



现代仪器分析技术在中药炮制机理研究中的应用

秦昆明, 石芸, 谈献和, 陆兔林, 吴皓, 蔡宝昌*

江苏省中药炮制重点实验室; 南京中医药大学药学院, 南京 210029

*通讯作者, E-mail: bccai@126.com

收稿日期: 2009-10-26; 接受日期: 2009-11-23

摘要 现代分析技术以仪器分析为主, 大量先进的现代仪器分析技术已经较广泛地应用于中药炮制机理研究领域, 对阐明中药炮制的机理, 提高中药饮片的质量控制水平起了很大的推动作用. 本文对多种现代仪器分析技术进行介绍, 并对其在中药炮制机理研究中的应用现状作一综述.

关键词

现代仪器分析技术
中药炮制
机理

1 引言

中药炮制是根据中医药理论, 按照辨证论治用药需要、药物自身性质, 以及调剂、制剂的不同要求所采取的一项制药技术. 这一传统制药技术是根据大量人体临床实践经验得出的, 是中华民族历代医家智慧的结晶. 中药材经过加工炮制以后称为中药饮片, 中药饮片是中医临床调配处方的处方药, 也是中成药生产的原料药, 因此, 中药饮片炮制的规范化和标准化是中医药现代化的关键环节之一. 国家也已经把中药饮片炮制技术和中药饮片质量标准产业列为当前我国优先发展的高新技术产业化重点领域之一.

中药经过加工炮制以后, 药性和临床功效都发生了明显变化, 这说明中药在炮制过程中发生了变化, 如何表征中药在炮制过程中发生的变化及其规律是中药炮制机理研究的一个重要课题. 在传统的中药炮制理论中, 我们已经有了—套简单而生动的理论来解释这种变化, 如“盐制入肾, 醋制入肝, 酒制升提...”. 在缺乏现代分析技术与方法的时代, 人们无法在微观领域看到中药在炮制前后发生的变化, 然而祖先在中医理论的指导下, 发展了中药炮制理论, 这是一个创新, 它极大地推动了中药炮制学的发展^[1]. 随着现代实验科学的引入, 我们在进行中药炮

制原理研究中开始探索使用药理学方法, 通过动物实验比较炮制前后的药效学差异^[2]. 但由于中医病症模型难以复制等原因, 很难得到可靠的结果. 而今天, 当现代仪器分析技术发展到可以在微观层面上分析这种变化时, 我们就有必要全方位地探索中药炮制的机理, 这样才能把中药炮制学向更高层次推进.

20世纪80年代以来, 分析化学发展迅速, 各种新的分析技术、分析方法和分析仪器不断涌现, 为复杂体系的分析提供了有力的手段, 在中药现代研究中已经得到了推广和应用^[3, 4], 也大大推动了中药炮制学的发展. 在中药炮制机理研究领域, 各种最新的现代仪器分析技术都已经有了应用, 取得了较多成果, 可以说, 中药炮制机理的现代研究是伴随着现代仪器分析技术的发展而发展的. 本文结合本实验室的研究工作, 对近年来各种现代仪器分析技术在中药炮制机理研究中的应用进行了综述.

2 光谱技术

2.1 紫外光谱(UV)

紫外光谱主要用于化合物的结构鉴定和含量测定, 根据中药所含组分的不饱和程度, 可以利用紫外光谱进行鉴别. UV具有仪器普及、操作简单、样品

用量少等特点,可以在宏观上研究中药炮制前后组分的变化,为进一步的炮制机理研究提供依据.但此方法提供的信息量少,且易受溶剂和杂质的影响,准确度和重现性不高.如徐自升等^[5]利用紫外光谱法研究了怀山药炮制前后的变化,发现生山药在 269 nm 和 220 nm 处有吸收,而山药与麦麸加热炮制后在 258 nm 和 222 nm 处有吸收,表明怀山药炮制前后成分发生了变化.乌莉娅·沙依提等^[6]研究了维吾尔药孜然炮制前后紫外光谱的变化,结果表明孜然醋制前后的紫外吸收光谱图发生明显变化,生药孜然中 224 nm、260~360 nm 的紫外吸收峰明显减弱,这可能是醋制过程中某些蒽醌类及含苯类成分得以减少或清除引起的.紫外光谱的变化必然伴随着成分的改变,以上研究也说明紫外光谱可以用于在整体上研究中中药炮制前后的变化.

2.2 红外光谱(IR)

红外光谱是利用化合物在低能量照射下分子发生振动的原理来提供结构信息,可提供分子中有关官能团的内在信息,可以进行定量及无损分析. IR 能够提供样品的综合信息,灵敏度高、操作简便、谱带专属性强,借助 IR 可对中药炮制前后的成分变化进行分析和预测,从而为阐明中药炮制机理奠定基础.近年来,二维红外相关光谱技术(2D-FTIR)得到较快发展,提高了红外光谱图的分辨率,可以在揭示分子内/分子间的相互作用及判断分子各官能团反应的先后顺序研究中发挥作用^[7],也可以有效地揭示中药炮制前后的变化规律.如 Xu CH 等^[8]利用傅立叶变换红

外光谱法结合二维红外光谱技术研究中药蔓荆子炮制前后的变化,结果显示二阶导数红外光谱信息有一定的指纹性,而二维红外光谱有更强的特征性,能够有效地区分蔓荆子生品和炮制品.其炮制机理是炮制后脂类成分大量减少,而黄酮类成分减少不多,从而造成黄酮类成分的相对含量先升高,后降低的趋势.

中药地黄经黄酒加热蒸制后称为熟地黄,其功效发生了很大的变化,其所含成分也必然发生了转变.利用二维红外光谱技术对地黄蒸制过程进行动态连续跟踪分析,发现地黄蒸制过程中二维红外光谱发生了显著的变化(图 1).由于地黄中含有大量的水苏糖,根据炮制过程中二维红外光谱变化规律,且地黄炮制后变甜,说明炮制过程中可能有果糖生成,由此推测地黄炮制的机理包含水苏糖水解的过程(图 2),从而引起药效的变化^[9].这也提示我们,中药炮制机理十分复杂,采用传统的分析方法可能无法得出可靠的结果,有必要采用更有针对性的分析技术进行全面的分析,可能得出正确的结论.

