

疏风解毒胶囊的系统质量标准提升研究

张铁军¹, 朱月信², 刘素香¹, 田成旺¹, 许浚¹, 韩彦琪¹

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 安徽济人药业有限公司, 安徽 亳州 236800

摘要: 提出中药材和复方中药质量研究思路 and 模式, 应用该模式方法对疏风解毒胶囊原料药材和制剂进行了系统的质量标准提升研究。对虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味药材的化学物质组进行辨识, 指认确定 184 个成分, 建立 8 个药材的指纹图谱; 通过化学物质组与抗炎药效相关性研究, 确定 10 个成分为疏风解毒胶囊的主要抗炎药效物质基础, 建立了疏风解毒胶囊的多指标成分定量测定方法和指纹图谱控制方法。实现对疏风解毒胶囊质量标准的全面提升。

关键词: 复方中药; 疏风解毒胶囊; 质量标准; 模式方法; 提升研究

中图分类号: R284; R285; R286.022 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)12-2027-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.12.002

Promotion on systematic quality standard of Shufeng Jiedu Capsule

ZHANG Tie-jun¹, ZHU Yue-xin², LIU Su-xiang¹, TIAN Cheng-wang¹, XU Jun¹, HAN Yan-qi¹

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Anhui Jiren Pharmaceutical Co., Ltd., Bozhou 236800, China

Abstract: The idea and model of quality research on traditional Chinese medicinal materials and compound Chinese materia medica were established and this method was applied to systematical promoting the quality standard of raw herbal materials and preparation of Shufeng Jiedu Capsule (SJC). The chemical components from *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix*, *Forsythiae Fructus*, *Isatidis Radix*, *Bupleuri Radix*, *Patriniae cum Radice Herba*, *Verbenae Herba*, *Phragmitis Rhizoma*, and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* were identified and 184 compounds were determined. The fingerprints of the eight medicinal materials were established, 10 compounds were identified as the anti-inflammatory substance of SJC by studying the correlation between chemical components and their anti-inflammation effect. The methods of multi-component determination and fingerprint controlling have been established and the quality standard of SJC has been improved comprehensively.

Key words: compound Chinese materia medica; Shufeng Jiedu Capsule; quality standard; pattern method; research on promotion

中药的质量评价和控制是对中药安全性、有效性和质量均一性最有效的控制手段, 中药质量是对其有效性和安全性的反映和表征, 是中医临床用药和中成药有效性控制的重要依据。近年来, 我国中医药学者对中药质量控制技术方法进行了大量的研究和探索, 从单指标成分定量测定到多指标成分定量测定等技术方法, 这些研究成果无疑对中药质量评价和质量控制水平的提高起到积极的促进作用。但是, 目前质量控制方法还存在许多问题: ① 已有的研究思路和方法未能聚焦和体现中药自身的传统药物属性、临床用药方式和作用特点; ② 现行中药的控制指标和方法与临床安全性和有效性的关联性

不强; ③ 目前, 多数中药质量标准仍采用单一成分的定量测定, 控制指标不能反映中药质量的完整性; ④ 目前中药质量标准的制定未考虑药材形成过程及中成药生产过程中的复杂因素的影响, 尚未实现全程的质量控制, 不能对产品的安全性、有效性及质量的一致性提供可靠的质量保障。

疏风解毒胶囊由虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味中药组成, 具有疏风清热、解毒利咽的功效, 用于急性上呼吸道感染属风热症^[1-2], 症见发热、恶风、咽痛、头痛、鼻塞、流浊涕、咳嗽等。目前, 疏风解毒胶囊现行质量标准仅规定柴胡、连翘、甘草薄层色谱鉴别和大

收稿日期: 2016-03-25

作者简介: 张铁军, 硕士生导师, 研究员。Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjipr.com

黄素定量测定,而本品由 8 味中药组成,成分复杂,质量控制手段和质控指标尚处在较简单的初级阶段,已严重制约了本产品的市场拓展、临床应用以及国际化进程,为此,有必要对其进行全面的质量标准提升研究。

1 基于药材形成全过程的药材质量标准体系的建立

中药原料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基本规律。在药材基原整个个体发育过程中,形成其质量的基本内容,因此,药材质量是由其种质的遗传物质基础及其个体发育过程中的生态(环境)历程所决定的。药材质量的表达具有

