

黄芪药材主、侧根中黄酮类成分含量比较

田圣志^{1*}, 杨玉涛^{1,2}, 张振凌¹, 常良¹

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 沈丘县食品药品监督管理局, 河南 周口 466300)

[摘要] 目的: 比较黄芪药材主、侧根中黄酮类的含量。方法: 以毛蕊异黄酮和芒柄花素为指标, 采用高效液相色谱法对黄芪药材主、侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量进行测定。结果: 黄芪药材侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量分别比主根平均高 28.00%, 29.84%。结论: 该研究对黄芪质量评价具有积极意义, 值得进一步研究。

[关键词] 黄芪; 主根; 侧根; 毛蕊异黄酮; 芒柄花素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0092-04

Comparison of Contents of Flavonoids in Radix Astragali Tap Root and Lateral Root

TIAN Sheng-zhi^{1*}, YANG Yu-tao^{1,2}, ZHANG Zhen-ling¹, CHANG Liang¹

(1. Henan university of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Shenqiu Food and Drug Administration, Zhoukou 466300, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the contents of flavonoids in radix astragali tap root and lateral root.

Method: Use calycosin and fermononetin as the indicators, determination of the contents of their in radix astragali tap root and lateral root by high performance liquid chromatography(HPLC) . **Result:** The average contents of calycosin and fermononetin in lateral root higher than the tap root were 28.00%, 29.84% . **Conclusion:** The research with positive significance to the astragalus quality evaluation, and worth to be further study.

[Key words] radix astragali; tap root; lateral root; calycosin; fermononetin

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. embranaceus*(Fisch.) Bge 的干燥根。主产于内蒙古、山西、甘肃、黑龙江等地。春、秋二季采挖, 除去须根和根头, 晒干^[1]。以根条粗长、皱纹少、质坚而绵、粉性足、味甜者为佳^[2]。黄芪因品种和产地不同有的主根长而粗, 侧根短而细, 有的侧根较多相对较长, 故饮片大小差异较大, 与主侧根所占比例有关。商品药材以长短、粗细分为 4 个等级, 以长和粗者佳。市场上多以饮片大小决定质量优劣及价格高低, 同品种黄芪片型越大, 认为质量越好, 价格也越高。2005 年版《中国药典》以黄芪甲苷做为定量指标, 并规定其含量不得少于 0.04%。作者在做黄

芪制剂以及质量标准的实际工作中, 以黄芪甲苷含量高低确定黄芪的质量优劣, 发现市场上黄芪饮片的大小与黄芪质量优劣的关系不完全一致, 即黄芪的化学成分含量与黄芪的饮片大小呈不完全正相关。有些饮片较大但黄芪甲苷含量并不符合药典要求, 而较小的饮片确合格。为综合评价黄芪饮片质量, 作者对黄芪中主要化学成分(皂苷类、黄酮类、多糖类等) 与其商品等级的关系以及主侧根中化学成分含量进行了研究, 现仅对通过采用高效液相色谱法对黄芪药材主侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素 2 个黄酮类成分含量研究情况报告如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪系统(Waters 600E 泵, Waters CapLC 2487 双 吸光度检测器, Waters 717plus 自动进样器, Empower 色谱工作站, 在线脱气机, 柱温箱); SK3200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司); METTLER AE240 型 1/10 万电子天平, Sartorius 1/万电子天平。

[收稿日期] 20100311(004)

[通讯作者] * 田圣志, 副教授, 硕士生导师, 从事中药炮制与抗艾滋病中药新药的研究, Tel: 18637191919, 0371-65837585, E-mail: tianshzh@ 126. com

1.2 试药 甲醇(色谱纯,天津四友精细化学品有限公司),甲醇(分析纯,宿州化学试剂厂),纯净水(杭州哇哈哈集团有限公司);毛蕊异黄酮和芒柄花素对照品由南京泽朗医药科技公司提供(纯度均大于 98%)。

1.3 药材 黄芪药材分别购自安徽亳州药材行、河南郑州中药城,经河南中医学院陈随清教授鉴定为蒙古黄芪 *A. membranaceus* 的干燥根;将所采集样品按商家不同分别标记为亳州 A、亳州 B、郑州。将黄芪药材主根和侧根分开,除去杂质,洗净,润透,切厚片,干燥,筛去碎屑,分别采用高速万能粉碎机粉碎成粉末,过 4 号筛,混匀,备用。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Waters Sunfire™ C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Waters Sunfire™ C₁₈ 保护柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相 A 甲醇, B 水梯度洗脱 0 min 50% A, 20 min 55% A, 30 min 60% A;温度 35 °C;检测波长 254 nm;流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。色谱图见图 1 ~3。

