

• 专 论 •

代谢组学在中医药若干科学问题研究中的应用与思考

黄晓晨^{1,2}, 宿树兰^{1,2*}, 郭建明^{1,2}, 刘培^{1,2}, 钱大玮^{1,2}, 段金廛^{1,2*}

1. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210029

2. 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023

摘要: 代谢组学是系统生物学的重要组成部分, 近年来, 在中医药现代研究中应用越来越广泛。通过对代谢组学的形成、基本思想、特点优势、分析策略与技术以及在中医药若干科学问题研究中的应用现状等进行分析与论述, 并对其进一步应用于中医药研究及揭示中药作用机制等方面进行分析与探讨。以期采用代谢组学方法和技术揭示中医药现代科学内涵提供指引和参考。

关键词: 代谢组学; 中医药研究; 整体综合效应; 作用机制; 安全性评价

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)02-0147-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.02.001

Application and thinking of metabonomics in some scientific problems of traditional Chinese medicine

HUANG Xiao-chen^{1,2}, SU Shu-lan^{1,2}, GUO Jian-ming^{1,2}, LIU Pei^{1,2}, QIAN Da-wei^{1,2}, DUAN Jin-ao^{1,2}

1. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

2. Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae, Nanjing 210023, China

Abstract: As an important component of systems biology, metabonomics was widely applied in modern research of traditional Chinese medicine (TCM) in recent years. This article summarized the formation, basic idea, advantage, analysis strategies, and technologies of metabonomics, as well as the progress for metabonomics in some scientific problems of TCM. Furthermore, the researches on the applications and mechanism of metabonomics in the research of TCM were discussed. In order to provide guidance and reference for researches, metabolomic methods and techniques are used to reveal the modern scientific connotation of TCM.

Key words: metabonomics; research of traditional Chinese medicine; comprehensive effect; mechanism; safety evaluation

由于生命体的整体性、复杂性特点, 现代生物学的发展从器官、组织、细胞到基因的方式, 回归到了整合性研究的新高度, 意味着分子生物学时代进入系统生物学(systems biology)时代。中医药现代科学研究与实践证实, 单纯分析还原的研究方法难以解读中医药复杂理论体系的科学内涵。因此, 基因组学(genomics)、转录组学(transcriptomics)、

蛋白组学(proteomics)以及代谢组学(metabonomics)等系统生物学研究方法成为诠释生命体科学奥秘和阐明药物作用机制的新手段。其中代谢组学是继基因组学和蛋白质组学之后发展起来的一种研究生物系统的组学方法, 其借助现代分析技术、化学计量学和生物信息技术, 通过分析给药前后生物体液中分子代谢物轮廓的改变, 评价或预测药物疗效

收稿日期: 2013-10-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30973885, 81373889); 江苏省高校自然科学基金重大基础研究项目(11KJA360002, 06KJA36022); 江苏省方剂高技术研究重点实验室建设项目(BM2010576); 江苏省理血方剂创新药物工程中心建设项目; 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心建设平台

作者简介: 黄晓晨(1990—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向为中药及方剂功效物质基础研究。Tel: 18662947869 E-mail: hxc63hxc@126.com

***通信作者** 宿树兰 E-mail: sushulan@njutcm.edu.cn

段金廛 E-mail: dja@njutcm.edu.cn

和毒性。代谢组学自1999年诞生以来发展迅速,在生命科学多个领域展示了其广阔的应用前景,现已发展成为系统生物学研究领域中最为活跃的分支学科之一。

中医药是中华民族的瑰宝,是朴素唯物主义哲学观升华的结晶与几千年临床经验的积淀。但中医药认识疾病的方法、理论均缺乏适宜的现代科学表征体系,因此,建立沟通中医药与现代医药两种科学体系的桥梁已成为现代生命科学领域的重要命题。系统生物学尤其是代谢组学的崛起与发展为中医药现代化研究提供了契机和挑战,成为沟通中医药与现代医药研究的桥梁。本文通过对代谢组学的形成、基本思想、特点优势、分析策略与技术以及在中医药现代研究中的应用进展等进行分析论述,以期采用代谢组学方法和技术揭示中医药现代科学内涵的研究提供指引和参考。

