

高通量筛选技术在中草药活性成分发现中的应用进展

刘琳^{1,2}, 车育彦^{1,3}, 朱龙龙^{1,4}, 陈美霞^{1,5}, 蔡龙^{1,5}, 陈国顺³, 王晶^{1,5*}

1. 北京市农林科学院 畜牧兽医研究所, 北京 100097

2. 延边大学农学院, 吉林 延吉 133000

3. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070

4. 河南科技大学动物科技学院, 河南 洛阳 471023

5. 北京市农林科学院-美国俄克拉荷马州立大学动物科学联合实验室, 北京 100097

摘要: 中草药作为我国传统医药的重要组成部分, 蕴含丰富的生物活性成分, 是新药研发和疾病治疗的宝贵资源。但因其成分多样、活性复杂, 使传统筛选鉴定方法面临效率低、通量小及难以识别微量活性成分等局限性。高通量筛选技术 (high-throughput screening, HTS) 凭借高效性、自动化、大规模处理能力和成本效益等优势, 成为快速鉴定潜在活性成分的有效手段, 近年来已成为推动中药现代化研究的重要技术支撑。通过系统分析国内外最新研究文献, 从分子、细胞及动物 3 个维度全面阐述高通量筛选技术在中草药活性成分研究中的应用进展。此外, 还评估了该技术在中药领域的应用价值与现存挑战, 并对未来跨学科融合和技术革新的发展趋势进行了展望, 以期对中药活性成分的筛选研究提供理论依据和方法学参考。

关键词: 药物筛选; 高通量筛选技术; 中草药; 活性成分; 筛选模型

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)23-8860-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.034

Advances in application of high-throughput screening technology for discovery of bioactive compounds from traditional Chinese medicine

LIU Lin^{1,2}, CHE Yuyan^{1,3}, ZHU Longlong^{1,4}, CHEN Meixia^{1,5}, CAI Long^{1,5}, CHEN Guoshun³, WANG Jing^{1,5}

1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China

2. College of Agriculture, Yanbian University, Yanbian 133000, China

3. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

4. College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471023, China

5. Joint Laboratory of Animal Science, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences-Oklahoma State University, Beijing 100097, China

Abstract: Chinese herbal medicine, as an important component of traditional Chinese medicine, contains abundant bioactive compounds and serves as a valuable resource for new drug development and disease treatment. However, due to the diversity and complexity of its components, traditional screening and identification methods suffer from limitations such as low efficiency, limited small throughput, and difficulty in detecting trace active constituents. High-throughput screening (HTS) technology combines high efficiency, automation, large-scale processing capacity, and cost-effectiveness, making it a powerful tool for rapidly identifying potential bioactive compounds. In recent years, it has become an important technological driver in promoting the modernization of traditional Chinese medicine research. This review systematically analyzes recent domestic and international literature to comprehensively elaborate on the application of HTS in the research of bioactive components from Chinese herbal medicine across molecular, cellular, and *in vivo* dimensions. Furthermore, it assesses the application value and existing challenges of this technology in

收稿日期: 2025-05-02

基金项目: “十四五”重点研发计划专项 (2022YFD130040311); 北京市农林科学院创新能力建设专项 (KJCX20251005, KJCX20240339); 北京市农林科学院国际科技合作平台建设项目 (GHPT2025-03)

作者简介: 刘琳, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 17370209146@163.com

*通信作者: 王晶, 女, 博士, 研究员, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: wangjing976119@163.com

the field of traditional Chinese medicine, and offers perspectives on future development trends involving interdisciplinary integration and technological innovation. This aims to provide a theoretical foundation and methodological reference for screening bioactive components in traditional Chinese medicine.

Key words: drug screening; high-throughput screening technology; Chinese herbal medicine; bioactive components; screening models

药物筛选是指从大量的化合物中筛选出具有潜在治疗价值的先导化合物,通过生物活性和药理作用检测评价其药用前景,是药物研发的核心环节^[1]。随着药物分子库快速扩大和作用靶点急剧增加,传统药物筛选方法效率低下、难以应对多靶点需求等缺陷日益凸显。为此,药物筛选技术逐步向高通量筛选(high throughput screening, HTS)方向发展。HTS 诞生于 20 世纪末期,以分子水平或细胞水平实验为基础,融合药理学、生物学、计算机及自动化控制技术,实现对药物快速、高效、规模化筛选,现已成为发现新药物的重要途径^[2-5]。

截至 2024 年 4 月,我国中药资源达 18 817 种,其中药用植物 15 321 种,占中药资源总种类数的 81.42%,是新药研发的重要来源^[6]。中草药活性成分丰富且因药而异,例如肉苁蓉包含苯乙醇苷类、环烯醚萜类(含益母草苷、红景天苷、肉苁蓉素等)、木脂素类等^[7-8];金银花则包含黄酮类(含木犀草苷、苜蓿苷、芦丁等)、挥发油类、有机酸类(含绿原酸、异绿原酸、原儿茶酸、咖啡酸等)和三萜皂苷类等^[9]。但这种种类繁多、成分复杂的特性,对筛选技术提出了更高要求。而高通量筛选技术凭借微量、高效、大批量筛选等优势,在中草药活性成分筛选领域的

应用日益广泛^[3]。本文旨在系统综述 HTS 技术的概念、研究流程、分类及其在中草药活性成分研究中的应用,重点分析不同类型 HTS 技术的特点及常用研究模型的适配场景,并分析该技术在中草药活性成分筛选中的优势与不足,以期 HTS 技术在中草药活性成分筛选中的应用研究提供参考依据。

