

## 中药鬼箭羽质控标准的建立

李明江, 张玉玲, 潘扬\*, 张弦  
(南京中医药大学药学院, 南京 210029)

**[摘要]** 目的: 建立中药鬼箭羽形态、组织学的特征体系及其指标性成分的定性和定量方法, 为鬼箭羽的药材质量评估提供科学依据。方法: 以 10 批不同来源的鬼箭羽样本作为研究对象, 生药学制片技术观察组织构造特征; 参照 2010 年版《中国药典》方法测定水分、浸出物和灰分; 以柚皮素为对照品进行硅胶 TLC 法定性鉴别; 分别采用紫外分光光度法和 HPLC 测定鬼箭羽中总黄酮和柚皮素的含量。结果: 10 批鬼箭羽药材的显微特征基本一致, 不同产地药材并不存在显著的差异。各药材水分为  $13.8\% \pm 0.9\%$ ; 水浸出物  $5.9\% \pm 0.5\%$ , 醇浸出物  $4.7\% \pm 0.5\%$ ; 总灰分  $8.4\% \pm 1.8\%$ , 酸不溶性灰分  $2.9\% \pm 1.0\%$ 。供试品 TLC 色谱中, 在与柚皮素对照品色谱相对应的位置上均显相同的红色斑点。总黄酮含量为  $2.7\% \pm 0.7\%$ , 柚皮素  $0.006\% \pm 0.005\%$ 。结论: 实验结果可以作为评判中药鬼箭羽质量好坏的参考标准。

**[关键词]** 鬼箭羽; 质量控制; 总黄酮; 柚皮素; 高效液相色谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)05-0060-07

**[doi]** 10.11653/syjf2014050060

**[收稿日期]** 20130726(013)

**[基金项目]** 江苏高校优势学科建设工程项目(ysxk-2010)

**[第一作者]** 李明江, 硕士研究生, 从事中药化学与生物技术研究, Tel:025-86798185, E-mail:215668094@qq.com

**[通讯作者]** \* 潘扬, 博士, 教授, 从事中药化学与生物技术研究, Tel:025-86798185, E-mail:y.pan2006@163.com

要采集更多的、更具有代表性的滇牡丹样品进行深入的研究。

滇牡丹的根皮为 1996 年版《云南省药品标准》收录的滇产赤丹皮<sup>[11]</sup>, 但丹皮酚的含量远低于正品牡丹皮的含量限度( $\geq 12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[12]</sup>, 所得的结论与文献报道<sup>[13]</sup>的基本一致, 这些滇产赤丹皮品种是否能作为“正品”牡丹皮运用, 需结合药理、药效和临床应用来对其进行进一步的研究。

本试验采用高效液相色谱法测定滇牡丹中没食子酸、丹皮酚的含量方法, 具有用量少、快速、准确的特点, 为黄牡丹的深入研究与开发提供了参考, 也为滇牡丹在质量控制的研究上提供了理论依据。

### [参考文献]

[1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志. 第 11 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 2000:291.  
[2] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志. 第 27 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1979:37.  
[3] 张盈, 徐迎春, 张秀新, 等. 滇牡丹种群与生态环境现状的调查研究 [J]. 江苏农业科学, 2009(6):415.  
[4] 云南省食品药品监督管理局. 云南省中药饮片标准. 第 1 册 [S]. 昆明: 云南美术出版社, 2006:18.

[5] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1977:1127.  
[6] 冯源, 王胤, 周浓, 等. HPLC 测定黄牡丹不同部位中芍药苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9):139.  
[7] 刘本臣. 丹皮酚的研究进展 [J]. 中草药, 2007, 38(11):附 4.  
[8] 贾淑平, 曾睿, 但卫华, 等. 植物多酚药理作用的研究及应用 [J]. 中国药房, 2009, 20(12):953.  
[9] 简在友, 俞敬波, 王文全. 芍药不同部位和不同采收期 6 个化学活性成分含量的比较 [J]. 药学学报, 2010, 45(4):489.  
[10] 阳勇, 彭福, 莫宗成, 等. HPLC 测定不同产地牡丹皮中 5 个化学成分的含量 [J]. 中药材, 2013, 36(3):416.  
[11] 云南省卫生厅. 云南省药品标准 [S]. 1996 年版. 昆明: 云南大学出版社, 1998:55.  
[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:160.  
[13] 许舜军, 李鹏, 杨柳, 等. 牡丹皮高效液相色谱指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20):1677.

