

基于网络药理学和分子对接技术探讨黄芪甲苷抗抑郁的作用机制

朱岳¹, 黄东梅², 鞠营辉¹, 王梦琳¹, 吴睿^{1*}

1. 中国科学技术大学附属第一医院 离子医学中心 (合肥离子医学中心), 安徽 合肥 230088

2. 安徽医科大学第一附属医院, 安徽 合肥 230022

摘要: **目的** 采用网络药理学和分子对接技术研究黄芪甲苷抗抑郁的潜在作用机制。**方法** 通过 GEO、DrugBank、TTD、DisGeNet、GeneCards 数据库获得抑郁症疾病靶点, 检索 PharmMapper 和 SwissTargetPrediction 数据库获得黄芪甲苷的预测靶点。使用 R 软件 Venn 包获取黄芪甲苷与抑郁症的交集靶点基因, 利用 STRING 网站与 Cytoscape 软件获得蛋白相互作用 (PPI) 网络, 并通过 R 软件 clusterprofile 包对潜在作用靶点进行基因本体论 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析; 使用 Autodock Vina 1.1.2 软件进行分子对接。**结果** 黄芪甲苷治疗抑郁症的相关靶点共 107 个, 主要为丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、表皮生长因子受体 (EGFR) 和胱天蛋白酶 3 (CASP3)。这些核心靶点作用于钙离子信号通路、MAPK 信号通路、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路以及神经活性配体-受体相互作用信号通路等发挥抗抑郁作用, 分子对接显示黄芪甲苷能与核心靶点均能较好的结合。**结论** 黄芪甲苷治疗抑郁症具有多靶点、多通路协同的特点, 可通过改善细胞凋亡、促进神经再生、调节神经炎症以及调节单胺类神经递质传递发挥协同抗抑郁作用。

关键词: 黄芪甲苷; 抑郁症; 网络药理学; 丝裂原活化蛋白激酶 1; 表皮生长因子受体; 胱天蛋白酶 3; 磷脂酰肌醇-3-羟激酶-蛋白激酶 B 信号通路

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)11-2465-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.11.007

Mechanism of astragaloside IV in treatment of depression based on network pharmacology and molecular docking

ZHU Yue¹, HUANG Dong-mei², JU Ying-hui¹, WANG Meng-lin¹, WU Rui¹

1. Hefei Ion Medical Center, The First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230088, China

2. The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China

Abstract: Objective To investigate the potential mechanisms of astragaloside IV in treatment of depression by using network pharmacology and molecular docking. **Methods** The targets gene of depression disease were obtained through GEO, DrugBank, TTD, DisGeNet, and GeneCards database, predicted targets of astragaloside IV were explored by searching the PharmMapper and SwissTargetPrediction database. Intersection of the targets of astragaloside IV and depression were obtained by Venn package of R software. Potential targets protein interaction network was analyzed using STRING website and Cytoscape 3.9.0 software. The KEGG and GO enrichment analysis were performed using the R software clusterprofile package and molecular docking was performed by AutoDock Vina1.1.2 software. **Results** There were 107 related targets of astragaloside IV in treatment of depression, mainly including MAPK1, EGFR, CASP3, etc. These core targets act on calcium ion signaling pathway, MAPK signaling pathway, phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K)-protein kinase B (Akt) signaling pathway and neural active ligand-receptor interaction signaling pathway to play an antidepressant effect. Molecular docking showed that astragaloside IV could bind well with the core targets. **Conclusion** Astragaloside IV can exert a synergistic antidepressant effect through multi-targets and multi-pathways improving cell apoptosis, promoting neural regeneration, regulating neuroinflammation and monoamine neurotransmitter transmission, which can provide a basis for the follow-up study.

Key words: astragaloside IV; depression; network pharmacology; MAPK1; EGFR; CASP3; PI3K-Akt signaling pathway

收稿日期: 2022-06-12

作者简介: 朱岳, 男, 药师, 硕士, 研究方向为中药药理。E-mail: zywnmc@163.com

*通信作者: 吴睿, 男, 临床药师, 硕士, 研究方向为临床药理。E-mail: yckwurui@163.com

抑郁症是一种常见的精神健康障碍, 病因复杂, 具有发病率高、复发率高的特点^[1-2]。主要临床特征为食物摄入量减少、情绪低落、快感缺乏症、活动减少、易怒等症状。在严重的情况下, 可能有自杀倾向, 是导致残疾的主要原因。有研究报告估计, 1/6 的人会在其一生中患上抑郁症, 造成了严重的经济压力和社会负担^[3]。目前临床治疗抑郁症的药物主要有选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂、5-羟色胺和去甲肾上腺素再摄取抑制剂、三环抗抑郁药和单胺氧化酶抑制剂^[4]。然而, 这些传统抗抑郁药物作用机制单一, 会导致一定的不良反应和耐药性^[5]。因此开发出更安全有效的抗抑郁药物非常重要。

中草药具有成分复杂、多靶点的特点, 因此可能会开发出更安全有效的抗抑郁药物^[6]。黄芪甲苷是黄芪的皂苷类活性化合物^[7], 具有抗氧化、抗炎和抗凋亡等作用, 可用于预防和治疗心脑血管缺血性疾病^[8-9]和神经退行性疾病^[10], 如阿尔茨海默病。此外, 有报道称黄芪甲苷可以改善小鼠神经炎症诱导的抑郁样行为^[11]; 通过抑制神经元凋亡改善小鼠抑郁样症状^[12]以及可以改善束缚应激结合慢性不可预知温和应激抑郁症大鼠糖脂代谢异常、炎症反应及氧化应激^[13]。然而目前黄芪甲苷抗抑郁的作用机制并不是很明确, 且其抗抑郁作用机制可能十分复杂, 有待进一步探索。网络药理学以系统生物学、生物信息学、网络科学等学科为基础, 从系统层次和生物网络的整体角度出发, 解析药物与治疗对象之间的分子关联, 揭示药物的系统性药理机制^[14]。本研究应用网络药理学技术探讨黄芪甲苷抗抑郁的作用机制, 研究流程见图 1。本研究的目的是为黄芪甲苷抗抑郁作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 抑郁症治疗靶点的获取

