

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2020.06.022

基于网络药理学研究核桃改善记忆的功能

吕泓霖¹, 许成梅¹, 陈丹², 马雅鸽¹, 陈朝银³, 赵声兰¹✉

(1. 云南中医药大学, 昆明 650500;

2. 云南省烟草监测站, 昆明 650106;

3. 云南经济管理学院, 昆明 650106)

摘要: 基于网络药理学研究核桃改善记忆的作用机制, 采用 TCMSp 数据库对核桃活性成分和相应的靶点进行筛选, 并利用 Geocard 和 OMIM 数据库查找记忆相关靶点, 通过 Cytoscape3.7.1 软件构建“活性成分-靶点”关联网络, 并对关键靶点进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析。将网络药理学分析的核桃活性成分和作用靶点通过分子对接验证, 核桃主要通过鞣花酸、没食子酰葡萄糖、胡桃醌等 8 个活性成分改善记忆, 通过调控 PTGS2、PRKCA、PRKCB 等靶点, 调节血管内皮生长因子信号通路、NF-κB 信号通路、MAPK 信号通路来改善记忆功能。分子对接表明核桃的活性成分鞣花酸、没食子酰葡萄糖与 PRKCA、PRKCB 等靶点有较强的结合。本实验为核桃改善记忆的功能产品开发提供了理论基础。

关键词: 网络药理学; 核桃; 改善记忆; 分子对接; 网络构建

中图分类号: TS255.6; R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2020)06-0166-08

网络首发时间: 2020-10-22 10:23:21

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.ts.20201021.1808.004.html>

Research on Memory Improvement Function of Walnut Based on Network Pharmacology

LV Hong-lin¹, XU Cheng-mei¹, CHEN Dan², MA Ya-ge¹, CHEN Chao-yin³, ZHAO Sheng-lan¹✉

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming, Yunan 650500, China;

2. Yunnan Tobacco Quality Inspection & Supervision Station, Kunming, Yunan 650106, China;

3. Yunnan University of Business Management, Kunming, Yunan 650106, China)

Abstract: Based on network pharmacology to study the mechanism of walnut in improving memory, the TCMSp database was used to screen the active ingredients and corresponding targets of walnuts, Geocard and OMIM were used to find memory-related targets, and the “active ingredients-target” association network was constructed through Cytoscape 3.7.1 software, and GO biological function enrichment and KEGG pathway analysis were carried out for key targets. The active ingredients and targets of walnut analyzed by network pharmacology were verified by molecular docking. Walnut improves memory mainly through 8

收稿日期: 2020-09-02

基金项目: 国家自然科学基金(81760735); 云南省重大科技专项(生物医药)(2018ZF013); 云南省科技厅-云南中医学院联合专项重点项目(2019FF002-006); 云南省教育厅项目(2020Y0223)

作者简介: 吕泓霖, 男, 1995 年出生, 在读硕士生, 研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: 2495538944@qq.com.

通讯作者: 赵声兰, 女, 1962 年出生, 教授, 研究方向为药食资源研究与开发利用。E-mail: 13330431529@163.com.

active ingredients such as ellagic acid, galloyl glucose, juglone, etc. by the regulation on the targets including PTGS2, PRKCA, PRKCB etc and signaling pathways including vascular endothelial growth factor, NF- κ B and MAPK pathway. Molecular docking showed that the active ingredients of walnuts, ellagic acid and galloyl glucose, have strong binding with targets such as PRKCA and PRKCB. This experiment provides a theoretical basis for the development of functional products of walnut improving memory.

Key words: network pharmacology; walnut; improving memory; molecular docking; network construction

学习和记忆是脑的重要机能之一,改善和延缓学习记忆能力减退是人类追求强大和健康的方向和手段之一^[1]。记忆力减退的产生是外界因素影响与人体功能紊乱交互作用所致,现代社会饮食结构变化,精神压力增大,使脑代谢紊乱,导致记忆力下降。同时随着人口老龄化,老年人口比例增加,我国 60 岁以上的人口中,有 70%~80% 伴有不同程度的健忘和老年痴呆。目前临床上药物对老年痴呆导致的学习记忆障碍的治疗效果不理想^[2],因此,早期预防和干预老年痴呆是目前研究的重点之一^[3-4]。

