

江堰的山区和坝区建立了川芎种质资源圃。为川芎种质资源评价研究及川芎新品种选育打下了基础。

3.2 唐宋及以前,四川、甘肃一直为川芎的产地,并且《唐本草》首次提出优质芎藭为甘肃天水之栽培品;通过查阅现代文献,记载从20世纪50年代开始,云南、甘肃就为芎藭类药材的产区,并且调查得知甘肃、云南栽种川芎都有上百年的历史。但研究发现3者在植物形态、药材性状、组织构造上有较大差异,其品种归属问题及川芎种质资源的分类学鉴定本课题组将另文报道。

3.3 根据查阅文献和前期工作基础,了解到目前所产川芎均为栽培品,至今尚未发现川芎的野生种。藁本为川芎的近缘植物,在藁本属中,川芎、藁本最为

相近,且化学成分相似。有学者将川芎隶属于藁本之下,作为藁本的栽培种,但川芎和藁本的植物形态和药用部位差异较大,其系统的对比研究将另文报道。

参考文献:

- [1] 中国科学院西北植物研究所编. 秦岭植物志 [M]. 北京:科学出版社, 1981.
- [2] 中国药典 [S]. 一部, 2005.
- [3] 中国药材公司编著. 中国中药资源志要 [M]. 北京:科学出版社, 1994.
- [4] 徐国钧, 徐络珊. 常用中药材品种整理和质量研究(南方协作组第二册) [M]. 福州:福建科学技术出版社, 1999.
- [5] 肖培根. 新编中药志(第一卷) [M]. 北京:化学工业出版社, 2002.
- [6] 刘圆, 贾敏如. 川芎品种、产地的历史考证 [J]. 中药材, 2001, 24(5): 365.
- [7] 贾敏如, 马逾英. 川芎、川白芷生产质量管理规范(GAP)的研究 [M]. 成都:四川科学技术出版社, 2007.

黄芩不同生长发育期有效成分的变化规律

李化¹, 黄璐琦¹, 杨滨^{1*}, 冯雪峰¹, 李韦¹, 汤呐²

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 广西中医学院 2006 级本科实习生, 广西南宁 530001)

摘要:目的 通过对黄芩不同生长发育期有效成分(黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)量的研究,为黄芩适宜采收期的确定提供实验依据。方法 采用 RP-HPLC 法进行测定。色谱柱为 Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以乙腈-水-甲酸(21:78:1)(A)和乙腈-水-甲酸(80:20:1)(B)为流动相进行梯度洗脱;检测波长 280 nm;柱温 30℃;体积流量 1.0 mL/min。结果 黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的线性范围分别为 0.281~16.830 μg, 0.033~1.980 μg, 0.008~0.465 μg, 平均回收率分别为 101.53% (RSD=1.84%), 102.73% (RSD=5.05%), 98.67% (RSD=3.02%)。黄芩苷的量在萌发期最大,黄芩素和汉黄芩素的量在展叶期达到最高值,3者总量在枯黄期最大。结论 明确了黄芩不同生长发育期黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量和总量的动态变化规律。

关键词:黄芩;有效成分;不同生长发育期;最佳采收期

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)04-0604-04

黄芩是唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,又名腐肠、黄广、经芩、印头等。始载于《神农本草经》,在我国使用历史悠久。具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎等作用,临床上常用于治疗湿温、暑温胸闷呕吐,湿热痞满,黄疸泻痢,肺热咳嗽等疾病。黄芩分布较广泛,河北、内蒙古、山东、黑龙江、辽宁、吉林、甘肃、陕西、山西等北部地区均有分布,河北承德为黄芩的“道地产区”。采收、加工、炮制和贮藏等是影响中药材质量的主要因素,其中适时采收中药材是保证中药材质量的必要条件之一。近年来有关黄芩采收^[1~4]的研究报道较多,但均仅

选择黄芩苷的量作为考察指标去确定黄芩的采收期。现代研究发现黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等黄酮类化合物的量较高^[5,6],且药理研究也证明其为活性成分^[7]。因此本实验对不同生长发育期黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的量和总量的变化进行研究,为确定黄芩的适宜采收期提供实验依据。

