

天然产物靶点发现技术的研究进展

唐嘉唯, 马世博, 赵晓宏, 田 瑜, 尚 海*

中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100193

摘要: 天然产物是药物发现的重要资源, 但其靶点不明的问题在一定程度上限制了后续的精准优化和新药研发。天然产物靶点的发现有助于阐明其作用机制、加速新药研发进程。天然产物靶点发现技术取得了革命性进步。总结了天然产物靶点发现的主要技术, 包括基于亲和力的标记技术、基于蛋白稳定性的无标记技术, 以及基于降解的蛋白质组学分析技术, 阐述了技术原理、优势、局限性以及代表性应用案例, 旨在为天然产物靶点鉴定、机制解析提供参考。

关键词: 天然产物; 靶点发现; 亲和力; 标记技术; 无标记技术; 蛋白质组学

中图分类号: R965.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)05-1462-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.041

Research progress on target discovery technologies for natural products

TANG Jiawei, MA Shibo, ZHAO Xiaohong, TIAN Yu, SHANG Hai

State Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

Abstract: Natural products are important resources for drug discovery, but the problem of unclear targets to some extent limits subsequent precise optimization and new drug development. The discovery of natural product targets helps to elucidate their mechanisms of action and accelerate the development of new drugs. The discovery technology of natural product targets has made revolutionary progress. This article summarizes the main technologies for discovering natural product targets, including affinity based labeling techniques, protein stability based label free techniques, and degradation based proteomics analysis techniques. It elaborates on the technical principles, advantages, limitations, and representative application cases, aiming to provide reference for the target identification and mechanism analysis of natural products.

Key words: natural product; target discovery; affinity; labeling technique; label free technique; proteomics

天然产物是从动植物、微生物、海洋生物中提取或分离的化合物, 具有结构多样性和广泛生物活性的特点, 是药物发现的重要资源。进入 21 世纪以来, 尽管合成化学、分子生物学等技术飞速进步, 药物发现手段日益丰富, 但天然产物及其衍生物仍是新药研发的重要来源。据统计, 2014—2024 年全球共有 58 款天然产物相关药物获批上市^[1]。在持续产出新药的同时, 天然产物的开发模式也经历了深刻转变。传统研究主要依赖于不预设靶点的表型筛选, 虽然能快速筛选到具有活性的天然分子, 但其

靶点不明的问题在一定程度上限制了后续的精准优化和新药研发。为克服这一局限性, 基于天然产物的药物研发模式已逐渐将靶点发现和确证作为重要研究内容。天然产物靶点的发现有助于阐明其作用机制、加速新药研发进程。此外, 由于天然产物往往具有多靶点的特性, 挖掘已上市天然产物药物的新靶点有助于拓展其新适应证, 从而实现老药新用。随着化学生物学的飞速发展和多学科技术的深度融合, 天然产物靶点发现技术取得了革命性进步。目前, 基于亲和力的标记技术已成为天然产物

收稿日期: 2026-03-08

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (7252200)

作者简介: 唐嘉唯 (2001—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物靶点寻找。E-mail: kiaile2016@163.com

*通信作者: 尚 海 (1983—), 男, 研究员, 博士, 从事天然产物结构修饰与新药研发。E-mail: hshang@implad.ac.cn

靶点发现的有效手段,包括生物素化探针技术、点击化学探针技术、基于活性的蛋白质组学分析(ABPP)等。但上述技术需要对天然产物进行化学修饰,存在着部分探针难以合成或合成后探针活性降低甚至丢失等问题。为解决这些问题,基于蛋白稳定性的无标记技术应运而生。其中药物亲和反应靶点稳定性(DARTS)技术、热蛋白质组分析(TPP)技术已成为无标记技术的两种常用方法。近年来,随着蛋白降解技术的不断发展,基于降解的蛋白质组学技术已成为天然产物靶点发现的新兴技术。此外,多技术深度融合也是靶点发现技术的新发展趋势,如将基于降解的蛋白质组学技术与 TPP 技术结合,构建出基于稳定性和降解的蛋白质组分析平台(SDPP),可以更加精准、全面地获取靶点信息^[2]。这些新技术、新方法的涌现为天然产物靶点发现提供了更多的技术支撑,系统开展靶点发现研究对于阐明天然产物的生物学机制、推动创新药物研发具有重要意义。本文总结了天然产物靶点发现的主要技术,包括基于亲和力的标记技术、基于蛋白稳定性的无标记技术,以及基于降解的蛋白质组学分析技术,阐述了技术原理、优势、局限性以及代表性应用案例,旨在为天然产物靶点鉴定、机制解析提供参考。

1 基于亲和力的标记技术

基于亲和力的标记技术是一种起源于 20 世纪末的靶点发现技术,其核心原理是利用天然产物与靶蛋白之间的特异性相互作用。该技术通常采用化学修饰手段,将天然产物转化为由 3 个部分构成的功能化探针:用于与靶蛋白结合的活性天然产物骨架、具有适当长度的连接臂,以及用于后续捕获、富集、检测的报告标签(如生物素)。该探针能够在复杂生物体系中直接捕获相互作用的靶蛋白,从而为天然产物的靶点发现提供有效手段。

1.1 生物素化探针技术

生物素化探针是基于亲和力的标记技术中发展最早、应用最广泛的探针类型,其核心原理是利用生物素与链霉亲和素之间的高度特异性相互作用,实现对靶蛋白的捕获和富集^[3]。在该探针技术中,生物素作为报告标签,通过连接臂与活性天然产物共价结合,所形成的探针能够从复杂生物样本中直接捕获和富集与其相互作用的靶蛋白^[4]。

生物素化探针技术具有操作简便、亲和力高、技术成熟以及适用范围广等优势。生物素与链霉亲

和素之间的相互作用极强,这使得靶蛋白能够被高效、特异性地富集和纯化,极大降低了非特异性背景干扰。此外,生物素-链霉亲和素体系技术成熟、流程标准化,已有众多商业化试剂和方案可供直接使用。但该技术也存在一定局限性,由于生物素分子体积较大,其引入可能因空间位阻影响天然产物与靶蛋白的结合,导致探针活性的丢失。

