

网络出版时间: 2025-06-30 14:28:18 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20250630.0857.011>

基于网络药理学和体内实验验证肉苁蓉 抗阿尔茨海默病作用及机制

赵杰¹ 霍东升² 祝洪博¹ 张士滨¹ 贾建新²(内蒙古科技大学包头医学院¹ 基础医学与法医学院、² 人体解剖学教研室, 包头 014040)

摘要 目的 通过网络药理学、分子对接和动物实验验证的方法,探讨中药肉苁蓉治疗阿尔茨海默病(AD)的作用机制。方法 依据中药系统药理数据库与分析平台挖掘肉苁蓉有效成分,并通过 SwissTargetPrediction、DisGeNET 和 GeneCards 数据库筛选出肉苁蓉和 AD 相关靶标,并对两者交集靶点进行蛋白相互作用网络(PPI)分析。通过 Metascape 数据库进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;利用 AutoDock Vina 对肉苁蓉有效成分与核心靶点进行分子对接;在网络药理学预测基础上,采用 8 月龄 SAMP8 系小鼠建立 AD 模型,通过 Morris 水迷宫测试小鼠学习认知功能,尼氏染色观测小鼠海马神经元形态,ELISA、Western blot 实验检测小鼠海马组织中 cAMP 信号通路相关蛋白表达水平。结果 基于网络药理学分析预测,肉苁蓉可能通过 8 种活性成分作用于 74 个 AD 靶点。分子对接结果显示毛蕊花糖苷等活性成分与 ESR1、BDNF、MAPK1、APP 等核心靶点具有较高亲和力。KEGG 结果分析主要涉及癌症的通路、cAMP 信号通路、AD 通路等。动物实验结果表明,肉苁蓉能有效改善 AD 小鼠的学习认知功能障碍,改善小鼠海马神经元损伤。ELISA、Western blot 实验结果表明,肉苁蓉能显著提高 cAMP 通路 cAMP、PKA、P-CREB 蛋白表达水平,并促进下游神经营养因子 BDNF 蛋白的表达。结论 肉苁蓉可以改善 AD 模型小鼠学习认知障碍,并且可能通过上调 cAMP 信号通路及下游 BDNF 蛋白靶点的表达,改善海马神经元损伤而发挥治疗 AD 的作用。

关键词 肉苁蓉; 阿尔茨海默病; 网络药理学; 分子对接; cAMP 信号通路; BDNF

中图分类号 R 741.05

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)07-1266-09

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.07.015

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是中枢神经系统退行性疾病之一,其主要病理特征为 β -淀粉样蛋白沉积与 tau 样蛋白过度磷酸化导致的神原纤维缠结,从而引发记忆和认知功能的进行性恶化等临床症状^[1]。目前研究^[2-3]发现,AD 发病机制涉及多种因素,如神经元变性和突触可塑性、异常蛋白质沉积、氧化应激等。鉴于 AD 的复杂病因以及多靶点特点,目前临床用药并不理想。因此,探索更加有效、安全的药物治疗方法与相关机制是当前的热点问题。

肉苁蓉为肉苁蓉属植物的干燥肉质茎,被誉为“沙漠人参”。研究^[4]发现肉苁蓉具有抗炎、抗氧化、神经保护、提高记忆能力等药理作用,且副作用

小。肉苁蓉可通过神经保护作用对 AD 发挥一定的治疗效果^[5],但具体作用机制尚不明确。网络药理学是一种基于生物信息等学科,系统研究药物靶点和分子作用机制的方法^[6],广泛应用于中草药的研究。因此,该研究首先通过网络药理学与分子对接对肉苁蓉抗 AD 的作用机制进行预测,并采用快速老化小鼠(senescence-accelerated mouse prone 8, SAMP8)进行动物实验验证,探讨肉苁蓉治疗 AD 的作用机制,以期对临床用药提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 网络药理学

1.1.1 肉苁蓉活性成分与疾病靶点预测 本研究通过中药系统药理数据库与分析平台(<https://old.tcm-sp-e.com/>),以药物口服吸收利用度(oral bio-availability, OB) $\geq 30\%$ 、药物类药性(durglikeness, DL) ≥ 0.18 为条件,筛查肉苁蓉潜在有效活性成分。并通过 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 SwissTargetPrediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>)进行靶点预测。通过 DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)和 Gene-

2025-03-26 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81860215);内蒙古自治区高等教育青年科技人才支持计划(编号:NJYT-20-A08)

作者简介:赵杰,男,硕士研究生;

霍东升,男,教授,硕士生导师,通信作者,E-mail: 3338406176@qq.com;

贾建新,男,教授,硕士生导师,通信作者,E-mail: jiajianx-indx@163.com

Cards(<https://www.genecards.org/>) 数据库,以不同分值对 AD 靶点进行筛选。利用 Venny 2.1.0 将肉苁蓉与 AD 靶点取交集获得共同靶点。

1.1.2 药物成分-靶点-疾病构建及可视化 将交集靶点构建成“network.xlsx”与“type.xlsx”文件,导入 Cytoscape v3.9.1 软件构建“药物活性成分-作用靶点-疾病”网络,并进行网络拓扑学分析。

1.1.3 靶蛋白相互作用网络构建(protein-protein interaction, PPI) 将交集靶点导入 String 数据库(<https://string-db.org/>) 构建 PPI 网络,其中设定最小互作阈值 >0.4 ,物种选择“Homo sapiens”。随后将结果导入 Cytoscape v3.9.1 软件中得到可视化分析,并运用 cytoNCA 插件进行拓扑学分析筛选核心靶点。

1.1.4 生物过程与通路富集分析 将肉苁蓉治疗 AD 的关键靶点导入 Metascape 数据库(<https://metascape.org/>) ,通过 Metascape 的基因功能(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) 富集分析肉苁蓉治疗 AD 的作用机制。其中肉苁蓉治疗 AD 的主要 GO 过程以及信号通路以 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义,分别选取前 10 条导入微生信平台作图。

