

# 蛋白质组学技术在中药研究中的应用进展

张晓嫣, 王琦鑫, 商瑜, 刘进, 黄凌云\*

北京师范大学生命科学院细胞增殖及调控生物学教育部重点实验室, 北京

收稿日期: 2023年11月7日; 录用日期: 2023年12月7日; 发布日期: 2023年12月15日

## 摘要

中药于我国历史悠久, 时至今日, 其依旧有着不可替代的药用价值。中药相较于化学合成药物, 其由生物体自身产生, 在结构多样性、活性独特性等方面作用优异。然而, 由于中药成分复杂, 相关作用机理的研究一直是限制中药发展的一道关键难题。蛋白质组学技术能够从整体上把握机体生理、病理和信号传导途径, 这恰与中药多靶点作用的特点相契合。越来越多有关中药作用机理的研究应用到蛋白质组学技术, 我们对作用机理、药效及安全性等问题的理解不断深入, 以求打破中药发展障碍, 为之更好的应用提供可能性。本文结合相关文献, 简要介绍蛋白质组学研究技术以及在中药作用效果和作用机制等方面的应用进展。

## 关键词

蛋白质组学, 作用机制, 中药

# Progress in the Application of Proteomics Technology in Traditional Chinese Medicine Research

Xiaoyan Zhang, Qixin Wang, Yu Shang, Jin Liu, Lingyun Huang\*

Key Laboratory for Cell Proliferation and Regulation Biology of State Education Ministry, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing

Received: Nov. 7<sup>th</sup>, 2023; accepted: Dec. 7<sup>th</sup>, 2023; published: Dec. 15<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Traditional Chinese medicine has a long history in China, and it still has irreplaceable medicinal

\*通讯作者。

文章引用: 张晓嫣, 王琦鑫, 商瑜, 刘进, 黄凌云. 蛋白质组学技术在中药研究中的应用进展[J]. 生物过程, 2023, 13(4): 187-194. DOI: 10.12677/bp.2023.134026

value today. Compared with chemosynthetic drugs, traditional Chinese medicines are produced by the organism itself and have excellent functions in structural diversity and activity uniqueness. However, due to the complex composition of traditional Chinese medicine, the study of related mechanism has been a key problem that restricts the development of traditional Chinese medicine. Proteomics can help understand the physiological, pathological and signal transduction pathways of the body as a whole, which is in line with the characteristics of multi-target role of traditional Chinese medicine. More and more researches on the mechanism of action of traditional Chinese medicine have been applied to proteomics, and our understanding of the mechanism of action, efficacy and safety of traditional Chinese medicine has been deepened, so as to break down the barriers to the development of traditional Chinese medicine and provide possibilities for its better application. This paper combines relevant literature to briefly introduce proteomics research techniques and their research applications in the effects and mechanisms of traditional Chinese medicine.

## Keywords

Proteomics, Mechanism, Traditional Chinese Medicine (TCM)

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

我国的中药历史由来已久，中药是我国医学包括民族文化的沉淀与积累，中药以其独到的调理性和作用体系，时至今日，依然发挥着很重大的作用，其不同于西药直接靶向的作用方式，因此其传承和应用十分必要。然而，当前中药的传承和发展受到较明显的局限，原因有以下几点：其一，中药药理问题，中药通常包含多种成分，而这些成分往往是以协同作用的方式发挥药效，这导致中药的作用机制难以用分子生物学的方法进行科学解释。尽管如此，从分子层面理解中药的作用机制，并与临床实践相结合，仍然是中药研究的重要方向，它将为中药的现代化和国际化提供关键支持[1]。其二，中药的毒副作用研究。众所周知，任何药物都可能存在一定的毒副作用。但由于上述的药理机制研究的局限性，当前针对中药成分安全性的研究尚显不足。中药的安全性评价体系亟待建立和完善[2]。只有充分了解其作用机理后，才可能将之更有效地应用于疾病治疗。

