

滕红梅, 咎亚玲, 贾 鹏, 等. 不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 226–228.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.063

不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较

滕红梅¹, 咎亚玲¹, 贾 鹏¹, 王玲丽¹, 房敏峰², 胡正海²

(1. 运城学院, 山西运城 044000; 2. 西北大学, 陕西西安 710069)

摘要:通过高效液相色谱法(HPLC)测定不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量, 以期为黄芪药材质量评定提供依据。采用 Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(81:19), 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 30 ℃, 进样量 10 μL, 检测波长 260 nm。结果表明: 毛蕊异黄酮葡萄糖苷的浓度在 0.145 6 ~ 0.698 7 mg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.999\ 7$, 平均加样回收率为 100.35%, RSD 为 1.98%, 所建方法快速、简便、重现性好。4 个省份 16 个产地药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量差异较大, 其中内蒙古自治区包头市所产黄芪中其含量最高。从各地平均值看, 内蒙古自治区 > 山西省 > 甘肃省 > 黑龙江省, 且内蒙古自治区与其他 3 个省份药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异显著。省内之间的差异显著性结果表明, 内蒙古自治区和山西省产地之间差异较大, 甘肃省和黑龙江省产地之间差异较小。

关键词: 黄芪; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; HPLC

中图分类号: S567.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0226-03

黄芪为著名滋补中药, 是豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao] 或膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.] 的干燥根。现代药理研究表明: 黄芪具有敛疮生肌、延缓衰老、增强机体免疫等功能^[1]。诸多研究证明, 黄酮类作为黄芪中的主要成分之一, 其抗炎、抗病毒、调节免疫等多方面的药理作用非常显著^[2-6]。毛蕊异黄酮葡萄糖苷作为黄芪药材中黄酮类的主要成分, 已被 2010 版《中国药典》作为黄芪药材的指标性成分^[1]。

黄芪分布于华北、东北及西北地区。目前市场上的黄芪药材产地较广, 品质差异较大^[7-8]。本研究通过对黄芪 4 个主产省份山西省、内蒙古自治区、黑龙江省、甘肃省 16 个不同产地药材中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷进行测定, 并运用 SSR 法比较不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的差异大小, 研究结果可为黄芪药材的品质评价提供基础和依据。

1 仪器、材料和试剂

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪、2998 PDA 检测器、RE-52AA 系列旋转蒸发器、KQ3200DE 型数控超声波清洗器、SHZ-DIII 循环水式多用真空泵、FZ102 微型植物试样粉碎机、FA1004 电子天平、DK-S24 电热恒温水浴锅、GF-101 型电热鼓风干燥箱。

1.2 材料

收稿日期: 2015-10-07

基金项目: 山西省自然科学基金(编号: 2013011029-2); 运城学院生物学学科研究项目(编号: XK-2015032); 运城学院产学研合作项目(编号: CY-2012006)。

作者简介: 滕红梅(1969—), 女, 山西运城人, 博士, 教授, 研究方向为药用植物学与资源植物学。E-mail: 13835931366@163.com。

黄芪药材分别购于山西省、内蒙古自治区、黑龙江省、甘肃省等当地药材市场, 共 4 个省 16 个不同产地的黄芪, 经运城学院滕红梅教授认定均为黄芪药材。将药材置于 40 ℃电热鼓风干燥箱进行干燥, 研成粉末过 60 目筛保存以备。

1.3 试剂

毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品(购自中国药品生物制品检定所, 批号: 20141109); 水为二次重蒸水, 甲醇和乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷测定方法的建立

2.1.1 色谱条件 Waters 公司 Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相水-乙腈(81:19); 柱温, 30 ℃; 流速, 1.0 mL/min; 检测波长, 260 nm; 进样量 10 μL。色谱图见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 精确称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品 6.950 mg 置 10 mL 容量瓶中。加甲醇溶解、摇匀, 即得。