以“depression”或“depressive disorder”为关键词, 检索 GEO (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 数据库^[15]筛选相关基因芯片, 分别获取 GSE54562、GSE54563、GSE54564 等 10 个芯片数据集, 见表 1。采用 R 软件 (版本 4.1.2) limma 程序包, 以 $P < 0.05$ 和 $|\log_2(FC)| > 0.5$ 为条件^[16], 筛选上述芯片数据集抑郁症组和正常组之间的差异表达基因, 然后通过 R 语言 ggplot2 函数与 Complex Heatmap 函数绘制火山图与热图。最后将上述芯片数据集的 DEGs 结合起来, 去除重复的基因。此外, 研究还检索了 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)^[17]、

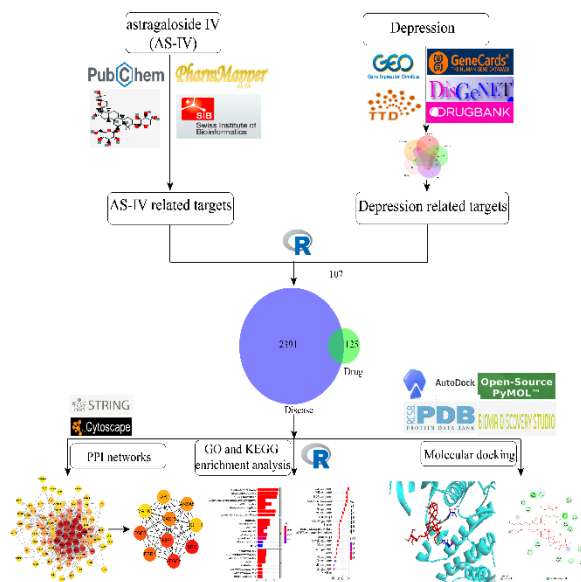


图 1 基于网络药理学的策略流程图

Fig. 1 Flowchart of the network pharmacology-based strategy

表 1 GEO 数据集信息

Table 1 Information of GEO datasets

组织	数据集	平台	大脑样本数量
前扣带回	GSE54562	GPL6947	10
	GSE54563	GPL6947	25
	GSE54565	GPL570	16
	GSE54571	GPL570	13
	GSE54572	GPL570	12
杏仁核	GSE54564	GPL6947	21
背侧前额叶皮质	GSE54567	GPL570	14
	GSE54568	GPL570	15
	GSE54570	GPL96	13
腹侧前额叶皮层	GSE54575	GPL96	12

DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)^[18]、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>)^[19] 和 TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)^[20] 5 个疾病数据库。最后, 将上述 DEGs 与疾病数据库中发现的抑郁症相关基因结合起来, 去除重复的基因, 并通过 R 软件 Venn 函数绘制韦恩图。

1.2 黄芪甲苷作用靶点的获取

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[21] 数据库获取黄芪甲苷化学结构, 将其代入 PharmMapper (<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/index.html>)^[22] 和 SwissTargetPrediction (<http://swiss.targetprediction.ch/>)^[23] 数据库进行分析预测, 获取黄芪甲苷的潜在作用靶点。

1.3 黄芪甲苷抗抑郁作用靶点的筛选

通过 R 软件 (版本 4.1.2) Venn 包将收集的黄芪甲苷所有对应靶点和抑郁症相关靶点计算筛选出药物-疾病交集靶点,即黄芪甲苷治疗抑郁症的作用靶点,并绘制韦恩图。

1.4 黄芪甲苷抗抑郁靶点蛋白相互作用 (PPI) 网络的构建

利用 STRING (<http://string-db.org>) 数据库^[24], 首先把黄芪甲苷治疗抑郁症的核心靶点上传到 STRING (Version 11.0) 数据库中, 将物种设为“Homo sapiens”, 最小互相作用阈值设定为“medium confidence>0.4”, 其余参数保持默认设置不变, 然后进行蛋白质相互作用分析, 得出黄芪甲苷治疗抑郁症关键靶点蛋白互作网络 (PPI), 然后下载 PPI 网络的 TSV 文件, 并将它们导入到 Cytoscape 3.9.0 软件中, 利用 Cytohubba 插件进行拓扑分析, 根据度 (degree) 值获取核心基因。

1.5 基因本体论 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析

通过 R 软件 (版本 4.1.2) clusterProfiler 包的 enrichGO 函数对 1.3 项下交集靶点进行 GO 功能富集分析, 包括生物过程 (BP)、细胞成分 (CC) 和分子功能 (MF), 对交集靶点蛋白进行功能注释; 以及用函数对交集靶点进行 KEGG 富集分析, 可以得出黄芪甲苷治疗抑郁症的重要相关信号通路。根据 P 值筛选出排名靠前的靶点, 并通过 R 软件进行可视化处理。

1.6 分子对接验证

通过 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)^[25] 获取关键靶点的蛋白晶体结构, 并以 PDB 格式保存。从 PubChem 网站下载黄芪甲苷的 3D 结构作为配体, 先用 ChemBioOffice 2014 软件将黄芪甲苷 3D 结构能量最小化并保存为 mol2 格式。使用 PyMOL 2.4 软件对受体蛋白进行去水, 去配体和加氢等操作, 并保存。然后将处理后的受体蛋白与黄芪甲苷结构导入 Autodock Tools 1.5.7 软件转换为 pdbqt 格式。然后使用 Autodock Vina 1.1.2 软件进行分子对接。以结合能 ≤ -5 kcal/mol ($1\text{ cal}=4.2\text{ J}$) 作为条件筛选^[26]。最后, 利用 Discovery Studio 3.6 软件对黄芪甲苷和受体蛋白的部分对接结果进行可视化。

2 结果

2.1 抑郁症相关靶点筛选结果

利用 R 软件 (版本 4.1.2) 的 limma 程序包, 以

$P<0.05$ 且 $|\log_2(\text{FC})|>0.5$ 为筛选条件, 发现从 GEO 数据库中的 10 个芯片数据集筛选出的 198 个差异基因, 分别有 54 个上调基因和 144 个下调基因。以 GSE54575 数据集为例绘制差异基因的火山图和热图 (图 2A、B)。从 GeneCards 数据库以“relevance score” $>1.402\,368\,307$ (2 倍中位数) 为筛选条件, 获得了 2 259 个抑郁症治疗靶点; 从 DisGeNET 数据库以“Score” >0.1 为筛选条件获得 285 个靶点、TTD 数据库中获得 39 个靶点, 以及 DrugBank 数据库获得 89 个靶点。再去除这 5 个数据库中的重复靶点后, 共收集了 2 498 个抑郁症相关治疗靶点 (图 2C)。

