

# 基于网络分析细辛毒理学

高皓, 贾党生, 郝俊霞, 毕开顺, 李佐静\*

(沈阳药科大学药学院, 中药学院, 医疗器械学院, 沈阳 110016)

**[摘要]** **目的:**采用网络毒理学的方法,通过建立化合物、蛋白、基因和毒物反应的网络关系,分析细辛中有毒物质的毒理作用机制,预测未知毒性。**方法:**通过在中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)数据库查询到的细辛候选化合物,以及在比较毒物基因组学数据库(CTD)中查询到的毒物信息的比对,筛选出细辛中13种有毒成分,并用Pharm Mapper Server中查询到13种成分相应的靶点蛋白等详细信息。使用Cytospace软件对这13种化学成分以及对应靶点蛋白,构建了网络结构图,发现了其中联系度最高的几种靶点蛋白。使用Cytospace软件中的ClueGO+CluePedia插件,进行gene ontology(GO)基因本体分析以及京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,得出了细辛中有毒物质可能通过哪些通路对人体有害。**结果:**细辛中毒性成分可能通过p53,白细胞介素(IL)-17,核转录因子(NF)-kappa B,肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 信号通路,细胞凋亡通路诱导肿瘤以及癌的形成;通过对神经元的调节,对中枢神经系统产生抑制作用;还可能通过IL-17, TNF- $\alpha$ 和细胞凋亡调节引起其他自身免疫系统疾病。**结论:**探讨细辛的毒理机制,并预测了细辛可能存在的毒性,并为预测中药成分的毒性以及探究毒性机制提供了一个方法。

**[关键词]** 细辛; 网络毒理学; 基因本体分析; 京都基因和基因组百科全书通路富集分析

**[中图分类号]** R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)10-0180-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190825

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190102.1411.019.html>

**[网络出版时间]** 2019-01-04 9:07

## Toxicology of Asari Radix et Rhizoma Based on Network Analysis

GAO Hao, JIA Dang-sheng, HAO Jun-xia, BI Kai-shun, LI Zuo-jing\*

(School of Pharmacy, School of Chinese Materia Medica, School of Medical Devices, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the known mechanism of toxicology and predict the unknown toxicity in Asari Radix et Rhizoma sinensis by establishing the network relationship of compound, protein, gene and toxicant reaction. **Method:** After comparing the Asari Radix et Rhizoma candidate compounds obtained from the traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) database and the toxicological information obtained from the Comparative Toxicogenomics Database (CTD) database, we screened out 13 toxic components from Asari Radix et Rhizoma. And use the Pharm Mapper Server website to find the detailed information of target proteins of the 13 components. The network structure of these 13 chemical components and their corresponding target proteins were drawn by using Cytospace software, and several target proteins with the highest degree of association were found. ClueGO + CluePedia plug-in of Cytospace software was applied in gene ontology (GO) enrichment analysis of genes and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway

**[收稿日期]** 20180813(012)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81303315);辽宁省自然科学基金项目(20180550342,2014020077);辽宁省“百千万人才”资助项目(2013921041)

**[第一作者]** 高皓,在读硕士,从事药理学信息学研究,E-mail:im.gaohao@outlook.com

**[通信作者]** \*李佐静,博士,副教授,硕士生导师,从事药理学信息学研究,E-mail:zuojing1006@foxmail.com

enrichment analysis, so as to determine the pathways through which toxic substances in Asari Radix et Rhizoma might be harmful to human body. **Result:** The toxic substances in Asari Radix et Rhizoma may induce tumor and cancer formation through p53 signaling pathway, interleukin (IL) -17 signaling pathway, nuclear factor (NF) -kappa B signaling pathway, tumor necrosis factor (TNF) -signaling pathway. Asari Radix et Rhizoma could inhibit the central nervous system by regulating apoptosis pathways and neurons, and may also cause other autoimmune diseases by IL-17, TNF- $\alpha$  pathway and apoptosis regulation. **Conclusion:** This study preliminarily explores related mechanisms of toxicity of Asari Radix et Rhizoma, this method can be used to predict toxicity and explain toxicity mechanism of traditional Chinese medicine.

