

甘肃产 1~2 年生红芪和黄芪皂苷、多糖、黄酮类成分含量差异研究

叶 迎¹, 王瑞海¹, 苗 青¹, 许 京¹, 吴东苑², 刘丽梅^{1*}

1. 中国中医科学院中医基础理论研究所 中药分析室, 北京 100700

2. 中央民族大学理学院, 北京 100081

摘要: 目的 对甘肃产 1~2 年生红芪(多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys*) 和黄芪(蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 或膜荚黄芪 *A. membranaceus*) 总皂苷、总多糖、黄酮类成分含量进行统计分析, 综合多指标探讨红芪和黄芪的差异。方法 运用 R3.3.2 软件, 选取总皂苷、总黄酮、总多糖、毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、4 种异黄酮含量总和 8 个含量指标, 产地、品种、采收时间、纬度、经度、海拔高度 6 个影响质量的因素做变量, 采用相关分析、聚类分析、主成分分析方法, 对甘肃产 1~2 年生红芪和黄芪质量差异进行综合评价。结果 聚类结果表明红芪、黄芪聚成 2 大类, 2 种药材品质相差较大; 主成分分析结果表明, 黄芪质量优于红芪, 总体上 2 年生红芪、黄芪药材质量优于 1 年生药材, 宕昌产黄芪质量较优, 武都产红芪质量较优。结论 甘肃产红芪和黄芪药材质量有明显差异, 从质量角度分析, 二者不适合替代使用。

关键词: 红芪; 黄芪; 毛蕊异黄酮苷; 毛蕊异黄酮; 芒柄花苷; 芒柄花素; 聚类分析

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)14-4649-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.14.026

Comparative study on statistical differences of saponins, polysaccharides and flavonoids contents of Gansu 1—2 years old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

YE Ying¹, WANG Rui-hai¹, MIAO Qing¹, XU Jing¹, WU Dong-yuan², LIU Li-mei¹

1. Institute of Basic Theory Research of TCM, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. College of Science, Minzu University of China, Beijing 100081, China

Abstract: Objective To analyze the contents of total saponins, total polysaccharides and flavonoids of 1—2 years old Hongqi (*Hedysari Radix*, *Hedysarum polybotrys*) and Huangqi (*Astragali Radix*, *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* or *A. membranaceus*) from different areas in Gansu Province, and explore the differences between *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*. **Methods** Using R3.3.2 software, and eight content including total saponins, total flavonoids, total polysaccharides, calycosin-7-glucoside, calycosin, ononin, formononetin, sum of four isoflavones were selected as indicators, and six factors affecting the quality of including origin, varieties, harvest time, latitude, longitude, altitude were selected as variable. Based on the correlation analysis, cluster analysis and principal component analysis (PCA), the difference of quality between 1—2 years old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* was compared. **Results** The results of cluster analysis showed that *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* were clustered into two categories, with a big difference of the quality between them. The results of PCA showed that the quality of *Astragali Radix* was better than that of *Hedysari Radix*. In general, the quality of two-year-old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* were better than one year old. And the quality of *Astragali Radix* in Dangchang was better, and the quality of *Hedysari Radix* in Wudu was superior. **Conclusion** There is a significant difference in the quality of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* in Gansu, and it is not suitable for alternative use from the perspective of quality analysis.

Key words: *Hedysari Radix*; *Astragali Radix*; calycosin-7-glucoside; calycosin; ononin; formononetin; cluster analysis

《中国药典》2020 年版一部规定, 黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根, 红芪为豆科植

物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz 的干燥根, 二者均具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、托毒排脓、敛疮生肌的功效^[1]。在传统中医用药中黄芪和红芪本不分,

收稿日期: 2022-11-03

作者简介: 叶迎, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂分析。E-mail: 1011153962@qq.com

*通信作者: 刘丽梅 (1965—), 研究员, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (010)64089006 E-mail: liulimeihb@sina.com

二者自古就通用。而至今,在我国西北、西南、港澳台地区及东南亚一些地区仍有以红芪用作黄芪替代品的习惯^[2,3],同时在中成药中也有用红芪代替黄芪入药的现象存在^[4]。仅从功效相同的角度来看,红芪似乎可以代替黄芪使用,但药典中并未指出 2 药材在功效相同的基础上,是否有药效强弱之分、或对某种功效有所侧重。现代药理研究表明,中药发挥药效是因其含有多种能对机体产生药理作用的活性成分。红芪和黄芪中主要的活性成分种类有黄酮、皂苷、多糖^[5-7],每一种成分对药效都有不同的影响^[8-14]。对于红芪和黄芪黄酮、皂苷、多糖类成分含量综合对比研究尚未见文献报道。甘肃是红芪、黄芪道地产区,基于此,本课题选择甘肃不同产地同一生态环境下种植的红芪和黄芪,统一加工方法和研究方法,对红芪和黄芪 2 个品种药效物质基础进行对比分析。为了能够全面、综合评价二者的质量,使得出的结论更加可靠,本实验将测定的所有红芪和黄芪中黄酮^[15-16]、皂苷^[17-18]、多糖^[19]以及异黄酮^[20]的含量结果作为研究数据,进行统计学分析。通过对红芪和黄芪药材中主要有效成分含量的综合对比,说明二者在药效物质基础方面的异同,进而阐明红芪是否可以代替黄芪使用,为指导黄芪临床用药提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

对照品毛蕊异黄酮(批号 PS13081501)、芒柄花素苷(批号 PS13081501)购自成都普思生物科技股份有限公司;对照品毛蕊异黄酮-7-O-β-D 葡萄糖苷(批号 20141109)购自北京坛墨质检科技有限公司;对照品芒柄花素(111703-200603)购自中国食品药品检定研究院,对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201304)购自中国食品药品检定研究院,对照品黄芪甲苷(批号 20141119)购自北京坛墨质检科技有限公司;上述对照品质量分数均≥98%;乙腈为色谱纯(Fisher 公司);其他试剂为分析纯,水为纯净水。

红芪、黄芪药材分别采自甘肃宕昌、武都、陇西、渭源、岷县、礼县,并经中国中医科学院中药研究所胡世林教授鉴定为《中国药典》2020 年版收录的正品黄芪和红芪,黄芪 1~4、9~18、22~28 号原植物为蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, 5~8、19~21 号原植物为膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge.; 红芪 1~28 号原植物为多序岩黄芪 *H. polybotrys* Hand. -Mazz.的根,结果见表 1。

表 1 甘肃产不同产地红芪和黄芪采样信息

Table 1 Sampling information of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* from different geographical origins of Gansu

药材编号	药材	生长年限/年	地区	品种	采收时间	纬度(N)°	经度(E)°	海拔高度/m
R1-1	红芪	1	礼县	多序岩黄芪	2014-10	34.17	105.3	1611
R1-2	红芪	1	礼县	多序岩黄芪	2014-10	34.16	105.2	1667
R1-3	红芪	1	岷县	多序岩黄芪	2014-10	34.53	104.1	2447
R1-4	红芪	1	渭源县	多序岩黄芪	2014-10	35.07	104.3	2027
R1-5	红芪	1	陇西县	多序岩黄芪	2014-10	35.09	104.5	1831
R1-6	红芪	1	陇西县	多序岩黄芪	2014-10	35.09	104.5	1827
R1-7	红芪	1	陇西县	多序岩黄芪	2014-10	35.13	104.4	1866
R1-8	红芪	1	陇西县	多序岩黄芪	2014-10	35.19	104.4	1959
R1-9	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.05	104.2	2010
R1-10	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.08	104.2	2141
R1-11	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.18	104.2	2343
R1-12	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.18	104.2	2300
R1-13	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.18	104.2	2392
R1-14	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.10	104.3	1808
R1-15	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	33.10	104.3	1820
R1-16	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.01	104.1	1762
R1-17	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	33.71	104.9	1784
R1-18	红芪	1	宕昌县	多序岩黄芪	2014-11	34.61	104.8	2086
R1-19	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.29	105.5	1673
R1-20	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.32	105.1	2133
R1-21	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-11	33.80	105.3	1746
R1-22	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.29	105.6	1961
R1-23	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.28	105.9	2116
R1-24	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.28	105.8	2103
R1-25	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.35	104.5	1863
R1-26	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.15	105.4	1799
R1-27	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.23	105.2	1751

