

·数字中医药·

本文引用:邱心悦,石润玉,袁志鹰,赵洪庆.基于UPLC-Q-TOF-MS/MS和网络药理学探讨百合疏肝安神汤治疗焦虑性抑郁症的作用机制[J].湖南中医药大学学报,2022,42(10): 1741-1748.

基于UPLC-Q-TOF-MS/MS和网络药理学探讨百合疏肝安神汤治疗焦虑性抑郁症的作用机制

邱心悦¹,石润玉¹,袁志鹰^{2*},赵洪庆^{1*}

(1.湖南中医药大学科技创新中心,湖南长沙410208;2.湖南中医药大学药学院,湖南长沙410208)

〔摘要〕目的 利用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术,通过网络药理学探讨百合疏肝安神汤治疗焦虑性抑郁症的作用机制。方法 通过UPLC-Q-TOF-MS/MS分析百合疏肝安神汤的化学成分,借助TCMSP数据库检索其靶点信息;在GeneCards中以“Anxious Depression”为关键词获得焦虑性抑郁症相关靶点,借助STRING数据库构建蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,再利用DAVID数据库进行基因本体论(gene ontology, GO)功能和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,最后借助Cytoscape 3.8.0构建“活性成分-核心靶点-重要通路”网络。结果 百合疏肝安神汤可能通过肉豆蔻醚、芦丁、紫堇定碱等活性成分作用于PTGS2、IL-6、IL-1 β 等潜在靶点,通过调控PI3K-Akt、NF- κ B等信号通路,在神经元投射、细胞溶质、膜式筏板等区域参与对药物的反应、一氧化氮生物合成过程的正向调节、细胞对雌二醇刺激的反应、血红素结合、NADP绑定、蛋白质同型二聚体活性等过程,发挥抗焦虑性抑郁症作用。结论 本研究揭示了百合疏肝安神汤可通过多成分、多靶点、多通路的协同作用发挥抗焦虑性抑郁症的功效。

〔关键词〕 焦虑性抑郁症;百合疏肝安神汤;网络药理学;相互作用;靶点;富集分析

〔中图分类号〕R285.5

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.10.025

Investigating the anti-anxious-depression mechanism of Baihe Shugan Anshen Decoction based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology

QIU Xinyue¹, SHI Runyu¹, YUAN Zhiying^{2*}, ZHAO Hongqing^{1*}

(1. Science and Technology Innovation Center, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To investigate the mechanism of Baihe Shugan Anshen Decoction in the treatment of anxious depression based on UPLC-Q-TOF-MS/MS technology combined with network pharmacology. **Methods** We analyzed the chemical compositions of Baihe Shugan Anshen Decoction by UPLC-Q-TOF-MS/MS, retrieved the target information via the TCMSP database and obtained the related targets of anxious depression by searching GeneCards with the keyword of "Anxious Depression"; the protein-protein interaction (PPI) network was established with the string database; we analyzed the gene ontology (GO) function and the Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment based on the DAVID database; finally, the network of "active ingredient-core target-important pathway" was constructed by Cytoscape 3.8.0. **Results** Baihe Shugan Anshen Decoction acted on PTGS2, IL-6, IL-1 β , and other potential targets via active ingredients including myristicin, rutin, and corydine, and it regulated PI3K-AKT, NF- κ B and other signal pathways. In areas such as neuron projection, cytosol, membrane raft, Baihe Shugan Anshen Decoction may participate in the response to drug, the positive regulation of

〔收稿日期〕2022-03-08

〔基金项目〕国家科技重大专项-重大新药创制项目(2017ZX09309026);国家自然科学基金项目(81703694,82104836);国家级大学生创新创业训练计划项目(S202110541052);湖南中医药大学中医学一流学科开放基金项目(2022ZYX18)。

〔第一作者〕邱心悦,女,本科生,研究方向:中药复方药理研究。

〔通信作者〕* 赵洪庆,男,博士研究生,助理研究员,E-mail:516005398@qq.com;袁志鹰,男,博士,高级实验师,E-mail:yuanzhiying2018@163.com。

nitric oxide biosynthesis, cellular response to lipopolysaccharide, heme binding, NADP binding, and protein homodimer activity, etc. and thus taking an anti-anxious-depression effect. **Conclusion** This study revealed that Baihe Shugan Anshen Decoction may exert its anti-anxious-depression effect based on the synergistic effect of multiple components, multiple targets and multiple pathways.

[**Keywords**] anxious depression; Baihe Shugan Anshen Decoction; network pharmacology; interaction; target; enrichment analysis

焦虑性抑郁症是一种以抑郁症状为主,且伴随着显著焦虑情绪的精神障碍类疾病。临床研究显示,85%的抑郁症患者有不同程度的焦虑情绪,焦虑情绪是导致抑郁症治疗阻抗最主要的因素之一^[1]。因而,焦虑性抑郁症患者具有更重的社会功能损害和更高的自杀率^[2]。焦虑性抑郁症属于中医情志病范畴,古代虽无其病名,但与东汉张仲景所著《金匱要略》中“百合病”症状极为类似,患者表现出“意欲食复不能食,欲卧不能卧,欲行不能行”“常默默”“如寒无寒,如热无热”等^[3]。现代医学的抑郁、焦虑行为,结合临床表现及中医证候特点,认为其基本病机可用基于脑府和肝脏的“瘀、郁”概括^[4]。百合疏肝安神汤是课题组基于仲景论治百合病的学术思想,紧扣抑郁症“瘀、郁”的中医病因病机特点,以疏肝理气、活血安神为治法,结合多年临床实践研制而成,主治伴焦虑、失眠型抑郁症,前期研究表明其具有良好的抗焦虑抑郁疗效^[5-9],但由于中药复方存在多成分、多靶点的特点,使得相互作用机制并不明确。

