

# 枸骨葉

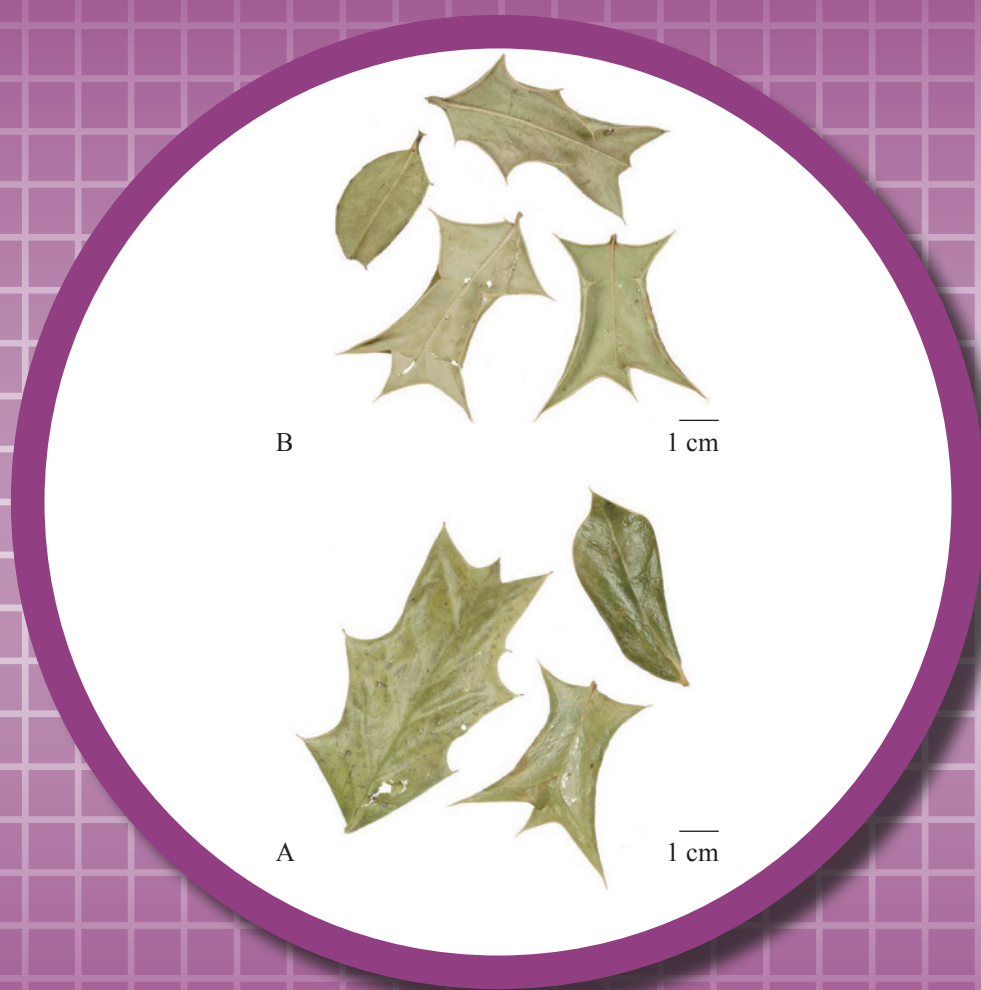


圖 1 枸骨葉外觀圖

A. 葉上表面 B. 葉下表面

## 1. 名稱

藥材正名：Ilicis Cornutae Folium

中文名：枸骨葉

漢語拼音名：Gouguye

## 2. 來源

本品為冬青科植物枸骨 *Ilex cornuta* Lindl. ex Paxt. 的乾燥葉。秋季採收，除去雜質，曬乾。

## 3. 性狀

本品呈類長方形或矩圓狀長方形，偶有長橢圓形，長 2.6-10.0 cm，寬 1.1-4.1 cm，有短葉柄。先端具 3 枚較大的硬刺齒，頂端 1 枚常反曲，基部平截或寬楔形，兩側有時各具刺齒 1-3 枚，邊緣稍反卷；長橢圓形葉片常無刺齒或於先端處具有 1 刺齒。上表面黃綠色至綠棕色，有光澤；下表面灰黃色至灰綠色。葉脈羽狀，上中脈凹陷。革質，硬而厚。氣微，味微苦(圖 1)。

