

基于网络药理学、分子对接及分子动力学模拟探讨甘草查尔酮A治疗阿尔茨海默病的作用机制研究

李晴霞, 冯鑫, 康念欣, 姜宇, 栾雅格, 刘永刚*, 谭鹏*

北京中医药大学 中药学院, 北京市科委 中药生产过程控制与质量评价北京市重点实验室, 北京 102488

摘要: 目的 从分子层面探讨甘草查尔酮A治疗阿尔茨海默病(AD)的作用机制。方法 通过TCMSP、PharmMapper、SwissTargetPrediction、CTD及DisGeNET等数据库检索出甘草查尔酮A的作用靶点及其与AD相关的靶点的交集。利用Cytoscape 3.7.2软件的ClueGO功能对交集蛋白作KEGG通路富集分析。最终通过分子对接及分子动力学模拟方法从分子层面研究甘草查尔酮A作用于AD相关靶点的结合位点及结合能力。结果 甘草查尔酮A的作用靶点有128个, 其中与AD相关的靶点112个, 这些靶点涉及信号通路33条, 包括MicroRNAs in cancer、Serotonergic synapse及Cell cycle等, 从而构建出靶蛋白-靶蛋白相互作用(PPI)、单一成分-靶点-生物学通路网络。分子对接及分子动力学模拟结果显示, 甘草查尔酮A与PPI网络图中度值最高的20个靶蛋白均能很好地结合, 其中结合性最好的3个靶蛋白分别为视网膜母细胞瘤相关蛋白、环氧合酶2和丁酰胆碱酯酶。结论 从分子层面对甘草查尔酮A治疗AD作用机制进行初步探讨, 揭示潜在的生物学机制, 为其应用提供理论依据。

关键词: 甘草查尔酮A; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 分子对接; 分子动力学

中图分类号: R926 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)01-0071-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.01.008

Mechanism of licochalcone A in treatment of Alzheimer's disease on network pharmacology, molecular docking, and molecular dynamics simulation

LI Qingxia, FENG Xin, KANG Nianxin, JIANG Yu, LUAN Yage, LIU Yonggang, TAN Peng

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing Key Laboratory of TCM Production Process Control and Quality Evaluation, Beijing Science and Technology Commission, Beijing 102488, China

Abstract: **Objective** To explore the molecular mechanism of licochalcone A in the treatment of Alzheimer's disease. **Methods** A network pharmacology approach comprising compound target prediction, Alzheimer's disease genes collection, and network analysis has been used to explore the pharmacological mechanism of licochalcone A in the treatment of Alzheimer's disease. And the molecular docking and molecular dynamics simulation approaches were used to explore its molecular mechanism. **Results** A total of 128 potential drug targets were obtained according to the screening, 112 of which are related to Alzheimer's disease, such as Butyrylcholinesterase, Cyclooxygenase-2, Retinoblastoma-associated protein and so on. The results of molecular docking and molecular dynamics simulation revealed the binding mode of licochalcone A molecule with these proteins. Licochalcone A exerts its effects on Alzheimer's disease mainly by acting on 33 signal pathways, such as MicroRNAs in cancer, Serotonergic synapse, Cell cycle and so on. **Conclusion** The present investigation showing the pharmacological mechanism of licochalcone A in the treatment of Alzheimer's disease at the molecular level, lay a certain theoretical foundation of licorice chalcone A in the future.

Key words: licochalcone A; Alzheimer's disease; network pharmacology; molecular docking; molecular dynamics

甘草是非常有名的传统中药材,最早在公元前2100年就有记载^[1]。甘草有清热解毒、补脾益气、调和诸药的功效,在古代主要用于治疗脾胃虚弱、倦怠乏力、心悸气短、痈肿疮毒,缓解药物毒性和烈

收稿日期: 2021-05-23

基金项目: 科技部重大专项(2020071620211)

