

化学模式识别在中药炮制中的应用

尹燕, 王淼, 阳志强, 王延年, 马跃平, 高慧媛*

沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 中药炮制是中医用药的一大特色和优势, 是保证中药饮片质量和临床疗效的重要环节。对中药材进行有效炮制, 可降低药物毒副作用, 增强药物疗效, 保证用药安全。但中药成分复杂, 其在炮制过程中会发生复杂的化学变化, 这正是导致中药炮制前后性味功能改变的重要原因。如何揭示这些复杂化学成分变化, 阐明中药药效物质基础, 是中药炮制研究的重点和难点。化学计量学作为一门以数学和计算机技术为基础的新兴交叉学科, 可将多变量的分析方法引入化学研究, 而化学模式识别作为化学计量学的重要组成部分, 已成为中药物质基础研究的重要手段, 并在炮制研究中广泛应用。针对化学模式识别在筛选炮制工艺、检测中药炮制前后药效物质成分变化, 涉及药性改变、减毒增效、引药归经等方面的应用进行论述, 并初步探讨化学模式识别应用于中药炮制研究中所存在的问题及发展前景。

关键词: 化学计量学; 化学模式识别; 中药炮制; 炮制工艺优化; 药效物质

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)17-5369-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.17.029

Application of chemical pattern recognition in processing of Chinese materia medica

YIN Yan, WANG Miao, YANG Zhi-qiang, WANG Yan-nian, MA Yue-ping, GAO Hui-yuan

School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: The processing of Chinese materia medica (CMM) is one of the characteristics and advantages of traditional Chinese medicine (TCM) clinical medicine, and it is an important link to ensure the quality of slices and clinical efficacy. The effective processing of CMM can reduce drug toxicity and side effects, enhance drug efficacy, and ensure drug safety. However, due to the complex composition of CMM, complex chemical changes will occur during the processing process, which is an important reason for the change of flavor function after the processing of CMM. The revelation of the variation of complex chemical composition and clarification of pharmacodynamic material basis of CMM are the key and difficult points in the study of CMM processing. Chemometrics is a newly-developing cross-disciplinary subject based on mathematics and computer technology, combining multivariate analysis with chemical research. Chemical pattern recognition, as a significant part of chemometrics, has become an important means of the material basis research, widely used in processing study. This paper discusses the application of chemical pattern recognition in screening the processing technology, detecting the changes of chemical composition, involving the transform of the medicinal properties, synergism and attenuation, and medicinal tropism. The analysis discusses the research problems and development trend on the chemical pattern recognition applying in the processing mechanism of CMM.

Key words: chemometrics; chemical pattern recognition; Chinese materia medica processing; optimization of processing technology; pharmacodynamic material basis

炮制用药是中医用药的一大特色和优势, 是以中医药理论为指导, 依据制剂要求、药物自身性质、临床应用疗效而逐步形成的一门独特的制药技术。

中药炮制分为净制、切制、炮炙等系列步骤与过程, 其中, 炮炙中的炒制、酒制、蒸制、醋制等处理过程, 是中药中化学成分发生复杂量变和质变的过程,

收稿日期: 2021-07-30

基金项目: “兴辽英才”计划 (XLYC1905019); 沈阳药科大学监管科学院项目 (2021jgkx009)

作者简介: 尹燕 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制、中药分析。E-mail: 1551518216@qq.com

*通信作者: 高慧媛 (1971—), 沈阳药科大学 1997 级硕博连读药物化学专业校友, 教授, 博士生导师, 沈阳药科大学中药学院副院长, 学科带头人, 兴辽英才百千万人才-领军人才, 主持及联合主持国家自然科学基金项目 4 项, 作为主要完成人参与完成国家“十五”和“十一五”重大科技专项、国家科技支撑计划子课题项目 5 项, 主要从事天然药物、中药活性物质基础及新药设计研究。

Tel: (024)43520781 E-mail: sypugaohy@163.com

这一过程涉及酶、中间产物、外加条件等众多因素,经过炮制后以达到减毒增效、改变药性、引药归经的目的。因此,探究中药炮制前后物质成分变化实质及规律,是科学阐明中药炮制原理、正确掌握中药炮制加工工艺的基础关键。

化学计量学(chemometrics)又称化学统计学,是以数学、统计学、计算机科学与化学结合而形成的化学分支学科,其最重要的特征是将多变量的分析方法引入化学研究中,对化学量测数据进行多元处理与解析,创建与优化各种化学模型,并从复杂的化学量测数据中最大限度地提取有关物质系统成分、结构及其他相关信息^[1]。主要研究方法包括采样理论(如计量检验、计数检验)与数据处理(如回归与相关分析、方差分析)、实验设计和优化方法(如正交试验、响应面法)、多元校正和多元分辨(如线性与非线性校正、重叠信号的去积)^[2]、化学模式识别(如有监督模式识别、无监督模式识别)、人工智能及专家系统等^[3]。其中,优化实验设计法中的正交试验法和响应面法在多因素、多水平工艺参数

的优化、筛选中取得了较好的成果,在中药炮制条件优化研究中较为常用。

而化学模式识别作为化学计量学的重要组成部分,其是将原始数据集中差异性信息提取并分类的化学计量学手段,已在中药炮制研究中广泛应用。多组分、多途径、多靶点的作用模式是中药防病治病的特色优势,中药成分复杂多样,而复方配伍用药更加大了成分的复杂性,为此,在探究中药药效物质基础,尤其是探究炮制原理等科学问题中引入化学模式识别,则可有效解决传统化学方法难以解决的“成分变化-功能变化”间相互动态关联等难点问题^[4]。近几年,随着学科间的交叉融合,也为阐明中药炮制原理等科学问题,将化学模式识别融入中药炮制的研究报道也不断出现,为系统理解这一应用意义,本文对国内、外相关文献进行系统调研,就化学模式识别在中药炮制研究方面的应用进行综述,以期对中药炮制研究提供一定借鉴参考。

