

经典名方物质基准研制的关键技术分析

樊启猛, 贺鹏, 李海英, 刘润南, 贺玉婷, 梁慧慧, 刘文龙, 周逸群*, 贺福元*

(湖南中医药大学药学院, 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 现代中药制剂制备技术与评价实验室, 中药药超分子机理与数理特征化实验室, 长沙 410208)

[摘要] 中药经典名方开发已成为当下中医药界研究的热点之一,而其中经典名方物质基准的成功研制对于整个中药经典名方的申报极为关键。经典名方物质基准既是检测经典名方制剂质量的基准,同时又需反映整方的物质基础。中药成分众多而复杂,单成分的、化药式的研发与质量控制模式难以适用于整体药用的中药制剂的开发,亟需开辟一条中药专属的研发模式。以目前已有的现代科学技术,笔者建议将中药的遗传多态性、提取动力学、指纹图谱总量统计矩(相似度)法、超分子“印迹模板”等结合应用于经典名方物质基准的研制,探讨中药经典名方物质基准的质量控制技术,以期全面、准确地阐明药材-饮片-物质基准的成分群量值的传递规律,为推进中药经典名方的研制进程提供参考。

[关键词] 中药; 经典名方; 物质基准; 关键技术; 总量统计矩; 超分子“印迹模板”; 指纹图谱

[中图分类号] R22;R28;O433;C37;R94 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)15-0202-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191549

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190417.0950.001.html>

[网络出版时间] 2019-04-18 13:50

Analysis of Key Techniques in Development of Primary Standard of Classical Prescription of Chinese Medicine

FAN Qi-meng, HE Peng, LI Hai-ying, LIU Run-nan, HE Yu-ting, LIANG Hui-hui,
LIU Wen-long, ZHOU Yi-qun*, HE Fu-yuan*

(College of Pharmacy, Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification for Traditional Chinese Medicine, Pharmaceutical Preparation Technology and Evaluation Laboratory of Modern Chinese Medicine, Laboratory of Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] Research and development of classical prescription of Chinese medicine has become one of the hot spots in the research of traditional Chinese medicine (TCM), and the successful development of the primary standard is crucial to the application of the classical prescription of Chinese medicine. Primary standard of classical prescription is not only the benchmark to measure the quality of preparation of classical prescription, but also the material basis of whole prescription. The development and quality control mode of single component of western medicine is not suitable for the development of TCM preparation with integral medicinal function. Thus, it is very

[收稿日期] 20190126(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573691,81703824,81803729,81874507);湖南省自然科学基金项目(2016JJ4065,2019JJ50430);湖南中医药大学研究生科研创新课题(2018CX18,CX2018B504);湖南省教育厅创新平台开放基金项目(18K071)

[第一作者] 樊启猛,在读博士,从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化研究, Tel: 0731-85381372, E-mail: qimengfan1989@qq.com

[通信作者] *周逸群,硕士,讲师,从事中药炮制、饮片质量标准、中医药超分子的研究, Tel: 0731-85381372, E-mail: zhouyiqun123@sina.com;

*贺福元,博士,教授,从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化的研究, Tel: 0731-85381372, E-mail: pharmsharking@tom.com

urgent to develop an exclusive research and development model for TCM. In order to break through the quality control technology of primary standard of classical prescription, and comprehensively and accurately elucidate the transmission rule of the component group value of medicinal materials-decoction pieces-primary standard of classical prescription with the present modern science and technology, the genetic polymorphism of TCM, extraction kinetics, total quantum statistical moment (similarity) method of fingerprint and supramolecular imprinting template were combined and applied to the development of primary standard of classical prescription. In this way, the development and quality control of TCM will be realized in a real sense and the development of classical prescription of Chinese medicine will be accelerated and promoted.

[Key words] Chinese medicine; classical prescription; primary standard; key technologies; total quantum statistical moment; supramolecular imprinting template; fingerprint

2018 年 5 月 29 日,国家药品监督管理局发布了《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》(以下简称《规定》)^[1-3]。《规定》明确了古代经典名方制剂研制的 2 个阶段,经典名方物质基准研制与制剂研制。经典名方物质基准需按《古代经典名方目录(第一批)》公布的古代经典名方的处方、制法进行研制,以期作为第二阶段的制剂研制提供参照标准,说明经典名方物质基准的成功研制是经典名方制剂申报的前提。

