

图 1 白藜芦醇对照品(A)、虎杖苷对照品(B)和虎杖样品(C) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatogram of resveratrol reference substance (A), polydatin reference substance (B), and sample (C)

表 1 不同方法处理后虎杖中白藜芦醇和虎杖苷的量 (n=3)

Table 1 Determination of resveratrol and polydatin in *P. cuspidatum* after different treatments (n=3)

不同处理	白藜芦醇/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	虎杖苷/( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
新鲜根皮	158.43	18 985.74
新鲜根髓部	41.49	12 672.52
新鲜叶	22.38	275.65
晾干根皮	86.72	13 234.27
晾干根髓部	122.46	7 464.37
晾干叶	44.76	269.37
烘干根皮	79.76	10 917.5
烘干根髓部	47.76	11 946.54
烘干叶	54.83	522.58

### 3 讨论

从上述结果可以看出白藜芦醇在新鲜根皮、根

髓部及叶中量都不高。晾干后叶和根髓部中白藜芦醇量有所提高,而根皮中的量减少。烘干后除叶中的量有所提高外,根皮、根髓部中的量降低。

虎杖根皮中虎杖苷的量很高,晾干后下降了 60%,烘干后则进一步降低。根髓部虎杖苷的量约为根皮的三分之二,晾干后也大幅降低,烘干后又有升高。这一结果显示虎杖苷以新鲜提取为宜,自然放置条件下有效成分会不断降解,不宜存放过长时间。

#### 参考文献:

- [1] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 第一册. 北京: 人民卫生出版社, 1978.
- [2] 舒仕瑜, 卢仲毅, 王兴勇. 白藜芦醇生物活性及药理作用[J]. 儿科药理学杂志, 2002, 8(1): 9-11.
- [3] 巫志峰, 赵瑞芝. 白藜芦醇的抗肿瘤药理作用研究新进展[J]. 中南药学, 2004, 2(3): 167.

## HPLC-ELSD 法测定黄芪药材中黄芪皂苷 、 、 、

覃红萍<sup>1</sup>, 鲁静<sup>2</sup>, 林瑞超<sup>2\*</sup>

(1. 广西食品药品检验所, 广西南宁 530021; 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

**摘要:**目的 研究以 HPLC-ELSD 法测定不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪药材中黄芪皂苷 、 、 、 (黄芪甲苷) 的量。方法 色谱柱为 Alltima C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈和 0.3% 甲酸溶液, 梯度洗脱, 体积流量: 0.8 mL/min, 柱温: 25℃, 蒸发光散射检测器, ELSD 参数: 漂移管温度 110℃, 氮气流速 3.0 L/min。结果 黄芪皂苷 、 、 、 的平均回收率分别为 102.2%、99.5%、101.4%、99.7%, RSD 分别为 1.8%、2.1%、1.8%、1.9%。结论 本法简单易行, 方法学验证符合要求, 可作为黄芪药材中皂苷类成分定量的方法, 也可作为区别黄芪与红芪、梭果黄芪的依据。

**关键词:** HPLC-ELSD; 黄芪; 黄芪皂苷

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)03-0471-03

\* 收稿日期: 2008-05-05

作者简介: 覃红萍 (1979—), 女, 广西横县人, 药师, 硕士, 药物分析专业。

Tel: 1397874072 E-mail: afqhp@sina.com

黄芪含有多种化学成分,如皂苷类、黄酮类、多糖类等,其中皂苷类是黄芪的主要活性成分,具有降血压、镇静、镇痛等作用<sup>[1]</sup>。目前,关于黄芪皂苷的定量测定多采用比色法、薄层扫描法、HPLC-UV 法、HPLC-示差折光检测器法<sup>[2]</sup>。但由于该类化合物没有共轭结构,仅在 200 nm 左右有微弱的吸收,易受杂质和溶剂背景吸收的影响。蒸发光散射检测器(Evaporative Light-Scattering Detector, ELSD)作为一种新型通用型检测器,对黄芪皂苷类化合物有较好的响应。

本实验采用 HPLC-ELSD 法对黄芪药材中 4 种皂苷即黄芪皂苷、黄芪皂苷、黄芪皂苷、黄芪皂苷(黄芪甲苷)的定量测定方法进行了研究;测定了不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪药材中 4 种皂苷类成分的量。

