

文章编号 1006-8147(2021)05-0439-08

论 著

## 基于网络药理学酸枣仁生物碱抗抑郁作用机制的研究

孙丹晨, 王志慧, 乔卫

(天津医科大学药学院天然药物学系, 天津 300070)

**摘要** 目的:采用网络药理学方法预测酸枣仁生物碱抗抑郁的作用机制。方法:首先挖掘相关的数据库如TCMSP、TCMDatabase@Taiwan、Drug Bank、Pharm Mapper、DAVID等,获得酸枣仁生物碱的主要成分和生物碱抗抑郁的潜在作用靶点,并对潜在靶点进行KEGG通路和GO分析。进一步采用软件Cytoscape构建并分析“成分-靶点-通路”生物网络图,最终从整体角度预测酸枣仁生物碱抗抑郁的作用机制。结果:酸枣仁生物碱抗抑郁的主要成分包括荷叶碱(nuciferine)、原荷叶碱(normuciferine)、右旋衡州乌药碱(coclaurine)、木兰花碱(magnoflorine),主要作用于钙调蛋白(CALMI)、表皮生长因子受体(EGFR)、糖原合成酶激酶-3β(GSK3B)、视黄酸受体(RXRA)等靶点,涉及并影响磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(PI3K-Akt)、钙离子等信号通路以及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联、蛋白结合等生物进程,发挥抗抑郁作用。结论:初步预测获得酸枣仁生物碱抗抑郁作用机制,多成分-多靶点-多通路的特点符合中医整体综合作用理念。

**关键词** 酸枣仁生物碱;网络药理学;抗抑郁;GO分析;KEGG分析

中图分类号 R961+R749.4

文献标志码 A

### Study on antidepressant mechanism of *Ziziphi Spinosae Semen* alkaloid based on network pharmacology

SUN Dan-chen, WANG Zhi-hui, QIAO Wei

(Department of Natural Medicines, College of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

**Abstract Objective:** To explore the anti-depression mechanism of total alkaloids from *Ziziphi Spinosae Semen* (ZSS) based on network pharmacology. **Methods:** First, major components and potential anti-depressant targets of ZSS alkaloids were obtained by mining relevant databases such as TCMSP, TCMDatabase@Taiwan, Drug Bank, Pharm Mapper, DAVID, etc. KEGG pathway and GO analysis were performed on the potential targets. Furthermore, the software Cytoscape was used to construct and analyze the biological network diagram of "component-target-pathway". Finally, the anti-depressive mechanism of ZSS alkaloids was predicted from an overall perspective. **Results:** It was predicted that the main anti-depressant components of ZSS alkaloids included nuciferine, normuciferine, coclaurine and magnoflorine, which played an anti-depressant role mainly by acting on the targets of calmodulin-1 (CALMI), epidermal growth factor receptor (EGFR), glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3B) and retinoic acid receptor RXR-α (RXRA), influencing phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B (PI3K-Akt) and calcium signaling pathways as well as mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade and protein binding biological processes. **Conclusion:** The antidepressant mechanism of ZSS alkaloids is preliminarily predicted, and the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway are consistent with the concept of integrated action of traditional Chinese medicine.

**Key words** ZSS alkaloids; network pharmacology; antidepressant; GO analysis; KEGG analysis

抑郁症是一种以情绪低落、自我价值感降低、快感缺失为主要症状的精神类疾病<sup>[1]</sup>,多伴有失眠症状,严重时自杀或自杀倾向,已成为严重威胁人类身心健康的世界性疾病。目前对抑郁症的治疗主要以西药为主,但是西药存在不良反应多、耐药性及过敏性等问题,所以对相关中药的研究日益迫切。

酸枣仁为鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子,是临床治疗失眠症、抑郁症、焦虑症的常用中药<sup>[2]</sup>,含有皂苷、黄酮、脂肪酸、生物碱等化学成分<sup>[3]</sup>。有研究表明,酸枣仁生物碱具有抗焦虑、镇静催眠、抗抑郁

