

不同产地黄芪饮片中多糖及甲苷含量比较

张立军^{1,2}, 王国祥^{1,2}

(1. 甘肃省农业科学院经济作物与啤酒原料研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院中药材研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 黄芪是常用补气药之一, 黄芪多糖和黄芪甲苷是其发挥药效的物质基础。以黄芪多糖和黄芪甲苷为评价指标, 比较甘肃、内蒙古、山西三个不同产地的黄芪饮片的质量差异。结果表明: 甘肃黄芪、内蒙古黄芪、山西黄芪的多糖含量分别为 22.87%、20.02%、22.29%; 甘肃黄芪的黄芪甲苷含量最高, 为 0.049%; 其次是山西黄芪, 黄芪甲苷含量为 0.026%, 内蒙古黄芪中黄芪甲苷含量最低, 仅为 0.002 7%。仅有甘肃黄芪的甲苷含量测定结果符合药典标准。分析认为药材生长年限是导致内蒙古黄芪与甘肃黄芪、山西黄芪甲苷含量之间差异较大的主要原因。该研究为黄芪种植、资源开发及合理使用提供参考依据。

关键词: 黄芪多糖; 黄芪甲苷; 含量; 苯酚-硫酸法; HPLC 法; 质量评价

中图分类号: S567 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2024)03-0251-05

[doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2024.03.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.2097-2172.2024.03.012)

Comparison Study on Contents of Astragaloside and Polysaccharide in *Astragali radix* Slices from Different Areas

ZHANG Lijun^{1,2}, WANG Guoxiang^{1,2}

(1. Institute of Industrial Crops and Malting Barley, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China;
2. Institute of Chinese Herbal Medicines, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: *Astragali radix* is one of the commonly used Qi-invigorating herbal medicines, with astragalus polysaccharides and astragalus saponins being the material basis for its medicinal effects. In this experiment, astragalus polysaccharide and astragalus saponins were used as evaluation parameters to compare the quality differences of *Astragali radix* slices from three different production areas: Gansu, Inner Mongolia, and Shanxi. Results showed that polysaccharide content of astragalus from Gansu, Inner Mongolia, and Shanxi was 22.87%, 20.02%, and 22.29%, respectively. Gansu *Astragali radix* had the highest astragalus saponins content at 0.049% followed by Shanxi *Astragali radix* at 0.026%, and Inner Mongolia *Astragali radix* had the lowest at only 0.002 7%. Only the astragalus saponins content of Gansu *Astragali radix* met the pharmacopoeia standards. The analysis suggested that the growth period of the medicinal materials was the main reason for the significant difference in astragalus saponins content between *Astragali radix* from Inner Mongolia and those from Gansu and Shanxi. This study provides a reference for the cultivation, resource development, and rational use of *Astragali radix*.

Key words: Astragalus polysaccharide; Astragaloside; Content; Phenol-sulfuric acid method; HPLC method; Quality evaluation

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao] 或膜荚黄芪 [*Astragalus membranaceus* (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]。黄芪味甘、微温, 归肺、脾经, 有补气升阳, 固

表止汗之功, 是常用的补气药。黄芪的有效成分大约有十几种, 主要为黄芪皂苷, 黄芪多糖、黄酮类化合物和氨基酸等。黄芪应用历史悠久, 南北朝以前, 黄芪以产地甘肃为佳, 四川、陕西等地次之。唐代黄芪产地向东北迁徙至陕西中部和宁夏南部。宋代甘肃和陕西所产黄芪质量较好,

收稿日期: 2023-10-11

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目(22ZY1QA001); 西北中药材全程机械化科研基地建设项目(2109-000000-20-01-199092); 甘肃省农业科学院科技创新项目(2019GAAS50、2022GAAS-CGZH13)。

作者简介: 张立军(1968—), 男, 甘肃兰州人, 助理研究员, 主要从事经济作物高效栽培与良种繁育工作。Email: 903084339@qq.com。

通信作者: 王国祥(1971—), 男, 甘肃宁县人, 研究员, 主要从事药用植物种苗繁育及质量控制研究工作。Email: 693120183@qq.com。

元代山西是黄芪的道地产地^[2]。古代黄芪的产地,从甘肃、四川向陕西、山西过渡,至清代时黄芪的道地产区已移至山西、蒙古。近代主要认为山西浑源、应县和甘肃陇西等地为黄芪优良产区和主产区^[3-4]。黄芪在 20 世纪 70 年代以前多为野生资源,70 年代后开始有人工种植,其产地近 50 a 来不断扩展,在全国各地的适宜生长区均有种植,但由于气候环境、栽培方式、田间管理的不同,不同产区的黄芪在具体成分含量上存在差异。

