

· 数据挖掘 ·

基于网络药理学探讨小半夏汤防治化疗性 恶心呕吐的作用机制

陈斯琪, 聂克*

(广东药科大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**运用网络药理学探讨小半夏汤防治化疗性恶心呕吐机制。**方法:**通过药物作用靶点数据库(TTD), Drugbank 数据库和 DisGeNET 数据库收集化疗性恶心呕吐的靶点,经 Uniprot 数据库对靶点基因进行标准化;在中药系统药理学数据库与分析平台数据库(TCMSP)中按口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.14 条件并结合文献研究筛选出半夏、生姜的有效成分,通过 PubChem 数据库, ALOGPS2.1 数据库和 SwissTargetPrediction 数据库收集半夏、生姜靶点并经 Uniprot 数据库标准化;通过 DRAR-CPI 数据库对重要成分 6-姜酚进行分子反向对接;通过 DAVID 6.8 数据库进行基因本体(GO)分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析;通过 Cytoscape3.2.1 软件绘制关系图并进行网络拓扑参数分析;通过 ImageGP 工具绘制 GO 和 KEGG 气泡图。**结果:**获得化疗性恶心呕吐 148 个靶点,小半夏汤 27 个有效成分,其中 22 个与化疗性恶心呕吐相关,38 个防治靶点,GO 分析 67 个生物学过程,11 个细胞组分,18 个分子功能,21 条 KEGG 通路,包括环腺苷酸(cAMP)信号通路、钙离子信号通路及 Rap1 信号通路等。**结论:**基于网络药理学对化疗性恶心呕吐、小半夏汤进行分析,为探讨小半夏汤防治化疗性恶心呕吐机制提供思路。

[关键词] 小半夏汤; 化疗性恶心呕吐; 网络药理学; 通路富集; 靶点相互作用

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)03-0156-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20192304

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190820.0945.002.html>

[网络出版时间] 2019-08-20 10:16

Mechanism of Xiao Banxiatang in Preventing Chemotherapy-induced Nausea and Vomiting Based on Network Pharmacology

CHEN Si-qi, NIE Ke*

(College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism of Xiao Banxiatang in preventing and treating chemotherapy-induced nausea and vomiting by using network pharmacology. **Method:** The targets of chemotherapy-related nausea and vomiting were collected by therapeutic target database (TTD), Drugbank database and DisGeNET database. The target genes were normalized by Uniprot database. The traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) was selected according to oral bioavailability (OB) ≥ 30%, drug-likeness (DL) ≥ 0.14 and the literature research. The active constituents of pinellia ternata and ginger were collected through the PubChem database, the ALOGPS2.1 database and the Swiss Target Prediction database, and the target of ginger was collected and standardized through the Uniprot database, the molecular inverse docking of the important component 6-gingerol was carried out through the DRAR-CPI database, gene ontology (GO) analysis and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis were

[收稿日期] 20190529(010)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81673779)

[第一作者] 陈斯琪,在读硕士,从事中药药理研究,E-mail:842871473@qq.com

[通信作者] *聂克,教授,博士生导师,从事中药药理研究,E-mail:nicknk@hotmail.com

performed through DAVID 6.8 database, and relationship diagrams were drawn by Cytoscape 3.2.1 software and network topology parameters were analyzed, GO and KEGG bubble maps were drawn by ImageGP tool. **Result:** A total of 148 targets for chemotherapeutic nausea and vomiting, and 27 active ingredients of Xiao Banxiatang were collected, including 22 associated with chemotherapeutic nausea and vomiting, 38 control targets, 67 biological processes based on GO analysis, 11 cell components, 18 molecular functions, 21 KEGG pathways, involving cyclic Adenosine monophosphate (cAMP) signaling pathway, calcium signaling pathway, Rap1 signaling pathway. **Conclusion:** Based on network pharmacology, chemotherapy-related nausea and vomiting and Xiao Banxiatang were analyzed to provide ideas for the prevention and treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting.

[Key words] Xiao Banxiatang; chemotherapy-related nausea and vomiting; network pharmacology; pathway enrichment; target interaction

化疗性恶心呕吐 (CINV) 是肿瘤化疗过程中最常见的不良反应之一,严重影响肿瘤患者的生活质量和对化疗的依从性。已有研究发现^[1],5-羟色胺 (5-HT), P 物质 (substance P), 多巴胺 (dopamine) 等神经递质激动其相应的 5-HT₃ 受体 (5-HTR₃), 神经激肽 1 受体 (NKR-1), 多巴胺 D2 受体 (DRD2) 是 CINV 发生的重要机制。目前临床防治 CINV 的药物主要是 5-HTR₃ 阻断剂和 NKR-1 阻断剂,但是这两类药物止吐靶点单一、疗效有限,对高催吐性的化疗药物导致的呕吐一般需要这两类药物与地塞米松三联用药,不但显著增加了治疗成本,也增加了不良反应发生率^[2]。因此,进一步挖掘 CINV 发生的病理机制,对于寻找多靶点、高效、低毒的防治 CINV 药物具有重要意义。

小半夏汤出自《金匱要略》,由半夏、生姜两味药组成,在临床广泛用于防治各种原因导致的恶心呕吐。国内外大量研究证实,小半夏汤^[3-4]、单味药生姜^[5]、半夏^[6-7]及其有效成分姜辣素^[8]、半夏生物碱^[9]对 CINV 均具有良好的防治作用。

网络药理学研究是建立在高通量组学数据分析、计算机虚拟计算及网络数据库检索基础上,从系统生物学和生物网络平衡角度阐述疾病发生发展过程。中药复方具有多成分、多靶点、多途径等特点,且靶点间相互作用,但中药物质基础不明、作用机制不清,新药研发速率低下。在此背景下,网络药理学不仅改变研发模式,适应中药多成分多靶点特性,而且其整体性、系统性契合了中医药研究的整体观、辨证论治等特色^[10]。近年来,网络药理学研究方法不断完善^[11],国内众多学者采用该方法对中药单味药、药对和复方治疗抑郁症、心力衰竭和糖尿病等多种疾病进行了研究^[12-14],实践证明该方法对中药物质基础和作用通路、作用靶标的筛选等具有重要意义。前期对小半夏汤防治 CINV 进行了大量实验

