

基于网络药理学和分子对接 探索半夏厚朴汤、四逆散和 越鞠丸“同病异治”抑郁症的 作用机制

梁小清^{1,2*}, 木本荣^{1,2*}, 卢长青^{1,2}, 刘文雯^{1,2}, 王冬梅^{3#}, 国锦琳^{1,2#}

¹成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都

²川渝共建感染性疾病中西医结合诊治重庆市重点实验室, 四川 成都

³成都中医药大学基础医学院, 四川 成都

收稿日期: 2022年4月6日; 录用日期: 2022年5月3日; 发布日期: 2022年5月12日

摘要

目的: 本文通过网络药理学和分子对接技术探索半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸“同病异治”抑郁症的作用机制。方法: 通过TCMSP和BATMAN-TCM数据库整理半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸的活性成分和靶点信息, 联合GSE87610生物芯片和PharmGKB、DrugBank、OMIM、TTD、GeneCards五个疾病数据收集抑郁症靶点。利用Cytoscape3.8.0构建“活性成分-药物靶点”互作网络, 筛选重要成分和关键靶点; 基于Venny2.1.0获取三种复方和抑郁症的共同靶点, 使用String在线分析工具获取蛋白质互作网络图, 采用DAVID在线数据库对核心靶点进行GO富集和KEGG信号通路分析。筛选“活性成分-药物靶点”互作网络中Degree排名前五的活性成分和三种中药复方和抑郁症共有靶点PPI排名前五的靶点分别作为配体和受体, 用PyMol、Autodock和Vina软件对活性成分和蛋白质进行分子对接。结果: 半夏厚朴汤中有效成分192个、潜在靶点1544个, 四逆散中有效成分275个、潜在靶点1442个, 越鞠丸中有效成分177个、潜在靶点1364个, 抑郁症靶点1337个, 得到三种中药复方和抑郁症共有靶点347个。KEGG信号通路分析共获得153条, 涉及神经活性配体-受体相互作用、癌症的途径cAMP信号通路、钙信号通路、PI3K-Akt信号通路等。筛选得到的活性成分为黄连碱、槲皮素、壬酸、棕榈酸和缬氨酸; 关键靶点为AKT1、INS、TP53、IL6和TNF; 对接结果显示五种活性成分和五种蛋白均具有较好的结合能力。结论: 半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸三种复方存在着相同和不同的抗郁成分和靶点, 通过分析靶点和通路, 加以分子对接技术辅助验证结合活性, 初步阐明三者“同病异治”抑郁症的科学内涵。

关键词

网络药理学, 分子对接, 抑郁症, 同病异治

*共同第一作者。

#通讯作者。

Based on Network Pharmacology and Molecular Docking to Explore the Mechanisms of Banxiahoupo Decoction, Sini Powder and Yueju Pill in the Treatment of Depression by “Same Disease with Different Treatments”

Xiaoqing Liang^{1,2*}, Benrong Mu^{1,2*}, Changqing Lu^{1,2}, Wenwen Liu^{1,2}, Dongmei Wang^{3#}, Jinlin Guo^{1,2#}

¹College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

²Chongqing Key Laboratory of Sichuan-Chongqing Co-Construction for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chengdu Sichuan

³College of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Apr. 6th, 2022; accepted: May 3rd, 2022; published: May 12th, 2022

Abstract

Objective: Based on network pharmacology and molecular docking to explore the mechanisms of Banxiahoupo Decoction, Sini Powder and Yueju Pill treating depression with “Same Disease with Different Treatments”. **Methods:** The active ingredients and target information of Banxiahoupo Decoction, Sini Powder and Yueju Pill were sorted by TCMSP and BATMAN-TCM database, and depression targets were collected by combining GSE87610 chip and PharmGKB, DrugBank, OMIM, TTD and GeneCards. Use Cytoscape3.8.0 to draw the interaction network of “active ingredients-drug targets”, then screen important ingredients and key targets. Venny2.1.0 was used to get the common target of three kinds of compound prescription and depression, PPI was drawn by String online analysis tool, and GO enrichment and KEGG signal pathway analysis were carried out on the key targets by DAVID online database. Screening the top five active ingredients in the “active ingredient-drug target” interaction network and the top five targets in PPI, which are common targets of three traditional Chinese medicine compounds and depression, as ligands and receptors respectively. Use PyMol, Autodock and Vina software for molecular docking of active ingredients and protein. **Results:** There were 192 active ingredients and 1544 potential targets in Banxiahoupo Decoction, 275 active ingredients and 1442 potential targets in Sini Powder, 177 active ingredients and 1364 potential targets in Yueju Pill, and 1337 targets in depression. There were 347 targets shared by three traditional Chinese medicine compounds and depression. A total of 153 KEGG signal paths were obtained, which involved neuroactive ligand-receptor interaction, cAMP signaling pathway, calcium signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway and so on. The screened active ingredients are coptisine, quercetin, nonanoic acid, palmitic acid and valine. The key targets are AKT1, INS, TP53, IL6 and TNF. The docking results showed that the five active ingredients and five proteins had good binding ability. **Conclusion:** Banxiahoupo Decoction, Sini Powder and Yueju Pill have the same and different anti-depression components and targets. By analyzing the targets and pathways and verifying the binding activity with the aid of molecular docking technology, the scientific connotation of treating depression with “Same Disease with Different Treatments” among the three compounds is preliminarily clarified.

Keywords

Network Pharmacology, Molecular Docking, Depression, Same Disease with Different Treatments

Copyright © 2022 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

随着生活节奏的加快与社会压力的增加,抑郁症已成为世界上最令人担忧的疾病之一,预计到2030年将成为全球最严重的疾病负担[1]。抑郁症以心境低落为主要特征[2],包括显著而持久的思维迟钝、认知功能损害、意志活动减退以及不同程度的失眠或嗜睡、食欲减退、乏力等躯体症状,轻者闷闷不乐、兴趣减退,重者可出现自杀现象,对人们的生活和工作影响极大。它的高发病率、高复发和高死亡率的特点已造成数百万人死亡,并对世界各地的社会产生影响[3]。尽管研究人员几十年来一直在试图解决这个问题,但仍然没有合适的解决方案。抑郁症在现代中医的研究中归属于“郁证”范畴[4],中医学具有独特的理论体系和源远流长的实践经验,可以通过单味中药或者中药复方的组合[5]来发挥其多层次,多靶点的功能优势,在抑郁症治疗上的作用机制亟待发掘。