[责任编辑 顾雪竹]

## Establishment of the Criteria of Quality Control for Chinese Medicinal Herb *Euonymus alatus*

LI Ming-jiang, ZHANG Yu-ling, PAN Yang\*, ZHANG Xian

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To provide scientific basis for quality evaluation of Chinese medicinal herb *Euonymus alatus* by studying the identification of morphological and histological characteristics, and setting up qualitative and quantitative methods for analyzing the characterized components of *E. alatus*. **Method:** Focusing on ten different sources of *E. alatus*, the paraffin section and photomicrographic techniques were used to describe microscopic characters. The content of moisture, ash, solvent extract was determined according to Chinese Pharmacopoeia (Ed. 2010) methods. The silica gel TLC identification of *E. alatus* was performed by using naringenin as a reference substance. The content of total flavonoids and naringenin was also determined by UV-spectrophotometry and HPLC respectively. **Result:** The microscopic characters of ten different sources of *E. alatus* were basically the same pattern without striking differences. The content of moisture was  $13.8\% \pm 0.9\%$ , aqueous extracts  $5.9\% \pm 0.5\%$ , alcoholic extracts  $4.7\% \pm 0.5\%$ , total ash  $8.4\% \pm 1.8\%$ , and acid-insoluble ash  $2.9\% \pm 1.0\%$ . The developed TLC spots were quite clear, and a red spot obtained with the given samples all corresponded in position and color to the spot obtained with the reference naringenin in the chromatogram. The content of total flavonoids was  $2.7\% \pm 0.7\%$ , and naringenin  $0.006\% \pm 0.005\%$ . **Conclusion:** All these data mentioned above can be used as the reference standards for evaluating quality of *E. alatus*.

**[Key words]** *Euonymus alatus*; quality control; total flavonoids; naringenin; HPLC

中药鬼箭羽为卫矛科植物卫矛的具翅状物枝条或翅状附属物,又叫卫矛、鬼箭、四面戟、六月凌等,始载于《神农本草经》,有破血通经、解毒消肿、杀虫之功效<sup>[1]</sup>,临床上主要用于治疗糖尿病、慢性肾炎、前列腺炎、胃癌、类风湿关节炎等疾病<sup>[2-3]</sup>。目前,已从鬼箭羽中分离鉴定的化学成分有生物碱、黄酮、强心苷、甾体、三萜、多糖等不同类型化合物,并证实它们具有降血糖、抗肿瘤、调节免疫和抗过敏等作用<sup>[3-7]</sup>。

鬼箭羽收载于《北京市中药材标准》(1998年版)<sup>[8]</sup>、《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003年版)<sup>[9]</sup>和《湖南省中药饮片炮制规范》(2010年版)<sup>[10]</sup>等地方药材标准,这些标准均不同程度对鬼箭羽进行了质量标准的规范,如药材来源、炮制方法、性状描述、理化鉴别及用法用量等。张超等人指出<sup>[11]</sup>,仅靠一般的性状和理化鉴别并不能区分鬼箭羽与其伪品木翅,因此尚需建立更具针对性的鬼箭羽质控标准。除参照2010年版《中国药典》方法检查鬼箭羽的浸出物、灰分和水分外,本文还在前人工作的基础上,应用生药学制片技术观察鬼箭羽的组织构造特征,建立了其主要指标性成分柚皮素的

TLC定性和HPLC定量方法,同时采用紫外分光光度法测定了鬼箭羽总黄酮的含量。

### 1 材料

XTB-1型连续变倍体视显微镜(江南光学仪器厂),MOTIC型生物显微镜及系统成像(麦克奥迪实业集团有限公司),AB204-S型电子天平(METTLER TOLEDO公司),UV-2401PC型紫外分光光度计(株式会社岛津制作所),LC-10AT型双泵高效液相色谱系统包括双泵、在线脱气机、柱温箱、PDA检测器和CLASS-LC10色谱工作站(株式会社岛津制作所),SX2-5-12型马福炉(天津玛福尔科技有限公司),202型电热恒温干燥箱(上海索谱仪器有限公司),HH-6型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),KQ-500DE型数控超声清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

共收集到10批鬼箭羽药材,分别产于广东、浙江、山东、陕西、云南、江苏、安徽、东北、贵州和河南,经南京中医药大学药学院潘扬研究员鉴定为卫矛科植物卫矛 *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. 的具翅状物枝条或翅状附属物;柚皮素对照品(上海融禾医药科技有限公司,经HPLC面积归一化法测定,纯

度为 98.6%) ; 芦丁对照品 (又名芸香叶苷, 上海试剂二厂, 生化试剂, 经 HPLC 面积归一化法测定, 纯度为 99.0%) ; 甲醇、三氯甲烷、二氯甲烷、石油醚、正丁醇、丙酮、亚硝酸钠、硝酸铝、冰醋酸和氢氧化钠等试剂均为分析纯; 乙腈为色谱纯。

