



罗国安 梁琼麟 王义明 著

中药指纹图谱

——质量评价、质量控制与新药研发

- ◎ 中药指纹图谱基础理论
- ◎ 中药指纹图谱获取方法学研究
- ◎ 中药指纹图谱特征性研究
- ◎ 中药指纹图谱新方法
- ◎ 中药指纹图谱信息处理
- ◎ 中药指纹图谱计算机辅助技术及软件系统
- ◎ 指纹图谱在中药材及饮片鉴别和质量评价中的应用
- ◎ 指纹图谱在中药方剂清开灵质量评价及控制中的应用
- ◎ 指纹图谱在清开灵二次开发和小方组效学研究中的应用
- ◎ 中药质量智能控制体系的发展及应用



化学工业出版社

中药指纹图谱

——质量评价、质量控制与新药研发



中药指纹图谱

—— 质量评价、质量控制与新药研发

罗国安 梁琼麟 王义明 著



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

中药指纹图谱——质量评价、质量控制与新药研发/
罗国安, 梁琼麟, 王义明著. —北京: 化学工业出版社, 2009. 8

ISBN 978-7-122-06092-1

I. 中… II. ①罗…②梁…③王… III. 中药化学成分-色谱法 IV. R284.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 107822 号

责任编辑: 傅四周 余晓捷
责任校对: 陶燕华

装帧设计: 关 飞

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 37¼ 字数 1010 千字 2009 年 10 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 118.00 元

版权所有 违者必究

序

中药生产和质量的规范化和现代化是保证中药功效和用药安全，以及推动中药走向世界的重要前提。因此，我们从世纪之交开始着手逐步推行中药材 GAP 基地和中药企业 GMP 认证，并把中药指纹图谱质控技术作为中药现代化的一项重大战略战术，在中药注射剂率先推行。经过近 10 年的推广发展，中成药指纹图谱质控技术已是“四两拨千斤，一技促全业”、牵动行业全面进步的关键技术，其应用研究对保证中成药功效、提高中药工业整体水平、带动中药农业现代化、推进中药走向世界，具有非常重要的现实意义。

第一，采用指纹图谱质控技术是保证中成药功效，实现中药现代化的必需。

自晋代葛洪在《肘后备急要方》首次提出“成药”概念以来，中成药已有 1600 年历史。受科学技术条件的限制，中成药在成品内在质量的控制上缺乏检验的方法手段，可谓“丸散膏丹，神仙难辨”。时至今日，中成药功效的稳定性，要求我们必须在建立成品内在质量标准的基础上，予以严格的检验控制。从中医药的观点看，对指标成分的控制，尚难以真正控制中药功效。中医辨证施治用的是药味而非某个化学成分。麻黄素与麻黄、甘草酸与甘草、人参皂苷与人参等在中医来看是两回事。中药的“补气”、“活血”、“温里”、“发表”、“滋阴”、“健脾”等功效，是药材饮片或成药方剂内含物质群的整体作用结果。此物质群的整体情况，包括所含的物质数、物质质量及组成比例差异，都会对功效发生影响。中医传统上有“传方不传量”之说，意即方剂功效不仅取决于构成方剂的药味，还取决于药味的绝对量及配伍比例。所以要控制中药功效，不能只针对某一、二个化学成分，必须对方剂物质群整体予以控制。不单是成药如此，就是单味饮片、药材，其所含也都是化学物质群。例如人参一味药现在已知成分就有 200 多个。一味药材尚且如此，复方成药的物质群就更复杂了。就此而言，要把质量控制建立在研究清楚每个内含化学成分的基础上，目前多数情况下还不现实。这就要求，在尚不清楚全体化学成分的情况下，实现对物质群整体的控制。而现代色谱、光谱、波谱、质谱等仪器分析所得物质群指纹图谱，展现了这种可能性。几个物质群在相同仪器、相同试验条件、相同操作方法下所得的指纹图谱相同性，即可反映这些物质群的同属性。虽然对图谱中每个特定峰的成分并不了解，也即对物质群的化学成分并不全知晓，但这并不影响对物质群一致性的判断。不仅可以定性鉴别，还可以半定量分析。从长远讲，即使通过深入细致的研究，把一个成药的内含成分都搞清楚了，整体上还是这个品种的指纹图谱。只是每个峰代表的物质已明确结构，是更高科技含量的指纹图谱。

第二，指纹图谱技术是当前带动中药工业现代化的关键技术。

改革开放以来，中成药行业发生了根本的变化。产业集中化、规模化显著提高。前 50 强中成药企业从厂区环境到厂房建筑，从装备条件到仓储设施，从工艺管理到企业制度，从产品剂型到包装外观，呈现一派现代企业、现代产品的风貌，给人以强烈的“传统行业，新兴产业”的时代感受。但是与这些变化形成对照，中成药产品内在质量标准、质量管理的落后，却越显突出，直接制约了中药工业现代化的深化。中药工业发展的历程，是一个由表及里的现代化过

程,从厂区、厂房变化到工艺设备的进步,直到产品包装、剂型的革新,现在已到了必须实现中成药内在质量标准现代化的时候了。从一定意义上说,一个产业的现代化,归根结底要体现在其产品的现代化上。中成药生产的现代化归根结底要体现在产品质量可控的现代化上。这种可控,首先是指质量标准本身切实可以控制药效的稳定一致,其次是指生产全过程切实可以控制达到成品内在质量的一致,而这两点正是当前中成药生产上最为突出的问题。不仅现有质量标准本身不足以控制成品功效稳定,而且生产本身也难以保证成品的一致。所有这些又都是因为采用指纹图谱技术前对成品的物质群差异状况本身就知晓甚少。

