

# 基于网络药理学探究芍药甘草汤治疗肾绞痛的作用机制

范迢迢<sup>1</sup>, 刘 裔<sup>1</sup>, 岑康铭<sup>1</sup>, 杨闰能<sup>1</sup>, 何金军<sup>2</sup>

<sup>1</sup>贵州中医药大学第一临床医学院, 贵州 贵阳

<sup>2</sup>贵州中医药大学第一附属医院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年4月27日; 录用日期: 2023年5月24日; 发布日期: 2023年5月31日

## 摘 要

目的: 通过网络药理学探究芍药甘草汤有效成分、肾绞痛之间的网络关系, 探究芍药甘草汤的作用机制。方法: 通过中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)筛选芍药甘草汤有效成分及相应的靶点; 从GeneCards、DisGeNET、OMIM、数据库中获得泌尿系结石疾病相关靶点; 使用在线软件平台Venny2.1绘制药物、疾病的交集靶点维恩图; 通过Metoscape数据库对交集靶点进行基因本体功能(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 通过STRING在线数据库构建PPI网络, 同时导入Cytoscape3.9.1获取核心靶点; 通过Cytoscape3.9.1绘制活性成分-靶点网络。结果: 芍药甘草汤93种活性成分, 共作用于228个靶点; 疾病靶点549个, 疾病和药物交集靶点41个; 核心靶点包括血管内皮生长因子A (VEGFA)、前列腺素内过氧化物合酶-2 (PTGS2)、白细胞介素6 (IL6)、白介素-1 $\beta$  (IL1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子(TNF)等; GO富集分析在BP上主要为炎症反应、血液循环等的生物学过程, 在CC上表现为膜筏、膜筏、膜微区等结构的细胞定位, 在MF上表现为细胞因子活性、受体配体活性、信号受体激活剂活性等分子功能; KEGG富集分析主要包括AGE-RAGE、缺氧诱导因子1、白细胞介素-17等通路。结论: 芍药甘草汤有效成分可能通过炎症相关通路作用, 缓解炎症因子相关性疼痛, 从而达到治疗肾绞痛的目的。

## 关键词

网络药理学, 芍药甘草汤, 肾绞痛

# Discussion on the Treatment of Renal Colic with Shaoyao Gancao Decoction Based on Network Pharmacology

Tiaotiao Fan<sup>1</sup>, Yi Liu<sup>1</sup>, Kangming Cen<sup>1</sup>, Minneng Yang<sup>1</sup>, Jinjun He<sup>2</sup>

<sup>1</sup>First Clinical Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

文章引用: 范迢迢, 刘裔, 岑康铭, 杨闰能, 何金军. 基于网络药理学探究芍药甘草汤治疗肾绞痛的作用机制[J]. 药物资讯, 2023, 12(3): 261-268. DOI: 10.12677/pi.2023.123033

<sup>2</sup>The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Apr. 27<sup>th</sup>, 2023; accepted: May 24<sup>th</sup>, 2023; published: May 31<sup>st</sup>, 2023

## Abstract

**Objective:** To investigate the network relationship between the active ingredients of peony and licorice soup and renal colic through network pharmacology and to investigate the mechanism of action of peony and licorice soup. **Methods:** The active ingredients and corresponding targets of *Paeonia lactiflora* glycyrrhiza tang were screened by the Traditional Chinese Medicine Systematic Pharmacology Database Analysis Platform (TCMSP); the targets related to urinary colic disease were obtained from GeneCards, DisGeNET, OMIM, and databases; the Venn diagram of the intersecting targets of drugs, diseases was drawn using the online software platform Venny 2.1; the Venn diagram of the intersecting targets was obtained by Metoscape database to perform gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis on the intersecting targets; building PPI networks through STRING online database, while importing Cytoscape 3.9.1 to obtain core targets; mapping active ingredient-target networks through Cytoscape 3.9.1. **Results:** There were 93 kinds of Peony and licorice decoction active ingredient, acting on 228 targets; There were 549 disease targets and 41 disease and drug intersection targets; core targets include vascular endothelial growth factor A (VEGFA), prostaglandin endoperoxidase-2 (PTGS2), interleukin 6 (IL6), interleukin-1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ), tumour necrosis factor (TNF), etc. GO enrichment analysis is mainly for biological processes such as inflammatory response and blood circulation on BP, cellular localization of structures such as membrane rafts, membrane rafts and membrane micro-regions on CC, and molecular functions such as cytokine activity, receptor ligand activity and signal receptor activator activity on MF; KEGG enrichment analysis mainly includes AGE-RAGE, hypoxia-inducible factor 1, interleukin-17, etc. pathways. **Conclusion:** The active ingredients of *Paeonia lactiflora* and *Glycyrrhiza glabra* soup may act through inflammation-related pathways to relieve inflammatory factor-associated pain, thereby achieving the treatment of renal colic.

