

## 现代分析仪器在中药指纹图谱中的应用\*

杨 柳 何 娟 王学斌

(河南工业大学化学化工学院 河南郑州 450052)

**摘 要** 本文对各类分析仪器在中药指纹图谱中的应用、优点及其局限性进行综述,并对分析仪器在中药指纹图谱中的应用前景进行展望。

**关键词** 中药 指纹图谱 薄层色谱 高效液相色谱 气相色谱

中药在中国有上千年的实际应用历史,为中华民族的繁衍昌盛,为人民群众的健康做出巨大贡献。在当今的国际市场上,中国中药占约 2% 的市场,而日本却占 80% 的市场份额,日本人从中国古代《伤寒论》等古方中挑选 300 多个品种开发应用,创造出惊人的经济效益。美国在寻找抗癌中药、抗艾滋病中药上也取得很大进展,以至于我国中药界有关人士感叹:“中药在中国发现,在南韩开花,在日本结果,在美国收获。”<sup>[1]</sup> 因此根据中医药的特点,提出一整套具有中医药特点,又有高科技特征的中药材、中成药现代质量标准,是一重要课题,国家药品监督管理局已于 2000 年底颁布《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》<sup>[2]</sup>,要求到 2002 年末,所有申报的中药注射剂均应有相关的指纹图谱资料,包括中药原料、提取物、产品 3 种图谱,3 种图谱的峰形必须有较大的相关性,否则不予受理。国家药品监督管理局以建立中药注射剂指纹图谱为突破口,将逐步实现中药材、中成药现代质量标准化,从而使中药材,中成药走向国际市场<sup>[3]</sup>。显然,分析仪器对中药指纹图谱质量标准的制定尤为重要。本文对各类仪器在中药指纹图谱中的应用、优点及其局限性进行综述。

## 1 分析仪器在中药指纹图谱中的应用

目前分析仪器在中药指纹图谱中的应用大致有以下几种方法:色谱法、光谱法、联用技术、振荡指纹图谱以及其他方法。

### 1.1 色谱法

**1.1.1 薄层色谱法(TLC)** TLC 具有快速、经济、可靠、操作简单、适应范围广、展开剂灵活多样等优点,为国内外学者接受和广为使用<sup>[4]</sup>。杨先国等<sup>[5]</sup>对 10 批玉竹样品中黄酮类成分进行薄层分析,建立由 10 个特征荧光斑点构成的玉竹黄酮类成分的薄层指纹图谱,解决玉竹的专属性鉴别,并为其质量控制提

供依据。

**1.1.2 高效液相色谱法(HPLC)** HPLC 法由于具有分离效能高,分析速度快,重现性好等优点,目前已广为普及用于中药分析,笔者曾经对 2000~2005 年研究中药指纹图谱所用的仪器进行调研,高效液相色谱法占 67%,是目前指纹图谱研究中使用最多的方法。由于现阶段还不能做到对每味中药和每种成分逐一鉴定,因此并不要求确定指纹图谱中每个峰对应组分的化学结构,也不需要呈现在图谱中的每个组分都能定量,仅需尽可能多地反映中药全貌的指纹图谱,不同批号的同一种药品指纹图谱保持基本一致即可。通过不同特征峰来标示中药,基本上可反映出中药的化学成分及含量分布情况。陈斌等<sup>[6]</sup>对葛根 HPLC 指纹图谱的构建进行初步研究,标定 6 个共有峰并进行相似度评价,可以准确的鉴别同属其他植物。秦晨等<sup>[7]</sup>采用高效液相色谱法分析,比较大黄 7 种化学成分之间的差异,通过对大黄鉴定研究,总结 7 种大黄间的异同。

