

半枝莲不同采收期质量综合评价

张洪坤^{1,2}, 林钦贤³, 路丽², 吴韶辉⁴, 王其丰¹, 郭长达¹, 高贯彪¹ (1.亳州市沪淮药业有限公司, 安徽亳州 236800; 2.广州市和一医疗科技有限公司, 广东广州 510925; 3.广州市香雪制药股份有限公司, 广东广州 510663; 4.韶关市食品药品检验所, 广东韶关 512026)

摘要 [目的]以多成分含量为指标, 掌握半枝莲不同采收期质量变化规律, 确定半枝莲药材的最佳采收期。[方法]采用紫外-可见分光光度法测定不同采收期半枝莲中总黄酮含量, 高效液相色谱法同时测定野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素等多成分的含量, 并以水溶性、醇溶性浸出物为评价指标。[结果]不同采收期总黄酮、野黄芩苷的含量从大到小依次为7月、9月、5月, 不同生长期含量从大到小依次为开花期、开花前、果实期。其他多成分指标中, 野黄芩苷及浸出物含量均以7月开花期采收的半枝莲最高, 而木犀草素、芹菜素含量则表现不同的规律。[结论]不同采收期半枝莲中质量差异明显, 建议应以7月开花期为半枝莲最佳采收期。

关键词 半枝莲; 采收期; 多成分

中图分类号 R 282.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)36-0172-04

Comprehensive Evaluation on Quality of *Scutellaria barbata* D. Don from Different Harvesting Periods

ZHANG Hong-kun^{1,2}, LIN Qin-xian³, LU Li² et al (1. Bozhou Huqiao Pharmaceutical Industry Limited Company, Bozhou, Anhui 236800; 2. Guangzhou Heyi Medical Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510925; 3. Xiangxue Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510663)

Abstract [Objective] The research aimed to grasp different harvesting periods quality of the law of change and determine the optimum harvest time of *Scutellaria barbata* with multi-component content as the index. [Methods] The content of total flavonoids in different harvesting periods of *Scutellaria barbata* was determined by UV spectrophotometry, and the content of scutellarin, scutellarein, luteolin, apigenin were simultaneously determined by HPLC, and with water soluble extract, alcohol soluble extract as the evaluation index. [Result] The contents of total flavonoids in different harvesting periods were in the order of July > September > May, the content in different growth stages were flowering period > pre-flowering > fruit stage. In other multi-component indexes, the content of *Scutellaria baicalensis* and water soluble extract, alcohol soluble extract were the highest in flowering in July, while the content of luteolin and apigenin showed different rules. [Conclusion] *Scutellaria barbata* in different harvesting periods have significant differences in quality and should be collected in flowering period in July.

Key words *Scutellaria barbata* D. Don; Harvesting periods; Multi-component

半枝莲(*Scutellaria barbata* D. Don)为唇形科黄芩属植物的干燥全草^[1], 夏、秋两季茎叶茂盛时采挖, 味辛、苦、寒, 归肺、肝、肾经, 具有清热解毒、化痰利尿的功效。近代药理学研究表明, 半枝莲具有抗肿瘤、抗病原、抑菌、解热、保肝等活性, 临床用于治疗各种癌症、肝炎、疔疮肿毒、咽喉肿痛、跌打伤痛、水肿、黄疸、毒蛇咬伤等, 疗效确切^[2-5]。半枝莲生于海拔 2 000 m 以下的水田边和溪边或湿润草地上^[6], 为多年生草本, 一次种植可连续采收, 一年可收割 3~4 次^[7]。为掌握不同采收期半枝莲质量变化规律, 笔者以半枝莲药材中野黄芩苷等多成分含量为指标, 监测不同采收期质量变化情况, 以期半枝莲最佳采收期的确定提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试材。半枝莲分别于 2017 年 5、7、9 月期间采自安徽寿县半枝莲基地, 均经广州香雪制药股份有限公司连林生高级工程师鉴定为唇形科黄芩属半枝莲(*Scutellaria barbata* D. Don)的干燥地上部分。采样时要求所有样品均从同一种植区域采集, 共分三茬采样, 尽量保证每批样品均匀。不同采收期(开花前、开花中、结果期)视半枝莲生长情况而定(开花前及结果期采样时间大约间隔 7 d, 分别采收 2 批次, 开花期即采收时每隔 4 d 采收, 开花期共采收 5 批次)。并对每批次样品进行统一方法加工, 加工方式如下: 收获时用刀齐地割