对于活性明确但作用机制未知的天然产物,构建其生物素化探针是直接捕获靶点的有效技术。灵芝中的灵芝酸 T 具有广谱抗肿瘤活性,Lei 等^[5]合成其生物素化探针,从肝癌细胞裂解液中捕获并鉴定出丙酮酸羧化酶,从而揭示了灵芝酸 T 发挥抗肝癌作用的分子机制。类似地,为探究高三尖杉酯碱抗白血病的分子机制,Liu 等^[6]构建高三尖杉酯碱的生物素化探针,在急性髓系白血病细胞中鉴定出 RNA 结合蛋白 EWSR1 为其作用靶点,并进一步阐明了高三尖杉酯碱通过调控 EWSR1 相分离而发挥抗白血病作用的分子机制。在探针构建过程中,为获得活性更优的分子探针,研究者可先通过结构修饰策略获得高活性的天然产物衍生物,再以该衍生物为基础构建探针,进行靶点探寻。为增强啤酒花来源的黄腐酚的抗炎活性,Miao 等^[7-8]在高活性衍生物 CAM12203 的基础上合成了其生物素化探针。利用该探针鉴定出脂代谢激酶 DGK ζ 为 CAM12203 的直接靶点,并阐明了 CAM12203 通过结合并抑制 DGK ζ 的酶活性阻断其下游 STAT3 信号通路的激活,从而改善急性肝衰竭的作用机制。此外,生物素化探针亦适用于直接从动物组织样本中捕获靶点,从而在更接近生理状态条件下揭示天然产物的作用机制。在探究蝴蝶亚仙人掌活性成分 P57 诱导小鼠低体温和低代谢作用机制的研究中,研究者首先将 P57 制备成生物素化探针,随后利用亲和下拉实验从小鼠脑组织裂解物中捕获到其靶点吡哆醛激酶。进一步研究证实,P57 与吡哆醛激酶结合并抑制其激酶活性,导致底物吡哆醛在下丘脑中积累,进而导致体温下降^[9]。为阐明益母草碱的肝脏保护作用,Wang 等^[10]将益母草碱的生物素化探针分别与 AML12 细胞、小鼠肝脏组织裂解物共孵育,从中捕获并鉴定出其作用靶点为脂联素受体 2,揭示了其缓解急性肝衰竭的相关机制。

1.2 点击化学探针技术

基于点击化学的分子探针是指利用点击化学反应,将报告基团(如荧光基团、生物素等)高效、

特异、生物相容地连接到目标生物分子上，从而实现在活细胞或生物体系中对靶蛋白进行标记、追踪和富集。在实际应用中，需首先分析天然产物的化学结构，评估引入炔基或叠氮基团的可行性，进而设计和合成相应的点击化学探针，用于在复杂生物体系中特异性地捕获与其相互作用的靶蛋白。

点击化学探针的优势在于其具有生物正交性，探针中的叠氮基团、炔基等官能团几乎不与内源性生物分子发生反应，可显著地降低非特异性背景干扰^[11]。同时，由于叠氮或炔基基团的体积小于生物素，由此制备的探针相对分子量更小。这不仅能够最大程度地保留天然产物的原始结构和药理活性^[12]，还使得该类探针具有更强的细胞膜穿透能力，适用于活细胞水平的靶点标记和鉴定。然而，该方法也存在一定局限性。与生物素化探针相比，在天然产物中引入叠氮或炔基的合成难度更高，往往依赖复杂的化学生物学技术^[13]。此外，由于催化点击化学反应所需的铜(I)催化剂具有一定的细胞毒性，因此在一定程度上限制了其在活细胞等生理体系中的直接应用^[14]。

点击化学探针因具有生物正交性、反应快速且条件温和、对生物活性影响小等优势，在靶点发现研究中得到了广泛应用。为阐明槲皮素与吉非替尼在非小细胞肺癌治疗中的协同增效机制，Ge 等^[15]合成了叠氮修饰的槲皮素探针 Q3G，并通过点击化学反应连接生物素，最终鉴定出葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)为其直接作用靶点。进一步研究表明，槲皮素通过抑制 G6PD 的酶活性影响蛋氨酸亚砷还原酶 A 功能，进而导致吉非替尼耐药的表皮生长因子受体 EGFR^{T790M} 突变体发生氧化降解。该研究从代谢干预的角度揭示了槲皮素克服靶向耐药、实现协同治疗的分子基础。Dong 等^[16]为解析补骨脂中活性成分甲基补骨脂黄酮 C 缓解非酒精性脂肪肝病的作用机制，构建了点击化学分子探针，从细胞裂解物中鉴定出增殖细胞核抗原为其直接靶点。在探究白术内酯 I 改善醛固酮增多症作用机制时，研究者合成了炔基修饰探针 AAT-I，并通过点击反应将其固定在磁珠上，从细胞、组织裂解物中富集并鉴定出醛固酮合酶(CYP11B2)为其靶点，阐明了其通过抑制醛固酮合成改善疾病的分子途径^[17]。

相比于直接生物素化的探针分子，点击化学探针具有更小的修饰基团、更低的相对分子量，因此适用于活细胞水平的靶点识别。在探究胡椒属生

物碱 PB-1 的抗缺血性脑卒中作用机制时，Su 等^[18]合成了炔基修饰的点击化学探针，并将其同时应用于活细胞、细胞裂解物、小鼠脑组织裂解物 3 种不同体系中。实验结果显示，3 种体系中均能成功捕获到其直接靶点真核翻译延伸因子 1A1(eEF1A1)，从而阐明了其神经保护的作用机制。此外，点击化学探针还具有应用灵活的技术优势，对于同一个探针，通过点击化学反应可分别连接不同标签(如荧光标签、生物素标签等)以实现可视化靶点定位、靶点富集和鉴定等多种功能^[19-21]。如在研究雷公藤红素抗肝纤维化机制时，Luo 等^[22]合成了带有炔基的雷公藤红素探针 Cel-P，通过与荧光染料四甲基罗丹明偶联，观察到该探针主要定位于细胞质和细胞核。在此基础上，将探针 Cel-P 与生物素进行偶联，并对靶蛋白进行富集和质谱分析，最终发现了过氧化物还原酶(PRDX1、PRDX2、PRDX4、PRDX6)、血红素氧合酶 1(HO-1) 等多个靶点。进一步的研究结果揭示了雷公藤红素可以抑制 PRDX 酶活性，增加活性氧(ROS)的表达，诱导活化的肝星状细胞发生铁死亡，从而发挥抗肝纤维化作用的分子作用机制。

