

# 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 及网络药理学探讨多裂骆驼蓬治疗阿尔茨海默病的有效成分和作用机制

程亚敏, 黄丹蓉, 任静玉, 冯紫涵, 周文斌, 申刚义\*

中央民族大学药学院 民族医药教育部重点实验室(中央民族大学), 北京 100081

**摘要:**本研究通过超高效液相色谱-四极杆飞行时间串联质谱法(UPLC-Q-TOF-MS/MS)、网络药理学及分子对接技术探讨多裂骆驼蓬抗阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)药效物质基础及作用机制。利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对多裂骆驼蓬进行定性研究;结合质谱分析结果,利用 SWISS ADME、GeneCards 等数据库筛选多裂骆驼蓬活性成分、对应靶点及疾病靶点;利用 Venn 绘制平台获取交集靶点,并导入 STRING 在线分析平台和 Cytoscape3.9.1 软件,进行蛋白质相互作用分析,构建药物-成分-靶点网络;利用 AlzDate 数据库差异表达模块分析靶点的表达与  $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloids, A $\beta$ )和微管相关蛋白(Tau)相关病理学的关系;通过 DAVID 数据库进行 GO 和 KEGG 通路富集分析;利用 Autodock Vina 软件实现核心靶点与有效成分分子对接模型的构建。从多裂骆驼蓬中共鉴定出 34 个主要成分,包括生物碱类 10 种,黄酮类 5 种,氨基酸类 5 种,萜类 5 种,核苷类 2 种,酚酸类 3 种,其他类化合物 4 种。网络药理学分析结果显示,吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱等活性成分可通过作用靶点调节一系列与 AD 发病机制相关的生物学过程、分子功能和信号通路,进而调节胆碱能系统和功能、减少 A $\beta$  损伤、调节微循环及神经元结构和功能发挥治疗 AD 的作用。分子对接显示有效成分吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱与核心靶点 MAPK3 和 STAT3 均具有良好的结合活性。该研究初步揭示了多裂骆驼蓬治疗 AD 的药效物质基础及作用机制,为临床应用和药物开发提供了依据。

**关键词:**多裂骆驼蓬;阿尔茨海默病;UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术;网络药理学

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)10-1787-13

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.10.015

## Effective components and mechanism of *Peganum multisectum* in the treatment of Alzheimer's disease based on UPLC-Q-TOF-MS/MS and network pharmacology

CHENG Ya-min, HUANG Dan-rong,

REN Jing-yu, FENG Zi-han, ZHOU Wen-bin, SHEN Gang-yi\*

Key Laboratory of Ethnomedicine, Ministry of Education (Minzu University of China),

School of Pharmacy, Minzu University of China, Beijing 100081, China

**Abstract:** This study explored the pharmacodynamic material basis and mechanism of action of *Peganum multisectum* (Maxim.) Moibr. in treating Alzheimer's disease (AD) through ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS/MS), network pharmacology, and molecular docking techniques. Based on UPLC-Q-TOF-MS/MS to analyze the main components of *P. multisectum*; Combined with the MS results, the active components of *P. multisectum*, corresponding target proteins, and disease targets were screened using databases such as SWISS ADME and GeneCards. Venn diagram analysis was performed to obtain intersected targets, which were then imported into Cytoscape 3.9.1 software and the STRING online analysis platform for protein-protein interaction analysis and construction of a drug-ingredient-target network. The relationship between the expression of core targets and the pathology of  $\beta$ -amy-

收稿日期:2023-09-01 接受日期:2024-07-18

基金项目:国家自然科学基金(82374161);民族医药教育部重点实验室(中央民族大学)自主课题(KLEM-ZZ202302);中央民族大学研究生课程思政示范课培育项目(GRSKCS005)

\* 通信作者 E-mail:shengy@muc.edu.cn

loids ( $A\beta$ ) and microtubule associated protein (Tau) was analyzed using the differentially expressed module of the AlzDate database. GO and KEGG pathway enrichment analysis were conducted using the DAVID database; Autodock Vina software was utilized to construct molecular docking models between core targets and active components. A total of thirty-four major components were identified from *P. multisectum*, including ten alkaloids, five flavonoids, five amino acids, five terpenes, two nucleosides, three phenolic acids, and four other compounds. Network pharmacology analysis results showed that major active components such as evodiamine,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -stigmastenone, and harmine can regulate a series of biological processes, molecular functions, and signaling pathways related to the pathogenesis of AD by acting on targets, thereby regulating cholinergic system and function, reducing  $A\beta$  damage, regulating microcirculation and neuronal cell system and function for the treatment of AD. The results of molecular docking showed that evodiamine,  $\beta$ -sitosterol,  $\beta$ -stigmastenone, and harmine had good affinities to core targets such as MAPK3 and STAT3. This study preliminarily reveals the therapeutic effects and mechanisms of *P. multisectum* in the treatment of AD, providing a basis for clinical application and drug development.

**Key words:** *Peganum multisectum*; Alzheimer's disease; UPLC-Q-TOF-MS/MS technology; network pharmacology

阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease, AD) 俗称老年痴呆, 是一种神经系统退行性疾病, 最终将发展为全面认知功能减退的痴呆症状。国际 AD 协会调查显示, 全球痴呆患者约 5 500 万, 2050 年将超 1.39 亿<sup>[1]</sup>。我国现有痴呆患者 1 507 万, 其中 AD 患者约 1 000 万, 居全球首位<sup>[2]</sup>。随着人口老龄化进程加速, AD 已不仅是公共卫生问题, 将会引发严重的社会性问题。因此, 深入探究 AD 发病机制、开发高效抗 AD 药物是当前全球医学界最为关注的重大课题之一。

中医药因具有多成分、多靶点、多通路的特点, 在改善认知功能障碍、减缓病情发展等方面具有独特优势。多裂骆驼蓬是中医、维医及蒙医等使用已久的民间药材。其味辛苦, 入心、肝、肺经, 有宣肺气、祛风湿、消肿毒等功效; 维医认为该药有坚固筋脉, 温身通窍等功效, 主治偏瘫健忘、神昏头痛等症, 对精神郁闷、健忘等疗效明显<sup>[3]</sup>, 蒙医则认为其有补神通窍, 活血定痛, 解毒除湿等功效, 用于治疗瘰疬症、头晕头痛, 风湿关节痛及各种炎症<sup>[4]</sup>。药理学研究表明多裂骆驼蓬具有抑制单胺氧化酶、胆碱酯酶等生理活性, 利于恢复胆碱能系统、抑制神经退行性病变进程<sup>[5]</sup>。然而目前关于多裂骆驼蓬治疗 AD 的物质基础及机制研究较少, 无法科学指导临床使用。UPLC-Q-TOF-MS/MS 能够快速有效对中药多成分物质进行分析, 已成为研究中药物质基础的重要工具。网络药理学将活性成分和生物网络协同整合, 与中医药“整体观”理论吻合, 为预测中药功效机制和新药研究提供了有效手段。基于此, 本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS, 结合网络药理学和分子对接技术, 对多裂骆驼蓬化学成分进行系统分析, 探究多裂骆驼蓬治疗 AD 的分子生物作用机制, 为后

期多裂骆驼蓬治疗 AD 的药效物质基础研究及临床应用提供理论依据及参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

多裂骆驼蓬药材为 2021 年 9 月采集于内蒙古阿拉善盟, 经中国科学院植物研究所陈文俐研究员和内蒙古蒙医院陈伊勒苏研究员鉴定为蒺藜科骆驼蓬属植物多裂骆驼蓬 *Peganum multisectum* (Maxim.) Bobr. 的全草。

