

## HPLC 法同时测定陕西产不同生长年限野生和栽培黄芩中 9 种化学成分的含量

郭玲玲<sup>1</sup>, 刘毅<sup>2\*</sup>, 禄梦杰<sup>1</sup>, 白庭庭<sup>1</sup>, 付蓉<sup>1</sup>, 王红艳<sup>1</sup>, 颜永刚<sup>1\*</sup>, 张岗<sup>1</sup>, 彭亮<sup>1</sup>

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 重庆邮电大学, 四川 重庆 400065

**摘要:** **目的** 建立同时测定陕西产不同生长年限野生和栽培黄芩中野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、芹菜素、白杨素和千层纸素 A 9 种化学成分 HPLC 方法。**方法** 黄芩药材粉末经乙醇 (每次 30 min) 超声提取 2 次, 合并提取液。色谱条件采用 Ultrasil C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 μm, 5 μm), 乙腈-0.1% 甲酸水溶液作为流动相, 梯度洗脱; 体积流量 1 mL/min, 检测波长为 274 nm; 柱温 30 °C。**结果** 所测 9 种主要有效成分在测定质量浓度范围内线性关系良好, *r* 均大于 0.999 5; 精密度、重复性和稳定性良好; 平均回收率为 95.94%~99.88%, RSD 为 0.68%~1.90%。**结论** 建立的 HPLC 方法可用于同时测定黄芩中 9 种主要化学成分, 该方法准确、简便、灵敏度高、专属性好, 可为黄芩质量评价提供一定的参考。

**关键词:** 黄芩; HPLC; 野黄芩苷; 黄芩苷; 野黄芩素; 汉黄芩苷; 芹菜素; 黄芩素; 汉黄芩素; 白杨素; 千层纸素 A

**中图分类号:** R286.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)04-0935-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.04.029

## Simultaneous determination of nine components of *Scutellaria Baicalensis* in different habitats and growth years by HPLC

GUO Ling-ling<sup>1</sup>, LIU Yi<sup>2</sup>, LU Meng-jie<sup>1</sup>, BAI Ting-ting<sup>1</sup>, FU Rong<sup>1</sup>, WANG Hong-yan<sup>1</sup>, YAN Yong-gang<sup>1</sup>, ZHANG Gang<sup>1</sup>, PENG Liang<sup>1</sup>

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method for simultaneous determination of nine main chemical constituents in *Scutellaria baicalensis* (scutellarin, baicalin, scutellarin, wogonoside, apigenin, baicalein, wogonin, aspen, and melaleuca (A)). **Methods** 0.5 g powders of *S. baicalensis* was extracted two times by ethanol (each for 30 min), and the extracts were merged into 50 mL. Separation was carried out on Ultrasil C<sub>18</sub> chromatography column (250 mm × 4.6 μm, 5 μm), by using acetonitrile-0.1% formic acid water as the flow phase for gradient elution; with volume flow at 1 mL/min, detection wavelength at 274 nm and column temperature at 30 °C. **Results** The linear relation of nine main active components measured in the range of mass concentration was good with perfect precision, repeatability and stability, the *r* value of which was all more than 0.999 5. The average recovery rate was 95.94%—99.88%, RSD was 0.68%—1.90%. **Conclusion** The HPLC method established for the simultaneous determination of nine main chemical compositions in *S. baicalensis* is accurate, simple, sensitive and specific, which can provide references for the quality evaluation of *S. baicalensis*.

