



中药药效物质研究方法及其进展

乔雪^{1†}, 张亚群^{1†}, 果德安^{2*}, 叶敏^{1*}

1. 北京大学药学院, 天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100191;

2. 中国科学院上海药物研究所, 上海中药现代化研究中心, 中药标准化技术国家工程实验室, 上海 201203

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: daguo@simm.ac.cn; yemin@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2021-10-25; 接受日期: 2022-02-11; 网络版发表日期: 2022-05-23

国家自然科学基金(批准号: 81725023, 81891010/81891011, 82122073)和国家重点研发计划(批准号: 2017YFC1700405)资助

摘要 中药药效物质是指表征中药疗效的活性成分, 阐明中药的药效物质是中医药现代化研究的重要内容。由于中药“多成分、多靶点”的特性, 其药效物质研究具有较大的挑战性, 表现为化学成分与体内代谢产物的全面准确性定量分析存在困难, 以及药效成分发现的效率不高、不够全面。近几十年, 我国学者通过引入最新的仪器分析技术、细胞与分子生物学技术及计算机技术, 创新性地探索建立了一系列富有中药特色的研究思路与方法。本文对这些研究方法及其进展进行了综述, 包括中药化学成分分析新方法、中药体内代谢产物分析、中药药效物质发现三个方面, 并对未来研究方向进行了展望。

关键词 中药, 药效物质, 多成分、多靶点, 中药分析, 中药代谢

中药药效物质是指中药及其复方中能够表征临床疗效的化学成分或成分群, 既包括中药原有的成分, 也包括中药进入体内新生成的代谢产物^[1]。因此, 中药的药效物质既取决于其化学成分及代谢产物的药理活性, 又与它们的吸收、分布、代谢、排泄性质密切相关。研究中药药效物质, 目的是找到对中药功效有贡献的化学成分, 并探索活性成分与机体的相互作用关系。药效物质研究对于阐明中药的药效机制及作用靶点具有重要意义, 是中医药现代化研究的重要内容和中药创新药物研发的重要基础。研究结果还有助于阐释中药药性及复方配伍机制, 为传统中医药理论提供科学依据。

“中药药效物质”的概念于1997年由肖培根院士等

人在中医药博士论坛上正式提出, 认为中药药效物质基础可能以化合物单体、总成分、总提取物等多层次的形式表现, 药效物质基础不清楚是中药现代化面临的巨大挑战^[2]。因此, 研究过程应当更强调药理与化学的配合。2010年至今, “中药药效物质”相关论文发表数量基本呈逐年上升趋势, 研究内容也逐渐丰富。在中国知网(CNKI)以“中药”及“药效物质”为主题检索, 共有1500余篇期刊论文和学位论文。在Web of Science核心合集以“traditional Chinese medicine”和“effective component”为主题检索, 有1700余篇论文(图1)。经费来源方面, 约60%的CNKI论文和约40%的Web of Science论文由国家自然科学基金资助。2016~2019年期间, 国家自然科学基金资助中药药效物质(申请代码H2803, 最

引用格式: 乔雪, 张亚群, 果德安, 等. 中药药效物质研究方法及其进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 908–919

Qiao X, Zhang Y Q, Guo D A, et al. Research methods and progress of effective components in traditional Chinese medicines (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 908–919, doi: 10.1360/SSV-2021-0369

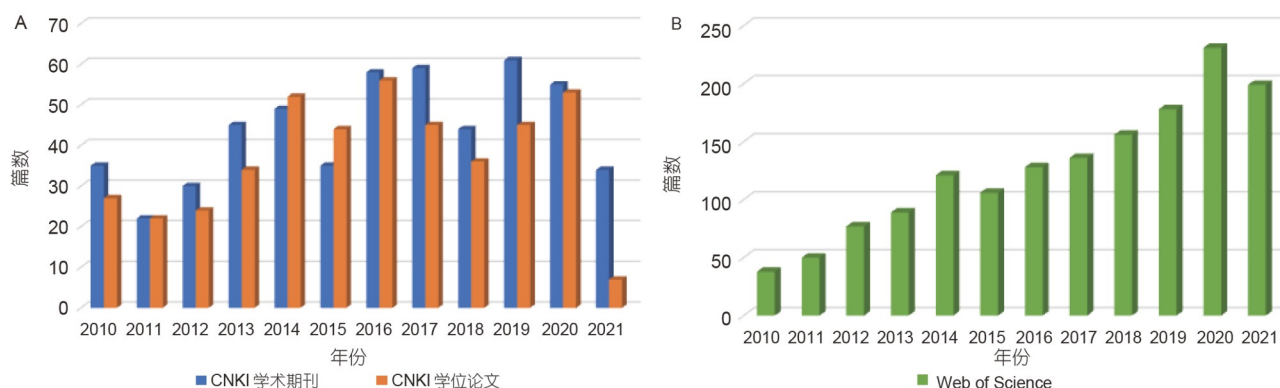


图 1 2010~2021年“中药药效物质”相关论文发表数. A: CNKI数据库的历年论文发表数; B: Web of Science核心合集的历年论文发表数

Figure 1 Number of papers and theses focusing on “effective components of traditional Chinese medicines” from 2010 to 2021. A: Annual number of papers and theses indexed in CNKI; B: annual number of papers indexed in the Web of Science

近更新为H3203)项目平均每年80项^[3]. 近些年, 中药学领域“国家杰出青年科学基金”“国家优秀青年科学基金”等人才项目的获得者, 不少是以中药药效物质为主要研究方向, 也表明这是当前的热点. 中药药效物质研究已成为中医药理论与技术创新的重要方向之一.

中药具有多成分、多靶点的特性, 这对于药效物质研究是很大的困难和挑战. 第一, 由于中药成分复杂, 所含的化学成分常难以被准确地鉴定结构与系统地定量检测. 第二, 体内代谢产物研究不充分, 阻碍了进一步阐明体内成分的药代动力学行为或生物活性. 第三, 药效多样, 涉及的活性成分多, 成分与药效构成复杂网络关系, 导致全面阐明药效成分比较困难. 此外, 中药成分之间还可能存在着相互作用, 如一种成分调节人体药物代谢酶, 从而改变另一种成分的生物利用度^[4]. 要深入阐明中药的药效物质, 关键在于探索适用于中药多组分的独特技术方法. 近几十年, 我国学者通过引入最新的仪器分析技术、细胞与分子生物学技术及计算机技术, 创新性地探索并建立了一系列富有中药特色的研究思路与方法. 针对前面提及的三点困难, 这些方法可以归纳为三个方面: 一是快速、灵敏地检测中药成分; 二是系统地鉴定中药的体内代谢产物并追踪其体内动态过程; 三是在充分考虑中药多成分的前提下, 阐明对药效有贡献的活性成分.

