不同来源黄芪中黄芪总皂苷含量比较研究△

刘凤波[1]，侯俊玲[1*]，王文全[1,2,3*]，于福来[4]，赵志刚[1]，郜舒蕊[1]，韩亚男[1]

（1. 北京中医药大学 中药学院，北京　100102；
2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所，北京　100193；
3. 中药材规范化生产教育部工程研究中心，北京　100102；
4. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室，海南　儋州　571737）

［摘要］　**目的：**比较全国不同来源黄芪中总皂苷含量。**方法：**采用紫外分光光度法测定黄芪总皂苷含量，以黄芪甲苷为对照品，测定波长为 541 nm。**结果：**全国黄芪总皂苷平均含量为 20.18 $mg \cdot g^{-1}$，蒙古黄芪总皂苷平均含量为 21.06 $mg \cdot g^{-1}$，膜荚黄芪总皂苷平均含量为 19.37 $mg \cdot g^{-1}$；野生黄芪药材总皂苷平均含量为 21.33 $mg \cdot g^{-1}$，人工种植黄芪药材总皂苷平均含量为 19.06 $mg \cdot g^{-1}$，半野生栽培黄芪药材总皂苷平均含量为 18.97 $mg \cdot g^{-1}$。**结论：**不同来源黄芪药材总皂苷含量具有明显差异。

［关键词］　蒙古黄芪；膜荚黄芪；黄芪总皂苷；紫外分光光度法；含量比较

黄芪是我国重要的大宗常用中药材之一，为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*（Fisch.）Bge. 或蒙古黄芪 *A. membranaceus*（Fisch.）Bge. var. *mongholicus*（Bge.）Hsiao 的干燥根，具有补气升阳，固表止汗，利水消肿，生津养血，行滞通痹，托毒排脓，敛疮生肌功能[1]。其中皂苷类成分为黄芪中主要的有效成分之一，具有降压、抗炎、镇静、镇痛、调节代谢等作用[2-4]，是黄芪注射液[5]、参芪注射液[6]、补中益气丸[7]等常用中成药的主要有效成分。

黄芪在我国分布较广，主要生长于内蒙古、山西、甘肃、黑龙江、吉林、辽宁、陕西、河北、山东、宁夏等地，此外青海、四川、新疆等地区以及朝鲜、蒙古、俄罗斯亦有分布[8]。有关学者对不同产地黄芪中所含化学成分种类研究成果大致相同，但由于环境及人为等因素致使其有效成分含量并不完全一样[9-10]。

作者依据黄芪的道地产区和主产区，并兼顾其他分布区的原则，对内蒙古、山西、甘肃等 10 个省份不同基原、不同种植方式的黄芪药材进行调查与采集，利用紫外分光光度法测定黄芪药材中总皂苷（astragali total saponins，ATS）的含量，以期明确我国黄芪药材中黄芪总皂苷的整体含量，进而对以黄芪为主的中成药的生产、临床使用以及药理作用研究产生一定的指导意义。

1　仪器与试药

1.1 仪器

BP211D 型电子分析天平；KQ500DE 型数控超声波清洗器；FW100 型高速万能粉碎机；DHG-9140A 鼓风干燥箱；SP-754（PC）紫外可见分光光度计（杭州艾普仪器设备有限公司）。

1.2 试药

黄芪甲苷对照品（上海融禾医药科技有限公司，批号：110702），水为娃哈哈纯净水。正丁醇、氨水、冰醋酸、高氯酸均为分析纯。

1.3 材料

于 2010 年 7～8 月调查采集山西、内蒙古、甘肃、河北、黑龙江、吉林、宁夏、陕西、辽宁以及山东等 10 省份共计 118 个样方黄芪药材，包括 55 个蒙古黄芪和 63 个膜荚黄芪样方在内的 61 个野生样方，52 个

△［基金项目］　珍稀濒危和大宗常用药用植物资源调查——膜荚黄芪与蒙古黄芪资源调查（2010FY110600）；北京中医药大学在读研究生自主选题项目（2011-JYZBB-XS060）

*［通讯作者］　侯俊玲，E-mail：mshjl@126.com；王文全，Tel：（010）84738334，E-mail：wwq57@126.com

人工种植样方及 5 个半野生栽培(即将种子播种在山上，6～8 年后采挖，此栽培方式为半野生栽培）样方。经北京中医药大学王文全教授鉴定，为豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *A. membranaceus*(Fisch.) Bge. 或蒙古黄芪 *A. membranaceus*(Fisch.) Bge. var. *mongholicus*(Bge.) Hsiao 的干燥根，凭证标本保存于北京中医药大学中药资源系实验室。将黄芪药材分别烘干、称重、粉碎，粉末全部过 60 目筛，于 50 ℃烘干，备用。实验材料来源情况汇总见表 1。

