

基于网络药理学和动物实验探讨养神定志颗粒抗抑郁的作用

吕世盟¹, 尚蕊蕊², 钟霞³, 路亦桐¹, 张光恒¹, 高豪男¹, 崔雅茹⁴, 张浩⁵, 阎兆君^{6*}, 魏盛^{7,8*}

(1. 山东中医药大学第一临床医学院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学康复医学院, 山东 济南 250355; 3. 北京大学公共卫生学院儿童青少年卫生研究所, 北京 100191; 4. 山东中医药大学中医药创新研究院, 山东 济南 250355; 5. 山东中医药大学实验中心, 山东 济南 250355; 6. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014; 7. 中医药经典理论教育部重点实验室/山东省中医药基础理论创新与应用研究重点实验室/中医药防治重大脑疾病山东省工程研究中心/济南市中医药重大脑疾病防治重点实验室, 山东中医药大学, 山东 济南 250355; 8. 山东中医药大学中医药与脑科学交叉学科研究中心, 山东 济南 250355)

摘要: 目的 通过网络药理学及分子对接技术探讨养神定志颗粒抗抑郁作用机制, 并进行实验验证。方法 通过 TCMS 及 BATMAN-TCM 数据库收集养神定志颗粒潜在活性成分与靶点, 在 DrugBank、GeneCards 及 OMIM 数据库收集抑郁症潜在靶点, 并与养神定志颗粒潜在靶点取交集作为潜在关键靶点, 将关键靶点导入 String 数据库获得蛋白质相互作用 (PPI) 网络; 并将潜在活性成分与潜在关键靶点导入 Cytoscape 软件获得网络图, 筛选出养神定志颗粒潜在关键活性成分; 利用 Metascape 数据库对潜在关键靶点进行 GO 和 KEGG 功能富集分析; 最后通过 AutoDock 软件进行分子对接, 并将对接结果可视化。构建慢性不可预知性温和应激 (CUMS) 大鼠抑郁症模型, 给予养神定志颗粒 (2、4、8 g/kg) 进行干预, 采用糖水偏好实验、旷场实验、强迫游泳实验观察大鼠行为学; HE 染色和尼氏染色法观察大鼠海马脑区结构; 免疫荧光染色法观察大鼠海马脑区小胶质细胞和 NLRP3 荧光度; Western blot 法检测大鼠海马 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路相关蛋白表达。**结果** 共筛选得到养神定志颗粒 560 个作用靶点与 42 种潜在活性成分, 抑郁症 1 014 个非重复靶点, 两者取交集后共得到 163 个潜在关键靶点; KEGG 富集分析涉及 NOD 样受体 (NLR) 及 Toll 样受体 (TLR) 信号通路等。分子对接结果显示, 养神定志颗粒中潜在活性成分与部分关键靶点 (TLR4、NF- κ B、NLRP3) 结合良好。行为学结果显示, 养神定志颗粒能改善 CUMS 诱导的抑郁样行为, 并且缓解大鼠海马病理损伤; 免疫荧光及 Western blot 结果显示, 养神定志颗粒能抑制小胶质细胞激活及抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路活性。**结论** 养神定志颗粒通过多成分、多靶点及多途径发挥抗抑郁作用, 其中可能与抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路密切相关。

关键词: 养神定志颗粒; 抑郁症; 网络药理学; 分子对接; TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)06-2045-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.06.043

抑郁症是一种严重的精神情感障碍性疾病, 其被认为是导致全世界非致命性健康损失的最大因素, 预计到 2030 年抑郁症将成为全球医疗负担的第一大疾病^[1-2]。临床上以选择性五羟色胺再摄取抑制剂 (SSRIs) 等西药治疗为主, 但存在恶心、头痛、体质量增加等不良反应, 且大多数治疗存在延迟效应以及高无应答率问题^[3-5]。中药具有多组分、多靶点、多环节、多途径综合干预和整体调节的特点, 从中药中提取的活性成分具有显著的抗抑郁疗效并且无明显

不良反应^[6], 其在抗抑郁的研究上有巨大的潜力。

养神定志颗粒 (YSDZ) 是阎兆君教授研读古籍经典, 重建志意辨证理论, 在多年的理论及临床基础上结合经典古方仁熟散化裁而成^[7], 被广泛应用于中医情志病 (抑郁、焦虑等) 的治疗中。前期研究发现, YSDZ 能治疗慢性束缚应激诱导的焦虑症^[8], 但其潜在抗抑郁作用机制尚不清楚。网络药理学以“网络靶标”为核心理论, 强调以疾病或证候生物网络为靶标的综合效应来表征中药方剂的