### 1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪,ChemStation 色谱工作站;美国 ALLtech 2000 型蒸发光散射检测器;MiLLi-Q 纯水发生器。

乙腈为色谱纯;甲醇为分析纯;纯净水为 RO-ZY-30 型纯水机和 MiLLi-Q 纯水系统二次制备。

试验用黄芪药材样品经中国药品生物制品检定所中药室张继副主任药师鉴定,分别为蒙古黄芪、膜荚黄芪、梭果黄芪和红芪;黄芪皂苷(E-0129)、黄芪皂苷(E-0130)、黄芪皂苷(E-0131)对照品均由上海同田生物技术有限公司提供(峰面积归一化法测定,质量分数 98%),黄芪皂苷(黄芪甲苷)对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号:110781-200512,供定量测定用)。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Alltima C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:A 相为乙腈,B 相为 0.3% 甲酸溶液,梯度洗脱,0~15 min 10%~25%A,15~20 min 25%A,20~35 min 25%~34%A,35~40 min 34%~45%A,40~50 min 45%A,50~65 min 45%~65%A,65~66 min 65%~80%A,66~70 min 80%A;体积流量:0.8 mL/min,柱温:25℃,蒸发光散射检测器,ELSD 参数:漂移管温度 110℃,氮气体积流量 3.0 L/min。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的制备:分别精密称取经在五氧化二磷中减压干燥至恒重的黄芪皂苷~对照品适量,加甲醇溶解制成含黄芪皂苷 1.25 mg/mL、黄芪皂苷 0.488 mg/mL、黄芪皂苷 0.355 mg/mL、黄芪皂苷 0.282 mg/mL 的溶液,摇匀,

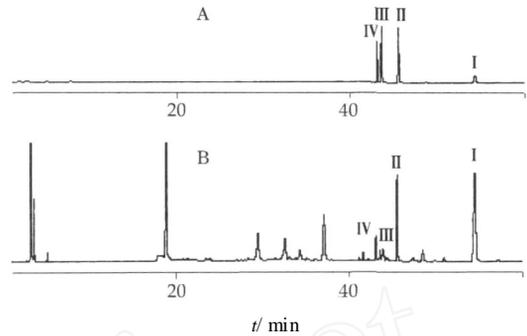


图 1 黄芪皂苷 ~ 对照品(A)和黄芪药材(B) HPLC-ELSD 图

Fig. 1 HPLC-ELSD Chromatograms of astragaloside — (A) and Radix Astragali (B)

即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品中粉约 4 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇适量,冷浸过夜,加热回流至无色,提取液回收溶剂至干,残渣加水 5 mL,微热使溶解,放冷,通过 AB-8 树脂柱(1.5 cm × 12 cm),以水 50 mL 洗脱,弃去水液,再用 20%乙醇 50 mL 洗脱,弃去洗脱液,继用 85%乙醇 100 mL 洗脱,收集 85%乙醇洗脱液,蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察:分别精密吸取对照品溶液 1、2.5、10、20 μL,注入液相色谱仪,测得峰面积积分值。以峰面积积分值(Y)的对数值为纵坐标,分别以黄芪皂苷~对照品进样量(X)的对数值为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。黄芪皂苷:  $\lg Y = 1.6512 \lg X + 1.7715$ ,  $r = 0.9996$ ;黄芪皂苷:  $\lg Y = 1.5971 \lg X + 2.3287$ ,  $r = 0.9996$ ;黄芪皂苷:  $\lg Y = 1.1525 \lg X + 2.0846$ ,  $r = 0.9997$ ;黄芪皂苷:  $\lg Y = 1.5271 \lg X + 2.1757$ ,  $r = 0.9998$ 。

黄芪皂苷在 1.25~25.00 μg、黄芪皂苷在 0.49~9.76 μg、黄芪皂苷在 0.36~7.10 μg、黄芪皂苷在 0.28~5.64 μg 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取同一供试品溶液,按上述色谱条件重复进样 5 次,测定峰面积积分值,结果表明,黄芪皂苷~峰面积积分值 RSD 分别为 2.9%、2.7%、2.0%、3.0%。

2.6 稳定性试验:取同一供试品溶液,按上述色谱条件分别在 0、4、8、12、16、20、24 h 检测,测定黄芪皂苷~峰面积积分值,结果表明,黄芪皂苷~峰面积积分值 RSD 分别为 2.0%、2.7%、2.4%、2.4%。

2.7 重现性试验:取同一批样品 6 份,按供试品溶液制备方法制备,依上述测定条件测定,结果表明,黄芪皂苷 ~ 的量 RSD 分别为 3.5%、4.0%、4.4%、4.3%。

2.8 加样回收试验:精密称取本品 6 份,分别精密加入对照品溶液 1 mL,制备供试液,按上述测定条件测定,计算回收率,结果表明,黄芪皂苷 ~ 的平均回收率分别为 102.2%、99.5%、101.4%、99.7%,RSD 分别为 1.8%、2.1%、1.8%、1.9%。