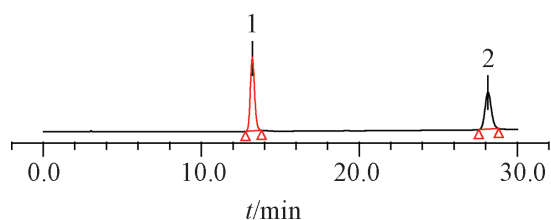


图 1 毛蕊异黄酮和芒柄花素混合对照品 HPLC
1. 毛蕊异黄酮; 2. 芒柄花素

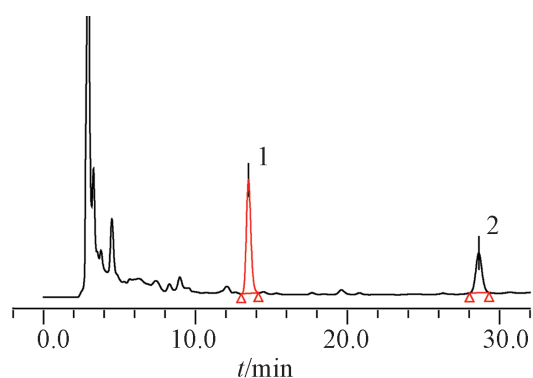


图 2 黄芪药材(亳州 B)主根 HPLC

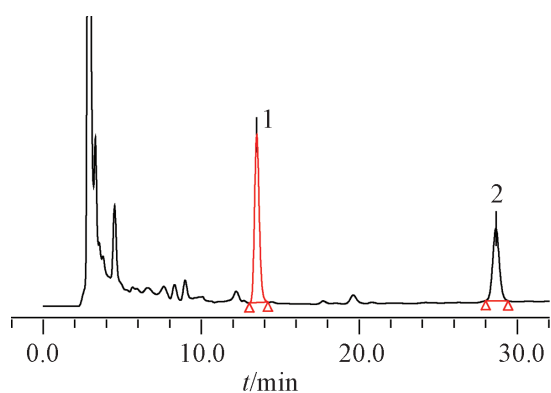


图 3 黄芪药材(亳州 B)侧根 HPLC

2.2 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊异黄酮 4.56 mg、芒柄花素 2.54 mg,分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,分别移取 1 mL 毛蕊异黄酮(4.56×10^{-1}

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和芒柄花素($2.54 \times 10^{-1} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)至 10 mL 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,得质量浓度分别为毛蕊异黄酮 $4.56 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和芒柄花素 $2.54 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液为母液。分别移取毛蕊异黄酮($4.56 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)和芒柄花素($2.54 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)母液各 2 mL 于同一 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,得质量浓度为毛蕊异黄酮 $18.24 \times 10^{-3} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和芒柄花素 $10.16 \times 10^{-3} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过 4 号筛) 2 g,置具塞锥形瓶中,加甲醇 30 mL,超声提取 45 min,过滤,残渣加 30 mL 甲醇重复提取 1 次,合并滤液,蒸干,加甲醇溶解,定容至 25 mL 量瓶中,即得,进样前用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。

2.4 线性关系的考察 取毛蕊异黄酮和芒柄花素的混合对照品溶液 1, 5, 10, 15, 20 μL,注入液相色谱仪,测得峰面积积分值。以进样量(μL)为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得线性方程。毛蕊异黄酮 $Y = 1.01 \times 10^5 X - 2.43 \times 10^4$, $r = 1$,线性范围 0.018 24 ~ 0.364 8 μg;芒柄花素 $Y = 7.75 \times 10^4 X - 3.07 \times 10^4$, $r = 0.999 8$,线性范围 0.010 16 ~ 0.203 2 μg。

2.5 精密度试验 精密吸取同一黄芪供试品溶液 10 μL,重复进样 5 次,测得毛蕊异黄酮峰面积 RSD 0.75%,芒柄花素峰面积 RSD 0.59%,说明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 吸取同一黄芪供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 h 进样 10 μL,测得毛蕊异黄酮和芒柄花素色谱峰峰面积,计算峰面积 RSD 分别为 2.00% 和 1.45%,说明样品溶液 48 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取黄芪粉末,精密称取 5 份,每份 2 g,按 2.3 项下方法制备样品溶液,按 2.1 项下色谱条件注入液相色谱仪,进行测定,结果毛蕊异黄酮含量 RSD 2.90%,芒柄花素含量 RSD 1.89%,说明实验方法重复性较好。

