

# 鬼箭羽药材的指纹图谱

巴寅颖<sup>1,2</sup>, 张兰珍<sup>2\*</sup>, 石任兵<sup>2</sup>

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 北京中医药大学, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:** 建立鬼箭羽药材 HPLC 指纹图谱, 对谱图中主要色谱峰进行指认, 并比较不同部位药材指纹图谱的异同。**方法:** 采用 Diamonsil™ C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 甲酸水溶液为流动相梯度洗脱, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 254 nm, 柱温 30 °C。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版》软件进行相似度评价, 计算 9 批药材相似度。**结果:** 通过对 9 批不同产地鬼箭羽药材指纹图谱的研究, 标定出 23 个共有色谱峰, 其中 8 个共有峰得到指认。利用 HPLC 指纹图谱相似度评价软件评价, 9 批药材的相似度在 0.824 ~ 0.957, 其中 6 批药材相似度 > 0.900。鬼箭羽不同药用部位的 HPLC 色谱图有较大差异。**结论:** 不同产地鬼箭羽药材质量存在一定差异, 但大部分具有较好相似性。不同药用部位成分有较大差异, 应结合临床疗效规范品种和用药部位, 并制定相关质量控制标准。

**[关键词]** 鬼箭羽; 高效液相色谱; 指纹图谱; 质量控制

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0103-05

**[doi]** 10.11653/syjf2013130103

## HPLC Fingerprint of *Euonymus alatus*

BA Yin-ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Lan-zhen<sup>2\*</sup>, SHI Ren-bing<sup>2</sup>

(1. Capital Medical University, Capital Medical University School of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100069, China; 2. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an HPLC fingerprint of *Euonymus alatus* analyzed the chemical constituents what these peaks stood for and compared HPLC fingerprint of *E. alatus* in different parts. **Method:** The determination was carried out with Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column, using acetonitrile-0.1% acetic acid as mobile phase with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup> and detected at the wavelength of 254 nm and temperature was maintained at 30 °C. The chromatograms were analyzed with the software of Estimating System of Similarity of 2004A Version (the Country's Pharmacopeia Committee) on the Chinese Medicine Fingerprint Chromatography. **Result:** The HPLC fingerprint was established by evaluating the chromatogram of 9 samples from different regions and there were 23 common peaks showed in the fingerprint chromatogram. The similarity of 9 batches of *E. alatus* were 0.824-0.957 in which 6 sources were above 0.900. **Conclusion:** The constituents in the different parts of *E. alatus* were so different comparing their HPLC fingerprint that the quality control of *E. alatus* should be established on the basis of its clinical applications.

**[Key words]** *Euonymus alatus*; HPLC; fingerprint; quality control

鬼箭羽系卫矛科植物卫矛具翅状物的枝条或翅状附属物, 又名卫矛、鬼箭、神箭、六月棱树、四棱锋、芸杨、鬼见愁、千层皮等, 始载于《神农本草经》, 列为中品, 分布于我国北部、中部、华东以及西南各

**[收稿日期]** 20121108(003)

**[基金项目]** 北京中医药大学自主选题项目(JYBZZ-XS029); 北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-12)

**[第一作者]** 巴寅颖, 博士, 讲师, 从事中药(复方)有效物质基础和和质量控制方法研究, Tel: 010-83911671, E-mail: byy3333@sina.com

**[通讯作者]** \* 张兰珍, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中(民族)药药效物质基础与其质量控制的研究, Tel: 010-84738628, E-mail: zhanglanzhen01@126.com

地<sup>[1]</sup>,资源丰富。其味酸甘涩,性微寒,具有破血、通经、杀虫、散瘀止痛等功效,主治闭经、产后腹痛、虫积腹痛、跌打损伤等症。鬼箭羽主要含有黄酮类、甾体类、萜类、多糖等多种化学成分<sup>[2-4]</sup>。药理研究表明其具有降血糖、调血脂及延缓动脉粥样硬化等作用<sup>[5]</sup>。民间使用鬼箭羽治疗治疗糖尿病取得了较好的效果<sup>[6-9]</sup>,在韩国和日本多用于抗肿瘤<sup>[10]</sup>。近年来,临床用于治疗糖尿病、高血脂症、动脉硬化等,效果显著。鬼箭羽未被 2010 年版《中国药典》收录,各地方标准及药物志记载的药用部位均为具翅状物的枝条或翅状附属物,现市售的鬼箭羽药材大部分仅为其翅状附属物,小部分为具翅状物的枝条。各地方标准及药物志记载的质量标准包括性状鉴别、显微鉴别、理化鉴别和浸出物。为了更全面的评价鬼箭羽的质量,在前期对其进行系统化学成分研究的基础上<sup>[11-12]</sup>,笔者采用 HPLC 建立了鬼箭羽中 4 种有效成分的含量测定方法<sup>[13]</sup>,本文在此基础上进一步建立了鬼箭羽药材(翅状附属物)的 HPLC 指纹图谱,并初步比较了不同药用部位(翅状附属物、具翅状物的枝条)指纹图谱的异同。