## Keywords

Network Pharmacology, *Paeonia lactiflora* and Licorice Soup, Renal Colic

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

肾绞痛是由于泌尿系结石引起的急性肾区疼痛，肾绞痛作为泌尿外科常见的急症，通常表现为患者某侧腰腹部疼痛，部分患者疼痛剧烈，严重者会出现疼痛性休克，严重影响患者健康与生活质量[1]。张仲景所创芍药甘草汤作为《伤寒论·辨太阳病脉证并治》代表方之一，全方由芍药甘草两药配伍而成[2]，现代药理学研究发现[3][4]，芍药甘草汤具有抗炎、止痛、解痉、松弛平滑肌等作用。药理试验[5]显示，芍药甘草汤可改善慢性炎性痛大鼠机械刺激缩足阈值和热缩足潜伏期，芍药甘草汤可能通过上调背神经节 Sema3G 表达，抑制 IL-6、CCL2mRNA 相对表达水平，改善慢性炎性痛。还有学者[6]发现，芍药甘草汤能改善帕金森小鼠脑内神经递质水平，缓解肌肉强直的作用。现代临床还将芍药甘草汤用于治疗

消化系统疾病、心血管系统疾病以及肿瘤癌症等疾病，均取得了较好的临床效果[7]。

本文采用网络药理学方法分析芍药甘草汤方药的有效活性成分和作用靶点，初步探讨芍药甘草汤治疗肾绞痛的作用机制。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 芍药甘草汤活性成分及靶点筛选

利用中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)，对芍药甘草汤中 2 味药(芍药、甘草)进行筛选，筛选标准为  $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$  为阈值设置 ADME 属性，获取药物相关活性成分。活性成分筛选完成后，再利用该平台获取活性成分作用的蛋白质靶点信息，筛选完成后合并、去重，通过 Uniprot 基因库(<https://www.uniprot.org/>)将靶标蛋白转换成靶点基因，对收集到的靶点进行统一规范后记录。

### 2.2. 芍药甘草汤治疗肾绞痛潜在靶点的预测

以“renal colic”“ureteral colic”为关键词分别 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)数据库中检索相关疾病靶点。通过 Venny2.1.0 在线平台绘制韦恩图，得到芍药甘草汤药物活性成分靶点与疾病靶点的交集靶点，即潜在的预测靶点，最终预测出 41 个靶点。

### 2.3. 芍药甘草汤治疗肾绞痛的关键活性成分及靶点预测

通过 Cytoscape3.9.1 软件构建“中药-活性成分-疾病靶点”网络图，同时进行拓扑分析得到芍药甘草汤治疗肾绞痛的关键活性成分及靶点。

### 2.4. 蛋白质-蛋白质相互作用网络(PPI)构建

通过 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)构建蛋白质互作网络，将预测的靶点 41 个导入该数据库，去除游离节点 2 个后导入 Cytoscape3.9.1 通过 CytoNCA 进行拓扑分析，筛选出芍药甘草汤治疗肾绞痛的核心靶点蛋白。

### 2.5. 基因富集分析

通过 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)，进行基因本体功能(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析， $P \leq 0.01$ ，Min Enrichment = 3。