1 中药化学成分分析新方法

中药是一个复杂的化学体系, 由含量差异悬殊、

不同结构类型以及同一类型的系列化合物组成. 不同结构类型的酸碱性、极性、紫外吸收等理化性质可能存在明显差异, 而同类型化合物的结构与性质又非常相似, 另外还存在各种同分异构体(尤其是手性异构体), 导致中药提取物化学成分分离与检测都面临各种挑战. 阐明中药复杂体系的化学组成, 对分析技术有很强的依赖性, 在一定程度上推动了相关仪器分析技术的发展. 21世纪初, 高效液相色谱、气相色谱等分离技术, 以及紫外光谱、质谱等检测技术已普遍用于中药成分分析. 近十年间, 分析技术进一步发展, 有针对性地解决了中药成分分析的难点问题. 以中药分析为主题的综述已对各类新颖分析技术做了全面的归纳总结^[5~7], 本文仅就中药成分分析新方法的几个主要方向进行简要归纳.

1.1 多维色谱提高分离效率

利用不同性质固定相色谱柱的串联, 能更好地分离中药的复杂成分. 例如, 建立全二维液相色谱(comprehensive two-dimensional liquid chromatography, 2DLC)方法, 分别采用Acquity CSH C₁₈和Poroshell Phenyl-Hexyl作为第一维和第二维色谱分离的固定相, 仅40分钟即可从甘草药材提取物分离检测311个化合物, 从而在一张图谱上展示中药材的数百个化学成分. 该2DLC系统的有效峰容量为524, 明显优于常规的高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[8]. 类似的方法也可用于中药复方的分析, 如从葛根苓连汤快速检测280个成分, 包括酸性/碱性、脂

溶性/水溶性等性质差异较大的各类化合物^[9]。

1.2 联用技术提高结构鉴定能力

液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography coupled with mass spectrometry, LC/MS)已普遍用于中药复杂成分的分离鉴定。通过建立针对性的扫描方法,可以显著提高对未知化合物的检测和结构鉴定能力。例如,通过对18个已知化合物的质谱裂解途径开展深入研究,建立了基于特征性质谱裂解的母离子扫描(precursor ion scan)或中性丢失扫描(neutral loss scan, NSL)方法,从姜黄中检测并初步鉴定了846个萜取代姜黄素类化合物(terpencurcuminoids),其中2个新化合物经定向分离纯化,采用核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)完全鉴定其结构^[10]。此外,色谱-核磁共振联用技术逐渐成熟,采用高共振频率、微量探头的核磁共振仪,检测灵敏度可达微克级,再结合在线或离线色谱分离技术,可以排除非目标成分的干扰,进行准确的结构鉴定和定量分析^[11,12]。

1.3 生物色谱提升分析特异性

生物色谱以蛋白、受体、DNA等作为固定相或串联固定相,根据小分子与大分子结合能力的差异进行分离,既能分离复杂体系,又能特异性地发现与大分子结合的活性成分。例如,将亲和检测模块和配体筛选模块结合起来,准确地从川芎提取物中筛选到高亲和力的小分子配体Senkyunolide I,可以抑制趋化因子受体CXCR4介导的细胞迁移,明显提高了筛选的靶向性^[13]。类似的方法,可用于在线检测中药或复方的活性成分^[14]。

1.4 质谱成像技术实现快速准确定位

质谱成像(mass spectrometry imaging, MSI)是一种新的分析成像技术,既能用于化学成分在中药材或植物的定位,也能用于高通量监测中药多种组分在体内的代谢变化情况。与其他化学分析方法相比,质谱成像不需要复杂的提取分离过程,具有快速、灵敏度高、无标记、高通量等优点^[15]。比如,利用解吸电喷雾电离质谱成像(desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, DESI-MSI)技术实现了丹参药材中酚酸、黄酮类、脂类等多种化学成分的空间分布表征和可视化^[16]。

1.5 大规模定量分析方法

中药成分定量分析较常用的方法为LC/UV,受分离能力及灵敏度的限制,一般仅能同时测定10个以内的成分。随着液质联用技术的发展,高灵敏度、高特异性的选择反应监测模式(selected reaction monitoring, SRM)实现了大量化合物的同时定量分析,而且线性范围广,适合于中药复杂体系。例如,对三种药用甘草的151个成分进行定量分析,发现了27个具有品种特异性的化学标志物^[17]。利用类似的方法,在20分钟以内的分析时间,可以同时测定中药复方中数十个成分的含量,如葛根芩连汤及其制剂的50个成分,以及牛黄上清丸的41个成分^[18,19]。

2 中药体内代谢产物分析研究方法

化学药物的体内代谢研究已经比较成熟,而中药体内代谢研究的关键在于整体性,即尽可能全面地考虑到各个主要成分的体内代谢过程,以及不同成分间的互变与相互作用。

中药自身的化学组成已经很复杂,给药后进入体内的中药成分还可能在肠道菌群及药物代谢酶的作用下,转化为各种代谢产物。因此,在血浆、尿液等复杂基质中分离、检测、鉴定中药的体内吸收成分及其代谢产物,一直是中药研究的重要挑战。

高灵敏度的液质联用技术是中药体内代谢研究最常用的分离检测手段,各种药物代谢预测软件能够辅助代谢产物的结构鉴定。在此基础上,针对中药多组分特点的分析方法及研究策略对于中药体内代谢产物研究具有重要意义。目前,主要有两种研究策略得到了比较广泛的应用^[20]。

2.1 以单体成分外推至中药提取物

一味中药的化学成分虽然复杂,但往往由有限的几类主要化合物组成,如黄酮、皂苷、生物碱等。由于生物合成的原因,同一类型成分的结构母核一般比较保守,它们在体内往往被相同或相似的药物代谢酶识别,发生类似的代谢反应。因此,采用化学药物的研究方法,建立一些代表性单体成分的体内代谢途径与规律,再把这些规律外推至该中药的同类型其他成分,就可以预测其他成分的代谢产物结构,即“单体成分外

推至单味药”的研究策略。

采用该策略,研究过程一般分为以下几个步骤:首先,选择代表性的几种单体化合物,分别鉴定其体内代谢产物,建立代谢途径。其次,给实验动物饲喂较高浓度的中药提取物(为了便于代谢产物检测),取血浆或尿液等生物样本,处理后进行液质联用分析(一般采集全扫描高分辨质谱、二级质谱等信息),并与中药提取物比较,检测并鉴定在体内样品中存在的中药原型成分。第三,根据“相似结构化合物的代谢途径类似”的特点,基于各个代表性单体成分的代谢途径,分别推测新鉴定的中药原型成分的代谢产物。最后,给实验动物饲喂相当于临床给药剂量的中药提取物(为了接近临床用药情况),根据预测的代谢产物结构及其质谱裂解途径,采用选择反应监测或中性丢失、母离子扫描等高灵敏度、高特异性的扫描方式,分析血浆、尿液等生物样本。如有明显信号,表明样品中存在该代谢物,可采用全扫描高分辨质谱或二级质谱分析、酶水解处理等方法,进一步证明该代谢物的结构。对于一些重要的代谢产物,还可以通过肝微粒体粗酶催化、异源表达的药物代谢酶催化或微生物催化等方法进行制备,并采用NMR方法准确鉴定其结构。通过以上研究,可以比较全面地鉴定中药多组分的体内代谢产物。

