

# 基于“辨状论质”理论的龙胆性状与质量相关性研究

刘佳怡<sup>1</sup>,尹海波<sup>1\*</sup>,王丹<sup>1</sup>,  
杜俊楠<sup>1,2</sup>,刘师慧<sup>1</sup>,骆佳熠<sup>1</sup>,叶秋鞠<sup>1</sup>,金炳倩<sup>1</sup>

<sup>1</sup>辽宁中医药大学药学院,大连 116100;<sup>2</sup>辽宁中医药大学杏林学院,沈阳 110167

**摘要:**为了探寻评价龙胆质量的性状指标,探讨其与主要活性成分之间的相关性。采用游标卡尺、硬度计、色差仪、电子舌和高效液相色谱法(HPLC)测定龙胆根长、顶端直径、中端直径、末端直径、须根数、硬度、表面断面色度值和苦味值及5种环烯醚萜类成分含量,对性状指标与成分含量进行相关性分析、回归分析、主成分分析(principal components analysis,PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis,OPLS-DA)和聚类分析。SPSS 22.0相关性结果显示,龙胆根长、硬度、上端直径、中端直径、表面明度 $L_1^*$ 、色差值 $E^*ab_1$ 和苦味值与龙胆中马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量呈显著相关性,说明龙胆根越长,硬度越大,上端和中端直径越粗,表皮颜色越浅,味道越苦,则马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量越高。采用K-均值聚类方法,将32批龙胆划分为3个等级,并通过OPLS-DA模型实现有效鉴别,且各等级之间的龙胆在性状和成分含量上都有显著差异。龙胆的性状指标(根长、硬度、顶端直径、中端直径、表面明度 $L_1^*$ 、色差值 $E^*ab_1$ 、苦味值)可作为评价龙胆质量的依据,且传统对龙胆记载的“根条粗长,黄色或棕黄色,断面黄白色,味极苦龙胆为佳”都有所证明。因此可以根据龙胆的性状判断其质量,为建立客观科学评价龙胆质量提供基础和理论依据。

**关键词:**龙胆;性状;内在含量;辨状论质;相关性

中图分类号:R282.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)12-2088-15

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.12.010

## Correlation between traits and quality of Gentianae Radix et Rhizoma based on the theory of "quality evaluation through morphological identification"

LIU Jia-yi<sup>1</sup>, YIN Hai-bo<sup>1\*</sup>, WANG Dan<sup>1</sup>,  
DU Jun-nan<sup>1,2</sup>, LIU Shi-hui<sup>1</sup>, LUO Jia-yi<sup>1</sup>, YE Qiu-ju<sup>1</sup>, JIN Bing-qian<sup>1</sup>

<sup>1</sup>School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116100, China;

<sup>2</sup>School of Xinglin, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shengyang 110167, China

**Abstract:** In order to explore the trait indicators to evaluate the quality of Gentianae Radix et Rhizoma, the correlation between Gentianae Radix et Rhizoma and the main active ingredients was explored. Vernier calipers, hardness testers, colorimeters, electronic tongues and high-performance liquid chromatography (HPLC) were used to determine Gentianae Radix et Rhizoma root length, apical diameter, middle diameter, terminal diameter, fibrous root number, hardness, surface section chromaticity value, bitterness value and the content of five iridoid terpenoids, and the correlation analysis, regression analysis and principal component analysis (PCA) were carried out on the trait indexes and component contents. Orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) and cluster analysis. The results of SPSS 22.0 correlation showed that Gentianae Radix et Rhizoma root length, hardness, upper diameter, middle diameter, surface brightness  $L_1^*$ , color difference value  $E^*ab_1$  and bitterness value were significantly correlated with the contents of loganic acid, swertiamarin and gentiopicroside in Gentianae Radix et Rhizoma, indicating that the longer the Gentianae Radix et Rhizoma root, the greater the hardness, the thicker the diameter of the upper and middle ends, the lighter the epidermis and the more bitter the taste, the higher the contents of

收稿日期:2024-05-13

接受日期:2024-10-21

基金项目:龙胆良种规模化繁育及示范研究(2023003);辽宁省“兴辽英才计划”教学名师项目(XLYC2211011)

\*通信作者 E-mail:yhb0528@sina.com

loganic acid, swertiamarin and gentiopicroside. The 32 batches of *Gentianae Radix et Rhizoma* were divided into three grades by K-means clustering method, and limited identification was achieved by OPLS-DA model, and there were significant differences in *Gentianae Radix et Rhizoma* content among the grades. The traits of *Gentianae Radix et Rhizoma* (root length, hardness, tip diameter, middle diameter, surface brightness  $L_1^*$ , color difference value  $E^* ab_1$ , bitterness value) can be used as the basis for evaluating the quality of *Gentianae Radix et Rhizoma*, and the traditional record of *Gentianae Radix et Rhizoma* "thick roots, yellow or brownish-yellow, yellowish-white cross-section, and extremely bitter *Gentianae Radix et Rhizoma*" have been proven. Therefore, the quality of *Gentianae Radix et Rhizoma* can be judged according to its characteristics, which provides a basis and theoretical basis for the establishment of objective and scientific evaluation of the quality of *Gentianae Radix et Rhizoma*.

**Key words:** *Gentianae Radix et Rhizoma*; traits; intrinsic content; quality evaluation through morphological identification; correlation

中药龙胆来源于龙胆科龙胆属植物条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag.、龙胆 *G. scabra* Bge.、三花龙胆 *G. triflora* Pall. 或滇龙胆 *G. rigescens* Franch. 的干燥根和根茎,前三种习称“关龙胆”,后一种习称“坚龙胆”,商品名为滇龙胆或坚龙胆,本品味苦,性寒,归肝经,胆经,具有清热燥湿,泻肝胆火等功效,特别适用于湿热黄疸,隐痛阴痒等症<sup>[1]</sup>。最早收录于《神农本草经》,列为中品<sup>[2]</sup>。据记载,龙胆在各地均有分布,其中以东北地区辽宁、吉林、黑龙江和内蒙古为主要产区,具有产量大,质量高,疗效佳等特点。龙胆有着悠久的历史和丰富的文化背景,因其在肝损伤<sup>[3,4]</sup>、肿瘤<sup>[5]</sup>、关节炎<sup>[6]</sup>等疾病均有显著治疗效果,在临床上被广泛使用。随着人们对野生龙胆的过度采挖以及病虫害不易控制,导致野生资源严重短缺,目前市场流通大多为人工栽培龙胆,质量参差不齐。同时大部分龙胆药材及饮片不分等级和质量全部混合统装,导致药材市场中部分药材商品类别、规格、等级混乱,难以实现优质优价<sup>[7]</sup>。

中药质量控制是当前中医药国际化面临的挑战,现代的质量评价方法忽略了其起源和外观特征。“辨状论质”理论是中药品种传统经验鉴别之精髓,具有很强的应用价值<sup>[8]</sup>。“辨状论质”顾名思义,“状”即药材的外观性状,“质”即药材的真伪优劣,药材的外观性状与其品质有着密切关联。中药的化学成分主要体现在性状、颜色、气味等方面。目前<sup>[9-12]</sup>,已经有研究表明药材的外观性状与品质有显著关联。而颜色、气味、口感等指标人工评价个体差异性大、主观性强,难以精准衡量。电子鼻、电子眼、电子舌等<sup>[13-15]</sup>现代仿生技术已经广泛应用到各类中药材的鉴定与品质评价,使实验结果更加客观准确。因此,建立中药的外观与其化学成分之间的相关性,对中药的客观质量评价具有重要意义。

按照传统经验鉴别,根条粗长,质软,表皮黄色或棕黄色,断面黄白色,味极苦龙胆为佳。但典籍中对龙胆的描述存在一定模糊性,性状特点是否与其品质具有相关性还缺乏一定的实验支撑。吴晓燕等<sup>[16]</sup>通过研究发现,龙胆长度越长、须根数越多、直径越大、颜色越浅,则龙胆苦苷、马钱苷酸和獐牙菜苦苷含量越高。本研究对龙胆性状指标进行补充,结合“辨状论质”理论,探讨龙胆的性状与5种主要环烯醚萜类活性成分含量之间的相关性,为龙胆“辨状论质”理论提供实验支撑,为建立客观科学评价龙胆质量提供基础和理论依据。

