

黄芩的结构与黄芩苷含量的关系

李欣, 魏朔南*

(西北大学生命科学学院, 西安 710069)

摘要: 应用解剖学、组织化学定位和植物化学技术, 研究了一、二年生黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 营养器官的结构特征与黄芩苷积累的关系。结果表明: 黄芩各营养器官的结构类似于一般草本双子叶植物, 黄芩苷主要分布在各器官的薄壁组织细胞内, 其中以维管组织的薄壁细胞为多。器官间含量的不同表现为根 > 叶 > 茎, 这与其结构特征相对应, 根中维管组织所占比例最大, 其中薄壁组织细胞又占主要部分, 故根中黄芩苷含量最高。说明根部是黄芩苷的主要贮存部位, 符合黄芩以根入药的传统。不同生长期黄芩苷含量测定结果表明, 两年生营养生长前期春季根内含量最高, 所以春季采挖为好。

关键词: 黄芩; 营养器官; 黄芩苷; 含量变化

中图分类号: Q944.54

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2009)03-0256-06

Relationship between Structure and Baicalin of *Scutellaria baicalensis* Georgi

LI Xin, WEI Shuo-Nan *

(College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: The anatomy, histochemistry and phytochemistry methods were applied in the study of the relationship between the structures of vegetative organs of one-year-old and two-year-old *Scutellaria baicalensis* Georgi and its effective ingredients. The results showed that the development and primary structure of the vegetative organs were the same as other dicotyledons. The baicalin was distributed in the parenchyma cells of vegetative organs and concentrated in the vascular tissue. The content of baicalin in different vegetative organs showed conspicuous difference, the highest amount was in the root, the lowest one was in the leaf and the amount in stem lay between them. This difference related to their structures. In the root of *S. baicalensis*, the vascular tissue in which parenchyma cells were the major elements took a major portion, so it was the reason why the highest baicalin amount was got in root. As a result, the root was the main storing sites for baicalin, which was coincident with the tradition, i. e. the root of *S. baicalensis* Georgi was used as medicinal parts. In addition, the highest baicalin content was detected in the two-year-old root at the early stage of vegetative growth, so it should be better to harvest in spring.

Key words: *Scutellaria baicalensis* Georgi; Vegetative organs; Baicalin; Content variation

中药黄芩为唇形科 (Labia-ae) 黄芩属 (*Scutellaria*) 多年生草本植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根^[1], 是我国大宗中药材之一, 药用历史悠久。黄芩苷是黄芩中主要的药用成分之一, 黄芩的许多药理作用都与其有直接关系^[2]。现代医学证明黄芩苷在治疗糖尿病并发症、抗肿瘤、抑制人类免疫缺陷病毒 (HIV-1) 和 T 细胞白血病病毒 (HTLV-1) 以及治疗心血管疾病等方面都具有潜在开发应用价值^[3-5]。关于黄芩的药用成分在其营养器官中存在的部位及其含量与各营养器官结构的相

关性报道较少, 在研究了药用部位根的发育基础上^[6], 本研究对陕西栽种的一年生、两年生黄芩各营养器官的组织结构、黄芩苷的积累部位和含量进行测定, 为深入研究植物次生代谢产物的积累部位及含量与其结构特征的关系提供参考, 同时为合理利用和保护黄芩药材资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为一年生和两年生黄芩 (*Scutellaria*

收稿日期: 2008-06-10, 修回日期: 2008-10-08。

基金项目: 陕西省教育厅自然科学基金项目 (07JK402)。

作者简介: 李欣 (1981 -), 女, 汉族, 内蒙包头人, 硕士研究生, 从事结构植物学与植物资源学研究; 魏朔南, 教授, 从事结构植物学与植物资源学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: wsn0505@nwu.edu.cn)。

baicalensis Georgi) 各营养器官,于2007年采自西北大学植物园。种子采自内蒙古赤峰。对各营养器官按照营养生长期、始花期、盛花期、果期和枯萎期5个时期取材,其中两年生还包括根部营养生长前期的材料。

