

基于网络药理学探讨栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠的作用机制

刘晓东, 秦治伟, 郭斌丹, 魏文峰, 霍金海*

黑龙江省中医药科学院, 黑龙江 哈尔滨 150036

摘要: 目的 基于网络药理学方法探讨栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠的作用机制。方法 筛选栀子豉汤活性成分; 通过 PharmMapper 和 CTD 获取成分对应的靶点; 将成分靶点与 TTD、OMIM、DrugBank、CTD、Gene-Cards、DisGeNET 数据库中获取的抑郁、焦虑和失眠疾病靶点分别取交集, 将交集靶点分别导入 String 在线网站构建蛋白质相互作用网络, 运用 Cytoscape 软件进行可视化分析, 根据度值筛选出关键靶点; 通过 Matescape 数据库对交集靶点进行基因本体 (GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 利用 Cytoscape 软件构建“成分-靶点-通路”网络, 根据度值等筛选出核心活性成分。结果 共筛选 19 个活性成分, 核心活性成分有大豆苷元、染料木素、栀子苷、芦丁、绿原酸等; 活性成分和抑郁、焦虑和失眠疾病交集靶点分别为 77、91、111 个; KEGG 通路富集分析结果显示, 栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠主要涉及雌激素、丝裂原活化蛋白激酶、磷酸肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt)、叉头状转录因子 (FOXO)、神经活性配体-受体相互作用、白细胞介素-17 (IL-17)、多巴胺突触、糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物及其受体 (AGE-RAGE) 等信号通路。结论 栀子豉汤可通过多成分、多靶点和多通路发挥治疗抑郁、焦虑和失眠的作用, 为深入研究栀子豉汤的药效物质基础和药理作用提供理论依据。

关键词: 栀子豉汤; 网络药理学; 活性成分; 靶点; 作用机制

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)04-0719-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.04.007

Mechanism of Zhizichi Decoction in treatment of depression, anxiety and insomnia based on network pharmacology

LIU Xiao-dong, QIN Zhi-wei, GUO Bin-dan, WEI Wen-feng, HUO Jin-hai

Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Zhizichi Decoction in treatment of depression, anxiety and insomnia based on network pharmacology. **Methods** The main active ingredients of Zhizichi Decoction were screened. The target points corresponding to the components were obtained through PharmMapper and CTD. Intersection of component targets and depression, anxiety, and insomnia disease targets were obtained in TTD, OMIM, DrugBank, CTD, Gene-Cards, and DisGeNET databases, respectively. The intersection targets were imported into the String online website to construct a protein interaction network, and Cytoscape software was used for visual analysis, and the key targets were screened out according to the degree value. GO biological analysis and KEGG pathway enrichment analysis of the intersection target through the Matescape database. Cytoscape was used to construct a “component-target-pathway” network, and the core active ingredients were screened out according to the degree value. **Results** A total of 19 active ingredients were screened. The core active ingredients were daidzein, genistein, geniposide, rutin, isochlorogenic acid A, etc. The intersection of depression, anxiety, and insomnia components and disease targets respectively were 77, 91, and 111. KEGG pathway enrichment analysis results showed that the treatment of depression, anxiety, and insomnia by Zhizichi Decoction mainly involved estrogen, mitogen-activated protein kinase, PI3K-Akt, FOXO, neuroactive ligand-receptor interaction, IL-17, dopamine synapses, AGE-RAGE and other signaling pathways in diabetic complications. **Conclusion** Zhizichi Decoction plays a role in

收稿日期: 2021-11-15

基金项目: 国家中药材产业技术体系专项 (CARS-21); 国家中医药管理局全国中药资源普查项目 (GZY-KJS-2018-004); 2018 年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目” (财社[2018]43 号)

作者简介: 刘晓东 (1996—), 男, 硕士研究生, 从事药效物质基础研究。E-mail: liuxiaodong202020@163.com

*通信作者: 霍金海 (1981—), 男, 研究员, 硕士生导师, 主要从事中药质量评价及药效物质基础研究。Tel: (0451)55665478
E-mail: jinhaihuo@126.com

treatment of depression, anxiety and insomnia through multi-component, multi-target and multi-channel, which provides a theory for in-depth study of the pharmacological basis and pharmacological effects of Zhizichi Decoction.

Key words: Zhizichi Decoction; network pharmacology; active compounds; targets; mechanism

栀子豉汤最早出现于张仲景的《伤寒杂病论》，由栀子和淡豆豉 2 味药组成，具有宣泄胸中郁热、清热除烦之功，常用于治疗热郁胸膈证，如失眠、抑郁、焦虑、小儿睡惊症和反流性食管炎等^[1-2]。大量临床研究证实，栀子豉汤单独使用或联合其他药物对于抑郁症、焦虑症和失眠等精神疾病有显著疗效，但对于其作用机制并未阐明^[3-5]。网络药理学抛开了单靶点研究的束缚，以多成分、多靶点为研究对象，运用高通量技术、网络可视化技术和分析技术等多种手段，通过构建“药物-成分-靶点-疾病”网络图，从整体上分析复方治疗疾病潜在的作用机制^[6-8]。本研究采用网络药理学方法，以栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠为研究对象，通过构建“成分-靶点-通路”网络，预测栀子豉汤主要活性成分、核心靶点和信号通路，从分子水平上探讨栀子豉汤治疗抑郁、焦虑、失眠等精神疾病的作用机制，为深入研究栀子豉汤的药理作用机制提供依据。

1 材料

中药数据库和分析平台 (TCMSP, <https://tcmsp.w.com/tcmsp.php>)；Pubchem 化学数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)；PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>) 服务器；Online Mendelian Inheritance in Man 数据库 (OMIM, <https://omim.org/>)；Therapeutic Target Database 数据库 (TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>)；DrugBank 药物及靶点数据库 (<https://go.drugbank.com/>)；DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>)；GeneCards 人类基因数据库 (<https://www.genecards.org/>)；UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)；String 数据库 (<http://string-db.org/>)；CTD 数据库 (<http://ctdbase.org/>)；Cytoscape 3.7.2 软件；Metascape (<http://metascape.org/>) 平台；微生信数据可视化平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>)。

2 方法

2.1 栀子豉汤活性成分的获取及靶点的筛选

课题组前期已做过栀子豉汤体外全成分分析、血中移行成分分析，将栀子豉汤的血中移行成分作为活性成分。筛选得到的成分依据其 CAS 号在 Pubchem 化学数据库下载其化学结构，并保存为