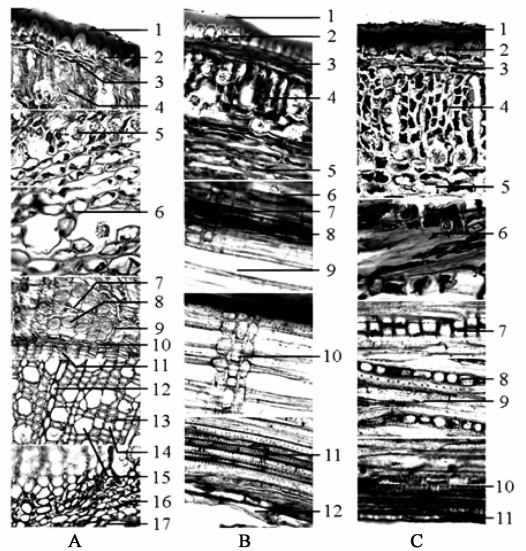
## 2 方法与结果

**2.1 切片显微鉴别**<sup>[12]</sup> 取鬼箭羽枝条和翅状附着物, 分别采用石蜡切片法技术并经双重染色制成永久切片, 在生物显微镜下观察并成像。

**2.1.1 枝条** ①横切面: 表皮细胞 1 列, 外壁显著突起呈锯齿状, 被厚角质层。皮层由 10 余列细胞组成, 外侧为 2~3 列, 较小, 为壁微增厚的厚角细胞, 其下方数列不规则形薄壁细胞, 内含叶绿体、草酸钙簇晶; 内侧的薄壁细胞较大, 壁有时微木化, 部分细胞具壁孔, 薄壁细胞中含较多的草酸钙簇晶, 直径约 17~34 μm。韧皮部较薄, 细胞大多皱缩, 形成层不明显。木质部较宽, 由导管、管胞、木纤维等组成, 胞壁微厚, 木化。射线细胞单列, 木化, 具壁孔。②径向切面: 皮层厚角细胞为长方形。射线为多列类长方形细胞并排, 与纵向排列的管胞垂直。管胞沿纵轴伸长, 两头渐尖, 两个管胞以尖锐端斜面相靠互相穿插, 其上可见到许多具缘纹孔, 近髓部可见螺旋导管。髓部薄壁细胞偶见草酸钙簇晶。③切向切面: 射线细胞群呈纺锤状, 作不连续的纵行排列, 导管、管胞等形态与径向切面相似。枝条切片的显微鉴别结果见图 1。

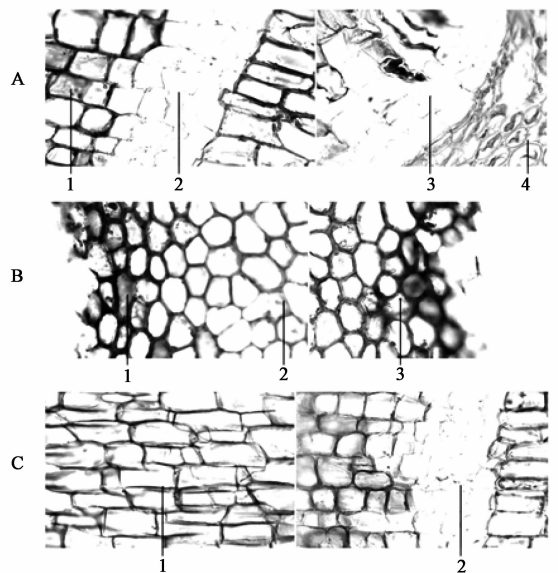
**2.1.2 翅状附着物** ①横切面: 整个枝翅横切面呈细长三角形, 靠枝条生长的根部宽, 向外至顶端渐窄。从根部到顶端扁平薄壁分生细胞和类长方形栓化细胞间隔排列, 根部为数列扁平薄壁的分生细胞。居间分生细胞 1~8 条, 由 2~3 列较扁小的薄壁细胞组成细横带状。栓化层与分生组织相对应地间隔生长, 较宽, 宽度约为分生组织的 10~40 倍, 由数十至近百列长方形或方形栓化细胞组成, 两侧表层细胞大小基本一致, 排列紧密, 有脱落的痕迹; 中央栓化细胞大小形状不一排列稍疏松。②纵切面: 栓化细胞呈多角形, 表层细胞排列紧密、整齐, 栓化程度稍高, 细胞壁微增厚; 中央细胞大小形状不一, 常有新增的细胞, 排列稍疏松。③平切面: 栓化细胞呈长方形, 排列紧密, 细胞壁增厚; 翅中可见 2~3 列扁平薄壁性的居间分生细胞。翅状附着物切片的显微鉴别结果见图 2。

