

鲜药质量评价研究进展*

钱正明^{1,2}, 李文庆¹, 黄琦¹, 金李玲¹, 李文佳¹, 梅全喜^{3△}

(1. 广东东阳光药业有限公司·国家中医药管理局重点研究室, 广东 东莞 523850; 2. 湘南学院, 湖南 郴州 423000; 3. 广东省深圳市宝安纯中医治疗医院, 广东 深圳 518101)

摘要:鲜药即新鲜采挖新鲜使用的药材,成分丰富、功效好。在我国具有悠久的历史,其应用贯穿于中医药学的整个发展过程,也是现代中药临床使用的重要组成部分。该文对近年来鲜药质量评价技术的研究进行了探讨,为未来鲜药的质量控制研究提供参考。

关键词:鲜药;质量评价;研究进展

中图分类号:R932;R282.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)19-0014-04

Research Progress of Quality Evaluation of Fresh Herbal Medicines

QIAN Zhengming^{1,2}, LI Wenqing¹, HUANG Qi¹, JIN Liling¹, LI Wenjia¹, MEI Quanxi³

(1. Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., Dongguan, Guangdong, China 523850;

2. Xiangnan University, Chenzhou, Hunan, China 423000; 3. Shenzhen Bao'an Authentic TCM Hospital, Shenzhen, Guangdong, China 518101)

Abstract: Fresh herbal medicines are freshly excavated and used herbs, which have rich abundant ingredients and good efficacy. They have been used for thousands of years in China, their application runs through the whole development process of traditional Chinese medicine, and they are also important parts of the clinical use of modern Chinese medicine. In this paper, the literature about quality evaluation technology of fresh herbal medicines in recent years was reviewed, which could provide the reference for future research on quality control of fresh herbal medicines.

Key words: fresh herbal medicines; quality evaluation; research progress

鲜药是指采挖后新鲜使用的中药材,具有活性成分保留充分和药效好的优势,在我国应用历史悠久^[1]。《神农本草经》记载“地黄生者尤良,此生者实为鲜品”,《伤寒论》中生姜泻心汤以生姜入药,《肘后备急方》用鲜青蒿治疗疟疾^[2]。近年来,鲜药在中医药临床和健康保健中发挥了重要作用,如鲜石斛、鲜龙葵、鲜冬虫夏草和鲜人参等广泛应用于实际生活。鲜药研究已成为中药科研领域的研究热点,国内外对鲜药应用历史、保鲜技术、化学成分、药理临床和鲜药制剂等作了总结^[3]。质量评价研究保障鲜药产业稳步发展的关键,同时也是鲜药科学研究的重点。近年来,随着分析技术的发展,鲜药质量评价方法也在不断进步,本研究中结合国内目前鲜药的质量标准和近年来发表的鲜药质量评价技术文献进行总结和分析,为未来鲜药的科学研究提供参考。

1 鲜药质量标准概况

现行的鲜药质量标准主要包括中国药典标准和地方药材标准。2015年版《中国药典(一部)》收录鲜药标准共7个,其中鲜药单独建立标准的品种有2个,即生姜^{[4]101}和牡荆叶^{[4]172-173};与干品共同建立标准的品种有5个,即鲜地黄^{[4]124-125}、鲜芦根^{[4]164}、鲜石斛^{[4]92-93}、鲜益母草^{[4]290-291}和鲜鱼腥草^{[4]224}。其中生姜、鲜地黄药材质量标准评价项目比较完善,生姜包括性状、显微鉴别、薄层鉴别、总灰分检查和含量测定;鲜地黄包括性状、显微鉴

别、薄层鉴别、总灰分及酸不溶性灰分检查和浸出物测定。而其他鲜药标准质量评价项目较少,如鲜鱼腥草、鲜益母草和牡荆叶仅对药材性状和显微鉴别进行了规定,缺少检查、含量测定项。

《中国药典(一部)》收载鲜药品种数量有限,难以满足鲜药临床实际应用的要求,为保障鲜药的质量,各地方根据该省用药习惯建立了相应的鲜药标准进行药材质量评价。目前,各省市中药材地方标准及中药饮片炮制规范共收录鲜药80多种,其中上海市中药饮片炮制规范中收录最多,有23种,包括何首乌^{[5]92-94}、荷叶边^{[5]508}、景天三七^{[5]311}、鲜石菖蒲^{[5]318}、鲜石斛^{[5]405}和鲜铁扁担等^{[5]507}。地方鲜药材质量标准的建立对鲜药的临床应用和产业发展起到了很好的保障作用。但地方鲜药材质量标准研究不深入、质量评价项目不完善,如荷叶边、鲜铁扁担只规定了来源,无检测项目,何首乌、鲜石菖蒲只有性状检测项目^[5]。

