

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2024.04.002

中药桃黄方治疗精神分裂症的作用机制

张明莲 伊文利 宗鲁新

(山东省戴庄医院精神二科, 济宁 272051)

摘要 **目的** 利用网络药理学及分子对接技术探讨桃黄方(桃仁-大黄-赤芍)有效成分治疗精神分裂症(SCZ)的作用机制。**方法** 通过公共数据库筛选得到桃黄方主要成分以及 SCZ 相关的作用靶标,取药物与疾病之间的交集基因以构建蛋白相互作用网络图(PPI),并根据相互关系的强弱筛选出核心靶标,构建药物-有效成分-药物疾病共有靶点的相互作用网络。对交集靶点进行基因 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析。利用 AutoDock 软件对主要的活性成分与核心靶点进行分子对接分析。**结果** 桃黄方通过 44 个有效成分作用于 60 个 SCZ 相关靶点。主要通过 β -谷甾醇、黄芩素、豆甾醇、芦荟大黄素、鞣花酸、常春藤素等化合物,作用于 TNF、VEGFA、CASP3、AKT1、TP53、PTGS2 等多个靶标,通过参与调节 P13K-AKT 信号通路、MAPK 信号传导途径等干预 SCZ。分子对接结果显示关键活性成分与核心靶点对接良好,其中豆甾醇与 PTGS2 具有最优结合能,为 -10.1 kcal/mol。**结论** 桃黄方通过多靶点、多通路对 SCZ 的治疗发挥了良好作用,为桃黄方治疗 SCZ 的药理机制提供了理论依据。

关键词 网络药理学;桃仁-大黄-赤芍;精神分裂症;分子对接

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2024)08-275-06

The mechanism of traditional Chinese medicine taohuang formula in treating schizophrenia

ZHANG Minglian, YIN Wenli, ZONG Luxin

(Department of Psychiatry, Shandong Daizhuang Hospital, Jining 272051, China)

Abstract **Objective** To explore the mechanism of action of the effective ingredients of Taohuang Formula (Taoren-Dahuang-Chishao) in the treatment of schizophrenia (SCZ) using network pharmacology and molecular docking technology. **Method** The main components of Taohuang Formula and the targets related to SCZ were screened through public databases. The intersection genes between drugs and diseases were selected to construct a protein-protein interaction network (PPI), and core targets were selected based on the strength of the interaction. A drug-effective ingredient-common targets for drug-disease was constructed. Perform gene GO functional analysis and KEGG pathway enrichment analysis on intersection targets. Perform molecular docking analysis on the main active ingredients and core targets using AutoDock software. **Result** Taohuang Formula acts on 60 SCZ related targets through 44 effective ingredients. Mainly through Compounds such as sitosterol, baicalin, stigmasterol, aloe emodin, ellagic acid, ivy, etc. act on multiple targets such as TNF, VEGFA, CASP3, AKT1, TP53, PTGS2, and intervene in SCZ by participating in regulating the P13K-AKT signaling pathway and MAPK signaling pathway. The molecular docking results showed good docking between the key active ingredients and the core target, among which stigmasterol had the optimal binding energy with PTGS2, which was -10.1 kcal/mol. **Conclusion** Taohuang Formula has played a good role in the treatment of SCZ through multiple targets and pathways, providing a theoretical basis for the pharmacological mechanism of Taohuang Formula in treating schizophrenia.

