

基于网络药理学和分子对接方法对逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤“同病异治”抑郁症作用机制的探索研究

刘文雯^{1,2*}, 木本荣^{1,2*}, 卢长青^{1,2}, 梁小清^{1,2}, 王冬梅^{3#}, 王海^{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2月8日; 录用日期: 2022年3月4日; 发布日期: 2022年3月11日

摘要

抑郁症严重损害个人、家庭及社会健康, 抗抑郁的相关研究需要更加全面与深入。目的: 利用网络药理学揭示逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤“同病异治”抑郁症的作用机制, 并用分子对接方法进一步验证中药抗抑郁的有效化学成分。方法: 通过TCMSP、BATMAN-TCM以及ETCM数据库筛选逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤的药物活性化学成分及靶点; 检索GeneCards、OMIM、DisGeNET疾病数据库及对基因芯片GSE151807部分数据进行基因差异分析筛选抑郁症靶点; 使用String和Cytoscape3.8.2工具构建药物-疾病共有靶点蛋白质互作PPI网络以及共有活性成分-药物靶点-疾病靶点网络, 通过GO、KEGG、拓扑分析及度值分析探索抗抑郁关键靶点与中药方剂中重要的抗抑郁活性化学成分, 以期揭示四种中药方剂“同病异治”抑郁症的科学内涵。结果: ACTB、INS、AKT1、ALB、IL6、TNF、BDNF、TP53、MAPK3、IL1B为四种中药方剂“同病异治”抑郁症度值前十的关键共有靶点。STAT3、EIF4E、EP300、WT1、IGF1R、HNF1B、PSEN1、DDX3X、DICER1、PAX8为四种中药方剂“同病异治”抑郁症度值前十的关键特有靶点。共有活性成分-药物靶点-疾病靶点网络分析结果表示Nootkatone (圆柚酮)、Carvone (香芹酮)、Hexadecanoic Acid (十六烷酸)、Alpha-Pinene (α -蒎烯)、Quercetin (槲皮苷)、Stigmasterol (豆甾醇)分别为两两共有、三三共有、四四共有活性成分中度值排序前二的有效化学成分。通过分子对接的验证, 最终发现ACTB-槲皮苷、ACTB-豆甾醇、TNF-槲皮素、TNF-豆甾醇四种对接模型的结合最为稳定, 提示槲皮苷与豆甾醇可以作用于ACTB与TNF来达到抗抑郁效果。结论: 四种中药的药物靶点可以通过作用于相同的疾病靶点而参与抗抑郁相关通路, 进而达到防治抑郁症的作用, 同时, 这些药物特有的靶点也可以通过作用于疾病靶点或更多潜在未发现疾病靶点抗抑郁。综上, 槲皮苷与豆甾醇可以作用于ACTB与TNF来达到抗抑郁效果。

关键词

网络药理学, 分子对接, 中药方剂, 同病异治, 抑郁症

*共同第一作者。

#通讯作者。

Study on the Mechanism of Treating Depression with “The Same Disease with Different Treatments” by Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Methods

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

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

Received: Feb. 8th, 2022; accepted: Mar. 4th, 2022; published: Mar. 11th, 2022

Abstract

Depression seriously damages the health of individuals, families and society, the related research on anti-depression needs to be more comprehensive and in-depth. Objective: Use network pharmacology to reveal the mechanism of treating depression with “the same disease with different treatments” by Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction, and to further verify the effective anti-depression chemical components of traditional Chinese medicine by molecular docking method. Methods: The active chemical components and targets of Xiaoyao powder, Yueju pill, Chaihu Shugan powder and Banxia Baizhu Tianma decoction were screened by TCMSP, BATMAN-TCM and ETCM databases. Search GeneCards, OMIM, DisGeNET disease databases and screen depression targets by gene difference analysis of gene chip GSE151807; by using the tools of String and Cytoscape3.8.2, the PPI network of drug-disease common targets and the network of common active ingredients-drug targets-disease targets were constructed. Through GO, KEGG, topology analysis and degree analysis, the key anti-depression targets and important active chemical components in traditional Chinese medicine prescriptions were explored to reveal the scientific connotation of “the same disease with different treatments” in four traditional Chinese medicine prescriptions. Results: ACTB, INS, AKT1, ALB, IL6, TNF, BDNF, TP53, MAPK3, IL1B were the key common targets in the top ten depression values of the four traditional Chinese medicine prescriptions. STAT3, EIF4E, EP300, WT1, IGF1R, HNF1B, PSEN1, DDX3X, DICER1 and PAX8 were the key specific targets in the top ten depression values of the four traditional Chinese medicine prescriptions. The analysis results of common active ingredients-drug targets-disease targets network showed that nootkatone, carvone were the top two common ingredients in two kinds of traditional Chinese medicines prescriptions, hexadecanoic acid, alpha-pinene were the top two common ingredients in three kinds of traditional Chinese medicines prescriptions, quercetin, stigmasterol were shared by four kinds of traditional Chinese medicines prescriptions respectively which were the top two common ingredients in four prescriptions.

Through the verification of molecular docking, it was finally found that ACTB-quercetin, ACTB-stigmasterol, TNF-quercetin and TNF-stigmasterol combined most stably, suggesting that quercitrin and stigmasterol can act on ACTB and TNF to achieve antidepressant effect. Conclusion: The drug targets of four kinds of traditional Chinese medicines prescriptions can participate in the pathway related to depression by acting on the same disease targets, thus achieving the effect of prevention and treatment of depression. At the same time, these drug-specific targets can also act on disease targets or more potential undiscovered disease targets to resist depression. To sum up, quercitrin and stigmasterol can act on ACTB and TNF to achieve antidepressant effect.

Keywords

Network Pharmacology, Molecular Docking, Traditional Chinese Medicines Prescriptions, The Same Disease with Different Treatments; Depression

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

抑郁症是一种极为复杂的精神障碍疾病,患者大多表现为持久的悲伤、心情低落、精力下降,严重者可致自残或自杀,损害个人、家庭及社会健康[1][2]。抑郁症的发病机制无法用一种具体的机制准确阐释,且其患病率高,复发率高,致残率高[2]。根据世界卫生组织(WHO)于2017年发布的《抑郁症及其他常见精神障碍》(Depression and Other Common Mental Disorders)报告,世界范围内预计有超过3亿人饱受抑郁症的困扰,全球平均发病率在4.4%左右[3]。西方国家对于抑郁症的疾病支付负担预测到2030年将位列首位[4][5][6]。2019年,我国抑郁症患病率达到2.1% [7],公众对抑郁症的认知水平也明显低于发达国家,其识别率仅为25.4% [8]。疫情持续带来的经济与精神压力致使抑郁症患者数目愈来愈多。

抑郁症的发生与发展与心理、社会环境、遗传、生理等多种因素有关,其发病机制涉及神经、内分泌和免疫等多个方面[9][10][11]。目前,抑郁症患者可根据患病程度进行针灸、中药、西药、心理、物理、联合等疗法治疗[12],但治疗效果因人而异。随着疫情期间我国中医药的崛起,凭借着副作用小、不良反应少的优势,中医药对抑郁症的防治作用及机制成为近年来抗抑郁研究的重要方向。中药治疗抑郁症以疏肝解郁、调畅气机为基本原则[13]。逍遥散为和解剂,调和肝脾;越鞠丸为理气剂,行气解郁;柴胡疏肝散同为理气剂,疏肝理气;半夏白术天麻汤为祛痰剂,健脾祛湿。该四种中药方剂都已有研究证实具有抗抑郁疗效,但其“同病异治”抑郁症的作用机制尚未有人研究。

所谓“同病异治”,是指同一疾病可以使用不同的方法来进行治疗,该理论最早出现在《素问·病能论》中,其以中医学辨证施治的基本原则[14],根据同一疾病的不同发生发展程度采用不同的方剂进行治疗。本文将使用网络药理学的方法从靶点及通路层面分析逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤这四种中药方剂“同病异治”抑郁症的作用机制,并采用分子对接方法对关键抗抑郁靶点和有效化学成分进行验证。基于前期对逍遥散和柴胡疏肝散“同病异治”抑郁症的基础研究[15],本文将创新性地深入探究四种中药方剂“同病异治”抑郁症的作用机制,扩大了中药方剂及药材的数量与种类,同时扩大了药物与抑郁症的靶点交集,提高了潜在靶点筛选的覆盖面,可以提高寻找到抗抑郁新靶点的可能性。利用网络药理学数据挖掘方法系统化、网络可视化优势阐释多种中药“多靶点-多通路”异治抑郁症的科学内涵。

