

蒙药手参药材与奶手参的质量标准

依拉古¹ 格格日勒² 那生桑¹

(1 内蒙古医科大学, 呼和浩特, 010110; 2 阿拉善盟蒙医院, 巴彦浩特, 750300)

摘要 目的:对蒙药手参药材和奶手参(奶制饮片)进行系统性生药学鉴定及分析,为其质量标准的建立及鉴定提供科学依据。方法:参照《中华人民共和国药典》(2010年版附录)相关方法,对手参药材和奶手参的水分,灰分及浸出物进行检测;采用显微,薄层色谱法进行定性鉴别。以天麻素为对照品,用70%甲醇提取,以乙酸乙酯-甲酸-水(9:1:0.2)为展开剂,喷以10%磷酸钼酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰。采用紫外-可见分光光度法和高效液相色谱法对手参与奶手参中的多糖及天麻素进行含量分析。色谱柱为ZOBAX Eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 cm)柱;以甲醇-0.04%的磷酸溶液(8:92)为流动相,流速为1.0 mL/min;检测波长222 nm;柱温30℃。结果:薄层色谱法试验中在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。高效液相色谱条件下天麻素被洗脱且达到基线分离,天麻素在浓度0.009~0.09 mg/mL范围内线性关系良好,回归方程为 $Y = 586866X + 425821$ ($R^2 = 0.9996$),平均回收率为100.1%。精密性试验、重复性试验、稳定性试验均符合要求。三批样品浸出物结果为26.13%~42.58%,水分为3.47%~5.31%,总灰分为5.43%~6.33%。结论:质控方法可靠,灵敏度高,专属性,准确,稳定性好。该结果对手参药材鉴定、资源利用及质量标准提升,提供科学依据。

关键词 蒙药;手参;显微鉴别;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

Study on Quality Standard of Mongolian Medicine Shoushen and Naishoushen

Yilagu¹, Gegerile², Nashengsang¹

(1 Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China; 2 Alashan Mongolia Hospital, Bayanhot 750300, China)

Abstract Objective: To carry out a systematic pharmacognostical study on Shoushen and Naishoushen, and to provide the basis for establishing its quality standard and appraisal. **Methods:** Based on the methods recorded in appendix of Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2010 edition, volume 1), the water content, total ash and ethanol-soluble extractives of the crude drugs were detected. The microscopy TLC was used for qualitative identification. With gastrodin as control agent, 70% methyl alcohol was used to extract. With ethyl acetate formic acid-water (9:1:0.2) as developing solvent, 10% phosphomolybdic acid ethanol solution was sprayed. And at 105℃ heated until spot color was clear. By ultraviolet-visible spectrophotometry and HPLC method were used for the determination of contents of the polysaccharides and gastrodine of Shoushen and Naishoushen. Chromatographic column for ZOBAX Eclipse XDB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 cm); methanol-water (0.04% phosphoric acid) (8:92) was used as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 30℃ and the detection wavelength was at 222 nm. **Results:** In thin layer chromatography (TLC), the same color spots were detected in the corresponding positions of the chromatography. HPLC was used to elute the gastrodine and achieve the baseline separation. The concentration of gastrodine in the concentration range 0.009~0.09 mg/mL was good. And the regression equation was $Y = 586866X + 425821$ ($R^2 = 0.9996$) and the average recovery was 100.1%. Precision test, repeatability test, stability test were in line with the requirements. Three batches of sample extract was 26.13%~42.58%, water 3.47%~5.31% and total ash content was 5.43%~6.33%. **Conclusion:** The indictment method is reliable, sensitive, specific, accurate and stable. The results provide scientific basis for identification, resource utilization and improvement of quality standards.

Key Words Mongolian medicine; Shoushen; Microscopic identification; TLC; HPLC; Quality standard

中图分类号:R284 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.02.054

手参为兰科多年生草本植物手掌参 *Cymnadenia conopsea* P. Br. 的块茎,因药用部分类似手掌而故名。异名为“旺拉嘎”,春秋季采挖,晒干。其味甘、

涩,性温。有滋养体素,壮阳,固精等多个功效^[1-3]。主要分布于我国东北、华北、西北、四川^[3]。手参作为蒙医传统药材,在多数滋补,壮阳,延年益寿处方

基金项目:内蒙古科技基金项目(kjt15st22)

