

基于网络药理学的“桔梗-甘草”药对作用机制分析

吴嘉瑞, 金燕萍, 段笑娇, 刘施, 张冰*
(北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] **目的:**探讨桔梗-甘草药对的药效物质基础和配伍机制。**方法:**从中药系统药理学分析平台(TCMSP)中寻找与这两味中药相关的所有化学成分。选择口服利用度(OB) $\geq 50\%$, 类药性(DL) ≥ 0.18 作为化合物分子的筛选条件。通过中药系统药理学分析平台(TCMSP)寻找与候选化合物相关的潜在靶点,进而构建药物靶点相互作用的网络图和靶点疾病相互作用网络图。**结果:**通过OB, DL条件筛选,得出43个候选活性分子,相应靶点有98个,相关疾病有224种。其度值前三的候选化合物分子分别是柚皮素(48), 芒柄花黄素(41), shinpterocarpin(36);度值前三的靶点蛋白为PTGS2(32), PPAR- γ (21), ERS1(18);度值较高的相关疾病依次是非特异性癌症、炎症、痛症、乳癌、阿尔茨海默症等。**结论:**研究结果初步验证了该药对的基本药理学作用和相关机制,并为进一步深入探讨作用机制奠定了良好基础。

[关键词] 网络药理学; 桔梗; 甘草; 配伍

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)05-0184-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017050184

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1142.040.html>

[网络出版时间] 2016-12-07 11:42

Mechanism of Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Based on Network Pharmacology

WU Jia-rui, JIN Yan-ping, DUAN Xiao-jiao, LIU Shi, ZHANG Bing*
(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the efficacy material basis and the compatibility mechanism of Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. **Method:** All the chemical components related to the two traditional Chinese herbs from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) were searched. The oral bioavailability (OB) $\geq 50\%$ and drug likeness (DL) ≥ 0.18 were used as the screening conditions for molecular compounds. The potential targets related to candidate compounds were found through the TCMSP, and then the drug-target interaction network as well as target-disease interaction network were constructed. **Result:** The 43 candidate active molecules, 98 corresponding targets and 224 related diseases were obtained through screening according to OB and DL conditions. The top three compounds were arenaringenin (48), formononetin (41) and shinpterocarpin (36). The top three target proteins were PTGS2 (32), PPAR- γ (21) and ERS1 (18). Related diseases of higher degree values were non-specific cancer, inflammation, pain, breast cancer and Alzheimer's disease and so on. **Conclusion:** The results of the study preliminarily verified the basic pharmacological effects and related mechanisms of Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, and laid a good foundation for further study on the mechanism of action.

[Key words] network pharmacology; Platycodonis Radix; Glycyrrhizae Radix et Rhizoma; compatibility

[收稿日期] 20160729(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473547);北京市中医药科技基金项目(JJ-2010-70);北京中医药大学科研创新团队项目(2011-CXTD-14)

[第一作者] 吴嘉瑞, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事临床中药学研究, Tel:010-84738662, E-mail:exogamy@163.com

[通讯作者] *张冰, 博士, 教授, 博士生导师, 从事临床中药学研究, Tel:010-84738606, E-mail:zhangbing@263.net

中药及其方剂具有多成分、多途径和多靶点协同作用等特点。网络药理学基于“疾病-基因-靶点-药物”相互作用网络,采用复杂网络模型表达和分析研究对象的药理学性质,对于系统准确揭示中药成分复杂作用机制具有重要价值^[1-4]。“桔梗-甘草”药对来源于汉代医圣张仲景的名方桔梗汤。桔梗汤于《伤寒论》及《金匱要略·肺痿肺癰咳嗽》都有论述,其分别论治咽痛及肺癰,方仅由桔梗、甘草二味药共同组成^[5]。《金匱要略·肺痿肺癰咳嗽》云:“喘而胸满,振寒脉数,咽干不渴,时出浊唾腥臭,久久吐脓如米粥者,为肺癰,桔梗汤主之。”^[6]桔梗与甘草配伍可清热解毒,宣肺利咽,适合于咽喉肿痛以及风热郁肺所致的肺癰咳嗽等^[7]。其中桔梗所含主要成分为皂苷类,也含有部分的菊糖、植物甾醇类,现代药理研究显示其具有止咳、抗菌、抗炎、镇静、解热镇痛、降血糖、降胆固醇以及松弛平滑肌等作用。甘草功用较广泛,炙用能补益脾气,祛痰止咳,生用能清热解毒,又可缓急止痛,调和药性。甘草的化学成分以三萜类、黄酮类、生物碱、多糖类为主,药理研究表明甘草具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗心律失常、保护心血管等作用。从现代医学的角度来看,桔梗汤的宣肺止咳,利咽解毒,祛痰排脓的功效与抗炎、祛痰等作用有关,其主要活性成分为桔梗皂苷和甘草皂苷^[8-9]。本研究采用网络药理学方法,对“桔梗-甘草”药对主要功效物质基础和配伍机制进行研究,希冀为揭示“桔梗-甘草”配伍的科学内涵提供参考。

