

植物代谢组学在根及根茎类中药材中的研究进展

杨钰颖^{1,2}, 苗水², 李雯婷², 季申^{1,2*}

1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203

2. 上海市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203

摘要: 随着生命科学研究的深入和仪器分析手段的进步, 植物代谢组学作为一种重要的分析手段逐渐应用于根及根茎类中药材的研究。通过对植物代谢组学技术在根及根茎类中药品种鉴定、正常及外界因素影响下的种植生长及采收加工等方面的应用进行综述, 为根及根茎类中药的亲缘种属鉴定、生长发育机制、炮制机制及质量安全控制等研究提供可靠依据, 为其药效机制的深入挖掘、人工种植方法的改良、炮制方式的佳选择、市售质量控制及安全性评价等方面的深入研究提供参考, 使植物代谢组学技术在根及根茎类中药全产业链发展中能够更好的发挥其作用。

关键词: 植物代谢组学; 根; 根茎; 中药; 代谢产物; 检测技术

中图分类号: R284 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)20-6856-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.20.029

Research progress on plant metabolomics in root and rhizome traditional Chinese medicine

YANG Yu-ying^{1,2}, MIAO Shui², LI Wen-ting², JI Shen^{1,2}

1. School of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine of National Medical Products Administration, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China

Abstract: With the advancement of life science research and instrumental analysis, plant metabolomics has been gradually applied to the study of root and rhizome herbs as an important analytical tool. The paper reviews the application of plant metabolomics technology in the identification of root and rhizome Chinese medicine species, cultivation and growth under the influence of normal and external factors as well as harvesting and processing, with the aim of providing a reliable basis for research on the identification of related species, growth and development mechanism, preparation mechanism and quality and safety control of root and rhizome traditional Chinese medicine, and providing references for the in-depth research on the mechanism of medicinal efficacy, improvement of artificial cultivation method, optimal selection of preparation method, quality control of marketing and safety evaluation, so that the plant metabolomics technology can better play its role in the development of the whole industrial chain of root and rhizome traditional Chinese medicine.

Key words: plant metabolomics; roots; rhizomes; traditional Chinese medicine; metabolite; detection technology

随着生命科学研究的深入和仪器分析手段的进步, 组学技术逐渐成为探索生命各领域的重要手段^[1-2]。组学科学是对从细胞器到生态系统(包括有机体)的组织层面上参与生命维持与发展的不同分子水平的研究, 包括基因(基因组学)、RNA(转录

组学)、蛋白质(蛋白质组学)、代谢物(代谢组学)等^[3-4]。多种分子水平的组学共同构成庞大的相互作用网络, 以不同角度阐明生物个体的表型性状的成因及产生的功能机制^[5-6], 其中代谢组学的研究具有重要价值(图1)^[7]。植物代谢组学作为代谢组学的

收稿日期: 2023-04-25

基金项目: 国家药典委员会课题(2022Z14); 上海市中药和保健食品品质与安全检测专业技术服务平台(21DZ2290200)

作者简介: 杨钰颖, 硕士研究生, 研究方向为中药质量控制和安全性检测。E-mail: yangyuying2023@163.com

*通信作者: 季申, 博士, 主任药师, 博士生导师, 从事中药、天然药物及保健食品质量控制和安全性检测方法研究。

E-mail: jishen2021@126.com

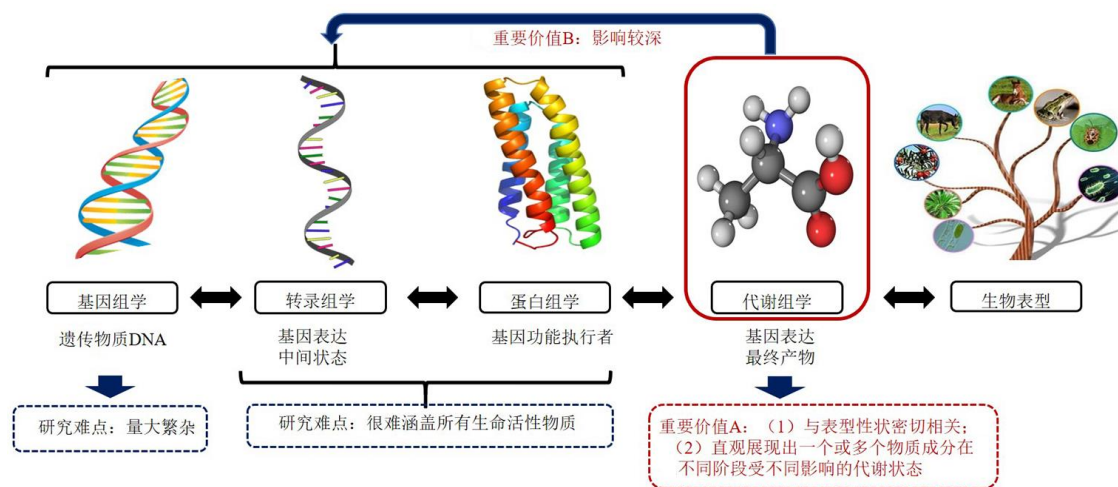


图1 代谢组学研究的重要价值

Fig. 1 Important value of metabolomics research

一个重要分支，在植物品种分类、品质划分及中药药效评价等方面均发挥着重要作用。

我国中药材种类颇丰，其中以植物类型为多，约占中药资源总数的 87%^[8]，根据入药部位划分又包括根、茎、叶、花、果实、种子等。《中国药典》2020 年版收载的 616 种药材和饮片中有 169 种是以根及根茎为入药部位的中药，其比例高达 27.44%，说明该类中药临床应用种类较多，又因其代谢产物具多样性，调节机制较为复杂，突出了探索其潜在生化性质的必要性，故对其植物代谢组学的研究一直是学者们关注的焦点^[9]。

