

## 基于靶点“钩钓”策略的肉苁蓉苯乙醇苷药理靶点鉴定及功效解析

曾克武\*, 廖理曦, 万彦军, 姜勇, 屠鹏飞\*

北京大学药学院 天然药物与仿生药物国家重点实验室, 北京 100191

**摘要:** **目的** 探究肉苁蓉苯乙醇苷类成分抗脑缺血再灌注损伤作用的靶点蛋白群及相关作用机制。**方法** 利用线栓法制备大鼠大脑中动脉阻断模型, 考察肉苁蓉苯乙醇苷的脑保护作用。通过构建一种表面键合有肉苁蓉苯乙醇苷的琼脂糖固相微球, 利用键合在固相微球表面的苯乙醇苷类分子从脑组织裂解液中特异性捕获相应的脑保护作用相关靶点蛋白, 并进行高分辨质谱鉴定。**结果** 肉苁蓉苯乙醇苷能够显著改善大鼠脑缺血再灌注损伤, 包括降低脑缺血面积、降低缺血相关行为学评分及提高脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)水平。利用靶点“钩钓”策略共获得 HSP90 等 18 个靶点蛋白。针对这些靶点蛋白的生物学功能, 将其分为 9 类, 包括抗氧化、离子通道、免疫调节、细胞存活、细胞骨架等。**结论** 从靶点源头上解释了肉苁蓉苯乙醇苷发挥抗痴呆、缓解疲劳、抗肿瘤、免疫调节等诸多作用的潜在药理机制, 进而也展示了一种解析中药复杂成分体系分子药理机制的新方法。

**关键词:** 肉苁蓉; 苯乙醇苷; 神经保护; 靶点鉴定; 传统功效; 抗氧化; 免疫调节; 抗痴呆; 抗肿瘤

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)01-0173-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.01.024

## Pharmacological targets identification and efficacy analysis of phenylethanoid glycosides from *Cistanches Herba* based on “target fishing” strategy

ZENG Ke-wu, LIAO Li-xi, WAN Yan-jun, JIANG Yong, TU Peng-fei

State Key Laboratory of Natural and Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100191, China

**Abstract: Objective** *Cistanches Herba* is a kind of tonic traditional Chinese medicine with several therapy effects including tonifying kidney-yin, anti-dementia, anti-aging and relaxing bowel. Phenylethanoid glycosides (PhGs) are the major effective components in *C. tubulosa*. However, there were no further studies on molecular pharmacologic mechanisms due to its complex components and mechanism diversity of action in PhGs till to now. The aim of this study was to investigate the target protein groups and related mechanisms associated with PhGs in anticerebral ischemia-reperfusion injury. **Methods** The middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established in rats, and the protective effects of PhGs on cerebral ischemia-induced injuries were determined. A kind of solid bead whose surface was cross-linked with PhGs was prepared to capture the target proteins from brain tissue lysates. The target proteins were further identified with LC-MS/MS. **Results** PhGs significantly inhibited cerebral ischemia-induced injuries by reducing ischemia size and rat behavioral scores and elevated the SOD levels in rat brain tissues. Eighteen target proteins were identified based on “target fishing” strategy and divided into 9 kinds according to their biological functions, including anti-oxidation, ion channel, immunoregulation, cell survival and cytoskeleton, etc. **Conclusion** These findings reveal the potential pharmacological mechanisms of PhGs in anti-dementia, fatigability alleviating, anti-tumor, immunoloregulation, etc, and also present a promising technology for investigating the complicated pharmacological mechanisms of traditional Chinese medicine.