采用指纹图谱质控技术,揭示了同一品种不同批号、不同企业的内在物质群差异,促使我们努力克服缩小这些差异,从而有望显著改善可控性,提高产品的现代化内涵,提高生产现代化程度。产品质量标准的升级必然要求并导致企业各个方面、生产各个环节的升级。采用指纹图谱必然要求企业须对原料内在质量批批测定,对原料仓储管理予以改进;必须要求对配方投料不仅仅是按处方投料,而且要针对同一味药不同年份、不同产地内在质量的差异,研究如何搭配投料以保证成品内在质量的相对一致;必然要求对工艺过程进行研究,确定严格的控制条件,以保证成品的一致性;必然要求改善生产过程、生产岗位的管理,切实保证操作一致性,达到结果的一致性;必然要求对生产过程中的内在质量予以监控,研究相应技术对策,努力保证每个程序的出料符合要求,达到最终成品符合要求;必然要求对设备选型进行研究,改善设备保养管理,保证设备状态和使用的一致性。中成药的 GMP 在这时才更体现出“软件要求重于硬件要求的真谛”。同时也正因为有了指纹图谱质控要求,生产过程中工艺的变动、设备的变动在质量上有了客观的衡量标准。可以在保证质量稳定的前提下,大胆试验采用各种合适的新工艺、新设备,而不是简单地要么就都是醇沉工艺,要么就都是大孔树脂工艺,要么一概排斥,盲目性很大。中成药企业采用指纹图谱要克服许多技术和管理的障碍,但同时也就在制定新产品的指纹质控图谱中自然包含了许多技术秘密。过去中成药处方是品种的核心技术内含所在。今后处方虽可公示告之,但光有处方却不一定做出达到符合要求的指纹图谱。这时,指纹图谱就是企业新产品自我保护的技术壁垒,而且这个壁垒不像专利保护,没有年限的限制。指纹图谱质控技术的采用,不仅将有力促进中成药生产过程的量化操作,提高规范管理程度,促进生产过程的数字化控制,提高仪器与计算机的应用程度,促进新工艺设备的采用,提高工艺装备的现代化程度,而且还会为中成药新产品的研究开辟筛选新渠道。如果说化学药物讲的是化学结构与有效性关系即“构效关系”的话,对中成药而言,则是“谱效关系”(“组效关系”),即指纹图谱显示的物质群与其功效的关系。研究总结其中的规律,将来一定会在方效学的基础上,推出“中药谱效学”或者叫“中药组效学”这门现代中医药物质组学学科。例如通过对同一处方、不同工艺所得不同物质群图谱,比较功效差异,就可以筛选优化质量标准与工艺技术。在推进中成药生产集约化、规范化的过程中,指纹图谱技术的广度和深度发展必将促进产业结构更加集中化,企业更加规模化。如同当年中成药卫生标准引发了中成药产业的全面进步,中药质控指纹图谱的研究与应用在推进中成药现代化上必然起到更深更广的导向作用。

第三,中药指纹图谱质量控制是牵动中药农业现代化的技术纽带。

全国中药栽培种植面积已由建国初期的仅 60 万亩^①增加到现在的 1000 万亩以上。但是从生产形式上看,中药农业至今基本上还是处于散在的、落后的小农经济状态,药材生产、价格波动大,药材质量波动亦大,而且药材质量比之百年前反而下降。不仅是种植粗放问题,更有品种基源混乱、栽培地域混乱、收获时节混乱以及农药、化肥的滥用等问题,再加上历史沿袭的药材集贸市场形式给制假、掺杂提供了机会。药材质量的差乱直接影响国内饮片与中成药质量,影响药材出口,造成出口数量的下降。

① 1 亩=666.67m²。

中药材质量差、中药农业现代化滞后的状况，已经到了必须大力推进变革的时候。中药农业到了必须重视质量、重视讲究地道性的时候。但中药农业是否重视质量，归根结底取决于中成药工业对原料质量的重视。中药工业近 30 年进步很大，但如果说是发展中最滞后的环节是成品内在质量标准，那么最薄弱的环节则是原料的购进。有的中药厂对原料质量不讲究，什么便宜进什么，导致了中药农业重数量不重质量的状况。现在中药产业药材、饮片、成药三大支柱中，中成药的经济份额最大，药材的 70 % 以上供应中成药厂。中成药工业已经处于中药产业的主体地位，对中药农业客观上具有主导作用。长期以来，许多中成药企业之所以对原料质量仅仅满足于合法、合格就行，既有重于追求直接经济效益的情况，也有中成药质量标准自身对原料药材缺乏要求的原因。应用指纹图谱质控技术，原料质量的稳定是前提。因此，中成药企业就必须重视药材原料的稳定。采用指纹图谱质控技术，就使中药工业企业自觉地站在现代化的高度上发挥主导中药农业的作用。这种主导作用集中体现在三个方面。第一是对药材的质量要求。使广大药农知道中成药企业需要的是地道优质药材。第二是对药农的组织作用。领导或引导药农走产业化的道路，重视组织农民建立原料基地。把原料基地视为企业的第一车间，让成品的质量建立在优质稳定的药材原料基础上。第三是对原料药材开展整套栽培技术研究。引进农业科技力量，优选产地，并在研究的基础上制定药材生产规范，即药材种植 SOP。上述三个方面汇合起来就是中成药工业企业要发挥龙头作用，促进中药农业实现 GAP。中药指纹图谱的应用已经促使一些中药工业企业认真思考原料基地的问题，思考中药工业与农业的关系问题，思考中药农业与贯彻国策实现现代化的问题。由此可见，这项技术有牵动中药工业与中药农业共同实现现代化的作用。这种作用才刚刚开始。由此发生的工业生产规模化、集约化带动中药农业生产的集约化、规范化和中药农业新的集中化、规模化、地道性，这种作用必将越来越显著。

