

非线性化学指纹图谱技术在鉴别和评价甘草及其临床应用中的作用

方宣启^①, 张泰铭^{①*}, 赵哲^①, 向凤琴^①, 梁逸曾^①, 王玫^①, 朱蓉^①, 成庶^②, 丁峰^①, 乔君喜^①

① 中南大学化学化工学院中药现代化研究中心, 长沙 410083;

② 中南大学信息工程学院, 长沙 410083

* 联系人, E-mail: taimingzhang@163.com

2009-08-26 收稿, 2010-04-13 接受

科技部科技人员服务企业行动项目资助(2009GJD20033)

摘要 非线性化学指纹图谱技术是一种从非线性化学的角度来研究中药的新技术. 采用非线性化学指纹图谱技术, 获得了来自 4 个不同产地的甘草样本以及其他 14 种中药的诱导时间相同的非线性化学指纹图谱, 并用一种基于相似系统理论的新方法进行了相似度计算. 非线性化学指纹图谱的直观信息、相似度计算结果都能很好地将甘草从其他中药中鉴别出来. 根据甘草指纹图谱诱导时间与检测用量的关系, 计算了 4 个产地甘草活性成分的整体相对含量, 并建立了 4 个不同产地甘草活性成分的当量关系. 非线性化学指纹图谱技术为甘草的鉴别和评价提供了一种新的方法, 为甘草的临床用药以及配伍提供用量依据, 对提高中药用药安全和疗效稳定具有积极作用.

关键词

非线性化学指纹图谱
鉴别
评价
甘草
中药

中药是十分复杂的黑色分析体系, 其作用机制、活性原理多不清楚. 经过一个多世纪的植物化学研究和药理药效的探讨, 人们越来越认识到中药的药效基本上不是来自任何一种或几种活性成分, 而是多种活性成分, 甚至与“非活性成分”的协同作用或“生克作用”有关^[1]. 因此, 仅凭其中若干成分分析指标来判定中药的真伪或评价其质量, 不仅缺乏科学严谨性, 而且往往为假冒伪劣产品进入市场提供可乘之机, 故鉴别评价中药时应该对中药或其制剂的成分进行整体或综合的分析^[2]. 目前, 指纹图谱技术已成为国际公认的控制中药和天然药物质量最有效的手段^[3], 国内相关领域的学者做了大量研究, 取得了很多研究成果, 如高效液相色谱指纹图谱^[4~6]、气相色谱指纹图谱^[7]、薄层色谱指纹图谱^[8]、高速逆流色谱指纹图谱^[9]、毛细管电泳指纹图谱^[10,11]和红外光谱指纹图谱^[12,13]等. 但上述指纹图谱技术通常需对中药样品进行预处理, 所使用仪器也较昂贵. 因此, 有必要发

展简单、快速的指纹图谱新方法, 以使指纹图谱方法得以广泛使用, 从而使中药得以有效鉴别和质量控制.

化学振荡作为非线性化学领域里一种常见现象, 国内外学者对其反应机理^[14~18]以及在单个成分分析检测中的应用^[18~20]等进行了广泛深入的研究, 但将化学振荡用于表征中药复杂体系成分群集特征的指纹图谱研究, 国外未见报道, 国内也起步较晚. 2004 年, 李宗孝等^[1,21]提出, 含振荡反应底物的不同中药可使原本不能振荡的“ $H^+ + Mn^{2+} + BrO_3^- + \text{丙酮}$ ”体系产生相应不同的化学振荡波形, 从而可获得表征其特征的振荡波曲线, 并提出了“中药振荡指纹图谱”的概念. 随后, 张孟民^[22]、王媛^[23]等又发表了基于上述同一体系的其他含振荡反应底物的中药振荡指纹图谱^[22,23]. 张泰铭等利用原本能振荡的“ $H^+ + Ce^{3+} + Br^- + BrO_3^- + \text{丙二酸}$ ”体系, 根据不同中药所含化学成分的種類和含量不同, 从而对含众多基元反应的 B-Z 振荡反应的抑制、干扰或反应机理的影响不同, 表

英文版见: Fang X Q, Zhang T M, Zhao Z, et al. Application of nonlinear chemical fingerprinting to identification, evaluation and clinical use of Glycyrrhiza. Chinese Sci Bull, 2010, 55, doi: 10.1007/s11434-010-3285-2

现为相应电位-时间函数关系曲线形状不同,可获得含有丰富定性和定量信息,能体现各种不同中药特征的 $E-t$ 曲线,对中药快速鉴别很有意义,提出了“中药电化学指纹图谱”的概念,并对其形成的原理、特点、热力学和动力学条件、检测方法和应用等进行了系统的研究,于2007年发表了初步研究结果^[24,25],强调了该指纹图谱中体现中药特征的不仅仅是振荡波形,其中振荡寿命、振荡周期、振荡曲线,以及非振荡的诱导曲线、停振曲线和诱导时间等都是该指纹图谱中不可或缺的重要信息,而且有些是中药化学成分整体的定量信息.这种指纹图谱的形成机理中除涉及氧化还原反应外,还可能含有中和、沉淀、配合、自由基及离子缔合等反应.中药无论是通过何种反应底物诱导某一稳态化学体系产生不同的振荡,还是对某一非稳态化学体系的振荡产生不同的抑制、干扰和对其机理的影响,从而产生新的化学振荡或其他化学混沌现象,相应指纹图谱的形成机制都是基于非线性化学原理.因此,本文提出了较确切的“中药非线性化学指纹图谱”的概念,并在前期工作基础上^[24,25],针对适合中药非线性化学指纹图谱相似度计算与评价的相似系统理论方法和图谱信息,及其在临床中的应用进行研究.