多维性和多重性的特点,既反映在形态和化学物质组群等方面,又有药效和药性的两方面的基本内涵,并且,最终以方剂的形式在临床上体现^[3-5]。

本文基于药材形成的全过程,提出从药材基原的形态统计学分析分类鉴定-药材取样-有效部位确定的药效学研究-有效成分代谢及体内过程研究-药效物质基础研究及质量控制指标的确定-定量测定-指纹图谱研究-谱效关系研究-质量评价等质量分析的全过程中药质量分析技术方法和系统的评价体系,构建中药质量分析规范性研究技术,最终提出科学、规范、适合推广应用的技术方法和系统的评价体系(图 1)。

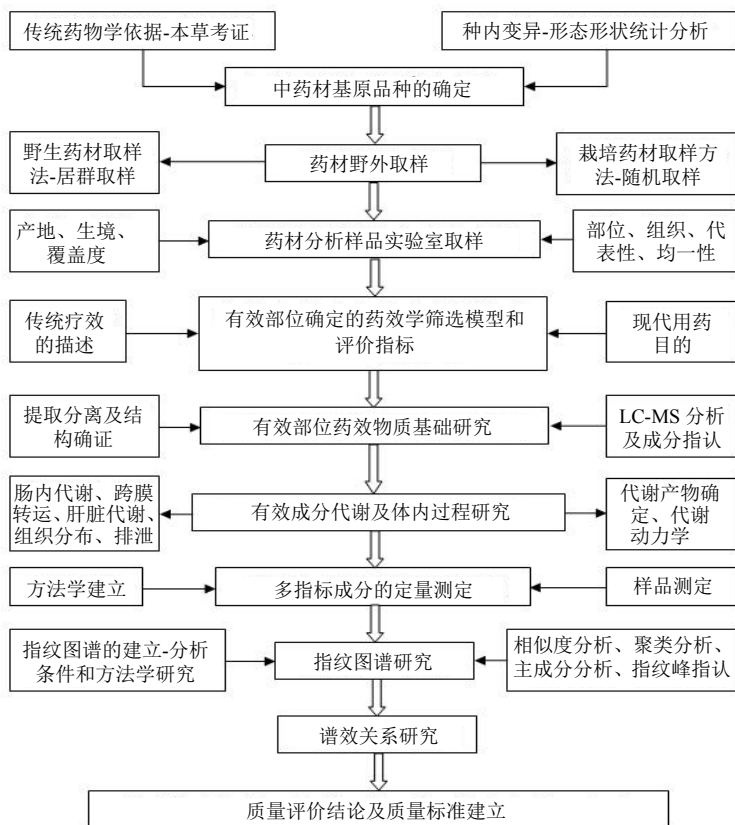


图 1 中药材质量研究及质量标准建立技术体系

Fig. 1 Technical system of quality research and quality standard establishment for traditional Chinese medicinal materials

2 疏风解毒胶囊组成药材质量标准提升研究

疏风解毒胶囊原料药材质量标准的提升研究,首先,对虎杖、连翘、板蓝根、柴胡、败酱草、马鞭草、芦根、甘草 8 味药材进行化学成分研究,通过液质指认分析,确定了虎杖等药材中共 184 个化合物;进一步建立了以上 8 味组成药材 HPLC 指纹图谱评价体系,通过系统聚类分析和相似度评价系统建立各个药材对照指纹图谱共有模式,对每个药

材的 14 批样品采用指纹图谱的方法进行质量评价;建立了马鞭草药材中戟马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷 3 个成分的定量测定方法,方法简便、准确,重复性好,采用建立的方法对 14 批药材进行了测定;并按照《中国药典》2015 年版一部中虎杖、连翘、甘草、柴胡、板蓝根的定量测定方法,测定了 70 批次 5 味药材。对疏风解毒胶囊原料药材的质量标准进行了全面的提升。

2.1 虎杖质量标准提升研究

虎杖 *Polygoni Cuspidati Rhizoma et Radix* 为蓼科 (Polygonaceae) 蓼属 *Polygonum* L. 植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎和根。对于虎杖的质量研究报道较多,《中国药典》2015 年版对虎杖药材的质量控制主要从性状和显微鉴别、薄层色谱鉴别以及虎杖苷和大黄素的量进行了规定。文献报道多采用 HPLC 法测定虎杖中虎杖苷、白藜芦醇、大黄素、大黄素甲醚及总黄酮的量以及采用酚-硫酸比色法测定多糖的量来控制虎杖的质量。亦有采用 HPLC 指纹图谱的技术来评价虎杖药材质量的报道。

