

· 综 述 ·

薄层色谱在中药指纹图谱中的应用

于宝珠, 陈立亚, 李东霞¹, 张建明¹ (中国药品生物制品检定所, 北京 100050; ¹ 上海科哲生化科技有限公司)

中图分类号: R917; R927 文献标识码: A 文章编号: 1002 - 7777 (2005) 10 - 0619 - 03

中药产业是我国具有独特优势的产业。但如何评价中药质量、保证中药疗效并被世界其他国家认可接受是一个迫切需要解决的问题。中药成分的多样性与复杂性是其发挥疗效的物质基础。中药指纹图谱在有效反映中药成分的复杂性, 表征中药质量的宏观综合方面, 有其特殊价值。中药指纹图谱作为中药质量控制的一种手段, 是我国中药现代化的重要组成^[1~7]。

中药指纹图谱作为中药质量标准的一个方面, 可广泛用于鉴别样品的真伪或产地、有效成分的研究、中药种植 GAP 实施等等方面。

1 中药指纹图谱的基本要求

系统性: 是指指纹图谱所反映的化学成分应该包括中药有效部位所含的化学成分全部或大部;

特征性: 是指指纹图谱所反映的化学成分是具有高度选择性的化学成分;

稳定性: 在规定的方法与条件下, 不同操作者得出的结论相差很小;

确定性: 所分析的样品的指纹特性非常直观, 可形成快速判断;

宏观性: 允许有一定的模糊、追求宏观的规律性, 细节可以适当放宽;

普及性: 中药指纹图谱是用于指导药品生产企业, 设备不能太贵、操作不能太复杂。作为能够普及的中药指纹图谱不能脱离中国实际, 要宜简不宜繁, 宜简不宜难。

中药指纹图谱的研究, 是建立在现代仪器的发明和广泛应用的基础上, 结合了先进的分析测试手段、数学统计手段及计算机模拟的方法学。色谱法是中药指纹图谱的主流方法, 主要有 GC、HPLC、TLC 法。GC 法速度快、分辨率高、灵敏度高, 对于挥发油、具有一定挥发性的低极性小分子成分有独特的优势, 但局限性是只限于分析低沸点成分; HPLC 法应用范围广、分离效能高、高灵敏度, 缺

点是试样前处理麻烦、仪器费用相对较高; 薄层色谱法便宜、快速、开放性、灵活性强。缺点是重现性与分辨率较低。本文着重介绍薄层色谱的指纹图谱, 发挥其便宜、快速、开放、灵活的特点^[8~9]。

2 中药薄层色谱指纹图谱的研究

2.1 中药薄层图像指纹图谱

TLC 一大优势是提供直观形象的可见光或荧光图像, 即较柱色谱多了色彩这一可比参数。如使用数码摄像设备在专用灯箱中对薄层层析板上样品进行彩色图像摄录, 如配有积分软件, 可以对薄层色谱斑点颜色、斑点数量、斑点相对位置、斑点顺序、斑点大小与光密度进行相似度比较。特点图像非常直观、专属性明显、判断速度快, 非常适合基层日常分析与现场检验使用; 广州药检所谢培山等对中药图像指纹图谱作了很多工作, 早在 1987 年就报道了人参类药材 HPTLC 指纹色谱图像分析, 对人参、西洋参、三七在优化的规范操作条件下得到薄层色谱荧光彩色图像, 可以在同板上形象地比较各个样品的异同。此后他们又采用 TLC 建立了黄连的指纹图谱, 结果显示, 各原小檗碱型生物碱均为灵敏度很高的亮黄色荧光斑点是其特点; 其次, 表小檗碱及黄连碱的有无或多少构成相互的区别。王爱芹等采集了 29 个南萆蒴子及易混药材样本, 对 TLC 指纹色谱图像分析, 南萆蒴子提取液色谱中, 在与对照品色谱相应的位置均显亮黄荧光斑点, 在北萆蒴子及易混药材样本的色谱中均未见该荧光斑点。有很好的专属性、重现性^[10~16]。

2.2 薄层扫描指纹图谱

可以通过测量薄层色谱 RF 值、原位紫外 - 可见吸收光谱、并可以结合板上化学特征反应形成薄层扫描中药指纹图谱, 薄层扫描仪均有原位扫描功能, 有非常广阔的前景。沈阳药科大学孙毓庆最早研究过此项工作。崔淑芬等使用薄层扫描法测定不

同品种和产地化甘草并建立了指纹图谱,可以快速地药材品质作出评判,有效地控制甘草的质量;颜玉贞等完成了黄连的薄层扫描指纹图谱研究;苏薇薇等完成了黄芩的薄层扫描指纹图谱;李彩君等完成了高良姜薄层扫描指纹图谱的研究。王隶书对心痛宁胶囊中皂苷类成分进行了 TLC 指纹图谱的研究,测定了 10 批样品的色谱图,发现了 5 个色谱峰是各批样品共有的,确认为指纹峰,方法准确、可靠,可更好地控制心痛宁胶囊的内在质量^[17~27]。

