

·实验研究·

# 基于网络药理学的小陷胸汤功效机制研究

韩晓春,张成博,马 婷,于华芸,赵海军,王 媛,张亚楠,季旭明,王世军

(山东中医药大学,山东 济南 250355)

[摘要] 目的:探讨小陷胸汤功效作用机制。方法:采用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)及网络文献收集小陷胸汤中三味中药的化合物,确定候选化合物后通过 Pharm Mapper 进行靶标预测,将成分、靶标导入 Cytoscape 3.2.1 软件,进行成分-靶标作用网络构建;并采用 Cytoscape 中的 BiNGO APP 对潜在靶标进行 GO 分析。结果:以口服生物利用度(OB)≥40%、类药性(DL)≥0.18 为筛选条件,确定候选化合物 15 种,进一步对应潜在靶标 74 个;成分-靶标作用网络发现黄连中的氢化小檗碱[(R)-Canadine]和半夏中的豆甾烯醇(Stigmasterol)可能是其主要的活性成分;GO 分析发现信号传导、信号处理过程及相关分子功能和细胞组件变化最为显著,毒蕈碱的乙酰胆碱受体 M(CHRM)、雌激素受体 3(NR3)和 β2 肾上腺素能受体(ADRB)各亚基出现的频率最高。结论:小陷胸汤可能是通过细胞中各细胞器膜蛋白变化,引起跨膜信息传导过程改变,最终作用于相关蛋白而发挥作用的。

[关键词] 小陷胸汤;网络药理学;成分-靶标分析;机制研究

[中图分类号] R2-03

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-659X(2018)06-0539-05

DOI:10.16294/j.cnki.1007-659x.2018.06.018

## Study on Mechanism of Xiaoxianxiong Decoction Based on Network Pharmacology

HAN Xiaochun,ZHANG Chengbo,MA Ting,YU Huayun,ZHAO Haijun,WANG Yuan,ZHANG Yanan,JI Xuming,WANG Shijun

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine,Jinan 250355,China)

**Abstract Objective:**To explore the mechanism of Xiaoxianxiong Decoction. **Methods:**TCMSP and PharmMapper database were used to screen and filter the targets of the main active ingredient of Xiaoxianxiong Decoction. Then,the active ingredient and predicted targets were imported to Cytoscape 3.2.1 software to construct the ingredient-target network. BiNGO APP in Cytoscape was used to carry on GO analysis of potential targets. **Results:**The 15 active ingredients and the potential 74 targets were filtered based on the condition of oral bioavailability(OB)≥40% and drug likeness(DL)≥0.18. The component-target network found that berberine(R-Canadine) in Huanglian(Coptidis Rhizoma) and stigmasterol in Banxia(Pineliliae Rhizoma) may be its main active ingredients. The GO analysis showed that the changes of the signal transduction,signal processing and the related molecular function and cellular components were the most significant. Muscarinic acetylcholine receptor M3(CHRM) family,estrogen receptor(NR3) family and beta 2 adrenergic receptor(ADRB) family were the most common genes. **Conclusion:**Therefore,it is speculated that Xiaoxianxiong Decoction may change the membrane proteins of the cell,causing the variation of signal transduction process across the membrane,which maybe the mechanism of Xiaoxianxiong Decoction play the pharmacological role.

**Keywords** Xiaoxianxiong Decoction;network pharmacology;ingredient-target analysis;mechanism study

小陷胸汤为中医经典名方,主治小结胸病,心下

痞满而软,按之则痛,脉浮滑者。《伤寒论》言:“小结胸病,正在心下,按之则痛,脉浮滑者,小陷胸汤主之。”本方可“消心腹胸膈痰热结满”<sup>[1]</sup>。除治疗胸痹外,还可“消痰、下肺气、开胃健脾、止呕吐、去胸中痰涎”。小陷胸汤临床应用广泛,但对其作用机制的挖掘较少。小陷胸汤由黄连、半夏、瓜蒌三味中药组成。以黄连为君,瓜蒌为臣,半夏为佐<sup>[2-3]</sup>。现代研究已发现这三味中药具有多种有效成分,如黄连素、

