

基于网络药理学与体外实验验证岩藻甾醇抗阿尔茨海默病的作用机制

王思哲¹, 刘依佳¹, 刘 沙¹, 钟国栋¹, 朱 瑞¹, 许泽诚¹, 王相涵¹, 杨 君^{2*}

1. 成都医学院 药学院, 四川 成都 610500

2. 南部县人民医院, 四川 南充 637300

摘要: **目的** 通过网络药理学、分子对接、分子动力学模拟及体外实验揭示岩藻甾醇治疗阿尔茨海默病的潜在靶点与作用机制。**方法** 通过网络数据库筛选阿尔茨海默病相关靶点与预测药物靶点, 将获得的交集靶点取交集构建蛋白相互作用(PPI)网络并进行基因本体论(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析, 采用随后进行分子对接及动力学模拟, 通过 Western blotting 验证靶蛋白表达。**结果** 从数据库中筛选出 36 个交集靶点, PPI 网络分析获得 11 个核心靶点。GO 富集结果显示靶点参与脂肪酸代谢、脱氧核糖核酸调控等, KEGG 分析提示岩藻甾醇主要通过过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)及环磷酸腺苷(cAMP)信号通路发挥作用。分子对接表明, 岩藻甾醇与雌激素受体 1(ESR1)、细胞色素 P450 家族 19 亚家族 a 多肽 1(CYP19A1)结合稳定; 分子动力学模拟中二者的 RMSD 均小于 0.5 nm, 且在模拟过程中均存在氢键实现持续的相互作用。Western blotting 结果表明, 岩藻甾醇上调 ESR1、CYP19A1、PPAR 蛋白表达($P < 0.05$)。**结论** 岩藻甾醇可能作用于 ESR1、CYP19A1 等靶点, 通过激活 PPAR 信号通路发挥抗阿尔茨海默病作用。

关键词: 岩藻甾醇; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 分子动力学; 过氧化物酶体增殖物激活受体; 雌激素受体 1; P450 家族 19 亚家族 a 多肽 1

中图分类号: R286.1 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2026)04 - 0916 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.04.006

Mechanism of fucosterol against Alzheimer's disease based on network pharmacology and *in vitro* experiments

WANG Sizhe¹, LIU Yijia¹, LIU Sha¹, ZHONG Guodong¹, ZHU Rui¹, XU Zecheng¹, WANG Xianghan¹, YANG Jun²

1. School of Pharmaceutical Sciences, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

2. Nanbu People's Hospital, Nanchong 637300, China

Abstract: Objective To reveal the potential targets and mechanism of action of fucosterol in treatment of Alzheimer's disease by using network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation, and *in vitro* experiments. **Methods** To screen Alzheimer's disease-related targets and predicted drug targets through the network database, the intersecting targets obtained will be used to construct PPI network, and conduct GO and KEGG pathway enrichment analyses. To conduct molecular docking and kinetic simulation, and the expression of the target protein was verified by Western blotting. **Results** Thirty-six intersecting targets were screened from the database, and 11 core targets were obtained through PPI network analysis. GO enrichment revealed that the targets were involved in fatty acid metabolism and DNA regulation, and KEGG analysis suggested that fucosterol mainly functioned through PPAR and cAMP signalling pathways. The molecular docking showed that fucosterol binds stably to ESR1 and CYP19A1, the RMSD of both of them in molecular dynamics simulation was less than 0.5 nm. Hydrogen bonding existed in both of them to achieve the sustained interactions during the simulation process. Western blotting results showed that fucosterol down-regulated ESR1, CYP19A1, and PPAR protein expression. **Conclusion** Fagosterol may act on ESR1, CYP19A1 and other targets to exert anti-Alzheimer's disease effects by activating the PPAR signalling pathway.

Key words: fucosterol; Alzheimer's disease; network pharmacology; molecular dynamics; PPAR; ESR1; CYP19A1

收稿日期: 2026-02-01

基金项目: 四川省医学青年创新科研课题计划(Q22068); 成都市卫健委科研课题(2022237); 成都市科技局科技项目(2022-YF05-01457-SN); 成都医学院第二人民附属医院联合基金(2022LHFSZYB-05); 南部县人民医院联合基金(2022LHNBZYB/07)

作者简介: 王思哲, 男, 在读研究生, 放射性肠损伤。E-mail: 1103736856@qq.com

*通信作者: 杨 君, 男, 主治医师。E-mail: uni_daodao@126.com

阿尔茨海默病是一种发病隐匿的中枢神经系统退行性疾病，其发病率及患病人数逐年增加，给人们的生活和社会带来沉重的负担，已经成为亟待解决的一个世界难题^[1-3]。现代研究表明，阿尔茨海默病的可能的主要病理特征有 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 沉积、Tau 蛋白的过度磷酸化、乙酰胆碱递质减少、炎症反应等^[4-5]。针对以上靶点的研究已经成为热点，但仅能缓解症状，因此发现新的潜在靶点具有重要意义。近年来，天然产物因丰富的化学结构和潜在的药理活性，成为药物研发的重要来源。岩藻甾醇是一种从海洋藻类中提取分离的植物甾醇^[6]。近年来的研究表明岩藻甾醇具有抗胆碱能、抑制丁基胆碱酯酶活性、抗氧化等多种药理活性，提示其可能多靶点的干预阿尔茨海默病，为治疗阿尔茨海默病提供了新的可能^[7-11]。因此，本研究旨在通过网络药理学、分子对接、分子动力学^[12]模拟揭示岩藻甾醇治疗阿尔茨海默病的潜在靶点与作用机制。

