

10 种晋产野生黄芩根中黄芩苷、黄芩素与汉黄芩素含量比较

付琳, 郝建平*, 刘晓伶, 王峰

山西大学生命科学学院, 太原 030006

摘要: 采用高效液相色谱法对山西省 10 个产地野生黄芩根中主要有效成分黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素含量进行了测定分析。结果表明, 10 种晋产野生黄芩根中主要有效成分含量差异明显, 黄芩苷的含量为 5.79% ~ 15.31%, 黄芩素的含量为 0.49% ~ 2.28%, 汉黄芩素的含量为 0.07% ~ 0.42%。黄芩苷含量与纬度高低呈负相关。山西北部朔州市右玉县沟北村与山阴县西郭家窑村的野生黄芩根中黄芩苷含量低于《中国药典》规定的 8.0%, 山西东南部晋城市陵川县瓦窑上村的野生黄芩根中黄芩苷含量则高达 15.31%。山西中西部吕梁市交城县双家寨村的野生黄芩根中黄芩素和汉黄芩素含量均为最高, 分别为 2.28% 和 0.42%。

关键词: 黄芩; 黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素

中图分类号: Q949.95

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.12.013

Determination of Baicalin, Baicalein and Wogonin in Ten Wild *Scutellaria baicalensis* from Shanxi

FU Lin, HAO Jian-ping*, LIU Xiao-ling, WANG Feng

School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: In this study, the content of main effective ingredients including baicalin, baicalein and wogonin of wild *Scutellaria baicalensis* from 10 areas of Shanxi were investigated by HPLC. The results showed that: there was a significant difference in the content of baicalin, baicalein and wogonin in 10 samples of *Scutellaria*. The content of baicalin, baicalein and wogonin were 5.79%-15.31%, 0.49%-2.28% and 0.07%-0.42%, respectively. The content of baicalin had positive correlation with the cultivation latitude of *S. baicalensis*, the content of baicalin in *S. baicalensis* samples from Goubei country, Youyu county and Yinliangshan, Shanyin county was not match up with the standard (8.0%) required by Chinese Pharmacopoeia, while the content of baicalin from Wayaoshang country, Linchuan county was determined to be 15.31%. The content of baicalein and wogonin from Suangjiashai country, Jiaocheng county was determined to be 2.28% and 0.42%.

Key words: *Scutellaria baicalensis*; baicalin; baicalein; wogonin

黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 是我国传统常用大宗中药材, 除了用于临床配方外, 还作为中成药的原料。山西省是野生黄芩的主要分布区之一, 全省计有野生黄芩 13.52 万 hm^2 ; 山西省也是家种黄芩的主要种植区之一, 至 2013 年末, 全省计有家种黄芩面积 2.91 万 hm^2 ^[1]。黄芩是山西省的道地药材, 品质优良, 主要有效成分的含量高。

黄芩的主要成分为黄酮类化合物, 具有抗真菌、抗炎症、降血脂、降血压、神经保护等药理活性^[2,3]。由于受地理因素和生长环境的影响, 不同产区黄芩

的化学成分不尽相同^[4], 在抗炎、解热方面的效果也不尽一致^[5]。本实验应用 HPLC 法对山西省 10 个产地的野生黄芩根中的主要有效成分黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素含量进行了测定和比较分析, 旨在为山西省野生黄芩资源的保护与合理开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

材料来源如表 1, 由山西省药物培植场赵玉臣副主任药师鉴定。10 处采集地分别位于山西省的东南部、中西部和西北部, 纬度 35°39'11.47" ~ 39°44'40.49"。