2.1.3 供试品溶液的制备 将精确称取的 2 g 黄芪粉末置于具塞锥形瓶中, 加入甲醇 50 mL, 于 80 ℃水浴锅中加热回流 4 h, 待放凉后再摇匀过滤, 滤渣用 10 mL 甲醇洗涤 2~3 次, 之后将原液与洗涤液合并, 减压回收溶剂后将残渣加甲醇溶解, 再转移至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀后用微孔滤膜过滤, 即得到供试品溶液。

2.1.4 标准曲线的绘制 吸取毛蕊异黄酮苷对照品溶液 1 000 μL, 加入滤过的甲醇 2 000 μL, 再用微孔滤膜滤过, 置于样品瓶中。按“2.1.1”节的色谱条件分别进样 2、4、6、8、10 μL, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 结果发现, 在浓度范围内, 标准品浓度与其峰面积呈现良好的线性关系。线性回归方程为 $y=3.80 \times 10^7 x + 1.06 \times 10^6$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 0.145 6 ~ 0.698 7 mg/mL。

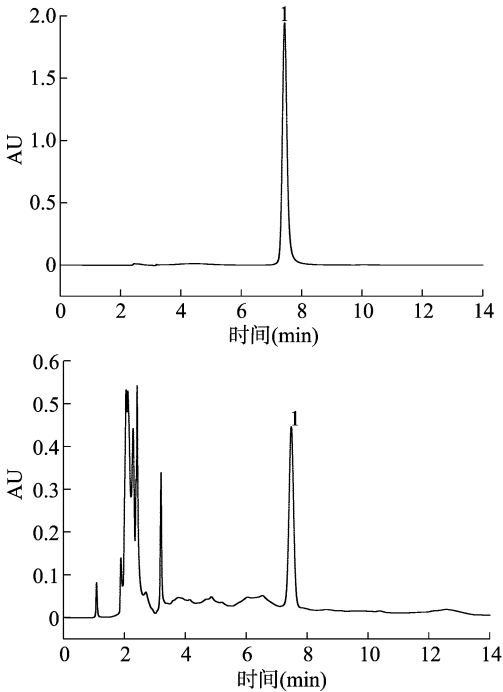


图1 对照品溶液(上)与黄芪样品溶液(下)的 HPLC 色谱

2.1.5 精密度试验 精确吸取山西省浑源市同一供试品溶液重复进样 5 次,测得毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰面积的 *RSD* 为 0.46%。

2.1.6 稳定性试验 取山西省浑源市同一供试品溶液,分别在 0、2、4、8、16、24 h 检测,显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰面积的 *RSD* 为 1.20%。

2.1.7 重现性试验 准确称取产自山西省浑源市的药材粉末平行样品 5 份,按“2.1.3”节的制备方法操作,显示毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰面积的 *RSD* 为 1.67%,平均含量为 0.234 mg/g,表明本法重现性良好。

2.1.8 回收率试验 称取含量已知的同一批样品 5 份,每份约 0.5 g,依次加入浓度为 0.133 mg/mL 的毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品溶液 4 mL。按“2.1.3”节方法配制样品溶液,并于“2.1.1”节色谱条件下进样,根据测量结果计算出各对照品的平均加样回收率。计算所得回收率为 100.35%,*RSD* 为 1.98%。

2.1.9 样品含量测定 精确量取样品溶液按照“2.1.1”节的色谱条件测定其峰面积,根据“2.1.2”节得出的回归方程计算不同产地黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量。

2.2 试验结果

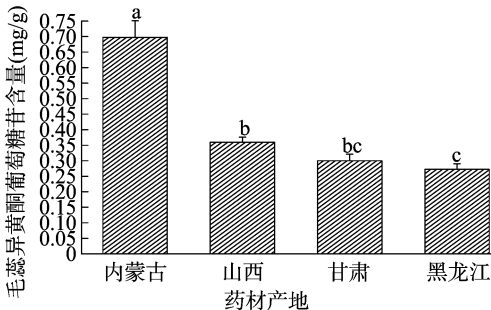
2.2.1 不同产地黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量比较 由表 1 可见,4 省份 16 个不同产地的黄芪药材中内蒙古自治区包头市的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量最高,为 1.312 mg/g,山西省安泽市黄芪中含量最少,为 0.230 mg/g,包头市药材的含量是安泽市药材的 5.7 倍,差别较为悬殊。含量最少的安泽黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量也是《中国药典》中规定最低含量 0.020% 的 10 倍以上。