对照品蒙花苷 (批号 400-666-5481, 纯度  $\geq 99.6\%$ )、哈尔酚 (批号 400-666-5481, 纯度  $\geq 98\%$ )、去氢骆驼蓬碱 (批号 400-666-5481, 纯度  $\geq 98\%$ )、鸭嘴花酮碱 (批号 400-666-5481, 纯度  $\geq 98\%$ )、脱氧鸭嘴花酮碱 (批号 400-666-5481, 纯度  $\geq 98\%$ ) (上海源叶生物科技有限公司); 二甲基亚砜 (DMSO) (色谱级, 国药集团化学试剂有限公司); 乙腈 (质谱纯, 美国 Fisher 公司); 其他分析纯试剂 (北京市通广精细化工公司)。

ExionL C<sup>TM</sup> 超高压液相色谱仪 (日本 Shimadzu 公司); Triple TOF TM 6600 质谱仪 (美国 SCIEX 公司); ACQUITY UPLC BEH-C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu$ m, 上海 Waters 科技有限公司)。

### 1.2 色谱和质谱条件

色谱条件: 采用 ACQUITY UPLC BEH-C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu$ m); 流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: (0 ~ 1 min, 3%  $\rightarrow$  5% B; 1 ~ 3 min, 5%  $\rightarrow$  7% B; 3 ~ 7 min, 7%  $\rightarrow$  15% B; 7 ~ 17 min, 15%  $\rightarrow$  40% B; 17 ~ 25 min, 40%  $\rightarrow$  95% B; 25 ~ 35 min, 95% B); 采集时间 30 min; 流速 0.3 mL/min。柱温 40  $^{\circ}$ C; 进样体积 5  $\mu$ L。

TOF MS 条件: 采用电喷雾离子 (ESI) 源, 源温

度 550 °C;源内雾化气(GS1)和加热气(GS2)均为 50 psi;正、负离子模式检测,检测电压分别为 5 500 V 和 4 500 V;气帘气(N<sub>2</sub>)压力 35 psi;解簇电压(DP)100 V,碰撞能量(CE)40 eV,碰撞能量扩展(CES)20 eV。质量数扫描范围  $m/z$  50 ~ 1 000。采用 AB analyst 软件采集数据,MS 一级扫描和触发的二级扫描离子累积时间分别为 250 和 100 ms。

### 1.3 多裂骆驼蓬样品的制备

取多裂骆驼蓬地上部分适量,阴干后粉碎处理。取 1 kg 粉末加入 95% 乙醇浸泡过夜,回流提取 3 次,每次 3 h,合并三次提取液,用纱布过滤除杂,40 °C 旋转蒸发提取液得到总浸膏。

#### 1.3.1 供试品溶液的制备

精密称取多裂骆驼蓬乙醇浸膏 100 mg,加甲醇溶解为质量浓度为 1 mg/mL 的溶液。离心,上清液用 0.22 μm 滤膜滤过,加甲醇稀释至 0.01 mg/mL。

#### 1.3.2 对照品溶液的制备

精密称取对照品哈尔酚、去氢骆驼蓬碱、鸭嘴花酮碱和脱氧鸭嘴花酮碱各 1 mg,加甲醇溶解后配制成 10 μg/mL 的溶液;精密称取对照品蒙花苷 4 mg,用甲醇溶解后配成质量浓度为 40 μg/mL 的溶液。所有溶液经 0.22 μm 滤膜过滤。

### 1.4 化学成分分析

按“1.2”项下条件对供试品溶液和对照品溶液进行检测,将所得原始质谱数据导入 PeakView2.1 软件。用 MS Dial 软件利用 Metabolomics 数据库自动匹配,并结合对照品、ChemSpider 和 PubChem 等数据库鉴定。

### 1.5 药物活性成分及对应靶点筛选、AD 疾病靶点预测

通过 TCMSPP (<http://tcmspw.com/tcmsp.ph>)、PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 收集多裂骆驼蓬的化学成分,并结合“1.4”多裂骆驼蓬质谱分析得到的成分,利用 Swiss ADME 数据库 (<http://www.swissadme.ch/>),以类药性(drug-likeness, DL)、药物动力学(pharmacokinetics, PK)为条件筛选活性成分。

将活性成分导入 Swiss Target Prediction 数据库筛选活性成分对应的靶点蛋白,通过 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 规范名称。以“Alzheimer's disease”为关键词在 OMIM (<https://omim.org/>)、GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、TCMSPP (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 及

Drugbank (<https://go.drugbank.com/>) 等数据库搜索靶点,合并去重得到 AD 靶点。用 Venny2.1 (<http://www.liuxiaoyuan.cn/>) 把活性成分作用靶点与 AD 靶点交集,得到多裂骆驼蓬治疗 AD 的靶点。使用 Panther 对功能靶点进行分类。

### 1.6 蛋白相互作用网络的构建与病理学验证

将活性成分和 AD 的共同靶点上传至 String (<https://cn.string-db.org/>),获得靶点蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络。将 PPI 网络导入 Cytoscape 软件 (<https://cytoscape.org/>) 筛选主要作用靶点。将其输入 AlzData 数据库 (<http://www.alzdata.org/>) 进行 Aβ 和 Tau 蛋白病理学相关性分析。

### 1.7 药物-成分-关键靶点网络的构建与分析

依据活性成分与靶点关系,应用 Cytoscape 构建药物-成分-靶点网络。依据中心性参数分析多裂骆驼蓬治疗 AD 的有效成分。用“节点”(node)表示活性成分、作用靶点,用“边”(edge)表示活性成分与靶点之间关系。

### 1.8 生物功能注释与通路富集分析

用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对多裂骆驼蓬治疗 AD 的靶点进行 GO 生物学过程和 KEGG 信号通路富集分析。Select Identifier 设置为“official gene symbol”,List Type 设置为“gene list”,限定物种为“Homo sapiens”,阈值  $P < 0.05$ ,绘制柱状图和气泡图。

### 1.9 差异表达分析

使用 AlzData 数据库 (<http://alzdata.org/>) 检索关键信号通路的靶点在 AD 患者中的变化状况。分析 GEO 数据集中对照组和 AD 组中活性成分抗 AD 的标准化表达靶点,图形可视化,数值表示为平均值 ± 标准偏差。

### 1.10 分子对接模型构建

将与 Aβ 及 Tau 蛋白病理学显著相关的核心靶点与有效成分进行分子对接模拟。从 zinc 数据库 (<https://zinc.docking.org/>) 下载中药成分结构。运用 AutodockTools1.5.7 加氢、检测配体的 root,搜寻与定义可旋转键;从 RCSB Protein Data Bank 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载得到受体蛋白的三维结构,去 H<sub>2</sub>O、添 H、计算 Gasteiger 电荷、合并非极性 H。使用 Autodock vina1.1.2 进行分子对接,运用 Ligplot 和 Pymol 软件可视化显示。

## 2 结果

### 2.1 化学成分分析

多裂骆驼蓬样品总离子流图见图 1。共鉴定和

推测出 34 个化合物,包括生物碱类 10 种,黄酮类 5 种,氨基酸类 5 种,萜类 5 种,核苷类 2 种,酚酸类 3 种,其他类化合物 4 种(见表 1)。