取全株, 除去杂草、泥沙及枯萎的枝叶等杂质, 将鲜品半枝莲均匀平铺, 晒干或阴干至水分合格即可(≤13.0%)。

1.1.2 仪器。RHP-100 型高速多功能粉碎机(浙江永康市荣浩工贸有限公司); XS204 型电子天平(d=0.1 mg, Mettler Toledo); 电热套(500 mL, 海宁市新华医疗器械厂); HWS-26 型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); DHG-9245A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); Agilent-1200 型高效液相色谱仪; YMC Hydro-sphere C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)。

1.1.3 试剂。甲醇(色谱纯, Merck); 甲醇(AR, 170212-1, 西陇科学股份有限公司); 无水乙醇(AR, 161004-1, 西陇科学股份有限公司); 石油醚(60~90 °C)(AR, 20160801-2, 广州化学试剂厂); 磷酸(色谱纯, 阿拉丁); 醋酸(AR, 20150601-2, 广州化学试剂厂); 野黄芩苷(110842-201508, 中国食品药品检定研究院, 含量以 91.3% 计); 野黄芩素(MUST-1602204, 成都曼斯特生物科技有限公司); 木犀草素(111520-201605, 中国食品药品检定研究院, 含量以 99.6% 计); 芹菜素(MUST-1606130, 成都曼斯特生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 浸出物含量测定。

1.2.1.1 水溶性浸出物。取各半枝莲样品粗粉约 4 g, 精密称定, 置 250 mL 锥形瓶中, 精密加水 100 mL, 密塞, 称定重量, 静置 1 h 后, 连接回流冷凝管, 加热至沸腾, 并保持微沸 1 h。放冷后, 取下锥形瓶, 密塞, 再称定重量, 用水补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取滤液 25 mL, 置已干燥至恒重的蒸发

基金项目 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-AH-03)。

作者简介 张洪坤(1986—), 男, 安徽阜阳人, 主管药师, 硕士, 从事中药研发及其质量评价研究。

收稿日期 2018-08-12; **修回日期** 2018-08-16

皿中,在水浴上蒸干后,于 105 ℃ 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定重量,计算供试品中水溶性浸出物的含量。

1.2.1.2 醇溶性浸出物。取各半枝莲样品粗粉约 2 g,精密称定,置 100 mL 锥形瓶中,精密加稀乙醇 50 mL,密塞,称定重量,静置 1 h 后,连接回流冷凝管,加热至沸腾,并保持微沸 1 h。放冷后,取下锥形瓶,密塞,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取滤液 25 mL,置已干燥至恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸干后,于 105 ℃ 干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定重量,计算供试品中醇溶性浸出物的含量。

1.2.2 总黄酮含量测定。

1.2.2.1 对照品溶液的制备。取野黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.2 mg/mL 的溶液,即得。

1.2.2.2 标准曲线的绘制。精密量取对照品溶液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 分别置 25 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。以甲醇为空白,按照紫外-可见分光光度法(2015 年版《中国药典》四部 通则 0401),在 335 nm 的波长处分别测定吸光度,以吸光度为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.2.2.3 供试品溶液的制备。取本品粉末(过 3 号筛)约 1 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚(60~90 ℃)提取至无色,弃去醚液,药渣挥去石油醚,加甲醇继续提取至无色,转移至 100 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,精密量取 1 mL,置 50 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀即得。

1.2.2.4 测定法。取供试品溶液,按照“1.2.2.2”方法,自“以甲醇为空白”起,依法测定吸光度,从标准曲线上读出供试品溶液中野黄芩苷的重量(mg),计算,即得。