网络药理学是基于生物学、药理学、生物信息学、计算机科学等多学科融合而成的一门学科。与传统的单成分、单靶点思维不同,其多成分、多靶点、多通路的网络构建思维更适用于中药复方的复杂性,能够减少中药复方研究的盲目性,更便于发现治疗疾病的潜在靶标与分子机制^[7]。但是,单纯运用现有化学成分数据库对中药材进行成分筛选,并进行网络药理学研究极有可能导致过滤掉药物的某些有效成分,且工作量大,潜在靶点多,不利于后续验证实验的开展。本研究首先采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对中药复方进行成分分析,明确药物的药效物质基础,再结合网络药理学技术探明百合疏肝安神汤治疗焦虑性抑郁症的活性成分及潜在靶点,阐明该方的作用环节、途径与靶点,将有助于该方药的进一步开发应用。

1 材料与方法

1.1 百合疏肝安神汤化学成分分析

1.1.1 色谱条件和质谱条件 色谱条件:色谱柱 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C₁₈ (3.0 mm×100 mm, 1.8 μm),流动相由有机相乙腈(A)和水相(B)组成,

其中水相 B 中含 0.05 mmol·L⁻¹ 甲酸铵(质谱级),设置梯度洗脱程序:0~5 min,5%~15% A;5~10 min,15%~35% A;10~20 min,35%~65% A;20~30 min,65%~95% A;流速:0.4 mL/min,进样量:1 μL。

质谱检测条件:采用正负离子分析模式,离子化方式为电喷雾离子化(ESI)。一级质谱扫描检测范围:m/z 100~1700,采用氮气为除溶剂干燥气体,温度为 325 ℃,流速为 6.8 L/min;鞘气温度为 350 ℃;毛细管电压为 4.0 kv,Fragment 电压为 150 V;二级质谱扫描范围:m/z 50~1000。

1.1.2 百合疏肝安神汤样品溶液的制备 百合疏肝安神汤由百合、柴胡、贯叶金丝桃、姜黄、酸枣仁、人参、紫苏 7 味药物组成,药材饮片均购自湖南中医药大学第一附属医院,经湖南中医药大学药学院袁志鹰副教授鉴定为正品。全方煎煮 2 次,每次均加入 6 倍体积水,合并水煎液,浓缩至生药量为 1 g/mL 备用。取 1 mL 浓缩液,加 20 mL 甲醇,超声 20 min,10 000 r/min 离心 5 min,离心半径 13.5 cm,取上清液,经 0.22 μm 有机微孔滤膜滤过,即得百合疏肝安神汤的样品溶液。

1.1.3 百合疏肝安神汤的化学成分鉴定 采用全扫描-动态排除和数据依赖性扫描,基于 Agilent 1290 UPLC-6540 accurate mass Q-TOF 色谱-质谱(UPLC-Q-TOF-MS)联用技术对百合疏肝安神汤中的化学成分进行检测和数据采集。采用 Mass Hunter B.07.00 软件对正负离子模式的一、二级质谱提供的离子峰信息进行分析,根据文献推测总结不同类别化合物的质谱裂解规律,对于已知化合物,通过提取离子流图和比对相关对照品保留时间等达到准确快速鉴定,对于未知化合物,通过精确分子量预测化合物分子式,结合相关质谱裂解规律、文献数据、多级质谱碎片信息达到快速鉴定。

1.2 百合疏肝安神汤网络药理学研究

1.2.1 作用靶点预测 通过中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP, <https://tcmsp.com/tcmssp.php>)将“1.1.3”中检测出的化学成分进行信息检索,得到百合疏肝安神汤活性成分的靶标蛋白。借助 STRING (<https://string-db.org/>)中 Multiple proteins 搜索功能以及 UniProt (<http://www.uniprot.org/>)中 UniProtKB

搜索功能,输入蛋白质名称,限制物种为“Homo sapiens”,查询与目标蛋白质相对应的基因名称,并校准所得蛋白质,同时剔除非目标活性成分,获得活性成分与相关靶点的信息。

1.2.2 疾病靶点的获取与收集 在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)中以关键词“anxious depression”进行查询,整合结果至 Excel,与百合疏肝安神汤候选靶标蛋白共同上传至 VENNY 2.1.0(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)进行匹配映射。

1.2.3 蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)的构建及其核心靶点、重要成分的筛选 为了解百合疏肝安神汤的具体作用机制,将共同基因导入 STRING 11.5,限制物种为“Homo sapiens”,置信度为中等 0.04,以此获取 PPI 关系。再将各参数以 tsv 文件导入 Cytoscape 3.8.0(<https://cytoscape.org/>),对节点度值进行分析,确定百合疏肝安神汤治疗焦虑性抑郁症的核心靶点,进而得到对应的重要化学成分。

1.2.4 生物过程和通路分析 为了解核心基因的功能以及在信号通路中的作用,将共同靶点导入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>),物种限制为“Homo sapiens”,阈值设定 $P < 0.05$,进行基因本体论(gene ontology, GO)功能和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,再借助 ImageGP (<http://www.ehbio.com/ImageGP/index>)和 GraphPad Prism 7.0 将结果可视化。

