

# 基于网络药理学分析厚朴抗抑郁的物质基础及其作用机制

王欢欢<sup>1</sup>, 吴宏伟<sup>2</sup>, 李欣<sup>2</sup>, 张晓<sup>2</sup>, 许静<sup>2</sup>, 郭非非<sup>2</sup>, 张红<sup>2,3,\*</sup>, 范建伟<sup>4</sup>, 杨洪军<sup>2,\*</sup>

- (1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 陕西省中医药研究院中药研究所, 西安 710003;  
4. 鲁南制药集团股份有限公司中药制药共性技术国家重点实验室, 山东临沂 276006)

**[摘要]** 目的:采用网络药理学方法探讨厚朴抗抑郁的物质基础及作用机制。方法:通过中国知网,SciFinder,中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)等数据库收集厚朴药材的主要化学成分;通过BATMAN-TCM数据库筛选出药物成分潜在作用靶标;基于HPO数据库筛选出抑郁疾病相关靶标;采用String数据库对药物成分潜在靶标与抑郁症靶标进行蛋白质相互作用分析,筛选抗抑郁化学成分及其相关靶点,并通过David数据库对其结果进行功能富集分析。基于以上结果,采用Cytoscape v3.5.1软件网络化展现厚朴抗抑郁的“药物靶标-疾病靶标”“化学成分-靶标-信号通路”的网络关系图,并通过网络拓扑分析从中筛选出关键靶标并对其进行“成分-靶标蛋白”的分子对接验证,进一步明确关键抗抑郁成分及其靶点。结果:从厚朴收集得到的138种化学成分中筛选得到16个与抑郁症相关的活性成分,涉及74个关键作用靶标;分子对接分析结果表明,与其他成分相比,16种活性成分中的 $\alpha$ -衣兰油烯等10种挥发性成分与“药物靶标-疾病靶标”相互作用网络图中的5种关键靶标(degree排名前5)胰岛素受体(INSR),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 $\alpha$ 抑制3(GNAI3),磷脂酰肌醇3-激酶受体1(PIK3R1),选择性受体B1(GNB1)均具有较好的结合活性;并且该类成分与目前治疗抑郁症化药的直接靶标毒蕈碱型乙酰胆碱受体M2(CHRM2),5-羟色胺受体(HTR)2B和HTR2C也均具有较好的亲和活力;通路富集分析结果表明厚朴抗抑郁作用可能通过调节神经营养因子信号通路,MAPK信号通路,钙离子信号通路,神经活性配体-受体相互作用等发挥作用。结论:该研究从网络药理学的角度初步揭示了厚朴抗抑郁的药效物质基础及作用机制,筛选得到16个与抑郁症相关的活性成分,可为抗抑郁药物的开发以及厚朴抗抑郁质量标志物的发现提供参考。

**[关键词]** 抑郁症;厚朴;网络药理学;物质基础;木脂素类;生物碱类;挥发性成分

**[中图分类号]** R22;R24;R28;C37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)10-0162-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190313

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.1009.028.html>

**[网络出版时间]** 2018-10-19 14:50

## Effective Constituents and Mechanism of Magnoliae Officinalis Cortex for Depressive Disorder Based on Network Pharmacology

WANG Huan-huan<sup>1</sup>, WU Hong-wei<sup>2</sup>, LI Xin<sup>2</sup>, ZHANG Xiao<sup>2</sup>, XU Jing<sup>2</sup>,

GUO Fei-fei<sup>2</sup>, ZHANG Hong<sup>2,3,\*</sup>, FAN Jian-wei<sup>4</sup>, YANG Hong-jun<sup>2,\*</sup>

- (1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin 301617, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
3. Institute of Chinese Materia Medica, Shaanxi Academy of TCM, Xi'an 710003, China;  
4. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co. Ltd., Linyi 276006, China)

