

HPLC 同时测定黄芪药材中 毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷

宋成英*, 封加福

(乐山职业技术学院药学系, 四川 乐山 614000)

[摘要] 目的:建立同时测定黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的方法。方法:采用 HPLC 仪,色谱柱 Waters symmetry C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(30:70), 体积流量 1 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 检测波长 260 nm(毛蕊异黄酮葡萄糖苷), 210 nm(黄芪甲苷)。结果:毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 黄芪甲苷线性范围分别为 0.391 ~ 9.78, 0.974 ~ 24.3 μg, 平均加样回收率分别为 99.18% (RSD 2.43%), 99.41% (RSD 2.59%)。结论:该方法简单快捷, 可用于黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的同时测定, 为含黄芪制剂质量标准的建立提供了参考。

[关键词] 高效液相色谱; 黄芪; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 黄芪甲苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)11-0115-03

[doi] 10.11653/syfy2013110115

Simultaneous Determination of Calycosin-7-O-β-D-glucoside and Astragaloside IV in Astragali Radix by HPLC

SONG Cheng-ying*, FENG Jia-fu

(Pharmacy Department of Leshan Vocational & Technical College, Leshan 614000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for simultaneously determining calycosin-7-O-β-D-glucoside and astragaloside IV in Astragali Radix by HPLC. **Method:** HPLC was performed on Waters symmetry C₁₈ column

[收稿日期] 20121231(686)

[通讯作者] *宋成英, 副教授, 从事中药分析工作, Tel: 18990626206, E-mail: songchengying168@sina.com

低, 因此以姜黄素和吉马酮为主要有效成分进行提取时建议直接用温郁金生品, 或在酸性条件下进行提取以提高收率。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 193.
- [2] 刘玉红, 刘倩玲, 李晓亮, 等. RP-HPLC 测定不同基源郁金药材中牻牛儿酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 133.
- [3] 徐国钧, 徐珞珊. 常用中药材品种整理和质量研究. 第 1 册[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1994: 350, 360.
- [4] 李敏. 中药材规范化生产与管理(GAP)方法及技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 709.
- [5] 许洪霞, 郑淑忱, 左士贤, 等. 温莪术抗肿瘤有效成分

的研究——莪术醇和莪术二酮的分离和鉴定[J]. 中草药通讯, 1979, 10(10): 11.

- [6] 王琰, 王慕邹. 莪术的质量研究[J]. 药学报, 2001, 36(11): 849.
- [7] 李敏, 张娜, 林琪宇. HPLC 测定郁金类药材中的吉马酮和莪术二酮[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1): 105.
- [8] 王建, 刘雯, 张炜, 等. 广西不同产地莪术中吉马酮的含量比较[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5): 1091.
- [9] 韦相忠, 岳丽, 秦松梅. HPLC 测定广西莪术不同炮制品超微细粉中牻牛儿酮的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 45.
- [10] 石典花, 苏本正, 孙立立, 等. 正交试验法优选郁金醋炙工艺的研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 5.

[责任编辑 顾雪竹]

(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), the mobile phase consisted of 30% acetonitrile and 70% water at a flow rate of 1 mL · min⁻¹. The column temperature was set at 35 °C, and the eluate was detected at 260 nm and 210 nm. **Result:** Quantitative analysis of HPLC showed that the linear ranges of calycosin-7-*O*-β-*D*-glucoside and astragaloside IV were 0.391 2-9.78, 0.973 6-24.34 μg respectively. The average recoveries of two ingredients were 99.18% (RSD 2.43%) and 99.41% (RSD 2.59%). **Conclusion:** The method set up is simple and rapid, therefore available for the quality control of calycosin-7-*O*-β-*D*-glucoside and astragaloside IV in Astragali Radix.

