

基于网络药理学和分子对接技术对木香顺气丸治疗抑郁症的作用机制分析

王佳^{1,2*}, 王冬梅^{3*}, 木本荣^{1,2#}

¹成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都

²川渝共建感染性疾病中西医结合诊治重庆市重点实验室, 四川 成都

³成都中医药大学基础医学院, 四川 成都

收稿日期: 2022年5月27日; 录用日期: 2022年7月20日; 发布日期: 2022年7月27日

摘要

目的: 运用网络药理学和分子对接技术分析木香顺气丸的有效化学成分、作用靶点来揭示相关的信号通路产生抗抑郁效果的作用机制。方法: 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)和中药分子机制生物信息学分析工具库(BATMAN-TCM)获取木香顺气丸的有效成分及靶点信息, 从PharmGKB、Genecards、OMIM、TTD和DrugBank五个疾病数据库中获取抑郁症的关键基因靶点, 再通过Uniport数据库对靶点基因名进行校对, 获得药物-疾病共有靶点, 采用String数据库构建蛋白互相作用网络(PPI), Cytoscape3.8.0软件构建成分-靶点-疾病网络, 进行可视化及拓扑学分析, 筛选出木香顺气丸治疗抑郁症的核心靶点。应用DAVID数据库和R Studio软件对药物和疾病的交集靶点进行GO富集和KEGG通路分析, 再根据网络分析结果筛选活性成分和关键靶点, 最后利用AutoDock Tools分子对接软件对活性成分与关键抗抑郁靶点进行结果验证。结果: 最终筛选出木香顺气丸有效化学成分250个, 对应的药物靶点1838个, 药物-疾病共有靶点426个。从构建的PPI网络和模块分析中发现AKT1、INS、ALB、BDNF、TP53、IL6、TNF、VEGFA、IL1B和ESR1这10个基因靶点可能是关键靶点。通过GO富集分析和KEGG通路分析发现木香顺气丸发挥抗抑郁作用的主要通路有神经活性配体受体相互作用信号通路、癌症通路、神经退行性变的途径——多种疾病、cAMP信号通路和钙信号通路。最后通过分子对接显示, ALB和白桦脂醇、ALB和槲皮素、BDNF和槲皮素以及BDNF和伞形酮的结合能力最好, 这也说明ALB、BDNF可能与白桦脂醇、槲皮素、伞形酮结合产生抗抑郁的效果。结论: 可以初步预测木香顺气丸具有一定的抗抑郁功效, 并且是通过多成分、多靶点、多通路共同作用的分子机制来治疗抑郁症, 为深入探究木香顺气丸抗抑郁的作用特点以及阐明其药理机制提供依据。

关键词

木香顺气丸, 网络药理学, 分子对接, 抑郁症, 作用机制

*第一作者。

#通讯作者。

Mechanism Analysis of Muxiang Shunqi Pills in Treating Depression Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Jia Wang^{1,2*}, Dongmei Wang^{3*}, Benrong Mu^{1,2#}

¹College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

²Chongqing Key Laboratory of Sichuan-Chongqing Co-construction for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chengdu Sichuan

³School of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: May 27th, 2022; accepted: Jul. 20th, 2022; published: Jul. 27th, 2022

Abstract

Objective: To analyze the active chemical composition and action target of Muxiang Shunqi Pills by network pharmacology and molecular docking technology to reveal the mechanism of action of the relevant signaling pathways to produce antidepressant effect. **Methods:** The active ingredients and targets of Muxiang Shunqi Pills were obtained by using the Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and the Molecular Mechanism Bioinformatics Analysis Tool Library of Chinese Medicines (BATMAN-TCM), and the key gene targets of depression were obtained from the five disease databases of PharmGKB, Genecards, OMIM, TTD and Drug Bank, the gene names of the targets were then proofread through the Uniport database, and the drug-disease common targets were obtained, and the String database was used to construct the protein interaction network (PPI), and the Cytoscape3.8.0 software was used to construct the component-target-disease network, visualize and topology analysis, and the core targets of muxiangshunqi pills for the treatment of depression were screened. The DAVID database and RStudio software were used to conduct GO enrichment and KEGG pathway analysis for the intersection targets of drugs and diseases. And then active ingredients and key targets were screened according to network analysis results. Finally, AutoDock Tools molecular docking software was used to verify the results of the active ingredient and key antidepressant targets. **Results:** Finally, 250 active chemical components of Muxiang Shunqi Pills were screened, 1838 corresponding drug targets, and 426 drug-disease targets. From the analysis of the built PPI network and module, it was found that the 10 gene targets of AKT1, INS, ALB, BDNF, TP53, IL6, TNF, VEGFA, IL1B and ESR1 may be key targets. Through GO enrichment analysis and KEGG pathway analysis, it was found that the main pathways for Muxiang Shunqi pills to exert antidepressant effects were neuroactive ligand receptor interaction signaling pathway, cancer pathway, neurodegenerative pathway—a variety of diseases, cAMP signaling pathway and calcium signaling pathway. Finally, through molecular docking, it was shown that ALB and Betulin, ALB and quercetin, BDNF and quercetin and BDNF and Umbelliferone had the best binding capacity, which also said that ALB and BDNF could be combined with Betulin, quercetin, and Umbelliferone to produce antidepressant effects. **Conclusion:** It can be preliminarily predicted that Muxiang Shunqi Pills has a certain antidepressant effect, and it is treated by the molecular mechanism of multi-component, multi-target and multi-pathway interaction, which provides a basis for in-depth exploration of the antidepressant characteristics of Muxiang Shunqi Pills and elucidating its pharmacological mechanism.

