

基于网络药理学的苓桂术甘汤治疗阿尔茨海默病的潜在作用机制研究

汪亚楠, 李思齐, 岳一强, 宋爱华, 韩 飞*

沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016

摘要: **目的** 利用网络药理学技术研究苓桂术甘汤治疗阿尔茨海默病(AD)的潜在作用机制。**方法** 利用中药系统药理学分析平台(TCMSP)、Swiss、SuperPred 和 Stitch 数据库寻找与苓桂术甘汤中 4 味中药相关的化学成分及其作用靶点,并以口服利用度(OB) $\geq 30\%$ 、类药性(DL) ≥ 0.18 为阈值对化合物进行筛选,再通过文献查找加以补充;通过 OMIM、TTD、GAD、Pharm Gkb 数据库获取与 AD 疾病相关的靶标,并进一步筛选得到苓桂术甘汤治疗 AD 的潜在作用靶点;采用 DAVID 6.8 数据库对相关潜在作用靶点进行 GO 分析及 KEGG 代谢通路富集分析;利用 Cytoscape 软件构建“单味药-活性成分-作用靶点”相互作用网络并进行度值和中介度分析,确认可能的关键靶点和关键通路。**结果** 在苓桂术甘汤中,共筛选出 126 个与 AD 相关的潜在活性成分和 120 个潜在作用靶点;GO 生物功能分析共包含 565 条富集结果,其中生物过程 396 条,分子功能 121 条,细胞组成 48 条,主要涉及蛋白结合、细胞、氧化还原过程等;KEGG 富集得到 67 条代谢通路,主要包括神经活性配体-受体相互作用通路、癌症通路、5-羟色胺能突触通路和钙信号通路等。**结论** 网络药理学研究结果揭示了苓桂术甘汤治疗 AD 的多成分、多靶点、多途径的作用特点,并预测了其可能的活性成分、作用通路和关键靶点,为其药效物质基础和作用机制研究提供了理论基础。

关键词: 阿尔茨海默病; 苓桂术甘汤; 网络药理学; 靶点; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)23-5812-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.024

Potential mechanism of Lingui Zhugan Decoction for treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology

WANG Ya-nan, LI Si-qi, YUE Yi-qiang, SONG Ai-hua, HAN Fei

School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To study the potential mechanism of Lingui Zhugan Decoction in the treatment of Alzheimer's disease (AD) by using network pharmacological technology. **Methods** Firstly, TCMSP, Swiss, SuperPred, Stitch databases and supplement literatures were combined to search for the chemical compounds and the potential targets related to the four herbs in Lingui Zhugan Decoction, using the oral bioavailability (OB) $\geq 30\%$, drug-like (DL) ≥ 0.18 as screening conditions. Meanwhile, the targets related to AD were screened through OMIM, TTD, GAD and Pharm Gkb databases. Moreover, the interactive targets of Lingui Zhugan Decoction and AD were further acquired. Then, Gene Ontology (GO) analysis and KEGG metabolic pathway enrichment analysis of interactive targets were performed using DAVID 6.8 database. Finally, degree and betweenness centrality analysis were performed to find potential key targets and key pathways after the “Herbs-Active Compounds-Targets” interaction network was constructed by Cytoscape software. **Results** There were 126 potential active compounds and 120 potential interactive targets in Lingui Zhugan Decoction. A total of 565 enrichment results were obtained by GO analysis, including 396 biological processes, 121 molecular functions and 48 cell components, mainly involving protein binding, cell, oxidation-reduction process, etc. Simultaneously, the selected targets were enriched by KEGG analysis and it indicated that 67 metabolic pathways play an important role in AD, primarily including neuroactive ligand-receptor interaction, pathways in cancer, serotonergic synapse and calcium signaling pathway, etc. **Conclusion** The synergetic effect of Lingui Zhugan Decoction with multi-compounds, multi-targets and multi-pathways in the treatment of AD were revealed by network pharmacology, which provides a theoretical basis for the study of its pharmacodynamic material basis and action mechanism.

Key words: Alzheimer's disease; Lingui Zhugan Decoction; network pharmacology; targets; mechanism

收稿日期: 2019-05-10

作者简介: 汪亚楠(1995—), 女, 汉族, 硕士研究生, 药物分析专业。Tel: 18341439491 E-mail: 1334423511@qq.com

*通信作者 韩 飞(1979—), 男, 副研究员, 主要研究方向为超高分辨质谱傅立叶变换离子回旋共振质谱在药学研究领域的应用。
Tel: 23986263 E-mail: hanfei_spu@163.com

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是以记忆力减退、认知功能障碍、行为异常为临床特征的原发性中枢神经退行性疾病, 俗称老年性痴呆^[1-3]。近年来, 随着我国人口老龄化趋势日渐明显, AD 患者的数量也逐年上升, 且其发病率会随年龄的增加而增加。据研究显示, 年龄每增加 5 岁, AD 的发病率约增加 1 倍^[4-5]。AD 作为一种多因素诱导的复杂疾病, 主要病理学特征为脑内 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 聚集异常沉积形成的老年斑 (SP)、细胞内 Tau 蛋白过度磷酸化导致的神经元内纤维缠结 (NFTs) 和神经元丢失等^[6-7]。大量研究表明, AD 的发病机制极其复杂, 且目前尚无定论, 相关假说主要包括胆碱能假说、氧化应激与自由基损伤假说、 $A\beta$ 蛋白的生成和代谢紊乱假说、炎症假说、Tau 蛋白异常磷酸化假说、金属离子假说等^[8]。然而, 该病仍缺乏行之有效的治疗手段, 目前国内外临床用药仍主要包括胆碱酯酶抑制剂、*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体拮抗剂及免疫治疗药物等。而且, 上述药物主要针对 AD 的某个单一致病靶点进行预防或治疗, 虽可适度改善患者的症状, 但均不足以阻断或逆转其病理发展, 且易耐药、副作用较多^[9]。因此, 研究开发有效防治 AD 而毒副作用较小的药物具有重要意义。

中医药治疗 AD 历史悠久, 具有独特优势。中医药具有整体性和多样性的特点, 可发挥多层次、多环节、多靶点、双向调节的综合作用, 且毒性明显小于化学药, 契合了 AD 发病机制复杂性、综合性的特征, 具有巨大优势和广阔前景。苓桂术甘汤 (Ling-Gui-Zhu-Gan Decoction) 为《伤寒论》的名方, 由茯苓、桂枝、白术、甘草 4 味药组成, 其中茯苓为君, 淡渗利水、益脾助阳; 桂枝为臣, 温阳降逆、调和气血; 白术为佐, 其苦能燥湿, 甘能补脾胃; 而甘草之甘则补中益气^[10-11]。因此, 该方具有益气温阳、健脾化饮、宁心安神之功效, 常用于中医脾虚饮停之症^[12-13]。近年来, 研究者们对于该方中各组成药味的化学成分、质量控制指标、配伍机制等均进行了研究^[14], 而且还发现其对 AD 等老年退行性疾病有良好的预防及治疗作用, 与之相关的研究亦逐步开展。桑锋等^[15]通过研究苓桂术甘汤在 AD 炎症过程中的作用, 发现其对 $A\beta_{1-42}$ 诱导活化后的 BV-2 小胶质细胞分泌的白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 有显著的抑制作用, 表明苓桂术甘汤所具有的良好抗炎作用可能是其治疗 AD 的重要依据和机制之一。于