2 鲜药真伪鉴别

2.1 性状鉴别

性状鉴别是指对药材宏观性状(形状、大小和颜色等)和感官特征(质地、气味和味道)进行鉴别。《中国药典(一部)》中生姜的性状记载:“本品呈不规则块状,略扁,具指状分支,长4~18 cm,厚1~3 cm,表面黄褐色或灰棕色,有环节,分支顶端有茎痕或芽。质脆,易折断,

*基金项目:国家重点研发计划[2018YFC1706101];工信部2016年度中药材提升和保障领域项目[工信部消费函[2017]20号]。

第一作者:钱正明,男,博士研究生,高级工程师,研究方向为中药质量评价,(电子信箱)qianzhengming1982@126.com。

△通信作者:梅全喜,男,教授,主任中医师,博士研究生导师,研究方向为地产药材及药学史,(电子信箱)meiqianxi@163.com。

断面浅黄色,内表皮环纹明显,维管束散在。气香特异,味辛辣。”该性状规定药材在形状、大小、色泽和质地等方面充分突出了鲜药的特点:生姜较干姜体积更大,体型饱满,略扁(干姜为扁平);生姜断面为浅黄色,而干姜断面为黄白色或灰白色;鲜姜质脆,易折断,而干姜质坚实。冬虫夏草鲜品相对于干品形态更饱满,特别是子座部分多呈圆柱形,而干品子座多干瘪;另外,鲜品较干品质地稍柔韧(干品质脆),气味较干品淡一些^[6]。

电子感官评价技术也逐渐在鲜药性状鉴别研究中的应用。刘红秀等^[7]采用电子鼻系统 PEN3 结合数学统计分析法,建立了广藿香药材、新鲜广藿香、薄荷药材及新鲜薄荷 4 种中药材的气味指纹图谱,能很好地鉴别不同类中药材及其不同新鲜度,为鲜药性状鉴别提供了数字化评价方法。

2.2 显微鉴别

显微鉴别是利用显微镜对药材的组织、细胞等微观特征进行分析的鉴别技术。鲜药因新鲜状态利于切片不易粉碎的特点,因此多采用切片鉴别。中国药典中收录的 7 种鲜药中 5 种鲜药材(鲜地黄、牡荆叶、鲜益母草、鲜石斛、生姜)均采用切片显微鉴别,如鲜益母草通过其表皮细胞、下皮厚角细胞、皮层、韧皮部、木质部、髓部、薄壁细胞的特征鉴别;生姜通过其横切面的木栓层、皮层、中柱及薄壁组织特征鉴别。鲜药标准中也有少部分药材采用粉末鉴别,操作方式一般为干燥后粉碎,粉末鉴别同干品,如鲜鱼腥草,药典标准就采用了粉末鉴别,其主要粉末显微鉴别特征为油细胞、非腺毛、腺毛、叶表皮细胞和草酸钙簇晶。

2.3 DNA 分子鉴定

DNA 分子鉴别是利用药材基因组中一段相对较短的 DNA 片段进行真伪鉴定的一种分析技术。聚合酶链式反应(PCR)是 DNA 分子鉴别技术的一种方法,具有快速、简便、高效等特点。《中国药典》中乌梢蛇和川贝母标准采用该方法作为药材鉴别方法。李文庆等^[8]采用 PCR 技术建立了鲜冬虫夏草的 DNA 分子鉴别方法,该方法基于内转录间隔区 2(ITS2)序列设计的特异性引物(正向 5' - AGTTACCACTCCCAAACC - 3' 和反向 5' - TGCTTGCTTCTTGACTGA - 3'),首先通过植物基因组 DNA 试剂盒提取 DNA;再进行 PCR 扩增:94℃ 预变性 5 min,循环反应 30 次(94℃ 30 s, 64℃ 30 s, 72℃ 30 s),延伸(72℃)5 min;最后,通过琼脂糖凝胶电泳进行分析检测。该方法通过对实际样品的检测,可有效鉴别蝙蝠蛾拟青霉菌丝体、蛹虫草、蝉花、亚香棒虫草、新疆虫草、凉山虫草和戴氏虫草等冬虫夏草混淆品。

2.4 波谱鉴别

紫外光谱、红外光谱、核磁共振波谱和质谱是常用的波谱技术,在中药鉴别中均有运用。其中,红外光谱具

有简便、快捷和特征性强的优点,被大量应用于中药材的鉴别分析。有人建立了鲜冬虫夏草红外特征图谱鉴别技术,将鲜冬虫夏草干燥后粉碎,与溴化钾粉末混合,于红外灯下在玛瑙乳钵中研磨均匀,压成透明薄片,于红外光谱仪中进行测试,得其红外光吸收图谱,确定了 7 个特征峰(分别为 2 926 cm^{-1} , 2 855 cm^{-1} , 1 746 cm^{-1} , 1 652 cm^{-1} , 1 546 cm^{-1} , 1 084 cm^{-1} , 931 cm^{-1})。通过比较特征峰的方法发现,蝉花、蛹虫草、中华被毛孢菌丝体、亚香棒虫草、戴氏虫草这 5 种冬虫夏草混淆品均存在特征峰的缺失情况,该方法可有效鉴别鲜冬虫夏草和其混淆品^[9]。

