

一测多评法测定竹节参中7种皂苷类成分的含量

谭诗涵^{1,2}, 伍红年^{1,2}, 雷雅婷^{1,2}, 张也¹, 王元清³, 刘瑞连⁴, 刘乐平¹, 严建业^{1,2*}, 王炜^{2*}

1. 湖南中医药大学 科技创新中心, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

3. 中南林业科技大学生命科学与技术学院 生物技术与工程实验室, 湖南 长沙 410004

4. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006

摘要:目的 建立一测多评法同时测定竹节参中7种皂苷类成分的含量,并验证此方法在竹节参中应用的可行性与适用性。方法 采用HPLC法,以竹节参皂苷V为内参物,建立人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁,假人参皂苷RT₁,竹节参皂苷IV、IVa的相对校正因子($f_{s/i}$),并利用 $f_{s/i}$ 计算竹节参样品中成分的含量,同时用外标法测定各成分的含量,比较2种方法的差异。结果 人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁,假人参皂苷RT₁,竹节参皂苷IV和IVa的 $f_{s/i}$ 分别为1.286 7、1.432 7、0.966 6、0.962 4、1.207 2、0.938 4。采用一测多评法与外标法得到的10批竹节参样品各成分含量无显著性差异。结论 建立的一测多评法准确性高,可用于竹节参皂苷类成分的定量分析和质量评价。

关键词: 竹节参; 一测多评; 相对校正因子; 竹节参皂苷; 人参皂苷Rg₁; 假人参皂苷RT₁; 竹节参皂苷IV

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)17-4164-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.17.023

Determination of seven saponins components in *Panacis Japonici Rhizoma* with quantitative analysis of multi-components by single marker

TAN Shi-han^{1, 2}, WU Hong-nian^{1, 2}, LEI Ya-ting^{1, 2}, ZHANG Ye¹, WANG Yuan-qing³, LIU Rui-lian⁴, Liu Le-ping¹, YAN Jian-ye^{1, 2}, Wang Wei²

1. Institute of Innovation and Applied Research in Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. The College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

4. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, China

Abstract: Objective To establish quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) method for simultaneous determining the content of seven saponins in *Panacis Japonici Rhizoma*, and to evaluate the adaptation and application of QAMS method in the quality control of *Panacis Japonici Rhizoma*. **Methods** The relative factor ($f_{s/i}$) of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, pseudoginsenoside RT₁, chikusetsusaponin IV and IVa were established by HPLC method with chikusetsusaponin V as internal standard, which were used to calculate the content of seven saponins in *Panacis Japonici Rhizoma*. Meanwhile, external standard method (ESM) was used to calculate the content of seven saponins. The difference between QAMS and ESM was analyzed to evaluate the accuracy of QAMS. **Results** The $f_{s/i}$ of ginsenoside Rg₁, Re, Rb₁, pseudoginsenoside RT₁, chikusetsusaponin IV and IVa were 1.286 7, 1.432 7, 0.966 6, 0.962 4, 1.207 2, and 0.938 4. There was no significant difference between the content of 10 batches of *Panacis Japonici Rhizoma* determined by QAMS and ESM. **Conclusion** The established QAMS method is accurate and can be used for quantitative analysis and quality evaluation of the content of seven saponins in *Panacis Japonici Rhizoma*.

Key words: *Panacis Japonici Rhizoma*; quantitative analysis of multi-components by single marker; relative correction factor; chikusetsusaponin; ginsenoside Rg₁; pseudoginsenoside RT₁; chikusetsusaponin IV

收稿日期: 2019-08-03

基金项目: 湖南省重点研发计划项目(2017SK2123); 湖南省中医药科研计划重点项目(201811); 长沙市科技计划重点项目(kq1801034); 湖南中医药大学一层次学科中药学资助(湘教通[2011]76)

作者简介: 谭诗涵(1989—),女,硕士研究生,研究方向为中药及其复方制剂的质量评价研究。Tel: 13212634523 E-mail: 349852768@qq.com

