

中药材 GAP 实施过程中 的关键分析技术



Key Analytical Technologies for the Quality Control of
Chinese Medicinal Herbs Produced according to GAP Guidelines

主编 黎先春 王小如



厦门大学出版社

中药材 GAP 实施过程中 的关键分析技术

Key Analytical Technologies for the Quality Control of
Chinese Medicinal Herbs Produced according to GAP Guidelines

主编 黎先春 王小如

编委 (按章节顺序排列)

黎先春	王小如	李 磊	黄岳顺
李 伟	胡广林	金汝城	沈金灿
庄峙厦	于文佳	何 坚	李 斌
黄志勇	陈 宾	王翊如	朱 尔
赵 丽			

厦门大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

中药材 GAP 实施过程中的关键分析技术 = Key Analytical Technologies for the Quality Control of Chinese Medicinal Herbs Produced according to GAP Guidelines/黎先春,王小如编著. — 厦门:厦门大学出版社,2002.7

ISBN 7-5615-1905-2

I. 中… II. ①黎…②王… III. 中药化学成分—分析(化学)—文集 IV. O284.1-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 038422 号

厦门大学出版社出版发行

(地址:厦门大学 邮编:361005)

<http://www.xmupress.com>

[xmup @ public. xm. fj. cn](mailto:xmup@public.xm.fj.cn)

福建沙县方圆印刷有限公司印刷

2002 年 7 月第 1 版 2002 年 7 月第 1 次印刷

开本:889×1194 1/32 印张:10 插页:2

字数:246 千字 印数:1—1 000 册

定价:35.00 元

本书如有印装质量问题请直接寄承印厂调换

前 言

随着中药现代化的快速发展,尤其在进入 WTO 后,中药的质量控制得到了国内外的高度重视。目前普遍采用“5P”(GAP、GMP、GLP、GCP、GSP)系统工程进行中药质量的全方位控制。其中 GAP(中药材生产质量管理规范)为“5P”之首,其实施又是最重要及最困难的一步。中药材 GAP 从保证中药材质量出发,控制影响药材质量的各种因子,规范药材各生产环节乃至全过程,以达到药材“真实、优质、稳定、可控”的目的。其主要内容包括:中药材生长的生态环境,中药材的种质资源确认,中药材的栽培技术,病虫害的控制,科学采收,加工处理,以及存储及运输规范等。中药材 GAP 实施中每一内容均需要现代分析技术为其提供科学数据及信息。其研究涉及到多种学科,包括生态环境、生物、化学、药学及数学等。由于其特殊性,因此在其实施中对分析科学的需求也不同于一般的分析技术。本书是在编者近年来对丹参、泽泻与甘草进行 GAP 研究的基础上,根据实践需要而撰写的。其中很多内容已发表在国内外重要学术刊物上,获得了同行的关注。作者均为专业研究的一线工作人员。由于我国在 2002 年 6 月 1 日起试行运行中药材 GAP 实施纲领,本书可望能为中国中药材 GAP 的实施提供有用的关键分析

技术,以促进我国中药材 GAP 的实施。本书亦可作为中药材 GAP 研究、中药控制工作人员及研究生的专业参考书。

本书在编写中获得香港创新科技署与香港新世界健业公司的资助,并得到香港浸会大学中药研究开发部、福建省科技厅、厦门大学现代分析科学教育部重点实验室等单位多方面的支持,同时有幸获香港浸会大学荣休校长谢志伟博士及香港新世界健业公司总经理纪文凤女士撰写序文。在本书的出版过程中,李志宏付出了辛勤的劳动,同时也得到了厦门大学出版社睦蔚的通力协作,在此一并表示感谢。由于本书编写仓促,错误在所难免,敬请读者批评指正。

