

巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆作用机制的网络药理学分析

邓少东^{1,2}, 丁晨^{1,3}, 王颖¹, 叶锦崇^{1,3}, 郭上诗^{1,3}, 黄嘉琪^{1,3}, 叶海仪¹(1. 广东医科大学第二临床医学院科研平台, 广东 东莞 523808; 2. 广东医科大学第二临床医学院中医学教研室, 广东 东莞 523808; 3. 广东医科大学药学院, 广东 东莞 523808)

摘要: **目的** 基于网络药理学方法探讨巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆的潜在分子作用机制。**方法** 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP 数据库)收集巴戟天、淫羊藿的化学成分, 根据口服生物利用度、类药性、血脑屏障透过率等参数以及结合文献报道筛选其活性成分并预测其作用靶点; 通过 GeneCard、TTD、DiGSeE 等数据库筛选出老年痴呆症相关的疾病靶点, 并与活性成分作用靶点取交集即为药物与疾病的共同作用靶点; 采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点的可视化网络; 基于 STRING 数据库, 构建巴戟天-淫羊藿药对防治老年性痴呆靶点(共同作用靶点)的蛋白互作网络, 根据拓扑学参数分析筛选出核心靶点; 对共同作用靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路富集分析, 构建巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的“活性成分-共同作用靶点-信号通路”网络。**结果** 共筛选出活性成分 27 个, 获得“巴戟天-淫羊藿”药对与老年痴呆症的共同作用靶点 129 个; 核心靶点涉及 GAPDH、VEGFA、STAT3、SRC、EGFR、JUN、MAPK8 等; GO 富集分析得到生物学过程相关条目 388 条、分子功能相关条目 131 条及细胞组分相关条目 117 条($P < 0.01$); KEGG 通路富集分析得到 128 条信号通路($P < 0.01$), 其中筛选得到与老年痴呆相关的信号通路 9 条。**结论** 巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症具有多成分、多靶点、多通路的作用特点, 其作用机制可能与神经活性配体-受体相互作用、内分泌抵抗、5-羟色胺能突触、胆碱能突触、多巴胺能神经突触等信号通路相关。

关键词: 巴戟天; 淫羊藿; 药对; 老年痴呆症; 网络药理学; 作用机制

中图分类号: R285.5; R857.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)07-0988-10

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.07.012

Study on Mechanism of Morindae officinalis Radix-Epimedii Folium Herb Pair in The Treatment of Senile Dementia Based on Network Pharmacology

DENG Shaodong^{1,2}, DING Chen^{1,3}, WANG Ying¹, YE Jinchong^{1,3}, GUO Shangshi^{1,3}, HUANG Jiaqi^{1,3}, YE Haiyi¹(1. Scientific Research Platform, The Second Clinical Medical College, Guangdong Medical University, Dongguan 523808 Guangdong, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, The Second Clinical Medical College, Guangdong Medical University, Dongguan 523808 Guangdong, China; 3. School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808 Guangdong, China)

Abstract: Objective To explore the molecular mechanism of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair for treatment of senile dementia based on network pharmacology. **Methods** The chemical components of Morindae officinalis radix and Epimedii folium were collected by using TCMSP database and references, and the parameters such as oral bioavailability, drug-likeness and blood brain barrier were screened. All targets of senile dementia were collected in GeneCard, TTD and DiGSeE databases. The common targets of chemical components and the senile dementia were figured out and Cytoscape 3.7.1 software was used to construct a visual network topological

收稿日期: 2020-07-18

作者简介: 邓少东, 男, 博士, 讲师, 研究方向: 中药药效物质与中医药系统生物学研究。Email: dongdyxy@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81403085); 广东省中医药局资助项目(20191189); 广东省“扬帆计划”引进紧缺拔尖人才项目(4YF16001G); 广东医科大学引进人才科研启动基金项目(2XB17028); 广东省 2019 年度省级大学生创新创业训练计划项目(201910571095); 广东医科大学校级大学生创新创业训练计划项目(GDMU2018095)。

relationship map of the Constituent-Target, and analyze the protein-protein interaction network based on string database. The core targets of *Morindae officinalis radix*-*Epimedii folium* herb pair for senile dementia were selected based on topological parameters. Finally, the enrichment analysis of gene ontology (GO) and KEGG pathway enrichment analysis were carried out, and the network of Constituent-Target-Signaling pathway was constructed.

Results Twenty-seven active constituents of *Morindae officinalis radix*-*Epimedii folium* herb pair were screened out and 129 related targets of them were obtained which could act on senile dementia. The core targets are GAPDH, VEGFA, STAT3, SRC, EGFR, JUN, MAPK8, and so on. In the results of GO enrichment analysis, there are 388 GO terms related to biological process, 131 GO terms related to molecular function, and 117 GO terms related to cellular component ($P < 0.01$). The KEGG pathway enrichment analysis contains 128 pathways ($P < 0.01$), among which nine signaling pathways related to senile dementia were screened. **Conclusion** *Morindae officinalis radix*-*Epimedii folium* herb pair has the characteristics of multi-constituent, multi-target, and multi-pathway action in the treatment of senile dementia, and neuroactive ligand-receptor interaction, endocrine resistance, serotonergic synapse, and cholinergic synapse may play important roles in senile dementia treated by *Morindae officinalis radix*-*Epimedii folium* herb pair.

Keywords: *Morindae officinalis radix*; *Epimedii folium*; herb pair; senile dementia; network pharmacology; mechanism

老年痴呆症是一种慢性神经退行性或脑血管损伤等引起脑实质损害、脑功能失调或缺失的老年病症,属于发病率较高的一类神经退行性疾病。随着社会的老齡化,老年痴呆症已严重威胁老年人的身心健康和生活质量^[1]。根据相关流行病学报告^[2]预计,2018 年全球约有 5 千万人患老年痴呆症,2050 年这一数字将增至 1.5 亿。老年痴呆属于中医学的“善忘”“神呆”“呆症”等范畴^[3],中医认为肾精不足、髓海空虚,则脑无法得以濡养,脑的记忆、运动、感知、思维等功能失常,从而导致痴呆^[4]。

巴戟天和淫羊藿作为补肾温阳中药,均具有补肾阳、强筋骨、祛风湿等功效^[5],临床上二者常作为补肾温阳药对而配伍应用^[6-11]。研究^[12-18]表明,巴戟天、淫羊藿中均有多种有效成分具有显著的抗老年痴呆作用,可有效改善实验动物的痴呆症状。老年痴呆症的发病机制迄今尚不明确,可能与多种致病因素有关,而中医药防治老年痴呆症的特点主要是基于中医的整体观,在防治过程中发挥多靶点、多通路的综合作用。因此,本文拟采用网络药理学方法,从多成分、多靶点、多通路等角度分析巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的分子作用机制,以期对相关中药新药开发及临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 巴戟天-淫羊藿药对化学成分的收集及活性成分筛选