1 网络药理学方法

1.1 岩藻甾醇靶点的获取

通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索岩藻甾醇并获取其化学结构式以及 SMILES 号，并对其进行结构优化优化后的。随后将 SMILES 号输入到 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中进行分析，预测岩藻甾醇可能结合的靶点。

1.2 疾病靶点的获取

通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 和 DisGeNET 数据库 (<https://www.disgenet.org/>) 检索 “Alzheimer’s disease”，获取阿尔茨海默病的相关靶点，选择 relevance score ≥ 10 的基因。对在两个数据库中所获得的疾病靶点进行过滤，整合获得的疾病靶点并删除重复基因，最终获得阿尔茨海默病靶点。

1.3 构建蛋白相互作用网络 (PPI)

使用 Venny 网站 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 获取的药物及阿尔茨海默病的交集靶点。将得到的交集靶点导入 String 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，设置物种为 “homo sapiens”，设置中等置信度 (score ≥ 0.400) 的蛋白关系构建 PPI 网络并分析交集靶点的相互作用关系。将分析结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件，利用 NetworkAnalyzer 工具计算网络关键拓扑参数，包括节点度值、介数中心性及聚类系数筛选核心靶点。

1.4 基因本体论 (GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

利用 DAVID 数据库 (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>) 对核心靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析。选择物种为 “home sapiens”，得到靶点相关的信号通路。

1.5 分子对接与结合模式分析

在 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载蛋白晶体结构 [PPARG (PDB ID 1i7i)、3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (HMGCR, PDB ID 1DQ8)、ESR1 (PDB ID 1A52)、CYP19A1 (PDB ID 3S7S)]。分别使用 PyMOL 和 AutoDock 软件对靶点蛋白和岩藻甾醇的结构进行分子对接前处理，去除结构中的冗余水分子及其他杂质原子，随后通过 AutoDock vina 对 Cytoscape 中排名前 4 位的核心靶点与岩藻甾醇进行分子对接，筛选对接分数小于 -7 kcal/mol ($1 \text{ cal} = 4.2 \text{ J}$) 的复合物，利用 PyMOL 和 Discover studio 软件进行可视化分析，包括氢键、疏水作用及 π - π 堆积等关键相互作用。

1.6 分子动力学模拟与结合稳定性评估

使用 Gromacs 2020.6 软件进行分子动力学模拟，探究核心靶点和岩藻甾醇结合的稳定性和结合模式，采用 Amber 20 力场，对蛋白质和分子进行力场参数化，对体系进行能量最小化，在系统平衡后，进行 100 ns 的动力学模拟。并对模拟轨迹进行分析，通过方根偏差 (RMSD) 分析描述模拟中每个时刻蛋白质的结构与初始结构的差异，判断复合物体系的稳定性；通过均方根涨落 (RMSF) 分析评估蛋白质模拟稳定之后的波动；通过溶剂可及表面积 (SASA) 分析推断疏水相互作用对体系稳定性的影响；通过氢键 (H-BOND) 分析计算复合物体系中氢键的数量、长度分布，判断体系的稳定性；结合自由能分析计算范德华力、静电能及溶剂化能对总结合能的贡献，评估药物与靶点结合的稳定性和亲和力。

2 实验验证

2.1 主要试剂及仪器

PC12 细胞 (中国上海富恒生物科技有限公司)；DMEM 培养基 (批号 6125526, 美国 Gibco 公司)；牛血清白蛋白 BSA (德国赛国生物科技有限公司)；辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) (中杉金桥生物技术有限公司)；青霉素 - 链霉素溶液 (浓度 1%，中国普罗普生物技术有限公司)；甘油醛-3-

磷酸脱氢酶 (GAPDH, AB0036)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ , 批号 Y6675)、磷酸化 cAMP 反应元件结合蛋白(p-CREB, 批号 CY5043)、雌激素受体 1(ESR1, 批号 CY5041)、细胞色素 P450 家族 19 亚家族 a 多肽 1 (CYP19A1, 批号 CY6731) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司); 化学发光 HRP 底物 (美国 Merck Millipore 公司)。

细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 生物安全柜 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Motic AE2000 倒置显微镜 (麦克奥迪实业集团有限公司); 台式冷冻离心机 (德国 Eppendorf); 移液器 (德国 Eppendorf)。

