

基于药物靶标识别中药活性成分的研究方法及应用

赵 珊, 张文青, 张欣悦, 阎星旭, 钱文秀, 李遇伯*

天津中医药大学 中药学院, 天津 301617

摘要: 中药小分子与生物体内靶标蛋白的相互作用是中药发挥药理作用的基础, 现代科学技术的发展和药物作用靶标的揭示为中药活性成分的研究提供了新的技术和手段。基于已知的药物作用靶标, 阐明中药的有效成分及其作用机制已成为中药学研究和发展的重要方向。基于化学和生物技术与计算机虚拟筛选技术两大视角, 总结了亲和超滤质谱技术、分子生物色谱技术、磁珠富集技术、等离子共振技术、生物膜干涉技术、分子对接技术、药效团模型和机器学习8种基于药物靶标识别中药活性成分的研究方法与应用现状, 以期补充传统药物发现的方法, 为该领域研究提供借鉴与参考。

关键词: 中药; 药物靶标; 药物筛选; 活性成分; 分析技术

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2023) 07-1578-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.07.023

Research method and application of identifying active ingredients of traditional Chinese medicine based on drug target

ZHAO Shan, ZHANG Wenqing, ZHANG Xinyue, YAN Xingxu, QIAN Wenxiu, LI Yubo

School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: The interaction between small molecules of traditional Chinese medicine (TCM) and target proteins in vivo is the basis of its pharmacological effects. The development of modern science and technology and the discovery of drug targets provide new techniques and methods for the research of active ingredients of TCM. Based on known drug action target, it is an important direction of research and development of TCM to reveal the active ingredients and its mechanism of action by using modern science and technology. Based on chemical and biological technology and computer virtual screening technology, eight research methods and application status of identifying active components of TCM based on drug target including affinity ultrafiltration mass spectrometry, molecular biochromatography, magnetic bead enrichment, surface plasmon resonance, biolayer interferometry, molecular docking technology, pharmacophore model and machine learning are summarized, with a view to supplementing the traditional methods of drug discovery and providing references for the researchers in this field.

Key words: traditional Chinese medicine; drug target; drug screening; active ingredients; analysis technology

中药作为具有悠久应用历史的重要医药资源, 能够有效预防和治疗各种疾病, 特别是在重大疫情防控 and 临床救治中发挥独特优势, 越来越受关注。中药活性成分是中药发挥疗效的物质基础, 是生物活性化合物的重要来源。鉴于中药及其复方是多种化学成分的复杂混合体系, 很难评估和确定发挥功效的活性成分, 因此中药活性成分的识别是中医

药现代化进程中亟待解决的科学问题, 也是制约中医药发展和走向国际的重要瓶颈^[1-2]。传统的中药活性成分研究采用“化学提取分离-分子结构鉴定-药理活性评价”的策略^[3], 该过程需要进行反复的分离分析与生物活性测试, 步骤繁琐且研发周期长, 分离过程中易造成活性成分损失, 难以满足高效筛选活性结构的需求。因此, 有必要探索高效、精准

收稿日期: 2023-04-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82141209)

第一作者: 赵 珊(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: shanzhaosan@163.com

*通信作者: 李遇伯, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药分析和代谢组学。E-mail: yaowufenxi001@sina.com

的中药活性成分研究策略,进一步发展和完善中药活性成分识别的技术和理论体系。

药物靶标是药物在体内发挥治疗作用的不可替代的起始点,中药小分子通过靶向作用于生物体内的靶标蛋白调节生物学过程从而发挥药效作用^[4-5]。随着现代科学技术的发展与研究者的不断探索,现已发现许多具有生物活性和成药特性的药物靶标,类比基于药物靶标寻找先导化合物的化学药物研发策略,基于已知的药物靶标揭示和阐明中药的活性成分可有效助力中药药效成分的精准研究。近年来,现代分析技术与各学科理论发展迅速,多学科技术的交叉渗透为该模式的研究提供了有力的指导工具。从药物的作用靶标出发,基于化学和生物技术与计算机虚拟筛选技术,已有多种研究方法不断应用于实践并取得了可喜的成果。本文以已知的药物靶标为前提,归纳基于药物靶标发现中药活性成分的分析技术及应用现状,并对利用该模式探究中药药效物质基础的发展提出展望。

1 基于化学和生物技术筛选中药活性成分

随着化学生物学和有机合成技术的迅速发展,中药活性成分与靶标蛋白质相互作用的研究方法层出不穷^[6],研究人员采用多种技术快速筛选获得中药的活性成分,并对药理活性和药物作用机制进行系统的研究以发现新颖活性成分。总结了近年来亲和超滤质谱技术、分子生物色谱技术、磁珠富集技术、表面等离子共振技术和生物膜干涉技术的原理及其在中药活性成分筛选中的应用现状,以期对中药药效成分的精准研究提供理论与方法指导。

1.1 亲和超滤质谱技术

亲和超滤质谱技术是结合亲和超滤与高效液相色谱-质谱(HPLC-MS)技术的生物分析技术,通过与HPLC-MS联用,借助超滤膜对不同尺寸物质的选择性差异可快速确定与生物靶标有亲和力的活性小分子^[7],实现复杂中药体系中特异性配体的高通量筛选。亲和超滤质谱技术一般分为4个基本步骤^[8]:(1)小分子药物配体与靶蛋白共同孵育结合;(2)应用超滤离心管洗脱未结合的小分子化合物;(3)采用解离试剂解离小分子配体与蛋白;(4)通过质谱手段鉴定结合的小分子配体。亲和超滤质谱技术将超滤的高分离能力与亲和色谱的高选择性有效结合,已成为识别复杂天然产物中活性分子的有力手段,引起众多研究者的关注。