收稿日期: 2024-12-03

基金项目: 泰山学者工程专项经费资助 (tsqn202211137); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科中医基础理论学科 (zyzdxk-2023118); 全国中医药高等教育学会工作研究会课题 (XGNH2023-K03); 山东中医药大学中医药与脑科学青年科研创新团队 (22202101); 山东中医药大学科学研究基金重点项目 (KYZK2024Z08)

作者简介: 吕世盟 (1995—), 男, 博士生, 从事中医情志病发病和中药干预机制研究。E-mail: simonx24@163.com

* **通信作者:** 魏盛 (1980—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医情志病证的脑环路基础和中医药干预机制研究。E-mail: weisheng@sdutcm.edu.cn

阎兆君 (1963—), 男, 博士, 教授, 从事中医神志病临床与实验研究。E-mail: yzj7790@163.com

整体调节机制^[9], 网络药理学联合分子对接技术有利于探索中药潜在作用机制。基于此, 本研究通过网络药理学及分子对接探索 YSDZ 抗抑郁潜在作用靶点, 并结合动物实验, 对关键靶点进行验证, 进一步阐述 YSDZ 抗抑郁的潜在作用机制。

1 材料

1.1 数据库 TC MSP 数据库 (<https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>); BATMAN-TCM 数据库 (<http://bionet.ncpsp.org/batman-tcm>); OMIM 数据库 (<https://omim.org>); DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org>); Metascape 数据库 (<https://metascape.org>)。

1.2 动物 60只6~8周龄雄性 Wistar 大鼠, 体质量 200~220 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 2022-0006], 饲养于山东中医药大学实验动物中心 [动物实验使用许可证号 SYXK (鲁) 2022-0009], 环境温度 20~24 ℃, 相对湿度 45%, 昼夜交替 (12 h/12 h) 下适应性喂养 1 周, 自由饮食和饮水。本实验经山东中医药大学实验动物福利伦理审查委员会审批通过 (批准号 SDUTCM20240313004)。

1.3 试剂与药物 养神定志颗粒, 鲁药制备 (应急) 字 Z202003, 规格 3 g/包, 购自山东中医药大学附属医院, 按照处方工艺折算每味药的生药量为熟地黄 0.36 g/g, 制远志 0.3 g/g, 茯神 0.3 g/g, 防风 0.27 g/g, 绵马贯众 0.18 g/g, 红参 0.09 g/g, 野菊花 0.18 g/g, 麸炒枳壳 0.18 g/g。盐酸氟西汀胶囊 (法国礼来公司, 国药准字 HJ20181215); GAPDH、TLR4、P65、NLRP3 抗体、HRP-山羊抗兔二抗、RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量检测试剂盒 (武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号 GB15004、GB11519、GB11997、GB114320、GB23303、G2002-100ML、G2026-200T)。

1.4 仪器 KZ-III-F 型研磨仪、DS-2S100 型脱色摇床 (钟摆型)、SMV-3500 型涡旋混匀仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); D3024R 型台式高速冷冻离心机 [大龙兴创实验仪器 (北京) 股份公司]; RT-6100 型酶标仪 (美国雷杜公司); SuperMaze+高通量动物行为实验分析软件 (上海欣软信息科技有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学

2.1.1 YSDZ 活性成分及靶点筛选 检索 TC MSP 数据库, 根据 ADME 参数, 以口服利用度 (OB) $\geq 30\%$, 类药性 (DL) ≥ 0.18 作为筛选标准, 获得防风、贯众、红参、熟地黄、野菊花以及枳壳中作用化合物及其预测靶点。检索 BATMAN-TCM 数据库, 以得分 ≥ 20 , $P < 0.05$ 作为筛选标准, 获得远志以及茯神中作用化合物及其预测靶点^[8]。

2.1.2 抑郁症靶点筛选及蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建 通过 GeneCards、OMIM 及 DrugBank 数据库以 “depression” 为关键词获取抑郁症相关靶点。后将 YSDZ 预测靶点与抑郁症靶点取交集后, 得到治疗潜在关键靶点,

并将潜在靶点导入 STRING (<http://www.string-db.org>) 数据库中进行检索, 设定蛋白种类为人类, 获取潜在靶点蛋白之间作用关系的数据信息, 同时将蛋白互作信息导入 Cytoscape 软件, 构建网络图。将 YSDZ 潜在活性成分与潜在关键靶点导入 Cytoscape 软件绘制 “潜在活性成分-潜在关键靶点” 网络图, 并通过分析筛选出 YSDZ 中的潜在关键活性成分。

2.1.3 基因本体 (GO) 与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 将潜在作用靶点导入 Metascape (<http://metascape.org>) 数据库, 物种选择 “*homo sapiens*”, 选择个性化分析, 分别得到 GO 中的生物过程 (BP)、分子功能 (MF) 和细胞组成 (CC) 及 KEGG 富集分析结果, 并将数据可视化。

