

全萼秦艽的生药学研究

汪荣斌^{1,2*}, 张西玲², 刘丽莎²

(1. 安徽中医药高等专科学校, 安徽 芜湖 241000; 2. 甘肃中医药大学, 兰州 730000)

[摘要] 目的:对全萼秦艽和秦艽进行生药学的比较研究,为全萼秦艽的进一步开发和利用提供参考。方法:利用生药学鉴定方法,从微形态、形态及理化等方面对全萼秦艽和秦艽进行系统分析和评价。采用 HPLC 测定獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量,流动相甲醇-水梯度洗脱,检测波长 254 nm。结果:全萼秦艽的内、外周皮的木栓细胞只有 1 层。全萼秦艽及秦艽中龙胆苦苷质量分数分别为 6.24% 和 8.51%,獐牙菜苦苷依次为 0.26% 和 0.36%。结论:全萼秦艽在生药特征方面与秦艽存在部分差异,为全萼秦艽资源的开发利用提供了实验依据。

[关键词] 秦艽; 全萼秦艽; 微形态; 外部形态; 内部构造; 獐牙菜苦苷; 龙胆苦苷

[中图分类号] R282.5; R931.5; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0021-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016090021

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160314.1610.016.html>

[网络出版时间] 2016-03-14 16:10

Pharmacognostic Studies on *Gentiana lhasica*

WANG Rong-bin^{1,2*}, ZHANG Xi-ling², LIU Li-sha²

(1. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241000, China;

2. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** *Gentiana lhasica* was compared with *G. macrophylla* in their pharmacognosy. **Method:** Quality of *G. lhasica* from some aspects of micromorphology was evaluated, on morphological and physicochemical identification by pharmacognostic determination. HPLC was employed to determine contents of swertiamarin and gentiopicroside with mobile phase of methanol-water for gradient elution and detection wavelength at 254 nm. **Result:** Cork cells of *G. lhasica* had only one layer in the inner peripheral skin and peripheral skin. The content of gentiopicroside was 6.24%, higher than standard of the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. The content of swertiamarin was 0.26%. **Conclusion:** There are some differences between *G. lhasica* and *G. macrophylla* in pharmacognostic character. This study provides important reference for exploitation and utilization of *G. lhasica*.

[Key words] *Gentiana macrophylla*; *G. lhasica*; micromorphology; external morphology; internal structure; swertiamarin; gentiopicroside

秦艽为常用传统中药,具有祛风湿、清湿热、止痛的功效,始载于《神农本草经》^[1],列为中品,之后历代本草均有记载。《中国药典》2015 年版记载秦艽为龙胆科植物秦艽 *Gentiana macrophylla*, 麻花秦艽 *G. straminea*, 粗茎秦艽 *G. crassicaulis* 或小秦艽 *G. dahurica* 的干燥根^[2]。由于临床应用较为广泛,

市场需求量急增,导致野生资源的濒危,以上 4 种秦艽早在 1987 年已被国家列为三级重点保护的野生药材。在商品市场调查,除《中国药典》2015 年版规定的 4 种外,还有其他的龙胆科龙胆属秦艽组植物^[3]。通过实地考察发现,全萼秦艽 *G. lhasica* 为青海省的习用药材之一。目前除了对全萼秦艽理化

[收稿日期] 20150727(003)

[基金项目] 国家中医药管理局科技专项(04-05ZL23)

[通讯作者] *汪荣斌,副教授,从事中药品质评价与资源开发利用方面研究, Tel:0553-4836193, E-mail:59858705@qq.com

鉴别方面有少量报道外, 尚未见到对其微形态、形态、组织构造等方面的研究, 为确保秦艽药材质量并寻找其新资源及替代品, 本实验对全萼秦艽进行系统生药学研究及其品质评价, 为该药材的进一步开发和有效利用提供参考。

1 材料

KD-202 型切片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司), 显微成像系统(包括 Panasonic wv-GP240 型摄像头, Olympus BX60 型显微镜), 1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),

