

[9] 马 健, 卞慧敏, 龚婕宁, 等. 滋阴代表方对小鼠脑、免疫器官及其 SOD、MDA 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(2): 46-48.

[10] 马 渊, 周文霞, 程军平, 等. 六味地黄汤对皮质酮所致小鼠下丘脑-垂体-卵巢轴紊乱的调节作用及其拆方研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(2): 28-32.

[11] 蒋 宁, 李思迪, 周文霞, 等. 六味地黄汤及其不同组分对快速老化小鼠神经内分泌免疫调节网络的影响[C] // 中国药理学会第十一次全国学术会议专刊. 济南: 中国药理学与毒理学杂志编辑部, 2011: 86-87.

[12] 许翠萍, 孙 静, 朱庆均, 等. 金匱肾气丸对“劳倦过度、房室不节”肾虚模型小鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴功能的影响[J]. 山东中医药大学学报, 2009, 33(3): 248-249.

[13] 周智兴, 吴正平, 邓 琴. 肾气丸对衰老模型大鼠免疫功能的作用研究[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(24): 4131-4133.

[14] 陈 芬, 王绿娅, 尹卫东. 低密度脂蛋白受体功能及其影响因素研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2006, 14(5): 448-450.

[15] 秦媛媛, 凌文华. B 族 I 型清道夫受体与高密度脂蛋白代谢[J]. 国际内科学杂志, 2009, 36(5): 286-289.

[16] 许雅丽, 殷莲华. 类固醇激素合成急性调节蛋白 (StAR) 与胆固醇代谢[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2008, 28(4): 358-361.

基于网络药理学研究甘麦大枣汤改善睡眠障碍的作用机制

晏仁义^{1,2}, 陈衬心², 李赫宇², 张东星², 张 民^{1*}, 於洪建², 郑艳超²
(1. 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457; 2. 天津益倍生物科技集团有限公司, 天津 300457)

摘要: **目的** 基于网络药理学探索甘麦大枣汤改善睡眠障碍的主要活性成分及作用机制。**方法** 以 OB≥20% 和 DL≥0.18 为筛选条件获取活性成分, 从 TCMS 数据库筛选甘麦大枣汤中各味药的化合物和活性成分相互作用的靶点, 并利用 Cytoscape 软件绘制甘麦大枣汤的 C-T 网络图, 在 DrugBank 数据库中获得与睡眠障碍相关的靶点, 并利用 Cytoscape 软件构建“成分-靶标-通路”网络图, 采用 DAVID 数据库对靶点基因进行 KEGG 分析。**结果** 共获得 127 个化合物, 174 个与睡眠障碍相关的靶点, 这些靶点主要作用于 HIF-1、ErbB、雌激素等 10 条信号通路。**结论** 体现了中药多成分-多靶点-多通路特点, 为进一步开发甘麦大枣汤为基础的功能产品奠定了基础。

关键词: 甘麦大枣汤; 网络药理学; 睡眠障碍

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2020)02-0343-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.02.014

The mechanism of Ganmai Dazao Decoction in improving sleep disorders based on network pharmacology

YAN Ren-yi^{1,2}, CHEN Chen-xin², LI He-yu², ZHANG Dong-xing², ZHANG Min^{1*},
YU Hong-jian², ZHENG Yan-chao²
(1. College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. Tianjin Ubasio Biotechnology Group Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

KEY WORDS: Ganmai Dazao Decoction; network pharmacology; sleep disorders

睡眠障碍是指在睡眠时间和机会充足的情况下, 发生反复入睡、睡眠维持与巩固、睡眠质量差等困难, 导致患者日间功能受损。众所周知, 良好的睡眠是人体健康的基石, 缺乏高质量的睡

收稿日期: 2019-06-26

基金项目: 中国博士后科学基金第 65 批面上项目 (2019M651055)

作者简介: 晏仁义 (1982—), 男, 博士, 研究员, 从事植物成分研究与开发工作。E-mail: yanry2009@163.com

* 通信作者: 张 民 (1972—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为食品化学与食品营养。E-mail: zm0102@tust.edu.cn

眠会对人体器官造成不可逆的损伤。近年来随着人们工作节奏的不断加快,生活压力的不断加大,睡眠障碍的发病率也呈上升趋势。据北京朝阳医院发布的《2018 中国睡眠质量调查报告》显示,在 10 万被调查人群中 有 83.81% 经常受到睡眠问题困扰。睡眠障碍会令人疲惫、记忆减退,且头痛、目眩等症状同时出现,严重影响身体健康、生活质量^[1]。西药治疗多采用巴比妥类、苯二氮卓类等镇静安眠药,但这些药物会产生依赖、戒断、宿醉等不良反应。中医学注重整体观,具有丰富的理论与实践基础,且不良反应少,因而受广泛关注。

