

基于效应基准的中药质量生物标志物研究策略

李小锦, 黄莹莹, 杨 珍, 武 欣, 庄朋伟*, 张艳军*

(天津中医药大学, 天津市现代中药重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地,
天津市中药药理学重点实验室, 天津 301617)

摘要: 中药质量控制是其现代化和全球化发展的前提, 目前基于化学基准和效应基准的双重质量控制已经得到了国内外学者的共识。人们通过大量的研究已经从药材基源、药材性状及显微特征、物质基础以及药效作用等方面入手, 建立了一系列行之有效的质量控制方法。并且在基于化学基准的质量控制研究方面, 已经在指纹图谱、DNA条形码、等效成分群、质量标志物等研究方面取得了丰硕的成果。然而由于中药在生长年限、产地、生长环境以及制剂工艺等各种影响因素的差异, 导致基于化学基准的中药质量控制仍难以全面反映中药质量。目前仍存在单纯基于化学基准的中药质量标准如何准确体现中药质量的争议, 如中药质量标准中所选择的指标性成分难以全面反映中药或其复方中全部成分, 并且指标成分与中药效应(有效性和安全性)的关联性尚不明确。鉴于机体多信号通路级联反应及串扰所形成的复杂信号网络, 以及中药多成分多靶点的协同调控作用, 可能存在不同成分调控同一信号或网络的现象和在一定范围内某些化学成分量的变化并不足以引起相关信号网络效应变化的情况。因此, 基于效应基准的中药质量控制可能成为中药质量标准的有益补充, 本文提出了基于效应基准的中药质量生物标志物(Q-biomarker)研究策略, 以期为中药质量控制研究提供一定方法学参考。

关键词: 中药质量评价; 质量生物标志物; 效应基准; 化学基准

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2019)02-0204-07

Research strategy for quality-biomarkers of traditional Chinese medicine based on effect benchmarks

LI Xiao-jin, HUANG Ying-ying, YANG Zhen, WU Xin, ZHUANG Peng-wei*, ZHANG Yan-jun*

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine,
Tianjin Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmacology, Tianjin 301617, China)

Abstract: The quality control of traditional Chinese medicine provides the premise of its modernization and globalization. Currently, the dual quality control based on chemical benchmark and effect benchmark has been recognized domestically and internationally. Research efforts have led to establishment of a series of effective quality control methods based on chemical components, medicinal properties, microscopic characteristics, material constituents and pharmacodynamic targets. In the study of quality control based on chemical benchmarks, fruitful results on fingerprints, DNA barcodes, and quality markers have been achieved. However, due to a variety of factors, such as growth period, origin, growth environment and preparation process of traditional Chinese medicine, the quality control of traditional Chinese medicine based on chemical benchmarks remains difficult to fully reflect the quality of traditional Chinese medicine. At present, there is still a dispute on how to accurately reflect the quality of traditional Chinese medicines based on chemical benchmarks. For example, the index components selected in

收稿日期: 2018-10-17; 修回日期: 2018-12-10.

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目《复方丹参滴丸标准化建设》(ZYBZH-C-TJ-55); 长江学者和创新团队发展计划资助(IRT_14R41).

*通讯作者 Tel: 13212082363, E-mail: zhuangpengwei@163.com;

Tel: 86-22-59596130, E-mail: zyjsunye@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0943

the Chinese medicine quality standards are difficult to totally reflect all the components of Chinese medicine, and the relevance between the index components versus therapeutic effect is not yet clear. In view of the complex signal network by cascade reaction and crosstalk of multi-signaling pathways within an organism, and the coordinated regulation of multi-components and multi-targets of traditional Chinese medicine, there may be different components regulating the same signal network or situations where the amount of certain chemical components within a range is not sufficient to cause a change in the signal network. Therefore, the quality control of traditional Chinese medicine based on the effect benchmark may be a useful supplement to the quality standard of traditional Chinese medicine. This paper proposes a Q-biomarker research strategy based on the effect benchmark in order to provide a methodological reference for the quality control research of traditional Chinese medicine.