[**Key words**] Asari Radix et Rhizoma; network toxicology; gene ontology (GO) enrichment analysis; kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analysis

细辛为临床常用中药<sup>[1]</sup>。细辛性味辛、温,小毒,主治风寒感冒、头痛、牙痛、鼻塞流涕、鼻鼾、鼻渊、风湿痹痛、痰饮喘咳。细辛药理作用较多,如镇静、镇痛、中枢抑制、局部麻醉等。细辛还可以与多位药进行配伍使用,是一味常用的中药<sup>[2]</sup>。但是因为毒性,限制了其使用范围。古代有细辛不过钱之说,而现代研究表明,细辛具有抑制中枢、致癌、肾毒性、肝毒性等广泛的毒性<sup>[3]</sup>。目前关于细辛毒性报道较多但是关于细辛毒性机制的研究还比较少,而且中药具有多组分多靶点的特性,作用机制复杂,从单一角度很难阐释毒理机制。网络毒理学是指通过构建网络模型来描述研究对象的毒理学性质,通过对所建立网络模型因果关系的分析,认识药物对机体的毒副作用并探讨其毒性机制等<sup>[4]</sup>。因此本研究采用网络毒理学的方法,应用网络毒理学研究数据库、毒性预测工具、网络可视化及分析工具,包括中药系统药理学分析平台(TCMSP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), PharmMapper(<http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/index.ph>),比较毒物基因组学数据库(CTD)(<http://ctdbase.org/>),网络化工具为 Cytoscape(版本为 version 3.6.0),插件 ClueGO v2.5.1 + CluePedia v1.5.1<sup>[5]</sup>。通过对细辛中化学成分进行数据分析,建立毒性成分与其靶点蛋白的网络关系,并分析其影响的代谢通路,从多角度解释细辛已报道的毒性和预测细辛可能具有的毒理作用,以达到对细辛的合理使用,并探索研究中药毒性的新方法。

## 1 材料与方法

**1.1 细辛成分筛选** 从 TCMSP 数据库中获得细辛目前已知的 197 种化学成分,并通过文献总结和统计出的口服生物利用度和类药性分析筛选出具有良好的口服生物利用度( $OB \geq 40\%$ )和类药性( $DL \geq 0.04$ )的化合物。

**1.2 候选化合物毒性查询** CTD 数据库提供了环境化合物影响人类健康的数据信息,首次为全世界研究人员提供了多种毒理学信息,包括不同类型分子的毒理学数据以及来自各种生物体的毒理学数据等。从细辛中筛选出符合口服生物利用度和类药性的化合物后,再从 CTD 数据库中对筛选出的化合物进行查询,得到细辛中具有毒性的候选化合物。

**1.3 候选化合物作用靶点查询** 从 Pharm Mapper Server 中获取毒性化合物的蛋白质靶点。选择 Pharm Mapper Server 中 Fit Score  $\geq 3.0$  分的靶点。Pharm Mapper Server 是一个免费访问的网络服务器,使用药效团映射的方法来识别给定的探针小分子(药物、天然产物或其他新发现的具有未识别的结合靶标的化合物)的蛋白质结合靶点<sup>[6]</sup>。

**1.4 药物-靶点-疾病相互作用网络的构建** 获得候选化合物、相关靶点及疾病等信息后,将这些信息构建细辛候选药物-靶点-疾病相互作用网络,并使用 Cytoscape3.6.0 软件进行可视化,可以得到节点数较高的几种靶点蛋白。

**1.5 京都基因和基因组百科全书(KEGG)通路富集分析和 GO 富集分析** 使用 Cytoscape3.6.0 软件中的 ClueGO v2.5.1 + CluePedia v1.5.1 插件进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,结合相关文献的查阅得出的细辛的毒理作用并进行通路和原理分析。

## 2 结果

**2.1 细辛中具有良好口服生物利用度和类药性的药物筛选** 从 TCMSP 数据库中获得的细辛目前已知的 197 种化学成分中筛选出具有良好的口服生物利用度( $OB \geq 40\%$ )和类药性( $DL \geq 0.04$ )的化合物 53 个,见表 1。得到的 53 个化合物会比较容易被人体吸收,产生毒性作用。

表 1 细辛中具有良好口服生物利用度和类药性的化合物

Table 1 Good oral bioavailability and pharmacological properties in *Asari Radix et Rhizoma*

