

## · 综述 ·

胆类药材质量控制研究进展<sup>△</sup>武浩楠<sup>1,2</sup>, 荆文光<sup>2</sup>, 王枫<sup>3</sup>, 王献瑞<sup>2</sup>, 石岩<sup>2</sup>, 杨建波<sup>2</sup>, 程显隆<sup>2</sup>, 尹湉<sup>1\*</sup>, 魏锋<sup>2\*</sup>

1. 沈阳药科大学 功能食品与葡萄酒学院, 辽宁 沈阳 110016;

2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629;

3. 重庆极泽生物科技有限公司, 重庆 400700

**[摘要]** 胆类药材是我国重要的动物药资源, 其中不乏熊胆、牛黄、蛇胆等传统名贵药材, 多数胆类药材具有清肺、化痰、清热、解毒、开窍、凉肝、息风、定惊等临床功效。《中华人民共和国药典》2020 年版中收录的含有胆类药材的中成药多达 120 余种, 其中包括安宫牛黄丸、片仔癀等临床急救中成药, 因此胆类药材不仅是动物药资源产业可持续发展的关键药材之一, 其质量也决定了中成药临床用药的安全性和有效性。基于胆类药材相关标准的收录情况和近 10 年国内外相关研究成果, 综述了主要胆类药材的来源、基原鉴别方法和其主要化学成分质量控制的研究进展, 为名贵胆类药材的真伪鉴别、我国胆类药材和制剂质量控制水平的提升、名贵胆类中药替代品的研究、胆类药材的可持续发展提供借鉴和参考。

**[关键词]** 胆类药材; 胆酸; 质量控制; 新技术

**[中图分类号]** R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2025)08-1555-09

**doi:**10. 13313/j. issn. 1673-4890. 20241024005

## Research Progress in Quality Control of Bile-derived Medicinal Materials

WU Haonan<sup>1,2</sup>, JING Wenguang<sup>2</sup>, WANG Feng<sup>3</sup>, WANG Xianrui<sup>2</sup>, SHI Yan<sup>2</sup>, YANG Jianbo<sup>2</sup>,CHENG Xianlong<sup>2</sup>, YIN Tian<sup>1\*</sup>, WEI Feng<sup>2\*</sup>

1. Faculty of Functional Food and Wine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China;

3. Chongqing Kingbear Biotechnology Co., Ltd., Chongqing 400700, China

**[Abstract]** Bile-derived medicinal materials are important animal animal-derived resources in China, including precious medicinal materials such as bear bile, bezoar, and snake bile. These medicinal materials often possess various clinical effects such as clearing the lungs, resolving phlegm, clearing heat, detoxifying, opening orifices, cooling the liver, calming wind, and arresting convulsion. The 2020 edition of the *Chinese Pharmacopoeia* includes more than 120 Chinese patent medicines containing bile-derived medicinal materials, including emergency clinical medicines such as Angong Niu Huang Wan and Pien Tze Huang. Therefore, bile-derived medicinal materials are a key to the sustainable development of the animal medicinal material industry, and their quality determines the safety and efficacy of Chinese patent medicines. By combining relevant standards and research literature, this paper reviews the research progress in bile-derived medicinal materials regarding the sources, original animal identification methods, and chemical component quality control in the past decade. It provides a reference for identifying precious bile-derived medicinal materials, improving the quality control, assisting in the research on alternatives, and achieving the sustainable development of bile-derived medicinal materials.

**[Keywords]** bile-derived medicinal materials; bile acid; quality control; novel technology

我国是最早使用动物胆类药材的国家, 早在唐代甄权<sup>[1]88</sup>所著的《药性论》中就有“熊胆恶防己、地黄。主小儿五疳, 杀虫, 治恶疮”的记载。常用的动物胆类药材包括熊胆、牛胆、蛇胆、狗胆、猪

<sup>△</sup> **[基金项目]** 中检院学科带头人培养基金课题 (2013X10)

<sup>\*</sup> **[通信作者]** 尹湉, 副教授, 研究方向: 药食两用资源创新性应用与研究; E-mail: 22665198@qq.com  
魏锋, 研究员, 研究方向: 中药质量标准; E-mail: weifeng@nifdc.org.cn

胆、羊胆、兔胆、狐狸胆、貉胆、鸡胆、鸭胆、鹅胆等；还包括胆的病理性产物胆结石类药材，如天然牛黄；此外还包括一些含有胆汁成分的药材，如人工牛黄、体外培育牛黄、胆南星等。胆类药材来源丰富，含有胆类药材的中成药种类多样，《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）2020 年版<sup>[2]</sup>中含有胆类药材的中成药有 120 余种，其中多数含有熊胆、蛇胆、牛黄等名贵胆类药材，但这些名贵胆类药材资源有限、价格昂贵，且不法商家使用其他胆类药材冒充名贵胆类药材，严重危害人民用药安全。因此，胆类药材的质量控制对中成药质量的稳定性及人民用药的安全性、有效性至关重要。本文结合胆类药材相关标准收录情况和近 10 年国内外有关胆类药材的研究成果，综述了胆类药材主要成分的质量控制研究进展，总结胆类药材质量控制的新技术、新方法，旨在为胆类药材质量控制水平的提高、合理应用和发展提供参考。

1 胆类药材的来源和标准

我国对药用动物胆汁的使用历史悠久，除名贵

中药熊胆外，历代本草收载的药用动物胆汁已达 32 种，各种动物胆汁因成分不同而药效各异<sup>[3]</sup>。《中国药典》2020 版（一部）<sup>[2]</sup>收载含有牛黄、熊胆、猪胆、羊胆、鹅胆、蛇胆等胆类药材的中成药较多，部分中成药含有胆酸、猪去氧胆酸等化学成分，但仅收载了猪胆粉、牛黄、人工牛黄和体外培育牛黄 4 个胆类药材，部分地区的地方标准中收载了牛胆、羊胆、鸡胆等胆类药材（表 1）。兔胆、鸭胆、牦牛胆、貉胆、狗胆等部分胆类药材尚未被《中国药典》2020 版（一部）和部分地方标准收录，对上述动物胆类药材的研究成果逐渐增多，未来其可能成为胆类药材资源的新来源。