2. 方法

2.1. 药物活性成分和靶点的筛选

通过数据库筛选逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤的药物活性成分及靶点。基于中医药百科全书(The Encyclopedia of Traditional Chinese Medicine, ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/>)数据库以及文献查找, 找到逍遥散由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、生姜、薄荷、炙甘草 8 种药材组成; 越鞠丸有苍术、香附、川芎、六神曲和栀子 5 种药材, 其中六神曲由多味药材组成, 且含有多种真菌, 因此不作为本次分析研究对象[16]; 柴胡疏肝散由陈皮、柴胡、川芎、香附、枳壳、白芍、炙甘草 7 种药材组成; 半夏白术天麻汤有半夏、天麻、茯苓、橘红、白术、甘草 6 种药材。通过中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <https://tcmsp-e.com/>)、中医药分子机制生物信息学分析工具(a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechanism of Traditional Chinese Medicine, BATMAN-TCM, <http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>)以及 ETCM 三个数据库的检索, 对四个中药方剂各自中药组分的有效活性成分及相关作用靶点进行筛选, 其中 TCMSP 设置筛选条件为口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 、化合物类药性(DL) ≥ 0.18 [17]; BATMAN-TCM 设置筛选条件为评分(Score cutoff) ≥ 20 、调整后 P 值(P-value after Benjamini-Hochberg multiple testing correction, Adjusted P-value) ≤ 0.05 , ETCM 中筛选出候选靶基因, 将 TCMSP 中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, 整理合并三个数据库的药物各自对应靶点并去重。

2.2. 疾病靶点的筛选

通过数据库与对基因芯片进行基因差异分析筛选疾病靶点。基于 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<http://omim.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>) 3 个数据库搜索抑郁症靶点, 通过 Uniprot 数据库将蛋白质名称标准化并删去重复靶点, 得到抑郁症靶点。此外, 在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/>), 下载基因芯片 GSE151807 数据。本次研究选取该基因芯片中的部分分组差异基因的分析。选取该数据集中 3 个海马区抑郁小鼠样本和 3 个海马区正常对照样本进行分组, 在 GEO2R 分析后, 下载基因信息, 除去没有匹配到基因的探针, 筛选 P Value < 0.05 且 $\log_2FC > 1$ 或 $\log_2FC < -1$ 的 Gene Symbol, 得到抑郁症组与正常组的差异基因, 并使用 R Studio 对该分组所包含的基因绘制火山图。合并数据库以及基因芯片得到的差异基因, 删去重复基因靶点, 从而筛选出本次研究需要分析的疾病靶点。

2.3. 药物 - 疾病共有与特有靶点蛋白质互作(PPI)网络的构建

利用在线绘图工具计算和绘制自定义维恩图(Calculate and draw custom Venn diagrams, <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)以及 Venny2.1 对四种中药方剂的药物共有靶点和抑郁症靶点取交集, 得到四种复方和抑郁症的共有靶点以及各自方剂和抑郁症的特有靶点。分别将四种方剂的共有药物靶点与疾病的共有靶点、特有靶点导入 String 数据库(<https://www.string-db.org/>), 下载 tsv 格式数据, 导入 Cytoscape3.8.2 绘制并调整 PPI, 同时使用 Cytoscape3.8.2 中 MCODE 插件对四种方剂共有药物靶点与疾病的共有靶点进行模块分析, 并通过 degree cutoff 值 \geq 共有靶点 degree 值中位数, K-core > 4 限制条件筛选出模块, 选取模块中关键靶点导入 DAVID 在线数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)逐一进行 KEGG Pathway 信号通路分析。

2.4. 药物 - 疾病共有靶点蛋白质 GO 富集和 KEGG 通路分析

将共同靶点列表导入 DAVID, 物种选择“Homo sapiens”, 下载 GO 富集分析包括: 生物过程(Biological Process, BP)、细胞组成(Cellular Component, CC)、分子功能(Molecular Function, MF), 以及 KEGG Pathway

分析全部数据, 在 Excel 中绘制为簇状条形图。

2.5. “共有活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”网络的构建

使用 Calculate and draw custom Venn diagrams 在线工具对四个方剂的活性成分取交集, 得到共有化学成分和四个方剂的特有化学成分。整理化学成分和靶点的对应关系, 制作 Network 及 Type 文件导入 Cytoscape3.8.2 中构建“共有活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”, 可通过计算 degree 值分析并直观呈现抗抑郁关键有效活性成分。

2.6. 分子对接

选取“共有活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”网络中 degree 排名前五的活性成分作为配体, 在 TCMSP 中下载对应的 3D 格式, 利用 OpenBabel2.4.1 转换为 Mol2 格式。将四种方剂和抑郁症的共有靶点 PPI 中 degree 排名前五的靶点作为受体, 并通过 Uniprot 中的 Entry 号在 PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)中检索, 选择合适的受体下载 PDB 格式。使用 AutoDockTools 进行分子对接, 得到多种化学成分和关键靶点的结合性能, 结合能 < -5 (kcal/mol) 的对接模型都为对接成功模型, 结合能 < -7 (kcal/mol) 的对接模型为结合良好模型[18]。用 PyMOL 软件可视化对接结果。

3. 结果

3.1. 药物活性成分及作用靶点筛选结果

TCMSP、BATMAN-TCM 和 ETCM 这 3 个数据库中整理去重后得到逍遥散中活性成分 317 个, 药物靶点 2126 个; 越鞠丸中活性成分 150 个, 药物靶点 1647 个; 柴胡疏肝散中活性成分 226 个, 药物靶点 1654 个; 半夏白术天麻汤中活性成分 240 个, 药物靶点 2064 个。利用 Calculate and draw custom Venn diagrams 作图后得到四个方剂共有活性成分 10 个, 逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤各有的特有活性成分分别为 158 个、25 个、17 个、194 个(见图 1)。四个方剂共有靶点 1198 个, 逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤各有的特有靶点分别为 84 个、75 个、12 个、212 个(见图 2)。

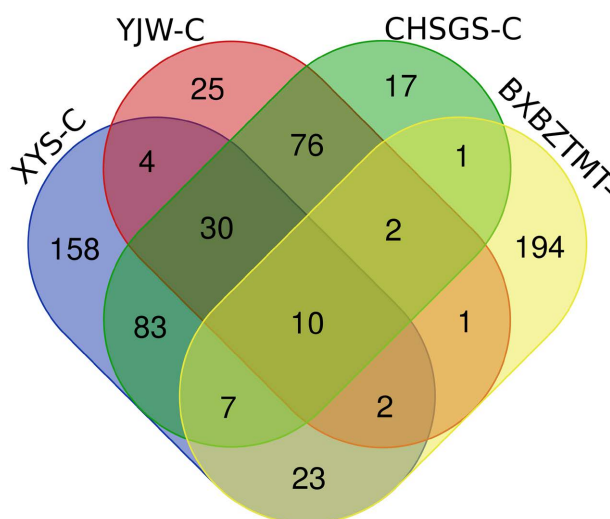


Figure 1. Active components in Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction

图 1. 逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤活性成分

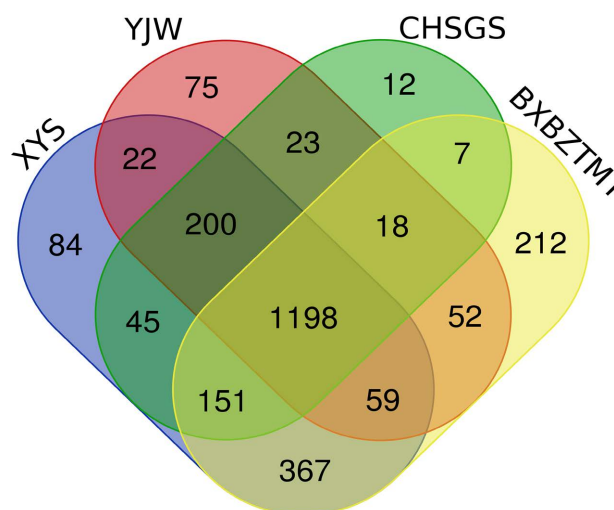


Figure 2. Drug targets in Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction

图 2. 逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤药物靶点

3.2 疾病靶点筛选结果

GSE151807 芯片筛选差异基因 162 个, 结合 3 个疾病数据库中抑郁症相关靶点的搜索与整理, 共获取抑郁症靶点 2139 个, 其中与四个中药方剂共有的药物靶点相同的含 388 个(见图 3), 与四个中药方剂特有的药物靶点相同的共 54 个(见图 4)。对 GSE87610 中 162 个差异基因绘制火山图(见图 5), 红色圆点代表该基因在表达中上调, 绿色圆点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。数据结果显示, 该芯片中上调基因有 45 个, 包括下调基因 117 个。

3.3. 特有靶点 PPI, 共有靶点 PPI 和模块分析及其 GO、KEGG 通路分析

将四种中药复方和抑郁症的 388 个共有靶点和 54 个特有靶点分别导入 String 数据库, 下载 TSV 格

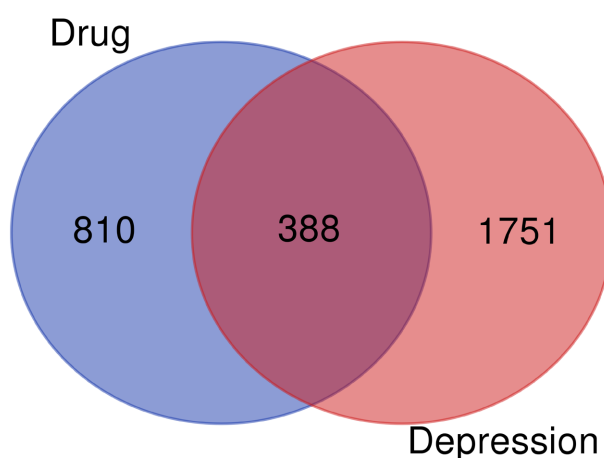


Figure 3. Intersection of depression targets with common targets of Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction

图 3. 抑郁症靶点与逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤四种方剂药物共有靶点的交集

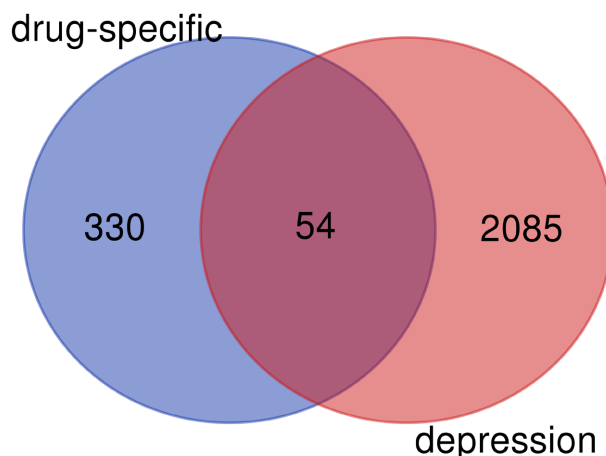


Figure 4. Intersection of depression targets with specific targets of Xiaoyao Powder, Yueju Pill, Chaihu Shugan Powder and Banxia Baizhu Tianma Decoction

图 4. 抑郁症靶点与逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤四种方剂药物特有靶点的交集

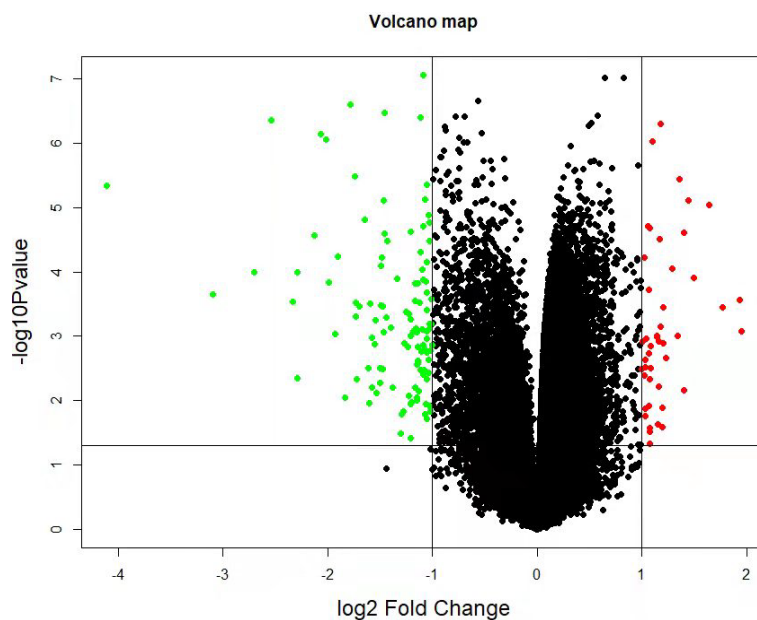


Figure 5. Volcano map of differential genes in the GSE151807

图 5. GSE151807 差异基因的火山图

式数据, 再导入 Cytoscape3.8.2, 获得四种中药复方药物共有靶点和抑郁症共有靶点 PPI (见图 6), 利用大于 2 倍 Degree 值中位数(Degree ≥ 70)获取 Hithubs 靶点网络, 即核心作用靶点网络(见图 7)。另外, 得到四种中药复方药物特有靶点和抑郁症共有靶点 PPI (见图 8)。共有靶点 PPI 网络进行 Degree 计算, 得到 Degree 值排名前十分别为 ACTB、INS、AKT1、ALB、IL6、TNF、BDNF、TP53、MAPK3、IL1B。推测该十个潜在靶点可能是四种中药方剂“同病异治”抑郁症的关键靶点, 四种中药方剂可能通过这些相同的度值高的潜在靶点调控抑郁症的发生与发展。此外, 将特有靶点 PPI 网络进行 Degree 计算, 得到 Degree 值排名前十分别为 STAT3、EIF4E、EP300、WT1、IGF1R、HNF1B、PSEN1、DDX3X、DICER1、PAX8。该十个特有靶点同样可能是四种中药方剂“同病异治”抑郁症的关键靶点, 四种中药方剂也可能

通过这些特有且度值高的潜在靶点调控相同靶点介导的相同或不同通路, 进而参与抑郁症的发生与发展。以上推测靶点都有可能通过进一步的实验与深入研究最终成为抑郁症干预的靶向蛋白。

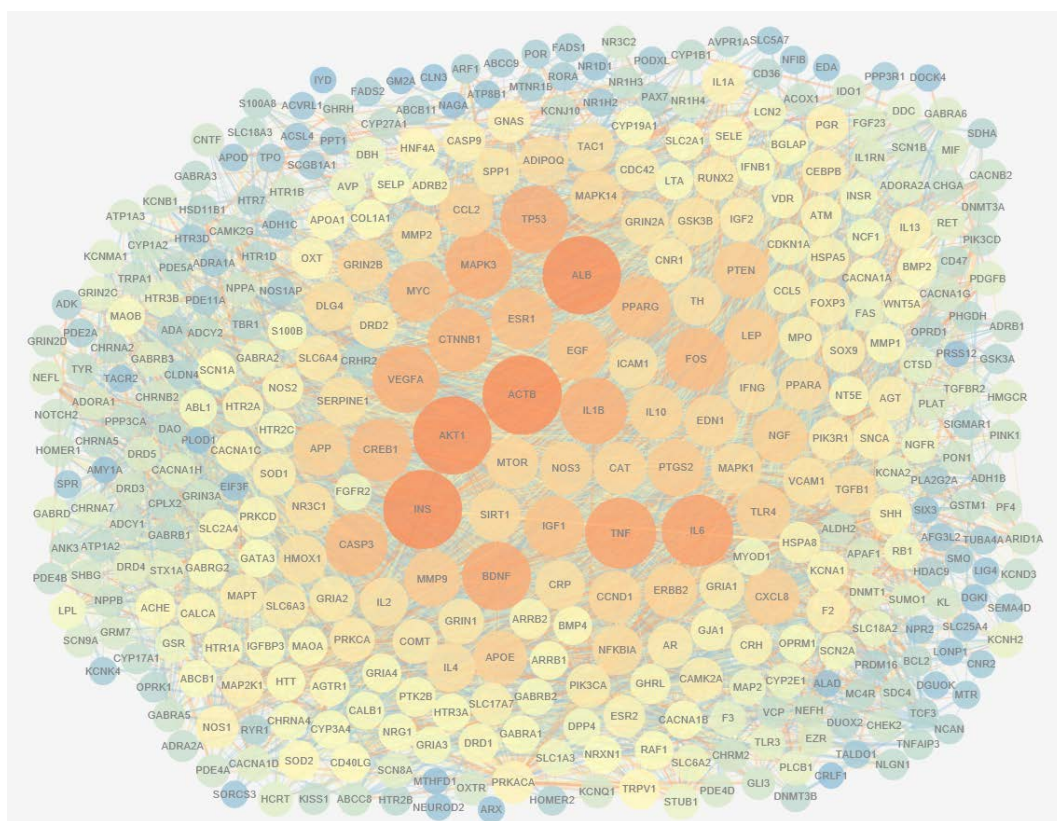


Figure 6. PPI network of common targets of drugs and depression
图 6. 药物 - 抑郁症共有靶点蛋白质互作网络

