

## • Q-Marker 专论 •

## 以 G 蛋白偶联受体等靶标为核心的中药质量标志物发现策略

杨含婷<sup>1,2</sup>, 纪思齐<sup>3</sup>, 王永富<sup>1,2</sup>, 王 晖<sup>4</sup>, 陈士林<sup>1,2</sup>, 代云桃<sup>3\*</sup>, 张三印<sup>1,2\*</sup>

1. 成都中医药大学本草基因组学研究院, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学中医药创新研究院, 四川 成都 611137

3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700

4. 陆军特色医学中心 中医与风湿免疫科, 重庆 400042

**摘 要:** 中药质量控制长期依赖少数化学成分定量, 难以充分揭示成分含量与功效的内在关联。中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 理论虽为“效-物结合”的质量评价提供了系统框架, 但如何精准识别真正介导核心药效的关键成分仍是该领域的最大挑战。G 蛋白偶联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR) 是细胞感知微环境变化的关键门户, 也是最具成药性的靶标家族之一, 广泛参与神经、免疫、代谢及心血管等重要生理病理过程, 已成为阐释中药多成分、多靶点调节机制的重要切入点。提出“以 GPCR 等靶标为核心的中药 Q-Marker 发现策略”, 梳理了 Q-Marker 理论从化学指纹到生物活性指纹演进的趋势, 系统综述了靶向 GPCR 的前沿技术 (受体亲和色谱技术、高通量功能筛选平台、人工智能驱动的反向药物发现及多组学整合策略等), 进而阐述了以 GPCR 为作用靶标的 Q-Marker 从候选成分确认到质量标准构建的完整流程。在机制解析层面, 从 GPCR-炎症轴、GPCR-代谢轴、GPCR-肠道菌群轴和 GPCR-神经心血管轴 4 个维度阐释中药活性成分作为天然配体介导的药理网络。为建立“成分-靶点-功能”关联的 Q-Marker 评价体系提供从分子识别到功能验证的证据链, 有助于弥补传统网络预测“重关联、轻验证”的不足。将 GPCR 受体药理学与中药质量控制相结合, 可为确立兼具有效性与安全性的 Q-Marker 提供实验依据, 对推动中药质量标准从化学成分测定走向整合评价、保障临床用药安全有效具有重要参考价值。

**关键词:** 中药质量标志物; G 蛋白偶联受体; 质量控制; 活性成分挖掘; 靶标

**中图分类号:** R285      **文献标志码:** A      **文章编号:** 0253-2670(2026)20-7929-18

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.20.001

## Discovery strategy for quality markers (Q-Marker) of traditional Chinese medicines centered on targets such as G protein-coupled receptor

YANG Hanting<sup>1,2</sup>, JI Siqi<sup>3</sup>, WANG Yongfu<sup>1,2</sup>, WANG Hui<sup>4</sup>, CHEN Shilin<sup>1,2</sup>, DAI Yuntao<sup>3</sup>, ZHANG Sanyin<sup>1,2</sup>

1. Institute of Herbgonomics, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Innovative Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

4. Department of Rheumatology and Immunology, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China

**Abstract:** Traditional Chinese medicine (TCM) quality control has long relied on the quantitative determination of a limited number of chemical constituents, which fails to adequately reveal the intrinsic relationship between component content and pharmacological efficacy. Although the quality marker (Q-Marker) theory provides a systematic framework for efficacy-material-integrated quality evaluation of TCM, precisely identifying the key constituents that genuinely mediate core pharmacological effects remains a major

**收稿日期:** 2026-07-03

**基金项目:** 湖南省创新型省份建设专项中国工程科技发展战略湖南研究院战略研究与咨询项目 (2025WK1009); 中国工程院科技战略咨询项目“中药产业发展战略研究” (2025-32-15)

**作者简介:** 杨含婷, 助理研究员, 主要从事中药来源的 GPCR 靶向活性分子筛选及作用机制研究。E-mail: htyang@cdutcm.edu.cn

**\*通信作者:** 代云桃, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药药效物质基础和质量标准研究。E-mail: ytdai@icmm.ac.cn

张三印, 教授, 博士生导师, 主要从事中医药防治心血管系统疾病的理论与基础研究。E-mail: tcmzsy@cdutcm.edu.cn

challenge in the field. G protein-coupled receptors (GPCRs) are major cell-surface signaling receptors that sense extracellular signals and transduce them into intracellular responses. They also represent one of the most druggable classes of therapeutic targets. They play pivotal roles in a wide range of physiological and pathological processes, particularly those involving the nervous, immune, metabolic, and cardiovascular systems, and have become an important entry point for elucidating the multi-component, multi-target regulatory mechanisms of TCM. This paper explores a “GPCR and other target-centered discovery strategy for TCM Q-Markers”, reviews the evolutionary trajectory of Q-Marker theory from chemical fingerprinting to bioactivity fingerprinting, and systematically summarizes cutting-edge technologies for GPCR-based target identification, including receptor affinity chromatography, high-throughput functional screening platforms, artificial intelligence-driven reverse drug discovery, and multi-omics integration strategies. Furthermore, it elaborates the complete workflow of Q-Markers acting GPCR targets, from candidate component confirmation to quality standard establishment. At the mechanistic level, the pharmacological networks mediated by bioactive TCM constituents through their interactions with GPCRs are interpreted from four dimensions: the GPCR-inflammation, GPCR-metabolism, GPCR-gut microbiota, and GPCR-neurocardiovascular axes. This framework provides an evidence chain linking molecular recognition, target engagement, and functional validation to support the development of a Q-Marker evaluation system based on “component-target-function” relationships, thereby helping to overcome the limitation of conventional network pharmacology approaches, which often emphasize predicted associations over experimental target validation. Integrating GPCR receptor pharmacology with TCM quality control can provide an experimental basis for identifying Q-Markers that reflect both efficacy and safety. It also offers a useful reference for advancing TCM quality standards from chemical content determination toward integrated evaluation, thereby supporting the safety and efficacy evaluation of TCM in clinical use.

**Key words:** quality marker of traditional Chinese medicine; G protein-coupled receptor; quality control; bioactive component mining; target

中药质量是保障其临床疗效与用药安全的核心要素，中药质量研究始终是中医药行业关注的焦点问题。为完善以《中国药典》为核心的国家药品标准体系，提升中药及中药产品质量标准的科学性与实用性，刘昌孝院士<sup>[1]</sup>于 2016 年首次提出中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）概念。目前，Q-Marker 已发展为中药质量控制领域具有核心指导意义的理论体系<sup>[2-4]</sup>。近年来，Q-Marker 理论体系不断完善，研究路径日益清晰、应用范围持续拓展。然而，Q-Marker 研究的核心难点仍在于如何科学辨识与中药功效密切相关的关键活性成分<sup>[5]</sup>。

中药具有多成分、多靶点的整体调节特点，单一成分难以代表整体药效<sup>[6]</sup>。G 蛋白偶联受体（G protein-coupled receptor, GPCR）又称 7 次跨膜结构域受体（7-transmembrane receptors, 7TMR），是人类基因组目前已知最大的膜蛋白家族，全球约三分之一的上市药物以 GPCR 为作用靶点<sup>[7]</sup>。GPCR 作为细胞膜表面受体，其激活过程可通过第二信使[如环磷酸腺苷（cyclic adenosine monophosphate, cAMP）、Ca<sup>2+</sup>、肌醇 1,4,5-三磷酸（inositol 1,4,5-trisphosphate, IP<sub>3</sub>）]变化、 $\beta$ -arrestin 募集等快速信号事件进行实时检测<sup>[8]</sup>，并进一步延伸至下游转录响应。相比之下，核受体虽然具有明确的转录调控功能，但其配体作用通常需要较长时间的基因表达

响应，且受细胞类型和共调节因子影响较大<sup>[9]</sup>；酶联受体通常针对单一催化步骤，而 GPCR 信号级联可一次性报告从膜受体到胞内多条下游通路的整合响应<sup>[8]</sup>；离子通道虽然具有快速响应优势，但其结构多样性、功能状态依赖性及检测体系标准化仍面临一定挑战<sup>[10]</sup>。GPCR 作为细胞膜表面最大的受体家族，是介导内源性信号分子和部分外源性化学物质跨膜信号转导的核心门户，广泛参与神经传导、免疫调节、代谢稳态及心血管功能等生理病理过程<sup>[11]</sup>。值得关注的是，中药多成分、多靶点的作用特征与 GPCR 介导的复杂信号网络调控机制具有高度契合性。

已有研究表明，GPCR 是多种中药活性成分发挥药效的关键分子靶标群，如小檗碱被鉴定为  $\beta_2$  肾上腺素受体（ $\beta_2$ -adrenergic receptor,  $\beta_2AR$ ）的新型天然拮抗剂<sup>[12]</sup>，罂粟所含的吗啡是强效阿片受体激动剂，表明 GPCR 是中药活性成分发挥药效的重要分子靶标群<sup>[13]</sup>。在此基础上，全基因组泛 GPCR 药物发现平台的构建、人工智能辅助筛选技术的发展、“药靶同筛”策略的提出<sup>[14]</sup>，以及传统方剂来源抗肺纤维化单体新药研发新策略等<sup>[15]</sup>，为从中药复杂体系中系统发现 GPCR 配体提供了新的技术路径<sup>[16]</sup>，使大规模、高效率的活性成分挖掘成为可能。因此，GPCR 兼具疾病相关性、功能可检测

性,其受体激活特征能够直接反映中药成分对关键生理调控网络的影响,适合作为连接中药质量评价与现代药理机制研究的核心切入点。

基于上述背景,本文提出以 GPCR 等靶标为核心构建中药 Q-Marker 发现策略,有别于传统 Q-Marker 研究中“以化学成分推导药效”或“依赖网络预测”的固有模式,将“受体-配体精准对接”作为发现 Q-Marker 的重要验证环节。首先,依据中药传统功效与现代药理研究,遴选与特定病症相关的关键 GPCR 靶点群,系统建立传统功效与 GPCR 靶点的映射关系,为 Q-Marker 的发现提供明确的目标导向。其次,突破传统基于静态图谱和动物表型的评估局限,运用人类全基因组泛 GPCR 高通量药物筛选平台等功能性筛选平台以及中药多靶标细胞膜色谱智筛分析仪(multi-target cell membrane chromatography intelligent screening workstation, MCMC-ISW2.0)等,对中药提取物、组分或单体成分进行高通量活性评价,筛选出具有明确 GPCR 激动、拮抗或变构调节活性的候选成分。最终,通过配体结合实验如表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)等验证候选成分与 GPCR 靶点的直接结合关系,并结合功能实验阐明其下游信号通路调控机制<sup>[17]</sup>。在此基础上,进一步考察活性成分在药材中的含量代表性、体内暴露特征及靶点可达性,从而保障 Q-Marker 的可传递性与可溯源性,从而确立经 GPCR 活性验证且具含量代表性的现代 Q-Marker。综上,本研究将中药质量控制从被动的物质检定转变为主动的机制确认,以 GPCR 等分子靶标为核心,为中药 Q-Marker 的发现提供实验框架。

## 1 中药质量控制与 Q-Marker 理论的提出与发展现状

### 1.1 中药质量控制

中药质量控制的发展经历了从单一指标成分分析到多成分整体评价。中药的定性鉴别主要依赖薄层色谱法,以个别指标成分或者与对照药材为参考,该方法因特征性强、经济简便、操作便捷,至今被《中国药典》及国际药典所保留,但其应用主要局限于定性鉴别。在定量分析方面,紫外分光光度法曾广泛用于总多糖、总皂苷、总黄酮等成分的测定。然而,该方法存在专属性不足等问题。随着色谱技术的发展,高效液相色谱法逐渐成为主流,最初以 1~2 个指标成分的定量为主。但中药化学成分的高度复杂性使得单一指标难以全面反映其