表1 山西野生黄芩种质来源

Table 1 The origin of wild *S. baicalensis* from Shanxi

编号 No.	产地 Source	纬度 Latitude	海拔 Altitude (m)
1	长治市沁源县法中乡上湾村	36°25'15.64"	1050
2	长治市沁源县中峪乡西王勇村	36°25'20.45"	1013
3	长治市沁源县沁河镇龙头村	36°23'35.04"	997
4	晋城市陵川县马圪当乡瓦窑上村	35°42'41.91"	1326
5	吕梁市交城县会立乡双家寨村	37°39'53.92"	1376
6	吕梁市汾阳市峪道河镇后沟村	37°22'31.25"	1217
7	朔州市朔城区南榆林乡大莲花村紫荆山	39°6'19.93"	1566
8	朔州市山阴县吴马营乡西郭家窑村阴凉山	39°44'40.49"	1456
9	朔州市右玉县高家堡乡沟北村	39°44'40.49"	1490
10	朔州市平鲁区阻虎乡乌龙洞风景区	39°38'37.09"	1683

1.2 主要仪器

1200型高效液相色谱仪(美国Agilent Technologies公司);Sartorius-BS124S分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);GZX-9076MBE电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);KQ-100E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.3 试剂药品

黄芩苷对照品,批号110715-201318,含量以93.3%计;黄芩素对照品,批号111595-201306,含量以97.8%计;汉黄芩素,批号111514-200403。对照品均购自中国食品药品检定研究院。甲醇为色谱纯;水为娃哈哈纯净水;其它试剂均为分析纯。

1.4 实验方法

1.4.1 色谱条件

色谱柱:Innoval C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流速为1 mL/min,柱温为40℃,检测波长为278 nm,流动相为甲醇(A)和0.4%磷酸水(B)。梯度洗脱程序为:0~50 min,38% A;50~55 min,38%~58% A;55~70 min,58% A。

1.4.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芩苷20 mg、黄芩素10 mg、汉黄芩素10 mg,置于10 mL容量瓶中,甲醇溶解后定容,4℃保存备用。

1.4.3 样品溶液的制备

将来自各地的野生黄芩根样品经55℃烘干,粉碎后过50目筛,分别精密称取0.1 g并置于具塞的三角瓶中,加入60%酒精8 mL,称重,50℃超声处

理30 min。放冷后用60%酒精补足失去的溶剂量,摇匀、离心,取上清液。精密量取1 mL,置10 mL量瓶中,加60%酒精至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,4℃保存待测。

1.4.4 线性关系考察

分别精密吸取“1.4.2”项制备的混和对照品储备液25、50、125、250、500、1000、2000 μL并置于5 mL容量瓶中,用甲醇定容,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜过滤。得到黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的浓度分别为0.010~0.800、0.005~0.400、0.005~0.400 mg/mL的对照品溶液,按“1.4.1”项色谱条件分别进样10 μL,测定其峰面积,以对照品浓度X(mg/mL)为横坐标,以峰面积Y为纵坐标,绘制标准曲线,得到黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素线性回归方程。

1.4.5 精密度实验

精密吸取同一份混合对照品溶液10 μL,在“1.4.1”项色谱条件下连续进样5次,计算峰面积的相对标准偏差(RSD)。

1.4.6 稳定性实验

将待测样品溶液在0、2、4、6、8、10、12 h分别进样10 μL,计算峰面积的相对标准偏差(RSD)。

1.4.7 重复性试验

精密称取同一份黄芩样品5份各0.1 g,按“1.4.3”项下方法平行制备5份样品溶液,并在“1.4.1”项下记录各峰面积,计算峰面积的相对标准偏差(RSD)。

1.4.8 加标回收率测定

精密称取已知黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量的

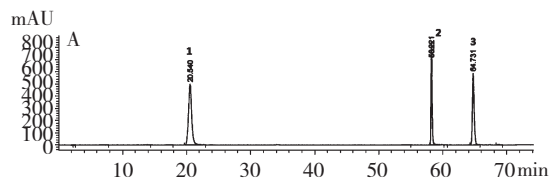
10号黄芩样品粉末3份,各0.1g,分别加入黄芩苷对照品粉末3mg、黄芩素1.4mg及汉黄芩素1.5mg,按“1.4.3”项下方法制备样品溶液,按“1.4.1”项下色谱条件分别进样10 μ L,按外标法计算含量,与加入量比较计算回收率。

