# 基于多指标成分含量测定探索黄芩药材质量综合评价模式

徐境荣[1,2,3], 于钦川[1,2,3], 赖 莉[1,2,3], 王淑美[1,2,3], 罗国安[4], 谢媛媛[1,2,3*]

(1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006; 2. 广东省中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006; 3. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室, 广东 广州 510006; 4. 清华大学化学系, 北京 100084)

**摘要**: 本研究基于多指标成分含量测定探索黄芩药材质量综合评价模式, 采用高效液相色谱 (HPLC) 建立黄芩中8种黄酮类成分同时定量分析的方法, 建立以黄芩苷为内参比物质的一测多评法 (QAMS); 采用2,2'-联氨-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二胺盐 (ABTS$^+$) 法测定不同批次黄芩药材抗氧化活性, 并以这8种成分的含量与抗氧化活性效价进行灰色关联度分析, 评价不同成分对黄芩药材抗氧化活性的贡献; 比较不同产地、不同商品规格、不同采收年限黄芩药材的综合质量。结果表明, 以黄芩苷为内参比物质测得的各指标成分相对校正因子系统适应性良好, QAMS法测定结果与外标法无显著差异; 黄芩苷等8种指标成分与黄芩药材抗氧化活性关联性较强, 灰色关联系数在0.772 4～0.808 6之间, 其中黄芩苷、汉黄芩苷和粘毛黄芩素III等的含量与药材抗氧化活性负相关, 而黄芩素、汉黄芩素、千层纸素A、去甲汉黄芩素苷和千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*葡萄糖醛酸苷等的含量则与药材抗氧化活性正相关。黄酮苷与黄酮苷元含量比值 (G/A) 结合药材性状特征可作为划分不同品类黄芩药材的评价指标。G/A小于10为枯芩, G/A大于10为子芩或含有枯心的子芩。本研究所建立的QAMS简便、准确, 可用于黄芩8种黄酮类成分含量测定, 结合ABTS$^+$抗氧化活性与灰色关联度分析法建立了基于生物活性的黄芩质量综合评价模式, 为建立符合中药自身特色的质量标准提供了新的思路和方法。

**关键词**: 黄芩; 黄芩苷; 一测多评; 相对校正因子; 抗氧化; 灰色关联度分析

**中图分类号**: R917 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2021)11-3141-12

# Comprehensive quality evaluation of *Scutellaria baicalensis* Georgi by determination of multi-component content

XU Jing-rong[1,2,3], YU Qin-chuan[1,2,3], LAI Li[1,2,3], WANG Shu-mei[1,2,3], LUO Guo-an[4], XIE Yuan-yuan[1,2,3*]

(*1. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Research Center for Quality Engineering Technology of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 3. Key Laboratory of Digitalized Quality Evaluation Technology of Traditional Chinese Medicine, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 4. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China*)

**Abstract**: A model for quality evaluation was developed by determination of multi-index components in *Scutellaria baicalensis* Georgi. Eight flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Georgi were quantified by high performance liquid chromatography (HPLC), and a quantitative analysis of multi-components with a single marker (QAMS) method with baicalin as the internal reference substance was established. The 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS$^+$) method was applied to determine the antioxidant activity of different batches of *Scutellaria baicalensis* Georgi. Grey relevance analysis was conducted to calculate the grey correlation coefficients of each antioxidant in the herb. The holistic quality of 75 batches of collected samples from

收稿日期: 2021-06-28; 修回日期: 2021-07-30.

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项课题资助 (2017YFC1700800).

*通讯作者 Tel: 13902294350, E-mail: yuanyuan8078@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2021-0955

different product regions was evaluated to distinguish different commercial types of *Scutellaria baicalensis* Georgi. The relative correction factor (RCF) of each index component with baicalin as the internal reference indicated good applicability, and there was no significant difference in assay results between the QAMS method and the external standard method (ESM). The results of grey correlation analysis showed that the content of eight index components including baicalin correlated strongly with the antioxidant activity of *Scutellaria baicalensis* Georgi. The calculated grey relational coefficient ranged from 0.772 4 to 0.808 6. The content of oroxylin A-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide, norwogonin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide, baicalein, wogonin and oroxylin A showed positive correlations with the antioxidant potency. In contrast, baicalin, wogonoside and viscidulin III content exhibited negative correlations. The ratio of the flavonoid glycosides and flavonoid glycoside aglycones were found to be a critical factor to distinguish the different types of commercial herbs. The crude herbs could be characterized as *Scutellaria baicalensis* pith-decayed with a G/A ratio less than 10, and the ratio in *Scutellaria baicalensis* pith-not decayed should be more than 10. The QAMS method established in this study is simple and accurate, and can be used for the determination of eight flavonoids in *Scutellaria baicalensis* Georgi. Combined with $ABTS^{+}$ antioxidant activity and grey correlation analysis, a comprehensive model for *Scutellaria baicalensis* Georgi quality determination based on biological activity was established, which provides new ideas and methods for the establishment of quality standards consistent with the characteristics of traditional Chinese medicine.

**Key words**: S*cutellaria baicalensis* Georgi; baicalin; quantitative analysis of multi-components with a single marker; relative correlation factor; antioxidant; grey correlation analysis

黄芩为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根, 始载于《神农本草经》, 性味苦寒, 归肺、胆、脾、胃、大肠、小肠经, 具有清热燥湿, 泻火解毒, 止血等功效, 现代临床上常用于治疗湿热证、肺热咳嗽、血热出血等病症, 还具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化、保肝、神经元保护等药理作用, 是常用大宗中药材之一[1-4]。我国黄芩资源丰富, 主产于河北、河南、山东、山西、内蒙古, 道地产区位于河北省承德市、山东莒县, 产地及采收年限的温度、湿度、光照等环境因素均会影响黄芩的内在质量[5-8]。

但长期以来, 一直根据药材外观性状评价黄芩药材与饮片质量等级[9]。随着黄芩需求逐年增加, 很多黄芩等级在市场流通中已很少见或消失。如自南北朝开始至上世纪 70 年代, 黄芩药材按照性状及功效可分为枯芩与子芩两种规格: 根据黄芩生长规律, 生长至三年以上者, 其根部上段 (老根) 木心出现中空、腐朽, 称为枯芩, 善清肺胃上焦之火; 下段仍然致密、坚实, 称为子芩, 善清大肠下焦之火[10,11]。但现今临床用黄芩已无枯芩与子芩之分, 市场主流商品是坚实黄芩 (子芩) 或含有少量枯心的子芩。因此, 基于主观经验“辨状论质”的黄芩药材与饮片规格分级标准已不能适应黄芩饮片流通现状。

以黄芩苷为代表的 4′-脱氧黄酮及其苷类是黄芩药材主要代表性成分。2020 版《中国药典》一部“黄芩”药材项下将黄芩苷作为评定黄芩药材质量的重要指标成分, 规定黄芩苷含量不得低于 9.0%[12]。但黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 及白杨素, 以及汉黄芩苷、千层纸素 A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷及白杨素-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷等黄酮苷类化合物均为表征不同生长年限、不同产地、不同商品规格的黄芩药材的特征成分, 也都具有一定的抗菌、抗病毒及解热抗炎的功效[13]。根据黄芩素、汉黄芩素、千层纸素 A 及其对应的葡萄糖醛酸苷之间含量的比值可区分枯芩和子芩[14], 它们也是子芩和枯芩药效差异的物质基础[10,15-17]。因此, 有必要建立基于多指标成分定性定量分析来评价不同商品规格黄芩药材质量的分析方法[13]。

通过“一测多评” (QMAS) 分析方法实现“对照品替代”, 是解决当前中药化学对照品种类有限, 货源不足, 价格昂贵等制约多指标成分含量测定分析方法推广难题, 实现中药检测方法“绿色化”的有效途径[18-20]。越来越多的学者参照该思路开展了相似的研究, 提出了如替代对照品法、内标多控法、系统内标法、内标校正法等策略, 并考察了检测波长等对定量分析结果准确性的影响[21-26]。2020 版《中国药典》在穿心莲、黄连、丹参等多个品种的含量测定项下应用了 QAMS 的含量测定方法[27]。

黄芩中的黄酮类化合物通过阻止机体内过量的自由基攻击蛋白质、脂类、核酸等生物大分子, 避免氧化应激损伤是其发挥抗炎活性、抗肿瘤活性、抗衰老及心脑血管疾病等的生物学基础[28-31]。2,2'-联氨-双 (3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) 二胺盐 [2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, $ABTS^{+}$] 法是目前常用的抗氧化能力测定方法, 可避免黄芩药材中过氧化物、内源性酶等造成的干扰, 能准确测定多

成分混合物的抗氧化能力[32,33]。

本研究以黄芩苷为内参比物质建立QAMS法测定黄芩药材中的多指标成分含量, 并进行系统耐用性考察; 采用ABTS$^{+}$法比较不同黄芩药材的抗氧化活性, 根据2020版《中国药典》1431生物检定统计法中的质反应平行线法计算其抗氧化效价[34], 采用灰色关联度分析法快速筛选与黄芩药材抗氧化活性关系密切的指标性成分, 探索基于生物活性的黄芩药材质量综合评价模式。

## 材料与方法

**材料** 本研究所用75批黄芩药材均来源于山东、河北、内蒙古、甘肃、山西等不同产区的黄芩药材种植基地, 详细信息见表1, 由上海市食品药品检验研究院提供, 经上海市食品药品检验研究院季申教授鉴定均为黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 的干燥根, 凭证标本储存于广东药科大学中药学院。