## 4. 鑒別

### 4.1 顯微鑒別 (附錄 III)

#### 橫切面

**葉：**上表皮細胞類方形，壁厚，外被厚角質層，主脈處偶見單細胞非腺毛。柵欄組織位於上表皮內側，由 2-4 列細胞組成；海綿組織排列疏鬆。主脈處上、下表皮內側為 1 至數列厚角細胞。主脈維管束外韌型，其上、下方均具木化纖維束。薄壁組織中散有草酸鈣簇晶，靠近下表皮處偶爾可見。下表皮細胞較小。主脈處下表皮內厚角組織中及韌皮部下方的木化纖維群外偶有石細胞 [ 圖 2 (i) ]。

**葉緣：**葉緣表皮內常依次為厚角細胞、石細胞及木化纖維束。葉緣近葉柄處有數列厚角細胞。葉緣表面內厚角組織中偶有石細胞 [圖 2 (i)]。

**葉柄：**表皮細胞類方形，壁厚，外被厚角質層。表皮內側有多列厚角細胞。維管束外韌型，主脈處之維管束較大，其兩側各有一個小型維管束，其下方有時具纖維群。薄壁組織中含草酸鈣簇晶 [圖 2 (ii)]。

### 粉末

灰綠色至綠棕色。上表皮細胞類方形或多角形，壁平直或略呈波狀彎曲，壁厚，表面觀孔溝明顯。下表皮細胞呈多角形或形狀不規則，較上表皮細胞小，壁稍薄，氣孔不定式，排列密集。非腺毛偶見，單細胞。厚角細胞呈類方形、類圓形、多角形或形狀不規則，壁厚。石細胞單個散在或成群，呈類圓形、多角形、梭形、卵形或形狀不規則，直徑 6-27  $\mu\text{m}$ ，壁較薄，有時可見層紋，孔溝明顯；偏光顯微鏡下呈亮白色。草酸鈣簇晶直徑 10-33  $\mu\text{m}$ ，稜角鈍；偏光顯微鏡下呈多彩狀。纖維單個散在或 2 至數個成束，直徑 4-22  $\mu\text{m}$ ；偏光顯微鏡下呈亮白色 (圖 3)。

