

一测多评法在含皂苷类成分中药质量控制中的应用

张泽君¹, 崔秀明^{1,2,3}, 陈丽娟¹, 胡玉飘¹, 张一鸣¹, 熊吟^{1,2,3*}

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 昆明 650500;

2. 云南省三七资源可持续利用重点实验室, 昆明 650500;

3. 国家中医药管理局三七资源可持续发展利用研究室, 昆明 650500)

[摘要] 因中药多成分、多靶点的特征,采用关联中药药效活性的多指标成分定性定量较单一指标更能合理表征中药质量,同时由于对照品不稳定、昂贵不易获得等特点也使多指标评控模式难以普及。皂苷是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷,其广泛分布于植物界并是许多中药的主要活性成分,具有抗肿瘤、免疫调节、抗病毒、防治心血管疾病等作用。如何对含皂苷类成分的中药进行合理有效的质量控制,对于保证此类中药的临床安全有效性具有重要意义。一测多评(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)法是只用一种对照品来实现对中药中多个成分的同步监控,能有效避免多指标评控模式存在的问题,该方法自提出至今十多年已经在中药质量控制和评价中得到较好的发展和验证,并在含皂苷类成分中药的质量控制中应用广泛。该文在阐述 QAMS 法原理的基础上结合近 10 年文献,对 QAMS 法在含三萜皂苷和甾体皂苷类成分中药及其制剂中的质控研究进行系统梳理及论述,并对可能存在的问题进行分析阐释,以期为该方法在中药质控领域的持续深入发展提供参考。

[关键词] 一测多评; 中药; 皂苷; 质量控制

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)08-0210-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190716

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20181217.1817.012.html>

[网络出版时间] 2018-12-19 09:08

Application of Quantitative Analysis of Multi-components by Single Marker in Quality Control of Chinese Medicinal Materials Containing Saponins

ZHANG Ze-jun¹, CUI Xiu-ming^{1,2,3}, CHEN Li-juan¹, HU Yu-piao¹, ZHANG Yi-ming¹, XIONG Yin^{1,2,3*}

(1. Kunming University of Science and Technology, Faculty of Life Science and Technology, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Key Laboratory of Panax notoginseng, Kunming 650500, China;

3. Laboratory of Sustainable Utilization of Panax notoginseng Resources, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

[Abstract] Due to the multi-component and multi-target features of Chinese medicinal materials (CMMs), multiple active components could be more reasonably represent the quality of CMMs compared with the single-component QC mode. However, it is still difficult to apply the multi-component QC mode because of the instability, high cost and inaccessibility of reference substances of CMMs. Saponins are glycosides with aglycones of triterpene or spirostane and widely distributed in plants. Saponins are also the major active constituents of many CMMs, with multi-effects of inhibiting tumors, regulating the immune system, inhibiting virus, preventing and treating cardiovascular diseases. Therefore, rational and effective control of the quality of CMMs containing saponins is of great significance for ensuring the clinical safety and efficacy of such CMMs and related products.

[收稿日期] 20180524(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660661);国家科技基础性工作专项(2015FY111500-070)

[第一作者] 张泽君,在读硕士,从事中药质量评控及药理作用研究,E-mail:18380802826@163.com

[通信作者] *熊吟,博士,硕士生导师,从事中药质量评价与控制研究,Tel:0871-65920570,E-mail:yhsiung@163.com

The quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) can use only one reference substance to achieve the simultaneous monitoring of multiple components in CMMs, and make up the weaknesses of multi-component QC mode, and has been well developed and validated in the QC and evaluation of CMMs for more than ten years since it was put forward. And now it has been widely used in the QC of CMMs containing saponins. Based on the investigation of QAMS theory and literatures in the past decade, studies on the QC of CMMs and related preparations containing triterpenoid saponins and steroidal saponins by QAMS were summarized and discussed systematically. In addition, some possible problems were analyzed and interpreted, in order to provide reliable basis for more QC of CMMs and reference for the continuous use and in-depth development of this method in the research of CMMs.

[Key words] quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS); Chinese medicinal materials; saponins; quality control

皂苷(saponins)是许多中药(Chinese medicinal materials, CMMs)中的重要活性成分,是广泛存在于自然界中的一种三萜及甾体的糖缀合物,其药理作用已被众多研究肯定。中药皂苷由皂苷元和糖链两部分组成,根据苷元的结构可分为三萜皂苷(如人参、三七、黄芪中的皂苷)和甾体皂苷(如重楼、知母、菝葜中的皂苷)。此外,作为药物研发的重要先导化合物,一些主要含皂苷的中成药早已上市,如宫血宁、地奥心血康、盾叶冠心宁等,显示出良好的临床疗效和较低毒副作用。如何选择合适有效的方法对含皂苷类成分的中药及中成药进行质量控制,对于保障此类药物的有效性、安全性及质量一致性必不可缺。目前,常用的质控分析方法主要为 HPLC, UPLC-MS/MS, 近红外光谱法等,对于对照品的种类及获得具有较高的要求。如本课题组前期便采用了三七皂苷 R_1 和人参皂苷 R_{g_1} , R_e , R_{b_1} , R_d , R_{h_4} , R_{h_1} 等 10 种皂苷成分为指标,实现了多指标成分对三七及其炮制品的个体化质量评控^[1-2]。尽管多指标成分相较于单一成分更能体现中药多功效、多活性成分的特点,但这种多指标质控模式也存在对照品难以获得、价格昂贵及性质不稳定等缺点,使得其在实际应用中受到限制。

针对此类问题,王智民等^[3]提出了一测多评(QAMS)法,即利用中药药效成分内在的函数关系和比例关系,只测定一个成分(对照品易得者),来实现对多个成分(对照品难以得到或难供应)的同步监控。2010 年版《中国药典》首次收录 QAMS 法,确立了“从单指标向多指标、从指标性成分向药效成分控制”的发展方向^[4]。2015 年版《中国药典》新增 8 个使用 QAMS 法的药材,范围不仅局限于单味中药,还扩展至复方中药和中药材提取物、制剂等^[5]。运用 QAMS 法对中药进行质量控制,可仅用

