



黄芩药材主、侧根中黄酮类成分含量的比较及其相关性研究

李凤¹, 魏胜利^{1,2}, 王文全^{1,2*}

(1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100102

2. 中药材规范化生产教育部工程研究中心, 北京 100102)

[摘要] 目的: 分析比较黄芩药材主、侧根中黄酮类成分的含量, 并对其相关性进行研究, 为黄芩品种系统选育过程中为了使主根继续繁殖以保存优良种质, 而采用侧根估测整体的黄酮类成分含量提供理论依据。方法: 以黄芩中 5 个主要的黄酮类成分黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 为指标, 采用高效液相色谱法对黄芩药材主、侧根中 5 个黄酮类成分的含量进行测定, 并对侧根与整体中的黄酮类成分含量进行相关与回归分析。结果: 黄芩主根上部、主根下部、侧根及整体中的黄芩苷、汉黄芩苷含量无显著性差异, 主根下部的黄芩素、汉黄芩素及千层纸素 A 含量与主根上部差异显著; 侧根中只有汉黄芩素的含量与整体存在显著性差异, 其余均无统计学差异。相关与回归分析显示, 侧根与整体之间各成分均呈显著的正相关, 除汉黄芩素的决定系数较小外, 其余化学成分均较高。结论: 黄芩药材主、侧根中的黄酮类成分含量分布较均匀, 在黄芩品种系统选育过程中为了使主根继续繁殖以保存优良种质, 可采用侧根估测黄芩整体的黄酮类成分含量。

[关键词] 黄芩; 主根; 侧根; 黄酮类成分; 高效液相色谱

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georg. 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎的功效^[1], 是大宗常用中药材之一。多年来黄芩药源一直以野生为主, 近年来由于国内外市场对黄芩药材和黄芩苷的需求量日益增加, 栽培黄芩已经成为主要的商品来源。尽管黄芩野生变种已初获成功, 但尚缺乏系统化的研究。已有研究表明^[2,3], 由于大部分栽培黄芩仅经过短期引种驯化, 栽培种质混杂, 植株间良莠不齐, 药材质量不稳定, 同时还有品质退化现象。因此, 加强黄芩的良种选育工作十分必要。而在黄芩品种系统选育过程中, 首要解决的就是如何在评价筛选出优良种质的同时, 还可以使种质得以繁殖。为此, 作者提出了采用侧根估测整体黄酮类成分含量的解决方法, 本实验即采用高效液相色谱法^[4]对黄芩主根上部、主根下部及侧根中 5 个主要的黄酮类成分黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的含量进行测定, 用加权平均法求出整体的含量, 并对侧根与整体的黄酮

类成分含量进行相关与回归分析, 为用侧根估测黄芩整体的黄酮类成分含量提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪系统 (Waters 1525 泵, Waters 2489 双波长吸光度检测器, 7725 手动进样器, Breeze 色谱工作站, 在线脱气机, 1500 柱温箱); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Sartorius BP211D 型 1/10 万电子分析天平, Sartorius BS2202S 型 1/1 万电子分析天平 (德国 Sartorius 公司); RE-52 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 试剂 黄芩苷 (baicalin) 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 110715-200514); 汉黄芩苷 (wogonoside) 对照品 (上海融禾医药科技发展有限公司, 批号 100427, HPLC > 98%); 黄芩素 (baicalin) 对照品 (上海融禾医药科技发展有限公司, 批号 100509, HPLC > 98%); 汉黄芩素 (wogonin) 对照品 (上海融禾医药科技发展有限公司, 批号 100328, HPLC > 98%); 千层纸素 A (oroxilin A) 对照品 (上海融禾医药科技发展有限公司, 批号 100726, HPLC > 98%); HPLC 流动相中甲醇 (色谱纯, Fisher Scientific), 屈臣氏蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

1.3 药材 黄芩药材为同一环境下生长 2 年的黄

[稿件编号] 20110106014

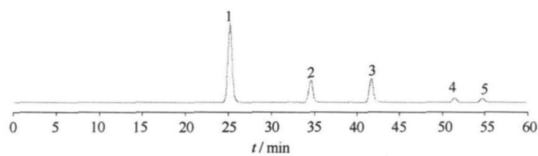
[基金项目] 中医药行业科研专项 (201107011)