2.2 黄芪甲苷作用靶点预测

PubChem 中获取黄芪甲苷结构式见图 3。利用 PharmMapper 与 SwissTargetPrediction 数据库预测黄芪甲苷可能的作用靶点, 分别获得 232、30 个作用靶点, 去重后共获得 232 个潜在作用靶点。

2.3 黄芪甲苷抗抑郁作用靶点的筛选

利用 R 软件 (版本 4.1.2) Venn 包将黄芪甲苷的 232 个作用靶点与抑郁症相关的 2 498 个靶点取交集, 获得 107 个共同作用靶点, 见图 4。

2.4 黄芪甲苷抗抑郁关键靶点 PPI 网络

将 107 个共同作用靶点导入 STRING (Version 11.0) 数据库, 将物种设为“Homo sapiens”, 最小互相作用阈值设定为“medium confidence=0.4”, 其余参数保持默认设置不变, 获取蛋白相互作用关系, 生成黄芪甲苷治疗抑郁症的 PPI 网络, 并在 Cytoscape 3.9 软件中进行蛋白网络结构可视化处理, 见图 5A。图中包含 96 个靶蛋白节点, 共 625 条相互作用连线。使用 Cytoscape 3.9 软件中的 CytoHubba 插件筛选核心基因, 方法采取度 (degree) 值算法, 采取得分最高的前 10 位作为黄芪甲苷抗抑郁核心靶点, 如图 5B 所示分别为表皮生长因子受体 (EGFR)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、SRC 蛋白、胰岛素样生长因子 1 (IGF1)、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、雌激素受体基因 (ESR1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、碱性成纤维细胞生长因子 2 (FGF2)、丝裂原活化蛋白激酶 14 (MAPK14)。提示上述靶点很可能是黄芪甲苷抗抑郁的关键靶点。

2.5 GO 富集分析结果

通过 R 软件 (版本 4.1.2) clusterProfiler 包的 enrichGO 函数对 107 个交集靶点进行 GO 功能富集

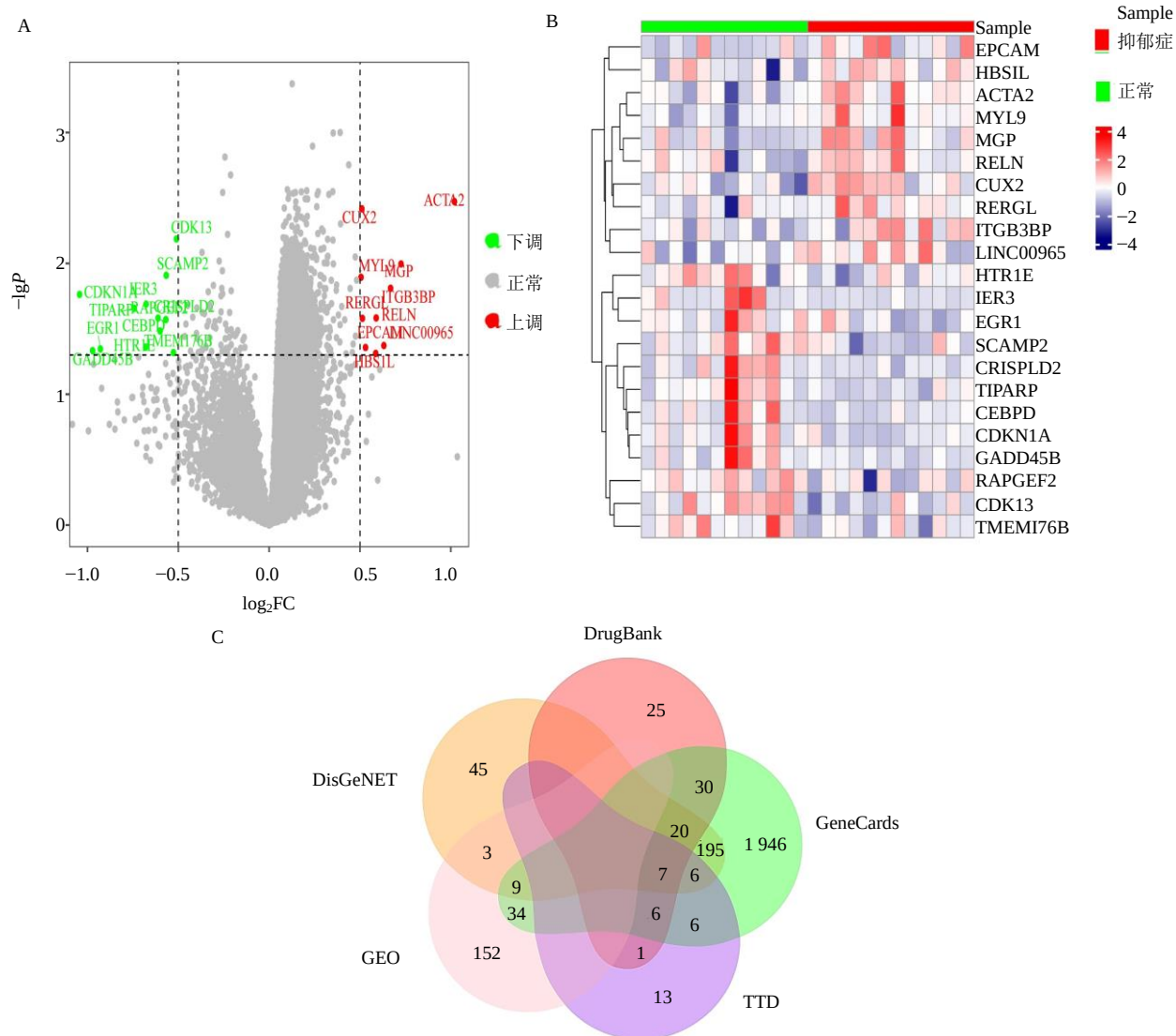


图 2 GSE54575 数据集差异基因的火山图(A)、GSE54575 数据集差异基因的热图(B)、疾病靶点韦恩图(C)

Fig. 2 Volcano diagram of GSE54575 (A), heat map of GSE54575 (B), Venn diagram of disease target (C)