**[收稿日期]** 20180716(003)

**[基金项目]** 国家重点基础研究计划(973计划)项目(2015CB554406);山东省重大科技创新工程——“中医精方”重大科技创新工程项目(2018CXGC1305);陕西省卫生厅基金项目(2014D1)

**[第一作者]** 王欢欢,硕士,从事中药药效物质基础及质量控制研究,Tel:010-64032656,E-mail:18222157424@163.com

**[通信作者]** \*张红,博士,研究员,从事中药药效物质基础研究,Tel:010-64032656,E-mail:zhanghong919919@163.com;

\*杨洪军,博士,研究员,从事中药药理及整合药理学研究,Tel:010-64032656,E-mail:hongjun0420@vip.sina.com

**[ Abstract ] Objective:** In this paper, the network pharmacology method was used to explore the material basis and the mechanism of *Magnoliae Officinalis Cortex* (Houpo) on depressive disorder. **Method:** Firstly, the main chemical components of Houpo were gathered from CNKI, SciFinder, traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform (TCMSP) and other databases. Next, the potential targets of the chemical ingredients in Houpo were searched and selected by BATMAN-TCM database. The targets of depressive disorder were collected from HPO database. Then all the targets were entered into the search tool (String database) for the retrieval of protein-protein interactions so as to confirm antidepressant chemistries and their related targets. Furthermore, the functional enrichment analysis was carried out through the David database. Based on these above results, the networks of "drug targets-disease targets" and "compounds-targets-pathways" of Houpo on depressive disorder were built by Cytoscape v3.5.1 software, respectively. Network topology analysis was used to screen the key targets and the corresponding components. Then molecular docking verification of "component-target proteins" was further conducted. **Result:** A total of 16 active compounds involving in 74 key targets for depressive disorder were selected and confirmed from 138 chemical components of Houpo. Molecular docking analysis showed that compared with other components, ten volatile components in the 16 active compounds had good binding activities with the top 5 key targets [the top 5 of degree value, including insulin receptor (INS), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), guanine nucleotide binding protein alpha inhibition 3 (GNAI3), phosphatidylinositol 3-kinase receptor 1 (PIK3R1) and selective receptor B1 (GNB1)] and the 3 direct acting targets of popular drugs for depression [muscarinic acetylcholine receptor M2 (CHRM2), 5-hydroxytryptamine receptor (HTR) 2B and HTR2C]. The functional enrichment analysis showed the antidepressant mechanism of Houpo mainly involved neurotrophin signaling pathway, MAPK signaling pathway, calcium signaling pathway and neuroactive ligand-receptor interaction, etc. **Conclusion:** This study reveals the active ingredients and the mechanism of anti-depression of Houpo based on network pharmacology, a total of 16 key active ingredients related to anti-depression are selected. This paper can provide references for development of antidepressants and the discovery of quality markers of Houpo for anti-depression.

**[ Key words ]** depression; *Magnoliae Officinalis Cortex*; network pharmacology; material basis; lignans; alkaloids; volatile components

抑郁症的发病率逐年升高,近年来在世界范围内成为高发疾病,根据世界卫生组织预测,抑郁症未来可能成为全球第二大疾病负担,仅次于心脏病<sup>[1]</sup>。在我国抑郁症同样高发,而且以儿童、青年患者居多,临床常用的抗抑郁药物多有一定依赖性和毒副作用。近年来,中医药对抑郁症的疗效逐渐受到关注,如疏肝解郁类中药复方有逍遥散、小柴胡汤、柴胡舒肝散等;理气化痰类中药复方有半夏厚朴汤、栀子半夏汤等,这些中药复方在临床上广泛使用并取得了较好的效果<sup>[2]</sup>。厚朴属于理气类中药,临床主要用于治疗消化系统疾病,近年来随着临床应用的扩大,常用于抑郁症的治疗,例如龙飞等<sup>[3]</sup>采用强迫游泳实验和悬尾绝望实验 2 种小鼠抑郁模型,发现厚朴叶提取物能有效改善抑郁症状;屈晓晟等<sup>[4]</sup>采用谱效关系研究发现,厚朴酚、和厚朴酚的含量与抗抑郁作用相关。此外,临床上较多以厚朴为主要组成药物的中药复方可用于抑郁症的治

疗,如出自《金匱要略》的经典名方半夏厚朴汤(厚朴为君药),周鹏等<sup>[5]</sup>采用加味半夏厚朴汤与抗抑郁药物盐酸氟西汀联合使用治疗 72 例青年抑郁症患者(中医证型属肝气郁结证者),总有效率达 95% 以上,显著高于单纯盐酸氟西汀治疗组。姜博等<sup>[6]</sup>以黛力新为对照,观察加味半夏厚朴汤治疗 80 例脑卒中后轻、中度抑郁症患者的疗效,发现治疗后汉密顿抑郁量表评分显著降低,副反应量表(TESS)评分显著低于对照组,证明加味半夏厚朴汤可用于卒中后抑郁症的治疗。

综上所述,临床及动物实验证明厚朴具有抗抑郁作用,追溯古籍发现亦有厚朴治疗情感类疾病的记载,如《名医别录》<sup>[7]</sup>记载厚朴:“除惊,止烦满,厚肠胃”。因此,厚朴治疗抑郁症有其临床应用及中医理论支持,但其机制及药效物质基础并不明确,本实验拟运用网络药理学的思路和方法探讨厚朴治疗抑郁症的作用机制,筛选其与抑郁症相关的活性成

分,为抗抑郁药物的开发以及厚朴抗抑郁质量标志物的筛选提供参考。

## 1 网络药理学分析方法

**1.1 化学成分数据库构建** 目前报道的厚朴药材主要化学成分包括挥发性成分和非挥发性成分两大类,非挥发性成分主要为木脂素类、生物碱、有机酸等,采用中国知网,SciFinder,中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)等数据库检索厚朴药材所含化学成分<sup>[8]</sup>,并在 PubChem 数据库中获取这些成分 PubChem ID。

**1.2 厚朴化学成分作用靶标及抑郁疾病相关靶标的筛选** BATMAN-TCM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/index.php/Home/Index/index>)是由国家蛋白质检测中心研发的一个中药分子机制在线生物信息学分析软件。其主要功能包括中药活性成分靶标的预测,靶标的生物途径、功能富集分析等<sup>[9]</sup>。该数据库基于与已知药物的结构相似性评价、反向分子对接等方法,可预测目标化合物的潜在作用靶标。上传收集所得厚朴化学成分的 PubChem ID,以阈值(score cutoff) > 20,  $P < 0.05$  为筛选参数,获得厚朴化学成分的潜在作用靶标<sup>[9]</sup>。HPO(<http://human-phenotype-ontology.github.io/>)数据库采用确定的本体论工程学计算机科学对来自医学文献的表型信息进行结构化归纳,建立结构化的、可控的数据信息,可用于描述人类遗传与其他疾病中出现的表型特征,其数据每月更新 1 次<sup>[10]</sup>。采用 HPO 数据库,以抑郁(depression)为关键词,检索已报道的与抑郁症相关的靶标蛋白。

