

从“化学成分谱-减毒作用谱-生物信息谱”关联分析 整体评价雷公藤配伍金钱草的相杀减毒作用机制

王君明*, 李金花, 蔡泓, 李金洋, 张月月, 李军, 崔瑛
(河南中医药大学呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心,
药学院, 科研实验中心, 郑州 450046)

[摘要] 目的:整体评价雷公藤(LGT)配伍金钱草(JQC)后在荷瘤状态下的相杀减毒作用机制。方法:以配伍前后 12 个差异特征成分为化学成分谱,以丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),肌酐(Cr)和尿素氮(BUN),肝丙二醛(MDA),肾 MDA 共 6 指标为减毒作用谱,以肝和肾的谷胱甘肽(GSH),谷胱甘肽-S-转移酶(GST),谷胱甘肽过氧化物酶(GPx),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT),白细胞介素(IL)-10 共 12 个生物指标作为生物信息谱,通过主成分分析(PCA)整体评价 LGT-JQC 在荷瘤 S180 和 H22 肿瘤状态下的相杀减毒作用及其机制,通过对“化学成分谱-减毒作用谱-生物信息谱”灰色关联分析(GCA)评价化学成分和生物指标对其相杀减毒作用的贡献大小。结果:与模型组比较,LGT 单用后使 S180 和 H22 的减毒作用谱得分 Z_1 值和 Z_3 值均显著升高($P < 0.01$);与 LGT 单用组比较,LGT-JQC 在质量配比为 4:1,2:1,1:1,1:2,1:4 配伍时均能显著降低 LGT 引起的过高水平的 Z_1 值和 Z_3 值($P < 0.01$);LGT-JQC 在质量比为 4:1,1:1,1:2,1:4 配伍时的 Z_1 值和 Z_3 值均明显高于质量比在 2:1 时相应的 Z_1 值和 Z_3 值($P < 0.01$)。LGT 能使 S180 和 H22 荷瘤状态下生物信息谱得分 Z_2 值和 Z_4 值均显著降低,配伍 JQC 可使 Z_2 值和 Z_4 值显著升高。对二者在 S180 和 H22 肿瘤状态下相杀减毒作用贡献最大的化学成分分别为 3#和 10#特征成分,贡献最大的生物指标分别为肾 GPx 和肾 GSH。结论:LGT 和 JQC 在质量比为 4:1~1:4 配伍时,对 LGT 所致的荷瘤 S180 和 H22 肿瘤状态下的毒性均有减毒作用,二者相杀减毒的最佳配比均为 2:1,减毒作用体现了中医“有故无殒”思想,其减毒作用机制涉及肝、肾的抗氧化损伤及抗炎症反应,其中尤以肾 GPx(S180)和肾 GSH(H22)对减毒作用机制的贡献最大。

[关键词] 相杀减毒机制;主成分分析;灰色关联分析;整体评价;“有故无殒”;金钱草;雷公藤

[中图分类号] R22;R24;R28;C37;R943.1 **[文章编号]** 1005-9903(2019)03-0015-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182206

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180827.1747.014.html>

[网络出版时间] 2018-08-28 16:47

Overall Evaluation on Mutual Detoxication Mechanism of Tripterygii Radix et Rhizoma and Lysimachiae Herba by Correlation Analysis of “Chemical Composition Spectrum-attenuation Spectrum-biological Information Spectrum”

WANG Jun-ming*, LI Jin-hua, CAI Hong, LI Jin-yang, ZHANG Yue-yue, LI Jun, CUI Ying
(Research and Experiment Center, College of Pharmacy, Collaborative Innovation
Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of
Henan Province, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To overall evaluate the mutual detoxication mechanism of Tripterygii Radix et

[收稿日期] 20180325(001)

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金项目(81503269);河南省高校科技创新人才支持计划项目(16HASTIT032);河南中医药大学省属高校基本科研业务专项人才培养项目(2014KYYWF-QN01);河南中医药大学科技创新人才支持计划项目(2015XCXRC01)