“同病异治”是指相同的疾病因为人、时间、地点的不同,或是疾病的发展状况、疾病的类型差异、疾病机理的变化和治疗时因情况不同而采用不同的治疗手段[6],其起效原因可能是基于相似的物质基础和靶点[7]。目前“同病异治”的相关文献较少,同时缺乏分子对接技术验证活性成分和蛋白质的结合性能,数据准确度还不够。本次研究借助网络药理学和分子对接技术,构建“活性成分-药物靶点”网络和蛋白质互作网络,筛选活性成分和关键靶点,进行分子对接,阐明三种中药复方和抑郁症的相关性,揭示“同病异治”的科学内涵。

2. 材料与方法

2.1. 获取半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸的活性成分和靶点

半夏厚朴汤中包括半夏、厚朴、茯苓、生姜和苏叶五种药材;四逆散中包括甘草、枳实、柴胡和白芍四种药材;越鞠丸包括苍术、香附、川芎、神曲和栀子五种药材,其中六神曲为多味药材组成,且含有多种真菌,故本次研究不考虑[8]。通过中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSp (<https://tcmsp-e.com/>)和 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)分别检索三种复方中各中药的有效活性成分和相关作用靶点,前者设置筛选条件为口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 、化合物类药性(DL) ≥ 0.18 ;后者为评分(Score Cutoff) ≥ 20 、矫正 P 值(Adjusted P-Value) ≤ 0.05 ,将所得的蛋白质靶点信息通过 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>)转化为基因靶点。

2.2. 获取抑郁症的靶点

进入美国国立生物中心基因表达综合数据库 GEO-NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),下载芯片 GSE87610 相关数据。该数据集包含 31 个样本,有 15 个对照样本和 16 个疾病样本,分组进行 GEO2R 分析后下载全部基因资料,除去没有匹配到基因的探针,筛选条件设置为 P.Value < 0.05 , $\log_2FC > 1$ 或 $\log_2FC < -1$,得到抑郁症组与正常组的差异基因,并使用 R Studio 对数据集基因绘制火山图,对差异基

因绘制热图, 进行可视化分析。

利用 PharmGKB (<https://www.pharmgkb.org/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)、OMIM (<http://omim.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)和 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)五个数据库收集抑郁症的靶点。合并 5 个数据库靶点, 删去重复靶点并在 Uniprot 蛋白数据库进行蛋白名称标准化, 得到抑郁症靶点。

2.3. 构建“活性成分-药物靶点”互作网络

利用 Venny2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)对三种复方的活性成分取交集, 得到共有活性成分和三种中药复方的特有活性成分。分类处理活性成分和靶点的对应关系, 导入 Cytoscape3.8.0 构建“活性成分-药物靶点”互作网络, 进行可视化分析。

2.4. 构建蛋白质互作网络

利用 Venny2.1.0 对三种复方和抑郁症的靶点取交集, 得到三种复方和抑郁症的共有靶点和每种复方和抑郁症的特有靶点。分别将靶点导入 String 数据库(<https://www.string-db.org/>), 下载数据, 利用 Cytoscape3.8.0 绘制蛋白质互作网络图(PPI), 同时用插件 MCODE 对 4 个 PPI 进行模块分析, 并筛选出模块一的靶点, 导入 DAVID 在线数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>), 进行信号通路分析。

2.5. 分析 GO 富集和 KEGG 通路

将共同靶点导入 DAVID 在线数据库, 选择物种为“Homo sapiens”, 下载生物过程(BP: Biological Process)、细胞组成(CC: Cellular Component)、分子功能(MF: Molecular Function)和 KEGG 数据, GO 富集分析的数据绘制为簇状柱形图, KEGG 数据用 R 语言的 ggplot2 包绘制气泡图, 同时用 Cytoscape3.8.0 表达出重要信号通路和其涉及基因的关系。

2.6. 分子对接

选取“活性成分-药物靶点”互作网络中 degree 排名前五的活性成分作为配体, 在 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中检索成分并下载 3D 格式, 利用 OpenBabel2.4.1 转换为 mol2 格式; 筛选三种中药复方和抑郁症共同靶点的 PPI 中 degree 排名前五的靶点作为受体, 并在 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>)中选择合适的受体下载 PDB 文件。使用 AutoDock4.2 进行结合, 分析活性成分和关键靶点的结合性能, 选取结合能 < -5 (kcal/mol)的对接模型, 用 PyMol 软件可视化对接结果。

3. 结果

3.1. 半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸活性成分及作用靶点筛选结果

TCMSP 和 BATMAN-TCM 数据库得到半夏厚朴汤中活性成分 192 个, 作用靶点 1544 个; 四逆散中活性成分 275 个, 作用靶点 1442 个; 越鞠丸中活性成分 177 个, 作用靶点 1364 个。利用 Venny2.1.0 作图后得到三者共有活性成分 6 个, 半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸各自的特有活性成分分别为 146 个、241 个和 131 个(见图 1)。

3.2. 抑郁症靶点筛选结果

GSE87610 生物芯片筛选差异基因 185 个, 联合五个疾病数据库, 共获取抑郁症靶点 1337 个。对 GSE87610 中 185 个差异基因绘制热图(见图 2(a))和火山图(见图 2(b)), 红色代表该基因在表达中上调, 绿色代表该基因在表达中下调, 黑色代表该基因没有明显差异, 不具有统计学意义, 结果统计, 该芯片

