

基于网络药理学与分子对接技术探讨蛇床子治疗阿尔茨海默病的作用机制

吴东霖¹, 张鼎¹, 秦红玲², 李姿¹, 晏杨³, 胡跃强^{2*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530000

2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530001

3. 成都市青白江区人民医院, 四川 成都 610500

摘要: **目的** 运用网络药理学结合分子对接技术探讨蛇床子治疗阿尔茨海默病的作用机制。**方法** 借助 TCMSp 数据库获取蛇床子的活性成分及潜在作用靶点; 检索 GeneCards、OMIM、DisGeNET 数据平台得到阿尔茨海默病的潜在作用靶点, 筛选两者共同靶点; 应用 Cytoscape 3.7.1 构建蛋白相互作用 (PPI) 网络图并筛选发挥治疗作用的关键靶点, 再借助 R 语言进行基因本体 (GO) 功能分析、京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析; 运用 AutoDock Vina 软件, 对核心靶点和药物主要活性成分进行分子对接, 验证网络分析结果。**结果** 蛇床子包含主要活性成分 20 个, 化学成分与疾病共同靶点 56 个, 网络拓扑分析显示 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、雌激素受体 α (ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、糖原合成酶激酶 3 β (GSK3B)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3) 为关键靶点, 通过调控神经活性配体-受体的相互作用、钙信号通路、p53 信号通路、多种细胞凋亡、磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、白细胞介素-17 (IL-17) 信号通路等发挥治疗作用。分子对接验证中受体与配体之间的结合能均 ≤ -5.0 kcal/mol, 结合性良好, 其中 *O*-乙酰二氢欧山芹酯、邻-异戊酰基二氢山芹醇、蛇床子素与核心靶点 GSK3B、PTGS2、Bcl-2 的对接亲合度较高。**结论** 蛇床子可通过多成分、多靶点和多通路的方式起到治疗阿尔茨海默病的作用, 为进一步探究蛇床子治疗阿尔茨海默病的理论研究提供参考。

关键词: 蛇床子; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 分子对接; *O*-乙酰二氢欧山芹酯; 邻-异戊酰基二氢山芹醇; 蛇床子素

中图分类号: R285; R971

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2024)03-0570-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.03.005

Mechanism of *Cnidii Fructus* in treating Alzheimer's disease based on network pharmacology and molecular docking

WU Donglin¹, ZHANG Ding¹, QIN Hongling², LI Zi¹, YAN Yang³, HU Yueqiang²

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China

3. Qingbaijiang District People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610500, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of *Cnidii Fructus* in treatment of Alzheimer's disease by means of network pharmacology and molecular docking technique. **Methods** To obtain the active components and potential targets of *Cnidii Fructus* through TCMSp database. GeneCards, OMIM, and DisGeNET data platforms were searched to obtain the potential targets of Alzheimer's disease and screen the common targets of both. The protein interaction network map was constructed by Cytoscape3.7.1, and the key therapeutic targets were screened. Enrichment of GO and KEGG pathway was analyzed with R language. AutoDock Vina software was used to dock the core targets and the main active components of the drug to verify the results of network analysis. **Results** *Cnidii Fructus* contains 20 main active components, with 56 chemical components sharing common targets with the disease. Network topology analysis shows that Bcl-2, ESR1, PTGS2, GSK3B, and CASP3 may be the key targets for treatment. The therapeutic effect is mainly through the regulation of neuroactive ligand receptor interaction, calcium signaling pathway, p53 signaling pathway, multiple species of apoptosis, PI3K/Akt signaling pathway, IL-17 signaling pathway and so on. Molecular docking verification showed that *O*-

收稿日期: 2023-11-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82260904); 广西自然科学基金重点项目 (2019GXNSFDA245006); 广西中医脑病临床研究中心项目 (桂科 AD20238028); 广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划 (桂教人才 202006)

作者简介: 吴东霖, 男, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治脑系病证研究。E-mail: wudonglin17@163.com

*通信作者: 胡跃强, 男, 博士, 教授, 研究方向为中医药防治脑系病证研究。E-mail: 137463195@qq.com

acetylcholinesterase, *O*-isovalerylcholinesterase, and osthol have a high affinity in docking with core targets GSK3B, PTGS2, and Bcl-2. **Conclusion** *Cnidii Fructus* can treat Alzheimer's disease through a multi-component, multi-target, and multi-pathway approach, providing a reference for further theoretical research into the treatment of Alzheimer's disease with *Cnidii Fructus*.

Key words: *Cnidii Fructus*; Alzheimer's disease; network pharmacology; molecular docking; *O*-acetylcholinesterase; *O*-isovalerylcholinesterase; osthol

阿尔茨海默病是神经系统的一种进行性、退行性病变,以认知功能障碍、精神及行为异常为主要特征。阿尔茨海默病占有痴呆类型的 60%~80%,随着人口老龄化加剧,发病率逐年攀高,给社会及经济带来重大负担^[1-2]。而其发病机制尚不明确,现主流治疗药物仅能部分改善症状,对预后和进展无逆转延缓作用,而针对现知发病机制的 A β 形成抑制剂, Tau 聚集抑制剂等在研药物均未得到根本性突破,提示针对单一靶点、单一因素疗效欠佳^[3-5]。由于中药具有多成分、多靶点的优势,现得到研究人员们广泛关注^[6]。