Keywords: Network pharmacology; Taoren-dahuang-chishao; Schizophrenia; Molecular docking

精神分裂症(SCZ)的发病机制与炎症和自身免疫息息相关^[1-2],是一种神经退行性变疾病^[3],给社会和家庭带来沉重负担,是我国重点防治的精神疾病。目前,SCZ的发病机制尚不清楚,治疗效果不佳,如何有效治疗SCZ已成当前热点问题。

中医将SCZ描述为“癫病”“狂证”等,更讲究辨证论治,有气滞血瘀证、阳明腑实证等6种症候^[4]。《伤寒论》中提出“蓄血发狂”,《医林改错》中进一步提出“癫狂一症,乃气血瘀滞”。两本经典里的“桃仁承气汤”和“癫狂梦醒汤”至今用于治疗SCZ。桃仁承气汤包含桃仁、大黄、桂枝、甘草、芒硝。癫狂梦醒汤由桃仁、柴胡、香附、木通、赤芍、半夏、腹皮、青皮、陈皮、桑白皮、苏子、甘草中药材组成。桃黄方从上述两方中筛选了桃仁、大黄、赤芍三味药而组成的,其中桃仁有活血化瘀的功效,大黄能泻热下瘀,赤芍泻肝火,桃黄方对治疗SCZ具有良好的治疗效果。

由于中药方剂的多成分、多靶点,作用机制复杂,使用传统药理学方法已经难以理解其潜在的生物学机制,而网络药理学可以通过数据库的已知靶点进行药物-活性成分-共有靶点网络的构建,分析药物的主要作用成分,并利用分子对接技术对其作用机制进行分析。本研究旨在利用网络药理学和分子对接技术在系统水平上描述桃黄方与多靶点、多途径的关联,探讨桃黄方干预SCZ的潜在的作用机制,为中医药资源的开发利用提供理论依据。

1 方法

1.1 桃黄方化学成分筛选及其靶点的获取

在TCMSP(<https://old.tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)检索桃仁、大黄、赤芍的主要化学成分,以OB \geq 30%,DL \geq 0.18为条件进行筛选,获得活性成分靶点。利用UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/>)寻找物种为人且已被验证的靶点蛋白,并对其名称进行规范,其中数据的合并及整理需要运用perl及其脚本。

1.2 药物-活性成分-共有靶点网络的构建

从GeneCards(<http://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)、PharmGkb(<https://www.pharmgkb.org/>)及TTD数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)获得SCZ的疾病靶点,将药物靶点与疾病靶点取交集,得到桃黄方干预SCZ的共有靶标,导入Cytoscape 3.9.1中构建

药物-活性成分-共有靶点图。

1.3 桃黄方干预SCZ的互作靶蛋白的提取

将桃黄方干预SCZ的潜在作用靶点,导入strings数据平台(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcm-sp.php>),将物种设置为“homo sapiens”,将信度设为medium confidence(0.4)。将所得数据导入Cytoscape中构建蛋白互作(PPI)网络,同时进行拓扑分析,将自由值(degree)大于中位数2倍的靶点作为核心靶点。

1.4 GO及KEGG富集分析

为进一步探讨桃黄方治疗SCZ的相关生物途径及机制,通过R语言对共有靶点进行GO分析和KEGG信号通路分析,筛选条件为 $P < 0.05$ 。根据P的排序,分别对前20条结果进行可视化处理。

1.5 桃黄方中核心化合物与SCZ作用靶蛋白的分子对接

将药物-有效成分-共有靶点网络中排名前6的有效化学成分与PPI网络拓扑分析确定的核心蛋白进行分子对接。从PDB数据库下载核心蛋白的三维结构,并从PubChem数据库获取小分子的三维结构。使用OpenBabel、PyMOL和AutoDock Tools进行去水、加氢和格式转换等预处理,使用AutoDock Tools设计分子对接的活性口袋进行半柔性对接,利用PyMOL将对接结果进行可视化处理。

2 结果

2.1 桃黄方活性化合物的筛选及分布特征

利用TCMSP数据库筛选出桃黄方中包含的有效成分,共计50种。其中,桃仁含有32种成分,大黄含有6种成分,赤芍含有12种成分,有效成分对应的靶点共519个,经过UniProt数据库的标准化注释并去重处理后,得到402个药物靶点。

