

· 综述 ·

对照提取物在中药质量控制中的研究现状及展望[△]

穆开朗, 刘刚, 刘育辰*, 李昌桔, 李艳, 阮玉兰

贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025

[摘要] 应用对照提取物进行中药质量控制具有专属性强、成本低, 对照提取物易于获取、稳定性佳等优势。目前, 对照提取物作为一种标准参照物已被广泛应用于中药质量控制领域。对中药对照提取物的概况、发展及近年来国内外有关其在中药质量控制中的研究现状进行综述。同时, 在当前中医药发展的新形势下, 针对中药质量控制指标与中药有效性关联不强等系列问题, 对中药对照提取物的发展进行展望, 强化中药对照提取物与其功效的关联性, 初步提出“有效对照提取物”这一可应用于中药质量控制、药品开发等方面的提升概念, 以期为中药全面药效物质基础及中药质量控制研究提供参考。

[关键词] 对照提取物; 中药质量; 有效对照提取物; 质量控制; 标准物质

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2023)04-0907-09

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20220720002

Status and Outlook of Control Extracts in Quality Control of Chinese Medicine

MU Kai-lang, LIU Gang, LIU Yu-chen*, LI Chang-ju, LI Yan, RUAN Yu-lan

Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

[Abstract] The application of control extracts for quality control of Chinese medicine has many advantages such as high specificity, low cost, easy accessibility, and good stability. Currently, the control extracts have been widely used in the field of quality control of Chinese medicine. In this paper, the overview and development of control extracts in Chinese medicine was reviewed, as well as the current status of research on control extracts in quality control of Chinese medicine in China and abroad in recent years. At the same time, in the new situation of Chinese medicine development, the development of Chinese medicine control extracts was prospected to strengthen the correlation between Chinese medicine control extracts and their efficacy, and the concept of "effective control extracts" was proposed, which was applied to the quality control and drug development of Chinese medicine. This paper is expected to provide references for the research on the material basis of the overall efficacy and quality control of Chinese medicine.

[Keywords] control extracts; quality of Chinese medicine; effective control extracts; quality control; standard substances

近年来, 国家高度重视中医药事业的发展, 多次强调发展中医药已经上升为国家战略、国家意志^[1-2], 我国中医药事业发展的新格局也逐步形成且备受关注。而中药材质量参差不齐的问题在一定程度上制约了中医药事业的发展^[3-4]。科学的中药质量控制方法是中药质量均一、稳定的有效保障, 也是中医药高质量发展和走向国际的基石。

中药指标性成分的选择是中药质量控制研究的关键环节。当前, 中药质量控制大多采用化学药质

量控制方法, 而中药是通过多成分协同发挥药效的^[5-6], 以单一指标作为对照评价中药质量, 显然与中医药整体性特点不符, 因此, 多指标整体中药质量控制成为具有中医药特色的中药发展必然趋势。针对此问题, 研究者对中药质量控制方法进行了诸多研究, 在中医药理论指导下, 从单一指标向多指标迈进, 先后提出了替代对照品法、一测多评法、中药指纹图谱、中药特征图谱等多指标中药质量控制方法^[7-11], 为体现中医药整体性特点的质量控制方

[△] **[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81860700); 贵州省科技计划项目(黔科合基础[2019]1027号)

* **[通信作者]** 刘育辰, 教授, 研究方向: 中药及民族药资源分类鉴定与质量控制; E-mail: lyc8564732@163.com

法提供了很好的思路,但在指标成分定性、定量方面仍存在诸多问题^[11-13]。

Xie等^[14]于2013年提出应用对照提取物进行中药质量控制,对照提取物具有易于制备、专属性强、稳定性好等优点^[15-16],与中医药整体性的特点不谋而合^[17-18],可广泛应用于中药多指标定性、定量研究,为多指标中药质量控制提供了新思路,使中药质量控制更具有实际意义。但近年来的应用中也发现了很多不足^[15,19]。本文就对照提取物的概况、发展及应用现状进行综述,在此基础上对中药对照提取物发展进行展望,初步提出“有效对照提取物”这一提升概念,以期对中药质量控制研究科学化提供有益参考。

1 对照提取物的概念及优势

《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020年版将对对照提取物定义为经特定提取工艺制备的含有多种主要有效成分或指标性成分,用于中药材(含饮片)、提取物、中成药等鉴别或含量测定的国家药品标准物质^[20],丰富了对照提取物的内涵,增强对照提取物应用于中药质量标准的科学性。此外,对照提取物应符合样本基原明确(真实性)、不同中药对照提取物特性明显(专属性)、评价同种药材样品基本特征或特性相同(一致性)、定性或定量特性随时间恒定(稳定性)等要求。

针对单味中药或复方对其中的某一成分或君药进行测定来控制中药质量具有一定的片面性^[21],中药及中药复方成分复杂,根据中医药理论,中药药效的发挥是各个组分协同作用的结果^[22]。因此,多指标综合评价对中药质量标准的建立有重要意义,应用对照提取物进行中药质量控制具有以下优点:1)对照提取物可以从整体角度反映中药可检测化学特征,从而确保中药产品化学成分批间一致;2)对照提取物中的化学成分可以很容易地替代已知化学参考物质进行定性鉴定,完整的化学特征可以提供更详细的质量评估;3)药物有毒化合物制备成对照提取物,可大大减小其毒性,降低安全性风险,如乌头碱类有毒成分制成单酯型/双酯型乌头碱对照提取物;4)对照提取物色谱峰的积分值可作为简单的半定量分析,供药材指标成分的定量参考;5)对照提取物作为质量控制参考物质成本较低。目前,国内外有关中药对照提取物研制的品种和数量均较少,

