

# 基于性状-显微-化学特征的甘肃黄芩与正品黄芩比较研究

朱彤<sup>1,2</sup>, 郭梦佳<sup>2</sup>, 杨立新<sup>2</sup>, 李化<sup>2\*</sup>, 杨军宣<sup>1,3\*</sup>, 冷崇姣<sup>4</sup>, 杨滨<sup>2</sup>

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 400016; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 3. 重庆中医药学院, 重庆 402760; 4. 重庆市永川食品药品检验所, 重庆 402160)

**摘要:** 目的 研究甘肃黄芩与2020年版《中国药典》记载的黄芩正品的差异, 为完善黄芩药材质量评价体系提供参考。方法 通过外观性状及显微特征观察, 水分、总灰分及醇溶性浸出物测定, 黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量测定及指纹图谱对二者进行比较研究。以PCA、OPLS-DA法分析数据。结果 甘肃黄芩与黄芩正品在外观性状和显微结构上存在区别; 二者醇溶性浸出物有显著性差异 ( $P < 0.01$ ); 提取的3个主成分能解释75.9%指纹图谱差异信息; OPLS-DA模型能将二者区别开; 二者黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素含量有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。结论 通过性状、显微、含量测定及指纹图谱可实现甘肃黄芩与正品黄芩的初步区分。

**关键词:** 甘肃黄芩; 黄芩; 性状鉴别; 显微鉴别; 指纹图谱

**中图分类号:** R282.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)09-3171-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.09.055

2020年版《中国药典》记载的正品黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎等功效<sup>[1]</sup>。黄芩始载于《神农本草经》<sup>[2]</sup>, 是我国常用的传统大宗药材之一。现代研究显示, 黄芩含有黄酮类、氨基酸类、有机酸类等多种活性成分, 以黄酮类为主, 包括黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等<sup>[3-9]</sup>, 具有抗菌、抗炎、抗肿瘤、保护心脑血管等作用<sup>[10]</sup>。黄芩分布广泛且种植面积大, 然而由于种质资源混乱, 存在药材评价体系不完善等问题<sup>[11]</sup>。甘肃黄芩 *Scutellaria rhoderiana* Diels, 又名“小黄芩”, 主要分布于甘肃省, 由于其黄芩苷、汉黄芩苷含量较高, 质量较好, 资源再生能力强, 被纳入《甘肃省中药材标准》<sup>[12]</sup>, 其作为甘肃地区习用品种已有较长的使用历史<sup>[13-14]</sup>, 但目前关于甘肃黄芩与正品黄芩的比较研究较少。

本实验对甘肃黄芩和黄芩正品的药材性状、粉末显微和横切面显微特征进行比较, 采用2020年版《中国药典》四部方法测定二者的水分、总灰分、醇溶性浸出物含量, 建立二者的HPLC指纹图谱, 并测定黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素含量, 进行系统比较研究, 以期为甘肃黄芩临床使用的合理性及进一步完善黄芩药材的质量评价体系提供参考依据。

## 1 材料

1.1 仪器 CKX41 倒置显微镜 (日本奥林巴斯公司); DGG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海森信实验仪器公

司); HH-6 数显恒温水浴锅 (上海恒一精密仪器有限公司); ES220A 电子天平 (万分之一, 重庆理真科技有限公司); LC-20AD 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); XSE105DU 电子天平 (十万分之一, 瑞士 Mettler toledo 公司); SB-5200DT 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); AS-S20-R 超纯水机 (重庆奥思德仪器设备有限公司); SHZ-D (III) 循环水多用真空泵 (常州江苏荣华仪器制造有限公司)。

1.2 试剂 黄芩苷 (纯度  $\geq 98.59\%$ , 批号 MUST-15062716)、汉黄芩苷 (纯度  $\geq 98.94\%$ , 批号 MUST-15080512)、黄芩素 (纯度  $\geq 98.58\%$ , 批号 MUST-15031608)、汉黄芩素 (纯度  $\geq 99.86\%$ , 批号 MUST-15080513) 对照品均购自成都曼斯特生物科技有限公司; 乙腈为色谱纯; 水合氯醛、稀甘油、甲酸、95%乙醇等均为分析纯; 超纯水为自制。

