

基于整体化学和生物效应谱推演的中药靶点研究新模式及应用

李 鹏¹, 张浩然¹, 张元媛¹, 詹灵敏¹, 陈建新²

1. 山西农业大学 基础部, 中兽医现代化山西省重点实验室, 山西 太谷 030801

2. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029

摘要: 中药的生物靶点是中药和机体互作的核心元件, 明确中药靶点对阐明中药的物质基础和作用机制至关重要。通过对中药和靶点的作用方式进行总结和定义, 系统阐述了当前中药靶点研究发现的思路和方法, 评述其特点和缺陷, 在此基础上, 将几种思路凝练整合, 提出一种“基于整体化学和生物效应谱推演的中药靶点研究新模式”, 综合“化学性”和“生物性”对中药靶点作用路径进行系统研究, 并对新模式在中医药领域的应用进行总结, 为中药分子作用机制研究提供更加系统的思路和框架。

关键词: 新方法; 中药靶点; 转录组; 中药成分; 药物靶标预测; 生物性; 化学性

中图分类号: R284; R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)06-1986-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.06.031

New model and application of traditional Chinese medicine target research based on global chemical and biological profile inference

LI Peng¹, ZHANG Hao-ran¹, ZHANG Yuan-yuan¹, ZHAN Ling-min¹, CHEN Jian-xin²

1. Shanxi Key Laboratory for Modernization of Traditional Chinese Veterinary Medicine, College of Basic Sciences, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China

2. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: The biological targets of traditional Chinese medicine (TCM) are the core effectors mediating the interaction between TCM and human body. Clarifying targets of TCM is very important to elucidate material basis and action mechanism of TCM. By summarizing and defining the modes of action of TCM and targets, this paper systematically expounds the current thinking and methods of TCM target research, and summarize characteristics and defects of these methods. On this basis, this study integrates these methods, and propose a novel target identification model based on TCM overall chemical and biological profiles. This model can systematically explore the action path of TCM and targets from both “chemical” and “biological” information. The applications of model in field of TCM are summarized and further illustrated with specific cases. We expect that this novel model could provide a more systematic framework for study of molecular mechanisms of TCM.

Key words: new methods; TCM targets; transcriptomics; TCM ingredients; drug-target prediction; biological property; chemical property

中医药是我国传承千年的瑰宝, 在预防、治疗、诊断疾病中具有重要作用。与西方的现代医学理论不同, 中医理论框架强调“整体观”, 通过分析患者的临床表现进行“辨证”, 并根据“辨证”结果进行“论治”, 化裁对证的中药复方进行治疗。中药复方通过不同的药味组成针对性地治疗特定病证, 其治疗本质以多成分、多靶点、多途径的方式作用于生

物分子网络发挥药效。这种多向治疗特征是中药发挥临床药效的优势所在, 但也是中药和机体间复杂相互作用的缘由, 这种复杂性使得中药治病的物质基础和作用机制难以厘清, 阻碍了中医药的深入开发和发展^[1-2]。因此, 解析中药-机体的复杂相互作用是中医药现代化的核心问题之一。从分子层面上, 中药可看作其化学成分的组合, 中药成分进入机体

收稿日期: 2022-10-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82274363); 国家自然科学基金青年项目(81703945); 山西省基础研究计划面上项目(20210302124129)

作者简介: 李 鹏, 男, 副教授, 硕士生导师, 从事中药治疗复杂疾病作用机制及中药网络药理学方法研究。E-mail: lip@sxau.edu.cn

后，与生物靶点进行相互作用，进而影响后续的生物功能。显而易见，中药靶点是介导中药和机体作用的核心元件，因此，中药靶点的系统识别是阐明中药与机体间复杂互作的必经之路。

随着现代医药科学的发展，科研工作者不断探索并提出了多种中药靶点的研究思路和方法，包括基于实验手段的直接检测方法和基于计算机辅助设计的虚拟筛选方法。这些方法从不同角度发现中药的治疗靶点，对揭示中药的分子作用机制具有重要意义^[3-4]。然而，当前方法在靶点研究的层次性和系统性上仍存在一些不足。为了对当前中药靶点研究方法进行系统分析，需要对药物和生物靶点作用方式进行严格定义。中药大多成分复杂，这些成分进入机体后，与组织器官中的生物靶点相互作用，影响各种生理生化过程，发挥相应的功能，因而中药的作用机制呈现出巨大的复杂性。为了能够明确解析中药的作用过程，笔者聚焦中药成分和生物靶

点间的作用过程，将中药发挥效应的相关靶点分为2类：直接和间接靶点。其中，直接靶点是和中药成分直接结合产生生物效应的靶点；间接靶点是中药成分的直接靶点在生物分子网络中影响的后续靶点。因此，直接靶点是结构靶点（和中药成分在结构上相互结合）和机制靶点（介导中药生物效应）的交集；间接靶点是机制靶点中除去直接靶点后剩余的靶点，见图 1-A。中药成分进入机体后，通过与直接靶点结合，直接影响效应基因，或通过诱发后续若干信号通路间接靶点的活化，进而引起效应基因表达改变，从而起到改变表型、治疗疾病的效果，见图 1-B。显然，揭示中药作用机制的过程主要是中药效应成分-直接靶点-间接靶点-效应基因-生物效应的作用路径。

1 中药靶点研究思路概述

根据研究思路不同，笔者将当前中药靶点发现技术或策略归纳为4个方面。

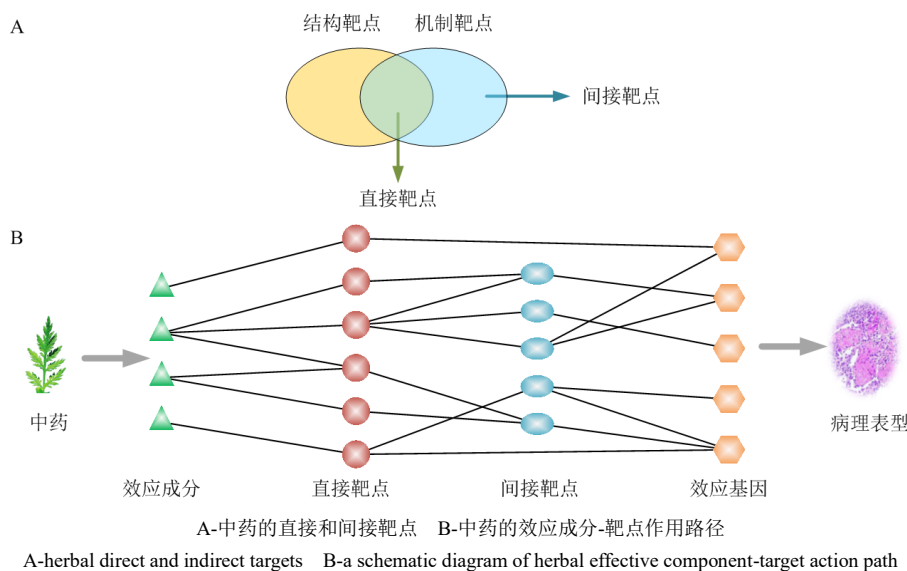


图 1 中药靶点的分类和作用方式

Fig. 1 Classification and mode of action of targets of traditional Chinese medicine

