

• 综 述 •

基于“整体观”系统生物学技术在中药研究中的应用进展

王露露^{1,2}, 李 冰², 王圳伊¹, 张 晶^{1*}

1. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

2. 长春科技学院医药学院, 吉林 长春 130600

摘 要: 中药是中华民族瑰宝, 在人类与疾病作斗争的进程中发挥了不可磨灭的功绩。在建设健康中国的时代背景下, 如何使中药在防病和治病中发挥独特优势是现今关注的焦点。中药具有“多组分、多效用、多靶点、整体调节”作用特点, 仅从“局部观”研究中药不足以揭示其内在本质, 故“整体观”的研究思路势在必行。系统生物学是从整体视角认识生物体的研究技术, 与中药“整体观”研究思路不谋而合, 故基于系统生物学的中药研究策略具有高度可行性。综述了系统生物学的主要技术基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学、微生物组学、多组学联合以及网络药理学技术在中药成分、药理和毒理、基源鉴别、栽培与遗传育种方面研究中的应用概况, 以期基于“整体观”思路的系统生物学研究策略在中药中进一步应用提供参考。

关键词: 中药; 系统生物学; 组学; 网络药理学; 整体观

中图分类号: R282 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)19-5053-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.025

Application of systematic biology technology in research of traditional Chinese medicine based on overall research

WANG Lu-lu^{1,2}, LI Bing², WANG Zhen-yi¹, ZHANG Jing¹

1. College of Chinese Medicine Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. School of Medicine, Changchun SCI-TECH University, Changchun 130600, China

Abstract: Traditional Chinese medicine is the treasure of China, which has played an indelible role in the process of fighting against diseases. Under the background of times of building Healthy China, how to play the unique advantages of traditional Chinese medicine in the disease prevention and treatment is the focus of attention. Traditional Chinese medicine has the characteristics of “multi-component, multi-target, and overall regulation”, and it’s not enough to reveal its internal essence only by the way of “local concept”, so the research thinking of “overall concept” is imperative. System biology, a research technology, which understands the organism from a holistic perspective and coincides with the way of “overall concept” of traditional Chinese medicine. Therefore, the research strategy of traditional Chinese medicine based on system biology with highly feasible. In this paper, the application of system biology technologies, such as genomics, transcriptome, proteomics, metabonomics, microbiomics, omics combination and network pharmacology technology, in the research of ingredients, pharmacology and toxicology, identification, cultivation and genetic breeding of traditional Chinese medicine was reviewed, in order to provide reference for the further application of system biology strategy in the research of traditional Chinese medicine, based on the idea of “overall concept”.

Keywords: traditional Chinese medicine; systematic biology; omics; network pharmacology; overall concept

中药用药历史悠久, 若想真正发挥中药独特优势, 首先应努力揭示其内在本质。中药研究是典型的复杂体系, 其来源、成分组成、炮制方法及复方应用的多样性, 致使其具有多成分、多效用和多靶

标的点, 故仅从单一成分和药理活性的角度出发, 并不能科学完整地阐明中药的真正本质。因此, 基于中医药“整体观”思想^[1]寻求现代的科学技术, 对揭示中药内涵是十分必要的。

收稿日期: 2020-02-03

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20200404023YY); 长春科技学院科研启动基金项目 (CCKJ201711)

作者简介: 王露露, 在读博士, 主要从事天然药物化学和药理作用研究。Tel: 15948268600 E-mail: relulu2015@163.com

*通信作者 张 晶, 博士生导师, 教授, 从事天然药物化学研究。Tel: 13353144693 E-mail: zhjing0701@163.com

系统生物学由奥地利的生物学家 L. Bertalanffy 开创, 概念于 1999 年由 Leroy Hood 提出。系统生物学是研究生物系统组成成分的构成与相互关系的结构、动态与发生, 以系统论和实验、计算方法整合研究为特征的生物学^[2]。系统生物学研究的焦点是细胞信号转导和基因调控网路, 认识生物的观点是从“局部观”走向“整体观”, 这与中医药“整体观”研究思路有相同之处, 故系统生物学的技术可用于中药复杂体系的研究。Nature 文章指出, “中医药须依靠系统生物学技术才能取得突破性进展”^[3]。随着组学, 生物信息学和数据分析技术的发展, 系统生物学技术方法也不断丰富, 主要技术转录组学、蛋白质组学、代谢组学、基因组学、网络药理学等在中药现代化研究中广泛应用并取得了一定的成果。本文综述系统生物学技术在中药化学成分、药理药效、毒性、质量评价、复方研究及栽培育种等方面的应用进展, 以期为基于“整体观”思路的系统生物学研究策略在中药本质探究中进一步应用提供参考。

1 系统生物学主要技术

1.1 基因组学技术

基因组学的概念最早于 1986 年由美国遗传学家 Thomas H. Roderick 提出。基因组学主要研究基因组的结构、功能、进化、定位和编辑等, 以及它们对生物体的影响, 包括结构基因组学、比较基因组学、功能基因组学^[4], 主要技术有 DNA 分子标记技术、基因芯片技术、PCR 技术和 DNA 分子测序技术等。中药基因组学是 20 世纪末发展起来的一门科学, 随着人类基因组计划的提出和完成, 人们对疾病的认识和治疗开启了全新篇章, 同时对基因组学技术的优势有了更深的体会。在此基础上, 有学者^[5]提出了“本草基因组计划”, 即针对具有重大经济价值和典型次生代谢途径的药用植物进行的全基因组测序和后基因组学研究。计划完成后, 人们将更全面地认识中药, 使中药在人类与疾病作斗争过程中发挥更大的作用。

1.2 转录组学技术

转录组学概念由 Velculescu 团队在 1995 年首次提出, 是研究细胞在某一功能状态下所含 mRNA 的类型与拷贝数, 比较不同功能状态下 mRNA 表达的变化, 从而搜寻与功能状态变化紧密相关的重要基因群。与基因组不同, 转录组的定义包含了时间和空间的限制^[6]。转录组受到内外多种因素的调节,

因而是动态可变的, 能够从整体水平揭示不同物种、不同个体、不同细胞、不同发育阶段及不同生理病理状态下的基因差异表达信息。转录组学主要有以下几种方法: 表达序列标签、基因表达序列分析、基因芯片、cDNA-AFLP、高通量测序等^[7]。转录组学研究已经成为中药研究中最活跃的领域之一, 主要在阐明中药药效成分合成次生代谢途径及调控机制、疾病发生及中药调控作用机制和药用植物栽培育种研究方面应用较多。

1.3 蛋白质组学技术

蛋白质组学的概念由 Wilkins 和 Williams 首次提出, 对完整的细胞、组织、体液等样品的全部蛋白质的定性、定量、修饰状态等进行研究的学科^[8], 包括如化学蛋白质组学、靶向蛋白质定量、蛋白质表达谱、蛋白质-蛋白质相互作用分析和翻译后修饰等类型, 目前比较成熟的蛋白质组学分析技术主要有双向电泳技术和基于质谱的蛋白质分析技术^[9]。蛋白质组学从整体的角度分析生物样本全蛋白的动态变化, 并强调联系、动态和整体, 这与中医药“整体观”研究思路一致, 其在中药蛋白类成分和药理作用机制方面广泛应用。