点击化学探针凭借生物正交性的独特优势，在化学修饰类的分子探针中占有重要地位，同时也为后续基于点击化学的多功能探针发展提供了技术支撑。此外，为解决活细胞体系下铜(I)催化剂的细胞毒性问题，基于环张力驱动无铜催化点击化学探针应运而生^[23]，该探针有效避免了毒性问题，但同时也提高了探针的合成难度和成本。此外，由于缺少铜(I)的催化，其反应动力学速率通常较慢，因此需要更高的探针浓度或更长的孵育时间才能实现有效标记^[24]。

1.3 ABPP

ABPP 是一种化学生物学技术，通过设计可与靶蛋白形成共价键的活性探针，直接在复杂生物体系中捕获并鉴定处于功能状态的蛋白质，从而克服传统方法对高亲和力结合的依赖，特别适用于发现弱相互作用、低丰度靶点。根据天然产物结构的不同，ABPP 探针可分为两类：一类是天然产物自身含有共价反应官能团，通过自身与靶蛋白识别，并共价偶联，从而实现靶蛋白的捕获和富集。另一类则是天然产物自身无法与靶蛋白共价结合，需要通过引入光交联基团以实现靶蛋白的共价结合和富集。这类探针在结构上包含 4 个功能模块：负

责特异性识别靶蛋白的结合基团（即天然产物分子本身），用于实现共价结合的光亲和交联基团（如二苯甲酮或双吡丙啉），一个起连接作用的连接链，以及报告标签。其工作原理在于：探针首先通过结合基团与靶蛋白进行识别；随后，在紫外光照射下，光亲和基团被激活为高活性中间体，并与邻近的蛋白质氨基酸残基形成不可逆共价交联，从而将瞬时可逆的相互作用“冻结”。标记后，可利用报告标签对靶蛋白复合物进行富集，再通过质谱检测和分析获取靶点信息。

ABPP 技术的核心优势在于其功能导向的靶点鉴定能力：通过将探针与靶蛋白的瞬时或弱相互作用转化为稳定的共价连接，实现了弱亲和力蛋白或动态结合蛋白的检测和鉴定。同时，由于探针与蛋白的结合是共价且不可逆的，即使在严格的洗脱条件下也能保持结合状态，这大大降低了背景干扰，提高了检测低丰度靶点的灵敏度。然而，该技术也存在一定的局限性，对于光亲和标记探针而言，光活性基团的引入可能会干扰天然产物与靶蛋白的结合，从而导致探针活性下降或丧失。同时，由于该类探针需要紫外光照射，长时间或高强度的紫外光照射可能会造成细胞损伤，从而影响活细胞实验的真实性。

ABPP 技术通过共价反应实现靶点的不可逆锁定，信号更稳定、背景更低，尤其适合中等或弱亲和力靶点的检测与鉴定。如为解析迷迭香酸抑制心肌细胞衰老的作用机制，Fan 等^[25]合成炔基修饰的活性探针 RA-P，采用竞争性 ABPP 技术发现了其发挥心脏保护作用的靶蛋白 14-3-3 σ 。进一步的微量热泳动实验测得二者结合的平衡解离常数 (K_d) 为 10.29 $\mu\text{mol/L}$ ，表明迷迭香酸与 14-3-3 σ 呈现弱亲和力结合。这一研究结果表明 ABPP 技术在鉴定弱亲和力靶点方面具有技术优势。ABPP 技术的优势还在于其能够在活细胞体系中进行靶点筛选，从而较好地保留细胞内的原生分子环境和蛋白质的天然构象。为阐明咖啡酸抗纤维化作用机制，Zhu 等^[26]基于其结构中含有可作为迈克尔加成反应受体的不饱和酮基这一结构特征，推测咖啡酸可能通过与靶蛋白的半胱氨酸残基发生共价结合发挥作用。为此，研究人员在保留不饱和酮基的基础上构建了靶向半胱氨酸的活性探针，并采用 ABPP 技术在 A549 细胞体系中成功鉴定出膜联蛋白 A5 为其直接作用靶点。进一步研究显示，与研究者最初猜想一致，

咖啡酸通过 α,β -不饱和酮基与膜联蛋白 A5 的 Cys316 共价结合，从而诱导后者降解，降低衰老相关分泌表型因子的水平，发挥抗纤维化作用。在辣椒素改善类风湿关节炎的机制研究中，研究者运用炔基修饰的活性探针 CAP-p，在 MH7A 细胞中成功鉴定出辣椒素的直接作用靶点 PRDX2。后续研究表明，辣椒素通过与 PRDX2 结合抑制其抗氧化功能，并诱导氧化应激和细胞凋亡，从而发挥抗关节炎作用^[27]。对于一些无法与靶蛋白共价结合的天然产物，构建其光亲和标记探针是 ABPP 技术的常用方法。绿原酸具有显著的抗肿瘤活性，为阐明其作用靶点和分子机制，Wang 等在绿原酸分子中引入光反应性二氮嗪基团与末端炔基，构建了光亲和标记探针 PAL/绿原酸，并成功鉴定出线粒体乙酰辅酶 A 乙酰转移酶 1 (ACAT1) 为其直接靶点，进而阐明绿原酸通过抑制 ACAT1 四聚体 Y407 磷酸化发挥抗肿瘤作用的分子机制^[28]。类似地，Huang 等在研究 Auxarthrol A 的 3,4-二异丁酰衍生物 (DAA) 的抗非小细胞肺癌作用时，设计合成了光交联探针 DAA-PT，通过 ABPP 技术成功鉴定出动力蛋白轻中间链 1 是 DAA 的直接作用靶点^[29]。

2 基于蛋白稳定性的无标记技术

在化学蛋白质组学领域，基于亲和力的标记技术尽管应用广泛，但其依赖的化学标记存在一定的局限性：化学修饰可能会影响天然产物的原有活性，且并非所有天然产物都具备合适的修饰位点。针对这一问题，基于蛋白稳定性的无标记技术应运而生，其原理在于天然产物与靶蛋白特异性结合后，会改变靶蛋白的稳定性，这种变化可以通过检测蛋白对热或蛋白酶的抗性来捕捉，从而无需对天然产物进行任何化学修饰（即“无标记”）即可从复杂体系中鉴定出相互作用靶点。