2.3 原子光谱

常用的原子光谱分析法包括原子吸收光谱(AAS)、原子发射光谱(AES)和原子荧光光谱(AFS).原子吸收光谱是指由待测元素灯发出的特征谱线通过供试品蒸气时,被蒸气中待测元素的基态原子所吸收,吸收遵循一般分光光度法的吸收定律,通过测定辐射光强度减弱的程度可求出待测元素的含量,是中药中微量元素定量分析的常用方法^[10].原子发

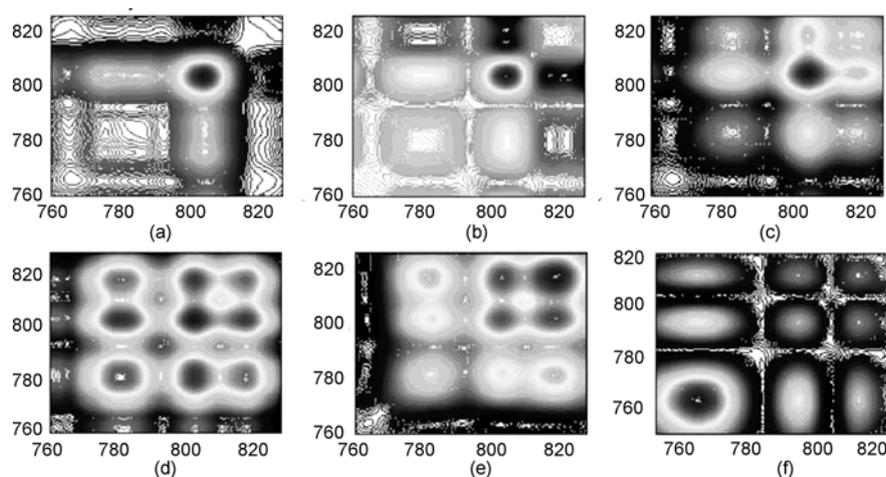


图 1 地黄炮制过程二维红外光谱图^[9]. (a) 生地; (b) 炮制 5 h; (c) 炮制 10 h; (d) 炮制 20 h; (e) 炮制 40 h; (f) 炮制 60 h

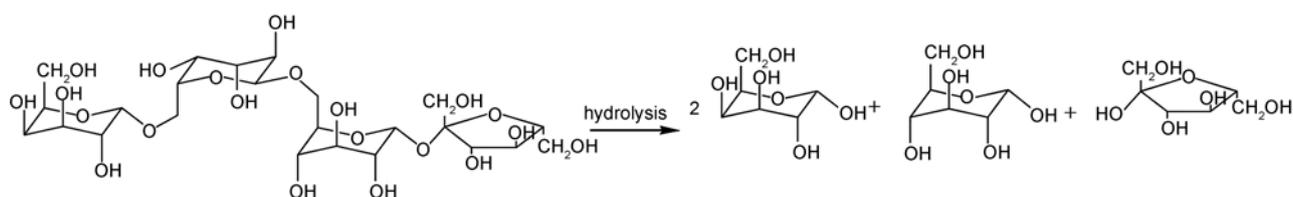


图2 地黄炮制过程中的水苏糖水解示意图^[9]

射光谱法是利用物质在热激发或电激发下, 每种元素的原子或离子发射特征光谱来判断物质的组成, 而进行元素的定性与定量分析的方法, 其中最为常用的是电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES). 原子荧光光谱是介于原子发射光谱和原子吸收光谱之间的光谱分析技术. 它的基本原理是基态原子吸收合适的特定频率的辐射而被激发至高能态, 而后激发过程中以光辐射的形式发射出特征波长的荧光. 这三种方法的原理不同, 但都具有较高的灵敏度和较宽的线性范围, 非常适合微量元素的定量分析. 由于微量元素与中药药效有一定的相关性, 因此, 探索炮制前后微量元素的含量成为研究中药炮制机理的重要方向之一. 如李军等^[11]采用 AAS 法测定柴胡不同炮制品中 5 种微量元素的含量, 结果在 3 种炮制品中, 柴胡醋炙品中 5 种微量元素的含量最低, 酒炙品中 Fe、Mg、Zn 含量最高. 可见炮制对柴胡中微量元素的含量有一定的影响. 宋秀环等^[12]采用 AFS 法对不同粒度雄黄及其炮制品中可溶、毒性砷含量进行检测, 实验发现, 矿物药雄黄粒度以 100~200 目为宜, 酸水淬飞炮制最佳, 在还原性氢气和惰性氩气氛围中保存, 时间短、温度低、湿度小, 产生的易溶剧毒物三氧化二砷(As_2O_3)较少, 通过炮制处理降低毒性成分的含量是矿物药雄黄中炮制的主要目的.

我们实验室也在从事中药炮制前后微量元素含量变化研究. 我们采用 ICP-AES 法对山茱萸生品和山茱萸炮制品中的微量元素进行分析, 结果在山茱萸生品溶出液中检出十八种无机元素. 溶出液富含 K、Ca、Mg 等元素, 炮制后除 Cu 明显下降, Ba、Ni 基本不变外, 其他各种元素均有不同程度的增加, 稀土元素 La、Ce 等元素含量增大明显, 这些变化可能是山茱萸用黄酒蒸制后补肝肾作用增强的物质基础^[13]. 矿物药如自然铜, 雄黄等是中药的重要组成部分, 它们基本上由无机物组成, 因此针对微量元素开展矿物药炮制机理的研究就显得更为重要. 我们也曾采用 ICP-AES 法对自然铜^[14], 赭石^[15]高温炮制前

后的微量元素进行研究, 发现高温炮制后微量元素的煎出量变化很大(表 1), 这些变化是矿物药炮制后药效变化的主要机理.