中上调基因有 90 个，包括下调基因 95 个。

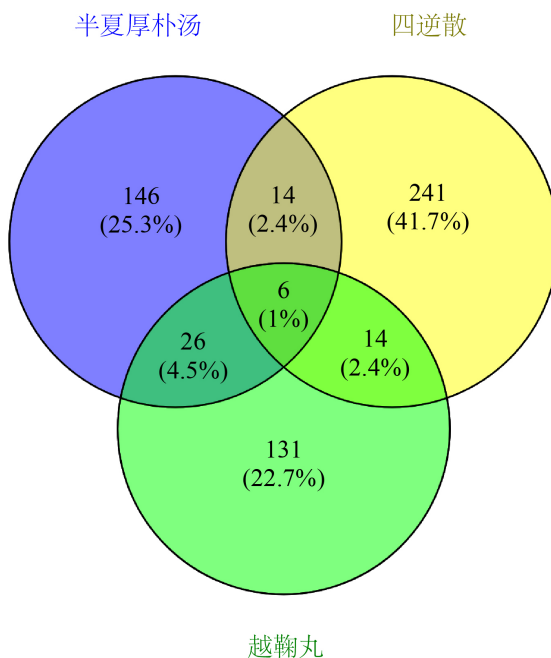
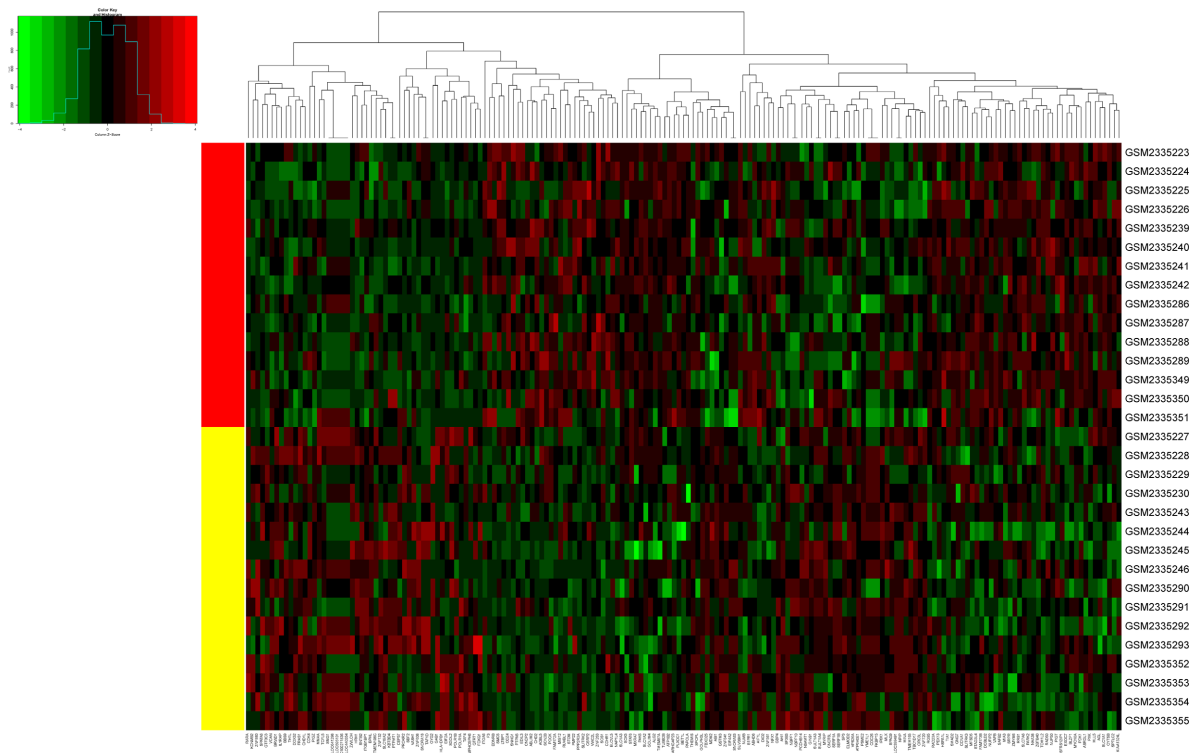


Figure 1. Venn diagram of active components of Banxia-hopu Decoction, Sini Powder and Yueju Pill

图 1. 半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸活性成分韦恩图



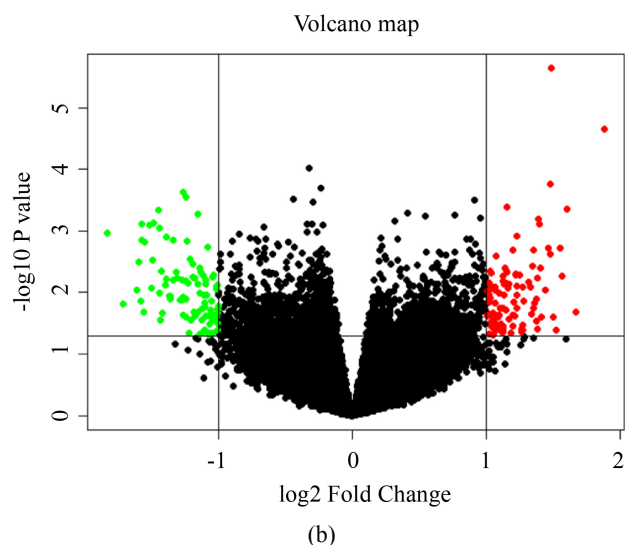


Figure 2. Heat and volcano maps of GSE87610 differential genes
图 2. GSE87610 差异基因的热图和火山图

3.3. 分析“活性成分 - 药物靶点”互作网络

利用 Cytoscape3.8.0 绘制“活性成分 - 药物靶点”互作网络(见图 3), 共有 2570 个节点, 28639 条边, 进行 Degree 分析, 筛选出互作网络中排名前十的活性成分(见表 1): 黄连碱(Coprine)、槲皮素(querctetin)、壬酸(Nonanoic Acid)、棕榈酸(Hexadecanoic Acid)、缬氨酸(Valine)、 β -蒎烯(Beta-Pinene)、d-柠檬烯(D-Limonene)、月桂烯(Myrcene)、 β -石竹烯(Beta-Humulene)和壬醇(N-Nonanol); 排名前五的关键靶点(见表 2): ESR1、AR、SCN5A、PTGS2 和 PGR。其中黄连碱和缬氨酸是半夏厚朴汤特有的活性成分, 月桂烯和 β -石竹烯是三种中药复方共有的活性成分, 其他则是两种中药复方两两共有的活性成分, 同时度值排名前五的靶点均存在于前期整理的抑郁症靶点中, 说明三种中药复方可能通过该网路中的关键靶点发挥治疗抑郁症的作用, 并且三种中药复方中存在的相同的活性成分可能是其“同病异治”抑郁症的物质基础。

Table 1. Top 10 in degree values of active ingredients
表 1. 活性成分度值 Top 10

活性成分(chemical composition)	度值(Degree)	类型(Type)
黄连碱(Coprine)	770	半夏厚朴汤特有活性成分(BXHPT)
槲皮素(querctetin)	591	四逆散和越鞠丸共有活性成分(SY)
壬酸(Nonanoic Acid)	465	半夏厚朴汤和四逆散共有活性成分(BS)
棕榈酸(Hexadecanoic Acid)	451	半夏厚朴汤和越鞠丸共有活性成分(BY)
缬氨酸(Valine)	393	半夏厚朴汤特有活性成分(BXHPT)
β -蒎烯(Beta-Pinene)	392	半夏厚朴汤和越鞠丸共有活性成分(BY)
d-柠檬烯(D-Limonene)	391	半夏厚朴汤和四逆散共有活性成分(BS)
月桂烯(Myrcene)	294	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有活性成分(BSY)
β -石竹烯(Beta-Humulene)	294	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有活性成分(BSY)
壬醇(N-Nonanol)	286	半夏厚朴汤和四逆散共有活性成分(BS)

