

网络药理学预测人参抗抑郁作用机制^{*}

胡越^{1**} 许兵兵²

(1. 江西卫生职业学院, 江西 南昌 330052; 2. 江西省中医药研究院, 江西 南昌 330052)

摘要: **目的** 研究人参治疗抑郁症的潜在分子机制。 **方法** 通过网络药理学的方法, 采用 TCMS 数据库查询获取人参主要的活性成分, 利用 Drugbank、GeneCards、NCBI、OMIM 等数据库筛选人参活性成分并预测人参抗抑郁的作用靶点。使用 String 数据库和 Cytoscape 软件绘制靶点蛋白相互作用网络, 使用 Cytoscape 软件构建活性成分-作用靶点的网络, 采用 DAVID 数据库对靶点进行 GO 及 KEGG 通路分析。 **结果** 经过筛选得到人参的活性成分 17 个, 主要涉及的作用靶点有 43 个。网络分析结果表明, 人参发挥抗抑郁药效过程中主要涉及代谢过程、细胞过程、对应激的应答等生物过程, 通过调节 Neuroactive ligand-receptor interaction、Toxoplasmosis、Pathways in cancer、Leishmaniasis、Serotonergic synapse、Osteoclast differentiation、Tuberculosis 等信号通路来发挥抗抑郁作用。 **结论** 人参中的活性化合物延胡索碱、豆甾醇、人参二醇山奈酚、花生四烯酸等能作用于 AKT1、TNF、PPARG、APRB2、IL-1 β 、PTGS2 等靶点调节多条信号通路进行抗炎、调节突触等作用, 从而可能发挥对抑郁症的治疗作用。

关键词: 人参; 抑郁症; 网络药理学; 作用靶点; 蛋白相互作用

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 2096-1340(2021)05-0113-07

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2021.05.023

Prediction of Antidepressant Mechanism of Ginseng by Network Pharmacology

HU Yue¹ XU Bingbing²

(1. Jiangxi Health Vocational College, Nanchang 330052, China;

2. Jiangxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330052, China)

Abstract: **Objective** To study the potential molecular mechanism of Ginseng in the treatment of depression. **Methods** Through the method of network pharmacology, the main active components of Ginseng were obtained by TCMS database. The active components of Ginseng were screened by Drugbank, Genecards, NCBI, OMIM and other databases, and the antidepressant targets of Ginseng were predicted. String database and Cytoscape software were used to draw the target protein interaction network, Cytoscape software was used to construct the network of active ingredient action target, and DAVID database was used to analyze the go and KEGG pathways of the target. **Results** After screening, 17 active components of Ginseng were obtained, and 43 targets were mainly involved. The results of network analysis showed that Ginseng mainly involved biological processes such as metabolic process, cellular process and response to stress in the process of exerting antidepressant effect, through regulating neuroactive live receptor interaction, toxoplasmosis, pathways in cancer, leishmaniasis, serotonic synapse, osteolast differentiation tuberculosis and other signaling pathways to play an antidepressant role. **Conclusion** Fumarine, stigmasterol, Panaxadiol, kaempferol and arachidonic acid can act on AKT1, TNF, PPARG, aprb2 and IL-1 β , PTGS2 and other targets regulate multiple signal pathways for anti-inflammatory and synaptic regulation, which may play a role in the treatment of depression.

Key words: Ginseng; Depression; Network pharmacology; Action target; Protein interaction

* 基金项目: 江西省卫健委中医药科研计划课题(2018A076)