1.3 药材 28批药材均在2022年收集于成都荷花池中药材市场和河北安国中药材市场, 产于河北承德、山东、河南、陕西、山西、内蒙古等地, 经重庆医科大学王刚副教授鉴别, 其中10批为唇形科植物甘肃黄芩 *Scutellaria rhoderiana* Diels 的干燥根, 另外18批为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 样品信息见表1。

## 2 方法

2.1 性状鉴别 按2020年版《中国药典》四部通则“0212 药材和饮片检定通则”项下药材性状检查方法, 观

收稿日期: 2024-04-19

基金项目: 山东省重点研发计划项目 (2021CXGC010508); 中国中医科学院科技创新工程项目 (CI2021A04511)

作者简介: 朱彤 (1999—), 女, 硕士, 从事中药质量评价研究。Tel: 15089175794, E-mail: 1263291854@qq.com

\* 通信作者: 李化 (1976—), 女, 博士, 研究员, 从事中药质量评价及其药效物质基础研究。Tel: 13810631552, E-mail: lihua621@hotmail.com

杨军宣 (1974—), 男, 博士, 教授, 从事中药活性成分与质量研究。Tel: 13883036856, E-mail: yjxhawk@sina.com

表1 28批样品信息

编号	产地	编号	产地
HQ-GS-1	甘肃	HQ-HN-6	河南
HQ-GS-2	甘肃	HQ-HN-8	河南
HQ-GS-3	甘肃	HQ-NMG-8	内蒙古
HQ-GS-4	甘肃	HQ-NMG-12	内蒙古
HQ-GS-5	甘肃	HQ-NMG-14	内蒙古
HQ-GS-6	甘肃	HQ-SAX-2	陕西
HQ-GS-7	甘肃	HQ-SAX-3	陕西
HQ-GS-8	甘肃	HQ-SAX-11	陕西
HQ-GS-9	甘肃	HQ-SD-4	山东
HQ-GS-10	甘肃	HQ-SD-5	山东
HQ-CD-3	河北承德	HQ-SD-8	山东
HQ-CD-5	河北承德	HQ-SX-3	山西
HQ-CD-9	河北承德	HQ-SX-5	山西
HQ-HN-5	河南	HQ-SX-10	山西

察形状、大小、表面、质地、断面及气味等特征。

2.2 显微鉴别 按2020年版《中国药典》四部通则“2001显微鉴别法”项下方法，取少许供试品粉末（过四号筛）置于载玻片上，先滴加甘油醋酸试液观察淀粉粒特征；再重新取样滴加水合氯醛试液加热透化，稀甘油封片，观察粉末其他显微特征。选择光滑、平整的饮片，FAA固定，采用常规石蜡法切片，番红-固绿染色，显微镜下观察横切面显微结构，拍照。

2.3 水分、总灰分、醇溶性浸出物测定 按2020年版《中国药典》四部通则“0832水分测定法”项下第二法烘干法、“2302灰分测定法”项下总灰分测定法、“2201浸出物测定法”项下醇溶性浸出物（热浸法）分别测定水分、总灰分、醇溶性浸出物。

2.4 对照品溶液制备 取黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素对照品适量，加甲醇配制成质量浓度分别为1.075、0.4068、1.06、1.033 mg/mL的母液；再用20%乙腈稀释成黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素质量浓度分别为64.8、31.0、28.0、2.72 μg/mL的对照品溶液。

2.5 供试品溶液制备 取0.05 g药材粉末（过40目筛），置于具塞锥形瓶中，加50 mL 70%乙醇，称质量，超声处理（功率360 W，频率40 kHz）1 h，冷却至室温，70%乙醇溶液补足减失的质量，过滤，续滤液过0.22 μm微孔滤膜，即得。