甘麦大枣汤出自《金匱要略》,由甘草、小麦、大枣组成,3 味药均为常见的药食同源中药。临床和食疗上,甘麦大枣汤用于调理睡眠障碍相关的精神类疾病,主治情志不舒、思虑过度、躁扰不宁的脏躁症^[2]。邵圆^[3]采用随机抽取方法对门诊产后女性睡眠障碍进行观察,给予甘麦大枣汤治疗 2 周后,患者的匹兹堡睡眠表评分有所改善,纠正了抑郁状态。李先晓等^[4]通过临床观察发现,应用甘麦大枣汤合酸枣仁汤加减可有效改善更年期患者的失眠症状。现代研究^[5]表明甘麦大枣汤具有镇静、催眠、抗抑郁等药理作用,但目前对甘麦大枣汤中的化学成分及如何发挥治疗睡眠障碍的作用机制尚不明确。网络药理学是建立在多基因、多通路、多途径的多层次网络基础上,用于从整体研究中药,具有独特的优势^[6]。故本研究采用网络药理学方法探讨甘麦大枣汤改善睡眠障碍主要活性成分和作用机制。

1 方法

1.1 目标化合物的收集 采用 TCMSP 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/>),提取甘草、大枣、小麦中化学成分,以口服生物利用度 (Oral bio-availabiliy, OB) $\geq 20\%$ 和类药性 (Drug-likeness, DL) ≥ 0.18 作为活性成分筛选条件,同时结合 2015 年版《中国药典》及文献报道对具有药理活性的化学成分提取。

1.2 目标化合物作用靶点的预测 通过 TCMSP 数据库提取活性成分的作用靶点,将靶点导入 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 获得靶点对应的基因名称。或通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 提取活性成分的结构,导入 Swiss 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 获得靶点的

基因名称。

1.3 网络构建及分析

1.3.1 活性成分-靶点网络构建及分析 将化合物和对应靶点整合到 Excel 表格中,利用 Cytoscape 软件绘制甘麦大枣汤的活性成分-靶点的 (Component-Target, C-T) 网络图。

1.3.2 睡眠障碍相关靶点收集 将 “Sleep disorders” 关键词输入到 DrugBank (<https://www.drugbank.ca>) 数据库中,对调控睡眠障碍的基因进行检索,得到共计 174 个作用靶点。

1.3.3 “关键成分-关键靶标-关键通路” 的网络构建及分析 将甘麦大枣汤活性成分对应靶点,睡眠障碍对应靶点分别导入 BioGRID 数据库 (<https://thebiogrid.org/>),构建睡眠障碍蛋白相互作用网络和甘麦大枣汤化学成分蛋白相互作用网络。将睡眠障碍蛋白相互作用网络和甘麦大枣汤化学成分蛋白相互作用网络分别导入 Cytoscape 软件,运用 Merge 将睡眠障碍靶点相互作用网络与甘麦大枣汤化学成分蛋白相互作用网络关联起来,采用 Network analysis 对网络表征进行分析,获取蛋白相互作用关系,保存 CSV 格式文件,并提取 degree >4 作为关键靶点。

采用 DAVID 数据库 (<http://davki.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>, version 6.7) 对甘麦大枣汤作用于睡眠障碍的关键靶点进行生物通路分析,选择 $P<0.05$,作为与靶点密切相关的重要作用通路,使用 Omicshare (<https://www.omicshare.com/tools/Home/index/index.html>) 对富集分析结果进行可视化,分析甘麦大枣汤治疗睡眠障碍的可能作用机制。

根据 DAVID 数据库关键通路中对应靶点,及靶点对应化学成分,构建 “关键成分-关键靶标-关键通路” Excel 表格,运用 Cytoscape 软件构建 “关键成分-关键靶标-关键通路” 相关靶标相互作用所构建的多层次多靶标网络图。

2 结果

2.1 活性化学成分的筛选 以 OB $\geq 20\%$ 且 DL ≥ 0.18 为筛选条件,同时结合药典及文献报道的主要成分,有些成分虽不符合要求,但文献报道具有较强的相关药理活性,本研究也将其纳入活性成分,如甘草酸苷、异甘草素、刺甘草查尔酮等^[7-9]。通过筛选,最终获得 127 个化合物 (甘草 95 个,小麦 9 个,大枣 23 个)。且不同药材之间所含化合物有重叠,如甘草、大枣中都含有 C3

