

中药标准组分制备与组分库的构建*

□ 丰加涛 徐青 薛兴亚 章飞芳 肖远胜 梁鑫森**

(中国科学院大连化学物理研究所 大连 116023)

摘要:本研究通过对多种现代分离技术的集成,构建了中药系统分离制备的标准化平台,并制定了一系列标准操作规范控制提取分离过程。通过平台运行,已完成了50味中药和8个复方的1100多个标准组分的分离制备,建立了一定规模的标准组分库和相应的标准操作规范。初步形成了中药标准组分库,为中药物质基础研究和创新中药研发提供了丰富的组分资源。

关键词:标准组分 系统分离制备 标准化平台 标准组分库

一、引言

随着中国加入WTO,中药产品如何被世界所认同和接受,实现现代化、国际化的转变,已经成为中医药产业面临的重要课题^[1-7]。中药成分极其复杂,品种、产地、加工方法、生产过程等诸多因素影响中药质量,造成其可变性、质量控制困难、研究结果的不易重复。同一研究对象,存在着大量提取、分离、分析和药理等方面的重复性工作,物质与信息积累工作严重不足,效率低下,制约着中药研究水平的提高与突破。建设共享式、规模化标准物质资源库是解决这个问题的一个较好方法。物质资源库的建立能够避免重复性工作,减少浪费,提高效率,保护中药资源,在药材与中药产品之间搭建桥梁,使之形成良性循环。中药标准组分所形成的标准组分库不但能够体

现传统中医配伍理论,继承中药多成分多靶点共同作用的特点,还可以简化中药的物质基础,做到质量的稳定可控。

中药研究的关键技术问题之一就是标准化问题^[8]。本实验室即瞄准关键技术问题的核心:组分标准化,综合运用多种现代分离技术,并将其有机集成,构建了中药标准组分系统分离制备技术平台,制定了一系列的标准规范,做到提取和分离制备过程的标准可控,实现标准组分的批量获取,构建规模化的标准组分库。通过大量组分及组分配伍的药理及化学信息的有效关联,可进一步阐明中药及其配伍的药效物质基础。在这个基础上,实现安全高效稳定可控的系列组分中药的开发。中药标准组分库可以为创新中药的持续发展提供丰富的物质资源和信息资源,用化学物质基础明确、质量稳定可控的标准组分代替不易重复、规范的中药材,用组分配伍代替饮片配伍。中药标准组分系统分离制备技术平台和

组稿日期:2006-04-20

修回日期:2006-06-05

* 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KGCX2-SW-213):基于现代理论和技术的复方中药系统研究,负责人:梁鑫森;国家自然科学基金重点项目(20235020):中药药效组分的指纹图谱分析的方法研究,负责人:梁逸曾。

** 联系人:梁鑫森,本刊编委,博士,研究员,主要从事组分中药的研究,Tel:0411-84379519,Email:liangxm@dicp.ac.cn。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 95

药标准组分库的构建具有深远的理论意义和现实意义^[9]。

二、中药标准组分的制备及组分库的构建

1. 分离制备对象

中药作为中华民族几千年智慧的结晶,种类极其丰富,常见药材和复方就有几千种。面对如此繁杂的品种,选择哪些药材和复方作为分离制备的对象,是非常重要的问题。为了使研究成果能够具有示范性的意义,为中药现代化探索出一条成功之路,我们按照四个原则确定标准组分库初期分离制备的对象。首先要求中医理论明确,中医理论是我国的传统优势,是我国人民医药经验的理论总结,具有很高的历史和现实意义,必须坚持;其次疾病谱要有特色,易于和现代医学理论相结合,有针对性的进行生物学活性的表征,便于和国际化标准接轨;再次临床药效必须确切,确切的临床疗效是有的放矢地进行药效学评价和新药的创制与开发的有力保证;最后要求市场前景良好,市场是组分中药研究的出口,我们研究的最终目的是能够为人民群众身体健康服务的组分中药产品,市场前景如何直接关系到组分中药的研究开发的现实意义。本着以上四个原则确定了八个复方以及相关的五十味中药材作为分离制备的对象。为满足后续新药开发过程中中试规模的需要,每一味药材都购买了百公斤级以上的数量。在药材采购过程中,制定了的药材采集规范,对药材产地、采收季节、生长年限、规格、加工方法等制定了详细而严格的标准,从源头上控制组分的标准化。

2. 中药标准组分系统分离制备技术平台的构建

全面系统重复地获取各种中药化学组分对标准组分库的建立和现代中药的系统研发具有至关重要的意义。采用传统常规手段提取分离中药材中的有效成分费时费力,对微量成分的快速获取更是棘手,而且还很难保证不同批次间的重复性。如何系统完成中药中不