3 色谱法

3.1 薄层色谱(TLC)

薄层色谱是将适宜的固定相涂布于玻璃板、塑料或铝基片上, 形成一均匀薄层, 待点样、展开后, 与适宜的对照物按同法在同板上所得的色谱图作对比, 并可用薄层扫描仪进行扫描. TLC 操作简单, 色谱结果直观, 具有分离、鉴定双重功能, 是中药分析的常用手段, 在中药炮制机理研究中也得到了广泛的应用. 我们实验室在国内较早采用此方法进行中药马钱子的炮制机理的研究. 研究发现, 马钱子经过砂烫炮制后, 土的宁和马钱子碱在水煎液中含量均有不同程度的下降, 而土的宁氮氧化物和马钱子碱氮氧化物在水煎液中含量均有所增加^[16], 可能是部分土的宁和马钱子碱在高温条件下转化为土的宁氮氧化物和马钱子碱氮氧化物(图 3). 进一步研究发现土的

表1 赭石、自然铜的生品及炮制品中微量元素的煎出量比较^[14, 15]

样品	钴	镍	铁	锰	铬	镁
赭石生品($\mu\text{g/mL}$)	0.016	0.014	0.145	0.033	0.006	0.243
赭石炮制品($\mu\text{g/mL}$)	0.027	0.034	4.519	0.217	0.018	4.718
自然铜生品($\mu\text{g/g}$)	0.640	0.680	763.200	16.520	0.240	76.280
自然铜炮制品($\mu\text{g/g}$)	0.800	2.120	9712.000	76.320	0.640	246.000

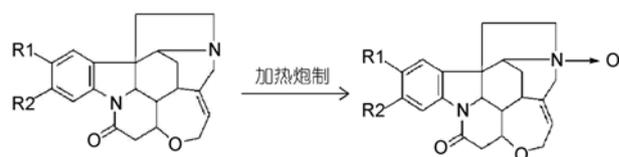


图3 马钱子炮制过程中的成分转化示意图^[16]. 马钱子碱和马钱子碱氮氧化物, $R_1=R_2=OCH_3$; 土的宁和土的宁氮氧化物, $R_1=R_2=H$

宁单体在加热过程中的确会发生一系列的转化,生成土的宁氮氧化物等成分^[17],通过对这些成分的药效进行进一步的相关性研究^[18],解释了马钱子炮制减毒的机理.

此外,我们还采用 TLC 法研究了马钱子炮制前后其他成分的含量,如马钱子苷^[19]等,从而基本阐明了马钱子的炮制机理.但 TLC 也有局限性,如灵敏度低、准确度不高、影响因素较多,对含量很低的成分不易观察到,严重制约了它的应用.近年来,薄层色谱技术有了新的发展,出现了高效薄层色谱、微乳薄层色谱^[20]等,TLC 正朝着测定过程标准化、自动化的方向发展,这些进步将使 TLC 在中药炮制机理研究中的应用更加广泛.

3.2 高效液相色谱(HPLC)

高效液相色谱是以液体溶剂作为流动相的色谱技术,有分离效能高、选择性高、检测灵敏度高和分

析速度快的特点. HPLC 是目前中药成分分析中极有应用价值的技术,随着样品纯化技术的提高, HPLC 能够更准确地定量分析中药成分,是中药炮制机理研究的重要手段之一.我们利用 HPLC 技术对山茱萸炮制前后的指纹图谱进行了定性定量分析,结果显示山茱萸经黄酒加热蒸制后各主要成分都发生了比较明显的变化^[21],其中 5 羟甲基糠醛(5-HMF)的含量明显增加(见图 4),这些成分含量的变化与其药效密切相关,也是山茱萸的炮制机理的一部分.

王维皓等^[22]利用 HPLC 方法对生姜、干姜、炮姜、姜炭进行了化学成分的分析比较,结果从中指认出 6-姜辣素、6-姜酚和姜酮 3 个色谱峰.从生姜到干姜、炮姜、姜炭的炮制过程中,6-姜辣素逐渐降低,6-姜酚逐渐增高,姜酮在加工至炮姜时出现,且含量最高,而干姜和生姜中没有.可见生姜随着加工炮制火候和条件的逐步剧烈,所制成的干姜、炮姜、姜炭制品中的酚类成分在含量和成分间的比例上发生了变

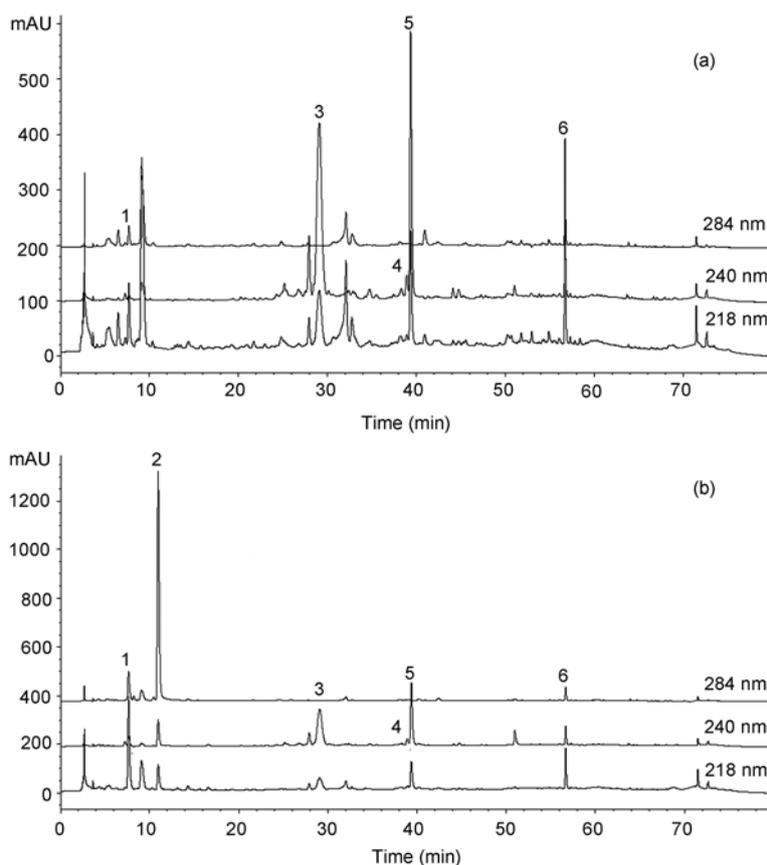


图4 山茱萸生品(a)及炮制品(b)的高效液相色谱图^[21]. 1, 没食子酸; 2, 5-羟甲基糠醛; 3, 莫诺苷; 4, 獐牙菜苷; 5, 马钱苷; 6, 山茱萸裂苷

化, 这些变化与其功效的改变息息相关. Liu Z 等^[23]利用 HPLC 法分析何首乌加热蒸制后新产生成分 2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4 氢-吡喃-4-酮(DDMP)和 5-HMF 的含量随炮制时间的变化, 结果发现在高温蒸制的 60 h 时间内, 随蒸制时间的延长 DDMP 的含量逐渐升高, 至蒸制 24 h 达到最高, 随后开始逐渐降低; 5-HMF 的含量随炮制时间的延长逐渐升高, 这些结果表明何首乌在蒸制过程中发生了美拉德反应, 这是何首乌炮制前后药效变化的主要机理. 由此可见, 中药炮制后功效变化的基础是成分的变化, 这种变化既可以是质变, 也可能是成分的含量和比例的变化, 其中的过程十分复杂, 需要进行全面的分析和比较.