本文对植物代谢组学技术在根及根茎类中药品种鉴定、正常及外界因素影响下的种植生长和采收加工等方面的应用进行综述，为根及根茎类中药的亲缘种属鉴定、生长发育机制、炮制机制及质量安全控制等方面的研究提供可靠依据^[10-11]，为其药效机制的深入挖掘、人工种植方法的改良、炮制方式的佳选择、市售质量控制及安全性评价等方面的深入研究提供参考，使植物代谢组学技术在根及根茎类中药全产业链发展中能够更好的发挥其作用。

1 植物代谢组学

植物代谢组学是指以不同种属、不同基因或不同生态类型的植物在不同生长时期或受到某种刺激干扰条件前后的整体代谢产物为研究对象，借助多种检测技术进行全面的定性、定量分析，找出成分代谢变化规律，从而监控或评价基因功能的一门新兴学科。其研究模块主要包括样本采集加工、样品溶液制备、仪器检测分析匹配、统计数据处理筛选、

代谢途径或代谢网络分析阐释等^[12-15]。其中，对于植物代谢组学技术的应用在很大程度上取决于其全面识别、量化和定位每种代谢物的仪器检测技术及数据分析方法。

目前针对植物代谢组学的仪器检测技术主要有液相色谱-质谱联用技术 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、核磁共振光谱 (nuclear magnetic resonance, NMR)、气相色谱-质谱联用技术 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、毛细管电泳-质谱联用技术 (capillary electrophoresis-mass spectrometry, CE-MS) 和傅里叶变换离子回旋共振-质谱联用技术 (Fourier transform ion cyclotron resonance-mass spectrometry, FI-ICR-MS) 等^[16]，其中以 LC-MS、NMR 和 GC-MS 技术的应用为多。

为了对检测仪器上的数据结果进行进一步的简化，增强数据的可视性，需要进行一定的结果分析。其所获数据的处理方法主要包括主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 等，进而筛选差异代谢物，为后续植物代谢机制性质的深入研究提供基础^[12]。

植物代谢组学的应用主要集中体现在对模式植物如拟南芥及农作物如玉米、大米等不同部位的代谢多样性遗传机制及其与植物复杂性状的关联性研究，进而为优质育种方法的改良、作物品质指标的提升提供一定的依据^[16]。植物代谢组学还多

被用于植物源性食品如茶叶采收时间的确定,蕃茄、草莓等果实成熟后的生理过程研究,从而进行成熟表型机制的探索及采后储藏质量变化因素的确定等^[17-19]。

经近几年报道发现,植物代谢组学技术在中药领域中的应用也在愈发增多,如甘草^[20]、丹参^[21]等大宗药材。

2 植物代谢组学在根及根茎类中药中的应用

近年来,随着中医药事业的不断发展,中药药的防病、治病能力在世界各地都受到广泛关注,而中药质量作为中医临床应用及中药市场扩展的生命线,也亟需保障与提升。中药中含有一些代谢产物特别是次级代谢产物,其结构多变、活性多样,通常也作为中药的药效物质基础,与中药材质量密切相关。由于根及根茎类中药临床应用较多,且具有化学成分复杂和药效成分不明确等特点,采用单个或多个指标成分测定法均不足以全面评价根及根茎类中药材质量。

植物代谢组学技术是一种基于高分辨率和高通量检测平台对样本中化学组成进行全面分析的方法,其分析的概念符合传统中药的整体性概念,可以更科学、全面地反映根及根茎类中药材的内在质量,系统阐释根及根茎类中药材中的化学成分由于品种、生长环境和炮制方法等因素的影响而发生的变化,该技术为根及根茎类中药质量控制提供了一种新思路,同时为中药现代化的深入研究提供了新的技术手段,为中药在成药及药效发挥作用的机制中提供进一步见解或科学依据,促进根及根茎类中药全产业链发展,使中药更好的应用于临床^[15,22-23]。

目前植物代谢组学已被应用于根及根茎类中药种植栽培、采收加工、鉴别分析等方面的研究。

2.1 在中药品种鉴定中的应用

中药品种复杂多样,其正确性一直是中药种植生长、采收加工的源头保证,中药的品种鉴定也是中药质量安全性研究的首要环节。随着根及根茎类中药材人工种植品种的增多、面积的增大,出现了很多盲目引种、不合理临床用药及伪品售卖的情况,且大多无法通过外观性状进行区分,故对其品种鉴定的分析方法一直在发展与完善,以更加准确的识别根及根茎类中药的种间差异。

植物代谢组学于根及根茎类中药材研究中的应用,在为其品种鉴定提供了新方法的同时,还探索了相似品种间药理作用差异与植株内代谢产物品种

及含量的关系,使不同品种在中医临床上能够各自发挥更好的效用。典型根及根茎类中药如麦冬、葛根、黄芪、柴胡等存在的品种差异可能会导致药用质量差异,故需要对其进行差异成分的鉴别。有研究利用高效液相色谱与三重四级杆质谱联用技术(high performance liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry, HPLC-QQQ-MS/MS)结合 PLS-DA 及 PCA 数据处理方法同时分析并筛选了麦冬与山麦冬中 23 种差异性成分,结果发现山麦冬中皂苷的含量显著高于麦冬,而类黄酮的含量趋势则相反,说明二者产生的临床效果可能不同,需区分使用^[24];在对葛根与其变种进行超高效液相-质谱串联(ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS)技术结合 OPLS-DA 及 PCA 的分析中,共鉴定了 614 种代谢物,结果表明葛根与其变种间存在一定的差异性,其中,二者的营养差异可以用核苷酸类、氨基酸类、糖类和脂类成分的丰度差异来解释,而药用品质的差异则是由异黄酮类、酚酸类、有机酸类和香豆素类成分的含量差异所造成,故在临床使用时,需要进行葛根品种的区分以达到其最优的品质效果^[25];焦美丽等^[26]运用 ¹H-NMR 结合 PLS-DA、OPLS-DA 及 PCA 的代谢组学技术对黄芪和红芪 2 个品种进行化学成分分析,发现二者在黄酮、皂苷等药效成分上存在较大差异,在临床应用中应注意区分使用;章莎莎等^[27]利用 GC-MS 结合 PLS-DA、PCA 的代谢组学技术对北柴胡、红柴胡、三岛柴胡、黑柴胡等不同品种的柴胡进行分析,结果发现这几种柴胡中主要活性成分挥发油存在差异,北柴胡和红柴胡的挥发油含量不同,化学组成也存在显著区别,北柴胡与黑柴胡及三岛柴胡的挥发油组成成分虽然结构差异不大,但挥发油的含量存在差异,为不同种类的柴胡在临床合理用药上提供了依据。