图1为总结的化学模式识别在中药炮制应用上的基本模式。

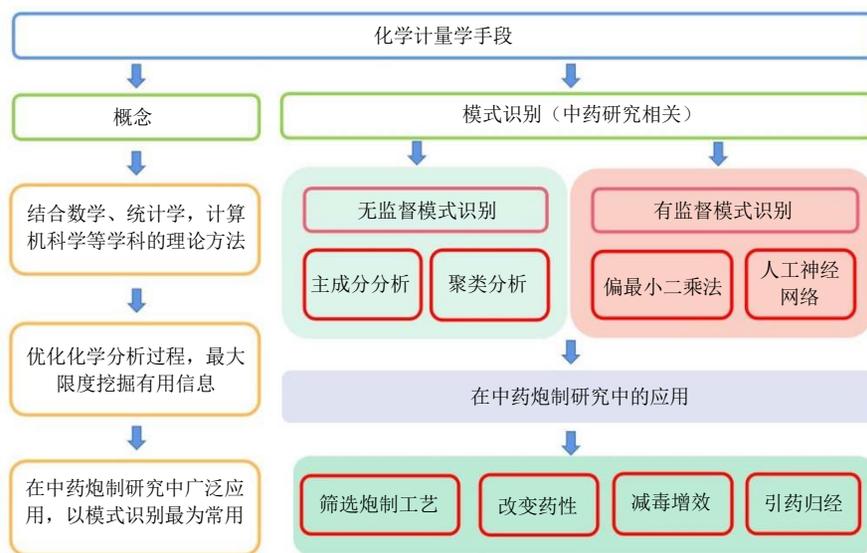


图1 化学模式识别在炮制应用上的基本模式

Fig. 1 Application model for chemical pattern recognition being used in Chinese materia medica processing

1 化学模式识别

化学模式识别按照有无训练可划分为无监督模式识别和有监督模式识别方法。两者的本质区别在于是否对实验样本所属的类别进行预先分类^[5]。在无样本类别信息的情况下,根据数据本身属性而获取样本类别信息的方法,即为无监督模式识别,如聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)等^[6];而有监

督模式识别是对已知类别的样本采用特定的方法或模型进行训练,建立分类模型^[7],随后利用获得的分类模型依照未知样本特征,对未知样本进行分类,常见方法有偏最小二乘法(partial least-squares, PLS)、人工神经网络(artificial neural networks, ANN)等^[8]。通常在研究过程中,将有监督模式与无监督模式联合应用,相互补充,获得科学可靠的实验结果,数据分析基本流程见图2。

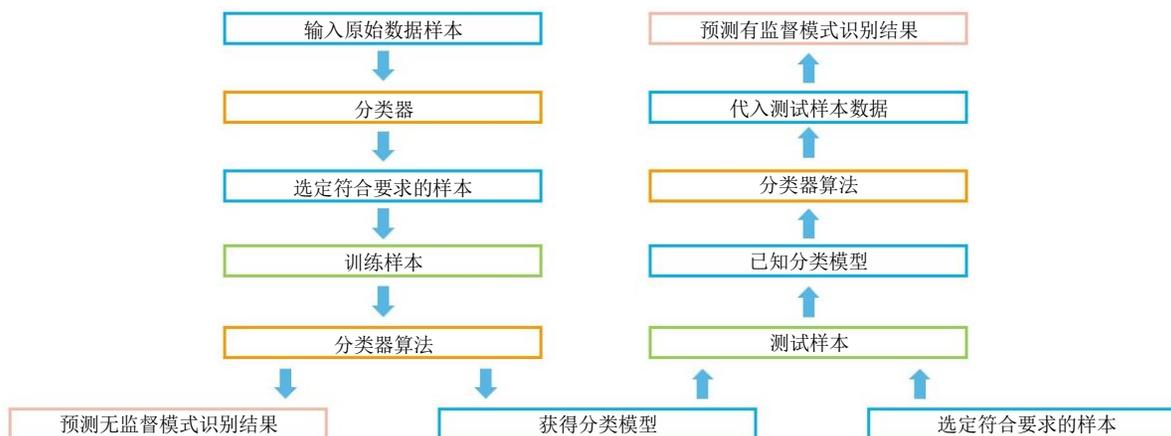


图2 化学模式识别数据分析基本流程

Fig. 2 Basic process of data analysis in chemical pattern recognition

1.1 无监督模式识别

1.1.1 聚类分析 聚类分析又称群分析，是指在没有任何先验知识的情况下，根据样本特征和性质上的相似程度，对样本进行分类的多元统计方法。聚类分析参考的主要指标是相关系数和距离，其结果是使归为一类的样本即类内元素的距离近、差异小，达到同性质最大化，而不同类的样本即类间元素的距离远、差异大，达到异性质最大化。该方法在对数据做初步探索性分析时较为常用，具有直观、结论形式简明的优点。但当样本量较大时，聚类分析法不能对样本进行准确的分类预测^[9]。

1.1.2 PCA PCA 又称主分量分析，是一种简化数据集的方法。在处理多变量问题时，变量过多使分析问题的复杂性增加，而 PCA 法采用降维的思想，在空间数据中获取能够控制所有变量的几个主成分，将数据从高维空间降至低维。一般情况下提取特征值大于 1 或累积方差贡献率超过 80% 的因子即可作为主成分，后续利用主成分得分绘制所有样本的二维和三维投影图，将样本间的差异进行可视化分析，而实现样本分类。该方法最大特点是用较少的综合指标代替原有的较多变量，使冗余复杂的信息简单化。图 3 为主成分分析的基本流程^[10]。