第四，中药指纹图谱质控技术是实现中药走向世界的必要保证。

对药品的要求，“安全、有效、可控”是国际共识。对于中成药这样的物质群的质量控制方法近 20 年来也日趋达成共识。日本汉方药主要生产企业在 20 世纪 80 年代就已经在企业内部采用高效液相色谱指纹图谱控制质量。他们把传统方剂采用地道药材、按饮片配方煎煮得到的煎汁作为标准指纹图谱。对大生产的原料、配方和工艺严格控制，使成品指纹图谱与内控标准指纹图谱一致。欧洲一直比较重视草药的医疗作用，对草药的质量控制也殊途同归，采用了指纹图谱方法。德国、法国联合开发的银杏叶提取物 EGb761 是一个典范。他们在研究中发现银杏叶提取物的医疗作用是提取物所得物质群的整体作用结果。他们进行了长期的功效研究，把提取物所含内酯和黄酮相互分离，则“都不具备全部提取物整体的功效”。在这一点上，和我们对中成药的疗效是物质群整体的功效这样的认识是一致的。而对于这样一个“整体”的化学物质质量控制，现在也是采用高效液相色谱指纹图谱方法。美国 FDA（食品与药品管理局）最近几年制定的《植物草药（botanical drug）指南》中已经明确把指纹图谱作为这类混合物质群的质量控制方法。总之，以指纹图谱作为中成药、草药提取物质量控制方法，已经成为目前国际共识，我们应该积极对待。要在吸收消化国际上这方面已有成果的同时，更注重结合中药情况广泛实践，及时总结，建立起符合中药特色的指纹图谱质控技术体系，与国际双向接轨。

指纹图谱质控技术作为一项新技术，需要科研、教育单位与生产、管理单位结合起来，学术界与产业界结合起来，共同努力，不断探索、交流、总结和完善，才能逐步建立起符合中药特色的指纹图谱质控技术体系。清华大学的罗国安教授作为我国中药现代化研究领域的科学家，也是最早参与中药指纹图谱技术研究并推动中药指纹图谱技术在企业实践应用的代表性科学家之一。罗教授自 20 世纪 90 年代中期开始参与国家中药现代化研究工作，在原国家药品监督管理局推行中药指纹图谱质控技术过程中发挥了学术领军的作用，在承担国家首批中药攀登

计划以及后来的国家第一个中药“973”计划项目时，基于中药复杂体系对表征方法学的要求，提出和发展了指纹图谱与多指标成分定量测定相结合的理念和方法体系，勇于探索，不断创新，10年来已发表数百篇相关研究论文和专利，获得了国家科技进步二等奖和近10项省部级科技进步奖。几年前我就建议罗教授将其中药指纹图谱研究成果和心得总结成为专著，然其认为治学须严谨，还未到付梓的合适时机。今天见到罗教授悉心完成的《中药指纹图谱——质量评价、质量控制与新药研发》，甚为高兴。浅读体味，至少有以下三个特色。

第一，中药指纹图谱研究成果之系统性。

本书凝聚了罗国安教授领导的团队历经10余年之研究成果，系统地阐述了中药现代研究开发以及中药指纹图谱的理念、方法、技术以及应用，就中药指纹图谱技术的应用而言，本书不仅包括了中药指纹图谱在中成药质量控制方面的一般应用，还阐述了指纹图谱在中药材质量评价和鉴别，以及指纹图谱辅助中药新药研发等领域新的应用，内容丰富，自成体系。

第二，中药指纹图谱研究成果之创新性。

罗国安教授在中药指纹图谱的研究方面，不满足于跟随潮流，而是不断探索和发展新的理论、方法、技术和应用，走在研究前沿。例如，在一般研究仅关注化学指纹图谱的时候，他们已经提出了关注有效组分的功能指纹图谱；在大家尚停留在指纹性比对的初级阶段时，他们已经发展了整合多成分定性、定量信息的定量指纹图谱；在主流是进行原料与成品指纹图谱研究的阶段，他们已经开始了生产过程在线指纹图谱的研究与质控应用的探索。他们不断地提出和发展指纹图谱的新技术新方法，例如多维多息指纹图谱、多波长指纹图谱、指纹图谱融合技术、指纹图谱组效学研究等。这些新成果总结成书，读后自然让人耳目一新。

第三，中药指纹图谱研究成果之实用性。

罗国安教授中药指纹图谱的研究成果与产业界结合非常紧密，与企业合作攻关，解决企业生产和质量方面存在的实际问题。体现在本书内容中，不仅具有创新的理论和技术成果，而且在各个章节都有很鲜活的应用实例。例如第8章介绍中药指纹图谱在中成药质控方面的应用时则以清开灵注射剂为例，介绍了建立其指纹图谱的方法，特别是开展的清开灵注射剂组方药材-中间品-成品指纹图谱相关性研究成功地确定了最终产品指纹图谱中各色谱峰的归属，将指纹图谱和指标成分的定量半定量分析结合应用生产工艺全过程的研究，确定了工艺控制点，评价工艺生产条件的优劣，提出改进方法，使不甚清楚的生产过程逐步量化控制。因此本书内容和技术的实用性和针对性很强，而且这种基于研究实例的写作方式也使得读者更容易理解和掌握。

在推动中药指纹图谱技术的研究与应用方面，我们遇到了许多现实障碍，涉及的问题范围广，而这正是中药指纹图谱质控技术“牵一发而动全身”、“四两拨千斤”的缘由所在。克服这些困难，解决这些问题，是要下大力气的，过程是曲折的。我们要感谢为这一新技术新事物的成熟与应用作出努力的一批优秀科学家、技术人员和企业家、管理者。今天我们迎来的不仅是指纹图谱质控技术的应用，而且也是整个中药事业、中药产业的现代化。中药指纹图谱技术虽然还需不断深化、完善，今后的路还很长，但可以说我们已经找到了方向，有一个比较好的开始。罗国安教授即将出版的这本中药指纹图谱研究专著，所体现的迎难而上、勇于创新的科学精神，孜孜不倦、严谨求实的治学态度，就是一个典型代表。当我们看到在当年艰辛的基础上已取得的丰硕研究成果，应该对这项技术的科学性和实用性更加充满信心。让我们继续把它作为中药现代化的一项重大战略战术，坚定不移地不断推进，不断完善，不断丰富、系统。