1 仪器、试药与试剂

1.1 仪器:Waters 高效液相色谱系统(2695 Separations Module, 2996 Photodiode Array Detector, Empower 色谱工作站);2004MP6 型半微量电子显示天平,德国 Sartorius 公司;OHAMS Scout™Pro

收稿日期:2007-08-12

基金项目:国家自然科学基金项目(30572338)

作者简介:李化(1976—),女,在职博士,助理研究员,主要从事药物的质量研究与控制。

Tel: (010) 64014411-2848 E-mail: lihua621@hotmail.com

* 通讯作者 杨滨 Tel: (010) 64014411-2848 E-mail: ybinmm@hotmail.com

型普通电子天平,梅特勒-托利多称重设备系统有限公司;Professional Meter PP-15 型电子 pH 测定仪,德国 Sartorius 公司;KQ-100DE 型医用数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;TED—电子恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司;旋转蒸发仪,Buchi Labortechnik AG (R-200, B-490)。

1.2 试药:栽培黄芩采自延庆种子推广站实验田,经中国中医科学院中药研究所中药资源研究室冯雪峰研究员鉴定为唇形科植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi。二年生栽培黄芩按五点法采集,每个点 3 株,每次 15 株。从 2006 年 4 月开始,依次在休眠期(4 月 25 日),萌发期(5 月 23 日),展叶期(6 月 27 日),始花期(7 月 27 日),盛花期(8 月 23 日),果实成熟期(9 月 27 日),枯黄期(10 月 25 日)进行采样。一年生栽培黄芩于盛花期(8 月 23 日)随机采集 3 株。鲜品 55℃ 烘干至恒重后,粉碎,置干燥器中备用。

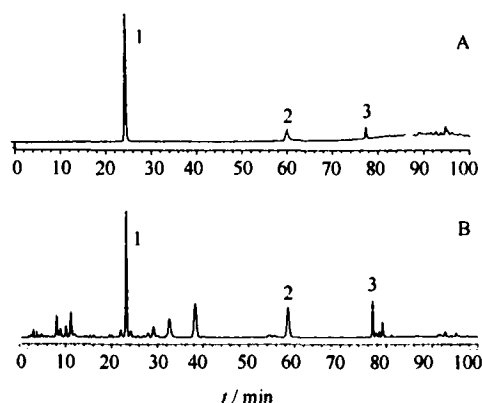
黄芩苷对照品(批号 110715-200212,供定量测定用),黄芩素对照品(批号 111595-200301,供定量测定用),汉黄芩素对照品(批号 1514-200001,供鉴别用),均由中国药品生物制品检定所提供,经 HPLC 面积归一化法检查,质量分数均大于 99.0%。

1.3 试剂:四氢呋喃,乙腈均为色谱纯;其余试剂均为分析纯,蒸馏水和高纯水均为中国中医科学院中药所自制。

2 方法

2.1 色谱条件:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相 A:乙腈-水-甲酸(21:78:1),流动相 B:乙腈-水-甲酸(80:20:1),梯度洗脱:0~10 min (100% A),10~35 min (100% A~90% A),35~70 min (90% A~65% A),70~90 min (65% A~5% A),90~100 min (5% A);检测波长 280 nm;柱温 30℃;体积流量 1.0 mL/min。黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的理论塔板数分别为 20 000、30 000 和 200 000。对照品及黄芩样品的色谱图见图 1。

2.2 标准曲线的绘制:精密称取黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品适量,加甲醇溶解,制得质量浓度为 0.561、0.066、0.015 5 mg/mL 的混合对照品溶液。取此混合对照品溶液 0.5、1.6、12、18、24、30 μL 分别进样,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积对进样量进行回归,分别得黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的回归方程为 $Y = 3.269 \times 10^7 X - 2.773 \times 10^6$, $r = 0.9999$; $Y = 5.269 \times 10^7 X - 1.485 \times 10^6$, $r =$



