

· 综 述 ·

中药饮片炮制机制研究方法概述及展望

毕 胜¹, 谢若男², 金传山^{1,3}

(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽中医药大学附属第二医院, 安徽 合肥 230061; 3. 中药饮片制造新技术安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012)

[摘要] 中药饮片的炮制研究是中药现代化研究的核心内容之一, 解析中药饮片炮制机制, 阐明其在炮制过程中药性、药效的变化机制, 对中药饮片质量控制研究、中药饮片炮制工艺研究等具有重要作用。随着谱效关系、中药血清化学、代谢组学等现代新方法和新技术在炮制机制研究中的系统应用, 近年来炮制研究取得很多突破性进展。网络药理学和仿生技术将对新的炮制机制研究提供思路和方法。

[关键词] 中药饮片; 炮制机制; 网络药理学; 仿生技术; 综述

[中图分类号] R283 **[DOI]** 10.3969/j.issn.2095-7246.2019.06.022

中药饮片炮制是根据中医药基本理论, 遵从中医临床辨证论治的基本要求和结合药物本身的药性药效性质, 通过净、切、蒸、炒、炙、煨等技术方法, 调整药性, 增强疗效, 降低毒性, 从而发挥药物的综合作用, 达到安全有效的治疗效果。明代医学家陈嘉谟指出“凡药制造, 贵在适中, 不及则功效难求, 太过则性味反失”, 充分说明了中药炮制对其临床疗效有着重要作用。

中药饮片炮制研究是中药科学研究中的关键组成部分之一, 系统阐述中药饮片的炮制机制和物质基础变化对中药质量标准研究、中药药效学研究、中药炮制工艺研究等都有着核心的基础性作用。近些年来, 随着科学技术的发展, 在国内外科学工作者的不断努力下, 中药饮片炮制机制研究取得较大进展, 很多新方法和新技术在炮制机制研究中得到了系统应用, 如谱效关系、中药血清化学、代谢组学、肠胃吸收转运机制^[1]。

1 中药饮片炮制机制研究方法

1.1 基于主要药效、毒性成分变化的炮制机制研究 中药饮片炮制前后物质基础的化学变化是炮制的根本, 利用化学基本原理, 探析炮制前后主要药效物质、毒性成分的化学变化, 是中药炮制增效减毒机制研究的关键手段。曲从从等^[2]在研究制远志的炮制过程中, 运用高效液相色谱-飞行时间质谱联用检测技术研究远志中含有的5种寡糖酯和远志皂苷B在炮制过程中的转化机制。研究表明, 远

志皂苷B结构发生重排, 反应生成其异构体; 远志寡糖脂类成分性质不稳定, 在甘草水煮制过程中均发生酯键水解, 变成对应的次级苷和(或)苷元, 初步阐明了其炮制机制。李瑶^[3]采用液相色谱串联高分辨二级质谱技术研究胆南星炮制前后的物质基础变化, 发现主要化学变化为天南星中硫酸化及磺基化糖苷含量下降, 黄酮类成分含量下降, 但寡糖含量增加, 脂肪酸衍生物含量降低; 结合型胆汁酸类在炮制过程中发生了分解反应, 产生了新成分——游离型胆汁酸类; 氨基酸与还原糖类成分进行了美拉德反应, 生成了亚胺类与糖胺类物质。任丽等^[4]在研究钩吻炮制减毒的机制时, 采用高效液相色谱法检测钩吻中6种主要生物碱在炮制前后的含量变化。研究发现, 钩吻素甲、钩吻素子、胡蔓藤碱丙、钩吻素己、胡蔓藤碱乙、钩吻绿碱6个主要生物碱成分的平均质量分数发生明显变化, 其中剧毒成分钩吻素明显降低, 下降率为92.83%; 毒性较低成分钩吻素甲升高了56.37%, 其他4种生物碱在炮制前后均发生了一定程度的降低, 初步解析了钩吻炮制减毒的主要机制。

1.2 基于谱效关系的炮制机制研究 中药药效作用具有多组分、多靶点、多途径的特点, 中药炮制过程往往也是多组分共同变化的作用结果。中药谱效关系是利用中药指纹图谱具有特征性和专属性、完整性的特点, 将炮制前后的中药指纹图谱中化学成分的变化与中药药效变化建立关联, 再建立适合的药效评价模型, 获取相应的药理学数据, 采用数据处理方法将指纹图谱数据和药理学数据进行关联, 建立“谱-效”数学模型, 研究其炮制机制^[5-6]。钟凌云等^[7]采用灰色关联度分析法研究姜汁炮制对黄连的药性及药效影响, 将不同姜汁炮制的黄连炮制前后

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1707004)

作者简介: 毕胜(1987-), 男, 硕士研究生

通信作者: 金传山(1963-), 男, 硕士, 教授, 硕士研究生导师,

jcs4@sohu.com

的指纹图谱共有峰的峰面积分别和其抗菌作用、肠胃作用、大鼠舌体丝状乳头密度、血浆中前列腺素含量等药效药性指标进行关联分析,建立黄连炮制前后的谱效关系。研究表明,不同姜汁炮制黄连会导致物质组分发生明显变化,从而导致姜黄连的药效及药性发生变化,与传统的姜制黄连“缓寒,增强和胃止呕”的炮制理论相吻合。柳作勤^[8]在传统法与清蒸法两种工艺炮制的熟地黄对大鼠排卵功能影响的研究中,利用谱效学手段,阐明了熟地黄在由生地黄转变为“九蒸九晒”熟地黄过程中化学成分变化规律,并结合药效中动情周期与闭锁卵泡药理学数据与指纹图谱数据,发现传统法“九蒸九晒”熟地黄中化学成分与抑制大鼠排卵呈负相关,清蒸法熟地黄中化学成分与抑制大鼠排卵呈正相关。

1.3 基于中药血清化学的炮制机制研究 中药血清化学是指以药物化学研究方法和手段为基础,运用现代科学仪器的分离检测技术,分析鉴定口服中药后血清中移行成分,阐明其活性与中药药效的相关性,确定中药的药效物质基础并研究其在体内的变化过程^[9-10]。在中药炮制机制研究过程中,通过分析对比血清中炮制前后移行成分的差别,并与中药炮制前后的药效变化、物质基础变化进行关联,从中药血清化学水平探讨中药炮制所致的药理作用变化,以阐明炮制机制^[11]。陈建红^[12]在研究炒栀子的炮制机制时,使用液相色谱-质谱联用仪器对生栀子、焦栀子、栀子炭的血清入血成分进行检测,分析血清中去京尼平-1-O- β -D-龙胆双糖苷、乙酰车叶草苷酸甲酯、京尼平苷的变化,阐明栀子的炮制过程中有效成分的体内变化,为栀子的炮制机制研究提供理论基础。董巍等^[13]使用超高级液相-四级杆串联飞行时间质谱技术对蜜炙对叶百部体内成分进行分析,同时利用 MetaboLynx 软件对服用蜜炙对叶百部大鼠血浆中移行成分数据进行分析处理,鉴定出 40 种移行成分,其中金刚大碱、百部新碱、新对叶百部碱、叶百部碱 J 和新斯替宁碱等 6 种止咳的活性成分均被以原形的成分检测出来,为研究蜜炙百部的炮制机制和药理作用奠定了基础。

1.4 基于代谢组学的炮制机制研究 代谢组学是目前国内外进行生命科学研究的新颖组学技术,其应用蛋白质组学、基因组学和转录组学的研究思路,利用现代科学分析仪器对生物体受到刺激后的各种代谢产物的变化来研究生物体系,具有整体性和动态性的特点,能够准确地反映生物体生理和病理状态^[14]。近些年来,代谢组学逐步应用于中药的药效作用研究,通过对实验动物模型的尿液、血清、血浆

等代谢产物的检测变化,利用数据统计分析方法,反映药效的作用机制,发现中药中含有的有效活性成分^[15]。中药饮片在炮制后,其各种物质组成成分发生了复杂的变化,利用单成分或一类组分的研究方法很难揭示中药炮制后多成分、多靶点、多途径的综合药效作用规律。代谢组学利用其整体性、全面性、动态性的特点,通过检测中药饮片炮制前后对生物机体代谢途径和作用网络的变化,探究中药的炮制机制^[16]。侯健^[17]在研究炙淫羊藿温肾助阳炮制机制过程中,应用代谢组学技术,检测分析不同分组的大鼠血浆、尿液中内源性代谢产物,得到了 41 种潜在的生物标志物;并通过使用腹腔注射氢化可的松复制模型,分组给药后发现,炙淫羊藿组对各代谢物的含量整体调控效果明显优于羊脂油乳浊液组、淫羊藿生品和单纯淫羊藿加品组,从代谢组学角度阐明了炙淫羊藿可增强“温肾助阳”功效的炮制作用机制。钟立甲等^[18]观察当归不同炮制品挥发油对大鼠急性炎症的作用,使用代谢组学技术分析大鼠血浆中 14 种差异性生物标志物,发现当归炭、酒当归、土当归和油当归的 4 种挥发油对大鼠炎症过程机体代谢的正向调节程度各不相同,表明不同当归炮制品的药效作用程度有明显区别。李春雨等^[19]使用代谢组学研究“九蒸九晒”何首乌炮制减毒作用机制时,通过超高效液相色谱-四级杆串联飞行时间质谱检测技术分析何首乌炮制前后不同组别大鼠血浆的代谢成分,鉴定出潜在肝损伤的 10 种生物标志物,推测何首乌的炮制减毒机制与牛磺酸和亚牛磺酸代谢、半乳糖代谢、鞘脂代谢、亚油酸代谢、嘧啶代谢、不饱和脂肪酸合成等多种代谢途径相关。

1.5 基于吸收转运机制作用的炮制机制研究 中药的有效成分经肠胃的吸收转运后进入体内,成分的吸收转运对中药疗效发挥具有关键作用^[20]。中药饮片经炮制后其物质成分会发生明显变化,通过研究炮制前后其物质成分在体内的吸收转运机制,探讨其生物利用度变化对临床疗效的影响,对阐明中药饮片炮制机制具有重要意义^[21]。孙娥等^[22]在炙淫羊藿炮制机制研究中发现,炮制过程中淫羊藿中有效成分淫羊藿黄酮在炮制过程中由多糖苷转化为次糖苷,通过 Caco-2 细胞模型与大鼠肠灌注模型研究发现,次级糖苷的吸收效率明显大于多级糖苷,表明淫羊藿在炮制过程中因其成分发生变化,生成了吸收程度更好的生物活性黄酮的次糖苷,达到炮制增效的目的。李慧芬等^[23]在研究酒女贞子的炮制增效机制时发现,炮制后女贞子中特女贞苷含量显著降低,而红景天苷含量显著升高。通过大鼠在

体肠胃吸收法研究发现,红景天苷在小肠和胃中的吸收速率明显优于特女贞苷,提示在炮制过程中,女贞子主要成分特女贞苷转化为更易于吸收的红景天苷,以达到增强补益肝肾的炮制目的。张清华^[24]研究巴戟天在不同比例甘草炮制后对主要成分环烯醚萜类的吸收影响时,利用外翻肠囊法分析巴戟天中水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸吸收速率,发现在进行不同比例甘草炮制后,水晶兰苷和去乙酰车叶草苷酸随甘草比例的增加在十二指肠、回肠、结肠等的吸收速率均明显增加,在巴戟天与甘草比例为100:12时吸收速度达到最大值。

2 中药炮制机制的研究展望

2.1 基于网络药理学的炮制机制研究 近些年,随着系统生物学的不断发展,网络药理学逐步成为一种从生物网络稳态角度对药物进行系统性、整体性研究的新方法^[25]。其利用大数据技术将药物作用网络与生物学网络进行整合,通过构建“药物-靶点-疾病”网络,研究药物多靶点、多途径的作用机制^[26]。这种研究方法与中药多组分、多途径、多靶点的作用机制相契合,目前在中药复方研究、中药药效物质筛选、中药药理学、中药毒理研究等多方面取得一定进展,但应用于对中药炮制机制的研究尚处于空白。今后可基于网络药理学技术,分别构建中药饮片炮制前后的“药物-靶点-疾病”网络,分别比较炮制前后物质化学成分的聚类和差异、靶标-通路-疾病的作用机制,分析药效变化和作用机制,从而阐明中药炮制机制。

