

## 闽产钩吻质量标准研究

石冬梅<sup>1</sup>, 苏燕评<sup>1</sup>, 刘浩<sup>2</sup>, 俞昌喜<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> 福建医科大学药学院, 福建 福州 350122; <sup>2</sup> 福建武警总队医院药剂科, 福建 福州 350003)

**[摘要]** 目的: 对闽产钩吻进行系统的质量标准研究。方法: 采用经验和显微鉴别法对闽产钩吻进行药材性状鉴别和显微鉴别; 参照中国药典附录相关方法, 对药材水分、总灰分、酸不溶性灰分、醇溶性浸出物及钩吻素子含量等进行测定。结果: 对闽产钩吻的药材性状和显微鉴定进行了描述, 该方法具有较强的专属性。10 批样品钩吻素子的平均含量为 0.34%, 平均水分含量 10.0%, 平均总灰分 6.9%, 平均酸不溶性灰分 1.2%, 平均醇溶性浸出物 13.7%。结论: 生药学鉴定及质量检查结果可为闽产钩吻的鉴别、质量标准制订及资源的开发利用提供科学依据。

**[关键词]** 钩吻; 质量研究; 福建

**[中图分类号]** R286.0

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)03-0312-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20170311

## A study on the quality standard of Fujian *Gelsemium elegans*

Shi Dongmei<sup>1</sup>, Su Yanping<sup>1</sup>, Liu Hao<sup>2</sup>, Yu Changxi<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>School of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350122; <sup>2</sup>Pharmacy Department, Armed Police Hospital of Fujian, Fuzhou 350003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the quality standard system of Fujian *Gelsemium elegans*. **Methods:** Empirical and microscopic identification methods were adopted to measure morphological and histological characters. The contents of moisture, total ash, acid-insoluble ash, ethanol-soluble extractives, and koumine were studied according to the methods of Chinese Pharmacopoeia. **Results:** The macroscopical identification and microscopic features were described. The average contents of koumine, moisture, total ash, acid-insoluble ash, and alcohol-soluble extractive were 0.34%, 10.0%, 6.9%, 1.2%, and 13.7%, respectively. **Conclusion:** The results of pharmacognostical study and quality inspection provide scientific reference for identification, development of quality standards and utilization of *Gelsemium elegans* in Fujian province.

**[Key words]** *Gelsemium elegans*; quality study; Fujian province

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(03): 312-317]

钩吻是马钱科胡蔓藤属常绿木质藤本植物, 俗称断肠草、大茶药<sup>[1-2]</sup>。我国对钩吻的使用历史悠久, 《神农本草经》中始有记载。由于钩吻有剧毒, 民间多外用于消肿止痛。近年来随着研究的深入, 发现钩吻植物中含量最高的钩吻素子具有显著的镇痛、抗类风湿性关节炎和抗焦虑作用<sup>[3-7]</sup>, 钩吻植物成为天然药研发的热点。钩吻主要分布于我国长江以南省份及东南亚地区<sup>[8]</sup>。福建钩吻资源丰富, 国内

学者研究钩吻的原料药多采自福建省<sup>[9-10]</sup>。钩吻为使用广泛的地方性药材, 我国广东及广西等丰产钩吻的省份均制定相应的中药材质量标准<sup>[11-12]</sup>。福建省作为钩吻的丰富产区, 虽在《福建药物志》中有记载, 但尚未有地方性的钩吻药材质量标准。本研究对闽产钩吻进行性状鉴定、显微鉴定、含量测定、限量检查、浸出物含量等一系列生药质量标准研究, 为闽产钩吻的地方性质量标准的制订提供科学依据。

**[基金项目]** 福建省教育厅产学研项目(JA14132)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: changxiyu@fjmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

高效液相色谱仪(LC-15C,岛津公司,日本);马弗炉(KJ-M1700-8LX,郑州科佳电炉有限公司),石蜡切片机(YD-202A,浙江金华益迪医疗设备厂),烘箱(DHG-9023A,上海精宏实验设备有限公司),显微镜(CX21,日本奥林巴斯株式会社);超声波清洗仪(KQ-100 型,昆山市超声仪器有限公司),旋转蒸发仪(RE-5298,上海亚荣生化仪器厂),显微摄影仪(Carl Zeiss Imager A2,Zeiss 公司,德国)。