1.2.5 “活性成分-核心靶点-重要通路”网络的构建 将结果所得的成分、靶点、通路等信息在 Excel 中建立三者的数据文件和属性文件,导入 Cytoscape 3.8.0 软件,构建“活性成分-核心靶点-重要通路”网络。

2 结果

2.1 百合疏肝安神汤主要化学成分

通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析得到百合疏肝安神汤总离子流图,见图 1。经文献对比,完成色谱峰对应化合物的定性分析,得到 78 个化合物,主要包括精氨酸、葡萄糖酸、柠檬酸、异柠檬酸、郁金香苷 A 等。详见表 1。

2.2 药物及疾病共同基因的筛选

利用 TCMSP 检索得到药物靶点 144 个,去除重复基因后有 101 个;通过 GeneCards 检索所得疾病靶点 1338 个,无重复基因。将二者上传至 Venny 2.1.0 匹配映射后,获取共同靶点 52 个。详见图 2。

2.3 PPI 网络的构建与分析

借助 STRING 11.5 数据库构建 PPI,共得到 11 个节点和 644 条边,见图 3。将共同靶点及对应成分导入 Cytoscape 3.8.0,对网络中各个节点的度值大小进行比较分析,节点的平均度值为 58.55,以大于等于两倍中心平均度值为标准,得到治疗焦虑性抑郁症作用靶点 8 个,分别为 CAT、IL-1 β 、PTGS2、IL-6、INS、CASP3、SRC、MYC,见表 2,对应化合物 14 个,具体见表 3。

