

黄芪有效成分的药理作用与质量控制研究进展

王 祯, 张俊令, 焦宏基, 刘 婧, 王晋乾*

北京协和制药二厂有限公司, 北京 102600

摘要: 黄芪是大宗药材, 有效成分主要包括多糖类、皂苷类和黄酮类。多糖类成分是黄芪中含量最多的活性成分, 具有提高免疫力、抗衰老、改善记忆力等药理作用; 皂苷类成分具有抗炎、免疫调节、抗氧化等作用; 黄酮类成分具有显著的抗氧化、抗衰老等作用。黄芪有效成分的质量控制方法以高效液相色谱法最为常用, 根据不同有效成分的特性可选用不同的检测器; 另外, 红外光谱法、色谱-质谱联用技术等也是其质量控制的有效方法。综述黄芪有效成分的药理作用及其质量控制研究进展, 明确黄芪有效成分的药理作用并为黄芪各有效成分的质量控制提供参考和依据。

关键词: 黄芪; 皂苷类; 多糖类; 黄酮类; 药理作用; 质量研究

中图分类号: R285.5; R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 04-0917-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.04.030

Research progress on pharmacological action and quality control of effective components of *Astragali Radix*

WANG Zhen, ZHANG Junling, JIAO Hongji, LIU Jin, WANG Jinqian

Peking Union Second Pharmaceutical Factory Co., Ltd., Beijing 102600, China

Abstract: *Astragali Radix* is a kind of bulk medicinal materials, and its effective components mainly include polysaccharides, saponins and flavonoids. Among them, polysaccharides are the most active ingredients in *Astragali Radix*, which can improve immunity, anti-aging and memory. Saponins have anti-inflammatory, immunomodulatory and antioxidant effects. Flavonoids have significant antioxidant and anti-aging effects. High performance liquid chromatography is the most commonly used method for quality control of the effective components of *Astragali Radix*. Different detectors can be selected according to the characteristics of different effective components. In addition, infrared spectroscopy, chromatography-mass spectrometry are also effective methods for quality control. In this paper, pharmacological effects and quality research progress of effective components in *Astragali Radix* were reviewed, so as to clarify pharmacological effects of effective components and provide reference and basis for quality control of effective components in *Astragali Radix*.

Key words: *Astragali Radix*; saponins; polysaccharides; flavonoids; pharmacological effects; quality research

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根^[1]。现代研究发现黄芪具有多种药理作用, 可抑制炎症、清除自由基、抑制血管内皮单层通透性, 具有抗病毒、保护心脑血管、提高免疫力、抗肿瘤等功效^[2]。不同的药理作用往往与不同的化学成分相关, 黄芪的化学成分包括多糖类、皂苷类、黄酮类、蔗糖、黏液质、苦味素、氨基酸、微量元素等, 其中多糖类、皂苷类、黄酮类是黄芪的主要有效成

分^[3]。皂苷类成分具有抗炎、免疫调节、抗氧化、抗细胞凋亡等药理作用; 多糖类具有提高免疫力、抗衰老作用; 黄酮类具有抗氧化、抗糖尿病、免疫调节和保护心血管系统等作用^[4]。不同来源的黄芪中有效成分的种类及含量存在差异, 而不同有效成分的共同作用是黄芪药理作用的物质基础。因此, 对黄芪有效成分的质量控制是保证药材质量的关键。为保证中药临床用药的安全、有效、可控及中药产业可持续发展, 有必要制定有效的质量控制方法。近年来的综述类文章多总结了黄芪中某一类成分

收稿日期: 2022-10-19

第一作者: 王 祯, 女, 硕士, 研究方向为药物分析。E-mail: 18865517800@163.com

*通信作者: 王晋乾, 女, 硕士, 研究方向为药物开发。E-mail: wangjinqian@bupf.net

或黄芪药材的药理作用和质量研究进展,而总结黄芪中各类有效成分的药理作用和质量研究的文章罕有发表。通过总结近年来发表的相关文献,针对黄芪中皂苷类、多糖类、黄酮类等有效成分的药理作用及质量控制研究进展进行综述,以期对黄芪中有效成分的质量控制提供参考和依据。

1 药理作用

黄芪的多糖类、皂苷类、黄酮类是其主要有有效成分,对这些有效成分抑制炎症、清除自由基、抑制血管内皮单层通透性等药理作用进行综述,并简要总结了各有效成分在抗病毒、保护心脑血管、提高免疫力、抗肿瘤等方面的研究进展。

1.1 皂苷类成分的药理作用

黄芪中有40多种三萜皂苷类化合物,分为黄芪皂苷、异黄芪皂苷、乙酰基黄芪皂苷、大豆皂苷4类。黄芪中的皂苷类成分有抗炎、免疫调节、抗氧化、抗细胞凋亡、调节代谢、抗纤维化、抑制肿瘤等作用。张丹丹等^[5]为研究黄芪皂苷对气虚模型大鼠的补气作用,将大鼠分为正常组、模型组、阳性对照组(补中益气丸 $4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)和黄芪总皂苷高剂量组($252\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、低剂量组($28\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$),每组8只。除正常组外,其他组大鼠采用“饮食不节+疲劳”法造模,各给药组ig相应的药物,正常组和模型组ig给药等体积水,每天1次,给药21 d。以大鼠的体质量、胸腺指数、脾指数、负重耐力游泳时间、脾T淋巴细胞亚群CD3、CD4、肝组织中三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)等物质的水平作为主要指标,研究黄芪总皂苷对气虚模型大鼠的补气作用。结果发现黄芪总皂苷可降低肌酸激酶(CK)活性、降低体内脂质过氧化物水平并调节免疫功能,从而起到补气、延缓疲劳、增强运动能力的作用。

