

基于质量标志物的当归血管舒张功效的近红外快速评价

闫孟琳¹, 丁国钰², 丛龙飞¹, 李超雯¹, 牛瑞雪¹, 姜 民¹, 侯媛媛¹, 张铁军³, 白 钢^{1*}, 刘昌孝^{3*}

1. 南开大学药学院 药物化学生物学国家重点实验室, 天津 300353

2. 沈阳医学院基础医学院, 辽宁 沈阳 110034

3. 天津药物研究院, 中药现代制剂与质量控制国家工程实验室, 中药质量标志物研究中心, 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要:目的 基于当归 Ca^{2+} 拮抗作用的质量标志物(Q-marker),建立一种利用近红外光谱快速评价当归扩血管功效的方法。方法 采用UPLC/Q-TOF结合 Ca^{2+} 双荧光报告系统对当归药材的 Ca^{2+} 拮抗成分进行谱效筛选,并通过细胞和离体实验评价确立Q-marker。对多批药材中的Q-marker进行含量分析,并获取其近红外光谱,建立其近红外拟合算法。将当归提取物的整体 Ca^{2+} 拮抗活性与Q-marker的含量相关联构建量效拟合函数。结果 研究发现藁本内酯(X_1)和欧当归内酯A(X_2)具有明显的 Ca^{2+} 拮抗作用,且其含量波动与当归提取物的整体活性(Y)的变化相吻合,确认其为Q-marker。经非线性回归分析,确认其量效关系符合下列函数方程: $Y=31.2579X_1+381.3520X_2-248.9790X_1X_2+18.4822$ 。所优化的近红外检测方法,其预测值与真实值展示了良好的相关性。结论 整合Q-marker研究结果,确立了当归血管舒张作用的Q-marker,以及其与当归药材整体活性之间的非线性关系,并利用近红外光谱技术实现了当归药材血管扩张功效的快速评价,为中药品质的快速分析提供新的解决方案。

关键词: 当归; 质量标志物; Ca^{2+} 拮抗; 血管舒张; 质量评价

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)19-4538-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.19.003

Rapid evaluation of vasodilation efficacy of *Angelica sinensis* by near infrared spectroscopy based on quality markers

YAN Meng-lin¹, DING Guo-yu², CONG Long-fei¹, LI Chao-wen¹, Niu Rui-xue¹, JIANG Min¹, HOU Yuan-yuan¹, ZHANG Tie-jun³, BAI Gang¹, LIU Chang-xiao³

1. State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300353, China

2. Basic Medical School, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China

3. National Engineering Laboratory for Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Research Center of Quality Markers of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective By screening the quality markers of Ca^{2+} antagonistic ingredients, a rapid evaluation system about the vasodilatory effect of *Angelica sinensis* (AS) by near infrared spectroscopy (NIR) was established. **Methods** The Ca^{2+} antagonists in AS were screened by UPLC/Q-TOF combined with Ca^{2+} double luciferase reporter gene system. To establish the quality markers, the antagonistic effects were further evaluated in cells and *in vitro*. The quality markers in multi batches of AS were quantitatively analyzed, and the corresponding NIR was obtained, and then the NIR fitting algorithm was established. Meanwhile, the relationship between Ca^{2+} antagonistic holistic activity of AS extract and the content of quality markers was investigated, and the prediction model for vasodilation efficacy of AS was constructed based on quality markers check analysis via NIR technique. **Results** The screening result showed that ligustilide (X_1) and levistolide A (X_2) in AS had significant Ca^{2+} antagonistic effects, and the change of the content was consistent with the capacity of Ca^{2+} antagonistic action of AS extracts, so they were confirmed as quality markers. According to

收稿日期: 2019-07-11

基金项目: 天津市科技援助项目(18YFYZCG00060)

作者简介: 闫孟琳, 硕士, 从事中药药理与中药质量研究。E-mail: 15736875593@163.com

*通信作者 白 钢, 博士生导师, 教授。Tel: (022)23506792 E-mail: gangbai@nankai.edu.cn

刘昌孝, 中国工程院院士。Tel: (022)23006860 E-mail: liuchangxiao@163.com

nonlinear regression analysis, the relationship between Ca^{2+} antagonistic effect (Y) of AS and the content of two quality markers satisfied the following functions: $Y = 31.2579 X_1 + 381.3520 X_2 - 248.9790 X_1 X_2 + 18.4822$. In addition, the measured values from NIR simulation method for ligustilide and levistilide A detection showed a good correlation with the predicted values.

Conclusion In this study, it was found that ligustilide and levistilide A were quality markers responsible for vasodilation efficacy in AS, and the quantitative correlation between quality markers and the function of vasodilation effect was established. With the help of NIR technology, a novel solution for the rapid monitoring of the quality of traditional Chinese medicine was demonstrated.

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; quality markers; Ca^{2+} antagonism; vasodilation; quality evaluation

中药质量标志物 (Q-marker) 是反映中药质量的内在核心元素, 是实现中药科学监管的重要切入点^[1-3]。构建以 Q-marker 为核心的中药材品质智能评价体系, 涉及了从化学标志物到 Q-marker 的筛选, Q-marker 快速检测方法的构建, Q-marker 含量与功效相关性的多元拟合, 以及评价体系的迭代等多个过程的整合^[4-6]。