2.1.4 分子对接 NLRP3 (PDB ID: 7ALV)、NF- κ B (PDB ID: 1IKN)、TLR4 (PDB ID: 5IJD) 靶点蛋白晶体结构来自于蛋白质数据库 (<https://www.rcsb.org/>)。采用 PyMol 2.1 软件删除蛋白分子中的无关小分子后, 将蛋白分子导入 AutoDock Tools 1.5.6 软件, 删除水分子、添加氢原子以及设置原子类型, 最后保存为 pdbqt 文件。化合物结构 (β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、槲皮素、豆甾醇) 来自于 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), 通过 Chem3D 对所下载的化合物进行能量最小化, 后将小分子化合物导入 AutoDock Tools 1.5.6 软件并添加原子电荷、分配原子类型, 将所有柔性键默认可旋转, 最后通过 AutoDock 进行批量分子对接, 对分子对接结果进行分析, 并将化合物与蛋白的结合作用可视化, 分析化合物和靶点蛋白的作用模式, 得到化合物与蛋白残基作用的情况。

2.2 动物实验

2.2.1 大鼠分组及造模 60只大鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为正常组、模型组、氟西汀组及 YSDZ 低、中、高剂量组。除正常组外, 其余各组大鼠接受慢性不可预知性温和应激 (CUMS) 建立抑郁模型, 持续 28 d, 刺激方式包括禁水 24 h、禁食 24 h、潮湿垫料 24 h、倾斜鼠笼 24 h、热刺激 5 min、冷水游泳 5 min、悬尾 5 min, 每天给予 1 种刺激方式, 连续 2 d 不能有重复刺激方式^[10]。

2.2.2 给药 正常组和模型组均给予蒸馏水灌胃, YSDZ 低、中、高剂量组和氟西汀组给药剂量参考相关文献及结合体表面积进行换算, YSDZ 低、中、高剂量组给药剂量为 2、4、8 g/kg, 氟西汀组给药剂量为 2 mg/kg, 将 YSDZ 和氟西汀溶解于蒸馏水中, 每次造模前 30 min 灌胃给药, 每天 1 次, 持续 28 d^[11]。

2.2.3 行为学检测 CUMS 造模及给药结束后, 进行蔗糖偏好实验 (SPT)、旷场实验 (OFT) 及强迫游泳实验 (FST)。SPT 实验前所有大鼠给予 1% 蔗糖溶液自由饮用 24 h, 然后用水替换其中一瓶 1% 蔗糖溶液 24 h, 每 12 h 交换 1 次位置。每只大鼠给予称定质量的水和 1% 蔗糖溶液各 1 瓶, 30 min 后称定质量并交换换位置, 60 min 后再次称

定质量。计算蔗糖偏好率公式为蔗糖偏好率=蔗糖摄入量/(蔗糖摄入量+水摄入量)×100%^[12]。

OFT实验在安静环境中进行,将大鼠置于底面为黑色的旷场箱,背向研究人员,任其自由活动,将旷场箱等面积分为九宫格,中央为中央区,占整个旷场的1/9,其余为外周区。用SuperMaze+高通量动物行为实验分析软件记录、跟踪待测大鼠6 min内的总活动距离及平均速度。

FST实验在23~25℃、40 cm水深的透明圆桶中进行,桶高75 cm,内径20 cm。实验开始时将大鼠放入水中,持续时间为6 min,视频记录整个过程,使用动物行为学检测软件收录实验数据,检测各组大鼠强迫游泳时漂浮不动时间^[13]。

2.2.4 HE染色及尼氏染色法观察海马组织形态学变化 行为学检测结束后,用2%戊巴比妥钠按进行麻醉,麻醉后大鼠后断头取脑,冰上剥离出海马组织并冷冻保存;同时每组随机选取3只大鼠进行灌注,取出大鼠完整脑组织,置于4%多聚甲醛溶液中固定,经常规脱水、石蜡包埋、组织切片后,进行苏木精-伊红(HE)和尼氏染色,切片置于光学显微镜下观察组织形态学变化。

2.2.5 Western blot法检测海马组织TLR4/NF-κB p65/NLRP3通路表达 将冷冻保存的大鼠海马组织按比例置于预先加好蛋白裂解液、蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂混合物的离心管中,低温研磨得到组织匀浆,离心,取上清液,BCA试剂盒进行蛋白定量。经电泳、电转、封闭后分别加入TLR4、NF-κB p65及NLRP3(1:1 000稀释)室温孵育后4℃过夜;次日用TBST洗膜3次,加二抗(1:5 000稀释)室温孵育30 min, TBST洗膜3次,最后使用化学发光法显影,计算条带灰度值。

