

# 栽培滇龙胆药材不同极性部位紫外 吸收光谱特征与判别分析

沈涛<sup>1</sup>, 李远菊<sup>2</sup>, 张霖<sup>2</sup>, 左智天<sup>2</sup>, 王元忠<sup>2\*</sup>

(1. 玉溪师范学院 资源环境学院, 云南 玉溪 653100;

2. 云南省农业科学院 药用植物研究所, 昆明 650200)

**[摘要]** **目的:**建立滇龙胆药材不同极性部位的紫外指纹图谱,分析不同栽培模式下药材光谱特征的差异。**方法:**采用紫外分光光度法检测样品的紫外吸收光谱数据,经过4点平滑和一阶求导对光谱数据进行预处理,建立紫外指纹图谱。运用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法对不同栽培模式下滇龙胆药材的指纹特征及相似性进行评价,通过判别分析评价紫外指纹图谱区分药材栽培模式的能力。**结果:**不同栽培模式滇龙胆紫外指纹图谱在221~247 nm图谱重叠率低,呈现明显指纹特征;相同栽培模式下,滇龙胆醇提液与水提液紫外指纹图谱有差异,呈现药材不同极性部位的指纹特征。荒坡栽培和龙胆与木瓜间作2种模式下,药材化学成分的光谱特征较接近;荒坡栽培和龙胆与旱冬瓜间作模式下,药材化学成分变化较大,二者光谱特征具明显差别。来自不同栽培模式的滇龙胆样品90%能被正确识别。**结论:**滇龙胆药材不同极性部位紫外指纹图谱可协助区分药材栽培模式,为不同栽培模式下药材质量的等同性研究提供相关数据信息。

**[关键词]** 紫外指纹图谱; 判别分析; 栽培模式; 滇龙胆; 质量控制

**[中图分类号]** R282.5;R282.6;R931.5;R931.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0031-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120031

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150428.1010.002.html>

**[网络出版时间]** 2015-04-28 10:10

**Ultraviolet Absorption Spectrum Characteristic and Discriminant Analysis of Different Polar Parts from Root and Stem of Cultivated *Gentiana rigescens*** SHEN Tao<sup>1</sup>, LI Yuan-ju<sup>2</sup>, ZHANG Ji<sup>2</sup>, ZUO Zhi-tian<sup>2</sup>, WANG Yuan-zhong<sup>2\*</sup> (1. College of Resource and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China; 2. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200, China)

**[Abstract]** **Objective:** To build UV fingerprint of different polar parts from root and stem of *Gentiana rigescens* and analyze difference of spectral characteristics among eight cultivation patterns. **Method:** UV data of samples was finished by UV spectrophotometry, data was processed by four print smooth and first orders. Similarly evaluation of UV fingerprint of *G. rigescens* medicinal materials from different cultivation patterns was finished by common peak ratio and variation peak ratio dual index sequence analysis. Discriminant analysis was used to evaluate discriminate ability of UV fingerprint data for cultivation pattern of *G. rigescens*. **Result:** Fingerprint of samples from eight cultivation patterns were lower similarly at 221-247 nm. Chemical polarity fingerprint of different samples, cultivated by same method, was different too. There were significant fingerprint characteristic. UV fingerprints were similar between *G. rigescens* which grown on slope of valley and which cultivated under *Chaenomeles sinensis*. However, chemical compounds were significant different between plant grown on slope of valley and which cultivated under *Alnus nepalensis*. Discriminant analysis showed that about 90% sample could be discriminated according to cultivation patterns. **Conclusion:** UV fingerprint of different polar parts from root and stem of *G. rigescens* can help to discriminate cultivation patterns of medicinal materials.

**[收稿日期]** 20140917(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260608);云南省自然科学基金项目(2013FD050,2013FZ150,2013FD066,2014FD068)

**[第一作者]** 沈涛, 硕士, 讲师, 从事药用植物资源评价研究, Tel:0877-2985222, E-mail:st\_yxnu@126.com

**[通讯作者]** \*王元忠, 硕士, 助理研究员, 从事药用植物资源评价研究, Tel:0871-65033575, E-mail:boletus@126.com

**[Key words]** ultraviolet fingerprint; discriminant analysis; cultivation patterns; *Gentiana rigescens*; quality control