当归为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根, 具有补血活血、调经止痛之功效。目前市场上流通的当归多为栽培品种, 主要来自甘肃岷县。由于受品种、气候、土壤和种植方式等因素的影响, 当归的质量差异较大^[7]。《中国药典》2015 年版虽然对当归药材的水分、灰分、浸出物、挥发油、阿魏酸等的含量进行了限定, 但还不能充分反映当归药材的质量属性。活血化瘀是当归主要功效之一, 而改善血流动力学、减轻心脏负荷, 对降低心力衰竭的发病率及死亡率有重要的意义^[8]。目前临床上的扩血管药物主要有以下几类: 直接作用于血管平滑肌的药物, 如肼苯哒嗪、硝酸甘油; α 受体阻断剂, 如哌唑嗪、酚妥拉明; 转换酶抑制剂, 如卡托普利; 以及钙离子拮抗剂, 如心痛定、维拉帕米等。现代研究显示钙拮抗剂可通过阻滞钙通道有效扩张血管, 减少心肌收缩力, 加快冠状动脉的血流速度, 已被作为心血管病治疗的一线药物^[9]。研究发现当归中的藁本内酯、洋川芎内酯 I 具有 Ca^{2+} 拮抗作用, 可能为活血化瘀的主要药效物质基础^[10-11]。本研究拟通过 Ca^{2+} 拮抗活性对当归扩张血管的 Q-marker 进行筛选, 探讨其含量与整体血管扩张功效的关系, 希望通过整合基于 Q-marker 的近红外快检手段, 实现对当归血管扩张功效快速评价, 为建立当归品质智能分级管理提供新的思路和方法。

1 材料

1.1 仪器

UPLC/Q-TOF Premier 液质联用仪, 美国 Waters 公司; Milli-Q 超纯水仪, 美国 Millipore 公司; 低

温高速离心机, 德国 Hettich 公司; 电子分析天平, 美国 Mettler 公司; Modulus 荧光检测仪, 美国 Turner Designs 公司; 傅里叶变换近红外光谱仪 Tensor37, 德国 Brucker 公司。

1.2 药材与试剂

64 批次当归样品购自甘肃陇西当归城药材市场, 经甘肃数字本草检验中心王浩亮工程师鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根; 分析级甲醇, 天津一方科技有限公司; 质谱级乙腈, 德国 Merck 公司; 胎牛血清, 美国 Gibco 公司; 质粒 PGL4.30 和 Renilla、双荧光素酶报告基因试剂盒, 美国 Promega 公司; 藁本内酯 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 111737-201001)、欧当归内酯 A (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 111826-201203), 上海源叶生物科技有限公司; 维拉帕米 (质量分数 $\geq 99\%$, 批号 100223-200102), 天津希恩思生化科技有限公司; 尼莫地平 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 100270-200002), 梯希爱 (上海) 化成工业发展有限公司; 离子霉素 (质量分数 $\geq 98.5\%$, 批号 I838446)、佛波酯 (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 P849986), 上海麦克林生化科技有限公司; 其他均采用市售分析纯试剂。

1.3 动物与细胞

SPF 级雄性健康 SD 大鼠, 体质量 (200 ± 20) g, 购于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 动物许可证号 SCXK (京) 2016-0002。

人体肾脏细胞系 HEK293T (批号 SL401), 购于北京博奥派克生物科技有限公司。

2 方法

2.1 UPLC/Q-TOF 分析及含量测定

2.1.1 样品的制备 取干燥的当归样品, 粉碎过 60 号筛, 得当归粉末。取 0.5 g 粉末, 加入 70% 甲醇溶液 50 mL, 室温超声 30 min。取上清液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 收集续滤液用于 UPLC 分析, 或浓缩后冷冻干燥, 得当归提取物 (其中含藁本内酯 13.8 mg/g、欧当归内酯 A 1.5 mg/g), -20°C 保存备用。

2.1.2 液相色谱条件 色谱柱 Waters Acquity UPLC® BEHC₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 35 °C; 进样量 5 μL; 体积流量 0.4 mL/min; PDA 检测器, 检测波长 276 nm; 流动相为 1%甲酸 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~0.8 min, 7%~10% B; 0.8~3.5 min, 10%~25% B; 3.5~5.5 min, 25%~44% B; 5.5~9.1 min, 44%~53% B; 9.1~9.6 min, 53%~65% B; 9.6~10.6 min, 65%~68% B; 10.6~11.6 min, 68% B; 11.6~11.7 min, 68%~100% B; 11.7~13.0 min, 100% B。流出液 10:1 分流, 小部分用于质谱检测, 另一部分每间隔 30 s 收集至 96 孔深孔板中, 真空干燥, 制备 UPLC 馏份, -20 °C 保存备用。

2.1.3 质谱条件 离子源为软电离模式 ESI 电喷雾离子源, 正离子模式, 毛细管电压 3.0 kV; 离子源温度 110 °C; 锥孔电压 30 V; 雾化气高纯氮气的体积流量为 600 L/h, 雾化器温度设定为 350 °C; 离子质量扫描范围 m/z 100~1 500, 扫描频率 0.1 s, 扫描间隔延时 0.02 s; 校正液为亮氨酸脑啡肽 ($[M+H]^+=555.2931$), 数据采集工作站为 MassLynx 4.1。

2.1.4 含量测定 选取不同产地的当归药材, 参照文献方法^[12], 采用 UPLC 在 276 nm 波长下检测, 获取峰面积积分, 以藁本内酯、欧当归内酯 A 对照品为对照, 分别绘制标准曲线, 并计算其含量。