中药药效的发挥，本质上是药物分子与机体细胞中的靶蛋白相互作用，从而引起的生物体的功能状态发生改变[3]。蛋白质是机体各功能互作的关键，其作为酶或细胞转导分子，参与生物体的代谢过程，构成了机体复杂的内部网络。药物分子通过作用于这一网络中的某个关键节点蛋白质，调整下游的一系列机体活动，从而发挥其药物功效。而蛋白质组学技术是能够从整体上动态的研究网络中的蛋白质的变化和相互作用的有效途径[4] [5]。将蛋白质组学技术应用到中药研究，对用药前后蛋白质组表达的差异情况进行分析比对，为研究中药多靶向、多组分的作用机制提供科学思路[6] [7]。同时，也为完善中药毒副作用的研究，健全中药安全评价体系提供更多可能性[8]。

## 2. 蛋白质组学概述

在 21 世纪，随着人类对生命科学的深入研究，传统的基因研究已逐渐转向功能基因组学，生命科学的研究也逐渐步入以蛋白质组为研究对象的全新的研究领域[9]。蛋白质组学的概念最早在 1994 年由 Wilkins 和 Williams 提出[10]，其目的是为了全面探索和研究生物体在不同环境、不同状态下的所有蛋白

质表达, 该学科专注于研究基因组中所有编码的蛋白质及其功能。根据蛋白质组学研究技术方法, 可将其划分为三大类: 化学蛋白质组学、差异蛋白质组学和定量蛋白质组学[11]。

## 2.1. 化学蛋白质组学

化学蛋白质组学结合了化学与生物学的技术, 专注于通过特异性蛋白质与小分子化合物之间的相互作用来研究蛋白质。这种相互作用既包括药物与其靶标蛋白之间的互动, 也包括天然小分子与蛋白质之间的结合。此后, 这些结合的蛋白质被纯化, 通过高灵敏度的质谱仪进行分析, 并进一步检索数据库以确定蛋白质的名称和属性[12]。化学蛋白质组学主要包括基于化合物为中心的化学蛋白质组学方法(compound-centric chemical proteomics, CCCP)、基于亲和性蛋白质组学方法(affinity-based protein profiling, ABPP)以及蛋白质微阵列(protein chip or protein microarray)等。其中, 基于化合物为中心的化学蛋白质组学和基于亲和性蛋白质组学方法属基于活性探针的分析技术, 二者基本原理类似, 能够直接筛选出特异性结合小分子的蛋白, 高效确定小分子的作用靶点。基于化合物为中心的化学蛋白质组学方法最先诞生, 其优势在于快速、大量富集靶蛋白, 能够无偏重地确定能与药物互作的靶向蛋白[13]。但由于对细胞材料和将小分子合成到树脂上的化学合成方法的要求较高, 这种方法现在使用得较少[14]。尽管如此, 它仍然是新药开发中寻找新靶点的一个重要工具[15]。基于亲和性蛋白质组学方法的应用比化学蛋白质组学更广泛。它通过设计特定的小分子探针, 称为活性探针, 来寻找和钓取特定的目标蛋白。这些小分子探针由三个主要部分组成: 反应基团、报告基团(如生物素或荧光素)以及连接基团(如亲水性链、亲脂性链或肽链)[16]。亲和性蛋白质组学方法是一个强大的工具, 特别适用于研究天然产物与其靶蛋白之间的相互作用。蛋白质芯片技术与上述两种技术不同, 蛋白质芯片技术不依赖于化学反应或结合探针。它使用蛋白质和固定相载体表面的有序排列, 通过抗原与抗体之间的相互作用来实现靶蛋白的捕获。这种技术的优点包括高通量、微型化和快速的并行分析[17]。

化学蛋白质组学为现代生物医学研究开辟了新的领域和可能性。通过利用上述方法, 研究者现在可以更加精确地确定小分子药物或天然产物与其靶蛋白之间的相互作用。这不仅有助于加深我们对疾病机制的理解, 还为新药的开发和优化提供了有力的工具。随着技术的进步, 我们期待在未来的药物研发中看到更多这种方法的应用和创新。