[通信作者] *王君明,博士,副教授,从事中药药性药效机制、毒效相关性研究及新药开发研究, Tel:0371-65962746, E-mail:mjw98@126.com

Rhizoma (LGT) compatible with Lysimachiae Herba (JQC) in tumor-bearing state. **Method:** Twelve differentially characteristic components before and after compatibility were used as chemical composition spectrum, six indicators including serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatinine (Cr) and urea nitrogen (BUN), malondialdehyde (MDA) levels in the liver and kidney tissues were used as attenuation spectrum, and twelve biological indicators including glutathione (GSH), glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and interleukin (IL)-10 in the liver and kidney were used as the biological information spectrum. Mutual detoxication mechanisms of LGT compatible with JQC in tumor-bearing state were overall evaluated by principal component analysis (PCA), and the contribution of chemical components and biological indicators to mutual detoxication was further evaluated by gray correlation analysis (GCA) of “chemical composition spectrum-attenuation spectrum-biological information spectrum”. **Result:** Compared with the model group, the attenuation spectrum scores Z values of S180 (Z_1 value) and H22 (Z_3 value) increased significantly after LGT being used alone ($P < 0.01$). Compared with LGT alone group, the compatibility groups of LGT and JQC significantly reduced excessive Z_1 value and Z_3 value caused by LGT when the ratio of LGT and JQC was 4:1, 2:1, 1:1, 1:2 and 1:4 ($P < 0.01$). The overall efficacy of Z values (Z_1 value and Z_3 value) of LGT-JQC in the mass ratios including 4:1, 1:1, 1:2 and 1:4 was significantly higher than that in the ratio of 2:1 ($P < 0.01$). LGT also caused a significant decrease in the Z values of the bioinformatics scores in the S180 (Z_2 value) and H22 (Z_4 value) tumor-bearing state, these two values were significantly increased after compatibility with JQC. The chemical components contributing the most to the attenuating effect of S180 and H22 in tumor-bearing state were 3# and 10#, respectively. The most important biological indicators were kidney GPx and renal GSH. **Conclusion:** LGT combined with JQC in the mass ratio of 4:1-1:4 can attenuate LGT-induced subacute toxicity in S180 and H22 tumor-bearing state, and the best ratio of such effect is 2:1. The attenuating effect reflects the thought of “there is no reason why there is no meteorology”. The mechanism of attenuating action involves antioxidative damage and anti-inflammatory reaction of the liver and kidney, especially the renal GPx (S180) and renal GSH (H22) as the greatest contribution to the detoxication mechanism.

[Key words] mutual detoxication mechanism; principal component analysis; gray correlation analysis; overall evaluation; “there is no reason why there is no meteorology”; Lysimachiae Herba; Tripterygii Radix et Rhizoma

雷公藤(LGT)首载于《神农本草经》^[1],至今已有超过两千年的药用历史。LGT 疗效确切,可用于癌症、风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、肾小球肾炎等多种疾病的治疗^[2-10]。然而,LGT 却是大毒中药,可引起多器官毒性,其中尤以肝毒性和肾毒性最为突出^[1,11],这些都严重限制了其临床疗效的发挥和应用。金钱草(JQC)首载于《本草纲目拾遗》,具有利湿退黄、利尿通淋、解毒消肿之功效,可用于诸如黄疸、淋证、结石、痈肿疔疮等多种病证的治疗。中医药理论和临床实践均认为,JQC 与 LGT 二者联合用药属于中药相杀配伍的范畴^[12-13]。然而,迄今为止,LGT 配伍 JQC 的相杀减毒机制尚未阐明,这在一定程度上限制了二者配伍的有效应用。

本课题组前期已通过化学分析及生理状态下的急性毒性试验和亚急性毒性试验评价了 LGT 配伍

JQC 的相杀减毒作用,证实了二者相杀减毒作用与配伍前后发生变化的 12 个差异性化学成分有关^[14],配伍后使得生理状态下小鼠的急性毒性和亚急性毒性分别下降了 72% 和 138.5%^[15]。考虑到药物治病是用于患者的临床实际,结合 LGT 在抗癌方面的卓越疗效,本实验拟在肿瘤病理状态下,基于对“化学成分谱-减毒作用谱-生物信息谱”的主成分分析和灰色关联分析,从整体观角度评价 LGT 配伍 JQC 的相杀减毒作用机制,为二者的临床应用与推广提供参考。