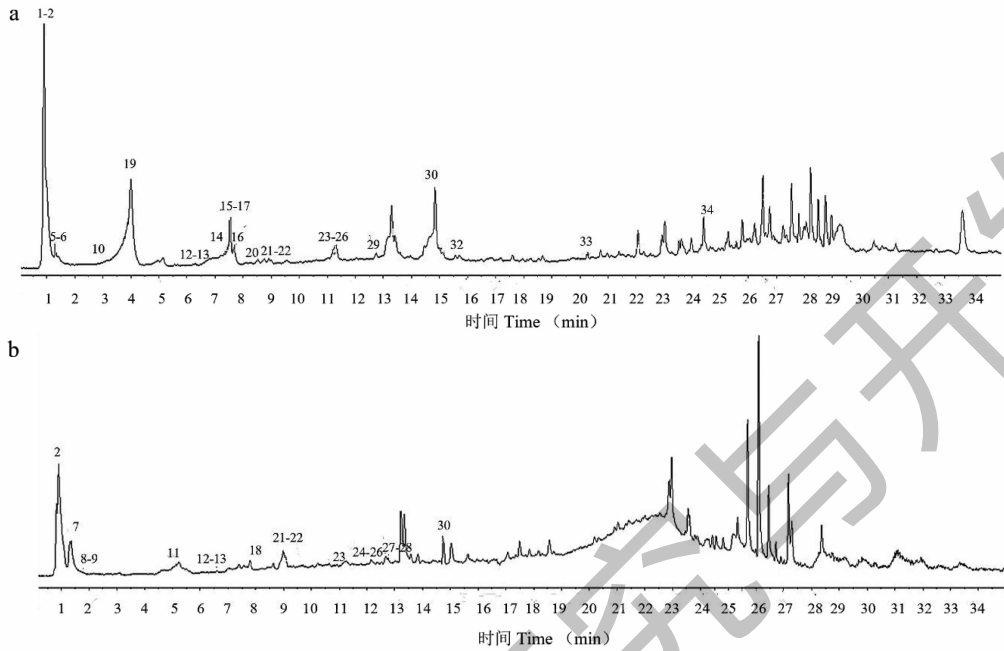


图 1 正离子(a)和负离子(b)模式下的多裂骆驼蓬药材 TIC 图

Fig. 1 TIC diagram of *P. multisetum* in positive(a) and negative (b) ion modes

表 1 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 方法鉴别的多裂骆驼蓬中化学成分信息

Table 1 Chemical composition information of *P. multisetum* identified using UHPLC-Q-TOF-MS/MS technology

编号 No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	离子模式 Ion mode	理论值 Theoretical value ( $m/z$ )	实测值 Measured value ( $m/z$ )	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	MS/MS ( $m/z$ )
1	0.887	脱氧鸭嘴花碱 Desoxypeganine [5]	$C_{11}H_{12}N_2$	$[M+H]^+$	173.107 3	173.106 6	-1.3	157.075 2, 156.080 5, 144.071 1, 118.064 7, 91.054 4
2	0.920	鸭嘴花碱 Vasicine [5]	$C_{11}H_{12}N_2O$	$[M+H]^+$	189.102 2	189.102 8	2.4	171.094 9, 154.066 1, 144.082 0, 143.072 5, 118.066 4, 91.055 4
3	0.932	胆碱 Choline [5]	$C_5H_{14}NO$	$[M+H]^+$	104.107 0	104.106 4	-5.7	60.082 1
4	0.951	脯氨酸 Proline [6]	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.070 6	116.069 9	-6.1	70.065 5
5	1.291	黄嘌呤 Xanthine [6]	$C_5H_4N_4O_2$	$[M-H]^-$	151.026 5	151.026 1	-0.3	108.019 9
6	1.309	焦谷氨酸 Pyroglutamic acid	$C_5H_7NO_3$	$[M-H]^-$	128.034 8	128.036 4	8.5	82.031 1
7	1.495	酪氨酸 Tyrosine [6]	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 2	182.089 7	-6.1	165.053 4, 136.076 1, 123.043 8
8	1.675	亮氨酸 Leucine [7]	$C_6H_{13}NO_2$	$[M+H]^+$	132.101 9	132.101 6	-2.3	86.097 4, 69.070 5, 57.057 6
9	1.774	腺苷 Adenosine [7]	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.104 0	268.104 4	1.4	136.061 9, 119.034 6
10	3.198	苯丙氨酸 Phenylalanine [7]	$C_9H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	166.068 3	66.084 9	-6.2	120.080 7, 103.053 7, 91.054 2, 77.038 4
11	5.184	Caffeic acid hexoside	$C_{15}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	341.079 3	341.087 3	-1.5	179.035 6, 161.101 1, 135.045 7

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	$t_R$ (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	离子模式 Ion mode	理论值 Theoretical value ( $m/z$ )	实测值 Measured value ( $m/z$ )	误差 Error ( $\times 10^{-6}$ )	MS/MS ( $m/z$ )
12 <sup>a</sup>	6.718	脱氧鸭嘴花酮碱 Deoxyvasicinone	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	[M + H] <sup>+</sup>	187.086 6	187.085 9	-3.7	171.058 7, 144.045 1、 118.062 9
13	6.831	反式阿魏酸 <i>trans</i> -Ferulic acid	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	195.065 2	195.064 1	-5.6	177.053 5
14	7.090	去甲骆驼蓬碱 Hatmalin <sup>[5]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	[M + H] <sup>+</sup>	201.102 2	201.101 9	-1.7	185.070 6, 160.075 9、 132.079 7
15	7.602	紫丁香苷 Syringin <sup>[8]</sup>	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub> O <sub>9</sub>	[M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	390.175 9	390.174 9	-2.5	161.059 3, 133.064 8、 105.068 9
16	7.618	肉豆蔻醚 Myristicin <sup>[9]</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	193.085 9	193.084 7	-6.3	133.065 2, 118.041 1、 115.054 2, 105.069 7
17 <sup>a</sup>	7.537	鸭嘴花酮碱 Vasicinone <sup>[5]</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	203.081 5	203.081 6	0.5	185.073 7, 130.064 9
18 <sup>a</sup>	8.095	哈尔酚 Harmol <sup>[5]</sup>	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O	[M + H] <sup>+</sup>	199.086 6	199.085 4	-6.0	184.063 1, 171.091 3、 144.082 9
19	8.546	哈尔满碱 Harman alkaloid <sup>[5]</sup>	C <sub>11</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	169.076 0	169.079 5	-6.1	142.063 5, 115.053 8
20	8.914	icariside B5	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>8</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	389.217 0	389.215 3	-4.4	227.162 7, 210.041 6、 209.153 2, 149.095 8
21	8.981	3,5,5-Trimethyl-4beta-hydroxy-4- [3-(β-D-glucopyranosyloxy)- 1-butenyl]-2-cyclohexene-1-one	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	387.201 3	387.200 2	-3.0	207.138 2, 119.084 9、 149.095 7, 95.085 6
22	10.271	四氢姜黄 Tetrahydrocurcumin	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	373.164 6	373.162 4	-5.8	355.158 0, 323.133 9、 237.951 5 200.096 0, 174.092 6、 172.100 0, 159.068 4、 131.073 0
23	11.190	骆驼蓬碱 Harmaline <sup>[6]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O	[M + H] <sup>+</sup>	215.117 9	215.118 4	2.4	142.032 2, 126.034 6、 115.042 6
24	11.326	吲哚-3-甲醛 Indole-3-carboxaldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	[M-H] <sup>-</sup>	144.046 0	144.045 6	0.8	142.032 2, 126.034 6、 115.042 6
25 <sup>a</sup>	11.644	去氢骆驼蓬碱 Harmine <sup>[6]</sup>	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	[M + H] <sup>+</sup>	213.102 2	213.101 2	-4.9	198.080 3, 170.085 3
26	11.741	地芩普内酯 Loliolide	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	197.117 2	197.115 4	-9.2	161.096 4, 133.100 9
27	12.665	香叶木素-7-新橙皮糖苷 Neodiosmin	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>15</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	607.168 3	607.167 9	1.7	341.063 0, 299.057 3、 284.033 6
28	12.771	杜鹃花酸 Azelaic Acid	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	[M-H] <sup>-</sup>	187.096 9	187.098 0	2.2	187.099 0, 169.088 1、 125.097 1, 123.083 2、 97.065 4
29	13.000	3,5,5-Trimethyl-4-[3-(β-D- glucopyranosyloxy) butyl]- 2-cyclohexene-1-one	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>7</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	373.222 1	373.218 7	-9.1	211.169 6, 193.159 5、 175.1473, 135.116 4、 109.100 6
30	14.760	2-(2-Hydroxyphenyl) 4- phenylbenzene-1,3,5-triol	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	[M + ACN + H] <sup>+</sup>	336.123 0	336.120 3	-8.0	321.099 7, 320.092 5、 292.096 8, 278.081 2
31	15.069	5-Hydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-7- [3,4,5-trihydroxy-6- (3,4,5-trihydroxy-6- methyloxan-2-yl) oxymethyl] oxan-2-yl] oxochromen-4-one	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	[M + FA-H] <sup>-</sup>	637.178 0	637.178 7	2.0	283.062 6, 268.038 4
32 <sup>a</sup>	15.160	蒙花苷 Linarin <sup>[7]</sup>	C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	[M + H] <sup>+</sup>	593.186 5	593.186 4	-0.1	447.130 6, 285.077 2、 270.051 8, 242.055 8 268.037 2, 239.034 5、 172.054 3, 61.987 9
33	20.329	刺槐素 Acacetin <sup>[7]</sup>	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	[M-H] <sup>+</sup>	283.061 2	283.061 7	1.8	172.054 3, 61.987 9
34	24.001	溶血磷脂酰胆碱 Lysophosphatidylcholine	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P	[M + H] <sup>+</sup>	496.339 8	496.339 2	-1.1	184.073 6