1.2 方法

1.2.1 植物解剖学

石蜡切片法:选择生长健壮的植株,取其根、茎、叶作为实验材料,FAA固定,常规石蜡切片,厚度为8~10 μm,番红-固绿染色,中性树胶封片,Leica-DMLB显微镜观察并照相。

1.2.2 黄芩苷的组织化学定位

取新鲜材料进行徒手切片,分别滴加等量5% NaOH溶液和5%三氯化铁溶液,显色1~2 min后立即用Leica-DMLB显微镜观察并照相。取经70%酒精配制的FAA固定液处理48 h后的材料为对照材料,分别滴加以上溶液,显色1~2 min后立即用Leica-DMLB显微镜观察并照相。

1.2.3 黄芩苷定量分析

仪器 所用仪器为:KS-80D型超声提取仪,SHB-Ⅲ循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),MA200电子天平,日本岛津PDF-10A高效液相色谱仪。

高效液相色谱法的色谱条件 色谱柱为Diamondsil C₁₈(5 μm,250×4.6 mm);流动相为甲醇-水(53:47);流速为1 mL/min;柱温30℃;检测波长280 nm。

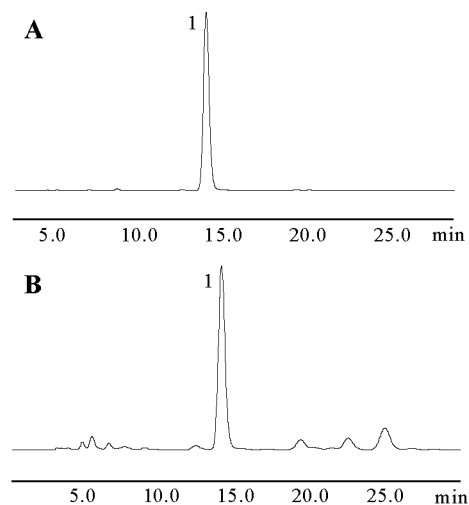
按上述色谱条件测得对照品和黄芩样品的色谱图见图1。

样品溶液制备 精密称取黄芩根茎叶粉末各0.5 g,置50 mL三角瓶中,加入20 mL无水乙醇,超声波振荡0.5 h,过滤。滤液用无水乙醇定容至100 mL容量瓶中,再取此溶液1 mL用甲醇定容至10 mL容量瓶中,过0.45 μm滤膜,备用。

标准曲线制备 精密称取在60℃减压干燥4 h的黄芩苷标准品6 mg,甲醇定容置10 mL容量瓶中,再取此溶液1 mL,加甲醇定容至10 mL容量瓶中,即得浓度为60 μg/mL的黄芩苷对照品溶液。取2、4、6、8、10 μL进样,测定峰面积。以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标得线性回归方程: $y = 2217.1x - 32635$, $r = 0.9981$ 。