3.3 高效毛细管电泳(HPCE)

高效毛细管电泳是以高压电场为驱动力, 毛细管为分离通道, 依据样品中各组分之间淌度和分配行为上的差异而实现分离的一类液相分离技术, 具有分离效率高、所需样品少、溶剂消耗少等特点. HPCE 已经日益广泛的应用于生物碱、黄酮、酚类、有机酸、香豆素及其他成分的分、鉴别和含量测定^[24], 在炮制前后中药成分分析中也已有应用研究. 如高言明等^[25]建立了毛细管区带电泳法研究黄连、黄柏炮制前后小檗碱的含量变化, 发现黄连和黄柏药材经炮制后, 其中盐酸小檗碱的含量都有一定程度下降, 原因可能是在炮制过程中小檗碱因温度增加而被分解.

4 波谱技术

4.1 质谱(MS)

质谱分析是通过样品离子的质量和强度的测定, 来进行化学成分和结构分析的一种方法. 质谱能够给出有机化合物的分子量、分子式、分子离子和碎片离子, 以及揭示生成碎片离子的裂解方式和有机分子结构类型关系的规律性. 目前, 还出现了串联质谱, 最常见的是三级四极杆串联质谱, 此技术大大扩展了质谱的应用范围, 在分析组成复杂的中药成分中尤有优势^[26], 在中药炮制机理研究中也有着广阔的应用空间.

乌头是一味有毒中药, 其主要毒性成分为双酯型生物碱, 如乌头碱、中乌头碱和次乌头碱, 但经过炮制后毒性降低. 乌头的炮制要经过长时间的水加热处理, 将炮制前后的乌头样品分别直接进样, 进行

质谱分析. 结果发现在乌头的乙醇提取液中, 乌头碱(AC, m/z 646)、中乌头碱(MA, m/z 632)和次乌头碱(HA, m/z 616)三种主要毒性成分含量很高; 而在水加热处理后得到的水煎液中, 三种毒性成分含量明显降低, 而苯甲酰乌头原碱(BA, m/z 604)、苯甲酰中乌头原碱(BM, m/z 590)和苯甲酰次乌头原碱(BH, m/z 574)的含量明显升高(见图 5), 炮制过程中发生的脂交换反应是乌头炮制的机理^[27].

在此基础上, 越皓等^[28]利用电喷雾质谱方法(ESI-MS)分析了附子加辅料(甘草)炮制前后水煎液中二萜类生物碱在种类和含量方面的变化, 发现附子与甘草共煎液中的次乌头碱、中乌头碱和乌头碱的相对含量分别是单煎液中的 5.67%、4.05%和 4.88%. 因为在炮制过程中甘草中的成分容易与附子中双酯型生物碱及其热解产物发生脂交换反应, 生成毒性更小的脂类生物碱, 同时有少量的双酯型生物碱与甘草中的甘草酸等成分形成了难溶性的沉淀, 上述反应的结果是降低了附子中双酯型生物碱的含量, 从而达到炮制减毒的目的. 这些研究表明, 质谱技术可以用于中药成分的快速定性分析, 在中药炮制机理研究特别是炮制前后成分变化的快速鉴定方面有着广阔的应用前景.

4.2 核磁共振(NMR)

NMR 技术是利用具有自旋性质的原子核在外磁场作用下, 吸收射频辐射而产生能级跃迁的一门波谱学技术, 是鉴定化合物结构的最重要方法之一. 近年来, NMR 已经被探索应用于中药的鉴别^[29], 也有研究用 NMR 进行中药成分的定量分析^[30], 但是由于仪器昂贵, 这些方法的普及还比较困难. 目前, 在中药炮制机理研究中, NMR 的应用仍局限于对炮制前后成分的结构鉴定方面. 如 Liao PY 等^[31]采用化学分离法研究了人参加热蒸制后的化学成分, 采用 1D-NMR 和 2D-NMR 对这些化学成分进行结构鉴定, 发现分离得到的 27 个达玛烷型三萜类化合物中, 包括 4 个新的糖苷类成分, 是蒸制过程中产生的, 说明人参蒸制过程中会产生新成分, 这些成分与药效的相关性研究对阐明人参的炮制机理有重要意义. 随着 NMR 技术的发展与进步, 可以大大加快化合物结构鉴定的速度和准确度, 同时 NMR 技术也在不断拓展在中药研究中的应用范围, 在中药炮制机理研究中也发挥更大的作用.