阿尔茨海默病属于中医学“痴呆”“呆病”范畴,《灵枢·经脉》云:“人始生先成精,精成而脑髓生”,其病位在脑,核心病机为肾虚髓减,肾虚贯穿痴呆发病的始终,故温补肾阳是逆转病机的关键。蛇床子性辛、苦、温,归肾经,《神农本草经》列为上品,言“主男子阳痿……癫痫,久服轻身”,内服可温肾壮阳,现代药理研究表明,其主要药效物质为香豆素类及挥发油等,其提取物对中枢神经系统、神经内分泌系统、心血管系统都具有显著的影响^[7],本研究利用网络药理学和分子对接技术^[8]探寻其治疗阿尔茨海默病的作用机制,为后续临床治疗方案提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 蛇床子活性成分及靶点筛选

运用 TCMSP 数据库,以“蛇床子”为关键词检索其活性成分,选取口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 且类药性(DL) ≥ 0.18 的活性成分,同时考虑到蛇床子的主要化学成分存在挥发油,查阅文献报道^[7]进行药物活性成分的补充,加入化学成分蛇床子素。通过 TCMSP 数据库预测活性成分靶点,经 UniProt 数据库将靶点名称标准化处理并去重。

1.2 疾病靶点收集

通过 GeneCards、OMIM、DisGeNET 数据库,以“Alzheimer's disease”为关键词获取相关疾病靶点,将各数据库结果合并去重后,与蛇床子潜在靶点取交集,获取共同靶点。

1.3 蛇床子治疗阿尔茨海默病的“成分-靶点”网络图构建及核心活性成分筛选

将“蛇床子-阿尔茨海默病”的共同靶点信息及活性成分导入 Cytoscape 软件中进行可视化处理构建“成分-靶点”网络,通过 Network Analyzer 插件进行网络分析,根据 degree 值进行排序,取排名前 5 位的活性成分作为蛇床子核心活性成分。

1.4 蛋白相互作用(PPI)网络图构建与分析

将共同靶点信息导入 STRING 数据库中,设定物种为“Homo sapiens”,去除游离节点,生成 PPI 网络图,将网络图文件导入 Cytoscape 软件使用 CytoNCA 插件进行网络分析,根据 degree 值、中介值(BC)、紧密值(CC)筛选核心靶点并进行可视化。

1.5 基因本体(GO)功能分析与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析

使用 R 语言,调用 ClusterProfiler 等函数包对蛇床子与阿尔茨海默病共同靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析,按照矫正后的 *P* 值进行排序,并将得到的结果通过柱状图及弦图进行可视化展示。

1.6 分子对接验证

在 PPI 网络中选取排名为前 5 位的关键靶点和蛇床子中前 5 位的核心成分进行分子对接,借助 pubchem 数据库下载活性成分 2D 结构,使用 Chem3D 以最小自由能优化转换成最优 3D 结构,通过 AutoDock Tools 将活性成分转换成 pdbqt 文件,在 PDB 数据库下载核心靶点蛋白 3D 结构,PyMol 软件对蛋白质受体预处理后,保存为 pdbqt 文件,最后用 AutoDock Vina 软件进行分子对接,将各结合能结果通过热图展示,并选择结合能最低的 4 个模型用 PyMol 软件进行结构展示。

2 结果

2.1 蛇床子活性成分和潜在靶点预测

检索数据库并通过查询相关文献后共得到蛇床子主要成分 20 个,见表 1。利用 TCMSP 平台预测有效成分对应靶点,合并去重并经 Uniport 数据库标准化注释后得到对应靶点 62 个。

表 1 蛇床子活性成分

Table 1 Main active components of *Cnidii Fructus*

Mol ID	化学成分	OB/%	DL
MOL001510	24-epicampesterol	37.58	0.71
MOL001771	poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75
MOL001941	ammidin	34.55	0.22
MOL002881	diosmetin	31.14	0.27
MOL002883	ethyl oleate (NF)	32.40	0.19
MOL000358	β -sitosterol	36.91	0.75
MOL003584	xanthoxylin N	35.51	0.21
MOL003588	prangenidin	36.31	0.22
MOL003591	ar-curcumene	52.34	0.65
MOL003600	cnidimol B	68.66	0.26
MOL003604	cnidimol F	54.43	0.28
MOL003605	(E)-2,3-bis(2-keto-7-methoxy-chromen-8-yl)acrolein	56.38	0.71
MOL003606	cniforin A	55.89	0.47
MOL003607	cniforin B	36.70	0.60
MOL003608	O-acetylcolumbianetin	60.04	0.26
MOL003617	isogosferol	30.07	0.25
MOL003624	O-isovalerylcolumn bianetin	64.03	0.36
MOL003626	ostruthin	30.65	0.23
MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
MOL000614	osthol	38.75	0.13

2.2 蛇床子防治阿尔茨海默病的潜在作用靶点

检索 GeneCards、OMIM、DisGeNET 数据库，分别得到阿尔茨海默病相关靶点数为 13 564、144、3 397 个，合并去重后共得到 14 197 个。运用 Rx4.2.2 软件 Venn 包，将药物靶点与疾病靶点导入后，共得到 56 个共同作用交集靶点，见图 1。

