

基于网络药理学的南、北五味子治疗阿尔茨海默病作用机制比较研究

安淑荣¹, 宋琳^{2*}, 李莉¹, 朴钟源^{3*}, 楚魏¹, 练依彤²

1. 黑龙江中医药大学 基础医学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 惠州学院 生命科学学院, 广东 惠州 516007

3. 惠州市第三人民医院 广州医科大学附属惠州医院 神经内科, 广东 惠州 516002

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接技术探究南五味子与北五味子治疗阿尔茨海默病(AD)的作用机制异同。方法 通过中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)和已发表的文献筛选南、北五味子的活性成分, 利用Swiss Target Prediction、OMIM、GeneCards数据库获得AD相关疾病靶点, 通过Cytoscape 3.9.1绘制“药物-活性成分-交集靶点”网络图。利用Venny 2.1筛选共性和特有靶点, 通过String数据库、Cytoscape 3.9.1构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络, 利用Cytoscape 3.9.1的CytoNCA工具进行靶点拓扑分析筛选关键靶点, Metascape平台对共性和特有靶点进行基因本体(GO)功能及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用AutoDock Vina对核心活性成分和关键靶点进行分子对接验证。**结果** 筛选出南五味子活性成分15个, 北五味子活性成分13个, 二者治疗AD共性靶点235个, 南五味子治疗AD特有靶点137个, 北五味子治疗AD特有靶点69个。PI3K-Akt信号通路、神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、MAPK信号通路等为南、北五味子治疗AD共性信号通路, Th17细胞分化、PPAR信号通路等为南五味子治疗AD特有调控信号通路, cGMP-PKG信号通路、趋化因子信号通路等为北五味子治疗AD特有调控信号通路。分子对接结果显示, 南五味子核心活性成分五味子醇甲、五味子甲素、五味子酯甲、新南五味子木脂宁、新杜松烷酸B与关键靶点CASP3、ESR1、HIF1A, 北五味子核心活性成分五味子醇甲、五味子甲素、五味子酯甲、脱氧三尖杉酯碱、五味子醇乙与关键靶点ADRB2、SLC6A4、ADRBK1均具有较好的结合活性。**结论** 南、北五味子由于产地不同, 活性成分及治疗AD靶点既有相同也有不同, 南、北五味子能通过共有及各自特有靶点发挥治疗AD作用。

关键词: 南五味子; 北五味子; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 五味子醇甲; 五味子甲素; 五味子酯甲

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2024)01-0026-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.01.004

Comparative study on mechanism of *Schisandra sphenanthera* and *Schisandra chinensis* in treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology

AN Shurong¹, SONG Lin², LI Li¹, PIAO Zhongyuan³, CHU Wei¹, LIAN Yitong²

1. School of Basic Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. School of Life Sciences, Huizhou University, Huizhou 516007, China

3. Department of Neurology, Huizhou Third People's Hospital, Huizhou Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University, Huizhou 516002, China

Abstract: Objective To explore the similarities and differences between the mechanism of *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. and *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. in treatment of Alzheimer's disease (AD) based on network pharmacology and molecular docking techniques. **Methods** The active components of *S. sphenanthera* and *S. chinensis* were screened from the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database (TCMSP) and published literature, access to drug and disease targets using the Swiss Target Prediction, OMIM, GeneCards databases, and draw the network diagram of "drug-active component-intersection

收稿日期: 2023-07-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81673860); 广州医科大学科研能力提升计划项目(广医发[2023]16号)

第一作者: 安淑荣(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治阿尔茨海默病机制。E-mail: anshurong032@163.com

*共同通信作者: 宋琳(1975—), 女, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为中医药防治阿尔茨海默病机制。E-mail: drsonglin@163.com

朴钟源(1974—), 男, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为认知障碍相关疾病机制及药物干预研究。

E-mail: piaozhongyuan@126.com

target" by Cytoscape 3.9.1. Venny 2.1 was used to screen common and unique targets. Protein-protein interaction (PPI) network was constructed by String database and Cytoscape 3.9.1. CytoNCA tool of Cytoscape 3.9.1 was used to screen key targets by target topology analysis. The Metascape platform performs GO functional and KEGG pathway enrichment analysis for common and unique targets. Finally, AutoDock Vina was used to verify the molecular docking of core active components and key targets. **Results** There were 15 active components of *S. sphenanthera*, 13 active components of *S. chinensis*, there are 235 common targets for treating AD, 137 unique targets of *S. sphenanthera* for treating AD, and 69 unique targets of *S. chinensis* for treating AD. The PI3K-Akt signaling pathway, neuroactive ligand-receptor interaction, calcium signaling pathway and MAPK signaling pathway were common signal pathways of *S. sphenanthera* and *S. chinensis* in treating AD. Th17 cell differentiation and PPAR signaling pathway were the unique regulatory signal pathways of *S. sphenanthera* in treating AD. The cGMP-PKG signaling pathway and chemokine signaling pathway were the unique regulatory signal pathways of *S. chinensis* in treating AD. Molecular docking results showed that *S. sphenanthera* core active components schisandrin, schisandrin A, schisantherin A, neokadsuranin and neokadsuranic acid B had good binding activity with key targets CASP3, ESR1 and HIF1A. *S. chinensis* core active components schisandrin, schisandrin A, schisantherin A, deoxyharringtonine and gomisin A had good binding activity with key targets ADRB2, SLC6A4 and ADRBK1. **Conclusion** Due to the different origins of *S. sphenanthera* and *S. chinensis*, the active components and therapeutic AD targets are both the similarities and differences. *S. sphenanthera* and *S. chinensis* can play a role in the treatment of AD through their common and respective unique targets.

Key words: *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.; *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.; Alzheimer's disease; network pharmacology; schisandrin; schisandrin A; schisantherin A

阿尔茨海默病(AD)是一种进行性神经退行性疾病,以记忆减退、认知障碍、行为损害、日常生活功能丧失为主要特征^[1]。目前AD的治疗研究多与典型组织病理学、皮质淀粉样蛋白斑块、神经纤维缠结和家族性AD相关的突变有关^[2],同时,AD患者可能出现星形胶质细胞增生、炎症反应、神经元营养不良等病理特征^[3]。随着人类寿命延长和人口老龄化,全球AD的发病率预计持续增长。调查表明^[4],在2050年全球AD的发病人数将超过1亿人次,且AD的发病率在65岁以上的老年人中急剧增加。AD对患者生存质量产生影响的同时也加剧家庭和社会负担。因此,对AD的防治策略亟待进一步研究。

五味子最早记载于《神农本草经》中,列为上品^[5]。《中国药典》2020年版^[6]中,将南、北五味子收录为2种不同的药物,二者是木兰科中2种高度相似的植物,南五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils. 主产于中国岷山和秦岭山脉等地带,北五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 主产于中国东北地区。五味子作为收敛剂、镇静剂、适应剂和滋补剂,在中药应用中发挥重要作用,同时具有多种药理功效,如抗炎、降血糖、免疫调节、镇咳平喘及对中枢神经系统和心血管系统的调节作用等^[7]。现代科学分析研究结果显示,南、北五味子的化学成分及含量存在较大差异,南五味子主要含有木脂素和三萜类成分,北五味子主要含有木脂素、有机酸和糖苷类成分,研究发现,五味子酮、安五脂素、华

