

高效液相色谱测定不同生境黄芩中的黄芩苷

龙月红¹, 邢朝斌^{1*}, 劳风云², 何闪¹, 梁能松¹, 李宝财¹

(1. 河北联合大学生命科学学院, 河北 唐山 063000;

2. 河北联合大学药学院, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的:测定不同生境条件下,黄芩根、茎和叶中黄芩苷的含量。方法:采用HPLC, Kromasil ODS柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以甲醇-水(53:47)为流动相,检测波长280 nm,线性范围0.124 ~ 0.93 μg, $r = 0.9999$,平均回收率98.17%, RSD 1.3% ($n = 6$)。结果:不同生境下黄芩根的黄芩苷平均含量分别为6.79%、6.01%、5.49%、3.50%、4.38%、茎的黄芩苷平均含量分别为0.10%、0.08%、0.09%、0.06%、0.03%;叶的黄芩苷平均含量分别为0.27%、0.26%、0.15%、0.14%、0.09%。结论:本方法简便快速,稳定可靠,重现性好。相同产地不同生境中的黄芩及黄芩不同器官的黄芩苷含量间存在显著差异。

[关键词] 黄芩; 生境; 高效液相; 黄芩苷; 含量

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0097-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120113.1031.006 **[网络出版时间]** 2012-01-13 10:31

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120113.1031.006.html>

Measurement of Content of Baicalin from *Scutellaria baicalensis* in Different Habitat by HPLC

LONG Yue-hong¹, XING Zhao-bin^{1*}, LAO Feng-yun², HE Shan¹, LIANG Neng-song¹, LI Bao-cai¹

(1. College of Life Science, Hebei United University, Tangshan 063000, China;

2. College of Pharmacy, Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To measure the content of baicalin in root, stem and leave of *Scutellaria baicalensis* growing in different habitat. **Method:** The content of baicalin was determined by HPLC. The chromatographic condition included Kromasil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and mobile phase consisting of a mixture of methanol-H₂O (53:47). Baicalin was detected at 280 nm. The standard curve was linear in the range of 0.124-0.93 μg with correlation coefficient 0.9999. The average recovery of baicalin was 98.17% with RSD 1.3% ($n = 6$). **Result:** The average content of baicalin in different habitat root was 6.97%, 6.01%, 5.49%, 3.50% and 4.38% respectively. In different habitat stem, the average content of baicalin was 0.10%, 0.08%, 0.09%, 0.06% and 0.03% respectively. In different habitat leave, the average content of baicalin was 0.27%, 0.26%, 0.15%, 0.14% and 0.09% respectively. **Conclusion:** The method of distill is simple and stable. The determination method was quick with good reappearance. Produced in the same area, the content of baicalin of *S. baicalensis* in different habitat and different organ had significant different.

[Key words] *Scutellaria baicalensis*; habitat; HPLC; baicalin; content

黄芩为我国传统大宗药材,药用历史悠久^[1]。黄芩苷是黄芩中主要的药用成分之一,黄芩的降压、镇静、保肝、利胆、抗菌、消炎等多种药理作用都与其

有直接关系^[2]。尽管黄芩野生驯化已初获成功,但尚缺乏系统化的科学研究,黄芩药材质量形成的适宜生态因子尚不清楚。由于次生产物在植物体内代谢环节多,影响因子多,易于受环境影响,生境不同,差异极大^[3]。在研究影响药材质量的生态环境时,对中药材品种、栽培等可以控制的因素研究较多,而对作用强度往往大于可控因素的非可控环境

[收稿日期] 20111023(004)

[通讯作者] *邢朝斌,副教授,从事分子生药学研究, Tel: 0315-3726238, E-mail: xingzhaobin@yahoo.com.cn

对中药材质量的影响及其时空变化规律研究却远远不够,这使得人们在评价某种生态环境对中药材质量影响时存在盲区^[4]。黄芩在不同产地^[5-6]、不同栽培条件^[7-8]及不同器官^[1]中黄芩苷的差异分析已有研究,但同一产地、不同生境微环境对黄芩苷的影响尚未见报道。为了深入揭示非可控环境对黄芩苷含量的影响,掌握黄芩苷积累的规律,笔者建立了高效液相色谱法测定黄芩苷的方法,并对不同生境微环境下黄芩的黄芩苷含量进行了测定,以为全面阐明环境对黄芩苷含量的影响提供依据。

