

HPLC 法测定不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量

邹传宗, 吴秋钰 (甘肃医学院药理学系, 甘肃平凉 744000)

摘要 [目的]比较不同产地黄芪中黄芪甲苷含量的大小。[方法]采用高效液相-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)测定黄芪中黄芪甲苷的含量,色谱柱为 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(40:60);流速为 1.0 mL/min;柱温为 30 ℃;进样量为 5 μL。ELSD 检测器漂移管温度为 100 ℃;载气压力为 200 kPa。[结果]不同产地黄芪中黄芪甲苷含量分别为甘南 0.147%、陇西 0.117%、岷县 0.205%、山西 0.182%、张掖 0.067%、武威 0.045%、庆阳 0.097%、渭源 0.114%、内蒙古 0.087%、新疆 0.046%。[结论]不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量差异较大,4 个黄芪主产省(自治区)中甘肃产的黄芪中黄芪甲苷含量最高,山西、陕西产的黄芪中黄芪甲苷含量相对较高,新疆产的黄芪中黄芪甲苷含量较低。同一省份中陇西、甘南、岷县、庆阳、渭源县产黄芪中黄芪甲苷的含量较高,而武威和张掖产黄芪中黄芪甲苷的含量偏低。

关键词 黄芪;黄芪甲苷;HPLC;含量测定

中图分类号 R 284 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)01-0208-02

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2022.01.056



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Determination of Astragaloside in *Astragalus membranaceus* from Different Habitats by HPLC

ZOU Chuan-zong, WU Qiu-yu (Department of Pharmacy, Gansu Medical College, Pingliang, Gansu 744000)

Abstract [Objective] To determine the content of astragaloside in *Astragalus membranaceus* from different habitats. [Method] HPLC-ELSD was used to determine the content of astragaloside. The analysis was performed on Agilent C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column with the mixture of acetonitrile-water (40:60) as mobile phase, and the flow rate was 1.0 mL/min; the column temperature was 30 ℃; the temperature of drift tube in ELSD was 100 ℃ and the gas pressure was 200 kPa. [Result] The astragaloside contents in *Astragalus membranaceus* from Gannan, Longxi, Minxian, Shanxi, Zhangye, Wuwei, Qingyang, Weiyuan, Inner Mongolia and Xinjiang were 0.114%, 0.117%, 0.205%, 0.182%, 0.067%, 0.045%, 0.097%, 0.114%, 0.087% and 0.046%. [Conclusion] The content of astragaloside in *Astragalus membranaceus* from different production areas is quite different. Among them, the content of astragaloside in Gansu is the highest, the content of astragaloside in *Astragalus membranaceus* produced in Shanxi and Shaanxi is relatively higher, and the content of astragaloside in *Astragalus membranaceus* produced in Xinjiang is lower. In the same province, the content of astragaloside in *Astragalus membranaceus* in Longxi, Gannan, Minxian, Qingyang and Weiyuan counties was higher, while the content of astragaloside in Wuwei and Zhangye was low.

Key words *Astragalus membranaceus*; Astragaloside; HPLC; Content determination

黄芪为常用中药材,是豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao] 或膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge] 的干燥根,具有补气固表、利水消肿、托毒排脓、敛疮生肌等功效^[1]。黄芪中的主要化学成分有黄芪多糖、皂苷类、黄酮类和氨基酸等^[2]。黄芪甲苷与血浆蛋白结合率高,在肝肺中分布较高,在脑中含量较低,并且具有正性肌力、舒张血管、保护血管内皮细胞、抗炎和抗病毒等作用^[3]。众多的研究表明黄芪甲苷是黄芪的主要活性物质^[4],通常将其作为黄芪中药材及其制剂质量控制的主要指标。目前市场上销售的黄芪中药材多为人工栽培品,野生黄芪药材较少,不同来源的黄芪之间黄芪甲苷的含量差异较为显著,从而影响黄芪药材的质量。目前,对黄芪中黄芪甲苷的含量进行定量测定的方法有薄层扫描法(TLCS法)、高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD法)、高效液相色谱-紫外法(HPLC-UV法)^[5]、高效液相色谱-示差折光检测法(HPLC-RI法)、高效液相色谱-质谱检测法(HPLC-MS法)、比色法、荧光法、超高效液相色谱(UPLC法)^[6]、薄层色谱-分光光度法、紫外分光光度法^[7]等。由于HPLC-ELSD法具有步骤简单、重现性好、灵敏度高、适用性广、干扰因素少等特点,同时也满足了