2.2.6 免疫荧光法检测海马小胶质细胞及NLRP3表达 取大鼠脑组织切片,依次进行脱蜡复水、抗原修复、血清封闭,滴加配制好的一抗4℃下孵育过夜。次日,PBS缓冲液漂洗后滴加荧光标记二抗,室温避光孵育60 min。PBS缓冲液漂洗后滴加DAPI染液染核,室温避光孵育10 min。PBS缓冲液漂洗后滴加荧光淬灭封片剂封片,置于激光扫描共聚焦显微镜下观察,并计算荧光强度值。

2.3 统计学分析 通过Graphad Prism 8软件进行处理,实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 潜在活性成分与靶点筛选 在TCMSP和BATMAN-TCM数据库中共筛选出560个YSDZ非重复靶点与42个活性化合物;在GeneCards、OMIM及DrugBank数据库中共筛选出抑郁症1 014个非重复靶点。

3.1.2 PPI和活性成分-靶点网络图构建 取交集后得到163个潜在关键靶点,将潜在关键靶点导入STRING数据库及Cytoscape软件获得PPI网络图,见图1A。将潜在活性成分和靶点导入Cytoscape软件,获得潜在活性成分-潜在

靶点网络图,并且根据网络分析后得出Degree值前五的活性成分,分别是槲皮素、β-谷甾醇、山柰酚、木犀草素及豆甾醇,见图1B。

3.1.3 GO和KEGG富集分析 将潜在关键靶点导入Metascape数据库后,分别得到BP、MF、CC以及KEGG富集分析结果。其中BP涉及神经炎症反应的调节、神经炎症反应及膜电位的调节等;MF涉及神经递质受体活性、突触后神经递质受体活性、细胞因子活性等;CC涉及突触后膜、突触膜及神经元间突触等,见图1C。KEGG结果涉及NOD样受体信号通路、Toll样受体信号通路及神经活性配体-受体相互作用等,见图1D。上述结果提示,TLR4/NFκB/NLRP3信号通路介导的神经炎症可能为YSDZ抗抑郁的潜在作用机制。

3.1.4 分子对接 将网络图中筛选出的潜在活性成分(槲皮素、β-谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇)与TLR4、NF-κB和NLRP3靶点进行分子对接,结果见表1。各组对接结合能均低于-5 kcal/mol,表明结合越稳定,将对接结果前四的组合可视化,见图2。

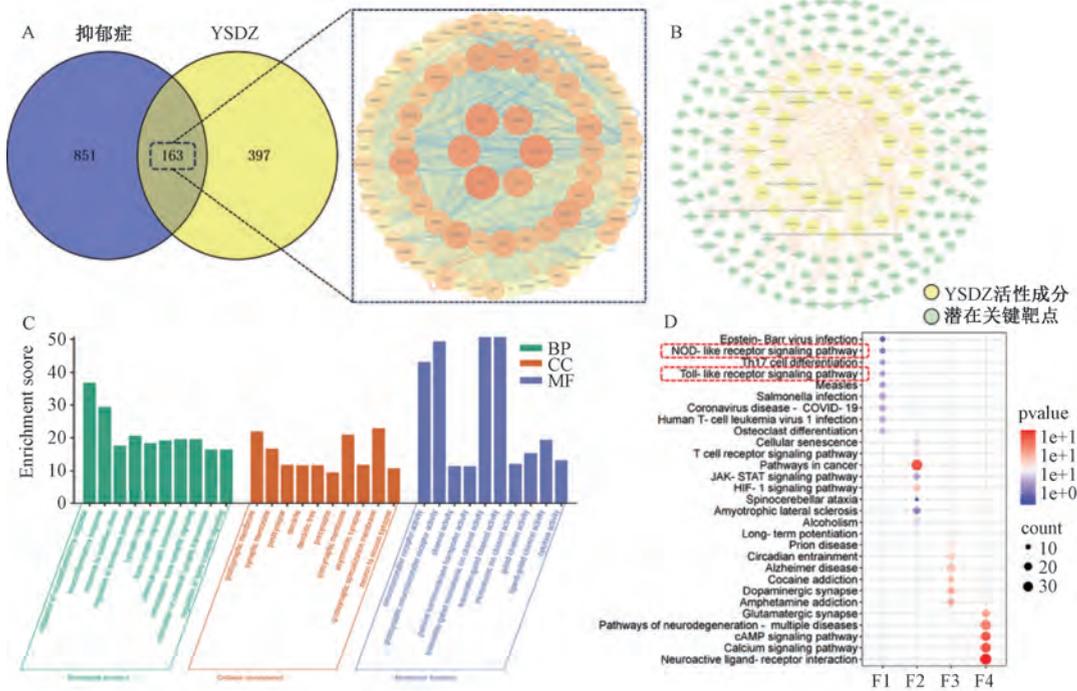
表1 分子对接结果

活性成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)		
	TLR4	NF-κB	NLRP3
槲皮素	-6.7	-5.9	-8.8
β-谷甾醇	-6.3	-7.2	-8.9
山柰酚	-6.6	-6.0	-8.7
木犀草素	-7.2	-6.3	-9.2
豆甾醇	-6.4	-6.7	-8.1