Keywords

Muxiang Shunqi Pills, Network Pharmacology, Molecular Docking, Depression, Mechanism of Action

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

抑郁症是一种复杂的精神异常性疾病[1], 表现为认知、情绪与生理多个方面的损害, 如长期的情绪低落, 经常有负面情绪缠绕心头, 觉得自己低微无价值感, 体重下降, 面容憔悴, 睡眠紊乱, 暴饮暴食或食欲减退, 甚至还会经常萌生出自残与自杀的念头, 并且付诸于行动[2]。随着抑郁症发病率的上升, 抑郁症不再是个人的疾病, 而是逐渐演变成一种社会问题[3]。目前全球已有超出 3 亿人患有抑郁症, 各年龄段均有分布, 预估到 2030 年, 该疾病将成为严重困扰人们生活的主要影响因素。因此, 抑郁症已逐渐成为医学研究领域的重要课题。但至今抑郁症的发病机制仍未完全研究清楚, 西医对抑郁症的治疗存在许多弊端, 如长时间服用抗抑郁药物易出现不良反应以及时效性低、治愈率低、复发率高等问题。而中药对于抑郁症的医治则具有独特的优势, 不仅能很好地缓解临床症状, 而且患者的耐受性和依从性好[4]。

现代药理学研究发现, 中药中的诸多有效成分都具有抗抑郁的功效[5]。中药复方可通过多靶点、多成分、多通路的作用产生抗抑郁的效果, 主要包括疏肝解郁类、养心安神类及理气祛痰与活血化瘀类等[6]。目前, 已有多种中药复方被研究证实对于治疗抑郁症有效果, 包括越鞠丸[7]、枳菊解郁汤[8]、逍遥散[9]、半夏厚朴汤[10]、甘麦大枣汤[11]等。虽然目前已有研究[12]证明木香顺气丸联合西药对临床治疗抑郁症有显著的效果, 但关于木香顺气丸单个中药复方治疗抑郁症的相关研究较少, 其抗抑郁的作用机制还不明确, 有待进一步深究。网络药理学是从整体的角度探究疾病与药物的相互作用关系[13], 构建药物化学成分-靶点-疾病的相互作用网络, 运用可视化网络分析软件, 对已有的数据库信息进行筛选和网络分析及预测来探讨药物的作用机制[14]。因此, 本研究将基于网络药理学, 利用分子对接技术, 深入阐述木香顺气丸治疗抑郁症的分子作用机制, 以期为中医药复方治疗抑郁症的相关研究提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 木香顺气丸有效成分及靶点的虚拟筛选

木香顺气丸是一种传统的中药复方制剂, 主要由木香、香附、甘草、陈皮、苍术、砂仁、槟榔、青皮、厚朴、枳壳十味中药组成。在 TCMSP (<https://tcmsp-e.com/>)和 BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)两个数据库中以十味中药药材名为关键词分别进行检索, 其中 TCMSP 的筛选标准为生物口服利用度($OB \geq 30\%$)和类药性($DL \geq 0.18$), BATMAN-TCM 的筛选标准为评分 ≥ 20 分; 整理得到全部中药材的有效成分信息。大部分的有效化学成分都来源于 TCMSP, 但从 TCMSP 筛选得到的化学成分还需要使用 Uniport 数据库(<https://www.uniprot.org/>)进行蛋白质与对应基因靶点的转换与校正, 全部校对完成后构建符合标准要求的数据列表。

2.2. 抑郁症相关靶点的获取

以“depression”作为关键词, 在 Pharm GKB (<https://www.pharmgkb.org/>)、Gene Cards

(<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<http://omim.org/>)、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)和 Drug Bank (<https://go.drugbank.com/>)五个疾病数据库中,检索筛选出抑郁症相关的靶点,将其合并,去除重复基因和假阳性基因,获取抑郁症的相关靶点数据。

2.3. 木香顺气丸抗抑郁潜在作用靶点的筛选与获取

将整理好的药物有效成分靶点数据和疾病靶点数据导入 Venny 2.1.0 (<https://bioinfo.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)在线平台中取交集,得到共有基因靶点 426 个,并绘制韦恩图。

2.4. PPI 网络构建及靶点分析

将 2.3 中得到的 426 个共有靶点导入到 String (<https://www.string-db.org/>)在线分析平台中,选择物种为“HOMO sapiens”,设置阈值为“medium confidence = 0.4”,获得一个蛋白互作网络,结果以 tsv 格式进行保存,导入 Cytoscape 3.8.0,对 PPI 网络进行可视化分析与修饰。再利用 MCODE 插件进行模块分析,选择默认参数,获得评分前五的模块的相关数据。

2.5. GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

将木香顺气丸治疗抑郁症的交集靶点入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)在线分析平台中,Select Identifier 选择“official gene symbol”,物种选择“HOMO sapiens”,对抗抑郁的共同靶点进行 GO 和 KEGG 通路富集分析,其中,GO 富集包括生物过程(biological process)、分子功能(molecular function)和细胞组分(cellular component),KEGG 数据库富集靶点基因参与的主要生化代谢途径。设置 $P < 0.05$,获得富集结果的相关数据,再利用 R 语言绘制得到气泡图。

2.6. “化学成分 - 靶点 - 疾病网络”的构建

整理出木香顺气丸的十味药中共有和特有的化学成分以及与抑郁症共有的靶点的相关数据,在 Cytoscape3.8.0 软件上构建化学成分 - 靶点 - 疾病网络图。

2.7. 分子对接

从 2.6 中选取度值排名前五的化学成分作为小分子配体,利用 TCMSP 检索得到化学成分的 InChIKey,在 Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中下载化学成分的 3D 结构;从 2.4 中获得的数据中筛选出度值(Degree)前五的核心靶点作为小分子受体,利用 Uniport 数据库(<https://www.uniprot.org/>)检索得到蛋白靶点的 entry,在 RCSB PDB (<http://www.rcsb.org/>)数据库中下载核心靶点的晶体结构,通过 AutoDockTools 软件给受体加氢、除水等操作,将受体和配体文件按 pdbqt 格式保存,寻找小分子化合物与大分子靶点作用的最佳构象,最后通过 Pymol 可视化导出结果。