Key words: quality evaluation of traditional Chinese medicine; quality biomarker; effect benchmark; chemical benchmark

中药质量的稳定性、可控性是中药的生命线,是保证中医临床用药安全和有效的前提,也关系到中药现代化和国际化进程。中药现代化、国际化发展的关键在于中药的安全性、有效性、质量稳定性与质量标准能否完全控制。其中质量稳定性与质量标准如何与西方标准接轨是业界关注的重要问题。中药质量和质量标准的研究是一个动态的不断完善的过程^[1-6]。从第一版中国药典到现行的第十版中国药典(2015版),中药质量和质量标准经历了从宏观到微观,从单指标到多指标,经历了形态评价和化学成分含量评价和过程控制等深刻变化^[7-11](图1),其中指标性成分含量测定是基于化学基准的中药质量控制标准的主要方法和指标^[12-15]。尽管中药质量标准在稳步提高,但由于中药成分复杂,影响因素多等客观原因,导致中药质量评价与控制已经成为中药标准化研究中的重要瓶颈问题。

1 基于化学基准的中药质量控制

中药/中药复方的化学成分多样、结构复杂且成分含量不明确,存在差异。随着科学技术的发展,特别是现代技术的应用和中药创新的需要,其质量和质量标准的研究更是一个动态的不断完善的过程。近些年来,国内研究工作者尝试采用各种方法致力于中药材质量控制方法研究,并提出许多非常有意义的见解和观点。有学者提出将多维多信息特征图谱应用于中药分析鉴定中,建立中药注射剂多维多信息特征图谱,可系统完整地解决药效和质量相关性问题的,获得了满意的结果^[16-19]。Li等^[20-22]提出应开展中药材全息图谱质量评测人工智能系统构建研究的策略,研究核心是探讨应用全息图谱性状图谱(显微特征图谱,基因图谱,化学全成分图谱,主成分含量图谱,血清药化学图谱等)控制中药材质量的研究方法。近年刘昌孝^[7, 23, 24]提出应对中药质量标志物多药效活性进行适当的考