1.4 代谢组学技术

代谢组学是研究生物体内源性代谢物质的整体及其变化规律的科学, 适用于生命科学研究中复杂样品的小分子的分析。代谢组学在中药研究中具有独特优势, 基因组学、转录组学、蛋白质组学描述的内容是可能发生的事件, 而代谢物是最终结果, 故代谢组学描述的是事实事件。代谢组学研究技术主要包括代谢物化学分析及数据分析两部分, 前者常用技术包括核磁 (NMR)、气质联用 (GC-MS)、液质联用 (LC-MS)、GC-TOF-MS、UPLC-TOF-MS、FT-MS 和 CE-MS 等, 后者常用方法有主成分分析 (PCA)、偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)、正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)、聚类分析 (HCA)、SIMCA-P 等^[10-11]。代谢组学同样强调整体观和系统性, 在中药活性成分 (代谢产物)、药理和毒理作用机制研究中发挥了极为重要的作用。

1.5 微生物组学技术

人类微生物组概念于 2001 提出, 是指人体中全部微生物及其遗传信息的总和^[12]。微生物组学的研究技术包括传统培养法、变性梯度凝胶电泳、焦磷酸测序法、宏基因组技术、基因芯片技术、纳米

孔测序、SMRT-DNA 测序和 16S rRNA 测序技术。在过去 10 年中,基于人类微生物组计划、欧盟与中国合作的人体肠道宏基因组学联盟、爱尔兰老年人基因组学计划、加拿大微生物组织倡议等项目的研究成果都充分证实了微生物组对人类健康和发展的影响,微生物组也被称作人体健康的“晴雨表”。Proctor^[13]认为,在未来 10 年,微生物组学与包括医学和药学在内多领域研究融合将成为其发展的必然趋势。微生物组最基本的特征是永远处于不断变化中,并很容易对疾病发生和药物治疗产生响应^[14],这意味着基于微生物组的疾病诊断和中药有效途径研究具有重大意义。另外,微生物在自然界的物质循环、能量流动和信息传递中发挥着重要作用,土壤微生物通过与药用植物的地下部分直接或间接的相互作用影响其生长发育水平及代谢产物积累,这意味着基于土壤微生物组学的中药药用植物栽培技术的研究是十分必要的。

1.6 网络药理学技术

我国学者李梢从网络、系统的角度对中医药之非线性、开放性复杂体系研究进行了阐述^[15],提出从“关系-网络-功能”角度探讨中医药多靶点整合调节的作用机制及方证相应和病证对应的整体特性的研究思路^[16],开辟中药研究的新模式,提出“网络靶标”理论,并创建网络药理学关键技术^[17]。网络药理学研究思路分 3 步走,首先利用数据库检索,结合可视化工具构建网络;然后在细胞、分子以及生物整体水平上,对网络中特定信号节点进行多层次分析,找出关键节点,并从整体生物网络平衡角度发现药物防治疾病的药效活性成分、作用机制和方剂配伍规律;最后进行动物或细胞水平等实验的验证^[18]。网络药理学从系统性和整体性的研究视角,为中药,特别是中药复方的药效和毒性作用机制阐明、活性成分筛选、中药质量标志物(Q-marker)挖掘提供了有效研究策略。

另外,系统生物学联用技术在现代中药研究中的应用广泛,“组学+组学”和“网络药理学+组学”的联用技术模式能从多角度对中药的遗传物质基础和作用机制进行解析,是基于“整体观”中药本质揭示的强有力研究策略。

2 中药成分研究中的系统生物学技术

2.1 转录组学技术

中药的天然活性成分是其药效的物质基础,也是中药现代应用最多的形式之一。现今中药天然活

性成分主要获取方式是从中药中提取分离或利用现代化学手段进行合成衍生,具有得率低、技术难、对环境污染等缺点。同时,化学技术很难说清中药药效成分的合成途径和调控机制。转录组学则可提供中药的生物学和生物化学信息,在阐明中药药效成分合成途径及调控机制方面显示重要的应用价值。Shi 等^[19]利用 BGISEQ-500 高通量测序技术,对细风轮菜叶、茎、根进行了转录组测序,在获得并被数据库注释的 102 154 条 Unigene 中识别出三萜皂苷类成分生物合成过程中涉及的关键酶的 6 条候选基因。Jiang 等^[20]利用高通量测序技术确定了丹参中丹参酮生物合成途径中的 14 个关键酶上调基因。丹参酮和酚酸类成分的合成和代谢与 SmWRKY 家族基因的转录有关^[21]。此外,转录组学也用于揭示黄精多糖、石斛多糖和生物碱、地黄质量标志物梓醇和毛蕊花糖苷、板蓝根的靛蓝和靛玉红、三七皂苷等成分合成相关的可能基因^[22-26]。

2.2 蛋白组学技术

目前,关于中药次级代谢产物研究较丰富,而包括蛋白质在内的初级代谢产物研究相对较薄弱,原因是蛋白质均为生物活性大分子,其结构复杂及提取、分离、表征困难,蛋白质组学技术的引入可克服上述难点,对中药自身的整体蛋白质组成进行探究。刘睿等^[27]应用 SDS-PAGE 结合 LC-MS/MS 技术对羚羊角与山羊角中蛋白质类成分进行鉴定分析研究,分别鉴定出 101 个和 140 个蛋白质,证明两者在蛋白质种类构成方面具有相似性。Liu 等^[28]基于同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)技术检测盐胁迫和正常条件下夏枯草中差异表达的蛋白,在检测到的 1 937 个蛋白质中有 35 个差异表达显著,功能和信号通路分析结果表明盐胁迫下细胞内蛋白质和碳水化合物的代谢能力降低而光合作用、钙离子转运能力、蛋白质合成能力增强,此为夏枯草的蛋白合成机制进一步研究提供了有效的信息。Feng 等^[29]为了探究铁皮石斛的赖氨酸琥珀酰化机制,利用 LC-MS/MS 共鉴定出 207 个蛋白中的 314 个赖氨酸琥珀酰化位点,K103 和 K225 活性位点具有调节糖酵解酶活性中的潜在功能,推测琥珀酰化与铁皮石斛多糖合成有关。

2.3 代谢组学技术

黄酮、皂苷、氨基酸、核酸等小分子代谢产物是中药药效物质基础。代谢组学技术可对相对分子

质量 < 1 000 的代谢产物进行高通量定性定量分析, 是一种快速筛选中药特征性药效成分的可靠技术。Wang 等^[30]基于 UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 技术联合主成分分析成功鉴定了 53 个用于内蒙古黄芪和莢膜黄芪鉴别的化学标记物。Xing 等^[31]采用 UPLC-Q-TOF-MS 结合 PCA 和 OPLS-DA 的代谢组学分析方法, 表明 D5 和 D9 的白僵蚕的化学成分差异显著, 该结果可为僵蚕品质评定提供参考。Cheng 等^[32]基于 LC-MS 和非靶向代谢组学技术, 研究了大鼠的尿液和血清潜在代谢标志物, 确定了乌头汤治疗风湿性关节炎的有效物质基础。Su 等^[33]利用 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 联合靶标和非靶标代谢组学研究干燥加工方法对香附化学成分的影响, 以 30 种代谢产物含量为指标, 对采用不同方法干燥的香附样品进行聚类分析, 表明采用热风干燥法的香附中化学成分变化最少, 此研究策略可为优化中药炮制加工技术的研究提供参考。

2.4 网络药理学技术

中药因其复杂的作用机制, 故以往只参照成分的质量评价模式不能从全观评定其品质, 国内学者利用化学分析和网络药理学联合的方法, 以 Q-marker 的概念^[34]为指导, 建立了“效应-复合-靶标-指纹”的综合中药品质评价研究策略, Liao 等^[35]利用该策略揭示了泽泻脂质代谢的 Q-marker, 其研究过程为首先进行生物活性评价, 筛选主要活性组分, 接下来构建网络, 阐明这些成分与脂质代谢靶点之间的相互作用, 初步筛选泽泻潜在的 Q-marker, 最后对 Q-marker 的体外活性进行了验证, 证明泽泻醇 A、泽泻醇 B、23-乙酰泽泻醇 A、23-乙酰泽泻醇 B 和 23-乙酰泽泻醇 A 可用于评价泽泻的质量。Guo 等^[36]将此策略用于中药复方制剂的质量评价中, 采用 UHPLC-LTQ-Orbitrap 初步分析心素宁胶囊的化学成分, 利用代谢和排泄 (ADME) 模型筛选具有药物相似性特征的候选活性化合物, 构建药物靶点-疾病基因相互作用网络, 分析网络特征, 识别 XSNC 抗心律失常的关键候选靶点和潜在 Q-marker。