3. 结果

3.1. 木香顺气丸的化学成分及靶点

对在 TCMSP 和 BATMAN 上检索到的十味中药的有效化学成分的数据进行整理,共检测到 297 个有效化学成分,其中木香 53 个、香附 18 个、甘草 93 个、陈皮 20 个、苍术 14 个、砂仁 45 个、槟榔 22 个、青皮 14 个、厚朴 7 个、枳壳 11 个,最终去重得到 250 个共有化学成分,对应的药物靶点有 1838 个。

3.2. 抑郁症靶点

通过 PharmGKB、GeneCards、OMIM、TTD 和 DrugBank 五个数据库共收集获得 1833 个疾病靶点。

3.3. 木香顺气丸抗抑郁靶点的韦恩分析

将 1838 个药物靶点和 1833 个疾病靶点导入 Venny2.1.0，最终得到交集靶点 426 个(见图 1)。

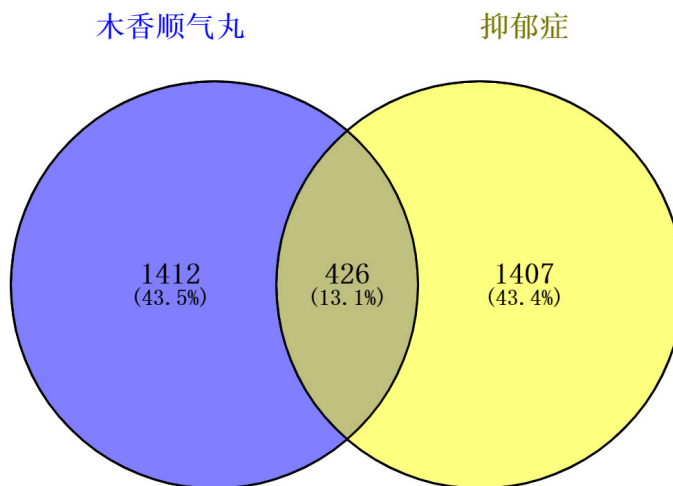


Figure 1. Muxiang Shunqi Pill drug action target and depression target intersect Venny diagram

图 1. 木香顺气丸药物作用靶点和抑郁症靶点交集韦恩图

3.4. 蛋白质互作 PPI 网络分析

将得到的 426 个共有靶点导入到 STRING11.0 [15]在线分析工具中构建蛋白质相互作用网络，下载 tsv 格式，导入 Cytoscape3.8.0 得到木香顺气丸抗抑郁靶点的 PPI (见图 2)。其中 PPI 根据 Degree 值进行计数得到前十位靶点为 AKT1、INS、ALB、BDNF、TP53、IL6、TNF、VEGFA、IL1B 和 ESR1，推测这 10 个靶点将是木香顺气丸治疗抑郁症的关键有效靶点。

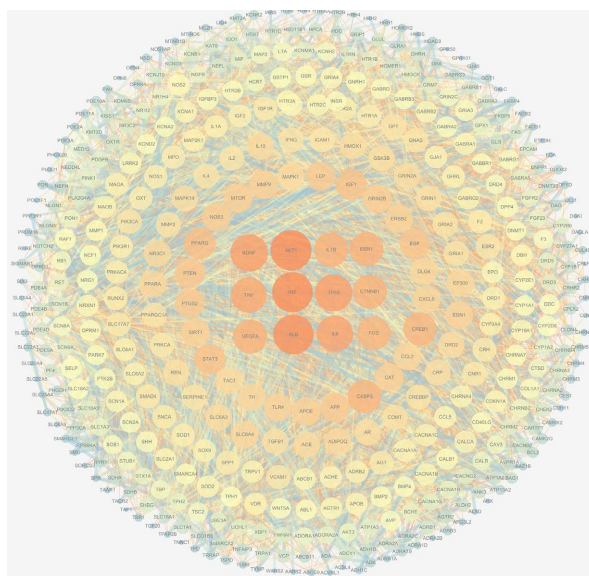


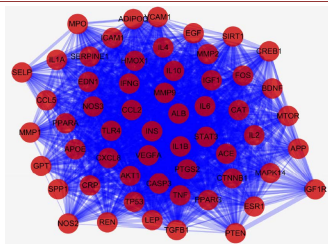
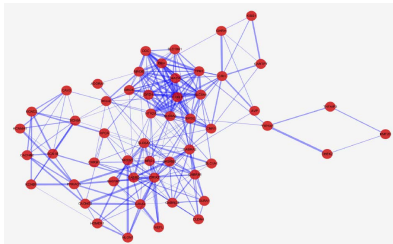
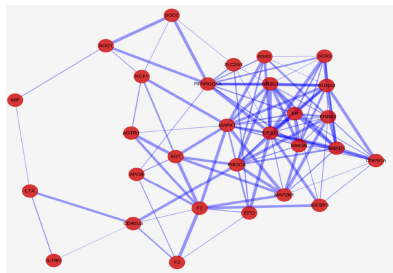
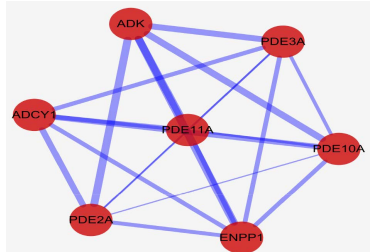
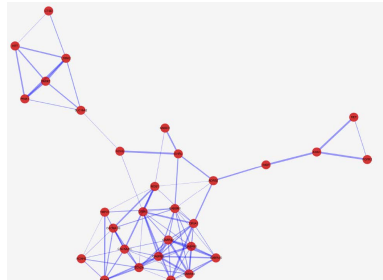
Figure 2. Muxiang Shunqi Pills—Depression PPI (protein interaction network diagram)