[通信作者] * 王文全, 教授, Tel (010) 84738334, E-mail wwq@126.com

芩根 10 个。将黄芩根分为主根上部、主根下部 (主根一分为二, 上下各一半) 及侧根 3 部分, 分别称重, 粉碎, 过 40 目筛, 备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇 (A) - 0.2% 磷酸水 (B), 梯度洗脱 0 ~ 10 min, 45% A, 10 ~ 55 min, 45% ~ 70% A, 55 ~ 60 min, 70% ~ 45% A; 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长 274 nm; 柱温 25 °C; 进样量 10 μL; 理论塔板数按黄芩苷峰计算不低于 5 000。黄芩对照品及样品的 HPLC 图见图 1 ~ 4。按照本实验条件, 黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 可很好的分离, 并且其他成分无干扰。



1. 黄芩苷; 2. 汉黄芩苷; 3. 黄芩素; 4. 汉黄芩素;
5. 千层纸素 A (图 2 ~ 4 同)。

图 1 黄芩对照品 HPLC 图

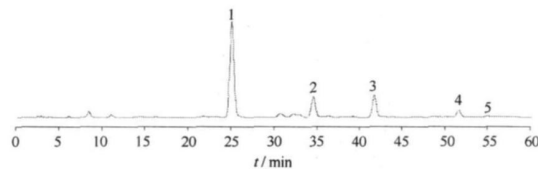


图 2 黄芩主根上部 HPLC 图

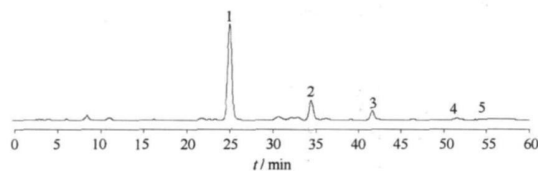


图 3 黄芩主根下部 HPLC 图

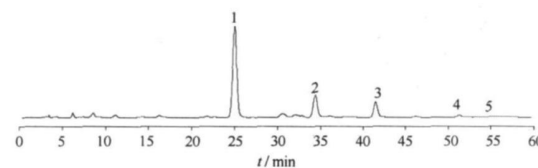


图 4 黄芩侧根 HPLC 图

2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 9.46 mg 汉黄芩苷对照品 4.96 mg 黄芩素对照品 3.40 mg 汉黄芩素对照品 0.78 mg 和千层纸素 A 对照品 1.13 mg 分别置于 10 mL 和 4 个 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释成单一对照品储备液。分别精密量取 5 种对照品储备液 2.68 0.60 0.67, 0.35 0.31 mL 置于同一 5 mL 量瓶中, 以甲醇定容, 即得黄芩苷质量浓度为 0.507 g · L⁻¹, 汉黄芩苷质量浓度为 0.118 g · L⁻¹, 黄芩素质量浓度为 0.091 g · L⁻¹, 汉黄芩素质量浓度为 0.011 g · L⁻¹ 和千层纸素 A 质量浓度为 0.014 g · L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取黄芩药材粉末 (过 40 目筛) 0.2 g 精密称定, 置于 50 mL 量瓶中, 量取 45 mL 70% 丙酮加入, 60 °C 水浴超声 60 min, 冷却, 加 70% 丙酮定容至刻度, 过滤, 精密量取续滤液 5 mL 于圆底烧瓶, 旋转蒸发器回收溶剂, 残渣用甲醇溶解到 10 mL 量瓶, 定容至刻度。经 0.45 μm 滤膜过滤, 即得。

2.4 线性关系的考察 精密量取混合对照品溶液 0.07, 0.26, 0.34, 0.50 0.40, 1.0 mL, 分别置于 5, 5, 5, 5, 2 mL 量瓶中, 用甲醇定容, 得系列对照品溶液。在上述色谱条件下进行分析, 以峰面积积分为纵坐标 (Y), 对照品质量 (μg) 为横坐标 (X), 计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 回归方程。回归方程、相关系数及线性范围见表 1, 各待测成分在线性范围内呈良好线性关系。

表 1 黄芩药材中 5 个成分的线性关系考察

化合物	回归方程	r	线性范围 / μg
黄芩苷	$Y = 3857.2X - 280.93$	0.9998	0.071 ~ 5.071
汉黄芩苷	$Y = 4556.0X - 36.072$	0.9999	0.017 ~ 1.182
黄芩素	$Y = 6132.0X - 93.81$	0.9996	0.013 ~ 0.908
汉黄芩素	$Y = 9522.8X - 2.2256$	0.9999	0.002 ~ 0.108
千层纸素 A	$Y = 6760.3X - 3.0329$	0.9999	0.002 ~ 0.141

