

紫草药材及其配方颗粒的薄层色谱研究

刘梅¹, 王祥培², 张朝尔¹, 吴红梅^{1*}

¹贵州中医药大学药学院, 贵州 贵阳

²贵州民族大学民族医药学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年6月21日; 录用日期: 2023年7月20日; 发布日期: 2023年7月27日

摘要

目的: 对紫草药材显微结构特征进行鉴定及对药材与其配方颗粒的薄层色谱进行研究, 为紫草及其配方颗粒质量控制的均一性、稳定性提供参考依据。方法: 参照2020版《中国药典》标准对紫草药材进行显微鉴定。此外, 参照现行药典紫草鉴别项下薄层色谱方法, 对配方颗粒前处理提取溶剂进行优选, 并对薄层色谱条件进行温度、湿度考察。结果: 紫草药材的显微特征, 均符合药典标准。薄层色谱结果显示, 按现行药典紫草鉴别项下薄层色谱法, 紫草药材有7个斑点, 但其配方颗粒没有斑点。优选提取溶剂后, 紫草药材有7个斑点, 配方颗粒有1个斑点, 两者均有相同斑点1个。结论: 薄层色谱法能阐明紫草药材及配方颗粒薄层色谱两者成分的一致性 & 差异性问题, 可为紫草药材及其配方颗粒质量的均一性、稳定性评价方法提供参考。

关键词

紫草, 配方颗粒, 薄层色谱, 显微鉴别

Study on Thin Layer Chromatography of Arnebiae Radix herb and Its Formula Granules

Mei Liu¹, Xiangpei Wang², Chaoer Zhang¹, Hongmei Wu^{1*}

¹Department of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²School of Chinese Ethnic Medicine, Guizhou Minzu University, Guiyang Guizhou

Received: Jun. 21st, 2023; accepted: Jul. 20th, 2023; published: Jul. 27th, 2023

Abstract

Purpose: Identification of the microstructure characteristics of Arnebiae Radix medicinal herb

*通讯作者。

文章引用: 刘梅, 王祥培, 张朝尔, 吴红梅. 紫草药材及其配方颗粒的薄层色谱研究[J]. 药物资讯, 2023, 12(4): 359-369. DOI: 10.12677/pi.2023.124044

and study on the thin layer chromatography of the medicinal herb and its formula particles provide a reference basis for the uniformity and stability of quality control of *Arnebiae Radix* and its formula particles. Method: Microscopic identification of *Arnebiae Radix* herb was conducted according to the 2020 edition of the Chinese Pharmacopoeia. In addition, referring to the thin layer chromatography method under the current pharmacopoeia identification of *Arnebiae Radix*, the extraction solvent for the pre-treatment of formula particles was optimized, and the temperature and humidity of the thin layer chromatography conditions were investigated. Result: The microscopic characteristics of *Arnebiae Radix* medicinal herbs all comply with pharmacopoeia standards. The results of thin layer chromatography show that according to the current pharmacopoeia's identification of *Arnebiae Radix*, there are 7 spots on the purple grass medicinal material, but the formula particles did not have any spots. After selecting the optimal extraction solvent, the *Arnebiae Radix* herb has 7 spots, the formula particles have 1 spot, and both have the common 1 spot. Conclusion: Thin layer chromatography can elucidate the consistency and differences between the components of *Arnebiae Radix* medicinal herb and formula granules in thin layer chromatography. This can provide a reference for evaluating the uniformity and stability of the quality of *Arnebiae Radix* medicinal herb and its formula granules.

Keywords

Arnebiae Radix, Formula Particles, Thin-Layer Chromatography, Microscopic Identification

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

紫草为我国传统中药材，始载于《神农本草经》，据2020版《中国药典》记载紫草为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst.或内蒙紫草 *Arnebia guttata* Bunge 的干燥根[1]。据文献记载紫草药材在临床上多用于治疗痔疮、皮肤溃疡等，在治疗烧伤方面效果显著[2] [3] [4]。据报道紫草中含有脂溶性较强的萘醌类色素，具有抗炎、抗肝癌、抗氧化等多种药理作用[5] [6] [7]。中药配方颗粒以中药饮片为原料，经过提取、浓缩等现代工艺制备而成，具有随症加减、便于调剂、服用方便等优势[8]。但市场销售的紫草药材品种是否符合药典标准，尤其紫草及其配方颗粒两者间的成分是否存在相关性(一致性和差异性)，目前尚未有研究报道。薄层色谱法具有操作简单、高效、快速等特点，不仅是常用的鉴别手段之一，还可用于药材与配方颗粒的质量相关性评价[9]。因此，本实验采用薄层色谱法初步探究紫草药材与配方颗粒的成分是否存在差异性，以期为紫草药材及其配方颗粒质量的均一性、稳定性评价提供参考。

