

岩白菜药材质量标准研究

王桂影^{1,2}, 冯学锋³, 黄文华^{2*}, 张晶^{1*}, 郭宝林², 张清清^{2,4}, 刘丽茹^{2,4}

(1. 中国农业大学中药材学院, 长春 130056; 2. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 4. 北京中医药大学中药学院, 北京, 100102)

[摘要] 目的: 研究岩白菜药材的质量标准, 为新版《中国药典》提供可参考的数据资料。方法: 采用 2005 年版《中国药典》一部附录方法进行薄层色谱鉴别, 建立岩白菜药材中岩白菜素 HPLC 的含量测定方法。结果: 薄层色谱鉴别专属性强, 重复性好。在选定的高效液相色谱条件下岩白菜素同其他成分达到较好的基线分离, 平均回收率为 100.03%, RSD 为 0.56%, 规定药材岩白菜素的含量不得低于 8.2%。结论: 实验方法简单、快速、可靠, 能有效鉴别和评价岩白菜药材的质量。

[关键词] 岩白菜; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 岩白菜素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0038-03

岩白菜最早载于《分类草药性》, 具有滋补强壮、止血、止咳等功效, 外用治疗疮毒、疥癣^[1]。1977 年版《中国药典》一部和 1974 年版《云南省药品标准》均有收载^[2]。根据市场调查, 确定其药用部位为根状茎。依据《中国植物志》^[3], 云南岩白菜已被合并为岩白菜。因此, 本研究确定岩白菜药材来源为岩白菜 *Bergenia purpurascens* 的根状茎, 增订药典标准中没有的专属性 TLC 鉴别以及岩白菜素的含量测定, 为 2010 年版《中国药典》提供数据参考。

岩白菜素和熊果苷是岩白菜中最重要的 2 种多元酚类成分^[4-5], 岩白菜素被《中国药典》(2005 年版, 2 部) 收为镇咳祛痰药^[6], 故将岩白菜素作为岩白菜药材质量控制的指标性成分。

1 材料

1.1 仪器与试剂 Waters2690 型高效液相色谱仪 (Waters996 检测器, 自动进样器, Empower 色谱工作站); TP150 超声波清洗机 (250 W, 40 KHz, 昆山市超声仪器有限公司); Sartorius Bs223s 型电子分析天

平 (德国 sartorius 公司); 预制硅胶板 (青岛海洋化工厂分厂) 和自制硅胶板 GF₂₅₄, 规格 10 cm × 10 cm, 厚度 0.20 ~ 0.25 mm; 岩白菜素 (bergenin) 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111532-200202); 熊果苷 (arbutin) 对照品 (天津市尖峰天然产物研究开发有限公司, 批号 20080318B, HPLC 测其纯度 98%); HPLC 流动相中甲醇为色谱纯 (Merck 公司); 水为娃哈哈纯净水; 其它试剂均为分析纯。

1.2 药材 2008 年在国内主要中药材市场购买了 8 批次样品 (编号 B-1 ~ 6, 9, 11), 在云南丽江地区采集 1 个样品 (B-13), 从西藏自治区医药公司购买 1 个样品 (B-14)。经中国中医科学院中药研究所冯学锋研究员鉴定均为虎耳草科植物岩白菜 *B. purpurascens* 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别 取本品粉末 (过二号筛) 0.20 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 (功率 100 W, 25 KHz) 40 min, 放冷滤过, 取续滤液作为供试品溶液。另取岩白菜素和熊果苷对照品, 加甲醇分别制成浓度为 0.2 mg · mL⁻¹ 的溶液作为对照品溶液。按照薄层色谱法 (附录 B), 将供试品溶液和对照品溶液点于同一薄层板上, 点样量均为 5 μL, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇 (4:4:1.5) 为展开剂, 展开 2 次, 取出, 晾干, 再喷以 2% 三氯化铁溶液 - 1% 铁氰化钾溶液 (1:1) 的混合溶液, 供试品色谱中, 除 B-8 (仅有岩白菜素对应斑点) 其他样品均在与岩白菜素对照品、熊果苷对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.2 岩白菜素的含量测定

[收稿日期] 2010-03-09

[基金资助] 《中国药典》2010 年版一部品种质量标准修订 (Yz-219)

[作者简介] 王桂影, 硕士研究生, 研究方向天然产物与新药研发, Tel: (010) 62899728; E-mail: guiyingwang1985@163.com