*通信作者 严建业(1975—),男,博士,副教授,硕士生导师。Tel: (0731)88458227 E-mail: yanjianye201@126.com

王炜(1972—),男,博士,教授,博士生导师, Tel: (0731)88458227 E-mail: wangwei402@hotmail.com。

竹节参又名白三七、竹节七、竹节人参，系五加科植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎，收载于《中国药典》2015 年版，性温，味甘、微苦；具有散瘀止血、消肿止痛、祛痰止咳、补虚强壮之功效，用于治疗癆嗽咯血、跌扑损伤、咳嗽痰多、病后虚弱等症^[1]。现代研究表明，竹节参主要含有三萜皂苷、多糖、氨基酸和挥发油等化学成分^[2-3]。竹节参总皂苷在中枢神经系统、消化系统、心脑血管系统等多方面均有药理活性，是竹节参中的主要有效成分^[3]。因此，对皂苷类成分进行质量控制，是评价竹节参药材及其制剂的质量关键。目前，竹节参皂苷类成分对照品大都较昂贵，且难获得，不利于竹节参质量控制的发展。2006 年由中国中医科学院王智民等^[4]最先提出一测多评（quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS）质量评价方法，是根据中药有效成分内在函数关系和比例关系，只测定 1 个有效成分（对照品易得、价廉、有效者）实现多个成分（对照品难以得到或难供应者）的同步测定^[5]。

前期课题组已成功建立了竹节参（白三七）指纹图谱与识别模式的构建及其应用研究^[6-7]，为克服对照品不易得到对竹节参成分含量检测带来的困难，本实验采用 QAMS 法，以竹节参皂苷 V 为内参物，对竹节参中皂苷类 7 种成分进行含量测定，在其原有质量标准基础上进行优化和改进，建立竹节参的质量控制和评价方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相仪，Waters 2489 UV 检测器，Empower 3 色谱数据工作站（美国 Waters 公司）；KQ-5200DV 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；粉碎机（浙江省永康市金穗机械制造有限公司）；LE204E/02 型电子天平（上海梅特勒-托利多有限公司，0.000 1 g）；DZKW-4 型双列六孔水浴锅（北京中兴伟业仪器有限公司）；Option R7 ultra AN 超纯水系统（英国 ELGA Lab Waters 公司）。

1.2 试剂

10 批不同产地竹节参药材信息见表 1，经湖南中医药大学中药鉴定教研室龚力民副教授鉴定为五加科植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥根茎。对照品人参皂苷 Rg₁（批号 wkq15121303）、人参皂苷 Re（批号 wkq16081605）、人参皂苷 Rb₁（批号 wkq16060402）均购于四川省维克奇生物科技有限公司，质量分数均≥98%；竹节参皂苷 V（批

表 1 样品信息

Table 1 Information of samples

样品编号	产地	购买时间
S1	四川野生	2017-07
S2	湖北恩施	2017-11
S3	恩施饮片	2017-11
S4	云南丽江	2017-08
S5	四川雅安	2017-08
S6	四川大凉山	2017-11
S7	湖南石门	2017-08
S8	贵州贵阳	2017-08
S9	湖北神农架	2017-07
S10	江西吉安	2017-07

号 HG027158198）、竹节参皂苷 IV（批号 HA305950198）、竹节参皂苷 IVa（批号 HC027157198）均购于宝鸡市辰光生物科技有限公司，质量分数均≥98%；假人参皂苷 RT₁（批号 170726）购于成都普菲生物技术有限公司，质量分数≥98%；乙腈、甲醇（色谱纯，均购于德国默克股份有限公司）；磷酸（分析纯，国药集团化学试剂有限公司）；实验用水均为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Venusil XBP C₁₈（250 mm×4.6 mm，5 μm）；流动相为 0.1%磷酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱，0~20 min，79% A，20~24 min；79%~68% A；24~50 min，68%~65% A；体积流量 1.2 mL/min；检测波长 203 nm；柱温 35 ℃；进样量 10 μL。色谱图见图 1。