植物代谢组学不仅可以分辨根及根茎类中药不同品种间的效用,在其正品与伪品的鉴别中也发挥着重要作用。近几年,中药材市场因供给需求及经济效益等缘由,掺伪掺杂、伪品售卖等现象层出不穷,根及根茎类中药材市场存在类似现象较多,如藏柴胡、锥叶柴胡冒充柴胡、白芷和白芍中掺入滑石粉、西洋参用形状相似的白芷或人参伪品冒充等,此类现象的出现对根及根茎类中药的安全性及有效性产生较大的影响,植物代谢组学的应用为根及根茎类中药材的检测与监管提供了一种新的思路。

Wallace 等^[28]通过 LC-MS 与液相色谱-紫外-可见光谱 (liquid chromatography-ultraviolet, LC-UV) 相结合的非靶向植物代谢组学方法对白毛茛和其伪品黄连进行分析, 可鉴别出白毛茛的掺假率为 5%~95%。麦冬与山麦冬品种不同, 自从山麦冬在《中国药典》中单列出来, 其种植行业就受到了极大的打击, 近些年药材市场总会出现将个头长度均较小的山麦冬作为麦冬进行售卖的情况, Luo 等^[24]利用 LC-MS 的植物代谢组学技术分析了麦冬与山麦冬代谢物间的差异, 为二者的鉴别研究与市场监管提供了新的分析方式。

综上, 植物代谢组学不仅能够识别典型根及根茎类中药材品种间的差异化合物, 还可以初步分析其临床疗效及种间品质的成分机制, 可明显区分典型根及根茎类中药正品、掺杂掺伪品种, 为提高根及根茎类中药材的市售品质及临床使用提供理论基础及数据支撑。根及根茎类中药材品种繁多, 基质复杂, 目前植物代谢组学的研究仍处在发展阶段, 需大量实验数据积累加以阐释。

2.2 在种植栽培过程中的应用

2.2.1 空间分布

根及根茎类中药材在种植过程中, 其内部成分随着生长时间的推移在不同部位中呈现动态分布的特点。植物代谢组学具有无损伤、动态的性质^[29], 可以对同一种根及根茎类中药材在生长发育不同时间段所产生的代谢产物变化进行动态监测, 从而弥补中药传统检测方法的不足, 以更加深入了解根及根茎类中药材的生长发育和药效机制。Tong 等^[21]利用 LC-MS 与解吸电喷雾电离耦合质谱成像 (desorption electrospray ionization-mass spectrometry imaging, DESI-MSI) 相结合的方法, 对丹参中不同代谢产物在植株中的时空分布进行分析, 通过 LC-MS 结合 PLS-DA、OPLS-DA 及 PCA 的植物代谢组学技术初步鉴定了丹参中的 637 种代谢产物, 并利用 DESI-MSI 揭示了 63 种代谢物在不同植物部位的空间分布状态。结果发现导致类黄酮重新分布到花瓣下唇的主要原因是参与类黄酮生物合成的 C-3 位发生羟基化反应, 而导致丹参根和地上部分的酚酸类成分存在差异的主要原因是丹参根中会发生产生杂环酚酸的关键反应——杂环化, 为丹参生长发育机制的阐述及对其进行进一步的蛋白质组学、基因组学等的相关研究提供了科学依据和数据支撑。

传统根及根茎类中药材的药用部位主要是根、

根茎、块根、块茎等, 经文献查阅发现, 对其进行时空分布的代谢组学研究还将有利于其他部位的药用开发。如典型根及根茎类中药材党参、人参、西洋参的药用部位均为根, Zeng 等^[30]通过 UPLC-MS 结合植物代谢组学技术检测鉴定出了党参茎、叶、根中的 1508 种代谢物, 并从中筛选出了 463 种作为差异代谢物, 结果发现党参的茎叶中还含有白术苷、紫丁香苷和苍术内酯等丰富的代谢产物, 推测其茎叶部位可能具有很高的治疗保健价值, 可对其进行进一步的药用开发。李乐乐^[31]通过超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱质谱 (ultrahigh-performance liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap high-resolution mass spectrometry, UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 结合 PCA、PLS-DA 的植物代谢组学技术对人参及西洋参各部位进行成分分析, 发现二者的茎和叶含有和其根中相类似的人参皂苷成分, 这也是人参和西洋参的茎叶部位均存在类似于根的药理作用的主要原因。众所周知, 人参与西洋参的生长周期较长, 入市价格较高, 一般临床仅取根部入药, 而将其茎叶废弃, 此研究证明二者茎叶中同样存在一定的药理活性, 故也可进行进一步的药效开发研究, 以提升中药资源利用水平。

大麻作为中药材, 其主要的入药部位为根或叶, Jin 等^[32]通过 LC-MS、GC-MS 等检测技术对大麻各个部位 (花序、叶片、茎皮和根) 中具有药用价值的次级代谢成分进行靶向植物代谢组学分析, 结果发现大麻花序和叶子中含有相对丰富的大麻素、单萜类、倍半萜类和类黄酮类成分, 而茎皮和根中含有三萜类及甾醇成分较多, 这些具活性的次级代谢成分能够发挥不同的药理作用, 而且不同浓度的不同次级代谢成分的组合也可能会增加其治疗性。由此说明, 中药植株内的活性成分的分布存在动态变化, 其不同部位的种类及含量可能存在差异, 每味中药植株的部分与全部也可能均会产生药用价值, 之前舍弃不用的部位也可能作为新的药用部位重新投入临床使用。综上所述, 不同空间分布的代谢组学研究是将植株的部分与整体联系在一起, 其在中药药效部位的再开发、新药的研制及中药品质的提升方面均会产生重要的作用, 从而为临床用药的选择提供依据, 也为中药市场药材品质的保障及供需关系的缓解提供更为可靠的途径。但目前不同空间的植物代谢组学研究种类较少, 此结论还不足

