

# 中药质量控制和新药研发的思路和方法

CJNM

李松林, 徐宏喜\*

香港赛马会中药研究院 香港

**【摘要】** 中药现代化的主要目标是中药的安全、有效和质量稳定、可控。作者在近年来的部分研究工作的基础上, 本文对中药质量控制和以科学实证为基础的创新中药研究进行了探讨。中药质量控制的两个关键点就是分析技术的建立和化学对照品的运用。分析技术方面在继承形态组织学方法的基础上, 发展 DNA 分子技术和色谱技术鉴别药材, 建立各种现代色谱联用技术定量评价药材及其制剂的内在质量。加强高质量中药化学对照品的研制, 提高质量控制水平; 新药研究首先应针对传统中医药有治疗特色的疾病开展研究。可以在中医理论指导下对古方或验方进行二次开发, 强调复方配伍, 也可利用高通量筛选先导化合物。实证研究既注重分子、细胞、器官和整体动物药理学机理研究以及新制剂工艺的研究, 还要强调随机、双盲和安慰剂对照的临床验证。本文还对当前中药质量控制和创新药物研发中存在的问题进行了讨论。

**【关键词】** 中药现代化; 质量控制; 新药研发

**【中图分类号】** R917, R289

**【文献标识号】** A

**【文章编号】** 1672-3651(2009)01-0002-11

doi: 10.3724/SP.J.1009.2009.00002

中药现代化的主要目标是中药的安全、有效和质量稳定、可控。中药的安全性不仅要求中药本身所含有成分无毒或低毒, 而且要求外来有害物质如残留农药、有害元素(如重金属等)和致病微生物等不得检出或不超安全限量。中药的有效性不但要有各个层次的药效学模型(整体动物、器官、细胞和分子)的验证, 更重要的是要有随机、双盲和安慰剂对照的临床疗效的确证。为保证中药的安全和有效, 质量的可控和稳定是关键。中药的质量可控和稳定涉及到技术和策略两个方面。技术方面就是质量控制的手段和指标能真正反映中药的内在质量。策略方面就是质量控制应该从原药材的栽培、初加工、炮制、提取、半成品和制剂等进行全面控制。

本文以作者近年来在中药质量控制和中药新药研究方面取得的进展为例探讨和分享我们对中药现代化的认识。共引用文献 74 篇, 多为作者及合作者近 3 年共同发表的研究论文。

## 1 中药质量控制研究

中药质量控制的其中两个关键点就是分析技术的建立和化学对照品的运用。中药包括中药材、中药饮片、配方颗粒和中药制剂, 所含化学成分十分复杂, 因此单一的分析技术难以满足中药质量控制的需要。当前中药化学对照品的短缺也是制约中药质量控制的关键问题之一。为此我们将中药质量控制研究的重点放在质量控制的技术研究和中药化学对照品的研制。

### 1.1 质量控制技术研究和运用

中药材和中药饮片是中药配方颗粒和中药制剂的源头, 其质量的本质体现为真伪优劣。中药材真伪鉴定主要依靠传统的形态组织学方法或 DNA 分子鉴定技术, 优劣评价则需要现代分析技术的运用。因此要全面评价中药的质量需要多种技术手段的联合运用。

#### 1.1.1 形态组织方法的运用

药材基原的鉴定是中药质量控制的基础。传统形态组织学方法是鉴定药材基原最经济、简便和有效的技术, 对中药质量控制来说是不可或缺的技术。北豆根(Rhizoma Menispermii) 是常用清热解

**【收稿日期】** 2008-09-10

**【基金项目】** 香港赛马会慈善基金会资助

**【\*通讯作者】** 徐宏喜: 香港赛马会中药研究院副院长, 教授, 博导, Tel: 852-3406-2873; Fax: 852-3551-7333; E-mail: xuhongxi@hkjcim.org

毒、祛风止痛中药材, 正品来源应是防己科植物蝙蝠葛(*Menispermum dauricum*) 的干燥根茎。但我们在北豆根商品药材的调查研究过程中发现, 2001 年 10 月购自河北省秦皇岛市某药店的“北豆根”尽管外形与正品相似, 但横切片和粉末显微特征与正品不同, 而与曾经报道过的北豆根混淆品马兜铃科植物绵毛马兜铃(*Aristolochia mollissima*)的根茎相似。进一步的 HPLC 研究确认该品含有马兜铃酸 A<sup>[1]</sup>。绵毛马兜铃的根茎是中药材寻骨风的来源, 由于绵毛马兜铃的根茎含有马兜铃酸类肾毒成分, 香港卫生署于 2004 年 3 月已通报停止使用寻骨风。

### 1.1.2 DNA 分子鉴定技术研究及数据库建立

部分药材其混淆品的来源是亲缘关系相近的同科或同属植物, 形态组织往往也相近, 应用传统的形态组织学方法很难区分正品和混淆品。因此我们与香港中文大学合作, 对香港常用的 20 类涉及 113 个物种的易混中药材进行 DNA 指纹鉴定研究, 获取 846 个独特的具鉴别意义的 DNA 序列 (ITS / 5S rRNA / trnL-F / psbA-trnH), 成功用于来源于亲缘关系相近物种的鉴别。如将百部(*Radix Stemonae*) 的 3 个法定来源物种直立百部(*Stemona sessilifolia*)、蔓生百部(*S. japonica*)和对叶百部(*S. tuberosa*)与同科其他物种区别开来<sup>[2]</sup>。鉴别方法分别申请中国和美国专利。目前正在扩大研究品种数量, 构建中药材 DNA 鉴定数据库<sup>[3]</sup>。

### 1.1.3 现代色谱技术的研究与运用

尽管 DNA 分子鉴定技术可以对来源于亲缘关系相近物种的药材和混淆品加以鉴别, 但对加工炮制或萃取后的中药材, DNA 分子鉴定技术有时却无能为力, 况且中药材发挥作用的物质基础是其所含有的化学成分, 因此化学分析方法更能反映药材的内在质量。针对不同的质量评价目的, 我们对现代色谱技术用于中药的质量控制进行了系统的应用研究。

**1.1.3.1 薄层色谱 (Thin Layer Chromatography, TLC) 技术** 薄层色谱具有样品预处理要求简单、信息量大(全成分显示)、单次操作样品数多、操作成本低等特点, 因而是中药化学鉴别的最有效方法之一。我们以苯丙醇乙酸酯(phenylpropyl acetate)、桂皮醇乙酸酯(cinnamyl acetate)、桂皮醛(cinnamaldehyde)、桂皮醇(cinnamyl alcohol)、香豆素(coumarin)和桂皮酸(cinnamic acid)为对照品不

但成功鉴别肉桂(*Cortex Cinnamomi*, *Cinnamomum cassia* 的树皮)及其代用品(*C. Cassia* var. *macrophyllum*)和混淆品(*C. zeylanicum*, *C. wilsonii*, *C. japonicum*, *C. bumannii*, *C. mairei*, *C. loureirii*), 而且能指出高规格商品肉桂的化学特征(高含量苯丙醇乙酸酯、桂皮醛和香豆素)<sup>[4]</sup>。野葛(*Pueraria lobata*)和甘葛藤(*P. thomsonii*)在 2005 年前的历版中国药典均作为葛根(*Radix Puerariae*)的来源。2005 年版中国药典基于 2 个物种所含活性成分葛根素(purarin)含量差异较大将两个品种分别收载, 即葛根(*Radix Puerariae Lobatae*)和粉葛(*Radix Puerariae Thomsonii*)<sup>[5]</sup>。香港理工大学研究组应用高效薄层色谱法(High-Performance Thin Layer Chromatography, HPTLC) 结合数码成像(Digital images) 技术对这 2 个品种进行了指纹图谱的比较研究, 直观揭示了 2 个品种化学轮廓的差异, 即不仅葛根素含量相差较大, 而且多种异黄酮类成分的相对含量也相差较大, 为 2005 年版《中国药典》将两个品种分别收载进一步提供了佐证<sup>[6]</sup>。

