

综 述

黄芩药材中活性成分黄芩苷的研究概况

李景松 张贵君 张智圆 张雅楠 徐蓓蓓 刘长松

(北京中医药大学中药学院,北京,100102)

摘要 黄芩苷是黄芩药材的药效组分之一。笔者对黄芩药材中黄芩苷的提取方法、含量测定、药理活性三个方面进行了归纳整理,为进一步开发黄芩苷的产品和综合利用、建立黄芩药材及其制剂与临床疗效对应的质量标准提供相关的分析数据。

关键词 黄芩药材;药效组分;黄芩苷;研究概况

Survey on the Active Ingredient Baicalin in Scutellaria Baicalensis

Li Jingsong, Zhang Guijun, Zhang Zhiyuan, Zhang Yanan, Xu Beilei, Liu Changsong

(School of Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract Baicalin is one of the active components of the medicinal materials *Scutellaria baicalensis*. This paper summaries the extraction method of Baicalin from *Scutellaria Baicalensis*, the measurement of content as well as the pharmacological activity, so as to provide analysis data for further development of baicalin and its comprehensive utilization, as well as establishment of quality standard for clinical therapeutic effect of Baicalin and its preparation.

Key Words *Scutellaria baicalensis*; Active components; Baicalin; Research survey

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.04.042

黄芩药材来源为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgia 野生品种的干燥根,对其质量评价通常以黄芩苷含量为指标。我们从黄芩药材中的黄芩苷提取、含量测定及药理作用 3 个方面进行了综述,旨在为其深层次药效组分研究和建立与临床疗效对应的质量评价指标提供相关的分析数据。

1 黄芩药材中黄芩苷的提取方法

黄芩苷的提取方法主要有沉淀法、溶剂法、超声法、微波法、超临界流体萃取法、超滤法等。

1.1 沉淀提取法 本法依据黄芩苷溶于水、化学结构中有葡萄糖醛酸、显弱酸性、在碱性溶液中溶解、在酸性溶液中析出的特性设计。其一般流程为:黄芩药材粗粉水煎煮(2 次)→酸调 pH 1~2(70~80℃ 保温)→静置(12~24 h)→滤过→沉淀物加水混悬→碱调 pH 值 7~7.5(溶解)→加入乙醇搅拌滤过→酸调 pH 1~2(80℃ 保温)→黄芩苷(结晶)^[1]。

采用正交设计优化黄芩苷的提取工艺证明:黄芩提取浓缩液在加酸沉淀过程中,pH、温度、保温和静置时间等,是影响黄芩苷收率的主要因素;最佳工艺条件:酸调 pH 1.5~2.0,保温 70~90℃、30~60 min,静

置 12~24 h。使用酸碱溶剂时,要注意酸性或碱性的强度、与黄芩苷接触的时间,避免黄芩苷水解导致收率降低^[2]。

1.2 溶剂提取法 本法是根据黄芩苷的溶解性,选用合适的溶剂和方法提取。林秀英等^[3]对黄芩苷的溶出效率用薄层扫描法考察溶剂发现:溶出效率与溶剂的极性之间有明显的关联,极性大的溶剂溶出效率高,极性小的溶剂则相反。北崎宏典、石丸顺之等^[4]使用溶剂萃取法可以将黄芩苷和黄芩素分离。向正己烷中添加一些助剂,可有选择性将黄芩素萃取到有机相中,并使最大分配系数可达 10 左右。如使用经 Cynex923 反应助剂浸过的 XAD-7,能将黄芩素基本吸附,并得到纯黄芩苷溶液。但有机溶剂易残留,药用存在安全性隐患。

1.3 超声提取法 超声波振动可使黄芩药材组织在水中瞬间产生的空化泡崩溃、细胞破裂,有利于细胞中的黄芩苷溶出,增强其溶解度。郭孝武等^[5]发现:频率 20 kHz、40 min 为最佳提取条件。

1.4 微波提取法 微波提取法可保证药材细粉在浸出过程中不会凝聚、焦化。唐和卫等^[6]报道,黄芩药材

基金项目:国家教育部科学技术研究重点项目(编号:00167)

