

国药典》的不足, 可以对天山雪莲药材进行快速、全面的质量评价。

参考文献:

- [1] 陈发菊, 杨映根, 赵德修, 等. 我国雪莲植物的种类、生境分布及化学成分的研究进展 [J]. 植物学通报, 1999, 16(5): 561-566.
- [2] 李君山, 蔡少青. 雪莲花卉药材的化学和药理研究进展 [J]. 中国药学杂志, 1998, 33(8): 449-452.
- [3] 中国药典 [S]. Vol. . 2005.
- [4] 薛秀峰, 张海茹, 潘丽娜, 等. 雪莲及其注射液的指纹图谱研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2005, 39(1): 72-74.
- [5] 苗爱东, 孙殿甲, 彭 燕, 等. HPLC 法建立新疆雪莲指纹图谱研究 [J]. 中成药, 2003, 25(9): 691-693.
- [6] 黄 毅, 周 茜, 阎 明, 等. 天山雪莲不同部位总黄酮含量及高效液相指纹图谱分析 [J]. 中药材, 2005, 28(11): 980-982.
- [7] 赵明波, 邓秀兰, 王亚玲, 等. 红花 RP-HPLC 指纹图谱的建立及其质量研究 [J]. 药学报, 2004, 39(3): 212-216.

黄檗种子及果肉中抑制物质活性的研究

张秋菊¹, 杨文娣², 刘雪莲¹, 杨晓翠^{1*}

(1. 通化师范学院 生物系, 吉林 通化 134002; 2. 通化师范学院 制药系, 吉林 通化 134002)

摘 要: 目的 探讨黄檗野生种群更新困难的原因, 为其种子的萌发机制研究提供参考依据。方法 采用甲醇、乙醚、蒸馏水分别浸提黄檗果肉和种子, 以白菜、小麦和黄檗作为受试植物, 检测种子发芽及幼苗生长情况。结果 黄檗果肉和种子的浸提液分别降低了白菜、小麦和黄檗种子的发芽率, 对幼苗生长也有不同程度的抑制作用。抑制作用随浓度的增高而增强, 以乙醚提取液抑制作用最强, 水提液抑制作用不明显。将黄檗种子分离为胚、胚乳和子叶3部分用蒸馏水提取, 生物测定发现子叶水提液的抑制活性最强。结论 黄檗果肉和种子中均存在着活性较强的抑制物质, 能够明显抑制自身及其他植物的生长, 抑制物质主要存在于子叶中。

关键词: 黄檗; 种子; 果肉; 抑制活性

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)01-0108-04

Inhibitory activity of substance in seed and sarcocarp of *Phellodendron amurense*

ZHANG Qiu-ju¹, YANG Wen-di², LIU Xue-lian¹, YANG Xiao-cui¹

(1. Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, China; 2. Department of Pharmacy, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, China)

Abstract: Objective Looking into the causes of self-regeneration obstacle of the wild *Phellodendron amurense* population in order to provide the reference for the study of the germination mechanism. **Methods** The germination and seedling growth were observed by taking cabbage, wheat, and *P. amurense* as the tested objects and the sarcocarp and seed of *P. amurense* were extracted by alcohol and ethyl ether. **Results** The extract in sarcocarp and seed of *P. amurense* could decrease the germination rate of cabbage, wheat, and *P. amurense* seed, also inhibit the seedling growth in different levels. The inhibitory effect was getting stronger and stronger following the concentration increased. The ethyl ether extract showed the best inhibitory effect, while the water extract had no significant effect. The embryo, endosperm, and cotyledon of *P. amurense* were extracted by distilled water, and among them the cotyledon had the strongest inhibition. **Conclusion** There are some substances with the better inhibitory effect in the sarcocarp and seed of *P. amurense*, which can inhibit the growth of itself and other plants significantly. The substance with the inhibitory effect exists mainly in cotyledon.

