

草木犀药材的生药学研究[△]

朱忠华^{1,2*},任德全^{1#},冯利¹,罗超¹(1.长江职业学院生物医药学院,武汉 430064;2.湖北技能型人才培养研究中心,武汉 430074)

中图分类号 R281 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)36-5136-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.36.25

摘要 目的:研究草木犀药材的生药学。方法:从原植物形态、性状特征、显微特征和药材浸提物的紫外光谱、药材粉末的红外光谱方面对草木犀进行定性鉴别。结果:草木犀药材根横切面可见辐射型维管束中有19束射线;茎横切面髓部占整个横切面的4/5;小叶片横切面主脉维管束正上方有栅栏组织通过;叶柄横切面呈心形,内有3个大小不等的维管束成三角形排列;叶表皮分布有细胞组成的腺毛和单细胞非腺毛;组织解离中叶可见草酸钙方晶的晶纤维,不定式气孔,叶柄有腺毛和非腺毛表面可见疣状突起,螺纹导管;提取物紫外光谱图、药材粉末二阶导数红外光谱图特征明显。结论:该研究所建标准可用于草木犀药材的生药鉴别。

关键词 草木犀;性状鉴别;组织结构;显微鉴别;紫外光谱;红外光谱

Pharmacognostic Study of *Melilotus officinalis*

ZHU Zhonghua^{1,2}, REN Dequan¹, FENG Li¹, LUO Chao¹(1.College of Pharmacy, Changjiang Polytechnic, Wuhan 430064, China;2.Hubei Skilled Talent Cultivation Research Center, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study pharmacognosy of *Melilotus officinalis*. METHODS: Qualitative identification of *M. officinalis* was conducted in respects of morphology, macroscopic characters, microscopic identification, UV spectra for medicinal extracts and IR spectra for medicinal powder. RESULTS: Nineteen bundles of rays were distributed in the radial bundle of root cross section of *M. officinalis*. The main vein vascular bundle of leaf cross section had a palisade tissue passing over it. The pith of the cross section of the stem occupied 4/5 of the whole cross section. The cross section of the leafstalk was heart-shaped, and unequal vascular bundles arranged in a triangular array. There were glandular hairs, which consist of three cells, and unicellular non glandular hairs in leaf epidermis. The crystal fibers of calcium oxalate crystals and infinite blowhole were found in the leaves; glandular hairs and non glandular hairs could be found in the leafstalk under tissue dissociation, verrucous like protuberance and threaded catheter were found on the surface. The UV spectrum of extract and two order derivative IR spectrum of the medicinal powder showed obvious characteristics. CONCLUSIONS: Established method can be used for pharmacognostic identification of *M. officinalis*.

KEYWORDS *Melilotus officinalis*; Character identification; Tissue structure; Microscopic identification; UV spectrum; IR spectrum

草木犀 *Melilotus officinalis* (Linn.) Pall.在我国绝大部分地区都有分布,属于豆科蝶形花亚科车轴草族草木犀属的植物^[1-3],草木犀别名辟汗草、黄香草木犀,有一年生也有二年生的草木犀,夏、秋季采收地上部分药用。其味微甘,性平,归脾、大肠经,有止咳平喘、散结止痛之功效,主治哮喘、支气管炎、肠绞痛、创伤、淋巴结肿痛^[4-5]。现代研究发现,草木犀具有抗炎抗菌,促进损伤性骨折愈合,改善血液循环,抗氧化及免疫调节等作用^[6]。有关草木犀药材化学成分和药理研究的文献报道颇多^[6-10],但尚未见其组织切片相关报道。本试验首次报道了草木犀药材的组织结构特征、药材样品提取物紫

外光谱和药材样品粉末红外光谱及二阶导数红外光谱图,可为草木犀药材的生药鉴别提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

UB100i型生物显微镜、ZSA0745型体视显微镜(重庆澳浦光电技术有限公司);UV-1800型紫外分光光度计(上海美析仪器有限公司);FTIR-650型红外分光光度计(天津港东科技发展有限公司)。