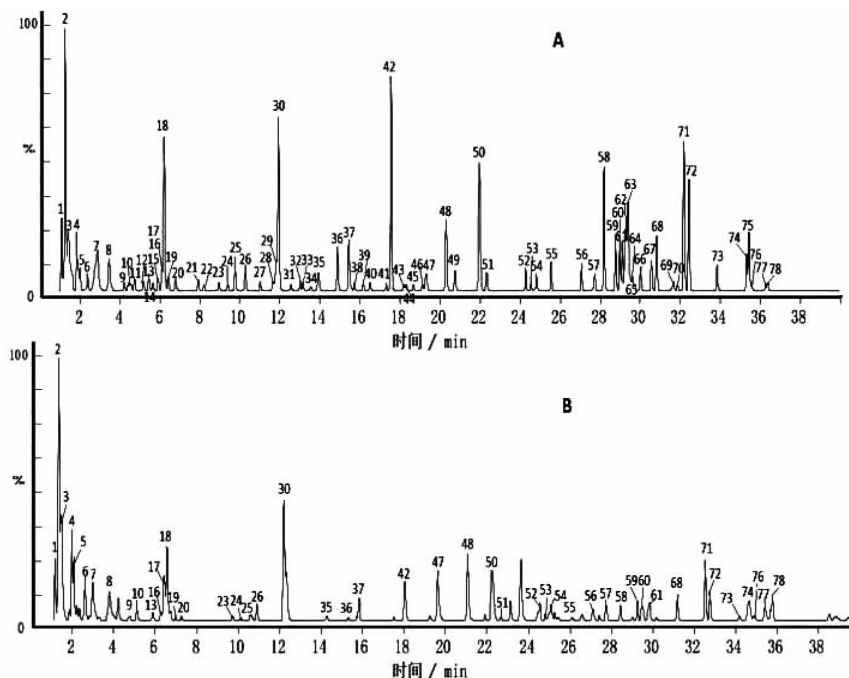


图 1 百合疏肝安神汤正负离子模式总离子流图谱

注:A.正离子模式;B.负离子模式。

表 1 百合疏肝安神汤主要化学成分

峰号	tR/min	m/z	分子式	δ /ppm	名称	来源
1	1.171	174.111 4	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	1.43	L(+)-Arginine (精氨酸)	人参
2	1.231	196.057 7	C ₆ H ₁₂ O ₇	2.96	Gluconic acid (葡萄糖酸)	姜黄
3	1.454	192.026 2	C ₆ H ₈ O ₇	3.95	Citric acid (柠檬酸)	紫苏
4	1.834	192.026 4	C ₆ H ₈ O ₇	3.14	Isocitric acid (异柠檬酸)	紫苏
5	2.003	324.105 5	C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀	0.49	Tuliposide A (郁金香苷 A)	紫苏
6	2.383	324.105 5	C ₁₂ H ₂₀ O ₁₀	0.54	Securiterpenoside (蝉翼藤萜酸苷)	姜黄
7	2.871	305.11 1	C ₁₂ H ₁₉ NO ₈	0.18	Rhodiocyanoside A (红景天氰苷 A)	柴胡
8	2.875	143.058 1	C ₆ H ₉ NO ₃	0.75	Methyl L-pyroglutamate (甲基-L-焦谷氨酸)	人参
9	4.227	129.042 4	C ₅ H ₇ NO ₃	1.76	L-Pyroglutamic acid (焦谷氨酸)	人参
10	4.451	316.079 3	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	0.38	3-carboxy-4-hydroxyPhenoxyglucoside (3-羧基-4-羟基-苯氧基葡萄糖苷)	姜黄
11	4.556	198.052 6	C ₉ H ₁₀ O ₅	0.93	Danshensu (丹参素)	紫苏
12	4.735	413.360 7	C ₁₈ H ₂₂ O ₁₁	-0.07	Asperuloside (车叶草苷)	柴胡
13	5.177	232.119 0	C ₁₀ H ₁₉ NO ₃	0.09	Pantothenicacid (泛酸)	人参
14	5.431	110.036 9	C ₆ H ₆ O ₂	-1.05	2-Acetylfuran (2-乙酰基呋喃)	紫苏
15	5.641	432.126 8	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	-0.14	Asperulosidic acid (车叶草酸)	柴胡
16	5.898	432.126 8	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₂	0.09	Asperulosidic acid B (车叶草酸 B)	柴胡
17	6.083	324.141 8	C ₁₃ H ₂₄ O ₉	0.70	Methyl di- α -L-rhamnoside (二鼠李糖甲基)	柴胡
18	6.203	103.063 3	C ₄ H ₉ NO ₂	0.70	Gamma-aminobutyric acid (γ -氨基丁酸)	人参
19	6.418	395.179 0	C ₁₆ H ₂₉ NO ₁₀	0.48	Hopantenic acid glucoside (十六烷酸葡萄糖苷)	酸枣仁
20	6.773	353.110 4	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1.80	Chlorogenic acid (绿原酸)	贯叶金丝桃
21	7.915	353.111 1	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-0.20	Neochlorogenic acid (新绿原酸)	贯叶金丝桃
22	8.204	416.131 6	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	0.51	Gentiopierin (龙胆苦苷)	柴胡
23	8.941	192.063 2	C ₇ H ₁₂ O ₆	1.13	Quinic acid (奎宁酸)	人参
24	9.381	354.094 9	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	0.60	Cryptochlorogenic acid (隐绿原酸)	贯叶金丝桃
25	9.737	416.131 8	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	0.08	Regaloside C (王百合苷 C)	百合
26	10.260	400.137 2	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	-0.57	Regaloside H (王百合苷 H)	百合
27	11.014	388.173 1	C ₁₈ H ₂₆ O ₉	0.47	Nuezhengalaside (女贞苦苷)	酸枣仁
28	11.710	594.158 4	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	0.07	Lonicerin (木犀草素)	紫苏/柴胡
29	11.805	341.162 9	C ₂₀ H ₂₃ NO ₄	-0.58	Corydine (紫堇定碱)	紫苏
30	11.929	400.136 8	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₀	0.33	Regaloside A (王百合苷 A)	百合
31	12.538	372.105 6	C ₁₆ H ₂₀ O ₁₀	0.18	o-Coumaric acid- β -D-glucoside (O-香豆酸- β -葡萄糖苷)	紫苏
32	12.996	430.147 5	C ₁₉ H ₂₆ O ₁₁	0.14	10-O-Acetylgeniposide (10-O-乙酰基-梔子苷)	酸枣仁
33	13.128	638.111 9	C ₂₇ H ₂₆ O ₁₈	0.07	Luteolin-3',7-di-glucuronide (木犀草素-3',7-双葡萄糖苷酸)	柴胡
34	13.525	238.084 1	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	0.07	Myristicin (肉豆蔻醚)	紫苏
35	13.929	342.095 2	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	-0.37	Caffeic- β -D-glucoside (咖啡酸- β -葡萄糖苷)	紫苏
36	14.877	458.142 4	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₂	0.15	Glucofuraneol tetraacetate	人参
37	15.439	608.174 4	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₅	-0.43	Spinosin (斯皮诺素)	酸枣仁
38	15.715	610.153 5	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-0.22	Rutin (芦丁)	贯叶金丝桃/紫苏/柴胡
39	16.156	464.095 3	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	0.29	Hyperoside (金丝桃苷)	贯叶金丝桃
40	16.486	464.095 2	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	0.56	Isotrifolin/ Quercimeritrin (槲皮黄苷)	贯叶金丝桃/柴胡
41	17.300	442.147 5	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	-0.01	macrophyllside C (大叶苷 C)	柴胡
42	17.539	442.147 4	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	0.17	Inumakilactone C (罗汉松内酯 C)	贯叶金丝桃/柴胡
43	18.186	442.147 5	C ₂₀ H ₂₆ O ₁₁	0.10	Yadanzhiolide D (鸦胆子内脂 D)	贯叶金丝桃/柴胡
44	18.295	434.084 6	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁	0.81	Quercetin-3-O-arabinoside (槲皮素-3-O-阿拉伯糖苷)	贯叶金丝桃
45	18.666	448.100 5	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	0.14	Quecitrin (槲皮苷)	百合
46	19.121	188.104 7	C ₉ H ₁₆ O ₄	1.05	Azelaic acid (壬二酸)	紫苏
47	19.330	784.221 4	C ₃₈ H ₄₀ O ₁₈	0.11	6-Feruloylspinosin (阿魏酰斯皮诺素)	酸枣仁
48	20.289	162.031 5	C ₉ H ₆ O ₃	1.13	7-Hydroxycoumarin (7-羟基香豆素)	紫苏