以支撑所有中药种类,且不同次生代谢产物的协同作用还需要更多数据研究加以验证,故仍需要更多的相关研究来不断发展与完善。

空间分布与时间分布存在一定的关联性。在中药植株的生长过程中,其体内成分在不同生长周期的量丰部位存在一定差异,市售中药材也一般会选取活性成分的富集部位进行采收加工,对根及根茎类中药来说,合适的采收期对药用部位的品质影响尤为重要。有研究利用植物代谢组学对活性成分的空间分布进而对合适的采收时期进行一定的推断。张彩云^[33]利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight mass spectrometry, UPLC-Q-TOF-MS)、NMR 对何首乌代谢物进行全面分析,UPLC-Q-TOF-MS 共分析鉴定出了 49 个化合物,NMR 的检测与 UPLC-Q-TOF-MS 进行互补,分析鉴定出 26 个化合物,同时证明了饱和脂肪酸类和不饱和脂肪酸类化合物的存在,并筛选出 13 种何首乌不同部位的质量评价指标成分,结果表明,苯丙氨酸、阿魏酸、果糖和蔗糖主要存在于何首乌根部,其中能源物质果糖和蔗糖在根中含量高,说明何首乌的茎和叶为根的主要能量供给者,并且在采收时就已提供大量能量于根部,说明典型根及根茎类中药材何首乌的能源成分在根、茎、叶中的动态传递过程,为何首乌的药用生长年限选择提供了一定的依据。

2.2.2 时间分布 根及根茎类中药材在生长发育的不同阶段中,体内次级代谢产物的种类和含量均处在不断的变化之中,不同生长时间会使根及根茎类药材中次级代谢产物存在一定差异,从而影响药材的内在质量及入市后的临床效果。近年来,植物代谢组学为根及根茎类中药材活性成分的时间分布及生长年限选择提供一定的数据基础。

杨应文等^[34]采用 ¹H-NMR 测定 27 个不同生长周期内当归的主要活性成分阿魏酸、藁本内酯、当归多糖,并进行成分归属与动态分析,3 种成分作为当归质量评价指标及主要差异代谢物,成分含量均在第 1 年变化较为平稳,但第 2、3 年变化较显著,说明当归植株在不同生长周期活性成分含量存在差异,对药材的内在质量有具有一定的影响,故需考虑当归生长周期与活性成分积累量,以此确定其最佳采收年限。张娜等^[35]利用 UPLC-Q-TOF-MS、UPLC-QQQ-MS、HPLC 结合 PCA 的植物代谢组学

方法对 1~4 年生的黄芩进行研究,发现不同生长年限的黄芩质量存在差异,并筛选出了黄芩苷、汉黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素 4 个成分作为黄芩质量控制的指标成分,经 HPLC 的定量分析发现指标成分呈一定的规律性,黄芩苷、汉黄芩苷的含量在 1、2 年生的黄芩中逐渐升高,3、4 年生中的含量呈下降趋势,黄芩素、汉黄芩素的含量随年限的增长逐渐升高,而对于黄芩指标成分的总量则在 2 年生时达到最高,第 3 年后开始下降,此数据结果可为黄芩采收入市生长年限的最优选择提供参考。

对于根及根茎类中药材生长过程中药用部位的主成分含量,并非都随着时间的增加而不断增长,利用植物代谢组学对其活性成分的鉴别与药用部位的时间分布进行动态研究,更加保证了中药材的采收品质及临床疗效,同时也为根及根茎类中药材的合理种植提供更为科学的依据。目前,根及根茎类中药的品种间存在一定的差异性,此类研究仍需要长时间的动态研究与数据积累,加以说明植株体内成分的时间动态分布规律。

2.3 在外界因素对根及根茎类中药材质量影响研究中的应用

2.3.1 环境胁迫 在自然界中,植物的生存环境并不总是适宜的,其露地的生长发育过程总是存在各种环境的胁迫^[36],如干旱、洪涝、盐胁迫等。根及根茎类中药材在生长过程中由于大部分生长年限较长,如三七的生长周期为 3 年,人参人工种植可能需要生长 5~6 年的时间才可收获等,故环境胁迫更有可能对其产生较大的影响。

随着近年来极端环境现象的增多,药用植物对逆境的反应和机制的研究引起了人们的高度重视^[37],植物代谢组学技术的应用为研究根及根茎类中药在环境胁迫下的代谢途径变化和耐受机制提供了可靠手段,进而更加深刻阐释环境胁迫对根及根茎类中药质量的影响。

仇劲^[38]通过液质联用技术结合 PLS-DA、OPLS-DA 及 PCA 等研究干旱胁迫下丹参的代谢变化,主要检测到叶中的差异代谢物有 149 个,根中的差异代谢物有 133 个,并通过差异代谢物的京都基因与基因组百科全书通路富集分析得出丹参叶部在干旱条件下主要通过调节半乳糖代谢、缬氨酸和亮氨酸及异亮氨酸生物合成、谷胱甘肽代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成、柠檬酸循环及丙氨酸代谢等途径来响应干旱胁迫;丹参的根部在干旱下主要通过

