

黄芩中主要黄酮类成分的含量分析

周锡钦¹, 张庆英^{1*}, 梁鸿¹, 蒋亚杰¹, 王璇², 王邠¹, 赵玉英¹

(1. 北京大学 药学院 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191;

2. 北京大学 药学院 化学生物学系, 北京 100191)

摘要 目的:建立黄芩中主要黄酮类成分的高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-DAD)含量测定方法,并研究产地、生长年限、采收期、栽培和加工方法等对主要黄酮类成分含量的影响。方法:采用 Thermo ODS-2 Hypersil 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-0.1%磷酸水-四氢呋喃为流动相进行梯度洗脱,检测波长 274 nm,流速 1.00 mL·min⁻¹,柱温 26 ℃,进样量 20 μL。结果:6个主要黄酮,黄芩苷(1)、千层纸素 A 苷(2)、汉黄芩苷(3)、黄芩素(4)、汉黄芩素(5)和千层纸素 A(6),分别在选定范围内线性关系良好($R^2 > 0.999$),平均加样回收率介于 96.6%~103.0%,RSD 均小于 5.0% ($n=9$)。结果:不同产区黄芩质量差异很大。传统道地和传统非道地黄芩药材中黄酮含量没有显著性差异,但现在道地与非道地、传统道地与现在道地黄芩药材之间化合物 1、2 以及 6 个黄酮含量之和存在较显著差异;生长年限对药材质量影响不是特别显著,但一、二年生药材中的黄酮含量稍高;春季采收比秋季采收的黄芩黄酮含量高;野生与栽培药材中的黄酮含量除化合物 3、6 外,其他没有显著性差异;与药材比较商品饮片中黄酮苷的含量较低,而黄酮苷元的含量则较高。结论:本法简便、准确、重现性好,可作为黄芩药材质量检测的方法。

关键词 黄芩;黄酮;含量测定;HPLC-DAD

黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 为《中国药典》收载的常用中药,药用干燥根,春秋采集。黄芩分布于长江以北大部分省区及西北和西南地区,现时以山西产量大,并认为河北承德质量较好。黄芩性味苦寒,具有清热燥湿、解毒止血、安胎之功效。临床主要用于治疗热病:清泻肺火,用于肺热咳嗽,发烧感冒;清肠之湿热,用于急性痢疾、胃肠炎;清热解毒,用于痈肿疮毒、头痛、目赤肿痛;清热安胎,用于胎热引起的胎动不安。文献报道黄芩中主要活性成分为黄酮类化合物^[1-4],如黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素具有抗菌、抗炎、抗病毒和抗肿瘤等活性,千层纸素 A 具有抗菌和抗病毒活性等。因此黄酮类化合物的含量是评价黄芩质量较理想的方法,2005 年版药典收载黄芩的含量测定方法为 HPLC 测定黄芩苷的含量。但鉴于中药材所含成分复杂,其药效可能是各成分的综合作用,因此仅用某一个成分作为指标衡量中药材的质量是不完善的,所以建立多种有效成分或指标性成分的含量测定方法或指纹图谱,探讨多成分综合评价体系是非常必要的。文献多采

用 HPLC-UV 方法对其中所含的 2 个^[5-6], 3 个^[7-9], 4 个^[10-12], 5 个^[5,13], 6 个^[14], 7 个^[15]等多个主要黄酮类成分进行含量测定,所测定的化合物主要为黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素,另外对黄芩素 7-O-葡萄糖苷、千层纸素 A、二氢千层纸素 A、千层纸素 A-7-O-葡萄糖醛酸苷、粘毛黄芩素、黄芩新素、黄芩新素、白杨素、5,7,2,6 四羟基黄酮酮等的含量测定也有报道。富森毅等^[16]报道采用 2 种 HPLC 洗脱溶剂测得其中 11 个黄酮化合物的含量。本研究建立了同时测定黄芩中 6 个主要黄酮类化合物,黄芩苷(1)、千层纸素 A 苷(千层纸素 A-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷),2)、汉黄芩苷(3)、黄芩素(4)、汉黄芩素(5)和千层纸素 A(6),的 HPLC-UV 含量测定方法,并采用该方法测定了 42 批次不同地区黄芩药材及 11 批次黄芩饮片中的含量,分析比较了道地和非道地、野生和栽培、生长年限、采收季节等对黄酮含量的影响,为黄芩合理用药、质量控制及资源选择提供了科学依据。

