

野生与栽培黄芪中毛蕊异黄酮苷的测定

陈有根^{1*}, 辛敏通¹, 杨 滨^{2*}

(1. 北京市药品检验所, 北京 100035; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要:目的 通过定量分析比较野生与栽培黄芪药材中毛蕊异黄酮苷的质量分数差异, 为评价不同来源的黄芪药材的质量差异提供科学可靠的依据。方法 采用高效液相色谱法测定 10 批野生与 12 批栽培黄芪药材中毛蕊异黄酮苷的量。色谱条件: ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸, 梯度洗脱; 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25℃。结果 毛蕊异黄酮苷的工作曲线为 $Y = 14\,739\,X - 5.89$, $r = 0.999\,2$, 线性范围为 0.010 ~ 0.015 μg, 加样回收率为 104.7%, RSD = 0.78% ($n = 6$)。10 批野生与 12 批栽培黄芪药材中毛蕊异黄酮苷的平均质量分数分别为 0.21 mg/g 和 0.24 mg/g。结论 本方法测定结果准确、重现性较好, 可作为评价野生与栽培黄芪药材质量的方法之一。

关键词: 野生黄芪; 栽培黄芪; 毛蕊异黄酮苷

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)09-1484-02

黄芪为常用中药, 来源于豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根。化学成分研究表明, 黄芪中的主要有效成分为皂苷类、黄酮类和多糖类化合物, 药理研究^[1-3]证实, 黄芪中的黄酮类成分具有清除氧自由基、抑制脂质过氧化、维持血中 NO 浓度、保护缺血再灌注损伤、抗病毒和抗突变等多种药理活性。由于黄芪具有广泛的药理作用, 复杂的化学成分是其物质基础, 目前广泛采用的单指标的质量控制方法难以有效地评价或控制黄芪药材的质量。本研究对野生和栽培黄芪药材的黄酮类的量进行定量分析, 为多指标评价野生与栽培黄芪的质量提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 HPLC 色谱系统, 包括二极管阵列检测器(DAD), 四元低压梯度泵, 真空脱气机, 柱温箱, 自动进样器, Agilent A10.02 工作站。乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 乙醇为分析纯。

毛蕊异黄酮苷为自制对照品, 经 HPLC 归一化法检测, 质量分数大于 99.0%。

样品来源与编号见表 1, 其中野生来源 10 批, 栽培来源 12 批。所有样品经陈有根博士鉴定, 均为豆科植物蒙古黄芪 *A. membranaceus* Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 的根。

2 方法和结果

2.1 色谱条件与系统适应性: 色谱柱为 Agilent

ZORBAX SB-C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 3.5 μm), 流动相: A 相为水(含有 0.1%磷酸), B 相为乙腈, 梯度洗脱: 2.0% B (0 ~ 4 min), 2.0% ~ 15.0% B (4 ~ 10 min), 15.0% ~ 40.0% B (10 ~ 40 min), 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 220 nm, 柱温 25℃, 进样量为 10 μL, 理论塔板数大于 100 000, 分离度大于 2。色谱图见图 1。

表 1 药材样品来源

Table 1 Origin of samples

编号	药材来源	种植方式	编号	药材来源	种植方式
0601	内蒙古赤峰	栽培	0702	甘肃陇西首阳镇	栽培
0602	内蒙古多伦	野生	0703	甘肃漳县	野生
0603	甘肃岷县	野生	0704	甘肃漳县	栽培
0604	甘肃陇西	野生	0705	甘肃漳县三岔乡	栽培
0605	甘肃甘谷	野生	0706	内蒙古固阳	栽培
0606	甘肃(市购)	栽培	0707	山西浑源	半野生*
0607	山西大同	野生	0708	山西浑源	横栽**
0608	山西浑源	野生	0709	山西应县	野生
0609	山西浑源	栽培	0710	吉林汪清	栽培
0610	河北承德	栽培	0711	内蒙古额尔古纳	野生
0701	甘肃陇西	栽培	0712	内蒙古乌拉特前旗	栽培

* 为人工播种于野地中, 未对其生长环境进行人工干预; ** 移栽时将主根横卧栽培

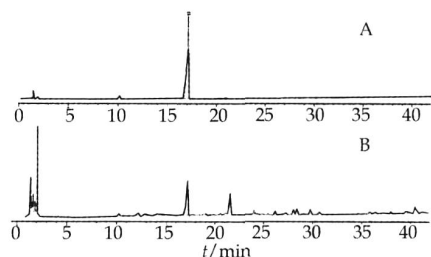
* Manual sowing in wild country, which is not intervened by human being; ** Taproot was put in landscape orientation when it was transplanted

2.2 对照品溶液的制备: 取适量毛蕊异黄酮苷, 加

* 收稿日期: 2008-11-19

基金项目: 科技部“科研院所社会公益研究专项”课题(2005D1A1J172)

* 通讯作者 陈有根 Tel: (010) 66124422 E-mail: ygchenphd@yahoo.com.cn



A-毛蕊异黄酮苷对照品 B-黄芪药材(山西应县)
A-calycosin-7-O-β-D-glucoside reference substance
B-*Radix Astragali* (Yingxian, Shanxi)