利用该策略,完成了甘草的体内代谢产物鉴定。通过对10个黄酮、查耳酮、三萜皂苷、香豆素类代表性单体成分的代谢产物研究,给予大鼠0.9 g药材/kg的甘草提取物,采用LC/SRM-MS方法,共检测到90个体内代谢物,包括12个原型成分和78个代谢产物;其中从血浆检测到42个代谢物(包括原型及代谢产物),尿液检测到62个^[21]。在此基础上,进一步监测了其中55个化合物的药代动力学过程,发现甘草提取物可以改变单体成分的药代行为^[22]。类似地,在补骨脂的体内代谢研究中,通过6个代表性单体的研究,在大鼠体内鉴定了142个代谢物^[23]。

该策略也可进一步外推至中药复方的代谢产物鉴定。例如,在经典名方葛根芩连汤(葛根、黄芩、黄连、甘草)的研究中,首先选择19个代表性单体成分,包括黄酮氧苷、黄酮碳苷、异黄酮、三萜皂苷、苜蓿异喹啉类生物碱、芳基香豆素等,用多级质谱研究它们的体内代谢途径;然后,由单体扩展到单味药,用质谱的中性丢失和母离子扫描方式发现新的代谢物并予

以鉴定;最后,从单味药扩展到复方,共鉴定了131个体内产物,包括46个原型成分和85个代谢产物^[24]。类似的方法已应用于其他复方,如仙灵骨葆胶囊、双黄连口服液、清心莲子饮等^[25-27]。

该策略的优点是鉴定代谢产物全面、准确,而且可以追溯每个代谢产物的原型成分,弱点是需要开展多个代表性单体的代谢研究,工作量比较大,实验周期长。近年来,一些质谱数据处理软件和数据平台很好地提升了这一思路的自动化程度,比如UNIFI, Progenesis QI, Compound Discovery等软件^[26,28,29]。

2.2 基于组学思路的中药体内代谢产物鉴定

服用中药后的血浆、尿液、粪便等生物样品成分复杂,可以看作是由几个化合物集组成:一是中药自身的化学成分,二是生物样品自身的内源性成分,三是中药成分经体内代谢后生成的新成分。通过与适当的对照样品进行比较,即可快速筛选出哪些是代谢产物,再对其进行解析。由于样品成分比对与代谢组学数据分析方法一致,该方法可称为基于组学思路的中药体内代谢产物鉴定。

组学思路常用“化学组-代谢组”匹配的研究方法。研究过程一般分为以下几个步骤:首先,通过体内代谢样品、空白生物样品、中药提取物的化学成分比对,筛选出复杂体系中的中药代谢产物。该步骤一般采用代谢组学常用的“峰提取、峰对齐、峰面积比对”方法,由软件完成。其次,建立代谢产物与原型成分的网络关联。将代谢产物的一级质谱与中药提取物的一级质谱进行对比,通过质量差异判定代谢产物的原型成分及代谢反应。该步骤可以通过软件或人工完成,核心在于掌握不同体内代谢反应(包括I相代谢、II相代谢、酯键水解等)所产生的分子量差异。最后,通过解析二级质谱,比较代谢产物与原型成分的共同裂解碎片,确认代谢物。

例如,脉络宁注射液(牛膝、玄参、石斛、金银花)含有87个原型成分,采用组学比对方法从给予脉络宁注射液后的大鼠尿液中发现162个代谢产物,利用网络关联,对比162个代谢物与87个原型成分的分子量,对代谢物进行初步归属,发现其中18种为原型,12种为酯键水解产物,51、70和41种分别为一步代谢、两步代谢和多步代谢的产物。最后,通过二级质谱验证,确定了其中143个代谢物的原型成分^[30]。

与此类似,“Poly-PK”策略也是将中药成分、中药代谢物和生物内源性代谢物进行组学比对^[31],筛选出代谢物并进行鉴定。同时,Poly-PK还对服药后不同时间的中药代谢物和内源性代谢物进行监测,并对二者的浓度变化进行关联分析,揭示外源药物与内源代谢变化的相关性。例如,将Poly-PK用于中药黄芪汤(黄芪、甘草),从黄芪汤提取物、服药前血浆、服药后血浆中分别鉴定了84, 292, 532种化学成分。通过对比发现,服药后485种成分发生变化,其中56种是黄芪汤的原型成分,292种是新生成的代谢产物,另有166种内源性代谢产物由于服用黄芪汤发生了显著变化。该策略展示了中药成分、中药代谢产物、机体代谢变化以及三者之间的相互关系,在系统水平描绘了复杂药物系统的体内过程^[32]。类似的研究思路还用于其他中药,如熟地黄和山茱萸的协同作用,黄蜀葵的体内代谢,以及清开灵注射液的体内代谢等^[33-35]。

该策略的优点在于自动化程度强,不易遗漏代谢物,且对研究人员的技术要求较低。缺点在于对含量较低、质谱数据采集不完整的代谢物,或数据库中不包括的反应类型无法准确鉴定,且代谢产物的确认仍需人工完成。

3 中药药效物质的发现

从天然药物发现活性物质的经典方法,是对药材进行提取分离,再根据传统药效对各个部分开展活性筛选,直至发现活性显著的单体成分。例如,从红豆杉发现紫杉醇、从青蒿发现青蒿素等,都是典型的例子。通过这种方法发现的活性成分,一般在药材里的含量较高,或者活性非常强。然而,传统中药的特色是“多成分、多靶点”,很多中药可能难以找到活性显著的单一成分。另外,中药通常具有多种药效,不同的药效可能由不同的化学成分发挥作用。单一成分显然不能完全代表中药的药效物质,因此需要建立符合中药多组分特点的研究方法体系。现将近年的代表性研究思路与成果进行简要的总结。

