

维吾尔族药牛至药材质量标准

王东东¹, 沙拉买提·艾力², 徐海燕¹, 丁文欢¹, 李洁¹, 田树革^{1*}

(1. 新疆医科大学 名医名方与特色方剂学重点实验室, 乌鲁木齐 830011;

2. 新疆维吾尔自治区食品药品检验所, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] **目的:**建立牛至药材的质量控制标准,为其药用植物资源的开发利用提供科学依据。**方法:**于不同产地采集10批牛至样品,对牛至原植物进行鉴定,对其性状进行描述。按照2010年版《中国药典》(一部)附录对牛至的杂质、水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物进行测定;进行生药学、薄层色谱定性鉴别,建立牛至中迷迭香酸含量的高效液相色谱(HPLC)测定方法。**结果:**牛至药材杂质不得超过2.0%,水分不得超过10.0%,灰分不得超过10.0%,酸不溶性灰分不得超过2.5%,醇溶性浸出物不得低于19.0%,迷迭香酸的含量不低于0.9%。**结论:**该实验方法准确可靠,以上检测指标和参数可作为制定牛至质量标准的参考依据,为开发利用该药材提供依据。

[关键词] 牛至; 质量标准; 迷迭香酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)16-0032-04

[doi] 10.13422/j.cnki.sjfx.2015160032

Quality Standard of Uygur Medicine *Origanum vulgare* WANG Dong-dong¹, SHALAMAITI · Aili², XU Hai-yan¹, DING Wen-huan¹, LI Jie¹, TIAN Shu-ge^{1*} (1. Key Laboratory of Famous Doctors and Prescription and Characteristic Formulas, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. Xinjiang Uyghur Autonomous Region Institute for Food and Drug Control, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To provide the scientific basis for the utilization and development of *Origanum vulgare* by formulating the quality control standard of *O. vulgare*. **Method:** Totally 10 batches of *O. vulgare* from different origins were collected to identify the primary plants and describe their characters. The impurities, moisture, ash, sour insoluble ash and extractum were detected based on appendix of *Chinese Pharmacopoeia* 2010 version (Vol). The pharmacognostic study and qualitative identification with thin layer chromatography were conducted. The HPLC method was also adopted for the content determination of rosmarinic acid in the *O. vulgare*. **Result:** The contents of impurities, moisture, ash, sour insoluble ash shall not exceed 2.0%, 10.0%, 10.0%, 2.5%. The ethanol-soluble extractum shall be no less than 19.0%. The content of rosmarinic acid shall be no less than 0.9%. **Conclusion:** The experimental method was accurate and reliable. The above indexes and parameters can be used as the basis for formulating the quality standards for *O. vulgare* and developing and utilizing *O. vulgare*.

[Key words] *Origanum vulgare*; quality standard; rosmarinic acid

牛至维吾尔语名为“尖比力”,别名通常有土香薷、小叶薄荷、止痢草等,夏秋二季花开时采收,除去杂质,晒干。维吾尔医认为牛至能消散寒气、开通湿阻、清除异常体液、利尿通经、增强营养吸收,用于黏稠异常体液性咳嗽、感冒、头痛、脉络闭阻性胸闷气

短、形体消瘦、心烦神疲、食欲不振、尿少肢肿^[1]。牛至在新疆分布于天山、阿勒泰山、准噶尔西部的山地草甸、林缘及河谷、亚高山草原及河谷^[2],以及河南、甘肃、湖北、陕西等省区,国外主要分布于地中海地区、中亚、北非、北美等地。牛至性凉,味辛,无毒,

[收稿日期] 20150301(004)

[基金项目] 国家药品(维药)标准提高研究课题(512)

[第一作者] 王东东,硕士,实验师,从事中药民族药有效成分分析及生物活性的研究, Tel:0991-4365195, E-mail:wang_tcm@126.com

[通讯作者] *田树革,博士,教授,从事中药民族药有效成分分析及生物活性的研究, Tel:0991-4366434, E-mail:tianshugue@hotmail.com

有清热解表、利水消肿的功效,主治中暑、感冒、头痛身痛、急性胃肠炎、腹痛吐泻、水肿等^[3]。

牛至含有挥发油类、黄酮类、三萜类、有机酸类等化学成分^[4-5]。文献及薄层色谱定性试验表明,牛至中含有迷迭香酸,且含量较高。迷迭香酸具有多方面的药理作用,如清除自由基、抗炎和免疫调节、抗血栓和抗血小板凝集、抗病毒和抗菌、抑制肾小球系膜细胞的增殖、抗抑郁等^[6]。牛至缺少较完整的质量标准,本实验参考《中国药典》2010年版(一部)及相关文献^[7-10]对牛至的杂质、水分、灰分、酸不溶性灰分、浸出物进行了测定;并建立牛至中迷迭香酸含量的HPLC测定方法。为牛至药材标准提高提供科学依据。