黄芪甲苷的紫外末端吸收没有特征吸收波长的要求^[6,8],因此《中国药典》从2005年开始均采用该法测定黄芪中黄芪甲苷的含量。该试验采用HPLC-ELSD法来测定不同产地蒙古黄芪中黄芪甲苷的含量,为规范黄芪中药材市场提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器。高效液相色谱仪(Waters e2695型,美国Waters公司);蒸发光散射检测器(ELSD6000型,埃文森科技有限公司);微型植物试样粉碎机(FZ102型,天津泰斯特仪器有限公司);万分之一电子天平(BSA224S型,赛多利斯科学仪器有限公司);超纯水机(UPL-1-20T型,成都超纯科技有限公司);电热恒温水浴锅(DK-98-IIA型,天津市泰斯特仪器有限公司);冷却液循环水机(AS600型,北京华澳维科技有限公司);无油真空泵(HPD-25型,天津市恒奥科技发展有限公司)。

1.1.2 试剂。乙腈(默克股份两合公司,色谱纯);甲醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯);正丁醇(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯);氨水(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯);95%乙醇(天津市大茂化学试剂厂,分析纯);超纯水(自制);D101大孔吸附树脂(东鸿化工有限公司)。黄芪甲苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110781-201717)。

1.1.3 药材。供试验用的10批黄芪饮片分别购于甘肃、内

基金项目 甘肃省教育厅项目(2019B-199)。

作者简介 邹传宗(1975—),男,湖北罗田人,副教授,硕士,从事天然药物活性成分研究。

收稿日期 2021-05-17

蒙古、山西、新疆等地,均为蒙古黄芪,药材名称及编号分别为甘肃甘南黄芪(001)、甘肃岷县黄芪(002)、内蒙古黄芪(003)、山西黄芪(004)、甘肃陇西县黄芪(005)、甘肃武威黄芪(006)、新疆黄芪(007)、甘肃渭源黄芪(008)、甘肃张掖黄芪(009)、甘肃庆阳黄芪(010)。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件。色谱柱为 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水(40:60);流速 1.0 mL/min;检测器为 ELSD6000;漂移管温度 100 °C;载气压力 200 kPa。

1.2.2 对照品溶液的制备。精密称取 16.23 mg 的黄芪甲苷标准品,置于 50 mL 容量瓶中,加甲醇适量溶解后,稀释定容至刻度,摇匀,即得 0.314 5 mg/mL 的黄芪甲苷对照品溶液。

1.2.3 供试品溶液的制备。取黄芪药材粉末约 4 g,精密称定,用滤纸包裹置索氏提取器中,加甲醇 40 mL 冷浸过夜,再加甲醇适量,80 °C 水浴加热回流 4 h,提取液回收溶剂并浓缩至干,加水 10 mL 微热使溶解,转移入分液漏斗中。分别用

40 mL 水饱和的正丁醇振荡萃取 4 次,合并正丁醇液,分别用 40 mL 氨试液充分洗涤 2 次,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,加水 5 mL 使溶解,放冷,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径为 1.5 cm,柱高为 12.0 cm),以水 50 mL 洗脱(先加 5 mL 水,静置 15 min,再加 45 mL 水进行洗脱),弃去水液,再用新配 40% 乙醇 30 mL 洗脱,弃去洗脱液,继用新配 70% 乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得^[1]。

1.2.4 样品含量测定。取 10 批黄芪中药材,按照“1.2.3”方法制备供试品溶液。分别精密吸取经 0.45 μm 微孔滤膜滤过的供试品溶液 5 μL,按照“1.2.1”色谱条件进行黄芪甲苷含量的测定,每批样品进样 3 份取平均峰面积。