1 材料

Epoch™ 型微孔板分光光度计(美国 Bio-Tek 公司),IVC-II 型小鼠独立送风隔离笼具系统(江苏苏州冯氏动物笼具厂),JX-FSTPRP-48 型全自动样品快速研磨仪(上海净信科技),MTV-100 型多管漩涡

混合仪(浙江杭州奥盛仪器有限公司),e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)^[15]。

丙氨酸氨基转移酶(ALT),天门冬氨酸氨基转移酶(AST),肌酐(Cr),尿素氮(BUN),谷胱甘肽(GSH),谷胱甘肽-S-转移酶(GST),谷胱甘肽过氧化物酶(GPx),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT)试剂盒以及考马斯亮蓝均购于南京建成生物工程研究所,批号分别为 20160523,20160527,20160523,20160523,20170522,20170520,20170525,20170524,20170527,20170509;雷公藤(LGT)采自福建省泰宁县 LGT 基地,金钱草(JQC,产地四川,批号 150801)购自河南本草国药馆连锁有限公司,均经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定,分别为卫矛科植物雷公藤 *Triptergium wilfordii* 的干燥根和报春花科植物过路黄 *Lysimachia christinae* 的干燥全草;小鼠白细胞介素(IL)-10 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,批号 1371374922),雷公藤甲素(TP)和雷公藤红素(CEL)对照品(成都曼思特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-15081405,MUST-15082610,纯度依次为 99.78%,99.79%),2-硫代巴比妥酸(TBA,上海源叶生物科技有限公司,批号 M25M7H11797)。

肉瘤 S180 腹水瘤小鼠和肝癌 H22 腹水瘤小鼠均由中国中医科学院中药研究所提供,用于抽取腹水瘤细胞进行肿瘤传代和实体瘤接种造模用。SPF 级 KM 小鼠,雄性,体质量 18~22 g,约 4 周龄,购自河南省实验动物中心,合格证号 SCXK(豫)2015-0004;经河南中医学院实验动物伦理委员会审查批准,批准号 DWLL201402002。

2 方法

2.1 荷瘤状态下亚急性毒性试验^[15] 从 S180 腹水瘤小鼠腹腔抽取腹水瘤细胞,将腹水瘤细胞用预冷无菌生理盐水稀释 5 倍后皮下注射接种于小鼠右腋下(0.2 mL/只),造 S180 荷瘤实体瘤模型。造模 24 h 后将模型小鼠按性别和体质量随机分为 7 组,即模型组,LGT 单用组以及 LGT-JQC 的 5 个配伍组(质量比分别为 4:1,2:1,1:1,1:2,1:4),另设正常组(非接种肿瘤组),共计 8 组,每组 10 只,连续灌胃给药 12 d,每天 1 次,给药剂量以 LGT 提取物计均为 60 mg·kg⁻¹(相当于 LGT 生药约 2 g·kg⁻¹),其中各提取物均用 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)混悬至所需浓度,正常组和模型组给予等体积 0.5% CMC-Na,于末次给药后 12 h 动物禁食

不禁水,24 h 摘眼球采血,供测定血清生化指标;迅速取肝和肾组织,于 -80 °C 冰箱保存,待测肝和肾组织脂质过氧化、抗氧化及炎症相关指标。按试剂盒说明书所述方法分别测定并计算血清 ALT,AST,Cr,BUN,肝和肾组织 GSH,GST,GPx,SOD,CAT,IL-10 水平,测定肝和肾组织丙二醛(MDA)水平^[16]。另取 80 只小鼠,用于 H22 实体瘤荷瘤病理状态下的减毒实验,除了造模接种的是 H22 腹水瘤细胞以及给药时间为 13 d 外,其他与 S180 肿瘤病理状态下的实验方法、分组和指标检测分析相同。