2.2 PC12 细胞培养及 Western blotting 检测

PC12 细胞以每孔 1×10^6 个细胞的密度接种于 6 孔板中, 在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养 24 h。使用乙醇配制岩藻甾醇母液, 用培养基稀释至 $5 \mu\text{mol/L}$ 后预孵育 12 h, 对照组及 A β 组添加等体积含乙醇培养基。细胞接种培养至一定密度后, 除含岩藻甾醇培养基, PBS 清洗后, 将 $100 \mu\text{mol/L}$ A β 寡聚体母液用培养基稀释至终浓度 $20 \mu\text{mol/L}$ ^[13], 以此制备含 A β 的培养基。实验另设置对照组 (不含 A β 的普通培养基)、A β 模型组 ($20 \mu\text{mol/L}$ A β 培养基), 两组细胞均置于培养箱中继续培养 24 h。随后, 提取蛋白, BCA 法定量蛋白浓度, 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白, 转移至 PVDF 膜封闭 30 min, 在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下与 PPAR γ (1:2 000)、p-CREB (1:2 000)、ESR1 (1:2 000)、CYP19A1 (1:2 000)、GAPDH (1:10 000) 一抗孵育过夜, 之后与二抗孵育 1 h。并用化学发光 HRP 底物检测蛋白条带。蛋白条带图像通过 ChemiDoc 系统捕获, 以 GAPDH 为内参对照并使用 Image J 软件进行灰度值定量分析。

2.3 统计学分析

采用 SPSS 统计软件进行统计分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 随后进行 Tukey 检验。

3 结果

3.1 药物与疾病靶点

通过 GeneCards 和 DisGeNET 数据库获取并删除重复值后获得阿尔茨海默病相关靶点 4 280 个, 通过 Swiss Target Prediction 数据库获得岩藻甾醇靶点 44 个, 二者交集靶点 36 个。通过 String 数据库获取 36 个靶点的 PPI (图 1A)。将 PPI 信息导入

Cytoscape 软件, 按度值对疾病靶点的重要程度进行排序, 筛选得到 11 个核心靶点 (图 1B、表 1)。

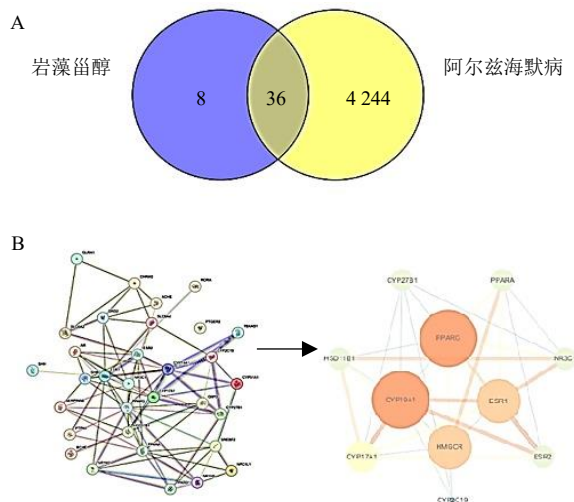


图 1 阿尔茨海默病与岩藻甾醇交集靶点 Venn 图 (A) 与 PPI 网络图 (B)

Fig. 1 Venn diagram of the interaction targets of Alzheimer's disease and fucosterol (A) and PPI network diagram (B)

表 1 基于 PPI 网络拓扑属性筛选的核心靶点
Table 1 Core targets screened based on topological properties of PPI network

靶点	度值	介数中心性	聚类系数
PPARG	18	188.925 774 20	0.023 255 814
ESR1	14	140.493 428 80	0.020 408 163
HMGCR	12	70.954 029 30	0.019 230 769
CYP19A1	11	55.891 386 39	0.019 607 843
NR3C1	9	52.935 714 29	0.018 867 925
CYP17A1	9	33.248 701 30	0.018 518 519
PPARA	9	69.206 105 01	0.018 430 769
ESR2	8	70.728 571 43	0.018 518 519
HSD11B1	8	66.952 525 25	0.017 241 379
CYP27B1	7	42.180 130 98	0.016 666 667
CYP2C19	7	47.881 096 68	0.016 393 443

3.2 GO 和 KEGG 富集分析

GO 富集分析中, 生物过程 (BP) 富集结果包括脂肪酸代谢过程的正调控、脱氧核糖核酸正调控等; 细胞组成 (CC) 的富集结果包括内质网膜及突触后膜等; 分子功能 (MF) 富集结果包括在脱氧核糖核酸结合区域、核糖核酸聚合酶 II 转录因子活性、配体激活序列特异性脱氧核糖核酸结合等, 见图 2。KEGG 通路富集分析共得到 9 条通路, 将结果进行可视化分析, 见图 3。岩藻甾醇可能影响阿尔茨海默病的通路包括化学致癌 - 受体激活通路、PPAR 信号通路、胰岛素抵抗通路、cAMP 信号通路等。

