

·新世纪20年:中药炮制理论与技术的传承创新专题·

【编者按】中药炮制是中医药最具特色的研究领域之一。21世纪前20年中,中药炮制理论与技术的传承、创新取得了长足的发展。具体体现在,当下的中药炮制研究正逐渐将中药传统的炮制理论与现代化学成分转化结合,将宏观机体生物效应与微观细胞、分子、靶点、通路结合,并综合运用多学科交叉的现代化技术剖析中药炮制机制,更新中药炮制机制解析技术。在“互联网+”、《中国制造2025》的大环境下,为充分适应中药现代化及产业化需求,中药炮制技术与装备也在迅速升级,并逐渐向高效、节能环保、集成化及自动化方向发展,这必将极大地促进中药饮片的产业化及现代化。

新世纪20年:中药炮制机制研究中化学物质变化辨识技术与多模态研究策略

郭舒臣, 梁士魁, 李得天, 杨冰, 封亮*, 贾晓斌*
(中国药科大学 中药学院, 江苏 南京 211198)

【摘要】 中药在炮制过程中会发生复杂的化学物质变化,而如何辨识这些变化是中药炮制机制研究的关键科学问题。进入21世纪的20多年来,中药炮制中对化学物质变化的研究不仅关注炮制过程中化学物质的变化,更加注重化学物质在生物药剂学过程中的改变。随着信息技术的发展,各种化学物质辨识技术(仪器分析技术、分子生物学技术、数据挖掘技术、微生物转化技术)得到快速发展,并在炮制机制研究中广泛应用。基于此,笔者通过梳理中药炮制机制研究中化学物质辨识的关键技术,提出以“炮制过程-生物药剂学过程”中化学物质变化为基础,以多模态辨识为核心的研究策略,旨在构建一种跨学科、跨方位、跨维度的中药炮制机制研究模式,深入揭示中药炮制机制的科学内涵。

【关键词】 中药炮制机制; 化学变化; 炮制过程; 生物药剂学过程; 多模态辨识

Twenty years in the 21st century: identification technologies for and multimodal research on chemical changes in exploration of processing mechanism of Chinese medicine

GUO Shu-chen, LIANG Shi-kui, LI De-tian, YANG Bing, FENG Liang*, JIA Xiao-bin*
(School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China)

【Abstract】 Chinese medicine undergoes complex chemical changes during processing and identifying these changes is the key to the processing mechanism. In the past 20 years of the 21st century, research on the chemical changes in Chinese medicine after processing has focused the changes in the biopharmaceutical process in addition to the variation during processing. With the surging of information technologies, various identification technologies (instrumental analysis techniques, molecular biological techniques, data mining techniques, and biotransformation techniques) have developed rapidly and been widely applied to the research on processing mechanism. Thus, based on the chemical changes in the processing and biopharmaceutical process, the author suggested a research tactic of multi-

【收稿日期】 2021-11-10

【基金项目】 国家重点研发计划项目(2018YFC1706900);国家自然科学基金项目(81573620);中国药科大学双一流建设创新团队项目(CPU2018GY11)

【通信作者】 *封亮,博士,副教授,博士生导师,研究方向为中药制剂与炮制,E-mail: wenmoxishi@163.com; *贾晓斌,博士,教授,博士生导师,研究方向为中药炮制与特色制药技术的传承与创新,E-mail: jiaxiaobin2015@163.com

【作者简介】 郭舒臣,博士,研究方向为中药炮制机制与中药制药技术,E-mail: gsc1060683539@163.com

modal identification as the core by reorganizing key technologies for chemical identification from studies of the processing mechanism of Chinese medicine, aiming at establishing an interdisciplinary multi-dimensional research model for the processing mechanism of Chinese medicine.

[Key words] mechanism of Chinese medicinal processing; chemical changes; processing process; biopharmaceutical process; multi-modal identification

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20211110.601

中药在炮制中会发生复杂的化学物质变化,而起效的化学物质不仅包括原型物质,也包括经胃肠道、肝脏代谢酶等生物转化的代谢产物^[1]。因此,从哪些环节选取样品进行分析或采用哪些关键技术是系统辨识炮制化学物质变化所必须解决的共性关键科学问题,也是破解中药炮制机制研究的核心问题^[2]。鉴于炮制过程中中药化学物质变化的复杂性,研究者们主要采用仪器分析、分子生物学、数据挖掘等技术对炮制化学物质的变化以及在生物药剂学过程的变化进行辨识,极大地推动了中药炮制机制研究向纵深发展^[3]。但是,仅根据单一或多个成分去研究化学物质变化往往陷入挂一漏万的窘境;而以某一分析技术或某一途径辨识化学物质又可能陷入以偏概全的认识误区,这是化学物质变化乃至中药炮制机制研究中必须尽快解决的重大科技难题。据此,本文提出以多模态辨识为核心的研究策略,以解析“炮制过程-生物药剂学过程”中化学物质变化为基础,试图突破辨识中药炮制机制中化学物质变化的技术困局,为诠释中药炮制机制,促进中药炮制学科发展开拓路径。

1 基于多模态辨识的化学物质变化研究策略与关键技术

模态是指获取信息的途径,多模态是指采用2种及其2种以上的辨识技术对信息进行采集,并对采集到的信息进行整理和融合的方法^[4]。

化学物质变化的多模态辨识策略是指综合运用化学分析、现代医学、药代动力学等学科技术,在微观、介观、宏观等多个尺度辨析化学物质组成,并运用模式识别、数据可视化等智能计算方式融合多模态信息,从而解析中药炮制机制研究中的化学物质变化。

