

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.15.007

留兰香质量标准探讨*

万红才,徐作刚,刘晓艳,段 萍,罗洪莲,曾 琦,安 军

(贵州省黔南州食品药品检验所,贵州 都匀 558000)

摘要:目的 建立留兰香的质量标准。方法 根据2015年版《中国药典(四部)》相关检测方法,对留兰香进行性状描述、粉末显微鉴别,用薄层色谱法对该药材香芹酮成分进行鉴别,对该药材叶含量、水分、总灰分、酸不溶性灰分和挥发油进行测定。结果 薄层色谱特征斑点清晰且专属性强;确定了留兰香的性状和粉末的显微特征;建议叶含量不低于14.00%,水分限度不超过15.00%,总灰分限度不超过10.00%,酸不溶性灰分限度不超过2.00%,挥发油限度不低于0.25%。结论 所建立的留兰香民族药材质量标准可用于其质量控制。

关键词:留兰香;香芹酮;质量标准;薄层色谱;挥发油

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)15-0020-04

Quality Standard of *Mentha Spicata*

WAN Hongcai, XU Zuogang, LIU Xiaoyan, DUAN Ping, LUO Honglian, ZENG Qi, AN Jun

(Qiannan Food and Drug Inspection Institute, Duyun, Guizhou, China 558000)

Abstract: Objective To establish the quality standard of *Mentha spicata*. **Methods** According to the relevant detection methods of *Chinese Pharmacopoeia* (2015 edition, volume IV), the characteristics of *Mentha spicata* were described, the powder microscopic identification was carried out, the carvone components of *Mentha spicata* were identified by TLC, and the leaf content, water content, total ash content, acid-insoluble ash content and volatile oil of *Mentha spicata* were determined. **Results** The TLC characteristic spots were clear and specific, the properties of *Mentha spicata* and the microscopic characteristics of powder were determined. It was suggested that leaf content should not be lower than 14.00%, moisture limit should not be higher than 15.00%, total ash limit should not be higher than 10.00%, acid insoluble ash limit should not be higher than 2.00% and volatile oil limit should not be lower than 0.25%.

Conclusion The established quality standard of the national medicinal materials of *Mentha spicata* can be used for its quality control.

Key words: *Mentha spicata*; carvone; quality standards; TLC; volatile oil

*基金项目:贵州省食品药品监督管理局项目[DBXDYC52027];黔南州科技计划项目[黔南科合社字<2018>38号]。

第一作者:万红才,男,大学本科,副主任药师,研究方向为药品质量分析及药品质量标准,(电子信箱)397879050@qq.com。

BMNC, 肝脏 T-SOD, GSH, CAT 活性, 以及骨髓 DNA 含量, 表明中药大蒜提取物 SAC 对辐射损伤小鼠抗氧化功能和造血系统具有防护作用, 为今后 SAC 在辐射防护方面的应用提供参考。

参考文献:

- [1] COLEMAN NC. Molecular and cellular biology of moderate-dose (1-10 Gy) radiation and potential mechanisms of radiation protection: report of a workshop at Bethesda, Maryland, December 17-18, 2001 [J]. *Radiat Res*, 2003, 159(6): 812-834.
- [2] MENG A, WANG Y, BROWN SA, et al. Ionizing radiation and busulfan inhibit murine bone marrow cell hematopoietic function via apoptosis-dependent and -independent mechanisms [J]. *Exp Hematol*, 2003, 31(12): 1348-1356.
- [3] NOVAKOVA-JIRESOVA A, VAN GAMEREN MM, COPPES RP, et al. Transforming growth factor-beta plasma dynamics and post-irradiation lung injury in lung cancer patients [J]. *Radiother Oncol*, 2004, 71(2): 183-189.
- [4] ZHOU ZW, SHEN X, TANG W, et al. Synthesis of novel estrogen derivatives & biological activities of antiradiation promotion white blood cells [J]. *Chinese Journal of Organic Chemistry*, 2010, 30(9): 1395-1399.
- [5] CHANG HS, YAMATO Q, SAKAI Y, et al. Acceleration of super-

oxide Generation in polymorphonuclear leukocytes and inhibition of platelet aggregation by alk(en)yl thiosulfates derived from onion and garlic in dogs and humans [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2004, 70(1): 77-83.