内在质量。因此,研究者逐渐由单成分定量转向多成分含量测定。例如,同时测定银杏叶中 11 个黄酮醇类成分、人参中 15 个皂苷类成分、附子中 15 个成分等,多成分定量已逐渐成为中药质量评价的重要发展方向<sup>[18-21]</sup>。然而,该方法仍面临对照品获取困难、检测成本高、分析时间长等限制,在产业化应用中推广受限。截至《中国药典》2025 年版,仍有部分中药品种缺乏能够反映整体质量的系统性质量标准,甚至缺少明确的定量指标。面对中药“多成分、多靶点、多层次协同”的复杂特征,如何从复杂化学体系中科学选择具有代表性、有效性和质量可传递性的指标成分,并建立能够真实反映中药内在质量与临床功效关联的质量标准,已成为中药质量控制领域亟待解决的关键科学问题。

### 1.2 中药 Q-Marker 理论

2016 年,刘昌孝院士团队针对中药质量控制长期存在的“指标成分与临床功效脱节”这一行业痛点,提出“中药质量标志物(Q-Marker)”新概念<sup>[1]</sup>。中药 Q-Marker 是存在于中药材、饮片、提取物及复方制剂中固有的或加工过程中形成的、与中药功能属性密切相关的化学物质,能够作为反映中药安全性和有效性的标示性物质。Q-Marker 深刻揭示中药质量的科学内涵,其核心是“五原则”,即特有性、有效性、传递性(亦称溯源性)、配伍环境以及可测性,共同构成发现和确认 Q-Marker 的理论基石。在上述理论框架的指导下,行业并最终形成《中药质量标志物研究技术指南》(T/CACM1638—2025)<sup>[22]</sup>,为 Q-Marker 的科学发现与标准化应用提供了明确的方法论框架,标志着该理论从学术共识走向行业技术规范。Q-Marker 理论整合了植物次生代谢生物学、中药化学、药理学和中医药配伍理论等多学科知识,突破了以往“唯成分论”的碎片化研究模式,首次提出以“有效性”为导向,贯穿药材饮片、提取物、制剂的质量控制与溯源体系。Q-Marker 的提出,使中药质量控制从被动检测转向主动设计,为建立涵盖全产业链的质量标准体系奠定了理论基础。

### 1.3 Q-Marker 理论指导下的中药质量控制

Q-Marker 理论的应用已广泛覆盖中药材饮片、复方制剂等领域。单味药材方面,茯苓<sup>[23]</sup>、甘草<sup>[24]</sup>、当归<sup>[25]</sup>等大宗药材的 Q-Marker 已进行系统预测与确认,为这些药材的质量标准提升提供了科学依据。对于复方制剂,证实了丹参素、三七皂苷 R<sub>1</sub> 等成分可作为复方丹参滴丸的质量标志物<sup>[26]</sup>,并阐述

了延胡索与白芷配伍能协同促进有效成分的脑组织分布<sup>[27]</sup>，体现了复方配伍环境对 Q-Marker 确定的重要性。针对具有“活血与止血”“补气与清热”等反向功效的中药（如三七等），研究者提出了基于功效差异性的 Q-Marker 精准辨识思路，强调应根据不同主治方向选择对应的 Q-Marker<sup>[28]</sup>，以实现更有针对性的质量控制。

在中药质量标准研究中，Q-Marker 正逐步替代或补充原有单一成分的质控指标。例如，在复方丹参滴丸的质量标准中，不再仅以丹酚酸 B 为指标，而是确定丹参素、原儿茶醛、迷迭香酸、丹酚酸 A/B/D/T/U 8 个成分为 Q-Marker，建立特征指纹图谱，并以丹参素作为主要含量测定指标实现了对君药丹参水溶性成分更全面的质量控制。针对中药复杂体系，Q-Marker 理论提出了分层级的质量控制策略。以疏风解毒胶囊为例，通过 HPLC 同时测定虎杖苷、大黄素、连翘酯苷 A、戟叶马鞭草苷等 7 个 Q-Marker，并结合 22 个共有峰的指纹图谱，实现了对复方多药味的整体质量控制<sup>[29-30]</sup>。因此，中药 Q-Marker 理论已成为解决中药复杂体系质量控制问题的关键。

## 2 中药活性成分是天然 GPCR 配体库

中医药的临床应用历史悠久且疗效显著。已有多项证据表明，从中药等传统药物中发现的活性成分可以通过 GPCR 发挥作用。生物碱是中药中最具代表性的一类活性成分，多种生物碱已被证实可直接作用于 GPCR 发挥治疗效应。小檗碱是从黄连等植物中分离的季铵生物碱，传统用于治疗腹泻和炎症。现代研究表明，小檗碱可作用于  $\alpha_2$  肾上腺素能受体 ( $\alpha_2$  adrenergic receptor,  $\alpha_2AR$ ) 和 5-羟色胺受体 (5-hydroxytryptamine receptor, 5-HTR)，发挥降血糖、调节情绪作用<sup>[31]</sup>。粉防己碱是从防己中提取的双苄基异喹啉生物碱，可作用于钙敏感受体和多种 GPCR 发挥抗炎和抗纤维化作用<sup>[32]</sup>。单萜类成分方面，薄荷醇是薄荷油的主要成分，可激活瞬时受体电位通道 8 型 (transient receptor potential melastatin 8, TRPM8)<sup>[33]</sup>，同时也可作用于  $\gamma$ -氨基丁酸 B 型 ( $\gamma$ -aminobutyric acid type B, GABAB) 受体，发挥镇静和镇痛作用。部分倍半萜内酯类化合物如小白菊内酯可调节趋化因子受体表达，影响肿瘤免疫微环境<sup>[34]</sup>。二萜类成分方面，雷公藤红素是从雷公藤中分离的醌甲基三萜，被鉴定为大麻素受体 CB2 的选择性激动剂，具有抗炎和抗纤维化活

性<sup>[35]</sup>。丹参酮 II<sub>A</sub> 是从丹参中提取的菲醌类二萜，可作用于血管紧张素 II 受体和内皮素受体，发挥心血管保护作用<sup>[36]</sup>。黄酮类成分方面，芹菜素和木犀草素广泛存在于多种中药中，可作用于  $\gamma$ -氨基丁酸 A 型 ( $\gamma$ -aminobutyric acid type A, GABA<sub>A</sub>) 受体和多种 GPCR<sup>[37]</sup>，发挥镇静、抗焦虑作用。槲皮素和山柰酚可作用于雌激素受体和多种 GPCR，具有抗氧化、抗炎和心血管保护作用<sup>[38]</sup>。此外，从川芎中提取的川芎内酯 I 是 C-X-C 基序趋化因子受体 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4) 抑制剂；苍术中的苍术酮能激活多巴胺 2 受体 (dopamine 2 receptor, D2R)；黄连中的巴马汀为甲酰肽受体 2 (formyl peptide receptor 2, FPR2) 激动剂；姜黄中的姜黄素可激活 G 蛋白偶联受体 55 (G protein-coupled receptor 55, GPR55) 与 GPR97 等<sup>[39]</sup>。厚朴中首次筛选并鉴定出厚朴酚与和厚朴酚为 C-C 基序趋化因子受体 1 (C-C motif chemokine receptor 1, CCR1) 的选择性拮抗剂<sup>[40]</sup>。上述研究为“多靶点”治疗提供了基础。

中药活性成分对 GPCR 的调控不仅体现在受体层面的直接结合，更涉及下游信号通路的偏向性激活。GPCR 与配体结合后，主要通过 G 蛋白三聚体及  $\beta$ -arrestin 蛋白介导下游信号转导，而不同中药成分可差异化地调控 2 条通路，从而产生生物学效应<sup>[41]</sup>。例如，人参糖脂蛋白复合物 gintonin 通过激活 GPR40 [经蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 及氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 信号] 促进胰岛素分泌，并通过激活 GPR55 触发  $Ca^{2+}$  信号调节细胞迁移<sup>[42]</sup>；姜黄素与 GPR55 结合后选择性激活 G12/13 信号通路，同时可通过 GPR40/120 及钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, CaMKII) 等机制促进胰高血糖素样肽-1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 分泌，参与糖稳态调节<sup>[43]</sup>；白术酮激活多巴胺 D<sub>2</sub> 受体 (dopamine D<sub>2</sub> receptor, D<sub>2</sub>R) 后，通过下调 cAMP 并上调磷酸化 cAMP 响应性元件结合蛋白 (phosphorylation cAMP responsive element-binding protein, p-CREB)/脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 等下游分子，发挥神经保护作用<sup>[44]</sup>；黄连中的非洲防己碱作为 FPR2 偏向性激动剂，通过促进胞葬作用减轻肠道炎症<sup>[45]</sup>。这种对 G 蛋白通路与  $\beta$ -arrestin 通路的选

择性调控，为理解中药“多靶点、多通路”的作用特征提供分子层面的解释。

在构效关系层面，随着冷冻电镜、X 射线晶体学等技术的发展，多种天然产物配体与代表性 GPCR（如大麻素受体、阿片受体、血清素受体、腺苷受体及苦味受体等）的结合模式已被成功解析<sup>[46]</sup>。构效关系分析揭示这些分子多靶向 GPCR 正构位点，通过与内源性配体相似或截然不同的构象占据结合口袋，并借助关键氨基酸残基的特异性相互作用激活或抑制受体活性。具体而言，大麻素受体 CB1/CB2 的正构口袋呈 L 型构象，中药来源的大麻素类分子以酰基链深插入口袋内部、极性头部延伸至 TM1-TM7 界面的方式结合，与内源性配体形成竞争性相互作用，从而差异化调控受体活性<sup>[47]</sup>。马钱子中的生物碱土的宁可同时激活味觉受体 2 型成员 7（taste receptor type 2 member 7，TAS2R7）、TAS2R10 和 TAS2R46 等多个亚型，展现了单一中药成分对同一家族受体的多靶点作用模式<sup>[48]</sup>。中药来源化合物的结构多样性决定了其与 GPCR 结合模式的差异性，进而转化为对受体活性的选择性调控。而单一成分靶向多个受体亚型或不同受体家族的特征，构成了中药“多靶点、多通路”协同治疗的结构基础。这一认知不仅为阐释中药整体疗效的分子机制提供了关键依据，也凸显了天然产物作为 GPCR 靶向药物研发重要资源的价值。

3 GPCR 导向的中药 Q-Marker 发现策略

3.1 从“化学指纹”到“生物活性指纹”

传统 Q-Marker 发现主要依赖化学指纹图谱。HPLC、GC-MS、UPLC-Q-TOF-MS 等技术结合化学计量学，可系统表征中药复杂化学成分，并通过主成

分分析（principal component analysis, PCA）、正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA）等方法筛选与批次、产地或质量差异密切相关的特征成分，已成为中药质量评价和潜在 Q-Marker 筛选的重要手段<sup>[49-50]</sup>。然而，“化学指纹”本质上仍停留在“成分层面”，难以回答成分是否真正具有生物活性以及其活性与临床功效是否相关。具体而言，指纹相似度并不必然代表药效一致性，高含量成分未必是主要药效成分，微量成分也可能具有显著活性，同时传统指纹图谱难以反映多成分之间的协同/拮抗作用。因此，仅依赖化学组成进行 Q-Marker 筛选存在化学信息与生物效应脱节的问题，推动 Q-Marker 发现逐渐由“化学指纹”向“生物活性指纹”发展<sup>[51]</sup>。

生物活性指纹以药效相关的生物效应或作用靶点为切入点，将化学信息与体外活性、体内暴露及作用机制相结合，为 Q-Marker 筛选提供更直接的药效依据<sup>[52]</sup>。目前，Q-Marker 发现已逐渐形成多维度的技术路径，主要包括谱效关系、血清药物化学与药动学、代谢组学以及网络药理学等方法，通过分别从化学组成-生物活性、体内暴露、代谢响应及作用靶点等维度建立化学成分与药效之间的关联，为 Q-Marker 的筛选与验证提供多层次证据<sup>[6]</sup>。化学指纹回答“有什么”，而生物活性指纹回答“有什么用”，多种方法相互印证，共同组成 Q-Marker 的发现策略，确保 Q-Marker 的发现直接与药效相关<sup>[53]</sup>。化学指纹与常用生物活性指纹方法的优缺点，以及其发现潜在 Q-Marker 的优势见表 1。

