

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

stituents in *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis* were extracted by Soxhlet extracting method under different temperatures; the contents of indigo and indirubin were determined by HPLC. **Results** Bioactive constituents of *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis* lost less under the drying temperature of 60 °C. The contents of the bioactive constituents reduced 40%—60% in *Radix Isatidis* and 30%~60% in *Folium Isatidis* at high drying temperature (over 90 °C) and also reduced by dried in the shade compared with that at drying temperature of 60 °C. The contents of the bioactive constituents were also reduced by dried in the shade; the contents of indigo and indirubin were the highest under the extracting temperature of 80—85 °C by using Soxhlet extracting method with chloroform solvent, the lowest, 95 °C. **Conclusion** The suitable methods for drying *Radix Isatidis* and *Folium Isatidis* are to be dried in the sun and baked under 50—80 °C. The temperature of water bath has significant impact on the extraction rate of the bioactive constituents while using Soxhlet extracting methods, 80—85 °C are suitable.

Key words: *Isatis indigotica* Fort.; *Radix Isatidis*; *Folium Isatidis*; drying; indigo; indirubin

影响中药材有效成分量的因素很多,如产地、种植、采收、初加工、贮运等^[1-5],其中产地初加工是中药材生产的重要环节,也是中药饮片生产的“第一车间”,直接影响到饮片的质量^[6]。长期以来,中药材的种植、初加工、炮制等环节一直停留在传统的操作模式上,致使中药材的质量达不到现代医学及人们生活水平不断提高的需要,成为制约中药甚至中医发展的瓶颈,也是我国中药走向世界的主要障碍之一。为此,国家食品药品监督管理局于2002年颁布并实施了《中药材生产质量管理规范》(GAP),以推动中药质量的全面提升,其中包括了产地、种植、采收、加工、包装、贮运等的全面规范化,并规定中药材的采收、加工、干燥过程要有明确的技术参数。在中药材加工、干燥过程中,处理温度是影响药材内外质量的决定因素。

板蓝根和大青叶分别为十字花科(Cruciferae)植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fortune 的根和叶,具有清热解毒、凉血、消斑的功效,主治温病发热、发斑、发疹、风热感冒、咽喉肿痛、流行性脑脊髓膜炎、乙型脑炎、肝炎、腮腺炎、丹毒、痛肿等症^[7],是治疗感冒常用的大宗药材。具调查,目前市售的板蓝根和大青叶均没有统一的干燥方法,仍然存在着质量标准不够明确,采收、初加工缺乏相应的质量管理规范等问题,致使板蓝根及其制剂在国际市场上得不到认可^[8]。为了解决这一问题,以靛蓝、靛玉红为指标性成分,研究温度对这2种成分量的影响,为确定板蓝根、大青叶干燥的技术参数,实现板蓝根、大青叶的规范化生产和提高中药材质量提供理论依据。

1 材料、仪器与试剂

1.1 实验材料:大青叶于2004年4月中旬、板蓝根于2004年10月中旬采自陕西汉阴板蓝根规范化种

植基地(GAP基地)。基地土壤为砂壤土,pH值为6.79,弱酸性。

1.2 仪器与试剂:高效液相色谱仪(LC—10ATyp型,日本岛津);精密电子天平(METTLER TOLEDO AG204型,瑞士)。

试剂:氯仿(AR级,天津化学试剂厂),色谱甲醇(美国Fisher公司),水为双蒸水。靛蓝、靛玉红对照品(中国药品生物制品检定所)。

2 方法

2.1 靛蓝、靛玉红指标成分的HPLC检测^[9]

2.1.1 色谱条件:流动相为甲醇-水(75:25);色谱柱:C₁₈ODS反相柱(SHMADZU)150 mm×4.6 mm;检测波长:280 nm;体积流量:1 mL/min;柱温25 °C。在此色谱条件下,理论塔板数以靛玉红计不低于4 000,色谱图见图1。

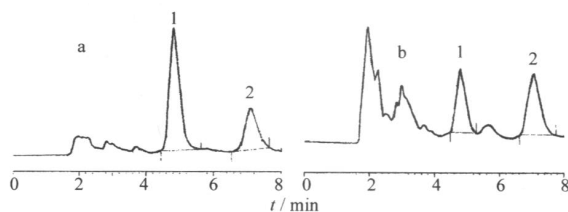


图1 靛蓝(1)、靛玉红(2)对照品(a)和样品(b)的色谱图

Fig 1 Chromatogram of indigo (1), indirubin (2) reference substance (a), and sample (b)