国家食品药品监督管理局原副局长
任德权

2009年10月

自序

“十二年磨一书”，自 1997 年发表文章提出用中药指纹图谱（以下简称指纹图谱）表征中药有效部分整体理念开始，到本书出版，较为系统完整地总结了我们在指纹图谱研究中的思想体系、理论、方法、技术和在中药质量评价、质量控制及新药研究中的诸多应用，已经 12 年了。感谢国家、清华大学给我们的资助，感谢各位中医药界、科技界院士、前辈、领导、同仁、专家对我们的关心和支持，感谢跟我一起做实验、开展讨论、下企业的博士后、博士生、硕士生、本科生的辛勤努力，也感谢我的家人。

正因为追求完整、全面、系统性，所以本书列出了大量实验方法、结果和讨论分析，努力使读者理解指纹图谱并不是打一针到高效液相色谱（HPLC）出来一张图谱那么简单，而是可以在质量评价、质量控制和新药研发层面上“用”起来，也可以在更高的表征中药体系层面上“用”得转。因此亟盼读者能安下心来读读本书。建议先看前言和后记，对本书有一个基本粗略了解后，可按章节依次阅读，也可根据工作需要，挑选相应章节阅读。希望本书能对读者有所裨益。

还要强调的是指纹图谱不能解决中药整体表征的所有问题，只能说是到目前为止是较适宜的（也许是最好的）一种整体表达模式，指纹图谱还需要大力发展。指纹图谱可以说是已经经历了初级阶段（见第 1 章 1.3.2），现在正处在高级阶段并对其提出了更明确的要求，怎样将指纹图谱的化学物质基础和生物效应（药效、作用机理）整合于一体，解决这一问题的谱效学、组效学研究刚刚开始。怎样用指纹图谱较全面、整体和系统表征中药，特别是中药方剂，还有许多研究工作需要深入开展，任重而道远。

1994 年我应清华大学之聘自美国回国执教，任清华大学生命科学与工程研究院院长助理，药物研究所副所长，结合自己在南京中国药科大学任教期间参与中药研究工作基础以及美国宾州州立大学（Penn State Univ.）从事生命科学研究的经验，代表清华大学生命科学与工程研究院向当时国家科委上书提出：“要以现代科学技术切入中药研究实现中药现代化”，得到当时国家科委领导的重视，被吸收参加了“中药现代化发展纲要”研究课题组，参与其中基础研究部分起草工作，从此致力于中药现代化事业一发不可收拾，奋斗至今而不知疲倦。在政府有关部门领导组织下，集全国中医药界和科技界、企业界之力，中医药现代化取得巨大进展。以个人之见，现代科学技术在中医药研究中迄今为止有五大进展影响到中药现代化全局（包括科技界和企业），即中药材生产质量管理规范（中药材 GAP）实施、中药指纹图谱、确立组分中药、系统生物学的引入和提出复方药物理念。实施 GAP 从源头上影响整个中药界。指纹图谱则提出了解决中药质量评价和质量控制的方法，并用于中药化学物质基础的整体表征。王永炎院士、张伯礼院士领导了中医药领域第一个 973 课题组，取得的最大成果是提出并确定了中药方剂的发展方向是组分中药，为中医药宝库中 10 万多个中药方剂及现有中成药指明了方向，提供了技术和方法。国际上后基因时代提出的系统生物学引导生命科学领域革命性的变革，标志着现代生命科学正在从还原论向整体系统论方向转变，当然这方面还有争论，但科学总是在

争论中前进。系统生物学也为中医药体系在基因、蛋白质和代谢物层面上提供了整体表征的可能思路和方案。国际上新药研发以靶点为目标筛选新化合物的新药研发模式渐显窘境。中药复方药物（包括组分中药）给新药研发提供了新思路。如何将传统中药复方由繁至简，实现药效成分群的最小集合（组分中药），如何将化学药（合成药）由简至繁，在整体治疗观念指导下制成化学药复方药物，中西药合用复方药物也许是国际新药研发领域的新动向、新进展。GAP、指纹图谱和部分组分中药等内容在前言中将作综合阐述。组分中药、系统生物学和复方药物在后记中作一综合简略阐述。

我们坚信中医药是一门科学，具有先进性。先进性有两层含义，一是现在的中医药理论体系无论在科学观方面还是在具体理论、经验、方法、技术上都有先进性。其中有些糟粕或不合理的部分是极少数，否定不了全局。第二层含义是任何科学都是在发展的、与时俱进的。中医药理论体系也是在不断发展的。任何为科学进步所作的创新研究都是应大力提倡和肯定的。

我们坚信实践是检验真理的唯一标准。中医药理论过去、现在和未来都在指导中医药临床实践，也为临床实践所证实。同时在实现中医药现代化、国际化过程中，对中医药理论体系所作的创新研究必须被实践所证明，同样也应有指导实践的作用。

胡锦涛总书记强调中国要成为创新型国家和科学发展观的理念适用于所有领域，中医药领域也不例外。钱学森院士于1988年在《中医通讯》上发表文章指出：“中医的理论和实践，我们真正理解了，总结了以后，要影响整个现代科学技术，要引起科学革命”。实现中医药领域的创新发展和科学发展是中医药界和其他领域科学家的共同使命。我们以实现中医药领域的传承和创新为己任，本书是初步工作，今后当继续努力。

罗国安

2009年10月于清华园

前言

自从 1995 年我国开展制订《中药现代化发展纲要》至今已 10 多年了。中药作为药物，其基本属性——安全、有效、质量可控（稳定均一）必须得到保证。而指纹图谱虽早已提出，但引起大规模注意和重视，则是于 2000 年左右出于中药质量（特别是注射剂）表征的需要，即把中药指纹图谱作为中药质量评价的一种手段和方法加以考虑。