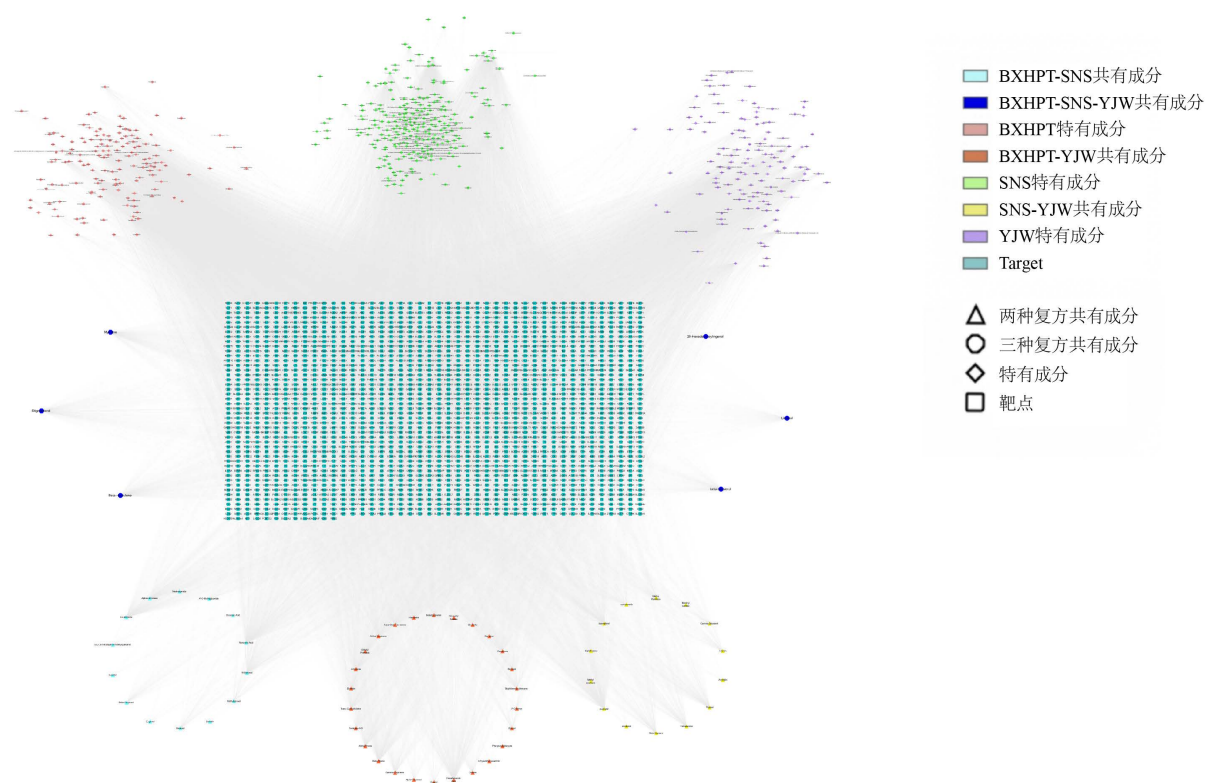


Figure 3. Active components-drug targets interaction network

图 3. “活性成分 - 药物靶点” 互作网络

Table 2. Top 5 in degree values of targets

表 2. 靶点度值 Top 5

靶点(Target)	度值(Degree)	类型(Type)
ESR1	236	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有靶点(BSY)
AR	221	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有靶点(BSY)
SCN5A	196	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有靶点(BSY)
PTGS2	195	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有靶点(BSY)
PGR	157	半夏厚朴汤、四逆散和越鞠丸共有靶点(BSY)

3.4. 分析蛋白质互作网络

利用 Venny2.1.0 对三种中药复方的药物靶点和抑郁症靶点取交集，得到三种中药复方和抑郁症的共同靶点以及各自和抑郁症的特有靶点(见图 4)，将靶点信息分别导入 String 数据库，下载 TSV 格式数据，用 Cytoscape3.8.0 软件进行可视化修饰，获得三种中药复方和抑郁症共同靶点 PPI (见图 5(a))、半夏厚朴汤和抑郁症特有靶点 PPI (见图 5(b))、四逆散和抑郁症特有靶点 PPI (见图 5(c))、越鞠丸和抑郁症特有靶点 PPI (见图 5(d))。对三种中药复方和抑郁症共同靶点 PPI 进行 Degree 分析，其排名前五分别是 AKT1、INS、TP53、IL6、TNF，推测该五个潜在蛋白可能是三种中药复方“同病异治”抑郁症的关键靶点。

用插件 MCODE 对四个蛋白质互作网络进行模块分析，其中红色的靶点代表模块一，绿色的靶点代表模块二，紫色的靶点代表模块三，蓝色的靶点代表模块四，黄色的靶点代表模块五。同时选取每个 PPI

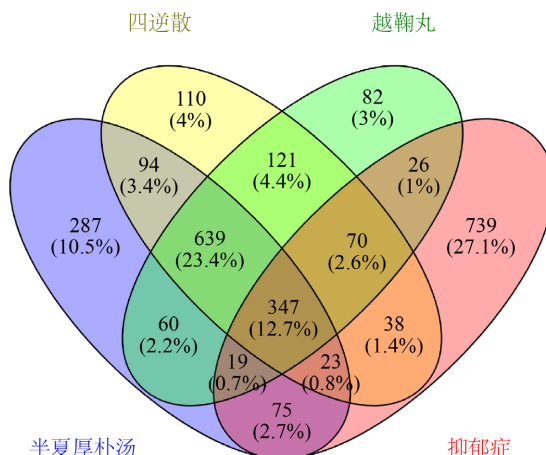


Figure 4. Common targets of Banxiahopu Decoction, Sini Powder, Yueju Pill, depression and their specific targets with depression
图 4. 半夏厚朴汤、四逆散、越鞠丸和抑郁症的共同靶点以及各自和抑郁症的特有靶点

