

中药化学对照品研究与开发^{*}

刘布鸣, 邱宏聪

(广西中医药研究院, 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

摘要: 本文概述了中药化学对照品的定义及其实际意义和学术价值, 介绍研究方法与技术要求, 探讨目前中药化学对照品存在的问题、应用前景和产业发展需求。根据中药行业的特点与发展趋势, 分析讨论我国中药化学对照品的研究现状和面临的机遇与挑战, 并探索其未来发展的目标、方向。

关键词: 中药化学对照品 研究现状 制备 分析 展望

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2019)05-0461-05

0 引言

中药化学对照品, 亦称标准品, 是中药质量标准研究、质量检测和质量控制的实物对照, 中药化学对照品的研究, 是中药标准化、现代化研究的一个非常重要的部分, 对新药的开发、老药的评价, 特别是在药品生产的质量控制中, 中药化学对照品起着极其关键的作用。

1 中药化学对照品的实际意义和学术价值

中药化学对照品是药品检测和研究中使用的参比物质, 用于确定中药的真伪和评价药品质量的优劣, 对提高中药质量控制水平、保证用药的安全有效具有重要作用。中药化学对照品按《中国药典》(2015年版 四部)^[1]及中药材、中药部颁标准中化学检验要求可分为① 鉴别用中药化学对照品, 可用于中药材及中药制剂的薄层色谱、气相色谱、液相色谱等定性分析; ② 含量测定用中药化学对照品, 可用于中药

材、中药单体成分和类成分、中成药制剂的含量测定, 用于色谱法、紫外分光光度法、比色法等定性检查; ③ 杂质检查用化学对照品, 用于中药有效成分制剂中杂质的限量检查。

目前我国相当部分中药药材及其制剂化学成分不明或无化学对照品, 无法阐明其作用的化学物质基础, 则无法进行有效的质量控制, 而不能被现代社会所接受, 难以进入国际药品市场。因此, 中药化学对照品研究对中药现代化的重要性是显而易见的, 制备高纯度的化学对照品以及质量标准规范化研究是中药现代化发展的必由之路, 具有重大的实际意义和学术价值。

随着世界全球化的发展, 贸易壁垒已转为技术壁垒, 而技术壁垒的核心内容就是标准和检测。生产与流通的各种产品, 无论是在国内或是国际市场, 都需要靠高水平的质量标准和测试技术来获得发展和提高, 否则将失去市场。在国际市场贸易双方的法律文件中, 有关质量和检测的内容占有主要地位, 可

^{*} 广西中药质量标准研究重点实验室课题(桂中重自 201801)和广西科技计划项目(桂科 AD17195002)资助。

【作者简介】

刘布鸣(1956—), 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药、天然药化学成分与质量标准研究, E-mail: liubuming@aliyun.com。

【引用本文】

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20191106.002

刘布鸣, 邱宏聪. 中药化学对照品研究与开发[J]. 广西科学, 2019, 26(5): 461-465.

LIU B M, QIU H C. Research and development of traditional Chinese medicine chemical reference substance [J]. Guangxi Sciences, 2019, 26(5): 461-465.

见产品的质量标准 and 检测方法变得愈来愈重要。“安全、有效、稳定和质量可控”的药品标准已成为国际共识,药品研发与生产应围绕着这一中心展开,其核心为质量标准控制水平,而化学对照品则起到关键的作用,成为共性与关键技术之一。尽管中医药是我国特有的传统医学体系,但中药的复杂性以及多年来对于中药化学基础研究的不足,致使多数中药的药效成分仍不明确,对照品与该药的功能主治吻合性较差,专属性差,缺乏确定的特性或量值,可供定量用的对照品少或纯度不符合要求,造成药品标准中载的不少中药及制剂无含量测定的量化指标,严重制约着中药质量标准的“量化”控制水平的提高。此外,由于对照品的限制,许多功能主治不同的中成药的含量测定成分相同,因而缺乏专属性,难以达到质控的目的,未能真正反映中药的内在质量,缺乏多指标控制,药品质量与量相关性差。目前中药包括新开发的中药,多为单成分单指标的含量控制,虽有的为有效成分,但实际上也只是指标性的控制,达不到以“量”控制“质”的目的。虽然随着天然产物化学的研究与发展,我国中药检验和质量评价已在形态学和传统生药学的内容逐渐增加了化学分析的方法,中国药典已收入了上千种的中药化学对照品,大多数药材和制剂制定了采用中药化学对照品进行鉴别或含量测定的方法标准,但由中国药品生物制品检定院(NICBPB)标定和提供的中药化学对照品供应品种有限,供应不足,品质和价格体系也还不完善,在一定程度上制约了中药品质控制的发展。虽然业内在中药现代化进程中已高度重视中药质控对照品的研究,但其体系和规模仍不能适应中药发展的要求。

