

葛根质量评价沿革及其药效组分质量标准研究模式

文春先¹, 徐蓓蕾¹, 刘晶晶¹, 崔向微², 张智圆¹, 张贵君^{1*}

(1. 北京中医药大学中药生药教研室, 北京 100102; 2. 北京建生药业有限公司, 北京 100039)

[摘要] 中药质量优劣的最主要体现就是“疗效”, 因此中药的质量标准需要能够准确地表述其疗效特征。中药药效组分理论质量标准研究模式以“临床疗效”为核心, 依据不同药效物质组合(药效组分)产生不同临床疗效的客观事实展开。采用传统中药葛根为模型药物, 综述其质量评价的历史沿革, 并在中医理论与中药药效组分理论的指导下, 以临床功效为基础, 探讨葛根的“标准物质”(药效组分), 采用不同药效组分对应不同临床疗效的方法进行分析, 建立中药葛根的药效组分质量标准总体研究模式, 为中药质量标准的深入研究提供新思路。

[关键词] 质量标准; 药效组分; 葛根; 研究模式

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0357-04

Historical Evolution of Quality Evaluation of Radix Puerariae and Study Mode for Quality Standard of Active Components Alignment

WEN Chun-xian¹, XU Bei-lei¹, LIU Jing-jing¹, CUI Xiang-wei², ZHANG Zhi-yuan¹, ZHANG Gui-jun^{1*}

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China; 2. Beijing Jiansheng Co. LTD, Beijing 100039, China)

[Abstract] The effect embodies the quality of traditional Chinese medicine (TCM). Therefore, the quality standards of TCM should describe its curative effect characteristics. The active components alignment theory is a new theory. It is based on the objective fact that different efficacy material combinations (active components alignment) produce different clinical curative effect with ‘clinical curative effect’ as the core. Puerariae is the model medicine in the manuscript. It explores historical evolution of its quality assessment, and looks for authentic ‘standard substance’ (active components alignment) on the basis of curative effect, under the guidance of active components alignment theory and clinical practice of TCM. Apply the analysis method that clinical effect is corresponding to active components alignment to establish general study mode of quality standard of Radix Puerariae. It provides a new idea and method for further study of quality standards based on clinical curative effect.

[Key words] quality standard; active components alignment; Radix Puerariae; study mode

中药是几千年来中医临床实践的产物, 其临床疗效是确定的。传统用药多以形态特征来衡量中药质量的优劣, 在古代便有“丹参要红”、“紫草要紫”的说法, 因此有人提出传统中药讲究“辨状论质”。随着现代科技的不断发展, 中药质量标准从“形态评价”进入了“化学成分含量测定”的阶段,

无疑将中药的发展向前推进了一大步。然而, 与西医“对病治疗”的单一成分、单靶点、线性作用方式不同, 中医“对证治疗”是多成分、多靶点、非线性作用。中医的“证”是复杂系统的复杂变化, 所以使用的“方药”系统也具有复杂性, 二者相吻合, 疗效才可展现^[1]。采用单体成分标示中药质量的研究模式中, 忽略了中药的复杂性 with 配伍原则, 脱离了中药的临床疗效。如桑寄生具有补肝肾、强筋骨的功效; 金钱草具有利水通淋的作用, 二者的定性鉴别均采用单一成分槲皮素^[2]作为指标成分, 而槲皮素则具有较好的祛痰、止咳平喘等作用, 也有降血压、降血脂、扩张冠状动脉, 增加冠脉血流量等作用。三者截然不同的功效说明采用槲皮素评价两

[收稿日期] 20120328(006)

[第一作者] 文春先, 博士后, 从事中药鉴定方法学、组分中药及中药药效组分质量标准体系研究

[通讯作者] * 张贵君, 教授/博导, 从事中药鉴定方法学、组分中药及中药药效组分质量标准体系研究, E-mail: guijunzhang@163.com

种中药的质量尚待商榷。

日本在对汉方药进行研究时,先从制剂着手分析,选取制剂中两味药以上的多种成分作为质量控制指标,以适当的分析方法“同时”测定其含量^[3],且要求指标性成分的理化性质满足溶于水、稳定、不因煎煮而被破坏、不易挥发的特点。