[收稿日期] 2018-03-06  
[基金项目] 山东省重点产业关键技术项目(编号:2016CYJS08A01-4,编号:2016CYJS08A01-3);山东省重点研发计划项目(编号:2016ZDJ07A12);山东省中医药科技发展计划项目(编号:2017-027)  
[作者简介] 韩晓春(1978-),女,山东潍坊人,医学博士,副教授,主要从事经方现代化研究。  
[通信作者] 王世军,教授,博士研究生导师,E-mail: pathology@163.com。

小檗碱等<sup>[4-5]</sup>,这些成分具有抑制血液凝集、改善微循环、降血脂、延缓高脂血症形成、增加冠脉血流等功效<sup>[5-6]</sup>。目前小陷胸汤虽然临床应用较广,但实验研究较少,导致其机制研究切入点不明。

本文借鉴网络药理学研究思想,利用现有的数据库,将小陷胸汤成分及可能靶点进行梳理,以获得其有效作用成分及作用靶点,进而对其可能的主证及机制进行探索。

1 材料与方法

1.1 药物活性成分筛选 以中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP)数据库(<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)及网络文献检索收集小陷胸汤三味药物(黄连、半夏、瓜蒌)的化合物。通过其药物动力学(absorption,distribution,metabolism,excretion,ADME)性质,获得各成分在体内代谢参数,考虑到数据的复杂性及样本量,最终以口服生物利用度(OB)≥40%,类药性(DL)≥0.18 为筛选依据。

1.2 网络构建分析 将寻找到的 15 个候选化合物通过 Pharm Mapper(<http://59.78.96.61/pharmmapper/>, Update in 2017-8-1)进行靶标预测。共获得 215 靶

标。使用 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)进行蛋白名与基因名转换,转换过程中采用物种限定为 homo sapiens。并采用 TTD(<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、Pubmed Gene(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=kdr>)等数据库对网络靶标进行确认。

将候选 15 种化合物和预测靶标导入 Cytoscape 3.2.1 软件,进行成分-靶标作用网络构建。

1.3 潜在靶标的 GO 分析 使用 Cytoscape 中的 BiNGO APP 对潜在靶标进行 GO 生物学过程(Biological Progress,BP)、分子功能(Molecular Function,MF)和细胞组件(Cellular Component,CC)分析,筛选其功效显著的靶点。

2 结果

2.1 小陷胸汤中通过 OB 和 DL 预测的化合物 采用 TCMSP 对小陷胸汤三种药物的化学成分进行检索,得到与瓜蒌有关的成分 80 个,半夏 116 个,黄连 33 个。考虑到数据的复杂性及样本量,最终以口服生物利用度 OB≥40%,类药性 DL≥0.18 为筛选依据,最终瓜蒌、半夏、黄连各有 5 个成分被保留下来,具体见表 1。

表 1 小陷胸汤中通过 OB 和 DL 预测的化合物(OB≥40%,DL≥0.18)

	MOL_ID	molecule_name	OB	DL	Degree
瓜蒌	MOL001494	Mandenol	42.00	0.19	9
	MOL004355	Spinasterol	42.98	0.76	6
	MOL007165	10α-cucurbita-5,24-diene-3β-ol	44.02	0.74	5
	MOL007175	karounidiol 3-o-benzoate	43.99	0.50	-
	MOL007179	Linolenic acid ethyl ester	46.10	0.20	7
半夏	MOL000449	Stigmasterol	43.83	0.76	44
	MOL002776	Baicalin	40.12	0.75	6
	MOL006937	12,13-epoxy-9-hydroxynonadeca-7,10-dienoic acid	42.15	0.24	4
	MOL006957	(3S,6S)-3-(benzyl)-6-(4-hydroxybenzyl)piperazine-2,5-quinone	46.89	0.27	16
黄连	MOL006967	beta-D-Ribofuranoside, xanthine-9	44.72	0.21	9
	MOL000622	Magnograndiolide	63.71	0.19	5
	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78	22
	MOL000785	palmatine	64.60	0.65	29
	MOL002903	(R)-Canadine	55.37	0.77	48
	MOL002907	Corchoroside A_qt	104.95	0.78	7