精密度测定 取同一供试样品溶液5份,进样20 μL测定,结果相对标准偏差RSD为0.27%。

样品溶液测定 精密量取样品溶液20 μL进



A. 对照品; B. 黄芩样品; A图和B图中的1为黄芩苷
A. Reference substance; B. Sample of *Scutellaria baicalensis* Georgi. 1. Baicalin

图1 黄芩苷的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of baicalin

样,依据1.2.3中标准曲线制备的方法,测定样品中黄芩苷的含量。

2 实验结果

2.1 黄芩各营养器官的结构及黄芩苷在营养器官中的组织化学定位

2.1.1 根、茎、叶的结构

解剖学观察表明,黄芩各营养器官的结构类似一般草本双子叶植物。一年生和两年生主根结构基本相同(图版I:1),从外到内由周皮、中柱鞘细胞环和次生维管组织构成。主要构成部分是维管组织,占根的绝大部分,其中木质部与韧皮部比例为2:1,在韧皮部中有大量薄壁组织细胞。两年生主根各类组织细胞的数量明显增加,主根直径达一年生的2~2.5倍。黄芩茎的横切面呈四棱形,从外到内由表皮、皮层、维管柱和髓组成(图版I:2)。维管束约占整个茎横切面的30%;韧皮部和木质部的比例约为1:1;茎中央的髓部较发达,由大量薄壁细胞组成,约占茎横切面的1/3;4个棱角处分化出的厚角组织,约占整个茎横切面的10%。黄芩的叶由叶片和叶柄两部分组成(图版I:3,4)。叶片为典型的异面叶,由表皮、叶肉和叶脉构成。叶肉是构成叶的主要部分,由栅栏组织和海绵组织构成;栅栏组织和海绵组织的比例约为1:1。叶脉为网状脉,主脉处的表皮下有少量厚角组织,其内的薄壁组织发达,约占叶脉的60%,维管组织约占40%;木质部与韧皮部比

例约为2:1。叶柄很短,各部分结构与叶脉相似。

2.1.2 黄芩苷在营养器官中的组织化学定位

应用组织化学定位确定药用成分在植物体中的分布是一种有效的研究手段^[7-10]。黄芩中黄芩苷能与5%氢氧化钠溶液发生深浅不一的橙黄色显色反应。实验表明,不同的营养器官中黄芩苷的分布情况不同。在根中,显色主要发生在韧皮部和木质部薄壁组织细胞以及中柱鞘环的薄壁细胞,均呈橙黄色,周皮、维管形成层、导管及纤维、石细胞不显色(图版 I:5);在茎中,显色出现在韧皮部的薄壁细胞和厚角组织细胞,呈浅橙黄色,髓等其他组织不显色(图版 I:6);在叶中,仅叶脉韧皮部薄壁组织及其周围薄壁组织呈浅橙黄色,其余组织不显色(图版 I:7)。各器官呈现的颜色深浅程度显示根最深、而茎、叶则浅(图版 I:5,6,7)。

黄芩苷也属于酚类物质,因此也可与三氯化铁溶液发生颜色反应。实验结果显示,根与三氯化铁溶液呈黑绿色显色反应(图版 I:8),其显色部位与氢氧化钠显色结果一致。

同时,经70%酒精配制的FAA固定液处理后的对照材料,与以上显色剂都不发生显色反应(图版 I:9,10,11)。

2.2 营养器官中黄芩苷的含量测定

2.2.1 一年生根中黄芩苷含量

对一年生黄芩根营养生长期、始花期、盛花期、果期和枯萎期黄芩含量进行测定,结果显示,营养生长期到始花期逐渐增高,始花期到盛花期降低,盛花期最低,之后到果期和枯萎期黄芩苷含量又呈增高的趋势,枯萎期最高,为8.42%(见图2)。

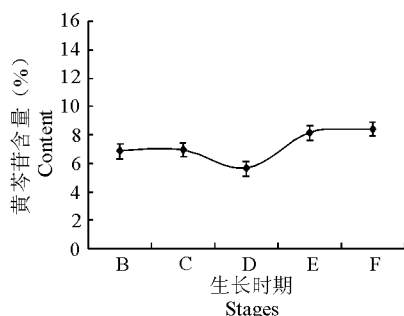


图2 一年生黄芩根在不同生长时期黄芩苷含量
Fig. 2 Baicalin content in different stages of one-year-old root of *Scutellaria baicalensis* Georgi

A: 营养生长前期; B: 营养生长期; C: 始花期; D: 盛花期; E: 果期; F: 枯萎期。图3~图7中各代号参见图2。
A: Early stage of vegetative growth; B: Vegetative growth phase; C: Initial blossoming stage; D: Fully blossoming stage; E: Fruit stage; F: Wilting stage. Symbols in figure 3-7 of refer to figure 2

2.2.2 一年生黄芩茎、叶中黄芩苷含量

2.2.2 一年生黄芩茎、叶中黄芩苷含量

采集营养生长期、始花期、盛花期、果期的茎叶,测定其黄芩苷含量,结果显示,黄芩茎、叶均含有黄芩苷,但含量很低,同一生长时期叶比茎稍高。其茎、叶在4个时期中,黄芩苷含量的变化趋势比较一致,都是先升高再降低,在盛花期含量最高(见图3)。