1 材料

1.1 仪器 配有 Shimadzu SPD-M10A 二极管阵列检测器和 Shimadzu SCL-10A System 控制器的 Shimadzu LC-10AT 高效液相系统;KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);1/1 万电

[收稿日期] 2009-03-06

[基金项目] 国家自然科学基金发展计划(973)项目(2006CB504-707)

[通信作者] *张庆英, Tel: (010) 82801725, Fax: (010) 82801592,

E-mail: qzhang@hsc.pku.edu.cn

子分析天平 (美国 Sartorius); 1/10 万电子分析天平 (美国 Denvor)。

1.2 试剂 色谱纯乙腈为 Fisher Chem Alert (Fisher Scientific) 公司产品; 色谱纯四氢呋喃为 J T Baker 公司产品; 色谱纯甲醇为天津市西华特种试剂厂产品; 高效液相用水为北京大学医学部实验中心制备的超纯水; 其他溶剂为北京北化精细化学品有限责任公司分析纯产品。

1.3 药材 黄芩药材及商品饮片为 2001~2007 年在全国各地采集或购买。其中建立含量测定方法用黄芩药材为 2006 年 11 月购买于河北承德。所有黄芩药材均由北京大学蔡少青教授鉴定为唇形科 Labiatae 黄芩属 *Scutellaria* 植物黄芩 *S. baicalensis* 的干燥根。

1.4 对照品 定量用 6 个黄酮对照品, 黄芩苷 (1)、千层纸素 A 苷 (2)、汉黄芩苷 (3)、黄芩素 (4)、汉黄芩素 (5) 和千层纸素 A (6), 均由作者从黄芩中用色谱方法分离制备, 并经波谱方法鉴定结构^[5], 其纯度经 HPLC 测定, 面积归一化法计算大于 98%。

2 方法

2.1 色谱条件 Thermo ODS-2 Hypersil 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 检测波长 274 nm, 流动相见表 1, 柱温 26 °C, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 进样量 20 μL。理论塔板数不低于 1 万, 分离度均大于 1.5。

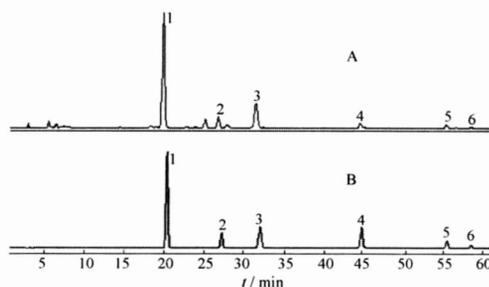
表 1 流动相的洗脱梯度

t/min	乙腈 / %	0.1% 磷酸水 / %	四氢呋喃 / %
0	22	77	1
10	22	77	1
16	25	73	2
26	25	73	2
34	25	71	4
40	27	65	7
54	30	62	8
65	30	62	8

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称定对照品 1~6 各 13.10, 1.67, 3.61, 4.51, 2.46 和 1.26 mg, 用色谱甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品 1~6 的储备液, 密封 4 °C 保存备用。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取 200 mg 黄芩药材粉末 (过 40 目筛), 置于 100 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀。超声提取 40 min 后, 静置至室温, 取上清液, 用 0.22 μm 滤膜滤过, 作为供试品溶液。

2.4 系统适应性试验 分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。



1. 黄芩苷; 2. 千层纸素 A 苷; 3. 汉黄芩苷; 4. 黄芩素;
5. 汉黄芩素; 6. 千层纸素 A。

图 1 河北承德黄芩药材 (A) 和对照品 (B) 的 HPLC 图

2.5 线性关系考察 分别量取对照品 1~6 的上述浓度储备液 0.5, 0.5, 0.5, 0.25, 0.125, 0.125 mL, 混合于 5 mL 量瓶中, 加色谱甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为混标储备液。然后分别取 40, 20, 15, 10 和 5 μL 进样, 按照 2.1 项下色谱条件测定, 以峰面积 (A) 为纵坐标, 进样量 (C, μg) 为横坐标, 得到各个对照品的标准曲线与回归方程, 见表 2。

表 2 对照品 1~6 的回归方程及最低检测限 (LOD) 和最低定量限 (LOQ)