**1.1.3.2 气相色谱 (Gas Chromatography, GC) 技术** 气相色谱法因其高分离效能理应成为中药指纹谱研究的主要手段。然而由于其分析的样品必须气化, 而大多数中药材所含有的化学成分极性较大, 限制气相色谱技术在中药材化学鉴别的直接应用。在线裂解-气相色谱技术能较好地解决气相色谱直接分析难挥发样品的问题。然而由于在线裂解-气相色谱分析样品的进样量小, 中药材的各药用部位(如根、茎、叶、花和果等)的化学成分分布通常又不均匀, 取样量过小时往往会造成裂解指纹图谱的重现性欠佳。为了解决这一问题, 拓宽气相色谱技术在中药材鉴定中的应用, 香港中文大学和上海中药创新研究中心联合研究组探索性地建立了离线裂解-气相色谱-质谱联用法研究中药材指纹图谱的测定方法。离线裂解可以增大取样量, 提高指纹谱的重现性。质谱总离子流图能充分反映中药材组分特性, 并有可能确定各峰组分的化学结构。用该方法对 18 种中药材的指纹谱进行研究, 发现同种药材色谱指纹谱重现性好, 不同药材又有各自特征性裂解产物, 根据特征性裂解产物就可以表征各药材<sup>[7]</sup>。

**1.1.3.3 高效液相色谱 (High-Performance Liquid Chromatography, HPLC) 技术** 与薄层色谱和气相色谱相比, 高效液相色谱法不但分离效能高, 而

且通过联接多种检测器适用于中药材中多种类型化合物的检测。我们应用该技术对多种中药材进行了深入的质量评价。

1.1.3.3.1 与紫外检测器 (Ultra-Violet, UV) 联接中药材中的多数化合物都有紫外吸收, 因此 HPLC-UV/(Diode Array Detector, DAD) 是常用的分析技术。中药藤黄(Gamboges) 来源于藤黄科植物(*Garcinia hanburyi*) 的树脂, 主要含具抗肿瘤活性的藤黄酸(gambogic acid) 等 xanthone 类成分。藤黄酸制剂已进入 II 期临床验证。我们以 isomorellic acid, morellic acid, isogambogic acid, gambogic acid, isogambogic acid, gambogic acid 和 30-hydroxygambogic acid 为对照品建立了 HPLC-UV 方法, 对从中国和印度市场收集到的多份藤黄药材进行了分析比较, 发现藤黄药材具有相似的色谱特征, 应用该特征成功地将一份从广州市场购得的藤黄混淆品与正品区别开<sup>[8]</sup>。在此基础上, 我们采用细径 C<sub>8</sub> 柱, 将一直以混合物状态存在的 5 对异构体: isomorellic acid 和 morellic acid, gambogic acid 和 epigambogic acid, isogambogic acid 和 gambogic acid, isogambogic acid 和 epiisogambogic acid, 以及 30-hydroxygambogic acid 和 30-hydroxyepigambogic acid 成功分离, 建立了更完善的 HPLC-UV 指纹图谱, 提高了藤黄类药材的质量控制的水平<sup>[9, 10]</sup>。

土荆皮(Cortex *Pseudolaricis*) 为松科植物金钱松 (*Pseudolarix kaempferi*) 的干燥根皮或近根树皮, 二萜酸类成分被证明是土荆皮的抗真菌活性成分。我们先后以 pseudolaric acid A-C 和 pseudolaric acid A、B-O- $\beta$ -D-glucopyranosides 为对照品, 建立了 HPLC-UV 方法评价土荆皮药材<sup>[11]</sup>和市售含土荆皮复方制剂的质量, 一些以土荆皮代用品、混淆品入药的产品很容易被识别<sup>[12]</sup>。

正品龙胆(Radix et Rhizoma *Gentianae*)有 4 个来源, 即条叶龙胆(*Gentiana manshurica*)、龙胆(*G. scabra*)、三花龙胆 (*G. triflora*) 和坚龙胆 (*G. rigescens*), 但同属其他植物常被混淆入药。环烯醚萜类成分是龙胆的主要成分。香港中文大学研究组以 gentiotrifloroside, loganic acid, 6-O- $\beta$ -D-glucopyranosylgentiopicroside, swertiamarin, gentiopicroside, sweroside 和 2-(o, m-dihydroxybenzyl)-sweroside 等环烯醚萜类成分为对照品, 建立了 HPLC-UV 分析方法, 对法定来源的 4 种龙胆及同

属其他植物进行了比较分析, 发现法定来源的 4 种龙胆具有相似的化学成分谱, 尽管相对含量有一定的差异, 而同属混淆品则具有明显的成分谱差异, 为龙胆的多来源品种的使用提供了化学依据<sup>[13]</sup>。

马钱子(Semen *Strychni*) 为马钱科植物马钱 (*Strychnos nux-vomica*) 的干燥成熟种子。由于其毒性大, 使用前必须炮制。中国药典通过测定两个主要生物碱类成分士的宁 (strychnine) 和马钱子碱 (brucine) 含量来控制炮制品的质量。然而在大多数含马钱子的中成药中, 炮制后的马钱子通常以粉末形式入药, 此时仅以测定士的宁和马钱子碱含量是无法判断入药的马钱子是生品或炮制品及其炮制程度。我们研究发现, 马钱子炮制过程中不但生物碱类成分士的宁和马钱子碱含量降低, 其非生物碱类成分马钱酸 (loganic acid) 含量也下降, 且随着炮制程度的加深(炮制时间的延长), 其下降的速度快于生物碱。据此我们建立了 HPLC-UV 方法, 通过计算马钱酸与生物碱的峰面积比来判断马钱子的炮制程度, 并用该方法成功判断多个中成药中所用马钱子的炮制程度, 为马钱子的安全使用提供了有效的质量控制方法<sup>[14]</sup>。

肉桂 (Cortex *Cinnamomi*) 是樟科植物肉桂 (*Cinnamomum cassia*) 的干燥树皮。我们选用了 cinnamaldehyde, cinnamic acid, cinnamyl alcohol 和 coumarin 等成分为对照品, 建立了 HPLC-UV 指纹图谱和定量方法, 对 44 份不同来源、产地和商品规格的桂皮类生药的化学特征进行了分析比较, 将川桂 (*C. wilsonii*)、天竺桂 (*C. japonicum*)、银叶桂 (*C. mairei*) 和阴香 (*C. burmanii*) 等同属植物的树皮与肉桂区别开<sup>[15]</sup>。

乌头类药材在祛风湿和止痛等方面功效显著, 所含的双酯型生物碱类成分为主要活性成分, 但毒性较大。乌头类生药经过炮制后, 这些双酯型生物碱易转变为苯甲酰乌头原碱类型。为了对乌头类炮制品及其制剂进行质量控制, 香港浸会大学研究组先后以双酯型生物碱 aconitine, mesaconitine 和 hypaconitine, 以及 benzoylaconine, benzoylmesaconine 和 benzoylhypaconine 等苯甲酰乌头原碱为对照品建立了 HPLC-UV 分析方法, 通过比较两种类型生物碱的含量判断乌头的炮制程度, 为安全有效地使用乌头类生药提供了质控方法<sup>[16, 17]</sup>。