3.2 靶向 GPCR 的亲色谱技术

由于 GPCR 具有疏水跨膜结构域、分离纯化后

表 1 化学指纹与生物活性指纹方法对比

Table 1 Comparison of chemical fingerprint and biological activity fingerprint methods

| 方法       | 优点                           | 缺点                  | 其发现 Q-Marker 的价值    |
|----------|------------------------------|---------------------|---------------------|
| 化学指纹     | 技术成熟，能全面展示成分                 | 与药效脱节，高含量≠有效成分      | 提供可测性和特有性基础，是质控检测手段 |
| 生物活性谱效关系 | 操作简单，快速锁定活性成分                | 统计相关≠因果相关，易出假阳性     | 初筛工具，发现潜在候选成分       |
| 生物活性指纹   | 血清药物化学与药动学<br>直接关联体内暴露，排除假阳性 | 忽略靶组织分布和肠道菌群代谢起效的成分 | 确保成分的传递与溯源性         |
|          | 代谢组学与系统生物学<br>揭示中药整体调控模式     | 数据量大、难区分直接/间接调控     | 提供体内有效性证据，验证药理作用    |
|          | 网络药理学与靶点预测<br>高通量、低成本，快速缩小范围 | 依赖数据库质量，预测需实验验证     | 为有效性和复方环境提供理论支撑     |

构象不稳定以及天然表达水平极低等膜蛋白固有特性,长期以来其基于靶蛋白-配体亲和作用的配体筛选与药理学表征面临着巨大挑战。亲和色谱凭借其高特异性分离能力,在 GPCR 的固相化、构象表征及配体发现中发挥了不可替代的作用。以亲和色谱为基础的“垂钓”技术进一步发展出从复杂样品中捕获配体或靶标的策略,为 GPCR 药物发现开辟了新路径<sup>[54]</sup>。

近年来,细胞膜色谱技术的突破为 GPCR 固相化提供了保持天然构象和功能活性的新途径。细胞膜色谱将活性细胞膜固定于硅胶表面形成固定相,利用色谱系统模拟药物与受体的特异性相互作用,兼具色谱分离和受体亲和的双重功能,已被广泛用于表征正构位点与变构位点的多重结合特性,并可实现在线筛选激动剂与竞争性拮抗剂<sup>[17]</sup>。该策略的核心是将活性小分子共价固定于固相载体(如磁珠、琼脂糖凝胶)上,与含有 GPCR 的细胞膜片段或裂解液孵育后,特异性捕获靶受体,再通过温和洗脱结合质谱鉴定。代表性技术包括亲和纯化-质谱联用、光亲和标记(引入双吡丙啶等光反应基团,捕获瞬时或弱相互作用)、DARTS(drug affinity responsive target stability,利用药物结合后增强蛋白酶抗性的原理)以及细胞热转移分析法(cellular thermal shift assay, CETSA)和热蛋白质组学分析(基于配体结合提高靶蛋白热稳定性)<sup>[55]</sup>。这些方法无需对小分子进行复杂修饰或可直接在完整细胞中操作,尤其适用于天然产物和结构复杂化合物的靶点发现。然而,将亲和色谱技术直接应用于中药复杂体系的 Q-Marker 筛选仍面临显著的技术瓶颈。首先是复杂基质的干扰,中药提取物含有大量鞣质、多糖及大分子色素,这些成分极易与固相载体或非溶液分子结合,从而产生干扰。其次是构象失活,GPCR 作为多重跨膜蛋白,其三维构象极易发生改变,导致结合口袋丢失。此外,传统的亲和色谱仅能确证物理结合,无法区分结合分子是激动剂还是拮抗剂,更无法揭示其能否真实驱动下游特异性的 G 蛋白级联信号通路,导致单纯依赖该技术难以深入阐明 Q-Marker 的分子药效机制。未来的发展方向应聚焦于亲和色谱与多维前沿技术(如天然质谱、结构生物学及功能活性评价系统)的深度联用,从而全面服务于中药 Q-Marker 的分子机制解析体系。

针对以上局限,本团队进一步提出“药靶同筛”策略,为 GPCR 药物发现开辟了全新的方法论路

径<sup>[14]</sup>。在技术实现层面,“药靶同筛”策略依托多组学整合平台与高通量功能筛选系统的深度融合,构建了涵盖基因组、转录组、蛋白质组和代谢组的多维度化合物数据库,即本草基因编码天然多样性成分库(Gene-encoded Natural Diverse Components Repository, GNDC)<sup>[56]</sup>,并开发多靶标细胞膜色谱智筛分析仪(MCMC-ISW2.0),为多靶点药物筛选提供了高通量平台<sup>[17]</sup>。同时,以 PRESTO(parallel receptorome expression and screening via transcriptional output)系列检测技术<sup>[57]</sup>、CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeats)和组学技术为辅助,构建覆盖主要信号通路的功能活性筛选体系。团队进一步将人工智能与“药靶同筛”深度整合,开发了一系列基于深度学习的“化合物-靶点-疾病”预测模型<sup>[58]</sup>。AI 模型优先推荐高概率“成分-靶点”配对,由多靶标细胞膜色谱仪进行高通量验证,实验数据实时反馈迭代优化,形成“计算预测-色谱初筛-功能验证-模型更新”的闭环系统,大幅缩短 GPCR 靶点发现周期,为中药 Q-Marker 的分子机制解析提供技术支撑(图 1)。

### 3.3 GPCR 功能活性的高通量筛选平台

GPCRs 的功能活性检测建立在其复杂的信号转导网络基础之上。经典的 GPCR 信号通路通过异源三聚体 G 蛋白介导,根据 G 蛋白  $\alpha$  亚基的不同可分为 Gs、Gi/o、Gq/11 和 G12/13,分别激活腺苷酸环化酶(adenylyl cyclase, AC)、抑制 AC、激活磷脂酶 C(phospholipase C, PLC)以及调控鸟苷酸交换因子(Rho guanine nucleotide exchange factor, RhoGEF)等下游效应分子。此外,GPCR 还可通过 G 蛋白非依赖途径(如  $\beta$ -arrestin 介导的信号转导)调控下游信号通路并发挥生物学功能。这种信号通路的多样性和复杂性为功能活性检测提供了多个可检测节点,同时也对筛选平台的设计提出了挑战。功能活性高通量筛选的核心在于将受体激活后的生物化学事件转化为可定量检测的光学信号。目前主流的功能活性检测技术主要基于第二信使、报告基因、 $\beta$ -arrestin 招募等检测<sup>[59-60]</sup>(图 1)。

**3.3.1 基于第二信使的功能活性检测平台** 第二信使是 GPCR 激活后最早产生的细胞内信号分子,其浓度变化直接反映受体功能状态。基于第二信使的检测平台主要包括 cAMP 检测和 IP/Ca<sup>2+</sup>检测两大类<sup>[61]</sup>。cAMP 是 Gs 和 Gi/o 偶联受体最重要的第二信使。目前主流的 cAMP 检测技术包括均相时间

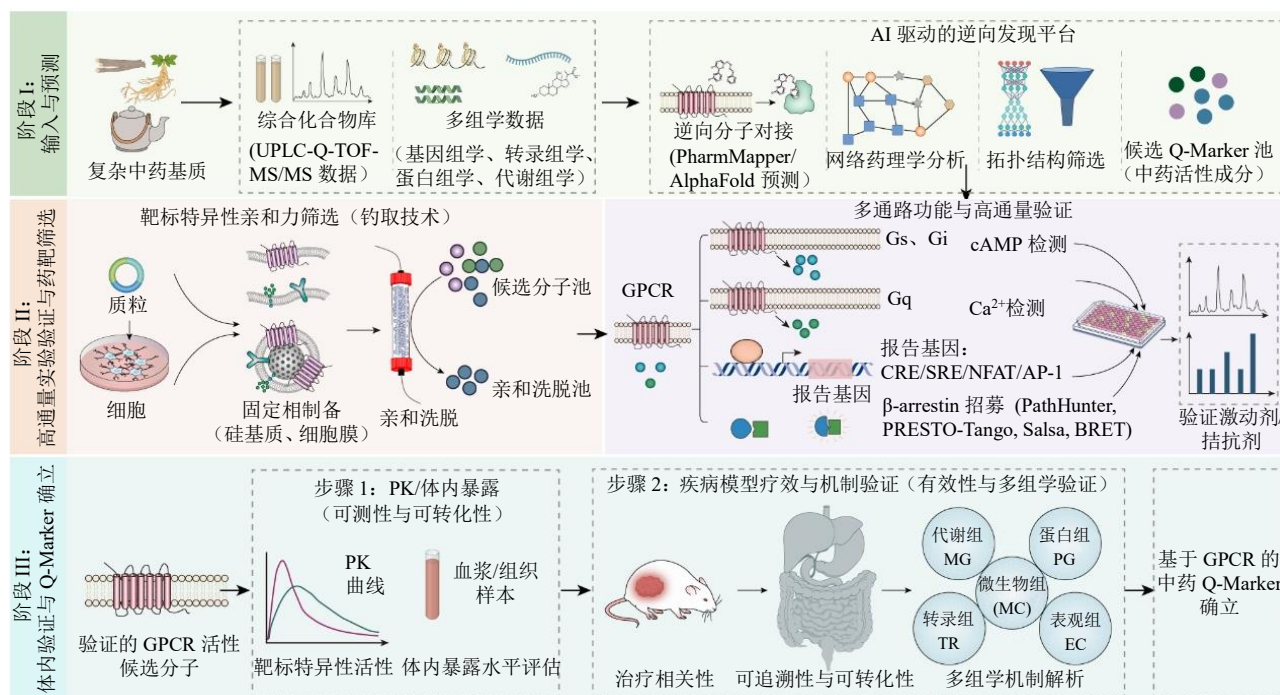


图 1 GPCR 导向的中药 Q-Marker 发现技术体系

Fig. 1 GPCR-oriented technical system for discovery of Q-Markers in traditional Chinese medicine

分辨荧光共振能量转移 (homogeneous time-resolved fluorescence, HTRF) 技术。HTRF 技术利用镧系化合物 ( $\text{Eu}^{3+}$  cryptate) 作为供体、XL665 或 d2 作为受体, 通过竞争性免疫检测原理定量细胞内 cAMP 水平, 具有极高的灵敏度, 完全兼容 384 孔和 1536 孔板操作。对于 Gq 偶联受体, 其激活 PLC 后产生  $\text{IP}_3$ , 进而引起细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度快速升高。基于  $\text{Ca}^{2+}$  的检测平台主要包括荧光钙指示剂法和发光法。Fluo-4、Fura-2 等荧光钙指示剂可通过荧光成像读板机实现实时动力学检测, 特别适合配体结合速率和脱敏特性的研究<sup>[62]</sup>。而发光法检测平台如 GloSensor、cAMP 检测系统, 利用萤火虫荧光素酶基因工程改造的生物传感器将第二信使浓度变化转化为发光信号, 具有操作简便、无需洗涤的优势<sup>[63]</sup>。

**3.3.2 基于报告基因的功能活性检测平台** 报告基因检测平台通过将受体激活与报告基因 (如荧光素酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、绿色荧光蛋白等) 的表达偶联, 实现信号放大, 从而提高检测灵敏度。常用的报告基因系统包括 cAMP 响应元件 (cAMP response element, CRE)、血清响应元件 (serum response element, SRE)、活化 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T cells, NFAT) 和激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1) 等顺式作用元件驱动的荧光素酶