**Key words:** *Cistanches Herba*; phenylethanoid glycosides; neuroprotection; target identification; traditional efficacy; anti-oxidation; immunoregulation; antidementia; antitumor

肉苁蓉 *Cistanches Herba* 为列当科植物肉苁蓉 *tubulosa* (Schenk) Wight 的干燥带鳞叶的肉质茎, 作为滋补类传统中药在中国具有悠久的历史。肉苁蓉 *Deserticola* Y. C. Ma 或管花肉苁蓉 *C.*

收稿日期: 2017-05-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81303253, 51273012)

\*通信作者 曾克武, 男, 博士, 副研究员, 硕士生导师。E-mail: ZKW@bjmu.edu.cn

屠鹏飞, 男, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: pengfeitu@bjmu.edu.cn

苁蓉主要具有补肾壮阳的作用,可增强性功能,治疗腰膝酸软、便秘乏力等症<sup>[1]</sup>。此外,现代药理研究表明肉苁蓉还具有抗氧化、抗衰老、提高记忆力、抗帕金森病、调节免疫、保肝以及治疗心肌缺血等多种药理作用<sup>[2-4]</sup>。但是,由于肉苁蓉的成分十分复杂,目前其发挥疗效的分子生物学基础尚不明确,因此有必要开展相关药理学实验进行深入探讨。苯乙醇苷类成分是肉苁蓉发挥药理活性的核心物质基础<sup>[5-6]</sup>,但是目前关于其药理机制的研究尚不多见。考虑到靶点是药物分子发挥疾病治疗作用的关键生物学基础,本研究从阐明药物靶点的角度出发,深入研究肉苁蓉苯乙醇苷的作用靶点(群),并基于靶点的生物学功能解析其分子药理机制,进而诠释肉苁蓉的传统功效。

针对中药具有多成分、多靶点的作用特点,本研究将肉苁蓉苯乙醇苷类成分通过化学键合手段链接到固相基质微球表面,进而利用该微球从脑组织裂解液中特异性捕捉相应的靶点蛋白(群),并进行高分辨质谱鉴定。通过对所发现的靶点(群)进行生物学功能的分类,系统地揭示肉苁蓉苯乙醇苷类成分发挥不同生物学功能的分子机制。该研究策略不仅为今后探究中药复杂体系的作用靶点群提供了一种新的技术手段,同时对于深入理解中药的独特作用机制也具有重要的推动作用。

## 1 材料

### 1.1 细胞与动物

神经胶质细胞 SHSY5Y 购自中国医学科学院细胞中心。

清洁级雄性 SD 大鼠,体质量 250~280 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2012-0001。

### 1.2 药品与试剂

肉苁蓉苯乙醇苷由北京大学药学院屠鹏飞教授课题组提供,质量分数 90.70%;高糖 DMEM 培养基购自 Macgene 公司;胎牛血清购自 PAN Biotech 公司;超氧化物歧化酶(SOD)抗体及生物素标记的兔二抗均购于美国 Abcam 公司。

### 1.3 仪器

二维液相色谱-串联质谱系统(nano-LC-MS/MS),由 EASY-nLC-II 液相色谱仪和 LTQ-Orbitrap 离子阱串联质谱组成(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);RP-C18AQ 毛细管液相色谱柱(100  $\mu\text{m}$   $\times$  15 cm,美国 Michrom Bioresources 公司);FDU-1100

冷冻干燥机(日本 Eyela 公司);Sunrise-Basic 酶标仪(美国 Tecan 公司);GelLogic 2200PRO 凝胶成像系统(美国柯达公司);TS-92 台式摇床(其林贝尔仪器制造有限公司);细胞培养箱(日本 Sanyo 公司);TW20 恒温水浴(德国 Julabo 公司);TDL-5-A 低速离心机(上海安亭科学仪器厂);DXS-3 台式显微镜(上海缔伦光学仪器有限公司);MB102 恒温金属浴(杭州博日科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养与处理

SHSY5Y 细胞用高糖 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清,100 U/L 青霉素,100  $\mu\text{g/L}$  链霉素)进行传代培养,每 2 天传代 1 次。收集约  $1 \times 10^7$  个细胞,加入细胞裂解液(Tris, pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 1% NP-40, cocktail 蛋白酶抑制剂)后,冰浴 30 min,4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 20 min,取上清液保存。