化合物	英文名称	OB/%	DL	PubChem CID
(+/-)-异龙脑	(+/-)-isoborneol	86.98	0.05	6321405
橙花叔醇	nerolidol	40.43	0.06	5356544
左旋 $\alpha$ 蒎烯	(-)-alpha-pinene	46.25	0.05	440968
左旋 $\beta$ 蒎烯	(-)-beta-pinene	44.84	0.05	440967
樟脑	camphor	67.17	0.05	2537
L-乙酸冰片酯	L-bornyl acetate	65.52	0.08	93009
黄樟醚	Safrol	45.34	0.05	5144
甲基丁香酚	methyleugenol	73.36	0.04	7127
(+)-香橙烯	(+)-aromadendrene	55.74	0.10	11095734
DL-异龙脑	DL-isoborneol	81.80	0.05	6552009
山柰酚	kaempferol	41.88	0.24	5280863
橙花醇乙酸酯	neryl acetate	57.47	0.04	1549025
异长叶烯	isolongifolene	46.32	0.11	11127402
百秋李醇	patchouli alcohol	101.96	0.14	10955174
$\beta$ -蒎烯	beta-pinene	44.77	0.05	10290825
松香芹酮	pinocarvone	52.88	0.06	12314319
3-萜烯	3-carene, (-)-	45.15	0.04	442461
醋酸异龙脑酯	isobornyl acetate	67.15	0.08	6375310
白菖烯	calarene	51.55	0.11	15560278
(1R)-(-)-桃金娘烯醇	(1R)-(-)-myrtenol	49.98	0.06	88301
1-马鞭草烯酮	l-verbenone	50.66	0.06	92874
(-)-侧柏酮	(-)-thujone	63.88	0.05	261491
隐晶碱	cryptopin	78.74	0.72	72616
芝麻素	sesamin	56.55	0.83	72307
二甲基黄樟醚	croweacin	53.28	0.07	5316141
顺式罗汉柏烯	cis-thujopsene	56.43	0.12	442402
$\beta$ -古芸烯	beta-gurjunene	51.36	0.10	6450812
瓜叶菊素 I	carboxylate	62.52	0.31	5315890
丁香醛	syringaldehyde	67.06	0.05	8655
马兜铃烯	aristolene	52.2	0.11	12309878
白首乌新苷	cynanuriculoside	53.07	0.09	-
反式马鞭草烯醇	trans-verbenol	52.01	0.06	88298
韦得醇	widdrol	45.41	0.10	94334
(-)- $\beta$ 小茴香醇	(-)-beta-fenchol	79.24	0.05	61123
甲氧基丁香酚	methoxyeugenol	65.28	0.05	226486
亚胺异丁酸酯	linalyl isobutyrate	43.04	0.06	36690114
细辛素	sarisan	45.6	0.07	95289
表樟脑	epicamphor	50.47	0.05	2309505
卡枯醇	kakoul	63.1	0.07	596894
萘茜	naphthazarin	41.43	0.08	10141

续表 1

化合物	英文名称	OB/%	DL	PubChem CID
桉烯	sabene	46.21	0.04	11051711
桉油烯醇	spatulanol	82.33	0.12	92231
1,4-桉叶油素	1,4-cineole	60.92	0.04	10106
4,9-二甲氧基-1-乙烯基-β-咔啉	4,9-dimethoxy-1-vinyl-beta-carboline	65.3	0.19	5316876
α-侧柏烯,(+)-	alpha-thujene,(+)-	47.13	0.04	12444324
(-)-α-侧柏烯	(-)-alpha-thujene	47.19	0.04	637518
(-)-桃金娘醛	(-)-myrtenal	41.25	0.06	1201529
反式松香芹醇(-)-	pinocarveol,trans(-)-	53.99	0.06	1201530
反式松香芹醇(+)-	pinocarveol,trans(+)-	54.00	0.06	88302
3-氧-甲基紫罗兰酮	3-O-methylviolanolone	48.23	0.33	10019512
6,10-二甲基-9-亚甲基-5E-十一碳烯-2-酮	6,10-dimethyl-9-methylene-5E-undecen-2-one	60.25	0.05	5318635
异肉豆蔻醚	isomyristicin	46.17	0.07	6436484
十二碳四烯酰胺,N-(2-甲基丙基)-	dodecatetraenamide,N-(2-methylpropyl)-	48.46	0.09	6440406

2.2 细辛中毒性化合物信息提取 从 CTD 数据库中查询数据,共有 13 种候选化合物可从数据库中得

取信息,见表 2。这 13 种化合物是目前细辛中确认具有毒性的成分,本文对这 13 种化合物毒性进行研究。

表 2 细辛中毒性化合物

Table 2 Toxic candidates in Asari Radix et Rhizoma

Mol ID	化合物	英文名称	Chemical ID	CAS RN	PubChem CID
MOL000905	β-蒎烯	beta-pinene	C010789	127-91-3	14896
MOL005901	韦得醇	widdrol	C078670	6892-80-4	94334
MOL002335	β-古芸烯	beta-gurjunene	C087929	73464-47-8	6450812
MOL001460	隐晶碱	cryptopin	C007159	482-74-6	72616
MOL000422	山柰酚	kaempferol	C006552	520-18-3	5280863
MOL012133	卡枯醇	kakoul	C049775	18607-90-4	596894
MOL009238	甲氧基丁香酚	methoxyeugenol	C112468	6627-88-9	226486
MOL000207	甲基丁香酚	methyleugenol	C005223	93-15-2	7127
MOL000695	百秋李醇	patchouli alcohol	C052983	5986-55-0	10955174
MOL000199	黄樟醚	safrol	C005223	94-59-7	5144
MOL012116	细辛素	sarisan	C056048	18607-93-7	95289
MOL001558	芝麻素	sesamin	C054125	607-80-7	72307
MOL003177	丁香醛	syringaldehyde	C069665	134-96-3	8655