通信作者:张贵君,教授,博士生导师,研究方向:中药药效组分及药效组分质量评价体系研究;中药鉴定方法学研究;中药药效组分资源研究。

E-mail:guijunzhang@163.com

中黄芩苷的最佳浸出方案是:输出功率 360 W、半量药材粗粉浸出 15 min,明显优于常规煎煮方法对全饮片进行 3 次浸出的效果。

1.5 超临界流体萃取法 超临界流体法是一种集萃取和分离于一体,又几乎不用有机溶剂的技术。超临界流体是处于临界温度($T_c = 31.4^\circ\text{C}$)和临界压力($P_c = 7.37\text{Ma}$)以上,介于气体和液体之间的流体。这种流体是处于液体和气体的双重特性,它的密度与液体相似、黏度与气体相近,扩散系数虽不及气体大,但比液体大 100 倍。

Lin MC 等^[7]采用超临界萃取方法提取黄芩药材中药效组分,黄芩苷、黄芩素和汉黄芩素的得率分别为 137.6 mg/g、5.6 mg/g 和 2.2 mg/g,且黄芩苷和黄芩素比常规提取法分别提高 21%、51%,但对汉黄芩素提取则无明显差别。徐志宏等^[8]用亚临界水提取法对黄芩苷等进行提取,其提取时间及提取溶剂的消耗量大大减少,避免了使用有机溶剂造成的污染。

1.6 超滤提取法 本方法是根据体系中分子的大小和性状,在埃($\text{\AA}$)数量级上筛选过滤性的技术进行分离、纯化、浓缩或脱盐等。史国富等^[9]采用超滤法提取黄芩苷得率高于常规法和醇提法,产品的外观颜色明显浅于常规法且与醇提法相近。超滤提取法提取黄芩苷可使成本大大降低、缩短生产期短。

2 黄芩苷的含量测定方法

黄芩苷的含量测定方法有多种,传统的测定方法有分光光度法、薄层色谱扫描法、高效液相色谱法。现在已不是某一种技术的单独使用,而是两种或多种技术的配合使用,且在实践中取得了颇为满意的效果。

2.1 分光光度法 其原理利用了黄芩药材所含成分的不饱和度有差异,而致其紫外吸收曲线的形态、峰位、峰强度存在的差异。分光光度法主要是通过待测物在紫外灯下定位而后经一定溶剂洗脱,在分光光度计上测定吸收度来计算含量。张建春等^[10]用双波长法测定小儿安金丸中黄芩苷的含量。

2.2 薄层色谱技术 提取黄芩苷所用溶媒:70% 和 50% 的乙醇及甲醇,实验结果表明,甲醇的提取物背景较为纯净^[11-12]。试验比较硅胶 G 板和聚酰胺板,结果表明聚酰胺板分离度好,斑点圆整, Rf 值适宜。刘训红等^[13-14]曾选用氯仿-甲醇(100:1)、醋酸丁酯-丁酮-醋酸-水(10:7:5:3)等为展开剂,最后确认 36% 的乙酸作展开剂效果最好。薄层扫描则准确,方便、快捷、直观,可避免在紫外分光光度仪检测时其他成分对黄芩苷的干扰。

2.3 高效液相色谱法 纪松岗等^[15]使用高效液相色谱

法同时测定黄芩苷和汉黄芩苷在小柴胡汤中的含量并进行了系统的方法学验证,结果表明小柴胡汤中黄芩苷和汉黄芩苷的含量测定科学准确而且黄芩苷、汉黄芩苷占有较大比重,对这两个组分的测定,有助于提高复方小柴胡汤质量控制水平。

3 黄芩苷的药理作用

3.1 抗病原体 黄芩苷具有广谱抗菌作用,对金黄色葡萄球菌,溶血性链球菌与肺炎链球菌等革兰氏阳性菌和脑膜炎奈瑟球菌,淋病奈瑟球菌等革兰氏阴性球菌有抑制作用。杨得坡等^[16]证明黄芩苷元具有十分明显的抗真菌活性,尤其对酵母型真菌具有选择性作用,最低抑菌浓度在 70 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ 之间。幽门螺杆菌是一种革兰氏阴性螺杆菌状细菌,是一种与多种胃肠疾病相关的重要致病菌抗生素联用治疗副作用大,根除率不稳定,且易形成耐药性。黄芩苷对幽门螺杆菌的体外抑菌效果优于黄芩乙醇提取物。其差异可能与主要抑菌成分黄芩苷的含量差别有关。