## 1 材料

### 1.1 药材

32批龙胆样品于2022年、2023年采集,均已达到成药年限,采样环境尽量保持一致。去除地上茎叶,洗净泥土,阴干。在正常贮藏期内保存备用。样品来源信息见表1,经辽宁中医药大学中药资源教研室尹海波教授鉴定为龙胆科植物龙胆(*Gentiana scabra* Bge.)的干燥根及根茎。

### 1.2 仪器与试剂

岛津 LC-16 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);PT-35SL 微量电子天平(华志(福建)电子科技有限公司);高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);KQ3200DM 静音型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);SHZ-D(III)循环水室水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司);DHG-9145A 型鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);SA402B 型电子舌(日本神奈川智能传感器技术公司);SR-60 色差仪(深圳市三恩驰科技有限公司);KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);游标卡尺(烟台绿林工具有限公司);GWJ-1 谷物硬度计(北京金科利达电子科技有限公司)。

表 1 龙胆药材来源信息

Table 1 Source information of Gentianae Radix et Rhizoma

编号 No.	采集地 Place of collection	类型 Type	编号 No.	采集地 Place of collection	类型 Type
NMG1	内蒙古扎兰屯市	野生	LNQY10	辽宁省抚顺市清原县	栽培
NMG2	内蒙古鄂伦春自治旗	野生	LNQY11	辽宁省抚顺市清原县	栽培
JL1	吉林省白山市靖宇县	野生	LNXB1	辽宁省抚顺市新宾县	栽培
JL2	吉林省白山市临江市	野生	LNXB2	辽宁省抚顺市新宾县	栽培
JL3	吉林省通化市东昌区	野生	LNXB3	辽宁省抚顺市新宾县	栽培
JL4	吉林省通化市东昌区	野生	JL6	吉林省白山市靖宇县	栽培
JL5	吉林省吉林市蛟河市	野生	LNAS	辽宁省鞍山市海城市	栽培
LNQY1	辽宁省抚顺市清原县	野生	LNDG	辽宁省丹东市东港市	栽培
LNQY2	辽宁省抚顺市清原县	野生	LNKD1	辽宁省丹东市宽甸县	栽培
LNQY3	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNKD2	辽宁省丹东市宽甸县	栽培
LNQY4	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNQY12	辽宁省抚顺市清原县	栽培
LNQY5	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNQY13	辽宁省抚顺市清原县	栽培
LNQY6	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNXB4	辽宁省抚顺市新宾县	栽培
LNQY7	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNTL1	辽宁省铁岭市西丰县	栽培
LNQY8	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNTL2	辽宁省铁岭市西丰县	栽培
LNQY9	辽宁省抚顺市清原县	栽培	LNDL	辽宁省大连市金州区	栽培

马钱苷酸(批号:24231010001)、獐牙菜苦苷(批号:A801B021)、龙胆苦苷(批号:A106E021)、獐牙菜苷(批号:A820C022)对照品(质量分数大于98%,北京索莱宝科技有限公司);6'-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖基龙胆苦苷对照品(批号:D01H8202760,质量分数大于98%,上海源叶生物科技有限公司);甲醇(色谱纯,德国Merck公司);水(杭州娃哈哈集团有限公司);其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 龙胆外观性状的测定

每批样品随机选取5株外形完整、无破损的龙

胆进行测定。选择压碎法对龙胆硬度进行测定。选取龙胆根同一部位进行实验,记录压碎时的力度,每株平行测定3次;测定龙胆植株根长记为根长,记录须根数;采用游标卡尺对龙胆每条须根顶端直径、中端直径和末端直径值进行测定。32个产地龙胆根的硬度为2.940~9.050 N,根长为60.310~129.980 mm,顶端直径、中端直径和末端直径分别为1.020~2.180、0.750~1.790、0.520~1.610 mm,须根数为5~20条。在32个产地的样品中,LNQY8的硬度最大,顶端、中端、末端直径最大,JL5的根长度最长,LNQY7的须根数量最多。测定结果见表2。

表 2 龙胆外观性状和硬度检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 2 Appearance traits and hardness test results of Gentianae Radix et Rhizoma( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

编号 No.	硬度 Hardness (N)	顶端直径 Tip diameter (mm)	中端直径 Mid-end diameter(mm)	末端直径 End diameter(mm)	根长 Root length(mm)	须根数量 Number of fibrous roots
NMG1	5.090 ± 0.351	1.510 ± 0.305	1.150 ± 0.226	1.060 ± 0.212	82.850 ± 8.044	12 ± 3
NMG2	5.540 ± 0.090	1.690 ± 0.338	1.280 ± 0.319	0.940 ± 0.303	87.100 ± 26.945	10 ± 3
JL1	2.940 ± 0.266	1.020 ± 0.275	0.750 ± 0.184	0.520 ± 0.154	60.310 ± 15.677	8 ± 2
JL2	6.990 ± 0.125	1.910 ± 0.448	1.640 ± 0.410	1.430 ± 0.447	106.010 ± 40.024	10 ± 3
JL3	7.370 ± 0.225	1.950 ± 0.597	1.790 ± 0.546	1.610 ± 0.546	112.830 ± 22.647	6 ± 1
JL4	7.470 ± 0.211	1.970 ± 0.480	1.550 ± 0.392	1.230 ± 0.298	112.040 ± 26.411	7 ± 3
JL5	8.700 ± 0.197	2.150 ± 0.401	1.650 ± 0.324	1.210 ± 0.446	129.980 ± 26.790	15 ± 5

续表 2(Continued Tab. 2)

编号 No.	硬度 Hardness (N)	顶端直径 Tip diameter (mm)	中端直径 Mid-end diameter(mm)	末端直径 End diameter(mm)	根长 Root length(mm)	须根数量 Number of fibrous roots
LNQY1	5.510 ± 0.099	1.620 ± 0.340	1.200 ± 0.235	0.820 ± 0.241	88.620 ± 11.306	8 ± 2
LNQY2	4.990 ± 0.121	1.500 ± 0.308	1.230 ± 0.272	0.950 ± 0.227	81.320 ± 5.845	5 ± 1
LNQY3	4.610 ± 0.228	1.510 ± 0.400	1.360 ± 0.330	1.210 ± 0.245	81.350 ± 11.017	8 ± 2
LNQY4	4.410 ± 0.193	1.470 ± 0.416	1.090 ± 0.315	0.780 ± 0.267	78.430 ± 7.952	11 ± 2
LNQY5	8.510 ± 0.086	2.070 ± 0.451	1.650 ± 0.429	1.320 ± 0.374	123.160 ± 24.056	7 ± 2
LNQY6	6.570 ± 0.067	1.860 ± 0.420	1.410 ± 0.300	1.160 ± 0.250	99.000 ± 6.459	6 ± 1
LNQY7	6.730 ± 0.129	1.860 ± 0.235	1.590 ± 0.254	1.210 ± 0.277	97.730 ± 11.346	20 ± 3
LNQY8	9.050 ± 0.323	2.180 ± 0.582	1.530 ± 0.410	1.110 ± 0.362	125.440 ± 26.590	13 ± 2
LNQY9	6.490 ± 0.251	1.710 ± 0.392	1.280 ± 0.329	0.950 ± 0.257	99.380 ± 5.939	10 ± 2
LNQY10	5.590 ± 0.079	1.680 ± 0.331	1.400 ± 0.252	1.120 ± 0.233	91.690 ± 9.302	15 ± 2
LNQY11	6.510 ± 0.076	1.700 ± 0.458	1.220 ± 0.379	0.920 ± 0.319	97.220 ± 6.051	9 ± 1
LNXB1	8.210 ± 0.201	1.960 ± 0.392	1.500 ± 0.331	1.100 ± 0.247	117.520 ± 10.329	8 ± 1
LNXB2	6.670 ± 0.062	1.860 ± 0.443	1.300 ± 0.307	0.940 ± 0.254	99.680 ± 14.118	11 ± 3
LNXB3	3.620 ± 0.082	1.330 ± 0.268	1.140 ± 0.306	0.970 ± 0.215	67.030 ± 4.586	8 ± 2
JL6	6.860 ± 0.121	1.910 ± 0.488	1.50 ± 0.385	1.250 ± 0.377	102.940 ± 15.037	10 ± 2
LNAS	4.360 ± 0.103	1.470 ± 0.289	1.300 ± 0.279	1.130 ± 0.259	78.010 ± 7.845	8 ± 3
LNDC	5.650 ± 0.251	1.700 ± 0.410	1.300 ± 0.356	0.960 ± 0.300	87.380 ± 8.255	9 ± 3
LNKD1	4.580 ± 0.079	1.490 ± 0.359	1.140 ± 0.293	0.880 ± 0.263	81.010 ± 7.637	8 ± 2
LNKD2	4.200 ± 0.193	1.420 ± 0.346	1.140 ± 0.325	0.910 ± 0.331	78.430 ± 6.442	8 ± 1
LNQY12	3.600 ± 0.085	1.270 ± 0.239	1.130 ± 0.235	0.990 ± 0.266	66.710 ± 3.860	7 ± 3
LNQY13	3.540 ± 0.094	1.090 ± 0.369	0.930 ± 0.318	0.740 ± 0.299	65.100 ± 2.914	7 ± 3
LNXB4	3.740 ± 0.184	1.310 ± 0.251	1.160 ± 0.223	1.010 ± 0.220	69.300 ± 5.211	7 ± 3
LNTL1	3.530 ± 0.051	1.080 ± 0.306	0.940 ± 0.290	0.760 ± 0.266	64.120 ± 3.704	7 ± 2
LNTL2	4.200 ± 0.103	1.390 ± 0.287	1.240 ± 0.288	1.10 ± 0.310	78.270 ± 4.438	8 ± 1
LN DL	3.610 ± 0.090	1.310 ± 0.222	0.940 ± 0.148	0.690 ± 0.129	67.180 ± 3.317	7 ± 2