2.6 色谱条件 Diamonsil® Plus 5 C<sub>18</sub>-A 色谱柱(250 mm×4.6 μm, 5 μm)；A相为乙腈-水-甲酸(21:78:1)，B相为乙腈-水-甲酸(80:20:1)，梯度洗脱(0~10 min, 0% B; 10~35 min, 0%~10% B; 35~70 min, 10%~35% B; 70~85 min, 35%~95% B; 85~90 min, 0% B; 90~105 min, 0% B)；体积流量1.0 mL/min；柱温30℃；检测波长280 nm；进样量10 μL。

2.7 指纹图谱方法学考察 黄芩苷色谱峰的峰面积较大、峰形较好，出峰位置适宜，故选择黄芩苷作为参照峰，计算各共有峰的相对峰面积及相对保留时间。

2.7.1 精密度试验 取“2.5”项下同一供试品溶液（编

号HQ-GS-1），在“2.6”项色谱条件下进样测定6次，测定各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.77%，相对峰面积RSD均小于3.63%，表明仪器精密度良好。

2.7.2 重复性试验 取样品（编号HQ-GS-1）适量，按“2.5”项下方法平行制备6份供试品溶液，在“2.6”项色谱条件下进样测定，测得各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.62%，相对峰面积RSD均小于5.62%，表明该方法重复性良好。

2.7.3 稳定性试验 取“2.5”项下同一供试品溶液（编号HQ-GS-1），于0、2、4、8、12、24 h在“2.6”项色谱条件下进样测定，测得各共有峰的相对保留时间RSD均小于0.50%，相对峰面积RSD均小于3.92%，表明溶液在24 h内稳定性良好。

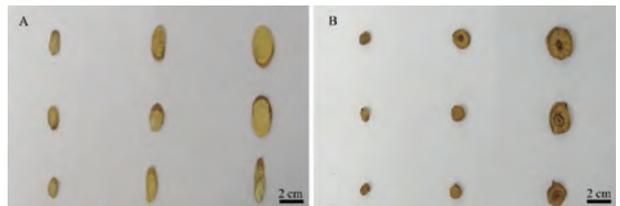
2.8 指纹图谱建立 取28批样品适量，按“2.5”项下方法制备供试品溶液，在“2.6”项色谱条件下进样测定。

2.9 含量测定 按“2.4”“2.5”项下方法制备对照品及供试品溶液，采用课题组前期建立的HPLC法<sup>[15]</sup>测定28批样品中黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素含量。

2.10 化学识别模式 选择甘肃黄芩与正品黄芩共有峰峰面积为变量，采用SIMCA14.1软件对归一化后的数据进行分析。通过主成分分析（PCA）数据降维技术对样品数据集进行自然聚集的预处理，并使用正交偏最小二乘法-判别分析（OPLS-DA）建立判别分析模型。

### 3 结果

3.1 性状鉴别 甘肃黄芩为斜切薄片或类圆形片，质地坚实，直径0.66~1.02 cm，外表皮黄棕色，切面黄色或黄棕色，颜色较正品黄芩浅，很少有中空或腐朽，气微，味苦（图1A）。正品黄芩为类圆形薄片或不规则饮片，质地坚实，直径0.50~1.70 cm，外表皮棕褐色或黄棕色，切面黄棕色，颜色较甘肃黄芩深，老根饮片有中空或腐朽，质地较轻，气微，味苦（图1B）。