2.5 薄层色谱鉴别

由于鲜药对照药材不易长时间储存,薄层鉴别时多采用对照品进行对照鉴别。生姜薄层色谱鉴别,直接将生姜处理成小块后,采用乙酸乙酯提取,以 6-姜辣素作对照品,采用硅胶 G 薄层板,以石油醚(60~90℃)-三氯甲烷-乙酸乙酯(2:1:1, V/V/V)为展开剂,以香草醛硫酸试液为显色剂进行鉴别。鲜冬虫夏草薄层色谱鉴别法,将鲜品干燥粉碎,采用 90% 甲醇提取,以腺苷和尿苷作对照,采用 4% 磷酸氢二钠溶液浸渍后的硅胶 GF₂₅₄ 薄层板,以异丙醇-乙酸乙酯-甲醇-水-浓氨试液(5:3:1:1:0.1, V/V/V/V/V)为展开剂,紫外光灯(254 nm)下检视。该方法可有效鉴别中华被毛孢菌丝体、蝙蝠蛾拟青霉菌丝体、蛹虫草、亚香棒虫草、新疆虫草和凉山虫草^[8]。

2.6 特征图谱鉴别

中药特征图谱鉴别技术是指药材经过处理后,采用色谱仪器分析,得到能体现药材特征色谱峰的图谱,并用于药材的真伪鉴别,见于中国药典品种羌活、沉香等中药材标准,但在鲜药材标准中尚未见收录。李文庆等^[8]采用高效液相色谱技术建立了鲜冬虫夏草的特征图谱,确定了 6 个特征色谱峰,通过分析 40 批鲜冬虫夏草和 8 批虫草混淆品,可有效鉴别中华被毛孢菌丝体、蝙蝠蛾拟青霉菌丝体、蛹虫草、蝉花、亚香棒虫草、新疆虫草和凉山虫草。同时,采用高效液相色谱-质谱联用技术建立鲜冬虫夏草蛋白类成分特征图谱,确定鲜冬虫夏草的 6 个特征蛋白峰,可有效鉴别蛹虫草、蝉花、草石蚕、亚香棒虫草、凉山虫草、中华被毛孢菌丝体和蝙蝠蛾拟青霉菌丝体^[10]。

气相色谱常用于药材挥发性成分的分析。李计萍等^[11]采用水蒸气蒸馏法得到鲜、干姜的挥发油成分,并建立了气相色谱-质谱联用(GC-MS)法对二者成分进行了比较。测定结果显示,生姜检测出 77 个峰,鉴定出 37 个成分;干姜检测出 83 个峰,鉴定出 44 个成分,并从中寻找到了 2 个生姜中的特有成分,即 β -榄香烯和反,反-法呢醛。采用 GC-MS 法对鲜冬虫夏草中的挥发性成分进行了研究,鉴定出 15 个挥发性成分,可为冬虫夏草鲜品的鉴别提供参考文献^[12]。

3 鲜药含量测定

3.1 紫外分光光度法

紫外分光光度法作为中药质量评价的常用检测技术,具有操作方便、检测速度快的特点,主要应用于药材中某一类成分的含量测定。李计萍等^[13]采用紫外分光光度法比较了鲜地黄与干地黄中多糖的含量,先用80%乙醇去除小分子糖,然后用水回流提取样品多糖,硫酸-苯酚法反应,检测波长为480 nm,结果显示,鲜地黄中的多糖含量(以干品计)为7.81%~9.48%,而干地黄中的多糖含量为4.21%~4.46%,地黄鲜品多糖含量约为干品的2倍。该结果验证了“地黄生者尤良”的合理性,同时也提示多糖作为地黄的重要活性成分,在鲜干地黄标准含量限度设定应有区别。

