

中药质量认识与质量评价

张铁军^{1,2,3}

1. 天津药物研究院 中药现代研究部, 天津 300193
2. 天津市中药质量控制技术工程实验室, 天津 300193
3. 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘 要: 基于中药质量认识的整体视角, 从中药质量的本草学属性、生物学内涵和化学实质 3 个方面进行论述, 通过相关实验研究, 提出从药材的品种及产地的确定→样品的野外及田间取样→药材的部位取样→有效部位的确定→有效部位药效物质基础研究→有效成分代谢研究→质量评价及质量控制指标的确定→样品处理方法→分析测试方法→数据处理方法→质量评价方法等质量分析的全过程, 构建中药质量研究技术方法和系统的评价体系。

关键词: 中药质量; 本草学; 质量评价; 认识; 评价体系

中图分类号: R28 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)01-0001-09

Realization and evaluation of Chinese materia medica quality

ZHANG Tie-jun^{1,2,3}

1. Department of Modern Chinese Materia Medica, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China
2. Tianjin Engineering Laboratory of Quality Control Technology for Chinese Materia Medica, Tianjin 300193, China
3. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin 300193, China

Abstract: Based on entirety visual angle, the quality recognition of Chinese materia medica (CMM) was discussed in three aspects including material medica attributes, biological connotation and chemical substance. Through empirical studies, investigative technique method and systemic appreciation system of quality control of CMM were suggested from determination of species and habitat-field and intra-field sampling-locus sampling-determination of effective parts-material basis research of effective parts-metabolism research of active constituents-quality evaluation and determination of quality control index-sample processing method-analysis and testing method-data sorting method-quality evaluating method. The technical methods and evaluation system of CMM quality could be constructed.

Key words: quality of Chinese materia medica; material medica; quality evaluation; recognition; evaluation system

中药质量的认识、评价和质量控制是保证中药安全性和有效性的重要手段, 在中药研究、生产及临床应用过程中具有非常重要的作用。与中药安全性和有效性的关联度是衡量中药质量评价体系和质量控制手段科学性、先进性和实用价值的重要标准。

中药质量构成(形成)具有明显的自身特点: 首先中药大多为来源于自然界的生物有机体, 其必然要遵循生物的遗传与变异规律, 中药质量差异是生物遗传物质基础差异以及不同的外界环境因子作用于生物有机体的结果。其次, 中药的制备过程包括产地加工和储存、炮制、提取纯化、制剂成型等, 是对中药化学物质群的重新获取, 是中药质量的二

次形成。第三, 药物传输途径及其体内过程与中药质量密切相关, 中药的功效是中药化学复杂体系作用于生命病理过程的综合效应, 从药物的安全性和有效性的角度认识和评价中药质量, 就不能孤立的评价药物自身的原型成分, 还要进一步分析药物成分的传输途径、体内过程(吸收、分布、代谢和排泄, ADME), 了解药物最终的“效应成分”。最后, 中药质量还具有其本草学属性, 承载品种、产地的传承沿革, 功效的更迭、延伸和丰富。因此, 针对中药复杂体系的特点, 在对中药质量评价和质量控制研究时, 应基于中药质量构成(形成)的自身特点, 把握对中药的安全性和有效性一切相关的化学

收稿日期: 2010-10-15

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAI06A01202)

作者简介: 张铁军(1962—), 研究员, 天津药物研究院中药现代部主任, 博士生导师, 天津市政府授衔专家。E-mail: zhangtj@tjipr.com

指征,并从整个药物形成过程认识和评价中药质量。

1 中药质量认识的系统视角

中药质量是中药的安全性和有效性的客观表征,中药材大多为来源于自然界的动植物有机体,与自然界存在千丝万缕的联系,并遵循生物遗传和变异的规律,在其个体发育过程中,形成其质量(化学物质群)的基本内容;进一步作为以药品生产和应用为目的的原料,又经过采收加工、炮制、配伍、提取纯化、制剂成型等一系列过程,其物质基础在一系列加工中发生改变;最后,又通过一定的药物传输途径,完成中药化学物质群的体内过程,发挥其整体生物学效应,达到防病治病的目的。至此,才完成了整个药物形成及应用过程。在整个过程中,对中药质量评价具有密切关系的几个重要因素有:①中药材在其整个个体发育过程中遗传和变异因素均影响药材的质量;②中药的制备过程是复杂化学成分的复杂多样性变化过程;③中药质量是中药整个物质组群在疾病生物体上的整体生物学效应的综合体现;④中药的有效性和安全性与其传输途径及体内代谢、吸收、分布等规律相关,入血成分是最最终的效应成分。基于上述的基本认识,在对中药质量评价和质量控制研究时,应把握对中药的安全性和有效性一切相关的化学指征,并从整个药物形成过程认识和评价中药质量。

1.1 中药质量的本草学属性

作为以经验科学为基础的传统中医学,人种药理学经验对于药物的安全性、有效性和品质优劣的认识至关重要。数千年的传承沿革,形成中药材品种、产地、功效和质量的基本认识,虽然随着科学技术的进步和中药现代化的不断推进,中药质量的科学内涵不断被重新阐释,但迄今为止,化学和生物学质量评价尚不能全面客观描述和评价中药质量的全貌。在此情况下,本草学的证据在中药质量评价方面显示不可或缺的重要地位,中药质量的本草学属性主要体现在以下几个方面。

