

不同产地桔梗性状、浸出物、桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱比较

曾静凯¹, 郭青^{2*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210000; 2. 江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210000)

[摘要] 目的:对国家资源普查收集的产自 10 个省市的 58 批桔梗样品进行性状鉴别,测定其浸出物、桔梗皂苷 D 的含量,建立 HPLC 指纹图谱并对其进行比较。方法:按照 2015 年版《中国药典》方法测定浸出物及桔梗皂苷 D 含量;采用高效液相-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD),梯度洗脱,建立不同产地桔梗样品 HPLC 指纹图谱。结果:58 批桔梗样品中有 2 批表面色泽,7 批大小,11 批断面特征不符合 2015 年版《中国药典》规定;浸出物、桔梗皂苷 D 的含量的总不合格率为 36.20%;建立了 58 批桔梗样品的特征指纹图谱,共找到 17 个共有峰;四川省桔梗样品浸出物、桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱相似度 3 个方面均较高,重庆市、湖南省桔梗样品 3 个方面均较低;对 58 批不同产地桔梗进行了聚类分析及性状、浸出物、桔梗皂苷 D 含量和 HPLC 指纹图谱的比较研究,浸出物、桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱相似度不成正向相关,但样品中浸出物含量以及各成分含量的差异与样品性状特征(皮部)具相关性。结论:所鉴别的性状特征,测定的浸出物、桔梗皂苷 D 含量以及建立的 HPLC 指纹图谱可为优质桔梗的筛选,新版《中国药典》标准的修订以及桔梗质量评价,提供更全面、真实、具代表性的参考依据。

[关键词] 桔梗;性状;浸出物;桔梗皂苷 D;高效液相指纹图谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)24-0062-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017240062

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1443.054.html>

[网络出版时间] 2017-09-12 14:43

Comparison of Traits, Root Extract, Platycodin D Content and HPLC Fingerprint of Platycodonis Radix from Different Habitats

ZENG Jing-kai¹, GUO Qing^{2*}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China; 2. Jiangsu Institute of Food and Drug Control, Nanjing 210000, China)

[Abstract] **Objective:** To identify the traits of 58 batches of Platycodonis Radix samples from 10 provinces and cities, determine the content of root extract and platycodin D in the samples, establish and compare their High Performance Liquid Chromatography (HPLC) fingerprints. **Method:** The content of platycodin D and the root extract in Platycodonis Radix was determined according to the determination method in *Chinese Pharmacopoeia*. HPLC fingerprints of Platycodonis Radix were determined by High Performance Liquid Chromatography-Evaporative Lightscattering Detector (HPLC-ELSD) method and gradient elution flowing form. **Result:** In these 58 batches of sample, the surface color in 2 batches, size in 7 batches, and section characteristics in 11 batches did not comply with the requirements in pharmacopoeia. The content of platycodin D and root extract in 58 batches of Platycodonis Radix from 10 provinces or cities was determined, and the total failure rate of the root

[收稿日期] 20170616(011)

[基金项目] 名贵中药资源可持续利用能力建设项目(2060302)

[第一作者] 曾静凯,在读硕士,从事中药质量检验与分析工作,Tel:13852291109,E-mail:337660520@qq.com

[通讯作者] *郭青,博士,主任药师,从事中药质量检验与分析工作,Tel:13905188648,E-mail:Guoqing850@sohu.com

extract of *Platycodonis Radix* sample and platycodin D was 36.20%. A total of 17 common peaks were found in 58 batches of *Platycodonis Radix*. The content of extract and platycodin D, as well as HPLC fingerprints in *Platycodonis Radix* samples from Sichuan province showed high similarity, and these above three aspects showed low similarity in the samples from Chongqing and Hunan province. Cluster analysis and comparative study of the traits, root extract content, platycodin D content and HPLC fingerprints were performed on 58 batches of *Platycodonis Radix* from different habitats. The results showed that there was no positive correlation between the content of extract, platycodin D and HPLC fingerprint similarity, but the difference in content of extract and other components in the samples was related to the characteristics of the samples (skin). **Conclusion:** The identified traits, the determined content of platycodin D, root extract and the established HPLC fingerprints can provide a more comprehensive, authentic and representative reference for screening of high quality *Platycodonis Radix*, revision of the *Chinese Pharmacopoeia* and quality evaluation of *Platycodonis Radix*.

[**Key words**] *Platycodonis Radix*; traits; root extract; platycodin D; HPLC fingerprint

桔梗为桔梗科植物桔梗的干燥根,性平,味苦辛,归肺经,有宣肺、利咽、祛痰、排脓之功效,用于咳嗽痰多、胸闷不畅、咽痛音哑、肺痈吐脓等证^[1],是我国销量较大的中药材之一,桔梗中三萜皂苷类成分为其主要的有效成分,迄今为止共发现近 70 种桔梗皂苷及其苷元^[2],其中桔梗皂苷 D 为其含量较高者,2015 年版《中国药典》将其作为桔梗含量测定项下指标成分进行测定以评价药材质量^[1]。但中药具有整体性特点,其药效一般是许多化学成分的综合作用,桔梗所含皂苷成分为醇溶性物质,通过测定醇溶性浸出物的含量可以体现其所含各醇溶性化学成分总量的多少,从而间接考察其质量。研究表明,指纹图谱技术用于控制中药材质量非常有效^[3],因其无需明确中药材中所含有的全部化学成分,可直接将待测样品图谱与标准对照指纹图谱进行相似度计算,通过相似度来评判中药质量。现有较多关于桔梗中桔梗皂苷 D 测定^[4-6]及 HPLC 指纹图谱研究^[7-12]的文献报道,也有文献对桔梗质量进行多指标综合评价^[13],其中大部分研究样本量较小、产地不明确或仅限于某一地区的样品,代表性不足;或其 HPLC 指纹图谱共有峰较少,且少有文献将浸出物、桔梗皂苷 D 和指纹图谱三项与性状同时测定并进行比较。本研究对中国中医科学院所提供的全国资源普查后收集的来自 10 个省市的 58 批产地明确的桔梗样品进行了性状鉴别,醇溶性浸出物及桔梗皂苷 D 含量测定,并对其进行了 HPLC 指纹图谱研究,建立了 58 批桔梗样品的特征图谱并找到了 17 个共有峰,采用 SPSS 19.0 软件对 58 批不同产地的样品进行分析,将所得结果进行比较,评价不同产地桔梗质量的差异,为桔梗的生产、筛选及新版《中国药典》中桔梗的标准制定提供参考和依据。