1.1.5 分子对接 从 PubChem 数据库下载药物有效成分 3D 结构(SDF 格式),导入 ChemBio3D Ultra 14.0 进行能量最小化;并从 PDB 数据库下载靶蛋白,导入 PyMOL(2.3.0) 去除原始配体和水分子。将以上所有分子结构导入 AutoDocktools(v1.5.6) 进行加氢、计算电荷、分配电荷处理。最后使用 POCASA 1.1 预测蛋白结合位点,采用 AutoDock Vina1.1.2 进行对接。

1.2 动物实验

1.2.1 实验动物 8 月龄 SAMP8 小鼠 36 只,雄性,体质量 25~35 g,购自北京大学医学部(实验动物科学部),许可证号: SCXK(京) 2016-0010。饲养于包头医学院动物实验中心,饮用水消毒,12 h 昼夜光照标准条件,环境温度控制(25 ± 1) °C。动物实验经包头医学院伦理委员会审查批准,批准号: 2018011。

1.2.2 药物与试剂 肉苁蓉提取物: 松果菊苷 $\geq 49.5\%$ (批号: KSM20220609011,宝鸡科斯麦植物多糖有限公司); ELISA 试剂盒(货号: MM-0544M1,江苏酶免实业有限公司); 兔抗一抗 β -actin、GAPDH、PKA、CREB、P-CREB、BDNF 以及山羊抗兔二抗(货

号: 21338-1、48620、41345、32215、11052、48755、L3012,美国 Signalway Antibody 公司); 蛋白酶抑制剂(货号: R0010,北京索莱宝科技有限公司)。

1.2.3 仪器 Morris 水迷宫(型号: XR-VT101,上海欣欣信息科技有限公司); 电泳仪(型号: 113-0640,北京六一生物科技有限公司); 蛋白凝胶成像分析系统(型号: Tanon 6200,上海天能科技有限公司); 光学显微镜(型号: DM6M,德国 Leica 公司); 酶标仪(型号: VLBATGD2,美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2.4 动物分组与给药 将 SAMP8 小鼠随机分为 3 组,每组 12 只,分别为空白组、肉苁蓉给药组[肉苁蓉提取物 50 mg/(kg·d)]、阳性对照组[多奈哌齐 2 mg/(kg·d)]。肉苁蓉给药组与阳性对照组分别给予肉苁蓉与多奈哌齐,连续灌胃 30 d,空白组给予等量 0.9% 氯化钠溶液灌胃。肉苁蓉最佳灌胃给药剂量由课题组前期预实验结果得出,分别设立 20、50、100 mg/(kg·d) 肉苁蓉不同剂量组,进行 Morris 水迷宫测试与尼氏染色观察 CA1 区海马神经元,发现 50 mg/(kg·d) 肉苁蓉提取物改善 SAMP8 小鼠学习认知功能和神经元损伤显著优于其他两组^[7]。

1.2.5 Morris 水迷宫测试 实验之前使小鼠适应环境,水池水温维持(23 ± 2) °C,将水池划分 4 个象限,放置平台于第 4 象限水下 1 cm 处。前 5 d 进行定位航行实验,使小鼠背对水池入水,每天分别从 4 个象限训练 1 min,未找到平台的小鼠引导至平台训练 10 s,记录各组小鼠 5 d 中逃避潜伏期等指标。第 6 天进行空间探索实验,撤去平台,距站台最远端背对水池入水,记录小鼠在平台所在象限停留时间和穿越平台次数等指标。

1.2.6 组织取材 末次给药后 1 h,腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠(15 mL/kg) 进行麻醉。每组随机选取 6 只,暴露心脏,0.9% 氯化钠溶液灌注至肝脏无血色,灌注 4% 多聚甲醛,取出全脑组织于 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h,组织脱水包埋,石蜡切片,厚度 5 μ m。每组剩余 6 只小鼠灌注 0.9% 氯化钠溶液,取出全脑,冰上剥离海马组织,保存于 -80 °C 冰箱。

1.2.7 尼氏染色实验 石蜡切片 60 °C 烘箱烘烤 30 min,脱蜡至水,放置于甲苯胺蓝染液中,烘箱 60 °C 染色 15 min,蒸馏水冲洗,分化脱水,二甲苯透明 15 min,封片晾干。镜下观察海马 CA1 区神经元形态,并通过 ImageJ 软件进行细胞计数。

1.2.8 ELISA 实验 用 ELISA 实验测定小鼠海马组织环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量,严格按照 ELISA 分析试剂盒说明书进行操作,绘制浓度标准曲线,计算待测样本 cAMP 浓度。

1.2.9 Western blot 实验 取小鼠海马组织加入蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂,组织研磨,冰上裂解 30 min,12 000 r/min 低温离心 15 min,BCA 法检测蛋白浓度,制样,100 ℃ 变性 10 min 后保存。制备 SDS-PAGE 电泳凝胶,120 V 恒压电泳,300 mA 恒流电转 45 min,5% 脱脂奶粉室温孵育 2 h,TBST 洗膜后一抗 4 ℃ 孵育过夜,洗膜,二抗室温孵育 2 h,洗膜,配置发光液显影。使用 ImageJ 软件分析光密度值进行定量分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析,使用 GraphPad Prism 9.0.0 软件作图,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本均数的组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 网络药理学结果

2.1.1 肉苁蓉有效作用成分靶点与 AD 疾病交集靶点 通过中药系统药理学数据库与分析平台检索得到肉苁蓉化学成分 75 个,筛选出槲皮素、松果菊苷、毛蕊花糖苷等 8 个潜在活性成分。通过 SwissTargetPrediction 数据库预测,共得到有效靶点 330 个;通过 GeneCards、DisGeNET 数据库检索 AD 疾病靶点,合并去除重复基因,共得到 AD 靶点 676 个。通过 Venny 2.1.0 软件将肉苁蓉有效成分靶点与 AD 疾病靶点相互映射,共得到 74 个交集靶点,见图 1。