1.1.1 中药材的品种 中药材品种是其安全性和有效性的载体,中药材的品种具有“一脉相承”、“沿革变迁”的特点,在中医学漫长的发展过程中,经历了继承、延续、变革、演化、发展等过程。在中药质量评价时,应合理把握品种沿革变迁的历史环境,如同一药材在不同历史时期所用品种不同,其原因有:①认识更新或筛选出新优品种;②原有品种资源枯竭,选出新的替代品种;③形态相近或

名称混淆,以讹传讹,产生混乱品种。同一药材在同一历史时期的不同地区所用品种不一,即所谓“地区习惯用药”,大多数也有一定的临床用药基础,应具体问题具体分析。

1.1.2 产地 产地是影响中药材质量的重要因素,具有明显的本草学特点。大多数药材经过千百年来筛选,已将产地和中药质量紧密结合在一起。优质药材的产地为“道地”,优质药材被称为“道地药材”。中药材的最佳产地也不是一成不变的,也经历随着认识的加深和环境的变化而沿革变迁的过程。如地黄,《神农本草经集注》云:“中间以彭城干地黄最好,次历阳,今用江宁板桥者为胜。”指出江淮一带为地黄的“道地”。而《名医别录》云“生咸阳川泽黄土地者佳”,地黄“道地”又演变为陕西的黄土地。宋代苏颂在《图经本草》中云:“古称种地黄以黄土,今不然,大宜肥壤虚地,则根大而多汁……以同州(陕西大荔)为上。”清代陈嘉谟在《本草蒙荃》中解释道:“江浙壤地种者,受南方阳气,质虽光润而力微,怀庆山产者,禀北方纯阴,皮有疙瘩而力大。”怀庆者为河南沁阳一带,至今仍以河南怀地黄为道地药材。产地所有的生态因子(立地因素)均与药材质量有关,包括土壤、气温、降雨、光照、生态群落构成等。产地生态因素的分析亦应考虑古代历史时期的具体情况。

1.1.3 炮制方法 炮制是根据用药目的人为的对药材的化学物质群或药材的组织结构进行改变,是药材质量的再创造过程,也是中药区别于天然药的重要特点之一。炮制方法存在沿革、变迁、丰富和发展的过程,这些变化是以人种药理学经验为依据,并在中药配伍理论和方剂中集中体现。对不同炮制方法制得的饮片的质量评价,亦应根据饮片的具体性味归经,从炮制后产生的显微及化学实质、生物效应的改变的角度进行客观的质量评价。

1.1.4 功效 中药质量是中药传统功效及毒性的表征,而中药材功效的认识是基于人种药理学的经验,并经历一个不断创新、丰富和发展的过程,因此,对中药质量的认知应以传统疗效为依据,并以动态、辨证和发展的观点,客观地分析和认识。大多数中药材在其始载的本草中对功效的记述都较为简单,以后经长期的临床应用又发现新的功效,如《本草纲目》中专门立“发明”项,记载其新的功效。某些中药材现代研究发现新的功效,亦应纳入质量评价内容,并且,质量评价基于传统功效,也要有时

间年代、人种药理学经验的基础人群、地域等分析,从药材应用整个历史的视角全面评价其质量。

1.2 中药质量的生物学内涵^[1]

中药大多为来源于自然界的生物有机体,其质量差异是生物遗传物质基础差别以及不同的外界环境因子作用于生物有机体的结果。

1.2.1 种内变异与药材质量 大多数中药材来源于单一物种,但种内变异仍非常普遍,这些变异属于可遗传的变异,分类学上将其划分为不同的种内分类阶元,如亚种、地理宗、变种、地方宗、变型、生态宗、化学型、居群等。同一中药材的品质优劣可反映在生物变异的多个层次上,多基原药材的基原来自不同物种,如海马、赤芍、黄连等,其品质差异体现在种间的形态性状、化学成分上的差异。单基原药材来自同一物种,其品质差异取决于种内的变异。不同的种内变异类群通过影响其次生代谢产物合成的相关基因的差异,而产生化学成分种类、绝对量和相对量的不同,形成药材质量的优劣各异。种内变异可以从如下几方面体现:

(1) 表型可塑性 (phenotypic plasticity): 又称环境饰变 (environmental modification), 是同一基因型由于环境条件的改变而在表型上体现出相应变化的能力。这类性状不是由基因决定的,一旦环境条件改变,其相应的适应性性状消失,因此在分类上价值不大,如无瓣堇菜 *Rorippa dubia* (Pers.) Hara. 与堇菜 *R. indica* (L.) Hiern 的区别在于没有花瓣,果实只有一行种子,植物较柔弱,以及叶的质地较薄。但顾德兴和徐炳声 (1986 年) 通过栽培实验证明 *R. indica* 的花瓣的数目是个不稳定的性状,从 4 枚到缺失之间连续性变异,而这种变异与环境中的光照条件有关,光照强度越大,花瓣数目越多。

(2) 生态宗 (ecological race): 是指在同一地区适应于不同生境、遗传和表型上有区别,但互交能育的种内类群。因而,生态宗是同域分布的,通常是邻近同域分布的。这些宗在种的整个分布区内的无数接触地带互交繁殖和间渡 (intergrading), 但它们在各自的生境中则保持不同宗的特性,这些在生态上的彼此替代,形态上可以识别的种下分类群相当于分类学上的变种。对广布种薄荷的研究表明:不同生态环境中的薄荷的化学成分不同,并据此将其分成不同的化学型。生态宗的差异大多体现在化学性状上,又称为化学宗 (chemical race), 因此决定药材的品质及临床疗效的差异,在研究及评价药