1 高通量筛选技术的概念、研究流程 and 基本要求

高通量筛选技术是指以药物作用的分子靶点(如酶、受体、离子通道)^[10-12]、正常和病理细胞模型与模式动物疾病模型等为基础^[13-14],以微孔板形式作为实验工具载体,通过自动化操作系统开展试验过程,并以灵敏快速的检测仪器采集实验结果数据,通过对数据的分析实现从数以万计样品中筛选出目标样本的高通量检测和分析技术体系。高通量筛选技术具有特异、高效、准确、快速的特点,近年来已在药物筛选和生物制品开发领域广泛应用。高通量筛选技术的研究步骤主要包括候选药物、活性成分样品库的选择和建立,分子、细胞及动物水平相关模型的构建,以及采用高效自动化的操作系统进行快速、高灵敏度的检测和运用先进的计算技术进行检测数据的分析和挖掘(图 1)。

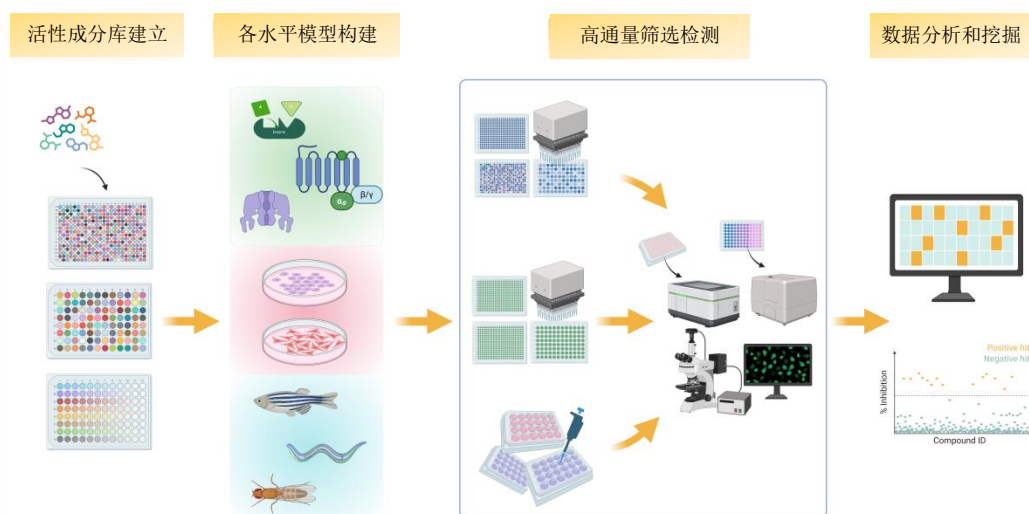


图 1 高通量筛选研究流程示意图

Fig. 1 Overview of high-throughput screening research

高通量筛选技术为确保实验的准确性和可靠性，需满足一系列基本特性。特异性（specificity）要求筛选体系仅对目标药物或生物活性物质产生响应，避免因非特异性结合导致的假阳性干扰，确保候选药物精准定位；灵敏性（sensitivity）决定了模型能否在药物微量作用的条件下，及时且准确地检测到药物对生物系统产生的微小变化，因此，在设计中需优化高灵敏度检测方法以捕捉药物作用的细微信号；稳定性（stability）是实验数据可靠的重要保障，强调从体外实验到动物模型全流程结果的重复性和一致性，以保证不同时间、不同批次的筛选数据可靠；可操作性（operability）通过微型化载体与自动化技术融合，简化操作流程并提高效率，便于大规模开展药物筛选工作^[5]；标准化（standardization）贯穿模型构建全流程，从靶点筛选、模型系统构建到实验操作规范，都需要遵循统一技术标准，以保障不同实验室研究数据的可比

性，为药物研发提供标准化技术支撑。

2 高通量筛选技术的分类

高通量筛选技术基于模型可分为分子水平、细胞水平及动物水平 3 大类，各水平包含不同的类型。分子水平的筛选模型根据生物分子类型主要分为受体、酶以及离子通道筛选模型^[15-17]。细胞水平筛选模型根据模型构建目的及应用场景不同，主要分为正常细胞模型和病理细胞模型^[18]。动物水平筛选模型根据是否有脊椎，主要分为脊椎动物（斑马鱼）、无脊椎动物（线虫、果蝇）模型。各分类水平的优缺点，所用检测技术手段和应用场景总结如下（表 1）。

2.1 分子水平筛选

分子水平 HTS 主要以酶、受体、离子通道等生物大分子为明确靶点，借助自动化系统并行开展大规模实验，该系统整合计算机及操作软件、自动化加样设备、反应体系控制处理设备、样品存放转运装置及结果检测仪器等核心模块^[5]，综合运用生物