2.3 候选化合物作用靶点查询结果 Pharm Mapper 服务器的药效团数据库从 Target Bank, Drug Bank, BindingDB 和 PDTD 的所有目标中提取,存储了超过 7 000 基于受体的药效团模型(涵盖 1 627 药物靶标信息,其中 459 是人类蛋白质靶标)。本次从数据库得到 561 个药物靶标信息,其中 402 是人类蛋白质靶标。

2.4 候选化合物——靶点蛋白结果分析 其中

节点较高的几种靶点蛋白及其功效,节点数是指与每个靶点蛋白相连的候选化合物数量。

节点为 8 的有脱氧胞苷激酶(DCK)和成纤维细胞生长因子受体 1(FGFR1)。脱氧核糖核酸苷脱氧胞苷(dC),脱氧鸟嘌呤(dG)和脱氧腺苷(dA)的磷酸化所需。它也是许多被广泛用作抗病毒和化疗药物的核苷类似物磷酸化的重要酶。FGFR1 的缺陷会造成遗传疾病,比如 Pfeiffer 综合征(PS),

Kallmann 综合征 2 型(KAL2)<sup>[16]</sup>。根据文献报道细辛水煎液能明显诱发小鼠骨髓嗜多染红细胞微核和小鼠精子畸形,具有致突变作用<sup>[17]</sup>,细辛致突变的作用可能与造成 FGFR1 的缺陷有关有关。

节点为 7 的有苯乙醇胺-N 甲基转移酶(PNMT)和双特异性丝母活化蛋白激酶激酶 1 (MAP2K1)。苯乙醇胺-N 甲基转移酶(PNMT)是肾上腺素(Epi)合成的限速酶,将去甲肾上腺素甲基化成肾上腺素,其活性变化可影响体内去甲肾上腺素和肾上腺素的水平,从而参加高血压的病理生理过程。晚期阿尔茨海默氏病 PNMT 蛋白的转运减少,对于阿尔茨海默氏病的研究中有相当的意义<sup>[10]</sup>。MAP2K1 的缺陷可能导致朗格汉斯细胞增生症。可导致的疾病还有结肠癌、癌症、类风湿性关节炎、非小细胞肺癌、神经退行性疾病、乳房肿瘤<sup>[7]</sup>。细辛中的 methyleugenol 和 safrol 对大鼠具有致肝癌作用,此途径可能为其致癌作用的一部分原因<sup>[8]</sup>。

节点为 6 的有基质金属蛋白酶 3(MMP3),性激素结合球蛋白(SHBG),视黄酸受体  $\gamma$ (RARG)和视黄酸受体  $\beta$ (RARB)。研究证实 MMP-3 在肺癌中的表达与癌细胞转移情况呈正相关,而且在转移病灶中 MMP-3 的表达量显著升高<sup>[9]</sup>。在 CTD 数据库中查询可知候选化合物  $\beta$ -pinene 有导致癌症转移的作用,可能是通过影响 MMP-3 酶的活性实现的。研究表明 SHBG 低水平表达可能与子宫肌瘤疾病的发生相关<sup>[11]</sup>。RARG 和 RARB 都是维甲酸的受体。对脊椎动物的发育有深远的影响。这种受体可以通过直接调节基因表达来控制细胞功能,RARG 可能会引起肺气肿,RARB 可能会引发牛皮癣、痤疮、癌症。

节点为 5 的有中性内肽酶(NEP)和盐皮质激素受体(MCR)。NEP 也称脑啡肽酶。研究发现在心力衰竭动物模型中,肾脏中的 NEP 蛋白含量增加,活性及表达上调。NEP 主要的生理功能是水解肽链氨基端疏水氨基酸残基<sup>[13]</sup>。NEP 对调节血压的肽类物质,如利钠肽(NP),缓激肽(BK),内皮素等具有降解作用,NEP 可能导致充血性心脏衰竭高血压。这与相关文献对于细辛的心脏毒性的报道一致<sup>[14]</sup>。肾上腺皮质激素(如醛固酮)和皮质激素(如皮质酮或皮质醇)的受体。调控基因是 NR3C2,它的缺陷是常染色体显性假低醛固酮增多症 I (PHA1)的原因,也会造成妊娠早期高血压和严重恶化,还可能会引起代谢紊乱;高血压;心血管疾病;尿路疾病。

