

• 中药现代化论坛 •

中药材指纹体系

李晓波¹, 屠鹏飞^{2*}

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200030; 2. 北京大学药学院 中医药现代研究中心, 北京 100083)

摘要: 建立反映中药材整体信息的指纹体系是现阶段全面、有效控制中药材质量的手段。中药材指纹体系是采用化学指纹图谱和基因指纹图谱来分别表述、控制中药材的多元化学组份和源于生物体的特性, 从有效成分和遗传物质两方面实现对中药材质量的控制。基因指纹图谱可从遗传物质上进一步佐证中药区别于化学药品的特性。基因指纹与化学指纹相结合, 对于中药的品种鉴定、质量评价、药用优良品种的选育都具有重要的意义。实施中药材指纹体系, 首先要建立药典品种的含多种检测方法的化学指纹和基因指纹图谱库, 其次要建立指纹图谱的计算机模式识别系统。

关键词: 中药材; 质量标准; 指纹图谱; 基因指纹图谱; 中药现代化

中图分类号: R282 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)05-0385-03

Fingerprint system of Chinese medicinal materials

LI Xiao-bo¹, TU Peng-fei²

(1. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Modern Research Center for TCM, Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: A novel fingerprint system of Chinese medicinal materials employing both DNA and chemical means has been proposed. To establish the fingerprint system is very effective to the quality control of Chinese medicinal materials, because it will be controlled from chemical substance and genetic information. The chemical components and DNA fingerprints will show the complex chemical components and biological source, respectively. DNA fingerprint could give a further proof to distinguish Chinese materia medica from the chemical. The combination of chemical and DNA fingerprints is constructive to quality control of Chinese materia medica, the cultivar identification and the selective breed of good varieties for medicinal use. To carry out the fingerprint system of Chinese medicinal materials, it is necessary to establish fingerprint database of Chinese medicinal materials, including chemical and DNA fingerprint, as well as many detection methods, and the pattern recognition system by computer is also necessary.

Key words: Chinese medicinal materials; quality standard; fingerprint; DNA fingerprint; modernization of Chinese materia medica

中药引入指纹图谱的概念和技术其目的在于将中药与化学药品区别开来, 充分体现中药的整体效应。然而, 多组份的化学指纹图谱虽解决了中药非单一组份、单一化合物的问题, 却依旧是将中药定位于化学物质的层面上, 中药的另一重要特征, 即源于自然的生物特性不能表述, 尤其对于原料药的中药材和饮片。因此健全、发展中药材质量标准, 必须建立反映中药材全貌的指纹体系, 即反映中药材的多元化学组分特性的化学指纹图谱和反映生物体(除

矿物、树脂类外) 特性的基因指纹图谱^[1], 从有效成分和遗传物质两方面实现对中药材的完全质量控制, 为中药材以及中成药提供综合的、量化的质量评价方法。基因与化学指纹相结合, 对于中药的品种鉴定、质量评价、药用优良品种的选育都具有重要意义。

1 中药材指纹体系的组成

指纹识别技术是一种重要的生物特征鉴别技术, 不仅指纹具有唯一性, 决定指纹的遗传物质本身同样

* 收稿日期: 2002-08-19

作者简介: 李晓波(1963-), 女, 博士, 教授, 1991年—1998年赴日留学攻读学位, 主要从事生药学、分子生物学研究。

Tel: (021) 62932500 E-mail: xbli@mail.sjtu.edu.cn

具有唯一性。以遗传物质分析为基础的遗传指纹图谱技术(包括种子蛋白、同工酶和DNA)可进行物种鉴定。基于中药所含化学成分的多样性而提出的“中药指纹图谱”是标示中药化学物质特性,并力图使化学成分的色谱/光谱具有“指纹”特异性,用于评价中药及其产品质量。中药不同于化学药品,中药中90%以上来自生物体,这其中又有90%是来自于植物。那么,中药除化学成分特性外的另一特性——生物特性就必须标示,只有这样才能实现对中药的药效特异性的化学表述和中药的自身特异性的生物学表述。通过化学指纹图谱的“量(表现型, phenotype)”控制中药产品的“质(等效性, equivalence)”;通过基因指纹图谱的“质——生物本质(基因型, genotype)”控制化学指纹图谱的“量”,从而实现中药材“指纹”控制的整体性和特征性。此外,基因指纹可从遗传物质上进一步佐证中药区别于化学药品。

2 建立中药材指纹体系的必要性

2.1 实现中药材的质量控制标准的规范化、现代化:药材质量的优劣与产地、品种、栽培技术、采收、炮制、贮藏等多种因素有特定的相关性,如道地药材、品种的真伪优劣所造成疗效差异;不同采收季节、年限所含有效物质含量的差异等。据此,中药注射剂指纹图谱是在固定中药材品种、产地和采收期的前提下建立的。但“栽培”药材由于长期栽培,导致品种退化,其是否还具有与最初研究结果等同的药效,目前尚未与药效结合的化学指纹图谱依然无法回答。因此,在制定以有效成分(组分)标准、化学指纹图谱的同时,应制定出物种的生物学标准。

