(S3),第二类是微籽龙胆(S1)。且从表 3 中可知,第一类的总含量最高。

2.3 HPLC 色谱图共有模式的建立及相似度评价

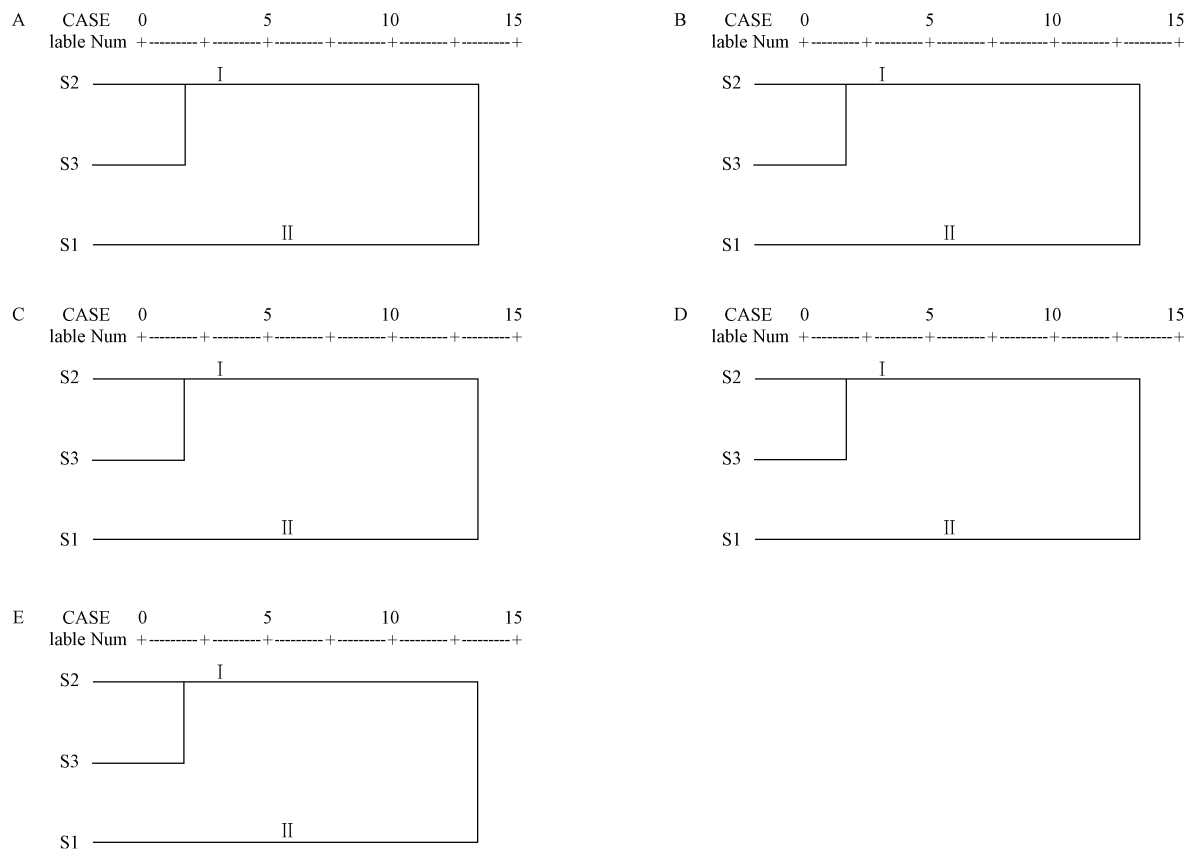
该试验在建立色谱图时,采用“1.2.1”色谱条件下测定坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎样品的色谱图,综合考虑出峰数目,没有将龙胆苦苷的最大吸收波长 274 nm 作为检测波长,而是选出峰数目最多的 243 nm 作为检测波长,将色谱图的 AIA 格式原始数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004A 版),设定样品 S3 为参照图谱,时间窗宽度设为 0.1 min,对照图谱的生成方法为中位数法,对选定的色谱峰进行多点校正,自动匹配,建立坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆的色谱图及对照色谱图,并比较其相似度。对坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎的 HPLC 色谱图进行分析,其共有峰模式

表明,坚龙胆根及根茎中龙胆苦苷含量与头花龙胆无显著差异,微籽龙胆中未检测到龙胆苦苷;坚龙胆根及根茎中獐芽菜苦苷含量($P<0.01$)极显著高于头花龙胆和微籽龙胆,头花龙胆根及根茎中獐芽菜苦苷的含量($P<0.01$)极显著高于微籽龙胆;微籽龙胆根及根茎中獐芽菜苷的含量($P<0.01$)极显著高于坚龙胆和头花龙胆,坚龙胆根及根茎中獐芽菜苷的含量($P<0.05$)显著高于头花龙胆;微籽龙胆根及根茎中苦龙胆酯苷的含量($P<0.01$)极显著高于坚龙胆,头花龙胆中未检测到苦龙胆酯苷活性成分;坚龙胆、头花龙胆根及根茎中 4 个主要成分总含量($P<0.01$)极显著高于微籽龙胆,坚龙胆根及根茎中 4 个主要成分总含量与头花龙胆无显著差异。坚龙胆和头花龙胆根及根茎中龙胆苦苷的含量超过《中国药典》(2015 年版一部)坚龙胆中龙胆苦苷含量 1.5% 的限量标准^[2]。