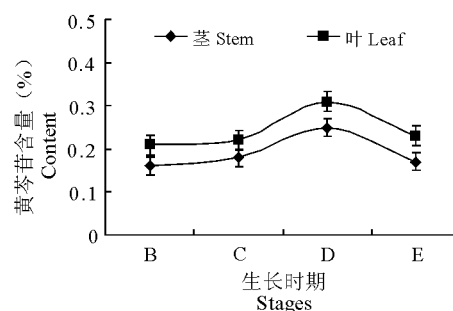


图3 一年生黄芩茎、叶在不同生长时期黄芩苷含量
Fig. 3 Baicalin content in different stages of one-year-old stems and leaves of *Scutellaria baicalensis* Georgi

2.2.3 一年生黄芩各营养器官的黄芩苷含量

在营养生长期、始花期、盛花期、果期,对一年生黄芩各营养器官的黄芩苷含量进行测定,结果表明,其含量都是根>叶>茎(图4)。在果期根、茎、叶中含量分别为8.13%、0.17%和0.23%。根含量是茎的44倍,是叶的31倍,而茎和叶的含量相差不大。

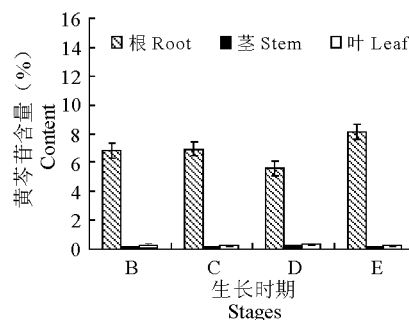


图4 一年生黄芩各营养器官黄芩苷含量
Fig. 4 Baicalin content in different nutritive organs of one-year-old *Scutellaria baicalensis* Georgi

2.2.4 两年生黄芩根中黄芩苷含量

两年生根中黄芩苷含量在不同生长时期的变化见图5,从营养生长前期到营养生长期显著增高,之后逐渐降低,盛花期最低,进入果期和枯萎期黄芩苷含量又逐渐增加,整个过程中出现两个高峰期即营养生长期和枯萎期,且营养生长期高于枯萎期,为11.34%,高于中国药典(2005版)对黄芩药材(不低于9%)的规定。

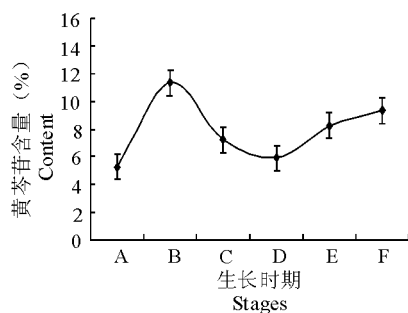


图5 两年生黄芩根在不同生长时期黄芩苷含量

Fig. 5 Baicalin content in different stages of two-year-old root of *Scutellaria baicalensis* Georgi

2.2.5 两年生黄芩茎、叶中黄芩苷含量

采集从营养生长期到果期的茎、叶,测定其黄芩苷含量,结果显示,黄芩茎、叶的黄芩苷含量很低,同一生长时期叶比茎稍高。在茎、叶存在的4个时期中,二者变化趋势比较一致,都是先升高再降低,盛花期含量最高(见图6)。

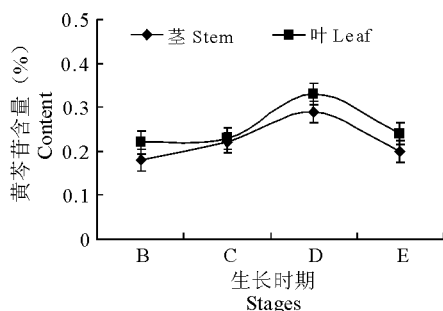


图6 两年生黄芩茎、叶在不同生长时期黄芩苷含量

Fig. 6 Baicalin content in different stages of two-year-old stems and leaves of *Scutellaria baicalensis* Georgi