中药质量控制大多借鉴化学药控制模式,但由于中药成分复杂,中药对照品制备技术要求高、成本高,难以大量生产。此外,部分中药对照品不稳定,给使用、储存和运输造成困难。同时,多种化学对照品的使用使中药质量控制成本大幅提高,现实可行性不强^[23]。相较于化学药单一对照品和基于中医药整体性特点的对照药材,对照提取物都具有独特的优势,在对相关文献进行总结分析后^[15-16,23-25],总结出对照提取物、化学对照品、对照药材各自特点(表1),在制备难易、成本、质量控制指标、批间重复性、定量准确性、应用难易方面对照提取物均有一定的优势,表明了其应用于中药质量控制具有较好的前景。

表1 化学对照品、对照药材、对照提取物特点

对照物质	制备难易	成本	质量控制指标	批间重复性	定量准确性	应用难易程度
化学对照品	难	高	少	好	好	易
对照药材	易	较低	多	较差	不能定量	较繁琐
对照提取物	较易	一般	较多	较好	较好	易

2 对照提取物在中药质量控制中的研究现状

2.1 《中国药典》中收载对照提取物情况

《中国药典》2005年版首次收载11种对照提取物,之后各版《中国药典》逐渐增加对照提取物的收载数量,到《中国药典》2020年版共收载28种对照提取物,表明对照提取物作为标准物质有较大的发展潜力^[20,26]。

《中国药典》2020年版(一部)收载中药2711种,分为药材和饮片、植物油脂和提取物、成方制剂和单味制剂3部分内容。目前已将部分对照提取物应用于中药的各项检测项目中(表2)。其中成方制剂和单味制剂应用对照提取物进行质量控制的品种最多,包括枣仁安神胶囊、枣仁安神颗粒、康莱特软胶囊、云南白药、云南白药胶囊、前列通片、血塞通片、血塞通胶囊、血塞通颗粒、血栓通胶囊、注射用血塞通、注射用血栓通、血塞通注射液、血栓通注射液、血塞通软胶囊、加味藿香正气软胶囊、香连片、乌灵胶囊、金水宝片、金水宝胶囊、地奥心血康胶囊、银杏叶片、银杏叶胶囊、银杏叶滴丸、银杏叶口服液、银杏叶软胶囊、养正消积胶囊、宽胸气雾剂、八味檀香散、宫血宁胶囊30种;植物油脂和提取物应用对照提取物进行质量控制的品种包括

人参茎叶总皂苷、八角茴香油、松节油、三七总皂苷、银杏叶提取物、薄荷素油等；药材和饮片应用对照提取物进行质量控制的品种包括陈皮、功劳木、薏苡仁、檀香、羌活、川乌、马钱子7种。对照提取物在《中国药典》2020年版质量控制项下以鉴别项应用最多，含量测定、检查、特征图谱等质量控制项应用较少(表3)，表明对照提取物作为标准参照物进行中药多指标质量控制还有较大的开发潜力，对照提取物在中药质量控制中的应用仍需进一步完善与提升。

2.2 在国外的应用概况

国外药典中对照提取物(或对照制剂)被定义

为二级参考物质，必须有相应的一级标准定期或定时对其进行校准。在国外药典中天然产物质量控制项下已被广泛应用^[27-29]。自2004年以来，欧洲药品质量管理局在天然产物标准物质研究方面做了大量工作。目前，《欧洲药典》第11版已使用对照提取物对多种天然药物进行定性鉴别，如圣约翰草对照提取物用于测定金丝桃素、伪金丝桃素总含量；越橘对照提取物用于测定总花青素含量；奶蓟草(又名水飞蓟)对照提取物用于测定水飞蓟宾A、水飞蓟宾B、异水飞蓟宾A、异水飞蓟宾B、次水飞蓟素、水飞蓟宁的总含量，以及水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟亭、水飞蓟宁的含量^[27]。

