

中药电化学指纹图谱的原理、特点和用途

张泰铭 梁逸曾 袁 斌 丁 峰 张亚朋 陈文妍

(中南大学化学化工学院, 中药现代化研究中心, 长沙 410083. E-mail: tainingzhang@163.com)

摘要 针对中药真伪鉴别和质量评价这一富有挑战性的问题, 研究了中药电化学指纹图谱技术. 在恒温、恒压条件下, 以丙二酸作为主要耗散物, 针对不同成分的中药对振荡反应机理产生不同的影响, 从而引起振荡体系电极电位-时间曲线形状的不同变化为特征的B-Z化学振荡体系, 就电化学指纹图谱的原理、特点和用途等进行了详细的研究和讨论, 成功地提出了一种经济、简便、易行和有效的鉴别与评价中药的科学方法.

关键词 电化学指纹图谱 真伪鉴别 质量评价 中药

与西药相比, 中药因副作用较少, 其应用已越来越引起人们的重视. 然而, 正如文献 [1] 所述, 中药种类繁多, 来源复杂, 各地药材的品种和使用习惯不尽相同, 同名异物、同物异名现象甚为普遍, 因其缺乏有效的质控标准, 中药市场以假乱真、以次充好屡屡发生的现象, 严重制约了中药使用效果的安全和稳定, 也限制了中药研究和应用的发展. 因此, 只有对中药进行科学的鉴别和评价, 才能实现中药的安全、有效、稳定和可控, 为中药走向国际市场提供质量保证, 中药指纹图谱技术也应运而生, 而且该技术在中药真伪鉴别和质量评价与监控方面的重要作用已成为人们的共识 [2]. 在目前研究报道的中药各类指纹图谱技术 [3~15] 中, 色谱指纹图谱的研究和应用最为广泛和深入, 已成为国际公认的评价和控制中药质量的有效手段, 但色谱指纹图谱技术的应用范围有不可忽视的局限性. 探索无须分离和提纯等预处理技术, 能适用于各种物相和剂型的中药化学成分群集表征的指纹图谱的直接制作方法, 已作为首要任务之一摆在分析化学家的面前. 中药电化学指纹图谱技术的研究旨在提出这种方法. B-Z(Belousov & Zhabotinsky)振荡反应的发现, 开启了非线性化学复杂体系的研究 [16], 由于该振荡反应的良好重现性, 其应用研究日趋广泛 [16~21]. 本文以丙二酸作为耗散物, 针对不同中药成分对振荡反应机理产生不同影响, 从而引起振荡体系电位-时间($E-t$)曲线形状的不同变化为特征的B-Z化学振荡体系, 就电化学指纹图

谱的原理、特点和用途等进行了详细研究和讨论, 成功地提出了中药电化学指纹图谱的鉴别和评价技术.

1 实验

(i) 主要仪器. 研究电化学指纹图谱所用仪器由超级恒温器(501 型, 上海实验仪器厂有限公司)、恒温磁力搅拌器(78HW-3 型, 杭州仪表电器有限公司)、配以复合甘汞电极(217 型)和金属铂电极(213-01 型, 上海精密科学仪器有限公司)的毫伏计(PHS-10B 型, 萧山市分析仪器厂)、数据采集装置(自制)和计算机等单元仪器或设备自组装而成. 电化学指纹图谱检测装置示意图参见文献 [1]. 自行设计制作了其中的数据采集转换装置, 并用VC++6.0编写了数据采集软件. 实验数据保存为文本文档格式(.txt)后用Matlab6.0绘图.

(ii) 主要试剂和材料. 1.0 mol/L 硫酸; 1.0 mol/L 丙二酸(以 1.0 mol/L H_2SO_4 溶液配制); 0.80 mol/L 溴酸钠; 1.0×10^{-3} mol/L 溴化钠; 0.010 mol/L 硫酸铈氨(以 1.0 mol/L H_2SO_4 溶液配制). 试剂均为分析纯, 水为二次蒸馏水. 将上述试剂置于 37.0°C 恒温槽中待用. 所用中药样品除甘肃和内蒙的甘草、广东雷霆药业和湖北香莲药业的六味地黄丸购自湖南省长沙市九芝堂, 山西和新疆的甘草、江西仁丰药业和湖北清和药业的六味地黄丸购自湖南长沙芝林大药房外, 其余中药均购自湖南长沙老百姓大药房.

(iii) 实验方法. 加入适量筛分后干燥至恒重的中药粉末(注射液与口服液直接量取适量体积即可)、

40 mL H_2SO_4 溶液、20 mL 丙二酸溶液和 2.0 mL 溴化钠溶液于反应器中, 盖好带温度计、注射孔和电极的反应器盖. 开启通过数据采集装置相连的计算机和毫伏计, 以及磁力搅拌器(转速 500 r/min), 并开始计时. 开启超级恒温仪调节反应器内温度为 37.0°C , 恒速搅拌 1.0 min 时, 通过注射器迅速加入 3.0 mL 硫酸铈铵和 2.0 mL 溴酸钠溶液, 即刻点击菜单采集数据, 记录 $E-t$ 曲线(电化学指纹图谱)至电位振荡消失为止.

2 结果与讨论

2.1 电化学指纹图谱基本原理

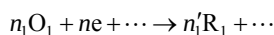
本文从非线性氧化还原反应中电极的相对电位(E)与时间(t)的一般关系、B-Z 振荡体系的基本变化过程及其 $E-t$ 关系表达式, 以及不同中药化学成分对 $E-t$ 关系的影响来讨论电化学指纹图谱的基本原理.

(i) 非线性氧化还原反应中电极电位与时间的一般关系. 任何自发氧化还原反应可用通式表示为

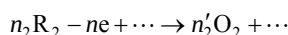


设 $n = n_1n_2$, 当设计成原电池时, 该反应可分解为两个半反应, 即还原和氧化电极反应:

还原电极反应:



氧化电极反应:



其中 $n_i (i = 1, 2)$ 不一定与 n_i' 相等. 还原电极电位 φ_{R} 和氧化电极电位 φ_{O} 可分别表达为

$$\varphi_{\text{R}} = \varphi_{\text{R}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{O}_1}^{n_1} \cdots}{a_{\text{R}_1}^{n_1'} \cdots}, \quad (2)$$

$$\varphi_{\text{O}} = \varphi_{\text{O}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{O}_2}^{n_2'} \cdots}{a_{\text{R}_2}^{n_2} \cdots}. \quad (3)$$