2.2 SCZ疾病靶点的收集

通过GeneCards、OMIM、PharmGkb以及TTD数据库,检索SCZ的靶点信息,整理去重后共得疾病靶点1628个。将药物靶点与疾病靶点取交集获得靶点60个。见图1。

2.3 药物-活性成分-共有靶点网络的构建

药物-活性成分-共有靶点网络共有104个节点和211条边,其中44个药物活性成分与60个共同靶点相对应,见图2。该网络的平均度值为4.06,表1展示了高于平均度值的有效成分,提示其为该网络的关键性有效活性成分,在桃黄方干预

精神分裂症过程中发挥着重要作用。其中大于平均度值的靶点基因有 PTGS2、VEGFA、AKT1、TP53、TNF、CASP3,为桃黄方干预 SCZ 的关键靶点。

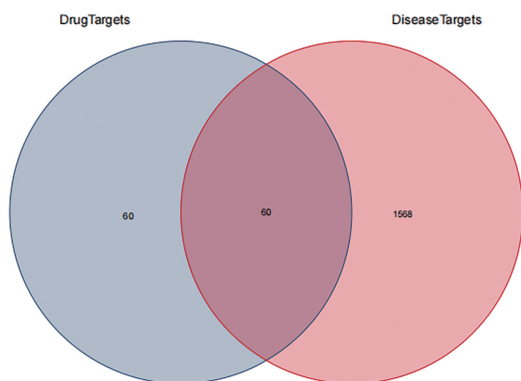
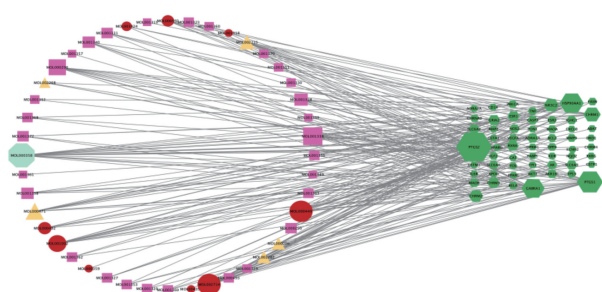


图 1 桃黄方与疾病靶点 Venn 图



注:椭圆、三角形和长方形分别代表赤芍、大黄和桃仁中的有效成分,六边形代表靶点基因,八角形代表药物共有的有效成分。

图 2 药物-活性成分-共有靶点网络

表 1 有效成分及其度值

有效成分	度值	药物来源	相关疾病	靶点基因
β-谷甾醇	19	桃仁、大黄、赤芍	SCZ	PTGS2
豆甾醇	16	赤芍	SCZ	PTGS2
黄芩素	16	赤芍		VEGFA、AKT1、TP53、PTGS2
赤霉素类二萜化合物	12	桃仁	SCZ	PTGS2
鞣花酸	11	赤芍	神经退行性疾病	VEGFA
芦荟大黄素	11	大黄		PTGS2、TP53、TNF、CASP3
常春藤素	10	桃仁	SCZ	PTGS2
欧巴汀	8	大黄	神经退行性疾病	PTGS2
2,3-二去氢 GA70	6	桃仁	SCZ	PTGS2
妥拉内酯	6	大黄	神经退行性疾病	PTGS2
(-)-儿茶素	6	大黄	神经退行性疾病	PTGS2
(+)-儿茶素	6	赤芍	神经退行性疾病	PTGS2
赤霉素类二萜化合物	5	桃仁	SCZ	PTGS2
赤霉素 7	5	桃仁	SCZ	PTGS2
(2R,3R)-4-甲氧基-二苯乙烷	5	赤芍	神经退行性疾病	PTGS2

2.4 桃黄方干预 SCZ 交互靶蛋白的提取

利用 STRING 数据库构建 PPI 网络,并利用 Cytoscape 对其进行可视化处理,如图 3 所示。该网络包含 58 个节点和 350 条边。通过 R 及其程序包筛选出具有自由度 (degree) 度值超过中位数两倍的网络蛋白,分别为 TNF、VEGFA、CASP3、AKT1、TP53 和 PTGS2,这 6 个蛋白质是 PPI 网络中的核心节点。见表 2。