1.1 基于基因-表型关联

在大量分子生物学和生物化学研究的基础上，通常已知许多疾病和病理表型的相关基因或通路机制。中药复方源于临床，其针对相应病证的有效性已经确认，而后续的临床指标观察或实验药理药效研究通常能够提示该复方在特定表型的优越性，帮助研究者有的放矢，聚焦特定的靶点基因或信号通路进行后续实验验证。另外，在组学技术的帮助下，可通过比较疾病模型和中药所诱导的蛋白质组或基因组表达变化，获取中药治疗疾病的关键基因

和通路。

1.2 基于配体-靶点特异性结合检测

小分子化合物和靶点蛋白间的直接相互作用检测方法众多，如荧光显色、同位素标记、酶联免疫吸附、表面等离子共振、时间分辨荧光共振能量转移、膜片钳技术等方法均可直接测定小分子和靶点间的特异性结合能力。中药作为天然化学成分集合，如果已知某些化学成分是中药的主要成分，可通过生物化学方法直接检测这些化学成分的直接靶点，即为相应中药的靶点。此外，针对中药成分复

杂的特点,利用生物色谱等高通量方法,以柱色谱、超滤等方法批量富集能够结合靶点的中药小分子群,随后利用紫外、质谱、核磁共振等技术快速鉴定中药活性成分,确认中药靶点^[5-8]。

1.3 基于网络药理学

网络药理学是从生物网络角度系统阐释疾病发生发展和药物作用机制的一门新兴学科^[9]。其研究理念与中医药防病治病整体性和系统性特点相契合。在系统生物学、生物信息学、多向药理学等技术的基础上,网络药理学与中医药理论相融合,逐渐形成了“中药网络药理学”^[10-11]。网络药理学倡导从多成分、多靶点、多途径的角度研究中药和机体的复杂相互作用。近年来,网络药理学在中医药领域得到广泛应用,已形成许多专业的数据库方便研究者利用网络药理学工具进行中药分析^[12-14],如中医药证候关联数据库(symptom mapping, SymMap, <http://www.symmap.org/>)^[15]、中药分子机制的生物信息学分析工具(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>)^[16]、中草药有效成分蛋白靶点数据库(<http://lifecenter.sgst.cn/hit/>)^[17]、中医药综合数据库(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)^[18]、中医药系统药理学数据库和分析平台(<http://tcmospw.com/tcmosp.php>)^[19]、中医药整合药理学研究平台(<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/>)^[20]、另一种中药数据库(nankai.edu.cn)^[21]等。

中药网络药理学研究思路的关键在于将中药成分的靶点和疾病相关基因共同映射于生物分子网络,建立中药成分-靶点-疾病互作网络,通过网络分析,系统解析中药的复杂作用模式^[22]。由于中药成分众多,其生物靶点大部分未知,因此,如何高效快速地识别中药成分的靶点也是网络药理学研究中的一个核心内容。药物-靶标相互作用虚拟预测技术作为一种高效且高通量的方法,能够有效减少成本,加快预测成分靶标的效率,在中药网络药理学研究中得到广泛应用。根据预测原理的差异,药物-靶标预测技术可分为化学结构相似性搜索、药效团模型、分子对接、机器学习、深度学习算法5个类别^[23-24],当前网络药理学中药成分靶点预测用到的大多属于上述方法^[4,25-26]。

1.4 基于生物活性推演

生物活性推演的基本原理是具有相似生物活性的分子具有类似的生物靶点,生物活性检测可以是分子层面(如基因表达谱),也可以是表型层面(如

细胞毒性)。因此,如果一个未知靶标的化学成分和已知作用机制的分子(标准分子)具有相似的生物活性,该化学成分的靶标即可通过标准分子进行推演^[27]。因此,该思路的关键在于存在大量已知作用机制的标准分子,且其生物活性已经确定,如关联图谱(connectivity map, cMap, <https://clue.io/>)数据库含有超过30 000个小分子和9000个基因干扰诱导的超过3百万的基因表达谱^[28]。PubChem数据库(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)包含50万多种生物活性检测手段以及1.3亿多个生物活性检测结果^[29]。生物活性推演在中药靶点预测上潜力巨大,其最大优势在于该方法可绕过中药化学成分的复杂性,从生物效应出发,直接预测中药的靶点。如课题组以中医证候和西医症状关联为基础,整合中药、证候、症状、疾病、药物、靶标等数据构建杂合网络预测中药靶标^[30],建立中医药和化学药在靶点和症状层面的映射^[15]。另外,各种组学技术在中医药研究中的广泛应用也推动了基于组学数据推演的中药靶标发现^[31],实际上,基于CMap数据库的靶点预测方法已被大量应用于中医药各个领域,如中药作用机制、复方协同机制和中药重定位等^[32]。此外,已有研究者构建了中药高通量实验和参考数据库“本草组鉴”,通过将中药转录组数据集映射到CMap数据库,生成中药与现代药物之间的联系^[33]。

2 中药靶点研究中存在的问题

中药靶点的发现是中药机制研究过程的重点和难点。寻找和建立契合中医药特点的中药靶点发现方法是一项复杂而艰巨的任务,是中医药现代化过程中需要不断补充完善、推陈出新的研究课题。尽管当前的思路方法在中药的生物靶点发现方面已经发挥了显著作用,但仍存在一些不容忽视的问题与不足。

在以基因-表型关联为主导的中药靶点研究中,主要关注在疾病表型和药物作用下均发生变化的基因或蛋白,后续研究主要在于确认中药能否调节这些基因/蛋白,以及通过何种方式调节,进而改善病理表型。此种模式应用广泛,但这些基因/蛋白往往不是药物的直接作用靶点。

在以配体-靶点特异性结合检测为主导的中药靶点研究中,由于检测手段的限制,一般仅能聚焦单个靶点进行筛选,不可避免的忽视中药的多靶点、多途径作用特征。利用高通量筛选,尽管能够对中