恒温时, 式(2)和(3)中标准电极电位 $\varphi_k^\circ (k = \text{R}, \text{O})$ 不变. 因电位绝对值尚无法测定, 故该电位实际上是相应工作电池的电动势 E (该工作电池并非式(1)所示氧化还原反应的原电池, 因原电池电动势等于零时, 工作电池电动势, 即电极相对于参比电极的电位一般不为零). 实验用 PHS-10B 型毫伏计的工作电极响应氧化半反应, 因恒温时参比电极电位 $\varphi_{\text{参比}}$ 不变, 由式(3)可得相对于参比电极电位的一般表达式为

$$\begin{aligned} E &= \varphi_{\text{O}} - \varphi_{\text{参比}} = \varphi_{\text{O}}^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{O}_2}^{n_2'} \cdots}{a_{\text{R}_2}^{n_2} \cdots} - \varphi_{\text{参比}} \\ &= K + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{\text{O}_2}^{n_2'} \cdots}{a_{\text{R}_2}^{n_2} \cdots}. \end{aligned} \quad (4)$$

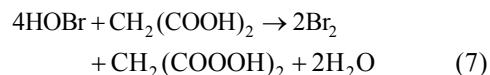
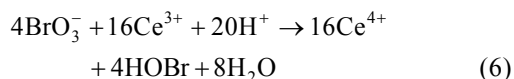
在振荡氧化还原过程的电极反应中, 反应物和生成物的活度都是时间 t 的非线性函数, 可能出现随时间变化活度的极值, 也可能导致电位极值, 因而电位也是时间的非线性函数. 故作为工作电极的惰性金属铂电极的相对电位与时间的关系一般可表达为

$$E(t) = K + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(a_{\text{O}_2}(t))^{n_2'} \cdots}{(a_{\text{R}_2}(t))^{n_2} \cdots}. \quad (5)$$

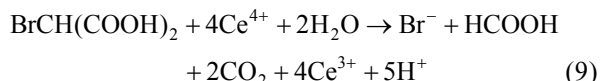
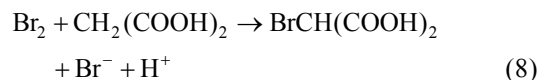
显然, 不同振荡体系具有不同的 $E-t$ 关系的具体表达式. 对于同一振荡体系中的不同过程, 由于发生反应的时间不同、氧化还原反应中转移的电子数目不同、反应物和生成物的种类及化学计量数不同, 其 $E-t$ 关系的表达式也不同.

(ii) B-Z 振荡体系的基本过程及其 $E-t$ 关系表达式. 以 BrO_3^- , Ce^{3+} 和丙二酸为原始反应物的 B-Z 反应机理, 尽管涉及几十个基元反应 [22], 但可归纳为诱导和振荡两大反应 [22, 23].

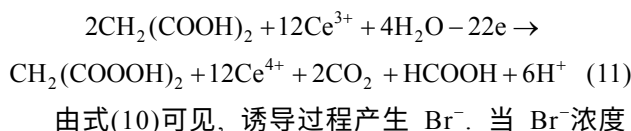
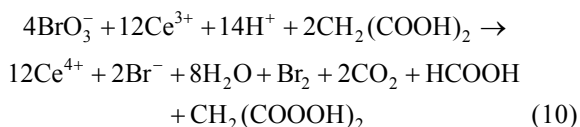
诱导反应分为 A, B 两个不可逆过程. 其中过程 A 为



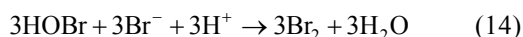
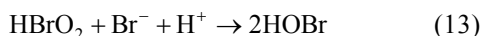
过程 B 为



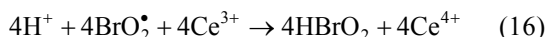
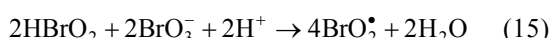
诱导过程的总反应及其氧化半反应分别用式(10)和(11)表示:



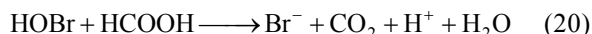
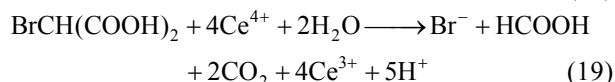
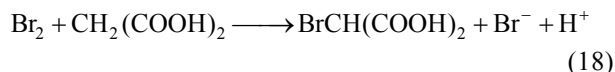
$[\text{Br}^-]$ 超过其临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, 将引发 B-Z 振荡反应. 振荡反应分为 C, D, E 3 个不可逆过程. 当体系中 $[\text{Br}^-] > [\text{Br}^-]_{\text{crit}}$, 即发生过程 C:



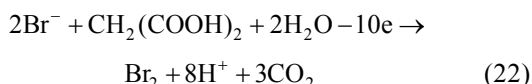
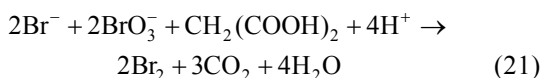
因过程 C 消耗 Br^- , 当体系中 $[\text{Br}^-]$ 低于临界浓度 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$ 时, 在式(13)和(15)所示的竞争反应中, BrO_3^- 对 HBrO_2 的争夺占了优势, 于是发生过程 D:



由于过程 C 和 D 分别积累了 Br_2 和 Ce^{4+} , HOBr , 又引发了过程 E:



过程 E 使 Br^- 再生, 当 $[\text{Br}^-]$ 超过 $[\text{Br}^-]_{\text{crit}}$, 又引发了过程 C. 过程 C, D, E 周而复始, 就形成了 B-Z 振荡反应. 从式(13)和(15)可以看出, 在 B-Z 振荡反应中, 中间化合物 HBrO_2 起到了过程 C 至过程 D 的切换作用; 由式(16)和(19)则可以看出, Ce^{3+} 在过程 D 和 E 中起到了催化再生 Br^- , 使 Br^- 反馈到过程 C 形成振荡循环的作用. 振荡过程的总反应及其氧化半反应分别用式(21)和(22)表示:



令 $\text{MA} = \text{CH}_2(\text{COOH})_2$, $\text{MOA} = \text{CH}_2(\text{COOH})_2$, 利用式(5), (11)和(22)可分别写出 B-Z 体系的诱导和振荡过程中铂电极的相对电位和时间关系的一般表达式(23)和(24).