3 中药药理及毒理研究中的系统生物学技术

3.1 基因组学技术

中药药效和毒理机制复杂, 很难全面解释, 而高通量的基因芯片技术可在短时间内获得大量相关的差异表达基因, 这些基因很可能是中药作用的直接靶标, 结合生物数据分析技术即可达到揭示完

整相关机制的效果^[37]。Li 等^[38]采用微阵列方法和基因芯片技术探究蟾酥抗人乳腺癌的可能机制, 总共检测到 1 237 条差异表达基因 (DEGs), 其中 2 个核心基因, 预测蟾酥可通过下调 SRC 原癌基因非受体酪氨酸激酶和周期蛋白依赖性激酶抑制剂 2A 的表达水平发挥治疗作用, 同时还发现神经活性配体-受体相互作用和钙信号通路是蟾酥调节的关键通路。Zhang 等^[39]采用基因芯片技术阐明了患有神经性疼痛小鼠脊髓基因表达模式, 发现了乌头汤可调节神经性疼痛靶基因的表达, 证明了乌头汤通过抑制神经胶质细胞激活和神经炎症而发挥镇痛作用。Wu 等^[40]采用全基因组关联研究 (GWAS), 揭示大黄素对大鼠肝毒性和毒理动力学的特征, 预测下调 UGT2B7 基因和上调 MRP2 基因可以减轻大黄素所致的肝毒性。

3.2 转录组学技术

转录组学可以在不同时间和空间对疾病发生情况进行监测和分析, 故应用转录组学进行中药药效作用机制研究, 能全面的观察到中药对疾病过程的影响, 发现差异表达的转录基因, 进而预测中药的药效活性及作用机制。Zhou 等^[41]运用 RNA-Seq 分析知母皂苷 AIII 治疗后 HUVECs 和斑马鱼胚胎的转录组变化, 证明知母皂苷 AIII 通过 VEGF/PI3K/Akt/MAPK 信号级联介导, 发挥抗血管生成作用, 从而产生抗肿瘤作用。Yin 等^[42]利用高通量测序探索中药药效成分 α -mangostin (α -MG) 的抗炎作用机制, Illumina HiSeq 测序平台和 qRT-PCR 分析表明, α -MG 通过调节 tNLRP3、caspase 1、IL-18 和 IL-1 β 的表达水平来改善脂多糖诱导的肠道炎症。Yang 等^[43]对中药配方养阴解毒提取物给药的 A549 细胞的转录组进行分析, 发现其抗癌作用机制与激活转录因子 EGR1 有关。

3.3 蛋白质组学技术

蛋白质是生命活动的功能执行体, 蛋白质参与了绝大多数疾病的原发和调控过程, 并且是大多数药物的靶点。利用蛋白质组学技术, 可以对中药治疗前后生物体蛋白水平的表达情况进行高通量的测定, 比较样本在不同生理或病理条件下蛋白表达异同, 再对相关蛋白质进行鉴定和量化, 分析蛋白质之间相互作用和生物学功能, 则可阐明中药作用的多靶点机制。Xing 等^[44]采用无标记血清蛋白质组学方法, 探讨中药复方固本防哮饮对呼吸道合胞病毒联合滴鼻联合卵清白蛋白 (RSV-OVA) 的方法诱

导的慢性持续性哮喘小鼠的保护机制,结果提示中药复方固本防哮饮可能通过调节胆固醇的逆向转运和补体因子激活来影响哮喘炎症和免疫应答,进而修复受损的气道上皮,来预防和治疗哮喘。Yao 等^[45]采用血清蛋白质组学分析骨脂增盛止痛丸的靶分子和信号通路,结果表明其主要通过调控 Hippo、cGMP-PKG、细胞周期和钙离子信号通路及 TGFB1/RHO 相互作用网络,实现软骨的发育、生长和修复。Feng 等^[46]运用 iTRAQ 联合 2D-LC-MS/MS 技术,分析鉴定了 13 个差异表达的蛋白,筛选出 12 个麦冬可能的作用靶点,揭示麦冬的抗鼻咽癌作用可能与其通过 PI3K/AKT 信号通路、Wnt 信号通路、cAMP 信号通路靶向 VEGFA、TP53、HSPA8 的调控作用有关。Zhao 等^[47]使用 iTRAQ 定量血清蛋白质组学技术,寻找益气养阴化痰祛瘀方治疗 2 型糖尿病 (T2DM) 的可能靶点,差异蛋白共 23 个,上调蛋白 5 个,下调蛋白 18 个,预测 CDC42 和 RasRhoA 是益气养阴化痰祛瘀方的潜在治疗靶点

3.4 代谢组学技术

代谢组学通过测定中药治疗后血浆、体液和组织中代谢物的含量变化,揭示中药治疗疾病的代谢通路,从而理解中药作用过程及药效作用机制。Xu 等^[48]以大脑中动脉闭塞 (MCAO) 大鼠模型为基础,开发了检测脑脊液中 10 种氨基酸 (AAs) 代谢物的新方法,构建了 AAs 的代谢物、关键调控酶和氨基酸-蛋白质互作失衡网络,确定 AADC 是步长脑心通胶囊介导的抗脑缺血作用的靶点之一。Peng 等^[49]研究三黄泻心汤抑制应激小鼠的抗应激作用及其机制,发现血清中 8 种内源代谢物的含量被三黄泻心汤显著逆转,三黄泻心汤可通过抗氧化、抗炎等途径改善应激小鼠的生化变化和代谢紊乱,增强机体免疫功能,恢复脂质代谢、糖酵解和糖异生、炎症损伤和能量代谢。Chen 等^[50]进行了肝脏代谢组学的研究,发现 9 个与肝保护作用相关的生物标志物。Huang 等^[51]基于动态尿液代谢组学及 UHPLC-Q-TOF/MS 技术,探讨血瘀证 (BSS) 发生的独特代谢模式及当归四逆汤的疗效,鉴定出 10 个代谢物可作为 BSS 诊断的潜在的生物标志物,内源性代谢物随时间的动态变化揭示了 BSS 的进展,使当归四逆汤对 BSS 大鼠的整体疗效得以评价,此可为复方治疗症候机制研究提供参考,Yan 等^[52]利用上述研究思路,检测肝组织中的代谢产物,探讨

了四君子汤对脾虚证的作用机制。Luo 等^[53]基于高通量非靶向代谢组学方法结合 UPLC-Q-TOF-MS 技术,分析小鼠的血液中代谢物,得可作为川芎潜在靶点的生物标志物和代谢途径,为深入了解其药理作用提供依据,最终锁定 31 个潜在的生物学靶标,涉及 7 条相关的代谢途径。Tu 等^[54]建立轻度免疫应激 (mild immune stress, MIS) 大鼠模型,证明 MIS 可能是何首乌 (PM) 引起特发性药物诱发的肝损伤 (IDILI) 易感性相关因素之一。同时鉴定出 12 种血浆细胞因子和 9 种代谢组学生物标记物,这对于临床识别 PM-IDILI 易感个体具有参考价值。Cui 等^[55]基于 UHPLC-FT-ICR-MS 的代谢组学研究甘遂-甘草药对产生毒性的机制,OPLS-DA 分析筛选出血浆中 20 种潜在的生物标记物,初步确定了 7 种代谢途径与肝毒性和肾毒性有关,此对于更好地理解中药传统理论“十八反”具有重要意义。

