

去皮与不去皮桔梗饮片的色谱鉴别

李丽,肖永庆*,于定荣,麻印莲,黄文倩,陈梁
(中国中医科学院中药研究所,北京 100700)

[摘要] 目的:建立去皮与不去皮桔梗饮片鉴别方法。方法:采用 TLC 和 HPLC,对去皮与未去皮桔梗饮片进行定性鉴别。结果:两种桔梗饮片的 TLC 图谱及 HPLC 图谱差异显著,未去皮桔梗饮片比去皮桔梗饮片多出 3 个斑点;HPLC 图谱显示两种饮片均含有 13 个共有峰,但未去皮桔梗比去皮桔梗多出 5 个色谱峰,可以用于两种饮片的鉴别。结论:建立的 TLC 和 HPLC 图谱鉴别方法简便易行,可有效地区分去皮与未去皮桔梗药材和饮片,丰富了桔梗饮片的质量评价方法。

[关键词] 桔梗;去皮饮片;不去皮饮片;色谱鉴别

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0066-03

Identification of Peeled and Unpeeled Pieces of *Platyeodon grandiflorum*

LI Li, XIAO Yong-qing*, YU Ding-rong, MA Yin-lian, HUANG Wen-qian, CHEN Liang
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a new method to identify the peeled and non-peeled pieces of *Platyeodon grandiflorum*. **Method:** TLC and HPLC chromatography were used to identification. **Result:** There have significant differences in two kinds of pieces. The non-peeled pieces have three extra spots more than the peeled pieces and the HPLC chromatography showed five extra peaks expect thirteen common peaks. **Conclusion:**

[收稿日期] 20111029(003)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(06-07ZQ20);国家科技重大专项项目(2009ZX09301-005-03)

[第一作者] 李丽,博士,助理研究员,从事中药炮制及中药化学研究

[通讯作者] *肖永庆, Tel:010-84040221, E-mail:x.heqi@163.com

表 2 样品测定(n=3) mg/支

批号	β -榄香烯含量
110701	3.2
110702	3.4
110703	3.1

用 β -ELE-PBCA-NP 胶体溶液中 β -榄香烯的含量测定方法^[4],以乙腈-水(90:10)为流动相,但制成冻干粉针后,由于加入了填充剂乳糖,造成 β -榄香烯色谱峰与乳糖引入的杂质峰分离不佳,经流动相多次筛选,采用甲醇-水(95:5)为流动相,供试品色谱中待测组分分离度良好。

采用本研究所建立的含量测定方法^[3,5],对冻干前的胶体溶液与纳米粒冻干针剂中 β -榄香烯均可以进行含量测定,冻干前后 β -榄香烯含量无明显

变化,表明冻干制剂工艺对其产品较为稳定。

[参考文献]

- [1] 花文峰,蔡绍晖. β -榄香烯抗肿瘤作用的基础与临床研究[J]. 中药材, 2006, 29(1):93.
- [2] 王博,袁子民,程岚. β -榄香烯聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的制备工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(3):474.
- [3] 王隶书,李阳,程东岩. HPLC 测定通栓冻干粉针中人参皂苷 Rb3 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(3):11.
- [4] 袁子民,王博,程岚. RP-HPLC 测定 β -榄香烯聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒中主药的含量[J]. 医药论坛杂志, 2010, 31(19):6.
- [5] 黄伟,崔光华,王玉丽,等. PicoGreen 荧光法结合茚三酮比色法测定 pDNA 壳聚糖纳米粒中 pDNA 的包封率和载药量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(2):226.

[责任编辑 顾雪竹]

The established method was simple, it could be used for evaluation of different pieces of *P. grandiflorum* more effectively. Meanwhile, it also enriches the quality evaluation method.

