

紫草

(ARNEBIAE RADIX)

紫草 MI	2
一、藥材採購及鑑定	2
二、藥材性狀描述（圖1）	2
三、藥材組織顯微鑑別（圖2）	2
四、藥材粉末顯微鑑別（圖3）	2
紫草 HPLC	6
一、材料	6
二、儀器及層析管柱	6
三、實驗藥品及試劑來源	6
四、方法	6
五、結果	10
紫草 TLC	30
一、方法	30
二、萃法選擇及濃度測試	31
三、溶媒系統選擇	32
四、觀察方式選擇	33
五、十家樣品檢測	34

紫草

(ARNEBIAE RADIX)

一、藥材採購及鑑定

收集 10 批來自全臺北、中、南、東各地不同通路之中藥販賣業或中藥製造業的藥材樣品，確認所收集之藥材為新疆紫草的乾燥根。

二、藥材性狀描述 (圖 1)

藥材名：紫草

生藥名：ARNEBIAE RADIX

英文名：Arnebia Root

基原：紫草科 Boraginaceae 植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. 的乾燥根。

採收加工：春、秋二季採挖，除去殘莖及泥土雜質，切忌水洗，曬乾或微火烘乾，剪斷，生用。

藥材性狀：本藥材為新疆紫草的乾燥根，習稱軟紫草。根呈不規則的圓錐形或條形片狀，多扭曲，長 7~20 cm，直徑 1~2.5 cm。表面紫紅色或紫黑色，有縱紋，皮部疏鬆，呈條形片狀，常 10 餘層重疊，易剝落。頂端偶見殘存的莖痕或莖基。體輕，質鬆軟，易折斷，斷面不整齊呈紫紅色，層狀重疊。木部易脫落，露出黃白色木部。氣微臭，味微甜澀。

生長分佈：多年生草本植物，花期 6~7 月，果期 8~9 月。喜涼爽、濕潤的氣候環境，多生長於山坡草叢中和乾燥的石質山坡、山谷及灌木林下。分佈於日本、朝鮮以及中國大陸的遼寧、山西、湖南、甘肅、山東、湖北、廣西、四川、陝西、貴州、江西、河北、河南等地。

三、藥材組織顯微鑑別(圖 2)

1. 落皮層厚，呈條片狀，層層相疊，易脫落。
2. 韌皮部較寬，被縱橫排列的細胞列分割。
3. 木質部占根的大部分，有裂隙，木質部導管呈放射狀排列。
4. 偶見草酸鈣簇晶。

四、藥材粉末顯微鑑別(圖 3)

1. 本品粉末深紫紅色。
2. 木栓細胞眾多，呈多角形或類方形，細胞壁厚薄不一，充滿紫紅色色素，

常凝集呈條狀或團塊狀，遇水合氯醛溶液溶解後，細胞呈黃棕色。

3. 可見有緣紋孔導管及螺紋導管，直徑約 $12\sim 85\ \mu\text{m}$ 。
4. 非腺毛單細胞，甚長，直徑約 $10\sim 50\ \mu\text{m}$ ，平直或稍彎曲，多破碎，基部擴大呈喇叭狀，細胞壁具縱紋，有時可見紫紅色物質。偏光顯微鏡下呈亮白色。



圖 1 紫草藥材圖

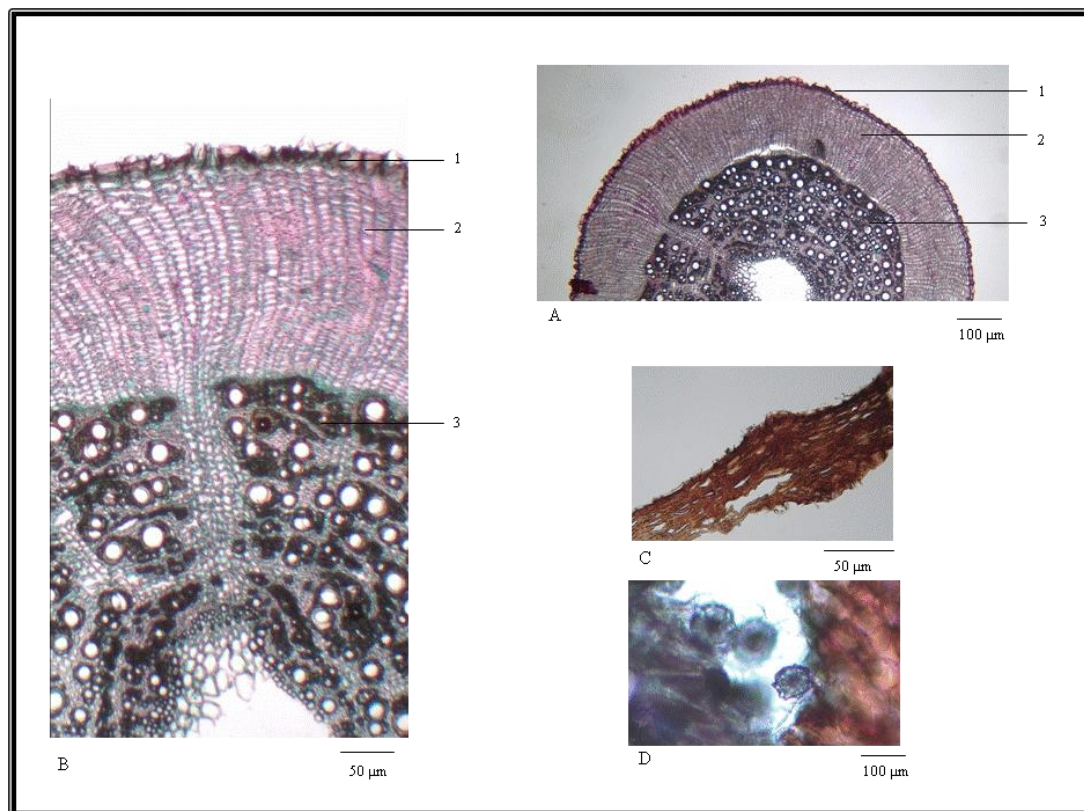


圖 2 紫草橫切面顯微特徵圖

A.橫切面圖 B.局部組織放大圖 C.落皮層 D.草酸鈣簇晶

1.落皮層 2.韌皮部 3.木質部

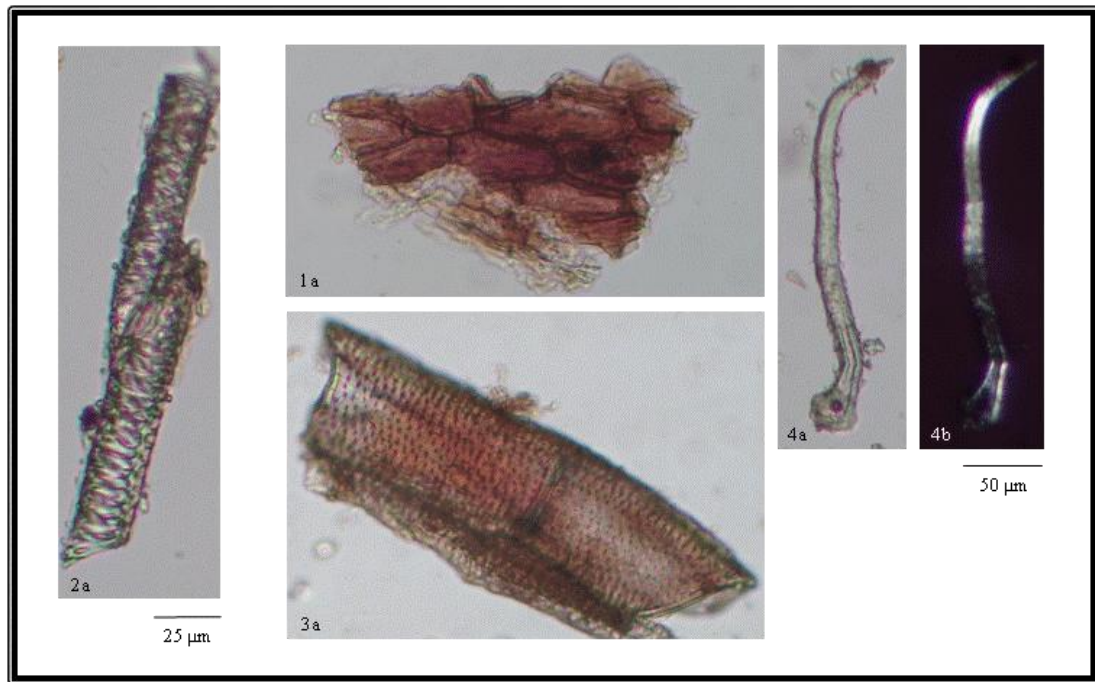


圖 3 紫草粉末顯微特徵圖

a.光學顯微鏡下特徵 b.偏光顯微鏡下特徵

1.木栓細胞 2.螺紋導管 3.有緣紋孔導管 4.非腺毛

紫草 (ARNEBIAE RADIX)

一、材料

購自於台灣各地中藥店紫草藥材共 10 批。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1100 series, 包含 Degasser G1379A、QuatPump G1311A、Sampler G1329B、DAD G1315B; 層析管柱 Agilent ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Waters AcQuity Ultra Performance LC, 包含 Binary Solvent Manager、Sample Manager、PDA Detector; 層析管柱 Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)。

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Duksan Pure Chemicals; 丙酮購自於 Duksan Pure Chemicals; 乙腈(99.9%)購自於 Sigma-Aldrich Co., 乙醇(95%)購自於景明化工股份有限公司。

(二) 標準品

標準品 乙醯紫草素 (Acetylalkannin), β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β-Dimethylacryl)alkannin) 購自於昇漢公司, 純度在 98% 以上。

四、方法

(一) 萃取溶媒開發

取本品粉末五份, 每份精確稱定 0.5 g, 置 50 mL 三角錐形瓶中, 精確加入甲醇、75% 甲醇、乙醇、75% 乙醇和丙酮各 25 mL, 超音波震盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 冷卻後以 No. 1 濾紙過濾, 取得濾液搖勻再過濾(syringe filter, 0.45 μm), 即得。每針 10 μL 注入高效能液相層析儀(HPLC), 以所測得之標準品最大波峰面積為最佳紫草萃取溶媒。