本书的出发点是把指纹图谱放在更为全面和更深层次角度来考虑，即中药复杂的化学体系如何表征。

传统中药复方是中药材配伍，其物质基础——化学成分极为复杂，成为中药发展的瓶颈。中药复方的化学成分极不清楚，作用机理难以表达，化学成分和作用机理的相互关系难以阐述，导致中药剂型无法改进。但中药研究又不能走西药发展之路，即变成对单一化合物开展研究。

中药研究从本质上讲属于复杂性科学、系统性科学（见第 3 章 3.1 节）。以往研究的缺点是太粗放、模糊，但不能陷入还原论的局限。因此中药复杂系统就要寻找一条能解决其整体性、系统性、复杂性的思路，一种能把全局性表征和特征性分析相结合的模式。本书基本出发点就是把指纹图谱作为中药化学体系的全局表征，多指标成分定量测定作为局部特征，两者结合起来表达中药复杂的化学体系。

1997 年我们提出了中药有效部分理论（见第 1 章 1.3.1）^{[23]①}，就是把中药复方分成若干有效部分，把复杂性（指纹图谱）与简单性（多指标成分定量测定）加以综合而提出的新模式，采用现代分离手段把中药复杂体系分成若干有效部分，采用药效导向来研究化学成分群和药效作用的相关性。这样我们用中药指纹图谱来研究中药的物质基础——化学成分群，就从整体上把中药和西药单一成分区分开来。在此基础上，1999 年我们提出了中药复方化学研究体系^[20,21]，即坚持中药化学成分研究和药理研究相结合（一个结合）；做到基本讲清中药复方的药效成分，基本讲清中药复方的药效和作用机理（两个基本讲清）；在“药物（复方、药材）、有效部分和有效成分”（三个化学层次）上开展“整体动物、组织器官、细胞亚细胞、分子生物学”（四个药理水平）上的研究，来阐明中药复方配伍理论的化学物质基础（见第 2 章 2.2.1）。

在王永炎、张伯礼两位院士的领导下，采用中药复方化学研究体系思路和方法作为中药复方物质基础研究的基本内容之一，于 2000 年申报获准我国中医药界第一个 973 项目“中药方剂的关键科学问题基础研究”。集全国多个学科之力，极大地推动了中药现代化进展，取得最大成果是提出并确定了中药方剂的发展方向是组分中药。我们在参与此项研究课题中，进一步提出了用中药化学物质组学^[4]来表述中药化学物质基础研究。随着后基因时代的到来，又开展了整合化学物质组学的整体系统生物学研究^[3]。为了响应我国创新药重大专项的开展，又

① 前言中参考文献序号对应的是附录部分的文献号。

归纳提出了中药复方新药研发路线^[1]和复方药物^[178]的概念。这些内容在后记中加以阐述。

以上中药复方研究发展是和指纹图谱的深入研究和应用紧密相连的。2000 年提出了多维多息指纹图谱^[18]；2001 年提出中药指纹图谱建立原则^[16]和中药注射剂指纹图谱分析^[17]，2002 年归纳了中药指纹图谱的发展^[15]、中药指纹图谱与全面质量管理^[14]和建立我国现代中药质量标准体系的原则^[13]；2003 年提出了中药指纹图谱获取方法及验证^[12]和中药 HPLC 多波长指纹图谱^[139]；2004 年提出了中药二维指纹图谱模式识别方法^[11]和中药材饮片的 HPLC 指纹图谱鉴别^[133]并用于《香港中药材标准》制订实践，成为国际上首次采用指纹图谱作为鉴别的标准方法；2005 年发表指纹图谱在专利申请中应用^[6]和指纹图谱相似度评价方法比较^[131]；2006 年提出定量相似度^[48]和发表指纹图谱理论和实践应用的文章^[5]；2007 年发表近红外光谱非线性建模方法^[97]，公开了多年来开展中药近红外在线检测的研究结果；2008 年发表了中药工程集成化创新的部分结果^[2]。大量指纹图谱相关研究工作见附录——作者已发表的与本书内容相关的论文论著。本书则是大部分研究工作的归纳、总结。

本书第 1 章提出了建立中药标准体系的四条原则。中药指纹图谱结合多指标成分定量测定，可作为现代中药质量标准体系的核心内容。中药指纹图谱是通过多维分析测定手段对中药复杂物质体系进行检测，将中药的物质基础——化学成分群的特征信息利用分析仪器检测结果给予表达，并用于中药的质量评价、质量控制和新药研究的物质信息表征的手段和方法。介绍了其分类和特点（全面性、整体性、层次性、关联性和动态性，见第 1 章引言）。第 16 页图 1-1 表达了中药指纹图谱信息获取、信息处理和信息挖掘及三方面应用（质量评价、质量控制和新药研发）的关系。1.5 节介绍了中药指纹图谱的色谱基础理论研究内容。第 2、3、4 章从信息获取方面开展研究。第 2 章介绍了中药指纹图谱获取方法学及验证。第 3 章介绍了中药指纹图谱中特征信息提取、验证及归属的各种方法。第 4 章集中介绍了我们发展的多种中药指纹图谱新方法，如多波长、多指标成分定量指纹图谱、多维多息指纹图谱、中药指纹图谱和多指标成分定量结合技术、UPLC 快速定量分析方法和全二维液相色谱技术在指纹图谱中的应用。第 5、6 二章介绍了中药指纹图谱信息处理的方法、技术和相应的计算机软件。一般的信息处理包括对指纹图谱中色谱峰的保留时间校正（6.1.2）、峰位匹配的不同算法（6.1.3）、生成对照指纹图谱的新方法（5.3 节）、各种相似度计算方法的原理（6.1.4）及比较（6.1.5）等。深入的信息处理包括中药指纹图谱的融合技术（5.1 节）、构建二维指纹图谱的新方法（5.2 节）等。特别是定量相似度（6.5 节）将相似系统理论计算引入到指纹图谱相似度计算中，将各色谱峰的定性和定量信息综合考虑，为更好地用指纹图谱相似度来评价中药质量提供了新的可行的方法。信息处理所用的计算机软件包括了“指纹图谱分析系统”（6.2 节）和“中药指纹图谱工作站”（6.3 节）及中药指纹图谱数据库（6.4 节）。

