

不同生长时期对马蓝药效成分的影响

黄以钟,潘大仁,王占成,宁文君,周以飞

(教育部作物遗传育种与综合利用重点实验室(福建农林大学),福州 350002)

摘要:采用HPLC法对3个不同产地马蓝茎、叶中的3种中药效成分(靛玉红、靛蓝、色胺酮)在不同生长时期的含量进行了测定,结果表明:马蓝中的药效成分含量随着季节的变化而变化,其中靛玉红、靛蓝含量在11月份都达到最大值,是提取靛玉红和靛蓝的最佳时期;而适宜于色胺酮提取的最佳时期在10月份。因此,可以根据马蓝提取物质的不同选择其最佳收获期。

关键词:马蓝;HPLC;靛玉红;靛蓝;色胺酮

中图分类号:S567.23

文献标识码:A

论文编号:2009-0344

Effects of Different Growing Period on *Baphicacanthus cusia*(Nees) Bremek Medicine Constituents

Huang Yizhong, Pan Daren, Wang Zhancheng, Ning Wenjun, Zhou Yifei

(Key Laboratory of Ministry of Education for Genetics, Breeding and Multiple Utilization of Crops
(Fujian Agriculture and Forestry University), Fuzhou 350002)

Abstract: By determination of HPLC technology three medicine constituent contents (indirubin; indigotin; ketone) of *Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek leaves and stems in three different origins gathered from different periods were analyzed. The results showed that the medicine constituent contents of *Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek are changed with the seasons. The contents of indirubin and indigotin have reached the maximum value in November, therefore, it is the best period to extract indirubin and indigotin, but the best period for ketone extraction is in October. The result also suggested that the medicine materials of *Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek can be separately extracted according to the period of thier optimum concentration.

Key words: *Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek, HPLC, indirubin, indigotin, ketone

0 引言

马蓝(*Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek)又名南板蓝,是爵床科灌木状多年生草本植物。马蓝适应性极广,喜温暖潮湿、阳光充足的气候环境,在中国华南、西南等地区常年生长,民间常在秋冬季收获。马蓝的根、茎、叶均可入药,具有良好的清热解毒,凉血利咽,抗菌消炎的功能,也可用于温毒发斑,舌绛紫暗,疔腮,喉痹,烂喉丹痧,大头瘟疫,丹毒,痈肿等病症。药理试验表明,马蓝根对金色葡萄球菌和肺炎杆菌有良好的抑制作用,马蓝叶中含有抗癌有效成分靛玉红^[1]。明末宋应星在《天工开物》中记载,马蓝是古代重要的布料

蓝色染色剂,用手揉搓马蓝叶片,若未及时除去,会在手上出现难以去除的蓝色斑块。马蓝的化学成分已报道有靛蓝、靛玉红、色胺酮、白桦脂醇、羽扇豆醇、羽扇烯酮、大黄酚、氨基酸类、萜醌类和甾醇类等^[1-2]。经过长期临床实践和民间验证,马蓝确系尚属少有的抗病毒良药和清热解毒珍品。

资源调查结果报道,马蓝野生资源已近枯竭,只有民间零星种植,作为自用药材。药材市场近十年难觅正品,商品多为其同科近缘的曲茎马蓝、广西马蓝等伪品^[3]。液相色谱技术用于中药材质量控制已不少见,侯惠婵^[4]等应用HPLC法测定了马蓝根、茎、叶中靛玉

基金项目:福建省重大科技专项“福建省中药材GAP关键技术研究”(2004YZ02)。

第一作者简介:黄以钟,男,1965年出生,副主任技师,从事药用植物栽培与生物技术研究。通信地址:350002 福建福州市福建农林大学作物科学学院。

通讯作者:周以飞,女,1948年出生,教授,从事药用植物生物技术研究。通信地址:350002 福建福州市福建农林大学作物科学学院, Tel: 0591-83778961, E-mail: fjyifei@163.com, fjyifei@yahoo.com.cn。

收稿日期:2009-02-26,修回日期:2009-05-22。

红、靛蓝的含量,但前期研究只停留在研究方法的建立和测定等方面,对指导马蓝生产实践的研究却极少。此研究用HPLC测定不同产地、不同生长时期马蓝茎、叶中主要成分靛玉红、靛蓝、色胺酮的含量,为规范种植马蓝和确定马蓝最佳采收时期提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 采自福建省莆田大洋、福清高山和福州森林公园的3种马蓝材料,种植于教育部作物遗传育种与综合利用重点实验室网室中。采样时间如表1所示。该试验样品采用随机抽样,每个样本随机取样重复3次。