药有效组分进行鉴定，但无法评价成分间的相互作用，且成本高昂。

在以虚拟药物-靶点相互作用预测为主导的中药靶点研究中，网络药理学通过构建“中药成分-靶点-疾病”网络解析中药的复杂作用模式，其中中药靶点是“中药-疾病”关联的核心元件。因此，无论是“中药成分-靶点”关联还是“疾病-靶点”关联的准确性均对网络药理学分析影响巨大^[34]。一方面，由于在网络药理学研究中，中药靶点主要以中药化学成分为基础进行高通量预测，因此，纳入中药成分的范围和准确度直接影响到后续靶点预测的准确性。然而，当前中药化学成分的纳入标准并不一致，可利用已有数据库进行化学成分收集及质谱解析等手段鉴定中药成分，也可通过实验方法检测能够入血的中药成分。手段方法不同，所收集成分就会不同，即使是相同方法，由于药材来源、用药方式、复方配伍各方面的差异，也会导致化学成分的巨大差异，进而影响后续的靶点预测。另外，在药物-靶点相互作用预测过程中，中药的众多成分仍被看作一个个独立的单体，所预测靶点显然无法完全反映中药本身的药理特征。另一方面，网络药理学的疾病靶点数据主要来自西医疾病研究所关联的基因，而中药临床所针对治疗的中医病证与西医疾病并不完全相同。通过西医疾病所收集的靶点显然并不能完全代表中医病证的相关靶点。因此，在网络药理学实践中，仍需对疾病及证候进一步探索，以辨证为纲，对病证相应的生物学网络进行深入探究。

在以生物活性推演为主导的中药靶点研究中，尽管可以推演得到大量和中药生物活性相关的靶点，但由于缺乏靶点和中药成分的关联研究，无法判断哪些靶点是中药的直接靶点，哪些是间接靶点。

综上，目前已提出和应用的思路和方法各有侧重，“基于基因-表型关联”关注中药对疾病效应基因的影响；“基于配体-靶点结合检测”和“基于化合物-靶点虚拟预测”注重中药成分的直接靶点；“基于生物活性推演”聚焦中药的机制靶点。但所有的中药靶点研究思路均无法系统挖掘“中药成分-直接靶点-间接靶点-效应基因”的完整作用路径。分析其原因，可能是由于这些研究思路在一定程度上均存在割裂中药化学成分和生物活性的问题，“基于基因-表型关联”和“基于生物活性推演”倾向从“生物性”信息出发研究中药靶点；“基于配体-靶点结合检测”和“基于化合物-靶点虚拟预测”倾向从“化学性”

信息出发研究中药靶点。因此，如何有机结合中药“化学性”和“生物性”信息，整合现有思路和方法，从整体角度出发，挖掘中药靶点，是成功揭示“中药成分-直接靶点-间接靶点-效应基因”作用路径的关键。基于此，笔者提出基于整体化学和生物效应谱推演的中药靶点研究新模式（traditional Chinese medicine chemical and biological profiles based target reference approach, TCM-CBTR），综合“化学性”和“生物性”对中药靶点作用路径进行系统性研究，为中药分子作用机制研究提供更加系统的思路和框架。TCM-CBTR 研究模式主要涵盖3个关键环节：（1）通过中药“生物性”信息，推演中药机制靶点集合；（2）利用中药的“化学性”信息，从机制靶点集合中，区分直接和间接靶点；（3）通过靶点在生物分子网络中的映射，建立中药成分-直接靶点-间接靶点-生物效应的作用路径，见图2。

3 TCM-CBTR 研究模式

3.1 基于中药生物效应信息的机制靶点推演

中药的多靶标、多功能特性决定了其系统化研究的趋向。基于中药生物活性推演的方法可预测中药的机制靶点。所选活性信息种类多样，如药理活性、细胞活性、基因表达信息等。其中，基因表达谱（转录谱）数据代表机体组织活细胞在特定的状态下，全基因组范围的基因表达水平，可以作为机

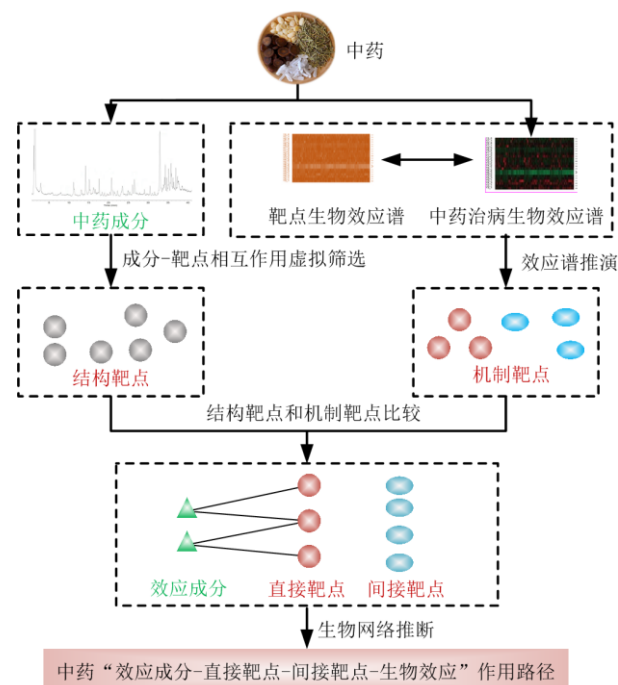


图2 TCM-CBTR 的研究新模式

Fig. 2 A new research mode of TCM-CBTR

体特定状态的准确标签,且当前已存在标准的公共基因表达谱数据库包含大量药物、疾病、基因等因素所诱导的基因表达谱数据。鉴于以上优势,在TCM-CBTR中,笔者建议优先选择基因表达谱,用于描述生物靶标、中药或病证的系统化特征,加快中药的机制靶点发现。

首先构建靶标的特异性表达谱标签。针对1个靶标所诱导的基因表达谱数据,用来表示靶标的生物效应。cMap数据库包含药物、RNA干扰等扰动因子在各种不同类型癌细胞诱导的超过3百万个基因表达谱^[28]。笔者从cMap数据库收集所有扰动因子的靶标,利用靶标扰动因子所诱导的表达谱数据表示靶标的生物效应,最终为每个靶标构建其特异性基因表达谱标签。笔者从cMap数据库中整理得到5852个干扰因子、4540个靶标的138310个基因表达谱。针对单一靶标,由于存在多个扰动因子所诱导的表达谱数据,为了得到该靶标的特异性基因标签,结合加权基因共表达网络分析^[35]和Borda排序方法,合并每个靶点的基因表达谱,作为该靶点的特异性效应谱,当前已为3275个靶点建立了特异性基因表达谱标签。在已知中药和疾病所诱导转录谱数据的基础上,通过改进基因集富集分析方法构建关联算法计算中药/疾病和靶点之间的关联分数(normalized correlation score, NCS)和显著性(false discovery rate, FDR),根据NCS和FDR值,定量分析中药/疾病对不同靶点的影响,进而基于转录组的多尺度网络药理学平台(<http://www.bcxnfz.top/TMNP/>)^[36]筛选出中药治疗相应疾病的潜在靶点。该靶点集合通过反映机体整体状态的基因表达谱预测,因此,所预测靶点和表达谱所代表的生物活性直接关联,由于同时考虑到中药和病证所诱导的表达谱数据,能够有效聚焦中药针对特定病证的治疗靶点,符合中药个性化、整体化的治疗理念。