表 1 不同水平和类型高通量筛选技术的特点及应用场景

Table 1 Characteristics and application scenarios of high-throughput screening technologies at different levels and types						
筛选水平	具体类型	优点	缺点	检测技术手段	应用场景	文献
分子水平	酶靶点	靶点明确，特异性高；可解析结合机制；成本低、通量高	模拟多靶点协同；无法反映代谢影响；对变构药物敏感性欠佳等	比色法、荧光法、质谱法等	代谢相关疾病药物筛选（如降糖药、调脂药）、抗炎药物筛选等	19-20
	受体靶点	可同步评估亲和力与信号转导效应；适用于多类受体；部分无需标记	忽略受体异聚化及通路交叉；放射性方法有隐患；报告基因响应慢等	放射性配体结合、荧光共振能量转移、报告基因检测、高内涵成像技术等	神经系统、内分泌及免疫系统药物筛选等	21-22
	离子通道靶点	关联细胞电生理功能，与生理活性相关；部分荧光法通量高	自动化膜片钳耗材昂贵；优质放射性标记配体有限等	放射性配体结合、离子通量测定法、荧光检测法、APC等	心血管疾病及神经系统疾病药物筛选等	23-24
细胞水平	正常细胞模型	构建简便、稳定性高，反映对正常细胞的影响	部分正常细胞体外培养难度高、增殖速度慢，单一细胞类型培养，缺乏多细胞协同及系统级调控模拟	报告基因检测、MTT法、流式细胞术等	细胞毒性检测、药物对正常组织细胞影响评估	25-27
	病理细胞模型	模拟疾病关键过程，与临床相关性较强	构建复杂、部分模型稳定性欠佳且成本较高等	报告基因检测、荧光共振能量转移、高内涵成像技术等	癌症、心血管疾病等病理组织细胞的影响评估	28-29
动物水平	斑马鱼	微型化筛选，高通量；繁育高效、成本低，胚胎透明，支持可视化；与人类基因同源性达 87%，临床预测价值高；皮肤渗透性强，操作简单	部分生理结构与人类差异较大；对部分药物的代谢途径与人类不同，可利用的突变株数量尚较有限等	荧光标记追踪、行为学分析、组织切片观察等	药物毒性筛选、药物致畸性检测、心脑血管和神经系统药物筛选等	30-33
	线虫	可以在微孔板中进行大规模培养和筛选。具有透明、易观察、控制精确、灵活集成和自动化	缺乏适应性免疫系统及典型炎症反应	自动化液体处理技术、微流控自动化、荧光检测法等	药物毒性筛选、神经退行性疾病、代谢性疾病等	34-36
	果蝇	在进化层面与哺乳动物更为接近	与人类在神经结构及行为模式上存在显著差异，不适于液态培养	比色法、行为学分析、荧光检测法、等温滴定量热法等	神经系统疾病、泌尿系统疾病等	37-39

化学技术与生物物理技术,检测化合物与靶点的结合、抑制或激活作用^[40]。酶靶点检测以催化活性为核心,侧重生物化学技术[如荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)、荧光偏振(fluorescence polarization, FP)]与生物物理技术[如表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)、等温滴定量热法(isothermal titration calorimetry, ITC)]的联用^[41],通过底物转化率或构象变化评估活性变化;受体靶点检测强调配体结合与信号转导的双重验证,采用生物化学技术(如放射性配体结合)同步监测结合亲和力与第二信使动态^[21-22];离子通道检测则依赖膜片钳、钙成像等生物化学技术,与荧光淬灭法等生物物理技术联用,实现通道活性与离子转运的同步监测^[42-44]。这类筛选模型凭借明确的药物作用靶点,展现出优异的特异性与准确性,通过该方法进行筛选,能够直接获取药物作用机制的相关信息^[5]。但因该方法聚焦单一靶点,难以模拟体内多靶点协同作用的复杂场景,且无法反映药物经体内代谢后活性的变化,上述局限性可能影响筛选结果的全面性。

2.2 细胞水平筛选

细胞水平 HTS 以完整细胞为研究对象,系统评估药物对细胞表型(如增殖、凋亡、迁移^[45-46])及功能(如信号通路调控、细胞器功能^[47])的影响。其 HTS 检测主要借助荧光探针、液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)、报告基因检测法等高灵敏检测手段及自动化系统(含自动化成像系统)^[48-50]。根据模型构建目的及应用场景,细胞水平筛选模型分为正常细胞模型和病理细胞模型。其中,正常细胞模型以正常组织来源的细胞(如正常细胞系、原代正常细胞)为基础构建,用于评估化合物对生理状态下细胞生长、功能及形态的影响,该模型构建简便、稳定性高,能直接反映化合物对正常状态细胞的潜在影响,但无法模拟疾病状态及微环境。病理细胞模型基于特定病理过程构建,用于模拟疾病环节并评估化合物的干预效果,可针对性模拟疾病关键过程,筛选结果与临床治疗相关性更强,但构建复杂、部分模型稳定性欠佳且成本较高。该技术相比动物实验更经济、重复性强、周期短,同时通过人体细胞或细胞系的体外通路测定,可减少并替代昂贵的体内实验,提升效率并降低动物使用量。但其局限性也不容忽视,

体外实验所反映的疗效无法完全等同于体内真实情况,仅能作为体内实验的验证手段^[51]。

2.3 动物水平筛选

动物水平 HTS 是以动物整体为观察对象,通过整合机体各系统的相互作用,系统评估药物的整体效应,进而验证其药理作用及药用价值。其检测手段包括荧光标记追踪、行为监测、生理指标测量等^[52]。目前,应用较广泛的模式动物有斑马鱼 *Danio rerio* Hamilton.、秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* Maupas.及果蝇 *Drosophila melanogaster* Meigen.等^[53]。与分子、细胞水平筛选相比,该模型的核心优势在于更接近体内生理条件,能更真实地反映药物对机体表型(如活动强度、摄食量等)的变化,可在一定程度上弥补细胞模型的局限^[17],但同时也存在物种差异导致结果向人体转化受限的问题,且因涉及活体动物,还面临突出的伦理争议。