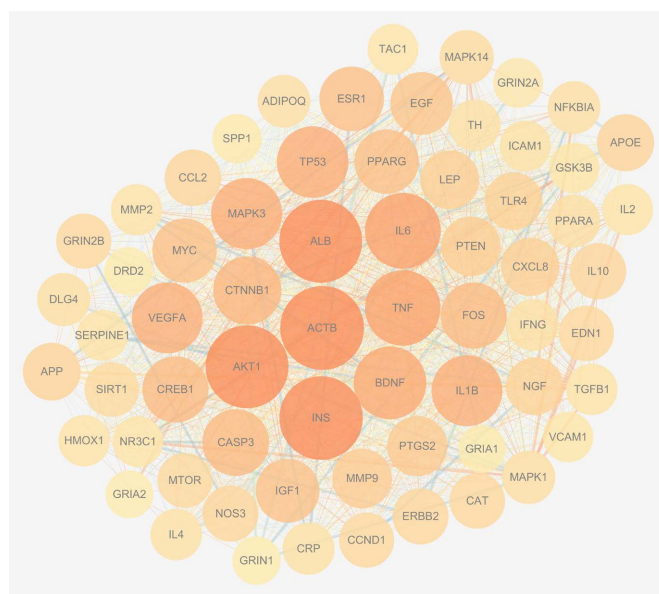


Figure 7. Hithubs network of common targets of drugs and depression
图 7. 药物 - 抑郁症共有靶点蛋白质互作核心网络

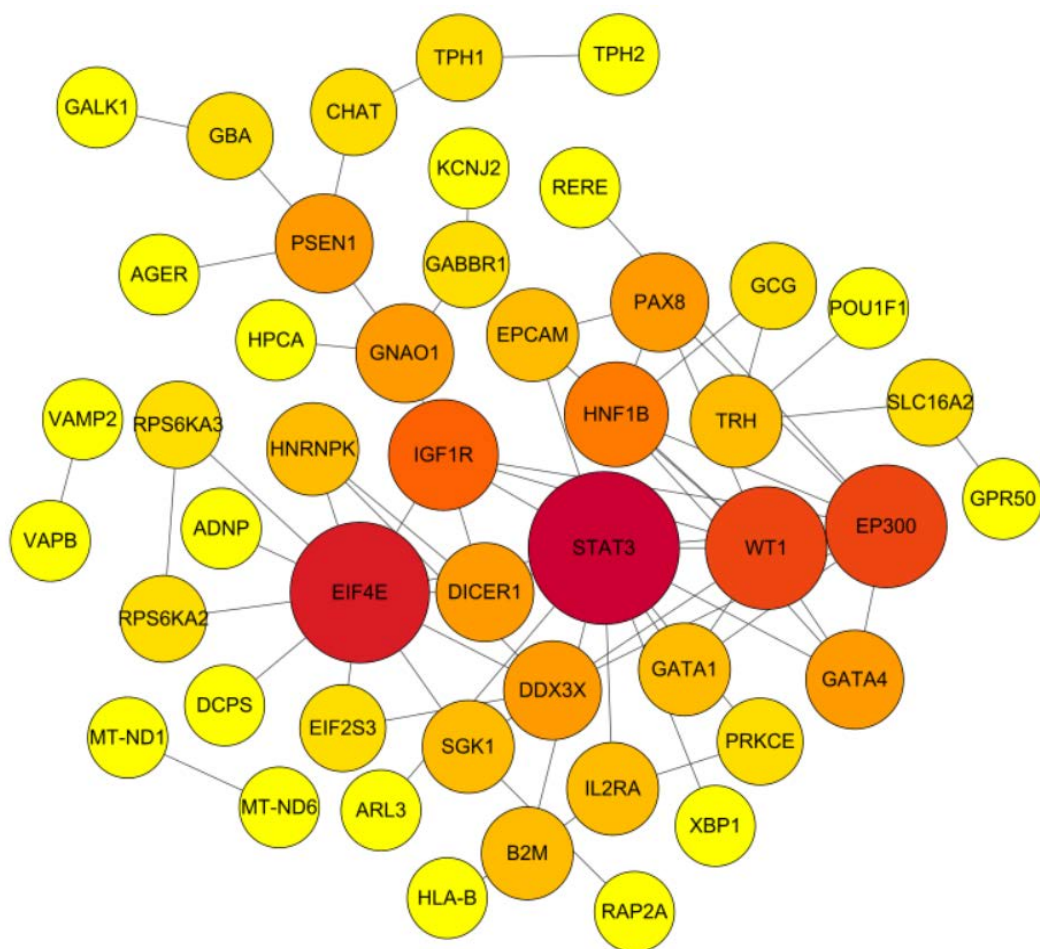


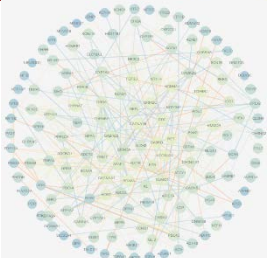
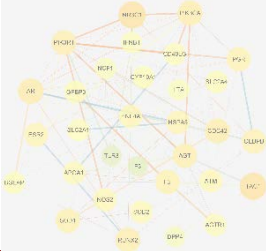
Figure 8. PPI network of specific targets of drugs and depression
图 8. 药物 - 抑郁症特有靶点蛋白质互作网络

用 Cytoscape 插件 MCODE 对共有靶点 PPI 进行聚类构建功能模块。通过 degree cutoff 值 \geq 共有靶点 degree 值中位数, K-core > 4 限制条件筛选出 5 个模块。以大于靶点 Degree 值中位数为筛选条件, 选取每个模块中的部分靶点导入 DAVID 作 KEGG 信号通路分析, 结果见表 1。分析发现 5 个模块中有 4 个都存在着相同的信号通路: 5-羟色胺突触通路(Serotonergic synapse)。5-羟色胺突触通路参与五羟色胺(5-HT)的分泌释放及受体作用。5-HT 作为一种单胺类抑制性神经递质, 在学习记忆、调控情绪、运动等生理功能中有着极为重要的作用。许多研究已经发现, 抑郁症患者体内 5-HT 及相关产物的代谢普遍出现异常现象[19] [20] [21]。5-HT 及其受体都已成为了抗抑郁研究的热点[22]。

将逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤和抑郁症的 388 个共同靶点导入 DAVID 得到生物过程(Biological Process, BP)、细胞组成(Cellular Component, CC)、分子功能(Molecular Function, MF)以及 KEGG 信号通路(KEGG Pathway)分析。利用 P value < 0.05 进行筛选, 按照 $-\ln(\text{FDR})$ 值的大小排序, 选取 TOP10 的数据。错误发现率(False Discovery Rate, FDR)是指所有的结果中错误(假发现)所占的比率, 它是为了控制最终得到的分析结果中假阳性的比例而出现的一个统计学概念。FDR 越小, 说明结果的准确性越高。共有靶点的 GO 富集和 KEGG 通路分析结果见图 9。共有靶点抗抑郁分析结果显示, BP 主要富集在 response to drug (药物反应), positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter (RNA 聚合酶 II 启动子的转录正调控), positive regulation of gene expression (基因表达的正向

调节)。CC 主要富集于 plasma membrane (质膜), cytosol (细胞质基质), postsynaptic membrane (突触后膜)。MF 主要富集在 protein homodimerization activity (蛋白质同源二聚体活性), enzyme binding (酶结合), protein binding (蛋白质结合)。KEGG 信号通路主要集中在 Neuroactive ligand-receptor interaction (神经活性配体 - 受体相互作用), Pathways in cancer (癌症通路), Calcium signaling pathway (钙信号通路), cAMP signaling pathway (cAMP 信号通路), Serotonergic synapse (5-羟色胺突触通路), HIF-1 signaling pathway (HIF-1 信号通路)。

