

丹参从瘀论治抑郁症的潜在靶点及作用机制研究

张辛宁^{1,2}, 王乐琪^{1,3}, 李莎莎¹, 马贤鹏^{4,5}, 郁华军⁵, 严诗楷^{2,3}, 徐文静⁵, 肖雪³(1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510120; 2. 上海交通大学药学院, 上海 200240; 3. 广东药科大学中医药研究院, 广东 广州 510006; 4. 上海景峰制药有限公司, 上海 201908; 5. 贵州景诚制药有限公司, 贵州 贵阳 550200)

摘要: **目的** 探讨丹参从瘀论治抑郁症的潜在靶点及作用机制。**方法** 基于已建立的丹参活性成分库, 利用 Swiss Target Prediction 在线工具获得治疗抑郁症的作用靶标; 采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建丹参活性成分-抑郁症作用靶标网络, 进一步通过 STRING 数据库进行疾病靶蛋白相互作用分析并构建 PPI 网络; 运用数据库 Metascape 进行 GO 生物学过程和 KEGG 通路富集分析; 利用 DiscoveryStudio 软件进行关键成分及靶点的分子对接能计算。**结果** 成分-靶点网络涉及 54 个丹参活性成分和 36 个与抑郁症相关的靶点, 其中 MAOA、ESR1、SLC6A4、HTR2、PTGS2 等靶点与丹参多个活性成分具有较强的结合能力。经 GO 和 KEGG 通路富集分析, 发现丹参活性成分可能通过参与 5-羟色胺能神经系统、色氨酸代谢过程以及雌激素受体信号传导等通路, 综合调节神经递质水平, 影响离子迁移、细胞分泌、激素水平、细胞内信号传导等生物过程而发挥抗抑郁作用。这 3 条通路与丹参活血化瘀机制具有密切相关性, 并且炎症反应在活血化瘀机制中具有重要意义。**结论** 丹参中丹酚酸 G、丹酚酸 J、木犀草素、丹参环庚三烯酚酮、丹参二醇 B、原紫草酸、异隐丹参酮等, 可能通过 PTGS2、MAOA、SLC6A4、HTR2A、ESR1 等多个靶点, 通过影响 5-羟色胺能神经系统、色氨酸代谢过程以及雌激素受体信号传导等发挥治疗抑郁症的作用, 体现了中药多成分-多靶点-多途径的作用特点。本文为丹参从瘀论治抑郁症的进一步研究提供参考依据, 同时也为其他活血化瘀类中药的研究与应用提供新的思路。

关键词: 丹参; 抑郁症; 网络药理学; 作用机制; 炎症; 活血化瘀

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)09-1300-09

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.09.010

Study on Potential Targets and Mechanisms of *Salvia miltiorrhiza* in the Treatment of Depression Through Promoting Blood Circulation and Removing Stasis

ZHANG Xinning^{1,2}, WANG Leqi^{1,3}, LI Shasha¹, MA Xianpeng^{4,5}, YU Huajun⁵, YAN Shikai^{2,3}, XU Wenjing⁵, XIAO Xue³ (1. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120 Guangdong, China; 2. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; 3. Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 4. Shanghai Jingfeng Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 201908, China; 5. Guizhou Jingcheng Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550200 Guizhou, China)

Abstract: Objective To discover the potential targets and mechanisms of *Salvia miltiorrhiza* in treating depression through promoting blood circulation and removing stasis. **Methods** According to the *Salvia miltiorrhiza* components database and target proteins in treating depression obtained from Swiss target prediction online tool, we constructed the network of “chemical components of *Salvia miltiorrhiza*-target proteins of depression” using Cytoscape 3.7.1 software. The interaction of disease target protein was analyzed through the STRING database. The GO biological

收稿日期: 2020-11-06

作者简介: 张辛宁, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药系统生物学。Email: 15541993662@163.com。通信作者: 肖雪, 男, 硕士研究生导师, 研究方向: 中药分析与质量评价。Email: erxiaohappy@163.com。李莎莎, 女, 助理研究员, 研究方向: 中医药系统生物学。Email: happylishasha@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81603070); 广州市科技计划项目珠江科技新星专项(201610010113); 贵州省科技计划项目科技支撑计划项目(黔科合支撑[2018]283); 广东省中医药防治难治性慢病重点实验室项目(2018B030322012)。

process and the KEGG pathway enrichment analysis were performed by Metascape to predict mechanisms of *Salvia miltiorrhiza* in treating depression. Discovery Studio was utilized to predict the binding ability between candidate targets and components. **Results** The component-target network consisted of 54 active components of *Salvia miltiorrhiza* and 36 potential targets protein in treating depression. MAOA, ESR1, SLC6A4, HTR2 and PTGS2 have been found to have strong binding ability with active components in *Salvia miltiorrhiza*. GO enrichment and KEGG pathway analysis showed that the process of *Salvia miltiorrhiza* treated in depression may be involved in serotonergic nerves system, tryptophan metabolism process, estrogen receptor signaling pathways. These pathways are related to comprehensive regulation of neurotransmitter level, ion migration, cell secretion, hormone level, intracellular signal transduction and other biological processes. The three signaling pathways play a role in the treatment of depression through promoting blood circulation and removing stasis, which is related to inflammatory reaction closely. **Conclusion** Main efficacy components of *Salvia miltiorrhiza*, such as salvianolic acid G, salvianolic acid J, luteolin, miltipolone, tanshindiol B, prolithospermic acid, isocryptotanshi-none may play the role in the treatment of depression by targeting PTGS2, MAOA, SLC6A4, HTR2A, ESR1 and influencing serotonergic nerves system, tryptophan metabolism process and estrogen receptor signaling pathways, which indicates multiple ingredients-multi targets-multi pathways characteristics of traditional Chinese medicines. The study provides a reference for further study of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of depression through promoting blood circulation and removing stasis. Moreover, it gives new idea for research and application of other traditional Chinese medicine for promoting blood circulation and removing stasis.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza*; depression; network pharmacology; mechanism; inflammation; promoting blood circulation to remove stasis

