

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.17.045

天然活性成分作用靶点识别及确证方法的研究进展*

赵晶 申凯 寇俊萍[△] 余伯阳

(中药复方研究室 中国药科大学 江苏南京 211198)

摘要: 药物靶标的发现和验证是新药研发的关键环节,对创新药研发具有源头创新意义。天然产物是新药创制的重要来源,识别其作用靶点不仅为临床预防治疗提供可能新策略,也为进一步阐释中草药及其复方的作用特点及分子机制提供参考依据。随着生命科学和信息学的发展,药物靶点的识别及确证方法不断涌现,生物信息学、网络药理学、蛋白质组学、亲和色谱、药物亲和稳定性、芯片技术、基因敲除技术、RNA 干扰等技术的广泛应用,越来越多的天然活性成分的靶点得以识别和验证。因此,本文对近五年来天然活性成分作用靶点识别及确证方法做一简要综述,以供参考。

关键词: 天然产物;活性成分;药物靶点;靶点识别及确证

中图分类号: R96 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)17-3369-04

Advance in Methods of Identifying and Verifying Targets of Natural Products*

ZHAO Jing, SHEN Kai, KOU Jun-ping[△], YU Bo-yang

(Department of Complex Prescription of TCM, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 211198, China)

ABSTRACT: Drug target discovery and validation is a key point in the process of new drug research and development, which is of original innovation for drug discovery. Natural products are important sources of drug development. It will not only provide a new strategy for the clinical prevention and treatment, but also provide some references for further exploration of functional characteristics and molecular mechanism of Chinese herbal medicine to identify the targets of natural products. With the development of life sciences and informatics, various methods for the identification of drug targets are developed. More and more targets of natural targets have been identified with the application of bioinformatics, proteomics, affinity chromatography, network pharmacology, drug stability of affinity, chip technology, gene knockout and RNA interference etc. Therefore, in this article, we review the related advances for recent five years to give some reference.

Key words: Natural products; The active ingredient; Drug target; Target discovery and verification

Chinese Library Classification(CLC): R96 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)17-3369-04

药物靶标是药物发挥作用实现疗效的目标分子,是指具有重要生理或病理功能,能够与药物分子相结合并产生药理作用的生物大分子(包括基因位点、受体、酶、离子通道、核酸等)及其特有的结构域。因此,药物靶标是药物筛选的基础,也是创新药物的前提,对创新药研发具有源头创新意义。天然产物是新药创制的重要来源,识别其作用靶点不仅为临床预防治疗提供可能新策略,也为进一步阐释中草药及其复方的作用特点及分子机制提供参考依据。近年来,随着生命科学技术的迅速发展,新的靶点识别及确证方法不断出现,越来越多的天然活性成分的靶点得以识别和验证。因此,本文拟从生物信息和实验水平两大方面,就近五年的相关研究进展做一综述,以供参考。

1 信息学手段的靶点识别及确证方法

1.1 生物信息学方法

生物信息学(Bioinformatics)是指应用信息科学研究生物体系和生物过程中信息的存贮、信息的内涵和信息的传递,研究和分析生物体细胞、组织、器官的生理、病理、药理过程中的各种生物信息,或者说是生命科学中的信息科学。目前已成功应用于药靶发现的各个环节,对于存储疾病相关的医学数据发现大量潜在的靶点,揭示药物作用机理做出了重要贡献。用于药靶发现的数据库资源主要包括疾病相关的基因数据库,候选靶点数据库,疾病相关的基因芯片数据库以及其他相关数据库等,可用于发现潜在的靶点,并预测靶点可药性和药物副作用^[1]。Ye等根据中草药和靶点蛋白之间的关系建立天然活性成分靶点蛋白数据库(HIT),主要涉及天然产物是否能直接或间接的激活或抑制靶点蛋白,天然产物与靶点蛋白的结合位点及与酶结合位点结合的残基等^[2]。如抗癌化合物的激活靶点蛋白数据库(NPACT)收集了经实验验证明确的抗癌活性的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81274004);天然药物活性组分与药效国家重点实验室自主科研重点项目(JKGZ201107);