蓓蓓等^[16]通过研究苓桂术甘汤对 $A\beta$ 所致 AD 模型大鼠的影响发现, 苓桂术甘汤不仅可以改善 AD 模型大鼠脑部因 $A\beta_{1-42}$ 沉积所造成的学习与记忆能力损伤, 缓解模型大鼠脑部特征性病理损伤, 显著控制炎症因子的释放, 而且还能抑制大鼠脑内皮质与海马区域中 2 类主要蛋白糖基化终产物受体 (RAGE) 与核转录因子- κ B (NF- κ B) 的表达, 即在蛋白水平上调控 RAGE 蛋白, 抑制 NF- κ B 信号通道被激活, 防治 AD。可见, 苓桂术甘汤极有潜力成为一种有效防治 AD 的多靶点生物活性药物, 具有重要的研究价值。

网络药理学是通过构建“疾病-靶点-药物”多层次网络, 利用网络分析来观察药物对疾病网络的干预和影响, 分析药物对此网络不同节点的作用, 从而更好地了解药物对疾病的治疗作用^[17]。其融合了系统生物学、多向药理学、计算机生物学、网络分析等多学科的技术和内容, 且具有整体性和系统性特点, 这与中医辨证论治的整体思想不谋而合^[18-20]。因此, 本研究利用网络药理学的方法构建与苓桂术甘汤相关的“单味药-活性成分-作用靶点”等网络, 系统地预测苓桂术甘汤治疗 AD 的“多成分、多靶点、多途径”的作用特点, 为进一步研究其治疗 AD 的潜在作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 软件与数据库

中药系统药理学分析平台 (TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/>, Version 2.3); Swiss TargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>); ChemBioDraw (Version 14.0) 软件; SuperPred 数据库 (<http://prediction.charite.de/>); Stitch 数据库 (<http://stitch.embl.de/>); 人类孟德尔遗传数据库 (OMIM, <http://www.omim.org/>); GAD 数据库 (<https://geneticassociationdb.nih.gov/>); 药物靶标数据库 (TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>); PharmGkb 数据库 (<https://www.pharmgkb.org/>); String 数据库 (<https://string-db.org/>); Cytoscape 软件 (Version 3.4.0); DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>)。

1.2 方法

1.2.1 苓桂术甘汤化学成分信息的归纳和整理 利用 TCMSP 获取苓桂术甘汤中 4 味药材的相关化学成分信息, 并结合文献检索获得这些成分的化学结构, 再利用 ChemBioDraw 软件保存化学成分结构

的 Smiles 格式。

1.2.2 活性成分的筛选 利用 TCMSP 中的口服利用度 (OB) 和类药性 (DL) 2 个参数对苓桂术甘汤中的化合物进行活性筛选, 选取同时满足 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分作为潜在的活性成分。与此同时, 为了尽可能全面地获得苓桂术甘汤中主要活性成分的信息, 本研究还结合文献挖掘和整理, 对 TCMSP 的筛选结果进行了补充。

1.2.3 靶点的预测 将上述筛选得到的潜在活性成分的 Smiles 结构导入到 Swiss、SuperPred、Stitch 数据库中进行靶点预测, 并将 3 个数据库的靶点进行合并去重, 得到活性成分相关靶点信息。利用 OMIM、TTD、GAD、PharmGkb 数据库以“Alzheimer’s disease”为关键词进行相关靶点的预测, 获得疾病相关靶点信息。最后, 将活性成分相关靶点与疾病靶点进行对比分析, 得交互靶标, 即苓桂术甘汤潜在活性成分中可能与 AD 相关的作用靶点。

1.2.4 靶点相互作用网络 将上述得到的作用靶点输入到 String 数据库中, 限定物种为人, 获得靶点相互作用网络。

1.2.5 单味药-活性成分-作用靶点网络构建 依据上述数据, 利用 Cytoscape 3.4.0 软件的关联功能构建单味药-活性成分-作用靶点网络模型, 再利用 Network Analyzer 功能获得的度 (degree) 和中介度 (betweenness centrality) 等参数对模型进行分析。

1.2.6 GO 生物功能富集分析 将上述作用靶点输入到 DAVID 6.8 数据库中, 进行 GO 生物功能富集分析。将作用靶点复制粘贴到相应的基因列表中, 对应的基因标示符选择“OFFICIAL_GENE_SYMBOL”, 设定基因物种和背景为人, 获得 GO 生物功能富集分析结果, 然后用 OriginPro 软件绘制条形图展示富集结果。

1.2.7 KEGG 代谢通路富集分析 利用 DAVID 6.8 数据库对作用靶点进行 KEGG 代谢通路富集分析。将基因物种和背景限定为人, 选择 Pathways 下的 KEGG_PATHWAY, 并设定 $P < 0.05$, 得富集结果, 再通过 Omicshare 平台进行可视化处理。

2 结果

2.1 苓桂术甘汤潜在活性成分筛选

TCMSP 活性成分筛选结果表明, 同时满足 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 的化学成分共 121 个, 其中, 甘草中的化学成分 (-)-medicocarpin 因不与苓桂术甘汤治疗 AD 的作用靶点相关而被剔除。因此, 共

得到 120 个潜在活性成分, 其中甘草中含有 91 个、茯苓中含有 15 个、桂枝中含有 7 个、白术中含有 7 个。另外, 通过文献挖掘和整理发现, 上述 4 味药材中仍可能含有一些其他的药效成分, 因其 OB 值和 DL 值均小于筛选条件而被删除。桂枝的化学成分桂皮醛具有抗抑郁、神经保护等药理作用, 提示其可能与治疗 AD 有关^[21]。白术的化学成分白术内酯 I 也被证明能够抑制脂多糖 (LPS) 诱导的巨噬细胞分泌一氧化氮 (NO)、TNF- α 和 IL-6, 具有良好的抗炎活性, 因此可能从炎症通路上发挥治疗 AD 的作用^[22]; 苍术酮则被证明是经典名方逍遥散抗抑郁活性成分之一, 也显示出一定的神经保护作用^[23]; 双白术内酯被证实可通过增加学习记忆功能脑区的乙酰胆碱 (Ach) 量而改善 $A\beta_{1-40}$ 诱导的老年痴呆大鼠的智能障碍^[24]。甘草主要化学成分甘草甜素可有效地减少癫痫持续状态大鼠的大脑皮质神经元损伤, 因而具有一定的神经保护作用^[25]; 18 β -甘草次酸也显示出一定的抗炎、抗氧化、免疫调节等药理作用^[26]。因此, 将桂皮醛、白术内酯 I、苍术酮、双白术内酯、甘草甜素、18 β -甘草次酸 6 个活性成分纳入, 最终共获得 126 个潜在活性成分, 基本信息见表 1。

