

中药复方质量控制方法研究进展

黄 瑛 (上海市中医药科技产业促进中心,上海 201203)

摘要 中药复方质量控制的研究是中医药现代化和国际化的关键。本文主要以药效物质基础、指纹图谱技术、血清药效物质和定量组效关系研究在中药复方质量控制中的应用为重点,对近几年来这些领域的研究作了综述。

关键词 中药复方;质量控制;药效物质基础;指纹图谱

中图分类号: R286 **文献标识码**: A **文章编号**: 1006-0111(2008)01-0011-04

中药复方是在中医理论指导下,历代医家按照“君臣佐使”的组方原则,选择适宜的药味和剂量配伍而成的一类传统制剂。中药复方是中医辨证论治理论的具体体现,代表了传统中医药学的精髓和主流,也是中药新药研究的重要源泉。

中药复方的药效是建立在多种复杂化学成分综合作用基础之上的,长期以来,复方制剂质量标准基本是建立于对单一化学成分的检测,而对复方中有效成分群检识的探索较少。中药复方的研究在有效成分的确定、中药的配伍机理与作用机制的研究等方面还缺乏现代科学客观的理化指标,现有的质量评价标准难以客观反映复方药物的整体质量状况。因此,近年来国家对中药复方制剂的质量控制给予了极大的重视,对某些可行的方法进行了研究,提出了更全面的质量控制方法。本文收集和整理近几年相关领域研究资料综述如下。

1 药效物质基础在中药复方质量控制中的应用

复方化学成分复杂,把复方通过现代分离方法,如超声提取、膜分离、超滤、微透析、固相萃取、逆流色谱、超临界流体色谱等技术手段提取分离得到各种化学成分。结合药效学研究以明确不同有效组分的药理药效特征,以寻找复方有效成分以及药材的指标性成分,并将这些具特征性的成分作为含量测定指标。

与西药药理模型筛选的单一成分相比,复方中药的有效成分通常是指来自药材的一些混合物成分。这些混合物往往是相当复杂的组分,而且绝大多数化学成分的结构尚属未知。因此,在药理活性指导下,检测药物(中药材和中成药)中所含与治疗目的相关的有效成分,并对其进行选择性分离,可避

免低水平、重复劳动。正是由于中药复方成分的复杂性,同时选用多个有效成分作为复方的定量指标才能更加真实地反映中药的内在质量。根据多个有效成分的有无或含量的高低来控制药物质量的模式,是现阶段对中药及其复方的质量控制方法研究的热点之一。基于多组分的中药质控研究,已有多篇文献报道。例如,黄浩等^[1]通过同时测定朝藿定 A、淫羊藿苷、淫羊藿次苷、淫羊藿素、槲皮素-3-O-葡萄糖苷等 9 种黄酮类化合物的含量,从而对 25 个淫羊藿样本进行定量评价,取得了一定的成果。

中药的药效是多成分、多途径、多靶点协同作用的结果,并非每个成分都具有药效作用,有些成分甚至具有相反的作用,对成分错综复杂的复方制剂进行有效成分的检控无疑具有很大的难度。在活性研究指导下,将有效部位群各类成分的化学信息与药效学信息相联系,用于进行中药复方质量控制,不仅可简化中药复方指纹图谱对每个成分检控的繁琐程序,提高检测的效率,而且弥补了单一指标成分检测的片面性,使检测方法更加科学,检测范围更加全面。如尹莲等^[2]根据加味四妙丸全方挥发油部位、有效部位群及全方 GC 指纹图谱有效共有峰的变化特征,制定了 25 个共有峰与抗痛风药效的相关性和配伍变化,探讨君药挥发油部位化学配伍药效的相关性,在有效部位层次探索复方成分配伍药效的变化特征。结果显示,加味四妙丸全方与有效部位群对抗痛风药效有差异,而挥发油部位对抗痛风药效起主要作用,这一结果为加味四妙丸的质量控制提供了数据支持。

