

不确定度评定在中药领域中的应用*

★ 饶毅^{1**} 魏惠珍¹ 张洁² 李新南² 王跃生¹ (1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006; 2. 江西中医学院 南昌 330004)

摘要:综述了近年来不确定度评定技术在中药领域中的应用研究情况,讨论了不确定度评定技术在中药领域中的应用所存在的问题,并对其应用前景进行了展望。

关键词:不确定度;中药;综述

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A

Application of uncertainty to Traditional Chinese Medicine

RAO Yi¹, WEI Hui-zhen¹, ZHANG Jie², LI Xin-Nan², WANG Yue-Sheng¹

1. The National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006;

2. Jiangxi University of Chinese Traditional Medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: The application of uncertainty in the field of traditional Chinese medicine (TCM) in recent years are reviewed, problems existing in the wider application of this technology are explored and prospects of its application in TCM are discussed.

Key Words: Uncertainty, traditional Chinese medicine, progress

测量不确定度是与测量结果相关联的参数,表征合理地赋予被测量值的分散性,是定量说明测量结果的质量的一个参数,测量结果的可靠性很大程度上取决于其不确定度的大小。不确定度采用统计学的方法定量给出测量的分散性及可信区间。不确定度越小,说明测量水平越高,测量结果的使用价值越大。测量的不确定度是一个完整的定量分析结果的重要组成部分,可用于评估定量方法的可靠性和测量结果的可信程度。已在国家计量基准、标准物质的研究和对比等行业中得到了广泛的应用。

药品质量关系到人民的用药安全健康,药品检测结果是判断药品是否合格的依据,通过对药品检测方法的测量不确定度的分析评定,为评价分析方法、评定试验室及分析测试人员的技术水平和准确判定药品质量提供了依据。现代药学研究和药物质量控制领域的重要研究方向之一是有效成分的定量分析,分析结果的可靠性、准确性直接决定了药品的安全性和有效性。近些年来,不确定度技术被引入到中药

领域,在中药材的定量分析和中成药的定量分析等研究上取得了一些进展,显示出了不确定度技术在中药领域中广阔的应用前景。

1 中药材的不确定度评定

中药质量控制是中药现代化、产业化以及国际化中的核心问题,中药材质量控制也是目前存在问题最多的部分。中药材的质量控制中涉及到的各种各样的仪器和化学计量学方法缺少可靠的科学依据,是中药质量控制所亟待解决的问题之一。而不确定度评定技术为中药材的质量控制提供了评价指标。

胡震等^[1]采用 HPLC-DAD 方法同时测定了中药栀子中栀子苷、藏红花素 I 及绿原酸 3 种主要成分的含量,并对测定的不确定度进行了评定。结果发现,除去样品均匀性,分析方法的精密度和准确性对测试结果的影响最大,提示在方法开发方面仍然要注重其精密度和准确性的考察。样品浓度校正引起的不确定度,在不同浓度下对合成不确定度的贡

* 基金项目:十一五科技部 2006 年科技支撑计划(2006BAI08B03-05)

** 作者简介:饶毅,男,(1964-),江西南昌人,现任江西中医学院教授、硕士研究生导师。主要从事中药质量控制研究工作。

献差别较大,考察的栀子药材中栀子苷、藏红花素 I 及绿原酸的含量依次递减,他们的浓度校正不确定度分量值则依次递增,这说明在保证方法稳定性前提下,越接近检测极限进行检测,其结果误差越大。

胡坪等^[2]将测量不确定度的概念引入中药质量评价及标准制定中,评定了人参药材中人参皂苷 Rg_1 、 Re 和 Rb_1 的 HPLC 定量方法的测量不确定度,评定结果可发现,影响人参中人参皂苷 Rg_1 、 Re 和 Rb_1 的含量测量方法的测量不确定度的因素分析中,样品的不均匀性对人参药材中人参皂苷 Rg_1 、 Re 和 Rb_1 的 HPLC 定量方法的测量不确定度影响最大,而对照品纯度的影响最小。因此样品不均匀性这一参数在分析测定时应加以严格控制,例如采用合理的取样方式、增加取样量、控制粉碎粒度等。

