

- Bar [J]. *J Norman Bethune Univ Med Sci* (白求恩医科大学学报), 1999, 25(1): 26-28.
- [8] Yang Z Y, Li J X, Guo Y X, *et al.* Determination of amino acids and inorganic elements in ornithogalum caudatum [J]. *Spec Wild Econ Animal Plant Res* (特产研究), 1996, 1: 48-49.
- [9] Chen M, Zeng L J, Chen S G. Determination of arginine in Banlangen Granule by a pre-column derivatization HPLC method [J]. *Res Prac Chin Med* (现代中药研究与实践), 2003, 17(5): 42-44.
- [10] Li F, Shi X Y. Study on determination of amino acids by reversed-phase high performance liquid chromatography (QP-HPLC) with 2, 4-dinitrochlorobenzene derivatization [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1995, 13(3): 200-202.
- [11] Yang J, Sun L G, Bai X Z, *et al.* Simultaneous determination of 18 amino acids by reversed-phase high performance liquid chromatography with precolumn phenylisothiocyanate derivatization [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2002, 20(4): 369-371.
- [12] Lin H, Ke D. Determination of amino acid in oral mushroom-18 amino acid by RP-HPLC [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1995, 26(3): 154-156.
- [13] Huang Y Y. Determination of amino acids in asparagus officinalis by RP-HPLC [J]. *Appar Anal Monitor* (仪器仪表与分析监测), 2001, (3): 32-34.
- [14] Zhang L, You J M, Shan Y C, *et al.* Analysis of amino acids by high performance liquid chromatography with pre-column derivatization of 2-(9-carbazol)-ethyl-chloroformate [J]. *J Instrumen Anal* (分析测试学报), 2002, 21(5): 16-19.
- [15] Gao G. Determination of amino acid in Encephalon Protei Hydrolyte by pre-column derivatization of AQC with fluorescence detector [J]. *Chin J Biol* (中国生物制品学杂志), 2003, 16(6): 365-368.
- [16] Feng G, Liu X J, Liu D X. Determination of amino acid content in bee glue by waters AQC precolumn derivatization [J]. *China Pharm* (中国药师), 2002, 5(6): 354-355.

中药指纹图谱技术的研究与应用

房德敏

(天津市天津医院, 天津 300211)

中药作为中华民族的瑰宝,从神农尝百草开始利用中草药治病已有悠久的历史。然而,在国际植物药领域中,却很少能得到认可。中药由于成分复杂,药效部位常常不是单一成分,而是群体疗效,所以如何控制中药材、中成药的质量,成为中药现代化、中药走向国际的瓶颈。随着现代分析手段的发展,中药指纹图谱技术以较为宏观、综合地反映中药的内在质量,已成为国际公认的控制中药或天然药物质量的最有效的手段。

1 指纹图谱的作用和意义

中药指纹图谱技术源于指纹鉴定学。通过利用现代信息技术和质量分析手段,较全面地反映中药所含化学成分的种类和数量。对于中药材而言,它可以用来鉴别真伪,评判优劣,区分不同产地、采收时间、炮制方法、用药部位的同种药材;对于中成药,它可以鉴别产品真伪,评判合理的制备工艺,有效地控制产品的质量。现阶段中药的有效成分大多尚未明确,中药指纹图谱的整体性和模糊性正好符合此要求,较单一成分的质控方法,更具有科学性和全面性。

2 中药指纹图谱的特点

2.1 专属性、唯一性。指纹图谱必须反映出该药材(或成药)有别于其他任何物质。对于中药材,指纹特征能反映出产地和采收期不同而造成的差异;对于中成药,则能反映出同一产品不同批次间的质量差异。

2.2 物种的唯一性和个体的相似性。利用色谱技术进行指纹图谱分析的中药材因生长年限、生长环境的变化而可能产生个体间较为明显的差异,但个体间必然有群体共有的相似

性。应该即具有判断该药材真伪的“共性”,又可能反映不同的产地、不同采收期、不同处理加工工艺的“特性”特征。

2.3 整体性和模糊性:整体性是指中药化学成分的整体组成及特性,即图谱应能相对全面、系统地体现中药成分的整体面貌;模糊性是指个体样品本身就存在着未知因素,难以对所有化学成分进行精确的定性定量分析,故在解决实际问题时应采用模糊数学等手段。