葛根主要功效为解肌退热、生津止渴、透疹、升阳止泻。现代药理研究表明其具有扩张脑血管、增加脑血流量、改善脑微循环障碍等药理作用,在治疗高血压、冠心病、心绞痛、心肌梗死、脑缺血、脑梗死、偏头痛、突发性耳聋和糖尿病等病症中均有临床应用^[4-5]。目前对葛根中葛根素、大豆苷等异黄酮类成分作为药物和保健品的应用也备受关注。

2 葛根的质量评价沿革

葛根始见于《神农本草经》,列为中品。1963 年版《中国药典》,规定葛根为豆科植物葛 *Pueraria pseudohirsute* Tang et Wang 的干燥根。在 1977~2000 年版《中国药典》中,规定葛根为豆科植物野葛 *P. lobata* (Willd.) Ohwi 和甘葛藤 *P. thomsonii* Benth. 的干燥块根,并且对野葛和甘葛藤的性状特征进行描述,出现了不同的质量要求。2005~2010 年版《中国药典》直接将粉葛另立,葛根的原植物只有野葛。在 1963 年版《中国药典》中,葛根的质量鉴别采用性状鉴别为主,随着科学技术的不断发展,其后各版本的质量标准中分别增加了显微、理化等检测方法和指标;炮制方法、性味归经等方面的规定也发生了或多或少的变化。造成种种变化的主要原因是在制定葛根质量标准时没有以其中医临床疗效为核心。野根和粉葛的有效成分是以葛根素为代表的黄酮类成分^[6-8],化学成分基本相同,但野葛的总黄酮量比粉葛高出 10 倍左右^[9-10],《中国药典》自 2000 年版要求野葛中葛根素的量不得少于 2.4%,粉葛不得少于 0.30%,但两者在“用法与用量”中均为 9~15 g,该剂量自 1977~2005 年版一直没有变化,而在 2010 年版药典中,却将该“剂量”改变为 10~15 g,值得探讨。目前,临床处方中使用的葛根有生野葛根、生粉葛根、煨葛根 3 种,三者功效的存在明显的差异。野葛根发汗退热的作用强于粉葛根,粉葛根的生津止渴作用强于野葛根,煨葛根止泻作用增强。不同的药效说明三者的药效组分存在一定差异,单独采用葛根素作为质量控制标准,忽略了疗效和配伍规律,很难起到质量评价的作用。

为此,在中医理论指导下,吸取国内外药品质量标准研究方法的精髓,张贵君教授在中药科学研究 30 余年实践基础上,创立了“中药药效组分理论”,该理论阐述了中药药效组分即是中药标准物质的概念,并建立了药效组分的研究模式和技术路线^[11],为中药的科学提供新思路。

3 葛根药效组分质量评价模式

3.1 指导理论 中药药效组分理论^[12]是传统中医药理论与现代中药研究相结合的产物,来源于中医药数千年的实践过程。中药药效组分理论指出临床使用的中药多为复方及其制剂,中药饮片是复方的起点,含有多种成分,多味中药遵循自然规律有序地结合,组成配伍组分。此组分是有机结合

而非随机搭配的,有效成分的含量和比例关系自然形成,存在着必然规律;这种组合的实质是将化学组分和信息物质组分有机组合^[12],构成了有序的药效组分,且始终处于相对平衡的状态。以此可以阐释中药药效与物质、物质与品质、品质与临床疗效等关键性问题。中药药效组分具有对应性、稳定性、比例相对恒定性、疗效确定性等特征。

