

盘龙七药材的质量评价^{*}

郭琳^{1**} 徐悦² 李玉泽² 张东东² 黄文丽² 邓翀² 张丽⁴ 宋小妹^{2,3} 宋蓓^{1***}

(1. 陕西中医药大学第二附属医院, 陕西 咸阳 712000; 2. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046;

3. 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046; 4. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000)

摘 要:目的 对不同产地或批次盘龙七进行分析研究, 建立盘龙七的质量评价方法。方法 对盘龙七的植物形态、药材性状及显微特征进行鉴别; 通过薄层色谱法进行定性鉴别; 通过 HPLC 对岩白菜素、儿茶素及芦丁进行含量测定。结果 对盘龙七植物形态、药材性状及显微粉末特征进行了描述; 建立了盘龙七的薄层色谱鉴别方法, 该方法具有斑点清晰、分离度良好的优点, 并且具有较好的专属性; 根据 15 个批次盘龙七的含量测定结果, 岩白菜素、儿茶素、芦丁分别在 0.48~17.04、0.14~6.88、0.12~6.88 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率均大于 99%, RSD 均小于 2% ($n=6$)。结论 以上所建立的操作方法简便、重复性和专属性良好, 可用于盘龙七药材进行质量评价。

关键词:盘龙七; 质量评价; 岩白菜素; 儿茶素; 芦丁

中图分类号:R284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1340(2021)06-0061-06

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2021.06.014

盘龙七, “太白七药”之一, 别名石白菜、地白菜等, 其基原为虎耳草科岩白菜属 (*Bergenia*) 植物秦岭岩白菜 *Bergenia scopulosa* T. P. Wang 的干燥根茎, 在国内主产于陕西、甘肃、四川等地, 在陕西境内主要产于眉县、翠华山以及秦岭山区^[1-3], 一般生长在海拔 2500~3600 m 的湿润的峭壁悬崖缝隙中, 为我国特有种^[4-6]。盘龙七味涩、微苦, 性平, 具有滋补强壮、止血、祛痰止咳、补益脾胃、收涩固肠、利水活血、活血化瘀、祛风除湿、消肿止痛等功效, 临床上用于治疗急慢性肠胃炎、咳嗽、吐血、便血、肠炎、浮肿、崩漏、白带等症^[7]。近年来有很多学者对盘龙七的化学成分进行研究, 根据文献报道含有黄酮类、多酚类、香豆素类、萜醌类、甾体及有机酸类等^[7-11]。岩白菜素作为盘龙七的主要药效成分, 口服无毒, 具有良好的止咳、祛痰、抗菌、抗心律失常、抗氧化和提高免疫力等作用, 在临床上广泛应用于慢性支气管炎、慢性胃炎、胃溃疡和十二指肠溃疡等疾病的治疗^[12-17]。另外, 盘龙七

多糖具有免疫调节、抗肿瘤、抗衰老、抗凝血等作用, 且对机体毒副作用小^[18-20]。近年来的临床实验表明, 在治疗风湿性关节炎、慢性气管炎方面, 盘龙七具有一定的疗效, 还能增强免疫功能^[21]。本文从原植物形态、性状特征、显微特征等方面对盘龙七进行研究, 建立了其薄层色谱鉴别方法及 HPLC 含量测定方法, 为补充及完善盘龙七药材质量标准提供了重要依据。

1 材料

显微镜 DMBH200(宁波舜宇仪器有限公司); 微型计算机(型号: 启天 M430E; 批号: P560A2717044; 北京联想有限公司); Waters e2695 型高效液相色谱仪(包括自动进样器, 四元泵, 柱温箱, 2998PDA 检测器); 微型计算机(型号: 启天 M4500-M00); 101-A4 型电热鼓风干燥箱(上海捷呈实验仪器有限公司); GB204 电子天平(瑞士梅特勒托利多); 舒美 KQ-500DE 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); KEWE 电热恒

^{*} 基金项目: 陕西省科学技术厅重点研发计划项目(2018SF-324); 陕西省重点研发计划项目(2019ZDLSF04-03-02); 陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-YL12)