表2 《中国药典》收录的28种对照提取物应用情况

名称	《中国药典》版本	药物名称	应用项目
人参茎叶总皂苷	2020年版	人参茎叶总皂苷	鉴别
广陈皮对照提取物	2020年版	陈皮	鉴别
羌活对照提取物	2020年版	羌活	特征图谱
重楼对照提取物	2020年版	宫血宁胶囊	鉴别、含量测定
银杏叶总内酯对照提取物	2020年版	银杏叶提取物、银杏叶片、银杏叶胶囊、银杏叶滴丸	鉴别
功劳木提取物	2015年版至2020年版	功劳木	含量测定
总氨基酸	2015年版至2020年版	—	—
紫苏叶油	2015年版至2020年版	紫苏叶油	鉴别
酸枣仁提取物	2015年版至2020年版	枣仁安神胶囊、枣仁安神颗粒	鉴别
薏苡仁油	2015年版至2020年版	康莱特软胶囊、薏苡仁药材及饮片	鉴别、特征图谱
乌头双酯型生物碱对照提取物	2015年版至2020年版	川乌	鉴别、含量测定
马钱子总生物碱对照提取物	2015年版至2020年版	马钱子	鉴别、含量测定
云南白药提取物	2010年版至2020年版	云南白药、云南白药胶囊	鉴别
八角茴香油	2010年版至2020年版	八角茴香油、前列通片	鉴别、检查
牡荆油	2010年版至2020年版	牡荆油	鉴别
松节油	2010年版至2020年版	松节油	鉴别
三七总皂苷	2010年版至2020年版	三七总皂苷、血塞通片、血塞通胶囊、血塞通颗粒、血栓通胶囊、注射用血塞通、注射用血栓通、血塞通注射液、血栓通注射液、血塞通软胶囊	含量测定、特征图谱
广藿香油	2005年版至2020年版	加味藿香正气软胶囊	鉴别
木香挥发油	2005年版至2020年版	香连片	鉴别
乌灵菌粉	2005年版至2020年版	乌灵胶囊	鉴别
发酵虫草菌粉	2005年版至2020年版	金水宝片、金水宝胶囊	鉴别
穿龙薯蓣皂苷提取物	2005年版至2020年版	—	—
总银杏酸	2005年版至2020年版	银杏叶提取物	检查
黄山药皂苷提取物	2005年版至2020年版	地奥心血康胶囊	鉴别
银杏叶提取物	2005年版至2020年版	银杏叶提取物、银杏叶片、银杏叶胶囊、银杏叶滴丸	鉴别
温莪术油	2005年版至2020年版	养正消积胶囊	鉴别
薄荷素油	2005年版至2020年版	薄荷素油	鉴别
檀香油	2005年版至2020年版	檀香、宽胸气雾剂	鉴别

注：—表示在《中国药典》2020年版无明确质量控制用途。

表3 《中国药典》2020年版不同检验项目使用
对照提取物的数量

检测项目	药材与饮片	植物油脂和提取物	成方制剂和单味制剂
鉴别	5	8	22
含量测定	3	1	10
检查	0	2	1
特征图谱	2	1	11

《美国药典》第44版^[28]中对照提取物大多应用于薄层色谱法(TLC)鉴别测试及系统适用性试验或某些峰的识别等,其中对照提取物不仅作为药材色谱峰定位的标准物质,也应用于药材提取物、挥发油、流浸膏等色谱峰的定位,对照提取物用于色谱峰定位在《欧洲药典》第11版、《美国药典》第44版中使用广泛。《日本药局方》第18版^[29]天然药物鉴别主要采用理化鉴别,近1/3的天然药物无含量测定项。有薄层鉴别项的也仅选取1种或2种单一化学成分作为指标,含量测定项也相对简单,基本控制某些单一成分,质量体系较为单一,缺乏整体控制指标,无定量对照提取物应用。由此可见,对照提取物作为一种标准参照物仍具有较大的开发利用潜力。

2.3 在中药材及饮片质量控制中的研究现状

中药材是中药饮片的原料,是中成药(复方制剂)的源头。中药材在中医药理论指导下,经过加工炮制后可直接用于调配或制剂的加工炮制品称为中药饮片,中药材质量的优劣可一定程度上影响其加工炮制得到的中药饮片质量^[30],中药饮片的质量直接关乎中医临床疗效。中药材及饮片成分多样且复杂,以单一化学对照品控制其质量,所提供的信息远达不到整体质量控制的目的,以对照提取物控制中药材及饮片质量可完善中药质量标准,解决部分中药标准缺失和炮制前后成分改变而标准未变等问题。

Xie等^[14]提出应用对照提取物进行中药质量控制之初,即对酸枣仁、浙贝母2种中药应用薄层鉴别、高效液相色谱法(HPLC)指纹图谱分析,说明了对照提取物应用于中药质量控制的可行性。此后,国内外研究者采用此方法对多种中药材质量进行了更深入的研究。杨丽丽等^[31]采用溶剂提取法、色谱分离法制备了枳实黄酮对照提取物,以枳实中的代表性的成分芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷4个成分为对照,对枳实黄酮对照提取物含量进行标定,随后分别以已知含量的枳实黄酮对照提取物

和4个单体成分为对照,建立了枳实药材HPLC含量测定方法,并对其中4个成分含量进行测定。结果采用 t 检验和相关性统计分析,结果表明2种方法无明显差异。Wang等^[32]采用单一参考标准确定多化合物、对照提取物定量分析等方法,开发了十大功劳药材中非洲防己碱、药根碱、巴马汀、小檗碱4个生物碱的含量测定方法。将这些方法与外标法进行了综合比较,结果表明采用对照提取物法可以准确地完成定量。Jing等^[33]采用硅胶柱色谱、反相制备色谱法以隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮II_A为指标制备丹参对照提取物,并利用HPLC-二极管阵列检测器(DAD)对其质量进行评估。朱星宇等^[34]自制了补骨脂对照提取物并采用HPLC标定了其中补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚7个成分的含量,并对12批补骨脂饮片7个成分含量进行测定,然后与对照品测定法的结果进行比较,结果表明2种测定方法所得数据的RSD<3%,差异无统计学意义。此外,相关文献也分别利用此方法对女贞子饮片和五味子饮片质量控制进行了研究,均说明对照提取物应用于中药质量控制具有可行性^[35-36]。

