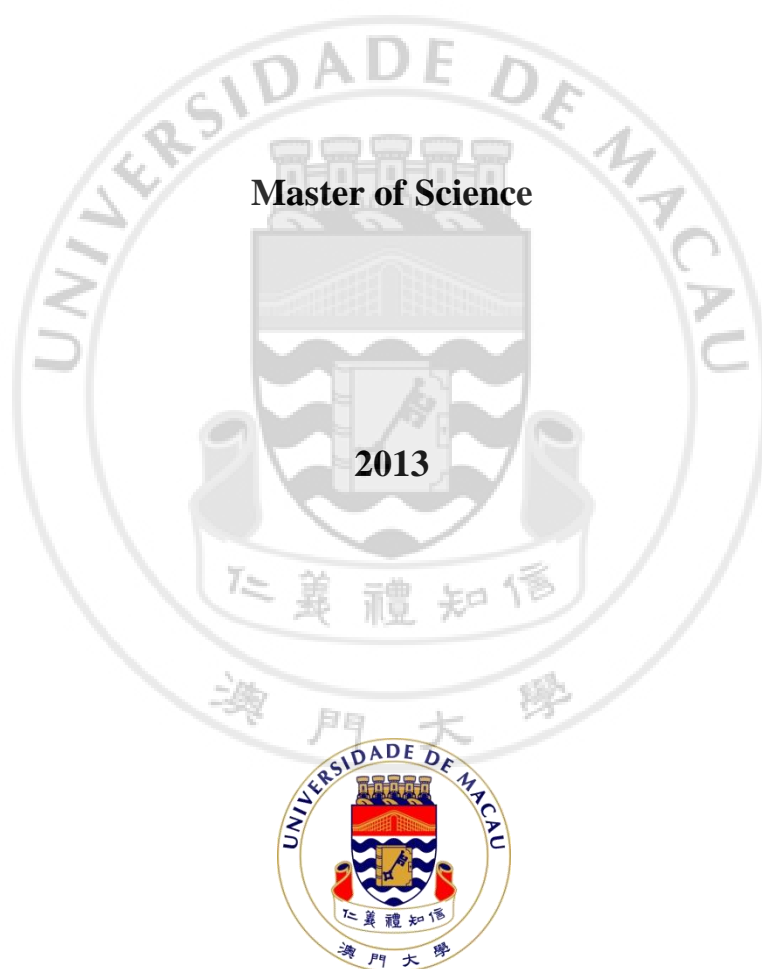


**Chemical analysis of total solids in Radix Astragali
(*Huangqi*) injection**

by

Liu Xiaomei



Master of Science

2013

Institute of Chinese Medical Sciences

University of Macau

Chemical analysis of total solids in Radix Astragali (*Huangqi*) injection

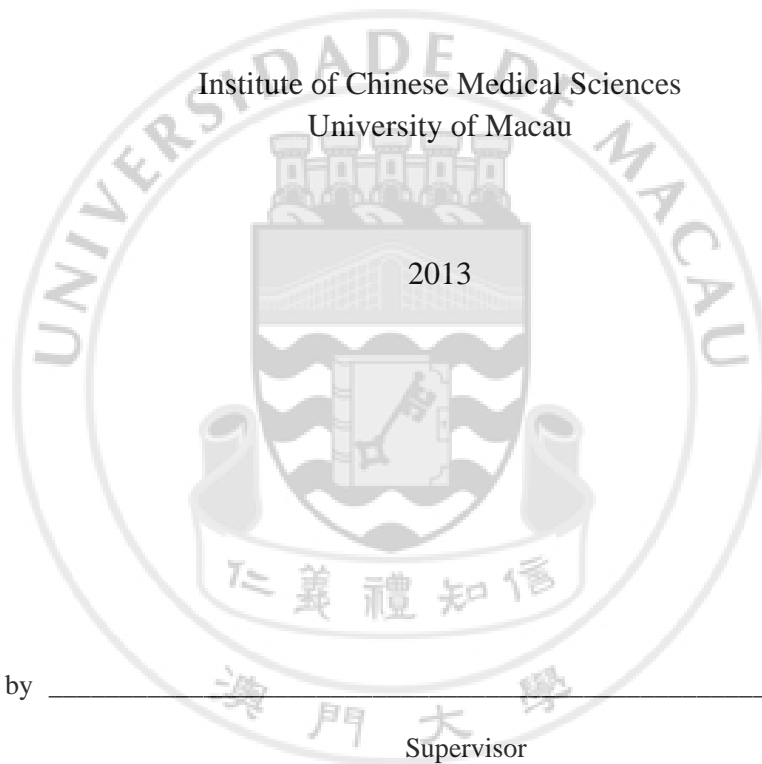
by

Liu Xiaomei

A thesis submitted in partial fulfillment of the
requirements for the degree of

Master of Science

Institute of Chinese Medical Sciences
University of Macau



Approved by _____

Supervisor

Date _____

In presenting this thesis in partial fulfillment of the requirements for a Master's degree at the University of Macau, I agree that the Library and the Institute of Chinese Medical Sciences shall make its copies freely available for inspection. However, reproduction of this thesis for any purposes or by any means shall not be allowed without my written permission. Authorization is sought by contacting the author at