3.5 微生物组学技术

利用微生物组学技术,可以对疾病发生或用药后生物体微生物组进行研究,为中药治疗的创新靶点和疾病调节创新机制的发现提供可能。Zhang 等^[56]采用 16S rRNA 基因测序和鸟枪宏基因组测序技术,对大鼠粪便样品进行微生物群落分析,发现参苓白术散可逆转功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 大鼠的肠道菌群失调,上调能量代谢途径,减少氧化应激和致病细菌,此研究从肠道微生物群的角度揭示了参苓白术散治疗 FD 的机制。Li 等^[57]研究证明肉苁蓉提取物 (CTE) 可恢复大鼠大脑 5-羟色胺 (5-HT) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 的表达,CTE 处理还可以调节肠道菌群的相对丰度,在 CUS 大鼠体内,CTE 与破坏的肠道菌群组成、海马神经递质水平以及神经活性代谢物 SCFAs 的产生密切相关。

3.6 网络药理学技术

基于网络药理学技术可构建“药物-成分-靶标-疾病”的相互作用网络,可对中药活性成分筛选、作用机制及新适应症进行预测。Qi 等^[58]基于网络药理学的策略预测了丹田降脂丸降血脂的作用机制,涉及 67 个活性成分和 5 个靶点,揭示丹田降脂丸主要通过参与脂肪细胞因子信号通路、胆固醇稳态调节、类固醇代谢等来调节血脂水平。Zhang 等^[59]运用 ADME 系统、药物靶向和网络分析为一体的系统药理学研究策略,解释了红景天治疗心血管和神经系统疾病分子作用机制。Liang 等^[60]基于分子

对接和网络药理学研究策略,预测六味地黄丸具有治疗高脂血症、胆结石、癌症等疾病的潜在可能。基于网络药理学可构建“疾病-基因-靶点-药物”的相互作用网络,有学者提出了中药新药研究的新策略,Hu 等^[61]通过数据库筛选发现 28 味中药可能对 2 型糖尿病有疗效,通过网络分析得到有效成分的蛋白靶点,为开发治疗 2 型糖尿病药物提供了新方案。此外,基于网络药理学的中药传统疗效和理论机制研究策略也被广泛认可。郑子安等^[62]基于麻黄、桂枝、金银花、连翘的“分子-靶标”网络,分析得出辛温药和寒凉药共有的作用靶标、辛温药的特异性靶标和寒凉药的特异性靶标,揭示了辛温药和寒凉药现代药理作用机制的异同。

3.7 “组学+组学”联用技术

3.7.1 “代谢组+蛋白组”模式 Lu 等^[63]基于 UPLC-TOF-MS 的非靶向代谢组学和基于 nano-LC-Q-Exactive-MS-MS 的蛋白质组学技术筛选与玄参相关的代谢物、蛋白质和常见途径,大鼠尿液样本中 51 个代谢物和肝脏组织 76 个蛋白是玄参治疗的潜在生物标志物,根据生物标记物预测丹参可通过多途径调节治疗癌症、结核病和异戊酸血症等疾病。Zhao 等^[64]整合的蛋白质组学和代谢组学方法揭示黄药子诱导肝毒性的机制,证明大鼠肝脏中 1 366 个蛋白和 58 个代谢物的丰度呈剂量依赖性改变,黄药子通过嘌呤代谢、嘧啶代谢、牛磺酸及次牛磺酸代谢、胆汁酸代谢等多个系统的异常调节导致肝毒性。

3.7.2 “转录组+蛋白组”模式 Dong 等^[65]采用基因芯片和 iTRAQ 技术分析了扶正化癆方对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的转录组和蛋白组的影响,发现扶正化癆方和模型组中有 255 个差异基因和 499 个差异蛋白,进一步分析表明扶正化癆方的抗纤维化作用是通过上调 Ugt2a3、Cyp2b1 和 Cyp3a18 的表达实现的。

3.7.3 “微生物组学+代谢组”模式 Xiao 等^[66]建立 T2DM 大鼠模型,基于高通量 16S rRNA 基因测序分析细菌群落,此外 UPLC-Q-TOF-MS 和 GC-FID 被用来分析粪便微生物代谢物和短链脂肪酸的变化,阐明黄芩和黄连对 T2DM 改善的协同作用机制。Piao 等^[67]采用 UPLC-QTOF/MS 和 16S rRNA 基因测序分析小鼠粪便,揭示复方珍珠调脂胶囊对年龄相关的代谢紊乱和肠道菌群失调的影响机制,表明复方珍珠调脂胶囊治疗显著降低肠道

炎症水平,增强端粒酶活性,部分逆转粪便代谢物异常,恢复肠道菌群紊乱,此模式可为肠道微生物及其代谢物成为中药潜在的新靶点提供思路。

3.7.4 “转录组+代谢组+蛋白组”模式 Zhao 等^[68]整合慢性阻塞性肺病大鼠和补肺益神方治疗组大鼠肺组织的转录组学、蛋白质组学、代谢组学及系统药理学的数据,初步分析了潜在靶蛋白与转录基因的直接相关性,8 个蛋白被确定为靶标,主要涉及氧化还原酶和抗氧化活性,利用 Metscape 软件分析靶蛋白与代谢产物的潜在相关性,表明代谢产物和靶蛋白主要参与脂质代谢,最终预测补肺益神方是通过调节脂质代谢、炎症反应、氧化应激信号通路,对慢性阻塞性肺病发挥良好的治疗作用,此为中药复方作用机制研究提供了一个系统的策略。

3.8 “网络药理学+组学”联用技术

3.8.1 “网络药理学+转录组”模式 Zhao 等^[69]提出了一种新的计算系统药理学方法,包括转录组分析、数据收集、统计分析、网络算法、生物信息学分析和药理验证等环节,并对灯盏细辛注射液的药理作用进行研究,预测灯盏细辛注射液有 83 个活性组分,转录组分析在 DZXXI 处理的 MCF7 细胞中发现了 87 条 DEGs,其中 PTGS1 和 PTGS2 为两个重要的靶基因,对应于 4 个活性成分,体内和体外药理实验得到进一步证实,提示灯盏细辛注射液对缺血性脑卒中有抗血小板和神经保护作用,该方法为研究中药与疾病过程的相关性提供了一个系统的视角。

3.8.2 “网络药理学+蛋白组”模式 Hou 等^[70]建立了草酸盐诱导的肾脏损伤小鼠、大鼠和 HK-2 细胞模型,分别筛选草酸盐组和对照组差异表达的蛋白,结合网络药理学探索广金钱草(DS)对草酸盐致肾损伤的治疗蛋白靶点,联合分子对接技术构建了分子-反向对接、靶点-差异蛋白的组合网络,成功识别 CTSD、p38 MAPK、CDK2 等是 DS 修复草酸盐诱导的肾脏损伤的潜在靶点,并确定 DS 的活性成分为木犀草素、芹菜素、染料木素。

3.8.3 “网络药理学+代谢组”模式 Guo 等^[71]基于 ¹H-NMR 的代谢组学和网络药理学对黄芪与薯蓣药对(HS)的 T2DM 治疗机制进行研究,代谢组学分析发现了 21 个生物标志物,根据网络药理学分析发现 T2DM 受 18 个成分的调节,活性化合物主要作用于 135 个靶标,综合分析发现 4 个靶蛋白,MAOB、ACACA、CA2 和 CAT 是 HS 治疗 T2DM