核桃又名胡桃、羌桃,系胡桃科 (*Juglandaceae*) 的核桃属 (*Juglan* Linn.)、山核桃属 (*Carya*)、缘核桃属 (*Annamocarya*) 等果木兼用植物^[5]。我国核桃种植面积和产量均居世界第一,有丰富的核桃资源^[6]。核桃仁含油脂 58.8%,富含 ω -6 和 ω -3 脂肪酸以及神经酸、鳕油酸、角鲨烯、植物固醇、多酚等功能性成分^[7]。其中核桃多酚往往随加工副产物被废弃,造成资源浪费,核桃多酚类化合物主要是酚酸和单宁类,以及少量的黄酮类化合物。核桃被历代医家称为药食同源的健脑益智佳品^[8],本文基于网络药理学和分子对接技术研究核桃改善学习记忆的物质基础和潜在作用机制^[9],为云南丰富核桃资源的利用提供新思路,也为核桃改善记忆的产品开发和利用提供理论依据。

网络药理学打破了药物-单一靶标的研究方式,通过进行多层次网络构建,得到药物-靶点-疾病复杂的网络关系,从整体探索中药多成分与靶点的作用关系。其中中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 包含中国药典中的 499 种中药,共 29 384 种成分,3 311 种靶点,837 种相关疾病。Geencard 是人类基因综合数据库,包含基因组、蛋白组、转录、遗传和功能上的基因。OMIM 提供已知遗传疾病的相关基因信息。STRING 是搜索已知蛋

白相互关系的数据库,是覆盖物种最多,相互作用信息最全的。DAVID 是一个生物信息数据库,其整合了生物学数据和分析工具,为大规模的基因或蛋白列表(成百上千个基因 ID 或者蛋白 ID 列表)提供系统综合的生物功能注释信息。CB-Dock 分子对接在线平台的特点是可以预测给定蛋白质的结合位点^[10-11]。

1 数据来源及分析方法

1.1 核桃活性成分及作用靶点的收集

采用中药系统药理学分析平台 (TCMSP),输入关键词“Walnut”检索,口服生物利用度是药物筛选的关键参数^[12],根据口服生物利用度 (OB) $\geq 15\%$ 进行筛选^[13],得到核桃的主要化学成分,并匹配相应的作用靶点。

1.2 记忆靶点的收集

采用综合性人类基因数据库 (Geencard) 和人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 输入“memory”为关键词,以评分 ≥ 5 筛选记忆相关的靶点^[14],删除重复的靶点,得到改善记忆的关键靶点。

1.3 核桃化合物-靶点的网络构建

将核桃活性成分对应的靶点和记忆相关的靶点进行比较,获得二者共有的靶点^[15],然后使用 Cytoscape3.7.1 图形化网络分析和编辑的软件,进行“核桃活性化合物-记忆靶点”的网络构建。在网络中,节点表示核桃活性成分、记忆相关靶点。网络中的边用来连接药物与活性成分、活性成分与关键靶点,疾病与关键靶点。在网络中一个节点的度表示和节点相连的条数,度值越大说明这个节点越可能是关键节点^[16]。

1.4 GO 功能富集和 KEGG 信号通路分析

利用 DAVID 数据库对核桃改善记忆的靶点进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析^[17],以统计

学超几何分布定量评估相关性, 设置 $P < 0.05$, 并将富集结果进行图表可视化^[18]。

1.5 蛋白互做网络的构建

STRING 是搜索已知蛋白和未知蛋白相互作用的数据库, 为了阐述核桃改善记忆蛋白的相互作用关系, 将 1.3 得到核桃改善记忆靶点输入 STRING 数据库, 物种选择“人”, 该数据库可以对蛋白质的相互作用关系进行打分, 分值越高表明相互作用的置信度高^[19], 本文将相互作用评分设置为中置信度 (0.400), 得到核桃改善记忆蛋白的相互作用关系 (PPI)。

1.6 分子对接验证

为了确定网络药理学预测核桃改善记忆靶点的准确性, 采用分子对接进行验证。将蛋白互作网络中评分较高的蛋白与 KEGG 结果中靠前的通路进行比较分析, 得到准备验证的关键靶点, 将靶点输入 PDB 数据库, 选择最佳的蛋白晶体结构, 并从 PubChem 数据库中下载核桃化学成分