已有许多研究应用亲和超滤技术从中药提取物中鉴定出拓扑异构酶、凝血酶、超氧化物歧化酶、

黄嘌呤氧化酶和酪氨酸酶等酶抑制剂^[9-16]。本课题组Wang等^[17]借助亲和超滤质谱技术从抱茎苦蕒菜中筛选得到异绿原酸A和木犀草素-7-O-葡萄糖醛酸苷,它们是与防治冠心病的关键靶标血管内皮细胞生长因子受体2(VEGFR2)具有亲和力的活性成分,进一步结合原子力成像技术和细胞实验证实了活性成分的作用机制及生物活性。Xie等^[18]成功开发了靶向环氧酶2(COX-2)/5-脂氧合酶(5-LOX)的生物活性化合物鉴定的策略,从知母提取物中筛选得到2个双靶向抑制剂螺甾烷醇苷和呋喃甾烷醇苷,为后续多靶点药物筛选提供参考。如何最大限度地减少非特异性吸附是亲和超滤质谱技术的关键;在实际应用中,必须全面考虑操作过程中的各种干扰因素,优化分析条件,有效地排除非生物活性成分的干扰,才能获得理想的实验结果。

1.2 分子生物色谱技术

分子生物色谱技术是基于分子特异性识别的原理,利用不同中药成分与靶蛋白、受体等生物大分子结合程度和亲和力的不同,以及每种化学成分在色谱柱上保留时间的不同实现中药活性成分的筛选^[19-20]。实验中将具有生物活性的大分子固定于色谱柱载体上作为固定相,将相应中药混合提取液加入流动相,最后将与靶标大分子特异性结合的化学成分洗脱分离^[21-22]。目前该技术已广泛应用于血浆蛋白、受体、酶、DNA等多种大分子药物靶标的靶向活性成分研究^[23]。

该技术作为保留靶标生物活性和色谱分离特性的新兴技术,能够同步实现活性成分的识别和分离分析,在中药活性成分的筛选和作用关系的研究中具有广阔的应用前景。Wei等^[24]基于 $\alpha 1$ 型肾上腺素能受体细胞膜色谱与超高效液相色谱-飞行时间质谱联用,从五味子提取物中快速筛选鉴定出潜在活性成分五味子素A。Yang等^[25]利用G蛋白偶联受体X2细胞膜色谱结合高效液相色谱-电喷雾离子阱飞行时间质谱对紫苏叶中的活性化合物进行了筛选,鉴定出芹菜素和迷迭香酸2种有效成分,并通过体外 β -氨基己糖苷酶和组胺释放实验验证其生理活性。Chen等^[26]通过在二氧化硅固定相上共价固定血管紧张素转化酶2(ACE2)制备生物活性柱,采用二维生物色谱高效筛选得到连花清瘟提取物和人尿液样品中8种具有ACE2潜在靶向作用的活性成分,为连花清瘟胶囊用于新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的临床预防与治疗提供了直接的体内药效物质基础和潜在分子机制依据。对于生物

色谱技术而言,搭载生物材料的色谱固定相是其技术核心,选取适宜的生物材料以及开发生物材料的固定方法学,使固定相最大限度地模拟体内生理过程是目前的重点突破方向。

1.3 磁珠富集技术

磁珠是由超顺磁性金属氧化物与无机材料或高分子有机物相互作用形成的磁性颗粒^[27],是近年来极具开发前景和应用价值的新型材料,广泛应用于生物医学等领域。鉴于功能化的磁珠表面能够键合固定生物活性大分子,具有低毒性和良好的稳定性,越来越多的研究人员通过在磁珠表面修饰大分子靶标,从中药提取液中富集筛选潜在的活性成分。基于磁珠富集的中药药效成分筛选流程如下^[28]:将特定靶标(蛋白或酶)键合于磁性颗粒载体表面,将磁珠与中药提取液混合孵育,基于受体-配体结合作用富集中药混合体系中潜在的活性成分,再通过液质联用技术和核磁共振技术等确定活性化合物的结构信息。

目前,国内外使用磁珠富集技术筛选中药活性成分的靶标主要包括: α -葡萄糖苷酶、乳酸脱氢酶、单胺氧化酶B、COX-2、谷胱甘肽S-转移酶^[29-35]等。Yuan等^[36]将 α -葡萄糖苷酶固定在磁珠上,从芦荟提取物中筛选出抑制剂芦荟素A和2种激动剂芦荟酮和芦荟宁昔元。也有研究者^[37]将治疗阿尔茨海默病的潜在靶标 β -分泌酶通过酶的一级氨基固定在环氧基磁珠上,从石斛提取物中筛选得到芦丁、滨蒿内酯、柚皮素、石斛酚和毛兰素5个对 β -分泌酶具有较高结合亲和力的活性化合物。相较于传统的筛分方法,磁珠富集技术具有制备简单、悬浮稳定性高、易于修饰等优点,对于低浓度、低亲和力的化合物具有高灵敏度,其独特的磁性使表面固定的蛋白易与反应体系分离,从而提高蛋白的重复使用率,降低筛选成本。

1.4 表面等离子共振技术(SPR)

SPR以生物传感芯片为中心,利用光学测量的折射率变化分析样品与固定在SPR传感器上分子的结合情况^[38]。经典的基于SPR技术的筛选方法将靶标蛋白偶联于芯片表面,逐一检测待筛选化合物和阳性配体小分子与蛋白的响应信号,对比选出响应值高于阳性配体的小分子化合物进一步验证亲和力^[39]。该技术可以有效保持生物分子的天然活性,可以在不进行荧光或同位素标记以及纯化生物组分的情况下,依靠传感器芯片测量折射率的变化即可快速识别出与靶标具有亲和力的活性小分