表 1 药材样品来源

Table 1 Sample source of *Gentiana macrophylla* and *G. thassica*

种名	产地	海拔/m	经纬度	花粉采集日期	种子采集日期	根采集日期
全萼秦艽 <i>Gentiana thassica</i>	青海省互助土族自治县北山国家森林公园	4 000	36°48'49.38"N 102°31'59.27"E	2005-08-01	2005-08-31	2005-08-31
秦艽 <i>G. macrophylla</i>	甘肃省碌曲县阿拉乡苗圃附近	2 950	34°37'54.93"N 102°54'09.90"E	2006-08-06	2006-09-05	2006-09-05

2 方法与结果

2.1 电镜扫描 采用双面导电胶带将花粉和种子粘贴在扫描电镜样品杯上, 经离子溅射仪真空镀膜后, 置扫描电镜中观察, 测量大小并进行照相。

BS224S 型电子分析天平(德国赛多利斯集团), KYKY SBC-12 小型离子溅射仪和 KYKY 3200 型扫描电镜(北京中科科仪股份有限公司)。

龙胆苦苷、獐牙菜苦苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号分别为 110770-200510, 110785-200203), 水合氯醛试液、稀甘油、番红染色液、固绿染色液、切片石蜡、中性树胶(上海国药集团), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。药材样品为自采, 经甘肃中医药大学张西玲教授鉴定, 凭证标本存放于甘肃中医药大学药用植物标本室, 见表 1。

花粉测量 20 粒, 种子测量 10 粒。形态描述术语参考《中国植物花粉形态(第二版)》^[4] 和《植物花粉剥离观察扫描电镜图解》^[5]。结果见图 1, 2 和表 2, 3。

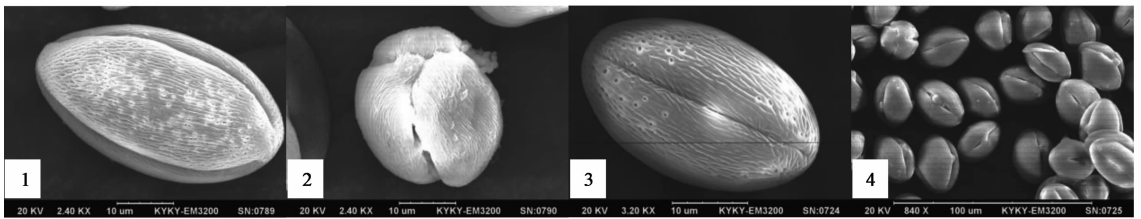


图 1 全萼秦艽(1,2)和秦艽(3,4)花粉扫描电镜(依次为×2 400, ×2 400, ×3 200, ×840)

Fig.1 SEM of pollen from *Gentiana thassica*(1,2) and *G. macrophylla*(3,4) (×2 400, ×2 400, ×3 200, ×840, respectively)

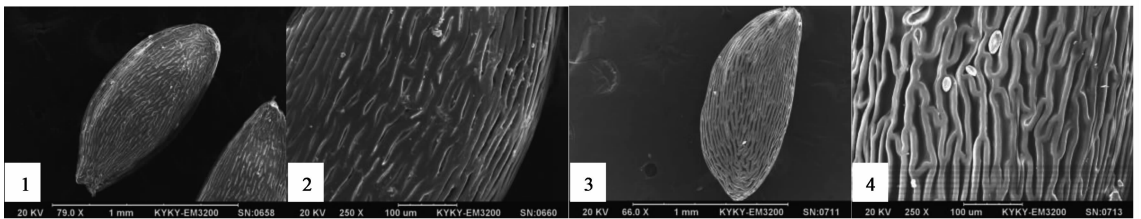


图 2 全萼秦艽(1,2)和秦艽(3,4)种子扫描电镜(依次为×79, ×250, ×66, ×250)

Fig.2 SEM of seed from *Gentiana thassica*(1,2) and *G. macrophylla*(3,4) (×79, ×250, ×66, ×250, respectively)