MOL2 格式文件。分别将 MOL2 文件上传至 PharmMapper 服务器，获得每个活性成分的虚拟筛选靶点 (前 300 个靶点)，根据 $\text{NormFit} \geq 0.70$ 筛选出成分靶点。将得到的靶点导入 UniProt 数据库，限定物种为“人”，将 UniProtKB AC/ID 转换为基因名，得到成分对应的靶点；依据 CAS 号在 CTD 数据库获得每个活性成分的靶点。将得到的靶点合并，去重，得到最终的成分靶点。

2.2 疾病靶点的筛选

在 OMIM 数据库、TTD 数据库、DrugBank 数据库、DisGeNET 数据库、GeneCards 数据库、CTD 数据库中分别通过检索关键词“depression”“depressed”；“anxiety disorder”“anxiety”；“insomnia”“sleeplessness”来获取与抑郁、焦虑和失眠相关的靶点，利用 UniProt 数据库对得到的靶点进行校正，最后汇总各个数据库中得到的靶点并去重后即疾病靶点。将成分靶点和疾病靶点拟合，交集靶点可能为栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠的相关靶点。

2.3 靶点蛋白质相互作用 (PPI) 网络的构建

将得到的交集靶点导入 String 在线数据库，Organism 设定为 Homo sapiens，其余为默认值，去除与其他基因没有相互作用的孤立基因，得到交集靶点的 PPI 网络。下载其 PNG 和 TSV 文件，将 TSV 文件导入 Cytoscape 3.7.2 软件，对网络文件进行分析，分析完后利用工具“Generate Style from Statistics”根据度 (degree) 值设置靶点的颜色和大小，Combine Score 设置边的粗细，获得最终的 PPI 网络。

2.4 富集分析

将交集靶点导入 Metascape 平台，选择 Homo sapiens，根据 $P < 0.05$ 进行基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 代谢通路富集分析。

2.5 “药材-成分-靶点-通路”网络的构建

将中药材、活性成分、交集靶点和 KEGG 富集分析前 10 条结果 (按照基因数排序) 导入 Cytoscape 3.7.2 软件，构建“药材-成分-靶点-通路”网络。

3 结果

3.1 活性成分及靶点的筛选

共筛选出 19 个活性成分，见表 1。将靶点预测

结果合并, 筛除重复值后共获得 386 个成分靶点。

3.2 疾病靶点及交集靶点的筛选

将数据库检索的结果汇总, 通过 UniProt 数据库对得到的靶点进行校正后筛除重复项, 最终得到 1 725 个抑郁疾病靶点、794 个焦虑疾病靶点和 720 个失眠疾病靶点。对活性成分靶点和疾病靶点取交集, 分别得到 77、91、111 个潜在作用靶点, 见图 1。

表 1 栀子豉汤活性成分信息

Table 1 Active ingredient information of Zhizichi Decoction

编号	化合物名称	CAS 号	来源药材
ZZ1	鸡屎藤次苷甲酯	27530-67-2	栀子
ZZ2	京尼平	6902-77-8	栀子
ZZ3	京尼平苷酸	27741-01-1	栀子
ZZ4	京尼平龙胆双糖苷	29307-60-6	栀子
ZZ5	羟异栀子苷	24512-62-7	栀子
ZZ6	去乙酰车叶草苷酸甲酯	52613-28-2	栀子
ZZ7	山栀苷	29836-27-9	栀子
ZZ8	山栀苷甲酯	64421-28-9	栀子
ZZ9	藏红花酸	27876-94-4	栀子
ZZ10	绿原酸	327-97-9	栀子
ZZ11	栀子苷	24512-63-8	栀子
ZZ12	车叶草苷	14259-45-1	栀子
ZZ13	马钱子苷	18524-94-2	栀子
ZZ14	芦丁	153-18-4	栀子
DDC1	大豆苷	552-66-9	淡豆豉
DDC2	大豆苷元	486-66-8	淡豆豉
DDC3	黄豆黄苷	40246-10-4	淡豆豉
DDC4	染料木苷	529-59-9	淡豆豉
DDC5	染料木素	446-72-0	淡豆豉

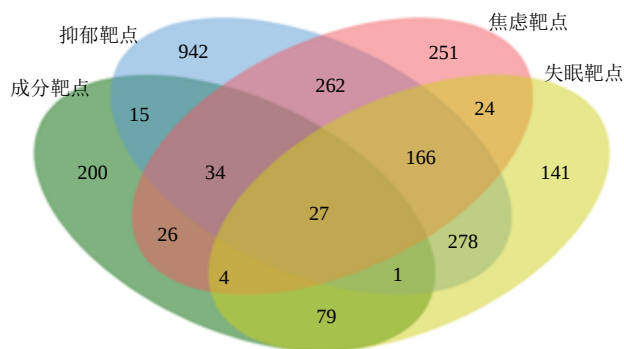


图 1 成分靶点-疾病靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of component target-disease target

3.3 PPI 的构建

度值越大对应图中的节点也越大, 颜色由浅绿到深蓝对应的度值由小到大; Combine Score 设置边的粗细, 边越粗并且颜色越深对应的 Combine Score 越大, 获得最终的 PPI 网络, 见图 2。其中 A 代表抑郁交集靶点 PPI 网络, 共 73 个节点, 633 条相互作用边; B 代表焦虑交集靶点 PPI 网络, 共 89 个节点, 645 条相互作用边; C 代表失眠交集靶点 PPI 网络, 共 111 个节点, 1746 条作用边。根据度值、介度和紧密度筛选出核心靶点, 见表 2~4。

3.4 富集分析

3.4.1 抑郁相关通路分析 将 77 个交集抑郁靶点导入 Metascape 平台, 得到 GO 条目结果 1 220 条, 其中包括生物过程 (BP) 条目 1 090 条, 细胞组成 (CC) 条目 34 条, 分子功能 (MF) 条目 96 条, 筛选每个条目的前 10 条, 见图 3。这些靶点主要为丝裂原活化蛋白激酶级联激活、对生长因子、营养水平和氧化应激的反应、细胞凋亡等生物过程; 涉及

