

基于多指标成分定量结合化学计量学评价不同产地和不同采收期桔梗质量

刘 哲¹, 刘孟奇¹, 黄艳梅¹, 崔永霞¹, 薛淑娟¹, 孙孝亚¹, 张 旭¹, 侯亚迪¹, 陈随清^{1,2*}, 高 松³, 郭水柱³

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南省中药资源与中药化学重点实验室, 河南 郑州 450046

3. 仲景宛西制药股份有限公司, 河南 南阳 473000

摘要: 目的 采用多指标成分定量结合化学计量学方法对不同产地和不同采收期的桔梗 *Platycodon grandiflorum* 进行质量评价。方法 采用热浸法测定其醇溶性浸出物含量, 应用超高效液相-电喷雾检测器 (UPLC-CAD) 法同时测定桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 5 个活性成分含量, 揭示不同采收期桔梗化学成分含量动态积累规律。运用主成分分析法分别对不同生长年限、不同产地桔梗进行综合评价, 单因素方差分析比较不同产地桔梗各指标成分含量。结果 以春季 4 月、秋季 9~10 月、三年生为桔梗的最佳采收期。主成分分析、方差分析表明不同产地桔梗中指标含量存在显著性差异, 同一产地不同批次间也有区别; 根据主成分分析对不同产地桔梗进行综合评分, 排名靠前的产地为甘肃陇南及河南省地区, 陕西商洛、安徽亳州、内蒙古赤峰产地次之, 山东淄博和山西太原产地排名较后。结论 以多指标成分定量结合化学计量学建立的评价方法明确了桔梗最佳采收期, 评价了不同产地桔梗的质量, 为桔梗药材质量控制研究提供依据。

关键词: 桔梗; 产地; 采收期; 多指标成分; 化学计量学; 质量评价; 桔梗皂苷 D; 桔梗皂苷 D₃; 去芹糖桔梗皂苷 D; 桔梗皂苷 E; 去芹糖桔梗皂苷 E

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)13-4516-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.13.023

Quality evaluation of *Platycodon grandiflorus* from different origins and harvesting periods based on multi-component content and chemometrics

LIU Zhe¹, LIU Mengqi¹, HUANG Yanmei¹, CUI Yongxia¹, XUE Shujuan¹, SUN Xiaoya¹, ZHANG Xu¹, HOU Yadi¹, CHEN Suiqing^{1,2}, GAO Song³, GUO Shuizhu³

1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Henan Key Laboratory of Chinese Medicine Resources and Chemistry, Zhengzhou 450046, China

3. Zhongjing Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Nanyang 473000, China

Abstract: Objective To evaluate the quality of *Platycodon grandiflorum* from different origins and different harvesting periods by using multi-component content combined with chemometrics. **Methods** The content of alcohol soluble extract was determined by hot immersion method, and the contents of platycodon D, platycodon D₃, deapioplatycodin D, platycodon E, deapioplatycodin E were simultaneously determined by UPLC-CAD method, which revealed the dynamic accumulation regularity of chemical component content of *P. grandiflorum* in different harvesting periods. Principal component analysis was used to comprehensively evaluate *P. grandiflorum* from different growth years and origins, and One-way ANOVA was used to compare the content of various indicator components in *P. grandiflorum* from different origins. **Results** The optimal harvesting period for *P. grandiflorus* was April in spring, September to October in autumn, and three years old. Principal component analysis and One-way ANOVA showed significant differences in the content of indicator components among *P. grandiflorum* from different origins, as well as differences among different batches from the same origin. According to the comprehensive scores of *P. grandiflorum* from different origins based on the principal component analysis, the top-ranked origins were Longnan in Gansu and Henan Province, followed by Shangluo in Shaanxi, Bozhou in

收稿日期: 2023-11-03

基金项目: 河南省重大专项“道地宛药全产业链关键技术研究及应用”(221100310400); 河南省中药材产业技术体系(豫农科教[2018]14号)

作者简介: 刘 哲, 硕士研究生, 研究方向为中药品种整理与质量评价研究。E-mail: yylz1218@163.com

*通信作者: 陈随清, 教授, 博士生导师, 从事中药品种整理与质量评价研究。E-mail: suiqingchen0371@163.com

Anhui, and Chifeng in Inner Mongolia, and the bottom-ranked origins were Zibo in Shandong and Taiyuan in Shanxi. **Conclusion** The evaluation method, which was established by combining multi-component content and chemometrics, clarified the optimal harvesting periods of *P. grandiflorum*, distinguished the quality of *P. grandiflorum* from different origins, which can provide a basis for the quality control research of *P. grandiflorum*.

Key words: *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.; origin; harvesting period; multi-component; chemometrics; quality evaluation; platycodon D; platycodon D₃; deapioplatycodin D; platycodon E; deapioplatycodin E

桔梗为桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根, 具有开宣肺气、祛痰排脓之功效, 是临床常用的止咳祛痰中药^[1]。桔梗出产地较多, 主要分布在我国内蒙古、山东、安徽、河南等地, 此外还有朝鲜和日本等国家^[2]。其化学成分复杂, 含有皂苷、黄酮、多糖、酚酸和植物甾醇等多种类型化合物, 具有抗炎、抗氧化、降血糖、调血脂、抗肿瘤、免疫调节和抗肥胖等活性^[3]。药理研究表明三萜皂苷类成分是其活性成分, 具有镇痛、止咳祛痰、抗癌、提高机体免疫力等作用^[4]。桔梗不仅是利咽祛痰之要药, 同时作为功能性食品如桔梗泡菜、桔梗蜜饯、桔梗曲奇饼干等颇受欢迎^[5]。

