

中药“全指纹图谱系”的探讨

易延遼¹, 陈志良¹, 杨永华²

(1. 南方医科大学, 广东 广州 510515; 2. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006)

摘 要: 目前对中药指纹图谱的研究较多, 且研究不断深入, 新的研究方法和手段不断涌现。现对中药指纹图谱的研究进行深入分析, 提出了“全指纹图谱系”这一新的概念。中药的“全指纹图谱系”考察方中每一味药物的信息, 即根据中药制剂的成分分析及其与功能主治相关药效作用等, 确定中药所含有的具体各类成分, 进而根据每一类成分的提取方法和仪器条件制定出相应的指纹图谱, 并进一步确定中药“全指纹图谱系”中每张指纹图谱中每一个指纹峰的来源。对中药“全指纹图谱系”建立程序、建立方法、构建模式等进行了较全面的研究和分析。

关键词: 中药; 指纹图谱; 全指纹图谱系

中图分类号: R28

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)07-1105-03

Discussion on complete fingerprint series of Chinese materia medica

YI Yan-kui¹, CHEN Zhi-liang¹, YANG Yong-hua²

(1. Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410006, China)

Key words: Chinese materia medica (CMM); fingerprint; complete fingerprint series

近年来, 指纹图谱研究在质量评价方面的应用的关注度逐渐加强, 对指纹图谱在中药材及中成药上的应用研究十分活跃。美国 FDA 允许草药保健品资料可以提供色谱指纹图谱鉴别资料; WHO 在 1996 年草药评价指导原则中也有相关规定, 如在“plant preparation”及“finished product”的章节中提到如果不能鉴别有效成分, 则鉴别一种或几种特征成分(如色谱指纹图谱)以保证制剂和产品质量的一致; 欧共体在草药质量指南的注释中提到草药的质量稳定性单靠测定已知的有效成分是不够的, 因为草药及其制剂是以其整体作为有效物质。因此, 国际市场正要求应该通过色谱指纹图谱显示其所含的各种成分在草药及其制剂中是稳定的, 其质量比例能保持恒定。在国内, 也正要求尽快建立中药的指纹图谱, 国家食品药品监督管理局已颁布《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》, 其他品种的中药正在研究之中, 建立指纹图谱是中药现代化的必然趋势。

中药指纹图谱是指以系统的化学成分研究和药理学研究为基础, 经化学测定或基因鉴定得到的某种或某产地中药及其制剂所共有的、具有特异性的组分群体(某类或数类成分)特征图谱或图像。中药指纹图谱技术是指利用中药指纹图谱把对照药或标准提取物的整体特征作为“指纹”, 将供试品与其对照, 通过相似程度的比较达到鉴别真伪和判断中成药批次间质量是否统一的目的。作为一种综合的、可量化的识别模式, 中药指纹图谱的基本属性是整体性和模糊性, 要求专属、稳定、实用, 具有系统性、特征性和稳定性等特征。

本文分析了中药指纹图谱研究目前存在的问题, 提出了“全指纹图谱系”这一概念, 并就其建立程度、建立方法、构建中药材指纹图谱模式等进行了较全面的论述。

1 指纹图谱研究存在的问题

中药指纹图谱作为中药材常规鉴别的延伸, 目前对中药材指纹图谱研究较多, 研究较深入, 研究对象明确, 即找到图谱中该中药材的共有峰和特征峰。同样, 对于单味药材通过简单工艺制备的制剂, 研究对象也很明确。但是对于部分中药材而言, 有些药物含有多种成分, 大多的指纹图谱只能体现中药共中的部分成分, 很难体现大部分种类成分, 而且有些含多类成分通过较复杂工艺制备的单味药材制剂, 其指纹图谱也很难反映大部分种类的成分。

对于中药复方制剂情形要复杂得多, 其含有不同种类的成分, 所含成分极性大小差别很大, 不同的样品制备方法, 不同的色谱条件, 其图谱将千差万别。笔者认为目前对含有复杂组分的制剂指纹图谱的研究, 还没有考虑全面反映大部分种类的成分, 只是说明制定出来的指纹图谱能够作为制剂的鉴别标准, 而没有说明该指纹图谱能比较全面地反映该制剂的质量信息。