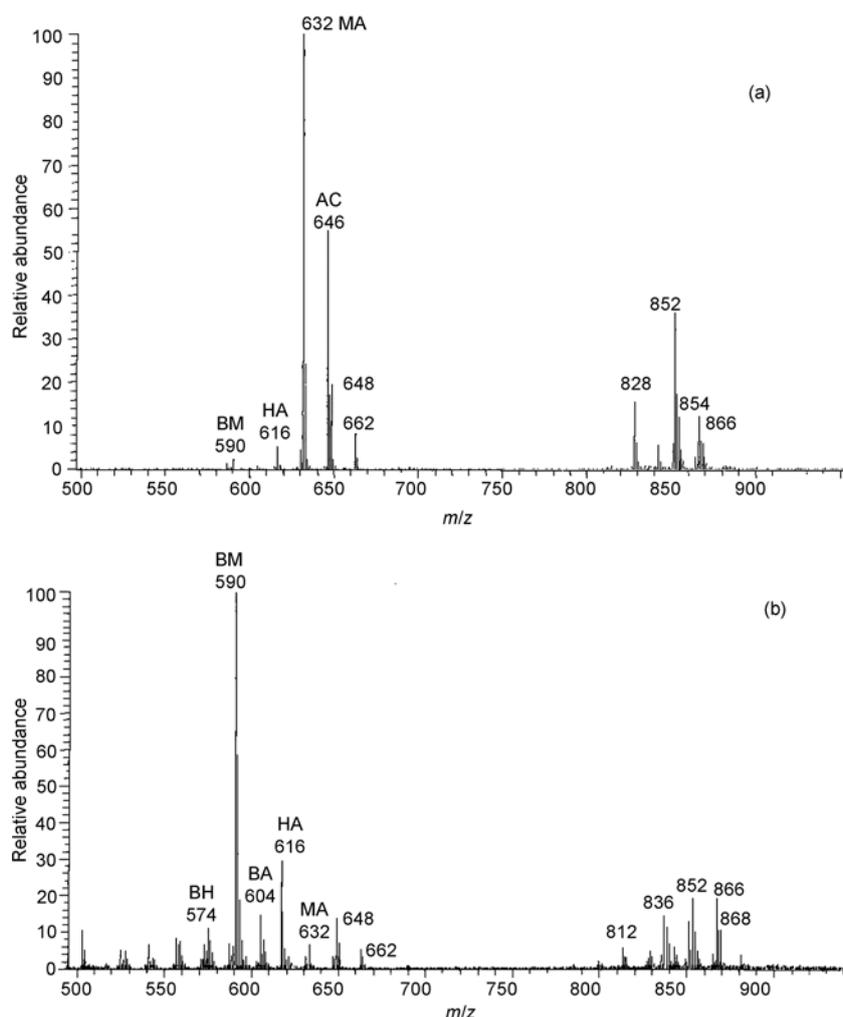


图5 乌头乙醇提取液(a)与炮制后水煎液(b)质谱图^[27]. AC, 乌头碱; MA, 中乌头碱; HA, 次乌头碱; BA, 苯甲酰乌头原碱; BM, 苯甲酰中乌头原碱; BH, 苯甲酰次乌头原碱

5 生物分析技术

5.1 电泳技术

电泳技术在中药领域的应用主要是蛋白质凝胶电泳, 蛋白质凝胶电泳技术经过迅猛发展, 已成为高分辨率和高灵敏度的现代分析技术, 广泛用于中药鉴别和质量控制. 凝胶电泳根据脂蛋白颗粒大小将其分离, 脂蛋白通过浓度呈梯度增高的聚丙烯酰胺在电场中移动, 当达到分离极限时, 颗粒的移动停止, 此时的脂蛋白分布图即凝胶电泳图谱具有特异性, 从而达到鉴别药材的目的. 中药炮制前后发生变化的物质多种多样, 大分子蛋白质等物质也可能会有变化, 这就有必要采用电泳技术等新的分析手段, 全

面挖掘中药炮制前后的变化. 如张林碧等^[32]用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术测定以不同的炮制方法制得的人参、僵蚕、鸡内金和虻虫的炮制品与原药材的蛋白质区带图谱, 结果发现4种样品炮制前后均有明显的变化, 其中蒸煮法和砂炒法对药材蛋白质的影响较烘焙法和麸炒法大, 损失多, 原因可能是温度高、时间长的炮制方法使蛋白质损失得更多.

5.2 DNA分子标记技术

DNA分子标记技术是在分子水平上通过检测遗传物质的多态性来鉴定中药, DNA分子标记技术以特异性强、可靠性好、灵敏度高等特点, 在中药材质量评价中的应用逐步扩大^[33], 方法也日趋完善, 在中

药炮制机理研究方面也已有了一些应用。如许腊英等^[34]探讨了苍术炮制前后 DNA 指纹图谱研究方法, 采用随机扩增多态性(RAPD)技术对不同产地的茅苍术炮制前后进行 DNA 指纹图谱研究。结果发现, 不同产地的茅苍术生品 DNA 指纹图谱一致, 几种麦麸炒苍术的 DNA 指纹图谱与生品有较大差异, 主要包括条带较少、缺乏较长碱基对的扩增条带, 说明苍术与麦麸加热炮制后造成 DNA 不同程度降解, 另外几种炮制品之间也存在不同程度差异, 说明炮制对药材 DNA 分子有较大影响。

6 色谱联用技术

色谱技术分离能力强、检测灵敏度高, 是中药分析的首选技术, 但是, 对于未知化合物定性方面难以给出可靠信息, 而光谱和波谱技术具有很强的鉴定未知化合物结构的能力, 因此, 将色谱与光谱或波谱联合应用, 已逐渐成为中药现代研究的强有力手段。近年来, 色谱联用技术在中药炮制研究中的应用不断发展和普及, 目前应用最广泛的有 GC-MS 联用、LC-MS 联用^[35]。一些更先进的联用技术, 如 HPCE-MS 联用、LC-MS/MS 联用、HPLC-NMR-MS 联用等也应探索应用于中药炮制机理研究中。

6.1 气质联用技术(GC-MS)

气质联用技术是将气相色谱与质谱联用, 从而实现复杂成分的在线分离和鉴定, 使快速鉴定中药中的成分成为可能, 主要用于分析中药中的挥发性成分^[36]。中药经过炮制以后, 其中的挥发性成分会有较大变化, 有含量的变化, 也有结构的变化, 这些变化可能与中药炮制机理密切相关, GC-MS 的应用为阐明这些变化提供了有力手段。如张帆等^[37]利用 GC-MS 研究了小茴香不同炮制品中的挥发性成分, 结果表明小茴香经不同辅料炮制后挥发油含量显著降低。炮制前后反式-茴香脑含量均最高, 生品中 24 种化合物经不同方法炮制后含量均发生了变化。炮制过程中还发生了成分转化, 共新产生了 18 种化合物, 这些变化是小茴香炮制后功效改变的基础, 也是小茴香炮制机理之一。袁子民等^[38]对肉豆蔻煨制前后的挥发油进行 GC-MS 分析, 发现肉豆蔻与麦麸加热煨制后挥发油成分发生了质和量的变化, 新产生了 13 个成分(见表 2), 4 个成分消失, 止泻成分甲基

