

基于 GC-MS 技术和网络药理学探讨益智仁挥发油 治疗阿尔茨海默病的作用机制

李文静, 肖帅, 郑琴*, 朱丽云, 张明霞, 杨明, 闫悦, 王子怡
(江西中医药大学 现代中药制剂教育部重点实验室 创新药物与高效节能降耗制药设备
国家重点实验室, 江西 南昌 330004)

[摘要] 基于 GC-MS 技术和网络药理学方法研究益智仁挥发油治疗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD) 的物质基础和作用机制。利用 GC-MS 技术分析益智仁挥发油成分,通过中药系统药理学分析数据库(TCMSP)获取成分靶点,再通过 Drug-Bank、STITCH、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)等数据库查询 AD 的相关靶点。在 Venny 图取交集靶点,STRING 数据库构建蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络,筛选核心作用靶点。基于 DAVID 数据库进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。采用 Cytoscape 3.8.1 软件构建“成分-靶点-通路”网络,筛选益智仁挥发油治疗 AD 的潜在活性成分,结合已有的益智仁挥发油治疗 AD 的药理学研究预测其机制。结果显示,GC-MS 分析所得的益智仁挥发油成分经筛选后得到 6 个活性成分,TCMSP 数据库中检索到 6 个活性成分对应的 17 个靶点,DrugBank 等数据库检索到 3 448 个 AD 靶点。“成分-靶点-通路”网络和 PPI 网络显示益智仁挥发油治疗 AD 的潜在活性成分有 4 种,核心靶点有 4 个;GO 富集分析得到 34 个条目($P < 0.05$),包含生物过程 18 条、细胞组成 9 条和分子功能 7 条;KEGG 通路富集到 5 个条目($P < 0.05$),这些通路主要涉及神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路、胆碱能突触、5-羟色胺能突触等,表明益智仁挥发油可能通过调节钙平衡、胆碱能平衡、调节磷酸化等途径协同治疗 AD。该研究为益智仁挥发油治疗 AD 的深入研究提供了参考和指导。

[关键词] 网络药理学; 益智仁挥发油; 阿尔茨海默病; 机制; GC-MS

Mechanism of volatile oil from *Alpinia oxyphylla* in treating Alzheimer's disease based on GC-MS and network pharmacology

LI Wen-jing, XIAO Shuai, ZHENG Qin*, ZHU Li-yun, ZHANG Ming-xia, YANG Ming, YAN Yue, WANG Zi-yi
(State Key Laboratory of Innovative Drug and Efficient Energy-Saving Pharmaceutical Equipment, Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine under Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] To study the material basis and mechanism of volatile oil from *Alpinia oxyphylla* in treating Alzheimer's disease(AD) based on GC-MS and network pharmacology. Ingredients of volatile oil from *A. oxyphylla* were analyzed by GC-MS. Targets of those ingredients were obtained through Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Relevant targets of AD were obtained through such databases as DrugBank, STITCH, OMIM. Intersection targets of ingredients and diseases were obtained by Online Venny map, and PPI network was established by STRING to screen out core targets. Gene ontology (GO) functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed by DAVID. The "ingredients-target-pathway" network was constructed by software Cytoscape 3.8.1 to screen out potential active ingredients of volatile oil from *A. oxyphylla* in the

[收稿日期] 2020-12-01

[基金项目] 江西省科技创新人才重点项目(20171BCB18001);江西省教育厅科学技术研究重点项目(GJJ170699);江西省大学生创新创业训练计划项目(S202010412052)

[通信作者] * 郑琴, 博士生导师, 主要从事中药新制剂与新技术研究, E-mail: zhengqin912006@163.com

[作者简介] 李文静, 硕士, 主要从事新制剂与新技术研究, E-mail: 2603293456@qq.com

3052

treatment of AD. The results showed that a total of 6 active ingredients were screened from the volatile oil of *A. oxyphylla* by GC-MS, 17 targets corresponding to 6 active ingredients were found in TCMSp database, and 3 448 AD targets were found in DrugBank database. "Ingredients-target-pathway" network and PPI network showed there were 4 potential active ingredients in the treatment of AD and 4 core targets. GO analysis and KEGG analysis showed 34 ($P < 0.05$) and 5 ($P < 0.05$) pathways, respectively, including nerve ligand receptor interaction, calcium signaling pathway, cholinergic synapse and 5-hydroxytryptaminergic synapse. This suggested that volatile oil from *A. oxyphylla* could synergistically treat AD by regulating calcium balance, cholinergic balance and phosphorylation. This study provided reference and guidance for further study of volatile oil from *A. oxyphylla* in the treatment of AD.