子^[40],对寻找和确证中药活性成分具有较大优势。

SPR技术是在分子水平上确定中药有效成分的有效工具,大量实验^[41-43]证明该法可筛除大量无活性的化合物,提高活性化合物的筛选速度且捕获的活性配体具有药理活性明确、靶向准确等特点。本课题组Fan等^[44]应用SPR技术测定甘草中化合物与盐皮质激素受体亲和性,通过检测化合物与盐皮质激素受体的亲和力,成功筛选得到蔗糖甘草苷、蔗糖异甘草苷为甘草中盐皮质激素样作用的活性成分。Chen等^[45]构建了基于SPR的信号传导转录激活因子3(STAT3)靶向成分识别系统,从50种中药单体化合物中筛选得到小分子黄芩新素能够与STAT3特异性结合,通过细胞凋亡测定和双荧光素酶报告基因实验进一步验证了其抑制作用。Lv等^[46]使用基于SPR的筛选系统从白芍中分析鉴定出能与肿瘤坏死因子- α (TNF- α)特异性结合的2个潜在活性成分——芍药苷和芍药醇,并证实2个化合物能够抑制小鼠成纤维细胞L929中TNF- α 诱导的细胞毒性和细胞凋亡。

1.5 生物膜干涉技术(BLI)

BLI作为无标记的、实时监测的光学检测技术,主要应用于生物分子相互作用的定量分析以及蛋白浓度测定,可以通过对分子间结合过程进行实时监测来计算出分子间结合速率(K_a)、解离速率(K_d)和亲和力(K_D)等关键参数^[47]。基于BLI的分子互作分析系统已被广泛应用于蛋白质结构靶点、药物筛选与研发等领域。Guo等^[48]联合使用高分辨质谱技术,将其开发用于快速筛选中药开心散中与 β -淀粉样蛋白相互结合的潜在小分子抑制剂,结合体内外实验进一步证明了小分子抑制 β -淀粉样蛋白纤维形成的良好活性,这为基于靶点的中药活性成分筛选提供了很好的参考。

迄今为止,BLI用于中药药效成分的研究较少,参考Guo团队的研究^[48],其基本流程大致分为以下步骤:(1)将靶标蛋白固定于传感器表面;(2)将中药提取液注入BLI系统,使其流经传感器表面与蛋白孵育,富集与靶标发生亲和作用的活性成分;(3)从传感器表面回收解离与蛋白结合的活性成分;(4)通过质谱手段鉴定活性成分的结构。作为测量生物分子间相互关系的非标记性技术,BLI具有无需标记、耗材消耗少、检测高效以及能够实时监测分析数据的优势^[49]。科研人员可参考以上流程,将其开发用于中药活性成分的靶向筛选。

2 基于计算机虚拟技术筛选中药活性成分

计算机虚拟技术具有高效、便捷等优点,随着其技术理论的不断优化和升级,经过多年的发展,已被成功应用在多个领域。计算机虚拟药物筛选技术是在明确生物结构的基础上借助计算机算法和软件模拟寻找新配体的过程,能够从众多候选化合物中快速识别与药物靶标特异性结合的潜在活性小分子,缩小人工方法筛选活性配体的研究范围^[50-51],降低研究的盲目性。本文简要总结了分子对接技术、药效团模型和机器学习3种用于中药活性成分筛选的代表性技术的应用现状,以便进一步拓展计算机虚拟筛选技术在中药活性成分研究中的应用。

2.1 分子对接技术

分子对接是基于受体靶标结构的药物筛选方法,利用计算机模拟预测化学成分与药物靶标之间的结合模式,快速找到直接作用于目标靶标的化学成分。该技术是利用 Schrodinger Suite 和 Auto Dock 等计算机软件模拟受体大分子(酶、蛋白质等)和配体小分子(中药活性成分)的相互作用,根据计算得到的参数,预测小分子的功能基团和受体靶标活性位点的亲和力和结合模式^[52]。分子对接是较早应用于药物研究的虚拟筛选技术,近年来其计算理论与软件不断发展与完善,已成为一种高效的辅助筛选工具。已有许多报道基于抗病毒、抗炎、抗肿瘤等药物靶标^[53-58],从大型天然产物库或中药处方中筛选获取具有潜在开发价值的活性化合物。近期,多位学者^[59-62]以 3CL 蛋白酶(3CLpro)和 ACE2 为受体靶标,借助分子对接技术从数据库中筛选 3CLpro 抑制剂和 ACE2 结合阻断剂的候选化合物,并指导以中药小分子为先导化合物的抗 COVID-19 新药研发。

通过预测药物与靶蛋白之间的结合强度和亲和力,分子对接能够快速辨识中药活性成分,在基于靶标的活性成分的虚拟筛选方面具有独特的优势,在其实际应用过程中,应当在符合中药特性的前提下,综合考虑实验各阶段可能涉及到的问题^[63],包括受体与配体的收集与处理、对接时的参数设置及对接后的评估与验证等,以期尽可能地减小实验误差、提高分子对接结果的准确性与可靠性。