1 仪器与试剂

LC-6AD型高效液相色谱仪,CBM-20A色谱工作站,SPD-20A型紫外检测器,SIL-20A型自动进样器,CTO-10ASvp型柱温箱(日本岛津公司);AL204型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),Mikroskop Primo Star X2005型数码显微镜(德国麦克奥迪公司)。

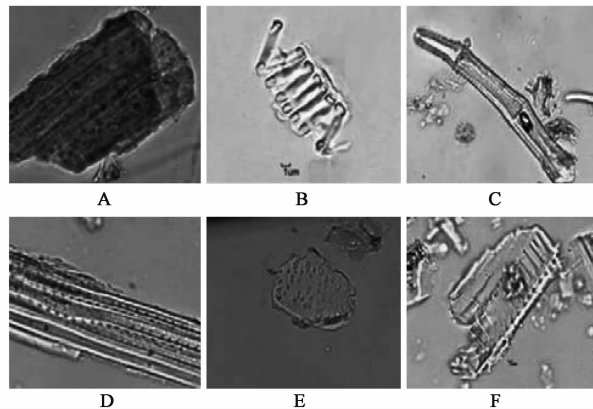
甲醇为色谱纯,其他均为分析纯,水为娃哈哈纯净水,迷迭香酸对照品(Sigma-Aldrich,批号CFAE-536954-5G),硅胶板G(100 mm×200 mm,青岛海洋化工厂分厂,批号20110508);牛至全株采集于新疆昌吉、伊犁地区,均为野生,由新疆维吾尔自治区中医医院李永和主任药师鉴定为唇形科植物牛至*Origanum vulgare*的干燥全草,阴干,粉碎,即得供试样品。10批次样品(1~10批)分别为奇台县大东沟,批号20120718;奇台县一万泉,批号20120719;吉木萨尔县,批号20120810;奇台县江布拉克,批号20120731;木垒县西吉尔水磨沟,批号20120801;新源县,批号20120802;尼勒克县,批号20120726;昭苏县,批号20120727;伊宁县,批号20120720;察布查尔县,批号20120721。

2 方法与结果

2.1 性状鉴别 根据药材的实际情况及相关参考文献修订^[1]描述。本品长20~70 cm。根较细小,直径2~4 mm。表面灰棕色,稍弯曲而略有韧性,断面黄白色。茎四棱形,上部稍有分支,表面紫棕色或黄棕色,密被下伏细绒毛。叶对生,稍皱缩,展平后叶片卵形至宽卵形,长0.6~1.8 cm,宽0.4~1.2 cm,黄绿色或灰绿色,全缘,两面被棕黑色腺点。叶柄长1.5~2.5 mm,被毛。轮伞花絮顶生,花萼钟状,5裂。小坚果扁卵形,红棕色。气芳香微苦。

2.2 显微鉴别

2.2.1 粉末 取牛至粉末,过80目筛,加水合氯醛试液透化处理,加稀甘油1滴制片,置显微镜下观察,可见螺纹导管、网纹导管、腺毛、非腺毛、腺鳞、栅栏细胞、气孔、纤维、花粉粒、厚壁细胞等。见图1。



A. 厚壁细胞;B. 螺纹导管;C. 非腺毛;D. 纤维;E. 网纹导管;F. 栅栏细胞

图1 牛至粉末的显微特征

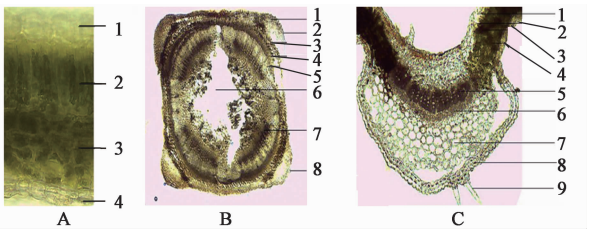
Fig.1 Microscopic characteristics of *Origanum vulgare*

2.2.2 横切片 采用徒手切片法制片。切片置显微镜下观察,表皮细胞1列,呈扁平形或椭圆形,外被角质层,有腺毛和非腺毛着生。皮层由5列左右切向延长的薄壁细胞组成,厚角组织位于茎的四棱部。内皮层细胞多呈长方形,凯氏点不甚明显。韧皮部窄,细胞形小,形成层不甚明显。木质部发达,导管多单个散在,壁厚,木化,直径10~40 μm;木射线单列,木纤维和木薄壁细胞壁较厚,木化。髓部发达,髓中薄壁细胞形大,老茎髓多中空。

牛至叶横切面:上下表皮各为一层切向延长的细胞组成,外被角质层,有非腺毛、腺毛及大型的腺鳞。腺鳞存在于栅栏细胞的凹陷处,腺鳞橙黄色,透明,侧面观常见头部由4个细胞组成。

