

• 综述 •

代谢组学在中药复方制剂领域的研究进展及面临的挑战

徐 杨^{1,2}, 何芷绮¹, 刘晓凤³, 苏 杰¹, 马锦雯¹, 向宇阳¹, 刘 涛^{4*}

1. 成都大学药学院, 四川 成都 610100
2. 成都大学张澜学院, 四川 成都 610100
3. 四川天一学院, 四川 德阳 618000
4. 成都大学食品与生物工程学院, 四川 成都 610100

摘要: 中医学强调整体观和辨证论治, 在临床应用中多以复方的形式给药。中药复方成分复杂, 各成分间相互作用, 呈现多成分、多靶点、多途径的特点。在中药“整体调控”的认知模式下, 中药复方制剂的作用机制尚不明确。代谢组学通过研究生物体内的代谢变化来表征药物进入机体后的作用机制, 其分析生物体代谢情况动态变化的整体性、系统性与中医“整体观”特点相吻合, 与中医药的多靶点、多途径的特色相契合, 近年来在中药研究中应用较广泛。通过对近年来代谢组学的研究思路及其在中药复方制剂研究中的应用进行综述, 分析目前面临的挑战, 为进一步完善代谢组学研究方法并阐明中药复方制剂作用机制提供新思路。

关键词: 中医药; 中药复方制剂; 代谢组学; 多组学研究; 整体调控

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)04-1354-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.04.028

Progress and challenges of metabolomics in field of traditional Chinese medicine compound preparations

XU Yang^{1,2}, HE Zhiqi¹, LIU Xiaofeng³, SU Jie¹, MA Jinwen¹, XIANG Yuyang¹, LIU Tao⁴

1. College of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610100, China
2. Zhanglan College, Chengdu University, Chengdu 610100, China
3. Sichuan Tianyi University, Deyang 618000, China
4. College of Food and Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610100, China

Abstract: Traditional Chinese medicine (TCM) emphasizes the holistic view and syndrome differentiation and treatment, and is mostly administered in the form of compound in clinical application. The components of TCM compound are complex and interact with each other, showing the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway. Under the cognitive mode of “holistic regulation” of TCM, the mechanism of action of TCM compound preparations is still unclear. Metabolomics can characterize the mechanism of action of drugs after entering the body by studying the metabolic changes in the body. Its holistic and systematic analysis of the dynamic changes of organism metabolism is consistent with the characteristics of the “holistic view” of TCM, and is consistent with the characteristics of multi-target and multi-channel of TCM. In recent years, it has been widely used in the study of TCM. This paper reviews the research ideas of metabolomics in recent years and its application in the research of TCM compound preparations, analyzes the current challenges, and provides new ideas for further improving metabolomics research methods and elucidating the mechanism of TCM compound preparations.

Key words: traditional Chinese medicine; Chinese medicine compound preparation; metabolomics; multi-omics research; overall regulation

收稿日期: 2023-10-21

基金项目: 四川省科技成果转化示范项目 (2023ZHCG0071)

作者简介: 徐 杨 (2003—), 男, 本科生, 研究方向为中成药质量再评价。E-mail: 1337016420@qq.com

*通信作者: 刘 涛 (1976—), 男, 博士, 研究员级高级工程师, 从事中成药新药开发及再评价。E-mail: liutao0578@sina.com

中医学是中国古代在“阴阳五行”理论指导下对人体生理病理进行研究的学科,强调整体观和辨证论治,在临床应用中多以复方给药^[1-2],然而,中药成分复杂,各成分间相互作用,具有多成分、多靶点、多途径的特点。在“整体调控”的认知模式下,中药复方制剂的作用机制大多尚不明确。代谢组学技术最早由Nicholson教授^[3]提出,是对不同生物体、样本或组织的所有代谢物进行定性和定量分析,并寻找代谢物与生理、病理、表型变化相对关系的研究方式,研究药物进入机体后对体内内源性代谢物的影响,是系统生物学的重要组成部分。代谢组学的主要目的是测量生物系统对生物刺激或基因操纵的全局动态代谢变化。区别于传统研究中“自下而上”的方法,其通过对复杂生物体中内源性小分子代谢物进行定性分析和定量监测,筛选具有明显浓度变化的代谢产物作为机体接受生理刺激后相关代谢变化的生物标志物,进而研究其在生物系统内的作用途径。代谢产物的浓度通常伴随着相应疾病的传变而变化,因此,代谢组学动态分析生物体代谢情况变化的整体性、系统性特点与中医“整体观”的基本特点相吻合,与中医药多靶点、多途径的特点相契合^[4],近年来在中药研究中应用广泛。将代谢组学运用在中医药研究的过程中,建立“药物-代谢物-代谢途径”网络,能够更好地阐述中药“辨证论治”过程的作用机制。本文通过对近年来代谢组学的研究思路、在中药复方制剂研究中的应用和目前面临的挑战进行综述,为进一步完善代谢组学研究方法并阐明中药复方制剂作用机制提供参考。

1 代谢组学简介

代谢组学关注的对象通常是相对分子质量1000以下的小分子化合物,包括脂质、核酸、氨基酸、肽、有机酸和碳水化合物等^[5],其研究的经典样本为血样、尿液及特定的细胞或组织提取液等,近年来也出现了一些基于疾病特异性的新样本研究方法,如肠道代谢组学、单细胞代谢组学、外周血单个核细胞代谢组学、细胞器代谢组学(溶酶体、线粒体)、微生物代谢组学^[6]等,这些新样本研究方法更贴切疾病本身的层面,更能够准确反应出机体用药后的代谢波动情况,为精确的代谢组学研究提供思路,杨澜等^[7]以大鼠粪便为样本,研究脉络舒通丸对股骨折后肢肿胀大鼠粪便代谢物的调节作用,并将其肠道代谢组学与肠道菌群联合分析,结

果显示粪便代谢中显著差异代谢物石胆酸、脱氧胆酸、胆酸与*Papilibacter*、*Intestinimonas*、*Turicibacter*、葡萄球菌呈显著正相关,表明肠道代谢物与肠道菌群密切相关,进一步说明代谢研究中样本选择的重要性。

代谢组学根据研究的目标和方法,可分为非靶向和靶向代谢组学。结合中药、中药复方制剂成分繁多、作用机制复杂的特点,代谢组学围绕中医药核心,联合多技术、新手段发展出很多分支,如脂质代谢组学、空间代谢组学、序贯代谢组学^[8]、功能代谢组学等。