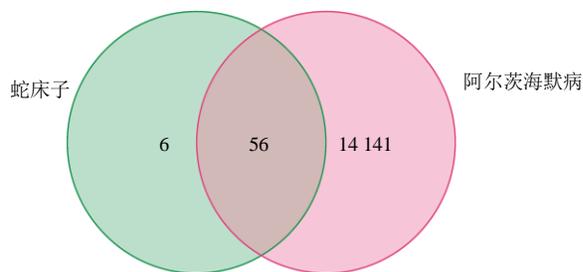


图 1 蛇床子治疗阿尔茨海默病的交集靶点 Venn 图

Fig. 1 Venn diagram of intersection target of *Cnidii Fructus* for Alzheimer's disease

2.3 “成分 - 靶点”网络图构建及蛇床子核心活性成分筛选

将“蛇床子 - 阿尔茨海默病”共同靶点及其对应的药物活性成分导入 Cytoscape 3.7.1，并绘制“成分 - 靶点”网络图，见图 2，该网络有 75 个节点、185 条边。通过 Network analyzer 分析网络后按 degree 值排序，排名前 5 位的成分作为蛇床子的核

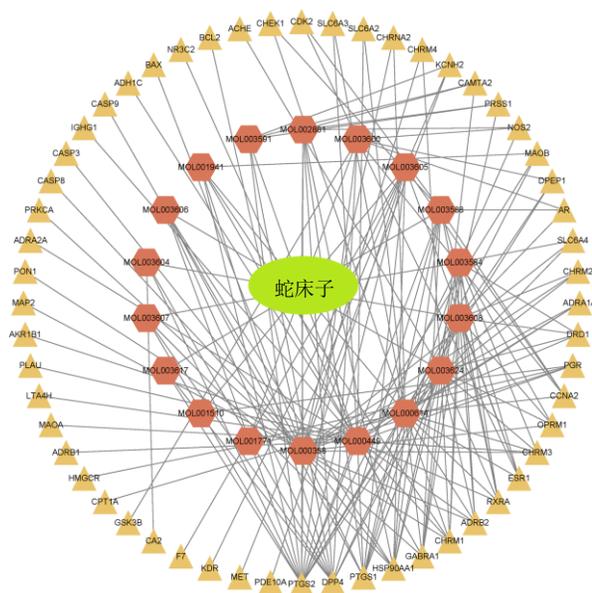


图 2 “活性成分 - 靶点”网络

Fig. 2 “Active ingredient - common target” network

心活性成分，分别是 β -谷甾醇、豆甾醇、邻-异戊酰基二氢山芹醇、O-乙酰二氢欧山芹酯、蛇床子素。

2.4 PPI 网络构建及核心靶点筛选

将交集靶点导入 STRING 数据库中，得到如图 3 所示的靶点蛋白 PPI 网络，使用 Cytoscape 对网络图进行核心靶点的分析，该网络共有 51 个节点和 270 条边，借助 CytoNCA 插件分析各节点得到 degree、BC、CC，进行 2 次筛选，以同时大于每项 2 倍均值为筛选条件，最终得到靶点蛋白共 7 个(图 4)，其中 degree 值排名前 5 位的即为核心靶点，分别为 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、雌激素受体 α (ESR1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、糖原合成酶激酶 $\beta 3$ (GSK3B)、半胱氨酸蛋白水解酶 3(CASP3)，见表 2。

2.5 GO 功能分析

使用 R 语言进行 GO 富集分析，共得到相关条目共 1 228 条，其中生物过程 (BP) 1 014 条，主要涉及乙酰胆碱反应、对异种刺激的反应、神经递质水平的调节、腺苷酸环化酶 - 调节 G 蛋白 - 偶联受体信号通路、乙酰胆碱受体信号通路等；细胞组分 (CC) 78 条，主要作用于突触后膜、突触前膜组成部分、突触膜、突触前膜的内在成分、突触前膜等；分子功能 (MF) 136 条，主要涉及 G 蛋白 - 偶联受体活性、G 蛋白 - 偶联神经递质受体活性、突触后神经递质受体活性、神经递质受体活性、乙酰胆碱受体活性、核受体活性、半胱氨酸型内肽酶活性

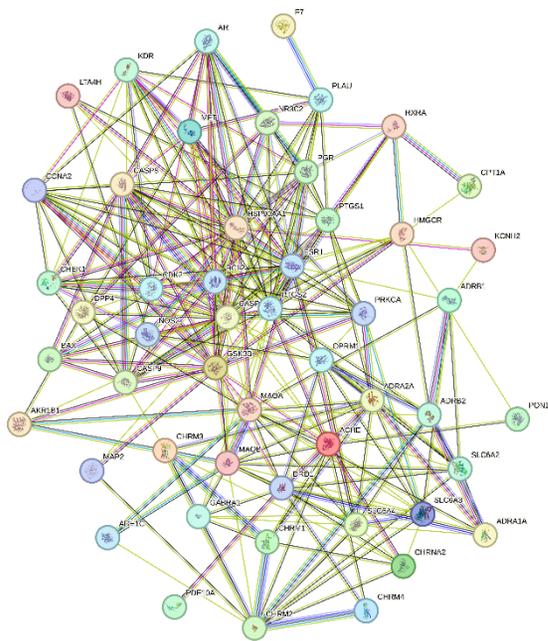


图 3 核心靶点基因 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network of the core intersection targets