**1.3 厚朴作用靶标与抑郁症靶标相互作用及其网络可视化分析** String 数据库(<https://string-db.org/cgi/network.pl>)是一个基于多种证据的蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction)分析数据库<sup>[11]</sup>。采用 String 数据库对上述厚朴化学成分作用靶标与抑郁症相关靶标进行蛋白质相互作用分析。在分析过程中,将物种限定为人,通过设定最小相互作用得分(interaction score) > 0.7,剔除厚朴化学成分作用靶标中与抑郁疾病相关性不强的靶标,进而获得厚朴抗抑郁活性成分及其作用靶标。基于以上蛋白质相互作用分析结果,利用 Cytoscape v3.5.1 软件进行药物靶标与疾病靶标相互作用的可视化分析,通过 Network Analyzer 插件对网络的拓扑性质进行分析<sup>[12]</sup>,并从中选取连接度(degree),介度(betweenness),紧密度(closeness)值均大于中位数的靶标(在网络中发挥关键作用),构建“药物

靶标-疾病靶标”相互作用网络图。

**1.4 分子对接技术验证厚朴活性成分与关键靶标的结合活性** 分子对接技术是基于模拟配体与受体作用(包括静电作用、氢键作用、疏水作用、范德华作用等),预测蛋白-蛋白或小分子-蛋白间的结合模式及亲和力,从而进行药物靶点的虚拟筛选以及药效成分的预测。采用 SystemsDock Web Site 软件<sup>[13]</sup>,选取“药物靶标-疾病靶标”相互作用网络中 degree 排名前 5 的靶标、以及目前已知的治疗抑郁症化学药物的 3 种主要直接靶标毒蕈碱型乙酰胆碱受体 M2(CHRM2),5-羟色胺受体(HTR)2B 和 HTR2C,进行厚朴抗抑郁活性成分的分子对接验证。通过 docking score 值对成分与靶点之间的结合活性进行评价。

**1.5 “成分-靶点-通路”网络可视化分析** David 数据库(<https://david.ncicrf.gov/summary.jsp>)是一种可实现基因注释、分类、富集分析等功能的在线工具。采用该数据库对上述筛选的关键靶标进行信号通路富集分析,以  $P < 0.05$  为阈值,从中筛选厚朴抗抑郁潜在的信号通路,进一步揭示厚朴抗抑郁的作用机制<sup>[14]</sup>。与此同时,将上述筛选得到的抗抑郁“活性成分-关键作用靶标-信号通路”输入 Cytoscape v3.5.1 软件进行可视化分析,成分、靶标采用节点(node)表示,之间的相互作用通过边(edge)表示。

## 2 结果和分析

**2.1 厚朴治疗抑郁症的活性成分筛选及靶标识别** 通过数据库及文献调研共得到厚朴药材所含化学成分 138 种,包括厚朴酚,和厚朴酚,木兰苷 A,木兰苷 B 等木脂素类;木兰花碱、柳叶木兰碱、木兰箭毒碱等生物碱类;香芹酚, $\alpha$ -长叶蒎烯, $\alpha$ -蒎烯, $\beta$ -水芹烯等挥发性成分。将这些化合物的数据文件(PubChem ID)输入 BATMAN-TCM 数据库,基于结构相似的化合物其靶标相近的原理,对 138 种化学成分的作用靶标进行预测,在 score cutoff > 20,  $P < 0.05$  条件下,共获得厚朴活性化合物 129 个,涉及靶标 316 个。此外,基于 HPO 数据库,共筛选得到与抑郁疾病相关的靶标 528 个。采用 String 数据库对厚朴化学成分作用靶标与抑郁症相关靶标进行蛋白质相互作用分析,基于相互作用得分(interaction score) > 0.7 删除与抑郁症靶标无关的药物靶标及相应化合物;利用 Cytoscape v3.5.1 软件可视化展现药物靶标与疾病靶标的相互作用关系,通过 Network Analyzer 插件分析网络拓扑性质,选取其中连接度、介度、紧密度<sup>[12]</sup>均大于中位数的靶点(在网

络中发挥关键作用)构建“药物作用靶标-抑郁疾病靶标”相互作用关系,其中共计 74 个抗抑郁靶标,涉及抗抑郁活性成分 16 个,包括 10 个挥发性成分 {香芹酚 (*O*-thymol, M7),  $\alpha$ -衣兰油烯 (alpha-muuroleone, M8),  $\beta$ -桉叶醇 ( $\beta$ -eudesmol, M9),  $\beta$ -水芹烯 [(+)-beta-phellandrene, M10],  $\alpha$ -蒎烯 [( - )-alpha-pinene, M11],  $\beta$ -人參烯 ( $\beta$ -panasinsene, M12),

雪松烯 [( - )-alpha-cedrene, M13],  $\alpha$ -长叶蒎烯 (alpha-longipinene, M14),  $\alpha$ -蛇麻烯 (alpha-humulene, M15) 和金合欢烯 (farnesene, M16)} 和 6 个非挥发性成分 [厚朴三醇 B (magnatriol B, M1), 和厚朴酚 (honokiol, M2), 厚朴酚 (magnolol, M3), 厚朴木脂体 (magnolignan, M4), 柳叶木兰碱 (salicifoline, M5) 和木兰箭毒碱 (magnocurarine, M6)]。见图 1。