研究,本文运用网络药理学相关数据库,对疾病、药物信息进行收集和分析,以期进一步为小半夏汤防治 CINV 提供思路。

1 方法

1.1 疾病 CINV 靶点信息收集 在药物作用靶点数据库 (TTD, <https://db.idrblab.org/ttd/>), Drugbank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 和 DisGeNET 数据库 (<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home>) 检索与 CINV 有关的靶点基因,并将靶点基因导入 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 进行基因标准化后归纳整理。

1.2 半夏、生姜成分收集 基于药代动力学参数:吸收、分布、代谢、排泄 (ADME),分别以“半夏”“生姜”为关键词在中药系统药理学数据库与分析平台数据库 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 按口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$,类药性 (DL) ≥ 0.14 条件筛选中药成分,并通过文献收集补充其他在 OB $\geq 30\%$,DL ≥ 0.14 条件范围外的有效成分。

1.3 半夏、生姜成分靶点预测 将收集到的有效成分导入 PubChem 数据库 (<https://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 查询或 ALOGPS2.1 (<http://www.vclab.org/lab/alogps/>) 计算各成分的 SMILE 结构,通过 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 收集成分的作用靶点,并导入 Uniprot 数据库进行基因标准化。

1.4 分子反向对接 6-姜酚 (6-gingerol) 是目前发现的小半夏汤中主要止呕成分^[15-17],通过 DRAR-CPI 数据库 (<http://cpi.bio-x.cn/>) 对 6-gingerol 进行在线分子反向对接,即根据 6-姜酚结构,同时对多个蛋白的活性部位。Z'-score ≤ -0.05 具有对接可能性,Z'-score 越小,对接可能性越大。

1.5 小半夏汤防治 CINV 靶点收集 将小半夏汤靶点和 CINV 靶点导入 Excel 表格同一列,通过

“重复值”找出共同靶点,即为小半夏汤防治 CINV 的可能靶点。

1.6 网络构建和分析 将 CINV 的靶点、小半夏汤的成分靶点分别导入 Cytoscape3.2.1 软件中构建“CINV 靶点网络”“小半夏汤-有效成分-靶点网络”;将小半夏汤防治 CINV 成分、靶点和通路导入 Cytoscape3.2.1 软件中构建“小半夏汤-药材-防治 CINV 成分-防治 CINV 靶点-通路”图;利用 Cytoscape3.2.1 中“Network Analyzer”功能对自由度 (Degree) 等网络拓扑参数分析网络节点重要性。将小半夏汤和 CINV 共同靶点导入 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>),得到共同靶点间相互作用关系图。

1.7 生物学功能和通路分析 将小半夏汤与 CINV 共同靶点导入 DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncicrf.gov/>),物种选择人类 (Homo sapiens, Human),进行基因本体 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析。利用 imageGP 工具 (<http://www.ehbio.com/ImageGP/>) 绘制“小半夏汤防治 CINV 中 $P \leq 0.01$ 的生物学过程分析”图、“小半夏汤防治 CINV 涉及的细胞组分分析”图、“小半夏汤防治 CINV 涉及的分子功能分析”图、“小半夏汤防治 CINV 通路”图。

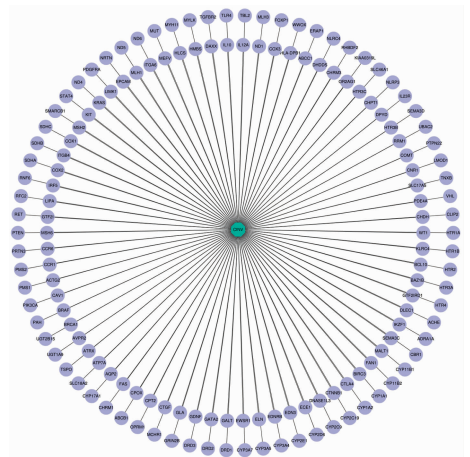
2 结果

2.1 疾病 CINV 靶点信息收集和筛选 在 TTD 数据库 (1 个), Drugbank 数据库 (33 个) 和 DisGeNET 数据库 (131 个) 检索与 CINV 有关的靶点基因,并将靶点基因导入 Uniprot 数据库进行基因标准化后归纳整理,得到 148 个 CINV 的潜在靶点,通过 Cytoscape3.2.1 软件构建“CINV 靶点网络”(图 1)。

网络拓扑参数分析:共 149 个节点,其中 CINV 节点有 1 个,CINV 靶点节点有 148 个,148 条边。

2.2 半夏、生姜成分收集和筛选 在 TCMSP 数据库收集半夏、生姜化学成分,其中半夏有 116 种、生姜有 265 种。基于 ADME 参数 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.14$ 条件初步筛选中药成分,得到半夏 19 个有效成分,生姜 10 个有效成分。

现代研究表明,半夏总生物碱是止呕的主要成分,其中包括麻黄碱 (Ephedrine), 伪麻黄碱 (Pseudoephedrine) 等^[18], TCMSP 数据库无 Ephedrine (麻黄碱)—在 PubChem 数据库搜索 Ephedrine—InChI Key: KWGRBVOPPLSCSI-WPRPVWTQSA-N—TCMSP 数据库:通过 InChI Key 找到麻黄碱;Eciphin,分子量 MW165.26,核对结构



绿色八边形. CINV; 紫色圆形. CINV 靶点

图 1 CINV 靶点网络

Fig.1 CINV targets network

式无误—由“herb name”:半夏,根据分子量找到 Eciphin;6-gingerol, 8-gingerol, 6-姜烯酚 (6-shogaol) 和 10 姜酚 (10-gingerol) 可能是止呕的效应物质^[17]。因此补充 Ephedrine, Pseudoephedrine, 8-gingerol, 10-gingerol。