表1 供试马蓝材料及采收期

马蓝材料	采收期(编号)		
	9月	10月	11月
莆田大洋(叶、茎)	9月	10月	11月
森林公园(叶、茎)	9月	10月	11月
福清高山(叶、茎)	9月	10月	11月

1.1.2 仪器和试剂 Water 高效液相色谱仪,2596紫外检测器,旋转蒸发仪,粉碎机,过滤器,电子天平;靛蓝、靛玉红、色胺酮标准样品,甲醇、氯仿、乙醇均为国产纯生化分析纯,色谱甲醇等。

1.2 方法

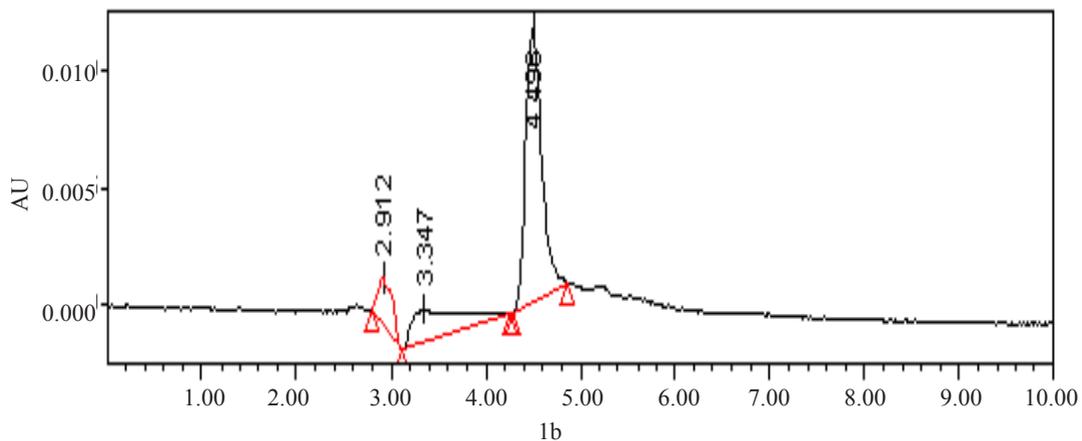
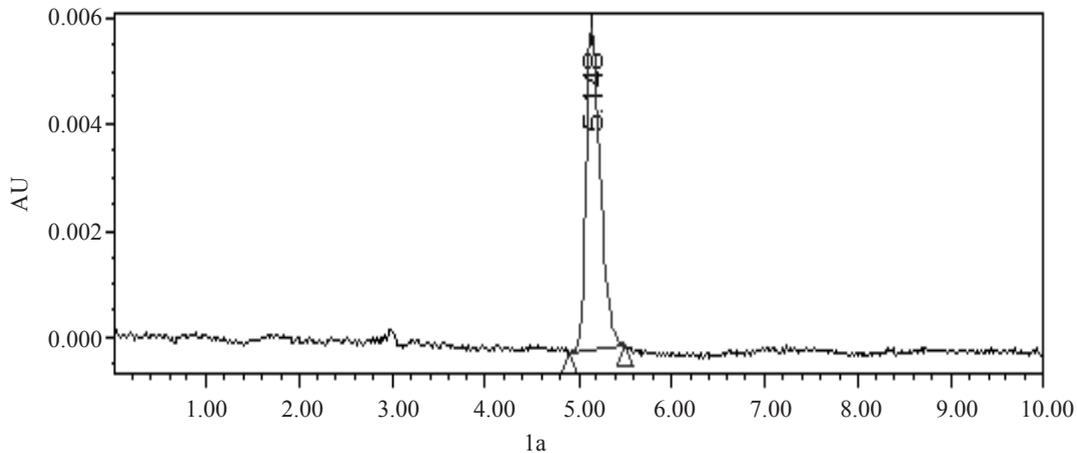
1.2.1 靛蓝、靛玉红、色胺酮的提取 靛蓝、靛玉红的提

取 精密称取各种样品各1g,置锥形瓶中,加入氯仿20~25 ml,在超声波提取仪中提取1 h,滤过,重复提取两次,合并三次氯仿液减压回收氯仿,用甲醇溶解残渣,过滤至100 ml容量瓶中,定容,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试样品溶液。