第一作者: 李晴霞(1997—),硕士生,研究方向为中药炮制机理研究。E-mail: liqingxia0702@163.com

*共同通信作者: 谭鹏(1980—),博士,副教授,研究方向为中药炮制机理研究。E-mail: tanpengtcm@163.com

刘永刚,博士,研究员,研究方向为中药化学。E-mail: liuyg0228@163.com

性。现代研究表明,甘草主要活性成分是三萜皂苷和黄酮类化合物,具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗癌、抗抑郁和增强记忆力等多种药理活性,预示了甘草在阿尔茨海默病(AD)、帕金森病、癫痫、抑郁等神经系统疾病上更好的开发和应用前景。

甘草根部的主要活性提取物——查尔酮,有抗肿瘤、抗氧化、抗胃溃疡等多种药理学作用^[2]。目前,大量研究表明甘草中大多数黄酮类及查尔酮类化合物有神经保护作用,具有治疗AD等神经退行性疾病的潜力^[3-5]。甘草查尔酮A是甘草的主要活性成分,有较为广泛的药理活性,包括抗菌、抗肿瘤、抗炎、抗寄生虫等^[6]。已有研究发现其可以通过减轻SIRT1/Nrf2途径的氧化应激损伤或抑制JNK1的表达,而起到神经保护作用^[7-8]。也有研究表明甘草查尔酮A可抑制小胶质细胞过度激活引发的炎症以阻止AD等神经退行性疾病进一步发展^[9]。因此甘草查尔酮A可能成为未来临床上治疗神经退行性疾病的潜在药物,本研究以AD为代表,从分子层面探讨甘草查尔酮A治疗AD的具体作用机制,为以后甘草查尔酮A在临床上的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 潜在靶点的预测和筛选

利用TCMSP、PharmMapper及SwissTargetPrediction平台进行甘草查尔酮A靶点蛋白的预测。所得的靶点需要输入Uniprot数据库,使用UniprotKB查询出靶蛋白对应靶基因的规范名称。

1.2 AD靶蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建

通过Comparative Toxicogenomics Database (CTD)、DisGeNET数据库找出与AD的相关基因。选取甘草查尔酮A成分作用靶点与AD相关基因的交集上传至在线STRING 10.0软件,获取PPI数据。将PPI数据导入Cytoscape 3.7.2软件构建交集蛋白相互作用网络图。

1.3 KEGG通路富集分析

将“1.2”项下筛选出的交集蛋白上传至Cytoscape 3.7.2软件,利用软件中的ClueGO功能进行KEGG通路富集分析。

1.4 成分-靶点-信号通路网络构建

将交集蛋白与KEGG富集出生物通路的关联信息,上传到Cytoscape 3.7.2软件中构建出甘草查尔酮A治疗AD的成分-靶点-通路网络图。

1.5 分子对接

从“1.2”项下得到的PPI网络中找出度值最高的20个蛋白,从RCSB PDB蛋白质结构数据库中找出各个蛋白所对应的晶体结构作为受体蛋白,再利用Automated Topology Builder (ATB)数据库查询出甘草查尔酮A的分子结构作为配体。采用AutoDock Tools软件对20个蛋白受体和配体进行常规处理后,再利用AutoDock vina软件^[10]分别进行分子对接,得到结合能。

1.6 分子动力学模拟

利用gromacs 5.0.4软件包^[11-12]对分子对接结果中与配体分子结合能最高的受体蛋白进行分子动力学模拟,得到其与配体的结合模式及结合能。其中受体蛋白采用gromacs自带的amber03力场^[13],配体分子采用ATB数据库提供的力场,水模型采用TIP3P水模型^[14]。将分子对接结果作为初始结构,先做能量最小化处理,再在真空条件下做500 ps分子动力学模拟,最后加入水溶液做20 ns的分子动力学模拟。模拟在NVT(恒定粒子数、恒定体积、恒定温度)条件下进行,温度设为26.85 °C。

2 结果

2.1 AD PPI网络构建

将TCMSP、PharmMapper及SwissTargetPrediction数据库查询得到的所有甘草查尔酮A潜在靶点,删除重复,整合得到128个作用靶点。所得的靶点输入Uniprot数据库中,使用UniprotKB查询出靶蛋白对应靶基因的规范名称。

在CTD及DisGeNET数据库中输入疾病名称——阿尔茨海默病,找出与AD相关的蛋白。再利用在线venny 2.0软件筛选得到112个既与AD相关又属于甘草查尔酮A靶点的交集蛋白。最后将112个交集蛋白上传至在线STRING 10.0软件,得到交集蛋白的相互作用关系。