1 材料

1.1 仪器 HP-1100 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司,四元泵,紫外检测器,HP 色谱工作站),KDC-16H 型高速台式离心机,RE-52ZZ 型旋转蒸发仪(上海亚荣仪器厂),1/万电子天平(上海亚荣仪器厂),KQ3200DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司出品),水为重蒸水,其余试剂为国产分析纯。

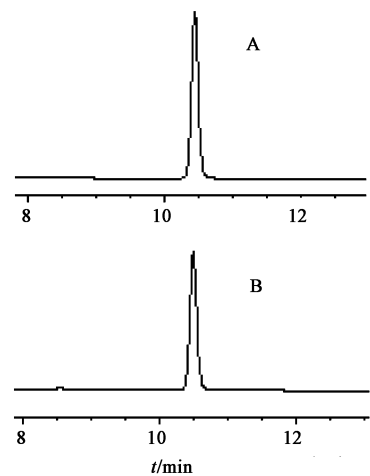
1.3 药材与对照品 2010 年 8 月采自辽宁省建平县分布于落叶松人工林林缘、林隙、林下、小溪边和路边的野生黄芩,每种生境取样 10 株,各生境的样本间距大于 500 m,经河北联合大学生命科学学院邢朝斌副教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi。黄芩苷对照品(批号 110715-200815)购自中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil ODS 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(53:47),流速 1 mL · min⁻¹,柱温室温,检测波长 280 nm。在此条件下黄芩苷与相邻色谱峰的分选效果良好,按此色谱条件测得的对照品和黄芩样品的色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的配制 精密称取黄芩苷对照品 6.2 mg,置于 10 mL 量瓶中,加入适量甲醇,待全部溶解后定容,作为对照品储备液。精密吸取一定量的上述溶液置于另一 10 mL 量瓶中并用甲醇定容;按照此方法依次配制不同质量浓度的黄芩苷标准溶液,储存于 4 °C 冰箱中备用。

2.3 供试品溶液的制备 取黄芩的根、茎和叶,洗净,剪成 1 cm 左右的小块,置于干燥箱中 70 °C 烘干



A. 对照品; B. 黄芩样品

图 1 黄芩苷的 HPLC

后,粉碎。精密称取黄芩根、茎、叶粉末各 0.5 g,置于 50 mL 圆底烧瓶中,加入 20 mL 无水乙醇,超声振荡 0.5 h,过滤。滤液用无水乙醇定容至 100 mL 量瓶中,再取此溶液 1 mL,用甲醇定容至 10 mL 量瓶中,摇匀后过 0.45 μm 滤膜,滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系的考察 精密吸取不同浓度的对照品溶液 20 μL, HPLC 测定黄芩苷的峰面积。采用 Origin 7.0 数据处理软件,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得线性回归方程 $Y = 84\ 118.325 X - 34.611$ ($r = 0.999\ 9$),在所测量的范围内(0.124 ~ 0.93 μg),线性关系理想。

2.5 精密度试验 准确吸取黄芩苷对照品溶液 20 μL,连续进样 5 次,测定其峰面积,得到 RSD 0.92%,精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取 0.5 g 黄芩药材的根粉末 6 份,按上述 2.3 的方法制备供试品溶液,测定黄芩苷含量,计算 RSD 1.32%,说明本方法的重复性好。

2.7 稳定性试验 精密吸取黄芩根供试品溶液 20 μL,每隔 3 h 进样 1 次,连续进样 6 次,测定黄芩苷的峰面积,计算 RSD 1.48%。

2.8 加样回收率 精密称取已知含量的 0.5 g 黄芩药材根粉末 6 份,分别加入一定量的黄芩苷对照品溶液,按上述 2.3 的方法制备供试品。经测定,平均回收率为 98.17%,RSD 1.3%,见表 1。

2.9 样品测定 分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各 20 μL,注入高效液相色谱仪,按照上述色谱条件测定 3 次,计算样品溶液中黄芩苷含量。测定结果见表 2。