3.2 基于中药化学信息的直接和间接靶点的识别

通过生物效应谱推演法预测的中药治病机制靶点包括与中药成分物理结合的直接靶点以及直接靶点激活的下游间接靶点。区分直接和间接靶点对阐明中药的有效成分及作用机制具有重要意义。可利用成分-靶点相互作用虚拟预测技术快速评估中药优势成分和靶点间的相互作用,能够和中药成分结合的是直接靶点,不能结合的是间接靶点。该环节利用成分-靶点相互作用虚拟预测技术,快速、高效

地筛选中药化学成分及其直接靶点和间接靶点。中药有效组分的搜集和确认是成分-靶点相互作用虚拟预测的基础,对该环节准确性影响巨大。实际上,由于中药化学组分的影响因素过于复杂,如组分的含量差异、药动学性质、中药的不同炮制方法等,如何高效筛选中药有效组分仍是中药领域研究的重点和难点,至今仍没有较好的解决思路。研究者已提出多种中药组分研究思路和方法进行中药效应组分发掘,如基于分离解析、指纹图谱、生物色谱、血清药物化学和代谢组及药物吸收、分布、代谢、排泄和毒性虚拟筛选的研究思路等。这些思路和方法均已取得了很大成功,研究者可根据不同境况,选择适当的方法搜集中药化学组分。

另一个因素是药物-靶点相互作用预测方法的选择。如前所述,当前存在众多化学成分-靶点相互作用虚拟预测方法,研究者在使用TCM-CBTR过程中,可根据已有信息,灵活选择1种或多种方法进行化学成分-靶点直接关联筛选。例如,选择DrugBank数据库中的药物-靶点数据为标准数据集,利用结构系综相似度方法(similarity ensemble approach, SEA, <http://sea.bkslab.org/>)^[37]评估中药成分和靶点间的直接关联,该方法的原理是利用系综法计算待测化合物和靶点蛋白所有已知靶标配体分子间的整体相似度来衡量待测化合物与靶点蛋白是否能够相互作用。

3.3 基于生物分子网络映射疏通中药靶点信号传导路径

在发现中药直接和间接靶点的基础上,确定不同靶点在生物信号通路中的关系至关重要。可利用已知的生物分子网络,如蛋白质-蛋白质相互作用、基因共表达、基因功能、分子信号通路等各种生物网络,将所有靶点映射到相应网络中,发掘中药靶点的信号传导路径,为中药的分子作用机制研究打下基础。由于当前已知的各种生物分子网络在不同领域中均有应用,并没有明显的优劣之分,研究者利用TCM-CBTR策略进行分析时,可根据自身的研究背景和研究目的灵活选择相应的分子网络,如在基因富集分析中广泛应用的京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)分子通路网络进行靶点路径分析。

TCM-CBTR研究模式在考虑中医药特点的基础上,利用中药和疾病的基因表达谱数据预测中药靶点,聚焦中药治疗疾病的相关机制靶点;结合中

药化学成分,利用药物-靶点虚拟预测技术关联直接靶点,区分间接靶点,揭示中药作用靶点的层次性,最终利用生物分子网络挖掘靶点间的传导路径,系统性揭示中药的分子作用机制。

4 TCM-CBTR 的基础研究

中药的多成分、多靶点、多功能特性决定了其系统化研究的趋向,TCM-CBTR 强调从整体生物效应的角度发现中药治病靶点,符合中医药的整体治疗观。另一方面,从还原论的角度,中药是其所含化学成分的组合,化学成分是中药药效发挥的物质基础,TCM-CBTR 借助化学基因组学技术和方法,揭示中药效应组分和靶点在分子层面上的关联,这种整体效应和化学交互并重的策略使得 TCM-CBTR 能够有效揭示中药和生物靶点的多尺度关联,帮助解决中医药领域的各类不同问题。

4.1 中药不同类型靶点的发现

中药靶点的发现是 TCM-CBTR 的核心任务。通过已有化合物或基因扰动所诱导的转录组数据,TCM-CBTR 建立靶点特异性表达谱标签库代表靶点所诱导的生物效应谱。在已知中药诱导表达谱的基础上,通过计算中药转录谱和所有靶点表达谱标签的相关性,预测和中药生物效应相关的机制靶点;进一步收集中药化学组分,利用化学成分-靶点虚拟筛选技术评估中药组分和机制靶点间的直接结合能力,进而区分中药的直接和间接靶点;在此基础上,借助生物网络映射,揭示中药在分子层面的靶点作用路径。另外,在已知中药和疾病所诱导表达谱的基础上,通过计算中药/疾病和靶点表达谱标签的相似度,预测中药和疾病的机制靶点,比较二者的对应靶点发现中药治疗特定疾病的机制靶点集;后续的化学基因组学分析和生物网络分析进一步揭示中药治疗疾病的靶点路径。

4.2 中药效应组分的发现

中药化学成分的复杂性使得中药效应组分的发现极其困难。TCM-CBTR 可绕过复杂多样的中药化学成分,通过中药的生物效应谱发现介导中药生物效应的机制靶点,在收集中药已知化学成分的基础上,通过化学基因组学方法评估这些化学成分和机制靶点间的相互作用,筛选能够和机制靶点结合的化学组分,这些组分构成中药的潜在效应组分。

4.3 中医证候生物学的基础研究

中医证候是患者症状和体征的整体概括,反映疾病发展历程中某个阶段的整体病理状态。显然,

证候的外在表现必然存在其内在生物学基础。TCM-CBTR 可从 2 个方面对疾病证候生物学基础进行研究。(1) 通过比较具有特定证候患者或动物模型的表达谱和 TCM-CBTR 的靶点标签库,发现和病证相互关联的机制靶点,这些靶点反映了诱导特定病证的分子机制;(2)“以方测证”是当前研究证候生物学内涵的重要手段。在已知方药和特定证候所诱导表达谱的基础上,TCM-CBTR 能够有效聚焦方药治疗证候的相关生物靶点成员和路径,依据“方证相关”的原理,从靶点尺度推测证候的生物学内涵。

4.4 中药方剂的配伍理论研究

中药复方是在中医辨证论治理论指导下,依据对病患证候的分析,按照“君臣佐使”等配伍原则,把不同中药组成具有特定功能主治的方剂,揭示中药复方配伍理论的内涵是中医药领域的重点问题。在测定中药复方及其所含单味中药治疗特定病证转录组数据的基础上,TCM-CBTR 能够识别中药复方和各单味中药治疗疾病的相关靶点和分子作用路径,通过比较复方、单味药以及疾病的相关靶点和分子作用路径,可从靶点尺度系统揭示复方和各单味药物在疾病治疗上的区别和关联,解析复方配伍的科学内涵。

4.5 中药新药开发

TCM-CBTR 可从靶点层面探索药物和疾病的关联,发现能够逆转疾病效应的药物。无论是中药成分还是复方,在已知药物和疾病转录组数据的基础上,TCM-CBTR 计算药物和疾病在靶点层面的关联,具体的 NCS 存在正负之分,代表药物或疾病对靶点的不同影响。基于 NCS 计算药物和靶点在靶点层面的相关性,相关性为负值说明药物和疾病在靶点层面具有相反的效应,意味着药物具有治疗该疾病的可能性。