(二) 萃取次數考察

取本品粉末約 0.5 g, 精確稱定, 置 50 mL 三角錐形瓶中, 精確加入丙酮 25 mL, 超音波震盪處理(功率 300 W, 頻率 40 kHz) 30 分鐘, 冷卻後以 No. 1 濾紙過濾, 濾液加丙酮至 25 mL, 搖勻再過濾(syringe filter, 0.45 μm), 取濾液, 即得。每針 10 μL 注入 HPLC, 殘渣部分重複上述

方法多次萃取、進樣，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

取標準品乙醯紫草素(Acetylalkannin)，以及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)各精確稱定 1.0 mg，各加入 1 mL 的甲醇，製成每 1 mL 含乙醯紫草素(Acetylalkannin) 1000 μg 的標準品儲備溶液，以及每 1 mL 含 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin) 1000 μg 的標準品儲備溶液，並分別以甲醇稀釋至 80 $\mu\text{g/mL}$ 製成對照標準品溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末(過 20 號篩網)約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 錐形瓶中，精確加入丙酮 25 mL，超音波震盪處理(功率 300 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，以 No. 1 濾紙過濾，至 25 mL 之定量瓶中，加丙酮至刻度，搖勻再過濾(syringe filter, 0.45 μm)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取對照標準品溶液、檢品溶液 10 μL ，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中乙醯紫草素(Acetylalkannin)及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品儲備溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)適量，以甲醇稀釋製成含乙醯紫草素(Acetylalkannin)分別為 400、200、100、80、40 及 20 $\mu\text{g/mL}$ 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y=ax+b$ 與相關係數 R^2 。

精確吸取 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)標準品儲備溶液(1000 $\mu\text{g/mL}$)適量，以甲醇稀釋製成含 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)分別為 400、200、100、80 及 40 $\mu\text{g/mL}$ 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μL 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y=ax+b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精確度試驗

以乙醯紫草素(Acetylalkannin)濃度為 80 $\mu\text{g/mL}$ 之對照標準品溶液連續進樣五針，以乙醯紫草素(Acetylalkannin)的波峰面積為指標，求出相對標準差。以 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)

濃度為 80 µg/mL 之對照標準品溶液連續進樣五針，以 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一批市售紫草粉末，依紫草檢品溶液製備方法平行製備五份紫草檢品溶液，進樣測定，以乙醯紫草素(Acetylalkannin)以及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)的含量(%)為指標，求出相對標準差。
2. 穩定性：取同一批市售紫草粉末，依紫草檢品溶液製備方法製備紫草檢品溶液，分別在 0、2、4、8、16、24 小時進樣測定，以乙醯紫草素(Acetylalkannin)以及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)的波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

偵測極限(limit of detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值；定量極限(limit of quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比為 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 添加回收率試驗

取已知乙醯紫草素(Acetylalkannin)含量的紫草藥材粉末約 0.25 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的乙醯紫草素(Acetylalkannin)溶液(1000 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

取已知 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)含量的紫草藥材粉末約 0.25 g，精確稱定五份，分別加入 1 mL 的 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)溶液(1000 µg/mL)，並按檢品溶液製備方法操作測定。

(十一) HPLC 分析條件

1. 層析管：ZORBAX SB-C18 Column (250 × 4.6 mm, 5 μm)
2. 檢測波長：516 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%甲酸(%, v/v)
0	70	30
40	70	30

(十二) 臺灣市售紫草含量測定

取十批市售紫草藥材依檢品溶液製備方法製備檢品溶液，取各 10 μL 連續三針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品乙醯紫草素 (Acetylalkannin) 和 β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β-Dimethylacryl)alkannin) 的百分含量。

(十三) 紫草檢品之 UPLC 層析條件

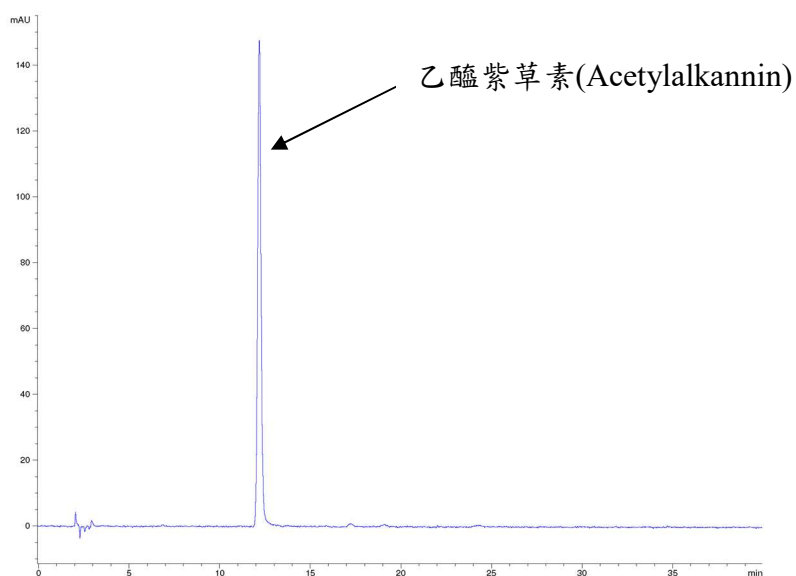
1. 層析管：Waters Acquity UPLC BEH C₁₈ (100 × 2.1 mm, 1.7 μm)
2. 檢測波長：516 nm
3. 流速：0.4 mL/min
4. 管柱溫度：25 °C
5. 注入量：1.0 μL
6. 移動相：

時間(min)	乙腈(%)	0.1%甲酸(%, v/v)
0	70	30
10	100	0

五、結果

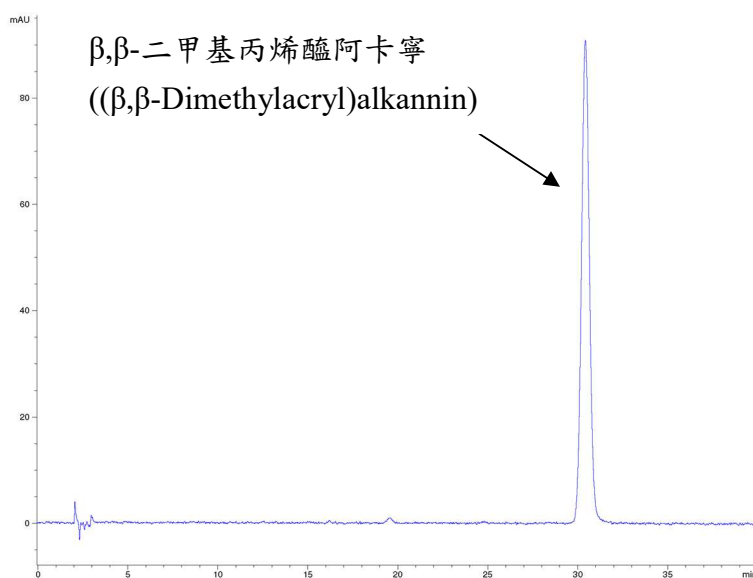
(一) 標準品乙醯紫草素(Acetylalkannin)及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin)之 HPLC 層析

於滯留時間 12.3 分鐘處顯示乙醯紫草素(Acetylshikonin)標準品的波峰(圖一)。



圖一、乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品溶液之 HPLC 層析圖

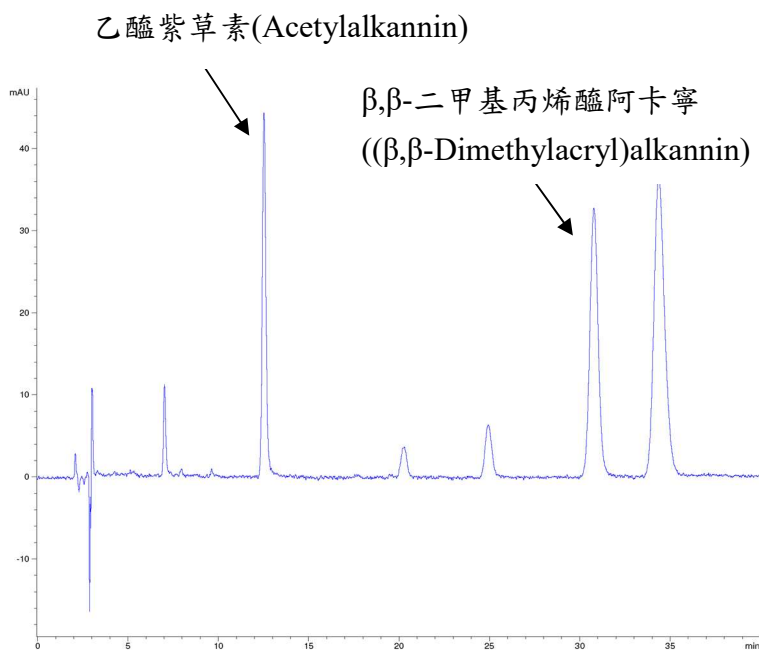
於滯留時間 30.5 分鐘處顯示 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧
((β,β -Dimethylacryl)alkannin)標準品的波峰(圖二)。



圖二、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)標準品溶液之 HPLC 層析圖

(二) 市售紫草檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 12.3 分鐘處顯示乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品的波峰，分離率為 $R = 18.3$ ，托尾因子為 $T = 1.1$ ，均在系統適用性要求內；另於滯留時間 30.5 分鐘處顯示 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($((\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin})$)標準品的波峰，分離率為 $R = 7.6$ ，托尾因子為 $T = 1.1$ ，均在系統適用性要求內。(圖三)



圖三、市售紫草檢品之 HPLC 層析圖

(三) 萃取溶媒開發

以丙酮為溶媒時，藥材萃取所得乙醯紫草素(Acetylalkannin)以及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($((\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin})$)的波峰面積最大，顯示丙酮為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較乙醯紫草素(Acetylalkannin)波峰面積

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	411.8	
70% 甲醇	366.1	
乙醇	416.0	
70% 乙醇	374.8	
丙酮	444.3	√

表二、不同溶媒萃取比較 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)波峰面積

溶媒	波峰面積	最佳萃取
甲醇	980.0	
70%甲醇	796.1	
乙醇	1014.9	
70%乙醇	873.5	
丙酮	1051.2	√

(四) 萃取次數考察

結果顯示萃取一次基本上已將乙醯紫草素(Acetylalkannin)以及 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)萃取完全(萃取率大於99%)

表三、紫草檢品萃取次數考察之乙醯紫草素(Acetylalkannin)波峰面積

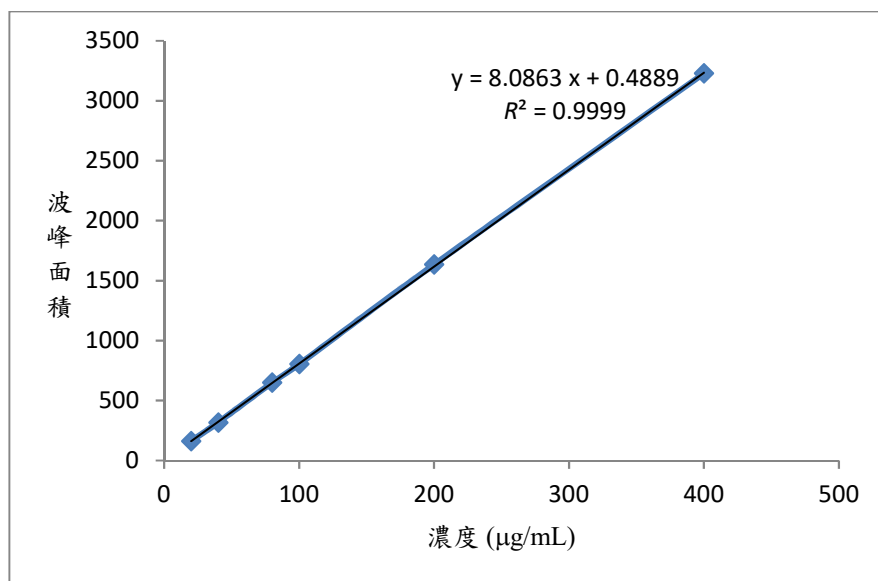
丙酮萃取次數	乙醯紫草素(Acetylalkannin)波峰面積
第一次	464.7
第二次	N.D.

表四、紫草檢品萃取次數考察之 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)波峰面積

丙酮萃取次數	β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)波峰面積
第一次	1102.1
第二次	N.D.

(五) 標準品乙醯紫草素(Acetylalkannin)和 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)之檢量線

經不同濃度乙醯紫草素(Acetylalkannin) (x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為： $y = 8.0863x + 0.4889$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在20–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖四)。

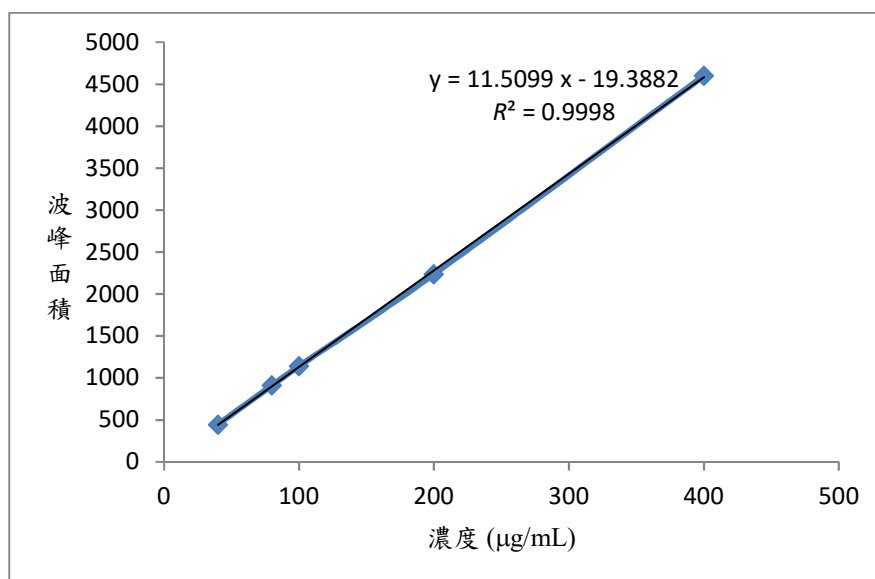


圖四、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之檢量線圖

表五、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之檢量線方程式

對照標準品	濃度(µg/mL)	線性回歸方程式	R^2
乙醯紫草素 (Acetylshikonin)	20–400	$y = 8.0863x + 0.4889$	0.9999

經不同濃度 β, β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta, \beta$ -Dimethylacryl)alkannin) (x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為： $y = 11.5099x - 19.3882$ ， $R^2 = 0.9998$ ，顯示濃度在 40–400 $\mu\text{g/mL}$ 有良好的線性關係(圖五)。



圖五、 β, β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta, \beta$ -Dimethylacryl)alkannin)之檢量線圖

表六、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)之檢量線方程式

對照標準品	濃度($\mu\text{g/mL}$)	線性回歸方程式	R^2
β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ($(\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin}$)	40–400	$y = 11.5099 - 19.3882$	0.9998

(六) 再現性與精確度試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好，乙醯紫草素(Acetylalkannin)精確度之相對標準差為 0.83%，再現性之相對標準差為 0.64%，均在系統適用性要求內。

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精確度良好， β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)精確度之相對標準差為 0.74%，再現性之相對標準差為 0.75%，均在系統適用性要求內。

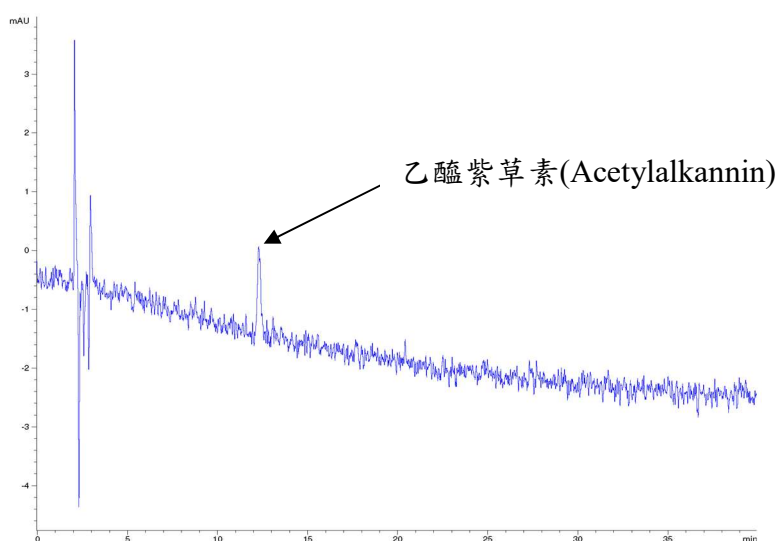
(七) 穩定性試驗

由結果可以得知乙醯紫草素(Acetylalkannin)在 24 小時內穩定性，相對標準差為 1.61%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

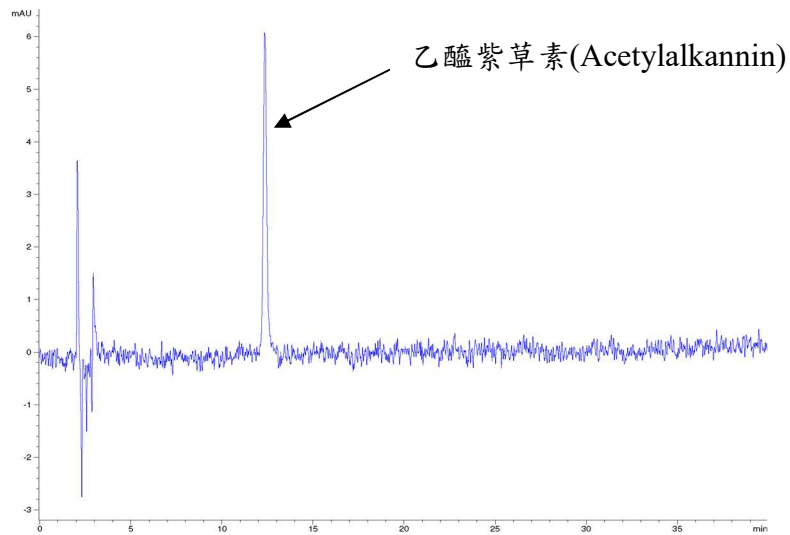
由結果可以得知 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)在 24 小時內穩定性，相對標準差為 1.11%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限與定量極限試驗

乙醯紫草素(Acetylalkannin)偵測極限(limit of detection, LOD)為 5 $\mu\text{g/mL}$ (圖六)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖七)。

