

• 专 论 •

基于中药属性和作用特点的中药质量标志物研究与质量评价路径

张铁军¹, 王 杰^{2#}, 陈常青¹, 许 浚¹, 龚苏晓¹, 韩彦琪¹, 张洪兵¹, 刘昌孝^{3*}

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 天津市药品检验研究院, 天津 300070

3. 天津药物研究院 新药评价中心 释药技术与药物代谢动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘 要: 中药质量是中药产业的生命线, 但目前中药质量研究上存在诸多问题, 在一定程度上制约了中药产业的健康发展。针对目前中药质量研究存在的问题, 在系统分析和论述中药的基本属性和临床作用特点的基础上, 以质量标志物核心概念为统领, 结合研究实践, 从质量要素的传递与溯源、化学成分与“药性”及“药效”两方面传统功效的关联关系、基于植物亲缘学及生源途径的成分特有性分析等角度, 提出中药质量标志物研究的思路、方法与研究路径。最后, 建立中药质量评价与控制的新的集成模式。

关键词: 中药质量; 质量标志物; 中药产业; 药性; 生源途径; 思路; 方法; 路径

中图分类号: R284; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)06-1051-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.06.001

Method of quality marker research and quality evaluation of Chinese materia medica based on drug properties and effect characteristics

ZHANG Tie-jun¹, WANG Jie², CHENG Chang-qing¹, XU Jun¹, GONG Su-xiao¹, HAN Yan-qi¹, ZHANG Hong-bing¹, LIU Chang-xiao³

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

2. Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

3. Tianjin Center for New Drug Evaluation and Research, State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: The quality of Chinese materia medica (CMM) is the lifeline of Chinese medicine industry. However, many problems are still found in the quality study on CMM, which restricts the healthy development of Chinese medicine industry to a certain extent. Aiming at the problems existing in the quality research on CMM, the research idea, method and approach of quality marker research and quality evaluation of CMM were put forward based on systematic analysis and discussion on the basic properties and clinical features of CMM according to the core concept of quality marker and the combination of research practice, from the perspective of transmission and traceability of quality elements, the relationship between chemical composition and traditional efficacy containing “drug property” and “drug function”, composition analysis of endemicity based on pharmacophylogenetic study and biosynthetic approach. Finally, a new integrated mode of CMM quality evaluation and control was established.

Key words: quality of Chinese materia medica; quality marker; Chinese medicine industry; drug property; biosynthetic approach; research idea; research method; research approach

中药质量是中药临床疗效的根本保证, 中药标准化建设是中药现代化的重中之重。近些年来, 我国中药科技工作者为中药质量控制做了大量的工作, 我国中药质量控制水平也有了长足的进步, 但

收稿日期: 2017-02-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81430096); 国家中医药管理局质量标准化项目(ZYBZH-C-AH-02, ZYBZH-Y-JX-27)

作者简介: 张铁军, 研究员, 主要从事中药新药研发及中药大品种二次开发。Tel: (022)23006848 E-mail: zhangtj@tjpr.com

*通信作者 刘昌孝, 中国工程院院士。E-mail: liuchangxiao@163.com

#并列第一作者 王 杰, 主任药师, 主要从事中药质量研究。Tel: 13512271381 E-mail: tjyjsjie@sina.cn

现行质量标准仍存在诸多问题,难以客观评价和有效控制中药质量,针对这一问题,刘昌孝院士^[1]提出了中药质量标志物的新概念,围绕质量标志物这一核心概念,我国学者开展了质量研究工作,逐步形成质量研究的新模式^[2-4]。本文针对质量标志物的核心概念,提出基于中药属性和作用特点的中药质量标志物研究与质量评价对策。

1 中药的属性、作用特点及在质量评价中的重要性

中药质量是对中药有效性的表征,反映中药在安全性、有效性方面的差异。中药不同于由单一化学物质组成的化学药,其源于生物有机体,多以复方的形式临床应用,特别是中成药,还需要经复杂的制备过程形成复方制剂。中药有效性的认识及临床运用的依据是中医理论和数千年的人种药理学经验。因此,中药质量认识和质量评价应基于中药的基本属性和临床作用特点。

1.1 中药的基本属性

1.1.1 中药质量的传统药理学属性 传统药理学对于中药的安全性、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,本草学的证据在中药质量评价中占有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) 中药材基原品种沿革:本草学证据是确定中药基原的重要依据。中药材的品种具有“一脉相承”“沿革变迁”的特点,在中医学漫长的过程中,随着人种药理学经验的积累和认识的逐渐加深,中药基原品种也经历了继承、延续、变革、演化、发展等过程,同一药材在不同历史时期所用品种可能不同,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。同一药材在不同地区所用品种也可能不一,即“地区习惯用药”,如刘寄奴,南方用菊科奇蒿 *Atemisia anomala* S. Moore, 北方用玄参科阴行草 *Siphonostegia chinensis* Benth., 湖南、湖北用金丝桃科元宝草 *Hypericum sampsonii* Hance 和湖南连翘 *Hypericum ascyron* L.。因此,应详细辨析中药品种的沿革变迁、传统医药学经验积累的历史环境,确定中药基原品种。

(2) 中药材道地性及产地变迁:中药质量具有产地依赖性,产地的生态因子与药材质量攸关,同一物种的不同居群,由于分布区的不同及生长的生态环境

的差异,产生了相应的变异和分化,从而引起品质的差异。研究药用植物与其生境之间的相互关系,不仅直接关系到中药材的产量和品质,同时也是探索道地药材形成规律和实质的重要途径之一。

产地的生态环境因子是中药有效成分生物合成的反应条件,中药材“产地属性”与中药质量紧密联系在一起。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。产地的沿革与变迁规律、道地药材成因分析以及产地生态环境与药材质量的相关性研究,均应作为中药质量研究的重要内容。

