

· 方药研究 ·

浅谈指纹图谱在中药饮片质量控制中应用的可行性

Discussion on the Feasibility Applied Fingerprint Chart in Quality Control of Chinese Herbs Pieces

张信青^{1,2}, 蒋孟良¹, 崔淑芬^{2,3}, 王小如^{3,4}

(1. 湖南中医学院, 湖南 长沙 410007; 2. 深圳职业技术学院, 广东 深圳 518055;

3. 厦门大学化学化工学院, 福建 厦门 361005; 4. 国家海洋局第一海洋研究所, 山东 青岛 266061)

[摘要] 为促进中药饮片质量的研究, 通过对文献资料的归纳、分析, 对应用各种方法建立中药标准炮制品的指纹图谱库, 并以指纹图谱相似度来评价中药饮片质量的可行性进行综合评述。中药指纹图谱在实现对中药饮片进行科学、客观、公正、有效的质量控制方面将起到重要的作用。

[关键词] 中药饮片; 指纹图谱; 质量控制

[Abstract] In order to promoting the quality research of Chinese herbs pieces, the authors summed up and analyzed many literature information, and synthetically commented the feasibility applied the similarity of fingerprint chart in quality control of Chinese herbs pieces. It would show a important effect in impersonally and effectively controlling the quality of Chinese herbs pieces.

[Key words] Chinese herbs pieces; Fingerprint chart; Quality control

[中图分类号] R282.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951(2005)03-055-04

中药包括中药材、中药饮片和中成药 3 大部分。然而, 我国历来仅注重中药材和中成药质量标准, 忽视对中药饮片(炮制品)的质量控制, 对饮片仅以“炮制规范”的形式暂作规定。而各地均以自身“炮制规范”的形式管制使用中药饮片, 造成目前饮片质量差(所有药品类型中不合格率最高), 同名异物或同物异名等混乱现象严重^[1], 使中成药走出国门遇到很大困难。因此, 加强对中药饮片的质量控制, 寻找一种切实可行的质控方法成为当前中药发展中亟待解决的问题。应用指纹图谱技术对中药进行质量控制是当前我国中药研究的一个热点, 也是中药未来发展中的一个方向。但是现阶段, 指纹图谱的研究绝大多数针对中药的原药材和中成药, 国家也只是将其作为中药注射剂法定的质控标准^[2], 而对于中药炮制品, 这个很重要的中间体, 现阶段还很少使用指纹图谱进行质量控制。笔者认为, 指纹图谱研究是对中药饮片进行质量控制的一个良好的探索, 本文试从当前我国中药饮片质量的现状和控制情况、

指纹图谱的研究近况等方面进行阐述, 并进行中药饮片指纹图谱研究可行性的探讨, 提出将指纹图谱应用于中药饮片的质量控制的设想。

1 目前我国中药饮片质量的现状

1.1 饮片市场假货横行, 混淆品、伪品屡见不鲜

在我国, 同一种属的中药材种类很多, 而药典收载的往往是其中的一种或几种, 这就为中药饮片的“李代桃僵”提供了可能。如用地蚕代替僵蚕, 柴胡中掺杂山豆根, 制成饮片后外表都十分相似^[3]; 药典收载的紫萁贯众的主要功效是抗病毒, 而目前市场上最多的绵马贯众其药效却是杀虫, 其他类型的甚至有有毒, 如果没有非常专业的分辨知识, 贸然使用, 后果不堪设想。更有甚者用形似而质异的其他植物体来代替, 如用木薯片冒充天花粉片, 用棉花根冒充黄芪等, 这些都很容易造成临床用药的不安全。

1.2 饮片加工缺乏规范

饮片加工厂在加工过程中操作不规范现象还相当突出, 特别是小型饮片加工厂, 切制、炮制多以经验操作为主, 随意性较强, 缺

乏严格的质量控制;再加上目前我国对炮制品没有规定含量测定项目,对操作的随意性造成的影响无法进行有效验证,无意中就掩盖了中药有效成分的损失。如黄芩“杀酶保苷”操作,黄芩苷含量随加热时间增加,但却会随加热温度的升高而逐渐降低,因此操作稍有不妥,黄芩苷就可能荡然无存。同种药物其炮制方法与炮制工艺的不统一,辅料种类与用量不统一,这都将影响中药的质量。