2.2 基于双荧光报告基因的 Ca^{2+} 拮抗活性检测

将 HEK293T 细胞铺板于 96 孔板进行培养, 孔内细胞融合度达到 50%~70% 时, 分别取 Ca^{2+} 荧光素酶报告 PGL4.30 质粒 (100 ng/孔)、荧光素酶内参质粒 Renilla (10 ng/孔) 与脂质体 2 000 (1 mg/mL), 混合后共同转染 HEK293T 细胞, 加入 DMEM 培养基, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 20 h 后给药。实验设为对照组 (空白培养基)、模型组 (1 mmol/L 离子霉素和 1 mg/mL 佛波酯)、阳性药维拉帕米组 (10 μmol/L) 和当归提取物组 (100、10、1 mg/L)、藁本内酯组 (100、10、1 μmol/L)、欧当归内酯 A 组 (100、10、1 μmol/L)、混合对照品组 (1.38 mg 藁本内酯+0.15 mg 欧当归内酯 A 溶于 1 mL DMSO 中), 以及 UPLC 馏份组 (用空白培养基 5 倍稀释)。给药 6 h 后, 收集细胞, 参照试剂盒说明进行报告基因检测, 依据相对荧光强度比值 (Ca^{2+} /Renilla), 计算 Ca^{2+} 相对抑制活性。

2.3 血管扩张作用评价

取 SD 大鼠的胸主动脉, 制成约 3 mm 的动脉环, 并置于张力传感器上, 依次加入 KCl (60

mmol/L)、去甲肾上腺素 (1 μmol/L)、乙酰胆碱 (100 μmol/L) 溶液以评价血管活性, 选择适合的动脉环进行实验。实验设对照组 (0.1% DMSO)、阳性药组 (10 μmol/L 尼莫地平)、实验组 (系列稀释的藁本内酯、欧当归内酯 A、混合对照品以及当归提取物, 给药剂量同“2.2”项下)。分别给药作用 10 min 后, 通过 Lab-Chart7 多通道生理记录仪 (美国 Radnoti 公司) 观察给药前后动脉环张力变化, 计算其舒张率。

舒张率 = (平台期张力 - 舒张后张力) / (平台期张力 - 2.0)

2.4 近红外光谱法检测

采用 Tensor37 布鲁克傅里叶变换近红外光谱仪 (德国 Brucker 公司), 积分球检测元件、铟镓砷检测器, 以铂金属板为背景, 每次取 1.0 g 当归粉末进行近红外光谱数据采集。仪器参数设置为分辨率 8 cm⁻¹, 扫描次数 64 次, 扫描范围 12 000~4 000 cm⁻¹, 扫描 3 次取平均光谱。选择其中部分样品的光谱以及对应的藁本内酯和欧当归内酯 A 的 UPLC 含量检测结果, 通过 OPUS 7.0 软件 (德国 Brucker 公司) 定量模块进行建模操作, 分别建立上述成分的近红外光谱的检测方法。

2.5 药效成分含量与 Ca^{2+} 拮抗活性的拟合与应用

为了建立藁本内酯的含量 (X_1)、欧当归内酯 A 的含量 (X_2) 与当归 Ca^{2+} 拮抗活性 (Y) 之间的函数关系, 使用非线性规划法最优化指定区间内的藁本内酯 (X_1) 与欧当归内酯 A (X_2) 之间的最佳组合, 建立二元二项式方程拟合函数, 其中 $X_1 \in (0.00906\% \sim 0.23241\%)$, $X_2 \in (0.00028\% \sim 0.01521\%)$ 。并进一步将近红外光谱法所测的当归药材中藁本内酯和欧当归内酯 A 的含量导入拟合关系函数中计算 Y 值, 通过 Y 值来快速评价当归药材的血管舒张功效。

3 结果与分析

3.1 当归中 Ca^{2+} 拮抗活性成分的谱效筛选

当归提取物经 UPLC 液相展开, 其各成分得到较好的分离 (图 1-A、B), 收集不同的馏份进行 Ca^{2+} 拮抗活性的谱效筛选。结果见图 1-C, 分别在 8.5~9 min 以及 11.5 min 处 UPLC 馏份显示了明显的降钙效果, 经 UPLC/Q-TOF 解析以及与对照品的指认 (图 1-D), 确认其为藁本内酯 (m/z 191.1075 $[M+H]^+$) 和欧当归内酯 A (m/z 381.2079 $[M+H]^+$), 将其作为潜在的 Q-marker 用于进一步评价。