经典名方物质基准是指以古代医籍中记载的古代经典名方制备方法为依据制备而得的中药药用物质的标准,除成型工艺外,其余制备方法应当与古代医籍记载基本一致^[1]。具体而言,是以中医药理论为指导,临床应用为基础,遵循传统制法,结合现代科学技术,从来源上控制原药材质量,经过药材前处理、饮片炮制、煎煮、浓缩、干燥成型等标准化工艺制成的质量均一、稳定、可控的浸出物。其研制过程具有规范的制备工艺、完善的质量标准体系,其临证配伍的组方形式在一定程度上反映了中医辨证论治和整体观的特色。而针对经典名方的制剂研究,决定其成功研发的关键在于如何突破中药经典名方物质基准的质量控制技术,及全面、准确阐明药材-饮片-物质基准的成分群量值的传递规律。本文拟从现代前沿科学技术及中医药现代研究的趋势出发,结合经典名方物质基准研发阶段可能存在的问题,提出适用于解决中药经典名方物质基准研制所遇问题的关键技术,以期为其研制提供切实可行的思路与方法。

1 主要存在的关键技术问题

国家中医药管理局有关经典名方遴选原则中明确要求处方中药味均按照 2015 年版《中国药典》的法定标准。但随着临床用药的变化、药材来源的变化和《中国药典》的修订,很多药味发生了一定程度

的变化。故首先应确定各味中药的基原,可对处方中各味药材的临床用药情况、药材来源变化和历版《中国药典》的修订情况进行深入的考证与确定,特别是同名异物与同物异名用药情况的考证。“中医治疗的巧处在量上,中医不传之秘在量上”,说明研究古代经典名方还需确定药物剂量。国家公布的《古代经典名方目录(第一批)》已给出了药物剂量信息,但经典名方来源于不同时代,且历代衡制不一定相同,需要进行换算才能明确组方用量信息^[4]。除此之外,还有一些剂量信息不明确的中药,如大枣、附子、栝楼用多少枚,黄酒用多少盏(碗)。只有通过对处方来源、组成、用法、用量及方义衍变等进行系统文献学研究,才能确定古代经典名方制剂的处方药味组成、配伍及剂量^[1]。一旦处方药味基原、组成和剂量确定,物质基准的质量属性将由药材质量、炮制与制剂制备方法、评价方法所决定。

1.1 中药材生长随域随种随株变化,难稳定质量属性 经典名方物质基准的质量稳定的前提是处方所用药材的质量均一、稳定,即中药原药材的标准化。在经过本草考证、药材基原确定后,提出选取不少于 3 个产地、不少于 15 批次的药材原则,药材符合现行《中国药典》或部颁标准或地方标准,在采收及初加工过程中除去非药用部分及异物,制定标准化的浸膏得率、指纹图谱、有效成分含量及有毒有害物质的限量范围,规定药材混批调配的投料方法,保证批次之间的均一。不可否认,这在一定程度上可减少药材个体间差异的影响,但尚不能有效地实现标准化。中药材质量受遗传多态性、产地、气候、年降雨量、病虫害、农药残留、生长年限、采收时间、入药部位、产地加工方法等多种因素的影响^[5-7],最终反映到全国药用资源质量区域分布特征性和产地加工方法上,虽已有较深入的研究^[8-10],但较为欠缺的是药材遗传多态性的研究,特别是以指纹图谱表征最终

效应成分信息熵与信息量的变化规律以及对应的稳定性投料量上。

1.2 中药炮制欠规范,不利于质量属性控制 经典名方中的药材都需炮制后才可应用于临床,只有按照经典名方要求如法炮制的饮片才能用于制剂制备。因此,中药可否用于临床,其炮制步骤必不可少。从影响炮制的因素来看,药材炮制需要考察温度、时间、投料量、辅料用量等相关因素对主要有效成分(或指标成分)的影响,从而制定合理的炮制工艺条件。然而目前中医药界尚未统一中药炮制产生变化的实质这一认识^[11]。此外,中药炮制工艺也不太规范。目前,2015年版《中国药典》只收录了部分药物的炮制规范,各省市也有自己的炮制规范,但大多没有规范的操作流程及具体的工艺技术参数,且同一品种可能各地各法,这些都直接影响了饮片质量的稳定、均一。加热是中药炮制最重要的方式之一,炮制火候对中药药性及药效变化的程度具有重要作用。历来判断炮制火候多凭传统经验,具有明显的主观性和随意性,难以保证饮片的生产规范和质量稳定^[12]。因此,建立定量的炮制火候技术是实现药材标准化炮制的重要方法。

