

## Das SRTCM-Verfahren

### Identitätsbestimmung und Evaluierung von TCM-Heilmitteln durch die Fingerprint-Chromatographie mit Standard-Referenzsubstanzen (SRTCM)



Die Traditionelle Chinesische Medizin erhält wachsende Aufmerksamkeit von Wissenschaftlern aus aller Welt. Immer häufiger wird die TCM als Alternative zu chemischen Arzneimitteln gesehen, die auf Grund von Risiken und Nebenwirkungen sowie ihrer beschränkten Wirksamkeit bei chronischen Erkrankungen nicht nur von Patienten zunehmend kritisch gesehen wird. Viele Patienten weltweit, insbesondere solche mit chronischen Krankheiten, sehen die TCM als ganzheitliche Alternative zur Prävention und Therapie von Krankheiten an. Die Nachfrage an TCM-Heilmitteln wächst in Europa kontinuierlich. Wenn die TCM neben der Schulmedizin und der westlichen Phytotherapie bestehen will, müssen geeignete wissenschaftliche Verfahren zur Qualitätssicherung entwickelt und etabliert werden. Diese Methoden sollten genau und wiederholbar sein. Nur so kann das Therapieziel zum Wohle des Patienten erreicht werden.

Im Nachfolgenden wird der neuartige Ansatz SRTCM (Standard-Reference of TCM) zur Identitätsbestimmung und Qualitätsbeurteilung von TCM-Heilmitteln auch unterschiedlicher Galenik (auch Granulate) mit Hilfe der Fingerprint-Chromatographie vorgestellt. Mit dem SRTCM-Verfahren kann nicht nur die Spezies der Pflanze, sondern sogar ihre Herkunft (Anbaugebiet) unterschieden werden.

#### Die Notwendigkeit der Entwicklung von Fingerprint-Chromatographie mit SRTCM zur Bewertung der TCM-Heilmittel

Gemäß der Chinesischen Pharmakopöe 2005 gibt es 540 verschiedene TCM-Heilmittel. Die drei Hauptverfahren zur Identitätsbestimmung von TCM-Heilmitteln sind die Makroskopie, die Mikroskopie und die Dünnschicht-Chromatographie (DC).

Mit Hilfe der DC können unter Verwendung von Referenz-Substanzen ca. 199 TCM-Heilmittel unterschieden werden. Weitere 100 TCM-Heilmittel können durch die Verwendung von Referenz-Drogen bestimmt werden. Bei 168 TCM-Heilmitteln kann die Identitätsbestimmung allein durch die Makroskopie und die Mikroskopie erfolgen.

Aber selbst für erfahrene chinesische Botaniker und Pharmazeuten ist es bei vielen Drogen äußerst schwierig, sie allein durch ihre Makroskopie und Mikroskopie zu unterscheiden. Infolgedessen können Verwechslungen das Leben und die Gesundheit der Patienten gefährden.



## Das SRTCM-Verfahren

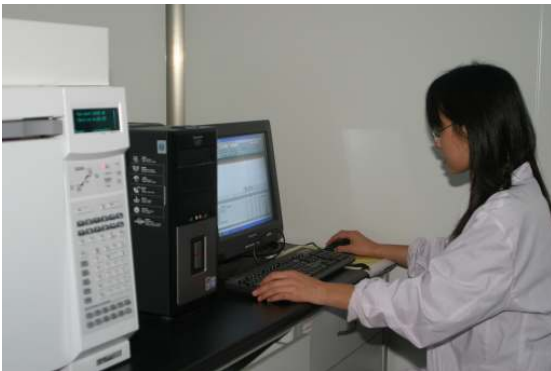
Weltweit wird heute das DC-Verfahren mit Referenz-Einzelsubstanzen oder Referenz-Drogen eingesetzt. Neuerdings werden weiterhin NIR und NMR sowie Fingerprint-Chromatographie ohne die Verwendung von Referenzsubstanzen benutzt. Jedoch weisen die genannten Verfahren Schwachstellen auf.

