

本研究以血药浓度法作为手段,采用高效液相色谱技术,将血虚证与补血药白芍效应成分芍药苷药物动力学研究联系起来。在参考有关文献^[5-7]的基础上建立了适合本研究的动物模型、色谱条件和生物样品制备方法。用该方法可将小鼠血浆中芍药苷与血浆中蛋白杂峰、内源性物质、白芍提取物的其他成分以及这些成分的体内代谢产物和结合性成分很好分离。方法重现性好,操作程序简便,样品损失率低,本法为“证”与药物效应成分血药浓度的相关性研究奠定了方法学基础。

用白芍制剂灌胃小鼠后,发现对照组、实验组均在给药 30~120 min 内芍药苷血药浓度较高,尤其是给药 60min 后血药浓度达到峰值,对照组平均芍药苷血药浓度为 $41.49 \pm 2.86 \text{ ng}/\mu\text{l}$,实验组为 $116.52 \pm 5.28 \text{ ng}/\mu\text{l}$,但到了 150 min 以后,芍药苷在血中的浓度明显降低;在 30~120 min 实验组与对照组比较,芍药苷血药浓度显著提高 ($P < 0.001$,对照组 AUC 为 $4542.6 \text{ ng } \mu\text{l}^{-1} \text{ min}$,实验组 AUC 为 $10698.3 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1} \text{ min}$ 。说明血虚证与补血药白芍有效成分芍药苷之间存在病理状态与药物动力学的辨证关系。

参考文献

- 1 陈奇. 中药药理实验方法. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 182, 183.
- 2 郭立玮. 中药药物动力学方法与应用. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 288.
- 3 文爱东. 阿魏酸在微循环障碍(血瘀证)兔体内的药代动力学. 中药药理与临床, 1995; (5): 18-21.
- 4 任平. 四君子汤对脾虚大鼠胃动素及川芎嗪药物动力学特征的影响. 中国中西医结合杂志, 1997; 17(1): 45-47.
- 5 韩国柱. 中草药药代动力学. 北京: 中国医药科技出版社, 1999: 167.
- 6 孙立华, 胡永明, 马建华. HPLC 法测定肝复康中芍药苷的含量. 中国新药杂志, 2002; 11(4): 296.
- 7 吕迁洲, 王新宏, 安睿等. 活血剂中阿魏酸和芍药苷的含量测定. 中成药, 2002; 24(9): 668.

(责任编辑: 刘维杰 张志华)

(上接第 77 页)

他人将该复方中的某些活性物质提取后, 由于已经有人在先将它以指纹谱的方式公开其存在和药用价值而使在后申请失去了新颖性, 由此来阻断他人的恶意开发。

2. 可以解决传统中药复方的新颖性问题。

按现行专利法的规定, 我国传统中药方剂已经处于公开的状态, 即已失去专利法要求的新颖性, 成为公有的现有技术, 任何人都可无偿地对其开发利用。将这一类方剂按传统的工艺或其他的现有技术进行混合, 使之成为该中药复方混合后的提取物, 该提取物由于配伍的相互作用而往往产生了新的化合物, 而并非原有组分的简单相加(这在色谱指纹谱中已得到印证)。这是, 我们以数字化色谱指纹谱来对该提取物进行技术特征的表征, 从而可尝试将已失去“新颖性”的传统中药复方获得现行专利法的保护。

运用指纹图谱来规范中药的质量标准已是国际制药界的一项共识, 美国 FDA 和欧共体对植物药(或草药)的质量检测要求制订指纹图谱检测标准。但如何把指纹图谱技术移植到专利申请文件的撰写中来, 也就是如何用数字化色谱指纹图谱的语言来描述一项发明的技术特征还尚未解决好, 如复方混合液的新颖性问题、充分公开的问题、侵权判定的问题等, 它决不是一个课题所能轻易解决的, 它涉及到专利法或者专利制度的修正和国家对一个行业的保护或是民族利益的保护。我们愿为中医药知识产权保护的理论研究提供一较新的思路。

参考文献

- 1 洪筱坤 王智华. 中药数字化色谱指纹谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2003. 18~22, 78~79.
- 2 洪筱坤 王智华. 中药数字化色谱指纹谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2003. 259.
- 3 国家食品药品监督管理局. 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行).
- 4 洪筱坤, 王智华. 中药数字化色谱指纹谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2003. 80, 260~261.