2.2 苓桂术甘汤治疗 AD 的靶点预测

将上述 126 个潜在活性成分的 Smiles 格式导入到 Swiss、SuperPred、Stitch 数据库中进行靶点预测, 得甘草潜在作用靶点 453 个、桂枝 201 个、白术 90 个、茯苓 71 个, 再将 3 个数据库得到的靶点进行合并去重, 整理得活性成分的相关靶点共 522 个。然后, 利用 OMIM、TTD、GAD、PharmGkb 数据库搜索与“Alzheimer’s disease”有关的靶点, 合并去重后, 共获得疾病相关靶点 779 个。最后, 将上述潜在活性成分的靶点与疾病靶点进行对比匹配, 最终获得 120 个与苓桂术甘汤治疗 AD 相关的潜在作用靶点。

2.3 靶点相互作用网络分析

将上述筛选得到的 120 个潜在作用靶点导入到 String 数据库中, 即可得到靶点相互作用网络, 结果见图 1 (其中, 因靶点 IL-8 与其他靶点无相互作用, 故未在该网络中体现)。该网络中共包含 119 个节点和 1 185 条边, 平均局部聚类系数为 0.56, 平均节点度值为 19.8。其中节点是靶点, 边表示靶点间的相互作用关系, 线条越粗表示靶点间的关联度越大。从图 1 中可以看出, 该网络线条相互交错、

表 1 苓桂术甘汤中的 126 个潜在活性成分及其基本信息

Table 1 Basic information of 126 potential active compounds in Lingui Zhugan Decoction

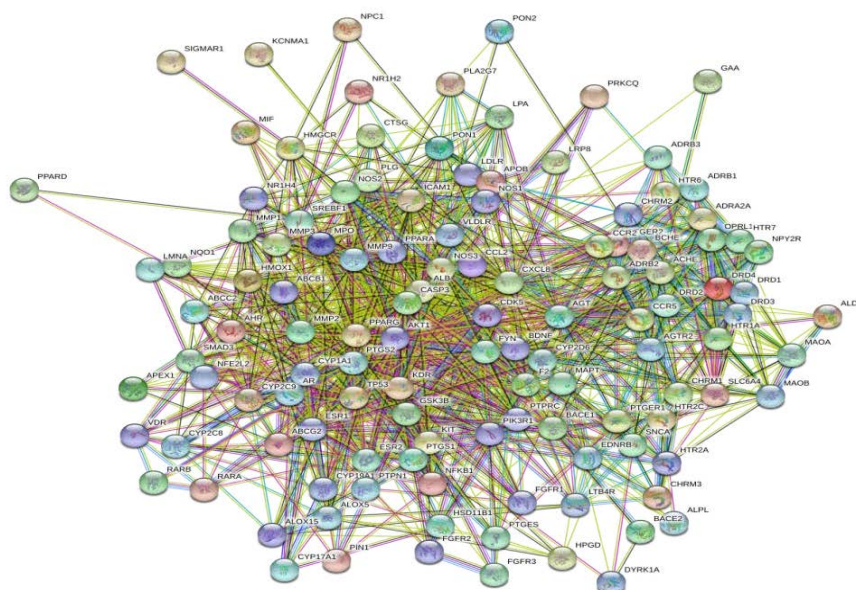
编号	化合物	OB/%	DL	度	来源
1	14-acetyl-12-senecioid-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.30	4	白术
2	12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	62.40	0.22	4	白术
3	14-acetyl-12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	60.31	0.31	5	白术
4	3 β -acetoxyatractylone	54.07	0.22	6	白术
5	α -香树脂醇 (α -amyrin)	39.51	0.76	7	白术
6	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78	13	白术
7	8 β -ethoxy atractylenolide III	35.95	0.21	3	白术
8	白术内酯 I (atractylenolide I)	37.37	0.17	10	白术
9	苍术酮 (atractylone)	41.10	0.13	9	白术
10	双白术内酯 (biatractylolide)	17.45	0.81	4	白术
11	去氢齿孔酸 (dehydroeburicoic acid)	44.17	0.83	9	茯苓
12	ergosta-7,22E-dien-3 β -ol	43.51	0.72	11	茯苓
13	过氧化麦角甾醇 (ergosterol peroxide)	40.36	0.81	9	茯苓
14	曲美烯酸 (trametenolic acid)	38.71	0.80	3	茯苓
15	3 β -hydroxy-24-methylene-8-lanostene-21-oic acid	38.70	0.81	3	茯苓
16	(2R)-2-[(5R,10S,13R,14R,16R,17R)-16-hydroxy-3-keto-4,4,10,13,14-pentamethyl-1,2,5,6,12,15,16,17-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	38.26	0.82	8	茯苓
17	茯苓新酸 C (poricoic acid C)	38.15	0.75	5	茯苓
18	酒酵母甾醇 (cerevissterol)	37.96	0.77	11	茯苓
19	常春藤皂苷元 (hederagenin)	36.91	0.75	11	茯苓
20	7,9(11)-dehydropachymic acid	35.11	0.81	6	茯苓
21	茯苓酸 (pachymic acid)	33.63	0.81	7	茯苓
22	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-5-isopropyl-hex-5-enoic acid	31.07	0.82	5	茯苓
23	(2R)-2-[(3S,5R,10S,13R,14R,16R,17R)-3,16-dihydroxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,5,6,12,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]-6-methylhept-5-enoic acid	30.93	0.81	3	茯苓
24	茯苓新酸 A (poricoic acid A)	30.61	0.76	6	茯苓
25	茯苓新酸 B (poricoic acid B)	30.52	0.75	7	茯苓
26	(-)-花旗松素 [(-)-taxifolin]	60.51	0.27	9	桂枝
27	花旗松素 (taxifolin)	57.84	0.27	12	桂枝
28	(+)-儿茶素 [(+)-catechin]	54.83	0.24	16	桂枝
29	表儿茶素 (ent-epicatechin)	48.96	0.24	16	桂枝
30	peroxyergosterol	44.39	0.82	11	桂枝
31	β -谷甾醇 (β -sitosterol)	36.91	0.75	18	桂枝
32	谷甾醇 (sitosterol)	36.91	0.75	17	桂枝
33	桂皮醛 (cinnamaldehyde)	31.90	0.02	44	桂枝
34	甘草酚 (glycyrol)	90.78	0.67	7	甘草
35	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	83.71	0.27	7	甘草
36	甘草吡喃香豆素 (licopyranocoumarin)	80.36	0.65	6	甘草
37	shinpterocarpin	80.30	0.73	6	甘草
38	phaseol	78.77	0.58	8	甘草
39	甘草查耳酮 B (licochalcone B)	76.76	0.19	7	甘草
40	glyasperin F	75.84	0.54	4	甘草
41	inermine	75.18	0.54	6	甘草
42	维斯体素 (vestitol)	74.66	0.21	9	甘草
43	glyasperins M	72.67	0.59	5	甘草
44	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl) chroman-4-one	71.12	0.18	9	甘草
45	甲氧基莱豆素 (1-methoxyphaseollidin)	69.98	0.64	7	甘草
46	刺芒柄花素 (formononetin)	69.67	0.21	15	甘草
47	3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	66.37	0.41	10	甘草
48	甘草苷 (liquiritin)	65.69	0.74	5	甘草
49	glyasperin B	65.22	0.44	10	甘草