Beispielsweise besitzt das DC-Verfahren unter Verwendung von Referenz-Einzelsubstanzen meist nur eine sehr geringe Aussagekraft, da viele TCM-Heilmittel gleiche Substanzen enthalten. Die folgende Aufstellung zeigt anhand von drei Referenzsubstanzen das Vorkommen in verschiedenen TCM-Drogen. Eine eindeutige Identifikation einer Droge ist somit mittels DC nicht möglich.

**Acidum Chlorogenicum** findet man in: Flos Lonicerae, Caulis Lonicerae, Flos Lonicerae Japonicae

**Acidum Ursolicum** findet man in: Fructus Corni, Fructus Crataegi, Fructus Mume, Herba Glechomae, Herba Lycopi, Spica Prunellae

**Acidum Oleanolicum** findet man in: Caulis Clematidis Armandii, Fructus Ligustri Lucidi, Radix Achyrantis Bidentatae, Rhizoma Panacis Japonicae, Herba Swertiae Mileensis, Radix et Rhizoma Clematidis, Rhizoma Panacis Majoris, Herba Visci



Darüber hinaus werden die Referenzsubstanzen aus natürlichen Pflanzen isoliert. Dies ist sehr aufwändig und teuer. Auch sind nicht immer alle Referenzsubstanzen verfügbar, da einige chemische Inhaltsstoffe nur in der Pflanze an sich stabil sind und nach der Isolierung sehr instabil werden, wie zum Beispiel Ligustilide und Chlorogensäure. Zudem ist die Aussagekraft, die eine Einzel-Referenzsubstanz liefert, so gering, dass eine vollständige Qualitätsbeurteilung eines TCM-Heilmittels zu

schwierig ist. So wird leicht ein falsch-positives Urteil gefällt, vor allem, wenn der Untersuchende wenig Erfahrung in Makro- und Mikroskopie besitzt und sich deswegen auf die Identifikation mittels DC mit Einzel-Referenzsubstanzen verlässt.

Die DC-Identifikation mit der vollständigen Referenz-Droge ist ebenso eine allgemein übliche Methode. Eine Standardisierung der Referenz-Droge ist jedoch unmöglich. Die einzelnen chemischen Bestandteile der Referenz-Drogen sind nicht bekannt und damit ergibt sich ein unklares Bild bei der DC-Auswertung.

Neuerdings werden NIR- und NMR-Verfahren zur Identifikation der TCM-Heilmittel in Europa verwendet. Das NIR-Verfahren ist eine einfache Methode. Die Beurteilung des Ergebnisses allerdings ist schwierig, da die großen Moleküle (z.B. Polysaccharide und Proteine) das Ergebnis beeinflussen können.