2.2 减毒作用谱和生物信息谱的界定 逆转高水平血清 ALT,AST,Cr,BUN,肝 MDA 和肾 MDA 表明药物对肝毒、肾毒及脂质过氧化损伤具有减毒作用,故将该 6 个指标作为减毒作用谱。GSH,GST,GPx,SOD 和 CAT 均是体内重要的抗氧化生物信息分子,IL-10 是体内重要的抗炎性生物信息分子,故将肝组织和肾组织中这 6 个生物信息分子共计 12 个指标作为引起减毒作用的生物信息谱。

2.3 基于主成分分析(PCA)从整体观评价相杀减毒作用及其生物机制 取 S180 和 H22 荷瘤病理状态下亚急性毒性试验分别获得的减毒作用谱和 12 个生物信息谱,通过 PCA 分别获得表征减毒作用谱的总体得分 Z_1 值和 Z_3 值,以及表征生物信息谱得分 Z_2 值和 Z_4 值。通过对各组减毒作用谱得分的比较,从整体观角度评价相杀配伍减毒作用;通过对各组生物信息谱的总体得分的比较,从整体观角度评价其减毒作用的生物机制。

2.4 “化学成分-减毒作用-生物信息”的灰色关联分析(GCA)^[14] 将配伍引起的这 12 个差异特征成分称为化学成分谱,将化学成分谱和生物信息谱均与减毒作用谱进行 GCA,按灰色关联度大小进行排序,比较各化学成分和生物信息指标分别对配伍减毒作用的贡献程度。

2.5 统计分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 软件处理,经方差齐性检验,方差齐时采用最小显著性差异法(LSD),方差不齐时采用 Dunnett's T3 法;采用 SPSS 17.0 软件进行 PCA 及 Z 值计算;采用 DPS 16.05 数据处理系统进行 GCA。

3 结果

3.1 配伍对荷瘤小鼠的总体减毒作用及其生物机制 对血清 ALT,AST,Cr,BUN,肝 MDA,肾 MDA 共 6 个反映肝肾功能和脂质过氧化程度的减毒作用指标进行 PCA,经适应性检验,荷瘤 S180 和 H22 这 2 次实验的 Kaiser-Meyer-Olkin(KMO)值分别为 0.917

和 0.894,且 Bartlett 球形检验 P 均为 0,说明 S180 和 H22 这 2 次实验数据均适合 PCA。将以上 6 个减毒作用指标降维为单一的反映总体减毒作用得分的 Z 值。如果 Z 值显著降低则说明具有减毒作用,反之则一定程度上说明有致毒作用。根据对各组 Z 值(Z_1 值和 Z_3 值)的统计分析,评价 LGT 配伍 JQC 的相杀减毒作用,见表 1。对 12 个反映肝肾抗氧化和抗炎功能的生物指标进行 PCA,经适应性检验,

荷瘤 S180 和 H22 这 2 次实验的 KMO 值分别为 0.965 和 0.956,且 Bartlett 球形检验 P 均为 0,说明 S180 和 H22 这 2 次实验数据均适合 PCA。将以上 12 个生物指标降维为单一的反映总体生物信息的得分的 Z 值。如果 Z 值显著升高则说明对肝和肾具有一定的抗氧化和抗炎作用。根据对各组 Z_2 值和 Z_4 值的统计分析,评价 LGT 配伍 JQC 相杀减毒作用的生物机制,见表 1。