3.2 动物实验验证

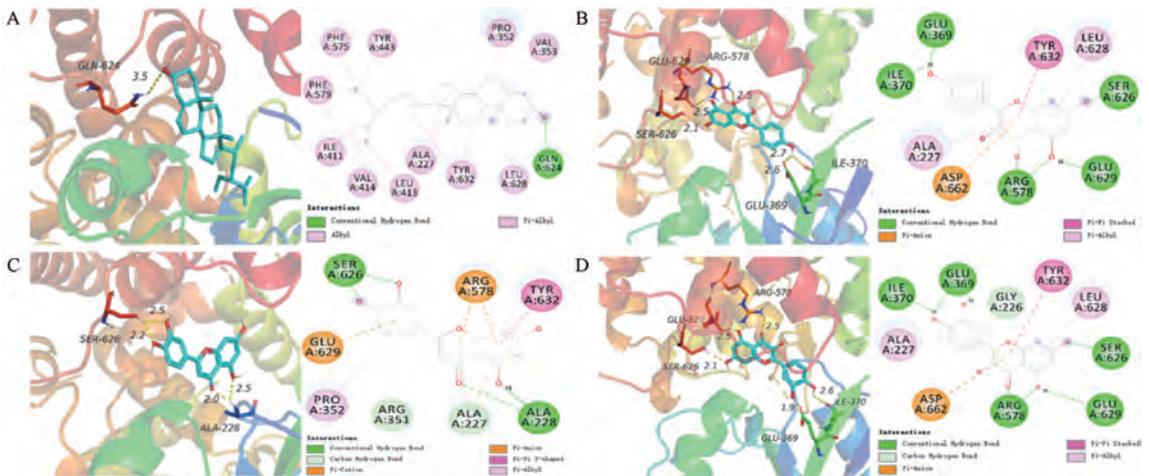
3.2.1 YSDZ对抑郁大鼠行为学的影响 SPT结果显示,与正常组比较,模型组大鼠糖水偏好率降低($P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀组和YSDZ中、高剂量组大鼠糖水偏好率升高($P < 0.05$),见图3A。OFT结果显示,与正常组比较,模型组大鼠旷场活动平均速度和总活动路程降低($P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀组和YSDZ中剂量组大鼠旷场活动平均速度和总活动路程增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图3B~3C。FST结果显示,与正常组比较,模型组大鼠不动时间延长($P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀和YSDZ中、高剂量组大鼠不动时间缩短($P < 0.05$, $P < 0.01$),见图3D。根据以上行为学实验结果,选择YSDZ较佳干预剂量(4 g/kg)用于后续实验。

3.2.2 YSDZ对抑郁大鼠海马组织病理形态的影响 HE染色结果显示,正常组大鼠海马神经元形态规则,胞核大而圆,染色质少,核仁明显,未见明显的坏死等异常;模型组大鼠海马DG区可见少量神经元固缩,细胞体积减小,形状不规则,胞核、胞质分界不清;YSDZ组大鼠海马DG区可见极少量神经元固缩,细胞体积减小,形状不规则,胞核、胞质分界不清,染色加深,未见明显的坏死等异常,血管未见明显的异常;氟西汀组大鼠海马中神经元形态规则,胞核大而圆,染色质少,核仁明显,未见明显的坏死等异常,血管未见明显的异常,见图4A。