黄芪多糖是黄芪的重要活性成分之一,是评价黄芪质量的主要指标,其具有调节免疫、抗肿瘤、降血糖、抗衰老和抗炎等药理作用,是近年来研究的热点^[5]。黄芪甲苷是黄芪所含皂苷类成分中的主要单体活性物质,也是评价黄芪质量的主要指标和发挥药效的物质基础^[6],具有抗炎、抗氧化、免疫调节、调节代谢等药理作用,能抑制肿瘤细胞增殖,进一步抑制肺癌、结直肠癌、肝癌、宫颈癌、卵巢癌等癌症发展^[7],其抗肿瘤作用机制主要有抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡、阻滞细胞周期进程、抑制肿瘤细胞侵袭等,还能在一定程度上增强抗肿瘤药物敏感性和提高机体免疫力^[8]。由于黄芪甲苷可通过多种途径发挥抗肿瘤作用,在抗肿瘤治疗领域有广阔的应用前景^[9]。为考察市场流通的黄芪饮片质量,选用产地分别标注为甘肃、山西、内蒙古的黄芪饮片,以黄芪多糖、黄芪甲苷含量为评价指标,分别用苯酚-硫酸法测定黄芪多糖含量,HPLC 技术外标法测定黄芪甲苷含量,比较甘肃、内蒙古、山西 3 个不同产地的黄芪饮片的质量差异,以期为黄芪种植、资源开发及合理使用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料与仪器

供试材料为山西黄芪(产地:山西,生产商:山西浑源万生黄芪开发有限公司)、内蒙古黄芪(产地:内蒙古,生产商:榆林市广济堂中药开发有限责任公司)、甘肃黄芪(产地:甘肃,生产商:兰州安泰堂中药饮片有限公司)。对照品为无水葡萄糖、黄芪甲苷(均购自陕西宝鸡辰光生物科技有限公司)。供试试剂苯酚、香草醛、95%乙醇、甲醇、正丁醇、浓硫酸均为市售分析纯。

供试仪器有高效液相色谱仪(岛津 LC-20AT)、

紫外分光光度计(UV Bluestar 300424,北京莱伯泰科仪器有限公司)、HX203T 电子天平(慈溪市田东衡器厂制)、R1001-VN 旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司)、微孔滤膜(0.45 μm)等。

1.2 测定方法

1.2.1 黄芪多糖含量测定 ①多糖样品制备。将每个产地黄芪饮片分别制备 3 份多糖样品,即取黄芪饮片约 50 g 精密称定 3 份,各加 8 倍量水,浸泡 10 min,煎煮提取 3 次,每次煎煮 30 min,过滤去渣,煎煮液合并抽滤,浓缩至 100 mL。加入无水乙醇使含醇量达到 80%,沉淀静置过夜,醇沉初期可见黄芪多糖悬浮在 80%乙醇液中,形似豆花。抽滤收集淡黄色沉淀物,用无水乙醇洗涤,置 60 ℃烘箱干燥 6 h,即得黄芪粗多糖样品,均为淡黄色粉末^[10]。②标准曲线绘制。葡萄糖标准溶液的配制参考陈芳艳等^[11]的方法略有改进,具体如下:取葡萄糖对照品 10 mg,精密称定,加蒸馏水溶解,然后转移至 100 mL 的容量瓶中定容,配制成浓度 0.100 mg/mL 葡萄糖对照品储备液。参照陈芳艳等^[11]设计的浓度梯度,配制的葡萄糖对照品储备液稀释成 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.08、0.10 mg/mL 系列浓度,显色并测定吸光度(A),以葡萄糖浓度(C)为横坐标,A 为纵坐标,绘制标准曲线。③样品溶液的配制及含量测定。取黄芪粗多糖约 10 mg 精密称定 3 份,各加适量蒸馏水溶解,过滤,转移至 10 mL 容量瓶中稀释至刻度。精密吸取黄芪多糖样品溶液 2.0 mL,加入 5%的苯酚溶液 1.0 mL,摇匀后加入浓硫酸显色并测定吸光度^[11],根据标准曲线计算多糖样品溶液浓度。

$$R(\%) = [(C \times V_1 \times V_2 \times N) / (V_3 \times M \times 10^6)] \times 100$$

