

DOI:10.16305/1.1007-1334.2024.2310026

# 基于网络药理-分子对接-SPR 技术研究甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症的分子机制

王华真, 何 磊, 孟祥宇, 谢圆魁

河南省驻马店市第二人民医院药学部(河南 驻马店 463000)

**【摘要】** **目的** 通过网络药理学探析甘麦大枣汤联合百合知母汤的活性成分及治疗抑郁症的潜在靶点,并通过分子对接、表面等离子共振(SPR)实验、热迁移实验对主要活性成分-关键靶点相互作用进行验证。**方法** 运用中药系统药理学技术平台(TCMSP)、草本成分靶点平台(HIT)、中药分子机制生物信息学分析工具数据库(BATMAN-TCM)、中医百科全书数据库(ETCM)筛选甘麦大枣汤联合百合知母汤的有效成分。运用TCMSP数据库、比较毒理基因组学数据库(CTD)、PHARMAPPER药物靶点数据库获得甘麦大枣汤联合百合知母汤的潜在作用靶点,运用人类基因数据库(GeneCards)和基因表达数据库(GEO)获得抑郁症相关靶点,与上述药物作用靶点取交集后得到潜在治疗抑郁症靶点。运用String数据库构建靶点蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络,运用DAVID数据库和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行基因本体(GO)和KEGG富集分析,运用Cytoscape软件构建相应网络,筛选甘麦大枣汤联合百合知母汤抗抑郁的关键靶点和相应的活性成分。运用Discovery studio软件进行分子对接,运用SPR技术检测活性成分与靶点结合活性,运用热迁移实验检测主要活性成分与靶点的结合作用。**结果** 经药物吸收-分配-代谢-排泄-毒性数据库(ADMET)筛选后获得甘麦大枣汤联合百合知母汤的有效成分160个,与抑郁症相关靶点、抑郁患者差异表达基因取交集后获得潜在抗抑郁靶点763个。经PPI网络分析、GO及KEGG富集分析发现,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路等10条信号转导通路可能发挥重要作用,其中MAPK14处于关键位置。分子对接和SPR实验结果显示,刺芒柄花素(formononetin)、甘草查尔酮A(licochalcone A)和维斯体素(vestitol)为甘麦大枣汤联合百合知母汤的主要活性成分,可与MAPK14蛋白结合,亲和力分别为2.36  $\mu\text{mol/L}$ 、26.01  $\mu\text{mol/L}$ 、11.30  $\mu\text{mol/L}$ 。热迁移实验显示这3个成分与MAPK14结合后可显著提高MAPK14的热稳定性,表明这3个成分与MAPK14能发生相互作用。**结论** MAPK14是治疗抑郁症的潜在靶点,甘麦大枣汤联合百合知母汤通过其中3种活性成分与MAPK14结合,首次从活性分子直接作用靶点角度解释了甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁的分子机制。

**【关键词】** 抑郁症;甘麦大枣汤;百合知母汤;表面等离子共振技术;网络药理学;作用机制

## Study on molecular mechanism of Ganmai Dazao Decoction combined with Baihe Zhimu Decoction in treating depression based on network pharmacology-molecular docking-SPR technology

WANG Huazhen, HE Lei, MENG Xiangyu, XIE Yuankui

Department of Pharmacy, The Second People's Hospital of Zhumadian, Zhumadian, Henan 463000, China

**Abstract: Objective** To explore the active ingredients of Ganmai Dazao Decoction (GDD) combined with Baihe Zhimu Decoction (BZD) and the potential targets for the treatment of depression by network pharmacology, and verify the interaction between the main active ingredients and the key targets by molecular docking, surface plasmon resonance (SPR), and thermal shift assay experiments. **Methods** TCMSP, HIT, BATMAN-TCM and ECTM databases were used to screen the effective compounds in GDD combined with BZD. TCMSP, CTD and PHARMAPPER databases were used to obtain the potential targets of GDD combined with BZD. GeneCards and GEO databases were used to obtain depression-related targets, and the potential therapeutic targets for depression were obtained after intersection with above targets. The target protein-protein interaction (PPI) network was constructed using String database. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis were performed using DAVID and KEGG databases. Cytoscape software was used to construct the corresponding network to obtain the main active ingredients and key targets. Discovery studio software was used for molecular docking. SPR technology was used to detect the binding activity of active ingredients and target.

Thermal migration assay was used to detect the binding effect of main active ingredients and target. **Results** After ADMET screening, 160 active components of GDD combined with BZD were obtained, and 763 potential anti-depression targets were obtained after intersection of depression-related targets and differentially expressed genes of depressed patients. PPI network analysis, GO and

[基金项目] 河南省科技攻关项目(232102310033);驻马店市第二人民医院院内科项目(2021-ZMDSPH-002)

[作者简介] 王华真,女,硕士,副主任药师,主要从事中药抗抑郁药理研究工作

KEGG enrichment analysis showed that 10 signaling pathways such as mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway may play an important role, of which MAPK14 was the most important. Molecular docking and SPR experiments showed that formononetin, licochalcone A and vestitol were the main active ingredients of GDD combined with BZD, which could bind to MAPK14 protein with the affinity of 2.36  $\mu\text{mol/L}$ , 26.01  $\mu\text{mol/L}$ , 11.30  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. The thermal migration assay showed that these 3 molecules could significantly improve the thermal stability of MAPK14 after binding to MAPK14, indicating that these 3 molecules could interacted with MAPK14. **Conclusions** MAPK14 is a potential target for the treatment of depression, GDD combined with BZD bind to MAPK14 through 3 active ingredients. The molecular mechanism of GDD combined with BZD in treating depression was explained from the point of view of direct action of active molecules for the first time.

**Keywords:** depression; Ganmai Dazao Decoction; Baihe Zhimu Decoction; surface plasmon resonance technology; network pharmacology; mechanism of action

抑郁症是一种常见的心理疾病,其主要临床特征是连续且长期的心情低落,伴认知、行为或植物神经症状<sup>[1]</sup>。随着现代生活节奏的加快,学业、事业和家庭方面的压力增大,抑郁症的发病率逐年上升,已成为现代人心理疾病中最常见的一种<sup>[2]</sup>。流行病学调查<sup>[3]</sup>显示,我国抑郁障碍年患病率为 3.6%,终生患病率为 6.8%。此外,新型冠状病毒感染(旧称“新型冠状病毒肺炎”)的大流行导致全球重度抑郁障碍病例增加了 27.6%<sup>[4]</sup>,预计到 2030 年抑郁障碍将超过肿瘤和心脑血管疾病成为全球第一大疾病负担<sup>[1]</sup>。

目前,临床常用的抑郁症治疗手段主要包括药物治疗、心理治疗等,其中药物治疗主要是氟西汀、帕罗西汀、文拉法辛等<sup>[5]</sup>。这些药物建立在目前的“单胺假说”理论上,虽取得了显著的治疗效果,但仍然有一大部分患者未能从中获益,并且有诸多常见的药物不良反应<sup>[6]</sup>。而新型快速抗抑郁药也存在药物成瘾和神经毒性的问题<sup>[7]</sup>。值得注意的是,中医药因其整体观念、辨证论治的本质和经济方便的特点,在抑郁症的治疗中愈发重要,已成为临床中普遍应用的治疗手段<sup>[1,8-12]</sup>。

