

计划类别：基础研究计划（自然科学基金）

指南代码：H2705

项目受理号：SBK2017022661

江苏省科技计划项目申报书

(面上项目)

项目名称：基于 SP/NK-1 通路研究半夏厚朴汤干预顺铂所致延迟性
呕吐机制

项目类别：面上项目

承担单位：南京中医药大学

单位地址：南京仙林大学城仙林大道 138 号

项目负责人：黄仕文 电话：13770952018

项目联系人：钱丽 电话：025-85811065

主管部门：南京中医药大学

申报日期：2017 年 3 月 10 日

江苏省科学技术厅

二〇一七年



201712873-SBK2017022661

项目法人信用承诺书

本项目法人承诺严格遵守《江苏省省级科技专项资金管理暂行办法》、《江苏省科技计划项目相关责任主体信用管理办法》和《关于进一步加强省科技计划项目申报审核工作的通知》等有关规定，为项目实施提供承诺的条件，严格执行经费管理等相关规定。承诺所提供申报资料真实可靠，项目组成员身份真实有效，无编报虚假预算、篡改单位财务数据、侵犯他人知识产权等失信行为。

本项目法人承诺如有失实或失信行为，愿意根据相关规定，承担以下责任：

- 1、取消项目评审资格；
- 2、撤销项目立项，并收回省拨经费；
- 3、记入不良科技信用记录，并报送至省公共信用信息平台，列入社会信用记录，接受相应处理；
- 4、其它相关法律责任等。

项目负责人（签字）：

单位法人（签字）：

（公 章）

_____年____月____日



项目主管部门信用承诺书

按照《关于进一步加强省科技计划项目申报审核工作的通知》等要求，我们对该项目申请进行了认真审核，填写《项目审核意见表》，并承诺如下：

1、该项目单位提交的项目申报资料完整齐全、真实有效，该单位无不良信用记录，项目负责人和申报单位符合本计划申报资格要求；

2、本主管部门在审核推荐项目过程中，无违规推荐、审核不严等失信行为；

3、按照相关管理规定，切实履行了项目主管部门管理职责，如有失实或失信行为，本部门将追究相关人员责任，并按照《江苏省科技计划项目相关责任主体信用管理办法》等相关规定，承担相关责任。

（公 章）

_____年____月____日



填报说明

一、填写申报书前，请先查阅《江苏省基础 Research 计划》（自然科学基金）管理办法》及《关于组织申报 2017 年度省基础 Research 计划（自然科学基金）项目的通知》。申报书各项内容，要实事求是，逐条认真填写。表达要明确、严谨，字迹要清晰。外来语要同时用原文和中文表达。第一次出现的缩写词，须注出全称。

二、申报书用 A4 纸正反打印，纸质封面装订，禁用塑料封面，不得活页装订，一式两份，由所在单位审查签署意见后，报送江苏省科技计划项目受理服务中心。

三、电子申报书的内容必须与纸质申报书完全一样，包括手写的內容，如推荐意见、签名等全部内容，否则视为无效申请。



一、立项依据和研究内容（4000-8000 字）

1、项目的立项依据

（研究意义、国内外研究现状及发展动态分析，需结合科学研究发展趋势来论述科学意义；或结合国民经济和社会发展中迫切需要解决的关键科技问题来论述其应用前景。附主要参考文献目录）

一、顺铂是临床最常用的化疗药物之一，而由其诱发的延迟性呕吐是影响患者生活质量，甚至导致化疗中断的重要原因之一。因此，探索顺铂介导的延迟性呕吐的机制和有效的治疗方法迫在眉睫。

顺铂 (Cisplatin) 为金属铂类络合物，自 1972 年起开始应用于临床，现广泛用于卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌、肺癌、鼻咽癌、食道癌、恶性淋巴瘤、头颈部鳞癌、甲状腺癌及成骨肉瘤等多种实体肿瘤的治疗，为当前联合化疗中最常用的药物之一^[1]。现已明确，顺铂在细胞低氯环境中迅速解离，以水合阳离子的形式与细胞内生物大分子结合形成链间、链内交联或蛋白质 DNA 交联，从而破坏 DNA 的结构和功能，最终抑制肿瘤的恶性生长^[2]。临床应用和动物实验均证实：顺铂具有抗癌谱广、作用强、与多种抗肿瘤药有协同作用、且无交叉耐药等特点，但其所致的恶心、呕吐发生率几乎达 100%，由其引起的脱水、电解质紊乱及营养失衡严重影响患者生活质量，是导致化疗中断的重要原因之一^[3]。

顺铂引起的呕吐按出现的先后顺序可以分为两种：急性呕吐（发生于给药 24h 以内）和延迟性呕吐（发生于给药 24h 以后）^[3]。临床研究证实，对于顺铂引起的急性呕吐，5-HT₃ 受体阻滞剂（如昂丹司琼、格拉司琼等）具有很好的预防和对抗作用^[4,5]。然而，对于其所致的延迟性呕吐，程度虽不如急性呕吐，但影响进食，常持续数天以上，且目前尚无可靠的治疗策略，已成为影响化疗预后的重要因素之一^[6]。尽管联合使用 5-HT₃ 受体阻滞剂、多巴胺受体拮抗剂和类固醇激素等药物可部分改善症状，但其严重的药物毒副反应（如便秘、消化道溃疡、锥体外系反应和失眠）和昂贵的费用常使患者难以接受，影响治疗的进行^[7,8]。因此，探索顺铂介导延迟性呕吐的机制和发掘副作用小、价格低廉的药物是目前临床急需解决的问题。

二、近年研究发现，顺铂引起的延迟性呕吐并非取决于腹部内脏传入神经的兴奋，而主要由中枢大脑最后区介导，其中神经元 P 物质 (SP)/神经肽受体 (NK1-R) 信号系统的激活又是其最关键的分子病理机制。



1、首先，顺铂引起的延迟性呕吐并非取决于腹部内脏传入神经的兴奋，而主要由呕吐中枢——大脑最后区（area postrema）介导。

目前认为，顺铂引起的呕吐主要通过两条病理生理学途径实现，外周途径和中枢途径（如图 1 所示）。①外周途径：顺铂直接作用于肠道粘膜，或者通过血液循环作用于肠嗜铬细胞并使肠嗜铬细胞释放神经递质，作用于腹腔迷走传入神经末梢的相关受体，再经迷走神经纤维最后投射到呕吐中枢，从而引起呕吐^[5]。②中枢途径：顺铂还可以通过尚不明确的机制直接影响呕吐中枢神经元的兴奋性，如神经递质（5-HT、SP、DA 等）的水平、受体（5-HT₃-R、NK₁-R、DA-R 等）的表达及其下游信号通路的活性等，也可以引起呕吐^[8-10]。

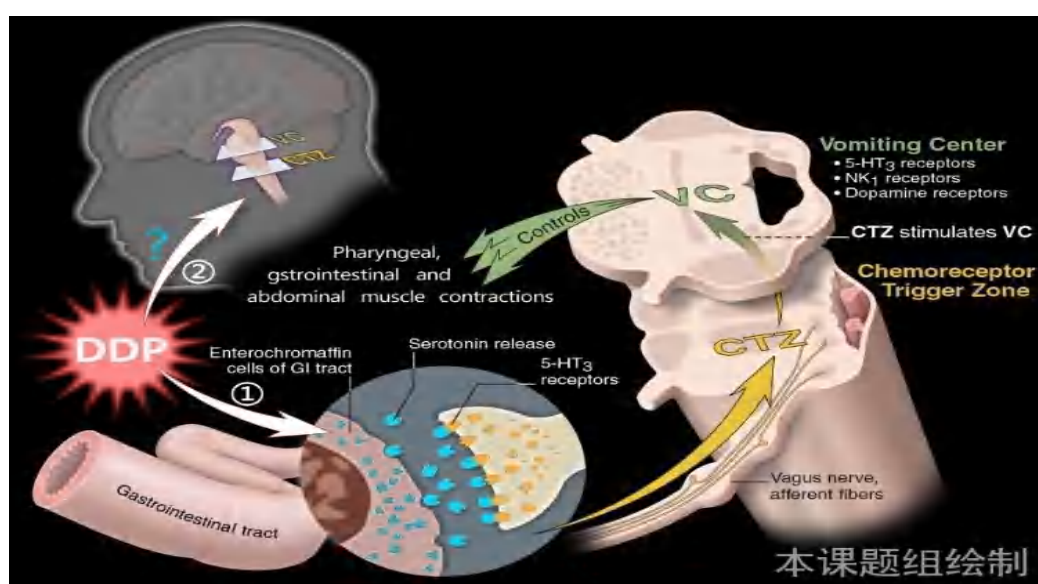


图 1.顺铂通过中枢和外周两种途径导致呕吐

现有的临床研究和动物实验均证实，顺铂引起的急性呕吐的机制主要与上述的外周途径密切相关，5-HT₃受体阻滞剂(如昂丹司琼、格拉司琼等)具有较好的预防和对抗作用，而顺铂引起的延迟性呕吐的病理生理学基础尚不完全清楚^[11]，但近年一系列研究结果提示，顺铂引起的延迟性呕吐与上述的中枢途径联系紧密。如，破坏雪貂外周迷走及内脏壁传入神经可有效抑制顺铂引起的急性呕吐，但不能阻断其引起的延迟性呕吐，而破坏雪貂呕吐中枢（大脑最后区）可同时抑制顺铂引起的急性呕吐和延迟性呕吐^[12, 13]。因此，从大脑最后区探索顺铂引起延迟性呕吐的分子病理学机制成为了该领域的研究热点。

2、其次，大脑最后区 P 物质的上调、神经元神经肽受体（NK1-R）的表达上调、SP/NK1-R 下游信号的活化（cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2、Rho/Rock）



是顺铂所致延迟性呕吐的重要分子病理学机制。

最后区 (area postrema), 又常被称为呕吐中枢, 催吐化学感受区 (chemoreceptor trigger zone, CTZ.), 属于室周器官, 位于第四脑室底的尾端, 此处缺乏血脑屏障, 因此可以受到血液或者脑脊液中刺激物的影响, 并引起呕吐^[14]。多数学者认为, 顺铂引起的延迟性呕吐与大脑最后区神经递质 (5-HT、SP、DA 等) 的释放、受体 (5-HT₃-R、NK₁-R、DA-R 等) 的表达上调及其下游信号通路激活相关, 而临床观察和动物实验进一步发现, 5-HT₃受体和 DA 受体阻断剂的对顺铂的延迟性的效果远不及 NK₁受体的阻断剂, 因而, 大脑最后区 SP/NK₁-R 信号系统在顺铂延迟性呕吐中的作用也成为了该领域学者的最关注的热点问题^[15]。

课题组对近年来有关大脑最后区 SP/ NK₁-R 信号系统与顺铂延迟性呕吐的相关研究进行了梳理后发现: 顺铂可导致雪貂等动物大脑最后区 SP 水平升高、神经元 NK₁-R 表达上调及其下游信号通路 (PKC、ERK 等) 的活性增加, NK₁-R 阻断剂可明显抑制顺铂引起的延迟性呕吐^[9]。然而, 仍然有部分患者对 NK₁-R 阻断剂不敏感, 这不禁引起了课题组进一步的思考: 基于 SP 激动 NK₁-R 引起大脑最后区神经元兴奋的机制是通过 NK₁-R 下游信号通路影响相关离子通道的开关来实现的, 那么, 顺铂所致延迟性呕吐的部分患者对 NK₁-R 阻断剂不敏感的原因是否与其未完全阻断下游信号通路有关呢?课题组进一步对 SP/NK₁-R 下游信号通路的文献进行总结后发现, 虽然有关神经细胞内 NK₁-R 及其下游信号通路的研究相对较少, 但在其他细胞内 (肿瘤细胞、内皮细胞、炎症细胞等) NK₁-R 及其下游信号已经很明确^[9, 16]。NK₁-R 属于 G 蛋白偶联受体家族, 参与了机体的多种生理生化功能, 其下游的信号通路主要包括四条 (如图 2 所示): ①cAMP 依赖性 PKA 信号通路^[17]; ②Src 依赖性的 ERK1/2 信号通路^[18]; ③PLC 依赖性的 IP₃/Ca²⁺ 及 DAG/PKC 信号通路^[19]; ④Rho/Rock 信号通路^[9]。引起课题组进一步思考的是, 在这些信号通路中, 哪些信号通路参与了调控神经元的兴奋性呢? 课题组认为: 阐明这些信号通路在调控最后区神经元兴奋性方面的作用, 有助于揭示顺铂所致延迟性呕吐的机制, 同时也为开发新型治疗顺铂所致延迟性呕吐的药物提供思路, 具有重要的基础和临床意义, 是一个值得探索的科学问题。