2. 试剂、材料与仪器

2.1. 试剂

甲苯、乙酸乙酯、甲酸、环己烷、甲醇、石油醚、氢氧化钾等均为分析纯。

2.2. 仪器

显恒温水浴锅(厂家：常州越新仪器制造有限公司，型号：HH-6)，KQ-100E 型超声波清洗器(厂家：昆山市超声仪器有限公司)，远红外干燥箱(厂家：常州越新仪器制造有限公司北京科伟永兴仪器有限公司，

型号: KEWED), 高速粉碎机(厂家: 温岭市林大机械有限公司, 型号: DFT-50A), 电子天平(厂家: 瑞士梅特公司, 型号: XS205), 正置生物显微镜(厂家: 重庆澳浦光电技术有限公司, 型号: UB102i), 暗箱式紫外分析仪(厂家: 北京顺科达科技有限公司, 型号: WFH-203B)。

2.3. 材料

紫草为紫草科多年生草本植物新疆紫草(*Arnebia euchroma* (Royle) Johst)或内蒙紫草(*Arnebig guttata* Bunge)的干燥根, 由实验室自行购买, 不同批次紫草药材及配方颗粒样品见表 1。

Table 1. Source of different batches of *Arnebiae Radix* medicinal Materials and Formula Particles

表 1. 不同批次紫草药材、配方颗粒来源

编号	样品名	来源	编号	样品名	来源
1	紫草药材	和思源药房	11	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
2	紫草药材	贵州中医药大学第一附属医院	12	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
3	紫草饮片	康美药业	13	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
4	紫草药材	一品药业	14	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
5	紫草药材	同仁堂药房	15	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
6	紫草药材	天一大药房	16	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
7	紫草药材	一树药业	17	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
8	紫草药材	芝麻大药房	18	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
9	紫草药材	乐仁堂药房	19	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司
10	紫草药材	成都康美药业生产有限公司	20	紫草配方颗粒	广东一方制药有限公司

3. 方法

3.1. 显微鉴别

3.1.1. 试剂的配制

水合氯醛试液的配制: 称取水合氯醛 50 g, 加蒸馏水 15 ml 与甘油 10 ml, 使溶解, 即得。

间苯三酚试液的配制: 称取间苯三酚 0.5 g, 加乙醇使溶解成 25 ml, 即得, 置棕色玻璃瓶中保存。

稀甘油试液的配制: 取甘油 33 ml, 加蒸馏水 100 ml, 再加液化苯酚 1 滴, 使溶解, 即得。

3.1.2. 粉末制片

水装片: 常温下取紫草粉末少许于载玻片上, 滴 2 滴蒸馏水搅拌均匀, 盖上盖玻片, 擦去周围的试液, 置显微镜下观察。

透化片: 常温下取紫草粉末少许于载玻片上, 滴加水合氯醛搅拌后于酒精灯上方微沸, 待冷却后滴加稀甘油, 盖上盖玻片, 置显微镜下观察。

染色片: 常温下取紫草粉末少许于载玻片上, 滴加水合氯醛搅拌后于酒精灯上加热透化, 微沸, 冷却后滴加间苯三酚试液和浓盐酸进行染色, 盖上盖玻片, 置显微镜下观察。

3.2. 薄层鉴别

3.2.1. 《中国药典》项下供试品溶液的制备

分别精密称取紫草药材粉末 0.50 g, 紫草配方颗粒 0.25 g, 分别加入石油醚(60℃~90℃) 20 mL 于 100 mL 的锥形瓶中, 超声处理 20 分钟, 滤过, 滤液水浴(65℃)浓缩至 1 mL, 作为药材供试品溶液和配方颗粒供试品溶液。

3.2.2. 优化的供试品溶液的制备

分别精密称取紫草药材粉末 2.00 g, 紫草配方颗粒 0.25 g, 加入乙醇 30 mL 于 100 mL 的锥形瓶中, 超声处理 20 分钟, 滤过, 滤液用水浴(65℃)浓缩至 1 mL, 作为药材供试品溶液和配方颗粒供试品溶液。

3.2.3. 《中国药典》紫草药材项下薄层层析条件

薄层析板: 硅胶 G 薄层板(规格: 100 mm × 100 mm、100 mm × 200 mm 青岛海洋化工有限公司), 置 105℃烘箱中活化 30 分钟。展开剂: 环己烷 - 甲苯 - 乙酸乙酯 - 甲酸(5:5:0.5:0.1), 展开, 取出, 晾干, 显紫红色斑点, 喷以 10%氢氧化钾甲醇溶液, 斑点显蓝色, 拍照保存, 并计算其 R_f 值。

3.2.4. 方法学考察

考察不同温度、湿度条件下对供试品展开的影响, 紫草药材采用石油醚提取, 紫草配方颗粒采用乙醇提取, 按“3.2.3”项下薄层色谱条件展开。

4. 结果

4.1. 紫草粉末显微特征

不同批次紫草药材的粉末显微特征有: 非腺毛单细胞, 直径 13 μm ~56 μm , 基部膨大成喇叭状, 壁具纵细条纹, 有的胞腔内含紫红色色素。栓化细胞红棕色, 表面呈多角形或圆多角形, 含紫红色色素。薄壁细胞较多, 淡棕色或无色, 大多充满紫红色色素。导管主为网纹导管, 少有具缘纹孔导管, 直径 7 μm ~110 μm 。以上各个显微结构特征如图 1 所示。

