

## 基于网络药理学探讨枣仁安神颗粒治疗失眠的作用机制

杨雪<sup>1,2</sup>, 刘传鑫<sup>2</sup>, 袁付丽<sup>2</sup>, 李梦雨<sup>2</sup>, 王文鑫<sup>2</sup>, 陈亚红<sup>3</sup>, 黄建梅<sup>2\*</sup>

1. 长治医学院 药理学系, 山西 长治 046000

2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100029

3. 军事科学院 军事医学研究所 毒物药物研究所 抗毒药物与毒理学国家重点实验室 神经精神药理学北京市重点实验室, 北京 100850

**摘要:** **目的** 基于网络药理学探讨枣仁安神颗粒治疗失眠的作用机制。**方法** 通过查阅相关文献, 挖掘枣仁安神颗粒的入血成分, 并采用反向分子对接, 预测入血成分的相关靶点, 与失眠靶点进行交集映射, 获得其治疗失眠的作用靶点。利用蛋白互作筛选核心靶点, 并进行分子对接验证。基于共有靶点, 采用功能注释生物信息学芯片进行分析, 得到枣仁安神颗粒治疗失眠的关键通路。**结果** 方中3味中药酸枣仁、丹参、北五味子共得到29个入血成分和184个潜在靶点, 其中19个成分、60个靶点和36条通路与失眠极为密切, 主要涉及神经活性配体-受体相互作用、色氨酸代谢、5-羟色胺能突触、GABA能突触等相关分子环节。**结论** 方中3味中药以作用靶点为媒介, 连接入血成分及相关通路, 从而发挥抗失眠的生物学效应, 体现了中药多成分、多靶点, 多途径协同起效的作用特点。

**关键词:** 网络药理学; 分子对接; 枣仁安神颗粒; 失眠; 作用靶点; 分子机制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)09-1780-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.09.017

## Anti-insomnia effect of Zaoren Anshen Granules based on network pharmacology

YANG Xue<sup>1,2</sup>, LIU Chuanxin<sup>2</sup>, YUAN Fuli<sup>2</sup>, LI Mengyu<sup>2</sup>, WANG Wenxin<sup>2</sup>, CHEN Yahong<sup>3</sup>, HUANG Jianmei<sup>2</sup>

1. Department of Pharmacy, Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

3. State Key Laboratory of Antitoxic Drugs and Toxicology, Beijing Key Laboratory of Neuropsychopharmacology, Institute of Toxicology, Academy of military medicine, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China

**Abstract: Objective** The mechanism of the treatment of insomnia by Zaoren Anshen Granules was discussed based on the network pharmacology. **Methods** By consulting the relevant literatures, the blood components of Zaoren anshen granules were excavated. Reverse molecular docking was used to predict the relevant targets of chemical components, Potential targets of Zaoren anshen granules were obtained by mapping with targets of insomnia. Subsequently, protein-protein interactions were used to screen core targets and molecular docking validation was performed. Based on the above-mentioned common targets, functional annotation bioinformatics chips were used to analyze the key pathways for the treatment of insomnia by Zaoren anshen granules, and to explore the possible mechanism of treating insomnia. **Results** Three traditional Chinese medicines, 29 blood components and 184 potential targets were obtained, of which 19 components and 60 targets and 36 pathways were related to insomnia, mainly related to neuroactive ligand-receptor interaction, tryptophan metabolism, serotonin synapses, GABAergic synapses and other related molecular links. **Conclusion** The targets were used as a medium to connect blood components and related pathways, thus exerting the biological effect of insomnia, reflecting the multi-components, multi-targets and multi-pathways synergistic action of traditional Chinese medicine.

**Key words:** network pharmacology; molecular docking; Zaoren anshen granules; insomnia; targets; molecular mechanism

收稿日期: 2019-12-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81173541)

第一作者: 杨雪(1982—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为药物分析与网络药理学。E-mail: yangxue2007@czmc.edu.cn

\*通信作者: 黄建梅(1970—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药体内成分分析。E-mail: huangjm@bucm.edu.cn

失眠是一种常见的睡眠障碍,指患者对睡眠时间或质量不满且影响白天社会功能的一种主观体验<sup>[1]</sup>,其属中医“不寐”“不得卧”范畴<sup>[2]</sup>。我国历代医者在长期的医疗实践中,对失眠的临床特点、病因病机进行了大量的研究和总结,如王晓飞<sup>[3]</sup>认为失眠的病因病机总属阴阳失交,失眠病位在心,心主神明,神安则寐,神不安则不寐。