$$E(t)_{\text{诱导}} = K_{\text{诱导}} + \frac{RT}{F} \ln \frac{(a_{\text{MOA}}(t))^{1/22} \cdot (a_{\text{Ce}^{4+}}(t))^{6/11} \cdot (a_{\text{CO}_2}(t))^{1/11} \cdot (a_{\text{HCOOH}}(t))^{1/22} \cdot (a_{\text{H}^+}(t))^{3/11}}{(a_{\text{MA}}(t))^{1/11} \cdot (a_{\text{Ce}^{3+}}(t))^{6/11}}, \quad (23)$$

$$E(t)_{\text{振荡}} = K_{\text{振荡}} + \frac{RT}{F} \ln \frac{(a_{\text{Br}_2}(t))^{1/10} \cdot (a_{\text{H}^+}(t))^{4/5} \cdot (a_{\text{CO}_2}(t))^{3/10}}{(a_{\text{Br}^-}(t))^{1/5} \cdot (a_{\text{MA}}(t))^{1/10}}. \quad (24)$$

原则上, 根据 FKN 机理^[24]中各过程的基元反应, 利用质量作用定律写出微分速率公式并进行相应数学处理后, 可确定式(23)和(24)中各物质活度与时间的非线性关系, 从而写出式(23)和(24)的具体表达式. B-Z 反应的诱导和振荡过程中电位随时间的变化曲线就是这些 $E-t$ 关系的具体表达式的形象描述. 将诱导和振荡过程的描述(分别见图 1 中曲线 e-f-g 和 g-h)结合起来, 就形成整个 B-Z 非线性反应的 $E-t$ 曲线. 由图 1 可见, 因工作电极-铂电极的电位是时间的非线性函数, 即意味着无论在诱导还是振荡过程中, 工作电极的相对电位不一定随着时间单调变化, 可能出现电位极值而引起 $E-t$ 曲线的起伏. 如诱导过程的相对电位在点 f 处出现约 1147 mV 最大值. 从 FKN 机理可以看出, 中间化合物和除丙二酸外的反应物在振荡过程中形成了“消耗-再生”循环, 其浓度(或活度)随时间发生周期性变化, 其中 Br_2 , Br^- , H^+ , CO_2 等的活度也发生周期性变化, 最终导致式(24)所代表的振荡过程中惰性金属铂电极的电位发生周期性振荡.

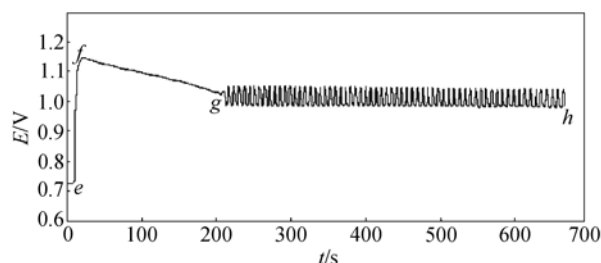


图 1 纯 B-Z 振荡体系的 $E-t$ 曲线

振荡持续 >4 h, 仅截取其一部分. e-f-g: 诱导曲线; g-h: 振荡曲线

(iii) 中药化学成分对振荡体系 $E-t$ 曲线的影响及中药电化学指纹图谱. 化学振荡体系是对外来化学物质十分敏感的体系. 大量研究表明, 许多微量化学物质, 如微量元素、生物碱、表面活性剂、有机酸、氨基酸、多肽、维生素、酶、激素、酮类、羟基和醚类化合物, 等等, 对 B-Z 反应体系 $E-t$ 曲线的参数, 如诱导时间、振荡周期和振荡寿命等能产生很大的影响. 这种影响对振荡反应的应用研究的意义已被人们所认识^[16,17,25]. 不同中药往往含有上述不同的微量乃至

宏量化学物质,对B-Z反应也将产生不同的影响.这些影响不仅包括对反应溶液物理性质(如黏度、离子强度、介电常数、界面张力、当量电导、渗透压等)的影响,也包括由于这些化学物质与B-Z体系中的反应物或中间化合物的反应而对诱导和振荡过程的化学机理产生的影响^[17].它们不仅导致B-Z反应的诱导时间、振荡周期、振荡幅度、振荡寿命等可量化参数的变化,而且也会引起诱导和振荡过程中 $E-t$ 定量关系的变化(见式(23)和(24),包括关系式中物质种类、幂指数、活度及其与时间非线性关系的变化),即引起诱导曲线、振荡曲线、振荡波形乃至整个 $E-t$ 曲线等直观形状的改变.这种影响规律对中药的鉴别和质量评价具有极其重要的意义.不同种类或不同质量的中药,由于其化学成分或其成分含量不同,当将其加入到B-Z体系时,对诱导和振荡反应各过程产生的干扰或与B-Z体系中各反应物或中间体发生的作用不同,引起诱导和振荡反应各种特征信息的变化不同,故获得的 $E-t$ 曲线的形状或信息参数不同.通过比较加入不同中药后 $E-t$ 曲线形状的不同变化,不仅使得相应的 $E-t$ 曲线完全不同于同一测定条件下纯B-Z体系的 $E-t$ 曲线,更重要的是体现了不同中药内在的化学物质特征,即B-Z振荡体系中加入中药后获得的 $E-t$ 曲线可看作该中药化学成分或电活性物质的群集表征,利用其信息可从整体上分析该中药的化学成分,从而对中药进行鉴别或质量评价.故在重现性好的振荡体系加入中药后获得的 $E-t$ 曲线,因其具有评价和鉴别中药的功能,可称之为中药电化学指纹图谱.本文利用以丙二酸作为主要耗散物的B-Z体系来研究中药电化学指纹图谱.

2.2 中药电化学指纹图谱基本信息

按“实验方法”,加入1.000 g干燥至恒重、平均粒度为0.10~0.15 mm的粉末状绵茵陈(产地湖南),测得其电化学指纹图谱见图2.由图2可见,电化学指纹图谱的基本特征信息主要包括:(1)诱导时间($t_{\text{诱导}}$),即加入最后反应物(本实验为溴酸钠)一瞬间至开始振荡所需的时间;(2)峰值时间($t_{\text{峰值}}$),即最高电位对应的时间;(3)振荡周期($\tau_{\text{振荡}}$),即振荡过程中出现相邻电位正峰或负峰所需的时间;(4)振荡寿命($t_{\text{振荡}}$),即振荡反应开始至结束所需的时间;(5)初始电位(E_{min}),开始记录的电位,多数情况下该电位值最低;(6)最高电位(E_{max}),即产生振荡前体系出现的电位