2.2.6 两年生黄芩各营养器官的黄芩苷含量

从营养生长期到果期比较各营养器官中黄芩苷含量,结果显示,无论哪个生长时期,根都远大于茎和叶,即地下部分含量大于地上部分;这表明在黄芩植株整个生长时期中,虽然在不同生长期根中黄芩苷含量会有所变化,但各营养器官中根部黄芩苷含量总是最高(见图7)。

3 讨论

比较各器官解剖学研究结果显示,根中维管组织占整个根组织的80%以上,其中薄壁组织细胞又占主要地位,而茎中维管组织只占40%,且其构成主要是导管和韧皮纤维,薄壁细胞很少;叶维管组织仅存在于叶脉中;组织化学研究显示,显色反应主要发生在各营养器官的维管组织;比较各器官黄芩苷

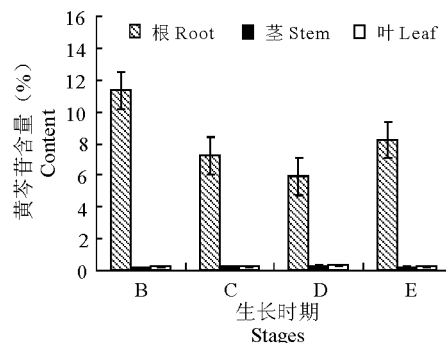


图7 两年生黄芩各营养器官黄芩苷含量

Fig. 7 Baicalin content in different nutritive organs of two-year-old *Scutellaria baicalensis* Georgi

含量测定结果表明,根中黄芩苷含量最高,而茎和叶中含量很低。因此,结合解剖学、组织化学和植物化学研究结果,可以看出各营养器官中黄芩苷含量大小主要与维管组织的薄壁组织细胞数量相关。可见,黄芩苷含量与黄芩各器官的结构特征有着密切的关系,表明植物次生代谢产物的积累与其组织结构特征密切相关。

李世等^[11]研究了一年生黄芩根部干物质的积累动态指出,在其生长前期根部干物质积累缓慢,而进入结实期以后积累速度加快,枯萎前后的2.5个月最快,是根部产量形成的主要时期,秋季枯萎期根部干重的比例达68.3%。本文对一年生黄芩不同生长时期根中黄芩苷含量的测定结果表明,从营养生长期开始到枯萎期,呈上升—降低—再上升的变化趋势,枯萎期最高,与李世等的结果基本一致。由各生长时期各营养器官黄芩苷含量测定结果显示,一年生和两年生黄芩根中黄芩苷含量总远大于各时期的茎和叶,如两年生在营养生长期,根的黄芩苷含量是茎的63倍,是叶的51.5倍。表明其根始终是黄芩苷的主要贮存部位,符合黄芩以根入药的用药传统。

黄芩苷是黄芩主要的次生代谢产物之一,本实验所反映的黄芩苷的积累动态变化与黄芩生长的各阶段及自身代谢速率有一定关系,但具体哪些因素对其代谢的不同阶段产生影响,这种变化与植株的营养成分和其它次生代谢产物有怎样的联系,还有待进一步研究。

对于采收年限和采挖时间,已有的报道存在不同观点。崔玉菊等^[12]认为一年半时根中黄芩苷含量最大,日本学者富森毅^[13]认为黄芩根以在第二年结果期的后半期采集为好,古崎正雄等^[14]认为黄芩的栽培期需两年以上。本研究结果表明,一年生根