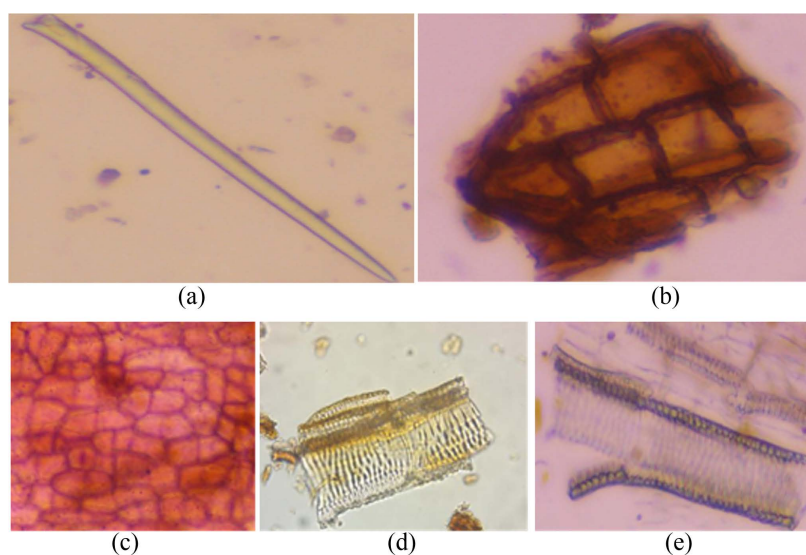


Figure 1. Microstructural characteristics of *Arnebiae Radix* powder (10 × 40). (a) Non glandular hair single cell; (b) suberization cell; (c) parenchyma cell; (d) anterior reticular duct; (e) posterior bordered pit vessel

图 1. 紫草粉末显微结构特征图(10 × 40)。(a) 非腺毛单细胞; (b) 栓化细胞; (c) 薄壁细胞; (d) 前网纹导管; (e) 后具缘纹孔导管

4.2. 《中国药典》紫草鉴别项下薄层方法的结果

参照《中国药典》，取“3.2.1”项下的紫草药材与其配方颗粒的供试品溶液，按“3.2.3”项下方法展开得到紫草药材与其配方颗粒的薄层斑点，在自然光下观察，可以清晰地看到不同批次的紫草药材有5个排列整齐的斑点，配方颗粒在自然光下观察不到斑点。喷相同显色剂后，各批次紫草药材斑点变为蓝色，置紫外365 nm下观察，各批次紫草药材斑点数不变，配方颗粒仍无斑点。结果见图2~4。由此可见，药典项下供试品溶液制备方法适合紫草药材的处理，而不适宜配方颗粒供试品溶液的制备。

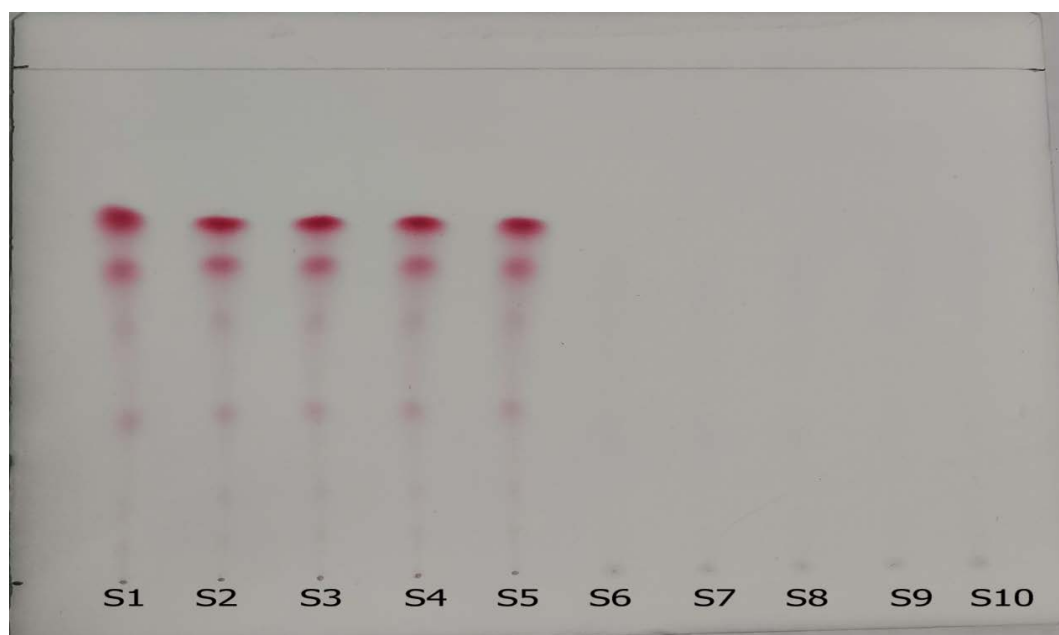


Figure 2. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted *Arnebiae Radix* herb and formula particles (under natural light before spraying the color reagent); (S1~S5: Medicinal sample; S6~S10: Particle sample)

