

基于 HPLC 指纹图谱和多指标定量的黄芩趁鲜加工研究

张雪梅¹, 张刘伟¹, 何凯乐¹, 刘景玲², 许宏亮³, 梁宗锁^{2,4*}

1. 西北农林科技大学化学与药学院, 陕西 杨凌 712100

2. 西北农林科技大学生命学院, 陕西 杨凌 712100

3. 天津天士力现代中药资源有限公司, 天津 300400

4. 浙江理工大学生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310018

摘要: 目的 研究黄芩采用不同干燥方法进行趁鲜加工与传统加工后, 黄芩质量的变化规律, 结合 HPLC 指纹图谱, 确定最佳加工方法。方法 对阴干、自然干燥、60 ℃烘干的不同含水率的鲜黄芩进行切制后 60 ℃烘干, 比较黄芩外观性状、醇溶性浸出物, HPLC 测定不同加工下黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的含量, 并进行指纹图谱评价。结果 建立了 16 批不同加工处理下黄芩的指纹图谱, 标定 22 个共有峰, 指认了 4 个色谱峰, 分别为 11 号色谱峰黄芩苷、16 号色谱峰汉黄芩苷、19 号色谱峰黄芩素、21 号色谱峰汉黄芩素。计算出各批次黄芩之间的相似度, 结合聚类分析对指纹图谱数据进行分类。并确定最佳加工方法为自然干燥至含水率为 20.45%~35.22%时切制 1~2 mm 薄片后 60 ℃烘干。其黄芩醇溶性浸出物在 46.76%~49.72%, 黄芩饮片断面呈黄色, 与传统加工颜色一致, 黄芩苷在 18.986 4%~20.112 7%, 比传统加工含量高。结论 不同加工方法黄芩的质量存在差异, 趁鲜加工可代替传统加工方法, 用于大规模生产, 为质量标准提升提供实验依据。

关键词: 黄芩; 趁鲜加工; 传统加工; 外观性状; HPLC; 指纹图谱; 阴干; 烘干; 黄芩苷; 汉黄芩苷; 黄芩素; 汉黄芩素
中图分类号: R283.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)15-4552-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.013

Study on fresh processing of *Scutellaria baicalensis* based on HPLC fingerprint and multi-index quantification

ZHANG Xue-mei¹, ZHANG Liu-wei¹, HE Kai-le¹, LIU Jing-ling², XU Hong-liang³, LIANG Zong-suo^{2,4}

1. College of Chemistry and Pharmacy, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

2. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

3. Tianjin Tasly Modern Chinese Medicine Resources Co., Ltd., Tianjin 300400, China

4. College of Life Science and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China

Abstract: Objective To study the quality changes of *Scutellaria baicalensis* using different drying methods for fresh processing and traditional processing, and to determine the best processing method by combining with HPLC fingerprint. **Methods** *S. baicalensis* was dried in the shade, naturally dried, and dried at 60 ℃. When dried to different moisture content, it was cut and dried at 60 ℃. The appearance and alcohol soluble extract of *S. baicalensis* were compared. The contents of baicalin, wogonoside, baicalein, and wogonin from *S. baicalensis* were determined by HPLC and evaluated by fingerprint. **Results** The fingerprints of 16 batches of *S. baicalensis* with different processing were established, which contained the 22 common peaks, and four chromatographic peaks were identified, namely: chromatographic peak 11-baicalin, chromatographic peak 16-wogonoside, chromatographic peak 19-baicalein, and chromatographic peak 21-wogonin. The similarity of each batch of *S. baicalensis* was calculated, and the fingerprint data were classified by cluster analysis. The optimum processing method was determined as follows: To dry naturally until the moisture content was 20.45%—35.22%, cut into 1—2 mm slices, and then dried at 60 ℃. The alcohol soluble extract of *S. baicalensis* was 46.76%—49.72%. The cross section of *S. baicalensis* was yellow, which was consistent with the

收稿日期: 2021-04-04

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2017TSCL-SF-11-2); 陕西省重点研发计划项目 (2020ZDLSF05-02)

作者简介: 张雪梅 (1994—), 女, 山西临汾人, 硕士研究生, 研究方向为中药材质量及加工。E-mail: 577589905@qq.com

*通信作者: 梁宗锁, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物次生代谢与调控研究。E-mail: liangzs@ms.iswc.ac.cn

traditional processing color. The content of baicalin was 18.986 4%—20.112 7%, which was higher than that of traditional processing. **Conclusion** There are differences in the quality of different processing of *S. baicalensis*. The fresh processing can replace the traditional processing method and be used in mass production, which provides the basis for establishing quality standard.

Key words: *Scutellaria baicalensis* Georgi; fresh processing; traditional processing; appearance traits; HPLC; fingerprint; shaded drying; oven drying; baicalin; wogonoside; baicalein; wogonin

黄芩是唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 是我国常用的大宗药材之一, 具有泻火解毒、清热燥湿、止血安胎等功效^[1]。黄芩含有多种化学成分, 近年来, 已从黄芩中发现了多种化学成分, 包括黄酮类、酚酸类、苯乙醇、氨基酸、甾醇、精油、微量元素等^[2]。黄酮类是黄芩的主要有效成分, 包括黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 等, 具有抗炎、抗肿瘤、抗菌、降血压等多种现代药理活性^[3-6]。其中黄芩苷(黄芩素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷)是黄芩中黄酮类成分的代表, 是评价黄芩药材质量的主要依据^[7-9]。近年来, 由于人工采挖较为频繁, 黄芩资源短缺, 人工种植黄芩也越来越多, 栽培黄芩已成为黄芩药材的主要来源^[10-11]。

