

植物代谢组学技术在中药资源研究中的应用

冯 敏¹, 张文智², 张雯霞¹, 苗雨露², 何 盼², 倪 艳^{2*}

1. 山西中医药大学, 山西 太原 030619

2. 山西省中医药研究院, 山西 太原 030012

摘 要: 植物代谢组学技术是借助多种检测手段以植物提取物中代谢物为研究对象进行全面定性、定量分析, 继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门新兴学科。随着核磁共振 (NMR)、液相色谱-质谱联用 (LC-MS)、气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 等技术的快速发展, 植物代谢组学已广泛应用于中药资源研究中。对该技术在中药基原鉴别、野生与栽培品的鉴别、药用部位鉴别、不同发育期的成分鉴定及不同产地药材的品质差异等方面研究进展进行综述, 从而揭示植物代谢物动态变化趋势, 为中药质量评价奠定基础。

关键词: 植物代谢组学; 中药资源; 质量评价; 中药基原

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2020) 04-0785-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.04.037

Application of plant metabolomics technology in study of traditional Chinese medicine resources

FENG Min¹, ZHANG Wenzhi², ZHANG Wenxia¹, MIAO Yulu², HE Pan², NI Yan²

1. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China

2. Shanxi Academy of Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

Abstract: Plant metabolomics is a comprehensive qualitative and quantitative analysis of metabolites in plant extracts using a variety of detection methods. It is an emerging discipline developed after genomics and proteomics. With the rapid development of nuclear magnetic resonance (NMR), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and other technologies, plant metabolomics has been widely used in the research of traditional Chinese medicine resources. This article reviews the application of plant metabolomics technology in the use of resources of traditional Chinese medicine, planting, medicinal parts, place of origin, harvest time and different development stages of traditional Chinese medicine, so as to reveal the dynamic changes of plant metabolites and lay the foundation for the quality evaluation of traditional Chinese medicine basis.

Key words: plant metabonomics; traditional Chinese medicine resources; quality evaluation; traditional Chinese medicine origin

代谢组学是以组群指标分析为基础, 高通量检测 and 数据处理为手段, 信息建模与系统整合为目标的系统生物学的一个分支, 是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一门新兴学科^[1-4]。经过十几年的发展, 代谢组学不仅在基因功能鉴定及生物系统研究等方面发挥着重要作用, 而且在中医药领域也得到了广泛的应用^[5]。

植物代谢组学作为代谢组学的重要分支, 借助多种检测技术以植物提取物中代谢物为研究对象

进行全面的定性、定量分析。完整的植物代谢组学研究流程包括实验设计、样品采集、样品处理、样品制备、检测分析、数据处理、代谢途径分析或代谢网络分析等^[6]。目前在检测技术方面, 主要是基于核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR)^[7]、液质联用 (liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS)^[8] 以及气质联用 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)^[9] 等高灵敏、高通量、高分辨率的分析平台对样品进行检测, 从而得到海量数据。

收稿日期: 2019-11-04

第一作者: 冯 敏 (1994—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药质量控制及活性成分分析。E-mail: 1833128063@qq.com

*通信作者: 倪 艳, 硕士生导师, 主任药师, 从事中药化学及药效物质基础研究。Tel: (0351) 4668016 E-mail: niyan_01@hotmail.com

植物在生长发育过程中产生数以万计的小分子代谢物,其数量繁多,结构复杂,不仅是植物生长发育过程和适应环境所必需的物质,也是人类获取营养、能量的重要来源^[10-12]。近年来,由于中药成分的复杂性和多样性,出现液相-质谱联用、近红外光谱等多种技术对中药进行定性分析,但是这些技术并没有提供有关中药化学成分的信息。而中药的化学成分因地理来源、环境变化、采集和加工方式以及贮藏条件而有很大差异^[13],植物代谢组学则通过对植物提取物进行全面分析,有效的解决了这种问题,对中药资源的鉴别、保证临床治疗的安全性和有效性具有重要意义^[14-16]。

植物代谢物在时间和空间上的高度动态性和复杂性,决定了植物代谢组学的研究更具挑战性,随着检测技术和分析方法的进步与完善,代谢组学在中药资源领域的研究项目逐年增多,研究领域也在不断拓展。植物代谢组学技术具有整体分析的能力,符合中医药整体观理论能够反映外源性物质对生物体产生的整体性效应,适用于中药等复杂体系的分析等优势^[17-18]。因此本文对植物代谢组学在中药基原鉴别、野生与栽培品的鉴别、药用部位鉴别、不同发育期的成分鉴定及不同产地药材的品质差异等资源利用方面的研究进展进行综述,以期揭示植物代谢物动态变化趋势,为中药质量评价奠定基础。