No.	回归方程	R ²	LOD / mg	LOQ / mg
1	$A = 2.766 \times 10^5 C + 7.654 \times 10^4$	0.999 6	4.10	16.40
2	$A = 3.731 \times 10^6 C + 1.135 \times 10^5$	0.999 3	5.20	10.40
3	$A = 3.113 \times 10^6 C + 3.271 \times 10^5$	0.999 9	4.51	11.30
4	$A = 4.728 \times 10^6 C + 7.645 \times 10^5$	0.999 7	14.09	21.14
5	$A = 6.264 \times 10^6 C + 4.597 \times 10^4$	0.999 7	5.78	15.38
6	$A = 5.714 \times 10^6 C + 4.758 \times 10^4$	0.999 3	2.95	7.88

2.6 精密度试验 按供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 日内精密度连续进样 5 次, 日间精密度每天进样一次, 连续进样 3 d。测定对照品 1~6 的含量, 计算 RSD。对照品 1~6 的日内精密度 RSD 分别为 0.8%, 0.5%, 1.7%, 2.4%, 1.8%, 2.4%, 日间精密度 RSD 分别为 0.2%, 1.7%, 1.7%, 0.3%, 1.1%, 2.6%。6 个化合物的日内及日间精密度 RSD < 3.0%, 表明该方法日内和日间精密度良好, 符合含量测定要求。

2.7 重复性试验 按供试品溶液制备方法制备 5 份供试品溶液, 测定对照品 1~6 的含量, 计算化合物 1~6 的 RSD 分别为 1.1%, 1.6%, 0.9%, 1.8%,

1.7%和 2.0%, RSD < 3.0%, 表明方法重复性良好, 符合含量测定要求。

2.8 稳定性试验 按供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 分别在 0, 3, 6, 12, 24, 48 h 测定对照品 1~6 的含量, 计算化合物 1~6 的 RSD 分别为 0.6%, 2.1%, 2.6%, 2.9%, 1.3% 和 2.2%, RSD < 3.0%, 表明供试品溶液中 6 个化合物 48 h 内稳定的。

2.9 加样回收率试验 取黄芩药材粉末 9 份, 每份 100 mg, 精密称定, 分别加入一定数量的化合物 1~6 的对照品, 按供试品溶液制备项下的方法制备成高 ($n=3$)、中 ($n=3$)、低 ($n=3$) 3 种浓度的供试液, 分别进行 HPLC 检测, 计算加样回收率。化合物 1~6 的平均加样回收率分别为 100.6%, 102.0%, 100.2%, 96.6%, 103.0%, 101.5%, RSD 分别为 5.0%, 3.6%, 4.4%, 3.2%, 3.1%, 4.0%, RSD < 5.0%, 表明该方法符合含量测定要求。

2.10 样品测定 分别精密称取 53 批次黄芩样品 200 mg 各 2 份, 按供试品溶液制备方法制备供试品溶液。0.22 μ m 微孔滤膜过滤后, 取 20 μ L 进样, 按照 2.1 项下色谱条件检测, 根据标准曲线计算各成分含量 (表 3~5)。

3 结果与讨论

本文用建立的方法, 测定了采集和购买的 42 批次黄芩药材 (其中包括传统道地和非道地产区、现在道地和非道地产区、野生和栽培品种、不同生长年限药材) 和 11 批次黄芩商品饮片中化合物 1~6 的含量, 见表 3~5。结果表明不同产区黄芩药材和商品中 6 个黄酮类化合物 1~6 的含量差别较大, 6 个黄酮的质量分数范围分别为: 7.931% ~ 29.541%, 0.385% ~ 2.516%, 1.558% ~ 6.020%, 0.271% ~ 6.235%, 0.058% ~ 1.517% 和 0.000% ~ 0.483%, 化合物含量高低顺序依次为 1>3>4>2>5>6。