表 1　黄芪来源统计

产　地	种植方式			基原植物		合计
	野生	人工种植	半野生	蒙古黄芪	膜荚黄芪	
内蒙古	22	10	0	22	10	32
山　西	4	0	5	9	0	9
甘　肃	5	9	0	9	5	14
陕　西	1	9	0	9	1	10
黑龙江	15	3	0	0	18	18
吉　林	4	6	0	0	10	10
辽　宁	4	2	0	0	6	6
河　北	0	4	0	3	1	4
山　东	3	6	0	0	9	9
宁　夏	3	3	0	3	3	6
合　计	61	52	5	55	63	118

2　方法

2.1 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品 2.07 mg，精密称定，置于 10 mL 容量瓶中，加适量甲醇溶解并定容至刻度，摇匀，即得 0.207 mg·mL^{-1} 黄芪甲苷的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取黄芪药材粉末(过 60 目筛）0.5 g，精密称定，加甲醇 25 mL，加热回流 1 h，过滤，减压回收甲醇(65 ℃)，残渣用25 mL 水饱和正丁醇分3 次转移至分液漏斗中，氨试液洗涤 3 次，每次 15 mL，正丁醇层减压回收至干，用甲醇溶解，溶液转移至 25 mL 量瓶中并定容至刻度，摇匀，即得黄芪总皂苷的供试品溶液。

2.3 溶液的显色

分别精密量取对照品溶液和供试品溶液各 0.5 mL，于具塞玻璃试管中，空气吹干后，加质量分数为 5% 的香草醛－冰醋酸溶液 0.2 mL，高氯酸溶液 0.8 mL，于 60 ℃水浴加热 20 min，取出后立即冰浴，冷却至室温，再加入冰醋酸 5 mL，摇匀，用于吸光度测定。

2.4 测定波长的选择

分别精密量取对照品溶液和样品(浑源县半野生蒙古黄芪）溶液各 1 mL 于具塞玻璃试管中，按照 **2.3** 中方法进行显色，在 200～800 nm 波长范围内进行扫描，对照品溶液和样品溶液在 541 nm 均有较大吸收，故确定黄芪总皂苷测定波长为 541 nm。

2.5 方法学考察

2.5.1 标准曲线绘制　精密量取黄芪甲苷对照品溶液(0.207 mg·mL^{-1}）0.2，0.5，1.0，1.5，2.0，2.5 mL，分别按 **2.3** 项溶液显色中相应要求同法操作，以空白溶剂同法处理作参比，于 541 nm 波长下测定，以吸光度 A 为纵坐标(Y)，对照品质量为横坐标(X)，绘制标准曲线并进行回归计算，得到黄芪甲苷标准曲线回归方程 $Y = 1.778X - 9 \times 10^{-3}$，$r = 0.999$。黄芪甲苷在 41.4～517.5 μg 内呈良好线性关系。

2.5.2 精密度试验　分别取黄芪甲苷对照品溶液适量，依次按 **2.3** 项下要求同法操作，连续测定 5 次，测得吸光度值，外标一点法求得总皂苷含量，RSD = 1.02%，结果表明仪器精密度良好。

2.5.3 重复性试验　取同一批药材(浑源县半野生蒙古黄芪)，依次按 **2.2** 和 **2.3** 项下要求同法操作，测得吸光度值，外标一点法求得黄芪总皂苷含量，RSD = 1.04%($n = 6$)，结果表明本方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验　分别取对照品溶液 3 份(1.0 mL)，依次按 **2.3** 项下要求同法操作，室温放置，分别在 0，1，2，4，6，8，10，12，24 h 测定吸光度值，外标一点法求得黄芪总皂苷含量，计算 RSD = 1.01%，结果表明对照品溶液显色后室温放置 24 h 内稳定性良好。