药材质量的优劣, 涉及到药材的种质、栽培、采收、加工、产地等多个影响因素^[6]。目前桔梗采收期的现有研究指标成分少, 样本量不足^[7-10], 尚未有全面反映桔梗采收期化学成分含量变化规律的确切数据。亦有研究表明不同产地桔梗的品质存在一定的差异^[11-13]。《中国药典》2020 年版采用 HPLC-ELSD 测定桔梗皂苷 D 作为评价桔梗质量的质控指标, 但中药具有整体性, 发挥的药效往往是多成分的作用, 单一指标难以评价桔梗整体质量。研究表明, 桔梗皂苷 D 具有抗炎^[14]、抗癌^[15]、抗肥胖^[16]、抗纤维化^[17]作用。体外实验表明, 桔梗皂苷 D₃、桔梗皂苷 E 具有抗炎作用^[18], 去蔗糖桔梗皂苷 E 具有较强的抗氧化活性^[19]。代谢组学实验证明了去蔗糖桔梗皂苷 D 具有镇咳、祛痰活性^[20]。此外, 与蒸发光散射检测器 (ELSD) 相比, 电喷雾检测器 (CAD) 作为一种新型通用型检测器, 灵敏度更高、稳定性和重现性更好, 对测定紫外吸收较差的皂苷类成分有很好的效果^[21]。因此, 本实验测定 30 批不同采收期和 42 批不同产地桔梗的醇溶性浸出物含量, 利用超高效液相色谱-电喷雾检测器 (UPLC-CAD) 对上述皂苷类成分进行含量测定, 并结合化学计量学, 明确桔梗最佳采收期, 比较不同产地桔梗药材质量, 以期为桔梗的质量控制提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Thermo Vanquish 超高效液相色谱仪 (四元泵, CAD 检测器, 美国赛默飞世尔科技有限公司); KQ-500 DV 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); BT25S 型万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); MCA3.6P-2CCN-M 型百万分之一电子天平 (河南立畅仪器设备有限公司); FW 177 型中草药粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); Milli-Q Academic A 10 型超纯水机 (美国 Millipore 公司)。

1.2 材料

甲醇、乙腈 (美国 MREDA 公司, 色谱纯); 95%乙醇 (天津市富宇精细化工有限公司, 分析纯); 实验用水为超纯水; 桔梗皂苷 D (批号 MUST-23050714, 质量分数 98.71%)、桔梗皂苷 D₃ (批号 MUST-23031801, 质量分数 98.56%) 和桔梗皂苷 E (批号 MUST-23030712, 质量分数 99.17%) 对照品均购于成都曼思特生物科技有限公司; 去蔗糖桔梗皂苷 D (批号 wkq22110102, 质量分数 ≥ 98.0%) 和去蔗糖桔梗皂苷 E (批号 wkq23031012, 质量分数 ≥ 98.0%) 对照品均购于四川维克奇生物科技有限公司。30 批不同采收期桔梗样品信息见表 1。42 批不同产地桔梗的生长年限均为三年生, 样品信息见表 2。经河南中医药大学陈随清教授鉴定为桔梗科植物桔梗 *P. grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的根。所有采集的药材去皮、远红外烘箱 50 ℃ 烘干后置通风干燥处保存备用。

2 方法与结果

2.1 多指标成分的测定

2.1.1 混合对照品溶液的制备 取桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去蔗糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去蔗糖桔梗皂苷 E 对照品适量, 精密称定, 加入 10% 甲醇, 制成混合对照品溶液, 质量浓度分别为桔梗皂苷 D 0.527 1 mg/mL、桔梗皂苷 D₃ 0.310 0 mg/mL、去蔗糖桔梗皂苷 D 0.570 2 mg/mL、桔梗皂苷 E 0.500 1 mg/mL、去蔗糖桔梗皂苷 E 0.529 5 mg/mL。

表 1 不同采收期桔梗药材样品信息

Table 1 Sample information of *P. platycodon* at different harvesting periods

样品编号	产地	经度	纬度	采集时间	生长年限/年
Y1	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-09-24	1
Y2	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-10	1
Y3	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-28	1
Y4	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-13	1
Y5	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-29	1
Y6	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-12-14	1
Y7	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2023-02-08	1
Y8	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-02-23	1
Y9	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-03-13	1
Y10	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-04-04	1
L1	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-09-24	2
L2	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-10	2
L3	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-28	2
L4	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-13	2
L5	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-29	2
L6	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-12-14	2
L7	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-02-08	2
L8	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-02-23	2
L9	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-03-13	2
L10	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-04-04	2
S1	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-09-24	3
S2	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-10	3
S3	河南省桐柏县	113.410 4°	32.562 6°	2022-10-28	3
S4	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-13	3
S5	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-11-29	3
S6	河南省桐柏县	113.693 5°	32.533 8°	2022-12-14	3
S7	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-02-08	3
S8	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-02-23	3
S9	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-03-13	3
S10	河南省桐柏县	113.283 4°	32.454 5°	2023-04-04	3