2 指纹图谱技术在中药复方质量控制研究中的应用

中药指纹图谱是指某种(或某产地)中药材或中成药经适当处理后,采用一定的分析手段,提取其化学信息并加以描述,得到的能够标志该中药材或

中成药特性的共有峰的图谱。该技术是对中药物质基础整体特征的一种量化表达和解析手段,是中药走向世界的关键技术之一。

国外对植物化学指纹图谱分析技术的研究虽然起步较早,但研究面较窄,主要是针对单味药材提取物的质控,而植物制剂的整体性作用和药效相关性方面尚缺乏理论依据和相应的理论指导,其方法并不适用于中药材及中药复方的质量评价。美国 FDA 及 WHO 对植物药允许以指纹图谱判断上市产品批次间样品质量的一致性^[3, 4],是出于在植物药有效成分不明、没有具体检测指标的情况下监管的权宜之计,迄今为止,还没有这样一个有代表性的指纹图谱标准出台。

中药复方是由多味中药配伍而成,其指纹图谱更具复杂性和不确定性。虽然研究中药复方指纹图谱具有一定的难度,但是只要分别建立复方中各味药材的有效成分的指纹图谱,组成一个多元指纹图谱,我们就可以对复方进行科学的评价。如范晓辉等^[5]利用高效液相色谱法建立复方丹参滴丸中丹参酚酸类成分和三七皂苷类成分的 HPLC 指纹图谱,组成复方丹参滴丸多元 HPLC 指纹图谱,建立了复方丹参滴丸产品批次间质量稳定性评价方法。

有效组分指纹图谱的研究与传统的化学指纹图谱不同,传统的化学指纹图谱以中药整体作为研究对象,药效组分和其它化学成分被同等对待,当今的指纹图谱则强调了药效成分的重要性,要求各有效组分中的化学特征信息都能够在图谱中有所体现,因而对分离分析技术的要求往往更为严格。随着现代分析仪器的进步和发展,各种联用技术被广泛运用于完成中药复方指纹图谱的药效物质成分研究,包括正处于快速发展阶段的色谱联用技术,例如:液相色谱-质谱联用(LC-MS)、气相色谱-质谱联用(GC-MS)、毛细管电泳-质谱联用(CE-MS)、液相色谱-质谱-质谱联用(HPLC-MS/MS)、高效液相-核磁共振仪联用(HPLC-NMR)、毛细管电泳-核磁共振仪联用(CE-NMR)、液相色谱-核磁-质谱联用(HPLC-NMR-MS)等等。李晓如等^[6]采用 GC-MS 法分离测定中药药对川芎-赤芍、单味药川芎和赤芍的挥发油成分,对其中的重叠色谱峰采用化学计量学解析方法(CRM)进行分辨,得到药对和各单味药的纯色谱曲线和质谱图,从中分别分辨出 82、78 和 57 个色谱峰,并通过质谱库对这些纯组分进行定性,分别得到 61、52 和 33 个定性结果,占总含量的 90.18%、95.14% 和 95.82%。冉小蓉等^[7]采用 HPLC-ESI/MSⁿ分析柴胡、泽泻、黄芩等浓缩等得到的复方合煎液中有有效部分提取物的指纹图谱数据,通过比对找

出对方指纹谱有贡献的有效成分峰。再用质谱差谱方法处理多级质谱数据,提取不同类型的“中性丢失”,研究得出复方柴芩汤有效部分为黄芩总黄酮和柴胡总皂苷,实现了对复方有效成分化合物的快速分类鉴定。

当前中药复方指纹图谱的研究仍在继续进行,部分学者在中药复方化学指纹图谱、药效成分鉴定和药效活性测定的基础上,充分利用现代化学与生物信息学研究的成果,开展指纹图谱信息与药效活性信息的相关性研究,以实现中药复方化学指纹图谱向中药复方药效组分指纹图谱的转化,从而建立中药复方指纹图谱组效学研究体系。