江苏高校优势学科建设工程资助项目,江苏省研究生创新计划(CXZZ11_0784)

作者简介:赵晶(1986-),女,硕士研究生,研究方向:中药有效成分作用机理,Tel: 13621580307, E-Mail: 546224983@163.com

[△]通讯作者:寇俊萍,教授,电话:025-86185158, E-Mail: junpingkou@163.com

(收稿日期:2013-09-23 接受日期:2013-10-18)

1574 个天然产物的结构信息,及体内外实验信息及靶点蛋白^[9]。Li 等在生物信息学基础上,通过综合运用化学、化学基因组和药理学的数据库的方法,根据药效基团模拟技术筛选出 385 个靶点蛋白作为候选靶标,然后采用分子对接的方法验证与心血管疾病相关的候选靶标的可靠性,应用分子动力学和结合自由能分析发现 3 α - 羟基丹参酮 IIA、二氢丹参酮 I 的靶点蛋白为高血压蛋白原酶^[9]。另有研究采用反向对接方法,在潜在的药物靶标数据库(PDTD)中,考察两种用于治疗糖尿病和炎症的草药马齿苋和瑞香中 19 种天然成分与靶点蛋白二肽基肽酶 IV (DPP-IV)相互作用,经计算,有 5 种成分有显著抑制二肽基肽酶 IV 的活性^[9]。并应用相似的方法,识别延胡索的特异性靶点蛋白为酪氨酸激酶 JAK2^[6,7]。同时,生物信息学方法也被用于预测靶点来阐释中药复方的作用机制,Wang 等在确定芪参颗粒的活性成分后,应用 CIPHER-CS 的方法预测其靶点蛋白,发现这些潜在的靶点蛋白可显著强化神经活性抗体-受体之间的相互作用的生物过程,包括氨酰基-tRNA 生物合成、钙信号通路、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸代谢、肾素-血管紧张素系统(RAAS)等;芪参颗粒可作用于肾素和血管紧张素 II 受体,并且下调血管紧张素 II 的表达^[8]。上述研究结果表明,生物信息学方法为识别天然产物的靶点提供线索,也为含天然多成分的复方制剂的作用机制阐释提供一定参考,并可有效缩短实验进程,但其可靠性则有待进一步实验水平的证实。

1.2 网络药理学

网络药理学是基于系统生物学的理论,对生物系统的网络分析,选取特定信号节点进行多靶点药物分子设计的新学科。网络药理学超越了单靶点思想的束缚,从多靶点的研究策略出发从而更便捷地寻找天然产物的作用靶点^[9,10]。如应用计算及网络分析方法预测传统中药有效成分大黄酸及附子中 22 个化学成分靶点蛋白^[11,12];应用 Random Forest (RF) and Support Vector Machine(SVM)方法,识别甘草中 73 个活性成分的 91 个靶点蛋白^[13]。并应用网络分析复方丹参 9 个活性成分可调控 PPARG, ACE, KCNJ11, KCNQ1, ABCG8 等多个心血管相关疾病基因表达,涉及糖尿病高胰岛素型低血糖症等 42 种疾病,提示复方丹参方具有新的临床适应症研究前景^[14],并识别中药复方生脉散有效成分的分子靶标^[15]。杨红等人从川贝枇杷滴丸挥发油提取物中共鉴定出 28 个相关成分并以药效成分 α -红没药醇(ABB)作验证,反向对接结果显示其抗炎机制主要与调节 HSP 90- α 、TGF- β 受体等靶蛋白及其相关通路有关,以 ABB 为代表的药理验证实验显示,ABB 能够很好地作用于预测的靶点及通路,且具有显著抗炎作用^[16]。除此之外,应用分子对接(LigandFit)和网络分析的方法,分析了治疗糖尿病的几种天然产物番泻叶甙 C、原花青素 C1 等成分的靶点蛋白为胰高糖素像肽 1 受体(GLP1R)^[17]。上述结果表明,应用网络药理学不仅能预测天然活性成分作用的信号通路,而且反映出中药多成分多靶点特点,为实验水平的验证提供线索。