Table 1. Analysis of MCODE module
表 1. MCODE 模块分析

序号	模块	得分 (Score)	通路
1		54.369	Pathways in cancer, Proteoglycans in cancer, PI3K-Akt signaling pathway, Hepatitis B, TNF signaling pathway, MAPK signaling pathway, Prostate cancer, HIF-1 signaling pathway, Chagas disease, Serotonergic synapse
2		12.462	Cocaine addiction, Amphetamine addiction, Glutamatergic synapse, Dopaminergic synapse, cAMP signaling pathway, Circadian entrainment, Alcoholism, Neuroactive ligand-receptor interaction, Nicotine addiction, Serotonergic synapse
3		7.733	Serotonergic synapse , Dopaminergic synapse, Neuroactive ligand-receptor interaction, Tyrosine metabolism, Nicotine addiction, Amphetamine addiction, GABAergic synapse, Morphine addiction, Retrograde endocannabinoid signaling
4		6.577	cAMP signaling pathway, Neuroactive ligand-receptor interaction, Calcium signaling pathway, Nicotine addiction, Morphine addiction, Glutamatergic synapse, Adrenergic signaling in cardiomyocytes, cGMP-PKG signaling pathway, Amphetamine addiction, Serotonergic synapse
5		6.452	Regulation of actin cytoskeleton, Pathways in cancer, VEGF signaling pathway, Pancreatic cancer, Renal cell carcinoma, Prolactin signaling pathway, Bacterial invasion of epithelial cells, Fc gamma R-mediated phagocytosis, Prostate cancer

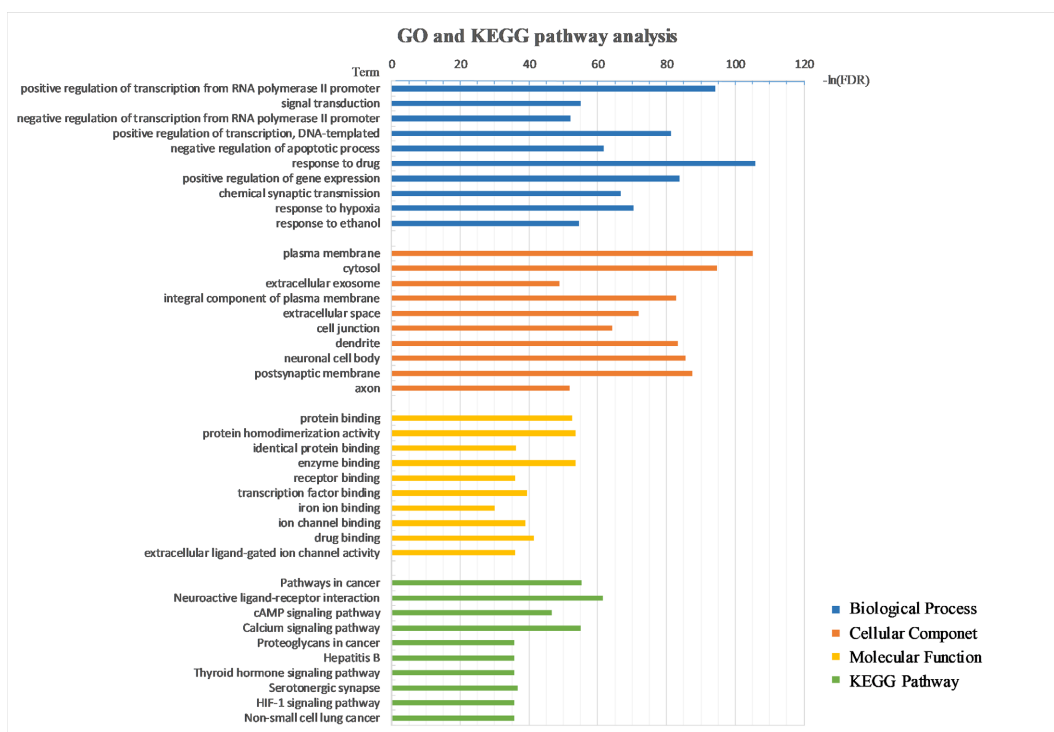


Figure 9. GO and KEGG analyses of common targets
图 9. 共有靶点的 GO 和 KEGG 分析

3.4. “活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”网络分析

利用 Cytoscap3.8.2 绘制“共有活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”网络(见图 10)。该网络中共有 1778 个节点, 12,102 条边; 红色的正六边形表示四四共有化学成分, 即四种方剂都含有的化学成分; 蓝色的三角形表示三三共有化学成分; 橘色的圆点表示两两共有化学成分。通过 degree 值计算, 得到网络中排名前三十的活性化学成分(见表 2), 这些化学成分 degree 值越高, 则说明在该化学成分 - 靶点网络中越重要, 也提示着该化学成分抗抑郁的潜力巨大。从网络可以看出四个中药复方的两两共有化学成分与药物

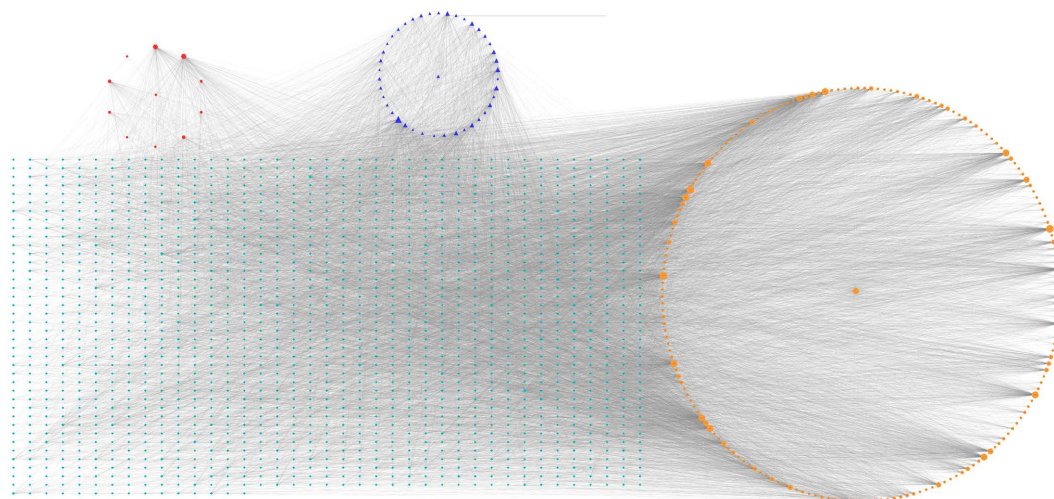


Figure 10. “Common active ingredients-drug targets-disease targets” network
图 10. “共有活性成分 - 药物靶点 - 疾病靶点”网络

与疾病靶点相连最多, 这说明这四个中药方剂可以通过共有化学成分作用于疾病关键靶点发挥抗抑郁症的作用, 这也可以用于解释四种中药方剂“同病异治”抑郁症的作用基础。

Table 2. Top10 in degree values of active ingredients

表 2. 共有活性成分度值 Top10

编号	化学成分	度值
D-D42	Nootkatone	267
D-D54	Carvone	267
D-D15	Pulegone	264
D-D144	Patchoulenone	238
D-D66	Nonanoic Acid	233
D-D38	Tridecanoic Acid	228
D-D161	Methyl Pentadecanoate	228
T-T5	Hexadecanoic Acid	226
D-D19	Lauric Acid	226
D-D43	Stearic Acid	226
D-D76	Caprylic Acid	226
D-D116	13-Methyl Pentadecanoic Acid	226
D-D127	Pentadecanoic Acid	226
D-D74	8-Nonenoic Acid	216
D-D157	Linoleic Acid	181
D-D20	Linolenic Acid	179
D-D22	Alpha-Linolenic Acid	178
D-D117	Oleic Acid	172
F-F4	quercetin	167
D-D137	Pentadecanol	161
D-D75	N-Nonanol	160
F-F5	Stigmasterol	148
D-D109	Ergotamine	140
D-D9	Myrtanol	139
D-D47	Pentanol	138
D-D79	Phenylacetic Acid	132
T-T19	Alpha-Pinene	126
T-T17	Thymol	122
D-D176	O-Ethylphenol	122
D-D3	Alpha-Chamigrene	120