3.1 谱-效关系

谱-效关系是指对不同批次或不同组方的中药分别进行指纹图谱分析和药效评价,之后对指纹图谱与药效的差异进行相关性分析,从而阐明中药的药效物

质。该方法的优势是可以体现中药复杂体系的整体药效,以及成分变化对药效的影响。例如,为了阐明黄连的抑菌药效成分,建立了10批药材的指纹图谱,评价其抑制大肠杆菌生长的作用,最后将指纹图谱和药效评价结果进行聚类分析,发现小檗碱、非洲防己碱等6个成分与抗菌活性密切相关,是黄连的主要药效成分^[36]。为了研究姜黄挥发油的抗菌药效成分,对24批姜黄精油的黄曲霉抑制活性进行评价,同时鉴定了18种挥发性化合物,利用偏最小二乘法建立谱效关系,发现桉油醇、 β -蒎烯和樟脑对抗真菌的活性贡献最大,是姜黄精油抗真菌的药效物质^[37]。为了研究温郁金的抗癌药效物质,建立42批样品的挥发油GC/MS指纹图谱,将72个成分峰与人肺癌细胞存活抑制率进行相关性分析,发现 β -榄香烯、 β -广藿香烯等44个化合物具有正相关性,并进一步证实了相关性最强的5个化合物对人肺癌细胞生长具有抑制作用,说明它们是温郁金的主要抗癌药效物质^[38]。该方法也用于地黄、复方对金散的研究^[39,40]。

3.2 血清药物化学

血清药物化学是指从给药实验动物的血清样本中分离鉴定中药成分及其代谢物,研究这些可进入血液循环的成分(也称移行成分)与药效的相关性。该方法可以排除难以吸收入血的成分,简化了研究范围,还纳入了代谢产物。血清药物化学研究包括含药血清制备、成分分离、结构鉴定,药效评价或药效相关性研究、作用机制研究等。例如,从灌胃六味地黄丸的大鼠血清中分离鉴定了11个化合物,包括7个原型和4个代谢产物。进一步研究11个化合物对肾虚大鼠模型的保护作用,发现莫诺苷、獐牙菜苷、马钱子苷的作用最为明显,是六味地黄丸补肾功效的主要成分^[41]。近年来,我国学者进一步提出“Chinmedomics”(中医方证代谢组学)的概念,将血清药物化学与代谢组学相结合,以中医证候为基础,研究中药的药效物质基础和作用机制^[42]。例如,为了研究黄柏抑制前列腺癌的有效成分,利用UPLC/MS对血清代谢物进行分析,鉴定了38个原型成分和代谢产物。研究进一步发现10个化合物与逆转前列腺癌标志物水平显著相关,是潜在的药效成分^[43]。为了阐明中药复方生脉散抗阿尔茨海默症的药效物质,从给药后的小鼠体内检测到17个成分(14个原型及3个代谢产物),其中8个成分与阿尔茨海

默症模型的内源性生物标记物显著相关, 说明它们很可能是生脉散的药效物质^[44].

3.3 药物代谢动力学

中药药效成分的体内浓度, 尤其是靶组织的浓度, 对于中药发挥药效至关重要. 由于中药的复杂性, 以前对于中药的药物代谢动力学研究大多局限于少数主要成分. 随着中药体内代谢产物鉴定技术的提升, 以及高灵敏度仪器设备的出现, 同时监测数十种中药体内活性成分的药代动力学过程已经成为可能. 中药多成分药代动力学研究对于阐明中药的药效物质具有重要意义. 例如, 为了发现血必净注射液的药效成分, 研究了10个苯酚类化合物的药代动力学行为, 发现洋川芎内酯I和G是吸收进入人体的主要成分, 并进一步证实它们与脓毒症病理生理学的改变密切相关^[45].

药代动力学研究还有助于阐明中药复方的配伍机制. 例如, 对葛根芩连汤的42个主要活性成分开展药代研究, 并比较全方、去甘草的复方、单味药的差异, 发现甘草的主要成分甘草酸可以显著提高黄连的降血糖有效成分小檗碱的血药浓度, 并进一步通过细胞及动物实验证明, 甘草酸通过抑制P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)促进小檗碱的吸收, 二者配伍增强了葛根芩连汤的抗糖尿病药效^[46]. 再如, 附子在复方中常与干姜配伍, 为阐明其配伍机制, 对6种乌头碱进行了药代动力学研究, 发现在与干姜配伍后, 毒性成分乌头碱和次乌头碱的半衰期变短, 而活性成分苯甲酰乌头原碱和苯甲酰次乌头碱的半衰期延长^[47].

3.4 药动学-药效学关联

药动学-药效学关联(pharmacokinetics/pharmacodynamics, PK/PD)是指建立药代动力学行为与药物治疗效果之间的相关性. PK/PD常用于化学药物临床给药方案的优化, 近年亦用于中药研究. 例如, 为了阐明桂枝茯苓胶囊治疗妇科血瘀证的药效物质, 建立原发性痛经的大鼠模型, 研究了没食子酸等5种成分的药代动力学行为, 同时选择血浆中4种前列腺素含量的比值作为药效指标, 将二者进行关联分析. 发现5种成分及其代谢物很可能对前列腺素含量比例有贡献, 在桂枝茯苓胶囊治疗原发性痛经中起重要作用^[48]. 为了阐明清开灵注射液的解热药效物质, 研究了黄芩苷和栀子苷的动力学参数, 将其血浆浓度曲线与大鼠的直

肠温度变化曲线相关联, 证明了这些成分对清开灵注射液发挥解热药效的贡献^[49]. 由于中药体内代谢的复杂性及药效指标的多样性, 中药药动学-药效学研究的系统性还有待进一步加强.

3.5 活性组分敲除

活性组分敲除是指特异性地去掉中药提取物的目标成分(或成分群), 获得不含目标成分的阴性样品, 通过比较总提取物、目标成分、阴性样品的药效, 阐明目标成分的贡献及与其他组分的相互作用. 其中的关键技术是特异地敲除目标成分, 主要通过高效液相色谱法或基于中药小分子单克隆技术的免疫亲和色谱法. 以丹参滴丸为例, 采用高效液相色谱法, 按照成分含量的高低分别建立了含有1个、10个和18个化合物的敲除组分, 检测敲除组分及剩余组分的抗心肌梗死药理活性. 结果表明, 含有酚酸、皂苷、丹参酮类18个化合物的组分可以代表丹参滴丸的药效^[50]. 再如, 为了研究芪参益气温滴丸的药效物质, 通过数据库分析初步筛选出24个成分, 然后利用液相色谱技术在原制剂中敲除这24个成分, 获得活性成分样本和阴性样本. 药理学实验表明, 原制剂和活性成分样本都具有显著的抗心肌损伤作用, 而阴性样本无作用. 进一步评价每个单体成分的药效, 发现这24个成分均对药效有贡献, 且具有协同作用^[51]. 此外, 一些研究采用其他方式筛选活性物质, 再采用组分敲除进行验证. 例如, 为了阐明补骨脂影响黑色素生成的药效物质, 先用谱效相关方法筛选到11个成分与酪氨酸酶激活作用呈明显的正相关; 进一步通过组分敲除, 发现大豆素、补骨脂素等4个化合物对补骨脂提取物的酪氨酸酶活性有重要贡献^[52].