1.1 非靶向代谢组学

非靶向代谢组学是指全面检测和分析生物样本中的所有代谢物,可以全面了解机体受药物干预后代谢物的变化,而不局限于已有的研究结论。非靶向代谢组学研究利用高通量的分析方法,如核磁共振和质谱等,全面分析样本代谢谱以发现未知代谢物和代谢通路,同时也面临着大量的复杂数据需要处理和解释的问题。在其“全局性”的指导下,非靶向代谢组学发展出了脂质代谢组学、挥发物代谢组学、空间代谢组学等新技术^[6],这些新技术在不同方向上弥补了典型非靶向代谢组学的缺点。如典型代谢组学中关于代谢物空间分布的全部信息丢失问题可以通过空间代谢组学解决,空间代谢组学还可更好地反映结构多样的小分子物质,展示差异代谢物在机体内的代谢分布,帮助研究者深入了解中药复杂成分和作用机制。作为一种新型的分子影像技术,空间代谢组学能够直接从生物组织中获得大量已知或未知的内源性代谢物和外源性药物等分子的结构、含量和空间分布信息^[9],采取的研究技术为空气动力辅助离子化解吸电喷雾电离质谱成像,基于此技术,空间代谢组学具有免标记、无需基质、周期短的优势^[10],Fox等^[9]发现宽带相干反斯托克斯拉曼散射(broadband coherent anti-stokes Raman scattering, BCARS)光谱成像技术可提供灵敏度和空间分辨率,以至在亚细胞水平上区分不同的密切相关的化学物质,BCARS与解吸电喷雾电离质谱技术联用可以更好地表征代谢物空间和时间模式,且BCARS可以持续研究活体、完整的标本,以提供直接观察代谢过程的动力学解释。

1.2 靶向代谢组学

靶向代谢组学是对选定的特定代谢物或代谢通路进行检测和分析,以对其进行深入分析,深度阐

释药物在特定代谢途径的作用机制。靶向代谢组学通过专门的代谢物提取技术和检测手段用于开展研究,用于分离研究者感兴趣的代谢物,从而减少其他高丰度代谢物的干扰^[11],故靶向代谢组学较非靶向代谢组学更能准确地对代谢物进行定量分析,并为其生物学解释提供更好定义和补充的数据集。靶向代谢组学发展出了功能代谢组学、糖代谢、脂质代谢、酶代谢和基于特定小分子代谢物或代谢途径研究等的各类靶向代谢组学(特定脂质、特定核苷酸代谢)等。其中,功能代谢组学可通过精确捕捉疾病反应代谢物生物标志物和功能性化合物(次级代谢物)间的分子相互作用,揭示中药衍生物阻断疾病相关决定性分子的生物合成,调节病原致病时的生化相互作用过程,实现对疾病的发现和治疗,从而表征中医“系统治疗”的特点^[12]。

非靶向和靶向代谢组学在中药研究中都具有重要作用,非靶向代谢组学可应用在中药质量评价、药效研究、药物相互作用和中药毒性研究等方面,靶向代谢组学则基于其“靶向性”被用于中药活性成分、代谢途径、代谢酶及中药药效重要标志物等方面。需要指出的是,靶向和非靶向代谢组学并非严格对立,实际研究中往往结合二者的方法和策略,以全面了

解代谢物的变化和对机体的影响。一些代谢组学研究技术依据研究焦点和目的,既可划分为非靶向代谢组学,也可以被视为靶向代谢组学,如序贯代谢^[8]、肠道代谢等。在肠道非靶向代谢组学中,通过全面分析肠道微生物与宿主的相互作用,揭示肠道代谢的变化与其宿主健康的联系^[7]。而在肠道靶向代谢组学中,研究者可能选择少数特定的代谢物或代谢通路,如短链脂肪酸、胆汁酸、氨基酸等,研究肠道代谢的特定方面;出于不同研究目的,即使对同类物质进行研究(如脂质),当研究者关注机体内全部脂质的代谢水平变化时,通常采用非靶向代谢组学工具,如果关注的是特定的某一脂质小分子或途径,则以靶向代谢组学方法展开研究。

2 代谢组学在中药研究中的研究流程和方法

在中药研究中,代谢组学研究可以分为中药样品前处理、湿法实验和干法实验 3 个阶段共 5 个流程。中药样品前处理是指对中药样品进行一系列处理步骤,以提取和制备样品中的代谢产物,去除可能干扰分析的杂质以便进行后续的分析;湿法实验阶段包括代谢样本采集和样品分析 2 个流程;干法实验阶段包括代谢物数据分析和生物内涵解释 2 个流程,见图 1。



图 1 中药复方制剂研究的代谢组学基本研究流程

Fig. 1 Basic metabolomics research flow of traditional Chinese medicine compound preparation

2.1 中药样品前处理

中药鲜品药材一般需液氮冷冻后研磨成粉后进行冷冻干燥,再选择甲醇或乙腈等有机溶剂进行提取;中药饮片则根据其所含化合物的类别,采用对应的溶剂进行饮片中有有效成分的提取^[4];中药

复方制剂则应结合中药复方制剂的理化性质选择合适的溶媒,并采用合适的配制方法,建立供试品的配制规程,并记录实验中完整的配制过程及关键参数。中药复方给药制剂一般多采用现用现配的方式。

2.2 样品采集

在代谢组学研究中,研究目的不同,动物代谢测定样本有异,可为血液、尿液、粪便等,采集过程中应避免样本受到污染,采集后应及时处理,避免样本理化性质发生明显变化,从而影响实验结果和结论。此外,同类疾病的造模方式不同也会影响对同药物治疗后机体代谢水平变化,徐霞^[13]对脾虚湿困型溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠进行代谢组学研究时,将大鼠造模分为脾虚湿困型 UC 和单纯 UC,研究结果显示,参苓白术散治疗过程中,2组不同造模方式大鼠共存在3个潜在生物标志物,亦分别存在显著变化的潜在生物标志物11、9个,说明对于同类疾病,造模方法不同,其给药后的代谢变化可能会出现同中有异的情况。此外,对于相同疾病,采集分析的样品种类不同,代谢组学的研究结果也会有所差异,Liu等^[14]在对抑郁症小鼠进行代谢组学研究时,制备和分析的样品为肾组织提取液,代谢组学结果表明精氨酸代谢途径是抑郁症小鼠受干扰最明显的代谢途径,而Chen等^[15]在研究抑郁症小鼠代谢紊乱时,使用分析的样品则是慢性轻度应激(chronic mild stress, CMS)小鼠嗅球,其代谢组学结果表明色氨酸异常代谢是CMS抑郁模型嗅球的核心发病机制。此类因分析样品不同而代谢组学结果不同的研究对比不在少数,提示后续研究者在代谢组学研究过程中,对代谢样品选取中需要多加考察和辨证择取,更要考虑特定疾病的病灶和药物作用靶点等。