2 胆类药材基原鉴别

胆类药材基原的准确性是影响胆类药材质量的重要因素，胆类药材来源于动物，DNA 条形码是生物体内固有的，且特异性较强、易于扩增、相对较短的 DNA 片段，通过 DNA 条形码的比对分析，能够对胆类药材进行鉴定与分类<sup>[10]</sup>，DNA 条形码鉴定是目前胆类药材基原鉴别的主要方法之一。

表 1 常见动物胆类药材的来源、标准、功能与主治

| 胆类药材   | 来源                                                                                 | 收录标准                     | 功能与主治                                                  | 参考文献   |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|--------------------------------------------------------|--------|
| 熊胆粉    | 熊科动物黑熊 <i>Selenretos thibetanus</i> Cuvier 经胆囊手术引流胆汁而得的干燥品                         | 《新药转正标准》（第 11 册）         | 清热、平肝、明目，用于惊风抽搐，外治目赤肿痛、咽喉肿痛                            | [4]44  |
| 猪胆粉    | 猪科动物猪 <i>Sus scrofa domestica</i> Brisson 胆汁的干燥品                                   | 《中国药典》2020 年版（一部）        | 清热润燥、止咳平喘、解毒，用于顿咳、哮喘、热病燥渴、目赤、喉痹、黄疸、泄泻、痢疾、便秘、痈疮肿毒       | [2]341 |
| 牛胆汁    | 牛科动物牛 <i>Bos taurus domesticus</i> Gmelin 的胆汁                                      | 《辽宁省中药材标准》2019 年版（第 2 册） | 清肝明目、利胆通肠、解毒消肿，用于风热目疾、热咳、黄疸、咳嗽、痰多、小儿惊风、便秘、痈肿、痔疮        | [5]9   |
| 羊胆膏    | 牛科动物绵羊 <i>Ovis aries</i> Linnaeus 或山羊 <i>Capra hircus</i> Linnaeus 的胆汁经去除杂质浓缩制成的稠膏 | 《福建省中药材标准》2006 年版        | 清火、明目、解毒，用于风热目赤、青盲、翳障、喉头红肿、黄疸、便秘、热毒疮疡                  | [6]103 |
| 蛇胆     | 游蛇科（Colubridae）人工饲养乌梢蛇 <i>Zaocys dhumnades</i> Cantor 或同科多种蛇的胆囊                    | 《甘肃省中药材标准》2020 年版        | 清热解毒、化痰镇痉、明目，用于痰迷心窍、风热发狂、惊痫、痰多咳嗽、眼雾不明、痔疮红肿、皮肤热毒、瘰子     | [7]497 |
| 牛黄     | 牛科动物牛 <i>Bos taurus domesticus</i> Gmelin 的干燥胆结石                                   | 《中国药典》2020 年版（一部）        | 清心、豁痰、开窍、凉肝、息风、解毒，用于热病神昏、中风痰迷、惊痫抽搐、癫痫发狂、咽喉肿痛、口舌生疮、痈肿疔疮 | [2]74  |
| 人工牛黄   | 牛胆粉、胆酸、猪去氧胆酸、牛磺酸（Tau）、胆红素、胆固醇、微量元素等加工制成                                            | 《中国药典》2020 年版（一部）        | 清热解毒、化痰定惊，用于痰热谵狂、神昏不语、小儿急惊风、咽喉肿痛、口舌生疮、痈肿疔疮             | [2]5   |
| 体外培育牛黄 | 牛科动物牛 <i>Bos taurus domesticus</i> Gmelin 的新鲜胆汁作母液，加入去氧胆酸、胆酸、复合胆红素钙等制成             | 《中国药典》2020 年版（一部）        | 清心、豁痰、开窍、凉肝、息风、解毒，用于热病神昏、中风痰迷、惊痫抽搐、癫痫发狂、咽喉肿痛、口舌生疮、痈肿疔疮 | [2]186 |
| 鸡胆     | 雉科动物家鸡 <i>Gallus gallus domesticus</i> Brisson 的胆                                  | 《黑龙江省中药材标准》2001 年版       | 消炎、止咳、祛痰、解毒、明目，用于百日咳、慢性支气管炎、小儿菌痢、砂淋、目赤流泪、痔疮            | [8]99  |
| 鹅胆粉    | 鸭科动物家鹅 <i>Anser cygnoides domestica</i> Brisson 的胆汁干燥品                             | 《广东省中药材标准》2004 年版（第 1 册） | 清热解毒、润燥，用于疮疖肿毒、热毒症                                     | [9]199 |