注：A 为韦恩图，B 为潜在活性成分-潜在关键靶点网络图，C 为 GO 富集分析，D 为 KEGG 富集分析。

图 1 网络药理学分析结果

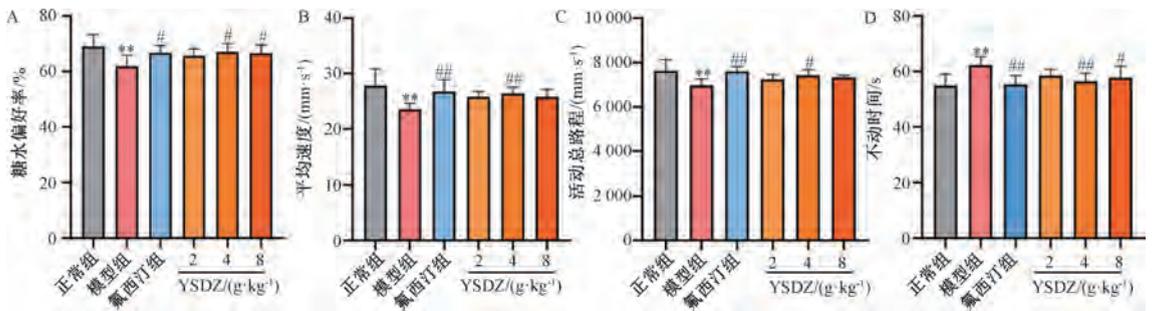


注：A 为豆甾醇与 NLRP3 对接，B 为山柰酚与 NLRP3 对接，C 为木犀草素与 NLRP3 对接，D 为槲皮素与 NLRP3 对接。

图 2 分子对接模式图

尼氏染色结果显示，正常组大鼠海马中神经元形态规则，胞核大而圆，染色质少，核仁明显，尼氏染色下未见明显异常；模型组大鼠海马中 CA1 区与 DG 区可见少量神经元固缩，细胞体积减小，形状不规则，胞核、胞质分界不清，同时也见到少量神经元细胞固缩，偶见神经元细胞肿胀、凋亡，尼氏染色下呈深蓝色；YSDZ 组大鼠海马组织中齿状回部位神经元细胞排列整齐，细胞轮廓清晰，数量较多，可以观察到尼氏小体数量较多，胞质内尼氏小体染色较深，密度较大；氟西汀组大鼠海马神经元形态规则，神经元排列较为整齐，细胞轮廓清晰，胞核大而圆，染色

质少，核仁明显，尼氏染色下未见明显异常，图 4B。
3.2.3 YSDZ 对抑郁大鼠海马神经炎症的影响 免疫荧光结果显示，与正常组比较，模型组抑郁大鼠 IBA-1 和 NLRP3 的荧光强度升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，YSDZ 组和氟西汀组 IBA-1 和 NLRP3 的荧光强度降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图 5A~5C。Western blot 结果显示，与正常组比较，模型组大鼠海马 TLR4、NF- κ B p65 和 NLRP3 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，YSDZ 组和氟西汀组大鼠海马 TLR4、NF- κ B p65 和 NLRP3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)，见图 5D~5G。



注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图3 YSDZ对抑郁大鼠行为学的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

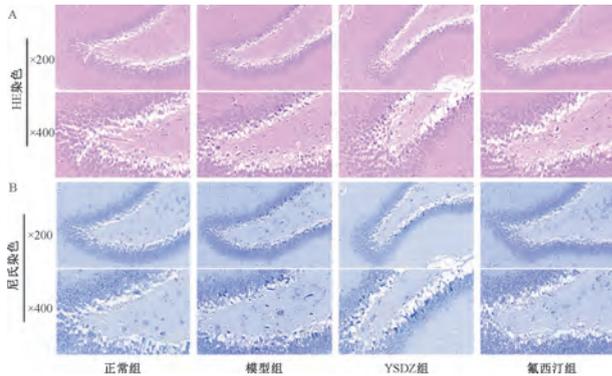
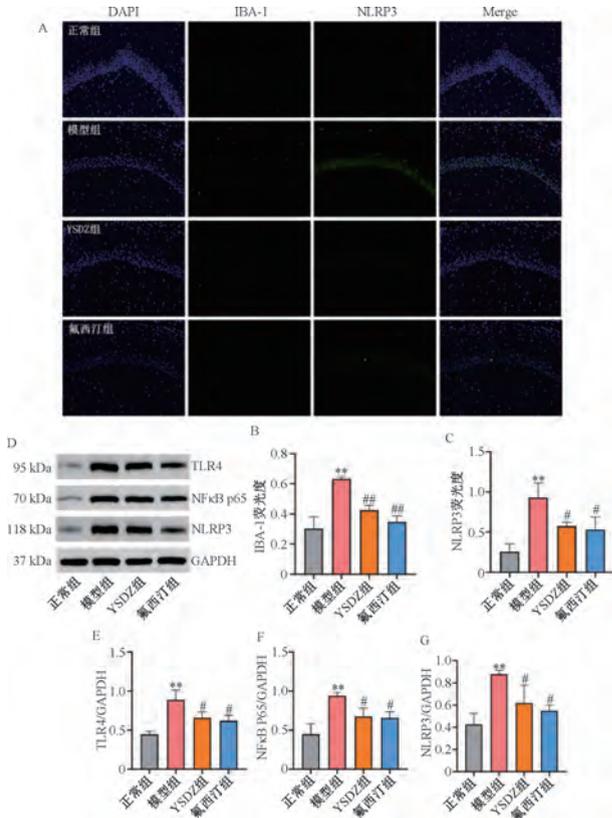