虎杖作为疏风解毒胶囊方中君药,是制成疏风解毒胶囊的关键原料,因此首先应对虎杖药材质量进行控制。

(1) 通过化学对照品法及采用液质联用方式指认 13 个化合物,分别为虎杖苷、表儿茶素没食子酸酯、6'-没食子酰基-白藜芦醇苷、2'-没食子酰基-虎杖苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、新芒果苷、白藜芦醇、决明松-8-*O*-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、决明松、大黄素甲醚-8-葡萄糖苷、大黄酸、大黄素。

(2) 根据《中国药典》2015 年版虎杖项下的测定方法,测定 14 批虎杖药材中虎杖苷、大黄素的量。表明各批次间虎杖苷、大黄素的量差异较大。

(3) 建立了虎杖 HPLC 法指纹图谱的质量评价方法,通过对 14 批虎杖药材进行系统聚类分析和相似度评价,建立虎杖药材指纹图谱的共有模式。14 批虎杖药材与对照指纹图谱间的相似度为 0.998~0.921。建立的虎杖药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为虎杖药材的质量评价提供了依据。

(4) 对指纹图谱中 11 个特征峰进行指认,分别为虎杖苷、表儿茶素没食子酸酯、6'-没食子酰基-白藜芦醇苷、大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、新芒果苷、白藜芦醇、决明松-8-*O*-葡萄糖苷、决明松、大黄素甲醚-8-葡萄糖苷、大黄酸、大黄素。

2.2 连翘质量标准提升研究

连翘 *Forsythiae Fructus* 为木犀科 (Oleaceae) 连翘属 *Forsythia* Vahl 植物连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl 的干燥果实。《中国药典》2015 年版对连翘药材中连翘苷和连翘酯苷 A 的量进行了控制。文献报道采用 HPLC 法测定连翘中连翘苷、连翘酯苷 A 和芦丁的量,采用比色法测定总黄酮的量。亦有采用 HPLC 指纹图谱技术来评价不同连翘药材

的质量研究报道。

(1) 通过化学对照品法及采用液质联用方式初步识别了 25 个化合物,包括 12 个苯乙醇苷类成分、8 个木脂素类成分、5 个黄酮类化合物,分别为 3,4-dihydroxyphenylethanoid glycoside、2-methoxy-3,4,5-trihydroxyphenylethanoid glycoside、连翘酯苷 E、*p*-coumaroyl-(6-*O*-caffeoyl)-glucoside、羟基连翘酯苷 A、羟基连翘酯苷 I、羟基连翘酯苷 H、连翘酯苷 J、连翘酯苷 I、连翘酯苷 A、芦丁、连翘酯苷 H、连翘种苷 A、松脂素-4'-葡萄糖苷、松脂素-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、表松脂素-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、异连翘苷、isolariciresinol-6-*O*-β-glucoside、连翘苷、羟基连翘脂素、连翘脂素、4',6-dihydroxyquercetin、槲皮素、6-hydroxy-dihydroquercetin、4'-hydroxy-dihydroquercetin。

(2) 连翘为疏风解毒胶囊的重要组成原料,对连翘的质量提升研究中选取连翘苷、连翘酯苷 A 作为对连翘药材质量的评价指标。根据《中国药典》2015 年版连翘项下定量测定方法测定 14 批连翘药材中连翘苷、连翘酯苷 A 的量。

(3) 建立连翘 HPLC 指纹图谱质量评价方法和 HPLC 指纹图谱的共有模式,采用连翘 HPLC 指纹图谱质量评价体系对 14 批连翘样品进行评价,结果表明连翘质量存在差异,批次个别质量较差。建立的连翘药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为连翘药材的质量评价提供依据。

(4) 采用液质联用法对连翘指纹图谱中 10 个主要特征峰进行指认,分别为 3,4-dihydroxyphenylethanoid glycoside、连翘酯苷 J、连翘苷、芦丁、2-methoxy-3,4,5-trihydroxyphenylethanoid glycoside、连翘酯苷 A、β-羟基连翘酯苷 A、β-coumaroyl-(6-*O*-caffeoyl)-glucoside、β-羟基连翘酯苷 I、松脂素-4'-β-葡萄糖苷。