中药材采收后, 除鲜用外, 一般都必须进行初步处理与干燥。中药材产地干燥初加工是中药材初加工或产地加工过程中不可缺少的环节^[12]。采收后, 含水量较高, 若不及时加工处理, 很容易霉烂变质, 严重影响药材质量、临床疗效以及药农的经济效益。而趁鲜加工作为新型加工方法, 打破了传统加工的限制, 不仅节省工时, 保障药材质量, 而且运输方便, 节约成本, 已成为药材加工的主流方向。目前, 已有多种药材可进行产地加工^[13-17]。而基于黄芩鲜药材产地加工方法的研究, 只有部分报道^[18-20], 大都以比较研究阴干、晒干、烘干等不同干燥方法对黄芩苷等指标成分的影响, 尚未形成完整的鲜切加工技术体系和质量控制体系。因此, 本实验通过外观性状、浸出物含量、有效成分含量对黄芩进行质量评价, 结合指纹图谱对趁鲜加工进行研究, 探讨黄芩趁鲜加工代替传统加工的可行性, 寻找黄芩最佳加工工艺, 旨在为黄芩产地加工以及质量标准制定提供科学依据。

1 仪器与试剂

Waters1525 二元高效液相色谱仪、Waters2996 二极管阵列检测器、Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、Empower 2 色谱分析软件, 美国 Waters 公司; 优普超纯水机, 上海优普科技公司; BSA224S-CW 型万分之一天平, 赛多利斯

科学仪器北京有限公司; Precisa 225SM-DR 型十万分之一天平, 上海精科天美科学仪器有限公司; XMTD-8222 型电热恒温水浴锅、DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; BJ-150 型多功能粉碎机, 德清拜杰电器有限公司; Eppendorf 5430R 型高速冷冻离心机, 北京世贤远东科学仪器有限公司; SB25-12 DTD 型超声波清洗机, 功率 600 W, 频率 40 kHz, 宁波新芝生物科技股份有限公司。

对照品黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素, 批号分别为 P20A9F59353、R27M10F89336、C07M10Y87479、T11J11R108209, 上海源叶生物公司; 甲醇, 色谱纯, 德国 Merck 公司; 磷酸, 色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 超纯水, 自制; 甲醇、乙醇, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司。黄芩鲜药材于 2020 年 3 月采挖于陕西省铜川市宜君县黄芩基地, 经浙江理工大学梁宗锁教授鉴定为唇形科黄芩属植物 5 年生黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。

2 方法与结果

2.1 黄芩加工方法

2.1.1 趁鲜加工 将采挖后的新鲜黄芩根条除去泥土及杂质后, 按照表 1 加工处理后, 切制 1~2 mm 薄片, 60 $^{\circ}$ C 烘干。共 13 组, 每组重复 3 次, 编号 S1~S13。

2.1.2 传统加工 将采挖后的新鲜黄芩根条除去泥土及杂质后, 按照表 1 加工处理, 使至完全干燥, 湿热软化后切制 1~2 mm 薄片, 60 $^{\circ}$ C 烘干。共 3 组, 每组重复 3 次, 编号 S14~S16。

2.2 不同加工方法对黄芩含水率及外观性状影响

水分测定方法参考《中国药典》2020 年版四部 0832 水分测定法中的第二法烘干法^[21]。结果见表 1 和图 1。所有批次的黄芩干燥后的含水率在 4.13%~5.51%。阴干加工处理含水率在 27.63%~42.33%时切制, 干燥后其切面与传统阴干较接近, 没有发绿现象, 其余阴干批次饮片均发绿。自然干燥加工处理含水率在 20.45%~43.12%时切制, 干燥后其切面与传统自然干燥较接近, 无发绿现象。60 $^{\circ}$ C 烘干加

表 1 切制前不同加工处理黄芩药材基本信息及不同加工方法黄芩药材性状比较

Table 1 Basic information of different processing of *S. baicalensis* before cutting and comparison of properties of *S. baicalensis* with different processing methods

编号	加工方法		放置 时间/d	含水率/%		药材性状
				切制前	干燥后	
S1	趁鲜加工	趁鲜切制	0	63.66	5.10	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄绿色
S2	趁鲜加工	阴干	4	52.82	5.22	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄绿色
S3			7	42.33	5.22	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S4			10	33.91	4.80	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S5			13	27.63	4.39	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S6	趁鲜加工	自然干燥	4	43.12	5.03	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S7			6	35.22	4.60	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S8			9	25.66	4.27	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S9			11	20.45	4.19	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S10	趁鲜加工	60℃烘干	0.5	57.04	5.32	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄绿色
S11			1	49.81	4.73	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面褐绿色
S12			2	25.18	4.61	呈类圆形薄片，易切制，纹理模糊，干燥后切面褐绿色
S13			2.33	19.22	4.15	呈类圆形薄片，易碎成渣，纹理模糊，干燥后切面褐绿色
S14	传统加工	阴干	45	36.42	5.51	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S15		自然干燥	35	29.93	5.30	呈类圆形薄片，易切制，干燥后切面黄色
S16		60℃烘干	5	20.29	4.13	呈类圆形薄片，易切制，纹理模糊，干燥后切面褐绿色

工处理无论趁鲜加工还是传统加工饮片切面严重发绿，甚至呈现褐绿色。

2.3 浸出物测定

醇溶性浸出物参考《中国药典》2020 年版四部 2201 浸出物测定法中的热浸法，以稀乙醇代替水为溶剂^[21]。结果见表 2。所有批次加工处理后的黄芩饮片浸出物含量均达标，黄芩醇溶性浸出物在 44.16%~52.05%，S3 最大，S1 最小。

2.4 指纹图谱研究

2.4.1 色谱条件 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液，体积流量 0.8 mL/min，柱温 30℃，进样量 10 μL，检测波长 277 nm，梯度洗脱：0~10 min，30%~40%甲醇；10~20 min，40%~50%甲醇；20~30 min，50%甲醇；30~40 min，50%~60%甲醇；40~50 min，60%~70%甲醇；50~60 min，70%~30%甲醇。