(责任编辑: 刘维杰 张志华)

运用数字化色谱指纹谱技术 设计中药复方专利技术特征*

□宋晓亭** (上海市中医药知识产权研究中心 上海 201203)

安红梅 (上海中医药大学附属龙华医院科研处 上海 200032)

摘要: 中药复方是中医学的精髓,但目前专利法的设置以及专利申请文件的撰写格式不利于中药复方的技术保护。数字化色谱指纹谱将色谱峰的定位和峰面积以数字化形式进行表达,不仅能够比较准确地表达一个组合物的内在总体情况,亦能较完整地反映出复杂中药复方产品的化学组成特征。作者认为,数字化色谱指纹图谱技术不仅能准确反映中药复方的整体质量状况,也可用于中药复方专利中技术特征的描述。

关键词: 色谱指纹谱 中药复方 专利技术特征 复方描述

随着中国加入 WTO,中医药知识产权作为一种新的经营资源而日益受到国内外商家的注意。近几年西方国家加大对天然植物药的开发力度引起我国有关部门和中医界对中医药知识产权财产价值的足够认识。在中医药知识产权保护实践中,专利保护通常被认为是根本性的保护,但由于专利制度起源于技术和经济比较发达的国家,其中药品专利则主要是针对化学药品而设立,我国现行的专利法也基本是依照 TRIPS 并参照西方国家专利法而建立的一套技术保护制度,因而对中医药传统技术的保护缺乏具体而有效的操作规则。

中药复方是中医学的精髓,也是非常不适合专利保护的技术。目前在申请专利时中药复方主要是以产品的制备来申请,其专利的主要技术特征是原料组成,比较容易被别人模仿和替换。虽然在侵权判定时可以按照等同替换的原则来进行,但根据制备产品的原料组方和含量来判断两个产品技术是否等同还是比较困难的,这主要是因为在中药的理法方药中,其遣方用药非常灵活,也就是对方中药味进行替换的方法很多。而这些在目前的专利制度上是比较容易被侵权者运用并加以规避的,致使中药复方专利的侵权判断难以认定。

经方、验方是中药复方中的重要部分,但依据现行专利法,经方、验方因失去了专利法上的“新颖

收稿日期:2004-11-20

修回日期:2005-01-03

* 上海市教育委员会资助课题(2003G 文-1):运用数字化色谱指纹谱技术设计中药复方专利技术特征的研究,负责人:宋晓亭。

** 联系人:宋晓亭,上海中医药大学办公室副主任,从事中医药知识产权研究工作,Tel: 021-51322001, E-mail: sungxt@mail.cintcm.ac.cn。

74 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

性”而不能获得专利的保护,国外经济势力和科研机构由此可以无偿地使用和挖掘,致使我国中医药知识产权大量流失。

中医的现代化绝不是片面强调“突出中医特色”的“泥古”,也不是抛开中医理论、追求单一的化学成分,而应是在中医理论的指导下,进行更深入的研究。中医药的专利保护也应有利于并引导着中医的现代化发展方向。

