

# 中药质量控制与安全性评价中的分析化学

今日  
化学

王小如\* 陈宾 胡广林

(厦门大学现代分析科学教育部重点实验室 厦门 361005)

黎先春

(香港浸会大学中医药研究所)

**摘要** 本文论述了中药现代化实施中进行质量控制的“5P”(GAP、GCP、GLP、GMP、GSP)系统工程;结合本实验室近年来以“5P”指导中药质量控制与安全性评价所做的一些工作,阐明了将分析化学应用于中药质量控制与安全性评价的策略与方法,提出了分析化学在中药现代化系统工程及重大科学问题的解决中所能发挥的重要作用。

## 1 引言

近年来国际上对天然药物日益重视,在世界范围内掀起了中医药的热潮。随着科学技术,特别是医药工业的迅速发展,国际间医药学术交流日益频繁。与国际接轨,实现中药现代化,已成为中医药工作者的共识。但是,由于我国在中药质量控制方面存在的问题,严重制约了中国中药产品的开发,并影响了中药在国际市场的声誉。中药产业现代化是中药走向世界的基础,中药现代化的核心是发展和创新。中药产业现代化首先要解决的问题是中药的质量控制与安全性评价<sup>[1]</sup>。如何将传统的中医药与现代科技紧密结合,使其在固有的知识体系中进一步创新和突破是目前所面临的一个重大课题。在这个具有高度挑战性的课题中,现代分析化学的系统化应用与配合,起着关键性的作用。现代分析化学的精髓在于充分有效地利用精密仪器,采取优化的分析方法,配合严谨的品质控制,系统化地收集数据,提取信息,然后进一步精炼成为可应用的具体知识。

建立健全的科学化中药系列标准规范对中药进行有效质量控制,是实现中药产业现代化首要的一环。目前,国际上已应用“5P”,即“GAP”——优良农业规范(Good Agriculture Practice)、“GLP”——优良实验室规范(Good Laboratory Practice)、“GCP”——优良临床试验规范(Good Clinical Practice)、“GMP”——优良工业生产规范(Good Manufacturing Practice)和“GSP”——优良供应规范(Good Supply Practice)来进行药品生产的质量控制。我国现有的各类中药标准和规范还存在着很多空白或待完善之处。在完善现有的各项中药制剂标准与要求的基础上,汲取现代医药发展的成功经验,参考国际标准规范,制订符合现代中药特点的质量控制、安全性评价、药效评价和临床试验等标准规范是当务之急。安全、有效是评价药品的关键,只有以客观规范的

\* 王小如:厦门大学化学系教授,博士生导师。

标准和科学实验数据表明其安全性、有效性、稳定性和可控性,才能在国际医药市场上充分展示中药的优势和实质性内涵,才能在国际竞争中占据一席之地。

在药物的质量控制中,判定药物优劣的 3 个指标是:疗效、质量与安全性。国际上对药物的开发与应用,有各种形异实同的审核、评估与管理体制。基本上,按一种药物由研究开发到最后的销售可分为 5 个主要阶段,即: 原材料的品质控制与检验; 临床试验前的生物检定与化学测试; 临床用于人体的疗效测试; 成药产品的制造与生产; 成药推出市场时的安全与品质控制。分析化学在这 5 个阶段,都起着非常重要的作用,规范化的测试分析过程是用以鉴定、监督与建立一系列严谨的品质控制程序的必要工具。该程序总结于表 1。

表 1 药物由研究开发到市场推出的全方位质量控制

阶段	品质控制规则	质量指标	化学分析策略与方法
1 中药材种植品质的控制	优良农业生产规范	原材料的品质控制,有效成分动态变化	生态环境指导下的化学、生物分析
2 临床试验前的生物与化学测试	优良实验室程序准则	药性毒性及生物活性有效成分之鉴定与确认	生物测试指引下的系统化学分析
3 市场推出前的临床试验	优良临床试验程序准则	疗效与药效的建立与确认	化学计量学的应用
4 制造与生产	优良生产工艺程序	原材料、生产工艺、设备及场地管理的品质控制	配合生产流程的自动化及线上分析
5 成品推出市场后的监控	安全与质量标准法规	残留农药、重金属、有机溶剂、真菌毒素、砷化物及其它有毒致癌物	常规分析法与非常规前沿分析技术的综合使用