表 2 不同产地桔梗药材样品信息

Table 2 Sample information of *P. platycodon* from different origins

样品编号	产地	经度	纬度	采集时间
XX1	河南省西峡县	111.118 5°	33.462 0°	2022-09-27
XX2	河南省西峡县	111.116 9°	33.464 5°	2022-09-27
XX3	河南省西峡县	111.366 6°	33.409 3°	2022-11-18
XX4	河南省西峡县	111.366 6°	33.409 3°	2022-11-20
XX5	河南省西峡县	111.592 2°	33.560 9°	2022-11-20
SX1	河南省嵩县	112.038 2°	33.775 0°	2022-09-28
SX2	河南省嵩县	112.023 0°	33.760 7°	2022-09-28
SX3	河南省嵩县	112.147 2°	33.788 3°	2022-10-07
SX4	河南省嵩县	112.216 7°	33.791 3°	2022-10-07
SX5	河南省嵩县	112.108 5°	34.113 5°	2022-10-10
CF1	内蒙古赤峰市	118.452 3°	42.124 9°	2022-11-17
CF2	内蒙古赤峰市	118.932 0°	42.288 3°	2022-11-17
CF3	内蒙古赤峰市	118.920 1°	42.288 6°	2022-11-14
CF4	内蒙古赤峰市	118.887 6°	42.256 8°	2023-07-08
CF5	内蒙古赤峰市	118.887 6°	42.256 8°	2023-07-08
BZ1	安徽省亳州市	115.778 6°	33.846 2°	2023-07-08
BZ2	安徽省亳州市	115.789 5°	33.820 3°	2023-07-08
BZ3	安徽省亳州市	115.792 5°	33.888 7°	2023-07-08
BZ4	安徽省亳州市	115.597 4°	33.226 2°	2023-08-04
BZ5	安徽省亳州市	115.590 6°	33.226 6°	2023-08-04
ZB1	山东省淄博市	118.140 2°	36.297 2°	2022-11-21
ZB2	山东省淄博市	118.140 2°	36.297 2°	2022-11-21

表 2 (续)

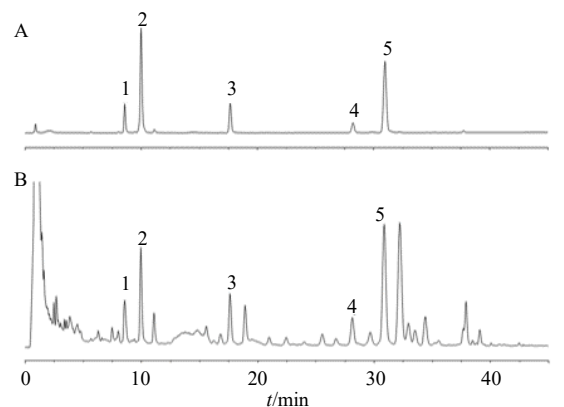
样品编号	产地	经度	纬度	采集时间
ZB3	山东省淄博市	118.123 3°	36.317 7°	2022-11-21
ZB4	山东省淄博市	118.120 0°	36.327 5°	2022-11-21
ZB5	山东省淄博市	118.120 1°	36.327 6°	2022-11-21
SL1	陕西省商洛市	109.976 7°	33.872 1°	2022-11-20
SL2	陕西省商洛市	107.545 7°	33.222 8°	2022-11-21
SL3	陕西省商洛市	109.918 6°	33.873 3°	2023-07-08
SL4	陕西省商洛市	109.918 6°	33.873 3°	2023-07-08
SL5	陕西省商洛市	109.918 6°	33.873 3°	2023-08-04
LN1	甘肃省陇南市	105.570 0°	33.679 8°	2022-10-24
LN2	甘肃省陇南市	105.570 0°	33.679 8°	2022-10-24
LN3	甘肃省陇南市	105.578 0°	33.643 2°	2022-10-26
LN4	甘肃省陇南市	105.568 7°	33.677 5°	2022-10-26
TY1	山西省太原市	112.549 6°	37.870 4°	2023-07-08
TY2	山西省太原市	109.918 6°	33.873 3°	2023-07-08
TY3	山西省太原市	109.918 6°	33.873 3°	2023-07-08
TB1	河南省桐柏县	113.213 2°	32.449 9°	2022-09-25
TB2	河南省桐柏县	113.313 8°	32.369 9°	2022-10-30
TB3	河南省桐柏县	113.342 5°	32.354 8°	2022-10-30
TB4	河南省桐柏县	113.313 9°	32.370 0°	2022-10-31
TB5	河南省桐柏县	113.435 0°	32.283 4°	2022-10-31

2.1.2 供试品溶液的制备 取桔梗样品粉末 2 g(过四号筛),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 10% 甲醇溶液 50 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用 10% 甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,过 0.22 μm 微孔滤膜,即得。

2.1.3 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为乙腈(B)-水(A),梯度洗脱:0~10 min, 20%~22% B; 10~30 min, 22%~25% B; 30~45 min, 25%~35% B; 体积流量 0.3 mL/min;柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; CAD 雾化器温度 70 $^{\circ}\text{C}$,载气(N₂)压力 413.69 kPa;进样量 2 μL 。混合对照品及样品的色谱图见图 1。

2.1.4 线性关系考察 精密称取桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 对照品适量,加入 10% 甲醇溶液制成质量浓度分别为 1.096 9、0.640 5、1.232 3、1.037 9、1.171 3 mg/mL 的溶液,分别逐步稀释至 2、4、8、16、32、64 倍系列浓度的对照品溶液。按“2.1.3”项色谱条件进样,以质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,结果见表 3。

2.1.5 精密度考察 精密称取桔梗样品 1 份,按“2.1.2”项下制备供试品溶液,并按“2.1.3”项色谱条件进样,重复进样 6 次,计算桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去



1-去芹糖桔梗皂苷 E; 2-桔梗皂苷 E; 3-桔梗皂苷 D₃; 4-去芹糖桔梗皂苷 D; 5-桔梗皂苷 D。
1-deapioplatycodin E; 2-platycoside E; 3-platycodin D₃; 4-deapioplatycodin D; 5-platycodin D。

图 1 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (B) 的 UPLC-CAD 色谱图

Fig. 1 UPLC-CAD chromatograms of mixed reference substances (A) and test solution (B)

芹糖桔梗皂苷 E 峰面积的 RSD 值分别为 0.32%、0.41%、1.65%、0.28%、0.38%。

2.1.6 重复性考察 精密称取桔梗样品,按“2.1.2”项下平行制备 6 份供试品溶液,每份供试品溶液按“2.1.3”项色谱条件进样,桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 质量分数的 RSD 值依次为 0.86%、1.15%、1.94%、1.86%、1.09%。

2.1.7 稳定性考察 精密称取桔梗样品 1 份,按

表 3 桔梗中 5 个活性成分的线性关系及范围

Table 3 Linear relationship and range of five active components in *P. grandiflorum*