一、数字化色谱指纹谱技术的稳定性和可信性, 可用于设计中药复方专利的技术特征

数字化色谱指纹谱技术是采用特定的数字化技术将色谱图及其数据转译成数字的方法,即采用相对保留值来作为色谱峰的定位依据,以色谱峰的面积归一化值来反映各成分在样品中的含量比例。所谓相对保留值,就是在所有参与鉴定样品的色谱图中确定一个在各鉴定样品中都有的色谱峰作为参比标准,然后求取所有色谱峰各自的相对保留值,将色谱峰保留值转化为漂移较少、相对稳定的相对保留值。而面积归一化值,就是选择样品中的某个色谱峰(一般选内参照峰),以它的峰面积作为基准,其他各色谱峰的峰面积与它作比较,由此得到一系列的面积比值。可见,每个色谱峰在数字化指纹谱中都有两个特定的数据——定位的相对保留值和量化的面积归一化值。由于每个样品中均以相同的成分(色谱峰)作基准,因而这两个数值在不同的样品之间就具有较大的稳定性、可比性和可信性。

^[1]可见,数字化指纹谱中反映组合物内在特性的二个数据,由于其稳定性和可信性,因而可以用来对组合物中成分性质进行定义,也可用于描述组合物内在特征。

用数字化指纹谱技术描述中药复方专利的技术特征,还在于中药复方的指纹谱并不是复方组成中每味药指纹谱的简单叠加(虽然大部分色谱峰是如此),而是反映出药味组合后内在成分的复杂变化现象,如有的色谱峰面积大幅度增加,有些在单药中出现的色谱峰在复方中不出现,还有的出现了一些不属于配方中色谱峰的新的色谱峰。^[2]这些变化

正是中药复方的特性之一,也显示中药复方的魅力。就是说,虽然目前不能完全对复方中的有效成份或有效部位进行提纯,但至少可以用数字化指纹谱对复方内部存在的各种物质进行描述。在目前我国技术和经济的限制尚不能大力开发中药复方时,用指纹谱来描述这类尚未分离的有效成分则非常有意义。

由于中药复方往往对个体的针对性比较强,即所谓的辨证施治,而目前申请专利的中药复方通常是小复方,也就是味数比较少,疗效比较稳定,个体针对性不太强;这种复方在申请专利时又容易出现等同替换、恶意开发、无偿使用等诸多问题。而数字化指纹图谱技术用于对中药复方专利技术特征的描述,其益处还在于用指纹图谱来描述中药复方技术特征不但可以尝试将复方组成及剂量作为商业秘密来进行保留(但涉及到公开不充分问题,尚需讨论),更重要的是可以有效防止他人对该复方的侵权使用,防范他人无偿侵吞我国的宝贵资源。

目前在专利申报实践中有人尝试运用指纹图谱来对发明的技术特征进行描述,如“紫丁香总皂苷提取物及其制备方法及其药物组合物”的专利(专利号 02133204.5),在对其技术特征进行描述时就使用了指纹图谱的峰来对该提取物的理化指标进行描述。“中草药提取物及其制备方法和用途”的中药发明专利(专利号 95194277.8),是英国植物技术有限公司(Phytopharm)根据治疗湿疹的中药复方二次开发后在我国提出的专利申请,申请人在其独立权利要求中运用色谱技术的数值来对其技术特征进行了描述。

二、数字化色谱指纹谱技术如何描述 中药复方专利的技术特征

对一项发明的技术特征进行描述时要用法律化的专业性语言,对此,《专利法》、《专利法实施细则》和《审查指南》都有具体的规定。其中《专利法实施细则》对专利申请文件撰写的规定是,“权利要求书应当说明发明或者实用新型的技术特征,清楚、简要地表述请求保护的范围。”,《专利法》还规定,“发

明或者实用新型专利权的保护范围以其权利要求的内容为准,说明书及附图可以用于解释权利要求”。因此,一项专利权的取得依赖于权利要求书对技术方案的明确界定。

数字化色谱指纹谱是利用色谱法的特殊分离能力对中药复方样品进行色谱分析后,将所得的图谱和信息经特殊的数据化处理后而得到的一组数据。它可以提供大量的信息作分析研究和理论证明,也能以各组分的相对量来进行量的描述。数字化色谱指纹谱的两项主要内容,即相对保留值 α 和面积归一化值分别将色谱峰的定位和峰面积以数字化形式表达,并由此衍生出一系列色谱峰的比较参数和计算公式,为中药复方的比较鉴定提供了可靠的依据。而反过来,由于相对保留值 α 和归一化面积值基本表达了一个组合物的内在化合物总体情况,并能完整地反映出复杂中药产品的化学组成特征,因此,它除了能够准确反映中药复方的整体质量状况外,也可以借鉴用来对中药复方专利中权利要求书的技术特征进行描述。

