

不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D的测定

谭玲玲¹, 侯晓敏¹, 胡正海^{2*}

1. 青岛农业大学生命科学学院 山东省高校植物生物技术重点实验室, 山东 青岛 266109

2. 西北大学生命科学学院, 陕西 西安 710069

摘要: 目的 建立测定桔梗 *Platycodon grandiflorum* 中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D的测定方法, 并准确测定我国不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D的量。方法 采用超声波甲醇提取法, 称重法测定桔梗总皂苷量; 采用HPLC法测定桔梗皂苷D量, 色谱条件: Waters Symmetry-C₁₈ 色谱柱, 流动相为乙腈-水 (22:78), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长为 210 nm, 柱温为 30 ℃。结果 不同产地的桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D量差别较大。在所测的桔梗药材中, 浙江产桔梗总皂苷量最高, 为 12.03%; 黑龙江、辽宁、安徽、山东、江西产桔梗总皂苷量均高于《中国药典》2005年版规定的 6%; 而其余各省的量均低于 6%, 最低的为河南, 其量仅为 1.57%。对于桔梗皂苷D来说, 云南产桔梗的量最高, 为 0.654%; 河北产桔梗的量最低, 为 0.017%。结论 建立的方法操作简便, 测定结果准确可靠, 可用于桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷D量的测定。在我国不同产地桔梗药材中, 桔梗总皂苷和桔梗皂苷D的量存在差异。同一药材中桔梗总皂苷与桔梗皂苷D的量, 未显示出相关性。

关键词: 桔梗; 桔梗总皂苷; 桔梗皂苷D; HPLC; 超声波甲醇提取法

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)11-1682-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.11.023

Determination of platycodin in *Platycodi Radix* from different habitats

TAN Ling-ling¹, HOU Xiao-min¹, HU Zheng-hai²

1. College of Life Science, Qingdao Agricultural University/Key Lab of Plant Biotechnology in Universities of Shandong Province, Qingdao 266109, China

2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China

Abstract: Objective To establish a method of the determination of total platycodin and platycodin D; And to determine the contents of total platycodin and platycodin D in *Platycodi Radix* from different habitats. **Methods** The content of total platycodin was determined by ultrasonic extraction and weight method; And the content of platycodin D was determined by HPLC. The chromatographic conditions were Waters Symmetry-C₁₈ column, mobile phase of CH₃CN-H₂O (22:78), flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength at 210 nm and column temperature 30 ℃. **Results** There was a greater difference between the contents of total platycodin and platycodin D in *Platycodi Radix* from different habitats. In measuring *Platycodi Radix*, the content of total platycodin in *Platycodi Radix* from Zhejiang Province was the highest, which was 12.03%; the contents in *Platycodi Radix* from Heilongjiang, Liaoning, Anhui, Shandong, and Jiangxi Provinces were more than 6%; However, the contents in *Platycodi Radix* from the other provinces were lower than 6%, and it was the lowest in *Platycodi Radix* from Henan province, which was 1.57%. The contents of platycodin D in *Platycodi Radix* from Yunnan province was the highest, and it was the lowest in *Platycodi Radix* from Hebei province. **Conclusion** The methods could be used for the determination of total platycodin and platycodin D in *Platycodi Radix* because of their simple operations with accurate and reliable results. The contents of total platycodin and platycodin D are different obviously in *Platycodi Radix* from different habitats, and the contents of total platycodin and platycodin D in the same drug with the level of inconsistency don't show correlation.

Key words: *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.; total platycodin; platycodin D; HPLC; ultrasonic extraction

桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 为 多年生草本植物, 其以根入药, 又被称作土人参、
桔梗科 (Campanulaceae) 桔梗属 *Platycodon* A. DC. 白药、和尚头等, 具有宣肺、利咽、祛痰、排脓等

收稿日期: 2014-12-16

基金项目: 山东省高等学校科技计划项目 (J11LC06); 山东省自然科学基金青年基金项目 (ZR2013CQ027)

作者简介: 谭玲玲 (1980—), 女, 山东威海人, 副教授, 博士, 主要从事药用植物学研究。E-mail: tanlingling80@163.com

*通信作者 胡正海 E-mail: zhenghaihu@sina.com

功效, 主治咳嗽痰多、胸闷不畅、咽痛音哑及肺病吐脓^[1], 广泛用于各种方剂中。

桔梗的原植物分布区域非常广泛。在我国桔梗产于华北、东北、华中、华东及西南地区。习惯上将产于吉林、辽宁、黑龙江、河北、山东、山西及内蒙古的商品桔梗称为“北桔梗”; 产于安徽、江苏、浙江的称为“南桔梗”; 产于四川的称为“川桔梗”^[2]。由于我国桔梗资源分布广泛, 产地的自然环境差异大, 故桔梗中主要药用成分桔梗皂苷的量存在差异, 从而导致各地桔梗的品质参差不齐, 因此科学地评价桔梗的质量十分有意义。本研究采用改进的称重法及 HPLC 法对全国 17 个不同省份的桔梗药材中的桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 量进行了测定, 旨在为桔梗质量标准的完善提供理论依据。