黄芪甲苷又称黄芪皂苷IV,是黄芪的重要活性成分。2020年版《中国药典》将黄芪甲苷的含量确定为黄芪质量控制的重要指标之一。因此,近年来,研究者重点对黄芪甲苷的药理作用机制展开了研究。廖建钊等^[6]分离培养大鼠乳鼠胫骨与股骨软骨细胞,取对数生长期软骨细胞,分为空白组、黄芪甲苷组、小片段干扰核糖核酸阴性对照组(NC-siRNA)、小片段干扰核糖核酸转染组(YAP1-siRNA)、模型组。模型组使用炎症因子白细胞介素-1 β 诱导软骨细胞产生炎症,黄芪甲苷组使用 $200\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 黄芪甲苷对受损细胞进行修护,48 h后检测细胞活性、细胞凋亡情况等指标。结果显示黄芪甲苷具有抗炎作用,能提高软骨细胞的活力、降低其凋亡率,

对软骨具有修复的作用。

Yin等^[7]给大鼠进行短暂性脑缺血再灌注手术后,随机分为5组,包括假手术组、模型组、黄芪甲苷低剂量($12.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组、中剂量($25.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组、高剂量($50.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,连续给药7 d,每天1次,假手术组和模型组给予等量的无菌蒸馏水。通过检测大鼠神经功能缺损、脑梗死体积等指标,发现黄芪甲苷能显著减轻脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能缺损,并减轻了脑梗死和神经元凋亡。研究结果证实了黄芪甲苷抗细胞凋亡作用。

1.2 多糖类成分的药理作用

黄芪多糖(APS)是黄芪中含量最多的活性成分,具有提高免疫力、抗衰老、改善记忆力、抗骨质疏松等多种药理作用^[8]。其中,调节免疫系统功能是黄芪多糖的主要生物活性,其作用机制是通过刺激细胞因子的释放、改善吞噬细胞功能,从而影响神经-内分泌-免疫系统网络进行免疫调节^[9]。

易红梅等^[10]将创伤感染患者随机分为对照组和研究组,对照组iv布洛芬(每次 $8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)治疗、研究组iv黄芪多糖(250 mg)联合布洛芬(每次 $8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)治疗,两组患者均治疗1周。通过比较2组患者巨噬细胞分泌功能、T淋巴细胞亚群水平,发现黄芪多糖具有免疫抑制和抗急性应激反应作用。治疗时加入黄芪多糖能更有效改善患者的吞噬细胞分泌功能和T淋巴细胞亚群水平,提高患者的免疫功能。

魏瑜等^[11]使用狼疮模型小鼠作为研究对象,将20只狼疮小鼠随机分为模型组和药物组,每组10只,另10只小鼠作为对照组。药物组采用黄芪多糖($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)治疗,对照组和模型组均采用生理盐水($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)治疗,治疗时间为10周。经过统计分析,结果发现黄芪多糖通过影响T盒转录因子(T-bet)、GATA结合蛋白3(GATA-3)的表达水平,调节辅助性T细胞1/辅助性T细胞2(Th1/Th2)细胞的平衡,进而下调自身抗体水平,对红斑狼疮起到治疗作用。

近年来,研究者针对黄芪多糖改善记忆力,治疗阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病也展开了深入研究^[12]。费洪新等^[13]采用人 β 淀粉样蛋白(A β 1-42)双侧脑室注射诱导阿尔茨海默病小鼠模型,将小鼠随机分成对照组、模型组、吡拉西坦组和黄芪多糖高、中、低剂量组,对照组、模型组小鼠使用生理盐水ig,吡拉西坦组ig吡拉西坦 $620\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、黄芪多糖高、中、低剂量组分别ig黄芪多糖800、600、200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,给药时间

均为28 d。以小鼠学习记忆能力、海马组织的镜下形态结构、脑和脾脏的脏器指数、脑组织含水量等作为主要观察指标。结果发现黄芪多糖通过改善脑和脾的功能、改善脑组织水肿,起到增强记忆、提高学习能力的作用,不同给药剂量的黄芪多糖均有较好的药理作用。

陈璐等^[14]通过建立帕金森大鼠模型,随机将大鼠分为帕金森模型组、帕金森模型+左旋多巴(阳性对照)组、帕金森模型+黄芪多糖组和正常对照组,其中,帕金森模型+左旋多巴组和帕金森模型+黄芪多糖组分别ig给药 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。以第1、7、14天的大鼠旋转行为及第14天的黑质病理变化、脑组织中炎性细胞因子含量变化作为主要指标,观察黄芪多糖给药后大鼠旋转行为、黑质病理及脑组织中炎性细胞因子含量变化。结果发现黄芪多糖可抑制黑质蛋白表达,提高酪氨酸羟化酶的含量,减少脑组织中炎性细胞因子。根据上述研究结果,黄芪多糖对阿尔茨海默病、帕金森病等神经系统疾病有明显改善作用。