2.2.2 SSR 法分析不同产地黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异 由图 2 可以看出,内蒙古自治区来源药材的毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均含量最高,甘肃省药材含量最低,4 个省

表 1 不同产地黄芪药材毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量比较

编号	样品来源	保留时间(h)	峰面积	含量(mg/g)
1	内蒙包头	7.359	164 067 56	1.312
2	内蒙呼市	7.538	915 506 9	0.725
3	内蒙呼伦贝尔	7.481	461 653 0	0.353
4	内蒙赤峰	7.483	477 134 1	0.365
5	山西应县	7.489	605 833 6	0.470
6	山西长治	7.528	447 380 6	0.340
7	山西安泽	7.502	311 176 2	0.230
8	山西浑源	7.551	523 698 5	0.403
9	甘肃陇南	7.537	362 657 4	0.273
10	甘肃陇西	7.523	576 953 4	0.288
11	甘肃岷县	7.543	394 142 4	0.298
12	甘肃渭源	7.591	320 528 9	0.238
13	甘肃宕昌	7.573	521 004 8	0.403
14	黑龙江大兴安岭	7.514	535 156 5	0.305
15	黑龙江长白山	7.533	553 107 2	0.260
16	黑龙江哈尔滨	7.567	519 585 6	0.255

份来源药材结果为:内蒙古自治区 > 山西省 > 甘肃省 > 黑龙江省,其含量平均值依次为:0.690、0.361、0.300、0.273 mg/g。运用 DPS 软件中 SSR 法分析 4 个省份不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的差异,结果表明:内蒙古自治区来源药材和其他 3 个省份之间差异显著($P < 0.05$),其 3 个省份之间含量相对接近,山西省和黑龙江省间差异显著,山西省和甘肃省、甘肃省和黑龙江省间差异不显著。



不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;下同。

图2 4 个不同省份来源黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷平均含量的比较

由图 3 可以看出,内蒙古自治区的 4 个产地来源中,包头市药材含量最高,呼伦贝尔市药材含量最低;包头市和呼和浩特市与其他产地差异呈显著水平,赤峰市和呼伦贝尔市差异不显著。

由图 4 可以看出,在山西 4 个产地中,安泽的含量最低,应县的含量最高,表明不同产地药材的毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差异较为显著。

由图 5 可以看出,在甘肃的 5 个产地中,渭源的含量最低,宕昌的含量最高。宕昌与甘肃其他产地黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量差异显著,其他几个产地的含量接近。

