

· 专题:双清论坛“用现代科学解读中医学原理” ·

中药复方的现代基础研究进展述评^{*}

杨洪军^{1* * *} 李贤煜² 陈鹏² 张晶晶³ 吴宏伟³
郭娜² 郭非非³ 廖星^{4,5} 毕明刚^{5* *}

1. 中国中医科学院,北京 100700
2. 中国中医科学院医学实验中心,北京 100700
3. 中国中医科学院中药研究所,北京 100700
4. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所,北京 100700
5. 国家自然科学基金委员会医学科学部,北京 100085

[摘要] 中药复方的现代基础研究是中药现代化发展的必经之路。本文从中药复杂作用模式解析研究策略与方法、中药直接靶点发现技术与应用、系统生物学驱动的中药复杂作用解析三个方面,对中药复方的现代基础研究进行综述,并对其未来发展进行展望。

[关键词] 中药复方;现代基础研究;靶点发现;系统生物学;复杂作用解析

中药复方是中医理论的载体,也是中医临床治疗的主要形式和手段,可作为用现代科学技术解读中医学原理的突破口之一。中药复方是复杂化学体系,人体是一个复杂巨系统,揭示中药复方的物质实体与机体生命活动的交互规律,解析中药复杂体系作用模式,是中药现代化发展亟待突破的关键科学问题。技术进步促进了化学物质、体内过程、作用机制单一环节的研究,但阐释中药物质实体与生命活动的整合调节机制,更是中药复杂体系作用模式解析未来面临的难点与挑战。因此,加强中药复杂体系作用模式解析策略与方法的创新,必将有利于阐述中药复方疗效的整体调控机理,构建中药新药发现新范式,推动形成复杂疾病的药物研发新理论,促进中医药原创思维转化为产业竞争力。

1 中药复杂作用模式解析研究策略与方法

针对中药复方多成分、多途径整合调节发挥作用的基本特点,围绕物质基础与作用机制,学者们提出了不同的研究策略与方法。

针对中药与机体两个复杂系统,罗国安团队^[1]



杨洪军 中国中医科学院副院长,首席研究员。主要研究方向为中药复杂作用解析、中药新药设计、中医药新技术新方法。承担国家自然科学基金专项项目、重点项目、科技部重点研发计划等课题多项,曾获中华中医药学会科学技术奖一等奖、中国中西医结合学会科学技术奖一等奖等奖项。发表学术论文 160 余篇,其中 SCI 论文 80 余篇。



毕明刚 研究员,国家自然科学基金委员会医学部十处副处长,主要研究方向为医药科技战略研究及中医药领域科学基金管理。承担国家自然科学基金、重大新药创制国家科技重大专项、北京市自然科学基金等课题多项。发表科学基金管理论文 30 余篇。

提出了“系统—系统”的中药方剂研究模式。在中药复方研究过程中,往往存在“碎片化”的情况,难以全面揭示中药作用规律与特点。为此,研究者们着力于构建中药物质基础、体内过程、效应机制关联的一体化研究策略。例如:王广基团队^[2]结合药动学、药效学、代谢组学、化学信息学等多学科,构建了中药体内外物质组关联分析技术、中药同系成分定量构

收稿日期:2024-01-19;修回日期:2024-02-29

* 本文根据国家自然科学基金委员会第 331 期“双清论坛”讨论的内容整理。

** 通信作者,Email: hjyang@icmm.ac.cn; bimg@nsfc.gov.cn

本文受到国家自然科学基金专项项目(82342006)的资助。

代研究技术和中药药动学参数拓展分析技术三大中药药动学关键技术,形成了中药药动学研究的技术新体系,促进了中药药动学的研究。刘昌孝团队^[3]提出三维思路(中药活性物质基础—药物代谢体内过程—反映中药疗效和安全性的药物效应)和针对中药复方制剂配伍规律研究的“点—线—面—体”研究模式。果德安团队^[4]提出并构建了“化学分析—体内代谢—生物机制”中药复杂体系活性成分的系统分析方法学体系,并在此基础上建立了中药现代质量控制标准模式。张卫东团队^[5]提出基于整体观的中药方剂研究策略,通过整合多种现代分析技术,建立了“中药化学物质组解析—中药多成分药代动力学—药代—药效关联性分析”的中药方剂有效成分群辨识方法。王喜军团队^[6]创新性地提出中医方证代谢组学,采用代谢组学方法以中医病证为切入点,中药方剂为研究对象,寻找与中医病症实质相关的生物标志物,评价中药的整体疗效,确定药效成分,深入剖析中药作用疗效及作用机制。在药效物质基础研究方面,李萍团队^[7]提出“部分”对“整体”活性贡献的中药复方有效成分群发现新思路,从中药众多成分中发现一个能基本代表原方整体药效的成分群,可作为质量控制指标和组合药物发现的线索。

网络科学发展,为中药复方复杂作用解析提供了新策略与新工具。李梢团队^[8,9]提出的基于生物网络的“网络靶标”理论为中医药学原理的探索提供了新的视角。这一理论有望突破宏微观内在关联的解析鸿沟,实现还原论和整体论的有机融合,为传统中医与现代医学搭建桥梁,为中医证候与中药的多维效应关联提供新的切入点。周雪忠团队^[10]利用网络医学理论与方法,从复杂网络与系统角度提出了中药治疗原理的现代科学解释。他们通过分析完整人类蛋白质网络上的中药靶标和症状关联蛋白模块的拓扑邻近关系,解释了中医临床辨证施治的原理。这种基于网络和系统的研究方法为中药治疗原理提供了新的解释,并结合真实世界临床数据进行了有效性验证。杨洪军团队^[11]提出“整合药理学”研究策略,并构建“化学分析—体内过程—网络药理学”和“肠吸收—活性评价—数据挖掘”体外联用模型具体技术路径。