3 高通量筛选技术的应用

3.1 分子水平药物筛选模型的应用

3.1.1 基于酶的 HTS 模型 酶是分子水平药物筛选的核心靶点之一,其活性异常与多种疾病密切相关^[54]。基于酶的 HTS 模型通过监测酶促反应中底物消耗或产物生成的变化,可快速识别调控酶活性的小分子(激活剂、抑制剂等),在疾病治疗药物研发中应用广泛^[55-56]。例如在抗新冠病毒药物研发中,成功发现了基于天然产物、针对病毒复制关键蛋白酶 Mpro 的抑制剂^[57-58]。其中,闫干干等^[58]通过建立基于比色法的 Mpro 抑制剂 HTS 模型,以 TSAVLQ-pNA 为底物,检测 405 nm 处 pNA 水解产物的吸光度变化,成功从天然产物库中筛选出 6 个活性化合物。其中,白果新酸(GA13:0)表现出显著的竞争性抑制活性,为开发新型抗病毒药物提供了先导化合物。这种基于比色法的检测技术操作简便、成本低且结果稳定性强,能够满足 HTS 模型可操作性和稳定性的核心要求,不过,该方法对微量成分的捕捉能力不足,在灵敏性上存在局限。因此,在抗流感药物筛选中,丁一迪等^[59]采用更为灵敏的高分辨活性轮廓分析技术(high-resolution bioassay profiling, HRBP)构建了神经氨酸酶(neuraminidase, NA)抑制剂筛选平台,以 4-MUNANA 荧光探针底物检测 NA 酶解后释放的 4-MU 荧光信号,从 148 种中药提取物中筛选出对 NA 抑制达 92%的姜黄提取物,并从姜黄提取物中筛选出 8 个具有 NA 抑制作用的活性成分。通过质谱结构鉴定,明确其中 7

个为姜黄素类化合物,经进一步体外活性测试与分子对接实验证实,这些活性成分可通过阻断 NA 活性发挥抗流感病毒作用。

3.1.2 基于受体的 HTS 模型 受体功能异常或信号转导紊乱与多种疾病密切相关,因此受体也是药物研发的重要靶点。在糖尿病治疗领域,Qin 等^[60]团队开发了 GLP-1 受体激动剂筛选平台。该平台采用 tGFP 标记的 GLP-1 受体细胞结合高内涵成像技术,对 100 种中药提取物进行平行检测,通过定量分析激动剂诱导的受体内存及荧光斑形成过程直观反映受体激活状态,快速锁定具有 GLP-1R 激动剂活性的黄芪和三七,显著缩短了候选分子的初筛周期。在自身免疫病领域,狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)的发病机制与 Toll 样受体 7(toll-like receptor 7, TLR7)信号通路异常激活密切相关,赵越等^[61]针对这一关键靶点,构建了基于 HEK-Blue™ hTLR7 细胞系的 HTS 体系。该细胞系稳定表达人 TLR7 基因及分泌型胚胎碱性磷酸酶(secreted embryonic alkaline phosphatase, SEAP)报告基因系统,当 TLR7 被特异性配体 R848 激活后,通过 NF- κ B 通路诱导 SEAP 表达,而 SEAP 水平变化可直接反映抑制剂对 TLR7 活性的阻断效果,通过 QUANTI-Blue 显色法检测 SEAP 水平可量化反映 TLR7 活性。利用该体系从 142 种天然产物中筛选出具有强效抑制 TLR7 异常活化的葫芦素 B,为 LN 治疗提供了潜在药物。上述研究证实了受体 HTS 技术解析中药多成分-受体相互作用的精准性,凸显其在代谢病、自身免疫病等领域的关键作用。

3.1.3 基于离子通道的 HTS 模型 离子通道是细胞膜上的关键蛋白复合物,在维持细胞离子稳态和信号转导中发挥重要作用^[62]。其功能异常与多种疾病相关,包括心血管疾病、神经系统疾病等。张耀方^[63]基于碘离子(I⁻)内流荧光淬灭原理,构建了稳定转染囊性纤维化跨膜转导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, CFTR)及荧光蛋白的细胞筛选模型,从 500 种草药 40 000 种组分中精准筛选出白藜芦醇二聚体和白藜芦醇四聚体,二者呈剂量相关性抑制野生型及突变型 CFTR 通道,且白藜芦醇二聚体抑制可逆、白藜芦醇四聚体不可逆,体内实验显示其可抑制小鼠小肠液体分泌,为囊性纤维化等相关疾病提供了新型抑制剂及方法学参考。类似的,针对 CFTR 通道的筛选,Luan 等^[64]建立了基于荧光淬灭的细胞 HTS 系

统,通过监测 YFP-H148Q 荧光蛋白对碘离子内流的淬灭效应,从 3.4 万个中药提取物中鉴定出冬凌草 *Rabdosia rubescens* 有效成分冬凌草甲素(oridonin),该成分可剂量相关性不可逆抑制 CFTR 通道介导的氯离子转运,在小鼠闭环模型中,冬凌草甲素显著减少霍乱毒素诱导的肠道液体分泌。这一结果表明,冬凌草甲素可能是开发霍乱毒素诱发分泌性腹泻治疗新药的良好候选化合物,同时也进一步验证了其 CFTR 通道的调控活性。上述研究均借助 HTS 技术靶向 CFTR 通道开展筛选,精准获得调控该通道的中药活性成分,为相关疾病研究及药物开发提供了有效物质与实验依据。