采用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP

数据库, <http://tcmispw.com/tcmisp.php/>)^[19]分别收集巴戟天和淫羊藿的化学成分,并基于 TCMSP 数据库中 ADME(吸收、分布、代谢、排泄)参数对收集的化学成分进行筛选。采用口服生物利用度(Oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(Drug-likeness, DL) ≥ 0.18 以及血脑屏障透过率(Blood brain barrier, BBB) ≥ -0.3 等 3 项 ADME 关键指标作为筛选标准^[20-21],并结合相关研究报道^[22-25]筛选出巴戟天-淫羊藿药对的主要活性成分。

1.2 巴戟天-淫羊藿药对活性成分潜在作用靶点预测

通过 TCMSP 数据库及 Swiss target prediction 分析平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测巴戟天-淫羊藿药对中主要活性成分对应的潜在作用靶点;并在 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)中输入各活性成分对应的作用靶点,选择物种为“Homo sapiens”,将以上所有靶点名称进行标准化,即得药物的潜在作用靶点。

1.3 疾病潜在作用靶点筛选及药物-疾病共同作用靶点获取

通过 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>)、DiGSeE (<http://210.107.182.61/geneSearch/>)等数据库检索与老年痴呆症相关的靶基因;对收集到的疾病靶点进行筛选(GeneCards 和 DiGSeE 均以检索得到所有靶点的 Relevance score > 平均值为卡值进行筛选);输入 UniProt 数据库进行标准化(TTD 获得靶点为全称,均需要进行标准化);汇总、删除重复靶点,即得疾病相关的作用靶点。将老年痴呆症相关的作用靶点映射

至巴戟天-淫羊藿药对活性成分的潜在作用靶点上,取其交集即为药物与疾病的共同作用靶点。

1.4 巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点网络的构建 运用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制并构建“活性成分-共同作用靶点”的关系网络,将巴戟天-淫羊藿药对中的活性成分与上述药物与疾病的共同作用靶点进行关联,并进行拓扑学参数分析,根据介数中心性(Betweenness centrality, BC)、紧密中心性(Closeness centrality, CC)以及节点连接度(Degree)的中位数来筛选出成分-靶点网络的核心节点。

1.5 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的核心靶点分析 利用 STRING 数据库在线平台(<https://string-db.org/>)预测共同作用靶点的蛋白相互作用关系。将药物与疾病的共同作用靶点导入 STRING 数据库,将研究物种设置为“Homo sapiens”,构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络,将网络中节点交互作用关系参数导入 Cytoscape 3.7.1 软件,绘制 PPI 网络,根据 BC、CC 和 Degree 值的中位数筛选出巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的核心靶点。

1.6 GO 富集分析和 KEGG 通路分析 利用 Metascape 平台(<http://metascape.org/>)对药物与疾病的共有靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析,以 $P < 0.01$ 作为筛选条件,其中 GO 富集分析对核心靶点进行了生物学过程(Biological process, BP)、分子功能(Molecular function, MF)以及细胞组分(Cellular component, CC)等分析。

1.7 “活性成分-共同作用靶点-信号通路”网络构建 根据 KEGG 通路分析结果,参考现有的研究成果以及生物学信息筛选出的其中可能与老年痴呆症有关的信号通路,并找出富集在这些通路上的巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的潜在作用靶点,与相应的活性成分相对应,通过 Cytoscape 3.7.1 软件绘制“活性成分-共同作用靶点-信号通路”网络关系图。

2 结果

2.1 巴戟天-淫羊藿药对的主要活性成分 通过 TCMSP 数据库检索出巴戟天化学成分 174 个、淫羊藿化学成分 130 个,以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 、 $BBB \geq -0.3$ 为筛选标准,筛选出巴戟天-淫羊藿药对的主要活性成分 22 个;结合相关文献分析,增加巴戟甲素(Bajijiasu)、耐斯糖(Nystose)、1F-果呋喃糖基耐斯糖(1F-fructofuranosyl nystose)、淫羊藿苷(Icariin)、淫羊藿次苷 II(Icariside II)等 5 个成分,共得巴戟天-淫羊藿药对的主要活性成分 27 个,结果见表 1。

2.2 巴戟天-淫羊藿药对活性成分的潜在作用靶点

通过 TCMSP 数据库检索表 1 中各活性成分的作用靶点,获得其收录的作用靶点共 367 个。同时发现编号 S2、S7、S12、S13、S14、S16、S17 等 7 个活性成分没有收录或只收录了较少的作用靶点,因此采用 Chem Draw(<https://www.chemdraw.com.cn/>)、Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、Chempider(<http://www.chemspider.com/>)等软件和数据库获得 SMILES,然后通过 Swiss Target Prediction 分析平台预测了以上 7 个活性成分的相关作用靶点。结果 27 个活性成分共得潜在作用靶点 608 个,通过 Uniprot 数据库进行标准化处理,汇总、删除重复后共得到 215 个潜在作用靶点。

2.3 药物-疾病的共同作用靶点 通过检索 GeneCard、TTD 和 DiGSeE 数据库收集老年痴呆症的相关作用靶点,经过处理后共获得相关的疾病靶点 2 125 个。将药物预测的潜在作用靶点与疾病相关靶点进行映射后,获得“巴戟天-淫羊藿”药物与老年痴呆症的共同作用靶点 129 个,并绘制得韦恩图(见图 1)。

2.4 巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点网络的构建与分析

将巴戟天-淫羊藿药对活性成分、药物与疾病的共同作用靶点导入 Cytoscape 3.7.1 软件,构建活性成分-共同作用靶点网络,结果见图 2。在该网络中,黄色菱形节点代表药物成分,蓝色椭圆形节点代表共同作用靶点,总共 156 个节点(包括 27 个活性成分节点和 129 个靶点节点)和 411 条边;每条边表示化合物分子与靶点之间的相互作用关系。经 Network Analyzer 插件计算活性成分-靶点网络中的 Degree 值中位数的 2 倍为 5,BC、CC 的中位数分别为 0.000 014 42 和 0.294 117 65,以上述拓扑参数为卡值,筛选出该网络中的核心活性成分,结果见表 2(仅列出前 14 位)。结果表明,作用于老年痴呆症疾病靶点数量最多的前 6 种活性成分分别为 1-羟基-3-甲氧基-9,10-蒽醌(1-hydroxy-3-methoxy-9,10-anthraquinone)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)、2,7-二氢高刺桐春[C-Homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-]、耐斯糖(Nystose)、1F-果呋喃糖基耐斯糖(1F-fructofuranosyl nystose)以及巴戟甲素(Bajijiasu),分别靶向 56、36、32、24、24 及 23 个老年痴呆症的相关基因。这些 Degree 值较高的关键活性成分有可能在治疗老年痴呆症中发挥着相对重要的作用。