续表 1

编号	化合物	OB/%	DL	度	来源
50	乔松素 (pinocembrin)	64.72	0.18	9	甘草
51	北美甘草醇 B (glepidotin B)	64.46	0.34	11	甘草
52	甘草利酮 (licoricone)	63.58	0.47	4	甘草
53	1,3-dihydroxy-8,9-dimethoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	62.90	0.53	7	甘草
54	刺果甘草查耳酮 (glypallichalcone)	61.60	0.19	8	甘草
55	glyzaglabrin	61.07	0.35	4	甘草
56	甘草宁 G (gancaonin G)	60.44	0.39	4	甘草
57	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	60.25	0.63	2	甘草
58	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	59.62	0.43	8	甘草
59	柚皮素 (naringenin)	59.29	0.21	23	甘草
60	licoagrocarpin	58.81	0.58	10	甘草
61	8-(6-hydroxy-2-benzofuranyl)-2,2-dimethyl-5-chromenol	58.44	0.38	13	甘草
62	licoagroisoflavone	57.28	0.49	3	甘草
63	丁香香酚 (mairin)	55.38	0.78	4	甘草
64	xambioona	54.85	0.87	4	甘草
65	dehydroglyasperins C	53.82	0.37	9	甘草
66	8-prenylated eriodictyol	53.79	0.40	12	甘草
67	光甘草定 (glabridin)	53.25	0.47	9	甘草
68	光果甘草宁 (glabranin)	52.90	0.31	15	甘草
69	格里西轮 (glycyrin)	52.61	0.47	5	甘草
70	光甘草酮 (glabrone)	52.51	0.50	7	甘草
71	甘草异黄酮 (licoisoflavanone)	52.47	0.54	4	甘草
72	黄羽扇豆魏特酮 (lupiwighteone)	51.64	0.37	5	甘草
73	甘草宁 A (gancaonin A)	51.08	0.40	6	甘草
74	jaranol	50.83	0.29	8	甘草
75	kazonols W	50.48	0.52	8	甘草
76	甘草宁 H (gancaonin H)	50.10	0.78	12	甘草
77	飞机草素 (odoratin)	49.95	0.30	5	甘草
78	异鼠李素 (isorhamnetin)	49.60	0.31	10	甘草
79	甘草查耳酮 G (licochalcone G)	49.25	0.32	10	甘草
80	美迪紫檀素 (medicarpin)	49.22	0.34	9	甘草
81	甘草宁 B (gancaonin B)	48.79	0.45	6	甘草
82	半甘草异黄酮 B (semilicoisoflavone B)	48.78	0.55	9	甘草
83	1,3-dihydroxy-9-methoxy-6-benzofurano[3,2-c]chromenone	48.14	0.43	7	甘草
84	毛蕊异黄酮 (calycosin)	47.75	0.24	9	甘草
85	quercetin der.	46.45	0.33	6	甘草
86	槲皮素 (quercetin)	46.43	0.28	50	甘草
87	(E)-3-[3,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-1-(2,4-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one	46.27	0.31	6	甘草
88	光甘草素 (glabrene)	46.27	0.44	7	甘草
89	3'-methoxyglabridin	46.16	0.57	5	甘草
90	glyasperin C	45.56	0.40	10	甘草
91	甘草酚 (isolicoflavanol)	45.17	0.42	10	甘草
92	北美甘草醇 A (glepidotin A)	44.72	0.35	8	甘草
93	异甘草醇 (isoglycyrol)	44.70	0.84	5	甘草
94	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-(3-methylbut-2-enyl)chromone	44.15	0.41	8	甘草
95	3'-hydroxy-4'-O-methylglabridin	43.71	0.57	5	甘草
96	eurycarpin A	43.28	0.37	6	甘草
97	7-methoxy-2-methyl isoflavone	42.56	0.20	11	甘草
98	山柰酚 (kaempferol)	41.88	0.24	29	甘草
99	甘草异黄酮 (licoisoflavone)	41.61	0.42	7	甘草
100	glycyrrhiza flavonol A	41.28	0.60	10	甘草
101	18 α -hydroxyglycyrrhetic acid	41.16	0.71	2	甘草

续表 1

编号	化合物	OB/%	DL	度	来源
102	甘草查耳酮 A (licochalcone A)	40.79	0.29	12	甘草
103	胀果香豆素甲 (inflacoumarin A)	39.71	0.33	5	甘草
104	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl) prop-2-en-1-one	39.62	0.35	5	甘草
105	6-prenylated eriodictyol	39.22	0.41	11	甘草
106	甘草异黄酮 B (licoisoflavone B)	38.93	0.55	9	甘草
107	7-acetoxy-2-methylisoflavone	38.92	0.26	4	甘草
108	HMO	38.37	0.21	6	甘草
109	黄甘草苷 (glycyroside)	37.25	0.79	2	甘草
110	(2S)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chroman-4-one	36.57	0.32	10	甘草
111	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	36.21	0.52	5	甘草
112	sigmoidin-B	34.88	0.41	11	甘草
113	3,22-dihydroxy-11-oxo-delta(12)-oleanene-27-alpha-methoxycarbonyl-29-oic acid	34.32	0.55	12	甘草
114	甘草香豆酮 (licocoumarone)	33.21	0.36	9	甘草
115	licorice glycoside E	32.89	0.27	6	甘草
116	甘草素 (DFV)	32.76	0.18	9	甘草
117	kanzonol F	32.47	0.89	6	甘草
118	phaseolinisoflavan	32.01	0.45	7	甘草
119	异槲皮酚 (isotrifoliol)	31.94	0.42	7	甘草
120	(2S)-2-[4-hydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl)phenyl]-8,8-dimethyl-2,3-dihydropyrano [2,3-f] chromen-4-one	31.79	0.72	3	甘草
121	icos-5-enoic acid	30.70	0.20	9	甘草
122	gadelaidic acid	30.70	0.20	5	甘草
123	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl) chromone	30.49	0.41	5	甘草
124	euchrenone	30.29	0.57	11	甘草
125	甘草甜素 (glycyrrhizin)	9.06	0.11	39	甘草
126	18β-甘草次酸 (18β-glycyrrhetic acid)	17.41	0.74	3	甘草