见图 4,坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎色谱图有 9 个(1~9)共有峰,10 号色谱峰为坚龙胆(S2)和头花龙胆(S3)所共有,11、12、13、15、16 号色谱峰为微籽龙胆(S1)所特有,14 号色谱峰为坚龙胆(S2)和微籽龙胆(S1)所共有;经过与对照品保留时间相比较,确认了 10 号峰为龙胆苦苷、1 号峰为獐芽菜苦苷、2 号峰为獐芽菜苷、14 号峰为苦龙胆酯苷对应的峰,坚龙胆(S2)和头花龙胆(S3)根及根茎色谱图相似性较高,相似度达 0.997,微籽龙胆(S1)的相似性极低,相似度仅为 0.015。

3 结论与讨论

从坚龙胆、头花龙胆、微籽龙胆根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷含量分析可知,头花龙胆根及根茎中龙胆苦苷含量与坚龙胆相当,都超过《中华人民共和国药典》(2015 年版一部)坚龙胆根及根茎中龙胆苦苷含量 1.5% 限量标准的 5 倍多,高于王琳等^[10]报道的头花龙胆根及根茎中龙胆苦苷含量 5.24%,这为头花龙胆替代坚龙胆入药提供了含量依据;微籽龙胆根及根茎中未检测到龙胆苦苷活性成分,按照《中华人民共和国药典》(2015 年版一部)标准,初步说明微籽龙胆不可以替代坚龙胆入药。坚龙胆、头花龙胆根及根茎中各有效成分含量与微籽龙胆有极显著差异,这可能与龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷在

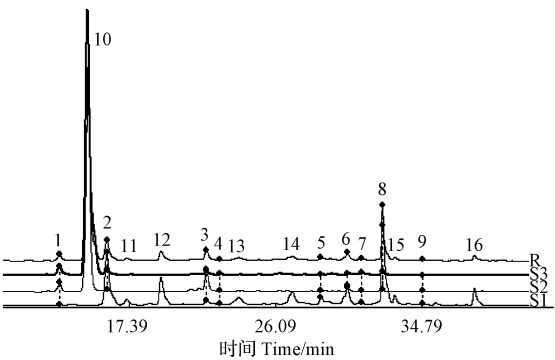


注: S1-微籽龙胆; S2-头花龙胆; S3-坚龙胆; A-龙胆苦苷; B-獐芽菜苦苷; C-獐芽菜苷; D-苦龙胆酯苷; E-总含量。

Note: S1-*Gentiana delavayi* Franch. ; S2-*Gentiana cephalantha* Franch. ; S3-*Gentiana rigescens* Franch. ; A-Gentiopicroside; B-Swertiamarin; C-Sweroside; D-Amarogentin; E-Total content.

图 3 龙胆属 3 种白族药用植物根及根茎中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐芽菜苷、苦龙胆酯苷的含量及总含量聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of content and total content of gentiopicroside, swertiamarin, sweroside, amarogentin in the root of three Gentianaceous medicinal plants of Bai Nationality



注: 1-獐芽菜苦苷; 2-獐芽菜苷; 10-龙胆苦苷; 14-苦龙胆酯苷; 3~9, 11~13, 15~16-不同 HPLC 色谱峰编号; R-对照色谱图; S1~S3-3 个不同龙胆属的色谱图。

Note: 1-Swertiamarin; 2-Sweroside; 10-Gentiopicroside; 14-Amarogentin; 3-9, 11-13, 15-16-different HPLC peaks R-control peak; S1-S3-chromatograms of three different *Gentiana* (Tourn.) L.