表 1 各化合物信息

Tab. 1 Information of various compounds

编号	英文名	中文名	分子式	分子量
C1	(-)-maackiain	(-)-山槐素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284. 28
C2	liquiritigenin	甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256. 20
C3	betulinic acid	白桦脂酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456. 78
C4	glycyrol	甘草酚	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	366. 39
C5	kumatakenin	熊竹素	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314. 31
C6	medicarpin	苜蓿素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270. 30
C7	oleanolic acid	齐墩果酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	456. 78
C8	pinocembrin	松属素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256. 27
C9	isorhamnetin	异鼠李素	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	316. 28
C10	isoliquiritigenin	异甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256. 25
C11	lupiwighteone	黄羽扇豆魏特酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338. 38
C12	7-methoxy-2-methyl isoflavone	7-甲氧基-2-甲基异黄酮	C ₁₇ H ₁₄ O ₃	266. 31
C13	formononetin	芒柄花黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268. 28
C14	calycosin	毛异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284. 28
C15	kaempferol	山柰酚	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286. 25
C16	naringenin	柚皮素	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272. 27
C17	castanin	栗宁	C ₁₇ H ₁₄ O ₅	298. 31
C18	18 β-glycyrrhetic acid	18β-甘草次酸	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	470. 76
C19	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihdropyrano[2,3-f]chromen-4-one	(2S)-2-[4-羟基-3-(3-甲基丁-2-烯基) 苯基]-8,8-二甲基-2,3-二氢吡喃[2,3-f]苯并吡喃-4-酮	C ₂₅ H ₂₆ O ₄	390. 51
C20	euchrenone A 10	山豆根黄烷酮 A10	C ₂₅ H ₂₆ O ₅	406. 56
C21	glyasperin B	粗毛甘草素 B	C ₂₁ H ₂₂ O ₆	370. 43
C22	glyasperin F	粗毛甘草素 F	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354. 38
C23	glyasperin C	粗毛甘草素 C	C ₂₁ H ₂₄ O ₅	356. 45
C24	3,9-dihydroxy-1-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chrom-enone	3,9-二羟基-1-甲氧基-6-苯并呋喃[3,2-c]色原酮	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	298. 26
C25	kanzonol B	-	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	322. 38
C26	kanzonol W	-	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	336. 36
C27	(2S)-6-(2, 4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2, 3-dihydrofuro [3, 2-g] chromen-7-one	(2S)-6-(2, 4-二羟基苯基)-2-(2-羟基丙-2-基)-4-甲氧基-2,3-二氢呋喃[3,2-g]苯并吡喃-7-酮	C ₂₁ H ₂₀ O ₇	384. 41
C28	semilicoisoflavone B	半甘草异黄酮 B	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	352. 36
C29	glepidotin A	鳞叶甘草素 A	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338. 38
C30	glepidotin B	鳞叶甘草素 B	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	340. 40
C31	phaseolinisoflavan	菜豆异黄烷	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	324. 40
C32	glypallichalcone	刺果甘草查尔酮	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284. 33
C33	kanzonol U	-	C ₁₉ H ₁₆ O ₄	308. 35
C34	licochalcone B	甘草查尔酮 B	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	286. 30
C35	licochalcone G	甘草查尔酮 G	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	354. 43
C36	licoarylcoumarin	甘草香豆素	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368. 41
C37	licoricone	甘草利酮	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	382. 44
C38	gancaonin A	甘草宁 A	C ₂₁ H ₂₀ O ₅	352. 41
C39	gancaonin B	甘草宁 B	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368. 41
C40	gancaonin L	甘草宁 L	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354. 38
C41	gancaonin M	甘草宁 M	C ₂₁ H ₂₀ O ₅	352. 41
C42	glycyrin	格里西轮	C ₂₂ H ₂₂ O ₆	382. 44
C43	licocoumarone	甘草香豆酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	340. 4
C44	licoisoflavone	甘草异黄酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354. 38
C45	licoisoflavone B	甘草异黄酮 B	C ₂₀ H ₁₆ O ₆	352. 36
C46	licoisoflavanone	甘草异黄烷酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354. 38
C47	shinpterocarpin	-	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	322. 38
C48	5-prenylbutein	5-异戊二烯基紫铆花素	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	340. 40
C49	liquiritin	甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	418. 43
C50	licopyranocoumarin	甘草吡喃香豆酮	C ₂₁ H ₂₀ O ₇	384. 41