2.3 样品分析

该流程主要包括样品前处理、代谢物色谱分析和代谢物质谱分析。目前,代谢组学对生物样本常用的处理方法为溶剂沉淀、液液萃取、固相萃取和超临界萃取等^[16]。液相色谱和气相色谱是代谢物色谱分析过程中运用最广泛的工具,二者能够有效地实现代谢物分离。在这2种技术基础上,根据不同的研究需求已发展出了更具针对性的研究方法,如高效液相色谱法、毛细管高效液相色谱法、超高效液相色谱法等^[17]。检测方面,质谱和核磁共振是其中的主流检测手段。质谱常常与液相或气相色谱联用而作为一种定量测定代谢物浓度的工具;而核磁共振则作为另一种独立的检测方法,具有不损坏分析物,可有效观察代谢物动力学和螯合作用的特点,二者各有优劣^[18]。

2.4 数据分析

此步骤将样本上机分析处理后,将质谱数据进

行降噪、峰提取、归一化、中心化等处理后得到代谢组学数据集,通过多元统计方法处理数据集,其统计方法包括无监督方法和监督方法。无监督方法包括主成分分析(principal component analysis, PCA)和层次聚类分析,在不使用任何类别成员的情况下,根据所使用的算法研究全局变化。这种类型的方法是挑选数据集中主要变异的理想模式。在监督形式的模式识别中,如许多形式的判别分析,类别成员关系会被用来驱动聚类^[19]。完成多变量分析后通过将关键变量投影重要性指标(variable importance in projection, VIP)、样本间代谢物浓度的差异倍数、某代谢物在比较分组间的表达差异显著与否等作为评价指标,筛选出差异代谢物,常用的代谢物鉴定平台为人类代谢组数据库、MetLin数据库、生物磁共振库等^[6]。

2.5 生物内涵解释

生物内涵解释即生物功能挖掘,寻找药物进入机体后,机体内受显著影响的代谢途径,以此连接药物作用和生物体的代谢变化,常用的生物功能挖掘平台为京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、MetaboAnalyst等。

为了满足定向研究的需求,更多新兴的代谢组学方法出现,如空间代谢组学研究,该方法对样品的处理要求较典型代谢组学更高,在完成组织样品处理后,还需要进行切片处理和质谱数据采集,有利于研究者获取样品内不同位置的代谢物信息,以进一步了解生物体内代谢的空间分布特征。样本获取和切片制备是空间代谢组学研究质谱成像结果准确性和真实性的关键环节,对于中药材样本处理,也发展出了相应的包埋处理冷冻切片分析和转印法间接分析等适应中药材研究的技术^[20]。

3 代谢组学在中药复方制剂中的应用

传统的药理学定量研究药物在生物体内的过程(吸收、分布、代谢和排泄),往往专注于评估药物的全身暴露和相关处置^[21],由于中药所含化学成分复杂,体内代谢过程尚不完全清楚,加之中药复方制剂由多味药物组成,各药材在体内的协同或拮抗关系尚不明晰,因此,采用传统的药理学无法阐释中药复方制剂在体内的过程。而代谢组学立足机体代谢变化,通过研究机体给药后的差异代谢物,揭示中药复方制剂的作用途径,为中药复方配伍科学性提供了实验证明。

3.1 对生物体内生物代谢途径的影响

中药复方制剂进入生物体内，其药效物质将影响生物各类物质的代谢水平，代谢组学通过研究和比较这些代谢物的变化情况，筛选出具有指导意义的显著变化代谢物（差异代谢物），是揭示中药复方制剂作用机制的前提，为研究中药复方制剂的关键药效成分提供了实验依据，为研究中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）^[4]的筛选提供参考。

代谢组学通过分析获得的差异代谢物富集相关代谢途径，为揭示中药复方制剂作用机制提供了新方法。Cui 等^[22]使用代谢组学方法研究芪桂银方对感染碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌小鼠的代谢变化，以小鼠血液作为样本研究对象，发现芪桂银方可以显著逆转小鼠体内由于感染碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌而发生异常表达的代谢物，主要包括乳酸 D1、10S-EpOME、苯丙氨酸等，揭示了芪桂银方可通过苯丙氨酸代谢、维生素 K1 表达、DL-乳酸表达等代谢途径逆转小鼠异常代谢、调节肠道菌群紊乱的作用。Li 等^[23]采用非靶向代谢组学研究对比柴胡桂枝干姜汤与匹维溴铵治疗肠易激综合征的疗效，证明柴胡桂枝干姜汤对血浆代谢的影响大于匹维溴铵，其治疗结果显示患者血浆中 L-肉碱和酰基肉碱水平升高，患者体内肉碱介导的脂质代谢显著增强，研究还预测柴胡桂枝干姜汤作用于肠易激综合征时最有效活性成分可能是黄芩苷，为柴胡桂枝干姜汤后续活性物质基础和作用机制研究提供了方向。Chen 等^[24]通过液质联用技术检测大鼠血清的全局代谢组学图谱，分析得到了特定的血清代谢产物和相应的代谢途径，阐述了人参附子对中 79 种化合物通过提高细胞色素 P450 家族 2 亚家族 D 成员 6、外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 2 的表达和降低环氧化物水解酶 2、单胺氧化酶 B 靶蛋白的表达，直接调节下游特异性血清代谢产物，在心力衰竭的治疗中发挥关键作用。

经典名方是我国中医药精华，具有历史悠久、疗效佳等特点，桃红四物汤是传统中医经典名方之一，已被收录在中华人民共和国国家医药产品管理局和国家中医药管理局发布的《古方目录（第一批）》中。Tao 等^[25]通过非靶向超高效液相色谱-串联质谱法对冠心病患者的血清代谢谱进行分析，研究证实桃红四物汤可通过上调脂肪酸代谢，下调葡萄糖代谢、花生四烯酸代谢和甘油磷脂代谢及调节氨基酸代谢实现其活血化瘀、调脂等药效。He 等^[26]基于超