1.2 试剂

乙醇、石油醚、水合氯醛均为分析纯,水为纯化水。

1.3 药材

试验所用药材分别采集于湖北省和江西省不同地区(见表1),经笔者鉴定为真品(CJ-10为对照药材)。植物标本保存于长江职业学院中药制剂分析实验室。

2 方法与结果

2.1 形态与性状鉴定

原植物为一年生草本,植株高达100 cm。茎直立,

△ 基金项目:湖北技能型人才培养研究中心项目(No.2017JB017);湖北省教育科学规划项目(No.2016GB300)

* 副教授。研究方向:中药资源及药学教学。E-mail:549489642@qq.com

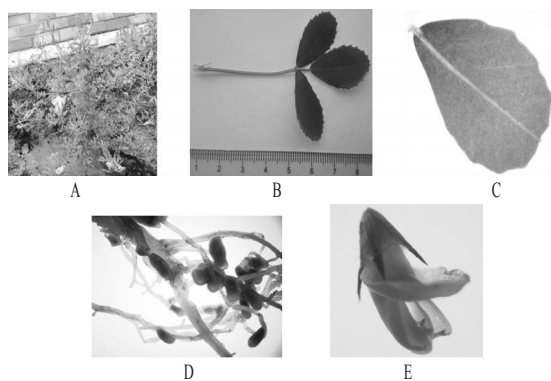
通信作者:副教授。研究方向:中药鉴定及药学教学。E-mail:419822591@qq.com

表1 草木犀药材来源

Tab 1 Origin of *M. officinalis*

编号	采集点	采收时间	编号	采集点	采收时间
CJ-1	湖北省武汉洪山南湖	20150323	CJ-6	湖北省鄂州华容	20160401
CJ-2	湖北省武汉洪山野芷湖	20150323	CJ-7	湖北省京山马店	20160513
CJ-3	江西省余干石口镇	20150809	CJ-8	湖北省云梦曾店镇	20160513
CJ-4	江西省余干瑞洪镇	20150811	CJ-9	湖北省云梦城关镇	20160513
CJ-5	江西省南昌东湖区	20150820	CJ-10	湖北省武汉植物园	20150324

多分枝,具纵棱,微被柔毛。羽状三出复叶,托叶为镰刀状,长约5 mm;叶柄细长;小叶倒阔卵形、卵形、倒披针形,长约3 cm,宽约10 cm,先端钝圆或截形,基部阔楔形,边缘具不整齐疏浅齿,叶上表面光滑,下表面有短柔毛,三处复叶的顶生小叶具较长小叶柄,侧小叶的小叶柄短。花黄色,总状花序腋生,长约20 cm。植物根上分布有数目的根瘤。原植物形态见图1。



A. 植株; B. 叶; C. 叶片体视显微图; D. 根上固氮瘤体视显微图; E. 单花体视显微图
A. plant; B. leaf; C. stereoscopic micrograph of leaf; D. stereoscopic micrograph of nitrogen-fixing root nodule; E. stereoscopic micrograph of simple flower