1 材料与方法

1.1 化学成分构建 以甘草、桔梗 2 味中药为主题词,从中药系统药理学分析平台(TCMSP)(<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)中寻找与这 2 味中药相关的所有化学成分。其中与甘草有关的化学成分 280 个,与桔梗相关的化学成分 102 个。

1.2 口服利用度(OB)和类药性(DL)预测 本研究选择 $OB \geq 50\%$, $DL \geq 0.18$ 作为化合物分子的筛选条件,通过条件筛选,共有 43 个化合物分子符合条件,即为候选化合物。

1.3 网络构建与分析 通过 TCMSP 平台寻找与 43 个候选化合物相关的潜在靶点,将候选化合物与其潜在的靶点蛋白生成一个体现药物靶点相互作用的网络图。并根据得出的潜在靶点在 TCMSP 平台中找出相关的疾病,进而可生成靶点疾病相互作用网络图。药物-靶点和靶点-疾病网络的构建均使用软件 Cytoscape 3.2.1。Cytoscape 3.2.1 是一款可以

图形化显示网络并可进行分析和编辑的软件。它支持多种网络描述格式,也可以用 Microsoft Excel 等文件作为输入源,或者利用软件本身的编辑器模块直接构建网络。Cytoscape 3.2.1 还能够为网络添加丰富的注释信息,并且可以利用自身以及第三方开发的大量功能插件,针对网络问题进行深入分析。

2 结果

2.1 OB 与 DL 预测 本研究基于样本量、数据的复杂性以及综合文献的考虑,选择 $OB \geq 50\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选条件,结果表明 43 个候选化合物有良好的口服利用度和类药性。通过数据解读发现,大多数黄酮类化合物都具有较高的 OB 和 DL,如芒柄花黄素(formononetin, $OB 69.7\%$, $DL 0.21$),顺式-二氢槲皮素(cis-dihydroquercetin, $OB 66.4\%$, $DL 0.27$),甘草查尔酮乙(licochalcone B, $OB 76.8\%$, $DL 0.19$)等,其中很多分子已经被证实有良好的药理活性,如芒柄花黄素(formononetin),光甘草定(glabridin)等^[10-12]。然而在数据处理过程中也发现还有一些化合物分子虽然 $OB < 50\%$,依然有药理活性,如毛地黄黄酮、刺槐黄素、菠菜甾醇等^[12-14]。“桔梗-甘草”中含有的 43 个候选化合物基本信息见表 1,其中度值表示该化合物连接的靶点数量。

2.2 分子-靶点相互作用网络分析 进而将 43 个候选化合物和潜在的靶标相连构建分子-靶点相互作用网络(图 1)。分子-靶点相互作用网络包含 141 个节点(43 个化合物和 98 个潜在靶标)和 994 条边。粉色节点代表候选化合物分子,蓝色节点表示药物靶标,而每条边则表示候选化合物分子与靶标间的相互作用关系。在网络中,一个节点的度(degree)表示网络中和节点相连的路线的条数。如每一个粉点的度即表示候选化合物分子所拥有的靶点数目;而每一个蓝点的度则代表着相应靶点所有相关的候选化合物分子的数目。网络中节点的大小不一,表示着节点 degree 的大小,由此观察节点 degree 的分布可以发现参与互动连接的高度连接的蛋白或者分子,这些分子以及蛋白在分子-靶点相互作用网络中起到关键的作用。从图 1 可以看出,分子 **4328**(柚皮素)有最多的潜在靶标(48 个),其次是 **0392**(芒柄花黄素)有 41 个潜在靶标, **4891**(shinpterocarpin)有 36 个潜在靶标。这些度值较高的药物分子有可能在桔梗-甘草药对的药理功能中发挥着相对重要的作用。另外,在网络中,靶点雌激素受体蛋白(ESR1),雄激素受体(AR),前列腺素 G/H 合酶 2 (PTGS2) 拥有最多的相互作用配体,