表 1 LGT 配伍 JQC 对荷瘤状态下减毒作用谱和生物信息谱的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of LGT compatible with JQC on attenuation spectrum and biological information spectrum in tumor-bearing state($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 /mg·kg ⁻¹ | 荷瘤 S180 | | | | 荷瘤 H22 | | | |
|--------------|----------------------------|------------------------------------|-----------|------------------------------------|-----------|------------------------------------|-----------|------------------------------------|-----------|
| | | Z_1 值 (减毒作用得分) | 下降率 /% | Z_2 值 (生物信息得分) | 升高率 /% | Z_3 值 (减毒作用得分) | 下降率 /% | Z_4 值 (生物信息得分) | 升高率 /% |
| 正常 | - | -1.376 ± 0.088 | - | 1.800 ± 0.140 | - | -1.453 ± 0.286 | - | 1.670 ± 0.084 | - |
| 模型 | - | 1.014 ± 0.162 ¹⁾ | - | 1.170 ± 0.154 ¹⁾ | - | 1.167 ± 0.221 ¹⁾ | - | 1.099 ± 0.145 ¹⁾ | - |
| LGT 单用 | 60 | 1.762 ± 0.256 ^{1,2)} | - | -1.531 ± 0.162 ^{1,2)} | - | 1.582 ± 0.201 ^{1,2)} | - | -1.666 ± 0.106 ^{1,2)} | - |
| LGT-JQC(4:1) | 60 | 0.446 ± 0.223 ^{1,2,3,5)} | 74.7 | -0.756 ± 0.116 ^{1,2,3,5)} | 50.6 | 0.600 ± 0.164 ^{1,2,3,5)} | 62.1 | -0.950 ± 0.205 ^{1,2,3,5)} | 43.0 |
| LGT-JQC(2:1) | 60 | -0.929 ± 0.199 ^{1,2,3)} | 152.7 | 0.020 ± 0.160 ^{1,2,3)} | 101.3 | -0.914 ± 0.236 ^{1,2,3)} | 157.8 | 0.151 ± 0.177 ^{1,2,3)} | 109.1 |
| LGT-JQC(1:1) | 60 | -0.531 ± 0.24 ^{1,2,3,5)} | 130.1 | -0.040 ± 0.104 ^{1,2,3)} | 97.4 | -0.481 ± 0.159 ^{1,2,3,5)} | 130.4 | -0.014 ± 0.123 ^{1,2,3,4)} | 99.2 |
| LGT-JQC(1:2) | 60 | 0.029 ± 0.331 ^{1,2,3,5)} | 98.4 | -0.372 ± 0.183 ^{1,2,3,5)} | 75.7 | -0.114 ± 0.164 ^{1,2,3,5)} | 107.2 | -0.187 ± 0.159 ^{1,2,3,5)} | 88.8 |
| LGT-JQC(1:4) | 60 | -0.417 ± 0.195 ^{1,2,3,5)} | 123.7 | -0.290 ± 0.124 ^{1,2,3,5)} | 81.1 | -0.387 ± 0.258 ^{1,2,3,5)} | 124.5 | -0.103 ± 0.151 ^{1,2,3,5)} | 93.8 |

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与 LGT 单用组比较³⁾ $P < 0.01$;与 LGT-JQC(2:1)组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$ 。

由表 1 可知,与正常组比较,荷瘤 S180 和 H22 模型组显著升高了 Z_1 值和 Z_3 值($P < 0.01$),提示这 2 种荷瘤均引起了小鼠的毒性;与模型组比较,LGT 单用后使 S180 和 H22 的 Z_1 值和 Z_3 值显著升高($P < 0.01$),提示 LGT 单用后显著加重了这 2 种荷瘤所致的毒性;与 LGT 单用组比较,LGT-JQC 在质量配比为 4:1,2:1,1:1,1:2,1:4 配伍时均能显著降低 LGT 引起的过高水平的 Z_1 值和 Z_3 值($P < 0.01$),其中均以配比为 2:1 时减毒幅度最大,且减毒作用均高于在生理状态下的毒性下降率 138.5%^[15];LGT-JQC 在质量比为 4:1,1:1,1:2,1:4 时的 Z_1 值和 Z_3 值均明显高于质量比在 2:1 时相应的 Z_1 值和 Z_3 值($P < 0.01$),提示减毒作用的最佳配比为 LGT-JQC(2:1)。与正常组比较,荷瘤 S180 和 H22 模型组的 Z_2 值和 Z_4 值均显著降低($P < 0.01$),提示这 2 种荷瘤均可能引起了小鼠肝和肾的氧化损伤和炎症反应;与模型组比较,LGT 单用后进一步使 S180 和 H22 的 Z_2 值和 Z_4 值显著降低($P < 0.01$),提示 LGT 单用后显著加重了这 2 种荷瘤所致的氧化损伤和炎症反应;与 LGT 单用组