图 1 毛蕊异黄酮苷及黄芪药材的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of calycosin-7-O-β-glucoside and *Radix Astragali*

甲醇溶解,制得质量浓度为 1.0 mg/mL 的毛蕊异黄酮苷的对照品储备液。

2.3 工作曲线与线性关系考察:取毛蕊异黄酮苷的对照品储备液,制成质量浓度分别为 1.0、3.0、6.0、9.0、12.0、15.0 μg/mL 的系列对照品溶液,按上述色谱条件进样,以对照品溶液的质量浓度 (X) 为横坐标,峰面积 (Y) 为纵坐标,计算得回归方程 $Y = 14\,739 X - 5.89$, $r = 0.999\,2$ 。结果表明,进样量在 0.010~0.150 μg 线性关系良好。

2.4 样品提取条件的确定:分别对提取所选用的溶剂和提取的时间进行了考察,根据试验结果,确定选用 60%乙醇,超声处理 (500 W, 40 kHz) 20 min 为提取条件。

2.5 供试品溶液的制备:取黄芪药材细粉 0.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入 60%乙醇 20 mL,超声处理 20 min,取出,放冷至室温,加 60%乙醇至刻度,摇匀。滤纸滤过,取续滤液,再用微孔滤膜滤过,备用。

2.6 精密度试验:取同一浓度的对照品溶液 (9.0 μg/mL),连续进样 5 次,测定毛蕊异黄酮苷的峰面积,计算峰面积的 RSD 为 0.16%。

2.7 稳定性试验:取同一浓度的对照品溶液 (9.0 μg/mL),分别在 0、2、4、6、8 h 进样,结果以峰面积计算 RSD 为 0.24%,表明毛蕊异黄酮苷在 8 h 内稳定性良好。

2.8 重现性试验:取编号为 0709 的药材样品细粉 0.5 g,精密称取样品 6 份,按“2.5 供试品溶液的制备”方法平行操作,测定其毛蕊异黄酮苷的量,结果平均质量分数为 0.30 mg/g, RSD 为 1.7%。

2.9 加样回收率试验:取“重现性试验”项下药材细粉 0.25 g (毛蕊异黄酮苷的量为 0.30 mg/g), 6 份,置 25 mL 量瓶中,分别加入质量浓度为 0.05 mg/

mL 对照品溶液 2.5 mL,加入 60%乙醇 17.5 mL,依法制成供试品溶液,测定,结果毛蕊异黄酮苷的平均回收率为 104.7%, RSD 为 0.78%。

2.10 样品测定:分别取 22 批黄芪药材样品细粉 0.5 g,按 2.5 项下方法制备供试品溶液,进样,测定峰面积,工作曲线法计算毛蕊异黄酮苷的量。结果见表 2。

表 2 样品中毛蕊异黄酮苷测定结果 ($n = 3$)

Table 2 Determination of calycosin-7-O-β-D-glucoside in *Radix Astragali* ($n = 3$)

编号	毛蕊异黄酮苷/(mg·g ⁻¹)	编号	毛蕊异黄酮苷/(mg·g ⁻¹)
0601	0.24	0702	0.19
0602	0.05	0703	0.18
0603	0.20	0704	0.28
0604	0.06	0705	0.19
0605	0.13	0706	0.22
0606	0.23	0707	0.48
0607	0.24	0708	0.63
0608	0.55	0709	0.30
0609	0.12	0710	0.23
0610	0.22	0711	0.05
0701	0.10	0712	0.20

3 讨论

黄芪药材含有多种黄酮类成分,主要包括毛蕊异黄酮苷、5-羟基毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮和芒柄花素,其中毛蕊异黄酮和芒柄花素为毛蕊异黄酮苷和芒柄花苷的苷元。在这 5 种主要黄酮类成分中,又以毛蕊异黄酮苷的量相对较高,本实验以毛蕊异黄酮苷为定量测定指标,对野生黄芪药材与栽培黄芪药材内在质量差异进行比较。

定量测定结果表明:(1)野生黄芪药材与栽培黄芪药材的平均质量分数基本接近,说明两种来源的黄芪药材的毛蕊异黄酮苷的量无明显差异;(2)野生黄芪药材由于生长年限不确定,质量分数差异较大 0.05~0.48 mg/g,其中有 3 批量低于 0.10 mg/g,而栽培黄芪药材栽培年限相对固定,质量分数差异相对较小,多为 0.20 mg/g 左右,仅批号为 0708 样品(唯一的横栽来源的样品)的量比其他批号样品高出许多,是否提示黄芪药材横栽时毛蕊异黄酮苷的量高于竖栽,有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 梁连生,余静.黄芪中黄酮化合物的药理作用[J].中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(12):1085-1087.
- [2] 陈聪颖,陆阳,陈泽乃.内蒙黄芪的研究概况[J].中草药,2001,32(6):567-569.
- [3] 汪德清,田亚平,宋淑珍,等.黄芪总黄酮抗突变作用实验研究[J].中国中药杂志,2003,28(1):1164-1167.