枣仁安神颗粒是由炒酸枣仁、丹参、醋五味子组成的复方中成药,具有补心养肝、安神益智的功效,用于心肝血虚、神经衰弱引起的失眠健忘、头晕、头痛<sup>[4]</sup>。酸枣仁养心补肝,宁心安神,生津,敛汗,为方中君药<sup>[5]</sup>。丹参有清心除烦、养血安神的功效,为方中臣药,其通过导热下行,清心经之火而改善失眠患者的失眠状况<sup>[6]</sup>。五味子滋肾养阴,宁心安神,与丹参共为臣药。五味子的乙醇提取液、水提取液均可使小鼠自主活动明显减少,具有一定的镇静催眠作用<sup>[7]</sup>。临床实验表明<sup>[8]</sup>,该方对失眠患者有一定的治疗作用,能显著改善患者的失眠、多梦等相关病症。然而,目前对枣仁安神颗粒治疗失眠的分子机制仍然缺乏深入的研究。

中药血清药物化学<sup>[9]</sup>最早由国内学者王喜军进行实践,是研究中药显效成分的重要策略之一。基于口服给药,来进一步分析和筛选中药组方的潜在药效物质基础。同时,在明确入血成分的基础上,使用基于虚拟策略的网络药理学<sup>[10]</sup>,反向寻靶并锁定与疾病密切相关的通路,可为阐释复杂中药的分子作用机制提供一定的研究思路。

本研究基于网络药理学策略,通过目前已有文献以及其他在线数据库,挖掘并整理枣仁安神颗粒的入血成分。其次,基于反向分子对接,预测成分相关作用靶点,并与疾病数据库中的失眠靶点匹配,筛选共有靶点。然后通过GO和KEGG通路富集分析,筛选得到枣仁安神颗粒治疗失眠的相关通路,旨在揭示其分子作用机制并为其进一步研究与临床应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 枣仁安神颗粒入血成分库的建立

在中国知网(<http://www.cnki.net/>)、PubMed(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、万方医学网(<http://med.wanfangdata.com.cn/>)、维普数据库(<http://txwh.tuwei.cn/>)等数据库中下载相关文献,收集复方中酸枣仁、丹参、北五味子的入血成分,构建枣仁安神颗粒的入血成分数据库。

### 1.2 “入血成分-靶点”的构建

利用 DRAR-CPI (<http://cpi.bio-x.cn/drar/>)、STITCH (<http://stitch.embl.de/>) 和 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 在线数据库对入血成分的相关靶点进行预测。依托 Pubchem 数据库,查找入血成分的2D结构并下载其 SDF 格式,未收录的使用 Chemdraw7.0 绘制结构,并保存为 SDF 格式,在 DRAR-CPI 数据库进行上传。在 STITCH 中输入化合物的化学名称,选择属性为 homo sapiens 进行筛选<sup>[11]</sup>。同时,基于 Swiss Target Prediction 数据库,输入入血成分的 Canonical SMILES 形式,设置属性为 homo sapiens,筛选其中 probability>0.45 的活性化合物的靶点<sup>[12]</sup>。此外,基于 TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 和 CoolGeN (<http://ci.smu.edu.cn/CoolGeN/Home.php>) 数据库筛选并整理各入血成分对应靶点。随后,通过 UniProt (<https://www.uniprot.org/>) 数据库中 UniProt KB 的搜索功能,限定物种为人源,将靶点转换成相应标准基因名,整合所有数据库预测结果,得到相应药物作用靶点。

### 1.3 “失眠-靶点”的获取

分别以“Insomnia”为关键词,通过人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM, <https://www.omim.org/>)、治疗靶点数据库(Therapeutic Target Database, TTD, <http://bid.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、比较基因组学毒理数据库(Comparative Toxicogenomics Database, CTD, <http://ctdbase.org/>)、Drugbank (<https://www.drugbank.ca/releases/latest>) 查找失眠的相关靶点,并在 UniProt 中转化为标准基因名并去重。将“1.2”项得到的药物潜在靶点与失眠的作用靶点进行映射比对,获取交集靶点,得到枣仁安神颗粒治疗失眠的潜在作用靶点。