续表 1

峰号	tR/min	m/z	分子式	δ /ppm	名称	来源
49	20.73	931.526 5	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	0.98	Notoginsenoside R1 (三七皂苷 R1)	人参
50	21.964	845.490 7	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	-0.38	Ginsenoside Rg1 (人参皂苷 Rg1)	人参
51	22.314	856.445 6	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	0.07	Dianoside A (瞿麦三萜苷 A)	人参
52	24.263	1 207.363 7	C ₅₈ H ₉₄ O ₂₆	0.42	Jujuboside A (酸枣仁皂苷 A)	酸枣仁
53	24.529	1 045.223 1	C ₅₂ H ₈₄ O ₂₁	0.22	Jujuboside B (酸枣仁皂苷 B)	酸枣仁
54	24.795	902.487 3	C ₄₅ H ₇₄ O ₁₈	0.20	Trigofenoside A	柴胡
55	25.523	680.377 3	C ₃₆ H ₅₆ O ₁₂	-0.11	Tenuifolin (细叶远志皂苷)	柴胡
56	27.061	800.492 1	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	0.15	Ginsenoside Rf (人参皂苷 Rf)	人参
57	27.723	869.057 2	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	-0.32	Dioscin (薯蓣皂苷)	百合
58	28.173	1 108.603 0	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	-0.02	Ginsenoside Rb1 (人参皂苷 Rb1)	人参
59	28.744	1 078.592 3	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	0.07	Ginsenoside Rb3 (人参皂苷 Rb3)	人参
60	28.956	884.477 0	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₇	-0.04	Gracillin (纤细薯蓣皂苷)	柴胡
61	29.082	926.523 9	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	1.35	Saikosaponin I (柴胡皂苷 I)	柴胡
62	29.285	1 078.592 3	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	0.11	Ginsenoside Rc (人参皂苷 Rc)	人参
63	29.374	330.240 7	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	-0.23	Tianshic acid (天师酸)	酸枣仁
64	29.624	243.183 3	C ₁₃ H ₂₅ NO ₃	0.76	Tecostamine	姜黄
65	29.727	413.123 8	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	0.14	Curcumin (姜黄素)	姜黄
66	30.012	928.539 4	C ₄₈ H ₈₀ O ₁₇	0.14	Saikosaponin F (柴胡皂苷 F)	柴胡
67	30.554	946.549 9	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	0.23	Ginsenoside Re (人参皂苷 Re)	人参
68	30.818	754.919 8	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₄	-0.30	Terreside B (蒺藜皂苷 B)	柴胡
69	31.847	941.510 9	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	0.64	Saikosaponin S (柴胡皂苷 S)	柴胡
70	31.853	330.240 5	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	-0.35	Pinellac acid	姜黄
71	32.163	780.466 4	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	-0.47	Saikosaponin A (柴胡皂苷 A)	柴胡
72	32.410	780.466 3	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	-0.33	Saikosaponin D (柴胡皂苷 D)	柴胡
73	33.838	780.466 2	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	-0.15	Saikosaponin B2 (柴胡皂苷 B2)	柴胡
74	35.303	822.476 4	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	0.03	3'-O-Acetylsaikosaponin D (3'-O-乙酰基柴胡皂苷 D)	柴胡
75	35.423	822.476 4	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	0.03	6"-O-Acetylsaikosaponin D (6"-O-乙酰基柴胡皂苷 D)	柴胡
76	35.558	794.445 1	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	0.39	Zinyibrside R1 (姜状三七皂苷 R1)	人参
77	36.248	784.497 3	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	0.22	Ginsenoside Rg2 (人参皂苷 Rg2)	人参
78	36.358	312.229 9	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	0.13	Hydnocarpic acid (次大风子油酸)	紫苏

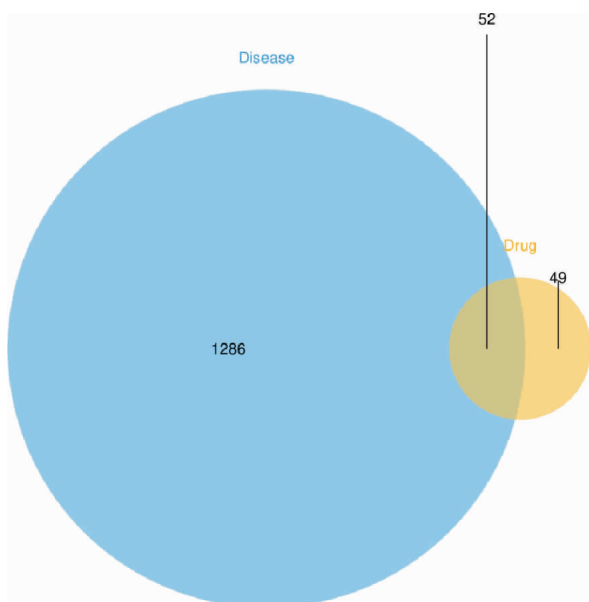


图2 百合疏肝安神汤中化合物及其与焦虑性抑郁症相关靶点的交集基因

2.4 生物过程和通路富集分析

DAVID 中 GO 功能富集分析中获得的 GO 条目共 252 个 ($P < 0.05$), 其中包括生物过程 (biological process, BP) 条目 181 个, 涉及对药物的反应、一氧化氮生物合成过程的正向调节、细胞对雌二醇刺激的反应等; 细胞组成 (cellular component, CC) 条目 31 个, 涉及神经元投影、细胞溶质、膜式筏板等; 分子功能 (molecular function, MF) 条目 40 个, 涉及血红素结合、NADP 绑定、蛋白质同型二聚体活性等。该结果中 BP、CC 和 MF 分别占 71.8%、12.3% 和 15.8%, 运用 GraphPad Prism 7.0 对 GO 功能富集分析结果进行可视化处理, 结果见图 4。

KEGG 通路富集结果经过滤选择共获得 82 条信号通路 ($P < 0.05$), 涉及 HIF-1 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、NF- κ B 信号通路等。运用 ImageGP 对富集分析结果进行可视化处理。详见图 5。