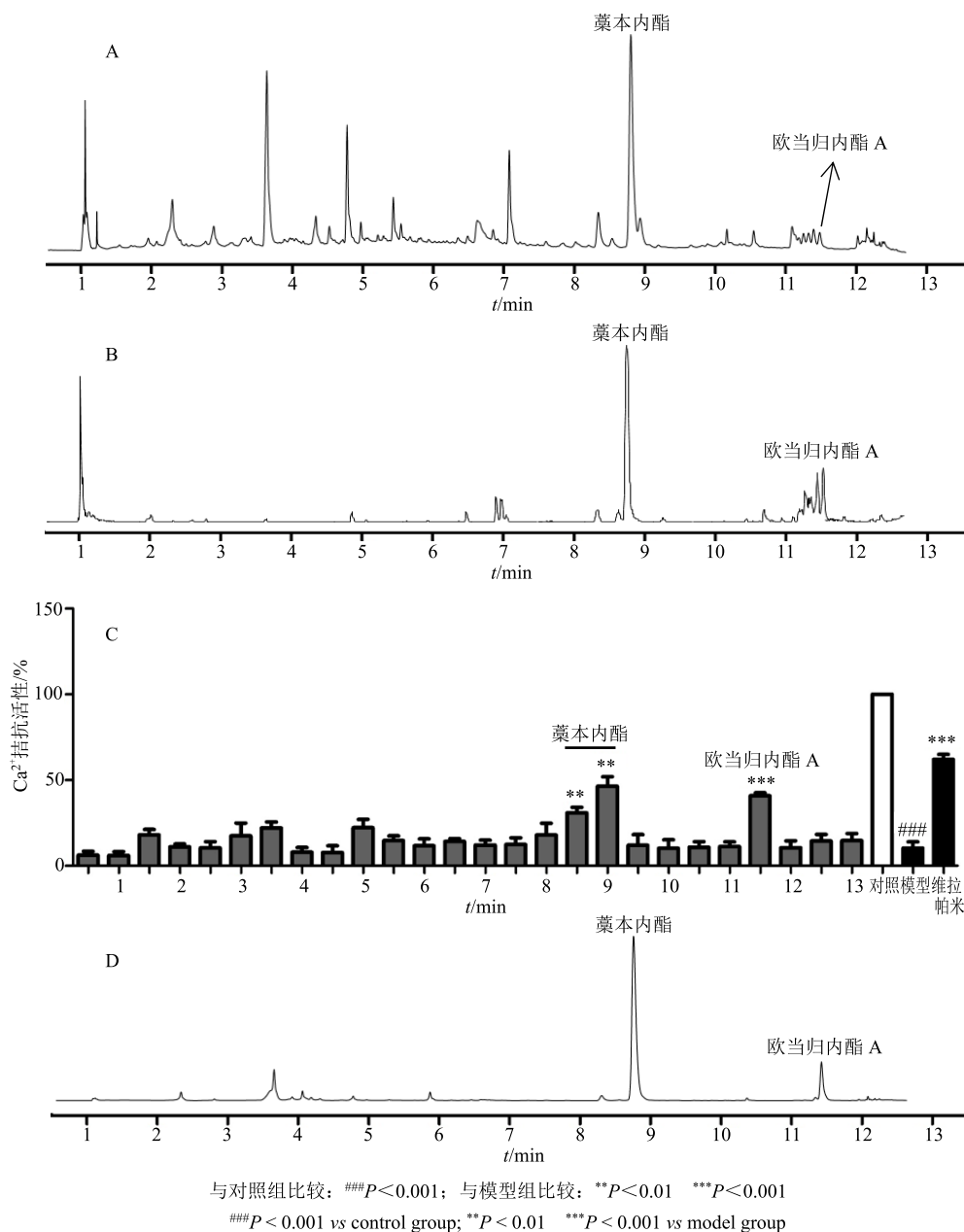


图 1 当归提取物的 UPLC 色谱图 (A)、UPLC/Q-TOF 正离子模式的 BPI 图 (B)、 Ca^{2+} 拮抗活性的谱效筛选图 (C) 以及混合对照品的 UPLC 色谱图 (D) ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 1 UPLC of *A. sinensis* extract (A), UPLC/Q-TOF for positive model of BPI (B), UPLC combined with Ca^{2+} antagonistic activity screening (C), UPLC of mixed reference substances (D) ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3.2 Ca^{2+} 拮抗作用及扩血管活性的验证

分别取藁本内酯、欧当归内酯 A 的对照品，当归提取物，以及与其具有相应含量的藁本内酯与欧当归内酯 A 的混合对照品样品，依据 Ca^{2+} 拮抗活性的双荧光检测方法及离体血管舒张评价方法对其活性进行验证。其中 Ca^{2+} 拮抗评价结果见图 2-A，藁本内酯与欧当归内酯 A 均能剂量依赖性地拮抗胞内 Ca^{2+} 浓度的升高，且混合对照品组与当归

提取物组间差异不显著，表明藁本内酯、欧当归内酯 A 在当归药材的 Ca^{2+} 拮抗作用中发挥了主要作用。同时血管舒张作用的考察结果也显示（图 2-B），当归提取物组与混合对照品组（其藁本内酯和欧当归内酯 A 的浓度与提取物中的含量一致）的整体血管扩张作用相当，初步验证了藁本内酯和欧当归内酯 A 可以作为当归扩血管功效的 Q-marker。

