

· 数据挖掘 ·

## 甘遂与甘草反药相互作用的网络药理学分析

刘洪, 范欣生\*

(南京中医药大学基础医学院, 南京 210023)

**[摘要]** **目的:**采用网络药理学方法,探讨甘遂和甘草反药配伍后药效/毒性成分的分子作用机制,分析其多成分-多靶点-多通路相互关系。**方法:**针对甘遂甘草的主要药效/毒性成分——甘遂萜酯 A,甘遂萜酯 B,甘遂萜酯 C,甘草酸,甘草苷,异甘草苷和刺芒柄花素,依据 PharmMapper 数据库构建多成分-蛋白网络,获取的靶点信息利用博奥数据库 MAS 3.0 系统得到相应通路,通过 Cytoscape 软件建立成分-靶点-通路网络模型。**结果:**网络分析表明,甘遂、甘草配伍药效/毒性成分涉及神经-免疫-内分泌-泌尿等相关的 61 条通路。在调节水和电解质排泄方面药效相反,与肾素血管紧张素系统、类固醇生物合成等通路有关;在抗肿瘤、抗炎、调节免疫方面发挥协同作用,涉及 33 条通路;两者配伍存在基于肝药酶代谢的毒性增强现象。**结论:**甘遂与甘草配伍存在药效降低或药效协同和毒性改变等多种情况,体现了中药配伍多成分、多靶点、多途径作用模式,该研究为深入探讨甘遂甘草配伍的分子作用机制提供了参考。

**[关键词]** 甘遂; 甘草; 配伍; 成分; 靶点; 网络药理学

**[中图分类号]** R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)09-0186-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016090186

## Network Pharmacology on Interaction of Effective or Toxic Components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

LIU Hong, FAN Xin-sheng\*

(Basic Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the molecular mechanisms of effective or toxic components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by using network pharmacology method, and to investigate the correlations between multi-compounds, multi-targets and multi-pathways. **Method:** The main effective or toxic components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, including kansuine A, kansuine B, kansuine C, glycyrrhizic acid, liquiritin, isoliquiritin, formononetin were collected to build multi-components-proteins networks based on PharmMapper database. The obtained targets information was used to obtain corresponding pathways by using Boao MAS 3.0 system, and then Cytoscape software was used to construct components-targets-pathways network model. **Result:** The network analysis showed that, action of the effective or toxic components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma involved 61 pathways related to nerve-immune-endocrine-urinary. Contrary to their efficacy in adjusting water and electrolyte excretion, they were related with renin-angiotensin system, steroids biosynthesis and other pathways. Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma had synergistic effects in anti-tumor, anti-inflammatory and immune regulation, covering 33 pathways. Compatibility of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma would enhance toxicity concerned to inhibition or induction of hepatic drug enzyme. **Conclusion:** Compatibility of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

**[收稿日期]** 20151203(013)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB50530-01);江苏省优势学科建设项目(PAPD);江苏省方剂高新技术研究重点实验室、江苏省中药资源产业化过程协同创新中心开放课题项目(FJGJS201506)

**[第一作者]** 刘洪,博士,副研究员,从事方剂组方理论与效应研究,Tel:13814541776,E-mail:917531472@qq.com

**[通讯作者]** \*范欣生,博士,研究员,从事方剂组方理论与效应研究,Tel:02585811945,E-mail:fanxsh126@126.com

could result in decreased or synergistic effect and would change the toxicity. This reflected the compatibility mode of multi-compounds, multi-targets and multi-pathways for traditional Chinese medicines. It may provide reference for deeper study on molecular mechanism of compatibility of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma.

**[Key words]** Kansui Radix; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; compatibility; components; targets; network pharmacology

“十八反”是传统中药配伍禁忌理论的核心内容。从古代本草文献到近代《中国药典》等均注明甘草与甘遂等逐水药不宜同用,但也有甘草与甘遂同方配伍的方剂与应用。前期研究发现,古代方剂中甘草与甘遂、芫花、大戟反药同方配伍方剂共 97 首<sup>[1]</sup>,现代方剂中上述反药同方配伍方剂共 158 首,其中甘草与甘遂配伍最多。目前甘草与甘遂同方配伍研究集中于药效及机制、效应成分、宜忌条件等方面。

网络药理学是基于系统生物学的新学科,从整体观角度认识药物与机体的相互作用并指导新药发现,以达到减毒增效的目的。网络药理学与中药方剂注重多组分配伍、多靶点及系统调控思想十分吻合。本文运用网络药理学方法,分析甘遂与甘草的主要药效/毒性成分,建立甘遂-甘草多靶点网络模型,并将甘遂与利尿药呋塞米的靶点、通路进行对比研究,探讨甘遂与甘草配伍后所产生的相反相成或相激相成作用的特点和机制,评估其安全性,以丰富和发展中药配伍禁忌理论。