2.2 药效团模型

药效团模型是利用 Discovery Studio 和 Ligand Scout 等计算机软件根据化合物的药效特征基团或

亚结构为基础构建模型,抽象概括出作用于特定靶标的活性化合物的共同结构特征^[64]。其基本流程可分为以下4个步骤^[65-66]:(1)收集具有不同结构和活性的化合物组建训练集及测试集;(2)确定建模软件,选择用于构建模型的特征元素并设置建模参数;(3)通过测试集评估模型性能;(4)使用最优模型筛选与模型匹配的活性化合物。相较于分子对接技术,药效团模型侧重于快速生成已知活性化合物的共同特征,常与分子对接技术组合应用于中药活性成分的筛选。李婧等^[67]挖掘 31 种临床常用防治 COVID-19 的处方,通过药效团模型从 92 种药材中筛选出抑制新型冠状病毒 RdRp 聚合酶的活性成分。张敏等^[68]将建立的 COX-2 抑制剂的药效团模型用于活络丸中的活性成分的筛选,发现了 11 个具有潜在抑制活性的化学成分,体外酶活性抑制实验显示各成分能够不同程度地抑制 COX-2。

基于药效团模型的虚拟筛选通过评估化合物结构与药效团模型的匹配程度,能够从中药复杂体系中快速辨识活性成分,其在现代中药研究中取得了一定进展,但在推广和应用方面仍受到限制,调整优化药效团模型的建模方法和参数以提高模型性能,或者结合分子对接、分子动力学模拟等其他分析方法^[69-70],一定程度上能够降低假阳性的概率,提高模型筛选与预测的准确性。

2.3 机器学习

近年来,作为人工智能的重要组成部分,机器学习的应用已成为计算化学有吸引力的方法,并取得了显著的进步。基于机器学习的虚拟筛选的基本思路为提取化合物的结构及理化性质特征,选用合适的算法归纳配体的特征,构建机器学习模型用于筛选化合物,属于定量构效关系。由于它可以通过学习而不断优化模型,所以准确率较高^[71],在区分活性和非活性化合物的性能方面明显优于传统的虚拟技术。用于药物发现的机器学习算法中,随机森林算法(RF)、贝叶斯算法(NB)和支持向量机算法(SVM)应用得最为广泛^[72-73]。Huang 等^[74]基于转录因子叉头框蛋白 O1 (FoxO1)通过 NB、RF、SVM 等机器学习算法从甘草提取物中筛选得到 FoxO1 的抑制剂欧甘草素 B,结合同位素标记实验、免疫染色和荧光素酶报告基因等实验测试其体内外药理作用,进一步证实了其生物活性。

机器学习在中药活性成分研究领域中的应用还处于起步阶段,应用该技术筛选中药活性成分的研究较少,如何解决选择训练集的问题是当前机器

学习算法的瓶颈。目前的研究发现,训练集中的分子类型包括活性分子和非活性分子的数量和相对平衡,对算法未来的预测性能有重大影响^[75]。中药科研人员可参考其在化学药物发现的策略,开发出适用于中药特性的研究方案。

3 结语与展望

基于生物功能的执行者——药物靶标,靶向识别中药活性成分为中药药效成分研究提供了方向,是现代中药活性成分研究的趋势。中药活性成分研究工作亟需多学科交叉扩展,化学生物学和计

算机虚拟技术的发展为中药活性成分的靶向筛选鉴定提供了技术支持。基于化学和生物学的现代分析技术拓展了活性成分富集与检测的实验手段,而计算机虚拟筛选技术凭借计算机强大的计算性能可以在较短时间内对活性配体进行高效筛选,极大地缩短了人工方法筛选活性结构的时间和成本。目前报道的各种研究方法均有其特有的优势和局限(表1)。在实践应用过程中,需不断改进完善,注重汲取各技术的有益成果,联合应用多种技术以实现优势互补。

表1 基于药物靶标识别中药活性成分的技术比较

Table 1 Comparison of techniques for identifying active ingredients of TCM based on drug target

技术分类	优势	局限
亲和超滤质谱技术	高效率、低成本且样品损耗少、样品溶液无需固定化	易受超滤膜材料、靶标蛋白和提取液浓度、解离液选择等因素的影响产生非特异性吸附
分子生物色谱技术	模拟生物内部环境,分析速度快、重现性好、选择性高	固定相制备困难,色谱柱寿命短,耐用性有待提高
磁珠富集技术	设备简单、操作简便、样品处理量大	需开发高载酶能力和简单合成工艺支撑材料固定药物靶标
等离子共振技术	样品消耗量少,无需对样品进行化学标记,能实时监测生物分子间的相互作用	对传感器平台和芯片要求较高,对温度、样品组成等因素敏感
生物膜干涉技术	耗时短,能同时检测多种样品、实时监控检测过程	需考虑蛋白溶液浓度、固定化方法等优化结合与解离过程
分子对接	可模拟药物与靶标相互作用并预测结合模式和亲和力	需明确受体和配体结构信息,计算量较大,筛选时间较长
药效团	受体结构未知情况下可归纳活性化合物药效结构特征	药效团特征数较少时,筛选结果可能造成假阳性
机器学习	可通过学习不断优化模型,筛选准确率高	对训练模型所需训练集的化合物数量和结构信息要求较高

纵观以上中药活性成分筛选方法及成果,大多数活性配体筛选报道都集中在1个或2个靶标,目前关于多靶点筛选的研究很少。然而,中药通过多种成分、多靶点和多种途径发挥其药理作用,开发多组分、多靶点活性成分筛选模式将成为主要研究趋势,因此需扩展当前的分析手段,以实现多靶点或多通路的活性成分筛选。例如,可以将不同种类的靶标固定在磁珠或生物材料的表面,以便实现多靶标活性化合物的富集与筛选。此外,需要明确的问题是,靶向药物靶标筛选出来的活性成分仅得知能够与靶点蛋白结合,其与靶点的具体作用机制及活性未被阐明,因此针对筛选出的化合物进行药理活性验证仍是必不可少的。