表 1 “桔梗-甘草”中通过 OB 和 DL 预测的 43 个候选化合物

Table 1 43 candidate compounds predicted in 'Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma' through OB and DL

分子编号	化合物名称	OB/%	DL	度
0211	mairin	55.4	0.78	3
0239	jaranol	50.8	0.29	21
0392	formononetin	69.7	0.21	41
0500	vestitol	74.7	0.21	32
1484	inermine	75.2	0.54	31
2311	glycyrol	90.8	0.67	12
3656	lupiwighteone	51.6	0.37	23
4328	naringenin	59.3	0.21	48
4580	cis-dihydroquercetin	66.4	0.27	21
4808	glyasperin B	65.2	0.44	24
4810	glyasperin F	75.8	0.54	23
4820	kanzonols W	50.5	0.52	25
4824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.3	0.63	23
4829	glepidotin B	64.5	0.34	29
4835	glypallichalcone	61.6	0.19	30
4838	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.4	0.38	16
4841	licochalcone B	76.8	0.19	23
4849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.6	0.43	25
4855	licoricone	63.6	0.47	17
4856	gancaonin A	51.1	0.40	22
4863	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	66.4	0.41	18
4879	glycyrin	52.6	0.47	18
4885	licoisoflavanone	52.5	0.54	24
4891	shinpterocarpin	80.3	0.73	36
4903	liquiritin	65.7	0.74	15
4904	licopyranocoumarin	80.4	0.65	18
4907	glyzaglabrin	61.1	0.35	20
4908	glabridin	53.2	0.47	29
4910	glabranin	52.9	0.31	24
4912	glabrone	52.5	0.50	23
4914	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	62.9	0.53	12
4941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.1	0.18	28
4959	1-methoxyphaseollidin	70.0	0.64	31
4990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	83.7	0.27	18
4993	8-prenylated eriodictyol	53.8	0.40	21
5000	gancaonin G	60.4	0.39	22
5001	gancaonin H	50.1	0.78	14
5003	licoagrocarpin	58.8	0.58	32
5007	glyasperins M	72.7	0.59	31
5012	licoagroisoflavone	57.3	0.49	20
5017	phaseol	78.8	0.58	17
5018	xambioona	54.8	0.87	12
5020	dehydroglyasperins C	53.8	0.37	22

分别为 42,42,41 个。而且在 98 个潜在靶标中,有 51 个靶点至少与 2 个化合物分子连接,即 50% 左右的蛋白质与其他蛋白享有共同的配体。换言之,有将近一半(47 个)的蛋白质只与 1 个候选化合物分子相关。而且根据表 1 中候选化合物分子的 degree 可以发现,网络中每个候选化合物都至少与 3 个蛋白质靶点连接,如此也说明“桔梗-甘草”药对中含有的候选化合物分子可能作用于整个生物网络系统。

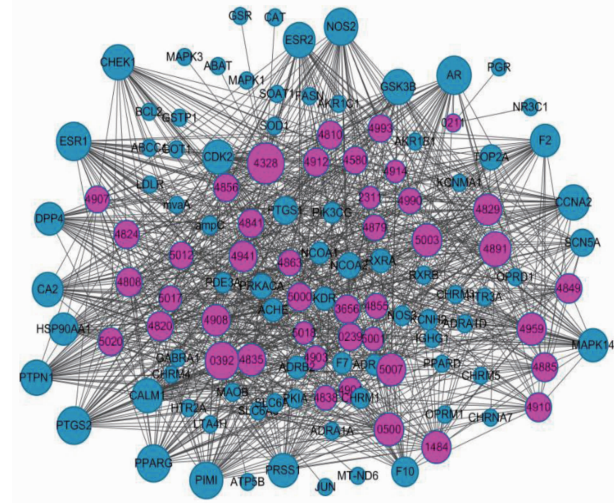


图 1 “桔梗-甘草”候选化合物与靶标相互作用网络
Fig.1 Drug-target interaction network for 'Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma'

2.3 靶点-疾病相互作用网络分析 药物靶点可定义为药物在机体内的作用结合位点,其包括基因位点、受体、酶、离子通道、核酸等生物大分子等。而新药开发的首要任务即是选择确定新颖的有效药物靶点,故而也是研究药物分子与疾病之间作用关系的关键所在。