2 结果与分析

2.1 精密度试验 取“1.2.2”制备的 0.314 5 mg/mL 的黄芪甲苷对照品溶液,分别以 5 μL(图 1a)和 10 μL(图 1b)重复进样 5 次,测得各次峰面积,计算 RSD 值,进样 5 μL 时,峰面积的 RSD 为 2.0%,进样 10 μL 时,峰面积的 RSD 为 1.3%。

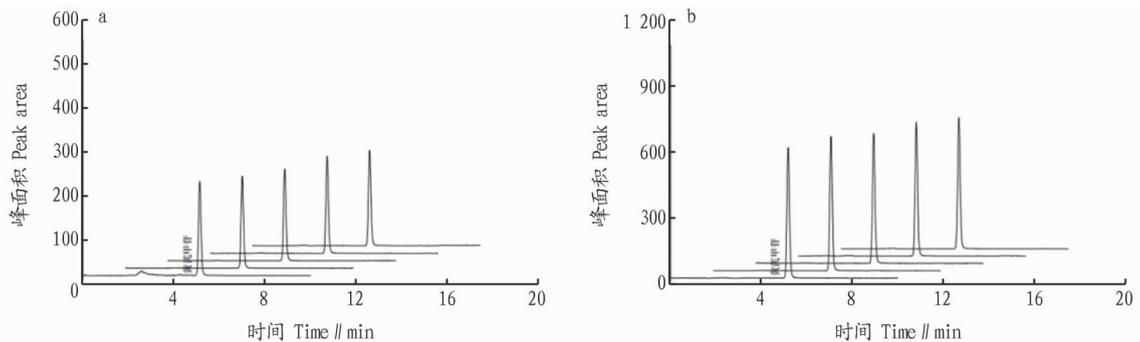


图 1 黄芪甲苷对照品进样 5 μL(a)和 10 μL(b) HPLC 图

Fig. 1 HPLC diagrams of 5 μL(a) and 10 μL(b) injection of astragaloside reference substance

2.2 样品含量测定 依照 2015 年版《中国药典》,用外标两点法对数方程计算黄芪中黄芪甲苷的含量,结果见表 1。2015 年版《中国药典》规定黄芪中黄芪甲苷的含量不得少于 0.040%^[1]。由表 1 可知,此次试验用到的 10 批黄芪中黄芪

甲苷的含量均符合要求。甘肃岷县所产的黄芪中黄芪甲苷的含量最高,为 0.205%;甘肃武威所产的黄芪中黄芪甲苷的含量最低,为 0.045%。

表 1 不同产地黄芪样品中黄芪甲苷含量测定结果

Table 1 Determination results of astragaloside contents in *Astragalus membranaceus* samples from different origins

| 序号 No. | 产地 Origins | 称样量 Weighing amount mg | 保留时间 Retention time min | 峰面积 Peak area | RSD % | 黄芪甲苷含量 Astragaloside content % |
|-----------|---------------|------------------------------|-------------------------------|------------------|----------|--------------------------------------|
| 1 | 甘肃甘南 | 4.003 2 | 5.299 | 3 909 323 | 2.4 | 0.147 |
| 2 | 甘肃岷县 | 4.004 1 | 5.307 | 6 504 769 | 0.9 | 0.205 |
| 3 | 内蒙古 | 4.003 6 | 5.279 | 1 776 823 | 1.6 | 0.087 |
| 4 | 山西 | 4.003 8 | 5.304 | 5 566 002 | 1.4 | 0.182 |
| 5 | 甘肃陇西 | 4.001 4 | 5.247 | 2 752 979 | 0.9 | 0.117 |
| 6 | 甘肃武威 | 4.004 7 | 5.146 | 614 492 | 0.8 | 0.045 |
| 7 | 新疆 | 4.003 6 | 5.148 | 649 887 | 1.1 | 0.046 |
| 8 | 甘肃渭源 | 4.003 7 | 5.284 | 2 628 487 | 0.7 | 0.114 |
| 9 | 甘肃张掖 | 4.003 8 | 5.248 | 1 132 068 | 1.5 | 0.067 |
| 10 | 甘肃庆阳 | 4.004 8 | 5.262 | 2 440 453 | 0.8 | 0.097 |