1.1.2 药品及试剂

钩吻素子对照品为本课题组前期分离提取精制而成,经高效液相色谱(HPLC)鉴定,纯度为 99.1%;甲醇(色谱纯、分析纯)、氯仿、无水乙醇、氨水、甲苯、二甲苯、甘油(分析纯,中国国药集团);水为纯净水。

1.1.3 药材

分别于 2014 年 7 月—2015 年 7 月采自福建上杭、云霄、福州、永泰、霞浦、永定、永春、莆田等产区的 10 份野生样品及永定人工栽培品大田种植及山坡种植样品各 2 批。样品经鉴定为马钱科胡蔓藤属植物钩吻,植物标本保存于福建医科大学药学院生药标本室。药材编号见表 1。

表 1 野生钩吻样品采集编号情况

Table 1 The specific information of *Gelsmium elegans*

| 编号    | 采集地点 | 采集时间        |
|-------|------|-------------|
| S1407 | 上杭   | 2014 年 7 月  |
| S1408 | 上杭   | 2014 年 8 月  |
| P1412 | 莆田   | 2014 年 12 月 |
| Y1503 | 永泰   | 2015 年 3 月  |
| Z1406 | 云霄   | 2014 年 6 月  |
| Z1408 | 云霄   | 2014 年 8 月  |
| D1507 | 永定   | 2015 年 7 月  |
| F1407 | 福州   | 2014 年 7 月  |
| X1502 | 霞浦   | 2015 年 2 月  |
| C1504 | 永春   | 2015 年 4 月  |

1.2 方法

1.2.1 性状鉴别

根据 10 批野生药材及 4 批人工栽培药材的干燥根、茎,观察其外观形状、色泽、质地、断面与气味等特征,并进行描述。

1.2.2 显微鉴定

根、茎的横切面鉴定:将采集的野生钩吻和栽

培钩吻新鲜药材切段,用标准固定液固定后,采用石蜡包埋、滑走切片、番红固绿双染色后,加拿大树胶封片,观察。

粉末鉴定:野生钩吻和栽培钩吻药材 60℃干燥后粉碎过 2 号筛,取少量粉末分别用蒸馏水装片和水合氯醛透化装片,观察钩吻药材的粉末特征。

1.2.3 含量测定

按照高效液相色谱法(《中华人民共和国药典一部》2010 版附录 VI D)测定 10 批野生钩吻中钩吻素子的含量。对照品溶液的制备:精密称取钩吻素子对照品适量,加甲醇制成 0.400 0 g/L 的溶液,摇匀。空白溶液的制备:加 0.8 mL 3% NaOH 于表面皿中,过夜阴干后加 20 mL 氯仿移置具塞锥形瓶中,超声 20 min(250 W、50 kHz、50℃),重复 3 次合并提取液,抽滤,滤液旋蒸至干,残渣用甲醇溶解并转移到 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释到刻度,摇匀,滤过,即得空白。供试品溶液的制备:取药材粉末(过 3 号筛),60℃干燥 4 h,精密称取 0.300 0 g,用 0.8 mL 3% NaOH 润湿,过夜阴干;置具塞锥形瓶中,加 20 mL 氯仿超声提取(250 W、50 kHz、50℃)20 min,重复 3 次,合并提取液,抽滤,滤液旋蒸至干,残渣用甲醇溶解并转移到 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释到刻度,摇匀,滤过。

色谱条件与系统适应性试验:检测波长 256 nm;色谱柱 Ultimate,250.0 mm×4.6 mm;流动相为甲醇:水:氨水(50:50:0.05),流速 1.0 mL/min,进样量 10 μL,柱温 30℃。理论板数按钩吻素子峰计算不低于 5 000。