1.1.2 中药质量的生物学属性 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,种间化学成分的差异体现到临床功效的差异。单基原中药材虽然来源于单一物种,但种内变异非常普遍,这些变异属于可遗传的变异,分类学上将这些变异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。药用植物中普遍存在化学多态性的现象,化学生态型是植物种内分化变异的一种,如刘桂新等^[5-7]将东北薄荷 *Mentha sachalinensis* (Briq. ex Miyaabe et Miyake) 划分为 β 蒎烯-柠檬烯型、薄荷酮-二氢香芹酮型和芳樟醇型 3 种化学生态型;将国产野生薄荷 *Mentha haplocalyx* Briq. 划分为 6 种化学型:薄荷酮-胡薄荷酮型、胡椒酮型、氧化胡椒酮-氧化胡椒烯酮型、芳樟醇-氧化胡椒酮型、香芹酮型、薄荷醇-乙酸薄荷酯型。不同的种内变异类群因其次生代谢产物合成的相关基因存在差异,而产生化学成分种类、绝对含量和相对含量的不同,形成药材质量的优劣各异。

1.1.3 中药质量的化学实质 中药作为复杂化学物质体系,化学物质的构成是其质量评价和质量控制的重要依据。中药化学物质的形成、变化及其生物效应表达具有极其复杂的特点,因此,应从整个中药化学物质群的形成、变化、传递等的系统过程,对中药质量的化学实质进行认识、评价和控制。

(1) 化学物质群的形成——生源途径:中药的活性成分多为植物的次生代谢产物,在植物体内按照一定的合成路线合成积累。如乙酰辅酶 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): 合成苯丙素类、木脂素类、香豆素类、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。每种植物根据其起源与演化过程中的地质历程和生态历程, 以及系统位置合成各自特定的次生代谢产物。

环境因子提供生物合成的起始原料和反应条件, 次生代谢产物也是植物与环境相互适应的结果。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, 如芪类; 某些成分是昆虫拒食物质, 如某些生物碱; 某些成分是植物的化感物质, 如阿魏酸等酚酸类^[8]。这些次生代谢产物的种类、量以及各成分之间的相对比例共同决定中药的品质及疗效。

(2) 亲缘关系与化学成分的规律性^[9]: 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), 大多数的“属”是一个自然的类群。②各成员之间的差异无不打上系统发育过程的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、生源途径假说与传统药理学结合, 形成药用植物化学地理学、疗效地理学等新兴学科和领域。根据以上理论对中药化学成分的特有性分析和功效预测, 为新药寻找提供有益线索, 并作为确定质量评价指标的重要依据。

1.2 中药的生物效应表达特点

1.2.1 传统功效的“药性”和“药效”的双重表达特点 “药性”与“药效”(功效)均是中医药理论的核心概念, 是从不同侧面、不同角度对中药治疗疾病性能的客观描述。“药性”和“药效”体现中药的“物质基础”作用人体疾病主体的不同层面、不同方式的生物效应表达形式, 二者呈现复杂的离合关系^[2-6]。“性-效-物”的表征、相关性规律研究是阐释中药的药效物质基础、作用原理以及配伍规律, 指导临床实践的重要依据和研究路径。

以往研究基于“成分-药效”的生物模型方法的

二元研究模式存在诸多问题, 其忽视了中药“药性”的基本属性, 对中药功能价值表征不完整。“性-效-物”三元论基于中医药的生命观、系统论和普遍联系的理论特点, 从中药的基本属性、理论的基本概念、术语出发, 完整阐释中药治疗疾病的物质基础和作用机制, 对于继承和发扬中医药宝贵经验、还原和阐释中医药理论、凸显中医药理论体系特点和指导临床实践均具有重要的意义。因此, 在中药质量评价时, 在考虑中药药效(功能)物质基础的同时, 亦应将“药性”物质基础纳入质量评价指标, 这对于反映中药作用特点和中药质量的完整性、体现中药特点的“精准质量”更具有重要的现实意义。

1.2.2 中药的临床运用方式和显效形式 中药的有效性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, 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, 中药复方更具有“系统质效应”, 中药复方的系统质具有“非加和性”, 复方中药的质量评价, 应有与组方配伍理论相关的整体思路。

1.3 中药制备过程及体内过程的质量传递

中药需要经历从药物分子植物体内的生物合成-制备过程的变化、获取和传递-体内过程的“万里长征”, 一些成分还需“脱胎换骨”形成代谢产物才能最终发挥生物效应。这一过程实现了中药质量的传递。

1.3.1 药物制备过程的成分变化与质量传递 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。

许多药材需炮制后使用, 炮制的目的包括减毒、增效、缓和药性、有利成分的煎出。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。提取过程是对中药化学物质群及中药的有效性的重新获取过程, 其中包含着多组分化学物质的取舍和成分的复杂变化。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, 提取纯化工艺是中药(中成药)质量再形成的关键因素。

1.3.2 药物传输途径及其体内过程中化学成分的变化

化 中成药以一定剂型为载体, 通过特定的传输途径进入体内, 体内过程研究既是物质-功效关联的最终方法, 还提供原型成分-效应物质关联传递及其溯源路径, 为质量标志物的确定提供重要依据。

2 质量标志物发现和确定的依据及研究路径

2.1 基于质量要素传递与溯源的中药化学物质组的系统研究

中药的化学成分通过生物体内合成、中药制备过程的提取纯化以及体内过程的吸收与代谢等整个过程, 才最后发挥治疗疾病的作用。从质量控制的角度, 应重视以上 3 个环节化学成分的传递与变化, 以质量要素传递与溯源的思路统领, 建立全产业链的质量控制体系。按照这一思路, 本课题组对六经头痛片的化学物质组进行了系统研究。