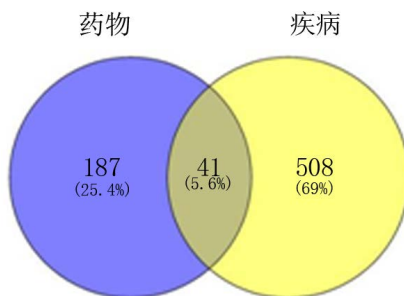
## 3. 结果

### 3.1. 芍药甘草汤的活性成分及其作用靶点

在 TCMSP 中检索得到甘草的主要活性成分为“甘氨酸、7,2,4-三羟基-5-甲氧基-3-芳基香豆素、黄芩素、菜豆素、补骨脂定”等，白芍的主要活性成分为“芍药苷元、 $11\alpha$ ， $12\alpha$ -环氧- $3\beta$ ，23-二羟基-30-去甲齐墩-20(29)-28， $13\beta$ -内酯”等。甘草活性成 88 种，芍药活性成分 8 种，其中共有成分 3 种包括异鼠李素、 $\beta$ -谷甾醇、山奈酚，共同作用于 228 个靶点。

### 3.2. 交集靶点

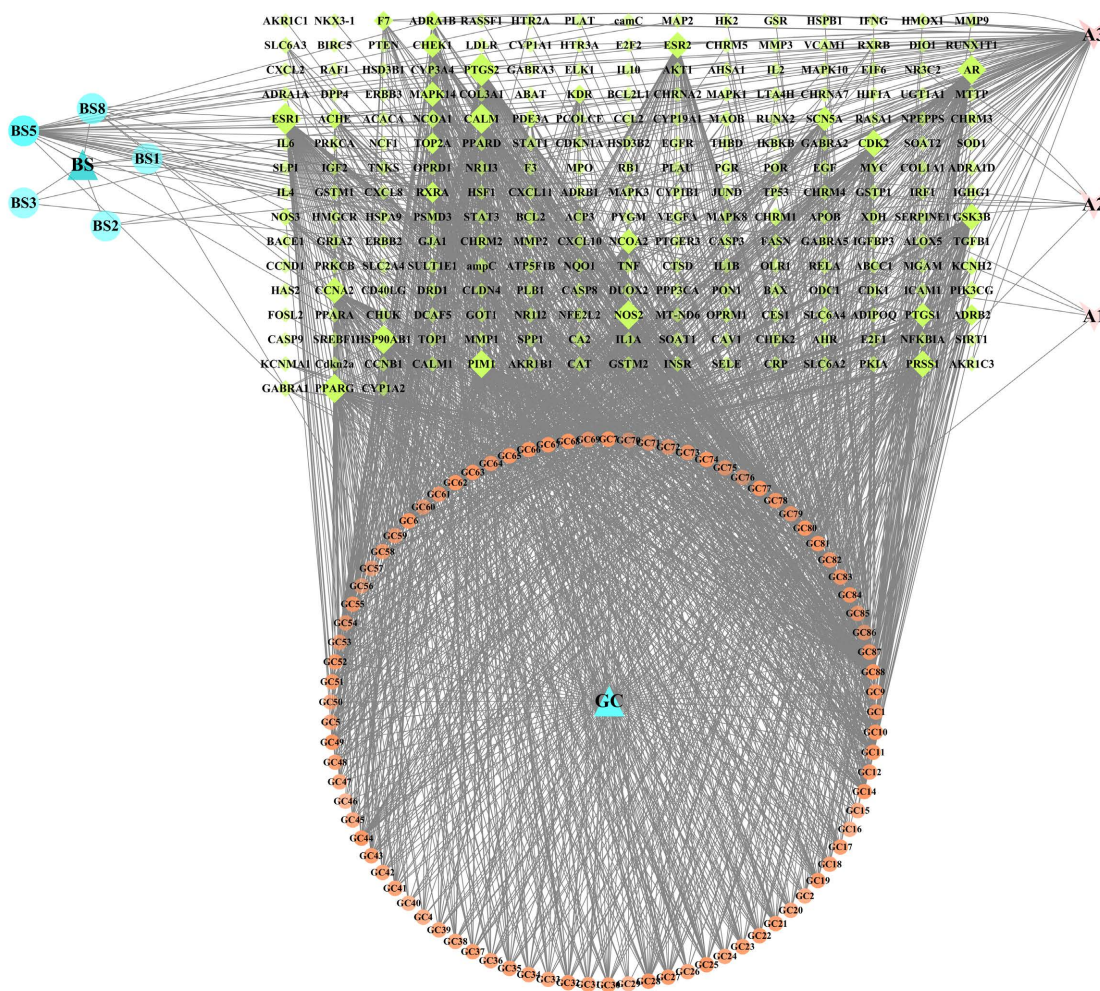
分别从 GeneCards、DisGeNET、OMIM 数据库中检索得出与肾绞痛相关靶点 490、5、65 个，合并去重得到 549 个疾病相关靶点，与芍药甘草汤活性成分作用靶点取交集靶点，最终得出 41 个交集靶点(见图 1)。