信息的挖掘既包括二维指纹图谱模式识别及应用（第 5 章 5.4 节）、利用特征图谱进行药材鉴别的新方法（5.6 节）等；也包括中药药效组分筛选（第 1 章 1.4.3）、组效学研究（1.4.4）和在新药研发中的应用（第 9 章）。

指纹图谱的应用包括三方面内容：质量评价、质量控制和新药研发。

质量评价包括指纹图谱用于中药材、饮片鉴别及质量评价（第 7 章）和中成药质量评价（第 8 章 8.2 节）。介绍了高效薄层色谱指纹图谱鉴别及方法（第 7 章 7.1.1），特别是中药材、饮片高效液相色谱指纹图谱鉴别原则和在《香港中药材标准》中应用范例（7.1.2、7.1.3、7.4.1）。第 7 章给出了采用指纹图谱结合多指标成分定量测定对人参、栀子、丹参、麻黄等药材进行质量评价的应用实例，如不同产地和 GAP 基地生产药材的质量评价（7.3.4、7.4.2 等）。麻黄药材、食品补充剂及生物样品的测定，特别是参与国际比对研究结果表明已达到国际先进水平（7.5 节）。

质量控制包括了对药材的调配（第 7 章 7.7.4 和第 10 章 10.2 节）、中成药的原料药-中间

品-成品的相关性研究（第8章8.3节）、生产工艺研究（8.5节）和生产工艺控制中的应用（8.4节）等。特别是第10章较详细介绍了在中药指纹图谱及多指标成分定量测定基础上，阐述中药质量智能控制体系的方法和部分应用，表明中药生产过程完全有可能达到国际水平的新高度。

中药指纹图谱用于新药研发的基本思路就是将指纹图谱作为中药复方的化学物质整体表征，结合多指标成分定量测定的局部特征来表达中药复方整体性。对中药的古方、经方、验方及中成药，采用指纹图谱及多指标成分定量测定就可分析确定其大类和各个主要成分及其含量。采用“病证结合”的模式，确定相应的药理、药效模型（包括整体动物、器官组织、细胞亚细胞和分子生物学四个水平），将原方分为若干个大类化学成分（如黄酮类、生物碱类等或极性分类），进行药理、药效实验，确定哪些大类化学成分为有效部分（组分）。此过程把原方君臣佐使的药材配伍转化为确定君臣佐使的组分配伍，即组效学研究（第1章1.4.3、1.4.4，第9章9.4节、9.5节）。再对所有确定保留的有效组分进行优化配伍，采用同样的药理、药效模型实验确定其最佳配比（9.5节），发展得到组分配伍的中药复方新药。而将中药复方分三个层次进行化学物质基础的研究即为化学物质组学（chemomics），研究方法及其组分中药研究在后记中作简要介绍。第9章将和北京中医药大学李澎涛教授实验室合作开展获得国家科技进步二等奖的973子课题“清开灵治疗缺血性脑中风的物质基础和作用机理研究”的部分内容作为实例，表明中药指纹图谱在中药新药研发中具有重要作用。

囿于中药生产企业和新药研发的保密要求。第9、10章给出了研究方法、过程和结果，部分内容不够详细，请读者予以谅解。

本书也可以依照中药材和中药方剂两条主线，把分散在各章的相关内容串起来阅读。

本书对人参、丹参、栀子等药材和清开灵、痛必定注射剂给予了较全面、系统的研究。如人参，从其主要大类成分人参皂苷的HPLC色谱分离理论的基础研究（第1章1.5节）着手，建立人参HPLC指纹图谱。再开展指纹图谱方法学验证（第1章1.6节），探讨色谱柱选择策略（第1章1.6.3）。建立了人参类特征轮廓谱获取方法及鉴定（第3章3.2.2）；人参的高效薄层色谱指纹图谱（第7章7.1.1.1）；人参、三七、西洋参的HPLC指纹图谱（第7章7.1.3）；人参皂苷类的多种指标成分定量测定和体内分析方法（第4章4.3.2、4.3.3.1，第7章7.2.4、7.2.6）；利用指纹图谱来鉴别各种人参和三七、西洋参的新方法（第5章5.6节，第7章7.1.3、7.2.3）；检测西洋参制品中人参掺杂的HPLC和UPLC方法（第7章7.2.5）和红参加工过程的变化（第7章7.2.7）；人参不同部位（芦头、参体、参腿、参须）15种人参皂苷相对含量（第7章7.2.3）和各种人参中12种皂苷的含量（第7章7.2.4）。

丹参，第7章7.4节中介绍其HPLC指纹图谱及对不同GAP基地生产药材和丹参根不同部位（表皮层、内皮层、根中柱和全根）的质量评价结果，丹参高效薄层色谱指纹图谱（第7章7.1.1.4）和香港中药材标准中HPLC指纹图谱鉴定方法（第7章7.4.1）；丹参多种指标成分定量方法（第7章7.4.2、7.4.3）及对不同产地GAP生产丹参的质量评价结果。还讨论了丹参指纹图谱中色谱峰保留时间校正（第6章6.1.2.3）和全排序模板匹配的方法（第6章6.1.3.3）。