共得到小半夏汤中有效成分有 27 个 (表 1),其中半夏 20 个,生姜 12 个,半夏和生姜共同成分有 5 个,分别是 6-shogaol, beta-sitosterol, EIC, Stigmasterol, linolenic acid。

2.3 半夏、生姜成分靶点预测 将收集到的有效成分导入 PubChem 数据库查询或 ALOGPS 2.1 计算各成分的 SMILE 结构,通过 SwissTargetPrediction 数据库收集成分的作用靶点,并导入 Uniprot 数据库进行基因标准化。通过 Cytoscape3.2.1 软件构建“小半夏汤-有效成分-靶点网络”(图 2)。

网络拓扑参数分析:共 699 个节点,其中小半夏汤有 1 个节点,小半夏汤成分有 27 个节点,小半夏汤靶点有 671 个节点;2 258 条边。应用 Cytoscape3.2.1 的 cytohubba 插件,按最大集团中心性 (MCC) 筛选前 10 的节点,排名前 10 的节点 (表 2) 均为小半夏汤成分,6-gingerol, Cavidine 等可能为小半夏汤的主要有效成分。

2.4 分子反向对接 6-gingerol 是目前发现的小半夏汤中主要止呕成分之一,且上述分析结果 (表 2) 显示 6-gingerol 在小半夏汤中靶点最多。因此,通过 DRAR-CPI 数据库对 6-gingerol 进行在线分子反向对接,即根据 6-gingerol 结构,同时对应多个蛋白的活性部位,进一步确认 6-gingerol 作用靶点。 Z' -score ≤ -0.05 具有对接可能性, Z' -score 越小,对

表 1 小半夏汤有效成分

Table 1 Effective components of Xiao Banxiatang

编号	来源	成分	中文名称	OB/%	DL	HL
BX1	半夏	cyclo-(leu-tyr)	环二肽	111.16	0.15	2.61
BX2	半夏	pedatisectine A	掌叶半夏碱甲	64.09	0.16	8.52
BX3	半夏	(3S, 6S)-3-(benzyl)-6-(4- hydroxybenzyl) piperazine-2,5-quinone	(3S,6S)-3-(苯基)-6-(4-羟基苯基)哌嗪-2,5-醌	46.89	0.27	3.81
BX4	半夏	gondoic acid	巨头鲸鱼酸	30.70	0.20	4.79
BX5	半夏	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	β -D-呋喃核糖苷,黄嘌呤-9	44.72	0.21	7.91
BX6	半夏	avidine	卡维丁	35.64	0.81	5.78
BX7	半夏	ephedrine	麻黄碱	43.35	0.03	2.61
BX8	半夏	baicalin	黄芩苷	40.12	0.75	17.36
BX9	半夏	10,13-eicosadienoic	10,13-二十碳二烯	39.99	0.20	5.59
BX10	半夏	cycloartenol	环阿屯醇	38.69	0.78	5.00
BX11	半夏	pseudoephedrine	伪麻黄碱	45.01	0.03	2.56
BX12	半夏	24-ethylcholest-4-en-3-one	24-胆甾乙炔-4 烯-3-酮	36.08	0.76	5.49
BX13	半夏	baicalein	黄芩素	33.52	0.21	16.25
BX14	半夏	oleic acid	油酸	33.13	0.14	4.99
BX15	半夏	coniferin	松柏苷	31.11	0.32	28.10
BXSJ1	半夏、生姜	6-shogaol	6-姜烯酚	31.00	0.14	4.07
BXSJ2	半夏、生姜	beta-sitosterol	β -谷甾醇	36.91	0.75	5.36
BXSJ3	半夏、生姜	EIC	酶抑制剂复合体	41.90	0.14	7.50
BXSJ4	半夏、生姜	stigmasterol	豆甾醇	43.83	0.76	5.57
BXSJ5	半夏、生姜	linolenic acid	亚麻酸	45.01	0.15	5.54
SJ1	生姜	diepicedrene-1-oxide	二表雪松烯-1-氧化物	102.20	0.15	5.07
SJ2	生姜	euxanthone	优吨酮	92.98	0.16	15.53
SJ3	生姜	6-methylgingediacetate	6-甲基姜辣二醇双乙酸酯	48.73	0.32	5.44
SJ4	生姜	dihydrocapsaicin	二氢辣椒碱	47.07	0.19	2.98
SJ5	生姜	6-gingerol	6-姜酚	35.64	0.16	3.05
SJ6	生姜	8-gingerol	8-姜酚	9.99	0.09	-
SJ7	生姜	10-gingerol	10-姜酚	-	-	-

接可能性越大。

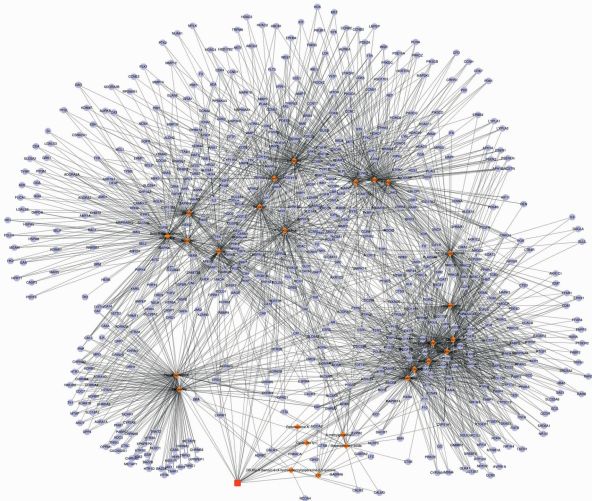
通过 DRAR-CRI 对 6-gingerol 进行分子反向对接, Z'-score ≤ -0.05 的靶点有 80 个, 包括目前公认的羟色氨酸受体 (HTR), 多巴胺受体 (DRD) 等靶点。排名前 20 的对接靶点见表 3。