报告基因<sup>[63]</sup>。当 GPCR 激活引起相应信号通路活化时, 荧光素酶表达增加, 通过加入荧光素底物即可产生发光信号。基于报告基因检测技术的优势在于信号放大效应显著, 能够检测弱效激动剂或部分激动剂的活性, 且背景信号低。然而, 报告基因检测需要较长的孵育时间 (通常 4~16 h) 以使报告基因充分表达, 不适合快速动力学研究, 且可能受到化合物细胞毒性或转录调控的干扰。近年来, 基于纳米荧光素酶 (NanoLuc luciferase, NanoLuc) 的报告基因系统因其高亮度、低背景和相对分子质量小等优势受到广泛关注。纳米荧光素酶二分互补技术 (NanoLuc binary technology, NanoBiT) 和纳米荧光素酶生物发光共振能量转移技术 (NanoLuc bioluminescence resonance energy transfer, NanoBRET) 进一步拓展了报告基因平台的应用范围, 可实现蛋白质-蛋白质相互作用的实时检测, 为 GPCR 偏向性信号转导研究提供了有力工具<sup>[63]</sup>。

**3.3.3 基于  $\beta$ -arrestin 招募的功能活性检测平台**  $\beta$ -arrestin 不仅是 GPCR 脱敏和内化的关键调控因子, 还能作为支架蛋白介导 G 蛋白非依赖的信号转导 [如细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 激活]。因此,  $\beta$ -arrestin 招募检测成为评估 GPCR 偏向性激动剂功能活性的重要手段。

PRESTO-Tango 平台是研究人员开发的革命性 GPCR 筛选系统,其名称源于探戈(tango)舞蹈中 2 人紧密配合的动作,形象地描述了受体与  $\beta$ -arrestin 的相互作用过程。该平台的核心设计是将目标 GPCR 与烟草蚀刻病毒(tobacco etch virus, TEV)的识别位点及转录因子融合表达,同时将  $\beta$ -arrestin 与 TEV 蛋白酶融合。当配体激活受体导致  $\beta$ -arrestin 招募时,TEV 蛋白酶被带到受体附近,切割 TEV 位点释放转录因子。释放的转录因子进入细胞核,激活荧光素酶报告基因表达,产生可检测的发光信号<sup>[57]</sup>。PRESTO-Tango 平台具有多项显著优势:首先,其信号放大机制使检测灵敏度极高,能够识别纳摩尔级别的弱效配体;其次,由于信号依赖于受体- $\beta$ -arrestin 的物理相互作用,该检测天然具有极高的特异性;最后,平台设计模块化,通过更换不同的 GPCR 编码序列即可快速建立新的检测细胞系。该系统已成功应用于超过 300 种非嗅觉 GPCRs 的功能筛选,包括大量孤儿受体的去孤儿化研究。在 PRESTO-Tango 基础上,相关研究团队进一步开发了 PRESTO-Salsa 平台,均可实现基于  $\beta$ -arrestin 招募的功能活性检测<sup>[64]</sup>。

除 PRESTO 系列外,PathHunter 酶片段互补(enzyme fragment complementation, EFC)技术也是  $\beta$ -arrestin 检测领域的重要平台。该技术将  $\beta$ -半乳糖苷酶分为 ProLink (PK) 和 enzyme acceptor (EA) 2 个无活性的片段,分别与 GPCR 和  $\beta$ -arrestin 融合表达。当受体激活导致  $\beta$ -arrestin 招募时,2 个酶片段靠近互补形成完整酶活性,通过化学发光底物检测信号。PathHunter 平台已建立超过 300 种 GPCR 的检测细胞系,覆盖大部分临床相关靶点<sup>[65]</sup>。

另一种重要的  $\beta$ -arrestin 检测技术是生物发光共振能量转移(bioluminescence resonance energy transfer, BRET)和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)。通过将 GPCR 标记荧光蛋白[如黄色荧光蛋白(yellow fluorescent protein, YFP)、绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)]或荧光素酶[如海肾荧光素酶(*Renilla luciferase*, Rluc)、NanoLuc],  $\beta$ -arrestin 标记互补荧光团,受体与  $\beta$ -arrestin 相互作用引起能量转移,产生可检测的比率信号。BRET 技术具有天然背景低、无需外源激发的优势,特别适合活细胞实时动力学监测<sup>[66]</sup>。

### 3.3.4 高通量筛选平台在中药 Q-Marker 发现中的

局限、挑战与发展方向 上述各类 GPCR 功能高通量筛选平台为中药活性物质的挖掘提供了强大的工具,但在实际应用于中药 Q-Marker 发现时,仍存在亟待突破的技术局限。首要瓶颈在于中药提取物的理化性质对光学检测信号的严重干扰。基于第二信使(如 HTRF、Fluo-4)和报告基因的光学检测平台,极易受到中药粗提物中自发荧光化合物或颜色较深成分的荧光淬灭与背景干扰,导致高通量筛选中出现大量假阳性或假阴性数据<sup>[67]</sup>。此外,部分中药成分的非特异性细胞毒性也常在需要较长孵育时间的报告基因检测中引发信号偏差。现有的大规模泛靶点筛选系统(如 PRESTO-Tango 等)高度依赖  $\beta$ -arrestin 招募来表征受体激活。然而,中药的多种经典药理作用(如炎症干预、糖脂代谢调控等)更多地依赖于受体对经典 G 蛋白( $G_s$ 、 $G_i/o$ 、 $G_q/11$ 等)的特异性激活<sup>[68]</sup>。若筛选平台仅局限于  $\beta$ -arrestin 信号,将遗漏大量 G 蛋白偏向性的关键活性成分,导致机制研究的严重偏差。

为了真正将 GPCR 筛选与中药 Q-Marker 发现结合,未来的技术发展应聚焦于构建 G 蛋白功能筛选平台。通过引入先进的基因编辑工具构建更灵敏、能在极短时间内捕捉 G 蛋白构象变化的新型生物传感器,有效规避中药长时间孵育带来的毒性与荧光干扰。在此基础上,GPCR 高通量筛选平台在中药 Q-Marker 发现中的实际作用将得到升华,以“G 蛋白介导的分子机制响应”作为标准(如激活  $G_q$  纠正代谢紊乱或拮抗  $G_s$  缓解炎症因子释放)。

### 3.4 AI 与计算药理学驱动的反向 Q-Marker 发现

反向药理学以受体为起点,通过计算与实验手段识别其内源性或外源性配体,特别适用于孤儿 GPCR 的脱孤研究<sup>[69]</sup>。近年来,人工智能与计算药理学的发展使该策略从单纯实验筛选转向“计算预测到实验验证”的模式:机器学习模型可基于已知配体-受体相互作用数据预测新配体,如 AlphaFold 等结构预测工具为基于结构的药物设计提供基础<sup>[70]</sup>。无监督聚类与分子动力学模拟结合可预测配体的偏向性信号谱为设计选择性调控特定通路的药物提供新途径<sup>[71]</sup>。在中药 Q-Marker 发现中,首先通过质谱技术建立中药化学成分的数字化学库,继而利用反向分子对接(如 PharmMapper)、化学相似性搜索及网络药理学工具预测其与 GPCR 等靶点的相互作用<sup>[72]</sup>,经拓扑分析筛选候选 Q-Marker 后,再通过报告基因、 $Ca^{2+}$ 或  $\beta$ -arrestin 招募等 GPCR 功能实

验证其活性(图1)。例如,整合网络药理学、代谢组学与药动学/药效动力学(pharmacokinetics/pharmacodynamics, PK/PD)模型已成功用于经典名方清饶橘慈汤急性肺损伤 Q-Marker 的筛选<sup>[73]</sup>,以及大承气汤治疗肠梗阻的活性等效性评价与 Q-Marker 辨识<sup>[74]</sup>。

### 3.5 多组学整合策略在中药 Q-Marker 发现中的应用

单一组学技术虽能在转录、蛋白或代谢某一层面揭示中药的作用特征,但在面对中药“多成分、多靶点、多通路”的整体调节特点时,往往难以全面阐释其科学内涵。多组学整合策略通过联合转录组测序、蛋白质组学、代谢组学及生物信息学技术等,从基因表达、蛋白调控到代谢响应的不同维度,系统解析中药多组分体系的药效物质基础及其代谢转化规律,构建从化学成分到生物效应的多层次证据链,已成为中药 Q-Marker 科学辨识的重要依据。在靶向 GPCR 的中药 Q-Marker 发现中,多组学整合策略具有独特的应用价值。当前已有研究整合代谢组学与网络药理学,成功预测中药成分与 GPCR 相关靶点的结合作用,验证了中药成分调控氧化损伤、炎症通路的多靶点效应,明确了毒性相关中药 Q-Marker 的作用机制<sup>[74]</sup>。团队将多组学分析技术与全基因组泛 GPCR 筛选平台<sup>[47]</sup>、AI 虚拟筛选等前沿技术相结合<sup>[75]</sup>,完成了首个聚焦经典名方“藿香正气”的天然多样性成分数据库(Huoxiang Zhengqi Component Galaxy, HXZQCG)。藿香正气口服液中活性成分柚皮素查耳酮能够结合组胺 H2 受体(histamine H2 receptor, H2R),且浓度相关性地抑制组胺诱导的 cAMP 积累,表现出 H2R 拮抗活性<sup>[76]</sup>。通过多组学整合手段构建“基因、蛋白、代谢物”多层次分析体系,系统解析中药成分与 GPCR 靶点的互作网络,为 GPCR 活性导向的中药 Q-Marker 精准筛选提供从分子机制到整体效应的全链条研究支撑(图1)。

### 4 GPCR 导向 Q-Marker 的确认与质量标准构建

GPCR 活性筛选获得的候选成分需依据 Q-Marker “五原则”完成从“活性发现”到“Q-Marker 确认”的系统验证。首先,收集涵盖中药材、饮片、提取物以及制剂等多质量层级的代表性样品,采用 UPLC/GC-MS 等分析技术确定候选成分的含量范围、批次间变异及加工传递规律,评价其特有性、可测性和传递性。其次,通过受体结合实验、剂量-

效应关系、受体亚型选择性及下游功能(G 蛋白/ $\beta$ -arrestin)分析,确认候选成分与特定 GPCR 之间的直接作用及功能效应,并借助拮抗剂阻断、基因敲除/敲低或受体突变等手段,建立“成分-GPCR-药效”关联。在此基础上,结合血清药物化学和药理学等,评估候选成分或其活性代谢物在生理给药条件下能否达到有效暴露水平;对于多糖等难以直接入血的成分,则需考察其经肠道菌群转化后产生的活性代谢物及其对相关 GPCR 的调控作用。据此,可将候选分子划分为 2 类:一类为兼具明确的 GPCR 作用机制、体内暴露基础和药效关联,并满足可测性、传递性等基本要求的核心 Q-Marker;另一类为仅具 GPCR 活性,但尚缺乏充分体内暴露或药效关联证据的候选成分,从而实现从发现阶段向 Q-Marker 确认阶段的有效过渡。

对于经上述证据链确认的 Q-Marker,首先建立 HPLC、UPLC 或其他适宜方法的含量测定及指纹图谱,以实现对其含量范围、批间一致性和生产过程稳定性的控制。对于其药效高度依赖 GPCR 功能调控的中药,可进一步以关键 GPCR 为生物学探针,建立基于受体结合或功能活性的生物效价检测方法,以弥补单纯化学成分含量测定“有量未必有效”的不足。