将相互作用关系数据上传至Cytoscape 3.7.2软件,构建出AD的PPI网络图,见图1。图中包括112个存在相互作用的交集蛋白节点用正六边形表示,570条边。度值高的节点位于图的中心位置,相应节点的形状也更大。可以看出,与其他靶点有较多相互作用的靶点为表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、MAP激酶ERK2 (MAP kinase ERK2, MAPK1)、雌激素受体(estrogen receptor, ESR1)及雄激素受体(androgen receptor, AR)等。

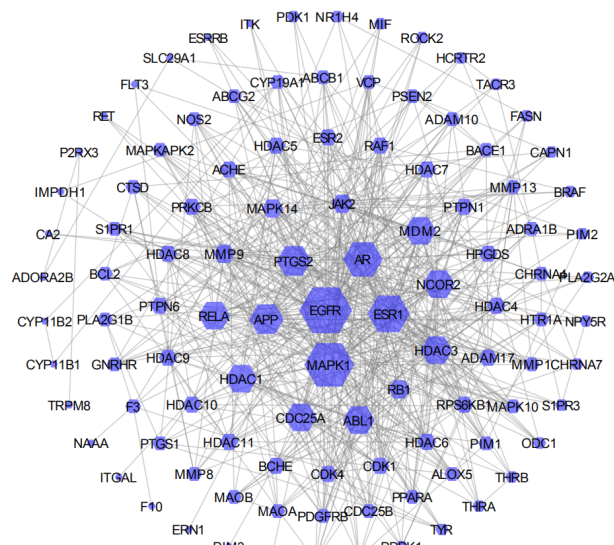


图1 AD PPI网络

Fig. 1 PPI network of AD

2.2 KEGG通路富集分析

利用 Cytoscape 3.7.2 软件中 ClueGO 功能对“2.1”项得到的 112 个交集蛋白进行 KEGG 通路富集分析。这些靶点共涉及 MicroRNAs in cancer、Serotonergic synapse 及 Cell cycle 等 33 条信号通路。这些信号通路与 AD 密切相关,具体信息见表 1 和图 2。说明甘草查尔酮 A 可能作用于这些代谢通路治疗 AD。

2.3 靶点-信号通路网络构建

将 KEGG 信号通路编号及靶点关联信息上传至 Cytoscape 3.7.2 软件构建出甘草查尔酮 A-作用靶点-代谢通路网络图,见图 3。图中中心位置节点表示甘草查尔酮 A;交集蛋白 62 个,用绿色圆形表示;信号通路 33 条,用蓝色矩形表示。度值越高的节点形状也越大。甘草查尔酮 A 的作用靶点分布在不同的信号通路,相互协调,通过调控不同的信号通路发挥治疗 AD 的作用。甘草查尔酮 A 治疗 AD 与 RELA、MDM2、RB1、EGFR 等 62 个靶蛋白存在较强的相互作用,通过网络富集发现这些靶点主要集中在 MicroRNAs in cancer、Serotonergic synapse 及 Cell cycle 等 33 条信号通路。

2.4 分子对接

将 PPI 网络中度值最高的 20 个蛋白作为受体蛋白分别与配体甘草查尔酮 A 利用 AutoDock vina 软件进行分子对接。分子对接得到各受体蛋白与配体分子结合能见表 2,可以看出甘草查尔酮 A 与这 20 个受体蛋白结合能均小于或等于 $-25.1 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$,说明甘草查尔酮 A 与这 20 个受体蛋白均能较好地结合。其中甘草查尔酮 A 与视网膜母细胞瘤相关蛋白 (Rb)、环氧合酶 2 (COX2) 和丁酰胆碱酯酶 (BuChE) 结合性最好。图 4-A、B、C 为甘草查尔酮 A 与这 3 个蛋白的分子对接结果。甘草查尔酮 A