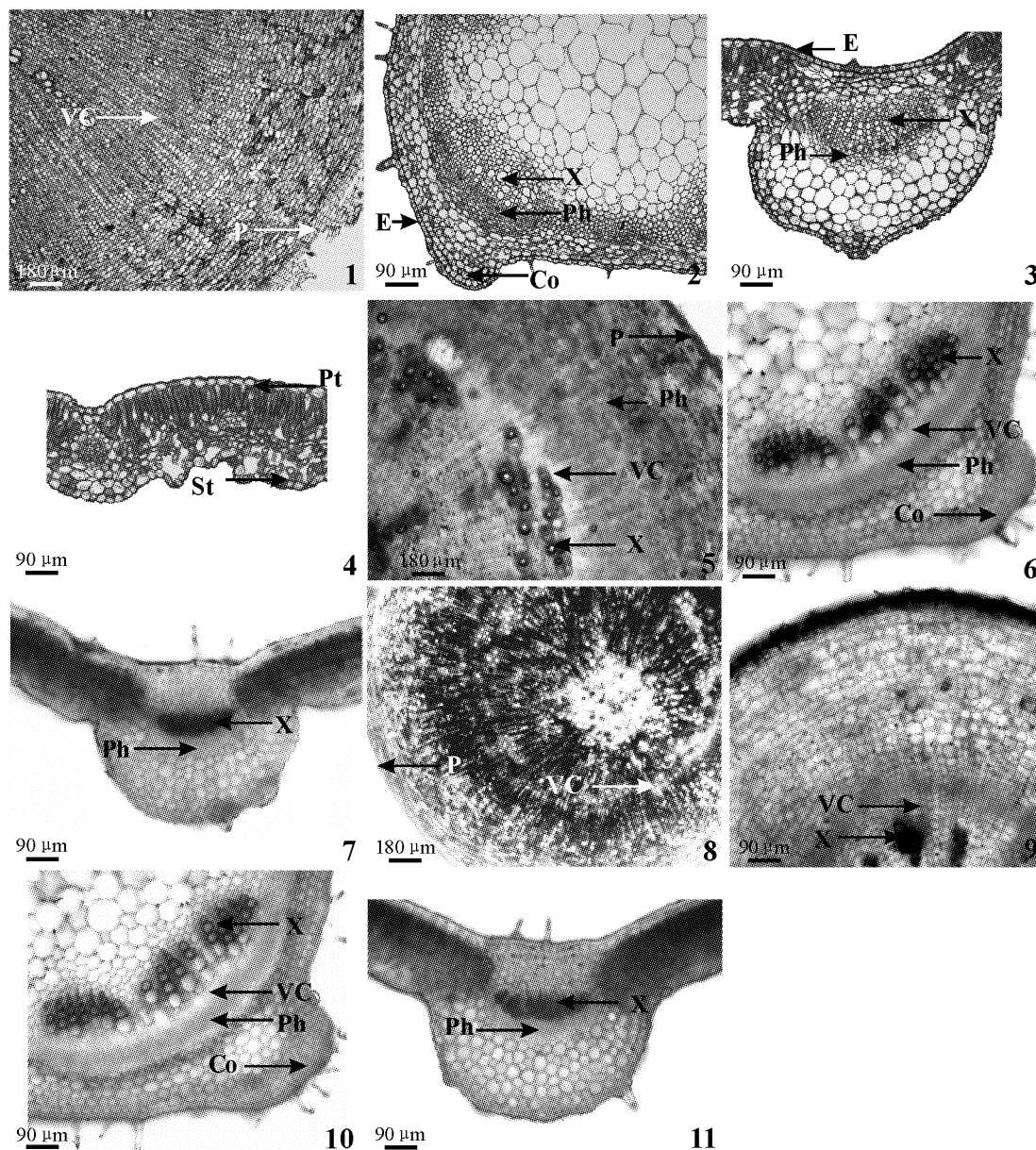
黄芩苷含量较低不具备采收条件,两年生在春季和秋季两个高峰期的含量均符合药典规定,所以两个季节都可采收,这与传统的采挖经验一致。两个含量高峰中春季又高于秋季,且所栽培地西安地区秋季雨水较多,采挖不便,所以两年生黄芩在春季采挖更为合理。