2.4.2 对照品溶液制备 精密称取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素各对照品适量，加甲醇制成质量浓度分别为 2 871.80、1 000.00、657.50、100.00 μg/mL 的混合对照品溶液，于 4℃冰箱中避光保存备用。

2.4.3 供试品溶液制备 精密称取黄芩中粉 0.2 g，于具塞锥形瓶中，精密加入 70%乙醇溶液 25 mL，精密称定质量，超声提取(功率 600 W，频率 40 kHz) 40 min，放冷至室温，补足减失的质量，摇匀，滤过，滤液过 0.22 μm 滤膜，即得供试品溶液。

2.4.4 重复性试验 取同一批黄芩粉末(S5) 6 份，按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.4.1”项下色谱条件进行测定，记录色谱图。结果主要共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.61%~0.74%，主要共有峰的相对峰面积 RSD 在 1.67%~2.21%，表明该方法重复性良好。

2.4.5 精密性试验 取同一份黄芩供试品溶液(S5)，按“2.4.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录色谱图。结果主要共有峰的相对保留时间的 RSD 在 0.44%~1.77%，主要共有峰的相对峰面积 RSD 在 0.45%~1.44%，表明仪器精密性良好。

2.4.6 稳定性试验 取同一份黄芩供试品溶液(S5)，按“2.4.1”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样分析，记录色谱图。结果主要共有峰的相对保留时间的 RSD≤1.16%，主要共有峰的相对峰面积 RSD 在 0.45%~2.34%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。



图 1 不同加工处理黄芩外观性状差异

Fig. 1 Differences in appearance characteristics of different processing *S. baicalensis*

表 2 切制前不同加工处理下黄芩的浸出物 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 *S. baicalensis* extract content of different processing before cutting ($\bar{x} \pm s, n=3$)

编号	醇溶性浸出物/%	RSD/%	编号	醇溶性浸出物/%	RSD/%
S1	44.16±0.72 ^{*#&}	1.63	S9	48.23±0.28 [#]	0.58
S2	49.35±0.26 [*]	0.54	S10	46.92±0.16 ^{&}	0.34
S3	52.05±0.62 [*]	1.20	S11	48.98±0.76	1.55
S4	46.82±0.16 [*]	0.34	S12	47.14±1.03 ^{&}	2.18
S5	44.50±0.08 [*]	0.19	S13	47.25±1.35 ^{&}	2.86
S6	48.58±0.05 [#]	0.11	S14	48.18±0.50	1.03
S7	49.72±0.12	0.24	S15	50.17±0.72	1.44
S8	46.76±0.57 [#]	1.21	S16	49.53±0.81	1.64

与 S14 比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 S15 比较: [#] $P < 0.05$; 与 S16 比较: [&] $P < 0.05$ (同一种干燥方式的趁鲜加工与传统加工相比较), 表 6 同

^{*} $P < 0.05$ vs S14; [#] $P < 0.05$ vs S15; [&] $P < 0.05$ vs S16 (compared with traditional processing in the same drying method), same as table 6

2.4.7 不同加工处理的黄芩指纹图谱建立及相似度评价 将 16 批黄芩供试品 HPLC 图谱数据导入“中

药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”, 设定 S1 为参照图谱, 采用中位数法, 时间窗宽度为 0.1, 进行多点校正, 进行匹配, 生成对照图谱 (R), 结果见图 2。共标定 22 个共有峰 (占总峰面积 90% 以上), 经过加入对照品, 比对保留时间, 共指认了 4 个色谱峰, 分别为 11 号色谱峰黄芩苷, 16 号色谱峰汉黄芩苷, 19 号色谱峰黄芩素, 21 号色谱峰汉黄芩素, 结果见图 3。以 16 号共有峰为参照峰, 各共有峰相对保留时间 RSD 在 0.066%~0.770%, 结果见表 3。而共有峰的相对峰面积 RSD 均远大于 5% (表 4)。这表明不同加工处理下黄芩的化学成分组成基本一致, 但同一种化学成分的含量差异很大。16 批样品相对于对照图谱的相似性分析见表 5。相似度在 0.992~1.000, 相似度较高。

2.4.8 聚类分析 将 16 批不同加工处理的黄芩饮片的 HPLC 指纹图谱中的 22 个共有峰峰面积相对于药材称样量量化, 运用 SPSS 24.0 软件进行系统