甘麦大枣汤出自《金匱要略》,由甘草、小麦、大枣 3 味药物组成,具有养心安神、和中缓急之功效,主治脏躁,可用于治疗抑郁症<sup>[13-15]</sup>。百合知母汤同样出自《金匱要略》,由百合和知母 2 味药物组成,具有补虚清热、养阴润燥之功效,同样有抗抑郁效果<sup>[16-18]</sup>。前期临床实践研究<sup>[19-26]</sup>表明,甘麦大枣汤联合百合知母汤加减对抑郁症状疗效好,且不良反应小,但甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症的作用机制尚不明确,目前尚无相关研究报道。

网络药理学是分析药物活性成分-靶点相互作用的新兴学科,以多个生物信息数据库为基础,通过构建药物活性成分-靶点相互作用网络,可初步解析中药多组分-多靶点的特征,定位关键活性成分和关键作用靶点<sup>[27-28]</sup>。但网络药理学分析只能对药物活性成分的潜在靶点进行筛选和预测,不能确定活性成分是否与靶点蛋白发生结合,更无法判断活性成分与靶点的亲和

力,因此网络药理学分析结果还需进一步实验验证。表面等离子共振(surface plasmon resonance, SPR)技术是一种基于光学检测的分析分子间相互作用的技术,可以实时监测生物分子的结合和解离过程,从而获得药物分子和靶点蛋白之间亲和力、动力学和热力学等信息<sup>[29]</sup>。与传统检测分子相互作用的方法相比,SPR 技术具有操作简单、耗时短、灵敏度高、可以无标记地实时测量动力学数据等优点<sup>[30]</sup>。本研究在利用网络药理学分析甘麦大枣汤联合百合知母汤的活性成分和作用靶点的基础上,利用分子对接技术和 SPR 技术观察核心活性成分与靶点间的结合情况,分析其结合位点和结合常数,并利用热迁移实验检测其相互作用,探讨甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁的分子机制,为其治疗抑郁症的推广应用及进一步产品开发提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 药物与试剂 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)14 纯蛋白、MAPK14 抗体(批号分别为 Ag5115、66234-1-Ig),美国 Proteintech 公司;刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素、4-(4-氟苯基)-2-(4-甲基亚磺酰基苯基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑(SB203580)、他克莫司(FK506)(批号分别为 HY-N0183、HY-N0372、HY-N8744、HY-10256、HY-13756),美国 MedChemExpress 公司。

1.1.2 主要仪器 分子间相互作用分析系统(型号: Biacore T200),美国 GE Healthcare 公司;蛋白垂直电泳转印系统(型号: 1658033),美国 Bio-Rad 公司;全自动化学发光图像分析系统(型号: 5200 Multi),上海天能科技有限公司。

1.2 甘麦大枣汤联合百合知母汤活性成分及靶点的获取 运用中药系统药理学技术平台(TCMSP, <https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php/>),草本成分靶点平台(HIT, <http://www.badd-cao.net;2345/search/>),中药分子机制生物信息学分析工具数据库(BATMAN-TCM, <http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>),中医百科全书

数据库 (ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM2/front/#/>) 分别检索甘草、小麦、大枣、百合、知母 5 味药材的活性成分。根据 ADMETlab 数据库 (ADMETlab3.0, <https://admetmesh.scbdd.com>) 展示吸收、分布、代谢、排泄和毒性参数, 筛选建立药物活性成分数据列表<sup>[31]</sup>。根据上述药物活性成分, 从 TCMSp 数据库、比较毒理基因组学数据库 (CTD, <https://ctdbase.org/>)、PHARMAPPER 药物靶点数据库 (<https://lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.html/>) 中筛选药物作用靶点, 运用 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>), 将蛋白名称转化为基因名称, 建立药物活性成分靶点数据列表<sup>[32]</sup>。

1.3 抑郁症疾病靶点的获取 通过人类基因数据库 (GeneCards, <https://www.genecards.org/>) 检索“depression”相关的疾病靶点并下载。另从基因表达数据库 (GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds/>) 中下载序列号为 GSE76826 的基因芯片数据矩阵文件<sup>[33]</sup>。该数据矩阵文件包含 32 例人体血液基因转录组样本, 其中对照组患者 12 例, 抑郁症患者 20 例, 以  $P \leq 0.05$  且表达差异  $\geq 2$  倍为标准进行筛选, 建立抑郁症疾病靶点数据列表。

1.4 蛋白-蛋白相互作用 (PPI) 网络分析 将上述活性成分靶点与抑郁症靶点取交集后, 导入 String 数据库进行 PPI 网络分析, 物种选择“Homo sapiens”, 相互作用参数设置为中度可靠 0.400, 下载 PPI 网络后导入 Cytoscape 软件进行可视化展示。利用 Cytohubba 插件识别网络中的关键节点, 根据最大聚集中心度 (MCC)、度 (Degree) 两种拓扑分析方法, 计算出得分, 选择排名前十的节点作为核心靶点。

1.5 基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析 将上述交集靶点导入 DAVID 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov/>) 进行基因功能富集分析, 导入 KEGG (<https://www.kegg.jp/>) 进行基因信号通路富集分析。其中, GO 富集分析分为生物过程 (biological process)、细胞成分 (cellular component) 和分子功能 (molecular function) 三类, KEGG 富集分析分为细胞过程 (cellular processes)、环境信息处理 (environmental information processing)、人类疾病 (human diseases)、代谢 (metabolism)、生物系统 (organismal systems) 5 类。

1.6 分子对接 蛋白质结构从蛋白质结构数据库 (PDB) 中下载, 除去晶体结构中的水分子, 选择原始配体周围的氨基酸残基作为对接位点, 半径为 10 Å。采用 Discovery studio 16 软件中的 CDocker 模块进行分子对接, 小分子设置为 CHARMm 力场, 最多命中设置为 10, 簇半径设置为 0.1, 其余对接参数根据默认参数设置, 并计算相应活性成分与靶点的结合能。

1.7 SPR 实验 采用分子间相互作用分析系统检测刺

芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素、SB203580、FK506 与 MAPK14 的结合情况。通过 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐/N-羧基琥珀酰亚胺 (EDC/NHS) 介导的交联反应将 MAPK14 蛋白固定在 CM5 芯片上。小分子配体在磷酸盐缓冲液 (PBS) 中稀释, 采用 4 倍体积分比稀释法, 浓度分别为 256、64、16、4、1 μmol/L。SPR 的参数设置如下: 流量 30 μL/min; 接触时间 80 s; 解离时间 100 s。应用 GE Healthcare 软件分析结果。

1.8 热迁移实验 根据 SPR 实验结果选择 10 μmol/L 浓度作为化合物与 MAPK14 结合验证的效应浓度。刺芒柄花素、甘草查尔酮 A 与维斯体素按 1:1:1 等比例混合, 每个化合物终浓度为 10 μmol/L。取 1 μg MAPK14 纯蛋白, 与 100 μL 上述 3 种化合物的混合样品 37 °C 孵育 6 h 后, 再利用 PCR 仪加热模块进行孵育, 设置 50、55、60、65、70 °C 的温度梯度, 孵育 5 min 后, 迅速冷却样品至 4 °C, 离心分离变性的蛋白质和未变性的蛋白质, 利用 Western blot 检测未变性蛋白质的量。