图 2. 石油醚提取紫草药材与配方颗粒(喷显色剂前自然光下)的薄层色谱图; (S1~S5: 药材样品; S6~S10: 颗粒样品)

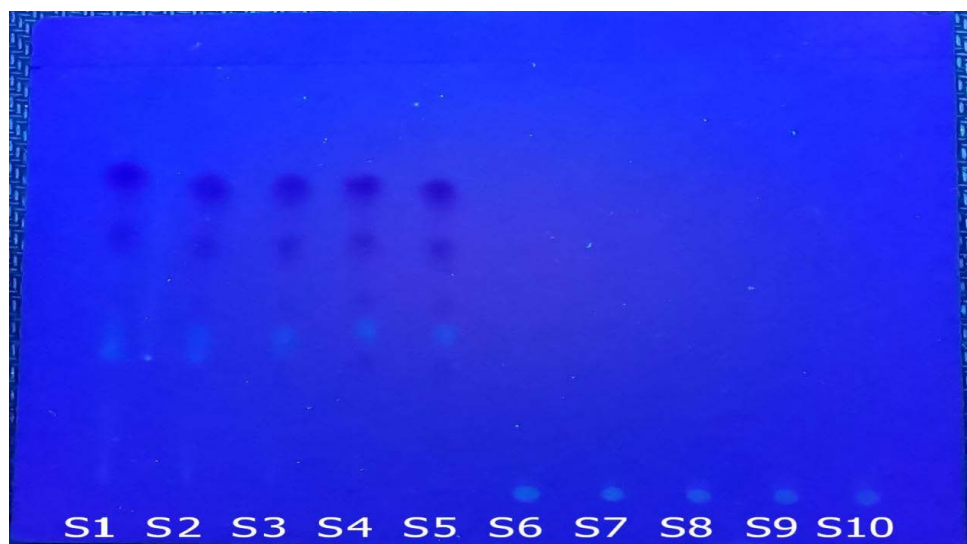


Figure 3. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted *Arnebiae Radix* herb and formula particles (UV 365 nm); (S1~S5: Medicinal sample; S6~S10: Particle sample)

图 3. 石油醚提取紫草药材与配方颗粒(紫外 365 nm)的薄层色谱图; (S1~S5: 药材样品; S6~S10: 颗粒样品)

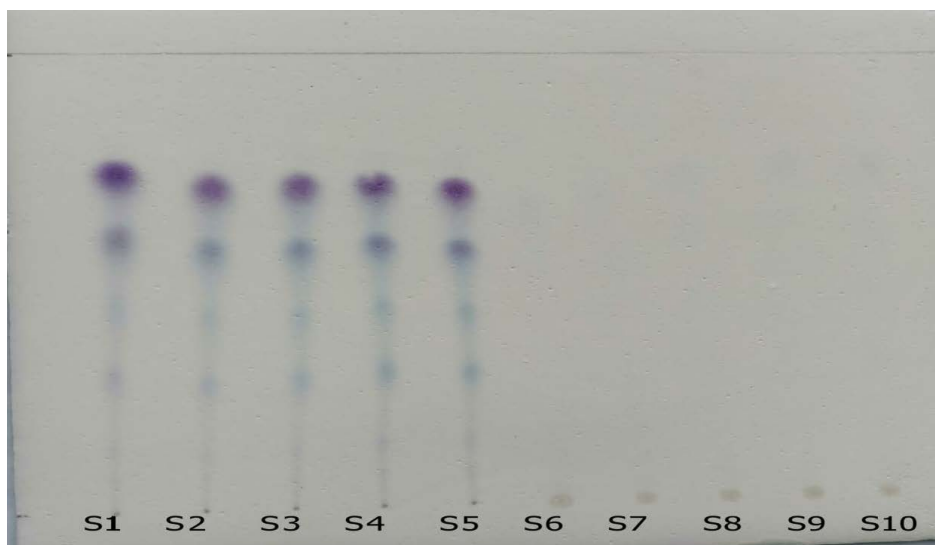


Figure 4. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted Arnebiae Radix herb and formula particles (Under natural light after color rendering); (S1~S5: Medicinal sample; S6~S10: Particle sample)

图 4. 石油醚提取紫草药材与配方颗粒(显色后自然光下)的薄层色谱图; (S1~S5: 药材样品; S6~S10: 颗粒样品)

4.3. 乙醇提取紫草药材与其配方颗粒的薄层鉴别结果

分别在紫外 254 nm 和 365 nm 下观察, 结果发现 254 nm 的药材与配方颗粒的薄层斑点不明显, 见图 5。而在 365 nm 下可清晰地看到不同批次紫草药材有 2 个排列整齐的荧光点和 1 个紫红色荧光点, 紫草配方颗粒有一个清晰的荧光点, 喷以显色剂后, 置紫外 365 nm 下观察, 斑点的荧光颜色不变, 且紫草药材与配方颗粒分离效果较好, 见图 6。从结果可知, 乙醇提取紫草药材的薄层色谱斑点较少, 而配方颗粒斑点可见, 为尽可能全面展示紫草药材及其配方颗粒成分信息, 最终确定紫草药材采用中国药典的石油醚提取, 而配方颗粒采用乙醇提取, 展开剂条件仍采用药典方法。 R_f 值如表 2 所示。