^{**} 作者简介: 郭琳, 大专, 副主任护师。研究方向: 主要从事中药临床观察研究。E-mail: fanshaomin@sohu.com

^{***} 通讯作者: 宋蓓, 在读博士研究生。E-mail: songbei168@126.com

温水浴锅(北京科伟永兴有限公司);DYF-200A 型高速万能粉碎机(上海比朗仪器有限公司)。

岩白菜素(批号:HA06214198)、儿茶素(批号:HC019123198)、芦丁(批号:100080-200306)以上对照品均购自中国食品药品检定研究院,纯度均大于 98%,没食子酸(实验室自制,经高相液相色谱按面积归一化法测定其纯度均大于 98%);甲醇为色谱纯(天津市科密欧化学试剂有限公司),水为娃哈哈纯净水。

盘龙七 15 批药材中 14 个均采自陕西,只有一个批次采自甘肃。经陕西中医药大学王继涛高级实验师鉴定为虎耳草科岩白菜属(*Bergenia*)植物秦岭岩白菜 *Bergenia scopulosa* T. P. Wang 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 植物形态 秦岭岩白菜为多年生草本,高 5~50 cm。全株平滑无毛。根茎粗壮,延伸,直径 2.5~4 cm,沿石壁缝隙匍生,半暴露;密被栗黑色鳞片和叶柄鞘的残余。叶基生,叶柄长 1.5~13 cm,托叶鞘无毛;叶片近肉质,有光泽,圆形或宽卵状圆形,长 5~25 cm,宽 3~22 cm,先端钝圆,基部近圆形或略作楔形,边缘具锯齿或不明显齿,有时近全缘,两面具腺窝;叶脉明显。花茎长 10~20 cm,光滑,中部以上具 1 披针形苞叶;圆锥状聚伞花序顶生,具多数花,分枝,几先叶开放;花萼钟状,5 深裂,紫红色,多脉,花瓣 5,有深紫色脉纹,先端钝,基部有爪;雄蕊 10,子房卵球形,无毛,基部 2 室,花柱 2,柱头大,盾状。蒴果 2 瓣裂。花期 4~5 月,果期 7~8 月。(图 1)



图 1 盘龙七原植物——秦岭岩白菜

2.2 药材性状 根茎近圆柱形,略弯曲,一端稍细,直径 0.6~4 cm。表面灰棕色至黑褐色,具密

集或疏而隆起的环节,密被褐色鳞片及残存叶鞘,并可见棕红色细根痕。质坚硬,难折断,断面棕红色,略显粉性,近边缘处有一圈维管束环列。气微,味微苦。(图 2)



图 2 盘龙七药材图

2.3 显微鉴别 本品粉末为浅褐色、棕红色或浅棕色。淀粉粒众多,均为单粒,类圆形、类椭圆形或梨形,脐点和层纹不明显;含众多草酸钙簇晶和少许草酸钙柱晶;导管微木化,多为网纹导管、螺旋纹导管和梯纹导管,有较少环纹导管和孔纹导管;木栓细胞表面观多边形,薄壁细胞类椭圆形;含有少量纤维束和较多棕色块。(图 3)

2.4 薄层鉴别 精密称取盘龙七粉末约 1.0 g,加甲醇 25 mL,超声提取 45 min(功率 250 W,频率 60 kHz),滤过,残渣加适量甲醇冲洗,滤液定容至 25 mL,作为供试品。另取岩白菜素、儿茶素、没食子酸加甲醇制成 1.5 mg·mL⁻¹ 溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液 6 μL,对照品溶液岩白菜素、儿茶素、没食子酸分别为 6 μL、2 μL、2 μL 点于同一薄层层析硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水-甲酸(6.5:3.5:0.9:0.1)下层液作为展开剂展开,取出,晾干,碘熏,置于日光下观察。可见供试品色谱中,在与对照品色谱相对应的位置上,显相同颜色的斑点。结果如图所示(图 4)。

2.5 含量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱为 Thermo HyPURITY C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);柱温为 30℃;检测波长为 275 nm;流速为 1 mL·min⁻¹;进样量:10 μL;流动相:乙腈(A)-水溶液(B),梯度洗脱(0~12 min,5% A~11% A;12~15 min,11% A~15% A;15~20 min,15% A~16% A;20~25 min,16% A~16% A;25~28 min,16% A~19% A;28~34 min,19% A~19% A;34~45 min,19% A~