续表 1

编号	英文名	中文名	分子式	分子量
C51	glyzaglabrin	光甘草轮	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	298. 26
C52	glabridin	光甘草定	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	324. 40
C53	glabranin	光甘草宁	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	324. 40
C54	glabrene	光甘草素	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	322. 38
C55	glabrone	光甘草酮	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	336. 36
C56	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	1,3-二羟基-9-甲氧基-6-苯并呋喃[3,2-c] 色原酮	C ₁₆ H ₁₀ O ₆	298. 26
C57	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	1,3-二羟基-8,9-二甲氧基-6-苯并呋喃[3,2-c] 色原酮	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328. 29
C58	3-[2,4-dihydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-7-hydroxychromen-4-one	3-[2,4-二羟基-3-(3-甲基丁-2-烯基)苯基]-7-羟基苯并吡喃-4-酮	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	338. 38
C59	(-)-medicocarpin	-	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	432. 46
C60	(2S)-2-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-5,7-dihydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	(2S)-2-[3,4-二羟基-5-(3-甲基丁-2-烯基)苯基]-5,7-二羟基-2,3-二氢苯并吡喃-4-酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	356. 40
C61	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	(2R)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)苯并吡喃-4-酮	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	256. 27
C62	isobavachin	异补骨脂黄酮	C ₂₀ H ₂₀ O ₄	324. 40
C63	isoglycyrol	异甘草酚	C ₂₁ H ₁₈ O ₆	366. 39
C64	isolicoflavanol	异甘草黄酮醇	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	354. 38
C65	isoformononetin	异芒柄花黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268. 28
C66	1-methoxyphaseollidin	1-甲氧基菜豆素	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	354. 43
C67	quercetin-3,3'-dimethylether	槲皮素-3,3'-二甲醚	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330. 31
C68	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	3'-羟基-4'-O-甲基光甘草定	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	354. 43
C69	licochalcone A	甘草查尔酮 A	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338. 43
C70	3'-methoxyglabridin	3'-甲氧基光甘草定	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	354. 43
C71	4'-methoxyglabridin	4'-甲氧基光甘草定	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338. 43
C72	inflacoumarin A	胀果香豆素甲	C ₂₀ H ₁₈ O ₄	322. 38
C73	5-eicosenoic acid	5-二十碳烯酸	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310. 58
C74	kanzonol F	-	C ₂₆ H ₂₈ O ₅	420. 54
C75	6-prenylated eriodictyol	6-异戊烯基圣草酚	C ₂₁ H ₂₀ O ₅	356. 40
C76	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	7,2',4'-三羟基-5-甲氧基-3-芳基香豆素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300. 28
C77	7-acetoxy-2-methylisoflavone	7-乙酰氧基-2-甲基异黄酮	C ₁₈ H ₁₄ O ₄	294. 32
C78	7-hydroxy-2-methyl-3-phenyl-chromone	7-羟基-2-甲基-3-苯基色原酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₃	252. 28
C79	8-prenylated eriodictyol	8-异戊烯基圣草酚	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	356. 40
C80	gadelaideic acid	反十二碳烯酸	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310. 58
C81	vestitol	维斯体素	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272. 32
C82	gancaonin G	甘草宁 G	C ₂₁ H ₂₀ O ₅	352. 41
C83	gancaonin H	甘草宁 H	C ₂₅ H ₂₄ O ₆	420. 49
C84	licoagrocarpin	利可卡因	C ₂₁ H ₂₂ O ₄	338. 43
C85	gancaonin I	甘草宁 I	C ₂₁ H ₂₂ O ₅	354. 43
C86	glyasperin M	粗毛甘草素 M	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368. 41
C87	glycyrrhiza flavonol A	甘草黄酮醇 A	C ₂₀ H ₁₈ O ₇	370. 38
C88	kanzonol Z	-	C ₂₅ H ₂₆ O ₅	406. 51
C89	(2R)-4-hydroxy-6-(4-hydroxyphenyl)-2-isopropenyl-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-5-one	(2R)-4-羟基-6-(4-羟基苯基)-2-异丙烯基-2,3-二氢呋喃[3,2-g]苯并吡喃-5-酮	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	336. 36
C90	18α-hydroxyglycyrrhetic acid	18α-羟基甘草次酸	C ₃₀ H ₄₆ O ₅	486. 76
C91	odoratin	芳香膜菊素	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314. 31
C92	3,9-dihydroxy-4-prenylcoumestan	3,9-二羟基-4-异戊烯基考米斯坦	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	336. 36
C93	xambioona	-	C ₂₅ H ₂₄ O ₄	388. 49
C94	dehydroglyasperins C	-	C ₂₀ H ₂₀ O ₅	340. 40
C95	quercetin	槲皮素	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302. 25
C96	zeaxanthin	玉米黄质	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568. 89
C97	glutathione	谷胱甘肽	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	307. 32
C98	lycopene	番茄红素	C ₄₀ H ₅₆	536. 89
C99	all-trans-carotene	全反式胡萝卜素	C ₄₀ H ₅₆	536. 89

续表 1

编号	英文名	中文名	分子式	分子量
C100	canthaxanthin	角黄素	C ₄₀ H ₅₂ O ₂	564. 85
C101	xanthophyll	叶黄素	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	568. 89
C102	3,4-dihydroxybenzoic acid	3,4-二羟基苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₄	154. 12
C103	chlorogenic acid	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354. 31
C104	stigmasterol	甾甾醇	C ₂₉ H ₄₈ O	412. 77
C105	stepharine	光千金藤碱	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	297. 38
C106	zizyphus saponin I	大枣皂苷 I	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	472. 78
C107	adouetine X	蛇婆子碱 X	C ₂₈ H ₄₄ N ₄ O ₄	500. 76
C108	asimilobine	巴婆碱	C ₁₇ H ₁₇ NO ₂	267. 35
C109	coumestrol	考迈斯托醇	C ₁₅ H ₈ O ₅	268. 23
C110	daechuine S5	-	C ₂₇ H ₄₄ N ₄ O ₄	488. 75
C111	daechuine S7	-	C ₂₈ H ₄₂ N ₄ O ₅	514. 74
C112	jujubasaponin V	大枣皂苷 V	C ₂₅ H ₃₄ O ₅	472. 78
C113	mauritime D	滇刺枣碱 D	C ₃₃ H ₅₁ N ₅ O ₅	342. 46
C114	berberine	黄连素	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	336. 39
C115	(S)-coclaurine	(S)-乌药碱	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	285. 37
C116	β-sitosterol	谷甾醇	C ₂₉ H ₅₀ O	414. 79
C117	ruvoside	黄夹次甾丙	C ₃₀ H ₄₆ O ₉	390. 57
C118	(+)-catechin	(+)-儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290. 29
C119	vulgarin	牛蒡素	C ₁₅ H ₂₀ O ₄	264. 35
C120	stepholidine	光千金藤定碱	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	327. 41
C121	nornuciferine	原荷叶碱	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281. 38
C122	nuciferin	荷叶碱	C ₁₉ H ₂₁ NO ₂	295. 41
C123	linoleic	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280. 50
C124	fumarine	延胡索碱	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	353. 40
C125	β-carotene	β-胡萝卜素	C ₄₀ H ₅₆	536. 96
C126	(-)-catechin	(-)-儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290. 29
C127	sitogluside	西托糖苷	C ₃₅ H ₆₀ O ₆	576. 95