续表 1

药材编号	药材	生长年限/年	地区	品种	采收时间	纬度 (N)/°	经度 (E)/°	海拔高度/m
R1-28	红芪	1	武都	多序岩黄芪	2014-12	33.28	105.5	1497
Y1-1	黄芪	1	岷县	蒙古黄芪	2014-11	34.32	104.0	2308
Y1-2	黄芪	1	岷县	蒙古黄芪	2014-11	34.32	104.0	2243
Y1-3	黄芪	1	岷县	蒙古黄芪	2014-10	34.53	104.1	2296
Y1-4	黄芪	1	渭源县	蒙古黄芪	2014-10	35.07	104.3	2024
Y1-5	黄芪	1	陇西县	膜荚黄芪	2014-10	35.09	104.5	1831
Y1-6	黄芪	1	陇西县	膜荚黄芪	2014-10	35.09	104.5	1822
Y1-7	黄芪	1	陇西县	膜荚黄芪	2014-10	35.13	104.4	1969
Y1-8	黄芪	1	陇西县	膜荚黄芪	2014-10	35.19	104.4	1959
Y1-9	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.03	104.2	2050
Y1-10	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.06	104.1	2100
Y1-11	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.15	104.1	2300
Y1-12	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.15	104.2	2250
Y1-13	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.16	104.2	2350
Y1-14	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.07	104.2	1758
Y1-15	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	33.57	104.3	1850
Y1-16	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-11	34.05	104.2	1800
Y1-17	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-10	33.56	104.4	1750
Y1-18	黄芪	1	宕昌县	蒙古黄芪	2014-10	34.04	104.3	1950
Y1-19	黄芪	1	武都	膜荚黄芪	2014-12	33.29	105.5	1673
Y1-20	黄芪	1	武都	膜荚黄芪	2014-12	33.30	105.1	1673
Y1-21	黄芪	1	武都	膜荚黄芪	2014-12	33.80	105.3	1746
Y1-22	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.29	105.6	1961
Y1-23	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.28	105.9	2116
Y1-24	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.28	105.8	2103
Y1-25	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.35	104.5	1863
Y1-26	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.15	105.4	1799
Y1-27	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.23	105.2	1751
Y1-28	黄芪	1	武都	蒙古黄芪	2014-12	33.15	105.4	1799
R2-1	红芪	2	礼县	多序岩黄芪	2015-10	34.17	105.3	1611
R2-2	红芪	2	礼县	多序岩黄芪	2015-10	34.16	105.2	1667
R2-3	红芪	2	岷县	多序岩黄芪	2015-10	34.53	104.1	2447
R2-4	红芪	2	渭源县	多序岩黄芪	2015-10	35.07	104.3	2027
R2-5	红芪	2	陇西县	多序岩黄芪	2015-10	35.09	104.5	1831
R2-6	红芪	2	陇西县	多序岩黄芪	2015-10	35.09	104.5	1827
R2-7	红芪	2	陇西县	多序岩黄芪	2015-10	35.13	104.4	1866
R2-8	红芪	2	陇西县	多序岩黄芪	2015-10	35.19	104.4	1959
R2-9	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	34.05	104.2	2010
R2-10	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-10	34.08	104.2	2141
R2-11	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-10	34.18	104.2	2343
R2-12	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-10	34.18	104.2	2300
R2-13	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	34.18	104.2	2392
R2-14	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	34.10	104.3	1808
R2-15	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	33.10	104.3	1820
R2-16	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	34.01	104.1	1762
R2-17	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	33.71	104.9	1784
R2-18	红芪	2	宕昌县	多序岩黄芪	2015-11	34.61	104.8	2086
R2-19	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.29	105.5	1673
R2-20	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.32	105.1	2133
R2-21	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.80	105.3	1746
R2-22	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.29	105.6	1961
R2-23	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.28	105.9	2116
R2-24	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-12	33.28	105.8	2103
R2-25	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-11	33.35	104.5	1863
R2-26	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-11	33.15	105.4	1799
R2-27	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-11	33.23	105.2	1751
R2-28	红芪	2	武都	多序岩黄芪	2015-11	33.28	105.5	1497
R2-1	黄芪	2	岷县	蒙古黄芪	2015-10	34.32	104.0	2308
R2-2	黄芪	2	岷县	蒙古黄芪	2015-10	34.32	104.0	2243
R2-3	黄芪	2	定西市	蒙古黄芪	2015-10	35.43	102.6	2019
R2-4	黄芪	2	渭源县	蒙古黄芪	2015-10	35.07	104.3	2024
R2-5	黄芪	2	陇西县	膜荚黄芪	2015-10	35.09	104.5	1831
R2-6	黄芪	2	陇西县	膜荚黄芪	2015-10	35.09	104.5	1822
R2-7	黄芪	2	陇西县	膜荚黄芪	2015-10	35.13	104.4	1969
R2-8	黄芪	2	陇西县	膜荚黄芪	2015-10	35.19	104.4	1959

续表 1

药材编号	药材	生长年限	地区	品种	采收时间	纬度(N)/°	经度(E)/°	海拔高度/m
R2-9	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	34.03	104.2	2050
R2-10	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-10	34.06	104.1	2100
R2-11	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-10	34.15	104.1	2300
R2-12	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-10	34.15	104.2	2250
R2-13	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	34.16	104.2	2350
R2-14	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	34.07	104.2	1758
R2-15	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	33.57	104.3	1850
R2-16	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	34.05	104.2	1800
R2-17	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	33.56	104.4	1750
R2-18	黄芪	2	宕昌县	蒙古黄芪	2015-11	34.04	104.3	1950
R2-19	黄芪	2	武都	膜荚黄芪	2015-12	33.29	105.5	1673
R2-20	黄芪	2	武都	膜荚黄芪	2015-11	33.30	105.1	1673
R2-21	黄芪	2	武都	膜荚黄芪	2015-12	33.80	105.3	1746
R2-22	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-12	33.29	105.6	1961
R2-23	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-12	33.28	105.9	2116
R2-24	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-12	33.28	105.8	2103
R2-25	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-11	33.35	104.5	1863
R2-26	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-11	33.15	105.4	1799
R2-27	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-11	33.23	105.2	1751
R2-28	黄芪	2	武都	蒙古黄芪	2015-11	33.15	105.4	1799

1.2 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪、Agilent Ecslipse-XDB C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、8453 型紫外-可见分光光度计 (美国安捷伦公司); CX-250 型超声波清洗机 (天津双龙医疗设备有限公司); CP2202S 型电子分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); SPS202F 型电子分析天平 (奥豪斯公司); DZKW-4 型电子恒温水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司); RE-52A 型旋转蒸发器 (上海振捷实验设备有限公司); KQ-250 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法

2.1 指标成分的测定

总皂苷、总黄酮、总多糖及毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素苷、芒柄花素和 4 种异黄酮含量总和, 以及 6 个影响质量的因素: 产地、种类、采收时间、纬度、经度、海拔高度做变量, 对甘肃 1~2 年生红芪和黄芪质量差异做综合评价。红芪和黄芪黄酮类成分、总皂苷、总多糖含量经过本课题组实验测得。

2.1.1 红芪、黄芪总黄酮含量测定方法^[15-16] 取红芪、黄芪约 0.8 g, 精密称定, 分别置平底烧瓶中, 精密加入 70%乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 3 h, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 12.5 mL, 减压回收溶剂至干, 用水溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 加水饱和正丁醇溶液萃取 (4 次×5 mL), 合并正丁醇溶液, 减压回收溶

剂至干, 用甲醇溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得红芪、黄芪供试品溶液。以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为对照品, 以甲醇为空白, 在 260 nm 波长下测定吸光度 (*A*) 值。

2.1.2 红芪、黄芪总皂苷含量测定方法^[17-18] 取红芪、黄芪粉末 (过 50 目筛) 约 0.8 g, 精密称定, 分别置平底烧瓶中, 精密加入 70%乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 3 h, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 12.5 mL, 减压回收溶剂至干, 用水溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 加水饱和正丁醇溶液萃取 (4 次×5 mL), 合并正丁醇溶液, 减压回收溶剂至干, 用甲醇溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 3 mL 定容至 25 mL 量瓶中, 摇匀即得红芪、黄芪供试品溶液 (含生药质量浓度为 0.02 g/L)。精密吸取黄芪和红芪供试品及黄芪甲苷对照品溶液 (纯水作为空白溶液) 各 0.15 mL, 置具塞刻度试管中, 90 °C 水浴挥发溶剂, 放冷, 分别加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.4 mL 和高氯酸 1.6 mL, 摇匀, 分别置 100 °C 水浴加热 20 min, 取出, 立即置冰浴中冷却 5 min, 加入冰醋酸 8 mL, 摇匀, 在 540 nm 波长处测定 *A* 值。