[Key words] network pharmacology; volatile oil from *Alpinia oxyphylla*; Alzheimer's disease; mechanism; GC-MS

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210301.401

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是发生在老年及老年前期,以进行性认知功能障碍和行为损害为特征的中枢神经退行性病变。目前研究认为AD发病主要以淀粉样蛋白(A β)聚集、细胞内神经纤维缠绕、神经元丢失为特征,与氧化应激、慢性炎症、谷氨酸能途径失调等发生过程有关^[1]。据国际阿尔茨海默病协会(Alzheimer's Disease International association, ADI)的《世界阿尔茨海默病2018年报告》显示,患病病例数约20年增加1倍,至2050年将达到1.35亿例^[2],给患者、家庭、社会和医疗带来沉重负担。目前对AD尚缺乏特效治疗,市售主要治疗药物如乙酰胆碱酯酶抑制剂(多奈哌齐、利斯的明、加兰他敏、石杉碱甲)和非竞争性N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂(美金刚)均以改善症状为主^[3]。因此,寻找新靶点、新疗法是AD当下的目标。

益智仁是姜科山姜属植物益智 *Alpinia oxyphylla* 的干燥成熟果实,又名益智子、摘芋子。是1998年卫生部公布的药食同源的天然植物,为我国四大南药之一^[4]。现代药理学研究表明,益智仁具有抗氧化和神经保护等作用^[5],在对治疗阿尔茨海默病用药规律数据挖掘的研究中显示益智仁在治疗AD过程中使用频次较高^[6]。挥发油作为益智仁的主要成分,具有脂溶性高、易透过血脑屏障等优点,且能够对抗神经细胞凋亡^[7],但益智仁挥发油治疗AD的机制尚未完全明确。因此本研究运用GC-MS方法对益智仁挥发油成分进行分析,并采用网络药理学预测分析其治疗AD的物质基础和作用机制,为益智仁挥发油质量控制和治疗AD的机制研究提供依据。

1 材料

1.1 药材 益智仁购自江西江中中药饮片有限公司(批号200315),经江西中医药大学药学院刘荣华教授鉴定为姜科植物益智 *A. oxyphylla* 的干燥成熟

果实。

1.2 仪器与试剂 Agilent 7890A/5975C型气质联用色谱仪, Thermo 100~1 000 μ L单道移液枪, DZTW型调温电热套(上海力辰邦西仪器科技有限公司); 5 mL挥发油提取器(四川蜀玻有限公司); HLD-30002型电子天平(杭州友恒称重设备有限公司)。无水硫酸钠(西陇科学股份有限公司,批号2009032); 无水乙醇(西陇科学股份有限公司,批号2010239),试剂均为分析纯。

1.3 数据库及软件 中药系统药理学分析数据库(TCMSp, <http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>), DrugBank数据库(<https://www.drugbank.ca>), STITCH(<http://stitch.embl.de>), UniProt数据库(<http://www.uniprot.org/>), 在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <http://www.omim.org/>), 治疗靶点数据库(TTD, <http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>), DisGeNET数据库(<http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/menu/home>), Pubchem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), DAVID生物信息资源网站(<https://david.ncifcrf.gov/>), Venny 2.1.0(<http://bioinfo.cn.csic.es/tools/venny/index.html>), STRING平台(<https://string-db.org/>), 在线绘图网站ImageGP(www.ehbio.com/ImageGP/index.php/Home/Index/index.html), 网络拓扑数据分析软件Cytoscape 3.8.1。

2 方法

2.1 挥发油活性成分的测定 取益智仁饮片适量,粉碎后精密称取100 g,加水量为8 mL \cdot g⁻¹,浸泡4 h,提取6 h得挥发油^[8],收集挥发油加入适量无水硫酸钠除水,静置过夜。取益智仁挥发油0.5 mL,用无水乙醇溶解并定容至10 mL量瓶,冰浴超声10 min,0.22 μ m微孔滤膜过滤,备GC-MS分析。