PCA 法侧重于信息贡献影响力的综合评价，具有操作简单，数据直观、可信度高的优点。但当原始信息间没有较强的相关性时，PCA 的降维意义不大，原始数据无法利用获得的主成分而直观的表现样本间关系，这时则需要通过 PLS 等分析方法做进一步分析^[11]。

1.2 有监督模式识别

1.2.1 PLS 当样本数据集间相关性较低时，PLS



图3 PCA 法基本流程

Fig. 3 Flow chat of PCA

则无法进行良好的降维，PLS 作为一种新型的有监督降维方法，可有效弥补 PCA 中的不足。PLS 是通过预测变量及响应变量之间的协方差来探索二者相关性的一种回归方法，其基于主成分回归，从原始预测变量 (x_1, x_2, \dots, x_n) 选择与响应变量相关性强的变量去重新组合成为新的预测变量，进一步与响应变量进行回归，其基本算法为最小二乘法，因为对预测变量选择的偏向性，故称为 PLS。该方法依据 R^2 和 Q^2 值判断所建立的模型是否可靠^[12]。 R^2_X 和 R^2_Y 分别表示所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率，其数值越接近于 1 说明模型越好，越低说明模型的拟合准确性越差； Q^2 表示模型的预测能力，其数值大于 0.5 时则表示模型对未知样品有较好的预测能力。PLS 的优点是将系统中的数据信息进行分解和筛选，对因变量解释性最强的综合变量进行提取，改善多元数据维度高、噪声大等问题，克服变量多重相关性在系统建模中引起的不良作用^[13]。

判别分析是指在确定研究对象的判别标准后，以此为依据，结合研究对象的各项特征将其归到已

知类别的过程。偏最小二乘-判别分析 (partial least-squares discrimination analysis, PLS-DA) 是 PLS 的一种转化形式, 将 PLS 应用于判别分析中, 可同时实现多元线性回归和 PCA。而 PLS 的进阶形式为正交偏最小二乘法 (orthogonal partial least-squares, OPLS), 即在选择的预测变量与响应变量相关且正交, 其最大特点是分类信息集中在一个主成分, 使模型简单且易于解释^[14]。

1.2.2 ANN 为模仿生物神经网络行为特征的一种数学抽象模型, 相比于其它模式识别技术, ANN 模仿人脑处理信息, 通过调整内部大量节点间相互连接的关系, 达到处理信息的目的。利用网络对输入的特定值进行概况与提取, 获得相应的输出值。具有自组织、自学习、自适应能力, 有较强的容错性及分布储存与并行处理信息的功能, 在解决不正确的非线性测量数据及处理信息量大等问题中有突出优势^[15]。以算法为分类依据, ANN 的常用模型有误差反向传输 (back Propagation, BP) ANN、径向基函数 (radial basis function, RBF) ANN 以及 Kohonen 神经网络等^[16]。BP 神经网络是一种采用了 BP 算法的非线性网络, 主要由输入层、隐含层及输出层三个部分组成, 是一种多层前向神经网络, 其应用已经非常广泛和成熟; RBF 算法采用了多维空间插值, 是一种传统算法, 与其结合应用的 ANN 称作 RBF 神经网络, 是一种局部连接的前向神经网络, 其主要组成部分与 BP 网络相同, 可以通过“升维”的方式将低维线性不可分的问题转变成线性可分的问题, 训练集简单且收敛速度快; Kohonen 网络是一种由输入层和竞争层组成的无监督学习的自组织竞争型网络, 其通过调整输入层和竞争层之间的连接权值进行聚类, 主要适用于特征不明显的样本提取和非线性分布等情况^[17]。

2 化学模式识别在中药炮制中的应用

2.1 化学模式识别在筛选炮制工艺中的应用

对于同种药物而言, 采用的炮制方法不同, 其所呈现的药效也不同^[18-19]。为使炮制后的药材能够充分发挥药效, 且最大限度地降低毒副作用, 制定一个合理、高效、符合临床用药需求的炮制加工方法就显得尤为重要。传统中药炮制工艺多凭经验传承, 缺少相关工艺参数为支撑^[20], 化学计量学的引入则可确定中药炮制过程中涉及的实验条件、工艺参数、优化和筛选问题, 为科学、合理的中药炮制工艺制定提供指导, 这部分研究常以实验设计与优

化 (如正交试验法、响应曲面法) 及化学模式识别联合应用。

屠万倩等^[21]基于“酸入肝经”的中医理论, 依据牛膝临床功效, 对醋制牛膝的炮制工艺进行优化筛选: 首先采用正交试验法考察醋种类、加醋量、炒制时间和闷润时间对甾酮、皂苷类单体及总甾酮、总皂苷和总多糖等指标成分含量的影响, 联合主成分分析法, 发现醋的种类对指标成分的含量有较大影响, 而加醋量及炒制时间对含量影响较小, 实验最终以主成分分析的综合得分为标准获得牛膝的最佳醋制工艺: 质量比为 20% 的陈醋闷润 30 min 后炒制 20 min。郑凯旋等^[22]首次对蜜炙川芎的炮制工艺进行优化, 以蜜炙川芎中阿魏酸、藁本内酯的含量作为评价指标, 采用响应面法考察 4 个主要影响蜜炙的炮制因素, 包括加蜜量、炮制温度、炮制时间、闷润时间, 确定初步的炮制工艺参数。以响应面法得到的数据为基础, 利用 ANN 法对非线性模型有较好预测能力的优势, 进一步优化炮制工艺参数, 最终以加蜜量 25%、炮制温度 160 °C、炮制时间 15 min、闷润时间 2.5 h 为最优蜜炙工艺。该研究将响应面法与 ANN 联用, 建立川芎最佳蜜汁工艺, 实验数据准确可靠, 具备饮片炮制规范化生产的可行性。罗妮妮等^[23]采用正交试验结合 ANN 模型对蓬莪术的炮制工艺进行优化, 研究以蓬莪术中姜黄素、挥发油提取量及干膏收率为评价指标, 建立了稳定、可行的炮制工艺, 为完善醋制莪术质量标准提供参考。刘丽婷等^[24]在单因素实验的基础上, 采用响应曲面法考察了甘草用量、闷润时间、炒制温度对吴茱萸质量的影响, 最终优选出的炮制工艺可得到质量较好的吴茱萸炮制品。