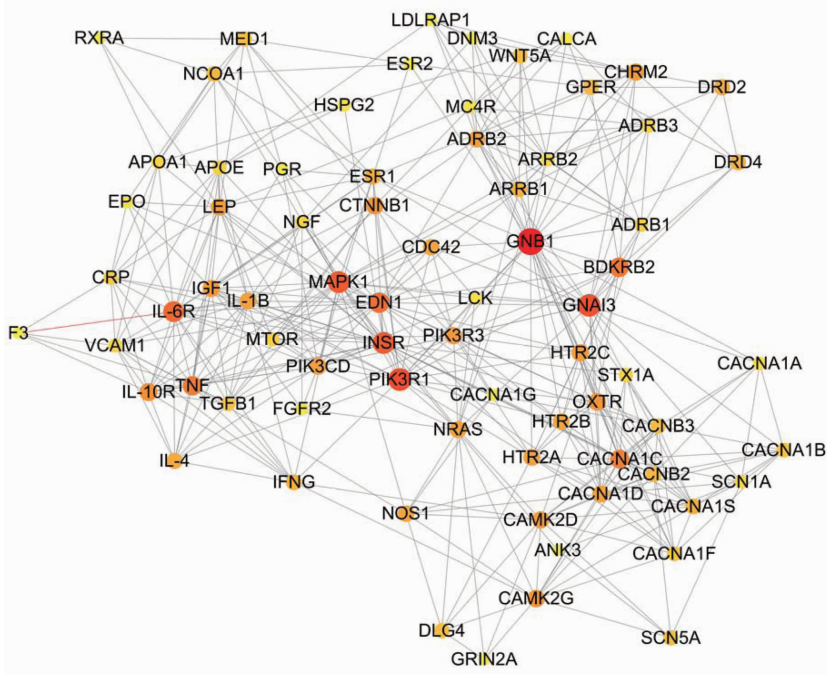


图 1 厚朴“药物作用靶标-抑郁疾病靶标”的相互作用网络

Fig. 1 Interaction network of “drug targets-depression disease targets” of Magnoliae Officinalis Cortex

由图 1 可知,靶标以圆形节点表示,颜色越深、节点越大表示 degree(代表网络中具有相互作用的蛋白数目)越高,在厚朴抗抑郁靶标网络中的作用越重要。表 1 列举了 degree 排名前 20 的靶标,主要包括选择性受体 B1 (GNB1),丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1),胰岛素受体 (INSR),HTR2A,CHRM2,白细胞介素-6 受体 (IL-6R),肿瘤坏死因子 (TNF),钙离子通道基因 (CACNA1C) 等。其中 HTR 是目前抗抑郁药的主要靶标,基于该靶标的单胺类神经递质受体学说是抑郁症病理机制核心学说之一。该学说认为抑郁症的发生与 HTR 的数量及敏感性关系密切,抗抑郁药物阿戈美拉汀、氟西汀都是 HTR2C 拮抗剂<sup>[15]</sup>。基于 CHRM2 的胆碱能/去甲肾上腺素能平衡学说是与抑郁症发病相关的另一重要学说,有研究显示,CHRM2 与重度抑郁有关,而且存在性别差异,与女性抑郁显著相关<sup>[16]</sup>。此外,近年来越来越多的研究证据显示,抑郁症患者存在免疫功能的激活。根据文献报道,未经治疗的抑郁症患者前

额叶脑组织 IL-1, IL-6, IL-10 和 TNF- $\alpha$  等表达显著增加<sup>[17]</sup>,很多抗抑郁药物都有助于调节抑郁患者血清炎症因子的表达,如度洛西汀可以改善抑郁症患者认知功能,其机制与调节血清 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 表达水平有关<sup>[18]</sup>。另外,表 1 中 degree 最高的 GNB1 靶标是双相情感障碍抑郁症/精神分裂症的候选基因,有研究报道 GNB1 基因在汉族人群精神分裂症和双相情感障碍呈现高表达<sup>[19]</sup>。

## 2.2 厚朴抗抑郁成分与关键靶标的分子对接验证

从表 1 中选取 degree 排名前 5 的重要靶标 (INSR, MAPK1, GNAI3, PIK3R1, GNB1) 以及 3 个治疗抑郁症直接靶标 (CHRM2, HTR2B, HTR2C), 分别与 16 种厚朴抗抑郁活性成分进行分子对接验证。在 PDB (the protein data bank) 数据库中搜索得到靶标蛋白的 PDB ID, 将这些靶标的 PDB ID 与厚朴 16 个活性成分的分子结构一起输入 SystemsDock Web Site 进行分子对接,对药物与蛋白的相互作用进行验证。docking score 代表小分子与蛋白相互作用强