3 血清药效物质基础在中药复方质量控制中的应用

中药复方的化学成分复杂,传统的口服给药决定了只有那些被吸收进入体内(血液循环)的化学成分才有可能成为药效的真正物质基础。而中药经口服后,多数成分不能被机体吸收,真正起作用的是吸收入血的物质,即血清中的“移行成分”。中药口服给药后,经消化道、肠道菌群作用,生成一种由中药固有成分及其代谢产物组成的混合物,有的直接被排泄,有的被选择性吸收,经肝药酶作用进入血液,通过血液运输到各个器官组织或靶点,在达到一定的血药浓度时起效。如何通过口服给药后血清中成分分析,确定中药及复方的体内直接作用物质,将成为快速、准确的研究确定中药药效物质基础的有效途径。这种含有真正有效成分(包括机体产生的应激性成分)血液中分取血清,进行药理学和药物化学研究的方法,是由日本学者田代真一^[8]于 1988 年提出“血清药理学”(Serum Pharmacology)和“血清药物化学”(Serum Pharmacology)法。在此基础上,王喜军于 1997 年正式提出了“中药血清药物化学”的概念与实施细则,并运用血清药理学和血清药物化学研究方法研究复方物质基础,取得了许多有价值的研究成果^[9]。中药血清药物化学的提出,建立了新的复方评价系统,必然有助于对方作用机理的研究。

中药血清药物化学研究认为,只有入血的成分才有可能成为有效成分(外用药及直接刺激胃肠道药物除外)。基于上述观点,目前,用植物化学、中药血清药理学和血清药物化学相结合的方法以及生物药物分析的方法,利用 HPLC-UV(DAD)及 HPLC-MS/MS 技术,从给药血清中鉴定复方成分及其代谢物,研究这些化合物是否具有药理活性,并取得了令人瞩目的进展。曹洪欣等^[10]应用中药血清药物化

学的方法,对以透表解毒法为原则组成的中药复方安替威的血中“移行成分”进行分离纯化,以此进行抗 SARS病毒作用的研究,取得初步结果。宋金春等^[11]建立了生化汤及口服生化汤后小鼠血清的 HPLC 指纹图谱分析方法,并将生化汤中各单味药、给药大鼠血清及未给药大鼠血清三者的 HPLC 指纹图谱进行了比较,确定生化汤给药后血中出现了 9 个“移行成分”。其中,6 个为生化汤中所含成分的原型、3 个为新产生的代谢产物。王平等^[12]采用 HPLC-DAD-UV 及 HPLC-MS/MS 的方法研究了当归补血汤的入血成分,从口服给药后的大鼠血清中找到 46 个入血成分,鉴定了其中 10 个原型成分,并鉴定出 21 个可能代谢组分。上述研究为相应中药复方的质量评价提供了检测指标。

由此可见,以各种新型的联用技术为分析手段对中药复方血清药物化学的深入研究,可进一步了解药效物质基础信息,为中药质量控制提供数据支持,这使中药复方的质量控制更具科学性。

4 定量组效关系在中药复方质量控制中的应用

随着分析技术的不断发展,各种联用技术广泛运用于中药复方的质量控制,由于处于起始阶段,对指纹图谱在质量控制方面的整体认识仍较为浅显,所以仅把它作为一种简单的质量鉴别手段,大多数研究者侧重于研究指纹图谱获取方法,缺乏理论深度。指纹图谱技术较好地表征了中药复方的整体化学信息,但无法表达中药材及中药复方的药效信息。因此只有结合指纹图谱技术与中药复方药效学研究,将指纹图谱中特征性成分的化学信息与中药复方药效学信息相联系,建立组效关系预测模型,才能真正实现基于药效的中药复方质量控制体系,保证中药复方质量的安全、有效、稳定、可控。针对中医药的特性,周立东^[13]于 1998 年提出在天然药物研究中建立“定量组效关系(quantitative composition activity relationship, QCAR)”概念,用以解决中药复杂多成分的化学组成与生物活性之间关系的问题。

QCAR 不只是在某一类活性化合物中建立起化学结构与某一种生物活性的定量关系,而是要在中药化学组分的多变量空间(x 矢量)和中药药效的多变量空间(y 矢量)之间建立起定量关系。

王毅等^[14]应用多元线性回归(MLR)、人工神经网络(ANN)和支撑向量机(SVM)对气血并治方的组效关系进行比较研究,结果发现,ANN 和 SVM 等非线性建模方法的预测误差明显小于 MLR 等线性建模方法。该结果表明,在处理中药药效活性预测问题时,非线性建模方法能够更好地体现中药有效

组分与药效活性间的复杂关系。

梁逸曾等^[15]提出采用化学计量学的方法研究中药复方化学成分,通过采用多变量统计过程控制(MSPC),即先采用测量大量的相关变量,继用主成分分析或偏最小二乘法对这些数据进行处理,最终得出投影变量,按常规质量控制方法进行处理。