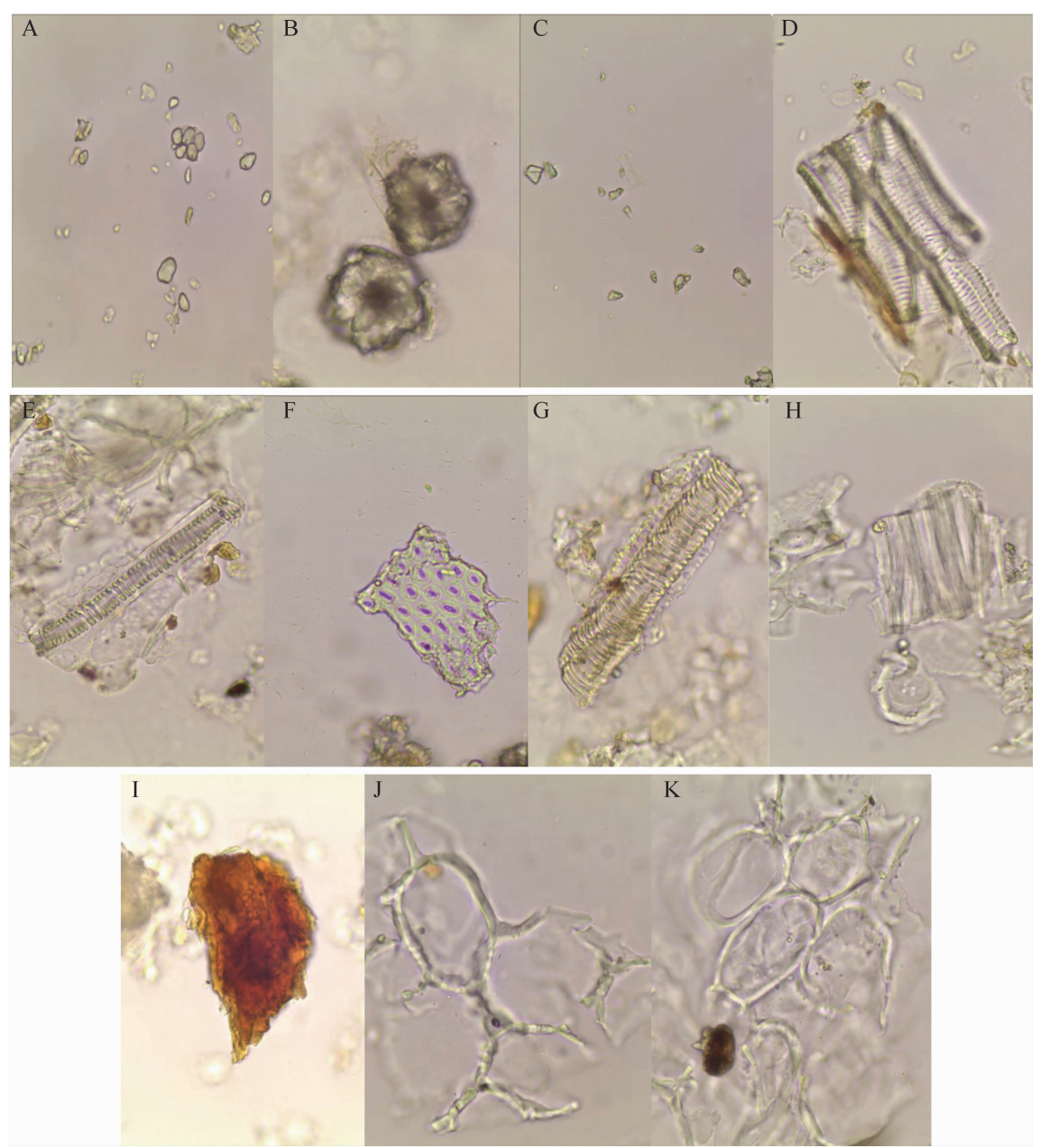
20% A)。

2.5.2 对照品溶液制备 分别精密称取岩白菜素、儿茶素、芦丁的对照品适量,加甲醇分别制成 $0.325\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.275\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $0.275\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液,即得对照品溶液。

2.5.3 供试品溶液制备 精密称取盘龙七粉末约 0.5 g ,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 20