2.2 网络构建与分析 将 TCMSP 中 15 个成分指向的靶点进行整理。共指向 215 个靶点。利用 Cytoscape3.2.1 软件对成分-靶点进行网络构建。得到成分-靶点相互作用网络,见图 1。

图中共包含 88 个节点、215 条边,瓜蒌中成分 MOL007175 karounidiol 3-o-benzoate 在数据库中还未有相关靶点,故最终仅有 14 个化合物保留,74 个潜在靶点。

图中绿色三角表示小陷胸汤三种药物的主要成

分,红色表示成分所对应的靶点;节点的度(Degree)则为网络图中与节点相连的路线数,每种成分的度反映该成分所拥有的靶点数目。从图 1 可以看出,黄连中 MOL002903((R)-Canadine)拥有最多的潜在靶标(48 个),其次是半夏中的 MOL000449(Stigmasterol)44 个,瓜蒌中各成分潜在靶标数略少。从作用上看,黄连和半夏在小陷胸汤中发挥作用更为显著。

2.3 GO 分类富集 采用 Cystoscape 的 BiNGO 工具对 74 种基因进行 GO 生物学过程(Biological

表 2 BiNGO 对相互作用基因的 GO 分析

	GO-ID	描述	P 值	相关性 P 值	基因名(前 10 位)
生物学过程	23046	signaling process	1.96E-31	1.56E-28	CHRM3,ACHE,CHRM1,SAPK2A,CHRM5,HTR2A,ADRA1C,NR3C1,NR1C3,ADRA1B,etc.
	23060	signal transmission	1.96E-31	1.56E-28	CHRM3,ACHE,CHRM1,SAPK2A,CHRM5,HTR2A,ADRA1C,NR3C1,NR1C3,ADRA1B,etc.
	23052	signaling	3.39E-27	1.80E-24	CHRM3,ACHE,GSK3B,CHRM1,SAPK2A,CHRM5,HTR2A,ADRA1C,NR3C1,NR1C3,etc.
	44057	regulation of system process	1.05E-25	4.19E-23	CHRM3,ACHE,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,PTGS2,ADRA1A,DRD1L2,etc.
	51239	regulation of multicellular organismal process	3.55E-24	1.13E-21	CHRM3,ACHE,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR1C3,ADRA1B,PTGS2,ADRA1A,etc.
	7165	signal transduction	4.70E-23	1.25E-20	CHRM3,GRIA2,CHRM1,SAPK2A,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR3C1,etc.
	51241	negative regulation of multicellular organismal process	6.01E-23	1.37E-20	ACHE,NOS3,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR1C3,F2,PTGS2,ADRA1A,etc.
	42127	regulation of cell proliferation	6.25E-22	1.25E-19	CHRM1,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR1C3,PTGS2,ADRA1A,NR3C3,HTR2,etc.
	3008	system process	8.23E-22	1.46E-19	GRIA2,ACHE,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR1C3,ADRA1B,etc.
	3013	circulatory system process	4.83E-21	6.99E-19	KCNH2,NOS2,NOS3,CHRNA7,ADRB2,NR1C3,ADRA1B,PTGS2,DRD1L2,PTGS1,etc.
分子功能	8227	G-protein coupled amine receptor activity	3.29E-27	1.21E-24	CHRM3,CHRM1,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,ADRA1A,DRD1L2,HTR2,etc.
	43176	amine binding	2.97E-24	5.49E-22	CHRM3,ACHE,CHRM1,NOS2,NOS3,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,DRD1L2,etc.
	8144	drug binding	9.28E-23	1.14E-20	CHRM3,GABRA1,CHRM1,GABRA6,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,NR1C3,DRD1L2,HTR2,etc.
	60089	molecular transducer activity	3.87E-21	2.86E-19	CHRM3,GRIA2,CHRM1,SAPK2A,CHRNA7,TIF2,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,etc.
	4871	signal transducer activity	3.87E-21	2.86E-19	CHRM3,GRIA2,CHRM1,SAPK2A,CHRNA7,TIF2,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,etc.
	4872	receptor activity	3.2E-19	1.97E-17	CHRM3,GRIA2,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR3C1,NR1C3,etc.
	4935	adrenoceptor activity	1.05E-17	5.53E-16	ADRAR,ADRA2RL2,ADRB2,ADRA1C,ADRA1B,ADRA1A,B1AR,B2AR,
	3707	steroid hormone receptor activity	1.24E-15	5.73E-14	AR,NR3A2,MLR,PGR,PPARG,NR3C1,NR1C3,ESR1,NR3C3,NR3A1,NR3C2
	4879	ligand-dependent nuclear receptor activity	2.4E-15	9.84E-14	AR,NR3A2,MLR,PGR,PPARG,NR3C1,NR1C3,ESR1,NR3C3,NR3A1,etc.
	4888	transmembrane receptor activity	3.12E-12	1.15E-10	CHRM3,GRIA2,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,NR1C3,ADRA1B,etc.
细胞组件	44459	plasma membrane part	2.41E-20	4.80E-18	CHRM3,GRIA2,ACHE,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,etc.
	31226	intrinsic to plasma membrane	4.04E-17	4.01E-15	CHRM3,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,ADRA1A,DRD1L2,etc.
	5887	integral to plasma membrane	2.28E-16	1.51E-14	CHRM3,CHRM1,CHRNA7,CHRM5,ADRB2,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,ADRA1A,DRD1L2,etc.
	43005	neuron projection	3.71E-16	1.85E-14	CHRM3,CHRM1,GABRA6,MOR1,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,OPRM1,ESR1,NR3C3,etc.
	5886	plasma membrane	1.49E-15	5.95E-14	CHRM3,ACHE,CHRM1,CHRM5,HTR2A,ADRA1C,ADRA1B,ADRA1A,DRD1L2,HTR2,etc.
	42995	cell projection	3.32E-14	1.10E-12	CHRM3,CHRM1,GABRA6,MOR1,CHRNA7,ADRB2,HTR2A,OPRM1,ESR1,DRD1L2,etc.
	45211	postsynaptic membrane	1.9E-13	5.41E-12	GABRA2,CHRM3,GRIA2,GABRA1,CHRM1,GABRA6,CHRNA7,CHRM5,GABRA3,HTR3,etc.
	5626	insoluble fraction	1.74E-12	4.34E-11	PTPN1,CHRM1,F10,MOR1,CHRNA7,ADRB2,OPRM1,ADRA1B,PTGS2,SLC6A4,etc.
	45121	membrane raft	4.88E-12	1.08E-10	DPP4,SERT,MOR1,NOS3,CHRNA7,SLO,COX2,CD26,OPRM1,PRKACA,etc.
	267	cell fraction	7.49E-12	1.49E-10	CHRM1,CHRNA7,ADRB2,ADRA1B,PTGS2,SLC6A4,PTGS1,DPP4,IGHG,1 COX2,etc.