2 实验水平的靶点识别及确证方法

2.1 蛋白质靶点识别及确证方法

2.1.1 蛋白质组学技术 蛋白质组学(proteomics)是指研究蛋白质组的科学,本质上是在大规模水平上研究蛋白质的特征,

包括蛋白质的表达水平、翻译后的修饰、蛋白与蛋白相互作用等,由此获得蛋白质水平上的关于疾病发生、细胞代谢等过程的整体而全面的认识^[18,19]。近年来利用蛋白质组学技术识别天然产物的靶标发展迅速。如 Lakshmi Raj 等人应用蛋白质组学的方法,考察天然产物茛菪酰胺(PL)在癌细胞和正常细胞通过癌症基因型 p53 对活性氧(ROS)和细胞凋亡的调节方式,结果发现,茛菪酰胺(PL)可以通过癌症基因 p53 的凋亡蛋白 PUMA 显著调节癌细胞和正常细胞活性氧(ROS)和细胞凋亡^[20]。如采用蛋白质组学技术结合硼酸盐-亲和下拉的方法,识别并确证绿茶中提取出来的天然活性成分没食子酸盐(EGCG)在人类胃癌细胞 AZ521 的靶点蛋白为 β -连环蛋白,从而阐释其抗癌的分子机制^[21]。综合应用化学基因组和蛋白质组学方法,结合具有活性差异的类似物为小分子探针与稳定同位素标记氨基酸的特定细胞培养物(SILAC)介导的亲和富集方法,识别验证天然产物 K252a 的相关靶点蛋白为调节器相关激酶 1(AAK1),继而影响神经营养因子神经调节蛋白-1(Nrg1)/ErbB4 的转运和表达^[22]。另外,应用蛋白质组学质谱联用的方法,结合分子动力学模拟的方法,确定分析了冬凌草素抗癌的直接作用靶点是 HSP70^[23],雷公藤红素抗癌的新靶点为微管蛋白^[24]。应用蛋白质芯片技术,发现天然产物藤黄酸是一个潜在的 Hsp90 抑制剂,并通过分子对接识别藤黄酸结合在 Hsp90 的 ATP 位点^[25]。

2.1.2 亲和色谱技术(Affinity Chromatography) 亲和色谱技术是基于蛋白质可与药物分子发生特异的可逆结合,将药物通过化学反应共价连接到亲和载体表面的功能基上构成配基,继而识别可与之特异性结合的蛋白,已逐渐成为一种识别天然产物作用靶点的重要手段^[26,27]。如应用亲和色谱法,识别天然产物萨力多胺的抗癌靶点为 Cereblon^[28];aloesine A 的靶点蛋白为细胞周期素依赖性激酶等^[29]。应用系列亲和色谱技术,识别麦冬活性成分鲁斯可皂苷元在血管内皮细胞中的特异性结合蛋白,经质谱鉴定和蛋白印迹确证为非肌肉肌球蛋白重链 II A,并通过进一步功能研究证实该蛋白为防治心脑血管疾病的药物靶标,提示该技术在识别中药有效成分作用靶点的广阔前景^[30]。但该技术也有一定局限性,如用以制备亲和介质的配基的小分子需具有如羟基、羧基、巯基等特定基团,或需经结构修饰但仍保持原有活性才能应用,某些亲和能力弱的化合物难以获得阳性结果等。