赵远等<sup>[11]</sup>开发了一种基于多重聚合酶链式反应(PCR)的分子生物学鉴定方法,该法操作简便、灵敏度高、准确可靠,能够快速且特异性地鉴别熊胆粉及其常见掺伪品(猪胆粉、牛胆粉);该法设计了熊、猪、牛的特异性引物,并对其DNA片段进行扩增和测序验证,能够一次性同时识别多个物种,有效提高了熊胆粉的质量控制和市场监管效率。王丽等<sup>[12]</sup>测试了多种DNA提取方法,结果发现基于十二烷基硫酸钠(SDS)的柱式DNA提取方法能够从猪胆粉中提取出高质量的DNA,并建立了一种独特的PCR鉴别方法,该法能够准确鉴定猪胆粉及含有猪胆粉的中成药;通过该法对自制、市售的猪胆粉及含有猪胆粉的中成药进行检测,结果自制猪胆粉和猪胆粉对照药材电泳图的相应位置处均出现特异性条带,5批市售猪胆粉、10批含有猪胆粉的中成药中均检测出猪源性成分;对上述样品的PCR扩增阳性产物进行酶切和序列测定,结果进一步验证了其于猪的DNA序列高度一致性,该法为其他胆类药材的PCR鉴别提供了有益参考。周成高<sup>[13]</sup>利用DNA条形码和微型DNA条形码技术对中药蛇胆药材进行了基原鉴定,并向GenBank提交了4种蛇类的细胞色素c氧化酶亚基I(CO I)基因序列,其通过对30种常见蛇类的引物SNCOI2进行特异性验证,结果该引物具有蛇类DNA条形码鉴定所需的通用性;其自行设计的微型DNA条形码引物COISNM也具有特异性,适用于对17种蛇类的DNA降解样品进行鉴定;通过上述2个引物对蛇胆药材伪品进行鉴定,结果显示使用引物SNCOI2能够鉴别出大部分常见的伪品,而使用引物COISNM则无法对伪品进行有效鉴别;其通过上述2个引物对195个样品进行鉴定,结果能够鉴定出大多数样品的具体物种,所检测的样品涉及4科13种蛇类,其中部分伪品来源于鸡。市售的蛇胆药材基原复杂,该研究成果为中药蛇胆药材的基原鉴定及质量控制提供了参考。

### 3 胆汁酸类成分的质量控制

胆汁酸类成分是胆类药材含有的主要成分,多数胆汁酸类成分具有解热、抗炎、利胆、镇痛、镇咳及抑菌等药理作用<sup>[3]</sup>。胆汁酸类成分能够通过激活法尼醇受体(FXR)等靶点间接影响下游代谢通路,其还能够通过调节肠道菌群组成发挥治疗作用<sup>[14]</sup>。结合型胆汁酸能够作用于神经系统,其机制可能与

抗凋亡、抗氧化及抗炎有关<sup>[15-16]</sup>。胆汁酸类成分的药理作用是胆类药材在临床中发挥保肝利胆、溶胆结石、抗癌、保护心脑血管组织、镇咳、平喘和祛痰等治疗效果的重要基础<sup>[17-20]</sup>。

游离型胆汁酸类成分包括熊去氧胆酸(UDCA)、猪去氧胆酸(HDCA)、鹅去氧胆酸(CDCA)、胆酸(CA)和去氧胆酸(DCA)等。结合型胆汁酸是游离型胆汁酸与Tau或甘氨酸(Gly)结合形成的一类胆汁酸类成分,包括牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)、牛磺鹅去氧胆酸(TCDCA)、牛磺猪胆酸(THCA)、牛磺猪去氧胆酸(THDCA)、牛磺胆酸(TCA)、牛磺去氧胆酸(TDCA)、甘氨酸鹅去氧胆酸(GCDCA)、甘氨酸猪去氧胆酸(GHDCA)、甘氨酸胆酸(GCA)和甘氨酸去氧胆酸(GDCA)等。不同胆汁酸类成分在各胆类药材中的分布和含量不同,因此各胆类药材的临床功效存在差异。对胆类药材中胆汁酸类成分含量进行质量控制是提升胆类药材质量和确保其临床疗效的关键。

部分胆汁酸类成分在胆类药材中的含量较少,无法通过单体分离技术等对其进行鉴定,因此通常采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(UPLC-QTOF-MS/MS),通过测定胆汁酸类成分的 $t_R$ 、相对分子质量、质谱碎片离子推断其结构信息,进行快速定性分析。由于多数胆汁酸类成分的紫外吸收较弱,因此常采用高效液相色谱仪和超高效液相色谱仪结合蒸发光检测器(ELSD)、电雾式检测器(CAD)、三重四极杆质谱检测器(QQQ)进行定量分析。

#### 3.1 熊胆中胆汁酸类成分的质量控制

引流后的熊胆粉的成分和药理作用与天然熊胆相似,其主要以TUDCA、TCDCA等结合型胆汁酸类成分为主,还包括UDCA、CDCA和CA等游离型胆汁酸类成分<sup>[21-22]</sup>。

袁丹等<sup>[23]</sup>基于傅里叶变换红外光谱法(FT-IR)对熊胆粉与其他常见动物胆类药材(牛胆粉、猪胆粉、羊胆粉)进行了快速定性鉴别,其通过分析上述胆类药材图谱中的特征吸收峰,进而准确区分各胆类药材,结果显示自制掺伪品(熊胆粉中掺入50%猪胆粉)的图谱与熊胆粉的图谱存在明显区别。IR与化学计量学分析联用能够快速区分熊胆粉的真伪及掺伪比例<sup>[24]</sup>。袁明昊等<sup>[25]</sup>将IR分别与正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)、偏最小二乘回归

法(PLSR)联用,分别建立了熊胆粉正品、伪品及掺伪品(熊胆粉中掺入牛胆粉、猪胆粉)的定性校正模型和定量校正模型,建立的模型均表现出良好的预测能力。王雨露等<sup>[26]</sup>基于FT-IR与PLSR的联用,快速预测了熊胆粉中TUDCA和TCDCA的含量。FT-IR结合化学计量学分析不仅可以在不损坏样品的情况下准确鉴别胆类药材,还能够快速预测其掺伪比例,为熊胆粉的质量控制提供了借鉴。

ELSD和CAD能够检测没有紫外吸收的有机物,也适用于检测几乎不挥发的有机物、半挥发性有机物。石岩<sup>[22]</sup>通过高效液相色谱(HPLC)-ELSD建立了常用的动物胆汁类药材(猪胆粉、牛胆粉、羊胆粉、熊胆粉、牛黄、体外培育牛黄、人工牛黄)特征图谱,可用于同时对17种常见的胆汁酸类成分进行分离和检测。王一博等<sup>[27]</sup>通过HPLC-CAD、HPLC-ELSD测定猪、熊、牛、羊胆汁粉中游离胆汁酸类成分的含量,结果CAD的灵敏度和测定成分的线性范围优于ELSD;测定结果显示4种动物胆汁粉均含有CDCA,其中UDCA和HDCA分别是熊胆汁粉和猪胆汁粉中特有的成分。胆汁酸类成分的紫外吸收较弱,通过HPLC-紫外分光光度法(UV)检测时干扰较多,灵敏度和准确度不高,因此常通过CAD和ELSD对胆汁酸类成分进行检测。