作者简介:依拉古(1995.01—),女,在读研究生,研究方向:蒙药标准研究,E-mail:794307388@qq.com

通信作者:那生桑(1956.01—),男,博士,教授,调研员,研究方向:蒙药现代化研究,E-mail:nasang56@sina.com

中不可缺少。《蒙药正典》中记载^[4]：“手参分为两大类，即手掌参和盘龙参。手掌参根有五指者佳，指越少质越次。盘龙参根如手指并握状，也有分一二手指的。功效比手掌参差”。手参块茎中含化学成分较多，已分离鉴定的有氨基酸类，其中苏氨酸含量最高^[6]，苷类、脂类^[7]、二氢类^[8]等。手参作为蒙医常用药材具有较高的临床应用价值。与五灵脂、石榴、黄精、黑冰片等37种药材制成手参三十七味丸，具有治肾寒、生津壮阳、滋补等功效^[9]。与熊胆、冬虫夏草、黄精等滋补强壮药配伍制成六味手参散，可治疗滑精，阳痿等症^[10]。与苦参等制成手参三味汤，用于治游痛症，陶赖病^[11]。

1 仪器与试剂

显微镜(光学显微镜, ×400);高效液相色谱仪(岛津 LC-204);KQ-250DE型超声清洗器;UV230+型紫外分光光度仪(大连伊力特牌);电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);天麻素(批号:151130),三批手参药材经内蒙古药检所鉴定为正品。甲醇(色谱纯),水(超纯水,蒸馏水),所用其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 性状鉴别试验 茎块稍扁,形如手掌,长1~4.5 cm,直径1~3 cm,表面浅黄色或暗棕色,有细皱纹,顶端有茎残基,其周围有点状根痕;下部有4~14指状分枝,分枝长0.3~2.5 cm,直径2~8 mm。质坚硬,不易折断,断面黄白色,角质样。气微,味淡,嚼之发黏;奶手参表面黄色或暗褐色。略具奶香气,味淡。见图1。



图1 手参药材

2.2 显微鉴别 手参与奶手参粉末呈浅黄色,淀粉粒多见,不规则粘液质团块众多,加碘液试液呈紫蓝色。草酸钙针晶易见,在薄壁细胞中成束散在,长8~65 μm。导管多梯纹、网纹,螺纹少见,直径13~55 μm,薄壁细胞多,有的甚大。见图2。

2.3 薄层色谱鉴别 供试品的制备 取1.0 g手参或奶手参粉末,加入70%甲醇5 mL,超声处理30

min后过滤。将滤液蒸干,残渣加入70%甲醇1 mL使完全溶解。

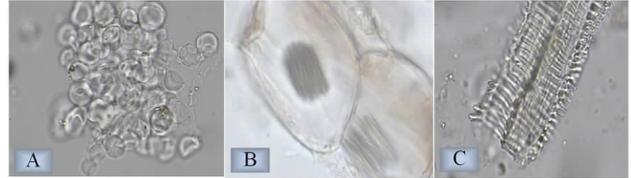


图2 手参药材显微图

注:A. 淀粉粒;B. 草酸钙针晶;C. 导管

对照品溶液的配制 取天麻素对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液。

参照《中华人民共和国药典》2010版一部附录VI B薄层色谱法试验,吸取上述2种溶液点于同一个硅胶G薄层板上,展开剂为以乙酸乙酯-甲酸-水(9:1:0.2)。展开,取出,晾干后喷以10%磷钼酸乙醇溶液进行显色,于105℃加热至斑点显色清晰。手参与奶手参药材在与对照品色谱相应位置,显相同斑点。见图3。



图3 手参薄层色谱图

注:1~2手参药材,3~4奶手参,5~6天麻素对照品

2.4 水分与总灰分 按照《中华人民共和国药典》2010年版一部附录IX H烘干法和附录IX K总灰分测定法试验测定水分和总灰分,结果见表1。

表1 手参样品水分、灰分检测结果

样品	3批水分(%)			平均 值	RSD (%)	3批总灰分(%)			平均 值	RSD (%)
	i	ii	iii			i	ii	iii		
1	4.20	4.48	4.53	4.40	0.17	6.08	6.33	5.97	6.13	4%
2	3.57	3.58	4.11	3.76	1.85	5.64	5.43	5.77	5.61	8.2%
3	5.12	4.98	5.31	5.14	3.12	5.88	6.00	5.97	5.95	3.3%

2.5 浸出物 根据手参化学成分,并结合生产实际,按照《中华人民共和国药典》2010年版第一部附

录 X A 的方法,以水为溶剂,冷浸法测定手参的浸出物含量,测定结果见表 2。

表 2 手参样品浸出物测定结果

样品	浸出物(%)			平均值 (%)	RSD (%)
	第 1 份	第 2 份	第 3 份		
1	26.13	29.58	27.55	27.75	6.3%
2	41.22	42.58	40.13	41.31	3%
3	35.55	38.53	34.28	36.12	6%