材品质上具有十分重要的意义。如苍耳同种内的不同生态型具有不同的倍半萜内酯; 欧龙芽草在欧洲和美洲的不同化学宗具有不同的黄酮类。

(3) 地理宗 (geographical race): 是指种内在地理分布上各有其不同的区域,在形态上又有一定区别的类群,分类学上通常把地理宗定为亚种,即地理亚种。在同种内的两个地理宗的接壤处往往有间渡的情况,地理上呈现替代迹象。

(4) 居群的多态现象 (polymorphism): 是指在居群中出现的某性状的不同属性,且有较少属性的植物数目的比例要比从随机突变所能预期的要大。在自然界中,不难发现生长在同一生态环境的同种植物的互交居群有时含有 2 个不同的类型,如植物体或某一部分有毛或无毛、花的不同颜色、冠毛的有无、种皮光滑或具突起,以及植物体内是否含有某种特殊的化学成分等,它们的个体数在居群内的消长反映了不同基因型的频率变化。如三叶草 *Trifolium repens* L. 植株是否含氰氢酸 (HCN) 受一对等位基因 Aa 控制,含 HCN 的 A 对不含 HCN 的 a 是显性,后来发现欧洲地区的三叶草的这两种变异在居群中的频率存在与地理分布有关的梯度变异,即含 HCN 的变异体的频率从欧洲西南部逐渐向西北部降低,而在中间的过渡地带则两种变异体有不同的比率,因此认为,生氰和解氰这 2 个特性受 2 个基因调节,通过 Ac 等位基因从氨基酸的前体合成生氰糖苷百脉根苷 (lolaustralin) 和通过独立遗传的 Li 等位基因来水解生氰糖苷亚麻苦苷酶 (linamarase)。只有在两个基因中至少有一个显性等位基因的植物才是生氰的。研究发现,含 HCN 的植株以低海拔地区最多,随着海拔高度的增加而逐渐降低,呈现所谓“比率梯度变异”的式样,在某种程度上与温度相关联,因为亚麻苦苷酶是由低温激活的,而释放 HCN 给 AcLi 基因型带来不可逆转的抑制作用,从而导致组织死亡。

种内的变异除以上内容外,还有地理梯度变异、染色体结构变异、多倍化及种间杂交等,这些变异均导致药材品质不均一性,直接决定药材的品质和临床疗效的差异。

(5) 居群概念的引入及其对中药质量评价的意义: 科学研究的真实性首先取决于取样的真实性和代表性,对于与生命有关的药物研究这点更为重要。众所周知,在化学研究、药理研究及临床研究或制剂配伍、生产投料中,所用的是同种药材的不同个

体(或生药或饮片),并以其代表整个种。然而,在个体与种之间尚有许多层次,其中最关键的一个分类阶元(进化单元)就是居群。事实上,所面对的每一个物种都是一个居群系统,物种并不是由个体直接组成,而是个体在时空中有规律地组成居群,再由居群有规律地组成物种。物种的形成经历居群内变异、地方宗的分化、地理宗的分化,最后达到种的分化这 4 个阶段。居群是进化的基本单元,以居群取样是研究植物种内变异与进化的基本方法,这种思维和方法改变了一成不变的模式概念,能更准确地把握同一物种内个体的变异幅度、变异式样,正确处理异常个体;增强品种鉴定的准确性及药物研究的真实性,并正确地制定中药质量评价指标的限度范围。

1.2.2 环境因子与药材质量 环境因子对生物个体发育过程的影响称为环境饰变,其变异可体现在形态形状、显微组织性状和化学性状等不同方面,环境饰变对中药质量的影响主要通过以下途径实现:

1) 生物量,主要体现在决定药材产量和商品外部形态性状方面; 2) 生物体内合成反应条件,如光照、温度、水分等是许多植物生物活性成分合成的重要条件; 3) 生物合成原料,土壤中有机物是提供生物合成的主要起始原料,土壤中的微量元素和矿物质组成也在一定程度上影响药材的质量。

1.2.3 药材质量形成的个体发育与系统发育的认识 个体发育过程对质量形成的影响:药材原植物个体发育过程是决定其疗效的化学物质群的形成过程,药材基原种质、产地、生态条件、种群竞争(与共生)、生物期(采收时期)等个体发育相关因素均与药材质量形成有关。系统发育过程对药材质量的影响:药材质量形成不但与其个体发育过程密切相关,进一步深入分析,还可追溯到与其系统发育过程的密切联系,如种系发生、起源与演化、分布与散播途径、共祖近度、进化速率、地质历程、生态历程等。

1.3 中药质量的化学实质

中药作为复杂化学物质体系,其安全性和有效性是其化学物质群在人体生理病理过程中的生物效应的综合体现,因此,中药的化学物质构成是其质量评价和质量控制的重要依据。中药的化学物质形成、变化及其生物效应应具有极其复杂的特点,因此,应从整个中药形成的系统过程,对中药质量的化学实质进行认识、评价和控制。

1.3.1 中药原植物化学成分生物合成的规律性

(1) 生源途径:中药的活性成分包括生物碱、萜类、黄酮、香豆素、皂苷等,多为次生代谢产物。其在植物体内按照一定的合成路线合成积累。目前所知的植物次生代谢主要途径有:乙酰辅酶 A 途径(乙酸途径),合成脂肪酸类、多酮、多酚、聚炔、醌类、酚类化合物;异戊二烯代谢途径,合成甾体类和倍半萜化合物;莽草酸途径(桂皮酸途径),该途径中莽草酸通过苯丙氨酸,生成桂皮酸,再由桂皮酸生成苯丙素类、木脂素类、香豆素类化合物、酚类化合物;氨基酸途径,大多数生物碱类成分由此途径生成。