2.9 样品中皂苷类成分的定量测定:取不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪药材,按照上述方法提取和测定黄芪皂苷、黄芪皂苷、黄芪皂苷、黄芪皂苷的量,测定结果见表 1。

从表 1 结果可知,蒙古黄芪和膜荚黄芪均含有黄芪皂苷 ~ 4 种皂苷成分。其中蒙古黄芪的栽培品与野生品之间差异不大,由于所收集的样品数量较少(均仅为 1 份野生品),上述结论是否正确还有待进一步验证。梭果黄芪、红芪所含皂苷类成分与蒙古黄芪和膜荚黄芪差异较大。

### 3 讨论

本研究首次建立了同时测定黄芪药材中 4 种皂苷类成分的方法,结果表明,所建的方法简单易行,方法学验证符合要求,可作为黄芪药材中皂苷类成分定量的测定方法,也可作为区别黄芪与红芪、梭果黄芪的依据。本研究还系统考察了不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪皂苷类成分的量情况。

《中国药典》记载的黄芪药材的 2 个品种——蒙古黄芪和膜荚黄芪,含有的皂苷类成分及量均接近,皂苷的量为黄芪皂苷 > 黄芪皂苷 > 黄芪皂苷

表 1 样品中黄芪皂苷 ~ 测定结果(n=2)

Table 1 Determination of astragaloside in different samples (n=2)

样品	产地或来源	黄芪皂苷	黄芪皂苷	黄芪皂苷	黄芪皂苷
		/ %	/ %	/ %	/ %
蒙古黄芪	山西浑源	0.085 1	0.030 2	0.017 1	0.018 7
蒙古黄芪	山西浑源	0.071 2	0.030 1	0.013 0	0.019 0
蒙古黄芪	山西浑源	0.007 7	0.003 5	0.003 5	0.007 9
蒙古黄芪	黑龙江	0.034 2	0.011 0	0.014 4	0.011 7
蒙古黄芪	内蒙古	0.034 9	0.013 5	0.012 0	0.014 9
蒙古黄芪	北京同仁堂供	0.014 7	0.005 2	0.004 4	0.007 2
蒙古黄芪	河北张家口 (野生)	0.013 2	0.005 0	0.002 5	0.011 8
膜荚黄芪	山西大同	0.056 8	0.026 7	0.020 9	0.023 2
膜荚黄芪	黑龙江	0.073 9	0.024 5	0.043 6	0.016 0
梭果黄芪	成都莲花池药市	-	-	0.262 0	0.005 5
梭果黄芪	成都药市	-	-	0.106 4	0.003 4
梭果黄芪	四川康定(野生)	-	-	0.002 9	0.002 8
红芪	成都	-	-	0.003 4	0.008 8
红芪	成都	-	-	0.001 6	-
红芪	广西玉林	-	-	-	0.009 6
红芪	成都	0.002 7	0.001 5	0.018 9	0.013 0

> 黄芪皂苷。以原型存在于药材中的黄芪皂苷的量较高,可作为指标性成分测定黄芪药材中的皂苷类成分。而地方习用药材梭果黄芪与《中国药典》品种有较大差别。

#### 参考文献:

- [1] 林琦,陆阳,陈泽乃. 黄芪属植物皂苷类成分研究进展[J]. 国外医药·植物药分册,2002,17(4):143-146.
- [2] 汪红,王强. HPLC-ELSD 法测定黄芪及其注射液中黄芪甲苷、, 的含量[J]. 中国药学杂志,2002,37(4):298-300.

## HPLC-ELSD 法测定不同蜜源蜂王浆中 10-HDA

张德东<sup>1</sup>,赵余庆<sup>2\*</sup>

(1. 辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳药科大学,辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**目的 通过 HPLC-ELSD 法测定 8 种蜂王浆中 10-HDA 的量,建立不同来源蜂王浆功效成分的检测和品质的评价方法。方法 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD),Nucleodur C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm ×4.6 mm, 5 μm),流动相:甲醇-水(55:45),体积流量 1.0 mL/min;蒸发光散射检测器参数:漂移管温度 40,气压 3.5 kPa。结果 10-HDA 在 0.004~0.018 mg(r=0.999 9)线性关系良好,平均加样回收率为 98.9%(RSD=1.2%,n=6),检测样品中 6 种蜂王浆的 10-HDA 的量大于 1.4%,符合国家标准(GB9697-88)。结论 HPLC-ELSD 法简便、快速、灵敏、准确、重现性好,可作为蜂王浆的质量控制方法。

\* 收稿日期:2008-06-05

作者简介:张德东(1981—),辽宁沈阳人,硕士,生药学专业,主要从事天然药物和保健食品开发和应用。

\*通讯作者 赵余庆 Tel:(024)23986522 E-mail:zyq4885@126.com