表1 KEGG通路富集结果

Table 1 KEGG pathways for licochalcone A treatment of AD

ID	通路	ID	通路
KEGG:05200	Pathways in cancer	KEGG:05206	MicroRNAs in cancer
KEGG:04726	Serotonergic synapse	KEGG:05034	Alcoholism
KEGG:05203	Viral carcinogenesis	KEGG:04110	Cell cycle
KEGG:04218	Cellular senescence	KEGG:04914	Progesterone-mediated oocyte maturation
KEGG:05161	Hepatitis B	KEGG:05220	Chronic myeloid leukemia
KEGG:04071	Sphingolipid signaling pathway	KEGG:04722	Neurotrophin signaling pathway
KEGG:04914	Progesterone-mediated oocyte maturation	KEGG:04917	Prolactin signaling pathway
KEGG:04933	AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications	KEGG:05140	Leishmaniasis
KEGG:05161	Hepatitis B	KEGG:05212	Pancreatic cancer
KEGG:05215	Prostate cancer	KEGG:05223	Non-small cell lung cancer
KEGG:04110	Cell cycle	KEGG:04218	Cellular senescence
KEGG:04919	Thyroid hormone signaling pathway	KEGG:05161	Hepatitis B
KEGG:05205	Proteoglycans in cancer	KEGG:05212	Pancreatic cancer
KEGG:05214	Glioma	KEGG:05215	Prostate cancer
KEGG:05218	Melanoma	KEGG:05219	Bladder cancer
KEGG:05220	Chronic myeloid leukemia	KEGG:05221	Acute myeloid leukemia
KEGG:05223	Non-small cell lung cancer		

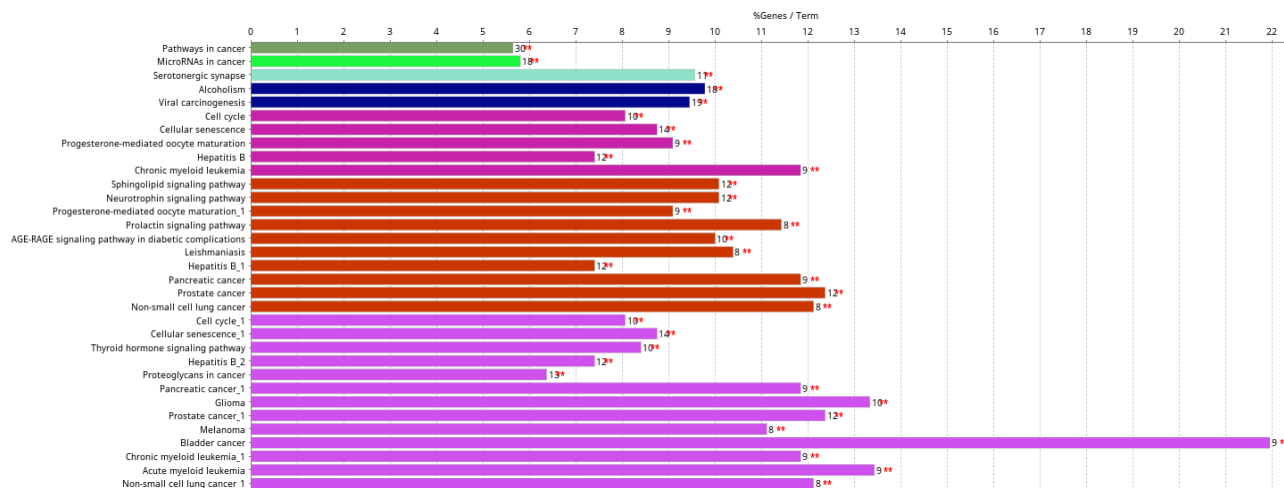


图2 甘草查尔酮A靶蛋白KEGG通路富集分析

Fig. 2 KEGG pathways analysis of potential targets for licochalcone A treatment of AD