Address:

Telephone:

Fax:

E-mail:



碩士學位論文

黃芪注射液總固形物主要化學成分分析



研究生姓名： 劉曉妹

導 師： 李紹平 教授

專 業： 中 藥 學

日 期： 2013.7



澳門大學中華醫藥研究院

致謝

時光荏苒、歲月如梭，在澳門大學短暫而充實的兩年學習生活即將結束，兩年中我不僅收穫了豐富的知識，更收穫了寶貴的人生經歷。

首先衷心地感謝我的導師李紹平教授兩年來對我學業的指導和生活的關心，您以豐富的人生閱歷和寶貴的科研經驗，讓剛開始對科研懵懂的我不斷的開闊思路，積極創新；您嚴謹求實的治學態度、高度的敬業精神以及兢兢業業、精益求精的工作作風使我受益匪淺。

感謝王一濤教授、李銘源教授、鄭穎副教授、張慶文博士、燕茹博士、許貝文博士、陳修平博士、趙靜博士、陸金健博士、陳美婉博士對基礎理論知識和技能的傳授和指導，感謝實驗室技術員 Leon, Kio 以及 Dorian 對我實驗的支持和幫助，為我們營造了良好的實驗環境。

感謝趙靜博士和喬春峰博士對我的課題及研究生學習中的指導和幫助；感謝質量控制實驗組所有師兄師姐對我實驗的協助和精神的鼓勵，使我的課題進展的更加順利；感謝與我共度兩年學習生涯的研究生同學們，是你們讓我的研究生生活更加豐富多彩；感謝所有幫助我關心我的老師和同學們！

感謝上海市食品藥品檢驗所季申研究員為本課題提供的樣品，保證實驗能夠順利進行！

深深地感謝我的家人以及高進對我物質上的無私支持和精神上的鼓勵，你們的包容與理解是支持我不斷前進的動力，是我最堅強的後盾！

最後，衷心地感謝百忙之中參加論文審閱和答辯的專家老師！



中文摘要

黃芪注射液為豆科植物蒙古黃芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜莢黃芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的乾燥根經提取製成的滅菌水溶液。具有益氣養元，扶正祛邪，養心通脈，健脾利濕之功效，用於心氣虛損，血脈瘀阻之病毒性心肌炎、心功能不全及脾虛濕困之肝炎。中藥注射液因具有定向給藥等優勢而廣泛應用於臨床上，但因中藥本身成分的複雜性，其不良反應也較多，因此其安全性尤為重要。現行黃芪注射液的質量控制手段只是測定毛蕊異黃酮葡萄糖苷和黃芪甲苷兩個指標性成分的含量，無法全面反映黃芪注射液的內在質量。因此，瞭解黃芪注射液總固形物主要化學成分，對完善黃芪注射液的基礎物質研究以及黃芪注射液的質量再評價均具有重要意義。

全文共分為三章，第一章分別對黃芪注射液原料藥材即蒙古黃芪和膜莢黃芪的化學成分研究進展，黃芪注射液的質量研究現狀以及其藥理作用和不良反應進行綜述。第二章對黃芪注射液總固形物及黃酮皂苷類成分進行分析。首先採用真空冷凍乾燥的方法對黃芪注射液總固形物的含量進行測定，發現不同廠家黃芪注射液總固形物含量差異較大，提示增加總固形物的測定有助於黃芪注射液的質量控制。其次針對黃芪注射液總固形物化學成分的兩個已知重要組成部分黃酮及皂苷類成分，建立了超高效液相色譜-紫外-蒸發光檢測器聯用技術 (UPLC-PDA-ELSD) 測定 4 種黃酮 (毛蕊異黃酮葡萄糖苷、芒柄花苷、芒柄花素和毛蕊異黃酮) 和 5 種皂苷成分 (黃芪甲苷、黃芪皂苷 III、黃芪皂苷 II、黃芪皂苷 I 及異黃芪皂苷 I) 的含量，該方法線性良好，快速準確。第三章探索黃芪注射液總