滇龙胆为龙胆的重要基源植物,以根及根茎部位入药,具有清热燥湿、泻肝胆火等功效<sup>[1-2]</sup>。其人工栽培常见模式有荒坡栽培,龙胆与茶树、木瓜、旱冬瓜、核桃等木本植物间作。药用植物有效成分的含量、种类常受生长环境的影响<sup>[3-5]</sup>。不同栽培模式可能导致植物药用部位的化学成分产生差异<sup>[6-7]</sup>。近年植物化学和药理学研究显示龙胆中黄酮类、环烯醚萜类等成分均具有药用价值<sup>[8-11]</sup>,《中国药典》2010 年版将龙胆苦苷含量作为龙胆类药材质量评价的主要指标<sup>[2]</sup>,但该成分含量变化难以全面反映这类药材化学成分的复杂性<sup>[12-13]</sup>。

紫外光谱技术已被逐渐应用于食品、药品的质量评价研究中<sup>[14-15]</sup>。猕猴桃、丹参、三七等物种研究显示紫外指纹图谱可反映样品化学成分体系的整体变化,呈现特定指纹特征,可用于物种、产地的鉴别<sup>[16-18]</sup>。目前利用紫外吸收光谱技术,建立指纹图谱,评价栽培模式对滇龙胆药材化学成分的影响鲜

有报道<sup>[19-20]</sup>。本实验将紫外指纹图谱与共有峰率和变异峰率双指标序列分析、判别分析相结合,分析不同栽培模式下药材的紫外光谱特征,为滇龙胆的栽培技术规范 and 药材质量控制提供基础数据。

### 1 材料

UV-2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津),FW-100 型高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司),AR1140 型 1/1 万电子分析天平(美国奥豪斯),UPT-I-10L 型超纯水机(四川卓越水处理设备有限公司)。水为自制超纯水,试剂均为分析纯。滇龙胆药材共 8 批,均采自云南临沧栽培滇龙胆主产区,采收时间 2012 年 10 月(当地药材传统采收期),经云南省农业科学院药用植物研究所金航研究员鉴定为龙胆科植物滇龙胆 *Gentiana rigescens*,每种栽培模式采集植株 20 株,取根茎部位,去除泥土,洗净,放置于 50 °C 条件下烘干至恒重,混合粉碎,过 60 目筛,避光保存备用。样品信息见表 1。

表 1 滇龙胆样品信息

Table 1 Samples information of cultivated *Gentiana rigescens*

批号	栽培模式	采集地点	海拔/m
S1	荒坡栽培	云南临沧永德大雪山	2 242
S2	与茶树间作	云南临沧永德大雪山	2 238
S3	与旱冬瓜树间作	云南临沧永德大雪山	2 319
S4	与核桃树间作	云南临沧云县涌宝镇	2 187
S5	与桉树间作	云南临沧云县爱华镇	2 049
S6	与杉木间作	云南临沧云县爱华镇	2 039
S7	与木瓜树间作	云南临沧云县涌宝镇	2 168
S8	与木果石柯间作	云南临沧永德大雪山	2 309

注:栽培年限均为 2 年。

## 2 方法与结果

**2.1 供试品溶液的制备** 每批滇龙胆药材粉末平行称取 6 份,每份 0.15 g,分别置于 25 mL 具塞试管中,精确加入无水乙醇 10 mL,超声提取 40 min,过滤,得醇提供试品溶液。样品残渣挥干后置于 25 mL 具塞试管中,精确加入水 10 mL,超声提取 40 min,过滤,得水提供试品溶液。

**2.2 紫外光谱测定条件** 醇提和水提供试品溶液置于紫外-可见分光光度计中,分别以水和无水乙醇作为参比液进行紫外指纹图谱测定,检测波长 190 ~ 400 nm,狭缝 1.0 nm,采样间隔 0.2 nm。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 稳定性试验** 取样品 S5,依 2.1 项下方法制备醇提和水提供试品溶液,分别放置 2, 4, 6, 8, 12, 24 h,按 2.2 项下条件测定,计算醇提液、水提液吸收波长的 RSD 分别为 0.2% ~ 0.9% 和 0.3% ~ 0.7%,表明供试品溶液均在 24 h 内稳定。

**2.3.2 精密度试验** 取样品 S5,依 2.1 项下方法制备醇提和水提供试品溶液,同一供试品溶液重复测定 10 次,以吸收波长计算醇提液和水提液的 RSD 分别为 1.3% ~ 1.6%, 0.1% ~ 1.4%,表明仪器精密度良好。

