

• □ □ □ □ •

# 中药及复方全成分□ □ □ □ 通量□ □ 技术的现状 及□ □ □ □ □ □ 法

贺福元<sup>1,2,3\*</sup>, 邓凯文<sup>4</sup>, 曾姣丽<sup>1,3</sup>, 戴儒文<sup>1,3</sup>, 夏赞韶<sup>1,3</sup>,  
刘文龙<sup>1,2,3</sup>, 石继连<sup>1,2,3</sup>

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 410208;

2. 中药药与药 国家中医药 重点实验室, 湖南 410208;

3. 湖南中医药大学 中药制 与 实验室, 湖南 410208;

4. 湖南中医药大学 医院, 湖南 410007)

[□ □ □] 中药及复方成分的□ 性□ 量分析可分 化学与仪 分析法,其中仪 分析法占□ ,□ □ 有 HPLC, HPLC-MS, HPLC-NMR, GC, GC-MS, 化及 □ 应 方法。因中药及复方成分复杂,化学方法专属性不 ,少□ □ 慎□ ;而仪 分析因其专属性 ,□ □ 复杂 □ 成分的分析, 中药及复方多成分,目前□ 兴 了 □ □ 图 □ □ 手段的分析技术,但□ 分析方法 □ “□ 分离□ □ 分析”、“□ 乏通□ 的□ □ ”的限制,□ 现中药及复方全成分的□ □ 。□ □ □ 的“□ 、己”成分□ 通 “□ □ 与□ ”决□ 簇的 □ 与 □ 性进行识别, 将中药成分直 □ 化学□ 成□ □ ,□ □ 内, □ □ 性□ , □ 诸成分 □ □ 的□ 叉 应信息, 没有□ 叉 应者,依 记□ □ □ □ 性竞争 应□ 制率□ □ 直 读□ □ 成分的□ 量; 有□ 叉 应者□ 建立□ 叉 □ 制率矩阵,□ 进行□ 与中药及复方成分 □ □ 记□ □ 竞争 应,建立成□ 叉成分□ □ □ □ □ 数与□ 制率的多元□ 性方 ,□ 解□ 得各成分的□ □ ,两者□ □ □ □ 建立 中药及复方成分□ □ □ □ □ □ 法。

[□ □ □ □] 中药;复方;全成分□ ;□ 通量;□ 性□ 量分析; 记□ □ 法;中药化学;□ □

中药复方 多成分 ,□ 阐 中药及复方作□ 机制, □ □ 解决中药及复方多成分的□ 性□ 量分析□ 题<sup>[1]</sup>。现□ 报道的□ □ 方法□ □ □ □ □ 成分□ □ ,很少有 □ 时□ □ 多成分的方法 □ □ 现,而 □ 时□ □ 全成分□ 的□ 则更少。□ 中□ 药现代化 □ 学的代□ 组学研究的兴 ,解决中药多成分□ 与 □ 学的代□ 成分□ 全成分□ 的 □ □ □ □ 题□ 眉睫<sup>[2]</sup>。几年□ ,□ 研究□ □ 试图采□ □ □ 图 技术解决□ □ □ 题,但缘 □ □ 的分离□ 力、□ □ 的 复性、通□ □ □ 的□ 因,很□ 现中药及代□ 组全成分□ □ □ <sup>[3]</sup>。因此怎样□ □ □ 通量□ □ 中药及复方成分□ 成 国际性□ 题,不得不 解决。本文将□ □ □ 目前成分的□ 性□ 量分析方法 手,□ □ □ □ □ 成分□ 与辨别的□ □ 学基本 理, □ 目前