**Figure 1.** Intersection of drug and disease targets  
**图 1.** 药物 - 疾病靶点交集

### 3.3. 活性成分 - 靶点网络构建

应用 Cytoscape3.9.1 软件绘制芍药甘草汤活性成分及作用靶点间的可视化网络(见图 2)。发现 degree 靠前的成分主要为 PTGS2、ESR1、CALM 等。



**Figure 2.** Active ingredients-target network diagram (Note: A1~A3 are common components of two traditional Chinese medicines, GC: Glycyrrhiza, BS: Paeony, shape size, light and dark changes in the figure are determined by Degree)  
**图 2.** 活性成分 - 靶点网络图(注: A1~A3 两味中药共有成分, GC: 甘草, BS: 白芍, 图中形状大小、明暗变化由 Degree 值决定)

### 3.4. PPI 网络构建及核心靶点获取

将交集靶点导入 STRING 数据库, 去除游离节点 2 个, 成功构建 PPI 网络含有 39 个节点、322 条边, 将 PPI 网络导入 Cytoscape3.9.1 通过插件 CytoNCA 进行拓扑分析, 经过筛选得出核心靶点 13 个(见图 3)。核心靶点为肿瘤坏死因子(TNF)、白介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、一氧化氮合酶(NOS3)、过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPARG)、白细胞介素-10 (IL10)、趋化因子配体-2 (CCL2)、C 反应蛋白 (CRP)、髓过氧化物酶(MPO)、蛋白激酶(AKT1)、前列腺素内过氧化物合酶-2 (PTGS2)、靶向纤溶酶原激活物抑制剂-1 (SERPINE1)、白细胞介素-6 (IL6), 说明这些靶点可能是芍药甘草汤治疗肾绞痛的核心靶点。在中药中的主要成分为异鼠李素、 $\beta$ -谷甾醇、山奈酚, 说明中药中的这些成分在芍药甘草汤治疗肾绞痛时起主要作用。