同成分的快速稳定制备是一个亟需解决的问题。中药标准组分系统分离制备技术平台的建立,将利用标准化的工艺流程,快速、高效、系统地提供大量中药标准组分,最大程度上避免中药研究过程中的重复性工作,从根本上解决中药化学物质基础研究的散乱局面,实现样品的积累、信息的共享和中药研究的可比性。

摒弃过去中药分离制备研究中存在着的重复性差、自动化水平低、周期长、普适性差等弊端,按照标准化、规模化、系统化、现代化的原则建立了中药标准组分系统分离制备技术平台。该平台由四个子平台组成,分别为中药提取标准化平台、溶剂分配分离标准化平台、大孔树脂分离标准化平台和工业色谱分离标准化平台。通过大量的实验,各个子平台已经形成了一定规模、通量的分离制备能力(见表1)。各子平台之间通过有机的系统集成,形成了比较完善的中药系统分离制备标准化平台(流程图见图1)^[10-11]。

3. 中药提取标准化平台

表1 系统分离平台能力与通量

平台	处理量(单批)	成品量(单批)	通量(个/天)	备注
提取	100-300 kg	1-50kg	3-5	合作
溶剂分配	1-2 kg	0.1-1 kg	6-10	自主
大孔树脂	100-500g	10-100g	5-8	自主
工业色谱	3-30g	1-1000mg	20-30	自主

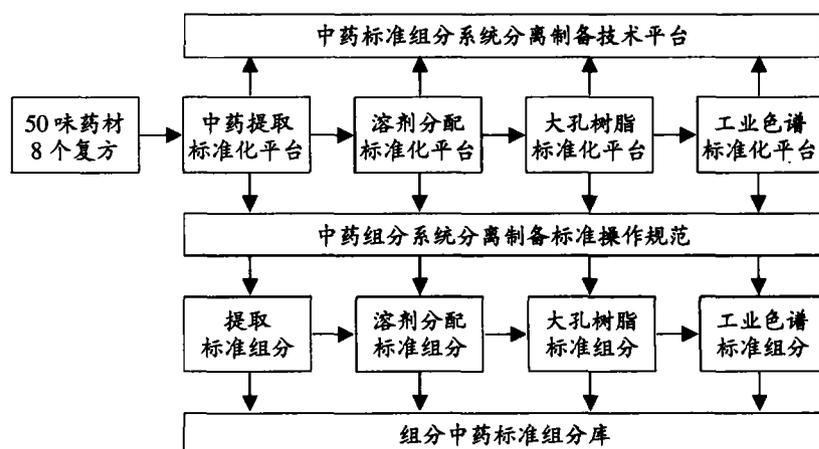


图1 中药标准组分系统分离制备技术平台流程图

中药标准化提取平台主要针对中药的传统水煮汤服的特点,兼顾现代提取方法来设计构建的,力求将传统中药与现代提取技术进行有机结合。首先通过小试实验的探索来设计实验流程,确定工艺参数,制定标准操作规范,对提取方式、提取溶剂、溶剂量、提取温度、提取时间、提取次数、浓缩干燥等一系列操作都有明确的规定,对提取过程中相关的仪器设备:中药湿式粉碎机、提取罐、双效浓缩机、喷雾干燥机、微波干燥机、超临界萃取仪等都建立了标准操作规程。该平台已经完成了 50 味药材和 8 个复方的提取工作,包括水提、醇提和挥发油提取,一共得到了 82 个标准提取组分。建立了每一提取组分的色谱指纹谱和质量控制标准。

4. 溶剂分配分离标准化平台

溶剂分配分离标准化平台基于中药中化合物分子极性之间的差异,通过在不同极性的溶剂间进行分配而得到分离。在具体的工艺流程上,使用不同的溶剂按极性由小到大依次进行分配,然后将得到的分配组分根据其不同的物理化学性质选择不同的方式浓缩干燥。溶剂分配平台主要由萃取釜(20L、50L)、高速逆流色谱仪、管道离心机、旋转蒸发器、离心浓缩仪、喷雾干燥机等组成。为了保证溶剂分配组分的稳定性,实现溶剂分配的标准化,制定了一系列溶剂分配的标准操作规范,规定了分配溶剂的种类、用量、分配时间、分配温度、分配次数、浓缩干燥的相关参数,并且对相关的仪器设备制定了标准操作规程。该平台针对提取组分进行分配分离,目前已经完成了 70 个提取组分的分离制备,一共得到了 270 个标准分配组分。并对每一个分配组分进行了标准的 HPLC/MS 联用表征。通过对部分品种的重复性实验,评价了平台的稳定性,分析结果表明组分的稳定性良好,能够达到制定的标准。