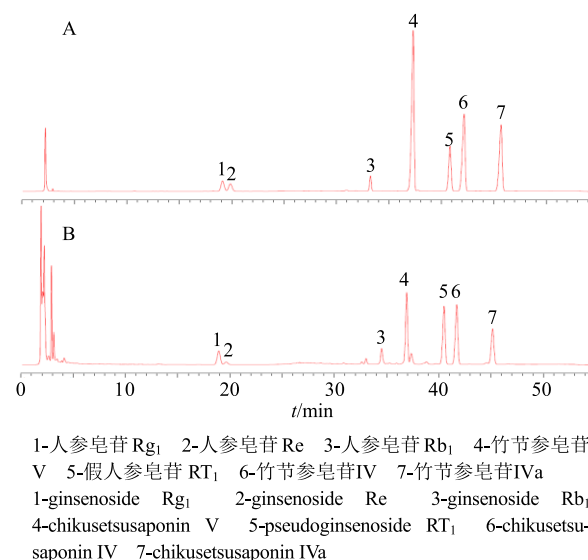


图 1 混合对照品 (A) 与竹节参样品 (B) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed references (A) and sample (B)

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密取人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，竹节参皂苷 V、IV、IVa，假人参皂苷 RT_1 对照品储备液适量，混合均匀，加入甲醇进行稀释，得到含有不同质量浓度的人参皂苷 Rg_1 (0.02、0.04、0.08、0.16、0.20 mg/mL)、人参皂苷 Re (0.013 8、0.027 6、0.055 2、0.110 4、0.138 0 mg/mL)、人参皂苷 Rb_1 (0.020 4、0.040 8、0.081 6、0.163 2、0.204 0 mg/mL)、竹节参皂苷 V (0.300 0、0.600 0、1.200 0、2.400 0、3.000 0 mg/mL)、假人参皂苷 RT_1 (0.088 0、0.176 0、0.352 0、0.704 0、0.880 0 mg/mL)、竹节参皂苷 IV (0.140 0、0.280 0、0.560 0、1.120 0、1.400 0 mg/mL)、竹节参皂苷 IVa (0.160 0、0.320 0、0.640 0、1.280 0、1.600 0 mg/mL) 的混合对照品溶液，备用。

2.3 供试品溶液的制备

将不同产地竹节参药材粉碎，过 40 目筛，取药材粉末 1 g，精密称定，置于 150 mL 具塞锥形瓶中，加 70% 甲醇 50 mL，称定质量，加热回流提取 1 h，放冷，再称定质量，用 70% 甲醇补足减失的质量，摇匀，用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系的考察 将上述不同质量浓度的混合对照品按照“2.1”项下条件依次进样，以峰面积为纵坐标 (Y)，溶液质量浓度为横坐标 (X)，绘制标准曲线，得到人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，假人参皂苷 RT_1 ，竹节参皂苷 V、IV、IVa 的回归方程及线性范围，见表 2。

表 2 7 种皂苷类成分的线性回归方程

Table 2 Linear regression equations of seven saponins

成分	回归方程	线性范围/(mg·mL ⁻¹)	r
人参皂苷 Rg_1	$Y=887\ 516 X-36\ 884$	0.020 0~0.200 0	0.999 7
人参皂苷 Re	$Y=984\ 503 X-25\ 291$	0.013 8~0.138 0	0.999 9
人参皂苷 Rb_1	$Y=669\ 309 X-28\ 187$	0.020 4~0.204 0	0.999 8
竹节参皂苷 V	$Y=678\ 635 X-324\ 217$	0.300 0~3.000 0	0.999 8
假人参皂苷 RT_1	$Y=819\ 401 X-174\ 593$	0.088 0~0.880 0	0.999 9
竹节参皂苷 IV	$Y=653\ 966 X-92\ 973$	0.140 0~1.400 0	0.999 9
竹节参皂苷 IVa	$Y=637\ 677 X-161\ 821$	0.160 0~1.600 0	0.999 8

2.4.2 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL ，按照“2.1”项下条件重复进样 6 次，测定 7 种皂苷的峰面积，结果人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，竹节参皂苷 V，假人参皂苷 RT_1 ，竹节参皂苷 IV、IVa 峰面积的 RSD 值分别为 0.32%、0.50%、0.62%、0.33%、0.33%、0.32%、0.27%，表明该条件下仪器精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取竹节参药材 (S6)，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，室温放置，分别于 0、2、4、6、8、12 h 按照“2.1”项下色谱条件进样，记录峰面积，人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，竹节参皂苷 V，假人参皂苷 RT_1 ，竹节参皂苷 IV、IVa 峰面积的 RSD 值分别为 1.01%、0.29%、0.71%、0.08%、0.27%、0.12%、0.17%。