### 1 材料

Waters 1525 型高效液相色谱仪, PAD 检测器, Empower 软件, 25  $\mu$ L 可调进样器(安捷伦公司), Sartorius BT 25S 型(1/10 万)电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司), KQ-500DE 型超声清洗仪(昆山超声仪器有限公司)。

乙腈(Fisher 公司,色谱纯),屈臣氏纯净水,甲酸(北京试剂厂,分析纯)。其他试剂均为分析纯。

鬼箭羽药材来源见表 1。经北京中医药大学药系阎玉凝教授鉴定均为卫矛科卫矛属植物 *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. 具翅状物的枝条或翅状附属物。原儿茶酸、儿茶素、橙皮苷、山奈酚-3, 7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、去氢双儿茶素 A、香橙素、山奈酚、柚皮素 8 种成分对照品均为自制,经<sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 鉴定结构, HPLC 检测,峰面积归一化法测定纯度分别为 96.2%, 98.3%, 90.6%, 97.5%, 98.2%, 98.2%, 96.7%, 98.5%。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Diamonsil™ C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B), 梯度洗脱, 0 ~ 18 min, 5% ~ 21% A; 18 ~ 35 min, 21% ~ 34% A; 35 ~ 42 min, 34% ~ 38% A; 42 ~ 55 min, 38% ~ 65% A; 检测波长 254 nm, 流速 1 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 柱温 30  $^{\circ}$ C。进样量 15  $\mu$ L。

表 1 鬼箭羽药材来源

No.	产地	部位
1	河北(购自同仁堂)	翅状附属物
2	河北(购自明光饮片厂)	翅状附属物
3	江苏	翅状附属物
4	湖北	翅状附属物
5	贵州	翅状附属物
6	辽宁	翅状附属物
7	浙江	翅状附属物
8	安徽	翅状附属物
9	广西	翅状附属物
10	福建	带翅枝条
11	四川	带翅枝条
12	贵州	不带翅枝条

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取香橙素对照品 3.45 mg、山奈酚对照品 2.14 mg、柚皮素对照品 2.03 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,即得 0.345, 0.214, 0.203 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的混合对照品储备液,备用。

精密称取原儿茶酸、儿茶素、橙皮苷、山奈酚-3, 7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、去氢双儿茶素 A 对照品 2.47, 4.63, 2.38, 3.17, 8.95 mg, 并精密量取香橙素、山奈酚、柚皮素对照品储备液 2 mL,置于 25 mL 棕色量瓶中,用甲醇溶解并稀释到刻度,即得混合对照品溶液。

原儿茶酸、儿茶素、橙皮苷、山奈酚-3, 7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、去氢双儿茶素 A、香橙素、山奈酚、柚皮素 8 个对照品的质量浓度分别为 0.099, 0.185, 0.095, 0.127, 0.358, 0.028, 0.017, 0.016 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。

**2.3 供试品溶液的制备** 取鬼箭羽药材粉末(过 60 目筛)500 mg,精密称定,置 250 mL 圆底烧瓶中,精密加入 100 mL 70% 乙醇,回流提取 2 h,滤过,残渣用 70% 乙醇清洗后合并滤液,浓缩后加 70% 甲醇定容至 5 mL 量瓶中。吸取少量,用 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜过滤,作为供试液。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度考察** 取鬼箭羽药材粉末(1 号药材, 60 目)500 mg,精密称定,按 2.3 项下的方法制备溶液后,采用 2.1 项下方法测定,1 d 连续进样 6 次,检测图谱,以去氢双儿茶素 A(15 号峰)为参照峰,计算各共有峰相对保留时间的 RSD < 2%, 相对峰面积的 RSD < 3%。表明方法精密度良好。