3.6 亲和垂钓

亲和垂钓技术是利用受体与配体的亲和结合, 从复杂体系中钓取活性小分子或靶蛋白. 在中药药效物质研究中, 常采用疾病相关的靶蛋白作为诱饵, 从中药提取物快速发现活性分子. 常用方法有细胞膜色谱法和超滤法. 前者是把含有受体靶标的细胞膜组织固定在硅胶载体表面制成固定相, 再通过高效液相色谱法, 用该固定相对中药提取物进行分离, 筛选出与受体靶标结合的成分. 后者是将靶蛋白与中药提取物共孵育, 活性分子与靶蛋白结合形成复合物, 并通过超

滤与孵育体系分离。随后, 让复合物发生蛋白变性释放出小分子, 再鉴定小分子的结构。

超滤法体系简单, 普适性强。已针对数十种靶标建立模型, 应用于中药活性化合物的筛选^[53]。例如, 为了阐明番石榴叶茶抗高血糖的药效物质, 建立生物亲和超滤-高效液相色谱-电喷雾电离飞行时间质谱联用的方法, 将中药提取物与葡萄糖苷酶进行亲和结合, 筛选并鉴定了11个潜在的高亲和度 α -葡萄糖苷酶抑制剂; 进一步的药效学实验表明, 槲皮素和原花青素B3是发挥降血糖作用的主要成分^[54]。

细胞膜色谱体系的实验过程相对复杂, 但也有较广泛的应用。例如, 用HepG2细胞构建细胞膜色谱, 从丹参中筛选到丹参酮IIA等抗肿瘤活性成分^[55]; 利用类似的方法构建二维色谱/质谱联用体系, 从黄柏中筛选出小檗碱和延胡索乙素, 从苦参中筛选出氧化苦参碱和苦参碱, 作为潜在的抗肿瘤药效物质^[56]。为了寻找抗新冠病毒复方连花清瘟胶囊的活性成分, 研究人员制备了新冠病毒受体血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)共价固定化生物色谱柱, 系统筛选活性成分, 发现了大黄酸、连翘苷A和I、新绿原酸及其异构体等8种体内高暴露且与ACE2结合的成分, 并通过表面等离子共振分析、分子对接实验、ACE2活性抑制实验确证其活性^[57]。

3.7 基于“多成分-多靶点”的药效物质谱

根据中药“多成分、多靶点”的特点, 选取多种与中药药效相关的药理模型, 对中药的化学成分开展系统的活性筛选, 建立化学成分与药理活性之间的对应关系, 即中药药效物质谱(TCM effective components spectrum)。药效物质谱能比较全面地展示中药各个成分的药理活性, 对于活性化合物筛选、系统阐明中药的药效物质具有重要意义。不过该研究需要开展系统的化学成分分离以及大量的药理活性筛选, 工作量大、周期长。

例如, 研究人员从甘草中分离到122个单体成分, 基于甘草的保肝、止咳、抗病毒等功效, 选取11种相应的酶或细胞模型评价这些化合物的活性, 建立了甘草的药效物质谱。发现甘草素及其糖苷是甘草止咳的主要活性成分, 而三萜皂苷是抗病毒的主要活性成分, 同时发现了一系列新颖的保肝、抗肿瘤活性成分^[58]。

3.8 网络药理学

近年来, 网络药理学越来越广泛地应用于中药多组分体系的研究, 通过计算, 构建“疾病-基因-靶标-成分”的复杂生物学网络, 阐明中药成分的靶标谱, 预测药理活性与机制, 发掘方剂配伍规律等。网络药理学的优势在于体现了中医药的复杂性, 并且节约了实验筛选成本。例如, 利用网络药理学可以预测复方清络饮中235个成分的靶标信息, 鉴定抗血管生成和抗炎的潜在药效成分, 包括苦参素、苦参碱、青藤碱、小檗碱、薯蓣皂苷元等。此外, 研究还发现苦参碱、青藤碱的协同作用可能是通过针对类风湿关节炎中TNF和VEGF诱导的信号通路的反馈和代偿机制而产生^[59,60]。网络药理学不仅有助于发现药效物质, 还可进一步阐明代谢通路和分子作用机制, 例如, 用于识别荷叶碱、苦参碱等化合物的抗肿瘤活性及其作用机制, 并通过实验证实了具体的作用通路^[61,62]。再如, 通过网络药理学预测连花清瘟方剂对ACE2的抑制作用机制, 结果表明13味中药中有10味参与肺系统的作用, 体现出器官靶向性; 连花清瘟方的蛋白作用网络涉及2480个靶标、160266个蛋白互作、30个功能模块, 其中6个模块富集于白细胞介导的免疫和干扰素- γ 介导的信号通路, 提示具有提高免疫的作用^[63]。目前, 网络药理学研究不再局限于系统生物学计算, 而是通过计算预测靶点后, 进一步开展实验验证。

4 结论和展望

近20年, 中药药效物质研究取得了长足的进步, 主要体现在: (i) 根据中药多组分特色建立了多种研究思路和策略; (ii) 从其他学科引入了大量新技术新方法; (iii) 多种中药的主要活性成分被发掘。然而, 药效物质研究在以下方面仍然有待提高。

(1) 研究工作的系统性、拓展性需进一步加强。对于一些常用中药和复方, 如甘草、黄连、丹参滴丸、六味地黄丸等, 发现了明确的药效物质, 但进一步深入研究各活性成分的作用机制、成分之间的相互作用较少, 研究成果应用于中药质量控制、中药新药开发的例子亦不多见。另外, 很多研究工作的探索性和示范性较强, 虽然一些研究思路和研究方法颇有价值,

但较少被大范围推广应用于其他中药. 这很可能是由于中药药效物质研究是一项基础性工作, 学科交叉性强、研究周期长、工作量大.

(2) 多成分研究多, 多靶点研究少. “多成分、多靶点”是中药的特点. 中药化学成分研究远早于作用靶点研究, 大多数常用中药已有较系统的化学成分研究, 而开展相关的靶点研究则比较困难, 一是需要发现中药的新靶点, 二是要比较不同成分对靶点的作用, 才能理清“多成分、多靶点”的复杂网络关系.