3.2 高效液相色谱法

鲜药所含成分复杂,分离纯化难度大,高效液相色谱法具有分离能力强、分析速度快、检测灵敏度高的特点,是目前鲜药中常用的含量测定技术。刘秋琼等^[14]采用高效液相色谱法对经保鲜处理的鲜龙葵果和干龙葵果中的抗肿瘤成分澳洲茄碱、澳洲茄边碱含量进行了比较,结果显示,经保鲜技术处理的鲜果中澳洲茄碱和澳洲茄边碱的含量比干果的含量高80%以上,说明龙葵果在干燥过程中生物碱存在流失。王梦溪等^[15]采用高效液相色谱法测定益母草鲜品和干品中生物碱和黄酮类成分含量,结果显示,鲜品中生物碱(水苏碱和益母草碱)和黄酮(槲皮素和茺花素)的含量均明显高于干品,说明干燥过程会引起益母草生物碱及部分黄酮类成分的损失。李文庆等^[16]采用高效液相色谱蒸发光散射检测器联用技术建立了冬虫夏草中3种甾醇类成分(麦角甾醇、胆甾醇和谷甾醇)的测定方法,并对冬虫夏草干品和鲜品进行比较,结果鲜冬虫夏草繁育品与干冬虫夏草繁育品甾醇含量相当,提示干冬虫夏草采用低温冷冻干燥技术很好地保留了鲜冬虫夏草中原有甾醇类成分。

3.3 气相色谱法

气相色谱技术多用于药材中挥发性成分的定量分析。何刚等^[17]采用GC-MS法建立了鲜鱼腥草中4种挥发油类成分(4-萜品醇、 α -松油醇、乙酸龙脑酯和甲基正壬酮)的定量方法,结果显示,采收期不同,鱼腥草鲜药材挥发油中4种挥发性成分的含量差异较大。其次,生代谢产物的积累随时间推移,4种成分含量呈上升趋势,到8月中旬含量最高,此后含量下降。

4 鲜药有害物质测定

有害物质测定是鲜药质量评价的重要组成部分,目前,鲜药质量主要涉及的有害物质包括重金属和农药残留。

重金属常见测定技术包括比色法、原子吸收光谱法和电感耦合等离子体质谱法等,前者的使用越来越少,而后者已成为主流技术。张建强等^[18]采用原子吸收光

谱技术建立了紫皮石斛中5种重金属元素(铬、镉、铅、汞和铜)的测定方法,结果显示,根和茎中均检测到了铬、汞、铜,未检测到镉、铅。杨健等^[19]采用电感耦合等离子体原子发射光谱技术建立了鲜地黄中砷、汞、铅和镉的测定方法,测定结果表明,11个不同产地的鲜地黄中铅、砷和镉残留均符合国家《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准》,而汞残留超标。钱正明等^[20]采用微波消解-电感耦合等离子体质谱法建立了一种同时测定鲜冬虫夏草样品中铅、镉、砷、汞、铜5种重金属残留量的分析方法,并对15批鲜冬虫夏草样品进行了检测,结果显示,15批样品5种重金属残留均符合中国、美国和欧洲的药典标准要求。

农药残留也会影响鲜药品质。盛振华等^[21]采用在线凝胶色谱-气相质谱联用技术建立了鲜浙贝母药材中敌敌畏、乐果、脱叶磷等17种农药残留的测定方法,并对市场上收集的3批鲜药样品进行了分析,其中二苯砷的平均含量为0.214 mg/kg,咯菌腈的平均含量为0.112 mg/kg,其余农药均未检出。该方法简便、快速和灵敏,可满足鲜贝母中多种农药残留的同时检测。

5 鲜药生物活性评价

鲜药生物活性检测技术是以鲜药的生物反应活性为基础,采用特定试验测定鲜药生物活性,从而对鲜药进行质量评价^[22]。钱正明等^[6]以超氧化物歧化酶(SOD)活力为评价指标分析鲜冬虫夏草及不同干燥条件下的干品,结果显示,鲜冬虫夏草SOD酶活力最好,冻干冬虫夏草、阴干冬虫夏草和烘干冬虫夏草的SOD酶活力依次减少,其中烘干冬虫夏草样品的SOD酶活力仅为鲜品的1/3。相较于干燥药材,鲜药细胞内的生物活性分子保存较好,是鲜药材相对于干品在药效上的优势之一。因此,在鲜药质量评价中引入生物活性检测技术将有助于鲜药质量的全面评价。

6 小结

鲜药为中医药产业的重要组成部分,大量应用于疾病治疗和健康养生领域。目前,鲜药标准数量有限,难以满足大量实际应用鲜药品种的需求,未来需针对鲜药的实际使用品种情况制订相关标准,以规范鲜药的质量,保障产业的稳步发展。现行鲜药质量标准,部分品种存在研究不深入、检测项目不完善的情况,如荷叶边和鲜铁扁担标准只规定了药材来源,未有任何其他检测项目。中药鲜品在化学成分和药理药性等方面与干品会有所不同,干品质量标准不一定适用于鲜药。建议加强中药鲜品与干品的比较研究,找出其共同点及差异点,建立鲜药特色质量评价方法,并纳入鲜药质量评价标准。

参考文献:

- [1] 曾建国. 基于鲜药材的中药现代炮制技术[J]. 中草药, 2009, 40(1): 1-5.