## 2.2. 差异蛋白质组学

差异蛋白质组学作为一个关键的研究领域, 旨在系统性地识别和量化在不同生理或病理状态下表达差异的蛋白质。该技术在疾病诊断、预后、治疗和药物开发中都有着广泛的应用。双向荧光差异凝胶电泳技术(2D-DIGE)是2-DE技术的进一步发展, 通过对样品中的蛋白质与荧光标签进行结合, 使得来自不同条件的蛋白质样品可以同时同一张凝胶上分析, 从而准确地比较它们之间的差异。与传统的2-DE方法相比, 2D-DIGE技术提供了更高的灵敏度和重复性。它不仅允许研究者检测到细微的蛋白质表达差异, 而且大大减少了实验间的变异, 提高了结果的可靠性。差异蛋白质组学在疾病研究中的价值不可估量。首先, 它提供了一个平台, 可以发现那些在疾病进展中起关键作用的蛋白质。这对于理解疾病的病因和机制至关重要。此外, 这些差异表达的蛋白质可能是未来新药的潜在靶标。差异蛋白质组学还有助于确定药物治疗疾病的有效成分和靶标蛋白[18]。药物的开发和优化过程中, 了解药物如何与其靶标蛋白相互作用, 并影响蛋白质的表达和功能是至关重要的。

## 2.3. 定量蛋白质组学技术

定量蛋白质组学近年来已经成为生物医学研究的前沿领域, 为我们理解生命的复杂性和多样性提供了重要的工具。这一领域主要针对生物体中的蛋白质组进行定量分析, 揭示蛋白质在不同生理和病理条

件下的动态变化。其核心在于利用先进的质谱技术,结合多种标记策略,精确地定量蛋白质的丰度变化[19]。定量蛋白质组学技术是一种对样品中所有蛋白质进行无差别分析的定量技术。根据是否对蛋白质或多肽进行标记,可分为非标记(Labe free)和标记(Stableisotope labeling)定量技术,非标记定量蛋白质组学技术是通过液质联用技术对蛋白质酶解的肽段进行质谱分析,通过比较不同样品中相应肽段的质谱信号强度,对肽段对应的蛋白质进行相对定量。基于一级质谱图的非标记定量是依据每条酶解多肽的质谱峰强度或者峰面积和浓度相关,因此比较一级谱图的信号强度或者峰面积,就能确定不同样品中蛋白质的相对含量。传统的非标记法利用质谱对鉴定到的全部肽段进行定量分析,而部分肽段可能属于两个或多个蛋白质共有的而非特异性肽段,这样会影响定量的准确性。Zhang 等[20]提出用蛋白质的特征肽段来进行定量,这样可有效提高非标记定量的准确性,如在样本中加入已知量的标准蛋白质还可以进行绝对定量。标记定量技术是向不同蛋白质或多肽样品中引入具有稳定同位素标记的小分子,通过同位素标记后所产生的质量差来识别肽段的来源。因此比较不同的同位素标记物的信号强度就可以计算出不同样品中蛋白质的相对含量。该方法的优点在于将不同样本混匀后同时进行质谱检测,可以避免样品前处理所带来的定量误差[21]。根据引入同位素标记方式的不同,同位素标记的定量蛋白质组学技术分为体内标记和体外标记两类。经典的体内标记的方法是稳定同位素氨基酸细胞培养技术(SILAC) [22], SILAC 方法通过使用重氮和轻氮的氨基酸在细胞培养中标记蛋白质,无需后续的化学反应,从而减少了样品制备和纯化中的蛋白质损失, SILAC 广泛应用于肿瘤、神经退行性疾病和其他复杂疾病的蛋白质组研究中,为疾病机理的研究和新药的开发提供了关键信息。基于代谢反应的体内标记存在价格贵,耗时长等问题,因而发展出了一系列体外标记定量技术。Gygi 等[23]发展了一种对半胱氨酸巯基标记的 ICAT 技术, ICAT 技术是通过使用重氮和轻氮同位素标记的生物活性标签来定量特定蛋白质。由于 ICAT 技术具有高度的选择性,它特别适合低丰度蛋白质的研究,但 ICAT 技术不能用于不含巯基的蛋白质或者肽段的定量分析,而后 Ross 等[24]发展的 iTRAQ 技术可以弥补 ICAT 技术的缺陷, iTRAQ 技术使用特定的多种同位素标签试剂对蛋白质或多肽 N 末端或者赖氨酸侧链基团进行标记,然后通过质谱分析对其进行定量。而基于串联质谱的化学标记技术通过比较二级质谱图中不同样品的定量报告离子的峰强度来定量分析,是目前主流的标记定量技术。iTRAQ 技术可同时比较多达八组样品的定量分析,特别适用于多时间点蛋白质组动态变化的检测,有助于更好地了解蛋白质在疾病进展和治疗中的变化。串联质谱标签技术(TMT)与 iTRAQ 技术类似[25],标记试剂由报告基团,平衡基团和反应基团三部分组成,目前 TMT 试剂在蛋白质组学研究中用的也比较多。定量蛋白质组学的方法为研究者提供了深入探索蛋白质组动态变化的工具。这些方法不仅增加了我们对蛋白质功能和调控的了解,而且也促进了中药作用机理方面的研究和临床诊断新药的开发。