调节半乳糖代谢、淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、不饱和脂肪酸生物合成等途径来响应干旱胁迫。管仁伟等^[39]利用 UHPLC-Q-TOF-MS 结合 OPLS-DA 及 PCA 等的技术分析鉴定出黄芩中的 44 个黄酮类成分,并从中筛选出了 18 个差异代谢物,说明干旱及盐胁迫可通过黄芩中黄酮类成分生物合成途径中的关键酶活性表达量而引起黄酮类成分含量上的动态变化差异,结果表明,适度的干旱及盐胁迫能够提高黄芩中相关合成酶的活性,并且有利于黄酮类成分的合成与累积,但也存在一定的限度,当胁迫程度加剧至超过黄芩自身生理调节功能,胁迫因素所产生的积极作用会转变为抑制,从而影响黄酮类成分的转化。刘洋^[40]利用非靶向 GC-MS 技术结合 PLS-DA 等的处理方法对干旱胁迫下蒙古黄芪与膜荚黄芪进行植物代谢组学分析,鉴定了 196 种代谢成分并从中筛选出 46 种差异代谢物,结果表明,在干旱胁迫下,苹果酸和甘露糖仅在膜荚黄芪的叶片中显著增加,蔗糖和肌醇仅在蒙古黄芪中具有显著的累积现象,揭示了在干旱胁迫下蒙古黄芪与膜荚黄芪间的代谢物存在较大的差异。此研究还利用靶向 LC-MS 技术共分析了 28 种酚类代谢物和 2 种关键化合物,其中酚酸类成分仅在干旱胁迫下的蒙古黄芪的叶片中有增加,而膜荚黄芪中没有,推测其可能是蒙古黄芪比膜荚黄芪更具耐旱性的原因之一。

根及根茎类中药材在种植过程中受周围环境影响可能会使成分含量产生一定的动态差异,进而对药材采收品质产生影响。植物代谢组学技术的应用初步解释了环境影响下的成分代谢机制及植株耐受机制,为后续蛋白质组学、基因组学等机制研究提供了理论基础,同时也为根及根茎类中药材的种植产地及环境选择提供合理依据以保证根及根茎类中药材人工种植品质。此类研究需要考虑的因素较为复杂,目前仍处在广泛的数据积累阶段。

2.3.2 人工干预 随着市场上对根及根茎类中药材需求量的增大,野生资源逐渐匮乏,人工种植的形势成为市场主流。在田间种植的中药植株难免会受到病虫害、温度水分等生物及非生物的胁迫,由于考虑到中药作物的产量、品质及经济效益,人工的用药干预不可避免。

近年来,植物生长调节剂因其效果好、用量少、毒性低、成本少的特性在中药种植领域受到广泛的研究及应用,为了更好地研究其应用对根及根茎类

中药材的品质影响及建立系统全面的中药品质安全性评价体系,基于植物代谢组学技术的方法研究越来越多。王超群^[41]通过 UPLC-Q-TOF-MS 检测结合 PCA、PLS-DA 等多元统计分析方法对外源施加矮壮素的党参进行代谢产物分析,结果筛选出了 21 个与施用矮壮素相关的潜在化学标志物,为党参种植过程中矮壮素使用安全性的定性和定量评估奠定了数据基础,并为党参的品质评价提供了参考。

课题组前期对植物生长调节剂在中药中的应用情况进行了多方面调研与田间试验研究,通过 UPLC-Q-TOF-MS 结合统计学分析技术对外源施加几种植物生长调节剂的桔梗、板蓝根及延胡索等典型根及根茎类中药材进行了基于植物代谢组学技术的外在及内在品质评价研究,并发现施药前后药材的外观性状和内在成分在时间空间上均存在较大的差异,且具有一定的规律性,为后续根及根茎类中药材施加植物生长调节剂后的质量安全性评价研究提供了数据参考。

2.4 在采收及炮制加工中的应用

2.4.1 产地加工 产地加工是中药进入商品市场的初步处理和干燥过程,主要是去除样品中的杂质及多余水分,以便于储存、运输和临床使用,也是保证药材质量的重要环节之一。在干燥过程中,采集的中药植株可能会导致部分挥发性成分的降解或散失,也可能会有新的化合物形成^[42]。罗益远等^[43]采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术结合 PCA、PLS-DA 等统计学方法分析白术根茎部位在 40 °C 烘干、晒干、阴干、微波干燥下的成分差异,结果筛选出 10 种区分不同干燥方法的特征性成分,并发现这些成分在不同干燥条件下呈现出不同的变化规律,其中,阴干、晒干品的特征化合物含量较高,而微波干燥品中特征化合物的相对含量较低,可能原因为微波技术虽然干燥速率较快,但瞬间的升温过程会对白术中萜类、苷类成分造成破坏损失,并由此得出白术阴干、晒干的干燥方式为佳。

Dai 等^[44]采用 NMR 与 LC-MS 技术相结合的植物代谢组学方法分析丹参在不同干燥方式下初级和次级代谢物的变化,结果发现空气和阳光干燥是通过增强丹参酮和谷氨酸介导的脯氨酸生物合成及改变碳水化合物和氨基酸的代谢,显著影响丹参的初级和次级代谢。风干促进莽草酸介导的多酚酸生物合成,晒干则会抑制多酚酸的生成。此结果有利于了解药材产地加工作用的重要价值。

相关研究目前仍处在发展阶段,通过植物代谢组学的方法系统地分析根及根茎类中药材内在特征成分的差异,从而发现根及根茎类中药材在采收后经不同的干燥过程会对其内在成分产生一定的影响,并以此筛选得出产地加工的最佳干燥方式,为保证中药材的内在质量方法提供了一定的参考价值,此类研究也可能为一些特殊中药的耐旱性质提供一些潜在的重要代谢信息。

2.4.2 炮制加工 中药炮制是指未经加工的中药材在中医药理论的指导下,运用净、切、炒、煨、炮、炙、浸、泡、蒸、煮等工艺方法制成饮片,以应用于临床的过程^[29],是我国独有的中药材处理方法。中药炮制具有减毒增效、缓和药性及扩展药理作用等的效果。为阐释根及根茎类中药材的炮制机制及药效机制,植物代谢组学越来越多的应用于根及根茎类中药材炮制前后的分析,见表 1。

表 1 植物代谢组学在根及根茎类中药炮制加工中的应用

Table 1 Applications of plant metabolomics in processing of root and rhizome traditional Chinese medicine