2.2 性状鉴定 采用性状鉴定方法对 2 种秦艽药材性状进行比较, 结果见表 4。

2.3 显微结构比较 运用石蜡制片法分别对根横切面制成永久切片, 置显微镜下观察其内部构造并绘制简图, 见表 5 和图 3。利用粉末制片法分别对药材根粉末进行水合氯醛制片和水装片, 置显微镜下观察并绘制粉末图, 见图 4 和表 6。

2.4 活性成分的含量测定

2.4.1 色谱条件 Hypersil BDS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇(A)-水(B)梯度洗脱(0~6 min, 20% A; 6~14 min, 20%~40% A), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 20 °C, 检测波长 254 nm, 进样量 10 μL。见图 5。

2.4.2 对照品溶液的配制 精密称取一定量獐牙

表 2 全萼秦艽和秦艽花粉微形态特征

Table 2 Pollen micro-morphological characteristics of *Gentiana lhasica* and *G. macrophylla*

种名	花粉状态	花粉形状	花粉大小		P/E	外壁特征	内孔
			极轴 × 赤道轴/μm × μm				
<i>Gentiana lhasica</i>	A	长球形	40.29 (30.62 ~ 46.04)	× 22.19 (18.02 ~ 25.73)	1.82	条纹为主,网眼小而多,几全分布	无
<i>G. lhasica</i>	B	长球形	37.72 (32.35 ~ 47.06)	× 23.99 (19.75 ~ 28.64)	1.57	条纹为主,无小网眼,极轴面有凸起	较明显
<i>G. macrophylla</i>	A	长球形	35.55 (27.82 ~ 40.59)	× 19.78 (18.14 ~ 21.40)	1.80	条纹为主,网眼大而少,只分布于二极	无
<i>G. macrophylla</i>	B	长球形	32.37 (28.91 ~ 37.17)	× 20.19 (18.55 ~ 21.40)	1.60	条纹为主,无小网眼,极轴面平坦	较明显

注:A 表示花粉粒具萌发沟,而未出现内孔;B 表示花粉粒具萌发沟,欲形成内孔。P 为极轴长,E 为赤道轴长。

表 3 全萼秦艽和秦艽种子的微形态特征

Table 3 Seed micro-morphological characteristics of *Gentiana lhasica* and *G. macrophylla*

种名	长 × 宽/cm × cm	纹饰
<i>Gentiana lhasica</i>	(1.22 ~ 1.35) × (0.53 ~ 0.62)	细网纹,网胞狭窄,呈梭形
<i>G. macrophylla</i>	(1.28 ~ 1.35) × (0.56 ~ 0.58)	细网纹,网胞稍宽,呈不规则多边形

表 4 全萼秦艽及秦艽药材的性状特征

Table 4 Properties and characteristics of *Gentiana lhasica* and *G. macrophylla*

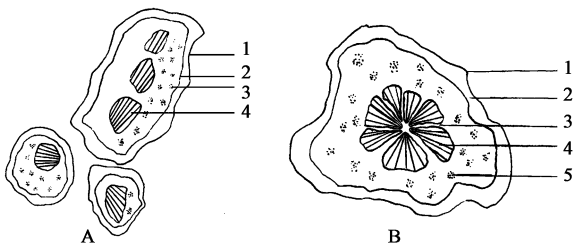
植物名	表面颜色	根	根头部	分枝	断面
<i>Gentiana lhasica</i>	黄棕色	根长 6.2 ~ 8 cm, 直径 0.4 ~ 0.6 cm	多由 1 ~ 3 个根茎合着	分枝少	皮部黄色,木部黄白色
<i>G. macrophylla</i>	黄褐色	有纵向或扭曲的纵皱纹,长 4 ~ 11 cm, 直径 0.4 ~ 0.7 cm	多由 1 ~ 2 个根茎相连	主根下侧 3 ~ 6 cm 处分枝,分枝 2 ~ 3 个	皮部浅黄色,木部黄白色

表 5 全萼秦艽及秦艽根上部横切面比较

Table 5 Cross section comparison of upper-root of *Gentiana lhasica* and *G. macrophylla*