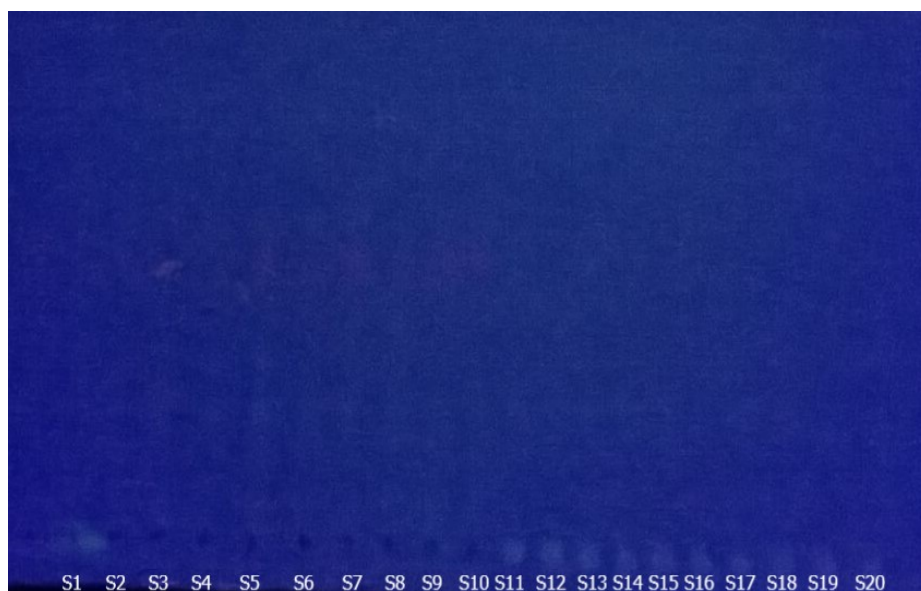


Figure 5. Thin layer chromatogram of ethanol extracted Arnebiae Radix herb and formula particles (UV 254 nm); (S1~S10: Medicinal sample; S11~S20: Particle sample)

图 5. 乙醇提取紫草药材与配方颗粒的薄层色谱图(紫外光 254 nm); (S1~S10: 药材样品; S11~S20: 颗粒样品)

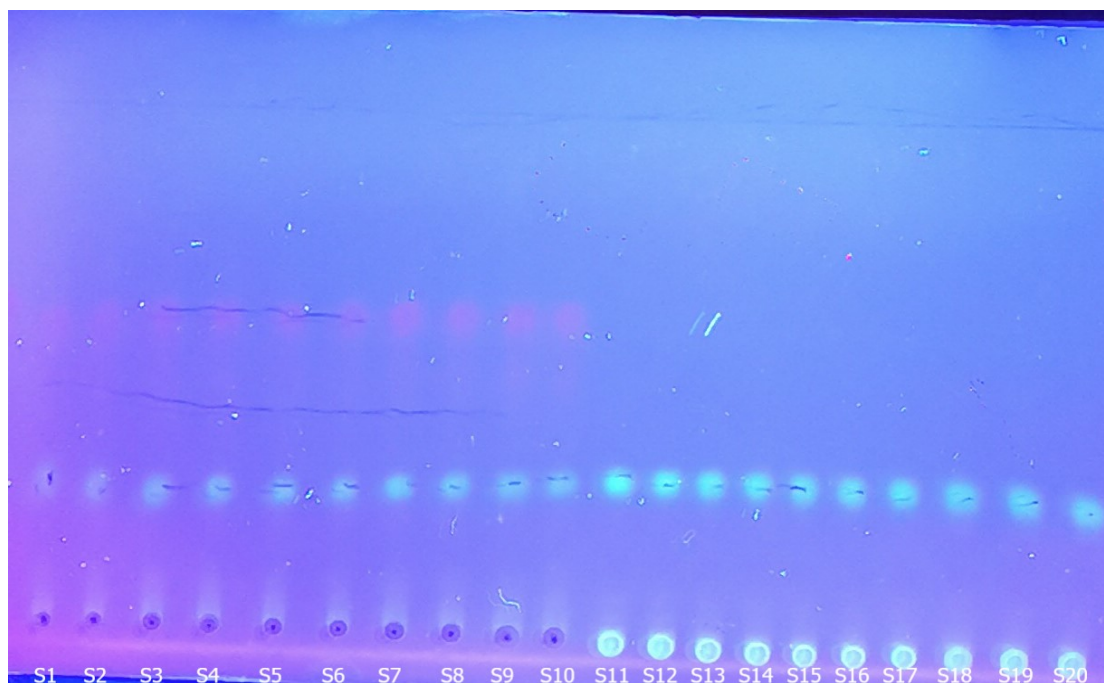


Figure 6. Thin layer chromatogram of ethanol extracted Arnebiae Radix herb and formula particles (UV 365 nm); (S1~S10: Medicinal sample; S11~S20: Particle sample)

