

基于网络药理学筛选治疗阿尔茨海默病的 抗氧化靶点

Screening of antioxidant targets for the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology

王佳佳^{1,2}, 李龙图², 张雨萌^{1,2},
刘志艳², 向倩^{1,2}

(1. 徐州医科大学 药学院, 江苏 徐州 221004;
2. 北京大学 第一医院 临床药理研究所, 北京
100034)

WANG Jia - jia^{1,2}, LI Long - tu²,
ZHANG Yu - meng^{1,2},
LIU Zhi - yan², XIANG Qian^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Xuzhou Medical
University, Xuzhou 221004, Jiangsu
Province, China; 2. Institute of Clinical
Pharmacology, Peking University First
Hospital, Beijing 100034, China)

基金项目:中央高水平医院临床科研业务费基
金资助项目(北京大学第一医院跨学
科交叉研究专项, 2024IR28; 北京大
学第一医院科研“希望之星”专项,
2023XW06), 国家自然科学基金资助
项目(82404749)

作者简介:王佳佳(1999 -), 女, 硕士研究生, 主
要从事临床药学方面的研究

通信作者:向倩, 主任药师, 教授, 博士生导师
MP: 18610260623

E - mail: xiangqz@126.com

刘志艳, 副主任药师, 副教授, 硕士生
导师

MP: 18811792856

E - mail: liuzhiyan09@163.com

摘要:目的 基于网络药理学策略, 系统筛选潜在可用于治疗阿尔茨海默病(AD)的抗氧化靶点。方法 首先利用化学信息学工具包(RDKit)将抗氧化化合物库的结构数据文件(SDF)转化为标准的 SMILES 分子结构格式, 随后通过 SwissTargetPrediction 平台预测抗氧化化合物的潜在作用靶点。将所获得的靶点与 AD 差异表达基因进行交集分析后, 构建蛋白质互作网络(PPI network), 并基于 STRING 数据库进行功能互作关系挖掘。进一步借助 Cytoscape 软件建立“化合物 - 疾病靶点 - 信号通路”网络图, 筛选关键治疗靶点。最后, 使用 DAVID 数据库对核心靶点进行基因本体(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能富集分析。结果 最终筛选得到 10 个具有潜在抗阿尔茨海默病作用的核心靶点。其中, Degree 值排名前三的关键节点分别为: 热休克蛋白 90 α 家族 B 类成员 1(HSP90AB1)、连环蛋白 β 1(CTNNB1)及原癌基因酪氨酸蛋白激酶(SRC)。富集分析提示, 这些核心靶点可能主要通过钙信号通路(Calcium signaling pathway)和磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(PI3K - Akt)信号通路等参与阿尔茨海默病的发病与干预过程, 具有重要的治疗潜力。结论 本研究从网络药理学角度系统识别了潜在的治疗阿尔茨海默病的核心抗氧化靶点与关键通路, 为后续进一步研究抗氧化药物提供理论支持。

关键词:阿尔茨海默病; 抗氧化药物; 网络药理学

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.20.014

中图分类号:R971 **文献标志码:**B

文章编号:1001-6821(2025)20-2929-05

Abstract: Objective To systematically screen potential antioxidant targets for the treatment of Alzheimer's disease (AD) based on network pharmacology strategy. **Methods** Firstly, the structure - data file (SDF) of the antioxidant compound library was converted into the standard simplified molecular input line entry system (SMILES) molecular structure format using RDKit, and then the potential targets of antioxidant compounds were predicted using the SwissTargetPrediction platform. After the obtained targets were analyzed with the differentially expressed genes of AD, a protein interaction network (PPI network) was constructed, and the functional interaction relationship was mined based on the STRING database. Further, the "compound - disease target - signaling pathway" network diagram was established with the help of Cytoscape software to screen key therapeutic targets. Finally, the core targets were annotated with Gene Ontology (GO) function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG)

pathway enrichment analysis using the DAVID database. **Results** Finally, 10 core targets with potential anti-Alzheimer's disease effects were screened. Among them, the top three key nodes in degree value were heat shock protein 90 α family class B member 1 (HSP90AB1), catenin β 1 (CTNNB1) and proto-oncogene tyrosine protein kinase (SRC). Enrichment analysis suggested that these core targets may be mainly involved in the pathogenesis and intervention of Alzheimer's disease through calcium signaling pathway and phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B (PI3K-Akt) signaling pathway, and had important therapeutic potential. **Conclusion** This study systematically identified the core antioxidant targets and key pathways for the treatment of Alzheimer's disease from the perspective of network pharmacology, providing theoretical support for further research on antioxidant drugs.