1 代谢组学在中医药研究中的应用特点与优势

1.1 代谢组学的形成与基本思路

1999年,Nicholson教授研究小组^[1]首次提出代谢组学(metabonomics)的基本概念,并将其定义为生物体在病理生理刺激和遗传因素改变的条件下,在不同时间、多方位定量检测其代谢变化,通过测定整个机体的系统代谢图谱以探讨基因功能调控机制的学科。其核心思想在于运用现代分析技术定量地测定生物体在不同状态下(生理病理状态、药物干预前后等)参与物质传递、能量代谢和信息传导等代谢调控的小分子代谢物质即代谢物组的变化,并利用模式识别将这种应答与体内生物学事件相关联,定位事件发生的靶器官,从而确定生物标记物,表征或揭示生物体在特定时间、环境下整体的功能状态。该方法和技术在对某生物或细胞所有低相对分子质量代谢产物进行定性和定量分析以监测活细胞中的化学变化^[2]等方面尤其显示出其特点和优势,也引起了各国科学家的广泛关注,将其应用于疾病诊断^[3]、药物发现^[4]、药效作用机制^[5-6]、药物毒理学^[7]等方面的研究。

1.2 代谢组学应用于中医药研究中的特点与优势

传统的单一成分、单靶点药物在治疗慢性、复杂疾病中显示出越来越多的劣势与不足,而多成分与多作用靶点药物显示出越来越明显的优势^[8]。同时,传统中医药的整体观也越来越受到关注和重视^[9]。中医整体观认为人体是一个有机整体,构成人体的各组成部分之间是相互关联、相互制约

的,人生活在自然、社会环境中,必然受到自然与社会环境各种变化的影响,人类在适应自然和社会环境的斗争中维持着机体的正常生命活动。因而,建立符合传统中医药自身特点、科学表征其整体疗效的药效评价体系,揭示其多组分、多靶点协同整合作用机制,是中医药关键科学问题研究的重中之重,从传统中医药中寻找有效药物是医药领域的发展趋势之一。

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白质组学之后,系统生物学研究不可缺少的重要组成部分,它的诞生构成了系统生物学的完整拼图。从DNA、RNA、蛋白质到代谢产物,系统生物学可在细胞、组织、器官及整体层次研究生命活动的全过程,其中代谢组是生物体所有基因、蛋白功能活动的终点,因此,代谢组被视为生物体整体功能状态的“生化表型”^[10],能够即时、灵敏、客观表征在各种外界因素刺激下生物体整体功能状态的应答与调节^[11]。

代谢组学的研究思想是将人与外界环境的相互影响加以综合考虑,该思想与传统中医药强调人与自然协调统一的整体观及其诊疗模式不谋而合。代谢组学是动态地对活体内外的非损伤组织、器官进行无损伤、几乎接近生理条件的分析方法,与中医的“司外揣内”理论体系相近似,可作为中医药研究的一种新方法、新途径,利用代谢组学方法可以更好地阐释中药组方的合理性、中医理论的物质基础与科学性、中医诊断的科学性等^[12-14]。

2 代谢组学研究方法与分析策略

完整的代谢组分析流程包括前期生物样品收集、生物样品预处理、中期的样品分析与鉴定、后期的数据分析及标志物生物学意义解读等,最终认知机体生化反应的生命现象与本质。

2.1 现代分析方法及其技术集成

完成样品的采集和预处理后,样品中的代谢产物需通过适宜的分离分析技术进行分析与鉴定。随着现代分离分析技术的快速发展,近年来对大量样品和微量代谢物的分析取得了长足进展,为代谢组学研究的具体实施提供了技术支持。目前代谢组学技术平台主要是核磁共振(NMR)技术、质谱(MS)及其联用技术^[15-17]以及多种技术的集成应用。

2.1.1 NMR技术 NMR技术是最早被用于代谢组学研究的技术之一,目前常用的有氢谱(¹H-NMR)、碳谱(¹³C-NMR)和磷谱(³¹P-NMR),其中以¹H-NMR应用最为广泛^[18]。NMR技术对样本无破

坏性,是现有代谢组学分析技术中唯一能用于活体和原位研究的技术,且几乎无需进行样品前处理。同时 NMR 技术可对一个样本中所有代谢物进行相同灵敏度无偏向性检测,即能对生物样品进行快速动态检测。基于上述优势,NMR 已被广泛地应用于疾病诊断和治疗、药物研发^[19]等领域。然而,NMR 技术最大的不足在于灵敏度较低,如要对所有代谢产物进行无歧视分析,生物样品中的痕量成分可能会因为被覆盖而检测不到。