一个对照品建立成分间的校正因子,来实现多个成分的定量,能较好地降低药物的检测成本并解决对照品不足的问题。

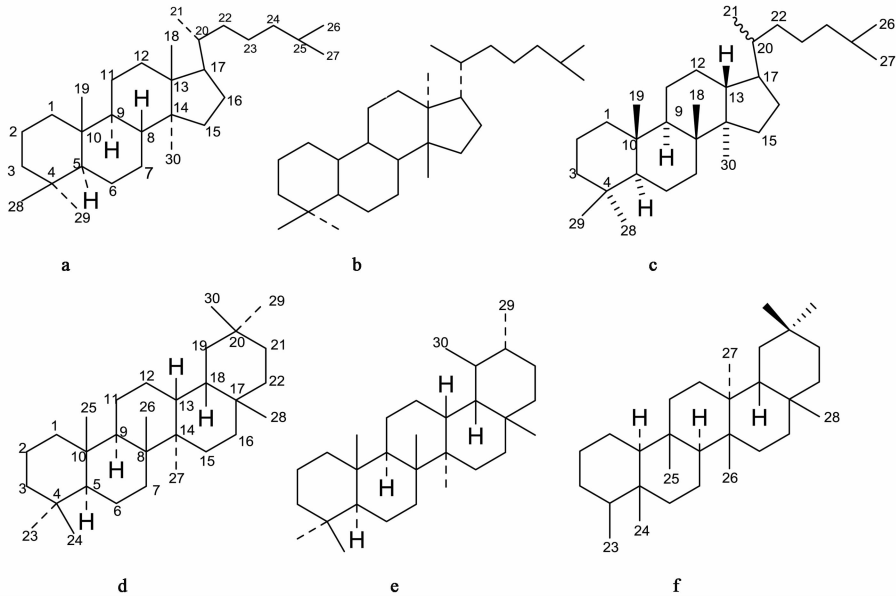
目前,该方法已成功应用于含生物碱、黄酮、苯丙素、有机酸等成分的中药质控中,尤其在含皂苷类中药及中成药的质量评控中具有广泛应用,并取得了良好效果。本文对近 10 年发表的 QAMS 法在含皂苷类成分中药质量控制中的应用研究进行总结,并分析了目前应用中可能存在的问题,旨在为该方法在相关中药及其制剂的质控提供参考和借鉴。

1 皂苷类成分简介及在中药中的分布

皂苷又称皂素、碱皂体等。含皂苷类植物一般分布于陆地高等植物中,少量的分布于海洋生物中。许多中药的主要活性成分为皂苷,在心血管系统、免疫调节、中枢神经系统、抗菌、抗病毒、抗癌、抗生育等方面具有药理活性。皂苷按皂苷配基的结构分为两类:三萜皂苷和甾体皂苷,且三萜皂苷种类较甾体皂苷多。

1.1 三萜皂苷 三萜皂苷是天然产物中非常重要的成分之一,种类较多,其配基是三萜的衍生物,它是由 30 个碳原子组成的萜类化合物,分子中有 6 个异戊二烯单位,通式 $(C_5H_8)_6$ 。三萜皂苷主要分为四环三萜和五环三萜。四环三萜有羊毛脂烷型、大戟烷型、达玛烷型、葫芦素烷型等,五环三萜有齐墩果烷型、乌索烷型、木栓烷型等^[6],结构见图 1。三萜皂苷在许多植物中都有分布,如五加科植物、伞形科植物、木通科植物、菊科植物等,并且这些三萜皂苷都具有非常好的药理活性,见表 1。

1.2 甾体皂苷 甾体皂苷种类较三萜皂苷少,它是植物中重要的一类生物活性物质,其研究在天然产物中有着重要的地位。由于含甾体皂苷类的植物有着比较好的疗效,所以近年来人们在对含甾体皂苷



a. 羊毛脂烷型; b. 大戟烷型; c. 达玛烷型; d. 齐墩果烷型; e. 乌索烷型; f. 木栓烷型

图 1 6 种三萜皂苷结构

Fig. 1 Six kinds of triterpenoid saponins

表 1 三萜皂苷类成分在中药中的分布及主要药理活性

Table 1 Distribution of triterpene saponins in CMMs and corresponding pharmacologic activities