(3) 发现活性成分多, 揭示配伍机制及中医方证理论少. 中药药效物质基础的内涵, 既包括具有活性的成分, 又包括成分之间的相互作用. 这些相互作用往往体现了中药炮制、配伍等传统理论的科学基础, 亟待通过现代研究给出科学解释. 由于中药组成复杂, 一个成分在体内的行为又受到其他成分以及各种因素的影响. 多成分的相互作用研究往往不易找到合适的切入点, 研究者既要具备中医药理论知识, 又要掌握扎实的多学科技术方法, 才能更好地开展中药成分互作机制的研究.

(4) 拓展药效物质研究的范畴. 大多数中药药效物质研究主要针对天然小分子化合物. 近年来, 针对多糖、miRNA等生物分子的研究受到越来越多的关注. 例如, 金银花的miR2911可抑制甲型流感和新冠病毒复制^[64,65], 从鲜人参中发现的囊泡等纳米颗粒具有抗肿瘤和调节免疫的作用^[66]. 这些研究拓展了中药药效物质的传统概念. 此外, 中药成分的存在形式对于其发挥药效也能产生重要影响. 例如, 在中药煎煮过程中, 不同化学成分之间发生超分子组装, 可以改善转运, 促进溶出^[67].

(5) 进一步发展可体现中药整体性的技术方法. 例如, 通过代谢组、转录组、蛋白质组等多组学技术系统阐明药效成分的作用机制; 将常用中药、药效成分、靶点和疾病整合于同一智能化数据平台^[68], 便于关联检索; 蛋白质芯片、细胞微流控芯片、高通量药物筛选机器人等用于药效物质的微量快速筛选^[69], 等等. 结合中医药理论, 综合运用各种技术方法, 从中药整体入手, 才能更好地阐明中药药效物质, 推动中药的现代化研究.

参考文献

- Li P, Qi L W, Wen X D, et al. Methods for the elucidation of bioactive components and quality control of traditional Chinese medicines (in Chinese). *Chin J Nat Med*, 2007, 5: 1–9 [李萍, 齐炼文, 闻晓东, 等. 中药效应物质基础和质量控制研究的思路与方法. *中国天然药物*, 2007, 5: 1–9]
- Liu X M, Xiao P G. The modernization of traditional Chinese medicine is necessary during the development of Chinese medicine in the 21st century (in Chinese). 1997: 3 [刘新民, 肖培根. 中药现代化是21世纪中药发展的必然. 中国中医药学会博士学术研究会筹委会. 1997中医药博士论坛: 中医药现代研究与未来发展. 中国中医药学会博士学术研究会筹委会: 中华中医药学会糖尿病分会, 1997: 3]
- Luo H M, Liu X W, Zhang F Z, et al. Analysis of projects funded by NSFC in field of efficacy material base of traditional Chinese medicine (in Chinese). *Chin J Chin Mater Med*, 2020, 45: 3233–3237 [罗浩铭, 刘学伟, 张凤珠, 等. 国家自然科学基金资助项目浅析中药药效物质研究概况. *中国中药杂志*, 2020, 45: 3233–3237]
- Jiang N, Zhang Y X, Du G H. Novel ideas and methods of pharmacological and new drug research of traditional Chinese medicine (in Chinese). *Chin J Pharm Toxicol*, 2016, 30: 893–909 [蒋宁, 张永祥, 杜冠华. 新思路·新方法——中药药理学研究与中药新药研发. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, 30: 893–909]
- Wolfender J L, Nuzillard J M, van der Hooft J J J, et al. Accelerating metabolite identification in natural product research: toward an ideal combination of liquid chromatography-high-resolution tandem mass spectrometry and NMR profiling, *in silico* databases, and chemometrics. *Anal Chem*, 2019, 91: 704–742
- Burlet-Parendel M, Faure K. Opportunities and challenges of liquid chromatography coupled to supercritical fluid chromatography. *TrAC Trends Anal Chem*, 2021, 144: 116422
- Caesar L K, Kellogg J J, Kvalheim O M, et al. Opportunities and limitations for untargeted mass spectrometry metabolomics to identify biologically active constituents in complex natural product mixtures. *J Nat Prod*, 2019, 82: 469–484
- Qiao X, Song W, Ji S, et al. Separation and characterization of phenolic compounds and triterpenoid saponins in licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) using mobile phase-dependent reversed-phase×reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with mass

- spectrometry. *J Chromatogr A*, 2015, 1402: 36–45
- 9 Qiao X, Wang Q, Song W, et al. A chemical profiling solution for Chinese medicine formulas using comprehensive and loop-based multiple heart-cutting two-dimensional liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2016, 1438: 198–204
- 10 Qiao X, Lin X, Ji S, et al. Global profiling and novel structure discovery using multiple neutral loss/precursor ion scanning combined with substructure recognition and statistical analysis (MNPSS): characterization of terpene-conjugated curcuminoids in *Curcuma longa* as a case study. *Anal Chem*, 2016, 88: 703–710
- 11 Tang Y, Friesen J B, Nikolić D S, et al. Tandem of countercurrent separation and qHNMR enables gravimetric analyses: absolute quantitation of the *Rhodiola rosea* metabolome. *Anal Chem*, 2021, 93: 11701–11709
- 12 Braunberger C, Zehl M, Conrad J, et al. LC-NMR, NMR, and LC-MS identification and LC-DAD quantification of flavonoids and ellagic acid derivatives in *Drosera peltata*. *J Chromatogr B*, 2013, 932: 111–116
- 13 Chen L, Lv D, Wang S, et al. Surface plasmon resonance-based membrane protein-targeted active ingredients recognition strategy: construction and implementation in ligand screening from herbal medicines. *Anal Chem*, 2020, 92: 3972–3980
- 14 Li S, Jiang H, Lin Z, et al. An on-line high-performance liquid chromatography-diode-array detector-multi-stage mass spectrometry-deoxyribonucleic acid-4',6-diamidino-2-phenylindole-fluorescence detector system for screening the DNA-binding active compounds in Fufang Banbianlian Injection. *J Chromatogr A*, 2015, 1424: 37–50
- 15 Jiang H, Zhang Y, Liu Z, et al. Advanced applications of mass spectrometry imaging technology in quality control and safety assessments of traditional Chinese medicines. *J Ethnopharmacol*, 2022, 284: 114760
- 16 Tong Q, Zhang C, Tu Y, et al. Biosynthesis-based spatial metabolome of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by combining metabolomics approaches with mass spectrometry-imaging. *Talanta*, 2022, 238: 123045
- 17 Song W, Qiao X, Chen K, et al. Biosynthesis-based quantitative analysis of 151 secondary metabolites of licorice to differentiate medicinal *Glycyrrhiza* species and their hybrids. *Anal Chem*, 2017, 89: 3146–3153
- 18 Wang Q, Song W, Qiao X, et al. Simultaneous quantification of 50 bioactive compounds of the traditional Chinese medicine formula Gegen-Qinlian decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2016, 1454: 15–25
- 19 Liang J, Wu W, Sun G, et al. A dynamic multiple reaction monitoring method for the multiple components quantification of complex traditional Chinese medicine preparations: Niu Huang Shangqing pill as an example. *J Chromatogr A*, 2013, 1294: 58–69
- 20 Qiao X, Guo D A, Ye M. Recent methods and strategies for *in vivo* metabolic study of traditional Chinese medicines (in Chinese). *World Sci Technol-Modern Tradit Chin Med*, 2014, 16: 532–537 [乔雪, 果德安, 叶敏. 中药体内代谢研究的思路与方法. *世界科学技术-中医药现代化*, 2014, 16: 532–537]
- 21 Xiang C, Qiao X, Wang Q, et al. From single compounds to herbal extract: a strategy to systematically characterize the metabolites of licorice in rats. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39: 1597–1608
- 22 Qiao X, Ye M, Xiang C, et al. Analytical strategy to reveal the *in vivo* process of multi-component herbal medicine: a pharmacokinetic study of licorice using liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 2012, 1258: 84–93
- 23 Wang P, Yao Z, Zhang F, et al. Identification of metabolites of PSORALEAE FRUCTUS in rats by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 112: 23–35
- 24 Qiao X, Wang Q, Wang S, et al. Compound to Extract to Formulation: a knowledge-transmitting approach for metabolites identification of Gegen-Qinlian Decoction, a traditional Chinese medicine formula. *Sci Rep*, 2016, 6: 39534
- 25 Geng J, Dai Y, Yao Z, et al. Metabolites profile of Xian-Ling-Gu-Bao capsule, a traditional Chinese medicine prescription, in rats by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry analysis. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 96: 90–103
- 26 Zhang F X, Xie Z N, Tang X Y, et al. A combination of representative compounds, metabolism platform and diagnostic extraction strategy for characterization of metabolites of Shuang-Huang-Lian oral liquid *in vivo* by ultra-performance liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 155: 216–234
- 27 Gao W Y, Si N, Li M L, et al. The integrated study on the chemical profiling and *in vivo* course to explore the bioactive constituents and potential targets of Chinese classical formula Qingxin Lianzi Yin Decoction by UHPLC-MS and network pharmacology approaches. *J Ethnopharmacol*,

