

基于板蓝根中(R,S)-告伊春含量研究板蓝根加工方法

王林¹, 金传山^{1,2,3}, 张伟^{1,2,3}, 郑晓倩¹, 朱月健⁴

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012;

3. 中药饮片制造新技术安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012;

4. 安徽普仁中药饮片有限公司, 安徽 亳州 236800)

[摘要]目的 研究不同干燥方法及软化切制方法对板蓝根中(R,S)-告伊春含量的影响,从而建立提升黑龙江产板蓝根质量的加工方法。方法 采用高效液相色谱法对板蓝根中(R,S)-告伊春含量进行测定,比较晒干与烘干板蓝根药材的(R,S)-告伊春含量差异,比较不同投料形式板蓝根颗粒和饮片中(R,S)-告伊春含量差异。结果 60℃烘干后的板蓝根药材中(R,S)-告伊春含量高于晒干的板蓝根药材,且能明显缩短板蓝根药材的产地干燥时间;经软化切制的板蓝根饮片中(R,S)-告伊春含量明显高于板蓝根粗颗粒。结论 在板蓝根产地加工过程中,可用烘干法代替晒干法;以板蓝根药材作为中成药投料,建议采用软化切制后的板蓝根饮片。

[关键词]板蓝根;产地加工;晒干;烘干;(R,S)-告伊春;软化切制

[中图分类号]R283 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2019.03.022

板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根,有清热解毒、凉血利咽之功效^[1]。板蓝根作为传统抗病毒中药之一,2015年版《中华人民共和国药典》即以(R,S)-告伊春作为含量测定

项,现代药理研究表明,(R,S)-告伊春是板蓝根水提液中明确的抗病毒活性成分^[2]。而(R,S)-告伊春是由芥子苷类物质(表原告伊春和原告伊春)在加热或其他条件下发生降解反应转化而得到的。因为芥子苷类物质并无生物活性,只有被降解后才具有抗病毒的活性^[3-4]。

课题组前期产地调研时发现,黑龙江产板蓝根在产地加工过程中存在两个问题:一是在产地加工

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-C-AH-02)

作者简介:王林(1992-),男,硕士研究生

通信作者:金传山(1963-),男,硕士,教授,jcs4@sohu.com

Republic of China, 10 batches of *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces were analyzed in terms of properties, microscopic features, thin-layer chromatography (TLC) identification, fingerprint, water content, ash content, extract, heavy metals, particle size distribution, and content of ginsenoside Rb1, ginsenoside Rg1, and notoginsenoside R1, so as to establish the quality control method for *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces. **Results** *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces were taupe to gray-yellow particles with a touch of smell, a bitter taste, and a sweet aftertaste. Microscopic observation showed a large number of starch grains with a round, semi-circular, or polygonal shape and a diameter of 4-30 μm , yellow secretions in lipid debris, and a small amount of ductal debris. TLC identification showed that the 10 batches of samples and the reference samples had spots with the same color at the corresponding position of the chromatograph. The ranges of water content, total ash, acid-insoluble ash, and extract were 5.05%-9.82%, 2.96%-3.20%, 0.52%-1.19%, and 21.03%-27.78%, respectively. The number of unbroken cells in each 0.01 g sample ranged from 46 to 81. The fingerprint analysis showed a similarity of 0.879-0.996 between the 10 batches of *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces. Particle size analysis showed that D_{90} of these samples ranged from 34.09 to 38.93 μm . The total content of ginsenoside Rg1, ginsenoside Rb1, and notoginsenoside R1 in the 10 batches of samples ranged from 6.9% to 8.3%. **Conclusion** The method established in this study can be used for the quality control of *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces.

[Key words] *Panax notoginseng* ultrafine decoction pieces; Microscopic identification; Thin-layer chromatography; Fingerprint; Particle size distribution; Content determination

过程中,以晒干为主要干燥方式,这种模式获得的板蓝根药材中(R,S)-告伊春的含量仅能达到《中华人民共和国药典》规定的下限,品质较差;二是中成药加工中,直接将产地晒干的板蓝根药材破碎为粗颗粒投料使用,这种生产模式不符合优质药材生产优质饮片,进而生产优质中成药的指导原则。