2.3 板蓝根质量标准提升研究

板蓝根 *Isatidis Radix* 为十字花科 (Cruciferae) 菘蓝属 *Isatis* L. 植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。《中国药典》2015 年版对板蓝根药材中(*R,S*)-告依春的量进行了控制。文献报道采用 HPLC 法测定了板蓝根中 (*R,S*)-告依春、靛玉红、腺苷、氨基酸等的量。

(1) 通过化学对照品法及采用液质联用方式初步指认,共检测出 23 个离子流峰,分析识别了其中 20 个化合物,包括 8 个氨基酸类成分、1 个生物碱

类成分、1 个糖类成分、3 个木质素类成分、3 个黄酮类成分和 4 个小分子酚酸类成分,分别为精氨酸、胞苷、苹果酸、告伊春、尿苷、腺苷、次黄嘌呤、鸟苷、苯丙氨酸、鸟嘌呤衍生物、3,4-二羟基苯乙醇苷、2,3,4-三羟基-5-甲氧基苯乙醇苷、葡萄糖醛酸、柠檬酸苷、落叶松树脂素-4,4'-二葡萄糖苷、异苾草苷-6"-O-鼠李糖-(1→2)-葡萄糖苷、异牡荆苷-6"-O-鼠李糖-(1→2)-葡萄糖苷、板蓝根木脂苷 A、异金雀花素、板蓝根木脂素 A。

(2) 根据《中国药典》2015 年版板蓝根项下定量测定方法测定 14 批板蓝根药材中表告依春的量。

(3) 建立了板蓝根 HPLC 指纹图谱的质量控制方法,通过系统聚类分析和相似度评价系统建立板蓝根对照指纹图谱共有模式。对 14 批板蓝根药材采用指纹图谱的方法进行质量评价,结果表明收集的药材多数质量较好,有个别质量较差的情况存在。建立的板蓝根药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为板蓝根药材的质量评价提供了依据。

(4) 采用液质联用法对板蓝根指纹图谱中 5 个主要特征峰进行了指认,分别为腺苷、次黄嘌呤、苯丙氨酸、鸟嘌呤衍生物、鸟苷。

2.4 柴胡质量标准提升研究

柴胡 *Bupleuri Radix* 为伞形科 (Umbelliferae) 柴胡属 *Bupleurum* L. 植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. 的干燥根。《中国药典》2015 年版柴胡质量标准中规定了柴胡皂苷 a 和 d 的总量不得少于 0.30%。柴胡为疏风解毒胶囊中的重要组成药材之一,为保证疏风解毒胶囊质量稳定均一性和安全有效性,需要对柴胡的质量进行深入研究,以保证成品质量。

(1) 通过化学对照品法及其液质联用技术对指纹图谱的 24 个特征峰进行指认,指认了 19 个峰,分别是绿原酸、芦丁、异绿原酸 A、异绿原酸 B、7-甲氧基异鼠李素、草柴胡皂苷、柴胡皂苷 A、柴胡皂苷 B、2,3"-乙酰化柴胡皂苷 A、3"-乙酰化柴胡皂苷 B2、丙二酰基柴胡皂苷、2"-乙酰化柴胡皂苷、柴胡皂苷 D、6"-乙酰化柴胡皂苷 A、6"-乙酰化柴胡皂苷 B2、丙二酰基柴胡皂苷 D、2",3"-乙酰化柴胡皂苷 A、2",3"-乙酰化柴胡皂苷 B2、5-羟基-7-乙酰氧基黄酮。

(2) 采用药典法测定 15 批次柴胡药材,测定结果表明各批药材均符合药典规定,但各批次间柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的量有所差异,为产品的质量

稳定均一和临床安全有效性带来影响,需重视控制药材的质量。

(3) 建立了柴胡 HPLC 指纹图谱的质量评价方法,通过系统聚类分析和相似度评价系统建立柴胡对照指纹图谱共有模式。对 15 批次柴胡药材采用指纹图谱的方法进行质量评价。建立的柴胡药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为柴胡药材的质量评价提供依据,为疏风解毒胶囊质量控制提供了可靠的保证。