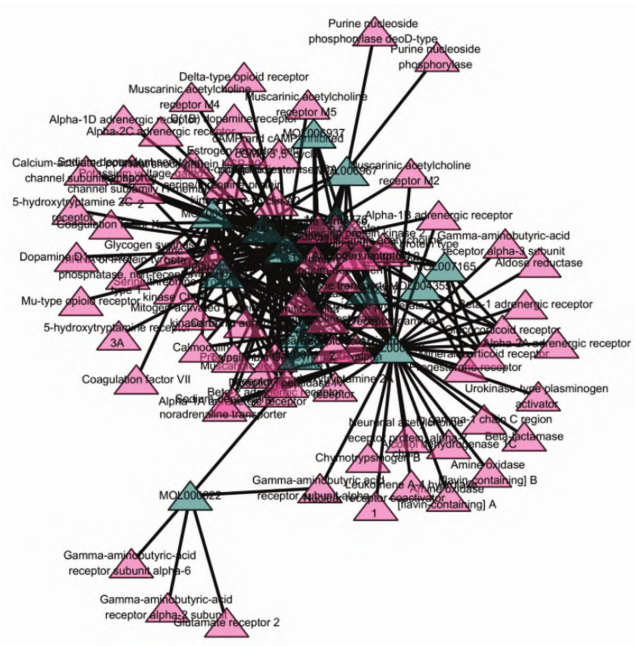


图 1 小陷胸汤成分与靶标相互作用网络图  
(红色:靶标;绿色:成分)