## 1 方法

本文以《中国药典》,《中华本草》,《中药大辞典》等文献为基础,筛选甘遂、甘草的主要药效/毒性成分。选择高效利尿药呋塞米与甘遂、甘草调节水和电解质作用进行对照。应用 ChemBioDraw 软件绘制各成分的分子结构,通过 PharmMapper 数据库进行靶标预测 (<http://59.78.96.61/pharmmapper/>)。由于检索到的药物靶标存在命名不规范等问题,因此使用 Uniprot 数据库中 UniProtKB 搜索功能 (<http://www.uniprot.org/>),将检索得到的所有与人类相关的靶点蛋白校正为其官方名称。获取的与药效/毒性成分相关的蛋白信息在博奥数据库 MAS 3.0 系统中进行通路预测 (<http://bioinfo.capitalbio.com/mas3/>),形成成分-靶点-通路数据库,采用 Cytoscape 软件构建多靶点网络模型<sup>[2]</sup>。通过网络分析,探讨甘遂甘草配伍后其药效/毒性成分所产生的相反或协同作用。

## 2 结果

### 2.1 甘遂、甘草主要药效/毒性成分筛选 甘遂具

有泻水逐饮、消肿散结的功效,用于水肿胀满、胸腹积水、痰饮积聚、气逆咳喘、二便不利、风痰癫痫、痈肿疮毒<sup>[3]</sup>。过量使用易引起腹痛、腹泻,严重时会出现剧烈呕吐、血压下降、脱水和呼吸衰竭等症状<sup>[4]</sup>。甘遂化学成分主要为二萜和三萜类化合物,多数药效成分也是其主要的刺激性和毒性成分。甘草功效为补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药,具有保肝、抗炎、抗菌、抗病毒、镇咳、抗疟、抗氧化、抗癌、免疫调节、降糖和抗血小板凝集等多种药理活性<sup>[5]</sup>。甘草中共分离得到 300 多种黄酮类混合物,20 余种三萜皂苷类化合物及多糖成分。

通过网络模拟、文献报道以及课题组前期研究<sup>[6-10]</sup>,确定甘遂 3 个成分:甘遂萜酯 A (kansuine A),甘遂萜酯 B (kansuine B),甘遂萜酯 C (kansuine C);甘草 4 个成分:甘草酸 (glycyrrhizic acid),甘草苷 (liquiritin),异甘草苷 (isoliquiritin),刺芒柄花素 (formononetin) 为主要药效/毒性成分,进行网络药理学分析。

### 2.2 甘遂、甘草主要药效/毒性成分靶点通路信息

甘遂 3 个成分作用于 64 个靶点,58 条通路;甘草 4 个成分作用于 57 个靶点,37 条通路。两者伍用频数较高的靶点为:mitogen-activated protein kinase 1 (丝裂原活化蛋白激酶 1,27 次),RAC-alpha serine/threonine-protein kinase (RAC- $\alpha$  丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,25 次),dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1 (双重特异性丝裂原活化蛋白激酶激酶 1,24 次),Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1 (Ras 相关 C3 肉毒杆菌毒素底物 1,17 次),tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1 (1 型酪氨酸蛋白磷酸酶非受体,17 次),glycogen synthase kinase-3 beta (糖原合成酶激酶-3 $\beta$ ,16 次)等。

两药共涉及 61 条通路,共同通路为 34 条,甘遂特有通路 25 条,甘草特有通路 3 条,见表 1。34 条共同通路中,与信号传导相关通路 9 条: ErbB 信号通路, mTOR 信号通路, MAPK 信号通路, Wnt 信号通路, VEGF 信号通路, JAK-STAT 信号通路, GnRH 信号通路, Toll 样受体信号通路, P53 信号通路; 与免疫系统相关通路 7 条: Fc $\epsilon$ RI 信号通路, T 细胞受

体信号通路, B 细胞受体信号通路, 原发性免疫缺陷, 自然杀伤细胞介导的细胞毒作用, 白细胞跨内皮迁移, 抗原加工和呈递; 与代谢相关通路 6 条: 外源性物质的细胞色素 P450 代谢、细胞色素 P450 药物代谢、谷胱甘肽代谢、酪氨酸代谢、花生四烯酸代谢、硫代谢; 与细胞过程相关通路 6 条: 焦点粘连、黏着连接、长时程增强、肌动蛋白细胞骨架