补骨脂 (Fructus *Psoraleae*) 来源于豆科植物补骨脂 (*Psoralea corylifolia*) 的干燥成熟果实, 用

于治疗白癜风和骨质疏松等。我们在从补骨脂中发现了 2 个新的苯并呋喃葡萄糖苷类成分 psoralenoside 和 isopsoralenoside 的基础上<sup>[18]</sup>, 以 psoralenoside, isopsoralenoside, psoralen 和 isopsoralen 等为对照品建立了 HPLC-UV 分析方法, 对 23 份补骨脂药材样品进行分析比较, 结果发现 psoralenoside 和 isopsoralenoside 含量高的样品, psoralen 和 isopsoralen 的含量则较低, 反之亦然, 提示 psoralenoside 和 isopsoralenoside 与 psoralen 和 isopsoralen 存在互相关联, psoralenoside 和 isopsoralenoside 分别是 psoralen 和 isopsoralen 的前体化合物<sup>[19]</sup>。所分析样品中这种成分含量的差异可能缘于样品的产地、采收时间或储存时间的不同, 因此选择相互关联的化合物作为对照品对药材产地、采收期和储存期的判断具有重要意义。我们尝试以补骨脂中几种主要的香豆素、黄酮和单萜酚类成分为对照品, 建立了 HPLC-UV 指纹图谱和定量方法, 全面评价补骨脂药材质量<sup>[20]</sup>。

党参(Radix Codonopsis) 为补益类中药, 2005 年版中国药典法定来源有 3 种, 即党参(*Codonopsis pilosula*)、素花党参 (*C. pilosula* var. *modesta*) 和川党参 (*C. tangshen*)。2005 年版中国药典首次收载了以党参炔苷 (lobetyolin) 为对照品的 TLC 法定性鉴别该药材。我们和香港中文大学研究组深入研究发现该成分普遍存在于桔梗科植物中, 除党参属 (*Codonopsis*) 植物外, 在党参混淆品大花金钱豹 (*Campanumoea javanica*) 以及同科的桔梗 (*Platycodon grandiflorum*) 和半边莲 (*Lobelia chinensis*) 药材中也有分布。因此我们以党参炔苷和 HPLC-DAD 指纹谱相结合评价不同党参质量, 并将正品党参与同属代用品和来源于其他属的混淆品加以区别<sup>[21]</sup>。

此外, 我们还分别建立了 HPLC-UV (DAD) 分析方法鉴别和评价半边莲 (*Lobelia chinensis*)<sup>[22]</sup>、狼毒类药材包括狼毒大戟 (*Euphorbia fischeriana*)、月腺大戟 (*E. ebracteolata*)、瑞香狼毒 (*Stellera chamaejasme*) 及其混淆品海芋 (*Alocasia macrorrhiza*)<sup>[23]</sup> 和半枝莲<sup>[24]</sup> 等。

1.1.3.3.2 与蒸发光散射检测器 (Evaporative Light Scattering Detector, ELSD) 联接 某些中药含有多种结构类型的主要成分或活性成分, 有些成分有紫外吸收, 有些成分紫外吸收较弱或无紫外吸收。

为了全面评价药材内在质量, 我们将 UV(DAD) 与 ELSD 检测器串联, 建立 HPLC-UV(DAD)-ELSD 方法同时分析不同结构类型的成分。

黄芪 (Radix Astragali) 为常用补益类中药, 主要活性成分为三萜皂苷和异黄酮等成分。异黄酮成分有紫外吸收, 而三萜皂苷类成分紫外吸收较弱。因此我们建立了 HPLC-DAD-ELSD 方法同时测定黄芪中 6 种异黄酮、2 种紫檀烷和 3 种皂苷类成分。我们运用该方法比较不同提取方法(索氏、热回流、超声波和微波辅助萃取)对这两类成分萃取的影响。结果显示, 微波辅助萃取法不但提取率高, 而且由于受热时间短, 能保护含乙酰基的皂苷类成分以及黄酮苷的丙二酸酯和黄酮苷类成分免遭水解, 可以更全面和客观地反映药材的原有成分特征<sup>[25]</sup>。对不同产地和不同规格的黄芪药材分析研究发现, 黄酮类成分和皂苷类成分皮部的含量均高于木部, 黄酮类成分在不同粗细的黄芪样品中的含量相近, 而皂苷类成分则随着黄芪样品的增粗含量逐渐降低, 与传统认为黄芪以粗大者为优的观点并不一致<sup>[26]</sup>。

百部(Radix Stemonae) 是常用止咳中药, 来源于直立百部、蔓生百部和对叶百部。生物碱是百部的止咳成分。研究表明百部生物碱有多种结构类型, 如 stichoneurine 型, protostemonine 型和 croomine 型<sup>[27]</sup>。有些类型的生物碱有较强的紫外吸收 (如 protostemonine 型), 而另一些生物碱紫外吸收较弱 (如 croomine 型和 stichoneurine 型)。为了同时分析多种类型的生物碱, 香港中文大学研究组建立了 HPLC-DAD-ELSD 方法评价属于 3 种类型的 6 个生物碱在 3 个法定来源物种中的存在情况。结果显示, 3 个物种既有相同类型的生物碱又有各自独特类型的生物碱, 同时还发现对叶百部至少存在 4 个化学型, 显示了对叶百部的种内化学多型性和质量不稳定性<sup>[28]</sup>。最近的研究表明 4 个化学型的对叶百部总生物碱虽然都有止咳作用, 但作用机制却明显不同, 以 croomine 为主要成分的总碱是中枢性作用, 而其他 3 个化学型则是周边性作用。中枢性作用的 croomine 如果剂量过大很容易引起中枢抑制的副作用<sup>[29]</sup>。因此对叶百部的化学分析对确定药材产地来源, 保证安全有效地应用百部至关重要。

1.1.3.3.3 与质谱 (Mass Spectrometry, MS) 联接 高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS<sup>n</sup>) 由于其能在线提供化学结构信息近年来在中药质量控制

领域得到广泛应用。吴茱萸(*Fructus Evodiae*) 来源于芸香科植物吴茱萸(*Evodia rutaecarpa*)、石虎 (*E. rutaecarpa* var. *officinalis*) 或疏毛吴茱萸(*E. rutaecarpa* var. *bodinieri*) 的干燥近成熟的果实。香港中文大学研究组以吴茱萸含有的主要吲哚啉啞啞啞类生物碱 rutaecarpine、evodiamine、evodiamide、14-formyldihydrorutaecarpine 和 dehydroevodiamine 为对照品, 建立了 HPLC/UV/APCI-MS/MS 方法对 12 份药材进行了比较分析和质量评价, 并成功将一种同属混淆品 *Evodia meliaefolia* 从正品中区分开来<sup>[30]</sup>。

前已述及百部生物碱是百部镇咳活性成分。香港中文大学研究组先对 6 种已知生物碱 croomine, tuberostemonine K, stemoninine, neotuberostemonine, tuberostemonine 和 tuberostemonine H 进行多重质谱裂解分析, 寻找不同类型生物碱各自的质谱裂解规律。再在同样的质谱条件下对不同来源的对叶百部、直立百部和蔓生百部进行详细的 HPLC-MS/MS 分析, 根据百部生物碱的质谱裂解规律对样品中检测到的未知化合物进行解析, 并与文献报道的质谱数据对比, 成功将各样品中的主要化合物加以鉴定, 为阐明对叶百部的化学多型性, 区分百部药材的 3 个来源物种提供了丰富的化学证据<sup>[31]</sup>。

