

一测多评法在中药质量控制中的应用及研究进展*

闫 艳^{1,2,3}, 杜晨晖^{4**}

(1. 山西大学中医药现代研究中心 太原 030006; 2. 山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室 太原 030006; 3. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室 太原 030006; 4. 山西中医药大学中药与食品工程学院 太原 030619)

摘 要:一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single marker, QAMS)已成熟应用于中药材、中药提取物及中成药领域等中药复杂体系的质量评价研究中,有效解决了因对照品缺乏而导致的多指标质控技术推广难问题。本文查阅近五年的国内外研究文献,重点总结了高效液相色谱、气相色谱和质谱等技术在QAMS法中药质量控制中的应用。高效液相色谱联用紫外检测器(UV)技术应用最为广泛,最适用于中药QAMS法定量,结果稳定、准确;而高效液相色谱联用蒸发光检测器在中药QAMS法应用中,其测定准确性和适用性仍然需进一步探索和验证。液质联用技术虽然具有灵敏度高、线性范围宽等优点,但易受仪器参数、基质效应等的影响。进一步发展HPLC-UV技术在中成药制剂质量评价中的应用,是QAMS法多成分定量值得关注的方向;探索LC-MS和GC技术在中药QAMS质量评价中的稳定性和普适性是未来将面临的挑战。

关键词:一测多评法 高效液相色谱 气相色谱法 液质联用 质量控制

doi: 10.11842/wst.20210430005 中图分类号: R2-03 文献标识码: A

中药质量控制和评价是制约中药现代化发展的关键问题之一,也是中医药现代研究的难点和热点^[1]。中药多成分、多靶点的复杂性特点,决定了以1-2种活性成分或指标成分进行质量评价的模式已不能满足中药质量控制的要求。随着中药分析技术的快速发展,中药质量控制和评价模式逐步由无指标、单指标、向多指标成分过渡。然而,现有技术条件下无法获得足够量的高纯度中药化学成分对照品,已经成为制约中药多成分质量控制模式发展的重要瓶颈。

基于中药有效成分多为一类或几类同系物组成,同类成分间可能存在内在关系和规律性。2006年王智民课题组首次提出将“一测多评”(quantitative

analysis of multi-components by single marker, QAMS)法用于中药多成分质量评价,解决了由于对照品缺乏而限制多指标质控技术推广的问题^[2-3]。2010年版《中国药典》首次收录QAMS法用于黄连的质量评价^[4],代表该方法正式用于中药质量控制国家标准。2015年版《中国药典》新增了丹参、生姜和银杏等8个中药的QAMS法质量标准^[5]。2020年版《中国药典》中应用QAMS法进行质量控制的中药达到15个^[6]。此外,QAMS法也受到国际天然药物物质控研究领域的持续关注,如《美国药典》38版中共收录90个植物药的质量标准应用了QAMS法;《欧洲药典》8.0版由9个植物药标准增加至23个应用QAMS法^[3]。毋庸置疑,QAMS法为

收稿日期:2021-04-30

修回日期:2022-05-12

* 国家自然科学基金委员会青年基金项目(81603289):基于体内过程与失眠蛋白网络关联研究酸枣仁的有效成分群,负责人:闫艳;国家自然科学基金委员会青年基金项目(816003251):酸枣仁皂苷的人体肠道菌群体外代谢转化及其转化产物改善睡眠活性研究,负责人:杜晨晖。

** 通讯作者:杜晨晖,博士,教授,主要研究方向:中药药效物质基础。

构建与完善中药多成分含量测定标准体系提供了新的方法与策略。

近年来,已有多名学者对QAMS法在中药质量控制中应用情况进行了总结,如王智民等对QAMS法在中药材、中药饮片和中成药质量评价中的应用情况进行了总结^[7];蔡宝昌等总结了QAMS法中色谱峰定位和校正因子的计算方法^[8];李萍等重点总结了QAMS法在皂苷、醌类和黄酮类等不同类型中药化学成分中的应用情况^[9]。本文将从影响一测多评法的关键因素、相对校正因子的分类,及高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)、气相色谱(gas chromatography, GC)和HPLC串联质谱法(HPLC-MS)等不同分析技术在中药QAMS质量控制研究领域中的应用和特点进行总结与展望。

1 一测多评法概述

1.1 一测多评法的概念

QAMS是指在多指标质量评价时,以药材中某一成分(有对照品供应者)为内标,建立该成分与其它成分之间的相对校正因子(Relative correction factor, RCF),也叫转换因子(conversion factor)^[10]。通过该校正因子计算其它成分的含量。在一定范围(线性范围)内成分的量(质量或浓度)与检测器响应成正比,即 $W=fA$ 可得响应因子 $f=W/A$ 。在多指标成分质量评价时,以药材中某一典型组分(有对照品供应者)为内标,建立该组分与其它组分之间的RCF,通过校正因子计算其他组分含量。

$$f_{si} = \frac{f_s}{f_i} = \frac{A_s/W_s}{A_i/W_i}$$

(s为内参物,i为其他组分) f_{si} 为内参物s对待测成分i的RCF。

$$W_i = f_{si} \times W_s \times \frac{A_i}{A_s}$$

式中 A_i 为供试品中待测成分i的峰面积, C_i 为供试品中待测成分i的浓度, A_s 为供试品中内参物s的峰面积, C_s 为供试品中内参物s的浓度。

1.2 RCF的分类

RCF是QAMS的关键参数,直接影响到QAMS法的定量准确度。基于紫外检测器为一定线性范围内成分的量(质量或浓度)与响应值成正比的原理。通常将RCF分为两种类型:第一种类型为将RCF的值设为1,第二种类型为将内标物和待测物的响应值比值

