

色谱技术在中药质量控制中的应用

刘 言

(天津市药品检验所, 天津 300070)

在国家科技部和国家中医药管理局等联合制定的《中药科技现代化发展战略》中,将中药现代化定义为:将传统中药的优势、特色与现代科学技术相结合,以适应当代社会发展需求的过程。其实质就是以中医药理论和经验为基础,借鉴国际通行的医药标准和规范,运用现代科学技术对中药进行研究、开发、生产、经营、使用和监督管理。中药现代化作为国家发展战略被明确提出,并得到较快发展^[1]。适合中药制剂多成分、多指标检测,药动学精细的前处理与微量检测等检验方法正逐渐制定和规范,先进可行的技术正陆续引入中药制剂的质量控制检测中。色谱分析技术越来越成为中药质量控制的主要分析手段。薄层色谱分析技术在中药检验和质量分析中已成为常用手段,气相色谱法已广泛应用于中药材及中成药挥发性成分的分析,20世纪60年代末发展起来的高效液相色谱法已逐步引入制剂检测中,毛细管电泳法、超临界流体色谱法和薄层色谱扫描法等近年来涌现出的分析技术也已大量用于中药质量控制。从《中国药典》1985年版开始,色谱、光谱技术已应用于中药质量控制,随着科技进步,应用的具体方法、技术、测定的成分和被要求的品种,都不断增加。《中国药典》2000年版一部中收载定量测定的品种已达308种,《中国药典》2005年版一部中收载了551种中药材及饮片,其中342种采用薄层色谱鉴别,5种采用高效液相色谱鉴别,6种采用气相色谱鉴别;12种采用薄层色谱定量,171种采用高效液相色谱定量,9种采用气相色谱定量;收载了31种植物油脂和提取物,其中15种采用薄层色谱鉴别,1种采用薄层色谱定量,9种采用高效液相色谱定量,5种采用气相色谱定量;还收载了564种中药成方制剂及单味制剂,其中1165种采用薄层色谱鉴别,3种采用高效液相色谱鉴别,10种采用气相色谱鉴别;32种采用薄层色谱定量,338种采用高效液相色谱定量,23种采用气相色谱定量。《中国药典》2005年版一部近60%的品种有定量测定项,现代分析技术的应用明显增加。现就色谱技术在中药质量控制中的应用概述如下。

1 毛细管电泳法

毛细管电泳法是近年发展起来的新技术,其原理是以高压电场为驱动力,以毛细管为分离通道,依据样品中各组之间电泳淌度或分配行为的差异而实现分离的色谱分离技术。毛细管电泳法在药物分析中的应用尤其在中药领域均有研究报告,如阿魏酸的测定方法,历来以薄层色谱和高效液相色谱为主,采用毛细管区带电泳法有高效、经济、重现性、回收率好的

优点^[2]。生物碱类成分大都在缓冲体系中含有正电荷,故可采用毛细管区带电泳,以65% NaH₂PO₄溶液为缓冲体系,在pH 7.0条件下分离黄连中小檗碱、巴马汀和药根碱等7种生物碱^[3]。采用胶束电动毛细管电泳以25 mmol/L 十二烷基磺酸钠溶液中加入改性剂,在pH 10.96条件下分离测定大黄、芦荟中大黄素、大黄酸的量^[4]。沈红梅等^[5]采用毛细管等速电泳分离了乌梅中柠檬酸和苹果酸。由于毛细管电泳样品用量少、柱效高,使中药分析前处理简化并有利于多组分分析,毛细管电泳法对中药分析具有广泛的应用前景。

2 超临界流体色谱法

处于临界温度和临界压力以上状态的物质称为超临界流体,超临界流体色谱是一种兼有提取、浓缩、分离和检测功能的二级分离、分析方法。超临界流体色谱兼具有HPLC和GC的优点,能分离、分析难挥发、遇热不稳定、HPLC难检测的物质。超临界流体色谱在药物分析中应用已有报道,例如用超临界流体色谱测定三七及云南白药中的人参二醇、三醇的量,中药材马蓝、菰蓝和蓼蓝中靛玉红的量^[6]。