3D 结构式。将关键靶点的蛋白结构、核桃主要成分结构式导入到 CB-Dock 在线平台进行分子对接, 预测潜在蛋白质的结合位点, 并根据空腔大小排序选择几个得分最大的空腔, 设置空腔的中心, 调整空腔尺寸, 之后用 AutoDock Vina 程序进行分子对接^[20-21]。

2 结果与分析

2.1 核桃活性成分及靶点筛选结果

从中药系统药理学分析平台 (TCMSP) 得到核桃化学成分共 20 种 (见表 1), 其中口服生物利用率、血脑屏障透过率、成药性较好的有 methyl-octadecanoate (十八碳酸甲酯) 类等成分。生物利用度较低的如 Cornustannin 2 (山茱萸鞣质), 一般不宜口服给药, 可注射给药; 血脑屏障透过率较低的如 pentagalloylglucose (五没食子酰葡萄糖) 等可通过修饰和剂型选择加以提高; 成药性较低的如 Casuarictin (木麻黄素) 则可通过包埋、乳化等适当方法加以调整。

表 1 核桃活性成分信息

分子名称	生物利用度/%	血脑屏障透过率	成药性
ellagic acid (鞣花酸)	43.06	-1.41	0.43
glansreginin B	41.37	-3.62	0.63
Casuarictin (木麻黄素)	40.92	-4.12	0.04
glansreginin A	35.16	-2.72	0.64
gemin D	27.39	-2.89	0.56
Juglone (胡桃醌)	25.74	0.16	0.07
9,10,12,13,15,16-trimethylene octadecanoate (9,10,12,13,15,16-三癸基癸酸酯)	25.48	1.15	0.33
2,2',3,3',4,4'-Tetramethoxy-6,6'-biphenyldicarboxylic acid, dimethyl ester (二甲酯)	22.90	0.05	0.48
6,7-methylene octadecanoate (6,7-亚甲基十八烷酸酯)	22.39	0.99	0.18
euprostin A,	22.25	-4.38	0.01
methyl tri-O-methylgallate (三邻甲基没食子酸甲酯)	21.34	0.70	0.08
9,10-methylene octadecanoate (9,10-亚甲基十八烷酸酯)	21.13	1.12	0.21
methyl 8-[(1R,2S)-2-octylcyclopropyl]octanoate (8-[(1R, 2S)-2-辛基环丙基]辛酸甲酯)	21.13	1.17	0.21
11,12-methylene octadecanoate (11,12-亚甲基十八烷酸酯)	21.13	1.17	0.21
8,9-methylene octadecanoate (8,9-亚甲基十八烷酸酯)	21.13	1.14	0.21
1,2-di-O-galloyl-4,6-HHDP-bata-D-glucose	18.19	-3.30	0.21
methyl 9-cyclopropylnonanoate (9-环丙基壬酸甲酯)	17.47	1.39	0.06
eugeniin, tellimagrandin II, cornustannin 2 (山茱萸鞣质 2)	10.06	-3.57	0.13
1,2,3,6-Tetragalloylglucose (1,2,3,6-四没食子酰基葡萄糖)	3.01	-3.56	0.33
Pentagalloylglucose (五没食子酰葡萄糖)	3.01	-4.17	0.21

2.2 记忆相关的靶点

采用人类基因疾病相关的数据库 (Geencard) 和孟德尔遗传数据库 (OMIM), 收集与记忆有关的靶点^[22], 选择得分 ≥ 5 的靶点^[23], 得到 5 559 个记忆相关的靶点。

2.3 药物-疾病靶点预测结果

将核桃活性成分的作用靶点与记忆相关靶点进行匹配, 得到 38 个共有靶点, 对应的核桃活性成分 8 个 (见表 2)。

构建“中药化合物-作用靶点”网络^[24], 如图 1, 网络中共有 48 个节点, 91 条相互作用的边。

通过 Cytoscape 计算网络参数, 得到核桃活性成分和靶点作用关系^[25], 核桃中化学成分按节点度值排序由高到低依次是 ellagic acid (鞣花酸)、euprostin A、Pentagalloylglucose (没食子酰葡萄糖)、juglone (胡桃醌)、Juglanin (胡桃苷)、Methyl 9-cyclopropylnonanoate (9-环丙基壬酸甲酯)。这些化学成分是核桃改善记忆的物质基础。同时节点度值较高的靶点是 PTGS2 (前列腺素环氧合酶)、PRKCB (蛋白激酶 C β 型)、PRKCA (蛋白激酶 C α 型) 等, 提示核桃改善记忆是多成分、多靶点共同作用。