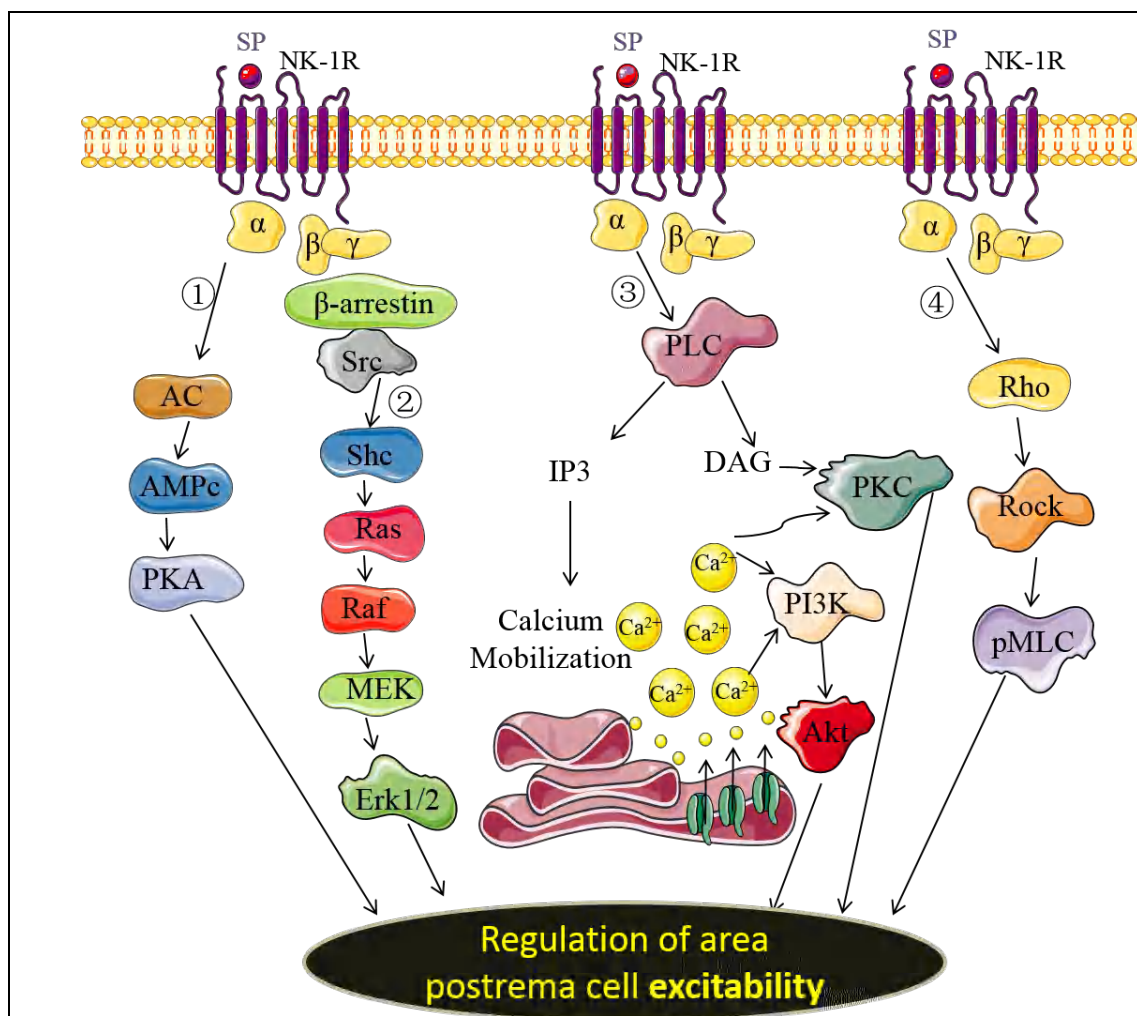


图 2.调控大脑最后区神经元兴奋性的 SP/NK1-R 系统下游信号

综上, SP 水平的升高, NK1-R 受体表达的上调及 NK1-R 下游信号通路活性的增加均为顺铂引起的延迟性呕吐的重要机制,而仅仅针对某一靶点进行干预,都会出现疗效不佳和毒副作用大的问题,针对 SP/NK1-R 系统中 NK1-R 的单一靶点阻滞剂就是一个很好的例子。因此,课题组认为,开发针对 SP/NK1-R 整个系统(包括 SP, NK1-R 及其下游信号)的多靶点药物才是治疗顺铂所致延迟性呕吐的最佳策略。

三、降气化痰中药广泛用于控制肿瘤化疗引起的呕吐,疗效确切,已经成为治疗化疗相关性呕心、呕吐不可缺少的药物。

化疗药物本为外邪,在杀伤癌细胞的同时也严重损伤胃肠道组织,患者多表现为恶心、泛吐清水痰涎、脘腹胀满、厌食纳呆、舌苔厚腻等症状,与胃肠代谢功能障碍密切相关,符合痰湿内阻,胃气上逆的特征。化疗诱发的恶心呕吐应以实证为主,病位在脾胃,“痰湿”与“气逆”为关键的两大病理因素,痰阻为本,



气逆为标，两者互为因果，相互影响，形成恶性循环，进而表现为恶心呕吐等一系列胃肠道反应。虽呕吐亦致体虚，但呕吐发病期关键“不在气虚，而在邪实”。因此，根据“急则治标”原则，中医主张以降气化痰作为基本治法，祛邪在先，化痰与降气并举。目前，具有降气化痰的中药广泛用于控制化疗引起的呕吐，疗效确切，但其干预化疗呕吐的具体机制尚待阐明。

目前，有关降气化痰中药治疗化疗呕吐的机制研究主要集中在对胃肠道黏膜的保护、胃肠动力的协调等多方面，基于中枢神经系统在介导化疗延迟性呕吐中的调控作用和降气化痰中药的临床疗效，课题组不禁要问：具有降气化痰的中药是否通过干预神经递质的水平、影响受体的表达及其下游信号通路的活性而达到控制延迟性呕吐呢？

四、临床应用和预实验结果证实，半夏厚朴汤（BXHPT）尤其对顺铂引起的延迟性呕吐有很好的对抗作用，其机制很可能是通过下调大脑最后区 SP/NK1-R 系统（包括 SP 的水平、NK1-R 的表达及 NK1-R 下游信号通路活性）来实现的。

1. 文献分析半夏厚朴汤（BXHPT）在临床主要用于呕吐和精神疾病的治疗

半夏厚朴汤（BXHPT）是降气化痰的代表方剂，出自张仲景的《金匱要略》，由半夏、厚朴、生姜、苏叶、茯苓组成^[20]，半夏、茯苓、生姜重在化痰止呕，其中半夏为中药化痰之首选^[21]，生姜号称“呕家圣药”^[22]，厚朴、苏叶重在行气，行中有降。全方药简效宏，辛苦合用，辛能行气，苦能降逆燥湿，气顺则痰消，痰化则气开，痰气并治，相得益彰^[23]。堪称降气化痰，和胃止呕之经典名方。

BXHPT 临床上广泛地运用于防治呕吐，课题组对 BXHPT 或者其加味的临床应用进行了文献整理，应用“中国知网”，检索 1982 年至 2016 年关于 BXHPT 的临床报道，筛选省级以上期刊，首次临床报道并且资料齐全的文献为 5937 篇，涉及到 32578 病例。其中 2594 篇与治疗呕吐有关，分析结果可见，BXHPT 用于呕吐的使用频率为 43.6%。有趣的是，除了用于呕吐的治疗外，BXHPT 用于精神疾病的治疗使用率达到 40.9%，这提示其对中枢神经系统具有确切的调节作用。



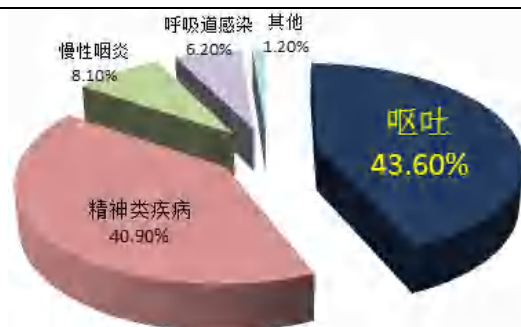


图 3 BXHPT 临床治疗疾病使用频率

2. 课题组前期研究表明，BXHPT 能有效地抑制顺铂引起的延迟性呕吐，而且能有效逆转由顺铂上调的水貂最后区 SP、NK1-R 及下游信号水平。

课题组前期研究发现，BXHPT 能有效地促进给予顺铂的水貂进食和饮水，同时，实验中还发现发现，BXHPT 能有效逆转由顺铂上调的水貂最后区 SP、NK1-R 及其下游 p-PKA、p-ERK 等表达水平（见研究基础）。

3. 文献报道半夏、厚朴、生姜、苏叶、茯苓均具有不同程度的抑制呕吐作用。

对 BXHPT 文献扩展性检索发现，BXHPT 的主要组成药物半夏、厚朴、生姜、茯苓、苏叶均具有良好镇吐作用，半夏、厚朴、茯苓尚有抗肿瘤作用。有趣的是，研究发现这些药物可能是通过降低 P 物质含量、下调 NK1 受体的表达而达到对呕吐中枢的抑制作用^[24-29]。

综上所述，申请人提出科学假说：半夏厚朴汤（BXHPT）尤其对顺铂引起的延迟性呕吐对抗作用，其机制很可能是通过下调大脑最后区 SP/NK1-R 系统（包括 SP 的水平、NK1-R 的表达及 NK1-R 下游信号通路活性）来实现的。

为了证明该科学假说，本课题拟采用以下研究策略：

研究对象的确定：①药品：半夏厚朴汤（BXHPT）和单体成分，考虑到大脑最后区血脑屏障生理性缺失，因此只要进入血液的成分就有可能对大脑最后区产生作用，课题组前期对血液中潜在的活性成分进行了检测，发现了 5 种来自 BXHPT 的潜在有效成分（木犀草素、大黄酚、6-姜酚、厚朴酚及和厚朴酚）（见研究基础），因此单体成分主要选择这 5 种化合物。②动物：水貂是研究呕吐的最佳模型，因此，本研究中的整体动物、脑片及最后区神经细胞均来源于水貂。

论证策略：①通过体内和体外实验首先明确 cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 在 SP/NK1-R 介导的水貂大脑最后区细胞兴奋中的作用，明确 SP/NK1-R 系统介导延迟性呕吐的分子机制；②在阐明①的基础上，探讨半



夏厚朴汤（BXHPT）对顺铂引起延迟性呕吐水貂整体模型呕吐次数及 SP/NK1-R 系统中 SP、NK1-R 及下游相关信号的活性的影响，初步揭示其主要作用环节；②BXHPT 及其单体成分对离体下水貂大脑最后区神经细胞兴奋性及 SP/NK1-R 下游相关信号的影响，以提示其可能的分子机制；③针对体内外研究中发现的 BXHPT 成分产生影响的关键分子，在离体脑片或细胞培养体系中，采用特异性抑制剂或基因沉默等干预手段，观察 BXHPT 及单体成分作用受到的影响，从而验证其作用的主要通路和靶分子。④根据以上结果，分析 BXHPT 中多成分多靶点通过影响 SP/NK1-R 系统治疗顺铂引起延迟性呕吐的机制。

研究意义

大脑最后区 SP/NK1-R 系统上调是导致顺铂引起延迟性呕吐的重要原因，本项目研究一方面明确 SP/NK1-R 引起延迟性呕吐的下游信号，另一方面，从 SP/NK1-R 系统角度探索降气化痰中药治疗顺铂引起延迟性呕吐的途径和机制，为开发针对顺铂等化疗药物引起延迟性呕吐的中药提供新思路；另外，也有助于揭示降气化痰法治疗化疗相关性呕吐的科学内涵。

附：缩略语表

Area postrema	大脑最后区	PKA	蛋白激酶 A
SP	神经元 P 物质	PLC	磷脂酶 C
NK1-R	神经肽受体	PIP2	磷脂酰肌醇二磷酸
DA	多巴胺	IP3	三磷酸肌醇
5-HT	5-羟色胺	DAG	二酰甘油
CTZ	催吐化学感受区	PKC	蛋白激酶 C
cAMP	环磷酸腺苷	BXHPT	半夏厚朴汤