## 2.2 龙胆颜色测定

采用国际照明委员会(CIE)颜色系统<sup>[11]</sup>,通过色差仪分别对龙胆样品表皮以及断面的明度值( $L^*$ )、红色值( $a^*$ )、黄色值( $b^*$ )进行测定。其中 $L^*$ 代表明度; $a^*$ 代表红-绿色轴; $b^*$ 代表黄-蓝色轴。根据公式计算色差值 $E^*ab$ ( $E^*ab = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ )。

32个产地龙胆表皮明度 $L_1^*$ 为56.09~80.60,红色值 $a_1^*$ 为4.69~3.44,黄色值 $b_1^*$ 为11.63~25.51,色差值 $E^*ab_1$ 为6.45~82.63;断面明度 $L_2^*$ 为79.39~82.83,红色值 $a_2^*$ 为4.57~4.98,黄色值 $b_2^*$ 为11.82~12.79,色差值 $E^*ab_2$ 为80.48~83.89。在32个产地样品中,LNQY8龙胆表面颜色

最淡,为浅黄色,LNQY12龙胆表面颜色最深,为棕黄色。而断面颜色几乎没有显著差别,测定结果见表3。

## 2.3 龙胆苦味值测定

龙胆味苦者为佳,因此本研究只对龙胆的苦味值进行测定。

### 2.3.1 电子舌样品制备

每批龙胆样品精密称取5.0g,加入10倍量的水,煎煮3次,合并3次煎煮液。每次煎煮都要加入0.2g的碳酸钙以防止酶和有机酸影响药材中的活性成分。用小火熬制合并液使其能放入蒸发皿中,之后用40℃水浴加热成浸膏状,制作成干粉状后,装入EP管标明产地。

### 2.3.2 样品电子舌测定

对32批龙胆提取物供试品溶液,进行电子舌测

表3 龙胆颜色检测结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 3 Gentianae Radix et Rhizoma color detection results( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

编号 No.	表面 Surface				断面 Section			
	$L_1^*$	$a_1^*$	$b_1^*$	$E^* ab_1$	$L_2^*$	$a_2^*$	$b_2^*$	$E^* ab_2$
NMG1	68.190 ± 0.433	6.840 ± 0.433	15.880 ± 0.535	70.350 ± 0.458	81.090 ± 0.475	4.750 ± 0.922	12.030 ± 0.272	82.110 ± 0.462
NMG2	69.210 ± 0.278	6.250 ± 0.278	15.050 ± 0.456	71.100 ± 0.291	80.650 ± 0.675	4.780 ± 0.765	11.940 ± 0.33	81.670 ± 0.386
JL1	62.890 ± 0.779	6.800 ± 0.779	12.360 ± 0.176	64.450 ± 0.418	80.670 ± 0.458	4.740 ± 0.411	12.140 ± 0.491	81.720 ± 0.657
JL2	73.890 ± 0.879	5.620 ± 0.879	14.330 ± 0.269	75.480 ± 0.983	79.390 ± 0.711	4.880 ± 0.177	12.260 ± 0.934	80.480 ± 0.474
JL3	74.500 ± 0.165	4.690 ± 0.165	11.630 ± 0.107	75.550 ± 0.273	80.120 ± 0.182	4.810 ± 0.519	11.930 ± 0.252	81.150 ± 0.274
JL4	74.550 ± 0.204	5.120 ± 0.204	12.720 ± 0.315	75.800 ± 0.832	81.300 ± 0.405	4.680 ± 0.975	12.170 ± 0.265	82.340 ± 0.431
JL5	75.520 ± 0.189	13.440 ± 0.189	25.510 ± 0.164	80.840 ± 0.245	82.820 ± 0.199	4.780 ± 0.435	12.440 ± 0.201	83.890 ± 0.234
LNQY1	67.880 ± 0.869	7.600 ± 0.869	17.460 ± 0.177	70.500 ± 0.181	82.830 ± 0.409	4.800 ± 0.557	11.910 ± 0.216	83.820 ± 0.283
LNQY2	66.620 ± 0.389	9.490 ± 0.389	17.470 ± 0.475	69.520 ± 0.267	80.510 ± 0.377	4.940 ± 0.628	12.470 ± 0.436	81.620 ± 0.433
LNQY3	63.320 ± 0.398	9.480 ± 0.298	22.050 ± 0.143	67.720 ± 0.361	82.280 ± 0.577	4.680 ± 0.272	12.400 ± 0.411	83.340 ± 0.279
LNQY4	64.430 ± 0.283	8.300 ± 0.283	18.690 ± 0.251	67.600 ± 0.599	81.180 ± 0.378	4.780 ± 0.522	12.370 ± 0.354	82.880 ± 0.354
LNQY5	78.470 ± 0.367	5.350 ± 0.316	12.590 ± 0.466	79.650 ± 0.352	81.140 ± 0.393	4.740 ± 0.463	11.810 ± 0.415	82.130 ± 0.333
LNQY6	71.520 ± 0.369	6.700 ± 0.369	16.580 ± 0.218	73.720 ± 0.276	80.670 ± 0.285	4.570 ± 0.529	11.860 ± 0.613	81.670 ± 0.426
LNQY7	71.580 ± 0.488	8.740 ± 0.488	19.970 ± 0.464	74.830 ± 0.835	80.020 ± 0.596	4.810 ± 0.593	11.930 ± 0.497	81.050 ± 0.342
LNQY8	80.600 ± 0.175	7.580 ± 0.175	16.540 ± 0.505	82.630 ± 0.333	80.590 ± 0.338	4.700 ± 0.471	12.000 ± 0.701	81.610 ± 0.453
LNQY9	70.440 ± 0.175	8.570 ± 0.175	17.470 ± 0.245	73.080 ± 0.236	81.610 ± 0.217	4.980 ± 0.466	12.790 ± 0.377	82.760 ± 0.392
LNQY10	69.620 ± 0.384	7.680 ± 0.384	16.590 ± 0.154	71.980 ± 0.326	80.430 ± 0.288	4.980 ± 0.613	12.400 ± 0.357	81.530 ± 0.429
LNQY11	71.370 ± 0.675	8.060 ± 0.675	15.660 ± 0.584	73.510 ± 0.199	79.900 ± 0.483	4.760 ± 0.244	12.030 ± 0.298	80.940 ± 0.217
LNXB1	76.420 ± 0.199	4.610 ± 0.219	11.610 ± 0.281	77.430 ± 0.422	80.160 ± 0.298	4.850 ± 0.229	12.240 ± 0.254	81.230 ± 0.189
LNXB2	73.360 ± 0.333	5.560 ± 0.333	12.480 ± 0.277	74.620 ± 0.301	82.330 ± 0.304	4.690 ± 0.704	11.310 ± 0.427	83.240 ± 0.455
LNXB3	63.900 ± 0.543	8.530 ± 0.543	14.070 ± 0.283	65.980 ± 0.344	81.940 ± 0.723	4.740 ± 0.224	11.510 ± 0.431	82.880 ± 0.639
JL6	74.270 ± 0.352	5.510 ± 0.352	12.480 ± 0.332	75.510 ± 0.313	81.360 ± 0.333	4.690 ± 0.546	12.120 ± 0.451	82.390 ± 0.375
LNAS	65.280 ± 0.191	6.860 ± 0.191	16.230 ± 0.233	67.610 ± 0.634	80.950 ± 0.686	4.700 ± 0.586	12.110 ± 0.193	81.990 ± 0.283
LNDG	70.300 ± 0.422	4.760 ± 0.422	12.260 ± 0.438	71.520 ± 0.617	80.350 ± 0.492	4.760 ± 0.749	11.800 ± 0.269	81.350 ± 0.385
LNKD1	65.420 ± 0.331	7.350 ± 0.331	15.690 ± 0.371	67.680 ± 0.612	80.030 ± 0.438	4.850 ± 0.986	12.060 ± 0.225	81.080 ± 0.426
LNKD2	65.620 ± 0.943	6.010 ± 0.943	13.150 ± 0.255	67.190 ± 0.256	80.750 ± 0.918	4.920 ± 0.524	12.110 ± 0.199	81.800 ± 0.616
LNQY12	56.990 ± 0.631	11.260 ± 0.631	18.260 ± 0.244	60.890 ± 0.228	79.910 ± 0.366	4.850 ± 0.054	12.140 ± 0.183	80.970 ± 0.432
LNQY13	62.410 ± 0.111	7.530 ± 0.111	16.450 ± 0.369	64.980 ± 0.265	82.070 ± 0.248	4.690 ± 0.472	12.140 ± 0.215	83.100 ± 0.586
LNXB4	63.540 ± 0.297	8.350 ± 0.297	18.410 ± 0.483	66.880 ± 0.219	81.690 ± 0.333	4.690 ± 0.248	12.100 ± 0.282	82.710 ± 0.535
LNLI1	62.390 ± 0.237	6.500 ± 0.276	15.520 ± 0.277	64.620 ± 0.235	80.500 ± 0.179	4.840 ± 0.724	12.190 ± 0.259	81.560 ± 0.362
LNLI2	65.730 ± 0.391	5.370 ± 0.391	11.750 ± 0.112	66.990 ± 0.373	79.660 ± 0.292	4.620 ± 0.184	11.640 ± 0.098	80.640 ± 0.122
LNDL	62.260 ± 0.882	10.290 ± 0.882	18.440 ± 0.775	65.740 ± 0.211	79.890 ± 0.622	4.730 ± 0.539	11.990 ± 0.278	80.920 ± 0.343