丁香酚、甲基异丁香酚含量增加, 毒性成分肉豆蔻醚、黄樟醚含量降低, 说明肉豆蔻采用水浸泡麸煨进行炮制具有科学意义。

6.2 液质联用技术(LC-MS)

液质联用技术是将液相色谱与质谱联用, 液相色谱具有高效分离能力, 而质谱具有高效鉴定能力, 二者联用可以实现中药复杂成分的在线分离和鉴定。由于中药中大量成分都适用于液相分析, 因此液质联用的产生对中药复杂成分的定性定量分析起巨大的推动作用^[39], 在中药炮制研究中, LC-MS 技术也将成为阐明炮制前后的成分变化, 进而阐明中药炮制机理的重要方法。如周莉莉等^[40]利用高效液相色谱-电喷雾多级串联质谱(HPLC-ESI-MSⁿ)联用技术, 对中药山茱萸的炮制机理进行了研究, 通过电喷雾一级质谱获得了 7 个环烯醚萜苷类化合物的分子量信息, 利用质谱的源内碰撞诱导解离技术, 获得了该类化合物在负离子模式下的碎裂特征, 在此基础上, 对其进行了结构鉴定和含量分析, 发现山茱萸炮制后, 7 种环烯醚萜苷类化合物的含量都有所增加。此外, 何忠梅等^[41]利用 LC-MS 技术研究了芍药炮制前后的变化, 研究发现芍药经黄酒加热炮制以后酚酸类成分含量明显下降, 这些变化是芍药炮制后功效改变的基础。

7 存在的问题及对策

7.1 新的仪器分析技术应用不足

光谱技术、色谱技术及多种波谱技术在中药炮制

表 2 肉豆蔻炮制后新产生的成分^[38]

编号	化合物名称	分子式	分子量	相对百分含量(%)
1	α -三环烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.028
2	罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	136	0.067
3	α, α, α -三甲基苯甲醇	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.058
4	β -香茅醇	C ₁₀ H ₂₀ O	156	0.042
5	顺式香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.091
6	茴香酮	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.069
7	β -愈创木烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.046
8	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.480
9	反式 β -金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.088
10	α -葑草烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.034
11	甲基异丁香酚	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	1.330
12	α -金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.056
13	异榄香脂素	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208	0.026

机理研究中已经有了较为广泛的应用,特别是 HPLC 和 GC-MS 在中药炮制前后的成分分析方面.但是中药炮制前后的成分变化是极其复杂的,炮制过程中发生的很多变化,采用现有的分析手段可能仍然无法全面解释清楚.因此,不能一味套用前人的研究思路与方法手段,有必要应用最新的仪器分析方法,有针对性地探索中药炮制的机理.目前,我们在新的仪器分析技术的引入和应用方面仍显不足,比如凝胶电泳技术和质谱技术能够有针对性地分析炮制前后的一些变化,但在实际研究中仍然应用较少.很多新近产生的现代仪器分析技术如高效液相色谱-核磁共振(HPLC-NMR)联用技术^[42]、毛细管电泳-电喷雾-飞行时间质谱(CE-ESI-TOF-MS)联用技术^[43]、高效液相色谱-电喷雾-离子阱飞行时间质谱(LC-ESI-IT-TOF-MS)^[44]、全二维液相色谱技术(LC×LC)^[45]等在中药炮制原理研究中尚无应用,需要进一步尝试应用.

7.2 多种分析技术联合应用较少

中药炮制过程中可能发生了复杂的变化,而阐明这种变化需要依靠多种现代仪器分析技术.因此,在中药炮制机理研究中,以一种分析手段得到的结果作出结论不够可靠,也是不够科学和严谨的.中药炮制过程中发生的变化可能是结构的变化,也可能是成分含量和比例的变化.在结构变化方面,不仅仅一些小分子的有机化合物可能会发生变化,一些大分子化合物如蛋白质、多糖等复杂的化合物体系甚至无机化合物都有可能发生变化.阐明这些变化仅仅依靠单一的分析模式与分析手段可能无法奏效,必须采取多种现代仪器分析技术联合应用的方法.既要采用各种光谱和波谱技术,在宏观层次进行分析^[46],也要通过 LC-MS、GC-MS、ICP-MS 等分析技术在微观层次进行比较^[47],通过全面比较,探索中药炮制前后的变化,并结合药理学研究以阐明中药炮制的机理.近年来,采用这种模式研究马钱

子^[16, 48],地黄^[9, 49, 50]等中药的炮制机理已经取得一些进展.

7.3 数据信息的处理方法过于简单

现代仪器分析技术可以产生大量的信息,如何对这些信息进行有效地分析处理也十分重要.选择更合适的数据分析方法可以挖掘潜在的规律,这对于探索中药炮制机理尤为重要.近年来,化学计量学有了很大的发展,并且在处理中药分析的复杂信息方面显示了较好的前景^[51].如红外光谱作为一种宏观的分析手段,以往仅通过肉眼只能得到一些峰位和基团结构信息,难以看到内在的不同,但是通过化学计量学的方法进行深入的挖掘处理,就可以得到更多的潜在信息^[52].由此可见,在应用现代仪器分析技术的同时,也要探索尝试应用多种复杂的数据处理方法,特别是化学计量学的方法,挖掘潜在的信息和规律,这样才能充分地利用现代仪器分析技术的高效信息收集能力,充分利用这些信息,探索中药炮制的机理.

8 结论与展望

中药炮制历史悠久,历代医药学家积累了丰富的中药炮制经验,这是我们进行中药炮制机理研究的重要基础.现代分析技术的发展日新月异,不断涌现的新理论、新方法、新技术将为探索中药炮制前后的变化,进而阐明中药炮制机理提供重要手段.中药炮制机理研究是揭示中药神秘的面纱的重要环节,我们应该在继承的基础上进行创新,充分借鉴现代科学技术,特别是现代仪器分析技术,进行中药炮制机理的分析和探索.相信经过长时间的努力,中药炮制这一项最具我国自主知识产权、最具原创性的理论和制药技术一定会走向全世界,一定会为护佑人类健康作出新的贡献.

致谢 本工作得到国家自然科学基金项目(30873438 & 30472192)和科技部“十一五”科技支撑项目(2006BAI09B06-04)资助,特此致谢.