高效液相色谱-质谱联用技术，以血虚血瘀证大鼠为研究模型，在其血浆代谢产物中寻找和筛选桃红四物汤治疗血虚血瘀证的潜在作用代谢途径，共筛选出 23 种潜在的差异代谢物，证明桃红四物汤主要通过干预氨基酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢等 8 条代谢途径改善血虚血瘀证。二陈汤出自《太平惠民和剂局方》，是治疗“痰湿证”的基础方，被誉为“天下理气第一方”。Chen 等^[27]采用液质联用代谢组学技术研究二陈汤对血脂异常痰湿内阻征小鼠的影响，由代谢谱分析获得 64 种差异代谢物，富集后获得 34 种差异代谢途径，其中三羧酸循环和色氨酸、丝氨酸、血清谷氨酰胺、嘧啶及丙酮酸的代谢途径是二陈汤在血脂异常痰湿内阻征治疗过程中降低小鼠体内氧化应激水平的最相关代谢途径。Gu 等^[28]通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用与血浆非靶向代谢组学分析相结合，阐明了高尿酸症导致大鼠体内嘌呤、脂质和氨基酸等代谢紊乱，而二妙丸可能通过苯丙氨酸代谢、甘油磷脂代谢和色氨酸代谢等代谢途径对高尿酸症大鼠产生治疗作用，同时该研究首次建立了能同时定量高尿酸症大鼠体内 9 种嘌呤代谢产物的血浆靶向代谢组学方法，为后续的靶向代谢研究提供了新启发。

3.2 阐释中药复方制剂配伍内涵

“药有个性之特长，方有合群之妙用”，中药复方配伍具有目的性、动态性、环境适应性等特点^[29]，体现了中医辨证施治。中药复方配伍的科学内涵阐释一直是中医药研究领域的重要问题，研究者运用代谢组学等方法对中药复方的各药材间协同作用进行研究，进一步发现复方中某一味或少数几味药材在复方中发挥的作用，一定程度揭示了中药复方配伍原理，有望进一步全面评价中药复方配伍科学性。

Liu 等^[4]根据“功效组”策略将“逍遥散”拆方为“健脾组”和“疏肝组”，通过肾脏代谢组学联合肠道微生物群分析发现逍遥散可通过调节肾组织中精氨酸、牛磺酸和低牛磺酸及谷氨酸和谷氨酰胺代谢等代谢途径发挥其抗抑郁和调节肠道微生物群稳定的作用，而疏肝组和健脾组分别调节 4 和 5 种差异代谢产物，表明 2 个功效组协同表现出抗抑郁作用，验证了“疏肝组”“健脾组”中药材配伍的合理性、有效性。Chen 等^[30]使用代谢组学和血清药物化学结合，揭示了柴胡-白芍药对可通过提高大鼠体内苯甲酸和柴胡皂苷元 F 的浓度以影响 D-氨基酸氧化酶和顺乌头酸脱羧酶的活性，从而发挥其抗抑郁

作用。该研究采用代谢组学和血清药物化学结合的这种方法被称为“中药组学”，可以有效发现中药入血成分，探索中医证候生物标志物和药效机制，为进一步阐明中药配伍机制提供可靠的方法。

代谢组学可通过“药物-差异代谢物-代谢途径”进一步探索中药复方的作用机制，Hu 等^[31]在对补中益气汤调脾气虚的疗效进行评价和活性成分筛选中，创造性提出了基于“内源性-靶点-外源性”关联网络的代谢组学、网络药理学和血清药理学相结合的策略。整体代谢组学契合中医理论多系统、多靶

点的整体观，是研究中医科学的最佳方法之一。《伤寒论》中记载：“病者气血俱见于面，病已血先见”，机体血液变化与病情的发生和恢复密切相关，对机体进行代谢变化检测有利于对病情诊断和药效评价。通过分析和验证疾病的特定早期生物标志物，可以更好地了解病理过程和物质代谢途径，以确定中药复方制剂的 Q-Marker 和作用机制。与传统的诊断方法相比，即使是微小的代谢物变化也有助于更敏感地发现早期病理变化。代谢组学在中药复方作用机制研究中的应用见表 1。

表 1 代谢组学在中药复方制剂研究中的应用

Table 1 Application of metabolomics in study of traditional Chinese medicine compound preparations

中药复方	疾病	研究技术	代谢组学类别	代谢途径或调节途径	文献
逍遥散	抑郁症	¹ H-NMR	非靶向	精氨酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢、谷氨酸代谢、谷氨酰胺代谢等	14
芪桂银方	碳青霉烯类耐药铜绿假单胞菌感染	UHPLC-LC-MS	非靶向	苯丙氨酸代谢、维生素 K1 表达、DL-乳酸表达	22
柴胡桂枝干姜汤	肠易激综合征	UHPLC-Q-TOF-MS	非靶向	N-乙酰色氨酸代谢、L-精氨酸代谢、丙二酰肉碱代谢、庚二酰肉碱代谢等	23
人参-附子	心力衰竭	UPLC-QTOF/MS	非靶向、靶向	嘌呤代谢、嘧啶代谢、烟酸和烟酰胺代谢、花生四烯酸代谢、色氨酸代谢	24
桃红四物汤	冠心病	UPLC-MS/MS	非靶向	脂肪酸代谢、葡萄糖代谢、花生四烯酸代谢和甘油磷脂代谢、氨基酸代谢	25
	血虚血瘀证	UHPLC-MS	非靶向	氨基酸代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢等	26
二陈汤	血脂异常痰湿内阻证	LC-MS	非靶向	三羧酸循环、色氨酸代谢、丝氨酸代谢、血清谷氨酰胺代谢、嘧啶代谢、丙酮酸代谢	27
二妙丸	高尿酸症	UHPLC-UV-QQQ-MS、UHPLC-Q/TOF-MS	非靶向、靶向	苯丙氨酸代谢、甘油磷脂代谢、色氨酸代谢等	28
芍药-柴胡	抑郁症	UPLC/HRMS	非靶向	瓜氨酸代谢、L-谷氨酸代谢、L-谷氨酰胺代谢等	30
补中益气汤	脾虚	UPLC-Q-TOF-MS	非靶向	初级胆汁酸的生物合成、亚油酸的代谢、苯丙氨酸代谢	31
二至丸	衰老	GC-MS/MS	靶向	三羧酸循环、糖酵解过程	32
清肺渗湿汤	哮喘	LC-MS	非靶向	精氨酸和脯氨酸代谢、嘧啶代谢、甘油磷脂代谢	33
血府逐瘀汤	冠心病	LC-MS	非靶向	精氨酸代谢、脯氨酸代谢、嘧啶代谢、能量代谢、牛磺酸和低牛磺酸代谢、内源性大麻素逆行信号通路、组氨酸代谢	34
连翘汤	溃疡性结肠炎	HPLC/Q-TOF-MS	非靶向	氨基酸代谢、脂肪代谢、能量代谢	35
薏苡附子败酱方	溃疡性结肠炎	UPLC-MS/MS	非靶向	甘油磷脂代谢、初级胆汁酸生物合成、二羧酸和乙醛酸代谢、脯氨酸和精氨酸代谢	36
枳实薤白桂枝汤	心肌缺血/再灌注损伤	UPLC-Q-TOF-MS	非靶向、靶向	能量代谢、氨基酸代谢	37
刺五加片	失眠	UPLC-Q-TOF-MS/MS	非靶向	色氨酸代谢、叶酸生物合成、苯丙氨酸代谢等	38
苏黄止咳胶囊	咳嗽变异性哮喘	GC-MS	非靶向	乳糖降解、半乳糖代谢、鞘脂代谢等	39
枳术汤	慢传递性便秘	LC-MS	靶向	肠道神经递质代谢	40
速效救心丸	急性心肌梗死	LC-MS、GC-MS	非靶向、靶向	鞘脂代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、亚麻酸代谢、花生四烯酸代谢	41