注：A为甘肃黄芩（编号HQ-GS-4），B为正品黄芩（编号HQ-HN-5）。

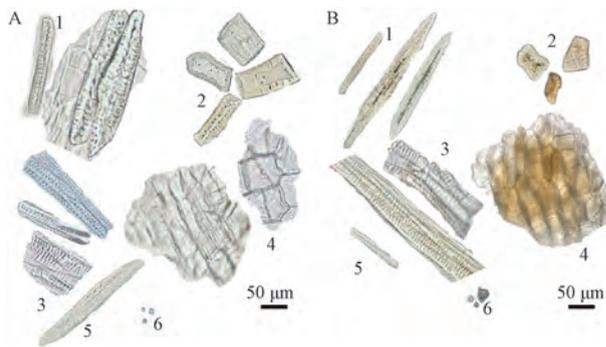
图1 甘肃黄芩与正品黄芩性状

#### 3.2 显微鉴别

3.2.1 粉末显微鉴别 甘肃黄芩粉末淡黄色；韧皮纤维甚多，呈梭形，单个散在或成束，壁厚，孔沟细；石细胞甚多，类方形、椭圆形或不规则型；导管主要为网纹导管，长短不一；淀粉粒类球形，单粒或复粒；木纤维较少，薄壁细胞纺锤形或长圆形，壁连珠状增厚（图2A）。

正品黄芩粉末黄色；韧皮纤维单个散在或成束；石细胞类圆形、长方形或不规则型，壁较厚；木栓细胞棕黄色，

多角形；导管网纹型；木纤维有稀疏斜纹孔；淀粉粒甚多，单粒类球形，复粒由2~3个单粒组成（图2B）。



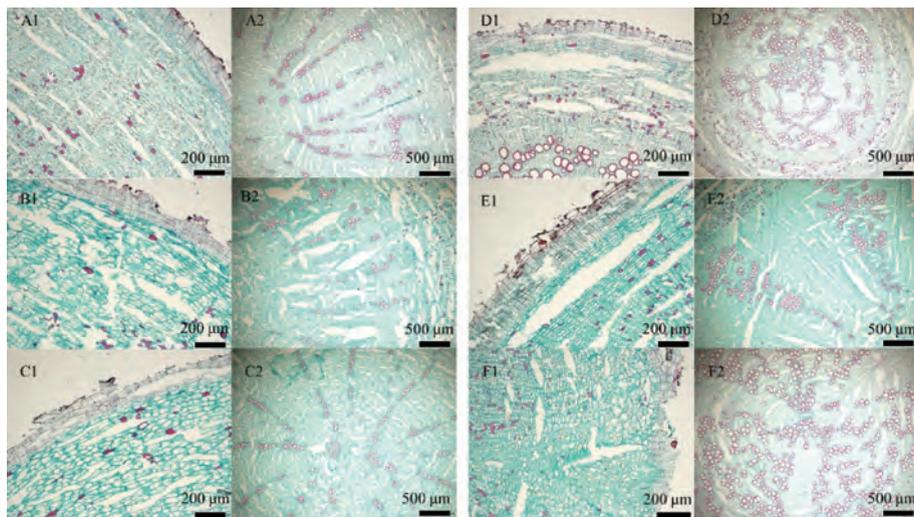
注：A为甘肃黄芩，B为正品黄芩；1为韧皮纤维，2为石细胞，3为导管，4为木栓细胞，5为木纤维，6为淀粉粒。

图2 粉末显微图

3.2.2 横切显微鉴别 甘肃黄芩木栓层外侧破裂，细胞呈扁平状，无石细胞分布；韧皮部石细胞单个或成群散在；木质部导管呈放射状排列，中央无木栓环（图3A~3C）。

正品黄芩木栓层外侧多破裂，细胞呈扁平状，其中偶有石细胞散在，栓内层狭窄，与韧皮部界限不明显；韧皮部多数石细胞单个或成群散在；木质部导管呈扁平层状相间排列或呈切向排列（图3D~3F）。

3.3 水分、总灰分、醇溶性浸出物测定结果 正品黄芩中醇溶性浸出物平均含量为51.45%，波动程度大；甘肃黄芩醇溶性浸出物平均含量为47.00%，两者具有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。正品黄芩水分平均含量为9.53%；甘肃黄芩水分平均含量为9.41%，批次间水分含量较集中。正品黄芩总灰分平均含量为5.15%，其中不同产地不同批次的总灰分均符合2020年版《中国药典》标准；甘肃黄芩总灰分平均含量为5.01%（图4）。