2.5 马鞭草质量标准提升研究

马鞭草 *Verbenae Herba* 为马鞭草科 (Verbenaceae) 马鞭草属 *Verbena* L. 植物马鞭草 *Verbena officinalis* L. 的干燥地上部分。《中国药典》2015 年版对马鞭草药材中齐墩果酸和熊果酸的量进行了控制。文献报道采用 HPLC 法测定马鞭草中马鞭草苷、戟马鞭草苷、毛蕊花糖苷、熊果酸、齐墩果酸、木犀草素、芹菜素和山柰酚等成分,亦采用 HPLC 指纹图谱的技术评价不同马鞭草药材的质量。

(1) 利用液质联用技术,对马鞭草的化学成分进行了分析鉴定,共鉴定了 22 个色谱峰,其中 5 个环烯醚萜类成分、7 个苯丙素类成分、9 个黄酮类化合物和 1 个小分子酸性成分,分别为柠檬酸、5-羟基-8-丙酰氧基马鞭草苷、6-羟基马鞭草苷、对香豆酰-(6-O-咖啡酸)-葡萄糖苷、戟叶马鞭草苷、3,4-二氢马鞭草苷、马鞭草苷、β-羟基马鞭草苷、β-羟基异马鞭草苷、木犀草素-7-O-二葡萄糖苷酸、野黄芩素-7-O-二葡萄糖苷酸、野黄芩素-7-O-(2-O-阿魏酸)-二葡萄糖苷酸、槲皮素-7-O-葡萄糖苷酸、芹糖基-7-O-二葡萄糖苷酸、毛蕊花苷、异毛蕊花苷、野黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、甲氧基毛蕊花苷、槲皮苷、芹糖基-7-O-葡萄糖苷酸、4'-羟基次黄芩素-7-O-葡萄糖苷酸、广防风苷 A。

(2) 建立了采用 HPLC 法测定马鞭草药材中戟马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷 3 个成分的方法,方法简便、准确,重复性好。对 14 批马鞭草药材 3 个指标成分进行了定量测定,结果表明各批次样品间戟马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷量差异较大。

(3) 建立了马鞭草 HPLC 指纹图谱的质量评价方法,通过系统聚类分析和相似度评价系统建立马鞭草对照指纹图谱共有模式。对 14 批马鞭草药材采用指纹图谱的方法进行质量评价,结果表明收集的药材多数质量较好,有个别质量较差的情况存在。

建立的马鞭草药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为马鞭草药材的质量评价提供了依据。

(4) 采用对照品结合液质联用法对马鞭草指纹图谱中的主要特征峰进行指认。指纹图谱中 5 个主要特征峰中的 4 个为柠檬酸、戟马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷。

2.6 败酱草质量标准提升研究

败酱草 *Patriniae cum Radice Herba* 为败酱科 (Valerianaceae) 败酱属 *Patrinia* Juss. 植物黄花败酱 *Patrinia Scabiossefolia* Fisch. 的干燥全草。《中国药典》2015 年版未对其药材进行收录,仅收录于《湖南省中药材标准》等中药材地方标准中,检查项目仅规定了药材显微鉴别特征、药材性状、总灰分、水分等,很难全面、合理地评价药材的质量,相关质量标准的研究报道很少。因此,对败酱草药材进行质量控制研究具有重要意义。

(1) 利用液质联用技术对败酱草的化学成分进行了分析鉴定,共鉴定了 21 个色谱峰对应的化合物,其中包括 4 个环烯醚萜类成分、2 个香豆素类成分、5 个黄酮苷类成分、6 个木脂素类成分和 4 个三萜类成分,分别为二羟基败酱苷、patriscabrolside II、methyl patriscabrolside II、patridoid I、东莨菪亭葡萄糖苷、二羟基东莨菪亭葡萄糖苷、3'-羟基山柰素-3-O-鼠李糖基-1-3-阿拉伯糖苷、山柰素-3-O-鼠李糖基-1-3-阿拉伯糖苷、山柰素-3-O-葡萄糖苷、羟基双氢穗罗汉松树脂酚苷、山柰素-3-O-鼠李糖苷、7-甲基-山柰素-3-O-鼠李糖苷、去甲基异落叶松树脂醇-6-鼠李糖苷、3-O- α -L-arabinosyl- β -D-glucopyranosyl 28-xylosyl-28-oleanic acid ester、异落叶松树脂醇-6-O- β -葡萄糖苷、甲氧基异落叶松树脂醇-6-O- β -葡萄糖苷、双氢乌索酸/齐墩果酸、常春藤皂苷元、乌索酸/齐墩果酸。