**1.1.3.4 高效毛细管电泳 (High Performance Capillary Electrophoresis, HPCE)** 与高效液相色谱相比, 高效毛细管电泳技术不但分析速度快, 分析溶剂环保(多为缓冲盐), 而且样品预处理要求相对简单, 非常适合分析易带电荷的化合物。因此高效毛细管电泳常用于分析药材中的生物碱。我们以 aconitine, mesaconitine, hyaconitine, benzoylaconine, benzoylmesaconine 和 benzoylhyaconine 为对照品, 建立了高效毛细管区带电泳法用于快速评价乌头类药材, 与高效液相色谱法相比更加简便省时<sup>[32]</sup>。

#### 1.1.4 多种技术联合运用

对有些药材来说, 一种实验手段无法对其准确鉴定或质量评价。将多种实验技术相结合往往能达到准确鉴定或质量评价的目的。

红党参是香港特有中药材, 当地中医用以治疗慢性腹泻。红党参的名称和外形酷似党参, 其表面有红色物质, 但其植物基原和红色物质一直没有准确鉴定。为确保红党参使用的安全和有效, 香港中文大学研究组对其植物基原和表面红色物质进行了研究。首先应用 DNA 分子鉴定技术和 HPLC-UV

化学指纹谱技术将红党参与党参药材的 3 个正品来源, 即党参 (*Codonopsis pilosula*)、素花党参 (*C. pilosula* var. *modesta*) 和川党参 (*C. tangshen*) 进行比较, 发现红党参与素花党参的 5S rRNA 基因序列的相似度达到 91% 以上, 与素花党参的 HPLC-UV 化学指纹谱也最为相似。再将红党参表面的红色物质与传统中药赤石脂 (*Holloysitum Rubrum*) 进行 X-衍射光谱比较, 发现两者的 X-衍射光谱完全一致。据此确认红党参的基原是素花党参, 表面红色物质是赤石脂。红党参是由素花党参的根用中药赤石脂炮制而成, 科学名被定为 *Radix Codonopsis Preparata Halloysita Rubra*<sup>[33]</sup>。

### 1.2 中药化学对照品的研究

中药化学对照品在中药质量控制中是不可或缺的。然而受多种因素的制约, 中药化学对照品在品种、数量和质量等方面还远远不能满足中药质量控制及其他相关科研工作的需要。应香港业界和研究机构的需要, 我们研究院立专项进行中药化学对照品的研究<sup>[34]</sup>。

#### 1.2.1 化学对照品品种的选择

我们研究中药化学对照品的目的首先是为了满足香港的业界和大学等研究机构的需要。因此品种选择的原则是 1) 香港中药材标准所要求的品种; 2) 中国药典所要求品种; 3) 市场有售但价格较高的品种; 4) 市场无售但本地业界或科研机构急需品种(合同订制); 5) 其他具有潜在生物活性研究价值的品种。到目前为止我们已完成 200 多个品种的研制, 100 多个已经可以提供商品服务。

#### 1.2.2 化学对照品质量研究

**1.2.2.1 影响纯度因素的研究** 当前市场上虽然有多家机构可以提供中药化学对照品, 但最大的问题就是所提供的产品质量参差不齐。我们的目标就是提供高质量的中药化学对照品。为了达到这一目标, 我们对影响对照品纯度的因素进行了深入研究, 发现溶剂、温度和光线是影响化学对照品纯度的最主要因素。例如藤黄中的主要成分藤黄酸 (gambogic acid) 可与甲醇或乙醇发生醇加成反应而衍生新的杂质, 且在碱性溶液中反应加速<sup>[35]</sup>。当归 (*Radix Angelicae Sinensis*) 和川芎 (*Rhizoma Chuanxiong*) 的主要成分藁本内酯(ligustilide)经阳光照射后会发生聚合反应, 生成 riligustilide 和 levistolide A 等多种二聚体<sup>[36]</sup>。而肉桂的主要成分桂皮醛(cinnamaldehyde) 经光照射后则氧化成桂皮

酸 (cinnamic acid)<sup>[37]</sup>。黄芪中的黄酮苷丙二酸酯类和黄酮苷类异黄酮类化合物在受热情况下, 会分别水解成黄酮苷和/或黄酮苷元<sup>[25]</sup>。但同样在受热的情况下, 藁本内酯则氧化成 Senkyunolide I 和 Senkyunolide H 等羟基化产物<sup>[36]</sup>。

天然产物中异构体众多, 这是影响化学对照品纯度的又一重要因素。如藤黄中的主要成分藤黄酸 (gambogic acid) 一直以一对差向异构体使用, 最近本院研究室利用反相 C<sub>8</sub> 柱将两个异构体成功分离, 提高了藤黄酸对照品的品质<sup>[38]</sup>。特殊的立体构象所引起的复杂波谱特征往往影响对化合物纯度的判断。如藤黄科植物 *Garcinia kola* 中的双黄酮类成分 GB1 色谱和波谱在室温下总是表现为一对无法分离的化合物, 经过变温 NMR 测定, 发现该化合物在室温下存在两种立体构象, 在高温和低温时均能呈均匀的分子, 表现为 1 个纯的化合物, 而在室温时两种构象共存并互相转换<sup>[39]</sup>。这些深入的研究工作对指导我们对对照品制备、结构解析、纯度测定、分装和储存具有重要意义。

**1.2.2.2 纯度检测研究** 纯度检测是保证化学对照品质量的措施之一。纯度检测包括绝对纯度检测和相对纯度检测。我们在必要的情况下使用差示扫描热量法和同位素稀释质谱法测定对照品的绝对纯度, 但多数情况下我们利用光谱技术 (如 IR, UV, MS, NMR) 和色谱技术 (TCL, GC, HPLC) 以及多种联用技术 (GC-MS, LC-MS 等) 检测化学对照品的相对纯度<sup>[34]</sup>。

### 1.2.3 中药化学对照品大量快速制备方法研究

我们除了应用传统的制备型 TLC 法和 HPLC 法外, 还研究新的大量快速制备方法。例如对高速逆流色谱法 (High Speed Counter Current Chromatography, HSCCC) 的应用研究。高速逆流色谱是一种连续高效的液-液分配色谱技术, 由于无需固体载体, 因而避免了样品的吸附损失和变性等缺点, 提高了样品的回收率, 而且具有简单快速、溶剂消耗较小等优点。我们将此项技术同制备 HPLC 色谱仪组合起来, 从诃子 (*Terminalia chebula*) 粗提物中仅一步即分离得到了 2 个主要的可水解单宁类化合物 chebulagic acid 和 chebulinic acid, 而且纯度和得率都比较理想<sup>[40]</sup>。借助于 TLC-MS/MS 对化合物结构的推断, 采用 HSCCC 法从黄芪粗提物快速分离得到 astragaloside I 和 II<sup>[41]</sup>。另外, 我们首次建

立了多循环高速逆流色谱法, 将一对 gambogic acid 的对映异构体成功地分离和制备<sup>[42]</sup>。

## 2 中药新药研发

### 2.1 研究品种选择和研究方法的探索

我们认为中药新药研究应紧紧围绕常见病多发病且现有西药没有理想效果而传统中医药有治疗特色的适应症。我们首先在防治心血管疾病、类风湿性关节炎、妇女更年期综合症、抑郁症、肠易激综合症和糖尿病 6 个方面开展研究。其中抗类风湿性关节炎、治疗妇女更年期综合症、抗抑郁和治疗肠易激综合症等 4 个项目是在遵循中医理论指导下对古方或验方的二次开发, 强调复方配伍。而防治心血管疾病和治疗糖尿病两个项目则是对单味中药或复方中药进行分离纯化, 对分离得到的单体化合物做活性筛选, 寻找前体化合物或活性成分。目前已有两个项目完成临床前研究工作, 并通过国家食品药品监督管理局新药注册审评, 获准进行临床研究工作<sup>[43]</sup>。