图 2. 木香顺气丸——抑郁症 PPI (蛋白质相互作用网络图)

利用 Cytoscape 的 MCODE 插件进行模块分析, 设置 degree cutoff 值 \geq 共有靶点 degree 值中位数, K-core > 4 等条件筛选出了前 5 个模块(见表 1), 将其导入 DAVID 获取全部的信号通路, 整理数据到 excel 中设置为 Count \geq 中位数, P Value < 0.05 , 对最后得到的信号通路进行分析, 发现 cAMP signaling pathway 为其中 4 个模块的共同通路, 预测该通路对于木香顺气丸治疗抑郁症的作用机制起关键作用。

Table 1. Total target TOP5 module analysis

表 1. 共有靶点 TOP5 模块分析

Rank	Score	Pathways	Complex
1	48.893	Pathways in cancer; Lipid and atherosclerosis; AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications; Fluid shear stress and atherosclerosis; Chagas disease	
2	9.615	Neuroactive ligand-receptor interaction; Dopaminergic synapse; Serotonergic synapse; Retrograde endocannabinoid signaling; Cocaine addiction	
3	7.929	Pathways in cancer; Prostatecancer; HIF-1 signaling pathway; Human T-cell leukemia virus 1 infectioir; FoxO signaling pathway	
4	6.667	Purine metabolism; Metabolicpathways; Morphine addiction; cGMP-PKG signaling pathway; cAMP signaling pathway	
5	6.207	Neuroactive ligand-receptor interaction; Nicotine addiction; Pathways of neurodegeneration-multiple diseases; Retrograde endocannabinoid signaling; Calcium signaling pathway	

3.5. GO 富集和 KEGG 通路结果分析

将 426 个药物与疾病的交集基因靶点导入到 DAVID 进行 GO 和 KEGG 富集通路分析,利用 P value < 0.05 进行筛选,按照 $-\ln(\text{FDR})$ 值的大小排序,选取 TOP10 的数据,并利用 R Studio 绘制出了相关数据的气泡图,(见图 3)其中 Count 代表气泡大小, P Value 值代表靶点附着的显著程度,气泡大、颜色红对应的信号通路在抗抑郁过程中发挥着极其关键的作用。GO 功能富集分析结果显示生物过程主要包括信号转导(signal transduction)、G 蛋白偶联受体信号通路(G-protein coupled receptor signaling pathway)和化学突触传递(chemical synaptic transmission)等;细胞组成主要包括质膜(plasma membrane)、集成膜(integral component of membrane)和细胞质基质(cytosol)等;分子功能主要包括蛋白质结合(protein binding)、相同的蛋白质结合(identical protein binding)和金属离子结合(metal ion binding)等。KEGG 富集通路分析结果显示木香顺气丸抗抑郁的通路共有 268 条,主要富集通路包括神经活性配体受体相互作用信号通路(Neuroactive ligand-receptor interaction)、癌症通路(Pathways in cancer)、神经退行性变的途径——多种疾病(Pathways of neurodegeneration—multiple diseases)、cAMP 信号通路(cAMP signaling pathway)和钙信号通路(Calcium signaling pathway)。