耿庆光^[3]将 HPLC 法测定野葛中葛根素含量的不确定度进行分析,以此给出测量结果的置信概率与置信区间。葛根素含量不确定度主要由样品的称量引起,并指出在分析评估不确定度时,首先尽量注意产生不确定度的所有来源,因为合成不确定度的数值几乎完全取决于那些重要的不确定度分量。

2 中成药的不确定度评定

不确定度评定技术已成功地应用于化学药的质量分析和控制^[4-6]。但由于中成药由一味或多味中药材加工而来,其化学成分非常复杂,且含量较低,通常情况下,对照品浓度较低,需用要稀释的步骤较多,而且样品提取过程较多,所带入的误差较大,因此,不确定度的评定对于合理判定定量测定结果的分散性具有重要意义。

陈晓虎等^[7]分析评定 HPLC 法测定清开灵注射液中黄芩苷含量的不确定度,准确判断了黄芩苷的含量的分散性,并指出 HPLC 按外标法测定含量时,增加测定次数、选用较大的定容体积、增加对照品取样量均可以减小各步骤的不确定度分量,可以提高药品检验结果的准确性和可信度。

刘永利^[8]对复方丹参片中 HPLC 法测定丹参酮 II 含量的测量不确定度进行了分析,影响不确定度的因素主要为样品不均匀性,并提出在分析测定时应加以严格控制,例如采用合理的取样方式、将样品研细过筛等。

穿心莲片是深受消费者喜爱的常用中成药。其含量是评定穿心莲片产品质量的一个重要指标。其检测方法 2000 年版中国药典一部标准,该方法是薄层色谱扫描法,其操作简便,测定的结果准确。戴向东^[9]对穿心莲片薄层色谱扫描法含量测定的测量不确定度进行了评定。在测定过程中,供试品峰面积测定重复性引入的标准不确定度分量是各不确定度分量中最大的,因此降低薄层色谱仪峰面积测定重复性引入的标准不确定度对降低该方法的测量不确定度效果最为明显。魏丹琦^[10]通过对薄层色谱法测定穿心莲片含量的测定中不确定度分量的分析,实验结果表明,最小二乘法拟合的标准曲线在薄层色谱法测量产生了最大的不确定度,拟合曲线的测量点数 n 及体现线性关系的 a 、 b 值对该不确定度的影响较大,因此在日常的检测中应增加标准曲线的点数及注意线性关系。

梁春卿^[11]采用气相色谱法测定胆舒胶囊的含量并对其进行不确定度评定,在测量过程中微量进样器、对照品峰面积、供试品峰面积引入的不确定度分量最大,因此降低这三方面的不确定度对提高测量结果的准确性最为明显。

3 不确定度在中药分析应用中存在的主要问题

3.1 温度 一般来说,仪器给定的校准温度多为 20 ℃,定量测定时,其操作温度应尽量与校准温度一致。但在实际工作中,由于条件不同,很多实验室难以做到保持在 20 ℃ 的温度,甚至会达到 ± 10 ℃ 以上的温差。此时,不仅需要计算由于这较大的温差造成的仪器(尤其是玻璃仪器),体积重量等方面的与校准时的差异,还应该计算由于温度波动造成的不确定度。

3.2 遗漏/重复评定 不确定度的评定方法很多^[12],包括 Bottom-up^[13-15] 方法、Top-down^[16-18] 方法、Fitness function^[19-20] 方法等,在不同的实验中还需根据实际操作的不同进行设计,因此,很容易造成遗漏/重复评定。如在 Bottom-up 方法中,重复性测量可以通过按 A 类方法评定检测的每一步引入的重复性不确定度,也可通过用检测结果的重复性来计算与各重复性有关的合成标准不确定度,但要对标准溶液配制的每一步进行重复性评定,并且还不能通过重复配制后进行测量的方法来用上述方法简化,因为这样就包含了仪器测量的不确定度,而仪器测量的不确定度已在整个试验过程的重复性测量中包含了,这会引起重复评定。又如样品重量是在同一台天平称出的皮重和毛重的差值,天平的示值差已经抵消,电子天平示值不确定度不应该再考虑,否则就多算了。