主要参考文献

- [1] Giaccone G. Clinical perspectives on platinum resistance.[J]. *Drugs*, 2000, 59(4):9-17.
- [2] Timerbaev A R, Hartinger C G, And S S A †, et al. Interactions of Antitumor Metalloodrugs with Serum Proteins: Advances in Characterization Using Modern Analytical Methodology[J]. *Chemical Reviews*, 2006, 37(37):2224.
- [3] Darmani N A, Crim J L, Janoyan J J, et al. A re-evaluation of the neurotransmitter basis of chemotherapy-induced immediate and delayed vomiting: Evidence from the least shrew[J]. *Brain Research*, 2009, 1248:40.
- [4] Darmani N A, Johnson J C. Central and peripheral mechanisms contribute to the antiemetic actions of delta-9-tetrahydrocannabinol against 5-hydroxytryptophan-induced emesis.[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2004, 488(3):201-212.
- [5] Sert N P D, Rudd J A, Apfel C C, et al. Cisplatin-induced emesis: systematic review and meta-analysis of the ferret model and the effects of 5-HT 3, receptor antagonists[J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2011, 67(3):667-686.
- [6] Hesketh P J, Van B S, Aapro M, et al. Differential involvement of neurotransmitters through the time course of cisplatin-induced emesis as revealed by therapy with specific receptor antagonists.[J]. 2003, 39(8):1074-1080.
- [7] Roila F, Ruggeri B, Ballatori E, et al. Aprepitant versus metoclopramide, both combined with dexamethasone, for the prevention of cisplatin-induced delayed emesis: a randomized, double-blind study.[J]. *Annals of Oncology*, 2015, 26(6):1248.
- [8] Darmani N A, Chebolu S, Amos B, et al. Synergistic antiemetic interactions between serotonergic 5-HT₃ and tachykinergic NK₁-receptor antagonists in the least shrew (*Cryptotis parva*).[J]. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 2011, 99(4):573-9.
- [9] Garcíarecio S, Gascón P. Biological and Pharmacological Aspects of the NK₁-Receptor[J]. *Biomed Research International*, 2015, 2015(1):1-14.
- [10] Qian Q H, Yue W, Wang Y X, et al. Gingerol inhibits cisplatin-induced vomiting by down regulating 5-hydroxytryptamine, dopamine and substance P expression in minks.[J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2009, 32(4):565.
- [11] Andrew P. Ray, Seetha Chebolu, Nissar A. Darmani. Receptor-Selective Agonists Induce Emesis and Fos Expression in the Brain and Enteric Nervous System of the Least Shrew (*Cryptotis parva*)[J]. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 2009, 94(1):211-218.
- [12] Goineau S, Rompion S, Guillaume P, et al. Using telemetry to automate the detection of emesis in the ferret: new vistas for delayed emesis assessment.[J]. *Journal of Pharmacological & Toxicological Methods*, 2013, 68(1):160-165.
- [13] Sam T S, Ngan M P, Riendeau D, et al. Action of cyclooxygenase inhibitors and a leukotriene biosynthesis inhibitor on cisplatin-induced acute and delayed emesis in the ferret.[J]. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2007, 103(103):189-200.
- [14] Shen W W. Vomiting, chemoreceptor trigger zone, and dopamine.[J]. *Psychosomatics*, 1989, 30(1):118-119.
- [15] Darmani N A, Wang Y, Abad J, et al. Utilization of the least shrew as a rapid and selective screening model for the antiemetic potential and brain penetration of substance P and NK₁ receptor antagonists [J]. *Brain Research*, 2008, 1214:58-72.
- [16] Qian Q H, Yue W, Chen W H, et al. Effect of gingerol on substance P and NK₁ receptor expression in a vomiting model of mink.[J]. 2010, 123(4):478-484.
- [17] Cvijic M E, Yang W L, Chin K V. Cisplatin resistance in cyclic AMP-dependent protein kinase mutants.[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 1998, 78(2):115-128.
- [18] Darmani N A, Dey D, Chebolu S, et al. Cisplatin causes over-expression of tachykinin NK₁ receptors and increases ERK1/2- and PKA- phosphorylation during peak immediate- and delayed-phase emesis in the least shrew (*Cryptotis parva*) brainstem.[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2013, 698(s 1-3):161-169.
- [19] Zhong W, Picca A J, Lee A S, et al. Ca²⁺ signaling and emesis: Recent progress and new perspectives.[J]. *Autonomic Neuroscience Basic & Clinical*, 2017, 202(1):18-27.



- [20]陈纪藩.金匱要略[M].北京:人民卫生出版社,2002:695.
- [21]高学敏.中药学[M].北京:中国中医药出版社,2003:406.
- [22]高学敏.中药学[M].北京:中国中医药出版社,2003:56.
- [23]李冀.方剂学[M].北京:中国中医药出版社.2012:182.
- [24]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.
- [25]于功昌,张勇,杜秀伟等.小半夏汤对化疗性异食癖大鼠 P 物质和 NK1 受体的影响[J].中药药理与临床,2015;31(1):17-18.
- [26]张晓东,顾群浩,朱晓明等.大承气汤治疗术后早期炎性肠梗阻的临床观察[J].湖南中医药大学学报.2012,32(6):25-26.
- [27]胡许欣,张科卫,楚玉.生姜抗化疗呕吐有效部位筛选及其活性研究[J].时珍国医国药,2016,27(1):1-3.
- [28]刘岩.加味苏叶黄连汤治疗妊娠恶阻 26 例[J].湖南中医杂志.2012,28(3):56-67.
- [29]陈晓燕,王家辉,柏玉举等.半夏茯苓胶囊防治顺铂诱发家鸽呕吐的研究[J].中药药理与临床,2007,23(3):65-66.

2、项目的研究内容、研究目标和拟解决的关键科学问题

【研究内容】

一、cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 在 SP/ NK1-R 介导的水貂大脑最后区细胞兴奋中的作用。

利用本实验室构建的体外培养水貂脑片及最后区细胞模型,采用膜片钳技术考察 cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 四条信号通路在 SP/ NK1-R 介导的水貂大脑最后区细胞兴奋中的作用:

①激活大脑最后区细胞 NK1-R 受体对细胞兴奋性的影响 (评价模型):

A. 膜片钳检测大脑最后区细胞膜电位变化;

B. WB 检测 cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 四条通路活化情况

②cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 信号特异性抑制剂对 SP/ NK1-R 介导水貂大脑最后区细胞兴奋的影响 (机理研究):

A. 膜片钳检测大脑最后区细胞膜电位变化;

B. WB 检测 cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 四条通路活化情况

③对 SP/ NK1-R 下游信号中介导水貂大脑最后区细胞兴奋影响的关键分子进行基因沉默,进一步验证②中的结果 (分子生物学验证):

A. WB 检测被沉默相关蛋白及下游信号的水平;



B. 膜片钳检测大脑最后区细胞膜电位变化;

④整体动物验证:

A. 静脉给予相应信号通路抑制剂, 考察其对 SP 诱发呕吐的次数的影响

二、半夏厚朴汤及入血成分抑制顺铂引起水貂延迟性呕吐的作用及机制研究

❖ 体内研究

利用实验室制备的顺铂引起水貂延迟性呕吐的模型, 考察半夏厚朴汤对延迟性呕吐次数, 大脑最后区细胞膜电位的变化, 血液、脑脊液及脑组织中 SP 表达及 NK1-R 及下游信号的影响:

①录像观察水貂服用半夏厚朴汤后延迟性呕吐次数 (已完成)

②半夏厚朴汤对顺铂诱导 SP 及 NK1-R 表达上调的影响 (部分已完成):

A. 血液、脑脊液及脑组织中 SP 水平;

B. 大脑最后区组织 NK1-R 及其与神经细胞兴奋相关下游信号水平。

❖ 体外研究

利用实验室建立的水貂最后区脑片及原代神经细胞培养的模型, 考察半夏厚朴汤含药血清及入血成分对最后区神经细胞兴奋性及 NK1-R 下游信号通路的影响:

①半夏厚朴汤含药血清及入血成分对 SP 诱导最后区脑片及原代神经元兴奋的抑制作用:

A. 最后区脑片神经元膜电位的水平;

B. 最后区原代培养神经元膜电位的水平。

②半夏厚朴汤含药血清及入血成分对 NK1-R 下游信号活性的抑制作用:

A. NK1-R 表达的水平;

B. 与神经元兴奋性有关的 NK1-R 下游信号通路活性的影响。

三、利用干预手段, 反证半夏厚朴汤及单体成分作用的主要通路和靶分子。

针对上述研究中发现的半夏厚朴汤及单体成分产生影响的一些关键分子:

在离体大脑最后区神经细胞培养体系中, 考察半夏厚朴汤及单体成分作用时相同的情况下, 如果半夏厚朴汤及单体成分对该靶分子是促进作用, 加入该靶分子的特异性抑制剂, 若半夏厚朴汤及单体成分的作用受到影响, 再采用 RNAi 技



术沉默该基因处理细胞，观察对半夏厚朴汤及单体成分作用的影响。如果 SFI 单体成分对该靶分子是抑制作用，增加在细胞中进行该基因转染，观察其强制高表达对半夏厚朴汤及单体成分作用的影响，从而验证半夏厚朴汤作用的主要通路和靶分子。

四、分析半夏厚朴汤多成分多靶点作用于 SP/ NK1-R 系统抑制顺铂引起延迟性呕吐的机制。

应用 Cytoscape 软件建立药物-靶点相互作用网络模型，探讨半夏厚朴汤作用于 SP/NK1-R 及下游信号系统的成分群与 SP/NK1-R 调控顺铂引起延迟性呕吐多靶点的相关关系，揭示半夏厚朴汤多成分多靶点法疗顺铂引起延迟性呕吐的机制。

【研究目标】

- 1) 明确 SP/ NK1-R 下游信号在调控大脑最后区神经元兴奋性中的作用。
- 2) 探讨半夏厚朴汤作用于 SP/ NK1-R 系统的成分群与 SP/ NK1-R 系统调控顺铂引起延迟性呕吐多靶点的相关关系。

【拟解决的关键问题】

- 1) 大脑最后区神经元的兴奋性受 SP/ NK1-R 的下游的那些信号通路调控？
- 2) 半夏厚朴汤是否通过多成分多靶点调节大脑最后区 SP/ NK1-R 系统来治疗顺铂引起的延迟性呕吐的。

3、拟采取的研究方案及可行性分析

（包括有关方法、技术路线、实验手段、关键技术等说明）

【研究方案】

1) 顺铂引起水貂延迟性呕吐模型（已成功建立）

✧ 水貂腹膜内给予较低剂量的顺铂（5mg / kg），并在随后的 72 小时时段对动物行为进行录像，统计呕吐次数及其发生时间。

[Percie d S N, Rudd J A, Moss R, et al. The delayed phase of cisplatin-induced emesis is mediated by the area postrema and not the abdominal visceral innervation in the ferret.\[J\]. Neuroscience Letters, 2009, 465\(465\):16-20.](#)

2) 水貂脑片培养（已熟练掌握）



- ✧ 脑片的制备:将水貂用 75%乙醇消毒后,断头取脑,迅速置于预冷的解剖缓冲液中,分离出完整的海马。将海马放置于振动切片机的载物平台上,在解剖缓冲液中以 300 μm 厚度进行切片。
- ✧ 膜插件处理:在每一培养皿中放置一个膜孔为 0.22 μm 的膜插件,加入 1 mL 含 25% 马血清的 MEM 培养液使培养插件膜润湿至半透明,并于培养脑片前 1h 放入 37°C 细胞培养箱中以调节培养基的酸碱度。
- ✧ 脑片孵育:经过漂洗的每 3 ~4 块海马脑片被置于同一膜插件上,在解剖镜下使其分布均匀。脑片培养液的组成为:50% MEM, 25% Earle 平衡盐溶液和 25% 含 6.5 mg/L D-葡萄糖的马血清。培养液还含有 2 mmol/L 的谷氨酸、20 mmol/L HEPES 和 4 MU/L 青霉素、5 g/L 链霉素 pH 7.2。前 3d 培养条件为 5%CO₂, 37°C ,每天换液 1 次,而后每周换液 2 次,温度降至 33°C。

[详见 Svendsen W E, Al Atraktchi F A, Bakmand T, et al. Novel culturing platform for brain slices and neuronal cells.\[C\]// Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE, 2015:346-349.](#)

3) 水貂大脑最后区神经细胞培养(已熟练掌握)

- ✧ 取水貂,在无菌条件下取脑、分离出双侧海马,用 0.125%胰蛋白酶消化(36°C、30min)分散后,用种植培养液稀释成 5×10^5 个细胞/ml 密度的细胞液,接种于涂有小牛皮胶的 35mm 塑料培养皿中,每皿 2ml,置标本于 36°C,含 10%CO₂ 的培养箱内培养。24 h 后吸去培养皿内种植培养液,改用饲养培养液培养。接种第 5 d,在培养皿中分别加入细胞分裂(cell division)抑制剂 5'-氟- 2'-脱氧尿苷 15 $\mu\text{g/ml}$ 和尿苷 35 $\mu\text{g/ml}$ 或加入阿糖胞苷 3 $\mu\text{g/ml}$ 以抑制非神经细胞的过度增殖,作用 48h 后更换新鲜培养液,以后每周换液 2 次,每次更换 50% 新鲜培养液。

[详见 Odawara A, Gotoh M, Suzuki I. Electrophysiological effects of a human induced pluripotent stem cell-derived neuron and astrocyte co-culture\[J\]. Transactions of Japanese Society for Medical & Biological Engineering, 2014, 52:O-188-O-189.](#)