2 中药直接靶点发现技术与应用

阐释中药作用靶点和分子机制,不仅有助于科学诠释中药复方防治疾病的作用机制,而且有利于

发现新靶点及先导化合物,促进创新药物研发。目前,中药分子的直接作用靶点发现方法主要分为基于化学蛋白质组学的标记法和基于蛋白质稳定性的非标记法。

基于化学蛋白质组学的小分子标记法主要包括两个关键步骤,探针设计合成和靶标蛋白质鉴定,检测装置主要是质谱和蛋白质组芯片。目前已发展出了多种不同类型的探针用于筛选具有不同结构的小分子蛋白靶标,常用的探针包括生物素化探针、点击化学活性探针、光亲和探针、靶向降解探针等^[12]。近年来研究人员使用基于化学蛋白质组学的标记法进行中药直接作用靶点的筛选,产出了大量创新性工作。陈竺、陶生策团队^[13]通过生物素标记三氧化二砷探针结合人类蛋白组芯片,发现三氧化二砷可以显著抑制肿瘤细胞中糖酵解通路限速酶己糖激酶2(Hexokinase 2, HK2)的活性,导致肿瘤细胞的凋亡。屠鹏飞、曾克武团队^[14]利用中药分子探针“钩钩”策略,完成了多种中药活性成分的靶点鉴定,对肉苁蓉代表性药效成分松果菊苷的直接作用靶点进行了以分子探针为基础的靶点钩钩,成功鉴定出松果菊苷发挥脑缺血神经损伤保护作用的直接靶点蛋白为酪氨酸激酶2亚基 α' (Casein Kinase 2 α' Subunit, CK2 α')。梁广团队^[15]长期从事慢性炎症和代谢性心血管疾病新机制、新靶点和新药研究,利用分子探针确定了雷公藤红素通过与STAT3蛋白直接结合,抑制血管紧张素诱导的心功能障碍的明确药物机理。基于化学蛋白质组学的化学标记方法已经得到了广泛的应用,但也存在不足之处,由于需要合成探针或进行分子修饰,难以用于构效关系紧密的小分子或复杂中药体系的快速、无偏倚蛋白质靶点鉴定。

基于蛋白质稳定性的非标记法,其机制是当一个小分子与其蛋白质靶点结合时,蛋白质的稳定性会发生变化,从而揭示中药活性分子的蛋白质靶点。这些新颖的非标记药物靶点检测技术包括药物亲和反应的靶点稳定性(Drug Affinity Responsive Target Stability, DARTS),氧化速率蛋白稳定性(Stability of Proteins From Rates of Oxidation, SPROX),蛋白质热稳定性分析(Cellular Thermal Shift Assay, CETSA),热迁移蛋白质组分析(Thermal Proteome Profiling, TPP),溶剂诱导蛋白沉淀法(Solvent-Induced Protein Precipitation, SIP)等^[16]。张卫东团队^[17]利用DARTS\TPP等方法对系列中药活性分子进行了研究,发现了包括

Ainsliadimer A、黄芪甲苷衍生物等多种中药活性分子的作用靶点,为中药创新药物研发提供了路径。马骁驰团队^[18]采用 TPP 结合 SIP 方法成功筛选苦参提取物 Kurarinone 减轻帕金森病症状的潜在靶蛋白—可溶性环氧化物水解酶 (Soluble Epoxide Hydrolase, sEH),为新的 sEH 抑制剂开发提供先导。针对行业无专业中药靶点芯片现状,杨洪军团队^[19]开发了专业的中药靶点芯片,并提出了用于中药复杂化学体系靶点筛选的蛋白质热稳定性芯片概念,这种技术有望解决中药复杂成分的非标记靶点筛选。随着结构生物学和计算化学的发展,以及各种联通图谱数据库的建立,生物信息学分析方法也逐渐被应用于识别中药活性分子的蛋白靶标^[20]。

中药分子靶点的筛选为中药复方的靶点筛选奠定了技术基础。化湿败毒方是被国家药监局批准用于治疗新型冠状病毒(以下简称“新冠”)病毒感染的临床有效中药方剂,具有明确的抗病毒作用和抗炎作用。黄璐琦团队^[21]从整体药效到分子机制,深入解析了化湿败毒方治疗新冠肺炎的活性成分、作用靶点及通路。该研究明确了化湿败毒方原型和入血成分,发现六个成分发挥主要抗病毒作用,其中刺甘草查尔酮、槲皮素为新冠病毒主要蛋白酶的抑制剂,西北甘草异黄酮和甘草异黄酮 A 为 RNA 依赖性 RNA 聚合酶的抑制剂;辨识三个成分发挥主要抗炎作用,其中西北甘草异黄酮的作用靶点为 cAMP 特征的 3'5'-环核苷酸磷酸二酯酶 4 (Phosphodiesterase 4, PDE4)。该研究从“多成分、多途径、多靶点”角度充分展示了中药复方整体作用特点及独特优势。

3 系统生物学驱动的中药复杂作用解析

3.1 转录组学、单细胞测序及空间转录组

转录组研究从基因转录图谱系统揭示生命活动及疾病发生的生物学过程和分子调控网络机制,是基因功能及结构研究的基础和出发点,对理解机体发育和疾病具有重要作用。相比基因芯片,高通量转录组测序技术无需预先设计探针,即可对任意物种的整体转录活动进行检测,提供更精确的数字化信号,更高的检测通量以及更广泛的检测范围^[22]。借助转录组学技术,可全面系统解析中药复杂作用,包括药理机制、方剂配伍、药物新靶点发现、中药毒理及相关标志物的研究等。