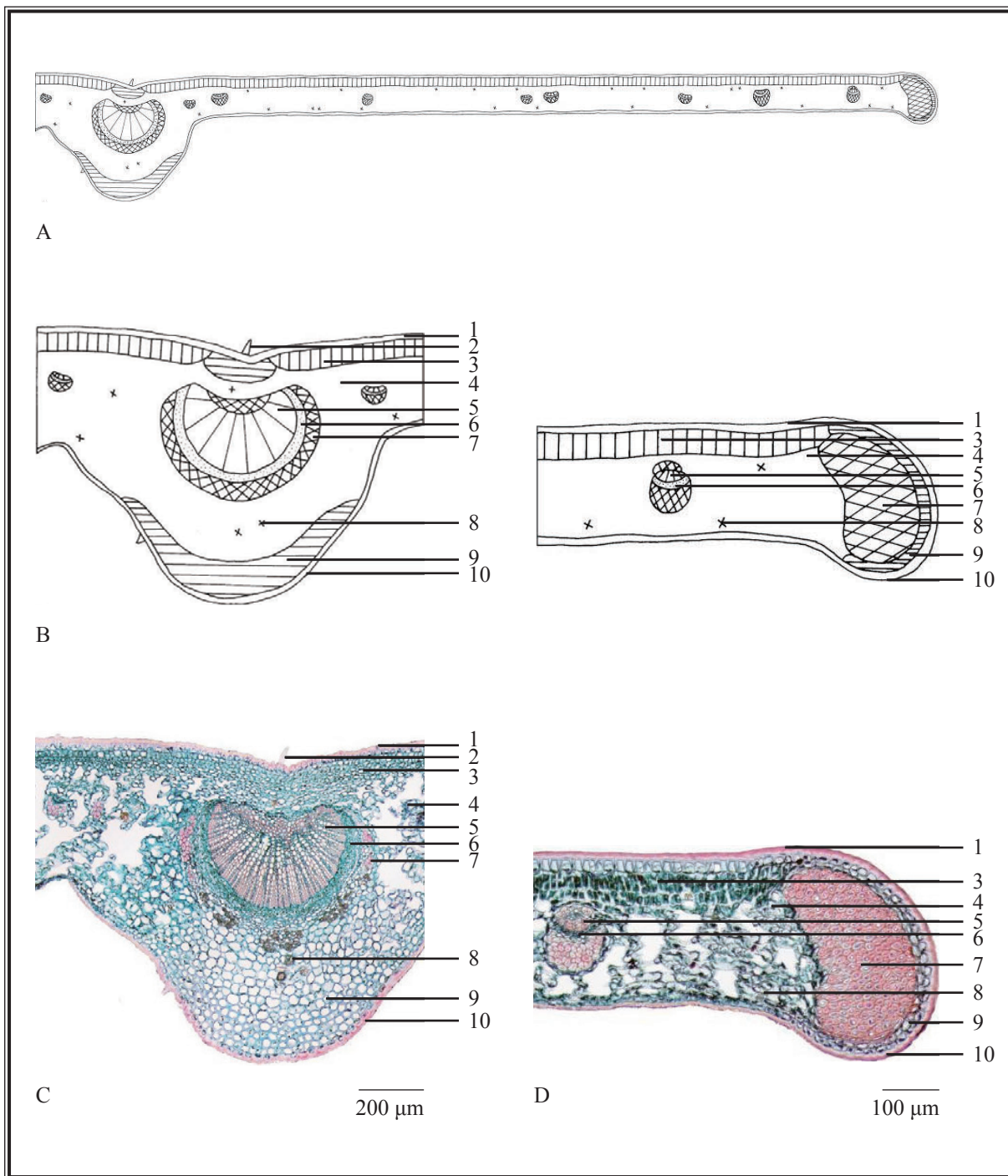


圖 2(i) 枸骨葉橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 簡圖放大圖 C. 葉橫切面圖 D. 葉緣橫切面圖

- 1. 上表皮
- 2. 非腺毛
- 3. 柵欄組織
- 4. 海綿組織
- 5. 木質部
- 6. 韌皮部
- 7. 纖維束
- 8. 草酸鈣簇晶
- 9. 厚角組織
- 10. 下表皮