4) 水貂半夏厚朴汤含药血清的制备

- ✧ 水貂每天灌胃给药 6.75g/kg, 7 天,最后一次给药 1h 后,利血平 0.05mg/kg 经静脉给药镇静,颈静脉穿刺法取血,血液室温静置 2h, 3000r/min 离心取上清即得含药血清。

[详见 Minami S, Terada Y, Shimoda H, et al. Establishment of serological test to detect antibody](#)



5) 相关指标的检测

- ✧ 水貂延迟性呕吐采用录像观察。
- ✧ ELASA 法检测血浆、脑脊液及脑组织中 SP 的水平
- ✧ 脑片和原代细胞神经元膜电位变化采用膜片钳
- ✧ NK1-R 及下游信号 (cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock) 的水平, 蛋白质的表达和分布采用免疫组织化学 (或免疫细胞化学)、ELISA、western-blotting 及激光共聚焦显微镜方法, 检测表达量以及表达部位。mRNA 的表达采用 real-time PCR 进行检测。

6) 干预手段反证

- ✧ 在离体细胞培养体系中, 加入特异性抑制剂、shRNA 沉默 RNA, 观察半夏厚朴汤作用受到的影响。所研究的分子均有相应的抑制剂、抗体等商品, cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 等信号通路均有商品化的特异性抑制剂、激动剂、特异性的 shRNA (InvivoGen 公司, <http://www.invivogen.com>)。

6) 多成分多靶点网路构建

- ✧ 应用 Cytoscape 软件建立药物-靶点相互作用网络模型, 探讨半夏厚朴汤作用于 SP/NK1-R 及下游信号的成分群与 SP/NK1-R 系统调控顺铂引起延迟性呕吐多靶点的相关关系。

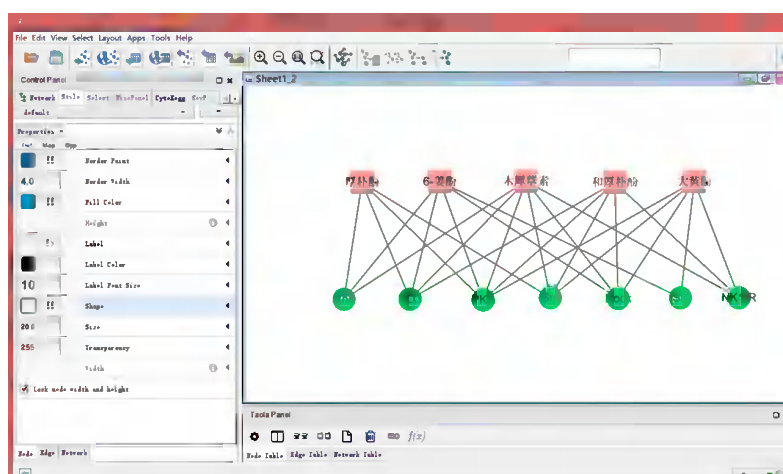
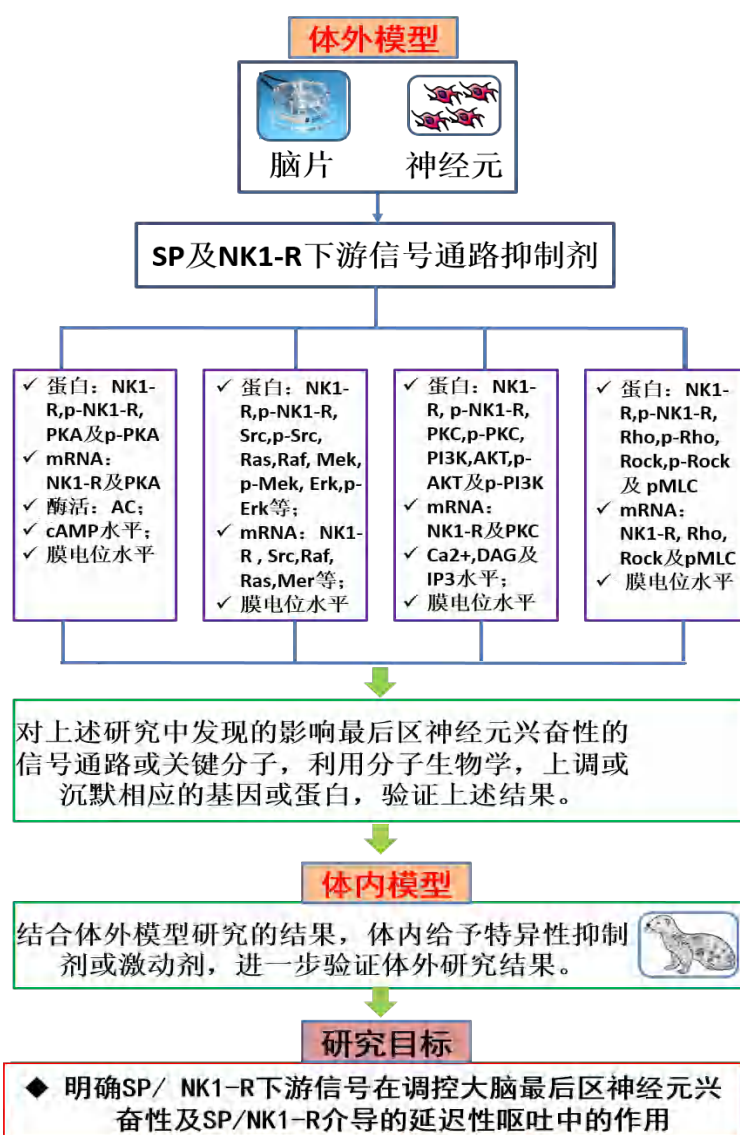


图 4 Cytoscape 虚拟分析半夏厚朴汤成分与靶点的相关关系

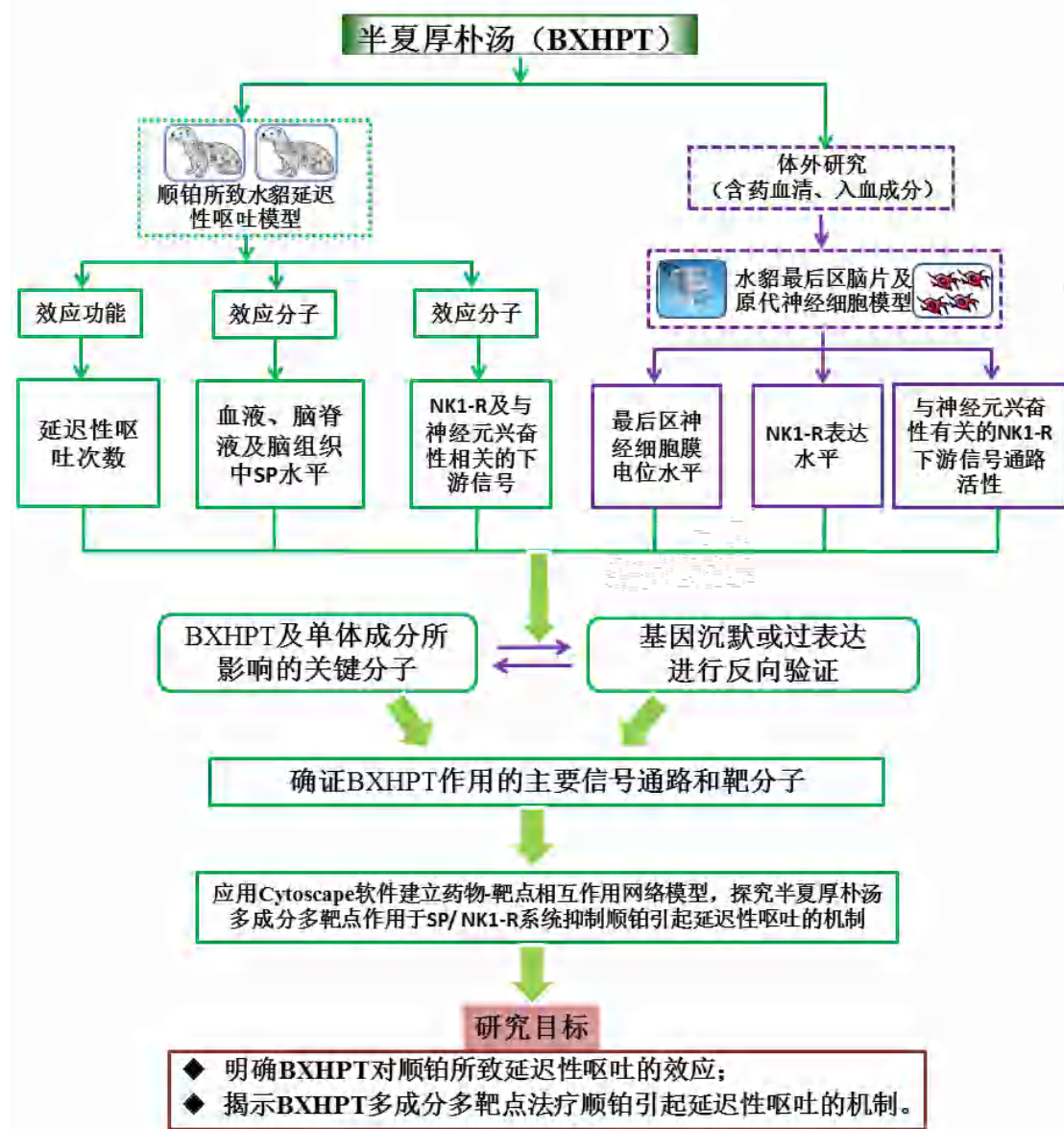


【技术路线】

技术路线 1 明确调控最后区神经元兴奋的 SP/NK1-R 下游信号通路



技术路线2 半夏厚朴汤干预顺铂引起延迟性呕吐的机理研究



【可行性分析】

1) 理论可行性: 半夏厚朴汤 (BXHPT) 临床应用广泛，是降气化痰治法干预疾病的具体体现，普遍认为其治疗化疗相关的急性呕吐的途径主要作用于外周，然而其对抗延迟性呕吐机制和途径不明。最新研究表大脑最后区 SP/NK1-R 系统的激活是顺铂引起延迟性呕吐的重要病理生理机制，而 BXHPT 对中枢神经有确切的调控作用。前期初步实验研究也发现 BXHPT 能有效逆转由顺铂上调的水貂最后区 SP、NK1-R 及其下游 p-PKA、p-ERK 等表达水平，因此，申请人提



出本项目的科学假设：半夏厚朴汤（BXHPT）对顺铂引起的延迟性呕吐对抗作用，其机制很可能是通过下调大脑最后区 SP/NK1-R 系统（包括 SP 的水平、NK1-R 的表达及 NK1-R 下游信号通路活性）来实现的。本课题提出的假说，有中医药理论、临床实践、现代病理机制的支持以及前期工作基础的重要提示，依据充分。

2) 方案可行性：研究方案可行，技术手段成熟。本项目所采用的顺铂诱导的水貂的延迟性呕吐整体模型、脑片体外培养模型及原代分离培养最后区神经元系统已在本实验室建立。采用的 Real time PCR、western blotting、ELISA、膜片钳等技术，均为常规成熟技术，本课题组对这些技术手段熟练掌握，能够保证课题的顺利实施。

3) 人员可行性：本项目申请人具有方剂学博士学位，一直从事中药及复方抗肿瘤研究，发表了中药抗肿瘤相关研究论文近 10 篇。本项目还得到具有丰富中药研究经验的人员指导。研究队伍在中药方剂理论、方剂效应评价、作用机制研究、神经药理学、网络药理学等相关领域有较好的积累，由思路清晰并掌握成熟技术方法的研究人员组成，项目组成员结构合理，团结协作，有能力胜任该课题的工作，按时高质量完成课题任务。

4) 条件保障：申请者实验室是江苏省方剂研究重点实验室。有课题研究所需要的膜片钳、全波长扫描酶标仪、Real-timePCR 仪、凝胶成像分析系统、激光共聚焦显微镜等均具备。因此本研究理论依据充分，技术条件具备，研究方案可行，研究队伍组成合理，可以保证课题的顺利实施。

4、本项目的特色与创新之处

1) 创新性地从 SP/NK1-R 下游信号通路中寻找可以干预顺铂引起延迟性呕吐的新靶点；

2) 创新性地从具有化痰降逆作用的临床常用中药中发掘干预顺铂引起延迟性呕吐的新药，探索半夏厚朴汤治疗呕吐的适应证。



5、年度研究计划及预期研究成果

【年度研究计划】

2017 年 7 月至 2018 年 3 月：离体培养大脑最后区脑片及神经元，考察 cAMP/PKA、Src/ERK1/2、PLC/PIP2 和 Rho/Rock 信号通路特异性抑制剂对神经元细胞兴奋性的影响，并采用分子生物学的方法进行验证，同时运用 SP/NK1-R 下游相关信号特异性抑制剂在体验证离体的解雇；