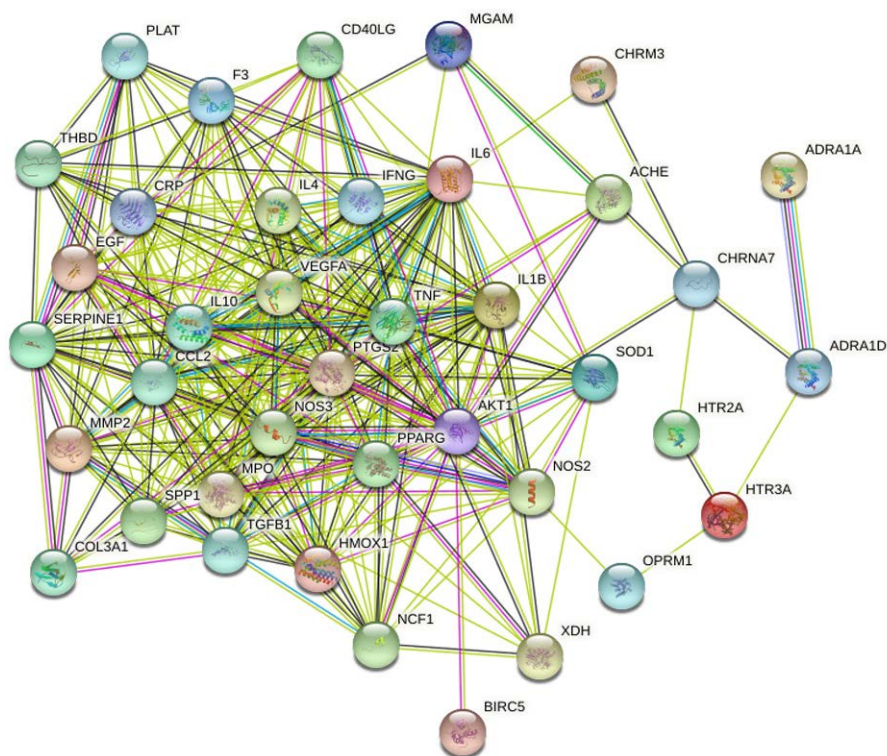


Figure 3. PPI network and core target  
图 3. PPI 网络及核心靶点

### 3.5. GO 功能和 KEGG 通路富集分析

通过 Matescape 平台对交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。GO 功能富集分析后得到, 生物学过程(BP)、分子功能(MF)、细胞定位(CC)相关条目, 其中 BP 主要包括炎症反应、血液循环、对脂多糖的反应、细胞迁移的正调节、对细菌来源分子的反应等; 涉及的主要 MF 包括细胞因子活性、受体配体活性、信号受体激活剂活性、细胞因子受体结合等; 涉及的 CC 包括质膜筏、膜筏、膜微区等(见图 4)。KEGG 通路富集分析得到 106 条信号通路, 参与的主要通路为糖尿病并发症中的糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGE)-糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)信号通路、缺氧诱导因子 1 (hypoxia-inducible factor 1, HIF-1)信号通路、白细胞介素-17 (IL-17)信号通路等多条信号通路(见图 5)。