2.2 基于仿生技术的“性(味)-效-物”的炮制机制研究 21世纪以来,电子舌、电子鼻等仿生技术不断发展,已经成功应用于食品的气味及滋味的判别,并逐步拓展至中药领域的研究^[27-28]。四气五味、升降沉浮是中药的基本属性,传统的中药炮制理论认为通过炮制改变药物的性味,从而起到增效及减毒等作用。中药炮制后其治疗作用变化是一种“性(味)-效-物”的变化^[29],使用电子鼻、电子舌等仿生技术模仿人类嗅觉、味觉系统,获取药物的性味变化情况,利用现代的科学检测技术对其化学物质进行分析,研究“性(味)-效”的物质基础变化及其变化关系,从而阐明中药炮制“性(味)-效-物”变化的机制。

2.3 中药质量标志物是炮制机制研究的落脚点 中药饮片炮制机制研究的目的在于阐明其炮制前后的药性、药效的变化机制,从而指导中药炮制的生产过程控制和临床用药。中药炮制机制的研究应当与中药的质量控制评价体系相结合,才能充分发挥科学研究与产业结合的作用,提升中药的科学化水平。

刘昌孝等^[30]提出了中药质量标志物概念,将存在于中药中国固有的或加工生产过程中形成的、与中药的药性药效等基本属性密切相关的化学物质,作为反映中药有效性和安全性的标志性物质进行质量控制。中药饮片炮制机制的研究应当以建立中药炮制品种的质量标志物作为落脚点,通过研究中药炮制前后的物质基础、药效作用的变化,建立以质量标志物为核心控制指标的中药饮片炮制品的质量控制评价体系,从而推进中药产业的健康有序发展。

参考文献:

- [1] 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): 363-369.
- [2] 曲丛丛,吴鹏,张学兰,等. HPLC-TOF/MS法研究远志炮制过程中寡糖酯和皂苷类成分的转化机制[J]. 中药材, 2018, 41(3): 576-580.
- [3] 李瑶. 胆南星炮制前后成分变化及质量标准研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2018.
- [4] 任丽,李高攀,湛赛男,等. 钩吻炮制减毒存效的物质基础研究[J/OL]. 中国实验方剂学杂志; 1-9[2019-06-21]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20191948>.
- [5] 吴思宇,杨丹丹,傅静,等. 谱效关系在中药质量控制中的应用[J]. 长春中医药大学学报, 2019, 35(2): 399-402.
- [6] 张小艺,刘久石,高石曼,等. 中药谱效关系的研究方法及应用进展[J/OL]. 中国中药杂志; 1-12[2019-06-21]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjmm.20190429.201>.
- [7] 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): 7-13.
- [8] 柳祚勤. 两种炮制工艺熟地黄影响大鼠排卵功能的谱效学研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2018.
- [9] 黄财顺,向诚,李宝才,等. 基于中药血清药物化学的活性成分筛选的现状和问题[J]. 中草药, 2014, 45(20): 3009.
- [10] 马飞祥,薛培凤,王媛媛,等. 中药血清药物化学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(7): 1265-1270.
- [11] 张雯霞,冯敏,苗雨露,等. 中药血清药物化学的应用现状概述[J/OL]. 药物评价研究; 1-6[2019-06-21]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1409.r.20190612.1723.008.html>.
- [12] 陈建红. 栀子炒制过程血清化学动态变化规律研究[D]. 郑州:河南中医学院, 2015.
- [13] 董巍,郝修洁,王超众,等. 基于UHPLC-QTOF/MS和MetaboLynx分析的蜜炙对叶百部血清药物化学研究[J]. 药学报, 2016, 51(9): 1458-1463.
- [14] 贾志鑫,徐文娟,马恺悦,等. 基于代谢组学的中药质量及机制研究[J]. 世界科学技术:中医药现代化, 2018, 20(8): 1373-1380.