1.2.3 多成分含量测定。

1.2.3.1 色谱条件与系统适用性试验。色谱柱:YMC Hydro-sphere C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μ m);检测器:UV 检测器(335 nm);以甲醇为流动相 A,以 0.1%磷酸溶液为流动相 B,按表 1 中的规定进行梯度洗脱;柱温为 30 ℃;流速 1 mL/min。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间 Time min	流动相 A Mobile phase A//%	流动相 B Mobile phase B//%
0	37	63
20~30	45	55
40	50	50
55~60	60	40
61~65	37	63

1.2.3.2 对照品溶液的制备。精密称取野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含野黄芩苷 60 μ g、野黄芩素 4 μ g、木犀草素 5 μ g、芹菜素 8 μ g 的混合对照品溶液。

1.2.3.3 供试品溶液的制备。精密称取本品粉末(3 号筛)

0.2 g,置 100 mL 锥形瓶中,加 70%乙醇 25 mL,立即加热回流 15 min,冷却至室温。过滤,取滤液转移于 50 mL 容量瓶中,重复提取 1 次,合并滤液,加 70%乙醇至刻度,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

1.2.3.4 线性关系的考察。取混合对照品溶液,按“1.2.3.1”色谱条件,分别吸取 0.5、1.0、3.0、5.0、7.0、10.0 μ L 注入高效液相色谱仪进行测定。以峰面积(Y)为横坐标、进样量(X)为纵坐标,绘制标准曲线,进行线性回归。

1.2.3.5 精密度试验。取混合对照品溶液,按“1.2.3.1”色谱条件,重复进样 6 次,记录峰面积 RSD。

1.2.3.6 稳定性试验。取同一份供试品溶液分别于配制 0、2、4、6、8、10、12、16、20、24 h 进行测定,记录峰面积 RSD。

1.2.3.7 重复性试验。取同一批次样品,按“1.2.3.3”方法制备 6 份供试品溶液,精密进样 10 μ L,计算各多成分的平均质量分数和 RSD。

1.2.3.8 加样回收率试验。精密称取同一批次已知含量的样品 0.1 g,共 6 份,按 1:1 加入野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素对照品适量,按“1.2.3.3”方法制备供试品溶液,按“1.2.3.1”色谱条件进样 10 μ L,记录峰面积,计算加样回收率。

1.2.3.9 测定法。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,即得。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 对照品与样品的高效液相色谱峰图。从图 1 可以看出,在相同的色谱条件下,样品在对照品相同出峰时间中均有相应一个峰出现,且该条件下样品中的目标峰与相邻峰的分度较大,空白无干扰,说明此条件适合测定半枝莲中野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素和芹菜素的含量。

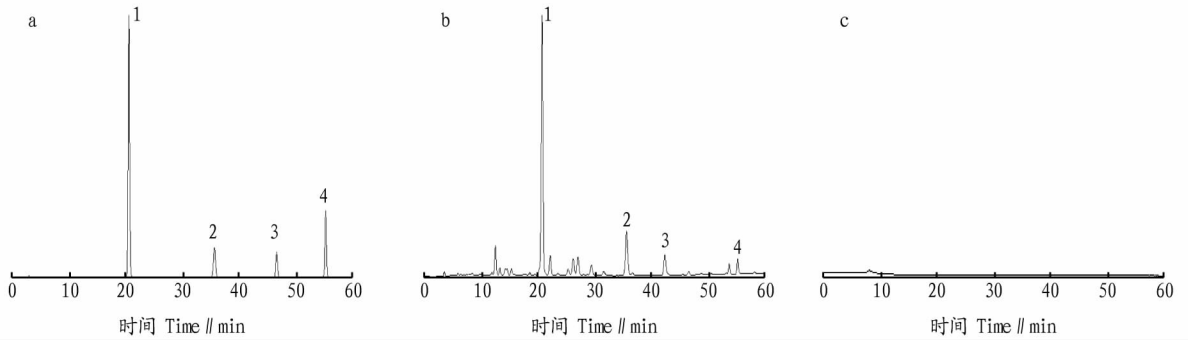
2.1.2 线性关系的考察。以峰面积(Y)为横坐标、进样量(X)为纵坐标,分别绘制标准曲线,进行线性回归,具体结果见表 2。结果表明,野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素在相应浓度范围内线性关系良好。