许多文献在进行不确定度评定时,对回收率进行评定,并用回收率对检测结果进行了修正,但回收率测得值的离散度是包含在测量结果离散度内的,因此,即使回收率再低,任何检测方法也不要要求用回收率对结果进行修正,否则就会造成重复评定。

3.3 B 类评定信息的不可信 B 类不确定度分量是用(非统计学的)其他方法评定的分量。B 类评定主要来源于经验和一般知识、技术说明书、手册参考资料、校准证书、检定证书、测试报告及其他材料等。但 B 类评定信息来源的某些资料常没有可靠的保障,如检定部门提供的证书内容不完备、自由度难以判断等,就不能合理地实际测量值的分散性。

3.4 动态测量不确定度评定方法的研究不足 与静态测量相比,动态测量中被测量的时变性、随机性、相关性,以及测量系统本身的动态性,使得动态测量不确定度的评定更为复杂。虽然动态测量已有灰色理论、时序分析及神经网络等模型^[20],各种建模方法具有各自的特色与优势,也存在一定的局限性。但目前大量研究主要是针对静态测定评定模型,而动态测量在整个测量领域中又占有很大的比重,如何通过各种方法的比较和优化,选择适合实际测量系统的最佳建模方法,是一个值得深入探讨的问题。

3.5 测量不确定度的验证方法研究仍需加强 不确定度论的主要内容是“分散性”,因此不确定度只表达结果的分散性,不能表达出结果的偏离性。这就使得求出的不确定度数值有可能显著偏离不确定度的真正数值。为了保证求得的

不确定度数值有足够的精度,应大力开展不确定度的验证工作。不确定度理论目前主要的验证方法是采用计算机仿真法,不同评定模型计算结果的比对等,探索出一套完整的、便于操作的经得起独立于该模型的其它方法的实验验证方法迫在眉睫。

4 不确定度技术在中药领域中的应用前景展望

尽管目前不确定度技术在中药领域中的应用还很有限,但随着中药标准化进程的不断推进,以中国医药市场的快速发展,不确定度技术在中药领域中一定能得到更为广泛的应用。

4.1 不确定度技术在减少中药定量测定误差中的应用 测量不确定度是现代误差理论的重要内容,用不确定度来表示测量结果的质量是势在必行。测量方法的不确定度在方法学研究等方面也能提供有益的指导,如提供分析过程的主要误差来源信息以及解决方案等。测量不确定度的另一个用途是用于标准的制定。标准制定时考虑测量结果的不确定度,制定的标准限量将更加合理。因此,进行测量不确定度的评定方法研究对于中药标准的制定具有重要意义。

4.2 不确定度技术在 GMP 中的应用 实现 GMP 能够对药品生产企业(车间)和药品品种实施 GMP 监督检查并取得认可的一种制度,是国际药品贸易和药品监督管理的重要内容,也是确保药品质量稳定性、安全性和有效性的一种科学的先进的管理手段。GMP 是一套适用于制药、食品等行业的强制性标准,要求企业从原料、人员、设施设备、生产过程、包装运输、质量控制等方面按国家有关法规达到卫生质量要求,形成一套可操作的作业规范帮助企业改善企业卫生环境,及时发现生产过程中存在的问题,加以改善。

不确定度技术比较合适于 GMP 中药品的质量控制: GMP 中的药品质量控制要求精确的定量分析,不确定度可以对其定量分析结果的可靠性做出评价;不确定度分析的结果可以为定量分析的误差来源进行分析,从而为控制误差,提高测定的准确性提供依据。

4.3 不确定度技术在标准化中的应用 当前药品检验领域所使用的药品标准物质尚未能提供有关不确定度的评定资料,但随着各领域与国际接轨的进展,药品对照品标化的有关部门也应能够逐步提供有关不确定度的数据,以便能更为准确地评定由标准物质引入的不确定度大小。