中药活性成分的创新是创新中药研发的源泉,运用现代科学技术揭示中药药效成分及其作用机制,是推动中医药事业科学化和国际化进程的关键,也是实现中国原始药物创新的重要途径。在明确药物靶标的基础上,本文归纳了基于生物和化学技术、计算机虚拟技术靶向识别中药活性成分的研究方法与应用。在未来研究中应坚持以中医药理

论为指导,合理开发融合前沿学科和现代分析技术,联合借鉴各领域的先进技术和手段,从而综合确证中药的药效物质,推动原始创新药物研究和中医药事业的科学化与国际化进程。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jiao Q, Wang R, Jiang Y, et al. Study on the interaction between active components from traditional Chinese medicine and plasma proteins [J]. Chem Cent J, 2018, 12 (1): 48.
- [2] 段贤春, 黄石, 彭代银, 等. 网络药理学在中药复方研究中的应用 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(3): 303-308.
Duan X C, Huang S, Peng D Y, et al. Application of network pharmacology in the study of traditional Chinese medicine formula [J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(3): 303-308.
- [3] 宋慧鹏, 杨华, 高雯, 等. 中药活性成分发现关键技术研究进展 [J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2016, 18(7): 1093-1098.
Song H P, Yang H, Gao W, et al. A progress on the key technologies for discovery of bioactive compounds from

- traditional Chinese medicines [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2016, 18(7): 1093-1098.
- [4] 张丹参. 中药有效成分的作用机制和物质基础 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 656.
- Zhang D S. Mechanism of action and material basis of active ingredients in traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2019, 33(9): 656.
- [5] Li X H, Yin F T, Zhou X H, et al. The signaling pathways and targets of natural compounds from traditional Chinese medicine in treating ischemic stroke [J]. Molecules, 2022, 27(10): 3099.
- [6] 吴雪芬, 卫晓红, 武玉卓, 等. 中药活性成分靶点确定及作用机制研究方法进展 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(17): 4565-4573.
- Wu X F, Wei X H, Wu Y Z, et al. Progress of target determination and mechanism of bioactive components of traditional Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2022, 47(17): 4565-4573.
- [7] 杨丽, 赵伯原, 李春龙, 等. 亲和超滤-液质联用技术在药用植物活性成分筛选中的应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(8): 196-208.
- Yang L, Zhao B Y, Li C L, et al. Research progress on screening active components from medicinal plants based on affinity ultrafiltration coupled with LC-MS technology [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2021, 27(8): 196-208.
- [8] 王志强, 韩晔红, 闫宏远. 基于亲和超滤技术的天然活性物质筛选方法 [J]. 河北大学学报: 自然科学版, 2021, 41(5): 511-527.
- Wang Z Q, Han Y H, Yan H Y, et al. Screening methods of natural bioactive compounds based on the affinity ultrafiltration techniques [J]. J Hebei Univ: Nat Sci Ed, 2021, 41(5): 511-527.
- [9] Liu Y, Muema F W, Zhang Y L, et al. Acyl quinic acid derivatives screened out from carissa spinarum by SOD-affinity ultrafiltration LC-MS and their antioxidative and hepatoprotective activities [J]. Antioxidants, 2021, 10(8): 1302.
- [10] Zhong H, Abdullah, Zhang Y, et al. Exploring the potential of novel xanthine oxidase inhibitory peptide (ACECD) derived from Skipjack tuna hydrolysates using affinity-ultrafiltration coupled with HPLC-MALDI-TOF/TOF-MS [J]. Food Chem, 2021, 347: 129068.
- [11] Lan Z, Zhang Y, Sun Y, et al. Identifying of anti-thrombin active components from *Curcuma Rhizoma* by affinity-ultrafiltration coupled with UPLC-Q-exactive orbitrap/MS [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 769021.
- [12] Wang S, Huai J, Shang Y, et al. Screening for natural inhibitors of 5-lipoxygenase from Zi-shen Pill extract by affinity ultrafiltration coupled with ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 254: 112733.
- [13] Jiao J, Yang Y, Wu Z, et al. Screening cyclooxygenase-2 inhibitors from *Andrographis paniculata* to treat inflammation based on bio-affinity ultrafiltration coupled with UPLC-Q-TOF-MS [J]. Fitoterapia, 2019, 137: 104259.
- [14] Zhang X Y, Wei Z J, Qiao W L, et al. Discovery of cyclooxygenase-2 inhibitors from *Kadsura coccinea* by affinity ultrafiltration mass spectrometry and the anti-inflammatory activity [J]. Fitoterapia, 2021, 151: 104872.
- [15] Chen G, Wu J, Li N, et al. Screening for anti-proliferative and anti-inflammatory components from *Rhamnus davurica* Pall. using bio-affinity ultrafiltration with multiple drug targets [J]. Anal Bioanal Chem, 2018, 410(15): 3587-3595.
- [16] Liu H, Zhu Y, Wang T, et al. Enzyme-site blocking combined with optimization of molecular docking for efficient discovery of potential tyrosinase specific inhibitors from *Puerariae Lobatae Radix* [J]. Molecules, 2018, 23(10): 2612.
- [17] Wang X, Li Y, Chen M, et al. Stepwise rapid tracking strategy to identify active molecules from *Ilexeris sonchifolia* Hance based on "affinity mass spectrometry-atomic force microscopy imaging" technology [J]. Talanta, 2020, 217: 121031.
- [18] Xie L, Lee D Y, Shang Y, et al. Characterization of spirostanol glycosides and furostanol glycosides from *Anemarrhenae Rhizoma* as dual targeted inhibitors of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2 by employing a combination of affinity ultrafiltration and HPLC/MS [J]. Phytomedicine, 2020, 77: 153284.
- [19] 刘珏玲, 安琪, 陈素娥, 等. 分子生物色谱技术中生物大分子在中药研究中的应用进展 [J]. 药学研究, 2019, 38(11): 652-656.
- Liu J L, An Q, Chen S E, et al. Advances in studies on biomolecular and application in molecular biochromatography of traditional Chinese medicine [J]. J Pharm Res, 2019, 38(11): 652-656.
- [20] 李亚男, 王松, 丛海林, 等. 细胞膜色谱法改进及应用进展 [J]. 分析仪器, 2020(6): 7-16.
- Li Y N, Wang S, Cong H L, et al. Improvement and application of cell membrane chromatography [J]. Anal Instrum, 2020(6): 7-16.
- [21] 武姿彤, 杜武勋, 肖学凤, 等. 细胞膜色谱法在中药活性成分筛选中的应用 [J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(1): 71-75.
- Wu Z T, Du W X, Xiao X F, et al. Advances in application of cell membrane chromatography in