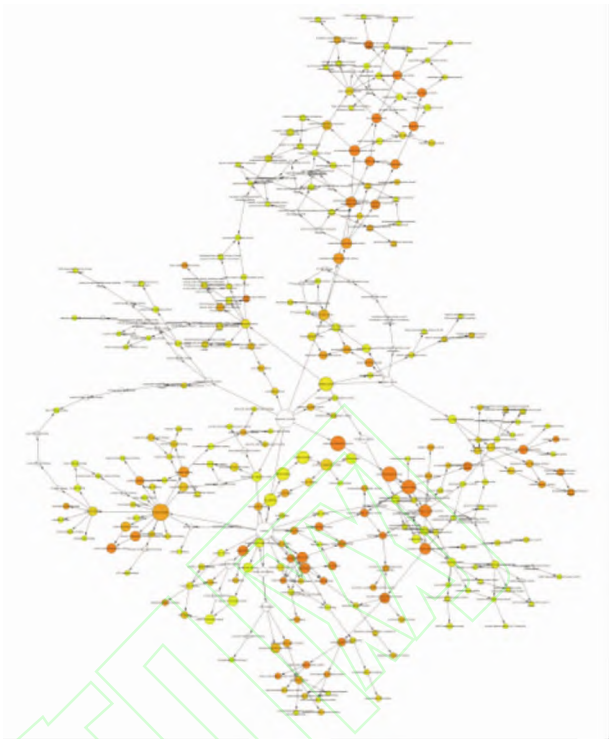


图 3 分子功能

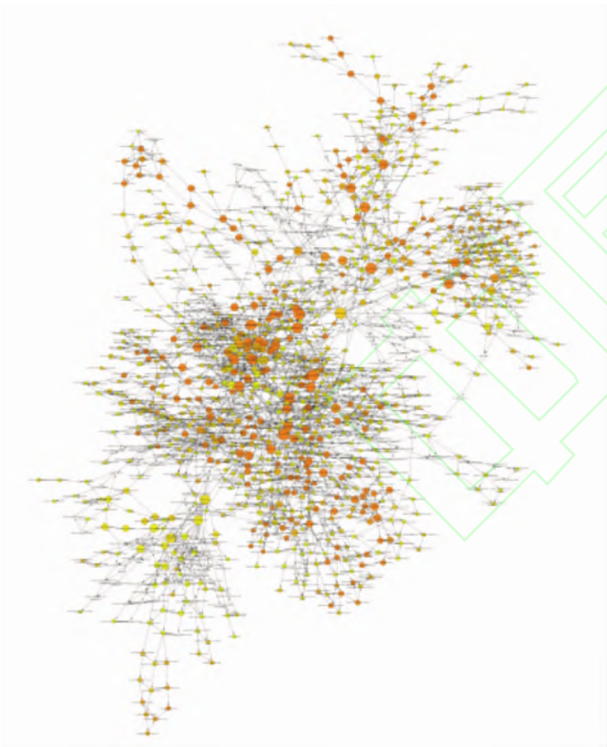


图 2 生物学过程

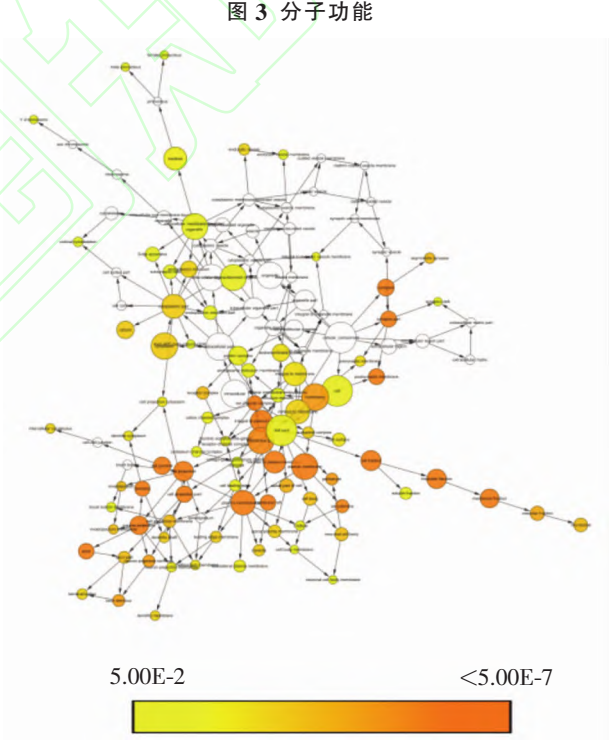


图 4 细胞组件

Progress)、分子功能(Molecular Function)和细胞组件(Cellular Component)分析,具体见表 2、图 2、图 3、图 4。图中节点大小代表基因数量多少,颜色表示 *P* 值大小,颜色越深表示 *P* 值越小。

3 讨论

网络药理学是一种对生物系统信息进行科学研究的方法,它能够收集多向的药理学信息,通过系统生物学手段,分析具体的生物分子网络,进而挖掘药

物- 基因、药物- 蛋白、蛋白- 疾病等之间的相互作用关系,从而发现药物作用的分子机制、探讨并挖掘药物的新靶点和新作用<sup>[7-10]</sup>。赵蕾等<sup>[11]</sup>利用网络药理学方法发现百合地黄汤通过调控 G- 蛋白偶联受体活性和单胺类神经递质表达干预心理亚健康的机制。Wang S 等<sup>[12]</sup>通过网络药理学方法,对天佛参口服液治疗靶点及作用机制进行研究,将其应用范围由肺癌扩大到结肠癌。这些研究均提示,网络药理

学在传统中医药研究中具有广泛的应用前景<sup>[13]</sup>。

小陷胸汤由黄连、半夏、瓜蒌组成,主治证的病机为痰热互结,功效为清热化痰、调畅气机<sup>[14-15]</sup>。方中黄连清热泻火,半夏化痰开结,二药合用,辛开苦降,善治痰热内阻<sup>[16-17]</sup>。