

法,可采用多种不同原理的质谱作为检测技术。结果的确证应要求供试品与对照品的保留时间以及离子质荷比一致、离子的丰度比符合要求。供试品与对照品保留时间一致,对于气相或气质,一般允许 $\pm 0.5\%$ 偏差,对液相或液质允许 $\pm 2.5\%$ 偏差。离子丰度比要求:相对比例 $>50\%$,允许 $\pm 20\%$ 偏差;相对比例 $20\% \sim 50\%$,允许 $\pm 25\%$ 偏差;相对比例 $10\% \sim 20\%$,允许 $\pm 30\%$ 偏差;相对比例 $<10\%$,允许 $\pm 50\%$ 偏差。测定成分的浓度应适宜,以免检测器过载而产生离子比率失真。基质效应的存在会影响待测成分的电离,故必要时需要与基质对照的丰度比进行比较。如果其中某个监测离子对存在干扰,则需要选用其他监测离子对。

6 小结

中国药典 2015 年版安全性检测项目的大幅提升,加强了对药品质量的控制,同时对痕量分析的质量控制要求提升了一个台阶,对检测人员的

素质要求也明显提高。对于痕量分析的质量控制也并不限于上面阐述的内容,如实验室环境要求、样品的传递、标准物质的制备与储存等等,检验人员要在检测中树立全过程、全因素的质量控制理念。目前中国药典对于痕量残留分析的质量控制要求还主要以注意事项等形式体现,较为分散,系统性和整体性尚欠缺。鉴于痕量分析的特殊性,建议在下版中国药典中增加中药有害残留物痕量测定质量控制指导原则,以期更为系统、宏观地指导检测人员进行痕量分析,构建中药安全性控制体系,从而进一步提升保障中药安全的能力和水平。

REFERENCES

- [1] 中国药典[S]. 2015.
- [2] WANG Y, JIN H Y, MA S C, et al. Determination of 195 pesticide residues in Chinese herbs by gas chromatography-mass spectrometry using analyte protectants [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(3): 334-342.

收稿日期: 2016-02-26

中药指纹图谱技术在中国药典 2015 年版一部中的应用

祝明¹, 陈碧莲¹, 石上梅^{2*} (1.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2.国家药典委员会, 北京 100061)

摘要: 目的 通过对中国药典 2015 年版一部新增特征图谱或指纹图谱应用介绍, 以便更好地理解与执行新版中国药典。方法 介绍中药指纹图谱技术的不同测定方法、不同评价模式与在中药质量标准中的应用, 并列举实例说明。结果 特征图谱与指纹图谱技术应用使得中国药典 2015 年版一部中药质量整体可控性明显增加。结论 特征图谱与指纹图谱技术在中药质量标准中的应用完善了中药复杂体系质量标准研究思路、方法和模式, 也是今后中药质量整体可控性的发展趋势。

关键词: 中国药典 2015 年版; 指纹图谱; 特征图谱; 中药质量标准

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)05-0611-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.05.022

Application of Fingerprint Technology on Traditional Chinese Medicine in Chinese Pharmacopoeia (2015 Edition) Volume I

ZHU Ming¹, CHEN Bilian¹, SHI Shangmei^{2*} (1.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China; 2.Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To better understand and perform the new version of Chinese Pharmacopoeia, the new applications of characteristic chromatograms or fingerprint are reviewed in Chinese Pharmacopoeia (2015 Edition) Volume I. **METHODS** The different determination methods and different evaluation models of the traditional Chinese medicine(TMC)

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(LQ12H28001)

作者简介: 祝明, 女, 主任中药师 Tel: (0571)86734991
Tel: (010)67079537 E-mail: ssm@chp.org.cn

E-mail: zhumingd@hotmail.com

*通信作者: 石上梅, 女, 主任药师

fingerprint technologies and some applications in the quality standard of TCM were introduced. Meanwhile, some examples were given. **RESULTS** Because of applications of the characteristic chromatograms and the fingerprint technology, the integrated quality control of TCM was increased in Chinese Pharmacopoeia (2015 Edition) Volume I. **CONCLUSION** The applications of characteristic chromatograms and the fingerprint technologies in the quality standard of TCM have improved the research ideas, methods and models for the quality standard of TCM complex system. And it is also the development trend of the overall quality control of TCM in the future.