抑郁症是一种常见的情感类精神障碍,临床上以明显而持久的心境低落为主要特征,严重者会丧失生活工作能力。目前我国抑郁症患者约占总人口的 4.2%,而临床治愈率仅在 30%~35% 左右^[1-2]。临床上多采用“单靶标”化学药物进行治疗,效果并不理想,且长期使用化学药物后会导致严重的副作用或药物依赖性^[2]。中医理论将抑郁症归为“郁证”范畴,认为“气血冲和,万病不生,一有怫郁,诸病生焉”(《丹溪心法·六郁》),其以气机瘀滞为基础,气郁日久,血运不畅而致血瘀,可见血瘀是抑郁症的重要病机之一,故抑郁症宜“从瘀论治”^[3]。段艳霞等^[4]通过文献调研统计治疗抑郁症的中药,发现活血化瘀药丹参的应用频数最高,可见丹参在抑郁症治疗方面具有较高的深度开发价值。丹参^[5](*Salviae Miltiorrhizae*)具有活血通经、祛瘀止痛、清心除烦之功效。本课题组前期研究表明丹参水提液能够明显改善血瘀症模型大鼠的全血黏度和凝血功能,活血化瘀效果明显。除此之外,相关研究^[6]表明丹参提取物能够明显降低抑郁症小鼠强迫游泳和悬尾实验的不动时间,改善小鼠抑郁症状。基于以上研究,我们认为丹参的抗抑郁作用可能与其活血化瘀机制密切相关。由于目前丹参用于治疗抑郁症的物质基础

及作用机制尚未研究透彻,因此本研究采用网络药理学手段初步建立网络拓扑结构来探索丹参及其作用靶标、影响的信号通路和与抑郁症之间的关系,为丹参的临床应用和深度开发提供新的思路 and 方向。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件 中药系统药理学数据库与分析平台 TC MSP^[7](<http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>); 靶点预测平台 Swiss Target Prediction^[8](<http://www.swisstargetprediction.ch/>); GeneCards 数据库^[9](<http://www.genecards.org/>); 蛋白质相互作用分析平台 String^[10](<https://string-db.org/>); 网络拓扑属性分析软件 Cytoscape 3.7.1; 生物分子功能注释平台 Metascape^[11]; 分子对接软件 Discovery Studio 2021; RCSB PDB 蛋白质数据库^[12](<http://www.rcsb.org/>)。

1.2 丹参活性成分、成分作用靶点及抑郁症疾病靶点的收集 基于 TC MSP 数据库建立丹参活性化学成分数据库。具体方法为:以“丹参”为关键词进行检索以获取丹参化学成分信息,根据成分的药物动力学参数进行筛选,筛选条件为口服利用度(Oral Bioavailability, OB) > 30%,类药性(Drug Likeness, DL) > 0.18。将筛选得到的丹参活性成分输入到

Swiss Target Prediction 网站, 选择物种“Homo sapiens”进行靶点对接, 获得丹参活性成分作用靶点。

GeneCards 数据库具有提供已知或正在探索的基因信息的功能, 本研究在 GeneCards 数据库以“Depression”为关键词检索与抑郁症相关的基因靶点。

1.3 丹参治疗抑郁症“活性成分-潜在靶点”网络

将丹参成分靶点与抑郁症疾病靶点进行交集获得二者的共有靶点蛋白, 即为丹参治疗抑郁症的潜在靶点, 再将这些靶点导入 STRING 平台中分析从而得到潜在靶蛋白相互作用网络图 (Protein-Protein Interaction network, PPI)。将丹参的活性成分及成分作用靶点信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件构建“活性成分-成分靶点”核心网络, 并进一步分析化合物和靶点之间的度 (Degree) 值, 明确网络中的重要活性成分及靶点; 利用 Cytoscape 3.7.1 中的 Merge 功能将活性成分-成分靶点网络和蛋白相互作用网络合并, 两个网络的重叠部分即为丹参治疗抑郁症的“活性成分-潜在靶点”网络。

1.4 GO 与 KEGG 富集通路分析 为明确药物作用的生物过程及相关信号通路的功能, 将共有靶点导入 Metascape 生物分子功能注释系统进行 GO 基因本体功能和 KEGG 通路富集分析, 设置 P 值小于 0.01, 富集基因数大于 3, 选择生物过程 (Biological Processes)、分子功能 (Molecular Functions)、细胞组成 (Cellular Components)、KEGG 通路 (KEGG Pathway) 这 4 个维度进行富集分析。

1.5 丹参治疗抑郁症“核心成分-核心靶点-信号通路”网络 采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建“潜在靶点-信号通路”网络, 并利用 Merge 功能将其与“丹参活性成分-潜在靶点”互作网络进行合并, 并删除未富集于通路中的靶点及其对应的活性成分, 从而构建丹参“核心成分-核心靶点-信号通路”网络图。

1.6 分子对接 为了进一步评价网络中重要靶点蛋白和活性成分之间的作用关系, 本研究利用 Discovery Studio 2021 软件对候选成分及靶点对接能进行打分。首先在 TCSP 数据库中下载候选成分化合物结构 mol2 文件, 从 RCSB PDB 数据库下载候选蛋白 3D 晶体结构的 pdb 文件, 在 Discovery Studio 2021 软件中对 3D 结构进行删去水分子、加氢、补全不完整残基等操作, 并对小分子的空间构象进行优化。根据

蛋白结构选择最优的活性口袋, 对接参数选择默认参数, 利用 libdock 模块进行对接能打分, 并对对接构象进行可视化分析。

2 结果

2.1 丹参活性成分、成分作用靶点及抑郁症疾病靶点

借助 TCSP 数据库, 设定“DL > 0.18、OB > 30%”的条件进行筛选, 最终共确定可被口服吸收利用的丹参成分共 54 个^[13], 主要包括酚酸类、丹参酮类成分^[3]。基于 Swiss Target Prediction 在线工具的分子反向对接技术对丹参活性成分靶蛋白进行搜索并进一步去除重复结果后, 总计获得 208 个丹参活性成分的重要靶点。