**Key words:** *Scutellaria baicalensis* Georgi; HPLC; scutellarin; baicalin; scutellarin; wogonoside; baicalein; wogonin; apigenin; aspen; melaleuca A

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 性味苦、寒; 归肺、胆、脾、大肠、小肠经, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安

胎的功效<sup>[1]</sup>。黄酮类成分主要有黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等 40 余种<sup>[2]</sup>, 现代研究表明其具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、凝血、抗

收稿日期: 2017-09-27

基金项目: 陕西省科技厅项目: 中药黄芩种质选育、种苗繁育与种植关键技术研究 (2016KTTSSF01-01-01)

作者简介: 郭玲玲 (1989—), 女, 硕士, 主要方向为中药的质量标准。E-mail: 475698593@qq.com

\*通信作者 刘毅 (1963—), 男, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药品质与资源鉴定研究工作。E-mail: liuyi1@cqupt.edu.cn

颜永刚 (1978—), 男, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药品种、品质与资源开发研究工作。E-mail: yunfeng828@163.com

炎等药理作用<sup>[3-7]</sup>。据贾蓄等<sup>[8]</sup>的统计,在《中药部颁标准》中有 477 个成药含有黄芩,包含主治疾病 153 种,因此对黄芩的研究一直广受关注。黄芩主产于黑龙江、内蒙古、河北、河南、甘肃、陕西、山西、山东、四川等地。陕西澄城县是古代陕西黄芩的产地之一<sup>[9]</sup>,黄芩药材以条粗、质坚实、色深黄的特征而闻名省内外,现已成为陕西中药材种植面积较大的主要品种之一。但目前黄芩药材种植以粗放经营管理为主,缺乏科学的理论指导。鉴于此,课题组于陕西省不同地区自采 42 批不同生长年限的野生和栽培黄芩样品,采用 HPLC 法同时测定其中的野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、汉黄芩苷、白杨素、千层纸素 A 9 种化学成分的含量。以便为黄芩药材质量评价进一步提供较全面的实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器和试剂

Waters-e2695 型高效液相色谱仪, Waters2695 分离单元, 2489 紫外可见光检测器, 2424 蒸发光散射检测器, Empower 色谱工作站; KQ-200KED 型超声波清洗机(江苏昆山市超声仪器有限公司), SA124S 电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公

司); DHG-9140A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

1.2 试剂

对照品黄芩苷(批号 110715-201611, 质量分数大于 98%) 购自中国食品药品检定研究院; 汉黄芩苷(批号 10183-201702)、野黄芩素(批号 10153-201610)、黄芩素(批号 10217-201611)、汉黄芩素(批号 10184-201702)、白杨素(批号 10150-201508)、千层纸素 A(批号 110796-201615)、野黄芩苷(批号 10513-201610)、芹菜素(批号 10143-201607), 以上对照品均购于天津贝塔生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%; 色谱甲醇、色谱乙腈(批号 20170403) 上海泰坦科技有限公司; 娃哈哈纯净水(批号 20170503) 杭州娃哈哈集团有限公司, 其他试剂均为分析纯。

42 批黄芩药材样品, 分别采自渭南市澄城县雷洼乡 28 批(1~28 号), 咸阳市淳化县车坞镇黄芩种植基地 6 批(29~34 号), 陕西中医药大学药用植物园 8 批(35~42 号), 以上样品均经陕西中医药大学胡本祥教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的根。样品具体信息见表 1。