1-黄芩苷 2-黄芩素 3-汉黄芩素
1-baicalin 2-baicalein 3-wogonin

图 1 混合对照品溶液(A)和黄芩样品溶液(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of mixed reference substances solution (A) and sample solution of *S. baicalensis* (B)

0.9997; $Y = 5.759 \times 10^6 X - 2.492 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明黄芩苷在 0.281~16.830 μg,黄芩素在 0.033~1.980 μg,汉黄芩素在 0.008~0.465 μg 线性关系良好。

2.3 检测限、定量限考察:将黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素对照品溶液进行稀释,以信噪比为 3:1 确定其最低检测限分别为 2.87、3.75、2.20 ng,以信噪比为 10:1 确定其定量限分别为 9.58、12.5、6.6 ng。

2.4 供试品溶液的制备:取黄芩粉末约 0.1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密移取 70% 乙醇 20 mL,称定,超声 1 h,放冷,称质量,以 70% 乙醇补足损失质量,滤过,取续滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.5 精密度试验:取黄芩粉末,精密称定,按 2.4 项供试品溶液的制备方法制样,在上述色谱条件连续进样 5 次,黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 分别为 0.21%、0.33%、0.31%。

2.6 重现性试验:取黄芩粉末 0.1 g,5 份,精密称定,按 2.4 项供试品溶液的制备方法制样,在上述色谱条件测定,黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素质量分数的 RSD 分别为 0.53%、3.99%、0.00%。

2.7 稳定性试验:取黄芩粉末,精密称定,按 2.4 项供试品溶液的制备方法制样,在上述色谱条件分别在 0、2.5、5、7.5、10、12.5、15、25 h 进样,测定,黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素峰面积的 RSD 分别为 0.51%、0.82%、0.36%,结果表明供试品溶液室温下在 25 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验:称取已知量的黄芩粉末 5 份,精密称定,分别精密加入适量的黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素对照品,按 2.4 项供试品溶液的制备方法制样,在上述色谱条件测定,计算回收率,黄芩苷的平均回收率为 101.53%,RSD 为 1.84%;黄芩素的平均回收率为 102.73%,RSD 为 5.05%;汉黄芩素的平均回收率为 98.67%,RSD 为 3.02%。

2.9 样品的测定:将不同年限、不同生长时期采集的黄芩样品,分别按 2.4 项供试品溶液的制备方法制样,在上述色谱条件测定,采用外标法一点法计算各生长时期黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量,并求得黄芩苷与黄芩素的量比值,黄芩素与汉黄芩素的量比值。将各成分的量均值和总量(=单株根中成分的量×单株根重)均值的动态变化制成折线图。结果见表 1、2 和图 2、3。

本实验所采集的黄芩药材中黄芩苷的量均符合《中国药典》2005 年版黄芩项下黄芩苷限度的要求。表 1 结果显示,2 年生黄芩中黄芩苷的量略低于一

年生黄芩,但黄芩苷总积累量,黄芩素和汉黄芩素的量及其总积累量均显著高于一年生黄芩,黄芩苷与黄芩素的量比值以一年生者为高,黄芩素与汉黄芩素的量比值二者较相近。从表 2 和图 2、3 可见,二年生黄芩在萌发期黄芩苷的量最高,为 17.6%;黄芩素和汉黄芩素的量则在展叶期达到峰值,分别为 2.1% 和 0.6%。黄芩苷与黄芩素量的变化趋势在休眠期、展叶期、盛花期、枯黄期相反,在萌发期、始花期、果实成熟期呈相同的变化趋势;黄芩素和汉黄芩素的量除在萌发期变化趋势相反,其余生长时期二者的变化趋势相似。2 年生黄芩在不同生长时期,黄芩苷与黄芩素的量之比在 7.7%~14.5% 变化,果实成熟期比值最大,展叶期最小;黄芩素与汉黄芩素的量比值在 3.3%~5.6% 有较小的波动,在萌发期达到最大值,最小值出现在盛花期。黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素总积累量的最大值均出现在枯黄期,分别为 793.5、97.6、26.0 mg。