中五脂素和3种2,5二芳基四氢呋喃木脂素为南五味子所特有的木脂素,南五味子中还分离得到3种三萜类化合物:五味子酸、安五酸和schisanol,北五味子中目前未发现三萜类成分^[8],李晓亮等^[9]通过建立HPLC指纹图谱分析发现,南、北五味子存在显著差异,五味子酯甲、五味子甲素在南五味子中含量相对较高,而五味子醇甲在北五味子中含量远高于南五味子。目前,《中国药典》中南、北五味子功效相同,但科学研究发现二者成分存在比较显著的差异,可能会带来功效的差异,目前临床应用中,南、北五味子并没有完全区分开,均以五味子入药。为了更精准合理使用五味子药材,对南、北五味子的成分、药理作用及作用机制等进行深入对比研究非常必要,具有现实指导意义。

网络药理学是通过整合系统生理学和药理学,从系统、整体的角度预测药物治疗疾病作用机制的一门新兴学科^[10-11]。这一方法与中医运用整体观念治疗疾病的思路极具相似性,故此,网络药理学技术与中医药研究的关系更为密切,能够更基础、更科学地解释中药复方的药理作用及作用机制^[12]。本研究通过网络药理学方法探讨南、北五味子治疗AD的作用机制异同,并通过分子对接技术验证预测结果,为临床应用提供理论支撑。

1 方法

1.1 南、北五味子活性成分筛选与靶点预测

通过中药系统药理学数据库及分析平台TCMSP^[13](<https://tcmsp-e.com>)检索南、北五味子

的所有化学成分,根据口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18和血脑屏障通透性(BBB)≥-0.3,以3个吸收、分布、代谢与排泄(ADME)属性值分别筛选南、北五味子的活性成分。同时基于文献检索,有些成分虽不符合上述筛选标准,但文献中表述其治疗AD有重要作用,因此也被列入活性成分。例如,五味子醇甲(schisandrin)通过抑制NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白1(NLRP1)炎症小体介导的神经元焦亡和神经元凋亡,从而有效地改善AD小鼠的认知能力^[14];五味子甲素(schisandrin A)通过对小胶质细胞极化的调节,从而缓解AD小鼠的认知障碍,抑制其脑组织凋亡,证实五味子甲素对AD具有神经保护作用^[15];五味子乙素(schisandrin B)能够减轻Aβ造成的细胞损伤,改善模型小鼠的记忆能力,是潜在的ATP竞争糖原合成酶激酶-3β(GSK-3β)抑制剂,发挥其抗AD作用^[16];五味子酯甲(schisantherin A)能够减轻Aβ₁₋₄₂诱导的认知障碍、恢复机体氧化应激、改善神经退行性变^[17];五味子酚(schisanhenol)通过调控沉默信息调节因子相关酶1(SIRT1)-过氧化物酶体增殖活化受体γ共激活因子1α(PGC1α)信号通路,抑制tau磷酸化,减轻东莨菪碱引起的氧化损伤和记忆障碍^[18];五味子酮(schisandrone)存在于华中五味子中,通过降低AD样大鼠海马内白细胞介素-1β(IL-1β)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的转录水平^[19]和大脑海马内核因子-κB(NF-κB)及iNOS的蛋白表达,从而发挥在AD发病中的保护作用^[20]。

使用PubChem数据库(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>)检索各活性成分Canonical SMILES序列号,在Swiss Target Prediction数据库^[21](<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)预测南、北五味子各活性成分的作用靶点。

1.2 AD相关靶点筛选

以“Alzheimer's disease”为关键词输入OMIM数据库^[22](<https://omim.org>)和GeneCards数据库^[23](<https://www.genecards.org>)中进行检索,根据“Relevance score”>中位值对GeneCards数据库进行筛选,合并去重后获得最终AD的相关靶点,将其与“1.1”项获得的中药活性成分的作用靶点取交集,获得交集靶点,利用Venny 2.1(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)绘制南、北五味子的活性成分靶点和AD疾病相关靶点韦恩图。

1.3 “南、北五味子-活性成分-交集靶点”网络构建

将交集靶点、南五味子、北五味子及其对应活性成分导入Cytoscape 3.9.1软件中,构建“南、北五味子-活性成分-交集靶点”网络图,分析南、北五味子活性成分与交集靶点之间的关系。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建

将交集靶点导入String数据库(<https://cn.string-db.org>),物种选择“Homo sapiens”,以medium confidence>0.4设置最小交互要求阈值,并隐藏游离蛋白,获得PPI网络“TSV”文件并导入至Cytoscape 3.9.1软件,利用CytoNCA插件,计算各节点的度中心性(DC)、中介中心性(BC)、接近中心性(CC)、特征向量中心性(EC)、局部平均中心性(LAC)和网络中心性(NC),选取数值均大于中位数的靶点作为关键靶点,绘制PPI网络图^[24]。

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

将交集靶点导入Metascape平台(<http://metascape.org>)进行GO功能富集和KEGG通路富集分析,物种设置“Homo sapiens”,筛选标准为P<0.01。将富集结果通过微生信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn>)对主要生物过程和代谢途径进行可视化,分析所涉及的主要生物学过程和信号通路。

1.6 活性成分与关键靶点分子对接

利用PubChem数据库获取活性成分的SDF结构文件,并通过Open Babel软件转化为Mol2格式,利用RCSB PDB数据库(<https://www.rcsb.org>)检索并下载关键靶点的3D结构。导入AutoDock Tools 1.5.6软件对蛋白受体进行去水、加氢等步骤,导出为pdbqt文件;对小分子配体进行结构修饰,导出为pdbqt文件。设置对接参数及对接范围,运用Auto Dock Vina对活性成分和关键靶点进行分子对接。保存最低结合能构象,使用Pymol软件显示相应可视化结果,利用GraphPad Prism 8软件构建结合能热图。

2 结果

2.1 南、北五味子活性成分和作用靶点

在TCMSP数据库检索得到南五味子的全部化学成分共39个,北五味子的全部化学成分共130个。以OB、DL和BBB值作为筛选条件及文献补充,得到南五味子活性成分15个(表1),北五味子活性成分13个(表2)。Swiss Target Prediction数据库预测、整理去重后南五味子得到460个作用靶点,北

表 1 南五味子的活性成分信息
Table 1 Information of active components of *S. sphenanthera*

成分名称	类型	OB/%	DL	BBB
新杜松烷酸 A(neokadsuranic acid A)	三萜	43.35	0.85	0
新杜松烷酸 B(neokadsuranic acid B)	三萜	43.10	0.85	0.12
南五味子内酯(kadsulactone)	三萜	42.87	0.76	0.53
五味子内酯 A(schisanlactone A)	三萜	42.17	0.86	0.24
五味子内酯 E(schisanlactone E)	三萜	40.83	0.84	-0.16
五味子酸(schizandronic acid)	三萜	40.45	0.82	-0.18
新南五味子木脂宁(neokadsuranin)	木脂素	33.35	0.88	0.56
内南五味子酯乙(interiotherin B)	木脂素	31.76	0.77	0
香蒲木脂素 B(kadsulignan B)	木脂素	30.63	0.84	-0.23
五味子醇甲(schisandrin)	木脂素	7.69	0.66	0.10
五味子甲素(schisandrin A)	木脂素	8.30	0.79	0.55
五味子乙素(schisandrin B)	木脂素	20.16	0.69	0.75
五味子酯甲(schisantherin A)	木脂素	7.56	0.45	0.82
五味子酚(schisanhenol)	木脂素	8.02	0.69	0.59
五味子酮(schisandrone)	木脂素	—	—	—