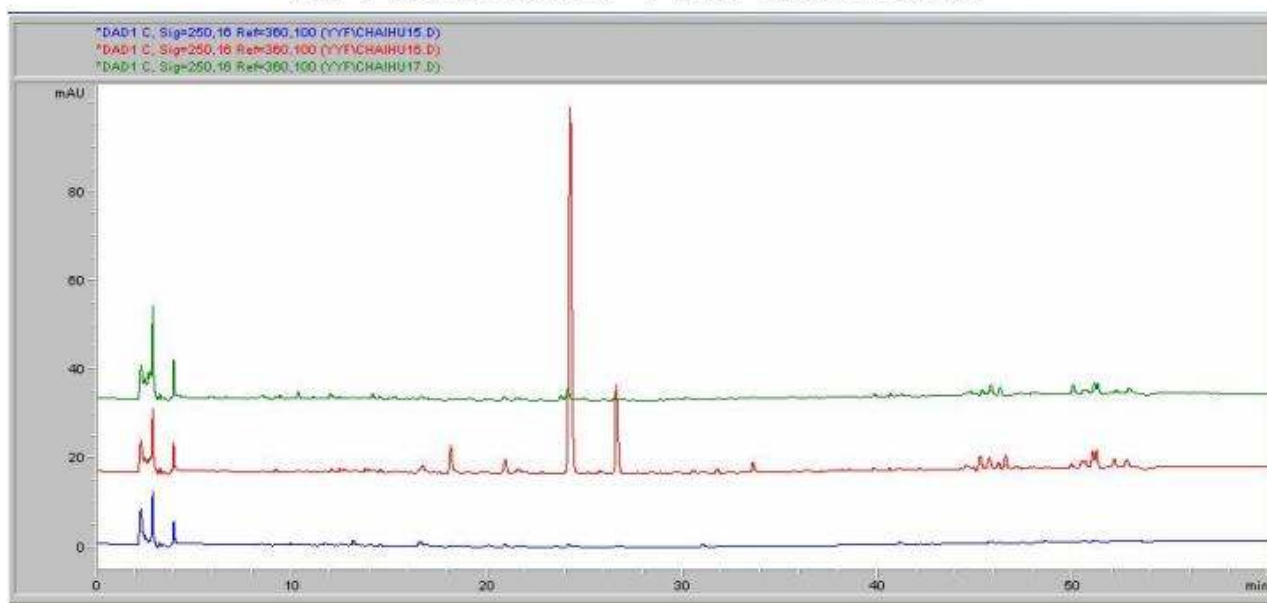
Das NMR-Verfahren erfordert sehr teure Messgeräte. Dies macht die Verwendung als Standardanalyseverfahren unmöglich.

Bei der sehr einfachen Fingerprint-Chromatographie ohne SRTCM ist die Ergebnisbewertung ebenfalls schwierig, da die erhaltenen Informationen in Form von zahllosen Peaks keine eindeutige Zuordnung erlauben. Außerdem muss der Target-Peak keine zwingende Beziehung zur klinischen Wirkung haben.

## Das SRTCM-Verfahren

Die Nachfrage nach Granulaten aus TCM-Drogen wird zukünftig in Europa weiter ansteigen. Allerdings können mit den in der Chinesischen Pharmakopöe 2005 beschriebenen Methoden der Identitätsbestimmung die erforderliche Qualitätskontrolle der Granulate nicht durchgeführt werden. Auch ist der TCM-Apotheker bei dieser Applikationsform nicht mehr in der Lage, die gute Qualität und die Verfälschungen zu erkennen. Hingegen ist mit der vorgestellten SRTCM-Methode die Qualitätsanalyse der Granulate präzise möglich. So kann auch bei dieser Applikationsform der TCM-Heilmittel dem Verordner die zur Sicherung seiner Therapie nötige Qualität gewährleistet werden.

## SRTCM: Beispiel zur Unterscheidung verschiedener TCM-Heilmittel



### HPPLC-Diagramm verschiedener Spezies bzw. Familien von Radix Bupleuri (Chaihu) mittels SRTCM

- 15. Zhuye Chaihu (*Bupleurum marginatum* Wall.ex DC.)
- 16. Bei Chaihu (*Bupleurum chinense* DC.)
- 17. Nan Chaihu (*Bupleurum scorzonerifolium*)

### Entwicklungsmöglichkeiten von SRTCM

In den letzten 50 Jahren wurden zahlreiche Studien von chinesischen Wissenschaftlern über TCM-Drogen und der darin enthaltenen Wirkstoffe durchgeführt. Dabei wurden bei ungefähr 60% aller TCM-Drogen die chemischen Hauptbestandteile identifiziert. Es ist vollständig möglich, die Wirkstoffe in TCM-Heilmitteln und deren Strukturen zu identifizieren. Eine Standardisierung dieser Stoffe ist mittels LC-MS, IR, UV, NMR möglich.