通过 GeneCards 数据库检索“Depression”, 共得到 865 个与抑郁症相关的基因, 作为疾病候选靶点基因。

2.2 丹参治疗抑郁症“活性成分-潜在靶点”网络

将疾病候选靶点与成分靶点取交集, 共得到 36 个共有靶点, 即作为丹参治疗抑郁症的潜在靶点, 具体见表 1。

表 1 丹参治疗抑郁症的潜在靶点

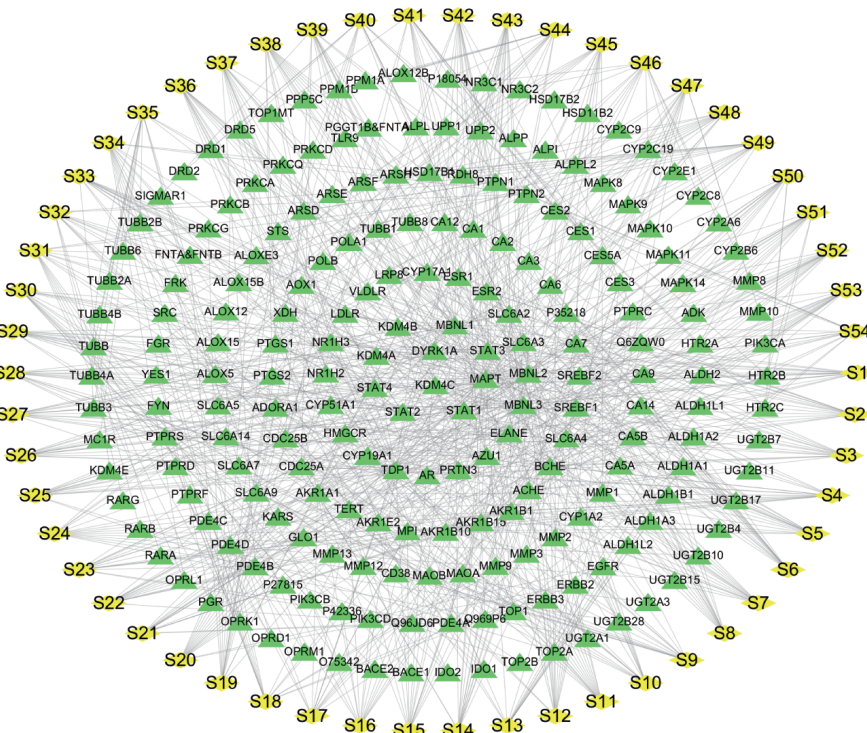
Table 1 The potential targets of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of depression

序号	Uniprot ID	靶基因	度值	序号	Uniprot ID	靶基因	度值
1	P10636	MAPT	38	19	P35372	OPRM1	2
2	P22303	ACHE	9	20	Q14114	LRP8	2
3	P35354	PTGS2	8	21	P41143	OPRD1	2
4	Q07343	PDE4B	7	22	P07437	TUBB	2
5	P31645	SLC6A4	6	23	Q08499	PDE4D	2
6	Q01959	SLC6A3	6	24	P04150	NR3C1	1
7	P23975	SLC6A2	6	25	P14416	DRD2	1
8	P03372	ESR1	5	26	P05129	PRKCG	1
9	P00347	HMGCR	5	27	P33261	CYP2C19	1
10	P48267	SLC6A9	5	28	P18901	DRD1	1
11	P28223	HTR2A	4	29	P08235	NR3C2	1
12	P21397	MAOA	4	30	P42336	PIK3CA	1
13	P28335	HTR2C	4	31	P05177	CYP1A2	1
14	P27338	MAOB	4	32	P21918	DRD5	1
15	P30542	ADORA1	4	33	P20813	CYP2B6	1
16	P14780	MMP9	4	34	O75688	PPM1B	1
17	Q13133	NR1H3	4	35	P05181	CYP2E1	1
18	Q08499	PDE4D	2	36	P11712	CYP2C9	1

将“成分-靶点”信息导入 Cytoscape 3.7.1 软件, 设置网络节点、边等基本属性, 建立“丹参活性成分-成分靶点”网络, 如图 1。该网络共有 262 个

节点(54 个活性成分和 208 个成分靶点)以及 806 条边组成。一个节点的度值(Degree)反映网络中与该节点相连的全部路线条数,该网络的平均邻居节点数为 6.130,这表示每一个成分或靶点节点周围平均与 6 个节点相连,存在相互作用,体现了丹参多成分、多途径、多靶点的系统性调节作用。

将 36 个丹参治疗抑郁症的潜在靶点导入 STRING 数据库,查询靶点的相互作用关系,导出丹参治疗抑郁症潜在靶点核心网络(PPI)到 Cytoscape 3.7.1 中进行风格化显示,见图 2。其中每一圆形节点代表蛋白,每一条边代表蛋白之间的相互关系,线段越粗则代表其关联度越大。