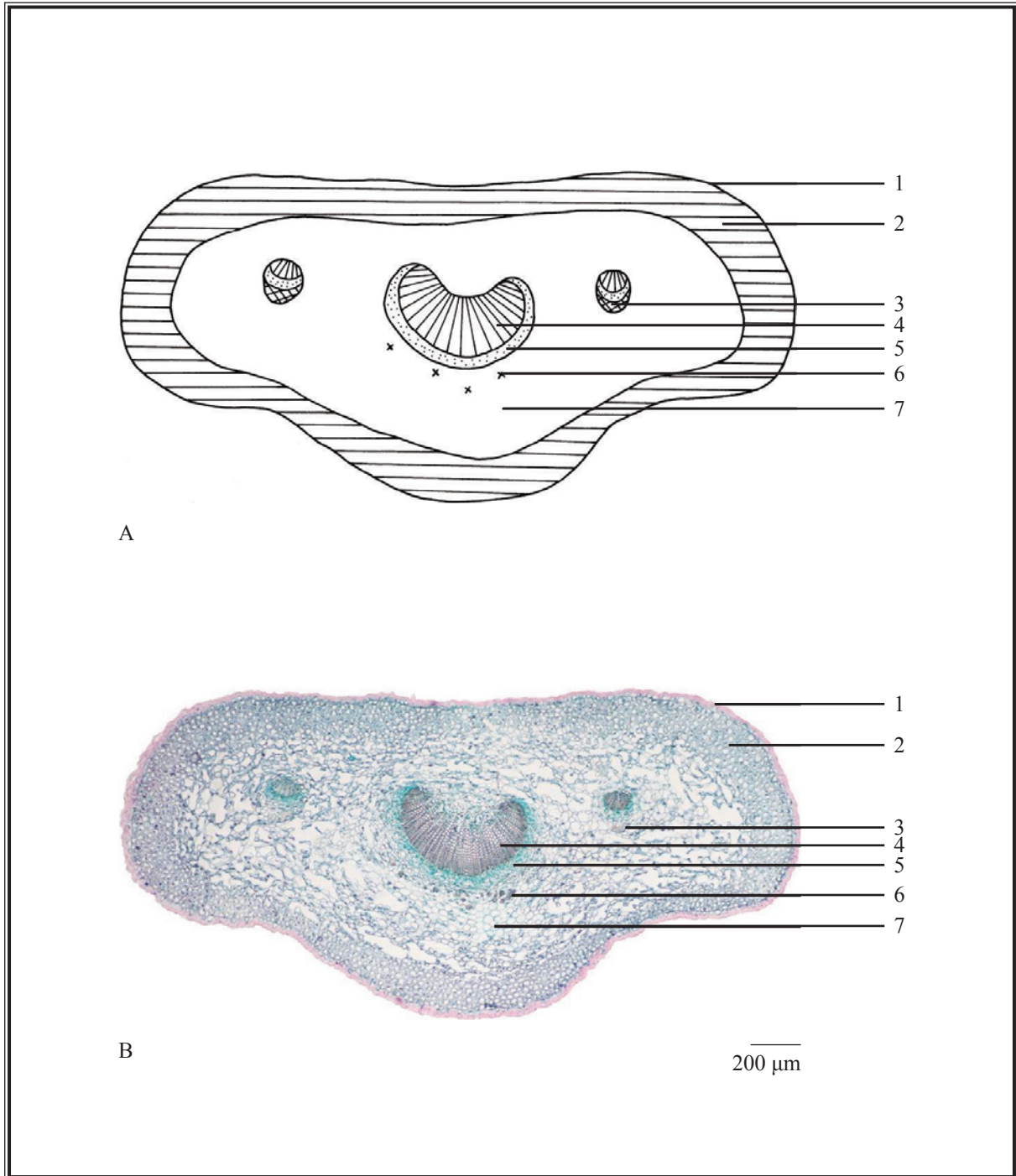


圖 2(ii) 枸骨葉葉柄橫切面顯微特徵圖

A. 簡圖 B. 橫切面圖

1. 表皮
2. 厚角組織
3. 纖維束
4. 木質部
5. 韌皮部
6. 草酸鈣簇晶
7. 薄壁組織

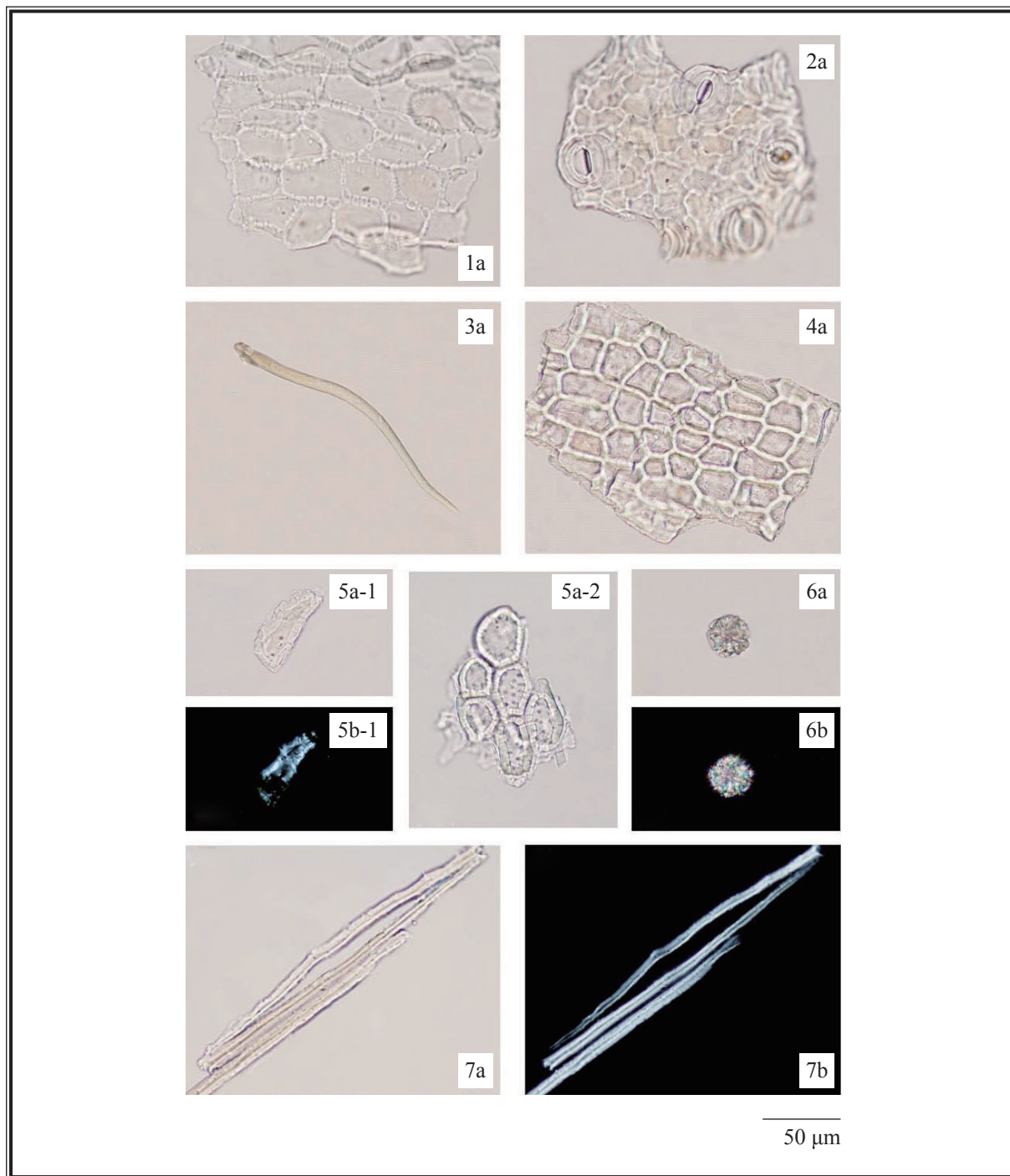


圖 3 枸骨葉粉末顯微特徵圖

- 1. 上表皮細胞    2. 下表皮細胞及氣孔    3. 非腺毛    4. 厚角細胞    5. 石細胞
- 6. 草酸鈣簇晶    7. 纖維

a. 光學顯微鏡下特徵    b. 偏光顯微鏡下特徵

## 4.2 薄層色譜鑒別 [ 附錄 IV (A) ]

### 對照品溶液

#### 羽扇豆醇對照品溶液