** 通讯作者: 胡越, 助理讲师。E-mail: 231145624@qq.com

抑郁症是一种常见的神经精神障碍疾病,其症状和体征包括快感缺失、社交退缩、认知困难,严重者伴随自杀倾向^[1-2]。根据世界卫生组织(WHO)统计,抑郁症已成为困扰人类的第二大疾病^[3]。在过去的几十年里,人们对抑郁症进行了广泛的研究,然而仍存在病因仍不明确,诊断不清,药物治疗无效等问题^[4]。这可能是由于对抑郁症的病理生理机制认识不足所致。不同的研究人员认为,抑郁症实际上是一群不同的疾病,有重叠的因果路径,由遗传和环境因素之间的相互作用引发^[5]。对遗传易感个体的持续应激导致下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)、单胺类、细胞因子和脑神经营养因子的缺陷,从而在抑郁症个体和类似抑郁的动物中导致神经萎缩和大脑奖励回路的功能障碍,如前额叶皮质(PFC)、伏隔核(NAC)、腹侧被盖区(VTA)和海马区(HIP)^[6-7]。在临床上,基于单胺递质失衡理论的选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRT)、5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂(SNRT)目前正被用于治疗抑郁症^[8]。然而,总体临床治愈率不到50%,副作用往往相当严重^[9]。因此迫切需要找到新的抗抑郁药物。

人参源于五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎,性温和,味甘,具有养心安神、复脉固脱、大补元气、生津等功效^[10]。人参的主要成分包括多糖类、皂苷类、蛋白质、维生素等,其中最主要的活性成分是人参皂苷^[11-12]。研究表明,人参具有抗氧化应激、减缓抑郁、抗老年痴呆、改善动脉粥样硬化、提高成骨细胞存活率、抑制肿瘤细胞生长等药理学作用^[13]。

网络药理学是 Hopkins 在 2007 年提出的概念,对药物与疾病网络的干预作用进行分析研究,构建“药物-靶点-疾病”网络,为新药研发提供了科学的理论指导和新的策略。中药具有极其复杂的化学成分,系统庞大,研究起来比较困难。网络药理学则能够解决这一问题,将复杂的中药研究系统化,为中药学的研究提供了新的方法、思路 and 角度。

本文采用网络药理学方法从整体性的角度对人参的抗抑郁作用机制进行探讨,为深入研究人参及含人参复方的抗抑郁作用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 化学成分的获取与活性成分的筛选 通过查询中药天然产物数据库 TCMSP(<http://tcmbspw.com/tcmspsearch.php>)

获得人参的化学成分并获取化合物的口服生物利用度(oral bioavailability)和类药物度(drug-likeness)等信息。口服生物利用度(OB)^[14]和类药物度(DL)^[15]这两个 ADME 相关模型是影响胃肠道药物吸收的主要变量。因此,在 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的条件下筛选出生物活性成分。

1.2 活性成分作用靶点的获取 通过 DrugBank 数据库搜索活性成分的作用靶点,去除重复靶点之后,与查询的抑郁症相关蛋白和基因进行映射,并转换为 official gene symbol。

1.3 抑郁症相关作用靶点的筛选 通过在 GeneCards 数据库(<http://www.genecards.org/>)、OMIM 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)、NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)中输入关键词 depression、搜索与抑郁症相关的已报道基因,去除重复基因,与人参的作用靶点进行匹配,得到人参活性成分抗抑郁的潜在作用靶点。

1.4 成分-作用靶点网络构建与分析 将人参的活性成分和抗抑郁作用靶点导入 Cytoscape Version 3.6.1 软件,构建人参活性成分-作用靶点网络。

1.5 蛋白相互作用网络构建与分析 将人参作用靶点的 official gene symbol 导入 String 数据库,限定物种为人,获取蛋白相互作用关系。结果保存成 TSV 格式,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路,并对网络进行分析,保存分析结果,获得蛋白相互作用最终的网路。

1.6 生物过程与通路分析 将人参抗抑郁作用靶点的 official gene symbol 输入 DAVID 数据库,Select Identifier 选择 official gene symbol,物种选择 homo sapiens,对人参的作用靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析,保存结果。设定阈值 $P < 0.05$,根据相关的靶点数目进行排序,选择排名靠前的通路和生物过程进行研究并绘图。

2 结果

2.1 人参抗抑郁症的活性成分 TCMSP 数据库获得人参化学成分 190 个,以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为标准进行筛选,其中化合物 $OB \geq 30\%$ 有 60 个,化合物 $DL \geq 0.18$ 有 87 个, $DL \geq 0.18$ 和 $OB \geq 30\%$ 均符合条件有 22 个化合物。化合物靶点筛选发现有 5 个化合物没有靶点,其余 17 个有效成分见表 1。