1 材料

LC-20AB 型色谱仪 (Alltech ELSD2000ES 型检测器,日本岛津公司);KH-700TDB 型高频数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司);CPA224S 型,BS21S 型电子天平(德国 Sartorius 公司);MX5 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);TG16-WS 型台式高速离心机(长沙湘仪离心机有限公司),FW100 型高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);HH-8 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);DHG-9123A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

对照品桔梗皂苷 D(批号 P18J7F16485,纯度 $\geq 98\%$),桔梗皂苷 E(批号 P28M 8F32836,纯度 $\geq 98\%$),桔梗皂苷 D₃(批号 P28M8F32837,纯度 $\geq 98\%$),去芹糖桔梗皂苷 D₃(批号 P28M8F32838,纯度 $\geq 95\%$),均购自上海源叶生物科技有限公司。甲酸、乙腈为色谱纯;水为纯化水;其他试剂均为分析纯。共收到中国中医科学院全国资源普查后收集的 10 个省份及直辖市(山西、四川、重庆、甘肃、安徽、河北、云南、湖南、吉林、河南)58 批样品,已由中国中医科学院首席研究员黄璐琦鉴定为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* 的干燥根,具体见表 1。

2 方法

2.1 浸出物 按照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 2201 项下醇溶性浸出物测定法的热浸法,对 58 批桔梗样品进行浸出物测定。

2.2 含量测定 参照 2015 年版《中国药典》(一部)桔梗含量测定项下方法,采用 Phenomenex Luna C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流速 1 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,蒸发光散色检测器(ELSD)

表 1 桔梗样品来源信息

Table 1 Platycodonis Radix sample information

编号	规格	去皮或未去皮	省份	采集号	采集时间	产地	性状
S1	药材	未去皮	山西	141016130818001	2013-08-18	山西省安泽县冀氏	表面深棕色,直径 0.5 ~ 1.2 cm,其他特征均符合药典规定
S2	药材	未去皮		140921130910011	2013-09-10	山西省定襄县白玉沟	表面为深棕色,其他特征符合药典规定
S3	药材	去皮		141021131102049	2013-11-02	山西省曲沃县北董塬	符合药典规定
S4	药材	去皮		140721131026082	2013-10-26	山西省榆社县云竹镇桃阳村	符合药典规定
S5	药材	去皮		140827130718004	2013-07-18	山西省垣曲县长直乡杜家沟	符合药典规定
S6	药材	去皮		140830131103007	2013-11-03	山西省芮城县阳城镇胡营	符合药典规定
S7	药材	未去皮		140428130810036	2013-08-10	山西省长子县北湾梨树沟	符合药典规定
S8	药材	未去皮		140429131005001	2013-10-05	山西省武乡县故城镇故城村	符合药典规定
S9	药材	去皮		140822131103002	2013-11-03	山西省万荣县万泉乡漫坡	符合药典规定
S10	药材	未去皮		140431130909074	2013-09-09	山西省沁源县琴泉村	皮部和木部均为黄棕色,其他特征均符合药典规定
S11	药材	去皮		140427131015033	2013-10-15	山西省壶关县龙泉镇小南山村	符合药典规定
S12	药材	去皮		140224130627020	2013-06-27	山西省灵丘县红石垆乡边台村	符合药典规定
S13	饮片	去皮		140524130908085	2013-09-08	山西省陵川县六泉乡黄松背	符合药典规定
S14	药材	去皮	四川	510724120613036	2012-06-13	四川省安县	直径 0.4 ~ 1.5 cm,其他特征均符合药典规定
S15	药材	未去皮		LHY10140097	2012-10-14	四川省汉源县	符合药典规定
S16	药材	未去皮		511781120720161LY	2012-07-20	四川省万源县堰塘乡	符合药典规定
S17	药材	未去皮		LHY10120092	2012-10-12	四川省汉源县	符合药典规定
S18	药材	去皮	重庆	5001190391YC	2012-07-25	重庆南川三泉镇人民坝	直径 0.7 ~ 3.5 cm,其他特征符合药典规定
S19	药材	去皮		500114YC0601	2012-10-21	重庆市黔江区马喇镇高鹿村	皮部为黄棕色、形成层为深棕色,其他特征均符合药典规定
S20	药材	未去皮		500237YC0052	2012-07-01	重庆市巫山县骡坪镇骡坪村	皮部和木部为浅棕色,其他特征均符合药典规定
S21	药材	未去皮		500238YC0064	2012-06-19	重庆市巫溪县中岗乡茶园村	符合药典规定
S22	药材	未去皮		500222LY0418	2012-06-09	重庆市綦江区郭扶镇高青	符合药典规定
S23	饮片	去皮	甘肃	YC621024047	2012-08-01	甘肃省合水县	皮部黄白色或深棕色,其他特征均符合药典规定
S24	药材	去皮	安徽	341602120811004	2012-08-11	安徽省黟城区十八里镇金传山	形成层环深棕色,皮部棕色,木部黄棕色,其他特征均符合药典规定
S25	药材	去皮		341103120820046YC	2012-08-20	安徽省花山红花湖	符合药典规定
S26	药材	去皮		341523120909033YC	2012-09-09	安徽省舒城县汤池镇	符合药典规定
S27	药材	去皮		341222201207021YC	2012-07-15	安徽省太和县李兴镇利民基地	符合药典规定
S28	饮片	去皮		341222201207023YC	2012-07-15	安徽省太和县李兴镇利民基地	为纵切片,其他特征均符合药典规定
S29	药材	去皮		3411261206271241	2012-06-27	安徽省殷涧镇大洪山	符合药典规定
S30	药材	去皮		341182120816030YC	2012-08-16	安徽省明光市涧溪镇银岭	符合药典规定