的平均值或者斜率比值作为RCF。

1.2.1 第一种类型

当将RCF的值设为1时,此法仅适用于被分析物质具有高度相近的摩尔吸收系数或者分子质量。由于测定的结果均为近似值,与真实值存在偏差,该方法的应用受到限制。美国药典(USP)33卷中猫爪草的质量评价即采用了将RCF设为1的方法。

1.2.2 第二种类型

在同一吸收波长下,结构相近且具有不同发色团被分析物的摩尔吸收系数(ϵ)不同。斜率比值法是以内参物标准曲线与待测物标准曲线斜率的比值作为RCF,也称初始转换因子(original conversion factors, OCFs)^[11]。此法要求标准曲线截距尽可能小的情况下才能保证计算的准确性。屠鹏飞教授课题组采用斜率比值法以大黄素为内参物,在280 nm波长下,分别计算了大黄酸、大黄酚、大黄素甲醚、芦荟大黄素、番泻苷A和番泻苷B的RCF为0.9518、0.8543、0.7545、0.0759、0.1536和0.1659。其中大黄素和芦荟大黄素的RCF比值可达1:0.0759^[12]。平均值法是通过计算不同浓度或不同进样体积下内标物和待测物的响应比值的平均值作为RCF。此法中RCF容易受到待测物浓度波动的影响。为此,蔡少青教授课题组在平均法计算RCF的基础上,提出了线性回归方法计算RCF,并已成功应用于三七中皂苷类成分的测定^[13]。

1.3 一测多评法的关键影响因素

在QAMS的质量评价中,RCF常受到不同的色谱仪器系统、填料和色谱柱类型、吸收波长、流动相和柱温等因素的影响。

1.3.1 色谱柱和检测器对RCF的影响

色谱柱的选择是影响RCF值的重要因素。屠鹏飞教授课题组建立了以小檗碱为参照物,同时测定功劳木中非洲防己碱、药根碱、巴马汀和小檗碱含量的方法。比较了6种色谱柱对RCF的影响,结果表明Agilent Zorbax SB-Aq C₁₈ (250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)效果最佳^[14]。李萍教授课题组^[15]建立了虎杖中的几种蒽醌类成分的QAMS法,考察了紫外可见光检测器(ultraviolet visible detector, UV)、可变波长检测器(Variable Wavelength detector, VWD)和光电二极管阵列检测器(diode-array detector, DAD; Photo-Diode Array, PDA)三种检测器在相同吸收波长对RCF的影响,结果表明选用VWD检测器确定各波长对RCF的

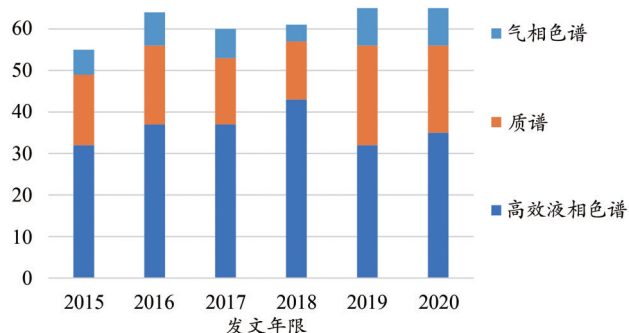


图1 QAMS法结合现代分析技术的应用

影响最小,且稳定性好。

1.3.2 检测波长、柱温及流动相对RCF的影响

流动相中酸的浓度、流速、柱温和进样体积等因素均会导致RCF偏差。Dong等^[16]采用QAMS法同时测定肉苁蓉和管花肉苁蓉7种糖苷类成分时,与290 nm和219 nm相比,333 nm检测波长下,7种糖苷类成分相应高,且受干扰小。李清课题组^[14]采用QAMS法测定鱼腥草中咖啡酸和芦丁等8种成分时,发现当柱温保持在20℃,流速设定为1.0 min·mL⁻¹,进样体积为10 μL时,对RCF的影响最小。屠鹏飞教授课题组^[11]建立了同时测定功劳木中4种生物碱含量的QAMS法,当选用0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钾缓冲液的水(A)和乙腈(B)为流动相对RCF的影响最小。

2 现代分析技术在QAMS中的应用

以“一测多评”或“QAMS”为关键词,在中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)和PubMed(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)上进行检索,统计了2015年至2020年发表的应用HPLC、GC和HPLC-MS技术在中药材、中成药及中药提取物QAMS质量评价中的应用情况。如图1所示,QAMS法结合不同技术的应用基本保持在每年40~60篇的平稳发展趋势,获得了中医药行业的认可。

2.1 高效液相色谱-紫外检测器联用技术

HPLC法具有适用性广、兼具分离、分析功能,且快速、高效及灵敏的优点。近年来,在中药质量控制领域,HPLC已成为中药材、中药提取物及中成药含量测定的首选手段。其中紫外检测器如DAD或PDA、UV和VWD等均在中药多成分含量测定中广泛应用。