以药用为目的植物次生代谢产物的生物体内合成存在不同的情况,因此,对环境因子的要求及其合成效率不同,某些成分是植物的正常生长繁育所需,如作为虫媒传粉需要具有芳香气味的单萜、烯醇;某些成分是植物对环境胁迫产生的抗逆性物质,如萜类;某些成分是植物的化感物质。这些次生代谢产物的种类、绝对量以及各成分之间的相对比例共同决定中药的质量。

(2) 亲缘关系^[2]:亲缘关系相近的类群具有相似的化学成分,因此具有相近的疗效。从系统与进化植物学的角度,亲缘关系与化学质量具有以下规律:①单元发生的类群具有共同的祖先(祖种),大多数属是一个自然的类群。②各成员之间的差异无不打上地质历程和生态历程的烙印。③与祖种亲缘关系相近的类群含有该属的原始成分,分布于属的起源中心或原始种保存地;与祖种亲缘关系较远的类群含有该属的新生(进化)成分,分布于属的分化中心或多样性中心或分布区边缘。④近缘类群随地理梯度和生态梯度具有各种式样的替代现象。⑤药用植物地理学与亲缘关系学、植物区系地理学、生源途径假说、民族民间药物学结合成药用植物化学地理学、疗效地理学等。⑥药用植物地理学的规律指导新药寻找、品质评价、代用品研究及栽培引种驯化。

1.3.2 药物制备过程中化学成分的变化 药材自从植物体上采收之后直至进入体内之前的整个过程就是药物的制备过程。在这个过程中,药材经历了化学成分的复杂多样的变化。

(1) 产地加工和储存:中药材的化学成分在产地加工(晾晒、干燥、切制)过程中发生变化,大多数含挥发性成分的药材,在干燥晾晒的过程中有效成分挥发散失;根茎类药材切制时需浸润,水溶

性成分容易损失;一些苷类成分在适当的条件下(如一定的温度、湿度)会酶解成苷元。

(2) 炮制:炮制的目的包括减毒、增效、缓和药性、有利成分的煎出。如乌头炮制后,将二萜双酯类生物碱转化为低毒的二萜单酯类生物碱,达到减毒的目的。大黄的炮制从生大黄、醋炒、酒炒、炒制、熟大黄到大黄炭,化学成分从二蒽酮、结合蒽醌、游离蒽醌到蒽醌类消失,药性从峻泻、缓泻到止泻,起到改变药性的效果。含生物碱类的药材如延胡索醋制后延胡索乙素、去氢紫堇碱等成盐,提高了水溶性,有利于成分的煎出。许多药材酒制后成分未发生变化,但改变了药材的细胞和组织结构,畅通了细胞组织通路和传质过程,有利于物质迁移和有效成分的溶出。淫羊藿洋油炙后,溶解了叶片表皮的蜡质,增加了淫羊藿苷的溶出。还有的炮制起到稳定药性的作用,如槐花炮制避免鼠李糖转化酶对芸香苷的酶解。

(3) 提取纯化过程的化学成分变化:中药的提取过程是对中药化学物质群的重新获取和纯化,其中包含着取舍和成分的变化,在中药的提取纯化方案的设计时,应有如下认识:①中药的药性、传统疗效是中药所有活性成分的综合效应的体现,即所谓中药的“系统质”;②提取纯化工艺设计时要有对有效成分、无效成分、毒性成分、未知成分的基本判断;③提取和纯化工艺的设计是基于药材所含成分理化性质及其之间的差异,包括分子大小、熔点、沸点、极性、溶解性、挥发性、酸碱性、色谱行为等;④单煎与合煎的效果不同,成分之间存在助溶、拮抗、分解、沉淀、络合、化合等物理化学变化;⑤中药及其方剂的传统用法是提取纯化工艺选择的重要依据;⑥提取纯化工艺是中药(中成药)质量再形成的关键因素。

1.3.3 药物传输途径及其体内过程中化学成分的变化 从药物的安全性和有效性的角度认识和评价中药质量,就不能孤立地评价药物自身的原型成分,还要进一步分析药物成分的传输途径、体内过程,了解药物最终的“效应成分”。具体有以下几种情况:①药物成分以原型直接入血并(或直接)作用于靶点。②药物成分仅是前体药物,经口服给药后,经过胃肠道微生物代谢及肝脏代谢产生代谢产物,代谢产物发挥作用,如多数苷类药物。③药物成分不是直接的活性成分,而是通过激活人体内源性物质的分泌来调节人体疾病的“内稳”失衡状态而发挥

“中介治疗”作用。④药物成分不对人体病理过程发挥作用,而是干预(或改善)体内微生态(如为肠道菌群),并通过改善肠内菌群来增加其他原型药物代谢成有效成分(或抑制有效成分代谢成无效成分)而发挥治疗作用;⑤中药体内过程中,原型与代谢产物,代谢产物与代谢产物,原型、代谢产物与受体分子之间存在复杂的多种模式的相互作用。

1.3.4 药材、复方的“系统质” 药性和药效是药材整体化学成分生物效应的综合体现,是整个药材的化学物质群总体属性的综合体现,即系统论中的“整体取性”、“系统质”,而绝非单一化学成分的单独作用。单一成分不能代替原药材的药性和药效,并且,整体不是各部分简单相加之和。事实上,药物化学成分对人体病理过程的干预存在“功效网络”,各成分之间存在多种模式的交互作用,中药组方更具有“系统质效应”,中药组方的系统质具有“非加和性”,复方中药的质量评价时,应有与组方配伍理论相关整体思路。