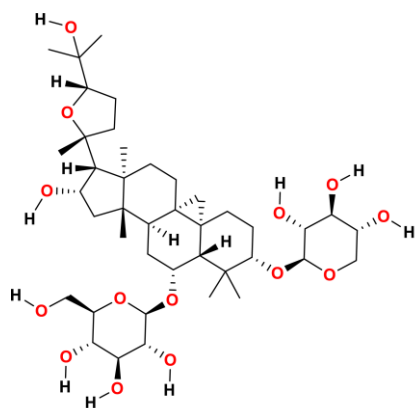


图 3 黄芪甲苷结构式

Fig. 3 Chemical structure of astragaloside IV

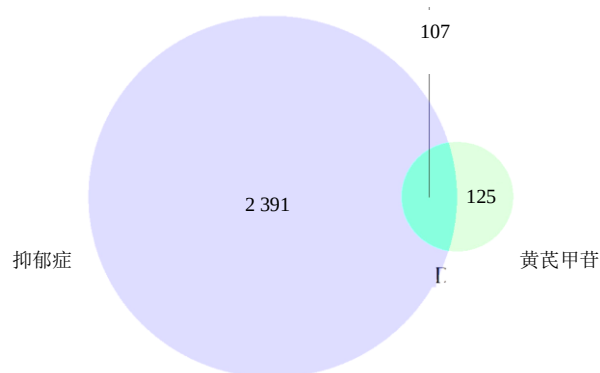


图 4 药物 - 疾病靶点韦恩图

Fig. 4 Venn diagram of drug-disease target

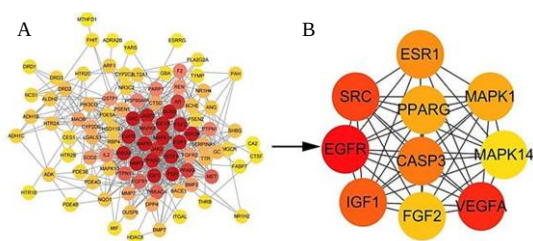


图 5 黄芪甲苷抗抑郁作用靶点 PPI 网络(A)、黄芪甲苷抗抑郁作用核心靶点(B)

Fig. 5 PPI network of astragaloside IV in treatment of depression (A) and core targets of astragaloside IV in treatment of depression (B)

分析 ($P < 0.05$), 通过 R 软件 (版本 4.1.2) 对分析结果进行可视化。GO 功能富集分析由分子功能 (MF)、生物过程 (BP)、细胞组成 (CC) 3 个部分组成。BP 共富集到 1577 条, 排名靠前的有 MAPK 级联的正调控、激酶活性的正调控、细胞对异生物刺激反应、腺苷酸环化酶激活肾上腺素能受体信号通路和 MAP 激酶活性的调节等。CC 共富集到 45 条, 排名靠前的主要是膜筏、膜微区、囊泡腔、质膜筏和谷氨酸能突触等。MF 共富集到 95 条, 排名靠前的有核受体活性、配体激活转录因子活性、G 蛋白偶联胺受体活性、类固醇结合和儿茶酚胺结合等。选取 P 值排序前 10 条进行展示, 见图 6。

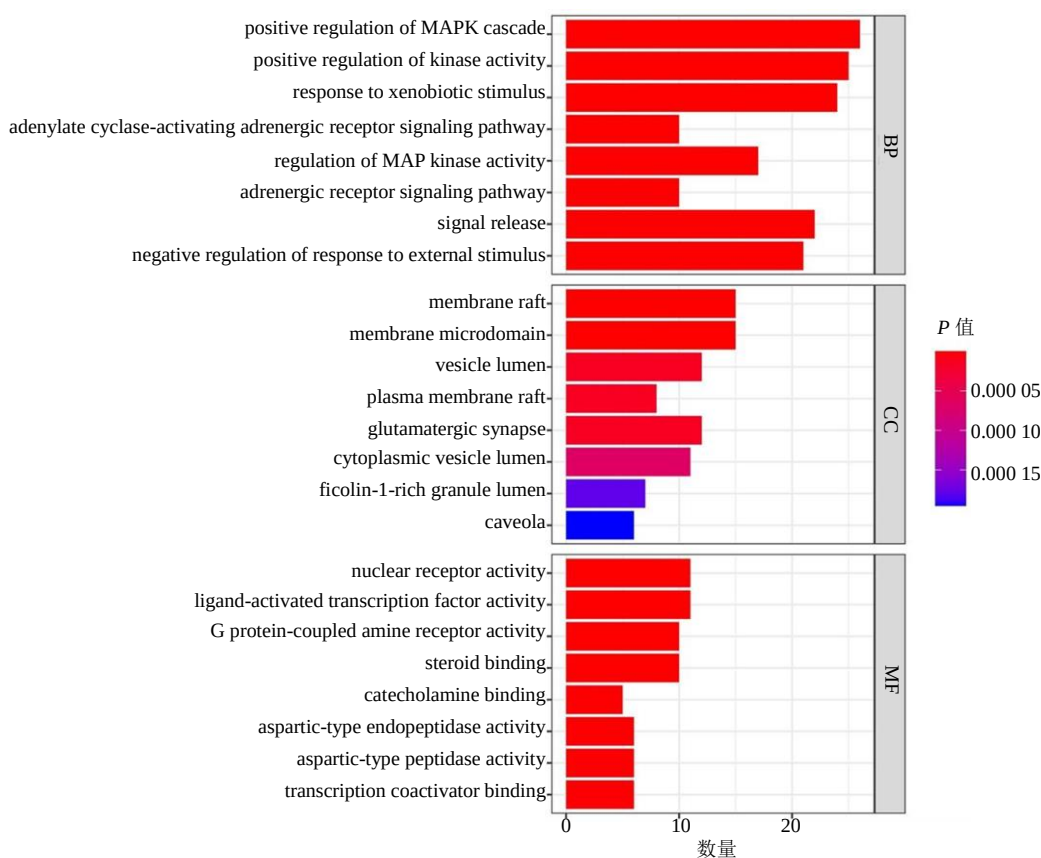


图 6 GO 富集分析

Fig. 6 GO enrichment analysis

2.6 KEGG 通路富集分析结果

通过 R 软件 (版本 4.1.2) clusterProfiler 包的 enrichKEGG 函数对 107 个交集靶点进行 KEGG 通路富集分析 ($P < 0.05$), KEGG 通路共富集到 107 条, 选出与抑郁症密切相关通路有 22 条, 并绘制气泡图 (图 7), 结果包括钙离子信号通路、MAPK 信号通路、磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B