注：A为HQ-GS-1，B为HQ-GS-3，C为HQ-GS-10，D为HQ-CD-3，E为HQ-HN-5，F为HQ-NMG-8；1为放大500倍，2为放大200倍。

图3 横切显微图

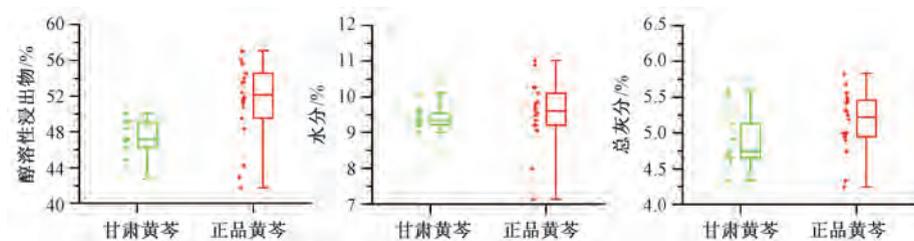


图4 醇溶性浸出物、水分、总灰分测定结果

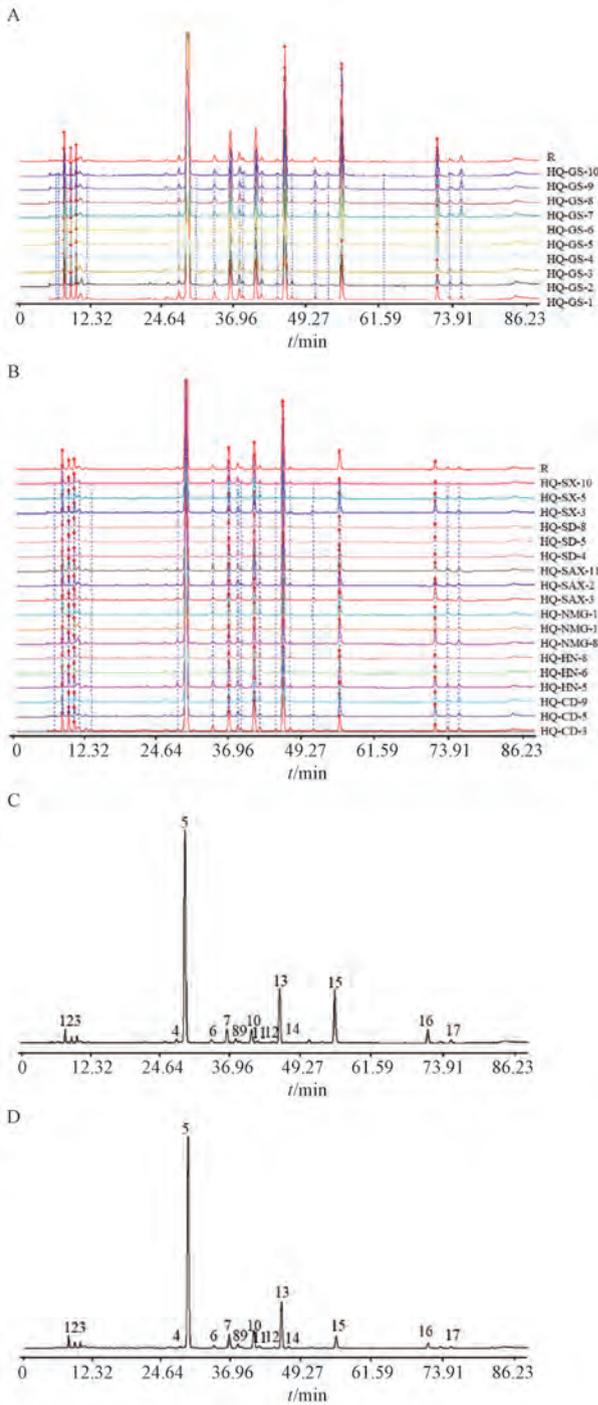
3.4 指纹图谱生成 采用多点校正，中位数法，时间窗为0.1 min，共标定17个共有峰，甘肃黄芩与正品黄芩各自叠加指纹图谱及共有图谱（图5A~5D）。结果，指认了4个化学成分，其中5号峰为黄芩苷，13号峰为汉黄芩苷，15号峰为黄芩素，16号峰为汉黄芩素。