**仪器与试剂** Thermo Ulti Mate 3000超高效液相色谱 (配有LPG-3400SD二元液相泵、二极管阵列检测器, WPS-3000TRS自动进样器、在线脱气机、TCC-3200柱温箱, 美国赛默飞公司), 戴安U-3000变色龙工作站6.8 (Chromeleon 6.8, 美国赛默飞公司); SQP型十万分之一电子天平 (德国赛多利斯科学仪器有限公司); ME104/02型万分之一电子天平 (瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); 数控超声清洗仪 (KQ-300DE型, 昆山市超声仪器有限公司); EYELA N-1300旋转蒸发仪 (配有EYELA CCA-1112A冷却水循环装置和EYELA DPE-1250型溶剂回收装置); 全波长酶标仪 (Multiskan SKY型, 美国赛默飞公司); 乙腈 (OCEANPAK, 色谱纯); 甲酸 (Aladdin, 色谱纯); 甲醇 (广东光华有限公司,

**Table 1** The source of samples

| Sample No. | Batch | Origin | Type | Sample No. | Batch | Origin | Type |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| S1 | 181105 | Shandong | Ziqin | S39 | BZ0202 | Shanxi | Ziqin |
| S2 | 181106 | Shandong | Ziqin | S40 | BZ0203 | Shanxi | Kuqin |
| S3 | 181109 | Shandong | Ziqin | S41 | BZ0204 | Shanxi | Kuqin |
| S4 | 181110 | Shandong | Ziqin | S42 | HX0201 | Neimenggu | Kuqin |
| S5 | 181111 | Shandong | Ziqin | S43 | HX0202 | Neimenggu | Kuqin |
| S6 | 181112 | Shandong | Ziqin | S44 | HX0203 | Neimenggu | Kuqin |
| S7 | 181201 | Shandong | Ziqin | S45 | HX0204 | Gansu | Kuqin |
| S8 | 181202 | Shandong | Ziqin | S46 | HX0205 | Gansu | Kuqin |
| S9 | 181203 | Shandong | Ziqin | S47 | HX0206 | Gansu | Kuqin |
| S10 | 181204 | Shandong | Ziqin | S48 | HX0207 | Shanxi | Ziqin |
| S11 | 150601 | Shandong | Ziqin | S49 | HX0208 | Shanxi | Kuqin |
| S12 | 150701 | Shandong | Ziqin | S50 | HX0210 | Hebei | Kuqin |
| S13 | 150702 | Shandong | Ziqin | S51 | HX0211 | Hebei | Kuqin |
| S14 | 160502 | Shandong | Ziqin | S52 | HX0212 | Hebei | Kuqin |
| S15 | 20170716-1 | Shandong | Ziqin | S53 | HX0213 | Hebei | Kuqin |
| S16 | 20170716-2 | Shandong | Ziqin | S54 | GZ0201 | Gansu | Kuqin |
| S17 | 20170716-3 | Shandong | Ziqin | S55 | HB0201 | Gansu | Kuqin |
| S18 | 20170725-1 | Shandong | Ziqin | S56 | HB0202 | Shanxi | Kuqin |
| S19 | 20170725-2 | Shandong | Ziqin | S57 | HB0203 | Shanxi | Kuqin |
| S20 | 20170725-3 | Shandong | Ziqin | S58 | HB0204 | Shanxi | Kuqin |
| S21 | 20170803-1 | Shandong | Ziqin | S59 | HB0205 | Neimenggu | Kuqin |
| S22 | 20170803-2 | Shandong | Ziqin | S60 | HZ0201 | Shanxi | Kuqin |
| S23 | 170501 | Shandong | Ziqin | S61 | HZ0202 | Shanxi | Kuqin |
| S24 | 170601 | Shandong | Ziqin | S62 | HZ0203 | Shanxi | Kuqin |
| S25 | 170801 | Shandong | Ziqin | S63 | HZ0204 | Shanxi | Kuqin |
| S26 | 170901 | Shandong | Ziqin | S64 | HZ0205 | Shanxi | Kuqin |
| S27 | 171001 | Shandong | Ziqin | S65 | HZ0206 | Hebei | Kuqin |
| S28 | 171101 | Hebei | Kuqin | S66 | 190701 | Shandong | Ziqin |
| S29 | 171102 | Hebei | Kuqin | S67 | 190802 | Shandong | Ziqin |
| S30 | 171103 | Hebei | Kuqin | S68 | 191101 | Shandong | Ziqin |
| S31 | 171207 | Shandong | Ziqin | S69 | 191102 | Shandong | Ziqin |
| S32 | 171209 | Shandong | Ziqin | S70 | 20200818 | Neimenggu | Kuqin |
| S33 | 171222 | Shandong | Ziqin | S71 | 20200810 | Shanxi | Kuqin |
| S34 | 171223 | Shandong | Ziqin | S72 | 20200819 | Neimenggu | Kuqin |
| S35 | 171224 | Shandong | Ziqin | S73 | 20200817 | Neimenggu | Kuqin |
| S36 | S150801 | Shandong | Ziqin | S74 | 20200102 | Hebei | Kuqin |
| S37 | S150802 | Shandong | Ziqin | S75 | 20190705 | Hebei | Kuqin |
| S38 | BZ0201 | Neimenggu | Kuqin | | | | |

分析纯); $ABTS^+$、过硫酸钾 (potassium persulfate, $K_2SO_4$) 均购自上海麦克林生化科技有限公司, 水为屈臣氏蒸馏水, 其他试剂均为分析级。

黄芩苷 (baicalin, 批号 110715-201821)、黄芩素 (baicalein, 批号 111595-201808)、汉黄芩苷 (wogonoside, 批号 112002-201702) 和汉黄芩素 (wogonin, 批号 111514-201706) 购自中国食品药品检定研究院, 粘毛黄芩素III (viscidulin III, 批号 92519-91-0)、去甲汉黄芩素苷 (norwogonin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide, 批号 119152-50-5)、千层纸素 A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷 (oroxylin A-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide, 批号 36948-76-2) 和千层纸素 A (oroxylin A, 批号 480-11-5) 均购自诗丹德生物技术有限公司, 本研究所用对照品纯度均大于 98%。

**色谱条件** 色谱柱: YMC-Pack ODS-A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 (A)−0.1% 甲酸水 (B), 梯度洗脱, 洗脱条件: 0～20 min, 10%→20% A; 20～28 min, 20%→25% A; 28～32 min, 25% A; 32～35 min, 25%→30% A; 35～40 min, 30%→40% A; 40～50 min, 40%→50% A; 50～60 min, 50% A; 柱温为 35 ℃; 检测波长为 280 nm, 流速为 1 mL·min$^{-1}$, 进样量为 10 μL。

**对照品储备溶液的制备** 取粘毛黄芩素III、黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A适量, 精密称定, 以50%甲醇配制成每1 mL中含有各对照品浓度分别为粘毛黄芩素III 0.10 mg、黄芩苷0.37 mg、去甲汉黄芩素苷0.08 mg、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷0.16 mg、汉黄芩苷0.34 mg、黄芩素0.36 mg、汉黄芩素0.11 mg和千层纸素A 0.06 mg的混合对照品储备溶液, 即得。

**供试品溶液的制备** 称取黄芩粉末 (过4号筛) 0.300 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入50 mL 75%甲醇, 摇匀, 称重; 超声处理 (功率250 W, 频率40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 0.22 μm微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**黄芩冻干粉制备** 称取3.0 g不同批次黄芩粉末于锥形瓶中, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备黄芩提取液, 将提取液减压浓缩并盛入称量瓶中, 置于−20 ℃冰箱冷冻12 h以上后放入冷冻干燥机中冷冻干燥, 得黄芩冻干粉, 用于抗氧化活性评价。

**方法学考察**

专属性 取混合对照品溶液、供试品溶液、空白溶液, 分别注入液相色谱仪, 比较色谱图。

线性关系 精密吸取混合对照品储备溶液适量置于容量瓶中, 加入50%甲醇逐级稀释成5个不同浓度的混合对照品溶液, 按照HPLC-DAD色谱条件进样测定, 以对照品浓度 (*X*) 为横坐标, 峰面积 (*Y*) 为纵坐标, 进行线性回归, 计算线性回归方程和相关系数。

精密度 取S5黄芩药材, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按照HPLC-DAD色谱条件连续进样6次, 记录8种指标成分的峰面积, 并计算同一供试品溶液连续进样6次的各指标成分峰面积的RSD值。

重复性 精密称取S5黄芩药材6份, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按照HPLC-DAD色谱条件测定8种指标成分的含量, 计算RSD。

稳定性 取S5黄芩药材, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按照HPLC-DAD色谱条件, 分别于0、1、2、4、6、12、24 h进样分析, 记录8种指标成分的峰面积, 并计算放置24 h内供试品溶液中各指标成分峰面积的RSD值。

加样回收率 取已知含量的黄芩药材0.15 g, 精密称定, 共6份, 分别按样品−对照品 (1∶1) 的比例加入一定量的各对照品, 按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液, 按照HPLC-DAD色谱条件进样分析, 计算各指标成分的回收率。

**QAMS与外标法测定结果比较** 取75批不同产地的黄芩药材, 按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液, 并按照HPLC-DAD色谱条件进行测定, 利用平均相对校正因子计算黄芩药材中粘毛黄芩素III、黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A的含量, 并与外标法计算得到的结果进行比较。