2018 年 4 月至 2018 年 12 月：半夏厚朴汤含药及其单体成分在体和离体调节下，对大脑最后区神经元兴奋性及 SP/NK1-R 系统相关蛋白的水平和活性的影响，并进一步研究相关的信号通路，以提示其可能的分子机制。参加相关学术会议，交流本课题的实验结果，撰写及发表论文及项目中期汇报；

2019 年 1 月至 2019 年 12 月：针对前期研究中发现的半夏厚朴汤成分产生影响的关键分子，先在离体的细胞培养体系中，采用特异性抑制剂和基因沉默等干预手段，观察半夏厚朴汤含药血清及入血单体成分作用受到的影响；然后在整体肿瘤模型上，用相应的特异性中和抗体和抑制剂处理，进一步考察该分子在半夏厚朴汤效应机制中的作用，从而验证其作用的主要通路和靶分子。

2020 年 1 月至 2020 年 7 月：继续完善细胞实验剩余部分工作，完善并增补实验内容，深入分析半夏厚朴汤中多成分多靶点影响 SP/NK1-R 系统调控顺铂引起延迟性呕吐的机制。参加相关学术会议，交流本课题的实验结果，撰写及发表论文，项目总结。

【预期研究结果】

1) 阐明参与 SP/NK1-R 调控最后区神经元兴奋性的下游信号通路，初步揭示半夏厚朴汤的多成分多靶点的治疗顺铂引起延迟性呕吐的作用机理。

2) 在国际学术刊物发表 SCI 论文 1-2 篇，影响因子不低于 4。



二、研究基础和工作条件

1、研究基础

(与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩)

1. 研究基础 (与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩);

❖ **BXHPT 对顺铂引起水貂延迟性呕吐次数的影响**

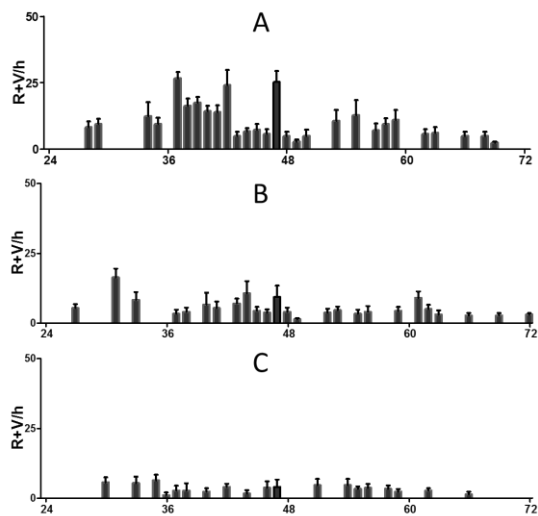


图 5 BXHPT 呈剂量依赖性抑制顺铂引起的水貂恶心和呕吐次数

A: 水貂单独给予顺铂(10mg/kg)24-72 小时内每小时发生恶心和呕吐的次数; B: 水貂给予顺铂(10mg/kg)+BXHPT(0.94g/kg)24-72 小时内每小时发生恶心和呕吐的次数; C: 水貂给予顺铂(10mg/kg)+BXHPT(1.87g/kg)24-72 小时内每小时发生恶心和呕吐的次数

❖ **BXHPT 对顺铂引起水貂厌食的影响**

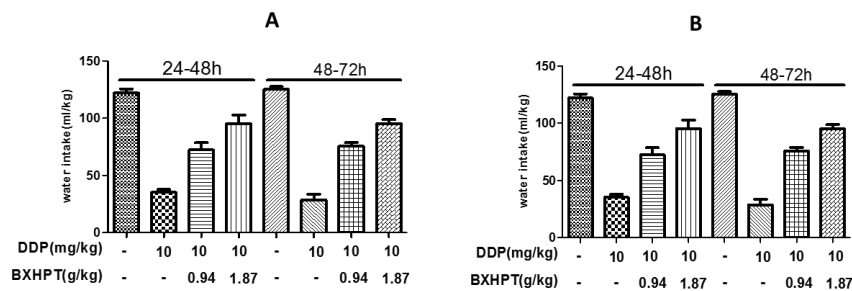


图 6 BXHPT 呈剂量依赖性抑制顺铂引起水貂厌食

A: BXHPT 促进给予顺铂的水貂进食; B: BXHPT 促进给予顺铂的水貂饮水

❖ **BXHPT 对水貂大脑最后区 SP 和 NK1-R 蛋白及 mRNA 水平的影响**



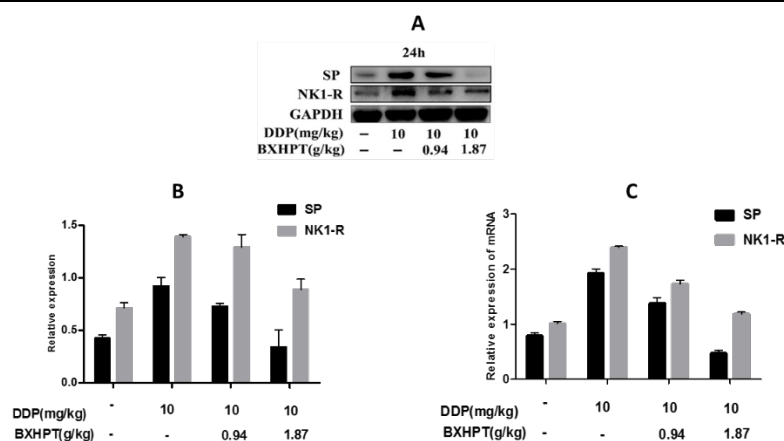


图 7 BXHPT 呈剂量依赖性抑制顺铂引起的水貂大脑最后区 SP 和 NK1-R 的表达水平
A: western blot 法检测 BXHPT 对 SP 和 NK1-R 蛋白表达水平影响的代表图; B: western blot 法检测 BXHPT 对 SP 和 NK1-R 蛋白表达水平影响的定量图; C: q-PCR 法检测 BXHPT 对 SP 和 NK1-R mRNA 表达水平影响的定量图

❖ BXHPT 对水貂大脑最后区 NK1-R 下游 p-ERK 和 p-PKA 水平的影响

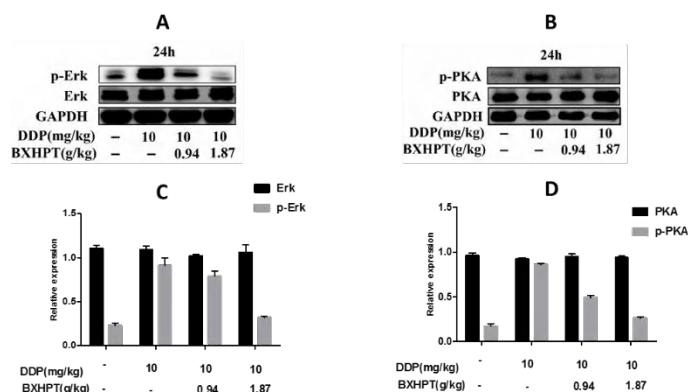


图 8 BXHPT 呈剂量依赖性抑制顺铂引起的水貂大脑最后区 p-ERK 和 p-PKA 的表达水平
A: western blot 法检测 BXHPT 对 ERK 和 p-ERK 蛋白表达水平影响的代表图; B: western blot 法检测 BXHPT 对 ERK 和 p-ERK 蛋白表达水平影响的定量图; C: western blot 法检测 BXHPT 对 PKA 和 p-PKA 蛋白表达水平影响的代表图; B: western blot 法检测 BXHPT 对 PKA 和 p-PKA 蛋白表达水平影响的定量图

❖ 整体模型血液中潜在活性成分的发现

国内外未见水貂血液中半夏厚朴汤潜在活性成分的报道,课题组利用实验室建立的顺铂引起的水貂延迟性呕吐模型,分析半夏厚朴汤给药组和模型组血液高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱,并用标准品进行比对,初步鉴定出可能来自半夏厚朴汤的 5 个差异峰 (如图 9)。



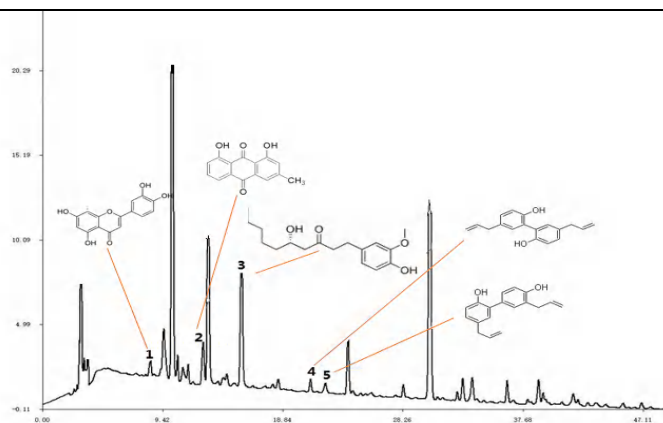


图 9 初步确定入血的 5 个半夏厚朴汤中的成分

标准品比对及 UPLC-MS/MS 鉴定结果：1：木犀草素；2：大黄酚；3：6-姜酚；4：厚朴酚；5：和厚朴酚；

2、工作条件

（包括已具备的实验条件，尚缺少的实验条件和拟解决的途径）

申请者实验室是江苏省方剂研究重点实验室，所在学科是国家中医药管理局重点学科、江苏省重点学科、国内早期博士授权点之一。长期以来，承担了多项国家和部省级科研任务，在各类项目的实施过程中，已经建立了设备条件精良的细胞室、分子生物学实验室以及标准化动物实验中心。

3、个人简介

（包括申请人的学历和研究工作经历，在国内外学术组织、刊物及国际性学术会议任职情况，近期已发表与本项目有关的主要论著目录和获得学术奖励情况，正在承担、参加或完成的科研项目情况等）

（1）申请人简介，大学开始受教育经历和研究工作经历

1994.9—1996.7 安徽中医学院，专科；1999.9---2002.7 南京中医药大学攻读方剂学专业硕士学位；2004.9---2008.6 南京中医药大学方剂学专业博士学位。1996，8—1999.8，安徽宣城市中医院从事中医临床工作。2002.8---至今 南京中医药大学教学、科研工作，从事与肿瘤相关的方剂配伍理论与临床研究。



201712873-SBK2017022661

(2) 在国内外学术组织、刊物及国际性学术会议任职情况

(3) 近期已发表与本项目有关的主要论著目录, 要求详细列出所有作者、论著题目、期刊名或出版社名、年、卷(期)、起止页码等

1. 肝之生理特性对肝系病变组方的重要性探析 [J]. 中医学报, 2014, 29(9): 1294 — 1295.
2. 黄仕文, 戴启刚. 乌头赤石脂丸对寒凝胸痹大鼠血液黏度、TXB₂、6-keto-PGF₁α、ET、NO、SOD 及 MDA 的影响. 山西中医学报, 2012, (13) 3: 56
3. 黄仕文, 樊巧玲, 刘华东, 张卫华, 刘学华. 中医药干预化疗呕吐研究思考. 陕西中医学院学报, 2010, 33(6): 141
4. 黄仕文, 袁冬平, 吴颢昕, 樊巧玲. 半夏厚朴汤对化疗呕吐家兔外周血中 EGF 及 Gas 的影响. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 60.
5. 黄仕文, 樊巧玲, 袁冬平, 吴颢昕. 半夏厚朴汤实验及临床研究. 中医药信息, 2009, 26(5): 79.
6. 黄仕文. 脏腑生理特征对临证遣药组方的重要性探析. 时珍国医国药, 2008, 19(10): 2541.
7. 黄仕文. 止呕类方配伍规律探析. 江苏中医药, 2007, 39(12): 53.
8. 黄仕文, 孙世发, 左言富. 抑郁证临床组方规律. 光明中医, 2007, 22(1): 封三.
9. 黄仕文, 樊巧玲. 半夏在方剂中的配伍作用. 中华现代临床医学杂志, 2006, 4(22): 2066.
10. 黄仕文, 张民庆. 痰瘀论治中晚期食管癌初探. 安徽中医学院学报, 2004, 23(1): 7. 第一
11. 黄仕文, 黄仕荣, 张民庆. 自拟星半通膈散治疗痰瘀互结型中晚期食管癌的临床研究. 安徽中医临床杂志, 2003, 15(3): 194-196.