成分	回归方程	R^2	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
桔梗皂苷 D	$Y=11.341 X-0.059 5$	0.999 2	0.017 6~0.525 1
桔梗皂苷 D ₃	$Y=22.444 X+0.044 1$	0.999 6	0.005 5~0.302 5
去芹糖桔梗皂苷 D	$Y=19.522 X+0.031 4$	0.999 7	0.012 2~0.569 6
桔梗皂苷 E	$Y=18.924 X+0.072 3$	0.999 6	0.006 3~0.492 2
去芹糖桔梗皂苷 E	$Y=15.568 X+0.041 9$	0.999 7	0.008 1~0.528 5

“2.1.2”项下制备供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1.3”项色谱条件进样，测得桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 峰面积的 RSD 值分别为 1.12%、0.57%、1.08%、1.24%、1.19%，表明此方法制备的供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.8 加样回收率试验 精密称取各活性成分含量已知的样品粉末 6 份，每份 1 g，按照样品含量的 1:1 分别加入桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 对照品，按“2.1.2”项下制备供试品溶液，并按“2.1.3”项色谱条件进行分析，计算 5 个活性成分的加样回收率。计算得桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗

皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 平均加样回收率分别为 99.17%、99.93%、100.85%、100.20%、99.81%；RSD 值分别为 0.87%、1.30%、1.95%、1.84%、1.61%。

2.1.9 样品含量测定 不同采收期和不同产地的桔梗样品按“2.1.2”项下制备供试品溶液，并按“2.1.3”项色谱条件进样，分别测定桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 的含量。浸出物含量测定参照《中国药典》2020 年版桔梗项下浸出物（通则 2201）测定方法^[1]。

由表 4 和图 2 可以看出，桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔

表 4 不同采收期桔梗样品中 5 种成分含量测定与浸出物含量测定结果 (n = 3)

Table 4 Results of content determination of five components and extractions in *P. grandiflorum* samples at different harvesting periods (n = 3)

样品编号	质量分数/%					浸出物
	桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 D ₃	去芹糖桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 E	去芹糖桔梗皂苷 E	
Y1	0.83	0.37	0.47	0.61	0.31	18.77
Y2	0.98	0.51	0.99	0.71	0.55	19.89
Y3	0.84	0.60	1.18	0.85	0.75	19.45
Y4	0.86	0.32	0.61	0.42	0.24	22.12
Y5	0.80	0.28	0.76	0.43	0.21	18.40
Y6	0.86	0.20	0.70	0.25	0.10	21.30
Y7	1.00	0.42	0.74	0.74	0.38	26.87
Y8	1.20	0.45	0.93	0.59	0.34	23.66
Y9	1.09	0.36	0.71	0.55	0.31	28.93
Y10	1.43	0.43	1.35	0.41	0.28	29.46
L1	1.00	0.40	0.58	0.65	0.35	19.09
L2	1.08	0.52	1.15	0.86	0.85	18.70
L3	0.97	0.53	1.11	0.84	0.92	21.26
L4	0.74	0.27	0.66	0.41	0.27	21.18
L5	0.81	0.22	0.57	0.33	0.16	18.68
L6	0.77	0.18	0.67	0.23	0.11	22.34
L7	0.78	0.33	0.51	0.63	0.32	26.69
L8	1.11	0.38	0.77	0.54	0.33	23.00
L9	0.77	0.31	0.49	0.58	0.32	29.43
L10	1.40	0.48	1.24	0.54	0.34	32.10
S1	1.08	0.45	0.72	0.68	0.38	20.97
S2	1.09	0.58	1.11	0.88	0.77	19.22
S3	1.00	0.58	1.22	0.84	0.92	23.27
S4	0.80	0.30	0.79	0.49	0.40	22.71
S5	0.84	0.23	0.50	0.37	0.23	19.62
S6	0.68	0.16	0.53	0.24	0.12	23.03
S7	0.54	0.24	0.36	0.52	0.26	27.08
S8	0.88	0.29	0.65	0.51	0.36	23.18
S9	0.50	0.23	0.30	0.44	0.25	31.35
S10	1.46	0.46	1.30	0.41	0.28	32.62

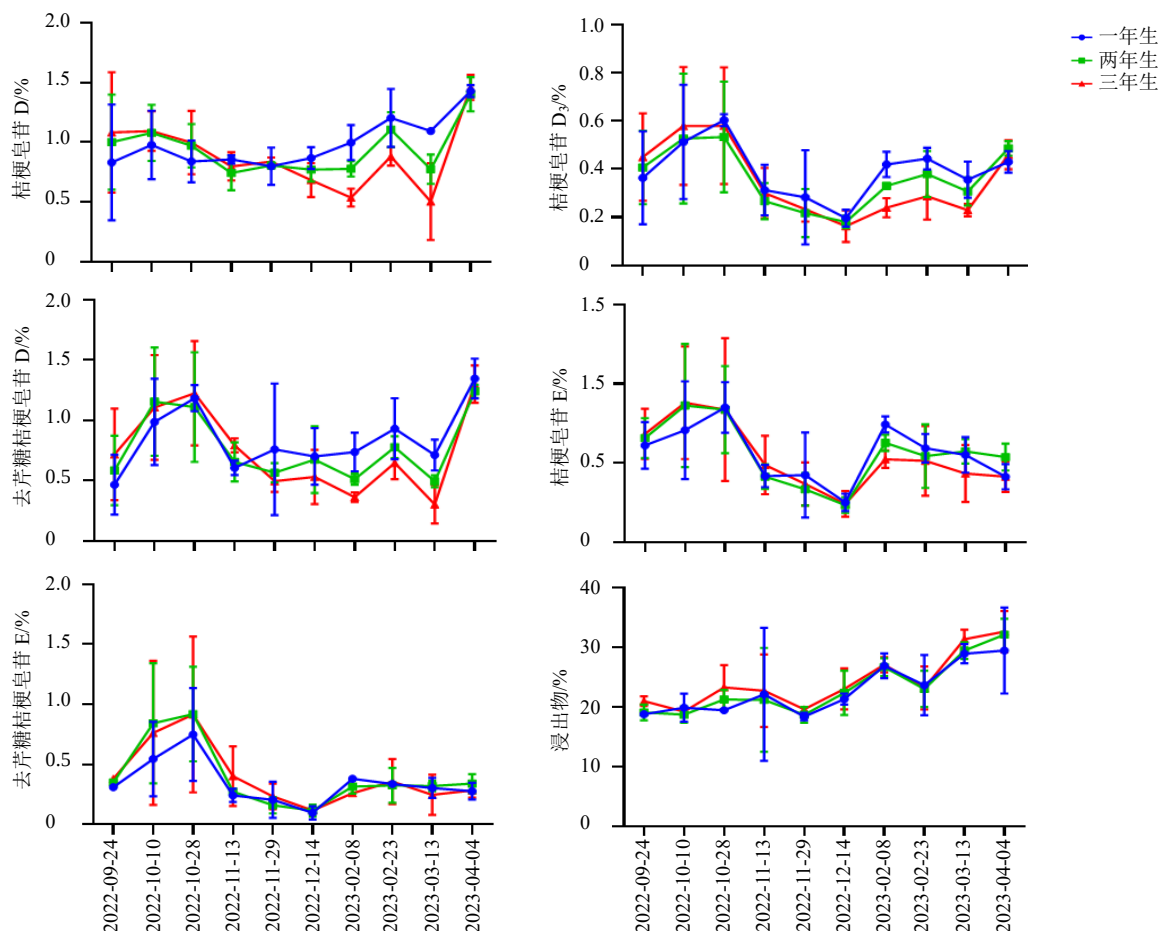


图 2 不同采收期桔梗化学成分含量动态积累图

Fig. 2 Dynamic accumulation of chemical components of *P. grandiflorum* at different harvesting periods

梗皂苷 E 的含量在 11~12 月样品中相比秋季 9~10 月样品下降幅度较大,分别平均达到 19%、52%、32%、54%、68%,且下降趋势在次年 2 月有所上升,之后在春季 4 月含量达到最高。推断是秋季地上部分枯萎时桔梗的有效成分开始聚集地下,此时适合有效成分的积累,随后在休眠期维持自身生长消耗了有效成分,导致含量降低;初春时植物开始萌发,根部贮存的大量营养物质还没有或刚开始分解,所以营养物质最丰富,有效成分含量最高。总体来看,不同采收期桔梗中各指标成分含量以春季 4 月、秋季 9~10 月相对较高。其中桔梗皂苷 D 的含量为 0.50%~1.46%,符合《中国药典》2020 年版规定(不得少于 0.10%)。

由表 5 可知,桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃ 在河南西峡中质量分数最高,分别达 0.86%~1.24%、0.31%~0.82%,山西太原中质量分数最低,分别达 0.45%~0.54%、0.09%~0.11%。桔梗皂苷 E 以河南桐柏最高。甘肃陇南去芹糖桔梗皂苷 D 和去芹糖桔梗皂苷 E 含量最高,与其他产地差异较大。醇

溶性浸出物含量中,以内蒙古赤峰最高,为 26.24%~36.04%,山西太原和河南桐柏(TB2、TB3)样品最低,分别为 14.92%~16.08%、14.00%~15.09%,且未符合中国药典规定(不得少于 17.0%)。由此可见,桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、桔梗皂苷 E 可作为河南产地的标志性成分;去芹糖桔梗皂苷 D 和去芹糖桔梗皂苷 E 可作为区分甘肃产地与其他产地的差异性成分;醇溶性浸出物可作为内蒙古产地的指标性成分。

2.2 化学计量学分析

2.2.1 不同生长年限桔梗主成分因子分析 由表 4 和图 2 知,不同生长年限的桔梗中各指标成分含量变化趋势基本一致,但同一采集时间不同生长年限的桔梗指标成分含量有所不同。为进一步明确桔梗的最佳生长年限,选择秋季 9~10 月作为一个整体,将不同生长年限桔梗样品中各指标成分平均值导入 SPSS 20.0 软件标准化处理后进行主成分分析,以特征值>1 为标准,提取到 2 个主成分,累积贡献率

表 5 不同产地桔梗样品中 5 种成分含量测定与浸出物含量测定结果 (n = 3)

Table 5 Results of content determination of five components and extractions in *P. grandiflorum* samples from different regions (n = 3)