表 2 北五味子的活性成分信息
Table 2 Information of active components of *S. chinensis*

成分名称	类型	OB/%	DL	BBB
长管贝壳杉素 A(longikaurin A)	二萜	47.72	0.53	0.09
五味子丙素(wuweizisu C)	木脂素	46.27	0.84	0.50
脱氧三尖杉酯碱(deoxyharringtonine)	生物碱	39.27	0.81	-0.25
戈米辛 R(gomisin R)	木脂素	34.84	0.86	0.04
戈米辛 G(gomisin G)	木脂素	32.68	0.83	0.16
当归酰基戈米辛 O(angelylgomisin O)	木脂素	31.97	0.85	0.41
五味子酯乙(schizandrer B)	木脂素	30.71	0.83	0.15
五味子醇乙(gomisin-A)	木脂素	30.69	0.78	-0.02
五味子醇甲(schisandrin)	木脂素	7.69	0.66	0.10
五味子甲素(schisandrin A)	木脂素	8.30	0.79	0.55
五味子乙素(schisandrin B)	木脂素	20.16	0.69	0.75
五味子酯甲(schisantherin A)	木脂素	7.56	0.45	0.82
五味子酚(schisanhenol)	木脂素	8.02	0.69	0.59

五味子得到 373 个作用靶点。

2.2 AD 相关靶点的获得

在 OMIM 和 GeneCards 数据库检索、筛选后共得到与 AD 相关的 6 829 个靶点。与南、北五味子成分靶点进行对比分析得到,南五味子治疗 AD 靶点 372 个,北五味子治疗 AD 靶点 304 个,两者治疗 AD 交集靶点 235 个,南五味子治疗 AD 特有靶点 137 个,北五味子治疗 AD 特有靶点 69 个,靶点韦恩图见图 1。

2.3 “南、北五味子-活性成分-交集靶点”网络分析
基于 Cytoscape3.9.1 软件构建“南、北五味子-活

性成分-交集靶点”网络图(图 2),所构建的网络中包含 466 个节点,1 619 条相互作用关系。其中,图形颜色越深表示度值(degree)越大,菱形表示药物名称,圆形表示药物活性成分,长方形表示药物-疾病的交集靶点,连线表示药物、活性成分、靶点之间的相互作用关系。

2.4 PPI 网络分析

将利用 String 数据库获取的 PPI 网络“TSV”文件导入 Cytoscape 3.9.1 软件后,通过 CytoNCA 插件对关键靶点进行筛选,并绘制关键靶点 PPI 网络图,

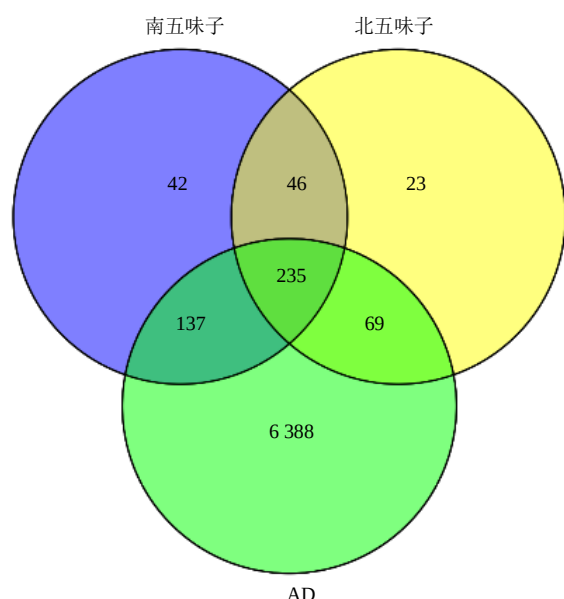


图 1 南、北五味子治疗 AD 交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of intersecting targets of *S. spenantha* and *S. chinensis* in treating AD

圆形面积越大、颜色越趋近深色表示度值 (degree) 越大。南、北五味子治疗 AD 共性靶点 PPI 网络图共有 235 个节点, 2 799 条相互作用关系, 利用 CytoNCA 插件筛选后获得关键靶点 71 个 (图 3-A)。

关键靶点中度值排名前列的靶点为 AKT1、TNF、SRC、EGFR、HSP90AA1。南五味子治疗 AD 特有靶点网络图共有 137 个节点, 493 条相互作用关系, 将 CytoNCA 插件筛选后获得的关键靶点绘制网络图 (图 3-B), 关键靶点中度值排名前列靶点为 CASP3、ESR1、HIF1A。北五味子治疗 AD 特有靶点网络图共有 69 个节点, 103 条相互作用关系, 将 CytoNCA 插件筛选后获得的关键靶点绘制网络图 (图 3-C)。关键靶点中度值排名前列靶点为 ADRB2、SLC6A4、ADRBK1。

2.5 南、北五味子治疗 AD 共性靶点 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

利用 Metascape 平台对南、北五味子治疗 AD 共性靶点进行 GO 功能富集分析, 根据 *P* 值筛选排名前 10 条目进行可视化分析 (图 4-A)。GO 富集分析产生了 2 129 条生物过程 (BP), 151 条细胞组分 (CC), 229 条分子功能 (MF)。共性靶点对蛋白质磷酸化、细胞对氮化合物的反应等 BP, 膜筏、膜微结构域等 CC, 蛋白激酶活性、磷酸转移酶活性, 醇基为受体等 MF 具有很强相关性。利用 Metascape 平台对南、北五味子治疗 AD 共性靶点进行 KEGG 通

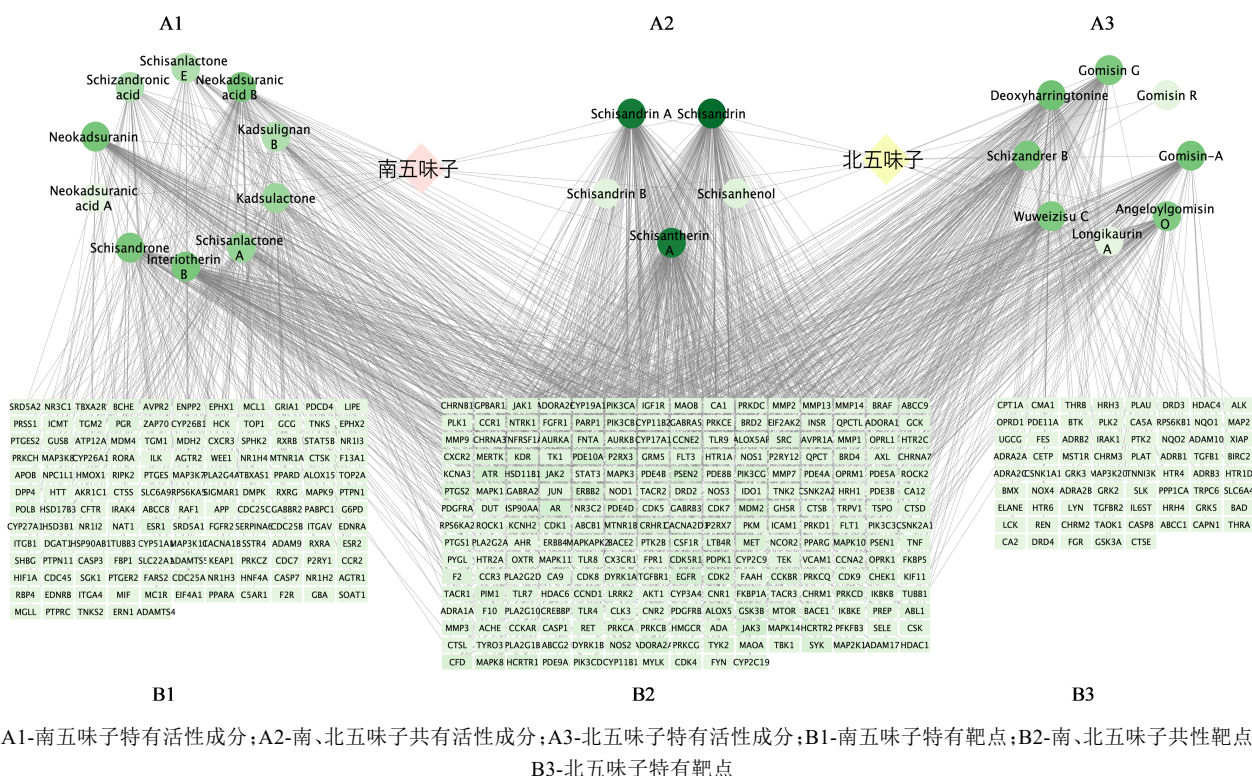


图 2 “南、北五味子-活性成分-交集靶点”网络图

Fig. 2 “*S. spenantha* and *S. chinensis*-active components-intersection targets” network diagram