表 1 厚朴“药物作用靶标-抑郁疾病靶标”相互作用网络中的关键靶标

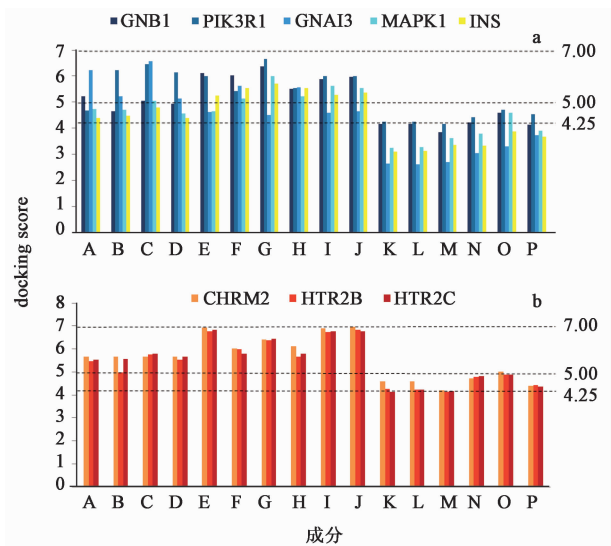
Table 1 Key targets in interaction network of “drug targets-depression disease targets” of *Magnoliae Officinalis Cortex*

No.	靶标	degree	No.	靶标	degree
1	GNB1	51	11	IL-10R	25
2	磷脂酰肌醇 3-激酶受体 1(PIK3R1)	39	12	钙/钙调蛋白依赖蛋白激酶 II $\gamma$ (CAMK2G)	24
3	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 $\alpha$ 抑制 3(GNAI3)	38	13	连环蛋白- $\beta_1$ (CTNNB1)	24
4	MAPK1	36	14	催产素受体(OXTR)	24
5	INSR	36	15	HTR2C	23
6	IL-6R	33	16	CHRM2	23
7	内皮素 1(EDN1)	32	17	人瘦素(LEP)	23
8	缓激肽受体 B2(BDKRB2)	30	18	钙/钙调蛋白依赖蛋白激酶 II $\delta$ (CAMK2D)	23
9	TNF	29	19	PIK3R3	23
10	CACNA1C	28	20	胰岛素样生长因子 1(IGF1)	23

度, docking score > 4.25 表示有一定的结合活性, docking score > 5.0 表明有较好的结合活性, docking score > 7.0 则说明具有强烈的结合活性<sup>[20]</sup>。由图 2(a)可知,大多数挥发性成分(M7 ~ M16)与 degree 排名前 5 的靶标均具有较好的结合活性, docking score 介于 7.0 ~ 5.0; M6 与 GNB1, PIK3R1, MAPK1, M5 与 MAPK1 均具有一定的结合活性(docking score > 4.25); M3 和 M2 与这些靶点的结合作用较弱,提示以上成分可能通过不同的机制发挥抗抑郁作用。由图 2(b)可知,挥发性成分(M7 ~ M16)的结合活性更强,而 M3 和 M2 与 CHRM2 具有一定的结合活性, M4 与 CHRM2, HTR2B, HTR2C 均具有一定的亲和力,提示厚朴活性成分对抑郁症的直接靶标具有调节作用。在这 16 个成分中,  $\alpha$ -衣兰油烯与 CHRM2 的 docking score 最高。

### 2.3 厚朴治疗抑郁症相关靶标的通路富集分析

通过对厚朴抗抑郁的候选靶标进行通路富集分析,得到 10 条主要的生物信号通路,按富集的靶标总数( $n$ )排序分别为钙离子信号通路(calcium signaling pathway,  $n = 20, P = 1.09 \times 10^{-13}$ ), MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway,  $n = 19, P = 1.60 \times 10^{-9}$ ), 神经活性配体-受体相互作用(neuroactive ligand-receptor interaction,  $n = 14, P = 1.07 \times 10^{-5}$ ), T 细胞受体信号通路(T cell receptor signaling pathway,  $n = 11, P = 6.13 \times 10^{-7}$ ), 肌动蛋白细胞骨架的调控(regulation of actin cytoskeleton,  $n = 10, P = 1.18 \times 10^{-3}$ ), 趋化因子信号通路(chemokine signaling pathway,  $n = 10, P = 4.30 \times 10^{-4}$ ), 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,  $n = 10, P = 1.53 \times 10^{-4}$ ), Janus 激酶-信号转导子和转录激活子信号通路(JAK-



A. M9; B. M11; C. M7; D. M10; E. M14; F. M12; G. M16; H. M15; I. M13; J. M8; K. M3; L. M2; M. M1; N. M4; O. M6; P. M5; a. degree 排名前 5 靶标; b. 直接靶标

图 2 厚朴抗抑郁成分与 degree 排名前 5 靶标以及 3 种抗抑郁症直接靶标的分子对接验证

Fig. 2 Molecular docking of 16 important compounds from *Magnoliae Officinalis Cortex* with key targets

STAT signaling pathway,  $n = 9, P = 5.80 \times 10^{-4}$ ), 神经营养因子信号通路(neurotrophin signaling pathway,  $n = 9, P = 1.25 \times 10^{-4}$ ), 促性腺激素释放激素信号通路(GnRH signaling pathway,  $n = 9, P = 2.31 \times 10^{-5}$ )。在神经营养因子信号通路中, 脑源性神经营养因子(BDNF)是海马结构和功能改变的物质基础, 与抑郁症的发生密切相关, 很多抗抑郁药物通过调节 BDNF 发挥抗抑郁作用。据临床报道, 很多抑郁症患者血清 BDNF 水平明显下降, 部分患者血清 BDNF 甲基化水平也会发生改变<sup>[21]</sup>。使用抗