(2) 建立了败酱草 HPLC 指纹图谱的质量控制方法,通过系统聚类分析和相似度评价系统建立败酱草对照指纹图谱共有模式。对 14 批败酱草药材采用指纹图谱的方法进行质量评价,结果表明收集的药材多数质量较好,有个别质量较差的情况存在。建立的败酱草药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,可为败酱草药材的质量评价提供了依据。

(3) 采用建立的 HPLC 指纹图谱方法测定不同品种的败酱草,特征峰有明显的差异,结果表明本方法可以进行鉴别败酱草不同品种,为疏风解毒胶囊质量的稳定均一性和疗效提供了保障。

(4) 采用液质联用法对败酱草指纹图谱中的主要特征峰进行指认。指纹图谱中 4 个主要特征峰为 methyl patriscabrolside II、patridoid I、3'-羟基山柰素-3-O-鼠李糖基-1-3-阿拉伯糖苷、7-甲基-山柰素-3-O-鼠李糖苷。

2.7 芦根质量标准提升研究

芦根 *Phragmitis Rhizoma* 为禾本科 (Gramineae) 芦苇属 *Phragmites* Adans. 植物芦苇 *Phragmites communis* Trin. 的新鲜或干燥根茎。《中国药典》2015 年版对芦根药材仅规定了药材显微鉴别特征、药材性状、总灰分、水分等,很难全面、合理地评价药材的质量。

芦根为疏风解毒胶囊方中佐药,现行的芦根标准不符合其要求。由于对芦根药材化学成分及质量等的研究报道很少,因此,对芦根药材进行质量控制更具有重要意义。

通过研究建立符合疏风解毒胶囊质量控制的芦根 HPLC 指纹图谱的质量评价方法,建立芦根 HPLC 指纹图谱共有模式,为芦根药材的质量评价提供了依据。对 14 批芦根药材进行相似度评价,结果表明多数批次质量较好,有个别质量较差的情况存在。建立的芦根药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好,为原料芦根的真伪鉴别及相似性判别提供评价依据。

2.8 甘草质量标准提升研究

甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* 为豆科 (Leguminosae) 甘草属 *Glycyrrhiza* L. 植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根和根茎。对于甘草的质量控制研究报道较多,现行的甘草药材标准 (《中国药典》2015 年版) 中对甘草苷和甘草酸的量进行定量,有研究报道采用 HPLC 法同时测定甘草中甘草酸、甘草苷、异甘草素等多种成分的量。以及采用 HPLC 及 HPCE 指纹图谱技术来评价不同甘草药材的质量的研究。

(1) 通过化学对照品法及采用液质联用方式初步指认 40 种化合物,包括 26 个黄酮类成分、11 个三萜皂苷类成分、2 个香豆素类化合物和 1 个其他类化合物,分别为芹糖基甘草素-7,4'-二葡萄糖苷、夏佛塔苷、甘草素-4'-芹糖基-(1 \rightarrow 2)-葡萄糖苷、甘草苷、异甘草苷、5-羟基甘草素-6'-乙酰基-葡萄糖苷酸、芹糖基-甘草苷、芹糖基-异甘草苷、7-甲氧基黄酮-4'-葡萄糖苷、新甘草黄苷、新异甘草黄苷、双氢甘草酸、香豆素、甘草素、异甘草素、二羟基甘草酸、

甘草皂苷 G、羟基甘草酸、羧基甘草酸、甘草酸、甘草皂苷 B、乌拉尔甘草皂苷 B、甘草皂苷 H2、甘草皂苷、甘草皂苷 J2、乌拉尔醇、甘草宁 N、乌拉尔宁、甘草黄酮醇、异甘草黄酮醇、甘草宁 I、甘草宁 M、甘草宁 G、6-prenylated、6-异戊二烯基-2',7-二羟基-5,4'-二甲氧基黄酮、5-甲氧基光果甘草酮、甘草西定及其异构体、二羟基甘草西定及其异构体、甘草西定及其异构体、双氢甘草西定及其异构体。