中药及药用部位	炮制方法	炮制作用	检测方法	数据分析方法	研究结果	文献
半夏的块茎	明矾制	减毒	UPLC-MS	PCA、OPLS-DA	草酸钙等毒性成分的含量降低,刺激性减轻	45
柴胡的根茎	醋制	减毒	¹ H-NMR	PCA、OPLS-DA	醋制可显著降低肝脏代谢、肾脏代谢的标志物,主要与氨基酸代谢、能量代谢、牛磺酸代谢和脂质代谢等途径有关	46
京大戟的根	醋煮	减毒	UPLC-MS	PCA	炮制使二萜类毒性成分(-)-(1S)-15-羟基-18-羧基西柏烯的西柏烯结构破坏,导致含量降低,减弱药材毒性	15
白术的根茎	蜂蜜麸炒	增效	UPLC-Q-TOF-MS ^E	PCA、PLS-DA	苍术内酯III的含量增加使保护肠黏膜机制增加、促进肠内营养物质吸收	47
黄芩的根	酒制	增效	UPLC-Q-TOF-MS ^E	PCA、OPLS-DA	一氧化氮等炎症因子降低,在改善急性肺损伤炮制品优于生品	48
甘草的根及根茎	清炒、蜜炙	缓和药性	UPLC-Q-TOF-MS ^E	PCA、OPLS-DA	甘草苷和甘草酸的衍生物成分结构多样、可变化性强、受热结构易变化	49
地黄的块根	蒸制	缓和药性	UPLC-MS	PCA、PLS-DA	炮制后环烯醚萜苷类含量显著下降,而环烯醚萜苷元含量显著上升,且果糖和半乳糖的含量明显上升,使质地变黏,味由苦转甘	50
人参的根	洗净晒干(生晒参)、蒸煮干燥(红参)	扩展药理作用	UHPLC-Q-Orbitrap-HRMS	PCA、PLS-DA	人参及其多种炮制品化学成分存在一定差异,使人参的临床应用功能得到扩展,其中生晒参和红参由于寡糖、非还原糖成分含量存在较大差异,导致二者药理作用、临床应用不同	31

部分根及根茎类中药材本身具有一定的毒性,但炮制后会出现减毒的效果,如半夏、京大戟等,经液质联用检测技术结合统计学分析发现^[15,45],明矾炮制后的半夏毒性降低可能是因为所含草酸钙等毒性成分的含量降低,醋煮炮制后的京大戟毒性降低可能是在炮制过程中,加热和醋酸可能会使有毒性作用的二萜类成分结构遭到破坏,使其含量降低。

经文献查阅,炮制前后中药中的初级和次级代谢产物大都会存在显著的差异,这也是炮制使中药得以增效、缓性及产生与生品不同药理作用的主要

原因。周国洪等^[50]通过 PCA、PLS-DA 辅助 UPLC-MS 技术的植物代谢组学分析方法对生、熟地黄进行检测,发现生地黄和熟地黄的代谢物含量存在较大差异,其中,在生地黄蒸制为熟地黄后,主要活性成分环烯醚萜苷类的含量显著下降,而环烯醚萜苷元含量显著上升,推测可能是生、熟地黄功效存在差异的原因,而熟地黄质地变黏,味由苦转甘可能是由于蒸制后的地黄中果糖和半乳糖含量明显上升造成。另有研究表明,白术炮制前后的样本经植物代谢组学方法分析,推测可能由于其蜂蜜麸炒后苍术内酯 III 成分的含量上升,故使炮制后白术在保

护肠黏膜、促进肠内营养物质吸收的效果方面得以加强^[47]。

对于根及根茎类中药材，同一品种的炮制方法有很多，但不一定每种方式都会产生增效作用。例如乌药炮制方法多样，包括酒制、醋制、炒制等，其中醋制乌药与乌药的内在成分含量及药效作用的差异较大，易柳等^[51]通过 UPLC-三重四极杆复合线性离子阱质谱及 PCA、OPLS-DA 统计学分析，鉴定出乌药与醋制乌药的差异代谢物并从中筛选出了 156 个具有显著性的差异代谢物，同时发现了乌药的指标性成分去甲异波尔多定经醋制后含量显著减少，由于去甲异波尔多定能作用于炎症的多个通路，故推测其含量减少可能会导致乌药醋制后的抗炎作用发生减弱。

综上，植物代谢组学在根及根茎类中药材炮制中的应用不仅可以鉴别出炮制前后代谢产物的差异，也可以更深入的阐释不同炮制方式所带来的影响，并由此探索根及根茎类中药材的最优炮制方法，以提升中药炮制品的药用价值。目前此方面仍需大量数据积累与验证，以进一步阐释其炮制机制。

3 与其他组学联合在根及根茎类中药中的应用

植物代谢组学的主要研究对象是植物的代谢产物，但由于植物特别是中药中代谢产物化学性质的复杂性与多样性，仅凭植物代谢组学的研究数据并不能全面的解释中药的药效机制或其生长各段品质性状的成因，故植物代谢组学与其他组学（如转录组学、蛋白组学、基因组学等）的多组学联合分析已逐渐成为植物组学的研究热点。

通过近几年的文献报道显示，以植物代谢组学为中心的多组学联合分析方法在根及根茎类中药的外界胁迫和药效成分作用的相关机制研究已有应用。有研究利用 UPLC/Q-TOF-MS 及转录组测序技术（RNA-sequencing, RNA-seq）对人工种植产生的橙色表型丹参与普通种类的丹参进行植物代谢组学及转录组学的分析，并根据结果推测出呈橙色表型的丹参根品质下降的原因，即在人工种植的大田环境中生长的丹参会受到各种外界胁迫，植株体内可能出现不寻常的转录起始和不正确的蛋白质折叠，从而使相关蛋白质降解，有效成分发生转化^[52]；还有研究利用 LC-MS/MS 及 RNA-seq 技术研究了茉莉酸甲酯诱导板蓝根毛状根产生的代谢产物含量变化及基因表达变化，从而探索木脂素、类黄酮等有效成分的合成途径^[53-54]，以挖掘调控代谢产物积累