3 讨论

表 1 不同生长年限黄芩中黄酮类成分的量及其比值 (n=3)

Table 1 Contents and ratio of flavonoids in *S. baicalensis* in different growth years (n=3)

生长年限	生长时期	黄芩苷/%	黄芩素/%	汉黄芩素/%	黄芩苷总量/mg	黄芩素总量/mg	汉黄芩素总量/mg	黄芩苷/黄芩素	黄芩素/汉黄芩素
一年生	盛花期	14.9	0.3	0.1	74.5	1.5	0.5	49.7	3.0
二年生	盛花期	13.8	1.3	0.4	427.8	40.3	12.4	10.6	3.3

表 2 不同生长发育期黄芩中黄酮类成分的量及其比值 (n=15)

Table 2 Contents and ratio of flavonoids in *S. baicalensis* in different growth and development periods (n=15)

生长时期	黄芩苷/%	黄芩素/%	汉黄芩素/%	黄芩苷总量/mg	黄芩素总量/mg	汉黄芩素总量/mg	黄芩苷/黄芩素	黄芩素/汉黄芩素
休眠期	12.2	1.4	0.4	124.8	14.3	4.1	14.0	4.0
萌发期	17.6	1.6	0.3	245.0	22.3	4.2	13.9	5.6
展叶期	14.9	2.1	0.6	253.2	35.7	10.2	7.7	3.4
始花期	12.8	1.7	0.5	406.5	54.0	15.9	8.4	3.4
盛花期	13.3	1.4	0.5	414.3	43.6	15.6	10.0	3.3
果实成熟期	13.2	1.1	0.3	523.3	43.6	11.9	14.5	4.3
枯黄期	12.2	1.5	0.4	793.5	97.6	26.0	9.6	3.9

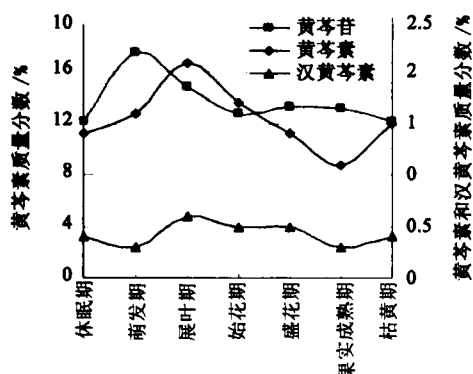


图 2 黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素量的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of contents of baicalin, baicalein, and wogonin in *S. baicalensis* in different growth periods

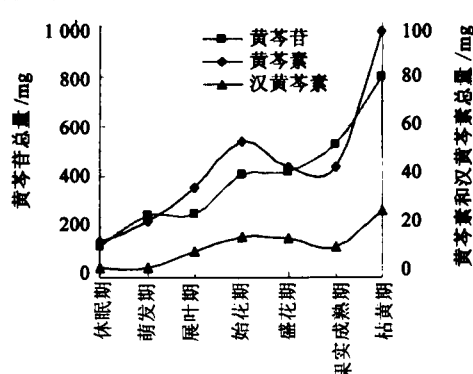


图 3 黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素总量的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of contents of baicalin, baicalein, and wogonin in *S. baicalensis* in different growth periods

3.1 崔玉菊等^[3]考察了一年、一年半、二年和二年半不同生长年限黄芩中黄芩苷的量,发现黄芩生长一年黄芩苷量达到稳定,不随时间的延长而增加,黄芩产量在一年半时增长最快,以后随着生长年限的延长,产量增加速度减慢;陈宜鸿等^[4]研究发现二年生黄芩中黄芩苷量略高于一年半和三年生黄芩,还发现黄芩生长到第三年以后会出现枯心;笔者研究结果表明二年生黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素总量显著高于一年生黄芩。由以上研究结果可以看出二年生黄芩的产量和有效成分总积累量优于一年生黄芩,二年生黄芩虽产量较二年生黄芩略有增加,但由于枯心的出现,质量也随之下降。鉴于此,故着重对二年生不同生长发育期黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量进行考察。