2.4 在中成药质量控制中的研究现状

中成药是现代医药的重要组成部分,在临床防治疾病中起到关键作用^[37-38]。中成药组成药味多、成分复杂,鉴别和质量控制困难较大,仅用某一味味药或单一成分难以体现整个制剂的药效,也不符合中医药整体性观念。因此,应用对照提取物进行中成药质量控制研究已迫在眉睫。针对此问题,国内外研究者利用对照提取物法对中成药质量控制进行了更加深入的研究,在查阅相关文献后,对近10年利用对照提取物进行中成药质量控制情况进行了总结分析(表4)。由表4可知,对照提取物在中成药质量控制中已有较多研究,但研究内容大多为含量测定方面,未能将对照提取物在中成药成分定性、定量中的优势完全展现,对照提取物在中成药质量控制中的应用还需更加深入的研究。

3 展望

3.1 加强对照提取物的研制,积极进行对照提取物的应用探索

目前,国内外采用对照提取物进行质量控制的药物品种数量较少,为降低中药质量控制成本,摆

表4 近10年对照提取物在中成药质量控制中的研究现状

中成药	对照提取物	检测指标	研究内容	参考文献
健脾丸	枳实对照提取物	芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷	含量测定	[39]
注射用丹参多酚酸	丹参多酚酸对照提取物	迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸B、咖啡酸、丹酚酸E、迷迭香酸、紫草酸、丹酚酸Y	含量测定	[40]
银杏叶制剂	银杏叶对照提取物、银杏叶总内酯对照提取物	芦丁、槲皮素、山柰素、异鼠李素	特征图谱	[41]
风湿关节炎片	马钱子总生物碱对照提取物	马钱子碱、土的宁	含量测定、鉴别	[42]
骨刺片	马钱子生物碱对照提取物	马钱子碱、土的宁	含量测定	[43]
枣仁安神颗粒	酸枣仁黄酮对照提取物	斯皮诺素、6"-阿魏、酰斯皮诺素	含量测定	[44]
双红活血胶囊	西红花苷对照提取物	西红花苷I、西红花苷II	含量测定	[45]
小儿止咳糖浆	甘草对照提取物	芹糖甘草苷、甘草苷、芹糖异甘草苷、甘草素、甘草酸	含量测定	[46]
脂康颗粒	萘并吡喃酮类对照提取物	红镰霉素-6- <i>O</i> - β -D-龙胆二糖苷、决明子苷B ₂ 、决明子苷C、决明子苷C ₂	含量测定	[47]
银杏叶制剂	银杏叶对照提取物	槲皮素、山柰素、异鼠李素	含量测定	[48]
安神胶囊、生脉饮	五味子对照提取物	五味子甲素、五味子酯甲、五味子醇甲、五味子酯乙	鉴别	[49]
延胡索相关制剂	延胡索对照提取物	原阿片碱、巴马汀、小檗碱、脱氢紫堇碱、海罂粟碱、延胡索乙素、四氢小檗碱、延胡索甲素、脱氢海罂粟碱	含量测定、鉴别、特征图谱	[50]
双黄连口服液	连翘对照提取物	连翘新苷A、连翘酯苷A、松脂醇- β -D葡萄糖苷、连翘苷和连翘脂素	含量测定	[51]
二十五味松石丸、四神丸	肉豆蔻对照提取物	肉豆蔻醚	鉴别	[52]
七叶皂苷类制剂	七叶皂苷对照提取物	七叶皂苷A、七叶皂苷B、七叶皂苷C、七叶皂苷D	含量测定	[53]
黄芩成方制剂	黄芩对照提取物	黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素	鉴别	[54]
三七总皂苷、血塞通片、血塞通胶囊、血塞通颗粒、血栓通胶囊、注射用血塞通、注射用血栓通、血塞通注射液、血栓通注射液、血塞通软胶囊	三七总皂苷	三七皂苷R ₁ 、人参皂苷Rg ₁ 、人参皂苷Rc、人参皂苷Rb ₁ 、人参皂苷Rd	含量测定、特征图谱	[20]
云南白药、云南白药胶囊	云南白药对照提取物	人参皂苷Rg ₁ 、三七皂苷R ₁	鉴别	[20]
康莱特软胶囊	薏苡仁油	甘油三油酸酯	鉴别、特征图谱	[20]
枣仁安神胶囊、枣仁安神颗粒	酸枣仁对照提取物	酸枣仁皂苷A、酸枣仁皂苷B	鉴别	[20]
银杏叶提取物、银杏叶片、银杏叶胶囊、银杏叶滴丸	银杏叶总内酯对照提取物	银杏内酯A、银杏内酯B、银杏内酯C、白果内酯	含量测定、鉴别	[20]
宫血宁胶囊	重楼对照提取物	重楼皂苷VII、重楼皂苷H	含量测定、鉴别	[20]

脱化学对照品价格高昂、种类有限的束缚，加强中药整体质量控制水平，推进中药国际化，应大力开展同时标识多个指标成分的中药对照提取物的制备研究，完善中药整体质量控制评价体系。对照提取物虽然在成分定性、定量上表现出明显的优势，但目前对照提取物的应用也多限于“一标多测”的指标性成分含量测定及部分中药的薄层鉴别中，未能完全体现对照提取物的优势。因此，在进行对照提取物研制的同时，要积极开展其应用探索，在对照提取物对中药质量控制定性、定量的应用基础上，尝试其由标准参照物向中药固体/半固体制剂原辅