式中, R 为多糖提取率, C 是比色液浓度(mg/mL), V_1 是比色液体积(mL), V_2 是定容体积(mL), N 表示稀释倍数, V_3 是提供样品体积(mL), M 为试验样品质量(g)。

1.2.2 黄芪甲苷含量测定 ①黄芪甲苷样品制备。同 1.2.1 项操作,取黄芪饮片水煎煮提取后用正丁醇萃取黄芪总皂苷,水浴挥去正丁醇,用甲醇溶解定容。②标准曲线绘制。色谱条件: ZHROBAX E-clipse Plus C₁₈(4.6 mm × 250 mm × 5.0 μm) 色谱柱,流动相为乙腈:水(35:65),柱温 25 ℃,检测器

为示差光学检测器,温度 32 ℃,流速 1.0 mL/min。黄芪甲苷对照品的配制:取黄芪甲苷对照品 1 mg,加甲醇溶解定容。取对照品溶液,分别加甲醇稀释成浓度为 0.032、0.063、0.125、0.250、0.500 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,按上述色谱条件分别取样 10 μL ,注入高效液相色谱法色谱仪中。以对照品溶液浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,峰面积为纵坐标,计算黄芪甲苷标准曲线。③样品测定。精密吸取黄芪甲苷样品溶液 10 μL ,注入高效液相色谱仪,记录 HPLC 色谱图,根据黄芪甲苷的峰面积,按照标准曲线计算黄芪甲苷含量。

2 结果与分析

2.1 多糖含量

2.1.1 葡萄糖标准曲线 从表 1 可以得出,不同浓度葡萄糖对照品标准溶液吸光度测定结果绘制葡萄糖标准曲线,得到其标准回归方程为 $A=9.9875c-0.01698$ ($R^2=0.9986$),可见葡萄糖对照品标准溶液浓度在 0.01 ~ 0.10 mg/mL 的范围内线性关系良好。

表 1 葡萄糖对照品标准溶液测定结果

序号	C /(mg/mL)	A
1	0.01	0.086
2	0.02	0.165
3	0.03	0.282
4	0.04	0.382
5	0.05	0.462
6	0.06	0.596
7	0.08	0.782
8	0.10	0.988

2.1.2 黄芪多糖含量 各黄芪粗多糖样品分别显色测定吸光度,根据标准曲线计算含量。从测定结果(表 2)可以看出,供试 3 个样品的黄芪粗多糖含量由大到小依次为内蒙古黄芪(2.381 g)、甘肃黄芪(2.313 g)、山西黄芪(1.880 g),根据粗多糖量和

表 2 不同产地黄芪的多糖提取率及含量测定

供试黄芪	样品 粗多糖量 /g	样品 多糖量 /%	粗多糖 提取率 /%	药材多糖 含量 /%
甘肃黄芪	2.313	0.897 0	4.60	22.87
内蒙古黄芪	2.381	0.782 8	4.76	20.02
山西黄芪	1.880	0.873 5	3.76	22.29

多糖含量测定数据,计算不同产地黄芪药材中多糖含量为甘肃(22.87%)>山西(22.29%)>内蒙古(20.02%)。经分析认为,甘肃、内蒙古、山西黄芪的产地气候条件、降水量等均有很大的差异,可能是影响所生产黄芪中多糖含量的因素之一。

2.2 黄芪甲苷含量

2.2.1 黄芪甲苷标准曲线 分别吸取不同浓度黄芪甲苷对照品溶液,注入色谱仪,记录峰面积见表 3,其中以 0.500 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 HPLC 色谱图为例(图 1)。利用黄芪甲苷对照品溶液浓度及其峰面积得出黄芪甲苷标准曲线为 $y=144956x+3229.06$ ($R^2=0.9977$),说明在 0.032 ~ 0.500 mg/mL 浓度范围内线性关系表现良好。

表 3 不同黄芪甲苷对照品溶液浓度及峰面积

序号	黄芪甲苷对照品溶液浓度 /(mg/mL)	峰面积
1	0.032	7 139
2	0.063	12 269
3	0.125	20 831
4	0.250	41 768
5	0.500	74 744