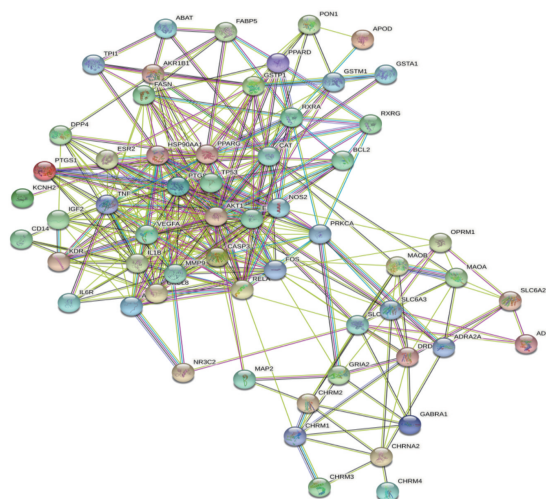


图 3 蛋白互作网络(PPI)拓扑分析

表 2 核心靶点信息及其度值

靶点名称	靶点信息	度值
TNF	Tumor necrosis factor(肿瘤坏死因子)	5
VEGFA	vascular endothelial growth factor A(血管内皮生长因子 A)	5
CASP3	caspase-3(半胱天冬-3)	5
AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase(丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)	5
TP53	cellular tumor antigen p53(细胞肿瘤抗原 p53)	5
PTGS2	Prostaglandin-endoperoxide synthase2(前列腺素-内过氧化物合酶 2)	5

2.5 GO 与 KEGG 富集分析

GO 分析共获得 295 个条目,其中将前 20 个结果进行了可视化,如图 4、5 所示。在生物过程 (BP) 方面,共有 1507 个条目,主要涉及对类固醇激素的反应、对脂多糖的反应等。在细胞组成 (CC) 方面,共有 33 个条目,靶点主要存在于突触、髓鞘及囊泡腔等结构中;分子功能 (MF) 共 103 个,主要涉及受体、类固醇激素受体、神经递质受体等。通过 R 包,设置条件:基因富集数目与显著程度 ($P < 0.05, Q < 0.05$),选取排名靠前的 30 条 KEGG

通路可视化(图 6,7)。结合上述结果分析,与 SCZ 相关的通路可能为参与调节 P13K-AKT 的信号通路及 MAPK 信号传导途径。

β -谷甾醇、黄芩素、豆甾醇、芦荟大黄素、鞣花酸、常春藤素等化合物至少与 SCZ 的 1 个关键作用靶点,最多 5 个关键作用靶点结合,且结合能均小于 0kcal/mol,说明它们之间存在着良好的结合活性。利用 PyMOL 软件对部分结果进行了可视化展示(见图 8)。黄芩素通过与 PTGS2 的 ASP-299、GLY-235、ARDG-333、TRP-139 形成 6 条氢键,鞣花酸通过与 VEGFA 的 SEP-50、ASP-34、ASN-62、ASP-63、CYS-68 形成 7 条氢键,芦荟大黄素通过与 PTGS2 的 GLN-461、HIS-39、GLY-135 形成 3 条氢键,豆甾醇通过与 PTGS2 的 GLY-225 形成 1 条氢键(与核心靶点最优结合能为-10.1kcal/mol)。