定。在进行新的循环测量之前,传感器用洗涤剂30%乙醇冲洗90秒,然后用校准后的溶液冲洗180秒,再将样品倒入耳舌的特殊烧杯中,在室温下进行测试分析。在进行数据收集序列时,它在测试的校准溶液和给定的样品之间交替进行,并对两者重复

四次,采用最后三组获得的数据的平均值进行分析。

在32个产地龙胆样品中,苦味值为5.15~7.20,苦味回味值为-0.63~-0.49,其中LNQY8的龙胆苦味值最大,测定结果见表4。

表4 龙胆提取物苦味测定结果( $\bar{x} \pm s, n=3$ )Table 4 Determination results of bitterness of Gentianae Radix et Rhizoma extract( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

编号 No.	苦味 Bitterness	苦味回味 Bitter aftertaste	编号 No.	苦味 Bitterness	苦味回味 Bitter aftertaste	编号 No.	苦味 Bitterness	苦味回味 Bitter aftertaste
NMG1	5.800 ± 0.020	-0.560 ± -0.024	LNQY5	7.110 ± 0.020	-0.610 ± 0.000	LNAS	5.550 ± 0.000	-0.540 ± -0.032
NMG2	5.970 ± 0.092	-0.570 ± -0.019	LNQY6	6.140 ± 0.023	-0.590 ± -0.021	LNDG	6.040 ± 0.034	-0.580 ± -0.041
JL1	5.150 ± 0.021	-0.490 ± -0.011	LNQY7	6.410 ± 0.030	-0.590 ± -0.021	LNKD1	5.590 ± 0.020	-0.540 ± -0.021
JL2	6.780 ± 0.020	-0.590 ± -0.029	LNQY8	7.200 ± 0.040	-0.630 ± -0.033	LNKD2	5.540 ± 0.036	-0.530 ± -0.041
JL3	6.940 ± 0.010	-0.590 ± -0.021	LNQY9	6.060 ± 0.028	-0.580 ± -0.025	LNQY12	5.260 ± 0.026	-0.520 ± -0.016
JL4	6.970 ± 0.000	-0.600 ± -0.034	LNQY10	5.980 ± 0.028	-0.580 ± -0.038	LNQY13	5.220 ± 0.015	-0.520 ± -0.023
JL5	7.170 ± 0.000	-0.610 ± 0.000	LNQY11	6.070 ± 0.005	-0.580 ± -0.024	LNXB4	5.460 ± 0.023	-0.530 ± -0.021
LNQY1	5.870 ± 0.020	-0.560 ± -0.044	LNXB1	7.050 ± 0.035	-0.610 ± -0.051	LNTL1	5.210 ± 0.021	-0.500 ± -0.027
LNQY2	5.740 ± 0.055	-0.560 ± -0.025	LNXB2	6.200 ± 0.0430	-0.590 ± -0.022	LNTL2	5.490 ± 0.029	-0.530 ± -0.011
LNQY3	5.630 ± 0.026	-0.550 ± -0.023	LNXB3	5.430 ± 0.034	-0.530 ± -0.018	LNDL	5.400 ± 0.025	-0.520 ± -0.036
LNQY4	5.580 ± 0.032	-0.540 ± -0.007	JL6	6.690 ± 0.025	-0.590 ± -0.061			

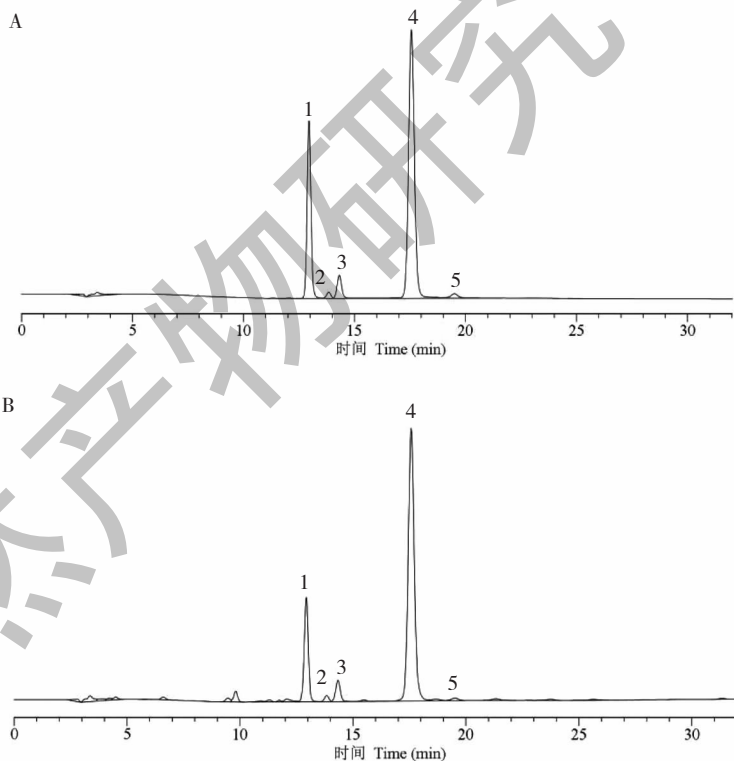


图1 对照品(A)及样品(B)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference(A) and sample(B)

注:1. 马钱苷酸;2. 6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷;3. 獐牙菜苦苷;4. 龙胆苦苷;5. 獐牙菜苷。Note:1. Loganic acid;2. 6'-O-β-D-Glucosylgentiopicroside;3. Swertiamarin;4. Gentiopicroside;5. Sweroside.