多而复杂,即各个靶点间关联性较强,表示苓桂术甘汤在治疗 AD 的过程中各靶点间相互联系密切,说明苓桂术甘汤可能通过作用于多个靶点协同发挥药效。其中,度值较大的靶点是 ALB、AKT1、TP53,分别为 73、71、56,说明这些靶点在整个网络中占据重要地位。提示这些靶点可能是苓桂术甘汤发挥药效治疗 AD 的关键靶点。

2.4 苓桂术甘汤单味药-活性成分-作用靶点相互作用网络分析

根据上述所得到的苓桂术甘汤中 4 味药材、126 个潜在活性成分与 120 个潜在作用靶点之间的关系,利用 Cytoscape 软件中 merge 功能建立了单味药-活性成分-作用靶点网络,结果见图 2。在该网络中,共包含 250 个节点(4 味药材,126 个潜在活性成分,120 个作用靶点)和 1 109 条边。每条边代表潜在活性成分与作用靶点间的相互作用关系,节点越大代表该化合物度值越大,线条越粗代表节点间关联性越强。

表 1 中列出了单味药-活性成分-作用靶点网络中化合物的度值。可以看出,槲皮素度值最大,与 49 个靶点相连,中介度为 0.136 34;其次是桂皮醛,与 43 个靶点相连,中介度为 0.091 995;然后是甘草甜素,与 38 个靶点相连,中介度为 0.081 929。可以推测,这些度值和中介度较高的潜在活性成分可能在苓桂术甘汤治疗 AD 的药理功能中发挥着相对重要的作用。此外,在网络中,靶点微管相关 tau 蛋白

(MAPT)、蛋白酪氨酸磷酸酶 N1 (PTPN1)、雌激素受体基因 1 (ESR1) 也拥有较高的度值和中介度,度值分别为 90、56、47,中介度则分别为 0.201 265、0.092 649、0.049 12。据此可以推断,这些靶点可能与苓桂术甘汤治疗 AD 的药理作用密切相关。进一步分析可知,在 126 个化合物中,约 98% 的潜在活性成分至少与 2 个靶点相连;在 120 个作用靶点中,有 80% 的靶点至少与 2 个化合物相连。这说明,苓桂术甘汤中的潜在活性成分可能作用于整个生物网络系统,即同一活性成分可能作用于不同的靶点,不同的活性成分可能作用于同一靶点,提示苓桂术甘汤多成分、多靶点协同治疗 AD 的作用特点。

2.5 GO (Gene Ontology) 生物功能富集分析

采用 DAVID 6.8 数据库对 120 个潜在作用靶点进行 GO 基因本体分类富集分析,确定了 565 个 GO 条目。其中,生物学过程 (BP) 相关的条目最多,有 396 个,主要涉及 RNA 聚合酶 II 启动子转录的调控、氧化还原过程、对药物的反应、信号转导、凋亡过程的负调控等;分子功能 (MF) 相关的条目 121 个,主要涉及蛋白结合、蛋白质同源二聚体活性、锌离子结合等;细胞组成 (CC) 相关的条目 48 个,主要涉及质膜、膜的组成、细胞核、质膜的组成、细胞质、核质、细胞外区域、线粒体等;前 20 条富集结果见表 2。结果提示与苓桂术甘汤治疗 AD 相关的关键靶标可能与蛋白结合、质膜、膜的组成、细胞核、质膜的组成等生物功能有一定关系。

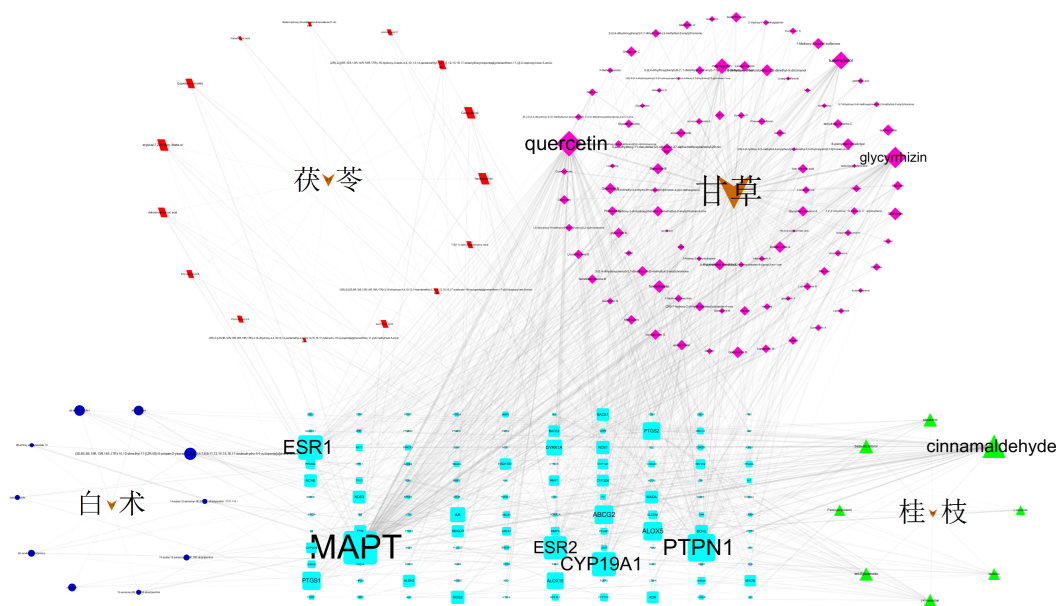


图 2 苓桂术甘汤单味药-活性成分-作用靶点相互作用网络

Fig. 2 Herbs-active compounds-targets network of Linggui Zhugan Decoction

表 2 前 20 条 GO 生物功能分析
Table 2 Results of top 20 of GO analysis

类别	名称	基因数	P 值
GOTERM_MF_DIRECT	GO: 0005515 ~ protein binding	86	6.87×10^{-6}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005886 ~ plasma membrane	66	1.87×10^{-14}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0016021 ~ integral component of membrane	47	7.91×10^{-3}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005634 ~ nucleus	47	0.019 2
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005887 ~ integral component of plasma membrane	37	3.63×10^{-14}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005829 ~ cytosol	32	0.018 4
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005576 ~ extracellular region	28	3.27×10^{-6}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005654 ~ nucleoplasm	26	0.052 7
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0016020 ~ membrane	25	6.88×10^{-3}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0045944 ~ positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	24	2.83×10^{-7}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0055114 ~ oxidation-reduction process	22	8.51×10^{-10}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0042493 ~ response to drug	21	3.17×10^{-14}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0000122 ~ negative regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	21	1.32×10^{-7}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0007165 ~ signal transduction	20	4.56×10^{-4}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005615 ~ extracellular space	20	1.03×10^{-3}
GOTERM_MF_DIRECT	GO: 0042803 ~ protein homodimerization activity	20	7.04×10^{-7}
GOTERM_BP_DIRECT	GO: 0043066 ~ negative regulation of apoptotic process	19	2.87×10^{-9}
GOTERM_MF_DIRECT	GO: 0008270 ~ zinc ion binding	19	1.24×10^{-3}
GOTERM_CC_DIRECT	GO: 0005739 ~ mitochondrion	18	5.33×10^{-3}
GOTERM_MF_DIRECT	GO: 0042802 ~ identical protein binding	18	1.75×10^{-5}