3.2 细胞水平药物筛选模型的应用

3.2.1 基于正常细胞的 HTS 模型 正常细胞 HTS 模型以非疾病状态细胞为筛选载体,保留了细胞固有的生理特征、代谢途径及功能表型,可直接反映化合物对正常细胞生长状态、功能活性及生理过程的潜在影响,是评估化合物调节效应的重要工具。Sherman 等^[27]通过建立诱导多能干细胞(hiPSC)分化神经元的 HTS 模型,借助高内涵成像技术定量分析神经元突起形态参数,从 4 421 种生物活性小分子中筛选出包括长链饱和脂肪酸在内的一系列能够调节轴突生长的天然产物,为神经再生研究提供了新的方向。针对全球肥胖及相关代谢性疾病的治疗需求,Hsu 等^[65]利用 3T3-L1 前脂肪细胞作为模型,通过转染带有 galectin-12 启动子的荧光素酶报告基因质粒构建细胞 HTS 平台,利用荧光素酶报告基因检测法从 105 种传统中草药中筛选出玉米须提取物及其活性成分 β -谷甾醇,二者可显著抑制 galectin-12 启动子活性并下调其基因表达。作为天然产物, β -谷甾醇具有低毒、无残留、不易产生耐药性等优势。目前, β -谷甾醇在细胞层面的安全性已得到初步验证,但在肥胖及相关疾病的具体活性仍需进一步研究^[66]。

3.2.2 基于病理细胞的 HTS 模型 病理细胞 HTS 模型通过模拟疾病微环境,为中药活性成分的发现提供了重要技术平台。根据疾病类型,这些模型主要分为 3 类:癌细胞系模型、退行性疾病细胞模型以及心脑血管疾病模型^[67-68]。Chen 等^[29]建立了创新的双指标筛选抗胰腺癌药物平台,通过整合 MTT 法(检测细胞代谢活性)和 LDH 释放法(评估细胞膜完整性),针对胰腺癌细胞系筛选出 3 000 余种植物提取物,最终鉴定出 29 种可抑制胰腺癌细胞活

性和增殖的提取物,其中,从紫金牛中分离的 4-羟基-2-甲氧基-6-十三烷基苯乙酸在胰腺癌细胞增殖抑制和凋亡诱导中活性最强,成为最具潜力的候选分子。在骨关节疾病领域,Han 等^[30]以软骨细胞为研究对象,用叔丁基过氧化氢诱导建立氧化应激损伤模型,模拟骨关节炎中活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累导致的软骨细胞损伤。研究从天然产物库中的 600 多种药物中,通过 CCK8 法按拯救率排序,初步筛选出 10 种潜在活性化合物,经过进一步的氧化应激清除能力验证,证实没食子酸乙酯的 ROS 清除能力最强,是对抗氧化应激诱导细胞死亡的有效药物。上述模型精准模拟疾病特征,有助于针对特定疾病的中药活性成分进行高效筛选并解析其疾病特异性作用机制。

3.3 动物水平药物筛选模型的应用

3.3.1 基于斑马鱼的 HTS 模型 斑马鱼作为脊椎动物,是研究人类疾病的经典模式动物^[69],近年来被广泛用于疾病模型构建、药物活性筛选及安全性评价^[70]。秦帅等^[71]创新性地建立转基因斑马鱼急性炎症模型(Zlyz-EGFP),通过荧光显微技术动态观察巨噬细胞迁移,对 296 种中药乙醇提取物进行筛选,成功鉴定出血人参和飞龙掌血提取物,该提取物通过有效抑制巨噬细胞向炎症部位的趋化聚集发挥抗炎作用。后续研究证实,飞龙掌血提取物可减少非选择性抑制引发的胃肠道副作用,兼具抗炎与抗感染潜力,药用前景明确,目前该成果处于临床前研究阶段,需进一步通过体内实验验证药效与安全性^[72]。此外,张瑛毓^[73]通过氧嗪酸钾和黄嘌呤钠盐联合诱导建立了斑马鱼急性高尿酸血症模型,并结合体外黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XOD)活性抑制检测,对 20 种食药材的降尿酸功效进行筛选,发现其中有 8 种在 400 $\mu\text{g/mL}$ 时对 XOD 的抑制率超过 50%,随后用该模型验证这 8 种粗提物体内活性,结果显示除败酱草和决明子以外,其余 6 种降尿酸效果与浓度正相关,与体外 XOD 活性抑制的实验结果一致。上述研究表明,基于斑马鱼的 HTS 模型通过构建疾病模拟体系,实现了对中药活性成分的高效筛选与体内活性验证,为中草药活性成分的精准挖掘提供了可靠的动物水平技术支持。

3.3.2 基于线虫的 HTS 模型 秀丽隐杆线虫作为经典的多细胞真核模式生物,凭借结构简单、操作便捷的生物学特征,以及遗传学背景清晰等独特优

势,长期以来被广泛应用于细胞凋亡、衰老调控及神经发育等基础生物学机制的研究,随着大规模筛选技术平台的不断发展,逐步成为 HTS 的重要模型,为生命科学领域的诸多突破性进展提供了关键支撑^[74]。方金阳^[75]基于线虫模型的荧光标记特性,采用高内涵成像技术验证线粒体 H_2O_2 和 ROS 线虫模型(模拟氧化损伤),对 591 种天然小分子化合物进行筛选,发现盐酸小檗碱、表雄酮等化合物可通过抑制线粒体 H_2O_2 发挥抗衰老作用,而白杨素、维生素 B_2 、莲心碱高氯酸盐可有效抑制线粒体 ROS 产生,同时,基于线虫 COL-12 胶原蛋白分泌模型,鉴定出丹参素、槲皮素等 6 种促进胶原分泌的活性成分。Wang 等^[76]则展示了线虫模型在药物作用机制解析方面的独特优势。通过建立线虫脂肪积累模型并结合 RNAi 基因沉默技术,从 350 种天然产物中筛选出獐牙菜苷,阐明其通过调控 *kat-1* 基因表达发挥降脂作用的分子机制。这些研究表明,秀丽隐杆线虫用于 HTS 平台精准筛选与机制解析,可快速评估中药活性成分在抗衰老、促胶原分泌、降脂等方面的潜在治疗效果,为发掘不同活性成分的机体作用功效提供了可靠研究平台。