图4 YSDZ对抑郁大鼠海马病理损伤的影响



注：A为小胶质细胞（红色）和NLRP3（绿色）免疫荧光图，标尺均为50 μm ；B~C分别为小胶质细胞和NLRP3荧光强度；D为TLR4、NF- κB p65和NLRP3蛋白印迹图；E~G分别为TLR4、NF- κB p65和NLRP3蛋白表达比较。与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图5 YSDZ对抑郁大鼠海马神经炎症的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

抑郁症是最常见的精神疾病之一，其发病机制尚未明确，仍缺乏能成功阻止或完全逆转抑郁症的干预措施^[14]。开展中医药多靶点抗抑郁研究是当前研究的重点之一。YSDZ由熟地黄、远志、茯神等组成，具有潜在的抗抑郁作用，但当前缺乏基础研究证据，其潜在活性成分尚不清楚。

本研究发现，YSDZ能改善CUMS引起的大鼠抑郁样行为，缓解海马脑区病理损伤。由网络药理学分析可知，YSDZ中存在槲皮素、 β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、豆甾醇等潜在活性成分。槲皮素是存在于多种中草药的有效成分之一，前期研究发现其能通过调节线粒体自噬，调控肠道菌群和BDNF信号通路治疗抑郁症^[15-17]。 β -谷甾醇是一种重要的植物甾醇，具有广泛的药理学作用^[18]，能调节神经递质，发挥抗抑郁作用^[19]。山柰酚是一种天然黄酮类物质，广泛存在于天然植物中，能改善乳腺癌相关的抑郁症^[20]，并且山柰酚与槲皮素联用还能抑制海马肥大细胞活化，改善抑郁症^[21]。

本研究KEGG富集分析显示，YSDZ抗抑郁涉及调节NOD样受体信号通路、Toll样受体信号通路及神经活性配体-受体相互作用等。Toll样受体（TLRs）是一种含有高度重复亮氨酸基序的跨膜蛋白，核转录因子- κB （NF- κB ）是一种可诱导性入核的转录因子，可以被多种因素激活，并在炎症反应中发挥重要作用，TLR4通常通过其下游髓样分化因子8发出信号以激活NF- κB 通路，从而导致NLRP3细胞因子的释放，引发促炎级联反应^[22]。小胶质细胞是脑内常驻巨噬细胞，也是中枢神经系统中目前研究最多、最为深入的胶质细胞^[23]。小胶质细胞表达多种受体，包括TLRs，可以识别入侵的病原体和内源性有害刺激，从而诱导免疫反应^[24]，但异常激活的小胶质细胞是大量炎症和细胞毒性介质的主要来源，其介导抑郁症的病理发生发展，而调节小胶质细胞的异常激活，缓解神经炎症，是抑郁症的潜在治疗策略^[25]。分子对接结果显示，YSDZ中的潜在活性成分（ β -谷甾醇、山柰酚、木犀草素、槲皮素、豆甾醇）与TLR4、NF- κB 、NLRP3靶点蛋白均能结合。本研究结果显示，海马小胶质细胞及NLRP3荧光度增加，海马TLR4/NF- κB /NLRP3信号通路过度激活，而给予YSDZ干预能改善上述病理现象，缓解神经炎症的过度活跃。

综上所述，本研究通过网络药理学和分子对接方法，

分析 YSDZ 抗抑郁的潜在活性成分和潜在靶点,发现 TLR4/NFκB/NLRP3 为 YSDZ 抗抑郁的潜在重要靶点,后通过动物实验验证, YSDZ 能改善 CUMS 大鼠的抑郁样行为,缓解海马病理损伤,并改善海马小胶质细胞和 TLR4/NFκB/NLRP3 的异常激活,缓解神经炎症,初步揭示 YSDZ 多成分、多靶点抗抑郁的作用特点。但本研究尚未对 YSDZ 的潜在活性成分进行验证, YSDZ 的抗抑郁作用机制有待进一步完善。

参考文献:

[1] Rehm J, Shield K D. Global burden of disease and the impact of mental and addictive disorders[J]. *Curr Psychiatry Rep*, 2019, 21(2): 10.

[2] Bayes J, Schloss J, Sibbritt D. Effects of polyphenols in a mediterranean diet on symptoms of depression: A systematic literature review[J]. *Adv Nutr*, 2020, 11(3): 602-615.