各种分析方法的弊端,□ □ □ □ □ 中药及复方全成分□ 分析的方法,并□ □ 黄 5 种成分予 □ 证。

□ □ 中药及复方分析方法的现状

纵 成分的□ □ 方法可分 化学方法与仪 方法,化学方法多□ 无机化□ 的分析,而仪 分析方法多□ □ 有机化□ 的分析。传□ 的中药成分分析多采□ □ 学□ 理 基础的仪 分析技术,□ □ 成分的□ 性□ 量分析□ 全可行。但 中药及复方多成分分析, 年□ 兴 了□ □ 图 多 □ 时□ 性□ 量分析方法,但缘 目前尚□ 有通□ 型的□ □ ,因此□ □ 图 中的 □ □ □ 表达中药的□ 部分成分, 时 少应有的 照 ,□ □ 部分中的 成分□ 有□ 小数□ 进行□ 量分析, 者□ □ □ □ □ 分离与其性□ □ 应的部分成分,当遇 □ 象中药及复方、代□ 组□ 样复杂的有机成分□ (□ 分 质量□ 几□ □ 上万,成分□ □ □ □ 简□ 的□ 基 □ 复杂的三 帖□ □ □ )□ □ 时, □ □ □ □ 的限制,不□ 进行全成分□ 全分离□ □ □ □ □ 必□ 的。因此建立 □ 种“法 □ □ ”的仿 全成分□ □ □ 通量□ □ 技术□ 解决中药质量控制、 现中药现代化□ 键□ 颈□ 题,□ 解决代□ 组学全成分□ □ □ 国际性□ 题的客

[□ □ □ □] 20120306010

[□ □ □ □] 国□ □ □ 科学基□ 项目(81073142,30901971);湖南□ □ □ 基□ 项目(11JJ2055)

[□ □ □ □] \*贺福元,教授,□ 士 □ 师,□ □ □ 事遗传中药药理学、 学、 □ 学、 □ 力学、 量学、中药药剂学及中□ 药信息数学研究工作,Tel:(0731)85381372, E-mail :pharmsharking@tom.com





后 免疫原 大 直接注入 内产 抗 ,没  
免疫原 小 大 直接反 学合  
抗原, 合 可能 增强抗 半抗原间 异  
反 , 除 间 又反 所产 抗 离,再  
记抗 抗原,包被未 记抗 抗原, 群  
免疫芯片 通 抗 抗原 竞争 记免疫反  
群 线 回归 又反 息,再根 精确  
度 需要,将 群 需 虑 又反 需 虑 又反  
2类,前者可直接 芯片包埋抗原 抗 点阵 号  
、无、强、直接由线 回归 读出含 ,后者需  
数 度 度 线 组,求 群 含  
, 而 中药、谢组学 至 学合 半合  
群 定 定 , 把钥匙 开 把锁 锁, 互  
联匹配 测 目  
0.00 中药 群快速高通 技术 案  
根 免疫原 结构 点, 免疫原  
大 合 直接 抗原,将没 免疫原 小 用  
直接 学合 大 备 抗原 免疫抗  
原 合 学 : 含氨 团 半抗原 ,  
用重氮 酞 异氰 酯  
氮苯 胺 酯 合 抗原, 含糖 半抗  
原 , 用 碘 氧 ,然后 蛋白 中 氨  
形 Schiff 氏 合 抗原, 含 团 半抗  
原 , 用 合 酞 胺 活泼酯 合 抗  
原, 含酞 团半抗原 ,可用 - 胺 者  
肼 苯 者 Mannich 反 合 抗原, 含  
肼 半抗原 , 用叠氮 ,  
经肼、硝 ,转变 叠氮 ,再 蛋白上 氨 反  
合 抗原, 含 团半抗原 , 用氯  
氯 啉 合 抗原, 含氨 、 、硫  
半抗原,可用 硝 苯 合 抗原 合 所  
使用 蛋白 : 球蛋白、人血清白蛋白(HSA)、血  
清白蛋白(BSA)、 血清白蛋白(RSA)、 球蛋白  
(TG)、血蓝蛋白(hemocyanin) 人、 鸡  $\gamma$ -球蛋白  
蛋白, 者是人 合 聚 氨 聚谷氨、聚  
合氨 者 用聚 烯吡咯酮、 、聚  
酯 粒、 末  
上 抗原 合注射 内产 抗 ,并 离  
出抗 ,所 抗原所产 抗 IgA, IgD, IgG, IgE, IgM  
中 一  
上 抗原 抗 记,所 抗原 抗 记  
记、酶 记 射 记、金  
在 学 记  
将未 记 抗 抗原 目 律 包被 芯  
片板,所 律包被 学类 、中 编码、英 编  
码、药材所含 类群、功效、功能团、 、类 合