### 2.2 线栓法制备大鼠大脑中动脉阻断(MCAO)模型

取清洁级 SD 大鼠 24 只,随机分为假手术组(Sham)、脑缺血再灌注损伤模型组、苯乙醇苷组(50 mg/kg)<sup>[7-8]</sup>,每组 8 只。大鼠脑缺血再灌注损伤模型按照如下操作进行。分离大鼠右侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)及颈外动脉(ECA),结扎 ECA 并剪断,夹闭 ICA,于 ECA 剪开切口,插入尼龙线,致使大脑中动脉阻塞缺血。同时给药组大鼠 ig 苯乙醇苷<sup>[9]</sup>,模型组 ig 生理盐水。1.5 h 后实现再灌注。24 h 后观察各组动物行为,并进行评分。评分时由 3 名实验人员分别以单盲法对实验动物进行打分,将 3 组记分结果平均后进行统计分析。Longa 评分标准为:正常,无神经损伤症状,0 分;轻度神经功能损伤,不能完全伸展左侧前爪,1 分;中度神经功能损伤,行走时向非缺血侧转圈,2 分;重度神经功能损伤,行走时向非缺血侧倾倒,3 分;不能自发行走、意识昏迷,4 分。最后将大鼠断头取脑,进行 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色。扫描并计算相对脑缺血面积数值。

### 2.3 免疫组化法检测大鼠脑组织中 SOD 表达水平

将 4%多聚甲醛固定的大鼠脑组织进行石蜡包埋,5  $\mu\text{m}$  切片并脱蜡处理。柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复 10 min,3%过氧化氢处理 15 min,PBS 冲洗 3 次。加 10%山羊血清封闭 30 min,滴加稀释的 SOD 抗体(1:100),4  $^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜。PBS 冲洗 3 次,

加入生物素标记的二抗(1:100)室温孵育 30 min, PBS 洗 3 次;再滴加 ABC 复合物,室温孵育 30 min, PBS 洗 3 次。滴加二氨基联苯胺(DAB)显色液,孵育 5~10 min,显色后用蒸馏水充分洗涤,并用苏木素复染,脱水,透明,最后用中性树胶封片,并在显微镜下观察<sup>[10]</sup>。

#### 2.4 固相微球表面键合苯乙醇苷化学成分

本实验使用的环氧基团修饰的琼脂糖固相微球为商品化的 Epoxy-activated Sepharose™ 6B 微球,购自 GE Healthcare 公司。粒径在 45~165 μm,平均粒径 90 μm。该微球在 pH 2~14 稳定性好,微球表面通过 1,4-双(2,3-环氧丙基)-丁基为连接臂偶联环氧基团,该环氧基团可与糖类物质发生化学键合进而将其固定到微球表面。实验时,取 500 μL 的环氧基团修饰的琼脂糖固相微球与 500 μL 的苯乙醇苷溶液(50 mg/mL)混合,混合物置于 1.5 mL 的 EP 管中。向混合物中加入适量的饱和 NaOH 溶液调节 pH 为 8。并将混合物置于恒温摇床上 37 °C 振荡过夜。3 000 r/min 离心 2 min,去除上清,用洗脱液(含 0.1% Triton X-100 的 PBS)反复清洗固相微球 5 次,至上清液无色。置固相微球于 4 °C 避光保存。微球的表面形态可通过显微镜进行观察确认。

#### 2.5 苯乙醇苷靶点群的富集与鉴定

将表面键合苯乙醇苷的琼脂糖固相微球与 SHSY5Y 细胞裂解液混合,置于 4 °C 孵育过夜,10 mL 洗脱液(Tris, pH 7.4, 150 mmol/L NaCl, 1% TritonX100, cocktail 蛋白酶抑制剂)分 5 次清洗微球。加入 500 μL 的 loading buffer 并煮沸 5 min。将煮沸后的体系离心 2 min 后取上清,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。通过银染对所有靶点蛋白条带进行显影,并进行高分辨质谱鉴定,以确定每个靶点蛋白的属性及名称。

#### 2.6 高分辨质谱技术鉴定靶点蛋白

银染后将蛋白条带切下,经胶内蛋白酶解后获得混合肽段样品,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后,利用二维液相色谱-串联质谱系统(nano-LC-MS/MS)对各肽段进行鉴定。吸取 10 μL 样品溶液加样至 Captrap Peptide 柱,洗脱除杂后进入 RP-C18AQ 毛细管液相色谱柱梯度分离。流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-0.1%甲酸乙腈(B),梯度洗脱条件为 0~45 min, 2%~35% B; 45~50 min, 35%~95% B; 50~60 min, 95% B。体积流量为 300 nL/min。采用正离子模式采集数据,电喷雾电压为 1.8 kV,质谱