- [6] FERRI N, YOKOYAMA K, SADILEK M, et al. Ajoene, a garlic compound, inhibits protein prenylation and arterial smooth muscle cell proliferation [J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 138(5): 811-818.
- [7] BEATO VM, SANRHEZ AH, CASTRO A, et al. Effect of processing and storage time on the contents of organosulfur compounds in pickled blanched garlic [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(13): 3491.
- [8] 蒋 慧, 刘 斐. 高效液相色谱法测定大蒜素注射液中大蒜素的含量 [J]. *中国药业*, 2005, 14(2): 43.
- [9] 中国国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·第八册(第22卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 36-43.
- [10] 童曾寿, 黄明欣, 戴昌世. 香豆素类辐射防护剂及其构效关系的研讨 [J]. *中国药物化学杂志*, 1994, 4(2): 150-155.
- [11] 童曾寿, 甘贵之, 李 鲁, 等. 一些香豆素衍生物的合成和抗放作用 [J]. *军事医学科学院院刊*, 1984(1): 91-96.
- [12] 周湘洁, 张丽芬, 钟 悦, 等. 番红花培养细胞对辐射小鼠外周血细胞的保护作用 [J]. *中国药业*, 2016, 25(4): 42-46.
- [13] 唐文诚, 李 敏, 罗芳芳, 等. 川芎提取物对辐射损伤小鼠的保护作用研究 [J]. *中国药业*, 2018, 27(20): 1-3.

(收稿日期: 2018-11-02)

留兰香 *Mentha spicata* L. 为唇形科植物,全草入药,夏、秋二季采收,除去杂质,鲜用或阴干;气芳香,味辛凉^[1],功能疏风清热、解表和中、里气止痛,用于感冒头痛、胃痛、咳嗽、腹胀、吐泻、痛经、肢麻、跌扑肿痛。目前对民族药材留兰香的质量控制仅有性状描述^[2]。本研究建立了其叶含量、水分、总灰分、酸不溶性灰分及挥发油含量测定等相关检测项目,以保证该民族药材的药用安全性、有效性和可靠性,同时也为下一步的开发研究提供参考。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

DM-2500 型生物显微镜,莱卡 Las-v3.8 型显微照相系统(德国莱卡公司);SK250LHC 型超声波清洗器(上海科导仪器有限公司);AG135 型电子天平(梅特勒托利多);挥发油测定器;水分测定管及配套玻璃仪器;水浴锅及常规实验器材。

1.2 试药

香芹酮对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 C11052000,含量为 98.2%);样品采集于都匀翁奎(编号为 201701,201707,201708)、都匀大坪东冲(编号为 201703)、都匀剑江河(编号为 201702)、开阳毛云(编号为 201706)、威宁草海(编号为 201704)、遵义桐梓(编号为 201705)等贵州各地,经贵州省食品药品检验所李扬主任药师鉴定为正品;硅胶 G 预制板(批号为 20110712)、硅胶 G 板(批号为 0110916)均由青岛海洋化工有限公司生产;有机试剂及其他化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 显微鉴别

市场上留兰香伪品时有发现,采用显微鉴别能对伪品作初步判定^[3-4]。对 3 个不同采集地点的留兰香进行显微鉴别,其显微鉴别特征见图 1。本品叶表面观:上表面腺鳞圆形或椭圆形,头部 8 细胞,直径约至 100 μm ,小腺毛长 20~30 μm ,直径约 10 μm ,头部及柄部均为单细胞;下表面非腺毛 3~15 个细胞,长 30~150 μm ,直径约 30 μm ,常弯曲,微具疣突;气孔多见,直轴式。