因此,本研究以黑龙江大庆、齐齐哈尔等生产的板蓝根为研究对象,共收集4批新鲜板蓝根药材以及15批晒干药材,采用高效液相色谱法测定板蓝根中(R,S)-告伊春含量,对比板蓝根烘干品与晒干品、板蓝根药材软化切制形成饮片与板蓝根药材直接破碎成颗粒之间的质量差异,以期通过工艺优化提升板蓝根质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪(G1312C 二元泵,G1316B 二极管阵列检测器);美国安捷伦公司;DZKW-S-4 型电热恒温水浴锅:上海科恒实业发展有限公司;Sartorius BSA224S 万分之一电子天平;赛多利斯科学仪器北京有限公司;Sartorius ME5 百万分之一电子天平;德国 Sartorius 公司;电热鼓风式干燥箱:上海博迅实业有限公司。

1.2 试剂 (R,S)-告伊春对照品(批号 Z27M8X36933,纯度 $\geq 98\%$):上海源叶生物科技有限公司;甲醇(色谱级);纯净水:杭州娃哈哈公司。

19批药材均于2017年10月采自黑龙江省大庆市及齐齐哈尔市等地,采收信息见表1。所采样品经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 干燥根。

2 方法与结果

2.1 (R,S)-告伊春含量测定

2.1.1 供试品制备 取本品粉末(过4号筛)约1g,精密称定,置圆底瓶中,精密加入水50mL,称定质量,煎煮2h,放冷,再称定质量,用水补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.2 对照品制备 取(R,S)-告伊春对照品适量,精密称定,加甲醇制成浓度为40.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液,即得。

2.1.3 色谱条件 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱;以甲醇-0.02%磷酸溶液(7:93)为流动相;检测波长为245nm。理论板数按(R,S)-告伊春峰计算应不低于5000。

2.2 板蓝根烘干药材与晒干药材(R,S)-告伊春含量比较

2.2.1 不同温度干燥对板蓝根中(R,S)-告伊春含量的影响 取S16新鲜板蓝根样品,洗净,平摊至表

面无水珠。选择粗细均匀的板蓝根,置于敞口式烘干机,烘干组按照40℃、50℃、60℃、70℃、80℃、90℃不同温度梯度设置,直至烘干;晒干组置于空旷地方晒干,干燥程度以掰断有清脆响声即可。依据2015年版《中华人民共和国药典》板蓝根项下(R,S)-告伊春含量测定法进行测定,不同烘干温度对板蓝根中(R,S)-告伊春含量的影响见表2。

表1 板蓝根药材样品信息

编号	采集地	干燥方式
S1	大庆市新华电厂	晒干
S2	大庆市新华西马屯	晒干
S3	大庆市新华东北屯	晒干
S4	大庆市新华三合屯	晒干
S5	大庆市新华小三队屯	晒干
S6	齐齐哈尔市时雨村万亩林	晒干
S7	齐齐哈尔市时雨村喇叭哈	晒干
S8	齐齐哈尔市时雨村二队地房子	晒干
S9	齐齐哈尔市时雨村老陈地房子	晒干
S10	齐齐哈尔市雨村王坟岗	晒干
S11	大庆市民强村柳烧锅屯	晒干
S12	大庆市民强村两半屯	晒干
S13	大庆市民强村史家围屯	晒干
S14	大庆市民强村九井子村	晒干
S15	大庆市民强村胖马张屯	晒干
S16	大庆市大榆树乡	新鲜药材
S17	大庆市大同区太安村	新鲜药材
S18	大庆市大同区民强村	新鲜药材
S19	大庆市大同区新华电厂	新鲜药材

表2 不同温度干燥对板蓝根(R,S)-告伊春含量的影响($n=3$)

烘制方法	(R,S)-告伊春含量/%
40℃烘干	0.063±0.02
50℃烘干	0.141±0.03
60℃烘干	0.200±0.01
70℃烘干	0.143±0.02
80℃烘干	0.161±0.02
90℃烘干	0.122±0.01
晒干	0.077±0.03

2.2.2 不同产地板蓝根晒干品与60℃烘干品(R,S)-告伊春含量比较 取3批不同产地新鲜板蓝根样品,洗净,平摊至表面无水珠。将烘干组板蓝根置于敞口式烘干机,60℃烘干;将晒干组板蓝根置于空旷地方晒干,测得不同工艺下板蓝根(R,S)-告伊春含量。结果表明,60℃烘干工艺能够明显提升板蓝根中(R,S)-告伊春含量。见表3、图1。