1 仪器、试剂和材料

1.1 仪器

菲恰尔 GL-16A 型离心机 (上海菲恰尔分析仪器有限公司); XMTD-2MA 型电热恒温水浴箱 (龙口市先科仪器公司); 303-2 型电热恒温干燥箱 (江苏省东台县电器厂); 美国安捷伦 Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (美国); DAD 检测器; Waters Symmetry-C₁₈ 型色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); BP221S 型电子天平 (Sartorius 公司); KQ-600KDE 型超声提取仪 (昆山市超声仪器有限公司); RE-52 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试剂

桔梗皂苷 D 对照品 (质量分数≥98%, 批号 20121105) 购自上海金穗生物科技有限公司; 甲醇 (色谱纯, 莱阳市康德化工有限公司); 乙醇 (分析纯, 天津市恒兴化学试剂制造有限公司); 乙醚 (分析纯, 烟台市双双化工有限公司); 正丁醇 (分析纯, 莱阳市康德化工有限公司)。

1.3 药材

桔梗药材购买于当地药房或药材市场, 药材来源见表 1。所有药材均由胡正海教授鉴定为桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.。

2 方法与结果

2.1 桔梗总皂苷的测定

精密称定样品粗粉 4 g 置于 50 mL 离心管中, 加入 40 mL 甲醇, 超声提取 50 min, 室温下 5 000 r/min 离心 10 min, 提取滤过液。重复 3 次提取离心, 合并 3 次滤液。滤液于电热恒温水浴箱上加热浓缩至 15~20 mL, 放冷, 加乙醚 50 mL, 振摇, 放置

表 1 样品来源及编号

Table 1 Sources and numbers of samples

编号	来源	编号	来源
1	江苏	10	江西
2	四川	11	安徽
3	河北	12	湖北
4	黑龙江	13	河南
5	辽宁	14	福建
6	陕西	15	宁夏
7	湖南	16	浙江
8	云南	17	山东
9	内蒙古		

澄清, 弃去上清液。沉淀分次加甲醇 (20、10、5 mL), 加热使沉淀溶解, 放冷, 滤过, 合并甲醇液。甲醇液加热浓缩至 15~20 mL, 放冷, 加乙醚 50 mL, 振摇, 同上法处理, 合并甲醇液, 置已事先干燥至恒重的蒸发皿中。将蒸发皿中甲醇液于加热恒温水浴箱中蒸发至干, 然后于电热干燥箱中干燥至恒定质量。蒸发皿前后质量之差即为桔梗总皂苷质量, 然后计算得出药材中桔梗总皂苷量, 结果见表 2。

2.2 桔梗皂苷 D 的测定方法

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Waters Symmetry-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水 (22:78); 检测波长 210 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 20 μL; 柱温 30 ℃; 分析时间 60 min。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒定质量的桔梗皂苷 D 对照品 4.33 mg, 加入甲醇 (色谱纯) 溶解后, 定容于 10 mL 量瓶中, 配制成质量浓度为 0.433 mg/mL 的对照品溶液, 备用。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取 4 g 桔梗样品粉末, 装入 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 甲醇, 超声提取 30 min。常压滤过后使用旋转蒸发器回收甲醇, 所得提取物加水 20 mL, 再加入 30 mL 乙醚脱脂, 水液以水饱和的正丁醇提取, 提取液利用旋转蒸发器蒸干。所得蒸干产物以甲醇 (色谱纯) 定容至 10 mL 量瓶中备用。

2.2.4 标准曲线的绘制 将 0.433 mg/mL 的对照品溶液分别稀释 3、8、16、64、128 倍, 配制为 144.0、54.0、27.06、6.77、3.38 μg/mL 的溶液, 分别吸入 20 μL 注入高效液相色谱仪进行测定, 以桔梗皂苷 D 质量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y=124.87 X-6.166 3$, $r=0.999 7$, 线性范围为 0.067 6~2.880 0 μg。