2.1.3 红芪、黄芪总多糖含量测定方法^[19] 取红芪、黄芪粉末 (50 目) 各约 1.25 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入水 25 mL 水, 称定质量, 100 °C 回流提取 1.5 h, 放置室温, 再称定质量, 用蒸馏水补足减失的质量, 离心, 精密量取上清液 0.5

mL, 置离心管中, 加无水乙醇 2.7 mL (醇沉浓度至 80 %), 摇匀, 冷藏过夜, 离心, 取沉淀加无水乙醇 5 mL 洗涤 1 次, 离心, 取沉淀加水溶解, 置 25 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品。以葡萄糖为对照品, 精密量取供试品溶液 0.5~2.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水补至 2 mL, 加 4% 苯酚溶液 1 mL 及浓硫酸 5 mL, 混匀, 室温放置 20 min 使冷却, 于 490 nm 处测定 *A* 值。

2.1.4 红芪、黄芪异黄酮类成分含量测定方法^[21]

(1) 供试品溶液的制备: 取红芪、黄芪粉末 (过 50 目筛) 约 0.8 g, 精密称定, 分别置平底烧瓶中, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 3 h, 取出, 放冷, 再称定质量, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 12.5 mL, 减压回收溶剂至干, 用水溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 加水饱和正丁醇溶液萃取 (4 次×5 mL), 合并正丁醇溶液, 减压回收溶剂至干, 用甲醇溶解残渣, 并转移至 5 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 即得红芪、黄芪供试品溶液。

(2) 对照品溶液的制备: 精密称取毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素对照品适量, 溶于 80% 甲醇配制成混合对照品溶液。

(3) 色谱条件: 采用 Agilent Eclipse-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 在 254 nm 处检测, 以乙腈 (A) -0.1% 磷酸水 (B) 为流动相进行梯度洗脱, 流动相梯度为 0~13 min, 16%~20% A; 13~33 min, 20%~33% A; 33~46 min, 33%~35% A。精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 进样分析黄芪和红芪 4 种异黄酮类成分, 色谱图见图 1。

(4) 毛蕊异黄酮苷标准曲线: 精密量取毛蕊异黄酮苷对照品溶液 225 μg/mL 稀释相应倍数, 配制成质量浓度分别为 112.5、45、22.5、2.25、0.562 5 μg/mL 的对照品溶液。取原对照品溶液及稀释后对照品溶液, 进样量为 10 μL, 记录峰面积分别为 6812.4、3578.9、1379.5、703.7、81.6、19.7。以峰面积为纵坐标 (*Y*), 毛蕊异黄酮苷质量为横坐标 (*X*), 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y=3\,041.4X+28.755$, $r=0.999\,7$, 结果表明毛蕊异黄酮苷在 0.005 625~2.25 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

(5) 芒柄花苷标准曲线: 精密量取芒柄花苷对照品溶液 222 μg/mL 稀释相应倍数, 配制成质量浓度分别为 111.0、74.0、44.4、22.2、11.1 μg/mL 的

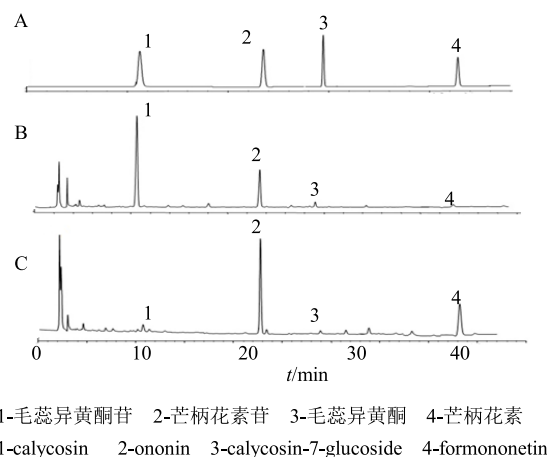


图 1 混合对照品溶液(A), 黄芪供试品溶液 (B), 红芪供试品 (C) 溶液色谱图

Fig. 1 Chromatogram of mixed reference substance solution (A), *Astragali Radix* sample (B) and *Hedysari Radix* sample (C)

对照品溶液。取原对照品溶液及稀释后对照品溶液, 进样量为 10 μL, 记录峰面积分别为 5 800.0、3 067.8、2 110.6、1 229.7、671.5、323.5。以峰面积为纵坐标 (*Y*), 芒柄花苷质量为横坐标 (*X*), 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y=2591.8X+106.81$, $r=0.999\,4$ 。结果表明芒柄花苷在 0.111~2.22 μg 内与峰面积呈良好的线性关系。

(6) 毛蕊异黄酮标准曲线: 精密量取毛蕊异黄酮对照品溶液 11.2 μg/mL 稀释相应倍数, 配制成质量浓度分别为 5.6、1.12、0.56、0.224、0.112 μg/mL 的对照品溶液。取原对照品溶液及稀释后对照品溶液, 进样量为 10 μL, 记录峰面积分别为 549.8、282.8、54.5、27.7、11.3、6.3。以峰面积为纵坐标 (*Y*), 毛蕊异黄酮质量为横坐标 (*X*), 绘制标准曲线, $Y=4\,925.6X+0.933$, $r=0.999\,9$ 。结果表明毛蕊异黄酮在 0.001 12~0.112 μg 内与峰面积呈良好的线性关系。

(7) 芒柄花素标准曲线: 精密量取芒柄花素对照品溶液 168 μg/mL 稀释相应倍数, 配制成质量浓度分别为 84.0、16.8、1.68、0.336、0.168 μg/mL 的对照品溶液。取原对照品溶液及稀释后对照品溶液, 进样量为 10 μL, 记录峰面积分别为 7 712.1、3 994.9、747.4、80.7、17.8、10.7。以峰面积为纵坐标 (*Y*), 芒柄花素质量为横坐标 (*X*), 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y=4\,614.8X+9.683\,5$, $r=0.999\,8$ 。结果表明芒柄花素在 0.001 68~1.68 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

(8) 精密度考察: 精密量取对照品混标溶液, 进样量 10 μL , 连续测定 6 次。方法学考察结果表明毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素 RSD 分别为 1.6%、0.69%、1.2%、1.4%, 说明本方法精密度良好。

(9) 稳定性考察: 精密黄芪和红芪 23 号药材粉末(过 50 目筛)各 1 份, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、12、24 h 进样检测, 进样量为 10 μL , 记录峰面积, 进行含量计算, 结果红芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素在 24 h 内 RSD 分别为 1.6%、1.2%、2.2%、0.91%; 黄芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素在 24 h 内 RSD 分别为 0.88%、0.77%、0.82%、1.9%; 表明红芪和黄芪供试品在 24 h 内稳定。

(10) 重复性考察: 取同一批次的黄芪和红芪样品粉末各 6 份, 精密称定, 按已建立的方法, 进样量为 10 μL , 记录峰面积, 进行含量计算, 结果红芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素含量 RSD 分别为 2.7%、2.3%、2.1%、2.0%; 黄芪中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素含量 RSD 分别为 2.5%、2.5%、2.2%、2.7%; 表明二者的重复性符合规定。

(11) 加样回收率试验: 黄芪对照品混合对照品溶液中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素质量浓度分别为 91.2、46.0、2.4、3.0 $\mu\text{g/mL}$; 红芪对照品混合对照品溶液中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素质量浓度分别为 4.6、61.0、1.2、22.4 $\mu\text{g/mL}$ 。分别精密吸取黄芪对照品混标溶液和红芪对照品混标溶液各 5 mL, 置于平底烧瓶中, 每种混合对照品各 6 份, 水浴蒸干溶剂, 精密称取同一黄芪、红芪供试品粉末各 6 份, 分别置于上述对应的平底烧瓶中, 制备供试品溶液, 记录峰面积, 计算加样回收率。结果红芪和黄芪毛蕊异黄酮苷加样平均回收率分别为 99.88%、97.65%, 其 RSD 分别为 2.6%、2.1%; 芒柄花苷加样平均回收率分别为 102.39%、100.40%, 其 RSD 分别为 2.7%、2.6%; 毛蕊异黄酮加样平均回收率分别为 102.25%、102.38%, 其 RSD 分别为 1.9%、2.7%; 芒柄花素加样平均回收率分别为 96.39%、100.33%, 其 RSD 分别为 1.1%、2.4%; 表明二者的回收率符合规定。

2.2 统计方法

运用 R3.3.2 软件, 正态分布连续变量用 $\bar{x} \pm s$ 描

述, 2 组比较用 t 检验, 多组比较用方差分析 (ANOVA), 成组多重比较采用 Tukey HSD 检验法。非正态分布连续变量或等级(有序)变量用中位数(下四分位数, 上四分位数)描述, 组间比较用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验; 成组多重比较采用 Benjamini-Hochberg 检验法。如果无法确定连续变量是否正态分布, 则利用 Shapiro-Wilk 检验是否服从正态分布, 取显著水平为 0.01, 然后再根据上述原则进行统计检验。模型主要采用相关分析、聚类分析、主成分分析。