线性关系考察:精密吸取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,分别取 10 μL 注入高效液相色谱仪测定。以峰面积为纵坐标,对照品质量浓度(μg/mL)为横坐标作标准曲线,得回归方程  $Y=10\,932X+759$ , $r=0.999\,4$ ,线性范围为 0.02~0.32 mg/mL( $n=6$ )。

精密度试验:取 0.400 0 g/L 的钩吻素子对照品溶液 10 μL,连续操作 6 次,测定峰面积,得 RSD 值为 0.24%,说明仪器具有良好的精密度。

重复性试验:取同一药材 6 份(样品 S1407),供试品溶液的制备及色谱检测方法同上,测得钩吻素子的平均含量为 0.52%,RSD 为 2.86%( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

稳定性试验:取同一药材 6 份,供试品溶液的制备同上,室温密闭,分别在制备 0、2、4、8、16、24 h 后进样测定钩吻素子的峰面积,RSD 为 1.58%( $n=6$ )。

加样回收率试验:精密称取已知含量的药材粉末约 0.300 0 g(样品 S1407),分别精密加入一定量的钩吻素子对照品,供试品溶液的制备及色谱检测方法同上,测得钩吻素子的含量。

#### 1.2.4 钩吻药材的检查与浸出物测定

水分测定:按《中华人民共和国药典一部》2010 版附录 IX H 第 1 法测定钩吻含水量。取钩吻粉末 3 g,平铺于干燥至恒重的扁形称量瓶中,厚度不超过 5 mm,精密称定,打开瓶盖在 105℃干燥 5 h,将瓶盖盖好,移至干燥器中,冷却 30 min,精密称定,再在上述温度干燥 1 h,冷却,称重,连续 2 次称重的差异不超过 5 mg 为止,根据减失的质量,计算钩吻含水量(%)。

总灰分测定:按《中华人民共和国药典一部》2010 版附录 IX K 法测定钩吻的灰分含量。钩吻粉末,过 2 号筛,混合均匀,精密称取 5 g,置炽灼至恒重的坩埚中,缓缓炽热,至完全炭化时,逐渐升高温度至 500~600℃,使完全灰化并至恒重。根据残渣重量,计算钩吻中总灰分的含量(%)。

酸不溶性灰分测定:取所得的灰分,在坩埚中小心加入稀盐酸约 10 mL,用表面皿覆盖坩埚,置水浴上加热 10 min,表面皿用热水 5 mL 冲洗,洗液并入坩埚中,用无灰滤纸滤过,坩埚内的残渣用水洗于滤纸上,并洗涤至洗液不显氯化物反应为止,滤渣连同滤纸移置同一坩埚中,干燥,炽灼至恒重。根据残渣质量,计算供试品中酸不溶性灰分的含量(%)。

浸出物测定:按《中华人民共和国药典一部》2010 版附录 X A 项下的方法,用 70%乙醇作溶剂,采用热浸法测定。精密称取钩吻粉末 2 g,置 100 mL 的锥形瓶中,精密加 70%乙醇 50 mL,密塞,称定质量,静置 1 h 后,连接回流冷凝管,加热至沸腾,并保持微沸 1 h。放冷后,取下锥形瓶,密塞,再称定质量,用 70%乙醇补足减失的质量,摇匀,用干燥滤器滤过,精密量取滤液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105℃干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量。以干燥品计算

供试品中醇溶性浸出物的含量。

## 2 结果

### 2.1 闽产钩吻药材性状

①根呈圆柱形,直径 0.5~2.0 cm。表面棕黄色,有细纵纹。皮部与木部容易分开。质坚硬,体轻,不易折断,断面纤维性,皮部黄棕色,木部黄白色,有放射状纹理和细孔。②茎圆柱形,直径 1~4 cm,表面木栓化,棕褐色,具纵皱纹及横裂纹,可见颜色较浅纵向突起的皮孔;节部稍膨大,体轻、质硬,不易折断,断面纤维性;皮部红棕色,木部黄白色,有放射状纹理,密布细孔;中央髓部红棕色。气特异,味苦,微辛(图 1)。