图 2 为潜在靶点与相关疾病相连构建而成的“靶点-疾病相互作用”网络,该网络中包含节点 289 个节点(65 个靶标和 224 种相关疾病)和 354 条边。蓝点为靶点,绿点代表疾病。在候选化合物-靶点网络中发现其所涉及的靶点数目有 98 个,而在靶标-疾病网络中只显示 65 个相应靶点蛋白,由此可知,有 33 个靶点在网络中没有相对应的疾病,由此可推测桔梗-甘草药对中还可能存在暂时未被发现的作用途径。从图 2 中可以看出一个靶蛋白可以与许多疾病相关,如 PTGS2,PPARG,ERS1 等,又如与 GSTP1 即 Glutathione S-transferase P(谷胱甘肽 S-转移酶 P)相关的有 13 种疾病,其中有 12 种疾病在网络中只与此一个靶蛋白相连接,这 13 种疾病多以恶性肿瘤为

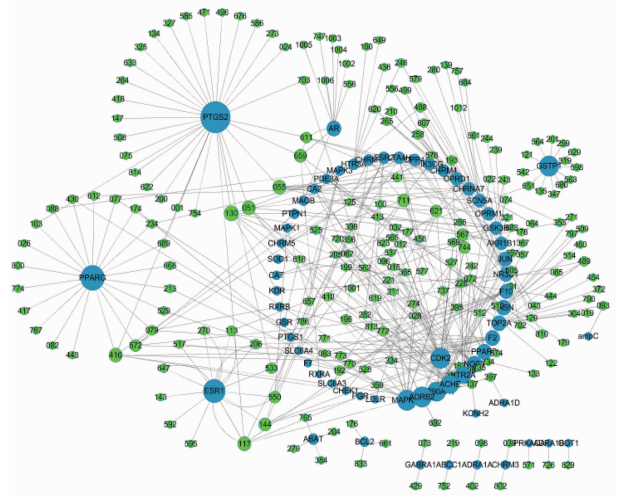


图 2 “桔梗-甘草”靶标与疾病相互作用网络
Fig.2 Target-disease interaction network for 'Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma'

主,包括结肠直肠癌、胃肠道肿瘤、头颈部肿瘤、卵巢肿瘤等,也有神经系统疾病等。在网络中 degree 值最大的靶点为前列腺素内过氧化物合成酶 2 (PTGS2),其与 32 种疾病都相关,依次为非特异性癌症、阿尔茨海默症、乳腺癌、炎症、前列腺癌、心肌梗死、痛症、类风湿性关节炎、膀胱癌、肾细胞癌、血管病变消退、波伊茨-耶格综合征、局部麻痹、中风、关节炎、腹主动脉瘤、腺瘤性息肉病、脑脊膜瘤、恶性间皮瘤、肺癌、病理性血管生成、骨关节炎、口咽部鳞状细胞癌、痛经、结肠直肠癌、腕管综合征、原位癌、妊娠高血压、泌尿生殖道肿瘤、子宫内膜异位等,由此也可知 PTGS2 作用于多个系统,包括生殖、血液、泌尿、消化、神经以及内分泌系统等,这也与 PTGS2 现代药理研究的出的结论基本吻合^[15-17]。

为更好的洞悉数据,本研究通过对这 224 种疾病的 degree 进行计算,取其平均值(2.47),将度值大于平均值的疾病与靶点重新构建靶点-疾病网络图,即图 3。其中符合条件的疾病共有 25 种。在网络中 degree 前 5 的疾病分别是 130,051,117,416,659,分别为非特异性癌症、阿尔茨海默症、乳腺癌、炎症、前列腺癌,由此可推测桔梗-甘草药对在治疗这些疾病中会有一定的功效,可进一步深入研究。

3 讨论

研究结果显示,桔梗中含有 102 个化合物,甘草中有 280 个化合物,但通过 OB,DL 条件筛选得出 43 个候选活性分子,相应靶点有 98 个,相关疾病有 224 种。由此可知“桔梗-甘草”中的候选活性分子多与多个靶点蛋白作用,其中度值前三的候选活性分子分别为柚皮素,芒柄花黄素,shinpterocarpin,柚