3 结果与分析

3.1 8 个含量指标间相互影响程度分析

对 1~2 年生红芪和黄芪中 8 个含量指标做相关分析, 计算相关系数(表 2~4)。结果见图 2, 由图 2 可知, 所有数据当中, 4 种异黄酮含量总和与毛蕊异黄酮苷的含量相关系数为 0.95, 即二者呈强正相关性, 说明毛蕊异黄酮苷含量高低决定着 4 种异黄酮含量总和的高低; 总黄酮含量和芒柄花素含量的相关系数为 -0.08, 即二者呈弱负相关性, 说明芒柄花素含量高低对总黄酮含量高低影响很微小。

3.2 红芪与黄芪 2 品种 8 个考核指标的差异比较

对 1~2 年生红芪和黄芪中 8 个含量指标数据做组间差异比较, 结果见表 5。

由表 5 可知, 不分年份的红芪和黄芪在 8 个含量指标中均有显著性差异, 说明红芪和黄芪在总黄酮、总皂苷、总多糖含量及 4 种异黄酮含量总和上 2 药材存在显著性差异; 同时在毛蕊异黄酮苷、芒柄花素苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素 4 种异黄酮成分含量上 2 药材也存在明显不同。由此含量可见, 红芪不适合替代黄芪使用。

3.3 红芪和黄芪 2 个品种鉴别指标的差异可视化分析

对红芪和黄芪中的 8 个考核指标做差异可视化分析, 可视化图见图 3。从直观上来看, 变量 V4、V6、V7、V8 两两交互时, 具有较好的区分度, 说明毛蕊异黄酮-7-O- β -D 葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素含量及 4 种异黄酮总量在红芪和黄芪中存在明显区别, 对其进行检测, 能较好的区分红芪和黄芪。而芒柄花素苷在红芪和黄芪中差异不明显, 说明在指纹图谱中选其做参照物具有合理性。其余变量两两交互时虽然有一定的区分度, 但不能把二者区分开。

表 2 甘肃 1~2 年生红芪和黄芪总黄酮、总皂苷、总多糖含量

Table 2 Total flavonoids, total saponins, and total polysaccharides content of 1—2 years old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* in Gansu

药材编号	总黄酮/%				总皂苷/%				总多糖/%			
	1 年生红芪	1 年生黄芪	2 年生红芪	2 年生黄芪	1 年生红芪	1 年生黄芪	2 年生红芪	2 年生黄芪	1 年生红芪	1 年生黄芪	2 年生红芪	2 年生黄芪
1	0.26	0.29	0.79	0.39	3.15	4.61	8.02	4.20	13.27	4.76	6.94	9.95
2	0.37	0.28	0.41	0.33	3.60	4.00	3.39	4.52	10.65	7.49	7.40	8.98
3	0.46	0.25	0.23	0.46	3.64	3.85	3.48	4.08	13.96	7.29	9.40	5.90
4	0.22	0.27	0.25	0.34	2.65	4.24	2.97	5.03	8.63	5.23	10.27	6.23
5	0.12	0.30	0.44	0.30	2.77	4.05	3.76	4.86	12.76	8.21	5.64	7.61
6	0.18	0.29	0.50	0.28	2.79	3.82	2.31	5.04	11.51	7.58	4.29	6.01
7	0.12	0.30	0.53	0.42	3.12	4.81	3.02	4.20	8.58	8.40	3.66	6.00
8	0.10	0.29	0.46	0.49	2.72	4.26	2.49	5.07	8.43	7.56	5.91	6.30
9	0.11	0.38	0.37	0.57	2.66	5.12	3.42	6.27	9.85	4.08	6.50	7.88
10	0.14	0.36	0.39	0.52	2.72	5.48	3.74	5.03	10.93	4.08	6.70	8.20
11	0.43	0.54	0.37	0.54	2.80	5.97	3.23	5.73	11.50	4.20	6.33	7.88
12	0.30	0.32	0.35	0.52	3.92	5.81	4.41	4.37	14.09	2.83	5.78	7.64
13	0.34	0.40	0.37	0.48	6.11	5.41	4.48	4.49	10.25	6.08	5.63	7.63
14	0.23	0.43	0.41	0.51	3.68	4.57	4.93	4.58	10.14	3.29	6.03	9.68
15	0.38	0.46	0.37	0.61	3.40	4.70	4.12	5.81	14.02	3.42	6.70	7.43
16	0.38	0.35	0.35	0.55	3.39	4.52	3.72	4.82	12.80	2.66	6.28	8.35
17	0.29	0.33	0.35	0.56	2.57	4.27	3.28	5.17	10.86	2.42	6.25	7.45
18	0.27	0.39	0.37	0.56	2.85	5.17	3.56	4.86	10.08	3.85	6.57	6.95
19	0.32	0.42	0.49	0.55	4.19	3.92	4.66	3.39	6.21	1.87	6.63	13.08
20	0.27	0.35	0.38	0.64	3.65	5.52	4.04	5.96	5.88	1.89	6.40	9.53
21	0.32	0.37	0.42	0.38	4.41	4.31	3.73	4.72	6.16	2.30	4.89	8.14
22	0.31	0.36	0.31	0.38	4.09	4.56	4.26	4.47	8.40	2.94	6.15	7.36
23	0.35	0.35	0.31	0.50	3.93	4.56	3.51	4.30	5.39	2.47	5.19	5.39
24	0.27	0.33	0.30	0.36	3.67	3.83	4.63	5.67	6.17	1.78	6.48	7.50
25	0.28	0.35	0.38	0.28	4.30	4.09	4.35	5.69	5.34	1.86	7.18	8.13
26	0.28	0.39	0.52	0.45	4.59	4.55	4.78	4.56	5.12	1.27	5.25	9.50
27	0.34	0.36	0.44	0.33	4.14	4.56	4.03	4.97	5.49	1.03	5.41	5.48
28	0.34	0.30	0.42	0.38	4.49	4.23	4.40	4.25	5.40	1.89	4.63	6.23
陇西 (1~8) 平均值	0.23	0.28	0.45	0.37	3.06	4.21	3.68	4.63	10.97	7.06	6.69	7.12
宕昌 (9~18) 平均值	0.29	0.40	0.37	0.54	3.41	5.10	3.89	5.11	11.45	3.69	6.28	7.91
武都 (19~28) 平均值	0.31	0.36	0.39	0.42	4.15	4.41	4.24	4.80	5.96	1.93	5.82	8.03
全省 (1~28) 平均值	0.28	0.35	0.40	0.45	3.57	4.60	3.95	4.86	9.35	4.02	6.23	7.73

表 3 甘肃 1 年生红芪和黄芪 4 种异黄酮类成分含量

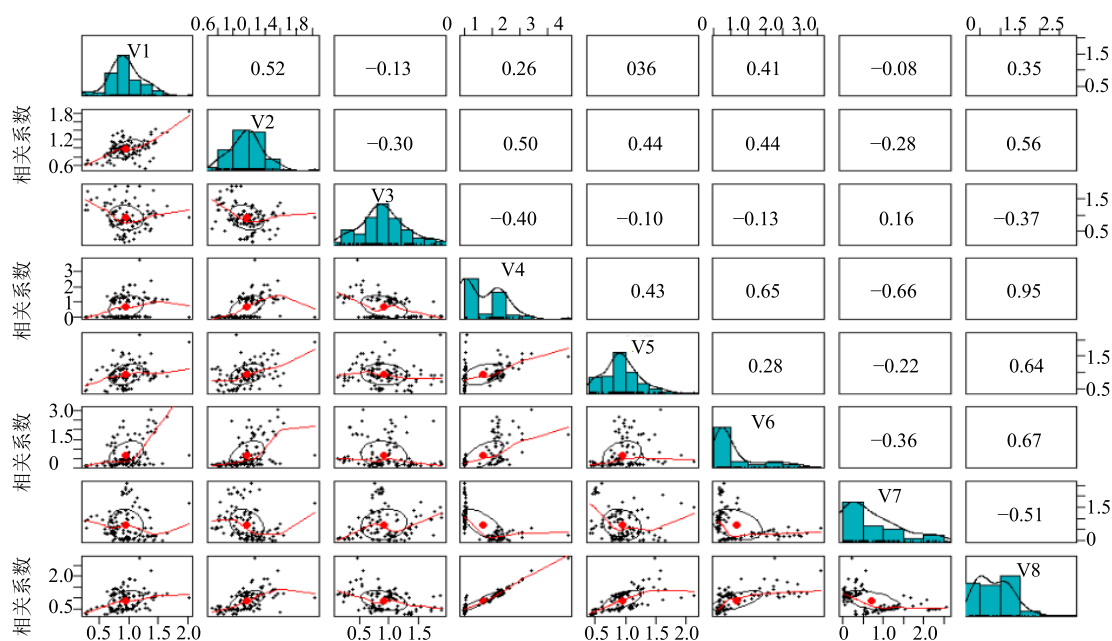
Table 3 Four kinds of isoflavones content of one year old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* in Gansu