比较,LGT-JQC 在质量配比为 4:1,2:1,1:1,1:2,1:4 配伍时均能显著升高 LGT 引起的过低水平 Z_2 值和 Z_4 值($P < 0.01$),其中均以 LGT-JQC(2:1)时增幅最大;就 S180 而言,LGT-JQC 在质量比 4:1,1:2,1:4 时的 Z_2 值和 Z_4 值均明显低于质量比在 2:1 时相应的 Z_2 值和 Z_4 值($P < 0.01$),而在配比为 1:1 时无明显差异;就 H22 而言,LGT-JQC 在质量比 4:1,2:1,1:2,1:4 时的 Z_2 值和 Z_4 值均明显低于质量比在 2:1 时相应的 Z_2 值和 Z_4 值($P < 0.05, P < 0.01$)。

3.2 化学成分谱和生物信息谱对相杀减毒作用的贡献大小 HPLC 图谱提示 LGT 配伍 JQC 前后产生了 12 个差异特征成分^[14]。将差异特征成分与总体减毒作用得分 Z 值进行 GCA,得各特征成分对总体减毒作用得分的灰色关联系数,并按灰色关联系数进行排序,结果见表 2。提示 3#特征成分对 LGT 和 JQC 在 S180 荷瘤状态下的相杀减毒作用的贡献最大;10#特征成分对 LGT 和 JQC 在 H22 荷瘤状态下的相杀减毒作用的贡献最大。进一步通过 GCA 评价 12 个生物指标对减毒作用的贡献大小,结果见

表 3。提示肾 GPx 对 LGT 和 JQC 在 S180 荷瘤状态下的相杀减毒作用的贡献最大;肾 GSH 对二者在 H22 荷瘤状态下的相杀减毒作用的贡献最大。

表 2 化学成分谱对 LGT-JQC 减毒作用谱的灰色关联系数及其排序

Table 2 Gray correlation coefficients and their sorting of chemical composition spectrum for attenuation spectrum of LGT-JQC

| 化学成分谱 | 荷瘤 S180 | | 荷瘤 H22 | |
|-------|---------|----|---------|----|
| | 灰色关联系数 | 排序 | 灰色关联系数 | 排序 |
| TP | 0.613 5 | 10 | 0.662 3 | 2 |
| CEL | 0.605 7 | 11 | 0.576 6 | 8 |
| 1# | 0.630 2 | 6 | 0.553 2 | 9 |
| 2# | 0.657 4 | 3 | 0.587 9 | 7 |
| 3# | 0.720 3 | 1 | 0.598 3 | 5 |
| 4# | 0.509 3 | 12 | 0.471 0 | 12 |
| 5# | 0.619 5 | 8 | 0.514 0 | 11 |
| 6# | 0.638 9 | 5 | 0.548 4 | 10 |
| 7# | 0.651 4 | 4 | 0.624 6 | 3 |
| 8# | 0.625 5 | 7 | 0.600 6 | 4 |
| 9# | 0.615 5 | 9 | 0.597 9 | 6 |
| 10# | 0.689 0 | 2 | 0.693 8 | 1 |

表 3 生物信息谱对 LGT-JQC 减毒作用谱的灰色关联系数及其排序

Table 3 Gray correlation coefficients and their sorting of bioinformatics spectrum for attenuation spectrum of LGT-JQC

| 生物信息谱 | 荷瘤 S180 | | 荷瘤 H22 | |
|---------|---------|----|---------|----|
| | 灰色关联系数 | 排序 | 灰色关联系数 | 排序 |
| 肝 GSH | 0.563 4 | 12 | 0.552 8 | 10 |
| 肝 GST | 0.600 2 | 8 | 0.556 6 | 9 |
| 肝 GPx | 0.592 8 | 10 | 0.530 6 | 12 |
| 肝 SOD | 0.585 5 | 11 | 0.533 3 | 11 |
| 肝 CAT | 0.640 4 | 3 | 0.557 8 | 7 |
| 肝 IL-10 | 0.620 4 | 5 | 0.624 5 | 2 |
| 肾 GSH | 0.649 2 | 2 | 0.629 0 | 1 |
| 肾 GST | 0.617 7 | 6 | 0.598 8 | 3 |
| 肾 GPx | 0.747 1 | 1 | 0.586 7 | 5 |
| 肾 SOD | 0.597 0 | 9 | 0.585 4 | 6 |
| 肾 CAT | 0.626 7 | 4 | 0.596 2 | 4 |
| 肾 IL-10 | 0.616 5 | 7 | 0.557 5 | 8 |