**2.4.2 稳定性考察** 取鬼箭羽药材粉末(1 号药

材,60目)500 mg,精密称定,按2.3项下的方法制备溶液后,采用2.1项下方法测定,分别于制备后0,2,4,6,8,10,12,24 h进样,检测图谱,以去氢双儿茶素A(15号峰)为参照峰,计算各共有峰相对保留时间的RSD < 2%,相对峰面积的RSD < 3%,表明供试品溶液在24 h稳定性良好。

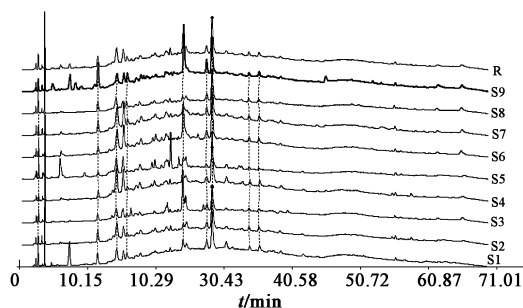
**2.4.3 重复性考察** 取同一批鬼箭羽药材粉末(1号药材,60目)6份,每份500 mg,精密称定,按2.3项下的方法制备溶液后,采用2.1方法测定,检测图谱,以去氢双儿茶素A(15号峰)为参照峰,测得各共有峰相对保留时间的RSD < 2%,相对峰面积的RSD < 3%。表明方法重复性良好。

## 2.5 鬼箭羽药材(翅状物附属物)指纹图谱的建立

因现市售的鬼箭羽药材大部分仅为其翅状附属物,故本文首先对9批鬼箭羽翅状物附属物药材进行了研究。取9批鬼箭羽粉末(60目)各500 mg,精密称定,按2.3项下的方法制备溶液后,采用2.1项下方法测定样品,记录色谱图,比较9批鬼箭羽翅状物附属物药材的HPLC图谱发现,图谱中去氢双儿茶素A的色谱峰面积较大,且没有其他的峰干扰,故选用去氢双儿茶素A为参比峰。将9批鬼箭羽翅状物附属物药材所得的色谱数据依次导入《中药色谱指纹图谱相识度评价系统2004A版》软件,叠加图谱见图1,采用多点校正方式生成指纹图谱<sup>[14-16]</sup>,以1号样品谱图作为参照谱进行指纹匹配,并得到9批鬼箭羽翅状物附属物药材的共有模式图(图2)和9批鬼箭羽翅状物附属物药材导入图谱的相似度数据(表2),9批样品的指纹图谱在70 min内有23个共有峰,统计各批次总峰、共有峰与

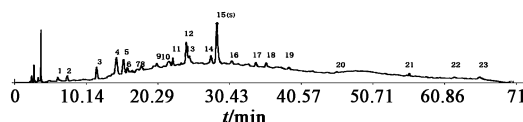
非共有峰的面积,计算各批非共有峰占总峰面积的百分比分别为1.21%,0.92%,4.05%,1.04%,7.89%,3.28%,3.31%,2.98%,8.91%。

从图1可以看出9批药材图谱整体面貌基本一致,反映了不同批次鬼箭羽药材的化学成分的相似性,同时也反映出其共有成分的含量存在较大差异。从相似度可以看出6个药材的相似度都在0.900以上,3号、5号和9号药材的相似度较低。从图1可以看出3号色谱图因为4,5,14,15号峰都相对于对照图谱峰高较低,而12号峰偏高;5号色谱图中12,14,15号峰都与对照相差很大,峰高相对较低;9号色谱图中3,12号峰相对于对照图谱明显较高。所以因为共有峰与对照图谱的峰之间的这种差别而引起相似度偏低。



S1 ~ S9. 1 ~ 9号药材; R. 对照图谱

图1 批鬼箭羽药材(翅状附属物)指纹图谱



S. 去氢双儿茶素A

图2 鬼箭羽药材(翅状附属物)对照液相色谱

表2 9批鬼箭羽药材(翅状附属物)样品的相似度

No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	对照指纹图谱
S1	1	0.789	0.718	0.872	0.664	0.851	0.884	0.833	0.809	0.906
S2	0.789	1	0.893	0.841	0.767	0.884	0.806	0.879	0.827	0.949
S3	0.718	0.893	1	0.704	0.691	0.771	0.725	0.686	0.831	0.862
S4	0.872	0.841	0.704	1	0.727	0.948	0.956	0.954	0.683	0.94
S5	0.664	0.767	0.691	0.727	1	0.784	0.74	0.754	0.604	0.824
S6	0.851	0.884	0.771	0.948	0.784	1	0.917	0.953	0.688	0.957
S7	0.884	0.806	0.725	0.956	0.74	0.917	1	0.902	0.713	0.931
S8	0.833	0.879	0.686	0.954	0.754	0.953	0.902	1	0.674	0.939
S9	0.809	0.827	0.831	0.683	0.604	0.688	0.713	0.674	1	0.841