在炮制工艺优化中, 以正交试验、响应面法与主成分分析、ANN 法的联合应用已经十分广泛。这是由于多指标、多因素的参数设计常需要进行反复的验证性工作, 而单独使用正交试验或响应面法不足以反映炮制工艺中多因素、多水平的非线性关系, 因此常将正交试验或响应面法与 PCA 法结合, 利用 PCA 法的降维思想, 将多指标简化为几个综合指标, 避免了在评价多个指标时的主观性, 使实验数据更科学可靠; 或将正交试验或响应面法与 ANN 相结合, 利用 ANN 对非线性模型有准确预测的优势, 对影响炮制工艺的因素水平进行精确优化。

2.2 化学模式识别在探讨炮制改变药性中的应用

“四气五味、升降沉浮”是中药的基本性能。四

气,即指中药寒、凉、温、热的属性;五味,即酸、苦、甘、辛、咸的味性;升降沉浮,则为中药作用于人体的4种趋向性^[25]。由于中医临床病症复杂,中药炮制后则可增性、缓性、改性而更好地满足临床需求,如胆汁制黄连增其寒性、酒制仙茅增其热性、甘草制远志缓其燥性^[26]、胆汁制南星改辛温性味为苦凉^[27]、酒制黄柏则改沉降为升浮,引药上行,清上焦之热^[28]。

利用化学模式识别揭示中药炮制药性改变的科学内涵,可在一定程度上揭示中药炮制改变药性的目的所在。李昕弦^[29]研究了黄连姜炙前后药性的寒凉变化,ig给予大鼠生黄连和姜黄连水煎液,考察与能量代谢相关的3条代谢途径中10个关键酶的含量及活性,发现姜黄连对能量代谢过程中酶活性的降低作用显著弱于生黄连;就10个指标性成分进行PCA,结果表明正常组、生黄连组及姜黄连组的能量代谢有显著性差异,氧化磷酸化途径中的线粒体呼吸链复合物II和III是影响生黄连和姜黄连能量代谢的主要差异指标,通过分析能量代谢的变化情况,发现寒凉药物抑制机体功能,可降低能量代谢过程中关键酶的活性。神经化学物质,如氨基酸和生物原胺类,在中枢神经系统及内分泌系统中发挥着重要的调节作用^[30-33]。人参、西洋参中的主成分人参皂苷,可通过调节神经化学物质而发挥对神经系统、内分泌系统的调节作用。黄鑫等^[34]通过考察人参、西洋参及其炮制品红参和西洋红参中神经化学物质含量变化情况来反映炮制前后的温、凉药性变化。采用HPLC/MS技术分别测定空白对照组、各给药组大鼠血浆中24种神经化学物质的含量,以其为统计变量,利用PCA对所有样本进行整体评价和区分,则组间区分良好,以PLS-DA来识别神经化学物质中与温凉药性相关的标记物,并利用判别系数大小判断药性的温凉程度。则证实人参、红参性温,且红参的药性温于人参,而西洋参、西洋红参性凉,西洋红参凉性弱于西洋参。

在中药炮制药性变化的研究中,常与各种仪器分析方法联用,如HPLC、HPLC/MS、紫外分光光度法或红外光谱法等去定量或定性研究药性与物质成分间的相关性,这些物质成分可分为无机元素、初生物质或次生物质3个层面,继而利用PCA法对所有样本进行整体评价和区分,最后建立PLS-DA分析模型,利用判别系数识别中药药性特征标记物,进而判断中药炮制前后寒、热、温、凉等药性变化。

2.3 化学模式识别在中药炮制减毒增效研究中的应用

2.3.1 减毒作用 炮制减毒是保证临床用药安全的重要手段,通过不同的炮制方法,可有效减轻药物毒、副作用。如净制去毒,即切除药材的毒性部位,如人参、甘草去芦^[35];加热去毒,采用炒、炖等高温方法,如马钱子沙炒,可明显减少其内部有毒成分^[36];加辅料炮制减毒,半夏生品有强刺激性毒性,其主要毒性成分草酸钙针晶和凝集素蛋白经姜制后含量显著下降^[37];制霜减毒,巴豆毒性极大,用前须炮制减毒,经制霜后其所含的毒性蛋白含量降低,达到入药标准^[38]。