2.1.1 药材中“原有成分”辨识研究 首先, 对方中白芷、辛夷、藁本、川芎、葛根、细辛、女贞子和荆芥穗油 8 味主要原料药材的化学物质组进行辨识研究, 采用 HPLC-Q/TOF-MS 方法从白芷、辛夷、藁本、川芎、葛根、女贞子药材中共鉴定出 162 个化学成分; 采用 GC-MS 方法, 从辛夷挥发油、细辛挥发油和荆芥穗油中共鉴定出 175 个挥发性化学成分; 总计从原料药材中鉴定了 337 个化学成分。

2.1.2 制剂中“原型成分”的辨识研究 进一步采用 HPLC-Q-TOF/MS 技术对六经头痛片中原型成分进行研究, 分析鉴定了制剂中含有的 96 个化学成分, 主要为异黄酮类、香豆素类、环烯醚萜类和苯醌类等成分, 并采用药材 BPI 图谱随行对照法对化合物来源进行归属, 分别来源于组方中的 7 味药材, 其中来源于葛根药材的有 34 个, 多为异黄酮类成分且量相对较高, 来源于女贞子药材的有 21 个, 多为环烯醚萜类成分, 来源于白芷药材 17 个, 主要为香豆素类成分, 来源于川芎药材 14 个, 多为苯醌类成分, 来源于藁本 12 个, 也多为苯醌类成分, 来源于辛夷 10 个, 主要为木脂素类成分, 来源于菴蔚子药材的只有 1 个。全面解析了六经头痛片的化学物质基础, 为进一步明确其药效物质基础和质量控制提供了参考。

2.1.3 血中“效应成分”的辨识研究 运用 HPLC-Q/TOF-MS 技术, 从给予六经头痛片的大鼠血浆中共鉴定了 46 个血中移行成分, 其中包括 24 个吸收原型成分和 22 个代谢产物。在大鼠血浆中的 24 个六经头痛片原型成分中包括 10 个异黄酮类成分, 9 个苯丙素类成分 (6 个香豆素类成分、2 个木脂素类成分、1 个苯丙酸类成分), 2 个苯醌类成分, 1 个环

烯醚萜苷类成分, 1 个苯乙醇苷类成分和 1 个其他类成分。已鉴定的 22 个代谢产物中, 3 个是葛根素, 4 个是阿魏酸, 6 个是大豆苷元, 2 个是 3'-甲氧基葛根素, 5 个是染料木素, 2 个是芒柄花素的代谢产物。

2.2 基于化学成分生源途径及特有性的质量标志物研究路径

质量标志物是中药质量评价的核心指标, 但中药化学成分复杂, 一种中药含有多种化学成分, 而不同药材可能含有相同的化学成分。因此, 在明确中药的化学物质组的前提下, 通过化学成分的生源途径及特有性分析, 选择具有代表性、特异性的化学成分, 进一步聚焦锁定质量控制指标, 可提高质量控制的针对性和指向性。

本课题组对元胡止痛滴丸中延胡索的化学成分的生源途径和特有性进行了分析。延胡索为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的地下块茎, 其所含生物碱类化合物主要为 3 类: 原小檗碱型生物碱 (叔胺类延胡索甲素、延胡索乙素等和季铵类小檗碱、巴马汀等)、原托品碱型生物碱 (原阿片碱、 α -别隐品碱等) 和阿朴菲型生物碱 (*D*-海罂粟碱等)。化学成分的生源途径分析表明, 在紫堇属植物中, 苜基异喹啉类生物碱可能是原托品碱类、苯吡菲啶类、阿朴碱类、枯拉灵类等其他几种基核结构类型生物碱的前体物质, 它们之间可能具有如图 1 所示的生源关系^[10-15]。

从成分的特异性分析: 相对于原小檗碱型生物碱 (叔胺类延胡索甲素、延胡索乙素等和季铵类小檗碱、巴马汀等) 而言, 原托品碱型生物碱 (原阿片碱、 α -别隐品碱等) 和阿朴菲型生物碱 (*D*-海罂粟碱等) 处于生源途径的下游位置, 因此, 可认为该类成分的植物特异性较强, 而原阿片碱、黄连碱更被视为罂粟科植物的特征性成分。从成分的量看, 延胡索甲素、延胡索乙素等是延胡索的主要成分。

综合生源途径及成分的特异性分析, 认为延胡索乙素、延胡索甲素、黄连碱、巴马汀、去氢延胡索甲素、*D*-四氢药根碱及原阿片碱可考虑作为延胡索的质量标志物。

2.3 基于化学成分与传统功效相关性的质量标志物研究路径

2.3.1 基于成分-药效相关的质量标志物研究方法 采用核心药效学指标, 进行组-效相关性的快速筛选也是中药复杂体系药效物质基础筛选确定的可行方法。本课题组采用 UPLC/Q-TOF-MS 整合核转录因

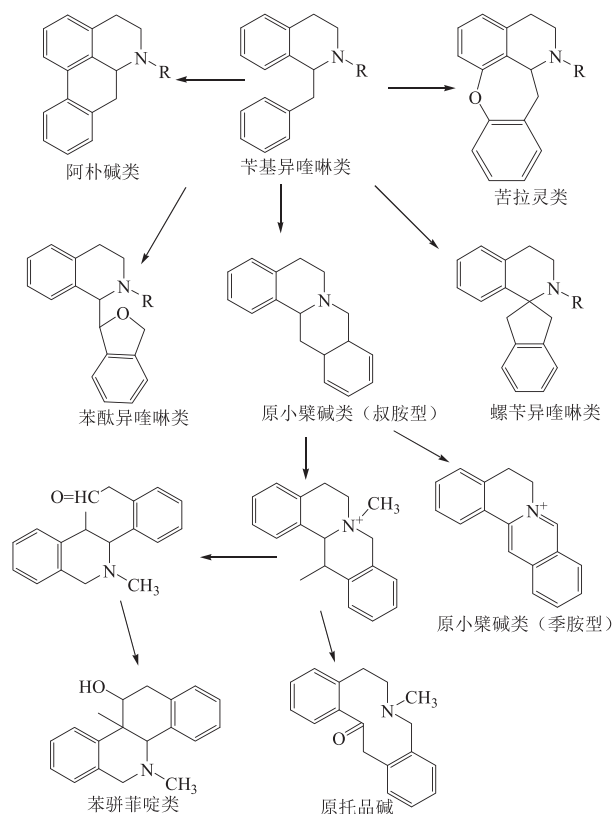


图 1 紫堇属植物生物碱的生源关系

Fig. 1 Biosynthesis relationship of alkaloids in plants from genus *Corydalis* DC.