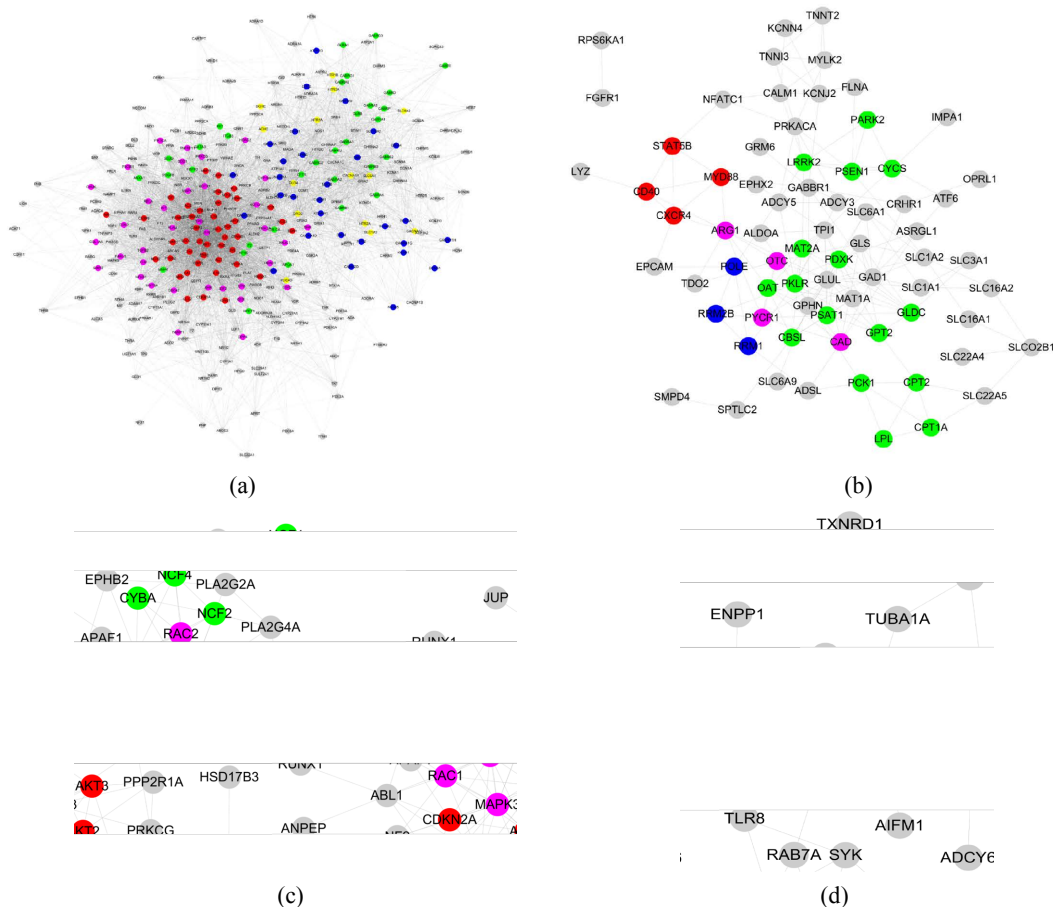
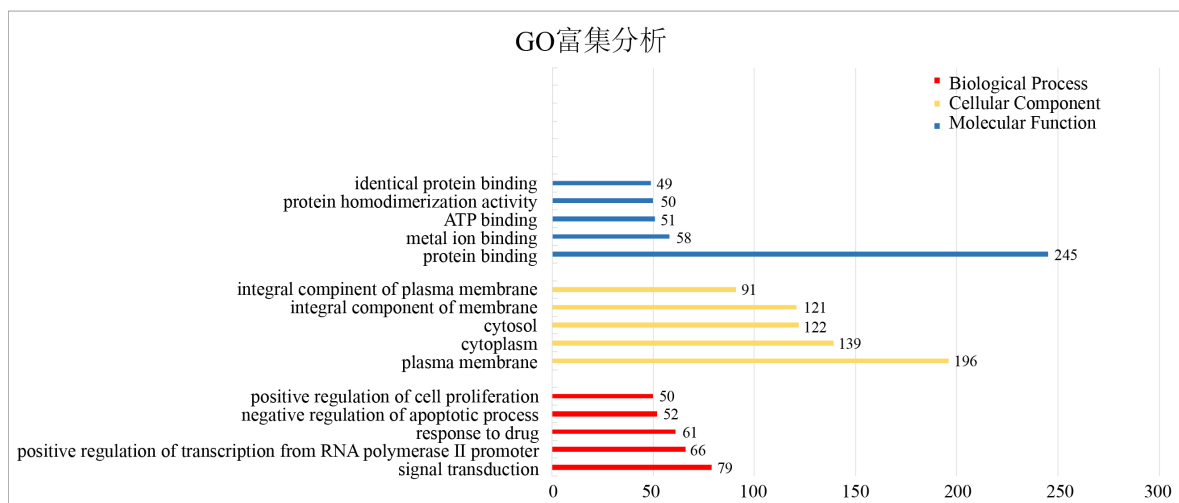
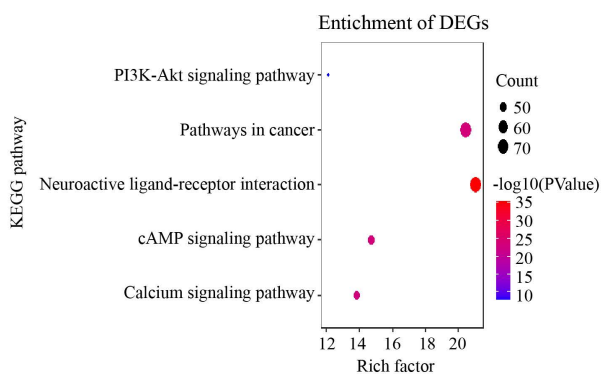


Figure 5. Protein interaction network (PPI) of Chinese medicine compound—disease targets protein. (a) Common targets PPI of three Chinese herbal formulations and depression; (b) Specific targets PPI of Banxiahopu Decoction and depression; (c) Specific targets PPI of Sini Powder and depression; (d) Specific targets PPI of Yueju Pill and depression
图 5. 中药复方 - 疾病靶点 PPI。 (a) 三种中药复方和抑郁症共同靶点 PPI; (b) 半夏厚朴汤和抑郁症特有靶点 PPI; (c) 四逆散和抑郁症特有靶点 PPI; (d) 越鞠丸和抑郁症特有靶点 PPI