**2.2 粉末显微特征**<sup>[12]</sup> 取鬼箭羽 (含枝条和翅状附着物), 干燥, 粉碎, 过 60 目筛, 用水合氯醛、稀甘



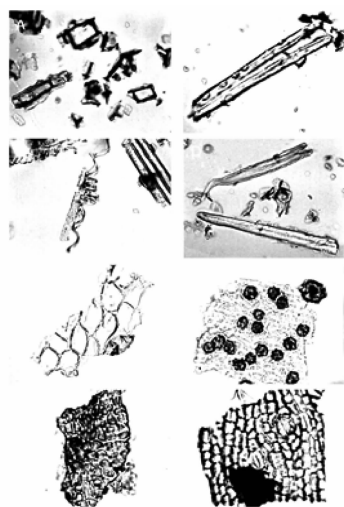
A. 横切面: 1. 角质层; 2. 表皮细胞; 3. 皮层细胞; 4. 外侧薄壁细胞; 5. 草酸钙簇晶; 6. 内侧薄壁细胞; 7. 韧皮部; 8. 韧皮纤维; 9. 韧皮射线; 10. 形成层; 11. 木质部; 12. 木射线; 13. 木纤维; 14. 导管; 15. 木薄壁细胞; 16. 髓射线; 17. 髓部  
B. 径向切面: 1. 角质层; 2. 表皮细胞; 3. 皮层细胞; 4. 外侧薄壁细胞; 5. 内侧薄壁细胞; 6. 韧皮部; 7. 韧皮射线; 8. 形成层; 9. 木质部; 10. 木射线; 11. 螺旋导管; 12. 髓部  
C. 切向切面: 1. 角质层; 2. 表皮细胞; 3. 皮层细胞; 4. 外侧薄壁细胞; 5. 内侧薄壁细胞; 6. 韧皮部; 7. 木纤维; 8. 木射线; 9. 木质部; 10. 螺旋导管; 11. 髓部

图 1 枝条切片的显微鉴别



A. 横切面: 1. 木栓细胞; 2. 居间分生细胞; 3. 分生细胞; 4. 枝条皮层薄壁细胞; B. 纵切面: 1. 一侧表层木栓细胞; 2. 中央木栓细胞; 3. 对侧表层木栓细胞  
C. 平切面: 1. 木栓细胞; 2. 居间分生细胞

图 2 翅状附着物切片的显微鉴别



A. 枝翅木栓细胞;B. 木质部外纤维;  
C. 螺旋导管;D. 木纤维;E. 木薄壁细胞;  
F. 草酸钙簇晶;G. 厚角细胞;H. 气孔器

图3 粉末显微特征

油等进行粉末制片,在生物显微镜下观察并成像。观察结果如下(图3):A. 枝翅木栓细胞随处可见,淡黄色至淡黄棕色,细胞长方形、多角形或方形,长 $38 \sim 72 \mu\text{m}$ ,宽 $22 \sim 54 \mu\text{m}$ ,细胞壁稍增厚。B. 木纤维胞腔条状,直径 $15 \sim 20 \mu\text{m}$ ,壁木质化,其上具有退化的具缘纹孔。C. 导管有螺旋增厚和网纹增厚两种,螺旋导管常见,直径 $8 \sim 14 \mu\text{m}$ ;网纹导管不常见。D. 木质部外纤维细胞壁较厚,细胞腔成缝隙状。E. 木薄壁细胞多角形或长方形,长约 $58 \mu\text{m}$ ,宽 $49 \mu\text{m}$ ,壁呈连珠状增厚,多纹孔。F. 草酸钙簇晶散在或存在于薄壁细胞中,直径 $17 \sim 34 \mu\text{m}$ 。G. 厚角细胞呈多角形或不规则形,板状增厚,常含有叶绿体。H. 气孔器存在于嫩枝表皮中,副卫细胞 $5 \sim 7$ 个,呈辐射型排列。

**2.3 水分、浸出物和灰分测定**<sup>[13]</sup> 参照《中国药典》(2010年版一部)附录IX H 水分测定法(烘干法)、附录X A 浸出物测定法(热浸法)和附录IX K 灰分测定法,分别测定不同产地鬼箭羽的水分、水溶性浸出物和醇溶性浸出物、总灰分和酸不溶性灰分。结果见表1。

## 2.4 薄层鉴别

**2.4.1 色谱条件** 硅胶G薄层色谱预制板(青岛海洋化工厂分厂),展开剂二氯甲烷-甲醇(15:2)。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 取柚皮素 $0.5 \text{ mg}$ ,精密称定,加甲醇使溶解制成 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 取鬼箭羽药材粉末(过3号筛) $0.5 \text{ g}$ ,置具塞三角烧瓶中,加乙醚 $20 \text{ mL}$ ,超

