

## HPLC 测定黄芪药渣中黄芪甲苷含量\*

黄亚非, 刘 杰, 黄际薇, 张永明  
(中山大学附属第三医院, 广东 广州 610630)

**摘 要:** 对内蒙产黄芪药材及药渣采用甲醇梯度洗脱提取, 高效液相色谱法测黄芪甲苷的质量分数。回归方程  $Y = 1.6084X + 13.2468$ ,  $R = 0.9997$ , 在  $5.50 \sim 550.00 \mu\text{g/mL}$  之间的线性关系良好。日内和日间精密度的 RSD 均小于 1.7%, 重复性试验的 RSD 为 0.59% ( $n = 5$ )。黄芪药材的加样回收率为 96.62%、98.23%、97.46%, RSD ( $n = 5$ ) 分别为 2.6%、2.8%、3.4%; 药渣的加样回收率为 98.43%、98.34%、99.65%, RSD ( $n = 5$ ) 分别为 2.3%、3.1%、2.9%。黄芪药渣中黄芪甲苷的提取量为黄芪药材中黄芪甲苷提取量的 72.08%, 表明黄芪药渣仍具有较大的再利用价值。

**关键词:** HPLC-ELSD; 黄芪药材; 黄芪药渣; 黄芪甲苷

**中图分类号:** R93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2009)02-0146-03

## Determination of Astragaloside IV in Dreg of *Radix astragali* by High-Performance Liquid Chromatography

HUANG Yafei, LIU Jie, HUANG Jiwei, ZHANG Yongming

(Affiliated Third Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

**Abstract:** The *Radix astragali* and its dreg were extracted with methanol. The astragaloside IV in *Radix astragali* and its dreg were determined by High-performance Liquid Chromatography (HPLC). The calibration curve was linear in the range of  $5.50 \sim 550.00 \mu\text{g/mL}$ ,  $Y = 1.6804X + 13.2468$ ,  $R = 0.9997$ . The intra-day and inter-day precision (RSD) were all less 1.7%, the recurrence (RSD) was 0.59% ( $n = 5$ ). The recovery of *Radix astragali* were 96.62%、98.23%、97.46% and RSD ( $n = 5$ ) were 2.6%、2.8%、3.4% for astragaloside IV; The recovery of dreg of *Radix astragali* dreg were 98.43%、98.34%、99.65%, RSD ( $n = 5$ ) were 2.3%、3.1%、2.9% for astragaloside IV. Astragaloside IV in dreg was 72% of that in *Radix astragali*. The result showed that the dreg of *Radix astragali* is still great re-utilizable value.

**Key words:** HPLC-ELSD; *Radix astragali*; dreg; astragaloside IV

黄芪 *Radix astragali* 是多年生草本豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. var. *monghalicus* Hsiao 或膜夹黄芪 *A. membranaceus* Bge 的干燥根。其主根长, 圆柱形, 稍带木质, 具有补气升阳、固表止汗、利水消肿功效。黄芪甲苷 (ASI) 为黄芪中 10 多种皂甙的主要成分, 为黄芪制剂质量检定的指标成分, 结构为三萜皂甙。其药理实验表明: ASI 具有抗炎、降压、镇痛、镇静作用, 能

增加血浆中 CAMP 和再生肝 DNA 的质量分数, 能增加小鼠胸腺重量, 即对免疫器官有影响<sup>[1]</sup>。ASI 能明显改善受损白细胞变形能力, 而白细胞变形能力的改善可能是防治心脑血管疾病的作用机理之一<sup>[2]</sup>。ASI 对胰腺有作用, 发现 ASI 能促进胰岛素的分泌<sup>[3]</sup>。ASI 能清除自由基, 对脑组织有一定的保护作用。

\* 收稿日期: 2008-04-01

基金项目: 广东省中医药局科技资助项目 (100112)

作者简介: 黄亚非 (1955 年生), 女, 主任药师; 通讯作者: 张永明; E-mail: zssyyjk@21cn.com

我国以黄芪为原材料的中成药制品众多,生产厂家遍布全国。在生产提取后产生大量的黄芪药渣,而传统的处理方式通常为堆放填埋焚烧,易污染环境,对药渣的再利用并不多。随着人们对环境的重视,药渣的合理再利用的重要性也显现出来。本文以 HPLC 方法测定同一厂家的黄芪药材和黄芪药渣中黄芪甲苷的质量分数,进行对比,以指导生产,为提高黄芪药渣的利用度提供参考依据。

### 1 材料与方 法

(1) 仪器: 岛津 LC-20AB 高效液相色谱仪; 200  $\mu\text{L}$  进样阀; 色谱条件: C18 色谱柱; 蒸发光散射检测器 Alltech ELSD-2000。