Key words: *Phellodendron amurense* Rupr.; seed; sarcocarp; inhibitory activity

黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 系芸香科落叶阔叶乔木, 别名黄波罗, 以去栓皮的树皮供药用, 即为著名中药“黄柏”。黄檗含有多种生物碱, 是

提取黄连素的主要原料。黄檗主要分布于东北三省、河北等地, 因其市场用量大, 价格上涨, 造成疯狂采伐, 以致野生资源急剧枯竭, 目前已被列为国家三级

* 收稿日期: 2007-04-10

基金项目: 吉林省教育厅项目资助([2007]-399)

作者简介: 张秋菊(1968—), 女, 吉林省通化市人, 副教授, 硕士, 主要从事植物生理及长白山药用植物驯化研究, 已发表科研论文15篇, 出版教材1部。 Tel: 013944595515 E-mail: zhangqiuju5515@163.com

保护树种、野生濒危种^[1]。

黄檗母树下无实生苗,种群自然更新较难,种子成熟度不一致,发芽困难。以往研究多认为是黄檗雌雄异株、授粉困难;种子不易脱落^[2];种子传播受鸟类限制等多种原因所致,黄檗秋季落叶对种子萌发有一定的影响^[3],但尚未见对其种子抑制作用的研究报道。本实验方法研究了黄檗种子和果肉中的萌发抑制物质,以期从化感作用的角度探索黄檗野生种群更新困难的原因,为解决人工繁殖中种子萌发率低的难题提供一些参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂:黄檗种子于2004年10月采自靖宇县,采摘后置于容器中,10~15 d后当果实完全变黑、腐烂、发臭时取出用手揉搓出种子,在清水中漂洗,除去果皮和杂质,选出充实的种子;另剥取新鲜果肉置于室内通风处阴干备用。受试白菜*Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr. 种子“胶白一号”和小麦*Triticum aestivum* L. 种子均购自本地种子公司,黄檗种子在5℃条件下层积处理30 d后取出备用。本实验所用其他药品均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 不同溶剂的黄檗种子粗提液的制备及生物测定:称取阴干的黄檗种子3份,每份5 g,分别加入50 mL 蒸馏水、甲醇和乙醚,25℃恒温震荡提取48 h。参照文献[4]的方法,将水提液直接定容,甲醇、乙醚提取液置于室内通风处挥发干净后加入少量95%乙醇溶解后以蒸馏水定容,制备质量浓度为0.02、0.04、0.08 g/mL 的浸提液。分别处理白菜、小麦和黄檗种子。白菜、小麦以胚根长度达种子长度的1/2为发芽标准,黄檗以种皮裂开能看见子叶或胚乳为发芽标准,3~5 d后测苗高、根长及鲜质量。

1.2.2 黄檗种子中不同部位粗提液的制备及生物

测定:用刀片将黄檗种子剥离为子叶、胚乳和种皮3部分,各取4 g,同上述方法制备质量浓度为0.02、0.04、0.08、0.16、0.2 g/mL 的水提液,用白菜种子做生物测定。

1.2.3 黄檗果肉中内源萌发抑制物质的生理活性:称取阴干的黄檗果肉4份,每份10 g,加入研钵研碎,蒸馏水浸提,同1.2.1方法制备为0.04、0.08 g/mL 的水提液,同上述方法做生物测定。

以上发芽实验每处理白菜和小麦为100粒种子,黄檗为50粒,均重复3次。抑制物质活性计算参照赵敏的方法^[5],抑制活性=1-处理发芽率/对照发芽率。其他依此法计算。