表 2 核桃活性成分的改善记忆的靶点

活性化合物	改善记忆的靶点	靶点数
ellagic acid (鞣花酸)	ESR1、AR、PGR、RELA、VEGFA、CDKN1A、MMP2、MMP9、NFKBIA、CXCL8、PRKCB、GSTP1、IGF2、GSTM1	14
Juglone (胡桃醌)	TP63、SOD1、CAT、G6PD、CSF2、DUOX2、IL5、GSR、	8
Pentagalloylglucose(五没食子酰葡萄糖)	NEU1、XDH、PRKD1、PRKCA、PRKCB、PRKCZ、PRKCH、PRKCG	8
euprostin A	PRKCA、PRKD1、PRKCB、PRKCD、PRKCQ、PRKCE	7
Methyl 9-cyclopropylnonanoate(9-环丙基壬酸甲酯)	PTGS2、CHRM2、MAOB	3
Juglanin (胡桃苷)	AR、PTGS2、PRSS1	3
Eugenin(山茱萸鞣质 2)	BACE1	1
"2,2',3,3',4,4'-Tetramethoxy-6,6'-biphenyldicarboxylic acid(二甲酯)	PTGS2	1

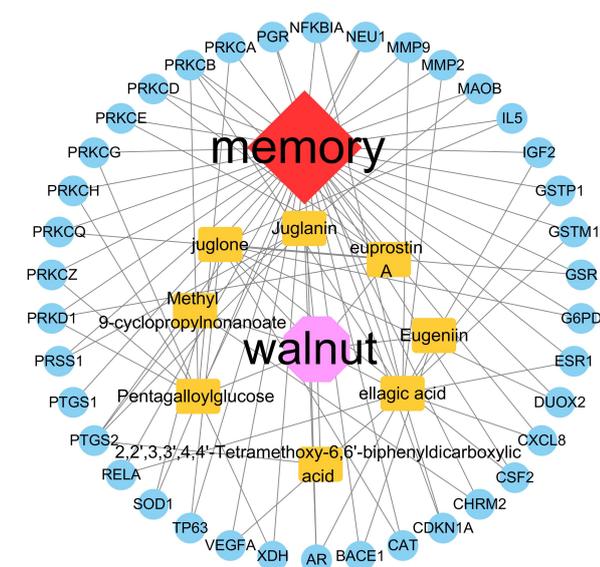


图 1 核桃活性成分-记忆靶点网络图

2.4 核桃改善记忆靶点的 GO 功能分析

通过对核桃改善记忆的 38 个靶点进行 GO 富集分析, 其中生物学功能富集排名靠前的有蛋白

激酶 C 活性、抗氧化活性、过氧化物酶活性、氧化还原酶活性、丝氨酸/苏氨酸激酶蛋白的活性, 以及核受体活性、转录因子活性、烟酰胺-腺嘌呤二核苷酸磷酸结合、血红素结合、类固醇激素受体活性 (见表 3), 这些 GO 功能可能是核桃改善记忆的重要生物学过程。

2.5 核桃改善记忆靶点的通路分析

通过 DAVID 数据库, 对核桃改善记忆的关键靶点进行 KEGG 通路富集分析 ($P < 0.05$), 筛选前 20 条记忆相关通路 (见表 4), 主要涉及到 IL-17 信号通路、松弛素信号通路、血管平滑肌收缩、血管内皮生长因子信号通路、NF- κ B 信号通路、低氧诱导因子 1 信号通路、5-羟色胺能突触、鞘脂信号通路、内分泌和其他因素调节钙的重吸收、谷胱甘肽代谢、TNF 信号通路等, 提示核桃改善记忆的靶点分布在多条通路中, 核桃改善记忆是多条通路相互作用的结果。