药物中的毒性物质通过炮制后化学结构发生变化,如分解、开环氧化,或毒性成分含量减少所致,而应用化学模式识别可有效的监测毒性成分的化学结构变化,如中药栀子在发挥保肝利胆功效的同时,也伴有一定的肝肾毒性^[39-40],刘静婷^[41]探讨了栀子炮制前后化学成分及肝肾毒性的变化,采用UPLC法对炒栀子、姜栀子、焦栀子、栀子炭不同炮制品中的6种主要化学成分进行了含量测定,同时考察了给予大鼠不同炮制品后其肝肾毒性指标的变化情况,以不同炮制品中化学成分和肝肾毒性指标的综合数据进行聚类分析及PCA,则2种分析方法都对不同炮制品进有很好的区分度,通过PLS-DA法揭示了6种化学成分中以栀子苷、西红花苷I对肝肾毒性贡献率最大,提示栀子苷和西红花苷I是不同炮制品中肝肾毒性的物质基础;进一步研究发现生栀子中栀子苷和西红花苷I的含量最高,而在栀子炭中含量最低,化学成分的含量变化,证明了生栀子炮制后可减轻肝肾毒性。中药何首乌在发挥药效的同时偶尔伴有肝毒性^[42],Han等^[43]采用UPLC-四极杆轨道阱-MS法结合化学模式识别,研究何首乌及其炮制品的毒性差异并确定毒性标志物,利用液质联用技术在生品和不同炮炙品中确定了16个次级代谢产物。PCA对何首乌生品及炮制品进行了较好的区分,OPLS-DA发现炮制品与生品相比存在2个含量明显降低的差异性成分,推测二者为毒性物质,且炮制的过程中破坏了化学结构。最后利用体外细胞实验进行验证,确定了emodin-8-O-glucoside和torachryson-O-hexose为何首乌中2个潜在的毒性标记物,2种化学成分在炮制的过程中含量降低,达到了炮制减毒的目的。任丽等^[44]采用聚类分析和PCA相结合法检测钩吻炮制前后主要生物碱类成

分的变化情况,结果表明炮制后毒性成分胡蔓藤碱丙、钩吻素子、钩吻绿碱、胡蔓藤碱乙成分含量显著下降,而有效成分钩吻素甲含量升高,揭示了钩吻炮制前后减毒存效的内在机制。此外李红军等^[45]通过超高相液相色谱-飞行时间质谱技术对款冬花蜜汁前后化学成分变化进行分析鉴定,PCA及OPLS-DA法揭示出蜜制后款冬花中具有肝毒性的吡咯里西啶生物碱含量下降,从化学成分角度阐述了款冬花蜜制减毒的潜在机制。

有毒中药材在炮制过程中,不仅使中药所含的毒性成分结构发生转变,同时也调控与机体肝、肾毒性或能量代谢及糖酵解途径密切相关的初生代谢物质,因此,也可通过化学模式识别手段寻找与肝肾毒性有关的生物标记物而阐明炮制减毒机制。霍金海^[46]在前期研究中发现北青龙衣以鲜品入药时存在一定的毒性作用,采用低温变温炮制技术能够有效促进毒性成分胡桃醌的转化,降低药物毒性。随后利用化学计量学方法对炮制后的北青龙衣干品在机体内的解毒机理进行阐述。PCA对空白组、北青龙衣干品组、鲜品组及胡桃醌组大鼠的尿液、血液、组织样本进行分析,利用OPLS-DA筛选北青龙衣鲜品及胡桃醌毒性代谢标志物,最终确定33个毒性代谢标志物,涉及19条代谢通路。

2.3.2 增效作用 中药材通过适当的加工炮制,如切、炒、蒸、煮等可提高药物有效成分的溶出率,增强药效^[47];也可利用辅料炮制,通过辅料的作用直达病灶^[28]。不同的炮制条件还可使药物有效成分发生化学发应(如异构化反应、水解反应等),导致化学结构变化,改变药物活性成分的化学组成^[48]。简言之,炮制增效,其根本就是炮制对药效物质基础的影响,是基于化学成分变化而导致的药效变化。因此,可从化学成分改变并结合药理作用变化的角度研究炮制增效的机制。生、炒骨碎补有着不同的临床应用。Hu等^[49]应用HPLC指纹图谱并结合化学计量学评价生、炒骨碎补化学成分的差异性,建立指纹图谱对生骨碎补和炒骨碎补做相似性评价,聚类分析和PCA将生品和炮制品明显分为2类,提示药材经炒制后化学或含量发生变化,利用PLS-DA揭示出生骨碎补与炒骨碎补的7个潜在差异性标记物。Su等^[50]采用超高效液相色谱-三重四极杆飞行时间质谱联合化学模式识别寻找用于区分生品五味子与醋制五味子的差异性化学成分。通过PCA及OPLS-DA成功筛选出五味子素B、五味子素D、

五味子素A、5-羟甲基糠醛为区分生品与醋制品的化学标志物,且五味子素B、五味子素D、及5-羟甲基糠醛是醋制五味子表现更强临床疗效的药效物质基础。戚晓杰^[51]利用化学模式识别手段从代谢组学的角度解释了苍术麸炒后药效增强的作用机制。通过建立大鼠脾虚证模型评价生苍术和麸炒苍术的治疗作用,结果表明苍术麸炒后治疗效果更佳。采用液质联用并结合PCA和OPLS-DA,在脾虚大鼠血浆中共筛选获得17个脾虚差异代谢物。生、麸炒苍术对差异性代谢成分均表现出正向调节作用,对差异性代谢物的调控涉及氨基酸、脂质和糖代谢3大代谢途径,且麸炒苍术的调节作用优于生苍术,阐明了苍术麸炒后药效增强的作用机制。吕新^[52]采用超高效液相色谱-线性离子阱-串联静电轨道阱法,结合PCA及PLS-DA对生龙胆和酒龙胆中差异性成分进行分析,结果表明酒制导致龙胆苦苷含量增加,进一步利用药动学研究揭示酒制可促进龙胆苦苷在大鼠体内吸收速度,研究为酒龙胆炮制增效机理研究奠定基础。此外,任洪民等^[53]通过超高效液相色谱-四级杆-飞行时间串联质谱法对多花黄精生品及酒制品成分进行快速分析鉴定,并对获得的质谱数据进行PCA及OPLS-DA,筛选得到kingianoside Z、disporopsin、亚油酸等16个炮制差异成分,揭示差异性成分的化学变化是多花黄精炮制增效的物质基础。