### 2.2 显微鉴定

闽产钩吻根横切面特征:木栓层为 7~9 层栓化细胞,皮层由 5~7 层薄壁细胞组成;韧皮部较宽,韧皮射线宽 2~6 个细胞,射线细胞中含草酸钙簇晶和方晶;形成层成环;木质部约占直径的 1/2,导管大,类圆形,多单个散在;木射线宽 2~11 列细胞;薄壁细胞含草酸钙结晶和淀粉粒(图 2)。

闽产钩吻茎横切面特征:木栓层由数十列切向延长的细胞组成,木栓化,常有部分脱落。皮层由 5~7 层薄壁细胞组成,有石细胞散在。韧皮部较大,散有大量的石细胞和纤维,壁厚,层纹明显;韧皮射线较窄,细胞中含草酸钙簇晶;形成层成环;木质部导管大,多单个散在,木射线细胞同型,宽 1~4 个细胞,木化,具单纹孔;髓部约占直径的 1/5,由圆形或类圆形薄壁细胞组成,含草酸钙簇晶和方晶。环髓有石细胞散在(图 3)。

闽产钩吻粉末特征:黄棕色。①木纤维长梭形,成束或单个散在,一端或两端稍扭曲,孔沟明显,直径 30~110  $\mu\text{m}$ ;②石细胞淡黄色,单个散在,长方形、椭圆形或不规则分枝状,壁极厚,层纹明显;③导管多为具缘纹孔导管,常破碎,直径 50~210  $\mu\text{m}$ ;④草酸钙簇晶,直径 40~120  $\mu\text{m}$ ;⑤木栓细胞类长



A、B: 钩吻根; C、D: 钩吻茎。

图 1 闽产钩吻根和钩吻茎

图 1 Medical material of radix and caulis of Fujian *Gelsemium elegans*



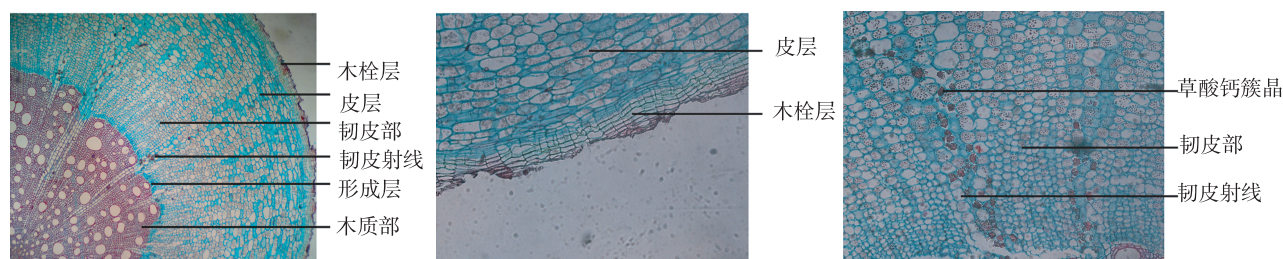


图 2 闽产钩吻根横切面的显微构造

Figure 2 Microscopic structures of cross section for radix of Fujian *Gelsemium elegans*