1.2.4 数据处理:采用SPSS 软件进行数据方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同溶剂的黄檗种子粗提液对受试植物种子萌发及幼苗生长的影响:由表1可见,黄檗种子提取液对白菜种子萌发及其幼苗生长均有显著抑制作用,且抑制物质的活性随着粗提物浓度的增加而增强。不同溶剂提取黄檗种子抑制物质的活性不同,以乙醚提取液的抑制物质活性最强,甲醇次之,水提液抑制作用不明显。当提取液质量浓度达到0.08 g/mL 时,抑制活性达100%。对种子萌发的抑制活性高于对幼根的抑制活性。水提液对白菜茎长有一定促进作用,而甲醇、乙醚提取液有较强的抑制作用。各提取液对白菜全株鲜质量无明显影响。抑制作用总趋势为:发芽率>根长>茎长>鲜质量。

黄檗种子甲醇、乙醚粗提液在0.04~0.08 g/mL 对小麦种子萌发和根长表现为高度抑制作用,抑制活性为100%。而水提液对小麦种子萌发及幼苗生长的抑制作用不明显,且对种子萌发的抑制活性高于对幼根的抑制活性(表2)。

表1 不同溶剂的黄檗种子粗提液对白菜种子萌发及幼苗生长的影响

Table 1 Effect of crude extracts from seed of *P. amurense* in various solvents on seed germination and seedling growth of cabbage

处理/(g·mL ⁻¹)	发芽率/%	茎长/cm	根长/cm	鲜质量/(g·株 ⁻¹)
对照(未处理)	98.0±1.0	0.39±0.21	1.36±0.81	0.019±0.007
水提液 0.04	83.5±0.5*	0.49±0.35	1.07±0.43	0.016±0.011
0.08	81.3±1.3*	0.41±0.22	0.89±0.67	0.014±0.003
0.10	76.0±1.0**	0.50±0.55	0.98±0.08	0.015±0.001
甲醇提取液 0.04	20.0±1.3**	0	0.15±0.02**	0
0.08	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0
乙醚提取液 0.04	2.0±1.0**	0	0.10±0.11**	0
0.08	0	0	0	0
0.10	0	0	0	0

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

由表 3 可见,从 0.02 g/mL 开始,黄檗种子水提液对自身种子的萌发就有显著的抑制作用,且抑制作用随浓度的增加而增强,尤其是显著延长了种子的萌发时间。

表 2 不同溶剂的黄檗种子粗提液对小麦种子萌发及幼苗生长的影响

Table 2 Effect of crude extracts from seed of <i>P. amurens</i> in various solvents on seed germination and seedling growth of wheat				
处理/(g·mL ⁻¹)	发芽率/%	茎长/cm	根长/cm	鲜质量/(g·株 ⁻¹)
对照(未处理)	95.3±1.0	0.45±0.04	1.75±0.38	0.071±0.004
水提液 0.02	90±0.67	0.45±0.16	1.44±0.29	0.072±0.003
0.04	92±1.33	0.44±0.11	1.62±0.87	0.085±0.012
0.08	90±0.00	0.43±0.07	1.63±0.11	0.078±0.005
甲醇提取液 0.02	16.7±1.0 ^{**}	0.34±0.33	0.58±0.04 [*]	0.070±0.005
0.04	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0
乙醚提取液 0.02	2.0±0.67 ^{**}	0.2±0.03 ^{**}	0.3±0.02 ^{**}	0
0.04	0	0	0	0
0.08	0	0	0	0

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表 3 黄檗种子水提液对黄檗种子萌发的影响

Table 3 Effect of water crude extract from seed of <i>P. amurens</i> on seed germination of <i>P. amurens</i>	
处理/(g·mL ⁻¹)	黄檗发芽率/%
对照(未处理)	67.3±1.33
0.02	59.0±0.67
0.04	33.7±2.0 [*]
0.08	22.7±1.0 [*]

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

2.2 黄檗种子中子叶、胚乳、种皮水提液对白菜种子萌发及幼根生长的影响: 由图 1、2 可知, 子叶水提液对白菜种子萌发和幼根生长均有较大抑制作用, 胚乳和种皮水提液对白菜种子生长的抑制作用较小。相同质量浓度的子叶水提液对白菜生长的抑制活性显著高于胚乳、种皮水提液的抑制活性。实验结果表明, 抑制物质主要存在于子叶中, 而在胚乳和种皮中分布无明显差异。