2.4 化学模式识别在中药炮制引药归经中的应用

在中医理论中,药物对机体的选择性作用被称为归经,其中的“经”,是指经络和脏腑。引药归经的关键过程是利用经络完成对药物的运输,使药物到达人体病灶范围而发挥药效作用^[54]。炮制对归经的影响主要分为2方面:一是改变归经,同一种药物制法不同,则归经不同^[55],如生姜入肺经,炮姜入脾经,而干姜入心经。二是增强归经,一种中药材经炮制后可增强其某一归经作用,提高中药对某一经络、脏腑的治疗作用。不同的辅料炮制对归经也有不同影响^[56],如图4所示。

近年来,化学模式识别已广泛应用于探索炮制“引药归经”的化学机制。孙慧敏^[57]为明确柴胡醋制前后化学成分差异,解释柴胡醋制后增强归经的作用机制,对柴胡醋制前后化学成分及保肝作用进行比较。¹H-NMR法指认出生品柴胡和醋制柴胡中的36个初级及次级代谢物。柴胡和醋制柴胡可通过PCA得到明显区分,PLS-DA确定了炮制前后两者

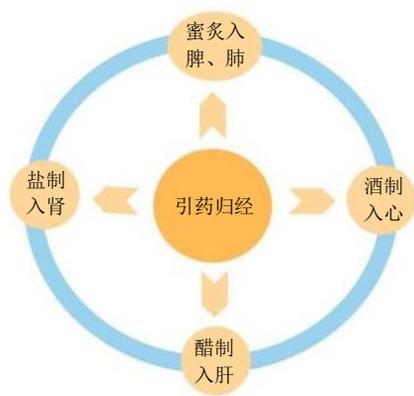


图 4 不同辅料对药物归经的影响

Fig. 4 Influence of different excipients on medicinal tropism

中的差异性成分。随后建立大鼠 CCl₄ 肝损伤模型，通过 PCA 发现相对于生品，醋制柴胡对肝保护作用更接近正常组，证实了炮制后可增强归经作用。对醋制柴胡组大鼠生物样本进行 PLS-DA，鉴定出 9 个相关的生物标记物，通过分析代谢途径阐释了醋制入肝经，可增强柴胡保肝作用的机制。

将化学模式识别应用于中药减毒增效、引药归经的研究中，其本质就是利用化学模式识别手段评价中药材炮制前后化学成分变化情况，包括化学成分含量或化学成分组成的变化；或利用化学模式识别实现对生物样本中潜在差异性标志物的识别，进而阐释中药炮制后可降低毒性、增强药效、引药归经的作用机制。研究思路可概述为（图 5）：首先对

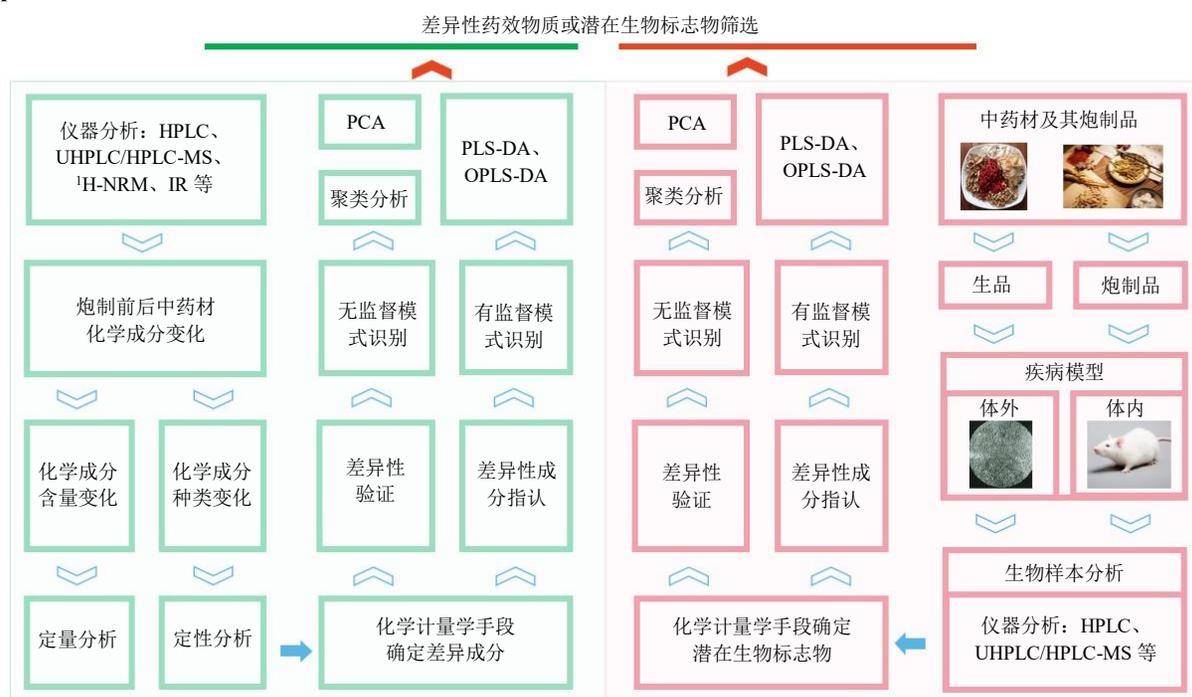


图 5 中药炮制前后差异性药效物质或潜在生物标志物筛选流程

Fig. 5 Screening process of discrepant pharmacodynamic substances or potential biomarkers after processing of CMM