注: 其中黄色菱形代表丹参活性成分, 绿色三角形代表成分靶点

图 1 丹参“活性成分-成分靶点”网络图

Figure 1 Compounds–targets network diagram of *Salvia miltiorrhiza*

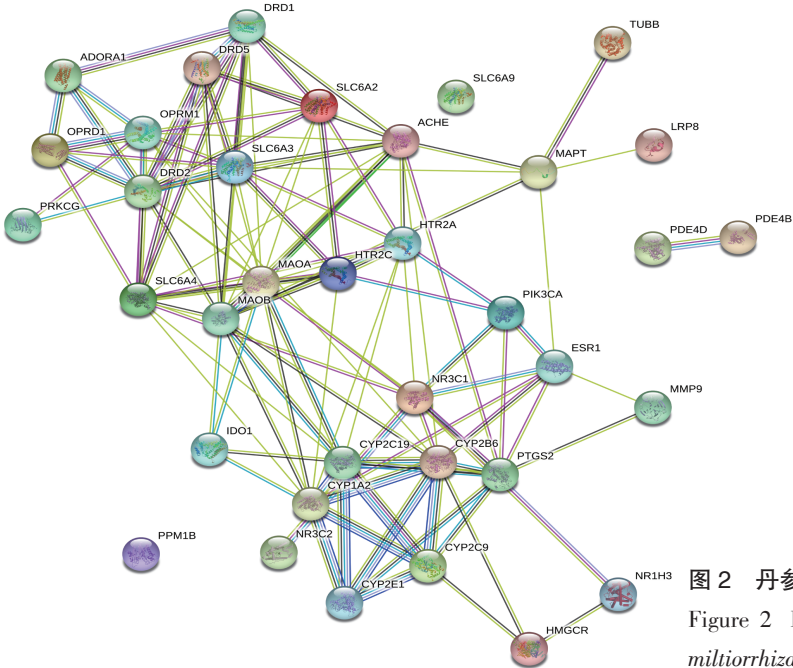


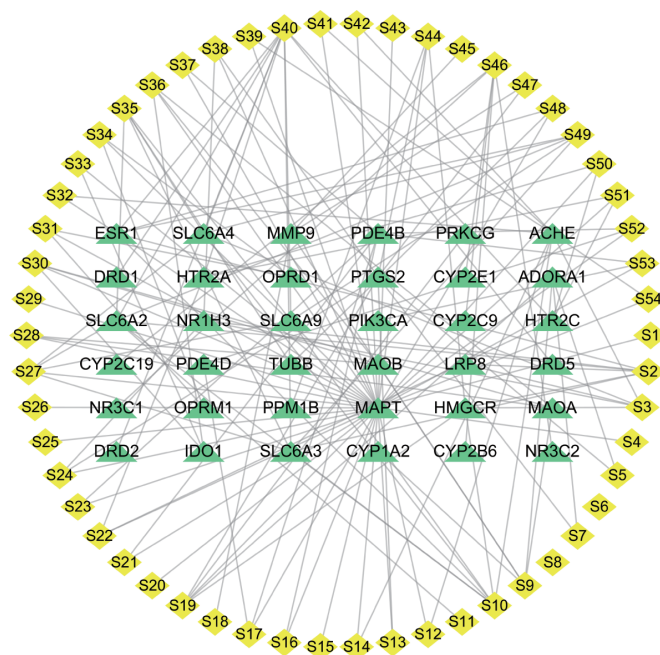
图 2 丹参治疗抑郁症的潜在靶点蛋白相互作用核心网络图

Figure 2 PPI core network of potential target proteins of *Salvia miltiorrhiza* for treating depression

将“活性成分-成分靶点”网络和蛋白相互作用网络合并后得到丹参治疗抑郁症的“活性成分-潜在靶点”网络，如图3所示。该网络共有节点90个（54个成分和36个潜在靶点）以及269条边。该网络的平均邻居节点数为5.978，潜在靶点平均节点度值为10.806，其中大于潜在靶点平均节点度值的靶点共15个，主要包括：DRD2、SLC6A3、ESR1、PTGS2、OPRM1、MAOB、MAOA、CYP2B6、CYP1A2、HTR2A、HTR2C、SLC6A4、SLC6A2、ACHE、MAPT；成分平均度值为2.852，其中大于成分平均度值的成分共13个，主要包括：多孔甾醇(poriferasterol)、 γ -谷甾醇(γ -sitosterol)、木犀草素(luteolin)、 α -香树脂醇(α -amyrin)、紫丹参萜B(przewalskin B)、丹参醇A(danshenol A)、丹参新醌D(danshenxinkun D)、弥罗松酚(ferruginol)、异隐丹参酮(isocryptotanshinone)、丹参环庚三烯酚酮(miltipolone)、原紫草酸(prolithospermic acid)、丹酚酸J(salvianolic acid J)、12-羟基阿松香-8(14)，9(11)，12-三乙四胺-7-酮[12-hydroxyabieta-8(14)，9(11)，12-trien-7-one]。

2.3 GO 与 KEGG 通路分析 将丹参治疗抑郁症的潜在靶点同时导入 Metascape 数据库中进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析，得到 20 个富集条目，如图4所示($P < 0.01$)。

通过 GO 功能富集分析，共确定了 17 个 GO 条目。其中分子功能有 1 条，主要涉及神经递质中钠转运体活性；细胞成分有 2 条，主要涉及突触前膜的组成部分、膜阀；涉及生物过程有 14 条，分别是



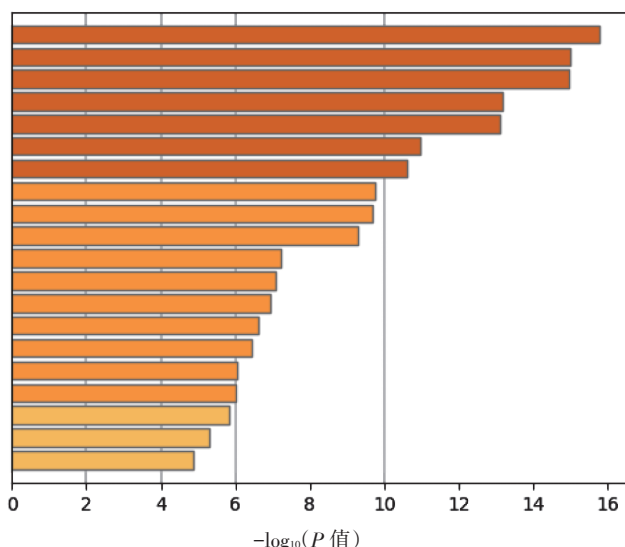
注：黄色菱形代表丹参活性成分，绿色三角形代表潜在靶点

图3 丹参治疗抑郁症的“活性成分-潜在靶点”网络图

Figure 3 “Active components-potential targets” network of *Salvia miltiorrhiza* in treating depression

对外源刺激的反应、突出传递的负性调节、神经递质水平调节、细胞对有机环化化合物的反应、对有毒物质的反应、离子迁移的调节、细胞分泌的调节、多细胞生物对压力的反应、离子迁移的负性调节、节律过程、激素水平调节、对外界刺激反应的负性调控、细胞内信号转导的负性调节、肽基丝氨酸磷酸化。

通过 KEGG 通路富集分析，得到丹参治疗抑郁



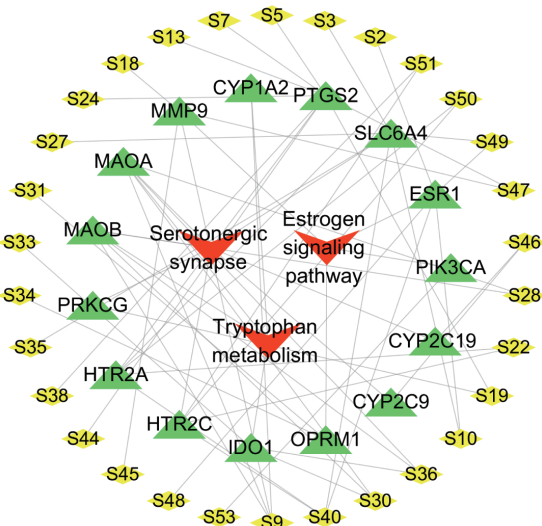
GO:0009410: response to xenobiotic stimulus
GO:0050805: negative regulation of synaptic transmission
GO:0099056: integral component of presynaptic membrane
hsa04726: Serotonergic synapse
GO:0001505: regulation of neurotransmitter levels
GO:0071407: cellular response to organic cyclic compound
GO:0045121: membrane raft
GO:0009636: response to toxic substance
GO:0043269: regulation of ion transport
GO:1903530: regulation of secretion by cell
GO:0005328: neurotransmitter:sodium symporter activity
GO:0033555: multicellular organismal response to stress
GO:0043271: negative regulation of ion transport
GO:0048511: rhythmic process
hsa00380: Tryptophan metabolism
GO:0010817: regulation of hormone levels
GO:0032102: negative regulation of response to external stimulus
GO:1902532: negative regulation of intracellular signal transduction
GO:0018105: peptidyl-serine phosphorylation
hsa04915: Estrogen signaling pathway