1.9 统计学方法 采用 GraphPad Prism 9 软件进行数据统计分析和作图。计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 Tukey 多重比较检验。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 甘麦大枣汤联合百合知母汤活性成分筛选 在 TCMSp 数据库、HIT 数据库、BATMAN-TCM 数据库、ETCM 数据库中分别对甘草、小麦、大枣、百合、知母 5 种药物进行检索, 共获得 529 种活性成分。根据药物吸收-分配-代谢-排泄-毒性 (ADMET) 原则, 利用 ADMETlab 3.0 工具分析了上述 529 种活性成分的成药性。该工具包含 3 个成药性评价指标: pH=7.4 时正辛醇/水分配系数的对数 (LogD7.4), 评价药物亲脂性和亲水性、可溶性和膜渗透性; 正辛醇/水分配系数的对数 (LogP), 评价药物膜通透性、与大分子的疏水结合能力; 水溶液溶解度的对数 (LogS), 评价药物的溶解性和可吸收性。以  $\text{LogD7.4} > 1$  且  $< 3$ 、 $\text{LogP} > 0$  且  $< 3$ 、 $\text{LogS} > -4$  且  $< 0.5$  这 3 个标准筛选出 160 种成药性较高的活性成分, 见表 1。

表 1 甘麦大枣汤联合百合知母汤的活性成分

名称	LogD7.4	LogP	LogS
原儿茶酸 (protocatechuic acid)	1.0	1.0	-1.7
异甘草素 (isoliquiritigenin)	2.5	2.5	-3.5
异佛尔酮 (izoforon)	1.9	1.7	-1.9
美迪紫檀素 (medicarpin)	2.8	2.7	-3.3
异鼠李素 (isorhamnetin)	1.9	1.8	-3.9
东莨菪内酯 (scopoletol)	1.1	0.9	-3.0
芦丁 (rutin)	1.5	1.0	-2.4
毛异黄酮 (calycosin)	2.0	1.8	-3.5

表 1 (续)

名称	LogD7.4	LogP	LogS
山柰酚(kaempferol)	1.9	2.0	-3.6
异槲皮苷(hirsutrin)	1.1	0.7	-3.6
3,9-二羟基-1-甲氧基香豆素(isotrifoliol)	2.5	2.5	-3.3
柚皮苷(naringin)	1.3	0.5	-2.4
紫荆素(echinatin)	2.9	2.8	-3.9
甘草查尔酮 A(licochalcone A)	2.6	2.5	-3.7
甘草宁 C(gancaonin C)	2.0	1.9	-3.5
樱黄素(prunetin)	2.3	2.3	-3.3
甘草昔 E(licorice glycoside E)	1.7	1.2	-3.7
甘草宁 D(gancaonin D)	2.0	1.8	-3.7
5,6,7,8-四氢-2,4-二甲基喹啉(5,6,7,8-tetrahydro-2,4-dimethylquinoline)	2.4	2.4	-2.1
亚甲二氧基异黄酮(glyzaglabrin)	2.4	2.3	-3.6
石脑油加氢脱硫(hex)	1.8	2.0	-1.3
芒柄花苷(ononin)	1.2	0.2	-2.9
美迪紫檀素-3-氧-葡萄糖苷[(-)-medicocarpin]	1.0	0.5	-2.2
甘草酸(glycyrrhizin)	2.0	1.7	-3.9
尿皂素 B(uralsaponin B)	1.9	1.6	-3.7
异桔梗苷(isoliquiritin)	1.0	0.4	-3.0
3,4,3',4'-四羟基-2-甲氧基查尔酮(3,4,3',4'-tetrahydroxy-2-methoxychalcone)	2.4	2.3	-3.6
7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮(7-acetoxy-2-methylisoflavone)	2.8	2.8	-3.8
甘草昔 A(licorice glycoside A)	1.4	1.1	-3.3
香膜质素(odoratin)	1.7	1.5	-3.6
紫云英苷(astragalgin)	1.3	1.0	-3.6
2-庚酮(2-heptanone)	1.8	1.9	-1.4
槲皮素(quercetin)	1.4	1.4	-3.7
甘草皂苷 A3(licicesaponin A3)	1.5	0.8	-3.2
甘草皂苷 C2(licicesaponin C2)	2.4	2.2	-3.7
甘草皂苷 D3(licicesaponin D3)	1.9	1.5	-3.7
甘草皂苷 E2(licicesaponin E2)	1.9	1.6	-3.8
甘草皂苷 F3(licicesaponin F3)	2.1	1.7	-3.9
甘草皂苷 G2(licicesaponin G2)	1.5	0.8	-3.5
甘草皂苷 J2(licicesaponin J2)	1.8	1.5	-3.5
甘草皂苷 K2(licicesaponin K2)	1.5	0.7	-3.0
5,6,7,8-四氢-4-甲基喹啉(5,6,7,8-tetrahydro-4-methylquinoline)	2.0	1.9	-1.5
赤藓宁 C(erythrinin C)	2.2	2.4	-3.5
熊果苷(kumatakenin)	2.6	2.7	-3.9
大豆苷(daidzein)	2.3	2.2	-3.8
鱼藤素(fisetin)	1.6	1.6	-3.9
(-)-表儿茶素[(-)-epicatechin]	1.5	1.1	-2.5
高良姜素(galangin)	2.2	2.2	-3.2
表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate)	1.6	1.8	-3.7
肉桂酸(cinnamic acid)	1.8	2.2	-2.1
香豆素(coumarin)	1.6	1.5	-2.0
二苯甲酰甲烷(dibenzoylmethane)	2.9	2.9	-3.4
金雀异黄酮(genistein)	2.2	2.1	-3.5
邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate)	1.5	1.6	-1.8

表 1 (续)

名称	LogD7.4	LogP	LogS
异亮氨酸(isoliensinine)	2.8	2.8	-3.7
四氢骆驼蓬碱(tetrahydroharmine)	1.9	2.2	-2.5
吲哚-3-羧酸(indole-3-carboxylic acid)	2.0	2.1	-3.0
庚醛(heptanal)	1.9	2.1	-1.7
D-四氢帕马丁(D-tetrahydropalmatine)	2.3	1.9	-2.6
(+)-新异柚醇[(+)-neoisopulegol]	2.2	2.5	-1.8
芥子酸(sinapic acid)	1.8	1.7	-2.5
(E)-阿魏酸[(E)-ferulate]	1.8	1.6	-2.4
灵芝酸 B(ganoderic acid B)	1.9	1.8	-3.4
甲基异丁香酚(methylisoeugenol)	2.5	2.5	-2.3
伞形酮(umbelliferone)	1.4	1.2	-2.9
莲心碱(liensinine)	2.5	2.4	-3.6
槲皮素-3,3'-二甲醚(quercetin-3,3'-dimethyl ether)	2.3	2.5	-3.6
灵芝酸 A(ganoderic acid A)	1.9	1.8	-3.3
反式-2-辛烯-1-醇(trans-2-octen-1-ol)	2.5	2.8	-2.3
加兰他敏酮(galanthaminone)	1.1	1.2	-1.6
欧黄酮(euxanthone)	2.7	2.6	-3.1
新汉素苷 A(neohancoside A)	1.2	0.5	-2.3
刺芒柄花素(formononetin)	1.0	0.3	-2.9
黄姜味草酸(xanthomicrol)	2.3	2.3	-3.6
(R)-芳樟醇[(R)-linalool]	2.5	2.8	-2.2
丁二酸二乙酯(clorius)	2.0	2.0	-1.9
松油醇( $\beta$ -terpineol)	2.5	2.7	-1.8
秋水仙碱(colchicine)	1.3	0.7	-2.3
儿茶素(catechin)	1.5	1.2	-2.6
香豆酸(coumaric acid)	1.6	1.9	-1.7
咖啡酸(caffeic acid)	1.7	1.2	-1.8
绿原酸(chlorogenic acid)	1.3	1.0	-3.0
杨梅素(myricetin)	1.1	1.1	-3.4
异紫花前胡内酯(marmesin)	1.8	1.7	-3.7
没食子酸甲酯(methyl gallate)	1.2	1.1	-1.8
淫羊藿苷 I(icaraside I)	2.5	2.5	-3.8
正己醛(hexanal)	1.7	1.7	-1.2
4-羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid)	1.2	1.4	-1.8
(E)-1,3-二氯-1-丙烯[(E)-1,3-dichloro-1-propene]	2.0	2.0	-1.5
N-顺式阿魏酰酪胺(N-cis-feruloyltyramine)	2.3	2.3	-2.9
N-对反式香豆酰酪胺(N-p-trans-coumaroyltyramine)	2.3	2.0	-2.8
N-反式阿魏酰酪胺(N-trans-feruloyltyramine)	2.3	2.0	-2.9
二氟苯甲酮(iriflophenone)	2.4	2.2	-2.8
香草酸(vanillic acid)	1.3	1.3	-1.9
知母皂苷 B(anemarsaponin B)	1.4	0.4	-3.9
番泻苷 B(sennoside B)	1.5	1.4	-3.6
椰油酰甘氨酸钾(PCG)	1.1	0.6	-1.1
大枣皂苷 IV(jujubasaponin IV)	2.2	1.1	-3.9
巴婆碱(asimilobine)	2.1	2.1	-3.0
香豆素(coumestrol)	2.8	2.5	-3.5