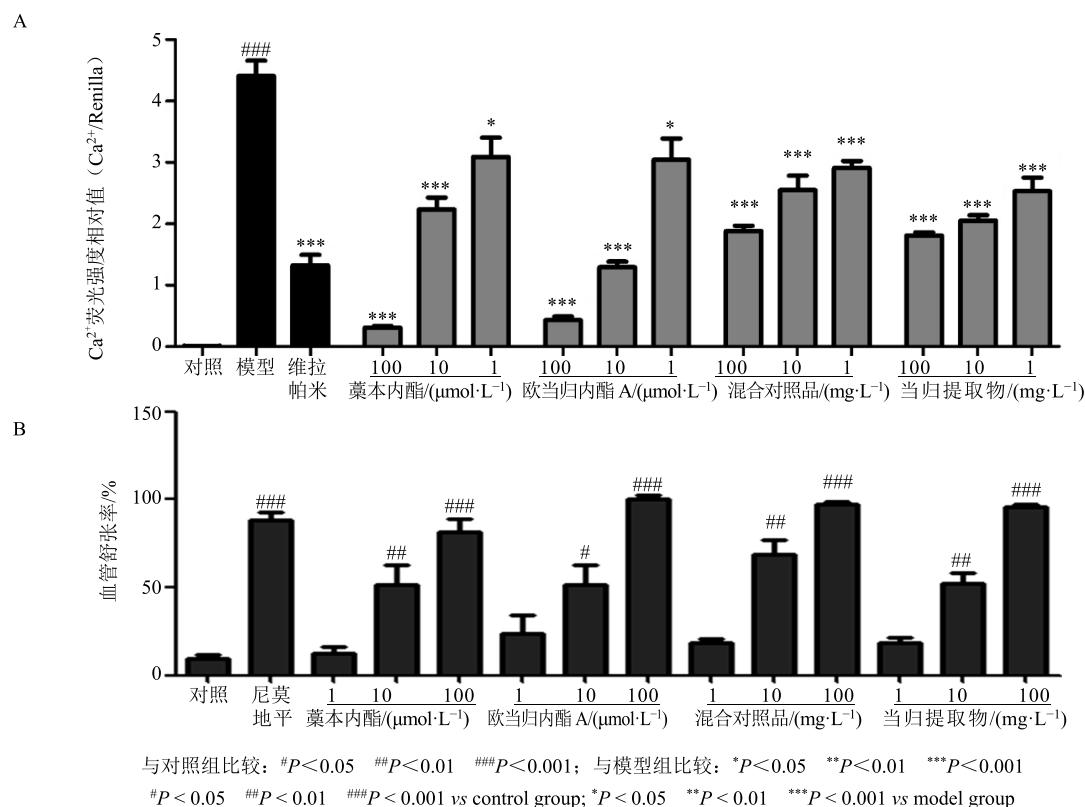


图 2 当归药效成分的 Ca²⁺拮抗活性 (A) 和扩血管活性 (B) 评价结果 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Evaluation of Ca²⁺antagonistic activity (A) and vasodilation effect for active ingredients (B) from *A. sinensis* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.3 当归扩血管 Q-marker 含量与 Ca²⁺拮抗活性关系的拟合

随机选取上述 64 批当归样品中 14 个不同的样本, 经 UPLC 分析分别检测其藁本内酯和欧当归内酯 A 的含量。含量分析结果见图 3-A 和 3-B, 藁本内酯的质量分数在 3.625~11.620 mg/g, 其均值为 7.562 mg/g; 欧当归内酯 A 的质量分数在 0.111~0.761 mg/g, 其均值为 0.297 mg/g。其对应的 14 批次的当归提取物不同稀释条件下的 Ca²⁺拮抗活性见图 3-C, 不同批次的样品呈现出不同的 Ca²⁺拮抗效果, 提示 Q-marker 的含量与比例关系对整体活性有着不同的影响。根据“2.5”项下拟合算法, 对藁本内酯和欧当归内酯 A 的含量与 Ca²⁺拮抗活性进行关联, 最终得到其函数关系: $Y = 31.2579 X_1 + 381.3520 X_2 - 248.9790 X_1 X_2 + 18.4822$ 。结果见图 3-D, 所构建的函数, 其 $F = 44.9811$, $P = 1.77846 \times 10^{-14}$, 数据拟合的回归系数 (r^2) 为 0.72, 说明该模型具有较好的可行性, 可用于当归药材活性的预测。

3.4 当归扩血管 Q-marker 的近红外光谱拟合

3.4.1 光谱预处理方法的选择 在当归近红外光谱

的采集过程中, 由于样品的颗粒度、颜色及仪器响应等干扰因素, 会导致近红外光谱和基线的漂移 (图 4-A)。本研究以校正均方差 (RMSEC)、预测均方差 (RMSEP) 及模型 r^2 为指标, 对 50 批当归样品分别采用一阶导数、二阶导数、多元散射校正 (MSC)、正态变量校正 (SNV) 等考察其光谱预处理方法。综合模型相关系数 (r^2) 和 RMSEC 指标, 最终确定了最适光谱预处理方法为一阶导数+正态变量校正 (SNV), 其预处理效果见图 4-B。

3.4.2 建模光谱区间以及主因子数的确定 为了提高近红外光谱拟合的准确性, 本研究结合 OPUS 7.0 定量分析软件的最佳波数区间优化功能对藁本内酯和欧当归内酯 A 红外光谱的建模区间进行了筛选。确定藁本内酯的最佳建模波数区间为 6 102.5~5 446.8 cm⁻¹, 欧当归内酯 A 为 9 400.7~7 498.9 cm⁻¹ 及 6 102.5~4 598.1 cm⁻¹。为了确保模型预测的稳健性, 同时对建模的最佳主因子数进行了考察。综合模型 r^2 、交互验证均方差 (RMSECV) 及 RMSEP 的检测结果, 最终确定建模的主因子数, 藁本内酯为 8, 欧当归内酯 A 为 12。