表 3 黄芩药材中黄酮 1~6 的质量分数

产区	采集或购买日期	产地	1	2	3	4	5	6	总和	备注
传统道地产区	2007-07	山东莱芜	19.846	0.570	4.396	0.770	0.097	0.002	25.681	栽培 2 年
	2007-07	山东莱芜	12.202	0.385	2.665	0.271	0.112	n d	15.635	栽培 3 年
	2007-07	山东莱芜	29.541	1.758	6.020	2.260	0.336	0.097	40.012	野生
	2006-09	甘肃庆阳	24.300	2.516	5.988	1.176	0.320	0.167	34.467	栽培 2 年
	2007-09	甘肃庆阳	24.190	1.781	4.122	0.367	0.060	0.038	30.558	栽培 3 年
	2006-09	甘肃庆阳	19.126	1.279	3.223	0.886	0.146	0.074	24.734	野生
	2007-09	甘肃庆阳	18.988	2.090	2.945	0.464	0.104	0.091	24.682	野生
	2006-10	陕西延安	15.256	0.909	4.002	2.606	0.405	0.153	23.331	栽培 2 年
	2007-09	陕西延安	19.457	0.813	4.082	0.704	0.136	0.014	25.206	栽培 6 年
	2007-09	陕西延安	22.215	1.416	4.102	0.362	0.058	0.012	28.165	野生
传统非道地产区	2007-09	山西长治	19.422	1.160	3.845	0.831	0.113	0.039	25.410	栽培 2 年
	2006-10	山西陵川	19.552	2.057	4.184	0.877	0.211	0.131	27.012	栽培 3 年
	2007-09	山西长治	21.029	1.524	5.413	0.944	0.152	0.049	29.111	栽培 4 年
	2007-09	山西长治	8.222	0.726	2.112	0.306	0.105	0.051	11.522	栽培 6 年
现在道地产区	1998-08	河北隆化	14.631	0.285	3.671	0.468	0.120	n d	19.175	栽培 2 年
	2007-09	河北隆化	13.103	0.640	3.030	0.960	0.230	0.059	18.022	栽培 3 年
	1998-08	河北隆化	13.671	0.564	3.382	1.168	0.314	0.083	19.182	栽培 4 年
	2007-09	河北隆化	13.548	0.490	3.148	1.304	0.303	0.066	18.859	野生
	1998-08	河北隆化	9.322	0.501	1.987	1.464	0.393	0.091	13.758	野生
	2007-10	河北承德	13.070	0.571	2.904	0.684	0.102	0.012	17.343	栽培 2 年
	2007-10	河北承德	13.265	0.645	3.215	0.879	0.169	0.023	18.196	栽培 3 年
	2007-09	内蒙古喀喇沁旗	16.539	0.633	4.571	2.126	0.399	0.093	24.361	栽培 1 年
现在非道地产区	2007-09	内蒙古喀喇沁旗	18.179	1.207	4.689	1.490	0.397	0.112	26.074	栽培 2 年
	2007-09	内蒙古喀喇沁旗	16.528	0.771	4.322	1.658	0.386	0.111	23.776	栽培 4 年
	2007-09	内蒙古喀喇沁旗	13.828	0.530	2.881	1.346	0.312	0.110	19.007	野生
	2007-09	内蒙古喀喇沁旗	9.885	0.710	2.239	1.495	0.611	0.278	15.218	野生
	2007-09	甘肃岷县	12.096	0.630	2.845	0.716	0.197	0.038	16.522	栽培 2 年
	2007-10	甘肃岷县	16.809	0.588	4.230	0.552	0.145	-	22.324	栽培 2 年
	2007-09	陕西商洛	18.990	1.046	4.139	1.651	0.236	0.084	26.146	栽培 2 年
	2007-09	陕西商洛	19.658	0.833	3.921	1.078	0.105	0.017	25.612	栽培 3 年
	1998-07	山东莱阳	17.931	0.540	4.179	0.505	0.119	0.012	23.286	栽培 1 年
	1998-08	陕西榆社	17.420	0.946	4.545	1.616	0.243	0.078	24.848	栽培 1 年
	1998-08	陕西榆社	20.329	0.753	4.145	0.883	0.191	0.023	26.324	栽培 2 年
	1999-07	黑龙江杜蒙县	14.047	0.649	3.008	1.318	0.333	0.097	19.452	野生

表 4 不同季节采收黄芩药材黄酮 1~6 的质量分数

季节	采集日期	1	2	3	4	5	6	总和
春季	2000-04	23.724	1.757	4.535	1.282	0.187	0.083	31.568
	2001-04	24.337	1.619	4.780	1.266	0.194	0.071	32.267
	2001-05	27.562	2.171	4.928	0.810	0.131	0.064	35.666
	2005-05	25.741	2.235	5.452	1.298	0.225	0.089	35.040
秋季	1998-09	19.149	1.227	3.098	1.207	0.185	0.061	24.927
	1998-09	19.345	1.358	3.674	1.085	0.082	0.067	25.611
	1998-10	19.318	1.436	4.544	1.232	0.201	0.090	26.821
	2000-10	20.568	1.007	4.617	1.126	0.190	0.060	27.568