### 1.4 蛋白互作网络的构建与分析

基于 String 平台构建其蛋白质-蛋白质相互作用(Protein-Protein Interaction, PPI),并将其导入 Cytoscape 软件进行拓扑学分析,具体操作如下:将所获取的枣仁安神颗粒治疗失眠的潜在靶点导入 String,选择人源物种,打分默认 0.4<sup>[13]</sup>,获取 TSV 格式结果,其中保留文件中 node1、node2 和 Combined score 信息并导入 Cytoscape 软件绘制相互作用网络,删除重复和孤立边,以节点反映网络中 Degree 的大小,以边的粗细设置用于反映 Combine score 的大小,得到枣仁安神颗粒治疗失眠靶蛋白的相互作用

用网络,并用Cytoscape中的“Network Analyser”功能对PPI网络进行拓扑学分析,将Degree前3的靶点作为网络中的关键靶点进行分子对接验证。

### 1.5 分子对接验证

将“1.4”项中筛选的关键靶点PDB ID号导入Systems Dock Web Site(<http://systemsdock.unit.oist.jp/iddp/home/index>)分子对接数据库,与入血成分进行分子对接验证,并用Docking Score评价化合物与关键直接靶点的结合能力的大小。一般认为Docking Score值在4.25以上时表示分子与靶点之间有一定的结合活性,大于5.0表明有较好的结合活性,大于7.0表明具有极好的结合活性<sup>[14-15]</sup>。

### 1.6 GO生物分析与KEGG通路分析

GO是Gene Oncology的缩写,它是按照生物途径(Biology Process, BP)、分子功能(Molecular Function, MF)、细胞定位(Cellular Location, CL)对基因进行注释。京都基因与基因组百科全书通路分析(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway, KEGG)可以直观检测靶标参与的通路,借助于统计分析方法对靶标进行富集分析。为了揭示互作蛋白在基因功能上的富集情况,利用Cytoscape软件的ClueGO插件和DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)对枣仁安神颗粒治疗失眠的潜在作用靶点进行GO生物功能分析和KEGG通路分析。

### 1.7 枣仁安神颗粒治疗失眠“方剂-中药-成分-靶点-通路”网络图的构建

将枣仁安神颗粒的方剂名、中药、入血成分、作用靶点(失眠相关)及富集通路分别两两为列,逐次导入Cytoscape Version 3.6.1软件,基于Merge功能进行整合,构建枣仁安神颗粒治疗失眠的“方剂-中药-成分-靶点-通路”网络图。

## 2 结果

### 2.1 枣仁安神颗粒入血成分及作用靶点构建

基于目前已有文献<sup>[16-24]</sup>,共筛选出29个入血成分,其中来源于酸枣仁10个、丹参10个、北五味子9个,见表1。入血成分通过反向分子对接共得到184个作用靶点。

### 2.2 “失眠-靶点”的筛选

以“Insomnia”为关键词,分别在TCMSP、CTD、Drugbank、TTD、OMIM中找到4、5、323、22、8个疾病靶点,随后通过Uniprot数据库UniProt KB搜索功能转化为标准基因靶点,合并去重后共得到338个疾病靶点。将得到的药物潜在靶点和疾病靶点进

表1 枣仁安神颗粒中入血成分的基本信息

Table 1 Basic information of blood components in Zaoren Anshen Granules

编号	中文名	来源
1	6"-芥子酰斯皮诺 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
2	芹菜素 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
3	美洲茶酸 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
4	乌药碱 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
5	酸枣仁皂苷A <sup>[16-17]</sup>	酸枣仁
6	酸枣仁皂苷B <sup>[16]</sup>	酸枣仁
7	斯皮诺素 <sup>[16,18]</sup>	酸枣仁
8	当药黄素 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
9	新西兰牡荆苷 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
10	酸李碱 <sup>[16]</sup>	酸枣仁
11	五味子丙素 <sup>[19-21]</sup>	北五味子
12	戈米辛B <sup>[21]</sup>	北五味子
13	戈米辛C <sup>[19-21]</sup>	北五味子
14	戈米辛D <sup>[21]</sup>	北五味子
15	戈米辛E <sup>[21]</sup>	北五味子
16	戈米辛A <sup>[19-21]</sup>	北五味子
17	五味子素 <sup>[19-21]</sup>	北五味子
18	五味子甲素 <sup>[19-20]</sup>	北五味子
19	五味子乙素 <sup>[19]</sup>	北五味子
20	原儿茶酸 <sup>[24]</sup>	丹参
21	咖啡酸 <sup>[22-23]</sup>	丹参
22	丹参新醌B <sup>[24]</sup>	丹参
23	二氢丹参酮I <sup>[24]</sup>	丹参
24	迷迭香酸 <sup>[22-23]</sup>	丹参
25	原儿茶醛 <sup>[23]</sup>	丹参
26	丹酚酸A <sup>[22-23]</sup>	丹参
27	丹酚酸B <sup>[22]</sup>	丹参
28	丹参醛 <sup>[24]</sup>	丹参
29	丹参酮I <sup>[24]</sup>	丹参