注:<sup>a</sup>经对照品比对确认的化合物;其他化合物通过与 MS DIAL 数据库中二级质谱图进行比较鉴定。

Note:<sup>a</sup>Compounds identified by comparison with reference standards;<sup>b</sup>Compounds identified by comparison with secondary mass spectra in the MS DIAL database.

## 2.2 药物活性成分及对应靶点筛选、AD 疾病靶点预测

通过检索 TCMSP 数据库以及相关文献,得到了多裂骆驼蓬成分 143 种;通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 定性得到多裂骆驼蓬成分 34 种,其中有 14 种成分与检索结果重合。整合所有成分,满足 AD 药物条

件的有 16 个活性成分,分别为脱氧鸭嘴花酮碱、去氢骆驼蓬碱、哈马拉西定、哈尔醇、吴茱萸碱、伊匹达克林、脱氧鸭嘴花碱、 $\beta$ -谷甾醇、胡萝卜苷、苯甲酸、谷甾酮、反式阿魏酸、杜鹃花酸、肉豆蔻醚、吲哚-3-甲醛和地芫普内酯,显示其多成分作用的特点。治疗 AD 的有效成分见表 2。

表 2 多裂骆驼蓬治疗 AD 的活性成分信息

Table 2 Information on the active components in the treatment of AD with *P. multisectum*

编号 No.	化合物 Compound	PK		DL				
		胃肠道吸收 GI absorption	血脑屏障 透过性 BBB permeant	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Muegge
1	脱氧鸭嘴花酮碱 Deoxyvasicinone	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
2	去氢骆驼蓬碱 Harmine	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
3	哈马拉西定 Halazepam	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
4	骆驼蓬醇 Harmol	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
5	吴茱萸碱 Evodiamine	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
6	伊匹达克林 Ipidacrine	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
7	脱氧鸭嘴花碱 Desoxypeganine	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
8	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -Sitosterol	High	Yes	Yes	No	Yes	No	No
9	胡萝卜苷 Daucosterol	High	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
10	苯甲酸 Benzoic acid	High	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
11	$\beta$ -豆甾醇酮 $\beta$ -Stigmastenone	High	Yes	Yes	No	Yes	No	No
12	反式阿魏酸 <i>trans</i> -Ferulic acid	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
13	杜鹃花酸 Azelaic acid	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
14	肉豆蔻醚 Myristicin	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No
15	吲哚-3-甲醛 Indole-3-carboxaldehyde	High	Yes	Yes	No	Yes	Yes	No
16	地芫普内酯 Loliolide	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No

## 2.3 多裂骆驼蓬潜在作用靶点与 AD 疾病潜在靶点

由于苯甲酸、肉豆蔻醚、吲哚-3-甲醛及地芫普内酯无  $\text{probability} > 0.1$  的靶点,除其之外的 12 个活性成分共得到作用靶点 194 个。在 OMIM、GeneCards、CTD、TCMSP 和 Drugbank 等数据库分别检索到 AD 相关靶点 542、148、775、60、28 个,去重后 1

249 个。194 个作用靶点与 1 249 个 AD 相关靶点交集的靶点有 77 个,分为 9 类功能。前 5 类分别为:代谢物相互转化酶 (25.00%)、蛋白质修饰酶 (20.20%)、跨膜信号受体 (16.70%)、基因特异性转录调节因子 (14.30%) 和转运蛋白 (9.50%)。其中 MAPK3、MAPK8 为非受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激

酶, MMP1 为金属蛋白酶。显示了多裂骆驼蓬多类型靶点作用的特点。

## 2.4 PPI 网络与病理学验证

靶蛋白互作分析得到 PPI 图(见图 2), 共 74 个节点、356 条边, 平均度值 9.25。PPI 图中的点度中心性(degree centrality, DC)反映的是靶点之间的关联度, 关联度越高, 代表该靶点在作用网络中的影响更大; 接近中心性(closeness centrality, CC)和中介中心性(betweenness centrality, BC)分别反映了靶点之间的最短路径和其在所有最短路径中的通信能力。

满足大于 DC 的二倍中位数、BC 和 CC 的中位数, 即  $DC > 20$ 、 $BC > 300$  和  $CC > 0.5$  排名前 7 的靶点是 SRC、ESR1、MAPK3、STAT3、CXCL8、PPARA、NR3C1, 为主要作用靶点。这 7 个靶点与  $A\beta$  和 Tau 蛋白病理学相关性分析(见表 3)显示, STAT3 在  $A\beta$  系 AD 小鼠模型中的基因表达与 AD 病理学显著相关, STAT3、MAPK3 在 Tau 蛋白系 AD 小鼠模型中靶基因表达与 AD 病理学显著相关。表明多裂骆驼蓬的作用靶点与  $A\beta$  和 Tau 蛋白的病理学密切相关, 揭示了其在 AD 治疗上的有效性。