**抗氧化活性实验** 称取过硫酸钾粉末3.51 mg, 加入蒸馏水5 mL充分溶解, 并称取ABTS粉末21.6 mg, 充分混合后, 置于4 ℃冰箱中避光静置12～16 h, 得$ABTS^+$储备液; 静止后每次取1 mL母液于100 mL量瓶中, 并加入75%甲醇至刻度摇匀即得$ABTS^+$工作液。

另称取各批次黄芩冻干粉20 mg, 分别加入75%甲醇溶液5 mL溶解, 并逐级稀释成不同浓度的黄芩溶液作为供试品溶液, 每次吸取30 μL不同浓度的黄芩溶液至含300 μL $ABTS^+$工作液的96孔板中, 设置3个复孔, 避光孵育7 min, 结束后测量其在734 nm处的吸光度, 记为$A_s$; 另测得30 μL 75%甲醇与300 μL $ABTS^+$工作液孵育后的吸光度, 记为$A_c$; 计算公式见式 (1):

$$\text{自由基清除率 (\%)} = 1 - \frac{As}{Ac} * 100\% \quad (1)$$

计算不同浓度的黄芩供试品溶液自由基清除率, 采用2020版《中国药典》附录通则1431项下生物检定统计法[34]中的质反应平行线法计算效价: 将维生素C的标示效价$A_T$定为1 U·mg$^{-1}$, 采用概率单位 (probit) 模型转换平行线法、Bliss迭代法计算模型参数, 得到不同黄芩的抗氧化活性效价$P_T$及其可信限FL。

**数据处理** 采用ANOVA方法分析检验差异显著性, 数据统计运算采用SPSS 25.0 for Windows统计软件进行处理; 热图分析采用MetaboAnalyst 5.0网站线上绘制, 采用Origin 2017软件、Prism 7.0软件绘制聚类热图中各聚类的箱形图与柱状图。灰色关联度的计算基于75批黄芩药材的8种成分含量, 建立不同批次黄芩质量灰色模式识别数据集, 以抗氧化活性效价评定黄芩质量; 首先, 由于其量纲不统一, 需对原始数据采用归一化法进行标准化处理, 本实验研究采用平均值归一化法, 即用各列化合物含量分别除以相应列平均含量。选择最优参考序列和最差参考序列, 最优参考序列为$n$个样品对应指标的最大值, 最差参考序列为各样品对应指标的最小值, 分别记为△min与△max, 计算公式如公式 (2) 和 (3) 所示:

$$y\left(x_0(k),x_i(k)\right)=\frac{\triangle\min+\rho\triangle\max}{\left|x_0(k)-x_i(k)\right|+\rho\triangle\max} \quad (2)$$

$$y(x_0,x_i)=\frac{1}{n}\sum\nolimits_1^n y(x_0(k),x_i(k)) \quad (3)$$

式 (2) 和 (3) 中$x_0$为进行归一化后的抗氧化活性效价, $x_i$为归一化后的8种黄酮类成分含量, $\rho$为分辨系数, 取值区间为 (0, 1), 本实验取$\rho$ = 0.5; $y(x_0,x_i)$即为两者之间的相对关联度。

关联极性 ($\sigma_i$) 分析: 序列$x_i(k)$与$x_0(k)$之间的关联极性, 计算公式如公式 (4):

$$\sigma_i=\sum\nolimits_{k=1}^{75}k\cdot x_i(k)-\frac{\sum_{k=1}^{75}x_i(k)\cdot\sum_{k=1}^{75}k}{n} \quad (4)$$

式 (4) 中 ($i$ = 1、2、3、…、75, $k$ = 1、2、3、…、8, $n$ = 75), 若sgn($\sigma_i$) = sgn($\sigma_0$), 则$y_i$与$y_0$正关联, 关联极性 ($\sigma_i$) 为"+1", 说明前者对后者起到增强作用; 若sgn($\sigma_i$) = −sgn($\sigma_0$), 则$y_i$与$y_0$负关联, 关联极性 ($\sigma_i$) 为"−1", 前者对后者起到削弱作用。

## 结果与讨论

### 1 方法学考察

#### 1.1 专属性

测得样品色谱图如图1所示。空白溶液未出现与对照品及黄芩药材中8种待测成分保留时间一致的色谱峰, 表明空白溶液对8种待测成分均无干扰, 方法专属性良好。

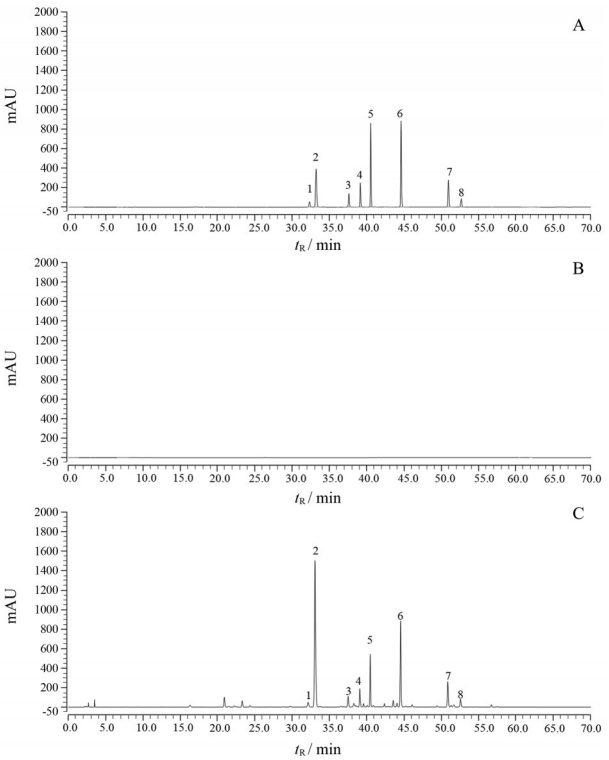


**Figure 1** HPLC chromatograms of blank solvent (A) mixed standard solution (B) and sample solution (C). 1: Viscidulin III; 2: Baicalin; 3: Norwogonin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide; 4: Oroxylin A-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide; 5: Wogonoside; 6: Baicalein; 7: Wogonin; 8: Oroxylin A

#### 1.2 线性关系

8个指标成分的线性回归方程及相关系数见表2。8个黄酮类成分在实验条件下显示出良好的线性关系。

#### 1.3 精密度

同一供试品溶液, 连续进样6次, 粘毛黄芩素III、黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A峰面积的RSD ($n$ = 6) 分别为1.45%、0.05%、0.30%、0.26%、0.14%、0.31%、0.05%和0.29%, 表明仪器具精密性良好。

**Table 2** Linear relations of eight analyzed flavonoid compounds in *Scutellaria baicalensis*

| Analyte | Calibration curve | $r^2$ | Linear range/mg·mL$^{-1}$ |
|---|---|---|---|
| Viscidulin III | $Y$ = 212.04 $X$ − 0.143 1 | 0.999 8 | 0.001 0 − 0.100 0 |
| Baicalin | $Y$ = 366.92 $X$ + 0.014 7 | 0.999 7 | 0.003 7 − 0.370 0 |
| Norwogonin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide | $Y$ = 507.74 $X$ − 0.213 6 | 0.999 9 | 0.008 0 − 0.079 0 |
| Oroxylin A-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide | $Y$ = 353.75 $X$ − 0.288 9 | 0.999 9 | 0.001 6 − 0.158 0 |
| Wogonoside | $Y$ = 505.14 $X$ − 0.454 1 | 0.999 9 | 0.003 3 − 0.330 0 |
| Baicalein | $Y$ = 570.70 $X$ − 0.907 4 | 0.999 9 | 0.037 0 − 0.365 0 |
| Wogonin | $Y$ = 748.22 $X$ − 0.426 6 | 0.999 9 | 0.011 0 − 0.113 0 |
| Oroxylin A | $Y$ = 513.90 $X$ − 0.160 9 | 0.999 9 | 0.000 5 − 0.054 0 |

### 1.4 重复性

同一样品, 平行制备6份供试品溶液, 粘毛黄芩素III、黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A含量的RSD ($n$=6)分别为1.20%、0.85%、0.87%、0.65%、0.80%、1.90%、1.88%、1.64%, 表明供试品溶液制备方法重复性良好。

### 1.5 稳定性

供试品溶液室温下放置24 h, 粘毛黄芩素III、黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A峰面积的RSD分别为1.65%、0.21%、0.20%、0.29%、0.28%、1.27%、0.26%和1.64%, 表明供试品溶液在室温下放置24 h时间内稳定。

### 1.6 加样回收率

8个指标成分的加样回收率在99.81%～103.26%, 各指标成分加样回收率的RSD分别为3.42%、1.57%、1.72%、3.48%、1.99%、1.77%、2.43%和3.82%, 结果表明本研究所建立的分析方法准确性良好。

## 2 相对校正因子

### 2.1 相对校正因子的计算

采用多点校正法, 分别吸取不同浓度的混合对照品溶液(“线性关系考察”项下6个浓度), 依次注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。黄芩苷对粘毛黄芩素III ($f_{s/A}$)、去甲汉黄芩素苷 ($f_{s/B}$)、千层纸素7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷 ($f_{s/C}$)、汉黄芩苷 ($f_{s/D}$)、黄芩素 ($f_{s/E}$)、汉黄芩素 ($f_{s/F}$)和千层纸素A ($f_{s/G}$)的相对校正因子分别为1.805 9、0.748 0、1.071 8、0.739 4、0.682 1、0.507 4和0.740 0, RSD值均小于3%, 不同浓度对相对校正因子没有显著影响。