[**Key words**] *Platycodon grandiflorum*; peeled pieces; unpeeled pieces; chromatographic identification

桔梗为桔梗科植物桔梗的干燥根,是传统的祛痰镇咳中药^[1]。目前,对于桔梗饮片炮制方法的规定是可以去皮也可不去皮^[2-3],然而研究显示,桔梗药材各部位中均含有皂苷类成分^[4],如桔梗皂苷 D (platycodin D)、桔梗皂苷 A (Platycodin A)、桔梗皂苷 B 等,而且桔梗外皮中皂苷类成分的含量亦较高^[5],然而对于市场上流通的这两种加工方式制备的桔梗饮片,尚无简单快捷的鉴别方法,本文在进行桔梗饮片炮制是否有必要刮去外皮的探索中,专门对去皮与未去皮桔梗饮片进行了 TLC 和 HPLC 色谱鉴别方法的考察,为建立合理、有效的桔梗饮片质量评价方法提供了科学依据。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪 (Waters 2695 pump, Waters 2996 检测器, Empower 2 数据处理软件); KQ-100DE 型超声清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 甲醇、乙腈为色谱纯,水为纯净水,使用前均经 0.45 μm 滤膜滤过;其他试剂均为分析纯。

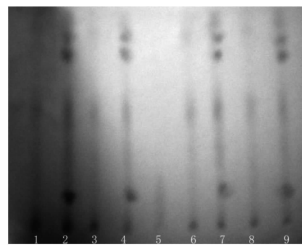
实验用桔梗药材采自山东沂源,经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别 取不同方法制备的桔梗饮片粉末各 2.0 g,分别加 70% 甲醇 50 mL 超声提取 2 次,每次 15 min,滤过,滤液蒸干,残留物以 2~3 mL 水溶解,上 D101 大孔树脂柱,分别以水、20% 乙醇、50% 乙醇各洗脱 50 mL,收集 50% 乙醇洗脱液,蒸干,残留物加甲醇 2.0 mL 使溶解,作为供试品溶液。照薄层色谱法 (附录 VI B) 试验,吸取上述两种供试品溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿-甲醇-水 (7:3:0.5) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰 (图 1)。

2.2 HPLC 图谱鉴别

2.2.1 色谱条件 Spursil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), phenomenex 保护柱 (柱芯 3 mm × 4 mm)。流动相 A 为甲醇-乙腈 (1:10), B 为 0.1% 磷酸溶液,梯度洗脱 (0~20 min, 16%~22% A, 流速 0.8 mL·min⁻¹; 20~40 min, 22%~31% A, 流速 0.8 mL·min⁻¹; 40~60 min, 31%~33% A, 流速 0.6



1,3,6,8 去皮桔梗饮片;2,4,7,9 未去皮桔梗饮片;5 桔梗皂苷 D

图 1 不同方法制备桔梗饮片 TLC 比较

mL·min⁻¹)。检测波长 206 nm,柱温 35 °C。此条件下去皮核未去皮桔梗中可检出 13 个共有峰。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取去皮和未去皮桔梗饮片粉末 (40 目) 各 2.0 g,加 50% 甲醇 50 mL,超声提取 15 min,滤过,滤液蒸干,残留物以 1~2 mL 水溶解,上 HP-20 型大孔吸附树脂柱 (内径 1.0 cm,长 15 cm),先后以水、20% 乙醇、50% 乙醇各 50 mL 洗脱,收集 50% 乙醇洗脱液,蒸干,以甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过微孔滤膜 (0.45 μm),即得。

2.2.3 流动相的选择 将供试品溶液注入液相色谱仪,分别以甲醇-水、乙腈-1% 磷酸、甲醇-1% 磷酸、乙腈-水和甲醇-乙腈-1% 磷酸等流动相进行测定,分析比较不同流动相测定图谱,结果以甲醇-乙腈-1% 磷酸为流动相测定所得图谱色谱峰较多,峰面积较大,各色谱峰分离度较好,因此将其确定为饮片测定的流动相 (图 2)。

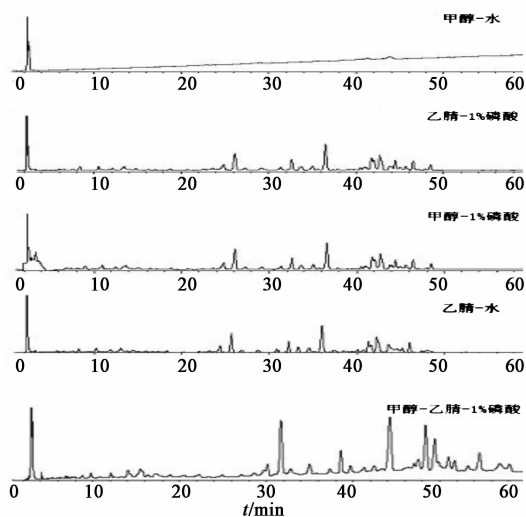


图 2 不同流动相桔梗的图谱比较

2.2.4 检测波长的选择 桔梗主要含有皂苷类成分,以 DAD 检测器对所有色谱峰进行 190 ~ 400 nm 波长扫描,比较了 206,210,254 nm 3 个波长的色谱峰,结果 206 nm 下色谱图基线平稳,色谱峰吸收度较高,因此确定 206 nm 为检测波长(见图 3)。