调节、细胞周期、细胞凋亡; 与内分泌系统相关通路 4 条: PPAR 信号通路、肾素血管紧张素系统、雄激素和雌激素代谢、类固醇生物合成; 与疾病相关通路 2 条: 小细胞肺癌、非小细胞肺癌。采用 Cytoscape 软件建立甘遂-甘草主要药效/毒性成分-靶点-通路网络模型, 7 个成分与多靶点及多条通路间的关联关系见图 1。

表 1 甘遂、甘草主要药效/毒性成分-靶点-通路

Table 1 Components-targets-pathways of main effective or toxic components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

| 药物 | 主要活性成分   | 靶点 / 个 | 通路 / 条 | 共同通路 (34)  | 特有通路  |
|----|--|--------|--------|--|---|
| 甘遂 | kansuinine A<br>kansuinine B<br>kansuinine C                     | 64     | 58     | VEGF, PPAR, FcεRI, mTOR, P53, Wnt, MAPK, Toll-like receptor, ErbB, T cell receptor, B cell receptor, JAK-STAT, GnRH signaling pathway, focal adhesion, adherens junction, long-term potentiation, regulation of actin cytoskeleton, Small cell lung cancer, non-small cell lung cancer, metabolism of xenobiotics by cytochrome P450, drug metabolism-cytochrome | prostate cancer, adipocytokine signaling pathway, hedgehog signaling pathway, glycolysis/ gluconeogenesis, valine leucine and isoleucine degradation, pyrimidine metabolism…… |
| 甘草 | glycyrrhizic acid<br>liquiritin<br>isoliquiritin<br>formononetin | 57     | 37     | P450, arachidonic acid metabolism, glutathione metabolism, sulfur metabolism, tyrosine metabolism, androgen and estrogen metabolism, cell cycle, apoptosis, natural killer cell mediated cytotoxicity, leukocyte transendothelial migration, antigen processing and presentation, primary immunodeficiency, renin-angiotensin system, biosynthesis of steroids   | TGF-β signaling pathway, inositol phosphate metabolism, cytokine-cytokine receptor interaction  |

