不同采收期龙胆中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的变化研究

刘姝静，才 谦*
辽宁中医药大学 药学院，辽宁 大连 116600

摘 要：目的 研究不同采收期龙胆中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷的变化规律。**方法** 采用 Welchrom C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇－水（25∶75）；检测波长：270（龙胆苦苷）、240 nm（獐芽菜苦苷和獐牙菜苷）；体积流量：1.0 mL/min；柱温：25 ℃；进样量为 10 μL。分别采收 9、10 月上、中、下旬的龙胆，考察其中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷的变化。**结果** 在 9—10 月，龙胆中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的量基本呈现同步上升、同步下降趋势。在 9 月中旬最高，9 月下旬最低。与 9 月下旬比较，10 月上旬的量有所回升，而 10 月下旬的量再次呈下降趋势。**结论** 龙胆药材最佳采收季节为 9 月中旬，此时龙胆苦苷、獐芽菜苦苷和獐牙菜苷的量最高。

关键词：龙胆；龙胆苦苷；獐牙菜苦苷；獐牙菜苷；采收期；高效液相色谱
中图分类号：R286.02 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 5515(2017)10 -1828 - 04
DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.10.004

Trends of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside from *Gentianae Radix* et *Rhizoma* in different harvesting time

LIU Shu-jing, CAI Qian
College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

Abstract: Objective To study the dynamics trends of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside from *Gentianae Radix* et *Rhizoma* in different harvesting time. **Methods** The determination was carried out on Welchrom C_{18} column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol – water (25:75). The detection wavelengths were 240 nm (determination of swertiamarin and sweroside) and 270 nm (determination of gentiopicroside). The flow rate was 1.0 mL/min, and the column temperature was set at 25 ℃ with injection volume of 10 μL. *Gentianae Radix* et *Rhizoma* were collected in upper-, middle-, and late September and October, and the contents of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside were compared. **Results** The content of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside in *Gentianae Radix* et *Rhizoma* were simultaneously rising or falling from September to October, and the maximum degree was in mid-September, but the minimum degree was in late September, Compared with those in September, the contents were gradually rising in early October, while gradually decreased in mid-October. **Conclusion** The optimal harvest time of *Gentianae Radix* et *Rhizoma* is mid-September when the content of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside are the highest.
Key words: *Gentianae Radix* et *Rhizoma*; gentiopicroside; swertiamarin; sweroside; harvesting time; HPLC

龙胆为龙胆科条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *G. scabra* Bge.、三花龙胆 *G. triflora* Pall. 或坚龙胆 *G. rigescens* Franch.的干燥根和根茎[1]。龙胆的根及根茎含有环烯醚萜类、三萜、多糖、生物碱、黄酮、甾体、香豆素、挥发油和内酯等多种成分[2-5]，其中环烯醚萜类中的裂环环烯醚萜苷类为主要有效成分，以龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷为代表，也是龙胆中苦味成分的基础物质[6-8]。其中苦味成分含量最高的为龙胆苦苷，由于受不同产地和不同采收期的影响，可达 3%～8%，含量差异显著[9]。龙胆因在我国东北的产量最大，而被称为“关龙胆”[9-10]，《中国药典》2015 年版中明确规定应在春秋两季采收龙胆。本实验探讨了秋季即 9、10 月份不同采收时间对“关龙胆”药材中龙胆苦苷、獐

收稿日期：2017-05-23
基金项目：国家中药标准化项目（ZYBZH-Y-TJ-43）
作者简介：刘姝静（1993—），女，硕士研究生，研究方向为中药化学。E-mail: 631711116@qq.com
*通信作者 才 谦，女，辽宁沈阳人，教授，主要从事中药化学的教学和科研工作。Tel: 15998541866 E-mail: caiqianmail@sina.com

芽菜苦苷及獐牙菜苷的影响，明确并掌握龙胆在不同采收期时龙胆苦苷类成分的动态差异，进而确定龙胆的最佳采收时间。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-10A 高效液相色谱仪、SPD-10A 紫外检测器（日本岛津公司）；N3000 双通道色谱工作站（浙江大学智能信息研究所）；GTSONIC-P13 型超声波清洗器（广州固特超声股份有限公司）；CP225D 型电子天平（十万分之一，德国 Sartorius 公司）。

1.2 材料

龙胆药材购于辽宁省清原县，经辽宁中医药大学鉴定教研室李峰教授鉴定为龙胆 *Gentiana scabra* Bge.的干燥根和根茎；龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷对照品均购自江苏永健医药科技有限公司，质量分数均≥98%；甲醇（HPLC 级，天津市科密欧化学试剂有限公司）；纯净水（杭州娃哈哈集团有限公司）。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择

通过对龙胆药材提取液进行紫外全波长扫描，发现其分别在 270、240 nm 处有吸收峰。龙胆苦苷紫外吸收最大值为 270 nm，而此时獐芽菜苦苷和獐牙菜苷的吸收值较小，而在 240 nm 波长下吸收值较大，因此龙胆苦苷选用 270 nm 为检测波长，獐芽菜苦苷和獐牙菜苷选用 240 nm 为检测波长。