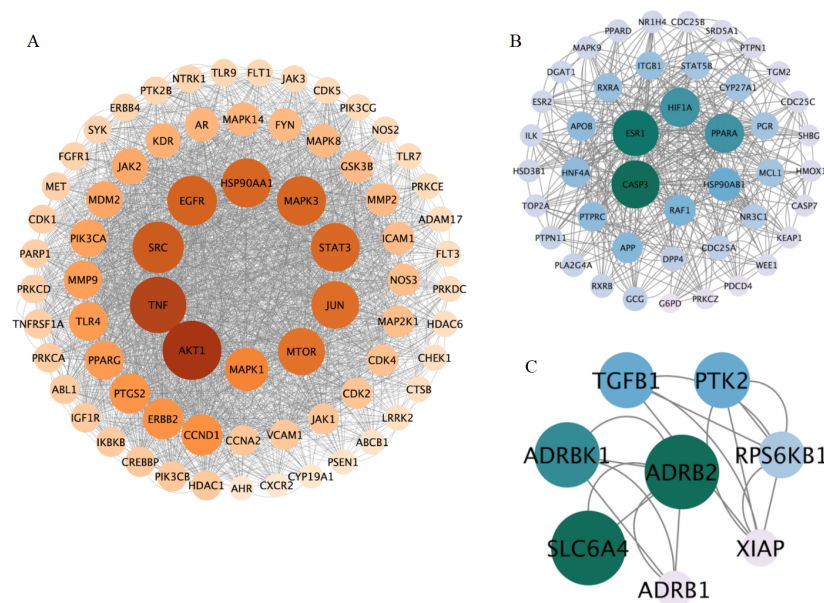


图3 共性靶点及特有靶点PPI网络
A-南、北五味子治疗AD共性靶点PPI网络;B-南五味子治疗AD特有靶点PPI网络;C-北五味子治疗AD特有靶点PPI网络
A-PPI network of common targets of *S. spheanthera* and *S. chinensis* in treating AD; B-PPI network of unique targets of *S. spheanthera* in treating AD; C-PPI network of unique targets of *S. chinensis* in treating AD

图3 共性靶点及特有靶点PPI网络
Fig. 3 PPI network diagram of common targets and unique targets

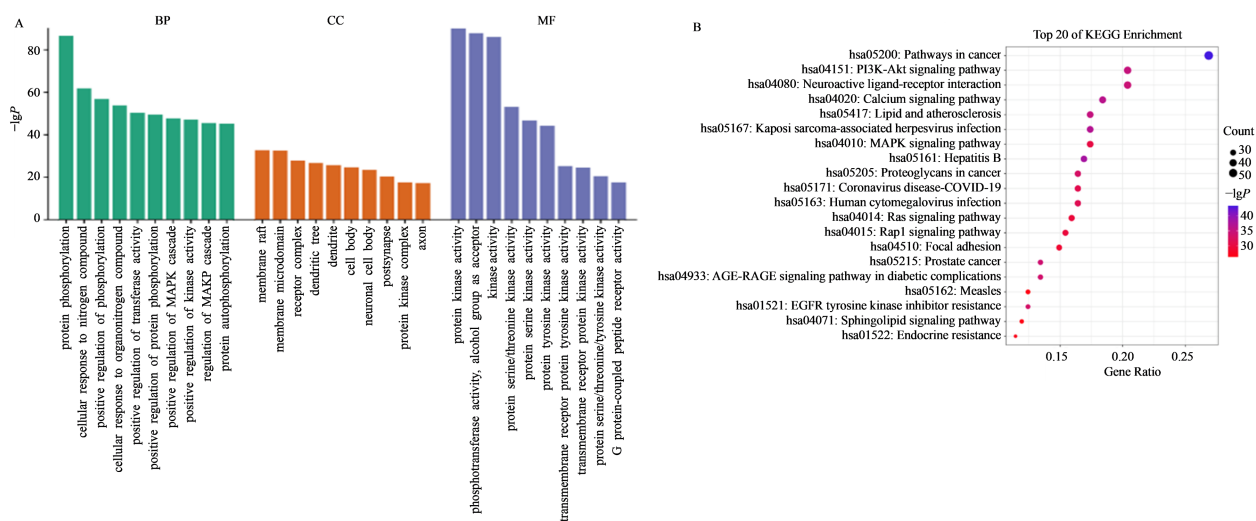


图4 南、北五味子治疗AD共性靶点富集分析结果
A-南、北五味子治疗AD共性靶点GO功能富集分析;B-南、北五味子治疗AD共性靶点KEGG通路富集分析
A-GO functional enrichment analysis of common targets of *S. spheanthera* and *S. chinensis* in treating AD; B-KEGG pathway enrichment analysis of common targets of *S. spheanthera* and *S. chinensis* in treating AD

图4 南、北五味子治疗AD共性靶点富集分析结果
Fig. 4 Enrichment analysis results of common targets of *S. spheanthera* and *S. chinensis* in treating AD

路富集分析,根据 P 值筛选排名前20条目进行可视化分析(图4-B)。获得KEGG富集分析功能条目201条,涉及PI3K-Akt信号通路、神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路、MAPK信号通路等。

2.6 南、北五味子治疗AD特有靶点GO功能和KEGG通路富集分析

南五味子治疗AD特有靶点GO功能富集分析结果显示(图5-A),GO富集分析产生了1020条

BP,72条CC,109条MF。南五味子特有靶点对激素反应、类固醇代谢过程等BP,膜筏、膜微结构域等CC,核受体活性、配体激活的转录因子活性等MF具有很强相关性。KEGG结果(图5-B),共富集信号通路118条,涉及癌症通路、化学致癌-受体激活、神经活性配体-受体相互作用、Th17细胞分化、PPAR信号通路等。

北五味子治疗AD特有靶点GO功能富集分析(图6-A)