2021, 272: 113917

- 28 Feng G F, Zheng Y, Sun Y, et al. A targeted strategy for analyzing untargeted mass spectral data to identify lanostane-type triterpene acids in *Poria cocos* by integrating a scientific information system and liquid chromatography-tandem mass spectrometry combined with ion mobility spectrometry. *Anal Chim Acta*, 2018, 1033: 87–99
- 29 Lin L, Lin H, Zhang M, et al. A novel method to analyze hepatotoxic components in *Polygonum multiflorum* using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Hazard Mater*, 2015, 299: 249–259
- 30 Gong P, Cui N, Wu L, et al. Chemicalome and metabolome matching approach to elucidating biological metabolic networks of complex mixtures. *Anal Chem*, 2012, 84: 2995–3002
- 31 Jia W, Fan T P, Wang X N, et al. The polypharmacokinetics of herbal medicines. *Science*, 2015, 350: S76–S79
- 32 Xie G, Wang S, Zhang H, et al. Poly-pharmacokinetic study of a multicomponent herbal medicine in healthy Chinese volunteers. *Clin Pharmacol Ther*, 2018, 103: 692–702
- 33 Zhang Z M, Yang L, Wan Y, et al. The synergic renoprotective effect of *Rehmanniae Radix Preparata* and *Corni Fructus* on adenine-induced chronic kidney disease rats based on integrated plasma metabolomics and network pharmacology approach. *Life Sci*, 2021, 278: 119545
- 34 Guo J M, Lin P, Lu Y W, et al. Investigation of *in vivo* metabolic profile of *Abelmoschus Manihot* based on pattern recognition analysis. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148: 297–304
- 35 Guo M, Zhang L, Liu H, et al. A metabolomic strategy to screen the prototype components and metabolites of Qingkailing injection in rat urine by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J Sep Sci*, 2014, 37: 2844–2850
- 36 Kong W J, Zhao Y L, Xiao X H, et al. Spectrum-effect relationships between ultra performance liquid chromatography fingerprints and anti-bacterial activities of *Rhizoma coptidis*. *Anal Chim Acta*, 2009, 634: 279–285
- 37 Hu Y, Luo J, Kong W, et al. Uncovering the antifungal components from turmeric (*Curcuma longa* L.) essential oil as *Aspergillus flavus* fumigants by partial least squares. *RSC Adv*, 2015, 5: 41967–41976
- 38 Wu P, Dong X M, Song G Q, et al. Bioactivity-guided discovery of quality control markers in rhizomes of *Curcuma wenyujin* based on spectrum-effect relationship against human lung cancer cells. *Phytomedicine*, 2021, 86: 153559
- 39 Gong P Y, Guo Y J, Tian Y S, et al. Reverse tracing anti-thrombotic active ingredients from dried *Rehmannia Radix* based on multidimensional spectrum-effect relationship analysis of steaming and drying for nine cycles. *J Ethnopharmacol*, 2021, 276: 114177
- 40 Zheng G, Gan L, Jia L Y, et al. Screen of anti-migraine active compounds from *Duijinsan* by spectrum-effect relationship analysis and molecular docking. *J Ethnopharmacol*, 2021, 279: 114352
- 41 Wang X J, Zhang N, Sun H, et al. Protective effect of Liuwei Dihuang Wan and its constituents absorbed into blood after oral administration on hydrocortisone inducing renal deficiency in rat (in Chinese). *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2008, 2: 33–37 [王喜军, 张宁, 孙晖, 等. 六味地黄丸血中移行成分对氢化可的松致大鼠肾虚动物模型的保护作用. 中国实验方剂学杂志, 2008, 2: 33–37]
- 42 Han Y, Sun H, Zhang A, et al. Chinmedomics, a new strategy for evaluating the therapeutic efficacy of herbal medicines. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107680
- 43 Li X N, Zhang A, Wang M, et al. Screening the active compounds of *Phellodendri Amurensis* cortex for treating prostate cancer by high-throughput chinmedomics. *Sci Rep*, 2017, 7: 46234
- 44 Zhang A H, Yu J B, Sun H, et al. Identifying quality-markers from Shengmai San protects against transgenic mouse model of Alzheimer's disease using chinmedomics approach. *Phytomedicine*, 2018, 45: 84–92
- 45 Zhang N, Cheng C, Olaleye O E, et al. Pharmacokinetics-based identification of potential therapeutic phthalides from XueBiJing, a Chinese herbal injection used in sepsis management. *Drug Metab Dispos*, 2018, 46: 823–834
- 46 Qiao X, Wang Q, Wang S, et al. A 42-markers pharmacokinetic study reveals interactions of berberine and glycyrrhizic acid in the anti-diabetic Chinese medicine formula Gegen-Qinlian Decoction. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 622
- 47 Peng W W, Li W, Li J S, et al. The effects of *Rhizoma Zingiberis* on pharmacokinetics of six *Aconitum* alkaloids in herb couple of *Radix Aconiti Lateralis-Rhizoma Zingiberis*. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148: 579–586
- 48 Cheng Y, Chu Y, Su X, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to study the anti-dysmenorrhea effect of Guizhi Fuling capsule on primary dysmenorrhea rats. *Phytomedicine*, 2018, 48: 141–151
- 49 Zhang Z, Qin L, Peng L, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to study the antipyretic effect of Qingkailing injection on pyrexia model rats. *Molecules*, 2016, 21: 317