由表1可知,HPLC-DAD法已广泛应用于中药材、

中药提取物以及中药制剂中同种类型多组分含量的同时测定。内标物的选择上,有三种方式。第一种为选择1种内标测定同类型化合物,如表1中以丹参酮IIA为内标同时测定丹参中蒽醌类成分的含量,计算二氢丹参酮I、隐丹参酮和丹参酮I的RCF值分别为1.55、1.12和1.28。第二种为选择2种不同类型的内标测定不同类型化合物,如表1中以绿原酸和羌活醇分别测定羌活中有机酸类成分和香豆素类成分,RCF值从0.5~2.234变化较大。第三种为选择1种内标测定不同类型的化合物,如表1中选择绿原酸测定忍冬中咖啡酰奎宁酸类成分和环烯醚萜苷类成分,咖啡酰奎宁酸类成分RCF接近0.77,环烯醚萜苷类成分RCF接近1.2。综上,相同类型成分的RCF值是比较接近,而不同类型成分采用同一内标时,RCF值相差悬殊。

平均值法在中药QAMS的计算方法应用占主导地位。果德安教授课题组采用QAMS法测定了附子中5个生物碱的含量,比较了将RCF值设为1和斜率比值法所测结果的差异,结果显示,5种生物碱斜率比值法RCF值的变化范围为0.95~1.10。两种不同类型RCF值对5种生物碱含量测定结果无显著影响^[26]。由此可见,当化合物极性相似、紫外吸收特征和色谱行为相似的情况下,RCF设为1可以简化整个分析过程。

此外,Sun等^[37]以防腐剂苯甲酸钠作为内标,分别计算不同浓度下松果菊苷、毛蕊花糖苷和淫羊藿苷的平均RCF分别为2.3113、1.5703、1.3707,建立同时测定蓉蛾益肾口服液防腐剂苯甲酸钠、松果菊苷、毛蕊花糖苷和淫羊藿苷含量的方法,将测定结果与外标法结果相比比率接近于1,并且经 t 检验, $P>0.05$,以防腐剂作为内标的中药制剂QAMS多成分定量具有可行性。

超高效液相色谱(Ultra high performance liquid chromatography, UHPLC),具有超高效、超高分离度和超高灵敏度等优点,可用于解决中药复杂组分分离困难等问题。UHPLC的问世对中药质量控制研究领域的发展是一个极大的促进^[42]。近年来,基于UHPLC的QAMS方法已被广泛应用于中药材、中药提取物及中成药制剂中多组分的快速同时定量(表2)。相较于HPLC而言,采用UHPLC-UV或UHPLC-DAD进行QAMS质量评价的相关研究较少。截止2020版《中国药典》中尚未收载UHPLC与QAMS结合用于中药多成分定量分析的方法。

表1 HPLC在以QAMS法进行中药质量控制的应用

分析物	检测器	成分数量	待测成分	内参物	RCF	计算方法	参考文献
金樱子	UV	5	芦丁、槲皮素、山柰酚、木犀草素、芹菜素	芦丁	0.565、0.850、1.466、1.131	平均值	[18]
补骨脂	DAD	7	新补骨脂异黄酮、异补骨脂黄酮、补骨脂二氢黄酮、补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮甲醚、异补骨脂查尔酮、4'-O-甲基补骨脂查尔酮	新补骨脂异黄酮	0.683、2.92、0.833、1.98、0.763、1.43	斜率比值	[19]
沉香	DAD	4	2-(2-苯乙基)色原酮类似物	琼脂醇	2.27、1.83、2.04、1.78	平均值	[20]
拟苹果总黄酮提取物	DAD	3	鼠李柠檬素、鼠李素、3,5-二羟基-7,4'-二甲氧基黄酮	鼠李柠檬素	1.300、0.885	平均值	[21]
荔枝多酚类提取物	PDA	4	表儿茶素、原花青素A2、原花青素B2、表儿茶素-(4β→8,2β→O→7)-表儿茶素-(4β→8)-表儿茶素(PC-C)	表儿茶素	1.0134、0.9412、0.9790	斜率比值	[22]
丹参	DAD	4	丹参酮IIA、二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I	丹参酮IIA	1.55、1.12、1.28	平均值	[23]
白屈菜	UV	5	黄连碱、白屈菜红碱、白屈菜碱、血根碱、小檗碱	黄连碱	0.517、0.310、0.790、0.540	平均值	[24]
钩藤	DAD	4	异钩藤碱、钩藤碱、异去氢钩藤碱、去氢钩藤碱	异钩藤碱	1.0233、1.0410、1.0649	平均值	[25]
人参	PDA	9	人参皂苷Rg1、Re、Rf、Rg2、Rb1、Rc、Rb2、Rb3、Rd	人参皂苷Rg ₁	0.846、0.969、1.036、0.750、1.160、0.753、0.753、1.250	平均值	[27]
灵芝	DAD	16	灵芝酸A、B、C2、G、F、T、DM；灵芝烯酸A、B、D、F；赤芝酸A、灵芝酮三醇、灵芝醇B、F；灵芝醛A	灵芝酸A	0.561、0.917、1.083、1.171、1.065、0.629、0.343、0.546、0.652、1.154、0.809、0.638、0.825、0.675、0.576	斜率比值	[28]
忍冬	DAD	6	绿原酸、3,5-二-O-咖啡奎宁酸、4,5-二-O-咖啡奎宁酸、獐牙菜苷、断氧化马钱子苷、矢车菊苷	绿原酸	0.78、0.76、1.33、1.28、1.14	斜率比值	[29]
羌活	DAD	17	对香豆酸、东莨菪素、阿魏酸、紫花前胡苷、补骨脂素、佛手苷、当归素、8-甲氧基补骨脂素、佛手苷内酯、香叶木素、欧前胡素、白芷脑、珊瑚菜内酯、甲氧基欧芹酚、羌活醇、异欧前胡素、白花前胡甲素	绿原酸、羌活醇	0.783、2.234、1.291、0.528、1.028、1.141、1.163、0.672、0.628、1.329、2.187、0.751、0.5、0.791、2.035、0.547、1.272	斜率比值	[30]
细辛	PDA	5	L-细辛脂素、卡枯醇、甲基丁香酚、L-芝麻脂素、黄樟醚	L-细辛脂素	1.18、1.52、1.42、0.889	平均值	[31]
当归苦参丸	DAD	6	没食子酸、苦参碱、氧化苦参碱、儿茶素、芦丁、阿魏酸	没食子酸	3.80、3.03、0.39、2.31、2.38	平均值	[32]
小儿金翘颗粒	PDA	7	绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、连翘酯苷A、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C	绿原酸	0.995、1.007、0.580、1.243、1.252、1.247	斜率比值	[33]
丹参配方颗粒	DAD	4	丹参酚酸B、丹参醇、紫草酸、迷迭香酸、	丹参酚酸B	2.04、0.59、1.07	平均值	[34]
双黄连口服液	DAD	3	绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸	绿原酸	1.075、1.098	平均值	[35]

