Available online at www.sciencedirect.com
ScienceDirect

本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

基于代谢组学技术的中药质量控制研究思路探讨*

□范　刚　周　林　赖先荣　王　张　张　艺**

（成都中医药大学民族医药学院　成都　611137）

摘　要：代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后的又一门新兴组学技术，在方法学上具有整体性、系统性及综合性的特点，恰与中医药理论的整体观、动态观、辨证观相吻合。本文综述了代谢组学技术在中药效应物质基础、质量评价研究中的应用，并针对目前中药质量控制的不足，提出了基于代谢组学技术的中药质量控制研究思路，即采用代谢组学的技术及其分析方法，明确中药药效物质基础及其在药用植物中代谢变化的影响因素，从而建立与临床疗效相关的中药质量控制方法，确保中药临床使用的安全性和有效性。

关键词：代谢组学　中药　质量控制　研究思路　整体性

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.06.005

中药是中医防病治病的物质基础，其真伪优劣直接关系到临床用药的安全、有效，中药的质量控制和评价是其现代化、国际化的重要内容。但是，由于中药本身成分的复杂性，加上分析技术条件、研究思路和方法的局限，现行中药质控方法不仅难以有效地控制和评价中药质量，更难以反映其安全性和有效性[1]。因此，建立一种能反映中医药整体观，并与临床疗效相关的中药质量控制模式势在必行。

代谢组学（Metabonomics）是 20 世纪 90 年代中期发展起来的一门新兴组学技术，其核心内容是研究外源性物质对生物体所产生的整体性效应，通过机体代谢物变化的系统分析直接认识生理病理及生化状态[2~4]。基于代谢组学的中药现代化研究，有利于尽快阐明中药“多组分”对复杂生物系统“多靶点、整体调节”作用的科学内涵，是系统生物学时代给中医药发展提供的一个良好机遇。目前，代谢组学已经应用于中药配伍规律、药效物质、质量评价、药效学及作用机制、安全性和毒性等研究领域[5~9]。本文仅就代谢组学在中药效应物质基础、质量评价方面的应用作初步综述，并针对目前中药质量控制的不足，提出了基于代谢组学的中药质量控制整体性研究思路，以供读者参考。

一、中药质量控制研究现状概述

中药质量控制就是在生产过程中监测中药的

收稿日期：2010-05-06

修回日期：2010-05-20

*　科学技术部“十一五”国家科技支撑计划项目（2007BAI40B05）：体现道地性与中医药特色相关的川贝母、白芷、黄连质量标准系统研究，负责人：张艺；高校博士点专项科研基金（20095132110008）：三果汤散防治高原红细胞增多症药效物质基础的代谢组学研究，负责人：张艺。

**　通讯作者：张艺，博士生导师，研究员，成都中医药大学民族医药学院院长，主要研究方向：中药及民族药药效物质基础研究，E-mail：9006Zmy@sina.com。

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

药效/毒性物质及其变化规律。最初,中药的质量控制主要是凭经验的外观形态鉴别以及显微鉴别,之后参照化学药的质控模式,常采用检测 1~2 个有效(指标)成分来表征中药质量控制方法,这种“以点代面”式的“单一下限值”的质量标准,难以与中医药整体观相符合,也难以客观地反映中药疗效的物质基础[10]。

近年来,随着仪器分析技术的飞速发展,HPLC、GC-MS 等化学指纹图谱技术在中药质量控制中得到了广泛的应用。建立在“物种色谱特征的唯一性”和“同种个体间的相似性”基础上的指纹图谱可全面反映中药的复杂成分信息,为中药的质量控制提供了有效的手段。但化学指纹图谱只能从质(物质)和量(含量)的角度来评价中药,有时存在着与中药药效相脱节的缺陷。

因此,有学者提出将化学指纹图谱与药效信息(“谱效”关系)相关联,建立中药药效组分指纹图谱,从而弥补化学指纹图谱控制中药质量时与药效脱节的缺陷。但是,中药谱效关系研究需要制备足够量的样品开展药理实验,并且由于分析条件和方法的局限,药效指纹图谱也不能对所有成分进行全面检测和控制,有些成分难以用常规的色谱或光谱方法检识,如多肽、多糖类等[11~12]。在这种情况下,基于代谢组学技术的“代谢物指纹图谱(Metabolite fingerprinting)”应运而生,它不但能最大程度地提取、检测中药整体代谢物组信息,而且能有效区分不同中药的品质差异,其整体性特点正好与中医药治疗疾病的观点相吻合。