气相色谱条件:安捷伦HP-5 MS柱(0.25 mm \times

30 m, 0.25 μm); 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 程序升温(初始温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$, 4 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 140 $^{\circ}\text{C}$, 3 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 260 $^{\circ}\text{C}$)。载气为高纯氮气, 流量 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量 0.6 μL ; 分流比 50:1。

质谱条件: 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$; 电离方式 EI, 电子能量 70 eV; 四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$; 色谱-质谱连接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟 3.5 min; 质量扫描范围 30~550。

2.2 靶点的查找与确定 通过 TCMSp、STITCH 数据库查询益智仁挥发油有效成分的相关靶点, 并将靶点导入 Uniprot 网站校正为官方名称。用 DisGeNET、TTD、OMIM、DrugBank 等数据库, 以“Alzheimer disease”为关键词检索并获取 AD 的相关靶点, 去重。利用 Venny 2.1.0 取益智仁挥发油的活性成分靶点与 AD 疾病靶点交集靶点, 初步挖掘益智仁挥发油治疗 AD 的作用靶点。

2.3 蛋白互作(protein-protein interaction, PPI) 网络的构建及核心靶点的筛选 为明确 AD 靶点与益智仁挥发油靶点之间的相互作用, 将 Venny 分析获得的交集靶点导入 STRING 数据库中, 将组织(organism) 设置为“homo sapiens”, 获得 PPI 网络。文件以 tsv 格式保存, 将交集靶点相互作用信息上传至 Cytoscape 3.8.1 软件, 运用 Network analyzer 功能分析靶点度值, 取度值 \geq 平均度值的靶点作为核心靶点, 此时的核心靶点有可能是益智仁挥发油治疗 AD 的关键靶点。

2.4 通路富集分析 将 Venny 分析获得的交集靶点导入 DAVID 数据库, Select Identifier 选择“official gene symbol”, List Type 设置为“gene list”, 选择物种为“homo sapiens”, 设定阈值 $P < 0.05$, 选择 GO 生物学过程富集分析和 KEGG 信号通路富集分析, 并用在线绘图网站 ImageGP 将其结果可视化。

2.5 “成分-靶点-通路”网络的构建及潜在活性成分的筛选 将挥发油成分信息、交集靶点以及 KEGG 通路信息导入 Cytoscape 3.8.1 软件, 构建挥发油“活性成分-靶点-通路”网络, 运用 Network Analyzer 功能分析其拓扑学属性, 导出介度值、中心度值、度值等参数, 度值 $>$ 平均度值的成分可能是益智仁挥发油治疗 AD 的潜在活性成分。

3 结果

3.1 挥发油活性成分的鉴定 GC-MS 一共鉴定出 134 种挥发油成分, 见图 1, 按 NIST17 数据库中匹配 3054

度大于 90%, 面积占比大于 1% 进行初步筛选。经上述筛选共获得 13 种益智仁挥发油有效成分, 其中在 TCMSp 和 STITCH 数据库中有对应靶点的成分有 6 种, 包括 nootkatene、valencene、globulol、caryophyllene oxide、*o*-cymene、(+)- δ -cadinene, 并进一步通过 CNKI 数据库查找相关文献, 对比文献报道中益智仁挥发油的化学成分; 然后在 Pubchem 网站上逐一纳入研究的活性成分结构和信息进行确证, 建立益智仁挥发油主要活性成分的数据库, 见表 1。

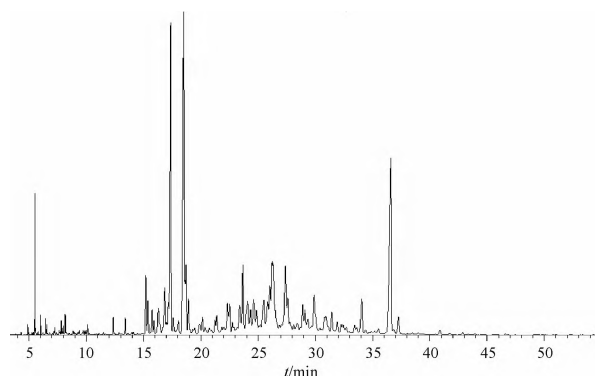


图 1 益智仁挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion flow diagram of volatile oil from *Alpinia oxyphylla*