(4) 获得学术奖励情况，须详细列出全部受奖人员、奖励名称等级、授奖年等

(5) 正在承担、参加或完成的科研项目情况，要注明项目的名称和编号、经费额度、起止年月以及进展状态等

- 1.国家自然科学基金。基于“化瘀、开窍”治法的川芎-冰片脑区特异性调控缺血性脑卒中的PK-PD机制研究、81573713、68.4万元 2016.01-2019.12、中药药性及配伍研究、第三、在研
- 2.南京中医药大学课题（省重点学科开放课题）。方剂配伍与脏腑生理特征相关性研究、2万、2013-2015、主持、完成
- 3.江苏省高等教育教改立项研究课题.模拟处方与方证辨识实训平台建设的研究与实践、2011JSJG038、40万、重点项目、第四、完成
- 4.国家自然科学基金项目.黄连酒炙后化学成分组合变化与药性改变相关性研究、8100164/H2805、16万、方剂配伍研究、2011.01-2013.12、第七、完成
- 5.基础医学院课题.半夏厚朴汤对化疗呕吐家鸽胃肠激素和神经递质的影响、08JCQN02、0.5万、2008年—2010年、主持、完成
- 6.国家级十一五支撑项目.中医疾病分类代码等基础标准示范研究、2006BAI21B00. 20万、温里剂、清热剂部分定义标准化研究，2007~2010、第八、完成
7. 江苏省中管局课题.降气化痰法抗化疗呕吐的机制研究、HZ07064、0.5万、2008年—2010年、主持、完成
8. 校级教育课题.基于多层体系结构的方剂歌诀学习与测试平台研究与实现、2007年—2008年、数据库建立与调试、第二、完成
9. 江苏省中管局课题.星半通膈散抗食管癌及其作用机理研究、H05168、自筹、2006年—2008年、排名第三、完成
10. 江苏省中管局课题.抗抑郁证的机理研究、3万、2004年—2007年、排名第五、完成



4、课题组其他主要成员的主要学历、研究工作简历、主要论著、学术奖励以及承担科研项目情况简介

程建明，简历（参加者）

南京中医药大学，药学院，博士，研究员

教育经历

1. 2005/9 - 2011/12，南京中医药大学，中药学，博士，导师：吴皓
2. 1999/9 - 2002/6，南京中医药大学，中药药剂，硕士，导师：刘汉清
3. 1984/9 - 1988/7，南京中医学院，中药学，学士，导师：

科研与学术工作经历

1. 2009/4-至今，南京中医药大学，药学院，研究员
2. 2006/6-2009/3，南京中医药大学，中医药研究院，副研究员
3. 2002/9-2006/5，南京中医药大学，植物药深加工与新药开发中心，助理研究员
4. 1988/8-1999/8，江苏省淮安县药检所，中药室，主管药师

科研项目

1. 江苏省科技厅产学研联合创新资金--前瞻性联合研究项目，BY2014008-01，“崩漏停颗粒”新药临床前研究，2014/07-2017/06，50 万元，在研，主持。
2. 江苏省高校自然科学研究面上项目，13KJD360004，基于“谱效—峰效结合研究技术”研究丹参酚酸类成分效应变化，2013/08-2015/12，已结题，主持。
3. 国家自然科学基金面上项目，81173540，基于代谢组学研究中药注射剂过敏反应及类过敏反应，2012/01-2015/12，58 万元，已结题，主持。
4. 国家自然科学基金面上项目，30672671，支持向量机算法研究中药多糖类成分冷冻干燥变化规律，2007/01-2009/12，22 万元，已结题，主持。

近 5 年发表的论文

(1) Cheng Jian-ming[#], Wang Meng*, Liu Jing, Zhu Li-ping, Xu Rui, Tao Li, Qiao Yan, Shen Jiao, Bai Wen-xia, Mei Sheng-yao, Sun Bao-hai, Toxicity Studies on Danshen Injection in Beagle' s Dog by Repeated iv Injection, BMC Medical Genomics, 2013. 5. 15, 6:46-46.

(2) Cheng Jian-ming[#], Zheng Yun-feng, Peng Guo-ping*, (E)-1-{4-[(E)-3-Chlorobenzylideneamino]phenyl}-3-(3-chlorophenyl)prop-2-en-1-one, Acta Crystallographica Section E-Structure Reports



Online, 2011. 5. 01, 67: 01217-U1266.

(3) **程建明**[#], 葛婷婷, 帅维维, 朱丹凤, 彭国平*, 郑云枫, 丹参滴注液中酚酸类有效成分分离研究, 南京中医药大学学报, 2012. 11. 10, (06): 567-569.

(4) **程建明**[#], 朱丹凤, 帅维维, 蒋宝平, 彭国平*, 丹参滴注液中的过敏物质研究, 南京中医药大学学报, 2013. 9. 10, (05): 476-478.

(5) **程建明**[#], 葛婷婷, 郑云枫*, 丹参滴注液酚酸类成分指纹图谱及其峰归属研究, 时珍国医国药, 2013. 4. 20, (04): 979-982

(6) 彭九曼, 柴尧, 潘旻, **程建明***, 丹参酚酸类成分在受热, PH条件下转化关系, 中国实验方剂学杂志, 2016. 2. 15, 22 (4): 94-97.

(7) 彭九曼, 柴尧, 潘旻, 陈丽叶, 郑云枫, **程建明***, 丹参中酚酸类成分在不同工艺下转化关系, 中国实验方剂学杂志, 2016. 3. 5, (05): 67-70.

(8) 朱丹凤, 帅维维, 蒋宝平, **程建明***, 鱼腥草注射液速发型过敏反应研究, 中华中医药杂志, 2014. 01. 01, (03): 859-861.

(9) Wang Meng, Liu Jing, Zhou Bo, Xu Rui, Tao Li, Ji Meilin, Zhu Liping, Jiang Juan, Shen Jiao, Gui Xiaolong, Gu Leilei, Bai Wenxia, Sun Wu, **Cheng Jianming***, Acute and sub-chronic toxicity studies of Danshen injection in Sprague-Dawley rats, Journal of Ethnopharmacology, 2012. 5. 7, 141(1):96-103.

授权发明专利 (仅不列此项时可删除该标题, 标题序号按实际情况编排)

(1) **程建明**[#], 倪荷芳, 余黎, 刘陶世, 崔小兵, 吴涓, 一种注射液用鱼腥草冻干粉针的制备方法, 2010. 12. 15, 中国, 2008100198568

(2) **程建明**[#], 葛婷婷, 戴小斌, 崔小兵, 余黎, 一种治疗小儿肺炎的中药巴布膏剂的制备方法及其应用, 2013. 09. 25, 中国, ZL 2011 1 0143426. 9

(3) **程建明**[#], 崔小兵, 严令耕, 郑仕中, 嵇晶, 一种治疗肝纤维化的中药复方制剂及其制备方法, 2012. 06. 27, 中国, ZL 20111 0117576. 2

(4) **程建明**[#], 一种用于治疗血栓的中药组合物, 2011. 3. 29, 中国, ZL 2011 1 0077002. 7

(5) **程建明**[#], 倪荷芳, 过伟峰, 余黎, 沈强, 林瑛, 一种降血糖、降血脂的中药组合物及制法和应用, 2009. 12. 23, 中国, ZL 2007 1 0024578. 0

获得学术奖励



程建明 (4/10), 四角蛤蜊深加工综合利用及功能性保健品的研究, 国家海洋局中国海洋学会 中国太平洋学会 中国海洋湖沼学会, 科技进步, 省部二等奖, 2013. 5. 31

嵇晶, 简历 (主要参加者)

南京中医药大学, 科技处药物安全性评价研究中心, 硕士, 实验师

教育经历

2009/09-2012/06, 南京中医药大学, 中药学, 硕士, 导师: 吴皓

2005/09-2009/06, 南京中医药大学, 药学, 学士

科研与学术工作经历

2012/09-至今, 南京中医药大学, 科技处药物安全性评价研究中心, 实验师

科研项目

1. 国家自然科学基金面上项目, 81173540, 基于代谢组学研究中药注射剂过敏反应及类过敏反应, 2012/01-2015/12, 58 万, 已结题, 参加

2. 江苏省科技厅产学研联合创新资金——前瞻性联合研究项目, BY2014008-01, “崩漏停颗粒”新药临床前研究, 2014/01-2017/12, 55 万, 在研, 参加

近 5 年发表的论文

(1) **Jing Ji**, Junyang Hu, Shi-yong Chen, et al., Development and application of a method for determination of nucleosides and nucleobases in *Macraa veneriformis*. *Nature Product Research*. 2013, 34(9), 96-102.

(2) **Jing Ji**, Ling-chong Wang, Hao Wu, et al., Bio-function summary of marine oligosaccharide. *International Journal of Biology*. 3(1), 2011: 74-86.

(3) Rui Liu¹, **Jing Ji**¹, Ling-chong Wang, et al., Characterization of Nucleosides and Nucleobases in *Macraa veneriformis* by HPLC-DAD-MS. *Food Chemistry*. 2012, 2(135), 548-554.

(4) **嵇晶**, 刘睿, 王令充等. 四角蛤蜊抗氧化活性研究. *中国海洋药物*, 2012, 23(1)

授权发明专利

张兴德, 程建明, **嵇晶**等. 一种测定导热系数、共晶点和共熔点的装置.



2010.11.17, 中国, CN200920284822.1

喻斌, 简历 (主要参加者)

南京中医药大学, 药学院, 博士, 副教授

教育经历

2008/09-2012/06, 南京中医药大学, 药学院, 博士, 导师: 方泰惠

2002/09-2005/06, 南京中医药大学, 药学院, 硕士, 导师: 方泰惠

1997/09-2002/06, 南京中医药大学, 药学院, 本科

科研与学术工作经历

2012-至今, 南京中医药大学药学院, 副教授。

科研项目

1. 国家自然科学基金面上项目, 81573713, 基于“化瘀、开窍”治法的川芎-冰片脑区特异性调控缺血性脑卒中的 PK-PD 机制研究, 2016/01-2019/12, 57 万元, 在研, 主持。

2. 主持江苏省自然科学基金面上项目, BK20151564 基于脑区特异性的 PK-PD 关联角度研究川芎嗪-冰片抗脑卒中的配伍机制, 2015/08-2018/07, 10 万, 在研, 主持。

3. 国家自然科学基金项目, 81173547, 基于中医辨证用药特点的侧柏炭凉血止血效应物质及作用机制研究, 2012/01-2015/12, 58 万, 结题, 排名第 5。

4. 参加国家自然科学基金, 81173546, 白芍硫磺熏蒸前后对相关经典方剂疗效、毒性及化学物质基础影响的研究, 2012/01-2015/12, 58 万, 结题, 排名第 5。

5. 国家自然科学基金青年基金项目, 81001651, 基于血脑屏障开放的冰片“引药上行”规律及机制研究, 2011/01-2013/12, 18 万, 结题, 主持。

6. 国家自然科学基金青年基金项目, 81001641, 基于代谢组学的三棱和莪术饮片配伍治疗气滞血瘀证机理研究, 2011/01-2013/12, 20 万, 结题, 排名第 4。

近 5 年发表的论文

(1) 喻斌, 张臻年, 黄仕文, 杨丽, 邹杰, 程海波*, 沈祥春**, 化瘀开窍解郁颗粒对卒中后抑郁的改善作用研究, 中国老年学杂志, 2016, 36(23): 5771-5773.



(2) **Bin Yu**[#], Ming Ruan[#], Zhen-Nian Zhang, Hai-Bo Cheng^{*}, Xiang-Chun Shen^{**}, Synergic effect of borneol and ligustrazine on the neuroprotection in global cerebral ischemia/reperfusion injury: a region-Specificity Study, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016, Article ID 4072809.

(3) **Bin Yu**, Ming Ruan, Xiaoping Dong, Yun Yu, Haibo Cheng^{*}, The mechanism of the opening of the blood - brain barrier by borneol: a pharmacodynamics and pharmacokinetics combination study, Journal of Ethnopharmacology, 2013, 150(3): 1096-1108.

(4) **Bin Yu**, Ming Ruan, Xiao-bing Cui, Jian-Ming Guo, Li Xu, Xiao-Ping Dong, Effects of borneol on the pharmacokinetics of geniposide in cortex, hippocampus, hypothalamus and striatum of conscious rat by simultaneous brain microdialysis coupled with UPLC - MS, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 77: 128 - 132.

(5) **Bin Yu**, Ming Ruan, Lingling Zhou, Li Xu, Taihui Fang, Influence of cyclovirobuxine D on intracellular [Ca(2+)] regulation and the expression of the calcium cycling proteins in rat myocytes, Fitoterapia, 2012, 83(8):1653 - 1665.

(6) **喻斌**, 阮鸣, 董小平, 金路, 瞿红霞, 不同间隔时间冰片处理对大鼠栀子苷脑靶效应的影响, 中国药理学通报, 2012, 28(6):862-866.

(7) Ming Ruan, **Bin Yu**^{*}, Li Xu, Liang Zhang, Jun Long, Xiangchun Shen^{**}. Attenuation of stress-induced gastrointestinal motility disorder by gentiopicroside, from *Gentiana macrophylla* Pall[J]. Fitoterapia, 2015, 103: 265 - 276.