(D-D 表示两种中药方剂共有化学成分, T-T 表示三种中药方剂共有化学成分, F-F 表示四种中药方剂共有化学成分)

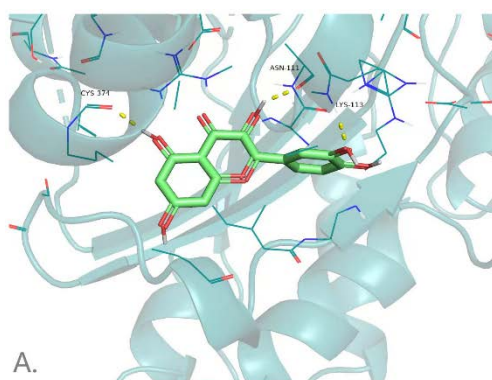
3.5. 有效活性成分和关键靶点对接结果

分别选取“共有活性成分-药物靶点-疾病靶点”网络中两两共有、三三共有、四四共有活性成分中度值排序前二的成分作为分子对接配体,其中选取两两共有活性化学成分 Nootkatone (圆柚酮)、Carvone (香芹酮), 三三共有活性化学成分 Hexadecanoic Acid (十六烷酸)、Alpha-Pinene (α -蒎烯), 四四共有活性化学成分 quercetin (槲皮苷)、Stigmasterol (豆甾醇)。选取四种中药复方药物共有靶点和抑郁症共有靶点 PPI 中 Degree 排名前十的靶点包括 ACTB、INS、AKT1、ALB、IL6、TNF、BDNF、TP53、MAPK3、IL1B 作为受体, 使用 AutoDockTools 进行分子对接。对接计算结果如表 3 所示。结合能越低, 受体靶点蛋白与配体化学成分的结合越稳定。最后选取结合能低的 ACTB-槲皮苷、ACTB-豆甾醇、TNF-槲皮素、TNF-豆甾醇四个对接模型并使用 PyMOL 绘制对接图形(见图 11)。计算结果显示, 作为四四共有化学成分的 Stigmasterol (豆甾醇), 与十个靶点的对接结合能都小于-7 (kcal/mol), 呈现一定的稳定性。同样作为四四共有化学成分的 Quercetin (槲皮苷)也相较于其他化学成分具有更低的结合, 此外, ACTB 和槲皮苷以及 TNF 和槲皮苷都存在三个不同的氢键相结合。综上, 证实了四种中药方剂“同病异治”抑郁症的科学内涵可以阐释为四种中药方剂共有的化学成分可以作用与潜在抗抑郁靶点, 从而达到抗抑郁效果, 这为抗抑郁药物的设计提供了新思路, 奠定了豆甾醇与槲皮苷具有一定抗抑郁作用的理论研究基础。

Table 3. Molecular docking result

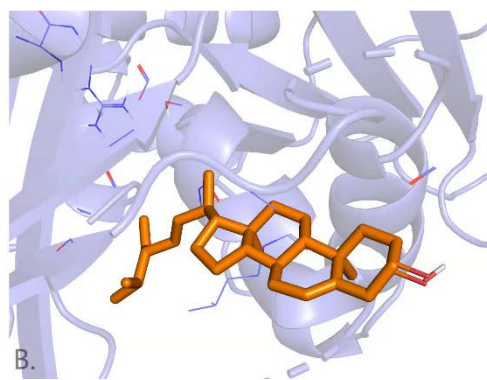
表 3. 分子对接结果

	D-D42	D-D54	T-T5	T-T19	F-F4	F-F5
	Nootkatone	Carvone	Hexadecanoic Acid	Alpha-Pinene	Quercetin	Stigmasterol
ACTB	-7.2	-6.2	-3.5	-5.8	-8.1	-9.2
INS	-5.7	-4.7	-4.2	-4.3	-6.5	-6.8
AKT1	-6.0	-5.3	-3.8	-4.9	-6.0	-7.3
ALB	-7.3	-6.3	-4.8	-5.9	-7.9	-8.9
IL6	-6.4	-5.2	-4.2	-4.6	-7.7	-7.5
TNF	-6.4	-5.6	-3.7	-5.1	-8.9	-9.8
BDNF	-6.3	-5.0	-3.8	-4.4	-7.5	-7.8
TP53	-6.4	-4.2	-3.9	-3.4	-6.5	-7.3
MAPK3	-6.3	-5.0	-3.5	-4.8	-8.2	-8.0
IL1B	-6.2	-0.3	-3.8	-5.3	-7.5	-7.2



A.

(A) ACTB 和槲皮苷



B.

(B) ACTB 和豆甾醇

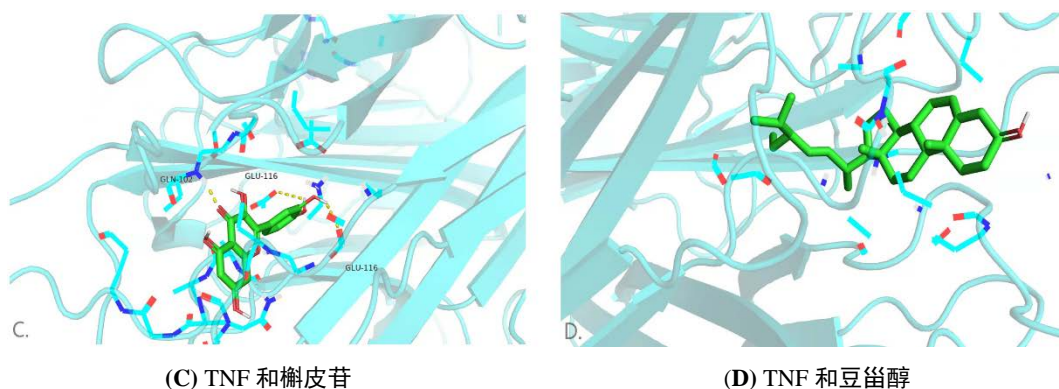


Figure 11. Molecular docking models

图 11. 分子对接模型

4. 讨论

当前对抑郁症的发病机制已经有了许多解释, 如炎症因子学说[23] [24] [25]、脑源性神经营养因子 (BDNF)学说[26] [27]、单胺类神经递质学说[28] [29]等等。但抑郁症的发生发展绝不能仅仅依靠一种机制就能够准确解释其作用机制, 所以, 抑郁症的作用机制研究必然是可持续、待深入的研究。在以往的研究中可以明显发现, 抑郁症与炎症、代谢、神经内分泌、神经免疫等有关[30] [31], 因此, 可通过抗炎、抗氧化、增强神经可塑性[32]等方式来达到抗抑郁的效果。

在中医界治疗抑郁症领域, 抑郁症的病因在于情志失调, 气血不畅, 多与肝气郁结有关[33] [34]。肝失疏泄, 气机与情志失调, 进而导致抑郁, 所以, 中医药治疗抑郁症最关键的原则就是疏肝解郁, 调畅气机。逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤四个中药方剂都已有许多研究证实抗抑郁疗效。

逍遥散作为疏肝解郁最为经典的方剂, 其功效以疏肝为主, 健脾养血为辅。周雪明等人通过大鼠实验证实, 经过逍遥散干预后的抑郁症大鼠海马中 NR2B、PI3K、p-AKT 的 mRNA 与蛋白表达水平均显著提高, 这说明逍遥散可以调控 PI3K/Akt 通路, 抑制神经元凋亡, 从而达到抗抑郁的治疗效果[35]。石博宇等人也通过抑郁小鼠模型实验推测逍遥散可能通过上调 5-HT 或阻断炎症因子诱导的 IDO(吲哚胺 2,3-双加氧酶)激活途径来拮抗炎症的发生, 通过保护神经元来抗抑郁[36]。越鞠丸中梔子具有潜在快速抗抑郁疗效。此外, 梔子、川芎可协同产生抗抑郁作用[38]。刘元月等人利用网络药理学发现越鞠丸可能通过调节神经递质、突触可塑性及炎症因子起到抗抑郁作用[39]。张震等人通过 CUMS(慢性不可预知性应激)大鼠实验发现柴胡疏肝散可增强 BDNF、TrkB、p-ERK 蛋白表达而达到抗抑郁疗效[40]。范大华等人研究大鼠造模实验发现进过柴胡疏肝散干预后, 其抑郁症行为均显著改善[41]。李岩发现半夏白术天麻汤也能够有效干预抑郁症大鼠模型, 提高 BDNF 因子表达, 从而抗抑郁[42]。四种中药方剂都分别被证实了其治疗抑郁症的确切疗效, 但四种方剂“同病异治”抑郁症的作用机制至今未有人研究。