Q-Marker 的确认不能仅关注有效性,需同步评价其安全性。GPCR 广泛参与心血管、神经、免疫和代谢稳态,部分中药成分对  $\beta$ -肾上腺素受体( $\beta$ -adrenoceptor,  $\beta$ -AR)、 $\alpha$ -AR、5-HTR、血管紧张素 II 1 型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)等 GPCR 的异常激活或抑制可能同时构成药效和不良反应的分子基础。因此,可将与不良反应密切相关的 GPCR 作为安全性评价靶点,通过受体结合、功能活性及剂量-效应关系,明确候选 Q-Marker 对治疗靶点与潜在毒性靶点的作用谱,并结合体内毒理、暴露水平及安全窗进行综合评估。例如,对于含麻黄碱等具有  $\alpha/\beta$ -肾上腺素受体活性的中药成分,其 GPCR 活性可解释药效,也提示心率、血压等潜在安全风险;其质量限度不应仅依据含量范围确定,还应考虑其受体效价及安全暴露范围。最终应构建“成分含量-GPCR 靶点活性-体内暴露-有效性-安全性”的多维度质量评价体系,使 GPCR 从单纯的药效机制研究靶点,拓展为联结中药物质基础、临床功效与用药安全的质量评价工具,为建立兼具有效性和安全性指示意义的现代 Q-Marker 质量标准提供科学依据。

5 GPCR 介导的中药多维作用机制网络

GPCR 作为细胞感知微环境变化的首要门户，其级联放大效应广泛参与并主导了炎症、代谢、微生态及神经心血管等宏观与微观病理轴线的发生发展。相较于传统网络药理学易陷入的“假阳性预测”与“胞内靶点难触达”困境，基于 GPCR 导向的质控策略展现出了不可替代的相对优势（表 2）。首先，该策略赋予活性成分筛选特异性与物理可验证性，实现了从“虚拟预测”到“物理确证”的跨越。其次，该策略为中药“双向调节”与“减毒增效”的传统理论提供了支撑。最后，该策略成功打通了“不入血成分”的药

效机制，拓宽了 Q-Marker 的评价边界。这种以受体功能为导向的发现策略，在亟需多维稳态重塑的复杂疾病场景中具有较高的适用性，无论是寻找柔性拮抗  $\alpha/\beta$ -AR 以缓解神经-心血管张力的活性单体，还是发掘激动胰高血糖素样肽-1 受体（glucagon-like peptide-1 receptor, GLP-1R）/胆汁酸受体 5（Takeda G protein-coupled receptor 5, TGR5）以逆转代谢综合征的天然促泌剂。因此，识别中药成分中能够特异性干预核心病理轴线上关键 GPCR 的活性分子不仅是阐明药效机制的关键，更是确立具备功能指示意义的 Q-Marker 的根本逻辑（图 2）。

表 2 主流中药质量控制策略与基于 GPCR 的发现策略的对比分析

| Table 2 Comparative analysis of mainstream traditional Chinese medicine quality control strategies and GPCR-based discovery strategies |                |                   |                              |                                         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------|------------------------------|-----------------------------------------|
| 比较维度                                                                                                                                   | 化学指纹图谱         | 血清药物化学            | 网络药理学与系统生物学                  | 基于 GPCR 的发现策略                           |
| 逻辑起点                                                                                                                                   | 基于物质含量（丰度驱动）   | 基于系统暴露量（入血驱动）     | 基于计算预测（数据驱动）                 | 基于靶向亲和力与功能启动（机制驱动）                      |
| 关注点                                                                                                                                    | 中药材的化学物质组成     | 药物体内吸收与代谢谱        | 潜在的“成分-靶点-疾病”宏观网络            | 药物-细胞膜受体的“首次物理接触”与变构调节                  |
| 核心筛选技术                                                                                                                                 | HPLC、GC-MS、NMR | LC-MS/MS          | 数据库挖掘、分子对接                   | 受体细胞膜色谱、SPR、高通量受体功能筛选（BRET、Tango）       |
| 靶点特异性                                                                                                                                  | 不涉及靶点          | 极低，仅证明物质存在未证明结合靶点 | 较低，预测结果常包含大量无直接物理接触的胞内激酶/核受体 | 极高，特异性锁定环境感知与信号放大的上游 GPCR 家族            |
| 机制深度                                                                                                                                   | 浅层结构鉴定         | 药动力学揭示            | 提供广泛的通路相关性缺乏明确的级联触发点         | 可解释中药独特的“信号偏向性”与“变构调节”                  |
| 大分子质控潜力                                                                                                                                | 弱，多糖等大分子难以准确定量 | 极弱，大分子无法完整入血      | 较弱，数据库严重缺乏大分子结构数据            | 强，阐明了不入血多糖通过发酵产物特异性激活肠道 GPR41/43 轴的质控逻辑 |
| 质控最终形态                                                                                                                                 | 静态化学含量测定       | 药动力学参数界定          | 网络拓扑结构分析                     | 融合化学定量与生物效价测定的综合标准                      |

5.1 GPCR-炎症轴

炎症反应是多数急慢性疾病的共性微环境。在此病理级联中，趋化因子受体（如 CCR2、CXCR4）和嘌呤能受体（如 P2Y2、P2Y6）作为上游信号枢纽是驱动白细胞趋化、巨噬细胞极化和引发炎症因子风暴的关键开关<sup>[77-78]</sup>。例如，CCR2/5 在代谢性炎症中被异常激活，进而促使巨噬细胞释放促炎介质并诱导靶器官发生炎症死亡<sup>[79]</sup>。药理学研究表明，具有“活血化瘀、清热解毒”功效的中药，其核心活性成分往往是这些炎症相关 GPCR 的天然拮抗剂，如芍药苷被证实可特异性靶向抑制 CXCR2，从而有效减轻由核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋

白 3（nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3）和核因子- $\kappa$ B（nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B）介导的局部炎症反应<sup>[80]</sup>。黄芩乙醇提取物则能靶向 P2X 嘌呤能受体家族（P2X3），通过抑制 ERK1/2 磷酸化及 NF- $\kappa$ B 通路显著降低促炎细胞因子分泌<sup>[81]</sup>。更有趣的是，土茯苓中的落新妇苷不仅能抑制 P2Y6 受体活性，更能同步下调下游的白细胞介素-8（interleukin-8, IL-8）/CXCR2 信号轴，阻断中性粒细胞胞外诱捕网的形成<sup>[82]</sup>。此外，雷公藤红素作为雷公藤发挥免疫抑制作用的核心成分，其抗炎效能高度依赖于对大麻素受体 2（cannabinoid receptor 2, CB2R）的特异性激活，进而

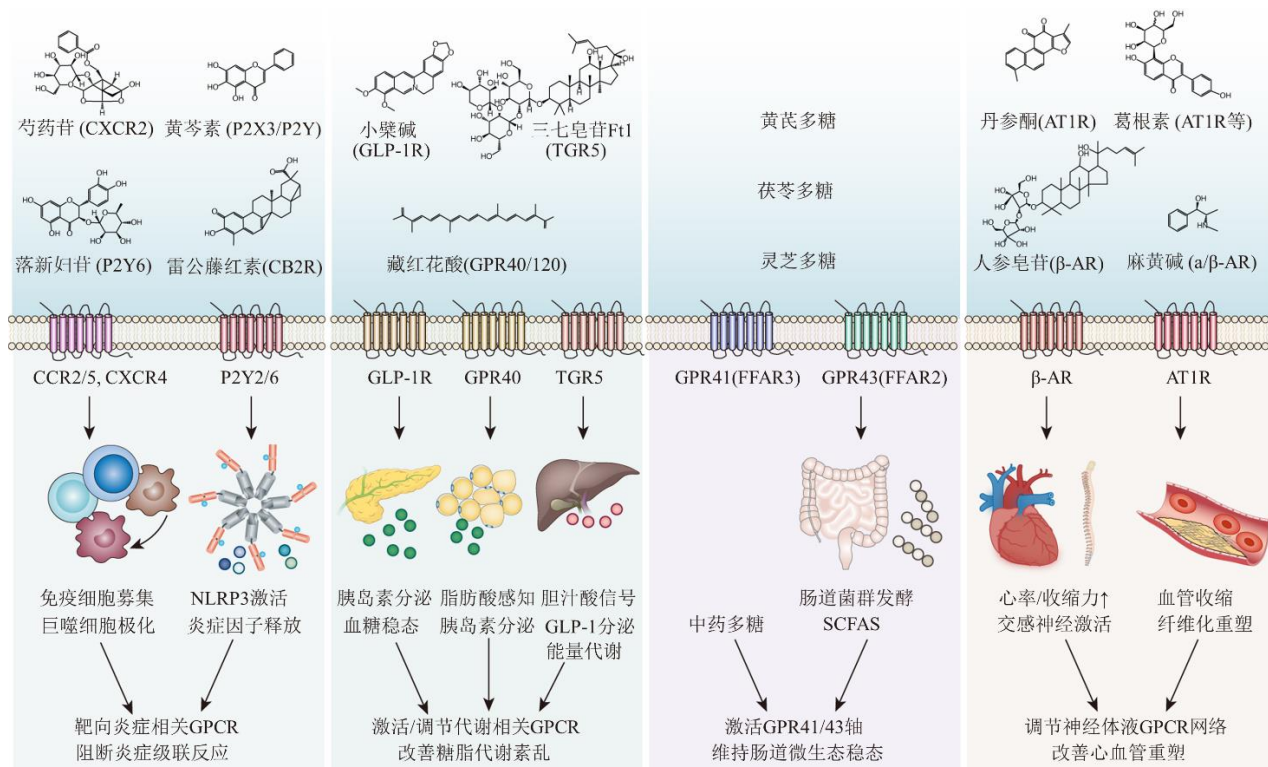


图 2 GPCR 介导的中药多维作用机制网络示意图

Fig. 2 Schematic diagram of multi-dimensional mechanism network of traditional Chinese medicine mediated by GPCR

抑制 M1 型巨噬细胞极化和 NLRP3 炎症小体<sup>[82-83]</sup>。传统的质量控制往往仅停留在对上述单体成分的化学定量，难以全面反映中药的系统抗炎效价。鉴于芍药苷、雷公藤红素等活性成分能够通过高亲和力结合并特异性调控病理微环境中的核心 GPCR，从源头阻断炎症级联放大的始动信号，因此，建立基于此类靶点 GPCR 结合亲和力与功能活化效价的生物检测法，并将其与化学定量整合，或可确立抗炎免疫调节类中药专属 Q-Marker。

## 5.2 GPCR-代谢轴

代谢综合征〔如肥胖、2 型糖尿病、代谢功能障碍相关性脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease, MASLD)] 的病理演进高度依赖于宿主代谢性 GPCR 的感应失灵<sup>[84]</sup>。其中，GLP-1R、游离脂肪酸受体 (GPR40、GPR120) 以及胆汁酸受体 (TGR5) 等构成了“肠-肝-胰岛”代谢通讯的基石。中药在代谢重塑方面展现出独特的“受体促泌”或“变构调节”优势，如黄连中的特征成分小檗碱已被证实能有效上调肠道 GLP-1 的分泌并间接增敏 GLP-1R 信号通路。在萜类及黄酮类化合物中，三七皂苷 Ft1 被证实可直接激活脂肪组织中的 TGR5，促进白色脂肪褐变并诱导 GLP-

1 释放，从而改善胰岛素抵抗<sup>[85]</sup>。而广泛存在于西红花中的藏红花酸更是被鉴定为 GPR40 和 GPR120 的双重激动剂，其既能促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素，又能增强脂肪细胞的葡萄糖摄取<sup>[86]</sup>。尽管单一的成分测定不能反映其代谢纠偏的综合能力，但以 GLP-1R 或 TGR5 等受体作为分子探针，筛选并定量中药提取物中具有 GPCR 靶点激动的成分群，或可确立调节代谢类中药 Q-Marker。