授权发明专利

喻斌, 阮鸣, 程海波, 方泰惠, 许惠琴, 卢金福, 一种含冰片的复方制剂及其制备方法和应用, 2014. 7. 16, 中国, ZL201310216324. 4

获得学术奖励 (仅不列此项时可删除该标题, 标题序号按实际情况编排)

喻斌 (1/9), 心肌重塑病变新关键信号分子机制及药物干预作用, 贵州省科



技厅，贵州科学技术进步奖，三等奖，2017（沈祥春、喻斌、陶玲、梁涛、张彦燕、徐旖旎、罗红、杨钰萍，宋羽）。

范方田，简历（参加者）

南京中医药大学翰林学院，讲师

教育经历

1. 2011/9 - 2014/6, 南京中医药大学，中药学，博士，导师：陆茵
2. 2007/9 - 2010/6, 蚌埠医学院，药理学，硕士，导师：祝晓光
3. 1999/9 - 2004/7, 安徽中医药大学，药学，学士，导师：刘青云

科研与学术工作经历

1. 2014/9-至今，南京中医药大学，翰林学院，讲师
2. 2004/9-2011/6, 合肥职业技术学院，生物系，助教

科研项目

1. 国家自然科学基金青年基金项目，编号 81403260，基于肿瘤血管芽生调控网络剖析丹参酚酸/丹参酮的整合效应，2015/01-2017/12，23 万，在研
2. 南京中医药大学博士人才支持计划，编号 001002007，参芪扶正注射液对低糖微环境下 TIL-T 表达 INF- γ 的影响及物质基础研究，2015/01-2016/12，5 万，在研，主持；

近 5 年发表的论文

(1) FangTian Fan[#], CunSi Shen, Li Tao, Chao Tian, ZhaoGuo Liu, ZhiJie Zhu, YuPing Liu, ChangSong Pei, HongYan Wu, Lei Zhang, Ai-Yun Wang, Shi-Zhong Zheng, Shi-Le Huang, YinLu^{*}, PKM2 regulates hepatocellular carcinoma cellepithelial-mesenchymal transition and migration upon EGFR activation., AsianPac J Cancer Prev, 2014, 15 (5) : 1961-1970

(2) 范方田[#], 沈存思, 裴昌松, 张蕾, 郑仕中, 王爱云, 陆茵^{*}, 肿瘤转移新靶点HOTAIR的研究进展, 肿瘤, 2012, (10) : 842-846

(3) Liwei He, Xianbang Hou, Hongyan Wu, Fangtian Fan^{*} (Corresponding author). Quercetin stimulates mitochondrial apoptosis dependent on activation of endoplasmic reticulum stress in hepatic stellate cells[J]. Pharmaceutical Biology. 2016, 1-10

(4) Hongyan Wu, Fangtian Fan[#], Zhaoguo Liu, Feng Zhang, Yuping Liu, Zhonghong Wei, Cunsi Shen, Yuzhu Cao, Aiyun Wang, Yin Lu^{*}, The Angiogenic Responses Induced by Release of Angiogenic Proteins



from Tumor Cell-Activated Platelets Are Regulated by Distinct Molecular Pathways, IUBM Life, 2015, 67 (8) : 626-633

(5) Hongyan Wu, **Fangtian Fan**[#], Cunsu Shen, Zhaoguo Liu, Aiyun Wang, Yin Lu^{*}, Norcantharidin Reverses HGF-Induced Resistance to EGFR-TKIs in EGFR Mutant Lung Cancer Cells via Met/PI3k/Akt Pathway, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2015, 76 (2) : 307-315

(6) Li Tao[#], **Fangtian Fan**, Yuping Liu, Weidong Li, Lei Zhang, Junshan Ruan, Cunsu Shen, Xiaobo Sheng, Zhijie Zhu, Aiyun Wang, Wenxing Chen, Shile Huang, Yin Lu^{*}, Concerted suppression of STAT3 and GSK3 β is involved in growth inhibition of non-small cell lung cancer by Xanthatin., PLoS One, 2013, 8 (11): e81945-e81945

(7) Zhaoguo Liu[#], **Fangtian Fan**, Aiyun Wang, Shizhong Zheng, Yin Lu^{*}, Dll4-Notch signaling in regulation of tumor angiogenesis., Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2014, 140 (4): 525-536

(8) Chang-Song Pei[#], Hong-Yan Wu, **Fan-Tian Fan**, Yi Wu, Cun-Si Shen, Li Qun Pan^{*}, Influence of curcumin on HOTAIR-mediated migration of human renal cell carcinoma cells, Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15 (10): 4239-4243

(9) Cunsu Shen[#], Siliang Wang, Yunlong Shan, Zhaoguo Liu, **Fangtian Fan**, Li Tao, Yuping Liu, Liang Zhou, Changsong Pei, Hongyan Wu, Chao Tian, Junshan Ruan, Wenxing Chen, Aiyun Wang, Shizhong Zheng, Yin Lu^{*}, Chemomodulatory efficacy of lycopene on antioxidant enzymes and carcinogen-induced cutaneous carcinoma in mice., Food & Function, 2014, 5 (7): 1422-1431

(10) Lei Zhang[#], Li Tao, Junshan Ruan, Weidong Li, Yu Wu, Linggeng Yan, Feng Zhang, **Fangtian Fan**, Shizhong Zheng, Aiyun Wang, Yin Lu^{*}, Xanthatin induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma MKN-45 cells., Planta Medica, 2012, 78 (9): 890-895

(11) 吴红雁[#], **范方田**, 刘兆国, 田超, 沈存思, 韦忠红, 曹玉珠, 孙丽华, 郑仕中, 王爱云, 陆茵^{*}, 转录因子叉头框 Q1 与肿瘤相关性的研究进展, 肿瘤, 2014,



(07): 662-667

(12) 裴昌松[#], 范方田, 武艺, 沈存思, 潘立群*, 肾癌细胞系中 HOTAIR 表达的测定及稳定高表达 HOTAIR 肾癌细胞株的建立, 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, (05): 548-552

(13) 田超[#], 范方田, 陈文星, 王爱云, 郑仕中, 江国荣, 陆茵*, 血管紧张素 II 及其 1 型受体在肿瘤血管生成中的作用研究进展, 中国药理学通报, 2014, (05): 608-611

(14) 刘兆国[#], 范方田, 赵林钢, 吴红雁, 陶羽, 郑仕中, 王爱云, 陆茵*, 肿瘤血管生成新靶点 LRG1 研究进展, 中国药理学通报, 2013, (01): 6-9

(15) 田超[#], 严晶, 范方田, 孙志广, 陆茵*, 利用知识发现工具 Arrowsmith 探讨金荞麦及其有效成分与 IBS 的相关性, 中药药理与临床, 2014, (06): 190-193。

(16) 刘兆国[#], 范方田, 韦忠红, 王爱云, 陈文星, 郑仕中, 陆茵*, BRAF 突变的黑色素瘤耐药机制研究进展, 中国药理学通报, 2013, (10): 1349-1351

(17) 沈存思[#], 范方田, 陶丽, 陈文显, 王爱云, 陆茵*, 抑癌基因 PTEN 与肿瘤血管生成研究进展, 中国药理学通报, 2013, (05): 597-600

(18) 陶丽[#], 范方田, 刘玉萍, 沈存思, 王爱云, 陈文星, 陆茵*, 中药及其组分配伍的整合作用研究实践与进展, 中国药理学通报, 2013, (02): 153-156

谭峰, 简历 (主要参加者)

南京中医药大学基础医学院, 方剂学, 讲师

教育经历

1. 2008/9 - 2011/6, 南京中医药大学, 方剂学, 博士, 导师: 樊巧玲
2. 2005/9 - 2008/6, 福建中医学院, 方剂学, 硕士, 导师: 阮时宝
3. 1998/9 - 2003/6, 山东中医药大学, 针推专业, 学士,

科研与学术工作经历

1. 2011/9-至今, 南京中医药大学, 基础医学院, 讲师

科研项目

格式: 项目类别, 批准号, 名称, 研究起止年月, 获资助金额, 项目状态 (已结题或在研等), 主持或参加

1. 国家自然科学基金面上项目, 81573874, 左归丸“补肾-益精填髓-壮骨”调控骨耦联治疗绝经后骨质疏松症的分子机制及配伍机理研究, 2016/01-2019/12, 4



8 万，在研，参研（排名第二）

2. 南京中医药大学国家基金预研基金项目，13XYYZ2，基于 BMP2/smad 与 OPG/RANKL 交互信号通路探讨右归丸调控 BMSCs 治疗绝经后骨质疏松症的效应机制及配伍规律，2014/01-2015/12，7 万元，已结题，主持。

3. 国家自然科学基金青年项目，81202880，香附四物汤干预气滞血瘀证原发性痛经的功物质基础研究，2013/01-2015/12，22 万，已结题，参加（排名第五）。

4. 江苏省重点学科方剂学学科开放课题，2011FJ007，左归丸干预去卵巢骨质疏松模型大鼠 BMSCs 增殖及 C-fos mRNA 表达的研究，2013/01-2014/02，2 万元，已结题，主持。

5. 江苏省中医药局科技项目，LZ11192，右归丸干预原发性骨质疏松症骨髓间充质干细胞增殖分化的效应及配伍机理研究，2012/01-2013/12，3 万元，已结题，参加（排名第二）。

6. 南京中医药大学国家基金预研基金项目，XYY04，补肾法干预 Hedgehog 信号通路调控骨髓间充质干细胞(BMSCs)分化治疗骨质疏松症作用机制研究，2012/01-2013/12，5 万元，已结题，参加(排名第二)。

近 5 年发表的论文

(1) 谭峰[#]，樊巧玲，卞玉群，管华全，左、右归丸对去卵巢骨质疏松症大鼠模型骨密度及骨代谢的影响. 中国实验方剂学杂志，2015，(09):137—140.

(2) 谭峰[#]，李飞，樊巧玲，管华全，师法仲景探索中医临证研究之路，中医药信息. 2014，(05)143-144.

牛笛，简历（参加者）

南京中医药大学基础医学院，方剂学，讲师

教育经历

1. 2013/09-2016/06，上海中医药大学，中医儿科学专业，博士，导师：孙远岭

2. 2010/09-2013/06，广州中医药大学，中西医结合内科专业，硕士，导师：韦芳宁

3. 2005/09-2010/06，湖南中医药大学，中西医结合临床医学专业，学士

科研与学术工作经历

1. 2016/09—至今，南京中医药大学，讲师

科研项目

1. 国家自然科学基金海外及港澳学者合作研究基金项目，No. 81528023、钩藤碱调节 DAT 基因敲除 ADHD 模型小鼠 CSTC 环路多巴胺代谢机制研究、2016/01-2017/12、24.00 万元、在研、参加

2. 上海市研究生创新计划科研项目，No. A2—P3550809、儿童青少年肥胖综合



干预治疗效果的系统评价、2014/03-2016/03、0.5 万元、结题、主持

3. 上海市重性精神病重点实验室开放科研项目, No. 13dz2260500、儿童外周静脉血 T 淋巴细胞 mTOR 通路相关信号分子表达与 ADHD 发病相关性研究、2014/01-2015/12、23.00 万元、结题、参加

4. 上海市高校暑期社会实践活动重点项目, No. A1-N1401010808、区域协同医疗在儿童专科的应用价值、2014/09-2014/09、0.2 万元、结题、主持

5. 上海市高校“知行杯”社会实践重点项目, No. A1-N1501010830、以家庭为单位的儿童青少年中医饮食营养的文化宣传和产业发展的 SWOT 分析、2015/06-2015/11、0.2 万元、结题、主持

6. 国家自然科学基金青年项目, No. 81202724、宁动颗粒调节抽动-秽语综合征模型大鼠皮质-纹状体-丘脑环路多巴胺代谢机制研究、2013/01-2015/12、23.00 万元、结题、参加

7. 广东省科技厅, No. 20118031800320 岭南地区中医体质分子生物学研究、2012/01-2013/12/10.00 万元、结题、参加

近 5 年发表的论文

1. 牛笛, 孙远岭, 王倩. 深化医药卫生体制改革下区域协同医疗在儿童专科应用价值的研究[J]. 中国社会医学杂志, 2016, (01):6-9.

2. 牛笛, 孙远岭, 李继君. 中医心理学视域下对心身疾病的探析[J]. 环球中医药, 2016, (01):92-94.

3. 牛笛, 孙远岭, 王倩. 浅谈钱乙《小儿药证直诀》脾胃论思想[J]. 四川中医, 2015, (03):17-19.

4. 牛笛, 孙远岭, 李继君. 家长对儿科协同医疗服务选择倾向影响因素分析[J]. 广东医学, 2016, (05):190-192.