2.5 小半夏汤防治 CINV 靶点收集 将小半夏汤靶点和 CINV 靶点导入 Excel 表格同一列, 通过“重复值”找出共同靶点, 得到小半夏汤防治 CINV 的可能靶点有 38 个。小半夏汤 27 个有效成分中, 22 个与防治 CINV 有关(表 4), 且半夏和生姜 5 个共有成分均与防治 CINV 有关。将共同靶点导入 STRING 数据库, 构建共同靶点间相互作用关系图(图 3)。

2.6 生物学功能和通路分析

2.6.1 GO 分析 将小半夏汤和 CINV 的 38 个共同靶点导入 DAVID 6.8 数据库, 物种选择 Homo sapiens (Human), 得到 GO 分析 67 个生物学过程, 11 个细胞组分, 18 个分子功能。利用 ImageGP 工具 (<http://www.ehbio.com/ImageGP/>) 绘制“小半夏汤防治 CINV 中的生物学过程分析 ($P \leq 0.01$)”(图 4), “小半夏汤防治 CINV 涉及的细胞组分分析”(图 5), “小半夏汤防治 CINV 涉及的分子功能分析”(图 6)。

2.6.2 KEGG 分析 将小半夏汤和 CINV 的 38 个共同靶点导入 DAVID 6.8 数据库, 物种选择 Homo



红色方框. 小半夏汤; 橙色棱形. 小半夏汤成分; 紫色圆形. 成分靶点
图 2 小半夏汤-成分-靶点网络

Fig. 2 Xiao Banxiatang-components-targets network

表 2 小半夏汤靶点数目排名前 10 的成分

Table 2 Components with top 10 targets in Xiao Banxiatang

排名	节点	Degree	来源
1	6-gingerol	117	生姜
2	10-gingerol	116	生姜
3	8-gingerol	112	生姜
4	cavidine	111	半夏
5	linolenic acid	109	半夏、生姜
6	euxanthone	108	生姜
7	10,13-eicosadienoic	106	半夏
8	beta-D-ribofuranoside, xanthine-9	106	半夏
9	baicalein	105	半夏
10	dihydrocapsaicin	103	生姜

sapiens (Human), 得到 21 条 KEGG 通路。利用 imageGP 工具绘制“小半夏汤防治 CINV 通路”(图 7)。将 DAVID 6.8 分析结果中 $P \leq 0.01$ 的信号通路(表 5)进行合并, 绘制小半夏汤防治 CINV 信号通路图(图 8)。

通过 Cytoscape3. 2. 1 软件构建“小半夏汤-药材-防治 CINV 成分-防治 CINV 靶点-通路图”(图 9)。

网络拓扑参数分析: 共 84 个节点, 其中小半夏汤复方节点有 1 个, 药材节点有 2 个, 小半夏汤防治 CINV 成分节点有 22 个, 靶点节点有 38 个, 通路节点有 21 个; 278 条边。通过自由度分析, 半夏自由度大于生姜自由度, 说明半夏在小半夏汤防治 CINV 的有效成分较多, 体现了半夏生姜配伍

表 3 6-姜酚反向对接排名前 20 的靶点

Table 3 Top 20 targets of 6-gingerol reverse docking

编号	靶点	Z'-score
1	endothelial protein C receptor	-2.218 47
2	aldose reductase	-2.145 85
3	voltage-gated potassium channel subunit beta-2	-1.954 85
4	alcohol dehydrogenase class 4 mu/sigma chain	-1.650 15
5	thiopurine S-methyltransferase	-1.514 16
6	B-Raf proto-oncogene serine/threonine-protein kinase	-1.456 87
7	aldose reductase	-1.455 55
8	epoxide hydrolase 2	-1.405 65
9	catechol O-methyltransferase	-1.349 62
10	NAD(P) transhydrogenase, mitochondrial	-1.337 78
11	transforming protein RhoA	-1.305 83
12	alcohol dehydrogenase 1B	-1.280 44
13	thyroid hormone receptor alpha	-1.262 30
14	peroxisome proliferator-activated receptor delta	-1.257 43
15	MAP kinase-activated protein kinase 2	-1.245 03
16	amine oxidase [flavin-containing] A	-1.229 70
17	tryptophan 5-hydroxylase 1	-1.161 80
18	retinol-binding protein 4	-1.121 25
19	peroxisome proliferator-activated receptor delta	-1.074 57
20	glutathione reductase, mitochondrial	-1.060 92

中的“君-臣”关系; 自由度排名前 3 的成分均来自于半夏生物碱, 依次是 ephedrine, pseudoephedrine, cavidine。

3 讨论

本研究通过多个数据库收集得到 CINV 的 148 个靶点, 提示 CINV 的发生可能由多个靶点共同导致的; 通过 TCMSMP 数据库按 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.14$ 条件筛选, 一些实验研究证明止呕有效的化学成分如麻黄碱, 8-gingerol, 10-gingerol 等因不满足条件而被筛选, 因此, 笔者又结合文献报道, 收集到小半夏汤 27 个潜在有效靶点, 其中 22 个成分与 CINV 的防治有关, 半夏和生姜 5 个共同成分均与 CINV 相关, 对不满足筛选条件的有效成分可通过化学修饰等方法提高其口服生物利用度, 以增强药效。小半夏汤与 CINV 之间存在 38 个共同靶点, 分别是羟色氨酸受体 (HTR), 肾上腺素能受体 (ADR), 多巴胺受体 (DRD), 乙酰胆碱酯酶 (ACHE), 毒蕈碱乙酰胆碱受体 (CHRM) 和细胞色素 P450 (CYP)。其中, HTR, DRD 等已有文献证明^[19-20]。此外, 还存在一些目前文献未报道的潜在有效成分, 如 24-Ethylcholest-4-

表 4 小半夏汤防治 CINV 成分和靶点

Table 4 Components and targets of Xiao Banxiatang in preventing and treating CINV