续表 1

编号	规格	去皮或 未去皮	省份	采集号	采集时间	产地	性状
S31	药材	未去皮		341881130103015YC	2013-01-03	安徽省宁国市中溪镇	皮部和木部为黄棕色,其他特征均符合药典规定
S32	药材	去皮		341222201207022YC	2012-07-15	安徽省太和县李兴镇利民基地	皮部黄棕色,木部黄色,其他特征均符合药典规定
S33	药材	去皮		341524120720001YC	2012-07-20	安徽省金寨县白塔畈九树村	符合药典规定
S34	药材	去皮		341525120817020	2012-08-17	安徽省仓房院	符合药典规定
S35	药材	去皮		34102110820048YC	2012-08-20	安徽省歙县北岸镇上村	符合药典规定
S36	药材	未去皮	河北	130521131022028YC	2013-10-22	河北省邢台县宋家庄镇三官庙村	符合药典规定
S37	药材	去皮		130426131132003YC	2013-10-15	河北省涉县索堡镇石峰	符合药典规定
S38	药材	去皮		130126131108010YC	2013-11-08	河北省灵寿县陈庄水泉镇	符合药典规定
S39	药材	去皮		130323130726005YC	2013-07-26	河北省抚宁县田各庄乡白家堡子村	符合药典规定
S40	药材	去皮		130732130906006YC	2013-09-06	河北省赤城县东某卯镇大荒地村	符合药典规定
S41	药材	去皮		130321130730066YC	2013-07-30	河北省青龙县三拨子乡七拨子村	符合药典规定
S42	饮片	去皮	云南	530702YC003	2012-06-30	云南省丽江市古城区金山乡	符合药典规定
S43	药材	去皮	湖南	431382120616068YC	2012-06-16	湖南省涟源市石马山镇温江村	皮部为黄色,其他特征均符合药典规定
S44	药材	去皮		4301811210111077YC	2012-10-11	湖南省长沙市浏阳县张坊乡七星岭村七星组	直径 0.4 ~ 1.3 cm,其他特征均符合药典规定
S45	药材	去皮		4301811171-YC	2012-09-20	湖南省张家界市慈利县广福桥镇桃溪村 1 组	部分皮部棕色以及木部黄棕色,其他特征均符合药典规定
S46	药材	未去皮	吉林	220382121007091YC	2012-10-07	吉林省双辽市服先镇	直径 0.5 ~ 1.3 cm,其他特征均符合药典规定
S47	药材	未去皮		220582121028077YC	2012-10-28	吉林省集安县花甸	符合药典规定
S48	饮片	去皮	河南	4103251310100012YC	2013-10-10	河南省嵩县	符合药典规定
S49	药材	去皮		411321140918009YC	2014-09-18	河南省南阳市南召县	符合药典规定
S50	饮片	去皮		410324141013003YC	2014-10-13	河南省洛阳市伊川县	符合药典规定
S51	药材	去皮		411282140921001YC	2014-09-21	河南省灵宝县焦村镇西册村	符合药典规定
S52	药材	未去皮		411521140506010	2014-05-06	河南省罗山县	长 7 ~ 30 cm,其他特征均符合药典规定
S53	药材	去皮		410581131024001	2013-10-24	河南省林州市合涧乡	符合药典规定
S54	药材	去皮		411327131105001YC	2013-11-05	河南省内乡县	符合药典规定
S55	药材	未去皮		410727140729001YC	2014-07-29	河南省封丘县李庄乡李庄村	干枯,形成层环、皮部和木部均为深棕色,其他特征均符合药典规定
S56	饮片	去皮		411522140826002YC	2014-08-26	河南省信阳市光山县	符合药典规定
S57	药材	去皮		410523131209002YC	2013-12-09	河南省洛阳市	直径 0.4 ~ 1.5 cm,其他特征符合药典规定
S58	饮片	去皮		411625140710002YC	2014-07-10	河南省郸城县石槽镇	皮部为黄色,其他特征均符合药典规定

注:药典均指 2015 年版《中国药典》。

温度(T)111 ℃, N₂ 流速 2.7 L·min⁻¹。

2.3 桔梗 HPLC 指纹图谱研究^[11]