二、植物代谢组学及其在中药质量评价研究中的应用

植物代谢组学是代谢组学的一个重要分支,其核心内容是对植物的某一组织或细胞在不同生长时期或受某种刺激(环境改变、加工炮制等)前后的所有小分子代谢产物进行系统分析。植物代谢组学提供了一个宏观的分析平台,能系统全面地了解植物中代谢产物的结构、代谢规律及其调控机制[13~14]。

中药活性成分大多为植物次生代谢产物。药用植物在生长过程中由于环境和生物胁迫的影响常形成一个复杂的代谢网络,当受到环境胁迫、物理刺激(炮制加工)或者生物刺激时,可以通过体内代谢变化来得到补偿,从而引起代谢产物种类和含量的改变[15]。代谢组学技术就能够对这种变化进行系统监测,并找出活性成分的代谢变化规律及其影响因素(环境、采收加工、炮制等)对成分代谢的调控机制,这对于提高中药有效成分含量、保证药材质量具有重要的意义。

1. 中药品种鉴定

Kin 等[16]建立了 3 种麻黄属植物的 ^{1}H-NMR 代谢指纹图谱,并运用主成分分析找到了不同品种之间的代谢物差异。Frederich 等[17]应用 NMR 技术及多元统计学方法,分析了 3 种马钱属植物(马钱子、伊卡亚马钱和苦果)中马钱子碱、马钱苷、依卡精等代谢产物的差异,代谢谱图主成分分析结果使 3 个品种得到很好的区分,表明了基于代谢组学技术的代谢指纹图谱可运用于中药的品种鉴定。

2. 中药不同物侯期化学成分的变化

马晨菲等[18~19]利用 GC × GC-TOF MS 技术分析了青蒿挥发油成分,建立了青蒿整体代谢物指纹图谱,并运用 PCA 及 PLS-DA 法区分了不同生长时期的青蒿样本,发现在青蒿酸或二氢青蒿酸向青蒿素转化过程中可能存在着限速步骤。

3. 生长环境对中药质量的影响

Hirai 等[20~21]应用 HPLC-FTMS 技术研究发现硫和氮对拟南芥中芥子苷的代谢途径具有重要影响,提示在拟南芥生长过程中适当补充硫、氮元素能提高其活性成分芥子苷的含量。Tlannlam 等[22] 利用 GC-TOF MS 技术结合 PCA 分析不同生长环境对日本当归质量的影响,发现质量差的当归(采自寒冷地区)果糖和葡萄糖的含量远高于中、高质量的当归,表明温暖的气候有利于当归品质的提高。本课题组曾采用 NMR 技术建立了不同产地黄连生物碱类代谢产物的 ^{1}H-NMR 指纹图谱[23];利用 GC×GC-TOF MS 研究了不同产地川芎挥发油的差异性[24],结果发现不同产地黄连、川芎药材代谢产物有一定的差异,并推测引起该差异的原因与药材道地产区

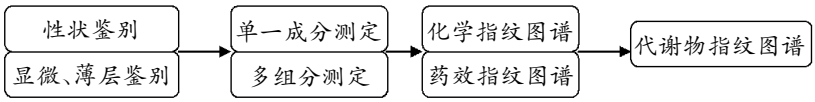

图 1 中药质量控制方法发展趋势

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

的环境因子有关。

4. 采收时间、加工炮制对中药质量的影响

Wang 等[25]比较了不同时间(日出和日落)采集的银杏叶中银杏内酯、白果内酯和黄酮类化合物的含量差异，发现不同时间采集的药材活性成分变化明显，日落时采集更好。Chan 等[26]利用 UPLC-Q-TOF MS 技术对三七炮制前后代谢产物进行了比较分析研究，结果从三七生品及炮制品中分别找到了 74 和 146 个标志性化合物来区分二者，并研究了炮制工艺对三七质量的影响[27]。

三、代谢组学在中药效应物质基础研究中的应用分析

1. 中药药效物质的体内代谢研究

建立快速、准确的药效物质基础发现方法是中药现代研究中的重要环节。目前，中药药效物质研究思路主要是对给药后动物血液、尿液、粪便等进行系统分析，发现药物最终代谢产物并鉴定其结构。也有在体外模拟体内条件进行代谢研究，常采用 Caco-2 细胞、肠灌流等实验分析中药在人工胃液、肠液或肠道菌群中可吸收成分及其代谢产物，再结合整体药效学阐明其药效物质基础[28]。