一组 谢产 测目 要求而编排  
芯片点阵,包被未 记 抗原 抗  
又反 矩阵  $R$ 、斜率矩阵  $B$ 、一抗 距 列  
 $A$ 、度 数 度列  $C$  叠加抑 率列  $I$   
待测 数目  $5 \sim 6$  倍 芯片板, 包被 抗  
原( 抗 ) 芯片板 内 又加入  $1 \sim 4$  数  
梯度 ; 一块板 加呈梯度 度  
中 一 度 ,  $5 \sim 6$  块板 一 异 抗  
原抗 反 又 线 察 加 后再  
内 加入 记 克隆抗 ( 记抗原)反  
洗 后,加入底 色测定 直接测定 、射 强  
度、强度,先 抑 率,再 抗原  
抗 反 抑 率线 ,再 异 反  $IC_{50}$  除 非  
异  $IC_{50}$  又率, 又 息,根 精密  
度确定 又反 率 , 大 又反 率 组  
又率矩阵  $R_{(r_{i,j})}$ , (1)  
其中  $i$  包被 抗 抗原,  $j$  竞争 又 ,  $i$   
 $j$  又 用超 精度 ,  $n$  需 虑 又反  
数目 根所 又率矩阵  $R$  组 斜率矩阵

$B_{(b_{i,j})}$ , (2)

$$R_{(r_{ij})} = \begin{pmatrix} r_{11} & r_{12} & r_{13} & \cdots & r_{1j} & \cdots & r_{1n} \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} & & r_{2j} & & r_{2n} \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} & & r_{3j} & & r_{3n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ r_{i1} & r_{i2} & r_{i3} & & r_{ij} & & r_{in} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ r_{n1} & r_{n2} & r_{n3} & & r_{nj} & & r_{nn} \end{pmatrix} \quad (1)$$

$$B_{(b_{ij})} = \begin{pmatrix} b_{11} & b_{12} & b_{13} & \cdots & b_{1j} & \cdots & b_{1n} \\ b_{21} & b_{22} & b_{23} & & b_{2j} & & b_{2n} \\ b_{31} & b_{32} & b_{33} & & b_{3j} & & b_{3n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ b_{i1} & b_{i2} & b_{i3} & & b_{ij} & & b_{in} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ b_{n1} & b_{n2} & b_{n3} & & b_{nj} & & b_{nn} \end{pmatrix} \quad (2)$$

$b_{i,j}$   $B$  矩阵中 任一 ,亦 入 又反 虑 任一  
抗 任一 用线 斜率  $A$   
距矩阵, (3)

$$A_{(a_{ij})} = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} & \cdots & a_{1j} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} & & a_{2j} & & a_{2n} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} & & a_{3j} & & a_{3n} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ a_{i1} & a_{i2} & a_{i3} & & a_{ij} & & a_{in} \\ \vdots & \vdots & \vdots & & \vdots & & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & a_{n3} & & a_{nj} & & a_{nn} \end{pmatrix} \quad (3)$$