色胺酮的提取方法:精密称取过40目筛的茎、叶粉末各0.1 g,置100 ml带塞锥形瓶中。加入甲醇25 ml,超声波提取60 min,过滤,挥干滤液中甲醇。加氯仿20 ml超声波处理5 min,再加10 ml 2.5 mol/L硫酸液振荡3 min,用分液漏斗分取氯仿层,重复操作连续3次后,再加10 ml 2.5 mol/L氢氧化钠振荡3 min,用分液漏斗分取氯仿层,重复操作3次后,将氯仿液移至50 ml锥形瓶中,置水浴上挥发去氯仿。残渣精密加甲醇10 ml溶解,再用0.4 μm的滤纸过滤,定容到25 ml,备用。

1.2.2 靛蓝、靛玉红标准溶液的制备 称取干燥后的靛蓝、靛玉红和色胺酮各10 mg置100 ml容量瓶中,用甲醇溶解,适当加热,最后定容至100 ml备用。

1.2.3 高效液相色谱分析 色谱柱:C18柱(Waters 2695-2996);流动相:甲醇-水(90:10);流速:0.5 ml/min;进样量20 μl,检测波长为290 nm。该色谱条件下,标准样品色谱图,见图1。



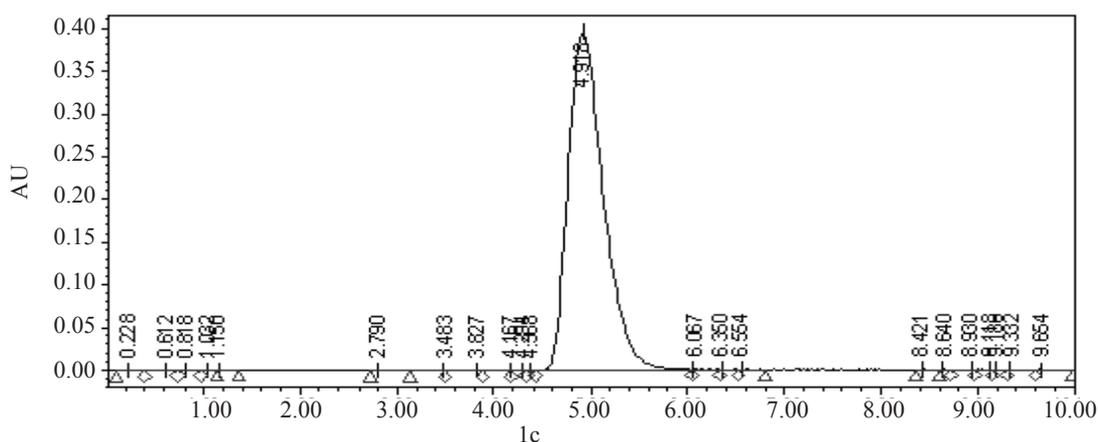


图1 靛玉红、靛蓝和色胺酮标准样品高效液相色谱图

注: la: 靛玉红色谱图; lb: 靛蓝色谱图; lc: 色胺酮色谱图

1.2.4 线性关系 取上述标液分别以1、2、4、6、8 μl 注样分析,按照上述色谱条件测定3种成分各自的峰面积,以峰面积积分为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,测定得回归方程:靛蓝: $Y = 153617X - 3250.7$ ($R^2=0.9999$); 靛玉红: $Y = 1E + 06X - 33667$ ($R^2=0.9998$); 色胺酮: $Y = 149104X - 34434$ ($R^2=0.9977$) 根据回归方程计算即得样品溶液所含马蓝靛蓝、靛玉红和色胺酮的含量。

2 结果与分析

2.1 马蓝材料不同生长时期的靛玉红含量变化

由图2可以看出,3个马蓝材料的叶和茎的靛玉红含量随着季节的变化而变化,在9月份到11月份就呈现出高→低→高的含量趋势,可见10月份的靛玉红含量较低,此时不适宜采收。而多数材料在11月份的靛玉红含量较高,所以根据试验结果得出:11月份为提取靛玉红的最佳时期。