## 5.3 GPCR-肠道菌群轴

肠道微生态与宿主的跨界通讯极大程度依赖于微生物代谢产物对宿主细胞膜 GPCR 的激活<sup>[87]</sup>。游离脂肪酸受体 3 (free fatty acid receptor 3, FFAR3, 旧名 GPR41) 和 FFAR2 (GPR43)，广泛分布于肠上皮细胞和免疫细胞表面，其激活能显著维持肠道黏膜屏障的完整性，抑制肠源性内毒素入血引发的系统性炎症<sup>[88]</sup>。中医“从肠论治”“补气健脾”理论的物质基础部分源于中药中富含丰富的大分子多糖<sup>[89]</sup>。例如，黄芪多糖、百蕊草多糖等大分子虽难以被直接吸收入血，但可在结肠部位经特定菌群发酵为短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs)，进而作为内源性配体有效激活宿主的 GPR41/GPR43 信号，发挥全身性的免疫调节和靶器官保护

作用<sup>[90-91]</sup>。传统的 Q-Marker 研究多受限于易被血液吸收的“小分子中心论”，导致大量有效的大分子多糖被排除在质控体系之外。然而，基于 GPR41/GPR43 介导的机制提示，多糖等大分子通过“宿主-微生物共代谢”产生的具有特定 GPCR 激活活性的终产物正是其发挥药效的关键。因此，具备特定结构的多糖片段（其降解产物能最大化激动 GPR41/GPR43 受体）应被纳入补气健脾类中药的 Q-Marker 体系。

#### 5.4 GPCR-神经心血管轴

心血管疾病（如心力衰竭、血管硬化等）的发生和恶化在宏观血流动力学血流动力学层面上高度依赖于“神经-体液压力轴”的失控<sup>[92]</sup>。在此过程中，GPCR 充当了致命的信号放大器。其中，交感神经末梢释放的去甲肾上腺素过度激活心肌和血管上的  $\beta$ -AR，诱发心肌耗氧量剧增和细胞凋亡。同时，过度激活的肾素-血管紧张素系统（renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS）通过血管紧张素 II 的 1 型受体（angiotensin II type 1 receptor, AT1R）强力引发血管痉挛，并启动不可逆的转化生长因子- $\beta$ （transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ）/Smad 纤维化重塑程序<sup>[93]</sup>。在临床干预中，中医药体现出“柔性多靶点”调节的极大潜力。例如，从葛根中提取的葛根素、葛根醇可同时靶向 AT1R、内皮素 A 型受体（endothelin type A receptor, ETAR）、 $\beta$ 2-AR 等多个 GPCR，发挥综合的心血管保护作用<sup>[94-95]</sup>。反之，作为麻黄核心质控成分的麻黄碱，是最早被认识的天然拟交感生物碱，能直接激活  $\alpha/\beta$ -AR 并促进内源性儿茶酚胺释放，在发汗解表的同时也解释了其引发心率及血压波动的潜在毒理机制<sup>[96]</sup>。治疗心血管疾病中药的安全性和有效性须建立在对特定神经-体液 GPCR 网络的调控之上。因此，利用前沿技术，直接以这些心血管核心 GPCR 为“钓饵”，筛选并界定中药提取物中具有强亲和力的结合分子，可实现功能导向型 Q-Marker 发现、构建安全有效的中药质控体系。

#### 6 中药成分-靶点-药效-Q-Marker 的典型案例分析

前述研究表明，GPCR 活性筛选能够从复杂中药体系中发现具有受体结合或功能调控活性的天然产物，但 GPCR 活性并不等同于 Q-Marker 的确立。候选成分还需要进一步结合其来源及含量代表性、GPCR 靶点作用、药效关联、体内暴露、传递性及可测性等证据进行综合评价。因此，中药成分-

靶点-药效-Q-Marker 的典型案例分析不仅关注“中药中有什么活性成分”，还应进一步回答“该成分作用于什么 GPCR、产生何种功能效应、是否与中药功效直接相关，以及是否具备作为 Q-Marker 的质量控制价值”。基于这一思路，选取小檗碱、左旋延胡索乙素以及吴茱萸来源的成分（*Evodia rutaecarpa*-15, ER-15）等具有代表性的案例进行系统分析（表 3）。

小檗碱是黄连、黄柏的主要活性成分，长期以来已作为相关中药的指标性成分用于质量控制。有研究利用自主建立的负向生存压力选择系统（negative survival pressure selection system, nSPS），从天然产物中高通量筛选 GPCR 拮抗剂，发现去亚甲基小檗碱可作为  $\beta$ 2AR 的天然拮抗剂<sup>[12]</sup>。该研究进一步从受体药理学层面建立了小檗碱与  $\beta$ 2AR 之间的直接作用关系，为其抗应激作用提供了新的分子机制解释。由于小檗碱本身已经具有明确的药材来源、质量控制基础和可测定性，其 GPCR 靶点及功能活性证据进一步补充了传统化学指标成分的有效性证据。因此，小檗碱属于由传统指标成分向具有明确靶点功能证据的 Q-Marker 进一步发展的典型案例，提示传统质量指标可以通过 GPCR 功能验证获得更加明确的药效学内涵。

L-THP 是延胡索的重要活性生物碱，具有镇痛、镇静等药理作用，其作用机制与多巴胺 D1、D2 受体等 GPCR 密切相关。在元胡止痛滴丸的 Q-Marker 研究中，通过“性味-响应-成分”三元关系分析并结合实验验证，确定延胡索乙素和原阿片碱等成分与苦味相关药效密切相关，进一步将传统性味理论与现代药效物质基础联系起来<sup>[97]</sup>。L-THP 通过调节多巴胺受体介导的神经信号参与镇痛作用，使其具备较为明确的“中药成分-GPCR-药效”关联。该案例表明，GPCR 不仅能够作为现代药理机制研究的分子靶点，还可以与中药传统功效及复方 Q-Marker 研究相结合，从而为具有明确传统功效属性的候选 Q-Marker 提供靶点层面的有效性证据。

吴茱萸来源的 ER-15（吴茱萸次碱-10-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷，*rutaecarpine*-10-O- $\beta$ -D-glucopyranoside）则代表了另一种由 GPCR 靶向筛选反向发现候选 Q-Marker 的研究模式。刘红月等<sup>[98]</sup>建立靶点导向的天然产物 GPCR 配体筛选平台，从吴茱萸总生物碱提取物中发现 ER-15 能够靶向腺苷 A2A 受体（adenosine A2A receptor, A2AR）和 A2B 受体（A2BR），表现为双重拮抗活性。进一步研究表明，

表 3 基于 GPCR 靶点的中药活性成分与 Q-Marker 典型案例分析

| Table 3 Typical case analysis of active ingredients in traditional Chinese medicine and Q-Marker based on GPCR targets |                                        |                   |                       |                                |                                                    |                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------|-----------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 中药/方剂                                                                                                                  | 活性成分                                   | GPCR 靶点           | 受体作用及功能效应             | 主要药效及机制                        | Marker 证据基础                                        | Q-Marker 评价                           |
| 黄连、黄柏                                                                                                                  | 小檗碱                                    | β2AR              | 拮抗 β2AR, 调控相关应激信号     | 参与抗应激作用, 为小檗碱药理作用提供新的受体机制解释    | 具有明确药材来源和含量测定基础, 已纳入相关药材质量控制, 具有明确 GPCR 靶点及功能活性证据  | 证据较充分的候选 Q-Marker, 可进一步发展 GPCR 功能评价   |
| 延胡索/元胡止痛滴丸                                                                                                             | 左旋延胡索乙素 (L-tetrahydropalmatine, L-THP) | 多巴胺受体 (D1R、D2R) 等 | 拮抗多巴胺受体, 调节神经递质信号     | 参与镇痛、镇静作用                      | 已有明确药效和 Q-Marker 研究基础, “性味-响应-成制”研究与 GPCR 药理机制相互印证 | 具有较明确 Q-Marker 基础 GPCR 证据可进一步强化其有效性关联 |
| 吴茱萸                                                                                                                    | ER-15                                  | A2AR、A2BR         | 双重拮抗腺苷受体, 阻断腺苷免疫抑制信号  | 增强 T 细胞活性, 促进肿瘤细胞凋亡, 并表现出抗肿瘤作用 | 已完成天然产物筛选、靶点确认、细胞及动物药效验证, 并在患者来源肿瘤类器官中得到支持         | 候选 Q-Marker, 仍需补充含量代表性、传递性和体内暴露证据     |
| 麻黄                                                                                                                     | 麻黄碱                                    | α/β-AR            | 激动 α/β 肾上腺素受体并增强拟交感信号 | 发汗、平喘等药效过度激活可能导致心率和血压升高        | 具有明确化学成分和含量控制基础, GPCR 作用同时关联药效与潜在安全风险              | 兼具有效性与安全性评价价值的 Q-Marker 候选            |
| 黄连等                                                                                                                    | 小檗碱及相关生物碱                              | 多种 GPCR           | 可对不同受体产生激动、拮抗或调节作用    | 涉及代谢、炎症及神经调节等多种药理效应            | 具有较丰富的 GPCR 药理研究基础, 但不同药材和制剂中的具体质量关联仍需逐一验证         | 适合作为 GPCR 导向 Q-Marker 发现的代表性成分群       |

“Q-Marker 评价”主要依据目前已有的成分来源、靶点作用、功能活性和药效研究进行分级, 并不意味着所有具有 GPCR 活性的成分均已正式确立为 Q-Marker; 正式纳入质量标准仍需进一步完成含量代表性、传递性、可测性、体内暴露以及安全性等系统评价。

“Q-Marker evaluation” is mainly graded based on existing studies of component sources, target interactions, functional activity and pharmacodynamic effects, it does not mean that all components with GPCR activity have been officially established as Q-Markers; Further systematic evaluations including content representativeness, transferability, measurability, in vivo exposure and safety are still required for official inclusion in quality standards.

ER-15 能够阻断腺苷介导的免疫抑制, 增强 T 细胞活性并促进肿瘤细胞凋亡, 在动物模型及患者来源肿瘤类器官中均表现出抗肿瘤作用, 与程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 抗体联用还可产生协同效应。该案例形成了较为完整的“天然产物发现-GPCR 靶点确认-受体功能验证-细胞与体内药效评价”证据链, 为从中药复杂体系中反向发现具有明确靶点和药效关联的候选 Q-Marker 提供了重要范例。但需要指出的是, ER-15 目前主要体现为具有明确 GPCR 药理活性的候选成分, 其是否能够进一步确立为正式 Q-Marker 还需结合其在吴茱萸及相关制剂中的含量代表性、加工传递性、体内暴露以及检测方法等开展系统评价。

从质量控制与安全性角度看, GPCR 导向的 Q-Marker 发现还能够帮助识别兼具药效和潜在安全风险的成分。例如, 麻黄中的麻黄碱能够作用于 α/βAR 并产生拟交感效应, 其发汗、平喘等传统药效与 GPCR 激活密切相关, 而过度激活相关受体又可能引起心率加快和血压升高<sup>[96]</sup>。因此, 对于此类

成分, 单纯依据其含量进行质量控制并不足以完整反映其质量属性, 还应将受体功能活性及有效暴露范围纳入评价。该类案例提示, GPCR 不仅能够作为 Q-Marker 有效性确认的重要分子依据, 也可作为识别潜在安全性风险的重要工具, 从而体现 Q-Marker 兼具有效性和安全性指示意义的完整内涵。

GPCR 导向的 Q-Marker 研究大体存在 2 种典型路径: 一是以已有指标性成分为起点, 通过 GPCR 靶点发现和功能验证进一步强化其有效性证据, 如小檗碱和 L-THP; 二是以疾病相关 GPCR 为靶点, 从中药复杂体系中反向筛选具有明确受体活性的天然产物, 再进一步开展药效、暴露和质量属性评价, 如吴茱萸来源的 ER-15。前者有利于提升现有质量标准的药效学内涵, 后者则能够突破传统“高含量成分优先”的筛选模式, 发现传统指标体系中可能被忽视的低含量高活性成分。需要强调的是, 只有同时具备明确的物质基础、GPCR 作用证据、药效关联、体内可达性以及良好的可测性和质量传递性的候选成分才具有进一步确立为核心 Q-Marker 的基础。