1.4.9 含量计算

在每克黄芩样品中,黄芩苷含量(%) =

$$\frac{c \cdot v \cdot n}{1000m} \times 100\%$$

式中,c:每毫升样品溶液中黄芩苷的浓度(μ g/



1. 黄芩苷 2. 黄芩素 3. 汉黄芩素

1. Baicalin 2. Baicalein 3. Wogonin

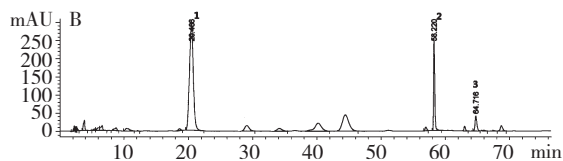


图1 混合对照品(A)及10号黄芩根样品(B)的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed standard (A) and *S. baicalensis* sample (No. 10)

2.2 线性关系考察

回归分析得到黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的线性回归方程分别为:黄芩苷 $Y = 32.152X + 7.6419$, $R^2 = 0.9999$;黄芩素 $Y = 45.828X - 17.706$, $R^2 = 0.9994$;汉黄芩素 $Y = 52.957X + 24.977$, $R^2 = 0.9997$ 。

黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素进样量分别在10~200 μ g、5~100 μ g、5~100 μ g范围内与各自峰面积呈良好线性关系。

2.3 精密度实验

测得黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的峰面积的RSD值分别为2.38%、1.28%、0.61%,表明精密度

mL);v:提取液体积(mL);n:提取液稀释倍数;m:称取黄芩样品的质量(g)。

黄芩素、汉黄芩素的计算公式同上。

2 实验结果

2.1 HPLC 色谱图

黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素混合对照品及黄芩样品的HPLC色谱图见图1。如图1所示,在本法的色谱条件下,黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素分离度好,出峰完全且峰形良好,无基线漂移。

良好。

2.4 稳定性实验

测得黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的峰面积的RSD值分别为1.42%、2.53%、1.68%,表明黄芩样品溶液在12h内稳定性良好。

2.5 重复性实验

测得黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的峰面积的RSD值分别为0.93%、0.96%、1.36%,表明重复性良好。

2.6 加标回收率测定

如表2所示,回收率与相对标准差均符合要求,表明本方法具有良好的检测性能。

表2 加标回收率试验结果(n=3)

Table 2 Results of recovery test (n=3)

检测物质 Tested substance	样品含量 Original amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	测得量 Measured amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
黄芩苷 Baicalin	13.24	3	16.19	99.69	99.26	1.84
	13.21	3	16.11	99.38		
	13.18	3	15.97	98.70		
黄芩素 Baicalein	1.52	1.4	3.02	103.43	100.00	1.69
	1.50	1.4	2.88	99.31		
	1.51	1.4	2.83	97.25		

汉黄芩素 Wogonin	0.37	1.5	1.81	96.79	98.04	2.07
	0.36	1.5	1.82	97.84		
	0.35	1.5	1.84	99.50		

2.7 样品测定结果

如表3所示,山西省不同产地的野生黄芩根中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素含量差异明显。在10个产地采集的野生黄芩根中,黄芩苷含量为5.79%~15.31%,黄芩素含量为0.49%~2.28%,汉黄芩素含量为0.07%~0.42%。除了产自山西朔州市右

玉县沟北村、朔州市山阴县西郭家窑村的黄芩中黄芩苷含量未达到《中国药典》规定的8.0%^[6]外,其他产地的黄芩均达标,其中产自晋城市陵川县瓦窑上村的黄芩中黄芩苷含量高达15.31%。吕梁市交城县双家寨村的野生黄芩根中黄芩素和汉黄芩素含量均为最高,分别为2.28%和0.42%。

