

不同方式处理对黄芩中4种黄酮类成分含量影响的研究

崔巍¹, 孙玉琦¹, 李艳伟²

1. 锦州医科大学药学院, 辽宁 锦州 121000; 2. 锦州医科大学附属第一医院, 辽宁 锦州 121000

[摘要] 目的: 探究不同方式处理对黄芩中4种黄酮类成分(黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)含量的影响。方法: 分别用水提取法、乙醇沉淀法、乙醇回流提取法及高效液相色谱法检测黄芩中4种黄酮类成分含量, 对比检测结果。结果: 与水提组比较, 醇沉组提取率均上升 ($P < 0.05$), 除汉黄芩素和黄芩素外, 醇沉组提取率随着乙醇浓度的升高而上升 ($P < 0.05$), 醇提组提取率随着乙醇浓度上升而下降 ($P < 0.05$)。与水提组比较, 醇提组黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素成分转移率均升高 ($P < 0.05$)。结论: 由于提取溶剂的极性不同, 不同的提取方法会使样品中4种黄酮类成分的含量产生较大的差异, 此结果可为实际需求中合理选择提取方法提供参考。

[关键词] 黄芩; 黄酮类; 含量测定

[中图分类号] R284.2

[文献标志码] A

[文章编号] 0256-7415 (2019) 06-0020-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.06.006

A Study on Effect of Different Treatments on Contents of Four Flavonoid Constituents in Radix Scutellariae

CUI Wei, SUN Yuqi, LI Yanwei

Abstract: Objective: To discuss the effect of different treatments on the contents of four flavonoid constituents in Radix Scutellariae including baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin. **Methods:** The contents of the four flavonoid constituents in Radix Scutellariae were detected through water extraction method, ethanol precipitation method, ethanol reflux extraction method and high-performance liquid chromatography respectively, and the detection results were compared. **Results:** Compared with those in the water extraction method group, the extraction rates in the ethanol precipitation method group were increased ($P < 0.05$), except for baicalein and wogonin and the extraction rates in the ethanol precipitation method group were increased with the increase of the ethanol concentration ($P < 0.05$); the extraction rates in the ethanol reflux extraction method group were decreased with the increase of the ethanol concentration ($P < 0.05$). Compared with those in the water extraction method group, the component transfer rate of baicalin, wogonoside, baicalein and wogonin in the ethanol reflux extraction method group were increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Because of the different polarity of the extraction solvent, different extraction methods result in significant differences among the contents of the four flavonoid constituents in samples, which can provide reference for the reasonable selection of the extraction methods in demand.

Keywords: Radix Scutellariae; Flavonoids; Content determination

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根^[1]。黄芩中含有黄酮类、氨基酸、甾醇类和糖类等成分, 其中黄酮类成分主要包括黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素4种成分。黄芩苷具有抗菌、抗病毒及抗肿瘤作用, 汉黄芩苷具有抗血栓作用, 黄芩素能降低脑血管阻力、改善脑血循环、增加脑血流量及抗血小板凝集的作用, 临床用于脑血管

病后瘫痪的治疗, 汉黄芩素除了具有抗肿瘤作用外还具有利尿作用^[2-3]。黄芩药材使用广泛, 据统计, 2015年版中国药典(一部)成方制剂和单味制剂中有137种组方中含有黄芩, 处理具体情况见表1^[4]。提取溶剂不同, 处理方式不同, 成分的转移情况也不同。本文综合考察了黄芩水提、醇提和水提醇沉3种处理方式。在获取的样品中, 考察4种黄酮类成分(黄芩苷、

[收稿日期] 2019-01-13

[作者简介] 崔巍 (1984-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 药剂学。

[通信作者] 孙玉琦, E-mail: 68135340@qq.com。

汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素)的含量差异^[4-6],且阐明黄芩药材不同处理方式黄酮类成分的保留情况。探究中成药组方的科学性,并为新药研发提供依据。

表1 中国药典成方制剂和单味制剂中黄芩处理情况

处理方法	种类	举例
水提	62	三九胃泰胶囊
水提酸沉	24	鼻渊舒胶囊
粉碎	20	二十七味定坤丸
水提醇沉	17	小儿退热合剂
醇提	11	女金胶囊
水提明矾沉	2	肾炎四味片
油炸	1	烫伤油

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 LC-2010CHT型高效液相色谱仪(日本SHIMADZU公司),配置4元梯度泵、柱温箱、紫外检测器、自动进样器;XA105型电子天平(瑞士METTLER TOLEDO集团);ZORBAX SB-C18型色谱柱(美国Agilent公司)。

黄芩(批号:170402),产于山西;黄芩苷(批号:110715-201318)、汉黄芩苷(批号:112002-201702)、黄芩素(批号:111595-201607)、汉黄芩素(批号:111514-201706)购自中国食品药品检定研究院。甲醇、乙腈为色谱纯(德国MERCK公司),乙醇、盐酸、甲酸为分析纯,水为超纯水。