- screening bioactive components of traditional Chinese medicines [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2017, 36 (1): 71-75.
- [22] Ping Y, Zhang L, Wang X, et al. Off-line and on-line liquid chromatography-mass spectrometry methods with immobilized bio-macromolecules for drug screening from natural sources [J]. J Chromatogr A, 2022, 1683: 463538.
- [23] 柴心怡, 顾妍秋, 陈啸飞, 等. 新型生物色谱固定相制备及分析方法学研究进展 [J]. 药学实践杂志, 2022, 40 (3): 193-198.
Chai X Y, Gu Y Q, Chen X F, et al. Advances in methodologies for preparation and analysis of new biochromatic stationary phase [J]. J Pharm Pract, 2022, 40 (3): 193-198.
- [24] Wei F, He X, Xu K, et al. Stepwise frontal analysis coupled with cell membrane chromatography for affinity screening and characterization analysis of bioactive constituent from the mature fruits of *Schisandra chinensis* [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2020, 1161: 122443.
- [25] Yang L, Zeng Y, Wang J, et al. Discovery and analysis the anti-pseudo-allergic components from *Perilla frutescens* leaves by overexpressed MRGPRX2 cell membrane chromatography coupled with HPLC-ESI-IT-TOF system [J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72(6): 852-862.
- [26] 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 [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(1): 222-236.
- [27] Low L E, Lim H P, Ong Y S, et al. Stimuli-controllable iron oxide nanoparticle assemblies: Design, manipulation and bio-applications [J]. J Control Rel, 2022, 345: 231-274.
- [28] 简敬一. 基于磁珠配体垂钓简化富集样本的 at-line nanofractionation 活性筛选平台的建立 [D]. 广州: 暨南大学, 2020.
Jian J Y. At-line nanofractionation screening platform with sample simplification and enrichment strategy based on magnetic beads ligand fishing [D]. Guangzhou: Jinan University, 2020.
- [29] Chen Q, Zhu L, Yip K M, et al. A hybrid platform featuring nanomagnetic ligand fishing for discovering COX-2 selective inhibitors from aerial part of *Saussurea laniceps* Hand-Mazz [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113849.
- [30] Wu G F, Jiang X L, Gong Y Z, et al. Ligand fishing of anti-neurodegenerative components from *Lonicera japonica* using magnetic nanoparticles immobilised with monoamine oxidase B [J]. J Sep Sci, 2019, 42(6): 1289-1298.
- [31] Wubshet S G, Liu B, Kongstad K T, et al. Combined magnetic ligand fishing and high-resolution inhibition profiling for identification of alpha-glucosidase inhibitory ligands: A new screening approach based on complementary inhibition and affinity profiles [J]. Talanta, 2019, 200: 279-287.
- [32] Hou W, Li S, Li S, et al. Screening and isolation of cyclooxygenase-2 inhibitors from *Trifolium pratense* L. via ultrafiltration, enzyme-immobilized magnetic beads, semi-preparative high-performance liquid chromatography and high-speed counter-current chromatography [J]. J Sep Sci, 2019, 42(6): 1133-1143.
- [33] Cheng G, Pi Z, Zheng Z, et al. Magnetic nanoparticles-based lactate dehydrogenase microreactor as a drug discovery tool for rapid screening inhibitors from natural products [J]. Talanta, 2020, 209: 120554.
- [34] Yi R, Fu R, Li D, et al. Identification of ligands from natural products as inhibitors of glutathione S-transferases using enzyme immobilized mesoporous magnetic beads with high-performance liquid chromatography plus quadrupole time-of-flight mass spectrometry and molecular docking [J]. J Sep Sci, 2019, 42(24): 3611-3620.
- [35] Shen Y, Wang M, Zhou J, et al. Construction of Fe_3O_4 @alpha-glucosidase magnetic nanoparticles for ligand fishing of alpha-glucosidase inhibitors from a natural tonic *Epimedium Folium* [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 165(Pt A): 1361-1372.
- [36] Yuan H, Wan H, Hu Y K, et al. Fishing of α -glucosidase's ligands from *Aloe vera* by α -glucosidase functionalized magnetic nanoparticles [J]. Molecules, 2021, 26(19): 5840.
- [37] Ye L H, Zhang R, Cao J. Screening of beta-secretase inhibitors from *Dendrobii Caulis* by covalently enzyme-immobilized magnetic beads coupled with ultra-high-performance liquid chromatography [J]. J Pharm Biomed Anal, 2021, 195: 113845.
- [38] Li P, Huang Z, She Y, et al. An assessment of the interaction for three *Chrysanthemum indicum* flavonoids and alpha-amylase by surface plasmon resonance [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(1): 620-628.
- [39] Florinskaya A, Ershov P, Mezentssev Y, et al. SPR biosensors in direct molecular fishing: Implications for protein interactomics [J]. Sensors, 2018, 18(5): 1616.
- [40] 尹磊淼. 表面等离子共振技术在中医药研究中应用进展 [J]. 世界中医药, 2020, 15(11): 1555-1558.
Yin L M. Clinical progress of surface plasmon resonance in traditional Chinese medicine study [J]. World Chin Med, 2020, 15(11): 1555-1558.
- [41] 苏晓薇, 张华林, 张宁, 等. 基于表面等离子体共振技术筛选 STAT3 小分子抑制剂的研究 [J]. 药学实践杂志, 2021, 39(6): 515-519.