黄芩苷抑菌机制包括破坏菌体细胞生物膜,抑制细菌 DNA、RNA、蛋白质的生物合成与降解内毒素等三方面。黄芩水煎液在体外可破坏铜绿假单胞菌的生物膜,还能增强氧氟沙星对生物膜内细菌的抗菌活性,但其作用的机制却不甚清楚。黄芩苷能通过抑制白念珠菌的 DNA、RNA 和蛋白质的生物合成从而杀死细菌细胞死亡进而起到杀菌作用^[17]。内毒素是革兰氏阴性菌细胞壁最外层的脂多糖成分,与多种病理过程相关。窦永青等采用连续倍比稀释的方法,依次选取 6.250 $\mu\text{g/mL}$ 、3.125 $\mu\text{g/mL}$ 、1.562 $\mu\text{g/mL}$ 、0.781 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芩苷溶液,比较不同浓度黄芩苷降解内毒素的作用,发现浓度大于 0.781 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芩苷溶液均有降解内毒素的作用且黄芩苷降解内毒素的作用有时间依赖性和浓度依赖性,随浓度升高和作用时间延长而增强^[18]。

3.2 抗病毒作用 赵品等^[19]报道黄芩苷在细菌培养中能抑 HIV-1 病毒逆转录酶和细胞病变抑制病毒荧光抗原, P24 抗原和成人 T 淋巴细胞白血病病毒,抑制 HIV1 在细胞 H9 中生长。黄芩苷对多种病毒有抑制作用,其中最近几年研究热门的是黄芩苷的抗人类免疫缺陷 HIV-1 的作用。体外培养发现,黄芩苷能抑制由包壳蛋白介导的热带 T 细胞株 x4 与感染 HIV-1 病毒的热带单核细胞株 R 的细胞融合,并可以在 HIV-1 病毒感染的早期阶段阻止 DNA 的复制^[20]。

3.3 抗炎作用 分别用高效液相色谱法、放射免疫分析法和荧光分光光度法测定黄芩苷对大鼠腹腔白细胞内白三烯、环磷酸腺苷和细胞内游离钙水平的影响,表

明黄芩苷可显著抑制细胞内白三烯 B₄、白三烯 C₄ 的生物合成,同时能有有效的抑制人工三肽激发的白细胞内 Ca²⁺ 升高,还可促进细胞内环磷酸腺苷水平提高,证实黄芩苷能显著影响白细胞的多种功能,还显示了其抗炎作用机理^[21]。

3.4 清除自由基的作用 黄芩苷有抗氧化作用。黄芩苷、汉黄芩苷、汉黄芩素、黄芩素 4 种黄酮成分,都能有效的抑制不同体系诱导的线粒体氧化损伤,特别是黄芩苷在各项测定中效果最优^[22]。

在用合适模型研究黄芩提取物(含汉黄芩素 51.1%、黄芩新素 14.8% 和黄芩苷元 35.6%)对鸡胚心肌细胞缺血时损伤和活性氧化物的影响,发现其提取物能有效显著减少线粒体应激时氧化物的生成与细胞死亡^[23]。

3.5 增强免疫力作用 蔡氏等^[24]发现黄芩苷对淋巴细胞增殖具有双向调节的作用,并有相应的量效关系,即高剂量明显抑制而低剂量则明显促进,并且黄芩苷还可提高小鼠脾脏单个核细胞中环磷酸鸟苷含量,对环磷酸鸟苷含量无影响。同一研究者又发现黄芩苷能明显提高小鼠血清 IgM 和 B 细胞分泌 IgM 的水平,还可对血清 IgM 含量的影响呈浓度依赖性,并可显著性增加血清 IgG 的含量,体内用药还可增加机体的体液免疫功能。

4 小结

黄芩苷 6 种主要的提取方法有沉淀提取法、溶剂提取法、超声提取法、微波提取法和超滤提取法,适用不同的要求提取黄芩苷,效果显著;而且黄芩苷的含量测定方法有分光光度法、薄层色谱技术和高效液相色谱法,这 3 种方法能很好的测量黄芩苷的含量,其中高效液相法最有效方便快捷。本文旨在为其深层次药效组分研究和建立与临床疗效对应的质量评价指标提供相关的分析数据。