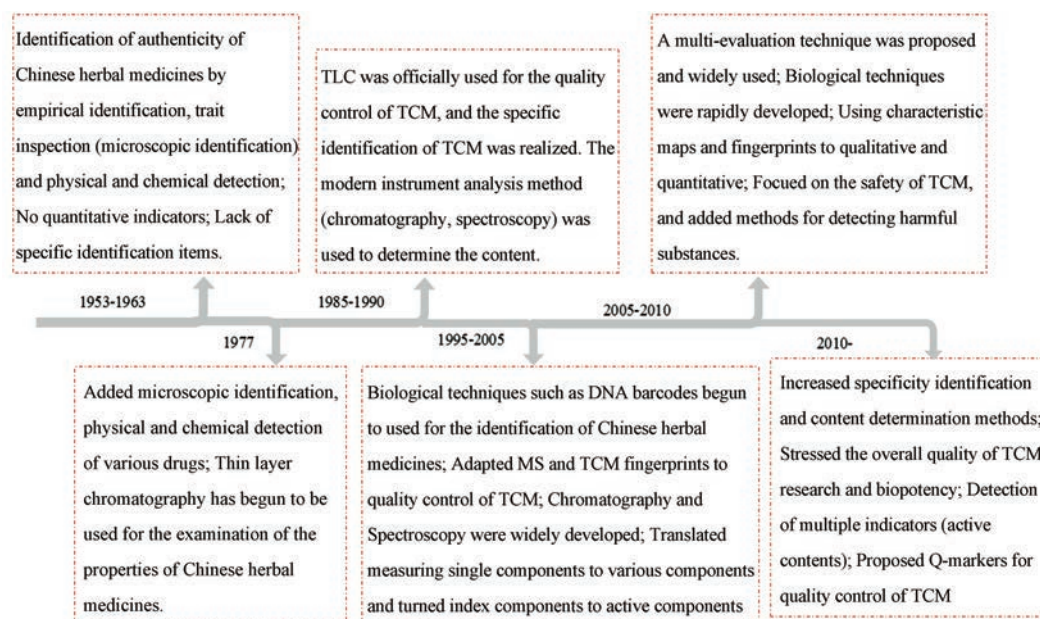


Figure 1 Evolution of Chinese medicine quality control development

虑,对中药质量控制研究提供了很好的研究策略。然而即使针对药物特定成分实现了有效控制,但当前中药质量和中药质量标准依然存在指标性成分难以全面反映中药或其复方中全部成分,药物化学成分的差异必将导致其生物效应的不同,因此存在指标成分与中药效应(有效性和安全性)的关联性尚不明确等问题。目前常用的中药指纹图谱也存在着相当多的问题,多肽类、多糖类活性成分难以建立指纹图谱,此技术与药效学、生物等效性缺乏联系。中药材中“一药多源”、“一物多药”的现象广泛存在,同种功效的药物的化学成分存在显著差异、同种来源的药物因特定成分存在差异导致功效不同^[25]。基于化学基准的中药质量控制模式,难免会存在“以偏概全、难关药效”的不足,难以直接反映中药的谱效关系、量效关系、毒效关系以及中药的安全性和有效性。Xiao等^[26-29]提出“大质量观”的质量控制模式,认为中药质量控制模式应该多元化,不应拘泥于“成分论”,感官评价、生物评价、化学评价均是中药质量控制与评价不可或缺的模式和手段。以药效为中心和主线,建立基于效应基准的质量评价可能为中药质量控制提供新的策略。在化学基准的基础上增加效应基准,逐步构建以效应基准为核心手段和指标之一的中药质量标准体系,以补充和完善目前主要基于化学物质控模式的不足,可能是中药质量控制的重要发展方向。

2 基于效应基准的中药质量控制研究

中药因“多成分、多效应、多靶点、配伍应用、长期服用”等特点导致中药的可控性极其复杂,目前的单一或多个化学成分检测,无论是从质量专属性、活性与功效的关联度,还是毒性与安全性控制等方面都难以保证中药质量,再加上基源、产地、采收、贮藏、提取等中药固有因素和炮制与配伍应用等中医习惯用法等方面影响,致使中药质量控制成为制约中医药现代化、国际化和中医药产业发展的关键因素和瓶颈。以药效为中心和主线,建立基于生物效应的中药质量标准体系可能是我国实现中药现代化、走向国际市场的关键所在。

生物测定由于与安全性有效性关联密切,往往比理化鉴定更具实际价值和优势,对于结构复杂或理化方法不能表征其含量、理化测定不能反映生物活性和临床疗效的中药产品尤为适合,在中药质量评价与控制中具有独到的优势。日本在标准汤剂的质量控制方面从成分定量的化学研究以及药效评价的生物学研究两方面入手,可以在一定程度上控制汉方制剂与标准汤剂在指标成分及药理作用上具有等效性^[30]。

早在20世纪50年代,我国医药学者就开始利用生物活性检测法进行中药质量控制方面的研究。例如,1951年我国生药学家楼之岑^[31]报告了利用小鼠口服植物性泻剂(大黄)排出湿便效应,建立了泻下药的生物活性检测方法。但基于当时技术水平条件的限制,方法并不成熟,操作比较繁琐,精密度和重现性不高,在实际研究中尤其是中药质量标准中没有得到推广应用。从21世纪开始,生物活性检测法在中药质量控制中有了较大的发展,一些生物活性检测技术测定中药含量的方法开始收入药典等法定标准中,如《中国药典》2005年版一部中水蛭通过计算水蛭粉末的抗凝血酶活性的方法进行含量测定。有研究采用生物热动力学方法测定黄连的抑菌活性生物效价探讨了基于道地药材和生物测定的中药质量控制模式和研究方法,推动了效应基准的中药质量控制的发展^[32]。近年也有学者结合化学成分和生物指纹图谱评价双黄连注射液的质量波动^[33,34]。基于化学基准和效应基准的双重控制与单纯的化学测定相比更好的解决中药质量均一性和药效稳定性。

3 基于效应基准的中药质量生物标志物(Q-biomarkers)研究

在基于化学基准的中药质量控制的基础上增加基于效应基准的评价方法和标准,逐步建立以生物测定为核心手段和指标之一的中药质量标准体系,以补充和完善目前主要基于化学基准控制模式的不足(表1),这将是中药质量控制的新的一个重要发展方向。然而基于药理效应评价的中药质量控制也存在评价指标多、模

Table 1 Comparison of quality control methods of TCM

	Chemical benchmark	Effect benchmark	Q-biomarker
Advantage	Quasi-deterministic quantification of drug components and control the stability and effectiveness of TCM	Bioassay combines TCM ingredients with drug effects based on the chemical detection, and effectively reacts biologically active ingredients; solving the problem that quality control standards caused by differences in chemical composition of TCM are not strict	The biological effects are quantified; combined with clinical indications to directly and accurately reflect the effectiveness and safety of the drug from the perspective of drug quality control; integrity and systematic
Disadvantage	Difficult to respond to the effectiveness and safety of TCM, lack of specificity	Many evaluation indicators; complex models; poor repeatability, and complicated operation	Complicated and difficult of the operation process; needs much time and money