表 1 益智仁挥发油的有效成分

Table 1 Effective components in volatile oil from *Alpinia oxyphylla*

| t_{R} /min | CAS 号 | 化合物 | 占比 /% | 匹配 度/% |
|------------------------|-----------|---|----------|-----------|
| 5.52 | 527-84-4 | <i>o</i> -cymene(邻-异丙基苯) | 1.16 | 97 |
| 17.37 | 4630-07-3 | valencene(巴伦西亚橘烯) | 9.54 | 99 |
| 18.50 | 5090-61-9 | nootkatene(诺卡烯) | 11.59 | 99 |
| 18.92 | 483-76-1 | (+)- δ -cadinene(Δ -杜松烯) | 1.14 | 95 |
| 22.32 | 1139-30-6 | caryophyllene oxide(石竹素) | 1.41 | 93 |
| 26.23 | 489-41-8 | globulol(蓝桉醇) | 2.59 | 91 |

3.2 靶点筛选 通过 TCMSp、STITCH、DrugBank、OMIM 等数据库查找, 一共找出 17 个成分靶点和 3 448 个 AD 靶点, Venny 分析得到 12 个交集靶点。

3.3 PPI 网络的构建及核心靶点筛选 将 12 个交集靶点导入 STRING 数据库进行蛋白互作分析, 设置可信度为 0.7, 得到靶点间相互作用关系, 见图 2。将 PPI 网络节点信息导入 Cytoscape 3.8.1, 根据度值结果显示, 度值 $>$ 2.17 (平均数) 的靶点有 ADRA1B、CHRM1、ACHE、MAOB, 见表 2。

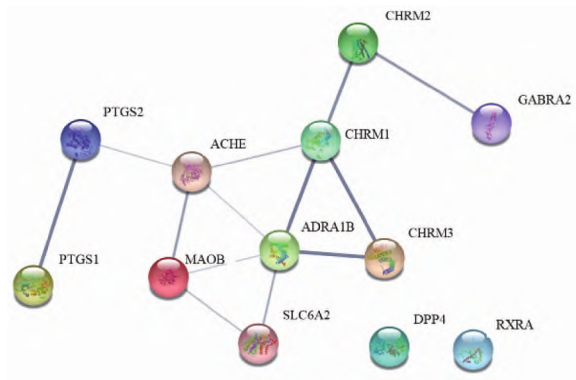


图2 蛋白相互作用网络
Fig. 2 Network of protein-protein interaction

表2 核心靶点信息
Table 2 Information of core targets

| No. | 靶点 | 度值 |
|-----|--------|----|
| 1 | ADRA1B | 5 |
| 2 | CHRM1 | 4 |
| 3 | ACHE | 4 |
| 4 | MAOB | 3 |
| 5 | CHRM3 | 2 |
| 6 | CHRM2 | 2 |
| 7 | PTGS2 | 2 |
| 8 | SLC6A2 | 2 |
| 9 | PTGS1 | 1 |
| 10 | GABRA2 | 1 |
| 11 | DPP4 | 0 |
| 12 | RXRA | 0 |

3.4 GO 富集分析 使用 DAVID 数据库进行 GO 富集分析,得到 34 个条目 ($P < 0.05$), 包含 18 个生物过程 (BP) 条目、7 个分子功能 (MF) 条目、9 个细胞组成 (CC) 条目, 见图 3。生物过程主要涉及神经系统发育 (nervous system development)、细胞增殖 (cell proliferation)、G-蛋白偶联受体信号通路 (G-protein coupled receptor signaling pathway) 等, 分

子功能主要涉及蛋白质同源二聚活性 (protein homodimerization activity)、G 蛋白偶联乙酰胆碱受体活性 (G-protein coupled acetylcholine receptor activity)、药物结合 (drug binding) 等, 细胞组成主要涉及质膜 (plasma membrane)、突触 (synapse)、细胞连接 (cell junction) 等。