2 中药质量研究及质量评价途径

基于对中药质量的系统认识,为保证质量评价研究的科学性合理性,笔者通过代表性的示范研究,从药材的品种及产地的确定→研究样品的野外及田间取样→药材的部位取样→有效部位的确定→有效部位药效物质基础研究→有效成分代谢研究→质量评价及质量控制指标的确定→样品处理方法→分析测试方法→数据处理方法→质量评价方法等质量分析的全过程,构建中药质量研究技术方法和系统的评价体系(图1)。

2.1 药材基原品种及其变异范围的确定

中药基原的广泛变异是中药质量不一的重要因素。因此,在进行质量研究、质量评价和制定质量控制标准时,首先要对基原品种及其变异幅度、变异式样进行研究和确定,进而才能制定合理的质量标准限度范围(包括形态性状、显微组织和化学成分等)。

2.1.1 居群的概念及取样方法 居群(population)是在某一特定时间内,由占据某一特定空间的同种个体所组成的群集,它们享有共同的基因库,具有大致均等的繁育机会。居群是种内的分化单元,个体组成居群,居群组成物种;居群是物种在自然界存在的基本形式。但居群不等于多个个体的简单相加,它具有个体没有的新质:数量特征、空间特征、遗传特征。

以居群取样是研究植物种内变异与进化的基本

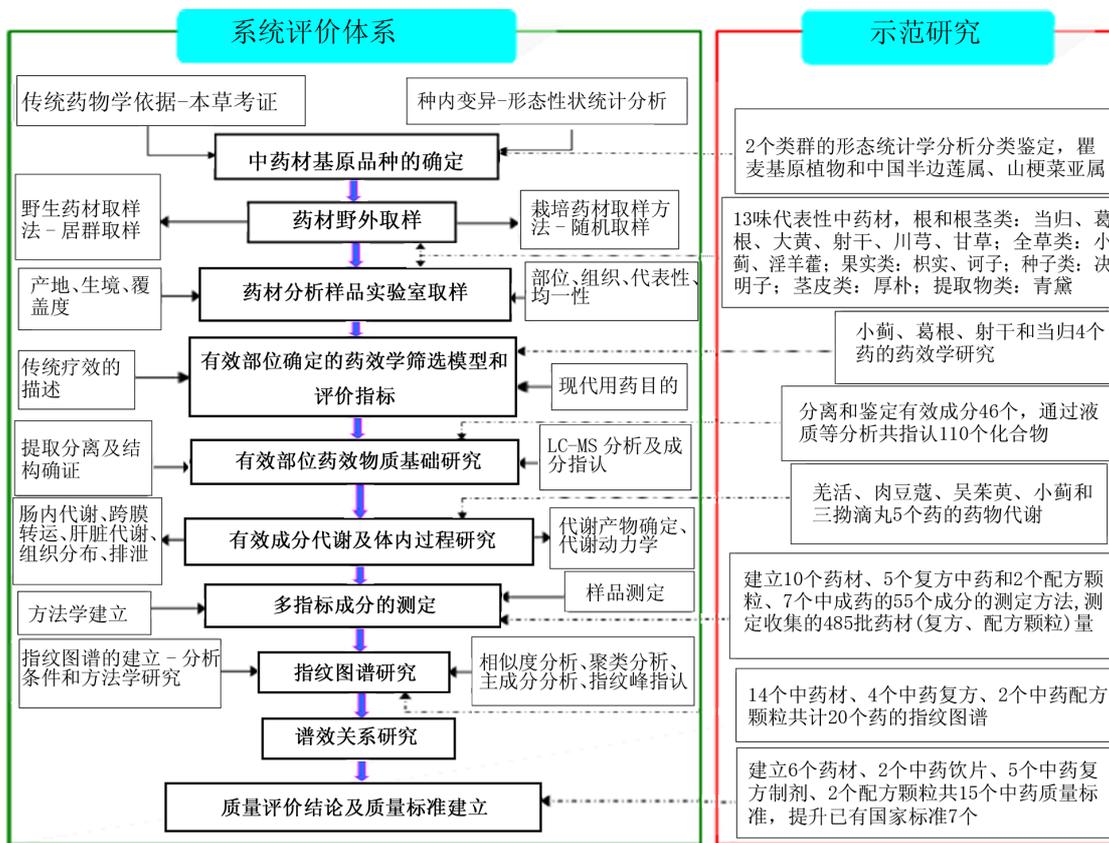


图 1 中药质量评价体系

Fig. 1 Evaluation system of CMM quality

方法，这种思维和方法改进了一成不变的模式概念，能更准确地把握同一物种内个体的变异幅度、变异式样，正确处理异常个体。增强品种鉴定的准确性及药物研究的真实性。从居群的概念出发，以居群取样的方法进行中药的物种鉴定及中药研究，实现了从个体出发及模式概念的分类方法的本质上的飞跃。原因在于：①居群内可互交繁育，为一个紧密的进化单元，可表现阶段植物系统发育过程中各个基本单元的全部遗传、生态和表型特征，而个体不具备代表性。②用居群取样的研究方法，异常个体不影响居群特征，不会影响分类及进化研究的真实性，而个体取样则会使研究结果产生伪结果。③居群的研究有利于了解和认识种内的变异式样，正确把握种内个体的变异幅度。④居群的研究有利于正确地按种内分类阶元进行分类处理。⑤居群的研究有利于研究植物近缘物种的亲缘及进化关系。⑥增强品种鉴定的准确性及药物研究的真实性。