## 7 结语与展望

本文系统总结了以 GPCR 等关键靶标为切入点的 Q-Marker 发现策略及其在中药质量评价中的潜在应用。首先,受体亲和色谱、高通量功能性筛选等技术的发展为从复杂中药体系中发现具有明确靶点作用的活性成分提供了新的技术路径,使 Q-Marker 的筛选能够由传统的化学成分相关性分析进一步拓展至靶点作用与生物活性相结合的证据评价。例如,小檗碱、L-THP 以及吴茱萸来源活性成分 ER-15 等研究表明,GPCR 靶点信息能够将中药活性成分与其具体药理效应进一步关联,为从靶点层面阐释 Q-Marker 的有效性提供依据。其次,GPCR 具有丰富的信号转导模式,其配体可通过不同 G 蛋白及  $\beta$ -arrestin 等途径产生差异化的功能效应,部分中药活性成分还可能通过受体变构调节等方式影响受体功能。因此,GPCR 相关研究不仅有助于解析中药成分的作用机制,也为理解中药多成分、多靶点及协同调节特征提供了新的分子视角。与此同时,对于部分体内原型暴露有限甚至难以直接入血的中药成分,肠道微生物代谢及肠道局部靶点作用等研究提示,其药效物质基础并不完全取决于血液中原型成分的暴露水平,而需要结合代谢转化产物、作用部位及靶点效应进行综合评价。由此,GPCR 靶向发现策略有望将中药成分、分子靶点、体内暴露与药效效应进一步关联,推动 Q-Marker 评价由单纯的化学成分含量控制向化学属性与生物效应相结合的综合评价模式拓展,为解决中药质量控制中“化学成分与药效关联不足”的问题提供新的研究思路。

以 GPCR 为核心的 Q-Marker 研究策略目前仍处于由理论探索、方法学构建向系统应用逐步发展的阶段,现有研究已在活性成分发现、靶点确认及典型案例验证等方面取得一定进展,但距离形成可用于标准化质量控制的成熟体系仍存在较大距离。一方面,目前中药成分与 GPCR 靶点之间的作用信息仍较为分散,缺乏系统、规范且具有统一评价标准的高质量数据资源。未来可依托泛 GPCR 筛选平台、计算预测与实验验证相结合的“药靶同筛”策略逐步构建涵盖中药代表性成分、GPCR 亚型、作用模式及功能效应的互作图谱和数据库,为 Q-Marker 的系统发现与预测提供数据基础。另一方面,现有研究较多集中于成分与 GPCR 之间的体外结合或功能验证,而从成分暴露、靶点作用、整体

药效到临床获益的连续证据链仍有待进一步建立。因此,GPCR 活性并不能单独作为 Q-Marker 确定的充分依据,还需要结合成分的体内暴露、药效相关性、特异性及可测性等 Q-Marker 评价原则进行综合判断。对于具有潜在安全性风险的 GPCR 活性成分,还应进一步关注其靶点介导的不良效应。例如,某些成分对肾上腺素能受体等 GPCR 的过度激活可能同时带来心血管等安全性风险,因此,GPCR 介导的有效性与安全性应当共同纳入 Q-Marker 的评价框架,从而体现 Q-Marker 兼具“有效性指示物”和“安全性指示物”的完整内涵。

此外,将 GPCR 功能活性检测真正引入中药质量控制体系,还需要解决检测方法的标准化、重复性、基质干扰及实验室间可比性等关键问题。未来可借鉴生物检定和药理活性评价的相关规范,针对不同 GPCR 及其下游信号通路建立具有明确参考物、剂量效应关系和质量评价参数的标准化检测方法。在此基础上,应进一步关注中药活性成分对不同 GPCR 信号通路的差异性调节,包括 G 蛋白和  $\beta$ -arrestin 等通路的偏向性效应,并探索其与传统功效表征之间的关联。但需要指出的是,偏向性信号并非所有中药 GPCR 活性成分的普遍特征,其与“补气、活血、清热”等传统功效之间的对应关系目前仍缺乏充分的系统性证据,因此更适合作为未来深入研究和拓展 Q-Marker 功效表征维度的重要方向。

综上,GPCR 等靶点为连接中药化学成分、分子靶点、体内暴露和药效效应提供了具有潜力的技术切入点,但其作为 Q-Marker 发现与质量评价核心策略的科学性和适用性仍需通过更多系统研究加以验证。未来通过受体药理学、化学蛋白质组学、药动学、多组学及人工智能等多学科技术的交叉融合,可进一步完善“成分发现-GPCR 作用确认-体内暴露评价-药效及安全性关联-Q-Marker 确证”的证据链,逐步建立兼顾化学属性、生物活性、有效性和安全性的中药质量评价体系,从而推动中药质量控制由传统的“化学成分含量评价”向“化学属性与生物效应相结合的整合评价”转变,为中药临床疗效保障及质量标准现代化提供科学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 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.

- [2] Dai Y T, Li Q, Tong J Y, *et al.* Quality marker identification based on standard decoction of differently processed materials of *Ephedrae Herba* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 237: 47-54.
- [3] 张铁军, 王杰, 陈常青, 等. 基于中药属性和作用特点的中药质量标志物研究与质量评价路径 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1051-1060.
- [4] 张铁军, 白钢, 陈常青, 等. 基于“五原则”的复方中药质量标志物 (Q-marker) 研究路径 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 1-13.
- [5] Yang W Z, Zhang Y B, Wu W Y, *et al.* Approaches to establish Q-markers for the quality standards of traditional Chinese medicines [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7(4): 439-446.
- [6] Tran K N, Mac G L, Munni Y A, *et al.* Q-marker identification strategies in traditional Chinese medicines: A systematic review of research from 2020 to 2024 [J]. *Front Med*, 2026, 12: 1709969.
- [7] Rask-Andersen M, Masuram S, Schiöth H B. The druggable genome: Evaluation of drug targets in clinical trials suggests major shifts in molecular class and indication [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014, 54: 9-26.
- [8] Zhang R, Xie X. Tools for GPCR drug discovery [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(3): 372-384.
- [9] Everett L J, Lazar M A. Cell-specific integration of nuclear receptor function at the genome [J]. *Wires Syst Biol Med*, 2013, 5(5): 615-629.
- [10] Seo Y. Integrated screening cascades for ion-channel drug discovery: Linking structure, electrophysiology, safety pharmacology, and human-relevant models [J]. *Int J Mol Sci*, 2026, 27(13): 5774.
- [11] Hauser A S, Chavali S, Masuho I, *et al.* Pharmacogenomics of GPCR drug targets [J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 41-54.
- [12] Xu T, Sun Q X, Zhang S H, *et al.* A negative survival pressure selection system enables GPCR antagonist screening [J]. *Cell Discov*, 2026, 12: 33.
- [13] Zhuang Y W, Wang Y, He B Q, *et al.* Molecular recognition of morphine and fentanyl by the human  $\mu$ -opioid receptor [J]. *Cell*, 2022, 185(23): 4361-4375.
- [14] Yang H T, Wang Y F, Liu W, *et al.* Genome-wide pan-GPCR cell libraries accelerate drug discovery [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(10): 4296-4311.
- [15] 黄文, 辛光, 张三印, 等. 源于抗肺纤维化传统方剂的原创新药开发策略 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(10): 296-307.
- [16] 张三印, 张婷, 陈伟, 等. 基于全基因组泛受体的药靶同筛中药开发与评价新策略 [J]. 药学报, 2025, 60(8): 2375-2388.
- [17] Bi Z H, Li H, Liang Y T, *et al.* Emerging paradigms for target discovery of traditional medicines: A genome-wide pan-GPCR perspective [J]. *Innovation*, 2025, 6(3): 100774.
- [18] Xu X Y, Wang S M, Wang H M, *et al.* Simultaneous quantitative assays of 15 ginsenosides from 119 batches of ginseng samples representing 12 traditional Chinese medicines by ultra-high performance liquid chromatography coupled with charged aerosol detector [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1655: 462504.
- [19] Xu X Y, Jiang M T, Wang Y, *et al.* Multiple heart-cutting two-dimensional liquid chromatography/charged aerosol detector assay of ginsenosides for quality evaluation of ginseng from diverse Chinese patent medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2023, 1708: 464344.
- [20] Yu Y, Yao C L, Zhang J Q, *et al.* Comprehensive quality evaluation of *Aconiti Lateralis Radix* Praeparata based on pseudotargeted metabolomics and simultaneous determination of fifteen components, and development of new processed products of black slices with less toxicity [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 228: 115295.
- [21] Zhao H L, Liu R Z, Ding M, *et al.* Determination of 44 major components and chemical profiling of saccharide in Chinese medicinal formula Lanqin Oral Liquid [J]. *Phytochem Anal*, 2023, 34(5): 560-570.
- [22] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [23] 邓桃妹, 彭代银, 俞年军, 等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2703-2717.
- [24] 邓桃妹, 彭灿, 彭代银, 等. 甘草化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的探讨 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2660-2676.
- [25] 李伟霞, 泥文娟, 王晓艳, 等. 当归化学成分、药理作用及其质量标志物 (Q-marker) 的预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(6): 40-47.
- [26] 李伟, 李淑明, 李挺洋, 等. 复方丹参滴丸中君药丹参的质量标志物研究 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2000-2006.
- [27] 武欣, 张洪兵, 许浚, 等. 基于质量标志物的元胡止痛方配伍大鼠脑组织分布研究 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 45-49.
- [28] 侯小涛, 郝二伟, 杜正彩, 等. 基于反向功效差异性特点的中药质量标志物研究思路: 以三七为例 [J]. 药学报, 2019, 54(2): 211-221.
- [29] 郭倩, 田成旺, 朱月信, 等. HPLC 法同时测定疏风解