2.1 DARTS 技术

DARTS 技术是基于蛋白稳定性的无标记技术中具有代表性的方法。其核心原理是天然产物与靶蛋白特异性结合后，会稳定靶蛋白的构象，从而增强其对蛋白酶降解的抵抗力。通过比较药物处理组与未加药组（对照组）的蛋白质在相同蛋白酶处理条件下的酶解稳定性差异，即可识别并鉴定出潜在靶蛋白。

DARTS 技术的核心优势在于无需对天然产物进行任何化学修饰，从而完整地保留了天然产物的原始结构和生物活性，这为结构复杂、难以衍生化

的天然产物的靶点发现提供了有效解决方案。此外, DARTS 技术适用于多种生物样本, 包括细胞裂解物、组织提取物等复杂的蛋白质混合物。该技术还具有良好的普适性, 理论上适用于所有可引起靶蛋白构象变化的小分子天然产物。然而, 该技术也存在局限性: 其对实验条件较敏感, 检测结果主要取决于蛋白酶的选择。此外, 当该技术与质谱联用进行全局性分析时, 虽然提高了灵敏度和通量, 但会产生高维度、高复杂度的数据集, 存在大量背景噪声, 因此需通过复杂且严谨的生物信息学分析才能从海量数据中准确提取出真实信号。

由于 DARTS 无需对天然产物进行任何修饰, 因此完整地保留了其生物活性, 避免了因化学修饰导致的活性降低或丧失。金合欢素是一种黄酮类化合物, 已有研究表明, 对金合欢素进行衍生化易导致其活性丧失。在探究其改善代谢相关脂肪性肝病作用机制的研究中, Jang 等^[30]为保证金合欢素的完整活性, 采用 DARTS 联合蛋白质组学技术, 在无化学修饰的情况下成功鉴定出传统方法难以捕获的膜蛋白靶点—溶酶体膜接头蛋白 LAMTOR1, 并系统阐明了其通过 LAMTOR1-MTORC1-AMPK 信号轴调控自噬、改善代谢的作用机制。类似地, 在探究乙酰缬草素抗结直肠癌机制研究中, Yu 等^[31]运用 DARTS 技术成功鉴定出铁代谢调控蛋白 PCBP1/2 为乙酰缬草素的直接作用靶点, 并进一步阐明了乙酰缬草素通过结合 PCBP1/2 扰乱细胞内铁稳态, 从而触发铁死亡的分子机制。Hu 等^[32]研究小檗碱衍生物 B68 的抗结直肠癌作用时, 同样通过 DARTS 技术筛选出表观遗传调控因子 BMI1 为直接靶点, 进而阐明了其诱导癌细胞衰老的作用机制。Zhang 等^[33]为解析芹菜素的抗衰老机制, 通过 DARTS 技术鉴定出过氧化物酶 PRDX6 为芹菜素作用靶点, 揭示了其通过抑制 PRDX6 的钙非依赖性磷脂酶 A2 (iPLA2) 活性进而发挥抗衰老作用。此外, 研究发现海洋天然产物 benzosceptrin C 能够显著下调结直肠癌细胞程序性死亡配体-1 (PD-L1) 的表达, 并增强 T 细胞介导的肿瘤杀伤作用。为阐明其作用机制, Wang 等^[34]采用 DARTS 技术鉴定出棕榈酰转移酶 DHHC3 为 benzosceptrin C 发挥免疫调节作用的直接分子靶点。棕榈酰转移酶 DHHC3 属于催化型调控蛋白, 在肿瘤组织中属于低丰度蛋白。上述研究表明, DARTS 技术也适用于低丰度靶蛋白的检测和鉴定。

2.2 TPP 技术

TPP 是一种在全蛋白质组范围内系统性、无标记即可发现药物靶点的高通量技术, 其核心原理是利用蛋白质热稳定性变化来识别药物靶点。当天然产物与靶蛋白特异性结合后, 通常会稳定靶蛋白的构象, 从而提升其热稳定性, 使其受热时更难发生变性沉淀。通过定量监测蛋白质组在温度梯度下的溶解度变化即可直接识别出因结合而发生热稳定性改变的潜在靶点。

TPP 技术在天然产物研究中展现出多方面优势。首先, 该方法无需对天然产物进行化学修饰, 完全保留了化合物的天然结构和生物活性。其次, 该方法与活细胞环境高度兼容, 能够在生理条件下评估化合物与靶点的结合情况, 更真实地反映天然产物在生物体内的作用状态。此外, TPP 具备在全蛋白质组范围内进行无偏筛选的能力, 在新靶点发现中具有显著潜力。然而, 该方法也存在一定局限性: 一方面, 部分天然产物与靶点的结合不会引起靶蛋白热稳定性变化, 从而导致假阴性结果; 另一方面, 部分蛋白的热稳定性改变并非由小分子结合引起, 也会产生假阳性结果。其次, 与 DARTS-MS 技术类似, TPP 技术同样会生成多维度的庞大数据集, 需要通过专业的生物信息学分析来区分具有生物学意义的热位移和背景噪声。此外, 该方法不适用于共价结合剂, 因为不可逆修饰的复合物不呈现典型的热变性曲线, 难以通过热稳定性变化实现靶点鉴定。

当活性天然产物因其化学特性难以衍生化为探针时, TPP 技术提供了一种有效的解决途径。在探究从娃儿藤属植物中分离的右旋去氧娃儿藤宁及其活性代谢产物 PF403 的抗胶质瘤作用机制时, 由于这些化合物化学结构复杂且对化学修饰敏感, 难以构建标记型分子探针。Li 等^[35]采用无标记的 TPP 技术鉴定出烟酰胺磷酸核糖转移酶 (NAMPT) 为其潜在靶点。进一步研究发现, 右旋去氧娃儿藤宁通过与 NAMPT 结合抑制其酶活性, 导致细胞内烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 含量下降, 进而发挥抗肿瘤作用。在解析甲基莲心碱抗神经炎症作用机制的研究中, Zhu 等^[36]采用 TPP 技术进行靶点筛选, 成功识别出内质网膜蛋白 BAP31 为其直接作用靶点。进一步的机制研究表明, 甲基莲心碱发挥独特的“分子胶”功能诱导 BAP31 发生同源二聚化, 进而调控内质网与线粒体等细胞器之间的相互