图4 丹参治疗抑郁症通路分析图

Figure 4 Pathways analysis diagram of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of depression

症可能参与的 3 条通路，包括 5-羟色胺能神经相关通路、色氨酸代谢、雌激素受体信号转导相关通路。

2.4 丹参“核心成分-核心靶点-信号通路”网络
将丹参“潜在靶点-信号通路”网络与丹参“活性成分-潜在靶点”互作网络进行合并后得到丹参治疗抑郁症的“核心成分-核心靶点-信号通路”网络图，如图 5 所示，利用网络拓扑分析工具计算网络节点度值并选择度值较高的核心成分或靶点进行分子对接研究。



注：红色代表信号通路，黄色菱形代表丹参核心成分，绿色三角形代表核心靶点

图 5 丹参治疗抑郁症“核心成分-核心靶点-信号通路”网络图

Figure 5 “Core components-core targets-signaling pathways” network of *Salvia miltiorrhiza* in the treatment of depression

2.5 分子对接结果 根据图 5 网络，选择节点度值较高的靶点包括 MAOA (PDB ID: 2bxs)、ESR1 (PDB ID: 4xi3)、SLC6A4 (PDB ID: 5i6z)、HTR2A (PDB ID: 6a93)、PTGS2 (PDB ID: 5kir) 作为候选对接蛋白；度值较高的成分包括丹参新醌 D (danshenxinkun D, S30)、异隐丹参酮 (isocryptotanshi-none, S36)、木犀草素 (luteolin, S9)、丹参环庚三烯酚酮 (miltipolone, S40)、紫丹参萜醚 (przewalskin B, S20)、紫丹参甲素 (przewaquinone E, S51)、丹酚酸 G (salvianolic acid G, S46)、丹酚酸 J (salvianolic acid J, S47)、鼠尾草酚酮 (salvilenone, S48)、丹参二醇 B (tanshindiol B, S50)、 α 香树脂醇 (alpha-amyrin, S10) 作为候选对接成分。图 6 列举了丹参成分与各靶点打分结果。一般来说，libdock 得分大于 100 分，则代表有潜在的结合活性。其中丹酚酸 J 与 MAOA、ESR1、SLC6A4、HTR2A 的结合能打分较高，与

MAOA 的得分最高，其与靶蛋白 MAOA 相互作用如图 7-A、7-B 所示，这表明丹酚酸 J 与多个靶点蛋白具有较强的结合能力。在与 PTGS2 蛋白对接的成分中，则丹参新醌 D 呈现出较好的结合能力，其与靶蛋白 PTGS2 相互作用如图 7-C、7-D 所示。除此之外，木犀草素、丹参环庚三烯酚酮、丹酚酸 G 均能与 5 个候选蛋白相互结合作用。根据以上结果，提示丹酚酸 J、丹参新醌 D、木犀草素、丹参环庚三烯酚酮、丹酚酸 G 等可能是丹参发挥抗抑郁作用的关键药效成分。

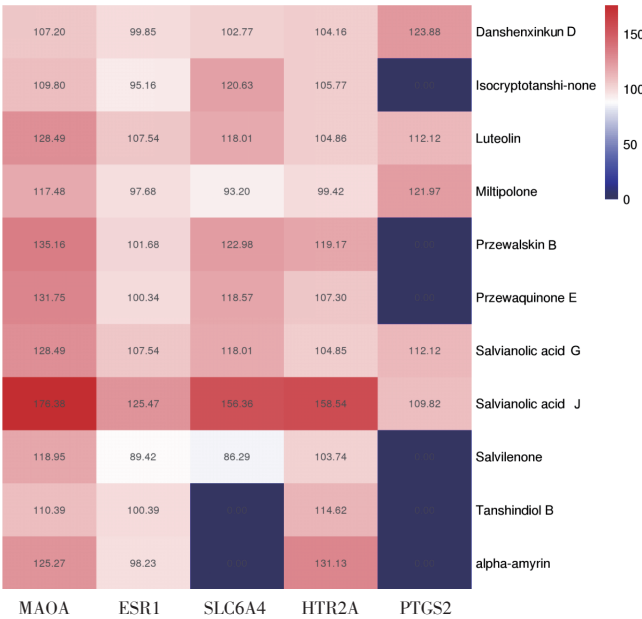
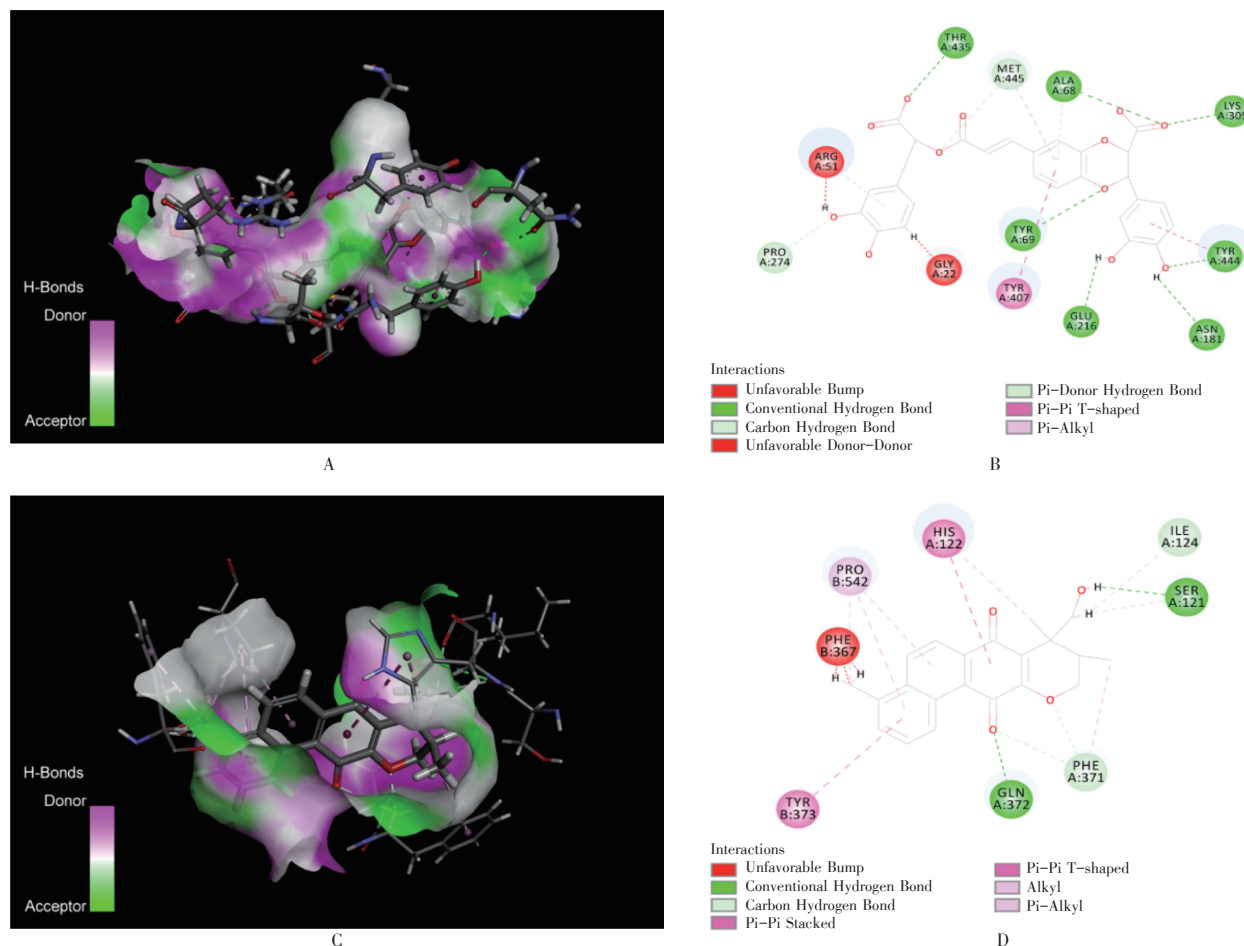