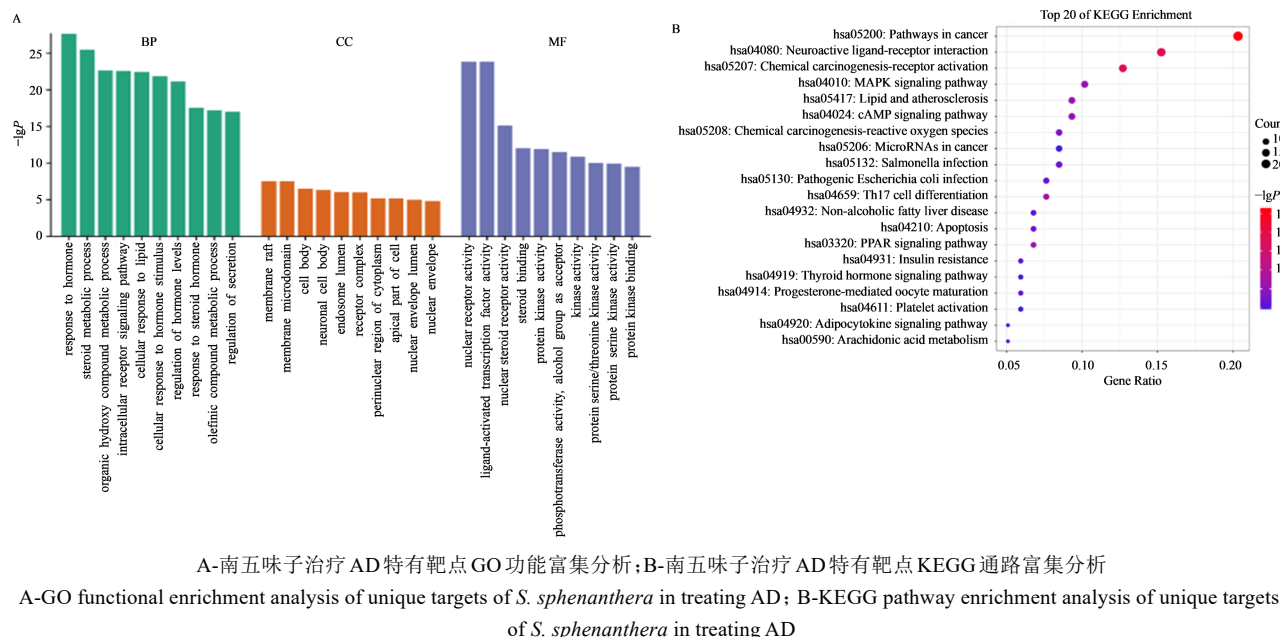


图5 南五味子治疗AD特有靶点富集分析结果

Fig. 5 Enrichment analysis results of unique targets of *S. spheanthera* in treating AD

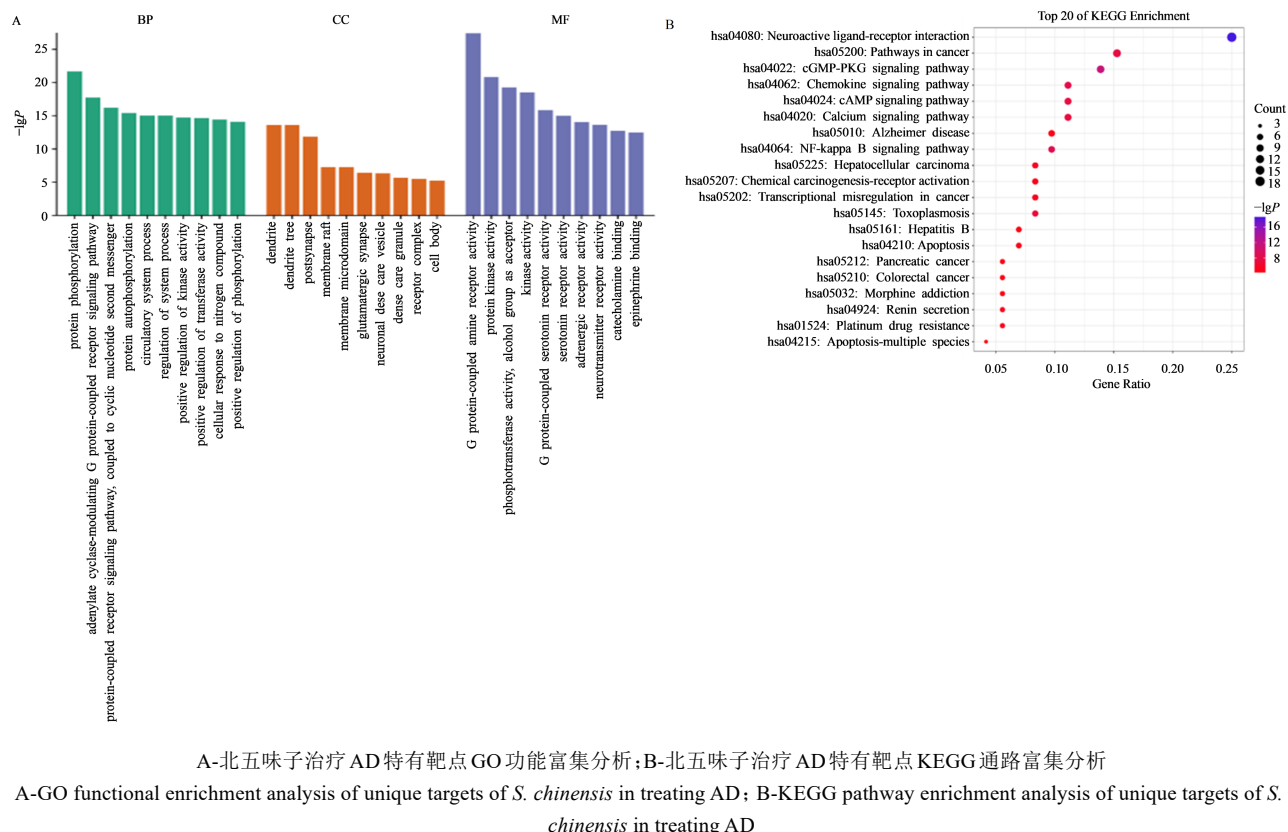


图6 北五味子治疗AD特有靶点富集分析结果

Fig. 6 Enrichment analysis results of unique targets of *S. chinensis* in treating AD

结果显示,GO富集分析产生了570条BP,48条CC,67条MF。北五味子特有靶点对蛋白质磷酸化、腺苷酸环化酶调节G蛋白偶联受体信号通路等BP,树突、树突树等CC,G蛋白偶联受体活性、蛋白激酶

活性等MF具有很强相关性。KEGG结果显示(图6-B),共富集信号通路72条,涉及神经活性配体-受体相互作用、癌症通路、cGMP-PKG信号通路、趋化因子信号通路、cAMP信号通路等。

2.7 活性成分与关键靶点分子对接

南五味子特有靶点中度值前3的关键靶点 CASP3、ESR1、HIF1A 与度值前5的核心活性成分五味子醇甲、五味子甲素、五味子酯甲、新南五味子木脂宁、新杜松烷酸B进行分子对接;北五味子特有靶点中度值前3的关键靶点 ADRB2、SLC6A4、ADRBK1 和度值前5的核心活性成分五味子醇甲、五味子甲素、五味子酯甲、脱氧三尖杉酯碱、五味子醇乙进行分子对接。结合能 $< -20.93 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$

($-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$)表示小分子配体和蛋白受体之间具有较好的结合活性^[12],结合能越小,对接构象越稳定。分子对接结果表明(图7),各组结合能均 $< -20.93 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,核心活性成分与关键靶点具有较好的结合活性。其中,南五味子中 CASP3 与新杜松烷酸B结合活性最高,北五味子中 ADRBK1 与五味子酯甲结合活性最高,选取部分结合能较低的对接结果进行可视化展示(图8)。