2.3.1 色谱条件 采用 HPLC-ELSD 法, Phenomenex Luna C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相(A) 乙腈-(B) 0.1% 甲酸水溶液, 梯度洗脱(0 ~ 15 min, 20% ~ 23% A; 15 ~ 24 min, 23% ~ 25% A; 24 ~ 54 min, 25% ~ 26.5% A; 54 ~ 64 min, 26.5% ~ 33.0% A; 64 ~ 80 min; 33% ~ 90% A; 80 ~ 80.01 min, 90% ~ 20% A; 80.01 ~ 95 min, 20% A), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 进样体积 14 μL, 柱温 30 ℃, 蒸发光散色检测器(ELSD) 温度 105 ℃, N₂ 流速 2.7 L·min⁻¹。

2.3.2 混合对照品溶液的制备 精密称取桔梗皂苷 E, 去芹糖桔梗皂苷 D₃, 桔梗皂苷 D₃, 桔梗皂苷 D 对照品适量, 至 5 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 制成 0.509 8, 0.271 8, 0.504 8, 0.504 8 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取桔梗样品, 粉碎过筛(二号筛), 取 2.0 g, 精密称定, 置于锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 精密吸取 25 mL, 至蒸发皿中, 水浴蒸干, 加 50% 甲醇定容至 5 mL 量瓶中, 摇匀, 离心(转速设定 800 r·min⁻¹, 10 min), 取上清液, 即得。

3 结果与分析

3.1 性状 58 批桔梗样品中有: 2 批(S1, S2) 表面色泽不符合 2015 年版《中国药典》规定; 7 批(S1, S13, S18, S44, S46, S57, S52) 大小不符合 2015 年版《中国药典》规定; 11 批(S10, S19, S20, S23, S31, S24, S32, S43, S45, S55, S58) 断面特征不符合 2015 年版《中国药典》规定。

药材性状不符合 2015 年版《中国药典》规定处: ①长度 7 ~ 30 cm 和直径 0.4 ~ 3.5 cm; ②不去外皮者, 表面黄棕色至深棕色; ③质脆, 断面不平坦, 形成层环棕色或深棕色, 皮部黄白色、黄色至深棕色, 有裂隙, 木部淡黄色、黄色至深棕色; (2015 年版《中国药典》描述: 长度 7 ~ 12 cm, 直径 0.7 ~ 2 cm; 不去外皮者, 表面黄棕色至灰棕色; 形成层环棕色、皮部黄白色、木部淡黄色), 见表 1。

饮片性状不符合 2015 年版《中国药典》规定处: 切面皮部黄白色至深棕色(2015 年版《中国药典》描述为黄白色), 见表 1。

3.2 浸出物 按照 2015 年版《中国药典》(四部) 通则 2201 项下醇溶性浸出物测定法的热浸法, 测定后计算, 质量分数在 12.9% ~ 39.5%, 结果见表 2。

3.3 桔梗皂苷 D 含量测定 按 2015 年版《中国药典》一部桔梗含量测定项下方法测定、计算, 结果见表 2, 质量分数在 0.07% ~ 0.35%。

3.4 HPLC 指纹图谱 ①精密密度: 称取同一批次桔梗样品, 按 2.3.1 项下色谱条件连续进样 6 次, 结果各共有峰相对保留时间及相对峰面积 RSD 均 < 3%, 表明仪器精密密度良好。

②稳定性: 称取同一批次下桔梗样品, 按 2.3.1 项下色谱条件下分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 24 h 内进样, 结果各共有峰相对保留时间和相对峰面积 RSD 均 < 3%, 表明供试品溶液在 24 h 内保持稳定。

③重复性: 分别称取同一批次桔梗样品 6 份, 照 2.3.3 项下方法, 制备供试品溶液并测定, 结果显示各共有峰相对保留时间及相对峰面积 RSD 均 < 3%, 表明方法重复性良好。

将供试品溶液按 2.3.1 所述的色谱条件测定, 得到 58 批桔梗样品的指纹图谱, 其导入国家药典委员会颁布的“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723 版本), 以 S1 号样品指纹图谱为参照图谱, 生成对照图谱见图 1, 将 58 批样品的 HPLC 指纹图谱分别与对照图谱进行比较得相似度, 结果见表 2, 样品相似度在 0.353 ~ 0.989, 58 批桔梗样品指纹图谱汇总见图 2。

将 58 份桔梗样品 HPLC 指纹图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”, 58 批 HPLC 色谱指纹图谱找出 17 个主要的共有峰, 经对照品比对, 确定 2 号峰为桔梗皂苷 E, 3 号峰为去芹糖桔梗皂苷 D₃, 4 号峰为桔梗皂苷 D₃, 7 号峰对为桔梗皂苷 D, 见图 3, 选择 7 号峰为参照峰 s。

3.5 综合结果分析 58 批桔梗样品浸出物的质量分数在 12.9% ~ 39.5%, 均值为 20.4%, 其含量的频率分布见图 4; 浸出物偏高的 3 批, 浸出物在 31.3% ~ 39.5%, 产地分别为甘肃省合水县(S23), 山西省沁源县(S10), 安徽省太和县李兴镇利民基地(S32); 浸出物偏低的有 7 批, 浸出物在 12.9% ~ 14.5%, 产地分别为重庆南川、安徽省明光市、山西省灵丘县、河南省灵宝县、安徽省仓房院、山西省芮城县、河南省林州市。58 批中有 17 批样品浸出物含量不符合 2015 年版《中国药典》不得少于 17.0% 的规定, 其产地分布为山西省(6 批), 湖南省(2 批), 河北省(1 批), 河南省(3 批), 云南省(1 批), 安徽省(3 批), 重庆市(1 批), 不合格率为 29.31%。对比其性状, 得出浸出物较高的 6 批(S32, S10, S23, S58, S24, S31) 样品, 其皮部颜色均较 2015 年版