参考文献

- [1] 胡震,王义明,罗国安,等. 栀子药材中三种有效成分 HPLC 定量分析结果不确定度的评定[J]. 中药材,2005,28(11):991-994.
- [2] 胡坪,罗国安,赵中振,等. 人参中人参皂苷 HPLC 定量方法的测量不确定度的评定[J]. 药学学报,2005,40(1):49-53.
- [3] 耿庆光,宇建华,林英旭,等. HPLC 法测定野葛中葛根素含量的不确定度分析[J]. 西北药学杂志,2001,19(1):9-11.
- [4] 陈建琴. HPLC 法测定苯巴比妥东莨菪碱片含量的测量不确定度评价[J]. 中国医药工业杂志,2007,38(5):368-371.
- [5] 林慧菁,李洁. HPLC 法测定氧氟沙星注射液含量的不确定度分析[J]. 广东药学院学报,2005,21(5):532-534.
- [6] 王立云,卢京光. HPLC 法测定头孢硫脒含量的不确定度分析[J]. 齐鲁药事,2007,26(4):217-219.
- [7] 陈晓虎. HPLC 法测定清开灵注射液中黄芩苷含量的不确定度分析[J]. 中国药房,2007,18(15):1 168-1 169.
- [8] 刘永利,李冬梅,冯丽,等. 复方丹参片含量测定的不确定度分析[J]. 药物分析杂志,2007,27(11):1 800-1 802.
- [9] 戴向东,滕南雁,桑彤. 穿心莲片含量测定(薄层色谱扫描法)的测量不确定度评定[J]. 药物分析杂志,2005,25(12):1 556-1 560.
- [10] 魏丹琦,王勇. 薄层色谱法测定穿心莲片中脱水穿心莲内酯含量不确定度的评定方式[J]. 福建医药杂志,2006,28(4):91-93.
- [11] 梁春卿. 胆舒胶囊含量测定不确定度评定[J]. 中成药,2006,28(12):1 736-1 739.
- [12] 郑波,张克荣,李梦龙. 化学测量不确定度研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2007,17(1):184-188.
- [13] M Cox, P Harris. The Planned Supplemental Guide to the GUM: Numerical Methods for Propagating Distributions [DB/OL]. National Physical Laboratory, UK, 2001, on-line document; <http://www.npl.co.uk/ssfm/index>. Html.
- [14] MA Herrador, AG Asuero, AG Gonzalez. Estimation of the uncertainty of indirect measurements from the propagation of distributions by using the Monte-Carlo method: An overview [J]. Chemom Intell Lab Syst, 2005, 79(1-2):115-122.
- [15] MA Herrador, AG Gonzalez. Evaluation of measurement uncertainty in analytical assays by means of Monte-Carlo simulation [J]. Talanta, 2004, 64(2):415-422.
- [16] P Dehouck, Y Vander Heyden, J Smeyers-Verbeke, et al. Determination of uncertainty in analytical measurements from collaborative study results on the analysis of a phenoxymethylpenicillin sample [J]. Anal Chim Acta, 2003, 481(2):261-272.
- [17] A Maroto, J Riu, R Boque, et al. Estimating uncertainties of analytical results using information from the validation process [J]. Anal Chim Acta, 1999, 391(2):173-185.
- [18] A Maroto, R Boque, J Riu, et al. Estimation of measurement uncertainty by using regression techniques and spiked samples [J]. Anal Chim Acta, 2001, 446(1-2):131-143.
- [19] W Horwitz, LR Kamps, KW Boyer. Quality assurance in the analysis of foods and trace constituents [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1980, 63(6):1 344-1 354.
- [20] M Thompson, PJ Lowthian. The Horwitz function revisited [J]. J AOAC Int, 1997, 80(33):676-679.
- [21] 谢少锋,陈晓怀,张勇斌. 测量系统不确定度分析及其动态性研究[J]. 计量学报,2002,23(3):237-240.
- [22] 朱坚民,毛虫主,夏新涛,等. 测量不确定度评定的研究进展与展望[J]. 洛阳工学院学报,2000,21(2):21-24.
- [23] 尚德军,王军. 测量不确定度的研究和应用进展[J]. 理化检验—化学分册,2004,40(10):623-628.

(收稿日期:2008-09-13)