表 1 (续)

中药复方	疾病	研究技术	代谢组学类别	代谢途径或调节途径	文献
生姜泻心汤	腹泻	UPLC-MS	非靶向	牛磺酸和亚牛磺酸代谢、能量代谢、氨基酸代谢	42
四妙丸	类风湿性关节炎	UPLC-Q-TOF/MS	非靶向	花生四烯酸代谢、甘油磷脂代谢、色氨酸代谢、丙酮酸代谢、醚脂代谢	43
通督活血汤	腰椎管狭窄症	LC-MS	非靶向	嘌呤代谢、甾体激素生物合成和氨基酸代谢	44
黄芪-郁金	结直肠癌	LC-MS、GC-MS	非靶向	甘氨酸代谢、丝氨酸代谢、苏氨酸代谢	45
补血益母丸	育龄妇女贫血	LC-MS	非靶向	甘油磷脂代谢、醚脂代谢等	46
益肺散结丸	肺癌	UHPLC-Q/TOF-MS/MS	非靶向	亮氨酸代谢、缬氨酸代谢、泛酸代谢、辅酶 A 代谢等	47
枇杷润肺汤	哮喘	GC-MS/MS	非靶向	半乳糖代谢、三羧酸循环、甘氨酸代谢、丝氨酸代谢、苏氨酸代谢	48
复方苦参注射液	肺癌	LC-MS	非靶向	视黄醇代谢、甘油磷脂代谢、色氨酸代谢等	49

4 代谢组学的发展

代谢组学研究可以有效地表示药物进入生物体，机体受扰动后其内源性代谢物水平的动态变化情况，以确定该药物治疗特定疾病过程中作用的机体代谢途径，但单一代谢组学只能定性、定量地从化合物到代谢途径对中药的作用机制进行阐述，无法很好回答关于中药复方中与药效直接关联的指标性化合物在对机体的代谢调节过程中起何作用，及中药复方除了对机体代谢影响外，还对哪些生理过程产生影响等问题。为了更好地阐明上述问题，研究过程中需要多组学结合研究。肠道微生物与机体代谢密切相关，而中药制剂普遍为口服，这使消化道成为机体代谢中药的主要途径^[50]，将肠道微生物组学与代谢组学联合应用，或许更能厘清中药复方制剂在生物体内的变化及其作用后的机体代谢变化，He 等^[26]通过代谢组学研究发现桃红四物汤治疗气滞血瘀证的 23 种差异代谢物后，联合肠道微生物群研究，指出经桃红四物汤干预后，大鼠肠道微生物有益菌丰度增加，致病菌丰度减少。肠道微生物群与差异代谢产物的相关性分析表明，二者通过相互调节影响大鼠血液系统，改善血虚血瘀证，进一步解释了桃红四物汤作用机制。Wang 等^[43]对四妙丸在治疗类风湿性关节炎过程中的作用代谢途径进行研究，发现四妙丸主要通过影响大鼠机体花生四烯酸代谢和色氨酸代谢来调整其体内代谢物质水平，又通过网络药理学、蛋白质组学和代谢组学多组学结合分析，最终确定了四妙丸通过炎症途径发挥治疗作用，黄柏碱是其药效物质之一。多组学技术弥补了单一代谢组学的部分局限，近年来，计算机技术的引入为代谢组学研究提供了启示，如网络

药理学、分子对接技术等方法，通过“理论预测-试验验证”相印证，为更全面的揭示中药“辨证论治”的核心过程提供科学依据。如网络药理学常用于建立“药物-靶点-疾病”网络，并结合系统生物学等方法以研究中药作用机制^[51]，为代谢组学研究差异代谢物和显著代谢途径提供理论预测，而代谢组学的结合则为其提供了实验验证。代谢组学联合多方法研究在中药复方制剂研究中的情况见表 2。

5 代谢组学面临的挑战

代谢组学已经广泛运用于中医药研究并取得了诸多进展，进一步揭示了中药和中成药的 Q-Marker 及作用机制，还为中医“辨证施治”思想提供了现代医学角度的理解启发，但仍面临一些挑战。

5.1 多数代谢分析结果缺乏实验验证

代谢组学研究基于数据库开展研究，目前常用的数据库有 KEGG、人类代谢组数据库等，由于各数据库收录容量和范围、各实验室对数据库的选择等原因，可能导致研究过程中因为无法完全筛选出药物作用的全部生物标志物，使得研究结果出现局限甚至重要代谢途径遗漏问题；数据的筛选标准亟待优化。在对代谢数据进行 PCA、偏最小二乘判别分析或正交偏最小二乘判别分析等分析中，关键变量筛选标准的科学性还有待考察，如 VIP 值、样本间代谢物浓度的差异倍数、代谢物在对比的 2 组中是否存在显著差异的表达量，很多研究采用 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 、差异倍数 > 1 ^[35-36]结合进行分析。在实践中，有时会根据筛选出的差异代谢物数量进行自主调整筛查标准，如 Liang 等^[45]在对黄芪-郁金抗肿瘤转移作用进行代谢组学研究时，血清差异脂质代谢物筛选过程选用的标准为 $P < 0.05$ 、差异倍数 ≥ 1.2