节点为 4 的有胺氧化酶(BAOFB),脂肪酸结合

蛋白 6 (FABP6),纤维蛋白原  $\gamma$  链(FIBG),AOFB 可以催化生物基因和异种生物胺的氧化降解,在中枢神经系统和周围组织的神经活性和血管活性胺的代谢中具有重要的作用。AOFB 是一类黄素依赖性蛋白酶,AOFB 基因表达受多种因素调控。AOFB 在多巴胺代谢途径中发挥重要作用。可将多巴胺降解为二羟苯乙酸,并生成过氧化氢。AOFB 分布于脑内特定脑区,在多种神经元退行性疾病中发现脑内 MAOB 活性升高。AOFB 可能发挥着调节氧化应激、参与神经元退行性变等作用<sup>[12]</sup>。FABP6 在肾透明细胞癌(RCCC)肿瘤组织中的表达异常增高,提示该基因可能在 RCCC 的发生发展的过程中起着重要的作用<sup>[15]</sup>。FIBG 纤维蛋白原具有双重功能,产生聚合成纤维蛋白的单体,并在血小板聚集中起辅助因子作用。FIBG 的缺陷是导致血栓形成和先天性  $\alpha$  纤维蛋白原血症的原因。

细辛中的有毒成分可能作用于以靶点蛋白从而影响靶点与其他物质的结合,导致某些疾病。见图 1。

**2.5 细辛 GO 分析和 KEGG 分析** 利用 Cytoscape3.6.0 软件中的 ClueGO v2.5.1 + CluePedia v1.5.1 插件进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,得到了细辛影响的代谢通路,见表 3,4。

### 3 讨论

根据对细辛多种候选化合物进行数据筛选以及 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析,所得出的细辛的毒理作用以及原理分析。

细辛的长期毒性实验证明其具有致癌性此前也有关于细辛致癌的报道<sup>[18]</sup>。通过 KEGG 通路富集分析可知细辛可能通过 p53 信号通路,白细胞介素(IL)-17 信号通路,核转录因子(NF)-kappa B 信号通路,肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$  信号通路诱导肿瘤以及癌的形成。细辛还有调节免疫的作用,而其剂量决定了是否具有毒性<sup>[19]</sup>,其免疫调节毒性可能通过 IL-17, TNF- $\alpha$  2 条通路来实现。该预测可通过查阅文献证实,具体分析如下。

IL-17 在风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、银屑病等的研究发现在这些疾病中均存在 IL-17 的高表达,IL-17 与其他分子协同作用在自身免疫性疾病的发病机制中具有重要作用<sup>[20]</sup>。细辛可能通过 IL-17 信号通路促进慢性炎症的进展,引起组织增生,导致组织癌变,促进肿瘤新生血管生成,与宫颈癌、黑色素瘤、乳腺癌有着密切的联系。