2.1.2 标准曲线:精密称取于60 °C烘箱中干燥至恒重的靛玉红对照品4.4 mg、靛蓝对照品1.9 mg,置于25 mL棕色量瓶中,用氯仿(分析纯)稀释至刻度作为对照品溶液。分别精密吸取靛蓝、靛玉红对照品溶液1、2、4、6、8、10、12 μL注入高效液相色谱仪,以色谱峰面积(X)和对应的质量浓度(Y, mg/mL)作标准曲线,计算回归方程。靛蓝的回归方程为:Y = 1.864 35 ×

$10^{-8} X - 0.00319047$ ($r = 0.9995$), 线性范围为 $0.0152 \sim 0.1842$ mg/mL; 靛玉红的回归方程为: $Y = 1.23759 \times 10^{-8} X + 0.000102616$ ($r = 0.9998$), 线性范围为 $0.0352 \sim 0.4242$ mg/mL。

2.1.3 测定法: 精密称取不同处理的待测板蓝根样品2 g、大青叶样品0.5 g, 分别置150 mL 平底烧瓶, 加入100 mL 氯仿浸泡15 h, 在80℃水浴中索氏回流提取10 h, 减压浓缩提取液近干, 用氯仿转移并定容至50 mL 容量瓶中, 0.45 μm 微孔滤膜滤过后, 用微量进样器吸取5 μL 注入高效液相色谱仪。以色谱峰面积和标准曲线计算样品中靛蓝、靛玉红的量。

2.2 干燥方法对板蓝根、大青叶中靛蓝、靛玉红量的影响: 将新鲜采集的板蓝根、大青叶样品分别采用烘箱烘干(设定温度: 50、60、80、100、120℃)、阴干、晒干等方法进行干燥处理。记录不同处理下板蓝根、大青叶外观质量的变化。粉碎, 过40 目筛。精密称取各处理的板蓝根样品粉末2 g、大青叶样品粉末0.5 g, 置索氏提取器中, 加氯仿100 mL 浸泡15 h, 水浴中索氏回流提取10 h, 浓缩提取液, 置50 mL 量瓶中, 用氯仿定容至刻度, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 高效液相色谱仪测定不同处理样品中靛蓝、靛玉红的量。

2.3 提取温度对板蓝根、大青叶中靛蓝、靛玉红量的影响: 精确称取自然干燥的板蓝根样品粉末2 g、大青叶样品粉末0.5 g, 置索氏提取器中, 加入氯仿100 mL 浸泡15 h, 分别在不同温度的水浴中连续加热回流提取(设定温度: 75、80、85、90、95℃), 浓缩提取液, 用氯仿定容至50 mL, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 高效液相色谱仪测定样品在不同提取温度下靛蓝、靛玉红的量。

2.4 数据处理: 采用DPS 数据分析软件, 随机区组设计, 单因素实验统计分析。各处理间的差异采用Duncan's 新复极差法进行比较, 并按 $F = 0.05$ 和 $F = 0.01$ 进行显著性检验^[10]。

3 结果

3.1 干燥方法对板蓝根、大青叶质量的影响

3.1.1 干燥方法对板蓝根、大青叶内在有效成分量的影响: 表1 显示, 60℃烘干的板蓝根(靛蓝平均量6.1689 mg/kg, 靛玉红平均量12.5488 mg/kg)和大青叶(靛蓝平均量330.6333 mg/kg, 靛玉红平均量362.3258 mg/kg)中有效成分量最高, 其次为50℃和80℃处理, 经高温(100、120℃)干燥的板蓝根、大青叶有效成分量远比60℃烘干的低。以60℃烘干为标准(100%), 高温干燥可使板蓝根有效成分

表1 不同处理板蓝根、大青叶有效成分量的比较

Table 1 Comparison of contents of bioactive components in Radix Isatidis and Folium Isatidis treated by different methods