1.2 黄芩处理方式 ①水提:取黄芩400g,加8倍量水回流提取2次,每次2h,合并提取液,过滤,浓缩至相对密度为1.05,平均分成4份,取其中1份继续浓缩干燥,称重,计算提取率。②醇沉:取①中浓缩液3份,缓缓加入乙醇充分搅拌使含醇量分别达50%、60%、70%,室温静置12h,过滤,滤液挥尽乙醇,浓缩干燥,称重,计算提取率。③醇提:另取100g黄芩各3份,分别置于圆底烧瓶中,用6倍量含醇量为50%、75%、95%的乙醇回流提取2次,每次2h,滤过,合并滤液,浓缩干燥,称重,计算提取率。

1.3 黄酮类成分含量测定色谱条件 以乙腈-0.1%甲酸水溶液(30:70)为流动相,流速1 mL/min,柱温30℃,检测波长为275 nm,进样量10 μL,运行时间为70 min。

1.4 对照品溶液制备 精密称取黄芩苷对照品10 mg、黄芩素对照品5 mg、汉黄芩苷对照品5 mg、汉黄芩素对照品5 mg,分别用甲醇溶解并定容至10 mL,制得单一对照品储备液。精密量取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素单个对照品储备液各1 mL、1 mL、1 mL、0.5 mL、0.1 mL,置于5 mL、10 mL、50 mL、100 mL、100 mL容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,即得混合对照品溶液。在混合对照品溶液中,黄芩苷对照品的浓度分别为200 μg/mL、100 μg/mL、20 μg/mL、5 μg/mL、1 μg/mL,汉黄芩苷对照品的浓度分别为100 μg/mL、50 μg/mL、10 μg/mL、2.5 μg/mL、0.5 μg/mL,黄芩素对照品的浓度分

别为100 μg/mL、50 μg/mL、10 μg/mL、2.5 μg/mL、0.5 μg/mL,汉黄芩素对照品的浓度分别为100 μg/mL、50 μg/mL、10 μg/mL、2.5 μg/mL、0.5 μg/mL。

1.5 供试品溶液的制备 分别精密称取1.4项下不同方式处理的样品约10 mg,置于25 mL容量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取稀释液5 mL,置于25 mL容量瓶中,加50%甲醇稀释,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.6 方法学考察 ①线性关系试验:见表2。取1.4项下混合对照品溶液,按1.3项下色谱条件进样分析,以各对照品的浓度为横坐标(x),以峰面积积分值为纵坐标(y)进行线性回归,计算得回归方程。②系统适应性试验:见图1。取1.4项下混合对照品溶液,按1.3项下色谱条件进样,黄芩苷色谱峰的理论塔板数符合中国药典标准,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素的色谱峰的拖尾因子符合中国药典标准。③精密度试验:取1.4项下混合对照品溶液,按1.3项下色谱条件进样6次,分别记录黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的峰面积,计算RSD分别为0.38%、1.05%、0.85%、0.92%,表明仪器精密程度良好。④重复性试验:取1.2项下醇提样品,按1.4项下供试品制备方法,制备6份供试品溶液,按1.3项下色谱条件进样,记录其峰面积,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素4种成分峰面积,计算RSD分别为0.47%、0.95%、1.09%、0.45%,均小于2%,表明该方法重复性良好。⑤稳定性试验:取1.2项下醇提样品供试品溶液,按1.3项下色谱条件,分别在4 h、8 h、16 h、24 h进样测定,黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的峰面积的RSD分别为0.35%、0.99%、1.32%、0.64%,均小于2%,表明样品在24 h内基本稳定。⑥加样回收率试验:取已知含量的黄芩样品6份,每份约0.1 g,精密称定,按照低、中、高浓度精密加入一定量对照品溶液,制成加标样品各2份,按1.5项下供试品制备方法,平行操作制备供试品溶液,按1.3项下色谱条件分别进样测定,计算回收率。结果显示黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素的平均回收率分别为97.8%、98.5%、101.2%、100.5%,表明该方法准确可行。

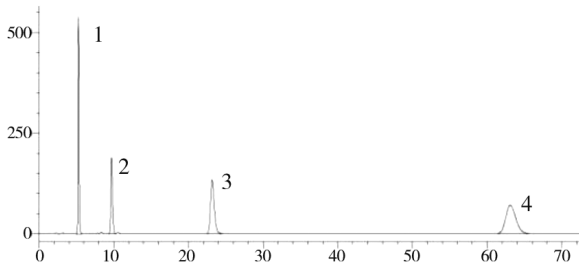
表2 线性关系考察

成分	线性范围(μg/mL)	回归方程	R值
黄芩苷	1.0-200	y=29634x+27663	0.999 6
汉黄芩苷	0.5-100	y=34529x+41288	0.999 6
黄芩素	0.5-100	y=50685x+25041	0.999 7
汉黄芩素	0.5-100	y=54903x+32296	0.999 8

1.7 统计学方法 数据均采用SPSS20.0软件处理,数据结果用($\bar{x} \pm s$)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