1.3 炮制品缺乏质控标准 中药的炮制过程包括饮片净制、切制和炮炙 3 部分。由于《全国中药炮制规范》和各省(市)中药炮制规范只刊载真伪鉴别和加工炮制方法,对中药饮片内在质量、微生物限度以及需加辅料药材的种类、用量等未做明确的规定,缺乏完整的质量控制或检测标准,因而饮片市场鱼目混珠也就在所难免。如一些加工厂对醋制穿山甲几乎不进行任何干燥处理,虽然是真正的穿山甲,但其含水量却高达 30% 以上;有的制首乌不用黑豆汁蒸,炮制熟地不用酒蒸;还有的在全蝎加工过程中打“盐全蝎”的主意,使全蝎腹中充满食盐结晶,以增加药材的重量^[4]。

近些年来,国家也已经开始认识到存在的这些问题,并先后出台了包括《中药炮制规范》、《中药饮片质量标准》、《中药炮制辅料质量标准》、《中药饮片包装质量》以及《中药饮片生产质量管理规范》等一系列的法律法规,并要求对饮片厂实施 GMP 认证,以期提高中药饮片的质量控制水平和保证程度。

2 指纹图谱的研究近况

2.1 指纹图谱的建立方式 中药指纹图谱是使用多学科交叉综合技术手段对复杂物质组成体系质量稳定性进行评价的计算机辅助分析检测方法,同时它也是中药学、分析科学、分离科学以及化学和生物信息学等二级学科(内含多个三级学科)交叉、综合应用的研究。国内外对于中药指纹图谱的建立方式主要有薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、高效毛细管电泳法(HPCE),以及紫外(UV)、红外(IR)、核磁共振(NMR)、质谱(MS)、X射线衍射法和 DNA 分子遗传

标识法。这也是广义上的指纹图谱,而目前所指的指纹图谱,大多是指狭义的表达植物药次生代谢产物化学特征的色谱图,应用最广泛的方法还是色谱法,其中又以高效液相法最多。

2.2 国内外研究进展 目前,国外对中药的研究成效颇丰。他们以中药所含化学成分作为质量控制依据,将评价中药质量的方法建立在化学及药理学研究基础之上,其中大多数集中在原药材的研究上。例如:美国的 Jamal Faghihi 等人^[5]应用反相 HPLC 对大豆的各极性提取物进行了检测,并获得了一系列具有代表性的重现性较佳的指纹图谱。土耳其 Gulnur Toker 等人^[6]对其传统药用植物阔叶椴(Tilia latyphyllos) 中的花、苞叶和叶中的黄酮类成分用反相 HPLC 技术进行了色谱分析,建立了一种快捷可靠和准确的质量检测方法。并且将结果与其它同属的两种土耳其常见植物 Tilia rubra 和 Tilia argentea 作了比较。结果表明同属不同种植物的黄酮类成分有其特征性的 HPLC 色谱图,并可用于粗药品的鉴定。德国 Schwabe 药厂生产的银杏叶标准提取物(EGb761)规定控制总黄酮和总内酯的含量,控制黄酮中槲皮素、山柰酚和异鼠李素的比例等,其批间样品的 HPLC 指纹图谱非常稳定,含量差异不得超过 $\pm 5\%$,为其品质评价提供了切实可行的科学依据。美国民间组织美国草药药典(America Herbal Pharmacopoeia, AHP)就美国市场上流通的热点植物药和中药进行了较全面的研究,并提出了可借鉴的质量标准,出版了贯众、连翘、五味子、甘草等药物质量标准的单行本,并确立了比较稳定可靠的 TLC 和 HPLC 分析结果和指纹图谱^[7]。

国内对于指纹图谱的研究相对就更多,不仅包括原药材也包括很多的中成药。例如:李伟等^[8]应用薄层色谱法对不同产地、不同采收期、不同等级和不同品种的鼠尾草属植物进行鉴别;并通过数码摄影实现了对丹参药材水溶性物质群和脂溶性物质群薄层色谱指纹特征的提取与表达。陈斌等^[9]对不同产地掌叶大黄进行了 HPLC 指纹图谱的比较,按其方法建立的指纹图谱共有模式不仅可对同品种不同