3 结论

黄芪甲苷被《中国药典》作为衡量黄芪质量优劣的一个标志性成分。目前,市场上的黄芪中药材产地较为混杂,主

要来源地有甘肃、内蒙古、新疆和山西等^[9]。该试验对 10 个不同产地黄芪中黄芪甲苷的含量进行了研究,结果表明,不

(下转第 227 页)

二产业的基础。一直以来,依照四川省工业化发展模式,工业一直未能反哺农业,随着第二产业的转型升级,可以利用现代化的工业技术提高农业的生产效率,推动传统农业向现代化农业转变^[8]。用现今成熟的遥感技术监测农作物的生产情况;利用气象技术为农作物的生长保驾护航;利用化学技术研制更高效绿色的化肥、农药。

加强第一产业和第三产业融合。发展交通运输业,推进公路建设,将道路修进大山去。物流是我国兴起的一大产业^[9],合理规划农村和城市的道路,有助于将大山深处的农副产品走出深山老林,迈向市场。加强“互联网+”建设,运用电子商务发展对口农业,实现对农业产品更好的营销,B2B和B2C的交易方式缩短了交易的时间和交易成本,在便利第一产业发展的同时也促进了产业的融合发展^[10]。

4.2.2 加快新型农业经营主体培育,引导农民转移就业。研究发现,四川省第一产业存在大量剩余劳动力,进一步培育新型农业经营主体,完善农村要素市场,让生产要素尤其是劳动力要素得到有效配置,更大程度发挥市场的作用,优化资源配置,为第一产业的规模化经营、集约化生产提供条件。加大对家庭农场、专业大户、合作社等新型农业经营主体的扶持力度,有利于引导第一产业中的剩余劳动力有序向第二、三产业转移^[11]。另外,政府要大力扶持小型企业,小型企业作为吸纳劳动力的主渠道^[12],可以吸纳大量农村剩余劳动力,有效减少第一产业的就业比重。

4.2.3 推广农民职业教育,提升农民就业能力和技术素养。目前,四川省第一产业存在劳动力富余现象,但第二产业劳动力短缺。将第一产业剩余劳动力转移到第二产业的唯一瓶颈就是农民受教育程度低、文化素质差、职业技能落后,农民只能从事技术含量低,工资待遇差的工作。教育人力资本结构性问题依然存在^[13],鉴于此,政府应该加大对农村基础教育的投资力度,整体提升农民的知识水平,满足农民转移

到第二产业的基本要求^[14]。同时,要加强对第一产业和第二产业劳动人员素质培训,开展职业教育以缓解结构性失业问题。第一产业和传统制造业释放的剩余劳动力由于自身劳动力素质水平的限制,在阻碍产业效率提高的同时也阻碍了其进入高端制造业和向现代服务业领域流动。应当通过教育和培训等方式增强劳动人员工作技能,引导劳动力向更高层次的产业流动,缩小高端制造业和现代服务业领域的劳动供求缺口^[15],有利于四川省产业结构和就业结构的协调发展。