药材编号	毛蕊异黄酮苷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		芒柄花素苷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		毛蕊异黄酮/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		芒柄花素/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		4 种异黄酮总量/%	
	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪
1	21.89	486.06	262.59	269.13	6.89	53.30	111.29	37.30	402.65	845.80
2	17.13	472.96	338.81	265.79	5.39	42.79	115.31	28.07	476.64	809.61
3	33.19	552.34	609.31	299.65	10.44	39.26	126.42	25.31	779.35	916.56
4	19.79	465.34	334.28	270.57	6.23	37.63	77.92	25.48	438.22	799.02
5	11.74	638.75	175.54	339.81	3.70	43.14	80.21	25.45	271.20	1 047.14
6	10.43	520.70	300.68	290.12	3.28	51.73	94.39	35.43	408.79	897.98
7	11.26	460.11	175.25	292.49	3.54	36.01	80.06	32.10	270.11	820.72
8	10.83	371.71	125.01	215.56	3.41	29.63	73.03	19.00	212.28	635.91
9	10.29	672.24	133.14	346.46	3.24	56.98	47.26	37.19	193.93	1 112.86
10	16.71	722.74	223.10	324.57	5.26	79.87	91.99	39.15	337.06	1 166.33
11	24.00	1 000.18	269.04	450.66	7.55	101.34	145.06	48.17	445.66	1 600.34
12	15.17	558.67	207.04	356.83	4.78	56.80	85.97	42.13	312.95	1 014.43
13	21.05	865.76	172.51	398.14	6.63	48.45	61.67	29.49	261.86	1 341.84
14	10.54	862.81	124.83	366.52	3.32	59.79	42.69	28.65	181.37	1 317.76
15	20.90	1 539.17	259.15	421.40	6.58	57.78	102.76	18.24	389.39	2 036.58
16	17.65	814.93	258.03	312.11	5.55	69.32	80.79	26.66	362.02	1 223.02
17	14.70	508.91	209.14	301.36	4.62	70.59	50.94	50.70	279.40	931.56
18	10.29	862.22	169.61	444.92	3.24	26.29	50.38	11.67	233.51	1 345.09
19	24.13	537.27	242.90	219.29	7.60	17.64	107.52	8.63	382.15	782.84
20	15.69	591.83	229.84	268.61	4.93	13.92	71.58	7.00	322.05	881.36
21	20.58	541.93	314.63	219.33	6.47	19.23	104.04	12.38	445.73	792.87
22	19.65	561.78	222.78	239.82	6.18	14.50	97.62	8.44	346.23	824.55
23	19.99	569.84	460.00	239.13	6.29	12.44	174.00	3.77	660.28	825.18
24	14.70	386.80	239.19	172.45	4.62	9.34	91.84	9.15	350.35	577.74
25	17.16	510.12	271.74	234.81	5.40	12.73	76.57	4.79	370.86	762.45
26	10.29	584.41	213.16	257.57	3.24	14.50	66.15	10.52	292.83	867.01
27	29.71	548.10	311.54	243.57	9.35	15.78	104.46	9.15	455.05	816.61
28	27.46	548.63	306.77	252.62	8.64	15.44	105.57	6.78	448.44	823.46
陇西等 (1~8) 平均值	17.03	496.00	290.18	280.39	5.36	41.69	94.83	28.52	407.41	846.59
宕昌 (9~18) 平均值	16.13	840.76	202.56	372.30	5.08	62.72	75.95	33.21	299.71	1 308.98
武都 (19~28) 平均值	19.93	538.07	281.26	234.72	6.27	14.55	99.93	8.06	407.40	795.41
全省 (1~28) 平均值	17.75	634.15	255.70	296.90	5.58	39.51	89.91	22.89	368.94	993.45

表 4 甘肃 2 年生红芪和黄芪 4 种异黄酮类成分含量

Table 4 Four kinds of isoflavones content of two years old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix* in Gansu

药材编号	毛蕊异黄酮苷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		芒柄花素苷/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		毛蕊异黄酮/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		芒柄花素/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		4 种异黄酮总量/%	
	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪	红芪	黄芪
1	15.38	430.44	547.02	257.01	21.33	16.70	140.88	8.72	724.62	712.86
2	9.22	422.66	205.46	270.42	12.79	13.66	128.17	4.11	355.64	710.85
3	8.07	512.45	128.22	367.57	11.19	17.62	27.93	4.44	175.41	902.08
4	8.08	631.61	120.18	416.97	11.21	14.48	27.11	4.18	166.57	1067.23
5	6.69	405.14	252.61	230.60	9.56	25.40	25.90	3.23	294.76	664.37
6	5.35	444.41	317.29	349.99	5.90	4.75	48.52	32.40	377.06	831.55
7	5.05	508.41	211.20	254.36	7.00	8.31	87.91	2.09	311.16	773.17
8	4.41	665.66	310.76	365.62	5.66	5.74	43.96	1.93	364.80	1 038.96
9	4.42	494.76	138.49	275.53	5.68	76.33	176.83	19.69	325.42	866.31
10	6.06	502.36	139.44	281.81	8.40	72.21	186.09	17.46	339.99	873.84
11	5.29	407.84	136.95	235.96	7.34	62.13	191.02	14.85	340.60	720.78
12	4.97	513.14	147.01	279.90	6.89	82.45	186.18	14.98	345.04	890.46
13	6.79	446.77	173.92	271.32	9.42	50.08	215.09	13.90	405.22	782.07
14	4.57	499.12	141.80	293.34	5.43	60.59	192.30	18.02	344.10	871.07
15	4.60	488.22	140.25	298.28	5.62	6.48	192.32	1.52	342.79	794.50
16	4.45	400.10	154.43	261.32	6.17	5.22	178.54	1.78	343.59	668.43
17	4.12	446.71	129.46	254.01	5.72	61.45	177.71	2.76	317.01	764.93
18	3.97	438.19	144.11	251.66	5.51	66.55	199.72	14.95	353.31	771.35
19	17.06	416.46	363.75	232.26	23.65	80.80	117.30	20.32	521.75	749.84
20	6.87	479.88	247.46	251.83	9.52	88.10	78.25	28.80	342.09	848.61
21	2.38	336.46	304.03	316.51	3.52	35.91	84.55	14.00	394.48	702.88
22	8.56	433.45	250.62	254.21	11.87	20.89	69.64	2.79	340.69	711.35
23	3.82	533.70	143.49	291.94	5.30	25.95	53.31	5.69	205.93	857.28
24	3.14	529.91	211.55	437.03	4.35	10.82	46.08	1.45	265.13	979.21
25	8.44	500.09	236.79	472.50	11.69	10.50	98.63	1.66	355.56	984.74
26	11.61	364.86	256.31	219.65	16.09	5.45	114.11	1.54	398.12	591.49
27	16.42	230.36	326.02	250.15	22.77	7.78	161.93	3.30	527.14	491.59
28	10.43	486.25	392.10	352.22	14.47	6.85	85.06	1.10	502.06	846.41
陇西等 (1~8) 平均值	7.78	502.60	261.59	314.07	10.58	13.33	66.30	7.64	346.25	837.63
宕昌 (9~18) 平均值	4.93	463.72	144.59	270.31	6.62	54.35	189.58	11.99	345.71	800.37
武都 (19~28) 平均值	8.87	431.14	273.21	307.83	12.32	29.31	90.89	8.06	385.29	776.34
全省 (1~28) 平均值	7.15	463.19	223.95	296.21	9.79	33.69	119.11	9.34	360.00	802.44



V1-总黄酮 V2-总皂苷 V3-总多糖 V4-毛蕊异黄酮苷 V5-芒柄花素苷 V6-毛蕊异黄酮 V7-芒柄花素 V8-4 种异黄酮总量, 下图同
 V1-total flavonoids V2-total saponins V3-total polysaccharides V4-toxin isoflavone glycosides V5-formononetin V6-myristic isoflavones
 V7-formalin V8-the total amount of four isoflavones, same as below figures

图 2 所有数据进行各数值性指标之间的相关系数

Fig. 2 Correlation coefficient between numerical indicators of all data

表 5 不区分年份的红芪与黄芪差异比较

Table 5 Differences comparison between different years of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