2 “全指纹图谱系”的设想

中药复方指纹图谱的建立中, 因为其中每味中药所含成分、提取方法、纯化方法、供试液所用溶剂、仪器分离条件等都有很大不同, 因而很难使建立的指纹图谱包含大部分药味的信息。指纹图谱是应体现其中大部分成分, 还是应该体现

收稿日期: 2006-10-08

作者简介: 易延遼(1975—), 男, 湖南洪江人, 博士。主要研究方向: 药物新剂型、新技术的研究。 Tel: (020)61648263, 132042084969
E-mail: dareyyk@sohu.com

某几类主要成分,这是要回答的问题。当然,在我国现在经济条件和国家中药质量标准控制技术要求的条件下,可以只考虑以主要药味为参照,所制定的指纹图谱只反映主要药味的信息。但从研究的角度看,应考虑复方中大部分药味的信息,使方中每一味药物的信息峰都体现在指纹图谱上,这样可以考虑给方中每一类成分制定一个指纹图谱,即制定出复方中药制剂的“全指纹图谱系”,从而体现大部分药味的信息,以便我国经济条件的进一步提高和国家中药质量标准控制技术要求进一步加强时,可以考虑进行推广。

3 “全指纹图谱系”的建立

中药制剂的“全指纹图谱系”应考察复方中药中每一味药物的信息,根据复方中药制剂的成分分析及其与功能主治相关药效作用等,确定复方中药制剂中所含有的具体各类成分,进而根据每一类成分的提取方法和仪器条件制定出相应的指纹图谱(可以考虑以主要药味为参照)。很明显,“全指纹图谱系”是由几张指纹图谱组成的,每张图反映不同成分和药味的信息,当然这其中有些类别的成分是可以在同一张指纹图谱上体现的,具体多少张图谱根据具体中药制剂而定,但对于制剂制备工艺中纯化较少的一般很难在同一张指纹图谱上体现。同时需要对复方中药制剂每张图谱考察缺味复方中药的指纹图谱,确定复方中药“全指纹图谱系”中每张指纹图谱中每一个指纹峰的来源,这也延续了对复方中药制剂进行鉴别的初衷。这样的研究方法给复方中药尤其是大处方中药指纹图谱的建立带来很大的工作量。但要想使中药尤其是复方中药的质量控制走向可控,大量的工作是需要做的。

3.1 “全指纹图谱系”的建立程序:其建立过程比一般指纹图谱的建立要复杂得多,一般指纹图谱的建立只是其中一部分。

3.1.1 中药(包括中药材、中药制剂)中主要成分的确定:即确定中药中主要成分类别。一般要根据中药的主要成分(中药制剂是其处方中药味的主要成分)中药制剂的制备工艺、中药制剂的药效作用、功能主治等来确定中药的主要成分。如中药材丹参,其主要含有两类成分,即以丹参酮Ⅱ_A为代表的脂溶性成分和以原儿茶醛为代表的水溶性成分。又如中药制剂小建中合剂^[1],由桂枝、白芍、甘草(蜜炙)、生姜、大枣等组成,其制备工艺为:桂枝提取挥发油,蒸馏后的水溶液另器收集;药渣与甘草、大枣加水煎煮二次,每次2 h,合并煎液,滤过,滤液与蒸馏后的水溶液合并,浓缩至约560 mL;白芍、生姜照《中国药典》附录10 流浸膏剂与浸膏剂项下的渗漉法,用稀乙醇作溶剂,浸渍24 h后进行渗漉,收集滤液,回收乙醇后与上述药液合并,静置,滤过,另加饴糖370 g,再浓缩至近1 000 mL,加入苯甲酸钠3 g与桂枝挥发油,调整总量至1 000 mL,搅匀,即得。功能与主治为温中补虚、缓急止痛,用于脾胃虚寒、脘腹疼痛、喜温喜按、嘈杂吞酸、食少;胃及十二指肠溃疡见上述证候者。综合分析,小建中合剂中主要含桂枝、生姜的挥发性成分,甘草的黄酮类成分,白芍的苷类成分,其他是一些糖类、甾体类、微量元素等小类成分。