子-κB (NF-κB) 双荧光素酶报告基因系统的筛选体系, 快速准确地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。通过活性筛选实验, 在 100 余个流分中筛选确定了 10 个活性强的流分, 并确定其结构。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。进一步以原代小鼠腹腔巨噬细胞为研究对象, 对筛选结果进行验证实验。建立了脂多糖 (LPS) 诱导的炎症模型, 在体外细胞水平上评价马鞭草苷、连翘酯苷 A、连翘苷、牡荆苷、大黄素 5 个单体化合物的抗炎效果。结果表明, 5 个化合物的干预能显著抑制原代小鼠腹腔巨噬细胞中 LPS 诱导的肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素-6 (IL-6) 的表达水平, 并且呈现一定的剂量依赖关系, 验证了 5 个单体化合物的抗炎效果。提示以上 5 个成分可能是主要质量标志物。

采用网络药理学预测结合 G-蛋白偶联受体结合实验也是研究多组分中药药效物质基础的可行方法。本课题组基于元胡止痛滴丸血清药物化学研究

结果和相关文献报道^[16-17], 选定延胡索中 10 个生物碱类入血原型成分、白芷中 12 个香豆素类入血原型成分和 6 个代谢物, 进行网络药理学研究。结果表明, 此 28 个化合物均能作用于与痛经相关的靶点 52 个及通路 31 条, 其主要是通过激素调节、中枢镇痛、平滑肌解痉、抗炎和免疫相关通路起到相应的治疗效果, 体现了元胡止痛滴丸治疗痛经的多成分、多靶点的作用机制。进一步锁定 6 个活性强的成分进行 G-蛋白偶联受体结合实验, 结果提示延胡索乙素、巴马汀、D-海罂粟碱、原阿片碱、欧前胡素、异欧前胡素可能为元胡止痛滴丸主要药效物质基础, 可作为质量标志物^[18]。

2.3.2 基于中药“药性”属性的药效物质基础的表征和确认 “药性”和“药效”均是中药的基本属性, 反映中药有效性的本质特征, 并作为临证治法、遣药组方的重要依据。将“药性”和“药效”均纳入中药质量评价, 才能反映中药质量的完整性。因此, 笔者提出将中药的“药性”纳入中药药效物质基础研究及质量评价指标筛选及确定依据, 并提出研究表征方法和路径。

(1) 基于仿生模型和分子对接技术的“性(味)”

物质基础虚拟筛选和确定^[19]：五味最初的定义源于人们对中药滋味、气味的实际感受，故有“非口不能味也”。以电子舌、电子鼻等为代表的味觉、嗅觉仿生手段对食品的味觉、嗅觉进行客观、量化的划分和表征，在食品行业得到广泛地应用，借此技术手段对中药五味识别和表征是可行的。嗅觉受体是一种膜蛋白，其三维结构尚未被解析，需要借助计算机进行模拟，并与中药小分子辛味成分进行对接，可进一步从分子水平表征和阐释辛味的物质基础及其表达原理。利用味觉、嗅觉受体与中药中的化学成分进行分子对接，进一步界定“真实五味”的物质基础。

本课题组利用电子鼻和电子舌技术对辛味中

药、物质组群、单体的嗅觉、味觉（即气、味）进行表征，建立了辛味中药的药味物质基础分析的方法。实验选用代表性的 5 种辛味中药，以药材、物质组群及单体成分作为待测样品，对样品的嗅觉及味觉进行电子鼻及电子舌检测，并采用主成分分析（PCA）法对数据进行分析。电子鼻主成分分析结果（图 2）显示，各个样品能很好地被区分，识别指数为 98，具有明显辛味的成分归为一类；电子舌主成分分析结果（图 3）显示，不同滋味的样品在图中分布位置不同。提示电子鼻及电子舌能够对中药样品进行区分，结合主成分分析及药物功效，可以对药物物质组群的嗅觉及味觉进行初步的表征。