### 3.5 化学模式识别分析

3.5.1 PCA分析 通过将共有峰峰面积归一化后导入

SIMCA 14.1软件，对各样本进行PCA分析，绘制散点图，见图6。结果，正品黄芩样品点较分散，前3个主成分累计贡献率为75.9%。

3.5.2 OPLS-DA分析 将共有峰峰面积归一化后导入SIMCA 14.1软件，进行OPLS-DA分析（图7），结果显示，自变量拟合指数 ( $R^2X$ ) 为0.628，因变量拟合指数 ( $R^2Y$ ) 为0.657，模型预测指数 ( $Q^2$ ) 为0.521。 $R^2$ 和 $Q^2$ 超过0.5



注：A为甘肃黄芩叠加图谱，B为正品黄芩叠加图谱，C为甘肃黄芩共有图谱，D为正品黄芩共有图谱。

5. 黄芩苷 13. 汉黄芩苷 15. 黄芩素 16. 汉黄芩素

图5 各成分HPLC色谱图

表示模型拟合结果可接受。经过200次置换检验，Q2回归线与纵轴的相交点小于0，说明模型不存在过拟合，模型验证有效（图8），可作为甘肃黄芩与正品黄芩鉴别模型。

以VIP大于1为标准，筛选出对甘肃黄芩与正品黄芩分类贡献较大的8个峰，分别为共有峰10、14、15（黄芩素）、11、16（汉黄芩素）、5（黄芩苷）、8、7（图9），其余峰VIP值小于1，对样品的区分作用较小。