1.3 黄酮类成分的药理作用

黄芪总黄酮(TFA)是黄芪中重要的次生代谢产物,黄芪中的黄酮类成分30余种,主要有毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、芦丁、山柰酚、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、染料木苷、染料木素等^[15-18]。其中,毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量是《中国药典》2020年版黄芪质量控制的重要指标。

黄酮类作为黄芪中一类活性物质,有多种生物活性,黄芪总黄酮表现出显著的抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、抗糖尿病、免疫调节和保护心血管系统等作用,黄芪总黄酮还可通过多个通路和靶点抑制炎症反应、降低氧化应激损伤、控制血糖和血脂,有效治疗糖尿病及其并发症。蔡文吉等^[19]使用正交试验优选提取方法得到黄芪总黄酮,并将小鼠分为空白对照组、原药组、水洗脱组、黄酮类纯化物低剂量组、黄酮类纯化物中剂量组、黄酮类提取物高剂量组。分别使用生理盐水($30\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)、原药($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、水洗脱液($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、低剂量黄芪提取液($7.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、中剂量黄芪提取液($15\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、高剂量黄芪提取液($30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)给小鼠ig。通过酶联免疫法、胸腺指数评价黄芪中黄酮类成分对免疫功能的影响,并通过体外细胞实验评价黄芪中黄酮类成分对柯萨奇病毒的影响,结果发现黄芪原药对治疗病毒性心肌炎有一定抑制作用,黄芪总黄酮提取物含量较高时,作用效果与黄芪原药提取液相

似。黄芪总黄酮可能通过抑制病毒RNA复制、增强免疫力,从而达到治疗病毒性心肌炎的目的。

谌卫龙^[20]等建立了四氯化碳(CCl_4)诱导的大鼠肝纤维化模型,将大鼠分为正常组、模型组(生理盐水)、黄芪总黄酮低剂量($15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)组和黄芪总黄酮高剂量($30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)组,除正常组外,其余3组sc给予40% CCl_4 橄榄油混合液,每周2次,共8周。第5周开始,模型组、黄芪总黄酮高、低剂量组开始ig给药,每天1次,治疗4周。以血清中谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、白蛋白(ALB)水平、超氧化物歧化酶(SOD)水平等作为主要指标,观察黄芪总黄酮对机体的药理作用。结果发现黄芪总黄酮可抑制炎症,提高SOD表达水平,有效地延缓 CCl_4 诱导的肝纤维化进程。

研究还发现黄芪黄酮能诱导神经干细胞的增殖和分化并修复神经损伤,可能对于治疗脑梗死或预防脑损伤有一定作用^[21-22]。综上所述,黄芪中黄酮类成分可通过清除自由基、抗炎、调节免疫、修复神经损伤等作用调节机体功能,从而对多种疾病起到一定的改善和治疗作用。

2 有效成分的质量控制

中药材市场是中药材的主要流通渠道,由于严格的市场准入制度和市场监管制度不完善,中药材造假、重金属超标、有效成分含量低等现象时有发生,影响了中药材质量^[23]。与化学药的单一成分起效不同,中药通常需多组分协同发挥药效,因此,黄芪中各有效成分的质量分析方法也是建立合理的质量控制方法的关键。

2.1 多指标含量测定

黄芪中多糖类、皂苷类和黄酮类成分的含量是药物有效性的重要影响因素,研究者常通过测定各有效成分的含量,作为黄芪质量控制的重要指标。黄芪的定量分析方法以高效液相色谱(HPLC)法最为常用。另外,色谱-质谱联用技术(LC-MS)专属性强;红外光谱(IR)法操作简便、检测速度快;紫外光谱法(UV)法检测快速、有效,多种分析技术取长补短,为黄芪有效成分的定量分析提供了有效手段。

2.1.1 HPLC法测定黄芪中有效成分的含量
HPLC法是目前最常用的黄芪有效成分的含量检测方法。其中,二极管阵列检测器(HPLC-DAD)或紫外检测器(HPLC-UV)适用于紫外吸收强的成分检测,可有效检测黄酮类成分;但皂苷类成分紫外吸收较弱,使用此检测器灵敏度低,不易检测。《中国药典》2020年版采用HPLC-DAD或HPLC-UV为检

测器,十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱(C_{18} 柱)为固定相,乙腈-0.2%甲酸溶液为流动相,梯度洗脱,在260 nm检测波长下测定毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量。童丹等^[24]采用HPLC-UV法同时测定黄芪中毛蕊异黄酮苷、毛蕊异黄酮、芒柄花苷以及芒柄花素含量, C_{18} 柱作为固定相,以乙腈-0.1%甲酸水溶液为流动相,梯度洗脱,在254 nm检测波长下进行检测。此方法可有效分离多种黄酮类物质,并检测其含量。牟佳佳等^[25]也使用HPLC-DAD建立类似的分析方法,分离并测定了毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、7-羟基-4'-甲氧基异黄酮的含量。

蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)适合检测不含发色团的化合物,可以进行皂苷类成分检测,但黄酮类成分在此类检测器下吸收较弱、重现性差,不易检测^[26-27]。《中国药典》2020年版采用HPLC-ELSD检测器, C_{18} 柱为固定相,乙腈-水(32:68)为流动相,测定黄芪甲苷的含量。张士妍等^[28]采用该方法测定了心荣颗粒中黄芪甲苷的含量,证明该方法重复性好、专属性强,可作为评价该药品中黄芪甲苷含量的有效方法。

电喷雾检测器(HPLC-CAD)可有效检测皂苷类和黄酮类成分的含量^[29]。姚静等^[30]采用HPLC-CAD同时测定黄芪中黄芪皂苷I、黄芪皂苷II、黄芪甲苷3种皂苷类成分和毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花素、7,2'-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄酮3种黄酮类成分的含量,采用 C_{18} 柱为固定相,0.05%甲酸水-0.05%甲酸乙腈为流动相,梯度洗脱。该法稳定、准确度高,可测定多成分含量。

多糖类成分的含量检测方法复杂且不易实施,HPLC法可测定单糖类的含量。水解多糖后采用1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)柱前衍生化-HPLC法可有效测定糖类成分的含量。余亦婷等^[31]将黄芪多糖水解后经三氟乙酸水解和PMP衍生化,采用HPLC-UV测定其中的甘露糖、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖等6种单糖的含量。该方法可用于黄芪药材中多糖的单糖定量测定,为多糖类成分的含量测定提供了有效手段。

由此可见,HPLC法专属性高、检测速度快、操作简便、可连接不同检测器、适用于多种成分检测,广泛用于各类黄芪有效成分的含量测定,是目前黄芪有效成分含量测定的首选方法。

2.1.2 LC-MS测定黄芪中有效成分的含量 LC-MS中,色谱作为分离手段,质谱作为鉴定工具,二

者取长补短,可有效分离、分析复杂样品的成分。因此,采用LC-MS法测定黄芪中有效成分含量比HPLC法更加灵敏、准确,且对样品成分的分离度要求较小。陈春茗等^[32]采用 C_{18} 柱,以乙腈-0.3%甲酸溶液为流动相,检测波长254 nm,以离子监测为扫描模式测定黄芪药材中毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素的含量。该方法的液相方法与HPLC法类似,但在样品分离度不好的情况下,采用LC-MS法可提高含量测定的准确度。

基于上述优势,马天成等^[33]使用精确度、准确度更高的超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)同时检测黄芪中10种化合物含量。研究者采用 C_{18} 柱,以0.1%甲酸溶液-含0.1%甲酸的乙腈流动相,梯度洗脱,以ESI负离子模式扫描,首次实现对黄芪中黄芪皂苷I、黄芪皂苷II、黄芪皂苷III、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮、毛蕊异黄酮苷、芒柄花苷、刺芒柄花素、7,2'-二羟基-3',4'-二甲基异黄酮、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷10个成分的含量测定。

LC-MS法对仪器要求高,但响应效果好、重复性好、灵敏度高,且不要求待测成分达到完全分离,是高效检测黄芪中多种有效成分含量的优先选择的实验方法。

2.1.3 其他方法 作为上述方法的补充方法,IR法和UV法也可快速、有效地测定黄芪中多种有效成分的含量。战皓等^[34]采用IR对黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的含量进行快速无损检测。选取4 000~8 000 cm^{-1} 进行预处理,并在此基础上采用偏最小二乘法(PLS)法建立毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷的定量分析模型,测定其含量。该方法简便、检验速度快,在一定程度上可以实现对黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷含量的预测。UV法检测快速、有效,是黄芪总皂苷、总黄酮、总多糖的有效测定方式。尹震等^[35]采用UV法,并分别以香草醛-硫酸和香草醛-高氯酸为显色体系,以黄芪甲苷为对照品,在450 nm波长处测定了黄芪中总皂苷含量。王焕英等^[36]采用超声法提取黄芪中黄酮,使用UV法在265 nm下测定吸光度,并与芦丁标准品进行对比,实现总黄酮的含量测定。杨淑萍等^[37]选取苯酚-硫酸法为显色体系,选取491 nm作为检测波长,以无水葡萄糖标准品为对照,建立了黄芪中总多糖的含量测定的方法。

IR法和UV法快速、有效,但灵敏度较低,不适用于检测单个成分的含量,可作为HPLC法的补充检测方法。

2.2 有效成分的指纹图谱分析

中药指纹图谱是综合的、量化的鉴定手段,是建立在中药化学成分系统研究的基础上,用于评价中药真实性、稳定性、一致性和有效性的方法。中药色谱指纹图谱相似度评价系统可对中药材进行相似度分析,通过制定指纹图谱及对获得数据的多元统计分析,最终实现对中药材、中成药的整体评价,可达到质量可控的目的^[38]。因此,中药指纹图谱是满足多组分整体质量控制、确保中药内在质量均一和稳定的方法。其涉及的检测方法包括薄层色谱法(TLC)、HPLC、气相色谱法(GC)和高效毛细管电泳法(HPCE)等色谱法以及UV、IR、质谱法(MS)、核磁共振法(NMR)等光谱法。《中国药典》2010年版开始将指纹图谱应用于中药质量控制,2015年版和2020年版均不断更新指纹图谱,以完善国家药品质量标准。