美国、日本、欧盟等发达国家和地区对天然药物的研究发展较快,且越来越多地采用来源于天然药物的化学对照品进行研究和质量控制。全球最大的化学对照品公司(Sigma公司、Merk公司等)具有上万种化合物的数据库,并逐步建立天然药物化学成分及对照品数据库,推出植物药化学对照品。Sigma公司主要供应化学药物和生物药物对照品,并以良好的信誉赢得了很大的中国市场,但价格较高。据不完全统计,除NICBPB外,我国也有几十家可供应中药化学对照品的企业。现中药化学对照品市场存在的主要问题是:NICBPB标定的中药化学对照品数量有限,市场化差;一些企业与机构受限于经济实力、科研能力,无法形成有效供应链;少量对照品供应公司虽然具有自主研发能力,但能提供的对照品品种、数量、使

用范围有限,质量亦难以保证;企业供应的对照品缺乏法律的效应;高校与科研院所没有形成量化和标准化的对照品产品;国外供应的对照品价格较高且采购时间较长。总之,中药化学对照品品种与数量少,标准化和信息化程度偏低,部分纯度低,达不到技术要求,这些是有待解决的关键。

综上,为使中药国际化,建立既有中医药特色,又具有国际化潜力的中药全面品质控制体系,中药质量控制的技术和方法以及中药质量标准必须由以单成分、单指标的质量控制向多成分、多指标的质量控制转变,不断提高量化控制水平,使中药进入国际市场。中草药化学标准品的纯化研究及质量标准规范化研究是中药现代化发展的必经之路,中药化学对照品作为中药产业的一个研究方向和重点,必将占有十分重要的地位。

2 中药化学对照品制备与标定

2.1 中药化学对照品制备

中药属于天然化学品范畴,成分多而结构复杂,有效成分的分离、纯化较困难。化学对照品的纯化多采用反复多次柱层析、重结晶,或采用制备液相色谱,前者费时费工,后者设备投资较高。采用传统的分离技术如超离心、沉淀、萃取、超滤等往往达不到所需的纯度要求,而色谱分离技术无疑是这类物质精细分离的有效手段,随着现代科学技术的发展,现代色谱方法由分析型逐渐发展到制备型,其应用领域在不断扩展。近30年来,制备液相色谱已成为当代高效分离与纯化技术的研究前沿。现代制备液相色谱柱具有以下特征:(1)柱长短、内径大、呈圆饼状(Pancake),与常规分析柱相仿,一般为20~50 cm,远短于传统柱长1 m甚至1 m以上的制备柱。内径为10~100 mm,因此可以在较大的流速下不致产生很高的柱压降,从而获得高产率。(2)填料颗粒小,分布窄。采用直径为10~20 mm的细颗粒、孔径及粒度分布均很窄的多孔球形或非球形填料,替代传统大颗粒(40~200 μm)、宽分布的无定形填料填充制备柱,因而具有高得多的柱效,通常每米的塔板数在20 000以上,有的甚至可达到与分析柱相仿的柱效。(3)流速高,流动相的线速一般在5~10 cm/min,以便提高产率,降低生产成本。制备液相色谱根据待分离样品的负载量分为两类,一类为研究开发型,另一类为工业生产型。前者属于实验室规模的制备分离,样品量为微克级至克级,分离的样品一般供结构鉴定、生物活性

测试以及作为合成、半合成工作的原料及对照品等, 大规模工业化色谱分离与纯化条件优化的前期研发工作也属于此类色谱。这类色谱中经济效益并不是首要考虑的因素(除了大规模分离条件优化的前期研发工作外), 对仪器装置要求不高, 任何达到预期分离目标的仪器均可使用; 而后者经济效益是其整个纯化过程考虑的核心因素, 纯化样品量为千克至吨级。这两类制备液相色谱的区别反映在其柱设计上有很大不同, 实验规模制备分离所用色谱柱的设计、填充及操作与常用分析柱基本相同, 其内径一般为 10~50 mm, 但大规模生产所用制备柱的内径通常大于 50 mm, 为了得到高效柱, 其柱型及结构与前者不同, 对填料及其填充技术要求也更高。

为了适应科学的进步和工业技术的发展, 制备液相色谱技术取得了显著进步, 成为许多公司商业竞争的热点^[2]。生产和供应制备色谱仪器的厂家和公司很多, 制备柱的类型和规格也在不断发展, 生产实验室制备分离色谱柱的国外厂商主要有 AKZO Nobel/EKA Chemicals、Agilent Technologies、Alltech Associates Inc.、Advanced Separation Technologies 等; 工业制备分离色谱柱一般为 DAC 柱, 目前生产 DAC 柱的厂商主要有法国的 NovaSep (由以前的 Prochrom 和 Novasep 合并)、丹麦的 Dan Process A/S、美国的 MODcol、英国的 Jones Chromatography 和德国的 Merck KGaA 等公司, 国际品牌此类设备制造价高。目前国外制备液相色谱已广泛用于药物及生物产品的纯化, 而且发展迅速, 但是由于关系自身利益, 通常国外的色谱公司对这些技术严加保密, 很少公开发表。与分析液相色谱相比, 制备液相色谱的研究发展相对滞后。在我国, 近些年来制备液相色谱的研究与应用虽有所发展, 但与国际水平相比差距甚远。作为一种高效的分离与纯化技术手段, 国产的制备液相色谱设备在技术上逐渐成熟, 已有全自动化学对照品纯化系统, 集柱层析技术、高压液相制备色谱技术于一体, 并可用计算机智能控制的全自动、高性能的中高压制备纯化系统。国产一体机造价较低, 可为中药化学对照品的制备和纯化提供设备、方法技术, 在性能上也能分离提纯得到大于等于 98% 纯度的化学标准品, 性价比较高, 能满足国内大多数科研院校及制药企业对中药化学对照品的要求。制备液相色谱在我国的中药现代化进程中无疑具有广阔的发展与应用前景, 纯化系统以及化学对照品的市场巨大, 加速研究与积极推广使用无疑是科技工作者面临

的一大挑战, 任务艰巨。

2.2 中药化学对照品标定

中药化学对照品是单一成分或混合组分, 作为用于检验的标准物质, 可分为鉴别用和含量测定用两种。中药化学对照品在未进行标定前称为候选对照品, 候选对照品需要根据国家药品标准物质研制技术要求进行研究, 首先确定候选对照品的品种, 一般选择有效成分、特征性成分或指标性成分。候选对照品的研制内容有: (1) 制备工艺, 包括原料选择、制备工艺及参数等; (2) 对照品标定, 包括性状、理化常数、结构确证、纯度、赋值、包装贮藏、稳定性试验等。对照品制备完成后, 标定是关键。首先应进行结构确证, 采用各种波谱技术, 获得各类数据, 进行详细的结构解析与推断, 并与文献数据进行比较; 第二是纯度检查, 纯度要求鉴别用 95% 以上、含量测定用 98% 以上, 通常采用色谱法进行试验, 并需进行方法学验证, 同时还应注意不同的色谱条件与上样量; 第三是赋值, 按照质量平衡法原理进行赋值, 鉴别用的因不涉及量值的使用, 不需要进行赋值, 含量测定用的则按供色谱用或供光谱用以及不同的使用方法进行赋值; 最后进行稳定性试验, 确定包装和贮藏条件, 以及有效期限。

3 应用前景、目标和发展方向

据统计, 我国已公布的中药化学对照品有 1 000 多种, 《中国药典》2015 年版收载中药化学对照品 500 多种, 标准品与对照品(化学药) 1 600 多种, 《中国药典》2015 年版一部收载有药材、饮片、植物油脂、提取物、成方制剂、单方制剂等, 共计 2 598 种。大多数药材、提取物和制剂都制订有采用中药化学对照品进行色谱鉴别或含量测定的方法标准, 《中国药典》标准中提取物一般均建立有特征图谱, 在 30 多个药材标准中建立了特征图谱。中药化学对照品对药品质量控制的作用不言而喻, 可见中药化学对照品应用之广、市场之大。目前 NICBP 能供应的中药化学对照品种仅 400 多种, 在此情况下, 很多需要中药化学对照品作检验的药品实际上是不能完成相应检验的, 因此影响药品生产与质控, 而新药研发与相关科研对中药化学对照品则有更大的市场需求。现我国对照品市场化程度不高, 原因是多方面的, 主要是渠道少, 供应不足, 缺乏规范化, 价格贵, 研制成本高等。对比发达国家的先进理念与做法, 我国存在着极大的差距, 走市场化, 离不开国家产业政策的支持, 解决政策性