(Akt) 信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路和 Ras 信号通路等 22 条通路, 提示黄芪甲苷可能通过作用于多种信号通路发挥抗抑郁作用。绘制通路之间的相互关系图 (图 8), 显示 MAPK 信号通路、晚期糖基化终末化产物 (AGE)-晚期糖基化终末产物受体 (RAGE)、肿瘤坏死因子 (TNF)、叉头框蛋白 O (FoxO)、PI3K-Akt、Ras、Rap1 信号

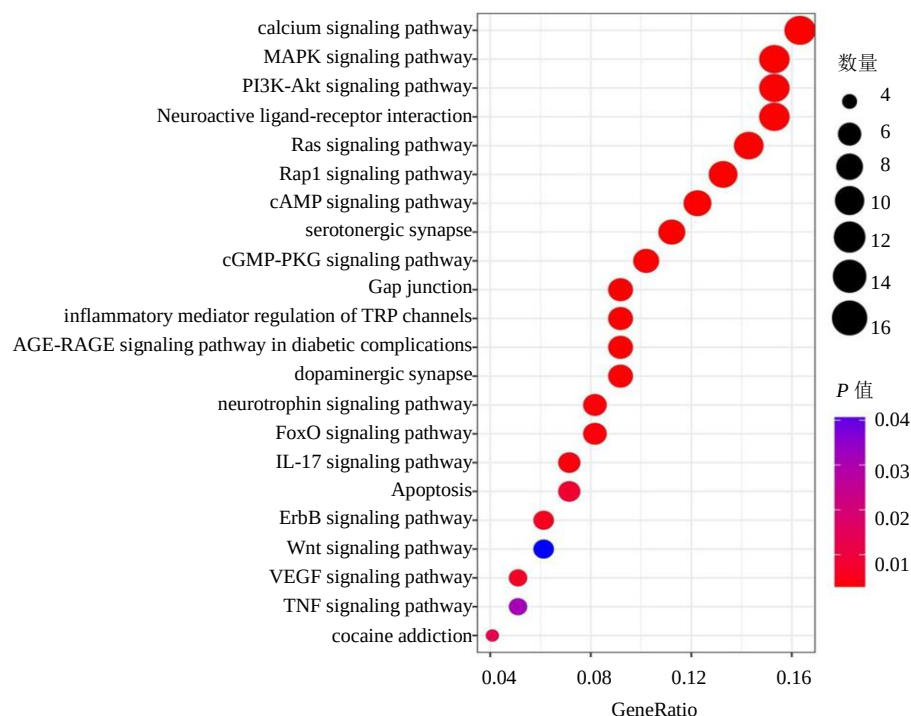


图 7 KEGG 通路富集分析

Fig. 7 KEGG pathway enrichment analysis

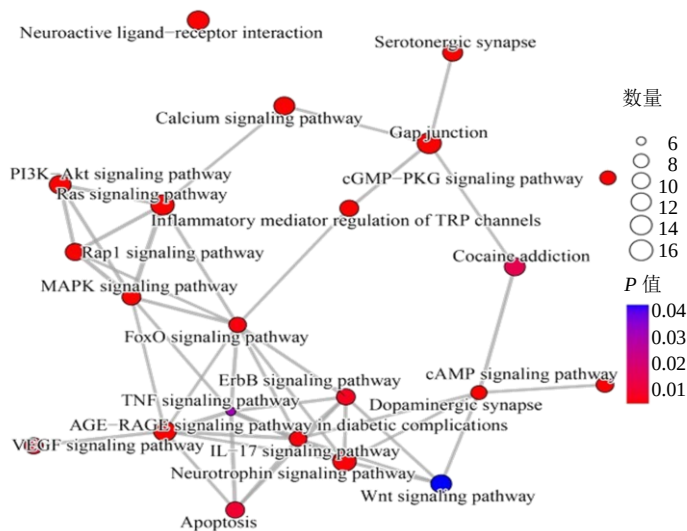


图 8 KEGG 通路网络关系图

Fig. 8 KEGG enrichment emapplot

通路均有关联, 且该通路中有 7 个靶点属于黄芪甲苷抗抑郁核心靶点, 提示该通路在黄芪甲苷抗抑郁过程中发挥枢纽作用。将黄芪甲苷抗抑郁症靶点映射到 MAPK 信号通路中, 构建代谢通路图 (图 9)。

2.7 分子对接验证

黄芪甲苷靶点与关键靶点 EGFR、VEGFA、SRC、IGF1、CASP3、ESR1、MAPK1、PPARG、

FGF2、MAPK14 进行分子对接, 其中配体-受体结合构象的结合能越低, 说明该构象更稳定。由表 2 可知, 黄芪甲苷与各关键受体结合能均小于 -5 kcal/mol, 说明黄芪甲苷与各关键受体均能较好结合。其中结合能较低的前 3 个目标受体分别是 MAPK1、EGFR、CASP3, 并通过 DiscoveryStudio 3.6 进行可视化 (图 10)。