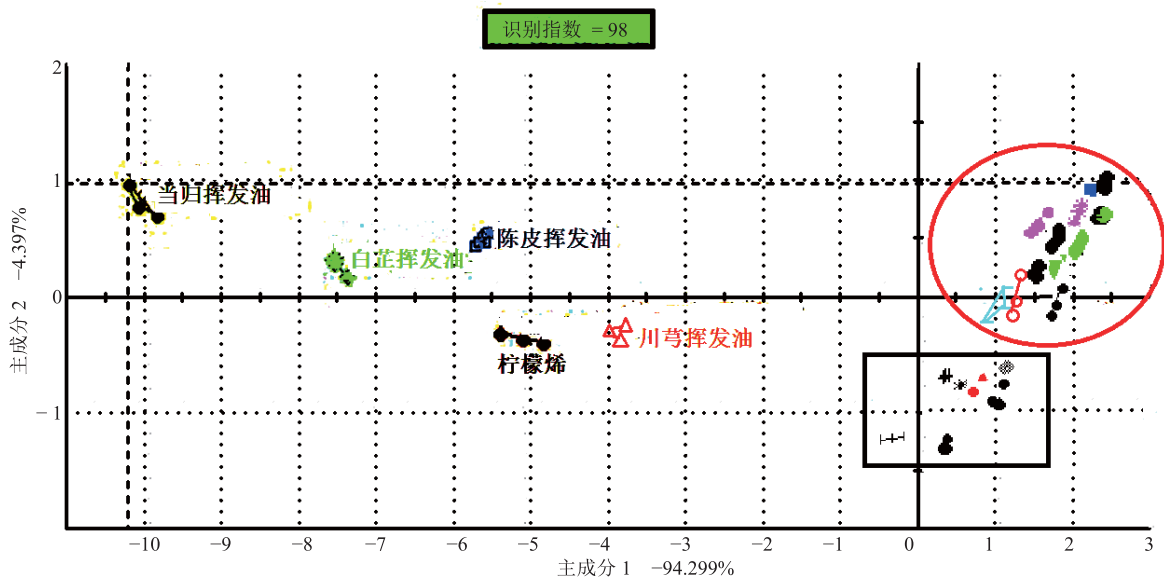


图 2 全部样品电子鼻 PCA

Fig. 2 PCA of electronic nose of total samples

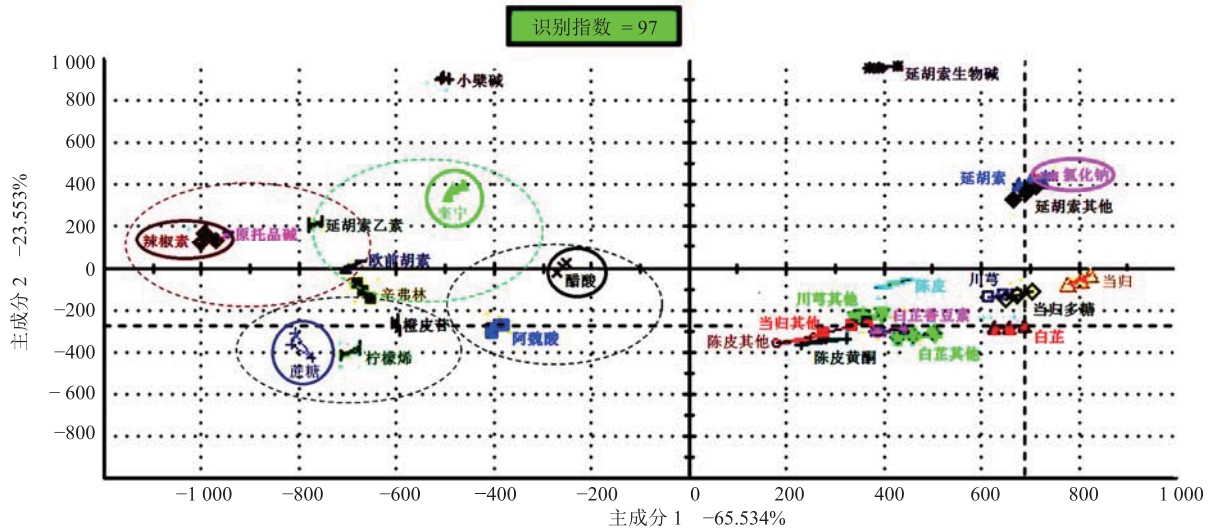


图 3 全部样品电子舌 PCA

Fig. 3 PCA of electronic tongue of total samples

以电子舌、电子鼻实验结果为参考，后续采用分子对接技术，以苦味受体(TAS2R10)和嗅觉受体(OR7D4)为研究对象，利用同源模建的方法，对辛、苦味活血化瘀药材中各结构类型的代表性化合物进行分子对接，从味觉受体层面明晰了辛、苦味的物质基础。

(2) 基于 G-蛋白偶联受体“功效五味”的物质基础筛选和确定^[20]：中药的“五味”具有功效的内涵，如辛“能散、能行”，甘“能补、能缓、能和”，酸“能收、能涩”，苦“能泄、能燥、能坚”，咸“能下、能软”。并与四气、升降浮沉、归经等药性理论

存在复杂的内在联系。

G-蛋白偶联受体是一大类膜蛋白受体的统称。与 G-蛋白偶联受体相关的疾病为数众多，并且约 40%的现代药物都以 G-蛋白偶联受体作为靶点。本课题组以 4 个与辛、苦味功效表达密切相关的 G-蛋白偶联受体（5-羟色胺受体 HTR7、多巴胺受体 D₂、α₁ 肾上腺素受体 ADRA1A、腺苷受体 ADORA1）为研究对象，通过钙流和荧光素酶检测技术，对六经头痛片及其主要成分进行 G-蛋白偶联受体结合实验，结果见图 4。