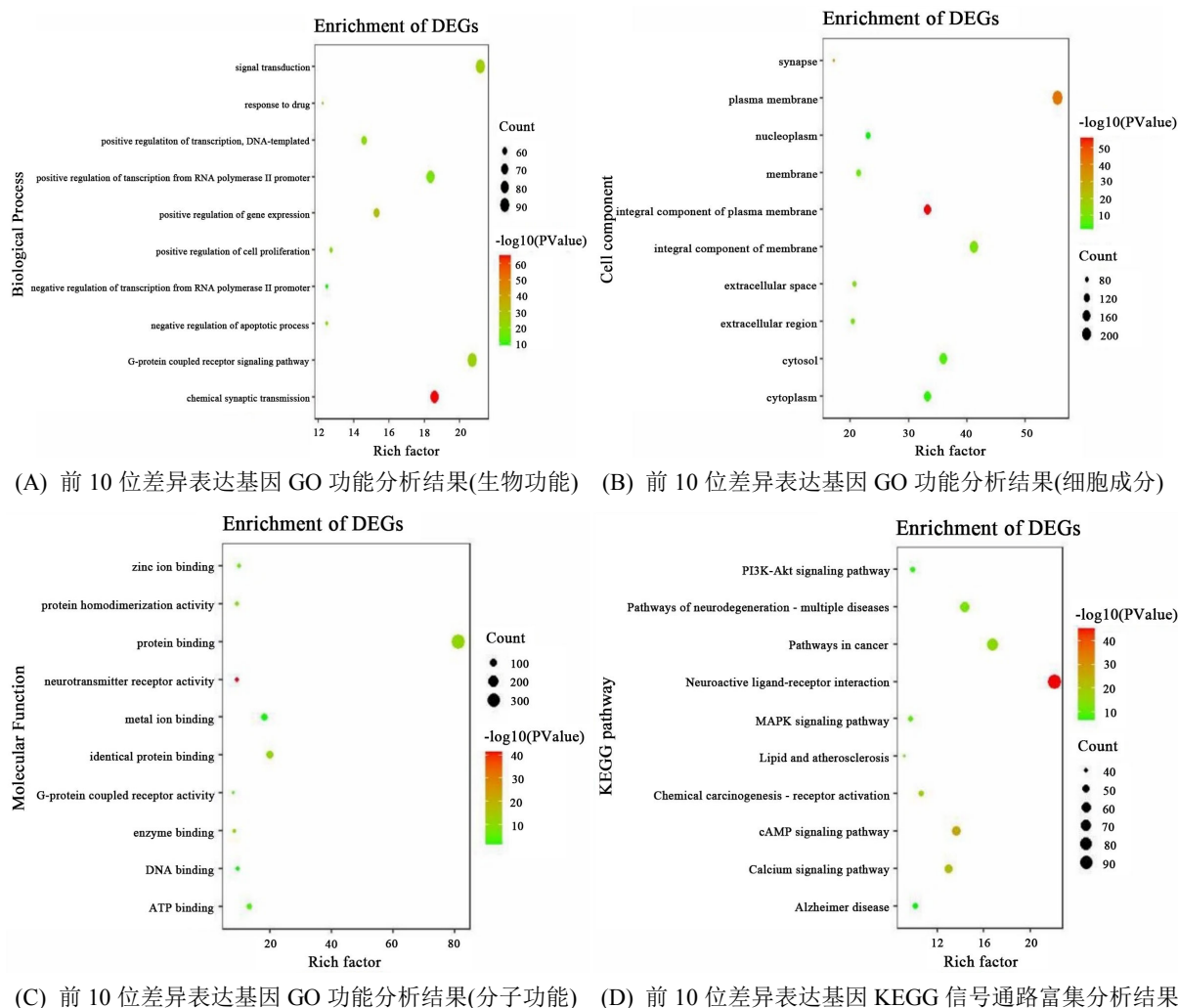


Figure 3. Bubble diagram of GO enrichment analysis and KEGG signaling pathway
图 3. GO 富集分析和 KEGG 信号通路气泡图

3.6. 化学成分-靶点-疾病网络 PPI 及拓扑分析

将木香顺气丸十种药物成分共有和各自特有的化学成分与作用于疾病的靶点分别对应的文件导入到 Cytoscape3.8.0 中, 绘制“化学成分-靶点-疾病”网络(见图 4), 该网络中共有 662 个节点, 4437 条边; 其中蓝色的圆形代表十种中药的共有化学成分, 红色的菱形代表药物与疾病的共有靶点, 10 种不同颜色的六边形代表药物各自特有的化学成分, 绿色的三角形代表十味中药的名称。按 Degree 值进行排序, 整理出了网络中排名前十的共有与特有的化学成分(见表 2)和对应的疾病靶点(见表 3), 说明了这些化学成分对于治疗抑郁症具有重要作用与巨大的潜力。

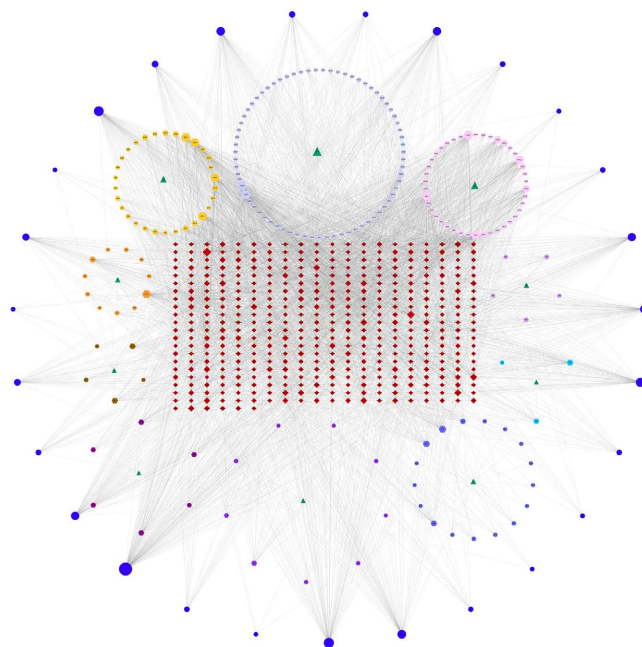


Figure 4. Muxiang Shunqi Pills “Chemical Composition-Drug Target-Depression” interaction network diagram

图 4. 木香顺气丸“化学成分-药物靶点-抑郁症”互作网络图

Table 2. Top10 common and unique chemical components of Muxiang Shunqi Pills in treating depression

表 2. 木香顺气丸治疗抑郁症靶点 top10 共有和特有化学成分

Type	化学成分	Degree
木香顺气丸十味药共有化学成分	Camphene (X)	148
	quercetin (A)	97
	Thymol (Q)	91
	Stigmasterol (E)	79
	beta-sitosterol (F)	78
	Limonene (Al)	74
	Lauric Acid (O)	71
	Beta-Myrcene (L)	67
	Gamma-Selinene (W)	67

Continued

木香顺气丸单味药特有化学成分	Naringenin (G)	65
	Betulin (MX3)	97
	Umbelliferone (GC63)	93
	L-Carvone (SR13)	89
	(S)-Carvone (SR21)	89
	3-Epizaluzanin C (MX22)	88
	Uralsaponin B (GC62)	87
	Artemisia Ketone (MX1)	87
	(E)-9-Isopropyl-6-Methyl-5,9-Decadiene-2-One (MX4)	87
	Germacrone (SR17)	87
	L-Carvone (SR13)	87

Table 3. Topological analysis of the target of Muxiang Shunqi pills for the treatment of depression**表 3.** 木香顺气丸治疗抑郁症靶点的拓扑分析