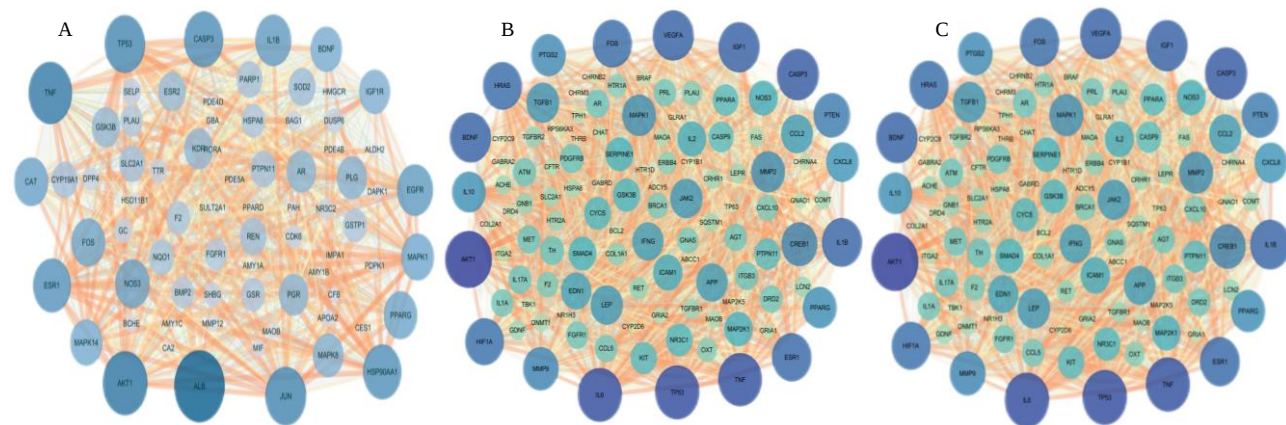


图 2 栀子豉汤治疗抑郁 (A)、焦虑 (B)、失眠 (C) 的 PPI 图

Fig. 2 PPI of Zhizichi Decoction in treatment of depression(A), anxiety(B), and insomnia (C)

表 2 栀子豉汤治疗抑郁的核心靶点特征参数

Table 2 Characteristic parameters of central targets of Zhizichi Decoction in treatment of depression

靶点	连接度	介度	紧密度
ALB	58	0.225 819 49	0.837 209 3
AKT1	49	0.073 459 31	0.757 894 74
TNF	47	0.090 735 27	0.742 268 04
JUN	43	0.043 247 59	0.712 871 29
TP53	42	0.031 052 86	0.705 882 35
CASP3	40	0.036 272 90	0.692 307 69
HSP90AA1	39	0.037 422 20	0.685 714 29
ESR1	38	0.019 122 12	0.679 245 28
IL1 β	35	0.013 575 64	0.660 550 46
EGFR	35	0.011 571 93	0.654 545 45
CAT	32	0.027 647 38	0.642 857 14
NOS3	32	0.019 264 96	0.642 857 14
PPARG	31	0.029 416 86	0.637 168 14
FOS	31	0.035 122 19	0.637 168 14

表 3 栀子豉汤治疗焦虑的核心靶点特征参数

Table 3 Characteristic parameters of central targets of Zhizichi Decoction in treatment of anxiety

靶点	连接度	介度	紧密度
ALB	55	0.183 740 97	0.837 209 30
TNF	47	0.089 728 37	0.757 894 74
AKT1	46	0.063 179 45	0.742 268 04
EGFR	40	0.066 089 61	0.712 871 29
SRC	40	0.067 085 04	0.705 882 35
CASP3	37	0.029 252 75	0.692 307 69
BDNF	37	0.054 646 85	0.685 714 29
HSP90AA1	36	0.047 948 40	0.679 245 28
ESR1	36	0.040 397 54	0.660 550 46
FOS	33	0.047 318 14	0.654 545 45
PPARG	30	0.014 325 18	0.642 857 14
MAPK1	29	0.026 449 15	0.642 857 14
NOS3	28	0.026 806 67	0.637 168 14
MAPK14	27	0.010 912 62	0.637 168 14

树突、轴突、薄膜筏、内质网、囊泡腔等细胞组分；涉及蛋白激酶活性、信号受体调节剂活性、受体配体活性、转录因子的结合等分子功能。富集分析得到 KEGG 通路 129 条，前 20 条见图 4，图中富集的通路主要涉及丝裂原活化蛋白激酶信号通路、磷酸肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路、

表 4 栀子豉汤治疗失眠的核心靶点特征参数

Table 4 Characteristic parameters of central targets of Zhizichi Decoction in treatment of insomnia

靶点	连接度	介度	紧密度
AKT1	78	0.052 436 49	0.7692 307 7
TP53	73	0.040 082 11	0.748 299 32
IL6	73	0.037 725 80	0.748 299 32
TNF	72	0.027 447 48	0.743 243 24
CASP3	69	0.027 766 03	0.718 954 25
BDNF	67	0.062 275 73	0.718 954 25
IGF1	67	0.016 504 18	0.709 677 42
VEGFA	67	0.012 383 49	0.709 677 42
IL1 β	65	0.019 758 65	0.709 677 42
ESR1	64	0.035 486 77	0.696 202 53
HRAS	63	0.022 005 64	0.691 823 90
FOS	63	0.031 590 61	0.700 636 94
HIF1A	62	0.013 655 41	0.687 500 00
PTEN	58	0.018 747 49	0.679 012 35

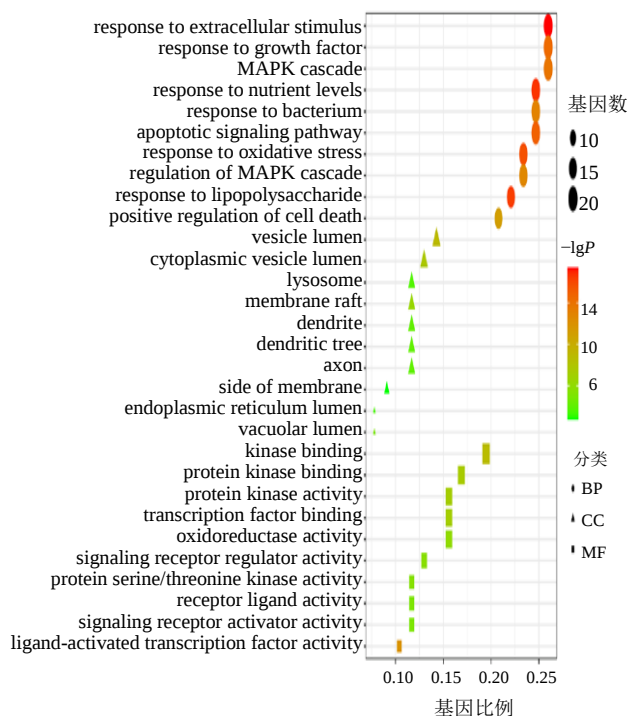


图 3 栀子豉汤治疗抑郁的潜在靶点 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of depression