作用, 并影响细胞能量稳态。值得注意的是, 研究者通过 TPP 技术捕获到甲基莲心碱与 BAP31 结合后导致后者热稳定性显著升高这一异常变化, 这为后续发现甲基莲心碱可诱导 BAP31 同源二聚化提供了重要线索, 彰显了该技术在辅助解析天然产物调控靶点的分子机制方面的应用潜力。此外, TPP 技术还适用于活细胞体系, 能够在生理条件下检测并识别出天然产物的作用靶点。如 Zhang 等^[37]采用 TPP 技术从 DU145 细胞中成功识别出内质网伴侣蛋白 CNPY3 是藤黄酸抗前列腺癌作用的靶蛋白。类似地, 为阐明藜本内酯治疗结肠炎机制, Li 等^[38]通过 TPP 技术在小鼠巨噬细胞 RAW264.7 中筛选出早期生长反应因子 1 (EGR1) 为潜在靶点, 在后续研究中揭示了藜本内酯通过结合 EGR1 抑制 EGR1/解整合素金属蛋白酶 17/肿瘤坏死因子- α (EGR1/ADAM17/TNF- α) 通路, 从而减轻巨噬细胞介导的肠道炎症, 恢复肠道屏障功能的作用机制。

2.3 有限蛋白酶解-质谱联用技术 (LiP-MS)

LiP-MS 是一种无标记的靶点发现方法, 可用于检测蛋白质的结构变化, 并定位化合物结合位点。该方法的原理是基于配体结合会改变蛋白质的构象, 从而影响蛋白酶对酶切位点的可及性。通过比较化合物处理组与对照组在有限酶切后的多肽图谱差异, 可推断出哪些蛋白质发生了构象改变, 从而鉴定出潜在的靶点或相互作用位点^[39]。

LiP-MS 技术的主要优势在于无需对天然产物进行化学修饰, 从而避免了潜在的结构干扰和活性改变^[40]。该方法不仅能识别靶蛋白, 还能通过受保护的肽段定位潜在的结合位点或结构域^[41], 且单次实验即可检测数千种蛋白质的结构变化, 实现天然产物靶点的全面捕获。然而, 由于 LiP-MS 技术的检测灵敏度在很大程度上取决于配体诱导靶蛋白构象的变化程度, 因此天然产物与靶蛋白的微弱相互作用可能会导致假阴性结果。

作为一种无需分子修饰的靶点识别技术, LiP-MS 技术在天然产物靶点发现中已广泛应用^[42]。Peng 等^[43]在研究血根碱抗口腔鳞癌的机制时, 采用 LiP-MS 技术比较了血根碱结合前后蛋白质组的酶解图谱变化, 从中鉴定出丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 为其直接作用靶点, 并揭示了其通过抑制 PKM2 活性干扰溶酶体自噬, 从而抑制肿瘤生长。在研究金线吊乌龟中的生物碱蝙蝠葛苏林碱抗肿瘤作用时, Tang 等^[44]采用 LiP-MS 技术筛选出低密度脂蛋白受

体相关蛋白 1 (LRP1) 是其关键作用靶点, 揭示了蝙蝠葛苏林碱通过靶向 LRP1 激活 I 型干扰素通路, 重塑肿瘤微环境。Wang 等^[45]在研究紫堇灵抗胰腺纤维化的作用机制时, 利用 LiP-MS 技术筛选出 210 个潜在结合蛋白, 并发现蛋白酶体核心亚基显著富集, 通过分析其中呈现“受保护肽段”(即药物处理后特定长肽段丰度升高, 而对应短肽段丰度降低)的蛋白质, 成功鉴定出 20S 蛋白酶体 $\alpha 2$ 亚基 (PSMA2) 为直接靶点。此外, LiP-MS 技术能够在单次实验中对数千种蛋白进行检测与分析, 无偏性地捕获所有与天然产物产生相互作用的潜在靶点。在枳椇酮改善肝脏脂肪变性的研究中, Hu 等^[46]应用 LiP-MS 技术对肝细胞中 2 669 种蛋白进行无偏性结构分析, 经差异肽段筛选、蛋白互作网络分析, 最终从 19 个潜在候选靶点中精准锁定钙调蛋白家族 (CALM1-3) 为枳椇酮的靶点, 并进一步揭示其通过结合钙调蛋白升高细胞内钙水平, 从而促进线粒体脂肪酸氧化的完整代谢调控通路。

3 基于降解的蛋白质组学技术

基于降解的蛋白质组学技术是一种新兴的靶点发现策略, 其核心是将蛋白降解靶向嵌合体 (PROTAC) 的催化降解能力与定量蛋白质组学的系统监测能力相融合。该技术独特的作用机制在于: PROTAC 探针分子能像“分子桥”一样, 同时结合靶蛋白与 E3 泛素连接酶, 而后者通过催化一系列反应, 将泛素分子标记到靶蛋白上, 并最终引导其被蛋白酶体降解。利用定量蛋白质组学技术, 通过系统比较天然产物的 PROTAC 探针处理组与对照组的全蛋白质组丰度变化, 即可将其中特异性且显著下调的蛋白质鉴定为天然产物的潜在作用靶点。

基于降解的蛋白质组学技术的核心优势在于它不依赖于天然产物与靶蛋白之间必须具有高亲和力的结合模式, 而是通过主动诱导靶蛋白的降解来产生易于检测的蛋白质丰度变化信号。这一特性使其特别适用于识别与天然产物呈中等或较弱结合力的靶蛋白。此外, 由于基于降解的蛋白质组学技术应用于完整的活细胞体系, PROTAC 探针诱导的蛋白降解与细胞表型变化高度关联, 因此该技术识别出的蛋白极有可能是导致细胞表型变化的靶蛋白, 从而实现了对功能性靶点的高效、精准捕获。尽管如此, 基于降解的蛋白质组学技术仍存在潜在脱靶风险, 即可能意外降解非预期靶蛋白, 因此需通过相关实验进一步验证。此外, 由于目前可用的