参与的凋亡信号通路等。分别选取 BP、CC、MF 的前 10 个条目借助柱状图展示，见图 5。提示蛇床子可通过调控多种生物学过程对阿尔茨海默病发挥治疗作用。

2.6 KEGG 通路富集分析

进行 KEGG 富集分析，共得到 90 条通路，将前 30 条结果进行可视化展示，见图 6。结果显示，蛇床子治疗阿尔茨海默病的靶点所富集的通路主要包括神经活性配体 - 受体的相互作用、钙信号通路、p53 信号通路、多种细胞凋亡通路、磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、白细胞介素 (IL) -17 信号通路等，推测这些通路为蛇床子发挥治疗作用的关键通路。

2.7 分子对接结果

为证明药物活性成分与疾病靶点蛋白间的结合活性，选取蛇床子治疗阿尔茨海默病得分前 5 位的核心成分 β -谷甾醇、豆甾醇、邻-异戊酰基二氢山芹醇、O-乙酰二氢欧山芹酯、蛇床子素与核心靶点 Bcl-2

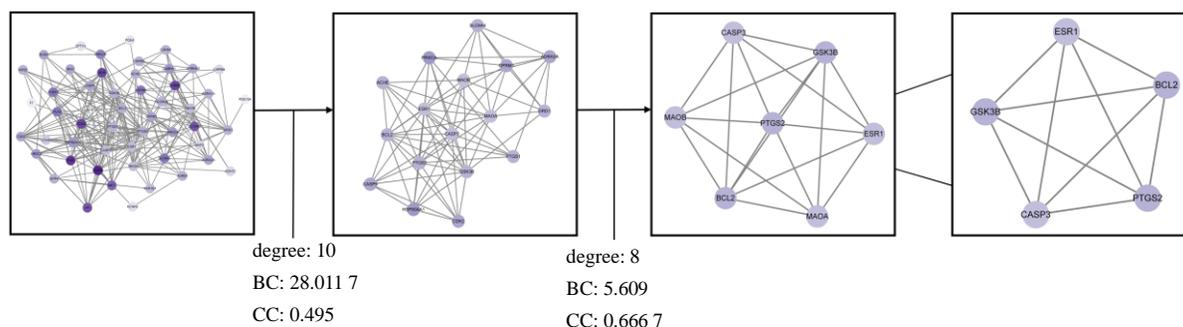


图 4 关键靶点筛选过程

Fig. 4 Screening process on key targets

表 2 核心靶点
Table 2 Key targets

靶点	degree	BC	CC
ESR1	12	19.625 7	0.80
Bcl-2	12	11.310 6	0.80
PTGS2	12	11.310 6	0.80
GSK3B	12	16.577 2	0.80
CASP3	12	15.393 9	0.80
MAOA	11	18.142 4	0.76
MAOB	9	10.143 9	0.69

ESR1、PTGS2、GSK3B、CASP3 分别进行分子对接，见图 7。将对接结合能最小的 4 组组合进行三维结构成像，见图 8。结果提示，化合物与受体蛋

白之间形成多个氢键以提高结合的稳定性。一般认为，结合能 ≤ -5.0 kcal/mol (1 cal=4.2 J) 时结合较稳固，结合能 ≤ -7.0 kcal/mol 时结合非常稳固^[9-10]。对接结果显示，受体与配体之间的结合能均 ≤ -5.0 kcal/mol，可见蛇床子核心成分与关键靶点蛋白间的结合性良好，预测结果具备一定可靠性，而结合能 ≤ -7.0 kcal/mol 共有 10 组，大多集中于 GSK3B、PTGS2、Bcl-2 与核心活性成分 O-乙酰二氢欧山芹酯、邻-异戊酰基二氢山芹醇、蛇床子素的结合。

3 讨论

阿尔茨海默病发病复杂，发病机制尚不明确，现已知的机制假说包括 A β 异常堆积、Tau 蛋白过度磷酸化、氧化应激、神经炎症反应等^[11]，其机制复杂，目前对于该疾病的治疗仍存在一定的限制和挑