2.4.4 重复性试验 取竹节参药材 (S6) 6 份，精密称定，分别按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.1”项下色谱条件进样测定，人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，竹节参皂苷 V，假人参皂苷 RT_1 ，竹节参皂苷 IV、IVa 质量分数的 RSD 值分别为 0.13%、0.15%、0.81%、

0.23%、2.82%、0.19%、0.91%。

2.4.5 加样回收率试验 取已测定的样品 6 份，精密称定，分别精密加入各对照品溶液适量，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录峰面积，计算加样回收率，结果人参皂苷 Rg_1 、Re、 Rb_1 ，竹节参皂苷 V，假人参皂苷 RT_1 ，竹节参皂苷 IV、IVa 的加样回收率分别为 98.55%、97.93%、96.96%、95.83%、97.73%、96.78%、98.97%，RSD 值分别为 2.37%、2.75%、2.98%、2.85%、2.56%、2.36%、2.51%。

2.5 相对校正因子 ($f_{s/i}$) 的建立

采用多点校正法，即以多个浓度点计算所得的 $f_{s/i}$ [8]，取平均值作为定量用 $f_{s/i}$ 。

$$f_{s/i} = f_s / f_i = A_s C_i / A_i C_s$$

A_s 为内参物对照品 s 的峰面积， C_s 为内参物对照品 s 的质量浓度， A_i 为待测成分对照品 i 的峰面积， C_i 为待测成分对照品 i 的质量浓度

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 2、5、10、15、20 μL 注入液相色谱仪中，记录峰面积，

以竹节参皂苷V为内参物,分别计算人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁,假人参皂苷RT₁,竹节参皂苷IV、IVa的 $f_{s/i}$,结果见表3。

2.6 $f_{s/i}$ 耐用性评价

2.6.1 不同色谱柱柱温对 $f_{s/i}$ 的影响 考察了不同柱温(33、35、37 °C)对各 $f_{s/i}$ 的影响,结果(表4)人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁,假人参皂苷RT₁,竹节参皂苷IV、IVa的RSD依次为0.99%、0.65%、0.94%、0.05%、0.01%和0.06%,表明柱温的波动对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.6.2 不同流动相体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响 考察了不同体积流量(1.0、1.1、1.2 mL/min)对各 $f_{s/i}$ 的影响,结果(表5)人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁,

假人参皂苷RT₁,竹节参皂苷IV、IVa的RSD依次为0.18%、0.26%、2.22%、0.22%、0.15%和0.16%,表明体积流量的波动对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

2.6.3 不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响 考察了 Waters Sunfire C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Venusil XBP C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil ODS-1(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent TC C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)共4根色谱柱对各成分 $f_{s/i}$ 的影响,结果(表6)使用以上色谱柱各成分均能达到较好的分离效果,结果各成分 $f_{s/i}$ 的RSD依次为1.29%、1.26%、0.80%、0.35%、0.63%和0.80%,表明4根色谱柱对各成分 $f_{s/i}$ 无显著影响。

表3 各成分的 $f_{s/i}$

Table 3 $f_{s/i}$ values of each component

进样体积/μL	$f_{V/Rg1}$	$f_{V/Re}$	$f_{V/Rb1}$	$f_{V/RT1}$	$f_{V/IV}$	$f_{V/IVa}$
2	1.268 0	1.397 6	0.926 8	0.959 5	1.205 5	0.935 6
5	1.276 6	1.428 8	0.968 9	0.961 4	1.206 7	0.938 0
10	1.285 3	1.443 2	0.974 5	0.963 4	1.208 0	0.939 1
15	1.300 6	1.450 2	0.981 8	0.964 9	1.209 3	0.940 4
20	1.302 8	1.443 9	0.980 9	0.962 6	1.206 5	0.938 8
平均值	1.286 7	1.432 7	0.966 6	0.962 4	1.207 2	0.938 4
RSD/%	1.170 0	1.480 0	2.360 0	0.210 0	0.120 0	0.190 0