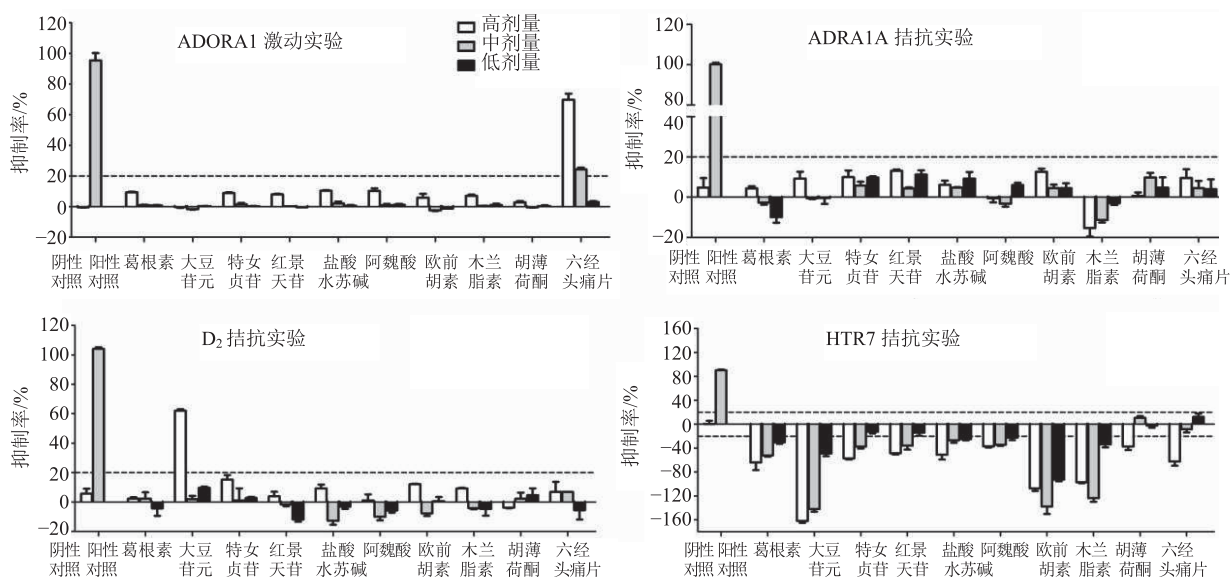


图 4 六经头痛片及其主要成分对 4 个 GPCRs 受体的激动和拮抗作用

Fig. 4 Activation and antagonism of Liujiing Toutong Tablets and representative compounds on GPCRs

通过实验研究发现，葛根中异黄酮类（苷元）代表性化合物大豆苷元能拮抗 D₂ 受体，而异黄酮类（苷）代表性化合物葛根素对 D₂ 受体没有显著抑制活性，故推测葛根中的异黄酮苷元类化合物可能为其发挥通经活络、止痛的重要药效物质基础，可能为其辛味物质基础；其他化合物对 D₂、ADORA1 和 ADRA1A 受体均无显著的激动或拮抗作用，但通过对 HTR7 受体实验结果分析推测，9 个化合物对该受体均有一定的激动作用，可能为各药材发挥药效的物质基础，是其性味物质基础。

通过以上研究，明确了药效物质基础及生源特异性成分，综合评价确定了质量控制指标。

2.3.3 基于成分可测性、方法的专属性的质量标志物确认和模式识别方法 化学成分的可测性是质量标志物的基本条件之一。某些成分虽然与中药的有效性相关，但无专属性的测定方法，也不合适作为

质量标志物。如多糖类成分，结构复杂，分离纯化和结构鉴定难度大，不同药材多糖结构特异性研究报道很少，不同多糖与活性相关性的构-效关系不清，且目前缺少特异性专属性的定量测定方法。因此，大多数多糖的定量测定仅规定总多糖定量方法和限度要求；皂苷类成分口服后大多被水解成次级苷或苷元吸收入血发挥生物效应，因此，可测总皂苷、不同类型的苷元或特征性皂苷成分的量作为质量控制指标。甾体皂苷结构中不具共轭体系，无紫外吸收，紫外区末端测定条件苛刻，可考虑蒸发光散射检测器。

中药的质量差异不仅反映在化学成分的种类上，多数情况是化学成分的量和各成分之间的相对比例的差异，并且，多成分的综合效应也是中药突出作用的点。在此情况下，应用化学模式识别方法是评价中药质量的可行方法。化学模式识别方法还

可应用于谱-效关系分析,为从中药复杂体系中发现和确定质量标志物提供更有效的方法。

3 基于中药质量标志物核心概念和中药属性特点的质量研究模式的建立

中药质量研究及质量标准的建立可分为3个过程:质量标志物的确定、质量控制方法的建立以及样品收集测定,最后建立质量标准。

3.1 质量标志物的研究和确定

3.1.1 原型-制药过程-体内过程递进式化学物质组研究 中药的质量研究、评价、标准建立和质量控制必须基于化学物质组的系统分析,研究和阐释中药疗效的物质基础,明确中药化学成分在植物体的生成、制药过程的获取、变化和传递以及体内代谢和暴露规律。既作为中药有效性及作用机制研究的基础,也为质量传递与溯源提供完整清晰的线路。

3.1.2 基于化学成分生源途径的特异性分析 化学物质组明确之后,还需对成分的特有性进行分析,以期找出待测药材的代表性、针对性和特异性的指标成分。基于质量评价目的,质量标志物的确定还要依据:(1)能代表和反映同一类药材的共有性并区别于其他类药材的特征性成分,如陈皮、枳实、枳壳等均来源于芸香科柑橘属,其均含橙皮苷、柚皮苷等黄酮类成分及辛弗林等苯乙胺类生物碱,这些成分也是该类中药特征性成分。(2)能反映同一类、不同种药材的差异性成分,可分为种类和含量2个层次,如陈皮中不含香豆素类成分,枳实、枳壳含有香豆素类成分;陈皮、枳实和枳壳中的橙皮苷、柚皮苷及辛弗林的量存在较大差异。(3)质量标志物及其在不同药材中的差异应有可靠的生源途径、药材的组织部位(组织化学)、生长时期(采收期)等相关性和理论依据。

3.1.3 基于中药功效表达方式的物质-功效关联分析及药效物质的确定 尚需进一步进行成分与有效性的关联研究,以此明确药效物质基础,进一步确定质量标志物。成分与有效性的关联必须基于中药功效表达方式,在研究方法和评价标准中充分考虑中药“药性”与“药效”两方面的生物学内涵,着眼于中药形成及其功效表达全过程质量要素的传递,并进行成分的溯源,基于病-证-方-药-物-效的序贯思路和整体视角针对性地关联药效物质基础,根据以上思路和方法确定质量标志物。

3.1.4 基于成分可测性的质量标志物的确定 在所用条件均能满足的情况下,成分可测性仍是质量标

志物确定必要条件。根据成分的结构特点、研究基础、方法条件以及质量评价的目的,可从大类成分、类成分、成分等不同层次评价成分的可测性,锁定质量标志物。

3.2 质量控制方法的建立

质量标志物确定之后,需要建立质量控制方法。由于中药化学成分复杂,成分之间可能存在互相干扰,非测定成分在某种条件下可能与待测成分呈现相同或相近的光谱色谱特征,因此,测定方法应首先具备与结构相关的专属性的理论依据;实验中应重视阴性样品和空白样品的对照。在实验方法的规范性上,应加强取样、样品处理、测定方法学和评价方法的系统研究,并建立各单元环节的操作规范。