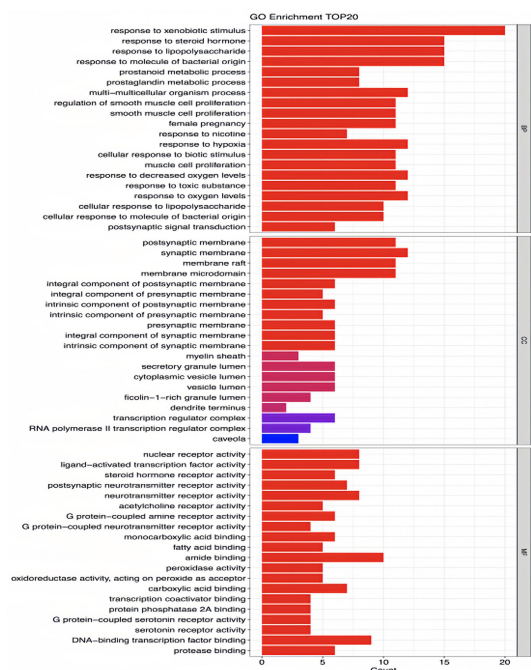


图 4 GO 柱状图



图 5 GO 气泡图

2.6 桃黄方中核心化合物与 SCZ 共同作用靶蛋白的分子对接验证

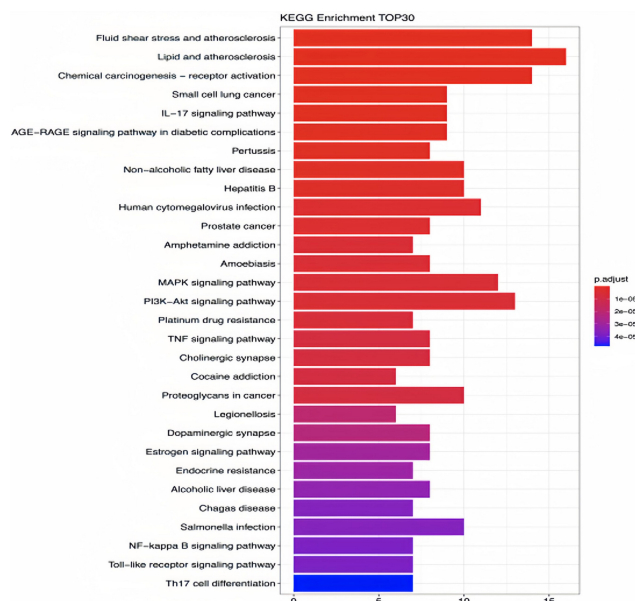


图 6 KEGG 柱状图

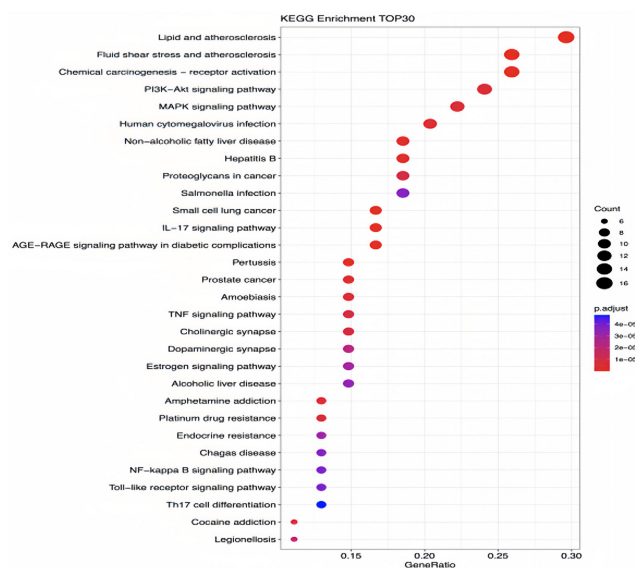
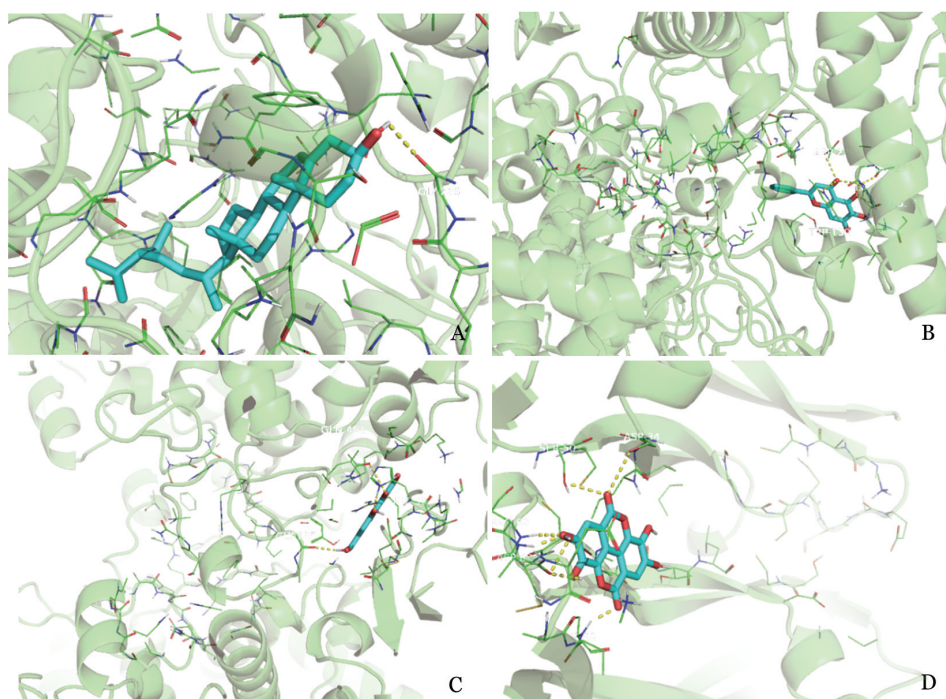