补肾中药促进成骨前体细胞 MC3T3-E1 成骨与分化研究进展

朱庭辰¹, 华臻², 殷杰¹, 王建伟²

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 南京中医药大学无锡附属医院, 江苏 无锡 214071)

[摘要]骨缺损修复是由成骨细胞、破骨细胞及多种生长因子共同参与的复杂、漫长的过程。成骨前体细胞 MC3T3-E1 在骨缺损的再生修复过程中起重要作用。近年来随着中药现代提纯分离技术的快速发展, 基于中医“肾主骨生髓”理论, 运用补肾中药制剂提高成骨前体细胞 MC3T3-E1 成骨与分化效能的研究逐渐开展, 并初见成效, 这为骨缺损的修复再生开辟了一条新思路。

[关键词]补肾中药; MC3T3-E1; 成骨细胞; 骨缺损; 研究进展

[中图分类号]R285.5 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2019.06.023

1964年 PECK 等首次从胎鼠骨组织中成功分离出新生大鼠成骨细胞, 开创了前成骨细胞用于骨代谢研究的新纪元^[1]。近年来, 随着骨组织工程的兴起及各类促成骨成分被广泛研究, 骨缺损的研究进入新的阶段。MC3T3-E1 细胞是一种成骨细胞前体, 可在成骨相关信号的诱导刺激下进一步分化为成熟的成骨细胞^[2]。其具有成骨细胞特性, 增殖能力强, 细胞生物性稳定, 是一种良好的成骨细胞分化研究模型^[3]。因此, 如何提高 MC3T3-E1 细胞增殖

及成骨与分化的效能, 已成为国内外骨科领域研究的重点。目前常用的骨修复材料与骨形态发生蛋白等骨修复因子价格昂贵, 制备工艺复杂, 活性不稳定, 具有潜在致癌风险^[4-5]。近年来随着中药分离提纯技术的快速发展, 在中医“肾主骨”理论指导下, 以补肾中药制剂干预前成骨细胞 MC3T3-E1 以促进骨组织再生修复的研究逐渐丰富并初见成效^[6-9]。中医学认为, 肾主骨生髓, 补肾可以强筋壮骨。现代药理研究^[10]表明, 补益肝肾可使骨密度增加, 骨抗弯曲和抗压能力增强, 促进骨小梁显微结构改善和修复。补肾中药可以促进成骨与抑制破骨、改善

基金项目:无锡市卫生局卫生科研青年项目(Q201708)

作者简介:朱庭辰(1993-), 男, 硕士研究生

[15] 王喜军. 中药药效物质基础研究的系统方法学: 中医方证代谢组学[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(1): 13-17.

[16] 陈志敏, 胡昌江, 郑午, 等. 代谢组学在中药炮制机制研究中的应用概述[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(2): 275-279.

[17] 侯健. 基于代谢组学的炙淫羊藿温肾助阳炮制机理研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2017.

[18] 钟立甲, 张文泉, 华永丽, 等. 代谢组学方法评价当归不同炮制品挥发油抗大鼠急性炎症作用的研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(11): 2061-2069.

[19] 李春雨, 何琴, 唐进法, 等. 免疫应激介导的何首乌“九蒸九晒”炮制减毒作用及代谢组学研究[J]. 药学学报, 2017, 52(7): 1069-1076.

[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): 363-369.

[21] 潘凌云, 徐雯, 王楠, 等. 动物体内过程研究方法在中药炮制领域应用现状分析[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(2): 624-627.

[22] 孙娥, 韦英杰, 张振海, 等. 基于黄酮成分吸收代谢的炙淫羊藿炮制机制研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(3): 383-390.

[23] 李慧芬, 张学兰. 特女贞苷与红景天苷的大鼠在体胃肠吸收比较[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(6): 1107-1110.

[24] 张清华. 采用外翻肠囊法研究甘草炮制对巴戟天中环烯醚萜类成分吸收特征的影响[D]. 福州: 福建中医药大学, 2018.

[25] 解静, 高杉, 李琳, 等. 网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]. 中草药, 2019, 50(10): 2257-2265.

[26] 刘志强, 王博龙. 中药网络药理学药效成分筛选与靶标预测的研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(1): 171-178.

[27] 付智慧, 李淑军, 胡慧华, 等. 基于电子舌技术的豨莶草炮制前后滋味比较[J]. 中草药, 2017, 48(4): 673-680.

[28] 李志远. 基于电子鼻技术的沉香气味识别及其物质基础研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.

[29] 马文凤, 许浚, 韩彦琪, 等. 仿生技术在中药五味辨识研究中的进展与实践[J]. 中草药, 2018, 49(5): 993-1001.

[30] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

(收稿日期: 2019-05-18; 编辑: 张倩)