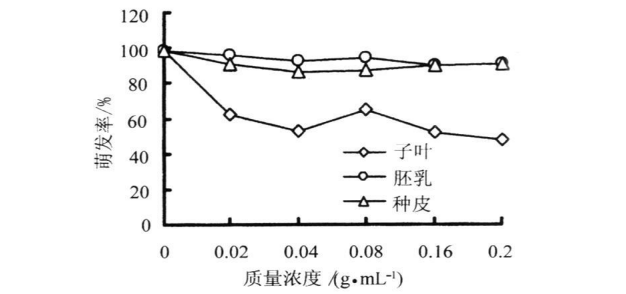


图 1 种子不同部位提取液对白菜种子萌发的影响

Fig. 1 Effect of extract from seed different fractions on cabbage germination

2.3 黄檗果肉水提液对受试植物种子发芽率的影响: 由表 4 可知, 黄檗果肉中同样含有抑制白菜、小麦

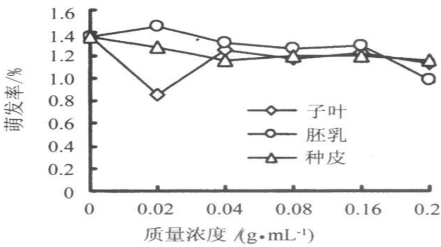


图 2 种子不同部位提取液对白菜幼根生长的影响

Fig. 2 Effect of extract from seed different fractions on cabbage root growth

和黄檗种子萌发的活性物质, 且抑制作用也随着水提液质量浓度的升高而加强, 除 0.10 g/mL 的乙醚浸提液对白菜种子的抑制作用为 100% 以外, 其他溶液提取液的抑制活性各有不同, 与黄檗种子中抑制物质的活性变化规律基本一致, 即为不同溶剂提取的果肉中抑制物质对白菜种子萌发的抑制活性高于对小麦抑制活性。

表 4 黄檗果肉水提液对白菜、小麦及黄檗种子萌发的影响

Table 4 Effect of crude extract from sarcocarp of <i>P. amurens</i> on seed germination of cabbage, wheat, and <i>P. amurens</i>			
处理/(g·mL ⁻¹)	白菜发芽率/%	小麦发芽率/%	黄檗发芽率/%
对照(未处理)	98.0±1.0	95.3±1.0	67.3±1.33
水提液 0.04	88.6±1.0 [*]	91.3±0.67	41±2.30 [*]
0.08	83.6±0.67 [*]	87.3±1.33 ^{**}	37.7±1.0 [*]

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

黄檗种子中存在着活性较强的内源抑制物质, 抑制作用随浓度的增加而增大; 黄檗果肉中也存在

着萌发抑制物质,能明显抑制双子叶白菜、单子叶小麦和黄檗自身种子的萌发及生长。不同溶剂类型对抑制物质的溶解度不同,依次为乙醚> 甲醇> 蒸馏水,故此推断此抑制物质可能为非极性化合物。黄檗果肉和种子的浸提液对白菜种子萌发和幼苗生长的抑制作用均高于对小麦的抑制作用,可能与种子大小或自身对抑制剂的敏感程度有关。黄檗果肉及种子中含有大量挥发性物质,但经过实验证明其挥发物对白菜、小麦种子萌发均无抑制作用。

黄檗果实及果序都较大,除鸟类采集外,果实均散落在树冠周围,种子需在果皮腐烂后才能与地表接触,而果实腐烂速度很慢,因此种子萌发受果皮及种子中抑制物质的影响可能是黄檗自我更新障碍的主要原因之一。