2.1.3 药物亲和靶点稳定性(Drug Affinity Responsive Target Stability) 基于药物亲和反应靶点稳定性的靶标发现原理,是药物与其靶点蛋白质的结合,占据了蛋白水解酶的识别位点,从而使该靶点蛋白的稳定性增强,不易被酶解。通过对比药物处理组与对照组蛋白质酶解片段的差异,找出酶解情况不同的蛋白质,再进行结合特异性分析,确定特异结合的靶标。其优点为:可应用于纯化蛋白或是蛋白混合物中的结合蛋白筛选;不需要对小分子化合物进行任何化学修饰,以其原有结构分析与蛋白的相互作用;不依赖于药物的任何活性效应,且所用蛋白酶广泛,没有特异性,操作步骤少,具有良好的应用前景^[31]。Lomenick 等应用 DARTS 方法,识别酵母细胞中白藜芦醇的直接结合蛋白为 cIIF4A,且其结合具有结构特异性^[32]。另有学者应用该技术识别出 KU174 作用靶点为 HSP90^[33],葫芦素 B 的结合蛋白为 mTOR^[34]。但该方法也有一定局限性:药物与蛋白

之间的亲和力是主要的制约因素;因药物结合位点与蛋白酶识别位点不同或某些蛋白(如应激蛋白)本身对蛋白酶具有抗性,而出现假阴性或假阳性结果。

2.2 基因水平及核苷酸水平的靶点识别及确证方法

2.2.1 基因芯片技术 基因芯片又称 DNA 芯片,其主要原理是分子生物学中的核酸分子原位杂交技术,即利用核酸分子碱基之间互补配对的原理,通过各种技术手段将核苷酸固定在固体支持物上,随后将处理好的样品与其进行杂交,以实现对所测样品基因的大规模检验^[35]。基因芯片技术可以同时筛选、鉴别药物或疾病相关基因,并将这些基因与之功能联系起来,因此成为药物靶标识别的一个重要手段。如应用基因芯片技术,发现母皂苷 A-III 诱导自噬捕捉泛素蛋白质,并且促进泛素蛋白质的聚合^[36]。通过基因序列分析发现,多烯紫杉醇在肺腺癌中的潜在靶点分子为生长抑制因子 ING4^[37],苜蓿中华根瘤菌的靶点基因为 ExoS/ChvI^[38]。另外,全基因组基因芯片分析显示,芍药醇调节脂多糖活化巨噬细胞发挥抗炎作用的靶基因主要涉及趋化因子和细胞因子信号,白介素信号和 Toll 样受体信号^[39]。但由于芯片技术本身尚不十分成熟,它反映的是 mRNA 表达水平,是否与蛋白表达和功能相一致,还有待进一步验证。

2.2.2 基因敲除与 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 技术 基因敲除(gene knockout)又称为基因打靶,是指从分子水平上将一个结构已知而功能未知的基因去除或替代,然后从整体观察实验动物,推测相应基因的功能的实验方法。通过基因敲除动物模型能发现特定基因功能并识别和确证药物作用的新靶点^[40]。目前利用基因敲除动物模型验证天然产物作用靶点的研究报道较少,如利用 p50 缺陷小鼠进一步确证穿心莲内酯通过结合 p50,抑制 NF- κ B 活化从而抑制内膜增生,防止动脉狭窄^[41]。RNA 干扰是指一种分子生物学上由双链 RNA 诱发的基因沉默现象,当细胞中导入与内源性 mRNA 编码区同源的双链 RNA 时,该 mRNA 发生降解而导致基因表达沉默。RNAi 特异高效地抑制基因表达,获得去基因功能的表型,这种技术只需要少量的核酸序列信号,而且不被蛋白结构影响;siRNA 的合成和控制较基因敲除或其他方法简单易行,周期短,而且可以通过质粒或病毒载体表达的小发夹 RNA (small hairpin RNA, shRNA) 干扰目的基因,从而在细胞水平和动物水平筛选和评定药靶^[42,43]。如应用该技术,确证奇果菌素通过死亡相关蛋白激酶 1 (DAPK1)而干预肿瘤细胞^[44];在探讨中药复方黄黛片(RIF) 治疗 APL 的多靶点协同作用机制中,应用 RNA 干扰技术,证实水通道蛋白(AQP9)为四硫化四砷(A),靛玉红(I),和丹参酮 II A(T)及其组方促进砷的吸收转运活性的关键蛋白^[45]。