行比对,得到两者的交集成分,共60个,被认为是枣仁安神颗粒抗失眠的作用靶点,频次>2的靶点见表2。

### 2.3 蛋白互作网络的构建与分析

将上述60个作用靶蛋白导入String数据库,限定人源,获取蛋白相互作用关系,保存其TSV格式文件,导入Cytoscape软件进行可视化,共涉及59个节点,264条边,见图1。图中节点表示靶蛋白,边表示靶蛋白之间的相互作用,节点的大小和颜色表示Degree值的大小,边的粗细表示Combine score。节点越大、颜色由暗变亮对应的Degree值越大,边越粗Combine score值越大。

### 2.4 分子对接验证

用Cytoscape中的“Network Analyser”功能对PPI网络进行拓扑学分析,保留“Average Shortest Path Length”“Closeness Centrality”“Radiality”“Topological Coefficient”等属性,选择将Degree排名前3的靶点(DRD2、DRD4、HTR1B)作为网络中的关键靶点并将其作为分子对接的受体进行对接验证预测可

表2 枣仁安神颗粒抗失眠的作用靶点(频次>2)

Table 2 Targets of Zaoren Anshen Granules of anti-insomnia (frequency > 2)

编号	基因名	Uniprot ID	中文名	频次
1	PTGS2	P35354	前列腺素G/H合成酶2	6
2	ADRB2	P07550	β2肾上腺素能受体	5
3	AR	P10275	雄激素受体	5
4	ADRA1D	P25100	α-1D肾上腺素能受体	4
5	PTGS1	P23219	前列腺素G/H合成酶1	4
6	CA2	P00918	碳酸酐酶2	3
7	DRD1	P21728	D(1A)多巴胺受体	3
8	ESR1	P03372	雌激素受体	3
9	GABRA1	P14867	γ-氨基丁酸受体亚单位α-1	3
10	MAOB	P27338	胺氧化酶[含黄素]B	3
11	OPRD1	P41143	δ型阿片受体	3
12	OPRM1	P35372	μ型阿片受体	3
13	ADRA1A	P35348	α-1A肾上腺素能受体	2
14	ADRA1B	P35368	α-1B肾上腺素能受体	2
15	ADRA2A	P08913	α-2A肾上腺素能受体	2
16	AKR1B1	P15121	醛糖还原酶	2
17	CHRM1	P11229	毒蕈碱乙酰胆碱受体M1	2
18	CHRM3	P20309	毒蕈碱乙酰胆碱受体M3	2
19	DRD2	P14416	D(2)多巴胺受体	2
20	DRD3	P35462	D(3)多巴胺受体	2
21	GABRA2	P47869	γ-氨基丁酸受体亚单位α-2	2
22	MAOA	P21397	胺氧化酶[含黄素]A	2
23	SLC6A3	Q01959	钠依赖性多巴胺转运体	2

表3 入血成分与关键靶点的对接结果

Table 3 Docking results of blood components and core targets

编号	入血成分	对接分数(pKd/pKi)		
		DRD2(6CM4)	DRD4(5WIU)	HTR1B(4IAR)
1	乌药碱	4.859	5.220	4.614
2	当药素	6.529	7.209	6.559
3	噻吩唑	6.087	5.218	5.147
4	酸枣仁皂苷A	7.865	7.896	7.896
5	斯皮诺素	6.087	5.218	5.147
6	美洲茶酸	8.172	8.426	7.927
7	芹菜素	6.283	5.386	5.985
8	五味子丙素	6.087	5.218	5.147
9	戈米辛D	8.039	8.264	7.710
10	戈米辛B	6.280	6.886	6.876
11	五味子素	5.500	5.240	4.879
12	戈米辛E	8.177	8.428	7.829
13	原儿茶酸	5.801	4.609	4.942
14	咖啡酸	4.585	4.522	4.622
15	丹参醛	6.325	6.652	6.576
16	丹参新醌B	6.518	6.609	6.142
17	丹酚酸A	4.880	4.933	4.745
18	丹参酮I	6.5601	6.614	6.351
19	原儿茶醛	6.807	7.147	7.504