## 2.4 龙胆环烯醚萜类成分含量测定

### 2.4.1 色谱条件

WatersSymmetry 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5

μm);流动相:甲醇(A)-0.2%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~5 min,20%→30% A;5~12 min,30% A;12~32 min,30%~40% 检测波长:240 nm;体积流量:

0.8 mL/min;柱温:25 ℃;进样量:5 μL。在此色谱条件下,所得混合对照品及样品的色谱图见图1。

#### 2.4.2 对照品溶液的制备

称取各对照品适量,精密称定,分别用甲醇溶解制成每1 mL含有马钱苷酸0.50 mg、6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷0.05 mg、獐牙菜苦苷0.10 mg,獐牙菜苷0.01 mg,龙胆苦苷1.00 mg的混合对照品溶液,混匀,过0.22 μm微孔滤膜,取续滤液,即得,储存在4 ℃的冰箱中,备用。

#### 2.4.3 供试品溶液的制备

取龙胆药材粉末(过80目筛)0.5 g,精密称定,

置50 mL具塞锥形瓶中,加入甲醇溶液20 mL,称定质量,超声提取30 min,放冷后称重,用甲醇溶液补足失的质量,摇匀,滤过,取续滤液经0.22 μm微孔滤膜过滤后作为供试品溶液。

#### 2.4.4 线性关系考察

分别吸取不同体积5个对照品储备溶液,用甲醇溶解并稀释制成6个不同质量浓度的系列溶液。按色谱条件测定,以对照品的质量浓度( $x$ )为横坐标,峰面积( $y$ )为纵坐标,进行回归处理,得到5个回归方程(见表5)。

表5 各化合物的线性参数

Table 5 Linear parameters for each compound

成分 Ingredient	线性范围 Range of linearity (μg/mL)	回归方程 Regression equation	R
马钱苷酸 Loganic acid	12.50 ~ 500.00	$y = 5.476 \times 10^6 x - 9778.2$	0.999 6
6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷 6'-O-β-D-Glucosylgentiopicroside	1.25 ~ 5.00	$y = 4.128 \times 10^6 x + 974.7$	0.999 6
獐牙菜苦苷 Swertiamarin	2.50 ~ 100.00	$y = 4.703 \times 10^6 x - 460.8$	0.999 7
龙胆苦苷 Gentiopicroside	25.00 ~ 1 000.00	$y = 6.232 \times 10^6 x - 10 264.9$	0.999 8
獐牙菜苷 Sweroside	0.25 ~ 10.00	$y = 1.446 \times 10^7 x + 508.0$	0.999 8

#### 2.4.5 精密度试验

取同一批样品,按“2.4.3”项方法制备,并在“2.4.1”色谱条件下,连续测定6次。各成分峰相对峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均 < 3.0%,相对保留时间的RSD均 < 1.0%,证明仪器精密度良好。

#### 2.4.6 稳定性试验

取同一批样品,按“2.4.3”项方法制备,并在“2.4.1”色谱条件下分别在0、2、4、8、12、24 h进行分析。各成分相对峰面积的RSD均 < 2.0%,相对保留时间的RSD均 < 1.5%,证明样品在24 h内稳定性良好。

#### 2.4.7 重复性试验

取同一批样品6份,按“2.4.3”项方法制备,并在“2.4.1”项色谱条件下进行分析。各成分相对峰面积的RSD均 < 2.0%,相对保留时间的RSD均 < 1.0%,证明该方法重复性良好。

#### 2.4.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的龙胆药材粉末6份,每份0.10 g,每份分别加入马钱苷酸、6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、獐牙菜苷对照品

适量,按“2.4.3”方法制备加样回收率试验供试品溶液,依据“2.4.1”色谱条件检测,计算加样回收率。结果显示各成分平均加样回收率在98.00% ~ 100.2%,RSD均在1.5% ~ 2.3%之间。

#### 2.4.9 样品测定

取龙胆样品共32批,按“2.4.3”项方法制备供试品溶液,在“2.4.1”色谱条件下测定,计算龙胆中各成分的含量(见表6)。32个产地均可以检测出5种单体环烯醚萜类化合物。其中JL2的马钱苷酸含量最高,JL5的6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷和獐牙菜苦苷含量最高,LNQY8的龙胆苦苷含量最高,JL1的獐牙菜苷含量最高。各产地的6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷和獐牙菜苷含量差距不明显。各产地龙胆样品中5种环烯醚萜类成分总含量有显著差别,LNQY8中5种成分含量最高,为154.787 mg/g,而JL1的5种成分总含量最低,仅有47.823 mg/g。可见在不同的生长环境和条件下化学成分的含量积累有所不同。

## 2.5 相关性分析

采用SPSS 22.0和Origin 2022软件对龙胆外观性状、颜色、苦味以及化学成分含量进行相关性分

表 6 不同产区龙胆样品的成分含量( $n = 3$ )Table 6 Component content of Gentianae Radix et Rhizoma from different production areas ( $n = 3$ )

编号 No.	含量 Content(mg/g)						总含量 Total content
	马钱苷酸 Loganic acid	6'-O-β-D- 葡萄糖基龙胆苦苷 6'-O-β-D- Glucosylgentiopicroside	獐芽菜苦苷 Swertiamarin	龙胆苦苷 Gentiopicroside	獐牙菜苷 Sweroside		
NMG1	17.992	3.199	6.169	64.687	0.344	92.392	
NMG2	19.895	1.910	6.194	67.914	0.438	96.350	
JL1	11.916	1.535	2.110	23.154	9.107	47.823	
JL2	42.873	4.749	8.653	90.523	1.007	147.805	
JL3	15.955	5.994	9.838	90.568	0.609	122.964	
JL4	27.459	1.467	8.015	94.375	0.447	131.764	
JL5	10.035	9.644	10.138	101.520	0.372	131.710	
LNQY1	25.339	2.295	5.493	65.561	0.256	98.944	
LNQY2	26.564	1.861	5.601	63.346	0.270	97.642	
LNQY3	17.031	2.640	4.612	58.074	0.295	82.652	
LNQY4	9.060	3.428	4.886	55.119	0.174	72.667	
LNQY5	31.061	1.620	9.309	101.178	0.310	143.477	
LNQY6	17.626	4.004	6.133	73.372	0.512	101.647	
LNQY7	15.685	1.736	6.239	74.874	0.332	98.866	
LNQY8	40.045	1.629	8.973	103.614	0.526	154.787	
LNQY9	21.278	3.236	7.659	72.601	0.550	105.323	
LNQY10	15.836	2.810	6.127	69.915	0.352	95.040	
LNQY11	19.181	1.886	6.344	72.805	0.275	100.491	
LNXB1	36.788	1.221	8.485	95.429	0.555	142.479	
LNXB2	18.440	2.244	6.571	74.397	0.371	102.023	
LNXB3	21.199	0.834	4.367	49.069	0.219	75.688	
JL6	19.383	4.663	8.279	89.823	0.235	122.383	
LNAS	21.619	2.819	5.500	54.906	0.287	85.131	
LN DG	15.745	7.246	6.882	71.091	0.218	101.182	
LNKD1	19.841	3.842	6.061	57.694	0.387	87.824	
LNKD2	15.206	5.755	6.139	53.609	0.806	81.515	
LNQY12	18.624	3.977	5.196	42.099	0.452	70.347	
LNQY13	10.641	4.721	3.545	32.960	0.170	52.038	
LNXB4	13.599	3.138	4.935	49.899	0.293	71.865	
LNTL1	16.113	3.971	2.767	25.314	0.393	48.558	
LNTL2	26.634	7.762	5.857	52.293	0.318	92.864	
LNDL	15.020	1.599	4.258	47.811	0.106	68.793	