成分	总样本 (n = 112)	红芪 (n = 56)	黄芪 (n = 56)	P 值
总黄酮/%	0.37±0.11	0.34±0.12	0.40±0.10	0.004
总皂苷/%	4.25±0.94	3.76±0.94	4.73±0.64	<0.001
总多糖/%	6.83±2.92	7.79±2.80	5.88±2.73	<0.001
毛蕊异黄酮苷/(μg·g ⁻¹)	131.60 [10.47, 508.25]	10.45 [5.88, 17.12]	508.50 [446.25, 564.00]	<0.001
芒柄花素苷/(μg·g ⁻¹)	257.50 [218.25, 312.00]	226.50 [152.25, 301.75]	273.50 [252.00, 341.50]	<0.001
毛蕊异黄酮/(μg·g ⁻¹)	10.65 [5.73, 27.12]	6.21 [5.18, 9.37]	27.95 [13.85, 58.30]	<0.001
芒柄花素/(μg·g ⁻¹)	40.65 [13.53, 92.60]	93.20 [71.10, 131.25]	13.15 [4.16, 25.80]	<0.001
4 种异黄酮总量/%	613.50 [345.75, 835.50]	345.50 [307.00, 403.50]	839.00 [769.50, 943.75]	<0.001

取置信水平为 0.01, 则表中 P 值小于 0.01 可以认为有显著差异

The confidence level is 0.01, P < 0.01 can be considered as a significant difference in the table

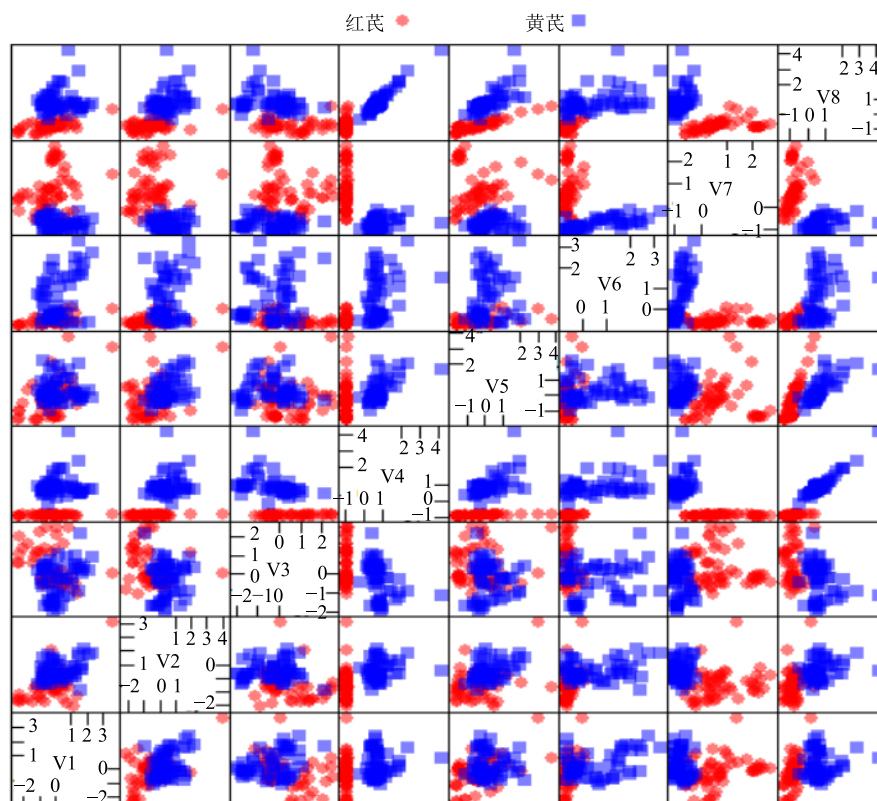


图 4 红芪和黄芪 8 个指标可视化分析

Fig. 4 Visual analysis of eight indicators of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

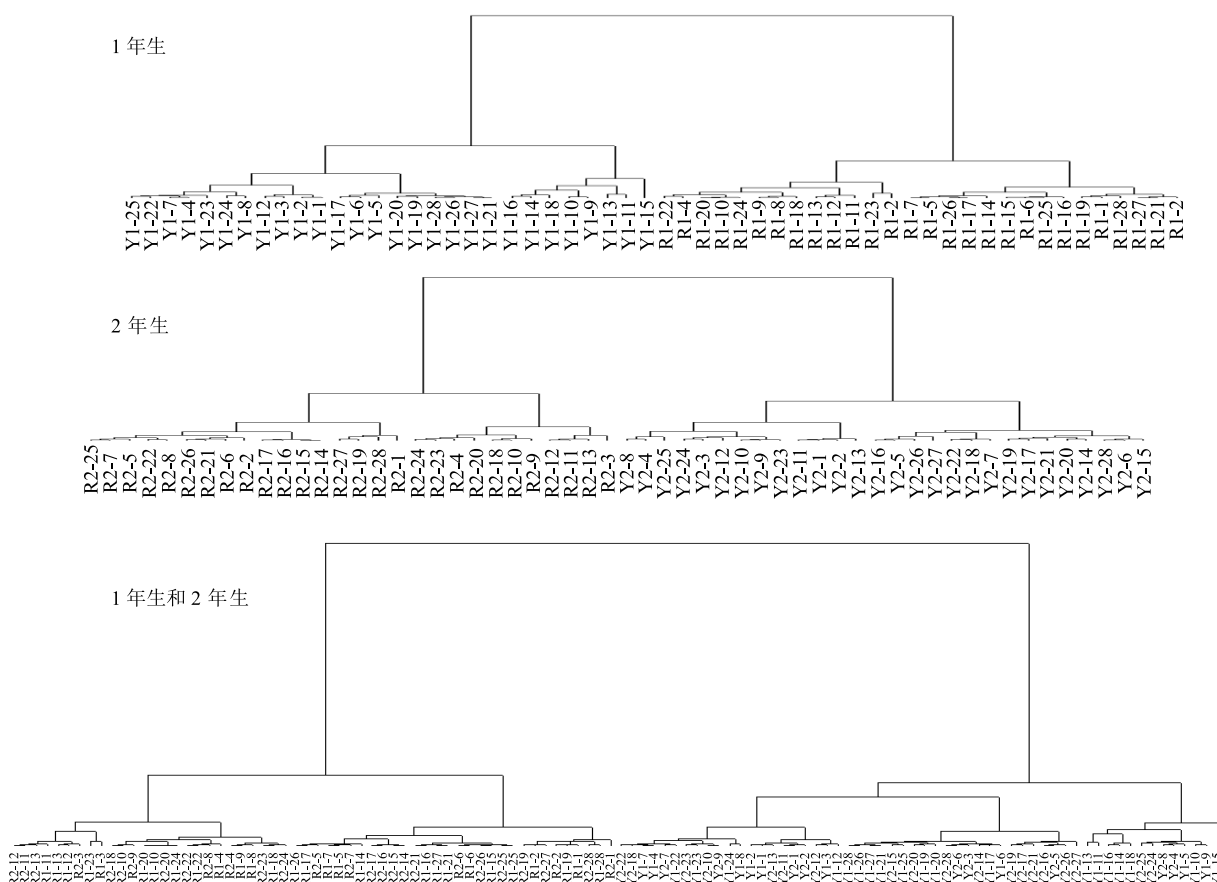
3.4 聚类及主成分分析^[21-22]

3.4.1 聚类分析 采用最常用的系统聚类法, 最终将其聚成 2 类。用离差平方和法 (Ward 法) 定义类与类之间的距离, 并用欧式距离进行计算。以总黄酮、总皂苷、总多糖、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、4 种异黄酮总量、产地、种类、采收时间、维度、经度、海拔高度作为统计变量, 对 1~2 年生红芪和黄芪做聚类分析, 结果见图 4。1 年生红芪和 1 年生黄芪、2 年生红芪和 2 年生黄芪、不区分年限的红芪和黄芪在聚类

分析时均聚为 2 类, 说明红芪和黄芪具有不同的特征, 二者品质不同。

3.4.2 主成分分析 主成分分析是一种降维方法, 将 n 个变量进行主成分分析, 最终提取 k ($k < n$) 个主成分, 每个变量对每个主成分都有贡献度。

以总黄酮、总皂苷、总多糖及 4 种异黄酮总量作为统计变量, 不区分年份对红芪和黄芪进行主成分分析。取前 4 个主成分, 对方差的累积贡献率达到 90.12%。各变量对主成分的贡献大小见表 6, 主成分得分 (PC) 及排名见表 7、8。



编号 R1-1~R1-28 为 1 年生红芪、Y1-1~Y1-28 为 1 年生黄芪；R2-1~R2-28 为 2 年生红芪、Y2-1~Y2-28 为 2 年生黄芪