### 3. 蛋白质组学在中药研究中的应用进展

#### 3.1. 蛋白质组学在研究中成药成分的应用

以中药人参为例,众所周知中药人参作为世界上被广泛研究和应用的草药之一,其深厚的药用历史和药效已经受到了世界各地的认可。应用蛋白质组学技术获得了对于人参不同品种、不同生育期及在不同组织和器官中的表达差异信息,筛选和发现了人参的蛋白质可能涉及的一些关键的生物学过程,从而对人参的生长发育和习性有较为系统的认识。We 等[26]利用 2-DE 技术对不同品种和年龄的中国人参和韩国人参进行了比较,并分别采集了几种类型的人参根、茎、叶样品进行蛋白质组学比较,发现不同品种的人参蛋白质组学差异显著。这为我们理解人参的药效提供了新的线索。不同的人参部位如根、茎和叶都含有丰富的蛋白质,但这些蛋白质在不同部位的表达模式是如何的? Kim [27]等采用 2-DE 对比了人参不同部位蛋白质图谱差异,利用质谱技术鉴定提取到的蛋白质,研究结果揭示了某些具有生物活性的



蛋白质仅在特定的组织中出现。这种生物活性组织特异性的表达为我们提供了新的视角, 让我们能够更加精确地利用不同部位的人参进行药物制备。Ma [28]等的研究通过 2-DE 技术详细地比较了人参根在不同生长阶段的蛋白质表达模式。他们发现随着生长阶段的变化, 负责能量代谢和抗逆性的蛋白质发生了显著的变化。这为我们理解人参如何适应环境和生长条件提供了宝贵的信息。除了对人参的蛋白质进行研究, 科学家们还对其果实中的蛋白质进行了深入的研究。对人参果实的药用特性研究发现, 通过 2-DE 提取并鉴定出果实中 81 种蛋白质, 他们参与到了调控水解酶活性、氧化还原酶活性和代谢过程, 并发现了呈现出抗氧化活性的蛋白质, 推测这与果实成熟的氧化过程相关[29]。这一发现为我们提供了理解人参果实药效的新视角。赵楠等[30]的研究则从另一个角度切入, 专门研究人参中的多肽。通过使用 LC-MS/MS 技术, 研究者们对人参的不同部位进行了深入的分析, 并找到了 25 种潜在的肽标记物。这不仅为我们提供了新的研究目标, 也加强了我们对人参的药理特性的了解。总的来说, 通过应用蛋白质组学技术, 我们对中药人参有了更为深入和系统的认识。这些研究不仅加深了我们对人参的生物学和药效的理解, 而且为未来的药物研发提供了坚实的基础。

### 3.2. 蛋白质组学在中药毒副作用研究中的应用

将蛋白质组学技术结合中药安全性研究, 筛选出给药前后差异表达的蛋白质, 进而实现对靶蛋白和相关信号通路的富集, 有助于加深对中药安全性及毒副作用的研究和理解, 从而推动中药的现代化应用与发展。