### 2.2 科学实证研究

科学实证研究是中药创新研究的主要内容。根据各个新药研究项目的侧重点不同, 我们在临床疗效、整体动物药效、器官和细胞药理活性以及分子作用机制等方面进行了实证研究, 对制剂新工艺也进行了尝试。

#### 2.2.1 临床验证研究

治疗肠易激综合症项目是一个临床研究项目。临床研究采用规范的随机、双盲和安慰剂试验。由七味中药材组成的中医方遵循传统水煎方法 (药材经毒性、重金属、微生物和农药残留检测符合要求) 制备治疗中药 (HM), 以西医常用治疗肠易激综合症的药物 Holopon 为阳性对照药 (HO)。按 Rome II 标准非便秘型肠易激综合症纳入受试者。受试者共分 3 组。第一组口服 HM 和 HO 安慰剂, 第二组口服 HM 安慰剂和 HO, 第三组口服 HM 安慰剂和 HO 安慰剂。结果显示, 经过一段时间的治疗后第 1 组病人综合症状改善率优于其他两组, 表明所试中药复方有助于缓解肠易激综合症病人的症状。

香港中文大学和香港浸会大学联合研究组还应用了功能磁共振影像技术 (Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI) 对肠易激综合症病人在

治疗前后的大脑皮层活动进行了研究, 结果显示中药治疗组病人大脑皮层活动明显减弱, 从而进一步客观地阐明了所试中药复方对肠易激综合症病人的治疗作用<sup>[43]</sup>。

### 2.2.2 整体动物实验和分子机制研究

治疗妇女更年期综合症项目是对张景岳治疗真阴不足证候的代表方“左归丸”的二次开发。香港中文大学研究和上海创新药物研究中心联合研究组根据中医药理论对原处方进行增减。去鹿角胶、龟板胶、菟丝子和牛膝, 加淫羊藿和淡豆豉。鹿角胶和龟板胶涉及野生动物国际保护公约, 故避免使用。菟丝子和牛膝是美国 FDA 所列的慎用中药材, 代之以淫羊藿和淡豆豉。应用整体动物模型对本品的雌激样活性、镇静催眠作用、抗焦虑和改善学习记忆作用进行了确证, 并分别通过小鼠和大鼠的急性和长期毒性的安全性评价。建立较合理的质量控制方法对新研制的颗粒剂进行质量控制和稳定性考察<sup>[44]</sup>。研究工作已申请中国和美国专利。产品(更舒安)于近期通过国家新药注册审评, 获批准进行临床验证工作。

抗抑郁症项目是得益于我们的合作者早期的研究发现, 即从中药补骨脂(*Psoralea corylifolia*)中分离得到的呋喃香豆精类成分 psoralen 和 isopsoralen 对大鼠脑线粒体中单胺氧化酶(MAO)呈剂量依赖性抑制作用<sup>[45]</sup>。香港中文大学研究组先后应用整体动物实验如小鼠强迫游泳试验(Forced Swimming Test, FST)<sup>[46]</sup>和小鼠慢性温和紧迫试验(Chronic Mild Stress, CMS)<sup>[47]</sup>证实补骨脂的总呋喃香豆素具有显著和快速的抗抑郁作用, 且是通过调节单胺氧化酶的活性发挥作用。进一步应用小鼠强迫游泳试验证实 psoralen<sup>[48]</sup> 和 psoralidin<sup>[49]</sup> 是 2 个主要的抗抑郁成分。Psoralidin 抗抑郁作用的分子机制可能与下调促肾上腺皮质激素释放因子(Corticotrophin Releasing Factor, CRF)基因转录有关<sup>[50]</sup>。

抗类风湿性关节炎项目是对由五味中药材组成的复方制剂 QFGJS 的实证研究。香港浸会大学研究组应用多种炎症模型和免疫模型对该复方制剂进行了验证。结果显示 QFGJS 能显著和剂量依赖性地抑制角叉菜胶和各种炎症介质(如组胺、血清素)诱导的大鼠足肿胀以及花生四烯酸诱导的小鼠耳肿胀<sup>[51]</sup>, 表明 QFGJS 具有显著的抗炎作用。免疫模型研究证实, QFGJS 能显著抑制大鼠佐剂性关节

炎的发病进程, 并能明显延迟炎症关节软组织和骨损伤<sup>[52]</sup>。另一项免疫模型研究表明, QFGJS 预防性给药, 能抑制胶原诱导的关节炎发作, 治疗性给药则能明显降低大鼠足肿胀, 同时治疗组血清炎症因子 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 和 IL-6 均明显降低<sup>[53]</sup>。最近 QFGJS 的止痛作用也得到了证实<sup>[54]</sup>。总之, 多个整体动物实验证明 QFGJS 具有抗炎、止痛和免疫抑制作用, 为 QFGJS 治疗类风湿性关节炎提供了药效学证据。

### 2.2.3 细胞模型的活性筛选

治疗糖尿病项目就是利用特定细胞及动物模型筛选中药或复方中药的有效成分。香港大学和香港中文大学研究组已经筛选到多个有明显降糖作用的活性成分组或目标化合物。

此外, 我们对中国产藤黄属(*Garcinia*) 植物的细胞毒成分的筛选取得显著进展。在多种肿瘤细胞的细胞毒活性追踪下, 共对采集到的藤黄属 13 种植物进行系统的化学研究, 共分离到包括 gambogic acid 在内 xanthone 类和 benzoylphenone 类化合物 100 多个, 其中 30 多个新化合物<sup>[39,55-60]</sup>。具有潜在抗肿瘤药物开发价值的成分及其制备方法已申请美国专利<sup>[61]</sup>。最近利用蛋白质组学方法揭示了 gambogic acid 对肝癌细胞作用的分子机制<sup>[62]</sup>。

### 2.2.4 制剂新工艺研究

防治心血管疾病项目是基于葛根素(puerarin)的治疗心肌缺血、心绞痛和高血脂的口服新药的研制。葛根素是中药葛根(*Radix Puerariae Lobatae*) 的主要成分, 香港理工大学研究组从多个层面对其在心血管和高血脂方面的生理活性和疗效进行了验证<sup>[63-67]</sup>。然而葛根素的口服生物利用度低。为此, 他们尝试了葛根素制剂新工艺的研究, 试图提高其口服生物利用度。首先将葛根素制成大豆磷脂复合物固体分散体<sup>[68]</sup>, 再利用大鼠模型进行药物代谢动力学研究。相同剂量下的比较研究发现, 与单纯葛根素相比, 葛根素大豆磷脂复合物不但易于吸收, 而且其生物利用度提高了 46%, 在心 and 脑中的分布也得到提高<sup>[69]</sup>。Beagle 犬模型研究亦证实葛根素磷脂复合物能提高葛根素的吸收和生物利用度, 为葛根素口服制剂的研制提供了理论依据<sup>[70]</sup>。

## 2.3 新药研发过程中的质量控制研究

影响中药制剂质量的因素也是多方面的, 包括药材、提取工艺、制剂工艺和储存等。因此我们在新药研制的过程中加强了全面质量控制研究。

### 2.3.1 药材品种和产地研究

防治心血管疾病项目的原料是常用中药葛根(*Radix Puerariae*)。法定葛根有葛根(*Radix Puerariae Lobatae*)和粉葛(*Radix Puerariae Thomsonii*)两种。香港理工大学研究组基于高效薄层色谱指纹谱研究鉴别这两种不同的葛根<sup>[6]</sup>, 通过对不同产地的两种葛根样品的分析比较, 进一步验证了葛根中葛根素的含量远远高于粉葛, 安徽霍山产葛根葛根素含量相对较高, 因此选择葛根作为原材料品种, 并将原料产地固定在安徽霍山的葛根 GAP(*Good Agricultural Practice*) 栽培基地。