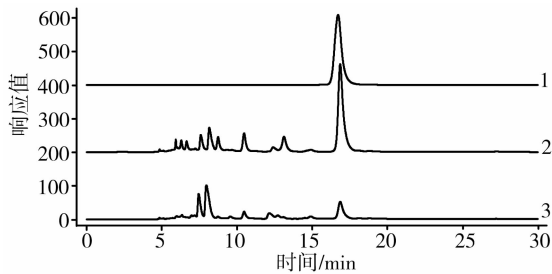
2.3 板蓝根饮片与板蓝根药材粗颗粒中(R,S)-告伊春含量比较

2.3.1 板蓝根饮片软化切制工艺正交实验优选 取

S16 板蓝根晒干药材,除去杂质,净选粗细均匀的板蓝根药材 300 g,平行 9 份,以浸润用水量(A)、浸润时间(B)、饮片厚度(C)和烘干温度(D)为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表优选软化切制工艺,将 9 份平行样置于托盘中,均匀摆放,每隔 1 h 喷淋 1 次,润透,取出,切片,烘干。取出放凉,置于塑封袋中,备用。见表 4、表 5。

表 3 不同产地板蓝根晒干品与 60 °C 烘干品(R,S)-告伊春含量比较(n=3)

产地	(R,S)-告伊春含量/%	
	晒干品	60 °C 烘干品
S17	0.070±0.001	0.138±0.003
S18	0.052±0.001	0.101±0.001
S19	0.061±0.002	0.128±0.003



注:1. (R,S)-告伊春对照品;2. 板蓝根 60 °C 烘干药材;

3. 板蓝根晒干药材

图 1 板蓝根晒干品与 60 °C 烘干品(R,S)-告伊春含量对照色谱图

表 4 板蓝根药材软化切制工艺优选正交试验因素水平

水平	A/倍	B/h	C/mm	D/°C
1	0.6	24	2	50
2	0.8	18	3	60
3	1.0	12	4	70

表 5 板蓝根饮片软化切制工艺优选正交试验(n=2)

编号	A	B	C	D	(R,S)-告伊春/%
1	1	1	1	1	0.219±0.02
2	1	2	2	2	0.267±0.01
3	1	3	3	3	0.209±0.01
4	2	1	2	3	0.208±0.02
5	2	2	3	1	0.196±0.01
6	2	3	1	2	0.231±0.03
7	3	1	3	2	0.256±0.04
8	3	2	1	3	0.218±0.03
9	3	3	2	1	0.203±0.02
K ₁	0.232	0.228	0.223	0.206	
K ₂	0.212	0.227	0.226	0.251	
K ₃	0.226	0.214	0.220	0.212	
R	0.020	0.014	0.006	0.045	

由表 5 直观分析可知,影响板蓝根软化切制的主次因素依次是 D、A、B、C,软化切制最佳工艺组合为 A₁B₁C₂D₂,即 0.6 倍水浸润 12 h,饮片厚度为

3 mm,60 °C 烘干。

2.3.2 板蓝根粗颗粒与板蓝根饮片(R,S)-告伊春含量比较 按照同一组样品平行对照原则,采用“2.3.1”项中优选出的最佳软化切制工艺对 15 批不同来源的板蓝根进行加工,得到软化切制前后板蓝根中(R,S)-告伊春含量。结果表明,软化切制过程能明显提升板蓝根中(R,S)-告伊春的含量。见表 6、图 2。

表 6 板蓝根药材及软化切制后饮片(R,S)-告伊春含量测定(n=3)

粗颗粒	(R,S)-告伊春含量/%	饮片	(R,S)-告伊春含量/%
S1	0.140±0.01	P1	0.218±0.01
S2	0.133±0.02	P2	0.197±0.02
S3	0.070±0.01	P3	0.209±0.04
S4	0.064±0.01	P4	0.159±0.01
S5	0.028±0.01	P5	0.185±0.01
S6	0.045±0.03	P6	0.293±0.01
S7	0.053±0.02	P7	0.309±0.02
S8	0.064±0.04	P8	0.114±0.01
S9	0.079±0.04	P9	0.164±0.04
S10	0.055±0.02	P10	0.222±0.01
S11	0.120±0.01	P11	0.140±0.03
S12	0.064±0.02	P12	0.119±0.01
S13	0.058±0.01	P13	0.191±0.02
S14	0.104±0.03	P14	0.193±0.03
S15	0.062±0.04	P15	0.180±0.04