2.6 总糖、多糖和天麻素含量测定

2.6.1 总糖 照 2010 版《中华人民共和国药典》紫外-可见分光光度法进行测定。对照品溶液的制备:精密称取烘干至恒的无水葡萄糖适量,加水制成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液。标准曲线的绘制:精密量取葡萄糖溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 50 mL 容量瓶,补蒸馏水至刻度。分别取上述溶液 2 mL,置试管中并加入 15% 苯酚溶液 1 mL,摇匀后加入浓硫酸 5.0 mL,摇匀,在 40 °C 水浴锅中放置 30 min。以相应试剂为空白,于 490 nm 处检测吸光度,以浓度(X)为横坐标,吸光度(Y)为纵坐标绘制标准曲线。测定法:取约 0.5 g 手参或奶手参粉末(过六号筛),置圆底烧瓶中并加入 50 mL 水,加热回流 1 h,再称定质量,用水补足减失的质量。过滤,取 1 mL 滤液置 100 mL 量瓶中并加水至刻度。精密量取 25 mL 于 50 mL 量瓶中,并补水至刻度。精密量取上述溶液 2 mL 于试管中,按照标准曲线制备项下的方法,加入 1 mL 苯酚溶液(15%),摇匀后迅速加入 5.0 mL 硫酸后在 40 °C 水浴锅中放置 30 min。于 490 nm 处检测吸光度值。测定结果:3 批手参药材为 17.5%~20.4%,均值为 19.0;3 批奶手参为 17.9%~21.4%,均值为 19.2%。

2.6.2 多糖 本品多糖含量通过测定样品中还原糖含量,再通过总糖含量减去还原糖含量计算得到。对照品溶液的制备:同上 2.6.1 相应方法制备。绘制标准曲线:吸取对照品溶液 0.1、0.2、0.3、0.4、0.6 mL 于试管中并加蒸馏水使成 3 mL,加 DNS 试液 2 mL,置沸水浴中加热 8 min。取出冷却后至室温,置 10 mL 容量瓶定容。按照紫外-可见分光光度法,在 494 nm 处检测吸光度,以浓度(X)为横坐标,吸光度(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。还原糖的测定法:取约 0.5 g 手参或奶手参粉末(过六号筛),置圆底烧瓶中加入 10 倍数的水,摇匀,加热回流 1 h。放置冷却后称定质量,用蒸馏水补足减失的质量。过滤,取滤液 2.5 mL,于试管中,加水使成 3 mL,加入 DNS 试液 2 mL,置沸水浴中加热 8 min。取出后迅速冷

却至室温用水定容至刻度。在 494 nm 处检测吸光度值。多糖含量 = 总糖含量 - 还原糖含量。测定结果:3 批手参药材为 14.2%~18.4%,均值为 16.5%;3 批奶手参为 13.9%~17.4%,均值为 15.65%。

2.6.3 天麻素

2.6.3.1 色谱条件与系统适用性条件 色谱柱为 ZORB AX eclipse XDB-C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 cm)柱;以甲醇-0.04%的磷酸溶液(8:92)为流动相,流速为 1.0 mL/min;检测波长 222 nm;柱温 30 °C,进样量为 20 μL。

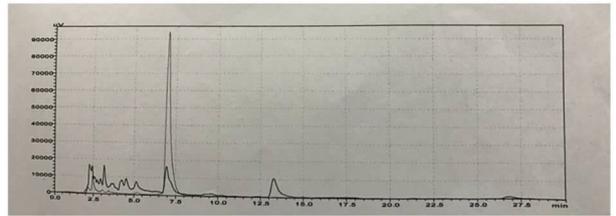


图 4 高效液相色谱图

2.6.3.2 对照品溶液的制备 精密称取天麻素对照品 3.5 mg,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度。

2.6.3.3 供试品溶液的制备 取 1.5 g 手参粉末,置圆底烧瓶中并加入 15 mL 水,加热回流 2 h,过滤,合并滤液。浓缩后置 25 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度,滤过,取滤液,即得。

2.6.3.4 线性关系考察 精密量取天麻素对照品溶液 1、3、5、7、10 mL 置 10 mL 容量瓶,用甲醇定容。从中各取 20 μL 注入液相色谱仪,记录峰面积。以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $Y = 586866X + 425821$, $R^2 = 0.9996$ 。结果表明天麻素对照品在浓度 0.009~0.09 mg/mL 范围内线性关系良好,结果见图 5。