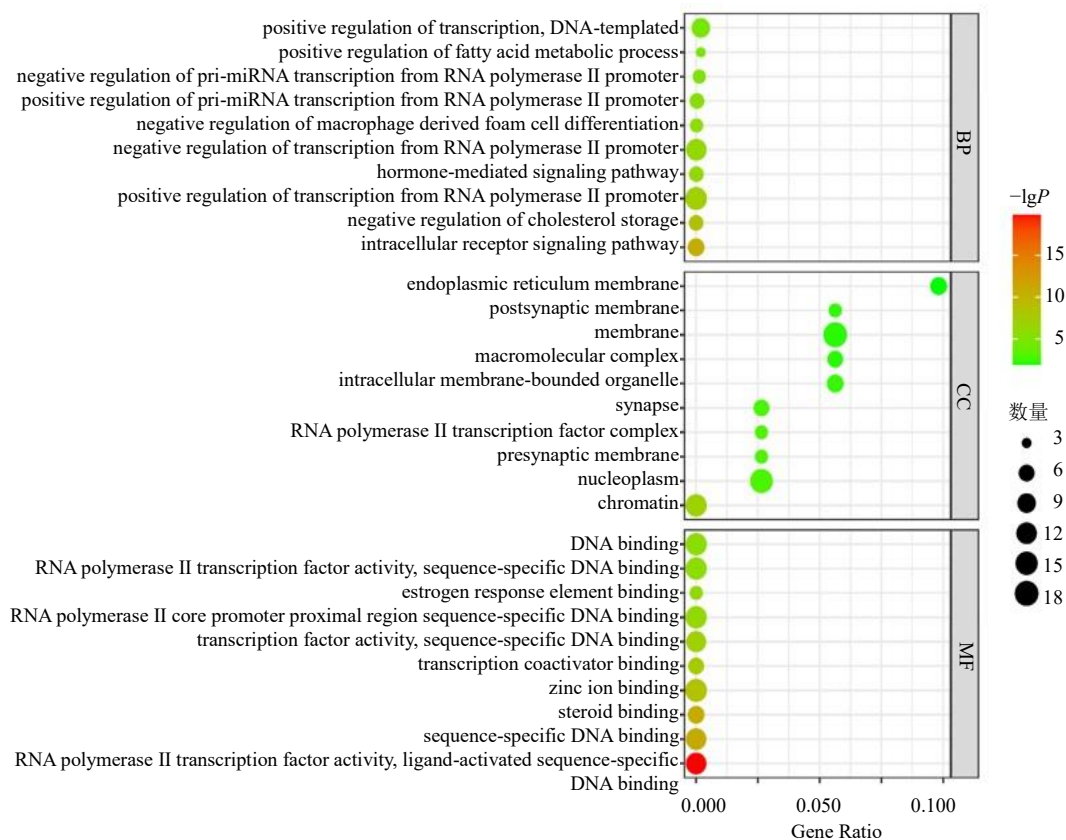


图 2 GO 功能富集分析图

Fig. 2 GO enrichment analysis diagram

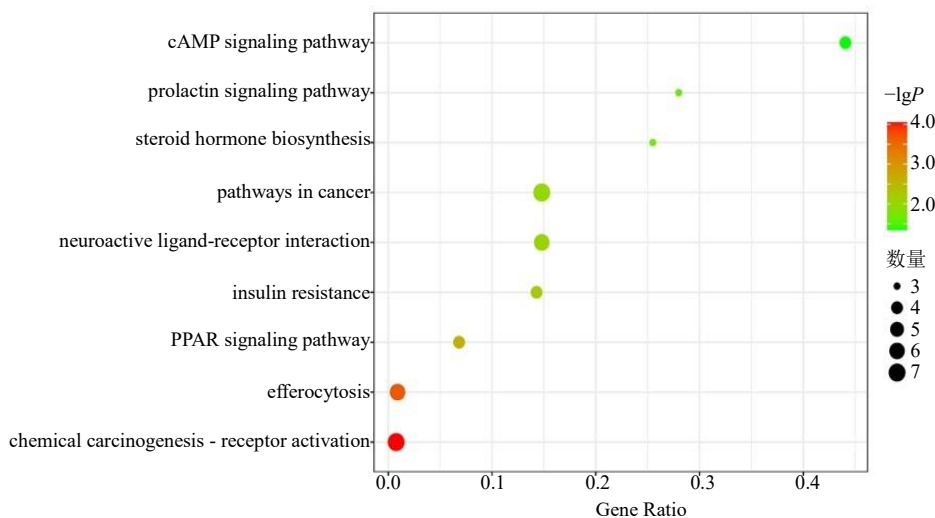


图 3 KEGG 通路富集分析图

Fig. 3 KEGG pathway enrichment analysis

3.3 分子对接及可视化

选择度值排名最高 4 个靶点 (PPARG、HMGR、ESR1、CYP19A1), 将其所编码的蛋白利用 Autodock vina 分别与岩藻甾醇进行分子对接, 并

计算对接分数, 见表 2。结果显示, ESR1 和 CYP19A1 与岩藻甾醇的结合更稳定。进一步使用 PyMOL 和 Discovery Studio 对 ESR1、CYP19A1 和岩藻甾醇复合物进行可视化分析, 见图 4。岩藻甾醇未与 ESR1

表 2 分子对接结果

靶点	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
PPAR γ	-6.2
HMGCR	-6.3
ESR1	-10.0
CYP19A1	-9.4

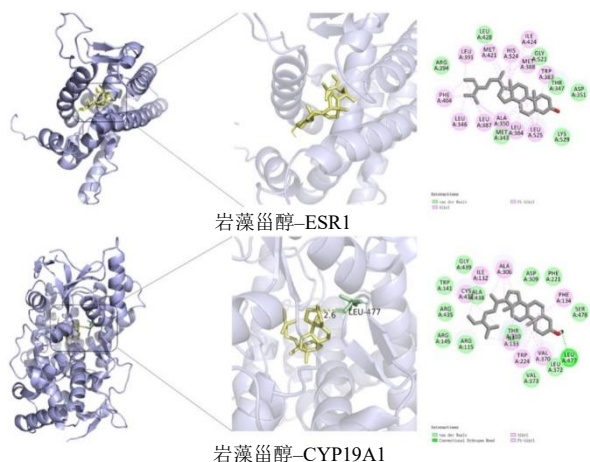


图 4 分子对接可视化图

Fig. 4 Visualization of molecular

中的氨基酸形成氢键，而与 CYP19A1 蛋白的 LEU-477 氨基酸形成氢键，岩藻甾醇与 ESR1、CYP19A1 的氨基酸残基能形成范德华力、 π -烷基等作用力。