编者

2002 年 6 月

序一

在回归自然的大潮流下,近年来国际上对天然药物的研究日益重视。通过现代科技,我国源远流长的传统医药也被赋予了更为科学的内涵,历久弥新并展现出广阔的发展前景。目前,香港正在积极实现成为国际中医药中心的宏大目标。政府与企业界也加强了对中医药研究开发项目的支援与资助。本书作者所参与的“四川中江丹参及其半成品的 GAP 生产与质量指标研发”课题,就是由香港创新工业署与香港新世界健业公司联合支援赞助的。该研究项目由香港浸会大学中医药学院的研究开发部 GAP 实验室承担。该研究课题与厦门大学—香港浸会大学中药研究联合实验室进行科研协作,再加上新世界四川中江丹参基地公司的协助,在 2000 年初开始起动,目前已顺利完成了研究目标。本书就是该项目结题的重要成果之一。书中所介绍的各种现代分析技术,目前已有有效地应用于丹参的实际生产质与量控制中。

作为香港浸会大学前任校长及中医药学院的倡议人,我很高兴看到作者的中药材 GAP 研究与中医药学院的发展,由无到有,顺利成长。另外,作为厦门大学—香港浸会大学中药研究联合实验室创建时的主要赞助者,我也很高兴在两年后的今天,联合实验室能获得实质性的

合作研究成果。希望本书的出版,能为以后中药在质量控制与 GAP 生产上提供实际有效的参考资料,也希望作者能在今后的工作中,为中药现代化的发展继续尽力。

谢志伟

香港浸会大学荣休校长
2002 年 6 月

序二

全球人口老化,加上生活水平提高,人们对天然药物的兴趣和信心不断增加。回归自然的热潮,正好为中医药融入国际医药主流提供了一个千载难逢的机会和展示舞台。

中医药本应是高增值的产业,可惜一直停留在较原始水平,欠缺科学理论依据及质量监控手段,致使中药材和中成药在国际市场上地位不高。虽则如此,但前景依然看好。

现在,政府决心保护中医药的知识产权,制定生产规范和质量指标,以“5P”(GAP、GLP、GCP、GMP、GSP)为指导方案,逐步与国际要求接轨。

香港新世界健业有限公司以投资中药现代化产业为目标,推行项目整合,具备短中长线的一条龙投资策略。我们很高兴能够与香港浸会大学中医药学院联手合作,且得到香港政府创新科技基金资助,利用政、企、学“金三角”的力量去推动和实践中药标准化。这个课题以新世界在四川中江投资的丹参基地为研究焦点,在黎先春教授统筹之下,以及王小如教授的厦门大学—香港浸会大学中药联合实验室及峨嵋中药学院同仁的悉心投入,在两年内,监测及跟踪了丹参由种苗到成熟期的成长,从而按

部就班地将传统与新科技接合,制定了良好的种植规范;同时发展质量控制和鉴定分析技术,实现量化和数据化,并将项目中有关质量检测的方法与研究成果结集成此书。希望书中结论能够成为日后 GAP 工作的质量蓝本,为全球药业界提供有深度、有理论、有根据、有实例的参考资料。

本书研究的成果只是香港新世界健业公司与香港浸会大学合作的良好开端,希望能够在中下游产品开发上再度配合,携手为中药现代化发展而努力。



香港新世界健业公司总经理
2002 年 6 月

目 录

前言	(1)
序一	(1)
序二	(1)
中药材的质控与标准化	
——兼论标准丹参中间提取物	黎先春,李磊,李伟,王小如(1)
中药材 GAP 实施中的分析	
化学技术	王小如,李伟,李磊,黎先春(17)
去氧核糖核酸(51DNA)指纹图谱在中药材品质评价	
和鉴定中的应用	李磊,夏慧茵,黄岳顺,胡宇慧,黎先春(30)
近红外光谱对丹参药材指纹特征的	
提取与表达	李伟,黎先春,王小如(51)
薄层色谱(TLC)对丹参药材指纹特征	
的提取与表达	李伟,黎先春,王小如(65)
中药中农药残留分析的样品	
前处理	胡广林,徐晓琴,黎先春,王小如(74)
中药材溶剂萃取的技术与	
应用	金汝城,李磊,王巧娥,黎先春,王小如(93)
质量控制和鉴定的高效液相色谱(HPLC)在丹参 GAP 生产	
与质控中的应用	李磊,黎先春,王小如(113)
大气压电离液质联机(LC-MS)在中药分析中	
的应用	沈金灿,庄峙厦(154)