与此同时,NMR 技术本身也在不断发展^[20]。针对上述分辨率较低的不足,新发展的高分辨 ^1H -NMR (包括原位活体组织萃取液的高分辨 ^1H -NMR 谱、原位活体组织的高分辨魔角旋转 ^1H -NMR 谱和生物体液的立体高分辨 ^1H -NMR 谱等)大大拓展了代谢组学的实际应用范围,尤其适用于肿瘤的早期诊断和预后检测^[21]。

2.1.2 MS 及其联用技术 MS 与 NMR 相比,其优势在于灵敏度高、分辨率高及特异性强,但对样品处理的要求较高,因此,需联合色谱技术对样品进行前期分离。根据样本的性质及待测代谢物的不同,通常采用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 和液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 及毛细管电泳-质谱联用 (CE-MS) 技术。GC-MS 技术以气体作为流动相,常用于分离分析挥发性化合物,其需要先对样品进行衍生化预处理,故耗时且易引起样品的变化,受此限制,GC-MS 技术不能分析热不稳定物质和一些大分子的代谢产物。而 LC-MS 避免了 GC-MS 中繁杂的样品前处理,适用于分离分析低挥发性或非挥发性、热稳定性差的物质,能准确定性、定量分析各类化合物及在复杂生物样品基质中量极低的代谢物。目前广泛应用的有高效液相-质谱联用 (HPLC-MS) 和超高效液相色谱-质谱联用 (UPLC-MS) 技术,可使分离效率、峰容量及灵敏度进一步提高^[22]。CE-MS 是根据样品离子在高压直流电场中的迁移速度、电荷及颗粒大小对样品中各组分进行分离,可同时检测多种样品,其所需样品量少,分析速度快,应用范围广^[23]。但常用的色谱质谱联用技术均需对样本进行前期处理,而样本经过分离会降低信息通量,甚至导致样品的降解、变质或污染,使检测精度受到影响。

近年来,多种质量分析器如四级杆 (Q)、三重四级杆 (QQQ)、飞行时间 (TOF)、四级杆飞行时间 (Q-TOF)、轨道离子阱 (Orbitrap) 等,均已频

繁地应用到代谢组学研究领域中。质谱学中敞开式电离技术 (ambient mass spectrometry) 也得到了迅猛发展,其中包括电喷雾解析电离质谱 (DESI-MS)、电喷雾萃取电离质谱 (EESI-MS)、实时在线分析质谱 (DART-MS) 等^[24-26]。敞开式电离技术几乎无需样品预处理,可快速并高通量地对生物复杂基体样品进行定性和定量分析,避免了样品受污染,同时提高了检测的精确度。

2.1.3 分析技术集成 由于各方法技术均有其适用范围和优缺点,同时内源性代谢产物的多样性、浓度范围差异较大等复杂性,多采用联用技术和方法整合的策略获得生物体系中尽可能丰富的代谢信息,以客观评价生物标志物的生理学意义。Chen 等^[24]以整合的思想,提出了一套完整的潜在代谢标志物从发现到定性再到生理意义说明的方法。将指纹谱分析、多变量分析、液相-串联质谱 (LC-MS/MS)、傅里叶离子回旋共振-质谱 (FTICR-MS)、GC-MS、数据库检索、同位素标记物比对等方法进行了整合,利用整合后的平台对糖尿病进行代谢组学分析。先用 UPLC-MS 采集数据,经数据处理后寻找到潜在生物标志物,经过微制备后,再利用 FTICR-MS 和 GC-MS 进行分析,得到精确的相对分子质量和气相保留指数,再结合碎片分析,通过查询数据库最终确定标志物的组成及结构;通过同位素标记物的比对,最终明确此化合物并进行生理意义的说明。