2.5 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的核心靶点分析 将 129 个共同靶点导入 STRING 数据库中,构建 PPI 网络模型(见图 3),导出共同靶点的 PPI 网络数据。

表 1 巴戟天-淫羊藿药对的主要活性成分

Table 1 The main active ingredients of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair

编号	来源中药	活性成分	口服生物利用度/%	类药性	血脑屏障透过率
S1	巴戟天	Beta-sitosterol	36.91	0.75	0.99
S2	巴戟天	Supraene	33.55	0.42	1.73
S3	巴戟天	Diop	43.59	0.39	0.26
S4	巴戟天	Ethyl oleate(NF)	32.40	0.19	1.10
S5	巴戟天	Alizarin-2-methylether	32.81	0.21	-0.14
S6	巴戟天	2-hydroxy-1,5-dimethoxy-6-(methoxymethyl)-9,10-anthraquinone	95.85	0.37	-0.17
S7	巴戟天	1-hydroxy-3-methoxy-9,10-anthraquinone	104.33	0.21	-0.24
S8	巴戟天	2-hydroxy-1,8-dimethoxy-7-methoxymethylanthracenequinone	112.30	0.37	-0.30
S9	巴戟天	3beta,20(R),5-alkenyl-stigmastol	36.91	0.75	0.89
S10	巴戟天	3beta-24S(R)-butyl-5-alkenyl-cholesterol	35.35	0.82	0.79
S11	巴戟天	Ohioensin-A	38.13	0.76	-0.17
S12	巴戟天	Bajjiasu	-	-	-
S13	巴戟天	Nystose	3.95	0.57	-11.81
S14	巴戟天	1F-fructofuranosyl nystose	3.01	0.36	-13.95
S15	巴戟天、淫羊藿	sitosterol	36.91	0.75	0.87
S16	淫羊藿	Icariin	41.58	0.61	-3.00
S17	淫羊藿	Icariside II	3.70	0.84	-0.91
S18	淫羊藿	Magnograndiolide	63.71	0.19	-0.24
S19	淫羊藿	24-epicampesterol	37.58	0.71	1.15
S20	淫羊藿	Linoleyl acetate	42.10	0.20	1.08
S21	淫羊藿	Poriferast-5-en-3beta-ol	36.91	0.75	1.14
S22	淫羊藿	DFV	32.76	0.18	-0.29
S23	淫羊藿	Anhydroicaritin	45.41	0.44	0.01
S24	淫羊藿	C-Homoerythrinan,1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.beta.)-	39.14	0.49	0.68
S25	淫羊藿	Yinyanghuo C	45.67	0.50	-0.11
S26	淫羊藿	6-hydroxy-11,12-dimethoxy-2,2-dimethyl-1,8-dioxo-2,3,4,8-tetrahydro-1H-isochromeno[3,4-h]isoquinolin-2-ium	60.64	0.66	-0.12
S27	淫羊藿	8-(3-methylbut-2-enyl)-2-phenyl-chromone	48.54	0.25	0.99

注：“-”表示无相关数据

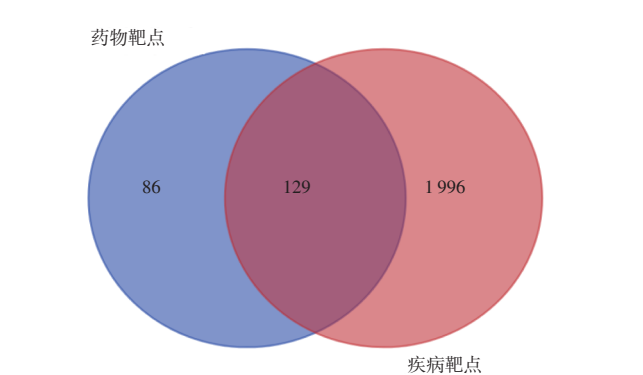


图 1 巴戟天-淫羊藿与老年痴呆症的共同作用靶点韦恩图
Figure 1 Venn diagram of common targets for Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair and senile dementia

利用 Cytoscape 3.7.1 软件可视化 PPI 网络并进行数据分析，根据 $BC \geq 0.004\ 843\ 25$ 、 $CC \geq 0.484\ 848\ 48$ 以及

$Degree \geq 19$ (中位数) 等拓扑学参数条件筛选出 48 个核心靶点，结果见表 3 (仅列出前 20 位)。Degree 值越大表示该靶点处于网络的核心地位，所筛选出的 48 个核心靶点蛋白在巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的调控过程中可能起着关键作用。

2.6 GO 功能富集分析 通过 Metascape 数据库对共同靶点进行 GO 功能富集分析 ($P < 0.01$)，共获得生物学过程 (BP) 相关条目 388 条、分子功能 (MF) 相关条目 131 条及细胞组分 (CC) 相关条目 117 条，分别以 P 值筛选条目作图，结果见图 4~图 6。结果表明，巴戟天-淫羊藿药对参与治疗老年痴呆症的生物学过程主要富集在化学性突触传递 (Chemical synaptic transmission)、应对有毒物质 (Response to toxic substance)、激酶活性的正向调控 (Positive regulation of kinase activity) 等方面；分子功能主要富集在神经递质受体活性 (Neurotransmitter