型复杂、可重复性差、操作复杂等问题,极大的限制了基于药理效应的中药质量控制技术的发展。生物标志物 (biomarker) 是标记系统、器官、组织、细胞及亚细胞结构或功能的改变或可能发生的改变的生物学或生物化学指标^[35], 可用于疾病诊断、判断疾病分期或者用来评价新药或新疗法在目标人群中的安全性及有效性^[36, 37]。

采用生物标志物将生物效应进行量化, 可以更加直接、便捷的测量生物效应以控制药物质量。基于药物临床适应症的质量生物标志物 (Q-biomarker), 可以评价中药 (或复杂成分药物) 与生物体作用时的生物效价, 从临床疗效终点出发, 从药物质量控制角度直接反映药物有效性、安全性, 可以为现行中药质量评价体系提供有效的补充。Zhou 等^[38]通过皮尔森相关分析和典型相关分析发现川乌有毒成分和相关生物标志物之间的关系, 明确了 LysoPC (22:5), 缬氨酸与乌头中生物碱类成分成一定的相关作用。有报道利用了肝毒性敏感生物标志物 miR-122 证明了苍耳子的炒品肝毒性大于生品^[39]。这些研究成果不仅为中医药毒性机制的研究提供了一条创新的途径, 还对基于质量生物标志物的药物安全性研究起到了积极的作用。中药质量生物标志物研究尚处于起步探索阶段, 至少应涉及药物关键生物效应的选择、质量生物标志物的预测、筛选以及验证等方面。中药质量生物标志物可以解决因药物生长环境、年限以及生产工艺等不同而造成中药化学成分差异所导致质控标准不严格的尴尬局面, 有助于实现复杂成分药物临床疗效的可控性和一致性, 将对中药的发展具有深远的影响。

4 基于网络药理学及计算机虚拟计算的质量生物标志物的预测

以中药质量生物标志物为指标的质量控制体系可以在效应基准层面保障中药质量的稳定性、均一性。基于多成分-多靶点-多信号通路的效应基准评价研究显得尤为重要。明确药效物质基础不仅是阐明中药作用机制的前提, 中药尤其复方所含化学成分十分复杂且含量差异较大, 其化学物质基础是深入研究中药药效作用机制与实现质量控制的关键。基于效应基准的中药质量生物标志物研究首先要明确中药或其复方的药效物质。药物成分作用于机体后所产生的最终效应是基于多生物信号的级联及串扰反应所形成的, 在此过程中多种直接和间接的信号分子受到中药多成分的协同调控作用, 不同的化学成分可以调节相同/不同的直接靶蛋白, 进而激活下游相同/不同的信号通路, 发挥生物效应^[40-43]。因此, 该信号级联反应过程中受多种化学成分调控后相对稳定的并且与效应相关的下游

蛋白可以作为控制药物质量的 Q-biomarker。

中药具有多成分、多靶点、多途径的复杂作用等特征, 近年来, 随着现代分析仪器的不断发展, 多种色谱-质谱联用技术已被广泛应用于中药复杂化学成分的分选与鉴定, 特别是超高效液相色谱串联四级杆-飞行时间质谱 (UPLC-Q/TOF-MS), 具有高效率、高分辨率和高灵敏度的特点, 非常适用于中药化学成分的全息研究^[44, 45]。网络药理学技术以高通量组学数据分析、计算机虚拟计算及网络数据库检索为基础, 基于系统生物学的理论, 对生物系统进行网络分析。从改善或恢复生物网络平衡的整体观角度来认识药物与机体的相互作用。反向分子对接是以小分子化合物为探针, 在已知结构的靶点数据库中搜寻可能与之结合的生物大分子, 通过空间和能量匹配相互识别形成分子复合物, 进而预测药物潜在的作用靶点, 是药物研究开发及中药现代化进程中不可或缺的重要工具^[46]。具体研究可采用生物信息学技术, 结合药物主要成分, 利用 Pharammapper 数据库反向找靶及分子对接技术, 预测所搜集中药成分的直接作用靶点, 通过功能注释筛选与药物关键功能相关的直接作用靶点。将直接靶蛋白映射到京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG), 取其所在通路中下游的靶点作为中药成分的间接作用靶蛋白。筛选出与生物效应作用相关的关键靶蛋白并进行蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 分析, 构建可视化网络, 将所得到的网络作为候选 Q-biomarkers 网络 (图2)。