Key words: Alzheimer's disease; antioxidant drugs; network pharmacology

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿、进展缓慢的中枢神经系统退行性疾病,临床表现为进行性记忆障碍、语言功能减退、认知功能下降及行为异常等^[1]。根据世界卫生组织与阿尔茨海默病国际组织发布的《2023 全球阿尔茨海默病报告》,全球已有超过 5 500 万人患有痴呆,其中 60%~70% 的病例为 AD,且这一数字预计将在 2050 年达到近 1.4 亿^[2]。随着人口老龄化加速,AD 已成为严重威胁全球公共健康的重大社会和经济负担。

尽管阿尔茨海默病的病因尚未完全阐明,但已有大量证据表明,氧化应激在其发生发展过程中发挥着核心作用。研究显示,AD 患者脑组织内存在明显的氧化-抗氧化系统失衡,线粒体功能障碍和过渡金属离子蓄积可导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)异常升高^[3-4],从而诱导淀粉样 β 肽(A β)沉积和 Tau 蛋白高磷酸化,引发神经元凋亡和突触功能障碍。该氧化应激-神经毒性正反馈环路被认为是 AD 发病早期的重要驱动机制之一。因此,抗氧化策略被视为潜在的干预路径之一,为 AD 的早期预防和治疗提供了理论支持^[5]。

然而,已有多项临床研究表明,传统抗氧化剂在阿尔茨海默病的干预中疗效并不理想。多数化合物面临靶点单一、生物利用度低、无法有效跨越血脑屏障等问题,且多项随机对照试验未能观察到显著的认知改善效果^[6]。这些研究结果表明,AD 的发病机制具有高度的复杂性,单一靶点干预策略难以全面缓解疾病进程。因此,迫切需要从更系统的角度出发,发掘具有多靶点、多机制协同作用的候选抗氧化药物^[7]。

近年来,网络药理学(network pharmacology)作为一种融合系统生物学、计算药理学和生物信息学的新兴方法^[8],为多因素复杂疾病的药物筛选与机制研究提供了有效工具。通过整合药物-靶点-疾病-通路的多维数据,网络药理学能够系统揭示

候选药物的潜在作用靶点及其调控的生物通路,从而克服传统“单靶点-单药物”模式的局限性,符合“多成分-多靶点-多通路”的整体治疗理念^[9],特别适用于如 AD 这类多机制驱动的慢性神经退行性疾病。

本研究以网络药理学策略为核心,结合阿尔茨海默病差异表达基因与一类具有明确抗氧化活性的天然小分子化合物^[10],通过靶点预测、交集基因筛选、蛋白互作网络构建与通路富集分析,系统筛选出可能具有 AD 干预潜力的抗氧化剂,并解析其可能作用机制。该研究为 AD 的多靶点药物筛选提供理论依据,并为后续实验验证和新药开发提供基础候选分子和靶点信息^[11]。

材料与方法

1 抗氧化化合物的获取和相关靶点的预测

获取 MCE 公司提供的抗氧化化合物库(<https://www.medchemexpress.cn/screening/antioxidants-compound-library.html>),为获得化合物结构的标准表达形式,首先使用开源化学信息工具包(rational discovery kit, RDKit)对抗氧化剂化合物库的结构数据文件(structure-data file, SDF)文件进行解析与预处理,提取分子结构信息并统一转换为简化分子线性输入规范(simplified molecular input line entry system, SMILES)格式。所有结构转换与格式标准化过程均在 Python 环境中完成,并进一步用于后续靶点预测分析。在 SwissTargetPrediction 平台中进行药物的靶点预测,最终在 Uniprot 数据库(<http://www.uniprot.org/>)中进行进一步校正和转化,将所有抗氧化药物的相关基因标准化为一致的符号以供后续分析。

2 阿尔茨海默病相关靶点的收集

在 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 和 CTD 数据库(Comparative Toxicogenomics Database)

(<http://ctdbase.org/>)中以关键词为“Alzheimer disease”进行搜索,得到AD的相关靶点。随后,将抗氧化化合物和AD相关的疾病靶点输入到Venny2.1.0中,制作出韦恩图。

3 蛋白互作网络 (protein – protein interaction networks, PPI network) 的构建

将药物和疾病的交集基因上传至 STRING 数据库 (<https://version-10-5.string-db.org/>)中,构建PPI网络,并利用Cytoscape插件对PPI网络进一步分析。