在运用中,根据专利法对权利要求书清楚、简明的要求,不但要将本中药复方以数字化色谱指纹谱的形式完整地表达出来,而且要将该指纹谱得出的路径清晰完整地表示出来。

1. 中药复方申请产品专利,在撰写其权利要求书的技术特征时的描述

以麝香保心丸为例,说明运用指纹图谱技术描述中药复方专利技术特征的具体步骤:

名称:

一种含有麝香、苏合香的中药组合物提取物

权利要求书:

①一种中药组合物提取物,其特征为淡黄色至深棕色,液状,味苦,其有效部位(或其数字化指纹谱)包含下列成分(或其相对保留值和归一化面积值分别由表1数值构成)。

②根据权利要求1所述的中药组合物提取物,其特征在于:用于治疗心血管系统疾病,如心肌缺血、缓解心绞痛、心肌病等。

由于《专利法》第26条第三款要求申请发明的

专利必须充分公开,特别是在要求专利制度保护发明的化学产品本身时,其说明书中应当公开化学产品的确认手段和结果,以及化学产品的制备方法、化学产品的用途等。所以,在用数字化色谱指纹谱来描述专利技术特征时,其说明书应如下表示(只对发明内容的部分作说明):

发明内容:

本发明提供一种含有麝香、苏合香的中药组合物提取物,其特征为含有麝香、苏合香、蟾酥、冰片、牛黄、桂皮,为淡黄色至深棕色,液状,味苦,其有效部位(或其数字化指纹谱)包含下列成分(或其相对保留值和归一化面积值分别由表2数值构成)。

2. 该数字化指纹谱的获得路径由下列方法得出^[3]

(1)样品液制备:

称取0.5g的该中药复方组合物,置于离心管中,加甲醇5ml置旋涡混合器上混旋2min,再超声振荡提取15min,离心,取上清液,制得供试液。进样前用0.45 μ m滤膜过滤。

(2)仪器及色谱条件:

①仪器: WATERS 510 HPLC Pump、WATERS

表1 麝香保心丸色谱指纹谱中相对保留值和归一化面积值(部分)

色谱峰序号	相对保留值 α	归一化面积值
1	0.109	0.15
2	0.128	0.38
3	0.141	1.24
4	0.168	0.89
5	0.198	1.34
6	0.222	1.12
7	0.252	0.59
8	0.284	0.74
9	0.404	0.45
10	0.498	0.96
11	0.576	1.88
12	0.804	0.28
13	1.000	1.00
14	1.127	0.13

TM996PDA 检测器、WATERS 泵控制组建(美国 WATERS 公司)。

色谱工作站: Millennium32 软件, 奔腾 3 处理器。

②色谱条件: 流动相: 乙腈: 1% 醋酸溶液。

梯度洗脱如下。

流速: 1.0ml/min

色谱柱: LUNR5Uc18(2) - 3, 5 μ m, 4.6mmx250mm

温度: 18 ~ 22 $^{\circ}$ C

检测器: PDA 检测器, 210 ~ 500 μ m 全波长扫描。^[4]

3. 本发明提及的一种中药组合物提取物的制备方法为

①将麝香、苏合香、蟾酥、冰片、牛黄、桂皮加水煮 2 次, 每次 1 ~ 2 小时。

②将各次水煮所得的溶液合并, 过滤去渣, 得到液态提取物。

③将该提取液回收乙醇后, 浓缩, 干燥得粉末状提取物。

本发明涉及的中药组合物提取液, 可用于治疗心血管系统疾病, 如心肌缺血、缓解心绞痛、心肌病等。

本发明的提取物可以通过适当的方式配制成片剂、软或硬明胶囊、颗粒状。本发明的中药组合物提取物的每日剂量在 50 ~ 200mg, 可以每日给药 2 次, 每次 25 ~ 100mg。