表 1 (续)

名称	LogD7.4	LogP	LogS
大枣苷 A1(jujuboside A1)	1.0	0.1	-3.5
毛果芸香碱 A(mauritine A)	2.4	2.6	-3.3
褪黑素(MLT)	2.7	2.5	-3.4
吡啶乙酸(IES)	1.5	1.5	-2.0
芥子醇(sinapyl alcohol)	1.4	1.2	-1.9
肉豆蔻苷(myristicin)	2.4	2.6	-2.6
吐叶醇(vomifoliol)	1.0	1.0	-1.0
vulgarin	1.3	0.8	-2.8
千金藤啶碱(stepholidine)	1.4	1.2	-2.1
对香豆酸(p-coumaric acid)	1.8	1.4	-2.1
原阿片碱(fumarine)	2.1	1.9	-3.2
大枣苷 B(jujuboside B)	1.9	0.9	-3.8
苯甲醛(benzaldehyde)	1.5	1.5	-1.2
辛酸(octanoic acid)	2.3	2.8	-2.1
桉叶油醇(eucalyptol)	2.6	2.8	-2.3
丁香酚(eugenol)	2.1	2.3	-1.9
肉桂醛(cinnamaldehyde)	2.1	2.3	-2.1
异丁香酚(isoeugenol)	2.3	2.3	-1.6
金丝桃苷(hyperoside)	1.1	0.9	-3.6
原花青素 B2(procyanidin B2)	1.6	1.2	-3.3
胡椒酮(piperitone)	2.7	2.8	-2.4
3-辛醇(3-octanol)	2.3	2.6	-1.9
维斯体素(vestitol)	3.1	3.0	-3.1
芳樟醇(linalool)	2.3	2.5	-1.8
黄樟素(safrole)	2.5	2.8	-2.8
(+)-薄荷酮[(+)-menthone]	2.8	2.9	-2.5
3-辛酮(3-octanone)	2.1	2.2	-1.7
芒果昔元(norathyriol)	1.6	1.3	-3.0
5,7,2'-三羟基-8-甲氧基黄酮(scutevulin)	2.5	2.4	-3.3
辛醛(octanal)	2.3	2.6	-2.3
反式-3-己烯乙酸酯(trans-3-hexenyl acetate)	2.1	2.2	-1.8
盐酸育亨宾(yohimbine hydrochloride)	2.6	2.6	-3.8
4-(4-羟基苯基)-2-丁酮[4-(4-hydroxyphenyl)-2-butanone]	1.3	1.6	-1.0
3-去甲基胆碱(3-desmethylcolchicine)	1.2	0.5	-2.2
补骨脂素(psoralen)	1.8	1.7	-3.1
4-羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde)	1.2	1.0	-1.2
2-甲氧基-4-乙烯基苯酚(2-methoxy-4-vinylphenol)	2.0	2.1	-1.6
5,7-二羟基-3',4',5'-三甲氧基黄酮(5,7-dihydroxy-3',4',5'-trimethoxyflavon)	2.3	2.5	-3.7
泽泻酸(azelex)	1.5	1.4	-1.5
雪松酸(cedar acid)	1.2	1.2	-2.2
间香豆酸(m-coumaric acid)	1.9	1.8	-2.3
异阿魏酸(isoferulic acid)	1.8	1.6	-2.4
表儿茶素(ent-epicatechin)	1.2	0.8	-2.3
大麦芽碱(hordenine)	1.2	1.5	-1.2
色胺(tryptamine)	1.1	1.7	-1.1
槲皮苷(quercitrin)	1.5	1.3	-3.1

表 1 (续)

名称	LogD7.4	LogP	LogS
苯乙醇(phenylethyl alcohol)	1.2	1.4	-0.8
十七碳酰肉碱(heptadecanoyl carnitine)	2.0	1.7	-1.4
二米纳嗪(diminazene)	1.0	0.8	-2.8
4-香芹酚(4-carvomenthenol)	2.4	2.5	-1.8
表普鲁卡因醇(epiprocurcumenol)	2.8	2.7	-3.0
胭脂虫碱B(nummularine B)	2.7	2.8	-3.5
甲基胆碱(methyleugenol)	2.4	2.5	-2.2
莪术二酮(curdione)	2.3	2.4	-2.4
姜黄素(curcumin)	2.4	2.1	-3.6
苜醇(benzyl alcohol)	1.0	1.2	-0.4
乌药碱(coclaurine)	1.0	0.7	-2.4
榄香素(elemicin)	2.4	2.4	-2.6
维生素 B12(depinar)	1.4	0.7	-2.6
伊马替尼(imatinib)	2.8	2.6	-3.0

注:LogD7.4为pH=7.4时正辛醇/水分配系数的对数,LogP为正辛醇/水分配系数的对数,LogS为水溶液溶解度的对数。

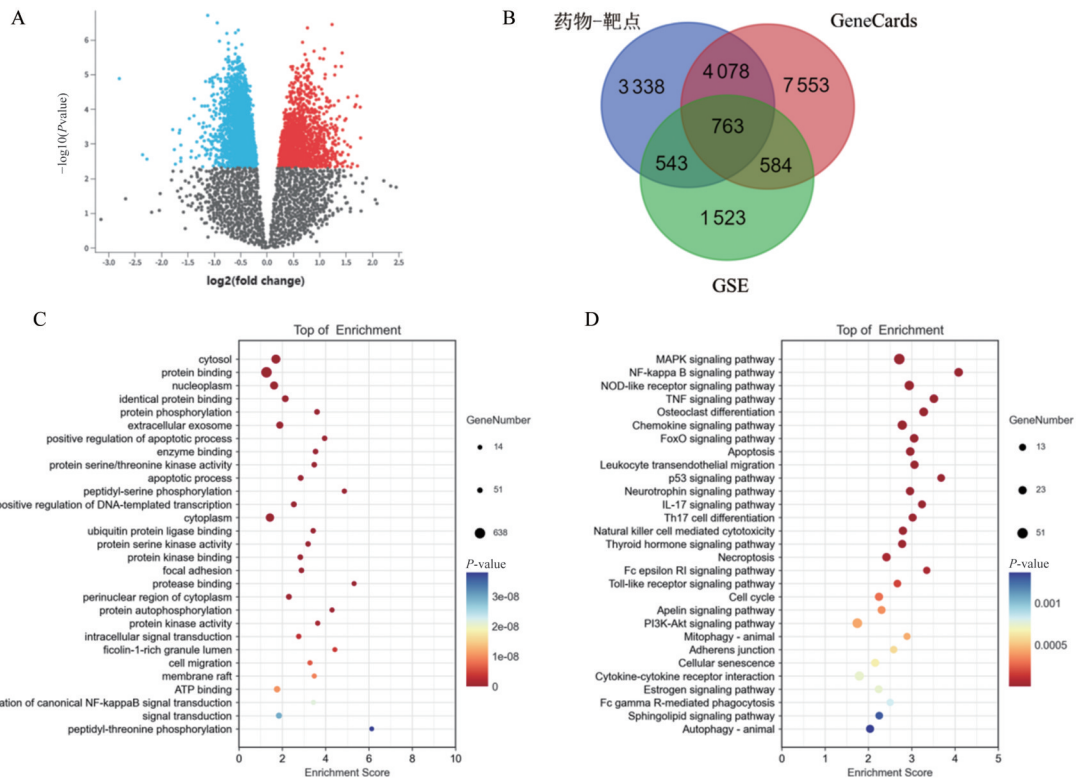
2.2 甘麦大枣汤联合百合知母汤潜在抗抑郁靶点筛选及富集分析 检索 GeneCards 数据库获得 12 978 个抑郁症相关靶点。从 GSE76826 基因芯片数据矩阵文件获得抑郁症差异表达基因 4 270 个,见图 1A。