图 7 KEGG 气泡图



注:A. 豆甾醇与 PTGS2 结合构象;B. 黄芩素与 PTGS2 结合构象;C. 芦荟大黄素与 PTGS2 结合构象;D. 鞣花酸与 VEGFA 结合构象。

图 8 桃黄方关键化合物与核心靶蛋白分子对接可视化图

3 讨论

桃仁提取物能改善中枢胆碱能神经系统功能^[5], D-半乳糖可导致 tau 蛋白过度磷酸化, 而桃仁能降低 D-半乳糖导致的 tau 蛋白的过度磷酸化, 降低大鼠的认知损伤^[6]。赤芍^[7]有保护神经系统的作用。大黄^[8]可以抗氧化、改善记忆、保护神经细胞。本文筛选出来的度值前 7 的有效成分分别为: β -谷甾醇、黄芩素、豆甾醇、芦荟大黄素、鞣花酸、常春藤素。常春藤素通过刺激 PI3K/AKT 通路保护神经系统^[9]。豆甾醇通过调节海马神经元的线粒体自噬来防止缺氧/复氧损伤来保护神经系统^[10]。 β -谷甾醇通过抑制 AChE 和 BChE 活性, 激活雌激素受体/PI3-激酶途径增加抗氧化酶水平, 增加线粒体潜能以及调节炎症通路来保护神经系统^[11]。鞣花酸 (EA) 通过阻止乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的作用使乙酰胆碱上调, 改善认知潜能, EA 也通过调节大脑单胺能和 GABA 能传递途径改善记忆^[12]。芦荟大黄素通过 PI3K/AKT/mTOR 和 NF- κ B 通路来保护神经系统^[13]。黄芩素^[14-15]通过 PI3K/AKT 及 MAPK 等信号途径来发挥作用, 是一种很好的神经保护剂。