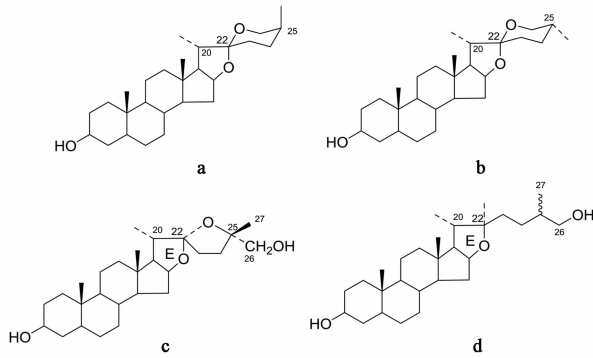
科	名称	三萜皂苷类成分	药理活性
五加科	人参	人参皂苷 R _{g1} , R _{g3} , R _e , R _{h2} , R _b , R _g , R _{b1} , R _f , R _{h1} 等	安定、镇痛、抑制极性心肌梗死、增强机体免疫功能、抗肿瘤和抗衰老等 ^[7]
	三七	三七皂苷 R ₁ 和人参皂苷 R _{g1} , R _e , R _{g2} , R _{b1} , R _{b2} , R _{g3} , R _{h2} 等	活血化瘀、益气补血、消肿定痛、抗炎解热、改善微循环、抗癌抗肿瘤等 ^[8]
木通科	预知子	预知子三萜皂苷(TSAF)	抗脂质过氧化和红细胞溶血等 ^[9]
桔梗科	桔梗	桔梗皂苷 A~H	保肝、抗炎抗过敏、免疫调节和抗肿瘤等 ^[10]
海参科	黑乳海参	黑乳海参皂苷 nobiliside I 和 nobiliside II	抗真菌、抗肿瘤等 ^[11]
玄参科	假马齿苋	假马齿苋皂苷 C, 假马齿苋皂苷 I, II 等	抗炎镇痛、抗氧化、抗肿瘤、降血糖以及肝肾保护等 ^[12-13]
小檗科	类叶牡丹	类叶牡丹皂苷 leonticin D, cauloside G, B, C, D, H	理气止痛、祛风活血等 ^[14]
忍冬科	金银花、山银花	灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙	抗菌抗病毒、利胆保肝、解痉等 ^[15-16]
鼠李科	酸枣仁	酸枣仁皂苷 A, B, C 和 A ₁ , B ₁ 等	镇静安神、抗心肌缺血、降血脂和防治动脉粥样硬化、抗脂质过氧化、保护脑组织等 ^[17]
菊科	败酱草	常春藤皂苷元, 异叶败酱皂苷 A, 黄花败酱皂苷 B, F, G, D, E	抗菌、抗肿瘤、抗氧化、有治疗肠炎, 黏膜保护等 ^[18]
豆科	黄芪	黄芪苷、乙酰黄芪苷、异黄芪苷、膜荚黄芪苷等	对细胞缺血、缺氧等损伤的保护、抗炎、抗肿瘤等 ^[19]

类的植物有了越来越多的研究。甾体皂苷的苷元是含有 27 个碳原子的螺甾烷醇或呋甾烷醇, 螺甾烷醇类 C₂₅ 位 S 构型, 异螺甾烷醇 C₂₅ 为 R 构型, 变形螺甾烷醇 F 环为五元四氢呋喃环, 呋甾烷醇 F 环为开链衍生物, 见图 2。甾体皂苷大多存在于单子叶植物的蕁藜科、百合科黄精属、重楼属等植物中, 见

表 2。

2 一测多评法原理

QAMS 法适用于对照品难得、制备成本高或者不稳定的情况下同类多成分同时定性定量测定。QAMS 法借鉴内标法、校正因子法等几种方法的研究思路, 依据是在一定的线性范围内成分的



a. 螺甾烷醇; b. 异螺甾烷醇; c. 变形螺甾烷醇; d. 呋甾烷醇

图 2 4 种甾体皂苷结构

Fig. 2 Four kinds of steroidal saponins

表 2 甾体皂苷类成分在中药中的分布及主要药理活性

Table 2 Distribution of steroidal saponins in CMMS and corresponding pharmacologic activities

科	名称	甾体皂苷类成分	药理作用
百合科	重楼	重楼皂苷 I, II, VI, V, VII, H 和偏诺皂苷, 薯蓣皂苷, 纤细薯蓣皂苷	抗肿瘤、抗菌、抗炎、止血、改善皮肤老化等 ^[20-21]
	知母	知母皂苷 A I ~ A IV, 知母皂苷 B I ~ B VI, 知母皂苷 D, E 等	抗肿瘤、抗凝血、抗血栓、降血糖血脂、抗抑郁、降血压、抗老年痴呆、改善学习记忆能力等 ^[22]
	黄精	薯蓣皂苷元、亚莫皂苷元	血糖和血糖免疫调节、抗肿瘤、改善学习记忆力等 ^[23]
	麦冬	龙血树皂苷 F, 麦冬皂苷 D, D' 等	对非小细胞癌细胞的黏附、侵和迁移具有明显的抑制作用 ^[24]
蒺藜科	蒺藜	鲁斯可皂苷元、薯蓣皂苷元、吉托皂苷元	抗菌、抗肿瘤、性强壮和改善急性心肌缺血等 ^[25]
萝藦科	香加皮	glycoside H ₁ , H ₂ , K	神经生长因子促进作用等 ^[26]

则定量计算公式 $W_m = \frac{W_k \times A_m}{f_{km} \times A_k}$ 其中 f_{km} 为内参物对照品与其他待测成分的 RCF, f_k, f_m 分别为内参物对照品和其他待测成分的绝对校正因子, A_k 与 A_m 分别为内参物对照品、其他待测成分的峰面积, W_k 与 W_m 分别为内参物对照品、其他待测成分的浓度(或质量)^[27]。

3 QAMS 在含皂苷类成分中药质量控制中的应用

中药作用多成分、多靶点的特征决定了不能以其中任何单一成分作为其质量控制标准, 运用 QAMS 法能够以其中某一组分为内参物, 建立与同类型的其他组分间的 RCF, 进行快速、精准的定量测定。皂苷类成分在中药中分布广泛, 在用传统方法对这些中药进行质量控制时, 一些皂苷对照品不稳定或者昂贵不易得, 运用 QAMS 法可解决此类问题并实现多个成分的同时定量。目前 QAMS 法已在人参、三七、重楼、香加皮等含皂苷类成分的中药中广泛运用。

3.1 在含三萜皂苷类成分中药质量控制中的应用

量(质量或浓度)与检测器响应成正比的原理, 即 $W = f \times A$ ^[3]。在多指标质量评价时, 以药材中某一代表性组分(对照品稳定易得)为内参物, 建立此内参物与其他组分之间的相对校正因子(RCF), 无需提供其他组分的对照品, 通过 RCF 计算其他组分的量^[4]。

假设某样品中含有 i 个组分, $f_i = \frac{W_i}{A_i}$ ($i = 1, 2, \dots, k, \dots, m$), 其中 W_i 为组分浓度, A_i 为组分峰面积。选取其中一个组分 k 为内参物, 建立组分 k 与其他组分 m 之间的 RCF。 $f_{km} = \frac{f_k}{f_m} = \frac{W_k}{W_m} \times \left(\frac{A_m}{A_k} \right)$ 。