抑郁药物治疗, BDNF 水平逐渐恢复<sup>[22]</sup>。厚朴与神经营养因子信号通路相关的靶点共有 9 个, 其中神经生长因子是抗抑郁药物的直接靶标, 细胞分裂周期蛋白 42 (CDC42) 属于 Ras 相似物鸟苷三磷酸酶 (Rho GTPases) 家族, 对于维持脑室区神经干细胞的自我更新和哺乳动物神经元发育过程中的黏附连接具有重要作用<sup>[23]</sup>, CAMK2D 和 CAMK2G 为抑郁症的风险表达基因<sup>[24]</sup>。

MAPK 信号通路是 BDNF 下游信号通路中与抑郁症关系最密切的一条, 该通路在调节突触的可塑性、长时程增强效应以及修复和维持受损神经元的存活等方面都起到积极作用<sup>[25]</sup>。使用 MAPK 的激酶抑制剂阻断下游途径会导致小鼠产生抑郁样行为, 即使使用抗抑郁药物, 如去甲丙咪嗪和盐酸舍曲林片也无法改善<sup>[26]</sup>。厚朴与 MAPK 信号通路相关的靶点共有 19 个, 包括 MAPK1, TNF, CACNA 等。钙离子信号通路是筛选出的靶点最多的一条通路, 与之相关的靶点有 20 个 [一氧化氮合成酶 1 (NOS1), CAMK2G, *N*-甲基-*D*-天氨酸离子能谷氨酸受体 2A (GRIN2A), OXTR 等]。该通路在抑郁症发病及抗抑郁治疗途径中同样具有重要作用, Nowak 等<sup>[27]</sup>报道抑郁症患者额叶皮质 *N*-甲基-*D*-天氨酸 (NMDA) 受体 (谷氨酸调节的钙离子通道) 的结合率显著下降。钟晓明等<sup>[28]</sup>研究发现抑郁模型小鼠海马突触内的  $Ca^{2+}$  浓度明显升高。抗抑郁药物氯胺酮属于 NMDA 受体拮抗剂, 还有右旋/左旋氯胺酮, NMDA 受体亚型调节剂都被证明有与氯胺酮类似的抗抑郁效果<sup>[29]</sup>。尼莫地平 ( $Ca^{2+}$  通道阻滞剂) 也常与抗抑郁药物联合使用治疗脑卒中后抑郁<sup>[30]</sup>。神经活性配体-受体相互作用通路调节生理节律、内分泌、情绪、学习和记忆等, T 细胞受体信号通路、趋化因子信号和 JAK-STAT 信号通路与抑郁过程中的免疫功能紊乱相关<sup>[31-33]</sup>, 另外, JAK/STAT 信号通路还参与了神经细胞的增殖、分化、凋亡以及神经突触可塑性等病理过程<sup>[33]</sup>。综上所述, 富集分析结果表明厚朴主要通过调节神经递质的释放和传递、神经干细胞生长发育、钙离子信号通路以及免疫炎症等过程来发挥抗抑郁作用。

**2.4 厚朴治疗抑郁症的“成分-靶标-通路”网络可视化分析** 采用 Cytoscape v3.5.1 软件绘制厚朴抗抑郁作用“活性成分-靶标-通路”网络分析图, 见图 3。基于厚朴药材 138 个成分, 筛选出厚朴抗抑郁的 16 种有效成分, 其中木脂素类 4 个 (厚朴三醇 B, 和厚朴酚, 厚朴酚, 厚朴木脂体), 生物碱类 2 个 (柳叶

木兰碱、木兰箭毒碱), 以及挥发性成分 10 个 (M7 ~ M16)。其中, 厚朴酚、和厚朴酚的抗抑郁作用已经通过动物实验得到证实, 厚朴酚主要通过增加抑郁模型大鼠海马区 BDNF 表达促进神经元的再生<sup>[34]</sup>, 与本研究预测结果一致; 和厚朴酚可通过调节色氨酸 (Trp) 通路限速酶的表达, 促进 Trp 转化为 5-羟色胺 (5-HT), 增加脑内 5-HT 水平<sup>[35]</sup>。其他成分的抗抑郁作用尚未见报道。从以上结果可见, 厚朴的抗抑郁作用是通过多成分、多靶点协同作用的结果, 在进行厚朴药材质量研究时, 需考虑进行这 16 个成分的含量控制, 以确保疗效; 在进行厚朴抗抑郁药效研究时, 需重点关注以上靶点及通路。

### 3 讨论

中药是一种具有多种生物活性的多组分复杂体系, 在干预疾病过程中, 各组分之间表现出复杂的关联规律, 体现了多药效的特点。这也是中药复方配伍原则与中医药干预的特点和优势。因此, 以临床功效为核心, 开展中药化学组分与生物效应关联性研究, 将药效内涵植入中药质量评价体系, 是合理评价中药质量与疗效一致性, 突显中药内在价值的有效途径。网络药理学是一门涉及药物化学、药理学、生物信息学、计算化学等多学科领域的新兴学科, 基于该学科的中药药效物质基础研究体系以整体性和系统性为基点, 采用复杂的网络模式分析中药的作用机制, 特别适宜中药多组分、多药效的复杂体系研究, 为基于活性的质量标志物的发现带来新的思路和方法<sup>[36-37]</sup>。