基因靶点 (TOP10)	最短平均路径 (Average Shortest Path Length)	介度 (Degree)	中介中心性 (Betweenness Centrality)	接近中心性 (Closeness Centrality)
ESR1	2.60816944	77	0.05534188	0.38341067
AR	2.57186082	61	0.05536635	0.38882353
NR3C2	3.0408472	49	0.01586501	0.32885572
ADORA1	2.80484115	47	0.01424088	0.35652643
NR3C1	2.90166415	41	0.02081384	0.34462982
DRD2	2.62027231	40	0.03275068	0.38163972
PTGS2	2.81694402	39	0.02704349	0.35499463
OPRK1	2.72012103	38	0.01768814	0.3676307
EDN1	2.97730711	38	0.00589545	0.33587398
VDR	3.01966717	37	0.01043078	0.33116232

3.7. 分子对接结果

选取化学成分 - 靶点 - 疾病网络 PPI 中度值排名前五的有效成分作为分子对接的配体, 编号后依次为 Camphene (X)、quercetin (A)、Betulin (MX3)、Thymol (Q)和 Umbelliferone (GC63); 选取蛋白质相互作用网络中度值排名前五的蛋白靶点作为受体, 包括 AKT1、INS、ALB、BDNF 和 TP53。利用 AutoDockTools 软件进行两两对接得到 25 组对接计算数据(见表 4), 按对接结合能大小进行排序, 结合能越低, 表明其结合效果越好, 选择结合能 < -7 的 4 组(ALB 和白桦脂醇、ALB 和槲皮素、BDNF 和槲皮素和 BDNF 和伞形酮)导入到 Pymol 进行可视化操作得到对接图形(见图 5), 其中 ALB 和白桦脂醇的结合能为-8.4 kcal/mol, 在对接结果中数值最低, 这也说明其结合力最高, 结合程度更稳定, 但无氢键连接; ALB 和槲皮素的结合能为-8.2 kcal/mol, 且有一个氢键的连接, 表明其结合紧密, 效果良好; BDNF 和槲皮素的结合能为-7.5 kcal/mol, 且存在 3 个氢键的连接; BDNF 和槲皮素的结合能为-7.3 kcal/mol, 仅有一个氢键的连接。

Table 4. Molecular docking results
表 4. 分子对接结果

有效成分	结合能(kcal/mol)				
	AKT1	INS	ALB	BDNF	TP53
Camphene (X)	-5.4	-4.5	-5.5	-5.0	-4.0
Quercetin (A)	-5.4	-5.8	-8.2	-7.5	-6.0
Betulin (MX3)	-6.7	-7.1	-8.4	-7.1	-6.8
Umbelliferone (GC63)	-5.4	-4.7	-6.5	-7.3	-5.0
Thymol (Q)	-5.4	-4.8	-6.0	-7.0	-4.6

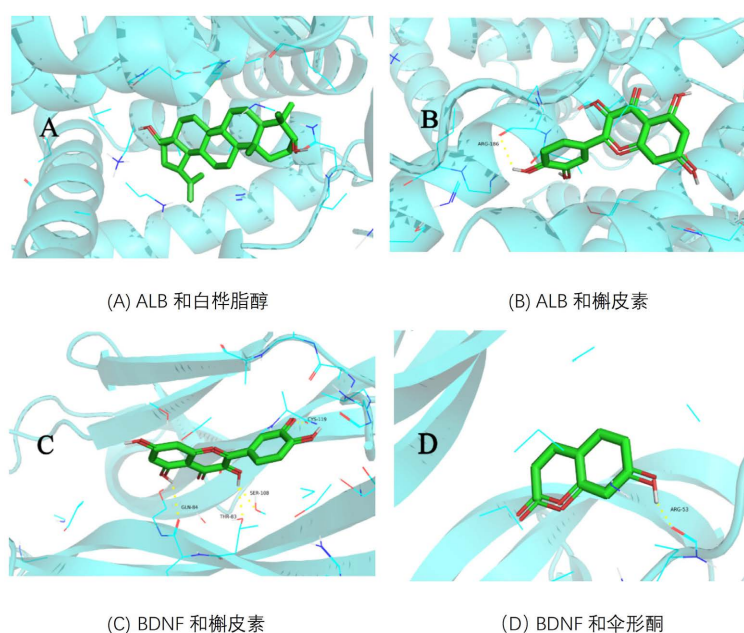


Figure 5. Molecular docking results
图 5. 分子对接结果

4. 讨论

已有研究表明,抑郁症是一种包含了多种发病机制的复杂病症[16]。其发病机制涉及单胺类神经递质假说、分子机制假说、脑源性神经营养因子假说和其他机制假说等等[17][18],目前单胺类假说在抑郁症发病机制的研究中做出了重要的贡献。单胺类神经递质主要包括 5-羟色胺、多巴胺和下丘脑去甲肾上腺素,经研究发现 5-羟色胺功能低下、多巴胺分泌缺乏、下丘脑去甲肾上腺素浓度降低均与抑郁症的发病机制存在密切联系[19]。分子机制假说涉及到的主要是信号通路在抗抑郁作用机制中发挥的作用,目前国内外学者已对部分信号通路进行了理论的研究与探索,以 cAMP 信号通路为例,该通路的功能的改变会引发不同的抑郁症状[18]。BDNF (脑源性神经营养因子)是一种促炎性细胞因子,因为 BDNF 的加入,可能会提高神经系统感知、反应和适应外部或内部刺激的能力,作为研究治疗抑郁症的作用机制的一种介质存在[20]。此外,还有一些其他机制假说,如通过改善肠道菌群来缓解抑郁的症状[21]等。