(白桦脂酸)、C7 (齐墩果酸)、C95 (槲皮素) 等 5 个化合物。有研究报道, 甘草中甘草次酸能促进大脑分泌内源性物质, 从而改善睡眠作用^[10]; 大枣水提取物可调节神经营养因子表达及抗氧化酶的转录, 促进内源性物质分泌, 改善睡眠^[11]。

2.2 活性成分-靶点网络构建与分析 将筛选出的活性成分和靶点相连构建 (C-T) 网络图 (图 1)。图中共涉及 365 个节点 (127 种化学成分和 238 个靶点)。不同形状的节点分别代表活性成分和靶点, 圆形代表作用靶点, V 节点代表活性成分, 边代表活性成分和作用靶点间的相互关联。网络中, degree 值可反映节点的重要性, 其中 degree 值排名靠前的化合物中甘草成分主要有山柰酚 (degree = 50)、甘草查尔酮 A (degree = 31)、异甘草素 (degree = 29)、甘草素 (degree = 10)、甘草次酸 (degree = 6) 等; 小麦中主要有谷胱甘肽 (degree = 15)、玉米黄质 (degree = 15)、甾甾醇 (degree = 15) 等; 大枣中主要有 β-胡萝卜素 (degree = 22)、儿茶素 (degree = 18)、西托糖苷 (degree = 16) 等。

2.3 睡眠障碍靶点收集 对调控睡眠障碍相关的

基因在 DrugBank 数据检索收集, 共有 174 个与睡眠障碍相关的疾病靶标用于网络分析, 与睡眠障碍相关的靶标信息, 见图 2。

2.4 “关键成分-关键靶标-关键通路” 的网络构建与分析 将甘麦大枣汤化学成分相互作用网络和睡眠障碍相互作用网络互作之后的关键靶点导入 DAVID 数据库, 对甘麦大枣汤治疗睡眠障碍 121 关键靶点进行 KEGG 生物通路富集分析。选择 $P<0.05$, 筛选排名靠前的关键通路, 用基因个数、 P 值和 Rich factor 来衡量 KEGG 富集程度, 见图 3。Rich factor 是目标基因集中在这个通路的基因数量/背景基因集中在这个通路的基因数量, 且 Rich factor 越大, 表示富集程度越高。研究发现, 靶点主要富集于 HIF-1、ErbB、雌激素等信号通路, 采用 Cytoscape 软件构建 “关键成分-关键靶标-关键通路” 相关靶标相互作用所构建的多层次多靶标网络图, 见图 4。