表1 黄芩苷回收率试验

称样量/mg	样品含量/mg	加入量/mg	实测量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
500.322	3.395	3.100	6.368	98.04	98.17	1.3
500.465	3.396	3.100	6.324	97.35		
500.687	3.398	3.100	6.415	98.73		
499.724	3.391	3.100	6.513	100.34		
500.439	3.396	3.100	6.362	97.94		
500.621	3.397	3.100	6.279	96.64		

表2 不同生境黄芩中黄芩苷的含量(n=3) %

生境	根	茎	叶
林缘	6.79	0.10	0.27
林隙	6.01	0.08	0.26
林下	5.49	0.09	0.15
溪边	3.50	0.06	0.14
路边	4.38	0.03	0.09

3 讨论

黄芩苷属于植物次生代谢产物,而次生代谢活动在不同器官、不同组织的强弱程度不同,结果导致黄芩植株不同器官、不同组织中的黄芩苷含量高低差别很大^[9]。在检测的样本中,黄芩苷在黄芩根、茎和叶中均有分布,但在各器官中的含量间存在极显著的差异。其中根的黄芩苷平均含量达5.24%,是茎黄芩苷含量(0.07%)的74.9倍、叶黄芩苷含量(0.18%)的29.1倍,叶黄芩苷含量为茎的2.6倍。这说明根部是黄芩苷的主要储存部位,符合黄芩以根入药的传统。组织化学的研究表明,黄芩苷主要分布于黄芩的薄壁组织细胞内,其中以维管组织的薄壁细胞为最多^[1,9]。黄芩根中的维管组织占根的绝大部分,其中薄壁组织细胞又为其主要构成成分,茎中维管束约占30%,且4个棱角处均有厚角组织分布,叶中分布有发达的网状脉,维管结构中60%为薄壁细胞^[1]。因此造成黄芩根中黄芩苷的含量大于叶,而叶中的含量大于茎的现象。

气候、地理等条件的差异可对药用植物的生理生化代谢活动产生明显影响^[9]。不同产地黄芩植株内的黄芩苷含量间存在较大差异已被众多实验所证实^[5,7,9-10]。本研究证实,即使分布于同一产地,但生境不同也会使黄芩的黄芩苷含量间产生显著差异。黄芩的根、茎和叶在不同生境中均以林缘生境的黄芩苷含量为最高,溪边和路边为最低。但表现不同,根黄芩苷在不同生境中的含量由高到低依次为林缘>林隙>林下>路边>溪边;茎黄芩苷的含

量依次为林缘>林下>林隙>溪边>路边;叶黄芩苷的含量依次为林缘>林隙>林下>溪边>路边。黄芩茎、叶中黄芩苷含量过低,非传统入药部位,因此根中黄芩苷的含量是评价黄芩质量的主要指标^[7]。土壤中养分的含量水平对根黄芩苷的含量具有显著的影响^[7,9],丰富的营养物质可以促进植物的生长发育,并在一定程度上影响植物体内的次生代谢,从而使黄芩苷的含量提高^[9]。本研究中落叶松人工林林缘、林隙和林下均有不同程度的枯枝落叶层,营养水平要高于路边和溪边,因此分布于此生境的黄芩中黄芩苷含量显著高于路边和溪边生境的黄芩。光照对许多植物中的黄酮类化合物,如黄酮、黄酮醇和花色苷的合成具有诱导作用^[11],黄芩苷也属于黄酮类物质^[2,5-6]。陈顺钦等^[12]分别将黄芩培养在光、暗条件下发现,光照下黄芩苷的含量显著高于黑暗条件下的含量,证实光照与黄芩苷含量间存在显著的相关性。因此,营养条件相似的情况下,黄芩苷的含量在光照充足的林缘生境大于光照情况一般的林隙生境,而林隙生境大于光照条件最差的林下生境。黄芩中黄芩苷受生境中含水量影响较大,水分供给量250~350 mm时黄芩苷含量最高,适度干旱可提高黄芩根部黄芩苷含量,严重干旱和充分供水黄芩苷含量较低^[13]。因此水分过高的溪边和严重干旱的路边生境中黄芩的黄芩苷含量均显著低于其他含水量较适宜生境的黄芩。

[参考文献]

- [1] 李欣,魏朔南. 黄芩的结构与黄芩苷含量的关系[J]. 武汉植物学研究,2009, 27(3): 256.
- [2] 文敏,李雪,付守廷. 黄芩苷药理作用研究新进展[J]. 沈阳药科大学学报,2008, 25(2): 158.
- [3] 李隆云,肖小河,贺承山. 论中药材生产质量管理规范化[J]. 中国中药杂志,1999, 24(12): 707.
- [4] 郭兰萍,黄璐琦. 中药资源的生态研究[J]. 中国中药杂志,2004, 29(7): 615.