2.2 化学计量学分析策略

代谢组学研究的关键问题并不仅仅在于数据的获取,更在于有效的实验设计和对数据信息的充分解读。然而,由于 NMR、GC-MS、LC-MS 等所产生的原始谱图复杂、数据量大,采用常规统计分析方法既难以发现样品之间或各组之间代谢组的异同,也难以发现样品中的差异代谢物,因此,代谢组学数据需要特殊方法进行数据降维和信息挖掘。可采取监督型 (supervised) 或非监督型 (unsupervised) 方法分析数学算法前处理后得到的数据矩阵来发掘蕴涵着的有效信息,前者有主成分分析 (PCA)、聚类分析 (CA) 等,后者包括人工神经网络 (ANN)、偏最小二乘-判别分析 (PLS-DA) 等^[27-29],每种方法都有其各自特点,通过比较、整合可以得到更完整的结果。Crockford 等^[30]在进行毒理学研究时,采用了 SHY (statistical heterospectroscopy) 方法对 NMR 与 MS 数据进行了整合,

为生物标志物的发现提供了一个系统生物学工具。另外, LC-MS 和 GC-MS 数据的融合也有报道^[31]。随着现代自然科学技术不断发展, 各种基于整体的研究, 如蛋白组学、代谢组学、基因组学等不断出现相互交叉, 通过整合研究数据^[32], 可以更为全面和深刻地阐明生物网络复杂性, 准确理解代谢物与蛋白质、代谢物与基因之间的关系。采用代谢组学技术方法结合化学计量学方法探究复杂中医药系统病证物质基础、可能的作用机制以及功效物质基础、分子靶标等, 为快速发现中药创新药物提供了基础与可能^[33]。

3 代谢组学在中医药若干科学问题研究中的应用

3.1 中医“证候”本质的揭示

中医“证候”是指疾病发生和演变过程中某阶段以及患者个体所处特定内、外环境本质的反映, 其以相应的症、舌、脉、形、色、神表现出来, 能够不同程度地揭示病因、病位、病性、邪正盛衰、病势等病机内容, 是诊察和思辨所得。在疾病发生发展过程中, 具有各个内在联系的一组症状和体征, 可将其称为“证候”, 如风寒表实证具有发热恶寒、头痛、身痛、无汗、脉浮紧、舌苔薄白等症状和体征。每一个“证”都有其外候与内涵, 外候是疾病及其病理的外在表现, 是中医通过望、闻、问、切四诊所获得整体信息和诊断、治疗的主要依据。其内涵在于生物体外在表象的背后蕴藏着疾病发生的病因病机、病理变化等生物体内在的变化信息, 是开展研究工作的主要方向。

生物体受刺激后而发生的病理变化过程中, 必然影响其生物代谢网络而产生相应的变化, 生物功能状态的最终改变是通过代谢表现出来的, 代谢组学对证候模型的评价起到客观化作用, 目前已广泛应用于中药对证候模型的影响研究中^[34]。刘昌孝^[35]认为代谢组学是从整体的“生化表型”来把握生物体的整体功能状态, 传统中医药是从生物体的外在表象及对生物体内在联系的整合归纳, 根据“由外及内”的思想了解生物体的整体功能状态, 二者的学术思想具有内在相通性。收集某一证候群的尿液或者血清样本, 通过现代分析技术建立相应指纹图谱, 对其代谢轮廓分析可获取表征“证候”的客观生物标记物, 最终建立其代谢靶点。

王广基等^[36]基于 GC-TOF/MS 代谢组学方法, 对痰阻心脉型和气阴两虚型冠心病患者血浆中小分子化合物进行全面检测分析, 以探索两者血浆内源性化

合物的差异。结果发现, 两证型间多个内源性代谢物的量存在明显差异, 并分析发现与能量、氨基酸和核苷酸代谢异常相关, 表明代谢组学方法可区别两证型冠心病, 代谢组学的整体数据和标志物信息均显示出痰阻心脉和气阴两虚型冠心病的差异, 提示代谢组学研究的体内小分子化合物可能正是中医分型的内在物质基础, 为进一步研究探索提供了科学依据。罗和古等^[37]以慢性束缚法建立肝郁脾虚大鼠模型, 采用 NMR 技术分析表明, 正常组、模型组代谢产物具有明显差异, 涉及能量、脂肪及蛋白质代谢异常, 从而提出中医证候是机体对体内、外各种环境变化和致病因素作出的一种功能状态反应, 其外象表现为一组有相互关联的症状和体征群, 其本质是机体失衡而导致的代谢或其生物网络的改变。