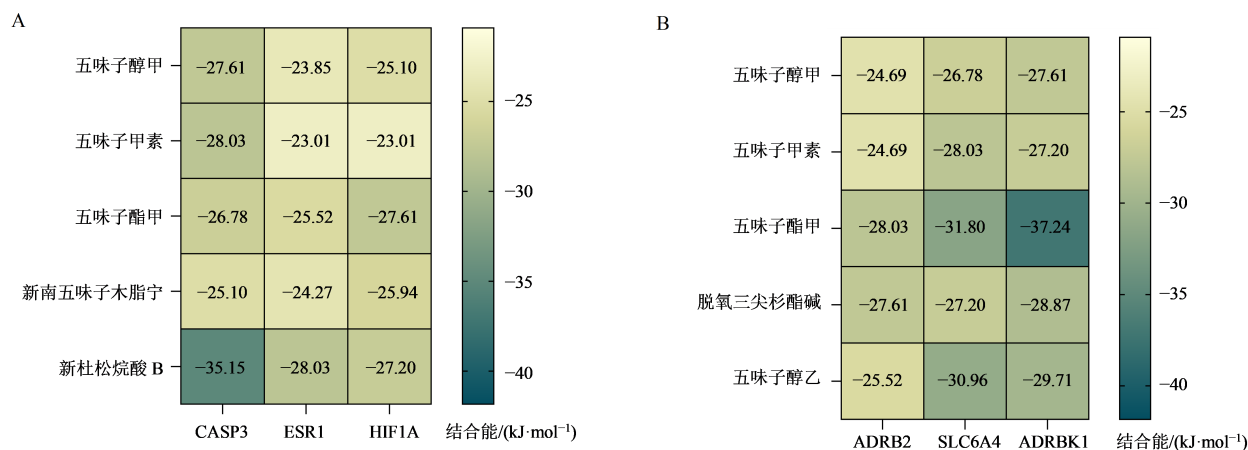


图7 南五味子(A)和北五味子(B)核心活性成分与关键靶点对接结合能热图

Fig. 7 Binding energy heat map of core active components and key targets of *S. spheanthera* (A) and *S. chinensis* (B)

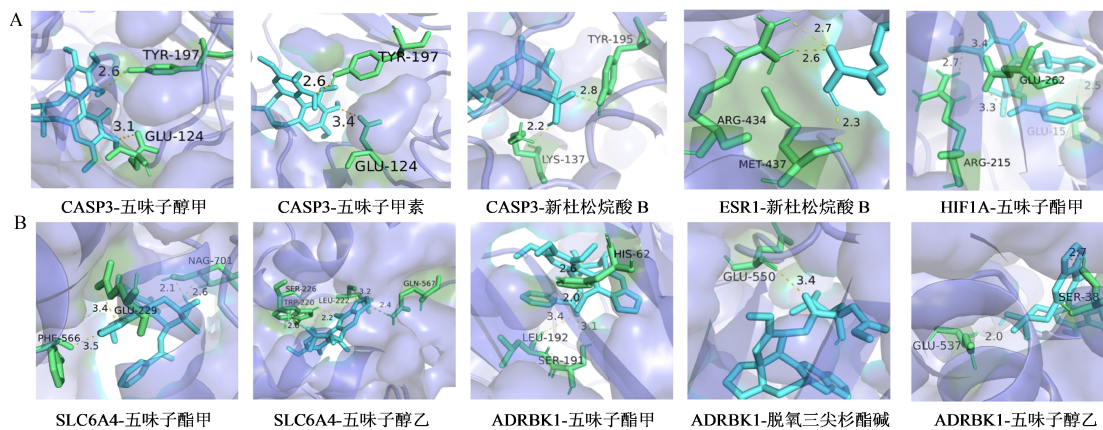


图8 南五味子(A)和北五味子(B)核心活性成分及关键靶点对接模式图

Fig. 8 Molecular docking model diagram of core active components and key targets of *S. spheanthera* (A) and *S. chinensis* (B)

3 讨论

AD是多重病理因素导致的不可逆中枢神经系统疾病,多成分、多靶点的治疗方式相对于单一靶点对AD的治疗更为有效,运用中医药多途径、多靶点及整体观念和辨证论治的优势在治疗上效果显著。五味子具有抗氧化、抑制凋亡、抗炎、调节神经递质等药理作用,广泛应用于治疗脑血管疾病、神

经退行性疾病和抑郁症等疾病^[25]。本研究中,基于TCMSP数据库和Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-活性成分-交集靶点”网络图,图中南、北五味子共含有5种相同活性成分,分别为五味子醇甲、五味子甲素、五味子乙素、五味子酯甲、五味子酚。南五味子15种活性成分中9种为木脂素类物质,北五味子13种活性成分中11种为木脂素类物质。多项研究表

明,五味子木脂素具有治疗AD的作用,Zhou等^[3]利用代谢组学方法筛选出54种内源性代谢物,通过生物标志物相关通路和生物学功能分析结果显示,五味子木脂素可能通过神经保护、抗氧化损伤和调节不饱和脂肪酸代谢达到治疗AD的目的。张鸿旭^[26]基于粪便代谢组学探究五味子木脂素对AD大鼠的调节作用,结果显示五味子木脂素通过调节AD大鼠体内胆汁酸代谢、能量代谢、亚油酸代谢等代谢通路,减轻神经炎症与氧化应激反应。因此,木脂素是南、北五味子治疗AD的重要物质成分。

根据PPI网络结果分析,AKT1、TNF、SRC、EGFR、HSP90AA1是南、北五味子治疗AD共性关键靶点,一些关键靶点在研究中得到广泛实验验证。AKT1是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是细胞生长和生存过程的关键介质^[27]。牙齿脱落的发生率与年龄增长呈现正相关,由于牙齿脱落造成的咀嚼功能损害可导致认知功能障碍疾病,研究表明,牙齿缺失会降低AKT1的表达水平,进而抑制神经干细胞增殖分化和神经元损伤修复,降低幼年SD大鼠学习和长期记忆能力^[28]。TNF主要来源于巨噬细胞和免疫细胞,是免疫系统的中枢调节因子,具有促进炎症反应发生的作用,TNF表达和信号转导失调可能诱发慢性炎症和组织损伤等病症^[29],TNF与TNFR1和TNFR2受体结合,能够激活多种神经保护或神经退行性反应,同时实验证明,TNF能够介导AD患者海马神经元坏死性凋亡^[30]。EGFR是一种酪氨酸激酶受体,EGFR的表达上调能够影响AD的病理生理变化,致使神经元产生变性及凋亡^[31],抑制EGFR可以促进星形胶质细胞增生、增强自噬、改善A β 毒性、神经炎症和再生轴突退化^[32]。HSP90AA1定位于染色体14q32.2,编码热休克蛋白90 α (HSP90 α),参与蛋白质折叠、组装和降解,对内部平衡至关重要^[33]。研究发现,HSP90通过诱导产生IL-6和TNF α 和激活TLR4,增强小胶质细胞的吞噬能力,进而促进清除A β ,且抑制HSP90可以导致tau蛋白磷酸化减少^[34]。

基于PPI网络结果,南五味子能通过CASP3、ESR1、HIF1A等特有靶点发挥治疗AD的作用。CASP3是半胱天冬酶家族(caspase,CASP)成员之一,在细胞凋亡和致癌作用中发挥核心作用^[35],实验证明^[36],通过抑制海马CA1区Caspase-3的过度表达,减弱迟发性神经细胞凋亡,能够达到神经保护的目的。ESR1编码雌激素受体 α (ER α),ESR1基因的变异可能与女性对AD易感性增加有关^[10],

ER α 介导的死亡结构域相关蛋白易位的抑制以及膜ER α 与小窝蛋白在胞膜小窝中的联合作用可能预防AD的发生^[37]。北五味子则通过ADRB2、SLC6A4、ADRBK1等特有靶点发挥治疗AD的作用。ADRB2是一种典型的G蛋白偶联受体,在调节能量代谢和优化神经元功能方面发挥重要作用,ADRB2可改善A β ₁₋₄₂诱导的线粒体自噬缺陷,改善N2a细胞中A β 诱导的线粒体功能障碍、氧化应激和tau蛋白过度磷酸化^[38]。SLC6A4是神经传递5-羟色胺的最重要的调节因子之一,rs6354是SLC6A4的一个多态性位点,隐性模型关联试验证明rs6354 GG基因型与发生AD风险相关^[39]。