- 50 Liu P, Yang H, Long F, et al. Bioactive equivalence of combinatorial components identified in screening of an herbal medicine. *Pharm Res*, 2014, 31: 1788–1800
- 51 Zhang Y, Yu J, Zhang W, et al. An integrated evidence-based targeting strategy for determining combinatorial bioactive ingredients of a compound herbal medicine Qishen Yiqi dripping pills. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 288–298
- 52 Shi M, Zhang Y, Song M, et al. Screening the marker components in *Psoralea corylifolia* L. with the aids of spectrum-effect relationship and component knock-out by UPLC-MS². *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 3439
- 53 Zhou H, Wang Y M, Zheng Z, et al. Recent advances of affinity ultrafiltration mass spectrometry in screening active components of traditional Chinese medicine (in Chinese). *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2018, 39: 641–652 [周慧, 王义民, 郑重, 等. 亲和超滤质谱技术在中药活性成分筛选中的研究进展. *质谱学报*, 2018, 39: 641–652]
- 54 Wang L, Liu Y, Luo Y, et al. Quickly screening for potential α -glucosidase inhibitors from guava leaves tea by bioaffinity ultrafiltration coupled with HPLC-ESI-TOF/MS Method. *J Agric Food Chem*, 2018, 66: 1576–1582
- 55 Ding X, Cao Y, Yuan Y, et al. Development of APTES-decorated HepG2 cancer stem cell membrane chromatography for screening active components from *Salvia miltiorrhiza*. *Anal Chem*, 2016, 88: 12081–12089
- 56 Chen X, Cao Y, Lv D, et al. Comprehensive two-dimensional HepG2/cell membrane chromatography/monolithic column/time-of-flight mass spectrometry system for screening anti-tumor components from herbal medicines. *J Chromatogr A*, 2012, 1242: 67–74
- 57 Chen X, Wu Y, Chen C, et al. Identifying potential anti-COVID-19 pharmacological components of traditional Chinese medicine Lianhuaqingwen capsule based on human exposure and ACE2 biochromatography screening. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11: 222–236
- 58 Ji S, Li Z, Song W, et al. Bioactive Constituents of *Glycyrrhiza uralensis* (Licorice): discovery of the effective components of a traditional herbal medicine. *J Nat Prod*, 2016, 79: 281–292
- 59 Zhang B, Wang X, Li S. An integrative platform of TCM network pharmacology and its application on a herbal formula, *Qing-Luo-Yin*. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 1–12
- 60 Zuo J, Wang X, Liu Y, et al. Integrating network pharmacology and metabolomics study on anti-rheumatic mechanisms and antagonistic effects against methotrexate-induced toxicity of Qing-Luo-Yin. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1472
- 61 Qi Q, Li R, Li H Y, et al. Identification of the anti-tumor activity and mechanisms of nuciferine through a network pharmacology approach. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37: 963–972
- 62 Zhang B, Wang X, Li Y, et al. Matrine is identified as a novel macropinocytosis inducer by a network target approach. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 10
- 63 Zheng S, Baak J P, Li S, et al. Network pharmacology analysis of the therapeutic mechanisms of the traditional Chinese herbal formula Lian Hua Qing Wen in Corona virus disease 2019 (COVID-19), gives fundamental support to the clinical use of LHQW. *Phytomedicine*, 2020, 79: 153336
- 64 Zhou Z, Li X, Liu J, et al. Honeysuckle-encoded atypical microRNA2911 directly targets influenza A viruses. *Cell Res*, 2015, 25: 39–49
- 65 Zhou L K, Zhou Z, Jiang X M, et al. Absorbed plant MIR2911 in honeysuckle decoction inhibits SARS-CoV-2 replication and accelerates the negative conversion of infected patients. *Cell Discov*, 2020, 6: 54
- 66 Han X, Wei Q, Lv Y, et al. Ginseng-derived nanoparticles potentiate immune checkpoint antibody efficacy by reprogramming the cold tumor microenvironment. *Mol Ther*, 2022, 30: 327–340
- 67 Qiao H Z, Di L Q, Ping Q N, et al. Structural Chinese medicine: new research field on pharmacodynamic substance basis of traditional Chinese medicine (in Chinese). *Chin J Chin Mater Med*, 2021, 46: 2443–2448 [乔宏志, 狄留庆, 平其能, 等. 结构中药学: 中药药效物质基础研究的新领域. *中国中药杂志*, 2021, 46: 2443–2448]
- 68 Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: D976–D982
- 69 Ai X, Wu Y, Lu W, et al. A precise microfluidic assay in single-cell profile for screening of transient receptor potential channel modulators. *Adv Sci*, 2020, 7: 2000111

Research methods and progress of effective components in traditional Chinese medicines

QIAO Xue¹, ZHANG YaQun¹, GUO DeAn² & YE Min¹

1 State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China;

2 National Engineering Laboratory for TCM Standardization Technology, Shanghai Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China

The bioactive constituents responsible for the therapeutic effects of traditional Chinese medicines (TCMs) are called effective components. Elucidating the effective components is a crucial part of TCM modernization research. Because of the “multicomponent and multitarget” features of TCMs, it is challenging to reveal their effective components, particularly to analyze the chemical constituents and *in vivo* metabolites globally and to discover the bioactive compounds efficiently. In recent decades, Chinese scientists have innovatively explored and established a series of new research strategies and methodologies for TCM effective components. State-of-the-art techniques in analytical chemistry, cell and molecular biology, and computer science have been employed. In this review article, we summarized these methodologies and recent research progress. The review includes three parts: new methodologies for chemical analysis, *in vivo* metabolites analysis, and effective components discovery. Future research perspectives are also discussed.

traditional Chinese medicines, effective components, multicomponent and multitarget, TCM chemical analysis, TCM *in vivo* metabolism

doi: [10.1360/SSV-2021-0369](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0369)