2.3 TLC - FID 联用中药指纹图谱

棒状薄层色谱仪是 TLC 与 FID 的联用, FID 是一种通用性检测器,灵敏度高、响应快、线性范围宽;与薄层分离棒结合,可得出较全面的中药指纹图谱,这种方法尤其适合未知成分多、低紫外吸收成分多的中药,可以取代 HPLC - ELSD 方法。难波恒雄等用 TLC - FID 方法测定人参及亲缘生药、甘草、芍药、熊胆的指纹图谱分析^[28~31]。

3 薄层色谱在中药指纹图谱工作中的优势

薄层色谱是目前中药企业最重要的分析方法之一,具有学习快,容易掌握、便宜、灵活的特点。可随时改换展开剂、展开方向,随时衍生、显色、观察、检测,方法开发快;随着现代薄层色谱技术的发展,在每一个环节都实现了自动化,部分弥补了其重现性与分辨率的不足。在具体中药指纹图谱分析中,要遵循下列研究思路:“扬长避短,与 HPLC 不比精度比速度、比成本”。为了强化薄层色谱中药指纹图谱的确定性,还应该加强下列基础工作:

(1) 对照品收集提取:包括不同产地、不同培植方法的药材、有效成分;

(2) 对照谱库建立:包括图像库与紫外 - 可见吸收光谱库;

(3) 薄层色谱仪器的研发:主要为薄层色谱扫描仪、薄层色谱摄像系统、薄层展开仪、预制薄层析板等产品。

以上三方面工作对薄层色谱中药指纹图谱的重现性、准确性、权威性有很大影响,要使薄层色谱中药指纹图谱有较强的科学性与实用性,必须加强以上工作。

综上所述,随着现代中药指纹图谱技术的深入研究,不断有新的方法被发掘,传统的分析方法被审视,相比与当今的研究热点如 HPLC、HPLC - MS、CE - MS 方法,薄层色谱法具有的广泛的群

众基础、直观性、特征性、简便性,焕发出了强大的生命力,随着薄层色谱仪器与样品处理技术的发展,使薄层色谱中药指纹图谱具有了更多的竞争优势,薄层色谱必将成为中药指纹图谱研究的强势方法,希望有更多的中药指纹图谱研究者关注这个领域。

参考文献:

- [1] 洪筱坤,王智华. 中药数字化色谱指纹谱 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 2003: 22
- [2] 李克,王曙东,宋炳生. 中药指纹图谱及其对中药发展的影响 [J]. 中草药, 2002, 33 (11): 36
- [3] 刘慧琼,郭书好. 现代仪器与中草药指纹图谱 [J]. 中医药学报. 2002, 30 (2): 35
- [4] 姚宏,唐玉海. 中药色谱指纹图谱的研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2002, 17 (6): 282
- [5] 郑颖,吴凤镔. 中药色谱指纹图谱的研究进展 [J]. 天然产物开发与研究, 2003, 15 (1): 55
- [6] 周志锦. 对建立中药指纹图谱的几点思考 [J]. 中国药业, 2002, 11 (8): 62
- [7] 杨义芳,蔡定建. 中药指纹图谱研究概况 [J]. 中草药, 2002, 34 (6), 附 2 - 附 6
- [8] 周玉新,雷海明,徐永红,等. 中药指纹图谱研究技术 [M]. 北京:化学工业出版社, 2002: 17
- [9] 肖树雄,林伟忠. 中药现代化检验新技术 [M]. 广州:羊城晚报出版社, 2003: 53
- [10] 何丽一. 平面薄层色谱方法及应用 [M]. 北京:化学工业出版社, 2000: 147
- [11] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典中药薄层色谱彩色图集 [M]. 广州市:广东科技出版社, 1993: 143
- [12] Xie P S, Yan Y Z. HPTLC fingerprint identification of ginseng [J]. J High Resol Chromatogr Comm, 1987, 10 (11): 607
- [13] Xie P S, Yan Y Z. Application of HPTLC fingerprint identification [J]. J Planar Chromatogr Mod TLC, 1988, 1 (3): 258
- [14] Xie P S, Yan Y Z. Optimization of the TLC of protoberberine alkaloids and fingerprint evaluation of the Coptidis Rhizoma [J]. J Planar Chromatogr Mod TLC, 1992, 5 (5): 302
- [15] 李宗孝,原春兰,聂非. 中药指纹图谱的研究重点与难点 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17 (4): 12
- [16] 王爱芹,王秀坤,崔翔宇,等. 南葶苈子薄层色谱鉴别法的建立 [J]. 中草药, 2004, 36 (11): 1307
- [17] 孙毓庆,王延琮,林乐明,等. 薄层扫描法在药物分析中的应用 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1989: 68
- [18] 孙毓庆,王延琮,李发美. 现代色谱法及其在医药中的应用 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1998: 135
- [19] 聂晶,田颂九,王国荣. 中药指纹图谱的研究现状 [J]. 中草药, 2004, 31 (12): 881