### 2.2 相对校正因子的耐用性考察

**2.2.1 不同液相色谱仪对相对校正因子的考察** 采用同一色谱柱: YMC-Pack ODS-A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 分别使用3种型号的液相色谱仪: 赛默飞世尔Unimate-3000、岛津SPD-M20A、Waters e2695等3种型号高效液相色谱仪, 测定黄芩苷对其余7种黄酮类成分的相对校正因子, 各指标成分在3个不同液相色谱仪上相对校正因子RSD均小于3%, 表明不同高效液相色谱仪对相对校正因子的测定没有影响。

**2.2.2 不同液相色谱柱对相对校正因子的考察** 采用同一台HPLC仪 (赛默飞世尔Unimate-3000), 分别用相同类型、不同品牌的色谱柱: YMC-Pack ODS-A (250 mm × 4.6 mm, 5 μm; **1**)、Agilent 5TC-C18 (2) (250 mm × 4.6 mm, 5 μm; **2**) 和Venusil XBP C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm; **3**) 色谱柱, 测定黄芩苷对各指标成分的相对校正因子, 各指标成分在3根不同色谱柱上相对校正因子RSD均小于3%, 表明相同类型、不同品牌色谱柱对相对校正因子的测定结果没有影响。

**2.2.3 柱温对相对校正因子的影响** 其他色谱条件不变, 比较不同柱温30、35、40 ℃对各指标成分相对校正因子的影响。不同柱温下, 各指标成分相对校正因子的RSD值均小于3%, 说明不同柱温对黄芩各指标成分相对校正因子无显著影响。

**2.2.4 流速对相对校正因子的影响** 其他色谱条件不变, 比较不同流速 (0.8、1.0和1.2 mL·min$^{-1}$) 对各指标成分相对校正因子的影响, 计算不同流速下各成分相对校正因子的RSD。各成分相对校正因子RSD均小于3%, 说明不同流速对黄芩各指标成分相对校正因子无显著性影响。

## 3 QAMS与外标法测定结果比较

表3所示, 所有黄芩药材中黄芩苷含量均符合2020版《中国药典》黄芩项下相关要求 (黄芩含黄芩苷不得少于9.0%)。以黄芩苷为内参比物质建立的QAMS法与外标法相比, 8种黄芩黄酮类成分含量之间的相关性 $r$ > 0.99, 两种含量测定方法测定结果间无显著性差异 ($P$ > 0.05)。

本研究8个含量测定指标成分主要分为两类, 一类为黄酮苷元类成分, 包括粘毛黄芩素III、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A; 另一类为黄酮苷类成分, 包括黄芩苷、去甲汉黄芩素苷、千层纸素A-7-*O*-*β*-*D*-葡萄糖醛酸苷和汉黄芩苷。75批黄芩药材来源于山东、内蒙古、河北、山西和甘肃等主产区规范种植基地, 黄芩苷含量在9.4%～18.0%之间, 均符合药典标准。粘毛黄芩素III、黄芩素、汉黄芩素和千层纸素A等4个黄酮苷元类成分含量分别在0.086%～0.820%、0.180%～3.10%、0.057%～0.990%和0.021%～0.470%之间, 在不同批次黄芩药材中黄酮苷元类成分含量差异更为显著一些, 最高含量与最低含量相差9.55～22.33倍。而黄酮苷类成分的含量变化幅度在1.91～3.41倍之间。相关性分析结果 (图2) 表明, 黄芩苷含量与汉黄芩苷和去甲汉黄芩苷呈显著正相关, 而与千层纸素A等黄酮苷元类成分呈现负相关。

## 4 基于多指标成分含量综合评价黄芩药材质量

### 4.1 黄芩药材抗氧化活性分析结果

所测得的75批次黄芩药材抗氧化效价评价结果见表3, 黄芩药材的抗氧化效价在1.94～20.51 U·mg$^{-1}$之间, 平均效价为7.56 ± 3.61 U·mg$^{-1}$, 不同批次黄芩药材抗氧化活性差异较为显著, 相差10.57倍。

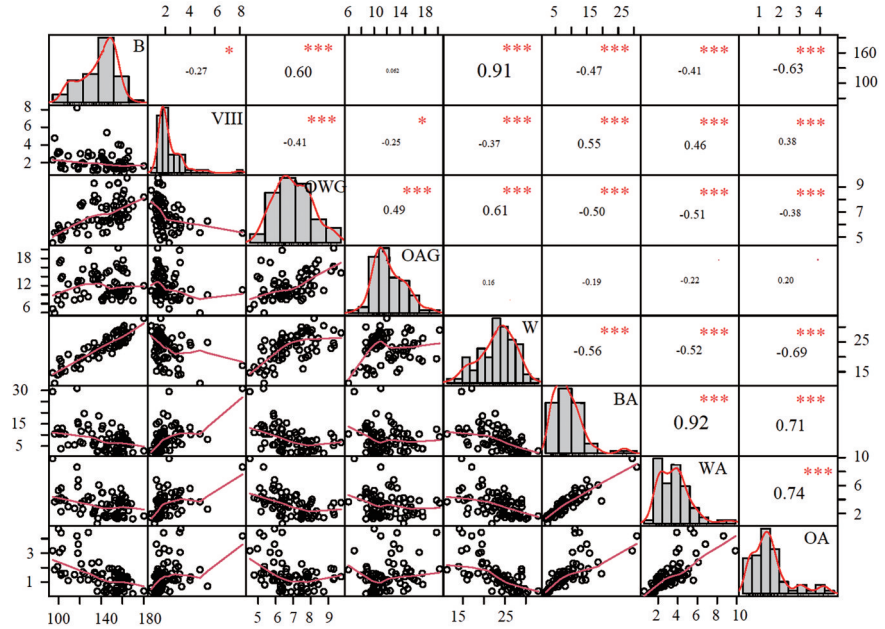


**Figure 2** Pearson correlation analysis of 8 analytes in 75 batches *S. baicalensis*. The histogram in catercorner exhibited the distribution of each analyte in 75 batches *S. baicalensis*. B: Baicalin; WA: Wogonoside; OAG: Oroxylin A-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide; NWG: Norwogonin-7-*O*-*β*-*D*-glucuronide; BA: Baicalein; W: Wogonin; OA: Oroxylin A; VIII: Viscidulin III. The upper triangle (upper right of diagonal) area showed the Pearson correlation coefficient between the eight analytes (***Significant correlation, means the correlation coefficient between the two compared components was more than 0.4; *Correlation, means the correlation coefficient between the two compared components was more than 0.2); The lower triangle (bottom left of diagonal) area showed scatter plot between the two correlated variables

**Table 3** Determination results of 8 analytes determined by ESM and QAMS (mg·g$^{-1}$) together with the antioxidant potency of each sample. ESM: external standard method; QAMS: Quantitative analysis of multi-components with a single marker