料、注射剂原辅料、禽畜业抗病饲料辅料等领域的应用探索。

3.2 强化对照提取物与作用功效的关联性，深入开展“有效对照提取物”研究

中药质量控制最根本的目的是保障临床用药的安全性、有效性及稳定性，因此，在保证用药安全、稳定最基本的基础上，与药效关联的“有效”即成为了中药质量控制研究的关键。目前，对照提取物研究重点多为替代多个单一指标成分的含量测定，而对中药对照提取物的有效性未做深入研究，且多指标成分是否可代表中药药效物质基础也有待

商榷。多指标成分整体功效的有无,各指标成分间的协同/拮抗作用,都是值得更进一步研究。因此,对照提取物研制过程中应增加对其有效性的探究验证,推进中药质量控制研究从药物-药效基础-指标成分的重点控制模式,到药物-药效物质群-有效对照提取物的整体质量控制思路转变,中药“有效对照提取物”研究流程见图1。借助现代化学物质组学-代谢组学、谱-效关系学、生物学效应、网络药理学等多学科、多领域交融,大力开展“有效对照提取物”研究,加强中药标准参照指标的代表性,促进对照提取物向临床应用的转变,加快中药质量控制体系的完善进程,使对照提取物成为中药质量标准的参照物、临床防治疾病的有效品。

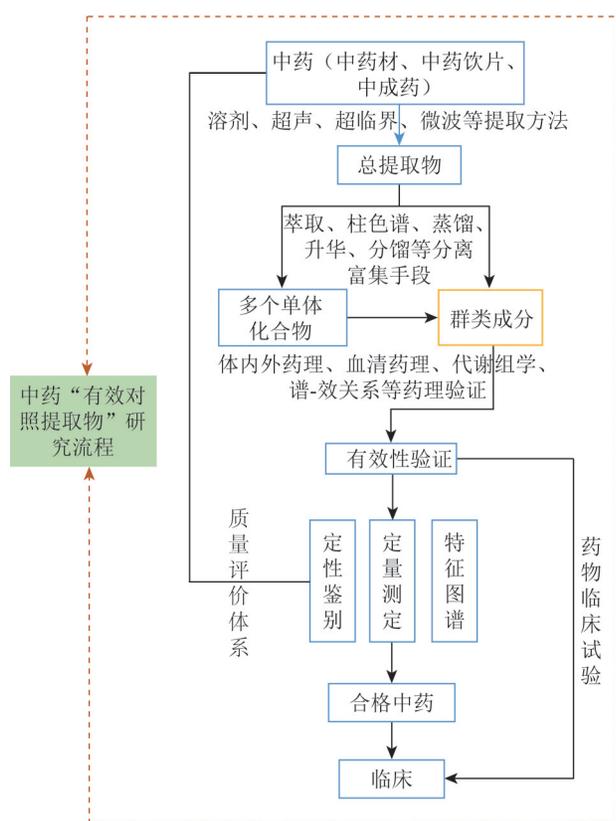


图1 中药“有效对照提取物”研究流程

3.2.1 “有效对照提取物”的研制方法 中药对照提取物是中药质量的参照物质,在其研制过程中需遵循药材基原准确、提取工艺合理、指标成分选择科学、定量定性稳定等基本要素。

3.2.1.1 药材样品来源 在对照提取物的研制过程中,药材样品应具有充分的代表性,参照《中国药典》2020年版药材及饮片研究的相关要求^[20],一般选取至少3批符合《中药材生产质量管理规范》

(GAP)要求栽培的优质道地药材进行对照提取物研制,对收集样品进行真伪、道地等鉴别,可采用传统性状与中药材DNA条形码分子鉴别等方法,以保障样品基原的准确性,从而确保对照提取物研制的可靠性。

3.2.1.2 指标性成分的选择 中药质量控制的指标性成分选择是中药质量控制的核心环节,应以效应成分的辨识与确认为基础,凸显传统道地性,符合生产规范性,体现安全有效性,保证稳定可控性,强化鉴别专属性,彰显内在关联性、综合性^[55],在此基础上,选择化学结构母核或极性相似的一类成分,如总皂苷、总生物碱等作为中药对照提取物的指标性成分。

3.2.1.3 提取工艺 对照提取物提取过程可按照天然药物有效成分提取方法^[19]。一般可采用传统的溶剂提取法、水蒸气蒸馏法、升华法、透析法等,也可采用新兴的超临界流体萃取、微波提取、超声波提取、酶法提取、半仿生提取、破碎提取、空气爆破、亚临界流体萃取等方法。提取液经浓缩后,含多糖、蛋白质、鞣质等杂质较多的,需要进一步纯化,可将浓缩液通过萃取、醇沉、酸碱沉淀等方法初步除杂,再经硅胶、离子交换树脂、大孔吸附树脂、凝胶等柱色谱方法进一步纯化,必要时还可以采用中压或高压液相色谱进行制备。