注:样品均为山西榆社县栽培、不同采集的黄芩药材。

表 5 黄芩商品饮片中黄酮 1~6 的质量分数

购买日期	购买地	1	2	3	4	5	6	总和
2007-06	北京	11.068	0.669	1.998	2.073	0.440	0.211	16.459
2008-02	河南郑州	13.459	0.907	2.670	1.749	0.450	0.200	19.435
2007-09	山西长治	20.231	2.127	5.222	0.464	0.168	0.086	28.298
2006-08	安徽凤阳	10.291	0.777	2.039	1.406	0.321	0.176	15.010
2007-07	云南德钦	9.882	0.506	2.909	4.091	0.718	0.235	18.341
2008-02	黑龙江齐齐哈尔	14.109	0.794	3.498	2.300	0.357	0.135	21.193
2007-07	吉林通化	7.931	1.277	2.730	2.160	0.488	0.351	14.937
2006-08	湖南道县	8.585	0.414	1.558	6.235	1.517	0.483	18.792
2008-02	河北丰宁	14.109	0.794	3.498	2.300	0.357	0.135	21.193
2007-09	甘肃合水	15.902	1.039	4.180	1.019	0.320	0.076	22.536
2007-10	甘肃宕昌	11.239	1.729	3.333	1.053	0.354	0.184	17.892

对实验数据进一步进行统计,分析了道地和非道地、野生和栽培、生长年限、采收季节和药材加工等因素对黄酮类化合物含量的影响,并以 6 个黄酮

化合物的含量及其活性为指标探讨了黄芩药材的质量优劣,见表 6~10。

3.1 道地产区与非道地产区黄芩药材的黄酮含量

表 6 不同产区黄芩药材中黄酮 1~6 含量对比分析

化合物	道地产区		非道地产区		秩和检验 (<i>p</i>)		
	传统中位值 (<i>n</i> = 10)	现在中位值 (<i>n</i> = 7)	传统现中位值 (<i>n</i> = 4)	现在中位值 (<i>n</i> = 13)	传统道地与 传统非道地	现在道地与 现在非道地	传统道地与 现在道地
1	19.652	13.265	19.487	16.809	0.480	0.013	0.005
2	1.348	0.564	1.342	0.710	1.000	0.013	0.011
3	4.092	3.148	4.015	4.145	0.777	0.075	0.032
4	0.737	0.960	0.854	1.346	1.000	0.122	0.380
5	0.124	0.230	0.133	0.243	0.671	0.405	0.329
6	0.056	0.059	0.050	0.084	0.671	0.177	0.591
总和	25.444	18.196	26.211	22.617	0.777	0.013	0.005

对比分析 表 3 的统计学分析结果表明,传统道地和非道地产区黄芩药材中所测 6 个黄酮化合物的含量均没有显著性差异;但现在道地与非道地产区、传统道地与现在道地产区黄芩药材之间化合物 1,2 以及 6 个黄酮含量之和存在较显著差异,而化合物 4~6 无显著差异;化合物 3 的含量在现在道地与非

道地产区黄芩药材之间无显著性差别,但在传统道地与现在道地产区黄芩药材之间存在较显著差别。总的看来传统道地、传统非道地和现在非道地产区药材中黄酮含量较高,而现在道地产区黄芩药材中黄酮含量较低。

3.2 不同生长年限黄芩药材的黄酮含量对比分析

表 7 不同生长年限黄芩药材中黄酮 1~6 中位值对比分析 %

化合物	1 年 (n=3)	2 年 (n=11)	3 年 (n=6)	4 年 (n=3)	5 年 (n=2)	秩和 检验 (P 值)
1	17.420	18.179	16.409	16.528	13.840	0.966
2	0.633	0.753	0.739	1.771	0.770	0.950
3	4.545	4.139	3.568	4.322	3.097	0.148
4	1.616	0.831	0.878	1.168	0.505	0.223
5	0.243	0.191	0.141	0.314	0.121	0.305
6	0.078	0.038	0.305	0.083	0.033	0.794
总和	24.361	25.419	21.904	23.776	18.364	0.874