2.2 色谱条件

Welchrom C_{18} 色谱柱（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相：甲醇－水（25∶75）；检测波长：270（龙胆苦苷）、240 nm（獐芽菜苦苷和獐牙菜苷）；体积流量：1.0 mL/min；柱温：25 ℃；进样量为 10 μL。

2.3 对照品溶液的制备

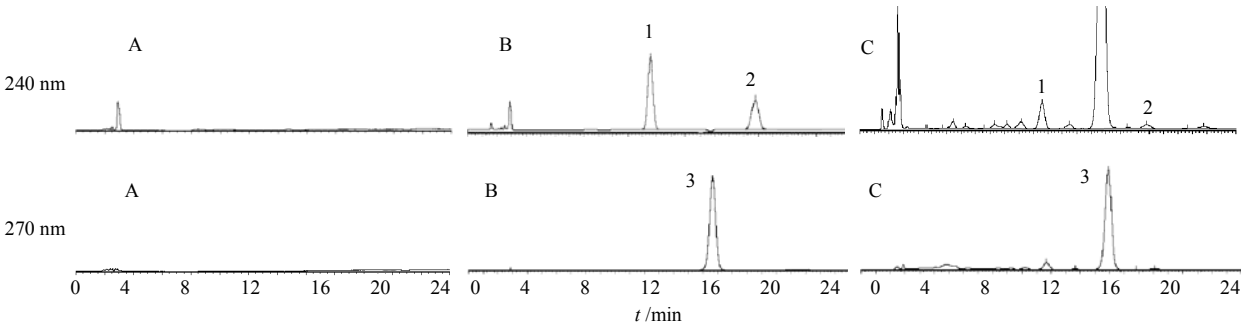
精密称取龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷对照品适量，加甲醇制成质量浓度分别为 300、60、20 μg/mL 的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

称取龙胆样品 0.625 g，精密称定，精密加入甲醇 25 mL，称定质量，超声处理 30 min，放冷后再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，滤液经 0.45 μm 微孔滤膜滤过，制成獐芽菜苦苷和獐牙菜苷测定用供试品溶液，避光冷藏备用。再精密吸取续滤液 2 mL，定容至 10 mL，摇匀，即得龙胆苦苷测定用供试品溶液，避光冷藏备用。

2.5 系统适用性试验

取 10 月 4 日采摘的龙胆供试品溶液、空白溶剂和各对照品溶液，进样测定，记录色谱图，见图 1。结果表明，龙胆苦苷、獐芽菜苦苷和獐牙菜苷的色谱峰与相邻色谱峰的分离度均符合要求，与其他组分完全分离，空白溶剂在相应的峰位置处无干扰。



1-獐牙菜苦苷 2-獐牙菜苷 3-龙胆苦苷
1-swertiamarin 2-gentiopicroside 3-sweroside

图 1 空白溶剂（A）、对照品（B）和龙胆药材（C）的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of blank solution (A), reference substances (B), and *Gentianae Radix* et *Rhizoma* (C)

2.6 线性关系考察

精密称取龙胆苦苷对照品 60.00 mg，加甲醇定容至 25 mL，制成 2.4 mg/mL 龙胆苦苷对照品储备液，分别精密吸取该储备液 0.5、1、2、3、4、5 mL，置于 5 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，依次精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪中，测定色谱峰面积。以进样质量为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，线性回归后得回归方程 Y=4 538.2 X－

276 087，r=0.999 3。结果显示龙胆苦苷进样量在 2.40～24.00 μg 与峰面积的线性关系良好。

另精密称取獐牙菜苦苷对照品 7.54 mg，加甲醇定容至 25 mL，制成 0.301 6 mg/mL 对照品溶液储备液，分别精密吸取该储备液 1、2、3、4、5、6 mL，置于 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，依次精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪，测定色谱峰面积。以进样质量为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，经线性回归，得回归方程 Y=7 388.3 X+51 406，r=0.999 4。结果显示獐牙菜苦苷进样量在 0.301 6～1.809 6 μg 与峰面积线性关系良好。

再另精密称取獐牙菜苷 7.53 mg，加甲醇定容至 250 mL，制成 30.12 μg/mL 的对照品溶液储备液。分别精密吸取该储备液 3、4、5、6、7、8 mL，置 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，依次精密吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪，测定色谱峰面积。以进样质量为横坐标，色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，经线性回归得回归方程 Y=7 771.6 X−7701.3，r=0.999 1。结果显示獐牙菜苦苷进样量在 90.36～240.96 ng 与峰面积线性关系良好。

2.7 精密度试验

取 10 月 4 日采摘的龙胆药材制备供试品溶液，连续进样 6 次，每次 10 μL，测定龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷的色谱峰面积，结果其 RSD 值分别为 2.27%、2.51%、2.83%。

2.8 稳定性试验

取 10 月 4 日的龙胆药材粉末，制备供试品溶液，精密吸取 10 μL，分别在 0、4、8、12、24、48 h 进样测定龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷的色谱峰面积，结果其 RSD 值分别为 1.95%、1.85%、2.19%，提示在 48 h 内供试品溶液稳定。