声提取 $20 \text{ min}$ ,滤过,滤液水浴挥干溶剂,残渣加 $2 \text{ mL}$ 甲醇使溶解,作为供试品溶液。

表1 鬼箭羽水分、浸出物和灰分测定

产地	水分	水浸出物	醇浸出物	总灰分	酸不溶性灰分
广东	12.8	5.7	5.1	6.6	2.7
浙江	13.6	6.0	4.1	9.7	3.7
山东	14.8	5.6	5.4	5.5	1.5
陕西	14.2	5.7	4.1	9.6	4.0
云南	14.8	6.3	5.4	5.8	1.6
江苏	14.1	5.5	4.1	9.7	2.8
安徽	13.3	5.3	4.4	9.1	2.7
东北	13.0	6.1	4.1	10.1	2.8
贵州	14.7	6.2	4.8	8.0	2.0
河南	12.4	6.9	5.0	9.6	4.8
均值	13.77	5.9	4.7	8.4	2.9
偏差	0.88	0.5	0.5	1.8	1.0

**2.4.4 点样、展开与显色** 取上述对照品溶液和各供试品溶液 $5 \mu\text{L}$ ,分别点于同一薄层板上,以二氯甲烷-甲醇(15:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 $5\%$ 香草醛硫酸乙醇溶液,在 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 加热显色至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点。

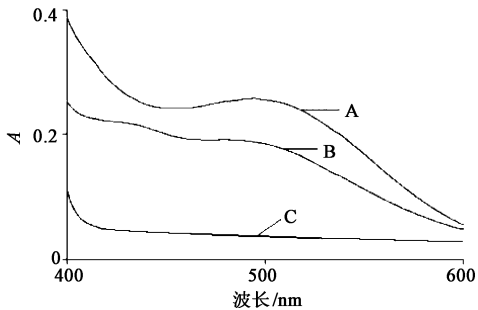
## 2.5 紫外分光光度法测定总黄酮含量

**2.5.1 对照品溶液制备** 精密称取在 $120 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥至恒重的芦丁对照品 $25 \text{ mg}$ ,置 $50 \text{ mL}$ 量瓶中,加稀乙醇适量,超声处理使溶解,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,得芦丁贮备液(每 $1 \text{ mL}$ 中含芦丁 $0.5 \text{ mg}$ )。精密量取 $20 \text{ mL}$ ,置 $50 \text{ mL}$ 量瓶中,加稀乙醇至刻度,摇匀,即得(每 $1 \text{ mL}$ 中含芦丁 $0.2 \text{ mg}$ )。

**2.5.2 供试品溶液制备** 取鬼箭羽药材粉末(安徽产,过3号筛) $0.5 \text{ g}$ ,精密称定,置具塞三角烧瓶中,加 $50 \text{ mL}$ 稀乙醇,称重,超声提取(功率 $400 \text{ W}$ ,频率 $40 \text{ kHz}$ ) $120 \text{ min}$ ,取出,放冷,再称定质量,加稀乙醇补足失重,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.5.3 测定波长选择** 准确量取对照品溶液、供试品溶液及稀乙醇(空白溶剂)各 $2 \text{ mL}$ ,置 $25 \text{ mL}$ 量瓶中,分别加水至 $6 \text{ mL}$ ,加 $5\%$ 亚硝酸钠溶液 $1 \text{ mL}$ ,摇匀,放置 $6 \text{ min}$ ,加 $10\%$ 硝酸铝溶液 $1 \text{ mL}$ ,摇匀,放置 $6 \text{ min}$ ,加氢氧化钠试液 $10 \text{ mL}$ ,再加水至刻度,摇匀,放置 $15 \text{ min}$ 。以空白溶剂为对照,照《中国药典》(2010年版一部)附录V A 紫外-可见分光光度法,在波长 $400 \sim 600 \text{ nm}$ 对对照品、供

试品和稀乙醇进行吸收扫描。从光谱图上(图 4)可以看出,对照品组和供试品组均在波长 500 nm 处呈现最大吸收,而空白溶剂在此波长处基本无吸收,因此选择 500 nm 作为测定波长,稀乙醇作为空白对照。



A. 芦丁对照品; B. 鬼箭羽样品; C. 稀乙醇(空白对照)

图 4 鬼箭羽总黄酮的 UV

**2.5.4 线性关系考察** 精密量取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 按 2.5.3 项下方法完成余下的操作, 以相应试剂为空白, 在 500 nm 处测定吸光度 (Y), 以吸光度为纵坐标, 质量浓度 (X) 为横坐标, 最小二乘法进行线性回归, 计算得回归方程  $Y = 18.21X - 0.03$  ( $r = 0.9997$ ), 提示芦丁在  $8 \sim 48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好。