表 1 人参的主要活性成分

编号	Mol ID	Molecule Name	OB (%)	DL
1	MOL000787	Fumarine	59. 26	0. 83
2	MOL005317	Deoxyharringtonine	39. 27	0. 81
3	MOL005376	Panaxadiol	33. 09	0. 79
4	MOL005348	Ginsenoside-Rh4_qt	31. 11	0. 78
5	MOL000449	Stigmasterol	43. 83	0. 76
6	MOL000358	beta-sitosterol	36. 91	0. 75
7	MOL005399	alexandrin_qt	36. 91	0. 75
8	MOL005384	suchilactone	57. 52	0. 56
9	MOL005344	ginsenoside rh2	36. 32	0. 56
10	MOL003648	Inermin	65. 83	0. 54
11	MOL002879	Diop	43. 59	0. 39
12	MOL005321	Frutinone A	65. 9	0. 34
13	MOL005356	Girinimbin	61. 22	0. 31
14	MOL000422	kaempferol	41. 88	0. 24
15	MOL005308	Aposiopolamine	66. 65	0. 22
16	MOL005320	arachidonate	45. 57	0. 2
17	MOL005318	Dianthramine	40. 45	0. 2

2.2 人参抗抑郁靶点预测 人参的 19 个活性成分在 drugbank 数据库中的靶点共有 256 个,去除重复后得到 119 个靶点。通过向 NCBI 数据库 gene 搜索功能中输入蛋白靶点的 description,得到靶点的 official gene symbol。通过与 GeneCards、

NCBI、Therapeutic Target Database、Online Mendelian Inheritance in Man、Comparative Toxicogenomics Database 数据库中检索得到的抑郁症基因进行比对,筛选出 43 个可能与人参治疗抑郁症相关的作用靶点,详见表 2。

表 2 人参潜在的抗抑郁靶点

编号	Symbol	编号	Symbol	编号	Symbol	编号	Symbol
1	PTGS2	23	CYP3A4	12	PON1	34	ICAM1
2	HTR3A	24	ALOX5	13	IL1B	35	PPARG
3	ADRB2	25	AIP	14	IFNG	36	STAT1
4	OPRM1	26	RARG	15	PSMG1	37	CASP7
5	CASK	27	HSP90A	16	NOS2	38	ADRA
6	AR	28	INSR	17	PPARG	39	SLC6A2
7	PCR	29	DPP4	18	F2	40	NR3C1
8	MAOB	30	GABRA6	19	CHRM2	41	SLC6A3
9	MAOA	31	SLC6A4	20	AKT1	42	DRD1
10	ADRB1	32	GPX2	21	TNF	43	NR3C2
11	TGFB1	33	DIO1	22	HMOX1		