图 6. 乙醇提取紫草药材与配方颗粒的薄层色谱图(紫外光 365 nm); (S1~S10: 药材样品; S11~20: 颗粒样品)

Table 2. R_f values of Arnebiae Radix medicinal material and formula particles

表 2. 紫草药材与配方颗粒的 R_f 值

样品批次名	R_f 值		
	1	2	3
S1	0.269	0.45	0.65
S2	0.269	0.45	0.65
S3	0.269	0.45	0.65
S4	0.269	0.45	0.65
S5	0.269	0.45	0.65
S6	0.269	0.45	0.65
S7	0.269	0.45	0.65
S8	0.269	0.45	0.65
S9	0.270	0.45	0.65
S10	0.270	0.45	0.65
S12	0.270	—	—
S13	0.270	—	—
S14	0.270	—	—

Continued

S15	0.270	—	—
S16	0.270	—	—
S17	0.270	—	—
S18	0.269	—	—
S19	0.269	—	—
S20	0.269	—	—
S21	—	—	—

注：“—”为无斑点。

4.4. 方法学考察结果

在优化条件下对不同的温度(45℃、25℃、5℃)及湿度(88%、47%、18%)进行考察,结果表明,温度对该方法影响较小,在相对湿度 18%条件下,斑点的分离效果最好,其结果如下图 7 所示。

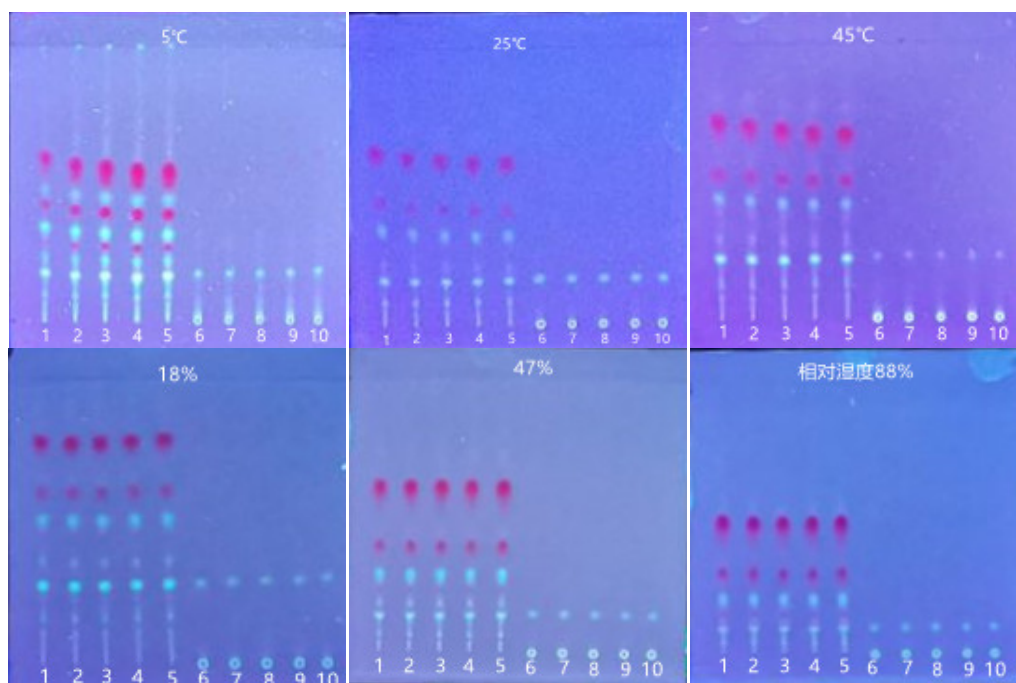


Figure 7. Thin layer chromatography of medicinal herbs and formula particles under different temperature and humidity-conditions; (1~5: Medicinal sample; 6~10: Particle sample)

图 7. 不同温度及湿度条件下的药材与配方颗粒的薄层色谱; (1~5: 药材样品; 6~10: 颗粒样品)

4.5. 石油醚提取紫草药材与乙醇提取配方颗粒的薄层鉴别结果

对紫草药材和配方颗粒分别采用石油醚和乙醇提取,按“3.2.3”项下薄层色谱条件展开后,在自然光下观察,可见不同批次的紫草药材有红圆的斑点,而配方颗粒在自然光下观察不到斑点,见图 8。喷 10%氢氧化钾甲醇显色剂后,各批次紫草药材斑点变为蓝色,配方颗粒仍无斑点,见图 9。在紫外 365 nm 下观察,可以清晰地看到不同批次的紫草药材有 5 个排列整齐的绿色荧光点和 2 个紫红色荧光点,配方