3 中药指纹图谱的检测方法

根据供试品的特点和所含化学成分的理化性质选择相应的测定方法。常用的检测方法有薄层色谱(TLC)、高效液相色谱(HPLC)、高效逆流色谱(HSCCC)、气相色谱(GC)、高效毛细管电泳(HPCE)、紫外光谱(UV)、红外光谱(IR)、X-射线衍射图谱、核磁共振波谱(NMR)、质谱(MS)及DNA指纹图谱等。其中HPLC是应用较多的方法,此法具有较高的分离能力,随着检测器灵敏度、种类的增加,其适用范围越来越广,已成为最有前途的一种分析方法。

4 指纹图谱的应用

中药指纹图谱技术已成为当前植物药领域国内外公认的质量控制方法,国家食品药品监督管理局已对中药注射剂提出了建立中药指纹图谱质量控制的要求,并将以此为突破口逐步实现中药材、中成药质量标准的现代化。目前,采用指纹图谱技术鉴别中药品种和评价中药质量。中药材、中成药中所含药效物质基础成分主要有生物碱类、醌类、黄酮类、苷类、糖类、鞣质类、挥发油等。

4.1 生物碱类:生物碱(alkaloids)是生物体内一类含氮有机

化合物的总称,有类似碱的性质,能和酸结合生成盐。生物碱有显著的生物活性,是中草药中重要的有效成分之一。马仁玲等^[1]利用 RP-HPLC 法,采用线性梯度洗脱等测得苦参(包括药材、中间体、注射剂)中生物碱类成分的指纹图谱。以氧化苦参碱为参照物,分别对 10 批苦参药材、中间体、注射液的指纹图谱进行测定,其各色谱峰的相对保留时间的 RSD 值均小于 2.0%,峰面积比值也具有稳定性。根据 MS 所提供的分子量信息,5 个色谱峰被指认,为苦参的质量控制提供有效手段。洪波等^[2]采用反相离子对高效液相色谱法,对附子中生物碱成分进行指纹图谱研究。以次乌头碱为对照品,确定了附子的 7 个共有峰。颜玉贞等采用薄层色谱法对黄连中所含生物碱进行指纹图谱的研究,以盐酸小檗碱、硫酸黄连碱、硫酸表小檗碱、非洲防己碱、药根碱、盐酸巴马汀为对照品溶液,首先采用极性大的醋酸乙酯-甲醇-浓氨溶液(50:5:0.25)第 1 次展开,再用苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-水(6:3:1.5:1.5:0.25)进一步分离,可检出 9~11 个斑点,其荧光及紫外扫描轮廓图可作为黄连药材的指纹图谱。

4.2 黄酮类:黄酮类化合物在植物中分布较广,大部分中草药中都含有此类成分。王钢力等^[3]采用 HPCE 的 MECC 的分离模式,以槲皮素为内标,相对迁移时间和相对峰面积为参数,对 18 个卷柏属植物样品的醋酸乙酯提取物进行指纹图谱分析,阐明双黄酮类化合物在卷柏属植物中的分布,及其在卷柏属植物的分类中的作用。马翠英等^[4]利用 RP-HPLC 法,对 10 个不同地区的黄芩进行了分析,建立了黄芩中黄酮类成分的指纹图谱,确定了 14 个共有峰,为黄芩药材质量控制提供科学依据。粟晓黎等^[5]研究建立侧柏叶黄酮成分指纹图谱分析方法。以槲皮素、槲皮苷对照溶液为系统适应性评价指标,对 11 个样品进行指纹图谱分析研究,获取 12 个共有峰,各样品指纹图谱间具有良好的相似性,其相对保留时间、相对峰面积范围,可作为建立侧柏叶总黄酮成分指纹图谱的参考数据。

4.3 挥发油类:挥发油类是一类具有挥发性可随水蒸气蒸馏出来的油状液体。含挥发油的中草药非常多,尤以唇形科、伞形科、菊科、芸香科、姜科等较为丰富。周枝凤等^[6]对 3 个不同产地的白术挥发油进行分析,采用气相质谱联用仪测定,用化学计量学中的直观推导式演进特征投影算法(HELP)对 GC-MS 数据进行解析。结果不同产地白术挥发油的色谱图之间具有较高的相似性,为色谱指纹图谱用于白术生药的鉴别和质量控制提供科学依据。魏刚等^[7]采用 GC-MS 法对不同采集期石牌藿香,以及同基地栽育的高要、湛江藿香挥发油进行比较分析。结果显示固定产地的石牌藿香稳定性好,不同采收期主要成分基本相同,其中广藿香酮的含量随种植时间的延长而明显增高;与同基地栽培的高要、湛江藿香相比,广藿香酮、广藿香醇等含氧组分以及不含氧的倍半萜类成分的相对含量均有明显差异。