2.3 活性成分-作用靶点网络构建 将人参活性成分和对应的抗抑郁作用靶点信息导入 Cytoscape 软件,构建活性成分-作用靶点的网络图,详见

图 1。从图中可看出同一活性成分可以对应不同的靶点,这充分说明了人参抗抑郁多成分、多靶点的作用特点。

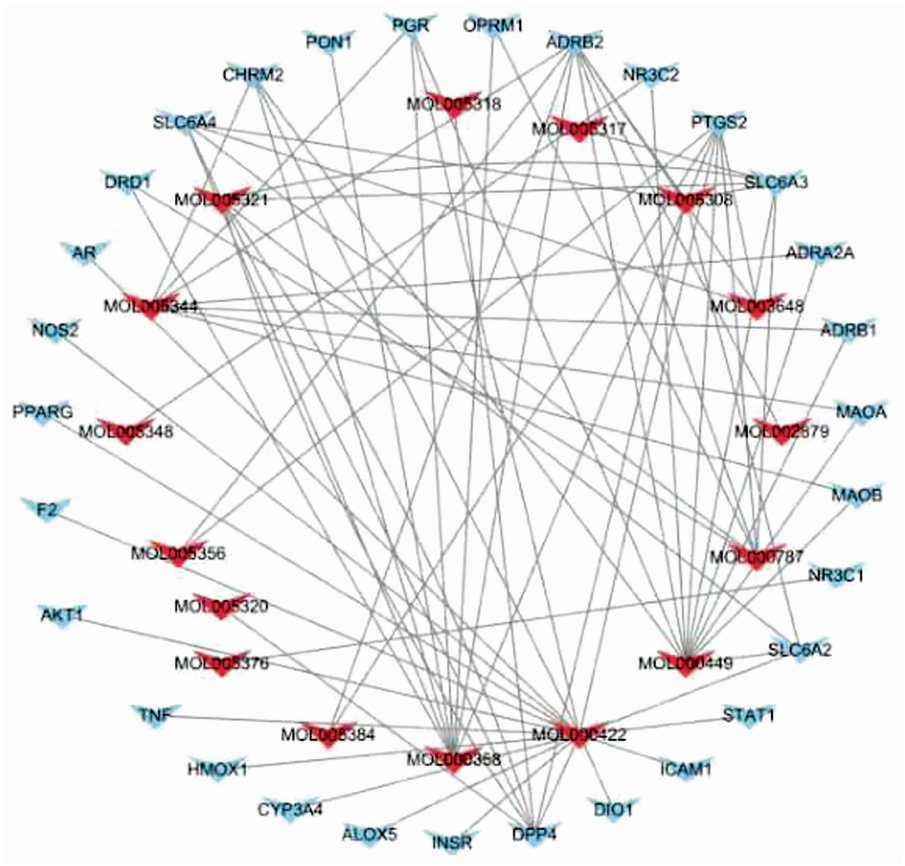


图1 人参化合物-靶点相互作用的网状图,蓝色代表靶点,红色代表活性成分

2.4 蛋白相互作用网络构建与分析 图中共有42个节点,194条边,平均节点度为9.24,平均局部聚类系数为0.64,说明相互作用较大。同时AKT1与TNF靶点颜色较深,等级较大,预测以上靶点发挥主要作用,研究表明在抑郁症的发生发展过程中,PI3K/AKT信号转导途径发挥着重要的作用。Karege等对20例重度抑郁症自杀患者脑组织解剖后,发现AKT蛋白活性显著降低^[16]。Kalkman研究发现,AKT可通过加强海马干细胞功能从而促进抗抑郁药物发挥疗效^[17]。对抑郁症的相关性进行Meta分析(荟萃分析)表明:抑郁症患者脑组织中TNF-α水平明显高于正常人^[18]。GWAS研究发现,抑郁症易感性与TNF-α基因的多态性具有明显的相关性^[19]。此外,TNF-α拮抗剂对抑郁症患者及抑郁症动物模型的有明显的缓解作用^[20-21]。因此,TNF-α在抑郁症的发生和发展过程中起着重要的作用。

2.5 基因功能与通路分析 GO富集分析指在某个功能层次上对涉及的基因或者蛋白的数目进行统计并组成一个有向无环图,生物过程(biological

process,BP)、分子功能(molecular function,MF)和细胞组分(cellular component,CC)是GO富集分析的3个分支^[22]。通过DAVID数据库对人参的活性成分抗抑郁靶点进行KEGG分析和GO富集分析,设定阈值 $P < 0.05$,BP分析中排名靠前的有positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter(9个靶点)、transcription,DNA-templated(6个靶点)、positive regulation of cell proliferation(6个靶点)、negative regulation of gene expression(5个靶点),见图3;CC分析中排名靠前的是integral component of plasma membrane(11个靶点),见图4。MF中norepinephrine binding、epinephrine binding P值均比较显著,均具有3个靶点,见图5。通路分析结果如图6所示,涉及的主要通路有Neuroactive ligand-receptor interaction(9个靶点)、Toxoplasmosis(7个靶点)、Pathways in cancer(7个靶点)、Leishmaniasis(6个靶点)、Serotonergic synapse(6个靶点)、Osteoclast differentiation(6个靶点)、Tuberculosis(6个靶点)。