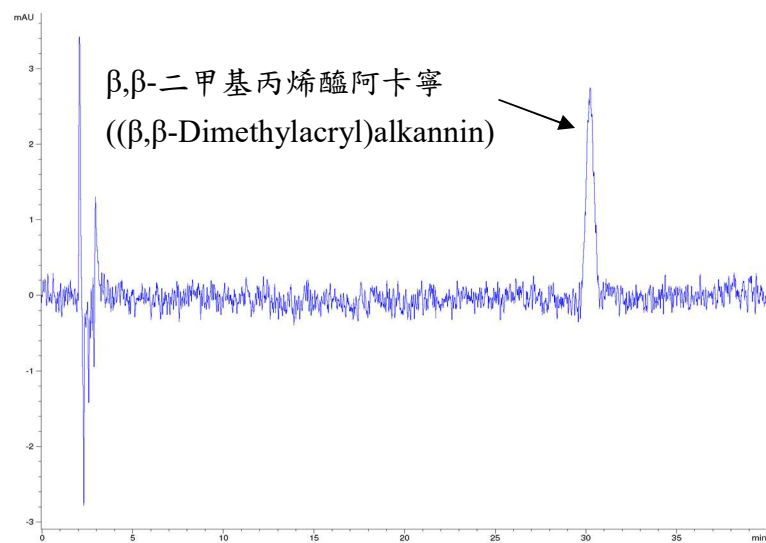


圖六、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 LOD 層析圖

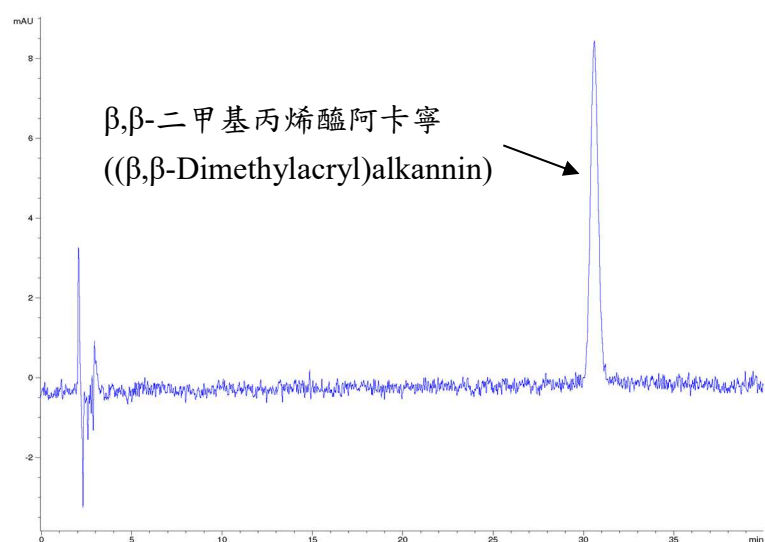


圖七、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 LOQ 層析圖

β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)偵測極限(limit of detection, LOD)為 10 $\mu\text{g/mL}$ (圖八)，定量極限(limit of quantitation, LOQ)為 25 $\mu\text{g/mL}$ (圖九)。



圖八、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)之 LOD 層析圖



圖九、β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)之 LOQ 層析圖

表七、乙醯紫草素(Acetylalkannin)各項檢驗分析

檢測項目	乙醯紫草素(Acetylalkannin)	
	濃度	R.S.D. (%)
精確度 (n=5)	80 µg/mL	0.83
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	0.64
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.9)	1.61
偵測極限 (n=1)	5 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	10 µg/mL	-

表八、β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)各項檢驗分析

檢測項目	β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)	
	濃度	R.S.D. (%)
精確度 (n=5)	80 µg/mL	0.74
再現性 (n=5)	檢品溶液(No.9)	0.75
穩定性 (n=6)	檢品溶液(No.9)	1.11
偵測極限 (n=1)	10 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	25 µg/mL	-

(九) 添加回收率試驗

添加乙醯紫草素(Acetylalkannin)平均回收率 95.9%，相對標準偏差 2.77%。

表九、乙醯紫草素(Acetylalkannin)添加回收率

編號	藥材稱重 (g) (No. 9)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2519	1.026	1.0	1.960	93.2	95.9	2.77
2	0.2527	1.029	1.0	1.978	94.2		
3	0.2509	1.022	1.0	1.991	96.7		
4	0.2509	1.022	1.0	2.023	99.9		
5	0.2522	1.027	1.0	1.970	94.1		

添加 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)平均回收率 95.6%，相對標準偏差 1.98%。

表十、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)添加回收率

編號	藥材稱重 (g) (No. 9)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2511	1.180	1.0	2.151	97.1	95.6	1.98
2	0.2508	1.179	1.0	2.110	93.1		
3	0.2507	1.179	1.0	2.156	97.8		
4	0.2504	1.177	1.0	2.123	94.6		
5	0.2524	1.187	1.0	2.142	95.5		

(十) 台灣市售紫草含量測定

10 批紫草藥材之乙醯紫草素(Acetylalkannin)含量測定結果(乾燥品)如表十一所示，除了編號 8 之紫草藥材以外其餘九批藥材乙醯紫草素(Acetylalkannin)含量均介於 0.32~0.57%之間。建議紫草藥材中乙醯紫草素(Acetylalkannin)的含量不得少於 0.30%。理論板數按乙醯紫草素(Acetylalkannin)波峰計算應不低於 9000 (實際值為 18000)。

表十一、台灣市售紫草檢品之乙醯紫草素(Acetylalkannin)含量

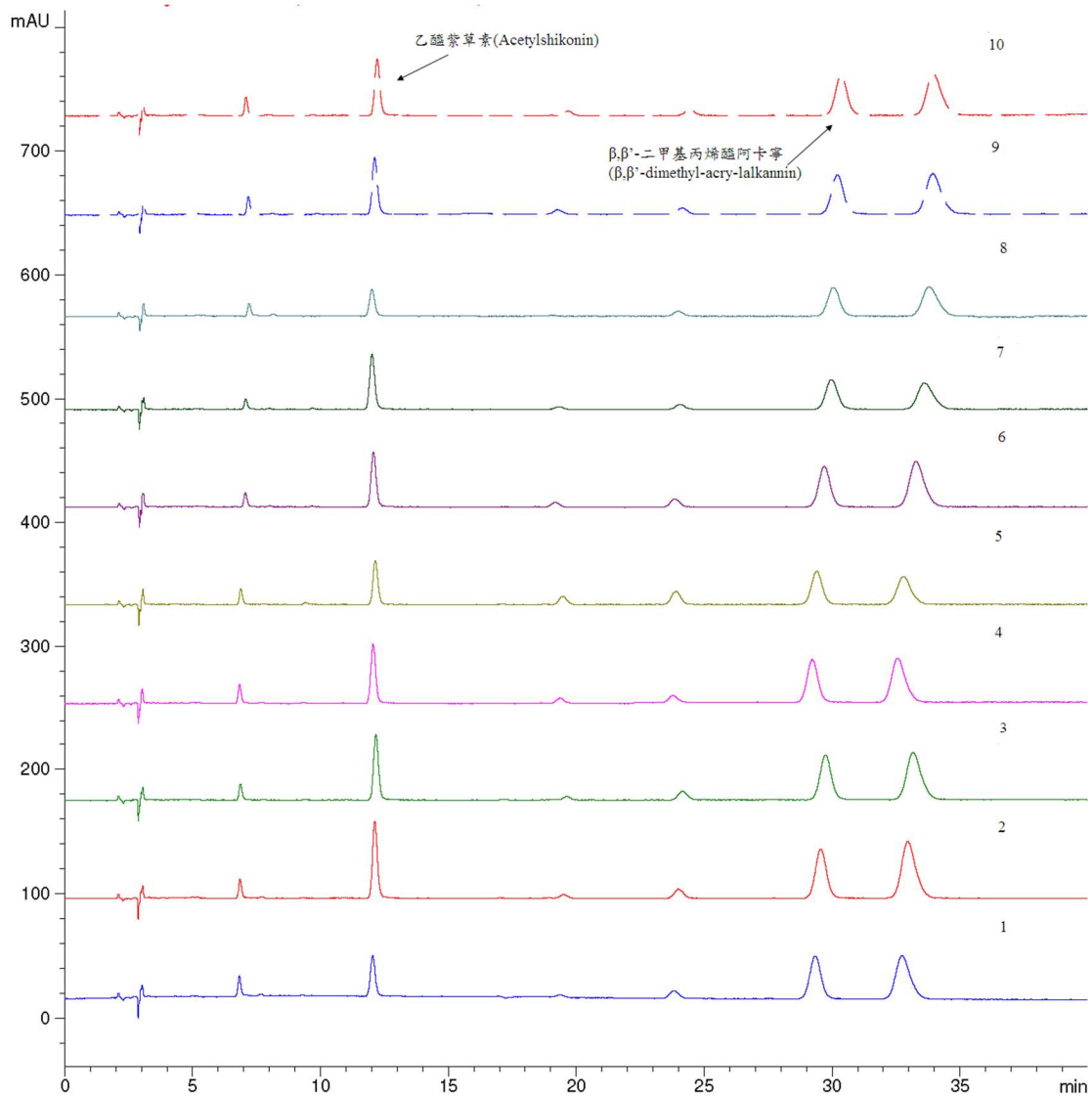
中藥店編號 (No.)	乙醯紫草素 (Acetylalkannin)含量(%)	中藥店編號 (No.)	乙醯紫草素 (Acetylalkannin)含量(%)
1 (CD)	0.32	6 (SC)	0.44
2 (NF)	0.57	7 (SE)	0.45
3 (NJ)	0.50	8 (SG)	0.23
4 (NN)	0.52	9 (SJ)	0.46
5 (NR)	0.35	10 (LL)	0.44

10 批紫草藥材之 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 含量測定結果(乾燥品)如表十二所示， β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 含量均介於 0.40~0.64% 之間。建議紫草藥材中 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 的含量不得少於 0.35%。理論板數按 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 波峰計算應不低於 9000 (實際值為 20000)。

表十二、台灣市售紫草檢品之 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 含量

中藥店編號 (No.)	β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 含量(%)	中藥店編號 (No.)	β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 含量(%)
1 (CD)	0.54	6 (SC)	0.53
2 (NF)	0.60	7 (SE)	0.40
3 (NJ)	0.56	8 (SG)	0.40
4 (NN)	0.64	9 (SJ)	0.53
5 (NR)	0.42	10 (LL)	0.54