### 2.5 GO生物分析与KEGG通路分析

将酸枣仁颗粒中的60个入血成分靶点导入Cytoscape软件的ClueGO插件和DAVID在线数据库进行GO生物分析和KEGG通路分析,筛选错误率(False Discovery Rate, FDR)值小于0.05的生物过程或者相关通路,共得到BP 554个、MF 67个、CL 39个,KEGG相关通路36个,枣仁安神颗粒治疗失眠靶蛋白的GO和KEGG富集分析见图2。

### 2.6 枣仁安神颗粒治疗失眠“方剂-中药-成分-靶点-通路”的网络构建与分析

将枣仁安神颗粒的方剂名、中药、入血成分、作用靶点(失眠相关)、相关通路信息导入Cytoscape软件中构建枣仁安神颗粒治疗失眠的“方剂-中药-成分-靶点-通路”网络图,结果如图3所示,该网络由126个节点、393条边组成,图中红色节点代表中药方剂(枣仁安神颗粒),黄色节点代表中药,绿色节点代表入血成分,蓝色节点代表作用靶点,粉色节点代表相关通路。从图中可以看出枣仁安神颗粒多成分、多靶点、多途径协同治疗失眠的作用特点。

### 3 讨论

基于以上研究结果发现,在明确3味中药共29个入血成分的基础上,通过反向找靶,筛选出19个与治疗失眠极为密切的潜在药效物质群。并进一步作用于5-HT受体、乙酰胆碱受体、肾上腺素受体、

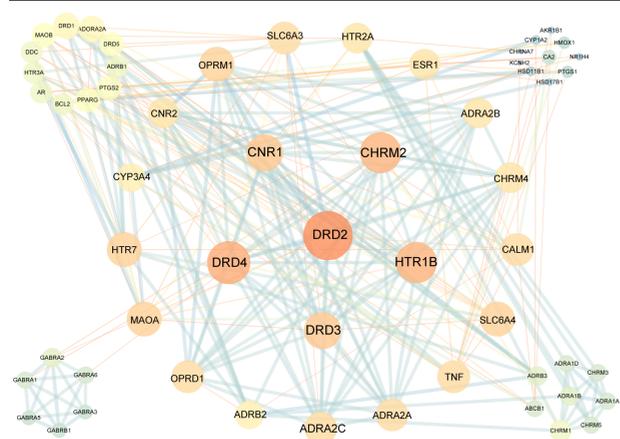


图1 枣仁安神颗粒治疗失眠靶蛋白的网络互作图

Fig. 1 Network interaction diagram of target proteins of Zaoren Anshen Granules in treatment of insomnia

靠性。通过反向找靶,枣仁安神颗粒中19个入血成分与失眠关系密切,将其与关键靶点进行分子对接,结果如表3所示,Docking Score值大于7.0的有15个(26.3%),大于5.0的有44个(77.2%),所有Docking Score值均大于4.25,证明虚拟筛选得到的靶点具有一定的可信度。

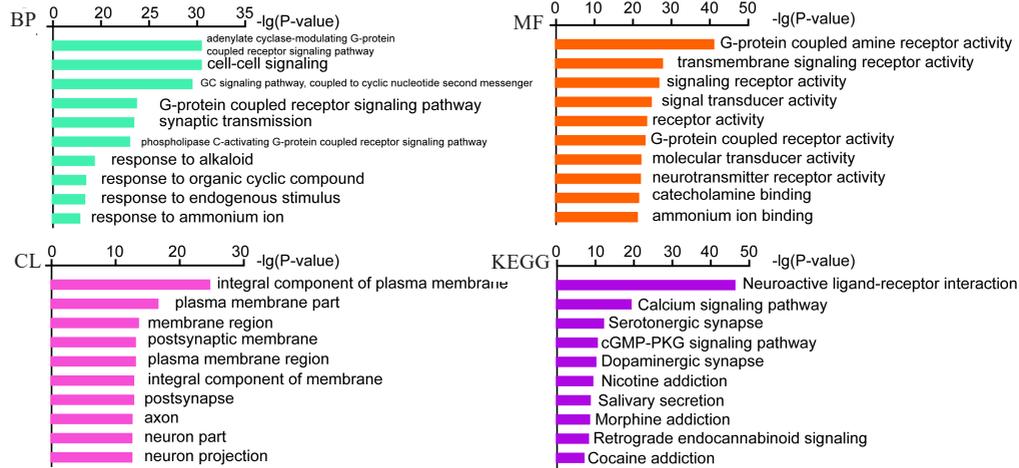


图2 枣仁安神颗粒相关靶点的GO和KEGG富集分析

Fig. 2 Enrichment analysis of go and KEGG of related targets in Zaoren Anshen Granules