析,将 17 个性状指标和成分含量指标导入 Origin 2022 进行 Pearson 相关性分析,结果见图 2,其中红色代表正相关,蓝色代表负相关,相关性越显著,颜

色越深,圆圈越大。可知龙胆外观性状指标与主要活性成分之间具有一定的相关性。马钱苷酸含量与苦味、硬度、顶端直径、中端直径、根长、表面明度  $L_1^*$



和色差值  $E^*ab_1$  呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )，与末端直径和红色值  $a_1^*$  呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )；獐牙菜苦苷含量与苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )；龙胆苦苷含量与苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )；马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷这三种成分含量均与苦味回味呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ )；而 6'-*O*- $\beta$ -*D*-葡

萄糖基龙胆苦苷和獐牙菜苦苷含量与龙胆性状指标均无显著相关性；须根数量与化学成分含量之间亦无显著关联性。由此可见，苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  指标可以用来表示龙胆中马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷成分含量。在一定条件下，硬度值越大、顶端、中端、末端直径越大、根越长、味道越苦、表面颜色越淡，马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量越高，则龙胆质量越好。

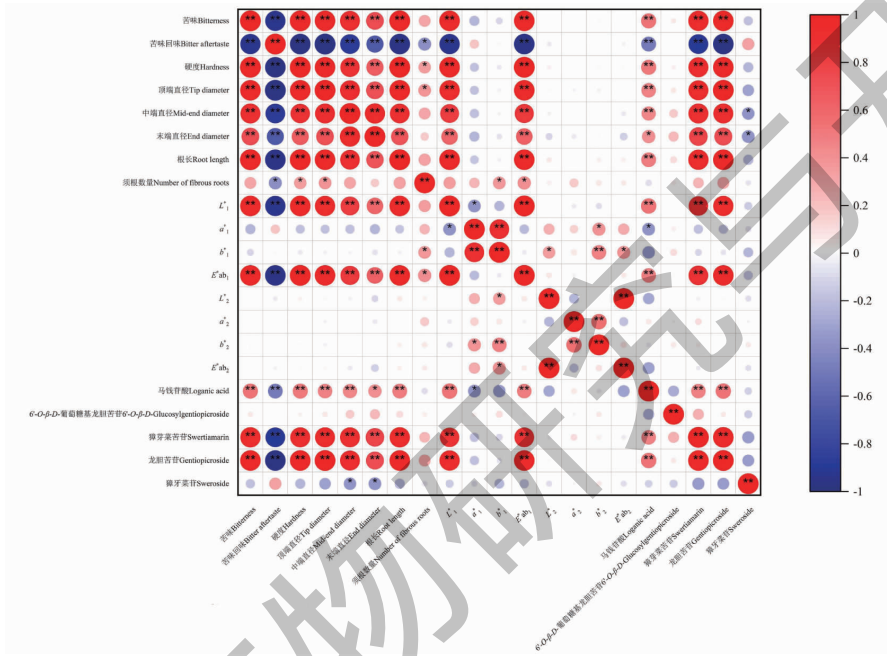


图2 龙胆各指标相关性分析热图

Fig. 2 Heat map of correlation analysis of *Gentianae Radix et Rhizoma* indicators

注：\*  $P \leq 0.05$ ；\*\*  $P \leq 0.01$ 。

### 2.6 回归分析

相关性分析结果显示，龙胆性状指标与有效化学成分之间具有相关性。为了进一步分析相关变量之间的关系，本研究以马钱苷酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷为自变量，分别以性状指标苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  为因变量，采用 SPSS 22.0 软件进行回归分析，回归分析和方差分析结果见表 7、表 8。马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷作为自变量，苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  分别作为因变量时， $R^2$  分别为 0.940、0.931、0.973、0.837、0.600、0.941、0.879 和 0.914，说明苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  分别有

94.00%、93.10%、97.30%、83.70%、60.00%、94.10%、87.90%、91.40% 受到马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷这三种有效成分的影响。方差分析结果表明，苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  的验证  $F$  值分别为 146.061、125.759、337.644、47.796、13.997、149.513、68.019、98.725， $P = 0$  ( $P < 0.05$ )。所以马钱苷酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷构成的回归式在统计上是极其显著的。得到回归方程汇总如表 9，所得到的回归方程具有显著性。因此，龙胆苦味、硬度、顶端直径、中端直径、末端直径、根长、表面明度  $L_1^*$  和色差值  $E^*ab_1$  性状指标可以反映马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量，可以为快速、直接评价龙胆质量提供依据。

表7 龙胆各性状指标模型汇总 ( $n = 32$ )Table 7 Summary of index models of Gentianae Radix et Rhizoma traits ( $n = 32$ )

指标 Index	$R^2$	$R^2_{adj}$	估计标准误差 Standard error of estimate
苦味 Bitterness	0.940	0.934	0.167 22
硬度 Hardness	0.931	0.924	0.477 51
顶端直径 Tip diameter	0.973	0.970	0.054 03
中端直径 Mid-end diameter	0.837	0.819	0.103 08
末端直径 End diameter	0.600	0.557	0.148 62
根长 Root length	0.941	0.935	4.924 88
$L_1^*$	0.879	0.866	2.028 49
$E^* ab_1$	0.914	0.904	1.618 46

表8 龙胆各指标的方差分析

Table 8 Analysis of variance of Gentianae Radix et Rhizoma indexes

指标 Index	模型 Model	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	$F$	$P$
苦味 Bitterness	回归	12.253	3	4.084	146.061	<0.005
	残差	0.783	28	0.028	-	-
	总计	13.035	31	-	-	-
硬度 Hardness	回归	86.024	3	28.675	125.759	<0.005
	残差	6.384	28	0.228	-	-
	总计	92.408	31	-	-	-
顶端直径 Tip diameter	回归	2.957	3	0.986	337.644	<0.005
	残差	0.082	28	0.003	-	-
	总计	3.039	31	-	-	-
中端直径 Mid-end diameter	回归	1.524	3	0.508	47.796	<0.005
	残差	0.298	28	0.011	-	-
	总计	1.821	31	-	-	-
末端直径 End diameter	回归	0.928	3	0.309	13.997	<0.005
	残差	0.618	28	0.022	-	-
	总计	1.546	31	-	-	-
根长 Root length	回归	10 879.046	3	3 626.349	149.513	<0.005
	残差	679.123	28	24.254	-	-
	总计	11 558.17	31	-	-	-
$L_1^*$	回归	839.644	3	279.881	68.019	<0.005
	残差	115.214	28	4.115	-	-
	总计	954.858	31	-	-	-
$E^* ab_1$	回归	775.805	3	258.602	98.725	<0.005
	残差	73.343	28	2.619	-	-
	总计	849.148	31	-	-	-

表9 龙胆不同性状指标回归方程

Table 9 Regression equation for different traits of Gentianae Radix et Rhizoma

指标 Index	回归方程 Regression equations
苦味 Bitterness	$Y_1 = 4.061 + 0.001X_1 + 0.012X_2 + 0.028X_3$
硬度 Hardness	$Y_2 = 0.513 - 0.003X_1 - 0.085X_2 + 0.085X_3$
顶端直径 Tip diameter	$Y_3 = 0.702 - 0.003X_1 - 0.025X_2 + 0.017X_3$
中端直径 Mid-end diameter	$Y_4 = 0.595 - 0.001X_1 + 0.043X_2 + 0.007X_3$
末端直径 End diameter	$Y_5 = 0.465 + 0.001X_1 + 0.088X_2$
根长 Root length	$Y_6 = 31.987 - 0.083X_1 + 0.918X_2 + 0.805X_3$
$L_1^*$	$Y_7 = 52.937 + 0.023X_1 - 0.638X_2 + 0.291X_3$
$E^*ab_1$	$Y_8 = 56.364 - 0.033X_1 - 0.808X_2 + 0.307X_3$

注:  $X_1$ : 马钱苷酸含量;  $X_2$ : 獐牙菜苦苷含量;  $X_3$ : 龙胆苦苷含量。

Note:  $X_1$ : Content of loganic acid;  $X_2$ : Content of swertiamarin;  $X_3$ : Content of gentiopicroside.