3.3 实验样品收集方法、取样方法和样品测定

样品的覆盖度和取样的代表性是质量标准建立的重要因素。一个“好的”质量标准,不但质量控制指标与其安全性、有效性关联性强,而且还需要反映药材质量差异的真实情况,这样才能对中药质量的真伪、优劣和一致性进行合理的评价和有效控制。中药原料药材大多为来源于自然界的动植物有机体,由于物种的种质(遗传物质基础)、产地生境的差异,决定了中药质量的差异。因此,试验样品的覆盖度和代表性对于质量标准的建立至关重要。

3.3.1 样品的覆盖度 样品的覆盖度主要针对影响中药质量的基原种内变异、地理、生态差异和采收时间等要素。

中药基原以“种”界定分类学范围,但事实上种内变异广泛存在。实验研究取样一般在个体水平,但个体与种之间尚可能存在居群、变型、变种、亚种等分类阶元,种内变异可能表现在形态性状上,也可能表现在次生代谢产物上,有此产生不同质量差异^[21]。因此,在质量研究中,待测样品应考虑研究对象种内变异的实际情况,取样应涵盖所用种内的不同类群,以反映质量差异的幅度和变化规律。

同样,中药材质量还具有产地的依赖性,从某种意义上讲,基原一样,产地也是中药材的基本属性之一,因此,才有“道地药材”的由来。因此,质量研究中,实验样品的产地覆盖度也至关重要。

生态因子是中药有效成分生物体内合成的重要条件,不但土壤提供生物合成的原料来源,而光照、降雨、温湿等更是生物合成的反应条件。次生代谢产物的合成具有生态因子的敏感性,生态条件决定中药有效成分的量和各成分之间的相对比例,进而

决定中药的有效性。因此，质量研究中，要考虑到样品产地的土壤、海拔、光照、坡向、生态群落等因素，保证实验样品的生态覆盖度。

3.3.2 取样代表性 实验样品的取样方法直接决定研究结果的真实性。对于来源于生物有机体的中药材更为重要。实验样品的取样可分为野外（或田间）取样和实验室取样。野外取样一般应按居群取样和田间取样的规范方法；实验室取样应充分考虑到实验样品对于批次、器官、组织的代表性，特别是全草类药材，茎、叶、花、果不同器官中成分的量差异很大，取样应还原到植株各器官的真实比例；成分在木质部、韧皮部、薄壁组织等不同组织部位的分布亦不均一，由于细胞壁的木化程度不同，组织部位的韧性和机械强度不同，样品粉碎难易程度、粒度等也存在差异，因此，实验室取样时需特别保证代表性和均一性一致。

3.3.3 中药生产过程“有效性获取”和“质量要素”的传递 从药材到中成药还有中药生产的制备工艺过程，这一过程实现中药有效性的获取、变化和质量要素的传递。质量控制方法研究及质量标准确定应着眼于中药形成的全过程，以传递和溯源双向思维理念进行全程质量控制。药材的前处理、提取、纯化、浓缩、干燥直至制剂过程都会产生化学成分

的获取、去除和复杂变化，工艺路线和工艺参数决定其结果，按照质量源于设计（QbD）的理念，“好的”质量控制手段和质量标准应体现全程质量控制和质量溯源。样品测定取样亦应遵循这一指导思想，增加各单元工艺过程及成品样品的覆盖度，以保证建立合理的质量标准。样品测定后，根据测定结果建立完善的质量标准。

3.3.4 中药质量评价新的集成模式的建立 根据中药属性和作用特点，以中药质量标志物核心概念为统领，建立中药质量标准研究新的集成模式（图 5）。开展中药化学物质组及其生物效应相关性研究，并进行关联性分析，将中药的药效和药性内涵均纳入质量评价研究，确定药效物质基础，进一步进行中药化学成分的生源途径和特有性分析，确定质量评价指标；建立质量评价方法，建立实验样品取样规范，保证测定样品的代表性和覆盖度，进行样品分析，根据测定结果，建立完善的质量标准。

4 结语

质量是中药产业的生命线。但近些年来，由于各种原因，中医药的有效性受到各种质疑，“古方虽效，今用无功”“品质退化”“中医将毁于中药”等说法频繁见于各种报道，使中药质量成为行业关注的焦点，同时，也对中药的标准化建设提出更高的

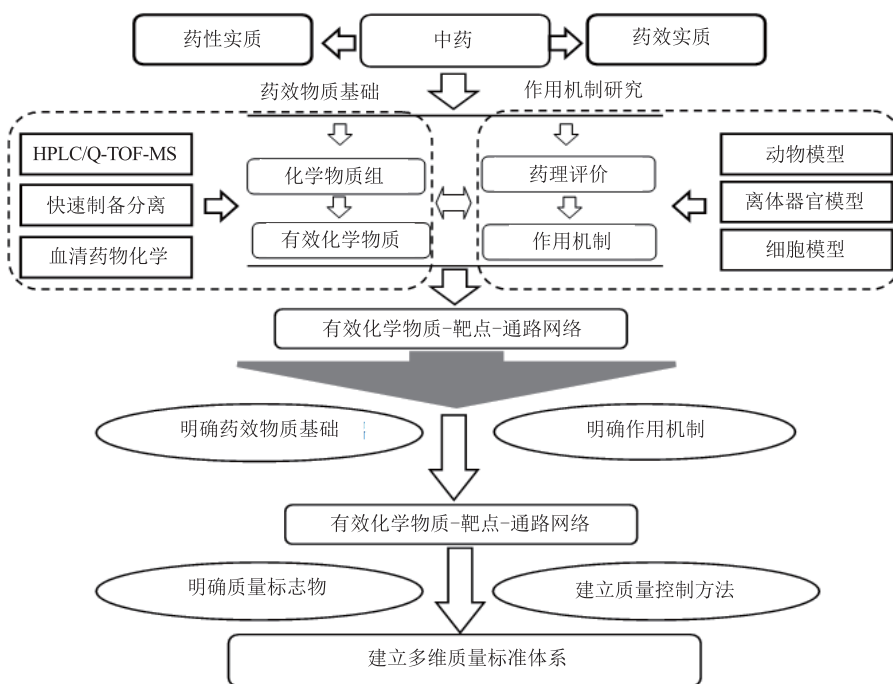


图 5 中药质量评价新的集成模式

Fig. 5 New integrated mode for quality evaluation of traditional Chinese Medicine