参考文献

- 1 蔡宝昌. 中药炮制学. 北京: 中国中医药出版社, 2008
- 2 吴皓, 蔡宝昌, 史小良, 叶定江. 半夏姜制对动物刺激性及毒性的影响. 中国中药杂志, 1993, 18(7): 408—410

- 3 Xie PS, Chen SB, Liang YZ, Wang XH, Tian RT, Upton R. Chromatographic fingerprint analysis—a rational approach for quality assessment of traditional Chinese herbal medicine. *J Chromatogr A*, 2006, 1112 (1-2): 171—180
- 4 Mao JJ, Xu JW. Discrimination of herbal medicines by molecular spectroscopy and chemical pattern recognition. *Spectrochim Acta A*, 2006, 65(2): 497—500
- 5 徐自升, 蔡宝昌, 张弦. 怀山药炮制前后 TLC, UV 及 HPLC 图谱的变化. *中国中药杂志*, 2004, 29(2): 190
- 6 乌莉娅·沙依提, 康金国, 李宇晶. 维吾尔药孜然炮制前后微量元素及紫外光谱变化分析. *中国民族民间医药杂志*, 2001, (39): 39—40
- 7 Tian G, Wu Q, Sun SQ, Noda I, Chen GQ. Study of thermal melting behavior of microbial polyhydroxyalkanoates using two-dimensional Fourier-transform infrared correlation spectroscopy. *Appl Spectroscopy*, 2001, 55(7): 888—893
- 8 Xu CH, Sun SQ, Guo CQ, Zhou Q, Tao JX. Multi-steps infrared macro-fingerprint analysis for thermal processing of *Fructus viticis*. *Vibrational Spectroscopy*, 2006, 41(1): 118—125
- 9 Yu L, Sun SQ, Fan KF, Zhou Q, Noda I. Research on processing medicinal herbs with multi-steps infrared macro-fingerprint method. *Spectrochim Acta A*, 2005, 62(1-3): 22—29
- 10 Yuan XD, Ling KH, Keung CW. The analysis of heavy metals in Chinese herbal medicine by flow injection—mercury hydride system and graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Phytochem Anal*, 2009, 20(4): 293—297
- 11 李军, 姜华, 韩建国, 蒋长虹. 柴胡炮制前后总皂苷及 5 种微量元素含量比较研究. *安徽农业科学*, 2009, 37(11): 4984—4985
- 12 宋秀环, 浦响, 张甲生. 矿物药雄黄炮制、存放与毒性砷含量监测试验研究. *药物分析杂志*, 2007, 27(11): 1760—1763
- 13 丁霞, 朱方石, 余宗亮, 董李娜, 蔡宝昌. 山茱萸炮制前后宏微量元素及氨基酸成分比较研究. *中药材*, 2007, 30(4): 396—399
- 14 高婵, 李伟东, 李俊松, 丁霞, 蔡宝昌. 自然铜炮制前后微量元素含量变化研究. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(2): 47—48
- 15 刘丹, 李俊松, 李伟东, 丁霞, 蔡皓, 蔡宝昌. 赭石炮制前后 11 种元素的含量变化研究. *中华中医药学刊*, 2008, 26(12): 2577—2578
- 16 Cai BC, Hattori M, Namba T. Changes in alkaloid composition of the seeds of *Strychnos nux-vomica* on traditional drug-processing. *Chem Pharm Bull*, 1990, 38(5): 1295—1298
- 17 蔡宝昌, 吴皓, 服部征雄, 难波恒雄. 土的宁加热反应的研究. *中国药学杂志*, 1994, 29(5): 302—303
- 18 Cai BC, Nagasawa T, Kadota S, Hattori M, Namba T, Kuraishi Y. Antinociceptive effects of crude alkaloids from the processed and unprocessed seeds of *Strychnos nux-vomica* in mice. *Biol Pharm Bull*, 1996, 19(1): 127—131
- 19 蔡宝昌, 何亚维, 赵春忠, 吴皓. 炮制对马钱子中马钱子苷的影响. *中国中药杂志*, 1994, 19(6): 345—346
- 20 Cui SF, Fu BQ, Lee FSC, Wang XR. Application of microemulsion thin layer chromatography for the fingerprinting of licorice (*Glycyrrhiza spp.*). *J Chromatogr B*, 2005, 828(1-2): 33—40
- 21 Du WF, Cai H, Wang MY, Ding X, Yang H, Cai BC. Simultaneous determination of six active components in crude and processed *Fructus Corni* by high performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48 (1): 194—197
- 22 王维皓, 李娟, 高慧敏, 王智民, 张丽. 从 HPLC 特征图谱分析姜在炮制过程中的化学成分变化. *药物分析杂志*, 2009, 29(8): 1248—1252
- 23 Liu Z, Chao Z, Liu Y, Song Z, Lu A. Maillard reaction involved in the steaming process of the root of *Polygonum multiflorum*. *Planta Med*, 2009, 75(1): 84—88
- 24 Li SP, Li P, Dong TT, Tsim KW. Determination of nucleosides in natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps mycelia* by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 2001, 22(1): 144—150
- 25 高言明, 王建科, 李健, 陈飞, 李维勇. 毛细管区带电泳法测定黄连、黄柏炮制前后小檗碱的含量. *贵阳医学院学报*, 2008, 33(4): 371—373
- 26 Yang M, Sun JH, Lu ZQ, Chen GT, Guan SH, Liu X, Jiang BH, Ye M, Guo DA. Phytochemical analysis of traditional Chinese medicine using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2045—2062
- 27 Wang Y, Shi L, Song FR, Liu ZQ, Liu SY. Exploring the ester-exchange reactions of diester-diterpenoid alkaloids in the aconite decoction process by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2003, 17(4): 279—284
- 28 越皓, 皮子凤, 赵宇峰, 宋凤瑞, 刘志强, 刘淑莹. 电喷雾串联质谱分析附子炮制中的化学成分变化. *分析化学*, 2007, 35(7): 959—963
- 29 Kang J, Choi MY, Kang S, Kwon HN, Wen H, Lee CH, Park M, Wiklund S, Kim HJ, Kwon SW, Park S. Application of a ^1H nuclear magnetic resonance (NMR) metabolomics approach combined with orthogonal projections to latent structure-discriminant analysis as an efficient tool for discriminating between Korean and Chinese herbal medicines. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(24): 11589—11595
- 30 Li CY, Xu HQ, Han QB, Wu TS. Quality assessment of *Radix Codonopsis* by quantitative nuclear magnetic resonance. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2124—2129