表 1 42 批样品采集信息

Table 1 Collected information of 42 samples

编号	产地	生长年限/年	生长方式	编号	产地	生长年限/年	生长方式
1	渭南市澄城县雷洼乡刘家河村	3	栽培	22	渭南市澄城县雷洼乡刘家河村	1	栽培
2	渭南市澄城县雷洼乡庙洼村	3	栽培	23	渭南市澄城县雷洼乡城关镇庄头村	1	栽培
3	渭南市澄城县雷洼乡庙洼村	3	栽培	24	渭南市澄城县雷洼乡城关镇南庄村	1	野生
4	渭南市澄城县雷洼乡袁家坪	3	野生	25	渭南市澄城县雷洼乡城关镇北里庄村	1	栽培
5	渭南市澄城县雷洼乡袁家坪	3	栽培	26	渭南市澄城县雷洼乡雷洼村	1	栽培
6	渭南市澄城县雷洼乡蒙家村	3	栽培	27	渭南市澄城县雷洼乡韩家湾村	1	野生
7	渭南市澄城县雷洼乡堡城村	3	栽培	28	渭南市澄城县雷洼乡韩家湾村	1	野生
8	渭南市澄城县雷洼乡大赵家河村	3	栽培	29	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
9	渭南市澄城县雷洼乡大赵家河村	3	野生	30	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
10	渭南市澄城县雷洼乡北门村	3	栽培	31	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
11	渭南市澄城县雷洼乡北门村	2	栽培	32	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
12	渭南市澄城县雷洼乡北门村	2	栽培	33	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
13	渭南市澄城县雷洼乡马家河西村	2	野生	34	咸阳市淳化县车坞镇淳化黄芩种植基地	2	栽培
14	渭南市澄城县雷洼乡马家河西村	2	栽培	35	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
15	渭南市澄城县雷洼乡大赵家河村	2	栽培	36	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
16	渭南市澄城县雷洼乡堡城村	2	栽培	37	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
17	渭南市澄城县雷洼乡大赵家河村	2	栽培	38	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
18	渭南市澄城县雷洼乡小赵家河村	2	栽培	39	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
19	渭南市澄城县雷洼乡小赵家河村	2	栽培	40	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
20	渭南市澄城县雷洼乡薄地庄村	2	栽培	41	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培
21	渭南市澄城县雷洼乡白家村	1	栽培	42	陕西中医药大学药用植物园	2	栽培

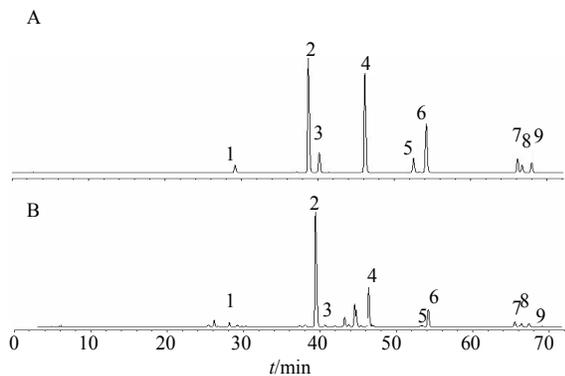
2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Ultrasil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 μm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-0.1%甲酸水溶液(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 10%~15% A; 10~20 min, 15%~20% A; 20~30 min, 20%~25% A; 30~60 min, 25%~45% A; 60~70 min, 45%~60% A; 70~75 min, 60%~10% A; 检测波长 274 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL。在该色谱条件下, 理论塔板数以黄芩苷计不低于 35 000, 分离度>1.5。混合对照品溶液和供试品溶液色谱图见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液的制备 精密称取对照品野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、芹菜素、黄



1-野黄芩苷 2-黄芩苷 3-野黄芩素 4-汉黄芩苷 5-芹菜素  
6-黄芩素 7-汉黄芩素 8-白杨素 9-千层纸素 A  
1-scutellarin 2-baicalin 3-scutellarin 4-wogonoside 5-apigenin  
6-baicalin 7-wogonin 8-aspen 9-melaleuca A

图 1 混合对照品 (A) 及样品 (B) HPLC 图

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and samples (B)

芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 适量, 加甲醇分别制成质量浓度为 0.531、0.532、0.495、0.476、0.550、0.497、0.521、0.532、0.531 mg/mL 的对照品储备液。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 分别精密量取 9 种待测成分的对照品储备液适量, 混合后水浴挥干, 置于 5 mL 的量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 摇匀, 得野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 质量浓度分别 77.38、733.34、12.376、287.92、9.94、182.08、44.81、9.15、52.04 μg/mL 的混合对照品溶液。4 °C 保存备用。

2.2.3 供试品溶液制备 精密称取黄芩药材粉末约 0.5 g, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 加 70%乙醇 20 mL, 超声处理 (功率 500 W, 频率 80 kHz) 30 min, 放至室温, 滤过, 收集滤液, 滤渣再加入 70%乙醇 20 mL, 同等条件下超声 30 min, 滤过, 合并 2 次滤液于 50 mL 量瓶中, 加 70%乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取滤液过 0.45 μm 微孔滤膜, 作为供试品溶液, 待测。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取“2.2.2”项下的混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样 2、4、8、12、16、20 μL 测定并记录峰面积值, 分别以对照品溶液的进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 9 种待测成分的线性回归方程、线性范围和相关系数 (r) 见表 2。