[**Key words**] HPLC; Astragali Radix; calycosin-7-*O*-β-*D*-glucoside; astragaloside IV

黄芪为常用中药,性甘,微温,具有补气升阳,固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、脱毒排脓、敛疮生肌等功效,可用于气虚乏力,中气下陷,表虚自汗,气虚水肿,血虚萎黄等的治疗^[1]。《中国药典》黄芪药材含量测定项下,2005年版的检测指标仅有黄芪甲苷,2010年版又增加了毛蕊异黄酮葡萄糖苷。但是2种成分分别测定,分析时间长,分析成本高。本研究建立了同时测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的方法,提高了分析效率,降低了分析成本。

1 材料

LC-2010A型高效液相色谱仪,包括UV检测器、CLASS-VP工作站(日本岛津公司);AL104型电子天平(METTLER TOLEDO),KQ-300型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号111920-201001)、黄芪甲苷(批号110781-200613)均购自中国食品药品检定研究院(供含量测定用);黄芪药材分别采自甘肃武都,内蒙古固阳,山西浑源和河北安国,经成都中医药大学万德光教授鉴定为蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根;乙腈为色谱纯(Dikma公司),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[2-5] Waters symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(30:70),体积流量1 mL · min⁻¹,柱温35 °C,检测波长:0~20 min(260 nm,检毛蕊异黄酮葡萄糖苷),20~30 min(210 nm,检黄芪甲苷),进样量10 μL。

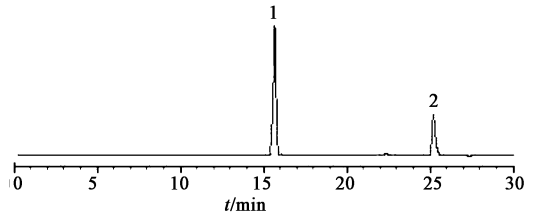
2.2 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷对照品适量,加流动相溶解制成每1 mL分别含毛蕊异黄酮葡萄糖苷391 μg、黄芪甲苷973 μg的混合溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备^[1] 取黄芪药材粉末约4.0 g(过60目筛),精密称定,置索氏提取器中,用石油醚(60~90 °C)60 mL回流脱脂30 min,提取液

弃去,药渣挥干溶剂,加甲醇60 mL,继续回流3 h,提取液回收溶剂并浓缩至干,残渣加甲醇溶解,转移至5 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,过0.45 μm微孔滤膜,取续滤液,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 系统适应性试验 按2.1项下色谱条件,精密吸取上述混合对照品溶液、供试品溶液各20 μL,注入高效液相色谱仪中进行测定,见图1~2。



1. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 2. 黄芪甲苷(图2同)

图1 混合对照品 HPLC 图谱

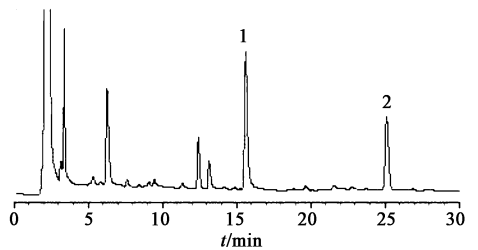


图2 供试品 HPLC 图谱

2.4.2 线性关系考察 精密吸取2.2项下混合对照品溶液,分别进样1,5,10,15,20,25 μL,按2.1项下色谱条件进行测定,记录峰面积。将峰面积(Y)对进样量(μg)进行线性回归,得毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的回归方程分别为 $Y = 3.70 \times 10^5 X + 2.19 \times 10^3$ ($r = 0.9997$), $Y = 4.85 \times 10^4 X + 2.75 \times 10^2$ ($r = 0.9995$)。结果表明,毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷分别在0.391~9.78,0.973~24.3 μg线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 精密吸取2.2项下混合对照品溶液,按2.1项下色谱条件连续进样5次,记录峰面积。结果毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷峰面积的RSD分别为0.72%,0.93%,表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取黄芪药材(产地甘肃武都),按2.3项下方法制备供试品溶液,平行5份,按2.1项下色谱条件进行测定,计算含量。结果毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的平均质量分数分别为0.56,0.94 mg·g⁻¹,RSD分别为2.4%,2.7%,表明此方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 精密吸取上述供试品溶液,分别于0,2,4,8,12 h进样,测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的峰面积。结果毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷峰面积的RSD分别为1.2%,1.3%,表明供试品溶液在室温放置12 h稳定。