| Sample No. | Class | Antioxidant activity /mg·U$^{-1}$ | Content/mg·g$^{-1}$ | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | B | | VIII | | NWG | | OAG | | W | | BA | | WA | | OA | |
| | | | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS |
| S1 | Class 3 | 3.20 ± 0.13 | 155.54 | 1.37 | 1.31 | 6.59 | 6.37 | 9.82 | 9.51 | 26.62 | 26.17 | 1.77 | 1.72 | 1.26 | 1.22 | 0.29 | 0.28 |
| S2 | Class 3 | 3.88 ± 0.02 | 154.52 | 1.38 | 1.33 | 7.47 | 7.22 | 12.49 | 12.09 | 28.30 | 27.82 | 2.34 | 2.27 | 1.53 | 1.48 | 0.41 | 0.40 |
| S3 | Class 3 | 3.64 ± 0.19 | 169.78 | 1.25 | 1.20 | 7.46 | 7.21 | 8.70 | 8.42 | 30.02 | 29.51 | 2.09 | 2.02 | 1.23 | 1.19 | 0.21 | 0.20 |
| S4 | Class 3 | 3.03 ± 0.15 | 144.55 | 2.03 | 1.94 | 6.32 | 6.11 | 9.76 | 9.45 | 25.68 | 25.24 | 3.23 | 3.13 | 1.72 | 1.66 | 0.50 | 0.48 |
| S5 | Class 3 | 3.37 ± 0.09 | 154.51 | 1.32 | 1.27 | 6.88 | 6.66 | 10.27 | 9.94 | 27.04 | 26.59 | 2.06 | 1.99 | 1.58 | 1.53 | 0.33 | 0.32 |
| S6 | Class 3 | 3.24 ± 0.16 | 151.83 | 1.32 | 1.27 | 7.51 | 7.26 | 10.75 | 10.41 | 27.87 | 27.40 | 2.19 | 2.12 | 1.67 | 1.61 | 0.32 | 0.31 |
| S7 | Class 3 | 3.53 ± 0.12 | 160.58 | 1.71 | 1.64 | 7.77 | 7.51 | 15.26 | 14.77 | 29.73 | 29.23 | 2.64 | 2.55 | 1.68 | 1.62 | 0.55 | 0.53 |
| S8 | Class 3 | 3.96 ± 0.02 | 153.73 | 1.53 | 1.47 | 7.85 | 7.59 | 10.94 | 10.59 | 28.59 | 28.11 | 2.18 | 2.11 | 1.37 | 1.32 | 0.33 | 0.32 |
| S9 | Class 3 | 2.70 ± 0.16 | 142.82 | 2.35 | 2.26 | 6.23 | 6.02 | 9.45 | 9.15 | 24.25 | 23.85 | 3.05 | 2.95 | 1.68 | 1.62 | 0.35 | 0.34 |
| S10 | Class 3 | 5.76 ± 0.07 | 161.59 | 0.86 | 0.82 | 8.74 | 8.45 | 10.91 | 10.56 | 30.43 | 29.92 | 1.83 | 1.77 | 1.40 | 1.35 | 0.35 | 0.34 |
| S11 | Class 1 | 9.98 ± 0.62 | 160.22 | 1.57 | 1.50 | 7.18 | 6.94 | 9.90 | 9.59 | 24.75 | 24.34 | 10.13 | 9.81 | 4.70 | 4.54 | 1.46 | 1.41 |
| S12 | Class 1 | 11.27 ± 0.35 | 162.76 | 1.93 | 1.85 | 6.79 | 6.57 | 9.58 | 9.28 | 25.27 | 24.85 | 10.56 | 10.22 | 4.33 | 4.18 | 1.20 | 1.15 |
| S13 | Class 1 | 9.88 ± 0.34 | 159.54 | 1.93 | 1.85 | 7.12 | 6.89 | 11.02 | 10.67 | 25.70 | 25.27 | 11.17 | 10.80 | 4.55 | 4.40 | 1.46 | 1.40 |
| S14 | Class 1 | 5.83 ± 0.46 | 156.12 | 4.04 | 3.88 | 6.26 | 6.05 | 11.16 | 10.80 | 23.92 | 23.52 | 10.20 | 9.87 | 3.68 | 3.56 | 1.36 | 1.31 |
| S15 | Class 3 | 6.46 ± 0.19 | 160.35 | 1.64 | 1.57 | 6.38 | 6.17 | 11.23 | 10.87 | 27.84 | 27.37 | 4.67 | 4.51 | 2.26 | 2.18 | 0.65 | 0.63 |
| S16 | Class 3 | 7.43 ± 0.28 | 165.84 | 3.31 | 3.18 | 7.21 | 6.96 | 10.73 | 10.39 | 27.23 | 26.77 | 5.78 | 5.59 | 2.41 | 2.33 | 0.69 | 0.66 |
| S17 | Class 1 | 4.27 ± 0.18 | 145.39 | 5.40 | 5.18 | 6.27 | 6.06 | 9.93 | 9.61 | 24.84 | 24.42 | 8.04 | 7.78 | 2.62 | 2.53 | 0.72 | 0.70 |
| S18 | Class 1 | 7.11 ± 0.59 | 145.35 | 1.77 | 1.70 | 5.38 | 5.20 | 10.04 | 9.71 | 25.54 | 25.11 | 6.41 | 6.20 | 3.31 | 3.20 | 0.82 | 0.80 |
| S19 | Class 1 | 8.76 ± 0.93 | 127.85 | 2.73 | 2.62 | 5.18 | 5.01 | 9.52 | 9.22 | 23.29 | 22.90 | 14.59 | 14.12 | 4.42 | 4.28 | 1.15 | 1.11 |
| S20 | Class 1 | 8.43 ± 0.63 | 158.78 | 1.38 | 1.32 | 8.07 | 7.80 | 15.72 | 15.22 | 29.00 | 28.52 | 7.38 | 7.14 | 4.02 | 3.89 | 1.76 | 1.70 |
| S21 | Class 1 | 9.85 ± 0.73 | 152.94 | 1.27 | 1.22 | 7.19 | 6.95 | 10.71 | 10.36 | 23.58 | 23.18 | 7.07 | 6.84 | 3.87 | 3.74 | 1.46 | 1.40 |
| S22 | Class 1 | 9.90 ± 0.22 | 168.36 | 1.56 | 1.50 | 7.98 | 7.71 | 11.94 | 11.56 | 28.26 | 27.79 | 5.63 | 5.45 | 3.39 | 3.28 | 1.00 | 0.96 |
| S23 | Class 1 | 9.68 ± 0.53 | 152.78 | 1.51 | 1.45 | 6.58 | 6.36 | 12.77 | 12.36 | 23.26 | 22.87 | 8.83 | 8.54 | 4.27 | 4.13 | 1.71 | 1.65 |
| S24 | Class 3 | 4.52 ± 0.07 | 180.21 | 1.62 | 1.55 | 8.19 | 7.92 | 11.96 | 11.58 | 32.96 | 32.40 | 2.86 | 2.77 | 1.64 | 1.59 | 0.39 | 0.38 |
| S25 | Class 1 | 4.72 ± 0.33 | 148.53 | 1.74 | 1.67 | 6.10 | 5.89 | 10.98 | 10.63 | 23.66 | 23.26 | 6.75 | 6.54 | 3.25 | 3.14 | 1.12 | 1.08 |
| S26 | Class 1 | 6.69 ± 0.51 | 140.79 | 3.16 | 3.03 | 6.32 | 6.11 | 9.02 | 8.73 | 23.12 | 22.74 | 12.75 | 12.34 | 4.99 | 4.82 | 1.56 | 1.51 |
| S27 | Class 1 | 7.13 ± 0.74 | 150.33 | 2.83 | 2.71 | 6.62 | 6.40 | 8.88 | 8.60 | 21.15 | 20.79 | 15.43 | 14.94 | 5.10 | 4.93 | 1.93 | 1.86 |