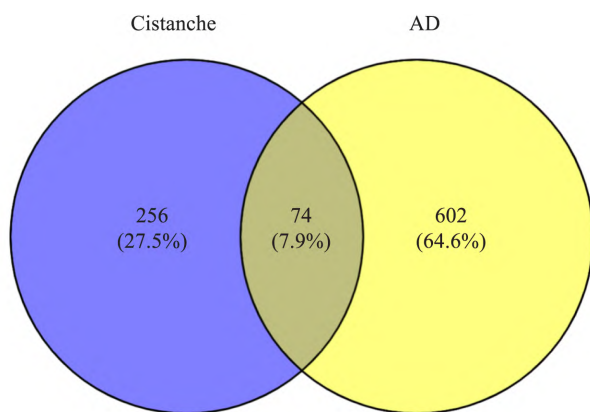


图 1 肉苁蓉有效成分与 AD 交集靶点 Venn 图

Fig.1 Venn diagram of active ingredient-AD intersection target in Cistanche

2.1.2 “药物活性成分-疾病-靶点”网络构建

通过 Cytoscape v3.9.1 构建“药物活性成分-疾病-靶点”网络,其中活性成分节点大小根据 degree 值而定,结果可见肉苁蓉含有多个有效成分,且各个成分对应多个靶点,展现了肉苁蓉从多成分、多靶点治疗 AD 的优点,其中毛蕊花糖苷、松果菊苷等成分可能发挥关键作用,见图 2。

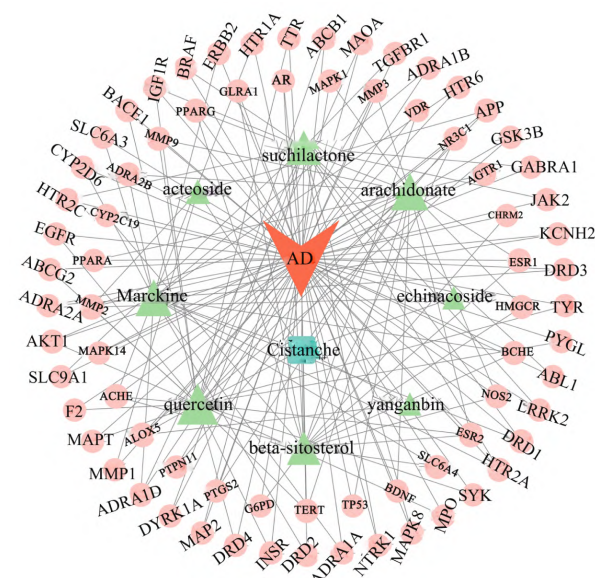


图 2 “药物活性成分-疾病-靶点”网络图

Fig.2 Network diagram of “active ingredient-disease-target”

2.1.3 PPI 网络分析和关键靶点获取 将交集靶点导入 String 数据库构建 PPI 网络,最终获得了包含 74 个节点,531 条边,平均节点数为 14.4 的 PPI 网络。并通过 Cytoscape 进行网络可视化,其中 degree 值越大节点越大,并运用网络拓扑分析筛选出 AKT1、ESR1、EGFR、APP、BDNF 等 17 个核心靶点,见图 3。

2.1.4 GO 和 KEGG 富集分析 GO 分析中生物过程涉及 403 条相关功能簇,包括 MAPK 级联正向调节、突触囊泡胞吐作用和蛋白质磷酸化的正向调节等。分子功能相关涉及 115 条,包括相同蛋白质结合、酶结合、蛋白激酶活性、神经递质受体活性等;细胞成分相关涉及 67 条,包括质膜及其组成部分、树突、突触等,见图 4A。KEGG 通路富集分析共获得 146 条通路,并进行聚类排序($P < 0.01$),主要有 cAMP 信号通路、cGMP-PKG 信号通路、AD 信号通路、雌激素信号通路等,推测肉苁蓉可能通过作用多条信号通路发挥抗 AD 作用,见图 4B。

2.1.5 分子对接 肉苁蓉活性成分与核心靶点分

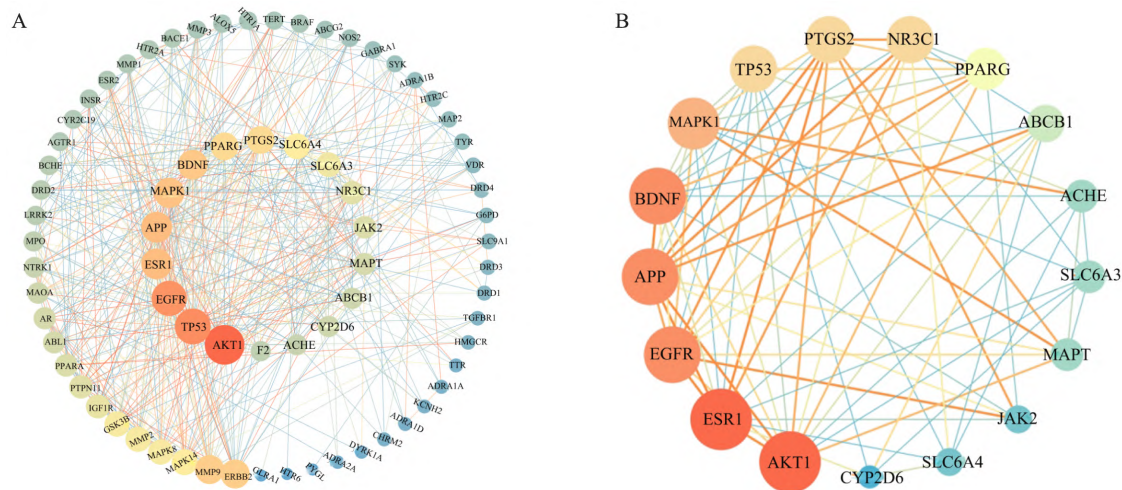


图3 PPI网络图

Fig.3 PPI network diagram

A: Cistanche therapeutic AD protein network map; B: Core target network map.