3 讨论

本文对甘麦大枣汤化合物-靶点网络进行分析, 结果发现 degree 值较高的化合物包括 3 个黄酮类, 分别为山柰酚 (degree = 50)、甘草查尔酮 A

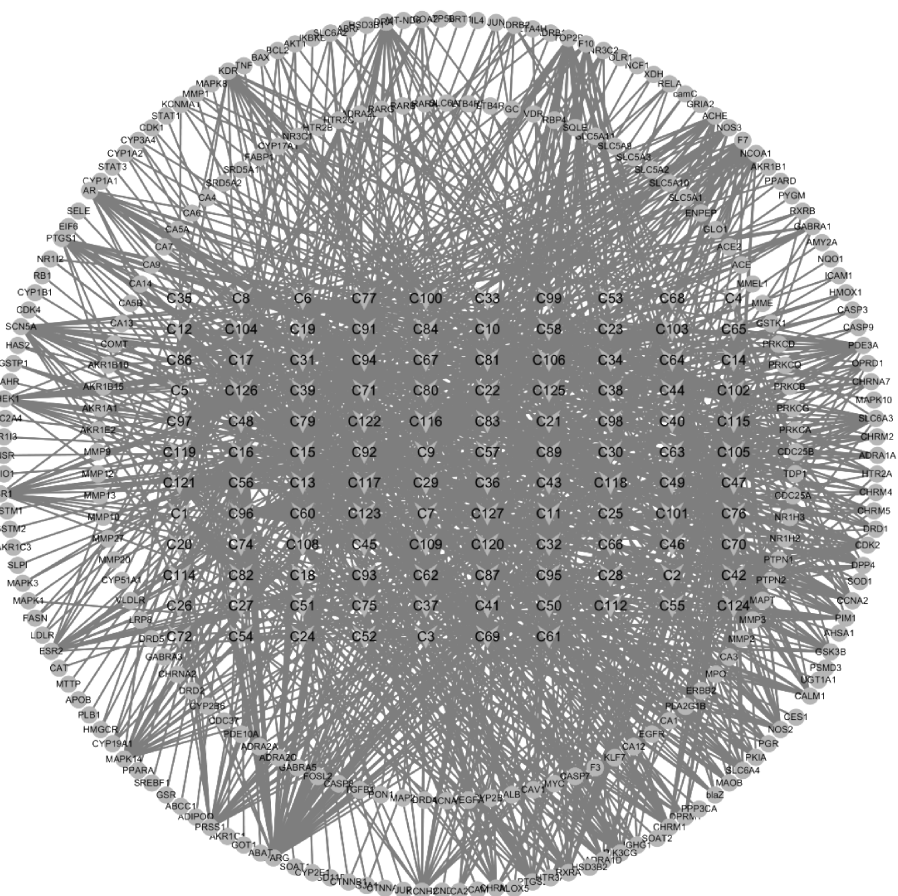


图 1 活性成分-靶点 (C-T) 网络图

Fig.1 Active Component-Target (C-T) Network

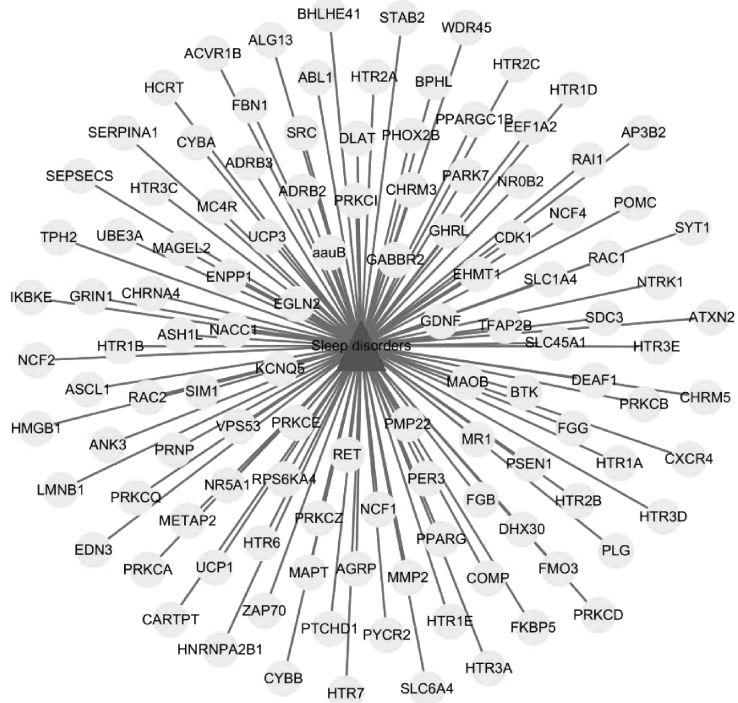


图 2 睡眠障碍相关的靶标信息

Fig.2 Target information related to sleep disorders

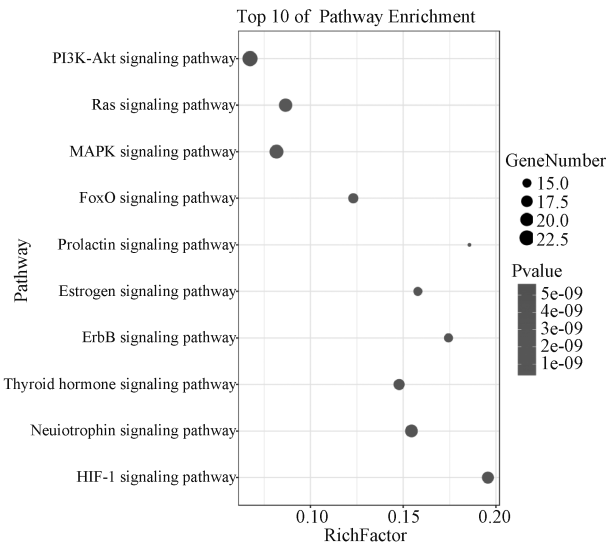


图 3 通路富集气泡图
Fig.3 Pathway enrichment bubble diagram

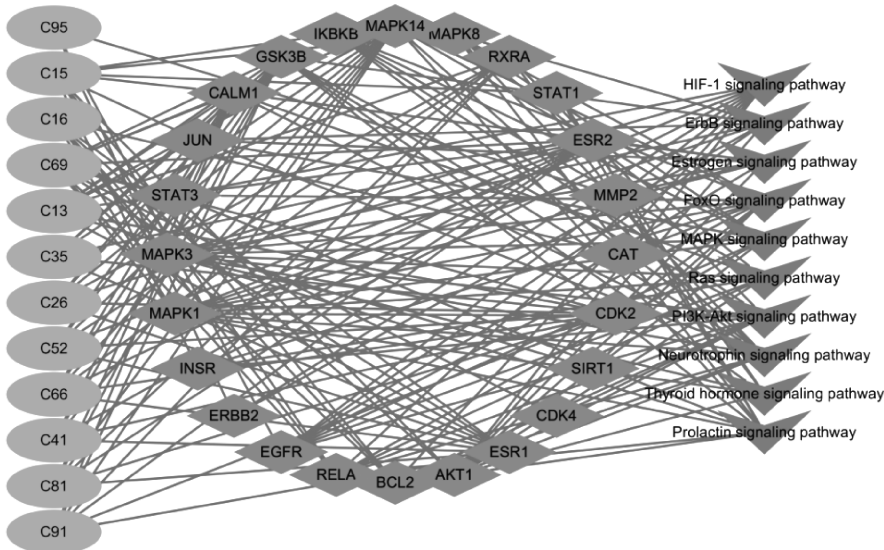


图 4 成分-靶标-通路网络图
Fig. 4 Component-target-pathway network

心度较高的靶点。有研究报道，GSK3B 是一类在中枢神经系统内高表达的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，参与大脑神经元的再生过程^[17]。周彩凤^[18]以四动脉结扎全脑缺血模型，研究延后性脑缺血后处理介导的大鼠海马 CA1 区 Akt/GSK3B 信号介导通路，发现延迟性脑缺血后处理能够诱导线粒体内 GSK3B 磷酸化水平升高。MAPK1 和 MAPK14 均是丝氨酸/苏氨酸激酶，MAP 激酶信号转导途径的重要组成部分。甘草总黄酮通过 MAPKs 中的细胞外信号调节 ERK 信号通路，抑制 *iNOS* 和 *COX-2* 基因和蛋白的表达，而起到抗炎效果^[19]。AKT1 是 3 种密切相关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶之一，磷酸化后 AKT 活化，进一步激活或抑制下游 mTOR、

(degree = 31)、异甘草素 (degree = 29)；肽类化合物谷胱甘肽 (degree = 15)；萜类化合物 β -胡萝卜素 (degree = 22)。有文献报道，山奈酚能改善脑缺血大鼠的海马神经元超微结构，具有神经保护作用，改善认知功能障碍^[12-13]。谷胱甘肽是一种具有重要生物活性的天然活性肽，在神经系统中，作为一种辅酶因子充当神经递质，抑制氧化应激介导而发挥作用^[14-15]。 β -胡萝卜素是一种抗氧化剂，膳食摄入可以降低阿尔茨海默病的发病风险^[16]。