[通讯作者] 黄文华, 硕士, 副研究员, 研究方向天然产物化学, Tel: (010) 62899728; E-mail: hwhzh69@sohu.com; 张晶, 女, 博士, 副教授, 研究方向天然产物与新药研发, Tel: (0431) 4533306; E-mail: zhjing0701@sina.com

2.2.1 色谱条件及系统适应性 Dikma Diamonsil C₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相甲醇-水(20:80); 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 275 nm; 室温; 进样量 10 μL。在选定的色谱条件下, 岩白菜素色谱峰的分离度大于 1.5, 理论塔板数大于 4000(图 1)。RSD 为 1.69%。

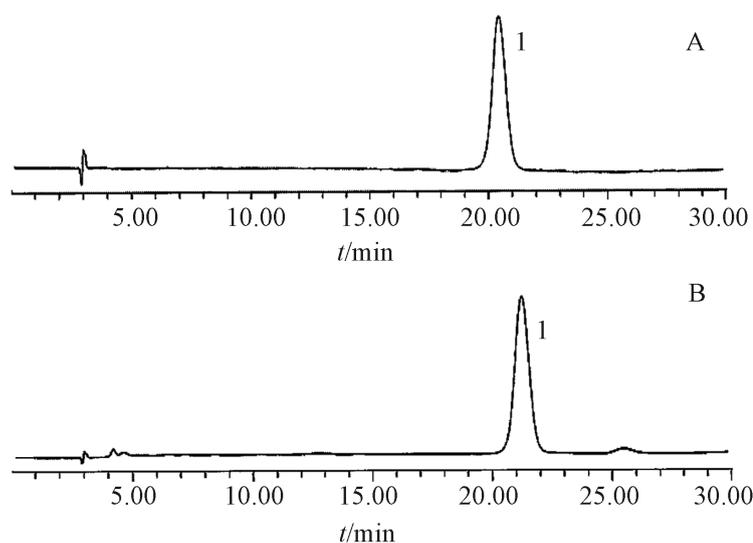


图 1 对照品及样品采用不同类型色谱柱分析的 HPLC 图谱
A. 对照品; B. 样品; 1. 岩白菜素

2.2.2 供试品溶液制备 精密称取岩白菜药材粉末(过 2 号筛) 0.20 g, 置 50 mL 量瓶中, 加 80% 的甲醇溶液适量, 超声处理(功率 100 W, 40 KHz) 40 min, 冷却, 加 80% 甲醇溶液定容至刻度, 摇匀, 静置, 取上清液过微孔滤膜(0.45 μm), 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 对照品溶液配制 精密称取岩白菜素对照品适量, 加 80% 甲醇溶解, 配制成每 1 mL 约含 0.4 mg 的对照品溶液。

2.2.4 线性关系考察 精密称取岩白菜素的对照品 5.23 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶液定容, 摇匀, 得对照品母液, 用移液管分别量取对照品母液 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 1.8, 2.0 mL 于 2.0 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇溶液定容至刻度, 分别取上述溶液 10 μL 进样, 以进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 3.85 \times 10^5 X - 7.59 \times 10^3$, $r = 0.9998$ ($n = 7$), 岩白菜素在 0.523 ~ 5.230 μg, 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 在上述色谱条件下, 重复进样 6 次, 峰面积的 RSD 为 1.54% ($n = 6$), 表明仪器进样精密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取同一药材粉末 7 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进行测定和分析, 结果岩白菜素的平均含量为

9.76%, RSD 为 0.29% ($n = 7$), 表明重复性好。

2.2.7 稳定性试验 精密称取同一份供试品溶液 10 μL, 分别于制备完成后 0, 2, 4, 6, 8, 10 h, 进样测定分析。结果供试品岩白菜素峰面积的 RSD 为 1.79% ($n = 6$)。表明供试品溶液在配制后 10 h 内稳定。

2.2.8 回收率试验 精密称取供试品 6 份, 于每份样品中加入适量岩白菜素对照品溶液, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 于上述色谱条件下进样分析, 结果见表 1。岩白菜素的加样回收率平均值为 100.03%, 其 RSD 为 0.56%。

表 1 岩白菜素加样回收率($n = 6$)

样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
8.745	8.606	17.286	99.24		
8.825	8.606	17.421	99.89		
8.772	8.606	17.354	99.72	100.03	0.56
8.799	8.606	17.414	100.11		
8.833	8.606	17.486	100.54		
8.703	8.606	17.373	100.75		