1.3 中药煎煮缺乏研究,难能体现质量属性 在已公布的 100 首古代经典名方中,汤剂有 73 首、煮散 23 首、散剂 3 首、膏剂 1 首^[2]。而汤剂和煮散都需相应的煎煮过程,可见经典名方入药用的最后一个步骤多是煎煮(以水提为主)。传统的煎煮方式方法考虑了煎煮器具、煎煮前处理方法、煎煮前的浸泡时间及加水量、煎煮时间、药量等因素^[13]。但对于其中机制缺乏深入、全面的研究,多数参数都是一个大致范围,缺乏相应的科学依据作支撑,如“浸泡时间一般不少于 30 min”“煎煮 20 ~ 30 min”等,难以实现煎煮规范化和标准化。一般采用均匀设计、正交试验对固定饮片前处理方法、饮片的破碎程度、煎煮次数、加水量、煎煮时间等工艺参数进行多因素多水平考察,以单一有效成分转移率和浸膏得率为评价指标进行研究。这虽能阐明诸工艺因素水平对某一指标性成分和总提取物的影响与否,大体上获得中药复方有效成分群,但未能准确阐明有效成分群溶出动力学迁移规律,也就无法正确地、合理地指导生产制剂。因此,需要对煎煮(提取)这一动态过程有较为全面、深刻的了解,重点研究溶出的原理、饱和及稳定的状态。据此,再研究固定饮片在不同工艺条件下的质量属性成分的煎煮(提取)动力学性质,并根据得出的性质对工艺进行优化。因此,需通

过对中药煎煮(提取)动力学的研究实现煎煮主要工艺参数的规范化、标准化,这对于经典名方物质基准的成功研制十分关键。

1.4 单成分、化药式的质量评价模式难以准确反映质量属性和明确其传递规律 如何实现与传统工艺“基本一致”是古代经典名方生产工艺研究的关键问题和核心问题。古代经典名方生产工艺“基本一致”包括投料用饮片质量一致和生产工艺条件一致^[1]。只有这 2 个一致性规律都得到阐明,才能全面阐明物质基准的质量属性传递规律,以便保证其质量一致。因此,需要对包括原药材、饮片、浸出物在内的中间体及最终成品进行质量控制,也就意味着需要对药材-饮片-物质基准的成分群量值的传递规律展开一系列研究。

中药是具有复杂成分的有机整体,其疗效也是其所含多元化活性成分共同作用的结果。目前,我国对中药材、饮片与经典名方物质基准(制剂)的质量评价内容主要包括外观鉴别、性状检查以及有效成分的含量测定,也包括生物效应测定。在有效成分的含量测定方面,现多采用 1 ~ 2 种化学成分表征中药质量的质控方法,不仅不能体现中医药学的整体理念和思维体系,也无法表征中药饮片与制剂的药用物质基础和化学成分群的整体性、复杂性。因此,建立科学、合理、可行的中药有效性、安全性、稳定性与生物等效性评价体系对中药材、饮片与经典名方物质基准(制剂)的质量评价体系具有特别意义^[14]。但由于中药材的生物多样性,要建立起体现原方治病物质质量属性的经典名方物质基准尚有一定难度。以往的中药质量评价多强调方法的稳定性,当面对效应因方而异的物质基准的质量评价时更应强调质量属性的传递规律阐明,只有在明确其传递规律的基础上才能实现整体质量稳定。中药指纹图谱是建立在中药化学成分系统研究的基础上的一种综合的、量化的质控手段,能较为全面地反映中药化学成分的种类与数量,进而反映其质量^[15]。但由于目前中药指纹图谱的峰数、峰高、峰形受进样量、仪器种类、操作方法等影响较大,稳定性与溯源性较差,建立一种具有加合性、抗干扰性、统计性、易表征峰值量变传递关系的指纹图谱分析方法是物质基准评价的关键问题。

2 药材遗传多态性的控制

中药主要来源于自然界的动植物,是一个多成分药物组合体系的有机整体。与其他生物体一样,中药材具有遗传多态性。由于基因多态性,必然

产生多态性的酶系,也必然产生多样性的中药次生代谢产物(化学成分)。中药材的道地性和同种同地域药材成分的多样性直接证实了遗传多态性现象。中药材的道地性本质上是由中药材遗传因素与环境因素两方面决定,不同环境、同一药材的成分不同是由因适应不同环境而致稳定性的遗传变异造成的,量变体现非连续性质量性状,不同产地的成分指纹图谱必然不同,这种指纹图谱的不同是质量性状的,可用遗传度来进行解释;同一环境、同一药材成分不同是由遗传多态性造成的,其群体应遵守 Hardy-Weinberg 平衡定律,量变体现连续的数量性状,尽管单株药材的成分含量不同,但在一定区域,当个体达到一定数量时,其总体的成分是稳定的^[6-7]。因此,药材质量可能会因种属、遗传多态性、产地、采收时间、加工方式等不同而质量差异较大。为保障药材质量的一致性以及经典名方制剂后质量的一致性,就需要建立体现多成分群且突显遗传多态性的动态、平衡、个性与综合整体化的中药材质控模式。

