

标准物质替代测定法在中药质量评价中的应用与发展

季加威¹, 李铮², 尉捷¹, 秦雯¹, 傅欣彤²

(1. 北京城市学院生物医药学部, 北京 100094;

2. 北京市药品检验研究院, 北京 102206)

摘要: 标准物质替代测定法是采用一种或多种中药对照品来实现对多个待测组分进行分析的方法, 是近年来中药质量评价的新方法。本文就标准物质替代测定法中一测多评法及双标多测法的近年研究进展及其在中药质量评价中的应用进行概述, 为其中药色谱分析技术中的进一步研究和应用提供思路与参考。

关键词: 标准物质替代测定法; 一测多评法; 双标多测法; 中药质量评价

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4513(2023)-01-44-04

引言

随着时代的进步, 中药质量评价分析对于定量研究的趋势已由以往的单指标成分向多指标成分转变, 评价模式逐渐向多个有效成分、整体控制的模式发展。由于中药成分复杂多样, 仅通过单一成分的检测, 不能对中药的质量进行全面控制与合理评价。中医整体观念认为, 中药得以发挥其最佳药效是由其所含多类化学成分之间的综合作用形成的, 因此, 随着分离与检测技术的发展, 多指标质量控制研究渐于中药分析领域广泛开展, 目前学界也在中药多指标成分的含量测定方面取得积极的进展; 另外, 为满足多指标成分深入研究工作的基础供应需求, 使用传统外标法分析必将造成中药实物标准物质(对照品)的制备种类和数量激增, 一定程度上影响了国家药品标准的执行。

近年来, 更多的中药质量评价研究采用了

标准物质替代测定法, 本文将对标准物质替代测定法的原则及应用进行综述。

一、标准物质替代测定法

(一) 标准物质

标准物质(对照品)是国家药品标准中定性与定量不可或缺的实物对照, 在分析中起到计量作用, 具有准确性、均匀性及稳定性。

(二) 标准物质替代测定法

标准物质替代测定法为使用 1 个内参物, 实现对多待测成分完成同时测定的方法, 其核心原则为在确保定性、定量准确度和方法学耐用性的基础上, 降低标准物质的使用成本。

(三) 标准物质替代测定法的分类

标准物质替代测定法根据替代标准物质使用的数量可分为一测多评法、双标多测法和多

收稿日期: 2022 年 03 月 18 日

作者简介: 季加威(1988-), 女, 浙江温州人, 硕士, 主要研究方向: 中药质量评价。

通讯作者: 秦雯(1977-), 女, 云南大理人, 副教授, 硕士, 主要研究方向: 中药学人才培养, 中药化学、中药质量控制、评价与检测。

基金项目: 北京市中医管理局北京中药炮制技术特色研究(RHS-BJZC-J16005)。

替代标准物质法 3 类。多替代标准物质法是指使用多个对照品进行含量测定，由于互相之间的转化问题较为复杂，目前应用较少，本文对该方法不做论述。

一测多评法 (quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS) 最早是由王智民等于 2006 年提出的，此方法根据中药各成分间存在一定的函数关系，通过使用一种价廉易得的对照品为内参物，使用相对校正因子法计算得出其它多个难以获得的物质成分含量。一测多评法的提出迅速引起了学界的广泛关注，经多年多例的验证成功案例支持，此方法渐渐成为符合中药特点的新型质量评价模式，为中药整体质量控制开发了新思路。

一测多评法虽能有效减少对对照品使用数量，但其有时在定性上存在误差偏大的问题，基于此，孙磊等提出了“双标多测法”(two reference substances for determination of multiple components, TRSDMC)，此方法使用 2 个标准品，在定性上使用双标线性校正法，而在定量上使用相对校正因子法。方法通过使用 3 个不同品牌的高效液相色谱仪以及 30 根不同品牌的 C_{18} 色谱柱，以大黄、重楼、补骨脂为成功使用案例，论证了该法确有可实施性，分析结果表明，与一测多评法 (相对保留时间法) 相比，双标线性校正法可显著提高色谱峰在定性上的准确度以及待测成分在多品牌色谱柱上的适用程度。

一测多评法与双标多测法均为标准物质替代测定法，但两者在使用对照品数量上有差异，一测多评法使用 1 种对照品，以相对保留时间法定性、相对校正因子法定量；而双标多测法是在一测多评法定性的基础上增加 1 种对照品，同时使用双标线性校正法更加精准的定位色谱峰、提高多种色谱柱的适用程度，此方法允许色谱条件存在一定范围内的波动。目前一测多评法的质量控制模式已较为健全，而对于双标多测法的研究与应用还有待继续深入，两者均为标准物质替代测定法的发展提供巨大助益。