颗粒有一个清晰的绿色荧光点，且紫草药材与配方颗粒分离效果较好。结果见图 10 及表 3 的 R_f 值所示。

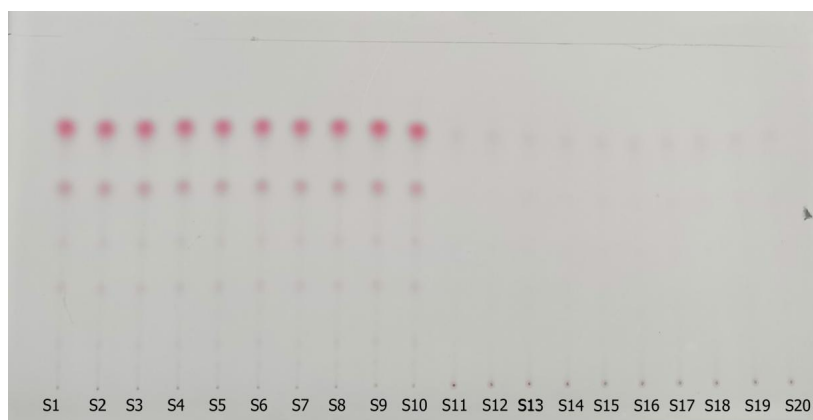


Figure 8. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted *Arnebiae Radix* herb and ethanol extracted formula particles (under natural light before spraying the color reagent); (S1~S10: Medicinal sample; S11~S20: Particle sample)

图 8. 石油醚提取紫草药材与乙醇提取配方颗粒的薄层色谱图(显色前自然光下); (S1~S10: 药材样品; S11~S20: 颗粒样品)

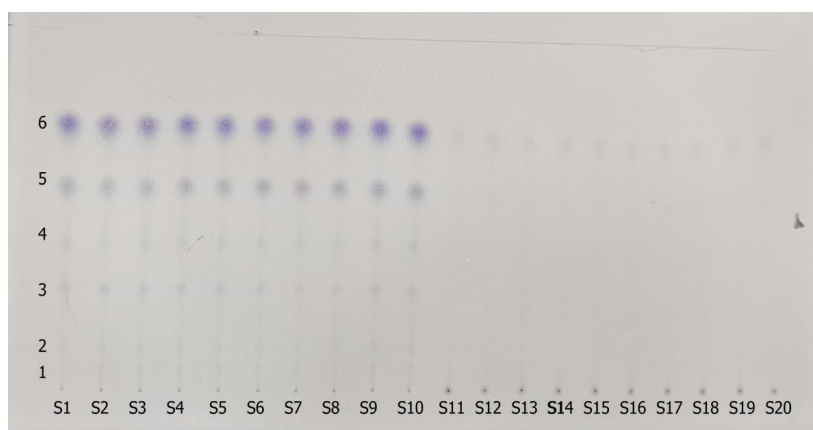


Figure 9. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted *Arnebiae Radix* herb and ethanol extracted formula particles (Under natural light after color rendering); (S1~S10: Medicinal sample; S11~S20: Particle sample)

图 9. 石油醚提取紫草药材与乙醇提取配方颗粒的薄层色谱图(显色后自然光下); (S1~S10: 药材样品; S11~S20: 颗粒样品)

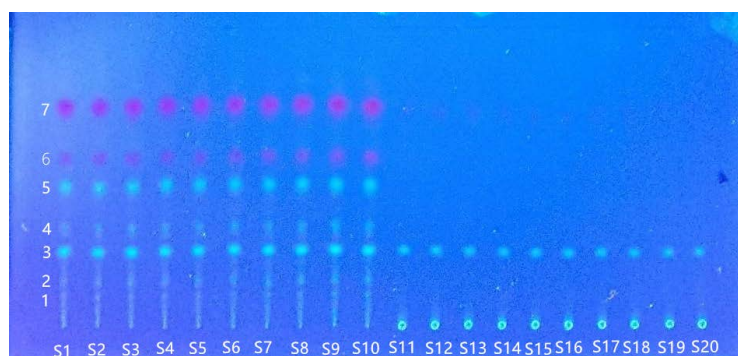


Figure 10. Thin layer chromatogram of petroleum ether extracted *Arnebiae Radix* herb and ethanol extracted formula particles (UV 365 nm); (S1~S10: Medicinal sample; S11~S20: Particle sample)

图 10. 石油醚提取紫草药材与乙醇提取配方颗粒的薄层色谱图(紫外光 365 nm); (S1~S10: 药材样品; S11~S20: 颗粒样品)

Table 3. R_f values of Arnebiae Radix medicinal herb and formula particles
表 3. 紫草药材与配方颗粒的 R_f 值

样品批次名	R_f 值						
	1	2	3	4	5	6	7
S1	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S2	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S3	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S4	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S5	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S6	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S7	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S8	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S9	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S10	0.21	0.28	0.41	0.46	0.57	0.75	0.87
S11	—	—	0.41	—	—	—	—
S12	—	—	0.41	—	—	—	—
S13	—	—	0.41	—	—	—	—
S14	—	—	0.41	—	—	—	—
S15	—	—	0.41	—	—	—	—
S16	—	—	0.41	—	—	—	—
S17	—	—	0.41	—	—	—	—
S18	—	—	0.41	—	—	—	—
S19	—	—	0.41	—	—	—	—
S20	—	—	0.41	—	—	—	—