针对中药的复杂成分与多项疗效,必须要有有效且系统的分析策略与方法。在表 1 的最后一项中,简单地列出了针对不同阶段的重点科学分析策略与方法。在第一阶段采用的是生态环境指导下的化学、生物分析策略;在第二阶段采用的是生物与化学测试相互配合的方法;在第三阶段的临床测试中,化学计量学将能发挥所长。化学计量学主要以统计与数学的模式来发掘、阐明与推论科学实验的因果关系,对中药这种复杂体系中疗效与化学成分的关系的说明,可称为最理想的工具;在制造与生产阶段,分析方法必须与制造工艺紧密配合。在生产的过程中,每一不同阶段都需要许多分析测试以检验产品的品质与抽查可能产生的污染。但一般而言,越接近生产线尾端的测试越困难,而需要纠正劣质产品时的损失也越大,所以精密的测试分析应尽量放在原材料的选择及生产线的前端,以便及早发现问题,同时还应尽量利用在线的自动化测试手段以缩短信号响应时间,这也是为什么在整个生产过程中,最初的原料品质控制起着关键性的作用。有了良好的 GAP 来控制原材料的品质,对以后各步的品质保障就能收到事半功倍之效。在针对产品安全性检验的第五阶段,使用的分析方法必须能准确地提供微量与超微量的污染物或毒素的浓度以作为政府监督机构决策的依据。在这方面,环境分析上的丰富经验可作为分析发展的依据与参考。目前这方面最重要的发展是采用分析方法的灵活性。以往针对某一污染物都必须采用特定的标准法加以分析,不可偏离。在过去 10 年中,由于分析技术与精密仪器的飞跃发展,许多尚未“标准化”的分析手段与方法无论在灵敏度、精确度及可应用的范围上都远远超过过去订立的所谓“标准法”。所以目前在微量污染物或有毒物的分析上,不论是政府的管制机构或科研人员,大家均同意方法的采用可以灵活处理,既可以用标准法也可以用较先进的替代方法。但在使用替代方法时,必须要有实验数据阐明方法的准确性及应用范围,并要有一系列的品质控制程序以保证方法的可比较性及跟踪性。

表 1 中的 GAP, GLP, GCP, GMP 和 GSP 即为目前国际上约定的一系列品质控制与管理准则。这些准则包含两个层次:一个是技术性的,用以规范监测、检定与生产工艺的技术与方法;另一个是非技术性的,是对场地、环境与人员的管理。就技术层次来说,这些准则并不是指定或特设某一个技术或方法,而是制订一整套的品质控制程序与系统来保证所采用技术实施时的正确性以及所获取数据的可信赖性。这些程序与系统基本上应用现代分析科学与统计学来监控生产过程中由原料到最后产品的品质标准。分析化学在这几项质量控制准则中均起非常重要的作用,下面以我们近年来在这一领域的某些工作举例说明。

## 2 GAP

GAP 是专门对中药材生产实行规范化管理的基本准则,并作为以药材为原料的其他产品(包括天然产物)的生产质量配套措施的技术性规范<sup>[2]</sup>。其核心内容是 3 个部分:生态环境(包括地理位置、土壤、水源、光照等与药用植物生长繁殖有关的客观条件)、栽培条件(包括选育良种、田间管理、收获、加工、贮藏等)和生产条件(整个生产过程的规范化操作,包括技术支持、检测分析、文件记录等软件部分)。我们在进行丹参 GAP 研究中,建立了提取丹参中 3 种酯有效成分(丹参酮、丹参酮 A 和隐丹参酮)并同时分离测定的 HPLC 分析方法,并利用此法监测丹参有效成分随产地和采收季节的变化以确定最佳的采收季节,获得了一些很有意义的研究结果。所研究的 3 种丹参酮在 20min 内达到基线分离,其保留时间分别为 12.4min, 14.4min 和 19.2min。通过所建立的方法分析丹参的不同部位以及不同级别、不同产地的丹参样品,结果表明在丹参不同部位的丹参酮含量差异显著:根 > 根须 >> 叶;在特级、一级、二级、三级丹参标准药材中,丹参酮含量水平与其级别不一致:3 级 > 优级 > 2 级 > 1 级;在不同栽培条件下生产的丹参中,丹参酮含量差别较大。这些研究结果为丹参 GAP 实施提供了科学依据。