**2.3.3 重复性试验** 平行称取样品 S5 粉末 6 份, 依 2.1 项下方法制备醇提和水提供试品溶液, 按 2.2 项下条件测定, 以吸收波长计算醇提液、水提液的 RSD 分别为 0.2% ~ 1.6% 和 0.04% ~ 0.8%, 表明该方法重复性良好。

**2.4 数据分析** 利用 UV Probe 2.3 工作站对紫外吸收光谱数据进行 4 点平滑和一阶微分预处理, 滤除光谱噪音, 提高光谱分辨率。运用微软 Excel 2003 对预处理后的紫外光谱数据进行统计整理, 采用紫外指纹图谱共有峰率 (common peak ratio,  $P$ ) 和变异峰率 (variation peak ratio,  $P_v$ ) 双指标序列分析法对不同栽培模式下滇龙胆药材的指纹特征及相似性进行评价, 通过正态分布检验识别共有峰<sup>[21]</sup>。

$$P = (N_g / N_d) \times 100\%$$

$$\text{醇提液变异峰率} (P_{va}) = (n_a / N_g) \times 100\%$$

$$\text{水提液变异峰率} (P_{vb}) = (n_b / N_g) \times 100\%$$

式中  $N_g$  为醇提液和水提液图谱共有峰数,  $N_d$  为醇提液和水提液图谱独立峰数,  $n_a$  为醇提液图谱变异峰数,  $n_b$  为水提液图谱变异峰数。判别分析用于建立判别函数, 判别率为指标评价紫外指纹图谱以区分药材栽培模式的能力。正态分布检验和线性判别分析均由软件 PASW Statistics 20.0 完成。

**2.5 紫外指纹图谱的建立及指纹特征分析** 滇龙胆不同极性部位紫外指纹图谱见图 1。结果显示不

同栽培模式样品的醇提液和水提取液均在 190 ~ 300 nm 出现了多个紫外强吸收峰, 不同栽培模式的样品紫外吸收光谱峰形、峰高具有差异, 在 221 ~ 247 nm 图谱重叠率低, 呈现明显的指纹特征, 可用于区分不同栽培模式的样品; 247 ~ 304 nm 不同栽培模式的药材指纹图谱重叠率高, 指纹特征降低; 304 ~ 400 nm 范围内无明显的吸收峰, 该波段各栽培样品指纹图谱趋于一致。相同栽培模式下样品醇提液 (红线) 与水提液 (蓝线) 紫外指纹图谱亦有差异, 二者在 223 ~ 300 nm 图谱重叠率低, 指纹图谱在峰形、峰高和数量上均有明显差别, 呈现了药材不同极性部位的指纹特征。

双指标序列分析见表 2, 结果显示滇龙胆样品整体  $P < 68.2\%$ ,  $P_v$  最大达 80.0%。不同批次样品间的相似度随种植模式的变化而变化, 所有样品总体相似度在 40% ~ 70%。样品 S1 与样品 S7, 样品 S3 与样品 S4 相似度较高; 样品 S4 与样品 S2, S8 具有相同的  $P$ 。样品 S6 与各样品间的相似度 50% ~ 57%。以样品 S1 为对照, 比较不同样品间的相似度, 样品 S3 的  $P$  39.1%, 表明该种植模式下的药材紫外光谱特征与荒坡栽培模式下的药材有较大差别。