图1 原植物形态图

Fig 1 Figure of plant morphology

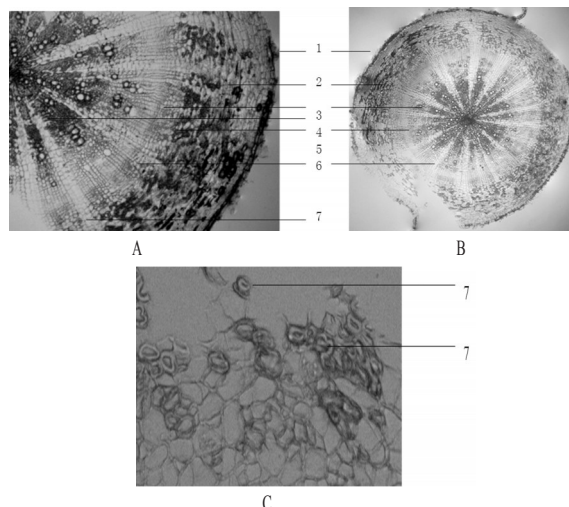
2.2 显微鉴别

2.2.1 药材样品根横切面 药材样品根横切面为类圆形,其最外层木栓层,大约由12层细胞构成。紧挨木栓层的是栓内层,在栓内层中有大量的纤维束及散在的单个纤维分布,大约由17层细胞构成,维管束呈辐射型;木质部呈19束放射状排列,占整个横切面积的3/5;木质部与髓射线相间排列,木质部中髓射线宽2~6列细胞,形成层明显;韧皮部在木质部外围,由8层左右细胞组成;周皮占整个横切面积的2/5。根横切面见图2。

2.2.2 药材样品茎横切面 药材样品茎横切面边缘略呈轻度波浪状弯曲的五边形。表皮为1层长方形细胞,外被角质层,稀有非腺毛分布。皮层由6层左右薄壁细胞组成,细胞之间有间隙;有16个大小不等的维管束排列成环状,维管束为辐射型,形成层环明显,导管呈规则的放射状排列。中心为宽广的髓部,由大型薄壁细胞组成,占整个横切面积的4/5。茎横切面见图3。

2.2.3 药材样品小叶片横切面 药材样品横切面上下表皮均为1列细胞,被角质层;叶上部为栅栏组织,下部

为海绵组织,栅栏组织比海绵组织稍宽;主脉维管束1束,导管呈规则的放射状排列,主脉维管束正上方有栅栏组织通过。小叶片横切面见图4。



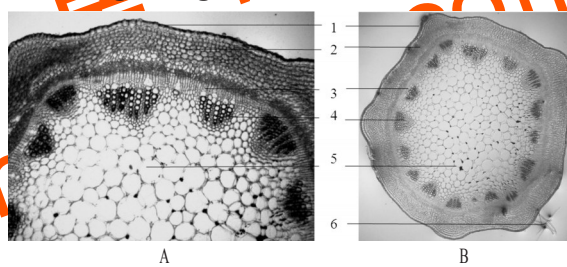
1. 木栓层; 2. 栓内层; 3. 维管束形成层; 4. 木质部; 5. 韧皮部; 6. 射线; 7. 纤维

A. 局部图(10×); B. 全图(10×); C. 韧皮部放大图(40×)

A. local figure (10×); B. overall figure (10×); C. enlarged figure of cortex layer (40×)

图2 根横切面图

Fig 2 Figure of radix cross section



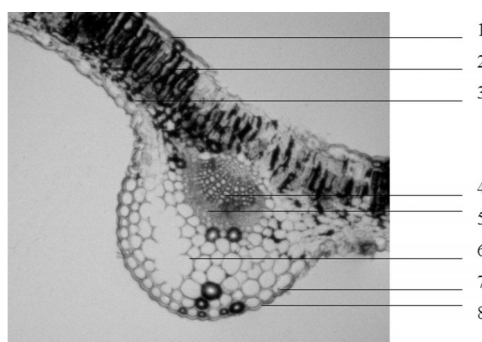
1. 表皮; 2. 皮层; 3. 韧皮部; 4. 木质部; 5. 髓部; 6. 非腺毛

A. 局部图; B. 全图

A. local figure; B. overall figure

图3 茎横切面图(10×)

Fig 3 Figure of stem cross section (10×)



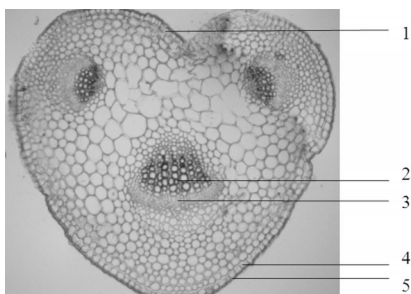
1. 上表皮; 2. 栅栏组织; 3. 海绵组织; 4. 木质部; 5. 韧皮部; 6. 皮层; 7. 下表皮; 8. 角质层

图4 小叶片横切面图(10×)