图 6 丹参治疗抑郁症活性成分-靶蛋白对接能得分热图

Figure 6 Heat map of active components-core targets of *Salvia miltiorrhiza* for treating depression

3 讨论

3.1 丹参治疗抑郁症的有效成分 丹参的化学成分主要包括脂溶性成分(丹参酮、隐丹参酮、异隐丹参酮等)、水溶性成分(丹参素、丹酚酸、迷迭香酸、紫草酸等)以及黄酮类、三萜类等其他成分^[3]。结合图 5 网络中所显示的丹参治疗抑郁症的核心成分以及分子对接结果，初步推测：丹酚酸 G、丹酚酸 J、木犀草素、丹参环庚三烯酚酮、丹参二醇 B、原紫草酸、异隐丹参酮等成分可能是丹参治疗抑郁症的有效成分。酚酸类成分是丹参的主要药效成分，已经被证明能够发挥抗抑郁作用，根据分子对接结果显示丹酚酸 G 和丹酚酸 J 能够与多个抑郁症靶点蛋白以较高的结合能相互作用，可能具有潜在的抗抑郁活性；异隐丹参酮作为脂溶性成分，较容易透过血脑屏障，对脑缺血损伤及神经退行性疾病等都有一定



注: A、B 分别为丹酚酸 J 与 MAOA 对接示意图; C、D 分别为丹参新醌 D 与 PTGS2 对接示意图

图 7 丹参治疗抑郁症部分活性成分-靶蛋白对接示意图

Figure 7 Docking diagram of some active ingredients of *Salvia miltiorrhiza* for treating depression with protein targets

作用^[14]。除此之外,相关研究表明,木犀草素能够缓解 CUMS 小鼠抑郁症状,作用机制可能与其增强小鼠脑组织的抗氧化活性,改善氧化/抗氧化平衡有关^[15];原紫草酸具有防治神经毒性的作用,理论上可用于神经系统疾病的防治^[16]。而丹参二醇 B、丹参环庚三烯酚酮这些成分目前在抑郁症疾病中研究较少,可能是丹参治疗抑郁症的潜在有效成分,值得后期进一步探讨。

有关资料^[5]显示,丹参酮 II A、丹酚酸 B 在现有研究中多被证明具有抗抑郁作用。结合网络药理学发现丹参酮 II A 通过成分筛选纳入候选成分中,且其与隐丹参酮能够相互转化,研究^[5]表明它可增强谷胱甘肽过氧化物酶活性,清除氧自由基,改善神经功能缺损评分;而丹酚酸 B 则由于口服吸收利用度较低而未能纳入。丹酚酸 B 是由咖啡酸缩合而成,口服时在胃肠道稳定性较差,易分解为紫草酸、丹参素、原儿茶醛等小分子,在丹酚酸 B 相关药代动力学实验中发现丹参提取物给药与单体给药相比,能够使丹酚酸 B 的吸收增加,消除减慢,推测可能是

提取物中的共存成分促进了丹酚酸 B 的吸收并减缓其消除,或由其他成分的代谢转化而来^[17]。因而丹酚酸 B 虽未能纳入候选成分中,但由于丹参成分之间的相互转化可间接推测其抗抑郁活性,并且相关研究^[18]表明其可能主要通过抑制炎症反应、调节小胶质细胞激活途径、促进神经发生等机制发挥作用。

3.2 丹参治疗抑郁症的潜在靶标 本研究结合丹参治疗抑郁症的潜在靶点以及 KEGG 通路富集到的相关基因,发现丹参可能主要通过前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、单胺氧化酶 (MAOA、MAOB)、5-羟色胺受体亚型 (HTR2A、HTR2C)、5-羟色胺转运体基因 (STLC6A4)、雌激素受体 (ESR1) 等多个靶点共同作用进而产生抗抑郁效果。分子对接结果显示,丹参中的多种成分能与靶蛋白以较高的结合能相互作用,本部分将主要从以上潜在靶点出发探讨丹参治疗抑郁症的可能作用机制,为后续具体的丹参抗抑郁机制研究提供参考。