下转续表

续表

分析物	检测器	成分数量	待测成分	内参物	RCF	计算方法	参考文献
杞菊地黄口服液	DAD	4	马钱苷、莫诺苷、山茱萸新苷、丹皮酚	马钱苷	1.048、1.390、0.349	平均值	[36]
蓉蛾益肾口服液	DAD	3	松果菊苷、毛蕊花糖苷、淫羊藿苷	防腐剂苯甲酸钠	2.3113、1.5703、1.3707	平均值	[37]
竭红跌打酊	DAD	3	儿茶素、羟基红花黄色素 A、表儿茶素	儿茶素	0.7284、0.5883、0.4171、0.2766、	平均值	[38]
痔瘘洗剂	DAD	13	大黄素、没食子酸、咖啡酸、虎杖苷、金丝桃苷、异槲皮苷、芦荟大黄素、槲皮苷、高车前苷、白藜芦醇、大黄酸、大黄素甲醚、高车前素	大黄素	0.0156、0.9206、0.1074、0.3479、0.2027、0.5270、0.0386、0.1579、0.3652、0.8145、0.2226、0.7690、0.8387	平均值	[39]
梔榆洗剂	DAD	4	梔子苷、没食子酸、升麻素苷、大黄酸	梔子苷	0.552、1.450、2.622	平均值	[40]
三黄石膏汤	VWD	13	小檗碱、芒果苷、京尼平苷、甘草苷、表小檗碱、黄连碱、黄芩苷、巴马汀、哈巴戈苷、汉黄芩苷、黄芩苷、甘草酸、汉黄芩苷	小檗碱	0.7589、0.3084、0.1839、0.6048、0.3132、0.4520、1.0607、0.2527、0.4362、0.8607、0.4165、0.6776、0.2025、0.5623	斜率比值	[41]

表2 UPLC在以QAMS法进行中药质量控制的应用

分析物	检测器	成分数量	待测成分	内参物	RCF	计算方法	参考文献
土贝母	DAD	3	土贝母苷甲、土贝母苷乙和土贝母苷丙	土贝母苷甲	1.140、1.259	平均值	[43]
远志多糖提取物	DAD	9	3,6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、球腺糖苷 A、远志蔗糖酯 A、远志蔗糖酯 B、远志蔗糖酯 C、西伯利亚远志口山酮 B、远志口山酮 III	3,6'-二芥子酰基蔗糖	1.371、1.408、1.652、2.191、1.845、0.995、2.033、1.475	平均值	[44]
炎可宁片	UV	2	小檗碱、黄芩苷	小檗碱	0.845、0.963	平均值	[45]
连翘制剂	DAD	3	连翘酯苷 A、连翘酯苷 H、连翘酯苷 I	连翘酯苷 A	0.816、0.799	平均值	[46]
天麻标准汤剂	PDA	6	天麻素、对羟基苯甲醇、巴利森苷 E、巴利森苷 B、巴利森苷 C、巴利森苷	天麻素	1.5301、1.2988、1.3321、1.2492、0.5604	平均值	[47]
葛根芩连丸	DAD	7	葛根素、大豆苷、大豆苷元、黄芩素、汉黄芩素、药根碱、巴马汀	葛根素	1.02、1.07、1.05、1.32、0.62、0.90	平均值	[48]

2.2 高效液相色谱-蒸发光检测器联用技术

蒸发光检测器 (evaporative light-scattering detector, ELSD) 为质量通用型检测器, 受试样品不需含有发色基团, 即有物质就有响应^[49]。该检测器是紫外检测器的有力补充, 适合于没有紫外吸收或紫外吸收弱的化合物, 如皂苷类和三萜类等。对于 ELSD 而

言, 当检测的线性范围较窄, 样品量与峰面积有时不呈线性关系, 定量时需采用对数关系进行线性回归的计算^[49]。

郭玉岩等^[50]以 HPLC-ELSD 技术建立同时测定类叶牡丹中 6 种皂苷类成分的 QAMS 方法, 以 cauloside G 为内参, 分别计算 leonticin D 和 cauloside H、D、B、C 相