在进行丹参 GAP 的研究时,还对丹参生长基地建立了分析土壤样品的标准方法,用标准参考样品考察了方法的精密度以及回收率。表 2 所列数据为丹参种植基地的 3 个典型样品的分析结果。该工作为丹参 GAP 的生态环境土壤质量控制提供了样品处理及分析的标准方法。

表 2 丹参生长基地土壤样品的等离子体质谱(ICP-MS)分析结果

元素	样品 1		样品 2		样品 3	
	含量 $\times 10^6$	$s_r$ ( $n=3$ )	含量 $\times 10^6$	$s_r$ ( $n=3$ )	含量 $\times 10^6$	$s_r$ ( $n=3$ )
Cr	33.9	4 %	20.8	7 %	21.9	4 %
Mn	240.2	6 %	243.1	9 %	194.3	9 %
Fe	15641	5 %	10263	4 %	10740	3 %
Co	6.8	3 %	4.5	5 %	4.7	3 %
Ni	17.2	4 %	10.9	4 %	11.4	3 %
Cu	10.7	3 %	9.2	1 %	7.5	1 %
Zn	24.1	18 %	31.9	4 %	32.4	3 %
As	2.0	7 %	2.3	19 %	1.6	13 %
Se	0.10	9 %	0.10	29 %		
Ag	0.04	8 %	0.04	15 %	0.03	11 %
Cd	0.03	23 %	0.10	24 %		
Hg	0.25	1 %				
Pb	10.0	0 %	4.9	7 %	7.2	9 %

## 3 GLP

GLP的核心是提供一套完整、公正、相对固定的标准尺度,用来确定申请认可的实验室是否符合要求。对实验室执行或遵循GLP原则的情况进行检查与监督<sup>[3]</sup>。分析化学建立的许多方法为中药GLP的实施起到了促进作用,例如分析化学为控制中药中的重金属含量范围建立了许多标准方法,包括许多元素分析的标准方法以及形态分析方法。很多金属元素例如Hg及As是以HgS, As<sub>2</sub>S<sub>3</sub>的形式作为矿物药加入中药中,对其药理、毒理等生物化学过程的研究也是对中药安全性整体评价的不可分割的一部分。我们对朱砂及其方剂中汞的形态进行了研究,实验考察了水飞朱砂中的汞在人工胃液中的溶出率,对样品处理过程中可能引起待测组分损失的各种因素进行了研究。实验结果表明氢化物原子荧光法检测不到朱砂在37℃人工胃液中可溶态汞;改变盐酸酸度(0.5~6mol/L),萃取温度(37~100℃)及朱砂粒度(60目,200目),仍然检测不到其中的可溶态汞。这与考虑酸效应,并通过HgS的溶解度常数及络合常数所算出的理想化条件下人工胃液中的溶解汞的含量极低这一理论依据相符。样品中加入含量为40×10<sup>-9</sup>汞标液,回收率极低,为理论依据提供了进一步证明。而含朱砂的方剂天王补心丹在人工胃液中有微量汞溶出,这部分汞可能不是游离态汞,而是在制剂过程中,其有效成分中的羧基、羰基、羟基、氨基、杂环氮或巯基等配位原子与HgS中的汞形成的络合物或配位化合物,这些化合物可能是能被生物体所吸收的有效成分。

我们还发展了许多安全、可靠和有效的分析方法用于中药中重金属的测定。例如可移动还原床冷原子发生技术(Movable Reduction Bed Hydride Generation,MRBHG)是近年来我们实验室重点发展的一项新技术<sup>[4~6]</sup>,MRBHG/ICP-MS联用技术用于中药中重金属的测定是一项准确而又非常灵敏的方法。本技术的最大优点在于可以使分析元素与复杂的中药基体分离而消除了基体的干扰,整个装置构造精巧,无须使用气液分离器,其构造如图1所示。发生器的构造就像一个录像带,还原床像磁带一样缠绕在放置于有机玻璃密封盒里的两个转轴上。玻璃的反应腔体通过一个橡皮塞与密封盒连接,还原床通过橡皮塞上的两个细小开口出入反应腔体和密封盒。在有机玻璃密封盒的外部有一个电动齿轮组(没有显示在图1中),它与其中的一个转轴咬合,所以反应腔体内的还原床可自动地以一定的速度不断更新。表3列出了用ICP-MS直接测定与MRBHG/ICP-MS联用测定灵芝与云芝中重金属含量的结果。由表3可看出此技术与直接测定所得结果有很好的一致性。除了用于中药中重金属含量的测定外,MRBHG技术还应用在As、Se、Bi等元素的形态分离上,也取得了一些令人满意的结果<sup>[3]</sup>。