1 不同基原的鉴别

不同基原的中药材,如果入药部位相同,显微结构也极为相似,但其化学成分种类与含量却存在显著差异,其临床疗效可能也具有明显差异^[19]。有研究表明甘草苷、异甘草苷、甘草素和异甘草素4种黄酮类化合物在3种不同基原甘草中的含量均具有显著差异,且4种成分在乌拉尔甘草中含量均最高^[20]。多数中成药处方中含有多基原中药,其组合数量较大,对安全性、有效性的研究也是十分困难的。因此,对不同基原中药进行规范、统一用药是亟待解决的问题。目前,多基原中药鉴别方法主要有DNA条形码分子鉴定技术、傅里叶变换红外光谱法、¹H-NMR代谢组学技术等。其中¹H-NMR代谢组学技术可反映中药不同生长发育阶段代谢物成分的改变,近年来广泛应用于中药不同基原的鉴别当中^[21-22]。

常用中药黄芪为补气要药,来源为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus*

membranaceus (Fisch.) Bge. 的干燥根^[23];红芪为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand-Mazz. 的干燥根。传统认为红芪与黄芪功效与主治病症相同,有些地方也将红芪代替黄芪使用^[24]。焦美丽等^[25]运用¹H-NMR代谢组学技术对红芪和黄芪化学成分进行研究,结果表明红芪和黄芪有27个共有代谢物,糖类、氨基酸等初级代谢产物相似性较大而黄酮类、皂苷类次级代谢产物具有较大差异,说明红芪和黄芪具有一定的相似性,但也有差异性,在临床上应区分应用,该研究为红芪和黄芪进一步资源开发利用奠定基础。

柴胡来源为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinenses* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. 的干燥根。章莎莎等^[26]采用GC-MS代谢组学技术对北柴胡、红柴胡、三岛柴胡、黑柴胡等几种不同品种柴胡挥发油含量及种类进行分析,发现不同品种柴胡挥发油含量存在差异,为柴胡在临床合理用药提供依据。

2 野生与栽培品的鉴别

目前,许多中药由人工栽培品代替其野生品种,虽然建立了中药材规范化种植基地,但其质量还是发生了量或者质的改变。人参炔醇作为防风挥发油质量评价指标性成分具有抗肿瘤、抑菌、镇静、抗炎和神经细胞保护等药理作用,且对实验性迟发型超敏反应具有抑制作用^[27-28]。研究发现野生防风中人参炔醇含量高于栽培防风,两者挥发油浸膏颜色也具有较大差异,野生防风的挥发油浸膏颜色为黄褐色,而栽培防风为棕黄色^[29]。为了规范中药材市场,对中药野生品与栽培品进行质量评价是十分有必要的。结合代谢组学技术对其进行研究,代谢组学的方法不但可以最大限度地从中药中获取有关化学成分的信息,还可以定量地对其进行评价,实现从整体上评价中药材的质量。

张争争等^[30]利用NMR代谢组学技术对不同来源的款冬花化学成分进行分析,结果发现两者化学成分存在一定差异,表明代谢组学技术可明显区分款冬花栽培品和野生品。通过数据分析,发现栽培品中某些成分含量低于野生品,表明款冬花野生品质量优于栽培品。

华愉教等^[31]基于¹H-NMR代谢组学技术对野生型与栽培型太子参化学成分差异进行研究,结果发现两者可明显区分,且有15个差异较大的化学成分,为揭示太子参野生型与栽培型化学成分变化规律提供基础。

韩正洲等^[32]采用UPLC-Q-TOF/MS代谢组学技术对野生型与栽培型野菊花化学成分差异进行研究,经统计分析发现两者化学成分具有显著差异,且两者可明显区分开,为野菊花质量控制提供依据。

3 不同药用部位的鉴别

同一种中药材的不同部位可能含有不同的化学成分,从而具有不同的药理作用与功效。如麻黄根具有固表止汗的功效,用于治疗自汗、盗汗;麻黄茎具有发汗解表、宣肺平喘、利水消肿的功效,用于治疗风热感冒、咳嗽气喘等表症。现采用植物代谢组学技术对中药不同部位化学成分进行分析,为中药资源的合理利用提供依据。