的作用<sup>[4]</sup>。酸枣仁生物碱所含化学成分类型多样,且通过多目标、多渠道、多层次综合调控发挥药效<sup>[5]</sup>。因此复杂的靶点和机制是研究的难点。目前网络药理学已广泛应用于中医药的研究和开发领域,为研究中医药与靶点疾病的关系提供了新的契机<sup>[6]</sup>。故本文应用网络药理学方法筛选酸枣仁生物碱治疗抑郁症的有效成分,并且对成分发挥作用的潜在靶点与信号通路进行整合与分析,初步阐明其抗抑郁的作用机制。

### 1 材料与方法

1.1 数据库及软件 TCMSP(<https://tcmsp.com/tcm-sp.php>);TCMDatabase@Taiwan(<http://tcmcmu.edu.tw/>);Pubmed(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>);Pharm Map-

基金项目 天津市自然科学基金重点项目(17JCZDJC33200)

作者简介 孙丹晨(1997-),女,硕士在读,研究方向:中药药效物质机制研究;通信作者:乔卫, E-mail: qiaowei@tmu.edu.cn。

per Server(<http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/>); UniProt Database(<http://www.uniprot.org/>);Drug Bank Database([http:// www. drugbank.ca/](http://www.drugbank.ca/), Version 4.3); DAVID Bioinformatics Resources 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>);美国化学文摘数据库(Che-mical Abstract Service,CAS);Chem Bio Draw Ultra 12.0; Cytoscape 3.4.0。

1.2 酸枣仁生物碱主要成分收集 通过检索 TCMSIP、TCMDatabase@Taiwan、Pubmed、CAS 等数据库收集酸枣仁生物碱成分。

1.3 主要成分抗抑郁潜在作用靶点的反向预测及筛选 根据已知 18 个酸枣仁生物碱成分的化学结构信息,利用 Chem Bio Draw Ultra 12.0 软件画出化学结构,并以(\*sdf)格式保存,将文件上传 Pharm Mapper Server,靶点蛋白种类选择为 Human Protein Targets,每个中药成分将得到 300 个潜在抗抑郁的作用靶点<sup>[7]</sup>。然后在 UniProt 数据库中筛选作用靶点物种为人,并将名称校正为官方名称<sup>[8]</sup>,可以获得该靶点的基因、功效等相关信息。在 Drug Bank 数据库中检索目标靶点,并与美国食品药品监督管理局(FDA)批准的小分子抗抑郁药靶点对比。应用 Cytoscape3.4.0 筛选各靶点的 Degree 大于 8 的靶蛋白,用于生物网络图的构建。

1.4 抗抑郁靶点 KEGG 及 GO 分析 将 Pharm Map-

per Server 中返回的与抑郁相关的潜在靶点上传到 DAVID Bioinformatics Resources 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>)数据库,进行 GO 分析和 KEGG 通路分析。KEGG 整合了基因组、化学和系统功能信息,靶点蛋白直接反映到靶点通路上,药物靶向富集途径一般被认为是药物调节的途径和药物发挥疗效的机制。通过 GO 富集分析,获得靶标的生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)富集项,并预测靶标的功能分布。

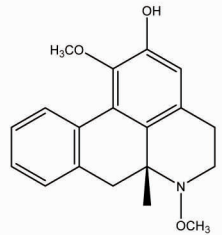
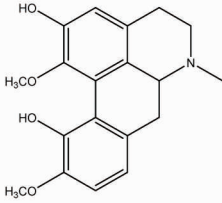
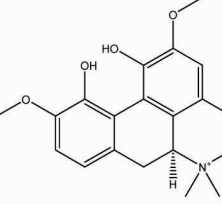
1.5 生物网络图的构建 Cytoscape3.4.0 是一款开放源码的图形化显示网络并进行分析和编辑的生物咨询软件,可将基因表达信息、靶点通路疾病相关功能注释整合进网络中,观察彼此之间的关联性<sup>[9]</sup>。每个节点(Node)分别代表成分、靶点、通路,节点与节点之间的连接即为边(Edge)代表各节点之间的相互作用。通过综合衡量 3 个指标即网络节点度(Degree)、中介中心性(Node betweenness)、接近中心性(Closeness)去评估网络图中每个节点的显著性。网络节点度、中介中心性、接近中心性值越大,揭示其在网络中的显著性越高。