高分辨电喷雾飞行时间质谱(ESI-TOF-MS)在中药	
质量控制中的应用·····	于文佳,何坚,王小如(176)
高效毛细管电泳技术(HPCE)在中药有效成分	
分析中的应用·····	李琦,王小如(195)
电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)及其与高效液相	
色谱(HPLC)联用技术用于中药材微量元素含量	
测定和形态分析的研究·····	黄志勇,庄峙厦,王小如(221)
用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定铅同位素	
比值进行中药微量元素含量准确测量及中药地源	
性分析的研究·····	黄志勇,杨朝勇,王小如(251)
热解法(Pyrolysis)、冷原子发生法(Cold Vapor Atomic	
Generation)与原子吸收光谱法(Atomic Absorption)联用	
快速测定中药样品中的汞含量·····	陈宾,黎先春,王小如(270)
气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术在中药材成分分析中	
的应用·····	王翊如,胡广林,王小如(286)
化学计量学(Chemometrics)及指纹图谱(Fingerprinting)	
技术在中药分析中的应用·····	朱尔一(296)

中药材的质控与标准化

——兼论标准丹参中间提取物

概述

近年来国际上对天然药物与功能保健食品日益重视,全世界都掀起了中医药的热潮。随科学技术,尤其是医药生化科技的飞速发展,实现中药现代化,与国际医药科技接轨,已成为中医药工作者的共识。

实现中药生产全过程的系统质控是中药现代化的保证。目前国际间对药物的应用与开发,有各种形异实同的一整套审核、评估与管理系统,其中最通用的也就是所谓的“5P”质控系统:

“GAP”——优良农业规范(Good Agriculture Practice)

“GLP”——优良实验室规范(Good Laboratory Practice)

“GMP”——优良工业生产规范(Good Manufacturing Practice)

“GCP”——优良临床试验规范(Good Clinical Practice)

“GSP”——优良供应规范(Good Supply Practice)

我国现有的各类中药标准和规范还存在着很多空白或待完善之处。如何在现有的国际规范基础上,汲取现代医药发展的成功经验,参考国际标准,制定符合中医药理论的质控系统可以说是当务之急。在本书的以后各篇中,我们将详述各种质控的分析技术。

本文重点放在两个方面。首先,前一部分将扼要叙述在 GAP

研究中的质控指标与分析取样的规范化要求。这一部分为以后各篇的方法讨论做个综述。在后一部分,我们将详细讨论中间提取物的意义。这部分将以丹参的实际数据为例证,讨论如何制备标准化的中间提取物,以作为药材的内控质量标准。我们认为结合标准提取物的制备,与能反映生物活性的指纹图谱的分析,是一个最有效的药材质控手段。

1. 质量规范与标准化

中药现代化的首要工作是中药产品的科学化与质量的提升。就药物而论,质量的基本要素是药效、安全,以及稳定性与可控性。引申来说,就是第一,要有科学依据,以及具备可量化的疗效与剂量关系的产品药效;第二,经过科学测试确定产品的安全性,并保证其不含掺杂伪药及含量低于限量标准的毒物与污染物,如重金属、农残等;第三,产品的稳定性,这主要包括三个方面,即药材来源、处方组成与生产工艺的稳定;第四,与稳定性密切相关的药物的可控性,也就是在生产过程中,充分掌握生产条件与产品质量间的因果关系,作为产品与工艺质控优化的基准。

除了以上四点基本质量要素外,另一个质量的重要指标就是药物的剂型选择。一方面,不同的药物应该配以不同的剂型;另一方面,剂型的选择也会直接影响药效与药物的稳定性。因此,要考虑药物的贮藏稳定性、制作过程对有效成分的影响,以及药物成分的理化特性等,开发有效适应剂型,也是药物质量的一个重要指标。概括来说,中药物主要剂型包括注射液、滴丸、膜剂、散剂、颗粒、免煎饮片、浸膏与微胶囊等。这些剂型各具特点,选择时,除考虑生物吸收与药效外,也必须兼顾它们对药物稳定性的影响。