由图 6 可以看出,黑龙江的 3 个产地中大兴安岭和长白山、哈尔滨来源的药材差异呈显著水平,长白山和哈尔滨来源的药材差异不显著。

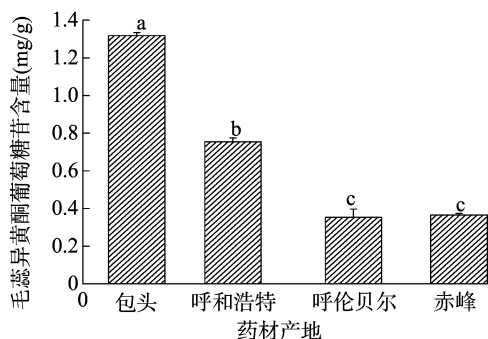


图3 内蒙古4个不同产地黄芪间毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较

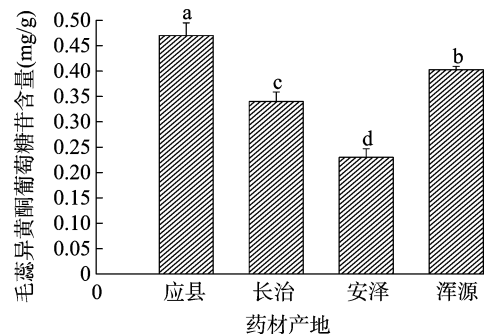


图4 山西4个不同产地黄芪间毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较

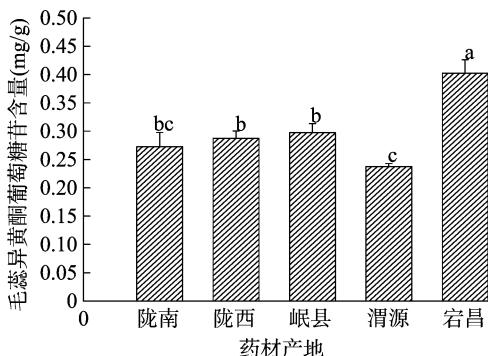


图5 甘肃5个产地黄芪间毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较

3 结论

毛蕊异黄酮葡萄糖苷已经被《中国药典》作为衡量黄芪质量优劣的一个标志性成分。当前,市场上的黄芪药材产地较为混杂,主要来源地有山西、内蒙古、甘肃及黑龙江等。本试验对4个黄芪主产省份16个产地的研究结果表明:产地不同黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量差异明显,这一研究结果与刘杨等^[7]及黄志勤等^[9]对河北、河南、山西、内蒙古等地黄芪药材的研究结论相似,揭示毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量差

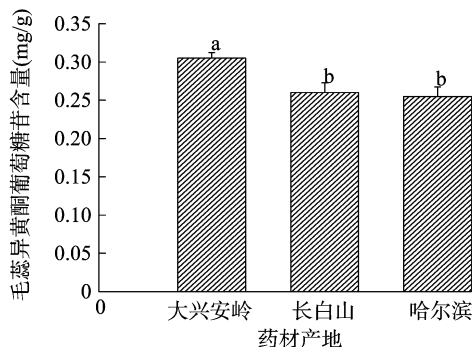


图6 黑龙江3个不同产地间黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的比较

异是造成各地黄芪药材品质不同的主要原因之一。

4个黄芪主产省份中,内蒙古、山西、甘肃黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量整体较高,黑龙江平均含量较低,这与黄芪的道地产区为山西、内蒙古和甘肃的传统观念相符。4个省份不同产地的黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的差异显著性结果表明,山西和内蒙两省份内产地之间差异较大,甘肃和黑龙江两省份内产地之间差异较小。内蒙古包头和自治区内其他3个产地之间的含量相差悬殊。说明同为道地产区,黄芪药材中的黄酮类有效成分含量差异较大,启示我们评价药材不能笼统以道地产区而论,要客观评价药材的品质,需要科学合理地制定较为系统化的评价体系。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:283.
- [2] 邱勇波,刘锦,武飞. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国疗养医学,2011,20(5):435-436.
- [3] 张冬青,汪德清. 黄芪总黄酮生物学活性作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2010,35(2):253-256.
- [4] 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.
- [5] 汪德清,沈文梅,田亚平,等. 黄芪有效成分对氧自由基清除作用的ESR研究[J]. 生物化学与生物物理进展,1996,23(3):260-262.
- [6] 温燕梅. 黄芪的化学成分研究进展[J]. 中成药,2006,28(6):879-883.
- [7] 刘杨,包华音,王晓燕. 不同产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷的定量分析[J]. 现代中药研究与实践,2014,28(3):8-10.
- [8] 刘晓庆,李军,薛恒跃,等. 不同来源、不同等级黄芪饮片中心毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量分析[J]. 药物分析杂志,2013,33(5):874-880.
- [9] 黄志勤,李洪亮,程齐来. HPLC测定黄芪药材中的毛蕊异黄酮葡萄糖苷[J]. 光谱实验室,2012,29(5):2736-2738.