[3] Wang Y S, Shen C Y, Jiang J G. Antidepressant active ingredients from herbs and nutraceuticals used in TCM: pharmacological mechanisms and prospects for drug discovery[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 150: 104520.

[4] Qu S Y, Li X Y, Heng X, et al. Analysis of antidepressant activity of Huang-Lian Jie-Du Decoction through network pharmacology and metabolomics[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 619288.

[5] Wei Y, Chang L, Hashimoto K. Molecular mechanisms underlying the antidepressant actions of arketamine; beyond the NMDA receptor[J]. *Mol Psychiatry*, 2022, 27(1): 559-573.

[6] Zhuang W, Liu S L, Xi S Y, et al. Traditional Chinese medicine decoctions and Chinese patent medicines for the treatment of depression: Efficacies and mechanisms[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 307: 116272.

[7] 赵润. 养神定志颗粒对失眠大鼠 cAMP-PKA-CREB-BDNF 信号通路及炎症因子的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2022.

[8] Lv S, Dai W, Zheng Y, et al. Anxiolytic effect of YangshenDingzhi Granules: Integrated network pharmacology and hippocampal metabolomics[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 966218.

[9] 李梢, 肖伟. 网络药理学应用于中药新药研发专家共识总论[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(18): 5055-5068.

[10] 韩文华, 王文瑞, 董爱爱, 等. 针刺对抑郁大鼠炎症反应与氧化应激的调控作用[J]. *针刺研究*, 2025, 50(3): 270-276.

[11] 杜帅霖, 郝志成, 张策, 等. 基于 JNK/c-Myc/p53 信号通路探讨酸枣仁汤对抑郁模型大鼠的干预作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(5): 12-19.

[12] 向银丹, 倪萍, 陶梦娟, 等. 基于肠道菌群探究麦芽乙醇提取物对慢性不可预测应激大鼠的抗抑郁作用机制

[J/OL]. *医药导报*: 1-20 (2024-07-01) [2024-08-20]. <http://kns.onki.net/kcms/detail/42.1293.r.20240628.1647.002.html>.

[13] 冉立成, 尚辉, 袁艺, 等. 基于 Wnt/β-catenin 与 Notch 信号通路探讨电针对抑郁大鼠海马神经元再生的作用机制[J]. *针刺研究*, 2024, 49(12): 1282-1288.

[14] 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.

[15] Han X, Xu T, Fang Q, et al. Quercetin hinders microglial activation to alleviate neurotoxicity via the interplay between NLRP3 inflammasome and mitophagy[J]. *Redox Biol*, 2021, 44: 102010.

[16] Sun Y, Zhang H, Wu Z, et al. Quercitrin rapidly alleviated depression-like behaviors in lipopolysaccharide-treated mice: The involvement of PI3K/AKT/NF-κB signaling suppression and CREB/BDNF signaling restoration in the hippocampus[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(18): 3387-3396.

[17] Li B, Yan Y, Zhang T, et al. Quercetin reshapes gut microbiota homeostasis and modulates brain metabolic profile to regulate depression-like behaviors induced by CUMS in rats[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1362464.

[18] 袁明洲, 袁欣欣, 林瑶, 等. β-谷甾醇对帕金森病模型大鼠脑氧化应激损伤及 Nrf2/HO-1 蛋白通路的影响[J]. *福建中医药*, 2024, 55(3): 32-35.

[19] Yin Y, Liu X, Liu J, et al. The effect of beta-sitosterol and its derivatives on depression by the modification of 5-HT, DA and GABA-ergic systems in mice[J]. *RSC Adv*, 2018, 8(2): 671-680.

[20] Zhu Q, Han Y, He Y, et al. Kaempferol improves breast cancer-related depression through the COX-2/PGE2 pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, 28(11): 311.

[21] Su P, Li Z, Yan X, et al. Quercetin and kaempferol inhibit HMC-1 activation via SOCE/NFATc2 signaling and suppress hippocampal mast cell activation in lipopolysaccharide-induced depressive mice[J]. *Inflamm Res*, 2024, 73(6): 945-960.

[22] 石锦涛, 张知宜, 卫芸菲, 等. 基于细胞焦亡相关通路探讨中医药治疗糖尿病肾病的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(3): 290-300.

[23] 王茸, 许军峰. 小胶质细胞与缺血性脑卒中的关系及针刺干预研究进展[J]. *针刺研究*, 2024, 49(12): 1319-1324.

[24] Zusso M, Lunardi V, Franceschini D, et al. Ciprofloxacin and levofloxacin attenuate microglia inflammatory response via TLR4/NF-κB pathway[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 148.

[25] Wang H, He Y, Sun Z, et al. Microglia in depression: an overview of microglia in the pathogenesis and treatment of depression[J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19(1): 132.