4 疾病 – 药物交集靶点的构建

将抗氧化化合物和疾病的交集靶点数据整理导入Cytoscape(3.10.3)中,对药物 – 疾病交集靶点数据进行网络可视化分析,构建“化合物 – 靶点”相互作用网络图。在网络构建过程中,每个节点代表一种化合物或一个交集靶点,边表示它们之间的预测作用关系。通过Cytoscape内置的NetworkAnalyzer工具计算节点的Degree值,Degree值越高代表该节点在网络中的连接性和潜在调控能力越强。基于节点的Degree值对所有靶点进行排序,筛选出排名前10的高连接度基因,作为潜在的关键调控靶点基因(hub genes)。

5 基因本体论 (gene ontology, GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 途径富集分析

为进一步探究核心靶点基因(hub genes)可能参与的生物学功能及其调控通路,将筛选得到的核心基因列表导入DAVID数据库(Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery)进行基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因和基因组百科全书

(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)功能富集分析。GO分析包括生物过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)三个维度,KEGG通路分析用于识别核心基因参与的信号通路及其潜在的疾病调控机制。

6 分子对接

使用AutoDockTools 1.5.7软件进行分子对接,将得到的排名前5的关键药物与核心靶点分别依次进行分子对接,在PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)中下载核心成分的结构,

结 果

1 抗氧化剂的选择和相关靶点的筛选

总共选择了13个抗氧化相关化合物,在SwissTargetPrediction数据库进行靶点预测后,选择probability>0的靶点,合并所有化合物的预测靶点及去重后,筛选出抗氧化剂相关靶点508个,见表1。

2 阿尔茨海默病相关靶点的筛选

在GeneCards数据库中筛选条件为relevance score≥10,得到3645个靶点。在CTD数据中得到14810个靶点。在Venny中制作韦恩图,获得交集靶点303个,作为抗氧化剂治疗阿尔茨海默病的潜在相关靶点进行进一步研究。

3 蛋白互作网络的构建和核心靶点的筛选

将303个交集靶点导入String数据库中,隐藏游离的蛋白质节点,制作PPI网络图,该网络图包括301个节点,3842条边,平均节点度25.5,保存tsv格式文

表1 13个抗氧化相关化合物简化分子线性输入规范(SMILES)表达式

Table 1 Simplified molecular input line entry system (SMILES) format of 13 antioxidant compounds

Catalog_NO	CAS	Name	SMILES
Antihistamine - 1	1186430 - 60 - 3	HY - 100238	Cc1cnn(C2CCN(c3nc4ccccc4n3Cc3ccc(F)cc3)CC2)c1
D - α - Hydroxyglutaric acid (disodium)	103404 - 90 - 6	HY - 100542	O=C(CC[C@@H](O)C(=O)O[Na])O[Na]
SirReal2	709002 - 46 - 0	HY - 100591	Cc1cc(C)nc(SCC(=O)Nc2ncc(Cc3cccc4ccccc34)s2)n1
4 - P - PDOT	134865 - 74 - 0	HY - 100609	CCC(=O)NC1Cc2ccccc2C(c2ccccc2)C1
Hypotaurine	300 - 84 - 5	HY - 100803	NCCS(=O)O
CHPG (sodium salt)	1303993 - 73 - 8	HY - 101364A	NC(C(=O)O[Na])c1cc(O)ccc1Cl
(S) - Trolox	53174 - 06 - 4	HY - 101445B	Cc1c(C)c2c(c(C)c1O)CC[C@@](C)(C(=O)O)O2
AK - 1	330461 - 64 - 8	HY - 101465	O=C(Nc1cccc([N+](=O)[O-])c1)c1cccc(S(=O)(=O)N2CCCCC2)c1
GKT136901	955272 - 06 - 7	HY - 101499	Cc1c2c(=O)n(-c3ccccc3Cl)[nH]c2cc(=O)n1Cc1ccccc1
RSVA405	140405 - 36 - 3	HY - 103238	CCN(CC)c1ccc(/C=N/NC(=O)c2ccncc2)c(O)c1
Proglumide (sodium)	99247 - 33 - 3	HY - 103354	CCCN(CCC)C(=O)C(CCC(=O)O[Na])NC(=O)c1ccccc1
Stiripentol	49763 - 96 - 4	HY - 103392	CC(C)(C)C(O)/C=C/c1ccc2c(c1)OCO2
Valerenic acid	609870	HY - 103524	CC1=C2[C@H](/C=C(\C)C(=O)O)CC[C@@H](C)[C@H]2CC1