中药生产是一个涵盖农业与工业生产的复杂过程。这个过程包括从田间药用植物的 GAP 生产,经过炮制饮片或中间提取物

加工,到最后中药成品的 GMP 工业生产,每一个环节,都是独立的,但又环环相扣。本书讨论的重点是中药材与饮片或中间提取物等半成品的质控技术,强调的是在药材生产中用于监控的各种理化鉴别与检验方法。至于传统的中药材性状检验、形态考察与显微鉴别等技术,这方面的文献报道已有很多,则不在讨论之列。

植物药原药材的生产属于农业生产,而 GAP 则是用于规范中药源的种植、采集及生产的准则。这些准则包含两个层次:一个是技术性的,用于规范、监测、检定生产工艺的技术与方法;另一个是非技术性的,包括场地、环境与人员的管理与培训。就技术层次来说,这些准则并不是指定应用某一个特定的技术或方法,而是制定一整套的品质控制程序与系统来保证技术实施时的正确性和所获取数据的可信性。这些程序与系统,基本上是应用现代分析科学与统计学来监控生产过程中所涉物质(由原料至最后产品)的质量。

植物的成分复杂,并且同一植物中的化学成分含量随生长环境、采收季节等的差异而不同。采后加工处理方式及成分的提取分离检测手段同样会影响到药物中药效成分或指针成分的定性及定量。因此,在植物药制剂生产时,由于原料药材质量参差不齐所带来的产品质量不稳定是产品质量的主要问题。这就是对植物药生产进行 GAP 规范管理并制定一系列标准操作规程(SOPs)的重要意义所在。造成产品质量不稳定的另一个原因是药材原料中某些活性成分会因贮藏放置不当而发生变化,如有些见光易于分解的成分、热敏性成分、易氧化成分等。所以,即使是同一批原料,加工提取制药的时间不同,在同样条件下所得产品质量也会有较大差异。在很多情况下,植物药中的药理或活性指针成分在工业化提取时容易氧化、构象变化或失活,因此,产品工艺的改变或调整也会影响到制药过程和保健食品基料生产过程中产品的药效和稳定性。这也就是在每一个生产环节都必须有明确的、严格执行的

SOPs 的原因。除了操作方法,这些 SOPs 也必须包括严谨的质控程序。

2. 规范化的分析与取样方法

要做好 GAP 工作,首先必须建立一系列有效而规范化的分析方法,也就是分析方法的 SOPs。规范化的分析方法必须达到以下几个基本要求:(1)记录详尽,列明所有的化学用品的厂家、来源,以及样品的接收、数据的处理等(可查)。(2)操作规范化(规范)。(3)分析误差要控制在一定的范围内(准确);分析数据的正确性,由样品与对照品或标准品的标定来建立(正确)。(4)保证任何操作人员在同样的仪器及操作条件下能重现实验结果(可控)。(5)有明确记载与依据的标准品,记载标定方法与质控程序的来源与原始文献数据(可追踪)。

为了达到 GAP 研究目标,所需要的化学分析方法可以说千头万绪,种类极其复杂,在以下各篇中,对各种现代的分析技术将有详细论述。总的来说,可分为以下四大类:第一是实验室的药材定量与定性成分分析,这一类方法要求重点是科学性与准确性,必须能提供最多的化学成分与结构信息。第二是现场、野外的环境或生物、植物样品监测。这些方法必须快速、可靠而易于操作,且必须严格配合取样的代表性。第三种是各种仪器分析的药材指纹图谱信息。这里最重要的是方法的重现性与数据的量化与可比性。第四种是针对药材安全性的重金属、农残与有毒物分析。由于这类分析大部分属于微量或痕量分析,所以最重要的要求是方法的灵敏度与可靠性,对 QA/QC 的要求也更加严格。

在 GAP 的研究中,适用于田间的快速检测方法是不可或缺的。这些方法可以用来在现场收集大量即时数据,有助于生产基地质量管理部门实时把握中药材生产全过程。所建立的方法一方面