本研究运用网络药理学的思路和方法进行厚朴抗抑郁活性成分的筛选及分子机制研究, 共获得 16 个与抑郁症相关的活性成分, 主要分为木脂素类 (M1 ~ M4), 生物碱类 (M5, M6) 及挥发性成分 (M7 ~ M16) 三类。在获得的 16 种成分中, 有 8 种成分具有质量控制的报道, 如厚朴酚、和厚朴酚为 2015 年版《中国药典》对厚朴的质控成分; 夏新中等<sup>[38]</sup>报道厚朴中含  $\alpha$ -衣兰油烯 0.699%,  $\beta$ -水芹烯 0.127%,  $\alpha$ -蒎烯 0.077%,  $\alpha$ -蛇麻烯 1.163%; 崔建芳等<sup>[39]</sup>报道厚朴中含柳叶木兰碱 0.05% ~ 0.16%, 木兰箭毒碱 0.15% ~ 0.25%, 可见这些成分在厚朴药材中含量较高, 可以考虑作为厚朴抗抑郁的质量控制指标。另有 8 种成分的含量未见文献报道, 因此, 在后续的研究中, 应开展基于以上靶点及通路的体内外实验验证, 以及抗抑郁活性与相关成分含量间的组效关系研究。在此基础上, 进一步确认和筛选厚朴抗抑郁的质量标志物, 并采用气相色谱、高效

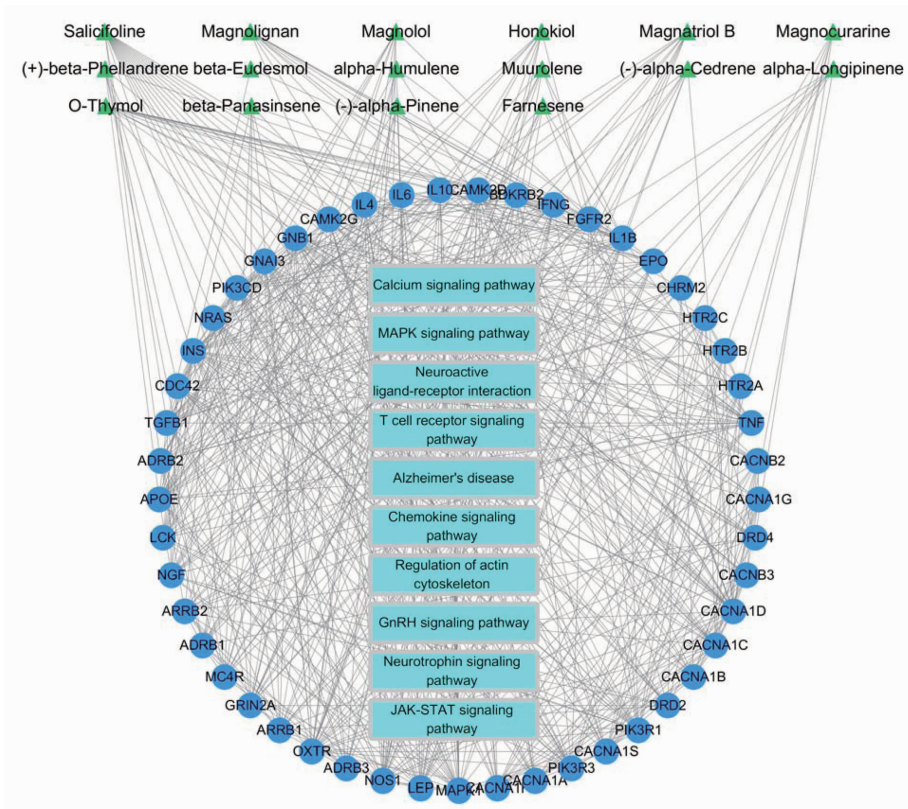


图 3 厚朴抗抑郁“成分-靶点-通路”的网络可视化分析

Fig. 3 Network visualization analysis of "Components-targets-pathways" for antidepressant effect of Magnoliae Officinalis Cortex

液相色谱等分析技术,通过特征图谱、一测多评等方法进行综合评价。

[参考文献]

[ 1 ] Mokdad A H, Forouzanfar M H, Daoud F, et al. 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 [ J ]. Lancet, 2016, 387 ( 10036 ) : 2383-2401.

[ 2 ] 张颖,陈宇霞,黄世敬. 柴胡及柴胡类方剂的抗抑郁研究现状 [ J ]. 世界中西医结合杂志, 2014, 9 ( 9 ) : 985-988.

[ 3 ] 龙飞,韩小勤,龙绍疆,等. 厚朴叶抗抑郁作用的初步研究 [ J ]. 成都中医药大学学报, 2014, 37 ( 1 ) : 39-41.

[ 4 ] 屈晓晟,杨义芳,张静,等. 梔子厚朴汤的不同提取方法及其抗抑郁谱效 [ J ]. 中国医药工业杂志, 2014, 45 ( 5 ) : 424-428.

[ 5 ] 周鹏,陈林庆,彭晓明,等. 半夏厚朴汤加味联合盐酸氟西汀治疗青年抑郁症临床观察 [ J ]. 中医药研究, 2011, 9 ( 2 ) : 247-248.

[ 6 ] 姜博,赵永辰. 加味半夏厚朴汤治疗脑卒中后轻中度抑郁临床疗效观察 [ J ]. 四川中医, 2014, 32 ( 9 ) : 104-106.

[ 7 ] 陶弘景. 名医别录 [ M ]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 125.

[ 8 ] RU J L, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [ J ]. J Cheminform, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.

[ 9 ] LIU Z, GUO F, WANG Y, et al. BATMAN-TCM: a bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine [ J ]. Sci Rep, 2016, doi: 10.1038/srep21146.