本研究基于甘麦大枣汤化学成分 238 个靶点和睡眠障碍 174 个靶点互作，预测甘麦大枣汤治疗睡眠障碍的主要作用靶点。通过网络分析发现，GSK3B (degree = 14)、CALM1 (degree = 13)、MAPK14 (degree = 13)、AKT1 (degree = 12)、MAPK1 (degree = 12)、ESR2 (degree = 11) 等中

GSK 等，参与调控细胞存活、生长、代谢^[20]。在成人神经发生过程中，AKT 是 AKT-mTOR 信号通路的关键调节因子，控制新生神经元整合过程的节奏，包括神经元的正确定位、树突发育和突触形成。ESR1 是一种配体依赖的转录因子，是雌激素及选择性雌激素受体调节生物学效应的主要介导者^[21]。研究发现，ESR1 在 MAPK/ERK 和 PI3K/AKT 信号通路中，可迅速激活生长因子相关的下游信号转导，从而增强细胞增殖能力^[22]。

KEGG 生物通路富集分析发现关键靶点主要富集于 HIF-1、ErbB、雌激素等信号通路。HIF-1 信号通路是机体应对缺氧时，在机体形成复杂的反应机制中发挥重要作用，其 HIF-1 α 是唯一一个特异

性缺氧状态下发挥活性的转录因子，参与了 PI3K/AKT/HIF-1 α 、MAPK/HIF-1 α 等多条细胞信号通路，是介导缺氧信号的转导中枢^[23]。ErbB 信号通路是参与编码髓鞘蛋白，促进神经系统髓鞘形成，保证神经系统功能正常运转^[24]。在神经系统中，ErbB 与 NRG1 结合后，胞内发生自身酪氨酸磷酸化，并激活下游的 Ras/MAPK、PI3K/AKT^[25]。甘草查尔酮 A 通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路而抑制肾癌细胞的增殖、迁移、侵袭，可诱导肾癌细胞自噬^[26]。雌激素可以通过调节 5-HT、GABA、NA、多巴胺等觉醒神经递质，可间接影响睡眠-觉醒周期，改变睡眠模式^[27]。

综上所述，本研究用网络药理学方法初步探讨了甘麦大枣汤配方的主要活性成分、对应靶点、相关疾病及作用生物通路。结果筛选到 127 个化合物，174 个与睡眠障碍相关的靶点，靶点主要对应 10 条生物通路，为进一步深入探究其作用机制奠定了良好的基础。

参考文献:

[1] 崔英海. 中医治疗失眠症研究[J]. 中国现代医生, 2008, 46 (35): 36-37.