甘草为豆科植物甘草、胀果甘草、光果甘草的干燥根及根茎,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效^[26],是我国2000多种草药中用量最大的一味药材,素有“十方九草,无草不成方”之说.甘草所含成分复杂,含有甘草酸等三萜类、黄酮类化合物以及香豆素类和生物碱类化合物等.不同产地的甘草由于气候和生态环境等的影响,所含成分的组成和含量也存在一定差异^[6].这些差异给临床用药带来疗效的不确定性.因此,在用药前,对甘草的真伪进行鉴别,对不同产地、不同批次的甘草的质量进行评价十分必要.本文采用非线性化学指纹图谱技术,结合基于相似系统理论的整体相似度,以甘草为例进行中药真伪鉴别和质量评价.

1 理论部分

相似系统理论^[27,28]是用系统组成的要素及其特征来表述系统的相似度.假设有A和B两个系统,则它们的相似程度大小是系统A和B组成要素的数量 k 和 l ,系统相似要素的数量 n ,以及反应每对相似要素相似程度大小的值 $q(u_i)$ 的多元函数,其数学表达式为:

$$Q = f(k, l, n, q(u_i)). \quad (1)$$

系统的相似度可从相似要素的数目和相似要素的相似程度两方面来考虑,由相似要素的数目决定的相似度称为数目相似度,由相似要素的相似程度决定的相似度称为程度相似度.按照相似系统理论,因系统A和系统B分别由 k 个要素 $(a_1, a_2, a_3, \dots, a_i, \dots, a_k)$ 和 l 个要素 $(b_1, b_2, b_3, \dots, b_i, \dots, b_l)$ 组成,两个系统的相似要素有 n 个,故数量相似度 Q_n 为:

$$Q_n = n / (k + l - n). \quad (2)$$

在系统A和B的 n 个相似要素中,对应的相似要素(既每对相似要素) a_i, b_i 组成相似元,记为 u_i ,第 i 个相似元的值用 $q(u_i)$ 表示,则程度相似度 Q_u 为

$$Q_u = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n q(u_i). \quad (3)$$

假设每个相似要素有 m 个特征值,则每个相似元有 m 对特征值, m 对特征值对应的比例系数及其特征权数分别为 r_{ij} 和 $d_{ij}(i=1, 2, 3, \dots, n; j=1, 2, 3, \dots, m)$,则有

$$q(u_i) = \frac{1}{m} \sum_{j=1}^m d_{ij} r_{ij}, \quad (4)$$

其中 $r_{ij} = \frac{\min(a_{ij}, b_{ij})}{\max(a_{ij}, b_{ij})}$, $\min(a_{ij}, b_{ij})$ 和 $\max(a_{ij}, b_{ij})$,分别表示A和B系统之间第 i 个相似元的第 j 对特征值中较小值和较大值.则式(3)可变为:

$$Q_u = \frac{1}{nm} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m d_{ij} r_{ij}. \quad (5)$$

系统间相似度可以表示为数量相似度 Q_n 和程度相似度 Q_u 的乘积,称为乘积相似度,记为 $Q_{\text{积}}$:

$$Q_{\text{积}} = Q_n \times Q_u. \quad (6)$$

系统间相似度也可以表示为数量相似度 Q_n 和程度相似度 Q_u 的平均值,称为平均相似度,记为 $Q_{\text{平}}$:

$$Q_{\text{平}} = (Q_n + Q_u) / 2. \quad (7)$$

非线性化学指纹图谱中指纹峰的意义与色谱指纹峰不同,色谱峰代表一种以上组分随时间流出的状况,一般不涉及化学反应,而非线性化学指纹图谱的指纹峰代表其化学反应机理中物质随时间的非线性变化,如振荡曲线中一个指纹峰代表非线性化学反应的一个振荡周期^[24,25].因此,非线性化学指纹图

谱具有丰富的定性和定量化学信息. 本文将指纹图谱中相同信息参数作为相似要素, 最低电位、最高电位、最高电位峰时间(即峰值时间)、诱导时间、起振电位、停振电位、停振时间、振荡周期、振荡寿命、最大振幅等^[24,25]的大小作为各相似要素的特征值. 采用乘积相似度方法, 则 A 和 B 两指纹图谱的相似度可用式(6)计算. 在非线性化学指纹图中, 由于每个指纹图谱的可量化参数数目一样, 即 $k=l=n$, 所以 $Q_n=1$. 每个相似要素也只有一个特征值, 即 $m=1$. 对非线性化学指纹图谱而言, 有关特征权数均可取为 1, 因此, 其乘积相似度为

$$Q_{\text{积}} = Q_u = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{\min(a_i, b_i)}{\max(a_i, b_i)}, \quad (8)$$

式中 n 表示参数的个数, a_i, b_i 分别表示 A 和 B 图谱中的第 i 个参数.