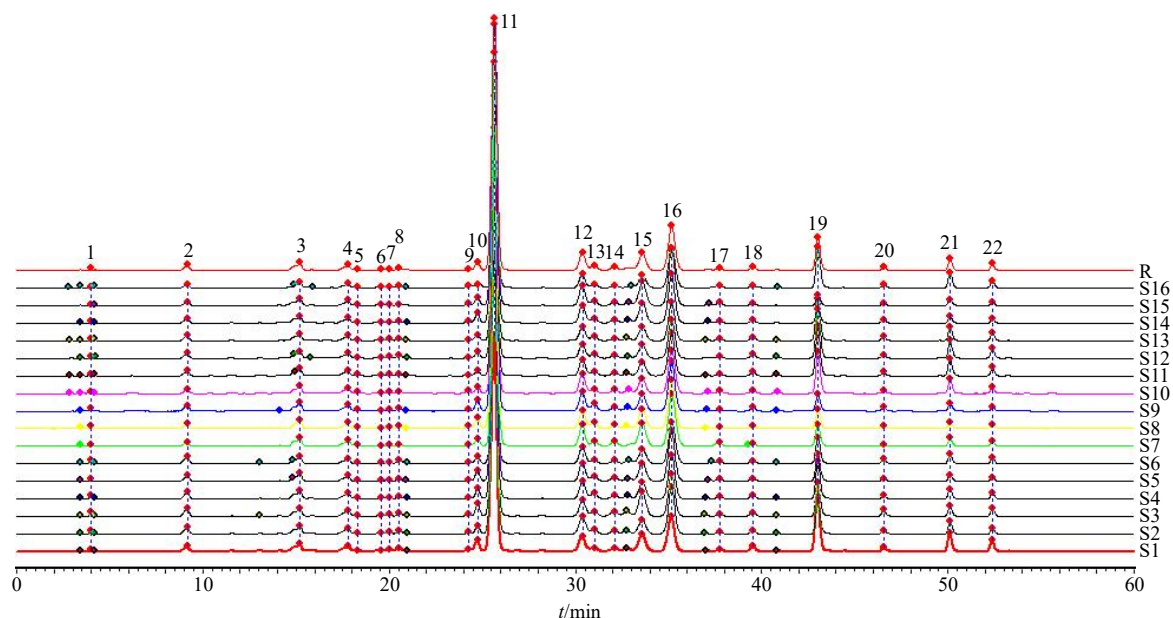
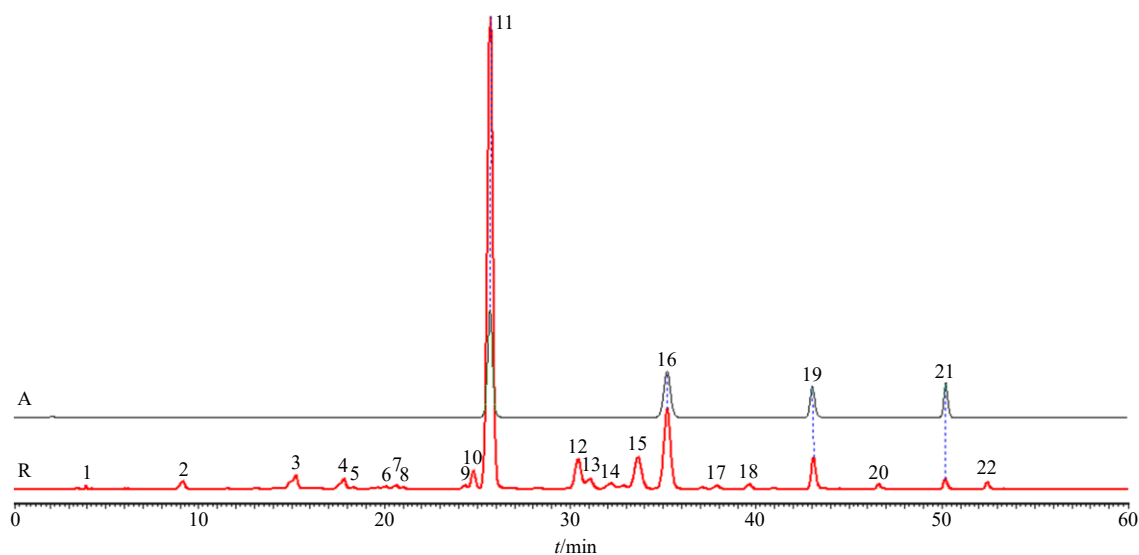


图 2 16 批不同加工处理黄芩指纹图谱

Fig. 2 Fingerprints of 16 batches of different processing *S. baicalensis*

11-黄芩苷 16-汉黄芩苷 19-黄芩素 21-汉黄芩素
11-baicalin 16-wogonoside 19-baicalin 21-wogonin

图 3 混合对照品的 HPLC 图 (A) 及黄芩药材 HPLC 对照指纹图谱 (R)

Fig. 3 HPLC of mixed reference substances (A) and HPLC reference fingerprint of *S. baicalensis* (R)

聚类分析, 采用组间联接法, 平方欧氏距离作为样品的距离度, 结果见图 4。分析结果显示, 在类间距离为 5 时, 16 个样品可以聚为 4 类, 其中 S5、S6 为第 1 类, S1、S10~S13、S16 为第 2 类, S2~S4 为第 3 类, S7~S9、S14、S15 为第 4 类。所有烘干处理全部聚为一类, 而其他处理即使干燥方法一致, 含水率不同时切制, 干燥后也可能聚为不同类, 同一种干燥方式下的趁鲜加工和传统加工也聚为不同类别。样品来源均为铜川 5 年生黄芩, 却归

属不同类, 可能与药材加工处理方法的不同有关。说明不同的加工处理会直接影响药材质量。

2.5 黄芩中 4 种有效成分含量的测定

2.5.1 色谱条件 同“2.4.1”项。在此条件下, 各色谱峰都能很好地分离, 色谱图见图 3。

2.5.2 对照品溶液制备 同“2.4.2”项。

2.5.3 供试品溶液制备 同“2.4.3”项。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取已配制好的混合对照品溶液 0.05、0.10、0.25、0.50、1.00、2.50 mL,

表3 16批不同加工处理的黄芩图谱共有峰的相对保留时间

Table 3 Relative retention time of common peaks of 16 batches of different processing of *S. baicalensis*