5 基于生物效应 (功能)-组学分析的质量生物标志物的筛选与验证

在通过网络药理学、计算机虚拟筛选等初步预测质量生物标志物的范围后, 针对所筛选的关键药理作用进行药效验证, 在此基础上取材相应组织通过多组学技术 [如定量蛋白 iTRAQ (isobaric tags for relative and absolute quantitation) 技术] 对质量生物标志物进行筛选。通过对正常组和给药组蛋白组学特征进行比较, 寻找可能与药效相关的差异蛋白或基因, 并对差异蛋白或基因进行生物学分析, 初步得到药物药效功能相关的 Q-biomarkers。

为了快速验证质量生物标志物的准确性, 制备不同质量样品, 在现代中药研究中, 常采用系统溶剂萃取法提取物和不同萃取部位, 对药效和物质基础及两者相关性进行研究。通过药效学数据和潜在 Q-biomarkers 含量进行偏最小二乘回归 (PLSR) 法, 进行相关性分析, 根据模型变量重要性因子 VIP 值, 筛选得到对模型有显著贡献 VIP>1 的与药效相关的 Q-biomarkers。通过与候选 Q-biomarkers 网络进行 PPI 分析, 对最终确

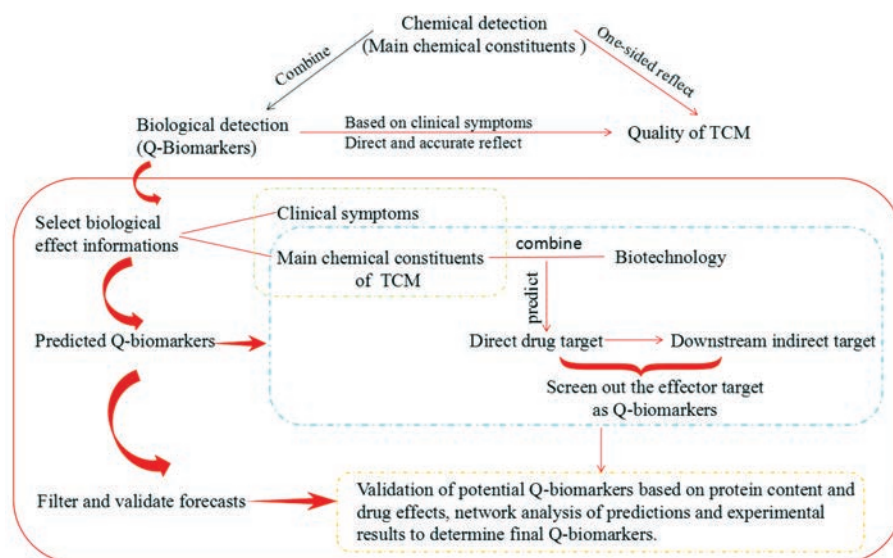


Figure 2 Research strategy of Chinese medicine biomarkers

定的 Q-biomarkers 进行功能注释, 进而确定药物药效功能相关的 Q-biomarkers。进一步通过质量差异样品和质量相似样品, 在药效学指标进行验证的基础上对 Q-biomarkers 进一步验证 (图2)。

6 展望

在中药现代化和全球化的过程中, 中药质量的稳定性和可控性是其现代化国际化发展过程中的关键问题。虽然基于效应基准的中药质量控制已经得到共识, 但生物标志物应用于传统中药质量控制和评价研究尚少。基于质量生物标志物的中药质量评价策略的提出, 可以在药效基础上, 基于化学基准, 通过多成分、多信号的级联及串扰信息, 将药效一致性为最终标准, 通过质量生物标志物的方式制定可量化的评价中药或复方制剂与其临床适应症相关的质量控制的方法, 希望这项新策略可以补充和完善现行质量控制标准体系, 为中医药的现代化和全球化服务。

References

- [1] Yuan R, Lin Y. Traditional Chinese medicine: an approach to scientific proof and clinical validation [J]. *Pharmacol Ther*, 2000, 86: 191-198.
- [2] Jiang Y, David B, Tu P, et al. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines-a review [J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 657: 9-18.
- [3] Liang X, Jin Y, Wang Y, et al. Qualitative and quantitative analysis in quality control of traditional Chinese medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 2033-2044.
- [4] Xie PS, Leung AY. Understanding the traditional aspect of Chinese medicine in order to achieve meaningful quality control of Chinese materia medica [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216:

1933-1940.