V-竹节参皂苷V Rg₁-人参皂苷Rg₁ Re-人参皂苷Rg₁ Rb₁-人参皂苷Rb₁ RT₁-假人参皂苷RT₁ IV-竹节参皂苷IV IVa-竹节参皂苷IVa, 下表同
V-chikusetsusaponin V Rg₁-ginsenoside Rg₁ Re-ginsenoside Re Rb₁-ginsenoside Rb₁ RT₁-pseudoginsenoside RT₁ IV-chikusetsusaponin IV
IVa-chikusetsusaponin IVa, same as below

表4 不同柱温对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 4 Effects of different column temperatures on $f_{s/i}$

柱温/°C	$f_{V/Rg1}$	$f_{V/Re}$	$f_{V/Rb1}$	$f_{V/RT1}$	$f_{V/IV}$	$f_{V/IVa}$
33	1.307 3	1.447 3	0.984 3	0.961 6	1.207 3	0.939 3
35	1.286 7	1.432 7	0.966 6	0.962 4	1.207 2	0.938 4
37	1.284 0	1.450 4	0.979 6	0.962 4	1.207 1	0.939 4
平均值	1.292 7	1.443 5	0.976 8	0.962 1	1.207 2	0.939 0
RSD/%	0.990 0	0.650 0	0.940 0	0.050 0	0.010 0	0.060 0

表5 体积流量对 $f_{s/i}$ 的影响

Table 5 Effects of volume flow rate on $f_{s/i}$

体积流量/(mL·min ⁻¹)	$f_{V/Rg1}$	$f_{V/Re}$	$f_{V/Rb1}$	$f_{V/RT1}$	$f_{V/IV}$	$f_{V/IVa}$
1.0	1.284 3	1.438 2	1.009 7	0.964 8	1.210 0	0.941 0
1.1	1.289 0	1.439 9	0.996 0	0.960 5	1.206 6	0.938 3
1.2	1.286 7	1.432 7	0.966 6	0.962 4	1.207 2	0.938 4
平均值	1.286 7	1.436 9	0.990 8	0.962 6	1.207 9	0.939 2
RSD/%	0.180 0	0.260 0	2.220 0	0.220 0	0.150 0	0.160 0

表 6 不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响Table 6 Effects of different columns on $f_{s/i}$

不同色谱柱	$f_{V/Rg1}$	$f_{V/Re}$	$f_{V/Rb1}$	$f_{V/RT1}$	$f_{V/IV}$	$f_{V/IVa}$
Sunfire C ₁₈	1.284 6	1.435 4	0.967 7	0.960 2	1.204 9	0.936 6
Venusil XBP C ₁₈ (A)	1.286 7	1.432 7	0.966 6	0.962 4	1.207 2	0.938 4
Kromasil ODS-1	1.251 4	1.406 7	0.952 9	0.955 8	1.191 7	0.925 7
Agilent TC-C ₁₈	1.280 1	1.450 2	0.970 2	0.963 4	1.207 6	0.943 6
平均值	1.275 7	1.431 3	0.964 4	0.960 4	1.202 8	0.936 1
RSD/%	1.290 0	1.260 0	0.800 0	0.350 0	0.630 0	0.800 0

2.7 待测成分色谱峰的定位

QAMS 旨在通过某一参照物峰实现对其他待测色谱峰的准确定位, 常规方法通过相对保留时间 ($t_{s/i}$) 或保留时间差 ($\Delta t_{s/i}$) 定位, 本实验通过考察在不同色谱柱中各待测色谱峰与参照物峰的 $t_{s/i}$ 及 $\Delta t_{s/i}$ 进行各成分的定位。结果发现, $t_{s/i}$ 波动较小, RSD 均小于 5%, 无显著性差异, 如表 7 所示。因此, 本实验选择 $t_{s/i}$ 作为最终定位标准。