### 2.3.2 最佳采收期研究

在高效液相色谱指纹谱研究的基础上<sup>[71]</sup>, 以总异黄酮和7个主要异黄酮为指标建立了紫外分光光度法和高效液相色谱法评价安徽霍山产区不同生长年限和不同月份采收的葛根样品, 考察活性成分的积累动态。结果表明3年生且在元月份采集的样品, 其异黄酮含量最高。因此, 作为我们研制产品的原材料, 安徽霍山产区3年生葛根元月份为最佳采收期<sup>[72]</sup>。

### 2.3.3 制剂工艺稳定性研究

抗类风湿性关节炎制剂是由青风藤(*Caulis Sinomenii*)、白芍(*Radix Paeoniae Alba*)、牡丹皮(*Cortex Moutan*)、姜黄(*Rhizoma Curcumae Longae*)和附子(*Radix Aconiti Lateralis Preprata*)等五味中药研制而成。浸会大学研究组选择这五味中药的代表性活性成分, 即青藤碱(*Sinomenine*)、芍药苷(*Paeoniflorin*)、丹皮酚(*Paeonol*)、姜黄素(*Curcumin*)和次乌头碱(*Hypaconitine*)为指标成分, 建立了HPLC定量分析方法, 再结合色谱指纹谱研究制剂批与批之间质量的重复性, 以及室温放置情况下制剂的稳定性, 用以考察制剂工艺的稳定性, 预测制剂的有效期。结果显示, 3个批次的产品无论是所测定的5个代表性成分的含量还是指纹谱轮廓都基本稳定和相似, 表明现有制剂工艺能保证产品质量的稳定。连续3个月的考察也显示, 制剂在选定的包装条件下3个月之内是稳定的<sup>[17, 73]</sup>。

## 3 讨论

有效的质量控制是中药现代化的关键。传统的形态组织学方法仍然是有效的药材真伪鉴别方法, 现代色谱及其联用技术为中药复杂体系的内在质

量控制提供了手段。指标成分的定量和色谱指纹谱的结合是当前中药内在质量评价最有效方法。化学对照品本身的高质量是中药内在质量评价的保证。影响中药制剂质量的因素包括原药材、提取工艺和制剂工艺等, 因此从药材栽培、采收、加工炮制、萃取到制剂工艺等全面质量控制是中药制剂质量控制的基本策略。

以安全有效和质量稳定可控为目的的创新中药研究既可以在中医理论指导下对传统古方或验方进行实证研究的二次开发, 强调复方配伍, 又可以运用多种活性筛选方式寻找先导化合物。创新中药的实证研究既要进行动物、器官、细胞和分子等的药效学及其机制研究, 更要重视随机、双盲和安慰剂对照的临床研究。

我们在中药质量控制和中药新药研发过程中感到当前还有许多问题需要我们加以重视。

1) 中药材质量 尽管有各种法定标准(国家药典和省标等)的约束, 但我们分析过的多数市场流通的中药材质量仍然参差不齐。可能有几个方面的原因, 一是现有标准中某些品种缺乏客观评价指标, 或标准规定合格范围宽泛; 二是虽然已经有100多种中药材建成GAP栽培基地, 且部分品种通过了国家药监局组织的验收, 但GAP的措施和操作规程可能没有得到进一步全面有效的落实; 三是药材流通过程中可能存在的人为参杂和不规范加工等。

2) 中药饮片还没有系统全面控制其内在质量的国家标准 从我们分析过的样品看, 传统中药饮片的质量差异也较大。近年来新发展的中药配方颗粒各生产厂家生产工艺不统一, 质量研究工作滞后, 没有统一可行的行业标准或法定标准。当前市场上中药配方颗粒的质量差异很大, 例如我们考察了数个厂家生产的葛根汤配方颗粒, 发现个别主要成分含量甚至相差十倍到百倍<sup>[74]</sup>。

3) 中药化学对照品的研究和供应 借助于现代分析技术, 理论上讲中药的质量都能得到有效控制。但现时化学对照品的短缺严重制约着中药质量控制水平的提高。

4) 毒性中药的研究和客观评价 如含肝脏毒性 pyrrolizidine 生物碱的中药, WHO、美国 and 德国等都有相关的监管措施<sup>[37]</sup>, 但中国当前还没有监管条例。究其原因可能是对相关中药的研究资料还不能为监管措施的颁布提供依据。为此, 我们于近期已立专项与香港中文大学研究组合作对含肝脏毒

性 pyrrolizidine 生物碱的中药的安全性进行研究。

5) 名贵药材的研究 随着人们保健水平要求的提高, 名贵药材的需求逐年增加。但名贵药材的品种、等级的分类依据和珍稀品种的保护等一直困扰着消费者和监管者。我们正与香港理工大学研究组合作, 试图在名贵药材的品种选定、品质评价体系建立等方面加强研究, 为消费者和相关监管部门提供依据。