3.2.1.4 有效性验证 有效性验证是“有效对照提取物”区别于对照提取物的重要一点,也是对照提取物由标准参照物走向制剂原料的必要环节^[4,56]。应根据具体原药材、饮片或成方制剂的特点,进行有针对性的研究,同时,注重考察对照提取物与原料样品之间的联系,对结果与评价指标进行科学分析,采用现代体内外药理、血清药理、代谢组学、谱-效关系等验证,如中药复方药效学研究与药动学结合的浓度-效应-时间研究、蛋白组学与基因芯片结合的分子-细胞-器官-整体研究等对对照提取物进行有效性验证。

3.1.2.5 定性、定量方法 对照提取物在制备后需进行定量赋值与定性鉴别等研究。一般采用紫外-可见分光光度法、HPLC、气相色谱法(GC)、液相色谱-质谱联用法(LC-MS)、GC-MS等用于对照提取物的定量研究,通过考察多个单一对照品法测定多批样品的含量测定结果与对照提取物含量测定结果的差异性,探讨对照提取物代替多个单一对照品的

可行性并进行赋值^[9,52,56]。为了对中药材或其成方制剂进行鉴别,需要对对照提取物进行定性鉴别研究。与定量赋值研究类似,可采用标准TLC、标准指纹图谱等进行定性鉴别,通过与多个单一对照品的比较研究,确定可用于药材或成方制剂的标准TLC及标准指纹图谱鉴别方法。

3.2.2 研究举例

3.2.2.1 苗药黑骨藤有效对照提取物的研制 黑骨藤系萝藦科杠柳属植物黑龙骨 *Periploca forrestii* Schltr. 的干燥根或全株,现代研究表明,黑骨藤乙醇提取物的乙酸乙酯部位为其抗类风湿性关节炎(RA)的有效部位。

本课题组对21批基原明确的苗药黑骨藤采用溶剂(乙醇)提取法,减压浓缩后采用系统溶剂萃取法获得乙酸乙酯部位,利用HPLC对21批黑骨藤样品进行含量测定并利用化学模式识别得到苗药黑骨藤抗RA有效部位中6个咖啡酰基奎宁酸类主要差异成分^[58]。采用柱色谱法富集黑骨藤抗RA有效部位中的6个咖啡酰基奎宁酸类成分,制备其对照提取物,进一步构建胶原诱导类风湿性关节炎(CIA)大鼠模型,测定大鼠足趾厚度、关节炎指数及大鼠血清促炎细胞因子[白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 、和肿瘤坏死因子(TNF)- α],观察踝关节滑膜组织病理变化,验证黑骨藤抗RA对照提取物的有效性,结果显示黑骨藤抗RA对照提取物活性显著,可减少CIA大鼠足趾肿胀、降低关节炎评分、改善滑膜组织病理学变化。最后成功利用黑骨藤有效对照提取物,采用超高效液相色谱法(UPLC)建立测定苗药黑骨藤有效对照提取物(包括6个咖啡酰基奎宁酸类成分)含量的方法,并建立了其抗RA功效的质量评价体系。

3.2.2.2 白及药材有效对照提取物的研制 白及为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reiehb. f. 的干燥块茎,《中国药典》2020年版首次收录了白及的定量分析方法,以单一指标白及苷作为质量控制指标显然不符合中药多组分整体质量控制观,而白及中许多成分的标准对照品存在制备困难、有价无市的情况。因此,采用“有效对照提取物”模式进行白及药材质量控制至关重要。

本课题组利用UPLC-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)、中药指纹图谱结合化学模式识别等方法,对50批基原明确的白及药材样品进行成分鉴

定与差异性成分分析,确定了白及药材中一类特异性成分2-异丁基苹果酸葡萄糖氧基苄酯类化合物可作为白及药材质量控制指标^[59]。采用溶剂提取法经减压浓缩后得到白及药材提取浸膏,利用大孔树脂色谱分离纯化、富集白及对照提取物。进一步构建大鼠出血模型,测定大鼠出血时间、凝血时间、血小板聚集率、凝血因子(血浆凝血酶原时间、凝血酶时间、活化部分凝血活酶时间、组织纤维溶酶原激活物、纤溶酶原激活物抑制剂-1)等指标。结果显示,白及对照提取物具有良好的止血效果,甚至在某些指标上显著优于阳性对照药品(云南白药)。最后成功利用白及有效对照提取物,采用UPLC建立了测定中药白及对照提取物(包括4个2-异丁基苹果酸葡萄糖氧基苄酯类化合物)含量的方法,并建立了简便易行的中药白及质量评价体系。基于上述研究,本课题组撰写了白及饮片质量标准增订草案及起草说明。

4 结语

近年来,中医药发展得到国家政策的大力支持,同时,随着经济社会发展和生活水平的提高,人民群众健康需求也不断增长,中医药发展迎来了一个崭新的春天^[60]。中医药现代化进程也明显加快,但由于中药成分复杂,药理作用依赖多组分、多靶点、多途径实现,中药质量控制就成为了中药产业发展亟待解决的关键问题之一。对中药质量控制方法逐步完善,由初级向更深层次迈进,现代技术手段与方法也已经取得了许多成果,从单一特征指标性成分逐步向有效多指标成分综合评价过渡^[61]。