通过对南、北五味子共性靶点的KEGG富集通路分析发现,富集结果涉及PI3K-Akt信号通路、神经活性配体-受体相互作用、钙信号通路和MAPK信号通路等,这些通路主要与细胞凋亡、氧化应激、炎症反应密切相关,与文献中已报道治疗AD的通路相一致^[40-42]。研究表明,北五味子通过钙信号通路发挥抗凋亡和抗氧化作用,降低NO水平,发挥治疗AD的作用^[43]。Yang等^[44]实验证明,北五味子藤茎中木脂素能通过激活NF- κ B/MAPK信号通路抑制A β ₁₋₄₂诱导的小胶质细胞的炎症反应。分析网络药理学研究结果发现,南五味子能通过癌症通路、化学致癌-受体激活、神经活性配体-受体相互作用、Th17细胞分化、PPAR信号通路等发挥治疗AD的作用,例如,Th17细胞通过产生多种细胞因子(如IL-17A、IL-23、IL-21、IL-6和IFN- γ)参与神经炎症反应,Th17细胞及其相关的细胞因子也与神经元中A β 异常聚集的斑块有关,大脑中活化的Th17细胞及其细胞因子通过促进炎症反应和神经元自噬在AD的病理发展中发挥重要作用^[45]。PPAR信号通路上的蛋白PPAR- α 能够参与脑内淀粉样前体蛋白(APP)的代谢,并通过A β 直接或间接影响Tau蛋白的磷酸化,同时PPAR- α 的下调可能使AD患者的抗氧化和抗炎能力下降^[46]。北五味子通过神经活性配体-受体相互作用、癌症通路、cGMP-PKG信号通路、趋化因子信号通路、cAMP信号通路等发挥治疗AD作用,例如,cGMP是一种普遍存在的第二信使,是机体和大脑中许多重要信号级联的关键分子^[47]。研究发现^[48],cGMP增强了APP与内容酶体 β 位点APP裂解酶1(BASE-1)的内体相互作用,从而促进A β 多肽的生成,并增强突触可塑性和记忆力。同时研究表明^[49],cGMP-PKG信号通路在防止细胞凋亡和促进神经细胞存活方面发挥着重要作

用。炎症反应是发生AD的主要病因之一,神经炎症主要是发生在中枢神经系统的炎症反应,趋化因子信号通路能够参与AD神经炎症过程中小胶质细胞向病变区域运动的调节,与中枢神经系统的发育密切相关^[50]。近几年未发现有关南、北五味子通过Th17细胞分化、PPAR信号通路、cGMP-PKG信号通路、趋化因子信号通路治疗AD的相关报道。

五味子已被证明对AD有显著治疗效果,具有改善认知障碍、抗氧化、抑制凋亡等作用^[51],但南、北五味子在临床中应用混乱,且五味子对神经系统疾病的研究也多以北五味子为主,有关南、北五味子治疗AD分子机制差异的相关研究尚未有报道。本研究基于网络药理学^[52]和分子对接技术,对比南五味子与北五味子治疗AD作用机制的异同,两者均含有多种木脂素类活性成分^[53],且五味子木脂素在治疗AD中发挥重要疗效。南、北五味子通过AKT1、TNF、SRC、EGFR、HSP90AA1等共性靶点及其所在的生物过程和通路共同发挥治疗AD的作用,通过CASP3、ESR1、HIF1A、ADRB2、SLC6A4、ADRBK1等各自特有靶点及其所在的生物过程和通路,分别阐述了南、北五味子治疗AD的差异所在。本研究结果为南、北五味子的药理研究和临床应用提供了理论基础,后续有必要通过分子生物学实验和动物实验对结果进一步验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Liu X Y, Yang L P, Zhao L. Stem cell therapy for Alzheimer's disease [J]. World J Stem Cells, 2020, 12(8): 787-802.
- [2] Lei P, Ayton S, Bush A I. The essential elements of Alzheimer's disease [J]. J Biol Chem, 2021, 296: 100105.
- [3] Zhou Y, Wei M Y, Fan M L, et al. Pharmacokinetic and metabolomics approach based on UHPLC-MS to evaluate therapeutic effect of lignans from *S. Chinensis* in Alzheimer's disease [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2021, 1178: 122859.
- [4] Knopman D S, Amieva H, Petersen R C, et al. Alzheimer disease [J]. Nat Rev Dis Primers, 2021, 7: 33.
- [5] 吴普. 神农本草经 (孙星衍, 孙冯驥, 辑) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
- [7] Yang K, Qiu J, Huang Z C, et al. A comprehensive review of ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, and pharmacokinetics of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. and *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 284: 114759.
- [8] Lu Y, Chen D F. Analysis of *Schisandra chinensis* and *Schisandra sphenanthera* [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216 (11): 1980-1990.
- [9] 李晓亮, 易进海, 刘云华, 等. 南五味子、五味子HPLC指纹图谱研究和木脂素成分测定 [J]. 中成药, 2011, 33 (6): 920-924.
- [10] 王旭, 姚璇, 马素亚, 等. 复方苻蓉益智胶囊治疗阿尔茨海默病作用机制的网络药理学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(2): 172-181.
- [11] Lin D T, Zeng Y D, Tang D Y, et al. Study on the mechanism of Liuwei Dihuang pills in treating Parkinson's disease based on network pharmacology [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 4490081.
- [12] Li X, Wei S Z, Niu S Q, et al. Network pharmacology prediction and molecular docking-based strategy to explore the potential mechanism of Huanglian Jiedu Decoction against sepsis [J]. Comput Biol Med, 2022, 144: 105389.
- [13] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [14] Li Q A, Wang Q, Guan H B, et al. Schisandrin inhibits NLRP1 inflammasome-mediated neuronal pyroptosis in mouse models of Alzheimer's disease [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2021, 17: 261-268.
- [15] Wang Q, Liu L, Guan H B, et al. Schisandrin A ameliorates cognitive functions via modulating microglial polarisation in Alzheimer's disease mice [J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 858-865.
- [16] Hu X L, Guo C, Hou J Q, et al. Stereoisomers of schisandrin B are potent ATP competitive GSK-3 β inhibitors with neuroprotective effects against Alzheimer's disease: Stereochemistry and biological activity [J]. ACS Chem Neurosci, 2019, 10(2): 996-1007.
- [17] Li X L, Zhao X, Xu X, et al. Schisantherin A recovers