半夏是一种干燥的菠萝块茎, 是一种常用的中草药, 用于治疗孕妇的咳嗽、痰和呕吐。然而半夏已被证明能够诱发胚胎神经毒性, Xu 等[31]利用 LC-MS/MS 技术与 iTRAQ 技术, 在给药前后小鼠胚胎中有 153 个蛋白质表达丰度差异较大, 其中有 37 种蛋白质已知参与到神经系统发育过程, 包括大脑和神经元的发育, 这些发现可能有助于阐明半夏诱导胚胎毒性的潜在机制, 为我们理解半夏诱导胎儿神经异常的机制奠定基础。乌头碱是从乌头属植物中提取的天然产物, 广泛用于治疗各种疾病, 包括风湿病、关节炎、瘀伤、骨折和疼痛。然而, 许多研究报道了乌头碱引起的心脏毒性和神经毒性, 其药物机制的研究同样用到了蛋白质组学技术, 采用流式细胞仪、蛋白质印迹法和生物信息学分析, 发现其通过诱导促凋亡因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  高表达, 并激活核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3)炎症小体, 诱发了大鼠心肌损伤和凋亡[32]。大黄素是大黄、何首乌、虎杖等中药的主要成分。它已证实具有肝毒性, 是中药有关的肝损伤的主要因素。Lin 等[33]以 L02 细胞为模型来研究大黄素诱导肝细胞凋亡的机制。采用定量蛋白质组学方法发现了 L02 细胞给药前后有 662 种蛋白质差异表达, 对差异表达蛋白质的分析表明大黄素主要通过抑制线粒体呼吸链复合体的功能来影响氧化磷酸化途径, 并最终导致线粒体损伤和肝细胞凋亡。中草药泽兰已被广泛用于治疗恶心、糖尿病、血吸虫病和食欲不振。然而, 泽兰含有多种吡咯烷生物碱(EFTAs), 为了确定 EFTAs 肝毒性以及其对肝细胞的毒性机制, Zan 等[34]采用蛋白质组学技术和代谢组学技术发现 EFTAs 通过上调溶血磷脂酰甘油酰基转移酶 1 和磷脂酰肌醇的含量, 并下调胆碱/乙醇胺激酶  $\beta$ 、胆碱-乙醇胺磷酸转移酶 1、磷脂酶 D4、1-酰基甘油磷脂、磷脂酰胆碱的含量, 严重破坏了甘油磷脂代谢和肝脏中的磷酸二羟基丙酮, 从而导致炎症、纤维化和细胞凋亡。这项研究表明, EFTAs 通过破坏甘油磷脂代谢而诱导严重的肝毒性。

### 3.3. 蛋白质组学在中药药效中的应用

中医药在人们的生活中扮演了重要角色, 其独特的药效以及治疗方法已经为世界各地的人们所接受。近年来, 随着现代科技的发展, 蛋白质组学技术为我们提供了研究中医药药效机制的全新手段。徐凯霞等[35]利用 iTRAQ 方法对左归丸含药血清对高糖负荷下体外培养 ICR 小鼠早期胚胎影响的蛋白质组学机制

研究发现,高浓度葡萄糖不利于胚胎发育与健康,而左归丸含药血清可通过调节培养液中相关蛋白质通路保护胚胎发育、改善或预防糖耐量低减、糖尿病等相关疾病,为中医“肾主发育”理论提供了进一步的实验依据。脑心通胶囊已经被证明对脑缺血模型大鼠有明显的治疗作用。脑心通胶囊可以调节多种蛋白质和基因的表达,其中转录激活因子4(ATF4)和原癌基因(MYC)被认为是其治疗作用的关键靶点[36]。青蒿素及其衍生物双氢青蒿素(DHA)具有显著的抗肝癌效果。通过蛋白质组学研究发现,DHA能够上调APOA1蛋白的表达并下调GALNT10蛋白的表达,这为DHA的抗肝癌机制提供了重要线索[37]。丹参和三七都是中医中常用的药材,对心血管疾病具有良好的治疗效果。通过对比给药后大鼠心脏组织的蛋白质表达差异,研究者确定了18个可能的药物作用靶向蛋白,涉及多个与心血管健康相关的生理过程[38]。动脉粥样硬化是一种严重的心血管疾病,丹参酮IIA已被证实具有明显的治疗效果。通过蛋白质组学研究,发现了44个与丹参酮IIA作用相关的蛋白质,为后续进一步研究其作用机制奠定了基础[39]。马艺鑫[40]等应用相对和绝对定量同位素标记技术iTRAQ研究丹参酮IIA对高脂血症大鼠肝脏蛋白质组表达的影响,高脂血症大鼠肝脏胆固醇代谢、脂肪酸氧化及细胞色素P450酶家族等相关蛋白质表达发生了明显的改变。提示丹参酮IIA可能通过促进胆固醇逆向转运、脂肪酸氧化,改善肝脏代谢功能,减少肝脏脂质沉积达到其肝脏保护作用。该研究为探究丹参酮IIA对肝脏保护作用的机制和原理提供了理论依据。银屑病是一种慢性复发性炎症性皮肤病,可能对患者的身体健康和心理状况产生显著影响。根据动物模型和临床研究,由七味中药组成的中药复方厥饮颗粒(JYG)已被证明是治疗银屑病的药物,但其抗炎作用的具体机制尚未完全阐明。Song等[41]通过串联质谱标签技术(TMT)来研究在JYG治疗后的差异表达蛋白质,结果表明JYG可通过上调ApoA1诱导自噬,抑制CD4+T细胞和巨噬细胞的浸润,从而减轻IMQ诱导的银屑病炎症。