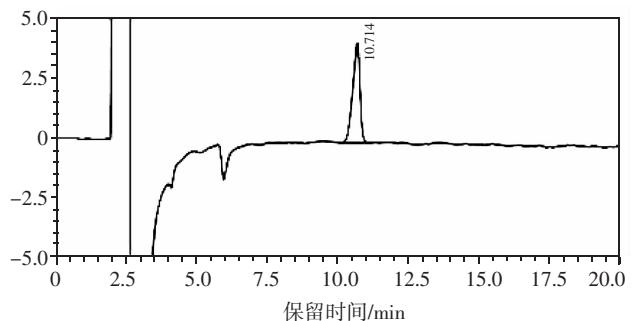


图 1 0.500 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 HPLC 色谱图

2.2.2 黄芪甲苷含量比较 取不同产地黄芪甲苷样品,配制成不同浓度样品溶液,HPLC 进样测定,黄芪甲苷峰面积如下:甘肃黄芪分别为 3 517、8 555、61 836,内蒙古黄芪分别为 3 202、0、5 756,山西黄芪分别为 10 553、21 340、9 075(图 2)。根据黄芪甲苷样品的 HPLC 色谱图中峰面积的平均值,按照黄芪甲苷对照品的线性回归方程,计算制备的不同产地样品中黄芪甲苷含量,通过计算得到 3 个不同地区黄芪药材中黄芪甲苷含量(表 4)。

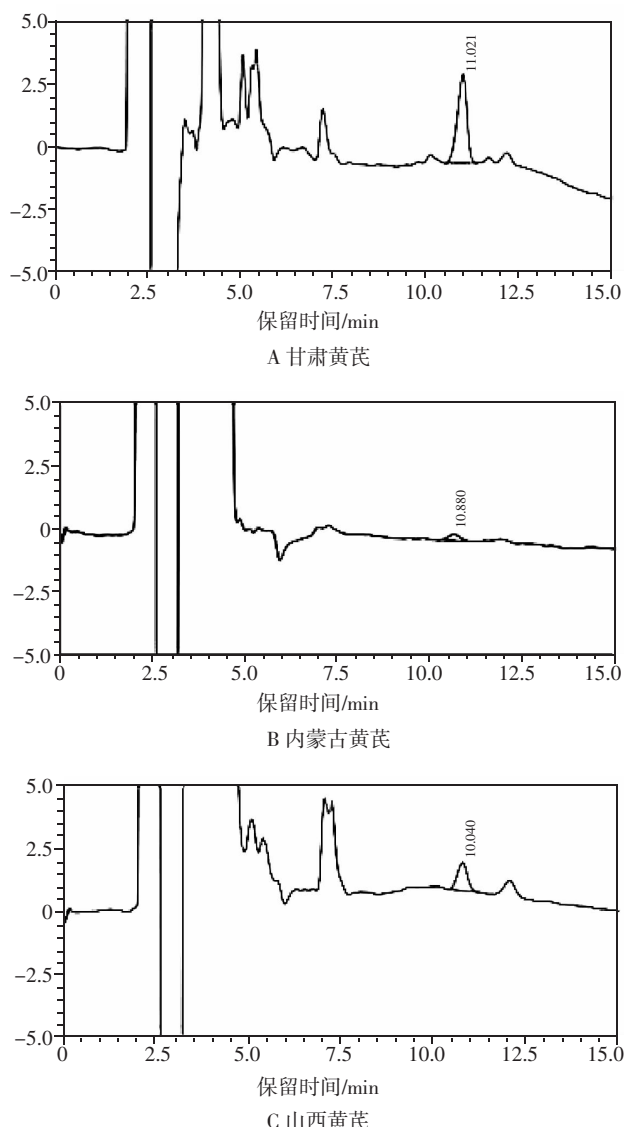


图 2 不同产地部分黄芪样品中黄芪甲苷 HPLC 色谱图

表 4 不同产地黄芪的黄芪甲苷含量

产地	药材用量 /g	黄芪甲苷供试品用量 /mL	黄芪甲苷含量 ^① /%
甘肃	50.01	8.3	0.003 2
	50.03	8.4	0.006 2
	50.02	6.1	0.049 0
内蒙古	50.00	8.3	0.003 0
	50.02	8.1	-
	50.03	8.2	0.002 7
山西	50.01	10.3	0.011 0
	50.02	10.4	0.026 0
	50.01	10.6	0.006 5