Continued

| Sample No. | Class | Antioxidant activity /mg·U$^{-1}$ | Content/mg·g$^{-1}$ | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | B | VIII | | NWG | | OAG | | W | | BA | | WA | | OA | |
| | | | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM | QAMS | ESM |
| S28 | Class 2 | 11.22 ± 0.57 | 118.48 | 1.28 | 1.23 | 5.94 | 5.74 | 13.06 | 12.64 | 19.54 | 19.21 | 14.94 | 14.45 | 6.81 | 6.59 | 3.62 | 3.50 |
| S29 | Class 1 | 12.07 ± 0.31 | 106.15 | 1.29 | 1.24 | 5.48 | 5.30 | 9.76 | 9.45 | 15.23 | 14.97 | 10.44 | 10.11 | 3.88 | 3.76 | 1.61 | 1.56 |
| S30 | Class 2 | 11.40 ± 0.84 | 103.54 | 1.91 | 1.83 | 4.96 | 4.80 | 13.98 | 13.53 | 15.89 | 15.62 | 13.00 | 12.58 | 4.12 | 3.99 | 3.31 | 3.19 |
| S31 | Class 1 | 3.20 ± 0.29 | 156.94 | 2.06 | 1.98 | 6.38 | 6.16 | 9.56 | 9.26 | 23.83 | 23.43 | 7.76 | 7.51 | 3.21 | 3.11 | 1.15 | 1.11 |
| S32 | Class 1 | 6.85 ± 0.53 | 162.53 | 2.31 | 2.21 | 6.78 | 6.56 | 11.17 | 10.81 | 24.76 | 24.34 | 8.35 | 8.08 | 3.67 | 3.55 | 1.35 | 1.30 |
| S33 | Class 1 | 6.19 ± 0.50 | 159.35 | 2.09 | 2.00 | 6.76 | 6.54 | 11.45 | 11.08 | 24.91 | 24.49 | 6.78 | 6.56 | 3.04 | 2.94 | 1.14 | 1.10 |
| S34 | Class 1 | 5.12 ± 0.20 | 165.03 | 2.54 | 2.43 | 6.58 | 6.36 | 11.96 | 11.58 | 26.31 | 25.87 | 7.57 | 7.33 | 3.16 | 3.06 | 1.17 | 1.13 |
| S35 | Class 1 | 4.76 ± 0.17 | 156.94 | 1.72 | 1.65 | 6.74 | 6.52 | 10.08 | 9.76 | 23.74 | 23.34 | 6.03 | 5.83 | 2.90 | 2.80 | 1.00 | 0.96 |
| S36 | Class 1 | 3.11 ± 0.19 | 141.43 | 2.51 | 2.41 | 5.32 | 5.14 | 8.63 | 8.35 | 22.08 | 21.71 | 14.12 | 13.66 | 4.96 | 4.80 | 1.60 | 1.54 |
| S37 | Class 1 | 3.66 ± 0.32 | 158.48 | 3.99 | 3.83 | 5.83 | 5.63 | 8.70 | 8.42 | 24.82 | 24.40 | 13.41 | 12.98 | 5.58 | 5.39 | 1.13 | 1.09 |
| S38 | Class 2 | 10.18 ± 0.46 | 102.47 | 1.59 | 1.53 | 4.78 | 4.62 | 7.81 | 7.56 | 16.59 | 16.31 | 11.12 | 10.76 | 4.27 | 4.13 | 1.49 | 1.44 |
| S39 | Class 1 | 4.93 ± 0.44 | 140.49 | 2.71 | 2.60 | 7.35 | 7.11 | 13.77 | 13.33 | 22.29 | 21.92 | 8.17 | 7.91 | 3.37 | 3.26 | 1.24 | 1.20 |
| S40 | Class 1 | 10.67 ± 0.12 | 115.01 | 1.65 | 1.59 | 5.84 | 5.64 | 8.82 | 8.53 | 16.25 | 15.98 | 5.52 | 5.34 | 2.73 | 2.64 | 1.52 | 1.47 |
| S41 | Class 1 | 9.28 ± 0.38 | 120.56 | 3.02 | 2.90 | 7.56 | 7.30 | 9.09 | 8.80 | 15.98 | 15.71 | 6.86 | 6.64 | 1.94 | 1.88 | 1.17 | 1.13 |
| S42 | Class 2 | 11.38 ± 0.08 | 128.04 | 3.15 | 3.02 | 6.37 | 6.16 | 19.79 | 19.15 | 19.37 | 19.05 | 12.57 | 12.16 | 3.89 | 3.76 | 4.43 | 4.28 |
| S43 | Class 2 | 14.99 ± 0.80 | 99.89 | 3.25 | 3.12 | 5.94 | 5.74 | 9.99 | 9.67 | 14.12 | 13.89 | 11.17 | 10.81 | 5.30 | 5.12 | 4.69 | 4.53 |
| S44 | Class 4 | 13.60 ± 0.65 | 161.60 | 1.42 | 1.37 | 7.74 | 7.48 | 15.77 | 15.26 | 29.04 | 28.55 | 7.58 | 7.33 | 2.93 | 2.83 | 1.38 | 1.33 |
| S45 | Class 2 | 20.51 ± 0.64 | 96.35 | 4.79 | 4.59 | 5.34 | 5.16 | 5.94 | 5.75 | 11.19 | 11.00 | 10.47 | 10.13 | 3.67 | 3.55 | 1.86 | 1.79 |
| S46 | Class 2 | 10.47 ± 0.55 | 118.09 | 1.49 | 1.43 | 6.18 | 5.98 | 12.67 | 12.26 | 18.81 | 18.50 | 15.83 | 15.32 | 5.86 | 5.67 | 3.00 | 2.89 |
| S47 | Class 2 | 10.46 ± 0.47 | 94.48 | 2.30 | 2.20 | 4.53 | 4.38 | 6.86 | 6.64 | 14.66 | 14.42 | 29.46 | 28.51 | 9.87 | 9.54 | 3.17 | 3.06 |
| S48 | Class 2 | 7.46 ± 0.08 | 137.82 | 2.18 | 2.09 | 5.89 | 5.69 | 12.27 | 11.88 | 19.64 | 19.31 | 18.55 | 17.95 | 6.08 | 5.88 | 2.38 | 2.30 |
| S49 | Class 2 | 7.74 ± 0.87 | 117.36 | 8.22 | 7.88 | 5.31 | 5.14 | 11.03 | 10.68 | 17.09 | 16.80 | 30.94 | 29.94 | 8.65 | 8.36 | 4.19 | 4.04 |
| S50 | Class 2 | 8.96 ± 0.69 | 102.45 | 1.86 | 1.78 | 5.10 | 4.93 | 13.58 | 13.15 | 14.83 | 14.58 | 11.18 | 10.82 | 5.64 | 5.45 | 4.40 | 4.25 |
| S51 | Class 4 | 7.26 ± 0.88 | 164.35 | 1.41 | 1.35 | 9.73 | 9.41 | 14.79 | 14.32 | 28.03 | 27.56 | 6.66 | 6.45 | 3.56 | 3.44 | 1.38 | 1.34 |
| S52 | Class 1 | 10.48 ± 0.66 | 109.05 | 2.76 | 2.64 | 5.94 | 5.74 | 12.32 | 11.93 | 20.84 | 20.49 | 5.51 | 5.33 | 2.97 | 2.87 | 1.11 | 1.07 |
| S53 | Class 2 | 12.76 ± 0.97 | 131.40 | 2.84 | 2.73 | 6.37 | 6.16 | 14.62 | 14.16 | 20.64 | 20.29 | 10.56 | 10.22 | 4.24 | 4.10 | 2.31 | 2.23 |
| S54 | Class 4 | 4.44 ± 0.07 | 145.09 | 1.31 | 1.26 | 7.46 | 7.22 | 14.85 | 14.38 | 25.02 | 24.60 | 4.65 | 4.50 | 1.43 | 1.38 | 0.78 | 0.75 |
| S55 | Class 2 | 6.06 ± 0.26 | 124.13 | 1.84 | 1.77 | 5.88 | 5.68 | 10.29 | 9.96 | 22.69 | 22.31 | 19.65 | 19.02 | 3.78 | 3.66 | 1.58 | 1.52 |
| S56 | Class 4 | 8.68 ± 0.23 | 155.67 | 1.55 | 1.49 | 9.34 | 9.03 | 16.11 | 15.59 | 23.81 | 23.41 | 6.61 | 6.39 | 1.83 | 1.77 | 1.28 | 1.24 |
| S57 | Class 4 | 8.63 ± 0.38 | 122.76 | 1.98 | 1.90 | 7.72 | 7.46 | 15.62 | 15.12 | 19.88 | 19.55 | 6.26 | 6.06 | 2.59 | 2.50 | 1.71 | 1.65 |
| S58 | Class 3 | 2.98 ± 0.27 | 136.39 | 1.13 | 1.08 | 6.38 | 6.17 | 14.62 | 14.15 | 21.92 | 21.55 | 2.43 | 2.36 | 0.57 | 0.55 | 0.37 | 0.35 |
| S59 | Class 4 | 8.13 ± 0.62 | 134.55 | 1.62 | 1.56 | 7.82 | 7.56 | 13.37 | 12.95 | 22.35 | 21.97 | 6.76 | 6.55 | 2.77 | 2.67 | 1.57 | 1.51 |
| S60 | Class 1 | 8.35 ± 0.57 | 121.34 | 1.88 | 1.80 | 7.49 | 7.24 | 13.03 | 12.61 | 19.52 | 19.19 | 11.64 | 11.27 | 3.51 | 3.40 | 2.26 | 2.18 |
| S61 | Class 4 | 8.58 ± 0.77 | 133.89 | 1.42 | 1.36 | 8.33 | 8.05 | 15.03 | 14.55 | 21.93 | 21.57 | 7.83 | 7.58 | 2.36 | 2.28 | 1.68 | 1.62 |
| S62 | Class 2 | 3.09 ± 0.32 | 99.09 | 3.04 | 2.91 | 5.36 | 5.18 | 8.78 | 8.50 | 13.97 | 13.73 | 12.94 | 12.52 | 4.04 | 3.91 | 2.08 | 2.01 |
| S63 | Class 4 | 8.50 ± 0.08 | 147.57 | 1.77 | 1.70 | 9.16 | 8.86 | 15.22 | 14.73 | 22.83 | 22.44 | 10.62 | 10.28 | 2.92 | 2.83 | 1.94 | 1.87 |
| S64 | Class 4 | 5.36 ± 0.45 | 133.42 | 1.51 | 1.45 | 9.30 | 8.99 | 16.25 | 15.73 | 24.69 | 24.28 | 5.25 | 5.08 | 2.16 | 2.09 | 1.20 | 1.16 |
| S65 | Class 4 | 10.90 ± 0.07 | 156.11 | 1.38 | 1.33 | 9.31 | 9.00 | 20.28 | 19.64 | 28.99 | 28.51 | 9.13 | 8.84 | 3.50 | 3.38 | 1.91 | 1.84 |
| S66 | Class 3 | 15.60 ± 0.06 | 144.92 | 1.19 | 1.14 | 7.23 | 6.99 | 9.68 | 9.37 | 26.66 | 26.21 | 2.38 | 2.30 | 1.56 | 1.51 | 0.32 | 0.31 |
| S67 | Class 3 | 6.96 ± 0.12 | 154.43 | 0.88 | 0.85 | 7.46 | 7.21 | 10.77 | 10.43 | 28.60 | 28.12 | 3.16 | 3.06 | 1.97 | 1.90 | 0.60 | 0.58 |
| S68 | Class 1 | 3.26 ± 0.06 | 159.41 | 1.82 | 1.75 | 8.04 | 7.77 | 10.20 | 9.87 | 26.56 | 26.11 | 6.98 | 6.75 | 3.69 | 3.57 | 0.96 | 0.93 |
| S69 | Class 3 | 15.54 ± 0.03 | 147.59 | 1.54 | 1.47 | 6.36 | 6.15 | 11.47 | 11.10 | 26.31 | 25.87 | 3.53 | 3.42 | 1.64 | 1.58 | 0.58 | 0.56 |
| S70 | Class 4 | 1.94 ± 0.05 | 102.33 | 1.42 | 1.36 | 5.17 | 5.00 | 17.55 | 16.99 | 18.57 | 18.26 | 3.86 | 3.74 | 2.27 | 2.20 | 1.61 | 1.56 |
| S71 | Class 4 | 9.84 ± 0.03 | 137.03 | 1.27 | 1.22 | 8.05 | 7.79 | 14.08 | 13.63 | 23.09 | 22.71 | 2.92 | 2.83 | 1.31 | 1.27 | 0.94 | 0.91 |
| S72 | Class 2 | 6.18 ± 0.04 | 100.92 | 3.19 | 3.06 | 5.69 | 5.50 | 17.07 | 16.52 | 19.34 | 19.02 | 10.38 | 10.04 | 3.84 | 3.71 | 3.06 | 2.95 |
| S73 | Class 4 | 9.98 ± 0.01 | 132.41 | 1.13 | 1.09 | 7.87 | 7.60 | 13.36 | 12.93 | 20.38 | 20.04 | 5.80 | 5.61 | 1.98 | 1.91 | 1.40 | 1.35 |
| S74 | Class 4 | 3.25 ± 0.08 | 154.61 | 1.43 | 1.37 | 8.27 | 7.99 | 16.82 | 16.29 | 24.47 | 24.06 | 4.17 | 4.04 | 1.99 | 1.92 | 1.08 | 1.04 |
| S75 | Class 4 | 3.94 ± 0.04 | 160.61 | 1.27 | 1.22 | 8.43 | 8.15 | 17.63 | 17.07 | 26.24 | 25.80 | 3.81 | 3.68 | 1.56 | 1.51 | 0.84 | 0.81 |
| *P* | | | - | 0.64 | | 0.24 | | 0.42 | | 0.60 | | 0.76 | | 0.69 | | 0.75 | |