样品编号	质量分数/%					浸出物
	桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 D ₃	去芹糖桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 E	去芹糖桔梗皂苷 E	
XX1	1.24	0.54	1.13	0.80	0.50	18.49
XX2	1.13	0.82	1.53	1.27	1.45	18.21
XX3	0.86	0.31	0.75	0.37	0.27	17.49
XX4	0.88	0.31	0.73	0.39	0.28	17.32
XX5	0.86	0.42	0.67	0.41	0.28	17.55
SX1	0.91	0.33	0.66	0.57	0.34	19.57
SX2	0.81	0.23	0.70	0.48	0.52	20.27
SX3	0.75	0.24	0.58	0.35	0.24	22.54
SX4	0.81	0.30	0.60	0.56	0.50	22.48
SX5	0.81	0.31	0.76	0.37	0.34	27.28
CF1	0.84	0.22	0.49	0.49	0.28	28.71
CF2	0.66	0.19	0.77	0.39	0.25	29.35
CF3	0.79	0.23	0.53	0.42	0.23	34.04
CF4	0.93	0.17	0.89	0.20	0.22	30.16
CF5	0.78	0.10	0.64	0.16	0.11	26.24
BZ1	0.79	0.31	0.57	0.43	0.31	23.94
BZ2	0.72	0.23	0.46	0.43	0.47	21.77
BZ3	0.72	0.21	0.45	0.27	0.20	26.87
BZ4	0.87	0.33	0.65	0.60	0.50	29.02
BZ5	0.85	0.30	0.67	0.59	0.49	29.05
ZB1	0.65	0.13	0.42	0.22	0.10	25.83
ZB2	0.56	0.12	0.38	0.17	0.11	19.19
ZB3	0.73	0.16	0.48	0.23	0.13	34.52
ZB4	0.87	0.19	0.59	0.22	0.11	35.37
ZB5	0.81	0.11	0.51	0.22	0.13	33.24
SL1	0.62	0.15	0.38	0.29	0.20	40.77
SL2	0.60	0.20	0.55	0.28	0.27	22.05
SL3	0.92	0.50	0.63	0.75	0.65	21.78
SL4	1.01	0.34	0.95	0.48	0.36	21.39
SL5	0.79	0.27	0.62	0.56	0.61	35.48
LN1	0.85	0.46	1.09	0.49	0.65	25.69
LN2	0.96	0.41	1.17	0.63	0.72	25.01
LN3	1.03	0.51	1.37	0.63	0.76	24.04
LN4	0.90	0.49	1.10	0.53	0.65	24.92
TY1	0.49	0.09	0.35	0.14	0.28	14.92
TY2	0.45	0.11	0.27	0.17	0.08	15.50
TY3	0.54	0.11	0.35	0.18	0.10	16.08
TB1	1.30	0.65	1.30	0.87	0.79	22.62
TB2	0.89	0.31	0.55	0.49	0.27	14.00
TB3	0.76	0.31	0.47	0.50	0.29	15.09
TB4	0.87	0.40	0.86	0.70	0.69	21.31
TB5	0.98	0.51	1.39	0.73	0.38	21.22

为 100%。第 1 主成分特征值为 4.985，方差贡献率为 83.078%，根据因子载荷矩阵反映各主成分与原始变量之间的相关系数，可知第 1 主成分主要反映了桔梗皂苷 D、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 的信息，表明其对第 1 主成分的影响较大，可为桔梗质量控制研究提供参考。第 2 主成分特征值为 1.015，方差贡献率为 16.922%，反映了桔梗皂苷 D₃、浸出物的信息。分析结果表明，桔梗的 2 个主成分可涵盖原有数据的绝大部分信息。以各主成分对应的贡献率为权重系数计算不同生长年限桔梗主成分综合得分（F₁ 为第 1 主成分得分，F₂ 为第 2 主成分得分，F 为综合得分），并进行排名，结果见表 6。综合得分排名依次为三年生、两年生、一年生。

2.2.2 不同产地桔梗指标成分的主成分分析 将不同产地桔梗样品的指标成分含量数据标准化处理后导入 SIMCA 14.1 软件，进行主成分分析。以主

表 6 不同生长年限桔梗的主成分因子得分和排名

Table 6 Principal component factor scores and rankings of *P. grandiflorum* with different growth years

生长年限	F ₁	F ₂	F	排名
一年生	-2.37	0.45	-1.90	3
两年生	0.32	-1.15	0.07	2
三年生	2.06	0.70	1.83	1

成分特征值大于 1 为标准，提取到 2 个主成分，第 1 和第 2 主成分的方差贡献率分别为 71.044%、16.664%，累积贡献率达到 87.708%，表明 2 个主成分可以概括绝大部分变量信息。如图 3 所示，可以较为明显区分不同产地的桔梗样品。此外，从图中发现西峡、商洛的部分批次样品分散较大，可能与光照、降雨量等气候因素有关。根据 2 个主成分的方差贡献率，以综合评价函数 $Y=0.71 Y_1+0.16 Y_2$ 对来自不同产地的 42 批次桔梗样品进行综合评分，结果见表 7。综合排名靠前的为甘肃陇南及河南省地区，其中河南西峡、桐柏、嵩县地理环境相似，桔梗的品质相对接近。

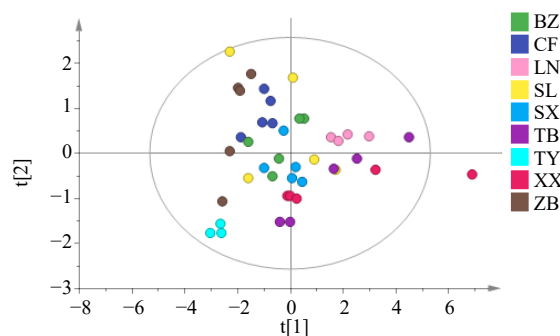


图 3 不同产地桔梗主成分得分图

Fig. 3 PCA score map of *P. grandiflorum* from different regions

表 7 不同产地桔梗的主成分得分和综合排名

Table 7 Principal component scores and comprehensive rankings of *P. grandiflorum* from different regions

产地	Y ₁	Y ₂	Y	排名
河南西峡	2.59	-0.82	1.71	2
河南嵩县	-0.02	-0.23	-0.05	4
内蒙古赤峰	-1.24	1.15	-0.70	7
安徽亳州	-0.31	0.35	-0.16	6
山东淄博	-2.44	1.00	-1.57	8
陕西商洛	-0.28	0.76	-0.08	5
甘肃陇南	2.73	0.45	2.01	1
山西太原	-3.28	-1.96	-2.64	9
河南桐柏	2.10	-0.68	1.38	3

2.2.3 不同产地桔梗指标成分的方差分析 采用 SPSS 20.0 软件对 9 个产地的桔梗样品中指标成分含量进行方差分析，并采用字母标记法进行显著性分析，结果由表 8 可知，不同产地桔梗各化学成分含量差异显著。桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃ 含量在河南西峡中最高，显著高于安徽亳州、山东淄博、陕西商洛、山西太原。河南桐柏的桔梗皂苷 E 含量最