**2.5.5 精密度试验** 精密量取对照品溶液 2 mL, 按 2.5.4 项下方法连续操作 5 次, 所得吸光度计算日内 RSD, 再连续上述实验 48 h, 每 12 h 分析 1 次, 求得日间 RSD, 结果显示, 测定的日内 RSD 1.7%, 日间 RSD 2.3%。

**2.5.6 稳定性试验** 精密量取同一份供试品溶液 2 mL, 分别于 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 测定其吸光度, 结果发现 48 h 内所得吸光度的 RSD 2.1%, 说明样品显色后至少在 48 h 内稳定。

**2.5.7 重复性试验** 取鬼箭羽药材粉末(安徽产, 过 3 号筛)0.5 g, 5 份, 按 2.5.2 项下方法制备供试品溶液, 依同法测定, 标准曲线法计算总黄酮含量 (%)。5 次测定结果药材中总黄酮含量平均值为 2.5%, RSD 1.7%。

**2.5.8 加样回收率试验** 取已测定总黄酮含量的鬼箭羽样品(安徽产, 过 3 号筛)0.1 g, 共 6 份, 分别加入约 0.8, 1.0 和 1.2 倍总黄酮含量的芦丁对照品溶液, 各 2 份, 加稀乙醇至 10 mL, 照 2.5.2 方法制备供试品溶液, 在 500 nm 的波长处测定吸光度, 标准曲线法测定总黄酮含量并计算芦丁加入量的回收率 (%)。结果见表 2。

**2.5.9 样品测定** 取收集的 10 个不同产地鬼箭羽

表 2 鬼箭羽总黄酮加样回收率试验

No.	称量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.103 5	2.613 5	3.120 0	5.660 8	97.67	97.79	1.8
2	0.102 6	2.590 8	3.120 0	5.601 7	96.50		
3	0.101 5	2.563 0	2.600 0	5.108 7	97.91		
4	0.102 8	2.595 8	2.600 0	5.158 0	98.54		
5	0.103 0	2.600 9	2.080 0	4.645 2	98.29		
6	0.101 2	2.555 4	2.080 0	4.576 2	97.15		

样品(粉碎, 过 3 号筛)各 0.5 g, 精密称定, 按 2.5.2 项下方法制备供试品溶液, 依同法测定, 标准曲线法计算总黄酮含量。10 批不同产地样品的测定结果见表 3。

表 3 鬼箭羽总黄酮和柚皮素的含量测定

产地	总黄酮	柚皮素
河南	2.9	0.007
陕西	2.9	0.001
广东	1.8	0.002
东北	1.9	0.002
浙江	2.2	0.010
山东	3.7	0.002
云南	4.0	0.002
贵州	2.6	0.008
江苏	2.3	0.011
安徽	2.5	0.014
均值	2.7	0.006
偏差	0.7	0.005

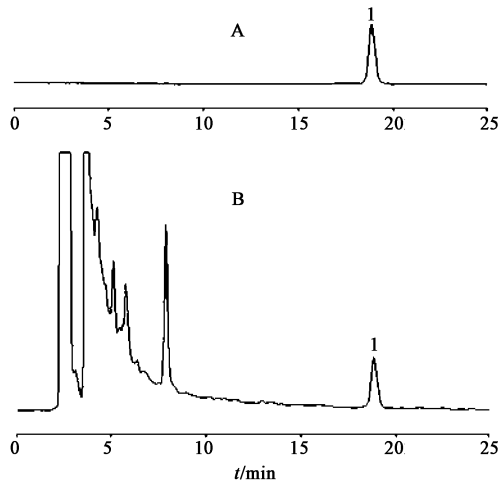
## 2.6 柚皮素的 HPLC 含量测定

**2.6.1 对照品贮备液的制备** 取柚皮素对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并制成每 1 mL 含 0.11 mg 柚皮素贮备液。精密量取贮备液适量, 加甲醇稀释, 制成每 1 mL 含 3.67  $\mu\text{g}$  柚皮素对照品溶液。

**2.6.2 供试品溶液的制备** 取鬼箭羽药材粉末(安徽产, 过 3 号筛)0.5 g, 精密称定, 置具塞三角烧瓶中, 精密加入 80% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声提取(功率 400 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀。滤过, 取续滤液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 即得。

**2.6.3 色谱条件与系统适应性** Merck Hibar<sup>®</sup> C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相乙腈-0.1% 甲酸水溶液(31:69), 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ 。取上述对照品溶液和供试

品溶液各10  $\mu\text{L}$ ,注入 HPLC 色谱仪,记录色谱图(图5)。在此色谱条件下,理论塔板数按柚皮素计算不低于5 000,分离度  $R > 1.5$ ,拖尾因子约 1.03。