表 2 桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱相似度计算

Table 2 Platycodin D content and HPLC fingerprint similarity calculation

编号	省份	浸出物 /%	桔梗皂苷 D /%	HPLC 指纹图谱相似度	编号	省份	浸出物 /%	桔梗皂苷 D /%	HPLC 指纹图谱相似度
S1	山西	16.2	0.28	0.857	S30		13.6	0.09	0.954
S2		16.5	0.18	0.743	S31		28.9	0.29	0.386
S3		15.6	0.15	0.912	S32		39.5	0.10	0.911
S4		16.3	0.18	0.833	S33		17.1	0.16	0.915
S5		22.4	0.21	0.922	S34		14.3	0.25	0.750
S6		14.5	0.17	0.725	S35		15.5	0.13	0.978
S7		17.5	0.22	0.901	S36	河北	17.3	0.18	0.849
S8		26.0	0.14	0.858	S37		24.8	0.16	0.915
S9		17.8	0.13	0.910	S38		16.4	0.19	0.885
S10		33.4	0.27	0.353	S39		19.2	0.08	0.938
S11		18.2	0.26	0.917	S40		17.8	0.11	0.886
S12		13.7	0.10	0.953	S41		20.7	0.07	0.937
S13		27.0	0.19	0.985	S42	云南	16.2	0.07	0.854
S14	四川	20.4	0.12	0.954	S43	湖南	19.9	0.12	0.475
S15		21.4	0.32	0.823	S44		16.5	0.12	0.894
S16		22.4	0.21	0.962	S45		16.5	0.12	0.911
S17		19.8	0.32	0.803	S46	吉林	27.8	0.20	0.892
S18	重庆	12.9	0.16	0.946	S47		19.7	0.16	0.867
S19		24.4	0.08	0.536	S48	河南	22.9	0.17	0.989
S20		20.7	0.20	0.357	S49		16.2	0.13	0.893
S21		18.0	0.10	0.915	S50		23.5	0.20	0.957
S22		17.4	0.13	0.948	S51		14.1	0.15	0.922
S23	甘肃	31.3	0.10	0.870	S52		21.4	0.24	0.977
S24	安徽	29.2	0.09	0.904	S53		14.5	0.35	0.957
S25		21.4	0.28	0.982	S54		18.6	0.25	0.937
S26		19.6	0.25	0.975	S55		18.9	0.18	0.840
S27		22.9	0.16	0.893	S56		19.3	0.16	0.962
S28		27.9	0.10	0.935	S57		18.0	0.17	0.922
S29		18.1	0.29	0.912	S58		29.6	0.11	0.920

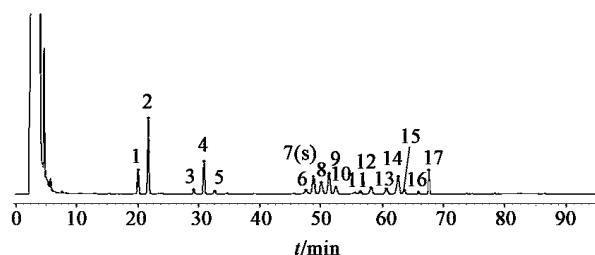


图 1 桔梗 HPLC 对照指纹谱

Fig. 1 HPLC control fingerprints of Platycodonis Radix

《中国药典》描述深,浸出物低的 17 批中除 1 批 (S45) 样品中只有部分皮部颜色较深外,其余样品皮部颜色均符合 2015 年版《中国药典》规定。推测是醇溶性成分的含量高低不同而引起的性状表现不一,且醇溶性成分越高性状表现为皮部颜色越深,其中的相关性有待进一步研究确证。

58 批桔梗样品桔梗皂苷 D 的质量分数在 0.07% ~ 0.35%,均值为 0.17%,其含量的频率分布见图 5;桔梗皂苷 D 含量主要集中在 0.10% ~ 0.22%。桔梗皂苷 D 含量偏高的 3 批 (S17, S15,

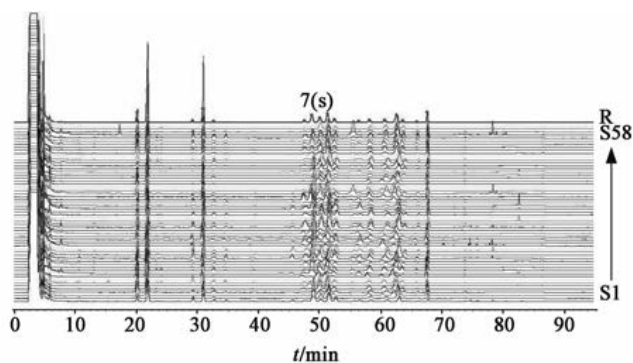
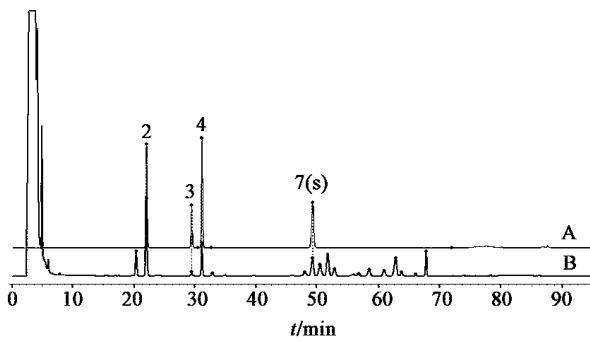