叉头状转录因子 (FOXO) 信号通路、雌激素信号通路、白细胞介素-17 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化代谢通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物及其受体 (AGE-RAGE) 信号通路和营养信号通路等。

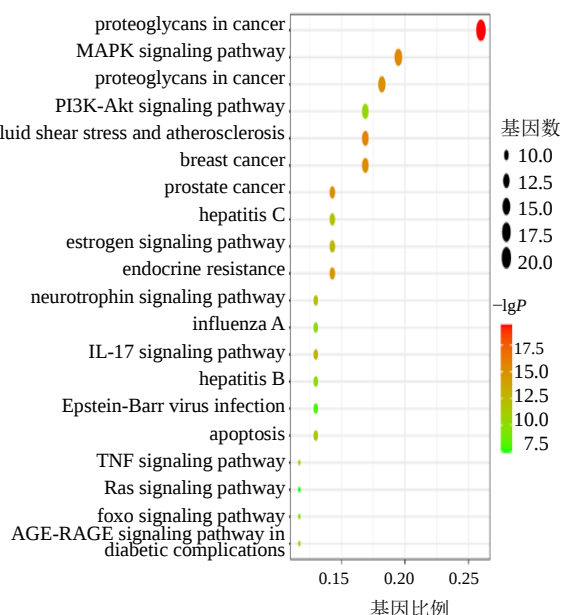


图 4 栀子豉汤治疗抑郁的潜在靶点 KEGG 通路富集分析
Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of depression

3.4.2 焦虑相关通路分析 将 91 个焦虑交集靶点导入 Metascape 平台, 得到 GO 条目结果 1 359 条, 其中包括 BP 条目 1 189 条, CC 条目 67 条, MF 条目 103 条; 根据 P 值排序, 筛选每个条目的前 10 条, 见图 5。这些靶点主要涉及丝裂原活化蛋白激酶级联激活、细胞分泌调节、系统过程调节、化学突触传递等生物过程; 涉及树突、轴突、薄膜筏、谷氨酸能突触等细胞组分; 涉及氧化还原酶活性、信号受体调节剂活性、受体配体活性等分子功能。富集分析得到 KEGG 通路 123 条, 根据 P 值排序, 前 20 条见图 6, 富集的通路主要涉及丝裂原活化蛋白激酶信号通路、PI3K-Akt 信号通路、环腺苷酸 (cAMP) 信号通路、雌激素信号通路、IL-17 信号通路、催乳素信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、多巴胺能突触信号通路等。

3.4.3 失眠相关通路分析 将 111 个失眠交集靶点导入 Metascape 平台, 得到 GO 条目结果 2 361 条, 其中包括 BP 条目 2 129 条, CC 条目 85 条, MF 条目 147 条; 根据 P 值排序, 筛选每个条目的前 10 条, 见图 7。这些靶点主要涉及蛋白质磷酸化的正向调节、细胞凋亡、化学突触传递等生物过程; 涉及树突、轴突、薄膜筏等细胞组分; 涉及蛋白激酶活性、信号受体调节剂活性、受体配体活性、转录因子的结合等分子功能。富集分析得到 KEGG 通路 123 条, 根据 P 值排序, 前 20 条见图 8, 图中富集

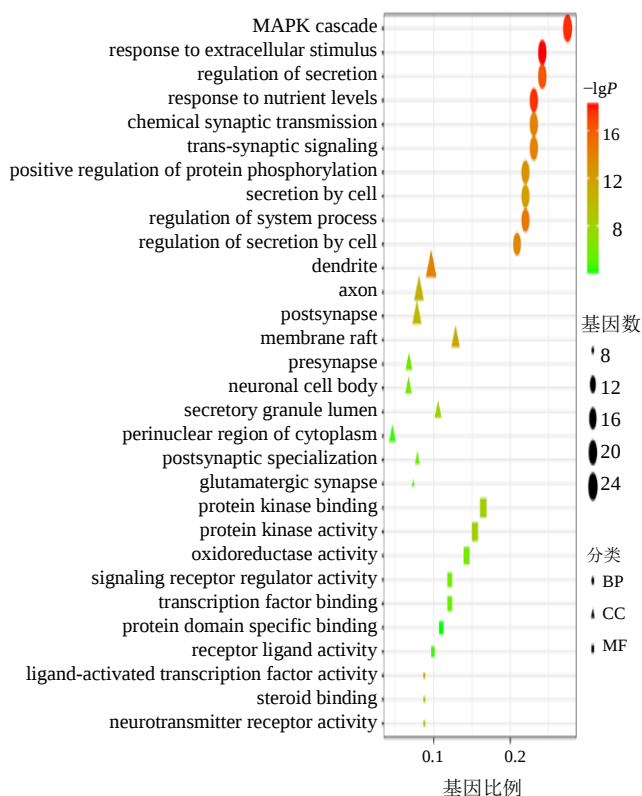


图 5 栀子豉汤治疗焦虑的潜在靶点 GO 富集分析
Fig. 5 GO enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of anxiety

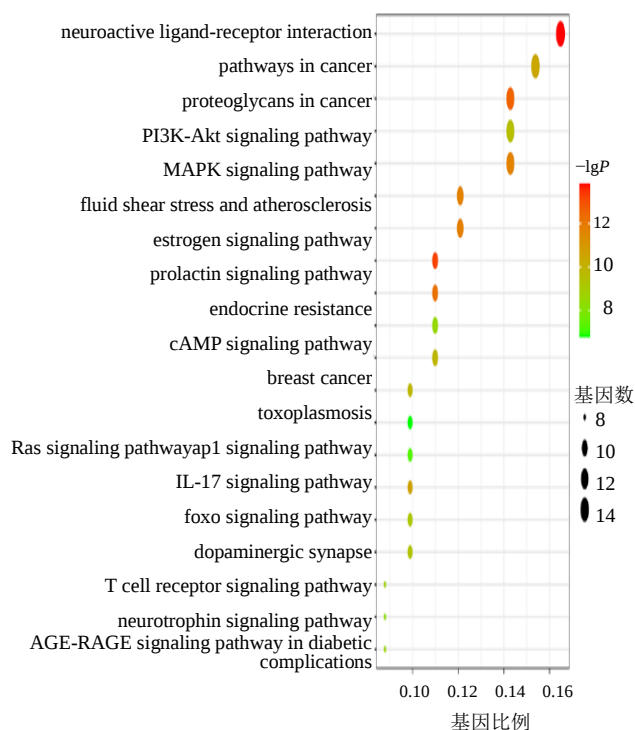


图 6 栀子豉汤治疗焦虑的潜在靶点 KEGG 通路富集分析
Fig. 6 KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of anxiety

