# 黄芪根、茎叶中黄芪甲苷的含量比较

程合理*
(安徽医科大学第二附属医院, 合肥 230601)

[摘要] 目的: 采用 HPLC-ELSD 法测定黄芪根、茎叶中黄芪甲苷的含量。方法: HPLC-ELSD 法, Luna $C_{18}$ 柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水(35∶65), 流速: 1.0 mL·min$^{-1}$; ELSD 参数为漂移管温度105 ℃, 载气流速 2.8 L·min$^{-1}$。结果: 不同产地黄芪根中黄芪甲苷的含量分别为 0.096%、0.116%、0.081%, 黄芪茎叶中黄芪甲苷的含量分别为 0.219%、0.198%、0.232%。结论: 黄芪茎叶中黄芪甲苷的含量明显高于黄芪根, 黄芪茎叶有潜在的开发价值。

[关键词] 黄芪; 黄芪甲苷; 根; 茎叶
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0057-02

中药黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*(Fish) Bge. 或蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fish) Bge. var. mongholicus (Bge.) Hsio 的干燥根, 为一类常用中药, 黄芪中主要含有皂苷类、多糖、氨基酸和微量元素等。现代科学研究表明黄芪皂苷为黄芪主要活性物质之一, 其中黄芪甲苷(ASI) 为活性指标成分, 具有抗应激、抗生物氧化、抗肝损伤、抗缺血缺氧、降压、抗炎、利尿、强心和提高肌体免疫等功能[1]。由于黄芪具有广泛的生物活性, 用量逐年增大, 传统的中医用药部位为根, 大量的茎叶没有被充分利用。关于黄芪茎叶的药用也鲜有报道。本试验采用 HPLC-ELSD 法对不同产地黄芪根、茎叶中黄芪甲苷的含量进行测定比较, 对于开发利用新资源具有重要的意义。

## 1 仪器与试药

Waters2487 高效液相色谱仪、蒸发光散射检测器(Alltech 2000)、JL-180 超声波清洗器(上海杰理科技有限公司)、RE52CS 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0781-200311), 黄芪根、茎叶分别采自甘肃陇西、黑龙江虎林、山东文登, 经安徽中医学院药学院周建理教授鉴定为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fish) Bge. 的干燥根和茎叶。乙腈、甲醇为色谱纯, 正丁醇、氨水均为分析纯, 水为重蒸去离子水。

[收稿日期] 2009-11-06
[通讯作者] * 程合理, Tel: (0551) 3869619; E-mail: CHHELI@126.com

## 2 方法与结果

**2.1 系统适用性试验** 色谱柱: Luna $C_{18}$ 柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 柱温25 ℃; 流动相乙腈-水(35∶65), 流速 1.0 mL·min$^{-1}$; ELSD 参数漂移管温度105 ℃, 载气流速为 2.8 L·min$^{-1}$。理论板数以黄芪甲苷峰计算为5 830, 分离度 1.88, 符合要求。

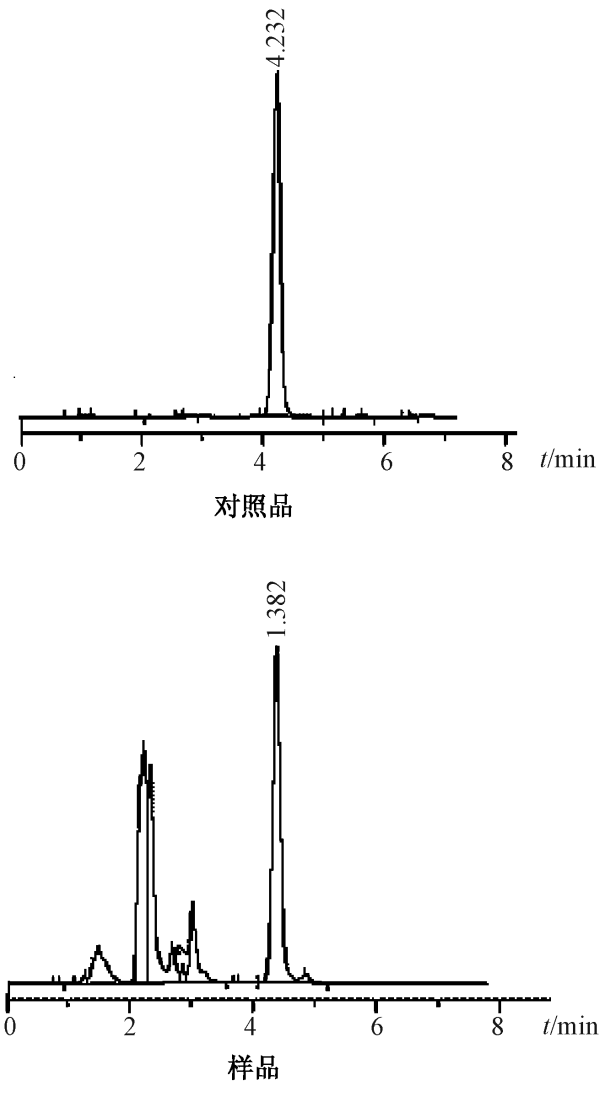


图 1 含量测定 HPLC 图谱

**2.2 供试品溶液的制备** 精密称取黄芪根、茎叶中粉各约 2 g(茎叶提取前须用石油醚萃取去除叶绿素), 加水饱合正丁醇 50 mL, 精密称重, 超声(300 W, 50 kHz) 提取 45 min, 精密称重, 加水饱合正丁醇

补足原重, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 25 mL, 加氨试液( 40→100) 洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去氨液层, 取正丁醇层置旋转蒸发器上蒸干, 残渣加甲醇定量转移至 2 mL 量瓶中, 即得。