来源	成分	中文名称	防治 CINV 靶点
半夏	gondoic acid	巨头鲸鱼酸	ACHE, CYP2C19, CYP17A1, CNR1
半夏	cavidine	卡维丁	HTR1A, HTR2, ACHE, ADRA1A, CYP11B1, CYP11B2, DRD1, DRD2, DRD3, OPRM1, ABCB1, CHRM1, SLC18A2, PIK3CA
半夏	ephedrine	麻黄碱	HTR1A, HTR1B, HTR3A, HTR2, HTR4, ACHE, ADRA1A, DRD1, DRD2, DRD3, GRIN2B, MCHR1, OPRM1, CHRM1, SLC18A2, CHRM3
半夏	baicalin	黄芩苷	ACHE
半夏	10,13-eicosadienoic	10,13-二十碳二烯	CYP2C19, CYP17A1, BRAF, CNR1
半夏	cycloartenol	环阿屯醇	ACHE, CYP2C19, DRD2, CYP17A1, AVPR2, CNR1
半夏	pseudoephedrine	伪麻黄碱	HTR1A, HTR1B, HTR2, HTR3A, HTR4, ACHE, ADRA1A, DRD1, DRD2, DRD3, GRIN2B, MCHR1, OPRM1, CHRM1, SLC18A2, CHRM3
半夏	24-ethylcholest-4-en-3-one	24-胆甾乙炔-4 烯-3-酮	ACHE, CYP2C19, CYP2C9, DRD2, CYP17A1, AVPR2, CNR1
半夏	baicalein	黄芩素	ACHE, CBR1, CYP1A1, CYP1A2, ABCB1, MYLK, AVPR2, KIT, ABCC1
半夏	oleic acid	油酸	ACHE, CYP2C19, CYP17A1, CNR1, PDE4A
半夏	coniferin	松柏苷	ECE1
半夏、生姜	6-shogaol	6-姜烯酚	HTR1A, DRD1, DRD2, DRD3, PIK3CA, RET, BRAF, KIT, CNR1
半夏、生姜	beta-sitosterol	β -谷甾醇	ACHE, CYP2C19, DRD2, CYP17A1, CCR1, CNR1
半夏、生姜	EIC	酶抑制剂复合体	CHRM1
半夏、生姜	stigmasterol	豆甾醇	ACHE, CYP2C19, DRD2, CYP17A1, CCR1, CNR1
半夏、生姜	linolenic acid	亚麻酸	CYP17A1, CNR1
生姜	diepicedrene-1-oxide	二表雪松烯-1-氧化物	ACHE, NLRP3
生姜	euxanthone	优吨酮	PIK3CA, MYLK
生姜	dihydrocapsaicin	二氢辣椒碱	HTR2, ACHE, CYP1A2, DRD1, DRD2, DRD3, GRIN2B, CHRM1, PIK3CA, RET, BRAF, CHRM3, CNR1
生姜	6-gingerol	6-姜酚	HTR1A, ACHE, PIK3CA, RET, ECE1, KIT, CNR1
生姜	8-gingerol	8-姜酚	HTR1A, PIK3CA, RET, ECE1, CCR1, CNR1
生姜	10-gingerol	10-姜酚	HTR1A, ABCB1, PIK3CA, RET, CCR1, LIMK1, CNR1

en-3-one, Oleic acid, Cavidine 等,其止呕药效及作用机制尚待研究证实。

现有研究表明, CINV 涉及生物学过程与通路主要和 5-HT, P 物质, 多巴胺等有关^[1]。通过网络药理学分析, 笔者发现 CINV 除了与上述 3 种神经递质有关, 还与钙离子, G 蛋白偶联受体 (GPCRs) 等也具有一定关系。小半夏汤防治 CINV 通路有 21 条, 包括神经递质相互作用, 5-HT 合成, 多巴胺合成和胆碱合成等。本研究对 $P \leq 0.01$ 的信号通路进行筛选, 获得 3 条信号通路, 分别是 cAMP 信号通路, 钙离子信号通路, Rap1 信号通路, 由 KEGG Mapper 获得信号通路图分析, cAMP 信号通路和钙离子信号通路处于上游调控, 而 Rap1 信号通路处于下游调控, 这些通路息息相关, 由共同基因协调调控, 为

防治 CINV 提供了新思路。

cAMP 是最常见的第二信使之一, GPCRs 与神经递质、激素等信号分子的配体结合后, 腺苷酸环化酶 (AC) 激活, 产生 cAMP。cAMP 在代谢、分泌、钙稳态、肌肉收缩和基因转录等生理过程起关键调节作用。cAMP 直接作用于 3 个主要靶点: 蛋白激酶 A (PKA), cAMP 激活的交换蛋白 (Epac) 和环核苷酸门控离子通道 (CNGCs)。PKA 通过磷酸化调节多种细胞底物, 包括转录因子、离子通道、转运体、交换体、细胞内 Ca^{2+} 处理蛋白和细胞收缩机制。Epac 蛋白对 Rap1 和 Rap2 都起着鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEFs) 的作用。各种效应蛋白, 包括参与调控肌动蛋白细胞骨架的适配器蛋白, Rho 家族 G 蛋白的调控因子和磷脂酶, 都是 Rap 下游的信号转导

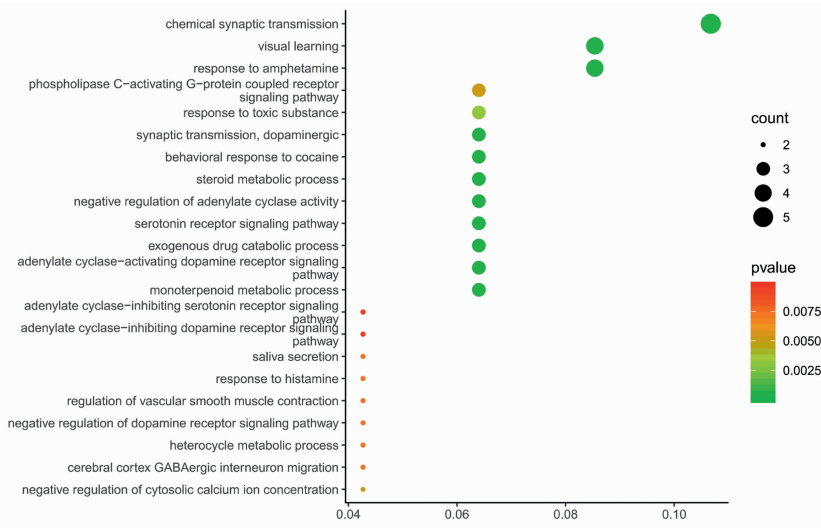


红色线. 融合证据; 黄色线. 文本挖掘证据; 绿色线. 邻近证据; 浅蓝线. 数据库证据; 蓝色线. 共存证据; 黑色线. 共表达证据; 紫色线. 实验证据

图 3 小半夏汤和 CINV 共同靶点间相互作用关系
Fig. 3 Interaction diagram between common targets of Xiao Banxiatang and CINV