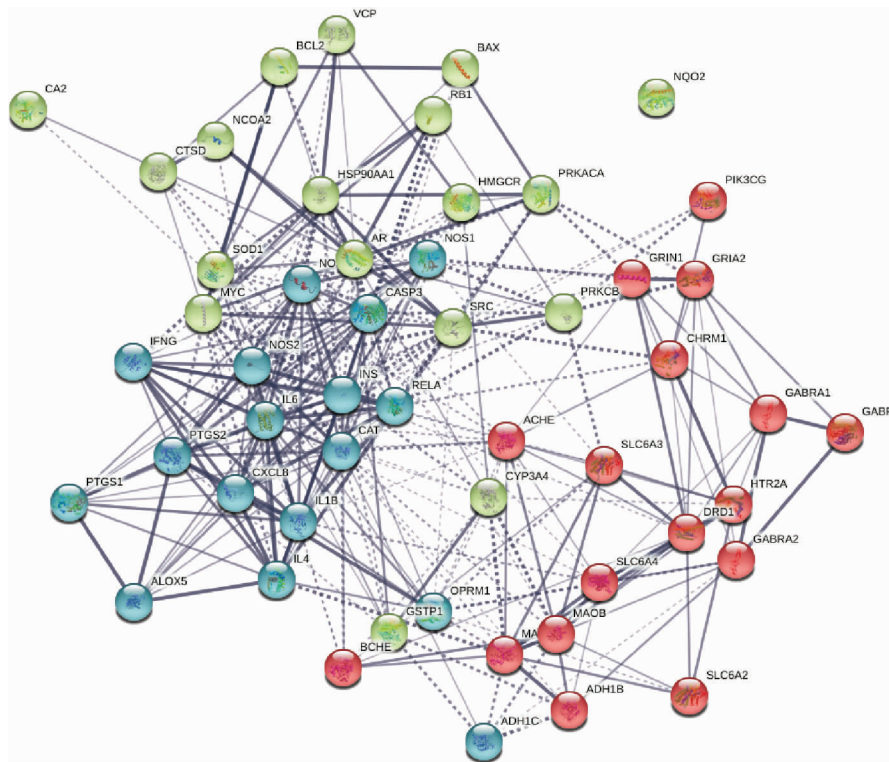


图 3 百合疏肝安神汤与焦虑性抑郁症 PPI 核心网络

注:图中不同颜色代表不同的模块。

表 2 拓扑分析 8 个核心靶点信息

基因	度值	介度中心度	接近中心度
INS	31	0.121 8	0.714 3
CAT	27	0.090 0	0.657 9
IL6	27	0.061 4	0.675 7
CASP3	25	0.052 4	0.641 0
PTGS2	21	0.011 2	0.602 4
SRC	21	0.046 4	0.625 0
IL1B	20	0.014 9	0.609 8
MYC	20	0.022 2	0.588 2

表 3 拓扑分析 14 个重要化合物信息

序号	化合物	中文名称	度值
MOL000261	Myristicin	肉豆蔻醚	15
MOL000415	Rutin	芦丁	13
MOL004197	Corydine	紫堇碱	8
MOL000388	Gamma-aminobutyric acid	γ -氨基丁酸	7
MOL001456	Citric acid	柠檬酸	7
MOL004368	Hyperoside	金丝桃苷	6
MOL002558	7-Hydroxycoumarin	7-羟基香豆素	5
MOL004635	Saikosaponin A	柴胡皂苷 A	5
MOL011400	Ginsenoside Rf	人参皂苷 Rf	5
MOL000646	Gentiopicrotin	龙胆苦苷	3
MOL003066	Neochlorogenic acid	新绿原酸	1
MOL004544	Quinic acid	奎宁酸	1
MOL005358	Isocitric acid	异柠檬酸	1
MOL008653	2-Acetylfuran	2-乙酰基呋喃	1

2.5 百合疏肝安神汤“活性成分-核心靶点-重要通路”网络

百合疏肝安神汤“活性成分-核心靶点-重要通路”网络如图 6 所示。该网络中共涉及 30 个节点(包括 12 个化合物节点、8 个靶点节点、10 个通路节点)和 156 条边,平均相邻节点数目为 5.20。结果表明百合疏肝安神汤中存在化合物与多个靶点相互作用的机制,同时存在几种化合物同时扩散至同一靶标的过程,最后作用于多种通路。

3 讨论

本研究通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析了百合疏肝安神汤的 78 种活性成分,其中肉豆蔻醚、芦丁、紫堇定碱等度值较大,且与核心靶点有较强的关联性,表明其可能为百合疏肝安神汤治疗焦虑性

抑郁症的重要活性成分。有研究指出,肉豆蔻醚表现出明显的抗抑郁性质,其依赖于 5-HT 功能的调节,抑制 5-HT_{2A} 受体活性达到缓解抑郁的作用^[8-9]。芦丁是一种天然黄酮苷,属于黄酮类化合物,研究表明其能够增加大鼠进入高架十字迷宫开放臂的次数与时间,发挥抗焦虑作用^[10]。同时,黄酮类化合物能抑制单胺氧化酶活性,影响 5-HT 的重吸收,起到抗抑郁的作用^[11]。研究显示,阿朴啡类生物碱具有抗氧化作用^[12],其机制可能通过对抗自由基络合或者主动捕获自由基的方式,阻止机体内脂质过氧化,进而发挥