表 2 代谢组学联合多方法研究在中药复方制剂研究中的情况

Table 2 Metabolomics combined with multi-method study in study of traditional Chinese medicine compound preparations

代谢组学类别	多方法结合情况	多方法结合优势	文献
非靶向	“功效组”策略、宏观行为学、肠道微生物组学	对中药复方按功效拆方研究, 实验验证中药复方配伍科学性; 揭示机体代谢变化与肠道菌群变化的密切联系	14
非靶向	肠道微生物组学	可解释肠道菌群与机体代谢的密切关系, 深度挖掘肠道菌群对机体代谢影响, 利于揭示药物作用病灶位于消化系统的疾病的机制	22,26,33
非靶向	网络药理学	可建立“代谢物-靶点-组分”交互网络, 验证药物作用的关键靶点和机制	24,34
非靶向	血清药物化学、分子对接技术	可通过外源性化学成分差异与内源性代谢产物差异相关性分析, 从代谢组学与血清药物化学相结合的整体视角剖析联合用药机制; 通过差异化学成分与关键代谢酶的分子对接, 验证不同的外源化学成分对差异内源代谢产物的调控作用	30
非靶向	血清药物化学、网络药理学	通过代谢组学筛选显著内源性差异代谢物, 通过网络药理学预测靶标, 建立“内源性物质-靶标-外源性物质”关联网络筛选中药复方生物活性成分	31
靶向	受试者工作特征曲线、层次分析法	可建立一种有助于中药复方协同效应的量化和探索其物质基础的定量评价方法, 通过观察由特定代谢产物组成的区分受试样本的多项指标, 筛选出中药复方制剂的最有效提取物	32
非靶向	行为学、能量代谢学	可通过动物行为和每日能量代谢变化系统评价药物疗效	38
非靶向	肠道微生物组学、血清药物化学	可建立基于斯皮尔曼相关系数的多尺度、多因子分析研究网络, 为深度探索药物作用的代谢机制和活性有效成分提供方法	42
非靶向	蛋白质组学、网络药理学	从蛋白质水平、代谢水平、药物作用机制及活性成分 3 个水平全面综合研究药物的作用机制, 分析和初步验证中药复方干预治疗效果相关度最高的生物学途径	43
非靶向	网络药理学、分子对接技术、流式细胞术、聚合酶链式反应技术	可通过构建“疾病-靶点-药物组分”网络研究潜在目标基因, 而流式细胞术和聚合酶链式反应技术则有助于观察药物对对应疾病的影响	45
非靶向	高效液相色谱法、网络药理学、生物信息学	通过网络药理学及高效液相色谱法预测和鉴定中药复方中的活性物质, 生物信息学可以帮助理解代谢组学筛选富集的差异代谢物和代谢途径	47
非靶向	血清代谢组学、网络药理学、分子对接技术	采用网络药理学, 构建药物作用的“成分-靶点-疾病”网络, 分子对接可验证潜在活性成分与核心靶点的相互作用关系, 血清代谢组学与网络药理学联合分析可构建“代谢物-反应-酶-基因”网络	49

或 ≤ 0.83 , 但这些限定范围还缺乏一定文献支撑。

5.2 代谢分析结果不可回溯

中药成分复杂, 且不同中药材间存在许多交叉有效成分, 代谢组学研究虽然可以揭示中药复方在治疗特定疾病过程中的差异代谢物和其作用的代谢途径, 但其筛选出的差异代谢物无法具体回溯到中药复方某一个或少数几味中药材中。有研究者通过“功效组”研究策略解决上述问题, 将中药复方拆解为几个中药材组合作为多个药效组进行研究^[38], “拆方”思路或许为更好地将代谢组学研究运用在对中药复方中某一味或几味中药材的物质基础和作用途径研究提供启示。

5.3 研究结果存在“万能途径”现象

代谢组学从代谢途径上表征药物作用后的差

异代谢物和其作用的一些特定代谢途径, 但由于已知的代谢途径及其研究仍有限, 现有研究中基于代谢组学的中医药研究结果通常指向几个普遍的代谢途径, 如能量代谢^[34,37]、牛磺酸和低牛磺酸代谢^[14,26,34,42]等, 且由表 1 可见大部分中药复方制剂均作用了患病动物的各类氨基酸代谢, 难以更深层次阐释药物的作用机制, 譬如药物如何影响生物体细胞中 mRNA 转录、基因表达等更微观层次。

5.4 差异代谢物存在部分缺失的可能

代谢组学研究通常基于单分析技术展开, 但单个分析技术最多只能表征几百种代谢物, 低覆盖率较低, 同时非靶向代谢组学中常见代谢物鉴定的不确定性使得非靶向代谢组学面临检测结果是否可靠和所得差异代谢物数量是否足够的问题^[52-53], 而靶

向代谢组学强调特定代谢途径或代谢产物,无法全面覆盖整个代谢网络。可能导致遗漏重要的代谢途径或产物,限制了对整体代谢调控的理解。值得注意的是,靶向代谢组学用的生物样本的选择和处理过程可能会产生一些变异性和误差,从而导致所关注的代谢物流失,影响研究结果。靶向代谢研究主要关注代谢物的变化和代谢途径的调控,缺乏对代谢物功能和代谢途径的深入研究,此外,某些样本(如靶向病灶样本)的获取可能具有一定的困难,限制了靶向代谢研究的范围和可行性。因此,将代谢组学结果与生物学功能和疾病机制相结合仍然充满挑战。

5.5 其他

由于动物活体的代谢本身就保持动态变化,实验过程中动物的饲养环境、饲养过程、饲料的饲喂量和种类、实验过程的操作方法等均有可能对动物产生刺激而导致其体内代谢水平发生明显波动,研究所用动物类别及其性别也可能对研究结果产生影响。在代谢组学湿法实验阶段,应当尽量保证饲养条件一致,严格遵照《实验动物管理条例》等规定科学饲养实验动物,以避免非用药因素导致的显著动物代谢变化。

6 结语与展望

代谢组学研究在中医药领域研究方兴未艾,但仍面临一些挑战,可以通过以下方式完善研究方案。(1)整合和更新众多代谢研究数据库,形成更完备的数据库基础,避免研究中重要代谢物和代谢途径的遗失;(2)合理引入更多的系统生物学方法或技术,完成多组学、多方法、多技术整合应用,扩大代谢物鉴定覆盖面,深度挖掘中药复方制剂中复杂的衍生物和研究对象代谢物间的关系,深入探究代谢物生物功能,从而达到理论预测与试验验证相互印证的目的^[54];(3)基于中药复方制剂配伍的多样性和复杂性,合理运用“中药组学”和“功效组”等研究策略,将中药复方“拆方分组”,揭示与某一条代谢途径直接相关的药材,溯本清源;(4)开展非靶向与靶向代谢组学结合研究,既可以更大程度理解机体受扰动后的整体代谢变化,还可以将变化显著的差异代谢物进行靶向代谢研究,关注其变化和对特定代谢途径的调控影响,避免研究中出现偏颇和遗漏。