2.8 加样回收率 精密称取已知含量的黄芪粉末 6 份,每份 1 g,精密加入质量浓度为 $4.56 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 毛蕊异黄酮溶液母液 6 mL 和质量浓度为 $2.54 \times 10^{-2} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 芒柄花素溶液母液 5 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件注入液相色谱仪,进行测定,得毛蕊异黄酮、芒柄花素平均回收率分别为 100.94%, 103.86%, RSD 分别为 1.72%, 1.14%。

2.9 样品含量测定 精密称取购自不同商家黄芪

药材主根、侧根的粉末,按 2.3 项方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件注入液相色谱仪,测得峰面

积积分值,代入线性方程,以外标法计算样品中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量,见表 1。

表 1 甘肃产黄芪药材主根、侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素含量 (n=3)

样品	来源	毛蕊异黄酮			芒柄花素		
		质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD/%	差值率 /%	质量分数 /mg·g ⁻¹	RSD/%	差值率 /%
主根	亳州 A	0.112 0	1.07		0.105 7	0.85	
侧根	亳州 A	0.154 8	1.45	38.21	0.122 1	1.43	15.52
主根	亳州 B	0.269 7	1.39		0.100 6	1.29	
侧根	亳州 B	0.351 8	1.11	30.44	0.163 3	1.11	62.33
主根	郑州	0.040 81	1.28		0.034 88	1.11	
侧根	郑州	0.047 08	1.45	15.36	0.038 95	1.29	11.67

注: 1. 黄芪药材主、侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素含量的平均差值率分别为 28.00%, 29.84%; 2. 样品中毛蕊异黄酮或芒柄花素的含量 (mg·g⁻¹) = (Y × 25 × 对照品浓度) / (10 × 样品的实际称重); 3. 差值率 = (侧根含量 - 主根含量) / 主根含量 × 100%。

3 讨论

黄芪的化学成分众多,主要含有黄酮类、皂苷类和多糖等^[3];其中黄酮类化合物主要有异黄酮和异黄酮苷成分组成,二者的药理作用相同^[4],异黄酮类具有抗病毒、抗菌、降血脂、抗氧自由基等作用,为其有效成分之一^[5]。具有较强的生理活性,应与黄芪味甘、性温,归肺、脾经,具补气固表,利尿托毒,排脓,敛疮生肌等作用^[1]密切相关,至少与其中的部分作用有关。其含量的高低对其质量的影响较大,制定药材及饮片标准以及炮制制剂生产过程时应加以重视。目前国内饶伟文、宋纯清、胡芳弟等分别采用高效液相色谱法对黄芪中毛蕊异黄酮、芒柄花素等部分大极性异黄酮进行了测定研究^[6-8],有关黄芪药材主、侧根中黄酮类成分含量的研究未见报道。因此本实验对黄芪饮片大小与黄芪质量的关系进行了初步探讨,对黄芪药材的质量评价具有积极意义。

限于条件,本实验仅从安徽亳州和河南郑州两处采集样品 3 批,经查询所采集样品均产自甘肃。虽然采集样品不全面但具有代表性。研究结果表明,黄芪药材侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量比主根分别平均高出 28.00% 和 29.81%,各样品之间存在较大差异,对同株黄芪主、侧根中两者含量进行检测比较,有的差植率更大。黄芪药材产地广泛,加之受土壤、气候等因素的影响,因而侧根在整个药材中所占比例不尽相同,有的品种侧根少,但有的侧根多可达到 30% 甚至更多。作者认为目前市场上黄芪饮片的大小与其质量优劣的关系不完全一致,除应与黄芪药材的品种、产地等因素有关外,还与主侧根在药材中所占比例关系密切。因而无论是为了充分利用药用资源还是对黄芪的质量进行评价,对侧根的利用和研究应引起足够的重视。