因素,多元化,打破部门垄断,建立市场机制,中药化学对照品才可能满足市场需求。在 NICPBP 标定法定中药化学对照品的同时,建立一个国家认可,被企业广泛接受、按市场规律经营商业性中药化学对照品市场体系,就像 Sigma 等公司一样,利用市场机制刺激中药化学对照品研发,提高中药的质量标准和促进中药质量控制的意义,远远超过了中药化学对照品本身的经济价值。因此,应该从国家利益及中药现代化的高度来思考中药化学对照品来源的多样性和产业化问题。

我国有丰富的天然产物资源,尤其是广西物种资源极为丰富,目前已查明有植物物种 5 000 多种,中草药物种数量排全国第二,壮药 2 200 多种,瑶药近 1 000 多种,但目前壮瑶药材标准收载品种仅 600 多种,应用化学对照品有 200 多个,其中应用于鉴别近 300 项,应用于含量测定约 250 项,可见其应用程度与数量并不高,且部分对照品专属性不强。因此,从资源开发利用的角度出发,应充分利用广西的资源优势,加强中药化学对照品研究,建立化学对照品及其质量控制技术方法,用科学细致的标准制定完整、严谨的分析测定方法,开发系列中药化学对照品并制定相关标准,为中药民族药资源的进一步开发,提高中药质量标准提供技术保障,将资源优势变为产业优势,将产品优势变为市场优势,推动中药民族药产品品质质量升级换代,为民族区域经济乃至全国经济的可持续健康发展做出重要贡献。

深入进行中药化学对照品质量控制和制备方法研究,研制出具有特征性、专属性并且符合现行中国药典要求的中药化学对照品,确保中药质量的可控性。同时也使之能够纳入西方主流的医疗思想,使传统中药学与现代药学两种思想接触并融合在一起,这是中药走向国际的必要过程。目前我国的中药化学对照品数量有限,价格昂贵,中药化学对照品市场化、产业化后,可降低其生产、销售成本,进而直接降低药品的生产成本。而中药化学对照品品种的增加也让中药的品质质量得到多方面的控制,进一步保证中药的安全有效。中药的医疗保健作用强大,解决中药化学对照品的问题,其社会效益将难以估量。中药化学对照品研发、销售贸易及其后期的产品认证,如果按照市场化模式运作,最终是以经济效益来衡量。制备高纯度的化学标准品,进行中草药化学成分及质量标准规范化研究是中药现代化发展的必由之路。

综上所述,中药化学对照品研究应从 3 个方向开

展研究:(1)化学成分及药效物质基础研究。对化学成分进行系统的提取、分离和结构鉴定以及结构修饰研究,筛选活性物质,明确有效成分,揭示药效物质基础、指标性成分和质量标志物;(2)对照品制备。进行对照品提取或合成、分离、纯化以及工艺研究,确定其化学结构,制备具有特征性、专属性的中药化学对照品;(3)技术标准与分析测试方法研究。建立对照品的质量控制技术和方法,制定出符合现行国家标准并与国际接轨的、科学实用的对照品质量标准。近年来,国内研究人员成功制备出绞股蓝皂苷 XLIX、醋酸特利加压素、青阳参苷甲、金花茶皂苷 A、去氢骆驼蓬碱、党参吡咯烷酮 B、金丝桃苷、鸢尾苷等多种化学对照品^[3-10],广西中药质量标准研究重点实验室(广西中医药研究院)也根据广西中草药特色开展了部分中药化学对照品的研究^[11-17],并取得了一定的成绩(表 1)。

表 1 广西中药质量标准研究重点实验室(广西中医药研究院)近年来研制的中药化学对照品

Table 1 TCMCRS Developed by Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards (Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences)

对照品名称 TCMCRS	标准号/专利号 Standard number / patent number	获得年份 Approval time
龙血素 B Loureirin B	DB45/1548-2008	2010
夏佛塔苷 Schaftoside	/	2011
山茶苷 A Camellin A	ZL20121040708.8	2012
氯化两面针碱 Nitidine chloride	ZL201210040706.1	2012
棒柄花苷 A Trans-4-(1-propenyl)-phenol- β-D-glucopyranoside	ZL201310022965.6	2013
甜茶苷 Rubusoside	ZL201410789690.3	2014
水黄皮素 3-Methoxy-2-phenyl-4H-furo [2,3-h]chromen-4-one	ZL201510247241.0	2015
薏贝素 Embelin	ZL201710074318.8	2017
根皮苷 Phlorizin	201910644834.9	2018
重楼皂苷 VII Polyphyllin VII	/	2018