**1.1.3 气相色谱法(GC)** 气相色谱法具有高效、高选择性、高灵敏度、用量少和分析速度快等优点。适用于各种主要含易挥发性成分药物的分析测定。高阳等<sup>[8]</sup>以贵州省斑蝥药材为分析对象建立斑蝥药材 GC 指纹图谱,研究表明,建立的 GC 指纹图谱有良好的重现性;不同产地的斑蝥药材共有峰相对峰面积有一定的差异,为斑蝥药材质量评价提供可靠的依据。

**1.1.4 高效毛细管电泳法(HPCE)** 高效毛细管电泳技术在药材鉴定中的应用是近年发展起来的方法,具有灵敏度高、柱效高、分析速度快、所需样品量少、溶剂消耗少和抗污染能力强等优点,该法几乎用于分析化学中所有的分离对象。孙国祥等<sup>[9]</sup>建立大青叶药材的电泳指纹图谱(CEFP)。以胞苷峰为参照物峰,确定 18 个共有峰,测定 10 个产地大青叶的

\* 基金项目 河南省自然科学基金项目 0411020600,河南工业大学博士基金

CEFP 与共有模式间具有良好的相似性,用色谱指纹图谱指数对其进行评价。所建立的 CEFP 具有较好的重现性,可用于大青叶药材的质量控制。

**1.1.5 高速逆流色谱法(HSCCC)** HSCCC 是目前运用于中药分离分析中的一种新型的液-液分配技术。分析型 HSCCC 的分离度和重现性与 HPLC 相似,并且其成本低、样品的前处理简单,可适用于任何极性范围样品的分离,因此很适用于指纹图谱分析。顾铭等<sup>[10]</sup>利用国产高速逆流色谱分离纯化雪莲黄酮类成分和丹参醌类成分,HSCCC 洗脱图谱可以表现出不同产地丹参的差别,并且提出将 HSCCC 作为构建中药指纹图谱的方法之一。

### 1.2 光谱法

红外光谱法和紫外光谱法(IR 和 UV)<sup>[11]</sup>作为中药鉴别的手段,近年来运用较多,中药提取液是一个混和物,它的红外光谱或紫外光谱是这一混和物中各组分红外光谱或紫外光谱的叠加,中药内各种化学成分只要质和量相对稳定,并且样品的处理方法按统一的要求进行,则其红外光谱和紫外光谱应该具有一定的相对稳定性。孙素琴等<sup>[12]</sup>采用红外指纹图谱结合计算机辅助比对软件技术,对 14 个省 32 个牛膝样品进行道地与非道地性的鉴别研究,结果表明,各产地牛膝的相关系数有一定的差异通过不同贮存时间牛膝相关系数的变化,可以考察牛膝在贮存过程中是否发生变化及变化大小。

核磁共振法(NMR)是鉴定有机化合物结构的主要方法。郑维发等<sup>[13]</sup>建立芫花根的<sup>1</sup>H NMR 指纹图谱,揭示其次生代谢产物类别的组成,结果表明芫花根<sup>1</sup>H NMR 指纹图谱具有特征性和专属性,可为芫花根有效成分脱毒提取工艺研究提供简便可靠的检测方法。

### 1.3 联用技术

单一的分析方法难以反映中药的复杂性,近年来采用多种现代分析仪器联用方式得到的多维多息特征谱的应用在增加。例如:GC/MS、HPLC/MS、HPLC/NMR、CE/MS 等联用技术为中药指纹图谱的研究应用提供大量的信息。建立多维多息特征谱的最大优点在于能较系统、较完整地解决中药注射剂面临的保证药效和质量的难题,为解决中药研究中缺乏标准品的难题提供一条可行之路。纵伟等<sup>[14]</sup>采用 HPLC/UV/MS 对大叶紫薇叶和果实中三萜酸类成分指纹图谱进行比较,结果表明此方法可用于大叶紫薇叶和果实的质量控制。