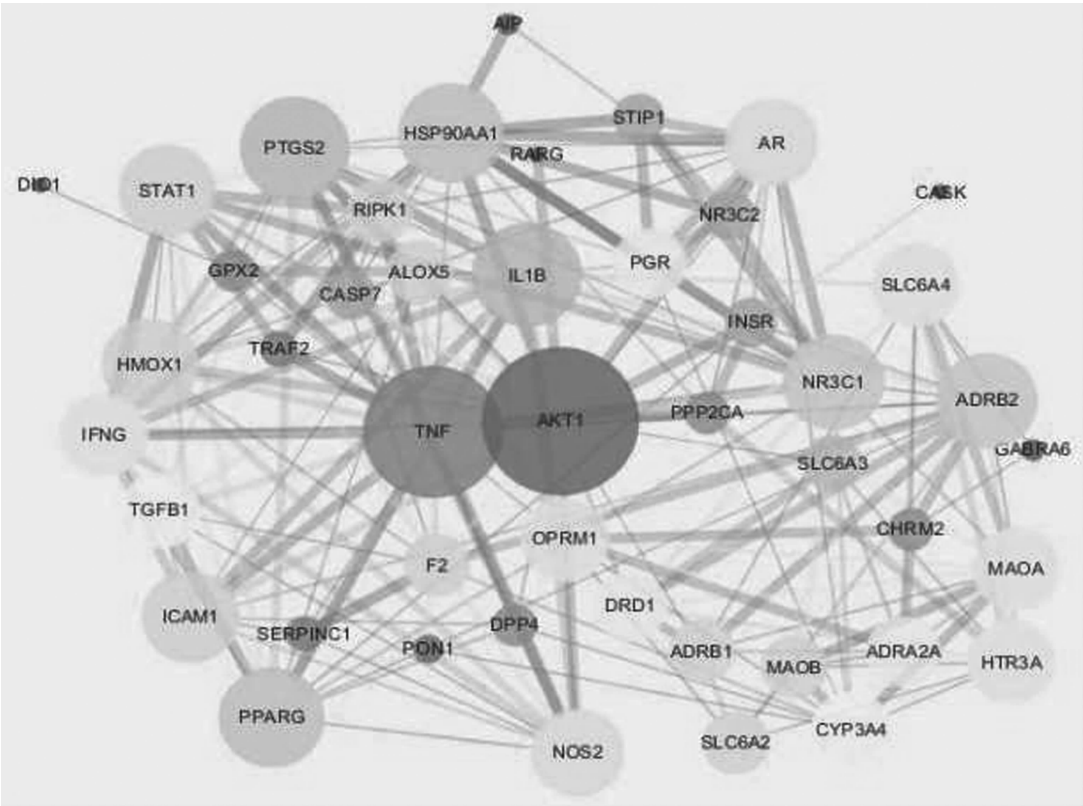


图 2 人参抗抑郁症靶点蛋白相互作用网络

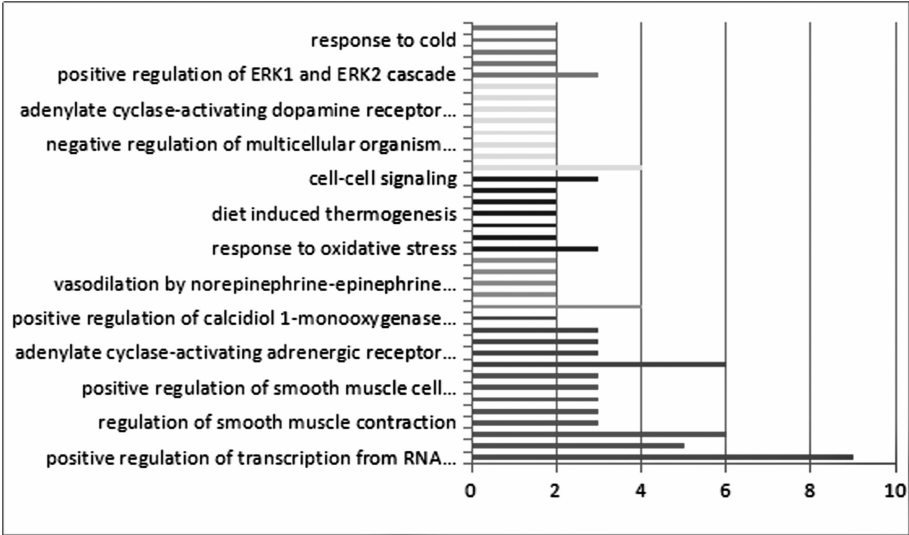


图 3 从人参的主要活性成分中提取具有潜在抗抑郁作用靶点的生物学过程(BP)的分析

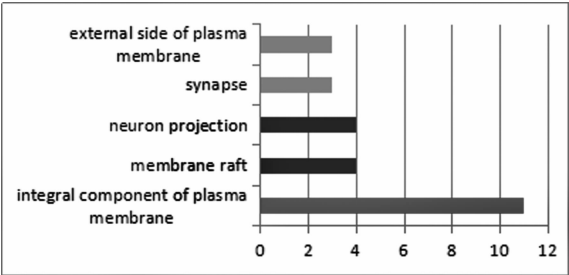


图 4 从人参的主要活性成分中提取具有潜在抗抑郁作用靶点的细胞成分(CC)的分析

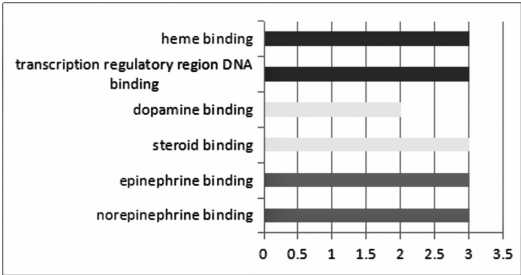


图 5 从人参的主要活性成分中提取具有潜在抗抑郁作用靶点的分子功能(MF)的分析

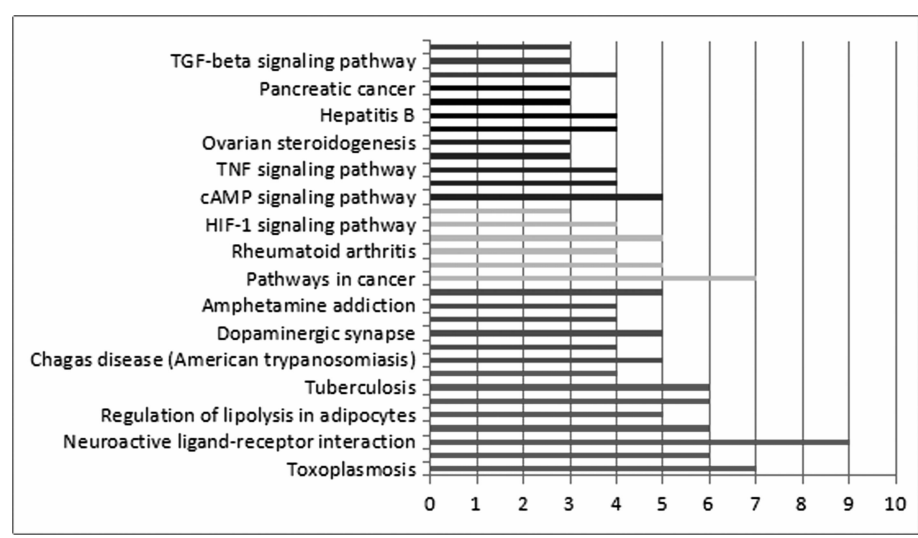


图 6 从人参的主要活性成分中提取具有潜在抗抑郁作用靶点的 KEGG 通路分析

3 讨论

3.1 人参治疗抑郁症的基础 抑郁症严重危害人类的健康,为了更好的治愈抑郁症,研究人员多层次、多角度得研究了抑郁症的发病机制,并对未知的病理生理过程进行反复探索。中药在抑郁症的治疗或预防上将发挥着积极的作用。