植物名	根的分化程度	外周皮	内周皮	形成层	木质部
<i>Gentiana lhasica</i>	3	木栓层细胞类圆形,1 层,排列整齐、紧密,部分已脱落	木栓层细胞类圆形,1 层,排列整齐、紧密,部分已脱落;	形成层不明显	约占横切面的 1/3
<i>G. macrophylla</i>	无	木栓层细胞扁平,类长方形,5 ~ 6 层,排列紧密、整齐	木栓层细胞扁平,4 ~ 6 层,排列紧密、整齐	可见 1 ~ 2 层细胞	约占横切面的 1/2

注:韧皮部均约占横切面的 1/3。



1. 外周皮;2. 内周皮;3. 韧皮部;4. 木质部;5. 裂隙

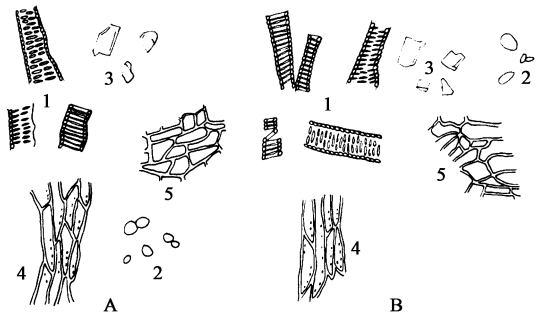
图 3 全萼秦艽(A)和秦艽(B)根横切面

Fig. 3 Cross section diagram of roots of *Gentiana lhasica* (A) and *G. macrophylla* (B)

菜苦苷和龙胆苦苷对照品,加甲醇配成质量浓度分别为 22,188 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 药材粉末过 3 号筛,精密称取细粉约 0.5 g,加甲醇 20 mL 超声处理 30 min (80 kHz),抽滤,加甲醇定容至 25 mL,精密吸取 1.0 mL 加甲醇稀释至 10 mL,即得。

2.4.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液 1,2,4,6,8,10,12 μL,按 2.4.1 项下条件测定,以峰



1. 导管;2. 淀粉粒;3. 草酸钙晶体;4. 纤维;5. 木栓细胞

图 4 全萼秦艽(A)和秦艽(B)药材粉末显微镜观察

Fig. 4 Powder characteristic diagram of *Gentiana lhasica* (A) and *G. macrophylla* (B)

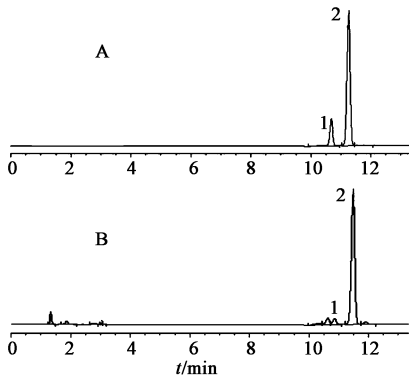
面积为纵坐标,进样量为横坐标,得獐牙菜苦苷、龙胆苦苷回归方程分别为 $Y = 41.659X + 70.665$ ($r = 0.9995$), $Y = 214.33X + 31.823$ ($r = 0.9999$),线性范围依次为 0.022 ~ 0.264, 0.188 ~ 2.256 μg。

2.4.5 精密度试验 取同一浓度的混合对照品溶液,按 2.4.1 项下色谱条件连续进样 6 次,计算獐牙

表 6 全萼秦艽及秦艽药材粉末特征比较

Table 6 Powder characteristic comparison of *Gentiana thassica* and *G. macrophylla*

植物名	粉末颜色	木栓细胞	导管	纤维	结晶	淀粉粒
<i>Gentiana thassica</i>	灰绿色	木栓细胞直径 10 ~ 49 μm	多为梯纹, 少数为环纹, 直径 10 ~ 49 μm	纤维呈束, 细长呈梭形, 壁厚, 有细小草酸钙晶体存在, 直径 10 ~ 30 μm	草酸钙结晶 多类方形, 长度 10 ~ 49 μm	单粒, 层纹和脐点不明显
<i>G. macrophylla</i>	灰白色	表面观呈多角形, 直径 10 ~ 49 μm	多为梯纹, 少数为环纹, 直径 20 ~ 49 μm	纤维呈束, 细长呈梭形, 壁厚, 有细小草酸钙晶体存在, 直径 10 ~ 30 μm	草酸钙结晶 多类方形, 长度 10 ~ 30 μm	多见单粒, 偶有复粒, 层纹和脐点不明显