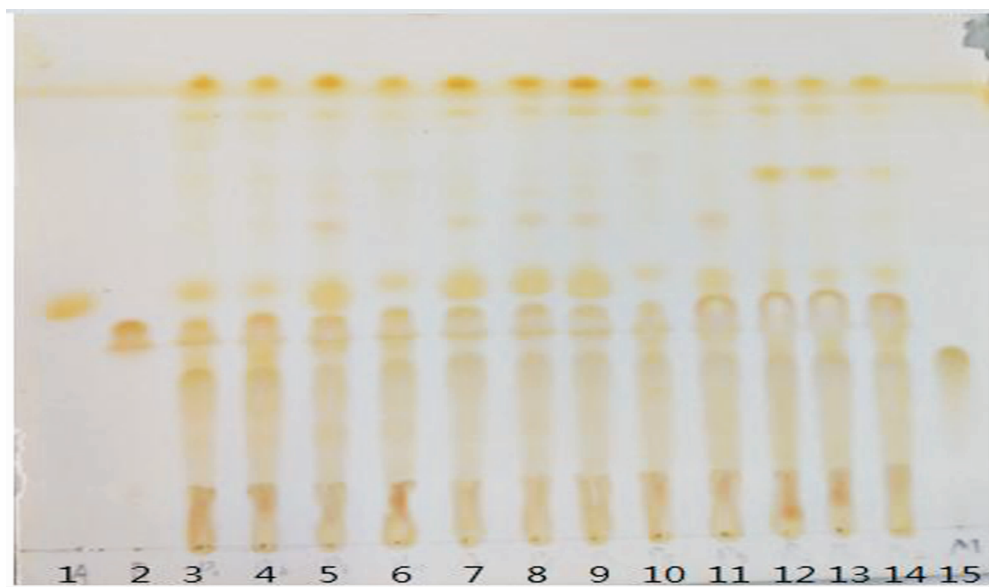
mL ,称重,超声处理(功率 250 W ,频率 60 kHz) 45 min ,放冷,称重,用甲醇补足重量,用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,滤液作为供试品溶液,即得。

2.5.4 专属性试验 精密吸取“2.5.2”、“2.5.3”项下对照品溶液和供试品溶液各 $10\text{ }\mu\text{L}$,注入液相色谱仪测定,结果见图5。分离度大于 1.5 ,说明基线分离良好。



A 淀粉粒(starch grains);B 草酸钙簇晶(calcium oxalate cluster crystal);C 草酸钙方晶(calcium oxalate);D 梯纹导管(scalariform vessel);E 螺旋纹导管(spiral vessel);F 孔纹导管(pitted vessel);G 环纹导管(ringed vessel);H 纤维束(fiber bundle);I 棕色块(brown block);J 薄壁细胞(parenchyma cells);K 木栓细胞(cork cell)

图3 盘龙七粉末显微特征图(×40)



1. 儿茶素 (catechin); 2. 岩白菜素 (pbergenin); 3-14 样品 (sample): 3. 陕西太白山 (Mountain Taibai of Shaanxi); 4. 陕西红河谷 (Red River of Shaanxi); 5. 陕西太白山 (Mountain Taibai of Shaanxi); 6. 陕西眉县 (Mei County of Shaanxi); 7. 甘肃陇南 (Longnan city of Gansu); 8. 陕西汉中 (Hanzhong County of Shaanxi); 9. 陕西红河谷 (Red River of Shaanxi); 10. 陕西眉县 ((Mei County of Shaanxi); 11. 陕西红河谷 (Red River of Shaanxi); 12. 陕西红河谷 (Red River of Shaanxi); 13. 陕西太白山 (Mountain Taibai of Shaanxi); 14. 陕西红河谷 (Red River of Shaanxi); 15. 没食子酸 (gallic acid)