在中药药效组分理论的指导下,崔萌萌等^[13]确定了黄芩(枯芩)类中药治疗上焦肺热病症的黄酮类药效组分(黄芩苷-黄芩素汉黄芩苷-汉黄芩素),各配伍组分含量比例为 52.44:1.89:12.88:1。王晶娟等^[14]确定可用于全蝎蛋白药效组分鉴别的 10 条电泳谱带,其相对分子质量分别为 94.162 0,66.400 0,40.357 0,27.541 0,22.518 0,19.520 0,12.766 0,11.190 0,9.665 3,8.534 2 kDa。郑璐璐等^[15]通过 HPLC 从黄金菊汤剂中得到了 4 种化学药效组分分别为:黄芩苷 0.264 4%、绿原酸 0.016 3%、荜草苷 0.014 1%、牡荆苷 0.003 57%。

该理论科学地阐明了中药研究的基本技术路线,将复杂的中药问题简单化;更重要的是提出了中药标准物质与中药质量标准研究模式的问题。

3.2 标准物质与质量标准 依据中药药效组分理论,中药标准物质是在药效组分理论指导下产生的“药效组分”,它是各有效成分组成相对稳定、具有相对固定组成和含量比例关系的配伍组分。药效组分基于传统经验方,并与经验方的有效性、安全性和稳定性相一致。所以制定的质量标准必须以临床疗效为核心,以药效组分作为标准物质。制定与临床疗效相对应的质量标准,预示着使用化学单体标准化中药或作为中药标准物质的时代即将过去,标志着中药的传承进入了新的发展时期。

3.3 葛根药效组分质量标准研究模式^[12] 中药药效组分质量标准的研究模式为:传统标准中药的确定;药效组分分析;药效组分组合药理辅助验证实验;药效组分体内代谢实验;通过等效性实验确定标准物质;建立中药药效组分质量标准等。图 1 为葛根药效组分质量标准评价体系简图。该图反映了结合有效性、安全性及稳定性指标,对葛根的标准物质进行确定的全部过程。

3.3.1 传统中药的确定 选取中医理论指导下的临床用药(道地药材),根据传统用药方式制备(葛根多为水煎煮),追溯研究经典方剂。依据传统中药药效之所长,分别选取野葛、粉葛及煨葛根的水提液作为研究对象。

崔向微等采用 FT-IR 及 SD-IR 法研究了葛根芩连汤方剂中四味药不同产地的品种,确定各药的道地药材品种。徐蓓蕾等采用 FT-IR 结合 2D-IR 的方法研究了野葛、粉葛、煨葛原料药及其相应提取物间的差异^[16]。

3.3.2 初步确定葛根的药效组分(图 2①) 采用适当的分析手段对复方的药效物质含量进行分析测定,根据原方进行组分量与比例关系的确定($A:B:C:D = X_1 \pm a; X_2 \pm b; X_3 \pm c; X_4 \pm d$)。供试品的制备须符合传统中药加工和制剂的要求。

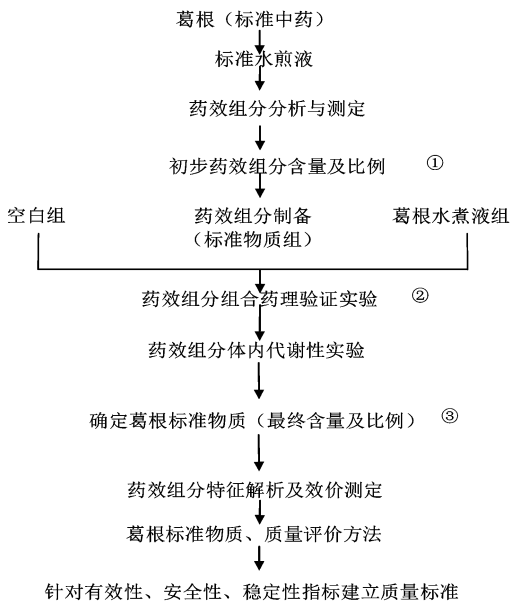


图1 中药葛根药效组分质量标准评价体系

3.3.3 药理辅助验证实验(图2②) 以葛根的中医功能主治与现代药理作用为依据,设计空白

对照组、药效组分组、传统标准中药对照组,进行解表和抗腹泻等相关实验,初步验证药效组分是否与传统中药具有等效性(即等效或优于原方)。若无一致性,则需要继续对药效组分进行分析,直至确定初步药效组分。