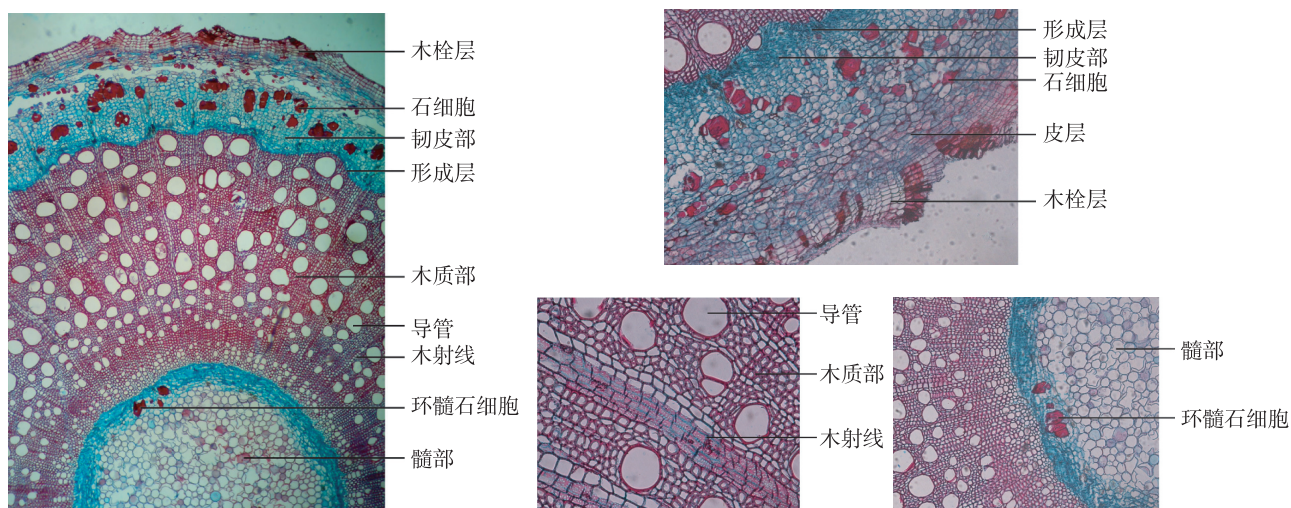


图 3 闽产钩吻茎横切面的显微构造

Figure 3 Microscopic structures of cross section for caulis of Fujian *Gelsemium elegans*

方形或多角形,壁厚;⑥淀粉粒众多,椭圆形、类圆形或半圆形,直径 10~24  $\mu\text{m}$ ,脐点点状或裂缝状,复粒由 2~6 分粒组成(图 4)。

### 2.3 闽产钩吻中钩吻素子含量测定

对照品及钩吻样品的色谱图见图 5。加样回收试验结果见表 2。闽产钩吻中钩吻素子的含量为 0.17%~0.52%,平均含量为 0.34%(表 3)。

### 2.4 闽产钩吻质量检查

10 批钩吻样品中,含水量 9.1%~11.1%,平均值 10.0%。总灰分含量平均值为 6.9%,酸不溶性灰分平均值为 1.2%(表 4)。醇溶性浸出物比较了 90%、70%、50%和 30%乙醇的提取效果,以 70%乙醇的提取量最高。70%乙醇浸出物结果显示 10 批钩吻药材含量最高为 15.7%,最低为 10.6%,平均为 13.7%。