对于内参的RCF分别为0.972、1.104、1.060、0.947和0.964,与外标法比较没有显著差异,该方法稳定可靠。蒋龄周等^[51]利用HPLC-ELSD技术建立同时测定桔梗中3种桔梗皂苷含量的方法,以桔梗皂苷D为内标,计算其与桔梗皂苷D3、桔梗皂苷E的相对校正因子为1.044和1.031,并与外标法测定结果相比较,无显著差异,该方法可用于同时测定桔梗中多种皂苷的含量。罗雨等^[52]基于HPLC-UV-ELSD技术建立了同时测定黄芪水提、醇提液中4种黄酮和2种皂苷类成分的QAMS法,分别以毛蕊异黄酮葡萄糖苷和黄芪甲苷作为黄酮类成分和皂苷类成分的内标,计算芒柄花苷、9,10-二甲氧基紫檀烷-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷、2'-羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷和黄芪皂苷II相对于各自内标的RCF,进行了在不同检测器上针对不同类型成分建立QAMS法的探索,结果表明以HPLC-UV技术为基础建立的黄芪水提、醇提液中黄酮类成分的QAMS方法可行,而以HPLC-ELSD技术建立的QAMS方法测定皂苷类成分的重复性测定结果偏差较大,难以实现准确定量。

2.3 高效液相色谱-质谱联用技术

质谱检测器既是分离器,也是探测器^[53]。质谱技术近年来发展迅速,特别是液相色谱-质谱联用为中药复杂化学成分的定性、定量分析提供了有效手段。目前,在中药质量控制领域应用较多的质谱检测器主要为三重四级杆(triple quadrupole, TQ)质谱、飞行时间(Time of Flight, TOF)质谱和静电轨道离子阱(Orbitrap)。

TQ质谱在多反应监测(multiple-reaction-monitoring, MRM)模式下展现出极高的灵敏度,可实现已知化合物的定量分析。MRM模式是中药定量分析中的“金标准”^[54]。Lu等^[55]基于RRLC-QqQ-MS/MS法,以人参皂苷Rg1为内参,建立了人参属5种药用植物中的17种三萜皂苷类化合物定量分析的方法,结果表明使用RRLC-QqQ-MS/MS新方法进行QAMS质量评价,在选择性、灵敏度、可重复性和分析时间方面表现出良好的性能,满足了中药多成分定量中含量差异悬殊的特点,是在缺少对照品的情况下实现中药多成分同时定量的一种新方法。

TOF质谱和Orbitrap质谱具有质量范围宽、高灵敏度和高精确度的优势,可提供大范围的定性和定量分析^[56-57]。Tang等^[58]基于UPLC-Q-TOF-MS法,以连翘苷A为内参,计算绿原酸、甘草苷、芦丁、异绿原酸

A、连翘苷和甘草酸的平均RCF分为0.4866、1.1744、0.4862、0.4876、5.2068和0.8531,并同时测定6种化合物的含量,与外标法结果比较没有显著差异,并以此为基础建立四季-抗病毒合剂质量控制的新方法。Huang等^[59]基于UPLC-ESI-TOF-MS技术,以黄芪甲苷I为内参物,分别计算了毛蕊异黄酮-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、黄芪甲苷、毛蕊异黄酮苷、黄芪甲IV、芒柄花苷和黄芪甲苷II的平均RCF,并测定了21批黄芪中7种成分的含量,与常规外标法测定结果比较,无显著差异。Su等^[60]建立了基于UHPLC-Q-Orbitrap-MS法进行QAMS核桃叶中13种成分的定量方法,通过对4批不同产地核桃叶中13个黄酮类和酚酸类成分的定量分析结果与常规外标法结果相比,QAMS准确可靠。

2.4 气相色谱

目前,GC法常用的检测器有氢焰离子化检测器(Flame Ionization Detector, FID)、电子捕获探测器(Electron Capture Detector, ECD)、火焰光度检测器(Flame Photometric Detector, FPD)及质谱检测器,适用于分析各种气体和易挥发的有机物质。目前主要应用于中药挥发性化学成分的QAMS质量控制研究中^[61-62]。陈文婷等^[63]基于GC-FID技术,以 β -桉叶醇为内标,同时测定苍术中3种倍半萜成分的含量,计算苍术酮、白术内酯I和白术内酯II的平均RCF分别为0.823、0.690和0.766,并与外标法结果经 t 检验, $P>0.05$,无显著性差异。吴婷等^[65]采用GC-FID技术,以柠檬烯为内参物,计算连翘挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、 α -松油醇的平均RCF值分别为0.91、0.86、1.11,以QAMS方法同时测定上述3种成分的含量,与外标法结果经 t 检验比较, $P>0.05$,无显著性差异。游正琴等^[64]基于GC-FID技术,以龙脑为内参,计算薄荷酮、樟脑和薄荷脑的平均RCF值分别为1.0241、1.0185和1.0130,同时测定咽立爽口含滴丸中上述3种成分的含量,结果与内标法结果比较无显著性差异,该法可靠稳定。唐志康等^[65]基于GC-MS/MS技术,以联苯菊酯为内参,建立了测定莲子中甲氰菊酯、联苯菊酯和溴氰菊酯3种农药残留量的QAMS方法,结果显示该方法适用于分析莲子中联苯菊酯等农药残留情况。

3 总结与展望

中药具有多成分、多靶点整合作用特点。中药的多指标质量评价方法已成为本行业的共识。QAMS法

已广泛应用于中药材、中药饮片、中药提取物、中成药等多种中药领域,具有检测成本低、分析效率高等优点。目前已经实现了中药复杂体系中黄酮类、皂苷类、蒽醌类、生物碱、有机酸等多种成分的同时定量分析。多指标成分定量在方法构建和标准执行阶段均需要对照品,与其相比QAMS的最大优势体现在仅在方法构建阶段需要对照品。