峰号	相对保留时间																RSD/ %
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	
1	0.113	0.113	0.113	0.113	0.112	0.112	0.113	0.112	0.113	0.115	0.113	0.113	0.112	0.113	0.112	0.111	0.770
2	0.261	0.262	0.262	0.262	0.260	0.259	0.259	0.260	0.262	0.265	0.261	0.260	0.259	0.260	0.261	0.256	0.719
3	0.434	0.433	0.435	0.434	0.432	0.431	0.431	0.433	0.435	0.439	0.434	0.433	0.432	0.433	0.425	0.429	0.676
4	0.507	0.507	0.508	0.507	0.505	0.504	0.504	0.506	0.508	0.513	0.507	0.507	0.506	0.506	0.501	0.502	0.552
5	0.521	0.520	0.521	0.520	0.519	0.518	0.517	0.519	0.521	0.527	0.521	0.520	0.520	0.519	0.515	0.516	0.500
6	0.558	0.558	0.560	0.558	0.555	0.554	0.554	0.557	0.559	0.565	0.557	0.558	0.556	0.556	0.552	0.551	0.578
7	0.571	0.570	0.572	0.571	0.568	0.567	0.567	0.570	0.571	0.579	0.571	0.571	0.569	0.569	0.565	0.564	0.578
8	0.585	0.585	0.587	0.586	0.581	0.580	0.580	0.585	0.587	0.594	0.586	0.585	0.585	0.583	0.581	0.577	0.653
9	0.692	0.691	0.689	0.692	0.690	0.689	0.691	0.691	0.692	0.687	0.691	0.693	0.690	0.690	0.689	0.689	0.216
10	0.704	0.704	0.703	0.706	0.704	0.703	0.707	0.704	0.706	0.703	0.704	0.705	0.703	0.704	0.703	0.697	0.303
11	0.730	0.730	0.729	0.730	0.729	0.729	0.732	0.730	0.731	0.741	0.730	0.731	0.729	0.730	0.729	0.729	0.401
12	0.865	0.864	0.863	0.863	0.863	0.863	0.864	0.864	0.864	0.862	0.864	0.862	0.864	0.863	0.863	0.863	0.090
13	0.881	0.881	0.880	0.881	0.882	0.882	0.885	0.881	0.882	0.880	0.882	0.881	0.881	0.882	0.882	0.883	0.116
14	0.913	0.914	0.912	0.913	0.912	0.912	0.913	0.913	0.913	0.912	0.914	0.912	0.913	0.912	0.912	0.913	0.066
15	0.955	0.955	0.955	0.955	0.955	0.956	0.955	0.955	0.955	0.933	0.955	0.954	0.955	0.955	0.956	0.957	0.589
16	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
17	1.076	1.076	1.077	1.075	1.071	1.065	1.065	1.075	1.074	1.076	1.074	1.075	1.075	1.072	1.072	1.065	0.383
18	1.125	1.125	1.126	1.126	1.122	1.116	1.127	1.125	1.126	1.131	1.124	1.128	1.124	1.124	1.124	1.114	0.361
19	1.225	1.225	1.225	1.225	1.220	1.215	1.223	1.223	1.225	1.234	1.223	1.229	1.223	1.222	1.221	1.215	0.376
20	1.324	1.322	1.325	1.325	1.319	1.314	1.327	1.322	1.325	1.339	1.322	1.331	1.322	1.321	1.321	1.315	0.443
21	1.425	1.425	1.427	1.427	1.420	1.415	1.428	1.424	1.427	1.441	1.424	1.434	1.424	1.423	1.422	1.415	0.441
22	1.490	1.490	1.492	1.491	1.484	1.480	1.494	1.488	1.491	1.507	1.488	1.499	1.488	1.487	1.487	1.480	0.449

表4 16批不同加工处理的黄芩图谱共有峰的相对峰面积

Table 4 Relative peak areas of common peaks of 16 batches of different processing *S. baicalensis*

峰号	相对峰面积																RSD/ %
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	
1	0.017	0.020	0.026	0.020	0.023	0.023	0.008	0.013	0.014	0.012	0.013	0.014	0.014	0.012	0.007	0.012	34.908
2	0.116	0.103	0.142	0.108	0.137	0.137	0.058	0.077	0.081	0.069	0.087	0.095	0.104	0.069	0.050	0.066	30.939
3	0.220	0.181	0.205	0.195	0.192	0.142	0.149	0.172	0.170	0.173	0.113	0.130	0.196	0.152	0.143	0.100	20.594
4	0.152	0.124	0.147	0.135	0.129	0.130	0.106	0.175	0.115	0.111	0.125	0.131	0.130	0.093	0.089	0.108	17.432
5	0.029	0.022	0.018	0.020	0.022	0.023	0.018	0.113	0.021	0.028	0.028	0.028	0.031	0.017	0.019	0.020	80.356
6	0.027	0.019	0.024	0.020	0.020	0.023	0.015	0.016	0.020	0.021	0.025	0.027	0.026	0.028	0.023	0.030	18.807
7	0.039	0.029	0.034	0.031	0.032	0.032	0.027	0.019	0.026	0.026	0.032	0.030	0.033	0.022	0.020	0.029	18.224
8	0.080	0.048	0.059	0.041	0.070	0.072	0.030	0.029	0.036	0.028	0.038	0.053	0.041	0.027	0.022	0.045	39.228
9	0.038	0.028	0.043	0.025	0.030	0.028	0.020	0.032	0.019	0.039	0.018	0.016	0.022	0.031	0.029	0.030	27.262
10	0.212	0.124	0.199	0.153	0.135	0.131	0.116	0.154	0.148	0.105	0.086	0.116	0.117	0.148	0.107	0.107	25.024
11	4.752	4.344	5.039	4.564	4.789	4.746	4.209	4.826	4.417	3.963	4.332	4.406	4.892	4.390	4.030	4.458	6.859
12	0.399	0.368	0.369	0.366	0.392	0.393	0.369	0.365	0.350	0.403	0.352	0.337	0.336	0.343	0.335	0.325	6.792
13	0.090	0.094	0.113	0.130	0.085	0.085	0.097	0.124	0.134	0.078	0.101	0.111	0.101	0.098	0.078	0.086	17.667