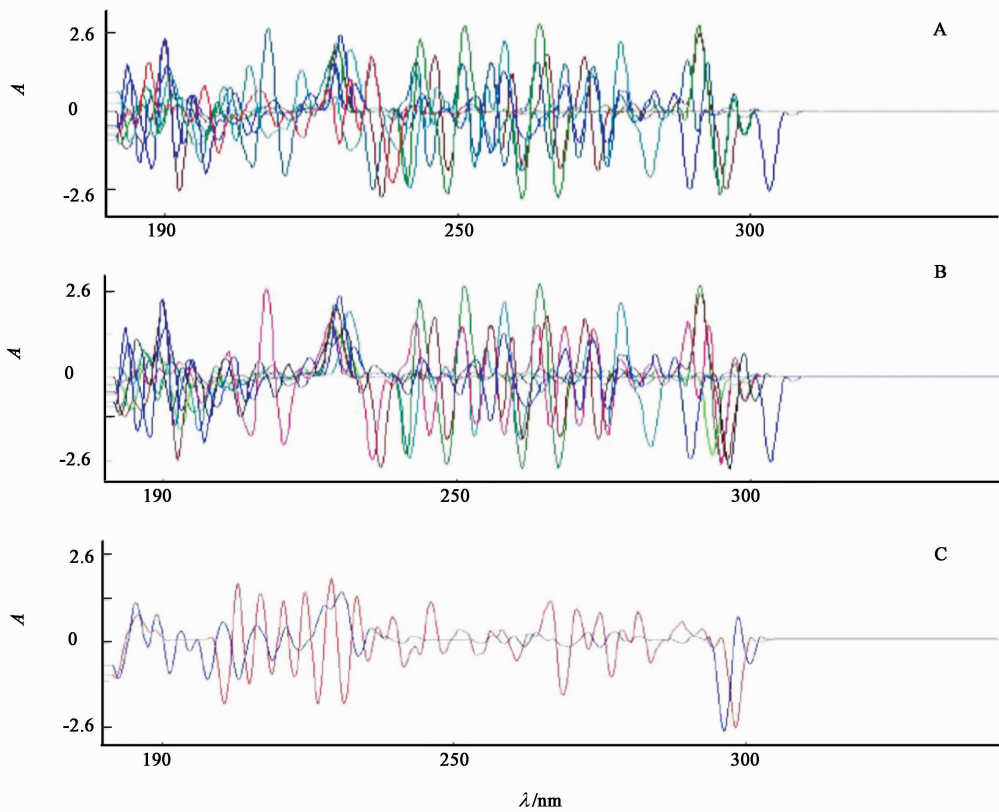
**2.6 判别分析** 依照栽培模式将所有样品分为 8 类。以滇龙胆醇提液和水提液紫外吸收光谱对应吸收值为变量, 采用线性判别分析对 8 类样品进行分

表 2 栽培滇龙胆的共有峰率和变异峰率

Table 2 Common and variation peak ratio of cultivated *Gentiana rigescens* root and stem

序列	$P$	$P_{va}$	$P_{vb}$	序列	$P$	$P_{va}$	$P_{vb}$	序列	$P$	$P_{va}$	$P_{vb}$	序列	$P$	$P_{va}$	$P_{vb}$
S1: S7	68.2	33.3	13.3	S3: S4	65.2	13.3	40.0	S5: S3	59.1	38.5	30.8	S7: S1	68.2	13.3	33.3
S1: S6	54.5	25.0	58.3	S3: S5	59.1	30.8	38.5	S5: S7	57.1	33.3	41.7	S7: S8	65.0	23.1	30.8
S1: S8	54.5	41.7	41.7	S3: S2	52.2	41.7	50.0	S5: S2	56.5	38.5	38.5	S7: S4	59.1	23.1	46.2
S1: S4	52.4	27.3	63.6	S3: S6	52.0	30.8	61.5	S5: S6	56.0	28.6	50.0	S7: S5	57.1	41.7	33.3
S1: S2	45.8	54.5	63.6	S3: S8	43.5	60.0	70.0	S5: S4	54.2	30.8	53.8	S7: S6	52.4	36.4	54.5
S1: S5	43.5	60.0	70.0	S3: S7	40.0	70.0	80.0	S5: S8	45.8	63.6	54.5	S7: S2	44.0	63.6	63.6
S1: S3	39.1	77.8	77.8	S3: S1	39.1	77.8	77.8	S5: S1	43.5	70.0	60.0	S7: S3	40.0	80.0	70.0
S2: S4	62.5	20.0	40.0	S4: S3	65.2	40.0	13.3	S6: S8	56.5	53.8	23.1	S8: S7	65.0	23.1	30.8
S2: S5	56.5	38.5	38.5	S4: S2	62.5	40.0	20.0	S6: S5	56.0	50.0	28.6	S8: S4	62.5	50.0	10.0
S2: S3	52.2	50.0	41.7	S4: S8	62.5	50.0	10.0	S6: S4	55.6	40.0	40.0	S8: S6	56.5	53.8	23.1
S2: S6	50.0	38.5	61.5	S4: S7	59.1	46.2	23.1	S6: S1	54.5	58.3	25.0	S8: S1	54.5	41.7	41.7
S2: S8	47.8	54.5	54.5	S4: S6	55.6	40.0	40.0	S6: S7	52.4	54.5	36.4	S8: S2	47.8	54.5	54.5
S2: S1	45.8	63.6	54.5	S4: S5	54.2	53.8	30.8	S6: S3	52.0	61.5	30.8	S8: S5	45.8	63.6	54.5
S2: S7	44.0	63.6	63.6	S4: S1	52.4	63.6	27.3	S6: S2	50.0	61.5	38.5	S8: S3	43.5	60.0	70.0