**2.3** 对照品溶液的制备 精密称取在60 ℃真空干燥至恒重的黄芪甲苷对照品 10.10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 即得。

**2.4** 线性关系的考察 分别吸取上述对照品溶液 4.0, 6.0, 10.0, 12.0, 16.0, 18.0 μL 按色谱条件, 测定峰面积, 以对照品含量( μg) 为横坐标( *X*) , 对照品峰面积( *A*) 为纵坐标( *Y*) , 绘制标准曲线, 得回归方程, 相关系数及线性范围分别为: $Y = 2.31 \times 10^5 X - 3.98 \times 10^4$, $r = 0.999\ 3$, 4.04 ~18.18 μg。

**2.5** 精密度试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 20 μL, 连续进样 5 次, 测定黄芪甲苷峰面积值, RSD 为 0.98% ( $n = 5$) 。

**2.6** 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20 μL, 于 0, 4, 8, 12, 24 h 测定一次, 结果显示 24 h 内, 溶液中黄芪甲苷峰面积稳定, RSD 为 1.0% ( $n = 5$) , 稳定性较好。

**2.7** 重复性试验 精密称取黄芪根和茎叶各 5 份, 按供试品溶液制备项下方法处理, 按上述色谱条件分析测定, 根中黄芪甲苷平均为 0.096%, 茎叶中黄芪甲苷平均为 0.219%, RSD 分别为 1.8% 和 1.4% ( $n = 5$) , 重复性较好。

**2.8** 回收率试验 精密称定已知质量分数样品 1 g, 粉碎, 精密加入黄芪甲苷对照品溶液 1.0 mL ( 1.010 mg·mL$^{-1}$) , 混匀, 平行 6 份, 按供试品溶液制备项下操作, 测定、计算回收率, 平均回收率为 95.83%, RSD 为 0.75%, 结果见表 1。

表 1 回收率试验

| No. | 称样量/g | 样品中含黄芪甲苷的量/mg | 添加黄芪甲苷量/mg | 测出黄芪甲苷的量/mg | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1.008 2 | 0.967 9 | 1.010 | 1.938 3 | 96.08 | | |
| 2 | 1.016 2 | 0.975 6 | 1.010 | 1.941 0 | 95.58 | | |
| 3 | 1.003 6 | 0.963 5 | 1.010 | 1.941 6 | 96.84 | | |
| 4 | 1.015 4 | 0.974 8 | 1.010 | 1.938 6 | 95.43 | 95.8 | 0.75 |
| 5 | 1.008 4 | 0.968 1 | 1.010 | 1.925 4 | 94.78 | | |
| 6 | 1.004 6 | 0.964 4 | 1.010 | 1.936 6 | 96.26 | | |

**2.9** 样品的测定 取不同批次的样品, 按照供试液制备项下方法操作, 得供试品溶液, 按上述色谱条件分析测定, 结果见表 2。

表 2 黄芪根和茎叶含量测定 /%

| No. | 样品来源 | 黄芪甲苷 | |
|---|---|---|---|
| | | 根 | 茎叶 |
| 1 | 甘肃陇西 | 0.096 | 0.219 |
| 2 | 黑龙江虎林 | 0.116 | 0.198 |
| 3 | 山东文登 | 0.081 | 0.232 |

## 3 讨论

目前黄芪中黄芪甲苷含量测定的方法一般常用薄层扫描法[2~4]等, 但操作繁琐, 重现性差。采用高效液相色谱法, 有采用高效液相色谱-紫外检测器进行测定, 但由于黄芪甲苷仅在 200 nm 处有弱的末端吸收, 对结果影响较大。还有用柱前衍生化高效液相色谱-紫外检测器进行测定[5], 虽可克服黄芪甲苷仅在 200 nm 处有弱的末端吸收的弱点, 但试验结果表明重现性差。本试验采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器进行测定, 试验结果表明分离度好、干扰少、前处理简便。稳定性及重复性均符合要求。

采用不同有机溶剂( 三氯甲烷、甲醇、乙醇、水饱和的正丁醇) 超声提取 45 min, 结果表明以水饱和的正丁醇提取的杂质少, 提取率高。考察超声提取时间( 30、45、60 min) 和提取溶剂体积的影响, 结果显示以水饱合正丁醇 1 g∶25 mL, 超声 45 min 为宜。

对不同产地黄芪根、茎叶的研究表明, 茎叶中黄芪甲苷的含量一般是根中的 2 ~3 倍。传统中医用黄芪根入药, 地上茎叶部分被丢弃, 为充分利用黄芪资源, 应该进一步开发利用其茎叶, 扩大药源。同时还要研究黄芪根、茎叶的最佳采收期, 在不影响根质量的前提下, 适时采收茎叶, 提高其利用价值。

本试验研究为黄芪茎叶的质量标准制定提供了一定的科学依据, 今后应进一步开展对黄芪根、茎叶中总皂苷、黄芪甲苷、多糖及其他成分的药理作用的比较研究, 丰富黄芪茎叶代根入药的科学依据。

[ 参考文献]

[1] 赵玉梅, 尹松鹤, 孙克欣. 黄芪根部与茎叶药用化学成分对比观察[ J] . 牡丹江医学院学报, 2000, 21( 3) : 11.
[2] 熊婷. 薄层扫描法测定天健胶囊中黄芪甲苷的含量[ J] . 中国医院药学, 2009, 29( 4) : 336.