①“-”表示未检出。

由表 4 可见，甘肃黄芪、山西黄芪的 3 个样品中黄芪甲苷均有检出。3 个不同产地黄芪饮片中黄芪甲苷的含量以甘肃黄芪最高，为 0.049%；其次是山西黄芪，含量为 0.026%，内蒙古黄芪中黄

芪甲苷的含量最低，仅为 0.002 7%。按照《中华人民共和国药典》(2020 版)黄芪药材含量测定项下规定，“按干燥品计算，含黄芪甲苷(C₄₁H₆₈O₁₄)不得少于 0.040%”^[1]。可知甘肃黄芪的含量测定结果符合药典标准。

3 讨论与结论

选用水提醇沉法进行黄芪多糖提取，多糖的含量直接测定方法有苯酚-浓硫酸比色法和蒽酮-浓硫酸比色法，苯酚-硫酸法可测定甲基化的糖、戊糖和多聚糖，而蒽酮-硫酸法测定的是溶液中全部碳水化合物总量，所测值一般高于苯酚-硫酸法^[12-13]。本研究采取苯酚-硫酸法测定多糖含量，结果显示，甘肃产黄芪饮片多糖含量(22.87%)与山西产黄芪饮片多糖含量(22.29%)接近，均高于内蒙古产黄芪饮片多糖含量(20.02%)。

黄芪甲苷样品的制备及高效液相流动相配比有较多文献报道^[14-18]，根据实验仪器所得样品色谱图比较，选择乙腈-水(35:65)进行洗脱。试验结果表明，不同产地黄芪质量确实存在明显差异，以黄芪多糖和黄芪甲苷为质量评价指标，产地标示为甘肃陇西的黄芪质量最好，产地标示为内蒙古的黄芪质量最差。这一结果与姚静等^[19-20]的报道基本一致，山西产黄芪的皂苷含量与甘肃产样品中相近，显著高于内蒙古产样品。杨长华等^[21]的研究结果显示内蒙古黄芪的总皂苷、甲苷含量均高于甘肃和山西，比较分析后发现，两者的试验样品制备时所用溶剂和操作方法均不同，分别使用甲醇回流提取和水煎煮提取，这也反映出溶剂和方法对样品制备和含量检测结果有很大影响。

试验所用黄芪饮片分别购自不同生产厂家，标示产地也不同。观察饮片外观，甘肃、内蒙古和山西等 3 个不同产区黄芪饮片直径有一定的差异，其中内蒙古黄芪的直径最大，约 1.2~1.5 cm；其次是甘肃黄芪，直径约 0.8~1.0 cm；最后是山西黄芪，直径为 0.5~0.8 cm。经分析，黄芪直径的大小与所含黄芪多糖和黄芪皂苷有一定的关系，黄芪主根和侧根中有效成分含量也会有明显的差异，黄芪侧根有效成分的含量要远远高于黄芪主根^[22]。杨少杰等^[23]研究发现，生长年限对蒙古黄芪质量有显著影响，主根长、侧根数、芦头直径

等外观质量指标前 3 a 增长快, 从第 4 年开始增长变缓; 水溶性浸出物含量和黄芪甲苷含量前 4 年增加快, 从第 5 年开始含量反而有所下降。张瑞等^[24]也认为生长年限是影响黄芪药材内外在质量的关键因素。由于文献及本试验结果均反映出不同产地的黄芪饮片中多糖和皂苷含量存在差异, 建议种植者要严格按照最佳生长年限采收, 饮片加工企业应把好原料关, 为市场提供合格的黄芪饮片。国家推行的《中药材生产质量管理规范》对不同产地的栽培管理提出明确要求, 实行“六统一”(统一规划生产基地; 统一供应种子种苗或其它繁殖材料; 统一肥料、农药或者饲料、兽药等投入品管理措施; 统一种植或者养殖技术规程; 统一采收与产地加工技术规程; 统一包装与贮存技术规程), 黄芪作为大宗药食两用药材, 进一步完善其质量控制和评价标准迫在眉睫。