多种分析方法，如高效液相色谱、高效液相-质谱、超高效液相-质谱、¹H-NMR 核磁共振谱中获取的数据进行初步分析（定性或定量）；利用聚类分析对某些相似的样本聚集成簇，或 PCA 去直观的显示不同样品间的整体差异；最后利用 PLS-DA 或 OPLS-DA 将组间差异最大化，筛选负责分类的标记成分，确定潜在差异物。

3 结语与展望

不同的化学模式识别方法其所适用的范围不同，优缺点不同，可依据实验目的不同将多种方法联合应用。无监督识别法可反映数据的原始状态，

了解数据结构，对样品进行较好的聚类，直观显示不同样品间整体差异，但缺乏对样品进行分类识别的标准。常用的无监督模式识别有聚类分析和 PCA，聚类分析的结果简洁、直观，但当样本过多时，其得出结果的可信度降低，而依据少数的几个样本得出的结论往往不够精确，不具备说服力，因此，聚类分析常用于中药炮制研究的初步探索；与聚类分析相比，PCA 适用于样本量较多的情况，其通过降维从繁杂冗余的化学量测数据中最大限度地提取有效信息，但当样本间的特征几乎没有关联度时，PCA 的降维就失去了意义，此时需要与有监督

模式识别联合使用。有监督识别模式可通过学习样本集建立判别参数和标准,筛选作为分类的标记,而不解释数据集中的差异,如PLS,常需要先通过PCA得到训练集,并以此为标准进一步使用。因此,在实际操作中,常将无监督模式的分类能力与有监督模式的判别能力结合使用,两者相互补充,相互印证,从而避免独立使用一种化学模式识别方法所造成的假阳性结果。

中药传统炮制理论如“改变药性”“减毒增效”“引药归经”等,究其根本,是探讨中药炮制前后药效物质成分的量与质的变化,传统的研究手段是基于HPLC的定性、定量分析,而针对中药材多组分体系特点,仅利用HPLC法就显得过于局限,且针对大量化学数据,要筛选出有用的信息也使得工作量较为繁重。而化学模式识别作为一种综合数学学科与计算机技术的现代研究手段,以成分分析、多组分、多变量表征的特点对中药炮制研究形成有力的指导,其与传统的研究手段相结合,可降低研究难度并减少不必要工作,是未来炮制研究中的主流方法,构建了以多学科交叉、多层次、全方位中药炮制机制的创新研究模式,挖掘中药炮制的现代科学内涵,丰富中药炮制理论,为中药炮制现代化发展奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 贾文志. 化学计量学在分析化学中应用 [J]. 黑龙江科技信息, 2016(11): 96.
- [2] 梁逸曾, 俞汝勤. 化学计量学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003: 24-32.
- [3] 梁逸曾, 吴海龙, 沈国励, 等. 分析化学计量学的若干新进展 [J]. 中国科学 (B 辑): 化学, 2006, 36(2): 93-100.
- [4] He M, Zhou Y. How to identify “Material basis-Quality markers” more accurately in Chinese herbal medicines from modern chromatography-mass spectrometry datasets: Opportunities and challenges of chemometric tools [J]. *Chin Herb Med*, 2021, 13(1): 2-16.
- [5] 申明金, 贾飞云, 柴震. 化学计量学在中药研究中的应用 [J]. 山西医药杂志, 2010, 39(9): 795-798.
- [6] 王乐, 李素霞, 陈晶. 中药指纹图谱在中药质量控制中的应用 [J]. 河北化工, 2010, 33(1): 71-73.
- [7] 阿基业. 代谢组学数据处理方法: 主成分分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(5): 481-489.
- [8] 邓乃扬, 田英杰. 支持向量机: 理论、算法与拓展 [M]. 北京: 科学出版社, 2009: 125-128.
- [9] Bocklitz T, Richard G. Brereton: Chemometrics driven extraction for science, 2nd ed [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(14): 2995-2996.
- [10] 陈佩. 主成分分析法研究及其在特征提取中的应用 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2014.
- [11] 石岩, 魏锋, 马双成. 关于主成分分析在中药和天然药物分析研究中应用的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(14): 3031-3035.
- [12] Singer M, Krivobokova T, Munk A, et al. Partial least squares for dependent data [J]. *Biometrika*, 2016, 103(2): 351-362.
- [13] 孙立丽, 王萌, 任晓亮. 化学模式识别方法在中药质量控制研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2017, 48(20): 4339-4345.
- [14] Yang Q, Lin S S, Yang J T, et al. Detection of inborn errors of metabolism utilizing GC-MS urinary metabolomics coupled with a modified orthogonal partial least squares discriminant analysis [J]. *Talanta*, 2017, 165: 545-552.
- [15] 夏瑜潞. 神经网络的发展综述 [J]. 电脑知识与技术, 2019, 15(20): 227-229.
- [16] 梁逸曾, 杜一平. 分析化学计量学 [M]. 重庆: 重庆大学出版社, 2004: 24-32.
- [17] 牛志娟. 基于神经网络预测与分类的应用研究 [D]. 太原: 中北大学, 2016.
- [18] 罗诚, 黄永亮, 彭伟, 等. 中药饮片“炮制调剂一体化”服务模式的思考与构建 [J]. 中药与临床, 2020, 11(1): 61-63.
- [19] 李涛, 莫雪林, 程雪娇, 等. 中药饮片“炮制经验”客观化研究的思考 [J]. 时珍国医国药, 2016, 27(12): 2919-2922.
- [20] 胡志平, 邓先扩, 王传明, 等. 炮制对中药质量的差异性浅析 [J]. 黔南民族医学学报, 2021, 34(2): 155-157.
- [21] 屠万倩, 张钰, 李桂本, 等. 正交试验-主成分分析法优选牛膝醋制工艺 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(8): 990-994.
- [22] 郑凯旋, 赵永峰, 李文兵, 等. Box-Behnken 响应面法结合神经网络优选蜜炙川芎炮制工艺 [J]. 中药材, 2017, 40(9): 2055-2059.
- [23] 罗妮妮, 程玲, 傅超美, 等. 正交试验结合神经网络模型优化蓬莪术炮制工艺 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24): 10-13.
- [24] 刘丽婷, 肖洋, 李捷, 等. 制吴茱萸炮制工艺的优化及炮制前后色味变化规律的研究 [J]. 中南药学, 2020, 18(3): 411-417.
- [25] 钟凌云, 崔美娜, 杨明, 等. 炮制影响中药药性的现代研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(23): 5109-5113.
- [26] 马丽. 中药炮制机制的现代研究进展 [J]. 光明中医, 2019, 34(13): 2102-2104.