中药材受遗传多态性和环境的影响最终反映到成分的种类和含量的波动,进而反映到指纹图谱特征与非特征峰的变化。对于某一产地的药材,当大于一定量的样本投料量投料时,其指纹图谱信息处于稳定,若以大于此量进行勾兑,则中药成分指纹图谱信息处于稳定,若以小于此量进行勾兑,则中药成分指纹图谱处于波动之中,其成分在一定的上下限进行波动,说明中药成分的波动上下限与投料量相关^[6-7]。中药指纹图谱包涵了峰数目、峰面积等信息。当所有成分对应的特征峰都能相互独立、分离,且响应值(峰面积)最大时,是指纹图谱的最佳表达状态。然而色谱峰的峰数与响应值往往是矛盾的,峰响应值增大,峰面积增大,峰与峰之间的分离度降低,此时易重叠,使总峰数目减少。因此,在一定色谱条件下,峰数目较多,同时峰面积也较大,此时指纹图谱表达的信息量也就最大。将色谱峰视为一信息单元,色谱峰之间分离与不分离的情况相当于色谱峰信息元出现与否的程度,由信息熵表示。此外,色谱峰还可表达峰面积,将峰面积与中药指纹图谱信息熵相乘即可获得其所承载的信息量。当指纹图谱表达的信息熵最大时,中药的有效成分指纹图谱的以最大信息量表达,此时中药多态性的信息会反映到指纹图谱信息量的连续正态变化之中。通过对中药指纹图谱信息量的动态变化,求出变异系数,按统计学的正态分布可求得能反映中药多态性动态平

衡的稳定中药投料量,当大于一次性投料量时可确保中药成分群稳定,此时中药质量可控^[6-7]。因此,只要测出同一产地中药指纹图谱信息量的均值和方差,就能获得整体质量稳定的总样本大小,即一次勾兑时的稳态质量投料量,据此可实现中药材质量的均一性。此外,对同一产地、不同产地药材的信息量进行研究,求得制剂质量稳态的一次投料量,在大于一次投料量的情况下进行勾兑以达到控制中药成品制剂质量的目的。

3 中药炮制火候的量化

传统的炮制火候是指加热火力的大小和加热时间的长短。现代意义的火候不仅包含了传统火候的含义,还包括药物在受热过程中内外出现的变化特征(加热的程度)^[16]。根据化学动力学原理,在加热炮制中药过程中,当加热达到一定温度、满足中药成分分子活化能的需要时,中药成分将变成活化分子,进而发生一系列化学变化。说明炮制火候与中药成分分子的活化能相关,而温度则是关联两者的重要因素。此时,其反应量又遵循动力学规律,与加热时间相关。因此,炮制火候本质上是达到一定温度条件下的炮制时间的累与积效应;从化学反应动力学角度,则是在一定反应平衡常数条件下,中药成分含量动力学曲线随时间变化的积分^[16]。

因此,根据化学反应动力学原理,建立中药炮制火候的数学表征模型,对于单个成分、多个成分的稳定性采用 Arrhenius 公式与动力学方程表征。首先构建单成分反应的平衡常数、单成分反应的活化能、单成分的 Arrhenius 频率因子、气体常数、单成分量、总成分量、总成分反应的平衡常数等参数的微分方程组。通过测定单个成分在不同温度下的各动力学参数(反应平衡常数、反应活化能、频率因子、单成分量),可计算出中药炮制品总有效成分群的各参数。在此基础上,再由单位温度、单位时间、物质质量的变量程度给出炮制火候的微分方程,以此构建中药炮制火候的数学模型。最终,只要测定初始温度、终点温度的平衡常数及炮制时间,即可求得成分量随时间的动力学变量。炮制的初始温度、终点温度、炮制时间一定时,多批次炮制药物前后的改变量没有显著性差异,则可验证炮制火候数学模型的可靠性。将此模型及其参数体系应用于药材加热炮制程度的控制,可实现中药材的量化、标准化炮制。