2 实验

(i) 主要仪器. 非线性化学指纹图谱智能分析仪(MZ-1A 型, 湖南省湘潭市仪器仪表成套制造有限公司); 217型复合甘汞电极和213型金属铂电极(上海精密科学仪器有限公司). Agilent 1100 HPLC-DAD 系统, 含在线真空脱气机、高压梯度泵、二极管阵列检测器, HP Chemstation 色谱工作站.

(ii) 主要试剂和材料. 1 mol/L 硫酸; 1 mol/L 丙二酸(以 1.0 mol/L H_2SO_4 溶液配制); 0.8 mol/L 溴酸钠; 0.01 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℃ 恒温槽中待用. 所用中药样品除安徽产甘草购于湖南长沙千金大药房、宁夏产甘草购于长沙芝林大药房外, 其余中药均购自长沙老百姓大药房. 甲醇为色谱纯, 实验用水为超纯水, 无水乙醇为分析纯.

(iii) 实验方法. 准确加入适量筛分后干燥至恒重的中药粉末、40 mL H_2SO_4 溶液和 20 mL 丙二酸溶液于反应器中, 盖好带注射孔和电极的反应器盖. 开启超级恒温仪调节反应器内温度为 37.0℃, 恒温、恒速搅拌 20.0 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, 记录非线性电化学指纹图谱至电位振荡消失并出现电位平衡曲线为止. 色谱条件参见文献[6].

3 方法学考察

3.1 稳定性实验

取甘肃产甘草药材为供试品, 分别在 0, 2, 8, 24, 48 h 实验, 检测指纹图谱, 以 5 次实验的指纹图谱的参数平均值为参照, 每个图谱的整体相似度值分别为 0.9985, 0.9991, 0.9989, 0.9977 和 0.9987, 结果表明, 该供试品 48 h 内稳定.

3.2 重复性实验

取甘肃产甘草药材 5 份为供试品, 平行测定 5 次, 检测指纹图谱, 考察该方法的重复性, 以 5 次实验的指纹图谱的参数平均值为参照, 每个图谱的整体相似度值分别为 0.9985, 0.9989, 0.9994, 0.9991 和 0.9986, 结果表明, 该方法具有良好的重复性, 符合中药指纹图谱的要求.

4 结果与讨论

4.1 指纹图谱测定基于的非线性化学体系

非线性化学反应体系很多, 作为一种典型的非线性化学现象, 振荡反应不但有催化振荡反应, 也有非催化振荡反应, 其反应机理均很复杂. 以硫酸铈铵为催化剂的 B-Z 化学振荡反应机理中涉及 80 多个基元反应和 26 种化学物质^[26]. 因其包含的基元反应众多, 是一个建立中药指纹图谱较理想的非线性化学体系^[24], 本文以基于该体系的中药非线性化学指纹图谱来进行研究.

4.2 指纹图谱的获取原则

中药非线性化学指纹图谱的形状和参数信息, 不仅与中药种类有关, 还与中药成分的含量有关. 在所有中药指纹图谱技术中, 在评价不同源的同种中药质量时, 要求其指纹图谱尤其是其定量信息之间应有明显差异, 但在鉴别中药真伪时, 要求不同源的同种中药具有相同或相似的指纹图谱. 因此, 根据中药成分含量(或检测用量)与定量信息之间的定量关系^[24,25], 在评价不同源同种中药质量时, 采用相同的检测用量以获得整体成分定量信息不同的指纹图谱; 在利用相似度鉴别中药真伪时, 则适当改变不同来源同种中药的检测用量以获得相同或相似的指纹图谱.

另外, 在诱导时间相同时, 尽管不同源的同种中

药一般会产生相同或相似的指纹图谱,但对不同种类的中药则产生形状和其他参数信息明显不同的图谱.因此,本研究中通过适当改变中药检测用量来获得诱导时间 $t_{\text{诱导}}$ 基本相同的各种中药的非线性化学指纹图谱,这样可避免利用指纹图谱技术鉴别中药真伪时出现误判.

4.3 参数信息

按试验方法和指纹图谱获取原则,获得了诱导时间为 327.32 s 的 4 个产地(安徽、甘肃、内蒙、宁夏)甘草的指纹图谱(图 1);且获得了与上述诱导时间相同的黄芪、丁公藤、白扁豆、活血藤、白芍、败酱草、稻芽、漏芦、老钩藤、侧柏叶、香加皮、桑枝、益母草等 14 种药材的非线性化学指纹图谱(图 1). 其参数信息见表 1.

4.4 甘草药材的真伪鉴别

(1) 从直观信息鉴别. 现有的指纹图谱方法,无论色谱或波谱指纹图谱,其特征差异大多并不直观或明显,必须通过模糊数学或化学计量学方法来提取其特征,实际上该提取特征本身已游离于直观的指纹图谱之外.相对而言,非线性化学指纹图谱的直观性一般很强.不同中药的指纹图谱呈现不同的形状,差异明显,而同种中药因化学成分相似其形状也相似.如图 1 所示,4 个产地甘草的非线性化学指纹图谱诱导曲线、振荡曲线的起伏变化趋势相同,整体形状相似.与甘草指纹图谱相比,除黄芪、陈皮的指纹图谱与甘草差异较小,需仔细比较方能判别外,其余 12 种中药的指纹图谱从直观上看,有明显的差异.为了清晰地比较甘草与黄芪、陈皮指纹图谱的差别,将其指纹图谱画在同一坐标内,见图 2.由图可见,黄芪和陈皮的诱导曲线较为圆滑,振幅稍大,甘草的诱导曲线峰较尖,振幅较小;黄芪达到最高电位所需的时间较甘草短,而陈皮达到最高电位所需的时间较甘草长.因此,仅通过比较甘草与其他药材的非线性化学指纹图谱的直观信息,就可将甘草鉴别出来.