注：“—”为无斑点。

通过观察不同批次紫草药材的薄层色谱图可知，薄层色谱图中斑点的色泽较清晰，分离度较好，图 10 表明紫草药材所含的化学成分较多，且在各个成分所对应的位置上都有相同颜色的斑点，而紫草配方颗粒则含化学成分相对较少，只有一个斑点，说明紫草药材与配方颗粒化合物种类存在较大差异。

5. 讨论

在本实验中，紫草粉末经显微观察可清晰地看到非腺毛单细胞、栓化细胞、薄壁细胞、导管(网纹导管与具缘纹孔导管)等结构，其结构特征无明显差异。但是发现不同地方采购的紫草药材性状鉴别中木部的大小存在差异，出现此现象可能与生长环境、气候条件、采收时间等因素有关。通过显微观察，得出以上不同批次紫草药材粉末的显微特征均符合《中国药典》(2020 版一部)标准。

本实验以石油醚作为溶剂对紫草药材及其配方颗粒进行提取,参考2020年版《中国药典》紫草项下的薄层鉴别方法的色谱条件进行展开,仅获得紫草药材的薄层斑点分离度较好,斑点清晰可见,而配方颗粒薄层展开无斑点。结果表明药典项下的薄层鉴别方法不适用于探究紫草药材与其配方颗粒的相关性。因此,我们优选提取溶剂,将紫草配方颗粒采用乙醇溶剂进行提取,按《中国药典》紫草项下的薄层鉴别方法的色谱条件进行展开,能够获得较好的鉴别效果。而将紫草药材用乙醇进行提取,薄层展开后,紫草药材的信息量没有药典条件下丰富。

中药材因误种、误采、误收、人为造假、售假等多种因素导致中药应用过程中出现错乱[10]。《中国药典》项下记载的显微鉴别和薄层色谱法具有快速、简便、准确等优点,其中薄层色谱法在鉴别真伪的同时可作为检查方法,直观显著地控制中药及配方颗粒的质量[11]。有文献表明紫草药材市场上存在混伪品[12],配方颗粒是以药材为基础经现代工艺处理而成,其化学成分容易受到相关条件的影响,因此需要对药材及其配方颗粒进行质量相关性研究。

综上所述,本实验采用石油醚、乙醇溶液分别对紫草药材和配方颗粒进行提取,按中国药典展开剂条件展开,紫草药材与其配方颗粒间均能够获得较好的薄层鉴别效果,且能够展示两者间的共有成分(相关性),也显示药材与其配方颗粒间成分的差异性,提示薄层色谱方法在一定程度上可用来对紫草药材与其配方颗粒之间进行质量的均一性、稳定性的监控。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 355.
- [2] 毛艳, 古丽白热木·玉素因, 蔡晓翠, 等. Box-Behnken 响应面法结合层次分析法优化新疆紫草根的提取工艺[J]. 中药材, 2019, 42(7): 1605-1610.
- [3] 穆丽婷, 尚婧彤, 蒋晶红. 中药紫草在皮肤护理中的应用研究进展[J]. 天津护理, 2018, 26(1): 112-114.
- [4] 许音玲, 鄢园微, 李桂香, 等. 紫草类药物治疗皮肤病的研究进展[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2022, 29(12): 23-26.
- [5] 王一全, 吕鹏. 紫草药理作用及应用现状[J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(5): 373-375.
- [6] 杜梦鸽, 吕博, 孟凌宇, 等. 基于网络药理学及实验验证探讨新疆紫草抗肝癌作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(24): 75-86.
- [7] 侯亚申, 李敏, 许芳, 等. 新疆紫草不同极性提取部位体外抗氧化活性研究[J]. 新疆医科大学学报, 2021, 44(2): 224-228.
- [8] 胡国冰, 张鉴, 唐辉, 等. 紫草配方颗粒中左旋紫草素的定性定量研究[J]. 食品与药品, 2014, 16(1): 25-27.
- [9] 曾倩, 胡兴贵, 王祥培, 等. 紫菀、蜜紫菀及其配方颗粒的薄层色谱研究[J]. 药物资讯, 2022, 11(4): 340-345.
- [10] 骆航. 常用中药材与饮片混淆使用与误用情况浅析[J]. 甘肃中医药大学学报, 2021, 38(3): 46-50.
- [11] 韦凤时, 黎家华, 杨萍, 等. 复方丹参川芎片优化工艺研究及显微、薄层鉴别[J]. 临床合理用药, 2023, 16(10): 147-150+153.
- [12] 刘杰, 房文亮, 唐哲, 等. 基于 DNA 条形码和 HRM 技术建立紫草药材的 RFLP-HRM 鉴别方法[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(8): 1354-1362.