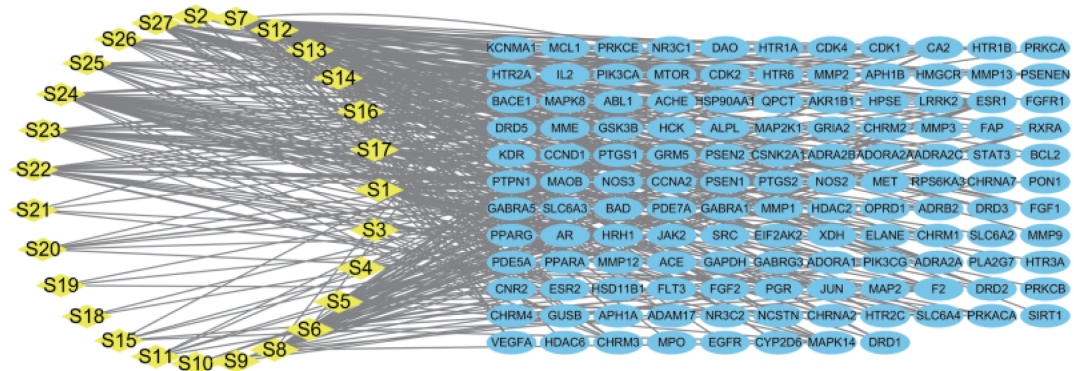


图2 巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点网络
Figure 2 Network diagram of the main active ingredient targets of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair

表2 巴戟天-淫羊藿药对主要活性成分-靶点网络中核心成分节点的拓扑学参数(前14位)

来源中药	成分编号	介数中心性	紧密中心性	节点连接度	来源中药	成分编号	介数中心性	紧密中心性	节点连接度
巴戟天	S7	0.540 334 81	0.415 549 60	56	淫羊藿	S23	0.040 327 38	0.382 716 05	22
巴戟天	S1	0.188 069 36	0.415 549 60	36	淫羊藿	S27	0.040 910 99	0.386 533 67	22
淫羊藿	S24	0.200 431 58	0.406 824 15	32	淫羊藿	S22	0.039 632 46	0.378 973 11	20
巴戟天	S13	0.067 020 07	0.296 367 11	24	巴戟天	S6	0.029 147 53	0.377 128 95	19
巴戟天	S14	0.067 020 07	0.296 367 11	24	巴戟天	S8	0.029 147 53	0.377 128 95	19
巴戟天	S12	0.060 610 35	0.295 238 10	23	淫羊藿	S25	0.008 606 48	0.337 690 63	13
巴戟天	S5	0.040 630 90	0.386 533 67	22	淫羊藿	S26	0.013 717 33	0.364 705 88	12

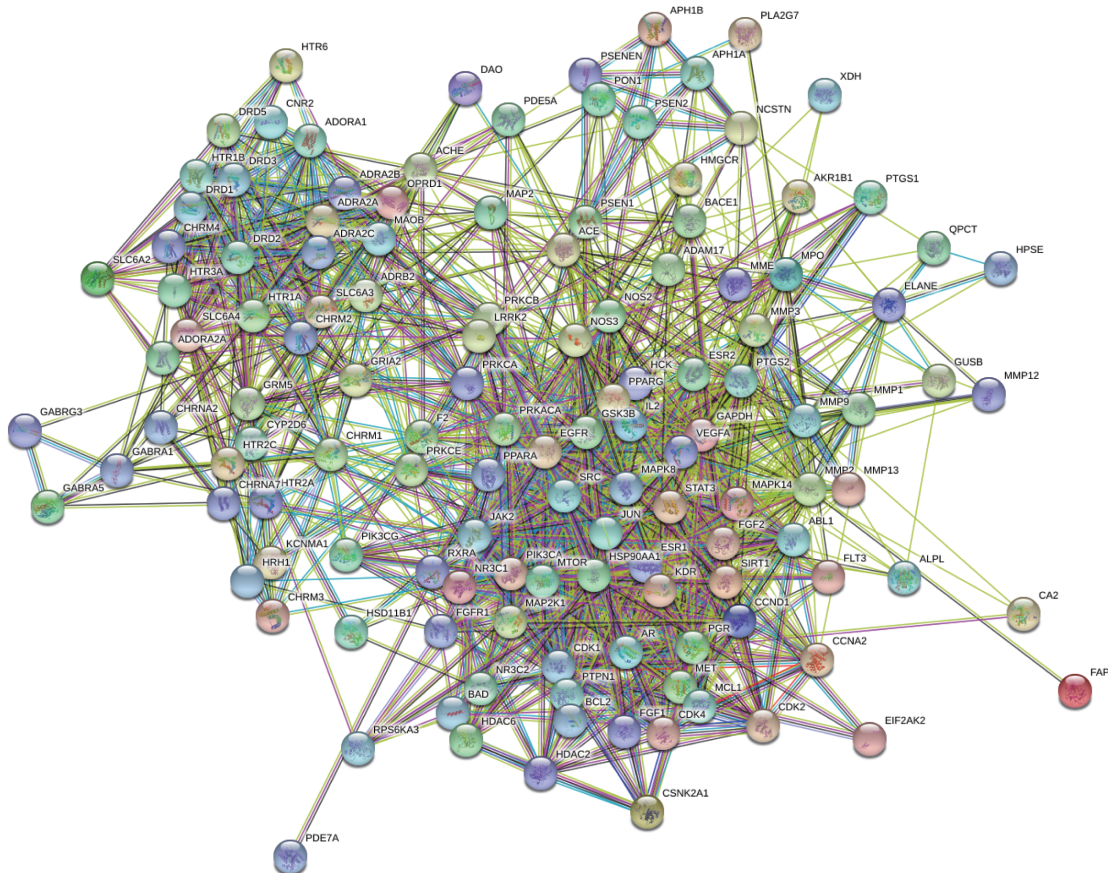


图3 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的靶蛋白互作(PPI)网络
Figure 3 PPI network diagram of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair

receptor activity)、蛋白激酶活性(Protein kinase activity)、儿茶酚胺结合(Catecholamine binding)等方面;细胞组分主要富集在突触前膜的组成部分(Integral component of presynaptic membrane)、膜筏(Membrane raft)、 γ -分泌酶复合物(Gamma-secretase complex)等

方面。

2.7 KEGG 通路分析 通过 KEGG 信号通路分析,共富集得到 128 条相关信号通路($P < 0.01$)。其中与老年痴呆症相关的通路主要包括神经活性配体-受体相互作用(Neuroactive ligand-receptor interaction)、内分泌抵

表 3 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的核心靶点(前 20 位)

Table 3 Core targets of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair(Top 20)