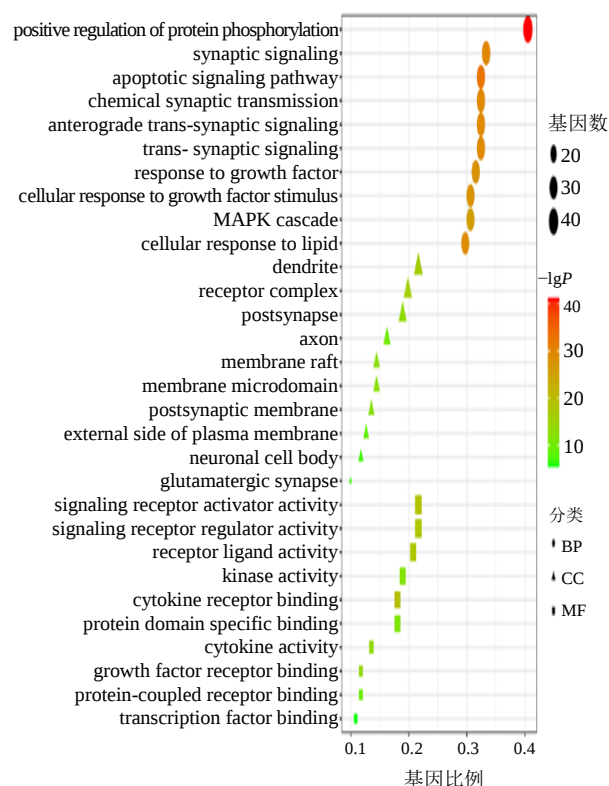


图 7 栀子豉汤治疗失眠的潜在靶点 GO 富集分析
Fig. 7 GO enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of insomnia

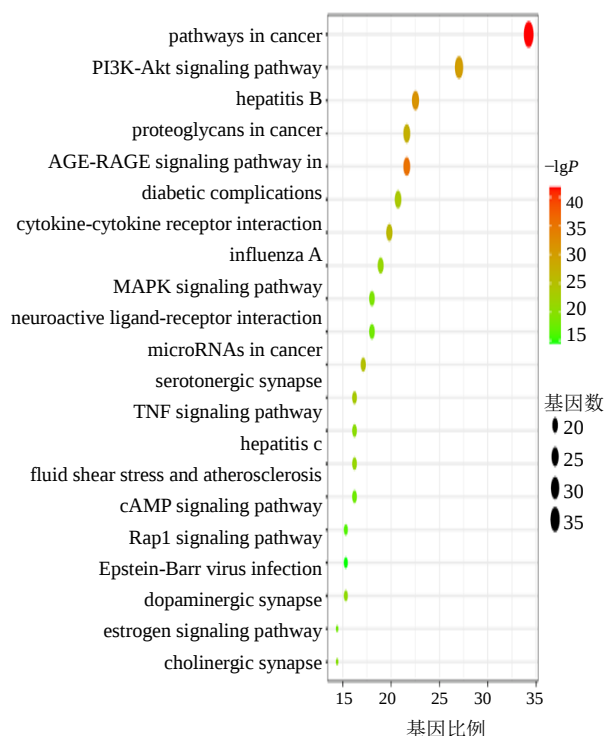


图 8 栀子豉汤治疗失眠的潜在靶点 KEGG 通路富集分析
Fig. 8 KEGG pathway enrichment analysis of potential targets of Zhizichi Decoction in treatment of insomnia

的通路主要涉及 PI3K-Akt 信号通路、糖尿病并发症中的衰老信号通路、丝裂原活化蛋白激酶信号通路、神经活性配体-受体相互作用、5-羟色胺能突触、多巴胺能突触、胆碱能突触信号通路、肿瘤坏死因子信号通路等。

3.5 “成分-靶点-通路”网络的构建

将栀子和淡豆豉 2 味中药、化学成分、交集靶点和 KEGG 富集得到的主要通路导入 Cytoscape 软件，构建得到栀子豉汤的“成分-靶点-通路”网络，见图 9~11。通过 Cytoscape 软件里的“Network Analyzer”分析工具分析栀子豉汤抗抑郁、焦虑、失眠网络拓扑学参数，可以得出起主要作用的成分，见表 5~7。

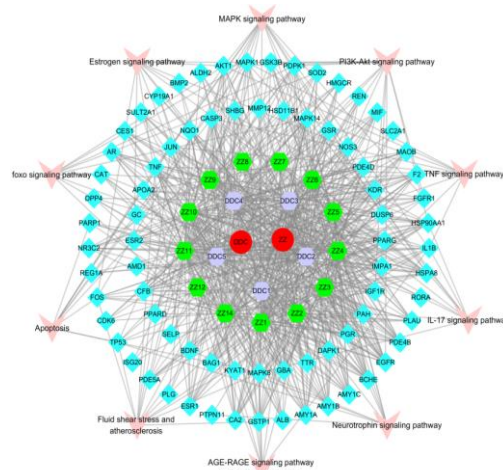


图 9 栀子豉汤治疗抑郁“成分-靶点-通路”网络
Fig. 9 “Ingredient-target-pathway” network of Zhizichi Decoction in treatment of depression

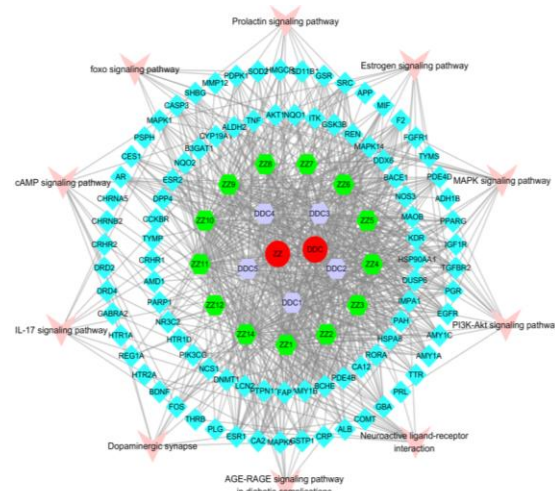


图 10 栀子豉汤治疗焦虑“成分-靶点-通路”网络
Fig. 10 “Ingredient-target-pathway” network of Zhizichi Decoction in treatment of anxiety