对甘麦大枣汤联合百合知母汤的 160 种活性成分进行靶点搜索,共获得 8 722 个潜在作用靶点。将甘麦大枣汤联合百合知母汤活性成分靶点、GeneCards 数据库来源抑郁症靶点和 GSE76826 人体基因转录组样本来源抑郁症差异基因三者取交集,获得 763 个甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症潜在靶点,见图 1B。

对上述 763 个核心靶点进行 GO 富集分析,按照  $P \leq 0.01$  标准筛选,共得到 594 条生物信息,其中生物学过程 395 条、细胞成分 98 条和分子功能 101 条,每种类型排名前列的生物信息见图 1C。在 KEGG 富集分析中,按照  $P \leq 0.05$  标准筛选,共得到 138 条相关通路,其中细胞过程相关 15 条,环境信息处理相关 19 条,人类疾病相关 66 条,生物系统相关 38 条,每种类型排名前列的信号通路见图 1D。

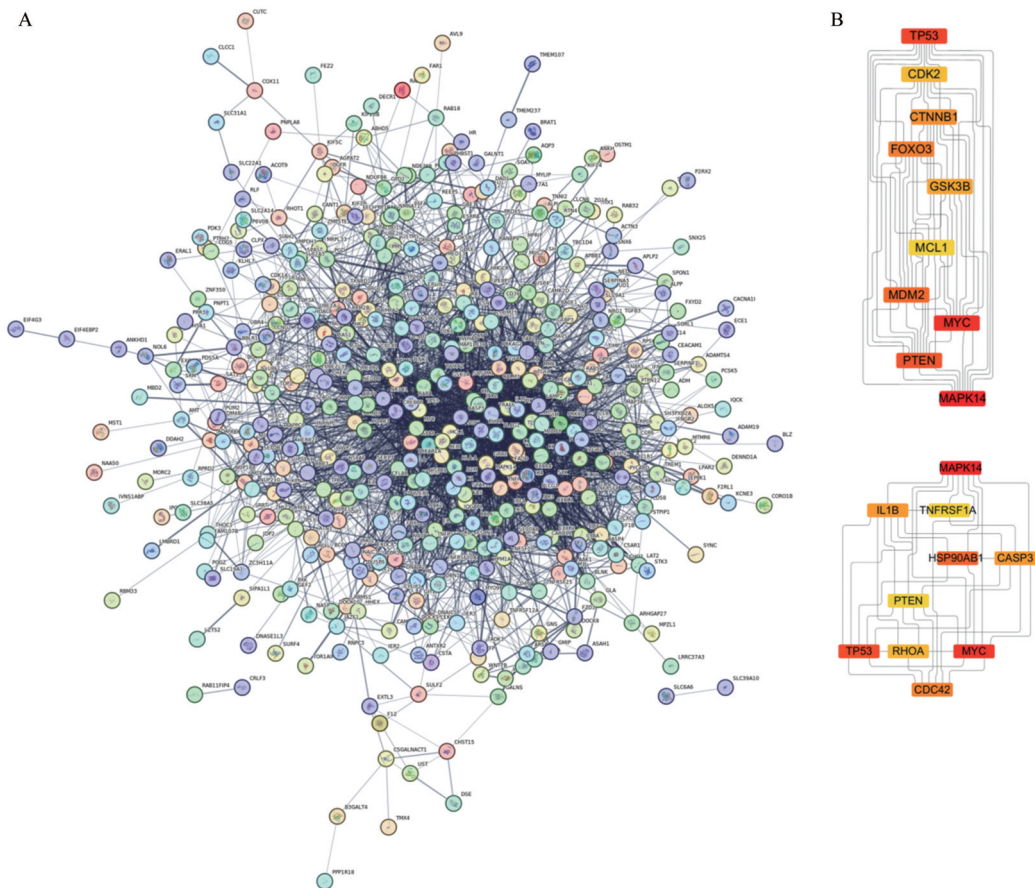
2.3 甘麦大枣汤联合百合知母汤潜在抗抑郁靶点 PPI 网络构建 将上述获得的 763 个靶点蛋白导入 String 数据库进行 PPI 网络分析。如图 2A 所示,PPI 网络包含 7 757 个节点,8 163 条边,平均节点度为 21.6,平均局部聚类系数为 0.383,蛋白间相互作用  $P < 1.0 \times 10^{-16}$ 。将上述 763 个靶点间相互作用网络进行可视化展示,选择拓扑分析法将排名前十的节点作为核心靶点蛋白,核心靶点蛋白节点间相互作用关系见图 2B。

2.4 甘麦大枣汤联合百合知母汤主要活性成分和 MAPK14 的分子对接验证 根据 MCC 和 Degree 两种拓



注:A为抑郁症患者差异基因表达,B为甘麦大枣汤联合百合知母汤靶点、抑郁症靶点与抑郁症患者差异表达基因的交集分布情况,C为基因本体(GO)富集分析,D为京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。GeneCards为人类基因数据库,GSE为GSE76826人体基因转录组样本。

图1 甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症的潜在靶点及富集分析



注:A为蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络;B为两种拓扑分析方法计算得到排名前十的核心靶点,排序从上到下代表蛋白在相互作用网络中的位置,颜色由黄至红代表蛋白在相互作用网络中的核心度。

图2 甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症潜在靶点的PPI网络

扑网络分析方法计算结果,我们发现 MAPK14 均位列上述靶点网络核心节点第 1 位,与多个节点紧密连接,并直接出现在包含 MAPK 信号通路、核苷酸寡聚化域样受体信号通路、肿瘤坏死因子信号通路、破骨细胞分化信号通路、叉头转录因子信号通路、白细胞跨内皮迁移信号通路等 21 条通路中。因此,我们对 MAPK14 靶点进行了分子对接验证。