核心靶点	介数中心性	紧密中心性	节点连接度	核心靶点	介数中心性	紧密中心性	节点连接度	核心靶点	介数中心性	紧密中心性	节点连接度
GAPDH	0.086 140 88	0.663 212 44	66	HSP90AA1	0.017 962 94	0.573 991 03	46	FGF2	0.010 742 33	0.561 403 51	41
VEGFA	0.045 404 77	0.624 390 24	58	MTOR	0.025 196 07	0.587 155 96	46	MAPK14	0.010 509 00	0.551 724 14	41
STAT3	0.031 936 73	0.615 384 62	55	NOS3	0.056 021 90	0.595 348 84	45	PIK3CA	0.026 467 41	0.556 521 74	40
SRC	0.025 445 98	0.615 384 62	54	PTGS2	0.019 638 36	0.592 592 59	45	MMP2	0.019 682 00	0.549 356 22	39
EGFR	0.029 318 29	0.618 357 49	52	ESR1	0.015 261 09	0.579 185 52	44	SIRT1	0.011 034 12	0.568 888 89	37
JUN	0.017 570 16	0.589 861 75	50	CCND1	0.007 026 50	0.556 521 74	43	AR	0.009 820 21	0.549 356 22	37
MAPK8	0.021 150 88	0.589 861 75	48	MMP9	0.020 897 74	0.561 403 51	43				

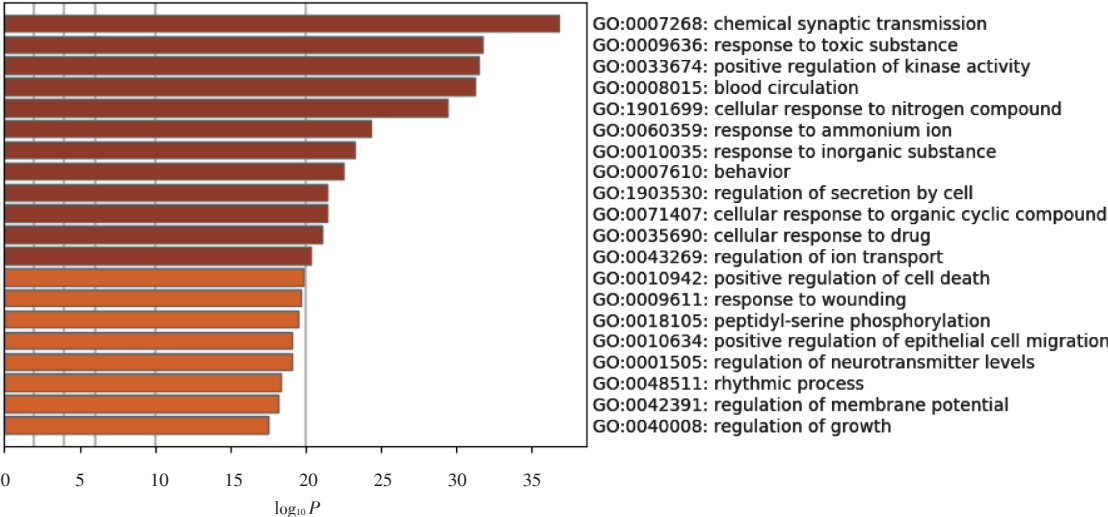


图 4 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的生物过程富集分析

Figure 4 Biological process enrichment analysis result of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair in treatment of senile dementia

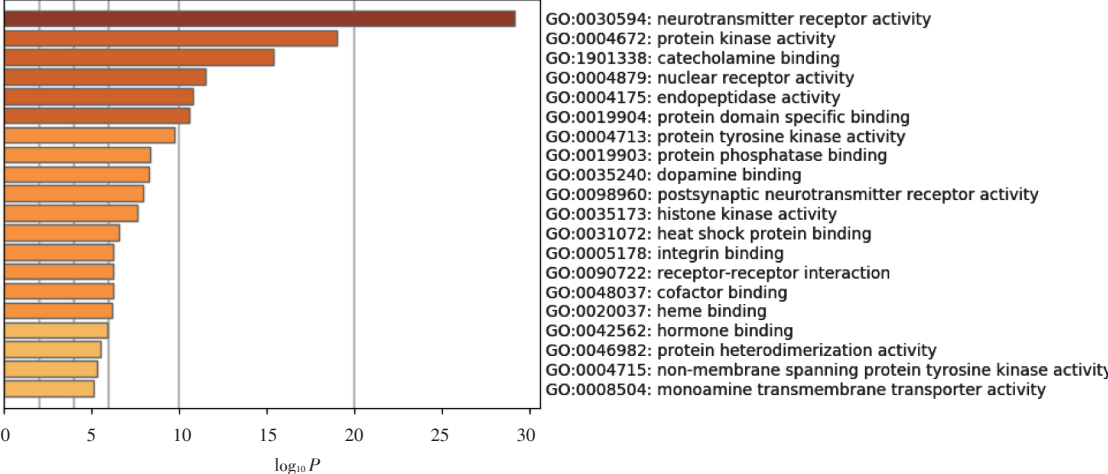


图 5 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的分子功能富集分析

Figure 5 Molecular function enrichment analysis result of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair in treatment of senile dementia

抗(Endocrine resistance)、5-羟色胺能突触(Serotonergic synapse)、胆碱能突触(Cholinergic synapse)、催乳激素信号通路(Prolactin signaling pathway)、多巴胺能神经突触(Dopaminergic synapse)、逆行内源性大麻素信号通路(Retrograde endocannabinoid signaling)、IL-17 信号

通路(IL-17 signaling pathway)、阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)等,结果见图7。提示巴戟天-淫羊藿药对可能通过作用于以上多条通路来发挥治疗老年痴呆症的作用。

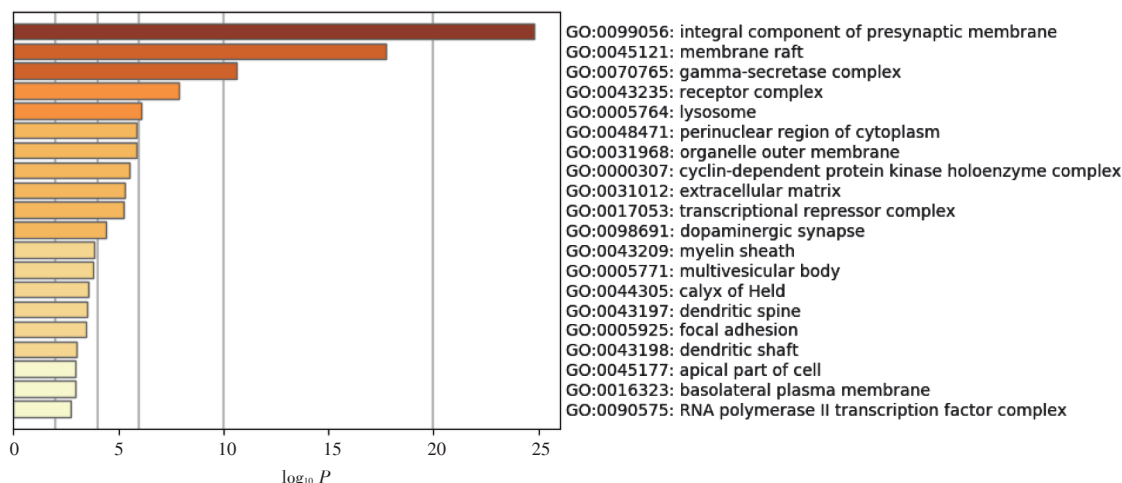


图6 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的细胞组分富集分析

Figure 6 Cellular component enrichment analysis result of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair in treatment of senile dementia