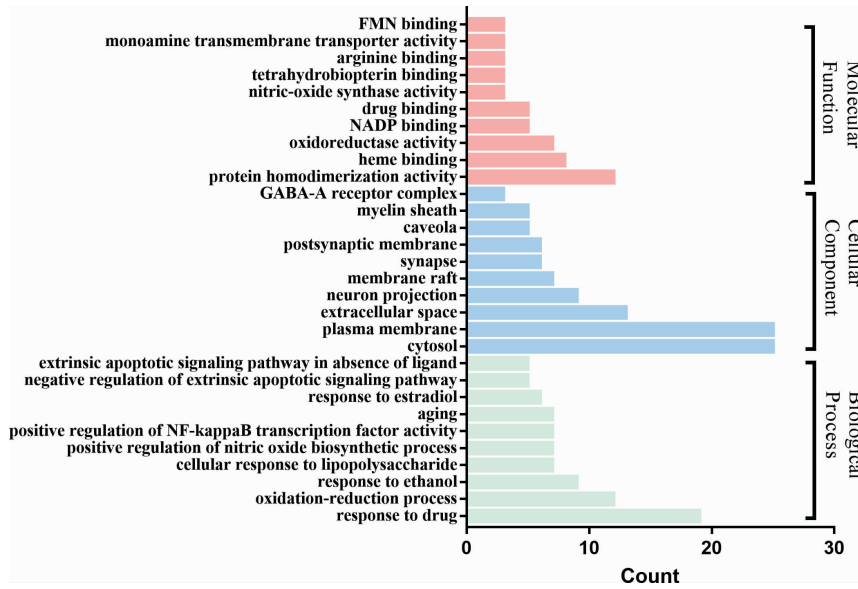


图 4 百合疏肝安神汤活性成分潜在靶点的 GO 功能富集分析

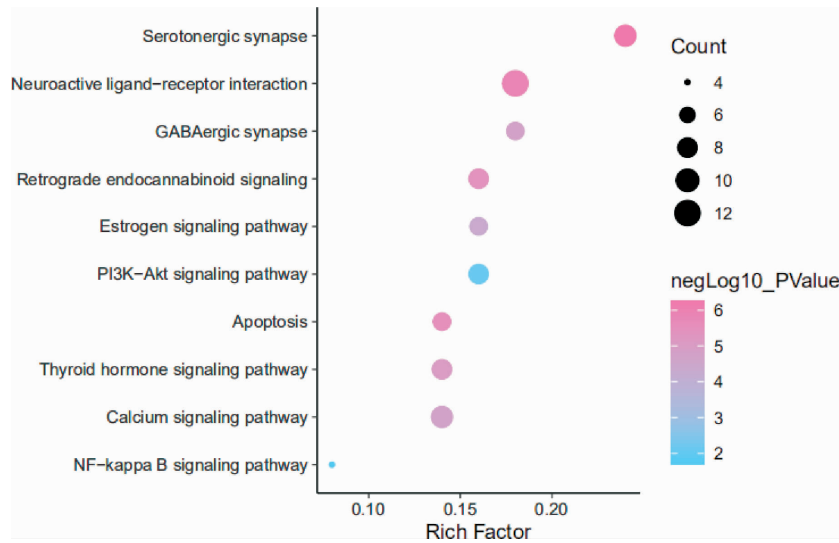


图 5 百合疏肝安神汤活性成分潜在抗焦虑性抑郁症靶点的 KEGG 代谢通路富集分析

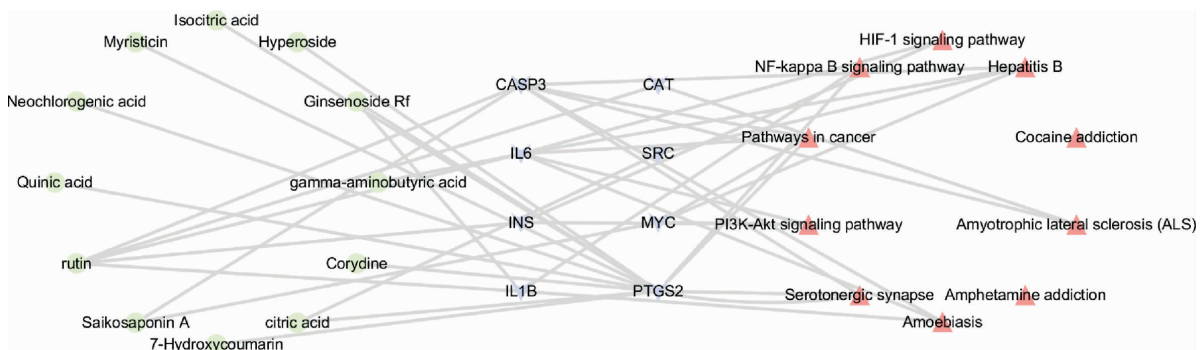


图 6 百合疏肝安神汤“活性成分-核心靶点-重要通路”网络

注:网络中节点表示成分、靶点及通路,边表示各节点间的相互作用关系,其中绿色表示活性成分、紫色表示核心靶点、红色表示重要通路。

抗焦虑抑郁作用^[13]。

由“活性成分-核心靶点-重要通路”网络可知,PTGS2、IL-6、IL-1β 与 PI3K-Akt 信号通路、NF-κB 信号通路相连成分较多,可能为抗焦虑性抑郁症的