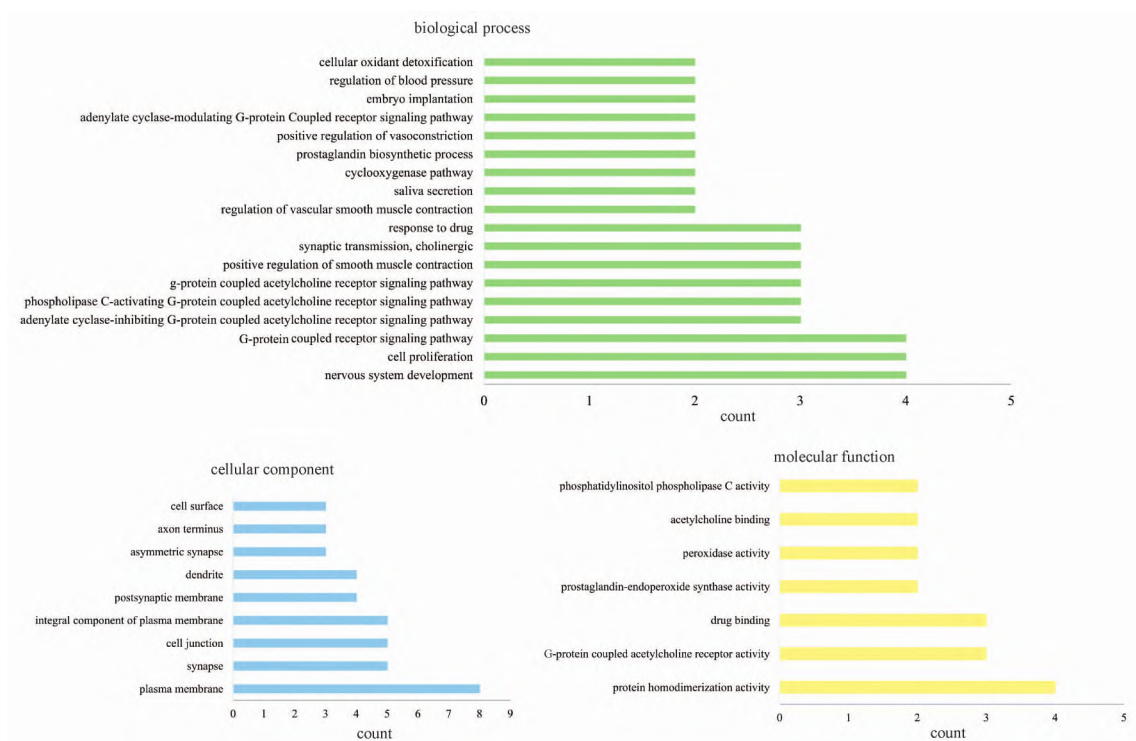


图3 GO 富集分析
Fig. 3 Go enrichment analysis

3.5 KEGG 富集分析 通过 DAVID 数据库得到 5 条 KEGG 信号通路 ($P < 0.05$), 见图 4, 主要涉及神经活动配体-受体相互作用 (neuroactive ligand-receptor interaction)、钙离子信号通路 (calcium signaling pathway)、胆碱能突触 (cholinergic synapse)、5-羟色胺能突触 (serotonergic synapse)、肌动蛋白细胞骨架调节通路 (regulation of actin cytoskeleton)。

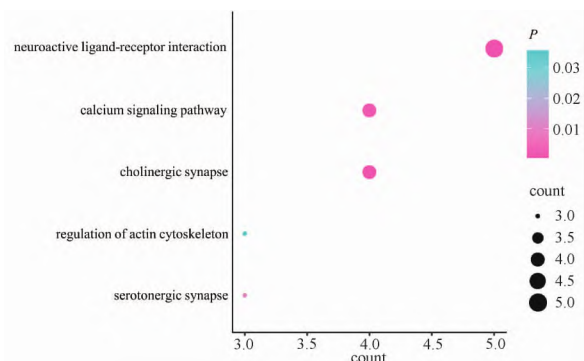
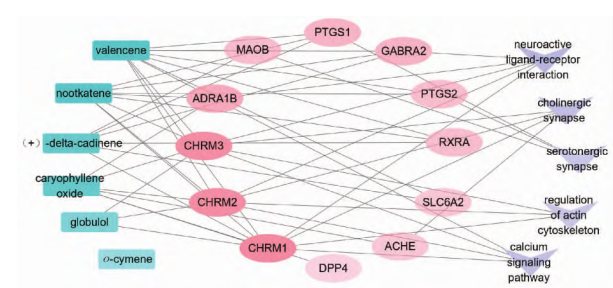


图 4 KEGG 富集通路分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis

3.6 “成分-靶点-通路”网络的构建及潜在活性成分筛选 “成分-靶点-通路”网络见图 5, 共包含 21 个节点 (5 个成分节点, 11 个靶点节点, 5 个通路节点) 和 50 条边, 与节点相连接的边越多, 则该节点的度值越大, 表示该节点可能是益智仁挥发油治疗 AD 的关键节点。在网络中, 有 9 个节点的度值 ≥ 4.76 (平均值), 有效成分节点有 4 个, 分别为 valencene、nootkatene、(+)-delta-cadinene、caryophyllene oxide, 见表 3。