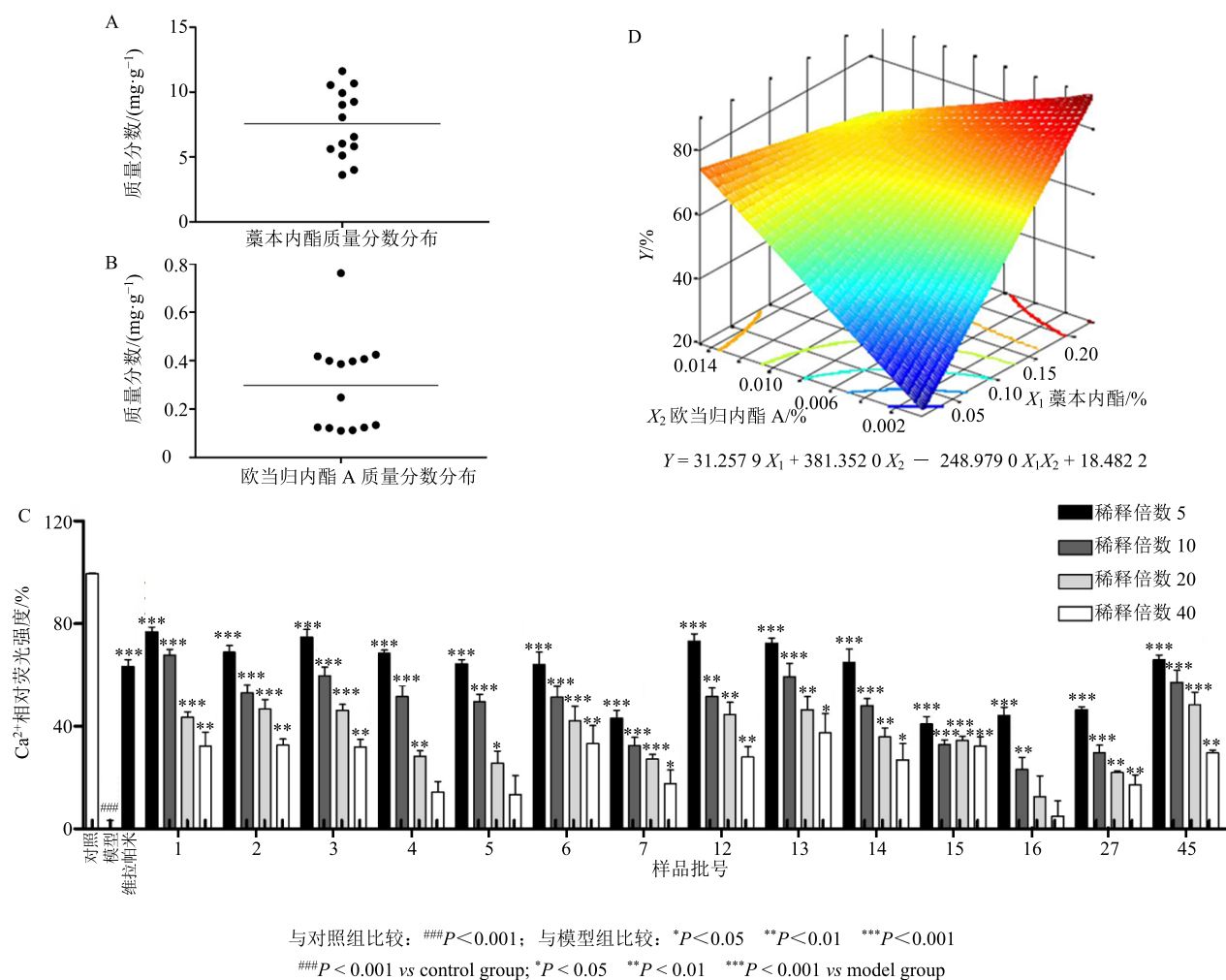


图 3 当归药材特定 Q-marker 藁本内酯含量 (A)、欧当归内酯 A 含量 (B)、Ca²⁺拮抗活性 (C) 以及 Ca²⁺拮抗活性与含量的非线性拟合 (D) ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

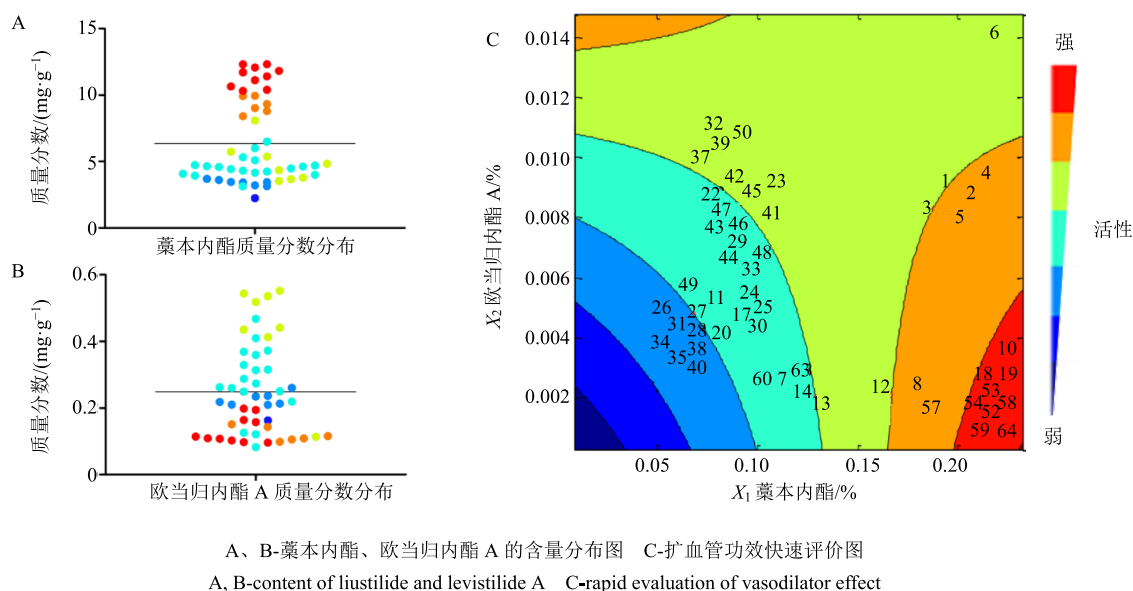
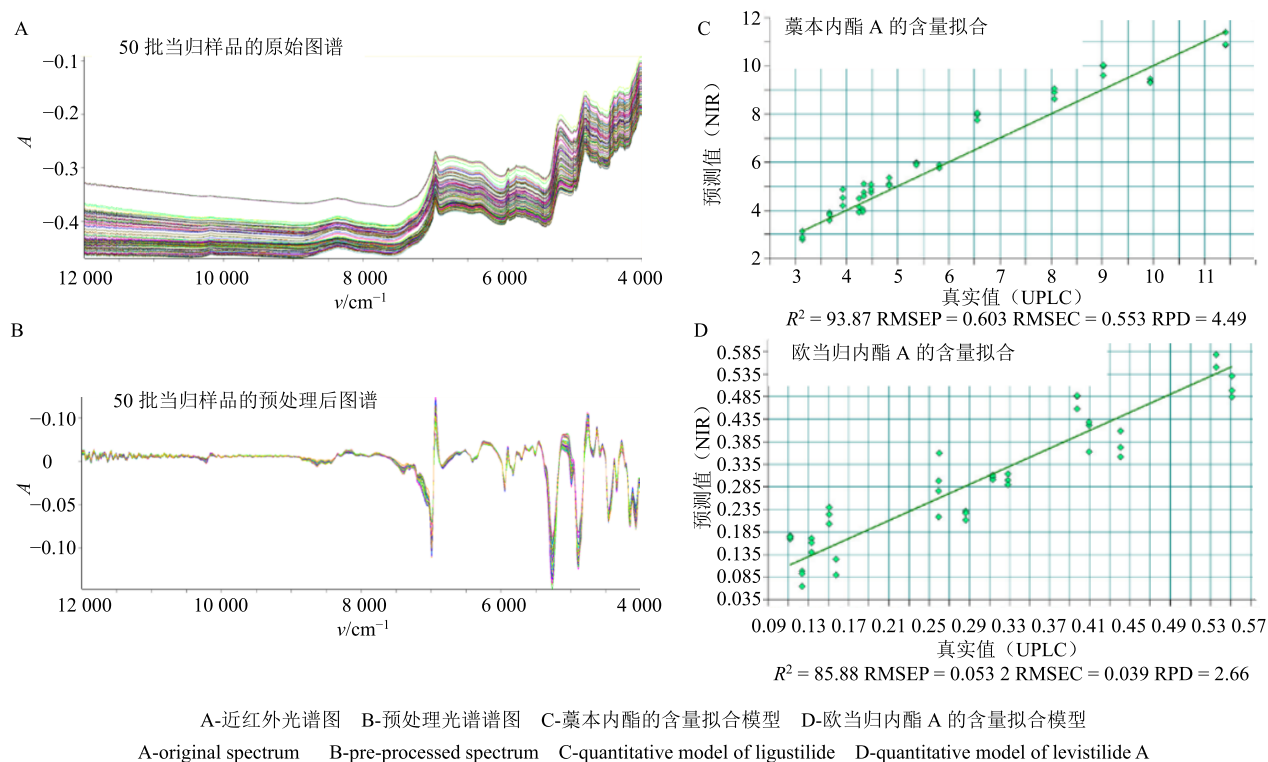
Fig. 3 Content of ligustilide (A), levistilide A (B) and Ca²⁺ antagonistic activity (C) for *A. sinensis* extract, and nonlinear fitting between content and Ca²⁺ antagonistic activity (D) ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3.4.3 定量模型的建立 根据 UPLC 测定的当归样品的藁本内酯和欧当归内酯 A 含量, 从 50 份当归样品中随机选择 35 份作为样本集, 运用 OPUS 7.0 软件, 采用上述最佳光谱预处理方法、波数区间以及主因子数, 通过偏最小二乘法进行建模, 另 15 份作为验证集进行外部验证。检验结果如图 4-C、D 显示, 藁本内酯和欧当归内酯 A 的预测相关系数分别为 $r_1^2 = 93.87$ 和 $r_2^2 = 85.88$, RMSEP 为 0.603 和 0.053, RMSEE 为 0.553 和 0.039, 相对分析误差 RPD 为 4.49 和 2.66, 表明 2 种模型均具有良好的线性与预测能力。