### 4.2 灰色关联度分析

采用灰色关联度分析法, 考察黄芩8种黄酮类成分与抗氧化活性的灰色关联系数分别为0.772 4 (−1)、0.779 7 (−1)、0.794 8 (+1)、0.802 6 (+1)、0.769 7 (−1)、0.802 6 (+1)、0.808 6 (+1) 和0.795 7 (+1)。各指标成分均与抗氧化活性呈现出较高的关联度。除了黄芩苷、汉黄芩苷和粘毛黄芩素III对抗氧化起到削弱作用外, 其他成分都起到促进作用。可见, 仅以黄芩苷含量作为评价黄芩药材品质优劣的指标并不合适。

### 4.3 聚类分析

根据75批不同来源黄芩药材/饮片中8种指标成分含量, 采用MetaboAnalyst 5.0进行系统聚类, 75批黄芩药材可分为4类 (图3), 黄酮苷与黄酮苷元含量比值 (G/A) 差异是区分这四类黄芩药材的关键指标, 第1

类 (Class 1, $n$ = 28) 中 G/A 在 7.25～18.70 之间, 第 2 类 (Class 2, $n$ = 15) G/A 在 2.69～8.67 之间, 第 3 类 (Class 3, $n$ = 17) G/A 在 17.31～47.67 之间, 第 4 类 (Class 4, $n$ = 15) G/A 在 11.29～28.46 之间 (图 4A)。4 类黄芩药材抗氧化效价为第 2 类 > 第 4 类 > 第 1 类 > 第 3 类 (图 4B), 黄酮苷元类成分含量第 2 类 > 第 1 类≈第 4 类 > 第 3 类, 而黄酮苷类成分的含量第 3 类 > 第 4 类 > 第 1 类 > 第 2 类。各类药材抗氧化活性与总黄酮苷类成分含量呈负相关, 而与总黄酮苷元类成分含量呈正相关, 黄芩药材中 G/A 值是评价其抗氧化活性的重要指标。

观察药材性状, 第 2 和 4 类中共计 29 批黄芩药材具有枯芩的“木心中空、腐朽”等性状特征, 而其余“质地坚实”的子芩则聚类在第 1 和 3 类。研究表明, 枯芩中黄芩素、汉黄芩素和千层纸素 A 的含量显著高于子芩, 而黄芩苷和汉黄芩苷的含量显著低于子芩[12,15]。本研究中, 根据 8 种指标成分的含量将枯芩和子芩均分为两类, 其中第 2 类枯芩药材中 4 种黄酮苷元类成分的总含量是第 4 类中的 2.35 倍; 而第 4 类枯芩药材中 4 种黄酮苷类成分的总含量是第 2 类中的 1.32 倍; 两类药材的 G/A 值相差 3 倍。成分的差异也体现在其抗氧化活性方面, 第 2 类枯芩抗氧化活性效价是第 4 类枯芩药材的 1.4 倍。两类子芩药材中, 黄芩苷、汉黄芩苷等黄酮苷类成分含量基本相同, 但第 1 类中黄芩素、千层纸素 A 和汉黄芩素等黄酮苷元类成分的含量分别是第 3 类中相应成分的 3.25、2.98 和 2.35 倍, 两类药材的 G/A 值相差 2.69 倍。第 1 类子芩抗氧化活性效价是第 4 类子芩药材的 1.15 倍。上述结果表明, 不同类别黄芩药材化学成分含量及各类成分含量比例之间存在显著差异, 抗氧化活性也明显不同, 将它们无差别地用于中医临床和中成药的原料, 势必会造成临床疗效的不稳定, 也终将影响最终产品质量的均一性。

黄芩中存在的内源性 $\beta$-葡萄糖醛酸酶可将根部储存的黄芩苷高效水解为黄芩素, 并迅速诱导细胞凋亡, 产生“枯心”, 被认为是枯芩中黄酮苷元类成分含量高于子芩的主要原因[35]。生长年限不同, 内源性 $\beta$-葡萄糖醛酸酶表达水平差异, 导致黄芩苷等黄酮苷类成分水解转化为苷元诱导细胞凋亡的水平不同。因此, 本研究中观察到具有“枯心”的第 2 类和第 4 类两类枯芩药材中 G/A 值差异显著, 分别为 5.82 ± 1.50 和 17.89 ± 5.42, 而没有“枯心”的第 1 类和第 3 类两类子芩药材的化学轮廓也不相同, G/A 值分别为 11.88 ± 3.08 和 33.38 ± 8.28。第 3 类中 S1～S10 子芩药材来源于山东临沂的药材基地, 为一年生的鲜品黄芩药材, 其 G/A 比值在 24.59～47.67 之间, 与第 1 类中子芩相比, 黄酮苷元类成分含量

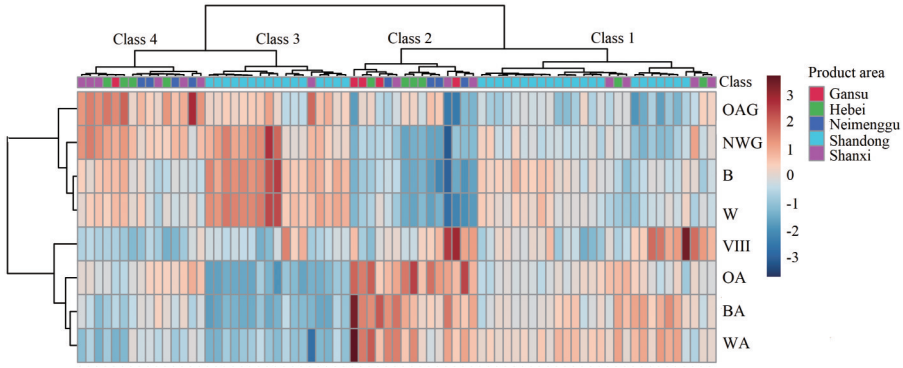


**Figure 3** Clustering heat map upon the content of 8 active ingredients in 75 batches *S. baicalensis*

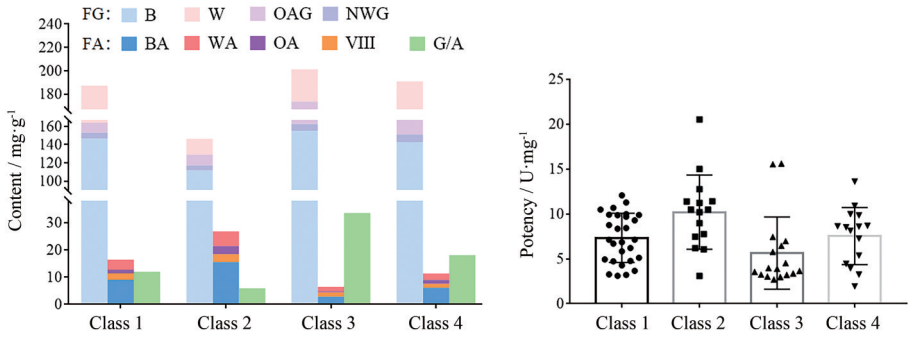


**Figure 4** Total contents of 8 active ingredients and activity potency in 4 clustering classes of *S. baicalensis*. A: Total content of different types of components in *S. baicalensis* from different classes; B: Activity potency of *S. baicalensis* from different classes. FG: Flavonoid glycoside; FA: Flavonoid aglycones. $\bar{x} \pm s$, $n$ = 28 (Class 1), 15 (Class 2), 17 (Class 3), 15 (Class 4)

较低, 抗氧化活性也比较低。对于具有典型特征的子芩和枯芩而言, 如第3类 (生长年限短的子芩, G/A值为17.31～47.67) 与第2类 (典型枯芩, G/A值为2.69～8.67), 可用G/A值进行区分, G/A值低于10可认为是枯芩; G/A值大于10以上则为子芩 (第1类和第3类) 或含有枯心的子芩 (第4类)。第4类 (G/A值为11.29～28.46) 与第1类 (G/A值为7.25～18.70) 的G/A比值范围有重合, 二者可以通过是否含有枯心这一性状特征来区分。

## 讨论

本研究前期通过单因素实验, 系统考察了不同提取方法 (超声提取和加热回流提取) 和不同提取溶剂 (水、25% 甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇、甲醇5种提取溶剂) 的提取效率, 以各待测成分含量为评价指标, 最终确定黄芩药材的最优提取方法为超声提取, 提取溶剂为75% 甲醇。

本研究在对75批黄芩药材多指标成分含量测定基础上, 发现G/A值可能用于区分子芩和枯芩, 并表征黄芩药材生长年限。因此, 可结合药材性状和黄酮苷与黄酮苷元含量比值区分黄芩药材规格: 首先根据是否具有“木心中空、腐朽”等性状特征, 将药材分为具有“枯心”特征 (第2类和第4类) 和不具“枯心”特征 (第1类和第3类) 的两类, 进一步可根据G/A值和抗氧化活性进行分级划分。但由于收集药材生长年限等信息不足, 产地分散, 所得结论还需要进一步验证; G/A值与枯芩形成过程的关联性也还有待进一步深入研究。此外, 8个指标成分含量与抗氧化活性之间的回归分析和偏最小二乘拟合均不理想, 一方面是由于$ABTS^{+}$抗氧化活性本身的局限性导致, 其仅停留在分子层次上, 缺乏基于黄芩传统功效的系统评价, G/A值与黄芩药材品质和临床疗效的关系仍有待深入研究; 另一方面药材中还有其他未被检测的抗氧化活性成分, 后续也将采用液质联用等灵敏度更高的检测方法深入探讨。