**2.6 部分共有峰的归属** 采用对照品添加法,结合色谱峰的紫外图谱信息,对鬼箭羽药材(翅状附属物)对照色谱图中 8 个共有峰化学成分进行了归属,分别为峰 2 原儿茶酸、峰 3 儿茶素、峰 8 橙皮苷、峰 11 山奈酚-3,7-二-O- $\alpha$ -L-鼠李糖苷、峰 15 去氢双儿茶素 A、峰 16 香橙素、峰 18 山奈酚、峰 19 柚皮素。混合对照品色谱图见图 3。

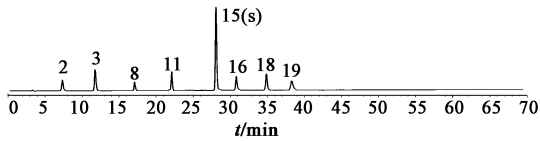


图 3 混合对照品液相色谱

**2.7 不同药用部位 HPLC 色谱图对比** 市售的鬼箭羽药材分为翅状附属物和具翅状物的枝条,极小部分的市售药材以枝条为主,基于此,本文运用所建立的指纹图谱方法,初步考察了不同药用部位(翅状附属物、具翅状物的枝条)指纹图谱的异同。

取 10,11,12 号鬼箭羽药材粉末(过 60 目筛)各 500 mg,精密称定,按 2.3 项下的方法制备样品溶液后,采用 2.1 项下方法测定,检测 HPLC 色谱图,将其与鬼箭羽药材(翅状物)色谱图进行比较,结果见图 3。从 HPLC 色谱图可看出不同药用部位成分有较大差异。四川产带翅枝条图谱(S2)与贵州产带翅枝条图谱(S3)峰数与峰位相似,峰高有所差异,但是它们与河北产翅状附属物图谱(S5)和翅状附属物对照图谱(S6)相比,不论是峰数和峰位都有明显差异;对比贵州产翅状附属物图谱(S4)与贵州产不带翅枝条图谱(S1),不论是峰数和峰位都有明显差异,说明翅状附属物与枝条成分有明显差异。

指纹图谱,使鬼箭羽中有效成分能在色谱图中得到宏观、综合地体现,为制订中药鬼箭羽质量评价标准提供了科学依据。

现市售的鬼箭羽药材包括翅状物和带翅枝条 2 种,从 HPLC 图谱可看出二者成分有较大差异,应结合临床疗效规范品种和用药部位,并制定相关质量控制标准。

选择了甲酸-水,甲醇-0.1% 甲酸,乙腈-0.1% 甲酸。结果表明流动相以系统 c 为佳,各色谱峰分离度较好,保留时间适中,故作为鬼箭羽指纹图谱检测的流动相系统。

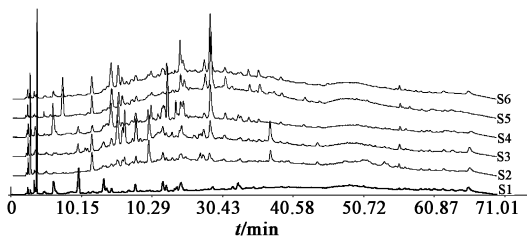
本实验以峰数和总峰面积为指标,分别考察了不同提取方法(索氏提取、回流和超声),不同提取溶剂(50%,70%,95% 乙醇)的提取效果,以确定最佳的供试品溶液制备方法,最终确定提取方法为 100 mL 70% 乙醇回流提取 2 h。

采用 PAD 检测器选取不同的波长条件进行对比,发现在 254 nm 检测波长下可以尽可能多地反映样品化学成分信息,出峰较多。因此确定 254 nm 为鬼箭羽药材 HPLC 指纹图谱测定的检测波长。

本实验考察了柱温为 20,30,35  $^{\circ}$ C 时对色谱分离效果的影响,结果表明柱温对保留时间和峰的分离有一定影响。综合 HPLC 图谱,30  $^{\circ}$ C 峰形良好,保留时间适中,可作为鬼箭羽 HPLC 指纹图谱测定的柱温。