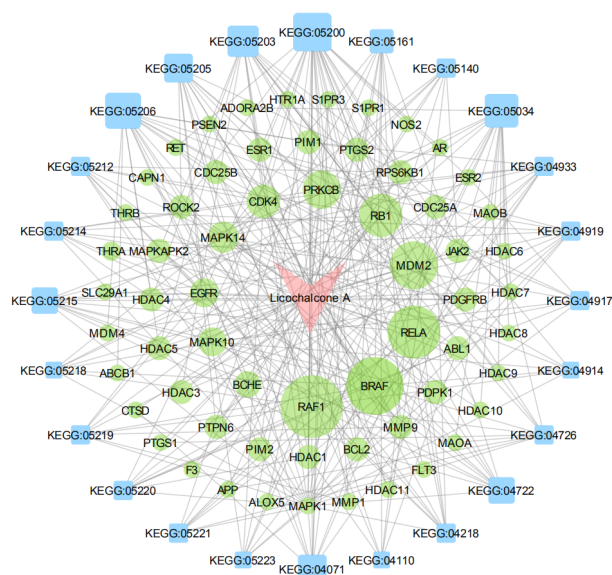


图3 甘草查尔酮A治疗AD成分-靶点-信号通路

Fig. 3 Network of drug ingredient-targets-pathways for licochalcone A treatment of AD

可以与Rb活性位点Ser 310、Pro 312, COX2活性位点His 388、Ala 202以及BuChE活性位点Glu 197、Tyr 128形成较强的相互作用。

2.5 分子动力学模拟

对以上分子对接结果中与甘草查尔酮 A 结合性最好的受体蛋白 BuChE 进行分子动力学模拟。模拟结果如图 4-D 所示, 甘草查尔酮 A 与 BuChE 活性位点 Glu 197、Tyr 128、Trp 82 以及 Asp 70 均可以形成较强的氢键相互作用, 这是促使其结合到活性位点的主要作用力。采用 MM-PBSA 法^[15-16]计算甘草查尔酮 A 与 BuChE 结合能为 $-137 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 表明甘草查尔酮 A 与 BuChE 较强的结合性。

3 讨论

本研究首先利用网络药理学^[17]初步探究了甘草查尔酮A治疗AD的作用靶点及相关联的生物学通路。利用 TCMSRP、PharmMapper、SwissTargetPrediction、CTD、DisGeNET 等数据库搜索发现,甘草查尔酮A共作用于128个靶点,在这128个靶点中有112个靶点与AD相关。将与AD相关靶点进行KEGG通路富集,结果发现这些靶点共涉及33条信号通路参与调控AD的病理过程。

通过分析甘草查尔酮 A-靶点-信号通路网络图,预测甘草查尔酮 A 可能通过与 Rb、COX2 和 BuChE 等 62 种 AD 相关靶点蛋白发生相互作用。Rb 是一种抑癌蛋白,其功能之一是通过抑制细胞周期进程直到细胞准备妥当来防止细胞过度生长。当细胞准备好要分裂时,Rb 会被磷酸化而失去抑制活性,从而使细胞周期进行下去。然而,Rb 的过度磷酸化会在 G₁ 到 S 细胞周期过渡诱导 E2F 蛋白的激活。相关研究表明,AD 患者的 pRb 水平明显升高^[18]。此外,AD 患者 E2F-1 的亚细胞分布发生了变化。说明 Rb 的过度磷酸化诱导 E2F 蛋白的激活在一定程度上会导致 AD 的发生。COX2 是一种酶,负责合成重要的生物激素——前列腺素家族的导介物质。当身体组织受到某种刺激如外伤、感染等会激活 COX2,使花生四烯酸大量转变为前列腺素。由 COX2 产生的前列腺素参与了人体不同组织的炎症和疼痛反应。相关研究发现,在阿尔茨海默病患者的大脑区域有明显增强的 COX-2 表达^[19]。该项研究表明,COX2 诱导的花生四烯酸代谢可能与 AD 的发病有关。BuChE 是一种非特异性胆碱酯酶,可