· 依案说法 ·

药品监督管理行政处罚案例释解

张宗利 (山东省食品药品监督管理局, 济南 250013)

中图分类号: R951 文献标识码: A 文章编号: 1002 - 7777 (2005) 10 - 0621 - 06

《中国药事》2003 年第 6 期和 2004 年第 5 期刊发了笔者《药品监督管理行政处罚案例释解》的同名文章, 共分析了 24 个行政处罚案例, 在此, 不揣浅薄, 再向关心支持我的热心读者奉献 10 个案例分析, 供药监同仁参考, 以期对一线执法人员有所帮助, 同时也希望得到专家学者的批评指正。

1 界定违法主体须慎重

案例: 2003 年 3 月, 某市药品监督管理局在监督检查中发现, 某医学院附属医院试剂研究室自 1999 年起, 无《医疗器械生产企业许可证》和产品注册证书生产碳酸氢根测定试剂盒, 除医院自用外, 还销往其他医院使用。当场查获两箱试剂盒, 计 110 盒。经查实, 试剂盒医院使用价 40 元/盒, 外销价 20 元/盒。该研究室负责人刘某称, 该产品系自己多年的研究成果, 利用医院的实验室进行生产, 与医院无分红、控股协议, 挣的钱用到另一课题研究上。根据上述事实, 某市药品监督管理局认定刘某无医疗器械生产企业许可证生产、销售碳酸氢根测定试剂盒, 违反了《医疗器械监督管理条例》第八条、第二十条的规定, 依据第三十五条做出如下处罚决定: 责令停止生产碳酸氢根测定试剂盒; 没收碳酸氢根测定试剂盒 110 盒; 并处 1 万元

罚款。

分析: 本案中认定无医疗器械生产企业许可证生产、销售碳酸氢根测定试剂盒是正确的, 根据国家药品监督管理局《关于体外诊断试剂实施分类管理的公告》(国药监办[2002]324 号), 碳酸氢根测定试剂盒属按医疗器械管理的体外诊断试剂, 因此适用《医疗器械监督管理条例》规范。但认定刘某无医疗器械生产企业许可证生产、销售碳酸氢根测定试剂盒是错误的。刘某虽是某医学院附属医院试剂研究室负责人, 并实施了生产行为, 但其行为是以医院试剂研究室的名义所为的职务行为, 而非个人行为。由于医院试剂研究室是医院的内设科室, 不具有法人地位, 因此其行为后果的承担者应当是医院。尽管表面看来, 刘某与医院无分红、控股协议, 挣的钱用到另一课题研究上, 但刘某的课题研究属职务行为, 其研究成果属于单位。再者, 其产品标识也是某医学院附属医院试剂研究室, 医院提供了研究场所、设施、仪器设备等物质条件, 医院使用其生产的试剂盒, 医院是受益者。据此, 医院是无医疗器械生产企业许可证生产、销售碳酸氢根测定试剂盒这一行为法律后果的承担者, 是违法主体。

[20] 崔淑芬, 蒋铁伦, 王小如. 薄层色谱指纹图谱在甘草 GAP 生产与质控的应用 [J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18 (4): 3

[21] 颜玉贞, 林巧玲, 谢培山, 等. 黄连指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 1993, 18 (6): 329

[22] 苏薇薇. 聚类分析法在黄芩鉴别分类中的应用 [J]. 中国中药杂志, 1991, 16 (10): 579

[23] 李彩君, 林巧玲, 谢培山, 等. 高良姜中黄酮类成分薄层色谱指纹图谱鉴别 [J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12 (3): 183

[24] 李亚清, 张 荷. 六味地黄丸的薄层扫描分析 [J]. 佳木斯医学院学报, 1991, 14 (1): 42

[25] 蔡宝昌, 潘 扬. 殷 武. 指纹图谱在中药研究中的应用 [J]. 中药现代化, 2000, 2 (5): 9

[26] 蒋 晔, 郝晓花, 刘红菊. 中药指纹图谱的构建与解析 [J]. 中成药, 2004, 26 (4): 262

[27] 王隶书, 程东岩, 李 阳. 心痛宁胶囊中皂甙成分 TLC 指纹图谱的研究 [J]. 中成药, 2004, 26 (11): 864

[28] 难波恒雄, 吉崎正雄, 富森毅. 人参亲缘生药中皂甙的定量 [J]. 药学杂志, 1974, 94 (3): 252

[29] 难波恒雄, 吉崎正雄, 富森毅. 甘草中甘草甜素的测定 [J]. 药学杂志, 1975, 95 (7): 809

[30] 吉崎正雄, 富森毅, 吉冈成美. 芍药甙及白花素的测定 [J]. 药学杂志, 1977, 97 (10): 916

[31] 宇治昭. 熊胆中结合熊胆酸的测定 [J]. 药学杂志, 1975, 95 (2): 214