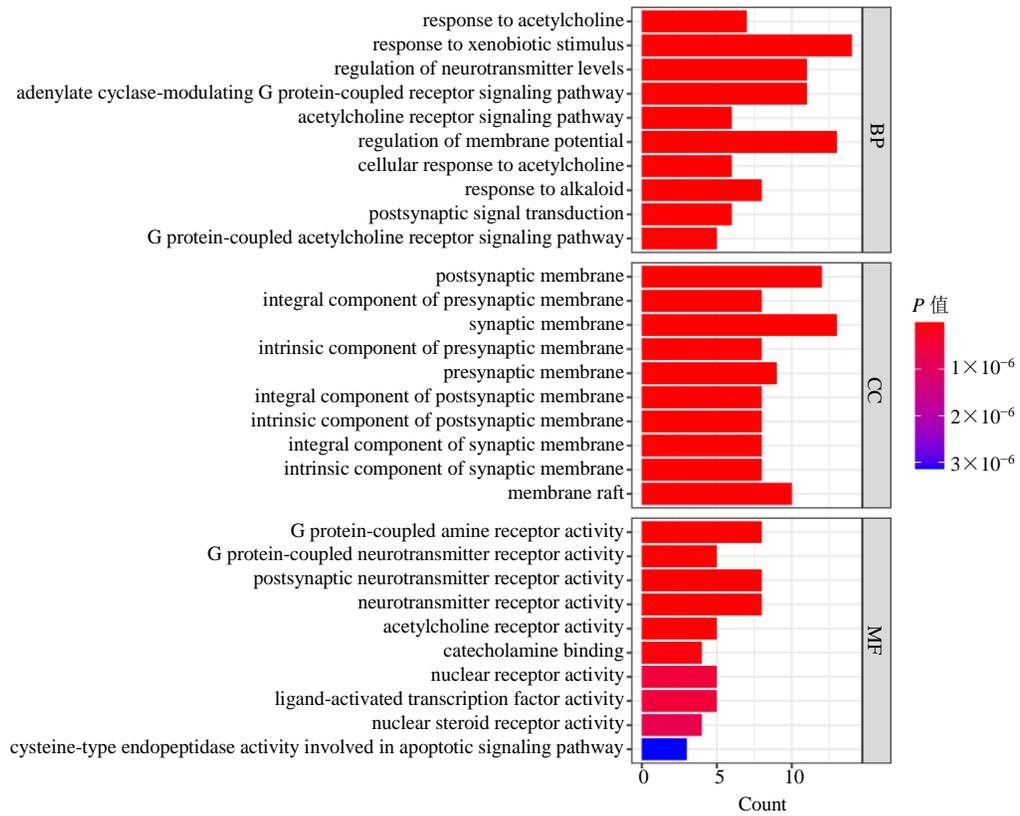


图 5 GO 功能富集分析

Fig. 5 Go function enrichment analysis

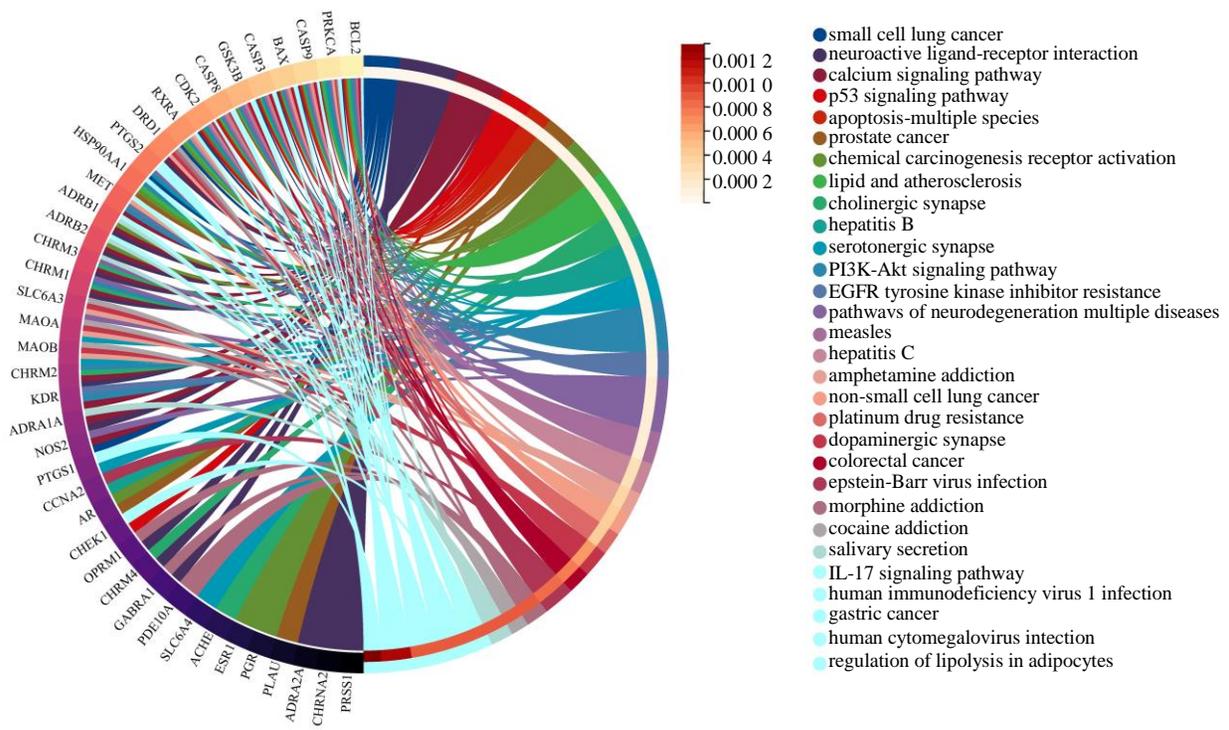


图 6 KEGG 通路富集分析

Fig. 6 KEGG enrichment analysis

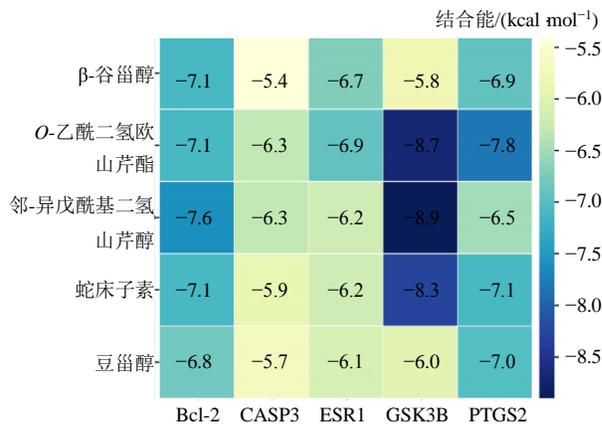


图 7 核心化合物与关键受体蛋白分子对接结合能热图
Fig. 7 Affinity heat map of molecular docking results

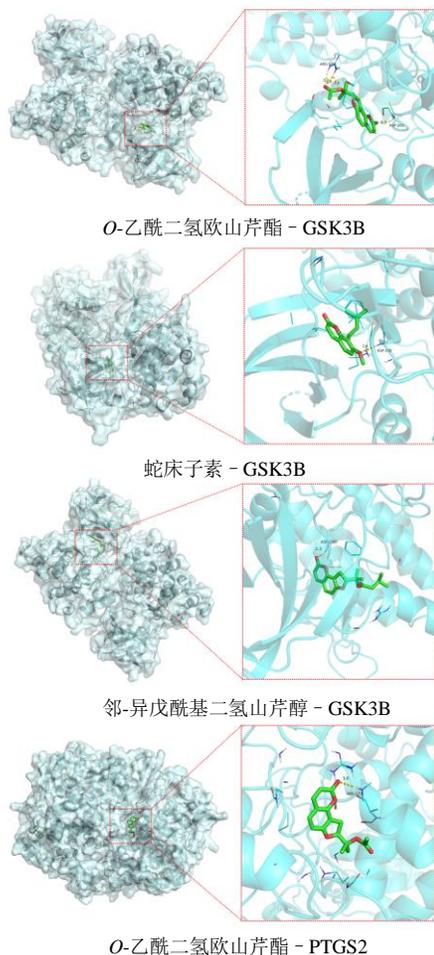


图 8 主要活性成分与核心靶点蛋白分子对接模式图
Fig. 8 Docking model diagram of key compounds and core target protein molecules

战。近年来，中医药治疗阿尔茨海默病取得了显著效果且在临床上的应用也越加广泛，体现了中医药的优势^[12]。《医学心悟》云：“肾主智，肾虚则智不

足”，阿尔茨海默病病机为本虚标实，根据病机证候分析，张学凯等^[13]认为阿尔茨海默病存在证候级联，即“启动于肾虚，进展于痰、瘀、火，恶化于虚极毒盛”，其中肾虚是启动因子并贯穿疾病发展始终，因此选方用药常不离补肾。蛇床子作为一种补肾药，具有温肾壮阳之功，现代药理学研究已证实，其对于神经系统方面改善学习记忆功能的作用确切的^[14]，然而其成分复杂，具有多成分、多靶点的特征，目前关于蛇床子治疗阿尔茨海默病的作用机制研究较少，尚不明确。中药由于自身成分的复杂性，传统功效分析方法难以适应，因此本研究通过网络药理学的方法对蛇床子治疗阿尔茨海默病的活性成分、靶点、通路等进行预测。