陈燕[29]利用 GC-MS 技术发现人口服麻黄汤煎液后麻黄碱、伪麻黄碱和甲基麻黄碱被吸收入血，从而推测这 3 种成分可能是麻黄汤发挥药效作用的物质基础。肖兰等[30]采用 LC-MS 技术对清开灵注射液中黄芩苷在大鼠体内的代谢动力学过程进行了研究。结果静脉注射清开灵后，黄芩苷迅速分布至效应器官肺、肝中，说明黄芩苷为清开灵注射液的肝、肺效应物质基础之一。为明确尖萼耧斗菜和彭县雪胆的抗菌作用机制及其效应物质，Yu 等[31~32]以金黄色葡萄球菌为实验对象，利用代谢组学的思路和方法明确了两种药材主要抗菌作用的药效物质分别是木兰花碱和雪胆素甲。

中药化学成分极其复杂，有些成分经体内代谢后才有生物活性或活性较原型成分更强。因此，传统的“不同溶剂提取-药效追踪-植化分离”的药效物质筛选模式可能会丢失真正的有效成分，漏掉一些活性成分。另外，虽然从成分体内代谢角度研究中药药效物质取得了较大的进展，但大多针对单一或几个化合物的分析，“以管窥豹”的研究行为不符合中药多成分协同作用的特点。因此，利用代谢组学整体性、系统性的研究思路来研究中药进入体内后的代谢变化规律，从而发现中药在体内真正发挥药效的物质(群)，可能成为未来系统生物学研究中药物质基础的重要手段。

2. 中药毒性物质的代谢组学研究

近年来，中药所造成的毒性及不良反应事件频繁发生，其主要原因可能是由于中药的毒性评价体系不合理及毒性物质基础不明，导致缺少科学合理的减毒措施。利用代谢组学技术研究有毒中药的毒效物质基础及其作用机制，从而通过配伍、炮制等措施有针对性的消除毒性物质，建立科学合理的有毒中药“减毒存效”方法，将为其临床使用的科学性和安全性提供依据。

当中药毒性成分作用于机体时，会影响许多代谢通路及生化反应，使得机体内源性物质发生动态变化来调节自身新陈代谢，维持内环境稳定。代谢组学技术就能监控给药前后机体内源性代谢物的变化[33]。通过给药前后机体代谢物差异性分析，就可以了解到药物毒性的整体信息，全面认识和评价中药的安全性。

关木通、广防己等中药中的主要毒性成分为马兜铃酸，含马兜铃酸的中药及复方制剂(如龙胆泻肝丸）所引起的肾毒性在国际上曾引起轩然大波。Chen 等[34~35]采用 LC-MS、^{1}H-NMR 技术对马兜铃酸的毒性作用进行了代谢组学研究，结果发现马兜铃酸能够引起肾近曲小管和肾乳头的损伤以及轻微的肝损伤。后来发现人服用含马兜铃酸 I 制剂后，能在粪便和尿液中检测到毒性物质马兜铃酸内酰胺 I 及其 DNA 交联附加物，从而证实了马兜铃酸的致肾毒性[36]，并推测其毒性效应物质可能为马兜铃酸内酰胺[37]。杨秀伟通过系统分析甲基丁香酚和京尼平苷元代谢研究的相关文献，推测体内代谢产物 1′-羟基甲基丁香酚、京尼平苷元是其毒性效应物质，从而提出利用代谢组学方法基于体内过程的中药毒性成分和毒性效应物质的发现策略[37~38]。

四、基于代谢组学技术的中药质量控制研究思路

中药是由多种组分通过多靶点、多途径，协调干预人体代谢网络来发挥治疗作用的，体内起作用的效应物质可能是中药含有的原型成分或代谢产物，或二者与机体内源性代谢物共同组成的物质群。由于多数中药药效物质基础不明确，传统的质量控制

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

方法常不能体现中药多成分协同作用的特点，如中药指纹图谱并不能检测微量成分，从而忽视了分子本质和初生代谢物对药材质量的影响[4]。

因此，依据中医药整体观、系统论和辨证论治特点，采用体现整体性、系统性及综合性的代谢组学技术，挖掘出中药与临床疗效相关的效应物质基础，最终建立符合中药整体性作用特点的中药质量控制新方法（研究思路见图 2），这对于保证中药质量稳定、可控，临床使用安全、有效具有重要的意义。