表 8 栽培与野生黄芩药材中黄酮 1~6 中位值对比分析 %

化合物	栽培药材 (n=33)	野生药材 (n=9)	秩和检验 (P 值)
1	19.149	14.047	0.277
2	0.909	0.710	0.635
3	4.145	3.008	0.019
4	0.960	1.318	0.226
5	0.187	0.312	0.185
6	0.060	0.091	0.038
总和	25.410	19.450	0.203

表 9 不同采收季节黄芩药材中黄酮 1~6 含量对比分析 %

化合物	春季药材 (n=4)	秋季药材 (n=4)	秩和检验 (P 值)
1	25.039	19.332	0.021
2	1.964	1.293	0.021
3	4.854	4.109	0.083
4	1.274	1.167	0.248
5	0.191	0.188	0.564
6	0.077	0.064	0.386
总和	33.653	26.216	0.021

表 10 黄芩药材与商品饮片中黄酮 1~6 中位值对比分析 %

化合物	药材 (n=42)	商品饮片 (n=11)	秩和检验 (P 值)
1	18.989	11.239	0.002
2	0.871	0.794	0.878
3	4.092	2.909	0.020
4	1.082	2.073	0.004
5	0.191	0.357	0.000
6	0.665	0.184	0.000
总和	24.888	18.792	0.012

由表 7 可以看出,不同生长年限的黄芩药材中

6 个黄酮的含量无显著性差异,即生长年限对药材质量影响不显著。但总的看来,一、二年生药材中的 6 个黄酮化合物含量稍高,所以采收栽培一年和二年生的黄芩药材即可。

3.3 栽培与野生黄芩药材的黄酮含量对比分析
对测定的栽培与野生药材中的 6 个化合物总含量结果进行统计学对比分析(表 8),可以看出除化合物 3 和 6 含量差别较明显外,其他化合物及 6 个黄酮含量之和均无显著性差异。但总的看来栽培药材中黄酮类化合物含量较高。

3.4 不同采收期黄芩药材的黄酮含量对比分析
以山西榆社县春秋两季采集的样品(表 9)进行比较分析不同采收期药材中主要黄酮类化合物含量,结果显示春季采收药材中的黄酮 1~6 以及 6 个黄酮之和均要高于秋季采收药材,统计学分析数据表明化合物 1,2 和 6 个黄酮类化合物含量之和具有显著性差异。

3.5 黄芩药材与饮片中的黄酮含量对比分析 表 10 的实验结果表明黄芩药材中黄酮苷类化合物(1~3)的含量明显高于商品饮片,而苷元(4~6)的含量则明显低于商品饮片。统计学分析表明除化合物 2 外,其他化合物及 6 个化合物含量之和均有显著性差异。分析其原因可能是由于在饮片加工炮制过程中苷类成分被水解或酶解生成苷元所致。

3.6 药材主要成分含量与其药性和药效的关系
黄芩为寒性药,具有清热燥湿、泻火解毒的功效,即具有解热、抗炎、抗菌等作用。作者采用体外方法对主要黄酮类成分的抗菌和抗炎活性进行了测定^[17],实验结果表明黄芩素抗菌活性最强,且具有良好的量效关系;黄芩苷、千层纸素 A 苷和黄芩素具有抑制与炎症相关的 L-1 转换酶(L-1 converting enzyme, CE)的作用。文献报道黄芩苷转运进入肠壁上皮细胞后,可被存在于其中的广谱葡萄糖苷酶(broad-specific β -glucoside enzyme, BS G)水解为苷元黄芩素^[18],在人口服黄芩苷后代谢的相关研究中,表明黄芩苷在肠道细菌酶的作用下水解为其苷元黄芩素^[19]。所以根据药理活性和含量测定结果,可以初步认为总黄酮含量高且黄芩苷与黄芩素含量高的药材质量较好。

[参考文献]