“同病”即都可治疗抑郁症这一种疾病, “异治”指采用四个不同方剂治疗, 通过网络药理学和分子对接方法对四种方剂“同病异治”抑郁症科学内涵的探索能够更加深刻的解释中医药治疗疾病多靶点、多途径的特点及优势, 为抗抑郁药物的寻找和发现奠定一定的理论基础, 抑郁靶点与新通路的新发现也为抑郁症的及时发现及干预提供了更大的可能。

本研究对逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤四个方剂共 388 个共同靶点的通路分析结果与模块分析结果表示, 神经活性配体-受体相互作用、癌症通路、钙信号通路、cAMP 信号通路、5-羟色胺突触通路、HIF-1 信号通路都与抑郁症的发生发展有关。其中, 5-羟色胺突触通路为 MCODE 模块分析和 KEGG 分析共同结果。神经活性配体-受体相互作用[43]、癌症通路[44]、钙信号通路[45]、cAMP

信号通路[46]、5-羟色胺突触通路[47]都已证实参与抑郁症的发生且研究较多, 而 HIF-1 信号通路在抑郁症中的研究较少。HIF-1 (hypoxia-inducible factor 1, 缺血诱导因子)是缺氧条件下广泛存在于哺乳动物和人体内的一种转录因子, 它能够与靶基因结合, 使机体对缺氧、缺血产生适应性反应, 这也暗示其与氧化应激有着一定关联。有少量文献指出, HIF-1 通路的调控可改善突触可塑性从而达到抗抑郁效果[48]。

槲皮苷为黄酮类化合物的氧糖苷, 其具有抗菌、抗病毒、抗炎等作用[49]; 豆甾醇属于植物甾醇, 具有抗炎、抗氧化、抗癌等作用[50]。已有研究证实槲皮苷和豆甾醇对抑郁症有疗效[51] [52], 但豆甾醇抗抑郁具体研究较少。ACTB (肌动蛋白)是一种高度保守的蛋白, 其参与细胞运动、结构、完整性和细胞间信号转导等生理功能; TNF (肿瘤坏死因子)是一种可以杀伤或抑制肿瘤细胞、抗感染、促细胞增殖分化的一类细胞因子。这些化学成分与蛋白为后续抗抑郁研究提供新方向。本研究的分子对接结果发现 ACTB 与槲皮苷、ACTB 与豆甾醇的结合能、TNF 与槲皮素的结合能 TNF 与豆甾醇的结合能都低于 -7 kcal/mol, 说明槲皮苷和豆甾醇都与 ACTB 和 TNF 结合稳定, ACTB 与 TNF 作为抗抑郁潜在靶点, 槲皮苷和豆甾醇作为抗抑郁潜在化学成分, 提示四种中药方剂的四方共有成分槲皮苷和豆甾醇可以作用于抑郁症潜在靶点 ACTB 和 TNF, 从而可能参与抗抑郁通路以达到抗抑郁的治疗效果, 这也进一步阐释了四种中药方剂“同病异治”抑郁症的科学内涵。

四种中药的药物靶点可以通过作用于相同的疾病靶点而参与与抗抑郁相关的通路, 进而达到防治抑郁症的作用, 同时, 这些药物特有的靶点也可以通过作用于疾病靶点或更多潜在未发现的疾病靶点抗抑郁, 如此, 即可从靶点及通路层面阐释逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤“同病异治”抑郁症的作用机制。

当然, 本研究依旧存在不足之处。网络药理学本身是一门数据库信息挖掘、整合与推测的技术, 它虽能够发挥数据分析与预测的功能, 具有减少实验试错成本、提高实验效率的优势, 但其必然存在一定的假阳性[53], 此外, 作为网络药理学重要支撑的数据库也在不断更新, 具有一定的时效性, 所以本研究仍需要后续的建模实验进一步验证预测结果的准确性。

5. 总结

综上所述, 逍遥散、越鞠丸、柴胡疏肝散、半夏白术天麻汤“同病异治”抑郁症的作用机制可能在于其四种方剂共有化学成分槲皮苷和豆甾醇与 ACTB 和 TNF 疾病靶点结合, 从而参与神经活性配体-受体相互作用、癌症通路、钙信号通路、cAMP 信号通路、5-羟色胺突触通路、HIF-1 信号通路等多个通路途径, 调控抑郁症的发生和发展。该理论还需后续实验的进一步验证。本研究也为后续实验打下了一定的理论基础, 为抗抑郁药物的研发与探索提供了新思路。

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); 四川省科技计划资助(2021YJ0113)。

参考文献

- [1] 过伟峰, 曹晓岚, 盛蕾, 李建香, 张兰坤, 马云枝. 抑郁症中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2020, 40(2): 141-148.
- [2] 王爱华, 王娟, 甘博文. 抑郁症的中医药治疗研究进展[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(6): 112-116.
- [3] 刘春丽. 博士研究生抑郁和焦虑症状现状调查及影响因素分析[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 中国医科大学, 2019.
- [4] Ng, M., et al. (2014) Global, Regional, and National Prevalence of Overweight and Obesity in Children and Adults during 1980-2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **384**, 766-781. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60460-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60460-8)

- [5] Mokdad, A.H., Forouzanfar, M.H., Daoud, F., *et al.* (2016) Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors for Young People's Health during 1990-2013: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **387**, 2383-2401. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00648-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00648-6)
- [6] Ferrari, A.J., Stockings, E., Khoo, J.P., *et al.* (2016) The Prevalence and Burden of Bipolar Disorder: Findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Bipolar Disorders*, **18**, 440-450. <https://doi.org/10.1111/bdi.12423>
- [7] 健康中国行动(2019-2030年): 总体要求、重大行动及主要指标[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(9): 846-858.
- [8] 陈祉妍, 明志君, 王雅芯, 刘亚男, 翟婧雅. 2019年临床心理学热点回眸[J]. 科技导报, 2020, 38(1): 65-76.
- [9] 高耀, 穆俊芳, 令狐婷, 周玉枝, 高晓霞, 田俊生, 秦雪梅. 逍遥散治疗抑郁症代谢网络的模块划分与生物学机制研究[J]. 药学学报, 2021, 56(2): 528-537.
- [10] 冯光明. 逍遥散治疗抑郁症的临床观察及¹H-NMR代谢组学研究[D]: [硕士学位论文]. 太原: 山西大学, 2014.
- [11] 李洪, 徐舒, 李滨, 等. 逍遥散联合盐酸氟西汀治疗抑郁症肝郁脾虚型41例[J]. 陕西中医, 2009, 30(1): 49-50.
- [12] 张怡. 精神抑郁症临床治疗研究新进展[J]. 淮海医药, 2017, 35(1): 123-124.
- [13] 尚立芝, 李耀洋, 谢文英, 李瑞琴. 抗抑郁仲景方药的作用机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(24): 25-32.
- [14] 王小雨, 周佳丽, 周颖, 陈瑞, 刘传鑫, 张晨宁. 基于中药整合药理学探究参芪地黄汤与加味真武汤“同病异治”糖尿病肾病作用机制的异同[J/OL]. 沈阳药科大学学报, 1-16. <https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2020.0436>, 2022-02-07.
- [15] 刘文雯, 木本荣, 钟馨, 黄志航, 刘文萱, 卢长青, 梁小清, 王冬梅, 国锦琳. 基于网络药理学和生物信息学探索逍遥散和柴胡疏肝散“同病异治”抑郁症的作用机制[J]. 中医学, 2021, 10(2): 200-215.
- [16] 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.
- [17] 伍振辉, 张欢, 吴欣平, 周露, 曾英坚. 基于网络药理学及体外实验验证探讨青黄散抗急性髓系白血病的分子机制[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-13. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20220414>, 2022-02-11.
- [18] Hsin, K.Y., Ghosh, S. and Kitano, H. (2013) Combining Machine Learning Systems and Multiple Docking Simulation Packages to Improve Docking Prediction Reliability for Network Pharmacology. *PLoS ONE*, **8**, e83922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083922>
- [19] 陈欣怡, 李永丰, 徐晨曦, 乔海法. 针刺干预抑郁症在中枢5-羟色胺系统的效应机制研究进展[J/OL]. 中华中医药学刊, 1-6. <http://lib.edutcm.edu.cn:7001/rwt/CNKI/http://NNYHGLUDN3WXTLUPMW4A/kcms/detail/21.1546.R.20211231.1523.051.html>, 2022-02-08.
- [20] Morrissette, D.A. and Stahl, S.M. (2014) Modulating the Serotonin System in the Treatment of Major Depressive Disorder. *CNS Spectrums*, **19**, 54-67, 68. <https://doi.org/10.1017/S1092852914000613>
- [21] 刘军平, 胡珊, 詹勇. 逍遥散加味联合帕罗西汀治疗老年骨折后抑郁症的疗效及对血清NE和5-HT的影响[J]. 当代医学, 2021, 27(28): 70-72.
- [22] Agata, Z., *et al.* (2021) Overcoming Depression with 5-HT_{2A} Receptor Ligands. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 10. <https://doi.org/10.3390/ijms23010010>
- [23] 王琦, 赵慧亮, 杨晨, 向欢, 秦雪梅, 田俊生. 慢性社交挫败应激抑郁模型建立与评价及其在中药抗抑郁研究中的应用[J]. 中草药, 2022, 53(1): 288-294.
- [24] 张福诚. 探索CUMS诱导小鼠抑郁模型中促炎因子IL-17A的参与机制以及海参磷脂的干预作用[D]: [硕士学位论文]. 湛江: 广东海洋大学, 2020.
- [25] Abu, T.M., *et al.* (2022) Targeting Neuroinflammation by Polyphenols: A Promising Therapeutic Approach against Inflammation-Associated Depression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **147**, Article ID: 112668. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112668>
- [26] De Sousa, C.N.S., *et al.* (2022) Involvement of Oxidative Pathways and BDNF in the Antidepressant Effect of Carvedilol in a Depression Model Induced by Chronic Unpredictable Stress. *Psychopharmacology*, **239**, 297-311. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05994-6>
- [27] Yang, C., *et al.* (2022) Atorvastatin Ameliorates Depressive Behaviors via Regulation of α 7nAChR Expression by PI3K/Akt-BDNF Pathway in Mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **593**, 57-64. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.01.034>
- [28] 许超. 解郁丸联合西药治疗抑郁症临床观察[J]. 数理医药学杂志, 2022, 35(1): 88-90.