从理论模式上讲,化学物质变化的多模态辨识策略是一种系统性的方法,注重整体性辨识,强调不同辨识技术的相互联系,多层次、多学科、多尺度地阐明炮制前后多种化学物质的变化。从研究层次上讲,既包括炮制过程中化学成分的质变和量变,也包括炮制后化学成分在生物药剂学过程中的代谢变化。从研究方法上讲,借助现代医学、分析化学、现代药理学、细胞生物学、药代动力学、化学生物学、微生物学、计算机科学等多学科技术,来研究中药炮制前后化学成分在体内外的变化规律。从研究尺度上讲,涵盖体外、内环境、细胞、组织、器官到整体动物,跨越了从微观、介观到宏观的整个范围。

总体来看,化学物质变化的多模态辨识研究策略包括炮制过程和生物药剂学过程,涉及仪器分析、信息融合、体内外

吸收代谢等关键技术,以此明确炮制前后化学物质在体内外的变化规律(图1)。

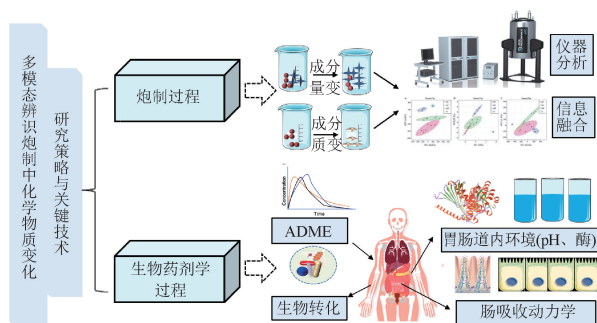


图1 多模态辨识中药炮制中化学变化的研究策略与关键技术
Fig. 1 Research tactic and key technologies of multimodal identification on chemical changes during Chinese medicinal processing

2 基于炮制过程的化学物质变化辨识技术

炮制过程会引起化学物质之间的相互转化,从而带来化学成分的量变与质变。在中药炮制的研究当中,常采用现代仪器分析技术,用来辨识炮制前后化学成分的量变与质变^[5];并针对中药炮制过程中多成分变化的特点,采用数据信息融合辨识技术,来研究中药炮制过程中化学变化机制^[6]。

2.1 仪器分析辨识技术

由于不同化学物质拥有不同结构,表现出不同属性。因此,根据仪器(光谱仪、色谱仪、质谱仪)的不同特性,不同的仪器分析辨识技术可以对不同类型化学物质的数据信息进行分析,实现对化学成分结构与含量信息的确证,从而明确炮制后发生质变或量变的化学成分^[7]。如采用红外光谱(IR)、紫外光谱(UV)、薄层色谱(TLC)以及高效液相色谱(HPLC)技术对炮制过程中小分子物质变化进行辨识;采用蛋白质凝胶电泳及其DNA分子标记技术对于炮制过程中大分子物质变化进行分析;采用原子吸收光谱(AAS)、原子发射光谱(AES)以及原子荧光光谱(AFS)技术对炮制过程中微量元素变化进行辨析^[7]。此外,随着现代仪器联用技术的发展,液质联用技术(LC-MS)和气质联用技术(GC-MS)已经成为炮制过程中化学物质辨识的有力工具,能够更准确地鉴定和定量炮制后变化的化学成分^[7]。

LC-MS 技术是将液相色谱与质谱联用,能够保持 2 种仪器的优势,体现出高效分离和高效鉴定的能力,对辨识复杂化学物质的质量信息以及化学构成提供很大的帮助^[8]。在中药炮制的研究过程中,LC-MS 技术能够对炮制后化学成分变化进行有效地辨识,进而科学地阐明中药炮制机制。相关研究采用 LC-MS 辨识技术研究芍药炮制前后化学成分的变化,结果发现芍药经黄酒加热炮制以后酚酸类成分含量明显下降,这些变化与芍药炮制后功效改变密切相关,对于阐明芍药炮制的机制有重要意义^[9]。

GC-MS 技术是将气相色谱与质谱联用,通过梯度升温程序结合离子化等方式实现对复杂成分的分离,以期对挥发性物质的质量信息以及化学构成进行辨识^[10]。GC-MS 技术常用来辨识中药炮制过程中变化的挥发性成分,并且这些变化的成分与中药炮制机制密切相关。有研究报道,采用 GC-MS 对肉豆蔻煨制前后的挥发油化学物质组成进行辨识,发现肉豆蔻与麦麸加热煨制后挥发油类成分发生了质和量的变化,以此证明了肉豆蔻“水泡麸煨”炮制减毒工艺的科学性^[11]。

2.2 指纹图谱与特征图谱技术

指纹图谱和特征图谱技术是表征中药炮制前后化学成分整体变化的有力武器,是一种可综合、可量化的色谱技术。该技术结合色谱分离技术与数学统计方法,可无偏差地对中药炮制前后的所有化学成分进行质变与量变的分析,综合分析炮制过程以及炮制工艺对化学成分的变化,体现出中药炮制整体动态变化的特征,也为炮制品品质提供了良好的控制方法。