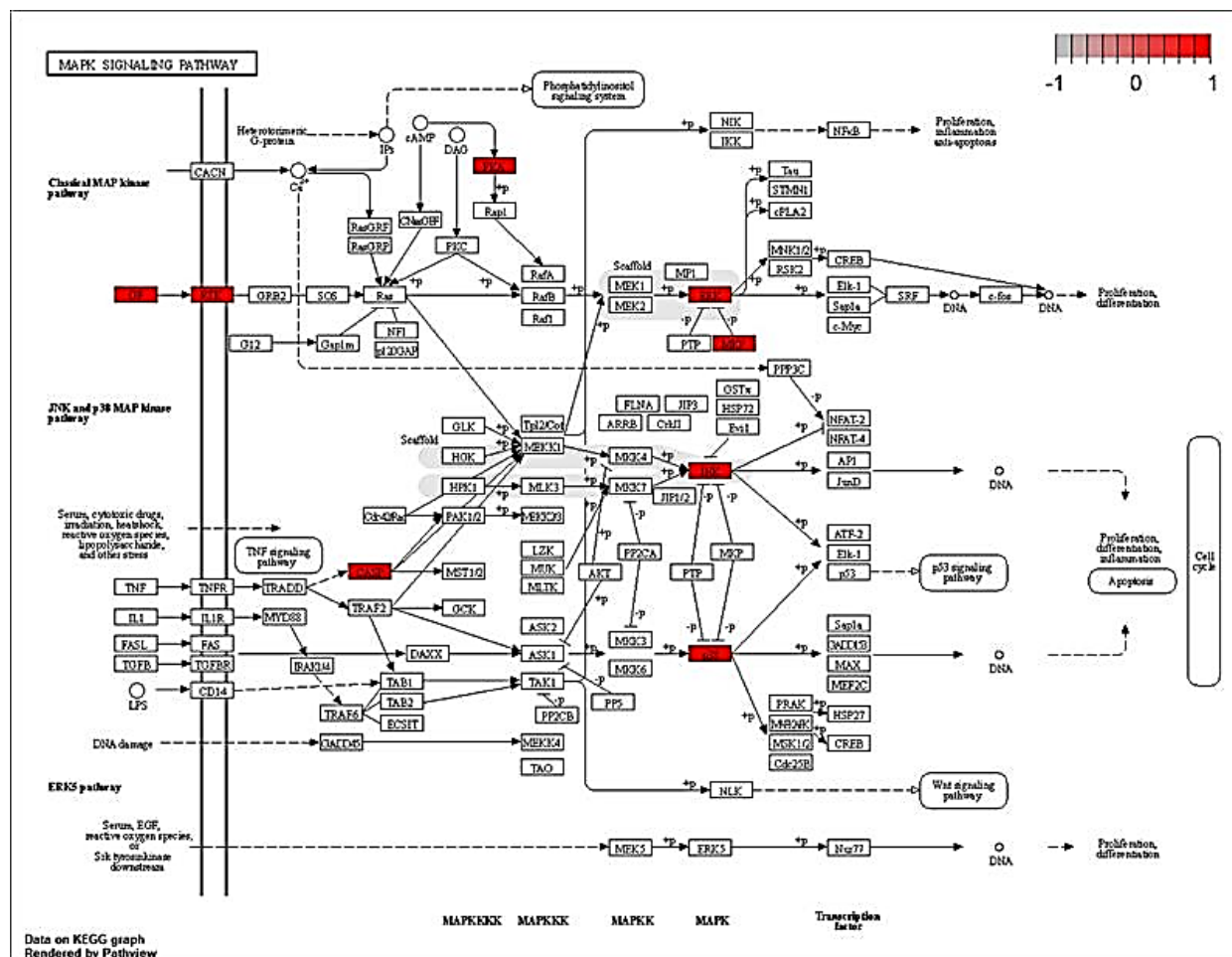


图 9 MAPK 信号通路

Fig. 9 Signaling pathway of MAPK signaling pathway

表 2 黄芪甲苷和核心靶点的结合能

Table 2 Binding energies of astragaloside IV and core targets

靶点	与黄芪甲苷结合能/(kcal·mol ⁻¹)
MAPK1	-10.1
EGFR	-9.7
CASP3	-9.1
MAPK14	-8.5
ESR1	-8.1
SRC	-8.0
FGF2	-7.6
PPARG	-7.4
VEGFA	-7.1
IGF1	-7.0

3 讨论

抑郁症是世界上最普遍的精神疾病,影响着全球约 4.4%的人口^[27]。大多数抗抑郁药作用靶点单一且有效性低于 70%^[28-29]。一些传统中药已被证明有

抗抑郁作用^[30-31],且用于治疗抑郁症的历史悠久。黄芪甲苷是黄芪的主要活性成份,有研究表明,黄芪甲苷可以抗炎、抗凋亡和抗氧化应激等作用发挥抗抑郁作用^[11-13]。然而关于黄芪甲苷抗抑郁作用的研究较少,且机制尚未完全确定,因此本研究采用网络药理学和分子对接技术探讨黄芪甲苷抗抑郁作用的潜在作用靶点和可能的作用机制。以期对后续深入研究提供方向和思路。

蛋白相互作用网络结果显示黄芪甲苷抗抑郁靶蛋白间存在着相互关系,是一个复杂交互的网络而非单独起作用。本研究结果发现黄芪甲苷可能通过调节 MAPK1、EGFR、CASP3、ESR1 和 PPARG 等核心靶点发挥治疗抑郁症的作用。MAPK 也被称为细胞外信号调节激酶(ERK),参与多种生化过程,如细胞增殖、分化与脂代谢等,其中 MAPK1 是 MAP 激酶家族的重要成员,许多研究表明 MAPK1 参与抗抑郁作用机制^[32-33],其抗抑郁的机制可能与

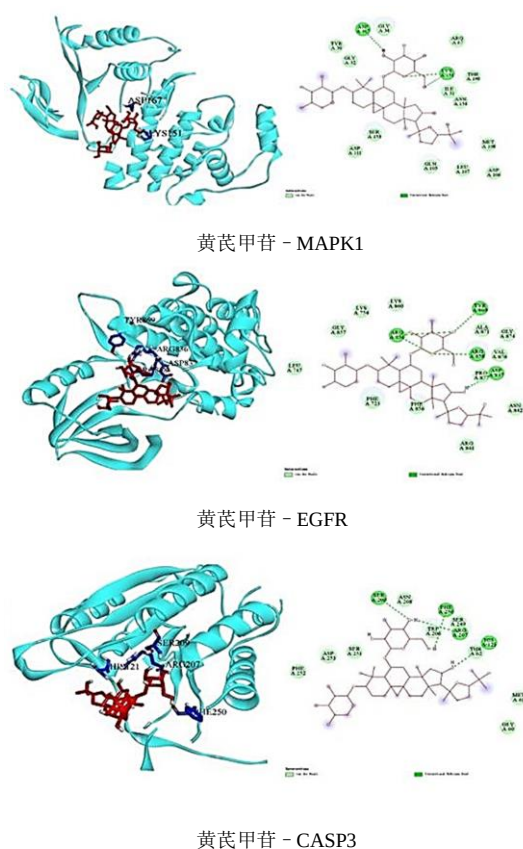


图 10 分子对接结果

Fig. 10 Molecular docking results

内质网通路中蛋白加工过程有关^[34]。抑郁症的病理生理机制与神经炎症增加有关，而 EGFR 过度活化可导致神经炎症反应^[35]，Hou 等^[36]发现通过异丙酚导致 EGFR 细胞表面表达增加而诱发的抑郁模型小鼠，可经鸢尾素降低细胞表面 EGFR 的表达水平来改善抑郁样行为。ESR1 影响脑功能，在抑郁症中起着重要作用。雌激素可以促进神经元细胞存活，减轻神经元损伤，保护神经元细胞免受神经毒素的伤害，加强突触传递和神经发生^[37]。PPARG 是核激素受体家族的配体激活转录因子，参与糖脂代谢、细胞分化以及炎症反应等。同时 PPARG 激动剂在调节代谢紊乱、炎症反应和氧化应激中发挥重要作用^[38-39]。研究表明，黄芪甲苷可通过上调 PPARG 表达改善神经炎症，从而对小鼠产生抗抑郁作用^[11]。CASP3 是一种介导细胞凋亡的关键蛋白酶^[40]。研究表明抑郁症发病与海马区域神经元凋亡与萎缩现象有关^[41-42]，因此黄芪甲苷抗抑郁的机制可能与下调海马区域 CASP3 蛋白有关。