基于药物成分分析结果，蛇床子治疗阿尔茨海默病的核心活性成分为β-谷甾醇、豆甾醇、邻-异戊酰基二氢山芹醇、O-乙酰二氢欧山芹酯、蛇床子素。其中蛇床子素作为蛇床子的主要活性成分之一，在体外和体内对阿尔茨海默病都能发挥强大的神经保护作用。Li 等^[15]发现蛇床子素可通过上调 MicroRNA-9 并在体外抑制 Notch 信号通路，减少 Aβ 蛋白的产生挽救海马神经元的功能损伤，显著恢复阿尔茨海默病小鼠认知功能；也可通过调控 P13K/Akt/GSK3β 信号通路，降低小鼠脑内 Tau 蛋白 ser202 位点的过度磷酸化，从而减轻海马 CA3 区的病理性损伤改善阿尔茨海默病小鼠的认知学习能力^[16]。β-谷甾醇、豆甾醇都属于植物甾醇，具有抗炎、抗氧化等作用^[17]。β-谷甾醇在体内外有显著的胆碱酯酶抑制作用和自由基清除能力，从而显著改善阿尔茨海默病引起的记忆行为障碍^[18]；同时其也可较容易穿过血脑屏障，抑制 Tau 蛋白聚集^[19]。王星焯等^[20]发现 β-谷甾醇可能抑制 IL-17-p53 信号通路，减轻神经炎症并抑制细胞凋亡，进而改善阿尔茨海默病模型小鼠的认知功能。而豆甾醇可激活沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 的表达水平，减轻抑制阿尔茨海默病过程中氧化应激反应从而减轻神经退行性变^[21]。邻-异戊酰基二氢山芹醇、O-乙酰二氢欧山芹酯属于香豆素类物质，香豆素类物质在抗炎、神经保护都有很好的治疗效果^[22]，有研究指出香豆素类物质可通过抑制小鼠海马半球中细胞外调节蛋白激酶(ERK)相关的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路起到神经保护作用。可以看出这些药物核心化合物都是通过多种途径发挥神经保护作用，虽然存在结构的差异，但是作用却是相似的，可能是