图 4 龙胆属 3 种白族药用植物根及根茎 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC Maps of roots of three Gentianaceous medicinal plants of Bai Nationality

不同龙胆属植物中合成积累规律有关^[11]。

由 HPLC 色谱图共有模式及相似度分析结果可知, 坚龙胆与头花龙胆具有较大的相似性, 相似度均达 0.997, 而微籽龙胆相似度仅为 0.015, 与坚龙胆、头花龙胆相似度相差巨大, 其色谱峰的种类及数目较坚龙胆、头花龙胆多且复杂, 说明微籽龙胆根及根茎中活性成分种类与坚龙胆、头花龙胆相比具有较大差异, 这可能与它们合成活性成分的 DNA 遗传因素差异有关; 含量聚类分析结果与总含量聚类分析结果也表明, 坚龙胆与头花龙胆归为一类, 微籽龙胆单独成为一类, 这说明头花龙胆与坚龙胆具有较大的亲缘关系, 微籽龙胆与坚龙胆亲缘关系甚小。由此可推断, 头花龙胆可以替代坚龙胆入药, 但由于目前少有相关文献的报道, 且头花龙胆与坚龙胆 HPLC 图谱也还存在一定差异, 所以头花龙胆的药理性、毒理性等临床试验值得进一步深入研究; 微籽龙胆根及根茎中未检测到龙胆苦苷有效成分, 不满足药典标准, 不能替代坚龙胆入药。

参考文献

- [1] 李远菊,沈涛,张霁,等.不同种植模式对坚龙胆草总裂环烯醚萜苷含量的影响[J].植物资源与环境学报,2014,23(3):111-113.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2015:96.
- [3] 杨书彬,王承.龙胆化学成分和药理作用研究进展[J].中医药学报,2005,33(6):54-56.
- [4] 江蔚新,安胜利,郭立萍,等.龙胆地上、地下部分药理作用的比较分析[J].哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2003(19):14-17.
- [5] 高麟第,门玉华,杨振凤.治疗甲状腺机能亢进的中药龙胆[J].中草药,1997,28(9):571-572.
- [6] 刘涛,才谦,付玉芹,等.中药龙胆的研究进展[J].辽宁中医杂志,2004(1):85-86.
- [7] 李智敏,赵磊,白艳婷,等.不同产地坚龙胆中龙胆苦苷的含量测定[J].云南中医学院学报,2008,31(6):10-11.
- [8] LI Z M, LIU L, LI W Y, et al. Progress in research and development of medicinal resources of *Gentiana rigescens* Franch. [J]. J Yunnan Uni(云南大学学报), 2009, 31(S1): 485-487.
- [9] 张琳,罗智渊,冯丽丽,等.坚龙胆不同居群间品质评价及质量等同性的研究[J].中国药学杂志,2014,49(5):412-418.
- [10] 王琳,段宝忠,聂茜茜,等.高效液相色谱法测定云南产龙胆习用品头花龙胆中3种成分的含量[J].医药导报,2015,34(4):515-517.
- [11] 徐任生,叶阳,赵维民.天然产物化学[M].2版.北京:科学出版社,2004:184.

Quality Evaluation and Quality Equivalence of Three Gentianaceous Medicinal Plants of Bai Nationality

HAN Duo¹, ZHAO Zhilian², LIU Weihong³, LI Yuehua⁴, LI Haifeng¹

(1. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000; 2. Dali Vocational and Technical College of Agriculture and Forestry, Dali, Yunnan 671003; 3. Library of Dali University, Dali, Yunnan 671000; 4. Dali Analysis and Testing Center of Yunnan Province, Dali, Yunnan 671000)

Abstract: The contents of gentiopicroside, swertiamarin, sweroside and amarogentin in the roots of *Gentiana rigescens* Franch., *Gentiana cephalantha* Franch. and *Gentiana delavayi* Franch. were determined by HPLC, the quality and quality equivalence were evaluated by one-way ANOVA, cluster analysis and chromatographic analysis. The results showed that *Gentiana delavayi* Franch. had significant difference ($P < 0.01$) with *Gentiana rigescens* Franch. and *Gentiana cephalantha* Franch. in the contents of gentiopicroside, swertiamarin, sweroside and amarogentin in the roots, there was no significant difference between *Gentiana rigescens* Franch. and *Gentiana cephalantha* Franch., and their contents of gentiopicroside in the roots were more than five times the national standard, but the contents of gentiopicroside was not detected in the roots of *Gentiana delavayi* Franch. The similarities of the characteristic peaks of *Gentiana rigescens* Franch. and *Gentiana cephalantha* Franch. in HPLC fingerprints were 0.997, while *Gentiana delavayi* Franch. was just 0.015. The contents and total contents of gentiopicroside, swertiamarin, sweroside and amarogentin of *Gentiana rigescens* Franch., *Gentiana cephalantha* Franch. and *Gentiana delavayi* Franch. were similar as shown by cluster analysis, *Gentiana rigescens* Franch. and *Gentiana cephalantha* Franch. were cluster into one group, while *Gentiana delavayi* Franch. was a separate category. *Gentiana cephalantha* Franch. could replace *Gentiana rigescens* Franch. into medicine, but it needed to have further studies of pharmacological, toxicological experiments, while *Gentiana delavayi* Franch. not.

Keywords: *Gentiana rigescens* Franch.; *Gentiana cephalantha* Franch.; *Gentiana delavayi* Franch.; quality evaluation; content determination