三萜皂苷作为一种重要的活性物质广泛存在于天然药物中, 例如中药三七和人参中含有多种人参皂苷, 假马齿苋中含有各类假马齿苋皂苷等, 且这类皂苷具有较好的药理活性, 在临床上应用广泛。近年来 QAMS 法在这类中药的质量控制与评价中的应用迅速增加, 见表 3。

3.2 在含甾体皂苷类成分中药质量控制中的应用

许多中药中都含有甾体皂苷, 如重楼中含有的重楼皂苷, 麦冬中的龙血树皂苷和麦冬皂苷等。由于甾体皂苷在天然产物中相对三萜皂苷较少, QAMS 法多在含三萜皂苷类的中药中有应用, 而在含甾体皂苷类的中药如黄精、麦冬、蒺藜等药物中的应用还有待发展。目前该方法在含甾体皂苷类中药质控中的研究见表 4。

3.3 在含皂苷类成分的中药制剂中多成分的同时测定

现市场上很多中药制剂以皂苷类成分作为质控标准, 例如复方丹参片、芪白平肺颗粒等。药物所含成分之间配比不同, 药效也会有很大的差异, 建立 QAMS 法对这些中药制剂多成分进行同时定性定量

表 3 QAMS 在含三萜皂苷类中药成分测定中的应用

Table 3 Application of QAMS in determination of triterpenoid saponins in CMMs medicine

名称	检测成分	内参物	检测方法
三七	三七皂苷 R _{g1} , R _{b1} , R _{g2} , R _{h1} , R _f , R _e , R _d , 人参皂苷 R ₁ , R ₄ , Fa, K	分别用人参皂苷 R _{g1} , R _{b1} , R _{g2} 和三七皂苷 R ₁ , R ₄	HPLC-DAD ^[28]
人参、红参、西洋参、珠子参、三七	三七皂苷 R ₁ , 人参皂苷 R _{g1} , R _{b1} 三七皂苷 R ₁ , R ₂ , 人参皂苷 Re, R _f , F ₃ , R _{g2} , F ₅ , R _{b1} , R _c , R _o , R _{b2} , R _{b3} , F ₁ , R _d , F ₂ , CK 和 chikusetsusaponin IVa	人参皂苷 R _d 人参皂苷 R _{g1}	HPLC-ESI-MS ^[29] RRLC-QqQ-MS ^[30]
熟三七	三七皂苷 R ₁ 和 人参皂苷 Re, R _{b1} , R _d , R _{k3} , R _{h4}	人参皂苷 R _{g1}	HPLC ^[31]
野生三七	chikusetsusaponin V, IV, pseudoginsenoside RT ₁ 和 人参皂苷 R _{g1} , R _{b1}	chikusetsusaponin IVa	HPLC ^[32]
预知子	皂苷 A, B 和 X	皂苷 P _D	HPLC ^[33]
败酱草	熊果酸、常春藤皂苷元	齐墩果酸	HPLC ^[34]
柴胡	柴胡皂苷 c 和 d 柴胡皂苷 c, d 和 f	柴胡皂苷 a 柴胡皂苷 a	HPLC ^[35] HPLC ^[36]
山银花	灰毡毛忍冬皂苷甲、川续断皂苷乙、灰毡毛忍冬次皂苷甲、乙	灰毡毛忍冬皂苷乙	HPLC ^[37]
5 种忍冬属植物	3,5-di-O-caffeoylquinic acid, 4,5-di-O-caffeoylquinic acid, sweroside, secoxyloganin, centauroside	绿原酸	HPLC ^[38]
酸枣仁	斯皮诺素, 酸枣仁皂苷 A, B	白桦脂酸	UPLC ^[39]
人参	人参皂苷 Re, R _f , R _{g2} , R _{b1} , R _c , R _{b2} , R _{b3} , R _d 各原人参三醇型和原人参二醇型人参皂苷, 人参皂苷 R _{g1} , R _{b2} , R _d	人参皂苷 R _{g1} , 人参皂苷 R _{b1} , 人参皂苷 Re	HPLC-UV ^[40] HPLC-UV, MS ^[41] HPLC ^[42]
类叶牡丹	leonticin D, cauloside H, D, B, C	cauloside G	HPLC-ELSD ^[43]
桔梗	桔梗皂苷 D ₃ , 桔梗皂苷 E 桔梗总皂苷	桔梗皂苷 D 桔梗皂苷 D	HPLC-ELSD ^[44] HPLC-TLC ^[45]
黄芪	黄芪皂苷 I, 黄芪皂苷 II 和黄芪甲苷	丙二酰黄芪皂苷 I	HPLC-ELSD ^[46]
藜麦	藜麦皂苷 A ~ L	齐墩果酸	HPLC-DAD-ESI-TOF-MS ^[47]
党参	lancemaside A, B, C, E, G, foetidissimide A 和 aster saponin Hb	人参皂苷 R _{b1}	LC-MS ^[48]
黄芪	毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、染料木苷、染料木黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、美迪紫檀素、黄芪甲苷 黄芪甲苷 II, III, IV	毛蕊异黄酮 黄芪甲苷 I	HPLC ^[49] HPLC-MS ^[50]
毛冬青	ilexoside O, ilexosaponin A ₁ , B ₁ , B ₂ , B ₃	ilexgenin A	UPLC, HPLC ^[51]