3.5 当归主要 Q-marker 含量及其扩血管活性的评价

根据 50 批当归药材近红外的含量检测结果(图 5-A、5-B), 其藁本内酯的质量分数为 2.248~12.319

mg/g, 其均值为 6.359 mg/g。欧当归内酯 A 的质量分数为 0.082~0.551 mg/g, 其均值为 0.248 mg/g。整理上述 64 批当归样品的含量测定结果, 分别导入“3.3”项下的 Ca²⁺拮抗活性的拟合函数计算 Y 值, 并依据 Y 值与藁本内酯和欧当归内酯 A 的含量绘制钙离子拮抗活性与 Q-marker 的多维关系图, 构建示范性当归数字化样本库。结果如图 5-C 所示, 按照 Y 值等高线的高低, 将其钙离子拮抗效果分为 7 不同的等级区域, 其功效的强弱依次由右到左为红色、橙色、黄色、湖蓝色、淡蓝色、蓝色以及深蓝色区域。通过整合上述方法, 本研究可以将不同批次的当归样品直观地展示在相应区域内, 实现了基于 Q-marker 对当归药材特定功效的快速预测以及品质的精准评价。



4 讨论

中药成分复杂功能主治多样，如何确立活性成分与功效之间的关系，并用于药材质量的评价是目前有待解决的瓶颈问题，中药 Q-marker 的提出为该

问题的解决提供了有效的路径。Ding 等^[13-14]通过抗炎 Q-marker 的筛选，利用人工神经网络等建立了成分与活性之间的非线性关系，并采用近红外快检技术实现了对菊花、金银花等药材“清热解毒”功效