在中药复方药理机制方面,转录组常与网络药理学、生物信息学等技术联用,在全景化勾勒生物学

过程中的复杂性状和药物转录调控网络基础上,揭示中药关键效应环节及药效物质基础。Wang 等^[23]利用转录组测序,发现苦参注射液调控关键通路 Smad7/TGF- β R1,抑制造血干细胞的激活,以重新平衡 Smad2/Smad3 信号,从而抑制肝纤维化及相关肿瘤的发生。杨洪军团队^[24]采用转录组和生物信息学分析,揭示复方黄柏液干预糖尿病溃疡动态性及时序性作用特点,发现其主要抑制 IL-17 信号通路,调控炎症反应、细胞凋亡、氧化损伤、基质分泌及血管生成等多途径协同加速糖尿病溃疡伤口愈合。在中药组方配伍方面,Zhou 等^[25]采用转录组与网络药理学结合,研究复方木犀汤治疗肝纤维化的配伍,发现由木犀草素、甘草查尔酮 A、芦荟大黄素和金合欢素组成的新配方,具有抗肝纤维化活性,可能通过调节 Jak STAT 和 PI3K/Akt/FoxO 信号传导发挥作用。在中药毒理及生物标志物研究方面,转录组学常与代谢组学整合用于中药毒性关键通路及早期生物标志物的鉴定。Zhao 等^[26]采用转录组和代谢组学,发现雷公藤甲素通过 PI3K/Akt、MAPK 等多途径诱导肝细胞凋亡,而酰基肉碱为其肝损伤早期潜在生物标志物。Fang 等^[27]利用转录组与代谢组整合,发现马兜铃酸 I 诱导小鼠肝损伤与年龄存在因果关系,并阐明其对新生小鼠的毒作用机制主要通过干扰类固醇激素的生物合成、花生四烯酸代谢、药物代谢途径、细胞色素 P450 途径和甘油磷脂代谢。

由于基因表达具有细胞异质性和空间异质性,为了解决这些异质性问题,转录组测序技术向单细胞水平和空间结构水平方向发展,单细胞转录组测序技术 (Single cell RNA Sequencing, scRNA-seq) 与空间转录组技术 (Spatial Transcriptomics, ST) 应运而生。2009 年,scRNA-seq 首次被汤富酬团队^[28]应用于解析单个小鼠卵裂球的全转录组信息,随后该技术被迅速推广应用到生命科学与医药研究的各个方面。scRNA-seq 可从单细胞水平解析组织细胞转录组信息异质性,可构建疾病发展演变过程的细胞图谱,探究与疾病密切相关的特异性细胞亚群作用,指导药物靶点精细化筛选,为临床疾病治疗个性化、精准化提供全新的视角^[29]。Zhang 等^[30]依托 scRNA-seq 技术在高分辨率单细胞景观下解析雷公藤甲素生殖毒性的机制,发现雷公藤甲素增加小鼠睾丸中巨噬细胞和炎症反应,提高体细胞如 Leydig 和 Sertoli 细胞活性氧信号,从而诱导雷公藤甲素的睾丸毒性。Xie 等^[31]利用网络药理学与

scRNA-seq 结合,揭示柴胡舒肝散调节炎症反应、抑制血管生成及调节细胞外基质重构等多途径发挥抗肝纤维化作用。Tian 等^[32]基于 scRNA-seq 和代谢组学整合,发现清肺排毒汤提高冠状病毒诱导肺炎小鼠的免疫功能,减少肝脏损伤和炎症反应。ST 对细胞基因表达测定的同时,可还原细胞在组织空间的位置信息,但尚未实现单细胞分辨率的空间转录组信息^[33]。目前 ST 被广泛用于生长发育、疾病演变及药理机制的研究,但在中医药领域应用相对较少。Lin 等^[34]采用 scRNA-seq 和 ST 技术整合,实现单细胞分辨率和高空间分辨率下的药理机制精化解析,发现麝香保心丸可促进心肌梗死区 Nppb 和 Npr3 基因表达,增加成纤维细胞数量与内皮细胞向成纤维细胞转化,从而干预心肌缺血/再灌注损伤。

3.2 蛋白质组学

作为后基因组时代的标志,蛋白质(组)代表疾病的中间表型,是解读遗传和非遗传因素与疾病发生发展关系的纽带。新兴的微量细胞、组织和体液蛋白质组学技术进步,对表征人类疾病的复杂过程和了解人类当前的健康状况提供了窗口和支点^[35]。迄今,以 Matthias Mann 为代表的专家提出基于数据非依赖性采集(Data-independent Acquisition, DIA)血浆蛋白质组和机器学习方法,构建了可预测肝纤维化、炎症、脂肪变性蛋白、肥胖、阿尔茨海默病等系列生物标志物模型^[36];基于组织原位和单细胞蛋白质组方法为疾病的“精细化”和“全景化”表征提供了工具^[37];通过蛋白相互作用组研究方法,高通量捕捉快速变化和短暂滞留的蛋白复合物,为动态表征疾病在系统性演变和缓慢发生发展过程提供支撑^[38];利用时间、剂量依赖性的动态细胞时序蛋白质组学研究方法,结合药物对蛋白的翻译后修饰(糖基化、磷酸化、乙酰化、泛素化等)的调节表征,能够更好为药物的复杂作用机制、作用时机进行重定位^[39]。