取羽扇豆醇對照品(圖 4) 1.0 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

#### 熊果酸對照品溶液

取熊果酸對照品(圖 4) 1.0 mg，溶解於 1 mL 甲醇中。

### 展開劑

製備正己烷 – 二氯甲烷 – 甲醇 (5:5:1, v/v) 的混合溶液。

### 顯色劑

取硫酸 80 mL，緩緩加至 20 mL 乙醇中，溶解香草醛 0.5 g。

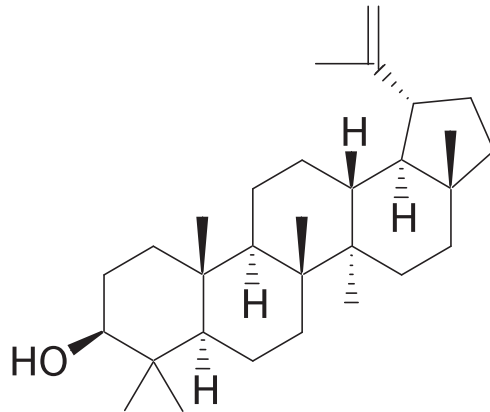
### 供試品溶液

取本品粉末 1.0 g，置 50-mL 錐形瓶中，加甲醇 10 mL，超聲(400 W)處理 30 分鐘，用 0.45- $\mu$ m 微孔濾膜(nylon)濾過，即得。