分别取同一批药材(浑源县半野生蒙古黄芪）3 份，依次按 **2.2** 和 **2.3** 项下要求同法操作，室温放置，分别在 0，1，2，4，6，12 h 测定吸光度值，外标一点法求得黄芪总皂苷含量，计算 RSD = 1.00%，结果表明供试品溶液显色后室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 回收率试验　取黄芪药材 9 份(锡林郭勒盟野生蒙古黄芪)，每份 0.5 g，精密称定，分别加入不同量的黄芪甲苷对照品适量，制备低、中、高不同浓度的供试品溶液，每一浓度 3 份，按 **2.2** 和 **2.3** 项下要求同法操作，测定吸光度，黄芪总皂苷平均回收率为 98.5%(RSD = 1.49%)。

2.6 实际样品测定

每批黄芪药材平行取 3 份，每份 0.5 g，精密称定，按 **2.2** 和 **2.3** 项下操作，测定吸光度，代入标准曲线，计算黄芪总皂苷含量。

3　结果与分析

使用 SPSS 统计分析软件对数据进行分析，结果如下。

3.1 不同基原黄芪总皂苷含量分析

通过对所有样方中黄芪药材进行测定，全国黄芪总皂苷含量平均为 20.18 $mg \cdot g^{-1}$。其中，全国各产地的蒙古黄芪和膜荚黄芪总皂苷含量平均值分别为 21.06 $mg \cdot g^{-1}$ 和 19.37 $mg \cdot g^{-1}$，通过进行独立样本 t 检验，两者差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。

3.2 不同种植方式黄芪总皂苷含量分析

通过对野生黄芪、半野生黄芪、人工种植黄芪 3 种不同种植方式的黄芪药材进行总皂苷含量的测定，经分析，不同种植方式的黄芪药材中总皂苷含量差异具有统计学意义（$P < 0.05$），野生黄芪与人工种植黄芪药材中总皂苷含量差异具有统计学意义（$P < 0.01$）。其中，野生黄芪含量最高（21.33 $mg \cdot g^{-1}$），为半野生黄芪（18.97 $mg \cdot g^{-1}$）及人工种植黄芪（19.06 $mg \cdot g^{-1}$）的 1.13 倍和 1.12 倍。

3.3 全国不同产地黄芪总皂苷含量分析

通过对内蒙古、山西、甘肃、陕西、河北、宁夏、黑龙江、吉林、辽宁及山东共 10 个省份产黄芪药材总皂苷测定分析，结果表明不同产地之间黄芪药材总皂苷含量差异有统计学意义（$P < 0.01$）。其中总皂苷含量最高的省份为内蒙古自治区（22.93 $mg \cdot g^{-1}$），为总皂苷含量最低的山东省（15.74 $mg \cdot g^{-1}$）的 1.46 倍，其次为河北省（22.32 $mg \cdot g^{-1}$）和辽宁省（22.18 $mg \cdot g^{-1}$）。全国不同产地黄芪总皂苷含量对比见图 1。

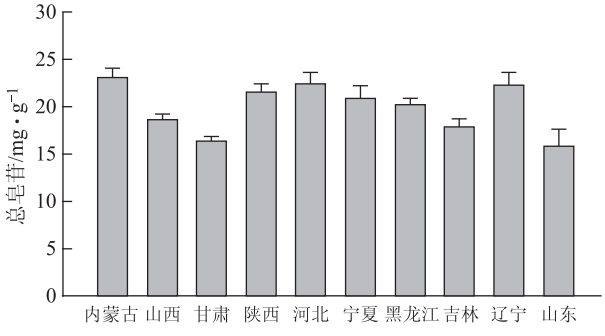

图 1　全国不同产地黄芪总皂苷含量对比图

多重比较分析结果表明，内蒙古黄芪总皂苷含量（22.93 $mg \cdot g^{-1}$）显著高于山西、甘肃、黑龙江、吉林以及山东（$P < 0.05$）。河北省黄芪总皂苷含量（22.32 $mg \cdot g^{-1}$）和辽宁省黄芪总皂苷含量（22.18 $mg \cdot g^{-1}$）显著高于山东省（$P < 0.05$）。山西、陕西、宁夏、黑龙江及吉林黄芪总皂苷含量差异相互之间无统计学意义。

3.3.1 各产地蒙古黄芪中总皂苷含量分析　通过对内蒙古、山西、甘肃、陕西、河北及宁夏产蒙古黄芪进行总皂苷测定，各产地总皂苷含量差异具有统计学意义（$P < 0.05$）。总皂苷平均含量最高的为河北省和内蒙古自治区，分别为 23.75 $mg \cdot g^{-1}$ 和 23.55 $mg \cdot g^{-1}$，为总皂苷含量最低的甘肃省样品（16.55 $mg \cdot g^{-1}$）的 1.44 倍和 1.42 倍。各产地蒙古黄芪总皂苷含量测定结果对比见图 2。