[ 10 ] 刘学. 基于网络药理学方法研究玉屏风散治疗哮喘的作用机理 [ D ]. 成都: 西南交通大学, 2017.

[ 11 ] Robinson P N, Mundlos S. The human phenotype ontology [ J ]. Clin Genet, 2010, 77 ( 6 ) : 525-534.

[ 12 ] Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration [ J ]. Nucleic Acids Res, 2013, 41 ( Database issue ) : D808-D815.

[ 13 ] Hsin K Y, Matsuoka Y, Asai Y, et al. systemsDock: a web server for network pharmacology-based prediction and analysis [ J ]. Nucleic Acids Res, 2016, 44 ( W1 ) : W507-W513.

[ 14 ] Lopes C T, Franz M, Kazi F, et al. Cytoscape Web: an interactive web-based network browser [ J ]. Bioinformatics, 2010, 26 ( 18 ) : 2347-2348.

- [15] 张永超,黄世敬. 5-羟色胺受体与抑郁症相关性的研究进展[J]. 医学综述, 2014, 20(5): 772-775.
- [16] 王美萍,张文新. CHRM2 基因 rs1824024 多态性与青少年早期抑郁的关系[J]. 心理学报, 2010, 42(8): 853-861.
- [17] 王婷婷,吴辉,张蓓蓓,等. 抑郁症发病机制与临床抗抑郁药研究进展[J]. 生命科学仪器, 2014(6): 28-33.
- [18] 张清清,王章元,欧阳华,等. 度洛西汀治疗抑郁症患者对认知功能及 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 的影响[J]. 国际精神病学杂志, 2017(6): 1001-1003.
- [19] SUN Y, TAO Y, WANG J, et al. The schizophrenia/bipolar disorder candidate gene GNB1L is regulated in human temporal cortex by a cis-acting element located within the 3'-region[J]. *Neurosci Bull*, 2015, 31(1): 43-52.
- [20] 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): e83922.
- [21] Taliáz D, Stall N. Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis[J]. *Mol Psychiatry*, 2010, 15(1): 80-92.
- [22] Brunoni A R, Baeken C, Machado-Vieira R, et al. BDNF blood levels after electroconvulsive therapy in patients with mood disorders: a systematic review and meta-analysis[J]. *World J Biol Psychiatry*, 2014, 15(5): 411-418.
- [23] Cappello S, Attardo A, WU X, et al. The Rho-GTPase cdc42 regulates neural progenitor fate at the apical surface[J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(9): 1099-1107.
- [24] Möller-Levet C S, Archer S N, Bucca G, et al. Effects of insufficient sleep on circadian rhythmicity and expression amplitude of the human blood transcriptome [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(12): E1132-E1141.
- [25] 胡莺燕,洪武,方贻儒. 脑源性神经营养因子及其信号通路与抑郁症[J]. 上海精神医学, 2009, 21(3): 185-187.
- [26] Duman C H, Schlesinger L, Kedaman M, et al. A role for MAP kinase signaling in behavioral models of depression and antidepressant treatment [J]. *Biol Psychiat*, 2007, 61(5): 661-670.
- [27] Nowak G, LI Y, Paul I A. Chronic glycine treatment desensitizes the behavioral response to 1-aminocyclopropanecarboxylic acid (ACPC), a partial agonist at the strychnine-insensitive glycine site of the NMDA receptor complex [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2000, 107(2): 123-131.
- [28] 钟晓明,毛庆秋,黄真,等. 金丝桃提取物对应激动物模型的抗抑郁作用及其机理研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2006, 30(2): 214-216.
- [29] 张广芬,杨建军. NMDA 受体相关抗抑郁药物的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(1): 1-4.
- [30] 连妙芬,贾萍娟,贾震雷,等. 帕罗西汀联合尼莫地平治疗卒中后焦虑抑郁躯体化的相关性研究(附 80 例报告)[J]. 北京医学, 2014, 36(10): 874-876.
- [31] 梁静静,吕俊,鲁林荣. T 细胞受体(TCR)信号传递的调控及其功能[J]. 生命科学, 2016, 28(2): 153-161.
- [32] 顾晓,唐孝达,顾沈阳,等. 趋化因子信号对人外周血单个核细胞的免疫活化作用[J]. 中华泌尿外科杂志, 2003, 24(7): 7959-7961.
- [33] 段雪涛,晋红宾,易亚乔,等. 栝楼薤白半夏汤预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤 JAK-STAT 细胞信号传导调节的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 147-150.
- [34] 傅强,马占强,杨文,等. 厚朴酚对慢性温和刺激所致抑郁小鼠的抗抑郁作用研究[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(2): 47-51.
- [35] 王萍萍,刘保秀,杨桃,等. 厚朴酚对急慢性应激小鼠的抗抑郁作用及机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2017, 52(24): 2161-2165.
- [36] 吴嘉瑞,金燕萍,王凯欢,等. 基于网络药理学的“金银花-连翘”药对作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 179-183.
- [37] 刘鑫馗,吴嘉瑞,蔺梦娟,等. 基于网络药理学的四君子汤作用机制分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(16): 194-202.
- [38] 夏新中,肖静,夏庭君. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱法测定川厚朴挥发性成分[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2017, 14(20): 5-7.
- [39] 崔建芳,章观德,宋万志. 反相离子对高效液相色谱分析厚朴类原植物中季铵生物碱[J]. 药学学报, 1988, 23(5): 383-387.

[责任编辑 刘德文]