获得学术奖励 (仅不列此项时可删除该标题, 标题序号按实际情况编排)

牛笛 (1/2), 深化医药卫生体制改革下区域协同医疗在儿童专科应用价值的研究, 全国高等中医药院校青年研究会, 第三届“远志杯”全国高等中医药院校大学生课外学术科技作品竞赛, 三等奖, 2015 (牛笛, 王倩)

张洪江, 简历 (参加者)

南京中医药大学, 翰林学院药理学系, 讲师

教育经历

1. 2006/09-2010/11, 南京大学, 化学与化工学院化学专业, 博士, 导师: 马晶



2. 2000/09–2003/04, 同济大学, 化学系分析化学专业, 硕士, 导师: 丛培盛
3. 1996/09–2000/07, 同济大学, 化学系应用化学专业, 学士

科研与学术工作经历

1. 2010/09–至今, 南京中医药大学, 翰林学院, 从事计算化学及药物虚拟筛选等
2. 教学科研工作。

近 5 年发表的论文

(1) **Zhang Hongjiang**, Malrieu Jean-Paul, Ma Haibo, Ma Jing*. Implementation of renormalized excitonic method at ab initio level. Journal of Computational Chemistry. 2012; 33(1):34–43.



三、相关附件材料

- 1、项目申请人学位证书复印件或专业技术职称复印件；
- 2、身份证复印件；
- 3、项目申请人正式在编证明，包括 2017 年 1 月份工资、公积金及养老、医疗、失业保险金等材料；
- 4、近期已发表与本项目有关的主要论著扫描件；
- 5、获得学术奖励情况证书扫描件；
- 6、其他相关附件材料。

说明：

1、各申报单位根据实际情况提供以上附件材料，并填写《项目附件审查表》，学位、职称、身份证复印件、在编证明等材料（附件 1、2、3 项无需上传系统），报主管部门审查；

2、论著、学术奖励等证明材料须作为附件上传。（如果篇幅过大，可以只提供封面、摘要、目录、版权页等扫描件；如数量较多，可以只提供最高水平或最具代表性的附件）



四、审核推荐

承担单位	<div>法人代表（签章）：</div> <div></div> <div>（公章）</div> <div>年 月 日</div>
合作单位	<div>法人代表（签章）：</div> <div></div> <div>（公章）</div> <div>年 月 日</div>
主管部门 （市、县、国家或省高新区 科技局、省有关厅局）	<div></div> <div>（公章）</div> <div>年 月 日</div>



江苏省科技项目合同

计划类别 基础研究计划(自然科学基金)——面上项目

项目编号 BK20181424

项目名称 基于 SP/NK-1 通路研究半夏厚朴汤干预顺铂所致延迟性呕吐机制

项目类别 无

起止年限 2018 年 7 月 至 2021 年 6 月

项目负责人 黄仕文 电话及手机 13770952018 025-85811929

项目联系人 陈英杰 电话及手机 13813945753 025-85811065

承担单位 南京中医药大学

单位地址 南京市仙林大学城仙林大道 138 号 邮政编码 210023

项目主管部门 省教育厅——南京中医药大学

江苏省科学技术厅

二〇一八

委托单位（甲方）：江苏省科学技术厅

法定代表人：王秦

地址：南京市北京东路 39 号

邮政编码：210008

承担单位（乙方）：

承担单位：南京中医药大学

法定代表人：胡刚

地址：南京市仙林大学城仙林大道 138 号 邮政编码：210023

项目负责人：黄仕文

电话：13770952018 传真：

电子邮件：hshw_66@163.com

保证单位（丙方、项目主管部门）：南京中医药大学

法定代表人（科技局局长）：胡刚

地址：南京市仙林大学城仙林大道 138 号 邮政编码：210023

甲方批准由乙方承担省科技计划《基于 SP/NK-1 通路研究半夏厚朴汤干预顺铂所致延迟性呕吐机制》项目的研究开发或建设任务。依据《中华人民共和国合同法》的规定，为明确甲、乙、丙三方的权利和责任，保证项目的顺利实施和科研经费的合理使用，签订本合同。

一、项目的目标和主要研究内容

要解决的主要技术难题和问题，项目研究的创新点和内容等。

- 1、cAMP/PKA、Src/ERK1/2 在 SP/NK1-R 介导的水貂大脑最后区细胞兴奋中的作用
- 2、半夏厚朴汤及入血成分抑制顺铂引起水貂延迟性呕吐的作用及机制研究
- 3、利用干预手段，反证半夏厚朴汤及单体成分作用的主要通路及靶分子
- 4、分析半夏厚朴汤多成分多靶点作用于 SP/NK1-R 系统抑制顺铂引起延迟性呕吐的机制

二、项目验收内容和考核指标

包括 1、主要技术指标：如形成的专利、新技术、新产品、新品种、新装置、论文、专著等数量、指标及其水平等；2、主要经济指标：如技术及产品所形成的市场规模、效益等；3、项目实施中形成的示范基地、中试线、生产线及其规模等；4、其他应考核的指标。

cAMP/PKA、Src/ERK1/2 在 SP/NK1-R 介导的水貂大脑最后区细胞兴奋中的作用半夏厚朴汤及入血成分抑制顺铂引起水貂延迟性呕吐的作用及机制研究利用干预手段，反证半夏厚朴汤及单体成分作用的主要通路及靶分子分析半夏厚朴汤多成分多靶点作用于 SP/NK1-R 系统抑制顺铂引起延迟性呕吐的机制 1、建立顺铂引起水貂延迟性呕吐模型水貂脑片培养，水貂大脑最后区神经细胞培养采用 ELISA 法检测血浆、脑脊液及脑组织中 SP 的水平脑片和原代细胞神经元膜电位变化采用膜片钳检测 NK1-R 及下游信号的水平、蛋白质的表达以及表达部位和量 2、发表学术论文 3-4 篇，其中在国际学术刊物发表 SCI 论文 1-2 篇。3、从 SP/NK1-R 角度系统探索中药治疗顺铂引起延迟性呕吐的机制，为开发针对顺铂等化疗药物引起延迟性呕吐的中药提供新思路 4、指导本科生毕业设计 8 名培养青年教师 1 名

三、项目进度及考核指标

时间	考核指标
2018 年 7 月 至 2018 年 12 月	离体培养大脑最后区脑片及神经元,考察信号通路特异性抑制剂对神经元细胞兴奋性的影响,并采用分子生物学的方法进行验证,同时运用 SP/NK1-R 下游相关信号特异性抑制剂在体验证离体的结果
2019 年 1 月 至 2019 年 6 月	BXHPT 对大脑最后区神经元兴奋性及 SP/NK1-R 系统相关蛋白的水平和活性的影响,并进一步研究相关的信号通路,以揭示其可能的分子机制。
2019 年 7 月 至 2019 年 12 月	在离体的细胞培养体系中,采用特异性抑制剂和基因沉默等干预手段,观察 BXHPT 含药血清及入血单体成分作用受到的影响。撰写并发表论文以及项目中期汇报。
2020 年 1 月 至 2020 年 6 月	在整体模型上,用相应的特异性中和抗体和抑制剂处理,进一步考察该分子在 BXHPT 效应中的作用,从而验证其作用的主要通路和靶分子。
2020 年 7 月 至 2020 年 12 月	完善细胞实验剩余部分工作,深入分析 BXHPT 中多成分多靶点影响 SP/NK1-R 系统调控顺铂引起延迟性呕吐的机制。

<p>2021 年 1 月 至 2021 年 6 月</p>	<p>继续完善实验剩余部分，整理资料，项目结题。</p>
--	------------------------------

四、项目承担单位、参加单位及主要研究开发人员

(一) 项目承担单位、参加单位

项目承担单位	南京中医药大学		
项目合作 单位	单位名称		国家或 地区
	单位一		
	单位二		
	单位三		
	单位四		
	单位五		
境外合作 单位	单位一		
	单位二		

(二) 项目主要研究开发人员

姓名	性别	出生年份	职称	学位	从事专业	本项目工作时间(%)	工作单位	项目分工	国别	身份证件号码
项目负责人										
黄仕文	男	1973	副高	博士	方剂学	80	南京中医药大学	研究方案, 设计实施, 动物实验	中国	342501197312090814
项目骨干 (不超过 5 人, 不含项目负责人)										
范方田	男	1981	中级	博士	药理学	80	南京中医药大学	RNA 干扰试验	中国	340822198102193912
喻斌	男	1978	副高	博士	药理学	80	南京中医药大学	动物模型建立	中国	362330197812020518
程建明	男	1965	正高	博士	中药学	80	南京中医药大学	项目指导, 含药血清制备	中国	320106196512150412
谭峰	男	1978	中级	博士	方剂学	80	南京中医药大学	神经细胞培养	中国	370702197810100713
嵇晶	女	1986	中级	硕士	中药学	80	南京中医药大学	膜片钳检测	中国	320703198608061521
参加人员 (不超过 10 人)										
张洪江	男	1979	中级	博士	化学	20	南京中医药大学	脑片培养, ELASA 法检测	中国	320881197904302414
牛笛	女	1987	中级	博士	方剂学	20	南京中医药大学	动物实验	中国	210204198701070741
孙友发	男	1965	正高	学士	中药学	20	南京中医药大学	动物实验	中国	320121196506101538

吴红雁	女	1980	中级	博士	药理学	20	南京中医药大学	多成分多靶点 相关性分析	中国	342622198010156832
韦小翠	女	1992	其他	学士	中药学	30	南京中医药大学	动物实验	中国	452225199208154880
杨书婷	女	1992	其他	学士	中药学	30	南京中医药大学	动物实验	中国	410928199202252728

注：项目负责人及项目骨干按申报书带入且不可修改

五、项目经费预算

经费单位: 万元

(一) 项目经费来源预算

	预算数	2018 年	2019 年	2020 年	备注
合计	10	10	0		
1、省拨款	10	10	0		
2、部门、地方配套	0				
3、承担单位自筹	0				
4、其他来源	0				

经费单位: 万元

(二) 项目经费支出预算

	预算数	其中: 省拨款	备注
(一) 直接费用	7.7	7.7	
1、设备费			
2、材料费/测试化验加工费/燃料动力费	5.65	5.65	用于动物、试剂购买及实验检测
3、差旅费/会议费/国际合作交流费	0.55	0.55	参加学术活动交通及差旅费
4、劳务费/专家咨询费			
5、其他费用	1.5	1.5	文献检索、论文版面及研究生劳务费
(二) 间接费用	2.3	2.3	
6、管理费	0.69	0.69	依托单位项目管理
7、绩效支出	1.61	1.61	项目绩效管理支出
合计	10	10	

八、签订合同各方

甲方：

法定代表人或委托代理人（签字）



项目主管处室负责人（签字）



项目主管处室经办人（签字）



乙方：

承担单位法定代表人或委托代理人（签字）

胡刚

项目负责人（签字）

黄正

开户银行、帐号



丙方：

法定代表人或委托代理人（签字）

胡刚



江苏省科技计划项目验收证书

苏科验字〔2022〕第 0355 号

计划类别：基础研究计划（自然科学基金）--面上项目

项目编号：BK20181424

项目名称：基于SP/NK-1通路研究半夏厚朴汤干预顺铂所致延迟性呕吐机制

承担单位：南京中医药大学

项目负责人：黄仕文

发证日期：二〇二二年一月



扫码查验



项目参加人员

嵇晶【南京中医药大学】 喻斌【南京中医药大学】 程建明【南京中医药大学】 谭峰【南京中医药大学】 范方田【南京中医药大学】 张洪江【南京中医药大学】 牛笛【南京中医药大学】 孙友发【南京中医药大学】 吴红雁【南京中医药大学】 丰小翠【南京中医药大学】 杨书婷【南京中医药大学】

项目验收委员会名单

姓名	工作单位	从事专业	职务	职称
杨勇	中国药科大学	药学	教授	教授
姚红红	东南大学	药理学	教授	教授
连晓媛	浙江大学	中药药理学	教授	教授
孙洋	南京大学	药理学	教授	教授
曹岗	浙江中医药大学	中药学	教授	教授

项目验收意见

2021年10月5日，南京中医药大学组织专家对黄仕文老师承担的江苏省自然科学基金项目/江苏省重点研发计划（社会发展）项目“基于SP/NK-1通路研究半夏厚朴汤干预顺铂所致延迟性呕吐机制”（项目编号：BK20181424）进行了会议验收，验收委员会听取了项目组的研究工作总结汇报，经过质询和讨论，形成如下验收意见：

- 1、项目组提交的验收资料齐全、数据翔实，符合验收要求。
 - 2、本项目采用腹腔注射顺铂构建水貂呕吐模型证，通过测定用半夏厚朴汤干预的效应相关指标（以呕吐和脑干最后区P物质和蛋白水平为主），阐释半夏厚朴汤用于延迟性呕吐可能的作用机制，另一方面，从SP/NK1-R的系统角度探索降气化痰中药干预顺铂延迟性呕吐的途径和机制，为开发治疗顺铂等化疗药物引起延迟性呕吐的中药提供新思路，也有助于揭示降气化痰法治疗化疗相关性呕吐的科学内涵。
 - 3、该项目在国内外核心期刊发表学术论文3篇。培养硕士研究生2名。
 - 4、项目经费专款专用，使用合理规范。
- 验收委员会认为该项目完成了合同规定的各项任务 and 指标，一致同意该项目通过验收。