3.1.2 对所含主要成分进行分析,确定要制定的“全指纹图谱系”具体指纹图谱的数量:主要是考察性质相近成分在同

一指纹图谱中体现的可行性。一般可考虑制剂中低极性类化合物、苷类成分(包括黄酮苷类、皂苷类、蒽醌苷类、其他苷类成分等)苷元类成分、水溶性较强类成分在同一指纹图谱中体现的可行性,现是考虑其他类成分如多糖类、蛋白质类等在同一指纹图谱中体现的可行性。如前述小建中合剂主要分析桂枝、生姜的挥发性成分在同一指纹图中体现的可行性,甘草的黄酮类成分和白芍的苷类成分在同一指纹图谱中体现的可行性。出于技术、条件等考虑,可以不考虑小类成分,但当技术条件发展后,可以将小类成分考虑进来。

3.1.3 对具体每一张指纹图谱研究:根据国家食品药品监督管理局关于“中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)”的通知及一般指纹图谱的建立程序,对具体每一指纹图谱的研究可归纳如下:

(1)指纹图谱建立方法的选择:指纹图谱的研究过程中,色谱法即薄层色谱法(TLCS)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)和电泳法(CE)等被指定为首选方法。

(2)建立方法条件的选择:包括供试品溶液的制备;参照物溶液的配制,包括对照品的选择及其溶液的配制;阴性供试品溶液的制备;仪器条件等的选择,如高效液相色谱法主要是色谱条件的优化。

一般还是应以具体成分为参考,比如方中主药为人参,可考虑参照人参的有关供试液的制备方法,选择人参皂苷Rg₁或人参皂苷Re为参照物,同时以单味和缺人参的供试液为对照,仪器条件采用与人参定量测定相关的一些仪器条件。

(3)指纹图谱的确定及技术参数:根据10批次以上供试品的检测结果所给出的相关参数,标定共有指纹峰和非共有峰,制定指纹图谱。

(4)方法学研究:考察精密性、稳定性、重现性。

(5)相似度评价:一般现行采用相似度评价软件进行评价。

(6)指纹图谱及技术参数:根据10批次以上供试品图谱中各共有指纹的比值,计算平均比值,进行聚类分析。具体可以峰面积、峰高、保留时间等作为计算依据。

(7)分析方法:①直观分析比较:根据图谱外观和所得数据,对供试品与对照指纹图谱的特征进行直以的分析、比较、判断。该模式主要是一般的定性研究,可以说,在指纹图谱这一概念提出之前,所见到的可以归为这一模式。②量化数据比较:引入相对指数、重叠率、八强峰、N强峰、表观丰度等量化数据,对供试品与对照指纹图谱进行分析、比较、判断。③化学计量学方法:采用分离度、相对峰面积之和及相对峰面积之和等指标参数用于指纹图谱的定量评价。这也是目前所常用的构建模式,一般以峰面积比值,或其他的比值等进行量化,而《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》也正是采用这一模式。而此方法涉及到相似度的评价方法,常见的评价方法有峰重叠率(Nei系数法)、峰重叠率与共有峰强度结合法(改进的Nei系数法)、相关系数法、距离系数法、夹角余弦、欧氏距离、聚类分析与马氏距离等。④计算机软件分析:基于化学模式识别技术,开发出的计算机分析软件。如中南大学的一种比较分析软件——中药色谱指纹图谱的“计算

机辅助相似性评价系统”现已被广泛应用,并通过了国家食品药品监督管理局的审评,该系统通过对有关参数的选择以及谱峰的处理,一方面评价了谱图的相似性,一方面得到标准的指纹图谱。此类分析软件的研究开发对于中药指纹图谱的建立具有重要的研究前景。

3.1.4 “全指纹图谱系”的建立:每一张指纹图谱建立后,即构建了中药的“全指纹图谱系”,再通过多批次中药的测定,最终建立中药“全指纹图谱系”的标准。

3.2 “全指纹图谱系”指纹图谱中指纹峰与药味主要成分的相关性考察:通过与所有缺味阴性样品进行对比分析,考察指纹图谱中指纹峰与药味主要成分的相关性。该过程主要是考察全指纹图谱系的代表性。

4 “全指纹图谱系”的研究意义

目前,随着研究的深入,中药指纹图谱的研究正处于迅速发展的阶段,但也存在许多的问题。通过“全指纹图谱系”的研究,可以为中药指纹图谱的研究提供一种思路和方法,很明显,“全指纹图谱系”的制定能清晰地反映出中药制剂尤其是复方中药制剂中大部分药味的信息,从而在很大程度上促进中药制剂尤其是复方中药制剂指纹图谱的研究。同时,目前中药的指纹图谱的研究基本上反映的都是化学信息,而不是药效信息,存在指纹图谱与药效脱节的现象,也是指纹图谱最有争议的地方。因此指纹图谱的变化必然引起药理作