由此可见,功能蛋白质组学的发展呈现向微滴、痕量蛋白组学迈进的趋势,也更重视解决临床和基础相互交融的重大科学难题。

在临床中药复杂作用表征方面:如卢传坚团队、于晓波团队等^[40]运用临床血清蛋白质组学对中医药治疗银屑病展开研究,找到 5 个血清关键蛋白标志物,实现中药“银屑病优化方”的治疗效果的表征。在中药起效模式、起效成分挖掘方面:如王初团队^[41]利用定量蛋白质组学技术揭示传统中药活性

分子黄芩苷治疗肥胖、脂肪肝及系列代谢疾病的分子机制。在中药复方配伍效果、机制阐释方面:如陈竺团队^[42]最早用蛋白组学、磷酸蛋白质组技术对神制剂和中药联合配伍,对急性早幼粒细胞白血病的长期疗效进行综合评价和实践。在复方中药精确定位、起效时机和调控网络整体追踪方面:如杨洪军团队提出了疾病演变全程、追踪式、阶段化药物干预、精化解析策略,成功构建的“全景化”动态疾病演变全周期渐变窗口可观测动物模型+蛋白质组学的表征体系;同时围绕该体系首次在动物水平重新定义了心梗后、射血分数降低型心衰前期阶段(Pre-HFrEF)、射血分数降低型心衰节点(HFrEF)、射血分数降低型心衰后期阶段(Post-HFrEF)等全程演变的蛋白规律图谱,并找到了药物精准的干预时机和窗口^[43]。在中药复方作用优势环节表征方面:如杨洪军团队^[44]利用痕量蛋白质组学分析,区别于上市西药,实现了经典品种安宫牛黄丸作用于细胞因子风暴后小鼠肺脏免疫自稳层面的优势环节表征。

3.3 代谢组学

近年来随着代谢组学技术与方法的不断发展,代谢组学在解析中药复杂作用机制上又有许多新突破。

3.3.1 检测技术的不断革新实现中药复杂作用机制的多维度动态解析

空间分辨代谢组学基于质谱成像技术,能够直接从生物样品中获得大量已知或未知的代谢物含量和空间分布信息,它可以直观跟踪中药药效成分在体内的分布和代谢过程,并原位表征疾病进程中及中药干预后内源性代谢物在组织中的分布情况,如采用空气动力辅助质谱成像技术(AFADESI-MSI)可视化地展现了何首乌关键化学成分在肝组织中的分布及何首乌提取物给药后干扰机体的代谢通路,从时空分布多维度解析何首乌的肝毒性机制^[45]。单细胞代谢组学以单个细胞(单一细胞类型)为研究对象,可用于解码单细胞遗传、发育及环境刺激导致的异质性,并可用于细胞群落内细胞类型的鉴定与分化。近年来通过结合流式细胞术与质谱技术可实现高通量细胞代谢组分析,同时基于质谱成像技术的单细胞空间分辨代谢组学也逐渐兴起^[46, 47],它作为单细胞组学技术的一种,在中药抗炎、抗肿瘤、神经保护等作用机制中已有一定研究^[48, 49]。代谢流分析通过采用稳定同位素示踪等技术打破了传统代谢组学仅提供静态代谢模式的局限,将代谢网络以动态变化的方式呈现,通过对代谢通路中的前体

物质进行¹³C-葡萄糖、¹⁵N-谷氨酰胺等标记,示踪原子追踪标记化合物的代谢过程,如采用同位素示踪法考察黄芪当归合剂对肾病综合征中肾损伤的保护作用及对代谢紊乱的影响^[50]。

3.3.2 数据分析方法的完善促进中药复杂作用机制解析的科学性、精准性与简便性

如采用随机森林、遗传算法等算法构建人工智能模型完善代谢组学数据挖掘过程,将基于反向传播人工神经网络(Back Propagation—Artificial Neural Network, BP—ANN)的机器学习方法用于挖掘代谢组学数据,快速简便地从金芪降糖制剂中鉴定出具有生物活性的质控标志物^[51]。

3.3.3 代谢组学的扩展应用助力中药复杂作用机制解析

如代谢组学扩展方法综合揭示中药黄芪治疗脑缺血机制^[52],杨洪军团队^[53, 54]结合扩展的“定性—定量—定位”整合代谢组学、16S rDNA 及宏基因组测序技术,综合探究了葛根醇提物治疗心肌梗死疾病及灯盏生脉胶囊治疗心力衰竭疾病中肠道微生物的变化及相关分子机制,预测心肌梗死和心力衰竭疾病的潜在“小分子—肠道菌群”的生物标志物轴,为解读中药复杂作用机制和科学内涵提供崭新的方法和理论视角。

3.4 修饰组学

蛋白质翻译后修饰(Post-translational Modification, PTM)是指在蛋白质翻译过程中和翻译后一个或者多个氨基酸位点被共价修饰的现象,通过引入磷酸基、甲基和酰基等官能团,改变蛋白质的定位、活性和分子互作^[55]。蛋白质修饰组学可以确定蛋白的修饰位点,量化特定修饰的变化丰度,是研究 PTM 的系统性分析方法。

蛋白质修饰组学为鉴定疾病的潜在治疗靶标提供了强大支持。樊嘉团队运用磷酸化修饰组学,成功鉴定出果糖二磷酸醛缩酶 A(ALDOA)S36 磷酸化具有促瘤作用,可能是治疗 CTNNB1 突变肝癌的潜在靶标^[56]。此外,酰化修饰组学也在多种病理机制解析中发挥关键作用。利用丁酰化修饰组学阐明了 HSP90 K754 丁酰化通过影响蛋白质稳定性导致肿瘤的化疗耐药性^[57]。乳酸化修饰是新兴的酰化修饰,近期通过乳酸化修饰组学发现,在缺血性视网膜病变中,转录因子 YY1 可以被乳酸化修饰,促进血管新生^[58]。