3.4 分子动力学模拟

为了评估 ESR1 和 CYP19A1 与岩藻甾醇结合的稳定性，进行了分子动力学模拟，并对蛋白的模拟轨迹进行了 RMSD 分析。结果显示，ESR1 的 RMSD 值在模拟过程中逐渐趋于稳定，最终稳定在约 0.3 nm；而 CYP19A1 的 RMSD 值在约 0.2 nm 时达到平衡。两个体系的 RMSD 值均小于 0.5 nm，表明 ESR1 和 CYP19A1 均能与岩藻甾醇稳定结合。进一步比较发现，CYP19A1 的 RMSD 值波动幅度明显小于 ESR1，这表明 CYP19A1 在模拟过程中表现出更高的稳定性，见图 5。

在 RMSF 分析中，CYP19A1 中的 RMSF 值整体波动幅度较小，表明其结构在模拟过程中较为稳定，动态变化较少。相比之下，ESR1 的 RMSF 值在残基 300 附近以及 500~600 区域出现了明显的峰值，尤其是在接近残基 600 的位置，波动幅度超过了 1.0 nm。这些结果表明，ESR1 在这些区域可能存在较高的动态活性，而 CYP19A1 则表现出更高的整体结构稳定性。

在 SASA 分析中，ESR1 的曲线在 215 nm² 左右波动，表现出较高的溶剂暴露水平。相比之下，CYP19A1 的曲线从模拟开始时逐渐下降，最终下降到约 130 nm² 左右，表明 CYP19A1 与岩藻甾醇的结合导致蛋白质表面暴露在溶剂中的面积减少。

两种复合物的氢键长度主要在 0.3 nm 左右，且分布曲线相似，表明两种复合物中的氢键在空间距离上具有相似分布特征，进一步说明氢键在维持复合物结构稳定性方面发挥了重要作用。

ESR1 和 CYP19A1 与岩藻甾醇复合物在模拟过程中，两种复合物的氢键数量都保持在 1 左右，偶尔出现 2 个氢键的情况，表明氢键在整个模拟过程中相对稳定且连续，体系中始终存在一定数量的氢键。

3.5 结合自由能计算

通过 MM-PBSA 算法计算获得两个复合物体系的结合自由能，见表 3，两个复合物体系的结合自由能主要依赖范德华力和气相自由能，岩藻甾醇 - ESR1 和岩藻甾醇 - CYP19A1 的总结合自由能 -57.75、-54.2 kcal/mol 均为负值，进一步表明两个体系都能稳定结合。

3.6 Western blotting 检测

Western blotting 检测结果显示，与模型组相比。岩藻甾醇组 ESR1、CYP19A1、PPAR γ 的蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.05$)，见图 6。

4 讨论

阿尔茨海默病是一种慢性中枢神经退行性疾病，其主要病理特征包括 β -淀粉样蛋白斑块沉积、神经纤维缠结、神经元丢失和炎症反应等^[14-15]，多靶点药物的研发可能会在阿尔茨海默病治疗中发挥重要作用^[16-17]。本研究通过在公众数据库中筛选岩藻甾醇和阿尔茨海默病相关靶点，进一步筛选出 11 个核心靶点。通过 KEGG 通路富集分析显示，岩藻甾醇可能通过调控 PPAR、cAMP 等通路等途径对阿尔茨海默病产生治疗作用。

PPAR 信号通路的调控神经炎症和调节 A β 代谢作用在阿尔茨海默病中至关重要。研究表明，PPAR γ 的激活可抑制促炎因子的释放，增强胰岛素信号传导，减少 A β 沉积和 tau 磷酸化，并可以通过调节胆固醇外流抑制脑内胆固醇堆积对 A β 生成的促进作用^[18-20]。cAMP 信号通路在突触可塑性和记忆形成中起关键作用。研究表明，神经元膜胆固醇水平升高促进 β -分泌酶 (BACE1) 和 γ -分泌酶的活