## 2.7 主成分和正交偏最小二乘法-判别分析

主成分分析是一种无监督模式的分析方法,在尽可能地保留原始数据信息的基础上,用少数几个或者新的变量指标来描述原始数据特征,达到降维目的<sup>[17]</sup>。为了探究不同产地龙胆特征,将相关分析结果筛选出的 11 种指标进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。PCA 结果显示前 2 个主成分的累积方差贡献率为 96.40%,可以将 32 批龙胆样品分为 3 组(见图 3),样品 LNQY8、JL5、LNQY5、LNXB1、JL4、JL3、JL2、JL6 为一类, LNQY7、LNXB2、LNQY6、LNQY11、LNQY9、LNDG、LNQY10、LNQY1、NMG1、LNQY2 为一类,其他归为另一类。

为了进一步研究不同产地龙胆的特征差异性指标,将龙胆聚类结果导入 SIMCA 14.1 软件中进行

OPLS-DA。结果显示,该模型方法能对聚类结果进行划分,实现 32 批龙胆样品的分类,且解释度良好,分析得到散点图(如图 4)。其中有 9 项指标的变量投影重要性分析(variable important in projection, VIP)值均大于 1,为不同产地龙胆的差异性指标,如图 5。VIP 值按照从大到小顺序为:龙胆苦苷(mg/g) > 苦味 > 根长 > 顶端直径 > 硬度 > 表面色差值  $E^*ab_1$  > 表面明度值  $L_1^*$  > 獐牙菜苦苷(mg/g) > 中端直径。说明苦味值是划分龙胆的最重要指标,在颜色中表面明度值  $L_1^*$  是最重要的影响因素,在化合物含量中龙胆苦苷是最重要的因素。

## 2.8 聚类分析

从相关性分析结果可以看出,6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷和獐牙菜苷含量与龙胆外观性状、颜色以及苦味值没有显著关联性,说明各产地龙胆 6'-O-β-D-葡萄糖基龙胆苦苷和獐牙菜苷含量没有明显差

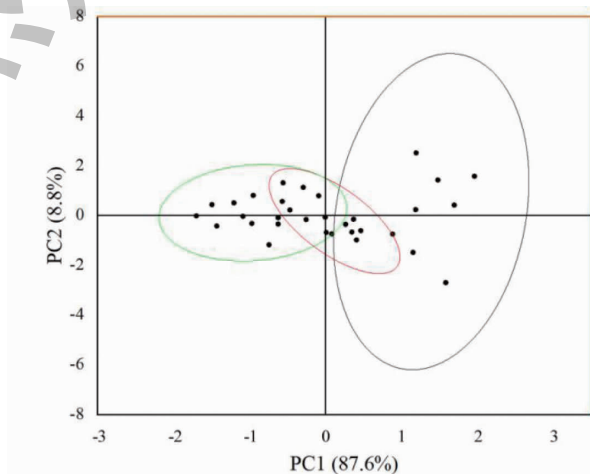


图3 PCA得分图

Fig. 3 PCA score plot

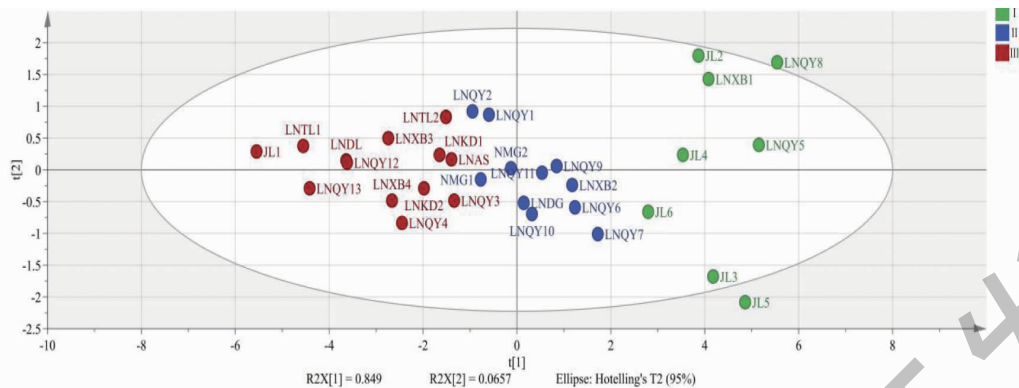


图4 OPLS-DA 得分图  
Fig. 4 OPLS-DA score plot

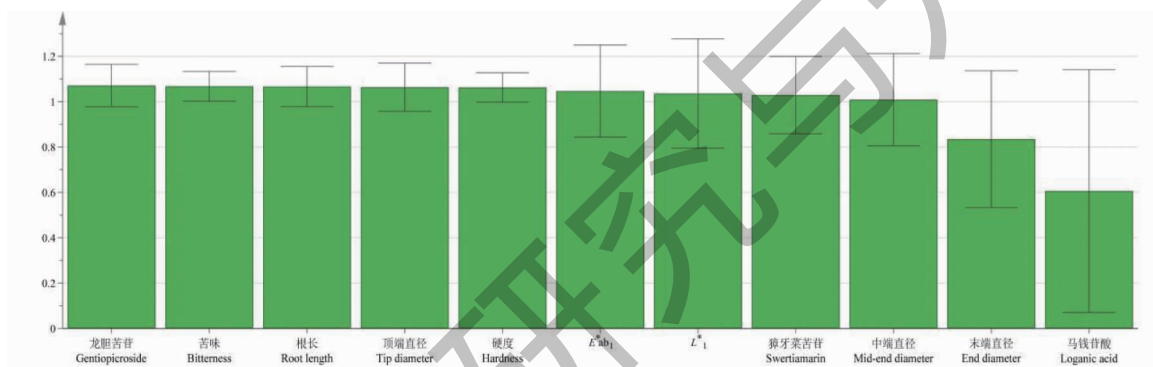


图5 OPLS-DA 结果的 VIP 图  
Fig. 5 VIP plot of OPLS-DA

别。采用 SPSS 22.0 分析软件,将 32 批龙胆的外观性状值、颜色值、苦味值、马钱苷酸、獐芽菜苦苷和龙胆苦苷含量值作为聚类指标,进行 K-中心聚类分析,32 批龙胆样品被分为三类,其中为第一类 25%

(8 个),为上等品,二类为 34% (11 个),为中等品,38% 为第三类(13 个),属于下等品,聚类结果见表 10。三个类别聚类组成员信息见表 11,距离表示每个样品与各自聚类中心的距离。

表 10 龙胆聚类分析

Table 10 Gentianae Radix et Rhizoma cluster analysis

变量 Variable	一类 Class I	二类 Class II	三类 Class III
苦味 Bitterness	6.990	6.030	5.420
硬度 Hardness(N)	7.900	5.940	3.920
顶端直径 Tip diameter(mm)	2.010	1.700	1.320
中端直径 Mid-end diameter(mm)	1.600	1.310	1.100
末端直径 End diameter(mm)	1.280	1.000	0.900
根长 Root length(mm)	116.2	92.00	71.94
$L_1^*$	76.03	70.01	63.40
$E^* ab_1$	77.86	72.25	66.03
马钱苷酸 Loganic acid(mg/g)	27.950	19.417	16.654
獐芽菜苦苷 Swertiamarin(mg/g)	8.962	6.310	4.633
龙胆苦苷 Gentiopicroside(mg/g)	95.879	70.051	46.308