2.3 信息融合辨识技术

鉴于获取的仪器分析数据量往往较大,仅仅凭借人工处理非常繁琐、容易出错。因此,采用信息融合辨识技术能够从海量数据中挖掘出有效的、潜在的代表性信息,同时对挖掘出的数据信息进行融合^[12]。目前,信息融合辨识技术在复方配伍、中药品质评价、中药质量控制等方面应用广泛,与常规数据分析不同,信息融合辨识技术是基于数据算法、模式识别、数据可视化、数学统计学等细分领域的知识,对数据进行线性或非线性的拟合或融合分析,得到对研究者有帮助的结果^[13]。在信息融合辨识技术的应用当中,常采用主成分分析^[14]、偏最小二乘法^[15]、聚类分析^[16]、灰色关联度分析^[17]、人工神经网络分析^[18]等方法对研究数据进行融合辨识并建立合适的数学模型,挖掘数据之间的内在联系。

在炮制研究当中,信息融合辨识技术能够对炮制过程中化学信息进行融合和关联,研究炮制过程中的潜在差异性成分,进一步通过探讨化学成分与功效改变之间的内在联系,揭示中药炮制的科学内涵。有研究采用 LC-MS 技术得到不同炮制时间下清炒车前子的化学成分信息,并通过偏最小二乘法得到不同样品间的差异性成分的信息,分析得出这些成分在炮制过程中的比例和含量发生变化,研究者推测这一变化可能与车前子炒制后通便作用减弱、止泻利尿活性增强有关^[19]。

3 基于生物药剂学过程的化学物质变化辨识技术

炮制不仅影响了中药的化学物质构成,也影响了其化学物质在生物药剂学过程中的变化形式。生物药剂学是筛选与评价中药起效物质的重要手段,通过探究炮制前后化学成分在生物体内的吸收和代谢过程,可以明确吸收入血或者代谢转化的化学物质,揭示机体对中药炮制前后化学物质的处置以及化学物质的生物药剂学性质。基于生物药剂学过程的化学物质辨识技术常从 ADME(吸收、分布、代谢、排泄)多途径、胃肠道环境、组织器官、肠吸收屏障网络,以及微生物/肠道菌群生物互作等方面展开^[20]。

3.1 基于 ADME 多途径的辨识技术

炮制后化学成分吸收入血后原型成分以及代谢产物的暴露量直接影响到炮制品的功效和毒性,这对于揭示中药炮制在生物体内的机制具有重要意义^[21]。ADME 多途径辨识技术既包括机体对化学成分的处置,也包括化学成分与机体的相互作用,以此探讨炮制对化学物质 ADME(吸收、分布、代谢、排泄)的影响。目前,对于中药多成分暴露研究逐渐受到关注,曾刊文提出的中药多组分药动力学的研究方法被用来表征中药多组分在体内的代谢形式改变,并且和内源性代谢组变化结合起来阐明组分在体内的作用方式(图 2)^[22-23]。

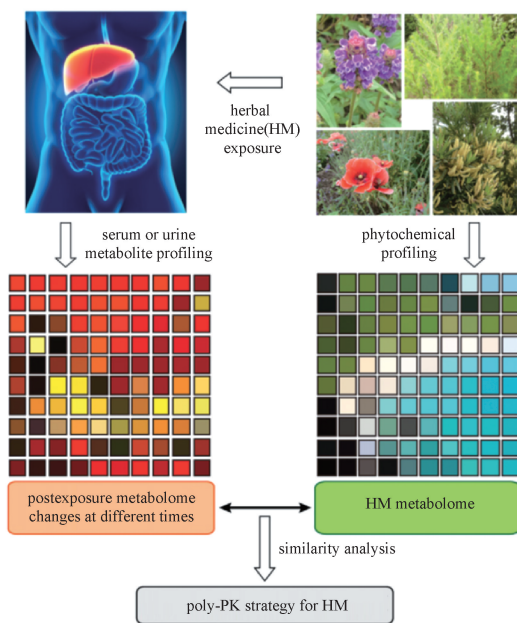


图 2 中药多组分药动力学研究思路^[23]

Fig. 2 Research ideas of poly-PK of Chinese medicinal^[23]

3.1.1 血药浓度法 血药浓度法,也称体内药物浓度法,适用于结构明确的化学成分研究,是药代动力学研究中比较经典的一种方法^[24]。该法利用现代分析仪(HPLC、LC-MS等)测定给药后不同时间点活性成分在体液中的浓度(常用血液或尿液),利用 WinNonlin、DAS 等药代动力学软件分析得到

药时曲线,然后拟合分析得到相关药动学参数($T_{1/2}$ 、 C_{max} 、 T_{max} 、AUC等)。通过该法比较研究中药生品与炮制品中代表性成分的药动学行为差异,对中药炮制机制的研究有重要的意义。本课题组前期利用血药浓度法辨识淫羊藿不同炮制品(生品、加热品、羊脂油炙品)中代表性成分宝藿苷 I 在大鼠体内的药动学行为,表明辅料羊脂油和炮制加热均能提高宝藿苷 I 的吸收,以此阐明炙淫羊藿的炮制作用机制^[25]。另外,在三七蒸制前后多组分变化的药代动力学研究中,血药浓度法也起到了关键作用^[26]。该方法虽然可以对化学成分的体内变化进行系统研究,但是对于痕量活性成分无法做到精准辨识和定量。

3.1.2 药理效应法 尽管现代仪器分析技术对中药中有效化学物质可以做到同时检测,但是仍有相当多的结构不明确,入血后成分含量较低的化学物质无法准确测定。药理效应法以某种药理效应为指标强度,通过量效关系和时效关系拟合为效应相当体存量-时间曲线,对表观药动学参数进行计算。该法无需考虑中药中复杂的化学成分,真实地呈现成分在体内的整体变化,可以替代血药浓度法进行中药的体内药代动力学研究,适用于中药炮制多组分整合药动学研究^[27]。在淫羊藿生品及不同炮制品小鼠药代动力学特征的比较研究当中,研究者采用药理效应法,以超氧化物歧化酶(SOD)为药理指标,对淫羊藿不同炮制品在小鼠体内药代动力学行为进行辨识,研究结果提示,淫羊藿经加热炮制和羊脂油炮制后能够促进其有效成分的吸收^[28]。除此之外,成都中医药大学胡昌江团队^[29]建立肾虚型水负小模型,以盐益智仁对尿量的降低率为指标,通过该法对盐炙益智仁的“温肾缩尿”炮制理论进行探讨。该方法虽然可以辨识炮制后中药整体药代动力学行为,但是由于中药多组分作用靶点不清楚,导致药效指标难确定,特异性不足,限制了该方法的使用。

3.1.3 PK-PD 结合模型 同样考虑到中药多组分的复杂性,在中药或复方的药代动力学模型中,常常会引入药效学指标,进行 PK-PD 结合模型研究。该模型能同时研究生物体对药物的处置和药物对生物体的应答,借助各种数学模型拟合出“时-量-效”的关系来表征药效物质体内动态变化规律与药效强弱之间关系,以此表明药效物质发挥作用的机制,这为中药炮制化学物质的体内研究提供了新的研究方法^[30]。一些研究采用数学方法建立 PK-PD 模型换算出炮制品不同时间的整合血药浓度,以药效强度为评价指标,进行浓度-效应-时间的相关性分析,为中药的炮制机制提供了研究基础,同时证明了中药多成分整合药代-药效动力学的可行性^[31-32]。

3.1.4 活性成分-靶向分布策略 由于炮制前后活性成分在机体靶组织分布以及代谢形式是不同的,故采用“活性组分-靶向分布”策略辨识化学成分在组织、体液中的原型成分以及代谢产物的含量,确定代谢转化的途径和规律^[33]。

蔡宝昌团队^[34]通过该策略考察黄芩与酒黄芩中的黄酮类组分(9种成分)在三焦组织中的含量差异,并拟合相关药动学参数,研究结果提示,酒能增加黄芩中黄酮类组分在上焦的分布,说明了临床上黄芩及其酒黄芩药效的不同(酒黄芩比黄芩善于清上焦湿热)。该研究给“酒能上行”的炮制理论提供了科学合理的依据。另外,课题组前期探讨了淫羊藿中主要黄酮类成分朝藿定 B 在大鼠体内的代谢规律,表明朝藿定 B 主要通过脱糖、脱氢、氢化、羟基化、去甲基化、葡萄糖醛酸化、糖基化等途径在体内进行代谢,并推测肠腔内 7-O-糖苷的特异性水解和肝内葡萄糖醛酸的结合是朝藿定 B 的主要生理性代谢过程,为淫羊藿的炮制机制研究奠定前期实验基础^[35]。

3.2 基于胃肠道内环境的辨识技术

药物经过口服后,活性化合物会受到胃肠道环境的代谢转化,吸收入血,发挥疗效。据此,明确中药炮制后活性成分在胃肠道内环境的转化过程以及生物药剂学性质,对解读中药炮制机制极其重要。研究者们常常利用人工胃液、人工肠液等体外模型辨识炮制后活性成分在 pH、消化酶影响下的转化、降解,以及溶出规律^[36]。

本课题组前期通过模拟人体胃肠道内环境,辨识羊脂油与淫羊藿黄酮代表性组分形成的自组装胶束,结果提示,这种胶束能够包封淫羊藿黄酮组分,增加黄酮组分的溶解度与生物利用度,这为辅料羊脂油炮制淫羊藿的作用机制提供了实验证据^[37]。另外,研究人员采用人工肠液和胃液研究山茱萸中生品、酒制品中马钱苷、莫诺苷 2 个活性成分的煎出溶出积(煎出率×溶出度),研究提示,酒制品中 2 个成分的“煎出溶出积”指标明显增加,以此来判定酒山茱萸中 2 个活性成分含量的变化^[38]。

3.3 基于肠吸收动力学的辨识技术

口服是中医药治疗的主要手段,而口服后的中药需克服肠吸收屏障网络(化学屏障、物理屏障和生化屏障),才能吸收入血,发挥疗效。中药活性成分的渗透性决定了其在吸收屏障网络被吸收的速度和程度,而中药炮制后活性成分的量变,改变了中药活性成分肠道吸收动力学特征,进而影响炮制后的药效^[39]。肠吸收动力学辨识技术主要从体外细胞、离体组织以及在体动物模型上辨识中药炮制前后化学成分的肠吸收特性与转运机制,阐明炮制对药物渗透性及其生物利用度的改变,为中药炮制的研究提供更加全面的技术支撑^[40]。目前在这些方面,研究比较深入的有如炙淫羊藿^[41]、炒麦芽^[42]、麸炒枳实^[43]、盐炙补骨脂^[44]、制草乌^[45]、黄连不同炮制品^[46]等。

3.3.1 体外细胞评价模型 为了简化实验步骤,节约实验资源,研究者常采用可以替代体内生物膜和吸收屏障的体外细胞实验快速筛选药物的肠道渗透性。目前,研究药物渗透性的体外细胞评价模型有 MDCK、LLC-PK1、Caco-2 细胞,其中最常用的是 Caco-2 细胞模型^[47]。Caco-2 细胞源自人结肠

癌细胞,培养时会分化为单细胞层,其形态学、酶功能及渗透特征与小肠类似^[48]。因为这一特点,Caco-2 细胞模型被广泛用来作为新药吸收转运机制的快速筛选工具,被国外 FDA 许可,使之成为研究 ADME 的经典方法(图 3)^[49]。在炙淫羊藿炮制机制的研究当中,本课题组前期采用 Caco-2 细胞评价模型,辨识淫羊藿炮制品中活性黄酮成分(宝藿苷 I、淫羊藿苷、朝藿定 A~C)肠吸收转运机制;结果显示,加热炮制可以促进生物活性黄酮成分的吸收(如宝藿苷 I),并以此来优化淫羊藿的炮制条件,提高炮制品的药效^[50]。此外,另有研究建立 Caco-2 细胞模型考察了枳实不同炮制品中黄酮成分的双向跨膜转运特性,结果表明麸炒能够增加枳实内黄酮类组分的吸收,进一步提供了枳实麸炒的科学依据^[43]。体外细胞吸收模型能够科学地解释了炮制后化学物质渗透性的改变,从体外生物药剂学角度揭示中药炮制的科学内涵。

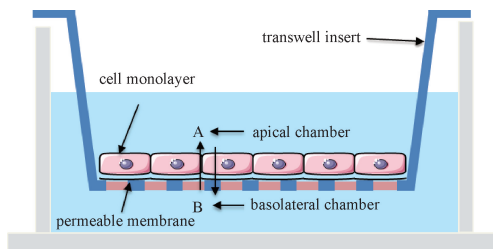


图 3 Caco-2 细胞模型示意图

Fig. 3 Schematic diagram of Caco-2 cell model

3.3.2 离体组织评价模型 离体组织评价模型较为方便地研究不同肠段的药物吸收情况,主要包括外翻肠囊模型、外翻肠环法、组织流动室法等,研究中使用较多的为外翻肠囊模型^[40]。该评价模型实验操作简单,能够直接快速得出药物在肠细胞的吸收和转运情况,但是不能完全模拟体内环境,其肠细胞和酶活力容易受到外界实验条件的影响,因此其结果只能初步进行定性分析或者作为体内结果的预判^[51]。为了研究黄连不同炮制品中活性成分的肠道吸收特性,学者采用外翻肠囊法研究各代表性成分的肠吸收系数,结果表明,不同炮制方法影响黄连活性成分的含量以及肠道吸收速率,导致其临床功能发生改变^[46]。离体组织评价模型能够在组织水平上阐述炮制后化学物质肠吸收特性的改变,以此揭示中药炮制机制的科学性。

3.3.3 在体动物评价模型 在体动物评价模型,主要分为在体肠灌流模型、肠肝血管灌流模型和肠血管灌流模型等,其中以在体肠灌流模型最为常用(图 4)^[40]。与体外细胞评价模型和离体组织评价模型相比,该模型与体内的酶系统、肠细胞状态以及血液循环系统相似,保证了机体的生理活性,可以从器官水平研究不同条件下药物的吸收情况,缺点是动物需求量大,组间差异较大^[52]。在生品川木香与煨品木香内酯类成分胃肠动力学的吸收差异研究中,研究者通过

大鼠在体肠灌流评价模型对其进行辨识,结果显示,生品中木香炔内酯和去氢木香内酯在胃、小肠中的吸收百分率较大,而煨品中 2 种成分在结肠中的吸收百分率较大,阐明了川木香“生熟异治”的炮制机制^[53]。在体动物模型能够在从体器官水平上评价炮制后化学物质的吸收情况,为中药炮制后活性成分的生物药剂学过程提供可靠的辨识手段。

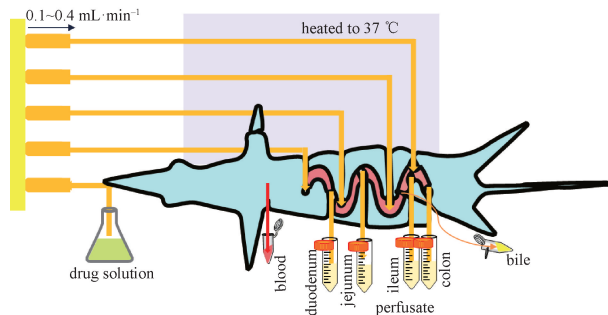


图 4 大鼠在体肠灌流示意图

Fig. 4 Schematic illustration of rat *in-situ* intestinal perfusion

3.4 基于体外生物转化模型辨识技术

中药活成分进入胃肠道后,其极性较大的分子,难以吸收入血,会被肠道微生物分解为脂溶性强的小分子物质,再次吸收入血,发挥作用^[54]。为了探讨炮制后药物在体内的过程,研究者常常采用体外生物转化模型对活性成分转化进行辨识,为中药的起效物质提供有用的证据^[55]。模型中常采用消化道内容物,生物酶、肠道微生物与药物在一定条件下进行孵育,辨识转化后的成分以及代谢产物,从而判断活性成分在体内的作用形式和代谢路径。在炙淫羊藿的炮制机制研究中,研究者采用肠道菌与肠道酶对主要活性黄酮成分及其代谢产物进行辨识,初步阐明了淫羊藿炮制后的药效物质基础^[56-57]。

其次,体外生物转化模型也常见于中药生物炮制中,是发酵中药炮制研究的重要方法。发酵中药炮制由来已久,市面上常见的发酵中药品种有淡豆豉、六神曲、建神曲、红曲、半夏曲、沉香曲、百药煎、炮天雄、胆南星等^[58]。发酵中药炮制常指利用微生物菌种发酵中药,将药物中的毒性成分分解或转化为新的活性成分,达到增效减毒的作用。

研究发现,柴胡非药用部位(地上部分)经过植物乳杆菌种发酵,增强了其抗菌活性,并且所含活性成分的含量发生了明显变化,通过相关性分析推测可能与某些黄酮活性物质(异槲皮苷,芦丁和槲皮素-3-O-β-L-阿拉伯糖苷)以及 DL-3-苯基-2-羟丙酸的含量增加有关,并且发酵过程中产生新的活性物质 DL-3-苯基-2-羟丙酸。该研究成功预测了发酵柴胡地上部分抗菌的药效物质基础,从而为柴胡废弃资源的利用提供可靠的方法^[59]。也有相关研究利用菌种发酵的方法提高方剂的疗效,研究者使用植物乳杆菌发酵当归补血汤后,发现其中异黄酮苷转化为异黄酮苷元;同时比较了原方与其

发酵产物的抗糖尿病活性,发现发酵过程增强了原方的抗糖尿病活性。该研究为中药方剂的物质基础和功能优化提供了新的方向^[60]。

4 基于“炮制过程-生物药剂学过程”的多模态研究策略的应用

化学物质在炮制过程中和生物药剂学中都显示出非常复杂的变化,而阐明这种变化需要依赖多模态研究策略对化学物质进行系统性辨识。化学物质变化的多模态研究策略包括炮制和生物药剂学2个过程,通常借助于仪器分析辨识技术和信息融合辨识技术,综合地运用 ADME 多途径及其体内代谢过程中的辨识技术来研究化学物质从体外到体内变化的规律,以此合理地阐释中药炮制机制的科学内涵。

本课题组使用多模态研究策略对炙淫羊藿的炮制机制进行探索,并通过一系列的体外研究和在体实验辨识技术发现:淫羊藿中黄酮苷渗透性参数存在差异,并且与多糖苷相比,低糖苷的吸收较差(朝藜定 A~C<淫羊藿苷<宝藜苷 I)。除此之外,结合仪器分析技术和统计学方法发现,淫羊藿在加热炮制过程中产生了更多易于吸收的低糖苷类活性黄酮(如淫羊藿苷、宝藜苷 I),进一步采用多种生物药剂学过程的辨识技术(药动学、在体肠灌流模型和 Caco-2 细胞)结合现代仪器分析技术阐明了活性黄酮组分的 ADME 性质,表明淫羊藿炮制能够提高活性黄酮组分的体内生物利用度和吸收渗透系数^[21]。本课题组创新地以多模态辨识技术为核心,辨识出基于“炮制过程-生物药剂学过程”的炙淫羊藿活性黄酮组分在体外和体内的变化规律,为炙淫羊藿的炮制机制提供理论依据(图5)。

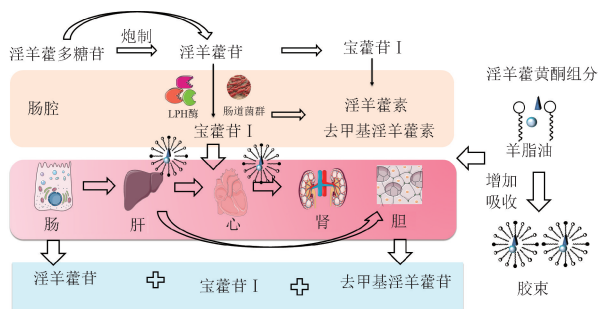


图5 基于活性成分转化-肠吸收屏障网络作用的炙淫羊藿炮制机制研究

Fig. 5 Processing mechanism of fried *Epimedium Folium* based on active-component transformation combined with intestinal absorption barrier

除此之外,也有相关研究通过多模态研究策略对姜制黄连的炮制机制进行探讨。研究首先建立了不同类型姜汁制黄连的 HPLC 化学指纹图谱,进一步采用灰色关联度分析法对其药效和药性数据进行数据转化,将获取的指纹图谱数据分别和药效信息和药性信息进行关联分析,发现生姜汁制黄

连在抑制金黄色葡萄球菌、止呕和抑制胃黏膜损伤方面作用更强,干姜汁制黄连在抑制白色念珠菌和改善胃肠动力方面作用更加明显,说明干姜汁制黄连降低寒性作用优于生姜汁制黄连。除此之外,这些作用与盐酸小檗碱、盐酸药根碱等生物碱类成分的关联较大。该研究利用多模态研究策略建立了姜制黄连的“谱-效-性”关系,科学地揭示了姜制黄连“缓寒,和胃止呕”的炮制机制^[61]。

5 展望

本文通过梳理中药炮制机制研究中化学物质辨识的关键技术,以“炮制过程-生物药剂学过程”中的化学物质变化为基础,提出以多模态辨识为核心的研究策略,多方位地解析了中药炮制机制研究中化学物质变化规律。

虽然随着人工智能和仪器分析等各种辨识技术飞速发展,精准辨识化学物质的能力得到极大提升,也为中药炮制研究提供了新的途径。然而,无论是中药化学物质组成与生物处置过程的多模态辨识技术,还是基于人工智能的信息融合辨识技术都处于入门阶段。所以,在全面阐明炮制研究中化学物质变化的目标上,未来仍然需要开展很多工作。今后应充分借鉴新技术和新方法,通过集成多种模态的辨识技术,利用多种生物途径,融合多源信息数据,构建跨学科、跨方位、跨维度的中药炮制机制新模式,最终揭示中药炮制机制的科学内涵,加快中药炮制学科的发展。

[参考文献]

- [1] 蔡宝昌, 秦昆明, 吴皓, 等. 中药炮制过程化学机理研究[J]. 化学进展, 2012, 24(4): 637.
- [2] 秦昆明, 曹岗, 杨冰, 等. 基于组分结构理论的中药炮制现代研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2019, 49(2): 129.
- [3] LI W F, JIANG J G, CHEN J. Chinese medicine and its modernization demands[J]. Arch Med Res, 2008, 39(2): 246.
- [4] 王毅, 张晗, 张伯礼, 等. 中药药效物质多模态辨识方法学及其应用研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(1): 1.
- [5] 孙娥, 徐凤娟, 张振海, 等. 基于化学成分转化-肠吸收屏障网络耦联作用的中药炮制机制研究体系的构建[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 370.
- [6] 高飞, 傅超美, 胡慧玲, 等. 关于中药炮制机制研究现状与发展趋势的思考[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5): 352.
- [7] 秦昆明, 石芸, 谈献和, 等. 现代仪器分析技术在中药炮制机理研究中的应用[J]. 中国科学(化学), 2010, 40(6): 668.
- [8] XIAO M S, CHEN H Y, SHI Z F, et al. Rapid and reliable method for analysis of raw and honey-processed astragalus by UP-LC/ESI-Q-TOF-MS using HSS T3 columns[J]. Anal Methods, 2014, 6: 8045.
- [9] 何忠梅, 孙佳明, 张辉, 等. 固相萃取-高效液相色谱-电喷雾串联质谱法分析芍药和酒芍药的水溶性化学成分[J]. 分析化学, 2009, 37(8): 1201.
- [10] CHENG M Z, ZHANG J Q, YANG L, et al. Recent advances in

- chemical analysis of licorice (Gan-Cao)[J]. *Fitoterapia*, 2021, 149: 104803.
- [11] 袁子民, 王静, 吕佳, 等. 肉豆蔻饮片炮制前后挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(9): 737.
- [12] CHEUNG D, HWANG H Y, FU A W, et al. Efficient rule-based attribute-oriented induction for data mining[J]. *J Intell Inf Syst*, 2000, 15(2): 175.
- [13] 罗山水, 章新友, 张春强, 等. 基于策略模式的中药数据挖掘研究与系统设计[J]. *世界科学技术(中医药现代化)*, 2015, 17(5): 929.
- [14] 韩蔓, 江汉美. HS-SPME-GC-MS 结合化学计量法分析陈皮生品及其炮制品挥发性成分[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(5): 2915.
- [15] GUO S C, YU S, QIAN Y, et al. Correlation of antioxidant activity and volatile oil chemical components from *Schizonepeta tenuifolia* herbs by chemometric methods[J]. *Int J Food Prop*, 2017, 20(S1): S1082.
- [16] 郭舒臣, 郑玉忠, 郭瑞, 等. 不同年份老香黄定量分析及其化学模式识别研究[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(1): 10.
- [17] 杨冰月, 李敏, 任敏, 等. 基于灰色关联度分析法对半夏及其炮制品总有机酸止咳作用的谱-效关系研究[J]. *中草药*, 2016, 47(13): 2301.
- [18] 马雯芳, 王美琪, 姜建萍, 等. 基于 BP 神经网络分析滇桂艾纳香止血作用谱效关系[J]. *中成药*, 2020, 42(6): 1543.
- [19] 孙钰婧, 霍志鹏, 王玉, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS^E 分析不同炮制时间炒车前子的化学成分变化规律[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, doi: 10.13422/j.cnki.syfx.20211761.
- [20] 孙娥, 徐凤娟, 张振海, 等. 中药炮制机制研究进展及研究思路探讨[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(3): 363.
- [21] 崔莉. 炙淫羊藿炮制前后黄酮类化合物吸收、代谢及其自组装胶束吸收的差异性研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [22] ZHANG K M, YAN G G, ZHANG A H, et al. Recent advances in pharmacokinetics approach for herbal medicine[J]. *RSC Adv*, 2017, 7: 28876.
- [23] JIA W, FAN T P, WANG X N, et al. The polypharmacokinetics of herbal medicines[J]. *Science*, 2015, 350: S76.
- [24] 朱容慧, 赵军宁, 毕岳琦, 等. 中药肠吸收动力学的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2010, 33(1): 25.
- [25] 钱浅, 孙娥, 樊宏伟, 等. 羊脂油对淫羊藿炮制品提取物中宝藿苷 I 在大鼠体内药动学特征的影响[J]. *中草药*, 2012, 43(10): 1981.
- [26] DONG J J, YIN Z Z, SU L L, et al. Comparative pharmacokinetic analysis of raw and steamed *Panax notoginseng* roots in rats by UPLC-MS/MS for simultaneously quantifying seven saponins[J]. *Pharm Biol*, 2021, 59: 653.
- [27] 王灯节, 刘廷, 狄留庆, 等. 中药制剂指标性成分群辨识思路与方法解析[J]. *中草药*, 2015, 46(23): 3447.
- [28] 崔莉, 孙娥, 钱浅, 等. 淫羊藿生品及不同炮制品小鼠药代动力学特征的比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(10): 1614.
- [29] 帅小翠. 益智仁盐炙温肾缩尿的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [30] 柳晓泉, 陈渊成, 郝琨, 等. 药动学-药效学结合模型的研究进展及在新药研发中的应用[J]. *中国药科大学学报*, 2007, 38(6): 481.
- [31] 路咪咪, 庞璐, 程沛, 等. 牡丹皮炭在血热出血证大鼠体内的整合药代动力学与药效学的相关性研究[J]. *中药材*, 2018, 41(11): 2555.
- [32] ZHOU S, MENG J, LIU B. Investigation into the pharmacokinetic-pharmacodynamic model of *Zingiberis Rhizoma/Zingiberis Rhizoma Carbonisata* and contribution to their therapeutic material basis using artificial neural networks[J]. *RSC Adv*, 2017, 7: 25488.
- [33] 张华敏, 杨健, 刘思鸿, 等. 中药归经理论的研究方法及分子描述在中药归经中的研究探讨[J]. *中国医院用药评价与分析*, 2019, 19(12): 1518.
- [34] HUANG P, TAN S Z, ZHANG Y X, et al. The effects of wine-processing on ascending and descending: the distribution of flavonoids in rat tissues after oral administration of crude and wine-processed *Radix Scutellariae*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 155: 649.
- [35] CUI L, SUN E, ZHANG Z H, et al. Metabolite profiles of epimedin B in rats by ultraperformance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Agr Food Chem*, 2013, 61(15): 3589.
- [36] 杨丹, 邹艳, 徐广, 等. 不同方法炮制白芷及模拟胃肠道耐受性[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(12): 2918.
- [37] 李杰, 孙娥, 张振海, 等. 羊脂油对淫羊藿活性黄酮自组装胶束模拟形成的影响[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(17): 3278.
- [38] 周函钰, 杨培培, 丛晓东, 等. 炮制前后山茱萸煎液、溶出层面的比较研究[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(22): 3888.
- [39] 谭晓斌, 贾晓斌, 陈彦, 等. 从肠吸收屏障网络进行中药基础研究思路及探索[J]. *中草药*, 2009, 40(10): 1520.
- [40] 莫李立, 王素军. 口服药物吸收模型的研究进展[J]. *广东药学院学报*, 2011, 27(1): 104.
- [41] 陈彦, 贾晓斌, 丁安伟. 淫羊藿炮制机理研究回顾与新思路[J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(9): 1439.
- [42] 谭丽霞. 麦芽“炒香”对成分含量及其肠吸收的影响研究[D]. 南昌: 江西中医药大学, 2019.
- [43] 彭芳芳, 林桂梅. 枳实生制品提取液中黄酮类成分及其单体在 Caco-2 细胞模型中的吸收转运研究[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(1): 107.
- [44] 冯亮, 胡昌江. 盐炙对补骨脂吸收特性的影响[J]. *中国药理学杂志*, 2009, 44(10): 766.
- [45] 李雪. 中药草乌炮制配伍后生物碱类成分吸收转运的体外研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [46] 王凌, 王少明, 庄捷, 等. 不同炮制方法对黄连主成分含量