5 TCM-CBTR 在中医药领域的应用

5.1 中药在靶点层面的比较研究

党参 *Codonopsis Radix* 和黄芪 *Astragali Radix* 均为补气之要药,但在功能主治上又有一定区别^[38]。党参性平、味甘,补中益气、健脾益肺。黄芪性温、味甘,补气固表、利尿托毒。中药的复杂性特征使得传统的还原论方法难以揭示 2 味中药在分子层面作用特点和方式。可利用 TCM-CBTR 研究模式对党参和黄芪的直接和间接靶点进行挖掘,并从不同层面对 2 味中药进行比较,试图挖掘二者在分子层面的异同点。按照 TCM-CBTR 的要点,首先基

于 2 味中药的基因转录谱数据对其机制靶标进行预测：从基因表达综合数据库 (gene expression omnibus, GEO)收集党参和黄芪诱导人肝癌 HepG2 细胞的转录谱数据 (GEO 登记号 GSE115506), , 利用基于转录谱数据的靶点推演法预测党参和黄芪的机制靶点, 以 $FDR \leq 0.05$ 为阈值进行筛选, 最终得到党参和黄芪各 2392 和 2681 个机制靶点^[36]。其次, 通过中药成分的结构信息预测党参和黄芪的

成分靶点: 从 SymMap 数据库收集了党参的 59 种化学成分和黄芪的 46 种化学成分, 利用 SEA 法对这些成分的结构靶点分别进行预测, 得到党参和黄芪各 2032 个和 2231 个结构靶点。最后, 比较中药的机制靶点和结构靶点, 提取二者的交集靶点, 得到党参和黄芪各 593 和 737 个直接靶点, 从机制靶点中去除直接靶点, 得到党参 1799 个间接靶点, 黄芪的 1944 个间接靶点, 见图 3。

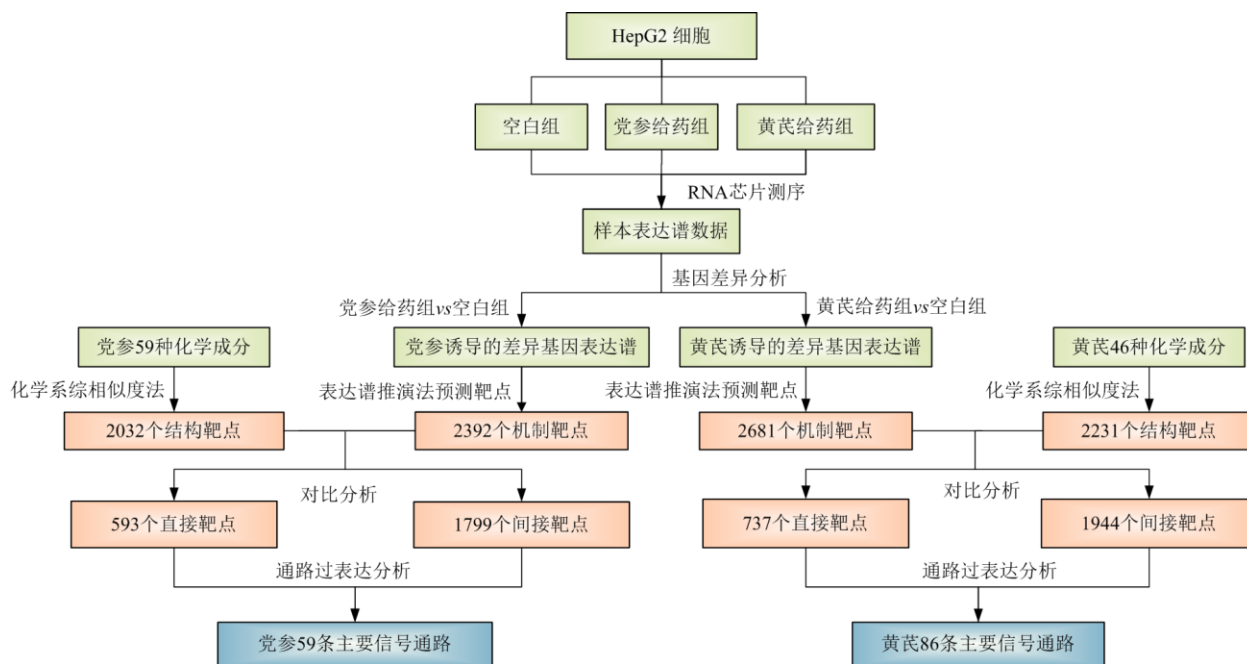


图 3 通过 TCM-CBTR 策略分析党参和黄芪的多层次靶点和通路

Fig. 3 Analysis of multilevel targets and pathways of *Codonopsis Radix* and *Astragali Radix* by TCM-CBTR

基于以上数据, 笔者对党参和黄芪在不同靶点层面进行比较。在机制靶点层面, 计算了党参和黄芪所有靶点 NCS 的皮尔逊 (Pearson) 相关性, 结果显示二者具有较强的正相关性 (Pearson 相关性为 0.69), 见图 4-A, 说明党参和黄芪在机制靶点层面的相似性。具体而言, 党参和黄芪具有 2062 个共同机制靶点, 分别占党参所有机制靶点的 86.2%、黄芪所有机制靶点的 76.9%。在结构靶点层面, 尽管党参和黄芪没有共有成分, 但二者具有 1911 个相同的结构靶点, 占党参结构靶点的 94%、黄芪结构靶点的 85.7%。在直接靶点层面, 二者具有 495 个相同的直接靶点, 占党参直接靶点的 83.5%、黄芪直接靶点的 67.2%。在间接靶点层面, 二者具有 1486 个相同的间接靶点, 占党参间接靶点的 82.6%、黄芪间接靶点的 76.4%, 见图 4-B。

为了进一步从功能通路角度比较党参和黄芪,

笔者重点关注药物的直接和间接靶点共同作用的通路, 这些通路即为药物的主要作用通路。利用过表达分析对 2 味中药的直接和间接靶点进行功能通路富集分析。结果显示, 党参的直接和间接靶点共同关联到 59 条主要信号通路 ($FDR \leq 0.05$), 黄芪的直接和间接靶点共同关联 86 条主要信号通路。2 味中药主要作用通路的比较显示, 二者同时作用于 52 条信号通路, 表明党参和黄芪在功能通路上作用的相似性。这些通路大多涉及癌症、炎症免疫、代谢等功能 (表 1), 和文献报道补气药主要涉及功能作用相一致^[39-41], 符合二者作为补气要药在中医认知上的相似性。

在 2 味中药的主要作用通路中, 除了共同作用的 52 条功能通路外, 二者还具有各自特异的作用通路。党参可特异作用于甲状腺激素合成通路, 已知甲状腺激素促进机体物质和能量代谢, 表明相比