图 2 58 批桔梗 HPLC 指纹谱叠加

Fig. 2 Summary of HPLC fingerprints of Platycodonis Radix

S53),质量分数在 0.32% ~ 0.35%,产地分别为四川省汉源县(2 批),河南省林州市;桔梗皂苷 D 含量偏低的 6 批 (S42, S41, S19, S39, S24, S30),质量分数在 0.07% ~ 0.09%,产地分别为云南省丽江市、河北省青龙县、重庆市黔江区、河北省抚宁县、安徽省谯城区、安徽省明光市。此 6 批均不符合 2015 年版《中国药典》按干燥品计算桔梗皂苷 D 不得少于 0.10% 的规定,不合格率为 10.34%。对比其性



A. 对照品; B. 桔梗样品; 2. 桔梗皂苷 E; 3. 去蔗糖桔梗皂苷 D₃; 4. 桔梗皂苷 D₃; 7(s). 桔梗皂苷 D

图 3 桔梗样品和混合对照品的 HPLC

Fig. 3 HPLC of sample and mixed reference substance

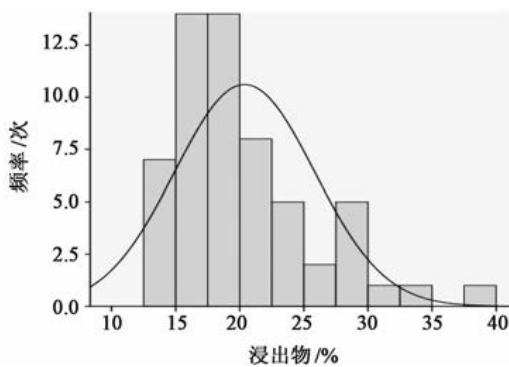


图 4 浸出物含量频数分布

Fig. 4 Distribution of frequency of extract content

状,发现较高含量的 3 批与较低含量的 6 批样品均符合 2015 年版《中国药典》描述,故桔梗皂苷 D 单一成分的高低在性状上无特征差异。

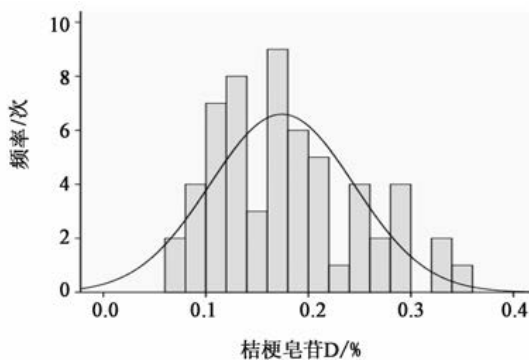


图 5 桔梗皂苷 D 含量频数分布

Fig. 5 Platycodin D content frequency distribution

桔梗 HPLC 指纹图谱相似度在 0.353 ~ 0.989, 均值为 0.863, 频率分布见图 6。相似度低于 0.500 的有 4 批, 分别为 S10, S20, S31, S43 号样品, 其分别产自山西省沁源县、重庆市巫山县、安徽省宁国市、湖南省涟源市。其次 S19 号桔梗药材相似度也较低, 为 0.536。指纹图谱相似度偏高的有 3 批 (S48, S13, S25), 相似度在 0.982 ~ 0.989, 产地分别为河南省嵩县、山西省陵川县、安徽省花山。

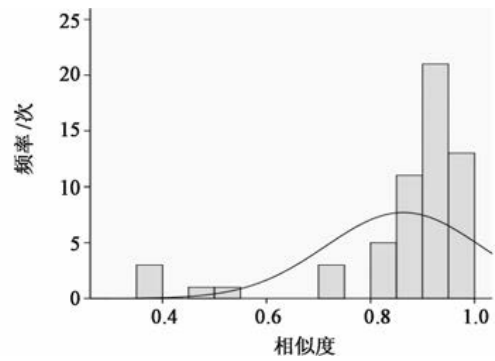


图 6 HPLC 指纹图谱相似度频数分布

Fig. 6 HPLC fingerprint similarity frequency distribution

对比其性状, 相似度高的 3 个批次性状符合 2015 年版《中国药典》描述, 相似度较低的 5 个批次均不符合 2015 年版《中国药典》描述, 均为皮部颜色过深。分析原因可能是样品中各成分含量的差别所表现出来的性状差异。

浸出物高的样品中桔梗皂苷 D 测得含量却不一定高, 有的批次反而较低, 如 S32, S23, S58, S24, S28, S8 号样品, 因此在桔梗中浸出物高低并不与桔梗皂苷 D 含量呈正向关系, 其他成分的总体对浸出物的贡献更大; 浸出物高, 桔梗皂苷 D 含量高的样品 HPLC 指纹图谱相似度也不一定高, 如 S10, S31 号样品, 样品中各成分含量的差异性导致 HPLC 指纹图谱相似度与浸出物含量不成正相关。

采用 SPSS 19.0 对 58 批桔梗样品的浸出物、桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱相似度数据标准化后, 进行系统聚类分析, 可得 58 批样品在距离为 15 处可分为三类, 一类: S32 号; 二类: S10, S31, S19, S43, S20 号; 三类: 除前两类外批次。见图 7。

汇总第二类 (S10, S31, S19, S43, S20 号) 样品测定数据及其性状不符合项, 见表 3, 可知此 5 批样品浸出物均符合 2015 年版《中国药典》规定; 除 S19 号样品外其余 4 批含量测定 (即桔梗皂苷 D 含量) 均符合 2015 年版《中国药典》规定, 但 HPLC 指纹图谱相似度均较低, 对比其性状发现, 此 5 批样品性状均存在不符合项, 且均存在皮部颜色较深现象。