3 其他方法

除上述方法外,各种色谱光谱技术等多学科技术也广泛应用于天然活性成分靶标识别和确证。传统中药砷对于急性早幼粒细胞白血病(APL)具有显著的抗癌活性,首先设计两种方法对药物进行标记和示踪,证实砷剂在细胞内可以直接结合癌蛋白 PML-RAR,继而综合应用多种谱学分析手段和生物技术,探究砷结合 PML-RAR 的结构区域,再借助结构生物学和生物物理学的方法,深入研究砷与 PML 蛋白结合的配位模式和局部结构;最后通过分子细胞水平实验,进一步解析了砷与

PML-RAR 结合如何发挥生物学效应,从而揭示癌蛋白 PML-RAR α 是砷剂治疗 APL 的直接药物靶点^[46]。Denis Vtítov 等人应用同位素标记雷公藤甲素,结合免疫共沉淀技术、RNA 转录活性分析及 ATP 酶活性测定等方法,识别验证雷公藤甲素靶点为 TFIIF 的亚基结构 XPB,为抗癌药物的发现提供新线索^[47]。Nagaratna S 等人利用生物物理分析技术,证实人乳腺癌细胞 MCF-7 中硫链丝菌素可以直接与 FOXM1 蛋白相互作用,抑制 FOXM1 的基因结合位点^[48]。

4 总结和展望

随着功能基因组、蛋白质组研究的深入及生命科学与其他学科如信息学的进一步交融,识别天然药物靶标的方法也日渐成熟,生物信息学和网络药理学方法为高效地发现大量潜在的药物靶标,揭示药物作用机理等提供可能的线索,尤其以网络为基础的靶标发现平台有利于从整体角度进行靶标筛选并发现联合靶标;随着动态的详细的生物学时空数据的累积,有可能在计算机中精确地模拟药物针对靶标作用的过程以及对整个机体系统产生的影响,从而提高药物开发的效率。此外,实验技术如蛋白质组学、亲和色谱、药物亲和稳定性、芯片技术、基因敲除技术、RNA 干扰技术在药物靶点识别和确证方面也起着无可替代的作用。基因敲除模型在发现基因功能和药物作用新靶点方面具有高度价值,随着该技术的不断发展成熟,将更广泛地应用于天然活性成分的作用靶点地识别与确证。综合多学科技术手段,深入开展临床疗效确切的中草药或复方活性成分的靶标识别研究,将有助于进一步设计新作用特点的先导化合物或治疗药物,也有利于更加明确地阐明中药治疗作用的分子机制,为从分子、细胞水平及整体模型上探讨人类重大疾病的诊断防治和创新药物的研发,提供重要的理论基础和参考依据。

参考文献(References)

- [1] 刘伟,谢红卫. 基于生物信息学方法发现潜在药物靶标 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2011, 38(1): 11-19
Liu Wei, Xie Hong-wei. Potential Drug target based on bioinformatics methods[J]. Prog biochem biophys, 2011, 38(1): 11-19
- [2] Ye H, Ye L, Kang H, et al. HIT: linking herbal active ingredients to targets[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39 (Database issue): D1055-D1059
- [3] Mangal M, Sagar P, Singh H, et al. NPACT: Naturally occurring plant-based anti-cancer compound-activity-target database [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41(D1): D1124-D1129
- [4] Li XX, Xu X, Wang J A, et al. A system-level investigation into the mechanisms of chinese traditional Medicine: compound danshen Formula for cardiovascular disease treatment[J]. PloS one, 2012, 7(9): e43918
- [5] Zhang SD, Lu WQ, Liu XF, et al. Fast and effective identification of the bioactive compounds and their targets from medicinal plants via computational chemical biology approach [J]. Med Chem Commun, 2011, 2(6): 471-477
- [6] Li BH, Xu X, Wang X, et al. A systems biology approach to understanding the mechanisms of action of chinese herbs for treatment of cardiovascular disease [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(10): 13501-13520
- [7] Tao WY, Xu X, Wang X, et al. Network pharmacology-based predicti-