#### 4. 展望

蛋白质组学技术对于中药分子水平上作用机制的研究以及药物的安全性问题深入研究起着关键的推动作用,中药的现代化发展受到制约,很大程度上在于其作用机理的不明确性。因而,借助蛋白质组学技术加深对于中药药物作用机理的研究,提高其药用价值的同时,有助于方剂配伍合理性的完善,从而在原有基础上实现药效进一步加强。另外蛋白质组学方法有助于对中药当中有效成分的进一步筛选,从而推动高效新药的研制和开发。随着技术的持续进步,我们可以预见蛋白质组学在中药研究中的应用将更加广泛。不仅如此,随着研究方法的日益成熟,我们将能够为每一种中药提供更详细的药理机制图谱。这不仅会提高中药的治疗效果,也会大大降低患者因使用中药而发生的不良反应。

与此同时,蛋白质组学对于天然产物的研究依然存在一些不足之处。比如,细胞中不同蛋白的丰度差异很大,针对低丰度蛋白,目前的检测灵敏度还存在较大局限性。蛋白质组学技术鉴定到的蛋白质对比基因组学和转录组学数据少了很多,可靠性较弱。今后应如何突破这些局限,如何联合其他组学技术,为中药作用机理及安全性研究提供更多保障,从而推动中药更长远的发展,解决难以攻克的医学问题,值得我们不断探索和突破。

#### 基金项目

北京师范大学课程思政项目(S232156)。

#### 参考文献

- [1] 邢建宇,许波. 蛋白质组学与中医药现代化研究[J]. 中医药信息, 2006, 23(2): 3-5.
- [2] 任天颖,郑大恒. 浅谈中药现代化的发展现状及对策[J]. 绍兴文理学院学报(自然科学版), 2007, 27(10): 63-67.