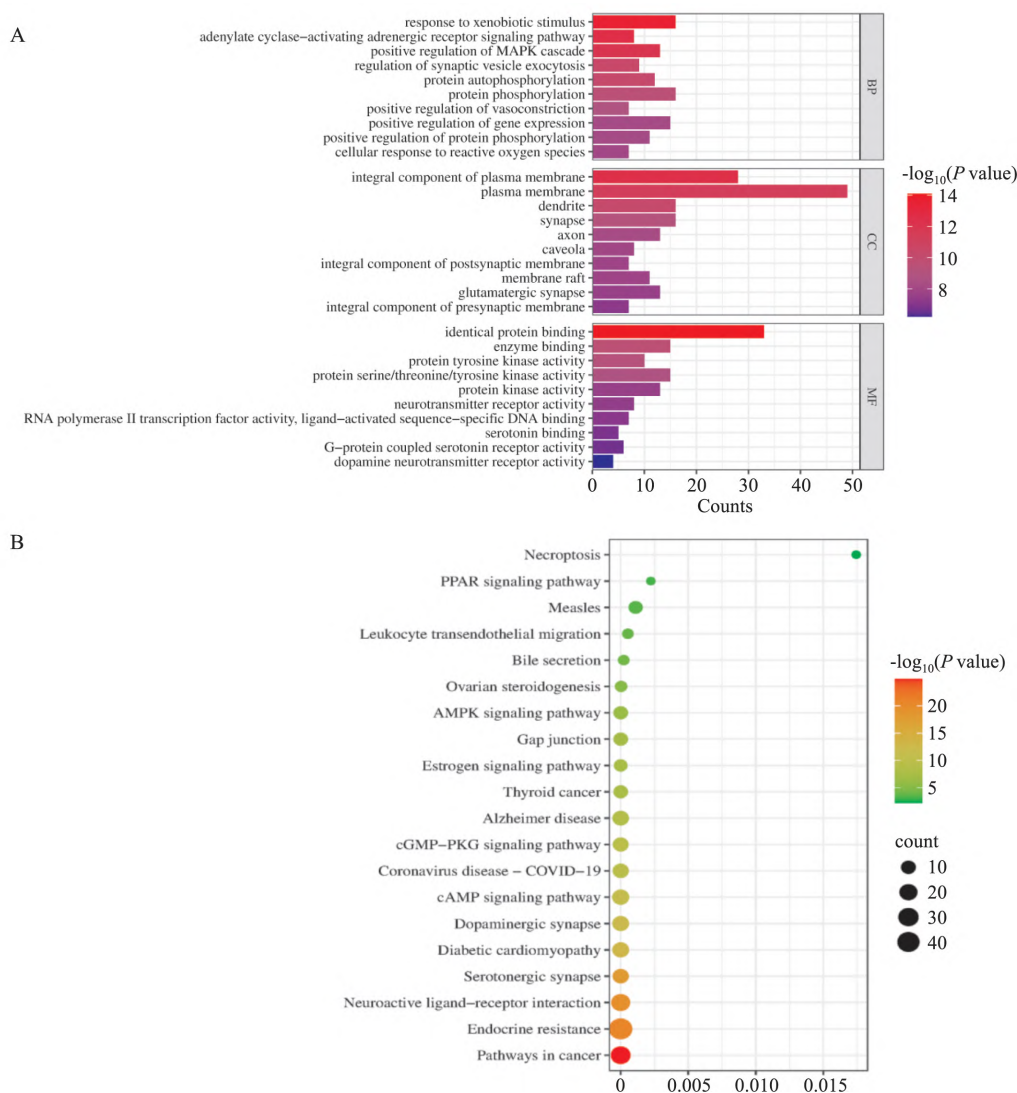


图4 基因富集分析

Fig.4 Gene enrichment analysis

A: GO enrichment analysis of active targets of Cistanche for AD treatment; B: KEGG pathway enrichment analysis of bubbles.

子对接结果显示,毛蕊花糖苷、松果菊苷和 β -谷甾醇与 ESR1、BDNF、MAPK1、AKT1 等核心靶点具有良好对接活性,见表 1。对接可视化结果显示本实验预测的核心靶点均能顺利进入肉苁蓉成分的活性中心,形成氢键并与周围的氨基酸残基产生较强的疏水作用,见图 5。

2.2 动物实验结果

2.2.1 肉苁蓉能显著改善 AD 小鼠的空间探索与学习记忆能力 定位航行实验中,与空白组比较,肉苁蓉给药组与阳性对照组在第 4、5 天的逃避潜伏期明显缩短($P < 0.05$)。空间探索测试中,空白组游泳轨迹杂乱无章,提示小鼠空间学习记忆发生障碍,而肉苁蓉给药组与阳性对照组目的性强,其平台所在象限停留时间百分比明显增加($P < 0.05$),见图 6。结果表明肉苁蓉能明显改善 AD 小鼠的学习认知障碍。

表 1 肉苁蓉有效成分与核心靶点对接结果

Tab. 1 Docking results of active components and core targets of Cistanche

Active ingredient	Target	Binding affinity (kcal/mol)
Acteoside	APP	-6.9
Echinacoside	AKT1	-7.1
Quercetin	EGFR	-8.0
Beta-sitosterol	ESR1	-8.5
Acteoside	BDNF	-9.8
Acteoside	MAPK1	-9.9

2.2.2 肉苁蓉对 AD 小鼠海马 CA1 区神经元形态和数量的影响 尼氏染色结果表明,空白组小鼠海马 CA1 区神经元大量变性坏死,排列紊乱,分布稀疏。给予肉苁蓉干预 AD 小鼠后,海马区神经元数量无明显减少,无明显形态学损伤,尼氏小体数量明显增多,见图 7。