(2) 试剂: 黄芪甲苷对照品购于中国药品生物研究所; 黄芪药材产于内蒙, 购自广东省中药材公司; 高效液相色谱流动相组成为色谱纯乙腈及超纯净水。

(3) 对照品溶液和样品溶液制备: ① 对照品溶液的配制: 精密称取对照品 12.40 mg 置于 10 mL 量瓶中加甲醇到刻度, 摇匀即得 1.24 mg/mL 的溶液。分别取 2.50, 0.50, 0.25, 0.05 mL 置于 10 mL 量瓶中加甲醇到刻度, 即得 0.310、0.062、0.031、0.006 mg/mL 的对照品溶液。② 药材和药渣样品溶液配制<sup>[4]</sup>: 分别取黄芪药材和药渣约 4 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇 40 mL, 冷浸过夜, 再加甲醇适量, 加热回流 4 h, 提取液回收溶剂并浓缩至干, 残渣加水 10 mL, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液充分洗涤 2 次, 每次 40 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

(4) 色谱条件: ① 流动相: A 相为乙腈, B 相为水, 比例为 35:65, 流速 1.5 mL/min; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ , 进样 20  $\mu\text{L}$ 。② 蒸发光散射检测器条件: 漂移管温度: 60  $^{\circ}\text{C}$ , 载气: 2.8 mL/min, 放大系数为 9。根据对照品的保留时间定性、峰面积比计算黄芪甲苷的质量分数。

(5) 黄芪药渣的处理: 对黄芪样品进行提取处理后, 分别称量 5 批黄芪样品 (50.0 g) 中药渣的质量。

(6) 线性关系考察: 将不同质量浓度的对照品溶液依次进样, 分别重复 3 次, 以对照品溶液质量浓度的自然对数为横坐标 (X), 峰面积的自然对数为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 计算回归方程为  $Y = 1.6804X + 13.2468$ ,  $R = 0.9997$ 。

(7) 精密度与稳定性试验: 以 5.50, 55.00,

550.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的黄芪甲苷对照品溶液, 在 1 d 之内连续进样 5 次, 以及连续 5 d 分别进样, 根据所得峰面积分别计算日内精密度和日间精密度。

取第 2 批次黄芪药材的备用液, 按色谱条件进行测定, 分别在 0, 3, 6, 12, 18, 24, 36 和 48 h 测定黄芪甲苷的峰面积, 考察稳定性。

(8) 回收率试验: 分别精密称取黄芪与黄芪药渣的粗粉 5 份, 各约 4 g, 分别加入黄芪甲苷 1.0, 0.5, 0.1 mg, 甲醇定容到 5 mL, 20  $\mu\text{L}$  进样测定, 分别按上文药材和药渣样品溶液配制中的条件制成样品溶液, 每份测定 3 次, 计算加样回收率。黄芪药材中黄芪甲苷 3 个水平的加样回收的结果分别为 96.62%、98.23%、97.46%,  $RSD (n = 5)$  分别为 2.6%、2.8%、3.4%。黄芪药渣中黄芪甲苷 3 个水平的加样回收的结果分别为 98.43%、98.34%、99.65%,  $RSD (n = 5)$  分别为 2.3%、3.1%、2.9%。

### 2 结 果

线性关系考察表明黄芪甲苷对照品溶液在 5.50 ~ 550.00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之间的线性关系良好。精密密度试验表明黄芪甲苷对照品溶液低、中、高 3 个质量浓度的日内精密度和日间精密度的  $RSD$  分别为 1.6%、0.8%、0.6% 和 1.3%、0.8%、0.5%, 表明方法的精密密度良好。 $RSD$  为 0.59%, 表明试验稳定性良好。

5 批黄芪药材及其黄芪药渣中黄芪甲苷的质量分数的测定结果见表 1。从表 1 可见, 5 批黄芪药材中黄芪甲苷的平均测定值为 0.316 mg/mL, 平均质量分数为 5.73%; 5 批黄芪药渣中黄芪甲苷的平均测定值为 0.165 mg/mL, 平均质量分数为 4.13%。黄芪药渣中黄芪甲苷的提取量为黄芪药材中黄芪甲苷提取量的 72.08%。

### 3 讨 论

本实验结果表明黄芪甲苷在药渣中的提取量约为黄芪药材中的 72%, 说明药厂在黄芪的提取过程中, 有大量的黄芪甲苷并没被提出, 而残留于黄芪药渣中。由于黄芪甲苷为主要成份, 这就表明黄芪药渣仍具有明确的药理作用。本文希望研究结果能起到抛砖引玉的作用, 引起全社会及药学专业人员的重视, 加强相关研究: 一是改进生产技术, 更最大限度地吧黄芪药材里的有效成份提取出来, 二是对黄芪药渣采取多方面的再利用研究, 而非简单的堆放填埋焚烧。采取这些措施, 可大大增加资源利用率和经济效益, 以求更有效、合理的发挥药材的应用价值。

表1 黄芪药材及黄芪药渣中  $w$  (黄芪甲苷) 测定结果  
Table 1 Determination of Astragaloside IV in *Radix astragali* and its dreg