扫描模式为全扫描,扫描范围设置为  $m/z$  350~2 000。随后对全扫描模式下获得的 15 个最强峰进行 MS/MS 扫描。利用蛋白质组学分析软件平台 Thermo Proteome Discoverer(1.4)所含的 SEQUEST 检索软件对获得的肽质量指纹谱(PMF)或碰撞诱导裂解(CID)方式下的 MS/MS 肽段数据进行检索匹配。胰酶酶切位点丢失个数限制为 2。选择甲硫氨酸氧化作为可变修饰(+15 995),半胱氨酸脲基甲基化作为固定修饰(+57 021)。

### 3 结果与分析

#### 3.1 肉苁蓉苯乙醇苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响

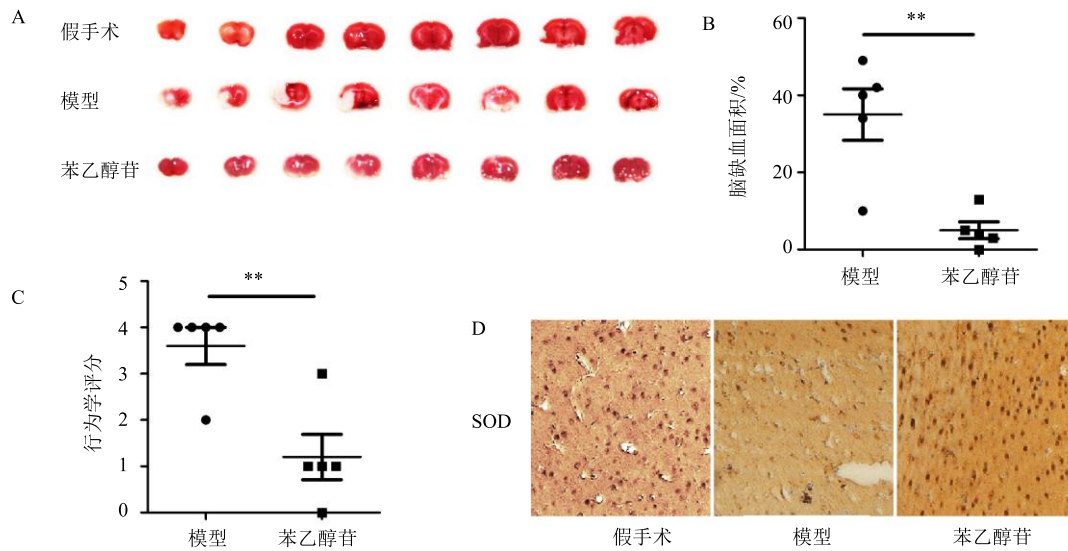
MCAO 实验观察肉苁蓉苯乙醇苷对大鼠脑缺血病理过程的改善效果。结果发现,肉苁蓉苯乙醇苷能够有效地降低因缺血所导致的大鼠脑缺血面积,增加脑内正常神经元的存活区面积(图 1-A、B)。此外,肉苁蓉苯乙醇苷能够有效地改善因缺血所致的大鼠神经行为学缺陷,改善缺血后大鼠的行为能力(图 1-C),并能够提高大鼠脑组织中 SOD 的表达水平(图 1-D)。表明肉苁蓉苯乙醇苷具有良好的抗缺血和脑保护作用。

#### 3.2 肉苁蓉苯乙醇苷作用靶点群的富集与鉴定

为了深入探讨肉苁蓉苯乙醇苷发挥脑保护作用的机制,本实验成功构建了苯乙醇苷修饰的琼脂糖固相微球。从外观上看,苯乙醇苷修饰后的微球颜色明显加深,表明苯乙醇苷已经偶联到微球表面;另外显微镜下观察可发现微球形状未出现明显变化,说明化学键合过程并没有影响到微球的表面性质(图 2-A)。利用分子靶点“钩钓”技术,通过固相微球表面的苯乙醇苷分子从神经细胞裂解液中进行靶点富集,进而对捕获的靶点蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳和银染,结果共发现 18 条主要蛋白条带。对所有蛋白条带分别进行 LC-MS/MS 高分辨质谱鉴定,以确定潜在结合靶点蛋白的名称和属性(图 2-B)。

#### 3.3 肉苁蓉苯乙醇苷作用靶点群的分类与功能解析

按照不同生物学功能对所得靶点进行分类,主要可分为如下 9 类功能。(1) 细胞能量代谢:主要包括 ATP synthase、adenylate kinase、triosephosphate isomerase、ATP-citrate synthase;(2) 蛋白质质量控制:主要包括 HSP90、78GRP、heterogeneous ribonucleo-protein、elongation factor;(3) 免疫调控:主要包括 IMPDH2、Lysozyme C;(4) 离子通道:主要包

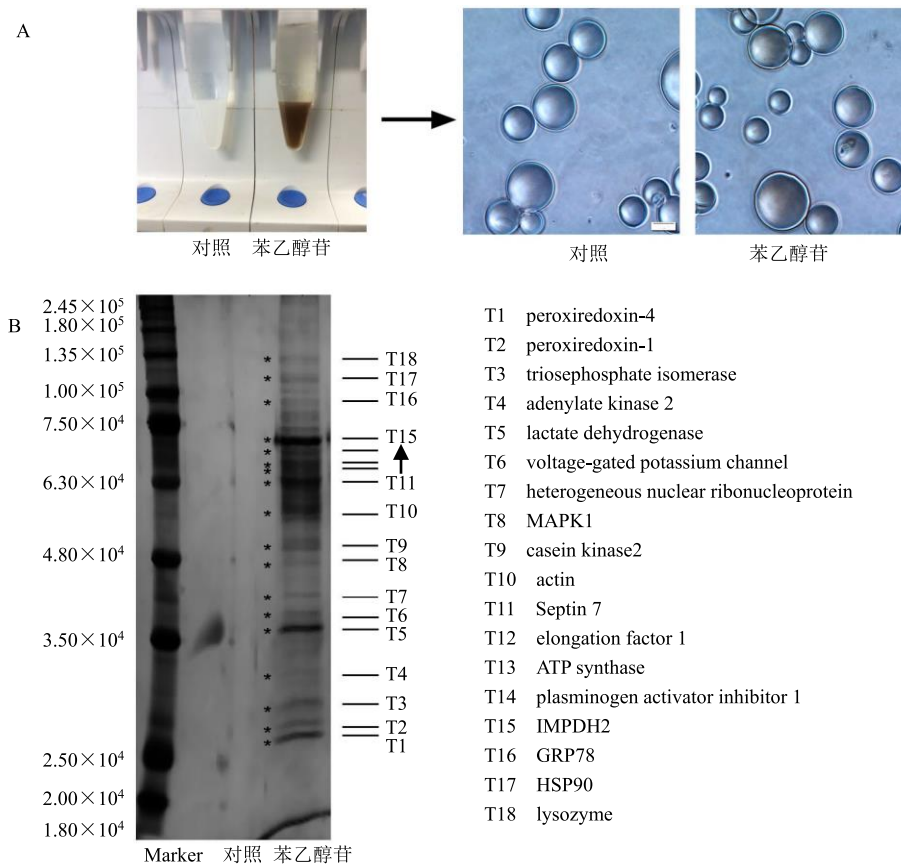


与模型组比较: \*\* $P < 0.01$  A-大鼠脑缺血区 TTC 染色结果 B-大鼠脑缺血面积统计学分析 C-大鼠行为学评分统计学分析 D-大鼠脑组织中 SOD 表达水平 (免疫组化)

\*\* $P < 0.01$  vs model group A-representative images of brain slices stained by TTC B-statistical analysis of cerebral ischemia size C-statistical analysis of rat behavioral scores D-SOD levels detected by immunohistochemical staining in rat brain tissue