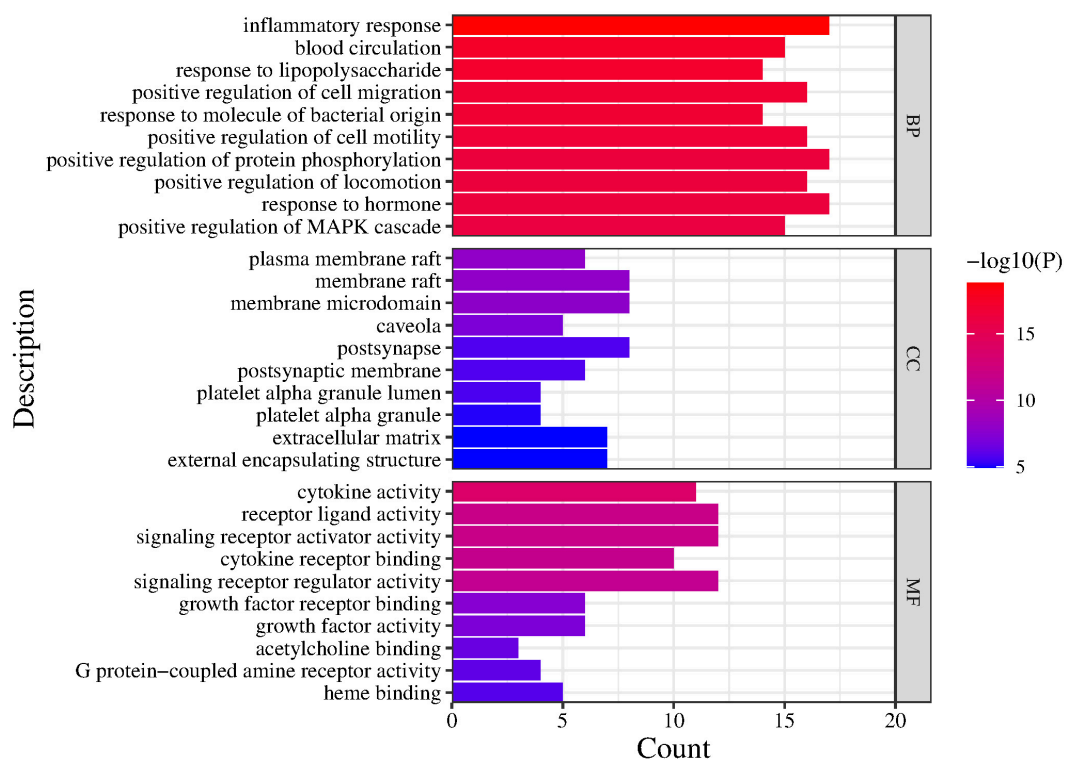


Figure 4. GO enriched column diagram  
图 4. GO 富集柱状图

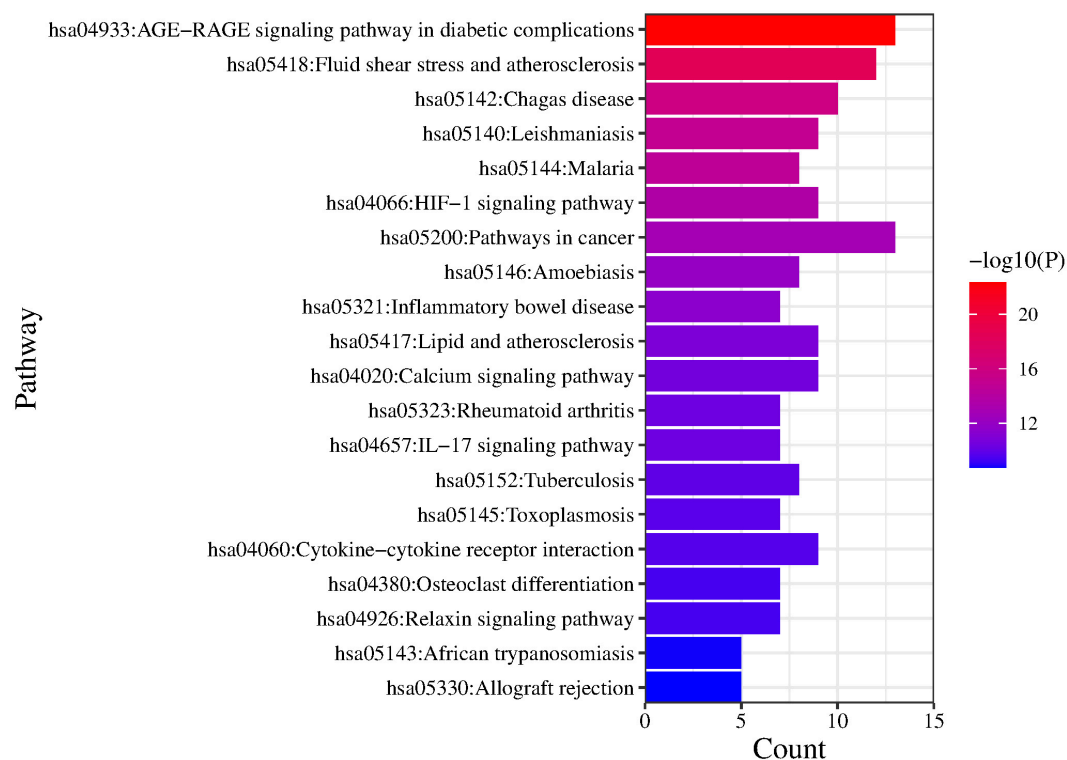


Figure 5. KEGG enrichment column  
图 5. KEGG 富集柱状图

## 4. 讨论

现代药理学研究显示,芍药甘草汤有镇痛、抗炎作用[8]。本研究发现芍药甘草汤含有多种有效成分,包括异鼠李素、 $\beta$ -谷甾醇、山奈酚等。异鼠李素对不同的致痛因素诱导的疼痛均有较强的镇痛作用,其镇痛机制可能与抑制 NF- $\kappa$ B 通路,从而减少 NO、TNF- $\alpha$ 、IL-1 及 IL-6 的表达、合成或释放有关[9]。 $\beta$ -谷甾醇能有效地下调肠道中与胆固醇吸收相关的基因表达[10]。 $\beta$ -谷甾醇可促进颗粒细胞增殖,抑制凋亡[11]。山奈酚是一种天然的可食用黄酮类化合物,主要来源于姜科植物山奈的根茎,具有抗癌、抗氧化、抗炎等多种功效[12]。山奈酚通过直接减少 AGE 的形成来抑制神经元细胞凋亡,能显著抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的释放,提高热痛觉和机械痛觉的阈值,对疼痛具有一定的缓解作用[13]。从蛋白互作网络的结果来看 TNF、IL-1 $\beta$ 、VEGFA、NOS3、PPARG 等是芍药甘草汤治疗肾绞痛的關鍵靶点, TNF 参与全身炎症反应, IL-1 $\beta$  作为一个重要的炎症介质,能够参与多种细胞活动,包括细胞增殖,分化和凋亡[14]。有学者研究[15]发现白芍的有效成分芍药苷可以降低炎症细胞因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的水平,抑制胶原诱导性关节炎大鼠的炎症反应。VEGFA 可调节血管功能,与血管生成有关。其与 VEGFR2 受体结合,激活 TRPV1 和 TR-PA1 通道,保护感觉神经元上的疼痛信号传递[16]。NOS3、PPARG 均与氧化应激、炎症相关。

通过联系 GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析结果发现,芍药甘草汤主要通过调节炎症反应,参与生物调节等功能治疗肾绞痛,并且与 AGEs-RAGE、HIF-1、IL-17 等多条信号通路相关。AGEs-RAGE 是由晚期糖基化终产物(advanced glycosylation endproducts, AGEs)及糖基化终末产物受体(receptor of AGEs, RAGE)组成的信号通路[17]。