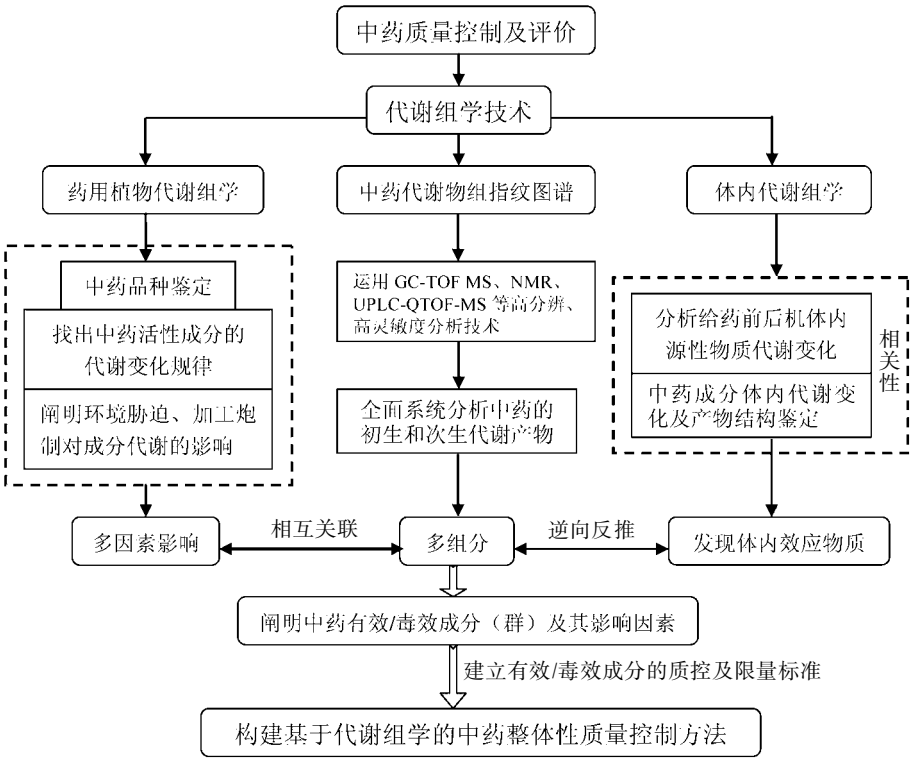

图 2 基于代谢组学技术的中药质量控制研究思路

从图 2 可知，代谢组学是整个中药质量控制整体性研究思路与策略上的核心技术，即运用 NMR、UPLC-Q-TOF MS 等高灵敏度、高分辨技术和主成分分析（PCA）、偏最小二乘法判别分析（PLS-DA）等多元模式识别方法，首先研究中药化学成分体内代谢规律及药物作用于机体引起的内源性物质代谢变化，找出内源性标志物，确定药物最终代谢产物结构，并借助化学计量学手段分析二者的关系。然后与体外中药代谢物组指纹图谱相关联，反向推测中药化学成分的体内代谢途径，找出与中药药效或毒效相关的物质（群）。同时，应用植物代谢组学研究思路，找出药用植物在生长过程中活性成分的代谢变化规律，阐明环境胁迫、采收加工、炮制对有效成分代谢的影响。最终三者结合，构建基于代谢组学的中药质量控制整体性研究方法，阐明中药效应物质及其影响因素，建立与临床药效相关的、符合中药多成分协同作用特点的中药质量控制新方法。

五、结 语

随着基于 NMR、MS 以及多元模式识别方法的代谢组学分析技术平台的不断发展与完善，代谢组学已在中药现代化研究中得到了广泛应用。而将体现整体性、系统性的代谢组学思想与技术应用到中药质量控制与评价研究中，可能是中药现代化发展史上一次认识上的飞跃，有利于进一步解决中药质量控制的复杂性难题，保障中药临床使用的有效性和安全性。