最相关的靶点。Zhang 等^[72]利用网络药物整合策略和血清代谢组学研究补肾天髓方 (BSTSF) 对阿尔茨海默病 (AD) 的治疗作用机制, 网络药物分析显示 37 化合物, 发现 64 个相关的潜在靶基因, 机制主要为调节 TNF 信号通路和 PI3K/AKT 信号通路, 基于代谢组学, 78 种代谢物被鉴定为 BSTSF 治疗 AD 潜在生物标志物, 主要参与亚油酸代谢、 α -亚麻酸代谢、甘油磷酸酯代谢、色氨酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢途径。

3.8.4 “网络毒理学+代谢组”模式 将成为中药毒性成分作用机制研究的热点技术策略。Liu 等^[73]基于毒性的证据链 (TEC) 概念, 利用化学物质组学、代谢组学、分子对接和网络毒理学对八角莲 (DV) 进行全面的毒性研究, 鉴定出鬼臼毒素等 5 种潜在的毒性成分, 这些毒性物质通过调控 PAH、SOD1、SOD2 等相关靶点, 影响苯丙氨酸代谢、甘油磷脂代谢、能量代谢等相关通路, 进而诱导氧化应激、细胞凋亡、炎症反应和能量消耗, 最终诱导肝损伤发生。代谢组学技术在中药活性成分纠正药物毒性研究中也有一定的应用, Xu 等^[74]通过人类代谢组学数据库 (HMDB), 收集了 149 个与顺铂肾毒性相关的代谢物相关靶点, 并经过多数据联合筛选出 22 种中药活性成分对顺铂的肾毒性有一定的保护作用, 通过体外实验评估证明其中 14 个成分有效, 代谢组学分析表明, 山柰酚可通过调节氨基酸代谢、嘌呤嘧啶代谢和脂质代谢发挥相对较好的活性。Liu 等^[75]将基于 UPLC-Q-TOF/MS 的代谢组学分析和网络毒理学结合, 探究雷公藤红素的心肌毒性机制, 表明 TNF 信号通路和 Caspase 家族蛋白在雷公藤红素心肌毒性发生过程中起着关键的作用。

4 药材的基源鉴别、栽培与遗传育种研究中的系统生物学技术

4.1 基因组学技术

由于绝大多数药用植物都缺乏系统的分子遗传学研究, 因此大部分中药的本草基因组学研究仍停留在全基因组测序阶段, 学者们先后阐明了灵芝^[76]、紫芝^[77]、铁皮石斛^[78]、丹参^[79-80]、人参^[81]、三七^[82]等全基因组学信息, 其中对丹参的基因组解析是一个代表性研究, 该项研究完成了丹参基因组的测序与组装, 并采用转录组学方法揭示了丹参活性成分合成的分子机制, 并为其他药用植物基因组解析提供了研究策略。本草结构基因组和功能基因组研究

为开发药材分子标记提供了丰富基因资源, 使 DNA 标记技术在中药材鉴定中广泛应用。中药 DNA 条形码分子鉴定体系已形成了以 ITS2+psbA+trnH 多基因联合为主的植物类药材鉴定体系和以 COI+ITS2 为主的动物类鉴定体系^[83]。Shen 等^[84]利用特异的 DNA 条形码和 SCAR 标记, 有效地鉴别出骨碎补的伪品。陈子易等^[85]由 GenBank 数据库中寻找含有简单重复序列 (Simple Sequence Repeats, SSR) 位点的人参 DNA 片段序列, 设计 SSR 引物, 可用作人参和西洋参种间鉴定的有效方法。

基因是生物遗传因子, 控制生物性状, 研究者多采用“基因组学+化学物质组学”结合的模式, 对药用植物遗传品质进行评定。郭鹏等^[86]采用 HPLC 法和 qRT-PCR 技术分别测定两种倍性穿心莲中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量和穿心莲 ApCPS 关键酶基因表达情况, 表明四倍体穿心莲主要活性成分及其分子机制表达量均高于二倍体穿心莲, 研究可为穿心莲品质评定和良种选育奠定理论基础。黄林芳等^[87]应用 UPLC-Q-TOF/MS 技术对内蒙古和新疆肉苁蓉苯乙醇苷及环烯醚萜苷类成分进行分析, 同时基于 psbA-trnH 序列分子鉴别表明, 内蒙古与新疆产肉苁蓉品质明显不同, NJ tree 分析表明, 两个产地的肉苁蓉明显分为 2 支, 证明 2 个产地的肉苁蓉存在显著差异, 生态因子数据亦表明, 肉苁蓉的两大气候地理分布格局, 此为深化道地药材理论研究奠定了重要基础。

4.2 转录组技术

通过转录组学研究发现有益基因表达规律, 对完善药用植物栽培技术和促进药用植物育种有重要意义。Li 等^[88]测序了盐胁迫下的北沙参转录组, 确定了北沙参潜在的耐盐基因网络, 其中有 5 018 条 DEGs 上调, 5 317 个 DEGs 下调, 通过 qRT-PCR 确定了 15 条 DEGs 表达情况, 为探索北沙参耐盐分子机制提供了有用的信息。Liu 等^[89]应用转录组分析揭示了三七对茉莉酸甲酯诱导的赤霉病菌的抗性, 结果有助于培育抗根腐病环境友好型的三七品种。Wang 等^[90]对突变丹参品种的转录组分析结果揭示了 SmGASA4 在植物发育过程中的重要作用, SmGASA4 在丹参的突变体植物中的表达下调, 能促进花和根的发育, 显著增强植物对盐、干旱和多氯唑 (PBZ) 胁迫的抗性, 还可上调丹参酚酸生物合成相关基因的表达和抑制丹参酮生物合成相关基因的表达, 此研究对丹参新品种培育有重要意

义。基于转录技术的遗传多样性探究,也是药用植物基原鉴别的主要途径之一, Liu 等^[91]采用基于转录组 SSR 标记技术分析甘草的遗传多样性,结果表明物种间的遗传变异比地理种群间的遗传差异更为显著,为甘草种质资源的合理开发、保护和可持续利用提供了科学依据。Zheng 等^[92]对不同生物量的三七的 miRNAs 进行分析,鉴定出 675 条保守的 miRNAs,证明 miR156 家族成员与根系生物量密切相关,可作为三七高产育种的标记。

4.3 微生物组学技术

土壤中的微生物结构影响药用植物的生长发育,故微生物组学在药用植物栽培研究方面也有一定的应用。He 等^[93]利用 Illumina 高通量测序技术研究半夏连作产量和品质下降发生机制,分析了连作(CC)和轮作(CR)对根际菌群的影响,CC 倾向于减少群落 α 多样而 CR 群落 α 多样往往会增加,CC 的土壤主要富集假单胞菌、根瘤菌和链球菌 OUTs, CR 土壤主要富集根瘤菌、假单胞菌、黄杆菌、鞘梭菌、根杆菌和节杆菌 OUTs,此研究可为中药栽培策略的制定提供指导。Huang 等^[94]将丹参作为研究微生物如何与药用植物相互作用以改变植物化学生产的主要模型系统,阐明药用植物的微生物群落直接影响宿主的代谢,从而影响中药的疗效。

4.4 “组学+组学”联用技术

4.4.1 “转录组+代谢组”模式 Li 等^[95]揭示了三七主根膨大的可能机制, RNA 测序共鉴定到 29 957 个 DEGs,主要参与植物激素信号转导、淀粉和蔗糖代谢、苯丙烷类代谢途径等过程,采用 NMR 波谱技术,对三七主根发育 4 个阶段的主要代谢物进行定量分析,最终证明激素串扰、转录调节、糖与淀粉的稳态调节、细胞壁代谢等对三七主根膨胀过程有重要作用。