- [27] 刘敏. 钱乙传世名方 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013: 3-11.
- [28] 陈晓雨. 浅谈中药炮制对中药药性药效及化学成分的影响 [J]. 中国民间疗法, 2018, 26(12): 106,108.
- [29] 李昕弦. 姜黄连标准饮片基础研究与药性分析 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.
- [30] Zhao L S, Zheng S N, Su G Y, *et al.* *In vivo* study on the neurotransmitters and their metabolites change in depressive disorder rat plasma by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2015, 988: 59-65.
- [31] Kenche V B, Zawisza I, Masters C L, *et al.* Mixed ligand Cu²⁺ complexes of a model therapeutic with Alzheimer's amyloid- β peptide and monoamine neurotransmitters [J]. *Inorg Chem*, 2013, 52(8): 4303-4318.
- [32] Brichta L, Greengard P, Flajolet M. Advances in the pharmacological treatment of Parkinson's disease: Targeting neurotransmitter systems [J]. *Trends Neurosci*, 2013, 36(9): 543-554.
- [33] Zhou Z L, Li F. Gas chromatography-mass spectrometry combined Fisher statistics for the determination of cold-heat nature of traditional Chinese medicine [A] // 2010 Sixth International Conference on Natural Computation [C]. Yantai, China: IEEE, 2010: 4010-4013.
- [34] 黄鑫, 王妮, 张娜, 等. 基于神经化学分析研究炮制对人参和西洋参药性的影响 [J]. 分析化学, 2019, 47(6): 957-963.
- [35] 林强. 5种毒药的中毒机理及炮制原理 [J]. 海峡药学, 2006, 18(5): 99-101.
- [36] 周远征, 贾天柱, 林桂梅. 炮制对中药药性影响的研究进展 [J]. 中国药房, 2013, 24(19): 1822-1824.
- [37] 王桁杰, 梁君. 半夏毒性成分及炮制解毒机理研究 [J]. 科技经济导刊, 2019, 27(31): 108-109.
- [38] 程明. 中药净制意义的探讨 [J]. 中成药, 1989, 11(12): 20-21.
- [39] 王亭. 中药栀子有效成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国药师, 2015, 18(10): 1782-1784.
- [40] 林庆勋, 徐列明. 栀子水提液对小鼠急性肝损伤的治疗及肝毒性作用观察 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(6): 65-68.
- [41] 刘静婷. 栀子不同炮制品化学成分变化与肝肾损伤的关联性分析研究 [D]. 晋中: 山西中医药大学, 2020.
- [42] Dong Q, Li N, Li Q, *et al.* Screening for biomarkers of liver injury induced by *Polygonum multiflorum*: A targeted metabolomic study [J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 217.
- [43] Han L F, Wang P, Wang Y L, *et al.* Rapid discovery of the potential toxic compounds in *Polygonum multiflorum* by UHPLC/Q-orbitrap-MS-based metabolomics and correlation analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 329.
- [44] 任丽, 李高攀, 谌赛男, 等. 钩吻炮制减毒存效的物质基础分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(3): 117-124.
- [45] 李红军, 王增绘, 李文涛, 等. UPLC-Q-TOF/MS 法分析款冬花蜜炙前后的化学成分变化 [J]. 中国药房, 2015, 26(6): 792-794.
- [46] 霍金海. 基于代谢组学的北青龙衣质量评价及炮制减毒机制研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [47] 赵晓莹. 中药炮制对药效的影响 [J]. 现代医药卫生, 2009, 25(15): 2354-2355.
- [48] 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): 637-649.
- [49] Hu J, Wang J L, Qin B B, *et al.* Chemometric analyses for the characterization of raw and stir-frying processed *Drynariae Rhizoma* based on HPLC fingerprints [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6651657.
- [50] Su L L, Ding X Y, Cheng X, *et al.* Study on the potential chemical markers for the discrimination between raw and processed *Schisandrae Chinensis Fructus* using UPLC-Q-TOF/MS coupled with multivariate statistical analyses [J]. *J Herb Med*, 2020, 19: 100311.
- [51] 戚晓杰. 基于 LC-MS 技术的苍术炮制前后主要成分药代动力学及代谢组学研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
- [52] 吕新. 基于体内外化学成分差异的龙胆酒制机理研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2019.
- [53] 任洪民, 张金莲, 邓亚玲, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的多花黄精酒制前后化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 110-121.
- [54] 王星. 略述炮制对临床用药的影响 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(16): 133-134.
- [55] 王孝领. 不同炮制方法对中药药性影响的研究进展 [J]. 继续医学教育, 2018, 32(7): 156-157.
- [56] 张启家. 炮制对于中药药性影响的研究进展 [J]. 广西中医药, 2017, 40(3): 22-24.
- [57] 孙慧敏. 柴胡醋制前后的化学及药理比较研究 [D]. 太原: 山西大学, 2015.

[责任编辑 郑礼胜]