常相伟等^[33]基于UPLC/Q-TOF-MS植物代谢组学技术对林下山参叶、主根、侧根、芦头4个不同部位化学成分进行鉴别,共检测到81个代谢物,且4个不同部位之间化学成分具有显著差异。

李静等^[34]采用核磁代谢组学技术对当归的不同部位进行了化学成分比较,共指出36种代谢产物,并且发现当归头部、尾部及身部化学成分不完全相同,为进一步研究当归不同部位化学成分与功效的关系奠定基础。

陈俊可等^[35]基于UPLC-ESI-HRMSⁿ的代谢组学技术对粗茎秦艽根(去芦头)、茎叶、花3个不同部分化学成分进行研究,发现粗茎秦艽根部主要含有环烯醚萜类,地上部分(茎叶、花)主要含有黄酮类和三萜类。传统中医使用秦艽为根部入药,其地上部分造成巨大浪费,基于该研究将秦艽地上部分用于黄酮类及三萜类成分研究,为更高效、合理利用秦艽资源提供依据。

4 不同发育期的成分鉴定

中药采收期是影响中药质量的关键因素之一,不同采收期中药质量可能存在较大差异。研究表明麦冬在2月下旬到4月底其所含有效成分呈现先升高再降低的趋势,3月份是其有效成分快速积累的时期^[36]。为提高临床疗效,选择药材最佳的采收期则是十分必要的。植物代谢组学技术可对中药不同采收期化学成分动态变化趋势进行分析,从而选择最佳的采收期。

张争争^[37]在研究款冬花采收期花蕾、大地解冻后开花前花蕾、开花期3个不同时期化学成分的差异,采用代谢组学技术对不同组别进行研究,结果发现花蕾期次级代谢物含量较高。万昶宸^[38]采用UPLC-Q-TOF-MS代谢组学技术对采收于2月、6

月、11月的紫菀的化学成分进行分析,发现2月份采收的紫菀所含槲皮素、山柰酚和白桦脂醇等有效成分较高,为紫菀采收期确定提供依据。

庞溢媛等^[39]基于UHPLC-MS/MS代谢组学技术对1年生和2年生黄芩化学成分进行研究,发现不同采收期黄芩化学成分具有显著差异,且呈动态变化,以不同成分作为目标成分得到采收期不尽相同,为确定黄芩采收期提供依据,如以黄酮苷元类成分为目标成分,最佳采收期则为5月;若以黄酮苷类成分为目标成分,最佳采收期则为7~8月。

刘秀斌等^[40]借助代谢组学方法研究分别于春季、夏季、秋季采收的银杏叶提取物化学成分变化趋势,研究表明银杏叶化学组分随季节变化而呈动态变化,且从春季到冬季黄酮醇苷类成分逐渐降低,为银杏叶采收期的确定提供依据。

5 不同产地药材的品质差异

道地药材具有品质优良、效果显著的特点,是中医临床长期实践中具有“标杆品质”的药材。然而,随着药材需求量的日益增加,道地药材的数量已不能满足临床的需求量,市场上出现大量的替代品及伪品^[41]。中药材来源复杂,质量参差不齐,中药质量的控制成为最为棘手的问题。为了规范中药材市场,结合代谢组学技术对其进行研究,实现从整体上评价中药的质量,选择道地产区。

罗尚华等^[42]基于¹H-NMR的代谢组学方法对不同地区所产得泽泻进行差异代谢物研究及质量评价,鉴定出4个主要代谢成分,可明显区分不同产地的泽泻,并发现四川产地的泽泻质量最优。

许晓双等^[43]基于UPLC/Q-TOF MS技术对山西不同产地远志进行代谢组学研究,比较了产地对远志药材质量的影响。结果表明影响远志药材质量的关键因素为产地因素,为远志药材的规范化种植及临床合理用药提供科学依据,也间接为远志产地鉴别提供了技术支持。林俊芝等^[44]采用UPLC-Q-TOF/MS代谢组学技术分别对安县和江油附子化学成分进行研究,得到两种附子有16种差异代谢物,可能与两地栽培条件不同有关。

6 结语

随着GC-MS、LC-MS、NMR等分析技术的快速发展,植物代谢组学技术通过对中药材代谢物进行全面分析在中药基原、野生与栽培品的差异、药用部位、产地、采收期及中药不同发育期等资源利用研究领域做出了重要贡献,为中药的研究提供了新的思路和方法。