- Su X W, Zhang H L, Zhang N, et al. Screening small molecular inhibitors of STAT3 based on surface plasmon resonance technology [J]. J Pharm Pract, 2021, 39(6): 515-519.
- [42] 马荟琳, 张颖, 戚敏钰, 等. 基于双靶点表面等离子体共振传感器的中药抗新冠病毒活性成分筛选研究 [J]. 药理学学报, 2023, doi: 10.16438/j.0513-4870.2022-1140.
- Ma H L, Zhang Y, Qi M Y, et al. Screening of anti-SARS-CoV-2 ligands from Chinese herbs based on a dual-target surface plasmon resonance biosensor [J]. Acta Pharm Sin, 2023, doi: 10.16438/j.0513-4870.2022-1140.
- [43] 王嫚, 李书文, 董旭, 等. 基于 SPR 技术的表皮生长因子受体与新疆紫草中 4 种活性成分的相互作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(13): 32-36.
- Wang M, Li S W, Dong X, et al. Interactions between EGFR and four compounds from *Arnebia euchroma* based on SPR [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2018, 24(13): 32-36.
- [44] Fan S, Gu K, Wu Y, et al. Liquiritinapioside-A mineralocorticoid-like substance from liquorice [J]. Food Chem, 2019, 289: 419-425.
- [45] Chen L, Lv D, Chen X, et al. Biosensor-based active ingredients recognition system for screening STAT3 ligands from medical herbs [J]. Anal Chem, 2018, 90(15): 8936-8945.
- [46] Lv D, Xu J, Qi M, et al. A strategy of screening and binding analysis of bioactive components from traditional Chinese medicine based on surface plasmon resonance biosensor [J]. J Pharm Anal, 2022, 12(3): 500-508.
- [47] 张艳, 姜丽艳, 张晓光, 等. 生物膜干涉技术在生物分子间相互作用检测中的应用 [J]. 生命科学仪器, 2019, 17(2): 49-52.
- Zhang Y, Jiang L Y, Zhang X G, et al. Application of biolayer interferometry in detection of biomolecular interaction [J]. Life Sci Instrum, 2019, 17(2): 49-52.
- [48] Guo M, Zhu F, Qiu W, et al. High-throughput screening for amyloid-beta binding natural small-molecules based on the combinational use of biolayer interferometry and UHPLC-DAD-Q/TOF-MS/MS [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(4): 1723-1739.
- [49] Zhang D, Hamdoun S, Chen R, et al. Identification of natural compounds as SARS-CoV-2 entry inhibitors by molecular docking-based virtual screening with bio-layer interferometry [J]. Pharmacol Res, 2021, 172: 105820.
- [50] 章新友, 张亚明, 刘梦玲, 等. 虚拟筛选技术在中药研究中的应用 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31(17): 1676-1683.
- Zhang X Y, Zhang Y M, Liu M L, et al. Application of virtual screening technology in the research of traditional Chinese medicines [J]. Chin J New Drugs, 2022, 31(17): 1676-1683.
- [51] 高宇, 王凤雪, 刘海波. 虚拟筛选技术在天然产物新药研发中的应用 [J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(8): 602-608.
- Gao Y, Wang F X, Liu H B. Application of in silico screening technology in the medical research of natural products [J]. J Int Pharm Res, 2020, 47(8): 602-608.
- [52] 朱锐灵, 沈悦, 马飞鸿, 等. 分子对接技术在中药抗炎活性成分筛选和作用机制研究中的应用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(6): 497-506.
- Zhu R L, Shen Y, Ma F H, et al. Application of molecular docking in screening of anti-inflammatory constituents of traditional Chinese medicine and their mechanisms [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2018, 32(6): 497-506.
- [53] 李婧, 马小兵, 沈杰, 等. 基于文献挖掘与分子对接技术的抗新型冠状病毒中药活性成分筛选 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 845-850.
- Li J, Ma X B, Shen J, et al. Screening of active components from Chinese materia medica against SARS-CoV-2 based on literature mining and molecular docking [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(4): 845-850.
- [54] 王倩, 刘俊成, 宋媛媛, 等. 分子对接技术筛选沉香中抗新型冠状病毒活性成分 [J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 2022, 54(1): 54-60.
- Wang Q, Liu J C, Song A A, et al. Virtual screening of active anti-SARS-CoV-2 components from *Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng. with the molecular docking technology [J]. J South China Norm Univ: Nat Sci Ed, 2022, 54(1): 54-60.
- [55] Liu J, Meng J, Li R, et al. Integrated network pharmacology analysis, molecular docking, LC-MS analysis and bioassays revealed the potential active ingredients and underlying mechanism of *Scutellariae Radix* for COVID-19 [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 988655.
- [56] Tang H, Qin N, Rao C, et al. Screening of potential anti-thrombotic ingredients from *Salvia miltiorrhiza* in zebrafish and by molecular docking [J]. Molecules, 2021, 26(22): 6807.
- [57] Xiang K, Zhou W, Hou T, et al. Integration of two-dimensional liquid chromatography-mass spectrometry and molecular docking to characterize and predict polar active compounds in *Curcuma kwangsiensis* [J]. Molecules, 2022, 27(22): 7715.
- [58] Zhao Y, Cao Y, Yang X, et al. Network pharmacology-based prediction and verification of the active ingredients and potential targets of Huagan Decoction for reflux esophagitis [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 298: 115629.
- [59] Ma L L, Liu H M, Liu X M, et al. Screening S protein - ACE2 blockers from natural products: Strategies and advances in the discovery of potential inhibitors of COVID-19 [J]. Eur J Med Chem, 2021, 226: 113857.
- [60] 龚普阳, 郭瑜婕, 李晓朋, 等. 基于网络药理学与分子对接技术的金花清感颗粒防治新型冠状病毒肺炎的潜在药效物质研究 [J]. 中草药, 2020, 51(7): 1685-1693.