同时查阅传统经方,根据葛根在配伍中不同的功能主治(图3),将葛根配伍药对分为解肌退热,生津止渴,退疹及升阳止泻4组,每组选择不同的药对及复方,对各组药效组分进行分析测定。解肌退热组及退疹组选择野葛作为研究对象;生津止渴组选择粉葛作为研究对象;升阳止泻组选择煨葛作为研究对象。考察配伍组分的变化范围,最终找到针对葛根各功能主治的药效组分,建立基于中药葛根传统药效的质量标准,如:野葛解肌退热的药效组分为 $(y_1 \pm a_1; y_2 \pm b_1; y_3 \pm c_1; y_4 \pm d_1)$;野葛退疹的药效组分为 $(y_5 \pm a_2; y_6 \pm b_2; y_7 \pm c_2; y_8 \pm d_2)$;粉葛生津止渴的药效组分为 $(y_9 \pm a_3; y_{10} \pm b_3; y_{11} \pm c_3; y_{12} \pm d_3)$;煨葛升阳止泻组药效组分为 $(y_{13} \pm a_4; y_{14} \pm b_4; y_{15} \pm c_4; y_{16} \pm d_4)$ 。

黄伟强采用 HPLC 测定在葛根水煎液中药效组分为 3'-羟基根素-葛根素-大豆苷-大豆苷元比例为 $(9.64 \pm 0.13) : (58.76 \pm 0.70) : (10.02 \pm 0.33) : 1$,结果表明该组分具有解热、镇痛、抗炎、免疫、抗腹泻等功效,并与原方进行了对比。崔向微等确定了葛根苓连汤中 8 种药效组分,各成分间比例为 $(52.05 \pm 7.73) : (4.25 \pm 0.62) : (10.91 \pm 2.82) : (2.64 \pm 0.27) : (1.00 \pm 0.00) : (1.65 \pm 0.21) : (4.14 \pm 0.67) : (5.40 \pm 0.98)$,对该组分与原方的功能主治进行对比,发现该组分具有解热、镇痛、抗炎、免疫、抗腹泻、抑菌抗病毒等功效,其具有等效或优于原方的作用。刘娜确定了葛根药效组分为 3'-羟基葛根素-葛根素-大豆苷-大豆苷元,在复方中变