(2) 相似度评价. 因非线性化学指纹图谱的形成原理和包含信息与其他指纹图谱的差别,故适合色谱、光谱指纹图谱相似度评价的峰重叠法及其他评价方法难以适用于非线性化学指纹图谱的相似度评价.根据非线性化学指纹图谱具有较其他指纹图谱更为丰富的定性与定量信息的特点,根据式(8),以 4 批不

同产地甘草的非线性化学指纹图谱的参数平均值作参照,计算了基于指纹图谱参数的 18 批药材(其中包括 4 个不同产地的甘草)的整体相似度值,结果见表 2.由表 2 结果可见,不同产地甘草的相似度均大于 0.96,而其他 14 味中药材的相似度均小于 0.873.从数学统计角度来看,当获得的相似度数 n 值足够大($n \geq 50$)时,同种中药之间最小相似度与非同种中药之间最大相似度的平均值可作为鉴别中药真伪的判据.显然,可将 $(0.962+0.873)/2 = 0.918$ 作为鉴别甘草真伪判据的近似估计值,利用它可方便地将甘草与其他中药鉴别开来.

4.5 不同产地甘草的质量评价

(1) 中药质量评价的指标. 传统的中药质量标准采用化学对照品(单一化合物)或者对照药材(相对固定的混合物)作为参比标准,用这些已知化学物控制中药质量.但是,这些已知化学成分本身一般难以代表相应中药的全部疗效,因为一些未知化学成分常常对药理起重要作用,而这些未知化学成分表现出成分复杂、种类繁多的特点.中药色谱指纹图谱是在考察指纹图谱相似度或聚类分析的基础上,选取一组或几组特征峰作为中药质量的评价指标.由图 3 中宁夏、甘肃、安徽、内蒙 4 个产地甘草的色谱指纹图谱可见,这些产地甘草的化学成分大体相同,但各组分的含量依产地体现不同的变化规律,见图 4.从图 4 中(a)可知,安徽产的 A 组分含量最高,甘肃产含量最低,内蒙和宁夏产甘草 A 组分含量相当;从图 4(b)可见,内蒙产甘草 B 组分含量最高,而安徽产甘草含量最低,显然,甘草中 A 和 B 组分含量随产地变化不一样.由此可见,根据单一成分含量来判断中药质量缺乏科学严谨性,而且一般说来,中药化学成分整体含量越高,中药活性成分整体含量就越高,这就凸显出根据中药活性成分整体含量来评价中药质量的重要性,也符合中医治病原理及中药作用特点.本文提出用活性成分整体含量来作为中药质量评价的指标.

(2) 诱导时间与检测用量的关系. 实验结果表明,不考虑检测用量范围时,定量信息与活性成分整体相对含量的关系实际上是较复杂的,大多是高次函数关系.但在适当检测用量范围内,定量信息与检测用量或活性成分整体相对含量成线性关系.作者按“实验方法”,在反应器中分别加入粒度为 0.10~0.15 mm 的甘肃产甘草粉末 0.2000, 0.2500,