3.2 《中国药典》2005年版规定黄芩春、秋二季采挖。目前黄芩采收期研究多以月份作为时间尺度对黄芩中黄芩苷量的变化进行考察,但所得出的黄芩最佳采收时间各不相同,如李滨等^[1]研究发现二年生黄芩(产地:哈尔滨师范大学实验园地)黄芩苷的量在8月末果实期最高;徐纪文等^[2]的实验结果表明黄芩(产地:华南植物园)在4月和8~10月黄芩苷量均达到峰值。究其原因是不同产地的黄芩因受气候和土壤等环境因素的影响所致。考虑到中药材内在品质特性和外在物候表现均是各种环境因素综合作用的结果,二者的变化可能存在同步趋势,本研究选择黄芩生长发育期作为时间尺度,考察了黄芩

中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量和总量的动态变化,因此较选择月份作为时间尺度能够更好地揭示黄芩中黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的量和总量的变化规律。中药材采收期蕴含丰富的物候学知识,本研究结果可为今后将植物物候研究技术应用于中药材采收期研究提供一定的参考,但如何将中药材采收期研究与物候学内容相结合则有待于进一步研究。

3.3 对不同流动相体系、检测波长、提取方法和提取溶剂进行了考察,结果显示乙腈-水-甲酸流动相体系所得到色谱图基线较平稳,色谱峰数较多,且分离效果较好;检测波长在280 nm处各色谱峰的吸收强度大,灵敏度高;70%乙醇20 mL超声提取1 h,黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素均能提取较完全。

参考文献:

- [1] 李滨,都晓伟,孙慧峰,等.黄芩栽培质量的动态研究[J].中医药学报,1999(1):45.
- [2] 徐纪文,罗素芳.黄芩中黄芩苷含量的动态变化研究[J].广东药学院学报,2000,16(4):314-315.
- [3] 崔玉菊,斑福志,张洪鹏,等.黄芩生长期对黄芩苷含量及黄芩产量的影响[J].山东医药工业,1996,15(3):53.
- [4] 陈宜鸿,胡璟华.人工栽培黄芩的产地及生长期影响[J].中草药,2006,37(4):614-615.
- [5] 马翠英,戴宝成,林瑞超.黄芩中4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):83-86.
- [6] 宋双红,张媛,王喆之.HPLC测定不同产地黄芩中黄酮类化合物的含量[J].中国中药杂志,2006,31(7):598-600.
- [7] 杨娟,傅军鹏.黄芩活性成分及药效研究近况[J].实用医药杂志,2004,21(3)271-273.

HPLC法测定北豆根药材中粉防己碱和青藤碱

李可强¹,刘威²,张振秋^{2*}

(1. 辽宁省中药研究所,辽宁 沈阳 110161; 2. 辽宁中医药大学,辽宁 大连 116600)

摘要:目的 建立北豆根中粉防己碱和青藤碱的定量测定方法,为北豆根质量标准的研究提供科学依据。方法 采用高效液相色谱法测定北豆根中粉防己碱和青藤碱的量。色谱条件为 Diamonsil C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),测定粉防己碱采用流动相:甲醇-水-三乙胺(72:28:0.05),检测波长:282 nm;测定青藤碱采用流动相:乙腈-水-三乙胺(21:79:0.05),检测波长:262 nm。结果 线性良好,粉防己碱和青藤碱的平均加样回收率分别为98.8%,101.5%;RSD分别为2.9%,2.0%。结论 本方法精密度高,分离度良好,可用于测定北豆根药材中粉防己碱和青藤碱的量。

关键词:高效液相色谱法;北豆根;粉防己碱;青藤碱

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)04-0607-03

收稿日期:2007-09-12

作者简介:李可强(1967—),男,高级工程师,博士生,研究方向为中药质量研究。

E-mail: sylkq@sina.com

* 通讯作者 张振秋 Tel: 0411-87586058 E-mail: zhangzhenqiu@sina.com