必须可靠,另一方面也必须易于操作,可以在田间由非专业的工作人员使用。在丹参的工作中,我们先后发展了各种针对不同药材成分的比色方法及简化的 TLC 快速检验法,许多将在以后各篇中介绍。这些方法被充分利用来收集大量的丹参在不同生长期、不同环境与不同条件下的初步数据。经过这一初步筛选,然后再从中选择需要进一步详细分析的样品,做进一步的实验室分析。

NIR 是我们重点发展的一个快速检验技术,这种技术适用于各种形态的样品,一般不需要做任何处理,样品用量少,信息量大,指纹性强。借助计算机技术可最大限度地利用其中信息,揭示谱图间的微小差异,全面反映中药材的指纹信息,并可定量地描述不同样品谱图的相似程度,从而对样品客观地进行鉴定。在本书中,NIR 主要应用于不同产地、不同部位与不同等级的丹参药材的鉴定。但从原理上说,也可作为一般中药材在生产与加工过程中动态监测的快速分析方法,为鉴别丹参药材质量提供参考。

在任何分析方法中,取样与样品前处理一般是最容易引致误差的一步,在分析方法规范化的过程中也是最需要小心处理的环节。在中药材 GAP 工作中,尤其如此。

规范中药材生产全过程的生产活动,涉及到土壤地理、大气环境、灌溉用水、适宜采收期的研究、中药材的重金属、加工贮藏的无害化处理、对施肥及农药残留的限制等等,这些是 GAP 研究的重要内容。上述问题的各个环节或多或少涉及到样品的采集和处理方式。土壤、大气、水等需要测定的指标包括二氧化硫、氮氧化物、氟化物、总悬浮颗粒物、臭氧、一氧化碳、水的 pH、溶解氧、电导率、重金属、菌类、有机磷、有机氧、氰化物及农药残留等。检测这些指标时,其采样及样品处理规范在国家标准“土壤环境质量标准”(GB15618-1995)、“农田灌溉水质标准”(GB5084-92)、“环境空气质量标准”(GB3095-1996)等中有详细阐述。药材生物学、不同水分及肥力、病虫害危害的程度等与药材产品及有效成分含量的关

系的研究都要求取样分析的可控性、可比性及可重复性。

植物药中化学成分复杂,每种中药都有各自不同的活性成分。针对中药中活性成分和指标成分的定量及其指纹图谱的建立,其难点,也就是对制定 SOP 有较大影响的因素主要有以下几个方面:一是同属植物间不同品种有效成分含量差异较大,而市场上往往有伪产品出现,给取样工作带来了难度。二是中药化学成分分布的不均一性。同一种中药的不同部位,甚至同一药物部位中不同的组织形态,其有效成分的分布都有很大的不均一性,这就对药品粉碎及有效或指标成分的提取等标准化提出了更为严格的要求。三是中药活性成分和指标成分对自身组织酶和环境(如光、热、氧分压、相对湿度、菌物系统等)等的敏感性。有些有效成分可能是自身组织酶的底物,在中药采后处理或研究有效成分时对样品的前处理就要根据植物生理尽快进行灭酶处理,以便在药材的长期贮藏过程中最大限度地保留其中的有效成分。对于一些在一定时间内含有受光热等环境参数影响的化学成分(不一定对光热等特别敏感)的药材,在样品前处理时的干燥及药材加工(如饮片加工)包装处理等方面,必须要注意环境状况及人为处理方式对这些成分的影响。四是在样品采收时,不同批次的样品的均一性及新鲜样品的处理(如泥土的去除、干燥等)方法都因不同的植物药及不同化学成分的检测,要求会有相当大的差异。

我们在对丹参进行 GAP 研究的过程中发现,丹参有效成分丹参酮类化合物在植物组织中的分布有较大差异。丹参酮主要分布在丹参药用部位的皮部,其木质部分含有极少的丹参酮。不同规格的丹参,其根皮部所占的比率不同,而不同的过筛粒度会影响丹参酮的定量。所以,以丹参酮为测定指标对丹参质量进行表征及不同批次的丹参样品的指纹图谱建立时所涉及到的取样问题就有丹参药材的粗细长短、粉碎时丹参的颗粒度及可筛过性等。丹参活性和指标成分含量的积累动态指标,生物总量的变化及加工、干燥处