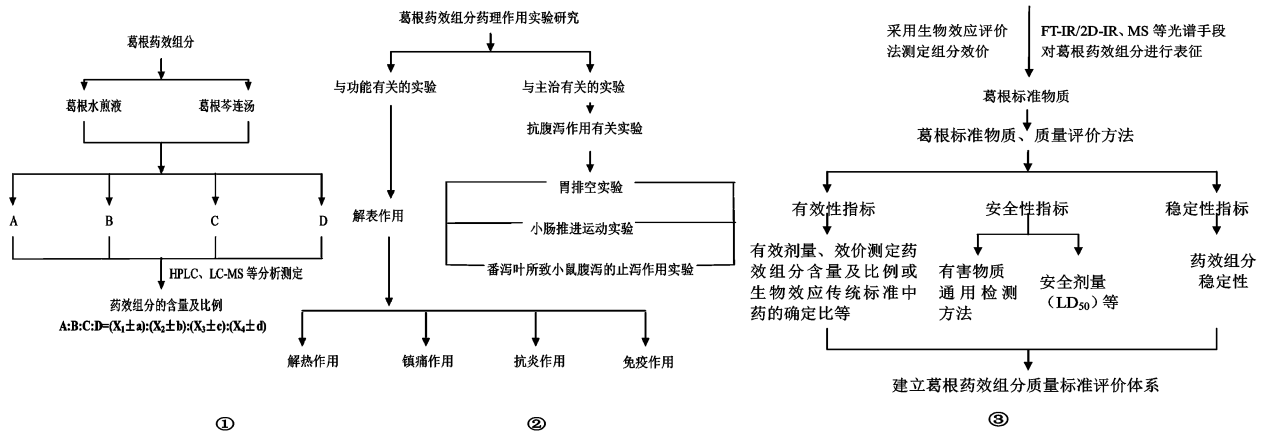


图2 葛根药效组分质量标准评价体系建立关键步骤

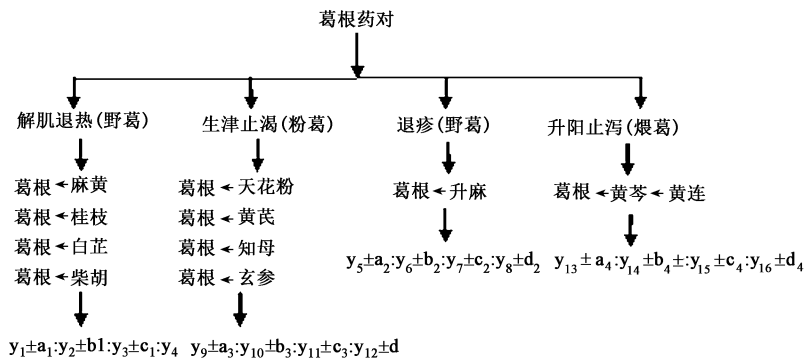


图3 基于葛根功能主治各组研究内容

化总范围为 4.7:15.2:3.5:1~1.7:4.7:1.0:1;初步探讨了葛根在解表方剂中药效组分变化范围为 4.7:9.5:3.2:1~2.0:6.3:1.0:1;在透疹方中药效组分比例关系为 1.9:5.8:1.4:1;消渴方中药效组分变化范围为 2.2:8.8:3.5:1~1.7:4.7:2.4:1;止泻方药效组分变化范围为 4.0:15.2:3.2:1~3.7:11.6:2.7:1。程京艳采用 HPLC 同时测定葛根的药效组分 3'-羟基葛根素、葛根素、大豆苷、大豆苷元,葛根药效组分在不同功效主治的葛根药对中总变化范围为 2.90:5.62:1.30:1~1.50:4.12:1:1;药对中解肌退热药效组分为 2.90:5.62:1.30:1~2.23:5.19:1.13:1;生津止渴药效组分为 2.43:5.15:1.15:1~1.50:4.12:1:1;退疹药效组分为 2.09:5.07:1.10:1;升阳止泻药效组分为 2.67:5.22:1.09:1。

3.3.4 体内代谢性实验 在药理辅助实验的基础上,对葛根药效组分的体内代谢过程进行考察。通过与原方进行比较,对药效组分进行进一步的筛选。若无等效性,须重新确证初步药效组分。

徐蓓蕾等在实验室前期工作基础上,建立了 LC-MS-MS 同时测定葛根芩连汤药效组分与原方中 8 种主要成分的血药浓度的实验方法,对比两者中 8 种主要成分的药代动力学过程,结果表明两者中主要成分的药动学特征存在某些相似性。同时将单一成分葛根素与组分及原方中葛根素的药代动力学过程进行对比,结果发现单一成分与原方中葛根素的药动学过程差异较大,而组分与原方中葛根素的药动学特征较相似。

3.3.5 确定标准物质 在药理辅助验证实验及体内代谢性实验基础上,将筛选出的药效组分与传统标准葛根水煎液(或葛根药对、复方水煎液)进行同条件的比对及评价,最终确定与原方具有等效性的药效组分(即标准物质)。