物过程、细胞组成、分子功能和 KEGG 的数据。条件设置为 $P.value < 0.05$ 进行筛选, 按照 Count 值的大小排序, 选取 TOP5 的数据。GO 富集分析的结果用簇状柱形图(见图 7(a))表示, KEGG 分析的结果用气泡图(见图 7(b))表示, 同时对排名前五的信号通路进行基因分析(见图 7(c))。生物过程中主要和信号转导、细胞增殖、凋亡等有关; 细胞组成主要是细胞膜、细胞质等成分; 分子功能主要涉及蛋白质的结合、ATP 的结合以及某些金属离子的结合。选取排名前五的信号通路对其相关的基因进行分析时, 发现信号通路两两之间存在着大面积的交集, 如 PI3K-Akt 信号通路和癌症的通路基因几乎完全重叠的, 而在上述的 PPI 分析中, 我们同样发现了三种中药复方共有和特有的靶点都可以影响 PI3K-Akt 信号通路的表达。所以基因的相交也说明中药复方可以不仅可以通过相同的靶点影响同一信号通路, 也可以通过不同的靶点间接影响某一信号通路, 从而达到治疗疾病的目的。



(a)



(b)



(c)

Figure 7. GO enrichment and KEGG pathway analysis. (a) Bar chart of GO enrichment analysis; (b) Bubble chart of KEGG analysis; (c) Gene analysis of the top five signaling pathways

图 7. GO 富集和 KEGG 通路分析。(a) GO 富集分析柱形图; (b) KEGG 分析气泡图; (c) 排名前五信号通路的基因分析

3.6. 活性成分和关键靶点对接结果

选取“活性成分-药物靶点”互作用网络中 Degree 排名前五的活性成分包括黄连碱、槲皮素、壬酸、

棕榈酸和缬氨酸, 作为分子对接的配体, 同时选取 PPI 网络中 Degree 排名前五的靶点包括 AKT1、INS、TP53、IL6、TNF, 作为分子对接的受体, 用 AutoDock4.2 进行分子对接, 其结合性能如下(见表 3), 结合能越小, 表明成分和蛋白结合越稳定, 最后选取结合能 < -5 (kcal/mol) 的对接模型, 用 PyMol 软件进行绘图。其中 AKT1 和槲皮素(见图 8(a))的结合能为 -9.1 kcal/mol, 在本次对接结果中最小, 结合最为稳定; TP53 和槲皮素(见图 8(b))的结合能为 -7.9 kcal/mol, 氢键有 4 种连接方式; IL6 和槲皮素(见图 8(c))的结合能为 -5.8 kcal/mol, 氢键有 2 种连接方式; INS 和槲皮素(见图 8(d))的结合能为 -5.4 kcal/mol 氢键有 5 种连接方式; AKT1 和黄连碱(见图 8(e))的结合能为 -5.4 kcal/mol, 氢键有 4 种连接方式; TP53 和黄连碱(见图 8(f))的结合能为 -5.2 kcal/mol, 氢键有 6 种连接方式。

Table 3. Molecular docking results

表 3. 分子对接结果

靶点	结合能(kcal/mol)				
	黄连碱	槲皮素	壬酸	棕榈酸	缬氨酸
AKT1	-5.4	-9.1	-3.1	-3.3	-4.7
INS	-4.5	-5.4	-3.3	-2.8	-3.7
TP53	-5.2	-7.9	-3.7	-4.1	-4.9
IL6	-4.2	-5.8	-3.3	-3.8	-3.6
TNF	-2.9	-4.9	-2.3	-1.7	-2.9

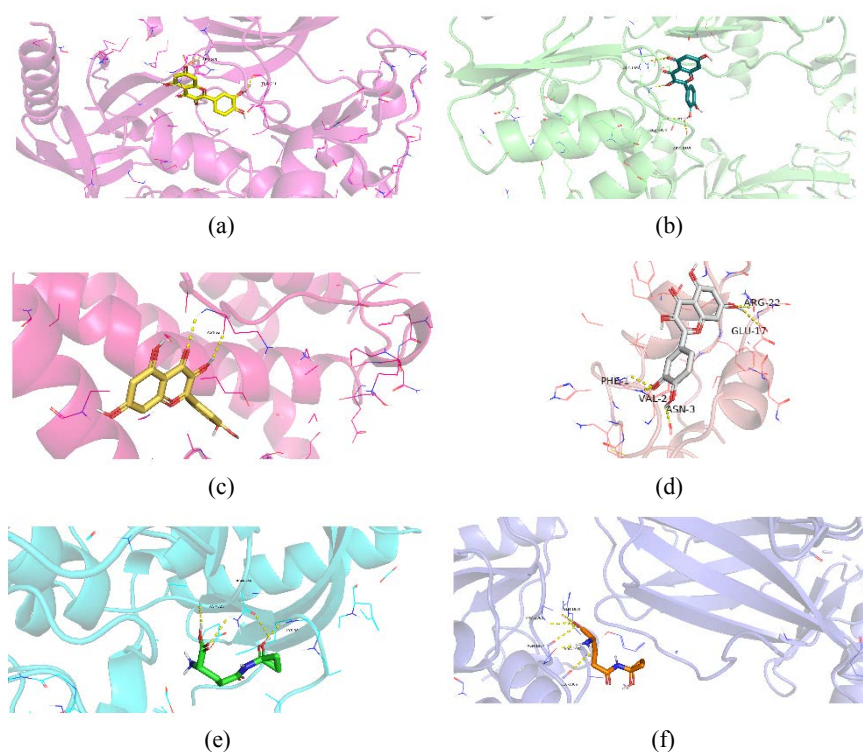


Figure 8. Molecular docking results. (a) AKT1 and quercetin; (b) TP53 and quercetin; (c) IL6 and quercetin; (d) INS and quercetin; (e) AKT1 and berberine; (f) TP53 and berberine

图 8. 分子对接结果。(a) AKT1 和槲皮素; (b) TP53 和槲皮素; (c) IL6 和槲皮素; (d) INS 和槲皮素; (e) AKT1 和黄连碱; (f) TP53 和黄连碱