批号	药材		药渣	
	$\rho$ (黄芪)/(mg. mL <sup>-1</sup> )	$w$ (黄芪甲苷)/%	$\rho$ (黄芪)/(mg. mL <sup>-1</sup> )	$w$ (黄芪甲苷)/%
样品1	0.269	0.048 7	0.146	0.036 6
样品2	0.354	0.064 1	0.198	0.049 7
样品3	0.298	0.053 9	0.186	0.046 7
样品4	0.336	0.060 8	0.138	0.034 6
样品5	0.323	0.058 9	0.155	0.038 9
平均	0.316	0.057 3	0.165	0.041 3

## 参考文献:

- [1] 王宝, 苏键, 鲁静. 黄芪甲苷的检测在中药质控中的应用[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 161.  
WNAG Bao, SU Jian, LIU Jing. Application of astragaloside's detection in quality control of traditional Chinese medicine[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 1996, 21(3): 161.
- [2] 刘元元, 戴稼禾, 陈良钜. 黄芪苷IV对损伤的人血白细胞变形能力的影响[J]. 上海医科大学学报, 1998, 25(5): 361.

- LIU Yan Yan, DAI Jia He, CHEN Liang Ju. Effects of astragaloside IV on deformability of damage leukocytes in blood[J]. Journal of Shanghai Medical University, 1998, 25(5): 361.
- [3] 江清林, 李延君, 辛华, 等. 黄芪甲苷对胰岛素 C 肽分泌作用研究[J]. 黑龙江医药科学, 1999, 22(3): 14.  
JIANG Qing Lin, LI Yan Jun, XIN Hua, et al. Effects of Asl on insulin and C-peptide[J]. Heilongjiang Medicine and Pharmacy, 1999, 22(3): 14.
- [4] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 213.

(上接 145 页)

## 参考文献:

- [1] 黄新安, 宛晓春, 夏涛. 小花茉莉清香气品质研究[J]. 茶业通报, 2007, 29(2): 73-74.  
HUANG Xin'an, WAN Xiaochun, XIA Tao. The study on the faint scent quality of *Jasminum sambac* [J]. J Tea Business, 2007, 29(2): 73-74.
- [2] WATANABE N, MOON J H, SAKATA K, et al. Formation of flower fragrance compounds by enzymatic action during flower opening//BASER K H C. Flavours, Fragrances and Essential Oils [C]. Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils. Istanbul, 1995, 3: 216-235.
- [3] WATANABE N, WATANABE S, NAKAJIMA R, et al. Formation of flower fragrance compounds by enzymatic action during flower opening [J]. Biosci Biotech and Bioch, 1993, 57(7): 1101-1106.
- [4] MOON JH, WATANABE N, SAKATA K, et al. Linalyl  $\beta$ -D-glucopyranoside and its 6'-O-malonate as aroma precursors from *Jasminum sambac* [J]. Phytochemistry, 1994, 36(6): 1435-1437.
- [5] INAGAKI J, WATANABE N, MOON JH, et al. Glycosidic aroma precursors of 2-phenylethyl and benzyl alcohols from *Jasminum sambac* flowers [J]. Biosci Biotech Bioch, 1995, 59(4): 738-739.

- [6] 董尚胜, 大石久泰, 坂田完三, 等. 茉莉花中芳樟醇生成相关酶的精制[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 1999, 25(4): 421-424.  
DONG Shangsheng, OHISHI H, SAKATA K, et al. Purification of the enzyme concerned in linalool production from *Jasminum sambac* Ait [J]. J Zhejiang University: Agric & Life Sci, 1999, 25(4): 421-424.
- [7] 屠幼英, 童启庆, 赵芹, 等. 茉莉花芳樟醇  $\beta$ -D 吡喃葡萄糖苷酶的分离与纯化[J]. 茶叶科学, 2001, 21(2): 144-147.  
TU Youying, TONG Qiqin, ZHAO Qin, et al. The isolation and purification of LGA from *Jasminum sambac* Ait [J]. J Tea Sci, 2001, 21(2): 144-147.
- [8] 宛晓春, 汤坚. 黑曲霉  $\beta$ -葡萄糖苷酶的提纯与性质[J]. 菌物系统, 1998, 17(2): 154-159.  
WAN Xiaochun, TANG Jian. Purification and properties of a  $\beta$ -D-glucosidase of *Aspergillus niger* with the view of its utilization in fruit aroma liberation [J]. Mycosystema, 1998, 17(2): 154-159.
- [9] 李平, 宛晓春, 陶文沂, 等. 丝素蛋白膜固定  $\beta$ -葡萄糖苷酶及其改良食品风味的研究[J]. 菌物系统, 2004, 23(1): 73-78.  
LI Ping, WAN Xiaochun, TAO Wenyi, et al. Immobilization of  $\beta$ -D-glucosidase from *Aspergillus niger* on silk fibroin membrane and its use in enhancement of food aroma [J]. Mycosystema, 2004, 23(1): 73-78.