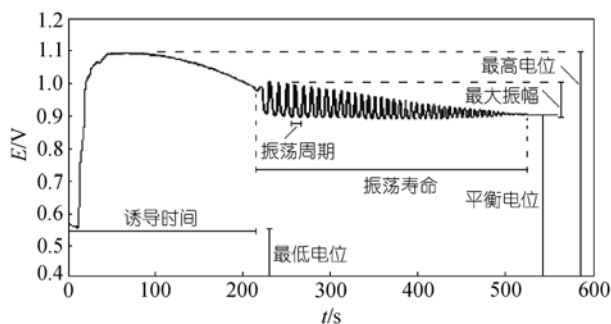


图2 绵茵陈电化学指纹图谱

最高值(但少数中药指纹图谱无此电位,见图5(e)和(g);(7)起振电位($E_{\text{起振}}$),即体系开始振荡时对应的电位;(8)停振电位($E_{\text{停振}}$)和时间($t_{\text{停振}}$),即体系振荡刚好停止时所对应的电位和时间;(9)平衡电位($E_{\text{平衡}}$),即体系达到热力学平衡时的电位,其他条件固定时该电位不随时间变化而变化;(10)最大振幅(ΔE_{max}),即振荡过程中相邻电位正峰和负峰之间的最大差值;(11)诱导曲线,即 $E-t$ 曲线中诱导时间对应的部分;(12)振荡曲线,即 $E-t$ 曲线中与振荡寿命对应的部分;(13)振荡波形,即振荡曲线在每个周期部分所表现的形状;(14)停振曲线,即 $E-t$ 曲线中振荡曲线后停振电位和平衡电位之间的部分;(15)平衡曲线,即 $E-t$ 曲线中停振曲线以后的部分(有些中药电化学指纹图谱的停振电位与平衡电位相同,故只有平衡曲线而无停振曲线).一个完整的中药电化学指纹图谱一般由诱导曲线、振荡曲线、停振曲线及部分平衡曲线组成.

2.3 中药电化学指纹图谱的重现性

按“实验方法”,加入1.000 g干燥至恒重、平均粒度为0.10~0.15 mm的桔梗粉末,平行测定3次,得其电化学指纹图谱见图3.由图可见,同一种来源的同种中药因化学成分及其含量相同,在相同实验条件下,测得的电化学指纹图谱的各种信息指标基本相同,相对标准偏差 $\leq 2.2\%$ (见表1),有很好的重现性.

2.4 中药电化学指纹图谱的用途

如前所述,不同种类的中药因化学成分及其浓度不同,相应的电化学指纹图谱中各种可量化指标、诱导曲线和振荡曲线形状以及振荡波形等信息全部或部分不同,即电化学指纹图谱可表现出不同中药内在化学特征的差别,具有对中药定性及其成分定量的功能.因此,可利用电化学指纹图谱中丰富的可

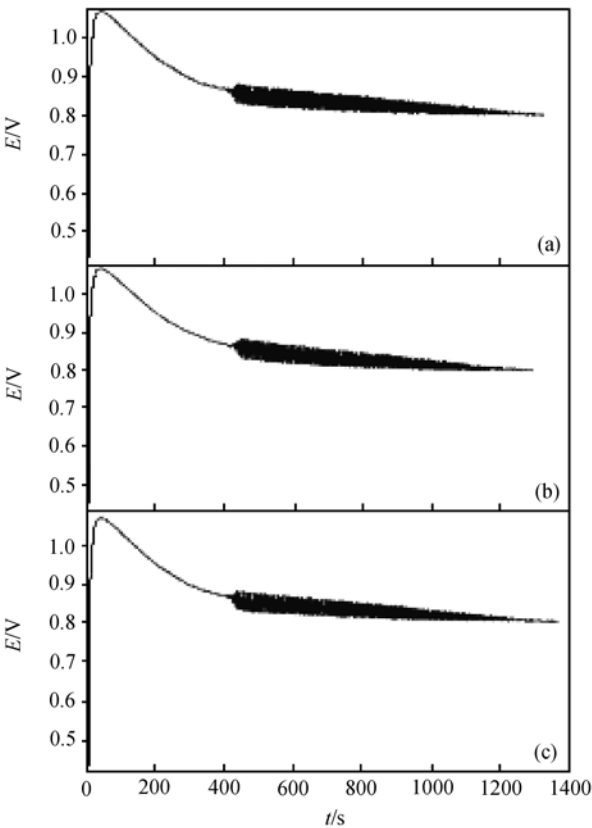


图 3 平行测定的桔梗电化学指纹图谱

量化和直观的信息，即电化学指纹图谱的特征参数和形状差异来评价中药的质量和鉴别其真伪。

(i) 中药鉴别。按“实验方法”，加入适量且粒径为 0.10~0.15 mm 不同种类的中药测定其电化学指纹图谱。结果表明，各种中药均有特征指纹图谱。在用量固定为 1.000 g 时，石斛、陈皮、当归、夏枯草、辛夷花、红花、淮牛膝、合欢皮、黄芪、黄芩和香薷、秦艽、锁阳、野菊花、青果、覆盆子、石榴皮、糊精、绵茵陈、桔梗等中药的电化学指纹图谱分别见图 4 和 5。由指纹图谱可见，因不同中药对 B-Z 振荡反应的不同影响，导致 $E-t$ 曲线的诱导时间、峰值时间、振荡周期、振荡寿命、最高电位、初始电位、停振电位、平衡电位、振荡幅度等可量化信息和诱导曲线、振荡

曲线、停振曲线、振荡波形等直观信息的不同变化，即各种中药均具有相应的电化学指纹图谱。故利用电化学指纹图谱可方便地对各种中药进行区别和鉴定。此外，利用电化学指纹图谱还可对不同产地或采收季节的同种中药质量进行评价。

(ii) 中药质量评价。(1) 对同种单味中药质量的评价。一般情况下中药活性成分的含量随化学成分的含量增高而增高，而电化学指纹图谱含有丰富的成分定量信息^[4]。如其中诱导时间、振荡周期、振荡寿命和最大振幅等定量信息与中药活性成分的整体含量(x)的关系可分别表示为 $t_{\text{诱导}} = k_1x + b_1$ ， $\tau_{\text{振荡}} = -k_2x + b_2$ ， $t_{\text{振荡}} = -k_3 + b_3$ 和 $\Delta E_{\text{max}} = -k_4x + b_4$ ($k_i > 0$, $i = 1, 2, 3, 4$)。因此，利用电化学指纹图谱可比较同种不同源的中药化学活性成分的整体相对含量。以不同产地的甘草的电化学指纹图谱为例来进行讨论。按照“实验方法”，加入 0.5000 g 粒度为 0.10~0.15 mm 的不同产地的甘草粉末检测电化学指纹图谱，结果见图 6。由图可见，对于不同源的同种中药，其电化学指纹图谱具有明显的共同特征。如不同产地甘草的电化学指纹图谱中诱导曲线形状(图 6(b)除外)的起伏变化趋势相同，说明这些中药对 B-Z 体系中诱导反应机理产生影响的化学成分相同；此外，各指纹图谱中有基本相同的最高电位和平衡电位，都缺乏明显的停振曲线。这些共同的特征使相应指纹图谱的形状大致相似，均体现出甘草化学成分的群集特征，而明显区别于其他中药指纹图谱(参见图 4 和 5)。但不同产地的甘草指纹图谱的诱导时间、振荡寿命、振荡幅度和振荡周期等定量信息均有不同程度的差别。这些差别表明，尽管 4 个产地的甘草所含化学成分或活性成分的种类大致相同，但生长气候、地域或采收季节等因素的差异导致了其成分含量不同。根据中药成分含量与定量信息的线性关系，由图 6 可见，4 种产地甘草的活性成分含量顺序是：甘肃产甘草 $\geq$ 内蒙产甘草 $>$ 山西产甘草 $>$ 新疆产甘草。