栀子除了第7章7.3节内容外，还包括多波长多指标成分定量指纹图谱的建立（第4章4.1节），多维指纹图谱的融合（第5章5.1节），对照指纹图谱的生成（第5章5.3.3）和栀子药材热重分析的小波变换模式识别（第5章5.5节），特别是给出了栀子定量指纹图谱的定量相似度计算范例（第6章6.5.5）。

中药复方是指纹图谱研究和应用最有意义的对象之一。以四味药材组成的痛必定注射剂为例阐释了中药复方指纹图谱的获取方法学和方法的优化（第2章2.2.4）和方法学验证（第2章2.4节）；指纹图谱的特征信息分析（第3章3.3.4）和归属及原药材与全方的相关性（第3

章 3.4 节)；对照指纹图谱的生成(第 5 章 5.3 节)和不同相似度评价方法的比较(第 6 章 6.1.5)。清开灵注射剂是重点。从清开灵注射剂的中药复方的基本特征、指纹图谱获取方法(第 2 章 2.2.1)、指纹图谱中特征成分的指认(第 3 章 3.2 节)，到多维多息指纹图谱(第 4 章 4.2.1)及清开灵二维指纹图谱获取、建立、验证及质控应用(第 5 章 5.2 节)。特别用第 8 章阐明了指纹图谱在清开灵质量评价及控制中的应用；第 9 章介绍了指纹图谱在清开灵二次开发和组效学研究中的应用。第 10 章中药质量智能控制体系已用于清开灵生产工艺，具体内容将另作介绍。

中药指纹图谱已得到广泛的认同和长足的发展。统计国内外发表的有关指纹图谱的论文数目就可看出，中药指纹图谱是对中药科技和企业界影响最大的科技进步之一。指纹图谱已先后被《香港中药材标准》和《中华人民共和国药典》收载作为标准方法。大量对药材的指纹图谱研究内容对 GAP 原药材的建设有重要作用。现代中药企业生产包括流通行业都大量采用指纹图谱进行质量评价和质量控制。指纹图谱也已用于包括安全性评价在内的中药新药研发，无论是从中药复方出发(自上而下)还是从药材出发(自下而上)的中药新药研发均采用中药指纹图谱(整体表征)结合多指标成分定量测定(局部特征)来表达中药的复杂化学体系。中药指纹图谱将在以下几方面得以继续深入发展。

① 指纹图谱从原来讲清几个峰的成分，现在已能讲清十几个、几十个峰的成分。超高压液相色谱的出现，已可能讲清几百个峰的成分，而且必然能发展做到上百个峰同时进行定性、定量测定的定量指纹图谱。

② 对指纹图谱的信息处理将进一步提高，使指纹图谱的评判不再仅仅是定性的相似度或共有峰评判。必然是将指纹图谱的定性、定量数据，整体表征和局部特征结合在一起的定量相似度评判。

③ 说清中药复杂化学体系并不是目标，必须将指纹图谱用于解决中药工业生产的质量控制问题。依托近红外等过程分析技术(PAT)的中药质量智能控制体系(第 10 章)必将获得快速发展。

④ 组分中药将成为中药复方发展的主流。在指纹图谱用于中药新药研发过程中，谱效学、组效学必将促使指纹图谱得到更大的发展。

本书是清华大学中药现代化研究中心长期研究的成果，参与本书研究工作的有几十位博士后、博士生和硕士生、本科生。他们是刘清飞、李雪两位博士。主要参加者有柴逸峰、杨辉华、聂磊、刘永锁博士后，曹进、严诗楷、胡坪、饶毅、胡震、王勇、曲峻、黎莉、范雪梅等博士生，辛文锋、徐燕硕士生。此外，孟宪生、杨学东、张荣利、张兴国、肖盛元等博士后，冉小蓉、曹阳、张敏、章弘扬、叶能胜等博士生，肖雪、张永知、沈群、庞丽琼、张敏、艾立、吕琳昂、师涛、鄢燕、汤宏敏、宋仲民、王春梅、吴倩、覃锋、宋昊鲲、申永祥、周丽娟、魏惠珍、刘建娣、段和祥、汪红英、刘祥东、温华珍、刘思明、宋耐宝、孙萍、叶磊、马宇辉、戴德舜、刘国文、胡亚男、朱瑛、唐刚、胡平、齐小城、赵艳峰、冯雪、赵基源、唐刚等硕士生也参与了部分研究工作。

我们开展指纹图谱的研究得益于国家食品药品监督管理局原副局长任德权教授的提倡和指导，以及王永炎、张伯礼院士的关心鼓励、支持和指导，在此致谢。

特别感谢北京中医药大学李澎涛教授实验室在共同完成 973 课题“清开灵治疗缺血性中风的物质基础和作用机理研究”中的精诚合作，其中药理药效部分为他们的研究工作，在本书第 9 章，给予引用。感谢香港浸会大学姜志宏教授在人参和丹参指纹图谱及定量测定方面的共同合作，其他方面就不一一列举。

目 录

第 1 章 中药指纹图谱基础理论	1
1.1 中药质量标准体系及其建立原则	2
1.1.1 国内外中药研究现状	2
1.1.2 中药质量标准体系的建立原则	6
1.1.3 中药指纹图谱与全面质量管理	8
1.2 中药指纹图谱的特点及分类	11
1.2.1 中药指纹图谱的特点	11
1.2.2 中药指纹图谱的分类	12
1.3 中药指纹图谱方法学的理论基础	15
1.3.1 “有效部分”理论——中药指纹图谱方法的基础	16
1.3.2 中药指纹图谱研究的阶段性	17
1.3.3 中药指纹图谱是现代中药质量标准体系的核心技术和基石	19
1.3.4 中药指纹图谱与中药质量控制的关系	19
1.4 中药指纹图谱研究的主要内容	21
1.4.1 中药指纹图谱获取方法学研究	21
1.4.2 指纹图谱鉴别方法学研究	21
1.4.3 中药药效组分筛选及检测方法学研究	22
1.4.4 中药指纹图谱组效学研究	22
1.4.5 中药指纹图谱的应用前景	23
1.5 中药指纹图谱的色谱分离理论研究	24
1.5.1 人参皂苷 HPLC 保留行为研究的理论基础	24
1.5.2 人参皂苷 HPLC 保留行为的理论研究	25
1.5.3 人参 HPLC 指纹图谱的建立	30
1.6 指纹图谱和色谱柱相关性研究	35
1.6.1 人参 HPLC 指纹图谱对色谱柱稳健性的研究	35
1.6.2 不同色谱柱对知母样品指纹图谱的影响	40
1.6.3 中药液相色谱指纹图谱分析色谱柱推荐策略	42
参考文献	45
第 2 章 中药指纹图谱获取方法学研究	47
2.1 中药指纹图谱分析中的样品制备方法	48
2.1.1 样本采集和样品制备的指导原则	48