但是,植物代谢组学技术也存在一些欠缺之处。首先经过十几年的发展,虽然植物代谢组学技术已经形成了一套完整的理论体系,但是现有的分析技术尚不能实现对植物体内所有代谢途径中的代谢产物进行全面的定性和定量分析,不同的分析方法会获得不同的结果,从而存在一定的局限性。其次,植物代谢组本身生物信息较为复杂,一些非实验因素如环境温度、气候、土壤等生态环境的改变均会影响植物代谢物的结果,给代谢组学的数据分析带来困难。最后,代谢组学技术研究中最重要的一步是代谢组数据的分析,虽然目前已有几个较为常用的数据库,但是收集的代谢产物仍不全面,实验过程中的部分产物仍然无法在数据库中找到。

目前虽然代谢组学技术存在一些不足之处,但是在中药质量控制方面做出了一定的贡献。为了促进植物代谢组学在中药研究中有更广泛的应用,在今后的研究中,应以转录组学、蛋白质组学等多门学科交叉互补的方式,不断完善其理论体系,并利用其他学科前沿的、有效的技术充分支持代谢组学技术的发展。相信随着先进分析技术的不断发展及各种数据库的建立,植物代谢组学在中药材领域的研究应用将越来越广泛。

参考文献

- [1] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. Metabonomics: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [2] 腊贵晓,郝西,理向阳,等.代谢组学在植物研究领域中的应用[J].*植物学研究*, 2016, 5(1): 26-33.
- [3] 郭凤丹,王兴军,侯蕾,等.植物代谢组学研究进展[J].*山东农业科学*, 2017, 49(12): 154-162.
- [4] 王瑛,李金霞.代谢组学技术在植物生态学研究中的应用[J].*草业科学*, 2018, 10(35): 2354-2372.
- [5] 刘贤青,罗杰.植物代谢组学技术研究进展[J].*科技导报*, 2015, 33(16): 33-38.
- [6] 李玉娇,吴光斌,陈发和.两种提取溶剂对莲雾果实GC-MS代谢组学分析的影响[J].*生物技术进展*, 2018, 8(5): 413-419.
- [7] 赵晓喆,赵思俊,田俊生,等.基于¹H-NMR代谢组学比较不同品种海马化学成分差异性[J].*中草药*, 2018, 49(3): 536-542.
- [8] 陈路路,王中华,周帆,等.基于液相色谱-串联质谱技术的新疆一枝蒿植物代谢组学分析方法研究[J].*分析化学*, 2018, 46(5): 735-742.
- [9] 李瑞姿,林军,汪霞霞,等.基于不同栽培阶段金线莲的代谢组学分析[J].*中国中药杂志*, 2017, 42(23): 4624-4630.
- [10] 张凤霞,王国栋.植物代谢组学应用研究——现状与展望[J].*中国农业科技导报*, 2013, 15(2): 28-32.
- [11] 段礼新,代云桃,孙超,等.药用植物代谢组学研究[J].*中国中药杂志*, 2016, 41(22): 4090-4095.
- [12] 常玉玮,王国栋.LC-MS在植物代谢组学分析中的应用[J].*生命科学*, 2015, 27(8): 978-985.
- [13] Ning Z, Lu C, Zhang Y, et al. Application of plant metabonomics in quality assessment for large-scale production of traditional Chinese medicine [J]. *Plant Med*, 2013, 79(11): 897-908.
- [14] 范玛丽,邢捷,李震宇,等.基于NMR代谢组学技术的白芍与赤芍化学成分比较研究[J].*中草药*, 2014, 45(22): 3230-3237.
- [15] Sun H, Wang M, Zhang A, et al. UPLC-Q-TOF-HDMS analysis of constituents in the root of two kinds of aconitum, using a metabolomics approach [J]. *Phytochem Anal*, 2013, 24(3): 263-276.
- [16] 郑文,王诗盛,钟艺,等.基于代谢组学技术的虫草鉴别研究[J].*中国现代应用药学*, 2017, 34(8): 1145-1149.
- [17] 张宏蕊,张九凯,韩建勋,等.基于代谢组学技术的玛咖产地鉴别[J].*食品科学*, 2019, 40(20): 217-226.
- [18] 田俊生,那丽丹,向欢,等.基于核磁代谢组学的驴皮与其伪品的鉴别研究[J].*中草药*, 2015, 46(2): 255-261.
- [19] 周刚,王停,何燕萍.中药新药研发中药材研究需关注的问题[J].*中国中药杂志*, 2014, 39(16): 3192-3195.
- [20] 杨瑞,袁伯川,马永生,等.3种不同基原甘草中4个主要黄酮类化合物的含量分析[J].*药物分析杂志*, 2016, 36(10): 1729-1736.
- [21] 刘悦,刘川,谭尔,等.基于DNA条形码和¹H-NMR代谢组学二维方法的多基原藏药沙棘鉴定[J].*中国中药杂志*, 2016, 41(4): 578-585.
- [22] 刘悦.多基原民族药沙棘的多维鉴定方法研究[D].成都:成都中医药大学, 2016.
- [23] 中国药典[S].一部.2015.
- [24] 李震宇,崔伊凡,秦雪梅.中药材质量评价的挑战与代谢组学应用于中药材质量评价的研究进展[J].*中草药*, 2018, 49(10): 2221-2229.
- [25] 焦美丽,李震宇,张福生,等.基于分子标记和代谢组学技术的黄芪与红芪比较研究[J].*药学学报*, 2015, 50(12): 1625-1631.
- [26] 章莎莎,邢捷,李震宇,等.基于GC-MS代谢组学技术对不同品种柴胡挥发油的研究[J].*中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(12): 84-87.
- [27] 洪敏,郑劼,王亮,等.人参炔醇抑制实验性迟发型超敏反应[J].*中国中药杂志*, 2010, 35(8): 1034-1037.
- [28] 李海清,刘蓉,赵倩倩,等.人参炔醇对大鼠心功能的影响[J].*中国医学创新*, 2016, 13(17): 1-7.