Fig 4 Figure of leaf cross section (10×)

2.2.4 药材样品叶柄横切面 药材样品叶柄横切面呈心形,上、下最外两层为表皮细胞,表皮外附有角质层,

在横切面周围分布有五处厚角组织,薄壁组织中有3个大小不等的维管束成三角形排列。维管束为外韧型,其中导管呈规则的放射状排列。叶柄横切面见图5。

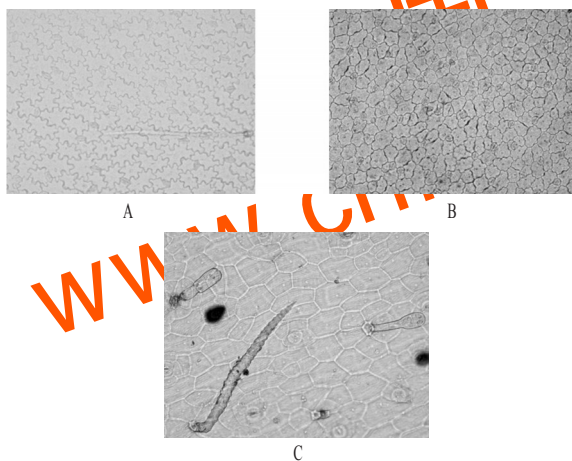


1.上表皮;2.木质部;3.韧皮部;4.下表皮;5.角质层

图5 叶柄横切面图(10×)

Fig 5 Figure of leafstalk cross section(10×)

2.2.5 药材样品叶和叶柄表皮(撕裂法)显微观察 药材样品叶下表皮细胞为一层凹凸齿轮状的不规则形;叶上表皮细胞为轻度波状弯曲的不规则形;叶柄表皮细胞呈多边形,大小不等,排列紧密,细胞壁较薄。在叶上表皮及叶柄表皮中都有气孔分布,不定式,长椭圆形;叶下表皮中气孔指数为33%,小叶上表皮中气孔指数为23%,叶柄表皮中的气孔指数为6%。叶下表面及叶柄上的表皮细胞外有丰富的非腺毛分布;叶柄表皮上还有腺毛分布,非腺毛为单细胞,非腺毛表面上可见疣状突起,非腺毛是腺毛长度的3~5倍。叶和叶柄表皮显微图见图6。



A. 叶下表皮;B. 叶上表皮;C. 茎表皮

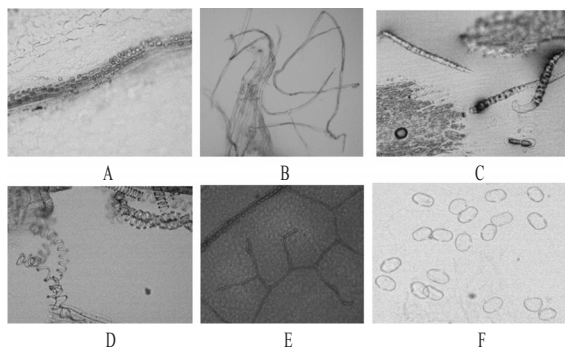
A. leaf lower epidermis; B. leaf epidermis; C. stem epidermis

图6 叶和叶柄表皮显微图(10×)

Fig 6 Microstructure of leaf and leafstalk epidermis (10×)

2.2.6 药材样品组织解离观察 药材样品粉末暗绿色,叶片下表皮细胞为凹凸齿轮状的不规则形;叶片上表皮细胞轻度弯曲,上、下表皮有气孔分布,不定式排列,气孔有3个或4个副卫细胞。叶柄表皮细胞呈多边形,表皮有气孔分布,不定式排列,气孔有3个或4个副卫细胞;在叶柄下部表皮还有腺毛及非腺毛分布,非腺毛为单细胞,非腺毛表面有疣状突起,腺毛的腺柄为2个细胞

组成,腺头为单细胞。绝大多数花粉粒为卵形,极少数为三角弧形,外壁光滑,3个萌发孔,其中1个萌发孔清晰可见;在叶中纤维上可见草酸钙方晶排列,茎及根中未观察到草酸钙方晶;导管为螺纹。组织解离显微图见图7。



A. 草酸钙方晶;B. 纤维;C. 非腺毛与腺毛;D. 导管;E. 叶片透化;F. 花粉粒

A. calcium oxalate square crystal; B. fibre; C. non glandular hairs and glandular hairs; D. catheter; E. leaf permeabilization; F. pollen grains

图7 组织解离显微图(10×)

Fig 7 Microstructure of tissue dissociation(10×)

2.3 紫外光谱鉴别

2.3.1 检测条件 波段:190~700 nm;吸收量程:0~3 A;狭缝:1 nm;扫描速度:200 nm/min;尺度扩张:20 nm/cm

2.3.2 供试品溶液的制备 分别取药材样品(编号:CJ1-9)粗粉(20~40目)2 g,置于50 mL碘量瓶中,分别加石油醚(60~90 ℃)及无水乙醇、水各20 mL^[1],室温浸泡4 h,振荡,滤过,取续滤液,得药材样品石油醚、乙醇、水浸提物。

2.3.3 方法学考察 按相关标准进行方法学试验,结果,精密度、稳定性、重复性试验中供试品吸光度的RSD均<2.0%,表明方法精密度、溶液稳定性、方法重复性较好。

2.3.4 药材样品检测 取10批药材样品各适量,分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下检测条件进样测定,记录吸光度。结果,药材样品 $\lambda_{\max}^{\text{O}}$ 为216.4、267.0、311.6 nm(肩峰); $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 为218.2、272.0、310.2、434.6、467.8、663.4 nm; $\lambda_{\max}^{\text{H}_2\text{O}}$ 为222.8、271.4、281.8 nm(尖峰),312.0、445.6 nm(弱宽峰),664.2 nm(弱峰)。紫外光谱见图8。

2.4 红外光谱鉴别

2.4.1 检测条件 波段:400~4 000 cm^{-1} ;分辨率:4 cm^{-1} ;透过率:0~100%;扫描次数:32次。

2.4.2 供试品的制备 分别取药材样品(编号:CJ-9)粗粉(160目)2 g,溴化钾压片,即得。

2.4.3 方法学考察 按相关标准进行方法学试验,结果,精密度、稳定性、重复性试验中供试品吸光度的RSD均<2.0%,表明方法精密度、溶液稳定性、方法重复性较好。

2.4.4 药材样品检测 取10批药材样品各适量,分别按

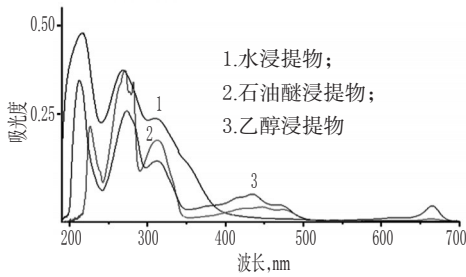


图8 紫外光谱图
Fig 8 UV spectrum

“2.4.2”项下方法制备供试品,再按“2.4.1”项下检测条件进样测定,记录吸光度。结果,供试品在 $3\ 415\ \text{cm}^{-1}$ 处有强而宽的吸收峰,即为—OH的伸缩振动峰,推测含有香豆素类、酚酸类、黄酮类苷类物质; $2\ 917\ \text{cm}^{-1}$ 、 $2\ 846\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,即为—CH₂的伸缩振动峰; $1\ 637\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,即为C=O、C=C、芳环的伸缩振动峰; $1\ 415\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,即为C-H的弯曲振动; $1\ 240\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰,即为C—O—C的伸缩振动峰,推测为苷和黄酮类物质; $1\ 045\ \text{cm}^{-1}$ 处有宽吸收峰,即为C-O的伸缩振动峰; $770\sim 400\ \text{cm}^{-1}$ 处有宽吸收峰,即为C-H的弯曲振动峰。红外光谱见图9。