- 31 Liao PY, Wang D, Zhang YJ. Dammarane-type glycosides from steamed notoginseng. *J Agric Food Chem*, 2008, 56 (5): 1751—1756
- 32 张林碧, 宋宝珠. 用凝胶电泳观察比较人参、僵蚕等药材炮制前后的变化. *中药材*, 1991, 14(4): 26—27
- 33 Zhao ZL, Leng CH, Wang ZT. Identification of *Dryopteris crassirhizoma* and the adulterant species based on cpDNA *rbcL* and translated amino acid sequences. *Planta Med*, 2007, 73(11): 1230—1233
- 34 许腊英, 夏险峰, 毛维伦. 中药苍术炮制前后 DNA 指纹图谱研究. *中成药*, 2006, 28(5): 674—676
- 35 Drasar P, Moravcova J. Recent advances in analysis of Chinese medical plants and traditional medicines. *J Chromatogr B*, 2004, 812(1-2): 3—21
- 36 Yu YJ, Huang TM, Yang B, Liu X. Development of gas chromatography-mass spectrometry with microwave distillation and simultaneous solid-phase microextraction for rapid determination of volatile constituents in ginger. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(1): 24—31
- 37 张帆, 李臻, 田树革, 马丽. 民族药小茴香炮制前后化学成分的变化分析. *中国中药杂志*, 2009, 34(7): 829—832
- 38 袁子民, 王静, 吕佳, 贾天柱. 肉豆蔻饮片炮制前后挥发油成分的 GC-MS 分析. *中国中药杂志*, 2006, 31(9): 737—739
- 39 Han T, Zhang QY, Zhang H, Wen J, Wang Y, Huang BK, Rahman K, Zheng HC, Qin LP. Authentication and quantitative analysis on the chemical profile of Xanthium fruit (Cang-Er-Zi) by high-performance liquid chromatography-diode-array detection tandem mass spectrometry method. *Anal Chim Acta*, 2009, 634(2): 272—278
- 40 周莉莉, 刘志强, 吴国光, 宋凤瑞, 刘淑莹. 山茱萸炮制过程中环烯醚萜苷类成分的质谱研究. *化学学报*, 2008, 66(24): 2712—2716
- 41 何忠梅, 孙佳明, 张辉, 王华. 固相萃取-高效液相色谱-电喷雾串联质谱法分析芍药和酒芍药的水溶性化学成分. *分析化学*, 2009, 37(8): 1201—1205
- 42 Chen P, Li C, Liang SP, Song GQ, Sun Y, Shi YH, Xu SL, Zhang JW, Sheng SQ, Yang YM, Li M. Characterization and quantification of eight water-soluble constituents in tubers of *Pinellia ternata* and in tea granules from the Chinese multiherb remedy Xiaochaihu-tang. *J Chromatogr B*, 2006, 843(2): 183—193
- 43 Chen JH, Zhao HQ, Wang XR, Lee FS C, Yang HH, Zheng L. Analysis of major alkaloids in *Rhizoma coptidis* by capillary electrophoresis-electrospray-time of flight mass spectrometry with different background electrolytes. *Electrophoresis*, 2008, 29(10): 2135—2147
- 44 Zheng CN, Hao HP, Wang X, Wu XL, Wang GJ, Sang GW, Liang Y, Xie L, Xia CH, Yao XL. Diagnostic fragment-ion-based extension strategy for rapid screening and identification of serial components of homologous families contained in traditional Chinese medicine prescription using high-resolution LC-ESI-IT-TOF/MS: Shengmai injection as an example. *J Mass Spectrom*, 2009, 44(2): 230—244
- 45 Liu YM, Xu Q, Xue MY, Zhang FF, Liang XM. Two-dimensional LC-MS analysis of components in *Swertia franchetiana* Smith. *J Sep Sci*, 2008, 31(6-7): 935—944
- 46 Lau CC, Chan CO, Chau FT, Mok DKW. Rapid analysis of *Radix puerariae* by near-infrared spectroscopy. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 2130—2135
- 47 秦昆明, 方前波, 蔡宝昌. 指纹图谱技术在方剂现代研究中的应用现状. *世界科学技术-中医药现代化*, 2009, 11(2): 287—293
- 48 Wu W, Qiao CF, Liang ZT, Xu HX, Zhao ZZ, Cai ZW. Alkaloid profiling in crude and processed *Strychnos nux-vomica* seeds by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 45(3): 430—436
- 49 温学森, 杨世林, 马小军, 郑俊华. 地黄在加工炮制过程中 HPLC 谱图的变化. *中草药*, 2004, 35(2): 153—156
- 50 刘明, 李更生, 王慧森, 卢鹏伟. 地黄九蒸九晒炮制过程中益母草苷的含量测定及其动态变化. *中国药学杂志*, 2009, 44(9): 658—660
- 51 梁逸曾, 易伦朝, 许青松. 中药现代化研究与化学计量学. *中国科学 B 辑: 化学*, 2008, 38(4): 278—287
- 52 Zhou XL, Sun PN, Bucheli P, Huang TH, Wang DF. FT-IR methodology for quality control of arabinogalactan protein (AGP) extracted from green tea (*Camellia sinensis*). *J Agric Food Chem*, 2009, 57(12): 5121—5128

Application of modern instrumental analytical techniques in the mechanism research of Chinese medicine processing

QIN KunMing, SHI Yun, TAN XianHe, LU TuLin, WU Hao & CAI BaoChang

Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Modern analytical techniques mainly depend on instrumental analytical techniques. Many advanced modern instrumental analytical techniques have been widely used in the mechanism research of Chinese Medicine processing. It has promoted clarifying the mechanism of Chinese medicine processing and improving the quality control level of Chinese medicine herbal pieces. This paper gives an introduction of some modern instrumental analytical techniques and reviews some applications of those techniques in the mechanism research of Chinese medicine processing.

Keywords: modern instrumental analytical techniques, Chinese medicine processing, mechanism