2.3.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 按“2.1”项下的色谱条件连续进样 6 次, 每次进样 5 μL, 记录野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层

表 2 9 种成分回归方程及线性范围

Table 2 Regression equation and linear range of nine constituents

成分	回归方程	r	线性范围/μg
野黄芩苷	$Y=1\ 981\ 111.47 X-17\ 784.38$	1.000 0	0.15~1.55
黄芩苷	$Y=2\ 847\ 815.79 X-495\ 786.42$	0.999 5	1.47~14.47
野黄芩素	$Y=3\ 699\ 461.18 X-24\ 135.16$	0.999 6	0.02~0.25
汉黄芩苷	$Y=3\ 454\ 151.88 X-55\ 906.18$	1.000 0	0.58~5.76
芹菜素	$Y=1\ 434\ 923.71 X-5\ 059.82$	0.999 7	0.02~1.99
黄芩素	$Y=6\ 869\ 837.01 X-270\ 508.69$	0.999 9	0.36~3.64
汉黄芩素	$Y=7\ 021\ 765.55 X-42\ 622.02$	0.999 9	0.09~0.90
白杨素	$Y=6\ 453\ 562.18 X-13\ 061.15$	0.999 7	0.02~0.18
千层纸素 A	$Y=5\ 701\ 907.46 X-48\ 747.56$	0.999 9	0.10~1.04

纸素 A、芹菜素峰面积积分值, 计算 RSD 分别为 1.18%、0.71%、1.63%、0.55%、0.23%、0.47%、0.31%、0.37%、0.49%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.3 稳定性试验** 精密吸取 27 号样品的供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、12、16、24 h 进样 10  $\mu$ L 测定, 记录野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A、芹菜素峰面积积分值, 计算 RSD 分别为 2.06%、1.44%、0.97%、1.13%、1.26%、1.12%、1.32%、1.23%、0.89%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.4 重复性试验** 取 27 号黄芩药材粉末适量, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别进样, 测定峰面积, 计算野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A、白杨素、芹菜素平均质量分数的 RSD, 分别为 2.16%、1.68%、1.08%、1.35%、1.76%、2.15%、0.87%、2.01%、2.32%, 结果表明该方法重复性较好。

**2.3.5 加样回收率试验** 取 27 号黄芩样品粉末(过

6 号筛)各约 0.25 g 9 份, 精密称定, 分别精密加入低、中、高 3 个质量浓度的对照品溶液(分别相当于原黄芩样品中质量分数的 80%、100%、120%) 每一质量浓度取 3 份, 按“2.2.3”项下的方法制备, 根据测得量和加入量计算各成分的加样回收率和 RSD, 结果野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素及千层纸素 A 的平均加样回收率, 分别为 96.93%、97.81%、97.86%、98.53%、95.94%、99.12%、98.96%、99.64%、99.88%, RSD 分别为 0.87%、0.89%、1.90%、1.24%、0.68%、1.24%、1.25%、0.81%、0.93%。

**2.4 样品测定**

取 42 批待测黄芩样品各 20 g, 粉碎, 过 80 目筛, 精密称取各样品约 0.5 g, 每个样品平行称 2 份, 按“2.2.3”项下的方法制备供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进行 9 种化学成分的定量分析, 测定各成分峰面积, 代入回归方程计算样品中各成分的质量分数。结果见表 3。

从测定结果分析, 采于澄城县的 28 批黄芩药

表 3 42 批样品中 9 种成分的测定结果 (n = 3)

Table 3 Determination of nine constituents content in 42 batches of samples (n = 3)