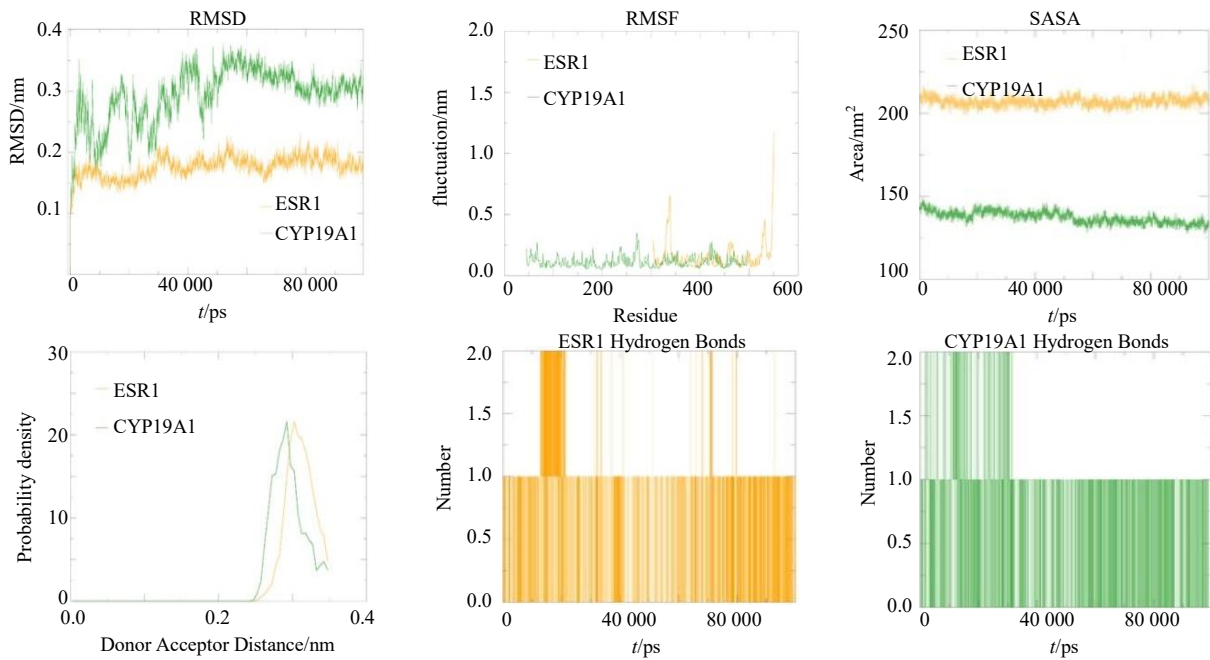


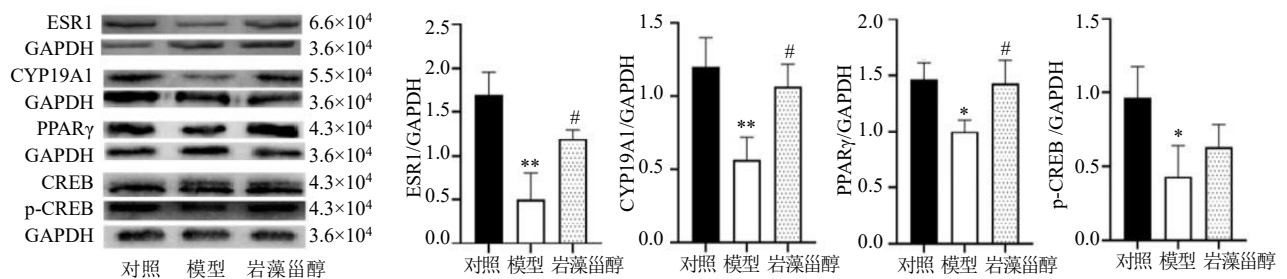
图 5 分子动力学模拟分析

Fig. 5 Molecular dynamics simulation analysis

表 3 结合自由能分析

Table 3 Binding free energy analysis

结合能	ESR1/(kcal·mol ⁻¹)	CYP19A1/(kcal·mol ⁻¹)
键变化	0.00	0.00
键角能变化	0.00	0.00
二面角能变化	0.00	0.00
范德华力	-59.80	-57.71
静电相互作用能变化	-2.00	-7.40
1-4 范德华力相互作用	0.00	0.00
1-4 静电相互作用	0.00	0.00
广义玻恩溶剂化能变化	11.21	17.96
表面能变化	-7.16	-7.06
气相自由能	-61.80	-65.10
溶剂化自由能变化	4.05	10.91
总结合自由能	-57.75	-54.20



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$.

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group.

图 6 岩藻甾醇对 ESR1、CYP19A1、PPAR γ 、p-CREB 蛋白的表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Effects of fucosterol on the protein expressions of ESR1, CYP19A1, PPAR γ , and p-CREB ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

性^[21-22], 增强淀粉样前体蛋白 (APP) 向 A β 42 (毒性形式) 的切割, 同时胆固醇通过激活糖原合成酶激酶-3 β , 促进 tau 蛋白过度磷酸化, 形成神经纤维缠结^[23-24]。而 HMGCR 作为胆固醇合成的限速酶, 直接调控脑内胆固醇代谢, 且 HMGCR 作为 PKA-C 磷酸化下游靶蛋白其含量受 cAMP 激活 PKA 释放 PKA-C 含量直接相关^[25-27]。然而, 本研究 Western blotting 结果显示岩藻甾醇对 cAMP 下游关键蛋白 p-CREB 的表达未产生显著影响。cAMP 信号通路虽在网络层面具有潜在关联, 但可能并非其主要作用通路。KEGG 富集分析反映的是潜在功能关联, 而非通路的直接激活, 且 cAMP 信号通路具有明显的时间相关性和动态调控特征, 其变化可能未在本研究检测时间点体现^[28]。此外岩藻甾醇可能通过调控胆固醇代谢或膜微结构间接影响 cAMP 信号传导, 而非直接作用于该通路核心分子。