RCF是QAMS的关键参数,其直接决定QAMS法的定量准确度。QAMS应用过程中,RCF值设为1适合于具有高度相近的摩尔吸收系数或者分子质量的被分析物质。在同一吸收波长下,结构相近摩尔吸收系数(ϵ)的被分析物,多采用斜率比较法和平均值法进行计算,其中平均值法在中药QAMS质量评价中应用最为广泛。此外,不同的色谱仪器系统、色谱柱填料、色谱柱类型、吸收波长、流动相和柱温等因素均会显著影响RCF值的计算。

目前,HPLC-UV仍是在QAMS方法中应用较为成熟和广泛的主流技术,适用于分析具有紫外吸收的化合物,如黄酮、生物碱、蒽醌和酚类等成分。该技术定量结果准确、稳定、普适性强。而基于HPLC-ELSD技术的QAMS测定准确性和适用性仍然需进一步探索和验证。LC-MS/MS技术虽然具有灵敏度高、线性范围宽等优点,可实现同时对低含量和高含量成分定量,

但由于其价格昂贵,普适性相对较差。LC-Q-Orbitrap-MS/MS技术具有定性高准确度的优势,但针对复杂基质多成分定量时,仍存在无法克服基质效应及共流出物对待测成分的干扰而导致定量准确性的问题。GC技术在中药QAMS质量控制研究工作中仍处于起步阶段,同时使用的化学成分类型相对有限,有待进一步的挖掘和拓展。

当利用同一内参物进行同类化学成分测定时,QAMS法具有准确度高、重复性好的特点;而利用同一内参物测定不同类型化学成分时,RCF值差异较大,严重影响QAMS方法定量的准确性。由此可见,解决QAMS法在中药不同类型化学成分同时定量过程中RCF值偏差较大的问题,是今后中药质量研究中需要关注的重点。此外,尽管QAMS法在中药材及中药提取物的多成分定量中得到了广泛的推广和应用。然而,中成药制剂的QAMS多成分质量评价方法仍处于研究探索阶段,尚未收录于《中国药典》。综上所述,发展基于HPLC联用紫外检测器技术的QAMS方法在中成药制剂质量评价中的应用,是中药质量控制与评价领域值得关注的研究方向;继续完善LC-MS和GC技术在中药QAMS质量评价中的定量准确、稳定性和普适性,将进一步拓展QAMS方法在中药质量控制领域的应用。

参考文献

- 1 肖小河.走向精准的中药质量评价与控制.药科学报,2019,54(12):2139-2140.
- 2 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.中国中药杂志,2006(23):1925-1928.
- 3 Hou J J, Wu W Y, Guo D A, *et al.* Deeper chemical perceptions for better traditional Chinese medicine standards. *Engineering*, 2019, 5(1): 83-97.
- 4 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版(一部).北京:中国医药科技出版社,2010:285.
- 5 国家药典委员会.中华人民共和国药典2015年版(一部).北京:中国医药科技出版社,2015:76, 188, 101, 316, 359.
- 6 国家药典委员会.中华人民共和国药典2020年版(一部).北京:中国医药科技出版社,2020:280, 340, 401.
- 7 朱晶晶,王智民,高慧敏,等.一测多评法在中药质量评价中的应用研究进展.中国实验方剂学杂志,2016,22(16):220-228.
- 8 秦昆明,杨冰,胡静,等.一测多评法在中药多组分质量控制中的应用现状与思考.中草药,2018,49(3):725-731.
- 9 文乾映,龙芳,杨华,等.中药质量控制中一测多评法的应用进展.中国药房,2014,25(23):2185-2188.
- 10 王智民,朱晶晶,高慧敏,等.一测多评法建立的技术指南.中国中药杂志,2011,36(6):657-658.
- 11 Hou J J, Wu W Y, Da J, *et al.* Ruggedness and robustness of conversion factors in method of simultaneous determination of multi-components with single reference standard. *J Chromatogr A*, 2011, 1218(33):5618-5627.
- 12 Gao X Y, Jiang Y, Tu P F, *et al.* One single standard substance for the determination of multiple anthraquinone derivatives in rhubarb using high-performance liquid chromatography-diode array detection. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11):2118-2123.
- 13 Wang C Q, Jia X H, Cai S Q, *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. *Talanta*, 2015, 134:587-595.
- 14 Wang W G, Ma X L, Tu P F, *et al.* A series of strategies for solving the shortage of reference standards for multi-components determination of traditional Chinese medicine, Mahoniae Caulis as a case. *J*