的快速评价。Lucio-Gutiérrez 等^[15]采用紫外光谱建立了特纳草的特征波长加强指纹图谱,并通过偏最小二乘法建立了指纹图谱同抗氧化活性关系,并用于其抗氧化活性的评价。Long 等^[16]采用“Loewe additivism”模型,通过天王补心丸中的 6 种主要成分的含量,对其抗炎功效的整体叠加效果进行了预测。这些方法均在一定程度上实现了利用活性成分含量,对中药质量进行整体表征和评价。目前研究认为当归药材中的挥发油、酚酸类和多糖是其主要药效成分^[17]。其中当归挥发油在解痉、镇痛、抗炎、抑制血小板聚集等方面具有显著的药理活性。而藁本内酯作为挥发油中可以改善血液流变性的重要成分,通常被作为当归质量控制的指标成分^[18]。Lei 等^[10]研究发现藁本内酯可通过阻断电压依赖性钙离子通道(VDCC)和尼丁受体(RYR)发挥钙拮抗作用;Chen 等^[19]研究报道丁烯基苯胺成分可抑制内质网钙库的释放,从而降低胞浆中 Ca^{2+} 浓度。阿魏酸作为《中国药典》2015 年版当归质控的指标成分,其可以通过抑制突触前电压依赖性 Ca^{2+} 的进入,抑制大鼠皮质突触体中谷氨酸的释放^[20]。 Ca^{2+} 在平滑肌收缩过程中起着重要的作用,钙拮抗剂也是目前临床上常用的扩血管药物之一,其可通过阻滞钙通道有效治疗高血压、冠心病等心血管疾病。本研究通过谱效筛选的方法,发现藁本内酯及欧当归内酯 A 在当归的 Ca^{2+} 拮抗活性中发挥了主要作用。并通过二者在细胞和离体动物水平的量效关系研究,认为其可以作为当归血管舒张作用的 Q-marker,并确立了藁本内酯和欧当归内酯 A 的含量与 Ca^{2+} 拮抗活性的拟合关系。在 Q-marker 5 元素中的生物活性,即 Q-marker 与药效作用或功效的相关性,是反映其内在质量的重要标志。而所选择的 Q-marker 测定方法的准确性是衡量其可测性的基础。目前通过近红外技术可以直接获取中药材的光谱信息,并借助化学计量学手段能实现多成分的定量分析以及加工过程的智能化监控^[21-22]。但如何将 Q-marker 的光谱信息,通过量效之间的非线性关系,迅速转换为药材功效和品质的信息,是实现中药智能评价的关键。本研究整合近红外技术通过直接扫描当归药材粉末,实现了对多个 Q-marker 的快速测定以及功效评价。结合当归数字化样本库,本研究示范了基于中药 Q-marker 与光谱技术对药材品质进行精准评价的可能性,为中药材品质的智能监管提供了创新方法。

参考文献

- [1] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [2] 张铁军,白 钢,刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [3] Liu C X, Cheng Y Y, Guo D A, et al. A new concept on quality marker for quality assessment and process control of Chinese medicines [J]. *Chin Herb Drugs*, 2017, 9(1): 3-13.
- [4] 白 钢,丁国钰,侯媛媛,等. 引进近红外技术用于中药材品质的快速评价 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3501-3505.
- [5] Bai G, Zhang T J, Hou Y Y, et al. From quality markers to data mining and intelligence assessment: A smart quality-evaluation strategy for traditional Chinese medicine based on quality markers [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 109-116.
- [6] 白 钢,侯媛媛,丁国钰,等. 基于中药质量标志物构建中药材品质的近红外智能评价体系 [J]. 药学学报, 2019, 54(2): 197-203.
- [7] 李文涛,杨世海. 当归质量评价研究现状 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 517-523.
- [8] Nayler W G. Pharmacological aspects of calcium antagonism. Short term and long term benefits [J]. *Drugs*, 1993, 46(S2): 40-47.
- [9] 曹博策,李 丽,李 刚. 二氢吡啶和非二氢吡啶类钙拮抗剂在冠状动脉性心脏病合并高血压中的应用 [J]. 中华高血压杂志, 2018, 26(4): 301-303.
- [10] Lei W, Ni J N, Xia X T, et al. Searching for synergistic calcium antagonists and novel therapeutic regimens for coronary heart disease therapy from a traditional Chinese medicine, Suxiao Jiuxin Pill [J]. *J Chromatogr B*, 2018, 1092: 220-227.
- [11] Cao Y X, Zhang W, He J Y, et al. Ligustilide induces vasodilatation via inhibiting voltage dependent calcium channel and receptor-mediated Ca^{2+} influx and release [J]. *Vascul Pharmacol*, 2006, 45(3): 171-176.
- [12] 雷晓晴,王秀丽,李 耿,等. 近红外光谱法快速测定当归中 7 种成分的含量 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3947-3954.
- [13] Ding G Y, Wang Y S, Liu A N, et al. From chemical markers to quality markers: An integrated approach of UPLC/Q-TOF, NIRS and chemometrics for the quality assessment of honeysuckle buds [J]. *Rsc Adv*, 2017, 7: 22034-22044.
- [14] Ding G Y, Hou Y Y, Han Y Q, et al. A rapid score

- evaluation system based on near infrared spectroscopy for quality control of *Flos Chrysanthemi* [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 131: 391-399.
- [15] Lucio-Gutiérrez J R, Garza-Juárez A, Coello J, *et al.* Multi-wavelength high-performance liquid chromatographic fingerprints and chemometrics to predict the antioxidant activity of *Turnera diffusa* as part of its quality control [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1235: 68-76.
- [16] Long F, Yang H, Xu Y, *et al.* A strategy for the identification of combinatorial bioactive compounds contributing to the holistic effect of herbal medicines [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12361.
- [17] 牛莉, 于泓苓. 中药当归的化学成分分析与药理作用研究 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2018, 6(21): 90-92.
- [18] 陈方, 向阳, 朱立彬, 等. 当归药材质量标准提升研究 [J]. 中国药师, 2018, 21(10): 1861-1864.
- [19] Chen M, Ko W C. Lack of effect of Z-butylidenephthalide on presynaptic N-type Ca^{2+} channels in isolated guinea-pig ileum [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2016, 389(2): 159-166.
- [20] Lin T Y, Lu C W, Huang S K, *et al.* Ferulic acid suppresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent calcium entry in rat cerebrocortical nerve terminals [J]. *J Med Food*, 2013, 16(2): 112-119.
- [21] 应泽茜, 杜伟锋, 江康丽, 等. 近红外光谱在中药材及饮片快速质量控制中的应用 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2584-2588.
- [22] 贾灿潮, 李俊妮, 李荣, 等. 中药快速分析技术的发展及其前景 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(9): 1476-1483.