续表 4

峰号	相对峰面积																RSD/ %
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	
14	0.098	0.080	0.121	0.083	0.083	0.083	0.091	0.085	0.083	0.086	0.079	0.081	0.073	0.084	0.071	0.072	13.950
15	0.501	0.332	0.619	0.395	0.386	0.397	0.504	0.437	0.357	0.081	0.345	0.354	0.377	0.450	0.482	0.347	28.797
16	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.000
17	0.048	0.045	0.054	0.050	0.059	0.061	0.071	0.041	0.034	0.053	0.041	0.038	0.052	0.046	0.050	0.072	21.472
18	0.120	0.058	0.072	0.070	0.063	0.066	0.035	0.051	0.057	0.067	0.076	0.083	0.067	0.050	0.042	0.059	29.783
19	1.132	0.460	0.559	0.579	0.441	0.459	0.270	0.281	0.229	0.627	0.774	0.903	0.744	0.203	0.126	0.698	52.354
20	0.079	0.057	0.097	0.045	0.075	0.074	0.018	0.038	0.055	0.040	0.057	0.053	0.079	0.047	0.030	0.050	36.942
21	0.302	0.162	0.142	0.129	0.135	0.139	0.089	0.076	0.098	0.200	0.244	0.273	0.217	0.082	0.068	0.231	45.863
22	0.187	0.076	0.117	0.071	0.084	0.085	0.056	0.050	0.048	0.089	0.116	0.140	0.114	0.052	0.039	0.101	44.255

表 5 16 批不同加工处理的黄芩图谱共有峰相似度结果

Table 5 Similarity results of common peaks of 16 batches of different processing *S. baicalensis*

峰号	相似度																R
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	
S1	1.000	0.991	0.992	0.993	0.987	0.990	0.984	0.984	0.983	0.995	0.997	0.999	0.996	0.982	0.978	0.996	0.992
S2	0.991	1.000	0.998	1.000	0.999	1.000	0.998	0.998	0.998	0.999	0.997	0.995	0.999	0.998	0.996	0.998	1.000
S3	0.992	0.998	1.000	0.999	0.998	0.999	0.998	0.998	0.997	0.997	0.996	0.994	0.998	0.997	0.995	0.997	0.999
S4	0.993	1.000	0.999	1.000	0.999	0.999	0.997	0.998	0.997	0.999	0.998	0.997	0.999	0.997	0.995	0.999	1.000
S5	0.987	0.999	0.998	0.999	1.000	1.000	0.999	1.000	0.999	0.997	0.995	0.992	0.997	0.999	0.998	0.997	0.999
S6	0.990	1.000	0.999	0.999	1.000	1.000	0.998	0.999	0.999	0.998	0.996	0.994	0.998	0.998	0.996	0.998	1.000
S7	0.984	0.998	0.998	0.997	0.999	0.998	1.000	0.999	0.999	0.995	0.992	0.989	0.994	1.000	0.999	0.994	0.998
S8	0.984	0.998	0.998	0.998	1.000	0.999	0.999	1.000	1.000	0.995	0.992	0.989	0.995	1.000	0.998	0.995	0.998
S9	0.983	0.998	0.997	0.997	0.999	0.999	0.999	1.000	1.000	0.995	0.992	0.988	0.995	1.000	0.999	0.994	0.998
S10	0.995	0.999	0.997	0.999	0.997	0.998	0.995	0.995	0.995	1.000	0.999	0.998	0.999	0.994	0.992	0.999	0.999
S11	0.997	0.997	0.996	0.998	0.995	0.996	0.992	0.992	0.992	0.999	1.000	1.000	0.999	0.991	0.988	1.000	0.997
S12	0.999	0.995	0.994	0.997	0.992	0.994	0.989	0.989	0.988	0.998	1.000	1.000	0.998	0.987	0.984	0.999	0.996
S13	0.996	0.999	0.998	0.999	0.997	0.998	0.994	0.995	0.995	0.999	0.999	0.998	1.000	0.994	0.991	1.000	0.999
S14	0.982	0.998	0.997	0.997	0.999	0.998	1.000	1.000	1.000	0.994	0.991	0.987	0.994	1.000	1.000	0.993	0.998
S15	0.978	0.996	0.995	0.995	0.998	0.996	0.999	0.998	0.999	0.992	0.988	0.984	0.991	1.000	1.000	0.991	0.996
S16	0.996	0.998	0.997	0.999	0.997	0.998	0.994	0.995	0.994	0.999	1.000	0.999	1.000	0.993	0.991	1.000	0.999
R	0.992	1.000	0.999	1.000	0.999	1.000	0.998	0.998	0.998	0.999	0.997	0.996	0.999	0.998	0.996	0.999	1.000

分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得系列混合对照品溶液。精密吸取上述混合对照品溶液各 10 μ L,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液质量浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程分别为黄芩素 $Y=6.29 \times 10^7 X-3.92 \times 10^5$, $R^2=0.999\ 8$,线性范围 6.58~657.50 μ g/mL;汉黄芩素 $Y=7.21 \times 10^7 X-1.92 \times 10^4$, $R^2=0.999\ 7$,线性范围 1.00~100.00 μ g/mL;黄芩苷 $Y=4.36 \times 10^7 X-8.20 \times 10^4$, $R^2=0.999\ 7$,线性范围 28.72~2 871.80

μ g/mL;汉黄芩苷 $Y=5.27 \times 10^7 X-4.67 \times 10^5$, $R^2=0.999\ 6$,线性范围 10.00~1 000.00 μ g/mL。

2.5.5 加样回收率试验 取同一批黄芩粉末(S5) 6 份,按各成分在药材中含量的差异,每份加入适量对照品,按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.1”项下色谱条件进行测定,分别计算各对照品的回收率。结果黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均加样回收率依次为 104.83%、102.66%、96.92%、100.38%,RSD 依次为 2.34%、0.96%、3.52%、1.71%,表明该方法回收率良好。