表 4 QAMS 在含甾体皂苷类中药成分测定中的应用

Table 4 Application of QAMS in determination of steroidal saponins in CMMs

中药名称	检测成分	内参物	检测方法
重楼	重楼皂苷 I, II, VI 和 VII 重楼皂苷 I, II 和 VI 重楼皂苷 II, VII, H 和薯蓣皂苷	任一种 重楼皂苷 VII 重楼皂苷 I	HPLC ^[52] HPLC ^[53] HPLC-UV ^[54]
香加皮	杠柳苷 K, R, E, D, Q 和 O	杠柳苷 A	HPLC ^[55]
知母	知母皂苷 B, A III, B II 和 C	知母皂苷 B I	HPLC ^[56]

的分析,能够提高临床用药的有效性和安全性,也更

有利于中药制剂的质控和发展。目前, QAMS 法在中药制剂中的应用增加迅速,是最具发展前景的质控方法之一,见表 5。

4 讨论

4.1 QAMS 法存在的问题及解决办法 QAMS 法在 2015 年版《中国药典》^[64] 中是重点推广的中药质量控制技术。该法在中药质量控制中比指纹图谱法更易操作且有效,但在现实操作中也存在许多问题。

①待测组分色谱峰定位方式的选择会影响检测器响应值的准确性。如待测组分色谱峰定位方式有相对保留值定位和不同的色谱柱 2 种选择,因

表 5 QAMS 在含皂苷类成分的中药制剂中的应用

Table 5 Application of QAMS in traditional Chinese medicine preparations containing saponins

名称	测定成分群	内参物	检测方法
复方丹参片	人参皂苷 R _{g1} , Re 和三七皂苷 R ₁	人参皂苷 Rb ₁	RP-HPLC ^[57]
复方血栓通胶囊	人参皂苷 R _{g1} , Re, Rb ₁ , Rd, 三七皂苷 R ₁ , 哈巴俄苷, 隐丹参酮和丹参酮 I	三七皂苷 R ₁ , 隐丹参酮	HPLC-PAD, HPLC-UV ^[58]
芪白平肺颗粒	人参皂苷 Re, R _{g1} , Rf, Rc, Rb ₂ , Rd, Rb ₁ 和黄芪甲苷	人参皂苷 Rb ₁	HPLC-ELSD ^[59]
腰痹通胶囊	三七皂苷 R ₁ 和人参皂苷 Re, Rb ₁ , Rd	人参皂苷 R _{g1}	HPLC-VWD ^[60]
藤珠胃康颗粒	竹节参皂苷 IV a 和人参皂苷 Ro, Rb ₁ , Re	G-Re	HPLC ^[61]
仙灵骨葆胶囊	朝藿定 C, 川续断皂苷 VI, 补骨脂素, 异补骨脂素	淫羊藿苷	HPLC-DVD, HPLC-VWD ^[62]
胃苏颗粒	芸香柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷	柚皮苷	HPLC ^[63]

不同色谱柱会带来更多误差,需要更进一步的研究,所以目前应用前者较多。在实验操作中,要根据不同的实验条件,选择多种定位方法,最终确定相对偏差较小的方法应用于实验。

②对照品纯度标定问题。在 QAMS 法的应用中,大多皂苷类待测成分的对照品价格昂贵不易获得,自制对照品需要纯度标定,目前还没有一套严格的关于这类对照品纯度标定的方法,大多都用光谱和色谱的方法来标定对照品的纯度,而检测器的适用范围有限,标定的纯度或高或低,对实验结果影响较大。建议使用不同的分离机制,联合使用光谱和色谱的方法,尽量排除如温度、湿度和仪器等外界因素来对其进行标定,减少实验误差。

③如何选择待测物的检测波长,提高分离度。QAMS 最常用的检测器是紫外检测器,大部分的有机物和部分无机物具有紫外吸收,但是单一波长并不能具体、全面地反应中药、中药提取物或制剂的内在成分,不同结构的化合物,检测波长选择也不同。为了得到高灵敏度,具有相同母核的化合物一般选择待测物具有的最大吸收峰处作为检测波长。不同母核的化合物检测波长选择一般有 2 种,第 1 种是综合多个待测物的共有的平坦吸收区,选择待测物之间共有的吸收波长区段;第 2 种是分段变波长测定,例如张敏等^[65]同时测定清清颗粒中的 10 种指标成分时,选择了 0 ~ 18 min, 230 nm; 18 ~ 24 min, 237 nm; 24 ~ 32 min, 280 nm; 32 ~ 34 min, 345 nm; 34 ~ 40.4 min, 280 nm; 40.4 ~ 42 min, 237 nm; 42 ~ 50 min, 280 nm 这 7 段波长,再结合相应的色谱条件可使各段的分离度良好。

④在采用 QAMS 法测定同类多成分组分时,因所有能够引起检测器响应值变化的因素都会产生误

差,从而导致实验结果出现偏差,所以还需注意 RCF 系统的耐用性和适用性的评价,其中包括 RCF 的重现性,不同仪器、进样量、柱温、流动相流速和不同实验员等对 RCF 的影响,试验中尽量减少引起检测器响应值变化的因素,或者增加对 RCF 的限定,减少实验结果的相对误差。

4.2 QAMS 法准确度的判断及各因素对 QAMS 法准确度的影响

4.2.1 QAMS 法准确度的判断 现已有的研究中,大多用外标法对 QAMS 法的准确性进行验证,目前最常用的判定方法有两种,一种是比较 QAMS 法与常规的外标法的 RSD,如王玲娜等^[66]、丁黎艳等^[67]、吴有根等^[68]运用 QAMS 法测定中药或制剂中多种成分的含量,并与外标法实测值相对比,RSD 越小,说明 QAMS 的可行性和重现性越好;另一种是外标法实测值与 QAMS 法计算的含量值经配对 *t* 检验,如穆箫吟等^[69]、刘宏等^[70]、张洪峰等^[36]在研究中药或制剂的成分时,将 QAMS 法测定的结果与外标法实测值采用 *t* 检验评价,若两种方法测得结果无显著性差异,则说明建立的 QAMS 法是准确、可行的。