表3 晋产野生黄芩根中黄芩苷、黄芩素与汉黄芩素含量

Table 3 The content of baicalin, baicalein and wogonin of wild *S. baicalensis* from Shanxi

编号 No.	产地 Origin	黄芩苷 Baicalin (%)	黄芩素 Baicalein (%)	汉黄芩素 Wogonin (%)
1	长治市沁源县法中乡上湾村	13.24	1.52	0.37
2	长治市沁源县中峪乡西王勇村	14.96	0.51	0.07
3	长治市沁源县沁河镇龙头村	14.25	1.11	0.28
4	晋城市陵川县马圪当乡瓦窑上村	15.31	1.13	0.31
5	吕梁市交城县会立乡双家寨村	8.72	2.28	0.42
6	吕梁市汾阳市峪道河镇后沟村	11.49	0.49	0.11
7	朔州市朔城区南榆林乡大莲花村紫荆山	10.06	0.91	0.21
8	朔州市山阴县吴马营乡西郭家窑村阴凉山	5.79	1.02	0.22
9	朔州市右玉县高家堡乡沟北村	6.82	0.64	0.15
10	朔州市平鲁区阻乌虎乡龙洞风景区	10.64	0.78	0.17

3 讨论与结论

3.1 晋东南陵川产野生黄芩根中黄芩苷含量最高

近年来,郭晓艳^[7]、李韦^[8]、田建红^[4]等分别测定了河北承德、北京、内蒙、山东等地的黄芩属植物中的黄芩苷、黄芩素等的含量。关于山西野生黄芩种质中有效成分的研究鲜见报道。已经发表的相关文献表明,黄芩根中黄芩苷的含量一般在10%~20%,黄芩素与黄芩苷相差一个数量级,汉黄芩素普遍处于百分之零点几的水平^[7-9]。我们的测定结果符合这一规律。

彭易兰等^[10]测定了黄芩黄酮总苷元提取物中的黄芩素、汉黄芩素等的含量,发现其中的可测成分含量很高。由于其是利用黄芩酶将提取物中的黄芩苷全部转化为黄芩素后所获得的数据,并非是黄芩根本身所含的主要成分的含量,因此测定结果高于一般水平。

我们的测定结果表明,在10种晋产野生黄芩根

中,产于晋北地区朔州市山阴县、右玉县的野生黄芩中黄芩苷的含量最低;产于晋东南地区陵川县的最高,为15.31%,明显高于内蒙古、黑龙江、甘肃^[11,12]等地的野生黄芩,也高于《中国药典》规定的黄芩苷含量不低于8.0%的黄芩药材质量控制标准^[6]。综合评价药材质量,晋东南陵川产野生黄芩是可以优先开发、利用和选育、驯化的优良药用黄芩类型。

3.2 黄芩苷与黄芩素、汉黄芩素含量不存在明显的正相关

晋产野生黄芩根中黄芩苷与黄芩素、汉黄芩素的含量之间不存在明显的正相关,即黄芩苷含量低的类型其黄芩素、汉黄芩素不一定低,反之亦然。然而,晋产野生黄芩根中黄芩素与汉黄芩素的含量基本成正比关系,即黄芩素含量高的类型汉黄芩素含量也高。

3.3 较低纬度、较高气温和较长日照时数有利于黄芩苷含量积累

黄芩中种类最多、生物活性最显著的化学成分

是黄酮类化合物。晋产野生黄芩根中黄芩苷的含量呈纬向性变化,即随着纬度的增加,黄芩苷含量呈逐渐减少的趋势。晋东南地区4个产地野生黄芩的黄芩苷含量最高,其中以产于晋城市陵川县瓦窑上村的黄芩为最。比较各采集地之间的气候差异,我们发现黄芩苷含量较高的4个产地均位于年平均气温相对较高(7.9~8.6℃)的晋东南地区,其中黄芩苷含量最高的晋城市陵川县气候温暖偏寒,属“长日照地区”,年平均日照时数达2563 h。