作用的通路相似但靶点有异，从而发挥协同作用。

通过 PPI 网络分析，蛇床子治疗阿尔茨海默病的作用靶点主要为 Bcl-2、ESR1、PTGS2、GSK3B、CASP3 等。Bcl-2 是一种主要位于线粒体中的抗凋亡蛋白^[23]，主要通过控制线粒体膜离子的通透性以及相关凋亡因子的释放，在线粒体凋亡通路中起着重要的调节作用。细胞凋亡是细胞按照特定基因程序结束自身的过程，其诱发的神经元丢失是阿尔茨海默病的病理特征之一。CASP3 是凋亡通路中的下游死亡执行蛋白酶，被认为是一切细胞凋亡信号传导的共同通路，在凋亡级联反应中起枢纽作用。通过对阿尔茨海默病病例观察，CASP3 在突触处选择性富集，同时活性 CASP3 表达水平显著增加，与患者进行性突出变性最终导致的突触丧失密切相关^[24]。而 Bcl-2 可以作用于 CASP3 的上游，同时也是与 CASP3 相结合产生效应的直接底物，在阿尔茨海默病的发展中，Bcl-2 可抑制 CASP3 的活性，阻止 Tau 蛋白的聚集减缓阿尔茨海默病疾病进展，也可直接稳定微管，保护神经元骨架的稳定性^[25-26]。这些研究提示蛇床子可能通过调控细胞凋亡通路发挥神经保护作用。ESR1 属于雌激素受体之一，通过对雌激素受体的调控可调节雌激素的表达。据报道，女性阿尔茨海默病的风险较男性更高，性别可作为患病的独立危险因素^[27]，这提示可能与雌激素变化相关。现已证明雌激素可通过下调中枢神经系统中的炎症细胞因子，同时也可以对抗阿尔茨海默病中 A β 或过度磷酸化的 Tau 蛋白相关的线粒体功能障碍，从而对包括阿尔茨海默病在内的神经退行性疾病具有神经保护作用^[28-29]。PTGS2 是前列腺素合成的关键酶，在机体的炎症和免疫功能中发挥关键作用。流行病学指出由于应用非甾体类抗炎药的缘故，类风湿关节炎和阿尔茨海默病的共患率很低^[30]。PTGS2 特异性抑制剂罗非昔布的应用可以参与 APP 代谢的调节，抑制 β -分泌酶和 γ -分泌酶的活性，减少 A β 蛋白异常沉积和老年斑的形成，起到延缓阿尔茨海默病发生和发展的作用^[31]。脑部的慢性炎症作为阿尔茨海默病的一项重要病理特征，PTGS2 的失调会明显影响 β -淀粉样蛋白前体蛋白的异常裂解， β -淀粉样斑块中 A β 的聚集和沉积以及过度磷酸化的 Tau 蛋白所形成的神经元纤维缠结。大量研究发现 GSK-3 β 在阿尔茨海默病患者的大脑中过度活跃^[32]，在体内外的动物阿尔茨海默病模型中，已观察到该酶的失调会影响 A β 蛋白和

Tau 蛋白代谢以及毒性，同时 GSK-3 β 的活性也与记忆、神经突触可塑性、神经炎症密切相关，近年来已作为阿尔茨海默病治疗新方法的可能靶标。

GO 富集分析提示，潜在治疗靶点主要富集在对异种刺激的反应、神经递质水平的调节、腺苷酸环化酶-调节 G 蛋白-偶联受体信号通路等过程，这些生物过程与机体的炎症反应和细胞凋亡相关，与 KEGG 富集出的 PI3K/Akt 信号通路、p53 信号通路和细胞凋亡信号通路相吻合。此外 KEGG 还提示蛇床子治疗阿尔茨海默病的作用机制可能与钙信号通路等相关。核心蛋白与核心活性成分分子对接结合能均 ≤ -5.0 kcal/mol，表示蛇床子核心化合物与核心受体蛋白之间有良好的结合活性，可以起到治疗阿尔茨海默病的作用；核心化合物与核心蛋白之间有较强结合活性，结合能 ≤ -7.0 kcal/mol 的结果集中于 GSK3B、PTGS2、Bcl-2 与关键活性成分 O-乙酰二氢欧山芹酯、邻-异戊酰基二氢山芹醇、蛇床子素的组合中，表明蛇床子治疗阿尔茨海默病可能与 GSK3B、PTGS2、Bcl-2 的相关性更密切，而作为受体蛋白 GSK3B、Bcl-2 与 O-乙酰二氢欧山芹酯、邻-异戊酰基二氢山芹醇、蛇床子素的结合能更低，提示蛇床子通过发挥药效作用的物质基础可能是 O-乙酰二氢欧山芹酯、邻-异戊酰基二氢山芹醇、蛇床子素，同时对 GSK3B、Bcl-2 的调节在治疗阿尔茨海默病中发挥重要作用。可以推测蛇床子活性成分可能通过调控 PI3K/Akt/GSK-3 β /p53 信号通路，或 Bcl-2/Caspase 3 信号通路发挥治疗作用。