注:纯度均为 98%以上

Note: Purity is all above 98%

由于中药组分的复杂性,中药标准中需要建立多指标、多组分的质量评价模式,这就要求必须不断提高质量控制技术的水平。通过知识产权保护和技术标准研究,可获得自主知识产权的新产品、新标准物

质和新技术标准,同时制定出相应的国家、行业、地方或企业技术标准,或者在地方标准或企业技术标准实施若干年后,逐步上升为行业或国家标准乃至国际标准,从而在技术标准上抢占先机,保持优势,引领行业的健康发展,其成果并不亚于开发新药。

总之,为使我国成为天然产物化学对照品与质量标准的大国和强国,业内有识之士需要更新理念、驱动创新以及长期不懈的努力。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国国家药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [2] 刘布鸣, 马彦, 冯可荣, 等. 制备高效液相色谱分离纯化系统的研制与开发[J]. 广西科学院学报, 2010, 26(3): 354-356.
- [3] 胡晓安, 李霞, 胡萌萌, 等. 绞股蓝皂苷 XLIX 对照品的制备与鉴定[J]. 中南药学, 2019, 17(6): 847-850.
- [4] 刘倩, 李震, 张媛, 等. 首批醋酸特利加压素化学对照品的研制[J]. 中国药事, 2019, 33(4): 402-407.
- [5] 管珂, 袁红, 马双成, 等. 民族药材青阳参对照品的制备及质量标准提高研究[J]. 中国药事, 2018, 32(4): 469-475.
- [6] 韦英亮, 陈秋虹, 盘杨桂, 等. 金花茶皂苷 A 对照品的制备[J]. 食品科技, 2018, 43(1): 227-230.
- [7] 吴杰, 叶娟, 李丹, 等. 骆驼蓬子中去氢骆驼蓬碱对照品的制备研究[J]. 西部中医药, 2017, 30(10): 30-32.
- [8] 史美耿, 文红梅. 党参中党参吡咯烷酮 B 对照品的制备及含量测定[J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(10): 133, 143.
- [9] 林启凤, 陈仲巍, 余亚选, 等. 南方菟丝子茎中金丝桃苷对照品的制备及含量测定方法的研究[J]. 分子植物育种, 2018, 16(1): 234-239.
- [10] 李森林, 刘春明, 唐英, 等. 射干中鸢尾苷对照品的制备及含量测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2116-2118.
- [11] 刘布鸣, 卢文杰, 莫建光, 等. 龙血素 B 标准品的质量标准研究[J]. 广西科学, 2009, 16(1): 76-78.
- [12] 黄艳, 李玟琪, 刘元, 等. 亮叶杨桐叶中山茶苷 A 对照品的制备及鉴定[J]. 广西科学, 2013, 20(1): 79-81.
- [13] 黄艳, 刘布鸣, 赖茂祥, 等. 两面针中氯化两面针碱对照品的制备[J]. 广西科学, 2013, 20(3): 258-260.
- [14] 黄艳, 刘元, 陈小刚, 等. 棒柄花苷 A 对照品的制备研究[J]. 广西科学, 2014, 21(3): 264-266.
- [15] 冯军, 黄艳, 刘布鸣, 等. 甜茶素对照品制备方法的研究[J]. 广西科学, 2015, 22(2): 156-159.
- [16] 刘布鸣, 黄瑞松, 黄艳, 等. 水黄皮素候选化学对照品制备及分析研究[J]. 中国药品标准, 2016, 17(2): 103-106.
- [17] 刘布鸣, 韦宝伟, 黄艳, 等. 葱贝素候选化学对照品的制备及分析研究[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(6): 794-798.

Research and Development of Traditional Chinese Medicine Chemical Reference Substance

LIU Buming, QIU Hongcong

(Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

Abstract: This paper summarized the definition, practical significance and academic value of traditional Chinese medicine chemical reference substance (TCMCRS), introduced the research methods and technical requirements, and discussed the problems, application prospects and industrial development needs of TCMCRS. According to the characteristics and development trends of Chinese medicine industry, the research status, opportunities and challenges of TCMCRS were analyzed and discussed, and the future development goals and directions were explored.

Key words: traditional Chinese medicine chemical reference substance, research status, preparation, analysis, prospect

责任编辑: 陆雁