- [3] 张晓磊, 张文博, 胡良海. 药物靶标蛋白筛选的化学蛋白质组学研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2018, 48(2): 160-170.
- [4] Klann, K., Tascher, G. and Münch, C. (2021) Virus Systems Biology: Proteomics Profiling of Dynamic Protein Networks during Infection. *Advances in Virus Research*, **109**, 1-29. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2020.12.001>
- [5] Aslam, B., Basit, M., Nisar, M.A., et al. (2017) Proteomics: Technologies and Their Applications. *Journal of Chromatographic Science*, **55**, 182-196. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw167>
- [6] Suo, T., Wang, H. and Li, Z. (2016) Application of Proteomics in Research on Traditional Chinese Medicine. *Expert Review of Proteomics*, **13**, 873-881. <https://doi.org/10.1080/14789450.2016.1220837>
- [7] Zhang, H.W., Lv, C., Zhang, L.J., et al. (2021) Application of Omics- and Multi-Omics-Based Techniques for Natural Product Target Discovery. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **141**, Article ID: 111833. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111833>
- [8] 李晓宇, 黄娜娜, 孙蓉. 蛋白组学技术在中药肝毒性中的应用[J]. 中国药物警戒, 2015(5): 282-285, 289.
- [9] 何华勤. 简明蛋白组学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2022.
- [10] Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Gooley, A.A., et al. (1996) Progress with Proteome Projects: Why All Proteins Expressed by a Genome Should Be Identified and How to Do It. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, **13**, 19-50. <https://doi.org/10.1080/02648725.1996.10647923>
- [11] 袁枝花, 于潇, 段雅迪, 等. 蛋白质组学在中药作用靶点研究中的方法和应用[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(5): 1034-1038.
- [12] Fedorov, I.I., Lineva, V.I., Tarasova, I.A. and Gorshkov, M.V. (2022) Mass Spectrometry-Based Chemical Proteomics for Drug Target Discoveries. *Biochemistry (Moscow)*, **87**, 983-994. <https://doi.org/10.1134/S0006297922090103>
- [13] 王红霞. 基于化学蛋白质组学的激酶组学研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2014, 41(3): 259-267.
- [14] 王平, 罗佳, 李海舟, 等. 化学蛋白质组学鉴定天然产物作用靶标的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(1): 144-152.
- [15] 岳荣彩, 单磊, 严诗楷, 等. 化学蛋白质组学在中药现代化研究中的应用[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2010, 12(4): 502-510.
- [16] Joanna, K. and Rolf, B. (2012) Activity-Based Protein Profiling for Natural Product Target Discovery. *Topics in Current Chemistry*, **324**, 43-84. [https://doi.org/10.1007/128\\_2011\\_289](https://doi.org/10.1007/128_2011_289)
- [17] Hu, C.J., Song, G., Huang, W., et al. (2012) Identification of New Autoantigens for Primary Biliary Cirrhosis Using Human Proteome Microarrays. *Molecular & Cellular Proteomics*, **11**, 669-680. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.015529>
- [18] 李礼, 樊小农, 付静静, 等. 差异蛋白质组学在中医药领域研究路线及应用现状[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(12): 1602-1606.
- [19] 孔汉金, 张克山, 刘永杰, 等. 同位素标记相对和绝对定量蛋白组技术研究进展[J]. 生物技术通讯, 2014, 25(2): 295-300.
- [20] Zhang, Y., Wen, Z., Washburn, M.P., et al. (2015) Improving Label-Free Quantitative Proteomics Strategies by Distributing Shared Peptides and Stabilizing Variance. *Analytical Chemistry*, **87**, 4749-4756. <https://doi.org/10.1021/ac504740p>
- [21] 钱小红. 定量蛋白质组学分析方法[J]. 色谱, 2013, 31(8): 719-723.
- [22] Ong, S.E., Blagoev, B., Kratchmarova, I., et al. (2002) Stable Isotope Labeling by Amino Acids in Cell Culture, SILAC, as a Simple and Accurate Approach to Expression Proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, **1**, 376-386. <https://doi.org/10.1074/mcp.M200025-MCP200>
- [23] Gygi, S.P., Rist, B., Gerber, S.A., et al. (1999) Quantitative Analysis of Complex Protein Mixtures Using Isotope-Coded Affinity Tags. *Nature Biotechnology*, **17**, 994-999. <https://doi.org/10.1038/13690>
- [24] Ross, P.L., Huang, Y.N., Marchese, J.N., et al. (2004) Multiplexed Protein Quantitation in *Saccharomyces cerevisiae* Using Amine-Reactive Isobaric Tagging Reagents. *Molecular & Cellular Proteomics*, **3**, 1154-1169. <https://doi.org/10.1074/mcp.M400129-MCP200>
- [25] Wang, Z., Kavdia, K., Dey, K.K., et al. (2020) High-Throughput and Deep-Proteome Profiling by 16-Plex Tandem Mass Tag Labeling Coupled with Two-Dimensional Chromatography and Mass Spectrometry. *Journal of Visualized Experiments*, **162**, e61684. <https://doi.org/10.3791/61684>
- [26] We, J.S., Park, H.S. and Kwonk, R. (2007) Proteome Analysis of Various Types of Panax Ginseng Using 2-Dimensional Electrophoresis. *Journal of Pharmacopuncture*, **10**, 5-18. <https://doi.org/10.3831/KPI.2007.10.2.005>
- [27] Kim, S.I., Kim, J.Y., Kim, E.A., et al. (2003) Proteome Analysis of Hairy Root from *Panax ginseng* C. A. Meyer Us-