4. 讨论

我国中药资源丰富, 历史悠久, 亟待传承与创新。中药复方治疗疾病的优势主要体现在其疗效确切、不良反应少和“治未病”上[9]。然而, 中药治疗疾病的理论研究却相较于西药作用疾病原理研究少很多。近年来随着新冠疫情的爆发, 中药凭借着良好的疗效崭露头角。中药治疗疾病已经掀起了当代的研究热潮, 研究中药治疗疾病的作用机制意义重大, 是夯实临床疾病研究的基础, 也是新药设计开发的理论铺垫。

抑郁症发病率越来越高, 探索和设计理想的抗抑郁药迫在眉睫。半夏厚朴汤作为理气剂, 有行气散结解郁之功效[10], Jia Keke 等人发现半夏厚朴汤可抑制慢性温和不可预知应激(CUMS)大鼠肝脏、下丘脑、海马和前额叶皮层 NLRP3 炎性小体的激活并减少促炎细胞因子 IL-1 β 的生成[11]。四逆散舒畅气机, 调和肝脾[12], WEI Shanshan 等人发现四逆散提取物可能通过在 HPA 轴上的抗应激作用来达到抗抑郁的效果[13]; 越鞠丸行气活血、祛湿健脾[14], N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体和左旋精氨酸/一氧化氮/cAMP 途径均参与了越鞠丸的抗抑郁作用机制[15]。三者皆可治疗郁症, 舒肝解郁, 行气健脾, 调理情志。这三种中药方剂虽药方组分不同, 但都可治疗抑郁症, 且其“同病异治”的科学内涵尚未有人研究。

通过网络药理学构建出“活性成分-药物靶点”互作网络, 得到 Degree 排名前五的活性成分, 分别为黄连碱、槲皮素、壬酸、棕榈酸和缬氨酸, 推测可能是治疗抑郁症的关键成分。同时将靶点信息取交集, 得到三种中药复方和抑郁症共有靶点 347 个, 绘制 PPI, 筛选 Degree 排名前五的靶点为 AKT1、INS、TP53、IL6 和 TNF。将共同靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路分析, 涉及的通路主要是神经活性配体-受体相互作用、癌症的途径、cAMP 信号通路、钙信号通路和 PI3K-Akt 信号通路。为验证网络药理学结果的准确性, 将关键成分和关键靶点进行分子对接, 所有的结合结果均小于 0, 并选取结合能小于 -5 kcal/mol 进行可视化, 发现成分和蛋白主要通过氢键紧密结合。

上述信号通路目前已有研究。Gao Yao 等人通过对抑郁症大鼠海马模型的代谢产物分析证实抑郁症的作用机制和神经活性配体-受体相互作用相关[16]。cAMP 是细胞内重要的第二信使, 通过调控细胞内激素和神经递质, 参与人体神经干细胞的发生、学习和记忆的生理过程[17] [18]。PI3K/Akt 信号通路作为 BDNF/TrkB 下游的信号通路之一, 是目前研究较为成熟的中枢神经保护的主要信号通路[19]。大量研究表明 PI3K/Akt 与抑郁症有关, 激活脑区该通路可以通过提高多种神经保护因子的表达, 减少海马神经元凋亡[20], 改善突触可塑性, 从而发挥抗抑郁作用[21], 因此被认为是治疗抑郁症的重要级联信号通路。有研究发现, CUMS 模型组中, PI3K/Akt/蛋白表达水平显著增加, 促进了下游的凋亡信号通路活化, 神经元过度凋亡致使神经损伤[22]。

本次研究的分子对接结果显示, 黄连碱和槲皮素两种活性成分与抑郁症靶点具有较好的结合性能, 这提示我们两者都有治疗抑郁症的潜力。《本草纲目》有言: 黄连性寒味苦, 气味俱浓, 乃阴中阳也。黄连具有清热泻火的功效[23]。已有很多研究表明, 黄连的主要成分小檗碱具有抗抑郁作用, 可能与大脑中枢单胺类神经递质及其代谢产物、5-羟色胺(5-HT)受体有关[24] [25]。但目前关于黄连碱治疗抑郁症的研究甚少, 其作用机制尚不清楚。

此次分子对接结果中, 槲皮素和抑郁症靶点 AKT1 的结合性能最稳定。它是一种富含多种天然植物的黄酮类化合物, 具有广泛的药理作用和营养价值, 有抗炎、保护心血管、治疗退化性疾病等作用[26] [27] [28] [29]。已有研究证实, 槲皮素能够有效治疗神经系统疾病、癌症、骨科疾病以及心、肝、肾等脏器疾病。先前的研究报道槲皮素通过保护神经元免于氧化和炎症而减轻慢性应激大鼠的焦虑和抑郁[30]。有很多研究已经表明槲皮素在一些模型中具有抗抑郁作用, 其机制包括海马 Nrf2 上调和 iNOS 抑制, 从而纠正中枢炎症反应, 氧化与抗氧化失衡[31]。另有研究提示槲皮素可以抑制神经元凋亡, 从而防止类似焦虑

的行为,可能是通过在活生物体内调节 Akt1 和 ASK1/JNK3/caspase-3 的表达[32]。

我们创新性地探索了三种中药复方“同病异治”抑郁症的作用机制:中药复方中含有的特有或共有活性成分参与调控神经活性配体-受体相互作用、癌症的途径、cAMP 信号通路、钙信号通路、PI3K-Akt 信号通路等信号通路,作用于 AKT1、INS、TP53、IL6、TNF 等关键疾病靶点,初步阐明了其“同病异治”的科学内涵,以期推动抑郁症理论研究的进展。