表2 分子对接结果

Table 2 Results of molecular docking

受体蛋白	基因	PDB ID	结合能/(kJ·mol ⁻¹)
丁酰胆碱酯酶(butrylcholinesterase)	<i>BCHE</i>	1XLW	-38.5
环氧合酶2(Cyclooxygenase-2)	<i>PTGS2</i>	5F1A	-37.3
视网膜母细胞瘤相关蛋白(Retinoblastoma-associated protein)	<i>RB1</i>	2QDJ	-33.9
雌激素受体(Estrogen receptor)	<i>ESR1</i>	3OS8	-31.8
β淀粉样A4蛋白(Beta amyloid A4 protein)	<i>APP</i>	1AAP	-30.1
丝裂原激活的蛋白激酶14(MAP kinase p38 alpha)	<i>MAPK14</i>	2NPQ	-30.1
酪氨酸蛋白激酶JAK2(Tyrosine-protein kinase JAK2)	<i>JAK2</i>	2B7A	-29.7
MAP激酶ERK2(MAP kinase ERK2)	<i>MAPK1</i>	2ERK	-29.3
酪氨酸蛋白激酶ABL(Tyrosine-protein kinase ABL)	<i>ABL1</i>	6BL8	-29.3
组蛋白脱乙酰酶3(Histone deacetylase 3)	<i>HDAC3</i>	4A69	-29.3
转录因子p65(Transcription factor p65)	<i>RELA</i>	3QXY	-29.3
核受体辅阻遏子2(Nuclear receptor corepressor 2)	<i>NCOR2</i>	4A69	-28.9
组蛋白脱乙酰酶1(Histone deacetylase 1)	<i>HDAC1</i>	4BKX	-28.0
细胞分裂蛋白激酶4(Cell division protein kinase)	<i>CDK4</i>	3G33	-28.0
组蛋白脱乙酰酶6(Histone deacetylase 6)	<i>HDAC6</i>	5KH3	-27.6
表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor erbB1)	<i>EGFR</i>	5EDR	-27.2
基质金属蛋白酶9(Matrix metalloproteinase 9)	<i>MMP9</i>	6ESM	-26.8
雄激素受体(Androgen receptor)	<i>AR</i>	2Q7K	-26.0
p53结合蛋白Mdm-2(p53-binding protein Mdm-2)	<i>MDM2</i>	1T4F	-26.0
双特异性磷酸酶Cdc25A(Dual specificity phosphatase Cdc25A)	<i>CDC25A</i>	1C25	-25.1

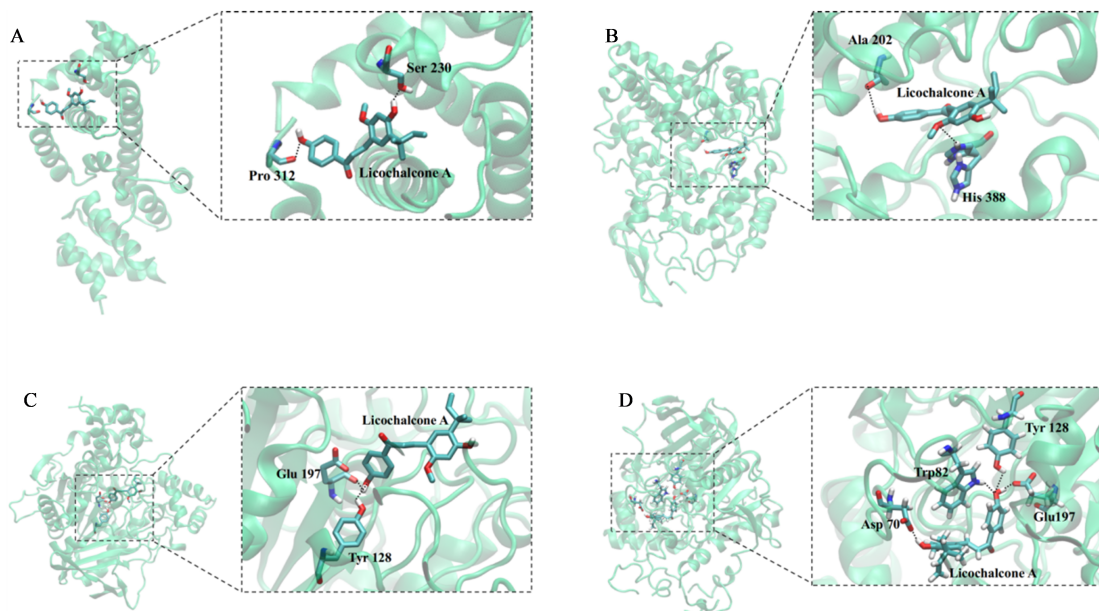


图4 甘草查尔酮A与Rb(A)、COX2(B)、BuChE(C)分子对接及与BuChE(D)分子动力学模拟(D)示意图

Fig. 4 Sketch map of molecular docking of retinoblastoma (A), cyclooxygenase-2 (B), butyrylcholinesterase (C) with licochalcone A, and dynamic simulation of butyrylcholinesterase (D) with licochalcone A