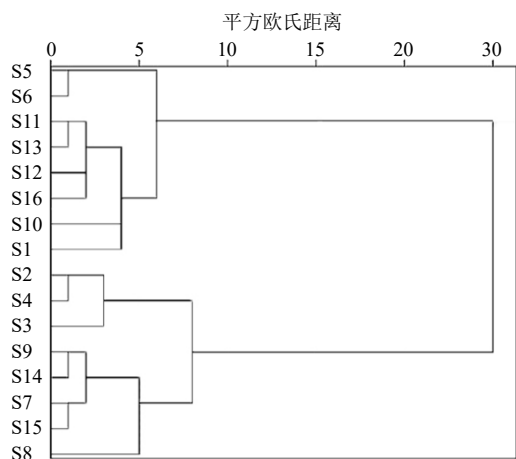


图 4 不同加工处理的黄芩聚类分析图

Fig. 4 Cluster analysis diagram of *S. baicalensis* under different processing

表 6 切制前不同加工处理下黄芩药材有效成分含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 6 Content of effective ingredients of *S. baicalensis* under different processing before cutting ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	质量分数/%			
	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
S1	15.126 1 $\pm$ 0.123 7 ^{*#}	2.723 5 $\pm$ 0.010 2 ^{*#&}	2.516 8 $\pm$ 0.030 8 ^{*#&}	0.579 5 $\pm$ 0.004 9 ^{*#&}
S2	17.923 2 $\pm$ 0.169 2 [*]	3.498 8 $\pm$ 0.031 1 [*]	1.360 5 $\pm$ 0.026 0 [*]	0.409 9 $\pm$ 0.010 1 [*]
S3	18.595 3 $\pm$ 0.246 0	3.107 0 $\pm$ 0.023 3 [*]	1.485 4 $\pm$ 0.016 9 [*]	0.313 5 $\pm$ 0.003 5 [*]
S4	17.979 1 $\pm$ 0.433 9 [*]	3.252 2 $\pm$ 0.019 0 [*]	1.599 0 $\pm$ 0.048 7 [*]	0.299 0 $\pm$ 0.005 3 [*]
S5	19.265 3 $\pm$ 0.178 9	3.613 7 $\pm$ 0.044 2	1.190 7 $\pm$ 0.022 5 [*]	0.196 6 $\pm$ 0.003 5 [*]
S6	16.415 0 $\pm$ 0.098 6 [#]	2.969 2 $\pm$ 0.049 7 [#]	1.132 3 $\pm$ 0.038 8 [#]	0.287 1 $\pm$ 0.006 1 [#]
S7	19.031 1 $\pm$ 0.239 3	3.820 0 $\pm$ 0.013 0 [#]	0.930 4 $\pm$ 0.012 1 [#]	0.246 8 $\pm$ 0.001 9 [#]
S8	20.112 7 $\pm$ 0.363 0 [#]	3.568 4 $\pm$ 0.002 8 [#]	0.906 3 $\pm$ 0.012 0 [#]	0.196 5 $\pm$ 0.001 0
S9	18.986 4 $\pm$ 0.262 9	3.621 7 $\pm$ 0.028 7 [#]	0.753 1 $\pm$ 0.003 1 [#]	0.254 9 $\pm$ 0.001 2 [#]
S10	15.913 7 $\pm$ 0.135 6 ^{&}	3.281 4 $\pm$ 0.033 0 ^{&}	1.740 1 $\pm$ 0.012 2	0.463 7 $\pm$ 0.002 9
S11	16.262 2 $\pm$ 0.344 8 ^{&}	3.173 2 $\pm$ 0.030 2 ^{&}	2.050 3 $\pm$ 0.010 2 ^{&}	0.546 5 $\pm$ 0.004 3 ^{&}
S12	15.031 6 $\pm$ 0.077 5	2.922 8 $\pm$ 0.012 6	2.224 5 $\pm$ 0.011 2 ^{&}	0.567 3 $\pm$ 0.003 8 ^{&}
S13	16.012 5 $\pm$ 0.093 2 ^{&}	2.865 4 $\pm$ 0.053 6	1.787 6 $\pm$ 0.056 7 ^{&}	0.437 9 $\pm$ 0.010 2 ^{&}
S14	18.914 1 $\pm$ 0.254 8	3.614 4 $\pm$ 0.038 1	0.676 2 $\pm$ 0.013 0	0.217 6 $\pm$ 0.004 9
S15	18.859 9 $\pm$ 0.607 8	4.024 0 $\pm$ 0.014 1	0.501 0 $\pm$ 0.007 5	0.199 2 $\pm$ 0.001 0
S16	15.197 1 $\pm$ 0.118 6	2.905 3 $\pm$ 0.049 9	1.712 7 $\pm$ 0.031 1	0.474 3 $\pm$ 0.008 1

60 ℃烘干条件下,趁鲜加工含水率为 49.81% 时切制,黄芩苷含量最高,比传统加工高 0.07 倍,含水率 19.22%和 57.04%次之;在含水率 57.04%时切制,汉黄芩苷含量最高,比传统加工高 0.13 倍,含水率 49.81%次之;在含水率 63.66%时切制,黄芩素和汉黄芩素含量均最高,分别比传统加工高 0.47 倍和 0.22 倍。

3 讨论

不同加工处理的黄芩干燥后对外观性状的影响

2.5.6 有效成分含量测定 将 16 批不同加工处理的黄芩按“2.4”项下方法制备并进行进样检测,结果见表 6。阴干条件下,在含水率 27.63%时切制,趁鲜加工黄芩苷与汉黄芩苷含量最高,此时与传统加工无显著差异;黄芩素含量和汉黄芩素含量均显著高于传统加工,在含水率为 63.66%时切制含量最高,分别比传统加工高 2.72 倍和 1.66 倍。

自然干燥条件下,在含水率为 25.66%时切制,趁鲜加工黄芩苷含量最高,比传统加工高 0.07 倍,含水率 20.45%和 35.22%时切制,干燥后黄芩苷含量和传统加工相比无显著差异;汉黄芩苷含量均显著低于传统加工;黄芩素和汉黄芩素含量大都高于传统加工,在含水率为 63.66%时切制,含量最高,分别比传统加工高 4.02 倍和 1.91 倍。