A. 对照品; B. 供试品; 1. 獐牙菜苦苷; 2. 龙胆苦苷

图 5 秦艽 HPLC

Fig. 5 HPLC chromatograms of *Gentiana macrophylla* samples

菜苦苷、龙胆苦苷峰面积的 RSD 依次为 1.6% 和 0.4%, 表明仪器精密度良好。

2.4.6 加样回收试验 精密称取已知指标成分含量的样品适量, 添加一定量对照品, 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液 ($n=6$), 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 计算獐牙菜苦苷和龙胆苦苷的平均加样回收率分别为 101.9%, 100.6%, RSD 分别为 1.7%, 0.3%, 表明该方法准确可靠。

2.4.7 样品测定 取全萼秦艽(海拔 4 200 m, 青海省互助土族自治县)及秦艽(海拔 2 950 m, 甘肃省碌曲县)药材适量, 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.4.1 项下色谱条件测定, 结果龙胆苦苷质量分数分别为 6.24% 和 8.51%, 獐牙菜苦苷则依次为 0.26% 和 0.36%。

3 讨论

全萼秦艽和秦艽均为龙胆科龙胆属秦艽组植物, 二者的花粉粒中等大小, 均为长球形, 赤道面观为椭圆形或近圆形, 极面观为三裂圆形, 表面有少量穿孔, 极区为脑纹状纹饰。说明秦艽组植物花粉粒在微形态上具有相对一致性。但全萼秦艽花粉粒表面穿孔网眼较秦艽小, 全萼秦艽极轴面有凸起, 说明二者的花粉微形态特征在种的水平上具有一定的分类学意义。

全萼秦艽和秦艽与文献报道的秦艽组其他种种子的形态特征具有一致性^[6]。二者的大小差别较小, 但全萼秦艽种子表面的网胞较秦艽稍窄。

全萼秦艽与秦艽的药材性状特征有相似性, 呈类圆柱形, 具粗纵皱, 有分支交错扭曲成束。从根上部横切面观, 二者均具有 1 种特殊的周皮称为外周皮, 位于内皮层内侧产生的 1 层木栓细胞和 2 至数层栓内层细胞; 内侧又产生新的周皮称为内周皮, 形状和性质与外周皮相似。但全萼秦艽内、外周皮的木栓细胞只有 1 层, 而秦艽的内、外周皮的木栓细胞为多层。在粉末特征方面, 全萼秦艽与秦艽均有木栓细胞、导管、纤维、结晶和淀粉粒。研究发现全萼秦艽根上部横切面和粉末特征与其他秦艽类植物构造相类似, 可为秦艽的组织形态提供鉴别依据。秦艽类药材所含的化学成分丰富, 其有效成分主要为环烯醚萜苷类^[7], 包括龙胆苦苷、獐牙菜苦苷等。本文建立了全萼秦艽中这 2 种成分的 HPLC 含量测定方法, 该方法稳定、快速、重复性好。

[参考文献]

- [1] 孙星衍辑. 神农本草经[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 67.
- [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, 2015: 270-271.
- [3] 夏光成, 肖培根, 马毓泉. 中药秦艽原植物的研究[J]. 药学学报, 1965, 12(6): 399.
- [4] 王伏雄著. 中国植物花粉形态[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1995: 9-11.
- [5] 蓝盛银, 徐珍秀. 植物花粉剥离观察扫描电镜图解[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 5-11.
- [6] 王义祁, 汪荣斌, 王存琴, 等. 秦艽组植物种子形态研究[J]. 中药材, 2011, 34(7): 1030-1033.
- [7] 孙菁, 陈桂琛, 李玉林, 等. 藏药麻花艽中四种苦苷类化学成分的含量测定[J]. 分析实验室, 2006, 25(5): 28-31.

[责任编辑 刘德文]