Basierend auf den obigen Verfahren isolieren und reinigen wir die Wirkstoffe der TCM-Heilmittel. Diese stammen aus der ursprünglichen Anbauregion (DaoDi) und wurden zur empfohlenen Zeit geerntet. Hieraus wird eine Standardmischung erstellt, welche 5-10 Substanzen enthält. Diese Mischung, die nun mehr als 80 % der Gesamtwirkstoffe (wie auch die gesamten Alkaloide, Flavonoide, Glucoside usw.) enthält, nennen wir SRTCM. Die Standard-Fingerprint-Chromatographie mit SRTCM wird erstellt durch HPLC, GC oder DC. In Kombination mit anderen bekannten Forschungsergebnissen können wir das Molekular-Gewicht eines jeden Peaks mittels LC-MS oder GC-MS identifizieren. Auch können wir deren chemische

## **Das SRTCM-Verfahren**

Struktur gemäß der bekannten und reinen chemischen Substanz identifizieren und in eine Datenbank abspeichern.

### **Was ist nun alles mit SRTCM möglich und wo liegen die Vorteile dieser Methode?**

1. Identitätsbestimmung der botanischen Spezies einer TCM-Droge. Dies ist mit den Methoden der chinesischen Pharmakopöe nicht möglich.
2. Identitätsbestimmung und Evaluierung von konzentrierten Granulaten. Dies ist ebenso mit den Methoden der chinesischen Pharmakopöe nicht möglich.
3. Bestätigung, ob eine TCM-Droge tatsächlich aus der ursprünglichen Anbauregion (DaoDi) stammt. Mit diesem Verfahren können Rückschlüsse auf das bevorzugte Anbauggebiet gezogen werden wie dies z.B. für Radix Angelicae Sinensis (Dangui) die Provinz Gansu oder für Flos Carthami (Honghua) die Provinz Xinjiang usw. ist. Damit wird für den therapeutischen Wert der Pflanze ein großer Qualitätsvorsprung erreicht, der bisher in dieser Weise nicht möglich war.
4. Bestimmung, ob eine TCM-Droge vorbehandelt wurde oder nicht (PaoZhi). Dies ist besonders für toxische Pflanzen (z.B. Aconitum), die durch vorherige Behandlungsmethoden entgiftet werden, sehr wichtig, um den Verordnern und Patienten Arzneimittelsicherheit bei der Anwendung von TCM-Heilmitteln zu bieten. Ebenso kann sogar in konzentrierten Granulaten nachgewiesen werden, ob die enthaltenen TCM-Kräuter einer Vorbehandlung unterzogen wurden, wie z.B. bei Radix et Rhizoma Ginseng Rubra (Hongshen). Dies ist mit den bisherigen Methoden nicht möglich

Da die gute Qualität der TCM-Heilmittel trotz aller labortechnischer Untersuchungen nur durch den sorgfältigen und bewussten Anbau in den Ursprungsgebieten gewährleistet wird, hilft diese neue Methode diesen Weg zu gehen.

Durch den Kontakt zu bevorzugten Anbaugebieten mittels vertrauensvoller Fachleute in China und durch den Einkauf direkt vom Feld, kennt man die Herkunft der Pflanze. Nur so können direkt vor Ort interkulturelle Missverständnisse (unnötiger Pestizideinsatz, Gießen mit schwermetallhaltigen Wasser, ausgewählte Anbauflächen abseits großer Industrie und Straßen, Verwendung unterschiedlicher Spezies) zwischen östlichen und westlichen Qualitätsdenken geklärt werden. Größere Chargenvariabilitäten, hervorgerufen durch mehrere Zwischenhändler bis zum Verkauf am allgemeinen TCM-Markt, können dadurch verhindert werden.

Uns führt die Bestimmung der Einzelbestandteile einer Pflanze wieder zurück zur Ganzheit, zum Ursprung, wo sie durch die geschaffene Basis so wachsen kann, dass Lebensenergie und Wesenskraft, das energetische und verbindende Wirkprinzip, zum Wohl der Patienten gedeihen kann.

Da gute Qualität der TCM-Heilmittel trotz aller labortechnischer Untersuchungen nur durch den sorgfältigen und bewussten Anbau in den Ursprungsgebieten gewährleistet wird, hilft diese neue Methode diesen Weg zu gehen.

Autor: Prof. Dr. Liu Ke, SinoPhytoMed GmbH