表3 ICP-MS直接测定与MRBHG/ICP-MS联用测定灵芝与云芝中重金属含量比较

元素	含量 ×10 <sup>6</sup>			
	云芝		灵芝	
	直接测定	MRBHG	直接测定	MRBHG
Pb	1.64 ±0.021	1.66 ±0.09	0.09 ±0.007	0.14 ±0.011
Cd	0.06 ±0.006	0.07 ±0.01	0.07 ±0.005	0.09 ±0.007
Sb	0.14 ±0.006	0.15 ±0.03	0.01 ±0.001	0.03 ±0.002
As	0.60 ±0.04	0.042 ±0.005	2.90 ±0.22	0.017 ±0.001
Cr	4.58 ±0.71	5.05 ±0.82	3.50 ±0.27	4.00 ±0.303
Co	0.36 ±0.01	0.36 ±0.06	0.32 ±0.024	0.34 ±0.026
Cu	14.5 ±0.53	15.0 ±0.34	12.3 ±0.9	11.2 ±0.85
Se	0.83 ±0.098	0.46 ±0.02	0.81 ±0.06	0.98 ±0.07

另外,农药残余物也是影响中药在国际上信誉的重要因素。在农药残余物的分析中,目前

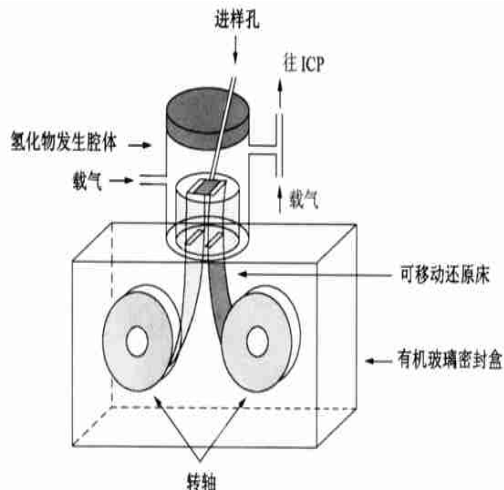


图 1 可移动还原床氢化物发生器 (MRBHG) 装置构造图

已有许多实际可行的标准测定仪器分析方法。由于农药的种类繁多,含量差异较大,另外农药残余的代谢物有的比原化合物更具毒性,所以要真正监控农药残余及其有毒代谢物或其他有毒环境污染,困难还是较大的。一方面应积极研究更有效的高效分析仪器方法,另一方面则要发展快速的简易现场分析技术。

虽然早在 20 世纪 80 年代初,我国已停止对药用植物使用六六六及 DDT,但至今土壤中仍有该类农药残留,并对药用植物产生污染。实际上,中药材所受到的农药污染主要来自六六六和 DDT。我们建立了加速溶剂萃取-气相色谱(电子捕获检测)分离测定 10 种有机氯农药的方法。这 10 种农药包括: -六六六(林丹), *p, p*-滴滴伊, *p, p*-滴滴滴, *o, p*-滴滴滴, *p, p*-滴滴涕,艾氏剂,狄氏剂,七氯,异狄氏剂,甲氧氯。在该技术中应用加速萃取剂(ASE200, Dionex Corporation, USA)对灵芝样品进行加速萃取,主要的萃取条件如下:压力,  $1.03 \times 10^7$  Pa;温度, 118 ;溶剂为 20% 的石油醚。其次,采用填充硅酸镁的固相萃取柱对萃取物进行净化处理,然后将流出溶液浓缩到 10mL 并用氮气进行清洗以备用。采用 EC-5 毛细管作分析柱,环氧七氯异构体 B 作内标,所有分析农药在 19min 内达到基线分离。该方法灵敏度高,方法检出线为  $0.1 \times 10^{-9} \sim 1.7 \times 10^{-9}$ ;准确性好,平均回收率为 78% ~ 115%;具有适宜的精密密度,  $s_r$  为 6.3% ~ 17.6%。该方法已应用于市场上灵芝等产品(药材及制剂)有机氯残留物的评价上。