高，显著高于内蒙古赤峰、山东淄博、山西太原。去芹糖桔梗皂苷 D 和去芹糖桔梗皂苷 E 含量以甘肃陇南最高，就去芹糖桔梗皂苷 D 含量而言，甘肃陇南显著高于除河南西峡和桐柏的其他各产地样品。内蒙古赤峰的醇溶性浸出物含量最高，显著高于河南西峡、嵩县、桐柏和山西太原。可以清晰地看出，以上指标成分含量在山西太原地区整体偏低。

表 8 不同产地桔梗各指标含量多重比较结果

Table 8 Multiple comparison results of various index content of *P. grandiflorum* from different origins

产地	质量分数/%					
	桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 D ₃	去芹糖桔梗皂苷 D	桔梗皂苷 E	去芹糖桔梗皂苷 E	浸出物
河南西峡	0.990±0.179 ^a	0.480±0.212 ^a	0.960±0.366 ^{ab}	0.650±0.391 ^a	0.560±0.509 ^a	17.810±0.508 ^{de}
河南嵩县	0.820±0.058 ^{abc}	0.280±0.044 ^c	0.660±0.073 ^{bc}	0.470±0.103 ^{abc}	0.390±0.119 ^{abc}	22.430±3.016 ^{bcd}
内蒙古赤峰	0.800±0.098 ^{abc}	0.180±0.052 ^{cd}	0.660±0.167 ^{bc}	0.330±0.144 ^{bcd}	0.220±0.065 ^{bc}	29.700±2.834 ^a
安徽亳州	0.790±0.07 ^{bc}	0.280±0.053 ^c	0.560±0.103 ^c	0.460±0.136 ^{abc}	0.390±0.133 ^{abc}	26.130±3.211 ^{ab}
山东淄博	0.720±0.124 ^c	0.140±0.033 ^{cd}	0.480±0.081 ^c	0.210±0.024 ^{cd}	0.120±0.013 ^c	29.630±6.952 ^a
陕西商洛	0.790±0.18 ^{bc}	0.290±0.137 ^{bc}	0.630±0.207 ^{bc}	0.470±0.197 ^{abc}	0.420±0.202 ^{abc}	28.290±9.170 ^{ab}
甘肃陇南	0.930±0.078 ^{ab}	0.470±0.043 ^a	1.180±0.130 ^a	0.570±0.071 ^{ab}	0.700±0.054 ^a	24.920±0.677 ^{abc}
山西太原	0.490±0.045 ^d	0.100±0.012 ^d	0.320±0.046 ^c	0.160±0.021 ^d	0.150±0.110 ^{bc}	15.500±0.580 ^c
河南桐柏	0.960±0.206 ^{ab}	0.440±0.145 ^{ab}	0.910±0.421 ^{ab}	0.660±0.162 ^a	0.480±0.24 ^{ab}	18.850±3.986 ^{cde}

同一列中, 字母不同表示有显著性差异 (* $P<0.05$)。

In the same column, different letters indicate significant differences (* $P<0.05$).

3 讨论

本研究所采用的 UPLC-CAD 梯度洗脱方法能够简便、高效地对桔梗中桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃、去芹糖桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、去芹糖桔梗皂苷 E 共 5 个活性成分含量同时测定。实验前期考察了超声时间、超声溶剂、料液比和药典筛的提取效果, 结果表明在粉末过四号筛, 料液比为 1:25, 10% 甲醇作提取溶剂提取 30 min 时对桔梗中皂苷类成分的提取率最高。同时进行了色谱条件优化, 考察不同的流动相、不同柱温, 结果显示流动相为乙腈-水, 柱温为 30 °C, 所得色谱峰峰形较好, 分离效果佳。

据古籍记载桔梗的采收时节主要以农历 2、8 月 (今春季 3 至 4 月、秋季 9 至 10 月)、味苦者入药为佳^[22-23]。本研究表明桔梗以春季 4 月、秋季 9~10 月、三年生 (苦味明显) 采收的质量最佳, 与传统理论相符。现代有研究^[24]报道了桔梗秋季最佳采收期为 9~10 月, 这与本研究结果一致; 此外指出了春季 5 月桔梗皂苷 D 的含量最高, 本研究结果表明, 春季 3~4 月桔梗中桔梗皂苷 D 含量明显升高, 上升趋势是否到 5 月本课题组将会继续进行深入探讨。《中国药典》2020 年版只规定了桔梗采收时间为春、秋二季, 并未对其生长年限进行规定。据报道发现桔梗生长年限与皂苷类成分及苦味有一定程度的正相关^[25-26]。课题组前期进行产地采样调查时发现, 药用桔梗栽培 2~3 年时味较苦至苦味明显。因此本实验以秋季 9~10 月为整体, 采用主成分因子分析对不同生长年限桔梗中多指标成分进行综合评价, 明确了药用桔梗的最佳生长年限为三年生。

这与李曾欣等^[27]得到药用桔梗生长年限不低于两年为佳的结论相符。

为全面评价桔梗的品质, 本研究采集了 42 批不同产地的三年生桔梗样品进行多指标成分含量测定, 结果表明不同产地桔梗中各指标含量有明显差异。河南西峡桔梗中桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 D₃ 含量最高, 桐柏次之; 河南桐柏桔梗中桔梗皂苷 E 含量最高, 西峡次之。因此, 这 3 种皂苷可以作为河南产地桔梗的标志性成分。去芹糖桔梗皂苷 D 和去芹糖桔梗皂苷 E 含量在各产地中差异较大, 均以甘肃陇南最高, 二者可视为区分甘肃产地桔梗与其他产地桔梗的差异性成分。醇溶性浸出物含量以内蒙古赤峰最高, 可作为该产地桔梗的指标性成分。同时, 本研究采用了主成分分析、方差分析法对不同产地的桔梗质量进行分析, 结果表明不同产地桔梗中指标含量存在显著性差异, 同一产地不同批次间也有区别。根据主成分分析对不同产地桔梗进行综合评分, 结果显示甘肃陇南及河南省地区桔梗质量较佳, 陕西商洛、安徽亳州、内蒙古赤峰桔梗质量处于中等水平, 山东淄博和山西太原桔梗质量排名较后。这种差异产生的主要原因可能是由于气候条件和地形地貌的差异, 桔梗有效成分在积累过程中受到了光照、温度、土壤因子、关键酶基因等影响, 不同产地桔梗皂苷类成分的主要合成途径发生了变化^[28]。