3.2 方剂整体疗效的作用机制研究

方剂是中医临床治疗的主要形式和手段, 是在“辨证立法”的基础上通过配伍组方形成的“有制之师”, 并赋予一定的剂型, 从而适应功能主治, 实现临床干预效应。方剂在其效应物质基础上通过多组分发挥多途径、多靶点、有机整合的治疗效应, 从而在慢性、多因素复杂疾病中体现出优于单成分、单靶点药物的疗效优势, 已得到中西方医药界的重视和认可。

经典的药理学方法结合生物化学和分子生物学技术, 通过多靶点相互作用可发现作用靶点和受体。然而, 方剂多成分、多靶点、多代谢途径的复杂体系, 单一的药理模型研究方法往往难以全面诠释方剂药味与药味间以及药物与多靶点、多受体之间的相互作用。而代谢组学从整体观出发, 基于药物治疗对机体状态的改变最终体现在代谢组层面的认识, 通过反应代谢网络中多生化途径的整体代谢物谱的差异认识其变化规律, 发现药物作用靶点和受体, 从而诠释方剂整体性作用机制。王喜军等^[38]利用现代多维联用色谱技术, 研究不同配伍茵陈蒿汤口服后体内成分及其动态变化规律, 阐释了茵陈蒿汤有效成分的体内变化, 同时利用代谢组学对整体代谢轮廓的描述, 评价中药成分及其代谢产物输入的调整带来整体效应的变化。Su 等^[39]基于代谢组学探讨了寒凝血瘀原发性痛经(PDM)患者的血浆和尿液整体代谢物谱特征和基因表达差异, 发现 PDM 患者机体代谢、基因表达水平均存在差异, 分析鉴定了寒凝血瘀证候 PDM 患者血浆中 19 个潜在生物标志物, 尿液中 16 个潜在生物标志物, 机体内神经

鞘脂类代谢、甾体激素合成以及甘油磷脂代谢发生异常,经少腹逐瘀汤干预后对受到干扰的生物网络具有调节作用,对14个潜在生物标志物(血浆中8个,尿液中6个)具有显著调节作用。Liu等^[40]应用代谢组学方法,基于UPLC-QTOF/MS的数据,建立了PCA模型,探讨了气滞血瘀原发性痛经患者的血浆和尿液整体代谢物谱特征,研究结果发现PDM患者机体代谢水平存在差异,并分析鉴定了气滞血瘀证候PDM患者血浆中7个潜在生物标志物,尿液中8个潜在生物标志物。机体内鞘脂类代谢、类固醇激素的合成、甘油磷脂的代谢发生异常,经香附四物汤干预后对受到干扰的生物网络具有调节作用,对15个潜在生物标志物具有显著调节作用。Wang等^[41]采用代谢组学方法,分析由甲状腺素和利血平联合制备的雄性肾阴虚大鼠体内小分子代谢产物的排泄模式,以及传统中药复方六味地黄丸对其治疗效果。研究结果显示,经六味地黄丸给药后,已变化的肾阴虚大鼠的代谢物谱可恢复到基线,显示六味地黄丸的疗效显著。Liang等^[42]基于UPLC/TOF-MS代谢组学方法,研究比较人参、丹参以及双龙方对心肌梗死大鼠的治疗干预作用,采用PCA、PLS-DA分析,并经血清生化指标和组织病理学分析证实,双龙方的协同治疗效果优于人参和丹参单味给药。同时,研究还发现双龙方对心肌梗死的治疗作用可能与对心肌能量代谢的调节作用有关。

3.3 用于中药安全性评价的代谢组学研究

代谢组学的提出是基于NMR技术对药物毒性的评价,因此,药物安全性评价是其初衷。中药安全性评价亦可借助代谢组学方法,获得与毒性相关的生物标志物,发现毒性变化规律。

Fan等^[43]基于GC-MS的代谢组学方法,初步获得关木通致肾脏损害的“代谢物谱”,且根据不同的代谢表型能够区分出关木通的毒性作用,研究显示大鼠尿液、血浆中的代谢物谱与关木通毒性作用的经时过程密切相关,且能够很好地区分机体的不同中毒状态。Chen等^[44]以马兜铃酸及相关中药作为研究对象,以HPLC-MS联用为基础的代谢组学技术研究马兜铃酸对机体代谢物整体轮廓的影响,获取了马兜铃酸肾毒性的代谢模式特征,发现了新的肾毒性生物标志物,初步建立了代谢组学评价中药肾毒性的新方法。研究还发现低剂量组给药6d后,非正常态的代谢网络逐渐趋向正常,提示马兜铃酸