[参考文献]

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:1695.  
[2] Jin N H, Lee J Y, Kang S K, et al. A phenolic compound, 5-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid), is a new type and strong matrix metalloproteinase-9 inhibitor: Isolation and identification from methanol extract of *Euonymus alatus* [J]. Life Sci, 2005, 77:2760.  
[3] 方振峰,李占林,王宇. 鬼箭羽的化学成分研究[J]. 中草药,2007,38(6):810.  
[4] 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.  
[5] 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):65.  
[6] 李玉杰,龚慕辛,来媛媛,等. 鬼箭羽不同提取部位对糖尿病大鼠药理作用的研究[J]. 北京中医药大学学报,2010,33(3):39.



S1. 12 号药材;S2. 11 号药材;S3. 10 号药材;S4. 5 号药材;  
S5. 1 号药材;S6. 鬼箭羽药材(翅状物和嫩枝)对照图谱

图 3 不同部位 HPLC 对比

3 讨论

指纹图谱研究结果表明不同产地鬼箭羽药材共有成分的含量存在一定差异,但大部分具有较好相似性。通过对 9 批不同产地鬼箭羽药材(翅状附属物)样品的 HPLC 检测,初步构建了鬼箭羽 HPLC

# 三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定

刘善新<sup>\*</sup>, 靳光乾, 王亮  
(山东省中医药研究院, 济南 250014)

**[摘要]** 目的: 建立三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法。Lichrospher C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液 (46:64) (每 100 mL 含 0.1 g 十二烷基硫酸钠), 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 30 °C, 检测波长 350 nm。结果: 盐酸小檗碱的进样量在 0.042 0 ~ 0.525 μg 线性关系良好,  $r = 0.999 8$ , 平均回收率为 95.24%, RSD 1.33%。3 批三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量分别为 0.326%, 0.347%, 0.373%。结论: 方法准确、灵敏、重复性好, 可作为三黄汤制炉甘石中盐酸小檗碱的含量测定方法。

**[关键词]** 三黄汤制炉甘石; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱; 含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0107-03

**[doi]** 10.11653/syfy20131300107

## Content Determination of Berberine Hydrochloride in Prossing Calamina by Sanhuang Tang

LIU Shan-xin<sup>\*</sup>, JIN Guang-qian, WANG Liang  
(Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a method for the content determination of berberine hydrochloride in prossing Calamina by Sanhuang Tang. **Method:** HPLC was used with Lichrospher C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), acetonitrile-0.1% phosphoric acid (46:64) with mobile phase. The flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>; the column temperature was maintained at 30 °C; the detection wavelength was set at 350 nm. **Result:** Berberine

**[收稿日期]** 20120906(012)

**[基金项目]** 2012 年版《山东省中药炮制规范》研究项目

**[通讯作者]** \* 刘善新, 硕士, 副研究员, 从事中药新制剂、新剂型研究, Tel: 0531-82949812, E-mail: liushanxin66@163.com

- [7] 朗素梅, 朱丹妮, 余伯阳, 等. 中药鬼箭羽降糖有效部位的药效学和化学研究[J]. 中国药科大学学报, 2003, 34(2): 128.
- [8] 王静, 卞茸文. 鬼箭羽水提液对胰淀粉酶诱导下人脂肪细胞糖摄取的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(1): 64.
- [9] 陈志远, 王兴. 中药鬼箭羽降血糖研究进展[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(3): 172.
- [10] Byung Y C, Chan J P, Dong G L, et al. Inhibitory effect of methanol extract of *Euonymus alatus* on matrix metalloproteinase-9 [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 85: 163.
- [11] 巴寅颖, 刘倩颖, 石任兵, 等. 中药鬼箭羽中黄酮类化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(2): 242.
- [12] 巴寅颖, 石任兵, 刘倩颖, 等. 鬼箭羽化学成分研究[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(7): 480.
- [13] 巴寅颖, 张兰珍, 石任兵. HPLC 法同时测定鬼箭羽药材中 4 种有效成分含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 991.
- [14] 中国药典委员会. 中药色谱指纹图谱相似度评价系统的操作规范[S]. 2004.
- [15] 张明昶, 彭小冰, 苗旭辉, 等. 中药虎杖特征指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 53.
- [16] 马鸿雁, 杨莉, 王长虹, 等. 返魂草药材的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 111.

[责任编辑 顾雪竹]