4.4.2 “蛋白组+代谢组”模式 Liu 等^[96]使用 SWATH-MS 和 GC-TOF-MS 技术检测、分析了不同种源重楼的蛋白质组和代谢组,共有 419 个差异表达蛋白和 33 个代谢物可用于重楼种源的鉴别,同时揭示相较于其他品种 *P. polyphylla* var. *chinensis* 的糖代谢途径中,蔗糖利用效率更高,蛋白质丰度也更高。

5 结语与展望

中药“整体观”研究思路,应考虑中药“多组分、多效用、多靶点、整体调节”作用特点,采用

现代科学技术阐明中药本质。系统生物学因其高通量的技术优势,可获取生物体的基因水平、转录水平、蛋白水平、代谢物水平和微生物水平的完整信息,加之现代生物信息和数据分析技术的表征,可加深对中药整体的认识,因此系统生物学技术可为中药“整体观”的研究思路提供有力支持。系统生物学技术为中药研究提供了新的研究思路,必将推动中药现代化进程,但仍存挑战。就目前而言,系统生物学技术与中药传统理论研究的融合度不高,研究思路还不够成熟,未能充分发挥其在该领域研究中的作用。21 世纪,在建设健康中国的大背景下,如何发挥中医药防病和治病的优势应是研究者们思考的问题之一。中药的独特优势有以下几方面,一是中药拥有几千年积淀下来的“中医药理论指导”,正所谓“医为药之理,药为医之用”,中医和中药是相辅相成不可分割的,中药的研究应以中医药理论为指导,才能真正的发挥其独有优势;二是中药有“炮制加工”技术,炮制是中医用药的特色,是中药独有的制药技术,中药炮制使其应用具有更多的可能,运用现代科学技术,加强对中药炮制技术和原理的研究,可发挥中药更大的价值;三是中药“复方配伍”的临床应用特点,中药复方是中医药的宝贵财产,很多复方功效卓著且久用不衰,中药复方多由多味中药组成,其相较于单味中药更为复杂,学者们利用系统生物学技术对一些名方的药效机制、质量标准进行研究,并形成了相应的成果转化,如定志小丸、疏风解毒胶囊、元胡止痛滴丸等,只有在全面认识中药复方特色基础上,对其展开深入研究,才能有利于发挥药方的整体综合作用。未来如何更科学的将系统生物学技术与“中医药理论”“中药炮制加工”“中药配伍复方”的研究深入融合,继续创新研究思路,从最根本上揭示中药传统疗效和发挥中药独有优势,需进一步的思考。

参考文献

- [1] 叶 霁, 李睿旻, 曾华武, 等. 基于整体观中药质量标志物的发现及研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(19): 4529-4537.
- [2] Kesić S. Rethinking the pragmatic systems biology and systems-theoretical biology divide: Toward a complexity-inspired epistemology of systems biomedicine [J]. *Med Hypotheses*, 2019, 131: 109316-109326.
- [3] Qiu J. Traditional medicine: A culture in the balance [J]. *Nature*, 2007, 448(7150): 126-128.

- [4] Semenov G A, Safran R J, Smith C C R, *et al.* Unifying theoretical and empirical perspectives on genomic differentiation [J]. *Trends Ecol Evol* (Amst), 2019, 34(11): 987-995.
- [5] 陈士林, 宋经元. 本草基因组学 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3881-3889.
- [6] Velculescu V E, Zhang L, Zhou W, *et al.* Characterization of the yeast transcriptome [J]. *Cell*, 1997, 88(2): 243-251.
- [7] Meng Y J, Yu D L, Xue J, *et al.* A transcriptome-wide, organ-specific regulatory map of *Dendrobium officinale*, an important traditional Chinese orchid herb [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18864.
- [8] Wilkins M R, Sanchez J C, Gooley A A, *et al.* Progress with proteome projects: Why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it [J]. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 1996, 13: 19-50.
- [9] Yokota H. Applications of proteomics in pharmaceutical research and development [J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2019, 1867(1): 17-21.
- [10] Gika H, Virgiliou C, Theodoridis G, *et al.* Untargeted LC/MS-based metabolic phenotyping (metabonomics/metabolomics): The state of the art [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2019, 1117: 136-147.
- [11] Li X Y, Jin X, Li Y Z, *et al.* Network toxicology and LC-MS-based metabolomics: New approaches for mechanism of action of toxic components in traditional Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2019, 11(4): 357-363.
- [12] Marchesi J R, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: A proposal [J]. *Microbiome*, 2015, 3: 31.
- [13] Proctor L. Priorities for the next 10 years of human microbiome research [J]. *Nature*, 2019, 569(7758): 623-625.
- [14] Clarke G, O'Mahony S M, Dinan T G, *et al.* Priming for health: Gut microbiota acquired in early life regulates physiology, brain and behavior [J]. *Acta Paediatr*, 2014, 103(8): 812-819.
- [15] 李 梢, 王永炎, 季 梁, 等. 复杂系统意义下的中医药学及其案例研究 [J]. 系统仿真学报, 2002, 14(11): 1429-1431.
- [16] 李 梢. 基于生物网络调控的方剂研究模式与实践 [J]. 中西医结合学报, 2007(5): 489-493.
- [17] Li S, Zhang Z Q, Wu L J, *et al.* Understanding ZHENG in traditional Chinese medicine in the context of neuro-endocrine-immune network [J]. *IET Syst Biol*, 2007, 1(1): 51-60.
- [18] Gao J M, Wang T Y, Yao X, *et al.* Clinical evidence-guided network pharmacology analysis reveals a critical contribution of β 1-adrenoreceptor upregulation to bradycardia alleviation by Shenxian-Shengmai [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 357-365.
- [19] Shi Y Y, Zhang S X, Peng D Y, *et al.* Transcriptome analysis of *Clinopodium chinense* (Benth.) O. kuntze and identification of genes involved in triterpenoid saponin biosynthesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): E2643.
- [20] Jiang Y, Wang L, Lu S R, *et al.* Transcriptome sequencing of *Salvia miltiorrhiza* after infection by its endophytic fungi and identification of genes related to tanshinone biosynthesis [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 760-769.
- [21] Yu H Z, Guo W L, Yang D F, *et al.* Transcriptional profiles of *SmWRKY* family genes and their putative roles in the biosynthesis of tanshinone and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): E1593.
- [22] Wang C K, Peng D Y, Zhu J H, *et al.* Transcriptome analysis of *Polygonatum cyrtoneura* Hua: Identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis [J]. *Plant Methods*, 2019, 15: 65-72.
- [23] Yuan Y D, Yu M Y, Jia Z H, *et al.* Analysis of *Dendrobium huoshanense* transcriptome unveils putative genes associated with active ingredients synthesis [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 978-986.
- [24] Zhi J Y, Li Y J, Zhang Z Y, *et al.* Molecular regulation of catalpol and acteoside accumulation in radial striation and non-radial striation of *Rehmannia glutinosa* tuberous root [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): E3751.
- [25] Lin W J, Huang W, Ning S J, *et al.* Comparative transcriptome analyses revealed differential strategies of roots and leaves from methyl jasmonate treatment *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek and differentially expressed genes involved in tryptophan biosynthesis [J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0212863.
- [26] Fan G Y, Fu Y Y, Yang B R, *et al.* Sequencing of *Panax notoginseng* genome reveals genes involved in disease resistance and ginsenoside biosynthesis [J]. *Bio Rxiv*, 2018, 6: 4-18.
- [27] 刘 睿, 朱振华, 吴 佳, 等. 羚羊角与山羊角蛋白质类成分比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(16): 3329-3334.
- [28] Liu Z X, Zou L S, Chen C H, *et al.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of salt stress in *Spica Prunellae* [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9590-9596.
- [29] Feng S G, Jiao K L, Guo H, *et al.* Succinyl-proteome profiling of *Dendrobium officinale*, an important traditional Chinese orchid herb, revealed involvement of succinylation in the glycolysis pathway [J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 598-606.