件,并导入至 Cytoscape (3.10.3) 中,用 Cytohubba 插件进行进一步的核心靶点筛选,选择 Degree 排名前 10 的靶点作为核心靶点,其中排名前 10 的分别是热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (heat shock protein 90 alpha family class A member 1, HSP90AA1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (mitogen-activated protein kinase 1, MAPK1)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、热休克蛋白 90 α 家族 B 类成员 1 (heat shock protein 90 alpha family class B member 1, HSP90AB1)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha, PIK3CA)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、SRC 原癌基因,非受体酪氨酸蛋白激酶 (SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase, SRC)、丝裂原活化蛋白激酶 3 (mitogen-activated protein kinase 3, MAPK3)。其中,缬草酸 (valerenic acid, VA)、丙谷胺钠 (proglumide sodium)、NADPH 氧化酶 NOX-1/4 抑制剂 GKT136901 (2-(2-Chlorophenyl)-4-[3-(dimethylamino)phenyl]-5-methyl-1H-pyrazolo[4,3-c]pyridine-3,6(2H,5H)-dione) 分别作用于多个核心靶点,节点 Degree 值最高,可能为最具潜力的抗阿尔茨海默病候选抗氧化剂药物。

4 GO 和 KEGG 富集分析结果

利用 David 数据库对靶点进行 GO 功能富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,得到生物过程 (biological process, BP) 条目 782 条,细胞组成 (cellular component, CC) 条目 117 条,分子功能 (molecular function, MF) 条目 273 条。根据 PValue 排名前 20 名的通路和富集的基因绘制富集气泡图,其中神经活性配体与受体的相互作用 (neuroactive ligand-receptor interaction)、钙信号途径 (calcium signaling pathway)、PI3K-Akt 信号通路 (phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B signaling pathway)、表皮生长因子受体酪氨酸激酶 (EGFR tyrosine kinase) 可能成为治疗 AD 的抗氧化药物的重要通路。

5 分子对接结果

将得到的核心药物 VA 与核心靶点 SRC、HSP90AA1、人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER2)、ESR1、HSP90AB1 进行分子对接,对接结果见表 2。分子对接的结合能越低,表明配体与受体的结合越稳定。结果显示,ERBB2 与 VA 的结合能最低为 $-5.8 \text{ kCal} \cdot \text{mol}^{-1}$,可能表明 VA 在治疗 AD 方面具有重大潜力。

表 2 关键药物与核心靶点分子对接结果

Table 2 Molecular docking results of key drugs and core targets

	Target	Binding energy ($\text{kCal} \cdot \text{mol}^{-1}$)
Valerenic acid	SRC	-6.5
Valerenic acid	HSP90AA1	-6.6
Valerenic acid	HER2	-5.8
Valerenic acid	ESR1	-8.3
Valerenic acid	HSP90AB1	-6.2

SRC: SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase; HSP90AA1: Heat shock protein 90 alpha family class A member 1; HER2: Human epidermal growth factor receptor 2; ESR1: Estrogen receptor 1; HSP90AB1: Heat shock protein 90 alpha family class B member 1.

讨 论

AD 是一种以进行性认知功能障碍和记忆力减退为主要特征的神经退行性疾病,常见于老年人群,是目前最主要的痴呆类型^[12]。其病理特征包括 β -淀粉样肽 ($A\beta$) 在脑内沉积形成斑块、Tau 蛋白异常磷酸化形成神经纤维缠结,以及伴随的慢性炎症反应和氧化应激^[13]。随着全球人口老龄化加速,AD 的发病率持续上升,已成为严重威胁公共健康的慢性疾病之一。尽管目前已有多种药物用于缓解症状,但其疗效有限,尚无根治性治疗手段。因此,亟需探索新的作用机制和干预靶点。

本研究基于网络药理学方法,系统筛选出一批具有潜在抗 AD 活性的抗氧化靶点与候选化合物。通过 PPI 网络构建及 CytoHubba 分析,识别出如 HSP90AA1、MAPK1、ESR1 等 Degree 值较高的核心靶点,广泛参与神经保护、细胞凋亡与炎症调控等生物过程。分子对接结果验证了关键药物与核心靶点之间有较好的结合活性,分子对接的结合能越低,表明配体与受体的结合越稳定,结果显示 VA 与 ERBB2 的结合能力最强。本研究通过网络药理学分析发现,VA 等化合物可作用于多个关键靶点,可能通过 PI3K-Akt 和钙信号通路等机制发挥神经保护作用^[14],进一步揭示了钙信号通路的潜在参与,提示该化合物通过多通路协同发挥神经保护作用,与近年 AD 的多靶点治疗策略相呼应。

KEGG 富集分析结果显示,候选靶点主要集中于 PI3K-Akt、Calcium signaling、MAPK 及核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB) 信号通路,这些通路与神经炎症、氧化应激反应及神经元凋亡密切相关。