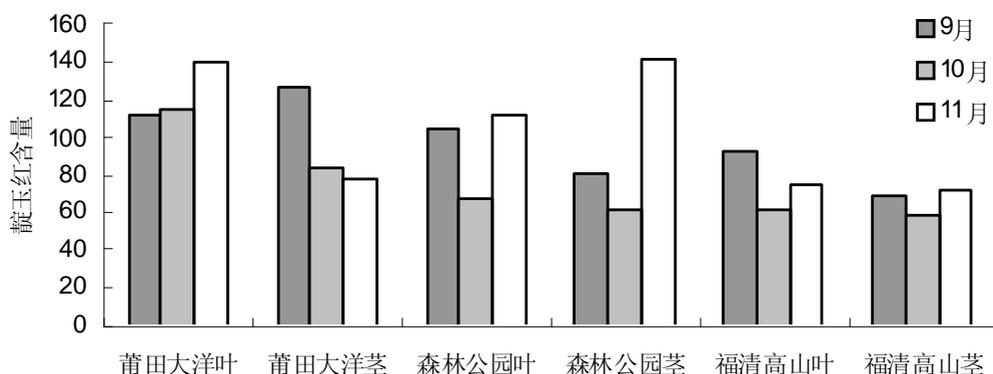


图2 不同生长时期马蓝材料的靛玉红含量

2.2 马蓝材料不同生长时期的靛蓝含量变化

由图3可以看出:在9到11月份之间,3种马蓝材料叶和茎中的靛蓝含量除森林公园茎外也呈现出高→低→高的趋势,且11月份的靛蓝含量除福清高山茎外都高于9月和10月,在这3个月中,11月份的靛蓝含量最高,是提取靛蓝的最佳时期。

2.3 马蓝材料不同生长时期的色胺酮含量变化

由图4可以看出:除福清高山叶外,11月份的色胺酮含量都低于9月和10月,整体看来10月份为提取色胺酮的最佳时期。而福清高山叶在11月份的色胺酮含量极显著高于9月和10月份,可作为特殊材料在提取色胺酮时11月份收获,其最佳收获期的确定还需进一步研究。

表2 马蓝材料在不同生长时期的药效成分总量比较(μg/g)

马蓝材料	9月	10月	11月	平均
莆田大洋叶	2522.40	1964.54	2601.17	2362.70
莆田大洋茎	2094.24	1870.29	2049.81	2004.78
森林公园叶	1972.79	1535.07	2651.02	2052.96
森林公园茎	1506.07	1526.02	2334.26	1788.78
福清高山叶	1826.01	1390.65	2891.77	2036.14
福清高山茎	1956.93	1507.04	1810.16	1758.04