蛋白。Alkam 等^[21]采用环磷酸腺苷诱导的化疗呕吐动物模型,研究发现,环磷酸腺苷可使脑干中的 cAMP 积聚、激活 PKA,从而诱发呕吐。因此,小半夏汤可能通过抑制 5-HT 相关受体,阻断下游 AC/cAMP/PKA 级联反应,达到止呕效果。

钙离子信号通路中,易兴奋细胞的电压控制通道(VOCs)受膜电压变化控制,当存在电化学梯度时,Ca²⁺由细胞外进入细胞内。Ca²⁺信号传递的另一个主要来源是内质网/肌浆网(ER/SR)的内部存储,其中肌醇-1,4,5-三磷酸受体(IP3Rs)或钙释放通道 RyRs 可调节 Ca²⁺的释放。钙离子内流或从胞内储库释放,导致细胞质钙浓度急剧升高,在信号转导中具有重要作用。ZHONG 等^[22]以选择性 5-HT₃R 激动剂 2-Me-5-HT 建立化疗呕吐动物模型研究发现,Ca²⁺通过 5-HT₃R 和 L 型 Ca²⁺通道进入细胞,并激发内质网通过 RyRs 释放 Ca²⁺,使胞内 Ca²⁺水平升高,激活 Ca²⁺/CaMKII 依赖的 ERK1/2 信号通路,最终诱导呕吐的发生。因此,小半夏汤可能通过抑制 VOCs 等调控 Ca²⁺进入细胞的受体,



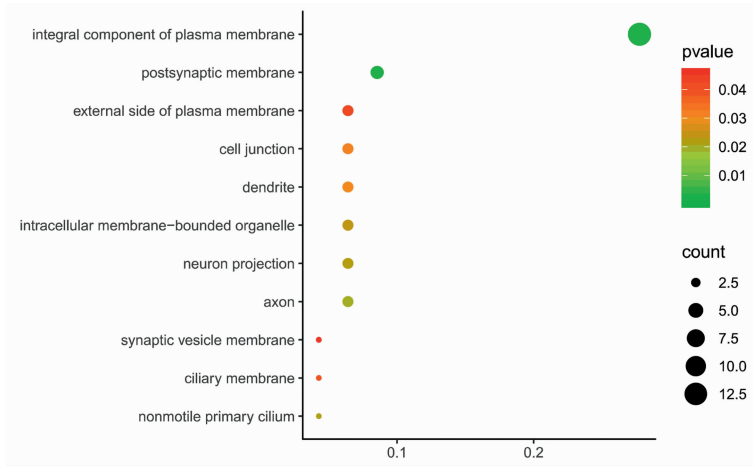
横坐标为靶基因在该生物学过程所占比例,纵坐标为生物过程名称

图 4 小半夏汤防治 CINV 中的生物学过程分析 ($P \leq 0.01$)
Fig. 4 Biological process analysis of Xiao Banxiatang in preventing and treating CINV ($P \leq 0.01$)

降低胞内 Ca²⁺水平,或通过抑制 5-HT 相关受体,减少 IP₃ 合成,进而减少内质网或肌浆网 Ca²⁺的释放,抑制 CaMKII α 及其下游 ERK1/2 相关信号元件的激活,从而取得止呕疗效。

Rap1 是一种小 GTP 酶,控制细胞黏附、细胞连接形成和细胞极性等多种过程。与所有 G 蛋白一样,Rap1 在不活跃的 GTP 结合物和活跃的 GTP 结合物之间循环。多种细胞外信号通过调节几种独特

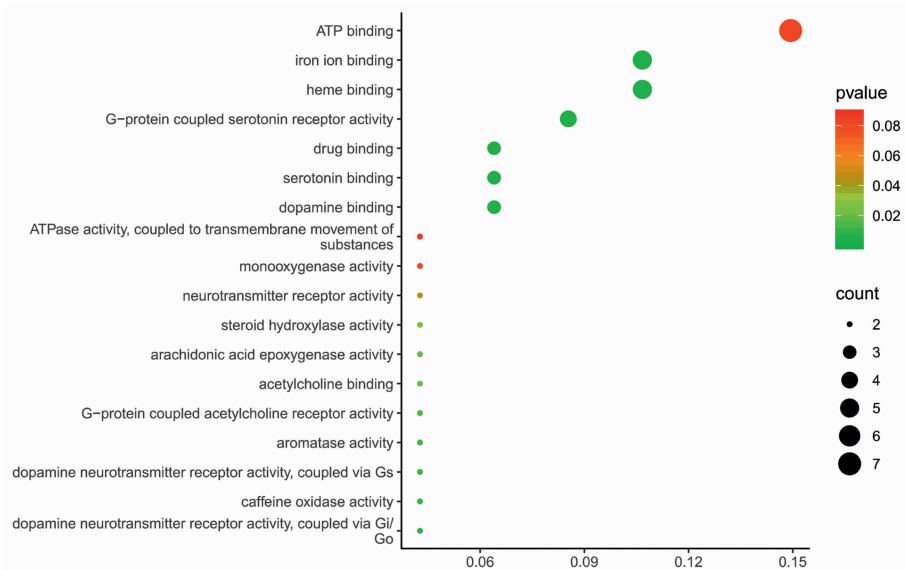
的 GEFs 和 GTP 酶激活蛋白来控制周期。Rap1 通过调节整合素等黏附分子在各种细胞类型中的功能,在调控细胞-细胞和细胞-基质相互作用中起主导作用。cAMP 是激素刺激细胞生长和分化的重要介质,通过介导 Ras 和 Rap1 激活细胞外信号调节激酶(ERK)级联。Takahashi 等^[23]使用 HEK293 细胞作为模型系统,发现 Ras 和 Rap1 都是 ERK 的 cAMP 信号传导所必需的。然而,cAMP 依赖的 Ras