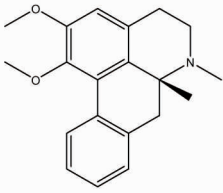
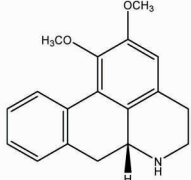
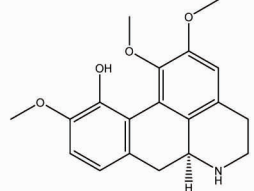
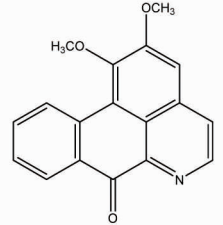
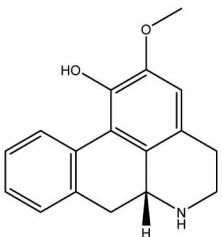
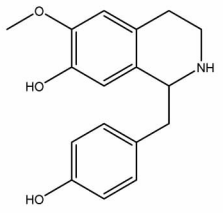
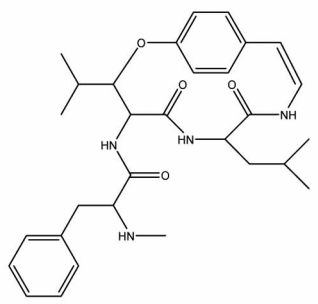
2 结果

2.1 酸枣仁生物碱主要成分 通过检索化学专业数据收集并筛选酸枣仁生物碱成分,最终获得 18 个成分。具体化学信息如表 1 所示。

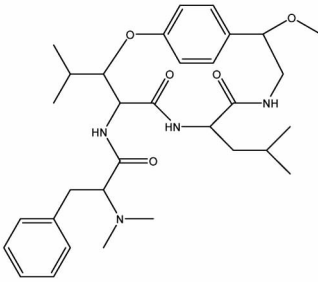
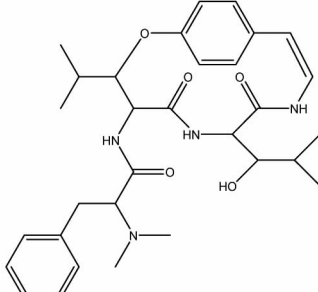
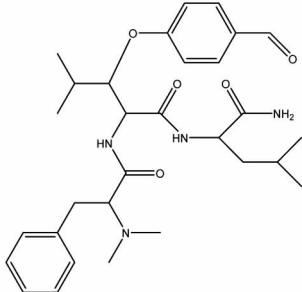
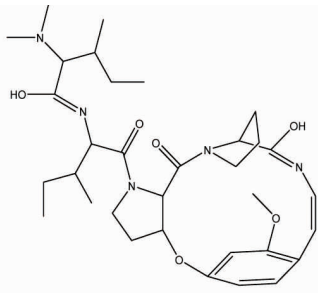
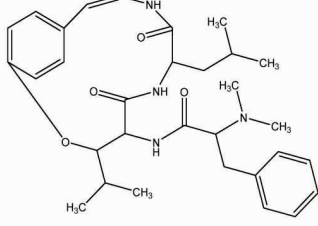
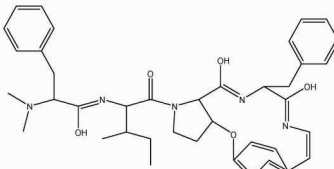
表 1 酸枣仁生物碱成分的化学信息