PPI 网络显示桃黄方通过复杂网络调控疾病, 经计算得出桃黄方通过 TNF、VEGFA、CASP3、AKT1、TP53、PTGS2 等基因靶点干预精神分裂。SCZ 的发生发展与感染和免疫系统有着密不可分的关系, 抗炎药物可以缓解 SCZ 的部分症状。TNF 是原型促炎细胞因子, 其中 TNF- α 基因启动子多态性是 SCZ 的危险因素^[16]。VEGF 作为一种血管生成和神经营养因子与 SCZ 的发生、发展密不可分。VEGFA 基因变异影响精神病患者的幻觉和额颞叶形态^[17]。SCZ 患者血清 VEGF 水平与前额叶皮层体积曾负相关^[18]。PTGS2 抑制剂可减少精神病的阳性症状^[19]。桃黄方通过以上关键核心靶蛋白通过不同途径调控且参与细胞的多个过程, 多途径干预治疗 SCZ。

通过 GO 和 KEGG 分析发现, 桃黄方对体内多种信号通路都具调控作用。在干预 SCZ 中主要通过参与 PI3K-Akt 信号通路及 MAPK 信号传导途径等发挥调控作用。分子 AKT 的缺失引起了反应 SCZ 的精神症状的行为, 所以 PI3K/AKT 信号通路可能是与精神相关的关键路径^[20]。PI3K-Akt 信号通路转导信号通过改变正在进行的代谢途径并改变基因表达模式来影响细胞行为。MAPK 是神经

发育障碍的潜在新治疗靶点,研究表明 SCZ 额叶皮层区域中 MAPK 和 cAMP 相关通路的异常改变可能是 SCZ 的低谷氨酸假说的能功能的基础^[21-22]。