为深入了解黄芪甲苷治疗抑郁症的作用机制，本研究进行 GO 功能及 KEGG 通路分析。GO 富集

分析提示黄芪甲苷治疗抑郁症的 BP 主要涉及 MAPK 级联的正调控、激酶活性的正调控、细胞对异生物刺激反应等，MF 主要涉及核受体活性、配体激活转录因子活性、G 蛋白偶联受体活性结合等。KEGG 通路富集分析得到 22 条信号通路，主要富集在钙离子信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路、Ras 信号通路、5-羟色胺能突触通路和 cAMP 信号通路等通路。抑郁症的发生与神经元凋亡有关，其中钙离子、Ras、MAPK 与 PI3K-Akt 等信号通路与凋亡相关的通路。钙离子信号通路与抑郁症密切相关，是治疗抑郁的重要机制之一， Ca^{2+} 参与了多种神经细胞功能的调节，如神经递质的释放、细胞的构建和酶系统的激活等。海马神经元中 Ca^{2+} 失调可导致神经元凋亡，进而改变海马的结构和功能，最终导致抑郁^[43]。PI3K-Akt 信号通路在细胞增殖、分化和凋亡的多个过程中起着至关重要的作用，参与了微血管损伤和血管生成，抑郁症的发生有密切联系。MAPK 在多种生物过程中起着至关重要的作用，能够调节行为、学习、记忆等方面，与神经元的凋亡密切相关，并能够调节炎症和应激反应^[44]。在 MAPK 信号通路主要包括 ERK1/2、ERK5、P38、JNK，其中 ERK1/2 通路于抑郁症密切相关。研究发现 ERK1/2 活性在自杀后的抑郁症患者大脑海马体和前额叶皮层两个区域明显降低^[45]。本研究结果显示 MAPK 信号通路与 AGE-RAGE、TNF、Foxo、PI3K-Akt、Ras、Rap1 信号通路均有关联（图 8），且该通路中有七个靶点属于黄芪甲苷抗抑郁核心靶点，提示该通路在黄芪甲苷抗抑郁过程中发挥枢纽作用。单胺学说理论认为抑郁症的发生与单胺类神经递质失调有关，5-羟色胺和去甲肾上腺素等单胺类神经递质浓度的降低是诱导致抑郁症发生的原因之一^[46]。5-羟色胺能突触通路由 5-HT 和位于脑内各种 5-HT 受体组成，可调节多巴胺、 γ -氨基丁酸等神经递质释放，其功能改变会导致抑郁症的发生^[47]。神经活性配体受体相互作用可通过调节多巴胺水平、情绪、学习和记忆功能来影响抑郁症的发生^[48]。cAMP 信号通路是抗抑郁作用机制中研究最广泛的信号通路，在该通路中，末端下游蛋白 BDNF 是 p-CREB 的主要转录产物，可以抵抗神经元的损伤，促进神经元的修复和再生，增加单胺类神经递质的分泌。

为了深入探索核心靶点与黄芪甲苷之间可能

的结合构象和结合活性,本研究进行了分子对接验证。结果显示,对接结合能均小于-5 kcal/mol,说明黄芪甲苷与各核心靶点间具有良好的结合活性,其中 MAPK1 与黄芪甲苷结合能最低,表明 MAPK1 可能在黄芪甲苷抗抑郁机制中起着重要作用。

综上所述,黄芪甲苷可能通过作用于钙离子信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路、Ras 信号通路、5-羟色胺能突触通路和 cAMP 信号通路等通路来改善神经元凋亡、调节神经炎症、促进神经元的修复和再生以及调节单胺类神经递质传递发挥抗抑郁作用,体现了黄芪甲苷治疗抑郁症多靶点、多通路的作用特点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Khosravi M, Sotoudeh G, Amini M, *et al.* The relationship between dietary patterns and depression mediated by serum levels of Folate and vitamin B₁₂ [J]. *BMC Psychiatry*, 2020, 20(1): 63.
- [2] Malhi G S, Mann J J. Depression [J]. *Lancet*, 2018, 392(10161): 2299-2312.
- [3] Kessler R C, Berglund P, Demler O, *et al.* Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2005, 62(6): 593-602.
- [4] Narasingam M, Vijeepallam K, Mohamed Z, *et al.* Anxiolytic- and antidepressant-like activities of a methanolic extract of *Morinda citrifolia* Linn. (noni) fruit in mice: Involvement of benzodiazepine-GABA(A)ergic, serotonergic and adrenergic systems [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 944-952.
- [5] Shelton R C. Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2019, 250: 145-180.
- [6] Hou Z, Jiang W, Yin Y, *et al.* The current situation on major depressive disorder in China: Research on mechanisms and clinical practice [J]. *Neurosci Bull*, 2016, 32(4): 389-397.
- [7] 曹玉冰. 黄芪甲苷的药理作用及其机制的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2017, 32(5): 954-960.
- [8] Chiu B Y, Chang C P, Lin J W, *et al.* Beneficial effect of astragalosides on stroke condition using PC12 cells under oxygen glucose deprivation and reperfusion [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34(6): 825-837.
- [9] 李艳玲, 丁煌, 傅馨莹, 等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠 BMSCs 移植后神经修复的影响 [J]. *中草药*, 2021, 52(21): 6537-6544.
- [10] Kempuraj D, Thangavel R, Natteru P A, *et al.* Neuroinflammation induces neurodegeneration [J]. *J Neurol Neurosurg Spine*, 2016, 1: 1003.
- [11] Song M T, Ruan J, Zhang R Y, *et al.* Astragaloside IV ameliorates neuroinflammation-induced depressive-like behaviors in mice via the PPAR γ /NF- κ B/NLRP3 inflammasome axis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(10): 1559-1570.
- [12] 罗湘蓝, 刘平, 张望, 等. 黄芪甲苷 IV 对 TGF- β 1/Smad2 介导的癫痫合并抑郁小鼠的保护作用 [J]. *实用药物与临床*, 2021, 24(4): 301-306.
- [13] 刘旭恩, 沈姣, 谢艳丽, 等. 黄芪甲苷对 CUMS 抑郁症大鼠模型的血清代谢组学研究 [J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(10): 829-835.
- [14] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [15] Edgar R, Domrachev M, Lash A E. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(1): 207-210.
- [16] 邓志芳, 刘珏, 肖晗, 等. 基于转录调控网络识别老年期抑郁症的诊断标志物 [J]. *临床与病理杂志*, 2022, 42(8): 1952-1960.
- [17] Safran M, Rosen N, Twik M, *et al.* The GeneCards Suite Chapter, Practical Guide to Life Science Databases [EB/OL]. (2022-01-06) [2022-6-10]. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-16-5812-9_2
- [18] Piñero J, Ramírez-Anguita J M, *et al.* The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 Update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(D1): D845-D855.
- [19] Wishart D S, Feunang Y D, Guo A C, *et al.* DrugBank 5.0: A major update to the DrugBank database for 2018 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D1074-D1082.
- [20] Zhou Y, Zhang Y, Lian X, *et al.* Therapeutic target database update 2022: Facilitating drug discovery with enriched comparative data of targeted agents [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D1398-D1407.
- [21] Kim S, Chen J, Cheng T, *et al.* PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1388-D1395.
- [22] Wang X, Shen Y, Wang S, *et al.* PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W356-W360.
- [23] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [24] Szklarczyk D, Gable A L, Nastou K C, *et al.* The STRING