E3 连接酶、配体工具有限，这在一定程度上制约了该技术的普适性和组织靶向性。

PROTAC 探针的催化特性使得基于降解的蛋白质组学技术能够鉴定到与天然产物仅有中等或较弱结合力的靶蛋白。为阐明大叶茜草素抗肝纤维化作用机制，Zhang 等^[47]合成了 PROTAC 探针分子，并利用基于降解的蛋白质组学技术成功识别出肉碱棕榈酰转移酶 1A (CPT1A) 为大叶茜草素的直接靶点。生物层干涉法实验测得二者结合的 K_d 为 $377 \mu\text{mol/L}$ ，表明大叶茜草素与 CPT1A 呈现弱亲和力结合。Wu 等^[48]为阐明千金子二萜醇的抗炎作用机制，设计并合成了其与沙利度胺偶联的 PROTAC 探针分子 ZCY-PROTAC，随后运用基于降解的蛋白质组学技术成功鉴定并验证了 MAF bZIP 转录因子 F 为千金子二萜醇发挥抗炎作用的直接靶点。后续微量热泳动实验结果表明，二者结合的 K_d 为 $20.9 \mu\text{mol/L}$ ，属于弱亲和力结合。此外，Chen 等^[49]为阐明 3-氟-10-羟基吴茱萸碱抗结直肠癌的作用机制，采用基于降解的蛋白质组学技术鉴定出其作用靶点为 RNA 外切酶 4 (REXO4)，二者结合的 K_d 为 $1.16 \mu\text{mol/L}$ ，具有中等亲和力水平。上述研究充分证明了基于降解的蛋白质组学技术在发现天然产物的中等或较弱结合力靶点方面的技术优势。由于原理上不同于其他靶点发现技术，基于降解的蛋白质组学技术不仅能够实现已知靶点的验证，还能发现新靶点。为阐明雷公藤红素抗肿瘤作用机制，Ni 等^[50]构建了以不同长度连接链连接的含有 CRBN 和 VHL E3 泛素连接酶配体的雷公藤红素 PROTAC 探针库。随后，研究者利用该 PROTAC 探针库，结合基于降解的蛋白质组学技术系统探寻了雷公藤红素的靶点，不仅成功发现了雷公藤红素的已知作用靶点核因子 κB 激酶亚基 β 抑制因子 (IKK β) 和磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (PI3K α)，同时还鉴定出检查点激酶 1 (CHK1) 和 O-GlcNAc 水解酶 (OGA) 等多个新靶点。该研究充分体现了基于降解的蛋白质组学技术在天然产物多靶点发现、鉴定方面的独特优势。此外，基于降解的蛋白质组学技术还可与其他技术整合，通过将不同的技术原理正交，能够更精确地识别出天然产物靶标。如 Yu 等^[2]将具有蛋白降解活性维度的基于降解的蛋白质组学技术与具有蛋白热稳定性维度的 TPP 技术进行整合，开发出了 SDPP。运用该技术平台，研究者成功鉴定出大麻二酚的抗结直肠癌作用靶

点 CDC123，并进一步阐明了大麻二酚破坏 CDC123-eIF2 γ 蛋白复合物的形成，从而持续激活整合应激反应通路，最终引发结直肠癌细胞凋亡。

4 结语

作为药物发现的宝贵资源，天然产物依靠多样的化学结构和生物活性在药物研发方面发挥了重要作用。然而，许多天然产物作用机制复杂，且靶点信息未知，这在一定程度上限制了其进一步的开发和应用。随着天然产物靶点发现技术的不断更新和完善，其靶点信息未知的问题有了有效的解决手段。基于亲和力的标记技术是目前成熟度最高、应用最广的靶点发现方法，不仅为早期天然产物靶点发现做出了重要贡献，也是当前最常用的技术方法。随着蛋白质组学、定量质谱技术的不断发展和成熟，基于蛋白稳定性的无标记靶点发现技术开始出现，有效解决了那些结构复杂、修饰位点有限甚至无法进行修饰的天然产物的靶点发现问题，成功摆脱了化学修饰“枷锁”对这些天然产物靶点研究的束缚。近年来，随着蛋白降解技术的兴起和逐渐成熟，基于降解的蛋白质组分析技术为天然产物靶点发现研究提供了全新视角，其不仅是当前极具发展潜力的新兴技术，同时也与上述两类技术形成了优势互补。这些靶点发现技术成功推动了天然产物靶点发现领域的快速发展。

尽管新的靶点发现技术不断涌现，但该研究领域仍面临诸多挑战。首先，化学修饰类探针的合成对于一些结构复杂的天然产物仍极具挑战性。多数靶点发现技术仍需对天然产物进行化学修饰以引入不同的功能基团，这对于复杂结构的天然产物来说，不仅极大地增加了探针合成难度，也可能因为修饰削弱了探针与靶点的结合能力，甚至导致探针活性的完全丧失^[13]。其次，单一技术策略存在一定局限性。天然产物常具有多靶点特性，而现有方法各有其侧重和盲区，依赖单一技术往往难以系统揭示其完整的靶点信息和作用网络，且不同方法得到的靶点信息差异性较大，需进行严谨的分析和验证^[51]。此外，实验过程中的非特异性干扰影响准确性。现有方法均受到非特异性结合和背景蛋白的干扰，使得直接靶点与间接作用蛋白难以区分，导致产生假阳性或假阴性结果^[52]。