在传统中医理论和古代经典名方中, 子芩与枯芩多区分使用, 如在定喘汤、防风通圣散和防风消毒散等宣肺疏风、清热化痰的经典方剂中, 均明确使用枯芩; 而在陈皮滑石散、大安胎如胜饮和钩藤皮汤等中均使用子芩治疗下焦病证。可谓是“中枯而大者, 清肺部而止嗽化痰, 并理目赤疔痈, 坚实而细者, 泻大肠而除湿治痢, 兼可安胎利水”“轻漂者上行, 坚重者下降, 不可不别也”[36]。在新型冠状病毒肺炎的防治过程中, 黄芩是清肺排毒汤和金花清感颗粒处方的关键药味, 显然以枯芩为原料效果更优。而首批公布的《古代经典名方目录(第一批)》中共有16个方剂以黄芩药材为原料, 多个方剂均是用其“宣肺热”之功效, 宜用枯芩为佳。可见, 未来市场对子芩和枯芩的精准使用提出了明确的需求, 建议在对不同产地、不同生长年限代表性枯芩和子芩药材化学物质基础和药理作用深入研究基础上, 发现表征功效的质量标志物, 建立科学合理的黄芩药材商品等级质量评价标准, 精准区分可做枯芩使用和可做子芩使用的药材原料。同时, 建议在含有黄芩药材的经典名方制剂研究开发中, 应注重缕清经典名方中子芩和枯芩应用的发展脉络, 尊重历史演变规律, 正本清源。在物质基准研究中, 一方面要注意收集药材的代表性, 另一方面也应同时考察黄芩药材中黄酮苷元类成分和黄酮苷类成分在药材、饮片、物质基准对应实物和经典名方制剂间的物质传递规律, 在“尊古”的基础上, 明确古代经典名方物质基准的化学特征; 既考虑药材资源情况, 又要充分考虑传统用药经验、临床疗效和患者需求, 才能真正的“以精品传承经典、以价值驱动市场”。

本研究建立了以黄芩苷为内参比物质的QAMS法, 并验证了黄芩苷作为内参比物质的合理性, 该方法高效、快捷、准确, 适合应用于黄芩药材多指标成分含量测定。整合多指标成分含量测定与抗氧化活性, 发现黄芩药材中总黄酮苷和总黄酮苷元含量比值可区分不同商品规格、不同生长年限的黄芩药材, 为建立基于生物活性的黄芩质量综合评价模式提供了数据基础, 也为建立符合中药自身特色的质量标准提供了新的思路和方法。

**作者贡献**: 徐境荣和于钦川负责实验操作、数据处理及文章撰写与修改。赖莉协助完成样品抗氧化活性测定。王淑美和罗国安指导确立实验思路。谢媛媛指导本文的选题设计、实验思路与方法建立、实验数据处理、文章撰写。

**利益冲突**: 本文不存在任何利益冲突。

## References

[1] Zhou X, Fu L, Wang PL, et al. Drug-herb interactions between *Scutellaria baicalensis* and pharmaceutical drugs: Insights from experimental studies, mechanistic actions to clinical applications [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 138: 111445.

[2] Bai QY, Tao SM, Tian JH, et al. Progress of research on effect and mechanism of Scutellariae Radix on preventing liver diseases [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2020, 45: 2808-2816.

[3] Zhao TT, Tang HL, Xie L, et al. *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. J Pharm Pharmacol, 2019, 71: 1353-1369.

[4] Zheng YF, Wang JJ, Fu CM, et al. Progress of research on

chemical constituents and pharmacological effects of *Scutellaria baicalensis* [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2016, 38: 141-147.

[5] Liu JX, Meng FY, Zhang SH, et al. Simultaneous determination of baicalin, wogonoside, baicalein, wogonin, and oroxylin-A in *Scutellaria baicalensis* by UPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2014, 45: 1477-1480.

[6] Bai CK, Yang JJ, Cao B, et al. Growth years and post-harvest processing methods have critical roles on the contents of medicinal active ingredients of *Scutellaria baicalensis* [J]. Ind Crop Prod, 2020, 158: 112985.

[7] Wang D, Jiang YJ, Liang Y, et al. Identification of genuine and non-genuine medicinal materials of *Scutellaria baicalensis* based on HPLC fingerprint [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2013, 38: 1951-1960.

[8] Pang YY, Xue LY, Zheng YH, et al. Comparatice study on quality of *Scutellaria baicalensis* Georgi in different harvest periods using UHPLC-MS/MS metabolomics technology [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2017, 52: 1903-1909.

[9] Li XD, Gu XZ, Cheng LP, et al. Investigation on the market situation of specifications and grading of *Scutellaria baicalensis* slices and discussion of relevant ancient and modern literature [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2014, 37: 150-152.

[10] Zhang FL, Zhao JW, Hu JH, et al. Evaluation of different effect of pithnodecayed and pith-decayed products of Scutellariae Radix on large intestine damp － heat syndrome based on pharmacological indexes [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2020, 26: 57-64.

[11] Wang L, Luo FZ, Chen WS. Overview of Kuqin and Ziqin [J]. China's Naturopathy (中国民间疗法), 2020, 28: 115-119.

[12] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Part I. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 314.

[13] Liu T, Kong M, Liu LF, et al. Correlation research between the product specification and intrinsic quality of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2018, 46: 41-47.

[14] Wang D, Jiang YJ, Liang Y, et al. Study on HPLC-fingerprint-based identification of Dao-di herb and non Dao-di herb of Scutellariae Radix [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 426-433.

[15] Yang ZW, Xu F, Liu X, et al. An untargeted metabolomics approach to determine component differences and variation in their *in vivo* distribution between Kuqin and Ziqin, two commercial specifications of Scutellaria Radix [J]. RSC Adv, 2017, 7: 54682-54695.

[16] Chen QY, Wang CQ, Yang ZW, et al. Difference in anti-inflammatory activity of two kinds of *Scutellaria baicalensis* in LPS-induced macrophages [C] // Proceeding of the 2016 Chinese Pharmaceutical Association Annual Symposium (2016 年中国药学大会暨第十六届中国药师周论文集). Beijing: Chinese Pharmaceutical Association, 2016: 3.

[17] Zhao JW. Study on the Difference of Chemical Composition and Pharmacodynamics between *Scutellaria baicalensis* Pith-nodecayed and *Scutellaria baicalensis* Pith-decayed (子芩与枯芩化学成分及药效差异研究) [D]. Wuhan: Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2019.

[18] Lu J, Shi SM. Green analytical chemistry and the testing method of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析), 2019, 39: 580-587.

[19] Gao HM, Song ZH, Wang ZM, et al. Overview on quantitative analysis of multi-components by single-marker [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 405-416.

[20] Wang ZM, Gao HM, Fu XT, et al. Multi-component quantitation by one marker new method for quality evaluation of Chinese herbal medicine [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2006, 31: 1925-1928.

[21] Luo ZL, Qiu F, Wei RW, et al. Application of relative correction factor in multi-index determination of Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2012, 43: 1448-1452.

[22] Yang Y, Huang LY, Zhu ML, et al. Quantitative analysis of multi-components with single-marker in China Pharmacopoeia (2015 Edition) [J]. Cent South Pharm (中南药学), 2017, 15: 1738-1741.

[23] Zuo L, Meng SN. Advances in the application of quantitative analysis of multi-components with single-marker in the analysis of traditional Chinese medicines [J]. J Chin Pharm (中国药房), 2016, 27: 2589-2592.

[24] Yan CP, Wu Y, Weng ZB, et al. Development of an HPLC method for absolute quantification and QAMS of flavonoids components in *Psoralea corylifolia* L. [J]. J Anal Methods Chem, 2015. DOI: 10.1155/2015/792637.

[25] Lou SH, Xie YY, Wang YM, et al. Application of internal standard correction method in multi-component quantitative analysis of Fructus Gardeniae [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2012, 23: 1812-1814.

[26] Zhu H, Qiu YN, Gong DD, et al. A novel method for quality consistency evaluation of Yankening Tablet by multi-wavelength fusion profiling combined with overall components dissolution method and antioxidant activity analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2021, 196: 113910.

[27] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Part I. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 77, 280, 316.

[28] Liao HF, Ye J, Gao LL, et al. The main bioactive compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi for alleviation of inflammatory cytokines: a comprehensive review [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 110917.

[29] Olena V, Liudmyla S, Olga G, et al. Antioxidant capacity of

plant raw material of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. Potravinarstvo, 2019, 13: 614-621.

[30] Kong BY, Wei LB, Guo QL. Progress in antitumor activity of baicalin [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2021, 56: 1537-1543.

[31] Chang YF, Gong WX, Zheng YH, et al. Urinary metabolomics study of the effects of *Scutellaria baicalensis* Georgi ethanol extract on *D*-galactose-induced rats [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2016, 51: 86-92.

[32] Zeng WC, Shi B. Common methods of antioxidant activity evaluation for natural products: a review [J]. Chem Ind Eng Prog (化工进展), 2013, 32: 1205-1213, 1247.

[33] Kalili KM, De SS, Van HT, et al. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to the ABTS radical scavenging assay: a powerful method for the analysis of phenolic antioxidants [J]. Anal Bioanal Chem, 2014, 406: 4233-4242.

[34] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Part I. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 206.

[35] Morimoto S, Harioka T, Shoyama Y. Purification and characterization of flavone-specific *β*-glucuronidase from callus cultures of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. Planta, 1995, 195: 535-540.

[36] Li ZZ, Ding GR, Geng JT, et al. Revision of the Sign of Materia Medica (本草徵要重订) [M]. Beijing: Beijing Science and Technology Press, 1986.