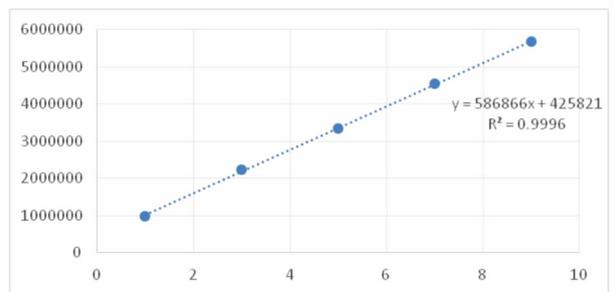


图 5 天麻素溶液线性关系

2.6.3.5 精密度试验 精密吸取 2.6.3.2 项下对照品溶液 20 μL,按照 2.6.3.1 项下色谱条件,重复进样 6 次,记录峰面积,计算其 RSD 为 0.6%,表明仪器精密良好^[12]。

2.6.3.6 稳定性试验 精密吸取 2.6.3.3 项下的

供试品溶液,分别于0,2,4,6,8,10 h进样20 μ L,记录6次的峰面积,计算其RSD为1.5%,表明供试品溶液在10 h内稳定。

2.6.3.7 重复性试验 取同一批手参样品,按

2.6.3.3项下方法制备6份供试品溶液,按照

2.6.3.1项下色谱条件,连续测定6次,记录峰面积,计算其RSD1.3%,表明该方法重复性良好。

2.6.3.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的手参样品6份,每份0.75 mg。分别加入天麻素对照品适量,按照2.6.3.3项下方法制备6份供试品溶液。平均回收率为100.1%,RSD为0.85%。

2.6.3.9 样品含量测定 称取1.5 g手参药材样品3份,按照2.6.3.1项下色谱条件下进行测定,按外标法以峰面积计算,平均含量2.22 mg/g。见表3。

表3 手参药材样品中天麻素含量

取样量(g)	峰面积	含量(mg/g)	平均(mg/g)
1.5	476 411	2.15	2.22
1.5	488 621	2.32	
1.5	479 121	2.21	

3 讨论

根据前期文献报道,目前手参的含量测定研究一般多以多糖^[13]和盐酸小檗碱^[14]作为指标,但小檗碱的主要药理作用为杀菌,不符合手参蒙医认为的功能;多糖虽有免疫调节之作用,但是不稳定,定量难度较大。本研究认为作为蒙药手参的含量测定,一方面要体现手参的功能,另一方面具备较为稳定的理化性质,且具专属性。手参含天麻素量虽少,尤其在奶制手参饮片中含量不稳定(经探讨,与药材新鲜程度有关,可通过改善储藏来解决)。天麻素具有抗惊厥、镇痛、增加心脑血管血流量、抗衰老、改善学习记忆力等药理作用^[15]。故选用天麻素作为手参药

材含量指标,采用高效液相色谱法测定,很有现实意义。该方法简便,专属性强,高效,因此可建立可控的质量标准,为其开发利用提供依据。

参考文献

- [1]中国医学百科全书编辑委员会.中国医学百科全书—蒙医学[M].上海:上海科学技术出版社,1992:184.
- [2]那生桑.现代蒙药学[M].呼和浩特:内蒙古大学出版社,2011:450-452.
- [3]白清云.中国医学百科全书·蒙医学(上)[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社,1987:597-598.
- [4]国家中医药管理局《中华本草》.中华本草(蒙药卷)[M].上海:上海科学技术出版社,2004:124-125.
- [5]占布拉.道尔吉.蒙药正典[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006:173-174.
- [6]黄胜阳,石建功,杨永春,等.藏药旺拉的氨基酸成分分析[J].中国民族民间医药杂志,2002(4):229-231.
- [7]佳辰.手参的化学成分研究[D].北京:中国协和协和医科大学,2008.
- [8]旺其格,全喜.蒙药手掌参研究进展[J].中国民族民间医药,2011,20(18):1-2.
- [9]巴根那.蒙药方剂学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:293.
- [10]策·苏荣扎布.蒙古学百科全书(医学)[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2012:265.
- [11]罗布桑.蒙药学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2006:240.
- [12]阿拉坦敖日格乐,包勒朝鲁,萨础拉,等.蒙药草乌十二味片质量控制研究[J].世界中医药,2016,11(8):1594-1597.
- [13]王琪,李红玲,刘存瑞.手掌参多糖的微波提取及含量测定[C].成都:中国制药工业药理学会20周年学术会议,2002:274-275.
- [14]海平,苏雅乐,王秀兰.手参及其炮制品盐酸小檗碱含量的测定[J].中国民族医药杂志2009,15(3):62-64.
- [15]薛南.薛敬.林鹏程.HPLC测定青藏高原不同地区藏药手掌参中天麻素[J].中成药,2011,33(5):904-906.

(2017-02-17 收稿 责任编辑:杨觉雄)