综上所述，蛇床子中核心成分 β -谷甾醇、豆甾醇、邻-异戊酰基二氢山芹醇、O-乙酰二氢欧山芹酯、蛇床子素等可能通过 PI3K/Akt 信号通路、p53 信号通路和细胞凋亡等多种信号通路，作用于 Bcl-2、ESR1、PTGS2、GSK3B、CASP3 等靶点发挥作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 2023 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(4): 1598-1695.
- [2] Jia L F, Quan M N, Fu Y, et al. Dementia in China: Epidemiology, clinical management, and research advances [J]. *Lancet Neurol*, 2020, 19(1): 81-92.
- [3] Wang T. New drug research and development for Alzheimer's pathology: Present and prospect [J]. *Shanghai Arch Psychiatry*, 2017, 29(4): 237-239.
- [4] Weller J, Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment [J]. *F1000 Res*, 2018, 7:

- 1161.
- [5] 万素馨, 方伟. 阿尔茨海默病的治疗药物作用机制研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(12): 3406-3410.
- [6] 许海英, 曹玉爽, 袁庆, 等. 基于 TREM2 的抗阿尔茨海默病和缺血性脑卒中药物的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2024, 47(1): 191-196.
- [7] 袁诗农, 刘梦桐, 段绪红, 等. 蛇床子炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(3): 74-81.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 李莉, 宋琳, 安淑荣, 等. 基于网络药理学探讨金钗石斛和霍山石斛治疗阿尔茨海默病的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(8): 1919-1928.
- [11] 贾建平, 王舒衡. 阿尔茨海默病发病机制及治疗进展 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2023, 40(5): 387-390.
- [12] 刘长宁, 张立娟, 侯翰如, 等. 中成药治疗阿尔茨海默病的网状 Meta 分析 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6123-6138.
- [13] 张学凯, 时晶, 倪敬年, 等. 阿尔茨海默病证候级联假说探讨 [J]. 中医杂志, 2019, 60(9): 741-744.
- [14] 田斌, 瞿孝兰, 林义平, 等. 蛇床子化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药与临床, 2020, 11(1): 70-73.
- [15] Li S H, Gao P, Wang L T, *et al.* Osthole stimulated neural stem cells differentiation into neurons in an Alzheimer's disease cell model via upregulation of MicroRNA-9 and rescued the functional impairment of hippocampal neurons in APP/PS1 transgenic mice [J]. *Front Neurosci*, 2017, 11: 340.
- [16] 倪颖男, 王雅萌, 孔亮, 等. 蛇床子素对阿尔茨海默病小鼠脑内 tau 蛋白过度磷酸化及 PI3K/Akt/Gsk3 β 信号通路的影响 [J]. 中国新药杂志, 2019, 28(23): 2865-2871.
- [17] 汪帅, 孙宇, 李春梅, 等. 豆甾醇的研究进展概述 [J]. 中国药业, 2019, 28(23): 96-98.
- [18] Ayaz M, Junaid M, Ullah F, *et al.* Anti-Alzheimer's studies on β -sitosterol Isolated from *Polygonum hydropiper* L [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 697.
- [19] Hu Y, Hu X C, Lu Y L, *et al.* New strategy for reducing Tau aggregation cytologically by a hairpinlike molecular inhibitor, tannic acid encapsulated in liposome [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2020, 11(21): 3623-3634.
- [20] 王星烨, 孔祥日, 金梦丽, 等. β -谷甾醇对阿尔茨海默病模型小鼠认知功能的改善作用及其机制 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2023, 49(3): 599-607.
- [21] Pratiwi R, Nantasenamat C, Ruankham W, *et al.* Mechanisms and neuroprotective activities of stigmasterol against oxidative stress-induced neuronal cell death via sirtuin family [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 648995.
- [22] 董熠, 刘丽佳, 韩潞雯, 等. 香豆素类化学成分的药理作用及毒性机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(16): 5462-5472.
- [23] Brokatzky D, Dörflinger B, Haimovici A, *et al.* A non-death function of the mitochondrial apoptosis apparatus in immunity [J]. *EMBO J*, 2019, 38(11): e100907.
- [24] Louneva N, Cohen J W, Han L Y, *et al.* Caspase-3 is enriched in postsynaptic densities and increased in Alzheimer's disease [J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(5): 1488-1495.
- [25] Rogers C, Fernandes-Alnemri T, Mayes L, *et al.* Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14128.
- [26] Rohn T T, Vyas V, Hernandez-Estrada T, *et al.* Lack of pathology in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease after overexpression of the anti-apoptotic protein Bcl-2 [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(12): 3051-3059.
- [27] Cui S S, Jiang Q W, Chen S D. Sex difference in biological change and mechanism of Alzheimer's disease: From macro to micro-landscape [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 87: 101918.
- [28] Mishra P, Davies D A, Albeni B C. The interaction between NF- κ B and estrogen in Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60(3): 1515-1526.
- [29] Grimm A, Biliouris E E, Lang U E, *et al.* Sex hormone-related neurosteroids differentially rescue bioenergetic deficits induced by amyloid- β or hyperphosphorylated tau protein [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(1): 201-215.
- [30] McGeer P L, Rogers J, McGeer E G. Inflammation, antiinflammatory agents, and Alzheimer's disease: The last 22 years [J]. *J Alzheimers Dis*, 2016, 54(3): 853-857.
- [31] 王玥, 于嵩, 王旭. COX-2 特异性抑制剂罗非昔布对阿尔茨海默病 A β 沉积的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(6): 958-963.
- [32] Lauretti E, Dincer O, Praticò D. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2020, 1867(5): 118664.

[责任编辑 高源]