图 1 肉苁蓉苯乙醇苷对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响 ( $\times 200$ )

Fig. 1 Effects of PhGs on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats ( $\times 200$ )



A-制备微球的显微表征图 (bar=50  $\mu\text{m}$ ) B-富集靶点的凝胶电泳图

A-micrograph of PhGs-conjugated sepharose beads (bar=50  $\mu\text{m}$ ) B-gel electrophoresis for the PhGs-coupled targets

图 2 肉苁蓉苯乙醇苷结合靶点群的富集与鉴定

Fig. 2 Enrichment and identification of targets groups combined with PhGs

括 Voltage-gated potassium channel; (5) 细胞增殖与分化: 主要包括 MAPK1、BUB3、Casein kinase 2; (6) 抗氧化: 主要包括 PRDX1、PRDX4; (7) 凝血: 主要包括 plasminogen activator inhibitor; (8) 乳酸代谢: 主要包括 LDH; (9) 细胞骨架: 主要包括 actin、tubulin、Septin。

### 3.4 肉苁蓉苯乙醇苷现代药理作用的诠释

通过药物靶点的生物学功能可以关联并解释药物的传统功效。本实验结果表明, ATP synthase、adenylate kinase、triosephosphate isomerase、ATP-citrate synthase 等与 ATP 合成相关的蛋白涉及到机体的能量代谢, 而乳酸脱氢酶 (LDH) 涉及到体内乳酸代谢, 进而推测此类靶点可能与肉苁蓉治疗筋骨无力、腰膝酸软等功效相关<sup>[11]</sup>。此外, voltage-gated potassium channel 与神经信号传导有关, 其与 actin、tubulin、septin 等细胞骨架相关蛋白可能共同参与了维持神经突触的完整性和信号传导等功能, 即与肉苁蓉促智和抗痴呆等功效存在一定的相关性。IMPDH2<sup>[12]</sup>和 Lysozyme C<sup>[13]</sup>等靶点蛋白可能参与了调控人体免疫能力和抵抗微生物感染等。PRDX1<sup>[14]</sup>和 PRDX4<sup>[15]</sup>等抗氧化相关蛋白可能通过清除体内的活性氧 (ROS), 进而参与了肉苁蓉的润燥等相关作用。当然, 这些靶点功能与药理作用的相关性还需要后期的实验加以深入验证。

## 4 讨论

药物靶点是药物分子发挥疾病治疗作用最为直接和初始的生物学基础, 因此药物靶点的揭示对于阐明药物作用机制具有十分关键的指导意义<sup>[16]</sup>。传统中药经过长期的临床实践, 疗效明确, 但是由于其成分复杂, 因此尚无有效方法可以全面和客观地评价其作用机制。本实验从寻找药物的靶点入手, 首先鉴定出中药复杂体系的作用靶点群, 进而通过靶点群中不同靶点的生物学功能再将靶点分成相应的子群, 并依据不同靶点子群的生物学意义诠释传统中药的不同功效。这一研究策略的优势在于可以大大简化复杂中药组分作用机制的研究难度。即直接从靶点源头上阐释中药的作用机制, 且靶点“钩钩”与鉴定的过程不受人为因素的干扰, 评价结果更加客观、真实<sup>[17]</sup>。

肉苁蓉是著名的补益中药, 具有补肾阳、益精血、润肠通便等功效, 在《神农本草经》中列为上品。近来研究发现, 肉苁蓉中的苯乙醇苷类成分具有明显的神经保护作用, 可以提高学习记忆能力、