- 毒胶囊中 7 种活性成分 [J]. 中草药, 2015, 46(8): 1174-1177.
- [30] 曹勇, 郭倩, 田成旺, 等. 疏风解毒胶囊 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2034-2039.
- [31] Gao Y, Nie K X, Wang H Z, *et al.* Research progress on antidepressant effects and mechanisms of berberine [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1331440.
- [32] 孔晓旭, 左红艳, 李杨. 粉防己碱的药理作用及临床应用研究进展 [J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(7): 496-501.
- [33] Farco J A, Grundmann O. Menthol: Pharmacology of an important naturally medicinal “cool” [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(1): 124-131.
- [34] Mueller L, Goumas F A, Affeldt M, *et al.* Stromal fibroblasts in colorectal liver metastases originate from resident fibroblasts and generate an inflammatory microenvironment [J]. *Am J Pathol*, 2007, 171(5): 1608-1618.
- [35] Jiang X W, Chen S, Zhang Q S, *et al.* Celastrol is a novel selective agonist of cannabinoid receptor 2 with anti-inflammatory and anti-fibrotic activity in a mouse model of systemic sclerosis [J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153160.
- [36] Wang N, Chang Y, Chen L L, *et al.* Tanshinone IIA protects against chronic intermittent hypoxia-induced myocardial injury via activating the endothelin 1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 1013-1020.
- [37] Huang R Y, Zhang C S, Cheng Y, *et al.* A review of potential analgesic effect, chemical components, toxicology and detoxification of Duanchangcao [J]. *Pharmacol Res Mod Chin Med*, 2025, 15: 100609.
- [38] Qin H Y, Zang K H, Zuo X, *et al.* Quercetin attenuates visceral hypersensitivity and 5-hydroxytryptamine availability in postinflammatory irritable bowel syndrome rats: Role of enterochromaffin cells in the colon [J]. *J Med Food*, 2019, 22(7): 663-671.
- [39] 周靖惟, 谢状元, 毕增昊, 等. 靶向 G 蛋白偶联受体的中药活性成分筛选策略 [J]. 成都中医药大学学报, 2025, 48(3): 1-11.
- [40] Zhang T, You S J, Chen W H, *et al.* A facile antibody-mediated CMC platform for targeted screening of CCR1 ligands from *Magnolia officinalis* [J]. *J Pharm Anal*, 2026, 16(8): 101699.
- [41] Zhang B J, Zhao S M, Yang D H, *et al.* A novel G protein-biased and subtype-selective agonist for a G protein-coupled receptor discovered from screening herbal extracts [J]. *ACS Cent Sci*, 2020, 6(2): 213-225.
- [42] Cho Y J, Choi S H, Lee R, *et al.* Ginseng gintonin contains ligands for GPR40 and GPR55 [J]. *Molecules*, 2020, 25(5): 1102.
- [43] Harada N, Okuyama M, Teraoka Y, *et al.* Identification of G protein-coupled receptor 55 (GPR55) as a target of curcumin [J]. *NPJ Sci Food*, 2022, 6(1): 4.
- [44] Liu H P, Acharya S, Sudan S K, *et al.* Comparative study of the molecular mechanisms underlying the G protein and  $\beta$ -arrestin-dependent pathways that lead to ERKs activation upon stimulation by dopamine D2 receptor [J]. *FEBS J*, 2023, 290(21): 5204-5233.
- [45] Wu M Y, Ge Y J, Wang E J, *et al.* Enhancement of efferocytosis through biased FPR2 signaling attenuates intestinal inflammation [J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(12): e17815.
- [46] Hua T, Vemuri K, Nikas S P, *et al.* Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB1 [J]. *Nature*, 2025, 646(8085): 754-758.
- [47] Hua T, Li X T, Wu L J, *et al.* Activation and signaling mechanism revealed by cannabinoid receptor-gi complex structures [J]. *Cell*, 2020, 180(4): 655-665.
- [48] Xu W X, Wu L J, Liu S H, *et al.* Structural basis for strychnine activation of human bitter taste receptor TAS2R46 [J]. *Science*, 2022, 377(6612): 1298-1304.
- [49] Tran K N, Mac G L, Munni Y A, *et al.* Q-marker identification strategies in traditional Chinese medicines: a systematic review of research from 2020 to 2024 [J]. *Front Med*, 2026, 12: 1709969.
- [50] Liu M Q, Zhao X R, Ma Z C, *et al.* Discovery of potential Q-marker of traditional Chinese medicine based on chemical profiling, chemometrics, network pharmacology, and molecular docking: *Centipeda minima* as an example [J]. *Phytochem Anal*, 2022, 33(8): 1225-1234.
- [51] Lu X Y, Jin Y Y, Wang Y Z, *et al.* Multimodal integrated strategy for the discovery and identification of quality markers in traditional Chinese medicine [J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12(5): 701-710.
- [52] Chen T, Tian S Y, Cao L F, *et al.* Uncovering the quality markers and mechanisms of *Gastrodia elata* against LPS-induced neuroinflammation via network pharmacology and experimental verification [J]. *J Ethnopharmacol*, 2026, 369: 121920.
- [53] 段成思, 刘志勇, 史兰云, 等. 中药质量标志物多维度评价体系的构建与应用: 化学、生物及整合分析视角 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8395-8402.
- [54] Ma W N, Wang C, Liu R, *et al.* Advances in cell membrane chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2021, 1639: 461916.
- [55] Jiang X, Shon K, Li X F, *et al.* Recent advances in identifying protein targets of bioactive natural products [J].

- Heliyon*, 2024, 10(13): e33917.
- [56] Chen W, Yu Z Y, Leng L, *et al.* Artificial intelligence-curated repository of gene-encoded natural diverse components from herbal medicines [J]. *Innovation*, 2025, 6(12): 101011.
- [57] Kroeze W K, Sassano M F, Huang X P, *et al.* PRESTO-Tango as an open-source resource for interrogation of the druggable human GPCRome [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, 22(5): 362-369.
- [58] Meng F B, Wang C, Lin Y, *et al.* DeepICER: A deep learning framework for predicting compound-induced gene expression profiles [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2026, 16(5): 2947-2963.
- [59] Pierce K L, Premont R T, Lefkowitz R J. Seven-transmembrane receptors [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(9): 639-650.
- [60] Neves S R, Ram P T, Iyengar R. G protein pathways [J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1636-1639.
- [61] 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.
- [62] Hansen K B, Bräuner-Osborne H. FLIPR assays of intracellular calcium in GPCR drug discovery [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 552: 269-278.
- [63] DiRaddo J O, Miller E J, Hathaway H A, *et al.* A real-time method for measuring cAMP production modulated by G $\alpha$  i/o-coupled metabotropic glutamate receptors [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 349(3): 373-382.
- [64] Chen H W, Rosen C E, González-Hernández J A, *et al.* Highly multiplexed bioactivity screening reveals human and microbiota metabolome-GPCRome interactions [J]. *Cell*, 2023, 186(14): 3095-3110.e19.
- [65] Wang T, Li Z, Cvijic ME, *et al.* Measurement of  $\beta$ -arrestin recruitment for GPCR targets [M] // Markossian S, Grossman A, Baskir H, *et al.* *Assay Guidance Manual*. Bethesda, MD: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences, 2004: 1-11.
- [66] Namkung Y, Le Gouill C, Lukashova V, *et al.* Monitoring G protein-coupled receptor and  $\beta$ -arrestin trafficking in live cells using enhanced bystander BRET [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12178.
- [67] Wilson B A P, Thornburg C C, Henrich C J, *et al.* Creating and screening natural product libraries [J]. *Nat Prod Rep*, 2020, 37(7): 893-918.
- [68] Zhang T, An W Q, You S J, *et al.* G protein-coupled receptors and traditional Chinese medicine: New thinks for the development of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Med*, 2024, 19(1): 92.
- [69] Civelli O, Nothacker H P, Saito Y, *et al.* Novel neurotransmitters as natural ligands of orphan G-protein-coupled receptors [J]. *Trends Neurosci*, 2001, 24(4): 230-237.
- [70] Jumper J, Evans R, Pritzel A, *et al.* Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold [J]. *Nature*, 2021, 596(7873): 583-589.
- [71] Kenakin T. Biased receptor signaling in drug discovery [J]. *Pharmacol Rev*, 2019, 71(2): 267-315.
- [72] Liu X F, Ouyang S S, Yu B, *et al.* PharmMapper server: A web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(Web Server issue): W609-W614.
- [73] Wang T Y, Lin S, Li H, *et al.* A stepwise integrated multi-system to screen quality markers of Chinese classic prescription Qingzao Jiufei decoction on the treatment of acute lung injury by combining 'network pharmacology-metabolomics-PK/PD modeling' [J]. *Phytomedicine*, 2020, 78: 153313.
- [74] Li D T, Lv B, Wang D, *et al.* Network pharmacology and bioactive equivalence assessment integrated strategy driven Q-markers discovery for da-Cheng-qi decoction to attenuate intestinal obstruction [J]. *Phytomedicine*, 2020, 72: 153236.
- [75] Chen W, Song C, Leng L, *et al.* The application of artificial intelligence accelerates G protein-coupled receptor ligand discovery [J]. *Engineering*, 2024, 32: 18-28.
- [76] You S J, Mo J, Xu G Q, *et al.* HXZQCG: A database of natural diverse components in polyherbal formulation HXZQ identified naringenin *Chalcone* as a ligand of H2R [J]. *Chin Herb Med*, 2026, doi: 10.1016/j.chmed.2026.06.003.
- [77] Pozzi S, Satchi-Fainaro R. The role of CCL2/CCR2 axis in cancer and inflammation: The next frontier in nanomedicine [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2024, 209: 115318.
- [78] Linden J, Koch-Nolte F, Dahl G. Purine release, metabolism, and signaling in the inflammatory response [J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 325-347.
- [79] Ambade A, Lowe P, Kodys K, *et al.* Pharmacological inhibition of CCR2/5 signaling prevents and reverses alcohol-induced liver damage, steatosis, and inflammation in mice [J]. *Hepatology*, 2019, 69(3): 1105-1121.
- [80] Sun X L, Wang X, Zhao Z Y, *et al.* Paeoniflorin inhibited nod-like receptor protein-3 inflammasome and NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory reactions in diabetic foot ulcer by inhibiting the chemokine receptor CXCR2 [J]. *Drug Dev Res*, 2021, 82(3): 404-411.
- [81] Gao L, Zhao J X, Qin X M, *et al.* The ethanol extract of

- Scutellaria baicalensis* Georgi attenuates complete Freund's adjuvant (CFA)-induced inflammatory pain by suppression of P2X3 receptor [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116762.
- [82] Li C T, Huang Y, Wu C X, *et al.* Astilbin inhibited neutrophil extracellular traps in gouty arthritis through suppression of purinergic P2Y6 receptor [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155754.
- [83] Yang L H, Li Y T, Ren J, *et al.* Celastrol attenuates inflammatory and neuropathic pain mediated by cannabinoid receptor type 2 [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 13637-13648.
- [84] Jin C, Chen H, Xie L, *et al.* GPCRs involved in metabolic diseases: Pharmacotherapeutic development updates [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(7): 1321-1336.
- [85] Ding L L, Yang Q L, Zhang E Y, *et al.* Notoginsenoside Ft1 acts as a TGR5 agonist but FXR antagonist to alleviate high fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(6): 1541-1554.
- [86] Zhao X D, Ahn D, Nam G, *et al.* Identification of crocetin as a dual agonist of GPR40 and GPR120 responsible for the antidiabetic effect of saffron [J]. *Nutrients*, 2023, 15(22): 4774.
- [87] Sun M M, Wu W, Liu Z J, *et al.* Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases [J]. *J Gastroenterol*, 2017, 52(1): 1-8.
- [88] Liu M T, Zhang Y, Liu J, *et al.* Revisiting the role of valeric acid in manipulating ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2024, 30(4): 617-628.
- [89] 段晨晨, 赵文晓, 吕琴, 等. 药食同源类中药多糖在功能性保健食品方面的药理作用研究进展 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2022, 24(10): 3844-3850.
- [90] Song Q B, Cheng S W, Li D, *et al.* Gut microbiota mediated hypoglycemic effect of *Astragalus membranaceus* polysaccharides in db/db mice [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1043527.
- [91] Hu G D, Shao T L, Wang J P, *et al.* Structural characterization of a branched polysaccharide isolated from *Thesium chinense* Turcz. and its ameliorative effects on ulcerative colitis [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(41): 26154-26171.
- [92] Maryam, Varghese T P, Tazneem B. Unraveling the complex pathophysiology of heart failure: Insights into the role of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) and sympathetic nervous system (SNS) [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2024, 49(4): 102411.
- [93] Kayki-Mutlu G, Koch W J. Novel roles for G protein-coupled receptor kinases in cardiac injury and repair [J]. *Biochem Soc Trans*, 2023, 51(2): 715-724.
- [94] Li C, Zhu Y B, Fang Y. Discovery of bioactive compounds targeting endothelin A receptor and angiotensin II type 1 receptor in Gegen Qinlian decoction by co-immobilized receptor chromatography [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2025, 263: 116918.
- [95] Chen S H, Niu Z R, Shen Y J, *et al.* Naodesheng decoction regulating vascular function via G-protein-coupled receptors: Network analysis and experimental investigations [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1355169.
- [96] Gad M Z, Azab S S, Khattab A R, *et al.* Over a century since ephedrine discovery: An updated revisit to its pharmacological aspects, functionality and toxicity in comparison to its herbal extracts [J]. *Food Funct*, 2021, 12(20): 9563-9582.
- [97] Tian Y W, Yao J, Gao Q, *et al.* Holistic concept guided quality control of traditional Chinese medicines for optimizing bioavailability [J]. *Chin Med*, 2025, 20(1): 202.
- [98] Liu H Y, Yang X Y, Xu J Y, *et al.* Target-centric multiplexed screening of an herbal extract identifies a novel dual a(2A)/a(2B) receptor antagonist for cancer immunotherapy [J]. *ACS Cent Sci*, 2026, 12(3): 358-374.

[责任编辑 潘明佳]