4 中药煎煮(提取)的规范化

中药成分的煎煮(提取)过程可分为 5 个阶段:
①水分子向药材表面扩散,②水分子向药材内部

渗透,③药材内部溶质溶解,④被溶解的溶质从药材内部向药材表面扩散,⑤溶质从药材表面向水溶液主体扩散;可概括为外扩散、内扩散、溶剂化 3 个过程。在煎煮过程中,扩散过程是主要的速率控制步骤^[17-19]。可从 Fick 扩散第一定律出发,建立中药提取的动力学数学模型。中药成分的溶出分浸润解吸、置换溶解、传质扩散阶段。与固体制剂不同,中药材存在细胞壁,中药成分先从细胞内室溶出,再传质扩散至细胞外毛细管膨胀室,进一步传质扩散至水中。再根据扩散定律与溶出动力学原理,得到一组微分方程组。当药材种类确定时,则成分 I_0 的含量 W_0 确定;饮片的规格确定时,则细胞内室有效面积 A_1 和细胞外室表面积 A_2 确定;当煎煮用水量确定时,细胞内室有效体积 V_0 ,膨胀体积 V_1 和溶液体积 V_2 确定;当提取容器确定时,成分由细胞内室扩散至细胞外室传质系数 k_1 ,由细胞外室扩散至溶剂室传质系数 k_2 和溶液室中的消除平衡常数 k 确定;当达平衡状态后,平衡时成分细胞内室与外室的浓度之比 ρ_1 ,平衡时细胞室与溶液室的浓度之比 ρ_2 确定。通过确定以上工艺参数,则可计算得到最佳提取时间、提取总量、提取总效率、总损失率等指标。基于此,即可建立适用于中药材复方成分煎煮(提取)工艺的数学模型及评价体系,可实现对煎煮过程中化学成分的定量预测,同时获得较全面的煎煮工艺参数,实现以数学模型为基础参数的中药经典名方煎煮(工艺)研究方法,实现中药煎煮(提取)工艺的规范化与标准化。

此外,在此提取动力学模型的基础上,还应加强中药提取物的其他理化性质的研究,建立多方面的评价指标和方法。中药提取的成分溶度参数技术研究时,可通过基因贡献偏摩尔溶度参数算法,结合薄层色谱法(TLC),反相气相色谱法(IGC),高效液相色谱法(HPLC)测定不同提取过程成分的溶度参数,并对其进行比较,观察中药成分的溶解规律,实现中药成分高效稳态溶出。中药提取物物理属性的改造研究时,针对经典名方物质基准的吸湿性,测定成分的溶度参数(采用 GC, HPLC, TLC 测定),解离常数(pK_a),分配系数(正辛醇/水测定)以及临界相对湿度,运用超分子化学表面修改技术,建立成分物理属性改造技术。

5 质量控制——总量统计矩(相似度)法

由于中药材的生物多样性,要建立起体现原方治病物质质量属性的经典名方物质基准尚有一定的难度。当前仍需以出膏率、有效(或指标)成分的含

量测定为指标,阐明药材、饮片与经典名方物质基准的量值传递关系,同时需特别加强指纹图谱或特征图谱的比较分析。药材-饮片-经典名方物质基准(制剂)的指纹图谱信息是经典名方开发过程中主要成分迁移的重要表达,指纹图谱相似度评价是研究成分迁移及量值传递关系的重要工具,而中药指纹图谱的峰数、峰高、峰形受进样量、仪器种类、操作方法影响较大,可采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统及本课题组研发的与统计学关联的总量统计矩(相似度)法进行评价^[20-24]。

针对经典名方中药材成分的特点,在建立的中药材、饮片、经典名方物质基准的 HPLC 或 HPLC/MS 指纹图谱基础上,运用阴阳性样品对照、多元统计分析,关联各成分的归属和动态迁移规律研究。中药指纹图谱的分析方法主要有向量夹角法、模式识别、人工神经网络及可视化技术等分析方法。这些方法大多以指纹图谱的特征峰分离为基础,将响应值分割成数据信息元,进行多维向量计算相似度进行判断,但特征峰信息元易受实验条件、洗脱条件、仪器噪声、积分条件及浓度的干扰,而总量统计矩分析法不以指纹图谱的特征峰为信息单元,不采用峰间相应的多维向量分析法,而是将指纹图谱看成是由众多高斯曲线叠加而成的概率密度函数曲线,利用统计学方法来分析指纹图谱的内在特征,具有抗干扰性、加合性与偶联性等特点,能消除操作方法的干扰。总量统计矩(相似度)法的基本参数包括:①总量零阶矩 AUC_T (一定总量下曲线的总响应面积);②总响应率($AUCPW_T$, AUC_T 与进样总量 W_T 之比),能反映整个复方成分对特性变量的响应程度;③总量一阶矩($MCRT_T$),即总量色谱保留时间平均值,亦为总量中心矩或数学期望;④总量二阶矩($VCRT_T$, 色谱平均保留时间方差)。

指纹图谱总量统计矩相似度参数包括:①指纹图谱总量统计矩相似度(S_T , 两指纹图谱正态曲线下重叠面积之和)。②总离均度(两指纹图谱正态分布累积分布函数的累积概率的差异绝对值所对应标准正态分布的可信限值)。③总变异(指两指纹图谱因均离度和变形参数所引起的概率差异,亦为标准正态分布区间对应的概率)。④总变异与肯定把握度,在检验水准为 u_α 时,对总离均度为 D 两重叠标准正态分布指纹图谱的总变异作出阳性判断所犯 II 型错误的概率为 β ,亦来源于同一样本的概率,为总肯定把握度。 $1 - \beta$ 为除去总变异阴性判断的把握性度,亦来源于不同样本的概率,为总变异把握度