近年来人参越来越受到众多研究人员的关注,临床研究和动物实验研究均表明:人参粗提取物、人参总皂苷以及人参皂苷 Rg1、Rb1 和 Rb3 等均有很好的抗抑郁作用,国内外研究人员对人参提取物、人参总皂苷以及人参皂苷单体或苷元广泛开展了其抗抑郁药效等方面的诸多研究^[23]。Lee 等^[24]给雄性大鼠连续灌服野生人参水煎剂,再注射吗啡,连续 5 天后进行高架迷宫和强迫游泳实验,发现人参组大鼠的焦虑和抑郁样行为显著降低,表明野生人参可以有效地抑制吗啡戒断导致的焦虑和抑郁行为。Kim 等^[25]采用行为绝望小鼠模型评价了红参或醋酸发酵红参灌胃给药 2 周后的抗抑郁作用,发现两者均能显著缩短小鼠在强迫游泳实验中的不动时间。曲苏晨^[26]的研究表明开心散具有明显的抗抑郁作用,其中人参为君药。同时人参皂苷 Rg5、山奈酚均对抑郁症具有良好的疗效^[27,28]。已有文献报道,人参皂苷的抗抑郁机制主要涉及改善 HPA 轴调节紊乱,提高脑源性营养神经因子与单胺类神经递质水平,降低异常表达的细胞因子等^[29]从人参皂苷抗抑郁药效和机制的研究来看,人参是可以开发为抗抑郁药的^[30]。

3.2 核心靶标基因 蛋白相互作用网络分析结

果显示人参的靶点蛋白间存在着比较复杂的相互关系,并非是某个蛋白单独起作用,而是复杂交互的网络共同作用。其中 TNF、AKT1、PPARG、PTGS2、HSP90AA1、IL1B 为人参发挥抗抑郁药效的主要靶点。