- Chromatogr A*, 2015, 1412:100–111.
- 15 Yang T W, Zhao C, Li P, *et al.* Design of ultraviolet wavelength and standard solution concentrations in relative response factors for simultaneous determination of multi-components with single reference standard in herbal medicines. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 114: 280–287.
 - 16 Dong Y H, Liu J J, Ma X Q, *et al.* Simultaneous determination of seven phenylethanoid glycosides in *Cistanches Herba* by a single marker using a new calculation of relative correction factor. *J Sep Sci*, 2018, 41 (9):1913–1922.
 - 17 Dai W, Hu L, Li Q, *et al.* A comprehensive method for quality evaluation of *houittuyniae herba* by a single standard to determine multi-components, fingerprint and HPTLC method. *Anal Sci*, 2015, 31 (6):535–541.
 - 18 李进, 谢云, 定天明, 等. 一测多评法测定金樱子中黄酮类成分的含量. *中药材*, 2021, 44(2):400–403.
 - 19 Yan C, Cai B, Li W, *et al.* Development of an HPLC method for absolute quantification and QAMS of flavonoids components in *Psoralea corylifolia L.* *J Anal Methods Chem*, 2015, 2015:792637.
 - 20 Gao M, Han X, Huang J, *et al.* Simultaneous determination of multiple active 2-(2-phenylethyl) chromone analogues in agarwood by HPLC, QAMS, and UPLC-MS. *Phytochem Anal*, 2020, 32(3):412–422.
 - 21 冯军, 柴玲, 陈明生, 等. 指纹图谱结合一测多评法评价拟草果质量的研究. *中草药*, 2021, 52(3):852–856.
 - 22 胡雪艳, 李焕清, 邓红, 等. 指纹图谱与一测多评法相结合评价荔枝多酚提取物. *中草药*, 2017, 48(3):490–498.
 - 23 郭龙, 薛紫鲸, 刘爱朋, 等. 基于一测多评法的丹参酮提取物质量控制. *中国现代中药*, 2019, 21(3):357–364.
 - 24 黄涛阳, 王晖, 翁燕君, 等. 一测多评法测定白屈菜中5种生物碱的含量. *中药材*, 2016, 39(10):2268–2271.
 - 25 蔡洪鲲, 蒋范任, 钟胜佳, 等. 一测多评法同时测定钩藤中4种生物碱的含量. *中南药学*, 2019, 17(11):1937–1940.
 - 26 Guo D A, Da J, Wu W Y, *et al.* A feasible, economical, and accurate analytical method for simultaneous determination of six alkaloid markers in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* from different manufacturing sources and processing ways. *Chin J Nat Med*, 2017, 15 (4):301–309.
 - 27 Wu C, Guan Q, Wang S, *et al.* Simultaneous determination of multiple ginsenosides in *Panax ginseng* herbal medicines with one single reference standard. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13(1):84–89.
 - 28 Liu W, Feng N, Tang Q, *et al.* One single standard substance for the simultaneous determination of 17 triterpenes in *Ganoderma lingzhi* and its related species using high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, 1068–1069: 49–55.
 - 29 Gao W, Wang R, Yang H, *et al.* Comparison of five *Lonicera* flowers by simultaneous determination of multi-components with single reference standard method and principal component analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 117:345–351.
 - 30 Yu X A, Li J, Chang Y X. A single standard to determine multi-components method coupled with chemometric methods for the quantification, evaluation and classification of *Notopterygii Rhizoma* et *Radix* from different regions. *Molecules*, 2019, 24(19):1–21.
 - 31 匡艳辉, 廖丰蕴, 李雯珊, 等. 一测多评法测定细辛中5种成分含量. *中药材*, 2019, 42(9):2091–2095.
 - 32 Bao H W, Chi J H, Yang H L, *et al.* Simultaneous determination of six active components in Danggui Kushen Pills via quantitative analysis of multicomponents by single marker. *J Anal Methods Chem*, 2019, 2019: 9620571.
 - 33 梁欣雨, 周晓钢, 何兵, 等. 一测多评法同时测定小儿金翘颗粒中7种成分的含量. *中国药房*, 2020, 31(10):1179–1184.
 - 34 Wei H Y, Yu Q X, Lu J G, *et al.* Simultaneous determination of four phenolic acids in *Radix Salviae Miltiorrhizae* formula granules by QAMS. *Med Plant*, 2019, 10(6):27–29, 38.
 - 35 Si W, Qiao Y, Liang X, *et al.* Combination of multi-model statistical analysis and quantitative fingerprinting in quality evaluation of Shuang-huang-lian oral liquid. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(26): 7073–7083.
 - 36 王晓燕, 霍甜甜, 李振国. 一测多评法同时测定杞菊地黄口服液液中4种有效成分的含量. *药物分析杂志*, 2017, 37(2):290–296.
 - 37 Li X, Yang H, Pang X, *et al.* Entirely control the quality consistency of Rong'e Yishen oral liquid by both quantified profiling and quantitative analysis of multi-components by single marker method. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 193:113719.
 - 38 赵华, 茅建辉. 一测多评法同时测定竭红跌打酊中5种成分的含量. *实用药物与临床*, 2019, 22(7):737–742.
 - 39 Peng Y, Wang Q, Zou J, *et al.* Determination and quality evaluation of Zhilou lotion by quantitative analysis of multicomponent with a single marker. *Accredit Qual Assur*, 2019, 24(3):191–201.
 - 40 许庆, 安艳苏, 毕秋左. 一测多评法测定桉树洗剂中4个组分含量. *中国药业*, 2020, 29(15):58–61.
 - 41 Peng Y, Dong M H, Zou J, *et al.* Analysis of the HPLC fingerprint and QAMS for sanhuang gypsum soup. *J Anal Methods Chem*, 2018, 2018: 5890973.
 - 42 张青, 罗秋月, 蒲旭峰, 等. UPLC在中药及其复方分析中的应用和研究进展. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(3):226–234.
 - 43 黄敏桦, 李振雨, 童培珍, 等. 基于UPLC指纹图谱和一测多评法的土贝母药材质量评价. *中国中药杂志*, 2020, 45(14):3459–3466.
 - 44 Xu R, Mao F, Zhao Y, *et al.* UPLC quantitative analysis of multi-components by single marker and quality evaluation of *Polygala tenuifolia* Wild. extracts. *Molecules*, 2017, 22(12):2276.
 - 45 Wang X, Liu X T, Sun G X, *et al.* Study on multiple fingerprint profiles control and quantitative analysis of multi-components by single marker method combined with chemometrics based on Yankening tablets. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 253:119554.
 - 46 Qi M H, Zhao S Y, Hu P, *et al.* Probing the degradation mechanism of forsythiaside A and simultaneous determination of three forsythiasides in *Forsythia* preparations by a single marker. *J Sep Sci*, 2019, 42(23):