4.2.2 皂苷含量对 QAMS 法准确度的影响 除了 4.2.1 项下所描述的两种常见的判定 QAMS 准确度的方法,目前也有文献报道用其他方法考察 QAMS 的重现性。例如 WANG 等^[28]在研究三七中 11 种皂苷类活性成分外标法和 QAMS 法含量测定及其与药材质量的关联性中,采用 QAMS 法与外标法的标准化均数差 (STD mean difference, SMD) 作为 QAMS 法准确度的评价指标,SMD 值越大,QAMS 准确度越低。该研究考察了待测成分的含量、对照品纯度、化学结构类型和参照成分的含量对 SMD 的

影响,发现待测成分含量是对 SMD 的最大影响因素,SMD 随待测成分含量增加有明显降低趋势,说明待测皂苷含量越高,QAMS 所测结果越准确,参照成分的含量对其影响最小。因此,在应用 QAMS 法检测时,应尽量选取皂苷类成分为其主要活性成分的中药作为对象,且其皂苷种类相对稳定、含量较高。由于影响中药皂苷含量的因素有很多,不同产地、不同生长年限、不同药用部位、炮制时间和提取工艺都影响中药中皂苷的含量,在运用 QAMS 法时,要注意不同条件对皂苷含量造成的影响,尽可能的减小误差。

4.2.3 皂苷内参的选择对 QAMS 准确度的影响

内参物的选择,不仅要选择对照品易获得且稳定的成分,而且要尽量选择峰时间居中、含量较多的活性成分。选择中药中某一活性皂苷作为内参物,通过不同厂家的色谱仪和不同色谱柱利用相对保留时间来定位其他成分的位置,若各成分的保留时间 RSD 均 < 3%,说明重复性良好,可选择该皂苷建立 QAMS 模型。或者选择不同的皂苷类成分作为内参物,分别建立与其他成分间的 RCF 并计算结果,用外标法实测值对 QAMS 法测定结果进行验证,选择与外标法结果的 RSD (RSD < 3%) 最小的 QAMS 模型作为该中药的质量评价模式。例如袁会琼等^[52]在用 QAMS 法测定不同种重楼植物中的 4 种重楼皂苷含量时,分别以重楼皂苷 I, II, VI, VII 作为内参物,最后验证以重楼皂苷 I 作为内参物时与外标法无明显差异。

4.2.4 检测器对 QAMS 准确度的影响

QAMS 法与 HPLC, HPLC-UV, HPLC-ELSD, RP-UPLC 等方法联用能够提高中药质控的效率,在实际操作中,还要考虑各指标性成分对检测器的干扰。例如皂苷类成分都是弱紫外吸收的化合物,在 UV 检测器上的响应值计算得到的 RCF 稳定性差,对 QAMS 测定结果影响较大,而 ELSD 是通用型检测器,受干扰较 UV 小^[43]。

4.3 意义及展望

中药质量评价技术众多,已涵盖了色谱、光谱、生物评价和代谢组学等先进的分析技术,目的都是为临床用药提供可靠地依据,同时保证用药的安全性。

在中药的质量控制中,QAMS 法很好的解决了对照品难以获得、价格昂贵以及性质不稳定等问题,且研究证明了该法的可行性和准确性。随着 QAMS 法的深入研究,中药质控多成分、多指标的发展需求得以满足。QAMS 法已在整体上展现出了优势,只

需一个对照品的特点在经济上节约了成本,能够对同类多成分进行同时定性定量测定在时间上节约了成本。在各药企的质量控制方面,与化学质控方法和指纹图谱法比较,QAMS 法更加经济,且符合企业质控节能省时的需求,操作简便易控,大大提高了质控效率。环境方面,QAMS 法利用更少的化学试剂定性定量出更多的待测组分,符合绿色发展的理念,更加有利于中药走向国际化。

在现已有的研究中,QAMS 法不仅运用于同类成分间的测定,在药物中不同类成分(如黄酮、酚酸类等)之间的测定中也有应用。随着 QAMS 法在中药及中药饮片中运用的增多,可建立一测多评数据库,收录各种药物一测多评结果,并且实现数据共享,为更多药物的质量控制及评价提供可靠参考,保证临床用药的安全性。中药质量控制模式已经朝多元化方向发展,根据国际市场的需求和现有的基础,可以考虑联合多种检测技术,综合运用,建立更完善的中药质量控制体系。

[参考文献]

- [1] XIONG Y, CHEN L, HU Y, et al. Uncovering active constituents responsible for different activities of raw and steamed *Panax notoginseng* roots [J]. *Front Pharmacol*, 2017, doi:10.3389/fphar.2017.00745.
- [2] XIONG Y, CHEN L, MAN J, et al. Chemical and bioactive comparison of *Panax notoginseng* root and rhizome in raw and steamed forms [J]. *J Gins Res*, 2017, doi:10.1016/j.jqr2017.11.004.
- [3] 王智民,高慧敏,付雪涛,等.“一测多评”法中药质量评价模式方法学研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(23):1925-1928.
- [4] 陆兔林,石上梅,蔡宝昌,等.基于一测多评的中药多成分定量研究进展[J]. *中草药*, 2012, 43(12):2525-2529.
- [5] 杨洋,黄良永,朱美玲,等.一测多评法在中国药典 2015 年版中的应用[J]. *中南药学*, 2017, 15(12):1738-1741.
- [6] 牛云云.三七、西洋参中三萜皂苷合成关键酶基因的克隆及表达模式分析[D].北京:北京协和医学院,2013.
- [7] 曹智,张燕娣,许永华,等.人参有效成分及其药理作用研究新进展[J]. *人参研究*, 2012, 24(2):39-43.
- [8] SUN S, WANG C Z, TONG R, et al. Effects of steaming the root of *Panax notoginseng* on chemical composition and anticancer activities [J]. *Food Chem*, 2010, 118(2):307-314.
- [9] 贺海波,秦文,曾建红,等.预知子三萜皂苷体外抗脂质过氧化和红细胞溶血作用的研究[J]. *湖北农业科*