更以瓜蒌清热涤痰,宽胸散结。三药共奏清热化痰、宽胸散结之功。本研究发现,在小陷胸汤三味中药中,以黄连发挥作用的成分最多,对应靶点也最多,尤其是黄连中氢化小檗碱[(R)-Canadine]可能是其发挥作用的最主要活性物质,认为(R)-Canadine是一种重要的活性物质,具有抗氧化作用和细胞毒性<sup>[18]</sup>;其次是半夏中的豆甾烯醇(Stigmasterol),这是一种具有抗炎、抗增殖作用的成分,它在锥虫病所致的炎症中具有显著作用。这两种成分也是小陷胸汤发挥功效的主要活性物质<sup>[19]</sup>。小陷胸汤以黄连为君,半夏为臣,瓜蒌为佐,网络药理学研究也显示,黄连和半夏作用物质和靶点最为突出,与中医传统理论基本吻合。

对相互作用基因的GO分析发现,在Biological Progress中,最为突出的是信号传导和信号处理过程;而在分子功能中,最为显著的是G蛋白偶联受体活性及胺类、药物锚定;以细胞质膜和细胞器膜变化显著。这提示小陷胸汤可能是通过细胞中各细胞器膜蛋白变化,引起跨膜信息传导过程改变,最终作用于相关蛋白而发挥作用的。在这些改变的基因中,毒蕈碱的乙酰胆碱受体M(CHRM)、雌激素受体(NR3)和 $\beta_2$ 肾上腺素能受体(ADRB2)各亚基出现的频率最高,这些可能是小陷胸汤发挥作用的主要靶点。

本研究利用网络药理学思路和方法,对小陷胸汤作用的物质基础和分子机制进行挖掘,发现黄连中的氢化小檗碱和半夏中的豆甾烯醇是其主要作用物质。这与小陷胸汤用药的君臣基本一致。而在其作用机制上,小陷胸汤可能主要影响CHRM、NR3和ADRB发挥宽胸散结的功效。但由于本研究仅从小陷胸汤组方及作用靶点上进行探讨,思路较为单一,所获结论仍需进一步实验验证。