2.2.5 精密度试验 取桔梗皂苷 D 对照品溶液, 在上述色谱条件下进行测定, 连续进样 5 次, 每次进

样量为 20 μL , 结果峰面积的 RSD 为 3.91%。

2.2.6 重复性试验 取同一桔梗药材供试品(河南)5 份, 按“2.2.3”项下的方法制备样品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 结果其质量分数的 RSD 为 4.3%。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(辽宁)在室温下放置, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 按上述色谱条件进行测定, 结果其峰面积 RSD 为 2.1%。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知桔梗皂苷 D 量的样品(安徽)5 份, 准确加入等量的对照品, 按“2.2.3”项下的方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 结果平均回收率为 97.56%, RSD 为 1.412%。

2.2.9 样品溶液的测定 样品溶液过 0.45 μm 滤膜后, 分别吸取制备好的不同供试品溶液 20 μL , 在上述色谱条件下进行测定, 依据标准曲线来换算样品中桔梗皂苷 D 的量。HPLC 色谱图见图 1。桔梗皂苷 D 的测定结果见表 2。

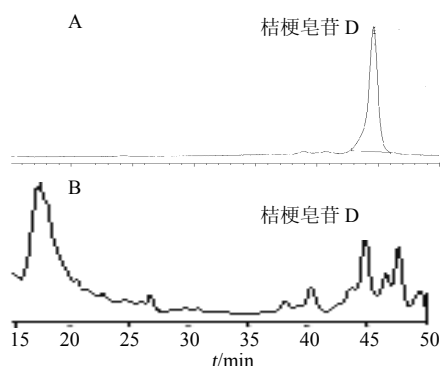


图 1 对照品 (A) 和供试样品溶液 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC of reference substances (A) and sample solution (B)

3 讨论

由测定结果可以看出: 不同产地桔梗药材中桔梗总皂苷的量差异较大。《中国药典》2005 年版规定桔梗药材中桔梗总皂苷的量不得低于 6%^[3], 而《中国药典》2010 年版已不将桔梗总皂苷的量作为质量控制标准。在测定的 17 个不同省份的桔梗药材中, 产自浙江的桔梗药材中桔梗总皂苷的量最高, 为 12.03%; 此外, 黑龙江、辽宁、安徽、山东、江西产桔梗药材中桔梗总皂苷的量依次减少, 但其量均大于 6%。而河北、四川、江苏、宁夏、内蒙古、陕西、湖南、云南、湖北、福建、河南的桔梗药材中桔梗总皂苷量均低于 6%, 河南的桔梗药材中桔梗总皂苷的量最低, 仅为 1.57%。

肖培根^[4]曾报道, 桔梗以东北、华北产量较大,

表 2 不同产地桔梗中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 量
Table 2 Contents of total platycodin and platycodin D in *Platycodi Radix* from different habitats

产地	桔梗总皂苷/%	桔梗皂苷 D/%
1	3.67	0.134
2	4.18	0.130
3	5.04	0.017
4	10.27	0.075
5	8.57	0.143
6	3.51	0.039
7	3.31	0.385
8	3.24	0.654
9	3.56	0.028
10	7.50	0.138
11	8.45	0.350
12	2.35	0.042
13	1.57	0.107
14	1.68	0.216
15	3.59	0.199
16	12.03	0.176
17	8.23	0.343

以华东地区产品质量较好。本实验结果显示, 浙江、黑龙江、辽宁、安徽、山东、江西的桔梗药材中桔梗总皂苷量均高于《中国药典》的规定, 其药材质量较好。对于桔梗皂苷 D 来说, 云南省的量最高, 为 0.654%, 为最低的河北省的 38.47 倍。《中国药典》2010 年版以桔梗皂苷 D 作为评价桔梗药材的质量标准, 其量不低于 0.10%^[1,5]。在测定的 17 个不同省份的桔梗药材中, 仅黑龙江、湖北、陕西、内蒙古和河北桔梗药材中桔梗皂苷 D 量低于此标准, 其量依次减少, 量最低的河北仅为 0.017%。

将桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 综合来看, 同一药材中桔梗总皂苷量高者, 其桔梗皂苷 D 量并不一定高, 反之亦然。两者在同一药材中未显示出相关性。因此, 不应单独用某一成分作为评价桔梗药材质量的标准, 应兼顾两者为宜。本研究建立的方法操作简便, 测定结果准确可靠, 可用于桔梗药材中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 量的测定。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 聂圣贤, 魏云. 四川与其他产区桔梗总皂苷量测定的比较 [J]. 华西药学杂志, 1997, 12(2): 129-130.
- [3] 石俊英, 董其亨, 巩丽丽, 等. 不同产地桔梗中总皂苷成分与质量的相关性研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(3): 247-250.
- [4] 肖培根. 新编中药志(第 1 卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [5] 笔雪艳, 刘晓凤, 张清波, 等. 桔梗药材及饮片的质量标准研究 [J]. 中医药信息, 2011, 28(6): 69-71.