水解许多不同的基于胆碱的酯。它在肝脏中产生，主要存在于血浆中，并由 *BCHE* 基因编码。在健康的大脑中，乙酰胆碱酯酶(AChE)占主要地

位(80%)，而 BuChE 被认为在调节大脑 ACh 水平中起次要作用。在 AD 患者大脑中，BuChE 活性明显升高，而 AChE 活性保持不变或下降。相关研究表

明, BuChE 可能在突触性 ACh 水平的调节中对 AD 的病因起一定作用^[20-21]。通过网络富集发现这些靶点主要集中在 MicroRNAs in cancer、Serotonergic synapse 及 Cell cycle 等 33 条信号通路。相关研究也表明, AD 与以上信号通路密切相关^[22-24]。

将 PPI 网络中度值最高的 20 个蛋白作为受体蛋白分别与配体甘草查尔酮 A 进行分子对接, 结果表明, 甘草查尔酮 A 与这 20 个受体蛋白均能很好的结合, 其中结合性最好的 3 个受体蛋白为 Rb、COX2 和 BuChE。甘草查尔酮 A 可以与 Rb 活性位点 Ser 310、Pro 312, COX2 活性位点 His 388、Ala202 以及 BuChE 活性位点 Glu 197、Tyr 128 形成较强的相互作用。结合性最好的受体蛋白为 BuChE, 本研究对其进行了更准确的分子动力学模拟。模拟结果显示, 甘草查尔酮 A 与 BuChE 活性位点 Glu 197、Tyr 128、Trp 82 以及 Asp 70 均可以形成较强的氢键相互作用, 这是促使其结合到活性位点的主要作用力。相关实验研究表明, AD 的病发与这些靶点蛋白密切相关^[18-21], 本研究结果从分子层面说明了甘草查尔酮 A 可与这些靶点蛋白较好地结合, 为甘草查尔酮 A 治疗 AD 提供了理论依据。