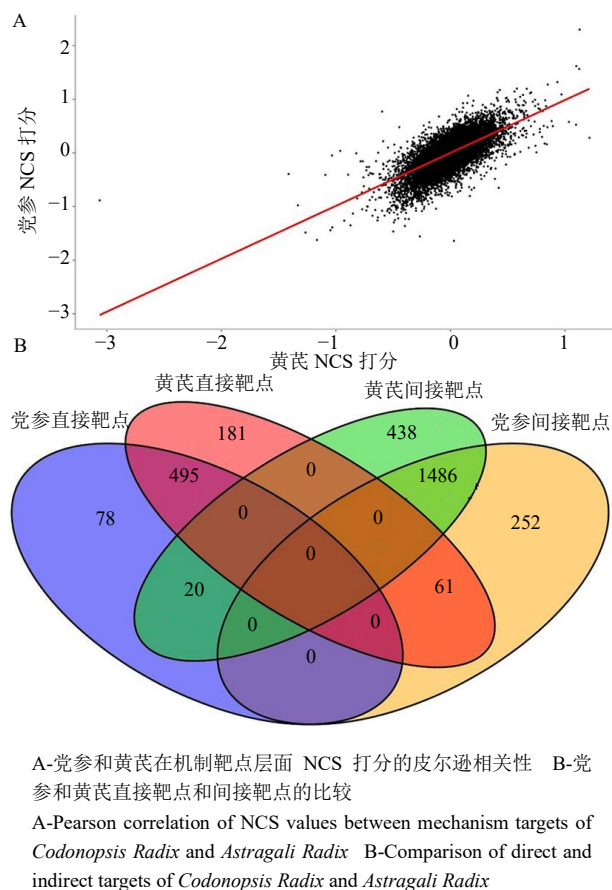


图 4 党参和黄芪靶点层面的比较

Fig. 4 Comparison of *Codonopsis Radix* and *Astragali Radix* on target scale

黄芪，党参还可通过影响甲状腺激素合成影响机体功能。黄芪可特异作用于 B 细胞受体信号通路、核因子- κ B 信号通路和皮质醇的合成与分泌通路，这 3 条通路均和炎性功能调节相关，表明相比党参，黄芪的炎性功能调节能力可能更佳，和文献报道相一致^[42]。

通过 TCM-CBTR 方法对党参和黄芪的研究表明，2 味中药在靶点和分子通路层面均极为相似，但又各自具有部分特异性靶点和作用通路，与 2 味中药在中医临床中所总结功能主治相关结论一致。表明 TCM-CBTR 研究模式可高效地对单味中药的直接和间接靶点及其作用路径进行系统研究和比较分析，为中药在分子层面的作用机制研究提供线索。

5.2 中药治疗疾病作用机制的研究

消渴安是一种用于治疗 2 型糖尿病的纯中药制剂，属于国家 III 类新药，具有明显的降血糖及改善症状的功效。当前关于消渴安治疗糖尿病的分子机制研究仍然较少。本文拟采用 TCM-CBTR 研究模式，从靶点层面揭示消渴安治疗糖尿病的作用机制，见图 5。

首先从 GEO 数据库收集消渴安治疗高脂饲料诱导 2 型糖尿病小鼠模型的相关转录组数据 (GEO 登记号 GSE62087)，计算糖尿病模型所诱导的差异基因谱和消渴安所诱导差异基因谱。并利用表达谱

表 1 党参和黄芪的主要作用通路

Table 1 Action pathways of *Codonopsis Radix* and *Astragali Radix*

信号通路	富集显著性			
	党参直接靶点	党参间接靶点	黄芪直接靶点	黄芪间接靶点
前列腺癌	0.00	0.01	0.00	0.00
低氧诱导因子 1 通路	0.00	0.04	0.00	0.01
叉头转录因子通路	0.00	0.00	0.00	0.00
非小细胞肺癌	0.00	0.00	0.00	0.00
内分泌耐药	0.00	0.05	0.00	0.01
长寿调节通路	0.00	0.03	0.00	0.01
癌症中的小 RNA	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺激素通路	0.00	0.01	0.00	0.02
癌症中的蛋白聚糖	0.00	0.01	0.00	0.00
磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B 通路	0.00	0.01	0.00	0.00
乙型肝炎	0.00	0.01	0.00	0.00
卡波西肉瘤疱疹病毒感染	0.00	0.03	0.00	0.00
神经胶质瘤	0.00	0.01	0.00	0.00
人类巨细胞病毒感染	0.00	0.00	0.00	0.00

续表 1

信号通路	富集显著性			
	党参直接靶点	党参间接靶点	黄芪直接靶点	黄芪间接靶点
胰腺癌	0.00	0.00	0.00	0.00
自噬	0.00	0.02	0.00	0.01
丝裂原活化蛋白激酶通路	0.00	0.00	0.00	0.00
弓形体病	0.00	0.00	0.00	0.00
腺苷酸活化蛋白激酶通路	0.00	0.01	0.00	0.01
甲型流感	0.00	0.03	0.00	0.00
胰岛素通路	0.00	0.01	0.00	0.01
辅助性 T 细胞 17 细胞分化	0.00	0.01	0.00	0.00
表皮生长因子受体通路	0.00	0.01	0.00	0.00
促性腺激素释放激素通路	0.00	0.05	0.00	0.00
肿瘤坏死因子通路	0.00	0.00	0.00	0.00
神经营养素通路	0.00	0.00	0.00	0.00
细胞凋亡	0.00	0.00	0.00	0.00
非酒精性脂肪肝	0.00	0.02	0.00	0.02
慢性髓系白血病	0.00	0.00	0.00	0.00
细胞衰老	0.00	0.01	0.00	0.00
病毒致癌作用	0.00	0.00	0.00	0.00
麻疹	0.00	0.01	0.00	0.00
结肠直肠癌	0.00	0.00	0.00	0.00
醛固酮的合成和分泌	0.00	0.01	0.02	0.01
人类免疫缺陷病毒 1 型感染	0.00	0.02	0.00	0.00
铂耐药	0.00	0.02	0.02	0.00
子宫内膜癌	0.00	0.01	0.00	0.00
辅助性 T 细胞 1 和 2 细胞分化	0.00	0.00	0.01	0.00
调控干细胞多能性的信号通路	0.00	0.02	0.00	0.00
信号转导子和转录激活子信号通路	0.00	0.00	0.00	0.00
类固醇生物合成	0.00	0.05	0.04	0.02
缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解	0.00	0.01	0.00	0.03
淋巴细胞瘤病毒感染	0.01	0.00	0.00	0.00
胰高血糖素通路	0.01	0.00	0.02	0.00
肾细胞癌	0.01	0.00	0.00	0.00
肝细胞癌	0.01	0.00	0.01	0.00
乳腺癌	0.01	0.05	0.00	0.00
小细胞肺癌	0.01	0.03	0.00	0.00
脂肪细胞因子信号通路	0.02	0.01	0.00	0.00
阿尔茨海默病	0.02	0.05	0.00	0.01
肺结核	0.04	0.01	0.02	0.00
甲状腺激素合成	0.00	0.04	NA	NA