实施中药材指纹体系的质量控制,可充分体现中药材的整体特性(多成分的化学特性、源于自然的生物特性),更准确鉴别不同中药以及识别中药本身的真伪优劣。

2.2 实现道地药材为代表的中药的全息描述:加入WTO,以道地药材为代表的传统中药将发挥其比较优势。道地药材是来源于特定区域的优质药材,实质上是遗传物质和生态因子的长期相互作用的产物。道地药材的优质性不仅仅体现在有效成分的含量上,在性状特征上也有其特定的表述,而这些性状特性是无法通过化学指纹图谱表述出来的。化学指纹图谱解决了中药材品种真伪(如珍稀名贵药材的以假乱真)、采收时间(化学成分积累与生长季节的不同)的问题,但无法解决品种不纯(如同属植物的成分相似性情况下的替代)、道地药材与非道地药材除化学成分以外的道地品质的控制等。中药材的基

因指纹可以揭示“道地”的本质、评价道地性,从而实现优质中药材的全息描述。

2.3 药用基因资源,中药品种的保护:药用动植物的保护是中药材可持续利用的先决条件,也是中药持续发展的决定因素。虽然我国有着丰富的中药资源,但是1999年公布的《国家重点保护野生植物名录(第一批)》中的419种(13类)中,药用植物101种。濒危药用动植物的保护已被列入了“十五”国家科技攻关计划重大项目的“中医药现代化及产业化计划”中。建立中药材指纹体系,并结合中药材特征性基因^[2],从遗传多样性上保护中药的基因资源,尤其是濒危种和我国特有种,防止国有资源的流失。同时,由于指纹图谱体系中包括了原料药的生物信息——品种的分子遗传标记,在入世后的今天则更有利于中药品种的产权保护,为今后的进一步开发利用提供基础和保障。

3 中药材指纹体系实施的可行性

3.1 化学指纹图谱:我国中药指纹图谱的研究已有相当的基础,最早可以追溯到20世纪60年代,如采用薄层色谱、紫外光谱、红外光谱法制定中药材的指纹图谱。迄今,研究方法涉及了高效液相色谱、高效毛细管电泳、核磁共振等。然而,总结、制定出适合于中药材的化学指纹图谱的技术标准是当务之急。谢培山^[3,4]全面分析了色谱指纹图谱作为中草药质量控制的可行性,并列举了人参、黄连、高良姜、厚朴等的指纹图谱的研究实例。屠鹏飞^[5]系统探讨了采用高效液相色谱法制定中药材及中药注射剂特征指纹图谱的方法学。还有学者认为,在药效学指导下进行中药材指纹图谱的研究,能够保证指纹图谱反映化学成分包括中药材中有效部位所含绝大部分成分,或有效成分的全部,将其综合分析可以对中药材的优劣和真伪做出判断;在没有药效学实验佐证的情况下,以中药材的指纹图谱峰为特征,进行数学分类处理,并与生药学鉴定结果相比较,可以对其质量进行分类^[6]。指纹图谱作为一项新技术用于中药尚有许多有待解决的问题,特别是怎样从学术成果转变成产业界可实际应用的技术。

3.2 基因指纹图谱:基因指纹图谱是指采用分子标记技术得到的某一中药材品种的DNA指纹图谱。自1994年Cheung^[7]首次将任意引物PCR(arbitrarily primer polymerase chain reaction, AP-PCR)技术用于区别西洋参和人参后,近年来大量的研究表明,通过基因指纹图谱可以有效地鉴别中药的品种,尤其适合于同属不同种类或同种不同

变种、变型、品系的鉴别。Kohjyouma 等^[8]用随机扩增多态性 DNA (randomly amplified polymorphic DNA, RAPD) 技术比较了苍术属 (*Atractylodes* DC.) 5 种植物茅苍术 *A. lancea* (Thunb.) DC.、北苍术 *A. chinese* (DC.) Koidz.、单叶苍术 *A. lancea* var. *simplicifolia* Kitamura、关苍术 *A. japonica* Koidz. ex Kitam. 和白术 *A. ovata* Thunb., 24 个地理品种的遗传关系。在筛选 20 个随机引物中 3 个引物产生的多态可区分苍术的几个品种, 并可解释不同苍术间所含精油成分的差异。Gillan 等^[9]对来源于 3 个组 17 份大麻 *Cannabis sativa* L. 样品同时应用 RAPD 与 HPLC 法鉴别, 其中有 2 组的样品 HPLC 法难以区分, 但 RAPD 技术可有效地区别所有 3 组样品。此外, Shirota 等^[10]对大麻的 RAPD 分析结果表明, 用 DNA 标记的方法可以同来区分不同的化学型。