研究表明, 绝经后女性阿尔茨海默病风险升高与雌激素水平骤降相关, 雌激素受体的活性、表达水平及分布的变化会引起大脑中雌激素的波动, 其可能是因为 BACE1 活性增高, 促进 A β 生成, 而阿尔茨海默病病情发展的一个重要的危险因素就是脑源性雌激素的下降, 雌激素在阿尔茨海默病的发病过程中具有保护作用, 能够减轻神经退化和炎症反应^[29-31]。类固醇激素生物合成通路中关键酶包括 CYP19A1。ESR1 属于核受体家族, 负责接收激素信号并调控基因表达, 属于下游的信号传导部分, 且 ESR1 为雌激素受体在中枢神经系统中广泛表达, 并参与调节神经元的生存、突触可塑性和神经炎症等多种生理过程^[32]。岩藻甾醇和 ESR1 结合可能模拟雌激素效应, 激活下游信号通路产生作用; CYP19A1 是雌激素生物合成的关键酶, 岩藻甾醇通过与 CYP19A1 结合, 可能促进雌激素合成, 调节中枢神经系统中的雌激素水平^[33]。所以本研究通过分子对接对筛选得到的前 4 个靶点进行静态对接, 结果显示 ESR1、CYP19A1 均能与岩藻甾醇产生良好的结合作用, 其中 CYP19A1 与岩藻甾醇形成氢键。随后本研究通过分子动力学模拟进一步验证 ESR1、CYP19A1 与岩藻甾醇的动态结合能力与稳定性。RMSD 分析可以描述模拟中每个时刻分子的结构与初始结构的差异, 当 RMSD 在一定范围波动达到收敛时, 认为分子的构型变化较小, ESR1 RMSD 稳定在 0.3 nm, CYP19A1 在 0.2 nm 达到平衡, 表明它们的构象均保持了较好的稳定性。RMSF

分析表示分子中各个原子的自由程度, 分析蛋白质模拟稳定之后的波动, CYP19A1 的 RMSF 值波动幅度较低, 显示其结构的稳定性以及较少的动态变化。ESR1 在残基 300 附近及 500~600 区域出现明显的 RMSF 峰值, 这些高波动区域的残基构象灵活性高, 可能位于蛋白质的功能位点。SASA 分析疏水相互作用, 值越小表明蛋白质的折叠态则就越完整, 体系的总溶剂可及表面积在模拟过程中相对稳定, 体系的暴露程度未发生明显变化, 体系结构保持较稳定状态^[34]。同时分子疏水区域与溶剂接触面积基本稳定, 疏水相互作用在模拟过程中未出现大幅变化。氢键在维持蛋白质结构的稳定性方面发挥重要作用, 氢键越多蛋白质结构则越稳定。而二级结构的变化会导致氢键数量的变化, 因此蛋白构象的变化程度也会影响氢键的数量, 体系中氢键总数随时间动态变化, 但体系中始终存在至少 1 对氢键作用对, 这进一步证实了体系在模拟过程中的结构稳定性。结合自由能分析利用 Amber 20 的 MM/PBSA 方法来完成, 计算范德华力、静电能及溶剂化能对总结合能的贡献^[35], 结合自由能分析的结果显示, ESR1 和 CYP19A1 与岩藻甾醇均有良好的动态结合能力。同时 Western blotting 结果进一步证明了岩藻甾醇对 ESR1、CYP19A1、PPAR γ 有调控作用, 验证了分子动力学结果。

研究表明, 岩藻甾醇通过调控 ESR1、CYP19A1 关键靶点, 干预 PPAR 信号通路, 产生缓解阿尔茨海默病的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Hua K Y, Zhao W J. Current study on diagnosis and treatment of Alzheimer's disease by targeting amyloid b-protein [J]. *Folia Neuropathol*, 2023, 61(1): 8-15.
- [2] Seltzer B. Cholinesterase inhibitors in the clinical management of Alzheimer's disease: Importance of early and persistent treatment [J]. *J Int Med Res*, 2006, 34(4): 339-347.
- [3] 裴金英, 温晶钰, 刘斌, 等. 中药成分 (组分) 治疗阿尔茨海默病作用及机制研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 48(10): 3003-3016.
- [4] 乔羽君, 魏琴, 陈海乐, 等. 受体相互作用蛋白激酶 1 介导的细胞程序性坏死与阿尔茨海默病 [J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2024, 33(10): 955-960.
- [5] Bishara M A, Chum P P, Miot F E L, et al. Molecular