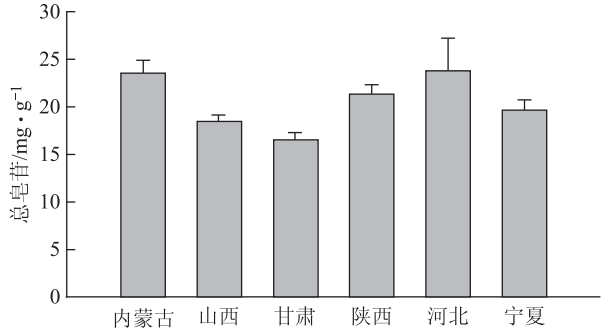

图 2　各产地蒙古黄芪总皂苷含量对比图

3.3.2 各产地膜荚黄芪中总皂苷含量分析　通过对内蒙古、黑龙江、吉林、辽宁、宁夏、甘肃、山东、河北以及陕西产膜荚黄芪进行总皂苷测定，各产地总皂苷含量差异具有统计学意义（$P < 0.05$），总皂苷平均含量最高的陕西省（23.14 $mg \cdot g^{-1}$）为含量最低的甘肃省样品（15.64 $mg \cdot g^{-1}$）的 1.48 倍。各产地膜荚黄芪中总皂苷含量测定结果对比见图 3。

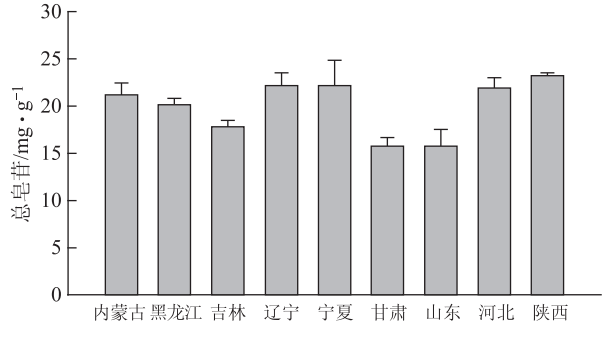

图 3　各产地膜荚黄芪总皂苷含量对比图

4　结论与讨论

4.1 不同来源黄芪总皂苷含量差异明显

研究所用黄芪药材均为本研究团队在较短时间内在黄芪分布区采集的样品，保证了药材来源的准确性和可比性。分析结果显示，蒙古黄芪和膜荚黄芪中总皂苷的含量差异具有统计学意义，蒙古黄芪中总皂苷含量高于膜荚黄芪，该结论与 1984 年《76 种药材商品规格标准》中优先发展蒙古黄芪的结论相吻合[11]。野生黄芪药材中总皂苷含量较人工种植黄芪高，导致这种差异的原因可能是由于种植方式、生长环境及生长年限等因素，该结论与刘靖等研究结论相一致[12]，并更具有代表性，因此，在开发黄芪皂苷类相关的过程中可优先考虑野生黄芪药材。在对全国黄芪药材进行采集过程中，黑龙江、吉林、辽宁以及山东等四省没有采集到蒙古黄芪药材，可能原因为地理、气候及人为因素导致上述地区没有蒙古黄芪分布，具体原因尚待进一步研究；山西省没有采集到膜荚黄芪药材，说明蒙古黄芪和膜荚黄芪分布并不完全一致，该结论与赵一之[13]的研究报道并不完全一致。

4.2 黄芪总皂苷含量高低与黄芪传统道地产区划分并不完全一致

传统道地产区之一内蒙古自治区所产的黄芪中总皂苷含量均较其他省份高，而传统道地产区山西、黑龙江省所产黄芪中总皂苷含量并非较高。黄芪主产区甘肃省和山东省产黄芪中总皂苷含量均较低，而河北省及辽宁省产黄芪总皂苷含量仅次于内蒙古地区。黄芪的道地性受多方面因素的影响，分析结果显示黄芪总皂苷含量与黄芪道地产区的分布并不完全一致，影响黄芪总皂苷含量的气候、环境等因素以及其与黄芪甲苷存在何种相关性仍需进一步考察。

尽管有部分学者对黄芪总皂苷含量提取及含量测定方法进行了较多的研究[14-16]，但系统地对不同来源的黄芪进行总皂苷含量测定鲜有报道[17]，只有在较全面的调查分析基础上才能制定更加合理的开发方案。因此，为了对不同来源的黄芪进行更加合理的开发，需要对黄芪中多种有效成分进行测定分析。针对多来源黄芪，建议一方面应加大力度保护野生药材，保护野生黄芪产地生态环境；另一方面，针对不同来源的黄芪制定相应合理的质量标准，争取实现一药一品一标准。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京：中国医药科技出版社，2010：283.