### 操作程序

照薄層色譜法 [ 附錄 IV (A) ] 進行。分別吸取羽扇豆醇對照品溶液 2  $\mu$ L、熊果酸對照品溶液 2  $\mu$ L 和供試品溶液 5  $\mu$ L，點於同一高效硅膠 F<sub>254</sub> 薄層板上。將薄層板置雙槽層析缸一槽中，加上述新製備的展開劑於另一槽內，預先飽和 15 分鐘，再將展開劑小心傾入置薄層板的槽中，展開約 8 cm，取出，標記溶劑前沿，晾乾。均勻噴上顯色劑，在約 105°C 加熱，直至斑點或條帶清晰可見(約 2 分鐘)。置可見光下檢視，並計算 R<sub>f</sub> 值。

(i)



(ii)

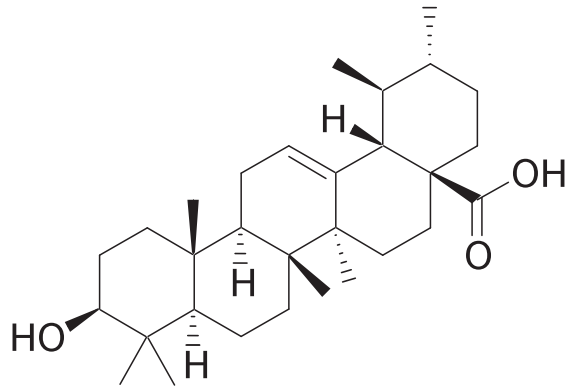


圖 4 化學結構式 (i) 羽扇豆醇 (ii) 熊果酸



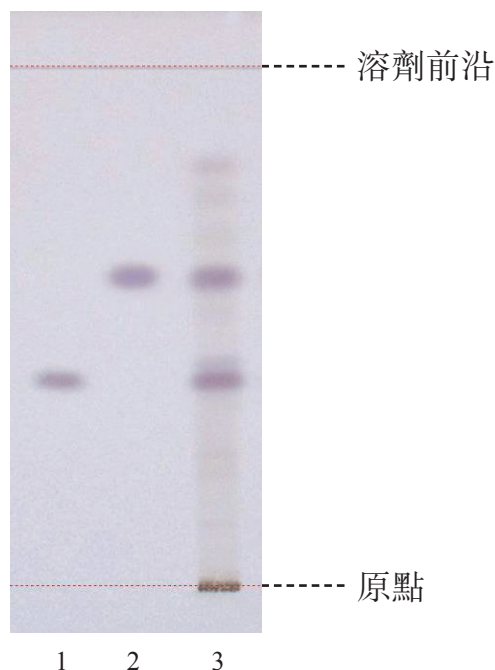


圖 5 枸骨葉提取液對照高效薄層色譜圖(顯色後在可見光下檢視)

1. 熊果酸對照品溶液
2. 羽扇豆醇對照品溶液
3. 供試品溶液

供試品色譜應顯出與羽扇豆醇和熊果酸色澤相同、 $R_f$  值相應的特徵斑點或條帶(圖 5)。

### 4.3 高效液相色譜指紋圖譜法(附錄 XII)

#### 對照品溶液

羽扇豆醇對照品溶液 *Std-FP* (70 mg/L)

取羽扇豆醇對照品 0.7 mg，溶解於 10 mL 甲醇中。

熊果酸對照品溶液 *Std-FP* (120 mg/L)

取熊果酸對照品 1.2 mg，溶解於 10 mL 甲醇中。

#### 供試品溶液

取本品粉末 0.2 g，置 100-mL 圓底燒瓶中，加甲醇 25 mL，加熱回流 30 分鐘，冷卻至室溫。濾過，取濾液轉移於 100-mL 圓底燒瓶中，重複提取 1 次，殘渣用甲醇 5 mL 洗滌，合併提取液，用旋轉蒸發器減壓蒸乾。殘渣溶於甲醇，轉移於 25-mL 量瓶中，加甲醇至刻度，用 0.45- $\mu$ m 微孔濾膜(PTFE)濾過，即得。

## 色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 202 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠(3.5 μm)填充柱；柱溫 35°C；流速約 1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下(表 1)：