### 1.4 振荡指纹图谱

化学振荡器  $\text{BrO}_3^- - \text{Mn}^{2+} - \text{H}^+ - \text{丙酮}$  体系中,在不改变  $\text{BrO}_3^-$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{H}^+$ 、丙酮浓度的前提下,以中草药为振荡底物,可获得不同中草药的特征振荡波形,把它称为该中草药的振荡指纹图谱。用此振荡图谱不仅可辨识中草药,还可研究中草药参与循环的动力学,进而研究中草药在人体循环中的作用机制以及药效,从而为中药的研究开辟一条新路。李宗孝,原春兰<sup>[15,16]</sup>采用振荡技术分别研究不同种类以及同种不同产地中草药,结果表明,化学振荡指纹图谱可用于辨识中草药。对中草药的辨识提供一种新的研究方法。

### 1.5 其他方法

x 射线衍射法主要适用于矿物类药材的分析、鉴定,也可应用于粉末药物的直接分析。该法具有所需样品量少,测试后不易破坏样品等优点。高夏红等<sup>[17]</sup>用 x 射线粉末衍射法建立野生和栽培天麻及伪品羊角天麻的指纹图谱,通过数字信号处理技术提取天麻样品的特征信息,能有效鉴别野生和栽培天麻,并且利用相似度计算结果进一步证明方法的可行性。

随着圆二色谱仪的发展,圆二色谱法在有机物和药物的结构及成分分析中得到应用。崔乙娟等<sup>[18]</sup>用圆二色谱法建立的标准指纹图谱可将阿胶、鹿角胶、龟甲胶及其伪品区别开来。

如今现代科学不断发展,新技术不断出现,可用于研究中药指纹图谱的分析方法将会越来越多,如分子生物学技术。上述各种方法或技术都有其适应性,在应用中都发挥独特作用,故在中药指纹图谱研究的构建时,选择方法根据具体情况具体分析,择善而从<sup>[19]</sup>。

## 2 分析仪器在指纹图谱应用中的局限性<sup>[20,21]</sup>

中药色谱指纹图谱的实验研究难度较大是不言而喻的,涉及的技术问题较多,需要通过更多的实践和共同努力逐步解决。首先各种仪器是互补的,任何仪器不可能“统吃”所有药材的分析,选择方法应视研究对象的实际需要和可能以及按照不同色谱技术的特点和优势而定。薄层色谱的主要不足是“柱效”较低,靠细微特征方可鉴别的指纹特征,灵敏度也嫌不够,对外部环境条件(温度、湿度)要求较高,操作要求规范熟练。毛细管电泳的高分辨率也有其优势,大分子物质可能更适合,但重现性需要特别注意。挥发性成分当以气相色谱为主,但如何把握一

个极为复杂的气相色谱图的处理是一个问题。联用技术由于其高昂的费用而难于推广。

中药指纹图谱一般说来是以 HPLC 指纹图谱为最基本的方案。一般均用色谱峰的保留值来定位,虽然色谱实验条件是控制保留值的主要因素,但尚有许多非色谱技术所致因素。中国药典<sup>[2]</sup>附录规定高效液相色谱法对仪器的要求,除固定相种类、流动相种类、检测器类型不得任意改变外,色谱柱内径、长度、固定相牌号、载体粒度、流动相流速、混合流动相各组分比例、柱温、进样量、检测器灵敏度等均可适当改变,以适应具体品种并达到系统适应性试验要求,即只要能满足待测成分能达到含量测定的要求即可,其他成分是否分开或者滞留在色谱柱中部无关紧要。而作为中药及其制剂色谱指纹图,这样的变动却可能在生产过程检测、新药审批、药检系统检验、市场质量监督的实际执行中带来难以预料的结果,因为色谱条件的任何改变,都意味着整体色谱图形的变异。这给鉴别工作造成一定的困难。