2.5 精密度试验 精密量取混合对照品溶液 0.34 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇定容至刻度。精密吸取该浓度的混合对照品溶液 10 μL 连续进样 6 次, 记录峰面积, 计算黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 峰面积的 RSD 分别为 1.3%, 1.1%, 2.2%, 2.8%, 3.0%, 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10

μL , 分别于制备后的 0、2、4、8、12、24、48 h 进样分析, 测定峰面积积分值, 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 稳定性的 RSD 分别为 2.8%, 2.8%, 3.8%, 2.9%, 3.9%, 表明处理后的样品在 48 h 内稳定。

2.7 重复性试验 称取黄芩药材粉末约 0.2 g 共 5 份, 精密称定, 按供试品溶液处理方法制备样品, 测定, 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的平均含量分别为 132.15、24.55、13.53、1.34、0.30 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.7%, 1.4%, 2.6%,

2.2%, 3.0%, 表明实验方法重复性较好。

2.8 回收率试验 精密称取已知含量的黄芩药材 6 份, 每份约 1.0 g 分别加入一定量的对照品溶液, 按供试品溶液处理方法制备样品, 于上述色谱条件下进样分析, 结果见表 2。黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的平均加样回收率分别为 98.1%, 101.0%, 101.5%, 100.7%, 99.6%, 其 RSD 分别为 3.9%, 3.5%, 1.5%, 1.8%, 2.6%。

2.9 样品含量测定 精密称取黄芩药材主根上部、

表 2 黄芩药材中 5 种成分的加样回收率 ($n=6$)

化合物	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
黄芩苷	13.25	10.15	23.15	98.1	3.9
汉黄芩苷	2.46	1.98	4.45	101.0	3.5
黄芩素	1.36	1.38	2.73	101.5	1.5
汉黄芩素	0.13	0.10	0.23	100.7	1.8
千层纸素 A	0.06	0.07	0.13	99.6	2.6

主根下部、侧根的粉末, 按照 2.3 项方法制备供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件注入液相色谱仪, 记录各样品中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千

层纸素 A 的色谱峰面积, 代入线性方程, 计算各不同样品中 5 种黄酮类成分的含量, 并用加权平均法求出整体的含量, 见表 3。

表 3 黄芩药材主根上部、主根下部、侧根及整体中 5 个成分的质量分数 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

样品	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素	千层纸素 A
主根上部	11.65 ± 0.75 a	2.26 ± 0.16 a	1.01 ± 0.10 a	0.23 ± 0.03 a	0.09 ± 0.02 a
主根下部	12.09 ± 0.58 a	2.24 ± 0.16 a	0.61 ± 0.09 b	0.08 ± 0.02 c	0.04 ± 0.01 b
侧根	11.85 ± 0.57 a	2.38 ± 0.14 a	1.11 ± 0.15 a	0.08 ± 0.01 c	0.04 ± 0.01 b
整体	11.84 ± 0.61 a	2.30 ± 0.14 a	0.99 ± 0.12 a	0.14 ± 0.02 b	0.06 ± 0.01 ab

注: 同列不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

由表 3 可知, 黄芩主根上部、主根下部、侧根及整体中的黄芩苷、汉黄芩苷含量无显著性差异; 主根下部的黄芩素含量与主根上部、侧根及整体均存在显著性差异; 主根上部的汉黄芩素含量与主根下部、侧根及整体均存在显著性差异, 侧根的汉黄芩素含量与整体也存在显著性差异; 主根上部的千层纸素 A 含量与主根下部及侧根差异显著, 而与整体无明显差异。结果表明, 侧根中只有汉黄芩素的含量与整体存在显著性差异, 其余均无明显差异。

2.10 黄芩药材侧根与整体黄酮类成分含量的相关性分析 以黄芩药材侧根含量为自变量 (X), 整体含量为因变量 (Y), 对黄芩药材中侧根与整体黄酮类成分的含量进行相关与回归分析, 结果

见表 4。

表 4 黄芩药材中侧根与整体 5 个成分的相关系数及回归方程

化合物	回归方程	r	R^2
黄芩苷	$Y = 1.033X - 0.397$	0.965 ²⁾	0.931
汉黄芩苷	$Y = 0.974X - 0.012$	0.959 ²⁾	0.920
黄芩素	$Y = 0.793X + 0.106$	0.965 ²⁾	0.931
汉黄芩素	$Y = 1.409X + 0.028$	0.776 ¹⁾	0.603
千层纸素 A	$Y = 1.277X + 0.008$	0.958 ²⁾	0.918