图 4 盘龙七药材及对照品薄层色谱图

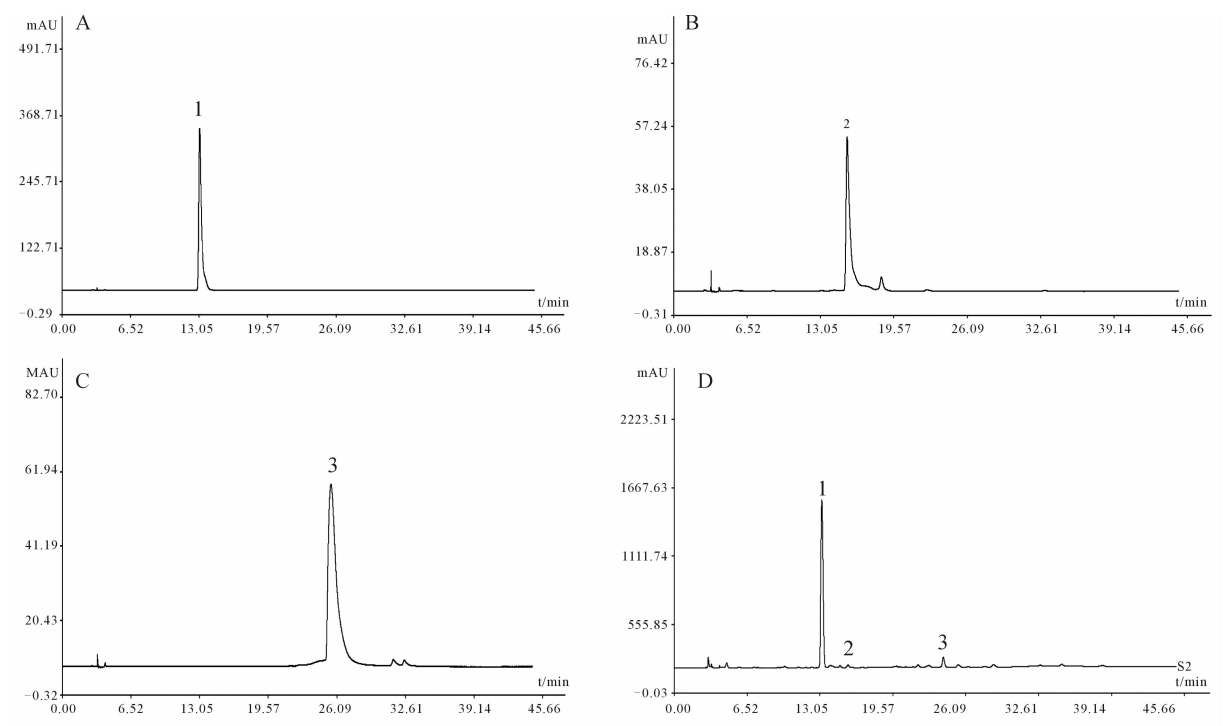


图 5 对照品(A:岩白菜素、B:儿茶素、C:芦丁)及样品(D:盘龙七)的 HPLC 色谱图

2.5.5 线性关系考察 取“2.5.2”项下对照品溶液适量,用甲醇溶液依次稀释,分别进样 10 μ L,按“2.5.1”项下色谱条件测定岩白菜素、儿茶素、芦丁的峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标,以对照品质

量(X, μ g)为横坐标,得回归方程和线性范围,同时以仪器的信噪比 S/N 为 3 时测定检出下限 (LOD),S/N 为 10 时测定定量下限 (LOQ),结果见表 1。

表 1 线性关系

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/(μg)	定量限/(μg)	检测限/(μg)
岩白菜素	$Y=1.681\times10^6X+97808$	0.9999	0.48~17.04	0.0015	0.0051
儿茶素	$Y=3.970\times10^5X-12811$	0.9998	0.14~6.88	0.0118	0.0395
芦丁	$Y=1.085\times10^6X-304342$	0.9996	0.12~6.88	0.0106	0.0352

2.5.6 精密度试验 取同一供试品溶液,照“2.5.1”项下色谱条件,重复进样 6 次,测定岩白菜素、儿茶素、芦丁峰面积的 RSD 分别为 1.84%、1.65%、1.04%,结果表明本法精密度良好。

2.5.7 稳定性试验 取同一供试品溶液于 0、2、4、8、12、18、24 h 内重复进样 6 次,照“2.5.1”项下色谱条件测定岩白菜素、儿茶素峰、芦丁峰面积的 RSD 分别为 1.12%、1.08%、1.47%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.8 重复性试验 取同一批号样品,平行称取 6 份,按“2.5.3”项下方法制备供试品溶液,照“2.5.1”项下色谱条件测定岩白菜素、儿茶素、芦