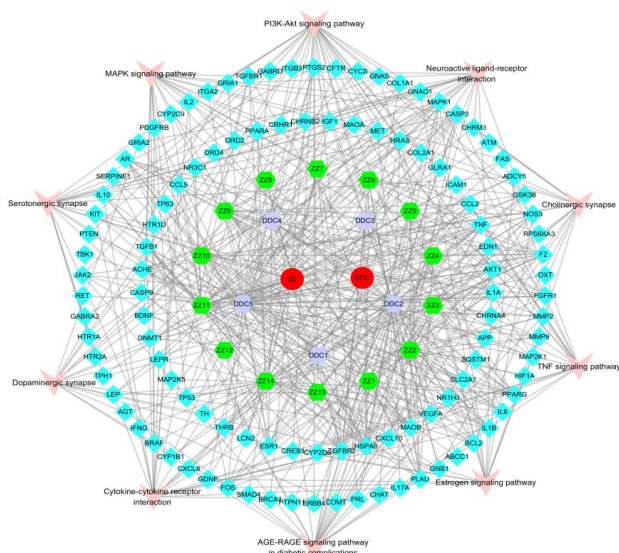


图 11 栀子豉汤治疗失眠“成分-靶点-通路”网络

Fig. 11 “Ingredient-target-pathway” network of Zhizichi Decoction in treatment of insomnia

表 5 栀子豉汤治疗抑郁核心成分特征参数

Table 5 Characteristic parameters of core components of Zhizichi Decoction in treatment of depression

化合物名称	连接度	介度	紧密度
大豆苷元	66	0.171 423 42	0.656 441 72
栀子苷	62	0.129 581 46	0.633 136 09
芦丁	59	0.109 261 71	0.611 428 57
染料木素	52	0.098 254 56	0.560 209 42
黄豆黄苷	43	0.037 201 24	0.507 109 00
大豆苷	42	0.039 287 52	0.502 347 42
绿原酸	41	0.042 808 85	0.507 109 00
染料木苷	41	0.030 943 59	0.497 674 42
鸡屎藤次苷甲酯	37	0.027 773 23	0.488 584 47
去乙酰车叶草苷	37	0.027 773 23	0.488 584 47
酸甲酯			
西红花酸	36	0.046 412 76	0.484 162 90

表 6 栀子豉汤治疗失眠核心成分特征参数

Table 6 Characteristic parameters of core components of Zhizichi Decoction in treatment of insomnia

化合物名称	连接度	介度	紧密度
染料木素	66	0.324 060 86	0.536 121 67
大豆苷元	54	0.200 524 03	0.491 289 20
芦丁	47	0.137 557 77	0.468 438 54
栀子苷	32	0.055 655 55	0.425 981 87
西红花酸	19	0.022 433 62	0.388 429 75

表 7 栀子豉汤治疗焦虑核心成分特征参数

Table 7 Characteristic parameters of core components of Zhizichi Decoction in treatment of anxiety

化合物名称	连接度	介度	紧密度
栀子苷	62	0.110 902 70	0.573 459 72
大豆苷元	60	0.146 191 62	0.562 790 70
芦丁	57	0.101 136 32	0.547 511 31
绿原酸	47	0.063 970 70	0.502 074 69
染料木素	45	0.066 727 74	0.493 877 55
黄豆黄苷	44	0.048 178 02	0.485 943 78
染料木苷	44	0.033 946 19	0.485 943 78
大豆苷	43	0.037 329 47	0.482 071 71
鸡屎藤次苷甲酯	40	0.030 374 69	0.474 509 80
去乙酰车叶草苷	40	0.030 374 69	0.474 509 80
酸甲酯			

4 讨论

4.1 栀子豉汤抗抑郁、焦虑和失眠的活性成分

大豆苷、染料木素、染料木苷和黄豆黄苷均属于大豆异黄酮类化合物,研究证实^[9-12],大豆异黄酮可以通过提高大鼠体内超氧化物歧化酶(SOD)的活性来减弱大鼠体内氧化应激导致的氧化损伤以及线粒体介导的细胞凋亡,保护神经细胞,达到治疗抑郁和焦虑的作用。张银^[13]研究发现栀子豉汤中的栀子苷、京尼平龙胆双糖苷、大豆苷元等成分可以显著提高 SOD 的活性,降低乳酸脱氢酶的释放,降低细胞凋亡率,具有明显的神经保护作用;还可以显著提高环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)和 B 淋巴细胞瘤-2 基因的表达,降低 B 淋巴细胞瘤-2 基因相关 X 蛋白的表达,发挥抗抑郁机制。Parashar 等^[14]研究发现,口服芦丁可以缓解慢性不可预见刺激引起的焦虑、抑郁和体质量减轻等神经系统并发症,并且具有较强的神经保护作用。

染料木素通过抑制结节乳头体和蓝斑核神经元的表达,增加非快速眼动睡眠量,达到治疗失眠的作用^[15];芦丁等黄酮类化合物已被证实可以通过增加失眠小鼠脑内神经递质 5-羟色胺(5-HT)和 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)的含量,促进小鼠睡眠;减少失眠小鼠脑内神经递质多巴胺(DA)、去甲肾上腺素的含量,达到抗失眠的作用,二者共同参与了失眠的调控^[16]。西红花酸是藏红花中的一种天然类胡萝卜素,已被证实具有较好的神经保护活性,且可以通过调节组胺能或胆碱能诱导非快速眼动睡眠^[17]。

4.2 栀子豉汤抗治疗抑郁、焦虑和失眠的作用机制

研究结果显示, 栀子豉汤治疗抑郁的潜在靶点 77 个, 核心靶点包括 ALB、Akt1、TNF、雌激素受体 1 (ESR1)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (CASP3) 等。ALB 是一类非酶类抗氧化剂, 其表达与抑郁症的发生发展密切相关, ALB 可以减轻氧化应激, 提高机体抗氧化能力, 改善抑郁^[18]; 血清中蛋白激酶 Akt1 参与了情感性障碍的发病机制, 且 Akt1 的多态性与抑郁患者的严重程度相关, 研究证实, 抑郁患者血清中 Akt1 水平降低^[19]; TNF- α 代谢失调与多种疾病密切相关, 尤其是抑郁症的病理过程, 当机体处于感染或炎症反应时, TNF 等炎症因子释放增加, 使吡哆胺 2,3-双加氧酶的表达上调, 体内色氨酸的含量显著降低, 5-HT 的含量也随之下降, 加重抑郁症状^[20-21]; ESR1 蛋白通过与 ER α 受体结合, 参与脑内神经递质的传递, 影响脑源性神经营养因子 (BDNF) 的水平, 改善抑郁症状^[22]。CASP3 蛋白基因是细胞凋亡中的关键基因, 在海马体中发挥非凋亡作用^[23]。