目前《中国药典》未收载黄芪的指纹图谱,但已有研究者进行相关研究并将其应用于黄芪药材的质量分析。孙欣光等^[39]利用傅里叶变换红外光谱法(FTIR)测定指纹图谱,比较不同产地黄芪的特征峰,发现在1 000~1 800 $\lambda \cdot \text{cm}^{-1}$ 处特征性较强,可对黄芪做初步鉴定。与含量测定一样,HPLC-ELSD法主要用于皂苷类、多糖类指纹图谱制定;HPLC-DAD法/HPLC-UV法可用于黄酮类和糖类成分指纹图谱制定^[25];HPLC-CAD法^[26]建立的黄芪药材指纹图谱,可同时对黄酮类和皂苷类物质进行表征,使用HPLC法制定指纹图谱实现了对黄芪药材质量较全面的评价。

3 结语

黄芪有效成分的质量决定了黄芪药材的药用价值,本文系统地总结了黄芪有效成分的药理作用及质量评价方法。目前,黄芪及其有效成分的质量评价多基于使用色谱、质谱技术进行定性和定量,由于传统技术存在一定的技术瓶颈,近年来研究者开始将多种新型理念如药靶组学、中药饮片质量标志物(Q-Marker)及新型技术如聚合酶链式反应(PCR)应用于黄芪及其有效成分的质量研究中,与传统技术相结合,为黄芪质量评价提供更有效、便捷的途径,未来多种新技术应用也会使黄芪的药用价值得到更为深入的研究。

3.1 药靶组学应用于黄芪作用机制研究

黄芪作为常用中药材之一,药用价值丰富^[40]。但黄芪的成分复杂,从分子机制层面精确阐述其药理作用有一定难度。为解决这一问题,2019年王升

启^[41]首次提出“药靶组学”这一概念。药靶组学是指通过多组学融合等手段鉴定人体可用于药物作用并改善健康的所有效应分子集合,即基于药物复杂结构和多重药理功能,构建动态的分子网络,应用多种生物信息学技术识别分子群及相关通路的变化规律,验证潜在的“药物靶标”,从而形成“药靶组”。研究者可根据对药物-靶标相互作用(DTI)的鉴定,确定药物分子和靶标之间的相互作用,并基于此确定靶向药物分子。此概念将“中药基因组学”与“中药化学组学”相结合,为黄芪及其有效成分的分子机制研究提供新途径。

3.2 利用生物信息学和分子生物学技术进行鉴别

虽然黄芪的药理作用主要取决于其有效成分,但黄芪药材的整体质量保证药材使用的安全性。尤其是黄芪药材的真伪、优劣鉴别一直是药品质量控制的重要组成部分。除传统的化学鉴别方法外,利用生物信息学和分子生物学技术不仅可有效鉴别黄芪,还对黄芪的产地鉴别有一定参考意义。PCR技术中药分子生物学鉴别核心技术,其原理是根据已知的DNA序列,设计并合成相应的上下游引物,在聚合酶作用下将目的DNA序列进行体外扩增^[42]。实验时通常选取中药里有区分力的多个基因,使用简单序列重复标记技术(SSR)、限制性片段长度多态性技术(RFLP)、扩增片段长度多态性技术(AFLP)、随机扩增多态性DNA标记技术(RAPD)等方法进行标记并利用PCR技术对多个基因分别进行扩增,对PCR产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,最终达到鉴别区分的目的。此方法准确度高、重现性好、稳定、可靠且能与药效学信息相关联,已被用于黄芪的鉴别。

3.3 根据Q-Marker进行黄芪质量评价研究

随着野生黄芪资源逐年减少,栽培品的质量是保证用药安全性和有效性的关键。不断探究高效的质量研究方法有利于中医药行业的进步和发展。2016年刘昌孝院士^[43]首次提出Q-Marker的概念,此概念是继指纹图谱后中药材整体质量分析的又一潜在方向。中药Q-Marker是指存在于中药材或中药制剂中固有的或加工制备过程中形成的、与中药功能属性有密切关联的化学物质,可以反映中药安全性和有效性^[44]。根据Q-Marker的概念,已有研究者进行黄芪Q-Marker预测。基于药物的传统功效、化学成分的可测性、产地及来源等因素,推测黄芪中的总多糖,毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、毛蕊异黄酮和芒柄花素等黄酮类,黄芪甲苷等皂苷类可