## 3 讨 论

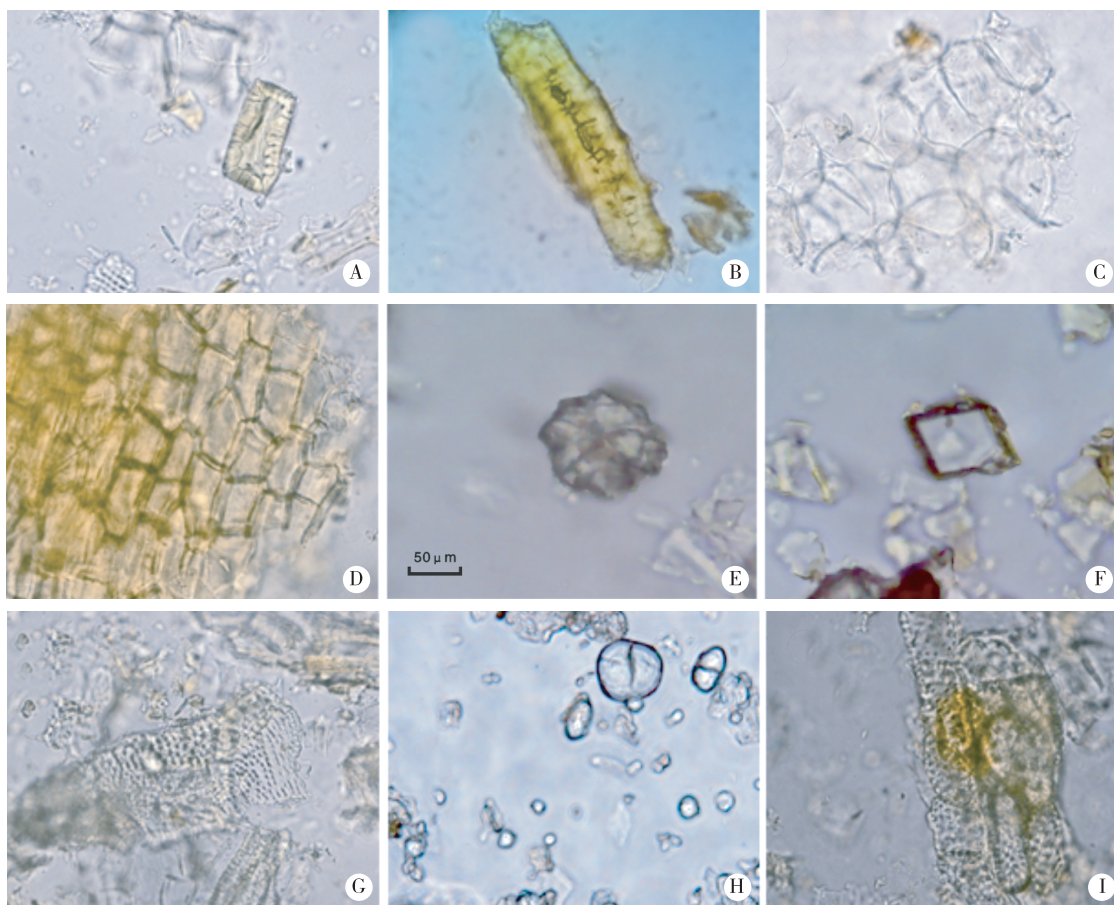
民间钩吻的使用多以根和茎入药,本课题组前期研究亦显示闽产钩吻的入药部位以根、茎为佳<sup>[13]</sup>,因此在对钩吻药材进行生药学鉴定时以根和茎为主。福建常见钩吻药材根直径多为 0.5~2.0 cm,皮部

较厚,约占直径的 1/2;木质部木化程度高,木射线细胞具纹孔。笔者切片采用的钩吻根直径为 0.7~1.1 cm,所切切片显微结构示韧皮部未存在厚壁细胞,这与相关文献报道钩吻根韧皮部中存在大量厚壁细胞有差异<sup>[14]</sup>,原因可能是制作切片的根直径偏小,王智华等<sup>[15]</sup>曾认为直径小于 0.3 cm 的钩吻根韧皮部中没有厚壁组织存在。钩吻根韧皮部厚壁细胞的有无与根的老嫩或大小是否存在正相关值得进一步研究和探讨。

钩吻素子为药材钩吻的主要有效活性成分,且含量最高<sup>[16]</sup>,因此药材的含量测定选取钩吻素子作为指标性成分。经 10 批样品含量测定,选取最低含量为下限,本品按干燥品算,闽产钩吻中钩吻素子的含量不得少于 0.1%。

根据 10 批采自福建不同地区、不同采收时间的药材水分、总灰分、酸不溶性灰分测定结果显示,不同采收地区和采收时间的含量有所差异,尤其是浸出物的含量差异较大,这对确定药材的适宜采收期具有参考意义。药材质量检查限度的制订采用删除极值法,对测定结果最高和最低的 2 个批次样品





A: 石细胞; B: 纤维状石细胞; C: 髓薄壁细胞; D: 木栓细胞; E: 草酸钙簇晶; F: 草酸钙方晶; G: 导管; H: 淀粉粒; I: 射线细胞。