或检验效能。⑤标准相似度临界值,总量统计矩(相似度)法将指纹图谱的总量统计矩相似度、总离均度、总变异度、总变异与肯定把握度的关系有机地结合起来,当给定检验水准 u_α 后,可实现总量统计矩相似度参数相互转换与计算。可根据具体实验要求,确定总变异度、总变异与肯定把握度及相似度的临界值来制订中药材及制剂的质量标准。可运用已建立的中药指纹图谱总量统计矩(相似度)和段带指纹图谱分析技术研究各成分群在中药材、饮片、经典名方物质基准和成品制剂中的归属及量值传变规律,实现经典名方物质基准和成品制剂的质量稳定与均一。

6 中药超分子化学的研究

在经典名方物质基准研制过程中,同时还应加强对中药生物超分子化学的研究。中药与人体为自然界生物超分子的聚集体^[25],各级分子按“印迹模板”有序作用。超分子“印迹模板”概念是化学上的分子结构概念,是在空间结构和结合位点上能完全匹配的模板物,对药物成分来说,既是其分子结构的活性空间结构,也可以说是活性原子团的空间排列点阵,具有相似的“印迹模板”就有相似的中药质量属性和相应的炮制与制剂、评价方法。前期本课题组已较为全面地诠释了中医药基础理论的超分子“印迹模板”自主作用规律,而蕴含在中药材、饮片与制剂中的重大科学问题均可从超分子化学窥见端倪^[25]。

中药材的有效成分群为客体小分子;不溶于水的无效成分为药渣,为组织物,是主体分子。中药材的炮制实质上就是对生物超分子体加工的制药技术,其整体操作是在中医药基本理论指导下进行生物超分子化学反应操作。概括来说,中药炮制的原理应是中药一定工艺条件下炮制过程中产生的物理变化和化学变化,以及因这些变化而产生的药理作用的改变和这些改变所产生的临床效应。对于中药材物理性状的改变,如溶解性、粉碎性、药材制剂性的炮制原理易于探讨,主要是经过高温加热,经炒、煎、煮高温处理后中药材的主体分子结构遭到破坏,如结合水的逸出、大分子链的断裂、大分子的水解,从而改变中药材超分子主体的性质,便于其中“印迹模板”客体分子的溶出。同时,这种高温高湿处理对其中的客体分子的“印迹模板”也会产生较大影响,如“炒炭存性”的科学解释,可理解为主要炒中药材主体分子的炭,主要存客体分子的性。对于减毒增效、药性改变的炮制原理,如川乌、草乌、附

子等毒性“印迹模板”客体成分影响明确可以得到解释,但对于毒性成分不明确的中药就不易解释(主要是毒性客体分子的寻找问题,不是炮制技术本身问题,可采用中药定量谱学解决)。对于炮制后四气、归经、升降沉浮的变化,特别是与中药复方配伍的变化,其炮制机制目前就难以阐明。因此亟需建立中药炮制品种与人体作用效应机制的研究技术,揭示中药炮制原理。中药炮制偏重于药物内部的调整 and 整体效应的协同,需根据饮片临床疗效,结合中药超分子“印迹模板”自主作用规律,建立起网络药理学(网动力学与网络药效动力学)和中药定量谱学(谱量学、谱效学、谱动力学与谱效动力学)的中药饮片的质量评价技术^[26-27]。这样才能从炮制的源头定量控制中药饮片质量,制定出稳定可控的质量标准。

中药有效成分的提取实质上是中药组织物(药渣)主体分子与客体小分子的分离溶出^[28-29]。中药成分主要包括糖类、苷类、黄酮类、萜类、挥发油、生物碱类等化合物。只要清楚成分与中药材间的相互作用力,就可选择相应的超分子提取方法进行有效成分的提取。如糖类化合物为多羟基醛或酮及其衍生物、聚合物。糖类成分间可通过氢键缔合形成超分子,苷类化合物可通过氢键使糖、糖的衍生物及苷元组合形成超分子“印迹模板”,糖类、苷类化合物的提取主要就是要破坏其与“印迹模板”间的氢键或与其相竞争,如加入尿素破坏氢键或亲水性基团竞争形成氢键等方法,减弱成分与“印迹模板”间的氢键作用力,有利于糖类、苷类有效成分的溶出。同样,其他化合物可根据其物理化学性质,推测出提取过程中的“印迹模板”作用,选择相应的物理化学方法,最终建立起适合中药所有成分的提取方法,即基于超分子“印迹模板”客体的提取分离方法,实现中药制剂的精确提取工艺。“印迹模板”的动力学可从多个层面进行表征,主要包括化学、形态、识别方式等方面的表征^[30]。超分子按“印迹模板”自主识别进行作用,这种趋势和强弱可能采用模板分子的竞争动力学作用进行研究。对提取得到的浸出物,其成分再分离,进行印迹聚合物的合成,制得除去模板分子的聚合物,然后对不同溶剂的提取液(客体分子)进行吸附动力学实验,对印迹聚合物同时竞争吸附多个模板分子,测定各分子之间的动力学结合常数,从而推测各模板分子与印迹聚合物的作用规律^[30]。此外,在超分子“印迹模板”的理论指导下,重点应将由单个成分变化的研究转变为以体现