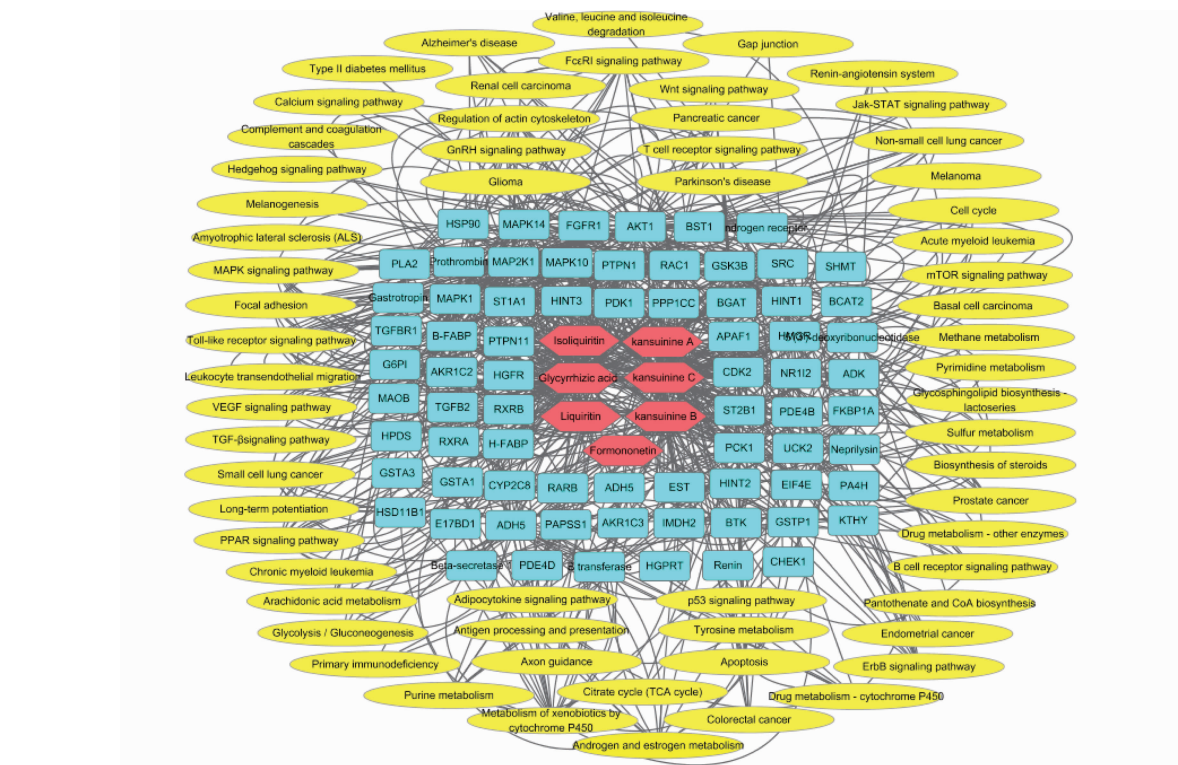


图 1 甘遂-甘草主要药效/毒性成分-靶点-通路网络模型

Fig.1 Components-targets-pathways network model of main effective or toxic components of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

### 2.3 甘遂、甘草主要药效/毒性成分多靶点网络分析

通过梳理甘遂、甘草药效/毒性反应的主要靶点

### 和通路, 分析和验证它们配伍的可能性和相互作用。

#### 2.3.1 配伍后药效降低的分析

甘遂逐水功效主

要表现为利尿作用,甘草功效广泛,但易致水钠潴留。本文选择高效利尿药呋塞米与甘遂、甘草进行对照,比较它们在调节水和电解质方面的异同。结果发现呋塞米 26 个靶点作用于 56 条通路,与甘遂共有通路为 45 条,与甘草共有通路为 27 条。三者频数排名前 5 的靶点中,呋塞米与甘遂共有靶点为 Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1,甘草与呋塞米无共同靶点。呋塞米频数较高的靶点:GTPase Hras(GTP 蛋白酶),RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase(RAF 原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶),甘遂和甘草都不具备。药理研究表明,呋塞米的利尿作用主要通过能量供给进行离子交换来实现,即抑制肾小管髓袢厚壁段、近端小管和远端小管对  $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$  的重吸收,促进远端小管分泌  $\text{K}^+$  等。频数最高的靶点 GTP 蛋白酶能够调控 GTP 对细胞的能量供给,而与甘遂共同的靶点:Ras 相关的 C3 肉毒素底物 1 亦属于 GTP 酶家族。

由表 2 可见,甘遂、甘草配伍调节水和电解质排泄的主要通路为肾素血管紧张素系统通路、类固醇生物合成、钙信号通路,这些通路和相关靶点呋塞米也不具备。甘遂作用于肾素血管紧张素系统的靶点为 renin(肾素),nepriylsin(脑啡肽酶),histidine triad nucleotide-binding protein 1(组氨酸三聚体核苷结合蛋白 1)。甘草作用于该通路的靶点为脑啡肽酶。肾素具有催化生成血管紧张素 II 的作用,增加醛固酮和抗利尿激素分泌。脑啡肽酶能够降解或灭活多种生物活性肽,其中一个重要的底物 ANP(心房利纳因子)具有强大的利钠、利尿作用。因此甘遂可能主要通过抑制肾素和脑啡肽酶分泌或降低两者活性,发挥排钠利尿的逐水功效;而甘草的作用可能与之相反,通过增加脑啡肽酶含量或提高其活性,导致水钠潴留。此外,两药共同作用于类固醇合成通路,可能通过调节肾上腺皮质激素的合成和代谢,产生利尿或水钠潴留作用。甘遂还作用于钙信号通路,对逐水过程中的离子交换也发挥了一定的调节作用。

通过与呋塞米的对比发现,甘遂与呋塞米在利尿方面的相同之处为通过能量供给促进离子交换。甘遂与甘草在调节水和电解质排泄方面作用相反主要通过肾素血管紧张素系统、类固醇合成等通路实现。

研究证实泻水逐饮类中药甘遂、大戟、芫花等与甘草配伍后利尿作用减弱,揭示了泻水逐饮类中药与甘草配伍禁忌的共性规律<sup>[11]</sup>。但也有研究发现,甘遂与甘草在一定比例配伍条件下可能产生较好的

药效,如甘遂与甘草 1:15 或 1:9 比例配伍具有一定利尿作用<sup>[12]</sup>。提示在一定剂量范围内,甘遂甘草配伍存在剂量-效应的拐点特征。

### 2.3.2 配伍后药效协同的分析

**2.3.2.1 抗肿瘤作用** 由表 2 可见,甘遂与甘草共同作用于多条抑癌通路:MAPK 通路,WNT 通路,p53 通路,mTOR 通路,雌激素与雄激素代谢通路,JAK-STAT 通路,细胞周期,细胞凋亡等。甘遂特有的 Hedgehog 通路,甘草特有的转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )通路与肿瘤相关。这些通路、靶点在癌症的发生发展中发挥了重要的作用,为两药协同抗肿瘤提供了依据。