2.1.2 性状统计分析方法^[3] 植物的形态性状、显微、孢粉、DNA 分子及酶、化学性状均存在广泛的种内变异，某些属于质量性状，某些是数量性状，

这些性状在种内存在不同式样、不同幅度的变异。中药基原通常源于单一物种，因此，质量研究和质量评价之初就要对种内变异式样和变异幅度进行研究，进而才能合理制定质量控制指标的变化幅度和控制范围，评价质量的优劣和稳定性。以中药瞿麦和中国半边莲属山梗菜亚属为例，针对种内变异大，种间界限不清等问题，基于形态性状的统计分析及叶表皮特征、孢粉特征、种皮表面纹饰的研究，对瞿麦的主要基原植物——东北、华北地区石竹属植物进行了分类修订，将原来的 9 种 5 变种归并成 6 种 6 变种，并恢复高山石竹 *Dianthus morii* Nakai 种的等级；对中国半边莲属山梗菜亚属进行修订，发现一新种叶苞山梗菜 *Lobelia foliiformis* T. J. Zhang et Hong，一新亚种贵州山梗菜 *L. colorata* subsp. *guizhouensis* T. J. Zhang et Hong，明确了各成员形态性状的变异幅度和变异式样。

2.2 药材样品规范性取样技术和方法

2.2.1 野外（田间、市场）取样方法 由于药材质量的不均匀性，质量研究时取样的方法就显得尤为重要，取样应有代表性和覆盖度，剔除极端个体，

保证研究结果的客观、真实。在实际药材取样过程中,应在充分研究和了解其种内变异式样和变异幅度的基础上,采用居群、随机和样方相结合的方法进行野外(田间)取样,建立质量分析药材样品野外(田间)取样方法。

最基本的采样方法有简单随机采样、系统采样、分层随机采样、整群采样、双重采样等。在这些方法之上又结合、引申出种类繁多的采样方法,前者如系统随机采样、分层系统采样等,后者如非列线采样、优先网格采样及重点采样和自适应采样等。栽培药材的取样常用的采样点布置可分为随机布点法、分区随机布点法和系统(网格)布点法,在中药研究中,应考虑主产区和道地产区等因素,宜采用分区随机布点法。野生药材样品的采集宜采用居群取样的方法,并应考虑如下原则:①采集生物样品需观察居群的大小,不同的居群分开采样;②应考虑不同地理位和生态样品的取样,保证一定的地理和生态的覆盖度;③参考和了解植物分类学文献,对所研究的类群的种内变异幅度和变异式样有一定的认识。基于中药材原植物环境对次生代谢产物生物合成影响的理论,以小蓟和淫羊藿为例,研究了药材质量与产地的相关性。

2.2.2 药材部位取样方法 同一药材的不同组织器官的化学成分量不一,如全草类药材的茎、叶、花中所含化学成分差异很大,根及根茎类药材的根与根茎、主根与须根、根的木质部与韧皮部中化学成分量不同,取样的均一性、分析样品的代表性直接决定了质量分析的科学性和质量标准制定的合理性。因此,应在比较不同部位化学成分量差异的基础上,建立科学的药材部位取样方法及操作规范。

以小蓟、淫羊藿和射干为例,研究了药材的不同部位量的差异,并提出质量分析中药材样品的实验室取样方法。小蓟为全草入药的药材,各部位有效成分的差异很大。对小蓟的花、叶、茎和全草中绿原酸和蒙花苷的量进行测定,结果表明:叶中的绿原酸和蒙花苷的量最高,绿原酸为茎中的5倍,蒙花苷为茎中的50倍。淫羊藿亦为全草类药材,茎和叶的淫羊藿苷量差异较大,叶中淫羊藿苷量是茎中的8~24倍。因此,药材取样一定要注意均匀性和代表性,一般的做法是将一个整包装(一批)药材的茎、叶、花分别取下,分别称质量,计算比例,然后还原整株比例取样。由于植物不同组织的硬度和韧性不同,药材粉碎时易碎程度不同,粒度分布

不均匀,如来源于叶的薄壁组织易碎,粉碎粒度较细,有效成分量较高,而茎等木化程度或纤维化程度较高的输导组织不易破碎,粉碎粒度较粗,有效成分量较低,因此,取样时也应分成不同粒度,分别称质量,计算比例,按比例取样混匀,再取样。这样才能确保取样的真实性和代表性。

2.3 试验样品前处理及提取方法

粉碎是中药前处理过程中的必要环节,通过粉碎可增加药物的表面积,促进药物的溶解与吸收,加速药材中有效成分的浸出。不同的药材,因其本身结构和性质不同,粉碎的难易程度也不同。原料的粉碎粒度不仅应考虑提取溶剂(水或有机溶剂)和药用部位(根茎、全草、叶类和花类)对有效组分溶出率的影响,还应考虑药材的质地(坚硬或柔软)、药材不同部位纤维量的多少(如茎里含纤维较多,韧性强,花和叶里纤维较少,粉性大)以及构成药材的皮层、木质部、韧皮部等组织中有效成分的分布及对有效成分溶出的影响。