潜在靶点与通路。

PTGS2 又名环氧合酶 2,是花生四烯酸合成前列腺素类物质的关键性限速酶,其含量高能够影响海马、杏仁核等脑区的功能,可能参与焦虑性抑郁

症的病理进程^[14]。PI3K-Akt/NF- κ B 信号通路对于细胞的增殖、分化、凋亡、炎症的发生等发挥着不容忽视的作用^[15]。PI3K-Akt 信号通路可与 NF- κ B 信号通路产生交叉反应,在一定程度上对其活性进行调节^[16-17]。DOU 等^[18]研究发现,PI3K-Akt 信号通路可能通过活化核转录因子进入细胞核,促进细胞增殖,抑制凋亡,进而达到抗焦虑性抑郁症的作用。同时,PI3K-Akt 信号通路还可以通过增强 NF- κ B 抑制蛋白 I κ B 激酶的磷酸化和降解,继而导致 NF- κ B 的活化,诱导促炎因子(如 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β)释放^[19]。因此,百合疏肝安神汤可能通过介导 PI3K-Akt、NF- κ B 信号通路,抑制海马细胞凋亡或促炎因子过量分泌来实现抗焦虑性抑郁症作用。

综上所述,本研究在百合疏肝安神汤化学成分的测定分析基础上,利用网络药理学的分析方法,分析了百合疏肝安神汤 14 种重要活性成分、8 个抗焦虑性抑郁的潜在作用靶点,可能通过肉豆蔻醚、芦丁、紫堇定碱等活性成分作用于 PTGS2、IL-6、IL-1 β 等潜在靶点,通过调控 PI3K-Akt、NF- κ B 等信号通路,在神经元投影、细胞溶质、膜式筏板等区域参与对药物的反应、一氧化氮生物合成过程的正向调节、细胞对雌二醇刺激的反应、血红素结合、NADP 绑定、蛋白质同型二聚体活性等过程,发挥抗焦虑性抑郁症作用。

参考文献

- [1] WOLK C B, CARPER M M, KENDALL P C, et al. Pathways to anxiety-depression comorbidity: A longitudinal examination of childhood anxiety disorders[J]. *Depression and Anxiety*, 2016, 33(10): 978-986.
- [2] 吴志国,吴彦,方贻儒.从“焦虑性抑郁症”概念解析抑郁障碍的复杂性[J].*上海交通大学学报(医学版)*,2014,34(4):450-454.
- [3] 张仲景.金匱要略方论[M].3卷.北京:人民卫生出版社,1963.
- [4] 陈碧芳.百合病证治方的理论探讨[D].南京:南京中医药大学,2018.
- [5] 赵洪庆,黄会珍,金狮,等.百合疏肝安神汤对焦虑性抑郁模型大鼠海马-杏仁核神经营养因子的调控作用[J].*中国新药杂志*,2019,28(18):2206-2212.
- [6] 杜青,杨琴,凌佳,等.百合疏肝安神汤对焦虑性抑郁模型大鼠行为学及 HPA 轴的影响[J].*中国新药杂志*,2018,27(20):2400-2406.
- [7] 张彦琼,李梢.网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J].*中国药理学与毒理学杂志*,2015,29(6):883-892.
- [8] 魏肇余.氯胺酮、肉豆蔻醚防治应激性精神障碍的药理作用及机制研究[D].张家口:河北北方学院,2020.
- [9] 王婷,孙静莹,王云,等.近 10 年天然药物抗抑郁研究进展[J].*广东药科大学学报*,2019,35(6):853-857.
- [10] ANESTIM STAVROPOULOU N, ATSOPARDI K et al Effect of rutin on anxiety-like behavior and activity of acetylcholinesterase isoforms in specific brain regions of pentylentetrazol-treated mice[J]. *Epilepsy & Behavior*, 2020, 102: 106632.
- [11] 肖炳坤,黄荣清,杨建云,等.抗焦虑天然药物研究进展[J].*中国医院药学杂志*,2011,31(12):1021-1023.
- [12] 戴淳,宋金春,杨小青.荷叶碱的药理作用研究进展[J].*中国药师*,2016,19(5):988-991.
- [13] 陈良妮,陈勇,李金洲,等.三七叶抗抑郁作用研究概况[J].*吉林中医药*,2019,39(10):1361-1364.
- [14] 马铭婕,许琪.抑郁症患者中升高的前列腺素 E1 与抑郁样行为相关[J].*基础医学与临床*,2019,39(4):483-488.
- [15] 谭彩,曹蛟,张籽惠,等.柴胡三参胶囊通过调控 PI3K/Akt 和 p38MAPK 通路抑制阿霉素诱导的心脏毒性[J].*湖南中医药大学学报*,2022,42(9):1434-1441.
- [16] 杨琴,杜青,赵洪庆,等.百合疏肝安神汤对焦虑性抑郁模型大鼠前额叶-边缘结构及 GR/BDNF/NPY 表达的影响[J].*中国临床药理学与治疗学*,2017,22(10):1090-1098.
- [17] SCHÄBITZ W R, BERGER C, KOLLMAR R, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor treatment and forced arm use on functional motor recovery after small cortical ischemia[J]. *Stroke*, 2004, 35(4): 992-997.
- [18] DOU L, WANG S Y, SUI X F, et al. miR-301a mediates the effect of IL-6 on the AKT/GSK pathway and hepatic glycogenesis by regulating PTEN expression[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2015, 35(4): 1413-1424.
- [19] 嵇莹莹,龚国清. PI3K/Akt/mTOR 通路在炎症相关疾病中分子机制研究进展[J].*药学研究*,2018,37(4):226-229.