国内外的大量研究结果表明:黄芩苷具有抗炎、抗病毒和抗氧化外还具有清除自由基、调节免疫系统等多方面的药理作用。因此,我们除利用其传统的清热解毒功能、抗菌消炎外,还可利用其抗氧化功能作为心血管疾病的的治疗药物,其应用前景是非常广阔的。

参考文献

- [1]阮正国. 黄芩苷提取工艺的优选与验证[J]. 中成药研究,1986,7(11):5.
- [2]赫秉军. 改进酸沉工艺提高黄芩总甙收率[J]. 中成药,1994,16(2):7.
- [3]林秀英,宋瑞海,单强,等. 用薄层扫描法考察溶剂对黄芩甙的溶出

速率[J]. 中国中药杂志,1994,19(10):608.

- [4]北崎宏典,石丸顺之,井上胜利,等. 溶媒抽出从黄芩苷中分离黄芩素[C]. 化学工学论文集,1996,22(2):287-293.
- [5]郭孝武. 超声提取黄芩苷成分的实验研究[J]. 中国现代应用药学杂志,1999,16(3):18.
- [6]唐河卫,曹学峰,范志刚,等. 微波技术对黄芩中黄芩苷浸出量影响的研究[J]. 药学实践杂志,2002,20(5):280-282.
- [7]Lin M C, Tsai M J, Wen K C. Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Scutellaria Radix* [J]. *Chroma*, 1999, 830(2):387-395.
- [8]徐志宏,钱广生,刘三康,等. 黄芩中黄芩苷的亚临界水提取高效液相色谱分析[J]. 色谱,2004,22(1):44.
- [9]史国富,张少杰,马兰花,等. 不同方法提取黄芩中黄芩甙的实验研究[J]. 山西医科大学学报,1999,30(增刊):30.
- [10]张建春,冯向庭,陈鼎继,等. 双波长分光光度法测定小儿安金丸中黄芩甙的含量[J]. 西北药学杂志,1997,12(1):6.
- [11]中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 广州:广东科技出版社,1995:271.
- [12]林似兰,赵陆华,吴智南. HPLC 法测定黄连上清丸中十种成分的含量[J]. 中国药科大报,1989,20(3):136-138.
- [13]刘训红,王玉玺. 中药材薄层色谱鉴别[M]. 天津:天津科学技术出版社,1990:181.
- [14]李建业. 中成药薄层色谱分析[M]. 天津:天津科学技术出版社,1992:235.
- [15]纪松岗,刘晓帆,朱臻宇,等. 高效液相色谱法测定小柴胡汤中黄芩苷、汉黄芩苷的含量[J]. 第二军医大学学报,2010,29(9):1010-1013.
- [16]杨得坡,胡海燕,黄世亮. 黄芩甙元和黄芩甙对皮肤真菌与细菌抑制作用的研究[J]. 中药材,2000,23(5):272-274.
- [17]熊英,傅颖媛,况南珍,等. 黄芩苷抗白念珠菌作用及机制研究[J]. 中国药理学通报,2004,20(12):1047.
- [18]贾永青,杜文力,薛毅,等. 黄芩苷降解内毒素的定量分析测定[J]. 华西口腔医学杂志,2007,25(2):169-172.
- [19]赵品. 黄芩苷元及其衍生物制备与抗人免疫缺陷病毒实验研究[J]. 药学学报,1997,32(2):140-143.
- [20]Baylor NW, Fu T, Yan YD, et al. Inhibition of human T cell leukemia virus by the Plant flavonoid baicalin (7-glucuron acid 5,6-dihydroxy-flavone) [J]. *Infect Dis*, 1992, 165(3):433-436.
- [21]侯艳宁,朱秀媛,程桂芳,等. 黄芩甙的抗炎机理[J]. 药学学报,2000,35(3):161-164.
- [22]高中洪,黄开勋,卞曙光,等. 黄芩黄酮对自由基引起的人鼠脑线粒体损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报,2000,16(1):81-83.
- [23]李敏,杨瑞. 黄芩药理学研究进展[J]. 临床和实验医学杂志,2009,8(1):137-138.
- [24]蔡仙德,谭剑平,穆维同,等. 黄芩苷对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 南京铁道医学院学报,1994,13(2):65-68.

(2012-07-30 收稿)