2.1.3 精密度试验。按照“1.2.3.5”方法操作,结果发现,野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素和芹菜素的峰面积 RSD 分别为 0.1%、0.1%、0.1%、0.3%,表明仪器精密度良好。

2.1.4 稳定性试验。按照“1.2.3.6”方法操作,结果发现,野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素和芹菜素的峰面积 RSD 分别为 0.5%、2.1%、1.4%、0.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.1.5 重复性试验。按照“1.2.3.7”方法操作,结果发现,野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素的平均质量分数分别为 0.775%、0.035%、0.063%、0.103%,RSD 分别为 1.1%、2.0%、1.7%、1.3%,表明该方法重复性良好。

2.1.6 加样回收率试验。从表 3 可以看出,野黄芩苷、野黄芩素、木犀草素、芹菜素的平均加样回收率分别为 100.8%、95.3%、95.2%和 92.1%,RSD 分别为 1.7%、1.2%、1.5%、1.4%,表明该方法回收率较好,方法可行。



注: a.对照品; b.供试品; c.空白对照; 1.野黄芩苷; 2.野黄芩素; 3.木犀草素; 4.芹菜素

Note: a. Standard; b. Sample; c. Blank control; 1. Scutellarin; 2. Scutellarein; 3. Luteolin; 4. Apigenin

图1 半枝莲多成分测定 HPLC 色谱图

Fig.1 Multi-component HPLC chromatogram of *Scutellaria barbata*

表2 标准曲线测定结果

Table 2 Results of standard curves

化学成分 Chemical component	线性方程 Linear equation	R ²	范围 Range μg
野黄芩苷 Scutellarin	Y=0.000 282X-0.000 144	1.000 0	0.027 50~0.549 20
野黄芩素 Scutellarein	Y=0.000 188X+0.000 960	1.000 0	0.002 12~0.042 40
木犀草素 Luteolin	Y=0.000 270X+0.001 445	0.999 8	0.002 63~0.052 60
芹菜素 Apigenin	Y=0.000 209X+0.000 122	1.000 0	0.004 32~0.084 59

2.2 含量测定 方法确定并验证后,取不同采收期半枝莲样品进行各指标含量测定,结果表明(表4),总黄酮含量均符

合2015年版《中国药典》要求,可见该产地采收期内半枝莲总黄酮含量符合要求,其中7月采收期含量显著高于5月、9月采收期,5月与9月采收期含量差别不大,从大到小总体表现为7月、9月、5月;多成分含量测定中,7月、9月采收期野黄芩苷含量均显著高于5月采收期,而野黄芩素、木犀草素含量比较中,9月采收的则明显高于5月、7月,5月与7月间无显著差异;而芹菜素的含量则相反,5月采收的则明显高于7月、9月。浸出物含量比较中,无论是水溶性浸出物还是醇溶性浸出物,7月采收期与另外2者均有显著性差异,含量显著高于5月、9月采收期。按生长期比较,不同月份采收期中,开花期各指标综合含量均较开花前、结果期高,开花前与结果期则均差别不大。

表3 加样回收率试验结果(n=6)

Table 3 Results of recovery tests(n=6)