在中药药理机制解析中,蛋白质修饰组学的研究和应用还处于初始阶段,但是也展现了广阔的应

用前景。中药复方的复杂作用机制解析中,中国学者利用磷酸化修饰组学发现益糖康通过 ALDOA 调节糖酵解路径调控糖尿病肾脏疾病的能量代谢过程^[59]。同样,利用磷酸化修饰组学,白钢团队^[60]发现川贝枇杷滴丸通过作用于 EGFR 和 MLC2 信号通路来改善肺功能和减轻肺纤维化预防慢性阻塞性肺疾病加重。此外,在中药单体的机制探究中,蛋白质修饰组学也为深入的机制探究提供了强大帮助。在双氢青蒿素(Dihydroartemisinin, DHA)的药理学机制研究中,利用磷酸化修饰组学,鉴定出 DHA 可以诱导 MAPK-AP-1 信号通路中关键蛋白的磷酸化,从而增强宿主对疟疾感染的免疫力^[61]。尚文斌团队^[62]运用乙酰化修饰组学,发现小檗碱可以抑制 p65 K310 乙酰化修饰水平来调节炎症因子表达,进一步拓展我们对小檗碱抗炎机制的认识。未来随着蛋白质修饰组学在中药药理机制解析中的深入研究,该方法将为中药作用靶点的寻找和通路的解析开辟新的道路。

3.5 多组学整合应用

多组学整合的系统性与整体性,与中药干预疾病的特点不谋而合,是中药药理复杂作用解析的重要技术手段。多组学数据之间的整合分析,使结果相互验证补充,最终实现对中药复杂机制大趋势与方向的综合全面解析,加深对药物作用认识,构建多层次全面系统的调控网络。此外,多组学可消除单一组学的背景噪音干扰,提高准确度和筛选效率^[63]。多组学(转录组学、蛋白质组学、代谢组学及微生物组学等)整合策略,特别是转录组或蛋白质组常与代谢组整合,被广泛用于中药复杂作用机制解析。张金兰团队^[64]采用蛋白质组与代谢组整合,发现灯盏生脉胶囊主要调节谷氨酸能和 GABA 能突触发挥治疗慢性脑缺血的作用,且 4,5-咖啡酸和灯盏花乙素是其关键的潜在活性成分。Pan 等^[65]采用网络药理学、转录组和代谢组分析,发现脑痰清通过调节 NF- κ B 和 Toll 样受体途径抑制神经炎症,调节鞘脂和甘油磷脂代谢途径,改善阿尔茨海默小鼠行为异常和组织病理改变。于君团队等^[66]利用转录组、代谢组与微生物组整合,揭示片仔癀一方面调节肠道微生物组成,促进有益代谢产物生成,改善肠道屏障功能,抑制致癌和促炎通路发挥“间接”调控作用;另一方面片仔癀中的活性成分人参皂苷可“直接”抑制肠癌的发生,从而以多途径预防肠癌发生。杨洪军团队^[22]利用转录组和转录因子蛋白质组整合策略,从转录因子本身变化及其对下游基因调控

方向与水平鉴定出丹红注射液保护心肌细胞的关键转录因子 APEX1、MEF2D 及 PBX3,为中药关键靶标的发现提供高效的多组学技术手段。Tan 等^[67]对心脏线粒体代谢组和蛋白质组检测,发现从四逆汤中筛选出多种线粒体靶向成分改善心脏能量学和线粒体功能障碍以减轻阿霉素诱导的心肌病。

值得注意的是,基于单细胞水平多组学及空间多组学等的整合是未来技术发展的重要趋势,然而整合多组学数据仍面临诸多挑战。首先,多组学来源的数据往往不易整合,由于采集方式及前期处理的不同,导致样本数据的差异性,干扰后续多组学整合分析,因此尚需要建立全面、数据量大且种类多的多组学数据,从而消除由于操作所带来的误差。此外,如何建立系统、高效的整合分析方法仍是一大难题,基于多组学来源的数据往往数据量大,多组学中各组学分析方法的不同,使得多组学数据结果相互之间关联性差,不能有效整合起来。因此,如何开发有效的多组学整合分析方法,仍是多组学整合所亟需解决的重要问题。

4 展望

4.1 药效物质全景化分析

中药复杂体系作用模式的解析是当下中医药领域面临的一大难题。从长远来看,可包括药效物质的体外发现和体内表征两部分,其中,利用“受体—配体”特异结合、细胞膜仿生亲和、细胞膜色谱等新技术方法能快速筛选出中药新活性成分,有效补充体外药效物质的发现^[68];而药效物质的体内表征,则相对复杂,需要根据物质实体在体内发生不同移行过程,从吸收、分布、代谢 3 个环节,模拟体内代谢过程各环节,建立体外复合模型,包括“肠吸收—活性评价”“肠吸收—肝药酶—活性评价”“肠道菌群转化—肠吸收—活性评价”等复合模型,动态解析物质的体内过程及作用,揭示中药中的可吸收原形成分、代谢产物(肠道、肝脏等)、不可吸收成分与药效活性的关联性,即可明确药效物质和起效形式。可重点采用“药动—药效”体外复合模型,从“可吸收原形成分、肠道菌群代谢产物、不可吸收成分”等起效形式,实现中药复方药效物质的全景式分析。