表 11 龙胆聚类成员信息

Table 11 Gentianae Radix et Rhizoma cluster member information

编号 No.	类别 Class	距离 Distance	编号 No.	类别 Class	距离 Distance
LNQY8	1	18.326	LNQY1	2	8.669
JL5	1	23.511	NMG1	2	11.056
LNQY5	1	9.764	LNQY2	2	15.183
LNXB1	1	8.982	LNQY3	3	15.188
JL4	1	5.259	LNKD1	3	15.211
JL3	1	13.877	LNQY4	3	13.466
JL2	1	19.164	LNAS	3	11.938
JL6	1	17.240	LNKD2	3	10.304
LNQY7	2	8.951	LNTL2	3	13.545
LNXB2	2	9.818	LNXB4	3	5.487
LNQY6	2	8.260	LNXB3	3	7.269
LNQY11	2	6.221	LNDL	3	5.412
LNQY9	2	8.214	LNQY12	3	10.810
LNDG	2	6.075	LNQY13	3	16.269
LNQY10	2	3.652	LNTL1	3	22.561
NMG2	2	5.560	JL1	3	26.539

### 3 讨论与结论

中药有着悠久的历史和丰富的文化背景,对中药成分的全面质量控制一直是其发展核心。然而许多因素,如地理来源、加工方法和不同的药物部位,都会对中药质量产生影响。这些影响主要体现在中药的外观及其成分上,这在传统中药实践中往往是判断中药质量的主要标准。“辨状论质”是鉴别药材真伪、评价药材品质的传统方法,具有直观、简便、快速的特点。《500味常用中药材的经验鉴别》<sup>[18]</sup>、《现代中药材商品通鉴》<sup>[19]</sup>中对龙胆的描述为:根条粗大饱满,长条直顺,根上有环纹,质柔,黄色或黄棕,不带茎枝,味极苦者为佳。《中药材真伪鉴别》<sup>[20]</sup>中提到龙胆:须根常多于20条,表面淡黄褐色,质脆,易折断,断面有黄白色小点,味极苦。《常用中药鉴定大全》<sup>[21]</sup>中也记载龙胆:质脆,易折断,断面略平坦,皮部黄白色或淡黄棕色,木部色较浅呈点状排列,气微,味甚苦。以根条粗大,黄色及黄棕色者为佳。因此,本研究将龙胆外观性状指标与主要化学成分含量相关联。结果表明,龙胆根越粗、越长、顶端直径、中端直径、末端直径越大、表面颜色越浅、苦味值越大,其马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦

苷含量就越高,这与“根条粗大,表面黄白色或淡黄棕色,味苦者为佳”的传统经验鉴别理论一致。由此可知,龙胆的硬度、根长、上端直径、中端直径、末端直径和苦味值可以作为初步预测马钱苷酸、獐牙菜苦苷和龙胆苦苷含量的指标,进一步评价龙胆质量。但刘战等<sup>[22]</sup>须根数量越多,成分含量越高的结论,在本实验中未得到,这可能与样品数量、生长条件等有关。

本实验龙胆样品均采自龙胆的主产区辽宁、吉林和内蒙古3个省份。聚类分析中,发现活性成分含量较高的药材具有苦味值大,根条粗长,表面颜色浅的特征,可作为药材质量较好的判别特征。基于此,本研究的实验样品中,第一聚类类别中的样品大部分来自吉林,说明此地区的龙胆质量较优;来自内蒙古地区的样品其性状和成分含量结果主要分布在第二类别聚类结果中,反映其质量较好;辽宁省龙胆样品在三类聚类结果中均有分布,说明辽宁省内不同产区的龙胆质量存在差异,这可能与栽培技术、生长环境等密切相关。结合性状结果与实验数据,认为龙胆越苦、硬度越大、顶端、中端、末端直径越粗、根越长、表面颜色越浅,则龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和

马钱苷酸含量越高,且对龙胆苦苷含量影响最大,其次是獐牙菜苦苷和马钱苷酸。因此,可以根据以上指标初步推测龙胆中三种成分的含量,判断龙胆品质。内蒙古产区药材质量较高,但由于样本量较少,后续需要更多样品进行验证。

目前,龙胆因其显著疗效被广泛应用于临床,因此选取高质量龙胆有助于保证临床用药疗效。实验将龙胆性状与主要活性成分含量相关联,总结出可以根据苦味、根长、颜色等指标判断成分含量,为生活与临床中鉴定龙胆品质提供了更为快速、简便的方法。同时,结果表明獐牙菜苦苷和马钱苷酸两种成分含量受到外观性状、颜色和苦味的影响,摆脱了《中华人民共和国药典》2020年版中仅以龙胆苦苷作为评价龙胆质量唯一指标的局限性。

本研究以“辨状论质”理论为基础,探究了龙胆外观性状与主要化学成分含量之间的相关性,为传统理论上判断龙胆质量优劣提供了数据支撑,既避免了基于化学成分的质量评价方法对中药某些特征属性的忽视,又克服了通过外观特征进行中药质量评价的模糊性和主观性,也为龙胆质量评价方法的建立和“辨状论质”理论提供实验基础。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典; 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 99.
- 2 Tang SW. Reconstruct the Political and historical Evidence Class Spare Materia Medica; Volume VI (重修政和经史证类备用本草; 卷六) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1957: 163.
- 3 Wei M, Li B, Wang YF, et al. Protective effect of gentiopicroside against liver injury in mice via TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2021, 27: 76-83.
- 4 Wu T, Li JJ, Li Y, et al. Antioxidant and hepatoprotective effect of swertiamarin on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity via the Nrf2/HO-1 pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41: 2242-2254.
- 5 Jeelani SM, Singh J, Sharma A, et al. In-vitro cytotoxicity in relation to chemotypic diversity in diploid and tetraploid populations of *Gentiana kurroo* Royle [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 274: 113966.
- 6 Ge S, Wei Y, Wu C, et al. Anti-inflammatory mechanism of gentiopicroside and magnoflorine of *Gentiana Macrophyllae*

- Radix and Clematidis Radix et Rhizoma in rats with rheumatoid arthritis [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2022, 38: 62-67.
- 7 Chen XH, Chen K, Pan CM, et al. Analysis on commodity specification and grade standard of *Citri Grandis Exocarpium* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2017, 23: 23-28.
- 8 Xie ZW. The traditional empirical identification of traditional Chinese medicine varieties based on the theory of "quality evaluation through morphological identification" [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 1994, 5: 19-21.
- 9 Dai QK, Li LY, Xu GB, et al. Study on the correlation between morphological characteristics and chemical constituents of garden ginseng, mountain transplanted ginseng and mountain-grown ginseng based on "evaluating quality from morphological characteristics" [J]. China Pharm (中国药房), 2020, 31: 650-655.
- 10 Ran JC, Qin WH, Tan CB, et al. Study on the grade evaluation of appearance, color, taste and quantity of *Coptidis Rhizoma* from Shizhu [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2022, 34: 1755-1763.
- 11 Liu DH, Xu N, Guo LP, et al. Qualitative characteristics and classification study on commodity specification and grade standard of *Panax notoginseng* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41: 776-785.
- 12 Wang WX, Du XW, Hou BY, et al. Correlations between appearance traits and internal quality of *Bupleurum scorzoneri-folium* roots based on theory of "quality evaluation through morphological identification" [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 1815-1823.
- 13 Zhang X, Wu HW, Yu XK, et al. Quality evaluation of *Andrographis Herba* based on electronic-eye technique [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2019, 25: 189-195.
- 14 Gong JT, Li L, Cong Y, et al. Odor differences of three traditional chinese medicines form *Curcuma wenyujin* using electronic nose combined with HS-GC-MS [J]. Res Pract Chin Med (现代中药研究与实践), 2021, 35: 6-10.
- 15 Li JH, Wu CJ, Sun LG, et al. Prospect of realizing the objective expression of "shape and color" of traditional Chinese medicine traits based on machine vision technology [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2011, 33: 1781-1784.
- 16 Wu XY, Weng LL, Su Y, et al. Classification of *Gentiana* based on appearance characteristics and ingredients [J]. Cent South Pharm (中南药学), 2021, 19: 1206-1211.