- ing Peptide Fingerprinting, Internal Sequencing and Expressed Sequence Tag Data. *Proteomics*, **3**, 2379-2392. <https://doi.org/10.1002/pmic.200300619>
- [28] Ma, R., Sun, L., Chen, X., *et al.* (2013) Proteomic Changes in Different Growth Periods of Ginseng Roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, **67**, 20-32. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.02.023>
- [29] Kim, S.W., Gupta, R., Lee, S.H., *et al.* (2016) An Integrated Biochemical, Proteomics, and Metabolomics Approach for Supporting Medicinal Value of *Panax ginseng* Fruits. *Frontiers in Plant Science*, **7**, Article 994. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00994>
- [30] 赵楠, 程孟春, 吴玉林, 等. 基于超高效液相色谱-高分辨质谱的多肽组学技术用于人参不同部位多肽的差异分析[J]. 色谱, 2019, 37(12): 1305-1313.
- [31] Xu, J.Y., Dai, C., Shan, J.J., *et al.* (2018) Determination of the Effect of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. on Nervous System Development by Proteomics. *Journal of Ethnopharmacology*, **213**, 221-229. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.11.014>
- [32] Peng, F., Zhang, N., Wang, C., *et al.* (2020) Aconitine Induces Cardiomyocyte Damage by Mitigating BNIP3-Dependent Mitophagy and the TNF $\alpha$ -NLRP3 Signalling Axis. *Cell Proliferation*, **53**, e12701. <https://doi.org/10.1111/cpr.12701>
- [33] Lin, L., Liu, Y., Fu, S., *et al.* (2019) Inhibition of Mitochondrial Complex Function—The Hepatotoxicity Mechanism of Emodin Based on Quantitative Proteomic Analyses. *Cells*, **8**, Article 263. <https://doi.org/10.3390/cells8030263>
- [34] Zan, K., Lei, W., Li, Y., Wang, Y., Liu, L., Zuo, T., Jin, H. and Ma, S. (2022) Integrative Metabolomics and Proteomics Detected Hepatotoxicity in Mice Associated with Alkaloids from *Eupatorium fortune* Turcz. *Toxins*, **14**, Article 765. <https://doi.org/10.3390/toxins14110765>
- [35] 许凯霞, 王永辉, 郭亚菲, 等. 左归丸含药血清对高糖负荷下 ICR 小鼠早期胚胎影响的蛋白组学研究[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(7): 3598-3602.
- [36] Liu, X., Wang, Q., Cui, Y., *et al.* (2020) Multiple Protein and mRNA Expression Correlations in the Rat Cerebral Cortex after Ischemic Injury and Repair Due to Buchang Naoxintong Jiaonang (BNJ) Intervention. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **125**, Article ID: 109917. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109917>
- [37] Hou, C., Guo, D., Yu, X., *et al.* (2020) TMT-Based Proteomics Analysis of the Anti-Hepatocellular Carcinoma Effect of Combined Dihydroartemisinin and Sorafenib. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **126**, Article ID: 109862. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.109862>
- [38] Yue, Q.X., Xie, F.B., Song, X.Y., *et al.* (2012) Proteomic Studies on Protective Effects of Salvianolic Acids, Notoginsenosides and Combination of Salvianolic Acids and Notoginsenosides against Cardiac Ischemic-Reperfusion Injury. *Journal of Ethnopharmacology*, **141**, 659-667. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.08.044>
- [39] 周玉利. 丹参酮 IIA 对 PDGF-BB 诱导的平滑肌细胞蛋白质组的影响[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江中医药大学, 2016.
- [40] 马艺鑫, 贾连群, 宋囡. 等. 基于 iTRAQ 技术研究丹参酮 IIA 对高血脂血症大鼠肝脏蛋白质的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(5): 563-568.
- [41] Song, J., Jiang, J., Kuai, L., *et al.* (2022) TMT-Based Proteomics Analysis Reveals the Protective Effect of Jueyin Granules on Imiquimod-Induced Psoriasis Mouse Model by Causing Autophagy. *Phytomedicine*, **96**, Article ID: 153846. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153846>