横坐标为靶基因在该细胞组分中所占比例,纵坐标为细胞组分名称

图 5 小半夏汤防治 CINV 涉及的细胞组分分析

Fig. 5 Analysis of cell components involved in prevention and treatment of CINV with Xiao Banxiatang



横坐标为靶基因在该分子功能中所占比例,纵坐标为分子功能名称

图 6 小半夏汤防治 CINV 涉及的分子功能分析

Fig. 6 Molecular function analysis of Xiao Banxiatang in preventing and treating CINV

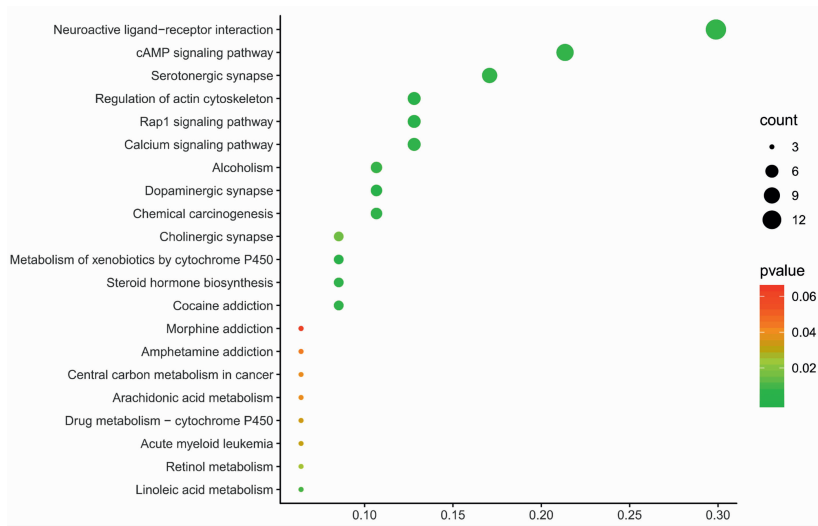
表 5 小半夏汤防治 CINV 信号通路

Table 5 Prevention and treatment of CINV signal pathway by Xiao Banxiatang

KEGG 信号通路	中文名称	P	涉及基因
cAMP signaling pathway	环腺苷酸信号通路	0.000 000 306 1	DRD1, HTR1B, HTR1A, BRAF, GRIN2B, DRD2, PDE4A, CHRM1, HTR4, PIK3CA
Calcium signaling pathway	钙离子信号通路	0.001 630 176 9	DRD1, CHRM3, CHRM1, HTR4, ADRA1A, MYLK
Rap1 signaling pathway	Rap1 信号通路	0.003 555 685 1	BRAF, GRIN2B, DRD2, CNR1, PIK3CA, KIT

信号传导至 ERK 是短暂的,并且通过 Raf 亚型 C-Raf 和 B-Raf 的蛋白激酶磷酸化而迅速终止。相反,由于 B-Raf 与 Rap1 的持续结合,cAMP 依赖性的 Rap1 向 ERKs 和 Rap1 的信号传导受到 PKA 的增

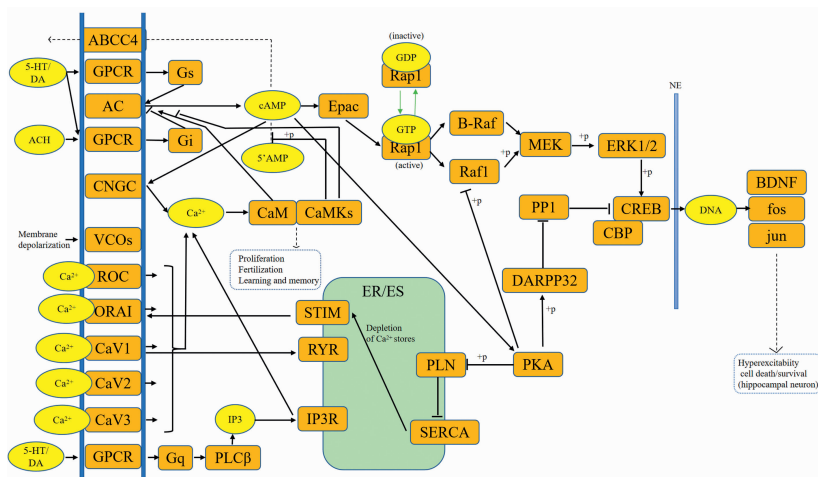
强。PKA 的目标之一是 Rap1 本身,直接磷酸化丝氨酸 180 上的 Rap1a 和丝氨酸 179 上的 Rap1b。这些磷酸化为衔接蛋白 14-3-3 创造了潜在的结合位点,衔接蛋白 14-3-3 将 Rap1 连接到支架蛋白 KSR。