“药素”(人体所摄入的中药超分子称为“药素”)为单位的多成分群变化规律的研究^[25]。因此,需要建立一种能体现与原方证“印迹模板”关联的“药素”最佳提取方法。首先应建立基于“印迹模板-药素”的中药有效成分群溶出动力学研究,获取“药素”群的最佳提取工艺参数;然后再建立中药提取谱动力学及参数体系,设立各个工艺参数;最后,参数经过总量统计矩关联获得中药超分子“印迹模板”谱动力学参数,经优算法获得基于“药素”成分群的最佳工艺^[25,31-32]。

同时,还可对基于中药超分子“印迹模板”的经典名方物质基准在体内外的归经进行动力学表征^[33]。表征方法包括:①超分子亲和色谱分析方法,以分离的经络脏腑作为固定相,用生理盐水进行洗脱,绘制色谱动力学曲线并进行色谱动力学参数分析,判断经络脏腑主体分子与中药成分群客体分子之间的体外印迹作用程度;②超分子结合平衡常数法,通过测定中药与经络脏腑超分子结合的平衡常数,计算各成分“印迹模板”结合率^[30]。

由上述可知,在中药炮制、中药煎煮等过程中都有中药超分子“印迹模板”的存在,也就是说中药生物超分子化学贯穿于中药制剂生产研发的始终。因此,在经典名方物质基准的研制过程中,关注中药超分子“印迹模板”作用机制研究,可从超分子化学角度揭示“药材-饮片-物质基准-制剂”的量值传变规律,为其研制提供更为全面、综合的分析方法与分析技术。

7 总结

总而言之,经典名方物质基准的研制过程不能被简单地、机械地分成药材来源、炮制、提取、质量控制等方面,从来源到最终的药用物质的整个过程应是一个统一的、相互联系的有机整体。因此,中药经典名方复方制剂研发的关键在于经典名方物质基准的制备工艺与标准的制定,均受到药材基原、处方组成、临床适应证、饮片炮制加工技术、制剂制备技术及评价技术等因素影响,在缺乏现代化的、可操作的中医药理论指导的情况下,要实现经典名方物质基准质量的稳定性和均一性还存在一定的困难。然而,依据动态中药稳态性投料、炮制火候定量化、中药指纹图谱总量统计矩(相似度)以及中药超分子“印迹模板”的理论、方法与技术体系,通过系统查阅中医药文献,确定处方组成和临床适应证,结合中药超分子原理,运用生物遗传统计学原理、精确炮制与制剂技术能在一定程度上解决中药经典名方物质

基准的制备工艺与质量稳定性、均一性难题,包括业界最为关心的经典名方物质基准及复方制剂的质量稳态性和均一性问题。

[参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理总局. 总局办公厅公开征求《中药经典名方复方制剂简化注册审批管理规定(征求意见稿)》及申报资料要求(征求意见稿)意见[EB/OL]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0778/178324.html>, 2017-09-22/2018-06-10.
- [2] 国家中医药管理局. 国家中医药管理局关于发布《古代经典名方目录(第一批)》的通知[EB/OL]. <http://kjs.satcm.gov.cn/zhengcewenjian/2018-04-16/7107.html>, 2018-04-13/2018-06-10.
- [3] 国家药品监督管理局. 国家药品监督管理局关于发布古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定的公告(2018年第27号)[EB/OL]. <http://cnda.cfd.gov.cn/WS04/CL2050/228247.html>, 2018-05-29/2018-06-10.
- [4] 文旺,李莉,李德坤,等. 经典名方的“遵古”研发思路探讨——以泻白散为例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20191446.
- [5] Garst A D, Bassalo M C, Pines G, et al. Genome-wide mapping of mutations at single-nucleotide resolution for protein, metabolic and genome engineering [J]. Nat Biotechnol, 2017, 35(1):48-55.
- [6] 李海英,贺鹏,樊日猛,等. 桃红四物汤的 HPLC 指纹图谱总量统计矩及一次稳态投料量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20191462.
- [7] 贺福元,周宏灏,罗杰英,等. 生物遗传多态性规律揭示中药材质量稳定性规律的探讨[J]. 中草药, 2008, 39(1):2-6, 12.
- [8] 郑司浩. 中药道地性生物学机制研究[D]. 北京:北京协和医学院, 2016.
- [9] 黄璐琦,陆建伟,郭兰萍,等. 第四次全国中药资源普查方案设计与实施[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(5):625-628.
- [10] 于江泳,袁媛,金艳,等. 基于全国中药资源普查中药材质量基本数据研究思路[J]. 中国现代中药, 2016, 18(11):1386-1389.
- [11] 仝小林,刘文科,焦拥政. 论经方用量策略[J]. 中医药导报, 2012, 18(8):1-3.
- [12] 邓哲,刘德文,杜杰,等. 经典名方研发建议的梳理和探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20190554.
- [13] 李艳,白明,宋亚刚,等. 中药标准汤剂的研究与思考[J]. 中草药, 2018, 49(17):3977-3980.