参考文献

- [1] 中共中央 国务院关于全面推进乡村振兴加快农业农村现代化的意见 [EB/OL]. (2021-02-21) [2021-02-25]. http://www.gov.cn/zhengce/2021-02/21/content_5588098.htm.
- [2] 卞瀚鑫,李彬. 我国产业结构与就业结构的关联性研究[J]. 北华大学学报(社会科学版),2011,12(4):46-49.
- [3] 蓝洁. 后扶贫时代职业教育促进产业兴盛的行动愿景及作用机制[J]. 教育与职业,2021(4):19-24.
- [4] 张培刚,张建华. 发展经济学[M]. 北京:北京大学出版社,2009:330-331.
- [5] 杨帆. 我国省级产业结构升级与就业的比较及对策[J]. 江淮论坛,2019(3):78-83.
- [6] 贾若曦,赵满华. 第一产业就业状况分析:以山西省为例[J]. 生产力研究,2020(7):51-55.
- [7] 杨蓬,邓玲. 四川省工业化路径解析[J]. 财经科学,2013(11):93-101.
- [8] 刘锐,邓辉. 基于SSM模型的甘肃省农业综合实力结构分解与类型划分[J]. 中国农业资源与区划,2019,40(11):136-145.
- [9] 白文周,杜嘉韵. 安徽省产业与就业结构的偏离度和耦合效应分析[J]. 长春理工大学学报(社会科学版),2019,32(3):111-115.
- [10] 邓龙波,刘攀,黄怡斌. 湖南省农业竞争力提升及高质量发展研究[J]. 乡村科技,2018(25):40-43.
- [11] 郑祥江. 西南地区农村劳动力外出务工对农业生产的影响研究[D]. 雅安:四川农业大学,2016:131-132.
- [12] 夏露菲. 关于我国就业情况的研究:基于计量经济学模型的分析[J]. 中国外资,2020(2):39-40.
- [13] 谢倩芸,蔡翼飞. “十四五”时期我国教育人力资本供需形势分析[J]. 中国人力资源开发,2020,37(12):17-33.
- [14] 康翠玉. 吉林省产业结构与就业结构协调发展的实证分析[J]. 长春金融高等专科学校学报,2020(6):82-90.
- [15] 陈刚,韦晓慧,邹小华. 就业结构与产业结构之间协调性分析:基于广州市的实证检验与横向比较[J]. 中国经贸导刊,2019(2):108-111.
- [3] 朱燕辉,严奉祥. 黄芪甲苷及其生物学活性[J]. 现代生物医学进展,2008,8(4):781-783,774.
- [4] 郑友兰,张崇禧,张春红,等. 黄芪根、茎叶黄芪皂苷含量的测定[J]. 吉林农业大学学报,2003,25(5):531-532,535.
- [5] 姜丽丽,张传领,苏丽娟,等. HPLC-UV法测定黄芪干燥根中黄芪甲苷的含量[J]. 安徽农业科学,2014,42(22):7381-7383.
- [6] 张玲,焦博萍,李扉屏. 黄芪甲苷含量测定方法研究进展[J]. 大陆桥视野,2017(6):89.
- [7] 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):35-38.
- [8] 吴永平,徐永梅,曹园,等. HPLC-ELSD法测定黄芪提取物中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药,2001,23(9):673-674.
- [9] 杨薇,孙志蓉,岳楚红,等. 黄芪产地及品种变迁的研究[C]//第三届中国中药商品学术大会暨首届中药葛根国际产业发展研讨会论文集. 长沙:中国商品学会,2012.
- [10] 孙娟娟. 10种中药材道地产地的本草文献研究[D]. 北京:中国科学院,2010:36.
- [11] 裴彩云,王宗权,贾继明,等. HPLC-ELSD内标法测定8个产地黄芪药材、饮片黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1982-1984.

(上接第209页)

同产地黄芪中黄芪甲苷的含量差异较明显,4个黄芪主产省(自治区)中甘肃产的黄芪中黄芪甲苷含量最高,山西、陕西产的黄芪中黄芪甲苷含量较高,新疆产的黄芪中黄芪甲苷含量较低。这一研究结果与孙娟娟等^[10-11]对不同产地黄芪中黄芪甲苷含量的结果一致。就甘肃省同一省份而言,陇西县、甘南、岷县、庆阳、渭源县产的黄芪中黄芪甲苷含量较高,武威和张掖产的黄芪中黄芪甲苷含量偏低。这说明即使是同一省份,黄芪中黄芪甲苷的含量也会有较大差异。该研究可为规范中药黄芪中药材市场提供依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:302.
- [2] 陈国辉,黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志,2008,17(17):1482-1485.