A. 柚皮素对照品;B. 鬼箭羽样品;1. 柚皮素( $t_R \approx 18.72 \text{ min}$ )

图5 鬼箭羽的 HPLC

**2.6.4 线性关系的考察** 精密量取柚皮素贮备液适量,加甲醇稀释成浓度为 0.86,1.72,3.44,6.88,13.75,27.50,55.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,分别注入液相色谱仪,测得相应的峰面积。以进样浓度( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )为横坐标( $X$ ),峰面积为纵坐标( $Y$ ),进行线性回归,得回归方程  $Y = 25\,748X + 19\,495$  ( $r = 0.999\,9$ )。表明柚皮素在 0.86 ~ 55.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  呈良好的线性关系。

**2.6.5 精密度试验** 精密吸取柚皮素对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,连续进样 5 次,按色谱条件测定峰面积值,求得日内 RSD;再连续分析 4 d,每天进样 1 次。结果日内 RSD 1.5%;日间 RSD 0.6%。

**2.6.6 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别于 0,3,6,9,12 h 进样,按上述色谱条件测定柚皮素峰面积值。结果供试品溶液在 12 h 内柚皮素峰面积无明显变化,其 RSD 为 2.1%。说明供试品溶液在制备后至少 12 h 内稳定。

**2.6.7 重复性试验** 取鬼箭羽药材粉末(安徽产,过 3 号筛)样品 5 份,按 2.6.2 项方法制备成供试品溶液,依上法测定柚皮素含量。结果鬼箭羽药材中柚皮素含量的平均值为 0.014%,RSD 2.0%。

**2.6.8 加样回收率试验** 取已测定柚皮素含量的鬼箭羽样品(安徽产,过 3 号筛)0.5 g,共 6 份,分别加入约 0.8,1.0 和 1.2 倍柚皮素含量的对照品溶液各 2 份,精密加 80% 乙醇至 25 mL,按 2.6.2 项方法制备成供试品溶液,HPLC 法测定柚皮素含量并计

算其加入量的回收率。结果见表 4。

表4 鬼箭羽柚皮素加样回收率试验

No.	称量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.505 9	0.070 8	0.082 5	0.152 3	98.79		
2	0.502 0	0.069 8	0.082 5	0.151 9	99.49		
3	0.503 5	0.070 0	0.068 8	0.138 0	99.00		
4	0.502 7	0.069 9	0.068 8	0.138 0	99.15	99.19	0.40
5	0.506 5	0.070 4	0.055 0	0.124 8	98.85		
6	0.503 2	0.069 9	0.055 0	0.124 9	99.83		

**2.6.9 样品的测定** 取收集的 10 个不同产地鬼箭羽样品(粉碎,过 3 号筛)各 0.5 g,精密称定,按 2.6.2 项下方法制备供试品溶液,依 HPLC 测定,外标法计算柚皮素含量。10 批不同产地样品的测定结果见表 3。

### 3 讨论

**3.1 显微鉴别** 诸多文献已有关于鬼箭羽枝条横切面的记载,但未见鬼箭羽药材茎径向切面、切向切面及翅状附着物 3 个切面的报道,为此,我们对鬼箭羽显微特征进行了较全面的观察。结果发现枝翅切面上可见居间分生组织,使得枝翅呈横带状,横带的多少是否与产地不同、气候变化有关,有待进一步考证。有文献报道鬼箭羽枝条髓部呈斜“十”字形,在与髓部对应斜“十”字形处向外栓化的翅状附着物亦呈“十”字形生长。但由于药材干燥的枝条髓部多皱缩,呈中空状,在切片时并不能切出完整的髓部,因此在横切面图片只能呈现其部分斜“十”字形特征,并不典型。

**3.2 水分测定** 鬼箭羽中含有挥发性成分<sup>[14]</sup>,为此,本实验分别采用 2010 年版《中国药典》附录 IX H 水分测定法第一法(烘干法)和第二法(甲苯法)对鬼箭羽水分进行测定,结果发现两种方法测定结果无明显差异,说明鬼箭羽中挥发性成分含量较少,因此,确定采用烘干法测定鬼箭羽水分,其含量为 13.8%  $\pm$  0.9%,可以将低限列入标准。

**3.3 浸出物测定** 参照 2010 年版《中国药典》附录 X A 浸出物测定法(热浸法)分别测定鬼箭羽水浸出物和乙醇浸出物,水溶性浸出物含量为 5.9%  $\pm$  0.5%,醇溶性浸出物含量为 4.7%  $\pm$  0.5%,由于二者含量均较低,暂不列入标准。