Numbers R1-1—R1-28 are one-year-old *Hedysari Radix* and Y1-1—Y1-28 are one-year-old *Astragali Radix*; R2-1—R2-28 are two-year-old *Hedysari Radix* and Y2-1—Y2-28 are two-year-old *Astragali Radix*

图 3 红芪和黄芪聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

表 6 各主成分载荷及对方差的累积贡献率

Table 6 Cumulative loading and variance contribution rate of main components

主要成分	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4
总黄酮	-0.471	-0.572	-0.558	0.374
总皂苷	-0.577	-0.189	0.160	-0.778
总多糖	0.381	-0.784	0.489	
4 种异黄酮总量	-0.548	0.145	0.651	0.505
累积贡献率/%	0.537	0.762	0.901	1.000

从表 7、8 对比分析红芪和黄芪 2 种药材在品种、年限、地区优势，得出以下结论：品种优势：1~2 生黄芪排名在红芪之前（1 个样品例外），说明黄芪质量优于红芪。年限优势：2 年生红芪和黄芪相对于 1 年生红芪和黄芪，排名均靠前，说明 2 年生红芪和黄芪分别优于 1 年生红芪和黄芪，即 2 年生药材更佳。地区优势：1~2 生红芪均为武都排名在前，1~2 生黄芪均为宕昌排名在前，说明在甘肃省内武都产红芪质量优良，宕昌县黄芪质量优良。

4 讨论

本研究的特色之处在于，所选用的红芪和黄芪药材均为道地产区甘肃生产，具有代表性。在甘肃不同产地同一生态条件下，同时种植红芪和黄芪，能最大程度降低生态地域因素对 2 种药材主要活性成分含量影响的差异，具有可比性。

本课题组前期对甘肃 1~2 生红芪和黄芪中总黄酮、总皂苷、总多糖、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素、芒柄花素苷进行含量测定。研究结果表明，总黄酮、总皂苷量上，红芪以武都产 2 年生药材含量为最高，黄芪以宕昌产 2 年生药材含量为最高。且同一生长年限相比，红芪药材总黄酮总皂苷含量均低于黄芪^[15-18]。二者相比，黄芪在总黄酮总皂苷含量上更具有优势。总多糖含量上，红芪以宕昌产 1 年生药材含量最高，黄芪以武都产 2 年生药材含量最高^[19]。且红芪 1 年生药材总多糖含量高于

表 7 不区分年份的红芪和黄芪主成分排名

Table 7 Rank between diferent years of *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

编号	PC	排名	地区	品种	编号	PC	排名	地区	品种
R2-1	-3.403	1	礼县	红芪	Y1-7	0.038	57	陇西县	黄芪
Y1-11	-2.084	2	宕昌县	黄芪	Y1-1	0.040	58	岷县	黄芪
Y2-20	-1.913	3	武都	黄芪	R2-21	0.056	59	武都	红芪
Y2-9	-1.784	4	宕昌县	黄芪	R2-25	0.090	60	武都	红芪
Y2-15	-1.769	5	宕昌县	黄芪	R1-28	0.107	61	武都	红芪
Y1-15	-1.511	6	宕昌县	黄芪	Y2-5	0.110	62	陇西县	黄芪
Y2-11	-1.354	7	宕昌县	黄芪	Y2-2	0.118	63	岷县	黄芪
Y2-17	-1.257	8	宕昌县	黄芪	R1-23	0.165	64	武都	红芪
Y2-18	-1.184	9	宕昌县	黄芪	R2-12	0.175	65	宕昌县	红芪
Y2-8	-1.127	10	陇西县	黄芪	Y1-24	0.182	66	武都	黄芪
Y2-10	-1.047	11	宕昌县	黄芪	R2-20	0.186	67	武都	红芪
Y1-13	-1.030	12	宕昌县	黄芪	Y1-5	0.195	68	陇西县	黄芪
Y2-16	-1.014	13	宕昌县	黄芪	R2-15	0.211	69	宕昌县	红芪
Y1-18	-0.975	14	宕昌县	黄芪	R2-6	0.235	70	陇西县	红芪
Y1-14	-0.916	15	宕昌县	黄芪	R1-27	0.239	71	武都	红芪
Y2-12	-0.841	16	宕昌县	黄芪	R1-21	0.249	72	武都	红芪
Y1-10	-0.823	17	宕昌县	黄芪	R2-10	0.280	73	宕昌县	黄芪
Y2-14	-0.810	18	宕昌县	黄芪	Y1-4	0.306	74	渭源县	黄芪
R2-26	-0.791	19	武都	红芪	R2-2	0.316	75	礼县	红芪
Y1-9	-0.765	20	宕昌县	黄芪	R2-24	0.350	76	武都	红芪
Y2-23	-0.764	21	武都	黄芪	R1-19	0.373	77	武都	红芪
Y1-12	-0.731	22	宕昌县	黄芪	R1-26	0.390	78	武都	红芪
Y1-20	-0.716	23	武都	黄芪	Y1-8	0.391	79	陇西县	黄芪
Y2-24	-0.666	24	武都	黄芪	Y1-6	0.392	80	陇西县	黄芪
R2-19	-0.665	25	武都	红芪	R2-8	0.420	81	陇西县	红芪
Y2-13	-0.646	26	宕昌县	黄芪	R2-18	0.424	82	宕昌县	红芪
Y1-26	-0.536	27	武都	黄芪	R2-22	0.430	83	武都	红芪
Y1-16	-0.518	28	宕昌县	黄芪	Y1-2	0.432	84	岷县	黄芪
Y2-3	-0.518	29	定西市	黄芪	R2-16	0.437	85	宕昌县	红芪
Y2-4	-0.417	30	渭源县	黄芪	R2-9	0.470	86	宕昌县	红芪
Y1-27	-0.394	31	武都	黄芪	R1-2	0.479	87	礼县	红芪
Y1-19	-0.373	32	武都	黄芪	R1-25	0.481	88	武都	红芪
Y2-26	-0.366	33	武都	黄芪	R2-11	0.547	89	宕昌县	红芪
Y1-22	-0.338	34	武都	黄芪	R1-22	0.572	90	武都	红芪
Y2-7	-0.321	35	陇西县	黄芪	Y1-3	0.576	91	岷县	黄芪
Y2-25	-0.320	36	武都	黄芪	R1-11	0.593	92	宕昌县	红芪
Y2-19	-0.318	37	武都	黄芪	R2-17	0.615	93	宕昌县	红芪
Y1-23	-0.310	38	武都	黄芪	R1-16	0.674	94	宕昌县	红芪
R2-14	-0.299	39	宕昌县	红芪	R1-15	0.681	95	宕昌县	红芪
R1-13	-0.275	40	宕昌县	红芪	R2-23	0.729	96	武都	红芪
R2-28	-0.273	41	武都	红芪	R1-24	0.819	97	武都	红芪
Y1-21	-0.272	42	武都	黄芪	R1-20	0.823	98	武都	红芪
R2-27	-0.226	43	武都	红芪	R1-12	0.879	99	宕昌县	红芪
Y2-21	-0.217	44	武都	黄芪	R1-14	1.224	100	宕昌县	红芪
Y2-28	-0.193	45	武都	黄芪	R1-1	1.285	101	礼县	红芪
R2-7	-0.174	46	陇西县	红芪	R2-3	1.301	102	岷县	红芪
Y1-17	-0.151	47	宕昌县	黄芪	R1-18	1.336	103	宕昌县	红芪
Y2-22	-0.148	48	武都	黄芪	R1-17	1.354	104	宕昌县	红芪
Y1-25	-0.103	49	武都	黄芪	R2-4	1.456	105	渭源县	红芪
Y2-27	-0.058	50	武都	黄芪	R1-4	1.503	106	渭源县	红芪
Y2-6	-0.025	51	陇西县	黄芪	R1-6	1.751	107	陇西县	红芪
R2-13	-0.018	52	宕昌县	红芪	R1-7	1.864	108	陇西县	红芪
R1-3	-0.003	53	岷县	红芪	R1-10	1.947	109	宕昌县	红芪
Y2-1	0.007	54	岷县	黄芪	R1-8	2.107	110	陇西县	红芪
R2-5	0.024	55	陇西县	红芪	R1-5	2.144	111	陇西县	红芪
Y1-28	0.025	56	武都	黄芪	R1-9	2.147	112	宕昌县	红芪

R1-1~R1-28-红芪 1 年生 1~28 号样品 R2-1~R2-28-红芪 2 年生 1~28 号样品 Y1-1~Y1-28-黄芪 1 年生 1~28 号样品 Y2-1~Y2-18-黄芪 2 年生 1~28 号样品