5. 大孔树脂分离标准化平台

大孔树脂分离标准化平台根据不同型号的大孔树脂对中药中具有不同类型官能团的化合物的特异性的吸附来实现类组分分离^[12-14]。主要由 6 套大孔树脂自动柱层析系统和几十种不同型号的大孔树脂构成,包括罗门哈斯、南开大学化工厂等知名品牌。通

过大量正交实验,选取了具有针对性、代表性的大孔树脂品种,作为平台的分离材料。同时还制定了相关的标准操作规范来保证分离过程的标准化和组分的稳定性,明确规定了树脂的种类,样品上样量,流动相的组成、流量、洗脱量,浓缩干燥等参数。该平台主要针对标准分配组分进行分离制备,已经得到了 352 个标准组分,并且对每个组分进行了标准的 HPLC/MS 系统化学表征。

6. 工业色谱分离标准化平台

工业色谱分离标准化平台是完全由我们自主开发建设的。根据制备色谱工作原理自行设计了工业色谱分离平台^[15-17],该平台包括 3 套不同型号的系统。系统由高压恒流泵、大容量的制备色谱柱、高灵敏度的紫外检测器组成,填料是以反相 C¹⁸ 为代表的高分离性能的分介质。为保证组分的标准化和稳定性,在每次实验前我们都要对系统的稳定性进行测试,达到标准才可以进行实验。制定了工业色谱标准操作规范,对样品上样量、系统稳定性测试指数、流动相的组成、流量、梯度设定、馏分收集时间、以及色谱柱的装填、评价、样品的浓缩干燥等都制定了标准。该平台主要分离大孔树脂标准组分,目前已经完成了 462 个标准组分的分离制备,并且对每个组分进行了系统化学表征。

7. 中药标准组分库

我们已经完成 50 种中药材和 8 个复方部分标准组分的分离制备工作,得到了各个层次共计 1166 个中药标准组分(表 2),初步构建了中药标准组分库。所有的组分都完成了系统化学表征^[18-20],并且选取部分组分进行了生物学表征和药效学评价。每个组分均赋予了相应的编号,编写了管理软件,对组分库实行计算机管理系统管理。

表 2 中药标准组分库组成表

内容	药材(个)	复方(个)	标准组分(个)	备注
提取组分	50	8	82	完成
溶剂分配组分	49	8	270	完成
大孔树脂组分	35	3	352	部分完成
工业色谱组分	30	3	462	部分完成
合计			1166	

三、结 语

中药标准组分库的建设是一个庞大的系统工程,虽然已经取得了一定的成绩,但是还存在着许多问题,比如组分库规模偏小,药材和复方品种太少,部分标准规范还不能够和国际接轨,很多的样品还没有进行生物学表征,药理模型单一等。针对这些问题要进一步加强平台建设,提高通量,在完成既定目标的基础上,选择更多的品种进行标准组分的分离制备,充实并丰富中药标准组分库。提高并完善各种标准规范,不仅仅满足于我国标准规范的要求,还要与国际公认的传统药物研究开发的标准规范接轨,为中药的国际化提供保证。对于制备的标准组分,一方面进行多模型的整体动物水平的药理实验,另一方面应用最新的分子生物学筛选体系进行相应的高通量筛选,或以组织、细胞水平的体外药理模型对标准组分进行快速筛选,确定功能组分,将标准组分库升级为功能组分库,并用于组分中药配伍研究。标准组分库的构建和发展能够为中药现代化提供可持续利用的物质资源,促进中药科学研究水平的提高,加速中药现代化、国际化的步伐。