通过分子对接发现配体与受体的结合能均为负值,结合位点以氢键连接构成较稳定的构想,初步验证了桃黄方主要有效化学成分与核心靶点的结合可能是其发挥作用的关键。

桃黄方治疗 SCZ 的效果是肯定的,但是机制尚不明确,本研究通过公共数据库,网络药理学、生物信息技术及分子对接技术,证明了桃黄方通过 44 个有效成分作用于 60 个 SCZ 相关靶点。主要通过 β -谷甾醇、黄芩素、豆甾醇、芦荟大黄素、鞣花酸、常春藤素等化合物,作用于 TNF、VEGFA、CASP3、AKT1、TP53、PTGS2 等多个靶标,通过参与调 P13K-AKT 信号通路、MAPK 信号传导途径等干预 SCZ。分子对接结果显示关键活性成分与核心靶点对接良好。表明桃黄方通过抗氧化活性、调节炎症因子、干扰脑神经递质的合成和释放、调节氨基酸代谢、提高免疫功能等机制对 SCZ 发挥治疗作用,在一定程度上为桃黄方的药理机制提供了证据。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Müller N. Inflammation in schizophrenia: pathogenetic aspects and therapeutic considerations [J]. *Schizophr Bull*, 2018, 44 (5): 973-982. DOI: 10. 1093/schbul/sby024.
- [2] Khandaker GM, Cousins L, Deakin J, et al. Inflammation and immunity in schizophrenia: implications for pathophysiology and treatment [J]. *Lancet Psychiatry*, 2015, 2(3): 258-270.
- [3] Belge JB, Scantamburlo G, Constant E. Are ketamine and its enantiomers the answer to treatment-refractory depression? [J]. *Expert Rev Neurother*, 2024; 1-4. DOI: 10. 1080/14737175. 2024. 2373302.
- [4] 中国中西医结合学会精神疾病专业委员会. 精神分裂症中医证候辨证分型标准专家共识 [J]. *现代中医临床*, 2022, 29 (1): 11-16. DOI: 10. 3969/j. issn. 2095-6606. 2022. 01. 003.
- [5] 金慧玲, 张红英. 桃仁提取物对痴呆小鼠空间学习记忆和抗疲劳作用的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(16): 285-288. DOI: 10. 11653/syfy201316028.
- [6] 于兆霞, 陈正爱, 钟秀宏, 等. 桃仁乙醇提取物对亚急性衰老大鼠的抗衰老作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(11): 2607-2608. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-9202. 2013. 11. 056.
- [7] 杨玉赫, 徐雪娇, 李陈雪, 等. 赤芍化学成分及药理作用研究新进展 [J]. *化学工程师*, 2021, 35(9): 42-44, 31. DOI: 10. 16247/j. cnki. 23-1171/tq. 20210942.
- [8] 王玉, 杨雪, 夏鹏飞, 等. 大黄化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4821-4837. DOI: 10. 7501/j. issn. 0253-2670. 2019. 19. 033.
- [9] Lin R, Liu L, Silva M, et al. Hederagenin protects PC12 cells against corticosterone-induced injury by the activation of the PI3K/AKT pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 712876. DOI: 10. 3389/fphar. 2021. 712876.
- [10] Haque MN, Hannan MA, Dash R, et al. The potential LXR β agonist stigmaterol protects against hypoxia/reoxygenation injury by modulating mitophagy in primary hippocampal neurons [J]. *Phytomedicine*, 2021, 81: 153415. DOI: 10. 1016/j. phymed. 2020. 153415.
- [11] Sharma N, Tan MA, An S. Phytosterols: potential metabolic modulators in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (22): 12255. DOI: 10. 3390/ijms222212255.
- [12] Gupta A, Singh AK, Kumar R, et al. Neuroprotective potential of ellagic acid: a critical review [J]. *Adv Nutr*, 2021, 12(4): 1211-1238. DOI: 10. 1093/advances/nmab007.
- [13] Xian M, Cai J, Zheng K, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway [J]. *Food Funct*, 2021, 12 (17): 8056-8067. DOI: 10. 1039/d1fo01144h.
- [14] Pu WL, Bai RY, Zhou K, et al. Baicalein attenuates pancreatic inflammatory injury through regulating MAPK, STAT 3 and NF- κ B activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 204-210. DOI: 10. 1016/j. intimp. 2019. 04. 01.
- [15] Yang Y, Song Y, Nie Q, et al. Baicalein inhibits invasion and promotes apoptosis in glioma cells through the PI3K/Akt pathway [J]. *J BUON*, 2021, 26(2): 395-401.
- [16] Suchanek-Raif R, Raif P, Kowalczyk M, et al. Promoter polymorphisms of TNF- α gene as a risk factor for schizophrenia [J]. *Arch Med Res*, 2018, 49(4): 248-254. DOI: 10. 1016/j. armed. 2018. 09. 007.
- [17] Frydecka D, Krzystek-Korpaczka M, Lubeiro A, et al. Profiling inflammatory signatures of schizophrenia: a cross-sectional and meta-analysis study [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 71: 28-36. DOI: 10. 1016/j. bbi. 2018. 05. 002.
- [18] Pillai A, Howell KR, Ahmed AO, et al. Association of serum VEGF levels with prefrontal cortex volume in schizophrenia [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21(5): 686-692. DOI: 10. 1038/mp. 2015. 96.
- [19] Ventriglio A, Bellomo A, Ricci F, et al. New pharmacological targets for the treatment of schizophrenia: a literature review [J]. *Curr Top Med Chem*, 2021, 21(16): 1500-1516. DOI: 10. 2174/1568026621666210701103147.
- [20] Nestler EJ, Hyman SE. Animal models of neuropsychiatric disorders [J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(10): 1161-1169. DOI: 10. 1038/nn. 2647.
- [21] Iroegbu JD, Ijomone OK, Femi-Akinlosotu OM, et al. ERK/MAPK signalling in the developing brain: perturbations and consequences [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 131: 792-805. DOI: 10. 1016/j. neubiorev. 2021. 10. 009.
- [22] Deane AR, Potemkin N, Ward RD. Mitogen-activated protein kinase (MAPK) signalling corresponds with distinct behavioural profiles in a rat model of maternal immune activation [J]. *Behav Brain Res*, 2021, 396: 112876. DOI: 10. 1016/j. bbr. 2020. 112876.

(收稿日期 2024-04-18)

(本文编辑:石俊强)