以作为黄芪的Q-Marker,可考虑根据这些成分进行黄芪药材的质量评价^[45-49]。此方法将黄芪有效成分的质量研究与黄芪药材的质量研究完美结合,Q-Marker是以标志性成分的质量来评价整体药材质量,质量标志物的选取基于多种指标且具有代表性。此方法对药物质量研究的适用性基于质量标志物选取的合理性,但是,是否适用于黄芪及其有效成分的质量研究,还需进一步探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典. [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] 张瑞华, 张静文, 刘玲, 等. 黄芪及其有效组分药理作用与临床应用现状 [J]. 陕西中医, 2021, 42(8): 1138-1142.
Zhang R H, Zhang J W, Liu L, et al. The pharmacological effects and current situation of clinical application of *Astragalus membranaceus* and its effective components [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2021, 42(8): 1138-1142.
- [3] 姜辉, 顾胜龙, 张玉婷, 等. 黄芪化学成分和药理作用研究进展 [J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39(5): 93-96.
Jiang H, Gu S L, Zhang Y T, et al. Research progress of chemical constituents and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* [J]. J Anhui Univ Tradit Chin Med, 2020, 39(5): 93-96.
- [4] 胡妮娜, 张晓娟. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2021, 38(1): 76-82.
Hu N N, Zhang X J. Research progress on Chemical components and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* [J]. Inform Tradit Chin Med, 2021, 38(1): 76-82.
- [5] 张丹丹, 王天合, 余意, 等. 黄芪总皂苷对气虚模型大鼠的补气作用及机制研究 [J]. 中国药房, 2020, 31(24): 3020-3025.
Zhang D D, Wang T H, Yu Y, et al. Study on "Qi-invigorating" effect and its mechanism of total saponins of *Astragalus membranaceus* on rats with qi-deficiency [J]. Chin Pharm, 2020, 31(24): 3020-3025.
- [6] 廖建钊, 杨楠, 周毅, 等. 黄芪甲苷对炎性损伤软骨细胞的保护作用 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(14): 2158-2163.
Liao J J, Yang N, Zhou Y, et al. Protective effect of astragaloside IV against inflammatory injury in chondrocytes [J]. Chin J Tissue Engin Res, 2023, 27(14): 2158-2163.
- [7] Yin F, Zhou H F, Fang Y C, et al. Astragaloside IV alleviates ischemia reperfusion-induced apoptosis by inhibiting the activation of key factors in death receptor pathway and mitochondrial pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2020, doi:10.1016/j.jep.2019.112319.
- [8] Yu D, Wan H T, Huang P, et al. A critical review of *Astragalus* polysaccharides: From therapeutic mechanisms to pharmaceuticals [J]. Biomed Pharmacother, 2022, doi:10.1016/J.BIOPHA.2022.112654.
- [9] Zhou R G, Teng L, Zhu Y J, et al. Preparation of *Amomum longiligulare* polysaccharides 1-PLGA nanoparticle and its immune enhancement ability on RAW264.7 cells [J]. Int Immunopharmacol, 2021, doi: 10.1016/J.INTIMP.2021.108053.
- [10] 易红梅, 李英, 肖英, 等. 黄芪多糖联合布洛芬对创伤感染患者巨噬细胞分泌功能、T淋巴细胞亚群水平的影响及其影响因素分析 [J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(2): 369-373.
Yi H M, Li Y, Xiao Y, et al. Effect of *Astragalus* polysaccharide combined with ibuprofen on macrophage function and T lymphocyte subsets in patients with trauma infection and analysis of its influencing factors [J]. Progr Mod Biomed, 2021, 21(2): 369-373.
- [11] 魏瑜, 赵珍, 张传标, 等. 黄芪多糖对系统性红斑狼疮小鼠免疫调节的影响 [J]. 安徽医药, 2021, 25(5): 863-867.
Wei Y, Zhao Z, Zhang C B, et al. Effect of *Astragalus* polysaccharide on immune regulation of systemic lupus erythematosus mice [J]. Anhui Med Pharm J, 2021, 25(5): 863-867.
- [12] Liu H, Chen S, Guo C J, et al. Retracted: *Astragalus* polysaccharide protects neurons and stabilizes mitochondrial in a mouse model of Parkinson disease [J]. Med Sci Monit, 2021, doi:10.12659/MSM.934235.
- [13] 费洪新, 高音, 孙丽慧, 等. 黄芪多糖对阿尔茨海默病小鼠海马组织的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(16): 4426-4429.
Fei H X, Gao D, Sun L H, et al. Effect of *Astragalus* polysaccharides on the hippocampal tissue in Alzheimer's disease mouse [J]. Chin J Geriatr, 2015, 35(16): 4426-4429.
- [14] 陈璐, 周群. 黄芪多糖对帕金森大鼠模型的治疗作用及机制探讨 [J]. 世界科技研究与发展, 2015, 37(2): 168-171.
Chen L, Zhou Q. *Astragalus* polysaccharide alleviates symptoms of rat with Parkinson's disease [J]. World Sci Technol Res Develop, 2015, 37(2): 168-171.
- [15] 吴红根, 钟淑梅, 彭璐, 等. HPLC-ESI-MS/MS分析黄芪蜜炙前后活性成分差异 [J]. 质谱学报, 2020, 41(6): 637-647.
Wu H G, Zhong S M, Peng L, et al. HPLC-ESI-MS/MS analysis of active component differences in *Astragalus* before and after honey-fried [J]. J Chin Mass Spectr, 2020, 41(6): 637-647.
- [16] Pan C L, Wang H, Shan H, et al. Preparative isolation and purification of calycosin and formononetin from *Astragali Radix* using hydrolytic extraction combined