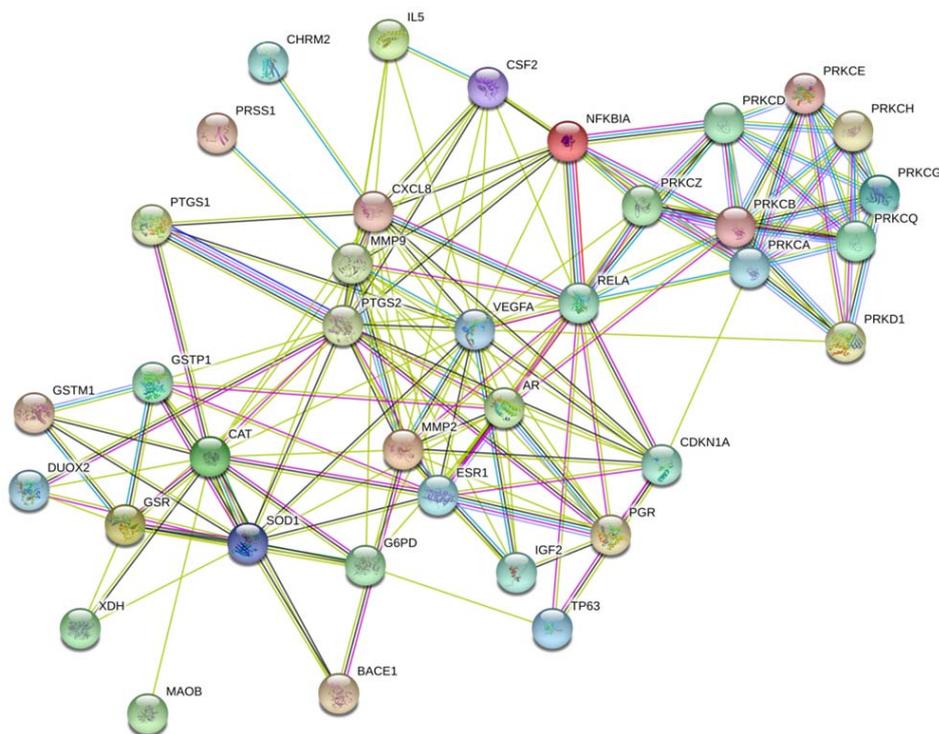


图 2 核桃改善记忆靶蛋白互作 (PPI) 网络图

表 3 核桃改善记忆靶点的 GO 功能富集

条目	靶点	p.adjust
protein kinase C activity (蛋白激酶 C 活性)	9	6.74E-19
antioxidant activity (抗氧化活性)	7	4.77E-08
peroxidase activity (过氧化物酶活性)	5	4.78E-06
oxidoreductase activity, acting on peroxide as acceptor (氧化还原酶活性)	5	5.24E-06
protein serine/threonine kinase activity (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶)	9	9.65E-06
nuclear receptor activity (核受体活性)	3	0.003 381 464
ligand-activated transcription factor activity (转录因子活性)	3	0.000 138 776
NADP binding (NADP 结合)	3	0.000 187 747
heme binding (血红素结合)	4	0.000 195 536
steroid hormone receptor activity (类固醇激素受体)	3	0.000 234 101

2.6 靶标蛋白互作网络构建

将核桃改善记忆的靶点输入到 String 数据库进行分析, 获得靶点蛋白相互作用关系网络图 (见图 2), 共有 38 个节点和 164 条相互作用连线, 节点平均自由度为 8.6。根据网络节点度排序, 关键靶点蛋白依次为 VEGFA (激素区的血管内皮生长因子 A)、PTGS2 (前列腺素 G/H 合酶 2)、CAT (抗氧化区的触酶)、MMP9 (基质金属蛋白酶 9)、RELA (转录因子 p65)、PRKCB (蛋白激酶 C beta II)、PRKCA (蛋白激酶 C α 型)。