随着经济和生活的双重压力的剧增,对于抑郁症的治疗已经刻不容缓,抑郁症在中医上属于“郁证”

的范畴,在不断的探索和研究中,中医药已经开始在这个治疗抑郁症这个领域中崭露头角。木香顺气丸是由木香、香附、甘草、陈皮、苍术、砂仁、槟榔、青皮、厚朴、枳壳十味中药组成的传统中药制剂,具有行气化湿,健脾和胃的功效[22],多用于湿浊阻滞气机,胸膈痞闷,脘腹胀痛,呕吐恶心,暖气纳呆等症,且木香顺气丸中的香附和甘草也是近年来用作抗抑郁的优势药物[23][24]。本文以网络药理学为基础,辅以分子对接技术来分析木香顺气丸治疗抑郁症的作用机制。

本研究中通过构建蛋白质互作网络按度值大小排序筛选出了木香顺气丸抗抑郁的关键靶点,部分已被证明是抗抑郁的重要靶点,如 TP53 水平的上调可以改善抑郁的症状[25]; ALB 浓度的变化可用于判断抑郁症患者的病情轻重程度[26], BDNF 可调节神经可塑性,尤其是在增强可塑性机制中与相应的受体结合发挥抗抑郁的重要作用[27]等。且这些靶点也对应着多种化学成分。又构建了化学成分-疾病靶点互作网络发现,槲皮素、伞形酮和百里香酚等可能是木香顺气丸治疗抑郁症的主要化学成分,因其度值较高,且包含了多个疾病靶点。其中槲皮素属于黄酮醇类化合物,具有广泛的药理作用,已有实验研究发现,槲皮素可通过调节体内单胺神经递质(如升高 5-羟色胺水平)来达到抗抑郁的效果[28]。伞形酮是一种属于香豆素家族的天然产物,具有抗氧化、抗炎、神经保护等药理学活性作用,有实验研究得出伞形酮主要是作为一种神经保护剂,通过抑制海马 5-HT 的减少来改善抑郁的症状[29]。百里香酚是一种天然的单萜类苯酚,具有抗菌,抗炎等作用,目前虽已有研究[30]证实其具有一定的抗抑郁效果,主要表现为逆转皮质酮相关的慢性行为和调节 BDNF 的表达水平,但还有待进一步深入探究。系列研究和推测提示了木香顺气丸可以通过多靶点-多成分的途径来治疗抑郁症。

我们通过对木香顺气丸抗抑郁的 426 个靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析以及 MCODE 模块分析,最后 GO 富集结果显示木香顺气丸治疗抑郁症主要通过参与细胞信号转导、G 蛋白偶联受体信号通路、化学突触传递等生物过程,KEGG 富集分析得到的信号通路主要包括神经活性配体受体相互作用信号通路、癌症通路、神经退行性变的途径——多种疾病、cAMP 信号通路和钙信号通路。其中 cAMP 信号通路也是模块分析结果筛选出的其中四个模块的共有信号通路,这提示着该通路 with 抑郁症的发病机制存在巨大联系,在木香顺气丸治疗抑郁症这个过程中也发挥着重要的作用。cAMP 信号通路属于细胞内信号通路,利用 G 蛋白修饰受体的表达,激活 AC(腺苷酸环化酶)催化 ATP 水解形成 cAMP(环磷酸腺苷),进一步激活 PKA(蛋白激酶 A)使 PKA 磷酸化激活 CREB(cAMP 反应元件结合蛋白)信号转导通路,将细胞外信号传递到细胞内,进而调节神经细胞的可塑性达到抗抑郁的效果[31]。

最后,我们利用分子对接进行初步验证。根据在 AutoDockTools 软件中得到的 25 组对接数据结合能的大小,选择了结合能 < -7 的四组(ALB 和白桦脂醇、ALB 和槲皮素、BDNF 和槲皮素和 BDNF 和伞形酮)导入到 Pymol 进行可视化操作,结果显示槲皮素、伞形酮和百里香酚等化学成分与 ALB 和 BDNF 有良好的对接活性,进一步证实了木香顺气丸具有多成分-多靶点-多通路抗抑郁的作用。

综上所述,本研究运用网络药理学的方法构建了木香顺气丸治疗抑郁症的蛋白质互作网络图与“化学成分-疾病靶点”网络图,更直观的显示了中药复方与抑郁症之间的关系,进行 GO 功能和 KEGG 富集分析得到神经活性配体受体相互作用信号通路、癌症通路、神经退行性变的途径——多种疾病、cAMP 信号通路和钙信号通路等经典通路,进一步阐述了抑郁症的发病机制与中药复方抗抑郁的作用机制。又利用分子对接技术进行结果的初步验证,我们可以预测木香顺气丸是通过多成分、多靶点、多通路的分子作用机制来治疗抑郁症,为今后研究和筛选抗抑郁药物提供新思路。