借助 MATLAB 工作平台,通过 QCAR 对中药复方的研究,有可能在复方药物作用机理解释、有效部位研究、单体药物筛选等方面提供有价值的化学信息,而且,还可能提供多种化学成分在用药过程中可能发生的“超分子复合物作用”等现象的信息。

5 结语与展望

中药复方质量控制的研究是中药现代化的关键领域之一。近年来,随着中药现代化进程的加快,带动了对中药复方质量控制从初级研究向更深层次迈进。多学科的互动协作交融,新技术、新方法的出现也为复方质量控制的研究发展带来了新的思路。指纹图谱技术、药效学、化学计量学等多学科交叉融合,将有助于进一步阐释中药材及复方的内在质量及其作用机理。

此外,随着人类基因组计划研究的不断深入和功能基因组、药物基因组学及蛋白质组学研究的开展,分子生物学技术将中药复方质量控制的研究推向了基因水平。现代科技与传统中医药的融合,对推进中医药现代化的深入发展必将具有更深刻的意义。

参考文献:

- [1] Huang H, Liang MJ, Zhang XM, *et al* Simultaneous determination of nine flavonoids and qualitative evaluation of Herba Epimedii by high performance liquid chromatography with ultraviolet detection [J]. *J Sep Sci*, 2007, 30: 3207.
- [2] 尹莲,徐立,时东. 加味四妙丸有效部位群的筛选研究思路与方法 [J]. 2005, 7 (4): 28.
- [3] ECDR of FDA. Guidance for industry botanical drug products (Draft guidance) [S], 2000.
- [4] WHO. Guidelines for the assessment of herbal medicines [S], 1996.
- [5] 范晓辉,叶正良,程冀宇. 复方丹参滴丸批次间质量稳定性评价方法研究 [J]. *药物分析杂志*, 2005, 25 (9): 1, 122.
- [6] 李晓如,梁逸曾,杨辉. 中药药对的化学成分研究川芎-赤芍挥发油的 GC/MS 分析 [J]. *高等化学学报*, 2006, 27 (3): 443.
- [7] 冉小蓉,杨辉华,梁琼麟. 质谱差谱方法及其在中药复方研究中的应用 [J]. *高等化学学报*, 2007, 28 (2): 250.
- [8] 贺玉琢. 日本汉方药“血清药理学”、“血清药化学”的研究概况 [J]. *国外医学中医中药分册*, 1998, 20 (5): 3.

(下转第 37 页)

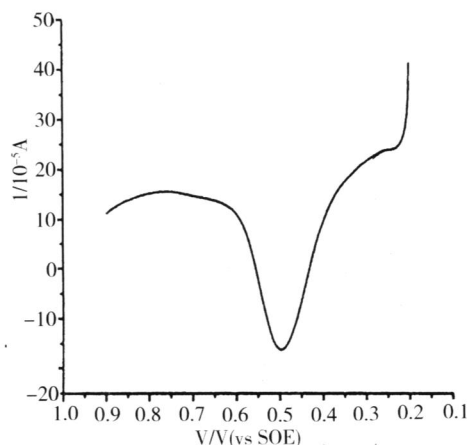


图 2 雷贝拉唑阳极化线性扫描伏安图

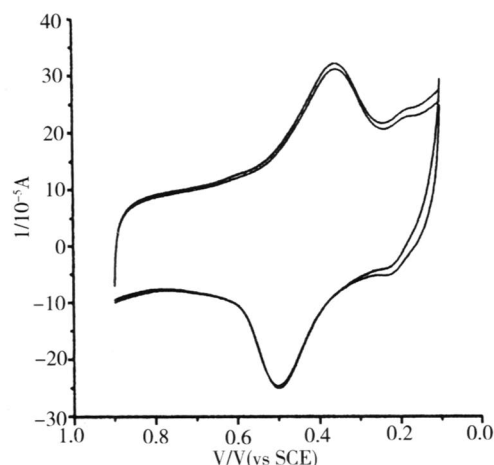
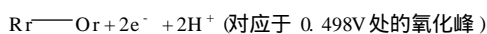
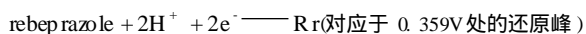