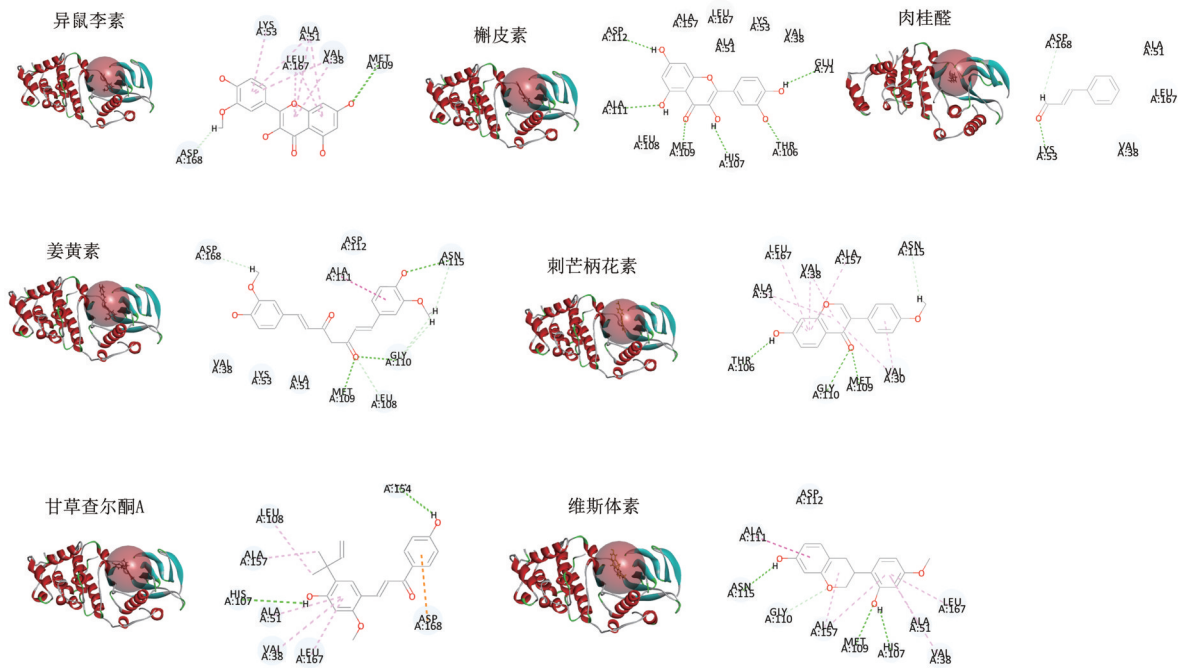
根据药物活性成分靶点预测信息,甘麦大枣汤联合百合知母汤中的 7 种活性成分可与 MAPK14 结合(见表 2),包括异鼠李素(isorhamnetin)、槲皮素(quercetin)、肉桂醛(cinnamaldehyde)、姜黄素(curcumin)、刺芒柄花素(formononetin)、甘草查尔酮 A(licochalcone A)和维斯体素(vestitol)。

我们进一步将上述 7 个核心活性成分与 MAPK14 进行分子对接验证,从 PDB 数据库中下载 MAPK14 的蛋白结构数据(PDB ID: 5TCO),蛋白与活性成分间的结合自由能和对接分数见表 2,相互作用见图 3。现以刺芒柄花素为例进行说明,刺芒柄花素与 MAPK14 结合自由能为 -34.090 2 kcal/mol,表明两者可以发生直接

结合,刺芒柄花素结构中 B 环上的氧原子与 109 位甲硫氨酸间产生范德华力, B 环与 157 位丙氨酸发生  $\pi$ -供体氢间相互作用,氧原子与 38 位缬氨酸、51 位丙氨酸,可以发生  $\pi$ - $\sigma$  间相互作用; A 环可以与 38 位缬氨酸、51 位丙氨酸、53 位赖氨酸发生  $\pi$ -烷基相互作用,与 105 位缬氨酸发生酰胺- $\pi$  类相互作用、与 106 位缬氨酸发生  $\pi$ - $\sigma$  相互作用。其余活性成分与 MAPK14 间的相互作用见图 3。

表 2 丝裂原活化蛋白激酶 14 与甘麦大枣汤联合百合知母汤 7 个活性成分的分子对接参数

名称	自由能 (kcal/mol)	对接分数
异鼠李素(isorhamnetin)	-32.723 2	52.493 9
槲皮素(quercetin)	-36.775 3	61.799 6
肉桂醛(cinnamaldehyde)	-14.183 4	50.364 7
姜黄素(curcumin)	-34.531 8	70.824 2
刺芒柄花素(formononetin)	-34.090 2	95.414 6
甘草查尔酮 A(licochalcone A)	-44.382 5	108.707 0
维斯体素(vestitol)	-42.576 6	104.921 0

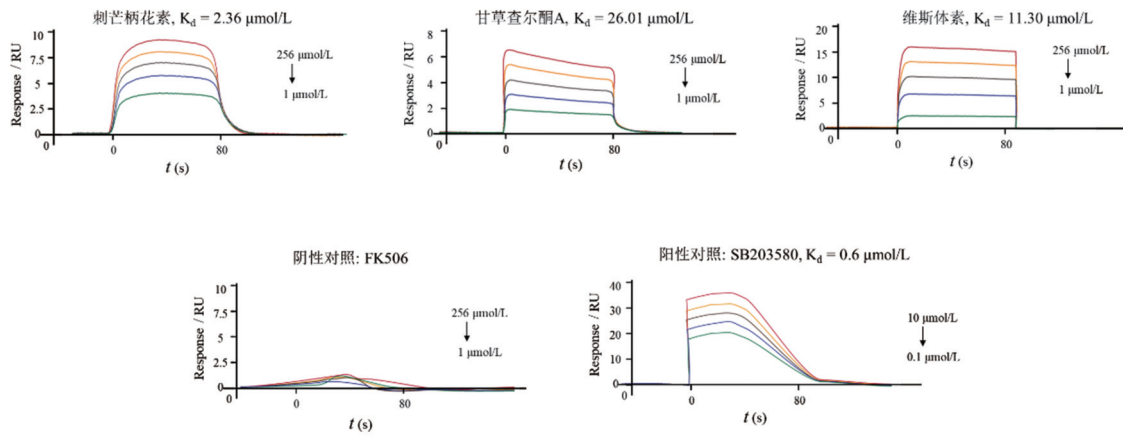


注:浅绿色表示范德华力,绿色表示氢键,浅粉色表示  $\pi$ -烷基相互作用,深红色表示  $\pi$ -酰胺相互作用,紫色表示  $\pi$ - $\sigma$  间相互作用。

图 3 丝裂原活化蛋白激酶 14 与甘麦大枣汤联合百合知母汤 7 个活性成分的分子对接示意图

2.5 甘麦大枣汤联合百合知母汤主要活性成分与 MAPK14 的相互作用检测 本研究选择与 MAPK14 对接分数较高的 3 个成分,检测其与 MAPK14 之间的相互作用。首先通过 SPR 技术,分别检测刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素与 MAPK14 的结合情况。结果如图 4 所示,3 个成分与 MAPK14 均有结合,且在 1~256  $\mu\text{mol/L}$  浓度范围内,与 MAPK14 结合的反应值随化合物浓度升高而升高,符合特异性结合的趋势,与

MAPK14 的亲合力分别为 2.36  $\mu\text{mol/L}$ 、26.01  $\mu\text{mol/L}$ 、11.30  $\mu\text{mol/L}$ ,而阴性对照小分子 FK506 与 MAPK14 无结合响应。小分子 SB203580 (adezmapimod) 是 MAPK14 的选择性抑制剂,在浓度范围 0.1~10.0  $\mu\text{mol/L}$  内与 MAPK14 呈特异性结合,两者亲合力为 0.6  $\mu\text{mol/L}$ 。结果表明,甘麦大枣汤联合百合知母汤活性成分刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素与 MAPK14 存在相互作用。