注: 以 S1: S7 为例, 表示该序列表示以样品 S1 为标准, S1 和 S7 的共有峰率 68.2%, 其中 S1 醇提液变异峰率 33.3%, S7 水提液变异峰率 13.3%。



A. 不同栽培模式下样品醇提液; B. 不同栽培模式下样品水提液; C. 相同栽培模式下样品不同极性部位

图 1 栽培滇龙胆药材不同极性部位紫外指纹谱

Fig. 1 Ultraviolet fingerprint of different polar parts from root and stem of cultivated *Gentiana rigescens*

类判别, 检验采用紫外光谱数据鉴别药材栽培模式的可行性, 见表 3。结果显示来自不同栽培模式的样品 90% 被正确识别。样品 S4, S5, S8 判别率达 100%, 分类鉴别效果最好; 其余样品判别率均达 80%。模型整体判别正确率 90%, 说明不同极性部位紫外指纹图谱可协助区分滇龙胆药材栽培模式。

表 3 滇龙胆线性判别分析

Table 3 Linear discriminant analysis for *Gentiana rigescens*

样品	判别率/%	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
S1	80	4	0	0	0	0	0	0	1
S2	80	0	4	0	0	0	0	0	1
S3	80	0	0	4	0	0	0	0	1
S4	100	0	0	0	5	0	0	0	0
S5	100	0	0	0	0	5	0	0	0
S6	100	0	0	0	0	0	5	0	0
S7	80	0	0	0	0	0	0	4	1
S8	100	0	0	0	0	0	0	0	5

### 3 讨论

适宜的栽培条件是药材品质形成的外在因

素<sup>[6]</sup>。研究显示栽培条件的变化可影响滇龙胆药材中有效成分的含量<sup>[20]</sup>。作为一个复杂化学成分混合体系, 单一指标的定量评价难以反映药材质量的整体变化<sup>[21]</sup>。本文采用紫外吸收光谱法, 建立栽培滇龙胆药材不同极性部位的紫外指纹图谱, 结果显示 190 ~ 300 nm 不同栽培模式的滇龙胆药材紫外吸收光谱在峰形, 吸光度值、峰重叠率等方面均具有差异, 呈现一定指纹特征。杨美权等<sup>[20]</sup>测定不同栽培模式下滇龙胆中龙胆苦苷含量时发现, 栽培模式对植株中龙胆苦苷含量有影响。利用  $P$  与  $P_v$  双指标序列表对紫外指纹图谱进行量化分析和相似度评价, 结果表明荒坡栽培与复合栽培样品不同极性部位紫外指纹图谱的  $P$  与  $P_v$  呈现多种变化。荒坡栽培和龙胆与木瓜间作 2 种模式下, 药材化学成分的光谱特征较接近; 荒坡栽培和龙胆与旱冬瓜间作模式下, 药材化学成分变化较大, 二者光谱特征具明显差别。通过判别分析对紫外光谱区分栽培模式的能力进行验证, 结果显示光谱数据具有一定区分能力。化学成分是中药发挥药效的物质基础<sup>[22]</sup>。紫外吸收光谱由药材各组分特征吸收光谱叠加而成<sup>[23-24]</sup>,

其相似性和差异性可反映药材中化学成分的含量高低<sup>[25]</sup>。滇龙胆药材不同极性部位指纹图谱从药材化学成分体系整体变化的角度评价栽培模式对滇龙胆中化学成分的影响,可为不同栽培模式下药材质量的等同性研究提供参考。

[参考文献]

[1] 何延农,刘尚武,吴庆如. 中国植物志. 第62卷[M]. 北京:科学出版社,1988:100-101.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:89-90.