2.8 QAMS 法与外标法 (ESM) 测定结果比较

取竹节参药材 (S6), 精密称定, 按 “2.3” 项

下方法制备供试品溶液, 按 “2.1” 项下色谱条件测定峰面积, 采用 QAMS 法建立内参物竹节参皂苷 V 与人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁, 假人参皂苷 RT₁, 竹节参皂苷 IV、IVa 的 $f_{s/i}$, 对 10 批竹节参样品中各成分含量进行计算, 同时采用 ESM 法对人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁, 假人参皂苷 RT₁, 竹节参皂苷 IV、IVa 成分进行含量测定, 结果见表 8。比较 QAMS 法与 ESM 计算的质量分数的 RSD。由表 8 可知, 2 种方法计算结果无显著差异 (RSD < 1%), QAMS 法可以代替外标法进行多成分质量评价。

表 7 不同色谱柱 $t_{s/i}$ 比较

Table 7 Relative retention values measured in different chromatographic columns

色谱柱	$t_{V/Rg1}$	$t_{V/Re}$	$t_{V/Rb1}$	$t_{V/RT1}$	$t_{V/IV}$	$t_{V/IVa}$
Sunfire C ₁₈	1.715 3	1.645 1	1.139 8	0.909 8	0.877 6	0.810 4
Venusil XBP C ₁₈ (A)	1.694 9	1.642 6	1.122 6	0.913 9	0.885 0	0.816 7
Kromasil ODS-1	1.576 7	1.548 7	1.123 0	0.901 1	0.857 5	0.795 4
Agilent TC-C ₁₈	1.632 4	1.614 9	1.107 0	0.902 4	0.866 4	0.806 7
平均值	1.654 8	1.612 8	1.123 1	0.906 8	0.871 6	0.807 3
RSD/%	3.800 0	2.780 0	1.190 0	0.670 0	1.390 0	1.100 0

表 8 QAMS 法与 ESM 法测得 10 批竹节参中 7 种皂苷的含量 ($n=3$)Table 8 Content of seven saponins in 10 batches of *Panacis Japonici Rhizoma* by QAMS and ESM ($n=3$)

样品 批号	竹节参皂苷 V/ (mg·g ⁻¹)	人参皂苷 Rg ₁ /(mg·g ⁻¹)			人参皂苷 Re/(mg·g ⁻¹)			人参皂苷 Rb ₁ /(mg·g ⁻¹)			假人参皂苷 RT ₁ /(mg·g ⁻¹)			竹节参皂苷 IV/(mg·g ⁻¹)			竹节参皂苷 IVa/(mg·g ⁻¹)		
		ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%	ESM	QAMS	RSD/%
S1	42.08 8	3.673	3.669	0.05	1.002	1.009	0.35	2.484	2.504	0.40	13.922	13.937	0.05	20.029	20.042	0.03	18.899	18.913	0.04
S2	35.43 7	1.742	1.741	0.03	1.204	1.213	0.37	0.706	0.712	0.42	0.468	0.468	0.00	17.417	17.428	0.03	9.974	9.981	0.04
S3	66.33 6	2.370	2.367	0.06	2.523	2.541	0.36	1.880	1.896	0.42	0.987	0.988	0.05	31.127	31.146	0.03	8.353	8.359	0.04
S4	47.60 2	1.232	1.233	0.04	1.746	1.733	0.37	0.950	0.943	0.37	0.929	0.928	0.05	31.710	31.690	0.03	8.514	8.507	0.04
S5	34.35 9	0.344	0.344	0.00	0.089	0.090	0.56	1.293	1.303	0.39	0.371	0.372	0.13	10.779	10.786	0.03	17.283	17.296	0.04
S6	22.70 8	11.202	11.190	0.05	1.419	1.429	0.35	4.246	4.280	0.40	20.366	20.388	0.05	16.228	16.238	0.03	18.792	18.806	0.04
S7	31.38 6	1.374	1.372	0.07	0.864	0.870	0.35	0.679	0.685	0.44	0.271	0.271	0.00	9.734	9.740	0.03	7.527	7.532	0.03
S8	37.74 1	0.809	0.808	0.06	1.149	1.157	0.35	0.892	0.899	0.39	0.357	0.358	0.14	10.834	10.841	0.03	3.099	3.101	0.03
S9	43.84 8	ND	ND	ND	0.339	0.341	0.29	0.724	0.730	0.41	0.626	0.627	0.08	14.466	14.475	0.03	12.600	12.609	0.04
S10	22.77 2	0.963	0.962	0.05	1.224	1.233	0.37	0.732	0.738	0.41	4.686	4.691	0.05	0.284	0.284	0.00	16.348	16.360	0.04