曹妍等<sup>[28]</sup>基于核磁共振氢谱法(<sup>1</sup>H-NMR)和液相色谱-质谱法(LC-MS)对熊胆粉和其他胆类药材中的胆汁酸类成分进行测定,结果发现熊胆粉含有7个胆汁酸类成分;并通过LC-MS结合多元统计分析发现,UDCA、CDCA、TUDCA和TCDCA是熊胆与其他常见胆类药材的主要差异成分;该法为熊胆粉的质量标准建立及常用胆类药材的分析提供了参考。

Lei等<sup>[29]</sup>采用电子鼻、电子舌技术结合气相色谱-质谱法(GC-MS)和多种机器学习算法(随机森林、支持向量机、K近邻、反向传播神经网络),对熊胆粉及其常见掺假品的气味和味道进行评估,从而建立一种快速、准确的鉴别方法;结果表明,TUDCA主要表现为苦味、TCDCA主要表现为咸味和鲜味;通过电子鼻和GC-MS检测到的挥发性成分主要包括醛类、酮类、醇类、烃类、羧酸类、杂环类、脂类和胺类化合物,上述成分主要表现为泥土味、霉味、咖啡味、苦杏仁味、烧焦味和辛辣味等;通过随机森林算法对熊胆粉及其常见伪品进行定性

鉴别时准确率达100%,上述方法定量预测结果的 $r$ 较高、均方根误差(RMSE)较低,说明电子鼻和电子舌结合机器学习算法能够对熊胆粉进行定性和定量评估,为熊胆粉的质量控制和市场监管提供了新方法。

雷苛露等<sup>[30]</sup>基于X射线粉末衍射技术(XRD)结合OPLS-DA对熊胆粉的真伪及产地进行鉴别,对二阶求导处理后的X射线指纹图谱进行分析,结果显示熊胆粉正品间的相似度为0.931 0~0.995 9,而熊胆粉伪品与正品间的相似度<0.850 0;通过该法能够对熊胆粉的真伪及产地进行鉴别,但不能测定掺伪比例。

### 3.2 猪胆中胆汁酸类成分的质量控制

猪胆是一种价格低廉且易于获取的胆类药材,具有一定的药用价值。《本草纲目》记载,“方家用猪胆,取其寒能胜热、滑能润燥、苦能入心,又能去肝胆之火也”<sup>[31]</sup><sup>[780]</sup>。猪胆的主要成分包括猪胆酸、HDCA、CDCA、THDCA、TCDCA、GHDCA和GCDCA等<sup>[18]</sup>。

李志万等<sup>[32]</sup>采用HPLC-ELSD测定了猪胆粉中HDCA的含量,结果HDCA线性关系良好( $r=0.999\ 4$ ),加样回收率为97.0%、RSD为2.7%,说明该法准确度好。石岩等<sup>[18]</sup>通过HPLC-ELSD对22批猪胆粉进行分析,结果所有样品均含有GHDCA和GCDCA,且含量较高。超高效液相色谱-线性离子阱-静电场轨道阱质谱法(UHPLC-LTQ-Orbitrap-MS)具有分辨率高、灵敏度高和分离效率高的优势,李娅琦等<sup>[33]</sup>通过上述技术分析不同胆汁酸类成分质谱图和色谱图特征,鉴别了猪胆粉中14个胆汁酸类成分;此外,其还建立了基于HPLC-ELSD的内标法,用于测定猪胆粉中GHDCA、GCDCA的含量。

### 3.3 牛胆中胆汁酸类成分的质量控制

牛胆中胆汁酸类成分主要为GCA、GDCA、GCDCA、TCA、TDCA、TCDCA等结合型胆汁酸类成分<sup>[34]</sup>。石岩等<sup>[17]</sup>通过HPLC-ELSD对牛胆粉中4种主要的胆汁酸类成分进行了定量分析,结果GCA、GDCA、TCA、TDCA的平均质量分数分别约为25.2%、4.1%、24.5%、5.2%,说明牛胆粉中甘氨酸结合型胆汁酸类成分与Tau结合型胆汁酸类成分的含量几乎一致,这可作为牛胆与羊胆等其他胆

类药材的重要鉴别特征。谭春梅等<sup>[35]</sup>采用 HPLC-ELSD 测定了小儿肺平胶囊中 TCA、GCA 的含量, 计算了 TCA 和 GCA 的比值, 并通过主成分分析 (PCA) 和 OPLS-DA 筛选出影响批间差异的主要成分, 为快速、有效地评估小儿肺平胶囊中牛胆粉的质量及其掺伪情况提供参考。

### 3.4 羊胆中胆汁酸类成分的质量控制

羊胆的药用历史悠久, 收录于《名医别录》<sup>[36]172</sup>和《本草纲目》<sup>[31]1799</sup>, 《名医别录》记载“青羊胆: 主青盲, 明目”<sup>[36]172</sup>。羊胆中主要的游离型胆汁酸类成分为 CA, 主要的结合型胆汁酸类成分为 GCA、GDCA、GCDCA、TCA、TDCA 和 TCDCA, 其中以 TCA 和 TDCA 含量较高<sup>[37]</sup>。林诗铃等<sup>[38]</sup>采用 UPLC-MS/MS 对羊胆中胆汁酸类成分进行快速鉴定, 利用电喷雾离子源在负离子模式下对羊胆样品进行全扫描及二级质谱扫描, 共鉴定出 15 个胆汁酸类成分, 其中 4 个游离型胆汁酸类成分首次被检出。该法检测效率高、灵敏度高, 能够快速鉴定出羊胆中胆汁酸类成分, 为羊胆的质量控制及其药效物质的深入研究提供了参考。