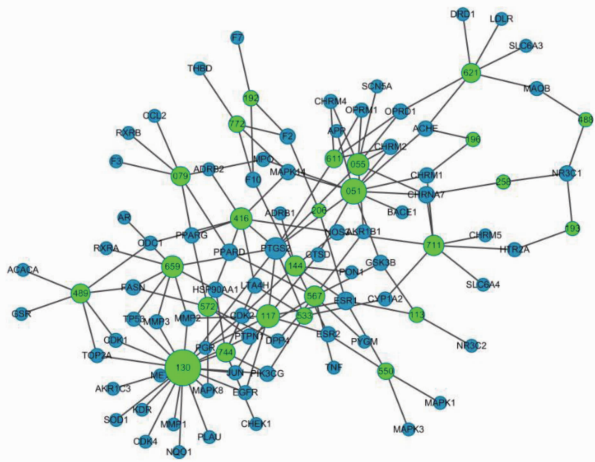


图 3 degree ≥ 3 条件下“桔梗-甘草”靶标与疾病相互作用网络
Fig. 3 Target-disease interaction network for ‘Platycodonis Radix-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma’ under condition of degree ≥ 3

皮素可抗菌消炎, 芒柄花黄素多用于抗癌, shinterocarpin 为紫檀素类成分, 可抗真菌和抗癌。度值前三的靶点蛋白为 PTGS2, PPAR- γ , ER; 度值较高的相关疾病依次是非特异性癌症、炎症、痛症、乳癌、阿尔茨海默症。研究发现作用靶点所参与的作用通路有 34 条, 涉及神经-内分泌-血液系统中的多条代谢通路。由此可推断, “桔梗-甘草”药对治疗的疾病具有广泛性, 除了肺系疾病如咽炎、肺病等, 还可能用于炎症、癌症等的预防或治疗。以上研究结果与中医理论认为的桔梗汤所具有的清热解毒, 宣肺利咽之功效基本相符。同时, 本研究显示, “桔梗-甘草”药对可能具有改善神经系统、心脑血管系统疾病的作用, 如阿尔茨海默症、焦虑症、动脉粥样硬化等。

综上所述, 本研究应用网络药理学方法对“桔梗-甘草”药对的化学成分、作用靶点和相关疾病进行了探索性研究。研究结果初步验证了该药对的基本药理学作用和相关机制, 并为进一步深入探讨作用机制奠定了良好基础。诚然, 网络药理学作为一种新兴的药物研究手段, 还存在一定的局限性, 若要将得出的结论应用于临床, 尚需要药理实验研究的验证。同时, 本研究未考虑药物混合煎煮过程中可能发生的化学反应对药物成分造成的影响, 也未考虑药物配伍中剂量的选择等, 尚需进一步深入研究探讨。

[参考文献]

[1] 李伯会. 大柴胡汤“加減味”和郁金方“君臣佐使”的系统药理学研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016.

[2] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29 (6): 883-892.

[3] 刘惠. 基于系统药理学的甘草作用机制和新药发现研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[4] 刘丹, 朱靖博, 王永华, 等. 基于网络药理学的银杏叶提取物治疗痛风潜在作用机制初探 [J]. 中草药, 2016, 47 (15): 2693-2700.

[5] 吴宜芬. 仲景治疗咳嗽的方证研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.

[6] 汉·张仲景. 金匱要略 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1997: 62.

[7] 彭坚. 疼痛辨治的经方思路 [J]. 湖南中医药大学学报, 2013, 33 (5): 3-10.

[8] 邹霞霜. 基于药代动力学的桔梗汤配伍机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2014.

[9] 单进军, 邹霞霜, 徐建亚, 等. 桔梗汤的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (19): 304-306.

[10] 陈欲云, 马清萍, 王涛, 等. 柚皮素止咳化痰平喘作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (19): 355-358.

[11] 张幸, 梁梅花, 黄文君, 等. 芒柄花黄素诱导膀胱癌细胞凋亡作用 [J]. 中国公共卫生, 2015, 31 (3): 314-317.

[12] 陈永熙, 王伟铭, 周同, 等. PPAR- γ 作用及其相关信号转导途径 [J]. 细胞生物学杂志, 2006, 28 (3): 382-387.

[13] 张瑜, 邢志佳, 马宇衡, 等. PPAR- γ 激动剂的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2015, 24 (7): 771-777.

[14] 刘静维, 修瑞娟. PPAR- γ 配体与炎症、心肌缺血/再灌注损伤防治的研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26 (1): 197-199.

[15] 吴晨方. PPAR- α/γ 激动剂对代谢综合征心室重构的保护机制研究 [D]. 武汉: 中南大学, 2014.

[16] 张雪松. 红景天苷对糖尿病大鼠肾脏 Nrf2、 γ -GCS、PPAR- γ 表达的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.

[17] 郭琳, 李珏宏, 李昌平, 等. STAT3、PPAR- γ 在小鼠溃疡性结肠炎的作用及姜黄素的影响 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24 (1): 28-36.

[责任编辑 邹晓翠]