肾毒性与剂量选择存在相关性。在雷公藤的毒性研究方面,Chen等^[45]运用MS研究了雷公藤多苷所引起的大鼠尿液代谢谱变化,结果显示高剂量雷公藤多苷组的毒性呈现时间依赖性,毒性涉及能量代谢、胆碱代谢等方面。Aa等^[46]利用代谢组学方法研究发现大鼠尿液的代谢物谱与雷公藤甲素对肾脏造成的损伤密切相关,利用代谢组学方法可以迅速、简便地分析雷公藤甲素的肾毒性,可见代谢组学方法能够从整体角度探讨中药的毒性-量-效关系和毒性机制。

4 代谢组学应用于中医药研究的思考

代谢组学的主要研究体系包括生物体液、生物组织及单个细胞等,利用现代分析及其集成技术如NMR、LC-MS、GC-MS等进行定性、定量分析,获取研究体系的多维数据,再利用模式识别和专家系统技术寻找其中的系统生物学信息。该理念符合中医药的整体观念,组学技术的引入将推进中医药的发展进程,有助于揭示中医药治疗疾病的作用机制。因此,应充分发挥中医药临床疗效的优势和特色,将临床获得的较为系统的数据信息如疗效、生化指标、整体调节效应等与实验室所获得的组学数据信息相互验证、相互支撑,以期发现可能的具有临床诊断价值的生物标志物(群)以及对生命过程的复杂生物网络、中药及方剂的作用机制的系统认识,促进“证”本质的揭示、中医辨证的科学化和定量化等,是未来代谢组学研究的重要趋势和方向^[47-48]。在中医药现代化研究中,代谢组学方法和技术的应用具有广阔的发展前景,尤其是在中药整体药效评价、疾病诊断及中药安全性评价等方面具有重要理论意义和应用价值。

5 结语

近年来,代谢组学发展迅速,在中医药现代化研究中已逐步显示出其独特的优势,取得了许多令人瞩目的研究成果。代谢组学在继承和发扬中医药优势和特色的基础上,运用整体、动态、综合分析于一体的集成技术,研究现代复杂性疾病发生、发展和转归的规律,阐明中药及方剂的效应物质基础及其作用机制,为中医药整体疗效评价提供新的方法和途径。代谢组学对于揭示中药方剂在多基因复杂病变中的疗效优势具有重要意义,对中药整体效应进行定量表征,阐明中药整体效应区别于相应单靶点化学药物的作用特点,再与经典的形态、功能学相联系,与基因组学、转录组学、蛋白质组学整

合以获得对中药作用的全面综合认识。

但代谢组学作为一门新兴的学科,仍处于不断发展和逐步完善的阶段,在研究领域、研究思路和技术方法上均有待开拓和创新,如分析检测技术和数据处理技术还有待提高,得出数据的可靠性有待大量数据的验证等。因此,应充分发挥代谢组学在现代中医药研究领域中的作用优势,进行资源优势整合,加强国际交流和合作,以推动中医药现代化进程,促使国际社会逐渐接受和认同中医药理论体系。