4 高通量筛选技术的局限性与展望

HTS 技术已成为中草药活性成分研究的重要手段,然而,HTS 技术在适配中草药研究时仍面临多重挑战,一是单一物质靶向筛选易遗漏中药多成分协同作用的有效成分;二是体外模型难以完全复刻体内生理微环境;三是动物模型因物种差异制约结果向临床转化。此外,检测层面也存在一定的局限性,包括中草药复杂成分与荧光探针等的非特异性结合易引发信号干扰,比色法等传统手段对微量成分的捕捉灵敏度存在欠缺等。在模型体系构建上,部分病理细胞模型构建复杂且稳定性不足,正常细胞体外培养存在增殖缓慢等问题。

HTS 技术因其高效性在未来中草药活性研究中将继续发挥重要的支撑作用,针对以上存在的问题和局限性也将不断完善和提高,使其更加精准高效地应用于中草药活性成分研究和开发中。未来将开发多靶点协同筛选模型以适配中药多成分作用特点、优化细胞培养体系提升模型稳定性与增殖效率。此外,将开发高分辨活性检测技术减少信号干扰,强化微量成分识别能力,并将探索斑马鱼、线虫等模式生物的体内外模型联用,以及类器官、芯片动物等新兴替代技术的使用。最终实现 HTS 技术

对中草药复杂体系的精准适配, 为活性成分挖掘、作用机制解析及创新药物研发提供更坚实的技术支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 庞磊, 马立东, 孟宪生, 等. 基于细胞水平药物筛选的微流控芯片系统研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(12): 1518-1525.
- [2] Pereira D A, Williams J A. Origin and evolution of high throughput screening [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152(1): 53-61.
- [3] 权宁海, 康英锦, 李东浩, 等. 中草药活性成分的高通量筛选技术研究进展 [J]. 分析科学学报, 2017, 33(5): 741-746.
- [4] 王小明, 夏爽, 李文芳, 等. 高通量活性筛选技术在中药研究中的应用 [J]. 山东医药, 2016, 56(22): 105-107.
- [5] 方莲花, 王月华, 杜冠华. 高通量筛选技术在药物发现中的应用进展 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(4): 289-295.
- [6] 黄璐琦, 郭兰萍, 张小波, 等. 基于第四次全国中药资源普查的中国中药资源种类研究 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(13): 3409-3413.
- [7] 陈昌懋, 尕藏扎西, 王劫, 等. 肉苁蓉活性成分及药理作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(12): 4464-4477.
- [8] 徐万爱, 杨丹阳, 吴静雨, 等. 肉苁蓉的主要化学成分及生物活性研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(10): 163-170.
- [9] 颜世超, 刘春红. 金银花的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2025, 42(5): 84-88.
- [10] Shi J J, Chen X J, Zhang Y, *et al.* A stable cell line co-expressing hTRPV1 and GCaMP6s: A novel cell-based assay for high-throughput screening of hTRPV1 agonists [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2024, 27(2): 298-306.
- [11] He Y Y, Chen S Z, Wang H J, *et al.* Screening potential α -amylase inhibitor from *Chrysanthemum* in different regions of China using online active detection system [J]. *J Food Compos Anal*, 2025, 146: 107920.
- [12] Ndai A M, Smith K, Keshwani S, *et al.* High-throughput screening for prescribing cascades among real-world angiotensin-II receptor blockers (ARBs) initiators [J]. *Pharmacotherapy*, 2025.
- [13] Wang B H, Sun Q, Liu Y J, *et al.* Intelligent larval zebrafish phenotype recognition via attention mechanism for high-throughput screening [J]. *Comput Biol Med*, 2025, 188: 109892.
- [14] Coimbra L D, Shimizu J F, Nagai A, *et al.* Lysergol exerts potent antiviral activity against the emerging Oropouche virus *in vitro* [J]. *Antiviral Res*, 2025, 238: 106171.
- [15] 许媛媛, 陈鹏辉, 吴英理. 高通量药物筛选模型的研究进展 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2013, 33(10): 1415-1419.
- [16] Khambhati K, Siruka D, Ramakrishna S, *et al.* Current progress in high-throughput screening for drug repurposing [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2024, 205: 247-257.
- [17] 陈枫, 张圳, 陈飞, 等. 药物重定位技术及其在发现潜在减肥药物中的应用进展 [J]. 海军军医大学学报, 2022, 43(11): 1305-1311.
- [18] 高彤, 丁冠守, 苏萍萍, 等. 药物筛选模型的研究进展 [J]. 海峡药学, 2021, 33(7): 1-5.
- [19] Li X Y, Yang W N, Chen H J, *et al.* Rapid screening and *in vivo* target occupancy quantitative evaluation of xanthine oxidase inhibitors based on drug-target binding kinetics research strategy: A case study of *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114379.
- [20] Han X Y, Chen C M, Wang H L, *et al.* GlmU inhibitor from the roots of *Euphorbia ebracteolata* as an anti-tuberculosis agent [J]. *RSC Adv*, 2022, 12(28): 18266-18273.
- [21] Yasi E A, Kruyer N S, Peralta-Yahya P. Advances in G protein-coupled receptor high-throughput screening [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 64: 210-217.
- [22] Wu M D, Hu C, Liu J S, *et al.* Establishment of a cell model for dynamic monitoring of intracellular calcium concentration and high-throughput screening of P2Y2 regulators [J]. *Molecules*, 2022, 27(9): 3003.
- [23] Obergrussberger A, Friis S, Brüggemann A, *et al.* Automated patch clamp in drug discovery: major breakthroughs and innovation in the last decade [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2021, 16(1): 1-5.
- [24] 段桂芳, 徐波, 袁霞, 等. 离子通道药物研发中的高通量筛选技术 [J]. 中国药理学, 2021, 30(10): 785-793.
- [25] 王芮, 杨紫鑫, 柯志强, 等. 一种 GLP-1 受体激动剂高通量筛选细胞模型 [J]. 中国药理学通报, 2023, 39(9): 1793-1798.
- [26] 朱丽萍, 王心睿. 基于细胞模型的高通量筛选技术在药物研发中的应用进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(23): 3050-3056.
- [27] Sherman S P, Bang A G. High-throughput screen for compounds that modulate neurite growth of human induced pluripotent stem cell-derived neurons [J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(2): dmm031906.
- [28] Yen C H, Lin C J, Chen P Y, *et al.* Taming pancreatic