固形物中其他大類成分，採用 HPLC-ELSD 的方法首次對黃芪注射液中所含糖類化合物（低聚糖和單糖）的種類及其各自含量進行測定，結果糖類成分主要為果糖、葡萄糖和蔗糖，且其總量占總固形物比例高達 60.8% ~ 68.4%，因此黃芪注射液總固形物中糖類化合物是其主要成分之一。此外，該方法操作簡便，結果準確可靠，可為黃芪注射液質量再評價提供參考，也可為中藥注射液糖類成分的測定提供方法和手段。

關鍵字：黃芪注射液；總固形物；UPLC-PDA-ELSD；HPLC-ELSD；黃酮類；皂苷類；糖類



Abstract

Radix Astragali (*Huangqi*) injection (RAI), a well-known traditional Chinese medicine formula, is extracted from *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao or *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge., which is a highly valued and important Chinese medicinal herb. It is commonly and widely employed to tonify *Qi* for strengthening the body, invigorate the spleen for damp elimination, treat viral myocarditis and protect the liver function. Due to the increasing of adverse reaction reporting, the safety is much more important. However, the markers for quality control of Radix Astragali injection were only calycosin-7-O- β -D-glucoside and astragaloside IV, which cannot effectively control the quality of RAI. It is necessary to know the other components in RAI to ensure its safety.

The dissertation consists of three chapters. **Chapter 1** reviewed the chemical components in *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao or *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge., as well as the quality control and pharmacological activities of RAI. In **Chapter 2**, the total solids content of RAI was firstly detected using freezing dryer system and the solids amount varied significantly among the products from different companies, which suggested that the determination of total solids would be helpful to control the quality of RAI. Meanwhile, UPLC coupled with photo-diode array (PDA) and evaporative light scattering detection (ELSD) were developed for simultaneous determination of four flavonoids

(calycosin-7-O- β -D-glucoside, ononin, calycosin, formononetin) and five saponins (astragaloside I, astragaloside II, astragaloside III, astragaloside IV, isoastragaloside I) in RAI from different pharmaceutical companies. The established method was fully validated with respect to linearity, precision, repeatability, and accuracy. In **Chapter 3**, to explore the other main components in RAI, the types and contents of carbohydrates were investigated and quantitatively determined. The result showed RAI mainly contained fructose, glucose and sucrose and their total amount occupied up to 60.8 - 68.4%. In a word, carbohydrates are major constituents in RAI. Moreover, the HPLC-ELSD method is simple, accurate and reliable, which is helpful to evaluate the quality of RAI and also provides method for quantitative determination of carbohydrates in traditional Chinese medicine injections.

Keywords: Radix Astragali injection, Total solids, UPLC-PDA-ELSD, HPLC-ELSD, Flavonoids, Saponins, Carbohydrates