[2] 赖明彦. 电针合并甘麦大枣汤治疗心脾两虚型失眠的临床研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.

[3] 邵 圆. 甘麦大枣汤加减对产后女性睡眠障碍和抑郁状态的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(2): 38-39.

[4] 李先晓, 张玉飞, 陈璐璐. 甘麦大枣汤合酸枣仁汤加减治疗更年期脏躁型失眠[J]. 影像研究与医学应用, 2017, 1(2): 190-191.

[5] 张 宏, 王晓萍, 张 冶. 甘麦大枣汤的药理研究与临床应用[J]. 时珍国药研究, 1997, 8(1): 22-23.

[6] 尹 芳, 宋祯彦, 李富周, 等. 基于网络药理学研究当归芍药散防治阿尔茨海默病的作用机制[J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 210-215.

[7] 黄 霞, 杜晓娟, 余晶晶, 等. 复方甘草酸苷治疗带状疱疹后遗神经痛疗效观察[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2006, 20 (12): 773-774.

[8] 任欢欢, 韩吉春, 卢 宁, 等. 异甘草素对心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 石河子大学学报 (自然科学版), 2016, 34(3): 343-348.

[9] 叶 敏, 余四旺, 王永瑞, 等. 刺甘草查尔酮的新用途: 中国, CN105232501A[P]. 2016.

[10] 严兴科, 张泽国, 徐富菊, 等. 甘草改善睡眠作用的药效物质基础研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2014, 30(11): 1023-1025.

[11] Chen J, Yan A L, Lam K Y, *et al.* A Chemically standardized extract of *Ziziphus jujuba* fruit (Jujube) stimulates expressions of neurotrophic factors and anti - oxidant enzymes in cultured

Astrocytes[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(11): 1727-1730.

[12] 向 丽, 董 志, 李然然, 等. 山奈酚对脑缺血再灌注大鼠神经元超微结构及 TLR4/NF- κ B 的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(10): 869-873.

[13] 张 君, 程 笑, 杨 欢, 等. 山奈酚对慢性脑缺血大鼠学习记忆能力的影响及机制探讨[J]. 中国药理学通报, 2017, 33(1): 39-44.

[14] Mari M, Morales A, Colell A, *et al.* Mitochondrial glutathione: Features, regulation and role in disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1830(5): 3317-3328.

[15] Conrad M, Schick J, Angeli J P. Glutathione and thioredoxin dependent systems in neurodegenerative disease: what can be learned from reverse genetics in mice[J]. *Neurochem Int*, 2013, 62(5): 738-749.

[16] Li F J, Shen L, Ji H F. Dietary intakes of vitamin E, vitamin C, and β -carotene and risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis[J]. *J Alzheimers Dis*, 2012, 31(2): 253-258.

[17] 张克让, 沈 岩, 许 琪, 等. GSK3B 基因多态性与抑郁症及表型的关联研究[C] // 中华医学会精神病学分会第九次全国学术会议论文集. 北京: 中华医学会精神病学分会, 2011.

[18] 周彩凤. 延迟性脑缺血后处理介导的大鼠海马 CA1 区 Akt/GSK3 β 信号转导通路及其抗线粒体凋亡机制的研究[D]. 唐山: 河北联合大学, 2011.

[19] 杨晓露, 刘 朵, 卞 卡, 等. 甘草总黄酮及其成分体外抗炎活性及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 99-104.

[20] Guo H, German P, Bai S, *et al.* The PI3K/AKT pathway and renal cell carcinoma[J]. *J Genet Genomics*, 2015, 42(7): 343-353.

[21] Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen J A, *et al.* Estrogen receptors α (ER α) and β (ER β): subtype-selective ligands and clinical potential[J]. *Steroids*, 2014, 90: 13-29.

[22] Chaudhri R A, Schwartz N, Elbaradie K, *et al.* Role of ER α 36 in membrane-associated signaling by estrogen[J]. *Steroids*, 2014, 81: 74-80.

[23] 杨梦思, 周 娜, 王志钢, 等. 转录因子 HIF-1 α 及其信号通路在疾病发生中的作用研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(8): 8-13.

[24] 曾路路, 汪 静, 张 昕, 等. Neuregulin1/erbB 与神经病理理性疼痛[J]. 上海交通大学学报 (医学版), 2012, 32(8): 1097-1100.

[25] Eckert J M, Byer S J, Clodfelder-Miller B J, *et al.* Neuregulin-1 β and neuregulin-1 α differentially affect the migration and invasion of malignant peripheral nerve sheath tumor cells[J]. *Glia*, 2009, 57(14): 1501-1520.

[26] 田兆方, 李述庭. MAPK 级联途径在脑发育与脑损伤修复中的作用[J]. 临床与病理杂志, 2000, 20(3): 184-186.

[27] Ortiz-López L, Vega-Rivera N M, Babu H, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor induces cell survival and the migration of murine adult hippocampal precursor cells during differentiation *in vitro*[J]. *Neurotox Res*, 2017, 31(1): 122-135.