### 3 前景展望

中药化学成分复杂多样,指纹图谱的发展要依靠分析技术的发展和不断创新,多维多息谱的发展将成为研究的热点。建立多维多息特征谱的最大优点在于能较系统、较完整地解决中药注射剂面临的保证药效和质量的难题。另一优点在于为解决中药研究中缺乏标准品的难题提供一条可行之路。新仪器、新方法大大促进中药指纹图谱的发展,从而使之更加成熟,图谱分析更加准确。

#### 参考文献

- 1 宋建平,刘志才,王树良. 浅谈中药指纹图谱,黑龙江医药,2001,14(4):265~266
- 2 国家药品监督管理局. 中成药,2000,22(10):671~675
- 3 罗国安,王义明. 中药指纹图谱的分类和发展,中国新药杂志,2002,11(1):46~51
- 4 韩凤梅,蔡敏,陈勇. 中药指纹图谱技术研究现状,分析

- 科学学报,2004,20(6):647~651
- 5 杨先国,陈四保,陈士林等. 玉竹中黄酮类成分的薄层色谱指纹图谱研究,中国中药杂志,2005,30(2):104~106
- 6 陈斌,刘训红,蔡宝昌. 葛根高效液相色谱指纹图谱的研究,时珍国医国药,2005,16(5):384~385
- 7 秦晨,段玉萍,薛海晨等. 大黄主要化学成分的高效液相色谱指纹图谱分析,现代仪器,2000,3:8~11
- 8 高阳,于治国,毕开顺. 斑蝥药材指纹图谱分析方法研究,中成药,2005,27(1):4~6
- 9 孙国祥,慕善学,侯志飞等. 大青叶的毛细管电泳指纹图谱研究,分析化学,2005,33(6):853~856
- 10 顾铭,苏志国. 高速逆流色谱用于天然产物分离和指纹图谱构建,生物加工过程,2003,1(2):59~62
- 11 张丽芳,薛飞群. 中药指纹图谱的检测方法,广东药学,2004,14(6):10~12
- 12 孙素琴,白雁,余振喜等. 红外光谱与计算机辅助解析技术对中药牛膝的鉴别研究,中药材,2005,28(3):181~184
- 13 郑维发,石枫. 芫花根的<sup>1</sup>HNMR指纹图谱解析,中成药,2005,27(6):625~631
- 14 纵伟,夏文水. 大叶紫薇叶和果实中三萜酸的 HPLC/UV/MS 指纹图谱比较,中成药,2005,27(7):754~756
- 15 李宗孝,原春兰. 用振荡指纹图谱辨识中草药,中药材,2004,27(1):10~12
- 16 原春兰,李宗孝. 六味地黄丸的振荡指纹图谱,中成药,2005,27(6):726~728
- 17 高夏红,郭灵虹,李晖. x-衍射指纹图谱及相似度分析用于鉴别野生和栽培天麻,化学研究与应用,2005,17(1):58~60
- 18 崔乙娟,任孝德,都恒青等. 阿胶、鹿角胶、龟甲胶圆二色谱法鉴别,中药材,1998,21(2):56
- 19 蔡宝昌. 中药指纹图谱的研究,科学中国人,2005(3):21~22
- 20 王少坤,燕兰英. 中药指纹图谱应用于中药质量控制的局限性,药学进展,2001,25(6):352~353
- 21 谢培山. 中药色谱指纹图谱鉴别的概念、属性、技术与应用,中国中药杂志,2001,26(10):653~655
- 22 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典二部,北京:化学工业出版社,2005,附录 V D

## Application of modern analytical instrument in TCM fingerprint.

Yang Liu He Juan Wang Xuebin

(Department of Chemistry and Chemical Engineering Henan University of Technology Henan Zhengzhou 450052)

**Abstract** Progress of application, strongpoint and limitation of analytical instrument in Chinese traditional medicine (TCM) fingerprint in recent years is reviewed. The prospect of applications of analytical instrument in TCM fingerprint is discussed.

**Key words** Chinese traditional medicine Fingerprint TLC HPLC GC