2.6 KEGG 代谢通路富集分析

利用 DAVID 6.8 数据库对筛选出的 120 个潜在作用靶点进行 KEGG 通路富集分析, 共获得 67 条富集结果。限定 $P < 0.05$, 前 20 条 KEGG 代谢通路及其相关信息见表 3。可以看出, $P < 0.05$ 的前 20 条通路主要包括神经活性配体-受体相互作用通路 (neuroactive ligand-receptor interaction)、癌症通路 (pathways in cancer)、5-羟色胺能突触通路 (serotonergic synapse)、钙信号通路 (calcium signaling pathway)、cAMP 信号通路 (cAMP signaling pathway)、PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、胰岛素抵抗通路 (insulin resistance)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、癌症中的蛋白多糖通路 (proteoglycans in cancer)、Ras 信号通路 (Ras signaling pathway)、MAPK 信号通路 (MAPK signaling pathway)、前列腺癌通路 (prostate cancer)、多巴胺能突触通路 (dopaminergic synapse)、cGMP-PKG 信号通路 (cGMP-PKG signaling pathway)、癌症的转录失调通路 (transcriptional misregulation in cancer)、AD 通路

(Alzheimer's disease)、Rap1 信号通路 (Rap1 signaling pathway)、肌动蛋白细胞骨架的调控通路 (regulation of actin cytoskeleton)、可卡因成瘾通路 (cocaine addiction)、脂肪细胞脂解的调控通路 (regulation of lipolysis in adipocytes)。以上数据提示, 苓桂术甘汤的有效成分可能通过作用于这些代谢通路发挥其治疗 AD 的潜在作用。

3 讨论

网络药理学为中药复方的作用机制和药效物质基础研究提供了一个全新的视觉和解决方案。苓桂术甘汤是《伤寒论》的经典名方, 主要有利尿、祛痰止咳、镇静镇痛、强心、改善消化系统功能及抗炎抗过敏等作用, 临床广泛应用于心血管疾病、梅尼埃病、心肾综合征以及慢性支气管炎等疾病。然而该方治疗上述疾病的药效物质基础和作用机制尚不明确。邹璐^[27]通过网络药理学技术阐明了苓桂术甘汤治疗非酒精性脂肪性肝病的应用规律, 并阐明了其作用靶点。朱梓铭等^[12]也运用该技术对苓桂术甘汤治疗慢性心力衰竭的作用机制进行了探讨, 结果发现, 该方中 β -谷甾醇、刺芒柄花素、常春藤

表 3 前 20 条 KEGG 代谢通路富集分析

Table 3 Results of top 20 of pathway enrichment obtained by KEGG analysis

类别	名称	基因数	P 值
KEGG_PATHWAY	hsa04080: neuroactive ligand-receptor interaction	26	4.91×10^{-13}
KEGG_PATHWAY	hsa05200: pathways in cancer	24	2.73×10^{-8}
KEGG_PATHWAY	hsa04726: serotonergic synapse	16	1.26×10^{-10}
KEGG_PATHWAY	hsa04020: calcium signaling pathway	16	1.00×10^{-7}
KEGG_PATHWAY	hsa04024: cAMP signaling pathway	14	1.17×10^{-5}
KEGG_PATHWAY	hsa04151: PI3K-Akt signaling pathway	13	7.58×10^{-3}
KEGG_PATHWAY	hsa04931: insulin resistance	10	4.45×10^{-5}
KEGG_PATHWAY	hsa04668: TNF signaling pathway	9	2.56×10^{-4}
KEGG_PATHWAY	hsa05205: proteoglycans in cancer	9	0.013 0
KEGG_PATHWAY	hsa04014: Ras signaling pathway	9	0.025 3
KEGG_PATHWAY	hsa04010: MAPK signaling pathway	9	0.044 9
KEGG_PATHWAY	hsa05215: prostate cancer	8	4.32×10^{-4}
KEGG_PATHWAY	hsa04728: dopaminergic synapse	8	3.86×10^{-3}
KEGG_PATHWAY	hsa04022: cGMP-PKG signaling pathway	8	0.011 9
KEGG_PATHWAY	hsa05202: transcriptional misregulation in cancer	8	0.015 7
KEGG_PATHWAY	hsa05010: Alzheimer's disease	8	0.016 2
KEGG_PATHWAY	hsa04015: Rap1 signaling pathway	8	0.046 6
KEGG_PATHWAY	hsa04810: regulation of actin cytoskeleton	8	0.046 6
KEGG_PATHWAY	hsa05030: cocaine addiction	7	1.05×10^{-4}
KEGG_PATHWAY	hsa04923: regulation of lipolysis in adipocytes	7	2.24×10^{-4}

皂苷元等化合物可能通过作用于 ADRA1A、ADRA1D、NOS3 等靶点,集中在单胺类 G 蛋白偶联受体、NO 的调节作用、核受体及叶酸代谢等通路来发挥改善心肌细胞代谢、改善糖代谢及脂代谢、参与心率调节等药理作用。本研究采用网络药理学研究策略,构建了苓桂术甘汤治疗 AD 的单味药-活性成分-作用靶点交互网络模型,共筛选出 126 个潜在活性成分和 120 个潜在作用靶点,KEGG 代谢通路富集分析结果表明有 67 条代谢通路可能与 AD 有关,为研究苓桂术甘汤多成分、多靶点、多通路协同作用治疗 AD 提供了理论线索。

从苓桂术甘汤单味药-活性成分-作用靶点相互作用网络(图 2)分析中可以推测,槲皮素是该方中与 AD 相关靶点作用最多的化学成分,提示该成分可能与苓桂术甘汤治疗 AD 有关,这与之前的研究结果也是一致的。Mohammad 等^[28]报道,在淀粉样蛋白- β 注射引起的 AD 大鼠模型中,槲皮素不仅可通过调节乙酰胆碱酯酶的生物活性,促进参与调节神经发生的脑源性神经营养因子(BDNF)、神经生长因子(NGF)、cAMP 反应元件结合蛋白(CREB)和早期生长反应因子-1(EGR-1)基因的表达,控制氧化应激状态,增加神经干/祖细胞的增殖数量,还可提高 BrdU/NeuN 阳性细胞的数量,达到增强成