甘遂中的二萜类化合物和三萜类化合物都具有抗肿瘤作用,可以抑制人类 HepG2 细胞株的生长<sup>[13]</sup>。甘遂提取物可明显抑制小鼠移植的肿瘤株 Hep 和 S<sub>180</sub> 的生长<sup>[14]</sup>。甘草提取物具有抗癌活性,能有效抑制乳腺癌、欧利希肿瘤、埃列希腹水肿瘤、子宫内膜癌及多种实体瘤的生长和细胞增殖,并抑制肺癌的转移<sup>[15-16]</sup>。

研究证实了甘遂与甘草能够协同抑制恶性肿瘤。如明显抑制荷瘤小鼠瘤细胞的生长,使瘤体组织坏死加重,瘤周围淋巴细胞及巨噬细胞浸润增加,增生反应明显<sup>[17]</sup>。体外实验中,甘遂配伍甘草可以抑制 H1975, H23 两种肺癌细胞的增殖,呈现明显的量效关系<sup>[18]</sup>。

**2.3.2.2 抗炎作用** 由表 2 可见,甘遂、甘草共同作用于多条与炎症相关通路:JAK-STAT 通路,Toll 样受体通路,MAPK 通路,PPAR 通路,胰岛素信号通路,花生四烯酸代谢,雄激素和雌激素代谢,类固醇生物合成等。

实验结果表明,甘草的水提取部位与乙醇提取部位均具有一定的抗炎活性<sup>[19-20]</sup>,甘草中的黄酮类化合物是其抗炎、抗变态反应的有效成分<sup>[21-22]</sup>。研究证实甘遂与甘草同方配伍的方剂陷胸汤具有抗炎作用,可以显著保护内毒素导致的小鼠急性肺损伤。陷胸汤去甘遂后,对内毒素导致的小鼠急性肺损伤其治疗效果不如原方。陷胸汤去甘草后,对内毒素导致的小鼠急性肺损伤治疗效果也不如原方,但略好于去甘遂组,说明甘遂是组方的重要环节,对该方的疗效具有决定性作用<sup>[23]</sup>。

**2.3.2.3 调节免疫作用** 由表 2 可见,两者共同作用于多条与免疫系统相关通路:Toll 样受体通路,JAK-STAT 通路,Fc $\epsilon$ RI 通路,T 细胞受体通路,B 细胞受体通路,原发性免疫缺陷,自然杀伤细胞介导的

表 2 甘遂、甘草配伍药效/毒性反应主要通路和靶点信息

Table 2 Information of main targets and pathways of efficacy or toxicity of Kansui Radix and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma

| 药效/毒性   | 涉及通路   | 涉及靶点   | 频数/次 |
|---|--|--|------|
| 水、电解质<br>排泄                                     | 肾素血管紧张素系统、类固醇生物合成、<br>钙信号通路  | nepilysin  | 2    |
|   |  | nuclear receptor subfamily 1 group 1 member 2              | 2    |
|   |  | 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase            | 2    |
|   |  | renin  | 1    |
| 肝药酶代谢   | 外源性物质的细胞色素 P450 代谢、细胞<br>色素 P450 药物代谢  | histidine triad nucleotide-binding protein 1               | 1    |
|   |  | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1           | 1    |
|   |  | ADP-ribosyl cyclase 2                                      | 1    |
|   |  | alcohol dehydrogenase class-3                              | 3    |
|   |  | glutathione S-transferase A1                               | 2    |
|   |  | glutathione S-transferase A3                               | 2    |
|   |  | amine oxidase [flavin-containing] B                        | 2    |
|   |  | glutathione S-transferase P                                | 2    |
|   |  | cytochrome P450 2C8  | 1    |
|   |  | aldo-keto reductase family 1 member C2                     | 1    |
| 抗肿瘤   | MAPK 通路, WNT 通路, p53 通路, mTOR<br>通路, ErbB 通路, 雌激素与雄激素代谢通<br>路, JAK-STAT 通路, 细胞周期, 细胞凋亡, 小<br>细胞肺癌, 非小细胞肺癌, 前列腺癌, 结直肠<br>癌, 子宫内膜癌, 急性骨髓性白血病, 慢性骨<br>髓性白血病, 子宫内膜癌, 黑色素瘤, 胰腺<br>癌, 肾细胞癌 | aldo-keto reductase family 1 member C3                     | 1    |
|   |  | sulfotransferase 1A1                                       | 1    |
|   |  | RAC-alpha serine/threonine-protein kinase                  | 15   |
|   |  | glycogen synthase kinase-3 beta                            | 7    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 1                         | 5    |
|   |  | Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1                 | 5    |
|   |  | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1           | 4    |
|   |  | dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1 | 4    |
|   |  | cell division protein kinase 2                             | 4    |
|   |  | apoptotic protease-activating factor 1                     | 3    |
|   |  | cyclin-dependent kinase 2                                  | 3    |
|   |  | histidine triad nucleotide-binding protein 1               | 3    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 10                        | 3    |
|   |  | sulfotransferase family cytosolic 2B member 1              | 3    |
|   |  | 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1              | 2    |
|   |  | eukaryotic translation initiation factor 4E                | 2    |
|   |  | histidine triad nucleotide-binding protein 3               | 2    |
|   |  | proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src                 | 2    |
|   |  | retinoic acid receptor RXR-alpha                           | 2    |
|   |  | retinoic acid receptor RXR-beta                            | 2    |
| sulfotransferase 1A1……                          | 2  |  |      |
| 抗炎  | JAK-STAT 通路, Toll 样受体通路, MAPK<br>通路, PPAR 通路, 胰岛素信号通路, 花生四<br>烯酸代谢, 雄激素和雌激素代谢, 类固醇生<br>物合成   | mitogen-activated protein kinase 14                        | 5    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 1                         | 4    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 10                        | 4    |
|   |  | phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytosolic [GTP]         | 4    |
|   |  | RAC-alpha serine/threonine-protein kinase                  | 4    |
|   |  | dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1 | 4    |
|   |  | 3-hydroxy-5-methylglutaryl-coenzyme A reductase            | 4    |
|   |  | 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1              | 3    |
|   |  | corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 1             | 3    |
|   |  | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1           | 3    |
|   |  | aldo-keto reductase family 1 member C3                     | 2    |
|   |  | cytochrome P450 2C8  | 2    |
|   |  | estradiol 17-beta-dehydrogenase 1                          | 2    |
|   |  | fatty acid-binding protein, brain                          | 2    |
|   |  | fatty acid-binding protein, heart                          | 2    |
|   |  | fibroblast growth factor receptor 1                        | 2    |
|   |  | gastrotropin   | 2    |
|   |  | hematopoietic prostaglandin D synthase                     | 2    |
| phospholipase A2, membrane associated           | 2  |  |      |
| ras-related C3 botulinum toxin substrate 1      | 2  |  |      |
| retinoic acid receptor RXR-alpha                | 2  |  |      |
| retinoic acid receptor RXR-beta                 | 2  |  |      |
| sulfotransferase family cytosolic 2B member 1…… | 2  |  |      |
| 免疫调节  | Toll 样受体通路, JAK-STAT 通路, FcεRI<br>通路, T 细胞受体通路, B 细胞受体通路, 原<br>发性免疫缺陷, 自然杀伤细胞介导的细胞毒<br>作用, 白细胞跨内皮迁移, 抗原加工和呈递   | mitogen-activated protein kinase 1                         | 6    |
|   |  | RAC-alpha serine/threonine-protein kinase                  | 5    |
|   |  | Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1                 | 5    |
|   |  | dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 1 | 4    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 14                        | 4    |
|   |  | tyrosine-protein kinase BTK                                | 3    |
|   |  | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1           | 3    |
|   |  | mitogen-activated protein kinase 10                        | 2    |
|   |  | tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 11……        | 2    |

细胞毒作用,白细胞跨内皮迁移,抗原加工和呈递等,通过多个靶点对免疫过程产生调节作用。

实验结果表明,甘遂抑制免疫<sup>[24]</sup>,甘草对免疫系统具有双向调节作用<sup>[25-29]</sup>。研究证实甘遂甘草配伍能够调节免疫,如甘遂半夏汤低剂量全方组在提高机体细胞免疫功能方面优于低剂量全方去炙草组、低剂量全方去醋甘遂组和低剂量全方去草遂组。同时,甘遂半夏汤低剂量全方组在降低腹水及肿瘤细胞引起的大鼠体液免疫增强方面的效果优于低剂量全方去掉其中的一味反药或两味反药组<sup>[30]</sup>。