对比对照图谱 (R) 发现, 二类样品的 HPLC 指纹图谱中 1, 2, 4, 14, 17 号峰较低, 除 19 号外其余 4 批样品中桔梗皂苷 D 峰 (7 号峰) 均较高, 见图 8。说明桔梗样品中各成分的含量差异对其性状 (皮部) 具有一定的影响, 大致表现为桔梗皂苷 D 含量较其他成分含量差异较大时样品皮部颜色会加深。

由前文知 2, 4 号峰分别为桔梗皂苷 E, 桔梗皂苷 D₃, 多项研究表明桔梗皂苷 D₃ 与桔梗皂苷 D 均

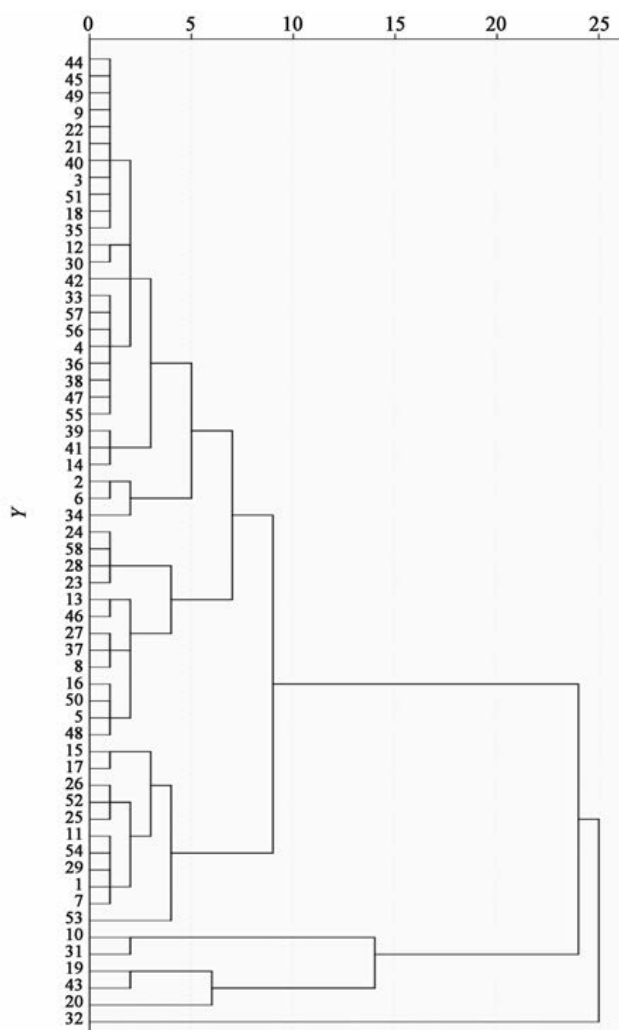


图 7 桔梗聚类分析树状关系

Fig. 7 Cluster analysis tree of *Platycodonis Radix*

具有抗炎、祛痰、镇咳以及抗肿瘤活性^[14-16], 中药的特点之一为整体性, 且桔梗中主要有效成分为皂苷

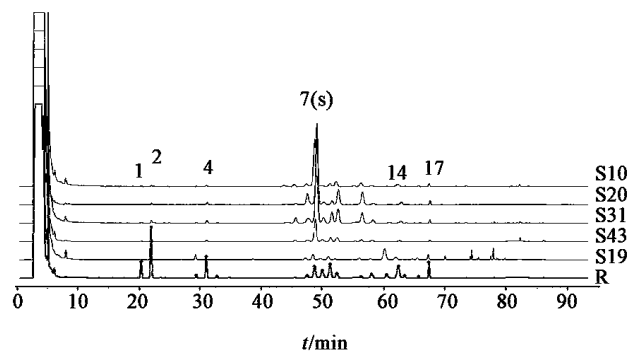
表 3 样品测定数据及其性状不符合项

Table 3 Sample measurement data and their traits do not meet item

编号	产地	浸出物/%	桔梗皂苷 D/%	HPLC 指纹图谱相似度	性状不符合项
S10	山西省沁源县	33.4	0.27	0.353	皮部和木部均为黄棕色
S31	安徽省宁国市	28.9	0.29	0.386	皮部为黄棕色、形成层为深棕色
S19	重庆市黔江区	24.4	0.08	0.536	皮部和木部为浅棕色
S43	湖南省涟源市	19.9	0.12	0.475	皮部和木部为黄棕色
S20	重庆市巫山县	20.7	0.20	0.357	皮部为黄色

4 讨论

4.1 性状 58 批桔梗样品中有 2 批表面色泽, 7 批大小, 11 批断面特征不符合 2015 年版《中国药典》规定; 11 批断面特征(皮部颜色较深)不符合 2015 年版《中国药典》规定中, 除 S45 号因部分样品表现为皮部颜色较深导致浸出物含量中等偏下, 以及 S55 号因干枯, 导致浸出含量中等, 其余样品均表现



R. 对照图谱

图 8 样品(S10, S20, S31, S43, S19 号) HPLC 指纹谱

Fig. 8 Sample(S10, S20, S31, S43, S19) HPLC fingerprint

类, 故桔梗皂苷 E 以及其他成分在桔梗的药效方面也应有其一定的作用, 而 2015 年版《中国药典》中以桔梗皂苷 D 单一成分作为含量测定的依据, 以控制桔梗药材质量, 代表性不足。故建议桔梗质量标准中添加桔梗皂苷 E, 桔梗皂苷 D₃ 这两种高含量皂苷成分的测定, 或添加桔梗 HPLC 指纹图谱这一项, 以更全面、真实地控制桔梗质量。