关。抗氧化化合物可能通过激活 PI3K - Akt 信号通路促进神经元存活,同时抑制 NF - κ B 通路以减少炎症因子释放,从而实现 AD 的保护作用。这一结果与既往研究报道的抗氧化剂通过改善神经炎症反应和线粒体功能延缓 AD 进程的发现相一致,进一步支持了抗氧化策略在 AD 多靶点干预中的潜在价值。不同于以往针对单一靶点的研究,本研究从系统生物学和网络药理学视角出发,揭示抗氧化剂可能通过多靶点协同调控炎症反应与细胞存活信号通路,从而发挥神经保护作用。这一发现为理解抗氧化干预 AD 的综合机制提供了新的理论支持,也为传统单靶点治疗策略提供了有益补充。上述结果为抗氧化剂干预 AD 的作用机制研究提供了理论支持,也为后续新药开发提供了候选分子基础。

然而,本研究仍存在一定局限性。首先,部分候选化合物来源于天然产物,其药效往往依赖多成分协同机制,当前靶点预测工具难以全面揭示其系统作用网络。其次,本研究为纯生物信息学分析,缺乏体内实验验证,预测结果仍需通过细胞或动物模型进一步确认其生物学效应和干预潜力^[15]。未来研究应结合组学技术与实验手段,深入解析候选化合物的作用机制,提升研究的可靠性与应用价值。

参考文献:

- [1] SCHELTENS P, DE STROOPER B, KIVIPELTO M, *et al.* Alzheimer's disease [J]. *Lancet*, 2021, 397 (10284): 1577—1590.
- [2] LONG S, BENOIST C, WEIDNER W. World Alzheimer Report 2023: Reducing dementia risk: Never too early, never too late [EB/OL]. 2023 - 09 - 21 [2024 - 11 - 04]. <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2023>
- [3] MANGIALASCHE F, SOLOMON A, WINBLAD B, *et al.* Alzheimer's disease: Clinical trials and drug development [J]. *Lancet Neurol*, 2010, 9 (7): 702—716.
- [4] BUTTERFIELD D A, HALLIWELL B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20 (3): 148—160.
- [5] CHEN Z, ZHONG C. Oxidative stress in Alzheimer's disease [J]. *Neurosci Bull*, 2014, 30 (2): 271—281.
- [6] 谢鑫玉, 孟毅, 乔明亮, 等. 基于信号通路探讨中医药干预阿尔茨海默病的研究进展 [J]. *中国医药*, 2024, 19 (1): 128—132.
- [7] FILOMENI G, DE ZIO D, CECCONI F. Oxidative stress and autophagy: The clash between damage and metabolic needs [J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22 (3): 377—388.
- [8] NOGALES C, MAMDOUH ZM, LIST M, *et al.* Network pharmacology: Curing causal mechanisms instead of treating symptoms [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43 (2): 136—150.
- [9] 彭琳, 廖彬, 龙慧玲. 基于网络药理学和分子对接探讨苦杏仁苷治疗胃癌的作用机制及实验验证 [J]. *中南药学*, 2024, 22 (12): 3200—3205.
- [10] ZHANG H, ZHANG Y, LI Y, *et al.* Bioinformatics and network pharmacology identify the therapeutic role and potential mechanism of melatonin in AD and rosacea [J]. *Front Immunol*, 2021, 23 (12): 756550.
- [11] NOOR F, ASIF M, ASHFAQ UA, *et al.* Machine learning for synergistic network pharmacology: A comprehensive overview [J]. *Brief Bioinform*, 2023, 24 (3): bbad120.
- [12] RAAFAT K. Identification of phytochemicals from North African plants for treating Alzheimer's diseases and of their molecular targets by in silico network pharmacology approach [J]. *J Tradit Complement Med*, 2020, 11 (3): 268—278.
- [13] DHAPOLA R, SARMA P, MEDHI B, *et al.* Recent advances in molecular pathways and therapeutic implications targeting mitochondrial dysfunction for alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (1): 535—555.
- [14] LI W C, YAO S P, ZHANG J, *et al.* Low-dose lipopolysaccharide protects nerve cells against spinal cord injury via regulating the PI3K - AKT - Nrf2 signaling pathway [J]. *Biochem Cell Biol*, 2021, 99 (5): 527—535.
- [15] JAFARI M, GUAN Y, WEDGE D C, *et al.* Re-evaluating experimental validation in the big data Era: A conceptual argument [J]. *Genome Biol*, 2021, 22 (1): 71.

(收稿日期 2025 - 09 - 15)