标准物质替代测定法在使用上一般选择替代制备困难、价格昂贵或稳定性差的待测成分，

该待测成分最好选择为结构母核相似，仅取代基不同的同类成分且数量不宜过多。应用标准物质替代测定法需考察不少于 15 批不同来源的样品，以确保方法具有适用性。

二、标准物质替代测定法在中药质量评价中的应用

(一) 一测多评法在中药质量评价中的应用

相较于传统外标法，一测多评法 (QAMS) 在分析效率、经济、环境保护及操作要求上具有绝对的优势，吸引着越来越多的研究者们将 QAMS 投入到单味中药饮片、配方颗粒、复方制剂的质量控制研究当中。2008 年，应用 QAMS 于中药复方制剂 (冠脉康胶囊) 的定量研究中；2010 年，《中国药典》收录了应用 QAMS 进行同时测定黄连中 5 个生物碱类成分含量的方法；2011 年，中国中医科学院中药研究所的研究人员等制订了 QAMS 的技术指南，为 QAMS 的后续开发研究提供了技术性指导意见；《中国药典》2020 年版重点引入了一测多评方法技术。一测多评法自提出以来已有相关研究千余篇，该方法已经应用于铁皮石斛、防己、板蓝根、柴胡等中药饮片，活血丸、茵栀黄传统汤剂、二至丸、健脾益肾颗粒等中成药；淫羊藿、辛夷等中药配方颗粒质量评价研究。从中国知网收录的中文学术论文数量来看，自 2006 年至 2019 年总体发表量呈上升趋势，2019 年后至今发表量趋于稳定，可见 QAMS 在近些年受欢迎度以及影响力较高 (图 1)。

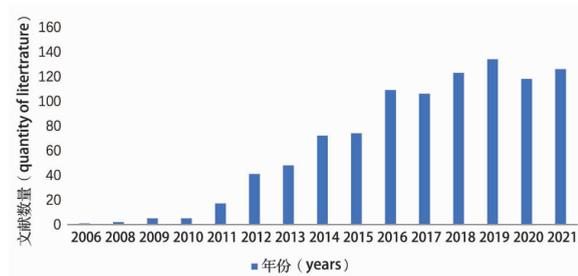


图 1 一测多评法自提出以来的学术论文情况

研究发现，QAMS 主要应用于中药复杂结构中的同类成分 (结构母核相同) 的分析评价，因其结构相似，紫外吸收波长亦相近，在波长

的选择上使用最大吸收波长即可。目前多数研究均针对有相似母核的化合物且该方法被广泛接受,例如罗定强等采用 QAMS 测定肾康栓中的大黄蒽醌类成分;徐文武等利用一测多评法同时测定红参中 11 种人参皂苷的含量等。对于不同类结构成分的一测多评研究相对较少,但目前也有研究者把标准物质替代测定法的应用范围拓展,研究结构母核不同的多类(一般选择二到三类)成分同时测定。通过查阅文献发现不同类结构成分的一测多评研究多集中在苯丙素类、黄酮类、萜类化合物中,研究者为满足不同结构母核的成分需选用最大吸收波长的要求,此类研究大多采用二极管阵列检测器,通过不同时间段以不同波长通道检测各类成分的方法进行研究。如张伯锋等运用一测多评法测定补心气口服液中七种成分包含了三萜类、黄酮类、苯丙素类三类化学成分的含量;付洋等建立了同时测定蜘蛛香中包含苯丙素类、萜类两类成分的一测多评方法;何兵等采用一测多评法测定款冬花中苯丙素类、黄酮类、倍半萜成分的含量。此外还有选取一个波长进行测定情况,如段丽等基于一测多评法测定补骨脂中包含苯丙素类、黄酮类两类成分的含量;朱泽兵等采用一测多评法测定白鲜皮中包含生物碱类、萜类两类成分的含量;张龙等基于一测多评法完成了淫羊藿中包含苯丙素类、黄酮类、生物碱三类成分含量的同时测定。在不同类型成分间开展的研究已取得了积极的进展,具体品种还需要试验研究和验证。

(二) 双标多测法在中药质量评价中的应用

双标多测法自 2013 年孙磊等提出以来每年均有一定的品种应用研究。目前对中药饮片如西洋参、补骨脂、泽泻、大黄、重楼等,对中成药如柏子养心丸、乳块消片、大黄制剂等进行了研究。重庆市食品药品检验研究院建立的川黄芩双标多测方法已通过了专家审评,并被新版重庆市中药材标准收入,但双标多测法还存在着一些问题,如各药材不同成分的稳定性、不同品牌仪器、色谱柱的适用性等众多混杂因