未来，多种技术的联用、整合有望成为天然产物靶点发现研究的发展趋势。单一策略的局限性将促使研究者将多种不同原理的技术交叉融合，以提

高靶点发现的可靠性、全面性^[53-54]。同时,人工智能将深度融入该研究领域,通过多尺度虚拟筛选、先进深度学习模型(如图神经网络 GNN、Transformer)、网络药理学分析,可系统解码天然产物的靶点,调控网络信息,推动研究模式向数据驱动型和智能预测范式转变。此外,一些新兴技术和工具正不断涌现,如体内靶点实时成像技术、理性设计的共价抑制剂和分子胶^[55-57]、类器官和器官芯片模型,均为天然产物靶点发现、机制解析提供了新思路。相信随着新技术和方法的不断涌现和革新,必将进一步推动源于天然产物且机制明确、靶向精准的现代药物研发进程。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Butler M S, Capon R J, Blaskovich M A T, *et al.* Natural product-derived compounds in clinical trials and drug approvals [J]. *Nat Prod Rep*, 2026, 43(1): 20-88.
- [2] Yu H, Chen Y, Wu M, *et al.* Stability and degradation-based proteome profiling reveals cannabidiol as a promising CDC123-eIF2 γ inhibitor for colorectal cancer therapy [J]. *J Am Chem Soc*, 2026, 148(3): 3712-3722.
- [3] Gosselin B, Retout M, Jabin I, *et al.* Development of a peptide-based lateral flow assay for the detection of the cancer biomarker Mdm2 [J]. *Sens Diagn*, 2024, 3(2): 248-255.
- [4] Kim H B, Kim K E. A straightforward interpretation of proximity labeling through direct biotinylation analysis [J]. *ACS Omega*, 2025, 10(24): 26098-26105.
- [5] Lei B, Zhang M, Shi X, *et al.* Ganoderic acid T, a novel activator of pyruvate carboxylase, exhibits potent anti-liver cancer activity [J]. *Metabolism*, 2025, 170: 156321.
- [6] Liu T T, Chen L T, Pei X Y, *et al.* Homoharringtonine suppresses acute myeloid leukemia progression by orchestrating EWSR1 phase separation in an m(6)A-YTHDF2-dependent mechanism [J]. *iMeta*, 2025, 4(6): e70089.
- [7] Miao Y, Lin T, Wang B, *et al.* Macrophage DGK ζ -mediated phosphatidic acid remodeling aggravates acute liver failure [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2025, 15(8): 4078-4095.
- [8] Ajiaikebaier D, Li Z, Lin T, *et al.* Synthesis of pyranochalcone derivatives and their inhibitory effect on NF- κ B activation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2021, 42: 128042.
- [9] Wang R, Xiao L, Pan J, *et al.* Natural product P57 induces hypothermia through targeting pyridoxal kinase [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5984.
- [10] Wang R, Chen Y, Han J, *et al.* Selectively targeting the AdipoR2-CaM-CaMKII-NOS3 axis by SCM-198 as a rapid-acting therapy for advanced acute liver failure [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 10690.
- [11] Agrahari A K, Rajkhowa S, Singh S K, *et al.* Growing impact of bioorthogonal click chemistry in cell surface glycan labeling [J]. *Curr Org Chem*, 2024, 29(6): 495-517.
- [12] Best M D. Click chemistry and bioorthogonal reactions: Unprecedented selectivity in the labeling of biological molecules [J]. *Biochemistry*, 2009, 48(28): 6571-6584.
- [13] Chen X, Wang Y, Ma N, *et al.* Target identification of natural medicine with chemical proteomics approach: Probe synthesis, target fishing and protein identification [J]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2020, 5(1): 72.
- [14] Marter K, Kobler O, Erdmann I, *et al.* Click chemistry (CuAAC) and detection of tagged de novo synthesized proteins in drosophila [J]. *Bio-Protoc*, 2019, 9(2): e3142.
- [15] Ge Z, Xu M, Ge Y, *et al.* Inhibiting G6PD by quercetin promotes degradation of EGFR T790M mutation [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(11): 113417.
- [16] Dong X, Lu S, Tian Y, *et al.* Bavachinin protects the liver in NAFLD by promoting regeneration via targeting PCNA [J]. *J Adv Res*, 2024, 55: 131-144.
- [17] Liu W, Li Z, Chu S, *et al.* Atractylenolide-I covalently binds to CYP11B2, selectively inhibits aldosterone synthesis, and improves hyperaldosteronism [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(1): 135-148.
- [18] Su B, Huang G, Zhu S, *et al.* N-cinnamoylpyrrole-derived alkaloids from the genus Piper as promising agents for ischemic stroke by targeting eEF1A1 [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155455.
- [19] Rota Sperti F, Mitteaux J, Zell J, *et al.* The multivalent G-quadruplex (G4)-ligands MultiTASQs allow for versatile click chemistry-based investigations [J]. *RSC Chem Biol*, 2023, 4(7): 456-465.
- [20] 占方玲, 高思宇, 谢元栋, 等. 点击化学反应在蛋白质组学分析中的研究进展 [J]. *分析化学*, 2020, 48(4): 431-438.
- [21] Kenry u, Liu B. Bioorthogonal reactions and AI-Egen-based metabolically engineered theranostic systems [J]. *Chem*, 2023, 9(8): 2078-2094.
- [22] Luo P, Liu D, Zhang Q, *et al.* Celastrol induces ferroptosis in activated HSCs to ameliorate hepatic fibrosis targeting peroxiredoxins and HO-1 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(5): 2300-2314.
- [23] Leier S, Wuest F. Innovative peptide bioconjugation chemistry with radionuclides: Beyond classical click chemistry [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(10): 1270.
- [24] Tamura T, Ueda T, Goto T, *et al.* Rapid labelling and