叶肉组织:栅栏细胞长圆形,一列,长约46~50 μm,内含叶绿体,海绵细胞含叶绿体较少。主脉:维管束外韧型;韧皮部较窄。木质部呈半月形,导管多列,每列常3~5个;主脉上下表皮内侧均有厚角组织。见图2。

2.3 薄层鉴别 取本品粉末1 g,加甲醇10 mL,浸泡30 min,再超声提取30 min。提取液水浴蒸干后用甲醇2 mL溶解,作为供试品溶液。另取迷迭香酸对照品,用甲醇制成每1 mL含0.1 mg的对照品溶液,吸取上述2种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂将点好样品的薄层板放入装有展开剂的展缸中饱



A. 牛至叶片横切面简图(1. 上表皮细胞;2. 栅栏组织;3. 海绵组织;4. 下表皮);B. 牛至茎横切面简图(1. 厚角组织;2. 表皮;3. 皮层;4. 韧皮部;5. 木质部;6. 形成层;7. 髓部;8. 非腺毛);C. 牛至叶柄横切面简图(1. 上表皮;2. 腺鳞;3. 栅栏组织;4. 海绵组织;5. 木质部;6. 韧皮部;7. 厚角组织;8. 下表皮;9. 非腺毛)

图2 牛至横切面特征

Fig.2 Characteristics of cross section of *Origanum vulgare*

和15 min后展开。取出晾干后,在365 nm紫外灯下检视,在同一位置显相同颜色的荧光斑点。

2.4 检查 参照2010年版《中国药典》(一部)附录杂质检查法、水分测定法、灰分测定法、酸不溶性灰分测定法对10批药材进行检测。水分测定用烘干法,醇浸出物按热浸法、最佳醇浓度的实验筛选得到30%乙醇浸出物最多,结果见表1。

表1 牛至药材各项检查(n=3)

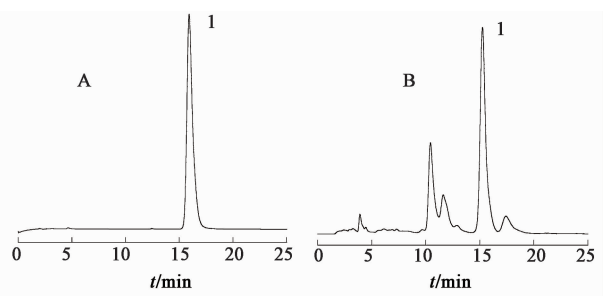
Table 1 Examination results of *Origanum vulgare* (n=3) %

药材批次	杂质	水分	总灰分	酸不溶性灰分	浸出物
1	1.76	6.40	6.73	1.02	19.54
2	1.05	6.45	6.99	1.35	19.55
3	1.40	6.49	6.72	1.16	19.37
4	1.14	8.13	11.25	3.78	30.45
5	1.22	7.10	10.79	3.65	26.15
6	2.00	9.63	8.15	1.79	24.83
7	1.33	10.29	8.29	1.36	25.18
8	1.02	9.76	9.16	1.46	25.38
9	1.46	7.55	8.30	1.43	25.31
10	1.55	8.09	7.89	1.64	26.43

2.5 迷迭香酸含量测定

2.5.1 色谱条件及系统适用性试验 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相甲醇-1.5% 乙酸水(38:62),检测波长330 nm,柱温25 °C,流速1.0 mL·min⁻¹。在上述色谱条件下,迷迭香酸与供试品中其他组分色谱峰可达到基线分离,分离度良好,迷迭香酸峰理论塔板数不低于2000,迷迭香酸及牛至供试样品色谱图见图3。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取迷迭香酸对照品11.07 mg,用甲醇定容于25 mL棕色量瓶中,



A. 对照品;B. 供试样品;1. 迷迭香酸

图3 牛至的HPLC

Fig.3 HPLC chromatogram of rosmarinic acid and sample

分别取1.5,3,4.5,6,7.5 mL,用甲醇定容于10 mL棕色量瓶中,制成一系列不同浓度的溶液。

2.5.3 供试品溶液的制备 取干燥药材粉末约0.5 g,精密称定,置于50 mL具塞锥形瓶中,加入甲醇25 mL,称定质量,浸泡30 min,超声提取(功率150 W,频率60 kHz)30 min,取出放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液5 μL进样分析,以对照品浓度(X, g·L⁻¹)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得迷迭香酸线性回归方程为 $Y = 1.36 \times 10^7 X - 5.20 \times 10^4$ (r=0.9999),结果表明,迷迭香酸进样量在0.3321~1.6605 μg与峰面积呈现良好的线性关系。