致谢:感谢西北大学胡正海教授及蔡霞副教授在实验过程及论文撰写中给予的悉心指导。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:211-212.
- [2] 张喜平,田华,程琦辉. 黄芩苷的药理作用研究现状[J]. 中国药理学通报,2003,19(11):1212-1215.
- [3] 熊英,傅颖媛,况南珍,张文平. 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):1404-1407.
- [4] 刘萍,王菊英,李倩,许复郁,王姿颖,徐红岩,刘兆平,张岫美. 黄芩苷对大鼠脑缺血再灌注损伤后海马神经元 HSP70 表达的影响[J]. 药学报,2006,41(7):619-624.
- [5] Baylor N W, Fu T, Yan Y D. Inhibition of human T cell leukemia virus by the plant flavonoid baicalin[J]. *J Infect Dis*, 1992, 165(3):433-437.
- [6] 李欣,魏湖南. 黄芩根的解剖学研究[J]. 武汉植物学研究, 2008,26(1):31-37.
- [7] 蔡霞,张爱新,吴鸿,胡正海. 青藤与毛青藤茎中青藤碱积累的组织化学研究[J]. 西北植物学报,1999,19(1):104-107.
- [8] 刘世彪,廖海民,胡正海. 绞股蓝营养器官各发育阶段结构与总皂甙含量相关性的研究[J]. 武汉植物学研究,2005,23(2):144-148.
- [9] Michinori Kubo, Tadato Tani, Tadahisa Katsuki, Keishi Ishizaki, Shigeru Arichi. Histochemistry I: Ginsenosides in ginseng (Panax ginseng root)[J]. *J Nat Prod*, 1980, 43(2):278-284.
- [10] Corsi G, Biasci D. Secretory structures and localization of alkaloids in *Conium maculatum* L. (Apiaceae)[J]. *Ann Bot*, 1998, 81(1):157-162.
- [11] 李世,苏淑欣,姜淑霞. 一年生黄芩地上地下干物质积累与分配规律研究[J]. 承德职业学院学报,2007,2:146-148.
- [12] 崔玉菊,班福志. 黄芩生长期对黄芩甙含量及黄芩产量的影响[J]. 山东医药工业,1996,15(3):55.
- [13] 富森毅. 黄芩属植物成分研究(第七报:黄芩根的生长与黄酮的季节变化)[J]. 日本生药学杂志,1986,40(4):381.
- [14] 古崎正雄. 黄芩生长过程中黄酮类含量的变化[J]. 国外医学(中医中药分册),1987,9(1):50-51.

李 欣等:图版 I

LI Xin *et al.*: Plate I

Co. 厚角组织; E. 表皮; P. 周皮; Ph. 韧皮部; Pt. 栅栏组织; St. 海绵组织; VC. 维管形成层; X. 木质部。1. 一年生根横切面, 示各部分结构; 2. 一年生茎横切面, 示各部分结构; 3. 一年生叶主脉横切面, 示主脉各部分结构; 4. 一年生叶片横切面, 示叶肉各部分结构。5~7 为 5% NaOH 对营养器官中黄芩苷的组织化学显色图: 5. 一年生根横切面, 示韧皮部和木质部薄壁细胞呈黄色; 6. 一年生茎横切面, 示韧皮部和厚角组织被染成浅黄色; 7. 一年生叶横切面, 示叶脉韧皮部及其周围薄壁细胞被染成浅黄色。8. 一年生根横切面, 示 5% FeCl_3 对一年生根的组织化学显色。9~11. 营养器官的对照显色, 示一年生根、茎、叶都没有发生显色反应

Co. Collenchyma; E. Epidermis; P. Periderm; Ph. Phloem; Pt. Palisade tissues; St. Spongy tissues; VC. Vascular cambium; X. Xylem. 1. Partial cross section of the one-year-old root, showing different histological structures; 2. Partial cross section of the one-year-old stem, showing different histological structures; 3. Partial cross section of the one-year-old leaf midrib, showing different histological structures; 4. Partial cross section of the one-year-old leaf blade, showing different histological structures of mesophyll. 5~7. Cross-sections of vegetative organs stained with 5% sodium hydroxide, which is for baicalin-like substance; 5. Partial cross section of the one-year-old root, showing parenchyma in xylem and phloem was yellow; 6. Partial cross section of the one-year-old stem, showing phloem and collenchyma were light yellow; 7. Partial cross section of the one-year-old leaf, showing phloem in leaf midrib and parenchyma around it were light yellow. 8. Partial cross section of the one-year-old root, showing the one-year-old root stained with 5% ferric trichloride. 9~11. Cross-sections of vegetative organs in the control experiment, showing no color reaction in the one-year-old root, one-year-old stem and one-year-old leaf