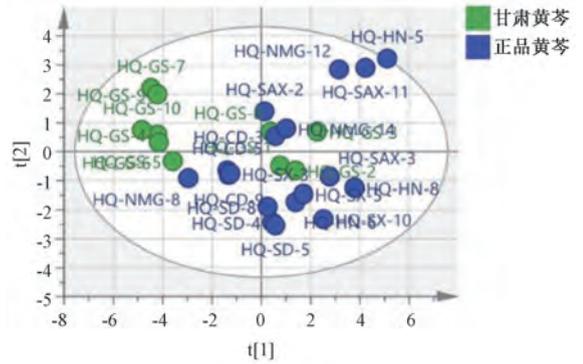


图6 PCA得分图

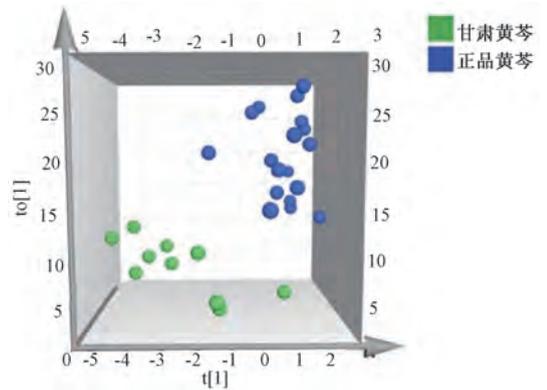


图7 OPLS-DA得分图

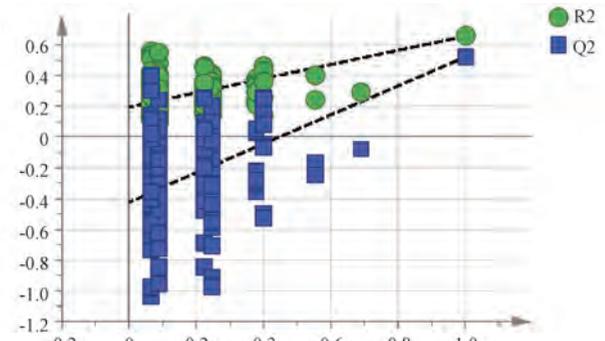


图8 模型验证图

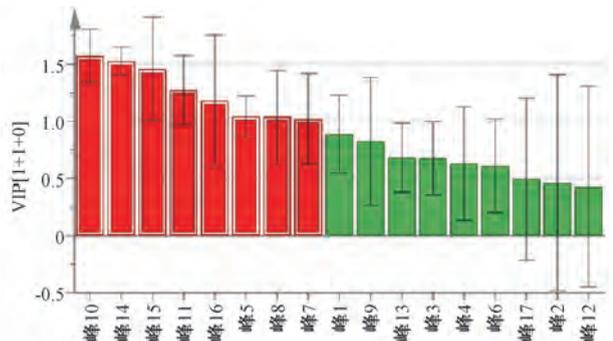


图9 VIP值图

3.6 4个黄酮类成分含量测定结果 由图10可知，正品黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷平均含量比甘肃黄芩高，正品黄芩黄芩苷、汉黄芩苷平均含量分别为12.86%、2.61%，甘肃

黄芩中黄芩苷、汉黄芩苷平均含量分别为 10.85%、2.46%；正品黄芩中黄芩素、汉黄芩素平均含量明显比甘肃黄芩低。正品黄芩中黄芩素、汉黄芩素平均含量分别为 0.51%、0.18%，甘肃黄芩中黄芩素、汉黄芩素平均含量分别为 1.27%、0.34%。两者黄芩苷、黄芩素与汉黄芩素含量有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

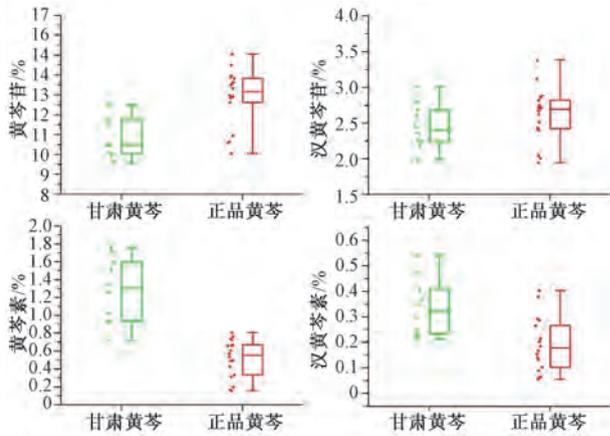


图 10 4 个黄酮类成分含量测定结果

#### 4 讨论

本实验对甘肃黄芩和正品黄芩的性状和显微特征进行初步鉴别发现，与正品黄芩相比，甘肃黄芩饮片切面颜色较淡黄，基本无枯心；甘肃黄芩粉末显微特征与正品相似，其横切面显微中木栓层无石细胞分布，木质部导管单管放射状排列，正品黄芩木栓层有石细胞，木质部导管呈现扁平层状排列或切向排列，与文献 [16-17] 报道一致。

在 HPLC 指纹图谱基础上，结合化学模式识别可区分甘肃黄芩与正品黄芩并评价二者的差异。OPLS-DA 分析显示，根据 17 个共有峰可将两类黄芩区别开来，筛选出 8 个差异成分 VIP 值大于 1，包含黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素。王唯涌等<sup>[18]</sup>研究相同粒度不同种质黄芩，发现正品黄芩与甘肃黄芩的黄芩苷、黄芩素含量有显著性差异，而汉黄芩苷与汉黄芩素无明显区别。周廷智等<sup>[19]</sup>比较了黄芩与甘肃黄芩中黄芩苷含量，结果正品黄芩的黄芩苷含量高，质量优于甘肃黄芩。董毅<sup>[20]</sup>研究发现，甘肃黄芩与正品黄芩黄芩苷与黄芩素含量基本一致。本研究含量测定结果显示，二者的黄芩苷、黄芩素及汉黄芩素含量有显著区别 ( $P < 0.01$ )，正品黄芩的黄芩苷平均含量 (12.86%) 高于甘肃黄芩 (10.85%)，但其黄芩素及汉黄芩素平均含量 (分别为 0.51%、0.19%) 却低于甘肃黄芩 (分别为 1.27%、0.34%)。此外，二者在醇溶性浸出物含量上有显著性差异 ( $P < 0.01$ )，正品黄芩醇溶性浸出物平均含量 (51.45%) 高于甘肃黄芩 (47.00%)。