- Gong P Y, Guo Y J, Li X P, et al. Exploring active compounds of Jinhua Qinggan Granules for prevention of COVID-19 based on network pharmacology and molecular docking [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51 (7): 1685-1693.
- [61] 孙洁, 蒋士卿. 基于2019-nCoV 3CL Mpro 筛选祛肺毒一号方的活性成分及其治疗 COVID-19 的分子机制 [J]. 中医学报, 2022, 37(5): 1049-1058.
- Sun J, Jiang S Q. Screening of active ingredients of Qufaidu No.1 Recipe based on 2019nCoV 3CL Mpro and its molecular mechanism in treatment of COVID-19 [J]. Acta Chin Med, 2022, 37(5): 1049-1058.
- [62] 马青云, 刘辰, 杜海涛, 等. 基于高通量分子对接虚拟筛选 SARS-CoV-2 3CL 水解酶中药小分子抑制剂及抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的中药及其复方预测 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1397-1405.
- Ma Q Y, Liu C, Du H T, et al. Virtual screening of small molecular inhibitors of SARS-CoV-2 3CL hydrolase based on high-throughput molecular docking and prediction of Chinese materia medica and its compound against COVID-19 [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51 (6): 1397-1405.
- [63] Ruchawapol C, Fu W W, Xu H X. A review on computational approaches that support the researches on traditional Chinese medicines (TCM) against COVID-19 [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154324.
- [64] Li S, Zhang S, Chen D, et al. Identification of novel TRPC5 inhibitors by pharmacophore-based and structure-based approaches [J]. Comput Biol Chem, 2020, 87: 107302.
- [65] 张晓铮, 高颖, 刘玉, 等. 基于处方挖掘与分子动力学模拟筛选严重急性呼吸综合征冠状病毒2潜在抑制剂分子的研究 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2022, 49(10): 1889-1900.
- Zhang X Z, Gao Y, Liu Y, et al. Screening of potential inhibitors against SARS-CoV-2 based on prescription mining and molecular dynamics simulations [J]. Prog Biochem Biophys, 2022, 49(10): 1889-1900.
- [66] 张景芳, 李彦程, 夏桂阳, 等. 人羧酸酯酶2抑制剂药效团模型的构建及应用 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(3): 638-644.
- Zhang J F, Li Y C, Xia G Y, et al. Construction and application of pharmacophore model of human carboxylesterase 2 inhibitors [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(3): 638-644.
- [67] 李婧, 韦缤琪, 李可馨, 等. 基于处方挖掘与药效团模型的新型冠状病毒RdRp抑制成分筛选 [J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(12): 1981-1991.
- Li J, Wei B Q, Li K X, et al. Screening of RdRp inhibitors against SARS-CoV-2 based on prescription mining and pharmacophore [J]. Nat Prod Res Dev, 2020, 32(12): 1981-1991.
- [68] 张敏, 李潮新, 姚娟, 等. 基于药效团模型虚拟筛选络丸中治疗骨关节炎的COX-2抑制成分 [J]. 中国药学杂志, 2022, 57(20): 1742-1749.
- Zhang M, Li C X, Yao J, et al. Virtual screening of COX-2 inhibitory components in huoluowan (HLW) for treatment of osteoarthritis based on pharmacophore model [J]. Chin Pharm J, 2022, 57(20): 1742-1749.
- [69] 张文晋, 曹也, 常丽坤, 等. 药效团模型的构建及其在中药药效成分辨识中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46 (23): 6130-6138.
- Zhang W J, Cao Y, Chang L K, et al. Construction of pharmacophore model and its application in identification of effective components of Chinese medicine [J]. China J Chin Mater Med, 2021, 46(23): 6130-6138.
- [70] Giordano D, Biancaniello C, Argenio M A, et al. Drug design by pharmacophore and virtual screening approach [J]. Pharmaceuticals, 2022, 15(5): 646.
- [71] Patel L, Shukla T, Huang X, et al. Machine learning methods in drug discovery [J]. Molecules, 2020, 25(22): 5277.
- [72] Raschka S, Kaufman B. Machine learning and AI-based approaches for bioactive ligand discovery and GPCR-ligand recognition [J]. Methods, 2020, 180: 89-110.
- [73] Zhang W, Lin W, Zhang D, et al. Recent advances in the machine learning-based drug-target interaction prediction [J]. Curr Drug Metab, 2019, 20(3): 194-202.
- [74] Huang Z Y, Wang L J, Wang J J, et al. Hispaglabridin B, a constituent of liquorice identified by a bioinformatics and machine learning approach, relieves protein-energy wasting by inhibiting forkhead box O1 [J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(2): 267-281.
- [75] Sun J, Ni Q, Jiang F, et al. Discovery and Validation of Traditional Chinese and western medicine combination antirheumatoid arthritis drugs based on machine learning (random forest model) [J]. Biomed Res Int, 2023, 2023: 6086388.

[责任编辑 李红珠]