4 讨论

本研究通过 PCA 从整体观角度评价了 LGT 配伍 JQC 后在荷瘤病理状态下的相杀减毒作用及其

生物机制,并进一步通过 GCA 评价了化学成分谱和生物信息谱对减毒作用谱的贡献程度,确定了对二者在荷瘤病理状态下相杀减毒作用贡献最大的化学成分为 3#(S180)和 10#(H22)特征成分,贡献最大的生物指标为肾 GPx(S180)和肾 GSH(H22)。

PCA 可将多因素(指标)降维为主因子成分甚或单因子成分,从而便于从整体观角度进行分析评价,适用于对中药等复杂体系的研究评价^[17-18]。此外,PCA 融入的整体观评价也符合中医的整体观念思想。故本研究先通过 PCA 评价了 LGT 配伍 JQC 后在荷瘤状态下的相杀减毒作用,证实了在荷瘤 S180 和 H22 肿瘤病理状态下二者相杀减毒作用的最佳配比均为 2:1,这与在生理状态下减毒作用的最佳配比一致^[15]。但配伍对在 S180 和 H22 肿瘤病理状态下的毒性下降率分别为 152.7% 和 157.8%,分别比二者配伍在生理状态下的毒性下降率 138.5% 要高,提示配伍对这 2 种荷瘤状态下的减毒作用比对在生理状态下更敏感。中医有一种思想叫“有故无殒”,其重要思想之一就包括了“有病则病受之”,即当机体处于疾病状态时,疾病分担药物的药性和毒性,从而在一定程度上缓解了有毒中药的毒性。本研究结果发现 LGT 与 JQC 配伍对 2 种荷瘤肿瘤病理小鼠的减毒作用比对正常生理小鼠敏感,这可能与中医的“有故无殒”有关。在荷瘤肿瘤病理状态下,LGT 一方面要分散一部分剂量来对抗肿瘤细胞,正所谓“有病则病受之”,如此以来,LGT 的毒性就不能完全施加于机体,而在生理状态下,由于无需“有病则病受之”来分散剂量,LGT 的毒性则完全施加于机体,从而在一定程度上使得 LGT 与 JQC 配伍对在荷瘤肿瘤病理状态下的减毒作用明显高于其对在生理状态下的减毒作用。随后,为了从整体探讨二者相杀减毒作用的生物机制,本研究同样借助 PCA,将包括抗氧化损伤和抗炎症反应的肝肾 12 个指标组成的生物信息谱进行了降维分析,同样是在 LGT-JQC(2:1)时增幅最大,各配比下的增幅与其减毒作用在趋势大体一致,提示增强对肝肾的抗氧化损伤和抗炎症反应参与了二者配伍相杀减毒的作用机制。

为了探索化学成分谱和生物信息谱分别对减毒作用谱的贡献大小,本研究采用 GCA^[19-20]确定了对二者在荷瘤病理状态下相杀减毒作用贡献最大的化学成分分别为 3#(S180)和 10#(H22)特征成分,这与在生理状态下对减毒作用贡献最大的特征成分为 TP 的结果不一致,这可能与化学成分谱中的特征

成分对在肿瘤病理状态下和生理状态下的敏感程度和作用强度不一致有关,后续将进一步研究确认。同时,确定了对二者相杀减毒作用贡献前5名的生物指标,为围绕这些生物指标开展二者配伍减毒机制研究提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 刘莹,仲青香,邱辉辉,等.基于肝毒性的雷公藤中药复方配伍减毒的研究进展[J].中国中药杂志,2017,42(16):3044-3048.