图 4 闽产钩吻粉末图

Figure 4 Powder characters diagrams of Fujian *Gelsemium elegans*

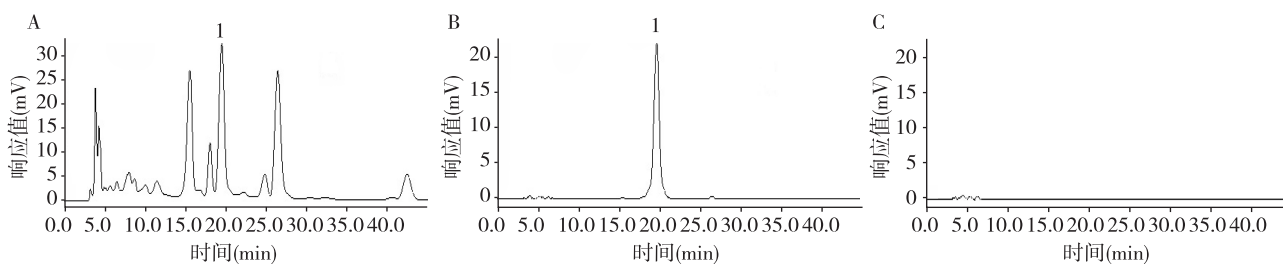


图 5 钩吻素子样品(A)、对照品(B)和空白溶液(C)的 HPLC 色谱图

Figure 5 HPLC chromatograms of sample (A), reference substance (B) and blank solution (C)

表 2 钩吻药材加样回收试验

Table 2 Results of recovery of koumine

(n=6)

| 称样量(g)  | 样品中含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | 平均值(%) | RSD(%) |
|---------|-----------|---------|---------|--------|--------|--------|
| 0.299 6 | 1.557 9   | 1.500 0 | 2.957 9 | 96.73  | 97.52  | 0.93   |
| 0.300 4 | 1.562 1   | 1.500 0 | 2.974 8 | 97.15  |        |        |
| 0.300 1 | 1.560 5   | 1.500 0 | 3.005 5 | 98.06  |        |        |
| 0.299 8 | 1.559 0   | 1.500 0 | 3.032 4 | 99.13  |        |        |
| 0.299 9 | 1.559 5   | 1.500 0 | 2.965 9 | 96.94  |        |        |
| 0.300 6 | 1.563 1   | 1.500 0 | 2.974 9 | 97.12  |        |        |

表 3 不同产地、采收期钩吻素子的含量  
Table 3 Content of koumine in samples of various habitats and harvest time (n=3,  $\bar{x}\pm s$ )

| 样品编号  | 钩吻素子含量(%) | 样品编号  | 钩吻素子含量(%) |
|-------|-----------|-------|-----------|
| S1407 | 0.52±0.01 | X1502 | 0.17±0.01 |
| Z1406 | 0.37±0.01 | F1407 | 0.32±0.01 |
| Z1408 | 0.42±0.02 | D1507 | 0.39±0.01 |
| Y1503 | 0.21±0.01 | P1412 | 0.23±0.02 |
| S1408 | 0.42±0.02 | C1504 | 0.31±0.01 |

表 4 10 批钩吻样品各项检查和浸出物测定结果  
Table 4 Various tests and extractive determination results of 10 samples (% , n=3,  $\bar{x}\pm s$ )

| 样品    | 水分         | 灰分        | 酸不溶性灰分    | 浸出物        |
|-------|------------|-----------|-----------|------------|
| S1407 | 9.20±0.12  | 7.40±0.17 | 1.30±0.11 | 13.40±0.17 |
| S1408 | 9.80±0.26  | 6.20±0.20 | 1.20±0.09 | 14.20±0.22 |
| P1412 | 10.20±0.23 | 6.90±0.14 | 1.20±0.14 | 10.80±0.13 |
| Y1503 | 10.50±0.21 | 5.80±0.27 | 1.00±0.12 | 15.70±0.18 |
| Z1406 | 11.10±0.30 | 6.10±0.11 | 1.10±0.08 | 13.70±0.23 |
| Z1408 | 9.50±0.21  | 7.50±0.16 | 1.40±0.09 | 14.80±0.15 |
| D1507 | 10.20±0.23 | 6.40±0.16 | 1.20±0.13 | 15.50±0.11 |
| F1407 | 9.70±0.32  | 8.10±0.19 | 1.30±0.11 | 12.90±0.21 |
| X1502 | 10.40±0.36 | 6.50±0.23 | 1.10±0.08 | 10.60±0.14 |
| C1504 | 9.10±0.26  | 7.60±0.21 | 1.30±0.12 | 15.10±0.17 |
| 平均值   | 10.00±0.63 | 6.90±0.76 | 1.20±0.12 | 13.70±1.80 |