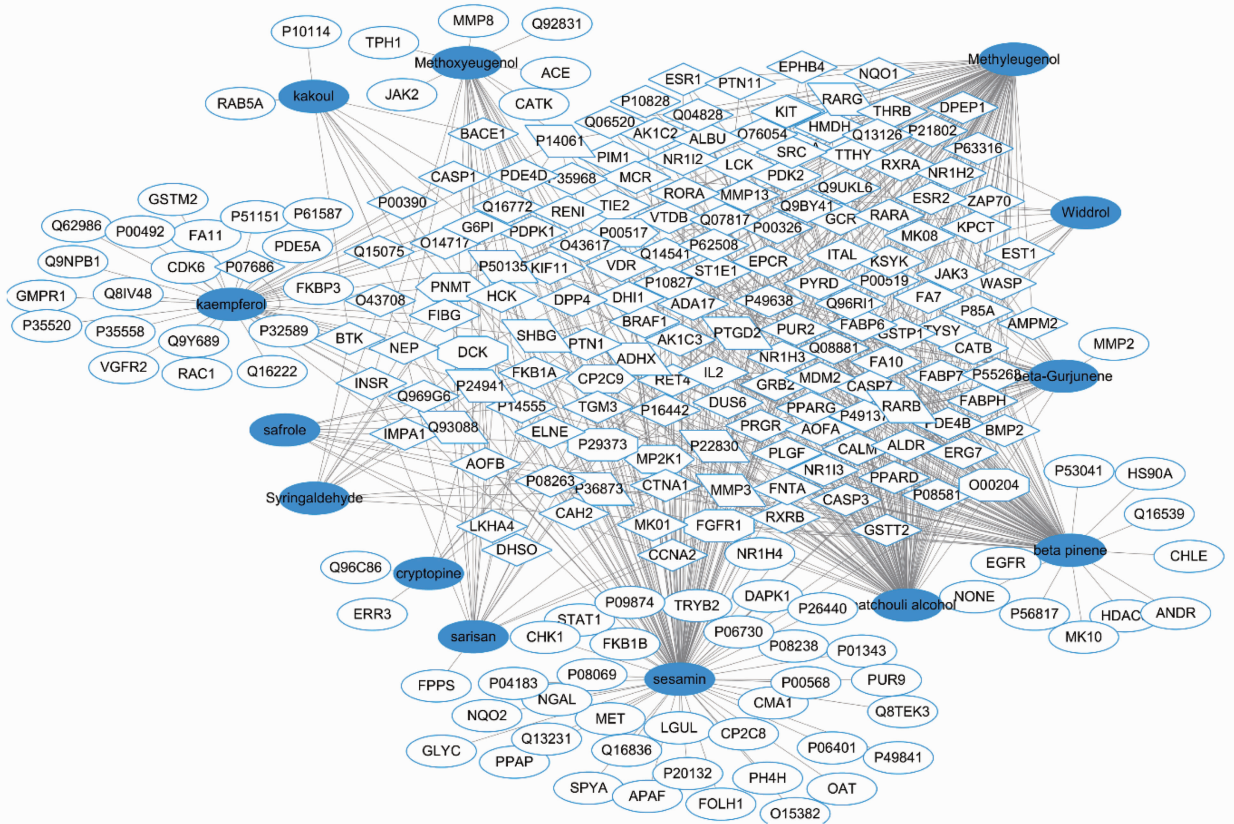


图 1 细辛毒性化合物-靶点网络  
Fig. 1 Toxic compounds-target network of Asari Radix et Rhizoma

表 3 基因本体分析  
Table 3 GO enrichment analysis

GO 条目	P	GO 条目	P
程序性细胞死亡的调节	$2.85 \times 10^{-34}$	程序性细胞死亡的负调节	$6.89 \times 10^{-25}$
凋亡过程的监管	$1.09 \times 10^{-33}$	细胞凋亡过程的正调控	$1.01 \times 10^{-24}$
凋亡信号通路	$1.25 \times 10^{-32}$	细胞凋亡过程的负调控	$2.45 \times 10^{-24}$
细胞死亡的正调控	$9.29 \times 10^{-32}$	内在的凋亡信号通路	$3.72 \times 10^{-24}$
细胞对有机循环化合物的反应	$7.35 \times 10^{-30}$	细胞内信号转导的正调控	$2.13 \times 10^{-23}$
细胞内信号转导的调节	$7.10 \times 10^{-29}$	甾类激素反应	$1.24 \times 10^{-22}$
对脂多糖	$4.37 \times 10^{-27}$	调节神经元死亡	$2.99 \times 10^{-22}$
细胞脂质反应	$1.12 \times 10^{-26}$	细胞对压力反应的调节	$4.36 \times 10^{-22}$
对细菌来源分子的反应	$3.19 \times 10^{-26}$	活性氧代谢过程的调节	$2.14 \times 10^{-21}$
蛋白质代谢过程的正调控	$6.44 \times 10^{-26}$	活性氧代谢过程的正调控	$4.53 \times 10^{-21}$
细胞死亡负调控	$1.59 \times 10^{-25}$	异型生物物质的代谢过程	$5.06 \times 10^{-21}$
程序性细胞死亡的阳性调节	$1.69 \times 10^{-25}$	凋亡信号通路的负调控	$8.85 \times 10^{-21}$
细胞蛋白代谢过程的正调控	$3.30 \times 10^{-25}$	外在凋亡信号通路	$8.85 \times 10^{-21}$
细胞凋亡信号通路的调控	$6.39 \times 10^{-25}$	程序性细胞死亡的负调节	$1.10 \times 10^{-20}$

细辛还可能通过 p53 通路诱导肿瘤的发生。在人体正常细胞的活动过程中, p53 通过参与诱导细胞周

期阻滞、促进细胞凋亡和 DNA 的修复等, 发挥着避免受损 DNA 堆积、维持基因组的稳定及调节细胞的

表 4 细辛靶蛋白 KEGG 通路富集分析

Table 4 Enrichment analysis of Asari Radix et Rhizoma target protein KEGG pathway

GO 条目	P	关联基因 /%
咖啡因代谢	$1.21 \times 10^{-4}$	60.00
p53 信号通路	$5.09 \times 10^{-20}$	32.35
细胞凋亡	$2.15 \times 10^{-9}$	30.30
细胞色素 P450 对异种生物代谢的代谢	$1.49 \times 10^{-16}$	27.03
疟疾	$4.89 \times 10^{-11}$	26.53
药物代谢	$6.99 \times 10^{-8}$	25.71
非洲锥虫病	$1.39 \times 10^{-14}$	25.71
化学致癌	$8.37 \times 10^{-17}$	25.61
肌萎缩侧索硬化	$8.52 \times 10^{-11}$	25.49
军团病	$1.58 \times 10^{-11}$	25.45
膀胱癌	$2.21 \times 10^{-8}$	24.39
甲状腺癌	$1.18 \times 10^{-7}$	24.32
糖尿病并发症中的年龄-愤怒信号通路	$2.75 \times 10^{-17}$	23.23
肝病病毒病	$1.03 \times 10^{-6}$	22.86
胰腺癌	$7.47 \times 10^{-13}$	22.67
IL-17 信号通路	$1.36 \times 10^{-15}$	22.58
抗坏血酸盐和阿达酯代谢	$5.08 \times 10^{-12}$	22.22
结肠直肠癌	$5.08 \times 10^{-12}$	22.22
小细胞肺癌	$1.84 \times 10^{-14}$	21.51
TNF-信号通路	$2.79 \times 10^{-15}$	20.37
利什曼病	$9.90 \times 10^{-11}$	20.27
NF-kappa B 信号通路	$3.51 \times 10^{-13}$	20.00