待测成分 Test component	称样量 Weighing amount g	样品含量 Sample content mg	加入量 Addition mg	测得量 Measured content mg	加样回收率 Sample recovery rate//%	平均加样回收率 Average sample recovery rate//%	RSD %
野黄芩苷 Scutellarin	0.101 6	0.702 7	0.738 7	1.427 4	98.1	100.8	1.7
	0.104 1	0.720 0	0.738 7	1.468 3	101.3		
	0.102 5	0.708 9	0.738 7	1.450 2	100.4		
	0.104 3	0.721 4	0.738 7	1.470 6	101.4		
	0.104 1	0.720 0	0.738 7	1.461 7	100.4		
野黄芩素 Scutellarein	0.101 7	0.703 4	0.738 7	1.464 3	103.0	95.3	1.2
	0.101 6	0.032 1	0.042 4	0.072 1	94.3		
	0.104 1	0.032 8	0.042 4	0.073 0	94.8		
	0.102 5	0.032 3	0.042 4	0.072 7	95.3		
	0.104 3	0.032 9	0.042 4	0.074 1	97.2		
木犀草素 Luteolin	0.104 1	0.032 8	0.042 4	0.072 8	94.3	95.2	1.5
	0.101 7	0.032 1	0.042 4	0.072 8	96.0		
	0.101 6	0.057 5	0.068 4	0.121 5	93.6		
	0.104 1	0.058 9	0.068 4	0.124 3	95.6		
	0.102 5	0.058 0	0.068 4	0.123 0	95.0		
芹菜素 Apigenin	0.104 3	0.059 0	0.068 4	0.125 5	97.2	92.1	1.4
	0.104 1	0.058 9	0.068 4	0.123 0	93.7		
	0.101 7	0.057 5	0.068 4	0.123 1	95.9		
	0.101 6	0.093 4	0.099 5	0.183 3	90.4		
	0.104 1	0.095 7	0.099 5	0.187 5	92.3		
	0.102 5	0.094 3	0.099 5	0.187 1	93.3		
	0.104 3	0.095 9	0.099 5	0.188 6	93.2		
	0.104 1	0.095 7	0.099 5	0.185 9	90.7		
	0.101 7	0.093 5	0.099 5	0.185 9	92.9		

表 4 半枝莲不同采收期质量检测结果 (n = 2)

Table 4 Quality test results of different harvesting periods of *Scutellaria barbata*

月份 Month	生长期 Growing period	总黄酮 Total flavone	野黄芩苷 Scutellarin	野黄芩素 Scutellarein	木犀草素 Luteolin	芹菜素 Apigenin	醇溶性浸出物 Alcohol soluble extract	水溶性浸出物 Water soluble extract
5 月 May	开花前 1	1.58	0.840	0.049	0.012	0.024	24.8	27.6
	开花前 2	1.62	0.842	0.051	0.010	0.024	24.7	27.8
	开花期 1	1.71	0.759	0.112	0.032	0.045	27.0	28.6
	开花期 2	2.34	1.065	0.091	0.023	0.028	27.6	24.8
	开花期 3	1.72	0.781	0.046	0.014	0.022	21.4	22.6
	开花期 4	2.16	0.788	0.033	0.014	0.018	23.8	22.0
	开花期 5	1.87	0.796	0.041	0.011	0.016	21.9	25.2
	结果期 1	1.70	0.786	0.085	0.015	0.031	25.5	25.0
	结果期 2	1.79	0.642	0.083	0.016	0.035	21.6	23.0
	7 月 July	开花前 1	2.03	1.985	0.123	0.012	0.019	27.4
开花前 2		2.25	2.032	0.053	0.010	0.013	30.6	31.6
开花期 1		2.40	2.317	0.069	0.015	0.015	33.9	32.2
开花期 2		3.09	2.399	0.087	0.014	0.017	33.2	31.3
开花期 3		3.04	2.254	0.081	0.019	0.018	33.5	33.3
开花期 4		3.11	2.386	0.086	0.014	0.017	33.5	33.3
开花期 5		3.18	2.203	0.058	0.011	0.014	32.9	30.2
结果期 1		1.57	1.835	0.061	0.014	0.017	30.4	29.7
结果期 2		2.46	1.524	0.054	0.015	0.015	27.7	29.0
9 月 September		开花前 1	1.85	1.877	0.104	0.014	0.016	22.3
	开花前 2	1.78	1.747	0.098	0.014	0.016	22.7	24.8
	开花期 1	2.07	2.072	0.112	0.021	0.022	24.7	25.6
	开花期 2	2.03	2.188	0.113	0.020	0.021	25.1	26.8
	开花期 3	2.27	2.298	0.120	0.021	0.022	23.9	27.5
	开花期 4	2.11	2.133	0.112	0.021	0.023	25.1	27.3
	开花期 5	1.88	1.621	0.088	0.018	0.020	24.2	25.2
	结果期 1	1.63	1.815	0.097	0.019	0.022	21.7	22.6
	结果期 2	1.64	1.598	0.087	0.017	0.021	20.8	20.2