- covalent inhibition of intracellular native proteins using ligand-directed *N*-acyl-*N*-alkyl sulfonamide [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 1870.
- [25] Fan C, Wu J, Hu S, *et al.* Rosmarinic acid alleviates doxorubicin-induced cellular senescence and cardiotoxicity by targeting the 14-3-3/Foxo1 signaling axis [J]. *Phytomedicine*, 2025, 148: 157482.
- [26] Zhu Y, Zhang Y, Zhang Q, *et al.* Caffeic acid acts as a potent senomorphic and alleviates inflammation and lung fibrosis by covalently targeting annexin A5 protein in mice [J]. *Exploration*, 2025, 5(6): 20240069.
- [27] He H, Hao M, Luo P, *et al.* Inhibition peroxiredoxin-2 by capsaicin ameliorates rheumatoid arthritis via ROS-mediated apoptosis in fibroblast-like synoviocytes [J]. *MedComm*, 2025, 6(6): e70209.
- [28] Wang Q, Du T, Zhang Z, *et al.* Target fishing and mechanistic insights of the natural anticancer drug candidate chlorogenic acid [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(10): 4431-4442.
- [29] Huang J L, Wu L M, Wu S Q, *et al.* A small molecule targets LIC1 to suppress lung tumor growth by inducing autophagy [J]. *Nat Chem Biol*, 2025, 22: 459-470.
- [30] Jang Y, Ko M, Lee J Y, *et al.* Inhibition of lysosomal LAMTOR1 increases autophagy by suppressing the MTORC1 pathway to ameliorate lipid accumulations in MAFLD [J]. *Autophagy*, 2025, 21(12): 2633-2649.
- [31] Yu D, Hu H, Zhang Q, *et al.* Acevaltrate as a novel ferroptosis inducer with dual targets of PCBP1/2 and GPX4 in colorectal cancer [J]. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2025, 10(1): 211.
- [32] Hu H, Wang Q, Yu D, *et al.* Berberine derivative B68 promotes tumor immune clearance by dual-targeting BMI1 for senescence induction and CSN5 for PD-L1 degradation [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(7): e2413122.
- [33] Zhang H, Xu Q, Jiang Z, *et al.* Targeting senescence with apigenin improves chemotherapeutic efficacy and ameliorates age-related conditions in mice [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(20): e2412950.
- [34] Wang Q, Wang J, Yu D, *et al.* Benzosceptrin C induces lysosomal degradation of PD-L1 and promotes antitumor immunity by targeting DHHC3 [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5(2): 101357.
- [35] Li F, Zhang Z, Shi Q, *et al.* Thermal proteome profiling (TPP) reveals NAMPT as the anti-glioma target of phenanthroindolizidine alkaloid PF403 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2025, 15(4): 2008-2023.
- [36] Zhu Y X, Yang Z, Li L, *et al.* Molecular glue neferine induces BAP31 homodimerisation to disrupt endoplasmic reticulum-mitochondria crosstalk for anti-neuroinflammation in ischaemic stroke [J]. *Br J Pharmacol*, 2025: 1-23.
- [37] Zhang X W, Li L, Liao M, *et al.* Thermal proteome profiling strategy identifies CNPY3 as a cellular target of gambogic acid for inducing prostate cancer pyroptosis [J]. *J Med Chem*, 2024, 67(12): 10005-10011.
- [38] Li Y, Wu Y, Liang J, *et al.* Ligustilide suppresses macrophage-mediated intestinal inflammation and restores gut barrier via EGR1-ADAM17-TNF- α pathway in colitis mice [J]. *Research (Wash D C)*, 2025, 8: 1-18.
- [39] Zilu Z, Zhang X, Dong X, *et al.* Decoding protein dynamics with limited proteolysis coupled to mass spectrometry: A comprehensive review [J]. *J Pharm Anal*, 2025: 101319.
- [40] Schopper S, Kahraman A, Leuenberger P, *et al.* Measuring protein structural changes on a proteome-wide scale using limited proteolysis-coupled mass spectrometry [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(11): 2391-2410.
- [41] Lu H, Zhu Z, Fields L, *et al.* Mass spectrometry structural proteomics enabled by limited proteolysis and cross-linking [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2024: doi: 10.1002/mas.21908.
- [42] Malinowska L, Cappelletti V, Kohler D, *et al.* Proteome-wide structural changes measured with limited proteolysis-mass spectrometry: An advanced protocol for high-throughput applications [J]. *Nat Protoc*, 2022, 18(3): 659-682.
- [43] Peng Y C, He Z J, Yin L C, *et al.* Sanguinarine suppresses oral squamous cell carcinoma progression by targeting the PKM2/TFEB axis to inhibit autophagic flux [J]. *Phytomedicine*, 2025, 136: 156337.
- [44] Tang B, Wang Y, Li L, *et al.* Daurisoline modulates the TBK1-dependent type I interferon pathway to boost anti-tumor immunity via targeting of LRP1 [J]. *Research (Wash D C)*, 2025, 8: 1-19.
- [45] Wang P, Huang B, Liu Y, *et al.* Corynoline protects chronic pancreatitis via binding to PSMA2 and alleviating pancreatic fibrosis [J]. *J Gastroenterol*, 2024, 59(11): 1037-1051.
- [46] Hu S, Liang X, Qin Y, *et al.* Alnustone ameliorates metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease by facilitating mitochondrial fatty acid β -oxidation via targeting calmodulin [J]. *Adv Sci (Weinheim, Ger)*, 2025, 12(31): e11984.
- [47] Zhang D, Tang Q, He X, *et al.* Rubimaillin ameliorates liver fibrosis by triggering the ferroptosis of activated hepatic stellate cells through targeting CPT1A [J]. *Int J Biol Sci*, 2026, 22(4): 2065-2084.
- [48] Wu Y, Yang Y, Wang W, *et al.* PROTAC technology as a novel tool to identify the target of lathyrane diterpenoids [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12(11): 4262-4265.

- [49] Chen S, Bi K, Liang H, *et al.* PROTAC derivatization of natural products for target identification and drug discovery: Design of evodiamine-based PROTACs as novel REXO4 degraders [J]. *J Adv Res*, 2024, 63: 219-230.
- [50] Ni Z, Shi Y, Liu Q, *et al.* Degradation-based protein profiling: A case study of celastrol [J]. *Adv Sci* (Weinheim, Ger), 2024, 11(25): e2308186.
- [51] 赵露, 张舒静, 王毅. 中药药效物质及靶点发现新技术的研究进展 [J]. *天津中医药*, 2024, 41(10): 1298-1308.
- [52] 段雨婷, 蒙凌华. 多靶点抗肿瘤天然产物研究进展 [J]. *药学学报*, 2021, 56(2): 403-413.
- [53] 刘云鹤, 杨帆. 天然产物的靶标鉴定技术与应用 [J]. *中国药理学通报*, 2025, 41(6): 1057-1063.
- [54] 李瑞梅, 程瑶, 朱朱, 等. 中药有效成分直接作用靶点的鉴定方法及应用 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2021, 23(1): 1-6.
- [55] Deutscher R C E, Meyners C, Repity M L, *et al.* Discovery of fully synthetic FKBP12-mTOR molecular glues [J]. *Chem Sci*, 2025, 16(10): 4256-4263.
- [56] Gao M, Moumbock A F A, Qaseem A, *et al.* CovPDB: a high-resolution coverage of the covalent protein-ligand interactome [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D445-D450.
- [57] Du H, Zhang X, Wu Z, *et al.* CovalentInDB 2.0: an updated comprehensive database for structure-based and ligand-based covalent inhibitor design and screening [J]. *Nucleic Acids Res*, 2025, 53(D1): D1322-D1327.

【责任编辑 解学星】