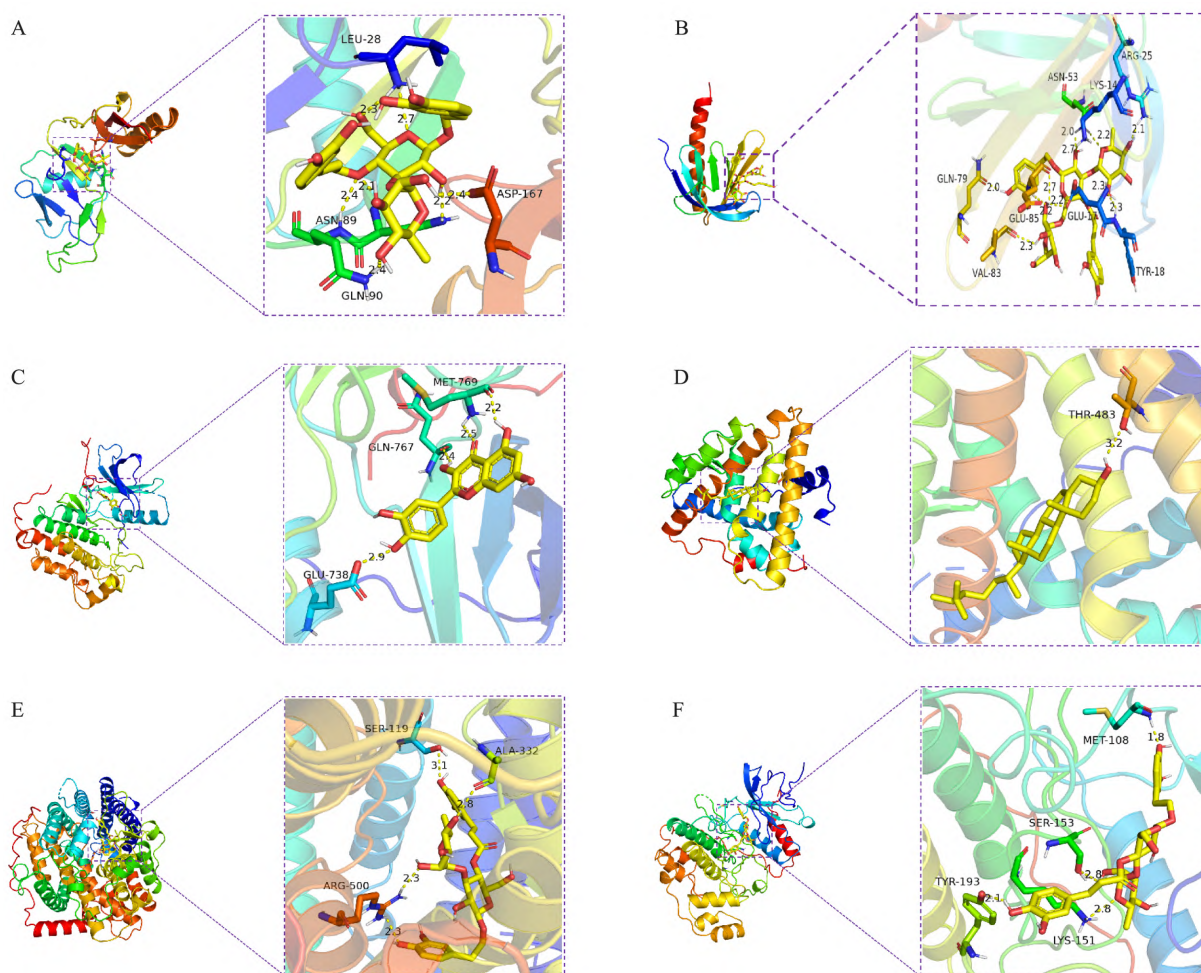


图 5 肉苁蓉活性成分与关键靶点分子对接可视化图

Fig. 5 Visualization of molecular docking of Cistanche active ingredients with key targets

A: Acteoside-APP; B: Echinacoside-AKT1; C: Quercetin-EGFR; D: Beta-sitosterol-ESR1; E: Acteoside-BDNF; F: Acteoside-MAPK1.