用的变化,今后应加强指纹图谱与药效相关性研究,以期达到控制了指纹图谱就保证了药物疗效的目的。本项目也是根据工艺和药效以确定制剂中主要有效成分而进行“全指纹图谱系”的制定,今后还可进一步研究“全指纹图谱系”是否能反应药物的疗效,以及如何优化控制“全指纹图谱系”来达到控制药物疗效的目的。

建立中药制剂的“全指纹图谱系”将促进中药企业与国际接轨,具有提高中药质量标准的作用。同时有利于实施药材种植的 GAP、实验室 GLP 以及产品生产过程的 GMP,它可克服目前中药质量控制方法中存在的缺陷,能全面反映中药所含的物质群,以确保产品质量的稳定性。它将推动中药现代化的发展,促进中药农业的产业化,促进中药原料质量的提高,是中药现代化的关键技术。

中药指纹图谱是中药现代化关键之一。中药指纹图谱不仅是一种中药质量控制模式和技术,更是一种进行中药理论研究和新药开发的模式和方法,其要求初级阶段应解决指纹图谱的建立方法和相似度判定,高级阶段应实现指纹图谱特征和药效相关性研究,即指纹图谱的生物等效性研究。因而,中药指纹图谱的研究有待进一步深入,尚有大量的工作需要去进行。

Reference:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

关于巴豆药用部位的商榷

蔡翠芳,裴慧荣,堰榜琴

(山西生物应用职业技术学院,山西 太原 030031)

巴豆为常用的毒性药材,具有峻下积寒、逐痰利水、祛痰利咽、排脓消肿的作用。《中国药典》2005 年版^[1]将其基原定为大戟科植物巴豆 *Croton tiglium* L. 的干燥成熟果实,但据文献调查,关于巴豆的药用部位,各种志书中的记载不一,为保证该药临床用药的安全性和有效性,笔者从历代本草关于巴豆药用部位记载、炮制方法的沿革、药材形状的鉴定等多方面进行了考证,认为巴豆的药用部位应该是种子,而不应以果实入药,籍此提出商榷。

1 巴豆药用部位的历史沿革

巴豆始载于《神农本草经》^[2],列为下品,称其“主伤寒温疟寒热,破癥瘕积聚坚积,留饮痰癖,大腹水涨,荡涤五脏六腑,开通闭塞,利水谷道,去恶肉”,概括了巴豆的药用功效。关于巴豆的药用部位的记载始见于《名医别录》^[3],曰:“八月采,阴干用之,去心、皮”。我国第一部官修本草《新修本草》^[4]载:“八月结实,九月成,十月采其子,三枚共蒂,各有壳裹”,

并曰:“用去心皮”。从中可知当时巴豆的药用部位是种仁,所谓“三枚共蒂,各有壳裹”是指巴豆的蒴果内含有三枚种子,种子具有坚硬的种皮,“用去心皮”是指除去种皮药用种仁。宋代《图经本草》^[5]对巴豆的药用部位的描述为:“一房有三瓣,一瓣有实一粒,共实三粒也”,不难看出,此处“实”是指种子,而非果实。并有进一步的描述:“戎州出者壳上有纵文,隆起如线一道至两三道”。此处之“壳”应指种皮,其“纵文”应指种子合点与种阜之间的种脊,为一隆起的纵棱线。明代《本草纲目》^[6]对巴豆描述为“巴豆房似大风子壳而脆薄,子及仁皆似海松子”,颇为形似。在总结了历代炮制方法后,李时珍提出:“巴豆有用仁者,用壳者,有生用者,麸炒者,醋制者,烧存性者,有研烂以纸包研烂去油者”,从中可知既肯定了用仁(种仁)入药,同时也提出用壳的用法。进一步查证,《本草纲目》中巴豆壳另立专条,与巴豆油、树根等并列,主治消积滞、泻痢。与《本草纲目》同时代的《本草品汇精要》^[7]记载用

收稿日期:2006-12-13

作者简介:蔡翠芳(1963—),女,山西运城人,副教授,学士学位,长期从事药用植物栽培和中药炮制教学和科研工作,在该领域已发表论文 10 余篇,主编教材 3 本。 Tel:13935169328 E-mail:caicuifang1@sina.com