不同干燥方法对川芎不同部位阿魏酸含量的影响

余昕, 朱焯, 张春, 袁叶飞*
(泸州医学院, 四川 泸州 646000)

[摘要] 目的: 研究不同干燥方法对川芎不同部位阿魏酸含量的影响。方法: 采用高效液相色谱法测定不同干燥方法的川芎不同部位中阿魏酸的含量。结果: 阿魏酸在进样量 0.005 74 ~ 0.918 4 μg 与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.999 9$), 定量限为 0.114 8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均回收率为 100.7%, RSD 1.07% ($n = 9$)。川芎不同部位阿魏酸的含量从高到低为根茎 > 茎 > 叶。不同干燥方法对川芎不同部位阿魏酸含量影响不同。结论: 川芎不同部位的阿魏酸含量不同; 川芎根茎不宜选用自然晒干的干燥方式, 全株宜选用晒后烘干的干燥方式。

[关键词] 干燥方法; 川芎; 阿魏酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0100-04

Effect of Different Dry Methods on Ferulic Acid in Different Parts of *Ligusticum chuanxiong*

YU Xin, ZHU Ye, ZHANG Chun, YUAN Ye-fei*
(Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of different dry methods on ferulic acid in different parts of *Ligusticum chuanxiong*. **Method:** The content of ferulic acid in *L. chuanxiong* from different dry methods and different parts was determined by HPLC. **Result:** There was a good linear relationship between ferulic acid and peak area when the sample injection was from 0.005 74-0.918 4 μg ($r = 0.999 9$); the quantification limit was 0.114 8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; the average recovery was 100.7%, and RSD was 1.07% ($n = 9$). The ferulic acid content in different parts of *L. chuanxiong* arranged in descending order was: rhizome > stem > leaf. Different dry methods

[收稿日期] 20111031(011)

[第一作者] 余昕, 硕士, 实验师, 从事中药鉴定和成分研究, Tel: 0830-3162291, E-mail: yuxin8303@163.com

[通讯作者] *袁叶飞, 博士, 副教授, 从事中药有效成分研究, Tel: 0830-3162291, E-mail: yuan_yefei@126.com

- [5] 苏苏, 王勇, 燕吉敏, 等. 反相 HPLC 法测定不同产地黄芩中黄芩苷的含量[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2002, 41(6): 714.
- [6] 杨立新, 刘岱, 冯学锋, 等. 高效液相色谱法测定不同产地黄芩中黄酮化合物的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(3): 166.
- [7] 魏东华, 李林章, 陈淑欣, 等. 不同土壤营养条件对黄芩苷含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 56.
- [8] 曲中原. 野生与栽培黄芩中总黄酮及黄芩苷含量的比较研究[J]. 黑龙江医药, 2009, 22(3): 240.
- [9] 张永清, 张春风, 李佳. 黄芩植株体内黄芩苷积累规律及其影响因素研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(5): 914.
- [10] 武焯, 苏亮, 胡宇莉, 等. 不同产地黄芩中黄芩苷含量的对比研究[J]. 安徽农学通报, 2011, 17(7): 175.
- [11] Fuglevand G, Jackson J A, Jenkins G I. UV-B, UV-A, and blue light signal transduction pathways interact synergistically to regulate chalcone synthase gene expression in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 1996, 8(12): 2347.
- [12] 陈顺钦, 黄璐琦, 袁媛, 等. 光照对黄芩悬浮细胞内源激素与有效成分相关性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 72.
- [13] 邵玺文, 韩梅, 韩志明, 等. 水分供给量对黄芩生长与光合特性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3214.

[责任编辑 邹晓翠]