- [29] 徐佳. 野生和栽培防风颜色气味与质量的相关性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [30] 张争争, 支海娟, 秦雪梅, 等. 基于NMR代谢组学技术的不同来源款冬花的化学比较 [J]. 药学报, 2015, 50(5): 599-604.
- [31] 华愉教, 侯娅, 王胜男, 等. 基于¹H-NMR代谢组学技术的野生与栽培太子参化学成分分析 [J]. 中国药学杂志, 2017, 52(4): 24-28.
- [32] 韩正洲, 杨勇, 贾红梅, 等. 基于植物代谢组学的栽培型与野生型野菊花的化学成分比较及定量分析 [J]. 药物分析杂志, 2017, 37(7): 1196-1206.
- [33] 常相伟, 李德坤, 王彤, 等. 基于UHPLC-QTOF/MS的植物代谢组学技术鉴别林下山参的不同部位 [J]. 药学报, 2016, 51(10): 1609-1615.
- [34] 李静, 魏玉海, 秦雪梅, 等. 基于NMR代谢组学技术的当归不同部位化学成分比较 [J]. 中草药, 2017, 48(7): 1409-1415.
- [35] 陈俊可, 曾锐. 基于UPLC-ESI-HRMSⁿ的代谢组学技术对粗茎秦艽不同部位化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2328-2335.
- [36] 马留辉, 窦明明, 石峰, 等. 基于多元药效成分综合分析川麦冬适宜采收期研究 [J]. 药物分析杂志, 2018, 38(11): 179-186.
- [37] 张争争. 款冬花活性成分及转录组研究 [D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [38] 万昶宸. 基于代谢组学技术的紫菀化学成分研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2017.
- [39] 庞溢媛, 薛立英, 郑艳红, 等. 基于UHPLC-MS/MS代谢组学技术的不同采收期黄芩质量比较研究 [J]. 药学报, 2017, 52(12): 1903-1909.
- [40] 刘秀斌, 张莹, 曾建国, 等. 基于UPLC-QTOF MSⁿE的代谢组学方法研究不同采收期银杏叶的化学组分 [J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2014, 40(6): 650-654.
- [41] 王程成, 赵慧, 严颖, 等. 道地药材品质形成机制的组学研究思路 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2407-2412.
- [42] 罗尚华, 吴四维, 范刚, 等. 基于¹H-NMR对泽泻药材地缘区分和质量评价的代谢组学研究 [J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(10): 996-1000.
- [43] 许晓双, 张艳花, 王丹丹, 等. 基于UPLC/Q-TOF MS代谢组学技术分析影响远志商品药材质量的关键因素 [J]. 山西医科大学学报, 2016, 47(3): 255-263.
- [44] 林俊芝, 张定堃, 裴瑾, 等. 基于植物代谢组学方法区分安县附子与江油附子质量的化学标志物 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(13): 43-48.