

大,且水化时分散性较好。乳糖的水溶性不如山梨醇,水化时分散性不好,且放置后有分层现象。甘露醇很容易在制备过程中发生湿结,不适合用此法进行前体脂质体的制备。故最终选择山梨醇为载体材料。

### 3.2 主要工艺参数对前体脂质体粉末性质的影响

3.2.1 进口温度:进口温度越高,喷出的磷脂溶液雾滴蒸发越快,这样就使细粉之间相互碰撞而粘在一起的力量变弱,所得粉末的粒度则变小。而且进口温度过高会使喷出的磷脂无水乙醇液还未接触到粉末就已完全蒸发,磷脂析出,也就无法达到包衣的目的。相反,如果进口温度过低,物料干燥不完全,易成大颗粒或黏附成团。所以,选择适宜的进口温度很重要。

3.2.2 喷雾速率:喷雾速率的大小对前体脂质体粉末的粒径有较大影响。流量慢,粒径小;流量过快,粉末易粘成团。

3.2.3 喷雾风量:雾化器风量越大,对进液的雾化力量越大,把雾滴打得更小,易于蒸发,使所得前体脂质体颗粒变小;风量变小则正好相反。

以上讨论 3 个因素对前体脂质体粉末的性质有较大影响,且它们对喷液雾滴的大小具有交互作用,应视药物和辅料性质的不同在试验中加以考察。其实,这种制备前体脂质体的过程也就是一种粉末包衣的过程,只是包衣材料换成了磷脂,因其磷脂黏性较大,干燥过程较一般的包衣材料困难。因此,使包衣过程处于良好的流化状态选择适宜的操作参数是包

衣成败的关键。

3.3 流化床包衣法制备前体脂质体是对 Payne<sup>[8]</sup>改进的薄膜旋转蒸发法的放大,其过程都是对粉末进行包衣。流化床包衣法可以大量制备供口服或外用的前体脂质体粉末,适宜大小的前体脂质体颗粒还可以直接装胶囊或压片。可见,流化床包衣法是一种有前途的使前体脂质体工业化的方法,该法主要制备供口服或外用的前体脂质体。

### References:

- [1] Cui J M, Wu S. The advance on the research of breviscapine [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15 (3): 255-258.
- [2] Ge Q H, Zhou Z, Zhi X J, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of breviscapine in Beagle dogs [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2003, 34 (12): 618-620.
- [3] Jiang X H, Li S H, Lan K, et al. Study on the pharmacokinetics of scutellarin in dogs [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2003, 38 (5): 371-373.
- [4] Liu Y M, Lin A H, Chen H, et al. Study on pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2003, 38 (10): 775-778.
- [5] Li S H, Jiang X H, Yang Q, et al. Pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *J Biomed Eng* (生物医学工程杂志), 2003, 20 (4): 692-694.
- [6] Giuliana P A, Maria H A S. Phospholipid dry powders produced by spray drying processing: structural, thermodynamic and physical properties [J]. *Power Tech*, 2004, 145: 139-148.
- [7] Chen C M, Dhananjaya A. Use of fluidized bed in proliposome manufacturing [J]. *J Pharm Sci*, 1987, 76 (5): 419.
- [8] Payne N I, Timmins P, Ambrose C V, et al. Proliposomes: a novel solution to an old problem [J]. *J Pharm Sci*, 1986, 75 (4): 325-329.

## 具有指纹特征的黄芩提取物质量可控性研究

杨红美<sup>1,2</sup>, 曾建国<sup>2,1\*</sup>, 陈波<sup>1</sup>, 罗琪<sup>2</sup>, 缪建荣<sup>2</sup>

(1. 湖南师范大学化学化工学院, 湖南长沙 410081; 2. 湖南九汇现代中药有限公司, 湖南长沙 410329)

**摘要:**目的 确定黄芩提取物指纹特征产品标准。方法 通过采用 HPLC 色谱分析技术对黄芩提取物中 8 个黄酮化合物进行快速定量。结果 该黄芩提取物指纹特征相对稳定, 定量测定及指纹表征方法准确、快速。结论 使用该黄芩提取物的产品标准可更好地综合控制黄芩提取物的质量, 为组分中药提供实例支持。

**关键词:**黄芩提取物; 指纹特征; 标准化提取物

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)06-0846-06

### Quality control of *Scutellaria baicalensis* extract with fingerprint characteristic

YANG Hong-mei<sup>1,2</sup>, ZENG Jian-guo<sup>2,1\*</sup>, GHEN Bo<sup>1</sup>, LUO Qi<sup>2</sup>, MIAO Jian-rong<sup>2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha 410081, China;