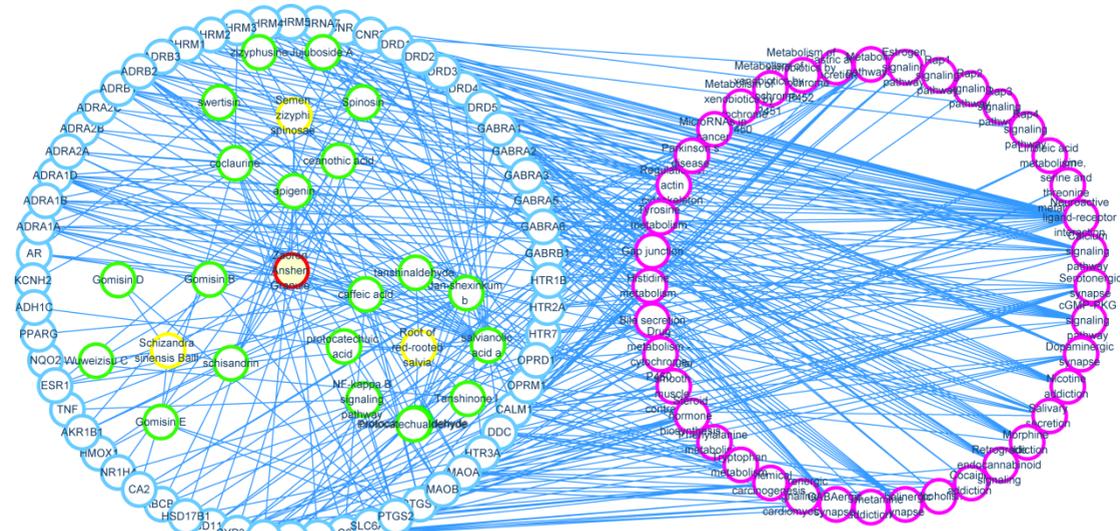


图3 枣仁安神颗粒治疗失眠的“方剂-中药-成分-靶点-通路-疾病”图

Fig. 3 "Prescription-traditional Chinese medicine-composition-target-pathway-disease" of Zaoren Anshen Granules in treatment of insomnia

多巴胺(DA)受体等相关靶标,从而调节相关通路,达到延长睡眠时间,调控失眠的作用。

从入血成分层面分析,基于已有文献,酸枣仁中酸枣仁皂苷A、斯皮诺素、芹菜素均可发挥镇静催眠的作用。大量文献<sup>[25-28]</sup>报道了酸枣仁皂苷A的抗失眠活性,酸枣仁皂苷A的水解产物可以通过GABA<sub>A</sub>-R结合位点上残基β2-Thr2667以及β2-Thr229形成氢键从而起到催眠镇静作用<sup>[29]</sup>。斯皮诺素作为酸枣仁中黄酮类的代表性成分,其能显著增加戊巴比妥诱导所减少的睡眠潜伏期的催眠作用,并延长睡眠时间<sup>[30]</sup>,其作用机制可能是通过5-HT受体系统实现的<sup>[31]</sup>。此外,芹菜素具有温和的镇静作用<sup>[15]</sup>。五味子中五味子甲素、五味子丙素、五味子乙素等均可增强阈下睡眠剂量戊巴比妥钠致小鼠睡

眠效果<sup>[32]</sup>,丹参中的原儿茶醛可对多个GABA靶点起作用,已有文献证明GABA与其受体的结合可以产生神经抑制性保护作用,改善大鼠的失眠状态,说明丹参有可能通过作用于GABA而产生抗失眠作用<sup>[33]</sup>。本研究中入血成分的作用靶点与调节失眠的相关通路与上述文献基本一致,初步验证了实验的可靠性。

从作用靶点及通路角度分析,神经活性配体受体相互作用通路是质膜上所有与细胞内外通路相关配体受体的集合,受体包括:神经调节肽受体亚型1(NMURI)、降钙素受体(CAICR)、氨基丁酸A型受体B2(GABRB2)、速激肽受体亚型2(TAER2)、多巴胺受体亚型5(ORDS)、半胱氨酰白三烯受体亚型2(CYSITR2)、5-HT受体1B(HTR1B)等相关靶标。