2.4.6 加样回收试验 取黄芪药材(产地甘肃武都)粉末2.0 g(过60目筛),精密称定,平行6份,分别精密加入混合对照品溶液(毛蕊异黄酮葡萄糖苷1.124 g·L⁻¹、黄芪甲苷1.869 g·L⁻¹)1 mL,挥干甲醇,其余按2.3项下方法操作,制得供试品溶液,按2.1项下色谱条件进行测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 2种成分加样回收率试验

成分	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	1.154 9	1.124	2.262 5	98.54	99.18	2.43
	1.112 3	1.124	2.199 3	96.71		
	1.116 1	1.124	2.234 9	99.54		
	1.112 2	1.124	2.262 8	102.37		
	1.151 0	1.124	2.291 2	101.44		
	1.137 2	1.124	2.221 8	96.49		
黄芪甲苷	1.938 7	1.869	3.766 7	97.81	99.41	2.59
	1.867 1	1.869	3.684 9	97.26		
	1.873 5	1.869	3.739 5	99.84		
	1.866 8	1.869	3.804 2	103.66		
	1.932 0	1.869	3.816 9	100.85		
	1.909 0	1.869	3.722 8	97.05		

2.5 含量测定 取不同产地的黄芪药材,按2.3项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进行测定,记录色谱峰面积,用外标法计算含量,结果见表2。

表2 不用产地黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷测定(n=3)

产地	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/mg·g ⁻¹	黄芪甲苷/mg·g ⁻¹
内蒙古固阳	0.93	1.60
甘肃武都	0.56	0.94
山西浑源	0.71	1.32
河北安国	0.24	1.03

3 讨论

黄芪甲苷属皂苷类成分,为黄芪药材主要的质量控制指标,由于其分子结构中无特征紫外吸收基团,仅在200 nm附近有末端吸收,为避免基线噪音对检测信号造成干扰,黄芪甲苷含量测定时采用蒸发光散射检测器。但是由于紫外检测器较蒸发光检测器灵敏度高,检测方法简单,且检测信号不受气源的影响,一部分分析工作者仍选择用紫外检测器分析黄芪甲苷^[6]。本研究对黄芪甲苷的检测波长进行了筛选,比较了201,205,210,215 nm,结果210 nm处,信噪比最佳。毛蕊异黄酮葡萄糖苷为黄酮苷类成分,作为黄芪药材中黄酮类成分的代表,2010年版《中国药典》黄芪【含量测定】项下首次增加了对该成分的测定。为了保证检测的灵敏度,本研究采用紫外检测器,通过分区段变换检测波长,分别在260,210 nm对本品种的毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷进行检测,取得满意结果。

实验中所收集的药材为栽培品种,分别来自黄芪的4个主产地,经测定以内蒙古固阳所产黄芪药材质量最佳。

本含量测定方法简单快速,专属性强,灵敏度高,重复性好,用于黄芪药材,饮片或者含有黄芪的制剂质量标准的建立,可以提高分析效率,降低分析成本。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:284.
- [2] 姚雪莲,裴彩云,王宗权. 不同产地、不同采收期黄芪药材及饮片中毛蕊异黄酮葡萄糖苷及芒柄花素含量测定[J]. 药物分析杂志,2012,32(5):797.
- [3] 施旭光,许晓峰,朱伟,等. HPLC测定黄芪桂枝五物汤及方中药对的黄芪甲苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(2):20.
- [4] 涂波,汪志勇. 当归补血汤颗粒中黄芪甲苷和黄芪多糖的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):115.
- [5] 石子仪,鲍忠,姜勇,等. 不同来源黄芪药材中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芒柄花素的定量分析[J]. 中国中药杂志,2007,32(9):779.
- [6] 唐斌,杨扬,尚北城,等. 黄芪制剂中黄芪甲苷测定方法概述[J]. 西南国防医药,2004,14(2):175.

[责任编辑 顾雪竹]