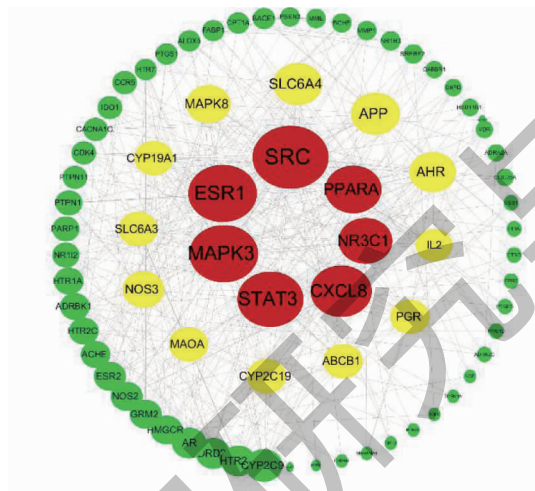


图 2 蛋白-蛋白互作用图

Fig. 2 Protein-protein interaction diagram

表 3 7 个靶点和  $A\beta$  和 Tau 蛋白相关性分析

Table 3 The correlation analysis of seven targets with  $A\beta$  and Tau protein

蛋白质序列号 Uniprot ID	基因名称 Gene name	点度中心性 DC	病理相关性 Pathological correlation	
			$\beta$ -淀粉样蛋白 Amyloid $\beta$ -protein	Tau 蛋白 Tau protein
P12931	SRC	29	-	-
P03372	ESR1	26	-	-
P27361	MAPK3	26	-	**
P40763	STAT3	25	***	*
P10145	CXCL8	23	-	-
Q07869	PPARA	21	-	-
P04150	NR3C1	20	-	-

注: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

## 2.5 多裂骆驼蓬-成分-作用靶点网络

由于交集靶点中不含反式阿魏酸对应的靶点, 11 个活性成分-作用靶点相互作用网络见图 3。Degree 值和中介度高的活性成分为多裂骆驼蓬治疗 AD 的潜在有效成分。根据节点的 DC 大小, 前 4 位

为吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱。其中吴茱萸碱与 32 个靶点相连、 $\beta$ -谷甾醇 24 个靶点、 $\beta$ -豆甾醇酮 22 个靶点、去氢骆驼蓬碱 11 个靶点相连。进一步发现 60% 的活性成分至少与 4 个靶点相连, 而 75 个作用靶点中有 73% 的靶点至

少与 3 种成分相连。表明同一成分可作用于不同靶点,而不同成分也可作用于同一靶点,显示了多裂骆驼蓬多成分、多靶点协同治疗 AD 的特点。

驼蓬多成分、多靶点协同治疗 AD 的特点。

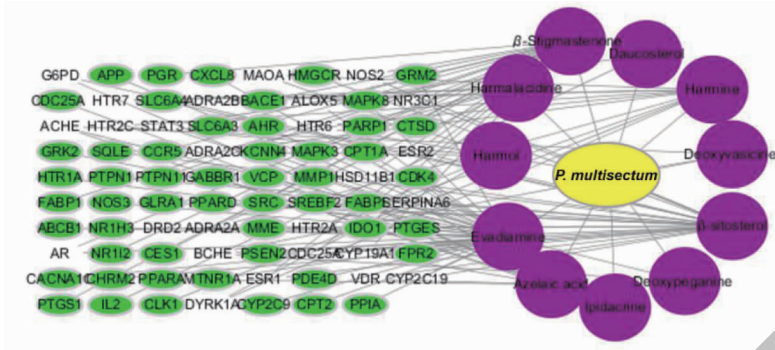


图 3 药物-成分-作用靶点网络

Fig. 3 The network of “herb-compound-target”

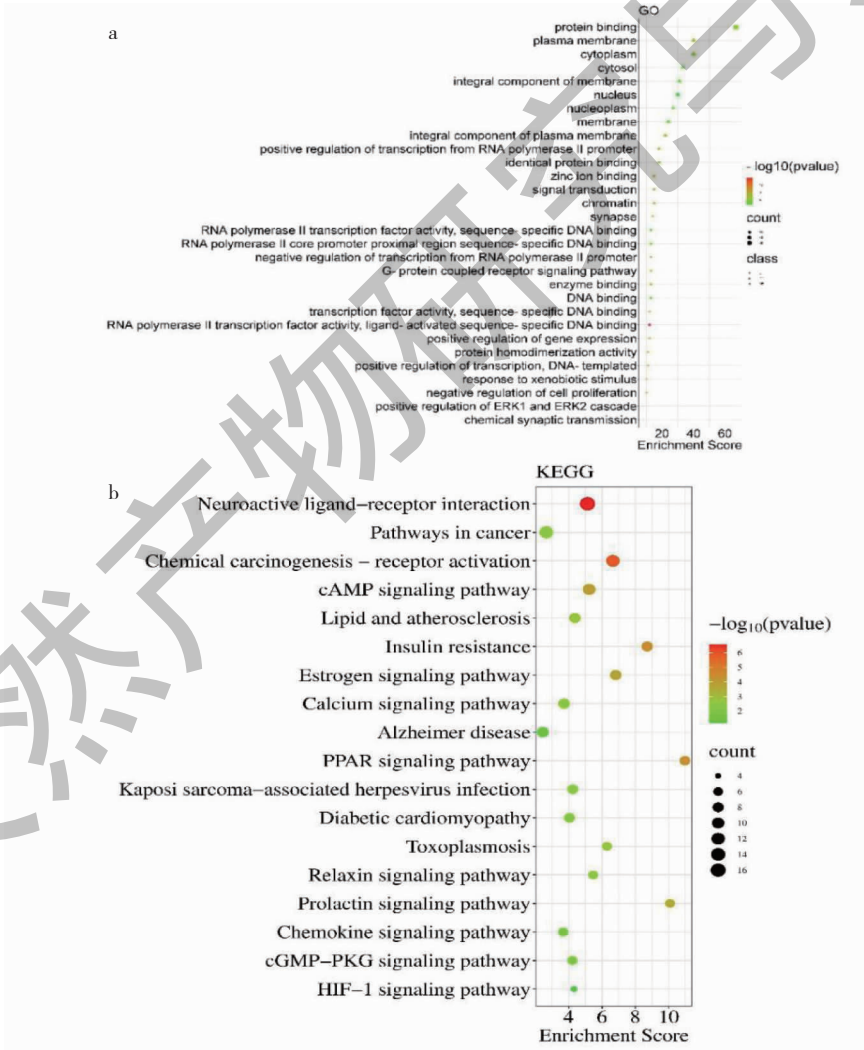


图 4 多裂骆驼蓬活性成分富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of active compounds in *P. multisetum*



## 2.6 GO 和 KEGG 通路富集分析

GO 富集分析(见图 4a)显示,77 个靶点主要涉及对外源性刺激的反应、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、基因表达的正调控、信号转导、G 蛋白偶联受体信号通路、化学突触传递、细胞间信号转导凋亡过程的负调控等 243 条 GO 生物学过程;细胞组成 48 条,主要与质膜、膜整体组分、细胞器膜、核质膜、胞质溶胶、内质网膜、轴突突触、脂筏、神经元胞体等的形成有关;分子功能 83 条,主要与酶结合、锌离子结合、蛋白质结合、转录因子活性、血红素结合、

氧化还原酶活性、神经递质受体活性、G-蛋白偶联、血清素受体活性等功能有关。KEGG 富集得到 61 条信号通路,主要涉及血清素能突触、神经活性配体-受体相互作用通路、钙信号通路、癌症通路、cAMP 信号通路、胰岛素抵抗、PPAR 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、趋化因子信号通路、阿尔茨海默病通路和 HIF-1 等信号通路(见图 4b)。表明多裂骆驼蓬可通过多靶点调节一系列与 AD 发病机制相关的生物学过程、细胞组成、分子功能和作用通路而发挥疗效。