AGEs 是在高糖环境下的代谢产物, RAGE 是低亲和力模式识别受体家族的重要成员,在先天免疫和适应性免疫中发挥作用[18]。HIF-1 信号通路通过作用于血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞的特异性反应,上调血管内皮生长因子、一氧化二氮、活性氧和血小板衍生生长因子,导致内皮细胞功能障碍、增殖和炎症[19]。IL-17 是 T 细胞亚群中 Th17 细胞分泌的促炎因子, IL-17 参与调节炎症级联反应[20]。综上所述,芍药甘草汤可能通过异鼠李素、 $\beta$ -谷甾醇、山奈酚等活性成分作用于 TNF、IL-1 $\beta$ 、VEGFA、NOS3、PPARG 等相关靶点,影响 AGEs-RAGE、HIF-1、IL-17 等多条信号通路,减少致痛介质释放,缓解炎症因子相关性疼痛,从而达到治疗肾绞痛的目的。然而,本研究存在一定的局限性,没有考虑实际药剂量、药物在体内代谢等因素的影响。仍需相关试验,进一步阐明芍药甘草汤治疗肾绞痛的作用机制。

## 参考文献

- [1] 贺雪梅. 丁溴东莨菪碱联合双氯芬酸的不同给药方式治疗结石性肾绞痛的效果比较[J]. 中国基层医药, 2020, 27(11): 1286-1289.
- [2] 弓铭, 田丙坤, 张伟. 从量效关系探讨《伤寒杂病论》芍药用药规律[J]. 中医药导报, 2019, 25(3): 70-73. <https://doi.org/10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2019.03.019>
- [3] 汪萌, 闫永红, 邹慧琴, 等. 芍药甘草汤功能与药效组分对应性研究[J]. 国际药学研究杂志, 2015, 42(1): 101-106. <https://doi.org/10.13220/j.cnki.jipr.2015.01.016>
- [4] 马婷婷, 贺蕊, 龚慕辛, 等. 不同配伍比例芍药甘草汤成分的肠吸收研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4268-4274.
- [5] 曾晓霞. 从背根神经节 Sema3G 蛋白调控探讨芍药甘草汤改善慢性炎性痛的作用机制[D]: [硕士学位论文]. 福州: 福建中医药大学, 2022. <https://doi.org/10.27021/d.cnki.gfjzc.2022.000021>
- [6] 黄汝成, 赵贝贝, 孔杰, 金远林. 芍药甘草汤对帕金森病大鼠脑内神经递质及肌强直的影响[J]. 中医学报, 2019, 34(4): 760-765.
- [7] 张保国, 刘庆芳. 芍药甘草汤临床研究与新用[J]. 中成药, 2012, 34(9): 1774-1777.