注:药效成分总量=靛玉红含量+靛蓝含量+色胺酮含量。

2.4 马蓝在不同生长时期的药效成分含量

由表2和图5可以看出:3种马蓝材料的叶中的药效成分含量都比茎中的高,且在11月份的含量达到最高。在9、10、11三个月中呈现出了几乎相同的规律

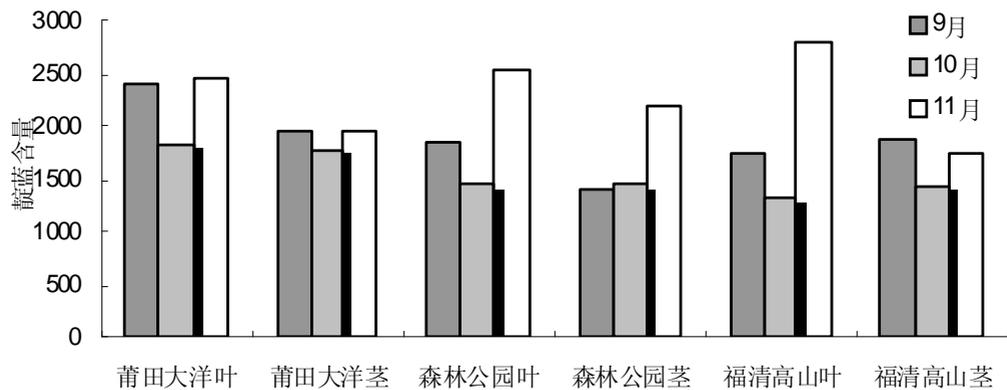


图3 不同生长时期马蓝材料的靛蓝含量

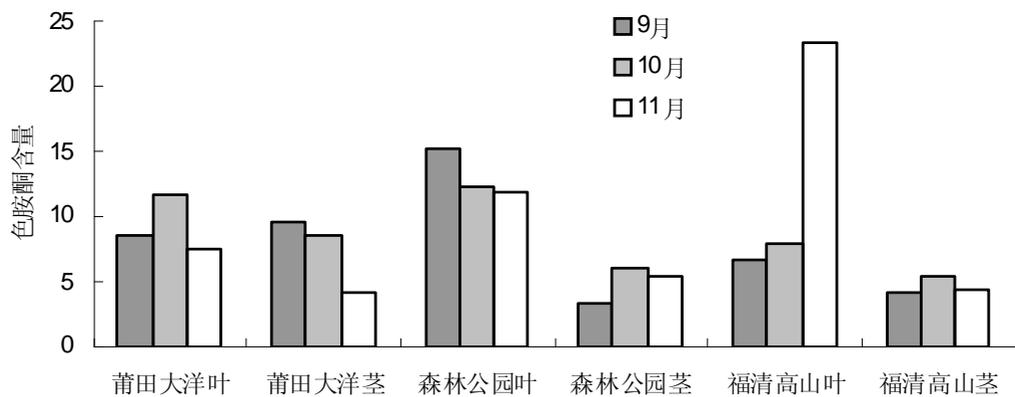


图4 不同生长时期马蓝材料的色胺酮含量

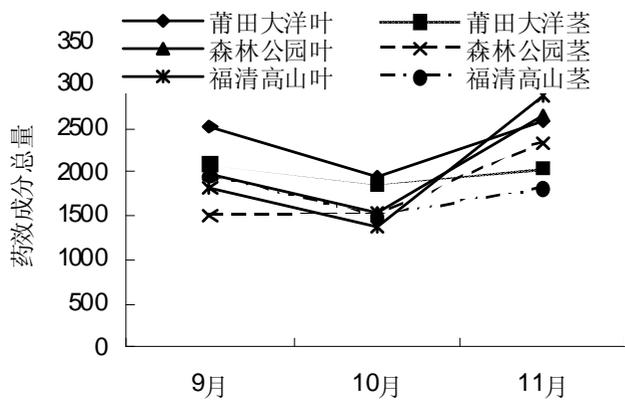


图5 马蓝不同生长时期药效成分含量变化图

性,符合高→低→高的趋势,可见马蓝中的药效成分的含量也都随着季节的变化而发生变化。

3 讨论

3种马蓝材料的叶和茎在不同的生长时期,其靛玉红、靛蓝和色胺酮含量都存在着一定的差异,其中靛玉红和靛蓝的含量在9月到11月份都呈现出高→低→高的趋势;色胺酮的变化趋势不太稳定。产生此现象的原因可能主要是由两类因素造成的,一是该物种所处的生态环境,二是其内在的遗传机制。生态环境是化学物质形成和变异的重要因素,药用植物中的有效成分形成和积累与其生态环境息息相关^[5]。土壤也是

影响药用植物有效成分含量的重要因子之一。此外,药用植物有效成分的含量也与植物的基因型有关,其内在的遗传变异可能也是造成有效成分含量发生变化的因素之一。研究表明:马蓝中的药效成分含量(靛玉红+靛蓝+色胺酮)随季节的变化而变化,这与孙菁^[6]等研究的藏药麻花秦艽活性成分和李莉^[7]等研究的银杏黄酮含量有相似之处;其中靛玉红、靛蓝含量在11月份都达到最大值,是提取靛玉红和靛蓝的最佳时期;而适宜于色胺酮提取的最佳时期在10月份。因此,要根据提取物质的不同选择其最佳收获期。

参考文献

- [1] 杨秀贤,吕曙华,吴寿金.马蓝叶化学成分的研究[J].中草药,1995,12:622.
- [2] 吴煜秋,钱斌,等.南板蓝根的化学成分研究[J].中草药,2005,36(7):982-983.
- [3] 侯惠婵.南板蓝根的质量考察.广东药学,1997,7(2):24.
- [4] 侯惠婵,梁少珍.HPLC法测定马蓝根、茎、叶中靛玉红、靛蓝的含量[J].中药材,2006,29(7):681-682.
- [5] 陶曙红,吴凤镏.生态环境对药用植物有效成分的影响[J].天然产物研究与开发,2003,15(2):174-177.
- [6] 孙菁,李玉林,纪兰菊,等.不同生长季节下藏药麻花秦艽活性成分含量研究[J].云南植物研究,2006,28(2):219-222.
- [7] 李莉,田士林,郑芳.银杏叶不同时期黄酮含量测定与比较[J].安徽农业科学,2006,34(11):2370,2414.