注: ¹⁾表示在 0.05 水平差异显著; ²⁾表示在 0.01 水平差异显著。

3 讨论

本实验以黄芩药材中主根上部、主根下部及侧



根为研究对象,其中所用的侧根为除了主根之外的所有根,其中也包括须根,平均直径为 0.2 cm。采用高效液相色谱法同时测定黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 5 个黄酮类成分的含量,并用加权平均法求出整体中的含量,结果表明,黄芩主根上部、主根下部、侧根及整体中的黄芩苷、汉黄芩苷无明显差异,侧根中只有汉黄芩素的含量与整体存在显著性差异,其余均无明显差异。与药典规定的药用部位基本一致,但药典规定黄芩采收时除去须根,从主要的黄酮类成分含量来看,同时也为了避免主要成分的损失及简化采收工序^[5],是否可以考虑保留须根。其中主根下部的黄芩苷含量略高于主根上部及侧根,与文献报道的相一致^[6-7]。而汉黄芩苷和黄芩素的含量均是主根下部略低于主根上部及侧根;汉黄芩素和千层纸素 A 的含量则是主根上部显著高于主根下部及侧根。

对黄芩药材侧根与整体中黄酮类成分含量进行相关与回归分析,结果显示,除汉黄芩素外,侧根中其余成分与整体均呈极显著的正相关,相关系数高

达 0.950 以上,这说明可以根据侧根黄酮类成分的含量估测整体的含量,该研究结果可为黄芩品种系统选育过程中为了使主根继续繁殖以保存优良种质而采用侧根估测整体的含量提供一定的理论依据。

[参考文献]

[1] 中国药典·一部[S]. 2010 282.
 [2] 于晶,陈君,肖新月,等.不同来源黄芩产量及质量性状的比较研究[J].中国中药杂志,2005 30(7):491.
 [3] 谢琴,华晓东,王菊美.不同产地、不同部位黄芩的黄芩苷含量测定[J].上海中医药杂志,2001(3):39.
 [4] 朱晶晶,王智民,张启伟,等.一测多评法同时测定黄芩药材中 4 种黄酮类成分的含量[J].中国中药杂志,2009,34(24):3229
 [5] 徐纪文,罗素芳.HPLC 法测定黄芩中不同部位的黄芩苷含量[J].中国药科大学学报,2001,32(3):235.
 [6] 苏淑欣,李世,尚文艳,等.家种黄芩与野生黄芩及黄芩主根不同部位的黄芩苷含量研究[J].承德民族职业技术学院学报,2003(3):79.
 [7] 宋兴良,冯尚彩,廖冬丽.不同部位黄芩中黄芩苷含量的测定及其 HPLC 指纹图谱的建立[J].临沂师范学院学报,2007,29(6):44.

Comparative and correlational studies on contents of flavonoids in axial root and lateral root of *Scutellaria baicalensis*

LI Feng¹, W EI Shengli^{1,2}, WANG Wenquan^{1,2}

(1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. Engineering Research Center for Chinese Medicine Standardized Production of Educational Ministry, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective** To compare the contents of flavonoids in axial root and lateral root of *Scutellaria baicalensis*, and study their correlation. **Method** The contents of 5 major flavonoids, baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin and oxoylin A, were determined in axial root and lateral root of *S. baicalensis* by HPLC. The correlation and regression analysis between the contents of flavonoids in the lateral root and whole root was carried out. **Result** The contents of baicalin and wogonoside showed no significant difference among upper part and lower part of the axial root, lateral root and whole part of the root. The contents of baicalein, wogonin and oxoylin A showed a significant difference between upper part and lower part of the axial root. There was only the content of wogonin existing significant difference between lateral root and whole part of the root. The results of the correlation and regression analysis indicated that the contents of flavonoids in the lateral root and whole root were significant positively correlated, the coefficient of determination for all components were quite higher, except for wogonin. **Conclusion** The contents of flavonoids are uniformly distributed in axial and lateral root of *S. baicalensis*. The contents of flavonoids in lateral root could be used to estimate the content of the whole root. The result could be useful for breeding and preserving excellent germplasm at the system breed process for *S. baicalensis*.

[Key words] *Scutellaria baicalensis*; axial root; lateral root; flavonoids; HPLC

doi 10.4268/cjmm20111304

[责任编辑 吕冬梅]