抗老年痴呆和抗帕金森病。其中, 管花肉苁蓉苯乙醇苷总苷已经被研制成为健脑促智新药苁蓉总苷胶囊, 于 2005 年批准上市 (国药准字 Z20050216)<sup>[18]</sup>。然而, 关于肉苁蓉苯乙醇苷类活性成分的神经保护作用机制尚不清楚。本研究发现肉苁蓉苯乙醇苷所调控的靶点群主要与 3 类神经细胞生理活动相关。第 1 类为细胞的能量代谢, 特别是与 ATP 的合成和代谢相关的各种酶类, 由于神经细胞的活动高度依赖于能量的供给, 因此肉苁蓉苯乙醇苷可能通过改善神经细胞内的 ATP 合成, 进而提高神经细胞内的能量供给, 并促进神经元的存活与分化等生命活动。此外, 肉苁蓉苯乙醇苷调控的第 2 类靶点涉及细胞内的蛋白质稳态调节, 特别是热休克蛋白类靶点, 其能够维持并促进神经细胞内错误折叠的蛋白质恢复到正常的空间构象及生理功能, 进而提高受损神经细胞的活力。肉苁蓉苯乙醇苷调控的第 3 类靶点与细胞骨架相关, 因为神经细胞的突触发育及重塑与细胞骨架蛋白高度相关, 因此推测肉苁蓉苯乙醇苷可能通过作用于细胞骨架蛋白来促进神经细胞突触的发育及连接, 进而有助于脑内神经网络的形成及记忆的恢复, 但是这些推论还有待于后续实验的进一步验证。

本研究从靶点源头上对肉苁蓉苯乙醇苷治疗脑缺血的神保护功效提供了较为全面和科学的解释, 对发现全新的神经保护药物靶点有重要意义, 也为今后临床上指导肉苁蓉的精准用药提供了基础药理学实验依据。

## 参考文献

- [1] 成喜雨, 郭 斌, 倪 文, 等. 肉苁蓉研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(2): 235-241.
- [2] 罗光明, 黄远亮. 肉苁蓉松果菊苷药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(17): 58-60.
- [3] 赵 微, 潘英妮. 肉苁蓉苯乙醇苷类成分药理作用研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2013, 9(5): 77-79.
- [4] 陈 飞, 陈 卓, 邢雪飞, 等. 肉苁蓉的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2013, 36(6): 469-475.
- [5] 李 媛, 宋媛媛, 张洪泉. 肉苁蓉的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(1): 7-11.
- [6] 刘晓明, 姜 勇, 孙永强, 等. 肉苁蓉化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2011, 46(14): 1053-1058.
- [7] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] 肉苁蓉苯乙醇苷对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗衰老

- 作用研究 [J]. 中药材, 2008, 31(9): 1385-1388.
- [9] 刘美虹, 赵国君, 陈哲. 肉苁蓉苯乙醇苷对东莨菪碱致记忆障碍小鼠保护作用的研究 [J]. 包头医学院学报, 2011, 27(6): 9-14.
- [10] Verma S K, Arora I, Javed K, *et al.* Enhancement in the neuroprotective power of riluzole against cerebral ischemia using a brain targeted drug delivery vehicle [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 30(8): 19716-19723.
- [11] Xiao Y, Wu Y, Zhao B, Xia Z. Decreased voltage-gated potassium currents in rat dorsal root ganglion neurons after chronic constriction injury [J]. *Neuroreport*, 2016, 27(2): 104-109.
- [12] Li H X, Meng Q P, Liu W, *et al.* IMPDH2 mediate radioresistance and chemoresistance in osteosarcoma cells [J]. *Eur Rev Med Pharmacol*, 2014, 18(20): 3038-3044.
- [13] Ragland S A, Criss A K. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme [J]. *PLoS Pathog*, 2017, doi: 10.1371/journal.ppat.1006512.
- [14] Neumann C A, Cao J, Manevich Y. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling [J]. *Cell Cycle*, 2009, 15, 8(24): 4072-4078.
- [15] Yamada S, Ding Y, Sasaguri Y. Peroxiredoxin 4: Critical roles in inflammatory diseases [J]. *J Uoeh*, 2012, 34(1): 27-39.
- [16] 杨红芹, 李学军. 化学蛋白质组学与药物靶点的发现 [J]. 药学学报, 2011, 46(8): 877-882.
- [17] 屠鹏飞, 曾克武, 廖理曦, 等. 天然活性小分子靶标蛋白识别方法学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 6-13.
- [18] 安军明, 柯铁军. 苁蓉总苷胶囊治疗血管性痴呆 99 例 [J]. 陕西中医学院学报, 2011, 34(2): 36-37.