体神经发生机制的效果,提示其在减轻 AD 症状方面发挥着重要的作用。其次,桂皮醛与 43 个潜在靶点相互作用,提示其也可能与苓桂术甘汤治疗 AD 有密切关系。研究表明,桂皮醛具有抗炎、神经保护等作用。桂皮醛能显著抑制细胞前列腺素 E2(PGE2)、NO、TNF- α 的分泌,下调诱导型一氧化氮合酶、NF- κ B 蛋白的表达,进而缓解神经炎症反应以及神经元变性损伤,显示出一定的 AD 治疗作用^[21]。此外,甘草甜素与 38 个潜在靶点相关,在苓桂术甘汤治疗 AD 过程中可能也具有一定的作用。乔会敏等^[29]研究甘草甜素对脑缺血大鼠的脑保护作用 and 机制时发现,甘草甜素不仅可以抑制高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)的表达,还可以调控 RAGE、Toll 样受体 4(TLR4)、NF- κ B、claudin-5 的表达,减轻神经功能缺损评分,显示出明显的脑保护作用。而且,也有研究发现,甘草甜素是一种天然的 HMGB1 抑制剂,而 HMGB1 的靶向性以及 HMGB1 和其他物质之间的复合物分子被认为是治疗神经系统疾病的有效策略之一^[30-31]。因此,可以推测,上述化学成分极有可能是苓桂术甘汤治疗 AD 的相关药效物质。

靶点分析结果表明,靶点 MAPT 与 90 个潜在活性成分相关,其度值最大,可能与苓桂术甘汤治

疗 AD 有一定联系。相关研究表明, MAPT 基因主要负责编码神经元微管相关蛋白 tau, 其主要分布在神经元轴突中, 对于微管的稳定和组装起着至关重要的作用^[32]。在正常人体内 tau 蛋白磷酸化/去磷酸化维持平衡状态, 但当多种 MAPT 基因突变就会引起 tau 蛋白的过度磷酸化, 进而形成 PHFs 及 NFTs 而沉积于脑中导致神经元变性, 这是 AD 患者脑中一个重要的病理特征^[33]。显然, 这为本次研究结果提供了一定的理论依据, 提示 MAPT 可能是苓桂术甘汤治疗 AD 的关键作用靶点。其次, 靶点 PTPN1 与 56 个潜在活性成分相关, 也在单味药-活性成分-作用靶点相互作用网络中显示出突出的作用。此前, Wang 等^[34]通过对 AD 患者和 Tg2576 小鼠研究发现, 在 AD 小鼠中施用特异性破坏 miR-124/PTPN1 相互作用的肽抑制剂 R-124P, 可有效地逆转突触传递和记忆缺陷, 发现 miR-124/PTPN1 通路是 AD 中突触功能障碍和记忆丧失的关键介质, 通过抑制 miR-124 重建 miR-124/PTPN1 途径, 过表达 PTPN1 或应用破坏 miR-124/PTPN1 相互作用的肽抑制剂可以恢复突触衰竭和记忆缺陷, 上述实验结果为本研究提供了实验依据。尽管如此, 苓桂术甘汤可能作用于 MAPT 和 miR-124/PTPN1 靶点治疗 AD 的相关机制仍需大量实验进一步验证。

KEGG 代谢通路(表 3)结果显示, 神经活性配体-受体相互作用通路涉及 26 个靶点, 提示该通路可能与苓桂术甘汤治疗 AD 有关。研究表明, 该通路是质膜上所有与细胞内外信号通路相关的受体和配体的集合, 其中 A 类生物胺亚类的受体基因 Chrm3 上调会增强胆碱能功能, 可能与促进学习和提高记忆能力有关^[35-37]。此外, 生物胺是一种重要的刺激神经组织分子, 与相对应的受体结合后控制并调节着多种重要的生物功能, 如生理节律、内分泌、心血管控制、情绪、学习和记忆等^[38]。另外, 钙信号通路涉及 16 个靶点, 也显示出与苓桂术甘汤治疗 AD 有一定的联系。有研究表明, Ca^{2+} 失衡可能是 AD 的几个致病因素间联系的纽带, 因为血液中 Ca^{2+} 浓度和能量不足会使依赖钙的酶活性降低, 造成 A β 和 tau 蛋白的沉积, 进而将 A β 学说和 tau 蛋白学说联系起来^[39]。同样, 神经元内 Ca^{2+} 浓度升高也会激活蛋白激酶, 发生特异蛋白激酶/磷酸酶活性的失衡, 引起 tau 蛋白过度磷酸化, 且 Ca^{2+} 还可通过钙调蛋白等下游信号使过度磷酸化的 tau 蛋白形成 PHFs, 进而形成 NFTs, 最终导致神经元变性

与 AD^[40-41]。所以, 钙离子的稳态在 AD 发展、发病过程中起着至关重要的作用。5-羟色胺能突触通路也包含 16 个相关靶点, 该通路主要是由 5-羟色胺及分布于脑内不同部位的 5-羟色胺受体组成, 可影响 γ -氨基丁酸、多巴胺等其他神经递质的释放, 还介导了记忆、学习、行为等大脑高级活动, 其功能异常将会引发 AD^[42]。以上结果提示, 苓桂术甘汤可能通过调节上述这些代谢通路进而改善神经元纤维缠结和由钙引起的神经元毒性, 发挥其治疗 AD 的效果。上述研究结果在一定程度上为本研究提供了理论依据, 为开展相关验证研究奠定了基础。

综上所述, 本研究主要通过网络药理学方法分析了苓桂术甘汤对 AD 的潜在治疗作用, 利用筛选后的潜在活性成分预测相关作用靶点并进行了生物功能和代谢通路富集分析, 建立了单味药-活性成分-作用靶点网络模型, 多角度整体探索了苓桂术甘汤治疗 AD 的潜在作用机制。结果提示, 苓桂术甘汤中的 126 个潜在活性成分可能主要是通过作用于 MAPT、PTPN1、ESR1 等 120 个与疾病相关的潜在靶点, 涉及蛋白结合、细胞、氧化还原过程、神经活性配体-受体相互作用通路、钙信号通路、5-羟色胺能突触通路等多种可能的生物功能和代谢通路, 以达到调节 tau 蛋白、调控钙平衡、影响神经递质释放、减轻炎症反应、缓解神经元损伤等多种途径来发挥治疗 AD 的效果, 为其多成分、多靶点、多途径协同治疗 AD 的可能作用机制提供了研究依据, 为后续更精准地寻求其药效物质基础和作用机制提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] Martinez B, Peplow P V. MicroRNAs as diagnostic and therapeutic tools for Alzheimer's disease: Advances and limitations [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(2): 242-255.
- [2] 吴思缈, 周黎明. 阿尔茨海默病的发病机制及药物治疗的进展 [J]. *四川生理科学杂志*, 2009, 31(1): 36-39.
- [3] 应侠, 吴振, 雷严, 等. 阿尔茨海默病的发病机制及治疗药物研究进展 [J]. *中国药房*, 2014, 25(33): 3152-3155.
- [4] 王华丽, 于欣. 中国阿尔茨海默病的流行病学现状 [J]. *中华全科医师杂志*, 2006, 5(6): 358-360.
- [5] 洪震. 我国近年阿尔茨海默病流行病学研究现状与展望 [J]. *老年医学与保健*, 2005, 11(4): 195-198.
- [6] 岳玲, 王涛, 肖世富. 阿尔茨海默病诊断与治疗研究进展 [J]. *张江科技评论*, 2019(1): 10-12.
- [7] 刘铮, 魏成喜. 阿尔兹海默症的发病机制探究 [J].