表 1 色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	乙腈 (%, v/v)	0.01% 磷酸 (%, v/v)	洗脫
0 – 27	71	29	等度
27 – 31	71 → 80	29 → 20	綫性梯度
31 – 36	80 → 88	20 → 12	綫性梯度
36 – 60	88	12	等度

## 系統適用性要求

吸取羽扇豆醇對照品溶液 Std-FP 和熊果酸對照品溶液 Std-FP 各 10 μL，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：羽扇豆醇和熊果酸的峰面積相對標準偏差均應不大於 5.0%；羽扇豆醇峰和熊果酸峰的保留時間相對標準偏差均應不大於 2.0%；理論塔板數按羽扇豆醇峰和熊果酸峰計算分別應不低於 90000 和 20000。

供試品測試中 2 號峰和 4 號峰分別與其鄰近峰之間的分離度均應不低於 1.5 (圖 6)。

## 操作程序

分別吸取羽扇豆醇、熊果酸對照品溶液 Std-FP 和供試品溶液各 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。測定對照品溶液 Std-FP 色譜圖中羽扇豆醇峰和熊果酸峰的保留時間，及供試品溶液色譜圖中 4 個特徵峰(圖 6)的保留時間。在相同液相色譜條件下，與相對照品溶液 Std-FP 色譜圖中二成份峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中羽扇豆醇峰和熊果酸峰。二色譜圖中羽扇豆醇峰和熊果酸峰的保留時間相差均應不大於 2.0%。按附錄 XII 公式計算特徵峰的相對保留時間。

枸骨葉提取液 4 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍見表 2。

表 2 枸骨葉提取液 4 個特徵峰的相對保留時間及可變範圍

峰號	相對保留時間	可變範圍
1	0.71	± 0.04
2 (指標成份峰, 熊果酸)	1.00	-
3	1.21	± 0.03
4 (羽扇豆醇)	2.19	± 0.05

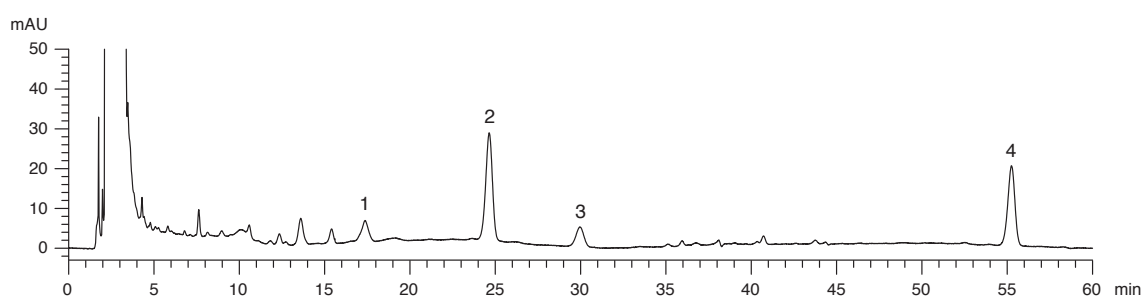


圖 6 枸骨葉提取液對照指紋圖譜

供試品色譜圖中應有與對照指紋圖譜相對保留時間範圍內一致的 4 個特徵峰(圖 6)。

## 5. 檢查

**5.1 重金屬(附錄 V)：**除鎘應不多於 6.0 mg/kg 外，其餘元素應符合有關規定。

**5.2 農藥殘留(附錄 VI)：**應符合有關規定。

**5.3 霉菌毒素(附錄 VII)：**應符合有關規定。

**5.4 二氧化硫殘留(附錄 XVII)：**應符合有關規定。

**5.5 雜質(附錄 VIII)：**不多於 13.0%。

**5.6 灰分(附錄 IX)**

總灰分：不多於 7.0%。

酸不溶性灰分：不多於 1.5%。

## 5.7 水分(附錄 X)

烘乾法：不多於 8.0%。

## 6. 浸出物(附錄 XI)

水溶性浸出物(熱浸法)：不少於 15.0%。

醇溶性浸出物(熱浸法)：不少於 18.0%。

## 7. 含量測定

照附錄 IV (B) 進行。

### 對照品溶液

羽扇豆醇和熊果酸混合對照品儲備液 *Std-Stock* (羽扇豆醇 600 mg/L 和熊果酸 1000 mg/L)