我们还应用很多先进的元素分析仪器(如 ICP-MS)建立了中药中微量元素分析的标准方法;建立了一系列分离科学与 ICP-MS 联用技术进行元素的价态、化学形态分析的新原理和新方法;发展了同位素比例分布方法进行地道药材的辨别与选择,以控制中药材的质量;发展了电喷雾质谱技术进行中药的指纹图谱分析方法,进行中药的分类与来源判别;发展了 HPLC, CE, MS-MS, NMP, NMR 联用技术进行含金属的药物药理、毒性、生物化学研究,以科学的研究结果解释中药中的复杂科学问题。

#### 4 GCP

分析化学在中药 GCP 实施中也起重要的作用。例如在研究含汞中成药对生物体的生物效应时,就必须要考虑汞的化学状态和它在细胞内的分布,以及它对细胞代谢和对组分的相互作用。汞化合物进入生物体后,由于吸收途径不同和汞化合物的物理化学性质的差异,它在体

内的运行和器官的累积以及排泄机制的不同而不同。我们在汞的毒理研究中<sup>[7]</sup>,采用大鼠为实验动物,通过口腔灌喂朱砂 1~4 周,分别采集各时间段的血清样本,综合运用多种现代联用分析技术,证明了汞在血清中主要是以与血清蛋白的结合形式存在,血清蛋白是汞进入生物体内的主要载体。实验流程图如图 2 所示。本工作采用体积排阻色谱 (SEC; Sephadex G75 填充柱),以 pH 7.4, 67mol/L 磷酸缓冲溶液为洗脱剂实现大鼠血清分级分离。利用 C5- ICP-MS 联用分析系统在线检测流出液中汞的 7 种天然同位素离子 (<sup>196</sup>Hg, <sup>198</sup>Hg, <sup>199</sup>Hg, <sup>200</sup>Hg, <sup>201</sup>Hg, <sup>202</sup>Hg, <sup>204</sup>Hg),发现一个汞的特征峰 (图 3 所示为<sup>202</sup>Hg 的特征峰)。根据洗脱液的体积及 SEC-UV 在 280 nm 的检测结果 (图 4) 判断血清中的汞是以与蛋白质键合的状态存在,且其分子量大约在 6 万左右。

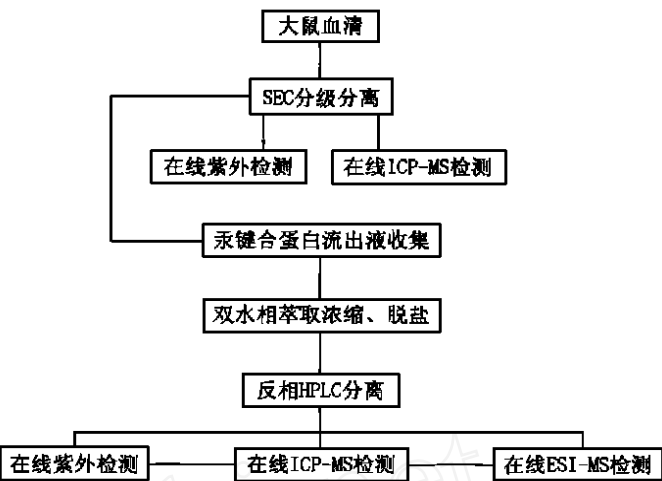


图 2 大鼠血清中汞形态测定的实验流程图

利用 C5- ICP-MS 联用分析系统在线检测流出液中汞的 7 种天然同位素离子 (<sup>196</sup>Hg, <sup>198</sup>Hg, <sup>199</sup>Hg, <sup>200</sup>Hg, <sup>201</sup>Hg, <sup>202</sup>Hg, <sup>204</sup>Hg),发现一个汞的特征峰 (图 3 所示为<sup>202</sup>Hg 的特征峰)。根据洗脱液的体积及 SEC-UV 在 280 nm 的检测结果 (图 4) 判断血清中的汞是以与蛋白质键合的状态存在,且其分子量大约在 6 万左右。