NA-无富集显著性

NA-no enrichment significance

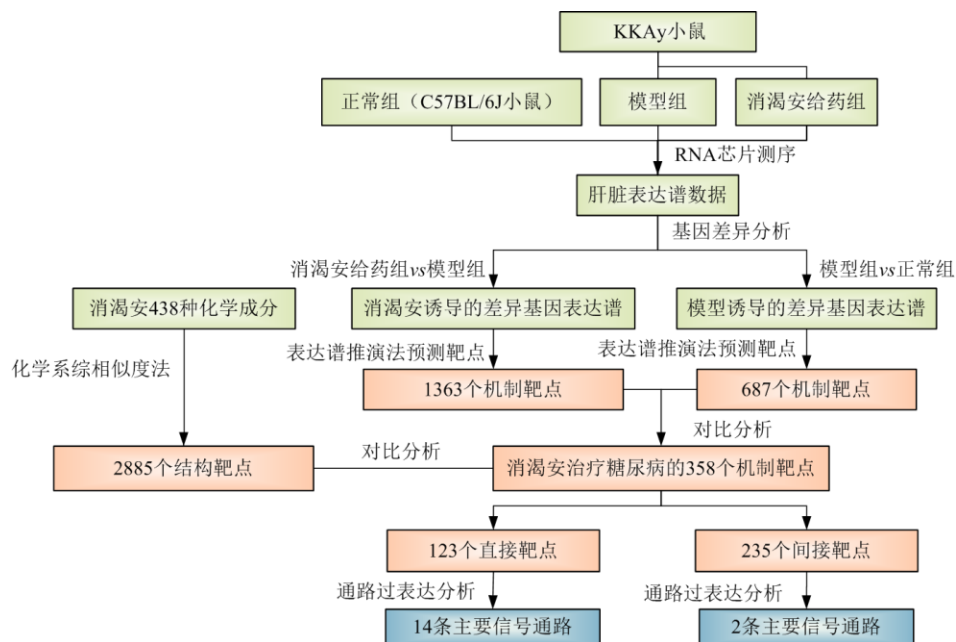


图5 TCM-CBTR 策略解析消渴安治疗糖尿病的分子机制

Fig. 5 Exploring molecular mechanisms of Xiaokean in treating diabetes mellitus by TCM-CBTR

推演法预测糖尿病模型和消渴安治疗的相关机制靶点，得到糖尿病模型显著相关的 687 个机制靶点，消渴安治疗显著相关的 1363 个机制靶点 (FDR ≤ 0.05)，糖尿病模型和消渴安在机制靶点 NCS 具有较强的负相关性 (Pearson 相关性为-0.47) 见图 6，说明消渴安可以在一定程度上逆转糖尿病对相关机制靶点的影响。NCS 绝对值越大，意味着药物/疾病对该靶点的影响越大，如果药物/疾病与某个靶点的 NCS 值正负相反，意味着二者对该靶点的影响相反。通过比较消渴安和糖尿病模型显著相关机制靶点的 NCS，发现在糖尿病模型显著影响的 687 个机制靶点中，有 358 个靶点经消渴安治疗可显著逆转 (NCS 值正负相反，FDR ≤ 0.05)，这 358 个靶点即为消渴安治疗糖尿病的潜在机制靶点。

随后，从 SymMap 数据库中收集了消渴安复方中 8 种单药的 438 种化学成分，基于所有成分结构，利用 SEA 方法预测得到消渴安的 2885 个结构靶点；比较消渴安的结构靶点和其治疗糖尿病的机制靶点，取交集共得到消渴安治疗糖尿病的 123 个直接靶点，从机制靶点中排除直接靶点得到消渴安治疗糖尿病的间接靶点 235 个。最后，为了进一步从功能通路角度解析消渴安治疗糖尿病的作用机制，分析消渴安治疗糖尿病直接靶点和间接靶点的相关功能通路。通过功能通路富集分析，消渴安治疗糖尿病的 123 个直接靶点显著富集到 14 条功能

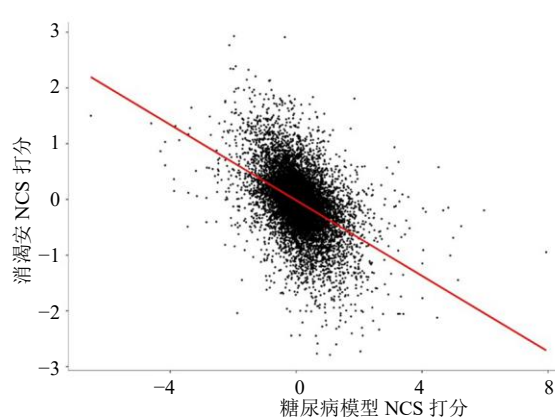


图6 消渴安和疾病模型在机制靶点层面 NCS 打分的 Pearson 相关性

Fig. 6 Pearson correlation of NCS values between Xiaokean and disease models

通路，235 个间接靶点显著富集到 2 条功能通路 (FDR ≤ 0.05)。对这些功能通路的详细分析发现，消渴安治疗糖尿病的靶点层面机制主要包括 2 方面：(1) 糖代谢相关通路，如胰岛素信号通路和胰岛素抵抗；(2) 炎症免疫相关通路，如卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、乙型肝炎、弓形体病、人巨细胞病毒感染、淋巴细胞瘤病毒感染等通路，见表 2。这些结果提示消渴安可通过调节胰岛素相关信号通路和炎症免疫功能治疗糖尿病，与文献报道相一致^[43]。

该例证表明 TCM-CBTR 研究模式可有效从靶点层面揭示消渴安治疗糖尿病的相关机制，为中药

表 2 消渴安治疗糖尿病的主要作用通路

Table 2 Action pathways of Xiaokean in treating diabetes mellitus

信号通路	靶点通路富集显著性
核糖体	0.00
结肠直肠癌	0.01
乙型肝炎	0.01
细胞凋亡	0.01
卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染	0.01
弓形体病	0.02
血小板激活	0.02
Fc epsilon RI 信号通路	0.02
人类巨细胞病毒感染	0.02
胰腺癌	0.03
胰岛素信号通路	0.03
胰岛素抵抗	0.03
丙酸盐新陈代谢	0.03
鞘脂信号通路	0.05
人类疱疹病毒病毒感染	0.03
病毒致癌作用	0.03