本研究结果表明, 甘肃、内蒙古、山西产黄芪多糖含量分别为 22.87%、20.02%、22.29%。甘肃黄芪的黄芪甲苷含量最高, 为 0.049 0%; 其次是山西黄芪, 黄芪甲苷含量为 0.026 0%; 内蒙古黄芪中黄芪甲苷含量最低, 仅为 0.002 7%。仅有甘肃黄芪的甲苷含量测定结果符合药典标准(按干燥品计, 含黄芪甲苷不得少于 0.040 0%)。分析认为, 甘肃、内蒙古、山西产黄芪的黄芪甲苷含量差异的主要原因是受药材生长年限影响。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 315
- [2] 杨薇, 孙志蓉, 岳楚红, 等. 黄芪产地及品种变迁的研究[C]//中国商品学会. 第三届中国中药商品学术年会暨首届中药葛根国际产业发展研讨会论文集, 长沙: 出版者不详, 2012.
- [3] 赵之一. 黄芪植物来源及其产地分布研究[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1189-1190.
- [4] 陈士林, 魏建和, 孙成忠, 等. 中药材产地适宜性介析地理信息系统的开发及蒙古黄芪产地适宜性研究[J]. 世界科学技术, 2006, 8(3): 47-53.
- [5] 杨乾方, 王帆, 叶婷, 等. 黄芪多糖提取工艺、化学结构及药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(12): 4069-4081.
- [6] 白海英, 张凯雪, 包芳, 等. 黄芪和红芪对比研究进展[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(3): 460-466.
- [7] 马宏秀, 张治祥. 黄芪的药理研究进展[J]. 陕西中医药大学学报, 2004, 27(5): 73-75.
- [8] 孟丹丹, 李宗新, 贾瑞雪, 等. 黄芪甲苷抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(3): 1002-1009.
- [9] 陈凤琴, 樊涛, 宁月, 等. 基于网络药理学及体外实验探讨黄芪甲苷治疗胃癌的机制[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(9): 1236-1244.
- [10] 韩真贤, 张宇, 张云杰, 等. 黄芪多糖三种提取工艺比较[J]. 黑龙江医药科学, 2009, 32(4): 72-73.
- [11] 陈芳艳, 梁永彬, 王林川, 等. 黄芪多糖提取方法的研究[J]. 广东畜牧兽医科技, 2004, 29(5): 37-38.
- [12] 万晓莹, 刘振丽, 宋志前, 等. 中药多糖含量测定方法研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(7): 1175-1178.
- [13] 刘晓涵, 陈永刚, 林励, 等. 蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定枸杞子中多糖含量的比较[J]. 食品科技, 2009, 34(9): 270-272.
- [14] 刘浩文, 刘嘉仪, 杨妙荣, 等. 黄芪药材中黄芪甲苷含量测定的两种方法的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(6): 659-662.
- [15] 马艳蓉, 刘泓, 柴国林, 等. HPLC-ELSD 测定黄芪中黄芪甲苷含量及相关试验条件选择的探讨[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 17-19.
- [16] 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.
- [17] 田丰, 邓英杰. HPLC 法测定黄芪中的黄芪甲苷含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2000, 17(1): 43-45.
- [18] 黄亚非, 刘杰, 黄际薇, 等. HPLC 测定黄芪药渣中黄芪甲苷含量[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2009, 48(2): 146-148.
- [19] 姚静, 杨晓宁, 朱平, 等. HPLC-CAD 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地黄芪质量[J]. 中成药, 2022, 44(10): 3214-3219.
- [20] 姚静, 孙欣光, 董蓉, 等. HPLC-CAD 一测多评法同时测定黄芪中 6 种成分含量[J]. 药学报, 2021, 56(2): 557-564.
- [21] 杨长花, 程芬, 李慧, 等. 4 个主要黄芪产地黄芪质量比较[J]. 西部中医药, 2019, 32(1): 27-31.
- [22] 韩亚红, 李鸿雁. 黄芪甲苷在黄芪主根侧根分布[J]. 北方药学, 2006, 3(3): 25-26.
- [23] 杨少杰, 樊良帅, 晋小军, 等. 生长年限对蒙古黄芪质量的影响[J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(1): 60-64.
- [24] 张瑞, 曹庆伟, 李科, 等. 黄芪药材性状和化学特征与绝对生长年限的相关性分析研究[J]. 中草药, 2020, 51(2): 451-460.