- database in 2021: Customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D605-D612.
- [25] Sehna D, Bittrich S, Deshpande M, *et al.* Mol* Viewer: Modern web app for 3D visualization and analysis of large biomolecular structures [J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(W1): W431-W437.
- [26] Hsin K Y, Ghosh S, Kitano H. Combining machine learning systems and multiple docking simulation packages to improve docking prediction reliability for network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e83922.
- [27] World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates [R]. Geneva: World Health Organization, 2017.
- [28] Dodd S, Mitchell P B, Bauer M, *et al.* Monitoring for antidepressant-associated adverse events in the treatment of patients with major depressive disorder: An international consensus statement [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2018, 19(5): 330-348.
- [29] Hughes S, Lacasse J, Fuller R R, *et al.* Adverse effects and treatment satisfaction among online users of four antidepressants [J]. *Psychiatry Res*, 2017, 255: 78-86.
- [30] Zhu H Z, Liang Y D, Ma Q Y, *et al.* Xiaoyaosan improves depressive-like behavior in rats with chronic immobilization stress through modulation of the gut microbiota [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108621.
- [31] Jia K K, Pan S M, Ding H, *et al.* Chaihu-shugan san inhibits inflammatory response to improve insulin signaling in liver and prefrontal cortex of CUMS rats with glucose intolerance [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 1415-1428.
- [32] Qi X, Lin W, Li J, *et al.* Fluoxetine increases the activity of the ERK-CREB signal system and alleviates the depressive-like behavior in rats exposed to chronic forced swim stress [J]. *Neurobiol Dis*, 2008, 31(2): 278-285.
- [33] Labasque M, Meffre J, Carrat G, *et al.* Constitutive activity of serotonin 2C receptors at G protein-independent signaling: Modulation by RNA editing and antidepressants [J]. *Mol Pharmacol*, 2010, 78(5): 818-826.
- [34] Fabbri C, Crisafulli C, Calati R, *et al.* Neuroplasticity and second messenger pathways in antidepressant efficacy: Pharmacogenetic results from a prospective trial investigating treatment resistance [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2017, 267(8): 723-735.
- [35] 蔡小军, 焦正, 任冰焱, 等. EGFR 信号通路激活介导中枢神经系统炎症损伤的机制研究进展 [J]. 中华神经医学杂志, 2018, 17(2): 199-204.
- [36] Hou Z, Zhang J, Yu K, *et al.* Irisin ameliorates the postoperative depressive-like behavior by reducing the surface expression of epidermal growth factor receptor in mice [J]. *Neurochem Int*, 2020, 135: 104705.
- [37] Pirskanen M, Hiltunen M, Mannermaa A, *et al.* Estrogen receptor beta gene variants are associated with increased risk of Alzheimer's disease in women [J]. *Eur J Hum Genet*, 2005, 13(9): 1000-1006.
- [38] Sun K, Park J, Kim M, *et al.* Endotrophin, a multifaceted player in metabolic dysregulation and cancer progression, is a predictive biomarker for the response to PPAR γ agonist treatment [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(1): 24-29.
- [39] Wang X, Wang Y, Hu J P, *et al.* Astragaloside IV, a natural PPAR γ agonist, reduces A β production in Alzheimer's disease through inhibition of BACE1 [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4): 2939-2949.
- [40] Choudhary G S, Al-Harbi S, Almasan A. Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1219: 1-9.
- [41] Malkesman O, Austin D R, Tragon T, *et al.* Targeting the BH3-interacting domain death agonist to develop mechanistically unique antidepressants [J]. *Mol Psychiatry*, 2012, 17(8): 770-780.
- [42] Krishnan V, Nestler E J. The molecular neurobiology of depression [J]. *Nature*, 2008, 455(7215): 894-902.
- [43] Paul I A. Antidepressant activity and calcium signaling cascades [J]. *Hum Psychopharmacol*, 2001, 16(1): 71-80.
- [44] Venigalla R K, Turner M. RNA-binding proteins as a point of convergence of the PI3K and p38 MAPK pathways [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 398.
- [45] Dwivedi Y, Rizavi H S, Roberts R C, *et al.* Reduced activation and expression of ERK1/2 MAP kinase in the post-mortem brain of depressed suicide subjects [J]. *J Neurochem*, 2001, 77(3): 916-928.
- [46] Schildkraut J J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: A review of supporting evidence. 1965 [J]. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1995, 7(4): 524-533.
- [47] Köhler S, Cierpinsky K, Kronenberg G, *et al.* The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants [J]. *J Psychopharmacol*, 2016, 30(1): 13-22.
- [48] Sun X, Song Z, Si Y, *et al.* microRNA and mRNA profiles in ventral tegmental area relevant to stress-induced depression and resilience [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 86: 150-165.