实际上, 除了以上表述外, 可能还有更好的表述方法, 将另文讨论。

三、用数字化色谱指纹谱技术描述专利技术特征的好处

以数字化色谱指纹谱来描述中药复方专利技术至少可解决下列 2 个问题:

1. 可有效阻止国外科研机构和制药企业对我中国传统中药复方资源和中药复方专利技术无偿开发和利用

数字化色谱指纹谱表示的是该中药复方中的所有有效部位和必定存在的化合物(只是现有技术

的限制而暂时无法知道其为何种具体物质), 用数字化色谱指纹谱把该复方中所有的有活性的化合物(或分子)作为技术特征来进行描述, 实际上就是把这些存在于该中药复方中的化合物进行了公开, 更进一步地设想就是把它们作了专利保护。以后其

表 2 麝香保心丸色谱指纹谱中
相对保留值和归一化面积值(部分)

色谱峰序号	相对保留值 α	归一化面积值
1	0.109	0.15
2	0.128	0.38
3	0.141	1.24
4	0.168	0.89
5	0.198	1.34
6	0.222	1.12
7	0.252	0.59
8	0.284	0.74
9	0.404	0.45
10	0.498	0.96
11	0.576	1.88
12	0.804	0.28
13	1.000	1.00
14	1.127	0.13
15	1.289	0.21
16	1.506	0.34
17	1.573	1.67
18	1.790	1.35
19	1.882	0.77
20	2.050	0.67

表 3 麝香保心丸提取物的梯度洗脱情况表

时间(min)	乙腈	0.7% 醋酸水
0	20	80
10	30	70
20	60	40
30	85	15
40	100	0
60	100	0

(下转第 23 页)

(Institute of Panax Notoginseng of Wenshan Prefecture, Wenshan 663000, Yunnan Province)

The pattern plantation in the artificial cultivation of panax notoginseng has been gradually transferred from the extensive traditional cultivation to the stage of standardized plantation, therefore both the output and quality of this medicinal plant have been greatly raised. This article focuses on the summary of the study of cultivation, the establishment of the systems of standards, the study of GAP and the progress in the construction of GAP bases of panax notoginseng in the last 20 years.

Key Words: panax notoginseng, cultivation, breeding, GAP, standard

Application of Technology of Digital Chromatographic Finger – printing Spectrum to Design of Characteristics of Patented Technology of Compound Drugs of Chinese Medicine

Song Xiaoting

(Shanghai Center for study of Intellectual Property Right of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203)

An Hongmei (Office of Scientific Research of Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Shanghai 200032)

The compound drugs of Chinese medicine are the quintessence of the theory of traditional Chinese medicine. At present, however, some relevant regulations of the Patent Law and the writing forms of the documents in the application for patents are not in favour of the protection of such compound drugs. The expression of the location and area of chromatogram peak in digital form by means of digital chromatographic finger – printing spectrum is able not only to accurately reflect the whole interior of a compound drug but also to completely shows the characteristics of the chemical composition of complex compounds of Chinese medicine. The authors hold that the technology of digital chromatographic finger – printing spectrum can accurately indicate the entire quality of compound drugs of Chinese medicine on the one hand and can be used to describe the technical characteristics of the compound drugs of Chinese medicine on the other hand.

Key Words: chromatographic finger – printing spectrum, compound drugs of Chinese medicine, technical characteristics, description

Digital Human Body —— Digital Science of Human Body System

Bi Siwen (State Key Laboratory of Remote – sensing Science, Institute of Remote – sensing Application, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

This article briefly presents the background on which digital human body —— digital science of human body system has been set forth and states the method and system of digital human body through information acquisition and processing

140 [*World Science and Technology / Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica*]