当然我们也应该看到，代谢组学由于仪器昂贵、试验方法学和分析技术手段上的缺陷仍然面临着巨大的挑战，离代谢组学研究的终极目标还有一段距离。如代谢组学目前还不能表征中药药效作用的“量-效”关系。另外，代谢组学需要对所有能采集到的谱图信息数据进行全面分析，数据量巨大，如何从海量数据中最大限度的挖掘出有用的信息仍然是一个技术难题[39]。值得欣喜的是，近年来 LC-IT-TOF MS、GC×GC-TOF MS 等高灵敏度、高分辨率的仪器分析技术与化学计量学方法迅猛发展，将更进一步解决代谢组学技术发展的复杂性难题。

总之，代谢组学正日益成为研究的热点，方兴未艾，将为中医药现代化研究提供一种重要的技术手段。同时，基于代谢组学技术的中药质量控制和评价研究将日趋成熟，在中药现有质量标准研究的基础上，可以为质控指标的选择提供一定的依据或借鉴，并且建立代谢物组指纹图谱能更全面的评价中药的

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

品质差异，其深入开展将对符合中医药作用特点的中药质量标准的建立产生深远的影响。

参考文献

1 肖小河,金城,赵中振,等. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展. 中国中药杂志,2007,32(14):1377~1381.

2 Nicholson J K, Lindon J C. Systems biology: Metabonomics. Nature, 2008, 455 (7216):1054~1056.

3 Nicholson J K, Connelly J, Lindon J C, et al. Meta-bonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. Nat Rev Drug Discov, 2002, 1(2):153~161.

4 邹忠杰,袁经权,龚梦鹃,等.代谢组学技术在中药研究中的应用.广东药学院学报,2009,25(4):424~428.

5 盛龙生.代谢组学与中药研究.中国天然药物,2008,6(2):98~102.

6 Coen M, Holmes E, Lindon J C, et al. NMR-based metabolic profiling and metabonomic approaches to problems in molecular toxicology. Chem Res Toxicol, 2008, 21(1):9~27.

7 Xu E Y, Schaefer W H, Xu Q. Metabolomics in pharmaceutical research and development: metabolites, mechanisms and pathways. Curr Opin Drug Discov Devel, 2009, 12(1):40~52.

8 吴泽明,孙晖,吕海涛.代谢物组学研究进展及其在中医药研究中的应用展望. 世界科学技术-中医药现代化,2007,9(2):99~103.

9 Mohn T, Plitzko I, Hamburger M. A comprehensive metabolite profiling of Isatis tinctoria leaf extracts. Phytochemistry, 2009, 70(7):924~934

10 谢培山.基于传统的中药现代化与质量评价-继承与创新.世界科学技术-中医药现代化,2006,8(3):8~13.

11 白瑞,王真真.指纹图谱在中药质量控制中的应用进展.安徽医药,2009,13(12): 1458~1462.

12 周建良,齐炼文,李萍.色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用.色谱,2008,26(2):153.

13 淡墨,高先富,谢国祥,等.代谢组学在植物代谢研究中的应用.中国中药杂志,2007,32(22):2337~2341.

14 焦旭雯, 赵树进. 药用植物代谢组学的研究进展. 广东药学院学报,2007,23(2):228~231.

15 许国旺. 代谢组学-方法与应用.北京:科学出版社,2008:150

16 Kin H K, Choi Y H, Erkelens C, et al. Metabolic fingerprinting of Ephedra species using 1H-NMR spectroscopy and Principal component analysis. Chem Pharm Bull, 2005, 53(1):105.

17 Frederich M, Choi Y H, Angenot L, et al. Metabolomic analysis of Strychnos nux-vomica, icaja and ignatii extracts by 1H nuclear magnetic resonance spectrometry and multivariate analysis techniques. Phytochemistry, 2004, 65: 1993~2001.

18 Ma C F, Wang H H, Lu X, et al. Analysis of Artemisia annua L. volatile oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2007,1150(1-2):50~53.

19 Ma C F, Wang H H, Lu X, et al. Metabolic fingerprinting investigation of Artemisia annua L.in different stages of development by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A, 2008,1186(1-2):412~419.

20 Hirai M Y, Yano M, Goodenowe D B, et al. Integration of transcriptomics and metabolomics for understanding of global responses to nutritional stresses in Arabidopsis thaliana. Proc Natl Acad Sci, 2004, 101.

21 Hirai M Y, Saito K. Post-genomics approaches for the elucidation of plant adaptive mechanisms to sulphur deficiency. J Exp Bot, 2004,55 (404):1871.