KEY WORDS: Chinese Pharmacopoeia (2015 Edition); fingerprint; specific chromatogram; quality standard of traditional Chinese medicine

中药指纹图谱系指中药经适当处理后,采用一定的分析方法得到的能够体现中药整体特性的图谱。根据质量控制目的,可分为指纹图谱和特征图谱。指纹图谱是基于图谱的整体信息,用于中药质量的整体评价,确保其内在质量的均一和稳定。特征图谱是选取图谱中某些重要的特征信息,作为控制中药质量的重要鉴别手段。经过十几年的研究和运用,该项技术已日趋成熟,在中药质量标准控制中得到更广泛应用。中国药典 2015 年版一部^[1]新增 28 个特征图谱与 9 个指纹图谱,较中国药典 2010 年版一部^[2]有大幅度增加。本文通过对中药指纹图谱技术^[3]的不同测定方法、不同评价模式与在中药质量标准中的应用介绍,对中国药典 2015 年版一部新增特征图谱或指纹图谱进行分析与归类,并相应举例说明,以便更好地理解与执行新版中国药典。

1 不同测定方法的应用

目前特征图谱与指纹图谱的测定方法较多,主要采用色谱法、光谱法、核磁共振法和联用技术法等,其中色谱法是特征图谱与指纹图谱建立的首选方法。色谱法主要包括薄层色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、超临界流体色谱法等,目前中国药典 2015 年版一部的特征图谱与指纹图谱主要使用 HPLC 与 GC。

1.1 HPLC

HPLC 以分离功能强、分析速度快、样品适用性广泛、检测器种类多和系统稳定性好等优势,成为特征图谱与指纹图谱最常用的方法。中国药典 2015 年版一部新增的特征图谱与指纹图谱测定方法大部分使用了 HPLC,检测器主要为紫外检测器(UV),也有用二极管阵列检测器(DAD)与蒸发光检测器(ELSD),如三七通舒胶囊使用 HPLC-UV 测定指纹图谱;颠茄浸膏、颠茄片采用 HPLC-UV 测定特征图谱;抗宫炎片的指纹图谱使用 HPLC-DAD 在不同时间段用不同波长进行测定。

血脂康片、血脂康胶囊指纹图谱除规定相似度 ≥ 0.85 外,还用 DAD 对部分特征峰的紫外光谱特征进行定性确证。康莱特软胶囊使用 HPLC-ELSD 测定特征图谱。

1.2 GC

GC 主要用于含挥发性成分、极性较小成分中药的特征图谱或指纹图谱,具有样品用量少、分析速度快、灵敏度高特点。在建立中药挥发性成分的特征图谱时一般采用 GC,中国药典 2015 年版一部新增特征图谱有 2 个品种应用 GC 测定,如鱼腥草滴眼液,采用 GC 测定鲜鱼腥草中挥发性成分的特征图谱,保证了鱼腥草滴眼液质量的可靠性与产品的稳定性。

2 不同评价模式应用

中药指纹图谱是将图谱中的某些重要特征信息或整体信息用于中药材真伪鉴别或中药质量整体控制。通过分析方法建立、方法学验证、数据处理和分析等研究,建立特征图谱或指纹图谱,一般根据控制目的与特征信息来确定其评价模式。目前用于中国药典 2015 年版一部新增的特征图谱与指纹图谱的评价模式主要有 3 种:随行对照评价、特征峰分析评价、相似度评价。

2.1 随行对照评价

随行对照评价是采用对照提取物或对照药材与对照品作为随行对照,待测样品的图谱与随行对照图谱比较,应具有保留时间一致的特征峰。该方法主要适合中药材、中药提取物、中成药特征图谱的评价,中国药典 2015 年版一部新增 28 个特征图谱,其中有 10 个采用随行对照评价。采用随行对照,不受色谱柱、仪器等因素影响,不同实验室均有较好的重现性,避免了采用相对保留时间判定复杂样品的不确定性,从而提高了特征图谱的专属性、重现性、准确性和实用性。如心可舒片以葛根对照药材、丹参素钠对照品、原儿茶醛对照品、丹酚酸 B 对照品、葛根素对照品

为参照物进行随行对照,共有 8 个特征峰,其中 3, 4, 5, 6, 7 号峰与葛根对照药材 5 个主要色谱峰的保留时间相对应。1, 2, 8 号峰与丹参素钠对照品、原儿茶醛对照品、丹酚酸 B 对照品的保留时间相对应,反映出葛根与丹参的特征,以葛根对照药材的随行对照,使得葛根的 5 个特征峰在供试品色谱图中易于指认,并且重现性好。如羌活药材的特征图谱是以羌活对照提取物为参照物进行随行对照,供试品色谱图中应呈现与对照提取物中的 4 个主要特征峰保留时间相对应的色谱峰,反映了羌活的特征信息,具有专属性与整体鉴别性,而且有良好的重现性。

2.2 特征峰分析评价

特征峰分析评价是从指纹图谱中选定若干具有鉴别属性的特征峰,确定其特征参数,特征参数包括相对保留时间和相对峰面积。指纹图谱采用相对保留时间与相对峰面积进行评价,但目前中国药典 2015 年版一部还未应用该评价模式。特征图谱采用相对保留时间进行评价,用于中药材、饮片、提取物的鉴别和成方制剂中组方药味的鉴别,是一种常用的评价方法。中国药典 2015 年版一部新增 18 个特征图谱采用特征峰分析评价。如茵栀黄软胶囊、泡腾片、胶囊、颗粒等系列品种,均以绿原酸对照品为参照物,有 6 个特征峰,与参照物相对应的峰为 S 峰,计算各特征峰与 S 峰相对应峰的相对保留时间来评价样品与对照特征图谱的一致性,6 个特征峰为金银花提取物与茵陈提取物的特征峰,系列品种的对照特征图谱基本一致,保证了系列品种质量的均一性与稳定性。抗病毒口服液是多企业品种,由 9 味中药材组成,以(R,S)-告依春对照品与连翘苷对照品为参照物,有 7 个特征峰,是以(R,S)-告依春对照品为 S 峰,计算各特征峰的相对保留时间,7 个特征峰反映了抗病毒口服液的特征,确保各厂家间产品的质量与稳定。因不同实验室、不同仪器、不同色谱柱对相对保留时间有一定影响,所以在标准中规定了相对保留时间允许偏差范围。

2.3 相似度评价

相似度评价是采用相似度评价软件对样品指纹图谱和对照指纹图谱进行整体比较获得相似度,同时对特征峰进行必要的考察和分析,用于评价产品批间的稳定性与一致性。指纹图谱评价

主要采用相似度评价,主要采用国家药典委员会推荐的“中药指纹图谱计算机辅助相似度评价软件”(2012.0 版)进行计算,对照指纹图谱通过国家药典委员会网站的药品标准服务平台指纹图谱项下申请下载,色谱图须校正保留时间、峰位匹配,再进行相似度计算,目前有全谱相似度评价和共有峰相似度评价 2 种方法。中国药典 2015 年版一部新收载 9 个中成药品种指纹图谱,大部分品种是全谱相似度评价,如抗宫炎片、胶囊、颗粒等系列品种,以甲异波尔定、连翘酯苷 B、金石蚕苷为参照物,全谱相似度评价,相似度应 ≥ 0.90 ,并对 11 个共有峰进行峰的归属,不仅反映样品的整体性,而且体现各药味的专属性,保证了药品批间质量的稳定性与均一性。共有峰相似度评价品种较少,如血脂康片、胶囊,以洛伐他汀为参照物,对红曲的 10 个共有峰进行相似度评价,相似度应 ≥ 0.85 ,保证了原料与制剂的专属性、稳定性与一致性。

3 在中药质量标准中的应用

中药为多成分的复杂体系,多年来一直沿袭化学药物的质量控制模式,即选用 1~2 个指标成分控制中药质量,这与中药所含化学成分复杂,发挥药效时多成分、多靶点协同作用的特性不甚吻合。中药特征图谱与指纹图谱具有整体性、特征性及可量化等特点,可用于鉴别中药真伪、评价药材的道地性以及制剂的一致性与稳定性,是一种有效的质量控制模式。中国药典 2015 年版一部重点加强中药质量的整体控制,完善了中药复杂体系质量标准研究的思路、方法和模式,特征图谱与指纹图谱的应用与中国药典 2010 年版一部比较有大幅度增加,特别是中药材标准中首次收入特征图谱,中成药标准中特征图谱引入了对照药材随行对照技术及与多成分含量测定相结合的整体控制模式,使中药质量可控性明显增强。

3.1 特征图谱的鉴别应用

特征图谱改变了以往单一成分或主斑点的鉴别模式,主要用于中药材、饮片、提取物的真伪鉴别与制剂处方多药味的鉴别,以及评价药材的道地性与制剂质量的稳定性。中国药典 2015 年版一部新增了 28 个特征图谱,其中中药材有 2 个品种,提取物有 3 个品种,中成药有 23 个品种。如沉香药材的特征图谱是以沉香对照药材与沉香四

醇对照品为参照物, 随行对照, 供试品图谱与对照药材色谱图中的 6 个峰相对应, 其中峰 1 与沉香四醇对照品参照峰保留时间相一致, 以沉香对照药材特征峰反映出沉香的特征信息, 具有较好的专属性与整体鉴别性, 能区别伪品沉香及白木香茎木。如中成药枣仁安神胶囊的特征图谱, 以丹参对照药材与五味子对照药材为参照物, 共有 8 个特征峰, 反映出丹参与五味子的特性, 另结合酸枣仁提取物的 TLC 鉴别, 整体上控制枣仁安神胶囊每味药材的质量, 保证了产品的专属性与可控性。枣仁安神颗粒由于生产工艺与枣仁安神胶囊不同, 后者是醇提、水提, 而前者只是水提工艺, 所以枣仁安神颗粒只有 4 个共有特征峰, 但仍能反映出酸枣仁与丹参的特征, 从而保证枣仁安神颗粒的专属性与稳定性。

3.2 特征图谱与多成分的整体控制

特征图谱一般作为控制中药质量的鉴别手段, 特征图谱结合多指标成分定量分析, 不但可鉴别产品真伪, 而且可控制主要特征峰的含量, 是全面控制中药质量的可行模式, 中国药典 2015 年版一部有 10 个品种与特征图谱鉴别相同色谱条件下测定多指标成分含量。如五子衍宗丸的特征图谱, 以覆盆子对照药材、金丝桃苷对照品、毛蕊花糖苷对照品、山奈素对照品与五味子醇甲对照品为参照物, 共有 11 个共有特征峰, 经确认其中峰 1、峰 3、峰 6、峰 7 来源于菟丝子, 分别为绿原酸、金丝桃苷、槲皮素和山奈素; 峰 2 来源于覆盆子; 峰 4 来源于车前子, 为毛蕊花糖苷; 峰 5 来源于菟丝子和覆盆子, 为紫云英苷; 峰 8~峰 11 来源于五味子, 分别为五味子醇甲、五味子醇乙、五味子甲素和五味子乙素, 同时表征五子衍宗丸中的 4 味药材(菟丝子、覆盆子、车前子和五味子), 结合枸杞子的薄层色谱鉴别, 可实现五子衍宗丸中每味药材的鉴别, 并且在相同色谱条件下测定金丝桃苷与五味子醇甲的含量, 从而整体上控制五子衍宗丸的质量, 保证了产品批间的稳定性与不同企业产品的均一性。如心脑健片、心脑健胶囊, 特征图谱有 7 个特征峰, 在相同色

谱条件下测定了其中表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素没食子酸酯的含量, 既鉴别了产品中茶叶提取物的真伪又控制产品的整体质量, 保证产品批间稳定性与一致性。

3.3 指纹图谱的应用

指纹图谱对控制药材原料的真伪、质量、规范生产工艺及产品质量发挥重要作用。中国药典 2015 年版一部有 9 个品种新增指纹图谱控制方法, 其中有 5 个品种为多家企业品种, 扩大了指纹图谱质量控制应用范围。如夏桑菊颗粒由夏枯草、野菊花、桑叶组成, 全国有 109 个批准文号, 建立的指纹图谱以绿原酸、迷迭香酸、蒙花苷为参照物, 供试品色谱图与对照指纹图谱比较相似度 ≥ 0.9 , 不仅反映出样品的特征性与整体性, 而且要求不同厂家同品种样品间的一致性与稳定性, 从质量标准控制的角度保证同品种产品疗效的基本一致。

4 结语

中国药典 2015 年版一部按照坚持继承、发展、创新的原则, 重点加强中药质量的整体控制, 完善了中药复杂体系质量标准研究的思路、方法和模式, 特征图谱与指纹图谱技术在中药质量标准中的应用明显增加, 特征图谱结合多指标成分定量分析, 增加了质量整体可控性, 符合中医理论整体控制的可行模式, 也体现了现代分析技术在建立符合中医药特点的质量标准体系方面取得的新进展。建议今后进一步加大科研成果向标准转化的力度, 加强中药药效物质基础和作用机制的研究, 推广现代科学技术的应用, 加强中药材、制剂质量标准整体控制的研究力度, 建立更加科学、系统、完整的中药质量控制体系, 确保药品安全、有效、可控。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [3] 国家药典委员会. 国家药品标准工作手册(第四版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013.

收稿日期: 2016-02-28