(2) 依据《中国药典》2015 年版甘草项下的定量测定方法, 测定了 14 批甘草药材甘草苷、甘草酸的量。结果表明 14 批次其中 2 批次甘草酸的量不符合药典规定, 其余各批均符合药典规定。各批次间甘草苷、甘草酸的量差异较大。

(3) 建立 HPLC 指纹图谱共有模式, 为甘草药材的质量评价提供了依据。对 14 批甘草进行相似度评价, 结果表明收集的药材多数质量较好, 有个别质量较差的情况存在。建立的甘草药材指纹图谱方法稳定、可靠、重现性好, 为原料甘草的真伪鉴别及相似性判别提供评价依据。

(4) 采用对照品结合液质联用法对虎杖指纹图谱中的主要特征峰进行了指认。指纹图谱中 14 个主要特征峰代表的化合物为甘草-4'-芹糖基-(1→2)-葡萄糖苷、甘草苷、5-羟基甘草素-6'-乙酰基-葡萄糖苷酸、芹糖基-甘草苷、新甘草黄苷、新异甘草黄苷、甘草素、

甘草皂苷 G、甘草宁 N、乌拉尔宁、异甘草黄酮醇、甘草宁 I、甘草宁 M、甘草西定及其异构体。

3 复方中药质量控制模式的建立

中药质量控制及质量标准的根本目的是对中药的有效性、安全性及质量的一致性进行有效的控制。因此, 质量控制指标与其安全性、有效性的关联度至关重要。中药成分复杂, 各成分具有不同的生物活性, 各成分之间在疾病生命系统中表现复杂的关联规律, 体现“多重药理功效”特点, 这也是中药复方配伍原理和中药干预疾病的特色和优势的核心所在。因此, 建立复方中药质量控制的科学模式, 首先要通过中药化学物质组与其生物效应表达相关性研究, 确定质量控制的核心指标, 进而以质量要素完整性表达的技术方法建立系统、全面的质量控制体系。复方中药质量研究模式见图 2。在对疏风解毒胶囊药效作用及作用机制研究、药效物质基础研究、血中移行成分研究、网络药理学研究和有效成分体内代谢研究的基础上, 确定质量控制指标, 建立了多指标成分定量测定方法和指纹图谱方法, 对该药质量标准进行全面提升。