**2.3.3 配伍后毒性改变的分析** 由表 2 可见,甘遂、甘草共同作用于肝药酶代谢途径:外源性物质的细胞色素 P450 代谢、细胞色素 P450 药物代谢,相关靶点为 glutathione S-transferase P(谷胱甘肽 S-转移酶), alcohol dehydrogenase class-3(乙醇脱氢酶), sulfotransferase 1A1(磺基转移酶), aldo-keto reductase family 1(醛酮还原酶家族 1), amine oxidase [flavin-containing] B(单胺氧化酶 B)及 cytochrome P450 2C8(细胞色素 P450 2C8)。谷胱甘肽 S-转移酶、磺基转移酶参与机体的 II 相代谢,在保护细胞免受内、外源毒物损伤方面起着重要作用。醛酮还原酶家族成员具有对醛酮类化合物的解毒作用。乙醇脱氢酶、单胺氧化酶 B 参与生物体的氧化还原反应,与细胞色素 P450 家族在代谢众多的外源性化学物质方面发挥重要的作用。因此推测肝药酶代谢途径相关靶点影响了有毒物质的合成、分解与转换过程。

研究证实甘遂、甘草存在基于药物代谢酶机制的药物间相互作用,认为甘草比甘遂对部分肝药酶活性的诱导能力更强,可促进甘遂所含前致癌物质和前毒物转化成为致癌物和毒物的过程,导致对机体毒性作用的增强。同时甘草还可抑制部分肝药酶使甘遂的毒性成分代谢减慢,导致蓄积毒性反应明显<sup>[31]</sup>。另外,甘草主要成分甘草酸和甘草次酸能够抑制甘遂毒性成分 KA, KB 的代谢,这可能是甘遂与甘草合用毒性增加的原因之一<sup>[8]</sup>。

但研究还提示,甘遂与甘草在某些剂量比例配伍后,增毒和减毒的情况并不一致。如甘遂与甘草配伍比例为 1:1 和 1:2 时,表现毒性作用;而甘遂与甘草 2:1 组,甘草缓解甘遂的毒副作用<sup>[32]</sup>。

### 3 讨论

甘遂和甘草是十八反中的配伍禁忌,到底反与不反历代医家争议颇多。本研究运用网络药理学方法,构建甘遂-甘草多靶点网络模型,对两者主要药

效或毒性成分进行靶点和通路分析,发现它们有药效降低或药效协同的情况,存在基于肝药酶代谢的毒性增强现象。

网络分析结果显示,甘遂、甘草配伍涉及的靶点与神经-免疫-内分泌-泌尿系统中的 61 条代谢通路相关。逐水是甘遂的主要功效,它和甘草在调节水、电解质排泄方面作用相反。与高效利尿药呋塞米单纯调控离子交换而利尿不同,甘遂、甘草的共同通路主要是肾素血管紧张素系统和类固醇生物合成,甘遂还可能通过钙离子通道协同逐水,两者配伍对 3 条通路的 6 个靶点发挥不同的调节作用。甘遂和甘草配伍还存在药效协同的现象,特别是在抗肿瘤、抗炎和调节免疫方面,涉及 53 个靶点和 33 条相关通路,许多临床和实验结果也提供了很好的验证。而毒性方面,甘遂和甘草共同作用于具有解毒功能的肝药酶代谢途径,对外源性物质的细胞色素 P450 代谢、细胞色素 P450 药物代谢通路的 10 个靶点发挥诱导或抑制效应,引起甘遂有毒成分的蓄积或转化为新的毒性成分而致毒性增加。

本文建立的网络药理学模型,探讨甘遂和甘草反药配伍后药效/毒性成分的分子作用机制,分析其多成分-多靶点-多通路相互关系,为反药配伍研究提供了可参考的依据。由于甘遂和甘草配伍后药效和毒性受配伍剂量、配伍比例、入药方式、炮制品种、给药途径、给药时间等多方面的影响<sup>[12]</sup>,因此应该增加多条件交叉、多层次深入的研究。

### [参考文献]

- [1] 杨环,范欣生,尚尔鑫,等. “十八反”甘草与甘遂、芫花、大戟反药配伍的方剂特点分析[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 620-623.
- [2] 刘洪,范欣生. 三拗汤主要功效成分多靶点网络构建[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3370-3376.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 60.
- [4] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China (Volume 1) [S]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 60.
- [5] Asl M N, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds [J]. Phytother Res, 2008, 22(6): 709-724.
- [6] 潘勤,闵知大. 甘遂中巨大戟萜醇型二萜酯类化学成分的研究[J]. 中草药, 2003, 34(6): 489-492.
- [7] 王立岩. 甘遂的化学成分及其生物活性研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2003.