2.2.9 样品测定 取不同岩白菜药材样品, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液。HPLC 进样分析, 测定峰面积, 代入线性方程计算岩白菜素的含量, 测定结果见表 2。

表 2 岩白菜药材中岩白菜素含量($n = 3$)

No.	产地	含水量	岩白菜素 %
B-1	云南	10.82	10.72
B-2	云南	11.59	10.52
B-3	云南	11.27	12.45
B-4	云南大理地区	12.15	9.86
B-5	广西	10.08	10.63
B-6	广西	9.59	10.34
B-9	云南	9.73	9.72
B-11	云南	10.62	10.48
B-13	云南丽江地区	9.74	9.70
B-14	西藏日喀则地区	8.39	8.61
平均值			10.3

3 讨论

3.1 试验用药材样品的市场调查与收集 本研究为《中国药典》2010 年版一部品种质量标准修订项目内容之一。课题组先后到云南昆明菊花园中药材市场、安国、江西樟树、广州清水、广西玉林和四川荷

花池等药材市场进行市场调研。通过药材外观、形状鉴别以及岩白菜素含量测定,确定 B-7, B-10, B-12, 3 个全草样品为岩白菜药材的伪品;而 B-8 样本的岩白菜素含量与岩白菜药材的岩白菜素含量相当,但经过性状、显微和薄层色谱鉴别,其薄层板上只有岩白菜素的对应斑点,而无熊果苷斑点;HPLC 分析也未检测到熊果苷的色谱峰,确定为虎耳草科植物西南鬼灯檠 *Rodgersia sambucifolia* Hemsl. 的根茎。同时表明本试验建立的岩白菜药材 TLC 鉴别和 HPLC 测定具有一定的专属性。

3.2 样品提取条件的确定 本实验考察了不同溶剂(氯仿、石油醚、乙酸乙酯、乙醇、甲醇等)对岩白菜素提取率的影响,比较了不同浓度甲醇的提取试验,确定 80% 甲醇作为提取溶剂。超声提取和回流提取之间没有明显的差别,考虑到岩白菜素的热不稳定性的原因,故选用超声提取为供试样品溶液的提取方法。

试验同时对提取时间、提取次数、药材粒度等因素亦进行了考察,最终确定本文中的供试样品溶液制备的方法。

3.3 薄层条件的确定 通过比较多种展开剂系统 氯仿-甲醇-乙酸乙酯(4 1.5 4); 氯仿-石油醚-无水甲醇(5 5 4); 正丁醇-醋酸-水(5 2 1); 正丁醇-甲醇-乙酸乙酯-甲酸(6 1 6 1),其中展开剂和 都有较好的薄层色谱分离效果。

分别考察了低温条件(4℃,置冰箱中展开)、室温条件(温度 16℃~20℃,湿度 22%)、低湿条件(湿度为 20%)和高湿条件(湿度为 75%)对 TLC 的影响,结果表明:温度和湿度不影响岩白菜药材中岩白菜素和熊果苷的分离度。

3.4 不同岩白菜药材样品中岩白菜素含量研究 从表 2 测定结果可以看出,不同地域的岩白菜药材中岩白菜素的含量在 8.61%~12.45% 之间,按平均值的变幅在 ±20% 的范围内,故建议将岩白菜药材的岩白菜素含量规定为不得低于 8.2%。其中西藏产岩白菜含量较低,云南产岩白菜含量最高,但其差异不大,表明岩白菜中岩白菜素的含量受地域差异不明显,这与其他研究报道一致^[7-8],为岩白菜的人工驯化和栽培提供科学参考。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 科学技术出版社, 1986.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 345.
- [3] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 第 34 卷 2 册. 北京: 科学出版社, 1992: 28.
- [4] Chen Xin-min. Galloylarbutin, and other polyphenols from *Bergenia Purpurascens* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26 (2): 515.
- [5] 奥田拓男. 中国产药用植物的鞣质及有关多元酚类的研究-岩白菜的多元酚[J]. 国外医学·中医中药分册, 1987, 9(2): 58.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典平[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 278.
- [7] 纪兰菊. 西藏产两种岩白菜中岩白菜素的 HPLC 测定[J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 397.
- [8] 吕丽芬, 袁理春, 杨丽云, 等. 岩白菜和岩陀中岩白菜素含量的比较[J]. 中药材, 2008, 31(4): 488.

[责任编辑 顾雪竹]