- [30] Wang Y M, Liu L, Ma Y K, *et al.* Chemical discrimination of *Astragalus mongholicus* and *Astragalus membranaceus* based on metabolomics using UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS approach [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): E4064.
- [31] Xing D X, Shen G W, Li Q R, *et al.* Quality formation mechanism of stiff silkworm, *Bombyx batryticatus* using UPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics [J]. *Molecules*, 2019, 24(20): E3780.
- [32] Cheng X X, Xu T F, Pi Z F, *et al.* A wide-targeted urinary and serum metabolomics strategy reveals the effective substance of the Wu-Tou decoction [J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(4): 727-735.
- [33] Su X Y, Wu Y J, Li Y, *et al.* Effect of different post-harvest processing methods on the chemical constituents of *Notopterygium franchetii* by an UHPLC-QTOF-MS-MS metabolomics approach [J]. *Molecules*, 2019, 24(17): E3188.
- [34] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. *中草药*, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [35] Liao M L, Shang H H, Li Y Z, *et al.* An integrated approach to uncover quality marker underlying the effects of *Alisma orientale* on lipid metabolism, using chemical analysis and network pharmacology [J]. *Phytomedicine*, 2018, 45: 93-104.
- [36] Guo R, Zhang X X, Su J, *et al.* Identifying potential quality markers of Xin-Su-Ning capsules acting on arrhythmia by integrating UHPLC-LTQ-Orbitrap, ADME prediction and network target analysis [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 117-128.
- [37] Otuboah F Y, Zheng J H, Zhu T Y, *et al.* Design of a reduced objective Lens fluorescence dPCR Gene chip detection system with high-throughput and large field of view [J]. *Optik*, 2019, 179: 1071-1083.
- [38] Li J, Rong M H, Dang Y W, *et al.* Differentially expressed gene profile and relevant pathways of the traditional Chinese medicine cinobufotalin on MCF-7 breast cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 4256-4270.
- [39] Zhang Y Q, Wang C, Guo Q Y, *et al.* Molecular mechanisms of the analgesic action of Wu-Tou Decoction on neuropathic pain in mice revealed using microarray and network analysis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(6): 988-997.
- [40] Wu L L, Han W C, Chen Y L, *et al.* Gender differences in the hepatotoxicity and toxicokinetics of emodin: The potential mechanisms mediated by UGT2B7 and MRP2 [J]. *Mol Pharm*, 2018, 15(9): 3931-3945.
- [41] Zhou Z Y, Zhao W R, Xiao Y, *et al.* Antiangiogenesis effect of timosaponin AIII on HUVECs *in vitro* and zebrafish embryos *in vivo* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(2): 260-269.
- [42] Yin P, Zou W S, Li J D, *et al.* Using high-throughput sequencing to explore the anti-inflammatory effects of α -mangostin [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15626-15632.
- [43] Yang W X, Kang Y N, Zhao Q, *et al.* Herbal formula Yangyinjiadu induces lung cancer cell apoptosis via activation of early growth response 1 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9): 6193-6202.
- [44] Xing Q Q, Liu L W, Zhao X, *et al.* Serum proteomics analysis based on label-free revealed the protective effect of Chinese herbal formula Gu-Ben-Fang-Xiao [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 119: 109390-109398.
- [45] Yao B J, Liu J, Xu D D, *et al.* Dissection of the molecular targets and signaling pathways of Guzhi Zengsheng Zhitongwan based on the analysis of serum proteomics [J]. *Chin Med*, 2019, 14: 29.
- [46] Feng X S, Shi H L, Chao X, *et al.* Deciphering the pharmacological mechanism of the herb *Radix ophiopogonis* in the treatment of nasopharyngeal carcinoma by integrating iTRAQ-coupled 2-D LC-MS/MS analysis and network investigation [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 253-264.
- [47] Zhao J, Cai C K, Xie M, *et al.* Investigation of the therapy targets of Yi-Qi-Yang-Yin-Hua-Tan-Qu-Yu recipe on type 2 diabetes by serum proteome labeled with iTRAQ [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 1-14.
- [48] Xu J, Liu X, Luo L Y, *et al.* A metabonomics investigation into the therapeutic effects of BuChang NaoXinTong capsules on reversing the amino acid-protein interaction network of cerebral ischemia [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 7258624.
- [49] Peng W, Du H, Liu G L, *et al.* Antistress effects of *San-Huang-Xie-xin* decoction on restraint-stressed mice revealed by ^1H NMR-based metabolomics and biochemistry analysis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5897675.
- [50] Chen C C, Yin Q C, Tian J S, *et al.* Studies on the potential link between antidepressant effect of Xiaoyao San and its pharmacological activity of hepatoprotection based on multi-platform metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 249: 112432-112439.
- [51] Huang H M, Wu J X, Lu R G, *et al.* Dynamic urinary metabolomics analysis based on UHPLC-Q-TOF/MS to investigate the potential biomarkers of blood stasis