- [ 8 ] 景欣悦,彭蕴茹,王新敏,等. 甘遂与甘草合用对甘遂毒性成分甘遂萜酯 A、甘遂萜酯 B 代谢的影响[J]. 中国药理学通报,2015,31(1):136-140.
- [ 9 ] 孙明谦. 甘草中化学成分的研究[D]. 长春:吉林大学,2006.
- [10] Zheng Q Y, Ye M. Chemical analysis of Chinese herbal medicine Gan-Cao (licorice) [J]. J Chromatogr A, 2009,1216(11):1954-1969.
- [11] 陈艳琰. 基于“十八反”的中药配伍禁忌理论基础研究[D]. 南京:南京中医药大学,2014.
- [12] 张建美,许皖,钟赣生,等. 甘遂甘草反药组合宜忌条件的实验研究回顾与评析[J]. 环球中医药,2015,8(9):1053-1058.
- [13] Whelan L C, Ryan M F. Ethanol extracts of Euphorbia and other ethnobotanical species as inhibitors of human tumour cell growth[J]. Phytomedicine, 2003, 10(11): 53-58.
- [14] 陈亮,于志敏. 甘遂提取物对肿瘤株 Hep, S<sub>180</sub> 的抑制作用观察[J]. 中国现代医药杂志,2008,10(7): 6-8.
- [15] Goldberg E D, Amosova E N, Zueva E P, et al. Licorice preparations improve efficiency of chemotherapy and surgical treatment of transplanted tumors[J]. Bull Exp Biol Med, 2008, 145(2): 252-255.
- [16] Lee C K, Park K K, Lim S S, et al. Effects of the licorice extract against tumor growth and cisplatin-induced toxicity in a mouse xenograft model of colon cancer[J]. Bio Pharm Bull, 2007, 30(11): 2191-2195.
- [17] 张腾,陈瑜. 甘遂甘草合剂抗肿瘤的实验研究[J]. 中医药研究,1999,15(3):41-42.
- [18] 王景霞,耿国艳,柳强,等. 中药“十八反”药对“藻戟遂芫俱战草”抗癌作用的实验研究[C]. 武汉:第五届全国临床中药学学术研讨会,2012.
- [19] 曲晓梅,金钟太,尚艳华,等. 甘草水煎液抗炎作用的实验研究[J]. 实用药物与临床,2005,8(5):14-16.
- [20] Kim J K, Oh S M, Kuon H S, et al. Anti-inflammatory effect of roasted licorice extracts on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in murine macrophages [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 345(3): 1215-1223.
- [21] Shibata B, Inoue H, Iwata S, et al. Inhibitory effects of licochalcone A isolated from Glycyrrhiza inflata root on inflammatory ear edema and tumour promotion in mice [J]. Planta Med, 1991, 57(3): 221-224.
- [22] Cui Y, Ao I, Li W, et al. Anti-inflammatory activity of licochalcone A isolated from Glycyrrhiza inflata [J]. Z Naturforsch, 2008, 63(5/6): 361-365.
- [23] 蒋辰雪,范欣生,马春华,等. 陷胸汤对内毒素致小鼠急性肺损伤的影响[J]. 中国中药杂志,2015,40(7):1362-1369.
- [24] 李嗣英. 甘遂对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学通讯,1989,6(2):10.
- [25] 杨贵贞,王桂兰,王莉,等. 甘草 Lx 对小鼠过敏性休克的保护效应[J]. 中国免疫学杂志,1986,2(1): 4-9.
- [26] 史勇,杨贵贞. 甘草多糖对小鼠淋巴细胞的激活增殖效应[J]. 中国免疫学杂志,1986,2(5):295-300.
- [27] 杨贵贞,史勇. 甘草多糖的体内免疫效应[J]. 中西医结合杂志,1988(基础理论研究特辑):107-109.
- [28] 常雅萍,毕无邪,杨贵贞. 甘草多糖抗病毒作用研究[J]. 中国中药杂志,1989,14(4):44-46.
- [29] 朱任之. 甘草次酸钠口服给药的抗炎及免疫作用[J]. 中国药理学通报,1996,12(6):542-544.
- [30] 柳海艳,钟赣生,刘云翔,等. 探析接近临床剂量的甘遂半夏汤加减甘遂甘草对腹水模型大鼠肾脏及免疫系统的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(12): 3781-3786.
- [31] 代方国. 基于大鼠肝脏微粒体细胞色素 P450 酶系的甘遂和甘草配伍作用研究[D]. 广州:第一军医大学,2005.
- [32] 杨华春,杨致礼,曲亚玲. 海藻、甘遂反甘草的毒性实验[J]. 中国兽医杂志,1992,18(1):41-43.

[责任编辑 邹晓翠]