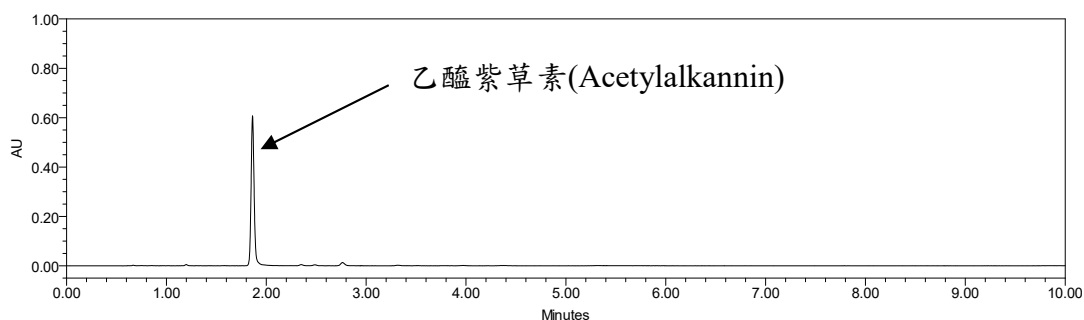
(十一) 台灣 10 批市售紫草藥材之 HPLC 指紋圖譜



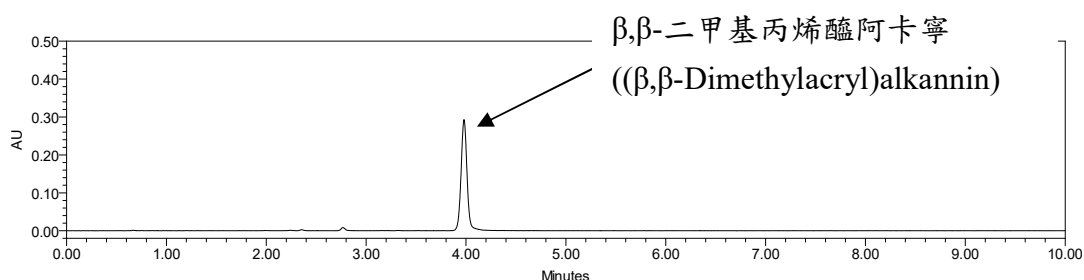
圖十、10 批紫草藥材之 HPLC 指紋圖譜

(十二) 標準品乙醯紫草素(Acetylalkannin)及 β,β' -二甲基丙烯醯阿卡寧 (β,β' -dimethyl-acry-lalkannin)之 UPLC 層析

於滯留時間 1.86 分鐘處顯示乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品的波峰(圖十一)。於滯留時間 3.98 分鐘處顯示 β,β' -二甲基丙烯醯阿卡寧 (β,β' -Dimethylacryl)alkannin)標準品的波峰(圖十二)。



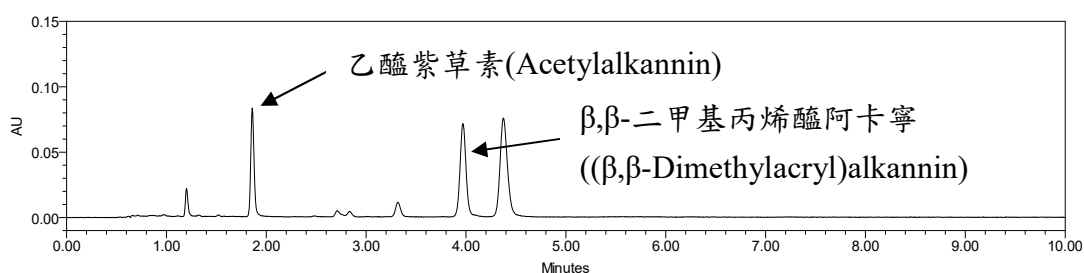
圖十一、乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品溶液之 UPLC 層析圖



圖十二、β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)標準品溶液之 UPLC 層析圖

(十三) 市售紫草檢品之 UPLC 層析

於滯留時間 1.86 分鐘處顯示乙醯紫草素(Acetylalkannin)標準品的波峰，且於滯留時間 3.97 分鐘處顯示 β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)標準品的波峰(圖十三)。



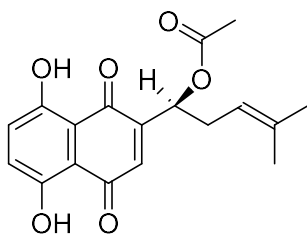
圖十三、市售紫草檢品之 UPLC 層析圖

(十四) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)和 β,β-二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β-Dimethylacryl)alkannin)的分子式與分子量

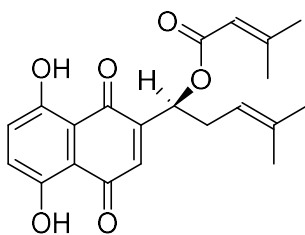
乙醯紫草素(Acetylalkannin)分子式： $C_{18}H_{18}O_6$ ；分子量：330.34；
熔點：81–82 °C

β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin) 分子式：
 $C_{21}H_{22}O_6$ ；分子量：370.40；熔點：114–115 °C

(十五) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)和 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧
 ((β,β -Dimethylacryl)alkannin)的結構

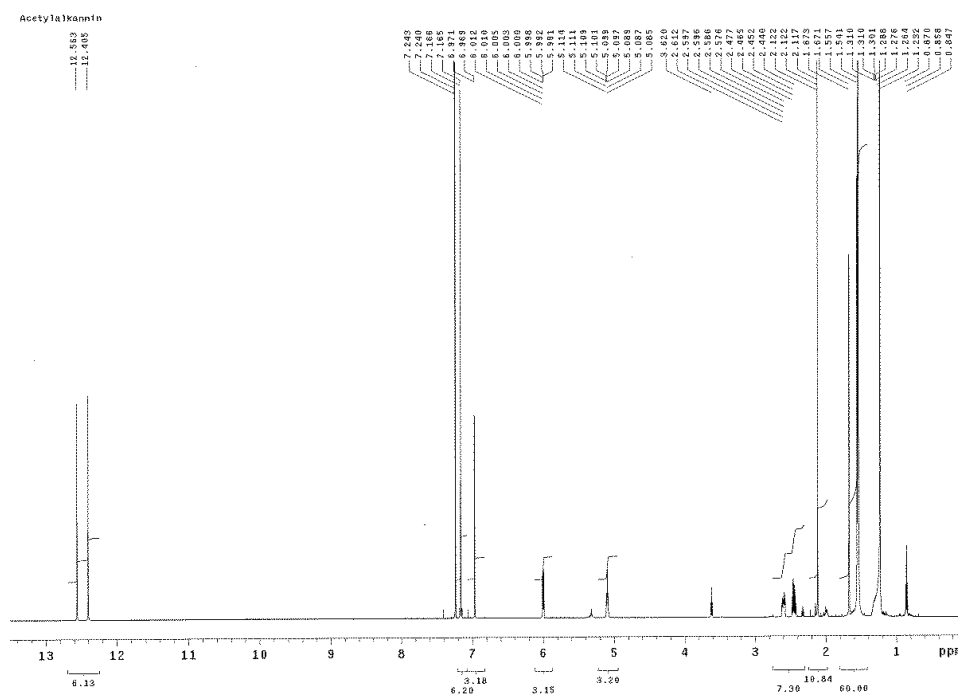


圖十四、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之結構



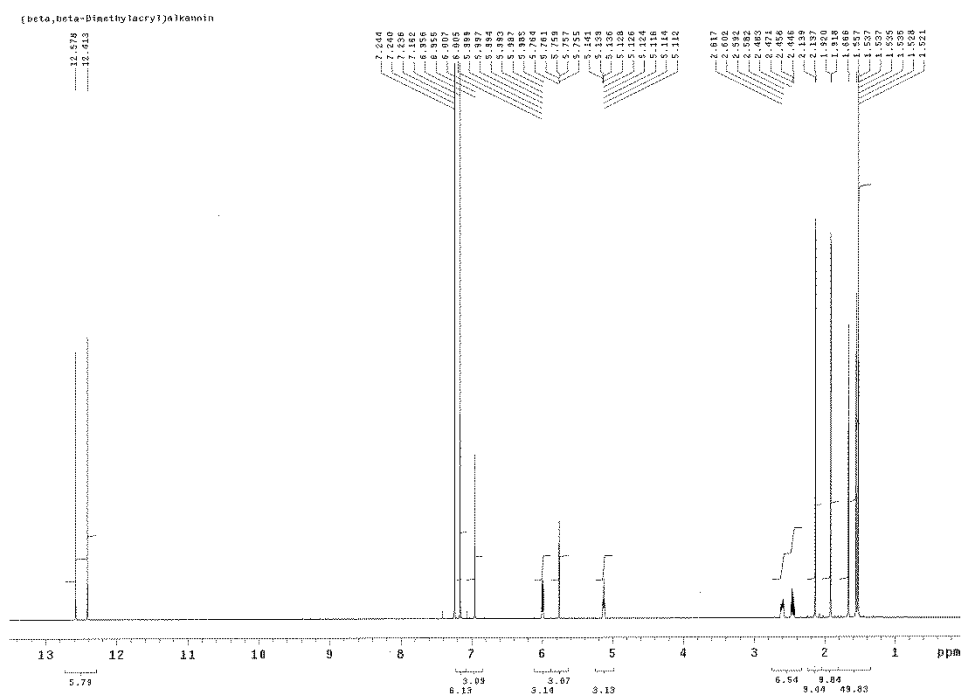
圖十五、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧((β,β -Dimethylacryl)alkannin)之結構

(十六) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)的 ^1H NMR 圖譜



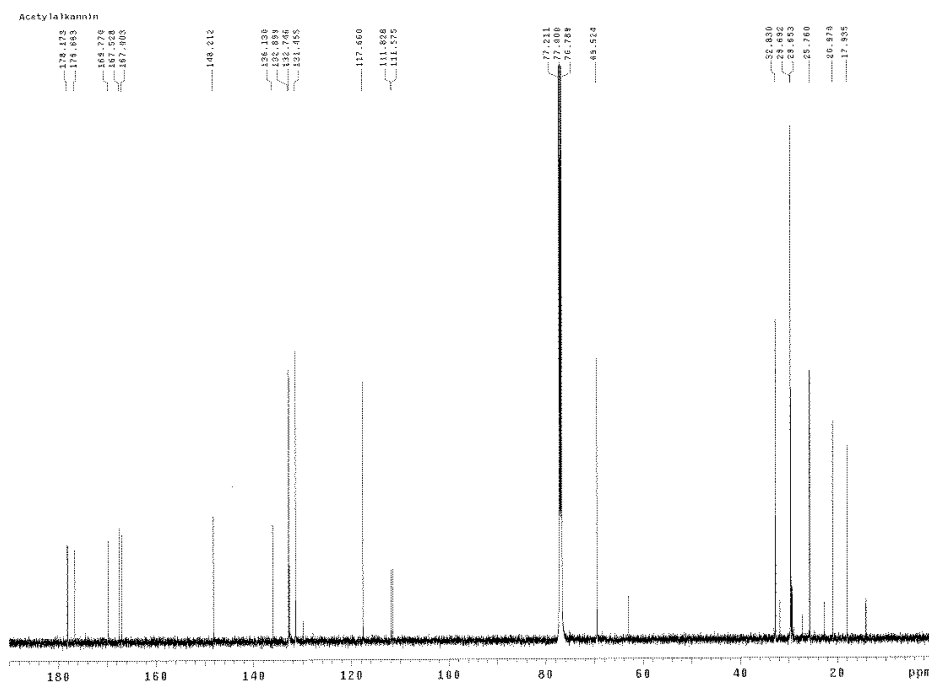
圖十六、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十七) β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin}$)的 ^1H NMR 圖譜