这些指纹图谱分析也表明，从活性成分含量来

表 1 桔梗电化学指纹图谱各种信息指标的重现性

编号	E_{min}/V	E_{max}/V	$t_{\text{诱导}}/\text{s}$	$t_{\text{振荡}}/\text{s}$	$t_{\text{峰值}}/\text{s}$	$t_{\text{停振}}/\text{s}$	$\tau_{\text{振荡}}/\text{s}$	$\Delta E_{\text{max}}/\text{mV}$	$E_{\text{起振}}/\text{V}$	$E_{\text{停振}}/\text{V}$	$E_{\text{平衡}}/\text{V}$
1	0.121	1.068	406	886	49.1	1292	3.32	55.3	0.864	0.803	0.801
2	0.126	1.067	408	861	48.6	1269	3.28	55.0	0.863	0.801	0.799
3	0.122	1.070	405	873	48.8	1278	3.29	55.1	0.863	0.807	0.805
RSD (%)	2.2	0.15	0.39	1.4	0.52	0.91	0.64	0.29	0.082	0.28	0.38

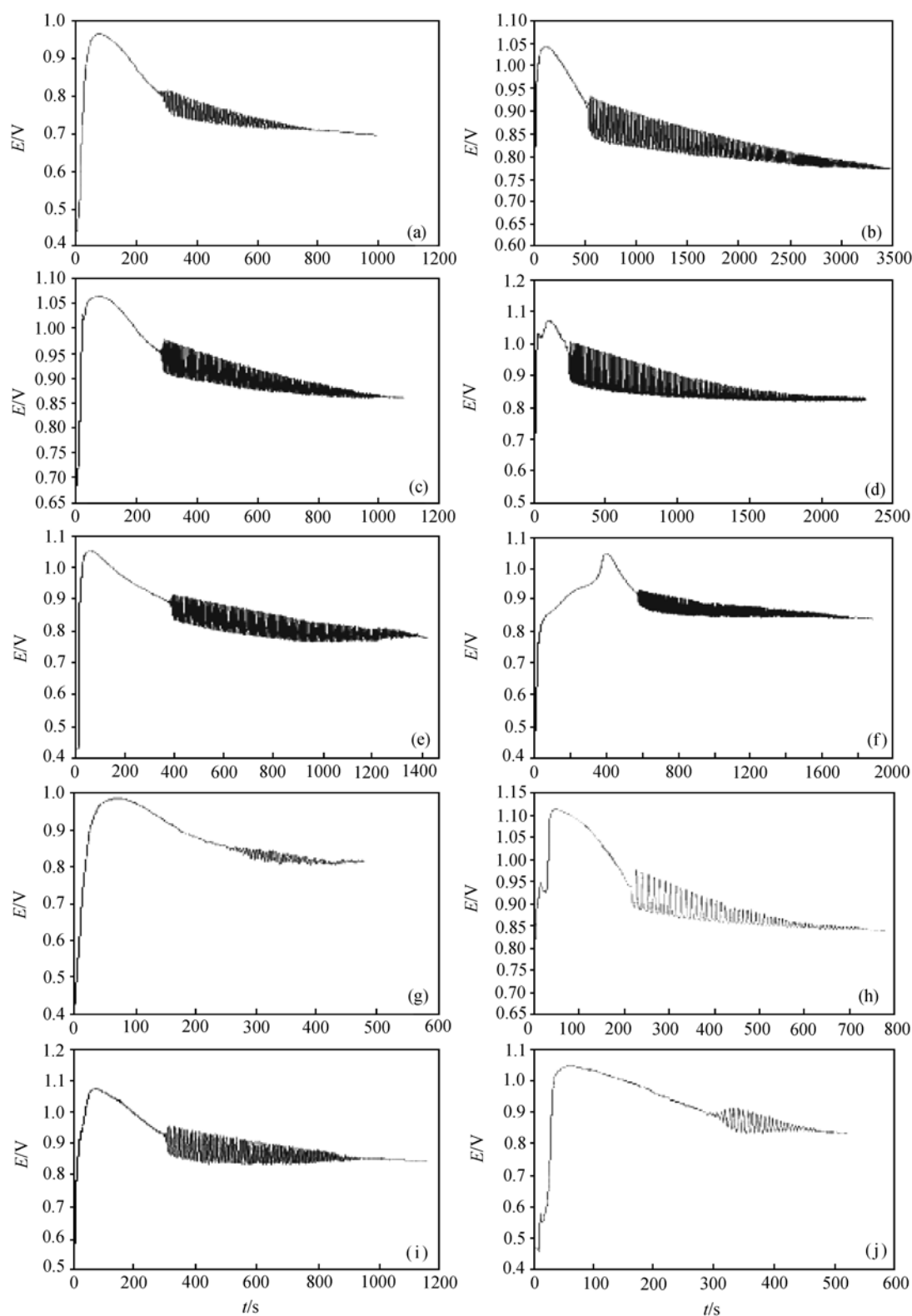


图4 部分单味中药电化学指纹图谱

(a) 石斛; (b) 陈皮; (c) 当归; (d) 夏枯草; (e) 辛夷花; (f) 红花; (g) 淮牛膝; (h) 合欢皮; (i) 黄芪; (j) 黄芩