参 考 文 献

- 甘师俊,李振吉,邹健强.中药现代化发展战略,科学技术文献出版社,北京;1998.
- 陈耀祖.试论中药复方研究与发展的战略,世界科技研究与发展,1995,(6):17-19.
- 肖培根,肖小河.21世纪与中药现代化,中国中药杂志,2000,25(2):67-70.
- 姚新生.中药活性成分的研究与中药现代化,中药新药与临床药理,2003,14(2):73-75.
- 罗国安,王义明.中药中成药现代化进程,中成药,2000,22(1):71-79.
- 李连达,靖雨珍.中药现代化与走向世界,中国中医药信息杂志,1997,4(11):3-4.
- 肖培根,陈士林.国家中药资源宏观管理系统的建立-中药现代化的基础,中国中药杂志,2003,28(1):4-6.
- 张伯礼.中药现代化的战略机遇及关键问题,天津中医,2000,17(4):1-2.
- 梁鑫森,徐青,章飞芳.中药现代化研究几点思考,中国科学院院刊,2004,19(3):218-220.
- 徐青,肖红斌,梁鑫森.中药复方药效物质基础的研究方法与技术,世界科学技术·中药现代化,2001,3(4):25.
- 梁鑫森,徐青,肖红斌.中药质量控制的策略与方法,中国中西医结合杂志,2002,22(9):646-647.
- Hiroki Tamura, Masashi Kudo, Ryusaburo Furuichi, Polyfunctional-ity of carboxyl sites on IRC-50, an MR-type ionexchange resin, evaluated by modeling with the Frumkin isotherm, Reactive & Functional Polymers, 1998,38:177-181.
- Marta Otero, Miriam Zabkova, Al'irio E. Rodrigues, Comparative study of the adsorption of phenol and salicylic acid from aqueous solution onto nonionic polymeric resins, Separation and Purification Technology, 2005, 45:86-95.
- Wei Ruixia, Chen Jinlong, Zhang Quanxing, Study of adsorption of lipoic acid on three types of resin, Reactive & Functional Polymers, 2004, 59 :243-252.
- Georges Guiochon, Csaba Horv'ath and preparative liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 2005, 1079:7-23.
- Georges Guiochon, Preparative liquid chromatography, Journal of Chromatography A, 2002, 965:129-161.
- Anthony R. Mehek, Colin T. Mant, Lajos Gera, John Stewart, Robert S. Hodges, P reparative reversed-phase liquid chromatography of peptides Isocratic two-step elution system for high loads on analytical Columns, Journal of Chromatography A, 2002, 972:87-99.
- 卢佩章,梁鑫森,肖红斌.中药组分智能统一指纹数据库,化学进展,1999,11(2):199-201.
- 梁鑫森,肖红斌,卢佩章.色谱联用技术在中药复方研究中的应用,世界科学技术·中药现代化,2000,2(4):18-21.
- 曾桂风,徐青,刘艳明,等.丹参液相指纹图谱获取方法的发展,现代中药研究与实践,2004,18(1):19-21.

Preparation of standard multi-component of Traditional Chinese Medicine and construction for its library

Feng Jiatao, Xu Qing, Xue Xingya, Zhang Feifang, Xiao Yuansheng, Liang Xinmiao
(Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023)

A systematic and standard platform for separation and preparation of Traditional Chinese Medicine has been con-

(Continued on page 111)

**Application of Ultra-performance Liquid Chromatography in the
separation and analysis of complicated system—Traditional Chinese Medicine**

*Jin Gaowa Zhang Feifang Xue Xingya Xiao Yuansheng Xu qing Liang Xinmiao
(Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)*

Ultra-performance Liquid Chromatogram (UPLC) was faster and more sensitive than HPLC. Waters synthesized and developed 1.7 μ m particles as UPLC column solid phase. A realm of chromatography is entered where not only are higher efficiencies gains, but also these efficiencies no longer diminish with flow rate. It is now possible to take full advantage of chromatographic principles to run separations, using shorter columns and higher flow rates for increased speed, with superior resolution and sensitivity. Packings based on high-purity silicas that are well end-capped show a low silanol group activity. It shows significant benefit on the separation of alkaloids in Traditional Chinese Medicines (TCM). In this paper the applications of UPLC in separation and analysis of TCM were introduced. The retention value (a, c) and peak shape rule in UPLC was also studied. It showed that retention value (a, c) and peak shape rule in UPLC were similar to HPLC. The results indicate that UPLC will play an important role in the separation and analysis of TCM.

Keywords: UPLC, complicated system, TCM

(责任编辑:王 瑀 郭 屹, 责任编审:柳 莎, 张志华, 责任译审:熊艳艳)

(Continued from page 98)

structed by integration of multiple modern separation technologies. A series of standard operation protocols (SOPs) was carried out to control the extraction and separation procedures. 50 Chinese herbs and 8 prescriptions have been processed with this system, and more than 1100 standard multi-components have been produced. A library for standard multi-components of Traditional Chinese Medicines has been formed, which provides abundant multi-components for chemical constitution research and new medicine development.

Keywords: Traditional Chinese Medicine; Standard multi-component; Systematic separation and preparation; Standard multi-component library

(责任编辑:王 瑀, 责任编审:张志华, 责任译审:熊艳艳)

更正:

本刊 2006 年第 8 卷第 2 期刊载的“病证结合的临床研究是中西医结合研究的重要模式”一文部分有误, 现更正如下并向作者致歉。

1. 陈可冀院士为中国科学院院士;
2. 作者为: 陈可冀(中国中医科学院西苑医院, 福建中医学院中西医结合研究院)
宋 军(中国中医科学院西苑医院);
3. 中西医结合应译为: Integrated Traditional Chinese and Western Medicine。