## 参考文献

- [1] 乔春峰 (Qiao CF), 冯 举 (Feng J), 陈道峰 (Chen DF), 等. 北豆根混淆品绵毛马兜铃根茎的鉴定 [J]. 中药材 (*J Chin Med Mater*), 2005, **28** (9): 755-757.
- [2] Jiang RW, Hon PM, Xu YT, et al. Isolation and chemotaxonomic significance of tuberostemospirone-type alkaloids from *Stemona tuberosa* [J]. *Phytochemistry*, 2006, **67**: 52-57.
- [3] <http://www.hkjcimc.org/google/translate.asp?targetloc=http://www.hkjcimc.org/index.asp>
- [4] He ZD, Qiao CF, Han QB, et al. Comparison and quality assessment of cassia bark (*Cortex Cinnamomi*) by thin layer chromatography [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2006, **15**: 195-199.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005 年版一部)[Z]. 2005: 203, 233.
- [6] Chen SB, Liu HP, Tian RT, et al. High-performance thin-layer chromatographic fingerprints of isoflavonoids for distinguishing between *Radix Puerariae Lobatae* and *Radix Puerariae Thomsonii*[J]. *J Chromatogr A*, 2006, **1121**: 114-119.
- [7] 陈卫东 (Chen WD), 詹庆丰(Zhan QF), 吴 萍 (Wu P), 等. 裂解-气相色谱-质谱法对中药材指纹谱的研究 [J]. 质谱学报 (*J Chin Mass Spectrom Soc*), 2007, **28** (2): 267-274.
- [8] Han QB, Song JZ, Qiao CF, et al. Characterization and quantitative analysis of xanthenes in Gamboges [J]. *Chin J Nat Med*, 2006, **4**(3): 211-214.
- [9] Song JZ, Yip YK, Han QB, et al. Rapid determination of polyprenylated xanthenes in Gamboge resin of *Garcinia hanburyi* by HPLC [J]. *J Sep Sci*, 2007, **30**: 304-309.
- [10] Li SL, Song JZ, Han QB, et al. Improved high performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of 12 cytotoxic caged xanthenes in gamboges, a potential anticancer resin from *Garcinia hanburyi* [J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, **22**: 637-644.
- [11] Qiao CF, Han QB, Song JZ, et al. HPLC analysis of bioactive diterpenoids from the root bark of *Pseudolarix kaempferi* [J]. *J Food & Drug Anal*, 2006, **14**: 353-356.
- [12] Han QB, Yip YK, Wong LN, et al. Rapid analysis of pseudolaric acids in *Cortex Pseudolaricis* and related medicinal products by high performance liquid chromatography [J]. *Talanta*, 2007, **73**: 757-763.
- [13] Jiang RW, Wong KL, Chan YM, et al. Isolation of iridoid and secoiridoid glycosides and comparative study on *Radix Gentianae* and related adulterants by HPLC analysis [J]. *Phytochemistry*, 2005, **66**: 2674-2680.
- [14] Han QB, Li SL, Qiao CF, et al. A simple method to identify the unprocessed *Strychnos* seeds used in herbal medicinal products [J]. *Planta Med*, 2008, **74**(4): 458-463.
- [15] He ZD, Qiao CF, Han QB, et al. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of cassia bark (*Cortex Cinnamomi*) by high-pressure liquid chromatography [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, **53**: 2424-2428.
- [16] Jiang ZH, Xie Y, Zhou H, et al. Quantification of *Aconitum* alkaloids in aconite roots by a modified RP-HPLC method [J]. *Phytochem Anal*, 2005, **16**: 415-421.
- [17] Xie Y, Jiang ZH, Zhou H, et al. Simultaneous determination of six *Aconitum* alkaloids in proprietary Chinese medicines by high-performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, **1093**: 195-203.
- [18] Qiao CF, Han QB, Mo SF, et al. Psoralenoside and isopsoralenoside, two new benzofuran glycosides from *Psoralea corylifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, **54**: 714-716.
- [19] Qiao CF, Han QB, Song JZ, et al. Quality assessment of *Fructus Psoraleae* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, **54**: 887-890.
- [20] Qiao CF, Han QB, Song JZ, et al. Chemical fingerprint and quantitative analysis of *Fructus Psoraleae* by high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2007, **30**: 813-818.
- [21] Qiao CF, He ZD, Han QB, et al. The use of lobetyolin and HPLC-UV fingerprints for quality assessment of *Radix Codonopsis* [J]. *J Food & Drug Anal*, 2007, **15**: 258-264.
- [22] 乔春峰(Qiao CF), 贺震旦(He ZD), 韩全斌 (Han QB), 等. HPLC 测定半边莲药材中 2 个多炔类成分的含量 [J]. 中国中药杂志 (*China J Chin Mater Med*), 2006, **31**(9): 744-746.
- [23] 乔春峰(Qiao CF), 韩全斌 (Han QB), 贺震旦(He ZD), 等. RP-HPLC 法测定狼毒中岩大戟内酯 A 和 B 的含量 [J]. 药物分析杂志 (*Chin J Pharm Anal*), 2006, **26** (9): 1204-1206.
- [24] 乔春峰(Qiao CF), 韩全斌 (Han QB), 宋景政 (Song JZ), 等. RP-HPLC 测定半枝莲药材中 4 种主要黄酮类成分的含量 [J]. 中国药理学杂志 (*Chin Pharm J*), 2006, **41**(17): 1342-1344.
- [25] Song JZ, Mo SF, Yip YK, et al. Development of microwave assisted extraction for the simultaneous determination of isoflavonoids and saponins in *Radix Astragali* by high performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2007, **30**: 819-824.
- [26] Song JZ, Yiu HW, Qiao CF, et al. Chemical comparison and classification of *Radix Astragali* by determination of isoflavonoids and astragalosides [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, **47**: 399-406.
- [27] Greger H. Structural relationships, distribution and biological activities of stemona alkaloids [J]. *Planta Med*, 2006, **72**: 99-113.
- [28] Li SL, Jiang RW, Hon PM, et al. Quality evaluation of *Radix Stemonae* through simultaneous quantification of bioactive alkaloids by high-performance liquid chromatography coupled with diode array and evaporative light scattering detectors [J]. *Biomed Chromatogr*, 2007, **21**: 1088-1094.
- [29] Xu YT, Hon PM, Jiang RW, et al. Antitussive effects of *Stemona tuberosa* with different chemical profiles [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, **108**: 46-53.
- [30] Zhou Y, Li SH, Jiang RW, et al. Quantitative analyses of indoloquinazoline alkaloids in *Fructus Evodiae* by

- high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, **20**: 3111-3118.
- [31] Zhou Y, Jiang RW, Hon PM, *et al.* Analyses of *Stemona* alkaloids in *Stemona tuberosa* by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, **20**: 1030-1038.
- [32] Song JZ, Han QB, Qiao CF, *et al.* Development and validation of a rapid capillary zone electrophoresis method for the determination of aconite alkaloids in aconite roots [J]. *Phytochem Anal*, in press
- [33] Zhang YB, Jiang RW, Li SL, *et al.* Chemical and molecular characterization of Hong Dangshen, a unique medicinal material for diarrhea in Hong Kong [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2007, **16**: 202-207.
- [34] 徐宏喜(Xu HX). 中药化学对照品研究---纯度、制备及在中药材质量控制中的选用策略 [J]. *中草药(Chin Tradit Herb Drugs)* 2007, **38**(增刊): 10-16.
- [35] Han QB, Cheung S, Tai J, *et al.* Stability and cytotoxicity of gambogic acid and its derivative, gambogic Acid [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, **28**: 2335-2337.
- [36] Li SL, Yan R, Tam YK, *et al.* Post-harvest alteration of the main chemical ingredients in *Ligusticum chuanxiong* Hort. (Rhizoma Chuanxiong) [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, **55**: 140-144.
- [37] Li SL, Han QB, Qiao CF, *et al.* Chemical markers for the quality control of herbal medicines: an overview [J]. *Chin Med*, 2008, **3**: 1-16.
- [38] Han QB, Yang L, Liu Y, *et al.* Gambogic acid and epigambogic acid, C-2 epimers with novel anticancer effects from *Garcinia hanburyi* [J]. *Planta Med*, 2006, **72**: 281-284.
- [39] Han QB, Lee SF, Qiao CF, *et al.* Complete NMR assignments of the antibacterial biflavonoid GB1 from *Garcinia kola* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, **53**: 1034-1036.
- [40] Han QB, Song JZ, Qiao CF, *et al.* Preparative isolation of hydrolysable tannins chebulagic acid and chebulinic acid from *Terminalia chebula* by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2006, **29**: 1653-1657.
- [41] Han QB, Song JZ, Qiao CF, *et al.* Preparative isolation of cyclolanostane-type saponins from *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* Hsiao by TLC-MS/MS guided high-speed counter-current chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2007, **30**: 135-140.
- [42] Han QB, Song JZ, Qiao CF, *et al.* Preparative separation of gambogic acid and its C-2 epimer using recycling high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, **1127**: 298-301.
- [43] <http://www.hkjcicm.org/google/translate.asp?targetloc=http://www.hkjcicm.org/index.asp>
- [44] 陈卫东(Chen WD), 黄轶君(Huang YJ), 葛秀文(Ge XW), 等. RP-HPLC法测定更舒安颗粒中淫羊藿苷[J]. *国外医药-植物药分册(World Notes Plant Med)* 2006, **21**(6): 251-253.
- [45] Kong LD, Tan RX, Woo AY, *et al.* Inhibition of rat brain monoamine oxidase activities by psoralen and isopsoralen: implications for the treatment of affective disorders [J]. *Pharmacol & Toxicol*, 2001, **88**: 75-80.
- [46] Chen Y, Kong LD, Xia X, *et al.* Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the forced swimming test in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2005, **96**: 451-459.
- [47] Chen Y, Wang HD, Ixia X, *et al.* Behavioral and biochemical studies of total furocoumarins from seeds of *Psoralea corylifolia* in the chronic mild stress model of depression in mice [J]. *Phytomedicine*, 2007, **14**: 523-529.
- [48] Xu Q, Pan Y, Yi LT, *et al.* Antidepressant-like effects of psoralen isolated from the seeds of *Psoralea corylifolia* in the mouse forced swimming test [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, **31**: 1109-1114.
- [49] Yi LT, Li YC, Pan Y, *et al.* Antidepressant-like effects of psoralidin isolated from the seeds of *Psoralea Corylifolia* in the forced swimming test in mice [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008, **32**: 510-519.
- [50] Chen YC, Cheung YT, Kong LD, *et al.* Transcriptional regulation of corticotrophin releasing factor gene by furocoumarins isolated from seeds of *Psoralea corylifolia* [J]. *Life Sci*, 2008, **82**: 1117-1121.
- [51] Zhou H, Wong YF, Cai X, *et al.* Suppressive effects of JCICM-6, the extract of an anti-arthritis herbal formula, on the experimental inflammatory and nociceptive models in rodents [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, **29**: 253-260.
- [52] Cai X, Zhou H, Wong YF, *et al.* Suppressive effects of QFGJS, a preparation from an anti-arthritis herbal formula, on rat experimental adjuvant-induced arthritis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **337**: 586-594.
- [53] Cai X, Zhou H, Wong YF, *et al.* Suppression of the onset and progression of collagen-induced arthritis in rats by QFGJS, a preparation from an anti-arthritis Chinese herbal formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, **110**: 39-48.
- [54] Wong YF, Zhou H, Wang JR, *et al.* Anti-inflammatory and analgesic effects and molecular mechanisms of JCICM-6, a purified extract derived from an anti-arthritis Chinese herbal formula [J]. *Phytomedicine*, 2008, **15**: 416-426.
- [55] Han QB, Yang NY, Tian HL, *et al.* Xanthoness with growth inhibition against HeLa cells from *Garcinia xipshuanban-naensis* [J]. *Phytochemistry*, 2008, **69**: 2187-2192.
- [56] Yang NY, Han QB, Cao XW, *et al.* Two new xanthoness isolated from the stem bark of *Garcinia lancilimba* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, **55**: 950-952.
- [57] Han QB, Qiao CF, Song JZ, *et al.* Cytotoxic prenylated phenolic compounds from the twig bark of *Garcinia xanthochymus* [J]. *Chem Biodivers*, 2007, **4**: 4940-4946.
- [58] Han QB, Yang L, Wang YL, *et al.* A pair of novel cytotoxic polyprenylated xanthone epimers from gamboges [J]. *Chem Biodivers*, 2006, **3**: 1-5.
- [59] Han Q, Yang L, Liu Y, *et al.* Gambogic acid and epigambogic acid, C-2 epimers with novel anticancer effects from *Garcinia hanburyi* [J]. *Planta Med*, 2006, **72**: 281-284.
- [60] Han QB, Wang YL, Yang L, *et al.* Cytotoxic polyprenylated xanthoness from the resin of *Garcinia hanburyi* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, **54**: 265-267.
- [61] Han QB, Song JZ, Qiao CF, *et al.* Novel compounds from *Garcinia hanburyi*, their use in treating cancer and method of separating epimers thereof [P]. U.S. Patent Application No. 20070149610.
- [62] Wang X, Chen YC, Han QB, *et al.* Proteomic identification of molecular targets of gambogic acid: role of stathmin in hepatocellular carcinoma [J]. *Proteomics*, 2008, accepted.
- [63] Zhang SY, Shen SL, Shen YJ, *et al.* Pueralin induces angiogenesis in myocardium of rat with myocardial infarction [J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, **29**: 945-950.