再 包被 抗原( 抗 ) 芯片板, 内加  
入待测 , 内加入 记 抗 ( 记抗



摘 要 目的 建立传统中药和方剂成分定性定量分析方法。方法 采用化学和仪器分析方法。其中,仪器分析方法占主导地位,包括 HPLC、HPLC-MS、HPLC-NMR、GC、GC-MS、生化及生物效应。但由于传统中药和方剂成分复杂,化学方法特异性差,使用较少或需谨慎。而仪器分析方法特异性强,适用于分析单一成分。传统中药和方剂成分分析技术多集中在指纹图谱,但这些分析技术均受限于分离的前置条件和缺乏通用型检测器,因此难以实现所有成分的确切测定。在自然界中,生物体通过特异性和非特异性识别天然和外来成分,如将传统中药成分直接或间接合成抗原并注射到动物体内,以产生特异性抗体,从而收集交叉反应信息。对于无交叉反应成分,其含量可通过竞争性反应抑制率曲线特异性抗原和抗体的直接读出。此外,首先建立交叉抑制率矩阵,然后建立交叉成分浓度或浓度对数与抑制率之间的多元回归线性方程,通过标记免疫竞争性反应中抗体和半抗原的交叉反应,求解获得各成分浓度。将两种结果结合,建立合成免疫芯片法,用于传统中药和方剂成分的定性定量分析。结果 传统中药和方剂成分;全部成分;高通量;定性定量分析;标记免疫法;传统中药化学成分。结论 传统中药和方剂成分定性定量分析方法的建立,为传统中药和方剂成分的定性定量分析提供了新的思路和方法。

HE Fu-yuan<sup>1, 2, 3\*</sup>, DENG Kai-wen<sup>4</sup>, ZENG Jiao-li<sup>1, 3</sup>, DAI Ru-wen<sup>1, 3</sup>, DAI Ru-wen<sup>1, 3</sup>, XIA Zan-shao<sup>1, 3</sup>,  
LIU Weng-long<sup>1, 2, 3</sup>, SHI Ji-lian<sup>1, 2, 3</sup>

- (1. Department of Pharmaceutics, Hunan University of Tradition Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Property and Pharmaceutical Effect, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
3. Laboratory of Modern Preparation and Evaluation for Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
4. The First Affiliated Hospital, Hunan University of Tradition Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[ 摘 要 ] The qualitative and quantitative analysis on traditional Chinese medicine and formula components can be made by chemical and instrumental analysis methods. Of both, the instrumental analysis methods play a dominant role, including HPLC, HPLC-MS, HPLC-NMR, GC, GC-MS, biochemical and biological effect. But because traditional Chinese medicines and formula have complicated components, chemical methods are so unspecific that they shall be used less or with caution. While instrumental analysis methods are so specific that they are appropriate for analyzing complicated single component. The analysis techniques for multiple components of traditional Chinese medicines and formula focus on fingerprints, but all of these analysis techniques are limited by the prerequisite of separation and the lack of general-purpose detectors and therefore being hard to realize the determination of all components of traditional Chinese medicines and formula. In the natural world, however, organisms identify native and alien components through specificity and non-specificity of clusters decided by antigens and antibodies. For example, components of traditional Chinese medicines are directly or indirectly synthesized into antigens and injected into animals, in order to generate specific antibodies and then collect cross reaction information of these components to specific antibodies. As for components without cross reaction, their contents shall be directly read out on the basis of the inhibition rate curve of competitive reaction for specificity of antigens and antibodies. Besides, a cross inhibition rate matrix shall be established first, and then a multiple regression linear equation between cross component concentration or concentration logarithm and inhibition rate by labeling the immunity competitive reaction between antibodies and haptens of traditional Chinese medicine and compound components, and then solved to obtain concentration of each component. The two results are combined to establish the synthetic immunity chip method for traditional Chinese medicine and formula components.

[ 关 键 词 ] traditional Chinese medicine; formula; all components; high throughput; qualitative and quantitative analysis; labeled immunity method; chemistry of traditional Chinese medicine

中图分类号: R286.1

[ 责任编辑 马超一 ]