2.1.2 常用样品制备方法简介	51
2.1.3 样品预处理方法简介	52
2.2 中药指纹图谱获取方法的研究	53
2.2.1 中药复方的基本特征	53
2.2.2 复杂物质体系色谱分析的对策	56
2.2.3 色谱方法的选择及优化方式和原则	56
2.2.4 注射用痛必定指纹图谱的获取	59
2.3 中药指纹图谱方法学的验证研究	67
2.3.1 指纹图谱分析体系验证	67
2.3.2 指纹图谱分析系统验证	68
2.3.3 指纹图谱分析测定方法验证	70
2.4 中药复方色谱指纹图谱方法学验证实例	75
2.4.1 指纹图谱方法的耐用性考察	75
2.4.2 方法专属性考察	79
2.4.3 方法的精密度、重复性、稳定性考察	81
2.4.4 样品指纹图谱测定	81
参考文献	82

第3章 中药指纹图谱特征性研究	83
------------------------	-----------

3.1 复杂系统分析方法学研究	84
3.1.1 复杂系统的概念及特点	84
3.1.2 复杂系统的分析方法论	85
3.1.3 中药的复杂系统观	88
3.1.4 中药复杂系统的分析策略及方法	89
3.2 中药指纹图谱中的成分指认	91
3.2.1 多种质谱信息组合分析策略及其应用于指纹图谱未知峰的解析	91
3.2.2 基于串联质谱技术的中药特征轮廓谱的快速获取以及特征化合物的 鉴定	101
3.3 指纹图谱特征信息提取与验证	105
3.3.1 数据的预处理	105
3.3.2 特征波长的选择与评价	106
3.3.3 指纹图谱峰的特点	107
3.3.4 指纹图谱特征信息分析	108
3.4 指纹图谱特征信息的归属与全方相关性研究	111
3.4.1 指纹图谱特征信息归属	111
3.4.2 药材与全方的相关性考察	113
3.4.3 指纹图谱中特征信息的比较	115
3.4.4 质量控制与全过程质量跟踪	117
参考文献	118

第4章 中药指纹图谱新方法	119
----------------------	------------

4.1 多波长指纹图谱	120
4.1.1 梔子简介	120

4.1.2	栀子水提部分多波长指纹图谱建立的必要性	120
4.1.3	栀子多波长指纹图谱的建立	121
4.1.4	多波长多指标成分定量指纹图谱的应用	123
4.2	多维多息指纹图谱	124
4.2.1	多维多息指纹图谱研究的必要性和指导原则	124
4.2.2	中药复方多维指纹图谱方法论研究	126
4.2.3	中药复方多维指纹图谱的获取方法	128
4.2.4	中药多维多息指纹图谱方法学验证	129
4.3	指纹图谱和多指标成分定量结合技术研究	131
4.3.1	指纹图谱和多指标成分定量相结合的必要性	131
4.3.2	中药材的高效液相色谱多指标成分定量方法	131
4.3.3	全二维液相色谱技术在中药指纹图谱中的应用	137
4.3.4	测量不确定度在中药材质量评价方法中的应用	142
4.4	中药生产过程智能化质量控制体系的发展	151
4.4.1	中药生产过程智能化控制系统概述	151
4.4.2	现代中药生产智能控制系统的实施方案与关键技术	153
4.4.3	中药生产智能控制系统的应用与实施进展	155
	参考文献	156

第5章 中药指纹图谱信息处理

157

5.1	中药指纹图谱的融合技术	158
5.1.1	中药指纹图谱融合技术的必要性	158
5.1.2	基本原理	158
5.1.3	指纹图谱融合技术的应用	159
5.2	基于主成分分析的二维指纹图谱构建方法	162
5.2.1	二维指纹图谱的必要性	163
5.2.2	基于主成分分析的二维指纹图谱的构建	163
5.2.3	二维指纹图谱方法学验证	166
5.2.4	清开灵注射液二维指纹图谱的建立	166
5.2.5	二维指纹图谱在质量控制中的应用	169
5.3	对照指纹图谱生成的主成分分析法	173
5.3.1	主成分分析法生成对照指纹图谱的意义	173
5.3.2	主成分分析法生成对照指纹图谱的基本原理	173
5.3.3	对照指纹图谱生成的主成分分析法应用实例	174
5.4	中药二维信息指纹图谱的模式识别	178
5.4.1	中药二维信息指纹图谱模式识别的基本原理	178
5.4.2	银杏提取液和银杏注射剂的高效液相色谱指纹图谱的获取	179
5.4.3	基于二维信息指纹图谱的模式识别(聚类分析)	180
5.4.4	未知样本的预测	185
5.5	中药材热重分析信号的小波变换模式识别研究	186
5.5.1	小波变换的基本原理	187
5.5.2	样品的制备及热重分析信号的获取	187
5.5.3	热重分析信号的小波变换模式识别应用	188
5.5.4	重要类别特征信息的小波系数的挖掘	191