- 学,2016,55(7):1758-1761.
- [10] 刘群,李伟,郑毅男,等. 桔梗中三萜皂苷类成分及药理活性研究进展[J]. 吉林农业大学学报,2013,35(2):221-228.
- [11] 张佳佳,巫军. 黑乳海参皂苷 nobiliside I 和 nobiliside II 的体外抗真菌及抗肿瘤活性[J]. 中药材,2011,34(9):1420-1423.
- [12] 崔雨晴,张继全,吴飞,等. HPLC 同时测定不同产地假马齿苋中的5个三萜皂苷类成分[J]. 药物分析杂志,2017,37(2):230-236.
- [13] 祖先鹏,林璋,谢海胜,等. 假马齿苋的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中草药,2017,48(18):3847-3863.
- [14] 梁军,夏永刚,郭信东,等. 超高效液相色谱-高分辨质谱法同时测定类叶牡丹中9种三萜皂苷类成分[J]. 中草药,2017,48(20):4323-4327.
- [15] 郑义,陈晓兰,丁宁,等. 金银花和山银花有效成分测定及比较分析[J]. 甘肃农业大学学报,2015,50(4):170-174,180.
- [16] 王芳,高松. 金银花、山银花药理学研究现状[J]. 辽宁中医药大学学报,2013,15(4):237-239.
- [17] 邱麒. 酸枣仁总皂苷化学成分及药理活性初探[J]. 海峡药学,2013,25(12):48-49.
- [18] 崔文燕,刘素香,宋晓凯,等. 黄花败酱草和白花败酱草的化学成分与药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2016,39(3):482-488.
- [19] 仝欣. 黄芪主要活性成分的药理作用[J]. 时珍国医国药,2011,22(5):1246-1249.
- [20] 梁玉勇,刘振,高文远,等. HPLC 测定贵州不同产地的七叶一枝花中9种甾体皂苷的含量[J]. 中国中药杂志,2012,37(15):2309-2312.
- [21] MAN S, GAO W, ZHANG Y, et al. Antitumor and antimetastatic activities of Rhizoma *Paridis saponins*[J]. Steroids,2009,74(13/14):1051-1056.
- [22] 刘艳平. 知母皂苷成分的药理活性及作用机制研究进展[J]. 药学实践杂志,2018,36(1):24-29.
- [23] 张洁,马百平,杨云,等. 黄精属植物甾体皂苷类成分及药理活性研究进展[J]. 中国药学杂志,2006,41(5):330-332.
- [24] 旷湘楠,刘时乔. 麦冬中甾体皂苷类化学成分研究[J]. 广州化工,2017,45(22):85-87.
- [25] 孙国珍,张洁,马百平. 茯苓中甾体皂苷类化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中草药,2007,38(7):1111-1115.
- [26] 王利萍,刘建利. 香加皮的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药,2009,40(3):493-496.
- [27] ZHU J J, WANG Z M, MA X, et al. A quantitative method for simultaneous determination of four anthraquinones with one marker in Rhei Radix et Rhizoma[J]. Chin Herb Med,2012,4(2):157-163.
- [28] WANG C Q, JIA X H, ZHU S, et al. A systematic study on the influencing parameters and improvement of quantitative analysis of multi-component with single marker method using notoginseng as research subject [J]. Talanta,2015,134(MAR 1):587-595.
- [29] LAI C J, TAN T, ZENG S L, et al. Relative quantification of multi-components in *Panax notoginseng*, (Sanqi) by high-performance liquid chromatography with mass spectrometry using mobile phase compensation [J]. J Pharmaceut Biomed,2015,102:150-156.
- [30] NING Z, LIU Z, SONG Z, et al. A single marker choice strategy in simultaneous characterization and quantification of multiple components by rapid resolution liquid chromatography coupled with triple quadrupole tandem mass spectrometry (RRLC-QqQ-MS) [J]. J Pharmaceut Biomed Anal,2016,124:174-188.
- [31] 黎江华,刘玉杰,黄永亮,等. 一测多评法测定熟三七中7种皂苷类成分的含量[J]. 时珍国医国药,2017,28(10):2363-2365.
- [32] WU Q S, WANG C M, LU J J, et al. Simultaneous determination of six saponins in *Panacis Japonici Rhizoma* using quantitative analysis of multi-components with single-marker method [J]. Curr Pharm Anal,2017,13(3):289-295.
- [33] 宋永贵,张武岗,刘岩庭,等. 一测多评法同时测定预知子中4种三萜皂苷[J]. 中草药,2012,43(7):1418-1421.
- [34] 涂正伟,李东华,关鑫,等. 一测多评法测定败酱草中3种三萜类成分[J]. 中国中西医结合外科杂志,2016,22(5):479-482.
- [35] 黄帅,马森,黄倩倩,等. 一测多评法同步测定柴胡药材中3种皂苷的含量[J]. 时珍国医国药,2010,21(4):838-840.
- [36] 张洪峰,王乐,张凯,等. 一测多评法测定冀南产柴胡中柴胡皂苷类成分[J]. 中国现代中药,2016,18(12):1594-1597,1601.
- [37] 孙玲,樊晓兰,郭琦,等. 一测多评法同时测定山银花药材中5种皂苷类成分的含量[J]. 中国药房,2017,28(18):2546-2549.
- [38] GAO W, WANG R, LI D, et al. Comparison of five *Lonicera* flowers by simultaneous determination of multi-components with single reference standard method and principal component analysis [J]. J Pharmaceut Biomed Anal,2016,117:345-351.
- [39] 张秋红,于姗姗,岳路路. 一测多评法同时测定酸枣仁的多个成分含量[J]. 中国执业药师,2016,13(9):13-17.
- [40] 陈驰,关琴笑,朱冬宁,等. 一测多评法测定人参中9种人参皂苷的含量[J]. 中药材,2017,40(1):122-126.
- [41] Stavrianidi A, Stekolshchikova E, Porotova A, et al.