- [64] Yan LP, Chan SW, Chan SC, *et al.* Puerarin decreases serum total cholesterol and enhances thoracic aorta endothelial nitric oxide synthase expression in diet-induced hypercholesterolemic rats [J]. *Life Sci*, 2006, 79: 324-330.
- [65] 闫莉萍(Yan LP), 陈舜宏(Chan SW), 陈伟明(Chen WM), 等. 葛根素对膳食诱导的高胆固醇血症大鼠血脂调节作用[J]. 中国临床药理学和治疗学(*Chin J Clin Pharmacol Ther*), 2006, 11(5): 574-577.
- [66] 温 葭(Wen J), 陈士林(Chen SL), 徐宏喜(Xu HX). 葛根素对细胞凋亡影响的研究[J]. 现代中药研究与实践(*Res Pract Chin Med*), 2006, 20(1): 457-460.
- [67] 宋浩亮(Song HL), 陈士林(Chen SL), 梅学仁(Mei XR), 等. 葛根素口服制剂抗心肌缺血剂对心肌细胞的保护作用[J]. 中草药(*Chin Tradit Herb Drugs*), 2003, 34(12): 1104-1107.
- [68] 李 颖(Li Y), 潘卫三(Pan WS), 陈士林(Chen SL), 等. 葛根素磷脂复合物的制备及其固体分散体研究[J]. 中国药理学杂志 (*Chin Pharm J*), 2006, 41(15): 1162-1167.
- [69] Li Y, Pan WS, Chen SL, *et al.* Pharmacokinetic, tissue distribution, and excretion of puerarin and puerarin- phospholipid complex in rats [J]. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2006, 32: 413-422.
- [70] 李 颖(Li Y), 潘卫三(Pan WS), 陈士林(Chen SL), 等. 葛根素及其磷脂复合物在 Beagle 犬体内的药动学比较 [J]. 中草药(*Chin Tradit Herb Drugs*), 2006, 37(5): 695-697.
- [71] 陈士林(Chen SL), 陈四保(Chen SB), 杨大坚(Yang DJ), 等. 葛根高效液相指纹图谱研究[J]. 中草药(*Chin Tradit Herb Drugs*), 2003, 34(7): 661-663.
- [72] Chen SB, Yang DJ, Chen SL, *et al.* Seasonal variation in the isoflavonoids of *Radix Puerariae* [J]. *Phytochem anal*, 2007, 18: 245-250.
- [73] Xie Y, Jiang ZH, Zhou H, *et al.* Combinative method using HPLC quantitative and qualitative analysis for quality consistency assessment of a herbal medicinal preparation [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43: 204-212.
- [74] Song JZ, Han QB, Qiao CF, *et al.* Simultaneous determination of multiple marker constituents in concentrated *Gegen Tang* granule by high performance liquid chromatography [J]. *Chin Med*, 2007, 2(1): 1-8.

## Recent Research Developments in the Modernization of Chinese Medicines

LI Song-Lin, XU Hong- Xi\*

Hong Kong Jockey Club Institute of Chinese Medicine, Hong Kong, China

**【ABSTRACT】** Safety, efficacy and quality control are the three key elements in the modernization and internationalization of traditional Chinese medicines (TCM). In this paper, we summarize and discuss the issues on the quality control and the research and development of evidence-based TCM. Establishing analytical methodologies and expanding the application of chemical markers are crucial for the quality control of TCM. Apart from the well-known organonepic technique for TCM authentication, various advanced analytical methodologies including DNA sequencing, and hyphenated chromatographic methods have been used for the quantitative and qualitative analysis of the raw materials and products. As for new drug development, we focused on those TCMs that show promising effects on specific diseases or syndromes, including cardiovascular diseases, diabetes, irritable bowel syndrome, depression and menopausal syndrome. The strategies used for new drug development were either extensive evidence-based investigation of traditional formulas that are based on traditional Chinese medical theory, or lead compound discovery through high throughput screening. Both clinical trials of randomized, double-blind and placebo-controlled studies, and pharmacological and toxicological studies with molecular, cellular, organ and animal models were conducted. Factors which hinder the progress of quality control and new drug development are also addressed and discussed. In this review, 74 references published by the authors and collaborators over the past three years, were cited.

**【KEY WORDS】** Modernization of traditional Chinese medicine; Quality control; New drug development

**【Foundation Item】** This project was supported by the Hong Kong Jockey Club Charities Trust