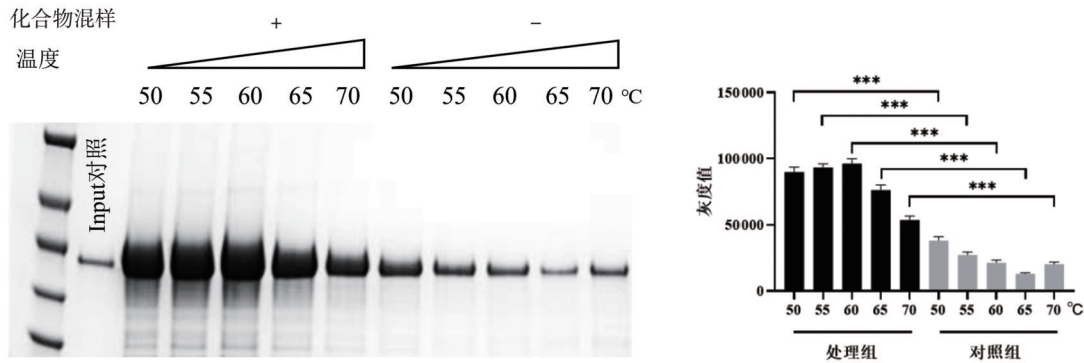


注: Response 为响应值,  $K_d$  为亲和力常数, FK506 为他克莫司, SB203580 为 4-(4-氟苯基)-2-(4-甲基亚磺酰基)-5-(4-吡啶基)-1H-咪唑。

图 4 SPR 检测甘麦大枣汤联合百合知母汤 3 个活性成分与丝裂原活化蛋白激酶 14 的结合情况

其次,我们利用热迁移实验检测小分子与 MAPK14 蛋白的相互作用。SPR 检测的结果显示刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素与 MAPK14 的亲和力在 2~20  $\mu\text{mol/L}$  之间,因此选择了 10  $\mu\text{mol/L}$  作为效应检测浓度。由于中药多组分联合作用的特性,我们观察了 3 个化合物的混合样品是否影响 MAPK14 的热稳定性。

结果如图 5 所示,在未添加 3 个小分子混合物(对照组)干预的情况下随着温度升高,MAPK14 蛋白含量明显下降,而在添加混合物(处理组)干预后 MAPK14 的蛋白含量较对照组显著升高( $P < 0.001$ ),且随着温度升高其下降幅度也减小,表明 3 个小分子结合 MAPK14 之后具有热保护作用。



注:刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素混合物与 MAPK14 蛋白在不同温度下孵育后的 Western blot 条带图(左)和灰度分析统计图(右)。与相应温度对照组比较,\*\*\* $P < 0.001$ 。

图 5 刺芒柄花素、甘草查尔酮 A、维斯体素混合物与丝裂原活化蛋白激酶 14 的热迁移实验

### 3 讨论

中药在治疗抑郁症方面应用颇多,多年的临床实践证明,中药的抗抑郁作用毋庸置疑,无论是单味中药、中药复方或中药提取物都有显著的治疗效果<sup>[34]</sup>。目前,临床抗抑郁化学药物普遍存在价格高、易产生耐药性、不良反应严重、停药后易复发等问题,而中药中多种化学成分相互协同促进,可有效避免单一成分带来的副作用<sup>[34]</sup>。甘麦大枣汤为安神剂,临床上常用来治疗抑郁症,还常和其他西药或其他疗法联合应用,可有效改善抑郁症状<sup>[15]</sup>。同样,百合知母汤主治阴虚内热证,不仅可以治疗单纯的抑郁症,且对于多种诱因引起的抑郁症状也有较好的治疗作用,能有效改善患者抑郁状态、提高生活质量<sup>[18]</sup>。多项临床研究<sup>[19-26]</sup>表明,

甘麦大枣汤和百合知母汤联用治疗抑郁症效果较好。本研究通过网络药理学分析发现,甘麦大枣汤和百合知母汤的 5 种药物间共有活性成分较少,差异成分较多,说明 5 种药物联合使用可以相互补充、相互协同促进。

虽然临床实践发现甘麦大枣汤联合百合知母汤可治疗抑郁症,但目前对其治疗抑郁症的理论基础知之甚少,限制了其应用和发展。研究<sup>[15]</sup>发现,甘麦大枣汤治疗抑郁症的作用机制可能与调节神经递质、降低炎症因子、调节下丘脑-垂体-肾上腺轴、促进脑源性神经营养因子分泌等有关;此外,还可能涉及海马神经元突触结构的重塑<sup>[15]</sup>、沉默信息调节因子 1 信号通路<sup>[35]</sup>、N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDA)信号通路<sup>[36]</sup>、丝苏氨酸蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路<sup>[37]</sup>等。

类似地,百合知母汤可改善脑源性神经营养因子代谢、促进海马神经元的恢复及神经递质的表达,还可调节细胞外信号调节激酶信号通路、钙调素激酶信号通路、环磷腺苷效应元件结合蛋白信号通路等<sup>[18]</sup>。但这些研究均是在药物干预后对组织形态、细胞功能、信号通路状态的观察性研究,缺少直接证明甘麦大枣汤联合百合知母汤活性成分作用靶点的证据。本研究通过网络药理学分析了甘麦大枣汤联合百合知母汤的主要活性成分,并筛选了其活性成分潜在靶点中与抑郁症相关的靶点,发现甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症的潜在靶点中的关键靶点 MAPK14,相应的活性成分包括异鼠李素、槲皮素、肉桂醛、姜黄素、刺芒柄花素、甘草查尔酮 A 和维斯体素。我们通过分子对接、SPR 实验、热迁移实验证实了刺芒柄花素、甘草查尔酮 A 和维斯体素与 MAPK14 的结合活性和相互作用,首次从活性成分直接作用靶点角度探讨了甘麦大枣汤联合百合知母汤治疗抑郁症的分子机制。

MAPK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,MAPK14 (p38 $\alpha$ )是 4 种 p38 MAPK 之一,在细胞外刺激下可以引起多种信号转导的级联反应,磷酸化诸多下游激酶或直接激活转录因子调控基因表达,影响包括细胞生长、分化、凋亡及应激、炎症等多个生理病理过程<sup>[38]</sup>。研究<sup>[39]</sup>表明,肿瘤坏死因子可激活 MAPK14 并引起抑郁样表型,而抑制 MAPK14 的激活可缓解抑郁样症状,其作用机制可能与抑制 NMDA 有关。同样,另一项研究<sup>[40]</sup>也表明 MAPK14 的激活可引起 NMDA 依赖的长时程抑制。此外,应激可激活 MAPK14 引起抑郁样行为,而在中缝背核区、羟色胺能神经元中敲除 MAPK14 则可抵抗应激引起的抑郁样行为<sup>[41]</sup>。这些研究结果表明,MAPK14 的激活是抑郁症的分子表型之一,而靶向抑制或敲除 MAPK14 是治疗抑郁症的潜在措施。本研究证实了甘麦大枣汤联合百合知母汤中 3 种活性成分刺芒柄花素、甘草查尔酮 A 和维斯体素可靶向结合 MAPK14,一方面解释了甘麦大枣汤联合百合知母汤可能的抗抑郁分子机制,另一方面也为基于刺芒柄花素、甘草查尔酮 A 和维斯体素这 3 种活性成分开发 MAPK14 靶点抑制剂提供了线索。