- pathogenesis of Alzheimer's disease onset in a mouse model: Effects of cannabidiol treatment [J]. *Front Neurosci*, 2025, 19: 1667585.
- [6] Abdul Q A, Choi R J, Jung H A, *et al.* Health benefit of fucosterol from marine algae: A review [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(6): 1856-1866.
- [7] Jung H A, Jin S E, Ahn B R, *et al.* Anti-inflammatory activity of edible brown alga *Eisenia bicyclis* and its constituents fucosterol and phlorotannins in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 59: 199-206.
- [8] Kim K B W R, Kim M J, Ahn D H. Lipase inhibitory activity of chlorophylla, isofucosterol and saringosterol isolated from chloroform fraction of *Sargassum thunbergii* [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(16): 1310-1312.
- [9] Zhen X H, Quan Y C, Jiang H Y, *et al.* Fucosterol, a sterol extracted from *Sargassum fusiforme*, shows antidepressant and anticonvulsant effects [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 768:131-138.
- [10] Meinita M D N, Harwanto D, Tirtawijaya G, *et al.* Fucosterol of marine macroalgae: Bioactivity, safety and toxicity on organism [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(10): 5
- [11] 刘博洋. 基于网络药理学与分子对接研究岩藻甾醇治疗血管性痴呆的分子靶点与作用机制 [J]. *饮食保健*, 2022(24): 21-24.
- [12] 苏燃, 陈一镠, 易楚, 等. 整合数据挖掘、网络药理学、分子对接和分子动力学模拟探索延胡索用药规律与机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(14): 5135-5150.
- [13] Ryan D A, Narrow W C, Federoff H J, *et al.* An improved method for generating consistent soluble amyloid-beta oligomer preparations for *in vitro* neurotoxicity studies [J]. *J Neurosci Methods*, 2010, 190(2): 171-179.
- [14] Śliwińska S, Jeziorek M. The role of nutrition in Alzheimer's disease [J]. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 2021, 72(1): 29.
- [15] Oddo S, Caccamo A, Shepherd J D, *et al.* Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: Intracellular abeta and synaptic dysfunction [J]. *Neuron*, 2003, 39(3): 409-421.
- [16] Martins L B, Malheiros Silveira A L, Teixeira A L. The link between nutrition and Alzheimer's disease: From prevention to treatment [J]. *Neurodegener Dis Manag*, 2021, 11(2): 155-1
- [17] George N, Jawaid Akhtar M, Al Balushi K A, *et al.* Rational drug design strategies for the development of promising multi-target directed indole hybrids as Anti-Alzheimer agents [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 127: 1059
- [18] Soriguer F, Morcillo S, Cardona F, *et al.* Pro12Ala polymorphism of the PPAR γ 2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and peripheral insulin sensitivity in a population with a high intake of oleic acid [J]. *J Nutr*, 2006, 136(9): 2325-2330.
- [19] Huang J H, Xu Z W, Yu C S, *et al.* The volatile oil of *Acorus tatarinowii* Schott ameliorates Alzheimer's disease through improving insulin resistance via activating the PI3K/AKT pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 1561
- [20] Zhou C C, Wang X J, Li Z C, *et al.* Lead exposure in developmental ages promotes A β accumulation by disturbing A β transportation in blood-cerebrospinal fluid barrier/blood-brain barriers and impairing A β clearance in the liver [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2022, 200(8): 3702-3711.
- [21] Barbero E, Fernández, A, Fernández-Checa, J, *et al.* APP/PS1 transgenic mice overexpressing SREBP2 as a new model to study the pathogenic role of cholesterol in Alzheimer's disease (AD) [J]. *Alzheimer's Dementia*, 2011, 7(4): S517.
- [22] 张万东. 胆固醇代谢紊乱与阿尔兹海默氏老年性痴呆 [C]//第五届海内外华人神经科学家研讨会论文集. 2008: 487-503.
- [23] Ma H F, Lesne S, Kotilinek L, *et al.* Involvement of beta-site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) in amyloid precursor protein-mediated enhancement of memory and activity-dependent synaptic plasticity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(19): 8167-8172.
- [24] Yamamoto H, Kishida S, Ikeda S, *et al.* Phosphorylation of axin, a Wnt signal negative regulator, by glycogen synthase kinase-3 β regulates its stability [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(16): 10681-10684.
- [25] Yu C Y, Theusch E, Lo K, *et al.* HNRNPA1 regulates HMGR alternative splicing and modulates cellular cholesterol metabolism [J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(2): 319-332.
- [26] 鞠文君, 王端顺. CB 促微丝解聚对 cAMP-PKA 信号通路的作用 [J]. *科学通报*, 1995(17): 1605-1607.
- [27] Zhang L Z, Duan C J, Binkley C, *et al.* A transforming growth factor beta-induced Smad3/Smad4 complex directly activates protein kinase A [J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(5): 2169-2180.
- [28] Kandel E R. The molecular biology of memory: cAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB [J]. *Mol Brain*, 2012, 5: 14.
- [29] Dhapola R, Hota S S, Sarma P, *et al.* Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting neuroinflammation for Alzheimer's disease [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29(6): 1669-16
- [30] 刘纹琰, 刘晓璇. 雌激素与阿尔茨海默病 [J]. *国外医学: 计划生育/生殖健康分册*, 2006(5): 276-279.
- [31] 唐鹏. 雌激素在动脉粥样硬化发病过程中的作用与机制

- 研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2016.
- [32] Loven J, Zinin N, Wahlstroem T, *et al.* MYCN-regulated microRNAs repress estrogen receptor- α (ESR1) expression and neuronal differentiation in human neuroblastoma [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(4): 1553-1558.
- [33] Liu L L, Mo M, Chen X H, *et al.* Targeting inhibition of prognosis-related lipid metabolism genes including CYP19A1 enhances immunotherapeutic response in colon cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1):
- [34] 冯晨博, 马维强, 程润, 等. 机器学习在蛋白质疏水相相互作用模型研究中的应用 [J]. *南京大学学报: 自然科学*, 2023, 59(6): 919-927.
- [35] Zare F, Solhjoo A, Sadeghpour H, *et al.* Structure-based virtual screening, molecular docking, molecular dynamics simulation and MM/PBSA calculations towards identification of steroidal and non-steroidal selective glucocorticoid receptor modulators [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2023, 41(16): 7640-7650.

[责任编辑 高源]