分化与衰老等功能活动。MDM2/p53/p21<sup>WAF1/CIP1</sup> 信号通路是 p53 基因通路中的重要通路之一。据报道,该通路中任何一个基因的结构改变功能异常都可能诱导肿瘤的发生、发展<sup>[21]</sup>。

在绝大多数静止期的细胞中,核转录因子-κB (NF-κB) 与其阻抑物结合,以非活性形式存在于细胞质中。NF-κB 通路可以被多种刺激物迅速激活,如 TNF-Q, IL-1, 放射线和某些化疗药物等,这些刺激物可以通过对 IκBα 的磷酸化而使其降解,并与 NF-κB 解离,暴露 NF-κB 的核识别位点,使其进入核内,促进下游靶基因的转录。NF-κB 的激活在细胞生存、黏附、分化和细胞生长都有重要影响。研究表明细辛也可能对其有激活作用 NF-κB 信号通路的激活在一些人类肿瘤,如肝癌、肠癌和宫颈癌中的发生发展中起着重要的作用,还可能造成免疫缺陷和失调<sup>[22]</sup>。

TNF-α 调节着很多重要的生物学活动,如免疫反应、炎症反应、细胞凋亡和肿瘤发生<sup>[23]</sup>。目前发现 TNF-α 与其配体 TNF-R 的相互作用参与了许多人类疾病的发生,如败血症、糖尿病、癌症、骨质疏松症和类风湿性关节炎等。TNF-α 信号主要由其细胞膜受体 TNF-R1 和 TNF-R2 介导,通过形成多蛋白复合体来激活下游不同的效应蛋白,如 JNK, NF-κB 等。这一通路的部分调控组分和调控机制已被发现<sup>[24]</sup>。

通过 GO 富集分析发现,细辛可通过对细胞凋亡通路和活性氧代谢通路的调节导致肿瘤的形成。细胞凋亡失调还可能导致自身免疫系统疾病和病毒性疾病的发生<sup>[25]</sup>。细辛还可通过对神经元的调节,对中枢神经系统有明显的抑制作用。这与文献中关于细辛急性中枢抑制毒性的报道一致。小剂量可以使动物安静,自主活动减少,大剂量会使动物出现睡眠和麻醉状态,同时细辛可以对呼吸系统产生抑制,逐渐使自主运动及呼吸运动减退,反射消失,最后呼吸完全被麻痹,先于心跳而停止<sup>[26]</sup>。

综上所述,本文对细辛中存在的有毒化合物,通过在 TCMSP 数据库查询到的候选化合物,以及在 TCD 数据库中查询到的毒物信息的比对。筛选出细辛中 13 种化学物质的化学结构,靶点蛋白,靶点蛋白以及对应疾病等详细信息。使用 Cytospace 软件对这 13 种化学成分以及对应靶点蛋白,画出了网络结构图,发现了其中联系度最高的几种靶点蛋白,分析了靶蛋白异常可能引起的疾病。使用 Cytospace 软件中的 ClueGO + CluePedia 插件,进行基因的 GO 富集分析以及 KEGG 通路富集分析,得出了细辛中毒性物质可能通过 p53 信号通路, IL-17 信号通路, NF-κB 信号通路, TNF-α 信号通路, 细胞凋亡通路诱导肿瘤以及癌的形成。细辛还可能通过对神经元的调节,对中枢神经系统有明显的抑制作用,还可能通过 IL-17, TNF-α 和细胞凋亡调节引起其他自身免疫系统疾病。

网络毒理学通过建立化合物、蛋白、基因以及毒物反应的网络关系,分析该物质的已知毒理作用机制,和预测未知毒性,为研究药物如何控制毒性提供了一种良好的方式。在中药方面,因为一味药物中化学成分繁多,可以通过此方案对中药材进行更好的利用。

[参考文献]

[1] 杜成智,陈玉萍,覃洁萍,等. 不同产地细辛挥发油的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17