要求。虽然我国中药科技工作者对中药质量研究做出了大量的工作,我国中药质量控制水平也有了长足的进步,但研究工作碎片化,缺少系统的思路和方法,仍未建立适合中药特点的质量研究、评价和控制的科学模式。质量标志物概念的提出,以物质-功能为核心,以成分的特异性为主要依据,着眼于中药材、生产、体内全过程的物质基础的特有、差异、动态变化和质量的传递性、溯源性,有利于建立中药全程质量控制及质量溯源体系。本文进一步结合中药的基本属性和临床作用特点,提出中药质量研究的集成模式和研究路径,为中药质量研究提供新的思路和视角。

中药质量研究模式方法的探索是一项长期的、逐步完善的系统工程,中药质量标志物既是质量评价的核心概念,又是一个开放性的概念,通过广大中药科技工作者的不断深入研究和探索,逐步丰富和完善质量研究的思路和方法,形成科学的质量评价和质量控制体系,建立可参照的质量评价和质量控制模式,实现对中药质量标准的提升。

参考文献

- [1] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [2] 张铁军,许浚,韩彦琪,等. 中药质量标志物(Q-Marker)研究: 延胡索质量评价及质量标准研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1458-1467.
- [3] 张铁军,许浚,申秀萍,等. 基于中药质量标志物的元胡止痛滴丸性-效-物三元关系及作用机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2199-2211.
- [4] 熊亮,彭成. 基于中药质量标志物(Q-Marker)的基本条件研究益母草和赶黄草的Q-Marker [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2212-2220.
- [5] 刘桂新,周荣汉. 亚洲薄荷的两个化学型 [J]. 植物资源与环境, 1994, 3(3): 58-59.
- [6] 刘桂新,周自新,周荣汉. 东北薄荷的化学型 [J]. 植物资源与环境, 1995, 4(4): 60-62.
- [7] 刘桂新,周荣汉. 国产野生薄荷挥发油化学组分变异及其化学型 [J]. 植物资源与环境, 1998, 7(3): 13-18.
- [8] 叶文斌,樊亮,贡汉伯. 阿魏酸对甘肃道地中药材纹党的化感作用研究 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(31): 231-236.
- [9] 张铁军. 药用植物地理学与新药寻找 [J]. 中草药, 1996, 27(9): 34-36.
- [10] Facchini P J, De Luca V. Opium poppy and madagascar periwinkle: model non-model systems to investigate alkaloid biosynthesis in plants [J]. *Plant J*, 2008, 54(4): 763-784.
- [11] Liscombe D K, Facchini P J. Molecular cloning and characterization of tetrahydroprotoberberine *cis*-N-methyltransferase, an enzyme involved in alkaloid biosynthesis in opium poppy [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(20): 14741-14751.
- [12] 程巧,曾建国,乐捷. 异喹啉类生物碱生物合成、运输、储藏相关细胞生物学研究进展 [J]. 植物学报, 2014, 49(6): 720-728.
- [13] Dewan S, Sudha J, Sandeep G, et al. The biosynthesis of the alkaloids of *Corydalis meifolia* Wall [J]. *Tetrahedron*, 1986, 42(2): 675-680.
- [14] Tani C, Tagahara K. Studies on berberine derivatives and related alkaloids. VII. On the biosynthesis of protopine [J]. *Chem Pharm Bull*, 1974, 22(10): 2457-2459.
- [15] Takao N, Iwasa K, Kamigauchi M, et al. Studies on the alkaloids of papaveraceous plants. XXV. Biosynthesis of the alkaloids of *Corydalis incisa* Pers. and *Chelidonium majus* L. incorporations of tetrahydroprotoberberines, N-methosalts of tetrahydroprotoberberines, and protopine [J]. *Chem Pharm Bull*, 1976, 24(11): 2859-2868.
- [16] 韩彦琪,许浚,龚苏晓,等. HPLC-QTOF/MS方法分析元胡止痛方的化学成分 [J]. 药学学报, 2017, 52(1): 132-138.
- [17] Zhang H B, Zhang T J, Xu J, et al. Rapid analysis and identification of absorbed components and their metabolites in rat plasma and brain tissue after oral administration of Yuan-Hu-Zhi-Tong dropping pill using UPLC-Q-TOF/MS based multivariate statistical analysis [J]. *Chine Herb Med*, 2016, 8(2): 154-163.
- [18] 韩彦琪,许浚,张喜民,等. 基于网络药理学的元胡止痛滴丸治疗原发性痛经的作用机制研究 [J]. 药学学报, 2016, 51(3): 380-387.
- [19] 曹煌,张铁军,张静雅,等. 基于电子鼻和电子舌技术的辛味中药气-味的表征研究 [J]. 中草药, 2016, 47(11): 1962-1967.
- [20] 韩彦琪,许浚,龚苏晓,等. 基于HPLC-QTOF/MS及G蛋白偶联受体分析的延胡索物质基础及作用机制研究 [J]. 药学学报, 2016, 51(8): 1302-1308.
- [21] 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—中医药现代化, 2004, 6(3): 1-8.