[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.

[3] 张继，徐纪民. 黄芪的本草考证[J]. 中国药师，1999，2(4)：211.

[4] 潘燕，张硕，张岫美. 黄芪的药理作用与临床应用研究进展[J]. 食品与药品，2006，8(9)：5.

[5] 李永吉，管庆霞，关延彬，等. HPLC 与比色法测定复方黄芪注射液中总皂苷与黄芪甲苷含量[J]. 黑龙江医药，2004，17(1)：1.

[6] 柳润辉，徐希科，苏娟，等. 参芪注射液对犬急性心肌缺血的保护作用[J]. 中药新药与临床药理，2005，16(4)：236.

[7] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京：中国医药科技出版社，2010：780.

[8] 栾江. 补气名药——中药黄芪[J]. 黑龙江医药，2007，20(1)：68.

[9] 郑美蓉，陈鑫，牟宗涛，等. 紫外分光光度法测定不同产地黄芪中总皂苷含量[J]. 吉林医药学院学报，2009，30(2)：80.

[10] 江燕，晁若冰. 黄芪药材中黄芪甲苷和总皂苷含量的比较[J]. 华西药学杂志，2007，22(3)：322.

[11] 卫生部，国家医药管理局. 76 种药材商品规格标准[S]. 1984.

[12] 刘靖，杨华，朱雪梅，等. 内蒙古武川县大青山地区蒙古黄芪野生品与栽培品的比较研究[J]. 中国中药杂志，2011，36(12)：1577.

[13] 赵一之. 黄芪植物来源及其产地分布研究[J]. 中草药，2004，35(10)：1189.

[14] 赵玉清，杨天鸣，罗源，等. 近红外透射光谱法测定黄芪提取液中总皂苷含量[J]. 化学与生物工程，2009，26(2)：73.

[15] 王培培，许杜娟，夏泉. 黄芪皂苷的提取及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志，2010，16(4)：27.

[16] 宋肖炜，李清，罗琥捷，等. 黄芪药材的综合质量评价[J]. 沈阳药科大学学报，2011，28(8)：599.

[17] 郑美蓉，陈鑫，牟宗涛，等. 紫外分光光度法测定不同产地黄芪中总皂苷含量[J]. 吉林医药学院学报，2009，30(2)：80.

Comparation of the Contents of Astragali Total Saponins among Different Origins

LIU Feng-bo[1], HOU Jun-ling[1*], WANG Wen-quan[1,2,3*], YU Fu-lai[4,1], ZHAO Zhi-gang[1], HAO Shu-rui[1], HAN Ya-nan[1]

(1. *School of Chinese Pharmacy*, *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 100102, *China*;

2. *Institute of Medicinal Plant Development*, *Chinese Academy of Medical Sciences and Peking UnionMedical College*, *Beijing* 100193, *China*;

3. *Engineering Research Center of Good Agricultural Practice for Chinese Crude Drugs*, *Ministry of Education*, *Beijing* 100102, *China*)

4. *Tropical Crops Genetic Resources Institute*, *Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China*, *Danzhou* 571737, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To investigate the contents of astragali total saponins (ATS) in Astraglus among different origins. **Methods**: They are measured by the method of ultraviolet spectrophotometry, Astragaloside IV was used as index, the test wavelength was 416 nm. **Results**: The ATS average content of the whole country was 20.18 $mg \cdot g^{-1}$, the ATS content in astragali radix from *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao was 21.06 $mg \cdot g^{-1}$, from *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. was 19.37 $mg \cdot g^{-1}$, the content of ATS in wild, cultured, semi-wild samples were 21.33, 19.06 and 18.97 $mg \cdot g^{-1}$ respectively. **Conclusion**: The contents of ATS in Astragalus among different habitats have obvious difference.

[**Key words**]　*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao; *A. membranaceus* (Fisch.) Bge.; Astragali total saponins; Ultraviolet spectrophotometry; Contents comparison

(收稿日期　2012-12-21)