- [14] 肖贵南,李瑾翡,陈浩桢.生物活性测定在中药质量控制中应用的可行性及研究思路[J].中药材,2008,31(4):473-475.
- [15] XIE P, CHEN S, LIANG Y, et al. Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine[J]. J Chromatogr A, 2006, 1112(1/2): 171-180.
- [16] 石继连.炮制火候数学模型的建立及对槐米的研究[D].北京:北京中医药大学,2013.
- [17] 贺福元,邓凯文,吴德智,等.左金方与黄连中小檗碱型生物碱提取动力学差异性的研究[J].中成药,2009,31(9):1354-1359.
- [18] 贺福元,邓凯文,罗杰英,等.中药复方成分提取动力学数学模型的初步研究[J].中国中药杂志,2007,32(6):490-495.
- [19] 刘红宇,贺福元,罗杰英.中药(复方)成分提取动力学数学模型建立及粒径对六味地黄汤中梓醇浓度的影响[J].中国药房,2009,20(36):2804-2807.
- [20] 贺福元,邓凯文,黄胜,等.总量统计矩标准相似度数学模型的建立及应用研究[J].药学报,2013,48(9):1453-1458.
- [21] 贺福元,邓凯文,刘文龙,等.中药复方药物动力学总量统计矩法的实验验证研究[J].中国中药杂志,2013,38(2):253-262.
- [22] 周晋,邓凯文,段晓鹏,等.指纹图谱总量统计矩分析法参数的计算及积分条件的确定[J].中华中医药学刊,2012,30(3):505-508.
- [23] 段晓鹏,贺福元,周晋,等.补阳还五汤指纹图谱总量统计矩加合性的研究[J].中国中药杂志,2011,36(23):3247-3252.
- [24] 肖美凤,张雨恬,杨岩涛,等.基于鱼腥草挥发性成分动态性的中药制剂“印迹模板”一致性分析[J].中国实验方剂学杂志,2019, doi: 10.13422/j. enki. syfjx. 20190446.
- [25] 贺福元,贺红,邓凯文,等.超分子“印迹模板”(药素)特征的中药药理学研究方法探索[J].中国中药杂志,2015,40(21):4313-4318.
- [26] 王绚,蔡宝昌.中药炮制研究的现状与思路[J].江西中医学院学报,2010,22(2):12-14.
- [27] 王智民,刘菊妍,刘晓谦,等.谈经典名方的化学生产和质量控制研发和监管[J].中国中药杂志,2017,42(10):1819-1824.
- [28] 张艳斌,崔元璐,何永志.分子印迹技术与中药研究[J].中药材,2008,31(4):616-619.
- [29] 夏赞韶,贺福元,邓凯文,等.中药分子印迹技术对中医药理论的特殊影响[J].中国中药杂志,2013,38(8):1266-1270.
- [30] 陶叶琴,唐闻汉,刘金玲,等.基于超分子“印迹模板”理论的甘草增助溶特征研究[J].中国中药杂志,2016,41(10):1849-1854.
- [31] 贺福元,邓凯文,杨大坚,等.中药材成分提取动力学数学模型的建立及参数分析[J].数理医药学杂志,2005,18(6):513-517.
- [32] 贺福元,马家骅,刘文龙,等.中药材吸水膨胀动力学数学模型的建立及对大黄的验证实验研究[J].中成药,2004,26(10):788-791.
- [33] 贺福元,邓凯文,杨岩涛,等.基于超分子化学的中药药性理论研究方法探讨(I)中药归经[J].中国中药杂志,2015,40(8):1624-1629.

[责任编辑 刘德文]