中药是一个典型的复杂体系,需要对有效组分进行选择性的提取和富集,同时也需要高选择性地去除无效组分或者有害组分,这样才能达到提高药效,保证安全的目的。在充分考虑药材质地、化学成分在药材中存在的位置、化学成分的结构类型和理化性质以及对不同提取溶剂和提取方法进行比较研究的基础上,通过实验总结出适合不同中药的提取和样品前处理方法。

2.4 药效物质基础研究和质控指标确定方法

质量评价的化学指标应与其有效性和安全性密切相关,因此,在质量研究和标准建立之初,首先要确定其有效部位及其物质基础,经典方法以整体动物模型进行传统疗效相关的活性评价,这是有效部位筛选和确定的主要方法。近些年随着血清药理学的发展,以细胞和分子模型为主的血中移行成分的生物效应评价对于药效物质的确定和质量评价提供了新的思路和模式。在确定中药的有效部位之后,再通过复杂生物样品化学成分的提取、富集、分离及结构表征技术,确定有效部位的化学物质基础,最后,通过药物体内过程的研究,确定中药的最终效应成分。

为正确选取质量评价化学指标,对中药的安全性和有效性进行有效地控制,以小蓟、射干、葛根、当归为例进行药效评价和药效物质基础研究。以小蓟、大鼠和家兔止血模型评价了小蓟的止血活性并

确定有效部位,从小蓟的止血有效部位中分离鉴定了 9 个化合物,分别为 1-(3',4'-dihydroxycinnamoyl)-cyclopenta-2,3-diol、绿原酸、新绿原酸、咖啡酸、原儿茶酸、原儿茶醛、芦丁、槲皮素和蒙花苷^[4]。以大鼠脑缺血模型,评价了葛根总黄酮抗脑缺血活性,确定葛根总黄酮是葛根的有效部位,从葛根的有效部位中分离鉴定了 8 个化合物,分别为葛根素、大豆苷、大豆苷元-8-C-芹蔗糖基葡萄糖苷、染料木苷、3'-甲氧基葛根素、葛根素-4'-O-葡萄糖苷、大豆苷元-7,4'-O-二葡萄糖苷和 3'-羟基葛根素。基于射干清热解毒的传统疗效,通过抗炎和抗病毒药效试验确定了射干的有效部位,从射干有效部位分离得到并鉴定了 8 个化合物,分别为鸢尾苷元、野鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、染料木素、鸢尾苷、野鸢尾苷和枞果素、5,7,3'-三羟基-6,2',5'-三甲氧基异黄酮。通过采用 FeCl₃ 引起的大鼠脑缺血模型、大鼠缺血再灌注脑损伤模型、大鼠实验性血栓模型和高黏血症大鼠模型对当归不同提取工艺样品进行筛选研究,最终确定了当归的活血有效部位;并进一步采用 GC-MS 对当归有效部位进行了 29 个色谱峰的指认,从当归抗脑缺血有效部位中分离鉴定了 6 个化合物,分别为(Z)-藁本内酯、阿魏酸松柏酯、(Z)-6,7-反式-二羟基藁本内酯、阿魏酸、咖啡酸和原儿茶酸。

大多数中药的使用方式为口服,口服药物的化学成分体内过程包括:①在消化道的生物转化和(或)代谢、吸收;②在消化道不发生生物转化和(或)代谢直接吸收;③吸收的生物转化产物和(或)原形化合物在体内分布和在肝脏被处置;④表现有效性和(或)毒性;⑤排泄出体内。因此,药物成分不一定就是体内最终起到治疗作用的有效成分,体内过程的研究和评价对于确定中药的药效物质基础及指控指标具有重要的作用。对前胡、吴茱萸、羌胡、小蓟等药材中的活性成分的肠内代谢、吸收转运、肝脏的代谢、组织靶向、排泄、药动学、绝对生物利用度等体内过程进行研究,进一步阐明这些药材的最终效应物质^[5-16]。

2.5 质量分析测试

中药作为一类极其复杂的物质体系,依靠单一模式的分离分析技术已不能完全适应这类复杂样品的研究需要,采用多维、多模式的分离分析方法,可以极大提高检测容量和检测灵敏度,使不同层次的中药产品得到良好的分离和全面的表征。选用有代表性的药材,根据中药多组分、多靶点的特点,

集成各种仪器分析方法,建立具有普适性、专属性的适于不同成分(药材、成药)的分析和质量检测方法;建立由单一指标性成分(包括有效成分)向多指标性成分发展的质量控制和评价方法以及适用于复杂化学体系的综合分析测试及评价方法。本实验室建立了 10 个药材、5 个复方中药和 25 个配方颗粒、7 个中成药的 78 个成分的测定方法,测定了所收集的 485 批药材(包括复方、配方颗粒)的量;建立了 14 个药材、4 个中药复方、2 个中药配方颗粒共计 20 个药的指纹图谱^[17-22]。

2.6 数据分析处理与质量综合评价

数据分析处理技术在中药质量控制方面的运用极大地提高了分析效率,如人工神经网络可以用于中药功效及复方配伍规律研究,用于中药组分提取、鉴别和化学结构预测,用于中药的种属识别和成分测定,用于中药分离分析条件优化等;主成分分析方法用于中药材品种的分类鉴定和真伪鉴别、指纹图谱中的应用等;小波分析可应用在近红外指纹图谱等;支持向量机应用于中药材分类与质量评价,将样本分为训练集与测试集,构造药材的分类器;模糊信息分析法应用于中药材的等级评价、指纹图谱的模式识别等;聚类分析是按照一定的标准对研究对象进行分类的数学方法,将化学仪器分析阶段获得的信息进行分析和整合,利用数据分析处理技术,研究中药质量评价体系与其有效性和安全性的相关性。对质量分析所获取的化学信息与所建立的化学成分功效网络,对化学成分-药效相关性进行分析,并利用数据挖掘技术将化学信息、生物活性信息等进行赋值加权,数据处理、数学建模,评价各成分对于整体疗效的贡献度,制定基于药效的包括主要成分、次要成分及其量的限度的多指标化学质量评价标准。