不参与限量制订。由此可得,闽产钩吻水分含量不超过 11%,总灰分不超过 8%,酸不溶性灰分不高于 1.4%。浸出物的含量测定,分别考察了 90%、70%、50%和 30%乙醇的提取效果,结果表明 70%乙醇浸出物的含量要明显高于其他溶剂,因此选定 70%乙醇作为浸出物提取剂。10 批样品醇提浸出物的含量为 0.6%~15.7%,拟订闽产钩吻醇溶性浸出物含量不少于 10%。

目前,钩吻的药材来源多以野生品为主,为适应市场需求,在闽西永定有小面积人工栽培。因栽培年限和种植范围的限制,栽培品尚无法进行药材质量控制的研究,仅能比较野生品与栽培品的生药学鉴别特征。钩吻药材的野生品和人工栽培品在性状上无显著差异;组织结构和粉末特征显示野生和栽培品基本相同。近年来,钩吻药用价值日趋突显,药材需求量不断上涨,人工栽培钩吻药材成为趋势。本研究所得药材的生药学鉴别特征亦可为栽培

品鉴别提供依据。

[参考文献]

[1] 陈翼胜. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社,1990:371-376

[2] 福建省医药研究所. 福建药物志(第一册) [M]. 福州:福建人民出版社,1979:383-385

[3] Qiu HQ,Xu Y,Jin G L,et al. Koumine enhances spinal cord 3 $\alpha$ -hydroxysteroid oxidoreductase expression and activity in a rat model of neuropathic pain[J]. Mol Pain, 2015, 11:46-58

[4] Ling Q,Liu M,Wu MX,et al. Anti-allodynic and neuro-protective effects of koumine,a Benth alkaloid in a rat model of diabetic neuropathy[J]. Biol Pharm Bull,2014,37(5):858-864.

[5] Xu Y,Qiu HQ,Liu H,et al. Effects of koumine,an alkaloid of *Gelsemium elegans Benth.*,on inflammatory and neuropathic pain models and possible mechanism with allopregnanolone [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2012, 101(3):504-514.

[6] Liu M,Huang HH,Yang J,et al. The active alkaloids of *Gelsemium elegans Benth.* are potent anxiolytics [J]. Psychopharmacology (Berl),2013,225(4):839-851

[7] 廖婉婷. 钩吻素子对 C57BL/6 小鼠类风湿性关节炎的治疗作用[D]. 福州:福建医科大学,2014

[8] 《福建植物志》编写组. 福建植物志第四卷[M]. 福州:福建科学出版社,1988:391-392

[9] 赵庆春,付艳辉,郭 涛,等. 胡蔓藤中非生物碱类化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2007,24(10):619-622

[10] 张秋萍,张彬锋,俞桂新,等. 钩吻地上部分的化学成分[J]. 中国中药杂志,2011,36(10):1305-1310

[11] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(一册) [M]. 广州:广东科技出版,2004:147

[12] 广西壮族自治区卫生厅. 广西壮族自治区壮药质量标准[M]. 桂林:广西科技出版社,2008:184-185

[13] 石冬梅,苏燕评,吴宏霞,等. 闽产钩吻分布及药用部位研究[J]. 福建医科大学学报,2016,50(3):159-162

[14] 刘道荣, 高英立. 钩吻的生药学研究[J]. 中药材, 1987,3(1):17-19

[15] 王智华,张和岑. 中药钩吻的生药学研究[J]. 上海第一医学院学报,1982,9(2):81-86

[16] 刘 浩, 俞昌喜. 钩吻研究进展[J]. 福建医科大学学报,2008,42(5):469-472

[收稿日期] 2016-07-20