R1-1—R1-28: 1—28 samples of one-year-old *Hedysari Radix*; R2-1—R2-28: 1—28 samples of two-year-old *Hedysari Radix*; Y1-1—Y1-28: 1—28 samples of one-year-old *Astragali Radix*; Y2-1—Y2-18: 1—28 samples of two-year-old *Astragali Radix*

表 8 1~2 年红芪、黄芪主成分排序对比结果

Table 8 Principal component analysis sort of 1—2 years old *Hedysari Radix* and *Astragali Radix*

红芪 1 年生样品排序	地区	黄芪 1 年生样品排序	地区	红芪 2 年生样品排序号	地区	黄芪 2 年生样品排序	地区
40	宕昌	2	宕昌	1*	礼县	3*	武都
53	岷县	6	宕昌	19	武都	4	宕昌
61	武都	12	宕昌	25	武都	5	宕昌
64	武都	14	宕昌	39	宕昌	7	宕昌
71	武都	15	宕昌	41	武都	8	宕昌
72	武都	17	宕昌	43	武都	9	宕昌
77	武都	20	宕昌	46	陇西	10	陇西
78	武都	22	宕昌	52	宕昌	11	宕昌
87	礼县	23	武都	55	陇西	13	宕昌
88	武都	27	武都	59	武都	16	宕昌
90	武都	28	宕昌	60	武都	18	宕昌
92	宕昌	31	武都	65	宕昌	21	武都
94	宕昌	32	武都	67	武都	24	武都
95	宕昌	34	武都	69	宕昌	26	宕昌
97	武都	38	武都	70	陇西	29	定西
98	武都	42	武都	73	宕昌	30	渭源
99	宕昌	47	宕昌	75	礼县	33	武都
100	宕昌	49	武都	76	武都	35	陇西
101	礼县	56	武都	81	陇西	36	武都
103	宕昌	57	陇西	82	宕昌	37	武都
104	宕昌	58	岷县	83	武都	44	武都
106	渭源	66	武都	85	宕昌	45	武都
107	陇西	68	陇西	86	宕昌	48	武都
108	陇西	74	渭源	89	宕昌	50	武都
109	宕昌	79	陇西	93	宕昌	51	陇西
110	陇西	80	陇西	96	武都	54	岷县
111	陇西	84	岷县	102	岷县	62	陇西
112	宕昌	91	岷县	105	渭源	63	岷县

*表示红芪排序号在黄芪之前的样品

*indicates the sample of *Hedysari Radix* in front of *Astragali Radix*

黄芪 2 年生药材。二者相比,红芪 1 年生药材比黄芪 1~2 生药材更有优势。4 种异黄酮含量上,从 4 种异黄酮总量来看,红芪 1 年生药材和 2 年生药材相差不大,且以武都产药材总多糖含量为最高^[20]。黄芪以宕昌产 1 年生药材含量最高。同一年限相比,红芪中毛蕊异黄酮苷的含量低于黄芪,芒柄花素的含量高于黄芪。红芪与黄芪在不同种类异黄酮含量对比中,各有优势,有显著差异。

综合含量数据差异结果可知,红芪和黄芪具有明显差别,除了总多糖含量提示红芪比黄芪更具有优势,且红芪以宕昌产最优,黄芪以武都产最优,芒柄花素含量提示红芪比黄芪更具有优势外,其余含量数据均提示,黄芪比红芪更有优势,且红芪以武都产最优,黄芪以宕昌产最优。因此,从药材主要活性成分含量数据直观分析,区分红芪和黄芪孰优孰劣尚存在差异。该差异结果在综合统计分析中达到统一:从统计结果可知,红芪和黄芪在总黄酮、总皂苷、总多糖、毛蕊异黄酮苷、芒柄花素苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素含量及 4 种异黄酮含量总和分别对比时,均存在显著性差异,8 个变量可视化分析提示,通过对比红芪和黄芪毛蕊异黄酮苷、毛蕊

异黄酮、芒柄花素含量及 4 种异黄酮含量总和,可以区分红芪和黄芪。

聚类分析、主成分分析将红芪和黄芪以含量指标及影响质量的因素(包括品种、产地、生长年限、海拔高度、经纬度等)考虑在内进行的综合分析,其结果体现红芪和黄芪综合品质情况。聚类结果表明同一生长年限、不同生长年限以及不区分生长年限的红芪和黄芪均可以聚成 2 大类,二者完全分开,说明红芪、黄芪 2 种药材品质不同。主成分分析表明,黄芪质量优于红芪,且总体上红芪、黄芪均体现 2 年生优于 1 年生样品。并且,宕昌产黄芪质量较优,武都产红芪质量较优。

综合含量数据统计分析结果可知,黄芪比红芪更具有优势,且红芪以武都产为最优,黄芪以宕昌产为最优。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 159, 315.
[2] 余黎, 曹宜, 魏筱, 等. 黄芪与红芪不同提取液免疫调节作用研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(36): 20623.
[3] 李震宇, 崔伊凡, 秦雪梅. 中药材质量评价的挑战与代谢组学应用于中药材质量评价的研究进展 [J]. 中草

- 药, 2018, 49(10): 2221-2229.
- [4] 田宝林, 孙宝惠, 耿韞. 柏子养心丸中非正品黄芪的检出 [J]. 中国药品标准, 2005, 6(1): 43.
- [5] 程卫东, 李顺保. 红芪研究与开发 [M]. 甘肃: 甘肃文化出版社, 2012: 124.
- [6] 冯慧敏, 李成义, 何军刚, 等. 红芪化学成分和药理作用研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2831-2842.
- [7] 王艺, 张毅, 李娟, 等. 红芪多糖、红芪黄酮和红芪皂苷抗博来霉素致大鼠肺间质纤维化的作用 [J]. 中成药, 2022, 44(2): 573-578.
- [8] Zhang W D, Chen H, Zhang C, *et al.* Astragaloside IV from *Astragalus membranaceus* shows cardioprotection during myocardial ischemia *in vivo* and *in vitro* [J]. *Planta Med*, 2006, 72(1): 4-8.
- [9] Zhang Y, Zhu H, Huang C, *et al.* Astragaloside IV exerts antiviral effects against coxsackievirus B3 by upregulating interferon-gamma [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2006, 47(2): 190-195.
- [10] Zhang Z G, Wu L, Wang J L, *et al.* Astragaloside IV prevents MPP (+)-induced SH-SY5Y cell death via the inhibition of Bax-mediated pathways and ROS production [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 364(1/2): 209-216.
- [11] 刘路, 李凯, 胡阳, 等. 黄芪有效成分抗骨质疏松症作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1321-1328.
- [12] 藺兴遥, 张毅, 李娟, 等. 黄芪黄酮与红芪黄酮对肺间质纤维化模型大鼠肺功能影响的对比研究 [J]. 中成药, 2013, 35(8): 1770-1773.
- [13] 刘印华, 赵志强, 李树义, 等. 黄芪多糖对免疫功能影响的体内实验研究 [J]. 河北医药, 2015, 37(4): 485-487.
- [14] 牛江涛, 曹瑞, 张泽国, 等. 红芪多糖的提取分离及药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(1): 130-133.
- [15] 叶迎, 包强, 王瑞海, 等. 甘肃黄芪和红芪总黄酮含量对比测定方法探索研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016(9): 99-105.
- [16] 包强, 刘丽梅, 王瑞海, 等. 甘肃不同产地黄芪和红芪药材中总黄酮含量对比研究 [J]. 中药材, 2016, (10): 2281-2284.
- [17] 叶迎, 包强, 王瑞海, 等. 甘肃黄芪和红芪中总皂苷含量测定对比研究 [J]. 环球中医药, 2016(10): 1197-1203.
- [18] 叶迎, 包强, 王瑞海, 等. 甘肃红芪中黄芪甲苷存在的判定以及一年生、二年生红芪、黄芪皂苷和总黄酮含量对比 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(14): 69-75.
- [19] 王瑞海, 叶迎, 许京, 等. 甘肃红芪和黄芪总多糖含量测定对比研究 [J]. 中国实验方剂学, 2017, 22(23): 77-83.
- [20] 叶迎, 王瑞海, 包强, 等. 甘肃不同产地及不同生长年限的红芪和黄芪中 4 种异黄酮类成分的含量对比 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(8): 1-7.
- [21] 柳小亚, 李继平, 陈心悦, 等. HPLC 同时测定红芪中 8 个活性成分的含量及聚类分析 [J]. 药学学报, 2016, 51(5): 786-791.
- [22] 张淑娟. 基于中药质量标志物的炙黄芪和炙红芪质量控制研究 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2021.

[责任编辑 时圣明]