- 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(8): 170-171.
- [8] 来兰梅, 凌翠霞, 张向飞, 等. 阿尔兹海默症发病机制的研究进展 [J]. 商丘师范学院学报, 2018, 34(12): 27-29.
- [9] 朱杰, 张钊, 董一筱, 等. 阿尔茨海默病及其治疗药物研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(12): 1629-1634.
- [10] 陈君媚, 周春祥. 苓桂术甘汤药理作用及其机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(14): 222-227.
- [11] 张宝成, 李雪萍, 黄聪, 等. 苓桂术甘汤“开玄府-气化三焦”治疗慢性心力衰竭的探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(3): 1006-1008.
- [12] 朱梓铭, 张因彪, 郑景辉, 等. 基于网络药理学探究苓桂术甘汤治疗慢性心力衰竭的作用机制 [J]. 临床心血管病杂志, 2019, 35(2): 154-161.
- [13] 王靓, 侯晓燕, 黄金玲, 等. 苓桂术甘汤对慢性心衰模型大鼠心肌组织 TNF- α 及血清 NF- κ B 和 IL-1 β 的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 586-589.
- [14] 宋宗华. 苓桂术甘汤药效物质基础研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2002.
- [15] 桑锋, 周春祥. 苓桂术甘汤对阿尔茨海默病 (AD) 发病机制的实验研究 [J]. 中医学报, 2011, 26(6): 686-688.
- [16] 于蓓蓓. 基于苓桂术甘汤干预 A β 致炎症损伤研究探讨阿尔茨海默病与脾虚饮停关联 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [17] 汤佩佩, 白明, 苗明三. 中医药研究与网络药理学 [J]. 中医学报, 2012, 27(9): 1112-1115.
- [18] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药科学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [19] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6): 883-892.
- [20] 刘艾林, 杜冠华. 网络药理学: 药物发现的新思想 [J]. 药科学报, 2010, 45(12): 1472-1477.
- [21] 张利青, 张占刚, 付岩, 等. 桂皮醛药理作用的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4568-4572.
- [22] 汲广全. 白术有效成分对巨噬细胞和树突状细胞免疫活性的研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
- [23] 李金兵. 逍遥散抗抑郁有效部位最佳配伍筛选及谱效关系研究 [D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [24] 冯星, 王正濂, 林永成, 等. 双白术内酯对 A β ₁₋₄₀ 致痴呆模型大鼠的作用 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(7): 949-951.
- [25] 王林, 李亚军, 张蓓, 等. 甘草甜素对癫痫持续状态大鼠神经保护作用及机制研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(10): 893-896.
- [26] 康蕾, 李学强, 王凤荣. 18 β -甘草次酸结构修饰及生物活性研究进展 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1430-1442.
- [27] 邹璐. 基于网络药理学技术苓桂术甘汤治疗非酒精性脂肪性肝病的应用规律和靶点发现 [A] // 第二十四次全国中西医结合肝病学术会议论文汇编 [C]. 北京: 中国中西医结合学会, 2015.
- [28] Mohammad K, Reza R, Hamid T, *et al.* Quercetin promotes learning and memory performance concomitantly with neural stem/progenitor cell proliferation and neurogenesis in the adult rat dentate gyrus [J]. *Inter J Devel Neur*, 2019, (74): 18-26.
- [29] 乔会敏, 陈林玉, 杜媛媛, 等. 甘草甜素对脑缺血大鼠的脑保护作用及机制探讨 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(5): 287-292.
- [30] Juliane S, Dannielle Z, Patricia T, *et al.* Severe stroke induces long-lasting alterations of high-mobility group box 1 [J]. *Stroke*, 2013, 44(1): 246-248.
- [31] Zhao L S, Ping N, Peng S, *et al.* Bio-HMGB1 from breast cancer contributes to M-MDSC differentiation from bone marrow progenitor cells and facilitates conversion of monocytes into MDSC-like cells [J]. *Cancer Immunol Immun*, 2017, 66(3): 391-401.
- [32] 张成成. MAPT 基因与神经退行性疾病 [A] // 中华医学会第十八次全国神经病学学术会议论文汇编 (下) [C]. 上海: 中华医学会, 2015.
- [33] 李明月, 王群. 额颞叶痴呆 MAPT 基因的研究进展 [J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2015, 9(9): 1679-1684.
- [34] Wang X, Liu D, Huang H Z, *et al.* A novel microRNA-124/PTPN1 signal pathway mediates synaptic and memory deficits in Alzheimer's disease [J]. *Biol Psychiatr*, 2018, 83(5): 395-405.
- [35] 潘玲珍, 闫智勇, 左长英, 等. 长期使用地西泮对神经活性配体受体相互作用信号通路的影响 [J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(5): 443-446.
- [36] Su S Y, Hsieh C L, Wu S L, *et al.* Transcriptomic analysis of EGb 761-regulated neuroactive receptor pathway *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 123(1): 68-73.
- [37] 巨兴达, 宋伟, 徐婧. CHRM3 基因与孤独症谱系障碍 [J]. 心理科学进展, 2018, 26(12): 2141-2152.
- [38] 郭志云, 张怀渝, 王月兰, 等. 生物胺受体配基结合区域及其位点的预测 [J]. 生物物理学报, 2005, 21(2): 95-102.
- [39] 李润辉. 阿尔兹海默病的研究现状 [J]. 沈阳医学院学报, 2013, 15(3): 129-133.
- [40] 伍吉云, 邓志敏. 钙信号与阿尔茨海默病的关系及其作用 [J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2010, 31(4): 107-109.
- [41] 许飞, 程灶火, 杨敏. Tau 蛋白、A β 蛋白与阿尔茨海默病的关系及其作用 [J]. 实用临床医药杂志, 2008, 12(5): 118-120.
- [42] Kohler 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.