#### [参考文献]

- [1] 罗娜,刘东方. 加味小陷胸汤对高血压病疗效观察[J]. 中医药学报,2013,41(1):111-113.
- [2] 孙勤国,吕琨. 小陷胸汤对动脉粥样硬化大鼠血清炎症因子水平及主动脉内膜厚度的影响[J]. 中西医结合研究,2013,5(6):294-297.
- [3] 李睿萍,杨成志,狄灵,等. 小陷胸汤化裁方对非酒精性脂肪肝病大鼠肝脏组织Caspase-12蛋白表达的影响[J]. 中医杂志,2017,58(8):688-692.
- [4] JOSHI B D,SRIVASTAVA A,TANDON P,et al. A combined experimental (IR,Raman and UV-Vis) and quantum chemical study of canadine[J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc,2017,15(191):249-258.
- [5] ZHOU X,LI H,SHI Z,et al. Inhibition activity of a traditional Chinese herbal formula Huang-Lian-Jie-Du-Tang and its major components found in its plasma profile on neuraminidase-1[J]. Sci Rep,2017,7(1):15549.
- [6] WANG D,WANG K,SUI D,et al. Effects of tetrahydroberberine and tetrahydropalmatine on hepatic cytochrome P450 expression and their toxicity in mice[J]. Chem Biol Interact,2017,2(268):47-52.
- [7] HAO D C and XIAO P G. Network pharmacology;a Rosetta Stone for traditional Chinese medicine[J]. Drug Dev Res,2014,75(5):299-312.
- [8] KOLETI A,TERRY R,STATHIAS V,et al. Data Portal for the Library of Integrated Network-based Cellular Signatures(LINCS) program:integrated access to diverse large-scale cellular perturbation response data[J]. Nucleic Acids Res,2018,11(46):558-566.
- [9] WANG,J Y,CHEN H,WANG Y Y,et al. Network pharmacological mechanisms of Vernonia anthelmintica (L.) in the treatment of vitiligo:Isorhamnetin induction of melanogenesis via up-regulation of melanin-biosynthetic genes[J]. BMC Syst Biol,2017,11(1):103.
- [10] GOSAK M,MARKOVIC R,DOLENSEK J,et al. Stözer and M. Perc,authors. Loosening the shackles of scientific disciplines with network science;Reply to comments on "Network science of biological systems at different scales:A review" [J]. Phys Life Rev,2018,3(24):162-167.
- [11] 赵蕾,武嫣斐,高耀,等. 基于网络药理学的百合地黄汤干预心理亚健康作用机制研究[J]. 药学报,2017,52(1):99-105.
- [12] WANG S,WANG H / LU Y. Tianfoshen oral liquid:a CFDA approved clinical traditional Chinese medicine,normalizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis[J]. Oncotarget,2017,8(9):14549-14569.
- [13] CHEN H,DENG C,NIE H,et al. Transcriptome analyses provide insights into the difference of alkaloids biosynthesis in the Chinese goldthread (Coptis chinensis Franch.) from different biotopes[J]. Peer J,2017,18(5):3303.
- [14] 吕炳禄,张艳蕾,赵建东,等. 涤痰汤合小陷胸汤对慢性支气管哮喘患者气道炎症及重塑的影响[J]. 四川中医,2017,35(4):103-105.
- [15] 李秀君,李月莹,韩晗,等. 梅国强化裁运用小陷胸汤的方药分析[J]. 成都中医药大学学报,2017,40(3):20-21,114.
- [16] 肖定洪,吴晓华,黄天生,等. 小陷胸汤合四逆散治疗肝胃郁热型原发性胆汁反流性胃炎的临床观察[J]. 云南中医学院学报,2014,37(6):56-59.
- [17] 马艳红,仝小林. 小陷胸汤治疗2型糖尿病50例临床研究[J]. 辽宁中医杂志,2015,42(9):1680-1683.
- [18] CORRECHE E R,ANDUJAR S A,Kurdalas R R,et al. Antioxidant and cytotoxic activities of canadine;biological effects and structural aspects[J]. Bioorg Med Chem,2008,16(7):3641-3651.
- [19] AMINU R,UMAR I A,RAHMAN M A,et al. Stigmasterol retards the proliferation and pathological features of Trypanosoma congolense infection in rats and inhibits trypanosomal sialidase in vitro and in silico[J]. Biomed Pharmacother,2017,5(89):482-489.