3.3.6 质量标准的建立 对确定后的葛根标准物质,进行化学表征及生物学评价(图 2③),针对葛根的标准物质进行安全性、有效性及稳定性质量标准的研究。有效性采用标示量法、生物效应评价法对所确定的标准物质进行评价,并且对药效组分的表观鉴别特征、含量测定、效价等指标进行考察;安全性指标要明确药效组分的安全剂量范围,有害物质的限量等;稳定性指标包括对药效组分稳定性和贮藏期的考察。最终建立一套完整的葛根(中药)质量标准评价体系。

4 结语

中药质量标准研究模式是评价中药质量的前提,同时也是中质量控制的关键。如何对中药这一多成分、多靶点复杂体系所表现出的外在质量进行科学研究与评价,已成为中药发展的瓶颈,一直是科研人员不断探索的热点问题^[17]。近代中药质量标准的发展经过了半个世纪的历程,各版《中国药典》均发生了一定变化,目标是“用药安全、疗效可靠、工艺合理、质量可控、标准完善”,然而一味地追求采用化学成分进行质控的同时,在某种程度上可能忽略了中药整体的价值。中药的价值体现在疗效,中药的质量标准是中药的生命,所谓质量标准必须是临床疗效的标示,必须重视传统中药的整体配伍原则,必须能够确保中药安全、有效与稳定的特性。本文以葛根为例,在传统中医药理论及中药药效组分理论的

基础上,提出了基于中药临床疗效的中药药效组分质量标准具体研究模式,可作为目前对于中药质量标准研究的参考模式,寻找针对疾病的“标准物质”来标识传统中药的质量。

[参考文献]

- [1] 郭丽丽,王阶. 论中药复方药效研究 [J]. 中国中药杂志,2008,33(7):851.
- [2] 张贵君. 中药商品质量标准凸显了影响中药发展的关键问题 [C]. 青岛:中国商品学会第一届全国中药商品学术大会,2008.
- [3] 赵中振,聂万达,胡梅. 日本的中成药市场 [J]. 中国中医药信息杂志,1996,3(4):21.
- [4] 陈丽红,范慧佳,唐于平. 葛根芩连配方颗粒在大鼠体内的药物代谢产物研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):101.
- [5] 郭宇洁,孟硕,徐辉,等. 葛根素和葛根黄酮的药代动力学研究概述 [J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(6):82.
- [6] 马佳佳,李红梅,董治宇,等. 葛根素的研究进展 [J]. 中国实用医学研究杂志,2002,1(1):87.
- [7] 宋红普,贯剑. 葛根的药学研究及临床应用概况 [J]. 上海中医药杂志,1999(4):47.
- [8] 秦文,董兴兵,杨勤. 葛根素的临床应用新进展 [J]. 中国药业,2004,13(7):75.
- [9] 安伟建,夏光成,郭瑞. 不同产地葛根总黄酮含量的比较 [J]. 中国中药杂志,1999,24(6):339.
- [10] 张蕾,朱蓉贞,潘杨,等. 不同品种及产地的葛根中葛根素含量的比较 [J]. 中国中药杂志,1995,20(7):389.
- [11] 张贵君. 中药鉴定方法学 [M]. 北京:人民卫生出版社,2010.
- [12] 崔向微,张贵君. 中药药效组分离理论与药效组分的研究模式 [J]. 亚太传统医药,2008,4(9):16.
- [13] 崔萌萌,张贵君,徐蓓蕾,等. 桔芩中清热黄酮类药效组分的测定 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):83.
- [14] 王晶娟,张贵君,李奇豫. 全蝎蛋白药效组分的生物鉴定法研究 [J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):94.
- [15] 郑璐璐,张贵君,张春晖,等. 黄金菊药效组分解热的生物效应 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):196.
- [16] Beilei Xu, Guijun Zhang, Suqin Sun, et al. Rapid discrimination of three kinds of Radix Puerariae and their extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional correlation infrared spectroscopy [J]. J Mol Struct (in press), 2012,1018:88.
- [17] 王旭,于江泳,倪龙. 中成药本体对照标准幅度质量控制模式的探索 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):275.

[责任编辑 邹晓翠]