4种黄酮类成分的含量及转移率检测结果见表3、图2。取1.2项下的黄芩处理样品,按1.5项下供试品制备方法制备,



1. 黄芩苷; 2. 汉黄芩苷; 3. 黄芩素; 4. 汉黄芩素

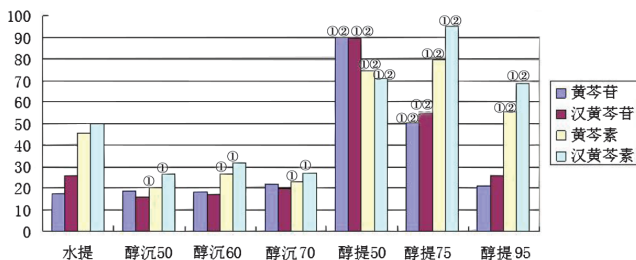
图1 混和对照品 HPLC 色谱图

按 1.3 项下色谱条件进样, 记录峰面积, 按照标准曲线回归方程计算其浓度及 4 种黄酮类成分的含量及转移率。与水提组比较, 醇沉组提取率均上升($P < 0.05$), 除汉黄芩素和黄芩素外, 醇沉组提取率随着乙醇浓度的升高而上升($P < 0.05$), 醇提组提取率随着乙醇浓度的升高而下降($P < 0.05$)。与水提组比较, 醇提组黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素成分转移率均升高($P < 0.05$)。

表3 黄芩不同处理方式样品提取率及 4 种黄酮类成分含量检测结果

处理方式	乙醇浓度	提取率	黄芩苷	汉黄芩苷	黄芩素	汉黄芩素
水提	0	31.7	5.4	1.62	1.52	0.80
	50	11.1 ^①	16.9 ^①	2.88 ^①	1.90 ^①	1.22 ^①
醇沉	60	10.6 ^①	17.3 ^①	3.19 ^①	2.66 ^①	1.52 ^①
	70	12.0 ^①	18.1 ^①	3.33 ^①	2.02 ^①	1.14 ^①
	50	43.2 ^{①②}	20.8 ^{①②}	4.19 ^{①②}	1.82 ^{①②}	0.83
醇提	75	37.6 ^{①②}	13.4 ^{①②}	2.92 ^{①②}	2.24 ^{①②}	1.28 ^{①②}
	95	22.5 ^{①②}	9.4 ^{①②}	2.32 ^{①②}	2.60 ^①	1.54 ^{①②}

与水提比较, ① $P < 0.05$; 与醇沉比较, ② $P < 0.05$



与水提比较, ① $P < 0.05$; 与醇沉比较, ② $P < 0.05$

图2 黄芩不同处理方式 4 种黄酮类成分转移率检测结果

3 讨论

3.1 选定检测波长 用紫外分光光度计扫描, 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素均在 275 nm 处有较强吸收, 结合中国药典黄芩提取物质量标准, 选定 275 nm 为检测波长。

3.2 含量差异的原因 黄芩不同处理方式的样品中 4 种黄酮类成分含量有较大不同。这 4 种黄酮类成分具有醇溶性, 采用一定浓度的乙醇作溶剂, 可使黄酮类成分的溶解度提高, 同时可抑制水提样品中像鞣质、蛋白、黏液等高分子杂质的溶解, 所以醇提法中黄酮类成分在提取过程中损失较小^[7-8], 随着乙醇浓度提高, 黄酮类成分的转移率也跟着提高。

3.3 含量差异和活性的关联 黄芩中 4 种黄酮类成分由于提取方法的不同, 使其在样品中的含量也不同, 黄芩苷含量高的样品, 适用于抗菌、抗病毒及抗肿瘤的治疗, 汉黄芩苷含量高的样品适用于血栓的治疗, 黄芩素含量高的样品能有效的防止血小板凝集, 临床用于脑血管病后瘫痪的治疗, 汉黄芩素含量高的样品宜添加到利尿药物中^[9]。

综上, 在黄芩中黄酮类成分提取中, 可以依照实际需求合理选择。本研究结果可为黄芩在临床应用中黄酮类成分的应用、提取方式提供参考。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 231-232, 282-283.
- [2] 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.
- [3] 徐娜红, 全金龙. 炮制方法对黄芩中有效成分黄芩苷含量的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2010, 3(16): 100.
- [4] 郝脆, 赵恒强, 崔莉, 等. 黄芩配方颗粒的质量控制[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(7): 723-727.
- [5] 侯学智, 张振秋, 尤春雪, 等. HPLC 测定黄芩中 6 个成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(11): 1010-1014.
- [6] 史亚军, 郭琳, 杨明. 不同黄芩提取物制备工艺研究[J]. 陕西中医学院学报, 2013, 36(6): 110-113.
- [7] 赵亮, 王新霞, 吕磊, 等. UPLC 法测定清肝散颗粒中黄芩苷、汉黄芩苷、野黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素[J]. 中成药, 2014, 36(2): 313-318.
- [8] 刘涛, 张蕾, 刘婷, 等. 不同产地黄芩中的黄芩苷提取转移率研究[J]. 成都大学学报(自然科学版), 2014, 33(1): 7-9.
- [9] 兰方宇, 陈洪涛. 黄芩及其有效成分对细菌生物膜抑制作用研究进展[J]. 广西中医药大学学报, 2015, 18(1): 84-86.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)