丁峰面积的 RSD 分别为 1.87%、1.49%、1.82%,结果表明本法具有较好的重复性。

2.5.9 加样回收试验 精密称取已知含量的样品粉末约 0.25 g,共 6 份,精密加入对照品溶液,按供试品溶液制备方法操作。在上述色谱条件下进行测定,计算平均回收率。结果岩白菜素、儿茶素、芦丁的平均回收率及 RSD 分别为 99.74% (0.42%)、99.21% (1.15%)、99.33% (1.01%)。

2.5.10 样品含量测定 取 15 个不同产地的盘龙七样品,按“2.5.3”项下方法制备样品溶液,按“2.5.1”项下色谱条件进行测定,结果见表 2。

表 2 样品含量测定(mg·g⁻¹,*n*=3)

编号	药材来源	采集时间	岩白菜素	儿茶素	芦丁
盘龙七 1	陕西太白山	2017-08	9.860	2.205	2.551
盘龙七 2	陕西太白山	2017-08	7.254	3.819	7.441
盘龙七 3	陕西太白山	2018-10	59.200	3.828	4.099
盘龙七 4	陕西红河谷	2018-10	51.750	0.839	3.743
盘龙七 5	陕西红河谷	2018-10	57.127	2.927	2.290
盘龙七 6	陕西红河谷	2018-10	45.405	2.704	2.604
盘龙七 7	陕西汉中	2017-08	18.159	0.678	1.527
盘龙七 8	陕西眉县	2017-08	5.816	1.482	3.247
盘龙七 9	甘肃陇南	2018-10	38.101	13.242	14.173
盘龙七 10	陕西眉县	2018-10	12.016	13.319	20.577
盘龙七 11	陕西眉县	2018-10	12.493	12.814	19.842
盘龙七 12	陕西太白山	2017-08	9.971	8.085	10.818
盘龙七 13	陕西眉县	2018-10	12.040	2.511	5.928
盘龙七 14	陕西红河谷	2018-10	59.496	8.052	4.838
盘龙七 15	陕西汉中	2018-10	67.982	7.988	5.090

3 讨论

盘龙七始载于《陕西中草药》,在《秦岭巴山天然药物志》《华山药物志》《中药大辞典》等均有记载。本文从植物形态及药材性状,结合多次在陕西、甘肃等地进行产地调查,“盘龙七”为虎耳草科岩白菜属植物秦岭岩白菜 *Bergenia scopulosa* T. P. Wang 的干燥根茎,古今所用品种一致。

3.1 薄层色谱展开剂的选择 在进行盘龙七中岩白菜素、儿茶素、没食子酸的鉴别时,分别考察了三氯甲烷-甲醇-水、三氯甲烷-甲醇-甲酸、三氯甲烷-甲醇-丙酮-水等不同展开系统,经过反复实验,最终选用三氯甲烷-甲醇-水-甲酸(6.5:3.5:0.9:0.1)下层溶液作为展开剂,碘熏后,具有分离度好、斑点清晰等特点,可用于盘龙七药材的鉴定。

3.2 含量测定检测条件的选择 通过考察不同比例甲醇-水、乙腈-水对盘龙七化学成分的分离效果,结果显示使用乙腈-水溶剂的分离效果比较好;另外,通过全波长扫描和对不同温度和流速的考察,最终确定检测条件:检测波长为 275 nm;流速为 1 mL · min⁻¹;乙腈(A)-水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0 ~ 12 min,5% A ~ 11% A;12 ~ 15 min,11% A ~ 15% A;15 ~ 20 min,15% A ~ 16% A;20 ~ 25 min,16% A ~ 16% A;25 ~ 28 min,16% A ~ 19% A;28 ~ 34 min,19% A ~ 19% A;34 ~ 45 min,19% A ~ 20% A)。

3.3 含量测定结果分析 结合图 5 及表 2 可以看出,岩白菜素含量在盘龙七中最高,儿茶素和芦丁的含量相差不大,15 批盘龙七中 3 个成分的含量整体上符合上述规律,但不少样品中个别成分(指含量相近的成分)的含量并不完全遵循上述规律。另外,我们可以看出各地岩白菜素的含量差异较大,含量最高的样品和含量最低的样品相差 11.6 倍,这可能是由于采摘年份和产地不同造成的影响。由表 2 中可以看出,陕西红河谷和眉县所产的盘龙七所含的岩白菜素含量稳定,但红河谷产盘龙七中岩白菜素的含量较高,可能是由于秦岭红河谷的土壤、降水、气候等因素适合盘龙七的生长,因此,选择合适的产地尤为重要,也为临床用药提供了科学依据。