- [5] Chen X, Guo J, Bao J, et al. The anticancer properties of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): a systematic review [J]. *Med Res Rev*, 2014, 34: 768-794.
- [6] Hong M, Li S, Wang N, et al. A biomedical investigation of the hepatoprotective effect of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and network pharmacology-based prediction of the active compounds and molecular targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 620.
- [7] Liu C, Cheng Y, Guo D, et al. A new concept on quality marker for quality assessment and process control of Chinese medicines [J]. *Chin Herb Med*, 2017, 9: 3-13.
- [8] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Part I. 2015 Ed. Beijing: Chinese Medical Science Press, 2015.
- [9] Liu YM, Li XG, Peng Q. Study on the quality control and evaluation methods of traditional Chinese medicine [J]. *J Pract Tradit Chin Med (实用中医药杂志)*, 2013, 29: 312-314.
- [10] Yuan F, Long YL. New progress in the quality control method of traditional Chinese medicine in the 2010 edition of Chinese Pharmacopoeia [J]. *Sci Technol Innov Her (科技创新导报)*, 2010, (23): 211-213.
- [11] Li FM, Xiong LL, Lu XM, et al. The development of quality control and evaluation mode of traditional Chinese medicine and the role of system biology [J]. *World Sci Technol Mod Tradit Chin Med (世界科学技术-中医药现代化)*, 2009, 11: 120-126.
- [12] She YM, Hu YH, Han LY, et al. Research progress on quality control of Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2017, 48: 2557-2563.
- [13] Chen Y, Xu GL, Xu DS, et al. Application and key problems of QAMS for quality control of traditional Chinese medicine [J]. *Global Chin Med (环球中医药)*, 2017, 10: 635-640.
- [14] Wei HZ, Luo XM, Liu WX, et al. General situation of the