的核心基因，从而揭示重要成分的合成特点及调节机制。

植物代谢组学与其他组学的联合技术目前仍处于发展阶段，其组合提供了根及根茎类中药从基因组到代谢组及表型特征的各种功能途径的综合信息，互相补充信息与验证依据^[55]，为根及根茎类中药材质量控制研究提供更为科学的参考。

4 结语与展望

以中药临床应用相对较多的植物型种类——根及根茎类中药为对象，通过植物代谢组学结合多种先进的检测技术对其中的代谢产物进行系统分析，包括品种鉴定（相似异用、掺伪鉴别等）、正常种植生长（时空分布）、外界因素干预生长（环境、人为等因素）、中药采收后的产地加工及后续炮制加工等方面的全产业链应用研究，进而对其品种鉴定、生长发育机制、炮制机制及对外界胁迫发生的抗性机制产生更为深刻的理解，为根及根茎类中药材在中医临床上应用的正确品种选择及最佳生长年限、入药部位再开发、产地及炮制加工工艺等的选择提供参考及数据支持，同时也为根及根茎类中药材在种植栽培中的合理用药提供依据，为其在质量控制和安全性评价方面的进一步研究提供参考。

目前，植物代谢组学在根及根茎类中药中的应用仍存在不足之处。（1）对于植物代谢组学的仪器检测技术仍需不断完善，各项技术均存在一定的局限性，目前还没有任何一种仪器检测技术可以独立且完整的完成植物代谢组学的全面分析，因此，多技术联合测定仍为较热门的发展趋势。（2）植物代谢组学的研究对象主要针对整体代谢产物，但现在对于根及根茎类中药材相关代谢信息的数据库并不完备，且中药种类繁多且杂，很多代谢方面的研究仍是空白，故应针对不同品种进行探索与数据积累，以完善根及根茎类中药材的代谢组学数据库。（3）系统的挖掘和处理海量的数据仍然是当前植物代谢组学的技术瓶颈，需要建立一种高覆盖率的数据采集策略以最小化低丰度的代谢物信息^[8]。（4）植物代谢组学对根及根茎类中药材中的各种机制研究主要是根据不同代谢产物形成的网络途径从而进行推测与阐述，并不能全面解释表型形成及功能发挥的内部作用机制，故还需要结合更多种的组学技术（如蛋白质组学、转录组学及基因组学）来进行更加深入的研究，以挖掘功能基因，系统阐释活性成分的合成与代谢机制，从而为根及根茎类中药材的质量