产地的大黄样品,也可对不同品种的大黄样品乃至大黄伪品进行鉴别。孙国祥等^[10]对 6 个厂家 10 批以上的复方甘草片进行了毛细管电泳指纹图谱分析,结果发现用 CE 法建立的指纹图谱具有很好的重现性和稳定性,可以作为复方甘草片质控的标准。仇熙等^[11]对复方人参注射液粉末进行了 X-射线衍射指纹图谱研究。他们采用粉末 X-射线衍射法测定药材、中间体和注射液的衍射图谱,对所得到的图谱进行特征峰指认和对比分析,获得各自的标准指纹图谱。结果表明 10 个批次的药材、中间体和注射液均有非常好的重现性,相似度达 85% 以上。证明粉末 X-射线衍射方法可用于复方人参注射液的质量控制^[11]。

3 对中药饮片进行指纹图谱研究的可行性探讨

中药炮制是中医理论的一个典型应用,炮制后药性的变化是中药炮制的意义所在,而搞清产生药性转变背后的成分变化应该是对中药饮片质量控制的关键。找到炮制后饮片中的有效成分,然后进行定量,无疑是控制饮片质量的最好方式。但是现阶段,由于中药成分复杂,配伍后化学成分的变化就更加复杂,因此,很难找到确切的有效成分。所以笔者认为通过建立药材炮制后的指纹图谱可以规范当前的饮片质量,进而通过比较炮制前后的指纹图谱找到那些炮制前后产生了变化的成分,进行分离,做药理实验、临床研究,最终找到在炮制后真正起主要作用的成分,搞清楚其炮制原理,这才是指纹图谱用于中药炮制研究的方向。笔者认为应用指纹图谱对炮制品进行质量控制应分以下几个步骤。

3.1 建立中药原药材的指纹图谱 笔者认为要想建立炮制品的指纹图谱,首先需要来源稳定而质量可控的原药材,这就首先需要建立原药材的指纹图谱。至于建立原药材指纹图谱的方法,虽然有很多,但是,笔者认为现阶段针对我国的国情和中药的特点,应用高效液相色谱仪配合二极管阵列检测器或是蒸发光散射检测器建立中药的液相指纹谱应该是一个比较合适的选择,有条件的单位还可以应用液质联用仪器。因为,相对于其它的仪器和方法,HPLC

具有应用广泛、准确、稳定性高和信息量大等很多的优点。当然对于一些比较特殊的药材和成分,比如说挥发油类,还是建议用气相色谱进行分析。

3.2 建立标准炮制品的指纹图谱库,生成对照指纹图谱 掌握熟练炮制技术的专业人员,严格按照传统炮制方法对药材进行炮制,建立标准炮制饮片的指纹图谱库,并利用相似度软件生成对照指纹图谱。通过对各批次产品的指纹图谱和对照指纹图谱进行相似度分析,则可以达到控制产品批间稳定性的目的。

3.3 寻找可替代传统炮制方法的现代方法 以指纹图谱的相似度作为评价标准来寻找一种与传统方法最接近的现代炮制方法。虽然传统的炮制手段相对落后,大多并没有严格、客观的指标,经验性强,难以掌握与控制,但是临床实践证明传统的方法大多数还是有其优越性。因此,在还没有找到一种新的方法,其临床疗效优于传统炮制饮片的情况下,选择与传统方法得到饮片成分最相近的方法是比较合适的,比如说用烘箱烘制法或微波法代替传统的炒制,用高压锅蒸制法代替传统的水蒸等等。这样既可以提高饮片的生产效率、稳定性、可控性,又可以最大程度地继承传统的炮制方法。

3.4 将炮制品与原药材进行指纹图谱比较 通过比较炮制品与原药材的指纹图谱,找出差异:哪些成分减少了,哪些成分增加了,产生了哪些新的成分,哪些原有的成分消失了。尽量使用液质联用,或是气质联用等可以分析成分的仪器,对这些产生变化的成分进行分析、定性。有的药材在炮制后,其主要的成分,也就是谱图上的特征峰,变化可能是很小的,整个谱图相似度很高,也就是说药材在炮制前后指纹图谱没有显著变化。这就更需要认真的对比分析并找出那些细微的变化,并以其作为区分炮制品与原药材的根据。