[1] 杨得坡,胡海燕,黄世亮,等.黄芩苷元和黄芩苷对皮肤真菌与细菌抑制作用的研究[J].中药材,2000,23(5):272

- [2] Ma S C, Du J, But P P H, et al. Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus [J]. J Ethnopharm, 2002, 79: 205.
- [3] Chung C P, Park J B, Bae K H. Pharmacological effects of methanolic extract from the root of *Scutellaria baicalensis* and its flavonoids on human gingival fibroblast [J]. Planta Med, 1995, 61 (2): 150.
- [4] Chang W H, Chen C H, Lu F J. Different effects of Baicalin, baicalin and wogonin on mitochondrial function, glutathione content and cell cycle progression in human hepatoma cell lines [J]. Planta Med, 2002, 68: 128.
- [5] 杨立新, 刘岱, 冯学峰, 等. 高效液相色谱法测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (3): 166.
- [6] 宋双红, 张媛, 王喆之, 等. HPLC 测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (7): 598.
- [7] 刘源, 邓少伟, 原文鹏, 等. RP-HPLC 法测定黄芩中 3 种黄酮 [J]. 中草药, 2005, 36 (8): 1247.
- [8] 周晓宁, 杨滨, 等. 高效液相色谱-电化学检测器测定黄芩中 3 种有效成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31 (1): 47.
- [9] 田建红. 不同产地黄芩中的有效成份含量分析 [J]. 海峡药学, 2009, 21 (3): 57.
- [10] 马翠英, 戴宝成, 林瑞超. 黄芩中四种黄酮的 HPLC 定量分析及其黄酮类成分指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2003, 23 (2): 83.
- [11] Zhang Y Y, Guo Y Z, Ageta H, et al. Quantitative analysis of flavonoids in *scutellariae* radix of different sources and seasonal variation by HPLC [J]. J Chin Pharm Sci, 1998, 7 (3): 138.
- [12] 符洪, 肖新月, 张南平, 等. 药用黄芩中主要化学成分分析 [J]. 药物分析杂志, 2003, 23: 33.
- [13] 张箭, 肖丽和, 李发美. RP-HPLC 法测定黄芩属四种药材中五个活性成分的含量 [J]. 中药材, 2005, 28 (5): 389.
- [14] 中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 日本大正制药株式会社著. 常用中草药高效液相色谱分析 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 9.
- [15] Takino Y, Taketsune M, Eiko A, et al. Determination of some flavonoids in *scutellariae* radix by high-performance liquid chromatography [J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35 (8): 3494.
- [16] Tomimori T, Jin H, Miyaichi Y, et al. Studies on the constituents of *scutellaria* species. On the flavonoid constituents from the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. 5. Quantitative analysis of flavonoids in *scutellaria* roots by high-performance liquid chromatography [J]. Yakugaku Zasshi, 1985, 105 (2): 148.
- [17] 周锡钦, 梁鸿, 路新华, 等. 中药黄芩主要黄酮类成分及其生物活性研究 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2009, 41 (5): 578.
- [18] Day A J, Dupont M S, Ridley S, et al. Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver α -glucosidase activity [J]. FEBS Lett, 1998, 436 (1): 71.
- [19] Chen X, Cui L, Duan X. Pharmacokinetics and metabolism of the flavonoid *scutellarin* in humans after a single oral administration [J]. J Drug Metab Dispos, 2006, 34 (8): 1345.

Analysis of main flavonoids contents of *Scutellaria baicalensis*

ZHOU Xiqin¹, ZHANG Qingying^{1*}, LANG Hong¹, JIANG Yajie¹, WANG Xuan², WANG Bin¹, ZHAO Yuying¹

(1. State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China;

2. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

[Abstract] Objective: To develop a HPLC-DAD method for simultaneous determination of six flavonoids in *Scutellaria baicalensis*, and study the effect of geographic sources, cultivation, harvesting time and processing on the contents of flavonoids. **Method:** The analysis was performed on a Thermo ODS-2 Hypersil column (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) at 26 $^{\circ}$ C with a gradient program of acetonitrile-0.1% H₃PO₄ aqueous solution-tetrahydrofuran as the mobile phase and a Diode Array Detector as the detector with the detection wavelength at 274 nm. The flow rate was 1.0 mL \cdot min⁻¹, and the injection value was 20 μ L. **Result:** Six flavonoids, baicalin (1), oroxylin A-7-O-glucuronide (2), wogonoside (3), baicalin (4), wogonin (5) and oroxylin A (6), were linear over the selected range with $R^2 > 0.9993$. The average recoveries were between 96.6% - 103.0%, and RSD were less than 5.0% ($n=9$) for flavonoids 1-6. By analyzing the data obtained, the effect of geographic sources, cultivation, harvesting time and processing on the contents of flavonoids were discussed. **Conclusion:** This method is simple, sensitive, reliable and reproducible. It can be used for the quality control of *S. baicalensis*.

[Key words] *Scutellaria baicalensis*; flavonoids; quality control; HPLC-DAD

[责任编辑 王亚君]