- with high speed countercurrent chromatography [J]. J Chromatogr Sci, 2021, 59(5): 412-418.
- [17] 卢万飘, 蓝剑锋, 覃子龙. 不同产地黄芪中总黄酮的测定方法研究 [J]. 亚太传统医药, 2020, 16(8): 62-65.
- Lu W P, Lan J F, Qin Z L. Study on the determination method of kaempferol in *Astragalus membranaceus* from different producing areas [J]. Asia-Pacif Tradit Med, 2020, 16(8): 62-65.
- [18] 田华, 邓雁如, 周坤, 等. 蒙古黄芪的化学成分研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(7): 70-73.
- Tian H, Deng Y R, Zhou K, et al. Chemical Constituents of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2016, 22(7): 70-73.
- [19] 蔡文吉. 黄芪中黄酮类成分的抗病毒作用研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- Cai W J. Study on antiviral effect of flavonoids from *Astragalus membranaceus* [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [20] 湛卫龙, 李卫明, 张守华, 等. 黄芪总黄酮通过抗炎抗氧化作用减轻大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 江西医药, 2020, 55(10): 1404-1407, 1416.
- Chen W L, Li W M, Zhang S H, et al. Total flavonoids of *Astragalus attenuates* hepatic fibrosis by anti-inflammatory and antioxidant effect [J]. Jiangxi Med J, 2020, 55(10): 1404-1407, 1416.
- [21] Gao H, Huang N J, Wang W W, et al. *Astragalus* flavone induces proliferation and differentiation of neural stem cells in a cerebral infarction model [J]. Med Sci Monit, 2022, doi: 10.12659/MSM.933830.
- [22] Li X L, Zhao T T, Gu J L, et al. Intake of flavonoids from *Astragalus membranaceus* ameliorated brain impairment in diabetic mice via modulating brain-gut axis [J]. Chin Med, 2022, 17(1): 22.
- [23] 王剑. 中药材市场现状分析与策略研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- Wang J. Research on the situation analysis and strategy of chinese herbal medicine market [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2015.
- [24] 童丹, 王芳. HPLC-UV法测定黄芪中黄酮类化合物含量 [J]. 中兽医医药杂志, 2022, 41(3): 84-87.
- Tong D, Wang F. Determination of flavonoids in *Astragalus membranaceus* by HPLC-UV method [J]. J Tradit Chin Veter Med, 2022, 41(3): 84-87.
- [25] 牟佳佳, 陈芳, 陈党辉, 等. 黄芪中5种黄酮类成分的含量测定及其指纹图谱研究 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(5): 900-906.
- Mu J J, Chen F, Chen D H, et al. Study on the components determination of five flavonoids and HPLC fingerprints of *Radix Astragali* [J]. Drug Eval Res, 2019, 42(5): 900-906.
- [26] 谭春梅, 张文婷, 董婷, 等. 基于高分辨质谱物质基础的蓝芩颗粒指纹图谱质量评价研究 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1203-1207.
- Tan C M, Zhang W T, Dong T, et al. Study on fingerprint quality evaluation of Lanqin Granules based on orbitrap ultra-high resolution mass spectrometry [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(9): 1203-1207.
- [27] 周清, 温金莲, 肖树雄, 等. 黄芪的红外指纹图谱鉴别研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 79-82.
- Zhou Q, Wen J L, Xiao S X, et al. Identification of *Astragali Radix* by infrared fingerprint [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2011, 17(10): 79-82.
- [28] 张士妍, 刘晓瑜, 沈倩. HPLC-ELSD法测定心荣颗粒中黄芪甲苷的含量 [J]. 天津药学, 2022, 34(1): 19-22.
- Zhang S Y, Liu X Y, Shen Q. Determination of astragaloside IV in Xinrong Granules by HPLC-ELSD [J]. Tianjin Pharm, 2022, 34(1): 19-22.
- [29] 曹宇欣, 李科, 秦雪梅, 等. 基于糖特征图谱及免疫细胞活性研究的不同产地黄芪的质量评价 [J]. 药学学报, 2019, 54(7): 1277-1287.
- Cao Y X, Li K, Qin X M, et al. Quality evaluation of different areas of *Astragali Radix* based on carbohydrate specific chromatograms and immune cell activities [J]. Acta Pharm Sin, 2019, 54(7): 1277-1287.
- [30] 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.
- Yao J, Sun X G, Dong R, et al. Simultaneous quantitative analyses of six components in *Astragalus membranaceus* based on HPLC-CAD and quantitative analysis of multi-components with a single-marker [J]. Acta Pharm Sin, 2021, 56(2): 557-564.
- [31] 余亦婷, 皮文霞, 谢辉, 等. PMP柱前衍生化-HPLC法分析不同生长年限黄芪中6种单糖的含量 [J]. 中国药房, 2021, 32(12): 1448-1452.
- Yu Y T, Pi W X, Xie H, et al. Content determination of 6 kinds of monosaccharide in *Astragalus membranaceus* with different growth years by pre-column derivatization-HPLC [J]. Chin Pharm, 2021, 32(12): 1448-1452.
- [32] 陈春茗, 龚姝, 陈蕾, 等. HPLC-MS法测定黄芪中黄酮类成分的含量 [J]. 广州化工, 2020, 48(17): 74-76.
- Chen C M, Gong S, Chen L, et al. Determination of the Content of Flavonoids in *Astragalus membranaceus* by HPLC-MS [J]. Guangzhou Chem Ind, 2020, 48(17): 74-76.
- [33] 马天成, 孙宇, 张金玲, 等. UPLC-MS同时测定黄芪中10种化合物含量 [J]. 中药材, 2019, 42(4): 838-844.
- Ma T C, Sun Y, Zhang J L, et al. Simultaneous determination of 10 compounds in *Radix Astragalus* by UPLC-MS [J]. J Chin Med Mater, 2019, 42(4): 838-844.
- [34] 战皓, 吴宏伟, 张东, 等. 近红外光谱法测定不同产地黄芪中毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷含量 [J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(5): 1391-1396.
- Zhan H, Wu H W, Zhang D, et al. Determination of glucoside and astragaloside IV of calycosin isoflavones in *Astragalus* from different producing areas by near