关于黄芪药材侧根中毛蕊异黄酮和芒柄花素的含量高于主根的原因,可能与其植物生长过程中与土壤接触面积以及有效成分的富集和代谢有关。黄芪产区分布在内蒙古、山西、甘肃、黑龙江等全国约十余个省区,受环境、气候、土壤、采收时间及品种的影响因素较多,这些因素对其成分有何影响,与黄芪中其他成分有何关系,该成分对黄芪质量的评价价值怎样,仍在研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 212.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 下册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 2037.
- [3] 段亚丽, 谢梅冬. 黄芪化学成分及其有效成分黄芪甲苷含量测定的研究现状 [J]. 中国兽药杂志, 2005, 39 (3): 61.
- [4] 纪松岗, 李翔, 姜子洋, 等. 高效液相色谱法测定黄芪中毛蕊异黄酮苷和芒柄花素的含量 [J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(1): 81.
- [5] 候云德, 宋代军, 付丰勇, 等. 黄芪某些生物活性的研究 [J]. 中西医结合杂志, 1984, 4: 420.
- [6] 饶伟文, 王宝琴. 黄芪类中药中芒柄花素和毛蕊异黄酮的 HPLC 测定 [J]. 中成药, 1991, 13(9): 32.
- [7] 宋纯清, 阎龙, 王海燕, 等. 反相高效液相色谱法测定黄芪和黄芪毛状根中大极性异黄酮成分的含量 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(2): 12.
- [8] 胡芳弟, 封士兰, 赵健雄, 等. HPLC 法测定黄芪中黄酮类成分和黄芪甲苷的含量 [J]. 分析测试技术与仪器, 2003, 9(3): 173.

[责任编辑 邹晓翠]

· 资源与鉴定 ·

唐山地区腰岱山野生药用植物资源调查研究

周程艳^{*}, 郑婷婷, 时晓艳, 李海丽, 张明亮
(华北煤炭医学院药学系, 河北 唐山 063000)

[摘要] 目的: 为唐山地区药用植物资源的可持续利用和合理开发提供科学依据。方法: 笔者采用了野外实地考察、问卷调查、资料查阅、标本采集整理及鉴定、药用植物资源蕴藏量的调查、野外化学成分检验等方法对腰岱山药用植物资源的种类组成及药用价值进行了深入系统的研究。结果: 据多年对腰岱山药用植物资源的野外调查显示, 腰岱山药用植物绝大部分为野生种类, 共有药用植物 78 科 196 属 237 种(不含变种, 变型和亚种)。绝大多数是被子植物, 共计 225 种, 占总种数的 94.94%。其中蔷薇科、菊科、豆科、百合科为本地的优势科属, 占腰岱山药用植物总资源的近 1/3。本文亦对腰岱山药用植物资源的药用部位和药用功效进行了统计分析, 重点介绍了腰岱山的道地药材, 并针对其开发和利用提出了建议。结论: 腰岱山药用植物资源十分丰富, 种类科属类型组成合理, 生态环境保护良好, 具有很大的开发价值。

[关键词] 腰岱山; 野生药用植物资源; 资源调查; 开发利用

[中图分类号] R282.2 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0095-05

Study on Resources of Medicinal Herbs in Mountain Yaodai in Tangshan

ZHOU Cheng-yan^{*}, ZHENG Ting-ting, SHI Xiao-yan, LI Hai-li, ZHANG Ming-liang
(North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China)

[Abstract] Objective: The research aimed to provide the scientific basis for the sustainable utilization and reasonable utilization of medicinal plants resources for tangshan area. **Method:** Using the methods of field investigation, questionnaire survey, date collection, samples collection and indentification, investigation of medicinal herbs resources reserves, chemical composition test, the species composition and medical value of medicine herbs in the Mountain Yaodai were understood. **Result:** According to years of field investigation, most of medicinal herbs were wild species, 78 families 196 genera and 237 species (not including variation, from and subspecies) of medicinal herbs were found. The vast majority of species composition was the angiosperms, total 225 species, 94.94% of the total number of species. Among it Rosaceae, Compositae, Leguminosae, Liliaceae were the dominant families and genera. 1/3 of the total number of species. The medicate part and curative effect of the medicinal herbs were statistical studied, the special local traditional Chinese medicine was mainly introduced, and the suggestions for rational development and utilization of medicinal plants resources were put forward. **Conclusion:** There were rich medicine herbs in Mountain Yaodai, species, families and genera were composed of rational type, ecological and environmental protection were good, it had great value for development.

[Key words] mountain Yaodai; wild medicinal plant resources; recourses survey; exploitation and utilization

[收稿日期] 20100518(003)

[基金项目] 河北省唐山市科技局科研项目(09130223b)

[通讯作者] ^{*} 周程艳, 女, 硕士, 讲师, 从事药用植物资源调查、中药药效和有效成分筛选的研究, E-mail: xuefanone@sohu.com