3 讨论

半枝莲为多年生草本,生长过程中几乎无病害发生,易种易管,一次种植可连续采收,一年可收割 3~4 次,而由于 2018 年安徽寿县半枝莲基地入冬早,雨水不充足,第四茬半枝莲生长速度放缓,长势矮小,茎枝细小,产量降低,因此并未采收比较。据统计,半枝莲不同采收期中第一茬生长期长,枝叶最为粗壮,产量最高,占全年产量的 50%。二茬产量占 30%,三茬四茬产量在 20%。

通过分析比较发现,药典规定指标中,不同采收期总黄酮的含量从大到小总体依次为 7 月、9 月、5 月,不同生长期含量从大到小总体依次为开花期、开花前、果实期。其他多成分指标中,野黄芩苷及浸出物含量均以 7 月开花期采收的半枝莲最高,而木犀草素、芹菜素含量则表现不同的规律,其中木犀草素随着月份的增加,含量明显增高,芹菜素含量则相反,头茬半枝莲含量最高,但与 7 月采收期均差别不大。可见 3 个采收时间的半枝莲以 7 月开花期的综合质量最高,该结果与文献报道基本一致^[8-10],这可能与植物的光照、温度、湿度等因素有关,该时期阳光、雨水均充足,茎叶最为茂

盛,而不同生长期比较中,开花期期间茎叶最为茂盛,有效成分较为丰富。因此建议于各茬开花期间采收半枝莲。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:118.
- [2] 郭姗姗,时宇静,高英杰,等.半枝莲总黄酮抗副流感病毒的作用机制[J].药学报,2009,44(12):1348-1352.
- [3] 曾莉萍,林明宝,舒虹.复方半枝莲胶囊体外抗肿瘤作用的实验研究[J].江西医学院学报,2006,46(3):46-48.
- [4] 杨培芬,李钧敏,邵红.半枝莲的次生代谢产物含量测定与体外抑菌活性的研究[J].四川中医,2005,23(11):35-36.
- [5] 冯德富,李小沙.复方半枝莲汤联合阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎疗效观察[J].实用中医内科杂志,2010,24(2):72-75.
- [6] 南京中医药大学.中药大辞典·上册[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:1079.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草 7[M].上海:上海科学技术出版社,1999:210-212.
- [8] 邹箴蕾,吴启南.HPLC 测定不同采收时间半枝莲中的野黄芩苷含量[J].现代中药研究与实践,2005,19(2):45-46.
- [9] 李洁.不同采收期半枝莲中总黄酮含量的比较研究[J].中医药导报,2008,14(5):99,112.
- [10] 范菊娣,覃钧贵,李相陵,等.不同采收期半枝莲中黄酮含量比较[J].医药导报,2016,35(9):987-990.

(上接第 167 页)

- [3] DEWANTO V, WU X Z, ADOM K K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(10): 3010-3014.
- [4] LI P Y, HUO L N, SU W, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica* [J]. J Serb Chem Soc, 2011, 76(5): 709-711.
- [5] MAZOR D, GREENBERG L, SHAMIR D, et al. Antioxidant properties of

bucillamine: Possible mode of action [J]. Biochem Bioph Res Co, 2006, 349(3): 1171-1175.

- [6] 李培源,苏炜,霍丽妮,等.黄葵籽挥发油化学成分及其抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2012,23(3):603-604.
- [7] 李培源,卢汝梅,苏炜,等.地肤子总黄酮含量测定及其抗氧化活性[J].湖北农业科学,2016,55(7):1802-1804.
- [8] 李培源,卢汝梅,苏炜,等.葶藶总黄酮含量测定及其抗氧化活性研究[J].时珍国医国药,2015,26(6):1303-1304.