PTGS2 这一靶点参与前列腺素代谢通路的调控,前列腺素^[19](Prostaglandins, PGs)广泛分布于中枢神

经系统,其合成过程参与了中枢神经系统中重要的生理功能的调节,如改善睡眠、增强食欲和减轻疼痛反应等,这与抑郁症患者的临床症状密切相关^[20]。相关研究显示,来源于抑郁症患者的单核细胞在受到外界刺激时,PGs 水平明显升高^[21];抗抑郁药物如选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂(Selective Serotonin Re-uptake Inhibitor, SSRIs)经实验证明可明显抑制 PGs 的合成,降低 PGs 水平^[22]。由于 PTGS2 这一靶点是前列腺素代谢通路上的关键限速基因,因而可推测丹参可能通过调控 PTGS2 表达进而影响前列腺素代谢进程,进而发挥抗抑郁作用。值得注意的是,本课题组前期在丹参治疗微循环障碍的网络药理学研究^[13]中显示 PTGS2 同时也是丹参与微循环障碍的共有靶点,微循环障碍与抑郁症同以“血瘀”作为病机,这侧面说明 PTGS2 可能是丹参从瘀论治抑郁症的重要靶点。

单胺氧化酶(MAO)^[23]在 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、去甲肾上腺素和多巴胺等神经递质代谢过程中起到重要作用,它既是单胺神经递质重要代谢酶,又具有降解神经细胞内生物胺的作用,从而对胺类神经递质含量进行合理调节^[24]。因此,丹参可能通过抑制 MAO 活性影响生物胺的代谢进程进而缓解抑郁症状。

HTR2A、HTR2C 是能与 5-HT 结合发挥生理作用的两种特异性受体,而 HTR2C^[25]对情绪、焦虑状态、摄食行为及生殖行为均有一定调节作用,5-HT_{2C} 的表达下调显示出抗抑郁效应,因此临床很多抗抑郁药物是 5-HT_{2C} 拮抗剂, HTR2A^[26-28]则与学习记忆有着密切联系。李晓红等^[29]采用慢性束缚应激方法探究肝郁脾虚证大鼠 5-HT 与其受体亚型的表达变化并发现 HTR2A、HTR2C 等 5-HT 特异性受体的表达发生明显上调或下调,可推测丹参可能通过调节 5-HT 受体的表达影响 5-HT 的水平从而达到抗抑郁作用。

SLC6A4 基因能够编码 5-HT 转运体,当其表达下降时,会引起突触间隙的 5-HT 相对增加,从而进一步影响 5-HT 受体(HTR)数目发生变化,造成 5-HT 系统紊乱进而可能导致抑郁样症状。除此之外,5-HT 转运体基因启动子区域有一个功能性多肽 5-HT 转运体连锁区域,主要负责基因的转录,研究^[30]表明它可能是抑郁症易感性和抗抑郁疗效的有效指标之一。基于以上,丹参可能通过调节 5-HT 转运体的表达进一步改善 5-HT 系统功能发挥抗抑郁作用。

ESR1 属于雌激素受体,雌激素可直接通过脑区

的雌激素受体直接影响脑功能,在抑郁症中发挥重要作用,其可提高神经突触中 5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素等多种神经递质的浓度,进而影响它们的代谢情况。因此,ESR1 的表达变化可调节雌激素的信号转导,并进一步影响机体对抑郁症的易感性^[31]。

3.3 丹参从瘀论治抑郁症的作用机制 本研究通过 KEGG 通路富集分析,发现丹参可能主要通过 5-HT 系统相关通路、色氨酸代谢、雌激素受体信号转导相关通路发挥抗抑郁作用,值得注意的是,这 3 条通路联系紧密,并与丹参的活血化瘀作用机制具有一定相关性,“从瘀论治”可能是丹参治疗抑郁症的重要环节。

“血瘀”为抑郁症的病机之一,常伴有血液黏度增加的现象,这多是由于血管过度收缩导致。5-HT 又称为血清素,在外界刺激因素作用下释放进入血液中,可促进血小板的凝聚,促进血管平滑肌细胞的增殖,引起血管收缩从而导致血液黏度的增加^[32]。本研究显示丹参对于 5-HT 系统信号通路具有调控作用,因而推测丹参可能通过影响 5-HT 信号系统中血清素转运体及特异性受体的表达,进而影响血清素的含量,缓解血管过度收缩造成的血液黏度增加。

另外,血瘀证的发生进程中通常伴随着炎症反应的发生,调节神经炎症相关通路是活血化瘀药治疗抑郁症等中枢神经系统疾病的重要理论基础^[33]。炎症发生时释放大量促炎因子如 TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 激活吲哚-2,3-双加氧酶(indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO)促进色氨酸分解,色氨酸代谢通路与炎症具有密切联系。本研究表明丹参与色氨酸代谢调控通路,因而推测丹参可能通过正常化色氨酸代谢通路减少色氨酸有毒代谢产物产生,进而减轻脑兴奋毒样作用及炎症反应^[34-35]。除此之外,相关研究^[36]表明,去除抑郁症小鼠双侧卵巢导致其雌激素缺乏时,色氨酸代谢通路限速酶 IDO 表达上调,脑内 5-HT 水平下降,增强抑郁样行为,而当给予非选择性激动剂雌二醇后能够明显阻断这种变化,说明雌激素缺乏可能通过促进脑内炎症、影响色氨酸代谢进而导致抑郁样行为,雌激素信号通路可能与脑内神经炎症相关。

血瘀是传统医学认为引起“郁证”的重要病理产物,而炎症是现代医学对于抑郁症疾病研究的热点环节,越来越多的研究表明二者具有密切联系。本研究表明丹参可能通过调控 5-HT 系统相关通路、色氨酸代谢、雌激素受体信号转导相关通路影响机体血液黏度及炎症反应,这可能是丹参通过活血化瘀

发挥抗抑郁作用的关键机制,这也提示我们从炎症与血瘀证的紧密联系性角度出发有助于开展活血化瘀中药及中药复方治疗抑郁症的作用机制研究。

综上所述,本研究通过网络药理学方法,发现丹参的主要药效成分丹酚酸 G、丹酚酸 J、木犀草素、丹参环庚三烯酚酮、丹参二醇 B、原紫草酸、异隐丹参酮等,可能通过 PTGS2、MAOA、SLC6A4、HTR2A、ESR1 等多个靶点参与神经递质水平调节、离子迁移的调节、细胞分泌的调节、激素水平调节、细胞内信号传导等生物过程,进一步调节 5-HT 系统、色氨酸代谢过程以及雌激素受体信号传导等通路以减轻炎症反应,这可能是丹参活血化瘀核心机制之一。本文为进一步研究丹参用于抑郁症的药理药效机制提供了理论参考依据,同时也为其他活血化瘀类中药应用于抑郁症研究提供了借鉴。