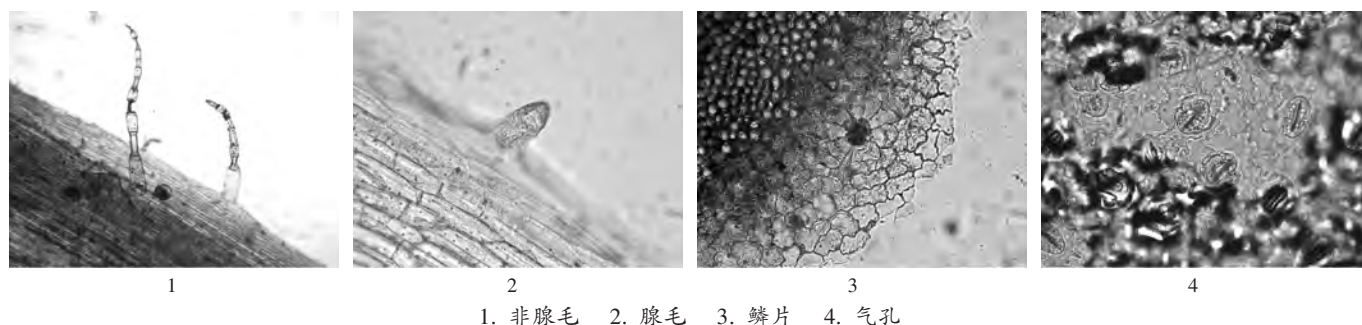


图 1 显微鉴别图

2.2 薄层色谱鉴别

溶液制备:分别称取留兰香药材细粉 3.0 g,优化提取方法,对提取溶剂、提取方法进行考察,最终以加乙醇 30 mL,水浴回流 30 min,滤过,取续滤液 2 mL,作为供试品溶液。此方法操作简便,溶剂毒性小,耗时短,提取较完全。另取香芹酮对照品约 10 mg,置 100 mL 容量瓶中,加乙醇溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。

展开系统考察:选用极性适当的溶剂,分别以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(15:8:0.1, V:V:V)、石油醚-乙酸乙酯-甲酸(10:1:0.2, V:V:V)、石油醚-乙酸乙酯-甲酸(12:8:2, V:V:V)和正己烷-乙酸乙酯-甲酸(10:1:0.1, V:V:V)进行考察,根据色谱图分离效果,结合展开剂的毒性、主要斑点的 R_f 值及清晰度,选取后一种为展开系统。

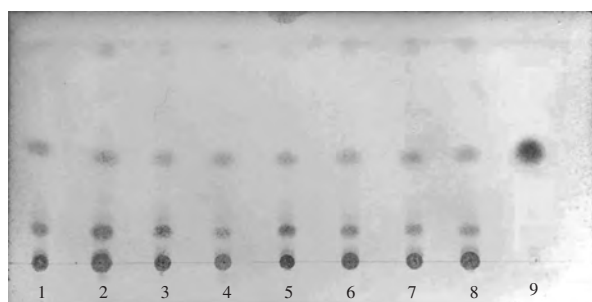
点样量考察:取制备的供试品溶液 2,3,5,6,8,10 μL 及对照品溶液 10 μL ,点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(10:1:0.1, V:V:V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷 5% 香草醛硫酸溶液,105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,点样量在 5~10 μL 时,所显主斑点均清晰,分离度好背景浅,故选取 5~10 μL 为点样体积。

耐用性考察:按国家药典委员会《中药分析方法验证指导原则实施细则》相关要求进行了考察。温度考察了低温(4 $^{\circ}\text{C}$)、室温(24 $^{\circ}\text{C}$)、高温(40 $^{\circ}\text{C}$),相对湿度考察了低湿度(25%)、中等湿度(50%)和高湿度(75%),薄层板分别选用硅胶 G 预制板(批号 20110712)和硅胶 G 板(批号为 0110916),结果均较好。

薄层色谱鉴别:按上述优化的方法分别制备各地采集样品的供试品溶液,取对照品溶液,照薄层色谱法(2015 年版《中国药典(四部)》通则 0502)试验。8 批留兰香样品色谱图中,在对照品色谱相应位置上均显相同颜色的斑点,详见图 2。采用香芹酮对照品做主要成分鉴定,能把同科同属植物薄荷伪品作有效区别,是专属性强的有效方法之一^[5],弥补了显微鉴别法的局限性。

2.3 指标成分检查

叶含量:药材所含挥发油成分在全草植物体的不同



1-8. 留兰香药材样品 9. 香芹酮对照品

图2 薄层色谱图

表1 各成分含量测定结果(%)

编号	叶含量				水分				总灰分				酸不溶性灰分			
	样品1	样品2	平均值	$\bar{X}$	样品1	样品2	平均值	$\bar{X}$	样品1	样品2	平均值	$\bar{X}$	样品1	样品2	平均值	$\bar{X}$
201701	14.22	13.72	13.97	18.04	11.21	11.14	11.18	10.86	9.22	9.37	9.30	7.89	1.33	1.51	1.42	1.34
201702	21.85	19.29	20.57		11.28	11.33	11.31		6.31	6.48	6.40		1.13	1.22	1.18	
201703	19.76	17.15	18.45		10.79	11.11	10.95		6.03	6.34	6.19		1.18	1.39	1.29	
201704	21.92	27.24	24.58		11.70	11.75	11.73		8.21	8.02	8.12		1.37	1.19	1.28	
201705	15.77	16.55	16.16		12.94	12.62	12.78		8.04	7.91	7.98		1.14	1.38	1.26	
201706	17.29	17.33	17.31		9.26	9.22	9.24		8.74	8.71	8.73		1.49	1.45	1.47	
201707	16.32	17.19	16.75		9.64	9.60	9.62		8.21	7.79	8.00		1.56	1.29	1.43	
201708	17.13	15.97	16.55		9.99	10.07	10.03		8.98	7.89	8.43		1.33	1.43	1.38	