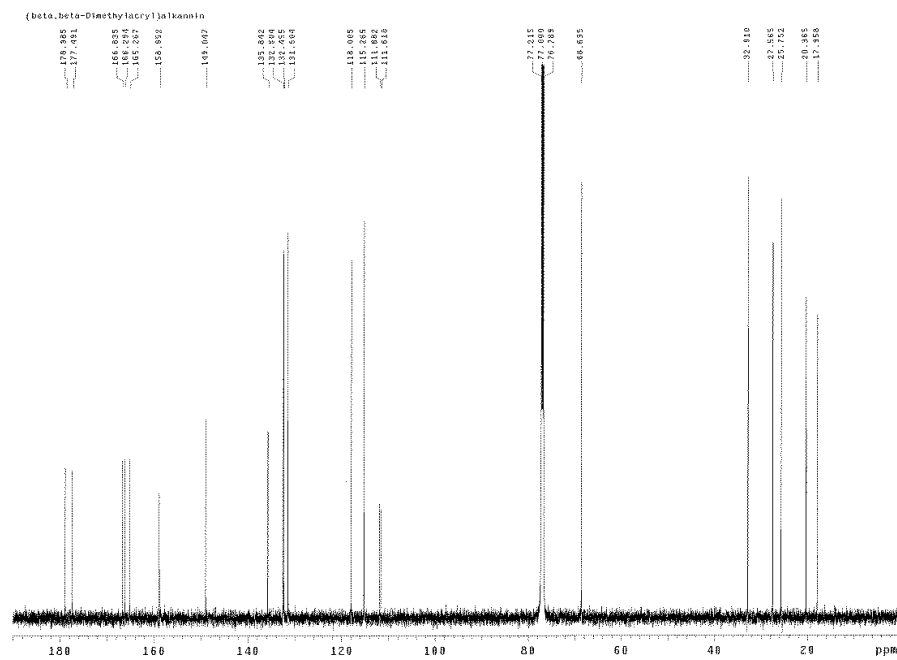
圖十七、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin}$)之 ^1H NMR 圖譜(CDCl_3)

(十八) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)的 ^{13}C NMR 圖譜



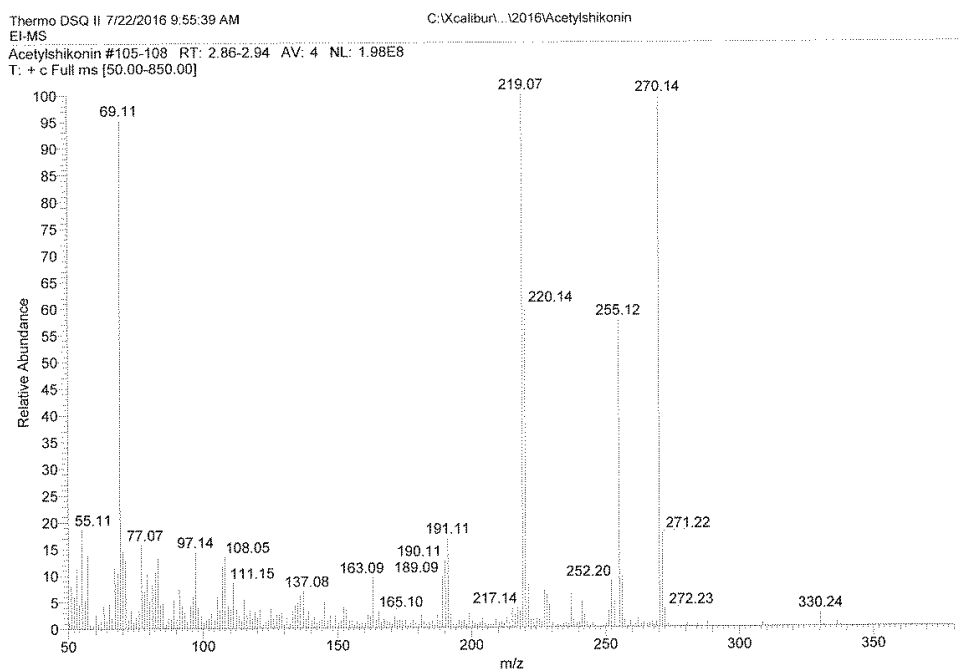
圖十八、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(十九) β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin}$)的 ^{13}C NMR 圖譜



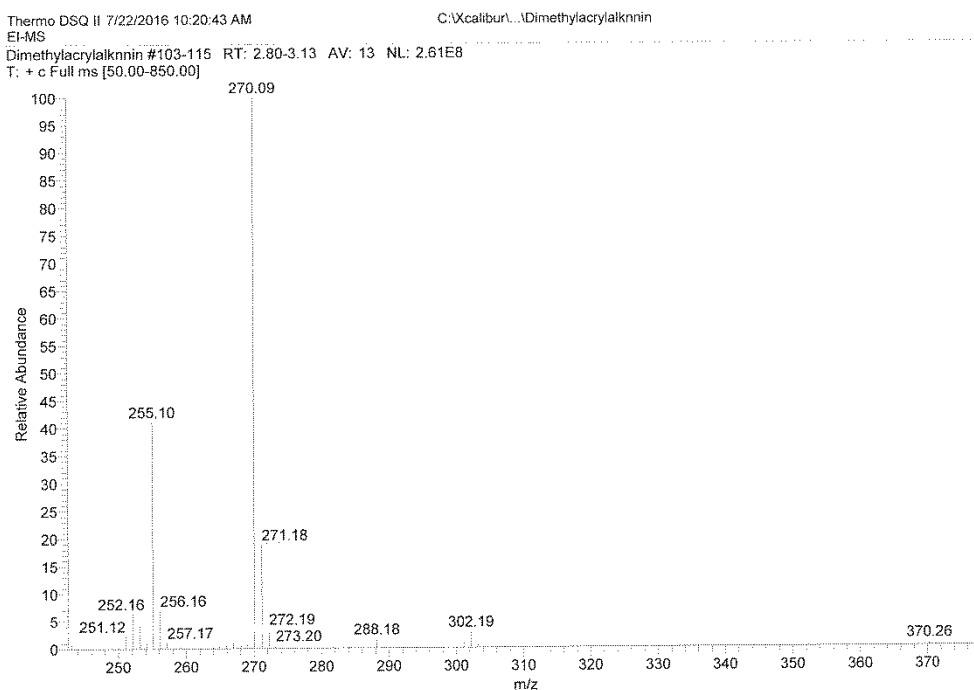
圖十九、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta\text{-Dimethylacryl})\text{alkannin}$)之 ^{13}C NMR 圖譜(CDCl_3)

(二十) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)的 EI-MS 圖譜



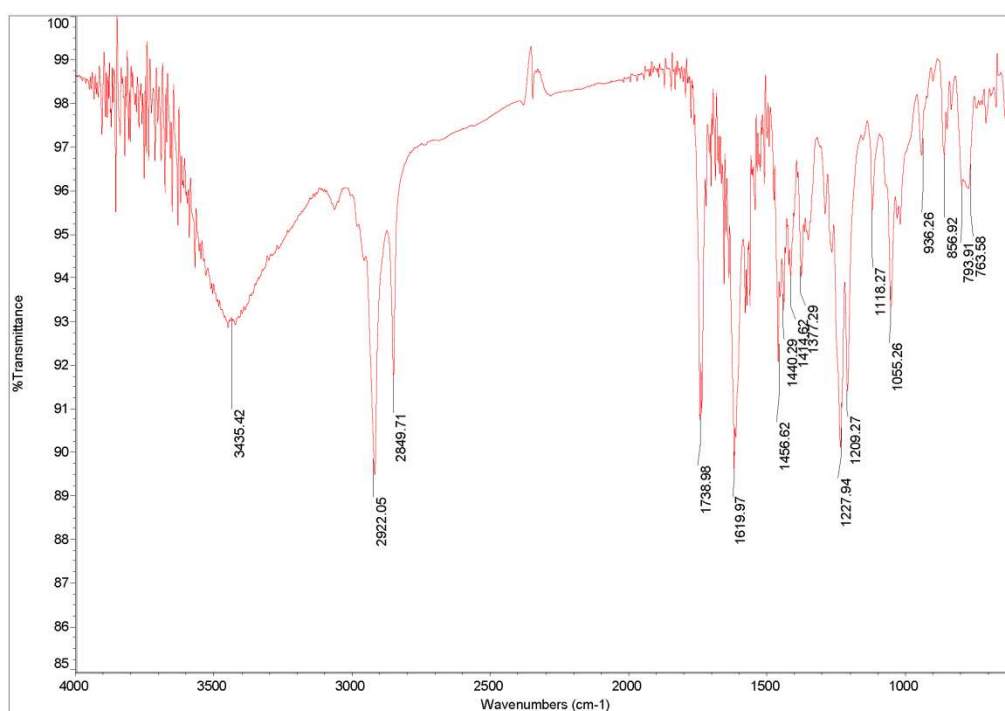
圖二十、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 EI-MS 圖譜

(二十一) β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧(β,β -Dimethylacryl)alkannin)的 EI-MS 圖譜