- [8] 孙婷, 姜建国, 张广钦. 芍药甘草汤的镇痛抗炎作用研究[J]. 中国药业, 2016, 25(3): 18-20.
- [9] 杨宇, 胥学冰, 蒋殿宇, 等. 异鼠李素通过调控 NF- $\kappa$ B 通路发挥镇痛作用[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(14): 1366-1371. <https://doi.org/10.16016/j.1000-5404.202101133>
- [10] 雷琳.  $\beta$ -谷甾醇与芝麻素对仓鼠血脂水平影响的研究[C]//中国营养学会, 中国疾病预防控制中心营养与健康所, 农业部食品与营养发展研究所, 中科院上海生科院营养科学研究所. 中国营养学会第十三届全国营养科学大会暨全球华人营养科学家大会论文汇编, 2017: 469.
- [11] 赵帅, 陈冬梅, 虎娜, 等.  $\beta$ -谷甾醇通过 PI3K/AKT 通路影响颗粒细胞增殖及凋亡[J]. 宁夏医科大学学报, 2021, 43(4): 339-344. <https://doi.org/10.16050/j.cnki.issn1674-6309.2021.04.004>
- [12] 陈丹. 山奈酚的抗炎镇痛作用及其机制研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2021. <https://doi.org/10.27253/d.cnki.gnjzu.2021.000840>
- [13] Kishore, L., Kaur, N. and Singh, R. (2018) Effect of Kaempferol Isolated from Seeds of *Eruca sativa* on Changes of Pain Sensitivity in Streptozotocin-Induced Diabetic Neuropathy. *Inflammopharmacology*, **26**, 993-1003. <https://doi.org/10.1007/s10787-017-0416-2>
- [14] Malik, A. and Kanneganti, T.D. (2018) Function and Regulation of IL-1 $\alpha$  in Inflammatory Diseases and Cancer. *Immunological Reviews*, **281**, 124-137. <https://doi.org/10.1111/imr.12615>
- [15] 吴丹. 白芍有效成分芍药苷的测定及其干预胶原诱导性关节炎大鼠的定量蛋白质组学研究[D]: [博士学位论文]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [16] Zhao, D., Han, D.F., Wang, S.S., *et al.* (2019) Roles of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Interleukin-6 in Regulating Bone Cancer Pain via TRPA1 Signal Pathway and Beneficial Effects of Inhibition of Neuro-Inflammation and TRPA1. *Molecular Pain*, **15**, 9. <https://doi.org/10.1177/1744806919857981>
- [17] 姜婷, 滕士超, 安晓飞, 等. 中医药干预 AGEs-RAGE 信号通路改善糖尿病肾病的机制研究概述[J]. 环球中医药, 2022, 15(1): 173-178.
- [18] Vlassara, H. and Striker, G.E. (2013) Advanced Glycation Endproducts in Diabetes and Diabetic Complications. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, **42**, 697-719. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.07.005>
- [19] 陈凯, 陈敏娜, 王琼, 等. 基于网络药理学及分子对接技术的复方丹参滴丸治疗心绞痛潜在分子机制探讨[J]. 药物评价研究, 2022, 45(7): 1282-1293.
- [20] 朱峰, 李杨, 张鹏, 等. 益气除痞汤治疗反流性食管炎的效果及对患者胃肠动力、白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-23(IL-23)的变化影响[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(8): 193-196.