Tab 1 Chemical information of alkaloid constituents of ZSS

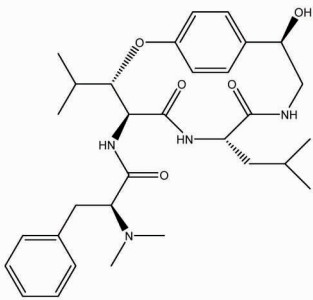
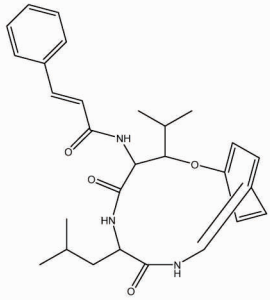
分类	编号	成分	结构
阿朴菲类	1	N-甲基巴婆碱 N-methylasimilobine	
	2	酸李碱 zizyphusine	
	3	木兰花碱 magnoflorine	

续表			
分类	编号	成分	结构
	4	荷叶碱 nuciferin	
	5	原荷叶碱 nornuciferine	
	6	去甲异紫堇定碱 norisocorydine	
	7	观音莲明碱 lysicamine	
氧化阿朴菲类			
	8	鹅掌楸碱 caaverine	
苺基四氢异喹啉类	9	右旋衡州乌药碱 coclaurine	
环肽类	10	酸枣仁碱 B sanjoinine B	

续表

分类	编号	成分	结构
	11	酸枣仁碱 D sanjoinine D	
	12	酸枣仁碱 F sanjoinine F	
	13	酸枣仁碱 G <sub>2</sub> sanjoinine G <sub>2</sub>	
	14	枣碱-A zizyphine-A	
	15	欧鼠李叶碱 frangufoline	
	16	安木非宾碱 B amphibine B	

续表

分类	编号	成分	结构
	17	酸枣仁碱 G <sub>1</sub> sanjoinine G <sub>1</sub>	
	18	N-[3-Isopropyl-7-(2-methylpropyl)-5,8-dioxo-2-oxa-6,9-diazabicyclo[10.2.2]hexadeca-10,12,14(1),15-tetren-4-yl]-3-phenylpropenamide	

2.2 主要成分抗抑郁潜在作用靶点 将 Pharm Mapper Server 返回的作用靶点与 Drug Bank 中 FDA 批准的小分子抗抑郁药物靶点对比分析,筛选出 15 个抗抑郁相关潜在靶点(见表 2)以及 10 个相关具有抗抑郁作用的活性生物碱成分(N-甲基巴婆碱、酸李碱、木兰花碱、荷叶碱、异紫堇定碱、原荷叶碱、乌药碱、观音莲明碱、鹅掌楸叶碱、酸枣仁环肽)。

表 2 酸枣仁生物碱成分抗抑郁潜在靶点信息

Tab 2 Information on potential antidepressant targets of alkaloid constituents in ZSS

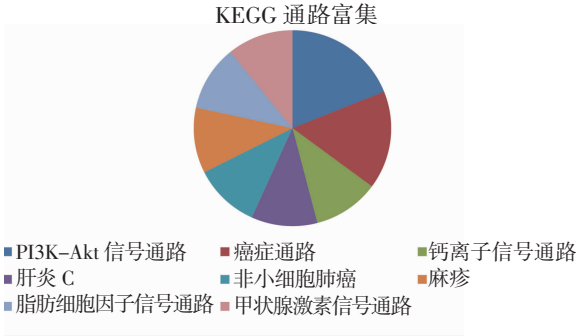
序号	UniportID	靶点名称	基因名称	网络节点度
1	P0DP23	钙调蛋白	CALM1	34
2	P00533	表皮生长因子受体	EGFR	32
3	P49841	糖原合酶激酶-3 β	GSK3B	32
4	P19793	视黄酸受体-α	RXRA	30
5	P35354	前列腺素 G/H 合成酶 2	PTGS2	22
6	O60674	酪氨酸受体激酶 2	JAK2	15
7	P60568	白细胞介素 2	IL2	14
8	P14555	膜相关的磷脂酶 A2	PLA2G2A	12
9	P07550	β <sub>2</sub> 肾上腺素能受体	ADRB2	11
10	P20309	毒蕈碱乙酰胆碱受体 M3	CHRM3	11
11	P00326	乙醇脱氢酶 1c	ADH1C	10
12	P52333	酪氨酸受体激酶 3	JAK3	9
13	P28702	视黄酸受体-β	RXRB	9
14	P14416	D(2)多巴胺受体	DRD2	9
15	P23975	钠离子依赖去甲肾上腺素转运体	SLC6A2	9