水分:中药材含有过量的水分时,极易造成中药霉烂变质,使有效成分分解,且相对减少了实际用量而影响疗效,因此,控制中药中的水分含量对保证中药质量有密切关系;留兰香药材及饮片中主要含挥发性成分,水分测定按2015年版《中国药典(四部)》通则0832水分测定第四法测定^{[7]103}。结果见表1。

总灰分及酸不溶性灰分:测定灰分的目的是限制中药中无机杂质如泥土、沙石的含量,以保证中药的纯度,《中国药典》已将灰分测定作为一种常规检查,对大多数药材和饮片规定了限量检查指标^{[7]204}。总灰分测定法用的供试品须粉碎,使能通过2号筛,混匀后,取供试品3~5g,依法测定,根据残渣质量,计算供试品中总灰分的含量(%)。酸不溶性灰分测定根据残渣质量,计算供试品中酸不溶性灰分的含量(%)。结果见表1。

挥发油含量测定:按2015年版《中国药典(四部)》通则2204测定^{[7]203}。测定的留兰香样品须粉碎,使能通过2号至3号筛,混匀,取供试品适量(150.00~200.00g),置2000mL的硬质圆底烧瓶中,加水650~700mL与玻璃珠数粒,保持微沸3h,依法测定,读取挥发油量,并计算供试品中挥发油的含量(%),结合8批以上不同采集地点、时间来源样品的测定结果,确定含量的限度。详见表2。

3 讨论

显微鉴别方法是通过对留兰香显微特征进行观察、测量所总结出的具有代表性的共性描述,可简便快速地对药材进行初步判定。

部位(器官)中含量是不均衡的,叶中的含量要远高于其他部位(器官);由于该药材在采收季节、加工、炮制、运输过程中,常因其叶在干燥后易脱落或碎裂而致其药材中所含叶量少而主要为茎根,使得药材和饮片中挥发油含量下降;为了保证药材的完整性,把叶含量作为控制药材质量指标之一;参照2015年版《中国药典(一部)》中薄荷药材检查方法^[6]及2015年版《中国药典(四部)》通则0211药材和饮片的取样法^{[7]29}取样,称定质量;把根茎和叶分离,称取叶的质量,计算即得。详见表1。

表2 挥发油含量测定结果(%)

编号	样品1	样品2	每批次平均值	$\bar{X}$
201701	0.33	0.35	0.34	0.36
201702	0.37	0.37	0.37	
201703	0.27	0.21	0.24	
201704	0.34	0.27	0.31	
201705	0.24	0.23	0.24	
201706	0.33	0.36	0.35	
201707	0.44	0.42	0.43	
201708	0.40	0.39	0.40	

薄层色谱鉴别法的建立试验中采用提取方法、点样量、展开系统及耐用性等能与相似药材薄荷区分开,可行性与专属性可作为该药材的质量控制方法之一。

因留兰香叶是含挥发油成分的主要器官,采用控制叶含量测定来控制该药材质量,保证了药材的完整性,同时提高了有效成分挥发油的含量,经测定8批留兰香药材含叶平均值为18.04%,按不低于平均值的80%制订标准。

留兰香药材中叶含量不得少于15.52%,再结合现行2015年版《中国药典》中对该类药材的限量要求和实际测定结果,建议留兰香药材叶含量不得少于14.00%。

由于留兰香含有挥发性成分,因此建立甲苯法测定其水分,经测定8批留兰香药材平均值为10.86%,建议留兰香药材水分不得超过15.00%。

该药材为全草入药,采收时可能会带入泥土、砂石,有建立总灰分及酸不溶性灰分检查的必要性,根据对8批留兰香药材样品的检测,总灰分平均值为7.89%,酸不溶灰分为1.34%,建议留兰香药材总灰分平均值