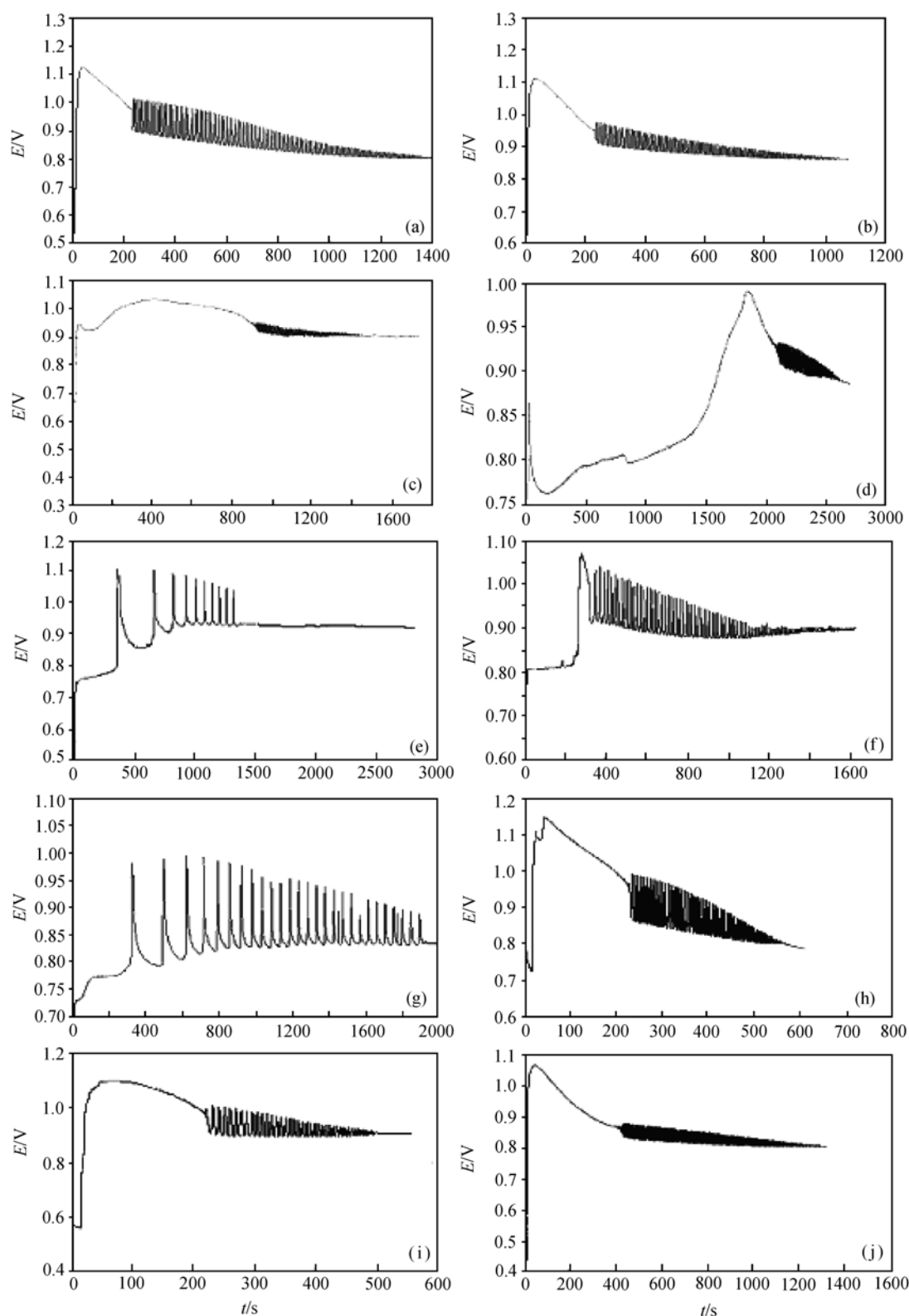


图 5 部分单味中药电化学指纹图谱

(a) 香薷; (b) 秦艽; (c) 锁阳; (d) 野菊花; (e) 青果; (f) 覆盆子; (g) 石榴皮; (h) 糊精; (i) 棉茵陈; (j) 桔梗

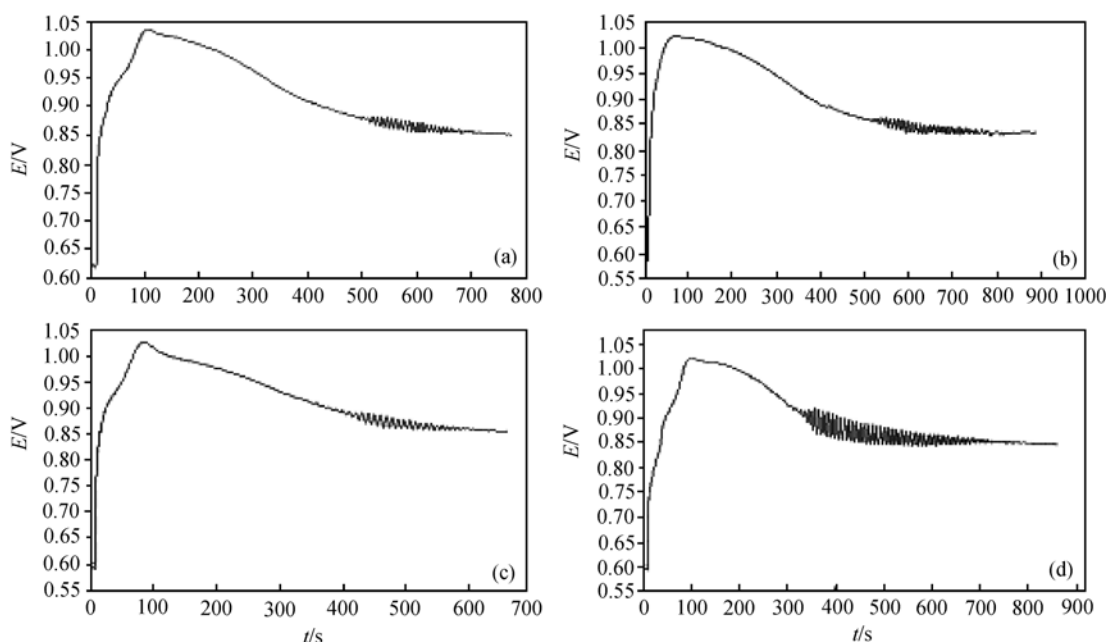


图6 不同产地的甘草电化学指纹图谱

(a) 甘肃产; (b) 内蒙产; (c) 山西产; (d) 新疆产

看,甘肃和内蒙很适合甘草种植,而新疆因生长环境或采收季节的问题使得提供的甘草质量不很理想,山西甘草质量属于中等.由B-Z振荡体系的基本过程及其 $E-t$ 关系表达式的讨论分析可知,对B-Z诱导反应机理的不同影响会导致不同形状的诱导曲线,故从图6中(b)与(a), (c), (d)的比较还可以看出,内蒙产甘草的指纹图谱中的诱导曲线与甘肃、山西、新疆的明显不同(主要在出现最高电位以前).这说明内蒙甘草中至少有一种化学活性成分与其他三地产的甘草不同.