- (7):57-59.
- [ 2 ] 李明,周强,杨丽娜,等. 基于历代中医文献的细辛证治规律与常用剂量探索[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018,24(8):23-28.
- [ 3 ] 徐建兵,文竹,杨国正,等. 细辛毒性研究进展[J]. 西部医学,2011,23(12):2473-2475.
- [ 4 ] 范晓辉,赵筱萍,金焯成,等. 论建立网络毒理学及中药网络毒理学研究思路[J]. 中国中药杂志,2011,36(21):2920-2922.
- [ 5 ] 樊耀华,欧海亚,王汉裕,等. 基于网络药理学的茵陈五苓散作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018,24(11):193-200.
- [ 6 ] 赖艳妮,严一文,徐培平. 基于系统药理学探索莪术有效成分的药理作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(14):177-182.
- [ 7 ] Chakraborty R, Hampton O A, SHEN X, et al. Mutually exclusive recurrent somatic mutations in MAP2K1 and BRAF support a central role for ERK activation in LCH pathogenesis[J]. Blood,2014,124(19):3007-3015.
- [ 8 ] DING W, Levy D D, Bishop M E, et al. Methyleugenol genotoxicity in the fischer 344 rat using the comet assay and pathway-focused gene expression profiling [ J ]. Toxicol Sci,2011,123(1):103-112.
- [ 9 ] Brzóska K, Bartłomiejczyk T, Sochanowicz B, et al. Matrix metalloproteinase 3 polymorphisms as a potential marker of enhanced susceptibility to lung cancer in chronic obstructive pulmonary disease subjects[J]. Ann Agric Environ Med,2014,21(3):546-551.
- [ 10 ] 竺越. 晚期阿尔茨海默氏病 PNMT 蛋白的转运减少[J]. 国际老年医学杂志,1991(6):41.
- [ 11 ] 朱新贤,夏红,李莉,等. 子宫肌瘤组织中性激素结合球蛋白 mRNA 的表达[J]. 同济大学学报:医学版, 2002,23(1):36-38.
- [ 12 ] 袁野,周歧新. 单胺氧化酶 B-治疗神经元退行性变的可能靶点[J]. 临床与病理杂志,2006,26(1): 67-70.
- [ 13 ] Oefner C, Pierau S, Schulz H, et al. Structural studies of a bifunctional inhibitor of neprilysin and DPP-IV [ J ]. Acta Crystallogr. Sect D: Biol Crystallogr, 2007, 63(9):975-981.
- [ 14 ] 冯庆兴. FABP6 在肾透明细胞癌中的表达研究[D]. 汕头:汕头大学,2011.
- [ 15 ] 游姣娥,周祯祥,黄芳,等. 细辛长期毒性对 SD 大鼠心电图及心肌酶谱的影响[J]. 湖北中医药大学学报,2015,17(4):1-3.
- [ 16 ] Muenke M, Schell U, Hehr A, et al. A common mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene in Pfeiffer syndrome[J]. Nat Genet,1994,8(3):269-274.
- [ 17 ] 宋俊斋,李家亿,杨念,等. 中药细辛的遗传毒性实验研究[J]. 中国药物警戒,2010,7(5):262-264.
- [ 18 ] 赵海燕. 细辛毒性的药理和毒理作用探讨[J]. 中国保健营养旬刊,2014(5):2860-2860.
- [ 19 ] 刘敏,刘振权,吴莹,等. 基于效毒二重性的细辛免疫调节研究及前景展望[C]//第九届全国免疫学学术大会论文集,2014-10,济南,2014:721-722.
- [ 20 ] 地力下·司马义,李锋,张文杰. IL-17 结构及其信号通路与其肿瘤的关系[J]. 农垦医学,2012,34(2): 166-171.
- [ 21 ] 徐文达,高平,杨文君. p53 信号通路与其肿瘤关系的研究进展[J]. 宁夏医科大学学报,2012,34(9): 971-976.
- [ 22 ] ZHANG Q, Lenardo M J, Baltimore D. 30 years of NF- $\kappa$ B: a blossoming of relevance to human pathobiology[J]. Cell,2017,168(1/2):37-57.
- [ 23 ] 姜珊. 肿瘤坏死因子调控 TNF-信号通路新机制的研究[D]. 北京:中国科学院大学,2016.
- [ 24 ] 王文珊,傅冷西,叶君健. TNF- $\alpha$  信号传导通路的研究进展[J]. 福建医科大学学报,2005,39(s1): 27-31.
- [ 25 ] 张学军,郭礼和. 细胞凋亡失调与疾病关系的研究[J]. 中华医学杂志,1998,78(8):565-566.
- [ 26 ] 曲淑岩,毋英杰,王一华. 细辛对中枢神经系统的抑制作用[J]. 中医杂志,1982,23(6):72-74.

[责任编辑 张丰丰]