2. Phytoway Inc, Changsha 410329, China)

收稿日期: 2006-01-30

作者简介: 杨红美, 女, 湖南师范大学 03 级分析化学专业硕士研究生。

\* 通讯作者 曾建国 E-mail: ginkgo@phytoway.com

**Abstract: Objective** To determine standard of *Scutellaria baicalensis* extract with fingerprint characteristic. **Methods** HPLC technique had been used to determine the content of eight flavones in *S. baicalensis* extract by HPLC. **Results** *S. baicalensis* extract had relative stability of fingerprint characteristic. The characterization method of fingerprint and analysis method were precise and rapid. **Conclusion** The standard of *S. baicalensis* extract with fingerprint characteristic has been obtained. It can be used to control the quality of *S. baicalensis* extract and it can support the component of Chinese materia medica.

**Key words:** *Scutellaria baicalensis* extract; fingerprint characteristic; standard extract

中药指纹图谱具有整体、宏观、模糊分析等特点。可通过对中药整体特性的描述,采用适当模糊处理方式,达到整体质量控制的目的。美国食品药品监督管理局(FDA)、欧洲合格认证(CE)要求草药及其制剂申报材料提供相应的指纹图谱指标,我国国家食品药品监督管理局(SFDA)也要求中药注射剂制订相关指纹图谱。因此,使用指纹图谱技术对中药标准化提取物或组分中药进行质量控制已成为一种必然趋势。

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,具有清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎等功效<sup>[1]</sup>。黄芩中含有 40 多种黄酮类化合物<sup>[2,3]</sup>。黄酮类化合物是黄芩中主要抗炎活性成分<sup>[4~6]</sup>,其中具有药理活性的黄酮包括黄芩苷、野黄芩苷、去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、黄芩素、汉黄芩素、白杨素等<sup>[7~13]</sup>。黄芩提取物为黄芩的干燥根茎加工制成的提取物,可以做为双黄连、银黄系列、芩连和茵栀黄系列口服制剂,在《中国药典》2005 年版中规定黄芩提取物作为口服用药的原料药时,按干燥品计,含黄芩苷不得少于 85.0%,但没有对次要黄酮的量作具体要求。根据传统中医药理论,中药的疗效是基于多种成分相互协调的基础之上的。因此除了关注黄芩中的主要黄酮类成分黄芩苷以外,由于次要黄酮特殊的药理活性和各个成分微妙的相互作用,因而更加重视次要黄酮的药理活性。对于黄芩提取物而言,研究黄芩提取物中次要黄酮,并制定出黄芩提取物产品标准具有非常重要的意义。

本实验采用 HPLC 色谱分析技术,制定出质量相对稳定且质量高度可控的黄芩提取物指纹特征产品标准。这种指纹图谱和以往的指纹图谱相比有如下特点:也是中药整体特性的描述,但是模糊处理的方式不同,本指纹图谱采用了现代表征技术;图谱中各个峰的量是准确的,且各个峰也已经知道是何种成分,不同批次的产品各个成分的量在一定的范围之内,从而构成了由这种工艺生产出来的黄芩提取

物的指纹特征。该种已知成分和具有确切量的色谱指纹表征技术和以往传统的指纹图谱技术相比较,有更大的优点和实际应用价值,药效物质基础更加的明确,因而可以更好的指导临床药理研究。与成分相关的文献报道<sup>[7~12]</sup>表明该黄芩标准化提取物应具有明显的抗炎作用。

## 1 仪器与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪包括 2996 PDA 检测器,717 自动进样器,Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司)。旋转蒸发仪(上海亚荣仪器厂)。Waters ZQ 2000 质谱检测器(美国 Waters 公司)。

黄芩苷、野黄芩苷、去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、黄芩素、汉黄芩素、白杨素对照品购自 Sigma 公司,质量分数在 98% 以上。水为二次蒸馏水,乙腈(色谱纯,湖南化工研究院精细化工研究所)。黄芩根于药材(4 个)产于甘肃、陕西和山东,花期采收,生长年限 3 年,由湖南师范大学生命科学学院植物学系刘客明教授鉴定。黄芩提取物由湖南九汇现代中药有限公司生产。浓盐酸、浓硫酸、NaOH、KOH 均分析纯,购自湖南师大化学试剂厂。

## 2 方法与结果

2.1 黄芩提取物的制备<sup>[1]</sup>:黄芩根原料粉碎成粗粉,投入提取罐中,加水煎煮,合并煎液,浓缩至适量,用盐酸调 pH 1.0~2.0,80 ℃保温、静置,滤过,沉淀加适量水搅匀,用 40% NaOH 溶液调 pH 值至 7.0,加等量乙醇,搅拌使溶解,滤过,滤液用盐酸调 pH 值至 1.0~2.0,60 ℃保温静置,滤过,沉淀依次用适量的水及不同体积分数乙醇洗至 pH 7.0,挥尽乙醇,减压干燥即得。

2.2 色谱条件和质谱条件:Hypersil ODS C<sub>18</sub> 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.5% 甲酸水溶液(B),梯度洗脱;体积流量为 0.8 mL/min;紫外检测波长 276 nm;进样量 10 μL;柱温 30 ℃;梯度条件:在 0~3 min, 20% A; 3~22 min, 20%~80% A; 22~24 min, 80% A。

质谱条件:用电喷雾离子化正离子采集模式 (ESI+),范围:150~550 amu,毛细管电压:3.5 kV,锥孔电压:20 V,萃取电压:5.0 V,源温度:105 ℃,脱溶剂温度:300 ℃,脱溶剂气:300 L/h,锥孔反吹气:50 L/h。

2.3 供试品溶液的制备:将不同产地的黄芩药材预先粉碎备用,分别精密称取不同产地的黄芩根粉末 0.1 g 于 50 mL 量瓶中,用四氢呋喃-甲醇(20:80)超声 30 min 后,冷却后定容。称取各个黄芩提取物约 20 mg 于 50 mL 量瓶中用四氢呋喃-甲醇(20:80)超声 30 min,冷却后定容,备用。

2.4 对照品溶液的制备:精密称取黄芩苷干燥恒重的对照品 30 mg 于 10 mL 量瓶中,用四氢呋喃-甲醇(20:80)超声溶解,定容,再精密称取其他各个干燥恒重的对照品 10 mg 于 50 mL 量瓶中用四氢呋喃-甲醇(20:80)超声溶解,定容,供计算相对校正因子和测定用。

2.5 HPLC-ESI-MS 定性分析黄芩提取物中的黄酮化合物:黄芩提取物中各个黄酮类化合物的定性分析是通过两个方法完成的。首先通过传统的对照品保留时间和样品保留时间确定各个化合物,继而通过比较各个对照品和样品的在线紫外光谱数据、ESI-MS 数据和保留时间。图 1 是选择离子  $m/z$  463、447、461 的提取色谱图。选择  $m/z$  463(峰 1)、446(峰 2,3)、461(峰 4,5) 的 5 个峰的在线质谱数据显示,它们都可以从各自的分子离子  $[M+H]^+$  脱掉一个  $m/z$  176 单元的糖碎片,使之变成碎片离子分别为  $m/z$  287、271、271、285、285。说明色谱峰 1,2,3,4,5 是黄酮糖苷化合物。5 个糖苷化合物的质谱图中都含有一个  $[M+H]^+$  的准分子离子和一个糖配基中性丢失后的碎片离子  $[M+H-Glu]^+$ 。根据对照品的保留时间和样品的保留时间以及这几个化合物的质谱数据和文献数据<sup>[8,14]</sup>,色谱峰 1、2、3、4、5 分别推断为野黄芩苷、黄芩苷、去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸。峰 6、7、8 分别推断为黄芩素、汉黄芩素、白杨素同样是根据对照品保留时间、质谱数据和文献数据<sup>[10,14~17]</sup>一致。化合物的推断结果见表 1。

2.6 相对校正因子的计算:绝对校正因子的计算为  $f_i^A = m_i/A_i$  ( $m_i$  为组分  $i$  在流动相的质量浓度,与检测器响应信号峰面积  $A_i$  成正比)。相对校正因子是指组分  $i$  与组分  $s$  的绝对校正因子之比,即  $f_{is}^A = f_i^A/f_s^A = A_s m_i/A_i m_s$ ,  $f_{is}^A$  为组分  $i$  的峰面积相对校正因子。每个对照品进样 5 次,每次进样 10  $\mu$ L,每

个对照品取平均峰面积。以黄芩苷为基准组分,就可以计算出各个组分的相对校正因子的结果,见表 2。

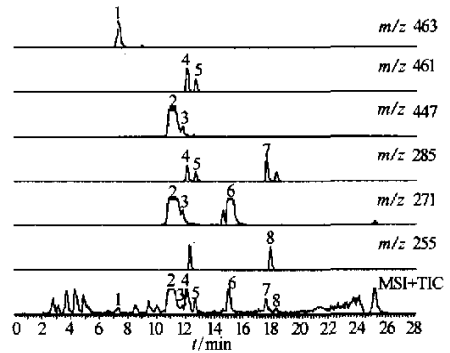


图 1 黄芩提取物的 HPLC-ESI-MS 图

Fig. 1 HPLC-ESI-MS Chromatograms of *S. baicalensis* extract

表 1 各个活性成分的保留时间、分子离子和  $\lambda_{max}$   
Table 1 Retention time, molecular ion, and  $\lambda_{max}$  of every active constituents

| 峰号 | $t_R$ | 主要分子离子和碎片离子 | $\lambda$ /nm | 化合物              |
|----|-------|-------------|---------------|------------------|
| 1  | 8.14  | 463,287     | 283           | 野黄芩苷             |
| 2  | 11.13 | 447,271     | 276           | 黄芩苷              |
| 3  | 11.99 | 447,271     | 281           | 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 |
| 4  | 12.35 | 461,285     | 272           | 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸   |
| 5  | 12.93 | 461,285     | 274           | 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸   |
| 6  | 15.05 | 271         | 276           | 黄芩素              |
| 7  | 17.58 | 285         | 274           | 汉黄芩素             |
| 8  | 17.80 | 255         | 269           | 白杨素              |

表 2 以黄芩苷为基准组分的 7 个黄酮类成分的相对校正因子

Table 2 Relative correction factors of seven flavonoids compared with baicalin

| 黄 酮              | 校正因子    |
|------------------|---------|
| 野黄芩苷             | 1.549 0 |
| 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 0.907 2 |
| 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸   | 0.977 6 |
| 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸   | 0.907 2 |
| 黄芩素              | 0.772 9 |
| 汉黄芩素             | 0.655 3 |
| 白杨素              | 0.789 6 |

2.7 方法学考察:从黄芩苷、野黄芩苷、去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、黄芩素、汉黄芩素、白杨素 8 化合物的相对校正因子考虑:黄芩苷在黄芩提取物中的量最高,相对校正因子居中且与去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸的相对校正因子相差不大,故选择黄芩苷作为苷的代表进行方法学考察;黄芩素、汉黄芩素、白杨素均为苷元且黄芩素的相对校正

因子在汉黄芩素与白杨素之间而且相差不大,故选择黄芩素作为苷元的代表进行方法学考察;野黄芩苷的相对校正因子最大,且从结构上是唯一 B 环上有取代的,所以野黄芩苷要单独进行方法学考察。因此选择黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素进行方法学考察指标。

2.7.1 线性关系考察:精密吸取黄芩苷、野黄芩苷和黄芩素对照品溶液各 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL 于 25 mL 量瓶中,甲醇定容。分别精密吸取 10  $\mu$ L,按上述色谱条件分别进样色谱分析。以各组分质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,得到线性方程分别为: $Y=72\ 216\ 000\ X-997\ 800$ ,  $r=0.998\ 7$ (黄芩苷); $Y=46\ 613\ 000\ X-39\ 100$ ,  $r=0.991\ 3$ (野黄芩苷); $Y=93\ 436\ 000\ X-600\ 710$ ,  $r=0.995\ 6$ (黄芩素)。线性范围分别为 0.024~0.48 mg/mL(黄芩苷),0.001 6~0.032 mg/mL(野黄芩苷),0.001 6~0.032 mg/mL(黄芩素)。

2.7.2 精密度试验:取混合对照品溶液,连续进样 6 次,测得黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素峰面积的 RSD 分别为 1.56%、1.32%、1.60%。

2.7.3 稳定性试验:取供试品溶液(批号 040311),分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样,测得黄芩苷、野黄芩

苷、黄芩素的峰面积的 RSD 分别为 1.23%、1.30%、1.72%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7.4 重现性试验:取样品(批号 040311)6 份,精密称定,制备供试品溶液,分别进样,测得黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素的质量分数的 RSD 分别为 1.20%、1.56%、1.80%。

2.7.5 回收率试验:精密称取适量黄芩提取物样品,分别加入黄芩苷、黄芩素、野黄芩苷对照品储备液,制得供试品溶液,平行制备 5 份溶液,测定,计算平均回收率及 RSD 值分别为:黄芩苷 99.80%、1.32%;黄芩素 96.13%、1.21%;野黄芩苷 99.72%、1.50%。

2.8 黄芩提取物指纹特征的表征:当采用高效液相色谱法对黄芩提取物进行表征的方法被确认后,各个成分的量以黄芩苷为标准,再利用相对校正因子计算出黄芩苷、野黄芩苷、去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸、汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、黄芩素、汉黄芩和白杨素的量,27 批黄芩提取物的测定结果见表 3。黄芩提取物的指纹特征色谱图见图 2。此标准化黄芩提取的指纹特征数值范围见表 4。

表 3 黄芩提取物中 8 个黄酮的测定结果 (% , n=5)

Table 3 Determination of eight flavonoids in *Scutellaria baicalensis* extract (% , n=5)

| 批号         | 野黄芩苷  | 黄芩苷   | 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸 | 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 黄芩素  | 汉黄芩素 | 白杨素  | 总次要黄酮 |
|------------|-------|-------|------------------|----------------|----------------|------|------|------|-------|
| 040311(甘肃) | 0.66  | 75.62 | 3.12             | 1.16           | 6.04           | 2.72 | 2.60 | 0.22 | 16.52 |
| 040503(山东) | 0.87  | 79.80 | 2.32             | 1.40           | 6.37           | 2.86 | 2.00 | 0.37 | 16.19 |
| 040702(陕西) | 1.22  | 79.48 | 1.72             | 2.35           | 4.03           | 6.10 | 1.77 | 0.46 | 17.65 |
| 030603     | 0.690 | 79.60 | 2.30             | 1.41           | 6.35           | 2.86 | 2.05 | 0.33 | 16.20 |
| 040902     | 1.20  | 75.30 | 1.81             | 2.20           | 4.13           | 4.50 | 1.80 | 0.44 | 16.08 |
| 041015     | 0.70  | 75.45 | 3.10             | 1.20           | 6.02           | 2.72 | 2.60 | 0.20 | 16.54 |
| 041211     | 0.80  | 75.20 | 3.10             | 1.10           | 4.23           | 4.05 | 2.20 | 0.33 | 15.81 |
| 050310     | 1.01  | 75.30 | 2.00             | 1.50           | 4.50           | 3.80 | 2.40 | 0.45 | 15.66 |
| 040618     | 1.08  | 78.20 | 2.20             | 1.60           | 4.11           | 3.40 | 2.35 | 0.44 | 15.18 |
| 050301     | 0.72  | 73.27 | 1.62             | 2.13           | 2.53           | 6.20 | 1.58 | 0.35 | 15.14 |
| 050111     | 0.85  | 76.32 | 1.53             | 1.60           | 2.34           | 3.50 | 2.00 | 0.40 | 12.22 |
| 050121     | 1.10  | 78.43 | 3.00             | 1.80           | 4.50           | 2.80 | 2.15 | 0.30 | 15.85 |
| 050411     | 1.09  | 77.60 | 2.80             | 1.90           | 4.60           | 2.50 | 2.03 | 0.48 | 15.40 |
| 050511     | 0.99  | 78.30 | 3.10             | 2.00           | 4.44           | 3.20 | 1.59 | 0.44 | 15.76 |
| 050622     | 2.30  | 73.10 | 3.09             | 2.12           | 5.03           | 3.10 | 2.10 | 0.21 | 17.92 |
| 050728     | 2.12  | 73.22 | 2.01             | 1.41           | 6.40           | 5.00 | 1.88 | 0.35 | 19.17 |
| 050831     | 2.30  | 77.69 | 2.69             | 1.76           | 2.30           | 3.80 | 2.64 | 0.48 | 15.97 |
| 031126     | 1.23  | 80.12 | 2.52             | 1.72           | 4.21           | 3.84 | 2.62 | 0.38 | 16.52 |
| 050330     | 0.58  | 73.54 | 1.14             | 3.65           | 6.29           | 2.79 | 2.68 | 0.14 | 17.27 |
| 050429     | 1.22  | 72.40 | 1.72             | 2.35           | 4.03           | 6.10 | 1.77 | 0.46 | 17.65 |
| 030912     | 1.10  | 75.40 | 1.70             | 3.45           | 4.43           | 5.20 | 2.01 | 0.39 | 18.28 |
| 040511     | 1.00  | 78.98 | 3.10             | 1.20           | 5.98           | 2.70 | 2.40 | 0.40 | 16.78 |
| 030622     | 2.10  | 73.20 | 2.80             | 1.50           | 3.80           | 5.00 | 1.00 | 0.28 | 16.48 |
| 050205     | 2.46  | 75.53 | 2.97             | 1.52           | 3.94           | 5.32 | 0.59 | 0.12 | 16.88 |
| 040910     | 0.50  | 75.16 | 0.77             | 2.16           | 4.79           | 6.45 | 0.74 | 0.38 | 15.90 |
| 041011     | 1.82  | 78.03 | 2.48             | 1.50           | 2.49           | 5.42 | 0.92 | 0.29 | 14.92 |
| 041207     | 2.26  | 74.78 | 1.40             | 1.88           | 4.39           | 6.48 | 0.88 | 0.23 | 17.52 |

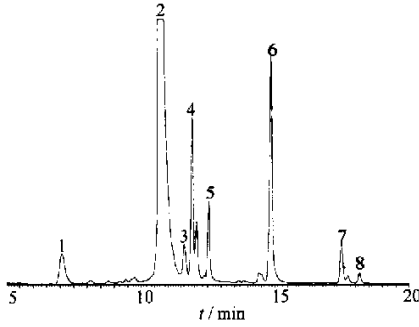


图 2 黄芩提取物的 HPLC-UV 色谱指纹图

Fig. 2 HPLC-UV Fingerprint of *S. baicalensis* extract

表 4 黄芩提取物指纹特征

Table 4 Fingerprint characteristic of *S. baicalensis* extracts

| 成分               | 范围          |
|------------------|-------------|
| 黄芩苷              | 70.0%~80.0% |
| 野黄芩苷             | 0.5%~2.5%   |
| 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 0.5%~3.0%   |
| 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸   | 1.0%~4.0%   |
| 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸   | 2.0%~6.5%   |
| 黄芩素              | 2.5%~6.5%   |
| 汉黄芩素             | 0.5%~3.5%   |
| 白杨素              | 0.1%~0.5%   |

研究过程中发现,黄芩根提取物中质量分数较小的次要黄酮,其变动值绝对范围并不大,只是因为受本身质量分数较低的影响,其相对变化范围显得较大。如汉黄芩素一般在 0.5%~3.5% 变动,其变动范围为 (2.00±1.50)%, 变动范围与中值的相对比值为 75.00%。而黄芩苷质量分数一般在 70% 以上,同样是 ±1.50% 的变动范围,此时的相对变动范围只为 1.67%。因此,有必要寻找合适的方法或收缩因子,使质量分数较低,并使具有明确取值范围的成分的相对变动范围得到合理的表达。基于此,在考察次要黄酮的指纹特征相似度时,设定对次要黄酮而言其相对变动范围可以接受的收缩因子 *f*。

$$f = \frac{1}{n \times \sqrt{m}}$$

*n* 为主要黄酮黄芩苷在此标准提取物中的均质量分数与总次要黄酮的均质量分数的比值。通过实验知道,黄芩苷的质量分数一般为 75%,总次要黄酮的质量分数一般为 15%,故 *n*=5 (75%/15%),*m* 为要表征次要黄酮的个数,即为 7。

对于低质量分数的次要黄酮成分而言,指纹特征相似度考察的相对变动范围使用 *D* 表示。

$$D = f \times \frac{x - \bar{x}}{\bar{x}} \times 100\%$$

*D* 为相对变动范围限度值,*x* 为次要黄酮限定范围的上限值, $\bar{x}$  为中值。

对于黄芩苷而言,其质量分数取值范围集中在 70%~80%,即 75%±5%,相对变动范围为 6.67%,比较理想,符合通常设定的指纹特征相似度考察的要求。参考黄芩苷的相对变动范围对 *D* 值限定,要求 *D*≤6.00%。本研究对于次要黄酮的 *D* 值见表 5。选取上、下限覆盖数据最多的区间,并让 *D* 值符合规定,得到相应的质量分数范围。

另外,通过本次采用的原料研究(表 6)和由文献报道<sup>[18]</sup>34 个不同产地的黄芩药材中,由于不同的产地中各个黄酮的变动范围较大(表 7)。因而所生产出来的黄芩提取物中的黄酮化合物尤其是次要黄酮化合物的变动范围较大是正常的。

表 5 7 个黄酮化合物的 *D* 值

Table 5 *D* Value of seven flavonoids

| 成分               | 最高质量 | 最低质量 | 相对    | <i>D</i> / |
|------------------|------|------|-------|------------|
|                  | 分数/% | 分数/% |       |            |
| 野黄芩苷             | 3.0  | 0.5  | 71.43 | 5.40       |
| 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 2.5  | 0.5  | 66.70 | 5.04       |
| 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸   | 4.0  | 1.0  | 60.00 | 4.50       |
| 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸   | 6.5  | 2.0  | 52.90 | 4.00       |
| 黄芩素              | 6.5  | 2.5  | 44.40 | 3.36       |
| 汉黄芩素             | 3.5  | 0.5  | 75.00 | 5.67       |
| 白杨素              | 0.5  | 0.1  | 66.70 | 5.04       |

表 6 不同产地的黄芩原药材中各个黄酮的测定结果

Table 6 Determination of eight flavonoids in root of *S. baicalensis*

| 批号<br>(产地) | 质量分数/%     |      |                  |                |                |      |      |      |
|------------|------------|------|------------------|----------------|----------------|------|------|------|
|            | 野黄芩苷       | 黄芩苷  | 去甲汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 千层纸素-7-O-葡萄糖苷酸 | 汉黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸 | 黄芩素  | 汉黄芩素 | 白杨素  |
|            | 050133(甘肃) | 0.63 | 9.09             | 0.42           | 0.45           | 1.78 | 1.38 | 0.72 |
| 050203(山东) | 0.92       | 9.12 | 0.60             | 0.23           | 1.13           | 1.12 | 0.68 | 0.09 |
| 050301(山西) | 0.56       | 8.12 | 0.50             | 0.32           | 1.81           | 0.89 | 0.63 | 0.16 |
| 050311(陕西) | 0.59       | 7.09 | 0.43             | 0.43           | 1.61           | 0.45 | 0.27 | 0.05 |

表 7 查自文献中 4 个黄酮化合物计算的 *D* 值<sup>[17]</sup>

Table 7 *D* Value of four flavonoids calculated according to data from reference<sup>[17]</sup>

| 成分   | 最高质量分数/% | 最低质量分数/% | 相对偏差/% | <i>D</i> /% |
|------|----------|----------|--------|-------------|
| 黄芩苷  | 17.91    | 6.39     | 47.6   | 3.60        |
| 黄芩素  | 3.44     | 0.33     | 82.50  | 6.23        |
| 汉黄芩苷 | 3.92     | 1.34     | 49.61  | 3.75        |
| 汉黄芩素 | 1.55     | 0.07     | 91.40  | 6.91        |

从表 4 可以看出:黄芩苷是主要的成分(质量分数 70%~80%),因为这是原料正常质量分数范围内在该工艺条件下的正常值。其他次要黄酮都是通过大量不同产地(甘肃、山东、陕西等),在相同季节(8~10 月)、相同生长年份(2~3 年)、同一工艺条件下获得的大量试验数据基本都在这一范围内。通过

对湖南九汇现代中药有现公司生产的不同批次黄芩提取物产品抽样分析,发现该黄芩提取物的指纹特征也符合这一范围。总之,此黄芩提取物指纹特征范围的建立是基于前面的分析和依据大量的实验数据基础上的不完全归纳。

### 3 讨论

在研究过程中发现,某些产地的黄芩按照上述生产工艺,不能生产出具有上述指纹特征的黄芩提取物,但是通过不同产地的黄芩原料的拼配投料就能生产出具有上述指纹特征的黄芩提取物,使之达到标准提取物的要求。笔者设想,假如这种拼配投料的方式可行的话,那么在一定限度内,可以充分、合理的利用中药资源,并可保证符合标准指纹特征。

另外在研究中还发现:因黄芩提取物其指标成分控制量达 90% 以上,用不同工艺,并使用拼配方法更容易满足达到标准,且成本可能更低。是否可认为:当指标(或有效)成分可控性达 90%(甚至 95% 以上)时,参照化学药原料要求,只管结果符合标准和控制限量成分而不管工艺路线呢?但这又与中药原料工艺不能随意更改的法规相冲突,值得商榷。

通过本研究确定,至少有些中药组分是完全可以控制的,关键是选准控制的组分部位与其组分作用的疗效是否相关。这也与中国科学院大连化学物理研究所梁鑫淼研究员提出的组分中药相符合,即以组分为切入点,以标准组分配伍的现代中药创新模式。这类单味中药标准提取物(可控性达 90% 以上)建议作为组分中药的一类予以对待。

控制好了原料的来源、采收季节、用药部位,所生产的黄芩提取物完全可以具有比较稳定的特殊指纹特征。该指纹特征还可以做为黄芩标准提取物的定量控制指标。该种指纹特征组分中药提取物更加有利于临床药理的研究。与成分相关的文献药理研究表明该黄芩标准提取物具有明显的抗炎作用,可用于中药制剂的原料药是否作为修改黄芩片剂原料的参考标准,值得引起关注。

本研究的指纹特征的控制范围要求与通常的指纹特征描述有不尽相同的地方,实验中将主组分与次组分分开进行相似度范围考察,认为这种相似度考察方法更具有现实意义。

也许是选择的研究对象特殊性,恰好将指纹特征的表征方法与定量测定方法保持一致。提示对控制同一类组分时该方法也许是一个不错的思路。

感谢国家药典委员会钱忠直教授、珠海科曼中药研究有限公司谢培山教授、中国科学院大连化学

物理研究所梁鑫淼研究员和中国药品生物制品检定所肖新月研究员在百忙之中提出宝贵的建议

### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Li T J, Lin T M, Zhaug X R, et al. The research advances of chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* [J]. *J Jilin Mil Med Coll Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学吉林军医学院学报), 1999, 21 (4): 231-233.
- [3] Ishimaru K, Nishikawa K, Omoto T, et al. Two flavone 2'-glucosides from *Scutellaria baicalensis* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40 (1): 279-281.
- [4] Horvath R C, Martos P A, Saxena P K. Identification and quantification of eight flavones in root and shoot tissues of the medicinal plant Huang-qin (*Scutellaria baicalensis* Georgi) using high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1062 (2): 199-207.
- [5] Qu Z F. Pharmacology and clinic application of *Scutellaria baicalensis* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2002, 13 (5): 316-317.
- [6] Bi Y H. Pharmacology and clinic application of *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin J Med* (中国医刊), 1998, 33 (8): 53-54.
- [7] Franky I, Chan H L, Choi Z Y, et al. Induction of apoptosis in prostate cancer cell lines by a flavonoid, baicalin [J]. *Cancer Lett*, 2000, 160 (2): 219-228.
- [8] Tang W, Sun X, Fang J S, et al. Flavonoids from *Radix Scutellariae* as potential stroke therapeutic agents by targeting the second postsynaptic density 95 (PSD 95)/disc large/zonula occludens 1 (PDZ) domain of PSD-95 [J]. *Phytomedicine*, 2004, 11 (4): 277-284.
- [9] Hao X H, Cheng G, Sun J, et al. Validation of an HPLC method for the determination of scutellarin in rat plasma and its pharmacokinetics [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38 (2): 360-363.
- [10] Li H B, Jiang Y, Chen F. Separation methods used for *Scutellaria baicalensis* active components [J]. *J Chromatogr B*, 2004, 812 (1 2): 277-290.
- [11] Ma S C, Du J, But P P H, et al. Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus [J]. *Ethnopharmacology*, 2002, 79 (2): 205-211.
- [12] Chen L J, Song H, Lan X Q, et al. Comparison of high-speed counter-current chromatography instruments for the separation of the extracts of the seeds of *Oroxylum indicum* [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1063 (1-2): 241-245.
- [13] Fu H, Xiao X Y, Zhang N P. Analysis of primary chemical constituents in medicinal plant of *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23 (1): 33-38.
- [14] Kazuhiko S, Yuji I, Toshiyuki O, et al. Simultaneous determination of baicalin, wogonin, oroxylin-A and their glucuronides in *scutellariae radix* by ion-pair high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1985, 328: 289-297.
- [15] Kova'cs G, Kuzovkina I N, Sz'oke E', et al. HPLC Determination of flavonoids in hairy-root cultures of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Chromatogr (Suppl)*, 2004, 60 (1): 81-85.
- [16] Xiao L H, Wang H Y, Li F M, et al. Comparative study on HPLC-FPS of *Radix Scutellariae* of various sources [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2004, 21 (1): 28-31.
- [17] Wu W, Yan C Y, Li L, et al. Studies on the flavones using liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1047 (2): 213-220.