- on of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal Radix Curcumae formula for application to cardiovascular disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 1-10
- [8] Wang Y, Liu ZY, Li C, et al. Drug target prediction based on the herbs components: the study on the multitargets pharmacological mechanism of qishenkeli acting on the coronary heart disease [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012: 698531
- [9] 汤佩佩, 白明, 苗明三. 中医药研究与网络药理学 [J]. *中医学报*, 2012, 27(9): 1112-1115
Tang Pei-pei, Bai Ming, Miao Ming-san. Traditional chinese medicine research and network pharmacology[J]. *Chin J chin med*, 2012, 27(9): 1112-1115
- [10] Zhao SW, Li S. Network-Based Relating Pharmacological and genomic spaces for drug Ttarget Identification[J]. *Plos one*, 2010, 5(7): 1-10
- [11] Zhang AH, Sun H, Yang B, et al. Predicting new molecular targets for rhein using network pharmacology [J]. *BMC Syst Biol*, 2012, 6(3): 20
- [12] 吴磊宏, 高秀梅, 王林丽, 等. 附子多成分作用靶点预测及网络药理学研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(21): 2907-2910
Wu Lei-hong, Gao Xiu-mei, Wang Lin-li, et al. Prediction of multi-target of Aconiti Lateralis Radix Praeparata and network pharmacology [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2011, 36(21): 2907-2910
- [13] Liu H, Wang JA, Zhou W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: An example using licorice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, Doi: 10. 1016
- [14] 李翔, 吴磊宏, 范晓辉, 等. 复方丹参方主要活性成分网络药理学研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(21): 2911-2915
Li Xiang, Wu Lei-hong, Fan Xiao-hui, et al. Network pharmacology study on major active compounds of Fufang Danshen Formula [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2011, 36(21): 2911-2915
- [15] 朱艳芳, 朱伟. 生脉散血中移行成分分子靶标的计算机系统生物学预测 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(4): 278-282
Zhu Yan-fang, Zhu Wei. Exploring the potential molecular target proteins of multiple constituents absorbed into plasma in Shenmai san based on computational systemic biology [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 18(4): 278-282
- [16] 杨红, 邢璐, 周梦鸽, 等. 治咳川贝枇杷滴丸挥发性成分治疗气道炎症的网络药理学研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(6): 1129-1135
Yang Hong, Xing Lu, Zhou Meng-ge, et al. Network pharmacological research of volatile oil from Zhike Chuanbei Pipa Dropping Pills in treatment of airway inflammation [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2012, 43(6): 1129-1135
- [17] Gu JY, Zhang H, Chen LR, et al. Drug-target network and polypharmacology studies of a Traditional Chinese Medicine for type II diabetes mellitus [J]. *Comput Biol Chem*, 2011, 35(5): 293-297
- [18] 杨红芹, 李学军. 化学蛋白质组学与药物靶点的发现 [J]. *药理学报*, 2011, 46(8): 877-882
Yang Hong-qin, Li Xue-jun. Chemical proteomics and discovery of drug targets [J]. *Acta Pharm Sin*, 2011, 46(8): 877-882
- [19] Cun YP, Fr hlich HF. Prognostic gene signatures for patient stratification in breast cancer: accuracy, stability and interpretability of gene selection approaches using prior knowledge on protein-protein interactions [J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13(5): 69-81