对照提取物的应用从整体性角度完善了中药质量评价体系,但目前国内外对照提取物品种和数量较少,化学对照品在药品质量控制领域仍占据主导地位,国内外均尚未建立完整的对照提取物评价标准及相关数据库,对照提取物在医药领域作为一种标准参照物有着其独特的优势,但标准建立困难,稳定性、均一性难以控制等也是中药质量控制的重大挑战。基于对照提取物的中药“有效对照提取物”提升概念,为中药质量控制提出了新要求,同时也为中药整体质量评价带来了新的思路。以类群成分专属性为基础,强化中药质量控制指标与其功效的关联性,促进中药质量控制体系逐步完善,有利于健全中药整体质量控制体系,从而推动实现中药产业现代化与国际化。

参考文献

- [1] 中国共产党中央委员会,中华人民共和国国务院. 中共中央 国务院关于促进中医药传承创新发展的意见[N]. 新华通讯社,2019-10-26(2).
- [2] 谢晶仁. 加快推进我国中医药事业高质量发展[J]. 健康中国观察,2021(12):36-37.
- [3] 胡晓茹,王海南,王亚丹,等. 中成药质量控制的思考与建议[J]. 中国食品药品监管,2021(9):10-15.
- [4] 巨珊珊,李耀磊,林志健,等. 中药质量控制模式的现状分析与思考[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(18):269-274.
- [5] 杨平,阳长明. 建立完善符合中药特点的中药药理学研究技术指导原则体系[J]. 中国现代中药,2020,22(12):1951-1956.
- [6] 李培,马秀琛. 建立中药新药质量控制体系的实践与思考[J]. 中国食品药品监管,2021(9):16-23.
- [7] 王曼,王敏,张梅. 一测多评法在中药材及制剂质量控制中的研究进展[J]. 中药与临床,2016,7(6):59-63.
- [8] 陈杨,徐光临,徐德生,等. 一测多评法在中药质量控制中的应用及关键问题[J]. 环球中医药,2017,10(5):635-640.
- [9] 逢瑜,孙磊,金红宇,等. 替代对照品法在中药多指标含量测定中的应用与技术要求探讨[J]. 药物分析杂志,2013,33(1):169-177.
- [10] 张畅然. 指纹图谱在中药质量控制中的应用探讨[J]. 内蒙古中医药,2022,41(6):124-125.
- [11] 符海邦,张倩睿,熊蕊,等. 指纹图谱结合一测多评模式在中药质量评价中的应用进展[J]. 中国药师,2022,25(5):861-867.
- [12] 穆春旭. 中药质量控制与评价模式创新及发展[J]. 青春岁月,2018(17):244.
- [13] 元唯安,唐健元,高蕊,等. 中药新药临床试验质量控制关键问题的专家共识[J]. 中国中药杂志,2021,46(7):1701-1705.
- [14] XIE P S, MA S C, TU P F, et al. The prospect of application of extractive reference substance of Chinese herbal medicines[J]. Chin Med,2013,4(4):125-136.
- [15] 戴宇,邓赞,宋川霞,等. 对照提取物的国内外发展研究概况[J]. 中药与临床,2015,6(4):49-53.
- [16] 王清君,孙磊,刘峰,等. 标准物质的发展和挑战与数字化新形式[J]. 中国药理学杂志,2016,51(18):1537-1544.
- [17] 刘慧娟,孙娜,崔建美,等. 论中医理论的整体性思想[J]. 中医杂志,2012,53(18):1541-1542.
- [18] 刘带,李锐锋. 论中医理论中的系统整体性思想[J]. 系统科学学报,2009,17(3):90-93.
- [19] 陈沛,金红宇,孙磊,等. 对照提取物在中药整体质量控制中的应用[J]. 药物分析杂志,2016,36(2):185-195.
- [20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:34.
- [21] 徐建新. 加强全面质量管理提高中药饮片质量[J]. 中国药事,1990,4(2):21-22.
- [22] 周明眉,范自全,贾伟,等. 传统医药的整体性与现代医药的局部性的融合:代谢组学在中药复方研究中的应用[J]. 中国天然药物,2009,7(2):95-100.
- [23] 刘静,何轶,张聿梅,等. 中药化学对照品标定常见问题分析[J]. 中国药事,2017,31(10):1171-1175.
- [24] 刘布鸣,邱宏聪. 中药化学对照品研究与开发[J]. 广西科学,2019,26(5):461-465.
- [25] 乔菲,过立农,刘杰,等. 标准和对照药材在民族药监管中的探索研究[J]. 中国食品药品监管,2022(3):54-59.
- [26] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2005:281.
- [27] European Pharmacopoeia Committee. The European Pharmacopoeia [M]. 11th edition. Brussels: European Directorate for the Quality of Medicines,2022:1182.
- [28] American Pharmacopoeia Committee. The United States Pharmacopoeia [M]. 44th edition. Washington: Ministry of Food and Drug Safety,2022:1531.
- [29] Japanese Pharmacopoeia Committee. The Japanese Pharmacopoeia [M]. 18th edition. Tokyo: The Ministry of Health, Labour and Welfare,2021:7-25.
- [30] 青子源,马韶青,郭丹丹. 中药材质量追溯监管的问题与对策[J]. 中国卫生法制,2022,30(4):10-16.
- [31] 杨丽丽,姜艳艳,蒋丽娟,等. 枳实黄酮对照提取物研究及其在枳实药材质量控制中的应用[J]. 中国中医药信息杂志,2019,26(9):73-79.
- [32] WANG W G, MA X L, GUO X Y, et al. A series of strategies for solving the shortage of reference standards for multi-components determination of traditional Chinese medicine, Mahoniae Caulis as a case [J]. J Chromatogr A,2015,1412:100-111.
- [33] JING W G, ZHANG J, ZHANG L Y, et al. Application of a rapid and efficient quantitative analysis method for traditional Chinese medicines: The case study of quality assessment of *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. Molecules,2013,18(6):6919-6935.
- [34] 朱星宇,赵根华,高倩倩,等. 对照提取物法测定补骨脂散片中7种成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(15):85-91.
- [35] 陶益,张畅,李伟东,等. 对照提取物法测定女贞子散片中4种成分的含量[J]. 中国药房,2015,26(33):