2.7 分子对接验证

蛋白互作网络 (PPI) 中评分较高的蛋白可以认为起到重要作用, 将评分较高的潜在蛋白相对应的靶点与 KEGG 通路分析结果进行比较分析,

将核桃改善记忆的潜在靶点 PRKCA (蛋白激酶 C α 型)、PRKCB (蛋白激酶 C β 型) 作为分子对接的对象。导入 PDB 数据库, 得到 PRKCA、PRKCB 分辨率较高的蛋白结构 3iw4、2i0e。在“活性成分-记忆靶点”中选择度值较高的核桃活性成分: 鞣花酸、没食子酰葡萄糖、胡桃醌作为对接分子, 在 CB-Dock 在线平台进行对接, 以 Vina score 得分来评价对接结果 (见表 5)。Vina 是以相应的口袋参数对受体和配体进行分子对接得到复合物的得分, 这个值越低代表受体和配体亲和力越高, 对接结果越好。结果发现筛选得到的活性成分与预测的靶点均有结合, 其中鞣花酸 (ellagic acid)、没食子酰葡萄糖 (Pentagalloylglucose) 均与 PRKCA、PRKCB 靶点有较强的亲和力 (见图 3)。

表 4 核桃改善记忆靶点的 KEGG 通路

通路	p.adjust	靶点数
IL-17 signaling pathway(IL-17 信号通路)	2.22E-07	7
Relaxin signaling pathway(松弛素信号通路)	1.93E-06	7
Vascular smooth muscle contraction(血管平滑肌收缩)	2.62E-06	7
VEGF signaling pathway(血管内皮生长因子信号通路)	7.43E-06	5
NF-kappa B signaling pathway(NF-κB 信号通路)	7.95E-06	6
HIF-1 signaling pathway(低氧诱导因子 1 信号通路)	1.04E-05	6
Serotonergic synapse(5-羟色胺能突触)	1.42E-05	6
Sphingolipid signaling pathway(鞘脂信号通路)	1.73E-05	6
Endocrine and other factor-regulated calcium reabsorption(内分泌和其他因素调节钙的重吸收)	0.000 104 840	4
Glutathione metabolism(谷胱甘肽代谢)	0.000 139 526	4
TNF signaling pathway(TNF 信号通路)	0.000 166 088	5
Chemokine signaling pathway(趋化因子信号通路)	0.000 228 721	6
Rap1 signaling pathway(Rap1 信号通路)	0.000 403 661	6
Estrogen signaling pathway(雌激素信号通路)	0.000 438 983	5
EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance(酪氨酸激酶抑制剂耐药)	0.000 492 705	4
ErbB signaling pathway(ErbB 信号通路)	0.000 650 662	4
Cholinergic synapse(胆碱能突触)	0.001 882 636	4
MAPK signaling pathway(丝裂原活化蛋白激酶信号通路)	0.002 324 161	6
Long-term depression(长期抑郁)	0.002 760 842	3
Dopaminergic synapse(多巴胺能突触)	0.003 313 903	4

表 5 核桃活性成分与靶点蛋白分子对接评分

靶点	化合物	Vina 评分
3iw4	ellagic acid(鞣花酸)	-9.1
	Pentagalloylglucose(没食子酰葡萄糖)	-10.0
	Juglone(胡桃醌)	-7.1
2i0e	ellagic acid(鞣花酸)	-8.0
	Pentagalloylglucose(没食子酰葡萄糖)	-9.1
	Juglone(胡桃醌)	-6.5

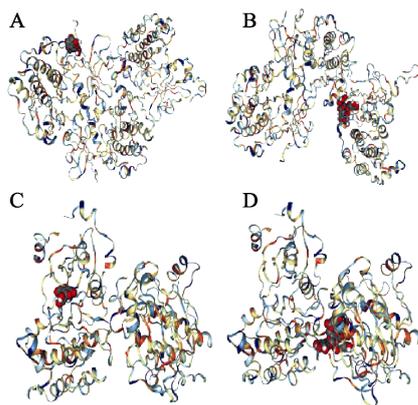


图 3 主要活性成分与靶点蛋白的分子对接

注 A: 3iw4 和 ellagic acid; B: 3iw4 和 Pentagalloylglucose;

C: 2i0e 和 ellagic acid; D: 2i0e 和 Pentagalloylglucose

Note A: 3IW4 and Ellagic Acid; B: 3IW4 and Pentagalloylglucose;