- [20] Raj L, Ide T, Gurkar AU, et al. Selective killing of cancer cells by a small molecule targeting the stress response to ROS [J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 231-234
- [21] Tanaka T, Ishii T, Mizuno D, et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate suppresses growth of AZ521 human gastric cancer cells by targeting the DEAD-box RNA helicase p68 [J]. *Biol Med*, 2011, 50(10): 1324-1335
- [22] Kuai L, Ong SE, Madison JM, et al. AAK1 Identified as an inhibitor of neuregulin-1/ErbB4-Dependent neurotrophic factor signaling using integrative chemical genomics and proteomics [J]. *Chem Biol*, 2011, 18(7): 891-906
- [23] Wang H, Ye Y, Pan SY, et al. Proteomic identification of proteins involved in the anticancer activities of oridonin in HepG2 cells [J]. *Phytomedicine*, 2011, 18(2-3): 163-169
- [24] Jo H, Loison F, Hattori H, et al. Natural product celastrol destabilizes tubulin heterodimer and facilitates mitotic cell death triggered by microtubule-targeting anti-cancer drugs [J]. *PloS One*, 2010, 5(4): e10318
- [25] Davenport J, Manjarrez JR, Peterson L, et al. Gambogic acid, a natural product Inhibitor of Hsp90 [J]. *J Nat prod*, 2011, 74(5): 1085-1092
- [26] 饶澄, 黄显. 亲和色谱法在天然药物活性成分筛选中的应用 [J]. *中国药业*, 2010, 19(12): 19-20
Rao Cheng, Huang Xian. Application of affinity chromatography in scree ning active constituents from natural medicine [J]. *Chin pharm*, 2010, 19(12): 19-20
- [27] Tanaka A. Identification of the specific binding proteins of bioactive small compound using affinity resins [J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 577: 181-195
- [28] Ito T, Ando H, Suzuki T, et al. Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity [J]. *Science*, 2010, 327(5971): 1345-1350
- [29] Corbel C, Haddoub R, Guiffant D, et al. Identification of potential cellular targets of aloisine A by affinity chromatography [J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(15): 5572-5582
- [30] 黄姝琳, 寇俊萍, 余伯阳. 鲁斯可皂苷元体内特异性结合蛋白的发现与功能研究 [D]. 南京: 中国药科大学, 2008: 28-37
Huang Ya-lin, Kou Jun-ping, Yu Bo-yang. Identification and Functional Verification of the Ruscogenin-Binding Protein[D]. China Pharmaceutical University, 2008: 28-37
- [31] Lomenick B, Hao R, Jonai N, et al. Target identification using drug affinity responsive target stability (DARTS) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(51): 21984-21989
- [32] Lomenick B, Olsen RW, Huang J. Identification of direct protein targets of small molecules [J]. *ACS Chem Biol*, 2011, 6(1): 34-46
- [33] Eskew JD, Sadikot T, Morales P, et al. Development and characterization of a novel C-terminal inhibitor of Hsp90 in androgen dependent and independent prostate cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11(10): 468-483
- [34] Lee DH, Thoennissen NH, Goff C, et al. Synergistic effect of low-dose cucurbitacin B and low-dose methotrexate for treatment of human osteosarcoma [J]. *Cancer Lett*, 2011, 306(2): 161-170