4.2 靶标—网络精细化解析

针对中药复杂体系作用模式解析的一个关键难点,即中药直接靶点的发现、确认与信号通路调控问题,开发中药作用靶标—调控网络的精细化解析技术。针对直接靶标发现,可采取两种策略:以中药成

分为起点筛选靶标蛋白的逆向策略,包括化学蛋白质组学、化学基因组学等方法;另一种是中药成分引起的表型变化或与之相关的已知信号通路和作用网络推测并确定化学成分的靶标,也称作正向策略,主要包括差异基因组学/蛋白质组学分析、细胞形态分析等方法。立足于胞内效应调控网络,开发解析药物成分功效机制的多组学数据整合和调控网络解析新方法,实现基于网络分子变化精准评估活性分子的疗效与潜在风险,并以重要的基因功能模块为单位,解析药物功能发挥的关键节点及药物分子协同作用的机制,揭示多种药效成分的协同作用模式。

4.3 多维效应体系化整合

发展“化学成分—靶标网络—病证效应”相结合的异质网络分析和基于靶标网络的中药新药发现与优化技术。整合多维数据,建立中医病机过程时空演变的动态靶标网络,通过对多组学分子特征谱的整合分析,构建多维微观分子特征网络图谱,按照“分子网络—药理活性—病证效应”的研究模式,结合对中药方剂靶标—网络的精细化解析,将其作用的局部网络映射到病证效应的整体网络之上,将中医的整体思维与西医疾病分子网络演变有机关联,揭示中药方剂的作用模式与特征。

参 考 文 献

- [1] 罗国安,梁琼麟,王义明,等. 中医药系统生物学发展及展望. 中国天然药物, 2009, 7(4): 242—248.
- [2] 王广基. 中药多组分体内过程与药效关联研究的探索. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 643.
- [3] 刘昌孝. 代谢组学助推中药现代研究. 医学研究杂志, 2007, 36(7): 1.
- [4] 果德安,叶敏,吴婉莹,等. 中药复杂体系活性成分系统分析方法及其在质量标准中的应用研究. (2016-01-01)/[2024-01-15]. https://www.zhangqiaokeyan.com/academic-conference-cn_meeting-5734_thesis/020221438327.html.
- [5] 张卫东. 系统生物学与中药方剂现代研究. 北京: 科学出版社, 2017.
- [6] Zhang AH, Sun H, Yan GL, et al. Chinmedomics: a powerful approach integrating metabolomics with serum pharmacochemistry to evaluate the efficacy of traditional Chinese medicine. Engineering, 2019, 5(1): 60—68.
- [7] 杨华,齐炼文,李会军,等. 以“等效成分群”为标示量的中药质量控制体系的构建. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(3): 510—513.
- [8] Zhang SQ, Yang K, Liu ZH, et al. DrugAI: a multi-view deep learning model for predicting drug-target activating/inhibiting mechanisms. Briefings in Bioinformatics, 2023, 24(1): bbac526.