(2) 对同种复方中药质量的评价. 以生产日期接近的不同厂家六味地黄丸的电化学指纹图谱为例来讨论.按照“实验方法”,加入1.000 g干燥至恒重、粒度为0.075~0.100 mm的粉末状六味地黄丸,检测其电化学指纹图谱,结果见图7.由图可见,各厂家六味地黄丸的电化学指纹图谱很有相似之处,尤其是具有相同起伏变化的诱导曲线,体现出六味地黄丸的化学成分的共同特征,即它们所含化学成分或活性成分种类大致相同,说明这些指纹图谱所代表的是同一种中药——六味地黄丸.但不同厂家的六味地黄丸指纹图谱的各种定量信息均有不同程度的差别,尤其是湖北清和药业的六味地黄丸的指纹图谱没有振荡曲线,说明其含有相对较多的化学活

性成分,即在4种来源的六味地黄丸中其化学活性成分含量最高.另取0.5000 g干燥至恒重、粒度为0.075~0.100 mm的湖北清和药业六味地黄丸在同样条件下进行测定,电化学指纹图谱见图8.由该指纹图谱的定量信息可见,湖北清和药业的六味地黄丸的化学活性成分的含量远高出其他3个厂家的;广东雷霆药业六味地黄丸和江西仁丰药业的药性质量相当;湖北香莲药业六味地黄丸的化学活性成分含量最低.根据中药指纹图谱中化学成分含量与定量信息的线性关系,可以看出4个厂家的六味地黄丸的活性成分含量顺序是:湖北清和药业六味地黄丸>广东雷霆药业六味地黄丸>江西仁丰药业六味地黄丸>湖北香莲药业六味地黄丸.

根据该指纹图谱分析,湖北清和药业的六味地黄丸因化学活性成分含量很高,药效会比较好.当生产日期、有效期、瓶装量和单价等相近时,商家和用户应尽可能选购湖北清和药业的六味地黄丸(当然,应结合药理实验和临床应用效果方可做出最后结论).从六味地黄丸指纹图谱的特征分析可知,与适用于单味中药的鉴定和质量评价一样,电化学指纹图谱也适用于复方中药的鉴定和评价.

2.5 中药电化学指纹图谱的特点

研究表明,中药电化学指纹图谱的特点为:(i)

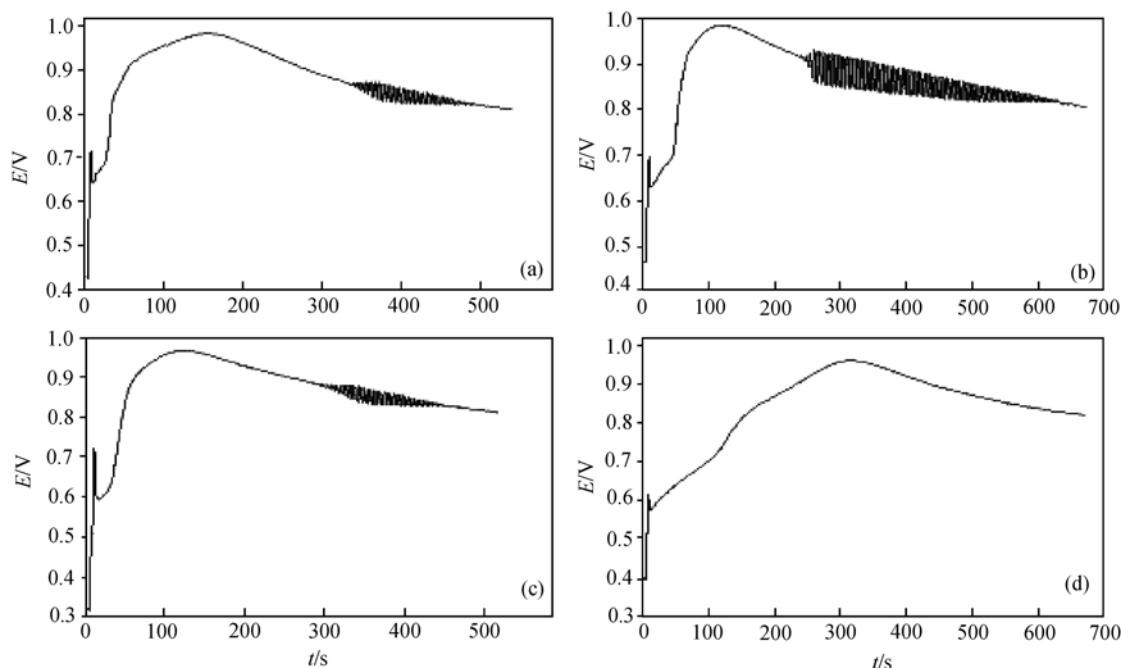


图 7 不同厂家六味地黄丸的电化学指纹图谱

(a) 广东雷霆药业; (b) 湖北香莲药业; (c) 江西仁丰药业; (d) 湖北清和药业

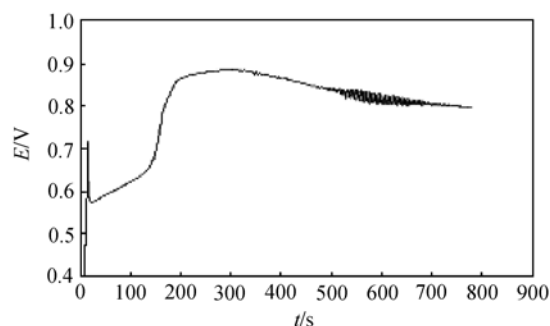


图 8 湖北清和药业六味地黄丸的电化学指纹图谱

检测用量 0.5000 g

各种相态(液、固)、剂型(膏、汤、丸、散、注射液和口服液)、配伍(单味、简单和复杂复方)和化学类型(简单体系和复杂体系、有机物和无机物、微量元素和分子、高沸点和低沸点物质),即只要能准确称取或量取的药物(天然和人工药物)均可直接利用电化学指纹图谱进行研究。(ii) 电化学指纹图谱直观明了,作为中药整体成分的群集表征,因含有丰富的定性和定量信息,因而可直接根据其指纹图谱的形状和定性、定量参数来鉴定和评价中药,因而简便快速,易于在各种行业 and 知识层次的分析人员中推广应用。(iii) 电化学指纹图谱具有很好的重现性。在相同测定条件下,同种同源(包括采收季节)的原药材或中成

药,因其化学组成及其含量相同,可获得完全相同的指纹图谱。指纹图谱的形状或定性和定量参数改变则意味着中药质量或药效的改变,因而可利用电化学指纹图谱对中药的生产和质量进行监控,实现标准化生产和质量管理。(iv) 电化学指纹图谱检测仪器便宜,可自行研制,分析研究成本低。