处理方式	板蓝根/(mg·kg ⁻¹)		大青叶/(mg·kg ⁻¹)	
	靛蓝	靛玉红	靛蓝	靛玉红
50 烘干	6.1389 a	12.4582 a	314.4788 a	342.2801 b
60 烘干	6.1689 a	12.5488 a	330.6333 a	362.3258 a
80 烘干	5.7052 a	11.4554 ab	325.5856 a	352.8033 a
100 烘干	3.8821 c	6.8173 c	275.3939 b	198.2566 d
120 烘干	1.9717 d	5.2952 d	160.4954 c	132.8529 e
阴干	4.8951 b	10.4221 b	299.9642 a	281.1532 c
晒干	5.9860 a	12.3149 a	321.4367 a	341.2667 b
F 检验	$F = 45.69^{**}$ $F = 44.364^{**}$		$F = 337.297^{**}$ $F = 13.782.17^{**}$	

表中字母a—e表示在1%显著水平的差异(下同), $F_{0.05}(6, 14) = 2.85$, $F_{0.01}(6, 14) = 4.46$

Letters a—e represent significant difference at 1% (following is same) 的损失高达40%~60%, 大青叶有效成分的损失高达30%~60%。

方差分析与多重比较结果显示, 对于板蓝根来说, 50、60、80℃烘干和晒干处理的有效成分量没有显著差异; 100~120℃烘干处理与其他各处理的有效成分的量有显著差异。对于大青叶来说, 50、60、80℃烘干, 阴干和晒干处理的靛蓝的量无显著差异, 靛玉红的量有差异, 高温干燥与其他处理均有显著差异。因此, 仅从其中的有效成分的量保存率方面考虑, 板蓝根、大青叶均不宜采用高温干燥(高于90℃)。

3.1.2 干燥方法对板蓝根、大青叶外在质量的影响: 通过试验观察, 晒干、阴干的大青叶呈灰绿色, 略带异味, 50、60、80℃烘干的大青叶呈墨绿色, 无异味; 100、120℃烘干的大青叶呈墨绿色, 略带焦胡味; 各处理的板蓝根无明显差异, 均呈淡黄色或黄白色, 但晒干、阴干的板蓝根有轻微异味。

3.2 提取温度对板蓝根、大青叶有效成分提取率的影响: 表2 显示, 提取时水浴温度对板蓝根、大青叶的影响表现为温度较高或较低时提取率均低。水浴温度在80~85℃时, 靛蓝、靛玉红的提取率最高(板蓝根中靛蓝为6.2~6.3 mg/kg, 靛玉红为12.3~12.6 mg/kg; 大青叶中靛蓝为331 mg/kg, 靛玉红为361~363 mg/kg), 其次是90、75、95℃的提取率最低。方差分析与Duncan's 多重比较结果表明, 80和85℃下提取率无显著差异, 其余各温度下提取率均有显著差异。水浴温度为80~85℃时, 对板蓝根、大青叶中有效成分的提取效果最佳。

4 结论与讨论

4.1 结合药材性状、有效成分量等方面考虑, 60~

表2 不同提取温度对板蓝根、大青叶有效成分提取率的影响

Table 2 Effects of different temperatures on extracting rate of bioactive components in Radix Isatidis and Folium Isatidis

处理方式	板蓝根/ (mg · kg ⁻¹)		大青叶/ (mg · kg ⁻¹)	
	靛蓝	靛玉红	靛蓝	靛玉红
75	4 862 1 d	7 909 5 e	295 623 4 d	333 739 2 b
80	6 235 6 a	12 615 5 a	331 966 6 a	363 325 8 a
85	6 311 2 a	12 324 4 b	331 652 7 a	361 776 9 a
90	5 563 5 b	10 321 5 c	320 508 1 b	323 987 3 c
95	5 172 4 c	9 348 4 d	302 231 1 c	301 392 6 d
F 检验	F = 496 069**	F = 3 002 881**	F = 3 163 958**	F = 515 378**

$F_{0.05}(4, 10) = 3.48$, $F_{0.01}(4, 10) = 5.99$

80 烘干和晒干是板蓝根、大青叶较为理想的干燥方式,在有条件的情况下尽量采用低温烘干的方式干燥。100 以上高温干燥和阴干的方法不可取。在实际生产中,如天气晴朗可进行晒干,如遇多雨天气,可采用干燥窑低温烘干。