ND 表示未检出

ND-undetected

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法选择

本实验考察了提取方式(超声与回流)、提取时间(30、45、60、90 min)和提取溶剂(甲醇、50%甲醇、70%甲醇、70%乙醇、20%乙腈),实验结果显示加热回流提取 60 min,提取溶剂选用 70% 甲醇对目标成分提取效果最佳。

3.2 参照物的选择

参照 QAMS 法建立的技术指南^[9],内参物尽量选择各类样品中含量均较高,且保留时间适中的有效成分,本实验确定选择竹节参皂苷V作为内参物,且竹节参皂苷V对照品化学性质稳定,易于得到等优点,故选其作为“一测多评”法的内参物。以竹节参皂苷V为参照物时,各成分 $f_{s/i}$ 的 RSD 均小于 3%,较稳定。另外,分别考察了不同柱温、不同体积流量、不同色谱柱对 $f_{s/i}$ 的影响,结果显示 RSD 均小于 3%,说明选择竹节参皂苷V作为内参物,建立 QAMS 法可行。

3.3 竹节参 QAMS 质量评价

《中国药典》2010 年版首次收录 QAMS 法,确立“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,但仅用于黄连药材及饮片中生物碱类成分的含量测定;《中国药典》2015 年版一部新增 8 个使用一测多评法的药材,范围也扩展至中药材提取物、制剂^[10]。收载了咳特灵胶囊^[11]、赤芍^[12]采用 QAMS 法测定其皂苷类成分。运用 QAMS 法对竹节参皂苷类成分进行含量测定,实现了中药多成分定量,解决了中药化学对照品匮乏的瓶颈问题,弥补了中药指纹图谱技术模糊性缺陷,显著降低了检验成本和时间,提高了检验效率,能够更有效、更全面、更准确地控制中药质量。

本研究建立 QAMS 法同时测定竹节参中 7 种皂苷类成分含量,对 QAMS 法的技术适用性和实践可行性进行了探讨,采用 QAMS 法和 ESM 法分别测定了 10 批竹节参样品中各目标成分含量,结果表

明该方法计算结果与外标法结果无显著差异,能高效准确地得到竹节参中多种皂苷类成分的含量,并应用于竹节参质量评价体系中,为竹节参质量标准的研究提供理论依据和数据支撑。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 李玉洲,何毓敏,孙志伟,等. 不同栽培年限竹节参中主要成分含量的动态变化 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(33): 20411-20413.
- [3] 武秋爽,陈平,张庆文,等. 竹节参化学成分、药理活性及分析方法研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(6): 46-54.
- [4] 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(32): 1925-1928.
- [5] 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.
- [6] 伍红年,谭诗涵,王元清,等. 白三七及近源种药材指纹图谱与识别模式的构建及其应用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(1): 217-224.
- [7] 伍红年,谭诗涵,王元清,等. 竹节参 HPLC 指纹图谱的建立及 7 种成分测定 [J]. 中成药, 2019, 41(5): 1074-1080.
- [8] 刘小妹,程中琴,施崇精,等. 一测多评法同时测定人参中人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re、Rc、Rb₂、Rd [J]. 中草药, 2018, 49(6): 1413-1417.
- [9] 王智民,钱忠直,张启伟,等. 一测多评法建立的技术指南 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(6): 657-658.
- [10] 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.
- [11] 员荣,孙丽丽,杨立伟,等. 咳特灵胶囊的 UPLC 指纹图谱及主成分的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 37-40.
- [12] 王瑞,黄山君,王峥涛. 一测多评法测定赤芍中不同类型成分的含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2011, 28(8): 594-598.