- [9] Li S, Zhang B, Zhang NB. Network target for screening synergistic drug combinations with application to traditional Chinese medicine. *BMC Systems Biology*, 2011, 5(1): S10.
- [10] Gan X, Shu ZX, Wang XY, et al. Network medicine framework reveals generic herb-symptom effectiveness of traditional Chinese medicine. *Science Advances*, 2023, 9(43): eadh0215.
- [11] 许海玉, 杨洪军. 整合药理学: 中药现代研究新模式. *中国中药杂志*, 2014, 39(3): 357—362.
- [12] Chen X, Wang YT, Ma N, et al. Target identification of natural medicine with chemical proteomics approach: probe synthesis, target fishing and protein identification. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2020, 5: 72.
- [13] Zhang HN, Yang LN, Ling JY, et al. Systematic identification of arsenic-binding proteins reveals that hexokinase-2 is inhibited by arsenic. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(49): 15084—15089.
- [14] Zeng KW, Wang JK, Wang LC, et al. Small molecule induces mitochondrial fusion for neuroprotection via targeting CK2 without affecting its conventional kinase activity. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2021, 6: 71.
- [15] Ye SJ, Luo W, Khan ZA, et al. Celastrol attenuates angiotensin II-induced cardiac remodeling by targeting STAT3. *Circulation Research*, 2020, 126(8): 1007—1023.
- [16] Cui Z, Li CF, Chen P, et al. An update of label-free protein target identification methods for natural active products. *Theranostics*, 2022, 12(4): 1829—1854.
- [17] Lv C, Huang Y, Wang Q, et al. Ainsliadimer A induces ROS-mediated apoptosis in colorectal cancer cells via directly targeting peroxiredoxin 1 and 2. *Cell Chemical Biology*, 2023, 30(3): 295—307. e5.
- [18] Sun CP, Zhou JJ, Yu ZL, et al. Kurarinone alleviated Parkinson's disease via stabilization of epoxyeicosatrienoic acids in animal model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(9): e2118818119.
- [19] Cui Z, Chen P, Li CF, et al. Chip-DSF: a rapid screening strategy for drug protein targets. *Pharmacological Research*, 2022, 182: 106346.
- [20] Lv C, Wu XT, Wang X, et al. The gene expression profiles in response to 102 traditional Chinese medicine (TCM) components: a general template for research on TCMs. *Scientific Reports*, 2017, 7: 352.
- [21] Xu HY, Li SF, Liu JY, et al. Bioactive compounds from Huashi Baidu Decoction possess both antiviral and anti-inflammatory effects against COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, 120(18): e2301775120.
- [22] Zhang JJ, Guo FF, Wei JY, et al. An integrated approach to identify critical transcription factors in the protection against hydrogen peroxide-induced oxidative stress by Danhong injection. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, 112: 480—493.
- [23] Yang Y, Sun MY, Li WD, et al. Rebalancing TGF- β /Smad7 signaling via Compound Kushen injection in hepatic stellate cells protects against liver fibrosis and hepatocarcinogenesis. *Clinical and Translational Medicine*, 2021, 11(7): e410.
- [24] Zhang JJ, Zhou R, Deng LJ, et al. Huangbai liniment and berberine promoted wound healing in high-fat diet/Streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2022, 150: 112948.
- [25] Zhou Y, Wu R, Cai FF, et al. Development of a novel anti-liver fibrosis formula with luteolin, licochalcone A, aloe-emodin and acacetin by network pharmacology and transcriptomics analysis. *Pharmaceutical Biology*, 2021, 59(1): 1592—1604.
- [26] Zhao J, Xie C, Wang KL, et al. Comprehensive analysis of transcriptomics and metabolomics to understand triptolide-induced liver injury in mice. *Toxicology Letters*, 2020, 333: 290—302.
- [27] Fang ZE, Wang CY, Niu M, et al. Integration of transcriptomic and metabolomic data to compare the hepatotoxicity of neonatal and adult mice exposed to aristolochic acid I. *Frontiers in Genetics*, 2022, 13: 840961.
- [28] Tang FC, Barbacioru C, Wang YZ, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nature Methods*, 2009, 6: 377—382.
- [29] 汪茂林, 杨洪军. 单细胞转录组测序技术在药物研究中的应用. *药理学报*, 2023, 58(9): 2551—2559.
- [30] Zhang W, Xia SY, Ou JH, et al. A single-cell landscape of triptolide-associated testicular toxicity in mice. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2023, 13(8): 880—893.
- [31] Xie ZH, Xie ZY, Trujillo NP, et al. Exploring mechanisms of Chaihu-Shugan-San against liver fibrosis by integrated multi-omics and network pharmacology approach. *Bioscience Reports*, 2022, 42(7): BSR20221030.
- [32] Tian SS, Zheng NN, Zu XP, et al. Integrated hepatic single-cell RNA sequencing and untargeted metabolomics reveals the immune and metabolic modulation of Qing-Fei-Pai-Du Decoction in mice with coronavirus-induced pneumonia. *Phytomedicine*, 2022, 97: 153922.
- [33] 孙月秋, 于年祚, 张俊虎. 空间转录组学研究进展及其应用. *分子科学学报*, 2024, 40(2): 95—106.
- [34] Lin WY, Chen X, Wang DY, et al. Single-nucleus ribonucleic acid-sequencing and spatial transcriptomics reveal the cardioprotection of Shexiang Baoxin Pill (SBP) in mice with myocardial ischemia-reperfusion injury. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14: 1173649.
- [35] Suhre K, McCarthy MI, Schwenk JM. Genetics meets proteomics: perspectives for large population-based studies. *Nature Reviews Genetics*, 2021, 22: 19—37.