盘龙七作为“太白七药”之一,在民间使用悠久,具有广泛的药用价值,但其质量标准尚不完善,有待进一步提高,本研究建立的薄层色谱鉴别方法,可以看出 15 批药材成分一致,稳定,能用于鉴别盘龙七药材。本论文还建立了盘龙七中岩白菜素、儿茶素、芦丁的 HPLC 含量测定方法。研究结果表明,本方法薄层斑点清晰,分离度好,含量测定方法简便易行,重复性好,为盘龙七的质量标准制定提供了科学依据。

参考文献

[1] 中国科学院西北植物研究所. 秦岭植物志第一卷种子植物(第二册)[M]. 北京:科学出版社,1974:433.
[2] 宋小妹,刘海静. 太白七药研究与应用[M]. 1 版. 北京:人民卫生出版社,2011:273-276.
[3] 陕西省革命委员会卫生局、商业局编. 陕西中草药[M]. 北京:科学出版社,1971:386-388.
[4] 冯永辉,贺利娜,张博,等. HPLC 法测定盘龙七中岩白

菜素的含量[J]. 安徽农业科学,2011,39(26):15973-15974,15976.
[5] 袁菊丽. 秦岭岩白菜多糖的提取纯化工艺研究[J]. 化学与生物工程,2011,28(6):43-45.
[6] 王星,赵桦,马英丽,等. 响应面法优化盘龙七中岩白菜素的提取工艺[J]. 食品工业科技,2016,37(2):307-312.
[7] 尉耀元. 秦岭岩白菜的化学成分(Ⅰ)[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):154-156.
[8] 崔莹. 盘龙七化学成分研究(Ⅱ)[J]. 中草药,2012,43(9):1704-1707.
[9] 刘国强,陈彦斌,李小穗. 秦岭岩白菜的化学成分研究[J]. 科技信息,2012,29(3):109.
[10] 王军宪,吕修梅. 秦岭岩白菜化学成分研究(Ⅱ)[J]. 中药材,2005,28(1):23-24.
[11] 张剑,蔡青青,武垒垒,等. 岩白菜属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药,2020,42(4):1005-1012.
[12] 董成梅,杨丽川,邹澄,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 昆明医学院学报,2012,33(1):150-154.
[13] 刘斌,谭成玉,池晚会,等. 岩白菜素的研究进展[J]. 西北药学杂志,2015,30(5):660-662.
[14] 田憬岩,谭秀山,吴婷婷,等. 岩白菜素的生物活性的研究进展[J]. 食品研究与开发,2014,35(5):128-132.
[15] 高皓诗,魏悦,佟立今,等. 大鼠血浆中岩白菜素含量分析方法的建立及其体内药动学[J]. 沈阳药科大学学报,2016,60(12):950-953.
[16] 段文越,郭巍怡,邹澄,等. 岩白菜素偶氮衍生物的制备[J]. 云南中医学院学报,2016,39(2):25-29.
[17] 廖梅香,叶民珠,张赛男. 超声提取岩白菜中岩白菜素的最佳工艺研究[J]. 安徽农业科学,2016,44(18):137-138.
[18] 冯永辉,曹东凯,郭耀武. 蒽酮-硫酸比色法测定盘龙七中多糖的含量[J]. 西北大学学报(自然科学版),2013,43(6):921-923.
[19] 张韫,高苏亚,唐一梅,等. 盘龙七中黄酮抗氧化活性的评价研究[J]. 当代化工,2019,48(8):1651-1654.
[20] 张韫,高苏亚,唐一梅,等. 盘龙七中黄酮和多糖的提取工艺研究[J]. 化学工程师,2019,33(3):1-5.
[21] 冯永辉,边军昌,张博,等. 不同采收期盘龙七中岩白菜素的含量比较[J]. 光谱实验室,2013,30(5):2242-2245.

(收稿日期:2020-12-21 编辑:崔春利)