绿色节点代表挥发油有效成分; 红色节点代表有效成分和 AD 的交集靶点; 紫色节点代表通路。

图 5 益智仁挥发油“成分-靶点-通路”网络

Fig. 5 The network of "ingredient-target-pathway" of volatile oil from *Alpinia oxyphylla*

表 3 “成分-靶点-通路”网络中关键成分节点的信息

Table 3 Information of key nodes in the network of "ingredient-target-pathway"

| 化合物 | 度值 |
|------------------------------------|----|
| valencene(瓦伦西亚橘烯) | 10 |
| nootkatene(诺卡烯) | 8 |
| (+)-delta-cadinene(Δ -杜松烯) | 6 |
| caryophyllene oxide(石竹素) | 6 |

4 讨论

网络药理学是基于系统生物学理论, 通过“多成分-多靶点-多途径”构建多层次的网络, 用于探索疾病与药物之间的相关性, 为预测药物作用和机制开辟的一个新领域^[9-15]。中药成分复杂, 其作用是通过多种成分的协同作用来发挥药效, 而网络药理学的整体性、系统性与中医药的整体观、辨证论等基本理论吻合^[16-17]。

本研究运用网络药理学的方法初步预测益智仁挥发油治疗 AD 的机制。GC-MS 结果显示, 益智仁挥发油主要包含单萜和倍半萜类化合物, 含量较高的有 valencene、nootkatene 等。通过筛选出的 6 个核心成分对应的 17 个靶点, 构建出 PPI 网络, 筛选出 ADRA1B、CHRM1、ACHE、MAOB 这 4 个关键靶点的度值最高, 提示这 4 个靶点可能是益智仁挥发油治疗 AD 的重要靶点。

KEGG 通路富集结果显示, 富集到靶点最多的 3 条通路分别为神经活性配体-受体相互作用 (5 个靶点)、钙离子信号通路 (4 个靶点)、胆碱能突触 (4 个靶点)。神经活性配体-受体相互作用是富集到靶点最多的通路, 该通路是质膜上所有与细胞内外信号通路相关的受体配体的集合, 干扰参与神经活性配体-受体相互作用的基因会导致记忆功能下降, 如 CHRM3 上调时, 会促进学习和记忆能力的提高^[18-19]。胆碱能神经系统受损是目前世界上公认的 AD 发病原因之一^[20]。乙酰胆碱 (acetylcholine, Ach) 是胆碱能系统中重要的神经递质, 主要功能是维持意识的清醒, 与学习、记忆、认知功能密切相关。乙酰胆碱酯酶 (AChE) 是 ACh 水解的必需酶, 因此提高 Ach 在脑中的含量, 下调 AChE 的表达水平是治疗 AD 的思路之一, 且现有的治疗 AD 的上市药物中大多为胆碱酯酶抑制剂^[21-23]。Ca²⁺ 是一种普遍存在的第二信使, 在真核细胞中调节各种活动, 具有维持细胞膜两侧的生物电位稳定、维持正常的神经

传导功能,是学习记忆重要的分子开关^[24],说明这可能是益智仁挥发油治疗 AD 的主要通路。

“成分-靶点-通路”网络显示, valencene(度值为 10)、nootkatene(度值为 8)、(+)-delta-cadinene(度值为 6)、caryophyllene oxide(度值为 6) 等成分节点的度值大于平均度值,提示以上 4 种成分是益智仁挥发油治疗 AD 的潜在活性成分。

现代药理学研究表明,益智仁挥发油具有提高学习记忆能力、改善认知障碍的作用。马俊俏^[25]研究发现,益智仁挥发油能够使东莨菪碱诱导的学习记忆障碍的小鼠逃避潜伏期显著缩短,提高小鼠的学习记忆能力;下调海马和血清中 AChE 的表达水平,同时上调 SOD 和 GSH-Px 的表达水平;Western blot 结果显示,益智仁挥发油能够上调 AD 模型小鼠海马组织中 p-AKT473 和 p-ERK1/2 蛋白的表达,下调 caspase-3 表达水平。网络药理学研究结果表明,这些作用可能由 valencene、nootkatene 等潜在活性成分经神经活性配体-受体相互作用、钙离子信号通路、胆碱能突触等通路,作用于 ADRA1B、CHRM1、ACHE、MAOB 等靶点,发挥调控钙平衡、增强胆碱能功能、调节磷酸化等作用协同治疗 AD。