代谢组学研究药物作用于机体后、生物体内发生的代谢变化,从而实现对药物作用机制的追踪。可以通过简便获取生物流体样品的方式,评估整体

代谢谱,发现和区分病变与非病变组织^[55],回答了“中药进入生物体内后,如何影响和调控机体代谢物水平”的问题,使中药“整体调控”的认知和研究走向更精微的水平,为揭开中药内涵的神秘本质提供新的思路和研究工具。中药研究与代谢组学相结合,有望在中药质量评价、中药药效研究、中药复方配伍内涵和作用机制阐释及推进中药复方制剂临床运用等方面取得重要进展。代谢组学自兴起的十余年内发展如火如荼,成为研究者研究药物作用机制的热点工具,在利用代谢组学进行研究的同时,还存在实验验证不足、研究质量良莠不齐、范围覆盖不全等问题,亟须修订科学规范、严谨统一的代谢组学研究规程和评价标准,出台相关技术指导原则,以促进该学科的健康发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家药品监督管理局.《药品注册管理办法》(国家市场监督管理总局令第27号)[EB/OL].(2020-01-22)[2023-09-22].https://www.gov.cn/gongbao/content/2020/content_5512563.htm.
- [2] 帅丽霞,陈旺,袁袁,等.基于指纹图谱和网络药理学对经典名方二冬汤质量标志物(Q-Marker)预测分析[J].中草药,2022,53(18):5682-5691.
- [3] Nicholson J K, Lindon J C. Metabonomics [J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [4] 崔芙岩,杨佳颖,王志刚,等.代谢组学在中医药领域的应用与展望[J].中草药,2022,53(14):4512-4526.
- [5] Wang P C, Wang Q H, Yang B Y, et al. The progress of metabolomics study in traditional Chinese medicine research [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(7): 1281-1310.
- [6] 陈佳俊,周玉枝,秦雪梅.代谢组学技术在生物医药领域研究中的创新与应用[J].药科学报,2023,58(8):2271-2282.
- [7] 杨澜,刘明飞,孙成宏,等.基于肠道菌群与肠道代谢探究脉络舒通丸对大鼠股骨骨折引起的后肢肿胀的治疗作用及机制[J].中国中药杂志,2023,48(17):4711-4721.
- [8] 刘慧宁,刘磊,于爽,等.基于UPLC-HRMS的大鼠体内栀子多成分序贯代谢研究[J].中草药,2023,54(18):5980-5992.
- [9] Fox B W, Schroeder F C. Toward spatially resolved metabolomics [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(10): 1039-1040.
- [10] 王希,汤冬娥,蔡晚霞,等.空间代谢组学研究进展[J].临床医学工程,2021,28(S1):36-40.
- [11] Dunn W B, Broadhurst D I, Atherton H J, et al. Systems

- level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Chem Soc Rev*, 2011, 40(1): 387-426.
- [12] Wang T Y, Liu J J, Luo X L, *et al.* Functional metabolomics innovates therapeutic discovery of traditional Chinese medicine derived functional compounds [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 224: 107824.
- [13] 徐霞. 参苓白术散药动学及其治疗脾虚湿困型溃疡性结肠炎的作用机制 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
- [14] Liu X J, Wu X L, Wang S Y, *et al.* Gut microbiome and tissue metabolomics reveal the compatibility effects of Xiaoyaosan on depression based on “gut-liver-kidney” axis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 111: 154628.
- [15] Chen G H, Zhou S Q, Chen Q, *et al.* Tryptophan-5-HT pathway disorder was uncovered in the olfactory bulb of a depression mice model by metabolomic analysis [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 965697.
- [16] 刘荣华, 俞洪华, 殷茜茜, 等. LC-MS 在中药代谢组学中的应用进展 [J]. 亚太传统医药, 2021, 17(9): 183-191.
- [17] Lao Y M, Jiang J G, Yan L. Application of metabonomic analytical techniques in the modernization and toxicology research of traditional Chinese medicine [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 157(7): 1128-1141.
- [18] Ren J L, Yang L, Qiu S, *et al.* Efficacy evaluation, active ingredients, and multitarget exploration of herbal medicine [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2023, 34(3): 146-157.
- [19] Griffin J L. Twenty years of metabonomics: So what has metabonomics done for toxicology? [J]. *Xenobiotica*, 2020, 50(1): 110-114.
- [20] 赵杰, 冯素香. 空间代谢组学在中药研究中的应用 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6569-6579.
- [21] Li C, Jia W W, Yang J L, *et al.* Multi-compound and drug-combination pharmacokinetic research on Chinese herbal medicines [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2022, 43(12): 3080-3095.
- [22] Cui X R, Xu X L, Hu Y H, *et al.* Mechanism of Qiguiyin decoction treats pulmonary infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* based on gut microbiota and metabolomics [J]. *Infect Drug Resist*, 2023, 16: 3073-3084.
- [23] Li M M, Zhu J W, Liu X, *et al.* Chaihu-Guizhi-Ganjiang Decoction is more efficacious in treating irritable bowel syndrome than Dicetel according to metabolomics analysis [J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 139.
- [24] Chen X F, Chen Y L, Xie S Y, *et al.* The mechanism of Renshen-Fuzi herb pair for treating heart failure-Integrating a cardiovascular pharmacological assessment with serum metabolomics [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 995796.
- [25] Tao T Q, He T, Mao H M, *et al.* Non-targeted metabolomic profiling of coronary heart disease patients with Taohong Siwu Decoction treatment [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 651.
- [26] He Y, Jiang H J, Du K Q, *et al.* Exploring the mechanism of Taohong Siwu Decoction on the treatment of blood deficiency and blood stasis syndrome by gut microbiota combined with metabolomics [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 44.
- [27] Chen J, Ye C, Yang Z, *et al.* Erchen Decoction to reduce oxidative stress in dyslipidemia phlegm-dampness retention syndrome mice: *in vivo* mechanism revealed by metabolomics (liquid chromatography-mass spectrometry) [J]. *Phytomedicine*, 2023, 115: 154808.
- [28] Gu C H, Hu X W, Shan B X, *et al.* Targeted and non-targeted metabolomics uncovering the effects of Er-Miao-Wan formula on rats with hyperuricemia [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 226: 115246.
- [29] 字磊, 李艳娟, 李艳芹, 等. 中药复方配伍机制研究方法/策略进展 [J]. 中国药房, 2023, 34(11): 1393-1398.
- [30] Chen C C, Tian J S, Gao X X, *et al.* An integrated strategy to study the combination mechanisms of *Bupleurum chinense* DC and *Paeonia lactiflora* Pall for treating depression based on correlation analysis between serum chemical components profiles and endogenous metabolites profiles [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 305: 116068.
- [31] Hu L F, Chen J L, Duan H F, *et al.* A screening strategy for bioactive components of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang regulating spleen-qi deficiency based on “endobiotics-targets-xenobiotics” association network [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116605.
- [32] Feng L, Gao M T, Zhai Y Y, *et al.* A novel strategy based on targeted cellular metabolomics for quantitatively evaluating anti-aging effect and screening effective extracts of Erzhi Wan [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1178: 122857.
- [33] Hu H B, Zhao G J, Wang K, *et al.* Study on the mechanism of Qing-Fei-Shen-Shi decoction on asthma based on integrated 16S rRNA sequencing and untargeted metabolomics [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2023, 2023: 1456844.
- [34] Yang Y, Su C, Zhang X Z, *et al.* Mechanisms of Xuefu Zhuyu Decoction in the treatment of coronary heart disease based on integrated metabolomics and network pharmacology approach [J]. *J Chromatogr B Analyt*