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )								
	野黄芩苷	黄芩苷	野黄芩素	汉黄芩苷	芹菜素	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A
1	1.278 0	129.252 1	0.165 9	29.260 4	0.638 2	6.590 7	1.547 0	0.268 2	0.664 5
2	1.631 8	132.843 7	0.179 2	23.255 0	0.559 0	8.500 9	1.015 3	1.002 9	0.673 1
3	1.191 2	155.445 3	0.194 0	25.502 4	0.305 0	5.326 0	1.088 8	1.131 0	0.681 1
4	1.190 8	121.012 5	0.162 3	27.659 0	0.254 3	1.303 0	3.311 3	0.871 7	1.825 1
5	2.049 1	115.620 0	1.276 2	25.770 7	0.310 4	0.569 3	1.195 3	0.436 8	1.037 2
6	1.345 6	122.889 0	0.148 5	21.816 0	0.310 5	1.054 5	1.276 6	0.423 2	0.526 4
7	0.958 2	100.314 0	0.209 4	25.384 3	0.309 9	0.647 6	4.583 3	0.433 6	1.937 9
8	1.037 9	124.842 0	0.182 2	25.183 9	0.330 7	0.810 0	1.074 6	0.368 3	0.855 3
9	1.089 7	128.069 8	0.197 6	33.338 1	0.481 5	1.670 1	0.955 6	1.184 2	0.667 4
10	1.098 3	110.596 3	0.173 5	21.945 5	0.281 9	1.044 1	1.114 6	0.135 9	0.924 5
11	0.780 8	104.428 7	0.184 8	19.404 9	0.549 6	1.133 6	1.414 0	1.390 0	1.055 4
12	1.006 8	103.401 3	0.291 5	30.162 9	0.725 2	1.702 1	1.132 3	1.768 7	0.965 7
13	1.146 3	138.574 0	0.157 8	24.695 1	1.542 2	5.805 0	2.710 9	0.338 9	2.373 6
14	0.925 5	87.224 6	0.301 7	17.543 3	0.774 6	3.270 0	2.763 8	0.446 7	1.941 1
15	0.756 1	111.818 4	0.176 1	21.680 7	0.603 8	2.555 0	2.741 8	0.453 7	2.363 8
16	1.755 0	106.064 4	0.179 9	22.504 3	0.738 4	3.646 0	2.512 5	0.373 1	1.665 7
17	1.396 4	117.676 0	0.179 9	24.144 1	1.059 9	2.581 6	2.047 7	0.319 7	1.795 1