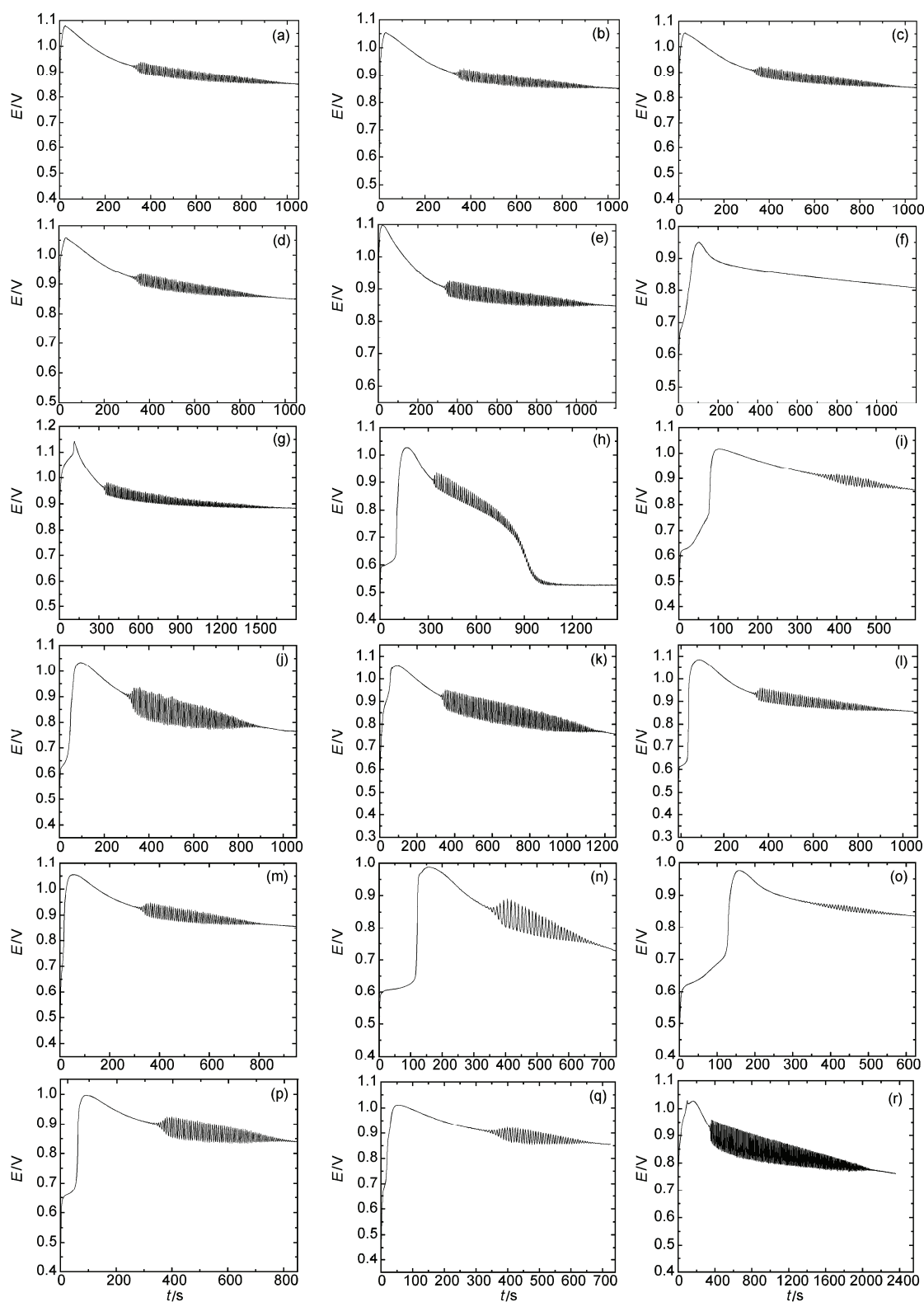


图 1 18 批中药的非线性化学指纹图谱

(a) 安徽产甘草; (b) 甘肃产甘草; (c) 内蒙产甘草; (d) 宁夏产甘草; (e) 黄芪; (f) 丁公藤; (g) 白扁豆; (h) 活血藤; (i) 白芍; (j) 败酱草; (k) 稻芽; (l) 漏芦; (m) 陈皮; (n) 老钩藤; (o) 侧柏叶; (p) 香加皮; (q) 桑枝; (r) 益母草

表 1 各种药材的非线性化学指纹图谱的参数信息

中药名称	最低电位/V	最高电位/V	峰值时间/s	起振电位/V	停振时间/s	停振电位/V	振荡周期/s	振荡寿命/s	最大振幅/V
甘草(安徽)	0.538	1.079	26.3	0.923	1001.3	0.864	8.44	682.0	0.035
甘草(甘肃)	0.516	1.060	31.3	0.916	947.8	0.862	8.52	619.1	0.039
甘草(内蒙)	0.524	1.058	29.0	0.909	984.3	0.848	8.38	669.3	0.039
甘草(宁夏)	0.551	1.053	34.0	0.915	914.9	0.863	8.21	583.2	0.037
黄芪	0.608	1.098	23.0	0.897	1133.0	0.850	7.24	805.0	0.049
丁公藤	0.526	0.950	104.0	— ^{a)}	—	—	—	—	—
白扁豆	0.508	1.1416	114.0	0.964	1684.0	0.884	11.4	1255.0	0.046
活血藤	0.487	1.027	164.0	0.907	1134.0	0.592	13.4	809.0	0.062
白芍	0.410	1.016	101.0	0.915	593.0	0.856	7.1	263.0	0.036
败酱草	0.419	1.034	95.0	0.900	942.0	0.777	8.7	618.0	0.111
稻芽	0.358	1.058	92.0	0.921	1200.0	0.760	9.4	875.0	0.100
漏芦	0.395	1.086	93.0	0.935	1006.0	0.860	10.3	675.0	0.059
陈皮	0.443	1.055	56.0	0.920	825.0	0.865	8.44	500.0	0.056
老钩藤	0.468	0.988	158.0	0.864	712.0	0.740	11.0	384.4	0.090
侧柏叶	0.448	0.976	158.0	0.878	591.0	0.839	7.57	258.0	0.161
香加皮	0.453	0.997	92.0	0.903	842.0	0.839	7.89	518.0	0.070
桑枝	0.441	1.010	55.0	0.906	685.0	0.858	8.33	356.0	0.058
益母草	0.476	1.028	101.0	0.933	2191.0	0.770	11.0	1856.0	0.108

a) 表示图谱无相应参数信息

表 2 18 批中药药材的相似度评价结果

中药名称	整体相似度	中药名称	整体相似度
甘草(安徽)	0.9619	败酱草	0.8053
甘草(甘肃)	0.9801	稻芽	0.7412
甘草(内蒙)	0.9793	漏芦	0.8191
甘草(宁夏)	0.9627	陈皮	0.8505
黄芪	0.8730	老钩藤	0.7034
丁公藤	—	侧柏叶	0.6929
白扁豆	0.7457	香加皮	0.8049
活血藤	0.7272	桑枝	0.8039
白芍	0.7585	益母草	0.6591