较大。研究表明,黄芩苷等苷类成分在高温湿热环境中,稍不注意就会加速酶解,导致含量降低,进而影响质量。阴干在含水率较高(52.82%以上)时切制,由于饮片本身的含水率高,置于 60 ℃干燥时,饮片受自身较高水分和烘箱温度的影响,会促进苷类的酶解,致使切面发绿。而黄芩无论烘至含水率多少切制,干燥后饮片外观颜色都有不同程度发绿,大大影响饮片美观。黄芩栓皮较厚,透气性差,即使含水率降至很低切制,由于温度相对较高,

随着烘干时间的延长,根条也未切制,致使根条内部持续发热,内部的热气无法发散出去,为一系列复杂的酶促、氧化、聚合等生化反应创造了有力条件,黄芩苷被酶解为黄芩素^[22-24]。黄芩素结构中含有3个邻位的酚羟基,易被氧化转变为醌类衍生物而显绿色^[25]。黄芩变绿后,有效成分受到破坏,质量随之降低。

指纹图谱研究通过对黄芩的各个化学成分进行整体评价,标定了许多共有峰。除此之外对《中国药典》规定以外的一些其他成分进行含量测定,指认除《中国药典》规定的其他成分。并进行指纹图谱的相似性分析、相对保留时间和相对峰面积的分析,更能全面反映出不同加工处理的黄芩药材的质量是否均一,化学成分相差是否较大。本研究通过外观性状差异、浸出物含量、有效成分含量,结合指纹图谱,得出最佳干燥工艺为自然干燥至含水率20.45%~35.22%时对黄芩进行切制,60℃烘干。在聚类分析中,自然干燥至含水率20.45%~35.22%时切制并60℃烘干的饮片,与相应的传统加工聚为一类,进一步说明了趁鲜加工可以代替传统加工。趁鲜加工在保障药材质量的同时,省时省力,节省成本,也避免了二次加工中有效成分的流失。本研究为黄芩的产地加工、质量标准建立提供了重要的参考价值。此外,不同加工方法导致药材的质量差异,进而影响临床疗效,因此不同加工方法引起的药效变化有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 79, 314-315.
- [2] 姜希红, 刘树民. 黄芩药理作用及其化学物质基础研究 [J]. 中国药师, 2020, 23(10): 2004-2010.
- [3] 贾朝旭, 金东明, 耿玉, 等. 黄芩治疗高血压的最新进展及评析 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2016, 14(12): 143-145.
- [4] 施高翔, 邵菁, 汪天明, 等. 黄芩及其有效成分抗菌作用新进展 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3713-3718.
- [5] Zhang L, Ren B Y, Zhang J, et al. Anti-tumor effect of *Scutellaria barbata* D. Don extracts on ovarian cancer and its phytochemicals characterisation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 206: 184-192.
- [6] 苑艺蕾, 汪娜, 王洪玉, 等. 黄芩镇静作用有效组分的筛选 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2016, 32(2): 132-135.
- [7] Zhao Q, Zhang Y, Wang G, et al. A specialized flavone biosynthetic pathway has evolved in the medicinal plant, *Scutellaria baicalensis* [J]. *Sci Adv*, 2016, 2(4): e1501780. DOI:10.1126/sciadv.1501780.
- [8] 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.
- [9] Lee Y M, Cheng P Y, Chim L S, et al. Baicalein, an active component of *Scutellaria baicalensis* Georgi, improves cardiac contractile function in endotoxaemic rats via induction of heme oxygenase-1 and suppression of inflammatory responses [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(1): 179-185.
- [10] 肖蓉, 张志斐, 袁志芳, 等. 河北道地药材黄芩指纹图谱的研究 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(7): 1018-1023.
- [11] 鄢长华, 陈俊林, 赵海涛. HPLC 法对不同栽培年限及不同产地的黄芩中黄芩苷的含量测定分析研究 [J]. 内蒙古医学杂志, 2006, 38(6): 515-517.
- [12] 邓良平. 中药材产地干燥初加工困境与对策 [J]. 农产品加工: 学刊, 2012(2): 121-123.
- [13] 张黄琴, 刘培, 钱大玮, 等. 基于多元功效成分的瓜蒌皮药材产地现代干燥加工方法研究 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 950-964.
- [14] 张军, 戴衍朋, 石典花, 等. 丹参药材的产地加工工艺研究 [J]. 中国药房, 2019, 30(13): 1807-1811.
- [15] 陈江平, 李恒, 丁青, 等. 不同产地加工方法对桂郁金药材成分含量的影响 [J]. 广东化工, 2020, 47(17): 50-51, 49.
- [16] 俞叶飞, 王盼, 陈子林, 等. 不同干燥方法对白芍药材初加工过程中品质的影响 [J]. 浙江中医杂志, 2020, 55(12): 922-923.
- [17] 刘畅, 王潇, 刘芳, 等. 基于多指标质量差异关键属性优化厚朴产地加工“发汗”工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 677-684.
- [18] 朱俊霖, 闫永红, 张学文, 等. 不同干燥方法对黄芩有效成分含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 7-9.
- [19] 王文鹏, 李哲, 冯玉康, 等. 不同干燥方法对黄芩质量的影响 [J]. 中医药导报, 2016, 22(13): 92-93.
- [20] 冷晓红, 陈海燕, 郭鸿雁. 宁夏黄芩不同干燥方法与药材质量的相关性研究 [J]. 西北药学杂志, 2017, 32(6): 707-710.
- [21] 中国药典 [S]. 四部. 2020: 114, 115, 232.
- [22] 战渤玉, 高明, 李东霞, 等. 中药材黄芩的研究进展 [J]. 中医药信息, 2008, 25(6): 16-20.
- [23] 李丽, 张村, 肖永庆, 等. 黄芩饮片的产地加工方法研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 1-3.
- [24] 杨磊, 朱青, 曹臣. 中药材储藏过程中的质量变化及其影响因素 [J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(6): 95-97.
- [25] 管美英. 黄芩的炮制学研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(1): 63-64.

[责任编辑 郑礼胜]