栀子豉汤治疗焦虑症有 91 个潜在靶点, 其中 Akt1、内皮生长因子受体 (endothelial growth factor receptor, EGFR)、ESR1、内皮型一氧化氮合酶 (NOS3) 等为核心靶点。Akt1 是丝/苏氨酸蛋白激酶的亚型之一, 通过激活 PI3K-Akt 信号通路下游的多种信号因子, 调控细胞凋亡、细胞增值等过程^[24]; 表皮生长因子受体与配体结合引起酪氨酸残基上的受体同源或异源二聚化, 并激活酪氨酸残基发生自磷酸化, 磷酸化受体通过募集生长因子受体结合蛋白 2 等衔接蛋白来激活下游信号级联, 如 PI3K-Akt、RAS-RAF-MEK-ERK 等信号通路, 调节细胞凋亡等生物过程^[25]; ESR1 是雌激素中的重要蛋白靶点之一, 研究表明, 雌激素可以上调 γ -氨基丁酸 (GABA) 受体的表达和配体的结合, 调节 5-HT_{1A} 受体的水平和活性, 起到抗焦虑的作用^[26]; NOS 基因主要在神经元中表达, 差异分布在大脑不同区域, NOS3 蛋白基因表达异常会引起大脑中胶质细胞和神经元的活性, 对焦虑症起到调控作用^[27]; BDNF 蛋白在海马、杏仁核、大脑皮层和小脑中高度表达, 可以保证神经细胞的存活和正常分化; 其参与的 BDNF-酪氨酸激酶受体 B (TrkB) 信号通路增加海马神经元突触前小泡的对接和释放, 提高树枝状突触数量和存活率, 保持神经元正常形态, 以发挥积极作用^[28]。

栀子豉汤治疗失眠总共筛选出 111 个潜在靶点, 通过 PPI 蛋白相互作用网络和可视化分析得出 TNF、IL-6、VEGFA、Akt1 等核心靶点。TNF 是一种细胞因子, 研究发现, 其可以延长非快速眼动睡眠时间, 且可能是通过促进脑内 5-HT 的合成来发挥作用^[29]; IL-6 蛋白水平与失眠密切相关, 当剥夺睡眠时, 会引起 IL-6 的水平升高; 人体处于炎症反应时, IL 过多会破坏人体内细胞因子的稳态, 干扰正常睡眠而引起失眠^[30]; VEGFA 在损伤的神经元中表达, 并有助于刺激轴突的再生, 其可能影响 GABA 能神经元的发育, 并且人类情绪障碍疾病和神经元的缺陷密切相关^[31]; Akt1 调节诸多生物过程, 包括代谢、细胞存活、生长等, 通过对突触前 DA 转运体的调节, 间接影响 DA 能信号的传导^[32], 同时还可以促进 GABA 受体的表达^[33]。

富集分析结果显示, 栀子豉汤治疗抑郁、焦虑和失眠等精神疾病涉及多个靶点、多条信号通路。通过对比 KEGG 富集分析数据可以看出, 栀子豉汤治疗抑郁、焦虑、失眠均涉及丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、雌激素等信号通路。

MAPK 信号通路主要由 ERK1/2、p38、JNK 和 ERK5 通路构成, 其不仅可以调控细胞的正常生长、分化、凋亡, 而且还参与神经突触的结构重塑。ERK1/2 通路和抑郁症密切相关, 可以调节 BDNF 和生长因子的表达发挥抗抑郁的作用^[34]; 研究发现, p38 MAPK 通路参与了大鼠剥夺睡眠引起的认知功能障碍, 会促进 IL-1 β 的释放, 并且 p38 MAPK 通路和炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 的作用是相互的^[35]; TNF- α 、IL-1 通过调节 5-HT 和 GABA 的表达, 增加非快速眼动睡眠, 达到治疗失眠的作用^[36]; ERK1/2 通过调控其下游转录因子 CREB 的磷酸化和海马体中 c-FOS 的表达, 对焦虑相关行为发挥作用^[37]。

雌激素信号通路主要包括 3 个雌激素受体亚型: ER α 、ER β 、GPR30, 这 3 类受体在大脑中的分布和功能存在明显差异; 研究表明, ER α 可以通过介导 HPA 轴增加糖皮质激素的分泌, 进而加重焦虑状态; GPR30 通过改变杏仁核内谷氨酸能和 GABA 能的表达来调节焦虑样行为; ER β 通过介导 HPA 轴、5-HIAA、催产素途径达到抗焦虑作用; 且 3 个受体亚型是相互起作用的^[38]。大量研究表明, 5-HT 在抑郁和焦虑等情绪调控中发挥重大作用^[39-41], 雌激素及其受体通过介导色氨酸羟化酶 2、5-HT 转运

体、单胺氧化酶的表达,影响 5-HT 活性和含量,进而达到调控抑郁和焦虑的目的^[42];研究证实,体内雌激素水平与失眠症状密切相关,小剂量的雌激素可以提高围绝经期失眠患者的睡眠质量,改善患者的失眠症状^[43]。