2.3 潜在抗抑郁靶点 KEGG 通路 酸枣仁生物碱成分治疗抑郁症的 15 个潜在靶点共涉及 131 条相关信号通路。表 3 及图 1 列举出频率较高的 8 条相关信号通路。其中磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B(PI3K-Akt)信号通路、钙离子信号通路是最主要的靶点通路。

表 3 酸枣仁生物碱抗抑郁潜在靶点 KEGG 通路注释分析结果  
Tab 3 KEGG pathway annotation analysis of potential antidepressant target of alkaloids in ZSS

序号	通路名称	相关靶点数
1	PI3K-Akt 信号通路	7
2	癌症通路	6
3	钙离子信号通路	4
4	肝炎 C	4
5	非小细胞肺癌	4
6	麻疹	4
7	脂肪细胞因子信号通路	4
8	甲状腺激素信号通路	4

注:PI3K-Akt:磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B



注:PI3K-Akt:磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B

图 1 酸枣仁生物碱抗抑郁潜在靶点 KEGG 通路注释分析结果  
Fig 1 KEGG pathway annotation analysis of potential antidepressant target of alkaloids in ZSS





### 3 讨论

本文通过网络药理学方法,以抑郁症为目的疾病,筛选酸枣仁生物碱中具有抗抑郁的活性成分、作用靶点及相关通路。通过分析生物网络图发现,酸枣仁生物碱中有10个成分可能具有抗抑郁效果,其中荷叶碱、原荷叶碱、右旋衡州乌药碱、木兰花碱等成分对应的相关靶点个数较多,说明这些成分可能是酸枣仁生物碱发挥作用的重要成分,为确认酸枣仁生物碱抗抑郁有效成分提供了理论依据。

预测获得的15个作用靶点中P0DP23、P00533、P49841、P19793等靶点基因可能是酸枣仁生物碱治疗抑郁症的主要靶点。P0DP23是一种钙调蛋白(CALMI)。钙离子能在细胞内传递神经信号,广泛参与机体各种生理功能的调节<sup>[10]</sup>。P00533称为表皮生长因子受体(EGFR),是一种多功能跨膜糖蛋白,其配体可介导酪氨酸激酶活性。少量表皮生长因子(EGF)可使细胞分裂生长,与中枢神经系统损伤和修复密切相关。有研究表明,正常生理功能哺乳动物中枢神经系统(CNS)中EGF和EGFR的表达很低,但在CNS损伤后第7天,EGF和EGFR的表达显著增加,28d后逐渐下降到正常水平<sup>[11]</sup>。据报道,磷酸化的EGFR和MAPK信号通路与小胶质细胞的活化具有协同作用<sup>[12]</sup>。P49841称为糖原合酶激酶-3 $\beta$ (GSK3B),是磷酸化后完全失活的激酶之一<sup>[13]</sup>。近年来越来越多的研究表明,GSK3B在抑郁症的发病和治疗中发挥着越来越重要的作用。例如:与正常人相比,在重度抑郁症死亡患者大脑皮质中GSK3B的活性显著升高<sup>[14]</sup>;持续刺激GSK3B(KI小鼠),氟西汀的促神经元再生及抗抑郁作用都会被消除<sup>[15]</sup>;选择性抑制GSK3B可导致动物产生抗抑郁作用等。P19793称为视黄酸受体(RXR- $\alpha$ ),视黄酸通过视黄酸受体影响下丘脑促皮质激素释放因子(CRF)神经元的活性、控制CRF的表达,导致下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)的功能异常,进而推测视黄酸信号系统对下丘脑CRF神经元的调节可能是抑郁症发病的一种新机制。研究发现,在给予成年大鼠少量的RXR- $\alpha$ 选择性拮抗剂,可以缩短其在强迫游泳行为学检测中的不动时间,提示视黄酸可能通过RXR- $\alpha$ 干预海马神经元活性和脑内单胺类神经递质等,从而控制下丘脑CRF的表达和HPA轴活性,进而参与抑郁发病过程<sup>[16]</sup>。