潘玲珍等<sup>[25]</sup>研究发现,长期使用地西洋治疗失眠使神经活性配体受体相互作用信号通路显著变化,验证了该通路与失眠的关系,通路中 CHRM3、DRD5、HTR1B 表达下调;肽亚类的受体基因 NMUR1、GHSR、RPR2、CCKAR 表达上调,TACR2、CYSITR2 基因表达下调。本研究中该通路所涉及潜在作用靶点最多,与失眠最为密切,其中酸李碱、酸枣仁皂苷 A、乌药碱、咖啡酸、原儿茶醛、五味子丙素、丹酚酸 A、斯皮诺素等入血成分均参与该通路的调控。枣仁安神颗粒中的酸李碱可能通过作用于 ADRA1A、DRD1、DRD2、DRD3、DRD4、DRD5、HTR1A、HTR1B、HTR2A 和 HTR7,酸枣仁皂苷 A 可能通过作用于 GABRA1、GABRA2、GABRA5 来调控该通路,从而发挥抗失眠作用。具体哪个靶点最为关键,还需后续分子生物学进行验证。

5-HT 能系统和多巴胺(DA)能系统与单胺类神经递质 5-HT 及其代谢物和 DA 及其代谢物的代谢有关,刘洁等<sup>[26]</sup>从神经生物学角度通过对小鼠的行为学研究,得出酸枣仁-五味子药对可降低焦虑小鼠脑中 DA、5-HT 及其代谢物 5-吲哚乙酸(5-HIAA)的含量,表明酸枣仁-五味子药对的抗焦虑机制可能与 5-HT 能系统和 DA 能系统有关。色氨酸作为 5-HT 的前体,是一种两性必需氨基酸,在蛋白质合成、蛋白-蛋白互相作用、重要代谢功能、信号转导等方面起着重要作用。有研究表明大鼠睡眠状况的改善可能与下丘脑及脑中 5-HT 水平的增加有关<sup>[27]</sup>,高水平的色氨酸与睡眠总小时数和效率的改善、夜间不动的持续时间的增加、夜间觉醒次数和新生儿睡眠潜伏期减少有关<sup>[28]</sup>。本研究通过对关键靶点富集通路发现,枣仁安神颗粒中芹菜素、丹酚酸 A、咖啡酸、原儿茶酸可能分别通过 CYP1A2、DDC、MAOA、MAOB 靶点,作用于 5-HT 能系统和 DA 能系统,参与调节色氨酸代谢从而发挥治疗失眠的作用。此外,斯皮诺素的镇静分子机制与 GABA<sub>A</sub> 和 5-HT<sub>1A</sub> 受体调节极为密切<sup>[28-30,34]</sup>。本研究结果与文献基本一致,即斯皮诺素通过作用于 5-HT 受体延长睡眠时间。

本研究基于网络药理学研究技术,构建枣仁安神颗粒治疗失眠的“方剂-中药-成分-靶点-通路”生物网络,发现枣仁安神颗粒中 19 种入血成分,60 个靶点可能与失眠具有相关性,主要涉及 36 条相关通路,并根据大量文献分析,初步探讨了枣仁安神颗粒治疗失眠的分子机制,体现了中医药组方多成分、多靶点、多途径的作用特色,为进一步开展探究