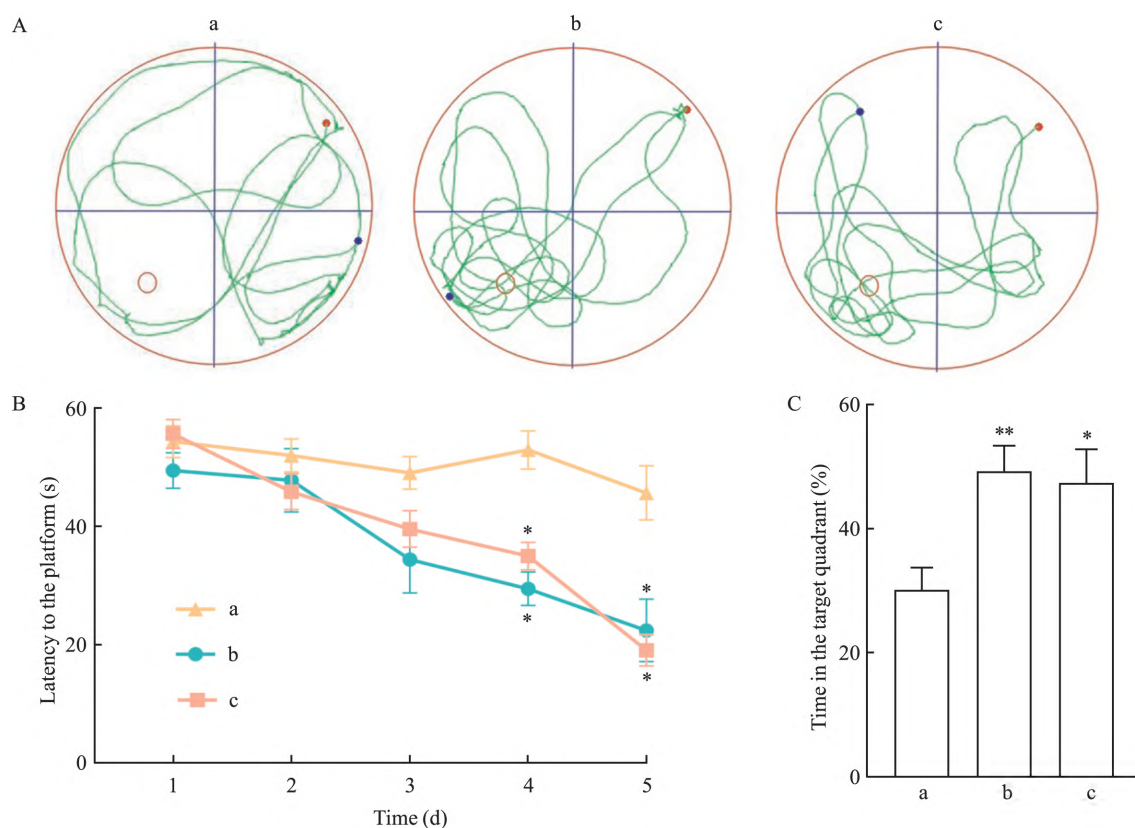


图6 肉苁蓉对AD模型小鼠空间认知学习的影响

Fig. 6 Effects of Cistanche on spatial cognitive learning in AD model mice

A: Swimming trajectory of mice in the spatial exploration experiment; B: Change curve of evasion latency of mice in the localization navigation experiment; C: Percentage of residence time in the platform quadrant of mice in the spatial exploration experiment; a: Control group; b: Cistanche treatment group; c: Positive control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group.

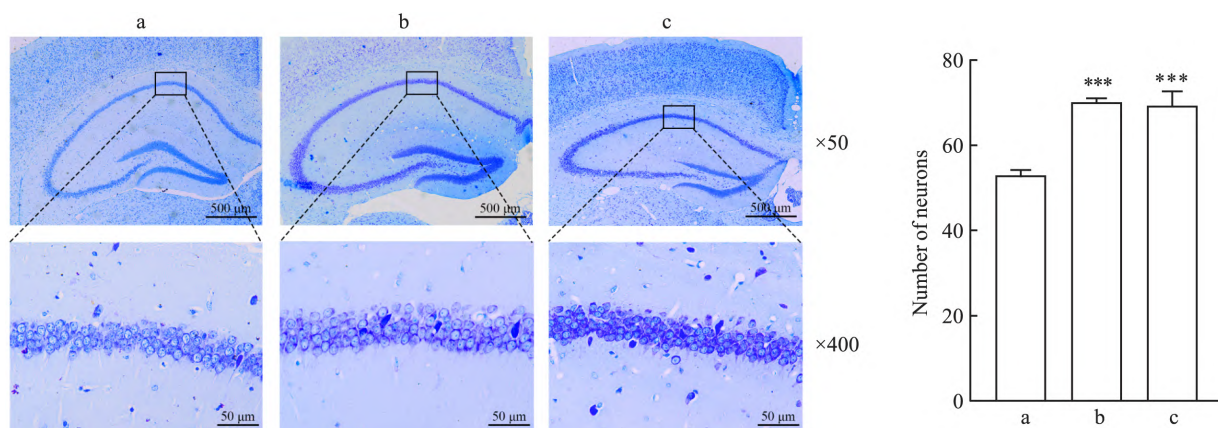


图7 肉苁蓉对AD小鼠海马CA1区神经元的影响 尼氏染色×400

Fig. 7 The effect of Cistanche on neurons in the CA1 region of the hippocampus of AD mice Nichols staining ×400

a: Control group; b: Cistanche treatment group; c: Positive control group; *** $P < 0.001$ vs Control group.

2.2.3 肉苁蓉对AD小鼠海马组织中cAMP信号通路相关蛋白的影响 ELISA实验结果表明,与空白组比较,肉苁蓉给药组与阳性对照组小鼠海马组织匀浆中cAMP蛋白浓度明显升高($P < 0.001$),见

图8A。Western blot结果表明,与空白组比较,肉苁蓉给药组与阳性对照组PKA、P-CREB、BDNF蛋白表达明显增加($P < 0.05$),而CREB蛋白表达差异无统计学意义,见图8B-8E。