安全保证与品质提升提供更为科学的依据。

未来植物代谢组学技术的发展必定会对中药领域产生强大的推动力, 仪器性能的完善、数据处理方法的提升、代谢物数据库的完备及多组学的联合阐释, 将促进中药朝着科学化、现代化的方向发展前进, 使中医药文化走向世界。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 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.
- [2] 段礼新, 漆小泉. 基于 GC-MS 的植物代谢组学研究 [J]. 生命科学, 2015, 27(8): 971-977.
- [3] 王露露, 李冰, 王圳伊, 等. 基于“整体观”系统生物学技术在中药研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 5053-5064.
- [4] Rizo J, Guillén D, Farrés A, *et al.* Omics in traditional vegetable fermented foods and beverages [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(5): 791-809.
- [5] 周济, Francois T, Tony P, 等. 植物表型组学: 发展、现状与挑战 [J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(4): 580-588.
- [6] 张改君, 苗静, 郭丽颖, 等. 多组学联用在中药作用机制研究中的应用 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 3112-3120.
- [7] 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, 35(10): 2354-2372.
- [8] Xiao Q, Mu X L, Liu J S, *et al.* Plant metabolomics: A new strategy and tool for quality evaluation of Chinese medicinal materials [J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 1-19.
- [9] 梁威. 2020年版《中国药典》(一部) 根及根茎类中药基原及药用部位统计分析 [J]. 亚太传统医药, 2022, 18(8): 168-172.
- [10] 刘霞, 王映红. 基于 NMR 的代谢组学技术在药用植物研究中的应用 [J]. 药学学报, 2017, 52(4): 541-549.
- [11] 崔芙蓉, 杨佳颖, 王志刚, 等. 代谢组学在中医药领域的应用与展望 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4512-4526.
- [12] 王斌, 张腾霄, 赵倩, 等. 植物代谢组学在药用植物中的应用进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(5): 28-31.
- [13] 田淑云, 廖朝华, 周紫薇, 等. 植物代谢组学在药材质量评价中的研究进展与展望 [J]. 药学学报, 2022, 57(6): 1734-1749.
- [14] 冯敏, 张文智, 张雯霞, 等. 植物代谢组学技术在中药资源研究中的应用 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(4): 785-789.
- [15] 曾颜, 侯朋艺, 陈晓辉. 基于植物代谢组学技术的京大戟炮制前后化学成分变化研究 [J]. 中药材, 2016, 39(3): 530-533.
- [16] Hong J, Yang L T, Zhang D B, *et al.* Plant metabolomics: An indispensable system biology tool for plant science [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(6): 767.
- [17] Pott D M, de Abreu e Lima F, Soria C, *et al.* Metabolic reconfiguration of strawberry physiology in response to postharvest practices [J]. *Food Chem*, 2020, 321: 126747.
- [18] Zuo J H, Grierson D, Courtney L T, *et al.* Relationships between genome methylation, levels of non-coding RNAs, mRNAs and metabolites in ripening tomato fruit [J]. *Plant J*, 2020, 103(3): 980-994.
- [19] Zeng C Z, Lin H Y, Liu Z X, *et al.* Metabolomics analysis of *Camellia sinensis* with respect to harvesting time [J]. *Food Res Int*, 2020, 128: 108814.
- [20] Karthikkeyan G, Pervaje R, Subbannayya Y, *et al.* Plant omics: Metabolomics and network pharmacology of liquorice, Indian ayurvedic medicine yashtimadhu [J]. *OMICS*, 2020, 24(12): 743-755.
- [21] Tong Q, Zhang C, Tu Y, *et al.* Biosynthesis-based spatial metabolome of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by combining metabolomics approaches with mass spectrometry-imaging [J]. *Talanta*, 2022, 238: 123045.
- [22] Oyenih O R, Oyenih A B, Erhabor J O, *et al.* Unravelling the anticancer mechanisms of traditional herbal medicines with metabolomics [J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6541.
- [23] 张剑霜, 喻浩, 钟欣, 等. 基于 GC-MS 代谢组学技术比较冬虫夏草与蝉花的质量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(18): 23-29.
- [24] Luo H, Ming L S, Tong T T, *et al.* Chemical comparison of *Ophiopogonis Radix* and *Liriope Radix* based on quantitative analysis of multiple components by HPLC coupled with electrospray ionization tandem triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J AOAC Int*, 2020, 103(4): 1148-1159.
- [25] Shang X H, Huang D, Wang Y, *et al.* Identification of nutritional ingredients and medicinal components of *Pueraria lobata* and its varieties using UPLC-MS/MS-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2021, 26(21): 6587.
- [26] 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.
- [27] 章莎莎, 邢婕, 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.
- [28] Wallace E D, Todd D A, Harnly J M, *et al.* Identification of adulteration in botanical samples with untargeted metabolomics [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(18): 4273-4286.
- [29] 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.
- [30] Zeng X, Li J X, Lyu X K, *et al.* Untargeted metabolomics reveals multiple phytometabolites in the agricultural waste materials and medicinal materials of *Codonopsis pilosula* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 12: 814011.
- [31] 李乐乐. 应用植物代谢组学方法研究不同人参制品的化学成分差异 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- [32] Jin D, Dai K P, Xie Z, *et al.* Secondary metabolites profiled in *Cannabis* inflorescences, leaves, stem barks, and roots for medicinal purposes [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 3309.
- [33] 张彩云. 基于植物代谢组学技术的何首乌质量评价研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2016.
- [34] 杨应文, 王亚丽, 萨日娜, 等. 不同生长期当归 ¹H NMR 指纹图谱的研究 [J]. 波谱学杂志, 2013, 30(1): 69-79.
- [35] 张娜, 苏凤山, 周园涛, 等. 基于植物代谢组学和指标成分的黄芩药材优质标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(10): 2681-2688.
- [36] 黄璐琦, 郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 277-280.
- [37] 原静静, 孙晓琛, 栗锦鹏, 等. 代谢组学在药用植物非生物胁迫中的应用 [J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(1): 176-180.
- [38] 仇劲. 应用多组学技术解析丹参应答干旱胁迫的机制 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
- [39] 管仁伟, 郭瑞齐, 林慧彬, 等. 基于植物代谢组学技术的干旱及盐胁迫对黄芩中黄酮类成分影响的研究 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1504-1511.
- [40] 刘洋. 应用代谢组学对比研究两种黄芪响应 UV-B 和干旱胁迫的代谢基础 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
- [41] 王超群. 矮壮素对党参代谢产物及其土壤微生态的影响 [D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
- [42] Zhang L L, Lv S, Xu J G, *et al.* Influence of drying methods on chemical compositions, antioxidant and antibacterial activity of essential oil from lemon peel [J]. *Nat Prod Res*, 2018, 32(10): 1184-1188.
- [43] 罗益远, 钱旭武, 沙秀秀, 等. 基于 UPLC-QTOF-MS 结合多元统计的不同干燥方法白术中化学成分差异分析 [J]. 中国药理学杂志, 2022, 57(10): 784-790.
- [44] Dai H, Xiao C N, Liu H B, *et al.* Combined NMR and LC-MS analysis reveals the metabonomic changes in *Salvia miltiorrhiza* Bunge induced by water depletion [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(3): 1460-1475.
- [45] Sun L M, Zhang B, Wang Y C, *et al.* Metabolomic analysis of raw *Pinelliae Rhizoma* and its alum-processed products via UPLC-MS and their cytotoxicity [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(2): e4411.
- [46] 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, 2016.
- [47] Shan G S, Zhang L X, Zhao Q M, *et al.* Metabolomic study of raw and processed *Atractylodes macrocephala* Koidz by LC-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 98: 74-84.
- [48] Hu L Q, Wang Y Q, Sun H J, *et al.* An untargeted metabolomics approach to investigate the wine-processed mechanism of *Scutellariae Radix* in acute lung injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 253: 112665.
- [49] 文旺, 李莉, 李德坤, 等. 基于液质联用技术和植物代谢组学的甘草炮制品化学成分差异性分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17): 104-110.
- [50] 周国洪, 赵珍东, 汪小根, 等. 基于植物代谢组学的地黄蒸制前后化学成分变化研究 [J]. 海峡药学, 2020, 32(7): 34-37.
- [51] 易柳, 王瑞颖, 高元峰, 等. 基于液质联用技术和植物代谢组学的乌药醋制前后质量差异研究 [J]. 中国药师, 2022, 25(6): 1000-1007.
- [52] Zhan Z L, Fang W T, Ma X H, *et al.* Metabolome and transcriptome analyses reveal quality change in the orange-rooted *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) from cultivated field [J]. *Chin Med*, 2019, 14(1): 42.
- [53] Zhang L, Chen J F, Zhou X, *et al.* Dynamic metabolic and transcriptomic profiling of methyl jasmonate-treated hairy roots reveals synthetic characters and regulators of lignan biosynthesis in *Isatis indigotica* Fort [J]. *Plant Biotechnol J*, 2016, 14(12): 2217-2227.
- [54] Chen J F, Dong X, Li Q, *et al.* Biosynthesis of the active compounds of *Isatis indigotica* based on transcriptome sequencing and metabolites profiling [J]. *BMC Genom*, 2013, 14(1): 1-13.
- [55] Yang Y D, Ali Saand M, Huang L Y, *et al.* Applications of multi-omics technologies for crop improvement [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 563953.

[责任编辑 赵慧亮]