综上所述,本研究利用网络药理学对栀子豉汤治疗抑郁、焦虑、失眠的有效成分、核心靶点、信号通路和作用机制进行了阐述,为栀子豉汤的药效物质基础和后续的临床研究提供了可靠的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 苏悦,彭杨芷. 栀子豉汤临床应用初探 [J]. 亚太传统医药, 2016, 12(4): 84-85.
- [2] 果卉. 栀子豉汤神经保护作用及其化学物质基础研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2018.
- [3] 冯美珍. 加味栀子豉汤治疗抑郁症患者 43 例 [J]. 光明中医, 2017, 32(5): 667-669.
- [4] 孙亚霜, 颜红. 栀子豉汤加味治疗焦虑症 50 例 [J]. 湖南中医杂志, 2009, 25(6): 46-47.
- [5] 骆春花, 杨海玉. 栀子豉汤合归脾汤化裁治疗失眠医案 3 则 [J]. 新中医, 2020, 52(13): 204-206.
- [6] 代吉瑞, 魏文峰, 霍金海, 等. 网络药理学在中医药领域的研究进展 [J]. 黑龙江中医药, 2018, 47(6): 105-107.
- [7] 詹璐璐, 苏慧慧. 网络药理学在中药药效中的应用 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(99): 197.
- [8] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. 中草药, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [9] Phaniendra A, Jestadi D B, Periyasamy L. Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2015, 30(1): 11-26.
- [10] 汪婷婷, 蔡标, 王艳, 等. 染料木素对阿尔茨海默病模型大鼠氧化应激和 Bcl-2 的影响 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(12): 1335-1340.
- [11] 徐梦蕾, 高宇, 刘静波, 等. 基于抗氧化的大豆异黄酮对 PC12 细胞的神经保护作用 [J]. 吉林大学学报: 工学版, 2017, 47(1): 332-336.
- [12] Hasumuma R, Kawaguchi K, Kikuchi S, et al. Effects of isoflavones and soybeans fermented with *Bacillus subtilis* on lipopolysaccharide-induced production of tumor necrosis factor- α and fibrinolysis *in vivo* [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2007, 29(2): 323-333.
- [13] 张银. 栀子豉汤基于神经保护作用的抗抑郁物质基础及作用机制研究 [D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2020.
- [14] Parashar A, Mehta V, Udayabanu M. Rutin alleviates chronic unpredictable stress-induced behavioral alterations and hippocampal damage in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 656: 65-71.
- [15] Huo X J, Liu W, Qiu M H, et al. Genistein induces non-rapid eye movement sleep in mice [J]. *Sleep Biol Rhythms*, 2012, 10(4): 278-286.
- [16] 唐柳. 软枣猕猴桃多糖黄酮提取分离鉴定及对小鼠失眠防治作用的研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020.
- [17] Masaki M, Aritake K, Tanaka H, et al. Crocin promotes non-rapid eye movement sleep in mice [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2012, 56(2): 304-308.
- [18] 张飞龙. 喹硫平联合丙戊酸镁对双相情感障碍患者狂躁、抑郁症状及血清总胆红素、白蛋白水平的影响 [J]. 中国药物评价, 2019, 36(2): 144-146.
- [19] Losenkov I S, Vyalova N M, Simutkin G G, et al. An association of AKT1 gene polymorphism with antidepressant treatment response [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2016, 17(3): 239-242.
- [20] 周静洋, 鲁艺, 徐向青, 等. 天丝饮的抗抑郁作用及其对 IDO 的调节 [J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(3): 182-185.
- [21] 刘瑞莲, 屈红林. 有氧运动干预 CUMS 小鼠海马神经炎症及改善 NF- κ B、TNF- α /IDO/5-HT 信号通路的调控机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(13): 1563-1570.
- [22] 史敏, 冯振宇, 孟霜, 等. 基于网络药理学温阳解郁颗粒治疗抑郁症的作用机制研究 [J]. 海南医学院学报, 2021, 27(20): 1557-1565.
- [23] Wang Y J, Liu M G, Wang J H, et al. Restoration of cingulate long-term depression by enhancing non-apoptotic caspase 3 alleviates peripheral pain hypersensitivity [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(6): 108369.
- [24] 陈凡, 叶俊梅, 张玉彬. Akt 在心血管疾病中的调控作用 [J]. 药学研究, 2018, 37(5): 291-294, 297.
- [25] 何圆. 晚期肺癌一线治疗: 比较 EGFR-TKIS 分子靶向治疗疗效及认知行为干预化疗相关焦虑、抑郁分析 [D]. 广州: 南方医科大学, 2016.
- [26] Ryan J, Scali J, Carrière I, et al. Estrogen receptor gene variants are associated with anxiety disorders in older women [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2011, 36(10): 1582-1586.
- [27] Liu P L, Song A R, Dong C D, et al. Network pharmacology study on the mechanism of the herb pair of prepared *Rehmannia* root-Chinese arborvitae kernel for anxiety disorders [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(3): 3313-3327.
- [28] 王鹏伟. 基于 BDNF-TrkB 信号通路探讨交泰丸对慢性束缚应激大鼠抗焦虑作用的机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2020.

- [29] 洪曹栋, 尹嘉, 张萌, 等. 基于网络药理学探讨交泰丸治疗失眠的作用机制 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(10): 1522-1530.
- [30] 蒋颂, 陈贵海. 失眠的病理生理学改变及抗抑郁药物的治疗地位 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(1): 310-311.
- [31] Barber M, Andrews W D, Memi F N, *et al.* Vascular-derived vegfa promotes cortical interneuron migration and proximity to the vasculature in the developing forebrain [J]. *Cereb Cortex*, 2018, 28(7): 2577-2593.
- [32] Tan H Y, Nicodemus K K, Chen Q, *et al.* Genetic variation in AKT1 is linked to dopamine-associated prefrontal cortical structure and function in humans [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(6): 2200-2208.
- [33] Chang C Y, Chen Y W, Wang T W, *et al.* Akt1 deficiency modulates GABAergic functions and hippocampus-dependent functions [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33095.
- [34] 卢峻, 杨秀岩, 华茜, 等. cAMP 反应元件结合蛋白: 抗抑郁药信号转导通路的交汇点 [J]. 生理科学进展, 2008, 39(4): 371-374.
- [35] 李建民, 陈长香, 赵雅宁, 等. 大鼠睡眠剥夺与 p38 MAPK 信号通路的相关性研究 [J]. 现代预防医学, 2011, 38(16): 3270-3272.
- [36] Imeri L, Opp M R. How (and why) the immune system makes us sleep [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2009, 10(3): 199-210.
- [37] Zhang N, Zhang L, Feng L Y, *et al.* *Cananga odorata* essential oil reverses the anxiety induced by 1-(3-chlorophenyl) piperazine through regulating the MAPK pathway and serotonin system in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 23-30.
- [38] Borrow A P, Handa R J. Estrogen receptors modulation of anxiety-like behavior [J]. *Vitam Horm*, 2017, 103: 27-52.
- [39] 张齐, 武丽, 高月, 等. 抑郁症、焦虑症模型大鼠情绪加工神经环路 5-HT、5-HT_{1A} 含量变化以及加味温胆汤的双向调节作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(12): 62-65.
- [40] 苏晖, 施慎逊. 5-HT_{1A} 受体对抑郁焦虑行为的调节作用及其机制 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2015, 35(9): 1403-1406.
- [41] Borroto-Escuela D O, Ambrogini P, Chruścicka B, *et al.* The role of central serotonin neurons and 5-HT heteroreceptor complexes in the pathophysiology of depression: A historical perspective and future prospects [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1927.
- [42] Borrow A P, Cameron N M. Estrogenic mediation of serotonergic and neurotrophic systems: Implications for female mood disorders [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 54: 13-25.
- [43] 杨粉凤. 小剂量雌激素对围绝经期失眠的治疗研究 [J]. 实用妇科内分泌电子杂志, 2019, 6(11): 46.

[责任编辑 金玉洁]