失眠的分子机制奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 潘集阳,黄俏庭.《失眠定义、诊断及药物治疗专家共识》解读[J].中国全科医学:医生读者版,2010,13(3):11-13.
- [2] 凌燕,洗绍祥,陈汉裕,等.清心安方对失眠大鼠脑组织神经递质含量的影响[J].中药新药与临床药理,2018,29(1):23-26.
- [3] 王晓飞.浅谈温胆汤的临床运用[J].大家健康(学术版),2016,10(6):44.
- [4] 丁伟杰,白敦耀,刘伟.枣仁安神颗粒的质量标准考察[J].中国医院药学杂志,2007,27(9):1305-1306.
- [5] YOU Z L, XIA Q, LIANG F R, et al. Effects on the expression of GABA<sub>A</sub> receptor subunits by jujuboside A treatment in rat hippocampal neurons [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 128(2): 419-423.
- [6] 尚丛珊,雷喆.酸枣仁-丹参茶饮对失眠症患者睡眠质量改善效果研究[J].现代食品,2018,(4):50-51
- [7] 王雯雯.五味子镇静催眠活性部位的分离及其分散片的研制[D].镇江:江苏大学,2008.
- [8] 陈延军,李世忠,杨立波.枣仁安神颗粒治疗失眠症 60 例临床研究[J].河北中医,2014,36(8):1145-1147.
- [9] 王喜军.中药血清药物化学的研究动态及发展趋势[J].中国中药杂志,2006,31(10):789-792.
- [10] Hopkins A L. Network pharmacology [J]. Nat Biotech, 2007, 25(10): 1110-1111.
- [11] 蔡亚启,包雅婷,王虹巾.基于网络药理学的牡丹属抗流感病毒的作用机制研究[J].中国中药杂志,2018,43(7):779-785.
- [12] David G, Aur Lien G, Matthias W, et al. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules [J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42: 32-38.
- [13] 杨释岑,刘志强,刘和波,等.利用网络药理学方法研究交泰丸治疗糖尿病的作用机制[J].中国药房,2018,29(19):2656-2661.
- [14] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. PloS One, 2013, 8(12): 1-9.
- [15] 董航,严娇,谢铨子,等.杜仲治疗骨质疏松的网络药理学作用机制探讨[J].广州中医药大学学报,2019,36(9):1413-1420.
- [16] 李强,杜晨晖,张敏,等.血清化学与网络药理学关联研究酸枣仁的体内效应成分[J].中草药,2017,48(10):1936-1943.
- [17] 黄从善,陈婧,刘焱文.复方酸枣仁汤有效部位大鼠血清化学成分分析[J].中国医院药学杂志,2006,26(5):

- 522-524.
- [18] 高博彦, 孔令义. 高效液相色谱-电喷雾离子阱质谱法初步鉴定复方酸枣仁汤中化学物质及血浆吸收成分[J]. 药学与临床研究, 2010, 18(3): 250-252.
- [19] 沈丹萍, 杨莉, 陶艳艳, 等. HPLC—MS<sup>n</sup>分析扶正化癆方中五味子的人血成分[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(7): 854-858.
- [20] 安莉萍, 窦志华, 罗琳, 等. 五味子含药血清中药源性成分的HPLC-DAD分析[J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(3): 30-32.
- [21] 窦志华, 罗琳, 安莉萍, 等. 五味子血清药化学初步研究[J]. 中药材, 2013, 36(7): 1146-1148.
- [22] 靳雨晨, 李骅, 王四旺, 等. 双丹口服液的血清药物化学研究[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(16): 3019-3022.
- [23] 刘洋, 石任兵, 刘斌, 等. 口服丹参饮片煎液大鼠体液化学成分变化研究[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(11): 768-771.
- [24] 吕永海. 复方丹参片血清药物化学及代谢组学研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [25] 潘玲珍, 闫智勇, 左长英, 等. 长期使用地西洋对神经活性配体受体相互作用信号通路的影响[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(5): 443-446.
- [26] 刘洁. 基于HPA轴及BDNF-ERK-ECS信号通路探讨酸枣仁——五味子药对的抗焦虑作用及其机制[D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [27] 郭杰, 尹晓刚. 酸枣仁汤对老年失眠模型大鼠学习记忆能力及脑内神经递质含量的影响[J]. 中国药房, 2016, 27(22): 3085-3087.
- [28] Kokturk O, Kanbay A. *Tryptophan Metabolism and Sleep* [M]. Berlin: Springer International Publishing, 2015.
- [29] Jung I H, Lee H E, Park S J, et al. Ameliorating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid, on scopolamine induced memory impairment in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behavior*, 2014, 120(5): 88-94.
- [30] Wang L E, Zhang X Q, Yin Y Q, et al. Augmentative effect of spinosin on pentobarbital-induced loss of righting reflex in mice associated with presynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptor [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(2): 277-282.
- [31] Wang L E, Cui X Y, Cui S Y, et al. Potentiating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid of *Semen Ziziphi Spinosae*, on pentobarbital-induced sleep may be related to postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(6): 404-409.
- [32] 史琳, 王志成, 冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 208-212.
- [33] 林炳岐, 李峰, 马捷, 等. 基于GABA能系统通路探讨失眠的机制[J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(3): 565-568.
- [34] Liu J, Zhai W M, Yang Y X, et al. GABA and 5-HT systems are implicated in the anxiolytic-like effect of spinosin in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behavior*, 2015, 128: 41-49.