续表 3

样品	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )								
	野黄芩苷	黄芩苷	野黄芩素	汉黄芩苷	芹菜素	黄芩素	汉黄芩素	白杨素	千层纸素 A
18	1.241 6	104.570 7	0.065 2	22.276 4	0.643 1	3.722 0	2.193 8	0.642 0	1.566 9
19	0.975 2	107.761 8	0.248 0	20.343 2	0.455 6	2.670 1	2.274 4	2.256 4	1.844 7
20	0.396 7	134.979 3	0.242 1	29.217 7	0.662 8	3.658 0	2.258 3	0.155 2	1.547 7
21	0.444 1	120.055 1	0.168 0	27.370 3	0.652 9	4.542 9	2.339 7	1.777 3	1.569 9
22	0.318 1	111.228 6	0.164 8	22.810 3	0.184 2	5.095 0	2.876 5	1.238 7	0.785 0
23	0.829 4	89.964 7	0.270 0	15.416 7	0.787 0	4.066 9	3.212 1	0.324 3	1.464 1
24	0.770 2	102.966 5	0.262 1	23.217 2	0.476 9	7.914 0	3.341 4	0.122 4	1.621 8
25	0.650 8	80.711 6	0.266 5	19.863 9	0.490 1	1.562 0	3.615 9	0.190 6	1.878 8
26	0.704 7	112.495 3	0.335 7	28.169 5	0.426 8	1.346 7	2.542 1	0.133 6	1.085 1
27	0.823 7	117.141 6	0.238 4	25.007 1	0.453 5	8.694 0	3.722 5	0.333 9	1.863 6
28	1.283 8	135.116 1	0.287 6	29.837 5	0.427 5	7.045 9	3.226 2	0.168 3	1.788 2
29	0.644 7	112.069 4	0.239 7	23.842 3	0.152 3	1.394 0	0.086 6	0.343 3	0.203 2
30	0.853 9	104.252 8	0.233 2	21.557 3	0.091 9	2.994 0	0.095 0	0.138 4	0.172 0
31	1.024 4	97.887 9	0.386 0	20.938 2	0.124 6	2.749 8	0.092 9	0.094 7	0.152 2
32	0.865 9	111.670 0	1.265 1	25.118 1	0.549 9	3.284 8	0.201 2	0.835 1	0.195 3
33	0.430 3	113.663 6	0.936 2	19.585 3	0.180 5	2.992 0	0.201 2	0.835 1	0.195 3
34	1.961 2	122.026 0	1.606 7	18.622 0	0.217 4	1.530 4	0.087 4	0.878 2	0.242 8
35	1.983 0	153.743 8	0.168 0	31.615 3	0.173 8	3.843 4	1.708 0	0.241 0	0.925 9
36	2.021 3	161.269 3	0.095 2	43.730 8	0.238 3	3.209 6	1.626 0	0.185 2	0.907 0
37	1.561 0	122.207 0	0.211 2	29.116 6	0.453 3	3.284 8	1.486 3	0.238 1	0.734 8
38	1.631 6	97.331 5	0.291 1	27.651 0	0.227 5	3.719 1	2.359 7	0.301 8	1.643 3
39	2.102 6	139.914 2	0.261 8	31.782 6	0.692 9	3.631 6	2.005 5	0.162 1	0.891 8
40	2.780 3	129.330 4	0.138 8	30.301 8	0.219 7	3.397 5	3.577 0	0.423 5	1.826 7
41	1.273 8	136.429 1	1.472 3	1.291 9	0.515 3	2.252 5	0.488 5	1.821 0	0.415 9
42	0.830 7	140.172 0	1.319 4	1.253 5	0.263 6	3.177 7	1.575 2	1.230 6	0.695 4

材样品中,不同生长年限(1、2、3年生)中的9种化学成分平均含量比较:黄芩苷、野黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷的含量3年生>2年生>1年生,随着年限的延长含量呈上升趋势;芹菜素、白杨素、千层纸素A的含量2年生>3年生>1年生,2年生的含量达到最高值;其中黄芩素和汉黄芩素的含量1年生>2年生>3年生,随着年限的延长呈含量下降趋势。这与黄芩苷根部的含量变化3年生>2年生>1年生规律基本是一致的。同一生长年限不同生长方式(栽培和野生)中的9种化学成分平均含量比较:1年生的黄芩苷、野黄芩苷、汉黄芩苷、汉黄芩素、白杨素的含量野生>栽培,野黄芩素、芹菜素、黄芩素、千层纸素A的含量栽培>野生;2年生和3年生的,除白杨素和野黄芩素外,其他的含量野生>栽培。

来源于同为2年生陕西不同产地[渭南市澄城县雷洼乡(11~20号)10批,咸阳市淳化县车坞镇(29~34号)6批,陕西中医药大学药用植物园(35~42号)8批]的24批黄芩药材样品中,9种化学成分平均含量比较:其黄芩苷、野黄芩苷、汉黄芩苷的含量药用植物园>澄城县>淳化县;野黄芩素的含量淳化县>药用植物园>澄城县>;芹菜素、白杨素、千层纸素A的含量澄城县>药用植物园>淳化县;黄芩素和汉黄芩素的含量澄城县>淳化县>药用植物园。