3.5 对变化成分进行药理研究,达到谱效结合 针对发生变化的成分进行定性分离,继而进行药理学实验与临床观察,建立这些成分与临床疗效之间的关系。也就是我们常说的谱效结合。谱效结合应该

是中药指纹图谱研究的最高层次;而通过谱效结合找到炮制后的有效成分,也是我们进行中药饮片质控和成分研究的最终目标,以阐明中药炮制原理,使之更加科学,更具竞争力;使之走出国门,走向世界,为中国的贸易、为人类的健康事业作出更大贡献。

现阶段,中药指纹图谱研究尚处于百家争鸣和不断完善之中。将指纹图谱用于中药饮片质控是一个新生事物,笔者认为用标准的指纹图谱来判断饮片是否进行了炮制或炮制品质量是否合格,还是可行的。以上是作为一名炮制研究人员提出的不成熟的建议,希望广大中药科技工作者共同关注中药指纹图谱,探讨炮制工艺与质量标准,以找到一种切实可行的中药饮片质控方法。

参考文献:

- [1] 毛菊敏,李水福. 建议尽快完善中药饮片质量标准 [J]. 中草药, 2002, 33(9): 附 7
- [2] 国家药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行) [J]. 中成药, 2000, 22(10): 671
- [3] 杨建平,徐桂莲. 几种伪劣中药饮片的鉴别 [J]. 北京中医, 2001, 5: 47

- [4] 陈太平,魏健,王桂英,等. 控制医院药房中药饮片质量的体会 [J]. 河北中医, 2001, 12(23): 924
- [5] Jamal Faghihi, et al. Reproducibility of the high - performance liquid chromatographic fingerprints obtained from two soybean cultivars and a selected progeny [J]. Chromatography A, 2001, 915: 61 ~ 74
- [6] Gulnur Toker, et al. Comparative evaluation of the flavonoid content in officinal Tiliae flos and Turkish lime species for quality assessment [J]. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2001, 26: 111 ~ 121
- [7] 李兰,王学军,张立国. 色谱指纹图谱及其在中药质量控制中的应用 [J]. 天津药学, 2002, 12(14): 6
- [8] 李伟,王小如,等. 丹参药材物质群薄层色谱指纹特征的提取与表达 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2003, 5(1): 58
- [9] 陈斌,蔡宝昌,潘扬,等. 不同产地掌叶大黄 HPLC 指纹图谱的比较 [J]. 中草药, 2003, 34(5): 457
- [10] 孙国祥,孙毓庆,王宇. 复方甘草片的毛细管电泳指纹图谱研究 [J]. 中南药学, 2003, 1(3): 131
- [11] 仇熙,贾晓斌,叶宇达,等. 复方人参注射液粉末 X - 射线衍射指纹图谱研究 [J]. 中药材, 2003, 26(8): 552
- (收稿日期: 2005 - 02 - 18 编辑: 张金慧)

(上接第 46 页)

4 讨 论

引发尿潴留的病因有 3 种情况,因中枢神经疾病或神经损伤而引起的称为神经性尿潴留;因尿道、前列腺或肛门处疼痛或瘰病引起的,称为反射性尿潴留;因尿道狭窄、结石或前列腺肥大、尿道周围脓肿而引起的,称为机械性尿潴留。本组 28 例尿潴留为外科术后引发的大多为后两种情况,为急性尿潴留的范畴,其治疗目的在于恢复排尿功能,减轻患者

痛苦,有利于病情的转归。

导尿时应严格遵守无菌操作常规,不要等待尿量超过 1000ml 时才导尿,以免膀胱丧失正常张力和收缩机能,导尿时还应注意尿液应缓缓流出,以免膀胱迅速减压而形成血尿。对有器质性病变引起的尿潴留不能在短期内能恢复者,在术后近期内应保留导尿管并预防感染。

(收稿日期: 2005 - 01 - 10 编辑: 朱民)