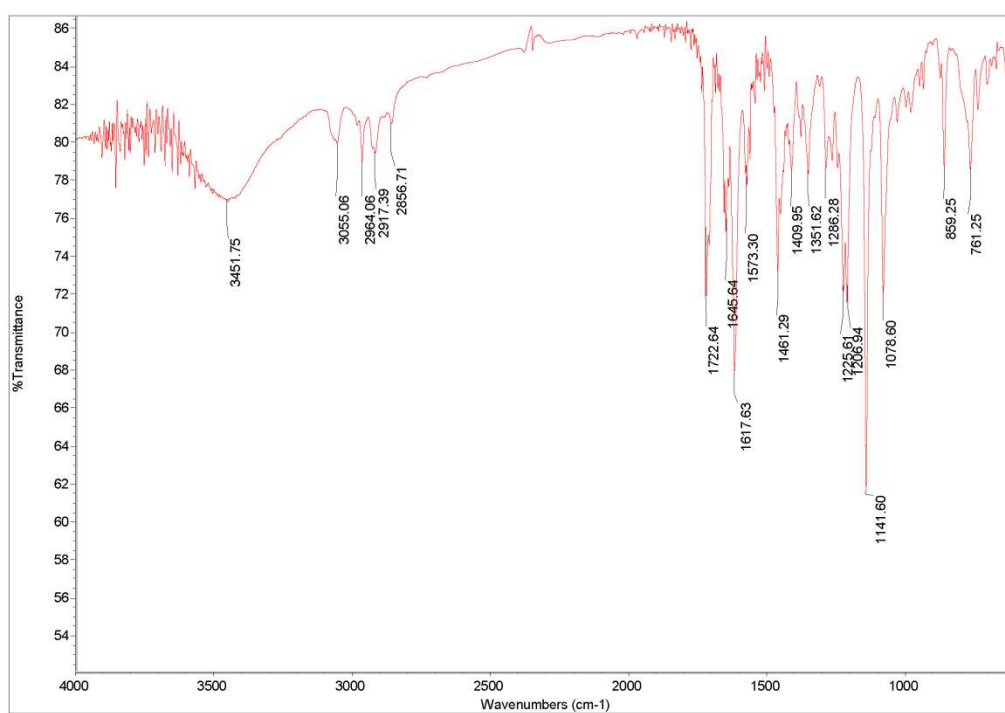
圖二十一、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧(β,β -Dimethylacryl)alkannin)之 EI-MS 圖譜

(二十二) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)的 FTIR 圖譜



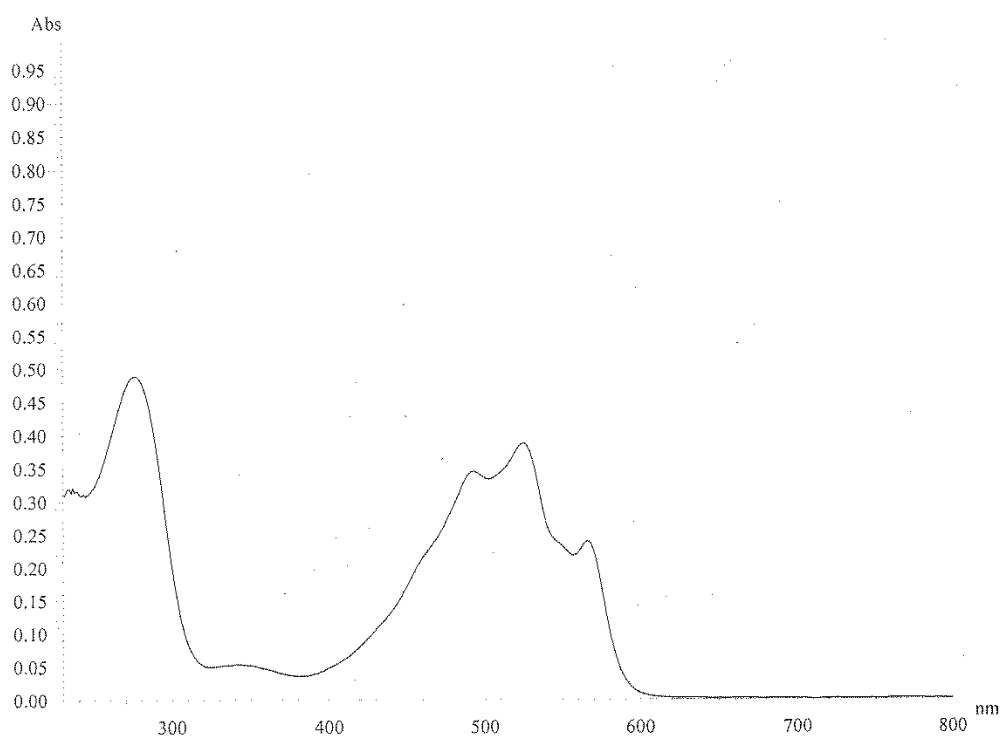
圖二十二、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 FTIR 圖譜

(二十三) β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)的 FTIR 圖譜



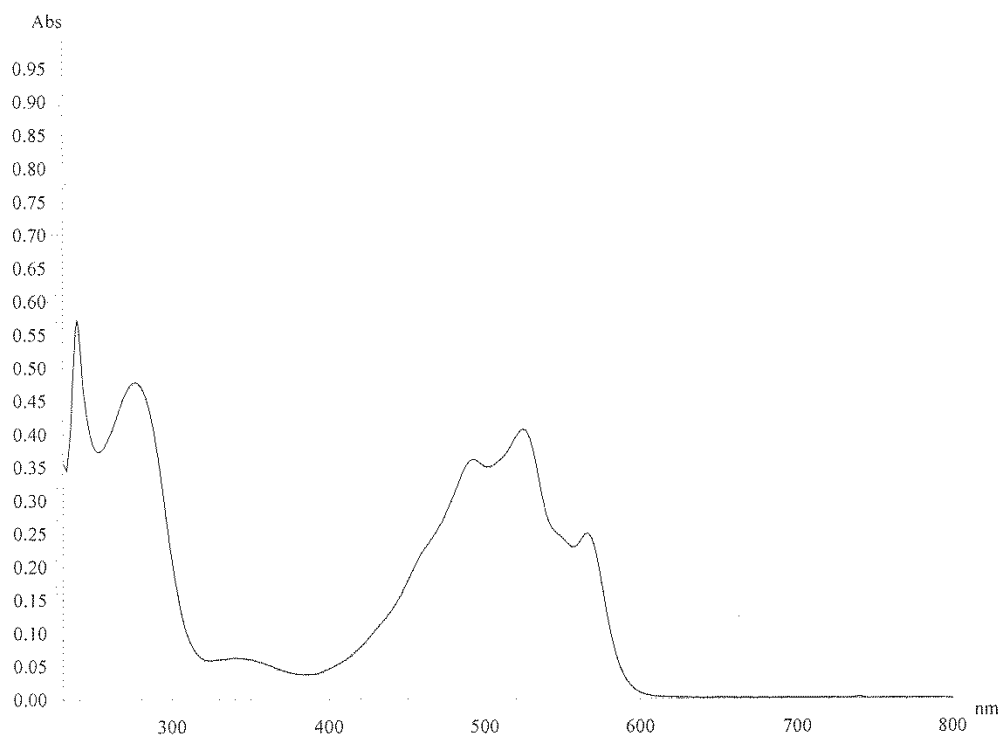
圖二十三、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)之 FTIR 圖譜

(二十四) 乙醯紫草素(Acetylalkannin)的 UV 圖譜



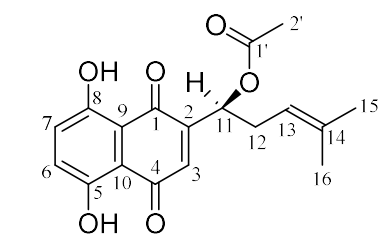
圖二十四、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之 UV 圖譜

(二十五) β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)的 UV 圖譜



圖二十五、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)之 UV 圖譜

(二十六) 乙醯紫草素(Acetylshikonin)的氫、碳化學位移



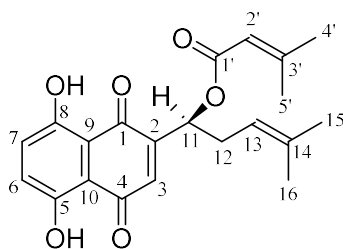
乙醯紫草素(Acetylalkannin)

表十三、乙醯紫草素(Acetylalkannin)之氫、碳化學位移(CDCl₃)^a

position	δ_H (600 MHz)	δ_C (150 MHz)
1		176.66
2		148.21
3	6.97 (d, 1.2)	131.46
4		178.17
5		167.00
6	7.168 (d, 9.6)	132.90
7	7.163 (d, 9.6)	132.75
8		167.53
9		111.83
10		111.58
11	6.00 (ddd, 7.2, 4.2, 1.2)	69.52
12	2.59 (m), 2.45 (m)	32.83
13	5.10 (m)	117.66
14		136.13
15	1.67 (s)	25.76
16	1.56 (s)	17.94
1'		169.77
2'	2.12 (s)	20.97
5-OH	12.41 (s)	
8-OH	12.56 (s)	

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

(二十七) β,β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β,β' -dimethyl-acry-lalkannin)的氫、碳化學位移



β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)

表十四、 β,β -二甲基丙烯醯阿卡寧($(\beta,\beta$ -Dimethylacryl)alkannin)之氫、碳化學位移(CDCl_3)^a

position	δ_{H} (600 MHz)	δ_{C} (150 MHz)
1		177.49
2		149.05
3	6.96 (d, 1.2)	131.60
4		178.99
5		166.29
6	7.16 (s)	132.60
7	7.16 (s)	132.46
8		166.84
9		111.88
10		111.61
11	6.00 (ddd, 7.2, 4.8, 1.2)	68.64
12	2.60 (m), 2.46 (m)	32.91
13	5.13 (m)	118.01
14		135.84
15	1.67 (s)	25.75
16	1.56 (s)	17.96
1'		165.27
2'	5.76 (m)	115.27
3'		158.95
4'	1.92 (d, 1.2)	27.57
5'	2.14 (d, 1.2)	20.37
5-OH	12.41 (s)	
8-OH	12.58 (s)	

^a(Multiplicity, J in Hz) in ppm.