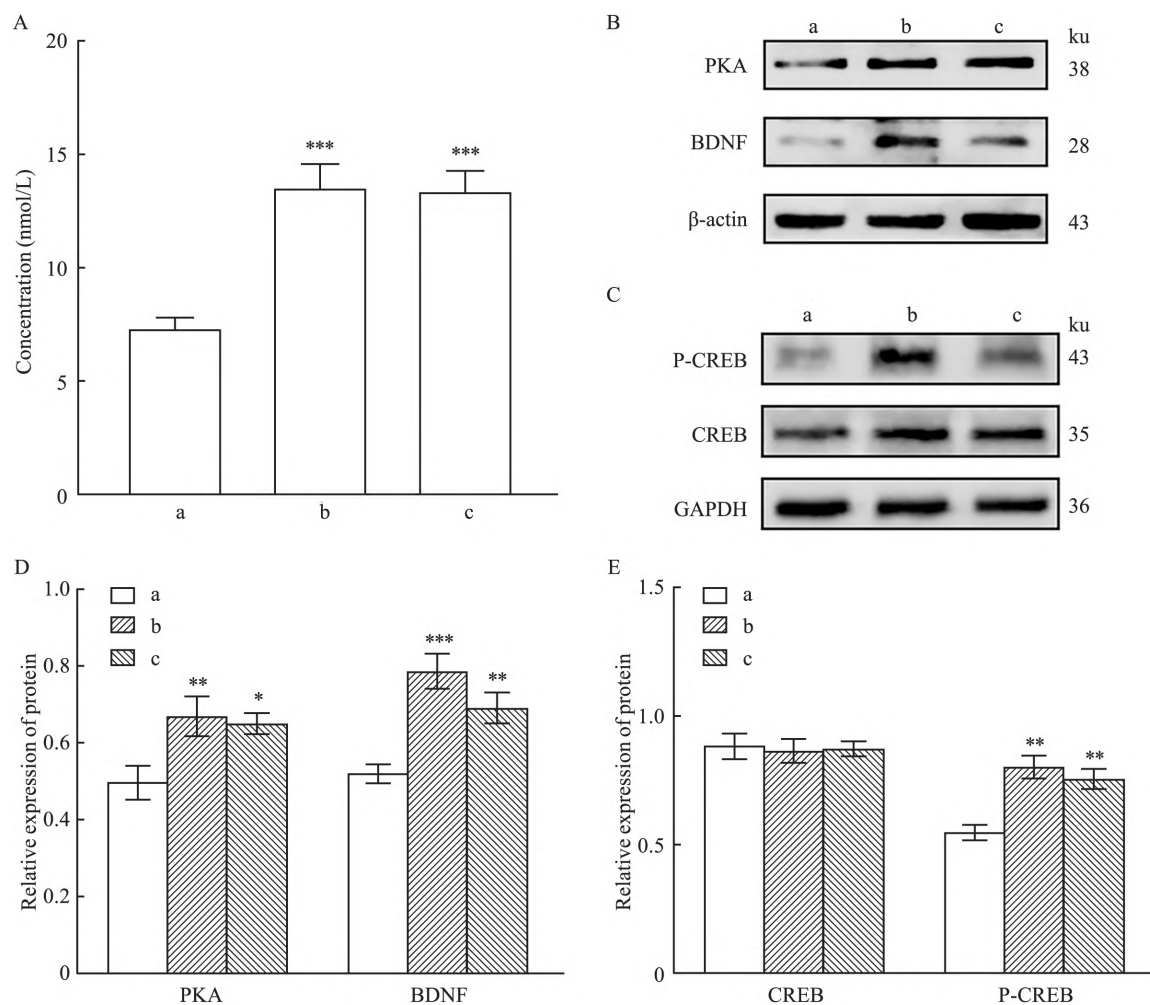


图8 肉苁蓉对AD小鼠海马cAMP信号通路相关蛋白的影响

Fig. 8 The effect of Cistanche on hippocampal cAMP signaling pathway-related proteins in AD mice

A: ELISA detection of cAMP protein concentration; B, C: Western blot results; D, E: Comparison of relative expression of PKA, BDNF, CREB and P-CREB proteins in each group; a: Control group; b: Cistanche treatment group; c: Positive control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Control group.

3 讨论

AD是引起老年认知功能障碍的常见疾病,且发病率逐年上升^[8-9],因此,寻找防治AD,改善认知障碍的药物尤为重要。《中国药典》记载肉苁蓉性味甘温,无明显特殊禁忌人群,且副作用小^[10]。因其作用成分、靶点较多,在神经保护中的功效不断被发现^[11-12]。SAMP8具有明显的AD病理及生化指标变化,因而成为AD研究的理想模型并广泛应用^[13]。因此,本研究通过网络药理学预测肉苁蓉治疗AD的相关靶点及可能信号通路,运用分子对接对肉苁蓉活性成分和靶点进行验证,并采用SAMP8模型小鼠对前期通路预测结果进行实验研究。

通过网络药理学结果发现肉苁蓉作用于AD的

有效成分共8个,潜在靶点74个。通过“药物活性成分-作用靶点-疾病”网络分析发现毛蕊花糖苷、松果菊苷、槲皮素和β-谷甾醇在治疗AD方面有突出作用,作用于较多抗AD靶点,并与AKT1、ESR1、APP和BDNF等核心靶点具有良好对接活性,体现了肉苁蓉多靶点、多成分治疗AD的优点。此外,KEGG通路富集分析发现,cAMP信号通路是网络图核心节点之一,与众多靶点和通路有紧密联系。其中ESR1可通过非经典途径激活cAMP信号通路及转录因子CREB^[14],从而促进不同神经营养因子的释放。此外,cAMP在调节神经元突触生长发育、调控神经递质合成中发挥关键作用^[15]。因此课题组通过网络药理学研究结果推测cAMP通路为其药理作用的主要通路之一。

有研究^[16]报道,cAMP表达水平升高在AD疾病中发挥重要作用。cAMP可通过激活关键效应物PKA,进而磷酸化CREB来调节基因表达。CREB作为核心因子在长期记忆中发挥关键作用^[17],并且可进一步调控下游BDNF的表达。BDNF被认为是中枢神经系统功能和结构可塑性的指导性介质^[18],从而发挥神经保护功能。因此,调控cAMP及其下游信号可能为AD提供了新的治疗途径。本研究表明,肉苁蓉能够明显缩短AD小鼠在水迷宫实验中的逃避潜伏期;并改善小鼠海马CA1区的神经元损伤,提示肉苁蓉对AD模型小鼠具有显著改善作用,并具有与多奈哌齐相同的疗效;ELISA和Western blot结果提示,肉苁蓉给药组小鼠海马cAMP、PKA、P-CREB以及BDNF的表达水平显著升高,表明肉苁蓉可能通过激活cAMP-PKA-CREB-BDNF通路改善AD模型小鼠学习认知障碍。