参考文献:

- [1] 李琰,杜睿雨,龚美灵,等.抑郁症的隐喻的探讨[J].中国医学伦理学,2019,32(1):127-131.
- [2] 吴皓.抑郁症的心理治疗[J].健康人生,2017,6(11):27-31.
- [3] 张立娟,张进强,贺慧,等.丹参抗抑郁的神经免疫机制研究探讨[J].世界科学技术-中医药现代化,2017,19(8):1289-1293.
- [4] 段艳霞,李洁,史美育.中药治疗中风后抑郁症用药规律探讨[J].中华中医药学刊,2011,29(6):1419-1421.
- [5] 金灿,张丹参.丹参有效成分丹参酮 II A 和丹酚酸 A 药理学研究进展[J].神经药理学,2012,2(4):58-64.
- [6] 丰毅,游自立,鄢硕.丹参提取物用于制备治疗抑郁症药物的新用途:201210013618 [P]. 2012-01-17.
- [7] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6(13): 1-6.
- [8] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules[J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [9] SAFRAN M, DALAH I, ALEXANDER J, et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator[J]. Database (Oxford), 2010: baq020.
- [10] SZKLARCZYK D, FRANCESCHINI A, KUHN M, et al. The STRING database in 2011: functional interaction networks of proteins, globally integrated and scored[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39(Database issue): D561-D568.
- [11] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1523.
- [12] BERMAN H M, WESTBROOK J, FENG Z, et al. The Protein Data Bank[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(1): 235-242.
- [13] 王乐琪,张云帆,李莎莎,等.丹参治疗微循环障碍作用机制的“成分-靶点-通路”多层次互做网络模型研究[J].中草药,2020,51(2):439-450.
- [14] 方阅,朱蓓琳,张渊.隐丹参酮对脂多糖诱导肝硬化大鼠肝性脑病的改善作用研究[J].现代药物与临床,2016,31(1):11-16.
- [15] 刘毅,蓝诺,刘莉,等.木犀草素对慢性不可预知性温和应激所致小鼠抑郁的改善作用[J].时珍国医国药,2013,24(6):1382-1384.
- [16] 彭宗根,陈鸿珊.紫草酸 B 的药理作用研究进展[J].中国药理学杂志,2003,38(10):744-747.
- [17] 宋敏,杭太俊,张正行.丹参提取物有效成分在大鼠体内的药代动力学和相互影响研究[J].药学报,2007,42(3):301-307.
- [18] 丰毅,游自立.丹酚酸 B 的抗抑郁作用研究[D].成都:电子科技大学,2013.
- [19] 徐晓文,潘名志,黄加喜.抑郁症患者血清 MAO、MDA、hs-CRP 水平检测及其临床意义[J].中国医学创新,2010,7(33):175-176.
- [20] SUBLETTE M E, RUSS M J, SMITH G S. Evidence for a role of the arachidonic acid cascade in affective disorders: a review[J]. Bipolar Disord, 2004, 6(2): 95-105.
- [21] LISI L, CAMARDESE G, TREGLIA M, et al. Monocytes from depressed patients display an altered pattern of response to endotoxin challenge[J]. PLoS One, 2013, 8(1): e52585.
- [22] CASTANON N, LEONARD B E, NEVEU P J, et al. Effects of antidepressants on cytokine production and actions[J]. Brain Behav Immun, 16(5): 569-574.
- [23] 张林,李乐华.抑郁症和双相情感障碍的共同致病基因[J].国际精神病学杂志,2015,42(1):61-63.
- [24] 张权生,秦旭华.黄精水提液对老龄大鼠脑内单胺类神经递质和单胺氧化酶的影响[J].中医研究,2008,21(6):16-18.
- [25] 薄菁,薛玲.5-HT_{2c}受体与抑郁症相关性研究进展[J].医学研究杂志,2012,41(6):5-7.
- [26] HUANG Y Y, KANDEL E R. 5-Hydroxytryptamine induces a protein kinase A/mitogen-activated protein kinase-mediated and macromolecular synthesis-dependent late phase of long-term potentiation in the amygdala[J]. J Neurosci, 2007, 27(12): 3111-3119.
- [27] ALFREDO M. Do serotonin(1-7) receptors modulate short and long-term memory?[J]. Neurobiol Learn Mem, 2007, 87(4): 561-572.
- [28] HILL R A, MURRAY S S, HALLEY P G, et al. Brain-derived neurotrophic factor expression is increased in the hippocampus of 5-HT(2C) receptor knockout mice[J]. Hippocampus, 2011, 21(4): 434-445.
- [29] 李晓红,莫兴夏,陈秋霞,等.5-羟色胺与其受体亚型在肝郁脾虚证大鼠的表达及逍遥散的影响[J].中华中医药学刊,2018,36(11):2593-2597.
- [30] 冯倩,汤臻,赵中.5-HTTLPR 与抑郁症易感性及抗抑郁疗效的相关性[J].中华临床医师杂志(电子版),2015,9(4):642-645.
- [31] 穆道周,胡桂芳,陈雷,等.雌激素受体与抑郁症的相关性研究进展[J].天津医药,2019,47(4):436-439.
- [32] 黄美艳,唐于平,李伟霞,等.采用代谢组学策略研究佛手散对急性血瘀大鼠的活血化瘀作用机制[J].中国中药杂志,2013,38(20):3576-3582.
- [33] 杨英俏,姚祖培.代谢综合征与炎症反应和血瘀证的关系[J].中西医结合心脑血管病杂志,2013,11(1):74-75.
- [34] 蔡伦,胡玉英,谭璐璐,等.柴胡疏肝汤对脂多糖诱导的急性抑郁小鼠模型色氨酸代谢通路的影响[J].中华中医药杂志,2018,33(11):5212-5215.
- [35] 蔡伦,陈伟军,刘泰,等.柴胡疏肝汤通过正常化外周色氨酸代谢产物改善氟西汀抵抗的颞叶癫痫相关性抑郁样行为[J].中华中医药杂志,2018,33(4):1554-1557.
- [36] 王昊,邓春玉,饶芳,等.5-羟色胺诱导冠状动脉收缩的机制研究[J].中国病理生理杂志,2018,34(5):825-831.

(编辑:修春)