3.6 各省份结果分析 58 批桔梗样品中, 浸出物含量为吉林省最高 23.8%, 湖南省最低 17.6%; 桔梗皂苷 D 含量为四川省最高 0.24%, 湖南省最低 0.12%; HPLC 指纹图谱相似度为河南省最高 0.934, 重庆市最低 0.740(由于甘肃省和云南省分别只收集到一批样品, 故不予以比较), 见表 3。综合比较, 四川省产桔梗样品浸出物含量、桔梗皂苷 D 含量及 HPLC 指纹图谱相似度三者均较高, 重庆市、湖南省产桔梗样品三者均较低。

为浸出物高, HPLC 指纹图谱相似度低、或桔梗皂苷 D 成分与其他成分含量差异较大。

研究发现, 虽样品性状不符合规定但仍为桔梗, 且其浸出物、含量测定基本符合规定有些含量还较高, 故应对 2015 年版《中国药典》性状描述进行补充, 且可进一步研究其性状与各成分含量的关系后, 以性状来大致体现药材质量以供挑选出优质桔梗药

材提供参考依据。

4.2 浸出物、桔梗皂苷 D 含量 58 批样品中浸出物不合格率为 29.31% ; 桔梗皂苷 D 含量不合格率为 10.34% ; 浸出物、桔梗皂苷 D 含量总不合格率为 36.20% , 故仅以两项标准判定 58 批样品中就有超 3 成不合格。桔梗皂苷 D 的含量高低受多种因素影响如产地(地理环境、气候条件), 生长年限, 采收时间, 不同干燥方法等^[17]。应深入对桔梗培植地的考察, 加强对采收年限、采收时间的控制, 以及统一药材干燥方法来保证桔梗药材质量。

4.3 桔梗 HPLC 指纹图谱 桔梗 HPLC 指纹图谱相似度有 4 批 < 0.500, 4 批在 0.500 ~ 0.800, 此 8 批因各共有峰面积较小或峰面积差异较大导致相似较低, 其余批次相似度均较高。中药指纹图谱是一种综合、可量化的鉴定手段, 故可弥补通过控制单一成分来控制药材质量的不足, 建议桔梗质量标准中添加桔梗 HPLC 指纹图谱这一项, 以更全面、真实地控制桔梗质量。

由研究结果可知, 不同产地之间性状有一定的差异, 不同产地之间浸出物、桔梗皂苷 D 含量差异较大, 不同产地桔梗药材所含各成分大致相同, 但在量方面有较大差异。不同气候条件, 土质、土壤酸碱度、施肥量及施肥比例, 年降水量均能影响桔梗的生长发育进而影响其各成分的含量从而产生地域差异性。本研究所测定的浸出物、桔梗皂苷 D 含量以及建立的 HPLC 指纹图谱, 以及三者及性状的比较研究, 可为筛选更优质的桔梗药材、新版《中国药典》标准的修订以及桔梗质量评价提供一定的参考依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 277.
[2] 刘群, 李伟, 郑毅男, 等. 桔梗中三萜皂苷类成分及药理活性研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2013, 35(2): 221-228.
[3] 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.

[4] 石俊英, 王颖, 巩丽丽, 等. HPLC 法测定桔梗不同部位、不同产地药材中桔梗皂苷 D 含量[J]. 山东中医药大学报, 2007, 31(6): 501-502.
[5] 金传山, 张伟, 桂双英, 等. 不同产地桔梗中桔梗皂苷 D 及总多糖的含量比较[J]. 安徽医药, 2014, 18(2): 246-249.
[6] 谭玲玲, 侯晓敏, 胡正海. 不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的测定[J]. 中草药, 2015, 46(11): 1682-1684.
[7] 李喜凤, 刘素梅, 李振国, 等. 桔梗的高效液相指纹图谱研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1341-1343.
[8] 杨海玲, 张振凌. 桔梗蜜炙前后指纹图谱的比较研究[J]. 海峡药学, 2015(8): 26-28.
[9] 李喜凤, 刘素梅, 李振国, 等. 桔梗的高效液相指纹图谱研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1341-1343.
[10] 曾金祥, 方香香, 朱继孝, 等. 不同产地桔梗皂苷成分 HPLC 指纹图谱比较研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(5): 1000-1006.
[11] 李文庭, 祝明, 马临科, 等. 桔梗的 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 50-53.
[12] 李喜凤, 杜云锋, 谢新年, 等. 不同产地桔梗药材 HPLC 指纹图谱及桔梗皂苷 D 含量测定研究[J]. 中成药, 2010, 32(4): 529-532.
[13] 黄娇, 姜登军. 多指标综合评价重庆不同产区桔梗药材的质量[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 389-393.
[14] WANG C, Schuller L G B, Lee E B, et al. Platycodin D and D₃ isolated from the root of *Platycodon grandiflorum* modulate the production of nitric oxide and secretion of TNF- α in activated RAW 264.7 cells [J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(8): 1039-1049.
[15] Shin C Y, Lee W J, Lee E B, et al. Platycodin D and D₃ increase airway mucin release *in vivo* and *in vitro* in rats and hamsters [J]. Planta Med, 2002, 68(3): 221-225.
[16] 李伟, 齐云, 王梓, 等. 桔梗皂苷体外抗肿瘤活性研究[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 37-39.
[17] 黄红慧. 桔梗的采收加工技术探讨[J]. 光明中医, 2013, 28(11): 2412-2413.

[责任编辑 顾雪竹]