- 3503–3511.
- 47 杜俊潮, 浦香兰, 许运明, 等. 基于UPLC指纹图谱及一测多评法的天麻标准汤剂质量评价研究. 中国中药杂志, 2020, 45(20):4909–4917.
 - 48 王迪, 吴亿哈, 李维, 等. 一测多评法测定葛根芩连丸中7种指标成分. 中草药, 2017, 48(21):4453–4459.
 - 49 冯鑫, 程睿, 别玮, 等. 电喷雾检测、器蒸发光散射检测器与示差折光检测器测定食品中5种糖成分的方法比较. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(4):1513–1518.
 - 50 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. 中草药, 2017, 48(8):1661–1665.
 - 51 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. 中国现代应用药学, 2017, 34(5):729–732.
 - 52 罗雨, 李文龙, 黄文华, 等. HPLC–UV–ELSD同时测定黄芩水提液与含醇提取物中6种成分. 中国中药杂志, 2016, 41(5):850–858.
 - 53 刘洁, 李月婷, 陈奕君, 等. 高分辨质谱数据处理策略在中药体内外成分检测和表征中的应用进展. 药学报, 2021, 56(1):113–129.
 - 54 刘祥东, 梁琼麟, 王义明, 等. 液质联用技术在医药领域中的应用. 药物分析杂志, 2005, 25(1):110–116.
 - 55 Ning Z, Liu Z, Lu A, *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 Pharm Biomed Anal*, 2016, 124:174–188.
 - 56 汪玉馨, 郝海平, 王广基. Q–TOF及IT–TOF质谱技术在天然产物及其复杂代谢物鉴定中的应用及展望. 中国天然药物, 2009, 7(5):394–400.
 - 57 Zhou J L, Qi L W, Li P. Herbal medicine analysis by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(44):7582–7594.
 - 58 Tang Z S, Yao Z R, Liu H B, *et al.* Multi-evaluating strategy for siji-kangbingdu mixture: chemical profiling, fingerprint characterization, and quantitative analysis. *Molecules*, 2019, 24(19):3545.
 - 59 Huang J, Yin L, Dong L, *et al.* Quality evaluation for *Radix Astragali* based on fingerprint, indicative components selection and QAMS. *Biomed Chromatogr*, 2018, 32(11):e4343.
 - 60 Su C N, Li C H, Sun K, *et al.* Quantitative analysis of bioactive components in walnut leaves by UHPLC–Q–Orbitrap HRMS combined with QAMS. *Food Chem*, 2020, 331:127180.
 - 61 张元, 吴文杰, 李国辉, 等. 气质联用技术在药食同源植物分析中的研究进展. 化学研究, 2019, 30(1):95–101.
 - 62 孙静. 气相色谱–质谱联用技术研究进展及前处理方法综述. 当代化工研究, 2017(9):4–5.
 - 63 陈文婷, 陈阳, 崔波, 等. 气相色谱“一测多评”用于苍术多成分含量测定的可行性研究. 中国中药杂志, 2018, 43(3):551–556.
 - 64 游正琴, 罗奕, 苏菊. 一测多评法测定咽立爽口含滴丸中的4种成分. 中成药, 2016, 38(5):1180–1183.
 - 65 唐志康, 余敏灵, 张富东, 等. 气相色谱–质谱法测定莲子中农药残留的一测多评研究. 国际中医中药杂志, 2018, 40(10):959–964.

Recent Advances in Quantitative Analysis of Multi-Components by Single Marker on Quality Control of Traditional Chinese Medicine

Yan Yan^{1,2,3}, Du Chenhui⁴

(1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China ;
2. The Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China ;3. Key Laboratory of Effective Substances Research and Utilization in TCM of Shanxi Province, Taiyuan 030006, China ;4. School of Traditional Chinese Materia Medica, Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China)

Abstract: Quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) is a novel and rational method for quality control of botanical products, traditional Chinese medicines (TCMs) and Chinese patent drug. In this review, advances in these methods including high performance liquid chromatography combined with ultraviolet detector (HPLC–UV), LC–mass spectrometry (LC–MS) and gas chromatography (GC) is summarized in order to provide scientific basis for the application of QAMS in quality control of TCM. HPLC–UV is considered as the most suitable method for QAMS due to its stable and accurate results, while the accuracy of QAMS method using HPLC combined with evaporative light–scattering detector (HPLC–ELSD) should be developed. LC–MS has the advantages of high sensitivity and wide linear range, but it is easily affected by instrument parameters and matrix effect. Thus, a series of future

improvements for quality evaluation of Chinese patent medicine using QAMS based on HPLC-UV are proposed. In addition, the stability and universality of LC-MS and GC technology applied in QAMS quality evaluation of TCMs should be explored.

Keywords: Quantitative analysis of multi-components by single marker, HPLC, GC, LC-MS, Quality control

(责任编辑: 周阿剑、刘玥辰, 责任译审: 周阿剑, 审稿人: 王瑀、张志华)