3 结论

在一定检测条件下,不同种类的中药因其化学成分及其含量的差别,对 B-Z 反应将产生不同的影响。这些影响不仅包括对反应溶液物理性质的影响,也包括对诱导和振荡反应机理产生的影响。这些影响不仅导致 B-Z 反应的诱导时间、振荡周期、振荡幅度和振荡寿命等可量化参数的变化,而且也会引起诱导曲线、振荡曲线、振荡波形乃至整个 $E-t$ 曲线等直观形状的变化。在 B-Z 振荡体系中加入不同中药引起 $E-t$ 曲线形状的不同变化,不仅使得相应的 $E-t$ 曲线完全不同于同一测定条件下纯 B-Z 体系的 $E-t$ 曲线,更重要的是能体现不同中药内在的化学物质特征。这表明 B-Z 振荡体系中加入中药后获得的 $E-t$ 曲线可看作相应中药化学成分或电活性物质的群集表征,即电化学指纹图谱。中药电化学指纹图谱不仅具有很好的重现性,而且包含丰富的可量化信息和直观信

息. 利用这些信息可从整体上分析中药的化学成分, 从而对中药进行鉴别或质量评价. 电化学指纹图谱在单味和复方中药的鉴别和质量评价中的应用研究表明, 电化学指纹图谱技术是一种经济、简便、易行和有效的鉴别与评价中药的科学方法.

参 考 文 献

- 1 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 等. 中药电化学指纹图谱的检测方法及其条件因素. 科学通报, 2007, 52(9): 1012—1020
- 2 Pavel D, Jitka M. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. J Chromat B, 2004, 812: 3—21[DOI]
- 3 Yan S K, Xin W F, Luo G A, et al. An approach to develop two-dimensional fingerprint for the quality control of Qingkailing injection by high-performance liquid chromatography with diode array detection. J Chromat A, 2005, 1090: 90—97[DOI]
- 4 Zhang J L, Cui M, He Y, et al. Chemical fingerprint and metabolic fingerprint analysis of Danshen injection by HPLC-UV and HPLC-MS methods. J Pharm B, 2005, 36: 1029—1035[DOI]
- 5 Yang L W, Wu D H, Tang X, et al. Fingerprint quality control of Tianjihuang by high-performance liquid chromatography-photo-diode array detection. J Chromat A, 2005, 1070: 35—42[DOI]
- 6 Xie P S, Chen S B, Liang Y Z, et al. Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. J Chromat A, 2006, 1112: 171—180[DOI]
- 7 Cao Y H, Wang L C, Yu X J, et al. Development of the chromatographic fingerprint of herbal preparations of Shuang-Huang-Lian oral liquid. J Pharm B, 2006, 41: 845—856[DOI]
- 8 Gu M, Fan O Y, Su Z G. Comparison of high-speed counter-current chromatography and high-performance liquid chromatography on fingerprinting of Chinese traditional medicine. J Chromat A, 2004, 1022: 139—144[DOI]
- 9 郭方遒, 梁逸曾, 黄兰芳, 等. 茵陈挥发油 GC-MS 指纹图谱分析. 高等学校化学学报, 2005, 26(11): 2027—2030
- 10 Cui S F, Fu B Q, Frank S C L, et al. Application of microemulsion thin layer chromatography for the fingerprinting of licorice (*Glycyrrhiza* spp.). J Chromat B, 2005, 828: 33—40[DOI]
- 11 Gu M, Zhang G F, Su Z G, et al. Identification of major active constituents in the fingerprint of *Salvia Miltiorrhiza* Bunge developed by high-speed counter-current chromatography. J Chromat A, 2004, 1041: 239—243[DOI]
- 12 Gu M, Zhang S F, Su Z G, et al. Fingerprinting of *Salvia Miltiorrhiza* Bunge by non-aqueous capillary electrophoresis compared with high-speed counter-current chromatography. J Chromat A, 2004, 1057: 133—140[DOI]
- 13 Sun Y, Guo T, Sui Y, et al. Fingerprint analysis of *Flos Carthami* by capillary electrophoresis. J Chromat B, 2003, 792: 147—152[DOI]
- 14 Liu H X, Sun S Q, Lv G H, et al. Discrimination of extracted lipophilic constituents of *Angelica* with multi-steps infrared macro-fingerprint method. Vib Spectr, 2006, 40: 202—208[DOI]
- 15 Xu C H, Sun S Q, Guo C Q, et al. Multi-steps infrared macro-fingerprint analysis for thermal processing of *Fructus Viticis*. Vib Spectr, 2006, 41: 118—125[DOI]
- 16 王俊, 蔡汝秀, 林智信. 生物酶振荡分析研究咖啡因抗氧化性能的新方法. 科学通报, 2003, 48(8): 797—801
- 17 贺占博, 黄智, 顾惕人. 在 CMC 附近不同浓度表面活性剂对 B-Z 振荡反应的影响. 科学通报, 1995, 40(24): 2244—2247
- 18 祁丰, 姚鹏鹏, 辛厚文. 噪声性质对 B-Z 流动反应体系随机共振影响的模拟. 中国科学 B 辑: 化学, 2000, 30(5): 399—404
- 19 Wang J, Yang S T, Cai R X, et al. A new method for determination of uric acid by the lactic acid-acetone- BrO_3^- - Mn^{2+} - H_2SO_4 oscillating reaction using the analyte pulse perturbation technique. Talanta, 2005, 65: 799—805[DOI]
- 20 Gao J Z, Ren J, Yang W, et al. Kinetic determination of hydroquinone by a Belousov-Zhabotinskii oscillating chemical reaction. J Elec Chem, 2002, 520: 157—161[DOI]
- 21 Gao J Z, Ren J, Yang W, et al. Determination of caffeine using oscillating chemical reaction in a CSTR. J Pharm B, 2003, 32: 393—400[DOI]
- 22 辛厚文. 非线性化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999. 4—7
- 23 张业中, 安从俊, 丁宗洲, 等. NO_2^- -三乙醇胺对 B-Z 振荡反应的影响. 化学研究与应用, 2004, 16(3): 356—358
- 24 Field R T, Körös E, Noyes R M. Oscillation in chemical system. II. Thorough analysis of temporal oscillation in the bromate-cerium-malonic acid system. J Am Chem Soc, 1972, 94(25): 8649—8664
- 25 李和兴, 陆靖, 李鹏宏. 生物表面活性剂和氨基酸或多肽构成的界面振荡. 科学通报, 1998, 43(3): 265—267