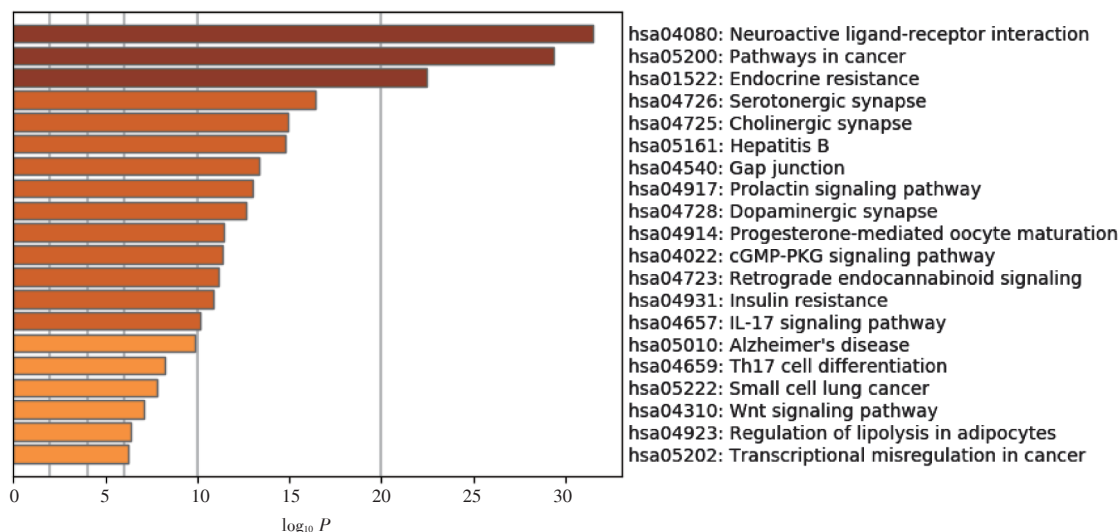


图7 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的 KEGG 通路富集分析

Figure 7 KEGG pathway enrichment analysis result of Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair in treatment of senile dementia

2.8 巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点-信号

通路网络构建 采用 Cytoscape 3.7.1 软件构建巴戟天-淫羊藿药对“活性成分-共同作用靶点-信号通路”网络(见图8),其中黄色节点代表活性成分、蓝色节点代表作用靶点、红色节点代表信号通路。结果显示,巴戟天-淫羊藿药对通过27个关键活性成分,作用于95个潜在靶点,调控9条不同的老年痴呆症相关信号通路,体现了中药多成分、多靶点、多通路治疗老年痴呆症的作用机制。

3 讨论

本研究采用网络药理学^[26-28]方法,从多成分、多靶点、多通路等角度分析了巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的分子作用机制。基于对巴戟天-淫羊藿药对活性成分-共同作用靶点网络的分析, Degree 值排列靠前的成分主要有蒽醌类、低聚糖类、甾醇类、黄酮类等,表明这些成分可能是巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的重要化合物。相关研究显示,巴戟天中的蒽醌类和低聚糖类成分均有显著的保护中枢神经系统作用^[29-30],

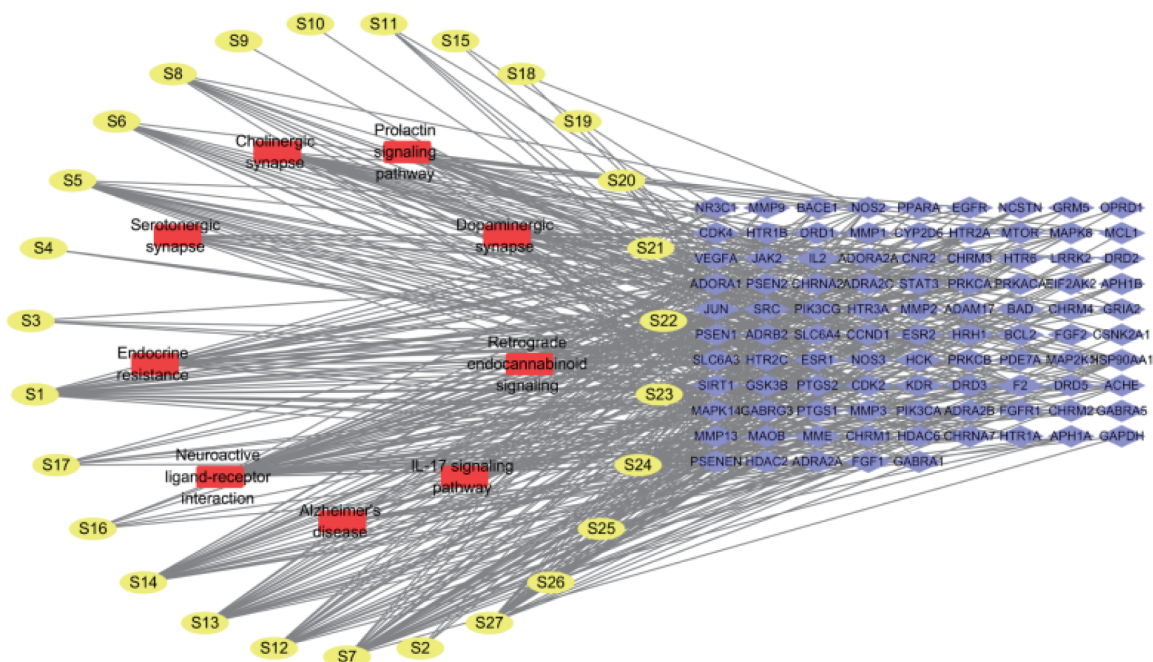


图 8 巴戟天-淫羊藿药对治疗老年痴呆症的“活性成分-共同作用靶点-信号通路”网络

Figure 8 The component-target-pathway network for Morindae officinalis radix-Epimedii folium herb pair in treatment of senile dementia