### 3 讨论

#### 3.1 测定成分的选择

现代研究表明,黄芩主要含有黄酮类、酚酸类、苯乙醇、氨基酸、甾醇、精油、微量元素等,其中黄酮类化合物生物活性显著<sup>[10]</sup>,本实验通过

测定黄芩中的黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素、野黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、芹菜素、白杨素、千层纸素 A 9 种成分的含量<sup>[11-13]</sup>，为进一步评价黄芩的质量提供了客观指标。

### 3.2 色谱条件的选择

本实验分别考察了流动相甲醇-0.1%乙酸、甲醇-0.1%甲酸、乙腈-0.1%乙酸（内含 0.01%四氢呋喃）、乙腈-0.1%甲酸（内含 0.01%四氢呋喃）、乙腈-0.1%甲酸、乙腈-0.1%磷酸等色谱条件，乙腈-0.1%甲酸梯度洗脱时，色谱峰分离度较好，最终选择乙腈~0.1%甲酸水溶液为流动相进行黄酮化合物成分的含量测定。采用 2998PDA 检测器于 200~400 nm 波长进行 UV 全波长扫描，野黄芩苷、黄芩苷、野黄芩素、汉黄芩苷、芹菜素、黄芩素、汉黄芩素、白杨素、千层纸素 A 的最大检测波长分别为 280、280、285、274、274、274、270、270 nm，同时结合文献报道综合分析<sup>[14-15]</sup>，各检测成分在 274 nm 波长处的有较好吸收，故选 274 nm 为检测波长。

### 3.3 测定结果分析

本课题组建立同时测定中药黄芩中 9 种化学成分 HPLC 方法，该方法简便、灵敏度高、专属性好，客观准确地反映了不同产地、不同生长年限、不同生长方式黄芩中化学成分含量的差异性，同时揭示了黄芩种植时间 $\geq 2$  年的科学性。部分样品中黄芩苷的含量超过《中国药典》2015 年版规定的 6 个百分点左右，进而证明陕西为黄芩主产地的合理性。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 金敏. 黄芩中黄酮类化学成分研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 9(9): 55-56.
- [3] 郑勇凤, 王佳婧, 傅超美, 等. 黄芩的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 141-147.
- [4] 辛文好, 宋俊科, 何国荣, 等. 黄芩素和黄芩苷的药理作用及机制研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2013, 22(6): 647-653.
- [5] 何小燕, 郝春芝, 李逐波. 黄芩素调节心肌缺血/缺氧损伤相关信号通路的研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(11): 1685-1691.
- [6] 姜茗宸, 徐秋月. 黄芩素抗病毒作用研究 [J]. 杏林中医药, 2016, 36(7): 753-756.
- [7] 赵田禾, 张莹莹, 吴洋洋, 等. 汉黄芩素及其衍生物的抗肿瘤作用及其分子机制研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2016, 25(7): 760-766.
- [8] 贾蕾, 申丹, 唐仕欢, 等. 含黄芩中成药用药规律分析 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(4): 634-639.
- [9] 冯学峰, 胡世林, 郭宝林, 等. 黄芩种群遗传多样性研究 [J]. 世界科学技术, 2002, 4(4): 38-43.
- [10] Li HB, Jiang Y, Chen F. Separation methods used for *Scutellaria baicalensis* active components [J]. *Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2004, 812: 277-290.
- [11] 侯学智, 张振秋, 尤春雪, 等. HPLC 法同时测定黄芩中 6 种黄酮类成分的含量 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(11): 1010-1014.
- [12] 党珍, 张艳萍, 王西芳. 子洲黄芩中黄酮成分的含量测定及指纹图谱研究 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(2): 200-204.
- [13] 刘岩, 李连泰, 计小清, 等. 土壤中无机元素对不同产地黄芩中无机元素和黄芩苷量的影响 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1225-1228.
- [14] 刘金欣, 孟繁蕴, 张胜海, 等. UPLC 同时测定黄芩中黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素、千层纸素 A [J]. 中草药, 2014, 45(10): 1477-1480.
- [15] 阚红玉, 宋殿荣, 王跃飞, 等. HPLC 法同时测定黄芩中 5 种黄酮类成分的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(11): 1016-1018.