TNF- α 、IL1B 因子的功能较多,它们可以使脑部的 5-HT 水平降低,可以激活丘脑-垂体-肾上腺轴功能进行,可以引发抑郁症。宋璐的研究表明氟西汀还通过作用于核内 PPAR 进而起到抗抑郁作用^[30]。

3.3 主要通路 靶点 GO 分析和通路分析结果表明,人参治疗抑郁症涉及细胞过程、代谢过程和对应激的应答等生物过程, 涉及细胞器、细胞膜和细胞质等细胞组分,涉及小分子、信号分子、转录因子、受体、蛋白和酶等多种物质的参与,是一个复杂的过程。靶点通路分析结果显示人参抗抑郁的靶点主要涉及 Neuroactive ligand-receptor interaction、Toxoplasmosis、Cancer、Serotonergic synapse 等信号通路。

综上所述,网络药理结果显示人参的 19 个活性成分延胡索碱、甾甾醇、人参二醇、人参皂苷-Rh4_qt、 β -谷甾醇、alexandrin_qt、suchilactone、人参皂苷 Rh2、Inermin、Diop、灌木远志酮 A、Girinimbin、山奈酚、Aposiopolamine、花生四烯酸、石竹胺作用于 43 个靶点,涉及多种过程、分子和通路,体现了人参多成分-多靶点-多途径的作用特点,本研究为人参抗抑郁的机制进一步研究提供了方向。