中药材产地初加工是关系到中药材质量好坏的关键,加工的目的在于提高药效,利于包装、贮藏和运输,加工不当不但会引起药材变色、变质、霉烂,而且影响疗效。研究表明,新鲜的植物材料中含有使有效成分(次生代谢物)分解的胞内酶(intracellular enzymes),未经干燥或未经杀青(杀酶)的材料放置时间越长,由于胞内酶的分解作用,使其次生代谢物的量降低也越多。如杜仲中含有可使环烯醚萜类分解的胞内酶^[11],所有经过杀青处理的杜仲叶中京尼平苷酸(环烯醚萜类)的量比对照(阴干)高1倍左右,其他处理均有效地防止了京尼平苷酸的分解^[12]。不同干燥方法对板蓝根、大青叶有效成分的量影响结果表明:采用60~80 烘干,板蓝根、大青叶的有效成分损失少。采用阴干和高温烘干,板蓝根、大青叶中有效成分量损失较多。阴干需要较长时间,板蓝根、大青叶细胞中胞内酶分解了部分有效成分,导致量降低。烘干处理均能起到杀青作用,有效地防止了胞内酶对有效成分的分解。高温处理虽能有效地防止胞内酶的分解,但板蓝根、大青叶中的有效成分仍然有所降低,可能是因为高温处理导致部分有效成分分解,如高温高压煎煮小檗碱的量只有常压煎煮的65.7%^[13]。

4.2 采用索氏提取方法,以氯仿为提取溶剂时,水浴温度对板蓝根、大青叶有效成分提取率影响较大。温度过高和过低时,提取液中靛蓝、靛玉红的量均较低,80 是合适的提取温度。

索氏提取法的原理是烧瓶中的溶剂在热作用下不断汽化,经过冷凝器冷凝到样品中对样品进行提取,携带了有效成分的溶剂再回到烧瓶中,如此循环。这种过程是对样品的冷浸或温浸提取。对索氏提取来说,水浴温度对有效成分提取率的影响,实际上是通过影响溶剂汽化的速度从而影响提取次数的结果。就溶剂对原料中有效成分进行提取的过程来讲,是在恒温条件下进行的,但回到烧瓶中的提取液在溶剂被再次蒸发的过程中,在烧瓶中携带有效成分不断受热,热不稳定成分就会分解,随着提取温度的提高,分解也越多。以氯仿为溶剂提取板蓝根、大青叶有效成分时,由于氯仿的沸点为61.2 ,当水浴温度达到70 以上时,就可对原料样品进行循环提取。在提取时间一定的条件下(10 h),当水浴温度低于80 时,氯仿循环次数少,对原料提取次数也就少,有效成分未被完全提取,因而提取率较低;当水浴温度在80~85 时,回流次数有所增加,使有效成分提取更完全,提取率达到最高;水浴温度在90~95 时,提取率又有所降低。因此,在采用索氏提取法提取板蓝根、大青叶有效成分时,必须选择合适的水浴温度以保证较高的提取率。

参考文献:

- [1] 房德敏. 中药指纹图谱技术的研究与应用 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 632-634.
- [2] 曹 君, 王少军, 龚千锋, 等. 不同产地枳壳饮片炮制前后挥发油成分的GC-MS分析 [J]. 中草药, 2005, 36(2): 172-177.
- [3] 邹节明, 王力生. 中药炮制的现状浅析 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 620-623.
- [4] 董娟娥, 梁宗锁. 植物次生代谢物积累量影响因素分析 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(10): 1979-1983.
- [5] 董娟娥, 梁宗锁, 尉 芹, 等. 不同区域菘蓝根、叶(板蓝根、大青叶)有效成分差异 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1613-1618.
- [6] 汪雁玲. 产地加工与中药饮片质量 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(9): 559.
- [7] 中国药典 [S]. 2005.
- [8] 叶爱莲, 郑海岚, 李水福. 板蓝根冲剂的质量及其标准亟待重视 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(9): 571-573.
- [9] 董娟娥, 龚明贵, 梁宗锁. 板蓝根、大青叶中靛蓝和靛玉红的测定方法比较 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(2): 215-219.
- [10] 徐文科编. 概率论与数理统计 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003.
- [11] Takahashi T, Matsumoto N, Oshio H. The stability of bioactive components in the bark of *Eucamnia ulmoides*: *Eucamnia Cortex* [J]. *Sonyakudaku Zasshi*, 1988, 42(2): 111-115.
- [12] MA X H, WEI Q. Effects of different treatments on the bioactive constituents in *Eucamnia ulmoides* [A]. *Proceedings of the First International Symposium on Eucamnia ulmoides* [C]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1999, 156-158.
- [13] 张晓燕, 姚国新, 吴金虎, 等. 两种方法制备黄连解毒汤中小檗碱含量的比较 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(8): 504-505.