综上,本研究基于网络药理学、分子对接和 SPR 技术分析了甘麦大枣汤联合百合知母汤的主要活性成分和潜在治疗抑郁症靶点,并证实了其相互作用关系,提出甘麦大枣汤联合百合知母汤可能通过调控 MAPK14 发挥治疗抑郁症的作用。但本研究也有一定局限性,如缺少体内实验研究证据、没有采用 MAPK14 敲除实验以充分论证甘麦大枣汤联合百合知母汤是否通过 MAPK14 治疗抑郁症等,有待后续进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗抑郁障碍临床应用指南(2022年)[J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(5): 527-541.
- [2] JIANG N. Formal volunteering and depressive symptoms among Community-Dwelling older adults in China: A longitudinal cross-level analysis[J]. Health Soc Care Community, 2022, 30(6): e5673-e5684.
- [3] HUANG Y, WANG Y, WANG H, et al. Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study[J]. Lancet Psychiatry, 2019, 6(3): 211-224.
- [4] COLLABORATORS C-M D. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic [J]. Lancet, 2021, 398(10312): 1700-1712.
- [5] ROHENKOHL A C, DAUBMANN A, GALLINAT J, et al. Health-related quality of life in severe psychotic disorders during integrated care: 5-year course, prediction and treatment implications (ACCESS II)[J]. Health Qual Life Outcomes, 2022, 20(1): 133.
- [6] ORMEROD S, MCDOWELL S E, COLEMAN J J, et al. Ethnic differences in the risks of adverse reactions to drugs used in the treatment of psychoses and depression: a systematic review and meta-analysis[J]. Drug Saf, 2008, 31(7): 597-607.
- [7] MONTEGGIA L M, MALENKA R C, DEISSEROTH K. Depression: the best way forward[J]. Nature, 2014, 515(7526): 200-201.
- [8] 李学杰,吴小宇,刘鑫,等.基于数据挖掘和网络药理学探讨治疗抑郁症的中药复方专利用药规律及机制[J].上海中医药杂志, 2024, 58(6): 31-39.
- [9] GONG X, CHANG R, ZOU J, et al. The role and mechanism of tryptophan - kynurenine metabolic pathway in depression [J]. Rev Neurosci, 2022, 34(3): 313-324.
- [10] GONG W, WANG K, WANG X, et al. Mathematical algorithm-based identification of the functional components and mechanisms in depression treatment: An example of Danggui-Shaoyao-San [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 937621.
- [11] DU L J, ZHANG X N, LI S S, et al. Network pharmacological investigation into the mechanism of Kaixinsan powder for the treatment of depression [J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(8): 2903-2914.
- [12] CHEN J, LEI C, LI X, et al. Research progress on classical traditional Chinese medicine formula xiaoyaosan in the treatment of depression[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 925514.
- [13] YEUNG W F, CHUNG K F, NG K Y, et al. A meta-analysis of the efficacy and safety of traditional Chinese medicine formula Ganmai Dazao decoction for depression [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(2): 309-317.
- [14] 马小娟,赵杰,冯振宇,等.加味甘麦大枣汤对更年期抑郁症患者神经内分泌系统的影响[J].中国中药杂志, 2014, 39(23): 4680-4684.
- [15] 杨雪静,许二平,尚立芝.甘麦大枣汤及其合方治疗抑郁症研究新进展[J].中国实验方剂学杂志, 2021, 27(24): 55-60.
- [16] ZHONG M, TIAN X, CHEN S, et al. Identifying the active components of Baihe-Zhimu decoction that ameliorate depressive disease by an effective integrated strategy: a systemic pharmacokinetics study combined with classical depression model tests [J]. Chin Med, 2019, 14: 37.

- [17] WANG H Q, LIU H T, WANG L, et al. Uncovering the active components, prospective targets, and molecular mechanism of Baihe Zhimu decoction for treating depression using network pharmacology-based analysis[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 281: 114586.
- [18] 康丽杰, 杨雪静, 丁娜娜, 等. 百合知母汤的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 42(3): 132-137.
- [19] 赵小玲. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗抑郁症临床研究[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(18): 157-158.
- [20] 颜平. 抑郁症采用甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗的临床效果分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(A4): 258-265.
- [21] 徐春朝. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗抑郁症疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(3): 368-369.
- [22] 刘国强. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗抑郁症的临床效果及对患者睡眠质量和生活质量影响分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(97): 148-149.
- [23] 靳玉梅. 百合知母汤加减联合甘麦大枣汤与盐酸氟西汀治疗抑郁症的临床观察[J]. 中国民间疗法, 2018, 26(11): 73-74.
- [24] 黄河涛. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗抑郁症的效果研究[J]. 当代医药论丛, 2020, 18(13): 192-193.
- [25] 冯璐, 齐子欣, 姚卓, 等. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减联合心理疗法治疗抑郁症的临床效果观察[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(10): 169-172.
- [26] 陈雪梅. 甘麦大枣汤合百合知母汤加减治疗抑郁症的效果研究[J]. 中国实用医药, 2018, 13(9): 107-109.
- [27] ZHENG S, XUE T, WANG B, et al. Application of network pharmacology in the study of the mechanism of action of traditional Chinese medicine in the treatment of COVID-19 [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 926901.
- [28] YANG H Y, LIU M L, LUO P, et al. Network pharmacology provides a systematic approach to understanding the treatment of ischemic heart diseases with traditional Chinese medicine [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154268.
- [29] 郑曦妍, 刘宇, 贾锡荣, 等. 表面等离子体共振技术在药物研究中的应用[J]. 药学研究, 2021, 40(3): 196-205.
- [30] 陈莹莹, 丁黎. 基于表面等离子共振技术检测免疫球蛋白 G 与 Fc 段受体结合活性[J]. 中国医药科学, 2022, 12(16): 49-52.
- [31] 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.
- [32] UniProt Consortium. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021[J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(D1): D480-D489.
- [33] MIYATA S, KURACHI M, OKANO Y, et al. Blood transcriptomic markers in patients with late-onset major depressive disorder[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0150262.
- [34] 王春芳, 田文国, 陈金鹏, 等. 中药抗抑郁作用及其机制研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(9): 2890-2901.
- [35] 肖晓霞, 陈畅, 夏宝妹, 等. 越鞠甘麦大枣汤对产后抑郁小鼠海马 SIRT1-ERK1/2 信号通路的影响[J]. 实用医学杂志, 2020, 36(15): 2043-2047.
- [36] 沈琴琴. 越鞠甘麦大枣汤依赖 NMDA/NO/cGMP 信号通路产生抗抑郁作用机制研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [37] 夏宝妹, 陈畅, 张海楼, 等. 越鞠甘麦大枣汤对产后抑郁小鼠海马 AKT/mTOR 信号通路的影响[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(1): 119-122.
- [38] MADKOUR M M, ANBAR H S, EL-GAMAL M I. Current status and future prospects of p38alpha/MAPK14 kinase and its inhibitors [J]. Eur J Med Chem, 2021, 213: 113216.
- [39] MORETTI M, BUDNI J, FREITAS A E, et al. TNF- $\alpha$ -induced depressive-like phenotype and p38 (MAPK) activation are abolished by ascorbic acid treatment [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2015, 25(6): 902-912.
- [40] NAVARRETE M, CUARTERO M I, PALENZUELA R, et al. Astrocytic p38 $\alpha$  MAPK drives NMDA receptor-dependent long-term depression and modulates long-term memory [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2968.
- [41] BRUCHAS M R, SCHINDLER A G, SHANKAR H, et al. Selective p38 $\alpha$  MAPK deletion in serotonergic neurons produces stress resilience in models of depression and addiction [J]. Neuron, 2011, 71(3): 498-511.

编辑:杨轶舜

收稿日期:2023-10-09