精密稱取羽扇豆醇對照品 15.0 mg 和熊果酸對照品 25.0 mg，溶解於 25 mL 甲醇中。

羽扇豆醇和熊果酸混合對照品溶液 *Std-AS*

精密吸取羽扇豆醇和熊果酸混合對照品儲備液適量，以甲醇稀釋製成含羽扇豆醇分別為 18、36、72、144、288 mg/L 和含熊果酸分別為 30、60、120、240、480 mg/L 系列的混合對照品溶液。

### 供試品溶液

精密稱取本品粉末 0.2 g，置 100-mL 圓底燒瓶中，加甲醇 25 mL，加熱回流 30 分鐘，冷卻至室溫。濾過，取濾液轉移於 100-mL 圓底燒瓶中，重複提取 1 次，殘渣用甲醇 5 mL 洗滌，合併提取液，用旋轉蒸發器減壓蒸乾。殘渣溶於甲醇，轉移於 25-mL 量瓶中，加甲醇至刻度，用 0.45- $\mu$ m 微孔濾膜 (PTFE) 濾過，即得。

### 色譜系統

液相色譜：二極管陣列檢測器，檢測波長 202 nm；4.6 × 250 mm 十八烷基鍵合硅膠(3.5  $\mu$ m) 填充柱；柱溫 35°C；流速約 1.0 mL/min。色譜洗脫程序如下(表 3)：

表 3 色譜洗脫條件

時間 (分鐘)	乙腈 (%, v/v)	0.01% 磷酸 (%, v/v)	洗脫
0 – 27	71	29	等度
27 – 31	71 → 80	29 → 20	綫性梯度
31 – 36	80 → 88	20 → 12	綫性梯度
36 – 60	88	12	等度

### 系統適用性要求

將羽扇豆醇和熊果酸混合對照品溶液 Std-AS (羽扇豆醇 72 mg/L 和熊果酸 120 mg/L) 10 μL，注入液相色譜儀，至少重複 5 次。系統適用性參數的要求如下：羽扇豆醇和熊果酸的峰面積相對標準偏差均應不大於 5.0%；羽扇豆醇峰和熊果酸峰的保留時間相對標準偏差均應不大於 2.0%；理論塔板數按羽扇豆醇峰和熊果酸峰計算分別應不低於 90000 和 20000。

供試品測試中羽扇豆醇峰和熊果酸峰分別與其鄰近峰之間的分離度均應不低於 1.5。

### 標準曲綫

將羽扇豆醇和熊果酸系列混合對照品溶液 Std-AS 各 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。分別以羽扇豆醇和熊果酸的峰面積與相應濃度作圖。從相應 5 點的標準曲綫得斜率、截距與相關系數。

### 操作程序

將供試品溶液 10 μL，注入液相色譜儀，並記錄色譜圖。與羽扇豆醇和熊果酸混合對照品溶液 Std-AS 色譜圖中二成份峰的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜圖中羽扇豆醇峰和熊果酸峰。二色譜圖中羽扇豆醇和熊果酸相應峰的保留時間相差均應不大於 5.0%。測定峰面積，按附錄 IV (B) 公式分別計算供試品溶液中羽扇豆醇和熊果酸的濃度 (mg/L)，並計算樣品中羽扇豆醇和熊果酸的百分含量。

### 限度

按乾燥品計算，本品含羽扇豆醇 (C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O) 和熊果酸 (C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>) 的總量不少於 1.7%。

Strychni Semen (unprocessed)

馬錢子(生)

Ginseng Folium

人參葉

Aconiti Lateralis Radix (unprocessed) 附子(生)

Litsea Fructus

Pseudolaricis Cortex 土荊皮

Bolbostemmatis Rhizoma

Bufois Venenum 蟾酥

華澄茄

Mahoniae Caulis

橘紅

Magnoliae Officinalis Flos

土貝母

Lonicerae Japonicae Flos

功勞木

Citri Exocarpium Rubrum  
枸骨葉

厚朴花

月季花

Rosae Chinensis Flos

金銀花

## 8. 警告

此藥材須經適當處理，如煎煮，方可使用。