根据研究结果和资料记载,黄檗种子具有休眠特性,种子发芽率低的原因主要为3方面:一是其种

子座果率低,成熟度受环境因素影响较大^[6];二是种子和果肉中存在着活性较强的内源抑制物质,影响了种子的发芽进程;三是黄檗种子具有胚生理后熟的特点,种子需要经过低温层积处理,才能有效提高发芽率^[7]。

参考文献:

- [1] 傅立国. 中国红皮书——稀有濒危植物[M]. 北京: 科学出版社, 1991.
- [2] 鲁长虎, 常家传, 许青. 黄檗的更新特点及食果实鸟类对其种子的传播[J]. 生态学杂志, 2004, 23(1): 24-29.
- [3] 夏天睿. 野生黄檗自我更新障碍的种内因素及化学成分多样性研究[A]. 中国协和医科大学硕士学位论文[D]. 北京: 中国学术期刊电子杂志社, 2006.
- [4] 张秋菊, 秦佳梅, 徐克章. 不同溶剂提取对返魂草种子中抑制物质活性的影响[J]. 植物生理学通讯, 2006, 37(1): 29-30.
- [5] 赵敏. 防风种子中内源抑制物质活性的研究[J]. 中草药, 2004, 35(4): 441-444.
- [6] 刘利敏. 中药材黄柏及其开发利用[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2004, 32(9): 174-179.
- [7] 于俊林, 张昭, 张本刚, 等. 长白山黄檗基本情况调查及保护[J]. 中草药, 2006, 37(3): 461-463.

干燥方法和提取温度对板蓝根、大青叶有效成分的影响

董娟娥^{1,2}, 龚明贵², 梁宗锁^{1,2}, 王淑英^{3*}

(1. 西北农林科技大学, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100;
3. 宁夏平罗县黄渠桥镇林业站, 宁夏 平罗 753406)

摘要: 目的 研究干燥方法和提取温度对板蓝根、大青叶有效成分量的影响, 为确定板蓝根、大青叶规范化生产的干燥技术参数提供理论依据。方法 采用晒干、阴干和不同温度的烘干方法干燥板蓝根、大青叶, 采用不同温度水浴提取有效成分, HPLC法测定靛蓝、靛玉红的量。结果 60℃烘干板蓝根、大青叶有效成分损失最少, 以60℃烘干为标准, 高温(90℃以上)干燥使板蓝根有效成分损失40%~60%、大青叶有效成分损失30%~60%, 阴干也降低了板蓝根、大青叶中的有效成分的量; 采用索氏提取法、以氯仿为提取溶剂、水浴温度为80~85℃时对靛蓝、靛玉红的提取率最高, 其次是90、75、95℃的提取率最低。结论 50~80℃烘干和晒干是板蓝根、大青叶适宜的干燥方法, 阴干和高温烘干的方法不可取。采用索氏提取方法、以氯仿为提取溶剂时, 80~85℃水浴温度较为适宜。

关键词: 靛蓝; 板蓝根; 大青叶; 干燥; 靛蓝; 靛玉红

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)01-0111-04

Effect of drying method and extracting temperature on contents of bioactive constituents in *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis*

DONG Juan-e^{1,2}, GONG Ming-gui², LIANG Zong-suo^{1,2}, WANG Shu-ying³

(1. College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2. Northwest Institute of Soil and Water Conservation, Ministry of Water Resources, Chinese Academy Science, Yangling 712100, China;
3. Forestry Station of Huangqu Bridge Town, Pingluo 753406, China)

Abstract: Objective To study the effect of different drying methods and extracting temperatures on the bioactive constituents in *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis*. **Methods** *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis* were dried in the shade, in the sun, and baked out with different temperatures; the bioactive con-

* 收稿日期: 2007-05-03

基金项目: 陕西省“十五”科技攻关项目(2001KG01-G15-03)

作者简介: 董娟娥(1968—), 女, 副教授, 主要从事天然产物提取和中药现代化理论与技术教学、研究工作。 E-mail: dje009@126.com