本实验室对所选的大黄等 6 味药材、白芍等 2 个饮片的指纹图谱均进行了主成分分析、聚类分析和相似度分析,对配方颗粒和中药制剂的指纹图谱进行相似度分析,使质量评价方法更加科学、准确。

3 结语

中药质量评价是一项系统工程,中药的复杂性、未知性决定了质量研究工作必将是逐渐揭示规律不断接近真实的漫长探索过程,在这一过程中,保持多维的视角和着眼于系统的评价体系的建立是非常必要的。药品质量直接反映其安全性和有效性,与生命和健康有关,因此,是中药研究、生产和临床

应用中的重要内容,随着各相关学科的迅速发展和不断向中药领域渗透和被吸纳,中药质量评价体系将日臻科学、系统和完善。

致谢:中药质量控制技术研究课题得到国家“十一五”科技支撑计划项目资助,由天津药物研究院与北京大学医学部杨秀伟教授团队共同完成,谨此向参加此课题研究的全体人员表示衷心的感谢!

参考文献

- [1] 张铁军,高山林,王文燕,等.物种概念及其在中药研究中的作用和意义[J].世界科学技术—中药现代化,2004,6(3):1-8.
- [2] 张铁军.药用植物地理学与新药寻找[J].中草药,1996,27(9):34-36.
- [3] 洪德元,张铁军.中国半边莲属山梗菜亚属的修订[J].植物分类学报,1992(2):146-162.
- [4] 许浚,张铁军,龚苏晓,等.小蓟止血活性部位的化学成分研究[J].中草药,2010,41(4):542-544.
- [5] 魏玲,周茂金,张铁军.咖啡酸在大鼠体内两个葡萄糖醛酸结合物的分离与鉴定[J].中草药,2010,41(6):949-952.
- [6] Yang X W, Teng J, Xu W, et al. The permeability and the efflux of alkaloids of the *Evodiae Fructus* in the Caco-2 model[J]. *Phytother Res*, 2009, 23(1): 56-60.
- [7] Li F, Yang X W. Simultaneous determination of diastereomers (+)-licarin A and isolicarin A from *Myristica fragrans* in rat plasma by HPLC and its application to their pharmacokinetics[J]. *Planta Med*, 2008, 74(8): 880-884.
- [8] Li F, Yang X W. Determination of dehydrodiisoeugenol in rat tissues using HPLC method[J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22(11): 1202-1212.
- [9] Zhang P, Li F, Yang X W. Determination and pharmacokinetic study of nodakenin in rat plasma by RP-HPLC method[J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22 (7): 758-762.
- [10] 张鹏,杨秀伟.紫花前胡苷在大鼠体内的药代动力学研究[J].中国药理学通报,2008,24(9):1240-1244.
- [11] Zhang P, Yang X W. Biotransformation of nodakenin and simultaneous quantification of nodakenin and its aglycone in incubated system of human intestinal bacteria by HPLC[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2009, 11(4): 371-379.
- [12] Zhang P, Yang X W. A new metabolite of nodakenin by rat liver microsomes and its quantification by RP-HPLC method[J]. *Biomed Chromatogr*, DOI: 10.1002/bmc.1276, 2009-07.
- [13] 杨秀伟,张鹏,吴琦.羌活中二氢呋喃香豆素在人源肠 Caco-2 细胞单层模型的吸收转运研究[J].中草药,2009,40(5):748-753.
- [14] Zhang Y B, Yang X W. Rapid and sensitive RP-LC method for the quantification and pharmacokinetic study of *p*-hydroxyphenethyl anisate in rat plasma[J]. *Chromatographia*, 2009, 70(3/4): 591-595.
- [15] 杨秀伟,郭庆梅,王莹.独活中6种香豆素类成分在Caco-2细胞单层模型中的吸收转运研究[J].中西医结合学报,2008,6(4):392-398.
- [16] Zhang Y B, Yang X W. A simple RP-HPLC method for quantification of columbianadin in rat plasma and its application to pharmacokinetic study[J]. *Biomed Chromatogr*, DOI: 10.1002/bmc.1310, 2009.
- [17] 王文燕,赵强,张铁军,等.决明子的HPLC指纹图谱及模式识别研究[J].中草药,2009,40(10):1638-1641.
- [18] 王文燕,赵强,张铁军,等.白芍的HPLC指纹图谱及模式识别研究[J].中草药,2009,40(11):1810-1814.
- [19] 王文燕,赵强,张铁军,等.川芎的HPLC指纹图谱及模式识别研究[J].中草药,2009,40(12):1980-1983.
- [20] 黎阳,刘素香,张铁军,等.枳实药材的指纹图谱研究[J].中草药,2009,40(9):1469-1474.
- [21] 王文燕,赵强,张铁军,等.牛黄降压丸的高效液相指纹图谱研究[J].中草药,2010,41(1):56-57.
- [22] 张铁军,韩世柳,田成旺,等.清咽滴丸极性成分的高效液相指纹图谱及其模式识别的研究[J].中草药,2010,41(8):1282-1285.