基因指纹图谱在中药方面的应用还在于揭示化学成分变化的遗传本质。Sangwan 等^[11]对引种 10 年的印度艾属植物黄花蒿 *Artemisia annua* L.——青蒿进行 RAPD 分析, 结果显示出明显的差异, RAPD 和化学分析数据表明了化学多样性是包含在遗传多样性之中的。Baum 等^[12]对 50 个以上紫锥菊 *Echinacea purpurea* Moench 栽培样品进行 AFLP 分析, 同时采用 HPLC 测定 teriaene 和菊苣酸 (cichoric acid) 的含量变化, 结果证明化学成分的变化与 DNA 多态有极强的关联性, 指出 DNA 指纹可以作为定量的化学标示。可见, 将基因指纹与化学指纹相结合, 对于中药的品种鉴定、质量评价、药用优良品种的选育都具有重要的意义。

4 中药材指纹体系的实施办法

4.1 建立药典品种的中药材指纹图谱库: 首先对药典品种进行系统研究, 建立药典品种的含多种检测方法的中药材指纹图谱库, 包括化学指纹和基因指纹。对于单一来源的药材, 可通过多产地 (或栽培地) 的样品分析、比较, 确定特征性的指纹。对于多来源中药材的指纹图谱, 应先鉴定药材品种, 各品种分别研究其指纹图谱, 通过比较, 找出各品种之间指纹图谱的共性和特性, 采用其共性指纹标定该类药材的质量, 采用特性指纹标定药材的品种和该药材的质量。有了标准药材的指纹图谱库, 在制定具体中成药品种的质量标准时便更简单、易行。

4.2 建立指纹图谱的计算机模式识别系统: 指纹体系可通过光谱/色谱的峰高、峰数和 DNA 电泳图像中的 DNA 条带的有无、多少来反映中药整体信息, 实质

上是中药的物质形态的数字化。数字化的结果应采用相应的数字分析手段, 建立评价中药材质量的最优方法和程序。计算机解析和识别技术可以避免人工比较造成的工作繁重、准确性差等弊端。指纹图谱的计算机模拟识别系统是实现将数字化的中药推向世界的最佳手段。计算机模式识别系统可识别不同检测方法的化学指纹图谱以及各种基因指纹图谱, 并能评价指纹图谱的相关性, 以相关性判断供试品合格与否, 简便、客观、实用。国内已有 TLC, HPLC, IR 以及 RAPD 的计算机模式识别的研究报道。

5 结语

化学与基因指纹图谱相结合的中药材指纹体系的全面实施将使中药材质量量化、标准化、现代化, 无限量推动中药现代化、国际化进程。

References:

- [1] Li X B. Endowed Chinese traditional medicines with fingerprints [A]. *International Symposium on Strategic Goals of Pharmacognostical Studies During the 21st Century* (21 世纪国际药学研究战略目标研讨会论文集) [C]. 2001, 68-69.
- [2] Li X B. A tentative study on characteristic DNA sequence of Chinese crude drugs [J]. *World Sci Tech - Mod Tradit Chin Med* (世界科学技术·中药现代化), 2000, 2(3): 19-21.
- [3] Xie P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(6): 391-394.
- [4] Xie P S. A feasible strategy for applying chromatography fingerprint to assess quality of Chinese herbal medicine [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 141-151.
- [5] Tu P F. The discussion about characteristic fingerprint establishment of Chinese medicinal materials and injection preparation by high performance liquid chromatography [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(7): 516.
- [6] Li Y J, Wang R, Che Z T, et al. Studies on quality control of crude drugs by fingerprint [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 192-195.
- [7] Cheung K S, Kwan H S, But P PH, et al. Pharmacognostical identification of American and oriental ginseng roots by genomic fingerprinting using arbitrarily primer polymerase chain reaction (AR-PCR) [J]. *J Ethnopharmacol*, 1994, 42: 67-68.
- [8] Kohjyouma M, Nakajima S, Namera A, et al. Random amplified polymorphic DNA analysis and variation of essential oil components of *Atractylodes* plants [J]. *Biol Pharm Bull*, 1997, 20(5): 502-506.
- [9] Gillan R, Cole M D, Linacer A, et al. Comparison of *Cannabis sativa* by random amplification of polymorphic DNA (RAPD) and HPLC of cannabinoids: a preliminary study [J]. *Sci Justice*, 1995, 35(3): 169-177.
- [10] Shirota O, Watanabe A, Yamazaki M, et al. Random amplified polymorphic DNA and restriction fragment length polymorphism analysis of *Cannabis sativa* [J]. *Nat Med*, 1998, 52(2): 160-166.
- [11] Sangwan R S, Sangwan N S, Jain D C, et al. RAPD profile based genetic characterization of chemotypic variants of *Artemisia annua* L. [J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1999, 47(6): 935-944.
- [12] Baum B R, Mechanda S, Livesey J F, et al. Predicting quantitative phytochemical markers in single *Echinacea* plants or clones from their DNA fingerprints [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(6): 543-549.