图 3 雷贝拉唑的循环伏安图

3.2 电极反应机理 在 10 ~ 400 mV/S 范围内雷贝拉唑的氧化峰电位随扫描的增加而正移。实验测得峰电位 E_p 与扫描的对数 ($\lg v$) 呈线性关系,符合不可逆电极过程的 $E_p - \lg v$ 关系,其线性回归方程为: $E_p = 1.143 + 0.056 \lg v$, $r = 0.9967$ 。对于不可逆体系,斜率 k 与电子转移系数 a 、反应电子数 n 之间有: $k = 2.303RT/anF$, 即 $0.056 = 0.059/an$, 若

$a = 0.5$, 则 $n = 2.11$ ($T = 298 \text{ K}$)。

在雷贝拉唑浓度为 $4.2 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 的条件下,在 1 mol/L NaCl 溶液中 (保证溶液的离子强度相同) 用硫酸改变其溶液的酸度,并在此溶液中进行循环伏安扫描测定,结果表明随着酸度的增加峰电位不断正移,若以峰电位值对溶液的 pH 值作图,发现峰电位 E_p (V) 与溶液的 pH 值在 0.8 ~ 2.2 范围内呈良好的线性关系,线性方程为: $V_p = 0.598 - 0.0566 \text{ pH}$, $r = 0.998$, 直线斜率 $dep/dph = 0.059/nm = 0.0566$, 计算参加电极反应的质子数 $m = 2$ 。电极反应过程为:



本法采用碳糊电极作为工作电极,建立了测定雷贝拉唑制剂含量的阳极吸附伏安法,该法简便准确,灵敏度高,与同时采用 HPLC 法检测的结果经 t 检验,两者结果无显著性差异,表明此方法准确可靠,适应于雷贝拉唑制剂的含量测定。

参考文献:

- [1] 黄雯粤,毛欣,吕礁. 新型质子泵抑制剂——雷贝拉唑 [J]. 海军医学杂志, 2002, 23(3): 272.
- [2] 谭玲,周澎湃,傅得兴. 雷贝拉唑的药理与临床 [J]. 中国新药杂志, 2000, 9(6): 373.
- [3] 马卫东. 抗溃疡药——雷贝拉唑 [J]. 国外医药: 合成药 生化药 制剂分册, 1999, 20(3): 150.
- [4] 裴晓丽,刘明月,张小山,等. HPLC 测定雷贝拉唑原料的含量及有关物质 [J]. 中国药学杂志, 2004, 39(8): 631.
- [5] 易兰花,王俊芬,黎拒难,等. 碳糊电极阳极吸附伏安法测定环丙沙星 [J]. 化学研究, 2005, 16(1): 59.
- [6] 胡咏梅,徐新华,梅俏,等. 反相高效液相色谱法测定雷贝拉唑的血药浓度 [J]. 中国药理学通报, 2004, 20(4): 472.

收稿日期: 2006-09-11

(上接第 13 页)

- [9] 王喜军. 中药血清药物化学的研究动态及发展趋势 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(10): 789.
- [10] 曹洪欣,王喜军,于友华,等. 中药复方安替威血清药物化学和抗 SARS 病毒试验研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(3): 281.
- [11] 宋金春,曾俊芬,胡传芹. 生化汤的血清药物化学研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(13): 977.
- [12] Wang P, Liang YZ, Zhou N, et al. Screening and analysis of the multiple absorbed bioactive components and metabolites of dang-

guibuxue decoction by the metabolic fingerprinting technique and liquid chromatography/diode-array detection mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass spectrum, 2007, 21: 99.

- [13] 周立东. 建议在天然药物研究中建立“定量组效关系”(QCAR)概念 [C]. 全球华人中药现代化学术研讨会, 1998.
- [14] 王毅,程翼宇. 中药组效关系辨识方法学与计算理论研究思路与策略 [J]. 中国天然药物, 2003, 1(3): 178.
- [15] 梁逸曾,龚范,俞汝勤. 化学计量学用于中医药研究 [J]. 化学进展, 1998, 9(11): 108.

收稿日期: 2007-12-11