治病的作用机制研究提供线索。

6 结语与展望

中药和机体相互作用的阐明是中医药领域的核心问题之一。中药靶点作为中药和机体相互作用的中介，是阐释二者相互作用的核心与关键。本文梳理了中药通过“中药成分-直接靶点-间接靶点-生物效应”的完整路径和机体相互作用的方式，系统总结了当前中药靶点的研究思路和方法，发现当前中药靶点研究方法存在中药“化学性”和“生物性”信息割裂的问题：“基于配体-靶点结合检测”和“基于化合物-靶点虚拟预测”倾向从中药“化学性”信息出发研究中药直接靶点；“基于基因-表型关联”和“基于生物活性推演”倾向从中药“生物效应性”信息出发研究中药机制靶点，导致难以从整体角度阐明中药-机体的作用路径。笔者对相关思路和方法进行凝练整合并加以扩展，提出了 TCM-CBTR 的研究模式，该模式适配中医药特点，打破常规中药靶点研究思路割裂化学组分和生物活性的局限性，有机结合中药“化学性”和“生物性”信息，挖掘中药靶点，疏通“中药成分-直接靶点-间接靶点-生物效应”作用路径，开创适配中药-疾病复杂系统相互作用的研究新模式。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Qiu J. Traditional medicine: A culture in the balance [J]. *Nature*, 2007, 448(7150): 126-128.
- [2] Xu Z G. Modernization: One step at a time [J]. *Nature*, 2011, 480(7378): S90-S92.
- [3] Liu X, Wu W Y, Jiang B H, et al. Pharmacological tools for the development of traditional Chinese medicine [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2013, 34(11): 620-628.
- [4] 吴纯伟, 路丽, 梁生旺, 等. 药物靶标预测技术在中药网络药理学中的应用 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(3): 377-382.
- [5] 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 [J]. *质谱学报*, 2018, 39(6): 641-652.
- [6] Chen G L, Fan M X, Liu Y, et al. Advances in MS based strategies for probing ligand-target interactions: Focus on soft ionization mass spectrometric techniques [J]. *Front Chem*, 2019, 7: 703.
- [7] Muchiri R N, van Breemen R B. Affinity selection-mass spectrometry for the discovery of pharmacologically active compounds from combinatorial libraries and natural products [J]. *J Mass Spectrom*, 2021, 56(5): e4647.
- [8] Vetting M W, Al-Obaidi N, Zhao S W, et al. Experimental strategies for functional annotation and metabolism discovery: Targeted screening of solute binding proteins and unbiased panning of metabolomes [J]. *Biochemistry*, 2015, 54(3): 909-931.
- [9] Hopkins A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2008, 4(11): 682-690.
- [10] Li S, Zhang B. Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(2): 110-120.
- [11] Luo T T, Lu Y, Yan S K, et al. Network pharmacology in research of Chinese medicine formula: Methodology, application and prospective [J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(1): 72-80.
- [12] Zhang G B, Li Q Y, Chen Q L, et al. Network pharmacology: A new approach for Chinese herbal medicine research [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 621423.
- [13] Zhang R Z, Zhu X, Bai H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 123.
- [14] Li P, Fu Y X, Wang Y H. Network based approach to drug discovery: A mini review [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2015, 15(8): 687-695.
- [15] Wu Y, Zhang F L, Yang K, et al. SymMap: An integrative

- database of traditional Chinese medicine enhanced by symptom mapping [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D1110-D1117.
- [16] Liu Z Y, Guo F F, Wang Y, *et al.* BATMAN-TCM: A bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 21146.
- [17] Ye H, Ye L, Kang H, *et al.* HIT: Linking herbal active ingredients to targets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39 (Database issue): D1055-D1059.
- [18] Xue R C, Fang Z, Zhang M X, *et al.* TCMID: Traditional Chinese Medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (Database issue): D1089-D1095.
- [19] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [20] Xu H Y, Zhang Y Q, Liu Z M, *et al.* ETCM: An encyclopaedia of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [21] Li B Q, Ma C F, Zhao X Y, *et al.* YaTCM: Yet another traditional Chinese medicine database for drug discovery [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2018, 16: 600-610.
- [22] Zhao J, Yang J, Tian S S, *et al.* A survey of web resources and tools for the study of TCM network pharmacology [J]. *Quant Biol*, 2019, 7(1): 17-29.
- [23] Bagherian M, Sabeti E, Wang K, *et al.* Machine learning approaches and databases for prediction of drug-target interaction: A survey paper [J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(1): 247-269.
- [24] Chan H C S, Shan H B, Dahoun T, *et al.* Advancing drug discovery via artificial intelligence [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2019, 40(8): 592-604.
- [25] Trapotsi M A, Hosseini-Gerami L, Bender A. Computational analyses of mechanism of action (MoA): Data, methods and integration [J]. *RSC Chem Biol*, 2022, 3(2): 170-200.
- [26] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [27] Schenone M, Dančik V, Wagner B K, *et al.* Target identification and mechanism of action in chemical biology and drug discovery [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(4): 232-240.
- [28] Subramanian A, Narayan R, Corsello S M, *et al.* A next generation connectivity map: L1000 platform and the first 1, 000, 000 profiles [J]. *Cell*, 2017, 171(6): 1437-1452.
- [29] Wang Y L, Xiao J, Suzek T O, *et al.* PubChem's BioAssay database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (Database issue): D400-D412.
- [30] Wang N, Li P, Hu X C, *et al.* Herb target prediction based on representation learning of symptom related heterogeneous network [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2019, 17: 282-290.
- [31] Zhang H W, Lv C, Zhang L J, *et al.* Application of omics- and multi-omics-based techniques for natural product target discovery [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111833.
- [32] Jiang H M, Hu C, Chen M J. The advantages of connectivity map applied in traditional Chinese medicine [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 474267.
- [33] Fang S S, Dong L, Liu L, *et al.* HERB: A high-throughput experiment- and reference-guided database of traditional Chinese medicine [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1197-D1206.
- [34] 姚运秀, 潘春晖, 王晨, 等. 网络药理学在中药复方的研究进展与应用策略 [J]. *成都大学学报: 自然科学版*, 2020, 39(3): 257-263.
- [35] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis [J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [36] Li P, Zhang H R, Zhang W X, *et al.* TMNP: A transcriptome-based multi-scale network pharmacology platform for herbal medicine [J]. *Brief Bioinform*, 2022, 23(1): bbab542.
- [37] Keiser M J, Roth B L, Armbruster B N, *et al.* Relating protein pharmacology by ligand chemistry [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(2): 197-206.
- [38] 张美玉, 吴泳锡, 王一竹, 等. 补气中药通过调节肠道菌群治疗脾虚证的研究进展 [J]. *中草药*, 2021, 52(17): 5430-5436.
- [39] 刘德丽, 包华音, 刘杨. 近 5 年黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. *食品与药品*, 2014, 16(1): 68-70.
- [40] 王涵, 林红强, 谭静, 等. 党参药理作用及临床应用研究进展 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(7): 21-22.
- [41] 徐世一, 刘秀波, 陆佳欣, 等. 黄芪活性成分抗肿瘤作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(23): 7613-7623.
- [42] 申晓芳, 金华. 黄芪、党参药理归经作用和临床应用 [J]. *实用中医内科杂志*, 2012, 26(7): 75.
- [43] Yang Z Z, Liu W, Zhang F, *et al.* Deciphering the therapeutic mechanisms of Xiao-Ke-An in treatment of type 2 diabetes in mice by a Fangjiomics approach [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(6): 699-707.