3 高效液相色谱法

目前中药分析研究报道中高效液相色谱法最为常用,特别是样品纯化技术的提高,如采用液液萃取、液固萃取、超临界萃取,使得具有高分离效率的HPLC法能准确定量中药成分。样品经色谱柱分离后进入检测器进行检测。按其适用范围,检测器可以分为通用型和专属型两大类,专属型检测器只能检测某些组分,紫外检测器、荧光检测器属于这一类,它们只对有紫外吸收或荧光发射的组分有响应;通用型检测器适用于一般物质均具有的性质,如示差折光检测器、蒸发光散射检测器等。液相色谱-质谱联用则是用质谱作为高效液相色谱的检测器,它将HPLC的高分离效能和质谱的高灵敏度、高专属性、通用性及较强的结构解析能力相结合,成为药品质量控制、体内药物分析和药物代谢研究的最重要的手段。现有许多文献报道采用HPLC法分离测定中药中生物碱类、苷类、黄酮类、有机酸类、酚类、内酯类等成分,如用高效液相色谱法分离测定心宁片(苦参总碱片)中苦参碱和氧化苦参碱的量^[7]以及人血浆中苦参碱和氧化苦参碱^[8];用HPLC双波长法测定葛根苓连微丸中葛根素、黄芩苷的量^[9];用HPLC-ELSD法测定银杏叶胶胶囊中萜类内酯的量^[10];用LC-MS法研究血浆中氧化苦参碱及其代谢物在犬体内的药动学^[11]等均获得满意结果,并具有良好的重现性和可操作性。

4 气相色谱法

气相色谱法多用于中药中挥发性成分,如蒎烯、龙脑、芳樟醇、柠檬烯的测定,也有经衍生化反应后用于分析中药的其他成分,如生物碱类、脂肪类、内酯类、酚类、糖类等成分,以及对药物中残留溶剂的测定^[12]。如用气相色谱法测定天然麝香中麝香酮^[13]。随着毛细管气相色谱的发展及气-质联用(GC-MS 或 GC-MSD)、气-红联用(GC-FTIR)技术应用,不仅拓宽了气相色谱技术的应用范围,另一方面通过图谱得到更多信息,如麝香中甾体成分的 GC-MS 分析^[14],八角超临界萃取物化学成分的 GC-MS 研究等。

5 薄层色谱法

薄层扫描法克服了原有通过薄层色谱定位,刮起样品、离心分离,再经过紫外检测等繁琐、误差极大的缺点^[15]。薄层扫描法由于操作简便、色谱结果直观,并具有分离鉴定双重功能,已成为中药分析的常用手段。随着色谱技术的发展、色谱质量的提高、药典收载的薄层色谱法已大大增加,特别是目前用 HPLC、GC 较难分析的、无挥发性、无紫外吸收的成分,薄层色谱能将其定性、定量。如采用薄层色谱法测定复方扶芳藤合剂中黄芩苷的量^[16]以及测定参芪胶囊中三七皂苷 R₁ 的量^[17]等。

6 电喷雾-质谱

电喷雾-质谱技术是目前应用广泛的“软电离”技术,它可将液相中的分子和离子在适宜条件下完整地转入气相而被检测。操作简便,测定快速、灵敏,与高效液相色谱和薄层色谱等方法相比大大提高了复方体系的研究效率^[18]。如采用电喷雾-质谱技术可以进行八味地黄方与人参汤共煎液中毒性物质的研究^[19]等。

7 色谱指纹图谱

中药发展到今天,色谱指纹图谱质控技术已是牵动行业全面进步的关键技术。植物草药指南中已明确把指纹图谱作为这类混合物质群的质量控制方法。色谱指纹图谱的应用研究,对保证中成药物效,提高中药工业整体水平,带动中药现代化,推进中药走向世界,具有非常重要的现实意义。

中药指纹图谱包括光谱指纹图谱和色谱指纹图谱。目前应用最为广泛的是色谱指纹图谱。薄层色谱指纹图谱具有较好的指纹鉴别意义,高效液相色谱指纹图谱基本上可以反映了中药的化学成分及量分布情况,高效毛细管电泳指纹图谱可同时分析大小分子(如蛋白质和酚酸),更多地反映产品的成分特性。