综上所述, 本实验采用多指标成分含量对不同产地和不同采收期桔梗的质量进行评价, 采集样本具有代表性且样本量更全, 研究数据更丰富, 并结

合化学计量学分析,对桔梗质量控制和临床用药具有重要指导价值,也为后续建立“质-效”关系评价其内在质量奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 289.
- [2] 郭静英, 易海燕, 郑郁清, 等. 基于“辨色论质”的百合制桔梗质量控制研究 [J]. 中草药, 2023, 54(1): 72-80.
- [3] 邓亚玲, 任洪民, 叶先文, 等. 桔梗的炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(2): 190-202.
- [4] Zhang L L, Huang M Y, Yang Y, *et al.* Bioactive platycodins from *Platycodonis Radix*: Phytochemistry, pharmacological activities, toxicology and pharmacokinetics [J]. *Food Chem*, 2020, 327: 127029.
- [5] 王馨悦, 王伟明, 王楠, 等. 桔梗功能性及其在食品开发中的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2022, 43(18): 199-206.
- [6] 孟祥才, 邓代千, 杜虹韦, 等. 高品质道地药材的科学内涵 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 939-947.
- [7] 张雪娟, 张欣, 王小莉, 等. 不同月份桔梗中桔梗皂苷 D 含量的比较 [J]. 山西农业科学, 2019, 47(10): 1722-1724.
- [8] 葛鼎, 王举涛, 桂双英, 等. 基于中药指纹图谱不同采收年限桔梗成分比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(1): 217-219.
- [9] 李心怡, 陈玲, 马逾英, 等. 不同栽培年限川桔梗中桔梗总皂苷和桔梗皂苷 D 的含量比较 [J]. 中国药房, 2018, 29(9): 1249-1252.
- [10] Matsuda K, Tanaka Y, Ozaki K, *et al.* Seasonal variation in the total saponin content of *Platycodon* roots cultivated in Japan [J]. *J Nat Med*, 2023, 77(1): 64-72.
- [11] 张迟, 黄戎婕, 曾金祥, 等. 不同产地桔梗 HPLC 指纹图谱及化学模式识别研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(8): 1269-1277.
- [12] Lu H Y, Ju M Z, Chu S S, *et al.* Quantitative and chemical fingerprint analysis for the quality evaluation of *Platycodi Radix* collected from various regions in China by HPLC coupled with chemometrics [J]. *Molecules*, 2018, 23(7): 1823.
- [13] 曾静凯, 郭青. 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 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 62-70.
- [14] Li P T, Huang Y, Wang J, *et al.* Platycodin D relieves rheumatoid arthritis by promoting apoptosis of mitochondria to inhibit activation of hedgehog pathway [J]. *Autoimmunity*, 2023, 56(1): 2205053.
- [15] Xu Q Q, Pan G Z, Wang Z L, *et al.* Platycodin-D exerts its anti-cancer effect by promoting c-Myc protein ubiquitination and degradation in gastric cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1138658.
- [16] Kim H L, Park J, Jung Y, *et al.* Platycodin D, a novel activator of AMP-activated protein kinase, attenuates obesity in db/db mice via regulation of adipogenesis and thermogenesis [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52: 254-263.
- [17] Lin Y C, Lin Y C, Kuo W W, *et al.* Platycodin D reverses pathological cardiac hypertrophy and fibrosis in spontaneously hypertensive rats [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(3): 537-549.
- [18] Lee H Y, Lee G H, Kim H K, *et al.* *Platycodi Radix* and its active compounds ameliorate against house dust mite-induced allergic airway inflammation and ER stress and ROS by enhancing anti-oxidation [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 123: 412-423.
- [19] Ryu C S, Kim C H, Lee S Y, *et al.* Evaluation of the total oxidant scavenging capacity of saponins isolated from *Platycodon grandiflorum* [J]. *Food Chem*, 2012, 132(1): 333-337.
- [20] 钟渊涵, 王玲珑, 邱自超, 等. 基于代谢组学的去芹糖桔梗皂苷 D 镇咳祛痰机制研究 [J]. 药学报, 2022, 57(10): 3186-3194.
- [21] 李心怡, 蒋运斌, 马逾英. 电喷雾检测器在药物 HPLC 分析中的优势及应用进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(15): 2152-2156.
- [22] 梁·陶弘景集. 尚志钧辑校. 名医别录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 152.
- [23] 清·陈嘉谟撰. 王淑民等点校. 本草蒙筌 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 83-84.
- [24] 许传莲, 郑毅男, 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): 58-60.
- [25] 张红燕, 张晓虎, 何军, 等. 商洛桔梗生长年限对化学有效成分皂苷含量的影响 [J]. 陕西农业科学, 2008, 54(6): 41.
- [26] 朱丽丽. 基于色谱和电子舌技术研究桔梗苦味物质的组成 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [27] 李曾欣, 许崇德, 韩文彬. 不同生长年限对桔梗质量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(9): 236-246.
- [28] 孙雨默, 程林, 韩梅, 等. 不同产地桔梗皂苷生物合成与土壤元素关系的研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4844-4852.

[责任编辑 时圣明]