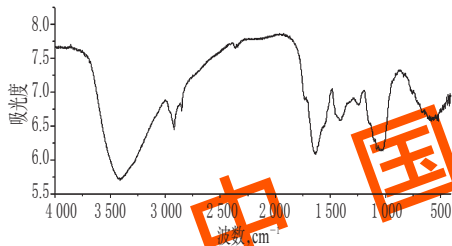
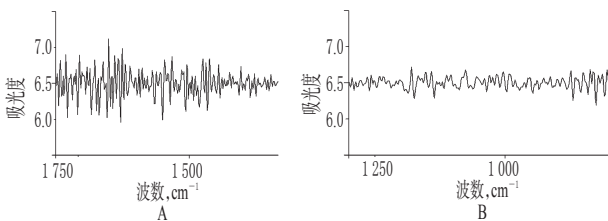


图9 红外光谱图
Fig 9 IR spectrum

在 $1\ 800\sim 800\ \text{cm}^{-1}$ 波段区域使用二阶导数光谱对图9进行分析。二阶导数红外光谱中 $1\ 637$ 、 $1\ 415$ 、 $1\ 240$ 、 $1\ 045$ 、 $600\ \text{cm}^{-1}$ 处重叠所致的宽峰都被分解为若干个单峰,谱图的分辨率得到极大提高。二阶导数红外光谱见图10。



A. $1\ 800\sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$; B. $1\ 300\sim 800\ \text{cm}^{-1}$
A. $1\ 800\sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$; B. $1\ 300\sim 800\ \text{cm}^{-1}$

图10 二阶导数红外光谱图
Fig 10 Two order derivative IR spectrum

3 讨论

试验中,药材样品原植物形态和性状特征明显,显微特征突出。值得商榷的是,《欧洲药典》(第8版)草木犀药材叶肉组织中偶有草酸钙簇晶,但笔者多次研究,均未观察到该结构。

试验中,药材样品水浸提物应在6 h内进行测定,否则紫外光谱变化较大;而乙醇、石油醚浸提物放置时间对最大吸收峰位置无影响,但对各峰间的强度比有影响,笔者认为可能是由于随着药材样品浸泡时间变化,其各浸出成分的含量比不同所致。结果表明,紫外光谱中药材样品3种不同溶剂提取物在 $200\sim 350\ \text{nm}$ 都有3个最大吸收峰,且最大吸收峰的位置基本一致。

在红外光谱上化合物特征并不明显,因此笔者以二阶导数对其进行处理,使图谱分辨率提高,具有指纹图谱性质,在药材样品鉴定中具有较大的参考价值。

综上所述,本研究所建标准可用于草木犀药材的生药学鉴别。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,2004,42(2):300.
- [2] 朱忠华.植物拉丁学名促进药用植物学教学的探讨[J].时珍国医国药,2015,26(11):2782-2783.
- [3] 朱忠华,王波,任德全,等.虞美人根茎叶的性状及显微鉴别研究[J].时珍国医国药,2016,27(10):2415-2417.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草[M].上海:上海科技出版社,1999:3277.
- [5] 吴木琴.黄花草木犀药材及其提取物总香豆素的药学研究[D].武汉:湖北中医学院,2007.
- [6] 杨杰,王丽莉,周鑫堂,等.黄花草木犀的化学成分研究[J].中草药,2014,45(5):622-625.
- [7] 李静.黄花草木犀香豆素类和黄酮类化学成分研究[D].武汉:湖北中医学院,2007.
- [8] 张兴福.黄花草木犀药材及其提取物的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006.
- [9] 康菊珍.藏药草木犀的化学成分研究[J].西北民族大学学报(自然科学版),2009,30(75):40-41.
- [10] 郑国华,张琼光,黄志军,等.草木犀的化学成分研究[J].中成药,2009,31(4):638-640.
- [11] 谢静,韦杰,周璐炜,等.一测多评法同时测定降脂减肥保健品中儿茶素类活性成分的含量[J].中国药房,2017,28(18):2529-2532.

(收稿日期:2017-01-05 修回日期:2017-03-24)

(编辑:张静)