2.9 重复性试验

平行取 10 月 4 日的龙胆药材粉末 6 份，精密称定，制备供试品溶液，进样测定峰面积，计算得龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷的平均质量分数分别为 4.03%、0.59%、0.12%，RSD 值分别为 1.21%、0.63%、0.90%。

2.10 回收率试验

取 10 月 4 日的龙胆药材粉末 0.312 5 g，平行精密称定 6 份，置锥形瓶中，依次精密加入 2.4 mg/mL 龙胆苦苷 5 mL、0.301 6 mg/mL 獐芽菜苦苷 6 mL、30.12 μg/mL 獐牙菜苷对照品溶液 12 mL，制备供试品溶液，进样分析，计算得龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷的平均回收率分别为 97.5%、97.6%、96.5%，RSD 值分别为 1.11%、1.02%、1.18%。

2.11 各成分的变化

分别采收 9、10 月上、中、下旬的龙胆，每间隔 8 天采收 1 次，制备供试品溶液，进样测定，采用标准曲线法对样品中龙胆苦苷、獐芽菜苦苷、獐牙菜苷进行计算，结果见图 2。

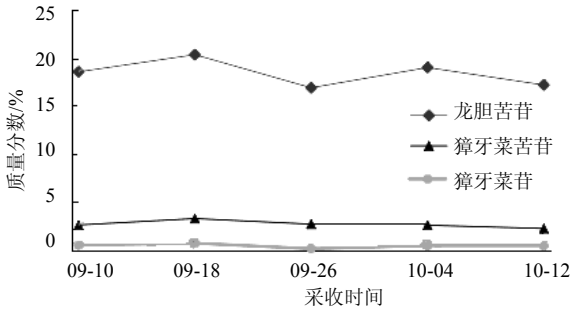


图 2 不同采收时间龙胆中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的变化

Fig. 2 Changes of gentiopicroside, swertiamarin, and sweroside from *Gentianae Radix* et *Rhizoma* in various of harvesting time

可以看出，在 9—10 月，龙胆中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的量基本呈现同步上升、同步下降趋势。在 9 月中旬最高，9 月下旬最低。与 9 月下旬比较，10 月上旬的量有所回升，而 10 月下旬的量再次呈下降趋势。这种变化可能与龙胆花期和 10 月份山里的气温有关。随着温度逐渐降低，土壤被冻，此时的生长环境不适合龙胆生存，因此 3 种成分的量均降低。

3 讨论

龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷既是环烯醚萜类中的裂环环烯醚萜苷类为主要有效成分，也是龙胆中苦味成分的基础物质。在药材采收期的选择时，通常以有效成分的量最高时期为最适宜的采收期。根据分析结果和龙胆生长条件可得：9 月中旬龙胆处于生长旺盛阶段，龙胆根中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷的量最高，因此在取龙胆根部入药时，最佳的采收期为 9 月中旬。龙胆在花期时，可能存在有效成分向上输送的原因，此时龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷的量最低；龙胆在花期后，有效成分有呈向下输送的趋势[11-12]，所以在 10 月上旬时，有效成分的量有所升高；10 月中旬时，由于季节、气候变化，温度逐渐降低，光合作用减少，

植物逐渐进入休眠状态，有效成分有降低趋势[13]。因此建议采收龙胆时避开花期，且以有效成分的量最高时期 9 月中旬作为龙胆的最佳采收期。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 96.

[2] 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.

[3] 沈 涛, 金 航, 王元忠, 等. 中药龙胆化学成分研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(30): 16868-16870.

[4] 刘 涛, 才 谦, 付玉芹, 等. 中药龙胆的研究进展 [J]. 辽宁中医药杂志, 2004, 31(1): 85-86.

[5] 董丽萍, 倪梁红, 赵志礼, 等. 龙胆属环烯醚萜类化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2116-2128.

[6] 匡海学. 中药化学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011: 179.

[7] 曹 悦, 左代英, 孟庆龙, 等. 不同采收期和加工方法对龙胆药材含量的影响 [J]. 中国药事, 2010, 10(1): 75-77.

[8] 刘玉强, 才 谦. 酒龙胆中獐牙菜苦苷含量测定方法研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(2): 189-190.

[9] 刘恒宇. 龙胆的质量评价 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2007.

[10] 王 德, 郎永生, 刘 娟. 龙胆药效成分含量积累规律研究进展 [J]. 黑龙江医药, 2011, 24(2): 252-253.

[11] 江蔚新, 沈志滨, 薛宝玉. 三花龙胆和东北龙胆中龙胆苦苷的积累规律研究 [J]. 中草药, 2004, 35(5): 521-522.

[12] 江蔚新. 三花龙胆和东北龙胆地上、地下器官中张艳才苦苷积累规律研究 [J]. 中成药, 2005, 27(4): 459-461.

[13] 蒋 品, 高言明, 杨玉琴, 等. 龙胆不同采收期龙胆苦苷和多糖含量变化研究 [J]. 江西中医药, 2011, 42(2): 55-57.