4 疏风解毒胶囊质量标准提升研究

4.1 疏风解毒胶囊化学成分分析及药效物质基础的确定

选用与疏风解毒胶囊功能主治相吻合的体外抗

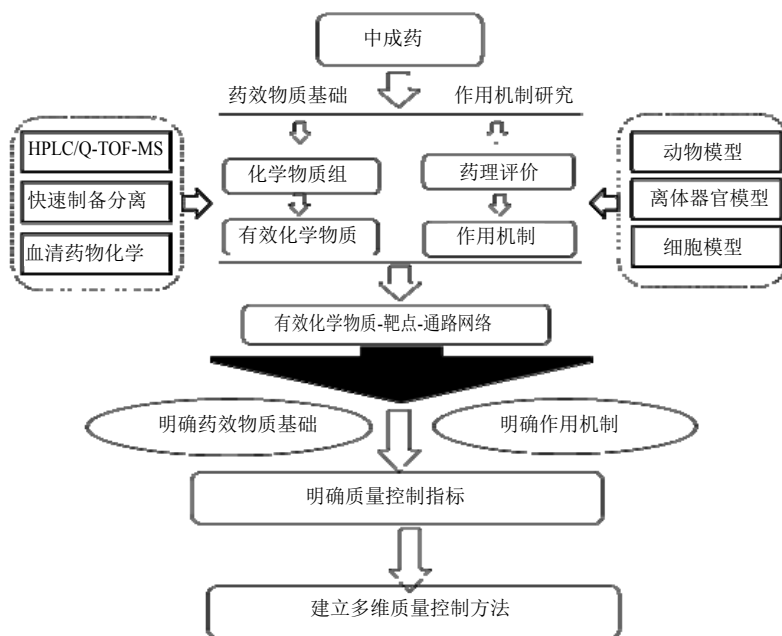


图 2 复方中药质量研究模式

Fig. 2 Quality research mode of compound Chinese materia medica

炎药理模型,对疏风解毒胶囊指纹图谱与体外抗炎药效作用进行了有效成分分析及药效物质基础的研究,结果表明其中 10 个色谱峰对应的化学成分对核因子- κ B (NF- κ B) 表达有显著的抑制作用,通过 HPLC-MS 进行指认,确定了 10 个色谱峰对应的化学成分为连翘酯苷 E、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、连翘酯苷 A、毛蕊花糖苷、异连翘酯苷 A、连翘苷、3-羟基光甘草酚、牡荆苷、大黄素,这为确定疏风解毒胶囊的药效物质基础和质量控制研究提供参考依据。

4.2 疏风解毒胶囊多指标成分定量测定

依据筛选鉴定疏风解毒胶囊中潜在的抗炎活性成分,明确其抗炎药效物质基础主要有苯乙醇苷类(连翘酯苷 E、连翘酯苷 A、异连翘酯苷 A、毛蕊花糖苷)、环烯醚萜苷类(戟叶马鞭草苷、马鞭草苷)、木脂素类(连翘苷)、黄酮类(3-羟基光甘草酚、牡荆苷)和蒽醌类(大黄素)化合物。在此基础上建立了疏风解毒胶囊 HPLC 多指标成分定量测定方法,在同一色谱条件下同时测定虎杖苷、大黄素、连翘酯苷 A、戟叶马鞭草苷、马鞭草苷、毛蕊花糖苷、甘草酸 7 个有效成分,该方法简便、快捷、重复性好、可同时测定 7 种成分。建立了基于“有效性”的疏风解毒胶囊定量控制标准,以保证其有效性和稳定均一性。对近年的 14 批疏风解毒胶囊中的 7 种成分进行了测定。

4.3 疏风解毒胶囊指纹图谱研究

4.3.1 建立了疏风解毒胶囊指纹图谱质量控制分析方法,采用所建立的方法对 14 批疏风解毒胶囊样品进行了指纹图谱测定,采用相似度、聚类分析及主成分分析等数据处理方法对指纹图谱的模式识别研究,确定 22 个共有峰,以 21 号峰为参照物峰计算其相对保留时间和相对峰面积,稳定性试验、重现性试验和精密度试验 RSD 值均在 5% 以下;该方法

稳定、可靠、专属性强、重现性好。

4.3.2 通过疏风解毒胶囊、全方药材及相应的阴性样品指纹图谱进行对照研究,对疏风解毒胶囊 HPLC 指纹图谱 22 个共有特征峰中的 20 个特征峰的来源进行了归属,其中来自于虎杖 8 个、连翘 6 个、马鞭草 3 个、败酱草 1 个、甘草 2 个;通过采用对照品及采用 HPLC-MS 法对色谱峰进行了指认,分别为大黄酚、大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酸、连翘酯苷 E、戟马鞭草苷、马鞭草苷、虎杖苷、甘草苷、连翘酯苷 A、羟基化连翘酯苷 A、毛蕊花糖苷、异连翘酯苷 A、白藜芦醇、3-羟基光甘草酚、牡荆苷、gancaonin G、异甘草苷、甘草素、芒柄花素、uralenol、大黄素、芦荟大黄素。

综上所述,本研究从质量要素完整性表达及质量控制全过程的角度,通过化学成分研究、药效物质基础及质控指标的确定、多指标定量测定、指纹图谱等质控手段和方法,建立了从药材到成品的全过程的质量控制体系,对疏风解毒胶囊质量标准进行了全面的提升。

参考文献

- [1] 李文. 疏风解毒胶囊治疗小儿急性上呼吸道感染的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(9): 1140-1143.
- [2] 胡蓉, 王丽华, 张珺珺, 等. 疏风解毒胶囊治疗急性咽喉炎风热证的临床观察 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(5): 460-462.
- [3] 张铁军, 王文燕. 物种概念及其在中药研究中的作用和意义 [J]. 世界科学与技术—中药现代化, 2004, 6(3): 1-8.
- [4] 张铁军. 中药质量认识与质量评价 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 1-9.
- [5] 肖小河, 王伽伯, 代春美, 等. 面向临床的中药标准化研究 [J]. 世界科学与技术—中药现代化, 2010, 12(4): 617-622.