横坐标为靶基因在该通路中所占比例,纵坐标为通路名称

图 7 小半夏汤防治 CINV 通路

Fig. 7 Prevention and treatment of CINV pathway by Xiao Banxiatang



深蓝色分界线-细胞膜;浅蓝色分界线-细胞核膜;黄色圆形-分子;橙色方框-蛋白质;绿色方框-细胞器;虚线方框-功能

图 8 小半夏汤防治 CINV 信号通路

Fig. 8 Signal pathway of prevention and treatment of CINV with Xiao Banxiatang

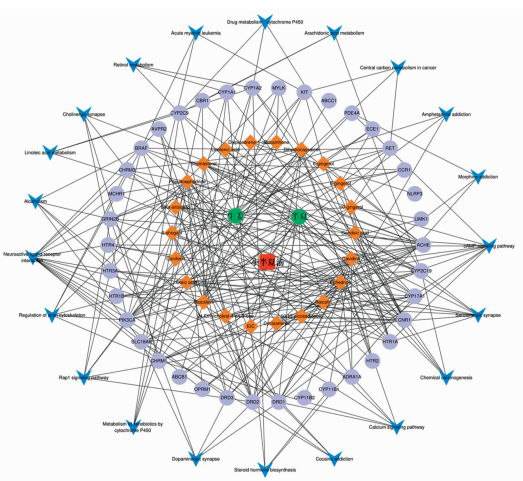


图 9 小半夏汤-药材-防治 CINV 成分-防治 CINV 靶点-通路
Fig. 9 Xiao Banxiatang-medicinal materials-CINV prevention component-CINV prevention target-pathway diagram

由于 KSR 和 B-Raf 作为异二聚体存在于细胞内,这种结合也将 B-Raf 带到 Rap1 上,允许 Rap1 通过 B-Raf 与 Rap1 的结合与 ERKs 偶联,而与 Rap1 的 Ras 结合域无关,因此 Rap1 激活 ERK 需要蛋白激酶磷酸化和 KSR 结合。Rap1 信号通路将 Rap1 与呕吐相关的 cAMP, Ca²⁺, PKA, ERK 等联系起来,可能 Rap1 在通路中起重要作用,为小半夏汤防治 CINV 机制研究提供思路。

综上所述,小半夏汤防治 CINV 具有多成分、多靶点、多通路特点,利用网络药理学分析平台对小半夏汤中半夏、生姜成分靶点及疾病 CINV 靶点进行预测,对小半夏汤防治 CINV 机制的研究具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Feyer P, Jordan K. Update and new trends in antiemetic therapy: the continuing need for novel therapies [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(1): 30-38.
- [2] 周海辉, 张海霞, 葛卫红. 化疗致恶心呕吐的研究进展[J]. *中国药师*, 2018, 21(7): 1262-1265.
- [3] 聂克, 马素起. 小半夏汤对化疗性大鼠异食癖的防治作用[J]. *中药药理与临床*, 2007, 23(5): 32-33.
- [4] 于功昌, 张勇, 聂克. 小半夏汤对急性化疗性异食癖大鼠 5-HT 合成与代谢的影响[J]. *山东中医药大学学报*, 2015, 39(3): 277-280.
- [5] Haniadka R, Rajeev A G, Palatty P L, et al. *Zingiber officinale* (ginger) as an anti-emetic in cancer chemotherapy: a review [J]. *J Altern Complement Med*, 2012, 18(5): 440-444.
- [6] 谭镇岳, 刘安, 谭增子. 生半夏汤防治化疗呕吐的疗效及安全性研究[J]. *山东中医杂志*, 2004, 23(7): 410-412.
- [7] 张向农. 半夏止呕及抗肿瘤临床与实验研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2003.
- [8] 王茂龙, 杨玉玲, 魏朝霞, 等. 姜辣素对顺铂致大鼠异嗜模型行为的作用[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(4): 558-562.
- [9] 王蕾, 赵永娟, 张媛媛, 等. 半夏生物碱含量测定及止呕研究[J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(7): 864-867.
- [10] 韩森, 吕爱平, 李健, 等. 网络药理学在中药药性理论研究中的应用概述[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2019, 25(1): 127-130.
- [11] 王忠, 陈寅莹, 张盈颖, 等. 多组分多靶点中药药理作用机制研究中的问题和解决策略[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(5): 1-6.
- [12] 王欢欢, 吴宏伟, 李欣, 等. 基于网络药理学分析厚朴抗抑郁的物质基础及其作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(10): 162-169.
- [13] 刘鑫馗, 吴嘉瑞, 张丹, 等. 基于网络药理学的附子-干姜药对治疗心力衰竭的作用机制分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(21): 212-219.
- [14] 张昌林, 吴荣焕, 盛泓沁, 等. 基于网络药理学的葛根芩连汤治疗 2 型糖尿病的效应机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(19): 179-188.
- [15] 叶刚飒, 余书洪, 杨卫芳, 等. 生姜的有效成分与药理作用研究进展[J]. *浙江树人大学学报: 自然科学版*, 2011, 11(3): 24-27.
- [16] 赵文竹, 张瑞雪, 于志鹏, 等. 生姜的化学成分及生物活性研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(11): 383-389.
- [17] 胡许欣, 刘晓, 楚玉, 等. 生姜中有效部位及相关活性成分的止呕作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(5): 904-909.
- [18] 刘永红, 郭建宏, 刘文婷, 等. 药用植物半夏生物碱类成分研究进展[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2015, 43(9): 171-177.
- [19] Gilmore J, D'Amato S, Griffith N, et al. Recent advances in antiemetics: new formulations of 5HT-receptor antagonists [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 1827-1857.
- [20] 于功昌. 小半夏汤多靶点防治化疗性恶心呕吐作用机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [21] Alkam T, Chebolu S, Darmani N A. Cyclophosphamide causes activation of protein kinase A (PKA) in the brainstem of vomiting least shrews (*Cryptotis parva*) [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 722: 156-164.
- [22] ZHONG W X, Hutchinson T E, Chebolu S, et al. Serotonin 5-HT₃ receptor-mediated vomiting occurs via the activation of Ca²⁺/CaMKII-dependent ERK1/2 signaling in the least shrew (*Cryptotis parva*) [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e104718.
- [23] Takahashi M, LI Y P, Dillon T J, et al. Phosphorylation of Rap1 by cAMP-dependent protein kinase (PKA) creates a binding site for KSR to sustain ERK activation by cAMP [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292: 1449-1461.

[责任编辑 周冰冰]