0.3000, 0.3500 和 0.4000 g, 测定不同检测用量的甘草非线性化学指纹图谱, 发现其诱导时间($t_{\text{诱导}}$)与检测用量(m)呈良好线性关系, 线性范围为 0.10~0.50 g, 相关系数为 0.9930, 线性回归方程为:

$$t_{\text{诱导}} = 420m + 190. \tag{9}$$

(3) 不同产地甘草活性物质整体的相对含量. 按照实验方法, 在反应器中分别加入 0.3000 g 粒度为 0.10~0.15 mm 的内蒙、安徽、甘肃、宁夏产的甘草粉末样品, 测得指纹图谱见图 5. 根据甘草指纹图谱诱导时间与检测用量的关系, 以道地药材内蒙产甘草活性物质整体的相对含量为 1, 利用测得的诱导时间, 按式(9)可大致计算其他产地甘草相对内蒙产甘草

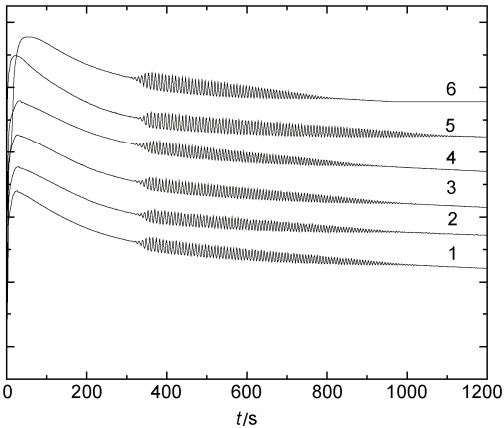


图 2 不同产地甘草、黄芪和陈皮的非线性化学指纹图谱
1, 安徽甘草; 2, 甘肃甘草; 3, 内蒙甘草; 4, 宁夏甘草; 5, 黄芪;
6, 陈皮

的活性物质整体的相对含量, 见表 3. 图 5 和表 3 数据表明, 4 个产地甘草的活性成分整体相对含量的顺序是: 内蒙产甘草>甘肃产甘草>宁夏产甘草>安徽产甘草.

4.6 非线性化学指纹图谱与甘草临床用药

药物功效的发挥, 既决定于其质量, 同时与其用量也密切相关. 因此, 中药的用量, 也是保证药物功

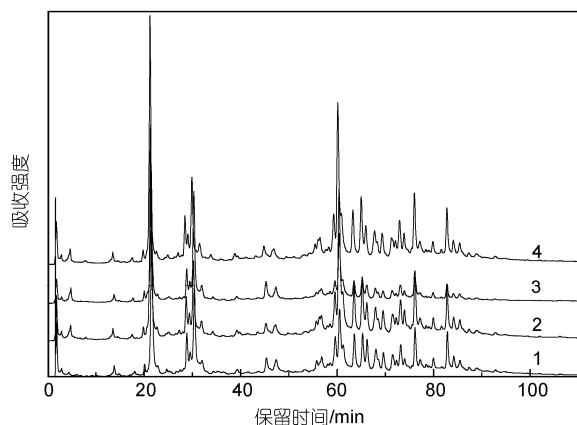


图3 4个产地甘草的液相色谱指纹图谱
1, 宁夏产甘草; 2, 甘肃产甘草; 3, 安徽产甘草; 4, 内蒙产甘草

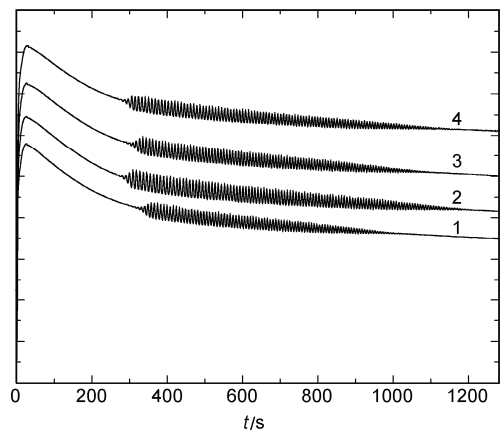


图5 0.3000 g 不同产地甘草的非线性化学指纹图谱
1, 内蒙; 2, 安徽; 3, 甘肃; 4, 宁夏

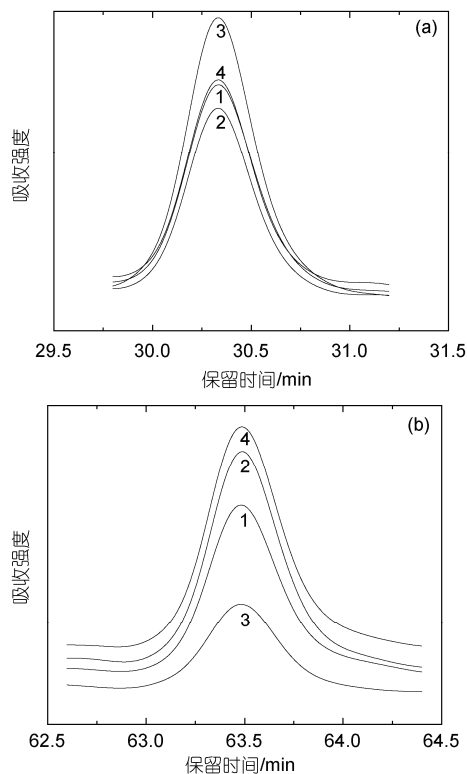


图4 4个产地甘草的色谱指纹图谱中A和B两组分的色谱峰
(a) 保留时间为30.3 min; (b) 保留时间为63.5 min. 1, 宁夏产甘草;
2, 甘肃产甘草; 3, 安徽产甘草; 4, 内蒙产甘草