素都可能对分析结果有影响,因而还需要根据具体研究情况具体分析,积累更多使用案例,不断完善方法。

随着中药标准物质替代测定法的发展,研究提供了一种将标准物质数字化的新思路。这种思路建立在双标线性校正法研究的基础上,将标准物质进行数字信息化,在降低实物标准物质的制备和标定负担的同时还能提供更加系统化、规范化、全面化的交互信息,从而构建智能化检索、大数据记录存储与共享的新模式。目前中检院中药所已开发了数字化标准物质的雏形——DRS Origin 软件,此软件凭借互联网大数据共享模式,根据具体品种及指标成分直接给出最佳色谱柱以及分析方法,可以更好地应用于以双标多测法为指导的双标线性校正法当中,有助于提高保留时间预测的准确性,为中药定性分析以及包括特征图谱特征峰定位方面提供科学参考。为解决对照品供需矛盾及操作要求繁琐等问题,一些研究单位已将数字化标准物质研究工作应用在国家药品抽验、省级药品抽验以及药品标准研究工作中,并发表了多篇学术论文给予支持,发展前景光明。

三、结语

为减轻对照品供应负担、有效弥补单一成分在质量控制方面的不足,深入研究标准物质替代测定法并指导应用于中药质量的综合评价具有重要意义,该方法已广泛应用于中药饮片(西洋参、柴胡等)、配方颗粒(淫羊藿、辛夷等)、中成药(活血丸、柏子养心丸)的质量控制研究当中。

预计在后续的科研工作中,行业内也会继续对一测多评法和双标多测法开展更多的研究,应用于更多中药品种的质量分析与控制,中国药典也会继续扩大收录中药的相关品种;同时,也会更多结合使用 DRS Origin 软件,加快更新数据库,提高数据规范化要求,并配合以双标线性校正法辅助应用于中药质量控制研究及相关标准修订工作。行业工作者可以了解这些趋势,更新思维模式,学习、总结、开发、利用

好相关技术手段, 深入研究标准物质替代测定法在中药分析技术中的应用, 从而更好地解决中药对照品供需矛盾, 更全面的保证中药质量, 更综合的评价中药质量。

参考文献:

- [1] 何兵, 田吉, 杨世艳. 一种新的校正方式单点校正 在桑叶一测多评中的应用 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41 (7): 1133 - 1147.
- [2] 秦卫红, 王响群, 秦迎春. HPLC 法同时测定中药 多种有效成分含量的应用 [J]. 中国医药指南, 2013, 11 (5): 439 - 440.
- [3] 陈杨, 徐光临, 徐德生, 等. 一测多评法在中药质 量控制中的应用及关键问题 [J]. 环球中医药, 2017, 10 (5): 635 - 640.
- [4] 严红. HPLC 法同时测定中药多种有效成分含量的 应用 [J]. 天津药学, 2010, 22 (1): 67 - 70.
- [5] 王清君, 孙磊, 刘峰, 等. 标准物质的发展和挑战 与数字化新形式 [J]. 中国药学杂志, 2016, 51 (18): 1537 - 1544.
- [6] 马双成. 中药标准物质在中药质量控制中的应用 [C] // “新成果·新进展·新突破” 中华中医药 学会 2013 年学术年会、第三次中华中医药科技成 果论坛论文集, 2013: 90 - 94.
- [7] 孙彩林, 孙磊, 王赵, 等. 基于 DRS origin 的替代 标准物质法研究——以超高效液相色谱测定乳香 中 11 - 羧基 - β - 乳香酸和 11 - 羧基 - β - 乙酰乳 香酸的含量为例 [J]. 中国药学杂志, 2019, 54 (17): 1411 - 1417.
- [8] 孙磊, 金红宇, 马双成, 等. 中药标准物质替代测 定法技术指导原则 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50 (4): 284 - 286.
- [9] 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 (23): 1925 - 1928.
- [10] 王晶晶, 梁娟娟, 陈两绵, 等. 一测多评法结合 UPLC - Q - TOF/MS 评价天舒胶囊中主要苯酚类 成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (22): 86 - 93.

Application and Development of Substitution Assay of Reference Materials in Quality Evaluation of Traditional Chinese Medicines

Ji Jiawei¹, LI Zheng², YU Jie¹, QIN Wen¹, FU Xintong²

(1. School of Biomedicine, Beijing City University, Beijing 100094, China;

2. Beijing Institute of Drug Control, Beijing 102206, China)

Abstract: The substitution assay of reference materials is a method of using one or more traditional Chinese medicines reference substances to realize the analysis of multiple components to be tested, which is a new method for quality evaluation of traditional Chinese medicines in recent years. This paper summarizes the recent research progress of the one-test-multi-evaluation method and the double-standard multi-measurement method in the alternative determination of reference materials and their application in the quality evaluation of traditional Chinese medicines, so as to provide ideas and references for their further research and application in traditional Chinese medicine chromatographic analysis technology.

Keywords: substitution assay of reference materials; one test and multiple evaluations; double standard multi-measurement method; quality evaluation of traditional Chinese medicines

(责任编辑: 田荣荣)