综上所述,肉苁蓉可改善SAMP8小鼠认知功能障碍,保护小鼠神经功能,其机制可能与调节cAMP-PKA-CREB通路,促进下游神经营养因子BDNF的表达,减少神经元损伤,进而发挥神经保护作用有关。这为今后进一步研究肉苁蓉治疗AD的具体机制提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. *Lancet*, 2021, 397(10284): 1577-90. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32205-4.
- [2] Ogbodo J O, Agbo C P, Njoku U O, et al. Alzheimer's disease: pathogenesis and therapeutic interventions[J]. *Curr Aging Sci*, 2022, 15(1): 2-25. doi: 10.2174/1874609814666210302085232.
- [3] Koch G, Spampinato D. Alzheimer disease and neuroplasticity[J]. *Handb Clin Neurol*, 2022, 184: 473-9. doi: 10.1016/B978-0-12-819410-2.00027-8.
- [4] Lei H, Wang X, Zhang Y, et al. Herba Cistanche (Rou Cong Rong): a review of its phytochemistry and pharmacology[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2020, 68(8): 694-712. doi: 10.1248/cpb.c20-00057.
- [5] Zhou X L, Xu M B, Jin T Y, et al. Preclinical evidence and possible mechanisms of extracts or compounds from cistanches for Alzheimer's disease[J]. *Aging Dis*, 2019, 10(5): 1075-93. doi: 10.14336/AD.2018.0815-1.
- [6] 王子怡,王鑫,张岱岩,等. 中医药网络药理学《指南》引领下的新时代发展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 7-17. doi: 10.19540/j.cnki.cjmm.20210914.702.
- [6] Wang Z Y, Wang X, Zhang D Y, et al. Traditional Chinese medicine network pharmacology: development in new era under guidance of network pharmacology evaluation method guidance[J]. *China J Chin Mater Med*, 2022, 47(1): 7-17. doi: 10.19540/j.cnki.cjmm.20210914.702.
- [7] 刘心朗,周丽丽,杨占君,等. 肉苁蓉总苷对SAMP8小鼠学习记忆能力及突触可塑性的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(1): 110-5. doi: 10.13193/j.issn.1673-7717.2022.01.027.
- [7] Liu X L, Zhou L L, Yang Z J, et al. Effects of glycosides of Cistanche on cognitive function and synaptic plasticity in SAMP8 mice[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(1): 110-5. doi: 10.13193/j.issn.1673-7717.2022.01.027.
- [8] Zhang X X, Tian Y, Wang Z T, et al. The epidemiology of Alzheimer's disease modifiable risk factors and prevention[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2021, 8(3): 313-21. doi: 10.14283/jpad.2021.15.
- [9] Gustavsson A, Norton N, Fast T, et al. Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum[J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(2): 658-70. doi: 10.1002/alz.12694.
- [10] Zhang S, Ma Y, Chen J, et al. Chemical composition, pharmacological effects, and parasitic mechanisms of cistanche deserticola: an update[J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155808. doi: 10.1016/j.phymed.2024.155808.
- [11] Sun X, Zheng Y, Tian L, et al. Metabolome profiling and molecular docking analysis revealed the metabolic differences and potential pharmacological mechanisms of the inflorescence and succulent stem of Cistanche deserticola[J]. *RSC Adv*, 2021, 11(44): 27226-45. doi: 10.1039/d0ra07488h.
- [12] Wu L, Xiang T, Chen C, et al. Studies on cistanches herba: a bibliometric analysis[J]. *Plants (Basel)*, 2023, 12(5): 1098. doi: 10.3390/plants12051098.
- [13] Liu B, Liu J, Shi J S. SAMP8 mice as a model of age-related cognition decline with underlying mechanisms in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2020, 75(2): 385-95. doi: 10.3233/JAD-200063.
- [14] Koszegi Z, Cheong R Y. Targeting the non-classical estrogen pathway in neurodegenerative diseases and brain injury disorders[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 999236. doi: 10.3389/fendo.2022.999236.
- [15] Zhang T, Lu M D A, Dolga A M, et al. The old second messenger cAMP teams up with novel cell death mechanisms: potential translational therapeutic benefit for Alzheimer's disease and Parkinson's disease[J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1207280. doi: 10.3389/fphys.2023.1207280.
- [16] Di Benedetto G, Iannucci L F, Surdo N C, et al. Compartmentalized signaling in aging and neurodegeneration[J]. *Cells*, 2021, 10(2): 464. doi: 10.3390/cells10020464.
- [17] Sharma V K, Singh T G. CREB: a multifaceted target for Alzheimer's disease[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2020, 17(14): 1280-93. doi: 10.2174/1567205018666210218152253.
- [18] Colucci-D'Amato L, Speranza L, Volpicelli F. Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7777. doi: 10.3390/ijms21207777.

Exploring the mechanism of cistanche in the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology and animal experiment

Zhao Jie¹, Huo Dongsheng², Zhu Hongbo¹, Zhang Shibin¹, Jia Jianxin²

(¹*School of Basic Medicine and Forensic Science*, ²*Dept of Human Anatomy*, Baotou

Medical College of Inner Mongolia University, Baotou 014040)

Abstract *Objective* To explore the mechanism of cistanche deserticola (meat cistanche) in treating Alzheimer's disease (AD) through network pharmacology, molecular docking, and animal experiments. *Methods* Effective components of meat cistanche were mined from the TCMSP database, and AD-related targets were filtered using the SwissTargetPrediction, DisGeNET, and GeneCards databases. The intersection of these targets was analyzed using protein-protein interaction (PPI) networks. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses were conducted via the Metascape database. Molecular docking of meat cistanche's active components with core targets was performed using AutoDock Vina. Based on network pharmacology predictions, an AD model was established using 8-month-old SAMP8 mice, with Morris water maze tests assessing learning and cognitive functions, Nissl staining observing hippocampal neuron morphology, and enzyme-linked immunosorbent assays and Western blotting detecting the expression levels of cAMP signaling pathway-related proteins in hippocampal tissues. *Results* Network pharmacology analysis predicted that meat cistanche might act on 74 AD targets through 8 active components. Molecular docking showed high affinity of active components like acteoside with core targets such as ESR1, BDNF, MAPK1, and APP. KEGG analysis indicated involvement in pathways related to cancer, cAMP signaling, and AD. Animal experiments demonstrated that meat cistanche effectively improved learning and cognitive impairments in AD mice and alleviated hippocampal neuron damage. ELISA and Western blotting results indicated that meat cistanche significantly increased the expression levels of cAMP, PKA, P-CREB in the cAMP pathway and promoted the expression of downstream neurotrophic factor BDNF. *Conclusion* Meat cistanche can improve learning and cognitive disorders in AD model mice and may exert therapeutic effects on AD by up-regulating the cAMP signaling pathway and the expression of downstream BDNF protein targets, thereby improving hippocampal neuron injury.

Key words cistanche; Alzheimer's disease; network pharmacology; molecular docking; cAMP signaling pathway; BDNF

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81860215); Higher Education Young Science and Technology Talents Support Program for Higher Education Youth Science and Technology Talent of Inner Mongolia Autonomous Region (No. NJYT-20-A08)

Corresponding authors Huo Dongsheng, E-mail: 3338406176@qq.com; Jia Jianxin, E-mail: jiajianxinx@163.com