效正常发挥的重要因素. 准确掌握中药的剂量, 不仅对保证中药临床疗效非常重要, 而且也对保证用药安全也至关重要. 由于药材质量、炮制、剂型、制剂、服用方法等不同, 同一味中药剂量相同, 其实际利用量却有可能不同. 受产地、采收季节等多种因素不同

表3 不同产地甘草非线性化学指纹图谱中诱导时间与活性物质的整体相对含量

产地	诱导时间/s	活性物质整体相对含量
内蒙	328.2	1.000
安徽	285.5	0.8699
甘肃	305.2	0.9299
宁夏	291.0	0.8867

的影响, 药材质量有优劣之分, 有效成分高低不一^[29]. 临床用药时, 须充分考虑各种因素对实际利用量的影响, 才能获得用药的预期效果. 固定不同产地甘草的检测用量, 获得的非线性化学指纹图谱整体形状相似而定量信息(如诱导时间、振荡周期等)不同, 见图5; 通过调整不同产地甘草的检测用量, 可获得几乎一样的非线性化学指纹图谱, 只是振荡寿命略有不同, 见图1和2. 由图3可见, 4个产地甘草的成分种类大体相同, 但由于生长环境不同, 各成分含量有所波动, 导致活性物质整体的相对含量略有不同, 这从图3也可看出. 因此, 在临床用药时, 应根据甘草产地的不同, 批次的不同调整用药剂量. 甘草非线性化学指纹图谱的定量信息反映甘草活性物质整体的相对含量, 而不是某种或某几种成分的含量, 更符合中医的治病原理, 所反映的不同产地甘草活性成分整体相对含量与临床实践总结的结果一致, 即内蒙产甘草为道地药材, 通常质量较优, 而非线性指纹图谱也反映其活性物质整体相对含量最高, 而安徽不是甘草的主要源产地, 质量通常较道地药材稍差, 非线性化学指纹图谱反映其所含活性成分的相对含量也最低. 因此, 利用非线性化学指纹图谱技术来指导甘草的临床用药是可行的. 由表3知, 4个

产地甘草达到同一疗效的用药当量关系为

$$\text{内蒙}(1.000\text{ g})=\text{安徽}(1.150\text{ g})=\text{甘肃}(1.075\text{ g}) \\ =\text{宁夏}(1.128\text{ g})$$

临床用药和配伍可按照上述当量关系调整这 4 批不同产地甘草的用量,以保证单味与复方中药的疗效稳定和用药安全.

5 结论

关于甘草的质量控制,目前主要采用色谱指纹图谱或测定甘草酸含量的方法来评价甘草药材质量的稳定性.本文采用无需分离提纯等预处理、灵敏、选择性强的非线性化学指纹图谱技术来鉴别和评价甘草.通过调整检测用量,获得诱导时间相同的 4 个不同产

地的甘草和其他 14 种中药的非线性化学指纹图谱,直观信息比较结果和基于相似系统理论的整体相似度评价结果表明,利用非线性化学指纹图谱技术能很好地将甘草与其他中药鉴别开来.通过固定甘草的检测用量,获得了 0.3000 g 不同产地甘草的非线性化学指纹图谱,并根据甘草指纹图谱的诱导时间与活性成分整体相对含量的定量关系,确定了 4 个产地甘草所含活性成分整体的相对含量,并建立了当量关系,为甘草的临床用药和配伍用量提供了理论指导和依据.4 个不同产地的甘草,其化学成分大体相同,但因生长环境和气候不同,其活性成分整体的含量有明显差别.用非线性化学指纹图谱技术鉴别和评价甘草,为甘草快速、准确鉴别和质量评价提供了一种经济、易行、简便和有效的方法.