- syndrome and the effects of Danggui Sini decoction [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 179: 112986-112993.
- [52] Yan Q H, Mao H L, Guan J Y. Metabolomics analysis reveals the mechanisms of the effect of Sijunzi decoction on spleen deficiency syndrome in a rat model [J]. *Microchem J*, 2020, 152: 104422-104429.
- [53] Luo W, Zhang J W, Zhang L J, *et al.* High-throughput untargeted metabolomics and chemometrics reveals pharmacological action and molecular mechanism of Chuanxiong by ultra performance liquid chromatography combined with quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry [J]. *RSC Adv*, 2019, 67(9): 39025-39036.
- [54] Tu C, He Q, Li C Y, *et al.* Susceptibility-related factor and biomarkers of dietary supplement *Polygonum multiflorum*-induced liver injury in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 335-339.
- [55] Cui Y, Wang R J, Zhang Y, *et al.* Investigation of the mechanism of incompatible herb pair Gansui-Gancao-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity and the attenuated effect of gansuibanxia decoction by UHPLC-FT-ICR-MS-based plasma metabonomic analysis [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 173: 176-182.
- [56] Zhang S B, Lin L, Liu W, *et al.* Shen-Ling-Bai-Zhu-San alleviates functional dyspepsia in rats and modulates the composition of the gut microbiota [J]. *Nutr Res*, 2019, 71: 89-99.
- [57] Li Y, Peng Y, Ma P, *et al.* Antidepressant-like effects of *Cistanche tubulosa* extract on chronic unpredictable stress rats through restoration of gut microbiota homeostasis [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 967.
- [58] Qi Y J, Zang R X, Lu H N, *et al.* Network pharmacology and bioinformatics approach reveals the hypolipidemic mechanism of Dan Tian Jiang Zhi pill [J]. *Med Chem Res*, 2020, 29(2): 243-254.
- [59] Zhang W J, Huai Y, Miao Z P, *et al.* Systems pharmacology approach to investigate the molecular mechanisms of herb *Rhodiola rosea* L. *Radix* [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2019, 45(3): 456-464.
- [60] Liang X J, Li H Y, Li S. A novel network pharmacology approach to analyse traditional herbal formulae: The Liu-Wei-Di-Huang pill as a case study [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(5): 1014-1022.
- [61] Hu R F, Sun X B. Design of new traditional Chinese medicine herbal formulae for treatment of type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(6): 436-441.
- [62] 郑子安, 刘铁钢, 万宇翔, 等. 基于网络药理学方法对两组对药作用机制的对比研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(10): 4386-4389.
- [63] Lu F, Zhang N, Ye T, *et al.* High throughput metabolomics-proteomics investigation on metabolic phenotype changes in rats caused by *Radix Scrophulariae* using ultra-performance liquid chromatography with mass spectrometry [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(31): 17791-17800.
- [64] Zhao D S, Jiang L L, Wang L L, *et al.* Integrated metabolomics and proteomics approach to identify metabolic abnormalities in rats with *Dioscorea bulbifera* rhizome-induced hepatotoxicity [J]. *Chem Res Toxicol*, 2018, 31(9): 843-851.
- [65] Dong S, Cai F F, Chen Q L, *et al.* Chinese herbal formula Fuzheng Huayu alleviates CCl₄-induced liver fibrosis in rats: A transcriptomic and proteomic analysis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(6): 930-941.
- [66] Xiao S W, Liu C, Chen M J, *et al.* *Scutellariae Radix* and coptidis rhizoma ameliorate glycolipid metabolism of type 2 diabetic rats by modulating gut microbiota and its metabolites [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(1): 303-317.
- [67] Piao S H, Zhu Z Q, Tan S Y, *et al.* An integrated fecal microbiome and metabolome in the aged mice reveal anti-aging effects from the intestines and biochemical mechanism of FuFang Zhenshu TiaoZhi(FTZ) [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109421.
- [68] Zhao P, Li J S, Yang L P, *et al.* Integration of transcriptomics, proteomics, metabolomics and systems pharmacology data to reveal the therapeutic mechanism underlying Chinese herbal Bufe Yishen formula for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(4): 5247-5257.
- [69] Zhao J, Lv C, Wu Q L, *et al.* Computational systems pharmacology reveals an antiplatelet and neuroprotective mechanism of Deng-Zhan-Xi-Xin injection in the treatment of ischemic stroke [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 147: 104365-104372.
- [70] Hou J B, Chen W, Lu H T, *et al.* Exploring the therapeutic mechanism of *Desmodium styracifolium* on oxalate crystal-induced kidney injuries using comprehensive approaches based on proteomics and network pharmacology [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 620-629.
- [71] Guo Q, Niu W L, Li X J, *et al.* Study on hypoglycemic effect of the drug pair of *Astragalus Radix* and *dioscoreae rhizoma* in T2DM rats by network pharmacology and metabonomics [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): E4050.
- [72] Zhang Z Y, Yi P J, Yang J J, *et al.* Integrated network pharmacology analysis and serum metabolomics to reveal

- the cognitive improvement effect of Bushen Tiansui formula on Alzheimer's disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 249: 112371.
- [73] Liu C X, Zhang C N, He T, *et al.* Study on potential toxic material base and mechanisms of hepatotoxicity induced by *Dysosma versipellis* based on toxicological evidence chain (TEC) concept [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 190: 110073.
- [74] Xu L, Zhang Y X, Zhang P, *et al.* Integrated metabolomics and network pharmacology strategy-driven active traditional Chinese medicine ingredients discovery for the alleviation of cisplatin nephrotoxicity [J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(12): 2411-2421.
- [75] Liu C X, Zhang C N, Wang W X, *et al.* Integrated metabolomics and network toxicology to reveal molecular mechanism of celastrol induced cardiotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 383: 114785-114789.
- [76] Chen S L, Xu J, Liu C, *et al.* Genome sequence of the model medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* [J]. *Nat Commun*, 2012, 3: 913-919.
- [77] Zhu Y J, Xu J, Sun C, *et al.* Chromosome-level genome map provides insights into diverse defense mechanisms in the medicinal fungus *Ganoderma sinense* [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11087-11093.
- [78] Yan L, Wang X, Liu H, *et al.* The genome of *Dendrobium officinale* illuminates the biology of the important traditional Chinese orchid herb [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(6): 922-934.
- [79] Xu H B, Song J Y, Luo H M, *et al.* Analysis of the genome sequence of the medicinal plant *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Mol Plant*, 2016, 9(6): 949-952.
- [80] Xu Z C, Peters R J, Weirather J, *et al.* Full-length transcriptome sequences and splice variants obtained by a combination of sequencing platforms applied to different root tissues of *Salvia miltiorrhiza* and tanshinone biosynthesis [J]. *Plant J*, 2015, 82(6): 951-961.
- [81] Xu J, Chu Y, Liao B S, *et al.* *Panax ginseng* genome examination for ginsenoside biosynthesis [J]. *Gigascience*, 2017, 6(11): 1-15.
- [82] Zhang D, Li W, Xia E H, *et al.* The medicinal herb *Panax notoginseng* genome provides insights into ginsenoside biosynthesis and genome evolution [J]. *Mol Plant*, 2017, 10(6): 903-907.
- [83] 陈士林, 姚 辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141-148.
- [84] Shen Z F, Lu T Q, Zhang Z R, *et al.* Authentication of traditional Chinese medicinal herb "Gusuibu" by DNA-based molecular methods [J]. *Ind Crop Prod*, 2019, 141: 111756-111762.
- [85] 陈子易, 吕旭楠, 程 舟, 等. 微卫星标记在人参和西洋参鉴别中的应用 [J]. 复旦学报: 自然科学版, 2011, 50(2): 185-191.
- [86] 郭 鹏, 何 洁, 闫 斌, 等. 比较两种倍性穿心莲活性成分及关键酶基因差异表达研究 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1751-1753.
- [87] 黄林芳, 郑司浩, 武拉斌, 等. 基于化学成分及分子特征中药材肉苁蓉生态型研究 [J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(3): 318-328.
- [88] Li L, Li M M, Qi X W, *et al.* *De novo* transcriptome sequencing and analysis of genes related to salt stress response in *Glehnia littoralis* [J]. *PeerJ*, 2018, 6: e5681.
- [89] Liu D Q, Zhao Q, Cui X M, *et al.* A transcriptome analysis uncovers *Panax notoginseng* resistance to *Fusarium solani* induced by methyl jasmonate [J]. *Genes Genomics*, 2019, 41(12): 1383-1396.
- [90] Wang H B, Wei T, Wang X, *et al.* Transcriptome analyses from mutant *Salvia miltiorrhiza* reveals important roles for *SmGASA4* during plant development [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): E2088.
- [91] Liu Y L, Geng Y P, Song M L, *et al.* Genetic structure and diversity of *Glycyrrhiza* populations based on transcriptome SSR markers [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2019, 37(5/6): 401-412.
- [92] Zheng Y, Chen K, Xu Z N, *et al.* Small RNA profiles from *Panax notoginseng* roots differing in sizes reveal correlation between miR156 abundances and root biomass levels [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9418.
- [93] He Z G, Mao R J, Dong J E, *et al.* Remediation of deterioration in microbial structure in continuous *Pinellia ternata* cropping soil by crop rotation [J]. *Can J Microbiol*, 2019, 65(4): 282-295.
- [94] Huang W J, Long C L, Lam E. Roles of plant-associated microbiota in traditional herbal medicine [J]. *Trends Plant Sci*, 2018, 23(7): 559-562.
- [95] Li X J, Yang J L, Hao B, *et al.* Comparative transcriptome and metabolome analyses provide new insights into the molecular mechanisms underlying taproot thickening in *Panax notoginseng* [J]. *BMC Plant Biol*, 2019, 19(1): 451-459.
- [96] Liu F, Meng Y Y, He K, *et al.* Comparative analysis of proteomic and metabolomic profiles of different species of *Paris* [J]. *J Proteomics*, 2019, 200: 11-27.