本研究结果表明甘肃黄芩与 2020 年版《中国药典》记载的正品黄芩在性状、显微及化学特征方面存在差异性，二者在药理活性、疗效等方面的差异性有待通过体外与体内实验进一步研究，以期为提高甘肃黄芩临床使用的合理

性及进一步完善黄芩药材的质量评价体系提供参考。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版四部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 314.
- [2] 佚名. 神农本草经 (本) [M]. 黄爽, 辑校. 北京: 学苑出版社, 2019.
- [3] 李云静, 张建逵, 王冰, 等. 不同产地黄芩药材中黄芩苷等 5 种黄酮类成分含量的比较 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(12): 2985-2988.
- [4] 侯丽丽, 刘春龙, 王成, 等. 高效液相色谱法测定七清败毒颗粒中黄芩苷含量的方法研究 [J]. 中国兽药杂志, 2019, 53(9): 41-48.
- [5] 周红潮, 杜锐, 王慧, 等. 黄芩苷药代动力学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(4): 684-688.
- [6] 孙庆宇, 朱晟, 胡玉霆, 等. 黄芩苷对急性胆道感染大鼠血清炎症反应指标及肝细胞损伤的影响 [J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(18): 2726-2730.
- [7] 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.
- [8] 姚雪, 程云霞, 陈龙, 等. 黄芩化学成分的研究 [J]. 中成药, 2020, 42(11): 2935-2940.
- [9] 郭宇. 中药黄芩的化学成分及药理作用的分析 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(63): 137.
- [10] 龚发萍, 郑鸣. 黄芩的化学成分及药理作用 [J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(34): 176-178.
- [11] 咸坤. 黄芩中 FNS 和 CHS 的生物转化及表达分析研究 [D]. 太原: 山西农业大学, 2020.
- [12] 何欢, 阎岩, 毛仁俊, 等. 黄芩种质资源评价及药理功效研究进展 [J/OL]. 分子植物育种: 1-10 [2024-07-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220704.1450.009.html>.
- [13] 甘肃省食品药品监督管理局. 甘肃中药材标准 (2020 版) [S]. 甘肃: 兰州大学出版社, 2021.
- [14] 张金霞, 罗小明, 李爱堂, 等. 甘肃黄芩栽培技术和药理药效研究进展 [J]. 黑龙江粮食, 2023(10): 45-47.
- [15] 李化, 刘静, 董红敬, 等. HPLC 法与 UPLC 法同时测定黄芩中 5 种黄酮类成分含量的比较 [J]. 中国药房, 2014, 25(35): 3293-3296.
- [16] 王娟, 颜永刚, 张岗, 等. 黄芩根中木间木栓的形成与发育特性研究 [J]. 西北植物学报, 2020, 40(10): 1672-1678.
- [17] 陈玉梅. 黄芩及其非正品的鉴别 [J]. 海峡药学, 2011, 23(8): 56-57.
- [18] 王唯涌, 韩鲁佳. 黄芩纤维构成及黄酮含量的差异分析 [J]. 农业机械学报, 2006(8): 24-28.
- [19] 周廷智, 赵建军, 马鹏生, 等. 宁夏种植黄芩与野生甘肃黄芩中黄芩苷的含量比较 [J]. 宁夏医学杂志, 2011, 33(6): 534-535.
- [20] 董毅. 正品黄芩与甘肃黄芩有效化学成分及抑菌作用的比较研究 [J]. 中国中医药科技, 2010, 17(3): 226-228.