研究表明,PI3K-Akt信号通路参与了微血管损伤和血管生成,在抑郁症的发生中扮演重要角色<sup>[17]</sup>。有研究显示氟西汀可以使海马的Akt1表达增加,促进Akt磷酸化,从而加速血管的生成,促进海马血

液循环,都有助于抑郁症的治疗<sup>[18]</sup>。钙离子信号通路与抑郁症关系密切,是治疗抑郁的重要机制之一。其作为一种钙受体蛋白,广泛存在于脑组织神经元中,在神经元的应激和修复过程中起关键作用。氟西汀和SNRIS可以激活大鼠前额叶皮质中的钙调蛋白依赖性蛋白激酶IV(CaMKIV)。而CaMKIV抑制剂可在体外阻断cAMP反应元件结合蛋白的磷酸化<sup>[19]</sup>。

本研究最终预测获得酸枣仁生物碱抗抑郁的生物网络图,从整体角度分析酸枣仁总生物碱的抗抑郁成分、主要靶点和通路。综上所述,酸枣仁生物碱中抗抑郁成分荷叶碱、原荷叶碱、右旋衡州乌药碱、木兰花碱主要通过影响神经信号传递、中枢神经系统损伤修复、HPA轴活性、PI3K-Akt通路活化以及MAPK反应级联等发挥抗抑郁作用,本研究为下一步抗抑郁活性成分分离及活性评价实验奠定了理论基础。

#### 参考文献:

- [1] 闫惠淳,王通宇,温歌华,等. 抑郁症动物模型的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2018, 24(3): 104
- [2] 张婷,张岩,王文彤,等. 酸枣仁中黄酮成分及其药理作用研究进展[J]. 天津药学, 2018, 30(1): 69
- [3] 耿欣,李廷利. 酸枣仁主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药学报, 2016, 44(5): 84
- [4] 陈雯,黄世敬. 酸枣仁化学成分及药理作用研究进展[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7): 1726
- [5] 陈娟,顾俊菲,汪春飞,等. 组分结构中药与网络药理学:病理机制网络的系统整体调控[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(4): 758
- [6] 王毅,高秀梅,张伯礼,等. 论建立基于网络生物学的现代中药创制方法学[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(2): 228
- [7] LIU X F, OUYANG S S, YU B A, et al. Pharm Mapper server: a web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach[J]. Nucleic Acids Res, 2010, 38(Web Server issue): W609
- [8] 虞希冲,杨伟,吴波拉,等. 网络药理学技术预测延胡索抗糖尿病作用及初步验证研究[J]. 中国药理学杂志, 2014, 49(11): 913
- [9] 江珊,蒋勃,徐桂珍,等. 使用Cytoscape对生物网络数据的建模和分析[J]. 农业网络信息, 2017, (6): 32
- [10] 黄鑫,李莉. 钙调蛋白/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II和心律失常的关系[J]. 中国医师进修杂志: 综合版, 2006, 29(5): 76
- [11] SUN D, BULLOCK M R, ALTEMEMI N, et al. The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats[J]. J Neurotrauma, 2010, 27(5): 923
- [12] 蒋娟,杨双汇,王秀娇,等. 表皮生长因子及其受体在中枢神经系统损伤和修复中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2013, 33(2): 179
- [13] LI X H, JOPE R S. Is glycogen synthase kinase-3 a central modulator in mood regulation?[J]. Neuropsychopharmacology, 2010, 35(11): 2143
- [14] KAREGE F, PERROUD N, BURKHARDT S, et al. Alteration in ki-

(下转第481页)