2.5.5 精密度试验 精密吸取迷迭香酸对照品溶液5 μL,连续进样6次,结果迷迭香酸峰面积RSD 1.2%,表明仪器精密度较好。

2.5.6 稳定性试验 取同一牛至供试品溶液(3号),分别于0,2,4,6,8,10,12,24 h进样5 μL测定,结果迷迭香酸峰面积的RSD 2.2%,表明供试品溶液在24 h内基本稳定,峰面积没有在考察时间内呈现下降趋势。

2.5.7 重复性试验 精密称取牛至药材粉末6份(6号样),按2.5.3项下方法制成供试品液,并在上述色谱条件下进样5 μL,测定迷迭香酸峰面积,计算含量。结果供试品中迷迭香酸含量的RSD 1.7%,表明方法的重复性较好。

2.5.8 加样回收率试验 分别精密称取6份已知含量牛至药材粉末(6号样)0.25 g,分别置于50 mL具塞锥形瓶中,精密称取迷迭香酸对照品21.91 mg置25 mL量瓶中,用甲醇定容至刻度。每个具塞锥形瓶中分别准确加入对照品4 mL和甲醇21 mL,按

2.5.3 项下方法制成供试品溶液,在上述色谱条件下进样 5 μL 测定,结果见表 2。

表 2 牛至中迷迭香酸加样回收率试验

Table 2 Determination results of recovery

称样量 /g	样品 中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.253 2	3.02	6.54	100.28		
0.258 3	3.08	6.55	98.86		
0.257 1	3.06	6.48	97.44	98.96	1.1
0.250 5	2.98	6.47	99.43		
0.250 5	2.98	6.42	98.01		
0.251 5	3.00	6.50	99.72		

注:加入量均为 3.51 mg。

2.5.9 样品含量测定 精密吸取供试品溶液 5 μL 分别注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定,计算样品中迷迭香酸的含量,结果分别为 0.822%, 0.822%, 0.813%, 1.574%, 1.402%, 1.217%, 1.198%, 1.348%, 1.267%, 1.115%。

3 讨论

10 批牛至的性状和显微特征观察结果表明,牛至的性状和显微特征明显,专属性强,可作为其鉴别的依据;根据检查项分析可得出结论,标准的制定按各平均值的 ±20% 作为限度的制定幅度,初步限定牛至的杂质不得超过 2.0%,水分不得超过 10.0%,灰分不得超过 10.0%,酸不溶性灰分不得超过 2.5%。分别用冷浸法、热浸法考察水和醇以及不同浓度醇的浸出物含量,结果热浸法浸出物含量高于冷浸法、30% 乙醇浸出物含量最高,故浸出物标准做为 30% 乙醇,热浸法测定,质量分数不低于 19.0%。迷迭香酸质量分数不得低于 0.9%。牛至油是牛至的主要有效成分,具有抑菌杀菌作用,近年来多用于饲料添加剂,但本实验测定的 10 批样品均产自新疆,挥发油提取实验结果表明,挥发油含量极少,不适宜作为药品标准提高的定量指标,而有机酸类成

分迷迭香酸在所有批次样品中均有检出,含量在 8 ~ 15 mg·g⁻¹,且具有显著的生物活性,故将迷迭香酸做为定量检测指标。

本实验通过对牛至的生药学鉴定,各检查项的检测,系统地分析了维吾尔族药牛至的质量指标,暂定了牛至药材质量控制指标的参考值,该质量标准可用于评价牛至药材的质量,为保证牛至药材临床安全、质量可控提供了基础数据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册[S]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1999.

[2] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志. 第四卷[M]. 乌鲁木齐:新疆科学技术出版社,2004:333.

[3] 孙丽娟,刘红兵,许汉林,等. 湖北产生牛至药材中香荆芥酚和麝香草酚的含量测定[J]. 中药材,2005,28(7):562-563.

[4] 李俊杰,李蓉涛. 牛至的研究现状[J]. 光谱实验室,2013,30(1):171-176.

[5] 孙丽娟,刘红兵,范文乾,等. 牛至的化学成分研究(I)[J]. 中草药,2007,38(12):1782-1785.

[6] 吴建章,郁建平,赵东亮,等. 迷迭香酸的研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2005,17(3):383-388.

[7] 方颖,刘焱文. 高效液相色谱法测定不同产地牛至药材中对-聚伞花素的含量[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(4):428-430.

[8] 关新莉,李洁,王东东,等. HPLC 法测定异叶青兰中迷迭香酸的含量[J]. 新疆医科大学学报,2013,36(9):1284-1286.

[9] 苏亦用,郭巧玲,田素英,等. 金樱根质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):109-111.

[10] 丁文欢,徐海燕,王东东,等. 维药苜蓿子的质量综合评价研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(21):3782-3785.

[责任编辑 顾雪竹]