本研究以甘草查尔酮 A 为研究对象, 首先通过网络药理学方法, 对甘草查尔酮 A 治疗 AD 的潜在作用靶点及信号通路进行了预测, 接下来通过分子对接和分子动力学模拟, 从分子层面说明了甘草查尔酮 A 治疗 AD 的作用机制, 为以后甘草查尔酮 A 在临床上的应用提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang L Q, Yang R, Yuan B C, et al. The antiviral and antimicrobial activities of licorice, a widely-used Chinese herb [J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(4): 310-315.
- [2] 张彦文. 查尔酮类化合物的药理作用和构效关系 [J]. 国外医学: 药学分册, 1996, 23(4): 218-223.
Zhang Y W. Pharmacological action and structure-activity relationship of chalcone compounds [J]. Foreign Med Sci Sect Pharm, 1996, 23(4): 218-223.
- [3] 张明发, 赵迎春, 沈雅琴. 甘草及其黄酮类化合物的神经保护作用 [J]. 抗感染药学, 2013, 10(3): 170-175.
Zhang M F, Zhao Y C, Shen Y Q. Research advances in neuroprotective effects of *Glycyrrhizae Radix* et rhizoma and its flavonoids [J]. Anti Infect Pharm, 2013, 10(3): 170-175.
- [4] Jiwrajka M, Phillips A, Butler M, et al. The plant-derived Chalcone 2, 2', 5'-trihydroxychalcone provides neuroprotection against toll-like receptor 4 triggered inflammation in microglia [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 6301712.
- [5] Al Rahim M, Nakajima A, Misawa N, et al. A novel diol-derivative of Chalcone produced by bioconversion, 3-(2, 3-dihydroxyphenyl) -1-phenylpropan-1-one, activates PKA/MEK/ERK signaling and antagonizes A β -inhibition of the cascade in cultured rat CNS neurons [J]. Eur J Pharmacol, 2008, 600(1/2/3): 10-17.
- [6] Park M R, Kim S G, Cho I A, et al. Licochalcone-A induces intrinsic and extrinsic apoptosis via ERK1/2 and p38 phosphorylation-mediated TRAIL expression in head and neck squamous carcinoma FaDu cells [J]. Food Chem Toxicol, 2015, 77: 34-43.
- [7] Liu X H, Ma Y, Wei X D, et al. Neuroprotective effect of licochalcone A against oxygen-glucose deprivation/reperfusion in rat primary cortical neurons by attenuating oxidative stress injury and inflammatory response via the SIRT1/Nrf2 pathway [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(4): 3210-3219.
- [8] Busquets O, Ettcheto M, Verdaguer E, et al. JNK $_1$ inhibition by licochalcone A leads to neuronal protection against excitotoxic insults derived of kainic acid [J]. Neuropharmacology, 2018, 131: 440-452.
- [9] 黄炳旭. 甘草查尔酮 A 对 LPS 诱导的小胶质细胞活化的影响及其机制 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
Huang B X. Mechanism for the effect of licochalcone A on LPS-induced microglia activation [D]. Changchun: Jilin University, 2016.
- [10] Trott O, Olson A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. J Comput Chem, 2010, 31(2): 455-461.
- [11] Berendsen H J C, Spoel D V D, Drunen R V. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation [J]. Comput Phys Commun, 1995, 91(1/2/3): 43-56.
- [12] Lindahl E, Hess B, van der Spoel D. GROMACS 3.0: A package for molecular simulation and trajectory analysis [J]. Mol Model Annu, 2001, 7(8): 306-317.
- [13] Duan Y, Wu C, Chowdhury S, et al. A point-charge force field for molecular mechanics simulations of proteins based on condensed-phase quantum mechanical calculations [J]. J Comput Chem, 2003, 24(16): 1999-2012.
- [14] Mark P, Nilsson L. Structure and dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E water models at 298 K [J]. J Phys Chem A, 2001, 105(43): 9954-9960.
- [15] Hou T J, Wang J M, Li Y Y, et al. Assessing the

- performance of the MM/PBSA and MM/GBSA methods. 1. the accuracy of binding free energy calculations based on molecular dynamics simulations [J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(1): 69-82.
- [16] Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2015, 10(5): 449-461.
- [17] 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.
- Niu M, Zhang S Q, Zhang B, et al. Interpretation of Network Pharmacology Evaluation Method Guidance [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [18] Ranganathan S, Scudiere S, Bowser R. Hyperphosphorylation of the retinoblastoma gene product and altered subcellular distribution of E2F-1 during Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis [J]. *J Alzheimer's Dis*, 2001, 3(4): 377-385.
- [19] Ma S L, Tang N L S, Zhang Y P, et al. Association of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2) polymorphisms and Alzheimer's disease in Chinese [J]. *Neurobiol Aging*, 2008, 29(6): 856-860.
- [20] Greig N H, Utsuki T, Yu Q, et al. A new therapeutic target in Alzheimer's disease treatment: Attention to butyrylcholinesterase [J]. *Curr Med Res Opin*, 2001, 17(3): 159-165.
- [21] Greig N H, Lahiri D K, Sambamurti K. Butyrylcholinesterase: An important new target in Alzheimer's disease therapy [J]. *Int Psychogeriatr*, 2002, 14(Suppl 1): 77-91.
- [22] Sandhu S, Garzon R. Potential applications of microRNAs in cancer diagnosis, prognosis, and treatment [J]. *Semin Oncol*, 2011, 38(6): 781-787.
- [23] Bowen D M, Allen S J, Benton J S, et al. Biochemical assessment of serotonergic and cholinergic dysfunction and cerebral atrophy in Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 1983, 41(1): 266-272.
- [24] Busser J, Geldmacher D S, Herrup K. Ectopic cell cycle proteins predict the sites of neuronal cell death in Alzheimer's disease brain [J]. *J Neurosci*, 1998, 18(8): 2801-2807.

[责任编辑 兰新新]