### 3.5 蛇胆中胆汁酸类成分的质量控制

蛇胆因资源稀缺、疗效好, 在胆类药材中较为珍贵。马婷婷<sup>[39]</sup>采用 UV、ELSD、CAD 3 种不同类型检测器测定蛇胆汁中胆汁酸类成分的含量, 通过蛇胆汁中胆酸类物质的结构特点比较上述 3 种检测器测定结果的检出限与定量限, 优选出灵敏度较高的 CAD, 并通过 HPLC-CAD 测定了蛇胆汁中牛磺酸钠的含量。

Zhang 等<sup>[40]</sup>采用 UHPLC-QTOF-MS/MS 测定 4 个产地的 20 种蛇胆的胆汁酸类成分, 结果鉴定出 15 个胆汁酸类成分, 包括 13 个 Tau 结合型胆汁酸类成分、1 个甘氨酸结合型胆汁酸类成分和 1 个游离型胆汁酸类成分。此外, 张洁<sup>[41]</sup>还采用反相硅胶柱色谱、Toyopearl HW-40 凝胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等建立了可同时分离并检测蛇胆中 7 个胆汁酸类成分的方法, 其中 2 个胆汁酸类成分为从蛇胆中首次分离出的成分, 不同种类的蛇胆含有的胆汁酸类成分的含量存在差异, 其建立了蛇胆掺伪的鉴别方法, 可用于鉴别蛇胆中掺伪猪胆粉、牛胆粉、羊胆粉、鸡胆粉、鸭胆粉的含量, 为蛇胆的质量控制提供了重要参考。

曹妍等<sup>[42]</sup>通过 <sup>1</sup>H-NMR 对蛇胆粉中的化学成分进行非靶向检测, 并对 <sup>1</sup>H-NMR 图谱中主要信号峰进行归属和指认, 结果从蛇胆粉中鉴定出 6 个胆汁酸类成分; 此外, 其还提取分离出蛇胆中的 TCA, 并初步鉴定出蛇胆中 57 个胆汁酸类成分。

### 3.6 牛黄中胆汁酸类成分的质量控制

《神农本草经》<sup>[43]238</sup>、《本草纲目》<sup>[31]1835</sup>、《名医别录》<sup>[36]71</sup>中均有关于牛黄的记载, 牛黄的药用历史悠久。由于牛黄是一种病理产物, 产量低难以满足市场需求, 且价格较昂贵, 因此研究人员研制了牛黄的替代品, 如人工牛黄、体外培育牛黄。

牛黄的主要成分为胆汁酸类成分, 但部分胆汁酸类成分因极性相似而难以分离。Peng 等<sup>[44]</sup>建立了一种简单、灵敏度高的 LC-MS/MS, 该法在选定的多反应监测模式下, 能够同时测定人工牛黄中的胆红素、Tau 和 11 个胆汁酸类成分 (6 个游离型胆汁酸类成分、2 个甘氨酸结合型胆汁酸类成分和 3 个 Tau 结合型胆汁酸类成分), 在一定范围内, 上述成分均表现出良好的线性 ( $r > 0.994$ )。

人工牛黄与天然牛黄有相同的药效活性, 已成为天然牛黄理想的替代品。《中国药典》2020 年版<sup>[25]</sup>规定, 人工牛黄质量控制的标志物为胆酸和胆红素。通过上述 2 个成分评价人工牛黄的质量仍不够全面, Feng 等<sup>[45]</sup>采用 LC-MS/MS, 在负离子模式下通过多反应监测模式对天然牛黄和人工牛黄中的 Tau 和 12 个胆汁酸类成分进行了定性和定量分析。雷凯等<sup>[46]</sup>使用 QQQ-MS 有效分离了体外培育牛黄和天然牛黄中 26 个胆汁酸类成分, 并测定了上述成分的含量, 为体外培育牛黄和天然牛黄的质量控制提供了重要参考; 天然牛黄和体外培育牛黄的胆汁酸类成分含量存在明显差异, 通过猪去氧胆酸在上述 2 种牛黄中的含量差异可有效对其进行鉴别。Liu 等<sup>[47]</sup>通过 TOF-MS 在负离子模式下对天然牛黄、体外培育牛黄、人工牛黄中的胆汁酸类成分进行分析, 基于 3 个牛黄中胆汁酸类成分的差异对其进行了鉴别; 在体外培养牛黄的质谱图  $m/z$  405 处发现了 1 个新化合物 (3 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -dihydroxy-7-oxo-5 $\alpha$ -cholan-3-ic acid), 而天然牛黄和人工牛黄中未检测到该化合物; 此外, 其还鉴别了 13 个胆汁酸类成分, 天然牛黄和人工牛黄均含有 GCA、GDCA 和 TCA, 其中 TCA 的含量在 2 种牛黄中存在差异。

### 3.7 其他胆类药材中胆汁酸类成分的质量控制

黄金野等<sup>[48]</sup>采用HPLC-UV成功分离出蓝狐胆中的TUDCA、TCA、TCDCA和TDCA。周博<sup>[49]</sup>研究发现熊胆与蓝狐胆中TUDCA的含量比例接近2:1,蓝狐胆和熊胆中除了均含有TUDCA外,还均含有9个成分,这为日后开发熊胆的替代品提供了思路。

曹妍等<sup>[50]</sup>采用LC-MS鉴定了牦牛胆中30个胆汁酸类成分,且其中较多成分为同分异构体,其通过半数响应碰撞能( $CE_{50}$ )和最佳碰撞能(OCE)成功鉴别了各胆汁酸类成分的同分异构体,但无法明确鉴定上述成分的结构。