- 及肠吸收的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(2): 165.
- [47] LEE J B, ZGAIR A, TAHA D A, et al. Quantitative analysis of lab-to-lab variability in Caco-2 permeability assays [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2017, 114: 38.
- [48] HIDALGO I J, RAUB T J, BORCHARDT R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability [J]. Gastroenterology, 1989, 96(3): 736.
- [49] 刘青春, 赵军宁, 彭伟, 等. 药物 ADME 体外筛选模型及其在中药研究中的应用[J]. 中成药, 2009, 31(3): 453.
- [50] CHEN Y, ZHAO Y H, JIA X B, et al. Intestinal absorption mechanisms of prenylated flavonoids present in the heat-processed *Epimedium koreanum* Nakai (Yin Yanghuo) [J]. Pharm Res, 2008, 25: 2190.
- [51] 沈芸, 徐蓓蓓, 杨新宇, 等. 三种研究药物肠道吸收机制的方法[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2016, 32(1): 11.
- [52] LENNERNÄS H. Animal data; the contributions of the Ussing chamber and perfusion systems to predicting human oral drug delivery *in vivo* [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59: 1103.
- [53] 毛茜. 基于化学成分差异性和主要药效成分胃肠吸收差异性研究川木香煨制机理[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.
- [54] ZHANG R Z, GAO X, BAI H, et al. Traditional Chinese medicine and gut microbiome: their respective and concert effects on healthcare [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 538.
- [55] PEARCE S C, COIA H G, KARL J P, et al. Intestinal *in vitro* and *ex vivo* models to study host-microbiome interactions and acute stressors [J]. Front Physiol, 2018, 9: 1584.
- [56] 赵艳红. 主成分肠吸收代谢动力学研究淫羊藿炮制机理 [D]. 镇江: 江苏大学, 2007.
- [57] 王亚乐. 淫羊藿黄酮苷类物理、生物转化及其机理研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2008.
- [58] 张丽霞, 高文远, 王海洋. 微生物技术在中药炮制中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(24): 3695.
- [59] 郭舒臣, 郭瑞, 夏翊腾, 等. 发酵柴胡地上部分定量分析及其抗菌活性成分预测 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4238.
- [60] GUO R, GUO S C, GAO X, et al. Fermentation of Danggui Buxue Tang, an ancient Chinese herbal mixture, together with *Lactobacillus plantarum* enhances the anti-diabetic functions of herbal product [J]. Chin Med, 2020, 15: 98.
- [61] 钟凌云, 王婷婷, 徐婷. “谱-效-性”关联分析探讨不同姜汁炮制黄连的作用差异 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(20): 7.

[责任编辑 丁广治]