[2] CHAN S F, CHEN Y Y, LIN J J, et al. Triptolide induced cell death through apoptosis and autophagy in murine leukemia WEHI-3 cells *in vitro* and promoting immune responses in WEHI-3 generated leukemia mice *in vivo*[J]. Environ Toxicol, 2017, 32(2):550-568.

[3] CHANG H J, Kim M H, Baek M K, et al. Triptolide inhibits tumor promoter-induced uPAR expression via blocking NF- κ B signaling in human gastric AGS cells [J]. Anticancer Res, 2007, 27(5A):3411-3417.

[4] Kim M J, Lee T H, Kim S H, et al. Triptolide inactivates Akt and induces caspase-dependent death in cervical cancer cells via the mitochondrial pathway [J]. Int J Oncol, 2010, 37(5):1177-1185.

[5] LIU J, JIANG Z, XIAO J, et al. Effects of triptolide from *Tripterygium wilfordii* on ER α and p53 expression in two human breast cancer cell lines [J]. Phytomedicine, 2009, 16(11):1006-1013.

[6] XIE C Q, ZHOU P, ZUO J, et al. Triptolide exerts proapoptotic and cell cycle arrest activity on drug-resistant human lung cancer A549/Taxol cells via modulation of MAPK and PI3K/Akt signaling pathways [J]. Oncol Lett, 2016, 12(5):3586-3590.

[7] WANG Z, Ravula R, SHI L, et al. Overcoming chemoresistance in prostate cancer with Chinese medicine *Tripterygium wilfordii* via multiple mechanisms [J]. Oncotarget, 2016, 7(38):61246-61261.

[8] BAO J, DAI S M. A Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook F in the treatment of rheumatoid arthritis: mechanism, efficacy, and safety [J]. Rheumatol Int, 2011, 31(9):1123-1129.

[9] HUANG L, FENG S, WANG H. Decreased bone mineral

density in female patients with systemic lupus erythematosus after long-term administration of *Tripterygium wilfordii* Hook. F. [J]. Chin Med J (Engl), 2000, 113(2):159-161.

[10] WAN Y G, ZHAO Q, SUN W, et al. Contrasting dose-effects of multi-glycoside of *Tripterygium wilfordii* HOOK. f. on glomerular inflammation and hepatic damage in two types of anti-Thy1.1 glomerulonephritis [J]. J Pharmacol Sci, 2012, 118(4):433-446.

[11] LI X X, DU F Y, LIU H X, et al. Investigation of the active components in *Tripterygium wilfordii* leading to its acute hepatotoxicity and nephrotoxicity [J]. J Ethnopharmacol, 2015, 162:238-243.

[12] 钟赣生. 中药学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016:38.

[13] 丁中连. 金钱草的药用小方 [J]. 农村百事通, 2010(2):74-75.

[14] 王君明, 李金花, 蔡泓, 等. 基于主成分分析和灰色关联分析方法评价雷公藤配伍金钱草的相杀减毒作用的化学基础 [J]. 中国全科医学, 2018, 21(21):2622-2626.

[15] 王君明, 李金花, 李金洋, 等. 基于主成分分析评价雷公藤配伍金钱草的相杀减毒作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(21):1-6.

[16] Höberg J, Larson R E, Kristoferson A, et al. NADPH-dependent reductase solubilized from microsomes by peroxidation and its activity [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1974, 56(3):836-842.

[17] 于海帅. 基于主成分分析、聚类分析和典型相关分析的漏芦抗胃癌谱效关系探索 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21):27-31.

[18] 罗益远, 刘娟秀, 刘训红, 等. 不同加工方法何首乌中多元功效物质的测定及主成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(2):318-323.

[19] 梁健钦, 王剑, 熊万娜, 等. 基于灰色关联分析的芒果叶提取物抗炎作用的谱效关系 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(1):121-125.

[20] 刘维, 张祎楠, 裴瑾, 等. 川牛膝品种与品质的灰色关联度分析研究 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(20):1796-1801.

[责任编辑 刘德文]