4.4 苷类:苷是由糖或糖的衍生物与非糖化合物以苷键方式结合而形成的一类化合物,广泛存在于植物中。陈闽军等^[8]采用 HPLC 法,以人参皂苷 Rg 和 Rb₁ 为对照品,对不

同厂家参麦注射液进行分析,色谱指纹图谱中分离出 30 多个峰,通过不同指纹图谱间对应皂苷谱峰的比较,可更全面地分析不同批次产品整体化学组成的波动。高增平等^[9]采用 HPLC 法,对 10 批总皂苷和 10 批血栓通注射液进行测定,其原料总皂苷指纹图谱的色谱峰在注射液指纹图谱中均有出现,二者相关性良好,并建立了指纹图谱的检测标准,为血栓通注射液的质量控制提供了科学依据。

4.5 萜类:杨冉等^[10]采用反相高效液相色谱法对不同产地茯苓的甲醇提取物进行了比较研究。由于色谱峰较多且相当密集,难以插入一个合适的参照物,故选择一个分离较好、出峰居中的特征峰作为内参照峰进行分析研究,选取了 12 个特征峰,其峰位和大致的比例关系,作为一个整体,清楚地表达了指纹图谱鉴别的专属性。

4.6 其他:目前,指纹图谱分析技术除应用于以上几种成分之外,其他成分也有报道。徐凌川等^[11]用聚丙烯酰胺电泳方法并扫描电泳结果,测绘一组白首乌样品的蛋白质及同工酶电泳指纹图谱,并与何首乌进行比较,结果各样品的电泳指纹图谱均有差异,并具有各自的主要特征谱带与特征峰,白首乌与何首乌差异显著,白首乌种间亦有明显的差别。电泳指纹图谱可作为白首乌药材鉴定、质量评价的有效手段。曾令杰等^[12]采用柱前衍生化 HPLC 法选择夹角余弦系数和距离系数进行质量评价,以板蓝根颗粒中的 22 个共有峰的峰面积为指标,建立了板蓝根颗粒指纹图谱。颜玉贞等^[13]用高效液相色谱建立了西青果及不同种的诃子中鞣质类成分的色谱指纹图谱。所获得的指纹图谱具有良好的重现性,可以明确鉴别西青果与诃子。

5 前景展望

众多的研究资料显示,对传统中药的研究仅根据有效成分的含量测定很难获知中药整体疗效,因此在中药物质基础不明确的情况下,以基本有效成分为基础的指纹图研究能较全面地反映所含成分的相对关系,较好地体现中药成分的复杂性和相对性,从而更好地评价、控制中药质量。随着中药鉴定技术和分析仪器的不断发展,规范、标准的中药指纹图谱的实施,将会有利地促进中药现代化的进程。

References:

- [1] Ma R L, Zhou H H, Yu X S, et al. Study on the fingerprints of the alkaloids in *Sophora flavescens* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(9): 817-819.
- [2] Hong B, Zhao H F, Si Y S, et al. Studies of fingerprints on *Aconitum carmichaeli* [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2003, 25(5): 536-538.
- [3] Wang G L, Dai Z, Lu J, et al. HPCE finger printson 11 species of plants for medicinal use of *Selaginella* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(7): 489-491.
- [4] Ma C Y, Dai B C, Lin R C. HPLC quantitative analysis and fingerprint study of four flavonoids in *Scutellaria baicalensis* [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(2): 83-86.
- [5] Su X L, Lin R C. Studies on fingerprint analysis of flavones in *Cacumen Platycladi* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2003, 23(6): 417-420.
- [6] Zhou Z F, Shen J W, Gong F, et al. Study on essential oil and its fingerprint spectrum of *Atractylodes macrocephala* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(1): 5-8.

- [7] Wei G, Li W, Xu H H. Study on GC-MS fingerprint analysis of volatile oil of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Cultivated in GAP plot [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25(2): 90-94.
- [8] Chen M J, Wu Y H, Cheng Y Y. Determination of ginsenosides and assessment of the batch to batch consistency of Shenmai Injection by HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2003, 38(8): 623-626.
- [9] Gao Z P, Lu Y R, Sun W. The fingerprint studies on Xuesuantong Injection [J]. *Chin J Exper Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2002, 8(6): 1-3.
- [10] Yang R, Li J J, Qu L B, et al. Studies on fingerprint of terpenoid Poria cocos by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(3): 273-275.
- [11] Xu L C, Lu Y, Xin X M, et al. Study on protein and isozyme PAGE of *Bai Shouwu* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2003, 14(12): 3-4.
- [12] Cao L J, Yang D S, Chen S G. Study on fingerprint for the quality control of Banlangen Granule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2004, 26(2): 87-89.
- [13] Yan Y Z, Lu P H. HPLC fingerprint study on identification of tender and mature fruits of *Fructus Chebulae* [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharm* (中药新药与临床药理), 2001, 12(3): 173-178.