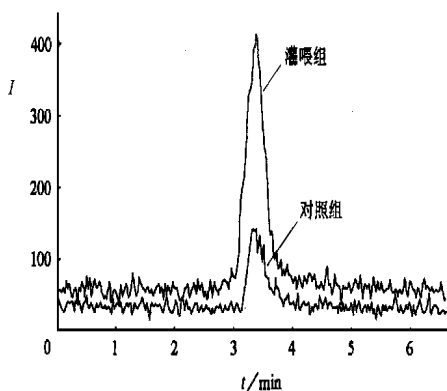


图 3 HPLC-ICP-MS 联用测定汞血清样品结果

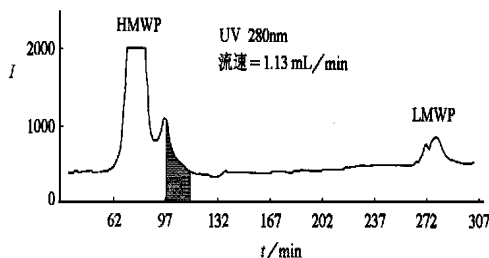


图 4 SEC-UV 联用测定汞血清样品结果

## 5 GMP

GMP用于生产制造的过程与设备的规范与管理,是保证药品质量的必要条件和最可靠的办法<sup>[8]</sup>。众所周知,目前影响中药走向国际市场的最大问题是中药中重金属含量的严重超标,例如: Cd, Pb, Hg, As等元素;不同厂家所生产同一种中药中重金属含量差别极大,严重影响了中药的药效及质量。表4列出了不同厂家所生产的同一种中成药中重金属含量,从中可看出很多元素,尤其是Pb, As等元素差别很大。

表4 不同厂家生产的中药中重金属含量比较

元素	含量 $\times 10^6$			
	六神丸(北京)	六神丸(香港)	牛黄解毒片(北京)	牛黄解毒片(上海)
Fe	19727	2562	456	816
Mb	1520	144	54.6	15.7
Zn	275	291	144	251
As	168	541	115	9.2
Cu	161	19.5	4.4	4.9
Ni	138	24.9	4.3	6.4
Pb	47.9	99.5		
Cr	40.5	46.8	13.5	15.7
Co	3.93	1.69	0.70	0.72
Cd	0.90	2.39	0.05	0.008

## 6 GSP

GSP主要是用于销售与供应的规范与管理。在市场上,常常可以看到不同厂家生产的同一种产品往往在质量上存在很大的差别,即生产的可控性往往很差。我们从国内与香港的中药市场上收集了多种灵芝胶囊产品,应用热解与原子吸收光谱联用的方法测定了其中的汞含量,所得数据反映了各家的产品质量参差不齐,所得的部分数据如表5所示。

表5 市场上多种灵芝产品汞含量分析结果

样品编号	汞含量 $\times 10^9$	样品编号	汞含量 $\times 10^9$
1	12.8	8	130.8
2	13.4	9	185.5
3	15.4	10	185.6
4	16.4	11	340.1
5	19.2	12	341.7
6	19.8	13	2896.7
7	105.3		

综上所述,分析化学在中药现代化系统工程(5P)中及重大科学问题的解决中能够发挥重要作用,中药现代化的发展需求也对分析化学提出了新的挑战,发展一系列现代分析方法及解决困难样品分析的技术是目前重要的研究方向之一。

## 参 考 文 献

- 1 王小如,孙大海. 中药复杂体系中的重大科学问题探讨. 厦门:厦门大学出版社,1998
- 2 钟小清,徐鸿华. 广东药学,2000,10(3):1
- 3 沈英娃,沈丽赛,周红. 环境科学研究,1999,12(1):56
- 4 庄峙厦,田肖丹,陈宾,等. 岩矿测试,1999,18(1):25
- 5 田肖丹,庄峙厦,陈宾,等. 岩矿测试,1999,18(2):87
- 6 田肖丹,庄峙厦,陈宾,等. 岩矿测试,1999,18(3):165
- 7 胡广林,庄峙厦,谷胜,等. 质谱学报,1999,20(3-4):107
- 8 孔繁圃,夏振民. 同位素,1999,12(3):177