其中低聚糖类成分如巴戟甲素具有良好的抗老年痴呆活性^[31-32]。甾醇类化合物具有抗氧化作用，能够抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)和胆碱酯酶(BChE)活性，减少 β -淀粉样蛋白的产生，以及改善实验动物学习记忆障碍，是防治老年痴呆的潜在化合物^[33-34]。研究^[35-37]还表明，淫羊藿中存在多种黄酮类成分如淫羊藿苷、淫羊藿次苷Ⅱ、淫羊藿素等，均具有较好的抗老年痴呆活性。而 Degree 值较大的 1-hydroxy-3-methoxy-9,10-anthraquinone、C-Homoerythrinan, 1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.β)-、Alizarin-2-methylether 等成分，目前还未有相关研究报道显示其具有抗老年痴呆活性，有待进一步实验验证。

本研究通过对共同靶点的 PPI 网络进行了拓扑学参数分析^[38]，以 BC、CC、Degree 等参数的中位数为卡值筛选出 48 个核心靶点蛋白，其中 Degree 值较大的 GAPDH、VEGFA、STAT3、SRC、EGFR、JUN、MAPK8 等靶蛋白可能是巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的关键作用靶点。GAPDH 能够与多种小分子、蛋白质等结合，与老年痴呆症相关蛋白(如 $A\beta$ 、APP 等)之间具有高度的亲和力，GAPDH 与神经蛋白相互作用可能会导致老年痴呆症患者 GAPDH 的糖酵解功能受损，从而使细胞发生凋亡^[39-40]。VEGFA 是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子。研究^[41]表明，老年痴呆症患者

大脑中血管内皮生长因子表达上调，可能系响应 $A\beta$ 的产生、血管收缩和组织缺氧而产生。STAT3 是 JAK2/STAT3 信号通路的重要成员，与胆碱能功能障碍导致记忆丧失密切相关^[42]。SRC 为细胞质中的酪氨酸专一性蛋白激酶，与质膜的细胞质面相结合。研究^[43]表明，使用 SRC 抑制剂可有效减轻老年痴呆症患者的神经退行性病变。EGFR 是具有酪氨酸激酶活性的跨膜受体，可参与调节脑发育和神经元的存活与功能调节等活动。有证据^[44]表明，该受体与老年痴呆及衰老等神经代谢紊乱有关。JUN、MAPK8 是丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的重要成员，在细胞增殖、分化、存活和死亡等过程中发挥重要作用，与老年痴呆症病程的发展密切相关^[45]。

本研究对筛选得到的靶点进行了 GO 生物学功能和 KEGG 通路富集分析。GO 富集分析发现，巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的生物学功能主要在化学性突触传递、神经递质受体活性、蛋白激酶活性、儿茶酚胺结合等方面发挥调控作用，与神经退行性病变密切相关。KEGG 通路富集分析得到与老年痴呆症相关的 9 条重要生物通路，其中最显著的是神经活性配体-受体相互作用信号通路(Neuroactive ligand-receptor interaction)，共有 31 个相关作用靶点富集在该通路上。神经活性配体-受体相互作用信号通路包括了质膜上所

有与细胞内外信号通路相关的受体和配体的集合^[46]，在该通路中存在多种与老年痴呆症发病机制相关的作用靶点，如 CHRM、DRD、HTR、HRH、ADORA、GABRA、CHRNA 等，均为巴戟天-淫羊藿药对的有效成分相关作用靶点。有研究^[47-48]显示，可通过调控神经活性配体-受体相互作用信号通路改善相关作用靶点的传导功能而发挥抗老年痴呆作用。

综上所述，本研究运用多种公共数据库和软件，构建了巴戟天-淫羊藿药对防治老年痴呆症的“活性成分-共同作用靶点-信号通路”复杂网络，并进行了 GO 生物学功能和 KEGG 通路的富集分析，系统地探讨了巴戟天-淫羊藿药对通过多靶点、多通路作用防治老年痴呆症的分子作用机制，可为含有巴戟天-淫羊藿药对的临床用药及新药开发提供参考。