**3.4 灰分测定** 本实验测定鬼箭羽总灰分含量为 8.4%  $\pm$  1.8%,酸不溶性灰分含量为 2.9%  $\pm$

1.0%, 可以将二者的低限列入标准。

**3.5 薄层鉴别** 鬼箭羽主要化学成分有柚皮素、儿茶素、卫矛醇和香橙素等。本实验选定用柚皮素来做鬼箭羽薄层鉴定的对照品。选三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)下层溶液、苯-乙醚(6:4)为展开剂,虽能达到分离效果,但展开剂均具有较大毒性<sup>[15-16]</sup>。经过最终采用以毒性较小的二氯甲烷-甲醇(15:2)为展开剂,以 5% 香草醛硫酸乙醇溶液显色,不仅能够达到很好的分离效果,并且能较好的显色。

**3.6 总黄酮含量测定** 鬼箭羽主要有效成分为黄酮类成分,文中以芦丁为对照品测定鬼箭羽总黄酮含量,并优化了鬼箭羽总黄酮超声提取条件,采用优化后的方法测定鬼箭羽总黄酮含量为  $2.7\% \pm 0.7\%$ , 可以将低限列入标准。

**3.7 柚皮素含量测定** 文献中报道采用 HPLC 同时测定鬼箭羽中柚皮素等 3 种或 4 种有效成分的含量<sup>[17-18]</sup>,笔者对其中柚皮素超声提取条件和液相色谱条件分别进行了优化,并测定各产地鬼箭羽中柚皮素( $C_{15}H_{12}O_5$ )的含量,采用优化后条件测定鬼箭羽中柚皮素含量为  $0.006\% \pm 0.005\%$ ,与文献报道相近。由于柚皮素含量低于万分之一,暂不列入标准。芦丁与柚皮素虽均属黄酮类化合物,但二者化学结构不完全相同,含量测定方法也不一样,因此它们含量测定的结果并无相关性。

综上所述,通过对鬼箭羽药材性状、显微、薄层色谱和指标性成分的定性和定量分析,能较好地控制药材的质量。建议鬼箭羽药材各项指标可控制在如下范围内,水分不得过 15.0%;总灰分不得过 11.0%,酸不溶性灰分不得过 4.0%,显微鉴别应具有鬼箭羽的药材特征;薄层层析应检出柚皮素;总黄酮含量以无水芦丁( $C_{27}H_{30}O_{16}$ )计,不得少于 1.5%。

#### [参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 13 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:177.  
[2] 叶丽红,周红光. 鬼箭羽应用举隅[J]. 新中医, 2003,35(1):62.

[3] 姚祖培,陈建新,李福如. 鬼箭羽化学、药理及临床应用概况[J]. 中国中医药信息杂志,2000,12(7):31.  
[4] 陈云华,龚慕辛,卢旭然,等. 鬼箭羽及同属植物主要药理作用及有效成分研究进展[J]. 北京中医药, 2010,29(2):143.  
[5] 陈云华,龚慕辛,卢旭然,等. 鬼箭羽的降糖有效部位的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(7):42.  
[6] Chang B, Jin C, Zhang W, et al. *Euonymus alatus* in the treatment of diabetic nephropathy in rats[J]. Am J Chin Med, 2012, 40(6):1177.  
[7] Kim K H, Ha S K, Choi S U, et al. Phenolic constituents from the twigs of *Euonymus alatus* and their cytotoxic and anti-inflammatory activity[J]. Planta Med, 2013, 79(5):361.  
[8] 北京市卫生局. 北京中药材标准[S]. 北京:首都师范大学出版社,1998:220.  
[9] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:287.  
[10] 湖南省食品药品监督管理局. 湖南省中药饮片炮制规范[S]. 长沙:湖南科学技术出版社,2010:142.  
[11] 张超,龚慕辛,罗容,等. 鬼箭羽正品饮片与伪品大果榆饮片的区别研究[J]. 北京中医药, 2011, 30(2):136.  
[12] 彭学著,吴吉苟,陈斌,等. 鬼箭羽的组织形态学研究[J]. 中医药导报,2006,12(7):94.  
[13] 赵占义,董陆陆. 不同产地卫矛中总黄酮的含量测定[J]. 中国中医药科技, 2010,17(3):229.  
[14] 刘赞,周欣,杨占南. 鬼箭羽挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中华中医药杂志,2009,24(10):1293.  
[15] 雷磊,王兴. 糖康胶囊质量标准研究[J]. 中国药房, 2008,19(6):449.  
[16] 陈雪峰,班黎黎,吴丽萍. 有机溶剂提取桃叶中柚皮素的工艺研究[J]. 食品科技,2009,35(5):209.  
[17] 高媛,方宪康,朱丹妮. RP-HPLC 法测定鬼箭羽中 3 种活性成分的含量[J]. 中华中医药学刊,2007,25(7):1441.  
[18] 巴寅颖,张兰珍,石任兵. HPLC 法同时测定鬼箭羽药材中 4 种有效成分的含量[J]. 药物分析杂志,2010, 30(6):991.

[责任编辑 顾雪竹]