参考文献

- 1 李宗孝,原春兰,聂菲.中药振荡指纹图谱.中国基础科学,2004,6: 27—29
- 2 郑颖,吴凤镔.中药指纹图谱的研究进展.天然产物研究与开发,2003,15: 55—60
- 3 王夏炎.现代分析技术在中药指纹图谱研究中的应用.中草药,2004,35: 6—9
- 4 Tian R T, Xie P S, Liu H P. Evaluation of traditional Chinese herbal medicine: Chaihu (*Bupleuri Radix*) by both high-performance liquid chromatographic and high-performance thin-layer chromatographic fingerprint and chemometric analysis. *J Chromatogr A*, 2009, 12: 2150—2155
- 5 Jin Y, Liang T, Fu Q, et al. Fingerprint analysis of *Ligusticum chuanxiong* using hydrophilic interaction chromatography and reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr A*, 2009, 12: 2136—2141
- 6 禹晓梅,徐红颖,梁逸曾,等.甘草药材 HPLC 指纹图谱研究.天然产物研究与开发,2007,19: 1009—1012
- 7 Ruan G H, Li G K. The study on the chromatographic fingerprint of *Fructus xanthii* by microwave assisted extraction coupled with GC-MS. *J Chromatogr B*, 2007, 850: 241—248
- 8 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 Chromatogr B*, 2005, 828: 33—40
- 9 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 Chromatogr A*, 2004, 1041: 239—243
- 10 Sun G X, Shi C Y. The overall quality control of *Radix scutellariae* by capillary electrophoresis fingerprint. *J Chromatogr Sci*, 2008, 46: 454—460
- 11 Yu K, Gong Y F, Lin Z Y, et al. Quantitative analysis and chromatographic fingerprinting for the quality evaluation of *Scutellaria baicalensis* Georgi using capillary electrophoresis. *J Pharmaceut Biomed*, 2007, 43: 540—548
- 12 徐永群,孙素琴,袁子民,等.红外光谱结合主成分分析鉴别道地山药.分析化学,2002,30: 1231—1233
- 13 董彬,孙周胡.红外光谱和聚类分析法无损快速鉴别赤芍.光谱学与光谱分析,2002,22: 232—234
- 14 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: 8649—8664
- 15 Field R J, Schneider F W. Oscillating chemical reaction and nonlinear dynamics. *J Chem Educ*, 1989, 66: 195—204
- 16 Taylor A F. Mechanism and phenomenology of an oscillating chemical reaction. *Chaos*, 2002, 27: 247—325
- 17 Prjman J A, Epstein I R, McManus T J, et al. Convective effects on chemical waves. 2. Simple convection in the Iodate-Arsenous acid system. *J Phys Chem*, 1991, 95: 1299—1306
- 18 张业中,安从俊,丁宗洲,等.甲醛-乳酸-丙酮- Mn^{2+} - BrO_3^- - H_2SO_4 振荡反应动力学分析研究.分析科学学报,2004,20: 468—470
- 19 Gan N Q, Cai R X, Lin Z X. Determination of ascorbic acid based on a peroxidase oscillator reaction. *Anal Chim Acta*, 2002, 466: 257—260
- 20 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
- 21 李宗孝, 原春兰. 用振荡指纹图谱辨识中草药. *中药材*, 2004, 27: 10—11
- 22 张孟民. 化学振荡技术在中药研究中的应用. *中草药*, 2006, 37: 961—96
- 23 王媛, 李宗孝. 十种中草药的振荡指纹图谱. *化学世界*, 2007, (8): 464—467
- 24 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 等. 中药电化学指纹图谱的检测方法和条件因素. *科学通报*, 2007, 52: 1012—1120
- 25 张泰铭, 梁逸曾, 袁斌, 等. 中药电化学指纹图谱的原理、特点和用途. *科学通报*, 2007, 52: 1513—1522
- 26 王月辉, 乔斌, 蒋建兰, 等. 甘草药材 HPLC 指纹图谱的研究. *化学工艺与工程*, 2006, 23: 250—253
- 27 Zhou M L. Principles of similarity formation between similar systems. *Int J Gen Syst*, 1999, 27: 495—504
- 28 周美立, 王浣尘. 相似系统的分析与度量. *系统工程*, 1996, 14: 1—6
- 29 杜华碧. 浅谈中药的合理剂量. *医学信息*, 2009, 22: 134—135

《中国科学: 化学》目次

2010 年 6 月 第 40 卷 第 6 期

前言

现代药物分析	597
--------------	-----

评述

高通量药物筛选现代检测技术研究进展	599
LC-MS 在体内药物分析方法学研究中常见的问题及其对策	611
高效液相色谱/质谱联用技术在天然来源生物活性成分快速识别中的应用	621
高效液相色谱整体柱在药物分离分析中的应用进展	631
现代中药分析新进展	641
色谱技术在中药有效成分辨识中的应用进展	651
现代仪器分析技术在中药炮制机理研究中的应用	668
化学药品杂质控制的现状与展望	679

论文

化学发光底物分辨双组分免疫分析法测定胶质瘤标志物 NSE 和 CA15-3	688
基于抗原包被的微孔板式化学发光酶免疫分析法测定人尿中的雌三醇	694
壳聚糖-纳米金复合膜修饰电化学发光免疫传感器检测人免疫球蛋白 G	704
双水相体系选择性分离富集维生素 B ₁₂ 及电热原子吸收法测定	711
血脑屏障药物筛选模型的建立及丹参活性成分筛选分析	717
中药通心络对抑郁-动脉粥样硬化大鼠干预作用的血浆代谢组学研究	725
多肽与朊蛋白相互作用研究	733
纳米金-多壁碳纳米管复合物修饰电极对柔红霉素作用癌细胞的实时检测	739
基于含氟表面活性剂修饰的金纳米粒子测定卡托普利	744
用高表达 EGFR 细胞膜色谱-HPLC/MS 联用快速筛选活中抗 EGFR 活性成分	750
液相色谱-电喷雾离子阱质谱结合“N in 1”模式用于高通量分析药物及其代谢物	757
HPLC-MS 法同时测定 5 种抗癫痫药的血药浓度	762
离线二维液相色谱-串联质谱法检测姜黄中姜黄素类和倍半萜类化合物	768
LC/MS 法分析头孢替坦二钠原料中的杂质	775
基于“成分-药效”关联分析的六味地黄丸质量控制方法	786
分子印迹聚合物选择性富集长春碱的研究	794