紫草

中文名：紫草

生藥拉丁名：ARNEBIAE RADIX

英文名：Arnebia Root

基 原：本品為紫草科 Boraginaceae 植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst.或內蒙紫草 *Arnebia guttata* Bunge 之乾燥根。

一、方法

(一) 檢品溶液 【萃取方法 1】(修飾臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

——取本品粉末 0.5 g，加正己烷 20 mL，超音波處理 20 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加正己烷 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)

——取本品粉末 1.0 g，加正己烷 10 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，濾液濃縮至乾，殘渣加正己烷 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 3】(自行開發) ✓

——取本品粉末 1.0 g，加乙酸乙酯 10 mL，超音波處理 30 分鐘，過濾，取濾液作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取乙醯紫草素(Acetylshikonin)及 β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β , β' -Dimethylacrylalkannin)對照標準品，加乙酸乙酯製成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 【展開劑 1】(臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)

——正己烷：甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：0.5：0.1)

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊) ✓

——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (9：2：0.2)

(五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(六) 展 開 展開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。

(七) 顯色&檢視 於主波長 365 nm 之紫外燈照射下檢視。

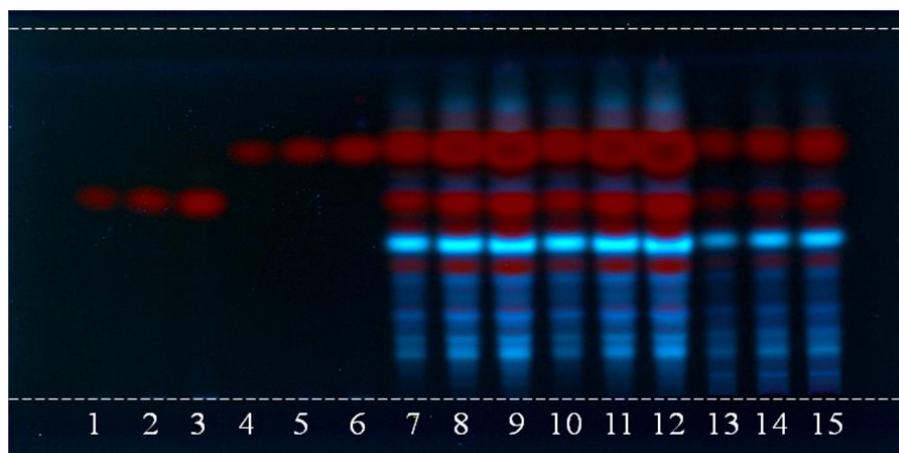
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：105/07/26

相對溼度(RH)：66%

溫度(RT)：28 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (9:2:0.2)



編號	名稱	含量
1, 2, 3	乙醯紫草素(Acetylshikonin) (0.5 mg/mL)	1, 2, 5 µL
4, 5, 6	β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧 (β , β' -Dimethylacrylalkannin) (0.5 mg/mL)	1, 2, 5 µL
7, 8, 9	檢品溶液 4【萃取方法 1】	2, 5, 8 µL
10, 11, 12	檢品溶液 4【萃取方法 2】	2, 5, 8 µL
13, 14, 15	檢品溶液 4【萃取方法 3】	2, 5, 8 µL

建議萃法：3 種萃法之檢品溶液中皆有分離與檢出標準品乙醯紫草素及 β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧，而由於製備簡便且快速，故選擇【萃取方法 3】。

建議點注量：乙醯紫草素(Acetylshikonin)標準品溶液 2 µL， β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β , β' -Dimethylacrylalkannin)標準品溶液 5 µL，檢品溶液【萃取方法 3】8 µL。

三、溶媒系統選擇

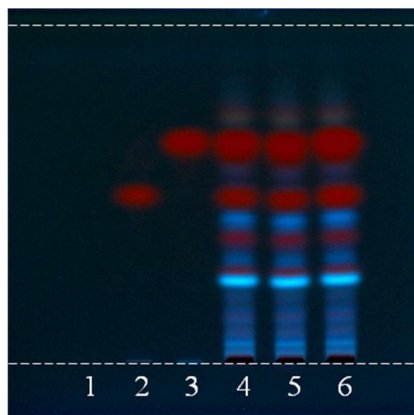
實驗日期：105/07/27

相對溼度(RH)：61%

溫度(RT)：26 °C

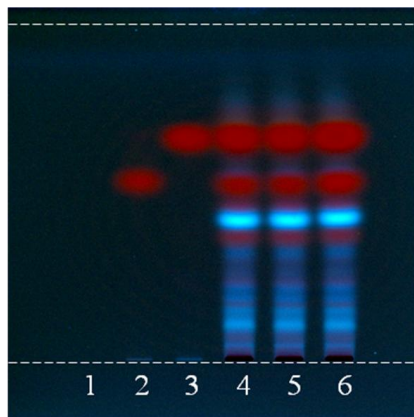
【展開劑 1】(臺灣中藥典第二版 2013；修飾中華人民共和國藥典 2015)——正己烷：甲苯：乙酸乙酯：甲酸 (5：5：0.5：0.1)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (乙醯紫草素 R_f 值為 0.49、 β, β' -二甲基丙烯醯阿卡寧 R_f 值為 0.65)



【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (9：2：0.2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出 (乙醯紫草素 R_f 值為 0.53、 β, β' -二甲基丙烯醯阿卡寧 R_f 值為 0.66)



1：Blank

2：乙醯紫草素(Acetylshikonin)

3： β, β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β, β' -Dimethylacrylalkannin)

4, 5：檢品溶液 4

6：Spike

建議溶媒系統：以【萃取方法 3】方式，2 種展開劑展開皆可從檢品溶液中分離與檢出乙醯紫草素及 β, β' -二甲基丙烯醯阿卡寧，而由於展開溶媒條件較簡便，故採用修飾香港中藥材標準第六冊之【展開劑 2】。

33

五、十家樣品檢測

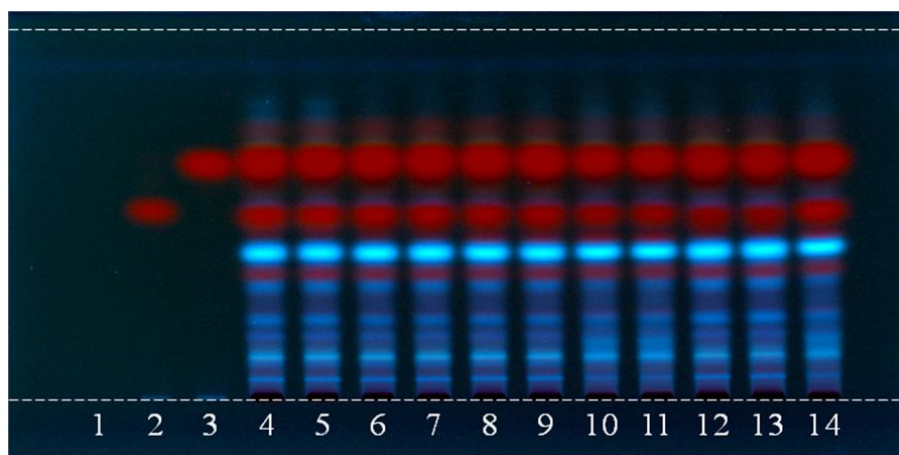
實驗日期：105/07/28

相對溼度(RH)：59%

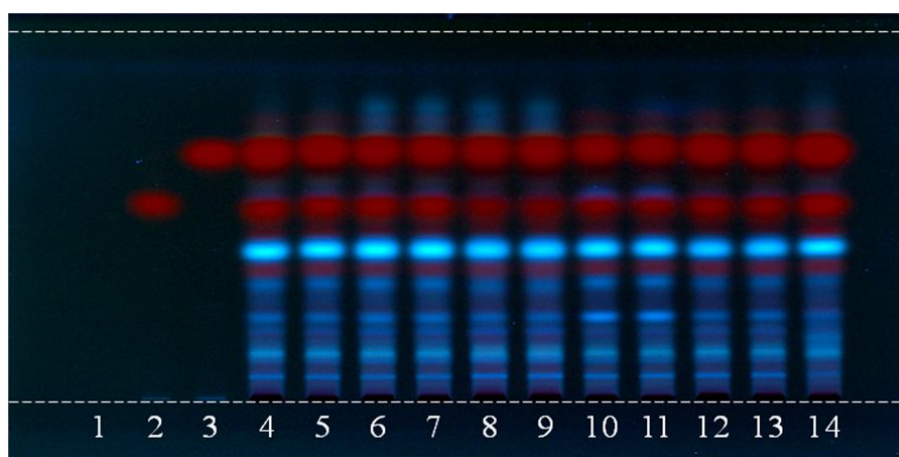
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 2】(修飾香港中藥材標準第六冊)——正己烷：乙酸乙酯：甲酸 (9:2:0.2)

【萃取方法 3】(自行開發)——HPTLC 紫外光(365 nm)檢出



1	Blank
2	乙醯紫草素(Acetylshikonin) (0.5 mg/mL)
3	β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β , β' -Dimethylacrylalkannin) (0.5 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 1 (NF)
6, 7	檢品溶液 2 (NJ)
8, 9	檢品溶液 3 (NN)
10, 11	檢品溶液 4 (NR)
12, 13	檢品溶液 5 (CD)
14	Spike (檢品溶液 4)



1	Blank
2	乙醯紫草素(Acetylshikonin) (0.5 mg/mL)
3	β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β , β' -Dimethylacrylalkannin) (0.5 mg/mL)
4, 5	檢品溶液 6 (SC)
6, 7	檢品溶液 7 (SE)
8, 9	檢品溶液 8 (SG)
10, 11	檢品溶液 9 (SJ)
12, 13	檢品溶液 10 (NC)
14	Spike (檢品溶液 4)

結論與建議：以自行開發之【萃取方法 3】方式，並以修飾香港中藥材標準第六冊之【展開劑 2】分離與檢出乙醯紫草素(Acetylshikonin)及 β , β' -二甲基丙烯醯阿卡寧(β , β' -Dimethylacrylalkannin)展開溶媒條件較簡便，於紫外光(365 nm)下檢視條帶較多。