- additional and revisionary content of the first part in the Chinese Pharmacopoeia 2015 edition [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med* (江西中医药大学学报), 2016, 28: 115-119.
- [15] Shi SM. Standard update and the quality control system of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2015, 50: 1752-1753.
- [16] Si W, Yang W, Guo D, et al. Selective ion monitoring of quinochalcone C-glycoside markers for the simultaneous identification of *Carthamus tinctorius* L. in eleven Chinese patent medicines by UHPLC/QTOF MS [J]. *J Pharm Biomed*, 2016, 117: 510-521.
- [17] Wang J, Qi P, Hou J, et al. The profiling of the metabolites of hirsutine in rat by ultra-high performance liquid chromatography coupled with linear ion trap orbitrap mass spectrometry: an improved strategy for the systematic screening and identification of metabolites in multi-samples *in vivo* [J]. *J Pharm Biomed*, 2017, 134: 149-157.
- [18] Yao C, Yang W, Zhang J, et al. UHPLC-Q-TOF-MS-based metabolomics approach to compare the saponin compositions of Xueshuantong injection and Xuesaitong injection [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40: 834-841.
- [19] Yang W, Zhang J, Yao C, et al. Method development and application of offline two-dimensional liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry-fast data directed analysis for comprehensive characterization of the saponins from Xueshuantong Injection [J]. *J Pharm Biomed*, 2016, 128: 322-332.
- [20] Li MN, Dong X, Gao W, et al. Global identification and quantitative analysis of chemical constituents in traditional Chinese medicinal formula Qi-Fu-Yin by ultra-high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed*, 2015, 114: 376-389.
- [21] Gao W, Wang R, Li D, et al. Comparison of five *Lonicera* flowers by simultaneous determination of multi-components with single reference standard method and principal component analysis [J]. *J Pharm Biomed*, 2016, 117: 345-351.
- [22] Xiaojing W, Liang Z, Chen H, et al. Identification of Daqingye and Banlangen including crude drugs and decoction dregs from three plant species by normal light and fluorescence microscopy [J]. *Microsc Res Tech*, 2013, 76: 774-782.
- [23] Yang W, Zhang Y, Wu W, et al. Approaches to establish Q-markers for the quality standards of traditional Chinese medicines [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7: 439-446.
- [24] Liu CX, Chen SL, Xiao XH, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia medica: quality control for Chinese medicinal products [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2016, 47: 1443-1457.
- [25] Li ZY, Duan YH, Qin XM, et al. Study of difference in quality of traditional Chinese medicines [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2017, 52: 1820-1826.
- [26] Xiao XH, Jin C, Yan D, et al. Proposition and practice on "integrative quality" in quality control for Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2010, 41: 505-508.
- [27] Xiao XH, Zhang DK, Wang JB, et al. Controllability pyramid: an integrated control system of quality for traditional Chinese medicines [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2015, 40: 7-12.
- [28] Zhang HZ, Xiao XH, Wang JB, et al. Consistency of efficacy-equivalent: key essential point of quality control for Chinese materia medica [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46: 1571-1575.
- [29] You Y, Liao FL, Huang LQ. Development of bioassay method in quality control of traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2018, 43: 452-456.
- [30] Chen SL, Liu A, Li Q, et al. Research strategies in standard decoction of medicinal slices [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2016, 41: 1367-1375.
- [31] Lou ZC. Bioassay for botanical laxatives [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1953, 1: 49-71.
- [32] Yan D, Xiao XH. Investigation on pattern and methods of quality control for Chinese materia medica based on Dao-di herbs and bioassay-bioassay for *Coptis chinensis* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2011, 46: 568-572.
- [33] Qin Y, Wang J, Zhao Y, et al. Establishment of a bioassay for the toxicity evaluation and quality control of *Aconitum* herbs [J]. *J Hazard Mater*, 2012, 199: 350-357.
- [34] Zhang L, Ma L, Feng W, et al. Quality fluctuation detection of an herbal injection based on biological fingerprint combined with chemical fingerprint [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406: 5009-5018.
- [35] Wu XW, Huang GC. Research progress on biomarkers [J]. *Guangdong J Anim Vet Sci* (广东畜牧兽医科技), 2008, 33: 14-18.
- [36] Liu XQ, Wu WX, Geng XC, et al. Research progress of biomarkers of drug-induced liver injury [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2018, 27: 47-52.
- [37] Wu XH, Zhao C, Sun XL, et al. Progress in efficacy material base of traditional Chinese medicine based on metabolomics [J]. *Acta Chin Med Pharmacol* (中医药学报), 2017, 45: 87-89.
- [38] Zhou H, Zhang P, Hou Z, et al. Research on the relationships between endogenous biomarkers and exogenous toxic substances of acute toxicity in Radix Aconiti [J]. *Molecules*, 2016, 21: 1623.
- [39] Zeng J, Tang SW, Liu YH, et al. Experimental study on the toxicity of *Xanthium sibiricum* and fried liver based on sensitive biomarkers [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2018, 34: 122-125.
- [40] Chen X, Guo J, Bao J, et al. The anticancer properties of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): a systematic review [J]. *Med Res Rev*, 2014, 34: 768-794.
- [41] Hong M, Li S, Wang N, et al. A biomedical investigation of the hepatoprotective effect of Radix Salviae Miltiorrhizae and net-

- work pharmacology-based prediction of the active compounds and molecular targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 620.
- [42] Hung YC, Wang PW, Pan TL. Functional proteomics reveal the effect of *Salvia miltiorrhiza* aqueous extract against vascular atherosclerotic lesions [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804: 1310-1321.
- [43] Liang X, Chen X, Liang Q, et al. Metabonomic study of Chinese medicine Shuanglong formula as an effective treatment for myocardial infarction in rats [J]. *J Proteome Res*, 2010, 10: 790-799.
- [44] Lv Y, Zhang X, Liang X, et al. Characterization of the constituents in rat biological fluids after oral administration of Fufang Danshen tablets by ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed*, 2010, 52: 155-159.
- [45] Lu Y, Liu X, Liang X, et al. Metabolomic strategy to study therapeutic and synergistic effects of tanshinone IIA, salvianolic acid B and ginsenoside Rb1 in myocardial ischemia rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134: 45-49.
- [46] Tao J, Hou Y, Ma X, et al. An integrated global chemomics and system biology approach to analyze the mechanisms of the traditional Chinese medicinal preparation *Eriobotrya japonica-Fritillaria usuriensis* dropping pills for pulmonary diseases [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2015, 16: 4.