- 4685-4687.
- [36] 周渊. 五味子饮片质量控制及木脂素对照提取物研究[D]. 南京:南京中医药大学,2014.
- [37] 殷海霞,王宝春,钱媛,等. 中成药的合理应用述略[J]. 中医药通报,2017,16(5):70-72.
- [38] 孔晓林. 中药中成药现代化进程[J]. 临床医药文献电子杂志,2017,4(31):6129-6131.
- [39] 刘圆,魏惠珍,龚建平,等. 采用对照提取物测定健脾丸中4种黄酮类成分含量及不确定度评定[C]//世界中医药学会联合会. 方药量效研究专业委员会成立大会暨第二届国际方药量效关系与合理应用研讨会论文集. 北京:中华中医药学会,2014:268-278.
- [40] 李耀磊,刘丽娜,王莹,等. 丹参多酚酸对照提取物在丹参药材及注射用丹参多酚酸质量控制中的应用研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(24):5446-5450.
- [41] 黄琴伟,赵维良,严爱娟,等. 对照提取物在银杏叶制剂特征图谱中的应用[J]. 医药导报,2017,36(7):794-797.
- [42] 刘东升,刘婷婷,姚世霞,等. 风湿关节炎片的质量标准提升研究[J]. 中国现代中药,2021,23(11):1982-1987.
- [43] 王菲菲,张聿梅,郑笑为,等. 骨刺片中士的宁和马钱子碱含量测定方法的研究[J]. 药物分析杂志,2018,38(10):1824-1829.
- [44] 苏彦奇,肖咪,于宏珠,等. 酸枣仁黄酮对照提取物的制备及其在枣仁安神颗粒含量测定中的方法学验证[J]. 食品工业科技,2020,41(2):233-237.
- [45] 何凤艳,戴忠,马双成. 西红花苷对照提取物用于双红活血胶囊的质量控制研究[J]. 药物分析杂志,2016,36(12):2204-2208.
- [46] 孟兰兰,李铮,陈有根,等. 应用标准对照提取物同时测定小儿止咳糖浆中甘草的五个主要成分[J]. J Chinese Pharm Sci,2015,24(7):449-457.
- [47] 张颜,周德勇,王路,等. 基于对照品和对照提取物的中药复方质量控制对比研究[J]. 世界中医药,2022,17(16):2281-2286.
- [48] 张鑫,张苗苗,王云霞,等. 对照提取物法测定银杏叶制剂中总黄酮醇苷的含量[J]. 中南药学,2016,14(8):867-870.
- [49] 夏媛媛,陈英杰,杨沮勤,等. 五味子薄层色谱用对照提取物的研制与应用[J]. 中华中医药杂志,2017,32(7):3231-3234.
- [50] 王欢. 延胡索对照提取物的制备及质量评价研究与应用[D]. 广州:广州中医药大学,2017.
- [51] 张宇. 连翘对照提取物制备及应用研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2015.
- [52] 杨志业,李漫莎,林锦锋,等. 肉豆蔻薄层色谱用对照提取物的制备与应用研究[J]. 药物分析杂志,2015,35(7):1283-1286.
- [53] 马玲云,陈红岩,肖新月,等. 标示量值七叶皂苷对照提取物的研制[J]. 药物分析杂志,2014,34(7):1278-1283.
- [54] 李容. 薄层鉴别用黄芩对照提取物的制备及应用研究[D]. 成都:成都中医药大学,2015.
- [55] 荆文光,程显隆,李明华,等. 中药质量指标确立的基本原则[J]. 中国食品药品监管,2021(9):24-31.
- [56] 陈丽华,肖发林,黄诗雨,等. 中药质量评价研究思路及创新发展趋势[J]. 中草药,2021,52(9):2541-2547.
- [57] 王杰妹. 五味子对照提取物制备及应用研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2015.
- [58] 安兰兰,李开敏,何倩倩,等. 基于6种咖啡酰基奎宁酸类成分结合化学计量法评价不同产地苗药黑骨藤的质量[J]. 中草药,2020,51(22):5850-5855.
- [59] 穆开朗,刘育辰,刘刚,等. 基于指纹图谱-化学计量分析-网络药理学的白及饮片质量标志物研究[J]. 中药新药与临床药理,2023,34(3):404-413.
- [60] 王胜昔,丁艳. 拥抱中医药发展的春天[N]. 光明日报,2021-11-27(1).
- [61] 张鹏. 中药质量控制相关创新技术研究[D]. 北京:北京中医药大学,2017.

(收稿日期:2022-07-20 编辑:王笑辉)