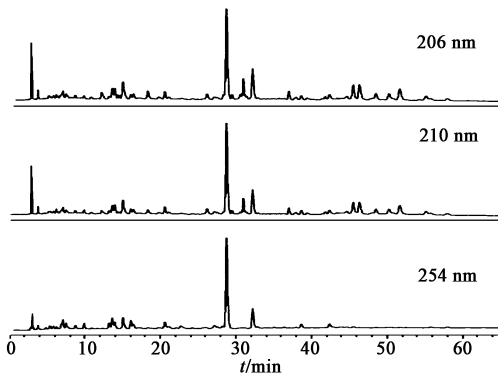


图 3 不同检测波长桔梗的图谱比较

2.2.5 样品测定 吸取上述供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,以方法学考察确定的流动相和检测波长进行去皮桔梗和未去皮桔梗饮片的分析比较(图 4)。

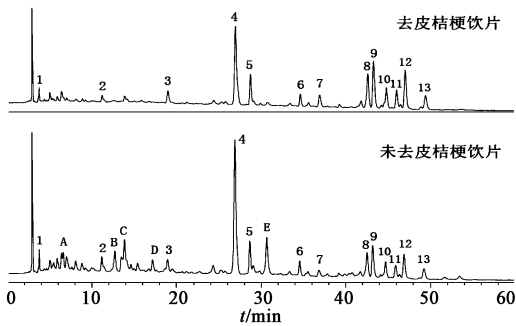


图 4 去皮与未去皮桔梗饮片的 HPLC 图谱比较

结果显示,去皮与未去皮桔梗 HPLC 图谱有显著差异,其中 1 ~ 13 号为两种饮片的共有峰,但未去皮桔梗饮片的各色谱峰面积均高于去皮桔梗饮片。另外,与去皮桔梗饮片相比,未去皮桔梗饮片中还多出 5 个色谱峰(A-E),可以作为两种饮片的 HPLC

图谱鉴别特征。

3 讨论

TLC 鉴别实验中,比较了氯仿-甲醇、氯仿-甲醇-水、正丁醇-醋酸-水等多种展开剂,最终以氯仿-甲醇-水(7:3:0.5)展开后,图谱中各斑点分离度较好,并能清晰地区别去皮与未去皮桔梗饮片。

在 TLC 鉴别的基础上,本文又对两种桔梗饮片的 HPLC 鉴别方法进行了考察。比较了甲醇-水,甲醇-磷酸水,乙腈-磷酸水,甲醇-乙腈-磷酸水等不同溶剂系统和不同流动相梯度,结果表明以甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液为流动相进行分析时,桔梗饮片各色谱峰分离较好。同时以 DAD 检测器进行了检测波长考察,比较 206,210,254 nm 的色谱图,发现波长为 206 nm 时基线较平稳,色谱峰数量较多且分离度较好,因此选择 206 nm 作为检测波长。

建立了去皮与未去皮桔梗饮片的 TLC 和 HPLC 色谱鉴别方法,该方法简便易行,并能够清晰地反映出两种不同方法炮制的桔梗饮片的异同点,不仅为规范桔梗饮片炮制方法提供了参考,也为不同桔梗饮片的质量评价提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] 雷载权. 中药学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995,23.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005:79.
- [3] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[S]. 北京:人民卫生出版社,1988:85.
- [4] 许传莲,郑毅南,杨腊虎,等. HPLC 法测定不同采收期及不同部位桔梗中桔梗皂苷 D 含量[J]. 吉林农业大学学报,2001,23(1):58.
- [5] 郭丽,肖永庆,张村,等. 桔梗饮片中桔梗皂苷 D 的定性定量方法研究[J]. 北京中医药大学学报,2007,30(3):200.

[责任编辑 顾雪竹]