中医药治疗冠心病心绞痛的作用机制

申淑兰

(中国人民解放军海军总医院, 北京 100037)

中医学对于冠心病的了解已有几千年的历史,早在《黄帝内经》中就有了相关的记载,历代医家在临床实践中逐步完善了对冠心病的认识,丰富了治疗方法。近年来,通过应用现代研究手段,人们对中医药治疗冠心病的临床疗效与作用机制进行了大量的研究,取得了可喜的成绩。研究表明中医药治疗冠心病疗效肯定,其治疗作用是通过多环节、多层次的调整而实现的,中医药治疗不仅能改善冠心病患者的临床症状,还能增强心功能,增加冠脉血流量,使异常的心电图逐渐恢复正常。现将近10年来中医药治疗冠心病心绞痛的作用机制综述如下。

1 防治动脉粥样硬化的作用

1.1 调节血脂异常:血脂异常是动脉粥样硬化的最重要因素。血脂代谢异常,主要表现为血中总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)及三酰甘油(TG)水平过高和/或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平过低。大量的研究表明,许多中药可以降低血中TC、LDL-C及TG,升高HDL-C水平。中医药的调脂机制主要有3方面:(1)抑制外源性胆固醇的吸收。如大黄、首乌所含的蒽醌类物质能促进肠蠕动,增加排便,抑制胆固醇在肠道的再吸收,促进脂类的排除。(2)抑制内源性胆固醇的合成。如山楂能降低胆固醇合成酶(HMGR)活力,从而抑制内源性胆固醇的合成。黄芪水煎液对羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(hydroxy-methyl-glutaryl coenzyme A, HMG-CoA)有抑制作用,从而抑制内源性胆固醇的合成。(3)影响血脂分布、运转与清除。如泽泻能促进胆固醇向胆酸转化并抑制胆酸肠肝循环作用。冬虫夏草能阻止胆固醇酯在巨噬细胞的堆积,大黄醇提片的降脂作用可能与其降低血清apoB、升高apoA I水平有关。人参皂苷能增加卵磷脂胆固醇酰基转移酶(Lecithin cholesterol acyl transferase, LCAT)活性,促进胆固醇酯化为胆固醇脂,减少

游离胆固醇。黄芪当归合剂可能是通过升高脂质降解的两个关键酶(脂蛋白脂肪酶、LCAT)的活性,促进循环中apoB、TG、TC脂蛋白的降解而起调脂作用。血脂康是以大米为原料,加入特制的红曲菌,利用现代生物技术,通过发酵而制成的中成药,研究发现该药有明显降低血清TC、TG,提高HDL-C的作用,通过综合调节血脂,能有效地防治动脉粥样硬化^[1]。

1.2 保护血管内皮功能:现代“损伤反应学说”认为血管内皮细胞(vascular endothelial cell, VEC)损伤是动脉粥样硬化的始动环节,VEC损伤后所发生的一系列病理生理变化,是冠心病急性发作和进展的重要因素。冠心病患者存在广泛的内皮细胞功能改变,且与病情的严重程度呈正相关。机体内有对VEC存在保护和损伤两方面的因素,一氧化氮(NO)、过氧化物歧化酶(SOD)等具有保护作用;氧自由基、脂质过氧化物(LPO)、内皮素(endothelin, ET)等是血管损伤因子。大量的研究表明,中医药在治疗冠心病的过程中,可以升高NO、前列环素等舒血管因子,增强SOD水平,降低缩血管因子ET、LPO和氧自由基。李卫青等^[2]应用复方丹参滴丸治疗缺血性心脏病56例,并与采用消心痛治疗的26例作对照,结果两组临床总有效率无显著差异;但在治疗前后血浆ET/NO、血脂及血液流变学等方面,复方丹参滴丸组皆明显优于对照组,其机制可能是通过调节血浆ET/NO水平,促进血管内皮修复,减少微血栓,改善冠脉供血而实现。在观察益气活血中药(黄芪、党参、黄精、鳖虫、水蛭、枳实、丹参)治疗不稳定型心绞痛时发现:获显效的患者血浆NO水平较治疗前明显上升,而ET治疗前后水平对比无显著差异,提示益气活血疗法的疗效机制可能与改善血管内皮细胞功能、促进NO释放有关。赵华云等^[3]报道化湿汤治疗痰浊型冠心病共50例,用药后,不仅心绞痛等症状明显缓解,而