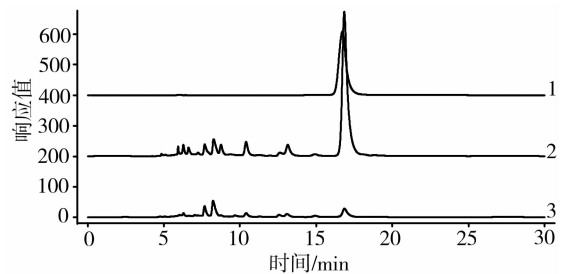


图 2 (R,S)-告伊春对照品(1)、板蓝根饮片(2)与板蓝根粗颗粒(3)的高效液相色谱图

3 讨论

在烘干工艺研究中,60 °C 烘干所得板蓝根(R,S)-告伊春含量最高。对比同一批新鲜板蓝根药材以 60 °C 烘干和晒干两种工艺获得的(R,S)-告伊春含量,发现 60 °C 烘干制得的板蓝根药材中(R,S)-告伊春含量明显高于晒干者,且烘干法干燥药材大约需要 12~14 h,晒干法则需要 15 d 左右。烘干板蓝根不仅有效成分(R,S)-告伊春含量得到提升,而且加工周期短,因此建议产地加工以烘干法代替晒干法,以提升黑龙江产板蓝根的质量。

在软化切制研究中,利用正交设计试验法优选出最佳的软化切制工艺为 0.6 倍水,喷淋 12 h,切片厚度 3 mm,60 °C 烘干。通过比较板蓝根粗颗粒与板蓝根饮片(R,S)-告伊春含量,发现经过软化切制再烘干

的工艺过程能明显提升板蓝根中(R,S)-告伊春含量。但由于板蓝根烘干成本较高,故难以在产地全面推广烘干法代替传统的晒干法,软化切制工艺研究表明,若使用产地晒干品药材作为中成药投料,需要采用软化切制后的饮片,以确保中成药的质量。

(R,S)-告伊春是一一对映体,分别为 R-告伊春和 S-告伊春,现有文献研究表明,R-告伊春是板蓝根抗病毒的有效成分^[2],而 S-告伊春具有致甲状腺肿大的不良反应^[5]。本研究表明,烘干工艺及软化切制工艺均能使板蓝根中(R,S)-告伊春含量升高,而其提升的是 R-告伊春还是 S-告伊春则有待进一步研究,从而更加科学地评价两种工艺的合理性。

[安徽省高校科研创新平台团队(中药饮片产地加工与炮制一体化关键技术研究创新团队)对本课题给予了支持,谨致谢意!]

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:205.
- [2] 徐丽华,黄芳,陈婷,等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物,2005,3(6):359-360.
- [3] XIE Z, SHI Y, WANG Z, et al. Biotransformation of glucosinolates epiprogoitrin and progoitrin to (R)- and (S)-Goitrin in Radix isatidis[J]. J Agri Food Chem, 2011, 59(23):12467-12472.
- [4] 谢智勇. 板蓝根中芥子苷的分离纯化与生物转化研究[D]. 上海:上海中医药大学,2012,19-20.
- [5] 聂黎行,王钢力,戴忠,等. 手性高效液相色谱法测定板蓝根中表告依春和告依春含量[J]. 色谱,2010,28(10):1001-1004.

(收稿日期:2018-09-06;编辑:张倩)

A Study on the Processing Method for Radix Isatidis Based on the Content of (R, S)-goitrin

WANG Lin¹, JIN Chuan-shan^{1,2,3}, ZHANG Wei^{1,2,3}, ZHENG Xiao-qian¹, ZHU Yue-jian⁴

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230012, China; 2. Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula of Anhui Province, Anhui Hefei 230012, China; 3. Anhui Provincial Key Laboratory of New Manufacturing Technology for Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces, Anhui Hefei 230012, China; 4. Anhui Puren Traditional Chinese Medicine Pieces Co., Ltd., Anhui Bozhou 236800, China)

[Abstract] Objective To investigate the influence of different drying methods and softening-cutting methods on the content of (R,S)-goitrin in Radix Isatidis, and to establish a processing method to improve the quality of Radix Isatidis produced in Heilongjiang, China. **Methods** High-performance liquid chromatography was used to measure the content of (R,S)-goitrin in Radix Isatidis. The content of (R,S)-goitrin was compared between sun-dried and oven-dried Radix Isatidis, as well as between Radix Isatidis granules and decoction pieces with different feeding methods. **Results** Radix Isatidis dried at a temperature of 60 °C had a higher content of (R,S)-goitrin than Radix Isatidis dried in the sun, with a significantly shorter drying time of Radix Isatidis in the producing area. Radix Isatidis decoction pieces after softening and cutting had a higher content of (R,S)-goitrin than Radix Isatidis crude granules. **Conclusion** The sun-drying method can be replaced by the oven-drying method in the processing of Radix Isatidis in the producing area. If Radix Isatidis is used as the raw material for Chinese patent medicine, it is recommended to use the decoction pieces of Radix Isatidis after softening and cutting.

[Key words] Radix Isatidis; Processing in the producing area; Sun-drying; Oven-drying; (R,S)-goitrin; Softening and cutting technique