- cancer: *Ardisia virens* kurz-derived 4-hydroxy-2-methoxy-6-tridecylphenyl acetate as a potent tubulin polymerization inhibitor for targeted pancreatic ductal adenocarcinoma therapy [J]. *Int J Med Sci*, 2025, 22(3): 651-661.
- [29] Chen Y, Zhang Y K, Wu C Y, *et al.* High-throughput screening strategy and metal-organic framework-based multifunctional controlled-release nanomaterial for osteoarthritis therapy [J]. *ACS Nano*, 2025, 19(4): 4802-4819.
- [30] Han J C, Zhang R, Zhang X F, *et al.* Zebrafish model for screening antiatherosclerosis drugs [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9995401.
- [31] Ka J, Jin S W. Zebrafish as an emerging model for dyslipidemia and associated diseases [J]. *J Lipid Atheroscler*, 2021, 10(1): 42-56.
- [32] Liu J, Yuan X Y, Fan C X, *et al.* Application of the zebrafish model in human viral research [J]. *Virus Res*, 2024, 341: 199327.
- [33] 王璇, 王敏, 韩婷, 等. 基于斑马鱼幼鱼模型药物肝毒性快速评价方法的优化及评价标准初探 [J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(21): 1969-1976.
- [34] 吴佳颖, 李栋基, 陈翔, 等. 基于微流控芯片技术的秀丽隐杆线虫药物筛选体系研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2021, 41(6): 929-942.
- [35] Panda M, Fakitsa M, Markaki M, *et al.* *Caenorhabditis elegans* as an emerging high throughput chronotherapeutic drug screening platform for human neurodegenerative disorders [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2025, 224: 115655.
- [36] Wu J Y, Gao Y, Xi J, *et al.* A high-throughput microplate toxicity screening platform based on *Caenorhabditis elegans* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 245: 114089.
- [37] Ardito F, Giuliani M, Perrone D, *et al.* The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2): 271-280.
- [38] Zhang Z, Wang Y D, Zhao J Y, *et al.* High-throughput small molecule drug screening for age-related sleep disorders using *Drosophila melanogaster* [J]. *J Vis Exp*, 2023(200): 200.
- [39] Fischer F P, Karge R A, Koch H, *et al.* The fruit fly *Drosophila melanogaster* as a screening model for antiseizure medications [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1489888.
- [40] 荀葛, 张依帆, 李映萱, 等. 中药药效物质基础研究策略的现状与进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2025, 42(5): 412-422.
- [41] 叶冰, 高升华, 宋乐天, 等. SARS-CoV-2 主蛋白酶抑制剂的筛选方法及应用 [J]. 药科学报, 2023, 58(6): 1528-1539.
- [42] Zheng K, Hu J, Hu C, *et al.* Establishing an ANO1-based cell model for high-throughput screening targeting TRPV4 regulators [J]. *Molecules*, 2024, 29(5): 1036.
- [43] Boyer R, Bony R, Maugis M, *et al.* LPS2336, a new TREK-1 channel activator identified by high throughput screening [J]. *Biomolecules*, 2025, 15(5): 740.
- [44] 应凯悦, 华宁, 骆燕萍, 等. 基于 PiggyBac 转座子优化稳定表达细胞系的新型瞬时受体电位 M₂ 通道抑制剂筛选 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2024, 53(5): 604-614.
- [45] Gonella A, Giacomello M, Finos L, *et al.* Exposure to PFOS, PFBS, PFOA and PFBA impairs cell cycle progression in bovine brain (*Bos taurus*) endothelial cells [J]. *Res Vet Sci*, 2025, 187: 105585.
- [46] Flores-Arenas C, Malekos E, Montano C, *et al.* CRISPRi screen uncovers lncRNA regulators of human monocyte growth [J]. *J Biol Chem*, 2025, 301(6): 110204.
- [47] Zhong H Y, Yao L N, An H L, *et al.* MrgD as a novel modeling and treatment target for pulmonary hypertension [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2025, 45(5): e164-e183.
- [48] Yang D, Dai Z, Zhu P F, *et al.* High throughput-screening of native herbal compounds identifies taccaoside A as a cytotoxic compound that mediates RAS signaling in cancer stem cells [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108: 154492.
- [49] Cruz T M, Lima A D S, Silva A O, *et al.* High-throughput synchronous erythrocyte cellular antioxidant activity and protection screening of phenolic-rich extracts: Protocol validation and applications [J]. *Food Chem*, 2024, 440: 138281.
- [50] Li Y Y, Ma N L, Chen H L, *et al.* High-throughput screening of ancient forest plant extracts shows cytotoxicity towards triple-negative breast cancer [J]. *Environ Int*, 2023, 181: 108279.
- [51] 于坤, 徐枝芳, 余楠楠, 等. 佐剂性和胶原诱导性关节炎模型比较分析 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(1): 106-109.
- [52] Wang X, Zhao J, Zhang R, *et al.* Protective effect of *Hedyotis diffusa* Willd. ethanol extract on isoniazid-induced liver injury in the zebrafish model [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 1995-2015.
- [53] Braems E, Tziortzouda P, Van Den Bosch L. Exploring the alternative: Fish, flies and worms as preclinical models for ALS [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 759: 136041.
- [54] 朱礼祥, 陈万生, 肖莹. 基于催化反应的酶活性检测荧光探针的研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2025, 39(1): 1-11.
- [55] Liang Y H, Qu P, Zhang Q, *et al.* Application of *Drosophila*