- [29] 曾龙平, 陈昊然, 葛成璞, 庞圆君, 林山仪. 褪黑素对抑郁大鼠行为学及单胺类神经递质影响[J]. 中国医学创新, 2021, 18(34): 38-43.
- [30] Shi, Y.C., *et al.* (2021) Identification of Potential Biomarkers of Depression and Network Pharmacology Approach to Investigate the Mechanism of Key Genes and Therapeutic Traditional Chinese Medicine in the Treatment of Depression. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, Article ID: 2165632. <https://doi.org/10.1155/2021/2165632>
- [31] 张楠, 许二平, 陈玉龙. NLRP3 炎症小体与抑郁症的关系及中医药的干预作用[J/OL]. 中国实验方剂学杂志, 1-17. <http://lib.edutcm.edu.cn:7001/rwt/CNKI/http://NNYHGLUDN3WXTLUPMW4A/kcms/detail/11.3495.R.20220110.182.0.024.html>, 2022-02-11.
- [32] 陶雪. 木豆素抗抑郁和改善认知障碍的药效及作用机制研究[D]: [博士学位论文]. 北京: 北京协和医学院, 2020.
- [33] 刘晓倩, 杨宇峰, 石岩. 糖尿病合并抑郁症中医药因病机理论框架研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(2): 162-165.
- [34] 童海涛, 艾志福, 陈常莲. 基于中医体质探讨抑郁症的食疗药膳[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(20): 70-71.
- [35] 周雪明, 尹雅静, 常卓, 柳晨玥, 邓贺, 梁碧月, 谭曾德, 隋方宇. 逍遥散对抑郁大鼠海马 CA1 区 PI3K/AKT 信号通路的调节作用研究[J/OL]. 中医药学报, 2022(1): 12-17. <https://doi.org/10.19664/j.cnki.1002-2392.220004>, 2022-02-11.
- [36] 石博宇, 叶晓林, 罗杰, 刘小波, 彭希, 刘蓉, 曾南. 逍遥散对脂多糖诱导抑郁样行为的影响[J]. 中成药, 2019, 41(4): 760-766.
- [37] 周苗苗, 魏盛, 吴建林, 张尹, 马月香. 以“氯胺酮”与“越鞠丸”为代表的快速抗抑郁药的中医机理初探[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(2): 400-402.
- [38] Tang, J., Xue, W., Xia, B., *et al.* (2015) Involvement of Normalized NMDA Receptor and m TOR-Related Signaling in Rapid Antidepressant Effects of Yueju and Ketamine on Chronically Stressed Mice. *Scientific Reports*, 5, Article No. 13573. <https://doi.org/10.1038/srep13573>
- [39] 刘元月, 胡丹, 嵇云, 盛蕾. 基于网络药理学探讨越鞠丸快速抗抑郁作用机制[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(11): 145-149.
- [40] 张震, 赵博, 刘焯鉴, 郭永胜, 丁然, 张杰. 柴胡疏肝散对 CUMS 大鼠眶额叶皮层的保护作用机制[J/OL]. 中药材, 2021(7): 1710-1715. <http://lib.edutcm.edu.cn:7001/rwt/CNKI/https://MSYXTLUQPJUB/10.13863/j.issn1001-4454.2021.07.031>, 2022-02-11.
- [41] 范大华, 孙宁宁, 吴正治, 罗焕敏, 曹美群. 柴胡疏肝散调控抑郁症肝郁证模型海马神经可塑性分子机制的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(9): 1190-1193+1206.
- [42] 李岩. 半夏白术天麻方抗抑郁作用与大鼠脑海马 BDNF 表达的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2015.
- [43] 周坤. 人参皂苷 Rb1 通过调控炎症改善 LPS 诱导的小鼠急性抑郁样行为机制及体内药效成分研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [44] Rahman, Md.R., *et al.* (2019) The Influence of Depression on Ovarian Cancer: Discovering Molecular Pathways That Identify Novel Biomarkers and Therapeutic Targets. *Informatics in Medicine Unlocked*, 16, Article ID: 100207. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2019.100207>
- [45] 李灵, 陈健, 郭炜, 韩涛. 基于网络药理学中药郁金治疗抑郁症作用机制研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(2): 121-125.
- [46] 童妍, 郝安辉, 李坤伦, 金钊. 大黄素甲醚对抑郁大鼠海马 ERK、cAMP、CaMK 的影响[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(2): 73-76.
- [47] 张雯, 唐仕欢, 张毅, 李德凤, 杨洪军, 张艺, 郭非非. 基于整合药理学的越鞠丸“异病同治”研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(7): 1352-1359.
- [48] Li, G.F., *et al.* (2020) FG-4592 Improves Depressive-Like Behaviors through HIF-1-Mediated Neurogenesis and Synapse Plasticity in Rats. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neuro Therapeutics*, 17, 664-675. <https://doi.org/10.1007/s13311-019-00807-3>
- [49] 陈龙云, 柳叶. 槲皮苷通过抑制 PI3K/AKT 信号通路诱导胃癌 SGC7901 细胞凋亡[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(11): 1976-1980.

-
- [50] 汪帅, 孙宇, 李春梅, 卢群. 豆甾醇的研究进展概述[J]. 中国药业, 2019, 28(23): 96-98.
- [51] Ferreira, B.D., *et al.* (2021) A Subchronic Low-Dose Exposure of a Glyphosate-Based Herbicide Induces Depressive and Anxious-Like Behavior in Mice: Quercetin Therapeutic Approach. *Environmental Science and Pollution Research International*, **28**, 67394-67403. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15402-3>
- [52] 钱慧琴, 彭媛, 黄秀秀, 于舒雁, 刘冰冰, 王宁, 赵永恒. 基于网络药理学探讨预知子抗抑郁的作用机制[J]. 食品工业科技, 2021, 42(14): 8-15.
- [53] 王倩, 何涛, 周佳丽, 刘宁, 汤爽, 刘传鑫, 黄建梅. Meta 分析关联网药理学的补肾活血汤治疗糖尿病肾病的临床评价及其潜在作用机制探析[J]. 中草药, 2021, 52(6): 1692-1705.