- [36] Niu LL, Thiele M, Geyer PE, et al. Noninvasive proteomic biomarkers for alcohol-related liver disease. *Nature Medicine*, 2022, 28: 1277—1287.
- [37] Vandereyken K, Sifrim A, Thienpont B, et al. Methods and applications for single-cell and spatial multi-omics. *Nature Reviews Genetics*, 2023, 24: 494—515.
- [38] Kushner JS, Liu GX, Eisert RJ, et al. Detecting cardiovascular protein-protein interactions by proximity proteomics. *Circulation Research*, 2022, 130 (2): 273—287.
- [39] Zecha J, Bayer FP, Wiechmann S, et al. Decrypting drug actions and protein modifications by dose- and time-resolved proteomics. *Science*, 2023, 380(6640): 93—101.
- [40] Xu M, Deng JW, Xu KK, et al. In-depth serum proteomics reveals biomarkers of psoriasis severity and response to traditional Chinese medicine. *Theranostics*, 2019, 9 (9): 2475—2488.
- [41] Dai JY, Liang K, Zhao S, et al. Chemoproteomics reveals baicalin activates hepatic CPT1 to ameliorate diet-induced obesity and hepatic steatosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(26): 5896—5905.
- [42] Hu J, Liu YF, Wu CF, et al. Long-term efficacy and safety of *all-trans* retinoic acid/arsenic trioxide-based therapy in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(9): 3342—3347.
- [43] Zhang FR, Xu XY, Hou JL, et al. Cardioprotective efficacy of Xin-Shu-Bao Tablet in heart failure with reduced ejection fraction by modulating THBD/ARRB1/FGF1/STIM1 signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 165: 115119.
- [44] Li S, Hou JL, Wang Q, et al. Angong Niu Huang Wan attenuates LPS-induced acute lung injury by inhibiting PI3CG/p65/MMP9 signaling in mice based on proteomics. *Heliyon*, 2023, 9(9): e20149.
- [45] Jiang HY, Zhang YX, Liu ZG, et al. Advanced applications of mass spectrometry imaging technology in quality control and safety assessments of traditional Chinese medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 284: 114760.
- [46] Wang JD, Song JF, Li C, et al. Recent advances in single cell analysis methods based on mass spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2020, 48(8): 969—980.
- [47] Qin SJ, Miao DY, Zhang X, et al. Methods developments of mass spectrometry based single cell metabolomics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2023, 164: 117086.
- [48] Deng WX, He QH, Zhang WA. Analysis of the mechanism of curcumin against osteoarthritis using metabolomics and transcriptomics. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2023.
- [49] Chen Y, Si LT, Zhang JH, et al. Uncovering the antitumor effects and mechanisms of Shikonin against colon cancer on comprehensive analysis. *Phytomedicine*, 2021, 82: 153460.
- [50] Radenkovic S, Vuckovic I, Lanza IR. Metabolic flux analysis: moving beyond static metabolomics. *Trends in Biochemical Sciences*, 2020, 45(6): 545—546.
- [51] Yang LL, Xue Y, Wei JC, et al. Integrating metabolomic data with machine learning approach for discovery of Q-markers from Jinqi Jiangtang preparation against type 2 diabetes. *Chinese Medicine*, 2021, 16(1): 30.
- [52] Wei XY, He Y, Wan HT, et al. Integrated transcriptomics, proteomics and metabolomics to identify biomarkers of astragaloside IV against cerebral ischemic injury in rats. *Food & Function*, 2023, 14 (8): 3588—3599.
- [53] Zhang P, Fang ZY, Zhao M, et al. Ethanol extract of *Pueraria lobata* improve acute myocardial infarction in rats via regulating gut microbiota and bile acid metabolism. *Phytotherapy Research*, 2023, 37(12): 5932—5946.
- [54] Yi BJ, Zhang P, Chen JM, et al. Dengzhanshengmai capsule alleviates heart failure and concomitantly decreases phenylacetylglutamine level, interacting with the intestinal microflora in rats. *Microbial Biotechnology*, 2024, 17(1): e14365.
- [55] Leutert M, Entwisle SW, Villén J. Decoding post-translational modification crosstalk with proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2021, 20: 100129.
- [56] Gao Q, Zhu HW, Dong LQ, et al. Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2019, 179(5): 1240.
- [57] He Y, Zheng CC, Yang J, et al. Lysine butyrylation of HSP90 regulated by KAT8 and HDAC11 confers chemoresistance. *Cell Discovery*, 2023, 9: 74.
- [58] Wang XT, Fan W, Li N, et al. YY1 lactylation in microglia promotes angiogenesis through transcription activation-mediated upregulation of FGF2. *SSRN Electronic Journal*, 2022, 24(1): 87.
- [59] 王玮鼎, 于嘉祥, 石岩, 等. 基于磷酸化蛋白质组学技术研究益糖康防治糖尿病肾脏疾病的机制. *沈阳药科大学学报*, 2023, 40(11): 1486—1497.
- [60] Ma XY, Liu AN, Liu WJ, et al. Analyze and identify peiminine target EGFR improve lung function and alleviate pulmonary fibrosis to prevent exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease by phosphoproteomics analysis. *Frontiers in Pharmacology*, 2019, 10: 737.
- [61] Li QL, Yuan Q, Jiang N, et al. Dihydroartemisinin regulates immune cell heterogeneity by triggering a cascade reaction of CDK and MAPK phosphorylation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7: 222.
- [62] Zhang SC, Xu PY, Zhu ZW, et al. Acetylation of p65Lys310 by p300 in macrophages mediates anti-inflammatory property of berberine. *Redox Biology*, 2023, 62: 102704.

- [63] 杨洪军, 张晶晶, 郭娜, 等. 中药治疗心脑血管疾病复杂作用机制解析研究进展. *中国科学: 生命科学*, 2022, 52(6): 859—872.
- [64] Sheng N, Zheng H, Li M, et al. 4, 5 caffeoylquinic acid and scutellarin, identified by integrated metabolomics and proteomics approach as the active ingredients of Dengzhan Shengmai, act against chronic cerebral hypoperfusion by regulating glutamatergic and GABAergic synapses. *Pharmacological Research*, 2020, 152: 104636.
- [65] Li QQ, Jia CX, Wu HX, et al. Nao Tan Qing ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by regulating glycolipid metabolism and neuroinflammation: a network pharmacology analysis and biological validation. *Pharmacological Research*, 2022, 185: 106489.
- [66] Gou HY, Su H, Liu DH, et al. Traditional medicine piensze Huang suppresses colorectal tumorigenesis through restoring gut microbiota and metabolites. *Gastroenterology*, 2023, 165(6): 1404—1419.
- [67] Ding X, Zhang Y, Pan PC, et al. Multiple mitochondria-targeted components screened from Sini Decoction improved cardiac energetics and mitochondrial dysfunction to attenuate doxorubicin-induced cardiomyopathy. *Theranostics*, 2023, 13(2): 510—530.
- [68] 许晴, 李智, 万梅绪, 等. 中药活性成分筛选新技术研究进展. *药物评价研究*, 2021, 44(7): 1541—1547.

The Review of Modern Advances in Basic Research on Compound Formulas of Traditional Chinese Medicine

Hongjun Yang^{1*} Xianyu Li² Peng Chen² Jingjing Zhang³ Hongwei Wu³
Na Guo² Feifei Guo³ Xing Liao^{4,5} Minggang Bi^{5*}

1. *China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700*

2. *Experiment Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700*

3. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700*

4. *Institute of Basic Research In Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700*

5. *Department of Health Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085*

Abstract The exploration of modern basic research on compound formulas in Traditional Chinese Medicine (TCM) is a crucial pathway for the advancement of TCM modernization. This article presents a comprehensive review of previous studies on TCM compound formulas, with a focus on three key aspects: research strategies and methodologies for analyzing the intricate mechanisms of action in TCM, advancements and applications in direct target discovery technology within TCM, and the analysis of complex actions driven by systems biology in TCM. Additionally, this article also provides insights into future prospects for developments in this field.

Keywords Chinese medicine compound; modern basic research; target discovery; systems biology; complex action analysis

(责任编辑 陈磊 张强)

* Corresponding Authors, Email: hjyang@icmm.ac.cn; bimg@nscf.gov.cn