由此可见,较低纬度、较高气温和较长日照时数有利于黄芩苷的积累,这可能与黄芩喜温和气候^[13]的习性有关。有研究表明,光照强度影响黄芩有效成分积累。相同环境条件下,光照强长势好,根和总生物量大^[14]。长日照时数增加了植物次生代谢产物的产生,可能是由于UV-B辐射增加了植物叶片中的紫外吸收物质主要是酚类化合物的产生^[15]。

参考文献

- Li SJ(李树军), Chen TZ(陈廷珠), Xu GP(徐国平), et al. Distribution characteristics and blossom honey flow law of *Scutellaria baicalensis* nectar plants from Shanxi. *Apicul China*(中国蜂业), 2014, 65:30-32.
- Liang Y(梁英), Han LJ(韩鲁佳). Advances in research of pharmacological activities of flavonoid compounds in *Scutellaria baicalensis* Georgi. *J China Agric Univ*(中国农业大学学报), 2003, 8(6):9-14.
- Wang HY(王红燕), Han JX(韩敬贤), Xu SX(徐绥绪), et al. Flavonoids of *Scutellaria baicalensis*' leaves as the ligand binding site of GABA's acceptor BZD. *Chin J Med Chem*(中国药物化学杂志), 2002, 12:265-267.
- Tian JH(田建红). Quantitative analysis of active constituents of *Radix scutellariae* of different sources. *Strait Pharm J*(海峡药学), 2009, 21(3):57-59.
- Liu JF(刘菊福), Lu CA(卢长安), Liao FL(廖福龙), et al. Comparison of primary pharmacodynamic effects of different origin *Scutellaria baicalensis* root extract. *Chin J Inf Tradit Chin Med*(中国中医药信息杂志), 2001, 8(3):28-30.
- Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 312.
- Guo XY(郭晓燕), Hao T(郝婷), Zhao XF(赵晓峰), et al. Determination of content of baicalin from *Scutellaria baicalensis* roots of Chengde at different collecting time. *Lishizhen Med Mater Res*(时珍国医国药), 2014, 25:940-942.
- Li W(李韦), Li H(李化), Yang B(杨滨), et al. Comparative study of chemical composition of cultivated and wild *Scutellaria baicalensis*. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2008, 33:1425-1428.
- Zhou XQ(周锡钦), Zhang QY(张庆英), Liang H(梁鸿), et al. Analysis on the contents of major flavonoids in *Scutellaria baicalensis*. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2009, 34:2910-2915.
- Peng YL(彭易兰), Liu YH(刘云华), Huang ZF(黄志芳), et al. Determination of total flavonoids and three main components in *Radix Scutellariae* total flavone aglycone extracted by ultraviolet spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:1210-1214.
- Xue LM(薛黎明), Qin XM(秦雪梅), Zhang LZ(张丽增), et al. Baicalin determination and fingerprints of different areas' *Scutellaria baicalensis*. *Chin Tradit Patent Med*(中成药), 2008, 30:10-13.
- Qu ZY(曲中原). Comparative study on total flavonoids and baicalin content between cultivated and wild *Radix Scutellariae*. *Heilongjiang Med J*(黑龙江医药), 2009, 3:240-242.
- Guo LK(郭乐康). Studies on the culture system of *Scutellaria baicalensis* Georgi hairy roots. Shanxi; Shanxi University of Science and Technology(陕西科技大学), PhD. 2009.
- Shao XW(邵玺文). Eco-physiological Mechanism of high yield cultivation and quality control of *Scutellaria baicalensis*. Jilin; Jilin Agriculture University(吉林农业大学), PhD. 2008.
- Zhang J(张静), Hao JP(郝建平), Wang F(王峰), et al. Determination of puerarin, daidzin and total flavones in six wild *Pueraria lobata* from Shanxi. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:99-102.