[3] 杨旭,杨志玲,刘若楠,等. 姜黄根茎中姜黄素类成分含量的产地差异及其与环境因子的CCA分析[J]. 植物资源与环境学报,2011,20(3):16-23.

[4] Šiler B, Avramov S, Banjanac T, et al. Secoiridoid glycosides as a marker system in chemical variability estimation and chemotype assignment of *Centaureum erythraea* Rafn from the Balkan Peninsula[J]. Ind Crop Prod,2012,40:336-344.

[5] Ohtsuki T, Murai Y, Iwashina T, et al. Geographical differentiation inferred from flavonoid content between coastal and freshwater populations of the coastal plant *Lathyrus japonicus* (Fabaceae)[J]. Biochem Syst Ecol, 2013,51:243-250.

[6] Zhao Z, Guo P, Brand E. The formation of daodi medicinal materials [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 140 (3):476-481.

[7] 高辉,王辉,权秋梅,等. 不同栽培方式对巫山淫羊藿生长的影响[J]. 广西植物,2012,32(5):663-668.

[8] Xu M, Wang D, Zhang Y J, et al. Dammarane triterpenoids from the roots of *Gentiana rigescens* [J]. J Nat Prod,2007,70(5):880-883.

[9] Xu M, Yang C R, Zhang Y J. Minor antifungal aromatic glycosides from the roots of *Gentiana rigescens* (Gentianaceae) [J]. Chinese Chem Lett, 2009, 20 (10):1215-1217.

[10] Gao L, Li J, Qi J. Gentisides A and B, two new neuritogenic compounds from the traditional Chinese medicine *Gentiana rigescens* Franch [J]. Bioorg Med Chem, 2010, 18(6):2131-2134.

[11] Wang Y M, Xu M, Wang D, et al. Anti-inflammatory compounds of "Qin-Jiao", the roots of *Gentiana dahurica* (Gentianaceae)[J]. J Ethnopharmacol, 2013, 147(2):341-348.

[12] 胡一晨,吉琅,廖晴,等. 秦艽花液质联用的指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):67-70.

[13] 杨慧玲,司庆文,侯勤正,等. HPLC法测定不同海拔长柄秦艽中龙胆苦苷、马钱酸、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷[J]. 中草药,2010,41(10):1720-1722.

[14] Contreras U, Barbosa-García O, Pichardo-Molina J L, et al. Screening method for identification of adulterate and fake tequilas by using UV-VIS spectroscopy and chemometrics [J]. Food Res Int, 2010, 43 (10): 2356-2362.

[15] 陈毅平,陈双英,陈文财,等. 淫羊藿苷的稳定性及其影响因素[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(5):78-81.

[16] Sarbu C, Naşcu-Briciu R D, Kot-Wasik A, et al. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data [J]. Food Chem, 2012, 130 (4): 994-1002.

[17] 巩丽丽,容蓉. UV-化学模式识别不同产地的丹参[J]. 化学分析计量,2014,23(2):88-90.

[18] Zhong G, Wang Y Z, Zhang J, et al. Common and variation peak ratio dual-Index sequence analysis of vanillin-sulfuric acid developing UV fingerprint of *Panax notoginseng*[J]. Asian J Chem,2014,26(3):865-868.

[19] 袁天军,王元忠,赵艳丽,等. 滇龙胆紫外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法[J]. 光谱学与光谱分析,2011,31(8):2161-2165.

[20] 杨美权,张金渝,沈涛,等. 不同栽培模式对滇龙胆中龙胆苦苷含量的影响[J]. 江苏农业科学,2011(1):287-289.

[21] 李强,杜思邈,张忠亮,等. 中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J]. 中草药,2013,44(22):3095-3104.

[22] 段金殿,吴启南,宿树兰,等. 中药资源化学学科的建立与发展[J]. 中草药,2012,43(9):1665-1671.

[23] 魏康林,温志渝,武新,等. 基于紫外-可见光谱分析的水质监测技术研究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2011,31(4):1074-1077.

[24] 季仁东,陈梦岚,赵志敏,等. 橙汁中多菌灵农药残留吸收光谱特征研究[J]. 光谱学与光谱分析,2014,34(3):721-724.

[25] 李云霞,索全伶,贺文智,等. 黄芩有效成分的紫外-可见吸收光谱表征[J]. 光谱学与光谱分析,2007,27(1):131-134.

[责任编辑 刘德文]