- infrared spectroscopy [J]. Spectr Spec Anal, 2017, 37(5): 1391-1396.
- [35] 尹震, 宋茜, 赵楚文, 等. 两种紫外-可见分光光度法测定黄芪中总皂苷含量的比较研究 [J]. 海峡药学, 2017, 29(6): 24-27.
- Yin Z, Song Q, Zhao C W, et al. Determination of total astragalosides of *Astragalus membranaceus* by vanillin sulphuric acid method and vanillin perchloric acid method [J]. Strait Pharm J, 2017, 29(6): 24-27.
- [36] 王焕英. 黄芪中总黄酮含量的测定 [J]. 安徽化工, 2019, 45(3): 100-101, 111.
- Wang H Y. Determination of total flavonoids in *Astragalus* [J]. Anhui Chem Ind, 2019, 45(3): 100-101, 111.
- [37] 杨淑萍. 紫外分光光度法检测黄芪多糖含量 [J]. 现代畜牧科技, 2019(8): 7-9.
- Yang S P. Determination of *Astragalus* polysaccharides by ultraviolet spectrophotometry [J]. Mod Anim Sci Technol, 2019(8): 7-9.
- [38] 李婷婷, 舒志恒, 于良, 等. 不同产地黄芪HPLC/DAD指纹图谱及主要黄酮成分含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(13): 1182-1187.
- Li T T, Shu Z H, Yu L, et al. HPLC/DAD Fingerprints and determination of main flavones of *Radix Astragali* from different origins [J]. Chin Hosp Pharm, 2015, 35(13): 1182-1187.
- [39] 孙欣光, 姚静, 杨晓宁, 等. 黄芪药材、提取物及单味制剂的指纹图谱的建立方法: 中国, CN113109482A [P]. 2021-07-13.
- Sun X G, Yao J, Yang X N, et al. Establishment method of fingerprint of *Radix Astragalus*: China, CN113109482 A [P]. 2021-07-13.
- [40] Li S Y, Wang D, Li X R, et al. Identification and activity evaluation of *Astragalus Radix* from different germplasm resources based on specific oligosaccharide fragments [J]. Clin Herb Med, 2021, 13(1): 33-42.
- [41] 王升启. 中药作用分子机制研究新策略 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 647.
- Wang Q S. New strategies for studying the molecular mechanism of Tradit Chin Med action [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(9): 647.
- [42] 詹立平, 赵鑫, 刘志梅. 基于PCR技术的现代分子生物学操作在中药鉴定中的应用 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(7): 25-26, 29.
- Zhan L P, Zhao X, Liu Z M. Application of modern molecular biology operation based on PCR technology in the traditional Chinese medicine identification [J]. China Med Herald, 2013, 10(7): 25-26, 29.
- [43] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- Liu C X, Chen S L, Xiao X H, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica: Quality control for Chinese medicinal products [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [44] 李正, 杨欢, 陈碧莲. 基于指纹图谱和网络药理学对舒筋活血片的质量标志物预测分析 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(13): 1703-1708.
- Li Zh, Yang H, Chen B L. Q-Marker prediction analysis of Shujin Huoxue Tablets based on fingerprint and network pharmacology [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39(13): 1703-1708.
- [45] 戴瑜婷, 张雪燕, 王艺璇, 等. 黄芪的现代研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(7): 1754-1764.
- Dai Y T, Zhang X Y, Wang Y X, et al. Research progress on *Radix Astragalus* and prediction of its quality markers (Q-Marker) [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(7): 1754-1764.
- [46] Zhang C E, Liang L J, Yu X H, et al. Quality assessment of *Astragali Radix* from different production areas by simultaneous determination of thirteen major compounds using tandem UV/charged aerosol detector [J]. J Pharm Biomed Anal, 2019, 165: 233-241.
- [47] 张淑娟, 张育贵, 牛江涛, 等. 黄芪的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2): 151-155.
- Zhang S J, Zhang Y G, Niu J T, et al. Research progress of Huangqi (*Astragali Radix*) and prediction of its quality markers [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2022, 40(2): 151-155.
- [48] Huang J Y, Wong K H, Tay S V, et al. Cysteine-rich peptide fingerprinting as a general method for herbal analysis to differentiate *Radix Astragali* and *Radix Hedysarum* [J]. Front Plant Sci, 2019, doi: 10.3389/fpls.2019.00973.
- [49] Korany M A, Moneeb M S, Asaad A M, et al. Analysis of astragalosides I, II and IV in some Egyptian *Astragalus* species and *Astragalus* dietary supplements using high-performance liquid chromatography/evaporative light scattering detector and non-parametric regression [J]. Phytochem Anal, 2020, doi:10.1002/pca.2925.

[责任编辑 李红珠]