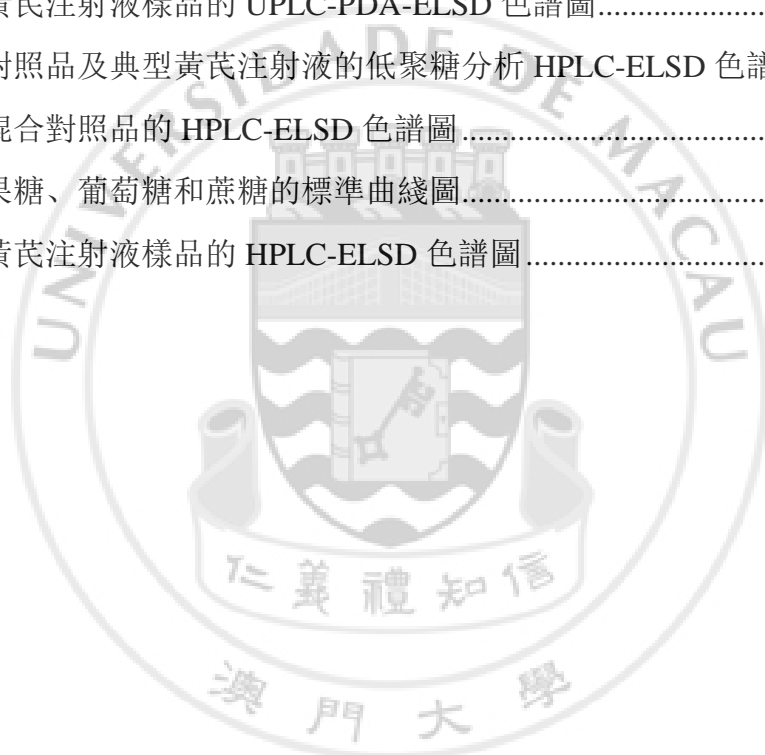
目錄

致謝.....	i
中文摘要.....	iii
Abstract.....	v
目錄.....	vii
List of Figures.....	ix
List of Tables.....	x
縮寫詞列表.....	xi
第一章 研究概況.....	1
1 黃芪及黃芪注射液簡介.....	1
1.1 黃芪藥材簡介.....	1
1.2 黃芪注射液簡介.....	1
2 黃芪化學成分研究概況.....	2
2.1 三萜皂苷類化合物.....	2
2.2 黃酮類化合物.....	7
2.3 糖類化合物.....	12
2.4 其它成分.....	12
3 黃芪注射液的質量研究概況.....	13
3.1 黃芪注射液定量分析研究概況.....	13
3.2 中藥注射液中總固形物（總固體）含量測定.....	16
4 黃芪注射液藥理作用及不良反應概況.....	16
4.1 藥理作用.....	16
4.2 不良反應.....	18
5 總結與展望.....	19
第二章 黃芪注射液總固形物及黃酮皂苷類成分分析.....	20
1 儀器、試藥與樣品.....	20
1.1 儀器.....	20
1.2 試藥.....	21

1.3 樣品.....	22
2 方法與結果.....	23
2.1 黃芪注射液總固形物含量（含輔料）的測定.....	23
2.2 UPLC-PDA-ELSD 色譜條件.....	23
2.3 UPLC-PDA-ELSD 色譜條件的優化.....	24
2.4 供試品溶液的製備方法及條件優化.....	27
2.5 方法學考察.....	29
2.6 樣品測定.....	34
3. 討論.....	37
3.1 總固形物含量測定方法.....	37
3.2 樣品測定結果討論.....	37
第三章 黃芪注射液中糖類化合物分析.....	39
1 儀器、試藥與樣品.....	39
1.1 儀器.....	39
1.2 試藥.....	40
1.3 樣品.....	40
2 方法與結果.....	40
2.1 黃芪注射液中糖類成分的確定.....	40
2.2 HPLC-ELSD 色譜條件.....	41
2.3 供試品溶液的製備.....	42
2.4 對照品溶液的製備.....	42
2.5 方法學考察.....	42
2.6 樣品測定.....	45
3 討論.....	46
3.1 色譜條件的選擇.....	46
3.2 樣品測定結果討論.....	47
結語.....	48
參考文獻.....	49
碩士期間發表文章.....	62

List of Figures

圖 2.1 四種黃酮、五種皂苷對照品的化學結構圖.....	22
圖 2.2 混合對照品的 UPLC-PDA-ELSD 色譜圖.....	24
圖 2.3 四種黃酮類成分的紫外光譜圖.....	26
圖 2.4 漂移管溫度 (A) 與霧化器壓力 (B) 對信噪比的影響圖.....	27
圖 2.5 固相萃取淋洗液為 5% 甲醇時色譜圖.....	29
圖 2.6 待測化合物的標準曲綫圖.....	31
圖 2.7 黃芪注射液樣品的 UPLC-PDA-ELSD 色譜圖.....	35
圖 3.1 對照品及典型黃芪注射液的低聚糖分析 HPLC-ELSD 色譜圖.....	41
圖 3.2 混合對照品的 HPLC-ELSD 色譜圖.....	42
圖 3.3 果糖、葡萄糖和蔗糖的標準曲綫圖.....	44
圖 3.4 黃芪注射液樣品的 HPLC-ELSD 色譜圖.....	45



List of Tables

表 1.1 黃芪三萜皂苷類化合物的結構類型.....	4
表 1.2 黃芪黃酮類化合物的結構類型.....	9
表 1.3 色譜法測定黃芪注射液化學成分文獻總結.....	14
表 2.1 黃芪注射液樣品信息.....	23
表 2.2 標準曲線、檢測限 (LOD) 及定量限 (LOQ) 的測定結果.....	30
表 2.3 UPLC-PDA-ELSD 的日內、日間精密度實驗結果.....	32
表 2.4 UPLC-PDA-ELSD 重複性及加樣回收率實驗結果.....	33
表 2.5 黃芪注射液樣品中總固形物及 4 種黃酮 5 種皂苷成分定量分析結果.....	36
表 3.1 標準曲線、檢測限 (LOD)、定量限 (LOQ) 及精密度的測定結果.....	43
表 3.2 黃芪注射液樣品中糖類化合物定量分析結果.....	46



縮寫詞列表

縮寫	英文全稱	中文全稱
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography	超高效液相色譜
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色譜
PDA	Photo-diode Array	二極管陣列檢測器
UV	Ultra-violet spectrum	紫外光譜
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector	蒸發光檢測器
LOD	Limit of Detection	檢測限
LOQ	Limit of Quantification	定量限
RSD	Relative Standard Deviation	相對標準偏差
S/N	Signal-to-Noise	信噪比