参考文献

- [1] Nicholson J K, Connelly J, Lindon J C, et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2002, 1(2): 153-161.
- [2] 刘昌孝. 代谢组学的发展与药物研究开发 [J]. *天津药学*, 2005, 17(2): 1-6.
- [3] Zhao Y Y, Liu J, Cheng X L, et al. Urinary metabonomics study on biochemical changes in an experimental model of chronic renal failure by adenine based on UPLC Q-TOF/MS [J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(5/6): 642-649.
- [4] Lindon J C, Holmes E, Nicholson J K. Metabonomics techniques and applications to pharmaceutical research & development [J]. *Pharm Res*, 2006, 23(6): 1075-1081.
- [5] Xie B G, Gong T, Gao R, et al. Development of rat urinary HPLC-UV profiling for metabonomic study on Liuwei Dihuan Pills [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49(2): 492-497.
- [6] 王东琴, 李晓伟, 张福生, 等. 基于 GC-MS 代谢组学技术的狭叶柴胡解热作用研究 [J]. *中草药*, 2013, 44(5): 574-580.
- [7] Nicholson J K, Wilson I D. Understanding global systems biology: metabonomics and the continuum of metabolism [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2(8): 668-676.
- [8] 王广基, 郝海平, 阿基业, 等. 代谢组学在中药方剂整体药效作用及机制研究中的应用与展望 [J]. *中药代谢组学研究*, 2009, 7(2): 82-88.
- [9] Schmidt B M, Ribnicky D M, Lipsky P E, et al. Revisiting the ancient concept of botanical therapeutics [J]. *Nat Chem Biol*, 2007, 3(7): 360-366.
- [10] Nicholson J K, Lindon J C. Systems biology: metabonomics [J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [11] 李林, 王建农, 任建勋, 等. 气虚血瘀证大鼠尿液的核磁共振谱代谢组学 [J]. *科学通报*, 2007, 52(15): 1758-1762.
- [12] 王战国, 胡慧玲, 兰轲, 等. 试问基于代谢组学与方剂理论的药效学-药动学方法研究中药复方配伍规律 [J]. *中草药*, 2009, 2(40): 169-172.
- [13] 范丽群, 王广基, 阿基业, 等. 高血压病阴虚阳亢证的代谢组学内涵研究 [J]. *南京中医药大学学报*, 2010, 26(6): 409-411.
- [14] 刘胤敏, 周银, 吴红兵, 等. 代谢组学在冠心病诊断及中医辨证中的应用 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 11(2): 2894-2899.
- [15] Duarte I F. Following dynamic biological processes through NMR-based metabonomics: A new tool in nanomedicine? [J]. *J Controlled Release*, 2011, 153(1): 34-39.
- [16] Sun J C, Tungeln V, Hines W, et al. transferase inhibitor tolcapone in rat urine using LC/MS-based metabonomics analysis [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877(24): 2557-2565.
- [17] Zhang S C, Ye T. Advances in NMR-based biofluid analysis and metabolite profiling [J]. *Analyst*, 2010, 135(7): 1490-1498.
- [18] Ott K H, Aranibar N. Nuclear magnetic resonance metabonomics: methods for drug discovery and development [J]. *Methods Mol Biol*, 2007, 358(2): 247-271.
- [19] 陈曦, 杨永霞, 王淑美, 等. 基于 NMR 代谢组学研究脑脉通复方提取物对大鼠脑缺血再灌注模型的影响 [J]. *中草药*, 2012, 43(1): 97-102.
- [20] Zhang S, Nagana Gowda G A, Ye T, et al. Advances in NMR-based biofluid analysis and metabolite profiling [J]. *Analyst*, 2010, 135(7): 1490-1498.
- [21] Bathen T F, Sitter B, Sjbakk T E, et al. Magnetic resonance metabolomics of intact tissue: a biotechnological tool in cancer diagnostics and treatment evaluation [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(17): 6692-6696.
- [22] Krone N, Hughes B A, Lavery G G, et al. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) remains a preeminent discovery tool in clinical steroid investigations even in the era of fast liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 121(3/5): 496-504.
- [23] Yuan W, Edwards J L. Capillary separations in metabolomics [J]. *Bioanalysis*, 2010, 2(5): 953-963.
- [24] Chen J, Zhao X, Fritsche J, et al. Practical approach for the identification and isomer elucidation of biomarkers detected in a metabonomic study for the discovery of individuals at risk for diabetes by integrating the chromatographic and mass spectrometric information [J]. *Anal Chem*, 2008, 80(4): 1280-1289.
- [25] Yin P, Mohemaiti P, Chen A C, et al. Serum metabolic