- in the modern hospital operating room management role [J]. Journal of Preventive Medicine, 2008, 35(3):504-506
- [13] Eminaga O, Ozgür E, Semjonow A, et al. Linkage of Data from Diverse Data Sources (LDS): A Data Combination Model Provides Clinical Data of Corresponding Specimens in Biobanking Information System[J]. J Med Syst, 2013, 37(5): 9975
- [14] Hahn D, Wanjala P, Marx M. Where is information quality lost at clinical level A mixed-method study on information systems and data quality in three urban Kenyan ANC clinics [J]. Glob Health Action, 2013, 29, 6:21424
- [15] Li Bo. Server virtualization technology in the Hospital Information System[J]. China Health Industry, 2010, 12: 15-16
- [16] Bawazir W, Saddik B, El-Masri S. Investigating the impact of an emergency information system on patient's length of stay in the emergency department of a tertiary hospital in Saudi Arabia [J]. Stud Health Technol Inform, 2013, 192: 1216
- [17] Yasini M, Duclos C, Venot A, et al. A guideline-derived model to facilitate the implementation of test-ordering rules within a hospital information system [J]. Stud Health Technol Inform, 2013, 192: 719-723
- [18] Vélez-Díaz-Pallarés M, Delgado-Silveira E, Carretero-Accame M E, et al. Using Healthcare Failure Mode and Effect Analysis to reduce medication errors in the process of drug prescription, validation and dispensing in hospitalized patients [J]. BMJ Qual Saf, 2013, 22(1):42-52
- [19] 蒋昆, 冯娟, 田玉兔, 等. 医院信息化中医疗数据平台的现实应用探讨[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(19):3728-3730
- Jiang Kun, Feng Juan, Tian Yu-tu, et al. The Real-world Application of Health Data Platform for Hospital Information [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(19):3728-3730
- [20] 申少波, 王正洪, 刘军号, 等. 国外卫生信息化建设对我军卫生信息化建设与发展的启示 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(12): 2367-2370
- Shen Shao-bo, Wang Zheng-hong, Liu Jun-hao, et al. Comparative analysis of health information system technology in foreign and Chinese armed forces [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011, 11(12): 2367-2370
-
- (上接第 3372 页)
- [35] Li CC, Lo HY, Hsiang CY, et al. DNA microarray analysis as a tool to investigate the therapeutic mechanisms and drug development of Chinese medicinal herbs [J]. Bio Med, 2012, 2(1): 10-16
- [36] Lok CN, Sy LK, Liu FL, et al. Activation of autophagy of aggregation-prone ubiquitinated proteins by timosaponin A-III [J]. J Biol Chem, 2011, 286(36): 31684-31696
- [37] Wang R, Huang JY, Feng B, et al. Identification of ING4 (Inhibitor of Growth 4) as a modulator of docetaxel sensitivity in human lung adenocarcinoma [J]. Mol Med, 2012, 18(1): 874-886
- [38] Chen EJ, Fisher RF, Perovich VM, et al. Identification of direct transcriptional target genes of ExoS/ChvI two-component signaling in *Sinorhizobium meliloti* [J]. J Bacteriol, 2009, 191(22): 6833-6842
- [39] Huang H, Chang EJ, Lee YA, et al. A genome-wide microarray analysis reveals anti-inflammatory target genes of paeonol in macrophages [J]. Inflamm Res, 2008, 57(4): 189-198
- [40] 黄娅琳. 药物靶标的发现与验证技术研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2634-2636
- Huang Ya-lin. Research advancement of drug target discovery and verification [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2010, 21 (10): 2634-2636
- [41] Wang YJ, Wang JT, Fan QX, et al. Andrographolide inhibits NF-kappaBeta activation and attenuates neointimal hyperplasia in arterial restenosis [J]. Cell Res, 2007, 17(11): 933-941
- [42] Hannon GJ, Rossi JJ. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference [J]. Nature, 2004, 431(7006): 371-378
- [43] Chan KY, Matthews KR, Ersfeld K. Functional characterisation and drug target validation of a mitotic kinesin-13 in *Trypanosoma brucei* [J]. PLoS Pathogens, 2010, 6(8): 1-15
- [44] Luo XJ, Li LL, Deng QP, et al. Grifolin, a potent antitumour natural product upregulates death-associated protein kinase 1 DAPK1 via p53 in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Eur J Cancer, 2011, 47(2): 316-325
- [45] Wang L, Zhou GB, Liu P, et al. Dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Realgar-Indigo naturalis as an effective treatment for promyelocytic leukemia [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(12): 4826-4831
- [46] Zhang XW, Yan XJ, Zhou ZR, et al. Arsenic trioxide controls the fate of the PML-RAR a oncoprotein by directly binding PML [J]. Science, 2010, 328(5975): 240-243
- [47] Titov DV, Gilman B, He QL, et al. XPB, a subunit of TFIIH, is a target of the natural product triptolide [J]. Nat Chem Biol, 2011, 7(3): 182-188
- [48] Hegde NS, Sanders DA, Rodriguez R, et al. The transcription factor FOXM1 is a cellular target of the natural product thiostrepton [J]. Nat Chem, 2011, 3(9): 725-731