参考文献：

- [1] 徐甜, 马重阳, 邓楠, 等. 基于网络药理学探讨人参茯苓药对治疗老年性痴呆的作用机制[J]. 中医杂志, 2019, 60(22): 1957-1963.
- [2] PATTERSON C. World Alzheimer report 2018: the state of the art of dementia research: new frontiers[EB/OL]. Alzheimer Disease International, 2018.[2020-03-10]. <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018>.
- [3] 周成成, 梁幼雅, 刘四军, 等. 基于网络药理学探讨当归芍药散治疗阿尔茨海默病的作用机理[J]. 中医杂志, 2019, 60(9): 784-789.
- [4] 谢宁, 谢芳, 姚辛敏, 等. 老年性痴呆从五脏论治的临床研究进展[J]. 湖北中医杂志, 2017, 39(10): 59-62.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 327-360.
- [6] DU B, LIU L H, LV Y J, et al. Systems pharmacology uncovers multiple mechanisms of exian decoction for treatment of premature ovarian failure[J]. Chin J Integr Med, 2020, 26(2): 106-113.
- [7] 倪立坚, 李颖, 王和鸣. 复方巴戟天健骨颗粒的质量标准研究[J]. 海峡药学, 2017, 29(10): 47-50.
- [8] 周改莲, 单桂芝, 林励, 等. 复方脑忆源片主要成分淫羊藿苷在Caco-2细胞模型上的转运研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13): 178-181.
- [9] 徐波, 金方, 陈坚波. 基于药效筛选和正交试验优化五子衍宗加减方的提取工艺[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1354-1359.
- [10] 张蓓, 罗旭明, 李默影, 等. 芪仙地花颗粒质量标准的研究[J]. 中成药, 2019, 41(3): 521-525.
- [11] 潘雪刁, 蔡帆, 徐铮弟, 等. 羊藿巴戟口服液对去势大鼠雌二醇的影响及机制[J]. 广东药学院学报, 2013, 29(3): 295-297.
- [12] CHEN D L, NING L, LI L, et al. Method to detect the variants of the erythrocyte in a rat model of A β 25-35-induced neurotoxicity based on micro-Raman spectroscopy[J]. J Biomed Opt, 2013, 18(11): e118003.
- [13] CHEN D L, ZHANG P, LIN L, et al. Protective effects of bajijiasu in a rat model of A β 25-35-induced neurotoxicity[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 154(1): 206-217.
- [14] 陈地灵, 张鹏, 林励, 等. 巴戟天低聚糖对A β 25-35致拟痴呆模型大鼠的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(9): 1306-1309.
- [15] 陈地灵, 张鹏, 林励, 等. 巴戟天低聚糖对A β 25-35致拟痴呆模型大鼠学习记忆障碍的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(2): 271-276.
- [16] 梁妙莲, 谭梅英, 詹利之. UHPLC-MS法测定淫羊藿中两种抗阿尔茨海默症活性成分[J]. 北方药学, 2017, 14(5): 1-3.
- [17] 廖玉玲, 莫镇涛, 李文娜, 等. 淫羊藿苷的药理学研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(8): 139-142.
- [18] 宋剑, 王超, 李知遥, 等. 淫羊藿总黄酮抗老年痴呆化学成分研究[J]. 中国现代中药, 2009, 11(8): 23-26.
- [19] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. J Cheminform, 2014, 6: 13-19.
- [20] GU L, LU J, LI Q, et al. A network-based analysis of key pharmacological pathways of Andrographis paniculata acting on Alzheimer's disease and experimental validation[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 251: e112488.
- [21] 徐甜, 马重阳, 邓楠, 等. 基于网络药理学探讨人参茯苓药对治疗老年性痴呆的作用机制[J]. 中医杂志, 2019, 60(22): 1957-1963.
- [22] 卢洪梅, 邓少东, 卢阳佳, 等. 巴戟天低聚糖类成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 220-227.
- [23] ZHANG J H, XIN H L, XU Y M, et al. Morinda officinalis How. - A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 213: 230-255.
- [24] 鞠静, 谭人千, 潘宇政. 淫羊藿次苷 II 的药理作用研究进展[J]. 中南药学, 2019, 17(1): 65-69.
- [25] 李莹, 黄南渠, 冯飞, 等. 淫羊藿苷在阿尔茨海默病中的神经保护作用及机制研究进展[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 192-196.
- [26] FANG J, LIU C, WANG Q, et al. In silico polypharmacology of natural products[J]. Brief Bioinform, 2018, 19(6): 1153-1171.
- [27] 宋祯彦, 陈易璇, 余婧萍, 等. 钩藤散活性成分治疗阿尔茨海默病作用机制的网络药理学分析[J]. 中草药, 2018, 49(24): 5854-5864.
- [28] 李倩, 吴雍真, 柴艺汇, 等. 淫羊藿治疗类风湿关节炎作用机制的网络药理学分析[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(1): 79-86.
- [29] LEE Y K, BANG H J, OH J B, et al. Bioassay-guided isolated compounds from morinda officinalis inhibit Alzheimer's disease pathologies[J]. Molecules, 2017, 22(10): e22101638.
- [30] 李鑫洁, 李玲玲, 鲁艺. 巴戟天寡糖提纯工艺及药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(2): 345-353.
- [31] XU T T, ZHANG Y, HE J Y, et al. Bajijiasu ameliorates beta-amyloid-triggered endoplasmic reticulum stress and related pathologies in an Alzheimer's disease model[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(1): 107-117.
- [32] CAI H, WANG Y, HE J, et al. Neuroprotective effects of bajijiasu against cognitive impairment induced by amyloid-beta in APP/PS1 mice[J]. Oncotarget, 2017, 8(54): 92621-92634.

- [33] AYAZ M, JUNAID M, ULLAH F, et al. Anti-Alzheimer's studies on beta-sitosterol isolated from polygonum hydropiper L[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 697-707.
- [34] YE J Y, LI L, HAO Q M, et al. beta-Sitosterol treatment attenuates cognitive deficits and prevents amyloid plaque deposition in amyloid protein precursor/presenilin 1 mice[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2020, 24(1): 39-46.
- [35] 李立, 吴丰华, 尤行宏, 等. 淫羊藿苷对阿尔茨海默症小鼠认知功能及孕激素膜受体表达的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2019, 21(5): 5-8.
- [36] 邓媛媛, 李安霞, 尹彩霞, 等. 淫羊藿次苷 II 通过诱导自噬改善链脉佐菌素所致的大鼠学习记忆减退[J]. 中国新药与临床杂志, 2017, 36(6): 347-352.
- [37] 朱梦琳, 王晓雯, 黄琳琳, 等. 淫羊藿素对脂多糖诱导的阿尔茨海默病小鼠海马炎症反应的影响[J]. 精准医学杂志, 2019, 34(3): 237-239.
- [38] ASSENOV Y, RAMIREZ F, SCHELHORN S E, et al. Computing topological parameters of biological networks[J]. Bioinformatics, 2008, 24(2): 282-284.
- [39] EL K N, SLASSI I, EL M B, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer's disease[J]. Pathol Biol (Paris), 2014, 62(6): 333-336.
- [40] BUTTERFIELD D A, HARDAS S S, LANGE M L. Oxidatively modified glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) and Alzheimer's disease: many pathways to neurodegeneration[J]. J Alzheimers Dis, 2010, 20(2): 369-393.
- [41] HARRIS R, MINERS J S, ALLEN S, et al. VEGFR1 and VEGFR2 in Alzheimer's disease[J]. J Alzheimers Dis, 2018, 61(2): 741-752.
- [42] CHIBA T, YAMADA M, SASABE J, et al. Amyloid-beta causes memory impairment by disturbing the JAK2/STAT3 axis in hippocampal neurons[J]. Mol Psychiatry, 2009, 14(2): 206-222.
- [43] FOWLER A J, HEBRON M, MISSNER A A, et al. Multikinase Abl/DDR/Src inhibition produces optimal effects for tyrosine kinase inhibition in neurodegeneration[J]. Drugs R D, 2019, 19(2): 149-166.
- [44] BRUBAN J, VOLOUDAKIS G, HUANG Q, et al. Presenilin 1 is necessary for neuronal, but not glial, EGFR expression and neuroprotection via gamma-secretase-independent transcriptional mechanisms[J]. FASEB J, 2015, 29(9): 3702-3712.
- [45] KIM E K, CHOI E J. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802(4): 396-405.
- [46] 潘玲珍, 闫智勇, 左长英, 等. 长期使用地西洋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.
- [47] WANG T, WU Z, SUN L, et al. A computational systems pharmacology approach to investigate molecular mechanisms of herbal formula *Tian-Ma-Gou-Teng-Yin* for treatment of Alzheimer's disease[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 668-679.
- [48] GU L, LU J, LI Q, et al. A network-based analysis of key pharmacological pathways of andrographis paniculata acting on Alzheimer's disease and experimental validation[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 251: e112488.

(编辑: 邹元平)