[参考文献]

- [1] VALLEE A, VALLEE J N, GUILLEVIN R, et al. Riluzole: a therapeutic strategy in Alzheimer's disease by targeting the WNT/ β -catenin pathway [J]. *Aging*, 2020, 12: 3095.
- [2] 夏得月,陈珮,黄敏,等. 国内外阿尔茨海默病协会发布患者在线教育材料的现状与分析 [J]. *中国健康教育*, 2020, 36(2): 182.
- [3] 万素馨,方伟. 阿尔茨海默病的治疗药物作用机制研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(12): 3406.
- [4] 郭曼萍,赵俊男,施伟丽,等. 益智仁改善认知障碍的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(18): 2778.
- [5] 张俊清,王勇,陈峰,等. 益智的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(2): 280.
- [6] 宋克立,张琼琼,王晓晗,等. 基于数据挖掘研究现代中医治疗阿尔茨海默病用药规律 [J]. *世界科学技术(中医药现代化)*, 2019, 21(7): 1424.
- [7] 马俊俏,吴勇,周俊璇,等. 益智仁挥发油对东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的改善作用研究 [J]. *中国药房*, 2018, 29(22): 3074.
- [8] 罗琴,李星,谭睿,等. 益智仁挥发油的水蒸气蒸馏法提取工艺优化及其体外抑菌活性的研究 [J]. *华西药学期刊*, 2011, 26(2): 147.
- [9] 王升菊,刘倩倩,江华娟,等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨桃红四物汤治疗原发性痛经的有效成分及作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(22): 5373.
- [10] 贡巴加,任越,马婧,等. 基于网络药理学与分子对接技术探讨藏族药佐木阿汤治疗高血压病的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(22): 5383.
- [11] 王恩宇,王景辉,丁芮,等. “黄连-半夏”药对治疗胃癌的网络药理学研究和实验验证 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(8): 1779.
- [12] 王美琪,林朝展,祝晨蓓. 基于网络药理学的苦木-穿心莲药对胆汁淤积的机制研究 [J]. *今日药学*, 2020, 30(7): 453.
- [13] 贾彩霞,陈建新,高阔,等. 川芎治疗心力衰竭的网络药理学研究 [J]. *世界中医药*, 2020, 15(8): 1093.
- [14] 钟仁兴,丁子禾,杨燕妮,等. 基于网络药理学分析的橘红痰咳液主治“痰、咳、喘”的药效物质基础与作用机制研究 [J]. *药学报*, 2020, 55(9): 2134.
- [15] 苏晓乾,夏长波,严福林,等. 基于网络药理学和分子对接研究淫羊藿治疗抑郁症的抗炎作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(17): 162.
- [16] 段贤春,黄石,彭代银,等. 网络药理学在中药复方研究中的应用 [J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 303.
- [17] 董培良,李慧,韩华. 中药网络药理学的应用与思考 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(17): 204.
- [18] 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.
- [19] WEI J L, LIU J H, LIANG S, et al. Low-dose exposure of silica nanoparticles induces neurotoxicity via neuroactive ligand-receptor interaction signaling pathway in zebrafish embryos [J]. *Int J Nanomed*, 2020, 15: 4407.
- [20] 刘林,赵宇红,曾常青,等. 钩藤在阿尔茨海默病模型中的药理作用研究进展 [J]. *药学报*, 2016, 51(4): 536.
- [21] 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.
- [22] 程建安,杨华,张江涛. 卡巴拉汀治疗阿尔茨海默病的脑局部一致性研究 [J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(11): 1379.
- [23] 梁博纳. 盐酸多奈哌齐对阿尔茨海默病大鼠的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(5): 1060.
- [24] 付翁,包素雅,张世纪,等. 低氧预适应下 BDNF/TrkB 和 cAMP/PKA 信号通路调控电压依赖性钙离子通道的研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2020, 51(5): 385.
- [25] 马俊俏. 益智仁挥发油对学习记忆障碍小鼠的改善作用及机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2019.

[责任编辑 马超一]