- A β -induced neurodegeneration with cognitive decline in mice [J]. *Physiol Behav*, 2014, 132: 10-16.
- [18] Han Y F, Yang H Y, Li L B, et al. Schisanhenol improves learning and memory in scopolamine-treated mice by reducing acetylcholinesterase activity and attenuating oxidative damage through SIRT1-PGC-1 α -Tau signaling pathway [J]. *Int J Neurosci*, 2019, 129(2): 110-118.
- [19] 贾丽艳, 拓西平, 朱嘉琦, 等. 华中五味子酮对阿尔茨海默病样大鼠海马内 IL-1 β 及 iNOS 表达的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(2): 161-163.
- Jia L Y, Tuo X P, Zhu J Q, et al. Influence of schisandrone on levels of IL-1 β and iNOS mRNA in hippocampus of rats with Alzheimer-like disease [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2005, 26(2): 161-163.
- [20] 于方, 拓西平, 吕建勇, 等. 华中五味子酮对阿尔茨海默病样大鼠学习记忆功能及海马区核因子 κ B、诱导型一氧化氮合酶表达的影响 [J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(12): 1351-1355.
- Yu F, Tuo X P, Lu J Y, et al. Schisandrone improves learning and memory abilities of Alzheimer-like rats and influences expression of NF- κ B, iNOS in rat hippocampus [J]. *Acad J Second Mil Med Univ*, 2007, 28(12): 1351-1355.
- [21] 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.
- [22] Amberger J S, Hamosh A. Searching online Mendelian inheritance in man (OMIM): A knowledgebase of human genes and genetic phenotypes [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2017, 58: 1.2.1-1.2.1.2.12.
- [23] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards suite: From gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *CP Bioinformatics*, 2016, doi: 10.1002/cpbi.5.
- [24] 白银亮, 邓弘扬, 李腾飞, 等. 结合 GEO 测序数据的网络药理学与分子对接探索大黄缓解神经炎症的作用机制 [J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(6): 617-625.
- Bai Y L, Deng H Y, Li T F, et al. Network pharmacology based on GEO sequencing data combined with molecular docking to explore the mechanism of rhubarb alleviating neuroinflammation [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2023, 43(6): 617-625.
- [25] Zhang M Y, Xu L P, Yang H J. *Schisandra chinensis* fructus and its active ingredients as promising resources for the treatment of neurological diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 1970.
- [26] 张鸿旭. 五味子木脂素治疗阿尔兹海默症的作用机制及多糖对木脂素吸收代谢的影响研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- Zhang H X. The mechanism of lignans in *Schisandra chinensis* in the treatment of Alzheimer's disease and the effect of polysaccharides on the absorption and metabolism of lignans [D]. Changchun: Jilin University, 2022.
- [27] Siddika T, Balasuriya N, Frederick M I, et al. Delivery of active AKT1 to human cells [J]. *Cells*, 2022, 11(23): 3834.
- [28] Hu J B, Wang X Y, Kong W, et al. Tooth loss suppresses hippocampal neurogenesis and leads to cognitive dysfunction in juvenile sprague - dawley rats [J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 839622.
- [29] Fischer R, Kontermann R E, Pfizenmaier K. Selective targeting of TNF receptors as a novel therapeutic approach [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 401.
- [30] Jayaraman A, Htike T T, James R, et al. TNF-mediated neuroinflammation is linked to neuronal necroptosis in Alzheimer's disease hippocampus [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2021, 9(1): 159.
- [31] Mansour H M, Fawzy H M, El-Khatib A S, et al. Lapatinib ditosylate rescues memory impairment in D-galactose/ovariectomized rats: Potential repositioning of an anti-cancer drug for the treatment of Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2021, 341: 113697.
- [32] Mansour H M, Fawzy H M, El-Khatib A S, et al. Potential repositioning of anti-cancer EGFR inhibitors in Alzheimer's disease: Current perspectives and challenging prospects [J]. *Neuroscience*, 2021, 469: 191-196.
- [33] Qian X H, Liu X L, Chen S D, et al. Integrating peripheral blood and brain transcriptomics to identify immunological features associated with Alzheimer's disease in mild cognitive impairment patients [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 986346.
- [34] Bohush A, Bieganski P, Filipek A. Hsp90 and its co-chaperones in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 4976.
- [35] 倪勤, 刘冰, 金明娟, 等. CASP3 基因多态及单体型分布与乳腺癌危险性的关联研究 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2011, 40(3): 259-264.
- Ni Q, Liu B, Jin M J, et al. Association of CASP3 polymorphisms and its haplotypes with susceptibility of breast cancer [J]. *J Zhejiang Univ: Med Sci*, 2011, 40(3): 259-264.
- [36] 毛西京, 朱博驰, 于挺敏, 等. 丁苯酞对血管性痴呆大鼠记忆能力及海马 CA1 区 Caspase-3 表达的影响 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(28): 9-12, 182.
- Mao X J, Zhu B C, Yu T M, et al. Effects of 3-n-

- butylphthalide on memory and Caspase-3 expression in the hippocampal CA1 region of vascular dementia rats [J]. China Med Her, 2017, 14(28): 9-12, 182.
- [37] Lan Y L, Zhao J E, Li S. Update on the neuroprotective effect of estrogen receptor alpha against Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2014, 43(4): 1137-1148.
- [38] Chai G S, Wu J J, Gong J, et al. Activation of β 2-adrenergic receptor ameliorates amyloid- β -induced mitophagy defects and tau pathology in mice [J]. Neuroscience, 2022, 505: 34-50.
- [39] Calabrò M, Mandelli L, Crisafulli C, et al. Psychiatric disorders and *SLC6A4* gene variants: Possible effects on alcohol dependence and Alzheimer's disease [J]. Mol Biol Rep, 2020, 47(1): 191-200.
- [40] Long H Z, Cheng Y, Zhou Z W, et al. PI3K/AKT signal pathway: A target of natural products in the prevention and treatment of Alzheimer's disease and Parkinson's disease [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 648636.
- [41] Sushma, Mondal A. Role of GPCR signaling and calcium dysregulation in Alzheimer's disease [J]. Mol Cell Neurosci, 2019, 101: 103414.
- [42] 夏玲, 郭盛, 钱大玮, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究八珍益智方治疗阿尔茨海默病的潜在作用机制 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6): 876-881.
- Xia L, Guo S, Qian D W, et al. Exploration on the mechanism of Bazhen Yizhi prescription in treating Alzheimer's disease based on network pharmacology and molecular docking [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(6): 876-881.
- [43] Cheng K, Sun F Y, Dong J, et al. Network pharmacology-based study on the mechanism of *Schisandra chinensis* for treating Alzheimer's disease [J]. Indian J Pharmacol, 2020, 52(2): 94-101.
- [44] Yang B Y, Han W, Han H A, et al. Lignans from *Schisandra chinensis* rattan stems suppresses primary $A\beta_{1-42}$ -induced microglia activation via NF- κ B/MAPK signaling pathway [J]. Nat Prod Res, 2019, 33(18): 2726-2729.
- [45] Shi Y J, Wei B, Li L J, et al. Th17 cells and inflammation in neurological disorders: Possible mechanisms of action [J]. Front Immunol, 2022, 13: 932152.
- [46] Wójtowicz S, Strosznajder A K, Jeżyna M, et al. The novel role of PPAR alpha in the brain: Promising target in therapy of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders [J]. Neurochem Res, 2020, 45(5): 972-988.
- [47] Jehle A, Garaschuk O. The interplay between cGMP and calcium signaling in Alzheimer's disease [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7048.
- [48] Caudano F, Montalto G, Passalacqua M, et al. cGMP favors the interaction between APP and BACE1 by inhibiting Rab5 GTPase activity [J]. Sci Rep, 2020, 10: 1358.
- [49] Zhang Y, Qian L L, Liu Y Y, et al. CircRNA-ceRNA network revealing the potential regulatory roles of CircRNA in Alzheimer's disease involved the cGMP-PKG signal pathway [J]. Front Mol Neurosci, 2021, 14: 665788.
- [50] Ahmad Rather M, Khan A, Alshahrani S, et al. Inflammation and Alzheimer's disease: Mechanisms and therapeutic implications by natural products [J]. Mediat Inflamm, 2021, 2021: 1-21.
- [51] 田文国, 王春芳, 陈金鹏, 等. 中药抗阿尔茨海默病的作用及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3195-3208.
- Tian W G, Wang C F, Chen J P, et al. Research progress on anti-Alzheimer's disease and mechanism of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2022, 53(10): 3195-3208.
- [52] 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 Drug, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [53] 李伟, 刘亚丽, 宋永贵, 等. UPLC-Q-TOF-MS-E 结合 OPLS-DA 模式快速鉴定南、北五味子化学成分与识别差异标志物 [J]. 中草药, 2015, 46(15): 2212-2218.
- Li W, Liu Y L, Song Y G, et al. Rapid identification on chemical constituents in fruits of *Schisandra sphenanthera* and *Schisandra chinensis* and discrimination markers by UPLC-Q-TOF-MS^E combined with OPLS-DA [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2015, 46(15): 2212-2218.

[责任编辑 刘东博]