表 4 关键靶点 KEGG 通路富集分析部分信息

Table 4 Partial information of key targets KEGG pathway enrichment analysis

编号 No.	信号通路 Signaling pathway	P	基因数量 Gene number
hsa04080	神经活性配体-受体相互作用 Neuroactive ligand-receptor interaction	2.69E-07	16
hsa04726	血清素能突触 Serotonergic synapse	8.09E-12	14
hsa05200	癌症通路 Pathways in cancer	0.004 4	12
hsa05207	化学致癌-受体激活 Chemical carcinogenesis-receptor activation	1.29E-06	12
hsa04024	环腺苷酸(cAMP)信号通路 cAMP signaling pathway	1.00E-04	10
hsa05010	阿尔茨海默病 Alzheimer's disease	0.041 239	8
hsa04020	钙离子信号通路 Calcium signaling pathway	0.005 112	8
hsa05417	脂质与动脉粥样硬化 Lipid and atherosclerosis	0.002 0722	8
hsa04931	胰岛素抵抗 Insulin resistance	3.08E-05	8
hsa04915	雌激素信号通路 Estrogen signaling pathway	1.46E-04	8

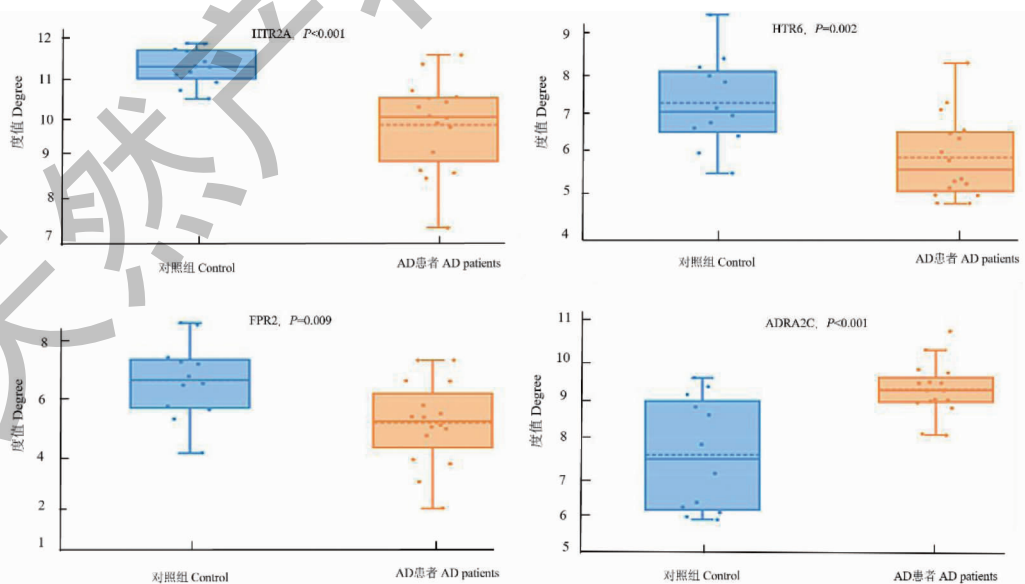


图 5 AD 病人中参与神经活性配体-受体相互作用通路蛋白变化

Fig. 5 Changes of proteins involved in neuroactive ligand-receptor interaction pathway in AD patient

## 2.7 差异表达分析

由表 4 可知,KEGG 通路神经活性配体-受体相互作用通路富集的基因最多,其次为血清素突触通路、化学致癌-受体激活通路、癌症通路、CAMP 信号通路钙信号通路。进一步验证神经活性配体-受体相互作用通路(hsa04080)靶点在 AD 患者颞叶皮层中的变化情况。根据 DAVID 分析结果得到,神经活性配体-受体相互作用通路相关靶点为 CHRM2、HTR1A、HTR2C、FPR2、HTR2A、ADRA2C、NR3C1、ADRA2B、ADRA2A、GRM2、GLRA1、HTR6、MTNR1A、HTR7、DRD2。利用 AlzDate 数据库检索在健康和 AD 患者中该通路相关靶点在颞皮层的表达情况,由图 5 可知与该通路相关的 HTR2A、HTR6 与 FPR2 在 AD 病人中均显著下调,而 ADRA2C 显著上调。

## 2.8 分子对接验证

$A\beta$  的沉积和 Tau 蛋白的过度磷酸化是 AD 两个主要病因。根据  $A\beta$  和 Tau 蛋白病理学相关性分析结果,靶点中 STAT3、MAPK3 与  $A\beta$  或 Tau 蛋白病理学显著相关,在治疗 AD 起到核心作用。将它们作为核心靶点,采用分子对接技术,验证了 4 种活性

成分吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱与它们的亲和力。分子对接结果显示(见表 5),其中 4 种活性成分与 2 组靶点的结合能均  $\leq -6.0$  kJ/mol,说明它们与核心靶点均具有良好的亲和力。亲和力最强的吴茱萸碱、去氢骆驼蓬碱、 $\beta$ -谷甾醇和  $\beta$ -豆甾醇酮与核心靶点 MAPK3 的分子对接图(见图 6)。吴茱萸碱与残基 Asp192、Arg189、Ile190、Phe348、Arg87、Asp353 和 Ala349 形成疏水键; $\beta$ -谷甾醇与残基 Leu86、Leu352、Leu360、Arg87、Phe348、Met350、Asp192、His195、Tyr222、Arg189、Asp353、Gln83 和 Ala349 形成稳定的疏水作用;去氢骆驼蓬碱与残基 Asp184 形成氢键结合,距离为 3.13 Å,去氢骆驼蓬碱还与残基 Ser170、Glu50、Cys183、Gln122、Leu173、Val56、Gly49 和 Gly51 形成疏水键; $\beta$ -豆甾醇酮与残基 Arg116、Ala114、Ala109、Leu107、Arg108、Asp37、Tyr119、Asp117 和 Lys72 形成稳定的疏水作用。综上所述,有效成分可以和核心靶点形成稳定的氢键和疏水作用。推测这四种有效成分可能对 2 个核心靶点具有很强的抑制活性,通过抑制  $A\beta$  聚集以及 Tau 蛋白过度磷酸化发挥抗 AD 作用。

表 5 有效成分-核心靶点分子对接结果

Table 5 Molecular docking results of active components and targets

TCMSP ID	成分 Component	结合能 Binding energy (kcal/mol)	
		MAPK3	STAT3
MOL003958	吴茱萸碱 Evodiamine	-8.6	-7.7
MOL000358	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -Sitosterol	-8.2	-6.1
MOL008570	去氢骆驼蓬碱 Harmine	-7.4	-6.0
MOL001507	$\beta$ -豆甾醇酮 $\beta$ -Stigmastenone	-7.2	-6.9

## 3 讨论与结论

本研究基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合多种网络药理学在线分析平台和数据库,从多裂骆驼蓬中推测出 34 种化合物,进而筛选出治疗 AD 的 15 种活性成分及 775 个关键靶点,其中吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱均为多靶点成分,为治疗 AD 的主要有效成分;ESR1、SRC、NR3C1、STAT3、MAPK3、PPARA、CXCL8 为治疗 AD 的主要作用靶点。雌激素受体 ESR1 具有神经保护作用,也可促进基底前脑胆碱乙酰转移酶活性,上调胆碱能系统而减缓 AD 发展<sup>[10]</sup>。MAPK3 能调控 Tau 蛋白磷酸化、神经炎症和突触功能障碍等与 AD 相关的多种功能,还可传导细胞膜上的受体信号到细胞核内,参与 AD 病理密切相关的调节神经元的增殖、

凋亡等<sup>[11]</sup>。文献报道吴茱萸碱可通过抑制乙酰胆碱酯酶活性增加 Ach 在海马体和大脑皮层的水平,恢复胆碱能系统和功能,还能通过激活 Nrf2/ARE 信号通路降低 MDA 含量,抑制氧化应激反应,减少神经炎症<sup>[12]</sup>。 $\beta$ -谷甾醇可影响凋亡、炎症等信号通路,具有抗炎、调节免疫和抗氧化等作用,也可抑制 AchE 活性,调节胆碱能系统<sup>[13]</sup>。去氢骆驼蓬碱能使谷氨酸转运体 1-信使 RNA 和蛋白显著升高,并减弱星形胶质细胞的激活,具有神经保护作用<sup>[13]</sup>。研究揭示出多裂骆驼蓬多成分、多靶点的作用特点,从现代医学角度证实了其治疗 AD 的有效性。

AD 发病机制复杂, $A\beta$  的沉积和 Tau 蛋白的过度磷酸化被认为是引发该疾病的两个主要病因。研究发现多裂骆驼蓬作用的主要靶点 STAT3 和

MAPK3 与  $A\beta$  和 Tau 蛋白病理学显著相关,表明其治疗 AD 起到核心作用。STAT3 是信号转导和转录

激活因子,STAT3 磷酸化会上调神经元中  $\beta$ -分泌酶的表达,促进  $A\beta$  分泌<sup>[14]</sup>。抑制 STAT3 表达可减

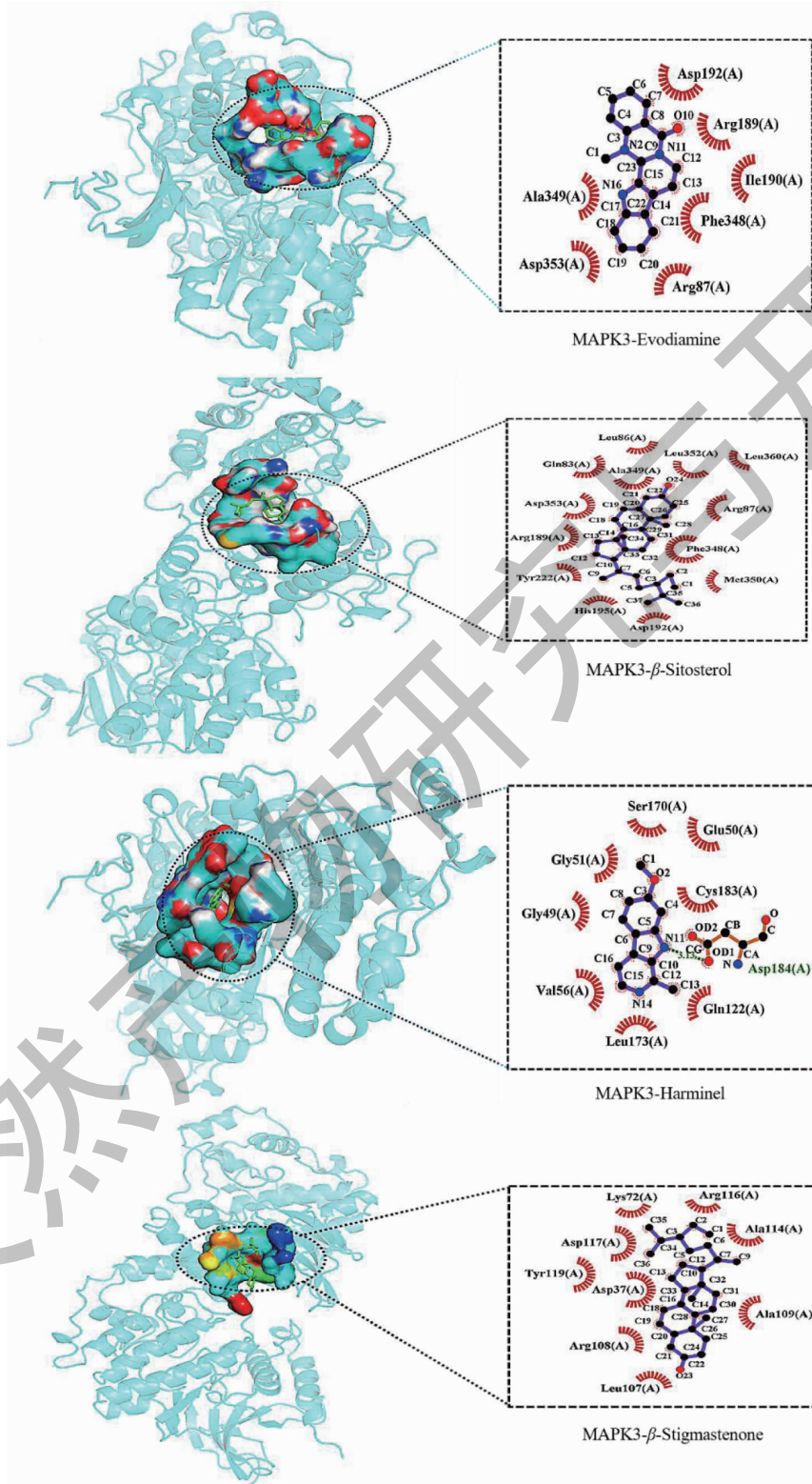


图6 有效成分与 MAPK3 的分子对接图

Fig. 6 Molecular docking images between active ingredients and MAPK3

少  $A\beta$  生成。MAPK3 是 MAPK 的家族成员,在信号增殖有关通路中发挥重要作用,其中 p38MAPK 可诱导 NF- $\kappa$ B 激活、谷氨酸兴奋性毒性和破坏突触可塑性而抑制  $A\beta$  诱导毒性<sup>[15]</sup>。这表明多裂骆驼蓬可通过调控 STAT3 和 MAPK3 等靶点抑制  $A\beta$  的聚集。分子对接结果显示有效成分吴茱萸碱、 $\beta$ -谷甾醇、 $\beta$ -豆甾醇酮和去氢骆驼蓬碱与核心靶点 STAT3 和 MAPK3 均有强的亲和力,验证了它们可通过调控上述核心靶点抑制  $A\beta$  表达和聚集发挥抗 AD 作用。

在多途径协同作用中,多裂骆驼蓬还能够调节 RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、信号转导、氧化还原过程、G 蛋白偶联血清素受体活性受体等生物过程,以及通过神经活性配体-受体相互作用通路、血清素能突触、钙信号通路、胆碱能突触、HIF-1 信号通路等对 AD 作用。钙稳态失衡是导致 AD 发病的重要原因,胞内钙超载会导致  $A\beta$  沉积,造成  $A\beta$  淀粉样血管病变。钙信号通路可调节钙稳态缓解非结构性血管功能障碍<sup>[16]</sup>。氧化应激与 AD 关系密切,HIF-1 是氧稳态调节因子,可通过调节细胞增殖、代谢、血管生成和血管重塑等反应改善大脑区域慢性缺氧引发的低代谢,进而抑制淀粉样前体蛋白过表达和提高  $A\beta$  清除率<sup>[17]</sup>。而血清素突触通路可改善脑部血液循环<sup>[18]</sup>。显示多裂骆驼蓬可能通过调控钙信号通路、HIF-1 信号通路等减少脑血管损伤、调节脑血管生成及改善脑部血液微循环系统。

神经活性配体-受体相互作用通路是细胞膜上所有与细胞外信号通路相关的受体和配体的集合,可调控谷氨酸、血清素和组胺等一系列神经递质的表达和活性<sup>[19]</sup>。多裂骆驼蓬可通过调控细胞膜、膜组成部分、内质网膜、细胞器膜等改变细胞膜脂质组成,影响 APP 的淀粉样蛋白生成过程。而脂筏是细胞膜内富含胆固醇和鞘脂的微结构域,干扰脂筏功能也可影响 APP 的淀粉样蛋白形成过程<sup>[20]</sup>。因此,多裂骆驼蓬通过调控神经活性配体-受体相互作用通路以及有效成分的生物功能,不仅能调节细胞膜结构和功能,还可减少  $A\beta$  损伤,进而减缓  $A\beta$  生成。

综上,本研究利用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合网络药理学和分子对接技术,对多裂骆驼蓬治疗 AD 的有效成分和作用机制进行了初步预测,发现多裂骆驼蓬可通过调节胆碱能系统和功能、减少  $A\beta$  聚集、调节微循环及神经元细胞膜系统,维持神经元结构和功能,协同整合发挥治疗 AD 的作用,为多裂

骆驼蓬治疗 AD 的药效物质基础研究提供了理论依据。但是本研究的结果是基于生物信息学分析,多裂骆驼蓬中有功效的成分,尚需做进一步的动物实验、细胞实验及临床研究确认其防治 AD 的 药效物质,并建立高效的活性评价方法,以期 为多裂骆驼蓬治疗 AD 提供更完善的参考依据。

## 参考文献

- Gaugler J, James B, Johnson T, et al. 2022 Alzheimer's disease facts and figures [J]. *Alzheimer's Dement*, 2022, 18: 700-789.
- Feng L, Li J, Yu JT, et al. Editorial: Prevention of Alzheimer's disease in Chinese populations: status, challenges and directions [J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2018, 5: 90-94.
- Editorial Committee of Chinese Materia Medica, National Administration of Traditional Chinese Medicine. *Chinese Materia Medica of Uyghur Medicinal Volume* (中华本草-维吾尔药卷) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2005: 297-299.
- Zhu YM. *Flora Intramomgolica: Vol III* (内蒙古植物志: 第三卷) [M]. Inner Mongolia: Inner Mongolia People's Press, 1989: 418.
- Wang NN, Wei GH, Zhang ZJ, et al. Chemical constituents in *Peganum harmala* based on UHPLC-Q-TOF-MS/MS and its neuroprotective activities [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2022, 53: 1688-1696.
- Wang J, Yao CL, Zhang JQ, et al. Study on chemical components and chromatographic fingerprints of Ginseng Dispensing Granules based on UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2022, 53: 3286-3294.
- Zhang Y, Dong WT, Huo JH, et al. Analysis on chemical constituents of *Pheretima aspergillum* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 252-262.
- Wang L, Ma Y, He Y, et al. Systematic investigation of the pharmacological mechanism of Tanreqing injection in treating respiratory diseases by UHPLC/Q-TOF-MS/MS based on multiple in-house chemical libraries coupled with network pharmacology [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 202: 114-141.
- Samadi N, Masoum S, Mehrara B, et al. Application of linear multivariate calibration techniques to identify the peaks responsible for the antioxidant activity of *Satureja hortensis* L. and *Olivaria decumbens* Vent. essential oils by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2015, 1001: 75-81.
- Lu YP, Zeng M, Qin S, et al. Decreased coexpression of estro-

- gen receptor- $\alpha$  and- $\beta$  in the hippocampus of the patient with Alzheimer disease[J]. Chin J Neurol(中华神经科杂志), 2003,36:11-14.
- 11 Lee JK, Kim N. Recent advances in the inhibition of p38 MAPK as a potential strategy for the treatment of Alzheimer's disease[J]. Molecules, 2017, 22:1287.
  - 12 Zhang JL, Ding H, Song XB, et al. Research progress on anti-aging effect of total flavonoids of Herba Epimedii [J]. Nat prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30:339-343.
  - 13 Bin Sayeed MS, Ameen SS. Beta-sitosterol: A promising but orphan nutraceutical to fight against cancer[J]. Nutr Cancer, 2015, 67:1216-1222.
  - 14 Zhang W, Bai S, Zhang Q, et al. Physalin B reduces A $\beta$  secretion through down-regulation of BACE1 expression by activating FoxO1 and inhibiting STAT3 phosphorylation [J]. Chin J Nat Med, 2021, 19:732-740.
  - 15 Kheiri G, Dolatshahi M, Rahmani F, et al. Role of p38/ MAPKs in Alzheimer's disease: implications for amyloid beta toxicity targeted therapy[J]. Rev Neurosci, 2019, 30:22.
  - 16 Gong BJ, Ren Y, Ma J, et al. Study on mechanism of Tibetan medicine Zuomua Decotion in treatment of hypertension based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2020, 45:5383-5392.
  - 17 He C, Li W, Zhang JJ, et al. Determination of  $\beta$ -sitosterol and total sterols content and antioxidant activity of oil in Acai (*Euterpe oleracea*) [J]. China J China Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39:4620-4624.
  - 18 Wang LQ, Zhang YF, Li SS, et al. Study on component-target-pathway multiple interactive multiple interactive network to reveal mechanism of Salvia miltiorrhiza in treatment of micro-circulation disturbance [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51:439-450.
  - 19 Su S, Hsieh C, Wu S, et al. Transcriptomic analysis of EGb 761-regulated neuroactive receptor pathway *in vivo* [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 123:68-73.
  - 20 Ehehalt R, Keller P, Haass C, et al. Amyloidogenic processing of the Alzheimer  $\beta$ -amyloid precursor protein depends on lipid rafts [J]. J Cell Biol, 2003, 160:113-123.

(上接第 1760 页)

- 10 Zhang XL, Zhang ZP, Deng LH, et al. A study on the differences in content and characteristic atlas of Persicae Semen and its processed product [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2019, 42:2803-2808.
- 11 Zhang XN, Wei HZ, Lyu S, et al. Optimization of processing 'chan' of peach kernel by multi-indices comprehensive evaluation [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2020, 35:403-407.
- 12 Xu YT, Sun F, Meng J, et al. Analysis on processing mechanism of Persicae Semen [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014, 20:1-4.
- 13 Liu Q, Xiao JC, Zhang WF, et al. Construction of UPLC characteristic chromatogram to evaluate the quality of 'Chan' Processing of Semen Persicae decoction pieces [J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2022, 39:2639-2645.
- 14 Zhai WM, Wen J, Xu XF, et al. Research on rationality of standard for fried peach kernels in Chinese pharmacopoeia based on processing principle [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2024, 26:1048-1052.
- 15 Huo WJ, Ding Q, Liu XX, et al. Determination of amygdalin in Taoren formula granules based on differential isomer separation [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2020, 22:2090-2093.
- 16 He GM, Peng ZC, Wu XC, et al. Study on UPLC content determination of *D*-amygdalin in Persicae Semen [J]. Strait Pharm J(海峡药理学), 2020, 32:60-63.