李炎桂<sup>[51]</sup>通过紫外-可见分光光度计测量貉胆粉和熊胆粉中总胆酸的含量,以CA含量计,貉胆粉总胆酸含量约是熊胆粉的2.8倍;以UDCA含量计,貉胆粉总胆酸含量约是熊胆粉总胆酸含量的2.5倍;貉胆粉中UDCA含量较高,具有较高的开发、利用价值,有望替代熊胆粉入药。

### 4 胆色素类成分的质量控制

胆色素类成分是动物胆汁颜色呈现的关键物质,其中胆红素是胆色素类成分中较为重要的成分,具有提高机体耐缺氧能力、抗炎及改善组织损伤等作用<sup>[52]</sup>。

石岩等<sup>[53]</sup>通过10%草酸处理体外培育牛黄,导致体外培育牛黄中结合型胆红素转化为游离型胆红素,然后通过二氯甲烷进行液-液萃取,并采用HPLC测定培植牛黄中胆红素含量,该法准确可靠,优化了《中国药典》2020年版(一部)<sup>[2186]</sup>体外培育牛黄项下的胆红素测定法,解决了该法特异性和准确性较弱的问题,为牛黄类药材的研究提供了参考。

雷苛露等<sup>[52]</sup>通过分光测色仪测定熊胆粉的色度值,通过紫外-可见分光光度法测定熊胆粉所含胆红素的含量,结果发现胆红素含量与色度值明度值( $L^*$ )、红绿值( $a^*$ )、黄蓝值( $b^*$ )的 $r$ 分别为0.947( $P<0.001$ )、-0.590( $P<0.001$ )、0.960( $P<0.001$ );回归分析显示,胆红素含量受色度值影响的程度为95.0%,基于色度值能够较为准确鉴别熊胆、禽类胆及其他哺乳动物胆;上述结果表明,熊胆粉中胆红素含量与其颜色密切相关,因此胆红素含量和色度值可作为鉴别熊胆粉真伪的可靠手段。

## 5 其他类成分的质量控制

### 5.1 氨基酸类成分的质量控制

氨基酸类成分含量与胆类药材质量等级的划分密切相关<sup>[54]</sup>,因此测定胆类药材中氨基酸的含量可为其质量控制提供参考。李菲<sup>[55]</sup>通过氨基酸分析仪测定了熊胆粉和家禽胆粉中游离氨基酸类成分和水解氨基酸类成分的含量,结果熊胆粉、鸡胆粉、乌鸡胆粉、肉鸡胆粉、鸭胆粉和鹅胆粉中均含有17个氨基酸类成分,其中熊胆粉中游离氨基酸类成分含量最低,鸭胆粉中游离氨基酸类成分含量最高;熊胆粉中水解氨基酸类成分含量最低,鹅胆粉中水解氨基酸类成分含量最高。王杰等<sup>[56]</sup>利用LC-MS测定不同来源的熊胆粉中氨基酸类成分的含量,结果显示熊胆粉中氨基酸类成分质量分数较低,为0.52%~2.12%,其中Tau占总氨基酸含量85.0%以上,组氨酸、缬氨酸、丙氨酸、赖氨酸、脯氨酸、精氨酸、S-腺苷甲硫氨酸等微量的氨基酸类成分质量分数较低,不超过0.1%;此外,部分熊胆粉样品中还检测到苯丙氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、苏氨酸等痕量的氨基酸类成分,部分熊胆粉样品中未检测到谷氨酰胺、天门冬氨酸、丝氨酸。不同胆类药材中氨基酸类成分的含量测定有助于对熊胆粉进行真伪鉴别及掺伪分析。

### 5.2 微生物和无机元素的质量控制

胆囊中胆汁一般是无菌的,研究发现熊胆粉中存在沙门菌和金黄色葡萄球菌,推测原因可能与胆汁在引流、干燥等生产工艺过程中受到的污染有关<sup>[57]</sup>。杨务彬等<sup>[58]</sup>使用pH 7.0的无菌氯化钠蛋白胨缓冲液制备熊胆粉的供试品溶液,采用培养基稀释法检测沙门菌,并采用常规法检测霉菌、酵母菌及其他控制菌,上述方法能够消除熊胆粉的抑菌性,适用于熊胆粉的微生物限度检查。

无机元素是胆类药材的重要成分,主要包括常量元素、微量元素及某些有毒重金属元素。廖予菲等<sup>[59]</sup>采用电感耦合等离子体质谱法检测猪胆粉中8个金属元素(Pb、Cd、As、Hg、Cu、Zn、Cr、Ni)的含量,结果Cu、Cr和Ni含量严重超标,分别超标了94.1%、88.2%、35.3%,但上述金属元素的健康风险指数和危害指数均小于1,表明猪胆粉药材没有致癌风险。李菲<sup>[55]</sup>利用原子吸收分光光度法

测定了熊胆粉、鸡胆粉、乌鸡胆粉、肉鸡胆粉、鸭胆粉和鹅胆粉中微量元素的含量,结果胆类药材中均含有18个无机元素,包括常量元素(Ca、Na、P、K、Mg)、微量元素(Fe、Cu、Zn、Mn、Cr、Co、Ni)及有毒重金属元素(Pb、Cd、Be、Pr、Sr、Ba);熊胆粉所含的元素中,K的含量最高,且其含有的有害金属元素含量明显低于其他胆类药材;乌鸡胆粉所含的元素中,P、K、Ca含量较高,且其所含的上述3个元素的含量高于鸭胆粉、鹅胆粉和熊胆粉;肉鸡胆粉的微量元素含量与乌鸡胆粉较为相近,但其所含的有害金属元素含量较高;鸭胆粉所含的元素中,K的含量最高,其次是P含量较高;鹅胆粉所含的元素中,K的含量最高,且其所含的Zn的含量比其他胆类药材高。王杰等<sup>[50]</sup>通过微波消解和电感耦合等离子体质谱仪测定不同来源熊胆粉中无机元素的含量,结果熊胆粉含有11种无机元素,总质量分数为185.8~285.6 mg·kg<sup>-1</sup>,Ca的含量较高,其质量分数为112.2~186.5 mg·kg<sup>-1</sup>;K、P、Na、Cu、Zn、Cr、Mn、Ti、Pb、Mo的质量分数均低于1.0 mg·kg<sup>-1</sup>;3个来源的熊胆粉中微量元素总量差异较小,但其所含的K、P、Cu、Zn的含量存在较大差异,其中来源于云南的熊胆粉中Cu、Zn的含量明显高于来源于四川和黑龙江的熊胆粉。不同胆类药材含有的无机元素含量存在一定差异,可为胆类药材的鉴别提供参考。