基金项目

四川省中医药管理局 2021 年度中医药科研专项课题(2021MS108);成都中医药大学杏林学者学科人才科研提升计划(ZRQN2020001)。

参考文献

- [1] Fox, M.E. and Lobo, M.K. (2019) The Molecular and Cellular Mechanisms of Depression: A Focus on Reward Circuitry. *Molecular Psychiatry*, **24**, 1798-1815. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0415-3>
- [2] Yuan, Y., Min, H.S., Lapane, K.L., et al. (2020) Depression Symptoms and Cognitive Impairment in Older Nursing Home Residents in the USA: A Latent Class Analysis. *International Journal of Geriatric Psychiatry*, **35**, 769-778. <https://doi.org/10.1002/gps.5301>
- [3] 叶静. 柳泽民. 社会转型背景下抑郁症高发的社会根源及社会干预[J]. 湖北经济学院学报(人文社会科学版), 2022, 19(2): 28-33.
- [4] 张优琴. 沈佳莹. 姜炳辰. 等. 中药治疗抑郁症的临床研究进展[J]. 海军医学杂志, 2018, 39(4): 382-386.
- [5] 张磊阳. 蒋健. 贺敏. 李玥. 抗抑郁中药的药理研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(24): 224-234.
- [6] 封桂宇. 林洁洁. 许志威. 等. 中医治疗老年抑郁症的研究进展[J]. 大众科技, 2022, 24(2): 89-92.
- [7] 赵心华. 安娜. 越鞠丸治疗抑郁症的临床疗效及安全性观察[J]. 浙江中医杂志, 2020, 55(12): 874-875.
- [8] 史建勋. 中药复方枳菊解郁汤的抗抑郁作用及其机制[D]: [硕士学位论文]. 曲阜: 曲阜师范大学, 2014.
- [9] 张碧涛. 李媛媛. 辛泰然. 等. 逍遥散治疗抑郁症的研究进展[J/OL]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20221229>. 中国实验方剂学杂志: 1-13.
- [10] 毛梦迪. 尚立芝. 许二平. 半夏厚朴汤治疗抑郁症研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(23): 37-43.
- [11] 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.
- [12] 刘彦武. 康治臣. 李颖. 等. 木香顺气丸加减联合草酸艾司西酞普兰片治疗抑郁症的临床研究[J]. 中国医药科学, 2014, 4(8): 84-86.
- [13] Dong, Z., Liu, M.T., Zou, X.L., et al. (2021) Integrating Network Pharmacology and Molecular Docking to Analyse the Potential Mechanism of Action of *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. in the Treatment of Bovine Hoof Disease. *Veterinary Sciences*, **9**, Article No. 11. <https://doi.org/10.3390/vet9010011>
- [14] Hopkins, A.L. (2008) Network Pharmacology: The Next Paradigm in Drug Discovery. *Nature Chemical Biology*, **4**, 682-690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [15] Szklarczyk, D., Gable, A.L., Lyon, D., et al. (2019) STRING v11: Protein-Protein Association Networks with Increased Coverage, Supporting Functional Discovery in Genome-Wide Experimental Datasets. *Nucleic Acids Research*, **47**, D607-D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- [16] 刘春林. 阮克锋. 高君伟. 等. 抑郁症的多机制发病[J]. 生理科学进展, 2013, 44(4): 253-258.
- [17] 刘雨涵. 王婕. 抑郁症发病机制及 5-羟色胺再摄取抑制剂治疗研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(26): 84+86.
- [18] 李苒. 高杉. 李琳. 等. 抑郁症发病机制的研究进展[J]. 天津中医药, 2013, 30(2): 121-125.
- [19] 赵汉清. 过伟. 牛威. 等. 抑郁症患者儿童期受虐对单胺类神经递质及相关因素的影响[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(31): 6170-6173.
- [20] Calabrese, F., Rossetti, A.C., Racagni, G., et al. (2014) Brain-Derived Neurotrophic Factor: A Bridge between Inflammation and Neuroplasticity. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **8**, Article No. 430. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00430>
- [21] 张楠. 程艳梅. 王磊. 基于肠道菌群探讨中医药治疗抑郁状态相关证型作用机制研究进展[J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1-7. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20221027>, 2022-05-18.
- [22] 汪剑飞. 木香顺气丸含量测定方法研究进展[J]. 北方药学, 2011, 8(3): 34-36.
- [23] 陈锐. 木香顺气丸临床应用解析[J]. 中国社区医师, 2011, 27(22): 14.
- [24] 于冰清. 邵欣欣. 付晓凡. 等. 抗抑郁中药复方的组方特点及作用机制研究[J]. 中草药, 2021, 52(11): 3344-3352.
- [25] Mahmood, S., Evinová, A., Škereňová, M., et al. (2016) Association of EGF, IGF1BP-3 and TP53 Gene Polymorphisms with Major Depressive Disorder in Slovak Population. *Central European Journal of Public Health*, **24**, 223-230. <https://doi.org/10.21101/cejph.a4301>
- [26] 徐静. 史九波. 张凤岐. 等. 血清 C-反应蛋白、白蛋白、前白蛋白、肿瘤坏死因子- α 水平与抑郁症患者 HAMD 评分的关系[J]. 国际精神病学杂志, 2020, 47(4): 682-685.
- [27] 赵香婷. 杜杰英. 刘爽. 5-羟色胺能致幻剂: 抑郁症治疗的新策略[J/OL]. 中国药理学与毒理学杂志: 1-6.

<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1155.R.20220401.1711.002.html>, 2022-05-04.

- [28] 王叶情. 王宇红. 邹蔓姝. 等. 槲皮素及其糖苷衍生物抗抑郁作用及其机制的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(5): 1548-1557.
- [29] Lee, B., Yeom, M., Shim, I., *et al.* (2020) Umbelliferone Modulates Depression-Like Symptoms by Altering Monoamines in a Rat Post-Traumatic Stress Disorder Model. *Journal of Natural Medicines*, **74**, 377-386. <https://doi.org/10.1007/s11418-019-01373-w>
- [30] Capibaribe, V.C.C., Mallmann, A.S.V., Lopes, I.S., *et al.* (2019) Thymol Reverses Depression-Like Behaviour and Upregulates Hippocampal BDNF Levels in Chronic Corticosterone-Induced Depression Model in Female Mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **71**, 1774-1783. <https://doi.org/10.1111/jphp.13162>
- [31] 王金梦. 杨玉. 刘星玥. 等. 基于信号通路的中药抗抑郁症作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(1): 115-118.