基金项目

成都中医药大学杏林学者学科人才科研提升计划(ZRQN2020001);四川省中医药管理局 2021 年度中医药科研专项课题(2021MS108)。

参考文献

- [1] 劳咏锋,康随芳,姜彦彪,潘铭昊,胡榕,范艳琴,杨艳芬. 20 年国内抑郁症机制研究领域的现状及热点分析[J]. 中国校医, 2020, 34(8): 570-572.
- [2] 朱智羽,郭闫葵. 中医辨证下的抑郁症病因病机及治疗概述[J]. 中医药临床杂志, 2019, 31(4): 788-791.
- [3] Chen, J.J. (2021) Diagnosis, Mechanism, and Current Treatment of Depression: Current Situation and Future Directions. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*, **10**, 125-127. <https://doi.org/10.18178/ijpmbs.10.3.125-129>
- [4] 李亚慧,赵红霞,高蕊. 中医郁证病名解析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(4): 430-432.
- [5] 郑若韵. 基于《黄帝内经》运气理论的三因司天方治疗抑郁症的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [6] 杨涛,刘成海. 基于代谢组学的扶正化痰方抗肝纤维化差异疗效机制研究探讨[J]. 世界中医药, 2014, 9(5): 549-552+556.
- [7] 赵玉男,谢伟东,邢东明,余焯,杜力军. 中药有效成分作用靶点研究的策略与实践[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2016, 18(6): 1005-1011.
- [8] 王秋红,苏阳,王荔慧,王长福,付新,吴伦,匡海学. 六神曲中真菌的分离与鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 122-127.
- [9] 文庆,田侃,陆超,王圣鸣. 中医药介入新冠肺炎的防治及启示[J]. 南京医科大学学报(社会科学版), 2021, 21(2): 149-153.
- [10] 毛梦迪,尚立芝,许二平. 半夏厚朴汤治疗抑郁症研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(23): 37-43.
- [11] Jia, K.-K., et al. (2017) Banxia-Houpu Decoction Restores Glucose Intolerance in CUMS Rats through Improvement of Insulin Signaling and Suppression of NLRP3 Inflammasome Activation in Liver and Brain. *Journal of Ethnopharmacology*, **209**, 219-229. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.004>
- [12] 卢鑫,张馨月,林逸婷,张涛,赖冬萍. 基于网络药理学——分子对接探讨四逆散“异病同治”溃疡性结肠炎和肠易激综合征的作用机制[J/OL]. 中药药理与临床, 1-25. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyl.20210806.010>, 2021-10-09.
- [13] Wei, S.-S., et al. (2016) Traditional Herbal Formula Sini Powder Extract Produces Antidepressant-Like Effects through Stress-Related Mechanisms in Rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, **14**, 590-598. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(16\)30069-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(16)30069-3)
- [14] 张洁,金玫. 血府逐瘀汤合越鞠丸加减治疗气滞血瘀型冠心病稳定性心绞痛合并焦虑临床疗效[J]. 北京中医药, 2021, 40(7): 765-769.
- [15] Wang, W., et al. (2019) NMDA Receptors and L-Arginine/Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate Pathway Contribute to the Antidepressant-Like Effect of Yueju Pill in Mice. *Bioscience Reports*, **39**, BSR20190524. <https://doi.org/10.1042/BSR20190524>
- [16] Gao, Y., Mu, J., Xu, T., Linghu, T., Zhao, H., Tian, J. and Qin, X. (2021) Metabolomic Analysis of the Hippocampus in a Rat Model of Chronic Mild Unpredictable Stress-Induced Depression Based on a Pathway Crosstalk and Network Module Approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **193**, Article ID: 113755. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113755>
- [17] 韩亚琼,李涛,谷争,陈永新. 红景天苷对抑郁模型大鼠炎症反应和神经细胞凋亡的抑制作用及其机制[J]. 医药

- 导报, 2021, 40(5): 598-605.
- [18] 韩羽楠, 王振宇. 锌与 cAMP/PKA-CREB-BDNF 信号通路在抑郁症发病机制中的相关性[J]. 解剖科学进展, 2013, 19(2): 167-170.
- [19] 刘昊. 基于网络药理学从 PI3K/Akt 通路研究疏肝和胃汤的抗抑郁作用机制[D]: [硕士学位论文]. 武汉: 湖北中医药大学, 2021.
- [20] 白天山, 李志榕, 黄平, 徐焯, 柳文华. 文拉法辛对抑郁模型大鼠抑郁症状的改善作用及对海马组织 PI3K/Akt/mTORC1 信号通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(14): 2348-2352.
- [21] 张铭珈. 基于 PI3K/Akt/mTOR 自噬信号通路探讨四逆散抗皮质酮致海马神经元细胞损伤的作用机制[D]: [博士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [22] 纪雅菲, 芮翊馨, 方洋, 曾九僧, 胡靖文, 刘蓉, 曾南. 基于 IGF-1 R β /PI3K/Akt 信号通路逍遥散正丁醇部位的抗抑郁作用[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(14): 1-17.
<https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfx.20211303>, 2021-10-10.
- [23] 吴明权, 周许, 彭伟, 朱力阳, 涂禾. 基于网络药理学研究黄连 - 吴茱萸干预抑郁症的作用机制[J]. 中国医院用药评价与分析, 2021, 21(2): 134-138+142.
- [24] 郭花玲, 崔瑛, 李阳阳, 李二平, 韩强, 朱杨杨. 黄连对小鼠焦虑行为影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 169-172.
- [25] 邹宗尧, 王燕枝, 胡懋然, 夏爽, 王德珍, 庞婕, 李学刚. 黄连生物碱促小鼠睡眠实验研究[J]. 中国药理学通报, 2014, 30(12): 1752-1756.
- [26] Zou, H.Y., *et al.* (2021) A Review on Pharmacological Activities and Synergistic Effect of Quercetin with Small Molecule Agents. *Phytomedicine*, **92**, Article ID: 153736. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153736>
- [27] Alzohairy, M.A., *et al.* (2021) Protective Effect of Quercetin, a Flavonol against Benzo(a)pyrene-Induced Lung Injury via Inflammation, Oxidative Stress, Angiogenesis and Cyclooxygenase-2 Signalling Molecule. *Applied Sciences*, **11**, 8675-8675. <https://doi.org/10.3390/app11188675>
- [28] 杨颖, 王芸芸, 蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展[J]. 特种经济动植物, 2020, 23(5): 24-28.
- [29] 马纳, 李亚静, 范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8): 221-224.
- [30] Mehta, V., Parashar, A. and Udayabanu, M. (2017) Quercetin Prevents Chronic Unpredictable Stress Induced Behavioral Dysfunction in Mice by Alleviating Hippocampal Oxidative and Inflammatory Stress. *Physiology & Behavior*, **171**, 69-78. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.01.006>
- [31] Guan, Y.C., *et al.* (2021) Quercetin Reverses Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression-Like Behavior *in Vivo* by Involving Nuclear Factor-E2-Related Factor 2. *Brain Research*, **1772**, Article ID: 147661. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2021.147661>
- [32] Jiang, Y.M., Li, X.J., Meng, Z.Z., Liu, Y.Y., Zhao, H.B., Li, N., Yan, Z.Y., Ma, Q.Y., Zhang, H.T. and Chen, J.X. (2016) Effects of Xiaoyaosan on Stress-Induced Anxiety-Like Behavior in Rats: Involvement of CRF1 Receptor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2016**, Article ID: 1238426. <https://doi.org/10.1155/2016/1238426>