- profiling of abnormal savda by liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 871(2): 322-327.
- [26] Hashimoto M, Ishihama Y, Tomita M, *et al.* Microelectrospray interface with coaxial sheath flow for high-resolution capillary electrophoresis/mass spectrometry separation [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21(22): 3578-3584.
- [27] Keun H. Metabonomic modeling of drug toxicity [J]. *Pharmacol Therap*, 2006, 109(2): 92-106.
- [28] Trygg J, Lundstedt T. Chemometrics in metabonomics [J]. *J Proteome Res*, 2007, 6(2): 469-479.
- [29] 李晶, 吴晓健, 刘昌孝, 等. 代谢组学研究中数据处理新方法的应用 [J]. *药学报*, 2006, 41(1): 47-53.
- [30] Crockford D J, Holmes E, Lindon J C. Statistical heterospectroscopy, an approach to the integrated analysis of NMR and UPLC-MS data sets: Application in metabonomic toxicology studies [J]. *Anal Chem*, 2006, 78(2): 363-371.
- [31] Smilde A K, van der Werf, Bijlsma S. Fusion of mass spectrometry-based metabolomics data [J]. *Anal Chem*, 2005, 77(20): 6729-6736.
- [32] Morgenthal K, Wienkoop S, Wolschin F, *et al.* Integrative profiling of metabolites and proteins: improving pattern recognition and biomarker selection for systems level approaches [J]. *Methods Mol Biol*, 2007, 358: 57-75.
- [33] Deng Y P, Ai J M, Xiao P G. Application of bioinformatics and systems biology in medicinal plant studies [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(3): 170-179.
- [34] 汪娜, 柳长凤, 刘树民, 等. 基于代谢组学研究黄芩对干酵母热证模型的影响及苦寒性效关系 [J]. *中草药*, 2013, 44(18): 2556-2562.
- [35] 刘昌孝. 代谢组学与中药现代研究 [J]. *河南大学学报: 医学版*, 2006, 25(3): 1-7.
- [36] 王广基, 阿基业, 严蓓, 等. 代谢组学研究冠心病中医分型的体内物质基础 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2009, 11(1): 127-133.
- [37] 罗和古, 丁杰, 岳广欣, 等. 大鼠肝郁脾虚证的代谢组学研究 [J]. *中西医结合学报*, 2007, 5(3): 307-313.
- [38] 王喜军, 张伯礼. 基于药物代谢组学的方剂配伍规律及配伍科学价值揭示 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(10): 1346-1348.
- [39] Su S L, Duan J A, Wang P J, *et al.* Metabolomic study of biochemical changes in the plasma and urine of primary dysmenorrhea patients using UPLC-MS coupled with a pattern recognition approach [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(2): 852-865.
- [40] Liu P, Duan J A, Wang P J, *et al.* Biomarkers of primary dysmenorrhea and herbal formula intervention: an exploratory metabonomics study of blood plasma and urine [J]. *Mol Biosyst*, 2013, 9(1): 77-87.
- [41] Wang P, Sun H, Lv H T, *et al.* Thyroxine and reserpine-induced changes in metabolic profiles of rat urine and the therapeutic effect of Liu Wei Di Huang Wan detected by UPLC-HDMS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3): 631-645.
- [42] Liang X P, Chen X, Liang Q L, *et al.* Metabonomic study of Chinese medicine Shuanglong Formula as an effective treatment for myocardial infarction in rats [J]. *J Proteome Res*, 2011, 2(10): 790-799.
- [43] Fan X L, Liu W Y, Wang G J, *et al.* Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry based metabolomic approach to evaluating nephrotoxicity of *Caulis Aristolochiae Manshuriensis* [J]. *J Toxicol*, 2007, 4(21): 323-332.
- [44] Chen M J, Su M M, Zhao L P, *et al.* Metabonomic study of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rats [J]. *J Proteome Res*, 2006, 5(4): 995-1021.
- [45] Chen M J, Ni Y, Duan H Q, *et al.* Mass spectrometry-based metabolic profiling of rat urine associated with general toxicity induced by the multiglycoside of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21(2): 288-294.
- [46] Aa J Y, Shao F, Wang G J, *et al.* Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry based metabolomic approach to evaluating toxicity of triptolide [J]. *Metabolomics*, 2011, 7(2): 217-225.
- [47] 段金彪, 宿树兰, 刘培, 等. 中医方剂现代研究的实践与思考——方剂功效物质组学的构想与建立 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2013, 15(2): 159-166.
- [48] 段金彪, 刘培, 宿树兰, 等. 基于方剂功效物质组学的四物汤类方用于妇科血瘀证原发性痛经的方-证-病关联规律分析 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2013, 15(2): 167-176.