## 6 结语

胆类药材在中国的药用历史悠久,其中包括熊胆、蛇胆等名贵药材。胆类药材具有清热解毒、镇静明目等多种临床功效,广泛用于中成药中,如安宫牛黄丸和片仔癀等。由于胆类药材的资源有限,市场上存在掺伪、冒充的现象,严重影响了其安全性和有效性,因此对胆类药材进行质量控制非常重要。

近年来,胆类药材的质量控制方法发展迅速,FT-IR、HPLC、XRD、NMR和LC-MS等现代分析技术广泛应用于胆类药材的鉴别分析。电子鼻、电子舌等新技术结合化学计量学及机器学习算法,可用于胆类药材的真伪鉴别和产地识别,提高了胆类药材质量控制的准确性和效率。

此外,DNA条形码、PCR等分子生物学技术已成功应用于胆类药材的鉴别,这些技术能够快速、

准确地识别不同动物来源的胆类药材。熊胆粉、鸡胆粉、鸭胆粉等不同胆类药材中氨基酸的含量存在差异,这可作为评估胆类药材质量的重要指标。胆类药材含有的无机元素含量存在差异,这进一步表明了胆类药材的安全性和质量存在一定差异,值得深入研究。

如何进一步优化、整合现有质量分析方法对胆类药材进行更为全面的质量控制(胆类药材的快速鉴别、质量优劣评价)尤为重要。此外,对胆类药材制定更加严格和统一的质量控制标准,并推动这些标准的国际化,确保胆类药材在全球市场的安全性和有效性,以及通过胆类药材的替代品研究和人工培育等方法解决资源紧缺问题,是实现胆类药材质量控制和可持续发展的重要保障。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

## 参考文献

- [1] 甄权. 药性论[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,2006.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020.
- [3] 陈星玲,宿树兰,刘睿,等. 胆汁类动物药中胆汁酸化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志,2021,46(19):4898-4906.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 新药转正标准:第11册[M]. 北京:中华人民共和国卫生部药典委员会,1996.
- [5] 辽宁省药品监督管理局. 辽宁省中药材标准:第2册[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2019.
- [6] 福建省食品药品监督管理局. 福建省中药材标准[M]. 福州:海风出版社,2006.
- [7] 甘肃省药品监督管理局. 甘肃省中药材标准[M]. 兰州:兰州大学出版社,2020.
- [8] 黑龙江省药品监督管理局. 黑龙江省中药材标准[M]. 哈尔滨:黑龙江省药品监督管理局,2001.
- [9] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准:第1册[M]. 广州:广东科技出版社,2004.
- [10] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proc Biol Sci, 2003, 270(1512):313-321.
- [11] 赵远,贾慧建,宋顺佳,等. 真伪熊胆粉物种基源分子生物学鉴定方法的建立及评价[J]. 吉林大学学报(医学版), 2022, 48(3):801-808.
- [12] 王丽,金艳,蒋超,等. 猪胆粉及其中成药的特异性PCR鉴别方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(17):136-141.
- [13] 周成高. 中药蛇胆的DNA条形码鉴定和泽漆抗银屑病