22 Tlannlam S, Tarachiwin L, Bamba T, et al. Metabolic profiling of Angelica acutiloba roots utilizing gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for quality assessment based on cultivation area and cultivar via multivariate pattern recognition. J Biosci Bioeng, 2008, 105 (6): 655~659.

23 陈玉兰. 黄连 1H-NMR 指纹图谱与体外抗内毒素活性的谱效关系研究.成都:成都中医药大学,2009.

24 王楠,张艺,李响,等.全二维气相色谱/飞行时间质谱分析不同产地的川芎挥发油.色谱,2010,28(4):329~335.

25 Wang M, Lambers R-J AN, Korthout HAAJ, et al. Metabolomics in the context of systems biology: bridging traditional Chinese medicine and molecular pharmacology. Phytother Res,2005,19(3):173~182.

26 Chan E C, Yap S L, Lau A J, et al. Ultra-performance liquid chromatography /time-of-flight mass spectrometry based metabolomics of raw and steamed Panax notoginseng. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21(4):519~528.

27 Toh D F, New L S, Koh H L, et al. Ultra-high performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry (UHPLC/TOFMS) for time-dependent profiling of raw and steamed Panax notoginseng. J Pharm Biomed Anal, 2009, 52(1):43~50.

28 郭立民,王长云,顾谦群. 中药复方效应物质基础研究方法及其发展趋势.中成药,2007,29(1):118~121.

29 陈燕. 麻黄汤中麻黄生物碱体内代谢排泄的研究.广州:第一军医大学,2007.

30 肖兰,王峰,李焕德. 清开灵注射液中黄芩苷在大鼠体内代谢动力学的研究.中国中药杂志,2007,32(23):2534~2538.

31 Yu Y, Yi Z B, Liang Y Z. Validate antibacterial mode and find main bioactive components of traditional Chinese medicine Aquilegia oxysepala. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(7):1855~1859.

32 Yi Z B, Yu Y, Liang Y Z. Investigation of antimicrobial model of Hemsleya pengxianensis Chang W. J. and its main active component by metabolomics technique. J Ethnopharmacol, 2008, 116(1):89~95.

33 Nicholson J K,Connelly J, Lindon J C, et al. Meta-bonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. Nat Rev Drug Discov, 2002, 1(2):153~161.

34 Chen M J, Su M, Zhao L. Metabonomic study of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rats. J Proteom Res, 2006, 5(4):995~1002.

35 Zhang X Y, Wu H F, Liao P Q, et al. NMR-based metabonomic study on the subacute toxicity of aristolochic acid in rats. Food Chem Toxicol, 2006, 44(7): 1006~1014.

36 Zhou S, Koh H L, Gao Y, et al. Herbal bioactivation: The good, the bad and the ugly. Life Sci, 2004, 74(8):935~968.

37 杨秀伟. 基于体内过程的中药毒性成分和毒性效应物质的发现策略.

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

中华中医药杂志, 2007, 22:67~72.
38 Ozaki A, Kitano M, Furusawa N, et al. Genotoxicity of gardenia yellow and its components. Food Chem Toxicol, 2002, 40:1603~1610.
39 王广基,查伟斌,郝海平,等. 代谢组学技术在中医药关键科学问题研究中的应用前景分析. 中国天然药物,2008,6(2):89~97.

An Investigation Idea of Quality Control of Traditional Chinese Medicine Based on Metabonomics Technology

Fan Gang, Zhou Lin, Lai Xianrong, Wang Zhang, Zhang Yi
(College of Ethnic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

Abstract: Metabonomics is a new omics technology which is developed after the genomics, transcriptomics and proteomics. It has characteristics of integrity, systematization and comprehensiveness. These characteristics just coincide with the whole view, dynamic concept and dialectic approach of the TCM theory. This paper reviews the application of metabonomics in therapeutic basis and quality evaluation research of TCM. Due to the deficiency of the current quality control of TCM, we have put forward an integral quality control research idea based on the metabonomics technology. That is, the technology and methods of metabonomics are used to ascertain the therapeutic basis of TCM and factors effecting the metabolic change of chemical constituents in the medicinal plant body. Then we can establish a quality control method which is related to clinical effect to ensure the safety and effectiveness of traditional Chinese medicine.

Keywords: Metabonomics, TCM, Quality control, Research idea, Integrity

(责任编辑:张志华 李沙沙,责任译审:张立崴)

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn