

基于网络药理学探讨紫荆荚果提取物治疗阿尔茨海默症的作用机制

曹桦强^{1a,b}, 徐婷^{1a,2}, 文思淼^{1a,b}, 舒朋华², 张彭湃^{1a,b}

(1.河南大学 a.生命科学学院;b.河南省应用微生物工程研究中心,河南 开封 475004;

2.许昌学院 食品与药学院,河南 许昌 461000)

摘要:紫荆荚果中含有抑制乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)的有效活性成分,具有潜在治疗阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)的作用.以紫荆荚果为研究对象,通过网络药理学方法预测了紫荆荚果治疗AD的作用机制,并对筛选出的化合物的抑制效果进行了评价.结果显示,化合物C4和C13的活性较显著,可能通过ESR1、CDK2和KDR等核心靶点来调控PI3K-AKT、MAPK、AGE-RAGE等信号通路发挥抗AD作用.在体外AChE的抑制实验中,化合物C4($IC_{50}=0.488$ mg/mL)和C13($IC_{50}=0.391$ mg/mL)对AChE具有显著的抑制作用,抑制率达到68%以上(阳性对照的抑制率为61.44%),其 IC_{50} 值接近阳性对照品(多奈哌齐 $IC_{50}=0.096$ mg/mL).实验结果表明紫荆荚果提取物在治疗AD方面具有潜在的应用价值,网络药理学预测了紫荆荚果抗AD作用机制方面的有效性.

关键词:紫荆荚果;网络药理学;乙酰胆碱酯酶;阿尔兹海默症;作用机制

中图分类号:R285

文献标志码:A

文章编号:1000-2367(2025)06-0101-08

紫荆(*Cercis Glabra*)是一种著名的观赏植物,广泛分布于中国东南部.其不同部位可入药,特别是花和果实被广泛用于食品添加剂和保健品中.因具有活血行气、凉血止痛、消肿解毒等功效,常用作传统食药材料^[1].目前,国内外学者已在紫荆属植物中发现了多种有效成分,如黄酮类、酚类、二苯乙烯类、苯丙素类等^[2].紫荆荚果(*Cercis Glabra* Legumes)作为食药两用材料,可以治疗咳嗽、缓解疼痛等^[3].HONG等^[4]采用液相色谱-串联质谱联用技术对紫荆果实进行鉴定,发现其化合物主要是多酚类及其衍生物.研究表明,多酚类物质能缓解各种疾病风险,如流感病毒^[5]、肝癌^[6]、炎症^[7]、心血管疾病^[8]、糖尿病^[9]和神经退行性疾病(如阿尔兹海默症(AD)、帕金森等)^[10].因此,探究紫荆荚果的化学成分和生物活性,不仅有助于揭示其潜在的药用价值和机制,还可以拓宽紫荆属植物的应用领域.

AD是一种复杂的神经退行性疾病,其发病机制涉及多个生物学过程.目前研究普遍认为,AD的发生与体内神经递质乙酰胆碱(ACh)水平的降低密切相关^[11].乙酰胆碱酯酶(AChE)作为一种关键酶,能够将神经递质乙酰胆碱分解为乙酸和胆碱,这一过程进一步降低了体内的ACh水平,进而阻碍正常的神经信号传递.因此,通过抑制AChE活性,提高AD患者体内的ACh水平,可有效缓解认知功能障碍^[12].近年来,对抑制AChE

收稿日期:2024-09-23;**修回日期:**2024-10-25.

基金项目:国家自然科学基金(21702178);河南省科技攻关计划项目(212102311031);河南省高校重点科研计划项目(22A350009).

作者简介:曹桦强(1997-),男,河南洛阳人,河南大学硕士研究生,研究方向为天然产物提取,E-mail:ccchq123@163.com.

通信作者:张彭湃,河南大学副教授,E-mail:bio_apai@163.com.

引用本文:曹桦强,徐婷,文思淼,等.基于网络药理学探讨紫荆荚果提取物治疗阿尔兹海默症的作用机制[J].河南师范大学学报(自然科学版),2025,53(6):101-108.(Cao Huaqiang,Xu Ting,Wen Simiao,et al.The mechanism of extracts of *Cercis Glabra* Legumes for treating Alzheimer's disease based on network pharmacology[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2025,53(6):101-108.DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.09.23.0002.)

的天然活性物质的研究已逐渐成为一个热点.这些活性物质主要来源于植物、细菌和真菌的代谢产物^[13],其具有毒性低、生物利用度高的特点,特别适用于食品、化妆品及医药等领域的开发与应用.网络药理学通过选择特定信号节点开展多点药物分子设计,能够揭示药物多组分-多靶点-疾病之间的相互关系、作用机制及动态过程.

基于紫荆荚果中含有能够有效抑制 AChE 的活性成分,显示出其治疗病(AD)的潜在能力.本研究以紫荆荚果为研究对象,采用现代分离材料和多种色谱技术对其化学成分进行了系统筛选和鉴定.同时,利用网络药理学结合实验验证的方法,深入探讨紫荆荚果治疗 AD 的药理活性及潜在机制.通过构建紫荆荚果成分与 AD 相关靶点的相互作用网络,进一步研究其结构关系,为紫荆荚果的基础研究及开发应用提供理论支持,助力其在医药、保健品及食品添加剂领域的广泛应用和商业化进程.深化对该天然资源的理解,为其在健康产品中的价值挖掘开辟新路径.

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

紫荆荚果,于 2021 年 5 月在河南省许昌市鄢陵县“河南省紫荆工程技术研究中心”采集,由兰州理工大学杨林教授鉴定为豆科(Fabaceae)植物湖北紫荆(*Cercis Glabra*)的荚果,标本(SPH2021J)现存于河南大学生命科学学院发酵工程研究室;乙酰胆碱酯酶,上海麦克林生化科技有限公司;5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)(DTNB),北京伊诺凯科技有限公司;多奈哌齐,上海源叶生物科技有限公司.

旋转蒸发仪购于德国艾尔(IKL)公司,全波段多功能酶标仪购于美国 BioTek 公司.

1.2 实验方法

紫荆荚果有效成分的提取.称取风干后的紫荆荚果 9.4 kg,磨成粉末,在室温下用 95%(体积分数)乙醇(50 L)浸泡 3 d,将提取液减压浓缩,得到浸膏约 495.6 g.使用二氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇分别对浸膏进行萃取,萃取液减压浓缩得到 3 组活性成分.

活性成分的分离纯化.采用硅胶 H、硅胶 200~300 目、聚酰胺、反相硅胶 RP-18 和葡聚糖 Sephadex LH-20 对 3 组部位的生物活性成分进行分离纯化.用常压、加压柱色谱和半制备型反相高效液相色谱等分离技术,分离得到 17 个单体化合物.通过紫外分光光度计(UV)、傅里叶红外光谱仪(IR)、核磁共振(NMR)、质谱仪(MS)等分析方法对提取物的化学成分进行结构分析,鉴定出 17 个化合物(C1~C17,波谱数据参照文献[14]).其中,包括 6 个类黄酮类化合物,2 个蒽醌类化合物,1 个苯丙素类化合物,2 个甾体类化合物,3 个酚酸类化合物,3 个其他类化合物,名称及编号见表 1.

紫荆荚果活性成分及靶点预测.使用 pubchem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)对 17 个化合物潜在的活性成分进行分析;运用 Swiss Target Prediction 数据库(www.swisstargetprediction.ch/)对活性化合物进行靶点预测,获取化合物的潜在作用靶点^[15].

活性成分与疾病交集靶点的筛选.使用 Gene Card 数据库(www.genecards.org/)筛选出与 AD 相关的靶点.通过 Relevance score 筛选大于等于中位数的靶点,排除与疾病关联度较低靶点的干扰.使用韦恩图数据库(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)获得紫荆荚果活性成分中治疗疾病的交集靶点^[16].

“活性成分—作用靶点”网络的构建.通过使用 Cytoscape 3.7.1 软件绘制“活性成分—靶点”相互作用网络,展示化合物与靶点之间的关系.借助“网络分析器(network analyzer)”工具,得到“活性成分—作用靶点”互作的度值(Degree),选取度值较高的靶点作为关键靶标^[17],确定紫荆荚果化学成分中治疗 AD 较为重要的成分及相互作用力度.

PPI 蛋白互作网络.为了进一步分析紫荆荚果治疗 AD 的作用机制,使用 STRING 数据库,将化学成分和疾病共同的靶点信息导入,获得蛋白质之间相互作用的信息,得到共同靶点的 PPI 蛋白互作网络^[18].

“紫荆荚果-活性成分-疾病靶点”网络分析.对 PPI 蛋白互作网络中筛选出的 103 个核心靶点与紫荆荚果中活性化合物进行关联.进一步筛选出排名靠前的靶点基因和主要活性成分.

分子对接验证.根据配体与受体的作用性质,将“紫荆荚果-活性成分-疾病靶点”网络分析中筛选出排名

靠前的 3 个核心靶点 (ESR1、CDK2、KDR) 基因的蛋白分别与 3 个主要活性成分化合物 (ZJJG8 (Kaempferide-3-O- α -L-rhamnopyranoside)、ZJJG9 (Rhein)、ZJJG12 (Kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside)) 配对,并进行分子对接模拟。

GO 生物富集与 KEGG 通路富集分析.使用 Metascape 数据库(<https://metascape.org/>)对筛选得到的靶点进行富集分析,包括 GO 生物过程、GO 分子功能、GO 细胞组分;同时,使用 Metascape 数据库进行 KEGG 通路富集分析^[19]。

乙酰胆碱酯酶活性抑制实验.实验样品组:将上述分析筛选得到的 13 个活性单体化合物各取 2 mg,根据倍半稀释法用甲醇或二甲基亚砷(DMSO)溶解完全并稀释至 5 个质量浓度梯度,分别为 0.062 5、0.125 0、0.250 0、0.500 0、1.000 0 mg/mL 的样品溶液。

参照文献[20]并稍作改进,依次加入 120 μ L 0.1 mol/L pH=8.0 的磷酸盐缓冲液 PBS、20 μ L 3 mmol/L 的 DTNB 溶液(空白对照组则加 PBS 代替 DTNB)于 96 孔板中,再分别加入 20 μ L 的待测实验样品组、阳性对照组和空白对照组,最后加入 20 μ L 0.2 U/mL 的 AChE 溶液,将 96 孔板置于恒温箱 37 $^{\circ}$ C 反应 20 min,各反应孔加入 20 μ L 3 mmol/L 的碘代硫代乙酰胆碱,反应 20 min.用酶标仪在 412 nm 波长处测定吸光度 (OD)值,计算各样品对乙酰胆碱酯酶的抑制率;根据抑制率分别计算各化合物的 IC_{50} 值,由 GraphPad Prism 8.0 软件计算分析,其结果以平均抑制率 $\pm SEM(\%)$ 表示. $SEM = (1 - \frac{A_s - A_j}{A_c}) \times 100\%$, 式中, A_c 是空白组的吸光值, A_s 是实验组的吸光值, A_j 是样品空白组的吸光值。

2 实验结果与分析

2.1 紫荆荚果活性化合物筛选及靶点预测结果

对从紫荆荚果中鉴定的 17 个化合物活性成分进行潜在靶点预测,其活性成分编号、名称、分子式如表 1 所示。

表 1 紫荆荚果活性成分预测结果
Tab. 1 Prediction results of active components of *Cercis Glabra* Legumes

编号	对照编号	名称	分子式	CAS 号
ZJJG1	C1	(+)-(R)- α -terpineol α -L-rhamnoside	—	—
ZJJG2	C16	Griffonilide	C ₈ H ₈ O ₄	61371-55-9
ZJJG3	C13	Gallic acid	C ₉ H ₈ O ₄	149-91-7
ZJJG4	C14	Ethyl gallate	C ₉ H ₁₀ O ₅	831-61-8
ZJJG5	C15	Methyl gallate	C ₈ H ₈ O ₅	99-24-1
ZJJG6	C7	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	520-18-3
ZJJG7	C3	Catechin	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	154-23-4
ZJJG8	C4	Kaempferide-3-O- α -L-rhamnopyranoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	—
ZJJG9	C8	Rhein	C ₁₅ H ₈ O ₆	478-43-3
ZJJG10	C9	Aloe-emodin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	481-72-1
ZJJG11	C10	Lingueresinol	C ₂₂ H ₂₈ O ₈	—
ZJJG12	C6	Kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	915778-43-7
ZJJG13	C5	Quercetin-3-O- α -L-rhamnoside	C ₂₁ H ₂₀ O	—
ZJJG14	C2	Apigenin	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	520-36-5
ZJJG15	C11	β -Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	83-46-5
ZJJG16	C12	β -Sitosterol-3-O-butyl	—	—
ZJJG17	C17	rel-1,4-Bis[(2R)-2-ethylhexyl]1,4-benzenedicarboxylate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	—

2.2 活性化合物抗 AD 的潜在靶点筛选

通过 Swiss Target Prediction 数据库和 Gene Card 数据库预测化合物潜在作用靶点和 AD 相关靶点.使用 Swiss Target Prediction 数据库和 Gene Card 数据库分析,获得化合物潜在作用靶点 579 个、AD 疾病相

关靶点 11 501 个,经过筛选后,得到 5 751 个与疾病相关的靶点.对两个靶点集合进行韦恩图分析后,得到 437 个交集靶点,如图 1 所示,即紫荆荚果中化学成分对抗 AD 疾病的相关靶点有 437 个.

2.3 “活性成分—作用靶点”网络构建分析

对 17 个活性成分及其作用靶点进行分析,构建“活性成分-作用靶点”网络图^[21].网络由 593 个节点和 1 313 条边组成.经过筛选后,选择了 13 个活性成分以及它们所对应的靶点信息.如图 2 所示.

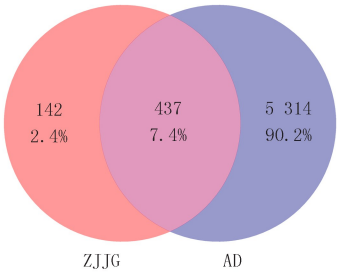
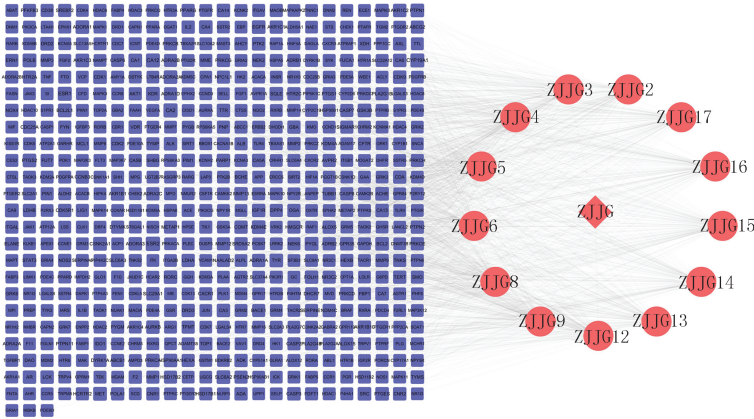


图1 紫荆荚果化学成分与AD靶点韦恩图
Fig.1 Venn diagram of *Cercis Glabra* Legumes chemical constituents and AD targets



注:菱形代表紫荆荚果、圆形代表化合物、正方形代表作用靶点.

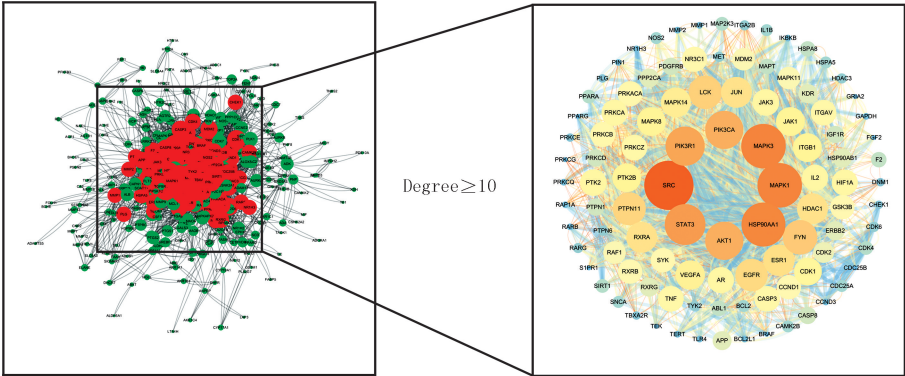
图2 “活性成分-作用靶点”靶点网络

Fig.2 “Active ingredient-target” target network

2.4 PPI 蛋白互作网络分析

通过 STRING 数据库对活性成分治疗 AD 的潜在靶点进行分析.将靶点筛选条件设置为 Degree≥10,在 Cytoscape3.7.1 中构建 PPI 网络,如图 3 所示.将获取的蛋白互作关系的 PPI 网络数据导入后,置信度设为 0.9 对靶点进行筛选,仅保留 Degree 值大于等于 2 倍中位数的节点,如附录表 S1 所示.

核心靶点共有 103 个,节点越大、颜色越红,表示该节点在整个网络中越具有重要作用,表明该活性成分的生物学作用越强.为了评价蛋白质相互作用的强度,通常使用 Degree 值作为评价参数.Degree 值越高,表明蛋白质相互作用越强,可能在生物学功能中越发挥重要作用.



2.5 “紫荆荚果-活性成分-疾病靶点”网络分析

对筛选出 103 个核心靶点与筛选出的 13 种活性成分进行关联,使用 Cytoscape 3.7.1 软件构建了一个“紫荆荚果-活性成分-疾病靶点”网络,如图 4 所示.节点大小表示该靶点在网络中的重要程度,其中排名靠前的 3 个活性成分 ZJJG8(Kaempferide-3-O- α -L-rhamnopyranoside)、ZJJG9(Rhein)、ZJJG12(Kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside)可能在治疗 AD 中起重要作用.此外,Degree 值排名靠前的靶点分别是 ESR1、CDK2、KDR、MET、SRC、EGFR、PTK2、GSK3B、PTPN1、BCL2、BCL2L1,Degree 值分别是 9、8、8、8、7、7、7、7、7、7,表明药物可能通过调节血管生成、炎症、细胞增殖和生长等多种作用途径来参与治疗 AD,并具有多种成分和多个靶点的特点.

2.6 分子对接验证

选取排名靠前的 3 个活性成分与 3 个靶点进行分子对接.分子对接结果如附录图 S1 所示,其结合能如表 2 所示.

一般认为,结合能低于 $-16.74\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 时,结合能力更强.对 3 个核心靶点(ESR1、CDK2、KDR)基因的蛋白分别与 3 个活性成分(ZJJG8、ZJJG9、ZJJG12)配对,得到 9 种结果.因此,紫荆荚果可能是通过这 3 个靶点抑制 AChE 而发挥抗 AD 效果.其中 3 个对接结果显示:CDK2 和 ZZJG9($-24.52\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)、KDR 和 ZZJG9($-18.87\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)、CDK2 和 ZZJG12($-17.95\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)具有较强的结合能力,表明起主要作用的是 CDK2 和 KDR 这两个靶点.

表 2 核心基因蛋白与活性成分对接结合能

Tab. 2 Binding energy of core gene protein and active ingredient

编号	活性化合物名称	结合能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)		
		ESR1	CDK2	KDR
ZZJG8	Kaempferide-3-O- α -L-rhamnopyranoside	-6.23	-11.09	-8.83
ZZJG9	Rhein	-14.77	-24.52	-18.87
ZZJG12	Kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside	-10.04	-17.95	-15.56

2.7 GO 通路 与 KEGG 通路富集分析

运用 Metascope 平台将紫荆荚果中对于治疗 AD 的活性成分进行生物功能与 GO 富集分析,主要涉及细胞信号转导、凋亡过程负调控等生物学过程;细胞核、胞质溶胶、核质等 3 种细胞组分,以及蛋白质结合、ATP 结合、细胞因子活性等多种分子功能,结果如图 5(a-c)所示;对治疗 AD 的活性成分进行通路富集分析,结果如图 5(d)所示.

GO 通路富集共得到 338 个有效条目.根据 P 值筛选出前 20 个条目,其中抗 AD 的主要生物过程为对蛋白激酶、醇基为受体的磷酸转移酶、激酶等活性的影响.表明紫荆荚果中的活性成分可能通过影响蛋白激酶活性等途径参与 AD 治疗^[22].对 KEGG 通路分析,根据 P 值结果得到,紫荆荚果对抗 AD 的信号通路为 PI3K-AKT、MAPK、AGE-RAGE 等;进行收集后,得到 50 个靶点作用于 PI3K-AKT 通路,43 个靶点作用于 MAPK 信号通路,30 个靶点作用于 AGE-RAGE 通路发挥抗 AD 作用.

2.8 乙酰胆碱酯酶活性抑制结果分析

通过对 17 种活性化合物进行体外乙酰胆碱酯酶抑制实验,得到 9 种具有阳性反应的化合物,依次是:C2、C4、C6、C7、C8、C13、C14、C15、C16,如图 6 所示.

由图 6 可知,化合物 C4、C6 和 C13 的酶抑制率均超过 50%,分别为 68.38%、54.14%和 71.27%.这与预测的结果中化合物 C4、C6 具有抗 AD 活性相吻合.其中化合物 C4、C13 的酶抑制作用显著,到达与阳性对照相

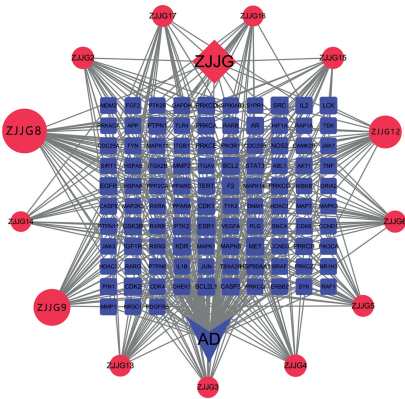


图4 “紫荆荚果-活性成分-疾病靶点” 互作网络
Fig.4 Interaction network of “*Cercis Glabra* Legumes-active ingredient-disease target”

当水平.化合物 C13 是一种天然有机酸,具有 AChE 抑制的高效性,与已有报道^[23-24]相对应.而化合物 C4 抑制 AChE 活性显著为首次发现,其具体作用机制还需进一步进行探讨.值得注意的是,作为 C13 的类似物,化合物 C14 和 C15 表现出较弱的抑制活性,这表明苯环上的游离羧基对于 AChE 的抑制活性至关重要,乙基和甲基的不同导致与酶结合的亲和力或方式不同.此外,预测物 C8 并没有表现出显著的抑制效果,与预测结果出现偏差,其原因可能是化合物 C8 不仅仅是通过抑制 AChE 来对抗 AD,更多是通过其他作用机制.

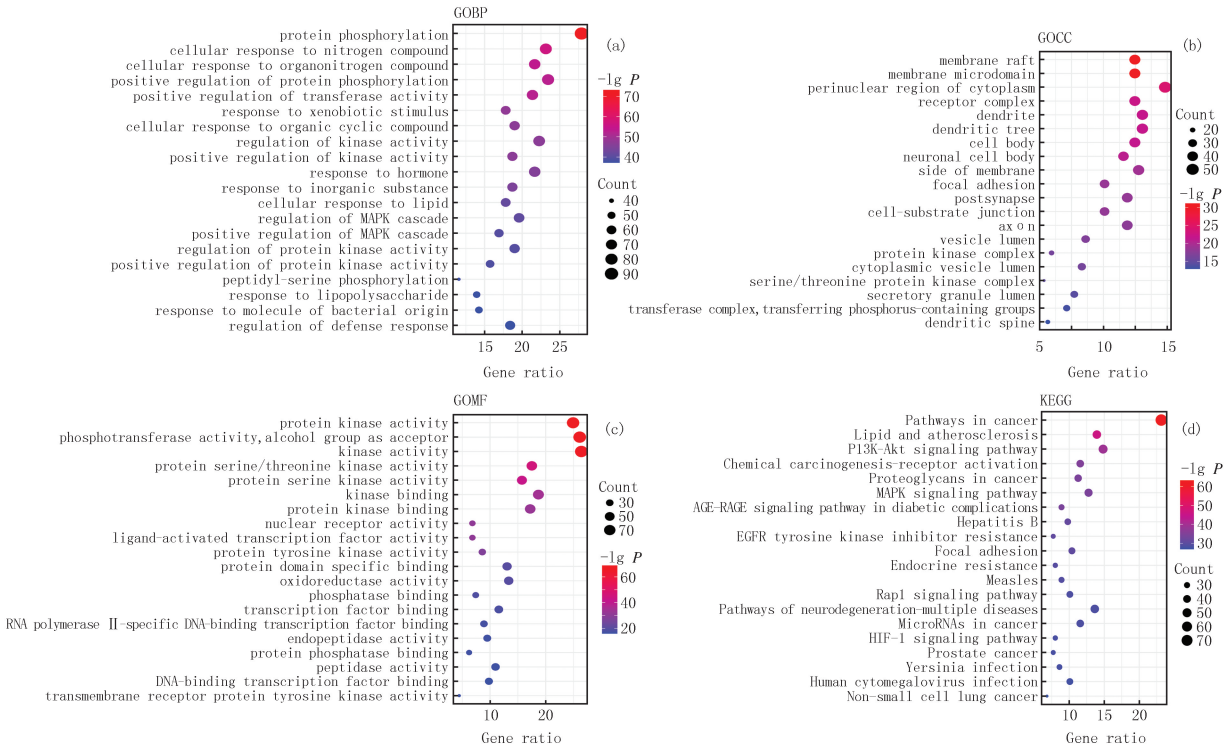


图5 紫荆荚果化学成分治疗AD靶点GO富集分析(a-c)和KEGG富集分析(d)

Fig.5 GO analysis(a-c) and KEGG enrichment analysis(d) of anti-AD target of chemical components from *Cercis Glabra* Legumes

根据剂量反应曲线进一步计算出化合物 C4 和 C13 的 IC_{50} 值,C4、C13 的 IC_{50} 值分别为 0.488 mg/mL、0.391 mg/mL,相比多奈哌齐的 IC_{50} 值(0.096 mg/mL)较高,表明这 2 个化合物能有效抑制 AChE,并具有对抗 AD 的潜在药物活性.

3 结论与讨论

紫荆荚果一直被作为园林废弃物,此前因缺乏相关研究和科学管理,导致该资源的利用率低下^[25].本研究从紫荆荚果中成功分离并鉴定了多种活性化合物,包括类黄酮类、蒽醌类,苯丙素类、甾体类等.这些化合物的发现不仅丰富了紫荆属植物的化学成分数据库,也为进一步的药理研究和应用提供了重要基础.利用网络药理学方法预测紫荆荚果提取物中具有抑制 AChE 的活性成分,其通过 ESR1、CDK2 和 KDR 等核心靶点来调控 PI3K-AKT、MAPK、AGE-RAGE 等信号通路,发挥抗 AD 作用.体外抗胆碱验证实验与预测结果吻合.这些结果表明,紫荆荚果提取物通过抗 AChE 提高 AD 患者脑内乙酰胆碱水平,进而有助于缓解认知

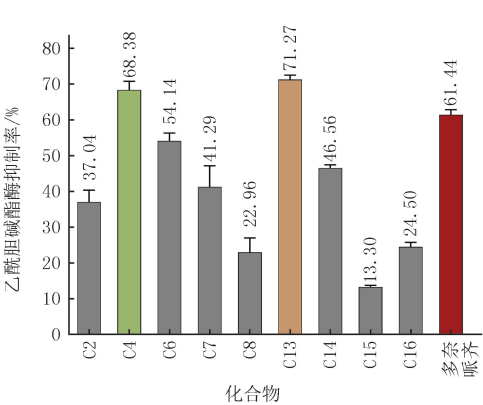


图6 化合物C2、C4、C6~C8和C13~C16与多奈哌齐在1 mg/mL下的乙酰胆碱酯酶抑制活性

Fig.6 AChE inhibitory activities of C2, C4, C6~C8, C13~C16 and donepezil at 1 mg/mL.

障碍。

尽管网络药理学预测与实验验证总体上表现出一致性,但两者之间也存在一些偏差。例如化合物 C8 在实验中的抑制效果不显著,这一现象可能源于多种因素,如数据库中信息不全导致的预测偏差或通过其他途径发挥作用^[26-27]。另一方面,诱发 AD 的病因复杂,除乙酰胆碱失调外,还涉及多个生物学过程和分子机制,如 β -淀粉样蛋白(amyloid β -protein, A β)代谢异常, Tau 蛋白的异常磷酸化与沉积,氧化应激与神经炎症,线粒体功能障碍等。尽管本研究通过网络药理学结合体外实验验证的方法探讨了紫荆荚果治疗 AD 的潜在机制,但仍存在一些局限性。首先,网络药理学的预测基于已知的靶点信息和通路数据,可能遗漏了一些尚未完全了解的机制。其次,体外实验虽然提供了初步的证据,但其结果在体内的表现还需进一步验证。此外,紫荆荚果中的其他化合物及其在复杂生理环境下的协同作用也需要通过更深入的研究加以探讨。因此,进一步的研究需要综合考虑这些因素,通过更多的实验验证和临床研究来揭示紫荆荚果的全面药理作用。

本研究通过网络药理学与实验验证相结合的方法,揭示了紫荆荚果提取物在治疗阿尔茨海默症中的潜在作用机制,为开发新型 AD 药物提供了科学依据。这不仅有助于提高紫荆属植物的资源利用率,也为中药现代化研究和开发提供了新的视角和方法。

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2024.09.23.0002)。

参 考 文 献

- [1] 李进宇,赵爽,王茂良,等.紫荆属(*Cercis* L.)种质资源情况及研究进展[J].西北林学院学报,2021,36(6):145-152.
LI J Y,ZHAO S,WANG M L,et al.Germplasm resources and research progress of *Cercis* L.[J].Journal of Northwest Forestry University,2021,36(6):145-152.
- [2] 张娟娟,张勇,康文艺.紫荆属植物化学成分及药理作用研究进展[J].中国药学杂志,2014,49(20):1782-1784.
ZHANG J J,ZHANG Y,KANG W Y.Advances in research of chemical constituents and pharmacological activities of *Cercis linn*[J].Chinese Pharmaceutical Journal,2014,49(20):1782-1784.
- [3] SHU P H,MENG Y,ZANG S,et al.Phytochemistry and pharmacology of genus *Cercis*: a review[J].Records of Natural Products,2024(4):380-392.
- [4] HONG Y,LIAO X Y,CHEN Z L.Determination of bioactive components in the fruits of *Cercis chinensis* Bunge by HPLC-MS/MS and quality evaluation by principal components and hierarchical cluster analyses[J].Journal of Pharmaceutical Analysis,2021,11(4):465-471.
- [5] RAKERS C,SCHWERTFEGGER S M,MORTIER J,et al.Inhibitory potency of flavonoid derivatives on influenza virus neuraminidase[J].Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,2014,24(17):4312-4317.
- [6] ZHANG J K,WU Y P,ZHAO X Y,et al.Chemopreventive effect of flavonoids from Ougan(*Citrus reticulata* cv. *Suavissima*) fruit against cancer cell proliferation and migration[J].Journal of Functional Foods,2014,10:511-519.
- [7] CHEN L,TENG H,JIA Z,et al.Intracellular signaling pathways of inflammation modulated by dietary flavonoids: the most recent evidence[J].Critical Reviews in Food Science and Nutrition,2018,58(17):2908-2924.
- [8] PATEL R V,MISTRY B M,SHINDE S K,et al.Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent[J].European Journal of Medicinal Chemistry,2018,155:889-904.
- [9] YEON J Y,BAE Y J,KIM E Y,et al.Association between flavonoid intake and diabetes risk among the Koreans[J].Clinica Chimica Acta,2015,439:225-230.
- [10] MAHER P.The potential of flavonoids for the treatment of neurodegenerative diseases[J].International Journal of Molecular Sciences,2019,20(12):3056.
- [11] NASB M,TAO W C,CHEN N.Alzheimer's disease puzzle: delving into pathogenesis hypotheses[J].Aging and Disease,2024,15(1):43-73.
- [12] MARTINS M M,BRANCO P S,FERREIRA L M.Enhancing the therapeutic effect in Alzheimer's disease drugs: the role of polypharmacology and cholinesterase inhibitors[J].ChemistrySelect,2023,8(10):e202300461.
- [13] GIRGIN M,ISIK S,KANTARCI-CARSIBASI N.Proposing novel natural compounds against Alzheimer's disease targeting acetylcholinesterase[J].PLoS One,2023,18(4):e0284994.
- [14] SHU P H,XU T,LOU Y Y,et al.A new monoterpene rhamnoside from *Cercis glabra* legumes[J].Records of Natural Products,2023(2):335-342.
- [15] WU N,YUAN T H,YIN Z X,et al.Network pharmacology and molecular docking study of the Chinese Miao medicine sidaxue in the treatment of rheumatoid arthritis[J].Drug Design,Development and Therapy,2022,16:435-466.
- [16] MA Y,DENG Y Y,LI N,et al.Network pharmacology analysis combined with experimental validation to explore the therapeutic mecha-

nism of Schisandra Chinensis Mixture on diabetic nephropathy[J].Journal of Ethnopharmacology,2023,302:115768.

[17] ZHAO L,ZHANG H,LI N,et al.Network pharmacology,a promising approach to reveal the pharmacology mechanism of Chinese medicine formula[J].Journal of Ethnopharmacology,2023,309:116306.

[18] 李婷婷,管亚,弘子姗,等.基于网络药理学及分子对接技术探讨辣木叶抗肥胖的作用机制[J].食品工业科技,2023,44(15):34-45.

LI T T,GUAN Y,HONG Z S,et al.Study on the anti-obesity mechanism of action of Moringa oleifera Lam.Leaves by network-based pharmacology and molecular docking techniques[J].Science and Technology of Food Industry,2023,44(15):34-45.

[19] ZHANG Y J,WU Y S,FU Y B,et al.Anti-alzheimer's disease molecular mechanism of acori tatarinowii rhizoma based on network pharmacology[J].Medical Science Monitor Basic Research,2020,26:e924203.

[20] KIM D,PARK J,KIM J,et al.Flavonoids as mushroom tyrosinase inhibitors;a fluorescence quenching study[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2006,54(3):935-941.

[21] CHEN G Y,LUO J,LIU Y,et al.Network pharmacology analysis and experimental validation to investigate the mechanism of total flavonoids of rhizoma drynariae in treating rheumatoid arthritis[J].Drug Design,Development and Therapy,2022,16:1743-1766.

[22] RAMAKRISHNAN P,PERUMAL P,RAMADOSS D,et al.Amelioration of cognitive deficits,oxidative damage,neurochemical alteration by bauhinia purpurea(stem bark) on scopolamine induced amnesia[J].Journal of Young Pharmacists,2020,12(3):231-236.

[23] TAQUI R,DEBNATH M,AHMED S,et al.Advances on plant extracts and phytochemicals with acetylcholinesterase inhibition activity for possible treatment of Alzheimer's disease[J].Phytomedicine Plus,2022,2(1):100184.

[24] MIŠKOVIĆ J,RAŠETA M,ČAPELJA E,et al.Mushroom species Stereum hirsutum as natural source of phenolics and fatty acids as antioxidants and acetylcholinesterase inhibitors[J].Chemistry & Biodiversity,2021,18(11):e2100409.

[25] OGUNNIYI Q A,OGBOLE O O,AKIN-AJANI O D,et al.Medicinal importance and phytoconstituents of underutilized legumes from the caesalpinioideae DC subfamily[J].Applied Sciences,2023,13(15):8972.

[26] ASKR H,ELGELDAWI E,ABOUL ELLA H,et al.Deep learning in drug discovery:an integrative review and future challenges[J].Artificial Intelligence Review,2023,56(7):5975-6037.

[27] GAYATHIRI E,PRAKASH P,KUMARAVEL P,et al.Computational approaches for modeling and structural design of biological systems;a comprehensive review[J].Progress in Biophysics and Molecular Biology,2023,185:17-32.

The mechanism of extracts of *Cercis Glabra* Legumes for treating Alzheimer's disease based on network pharmacology

Cao Huaqiang^{1a,b}, Xu Ting^{1a,2}, Wen Simiao^{1a,b}, Shu Penghua², Zhang Pengpai^{1a,b}

(1. a. School of Life Sciences; b. Engineering Research Center for Applied Microbiology of Henan Province, Henan University, Kaifeng 475004, China; 2. Food and Pharmacy College, Xuchang University, Xuchang 461000, China)

Abstract: The *Cercis Glabra* Legumes(Chinese redbud) contains active ingredients that effectively inhibit acetylcholinesterase(AChE), which has a potential therapeutic role in Alzheimer's disease(AD). The mechanism of *Cercis Glabra* Legumes in the treatment of AD was investigated using a network pharmacology approach, and the inhibitory effect of the selected compounds was evaluated. The results showed that compounds C4 and C13 exhibited significant activities, suggesting that the signaling pathways such as PI3K-AKT, MAPK and AGE-RAGE could be regulated through core targets such as ESR1, CDK2 and KDR to exert anti-AD roles. In vitro AChE inhibition assays revealed that compounds C4($IC_{50}=0.488$ mg/mL) and C13($IC_{50}=0.391$ mg/mL) significantly inhibited acetylcholinesterase, with inhibition rates exceeding 68%(compared with a positive control inhibition rate of 61.44%). Furthermore, the IC_{50} value was close to that of the positive control substance(Donepezil $IC_{50}=0.096$ mg/mL). These findings demonstrate the potential application of extracts of *Cercis Glabra* Legumes in the treatment of AD and the effectiveness of network pharmacology in predicting the anti-AD mechanisms as well.

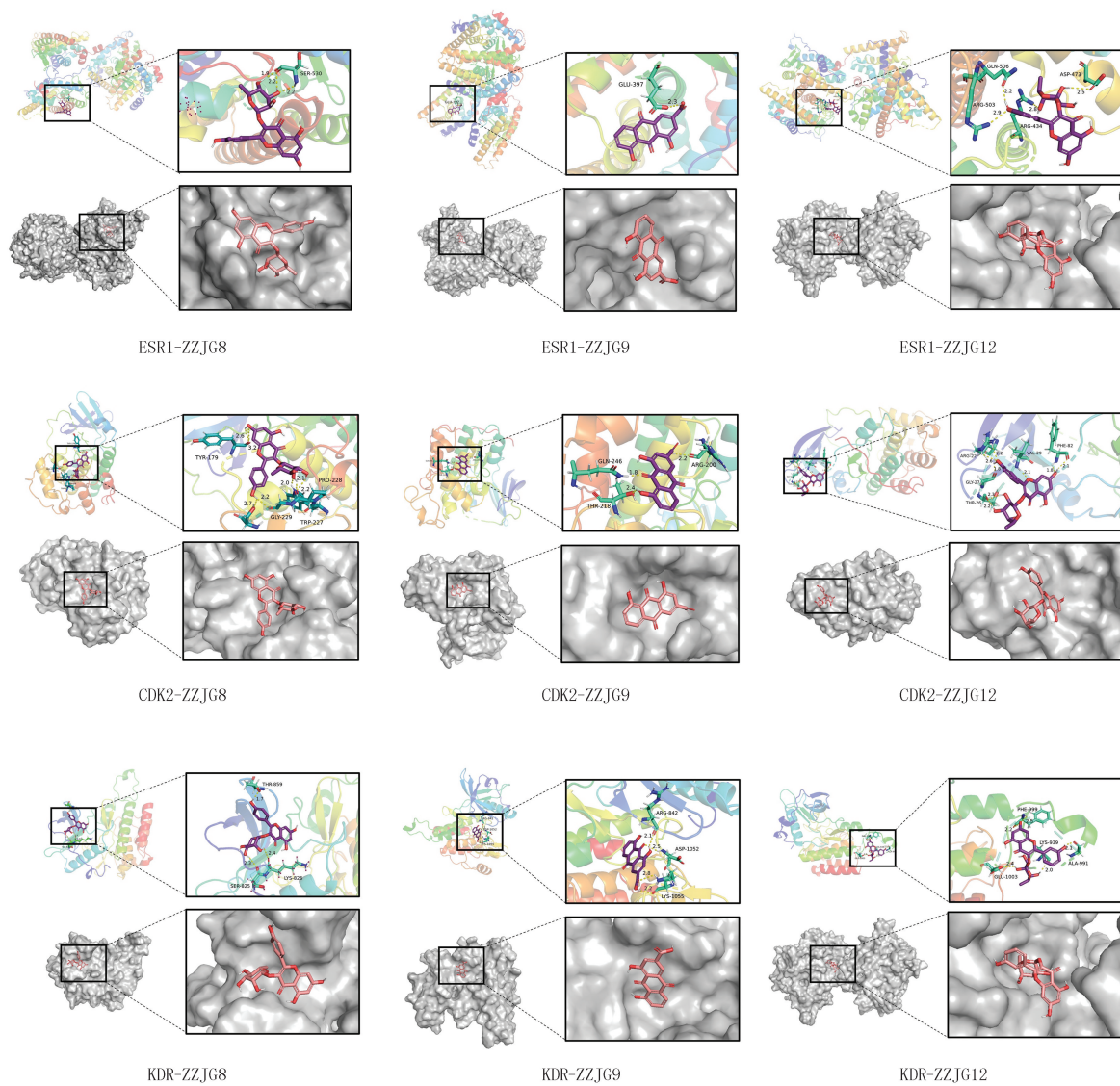
Keywords: *Cercis Glabra* Legumes; network pharmacology; acetylcholinesterase; Alzheimer's disease; action mechanism

[责任编辑 赵晓华 刘洋]

附 录

表 S1 核心靶点度值表
Tab. S1 Core target point degree table

Degree	核心靶点	Degree	核心靶点	Degree	核心靶点	Degree	核心靶点
68	SRC	24	AR	17	CASP8	12	PRKCE
59	MAPK3	24	IL2	17	PRKCD	12	DNM1
59	MAPK1	24	HIF1A	17	IGF1R	12	TBXA2R
58	HSP90AA1	23	TNF	16	ABL1	12	PLG
52	STAT3	23	CASP3	16	F2	11	TERT
49	PIK3R1	23	PRKCZ	16	HSPA8	11	CCND3
47	PIK3CA	23	ITGAV	16	MAPT	11	GAPDH
47	AKT1	22	PRKCB	15	CDK4	11	BCL2L1
40	FYN	22	NR3C1	15	SIRT1	11	RARB
38	LCK	22	PRKACA	15	MAP2K3	11	IKBKB
37	PTPN11	21	CCND1	15	PPARA	11	PIN1
36	EGFR	21	GSK3B	14	HSPA5	11	RAP1A
34	ESR1	21	RXRB	14	NOS2	11	PRKCQ
33	HDAC1	21	SYK	14	BCL2	11	NR1H3
33	JUN	20	MDM2	14	SNCA	11	TLR4
33	RXRA	20	RAF1	14	CAMK2B	11	MMP1
31	MAPK14	20	MAPK11	14	IL1B	11	MNP2
30	VEGFA	19	CDK2	14	CDC25A	10	S1PR1
29	MAPK8	18	APP	13	CDK6	10	CDC25B
29	JAK1	18	ERBB2	13	ITGA2B	10	BRAF
29	ITGB1	18	HSP90AB1	13	RARG	10	GRIA2
29	PTK2B	18	RXRG	13	HDAC3	10	FGF2
27	CDK1	18	PPP2CA	13	MET	10	TEK
25	JAK3	18	KDR	13	PTPN6	10	PRKCG
25	PTK2	17	PDGFRB	13	TYK2	10	PPARG
24	PRKCA	17	PTPN1	12	CHEK1		



图S1 核心基因蛋白与活性成分的分子对接模拟图

Fig.S1 Molecular docking simulation of core gene protein and active ingredient