- Technol Biomed Life Sci*, 2023, 1223: 123712.
- [35] Bai J Y, Xiong T T, Wang X, *et al.* Potential mechanisms of Lian-Zhi-Fan solution for TNBS-induced ulcerative colitis in rats via a metabolomics approach [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1014117.
- [36] Liu M H, Wang Z H, Liu X, *et al.* Therapeutic effect of Yiyi Fuzi Baijiang formula on TNBS-induced ulcerative colitis via metabolism and Th17/Treg cell balance [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 309: 116301.
- [37] Lin C H, Sang Q N, Fu Z B, *et al.* Deciphering mechanism of Zhishi-Xiebai-Guizhi Decoction against hypoxia/reoxygenation injury in cardiomyocytes by cell metabolomics: Regulation of oxidative stress and energy acquisition [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2023, 1216: 123603.
- [38] Liu H D, Yang L, Wan C L, *et al.* Evaluation of the pharmacological effects and exploration of the mechanism of traditional Chinese medicine preparation Ciwujia Tablets in treating insomnia based on ethology, energy metabolism, and urine metabolomic approaches [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1009668.
- [39] Jiang H, Bai Z Y, Ou Y Y, *et al.* β -Hydroxybutyric acid upregulated by Suhuang antitussive capsule ameliorates cough variant asthma through GSK3 β /AMPK-Nrf2 signal axis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 307: 116013.
- [40] Wen Y, Zhan Y, Tang S Y, *et al.* Zhizhu Decoction alleviates slow transit constipation by regulating aryl hydrocarbon receptor through gut microbiota [J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 111-124.
- [41] Liao J Y, Zhang Y H, Ma C, *et al.* Microbiome-metabolome reveals that the Suxiao Jiuxin pill attenuates acute myocardial infarction associated with fatty acid metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 312: 116529.
- [42] Cui Y T, Zhang C E, Zhang X Q, *et al.* Integrated serum pharmacology and metabolomics reveal potential effective components and mechanisms of Shengjiang Xiexin Decoction in the treatment of *Clostridium difficile* infection [J]. *Heliyon*, 2023, 9(5): e15602.
- [43] Wang Y M, Zhang F F, Li X K, *et al.* Integrated multi-omics techniques and network pharmacology analysis to explore the material basis and mechanism of Simiao pill in the treatment of rheumatoid arthritis [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(12): 11138-11150.
- [44] Ji L H, Huang P, Wang Q, *et al.* Modulation of the biological network of lumbar spinal stenosis by Tongdu Huoxue Decoction based on clinical metabolomics [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1074500.
- [45] Liang Z Q, Bian Y, Gu J F, *et al.* Exploring the anti-metastatic effects of *Astragalus mongholicus* Bunge-*Curcuma aromatica* Salisb. on colorectal cancer: A network-based metabolomics and pharmacology approach [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154772.
- [46] Guo Y Y, Wang Y F, Deng Y, *et al.* Metabolomic mechanism and pharmacodynamic material basis of Buxue Yimu pills in the treatment of anaemia in women of reproductive age [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 962850.
- [47] Yang C Z, Guo W, Wang Y F, *et al.* Reduction in gefitinib resistance mediated by Yi-Fei San-Jie pill in non-small cell lung cancer through regulation of tyrosine metabolism, cell cycle, and the MET/EGFR signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116566.
- [48] Jie X L, Luo Z R, Yu J, *et al.* Pi-Pa-Run-Fei-Tang alleviates lung injury by modulating IL-6/JAK2/STAT3/IL-17 and PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway and balancing Th17 and Treg in murine model of OVA-induced asthma [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116719.
- [49] 游蓉丽, 黄玉荣, 毛睿, 等. 基于血清代谢组学与网络药理学探究复方苦参注射液治疗肺癌的作用机制 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2023, 28(9): 988-999.
- [50] Gong X, Li X, Bo A, *et al.* The interactions between gut microbiota and bioactive ingredients of traditional Chinese medicines: A review [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104824.
- [51] 潘迎志, 李青蔚. 计算机技术在中药活性成分发现过程中的应用 [J]. *成都大学学报: 自然科学版*, 2023, 42(3): 234-238.
- [52] Ten-Doménech I, Ramos-García V, Piñeiro-Ramos J D, *et al.* Current practice in untargeted human milk metabolomics [J]. *Metabolites*, 2020, 10(2): 43.
- [53] 刘月涛, 胡英还, 秦雪梅. 非靶标代谢组学研究的影响因素分析 [J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(1): 86-93.
- [54] 贺英俊, 刘博文, 刘前呈, 等. 中药方剂物质基础及质量控制探析 [J]. *成都大学学报: 自然科学版*, 2023, 42(1): 1-5.
- [55] Sun H, Zhang A H, Wang X J. Potential role of metabolomic approaches for Chinese medicine syndromes and herbal medicine [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(10): 1466-1471.