色谱指纹图谱(图像)是对中药及其制剂进行综合宏观分析的可行手段之一。在药材产地、采收、加工方法等相对固定的前提条件下,用 HPLC 色谱指纹图谱来控制中药的质量优劣是切实可行的,它比现行质量标准更全面客观,为中药质量控制提供了更全面的信息^[20]。比如采用 HPLC 法分析山豆根药材中主要有效成分(苦参碱、氧化苦参碱)有助于山豆根药材的标准化种植和质量控制^[21]。

8 结语

色谱技术在中药分析中已有广泛应用,但中药品种在不

断推陈出新,中药的质量还远没有科学化,有待于广大的药学工作者在不断实践的基础上,结合现代分析手段,提高中药检测分析水平,在中药安全、有效的前提下,确保其质量可控,为实现中药现代化发挥更大的作用。

References:

- [1] Yu H, Huang T K. Development progress and tendency of traditional Chinese medicine modernization [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1): 147.
- [2] Yan B, Ma S, Zhang Q H, et al. Quantitative analysis of ferulic acid in Kexintong Dripping Pills by HPCE [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 37-39.
- [3] Zhang G H, Wang Y Z, Zhang Y Y, et al. Determination of protoberinium in *Coptidis Rhizoma* and traditional Chinese pharmaceutical preparations by high performance capillary electrophoresis (HPCE) [J]. *Chin J Chromatog* (色谱), 1995, 13: 247.
- [4] Zong Y Y, Yu M T, Zhu Z Q, et al. Isolation and determination of Chinese rhubarb by micellar electrokinetic capillary chromatography [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30: 594.
- [5] Shen H M, Qiao J Z, Su Z W, et al. Quantitative analysis of organic acid in Wumei [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1995, 30: 133.
- [6] Li L, Chen Z Q, Li X L. Application of supercritical fluid extraction in the quality control of traditional Chinese medicine [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1995, 30(2): 133.
- [7] Pang S H, Tian W. Determination of matrine and oxymatrine in Xinluning Tablet (Matrine Tablet) by HPLC method [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2002, 19(1): 49.
- [8] Meng G D L, Wang Y. Determination of matrine and oxymatrine in human plasma by reversed-phase ion-pair HPLC method [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2003, 23(6): 440.
- [9] Zhang K W, Cai H, Chi Y M, et al. Determination of puerarin and baicalin in Gegen Qinlian Micropill by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 42-45.
- [10] Zhang Y Z, Zhou Y Q, Wang J, et al. Determination of terpenelactones in Yinxingye Soft Capsule by HPLC-ELSD [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 22-25.
- [11] Wang S J, Wang G J. Pharmacokinetics of oxymatrine and its metabolite in beagle dogs by LC-MS [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(2): 133-136.
- [12] Zhong S Q, Zhang Q B. Determination of organic residue in *Ciwujia* for injection purified by orifice resin [J]. *Drug Stand China* (中国药品标准), 2004, 5(2): 32-34.
- [13] Zhang Z H, Le P F. Determination of muscone in natural muskiness by gas chromatography [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1982, 17(12): 922-927.
- [14] Zhang H B, Tao Y, Hong X K, et al. Steroids in musk by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 79-83.
- [15] Yuan W J, Jiang C M. Assay of andrographolide in Fukeqianjin Tablets by TLC-scanning [J]. *Drug Stand China* (中国药品标准), 2005, 6(1): 8-9.
- [16] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [17] Zhou K, Hao M L, Wang Z J, et al. Determination of notoginsenoside R in *Radix Astragali* capsule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(2): 19.
- [18] Tang L, Kebrale P. Dependence of ion intensity in electrospray mass spectrometry on the concentration of the analysis in the electrospray solution [J]. *Anal Chem*, 1993, 65: 3654-3668.
- [19] Xu Q X, Liu Z Q, Wang Y, et al. Toxicity components in decoction of Bawei Dihuang Recipe and Ginseng Decoction ESI-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(1): 36-39.
- [20] Qin J P, Liu J, Liao Z, et al. HPLC fingerprint of Compound Fufangteng mixture [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(2): 128-130.
- [21] Huang Y F, Huang J W. Studies on fingerprint spectrum of *Radix Sophorae Tonkinensis* from Guangxi [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2005, 28(1): 21-22.