- in the study of depressive disorder [J]. *Prog Anat Sci*, 2019, 25: 731-734.
- [56] Hossen M S, Shapla U M, Gan S H, *et al.* Impact of bee venom enzymes on diseases and immune responses [J]. *Molecules*, 2016, 22(1): 25.
- [57] 闫干干, 李东升, 威海燕, 等. 新冠病毒主蛋白酶小分子抑制剂荧光共振能量转移高通量筛选模型的优化与应用 [J]. 生物工程学报, 2022, 38(6): 2236-2249.
- [58] 闫干干, 闫浩浩, 刘志成, 等. 基于比色法原理的新冠病毒主蛋白酶小分子抑制剂高通量筛选模型的优化与应用 [J]. 药学学报, 2022, 57(10): 3019-3026.
- [59] 丁一迪, 陈芝蓄, 朱雪艳, 等. 姜黄中流感病毒神经氨酸酶抑制剂的高通量筛选 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2025, 46(2): 138-150.
- [60] Qin K H, Zhang S T, Wang J, *et al.* Screening GLP-1 receptor ligands from natural products in herbs through high-content technique [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2019, 22(7): 445-454.
- [61] 赵越, 郑祖国, 周萍, 等. Toll 样受体 7 抑制剂的高通量筛选模型建立及应用 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2022, 31(3): 223-230.
- [62] 黄莉鑫, 卞劲松. 离子通道在肺动脉高压中的作用与治疗潜力 [J]. 生理科学进展, 2025, 56(1): 13-21.
- [63] 张耀方. 白藜芦醇寡聚体 CFTR 抑制剂的发现及分子药理学研究 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2014.
- [64] Luan J, Zhang Y F, Yang S, *et al.* Oridonin: A small molecule inhibitor of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) isolated from traditional Chinese medicine [J]. *Fitoterapia*, 2015, 100: 88-94.
- [65] Hsu Y A, Kuo Y H, Chen C S, *et al.* Galectin-12 is involved in corn silk-induced anti-adipogenesis and anti-obesity effects [J]. *Am J Chin Med*, 2018, 46(5): 1045-1063.
- [66] 刘莉莉, 陈敏. β -谷甾醇对脂多糖诱导的小鼠乳腺上皮细胞炎症反应及乳蛋白合成的影响 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(9): 5994-6003.
- [67] Paşca S P, Arlotta P, Bateup H S, *et al.* A nomenclature consensus for nervous system organoids and assembloids [J]. *Nature*, 2022, 609(7929): 907-910.
- [68] Hofbauer P, Jahnel S M, Papai N, *et al.* Cardioids reveal self-organizing principles of human cardiogenesis [J]. *Cell*, 2021, 184(12): 3299-3317.
- [69] Adhish M, Manjubala I. Effectiveness of zebrafish models in understanding human diseases-a review of models [J]. *Heliyon*, 2023, 9(3): e14557.
- [70] Zhang Y, Xia Q, Wang J B, *et al.* Progress in using zebrafish as a toxicological model for traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282: 114638.
- [71] 秦帅, 张永萍, 陈希, 等. 应用斑马鱼高通量筛选平台筛选抗炎民族药研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(8): 4146-4148.
- [72] Schultz F, Osuji O F, Wack B, *et al.* Antiinflammatory medicinal plants from the Ugandan greater mpigi region act as potent inhibitors in the COX-2/PGH₂ pathway [J]. *Plants*, 2021, 10(2): 351.
- [73] 张瑛毓. 斑马鱼高尿酸血症模型构建及降尿酸功能食药材筛选 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [74] 李儒, 金沙, 李宏源, 等. 基于秀丽线虫的鹿茸功效及其机制研究进展 [J]. 特产研究, 2023, 45(2): 141-148.
- [75] 方金阳. 基于线虫模型的抗衰老与促胶原分泌高通量筛选研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2023.
- [76] Wang J H, He J T. Swertiamarin decreases lipid accumulation dependent on 3-ketoacyl-coA thiolase [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108668.

[责任编辑 时圣明]