- Combination of HPLC-MS and QAMS as a new analytical approach for determination of saponins in ginseng containing products [J]. *J Pharmaceut Biomed Anal*, 2017, 132: 87-92.
- [42] 张美玲, 蔡广知, 宋媛, 等. 基于一测多评法的人参叶药材、提取物及制剂中皂苷测定方法研究 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(6): 997-1001.
- [43] 郭玉岩, 吕邵娃, 孟涛, 等. 基于一测多评法测定类叶牡丹中6种皂苷类成分 [J]. *中草药*, 2017, 48(8): 1661-1665.
- [44] 蒋龄周, 龚祖芳. 一测多评法同时测定桔梗中3种桔梗皂苷的含量 [J]. *中国现代应用药学*, 2017, 34(5): 729-732.
- [45] ZENG L, KONG H, ZHU M, et al. A facile method to evaluate the quality of *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle using reference standard extract [J]. *J Funct Foods*, 2016, 26: 48-56.
- [46] 蔡海霞, 赵红卫, 秦玉花, 等. 高效液相-蒸发光散射检测器测定黄芪中4种皂苷类成分 [J]. *医药导报*, 2016, 35(8): 861-866.
- [47] Gómez-Caravaca A M, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A, et al. Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(20): 10815-10825.
- [48] Ichikawa M, Ohta S, Komoto N, et al. Simultaneous determination of seven saponins in the roots of *Codonopsis lanceolata* by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(1): 52-57.
- [49] SUN J, JIANG Z Z, YAN R Q, et al. Quality evaluation of Astragali Radix products by quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(4): 272-279.
- [50] YANG X, ZHANG X, YANG S P, et al. Simultaneous quantitative analysis of multi-compounds by a single marker in Radix Astragali by using serum HPLC-MS feature [J]. *Pak J Pharm Sci*, 2016, 29(4): 1243-1249.
- [51] KUANG G, ZHOU J, YAO M, et al. Systematic study on QAMS method for simultaneously determination of triterpenoid saponins in *Ilex Pubescens* by HPLC and UPLC [J]. *Anal Methods-UK*, 2015, 7(16): 6579-6587.
- [52] 袁会琼, 刘江, 柳波, 等. “一测多评法”测定不同种重楼植物中的4种重楼皂苷含量 [J]. *中国医院药学杂志*, 2017, 37(16): 1612-1616, 1621.
- [53] 徐赛华, 沈昱翔. 一测多评法测定重楼药材中4种皂苷类成分含量 [J]. *医药导报*, 2017, 36(9): 1029-1033.
- [54] MA C, GAO W, MAN S, et al. A quantitative method using one marker for simultaneous assay of steroidal saponins in *Rhizoma Paridis* [J]. *Lat Am J Pharm*, 2010, 29(7): 1171-1176.
- [55] 李瑞雪, 吴飞, 张继全, 等. 一测多评法用于香加皮提取物中7种C21甾体皂苷成分的含量测定 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14(27): 21-24.
- [56] 孙玲, 王宁, 刘金权. 一测多评法测定知母中皂苷类成分的含量 [J]. *中药材*, 2015, 38(5): 997-1000.
- [57] 耿燕娜, 张文鑫. 一测多评法同时测定复方丹参片中人参皂苷 R_{g1}, R_e, R_{b1} 和三七皂苷 R₁ 含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(1): 69-72.
- [58] 于素云, 杨立华, 王源, 等. 一测多评法在复方血栓通胶囊8种成分检测中的应用 [J]. *国际药学研究杂志*, 2014, 41(2): 231-237.
- [59] 靳瑞婷, 杨素德, 付娟, 等. 一测多评法测定芪白平肺颗粒中8种皂苷类成分 [J]. *中草药*, 2015, 46(24): 3682-3686.
- [60] 代百东, 孙莉琼, 李艳静, 等. “一测多评”法测定腰痹通胶囊中5种皂苷类成分的含量 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2014, 16(10): 2227-2232.
- [61] 王小平, 白吉庆, 王亚恒, 等. 一测多评法测定藤珠胃康颗粒中4个皂苷成分 [J]. *中国新药杂志*, 2017, 26(15): 1843-1847.
- [62] 吕晓霞, 陈宗良, 陈桂茜, 等. 一测多评法在仙灵骨葆胶囊中多成分检测的应用研究 [J]. *中草药*, 2016, 47(24): 4374-4378.
- [63] 李玲, 赵顺, 罗疆南, 等. 一测多评法测定胃苏颗粒中4种成分的含量 [J]. *药物分析杂志*, 2015, 35(4): 751-757.
- [64] 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, 2015.
- [65] 张梅, 柴彦, 任爱农, 等. “一测多评”法同时测定清清颗粒中10种指标成分 [J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(3): 318-323.
- [66] 王玲娜, 刘红燕, 张金, 等. “一测多评法”与外标法测定金银花中8种活性成分含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(20): 57-61.
- [67] 丁黎艳, 周璐, 王丽娜, 等. 一测多评法测定补骨脂中不同类型成分的含量 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5): 152-154.
- [68] 吴有根, 陈燕军, 魏惠珍, 等. 一测多评法测定冠心丹参颗粒中4种成分的含量 [J]. *中国医院药学杂志*, 2016, 36(15): 1252-1255.
- [69] 穆箫吟, 刘莉. 一测多评法同时测定舒血宁注射液中的4种内酯含量 [J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(1): 169-173.
- [70] 刘宏, 雷露静, 白玉琴, 等. 一测多评法同时测定蒙药三子散中7种指标成分 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(18): 58-63.

[责任编辑 顾雪竹]