参考文献

[1] Rhead JC. How to change your mind;what the new science

- of psychedelics teaches us about consciousness, dying, addiction, depression, and transcendence [J]. *Psychoactive Drugs*, 2018, 50(5):460.
- [2] Anthes E. Depression: a change of mind [J]. *Nature*, 515, 185-187 (2014).
- [3] Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030 [J]. *PLoS Med.* 2006, 3(11):e442-e462.
- [4] Ma K, Zhang H, Baloch Z. Pathogenetic and therapeutic applications of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in major depressive disorder: a systematic review [J]. *Int. J. Mol. Sci.*, 2016, 17(5):733-754.
- [5] Consortium C. Sparse whole-genome sequencing identifies two loci for major depressive disorder [J]. *Nature*, 2015, 523(7562):588-591.
- [6] Price JL, Drevets WC. Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders [J]. *Trends Cogn. Sci. (Regul. Ed.)* 2012, 16(1):61-71.
- [7] Williams LM. Precision psychiatry: a neural circuit taxonomy for depression and anxiety [J]. *The lancet, Psychiatry* 2016, 3(5):472-480.
- [8] Joshi A. Selective serotonin re-uptake inhibitors: an overview [J]. *Psychiatr. Danub.* 30(Suppl 7) (2018) 605-609.
- [9] Cipriani A, Zhou X, DelGiovane C, et al, Comparative efficacy and tolerability of antidepressants for major depressive disorder in children and adolescents: a network meta-analysis [J]. *Lancet* 2016, 388(10047):881-890.
- [10] 黄社霄. 人参, 西洋参, 三七药用探讨 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2011, 9(15):73-74.
- [11] 杨武韬. 人参的化学成分和药理研究进展 [J]. *中国医药指南*, 2014, 12(3):33-34.
- [12] 吴德琳, 刘娟, 郑思道. 人参活性成分及人参复方制剂对细胞色素 P450 酶调节作用的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2016, 14(16):1874-1876.
- [13] 李倩, 柴艺汇, 高洁, 等. 人参现代药理作用研究进展 [J]. *贵阳中医学院学报*, 2019, 41(5):89-92.
- [14] Xu X, Zhang WX, Huang C, et al. A Novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13:6964-6982.
- [15] Walters WP, Murcko MA. Prediction of 'Drug-Likeness' [J]. *Adv. Drug Deliver. Rev.* 2002, 54, 255-271.
- [16] Karege F, Perroud N, Burkhardt S, et al. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 β in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims [J]. *Biol Psychiatry.* 2007, 61(2):240-245.
- [17] Kalkman HO. The role of the phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B pathway in schizophrenia [J]. *Pharmacol Ther.* 2006, 110(1):117-134.
- [18] Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression [J]. *Biol Psychiatry*, 2010, 67(5):446-457.
- [19] Boomsma DI, Willemsen G, Sullivan PF, et al. Ge-nome-wide association of major depression: description of samples for the GAIN Major Depressive Disorder Study: NTR and NESDA biobank projects [J]. *Eur J Hum Genet*, 2008, 16(3):335-342.
- [20] Schmidt FM, Kirkby KC, Himmerich H. The TNF- α inhibitor etanercept as monotherapy in treatment-resistant depression-report of two cases [J]. *Psychiatr Danub*, 2014, 26(3):288-290.
- [21] Krügel U, Fischer J, Radicke S, et al. Antidepressant effects of TNF- α blockade in an animal model of depression [J]. *J Psychiatr Res*, 2013, 47(5):611-616.
- [22] 吴丹, 高耀, 向欢, 等. 基于网络药理学的柴胡抗抑郁作用机制研究 [J]. *药学报*, 2018, 53(2):210-219.
- [23] 朱珂璇, 邵晓, 王昕, 等. 人参抗抑郁作用及机制的研究进展 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(9):1583-1588.
- [24] Lee B, Kim H, Shim I, et al. Wild ginseng attenuates anxiety- and depression-like behaviors during morphine withdrawal [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2011, 21(10):1088-1096.
- [25] Kim NH, Kim KY, Jeong HJ, et al. Antidepressant-like effect of altered Korean red ginseng in mice [J]. *Behav Med*, 2011, 37(2):42-46.
- [26] 曲苏晨, 曹程, 戚明珠, 等. 中药复方开心散调控慢性压力应激小鼠海马炎症细胞因子水平抗抑郁作用机制研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21(11):2302-2309.
- [27] 王佳, 谢健, 陈岳明, 等. 山奈酚对乳腺癌抑郁模型大鼠的抗抑郁作用研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2016, 33(3):277-280.
- [28] 乔卫. 苹果果实中的胡椒碱对单胺氧化酶的抑制作用及抗抑郁活性 [J]. *国外医药(植物药分册)*, 2006, 21(6):266-267.
- [29] 任思宇, 王真真, 陈乃宏. 人参皂苷抗抑郁作用研究进展 [J]. *药学报*, 2019, 54(12):2204-2208.
- [30] 宋璐. 以海马 PPAR α 为新型抗抑郁靶点的相关研究 [D]. 南通: 南通大学, 2017.

(收稿日期: 2020-06-10 编辑: 宋蓓)