- 化学成分研究[D]. 武汉:华中科技大学,2022.
- [14] JIANG L Y, ZHANG H J, XIAO D S, et al. Farnesoid X receptor (FXR): Structures and ligands [J]. Comput Struct Biotechnol J, 2021, 19: 2148-2159.
- [15] HUANG F, MARIANI N, PARIANTE C M, et al. From dried bear bile to molecular investigation of differential effects of bile acids in *ex vivo* and *in vitro* models of myocardial dysfunction: Relevance for neuroinflammation [J]. Brain Behav Immun Health, 2023, 32: 100674.
- [16] WU P B, ZHAO J B, GUO Y T, et al. Ursodeoxycholic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease by inhibiting apoptosis and improving autophagy via activating AMPK [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 529(3): 834-838.
- [17] 石岩, 郑天骄, 魏锋, 等. 牛胆粉指纹图谱模式识别及多组分测定研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(13): 2487-2492.
- [18] 石岩, 耿颖, 郑天骄, 等. 猪胆粉HPLC-ELSD全轮廓谱图主要胆汁酸测定及化学计量学分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(2): 283-289.
- [19] 张宇静, 夏晶, 仇佳思, 等. 牛黄中胆汁酸的药理作用及定量分析方法研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(2): 268-274.
- [20] 陈超, 李华军. 肠道菌群与胆汁酸的互作在相关疾病中的作用[J]. 中国微生态学杂志, 2018, 30(2): 245-249.
- [21] 于淑贤, 高颖. 天然与人工熊胆粉的药效学实验研究[J]. 吉林中医药, 2005, 25(3): 55-60.
- [22] 石岩. 胆汁类药材化学成分分析及质量控制方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2016.
- [23] 袁丹, 金凤, 于山川, 等. FT-IR法定性鉴别熊胆粉等常见动物胆类药材[J]. 中国现代中药, 2010, 12(1): 30-32.
- [24] 李文龙, 邢丽红, 薛东升, 等. 一种基于近红外光谱技术的熊胆粉鉴别方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(3): 673.
- [25] 袁明昊, 周涛, 钟文潇, 等. 红外光谱结合化学计量学快速检测熊胆粉真伪及掺伪问题[J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(5): 856-863.
- [26] 王雨露, 袁明昊, 钟文潇, 等. 傅里叶变换红外光谱结合化学计量学快速预测熊胆粉中牛磺熊去氧胆酸与牛磺鹅去氧胆酸含量[J]. 中药与临床, 2024, 15(2): 38-42.
- [27] 王一博, 王春雨, 曲范娜, 等. 高效液相色谱-电雾式检测器同时测定猪、牛、羊、熊胆粉中5种胆汁酸的含量[J]. 分析化学, 2014, 42(1): 109-112.
- [28] 曹妍, 张佩杰, 李婷, 等. 基于<sup>1</sup>H-NMR结合LC-MS技术分析熊胆粉及常见胆类中药中的胆酸类成分[J]. 中草药, 2022, 53(17): 5283-5292.
- [29] LEI K L, YUAN M H, LI S H, et al. Performance evaluation of E-nose and E-tongue combined with machine learning for qualitative and quantitative assessment of bear bile powder[J]. Anal Bioanal Chem, 2023, 415(17): 3503-3513.
- [30] 雷苛露, 周强, 袁明昊, 等. 基于X射线粉末衍射指纹图谱鉴别熊胆粉真伪及产地[J]. 中成药, 2023, 45(5): 1565-1570.
- [31] 李时珍. 本草纲目: 下册[M]. 北京: 华夏出版社, 2011.
- [32] 李志万, 马强, 袁永生, 等. HPLC-ELSD法对猪胆粉中猪去氧胆酸的含量测定研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(5): 14-16.
- [33] 李娅琦, 王梓轩, 肖治均, 等. 猪胆粉主要胆酸类成分的定性定量分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1842-1849.
- [34] QIAO X, YE M, PAN D L, et al. Differentiation of various traditional Chinese medicines derived from animal bile and gallstone: Simultaneous determination of bile acids by liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(1): 107-117.
- [35] 谭春梅, 方翠芬, 董婷, 等. 小儿肺热平胶囊中牛胆粉的质量评价及投料混伪判别[J]. 中国药物评价, 2023, 40(4): 316-321.
- [36] 陶弘景. 名医别录[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986.
- [37] 姚令文, 石岩, 魏锋, 等. 羊胆中胆汁酸类成分的考察、测定与探讨[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(10): 1718-1723.
- [38] 林诗铃, 林逸凡, 朱铭星, 等. 基于UPLC-Q Exactive-Orbitrap MS/MS技术的羊胆中胆汁酸成分分析[J]. 中国医药导报, 2023, 20(12): 123-126.
- [39] 马婷婷. 基于现代分析组合技术研究蛇胆汁的质量[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2018.
- [40] ZHANG J, PENG J, CHEN X Y, et al. Rapid identification of bile acids in snake bile using ultrahigh-performance liquid chromatography with electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B, 2016, 1036: 157-169.
- [41] 张洁. 中药蛇胆胆汁酸成分与质量控制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2017.
- [42] 曹妍, 李婷, 常安琪, 等. 蛇胆中胆汁酸类化学成分分析[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(1): 130-138.
- [43] 佚名. 神农本草经[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- [44] PENG C, TIAN J X, LV M Y, et al. Development and

- validation of a sensitive LC-MS-MS method for the simultaneous determination of multicomponent contents in artificial *Calculus bovis* [J]. J Chromatogr Sci, 2014, 52(2):128-136.
- [45] FENG C Y, LI X P, ZHANG C L, et al. Development of a rapid and simple LC-MS/MS method for identification and quality control of natural *Calculus bovis* and *Calculus bovis sativus* [J]. Anal Methods, 2015, 7(18): 7606-7617.
- [46] 雷凯, 刘雅楠, 张程亮, 等. HPLC-MS/MS法测定体外培育牛黄与天然牛黄中26种胆汁酸成分[J]. 中草药, 2018, 49(10):2447-2453.
- [47] LIU Y G, TAN P, LIU S S, et al. A new method for identification of natural, artificial and *in vitro* cultured *Calculus bovis* using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Pharmacogn Mag, 2015, 11(42):304-310.
- [48] 黄金野, 张晶钰, 柴龙会, 等. HPLC法测定蓝狐胆汁酸成分与含量[J]. 野生动物学报, 2016, 37(2):108-112.
- [49] 周博. 蓝狐(*Alopex lagopus*)胆汁药性物质的鉴定及胆汁药用作用的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015.
- [50] 曹妍, 宋青青, 李军, 等. 牦牛胆中胆汁酸类化学成分分析[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12):2538-2543.
- [51] 李炎桂. 貉胆生药学鉴定、成分分析及其抗炎抑菌作用的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
- [52] 雷苛露, 袁明昊, 周涛, 等. 色度分析鉴别熊胆粉[J]. 中成药, 2022, 44(9):2890-2895.
- [53] 石岩, 魏锋, 吕宝俊, 等. 培植牛黄中胆红素的测定及含量考察研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11):2852-2856.
- [54] 朱丽婷, 许亮, 张振秋, 等. 哈蟆油药材中氨基酸含量与商品规格等级相关性研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12):86-91.
- [55] 李菲. 基于物质成分相似性的体外培育拟天然熊胆粉的基质选择研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [56] 王杰, 熊爱珍, 程绒绒, 等. 不同来源引流熊胆粉的化学成分系统分析[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2326-2332.
- [57] 刘鹏, 许华玉, 特玉香, 等. 从熊胆粉中首次检出沙门菌的报道[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7):62-63.
- [58] 杨务彬, 李元宏, 兰鸿. 熊胆粉微生物限度检查方法学验证[J]. 中国医药导报, 2012, 9(4):116-118.
- [59] 廖予菲, 卢昌晶, 王萍, 等. 猪胆粉中重金属污染特征及健康风险评估[J]. 中医药导报, 2023, 29(11): 74-78.

(收稿日期: 2024-10-24 编辑: 张双盼)