C: 2I0E and Ellagic acid; D: 2i0e and Pentagalloylglucose

3 讨论

我国核桃种植面积和产量居全国第一，品种

多样，资源丰富，一直以来是药食同源的健脑佳品。核桃可提高小鼠的学习记忆能力，可减缓 D-gal 模型小鼠的记忆障碍^[26]。核桃改善学习记忆具有多成分、多靶点的特点，本文基于网络药理学进行分析，找到核桃改善记忆的物质基础和重要靶点。筛选得到 8 个核桃的活性成分，如鞣花酸、胡桃醌、没食子单宁等，对应 38 个核桃改善记忆的靶点，核桃活性成分通过协同作用与记忆相关的靶点，有前列腺素环氧合酶、蛋白激酶 C α 型、蛋白激酶 C δ 和蛋白激酶 C γ 型等，其中前列腺素环氧合酶-2 可以将花生四烯酸酯转化为前列腺素 H₂ (PGH₂)，前列腺素可调节大鼠海马组织 VEGF、BDNF 蛋白的表达，并可改善痴呆大鼠的记忆功能^[27]，蛋白激酶 C 是丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶家族一员，是信号转导通路的中心分子之一，参与调节细胞增殖、分化等多种生物代谢的功能。其中枢神经系统中起重要作用^[28]，PRK 是突触功能调节器，包括调节突触合成、囊泡充填及多种神经递质的释放。同时活化的 PKC 能增加海马乙酰胆碱的释放^[29]。此外，PKC 的活化还能增强乙酰胆碱转移酶活性，导致乙酰胆碱形成增多进而参与学习记忆的形成过程。这些核桃改善记忆的靶点涉及的生物学过程主要包括抗

氧化过程的调节、蛋白激酶 C 的活性、配体激活的转录因子活性、核转录因子的活性等, 这些生物学过程通过协同作用来改善记忆。

通过对改善记忆的靶点进行 KEGG 通路富集, 主要作用 20 条通路, 如血管平滑肌收缩信号通路 (调节靶点蛋白 PRKCB、PRKCA 等蛋白激酶家族的蛋白进行传导)、NF- κ B 信号通路、5-羟色胺能突触、谷胱甘肽代谢等, 其中 MAPK 信号通路 (PRKCB、PRKCA 等涉及到 6 个靶蛋白), MAPK 是联系细胞膜受体与细胞内重要调节靶目标的进化保守的酶类, 可以调节 AD 中的标志物 Tau 蛋白, 防止其过度磷酸化^[30]。前人研究发现 Tau 蛋白发生过度磷酸化是由于体内蛋白激酶引起, 而促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 在 Tau 蛋白磷酸化中占有重要的位置^[31-32]。Goldin 发现 MAPK/ERK 对海马神经元树突棘结构的形成与变化具有调控作用, 此过程可能与中枢神经系统信息的长期存储功能有关^[33]。

本文通过网络药理学研究核桃改善记忆多靶点、多成分和多通路间复杂的相互关系, 同时采用分子对接对核桃活性成分和改善记忆的潜在靶点的结合能力进行验证, 发现鞣花酸、没食子酰葡萄糖均与 PRKCA、PRKCB 有较强的亲和力。核桃作为保健食品, 目前的研究主要集中在核桃产品开发的工艺上, 对核桃改善记忆的功能研究还较少, 本文为核桃改善记忆的物质基础分析和作用机制的研究提供了理论基础, 为核桃全产业链开发提供新思路。

参考文献:

- [1] 杨静. 认知重构干预与记忆策略训练对健康老年人的记忆功能的影响研究[D]. 西南大学, 2013.
YANG J. Research on the influence of cognitive reconstruction intervention and memory strategy training on memory function in healthy elderly[D]. Southwest University, 2013.
- [2] 李玺, 乔成林, 张雪飞. 脑尔康对老年痴呆小鼠学习记忆障碍及脑 M 受体的影响[J]. 中华中医药杂志, 2001, 16(5): 24-27.
LI X, QIAO C, ZHANG X F. Effect of Naoerkang on learning and memory impairment and brain M receptor in senile dementia mice[J]. Chinese Journal of Chinese Medicine, 2001, 16(5): 24-27.
- [3] MUTHAIYAH B, ESSA M M, CHAUHAN V, et al. Protective effects of walnut extract against amyloid beta peptide-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells[J]. Neurochem Res, 2011, 36(11): 2096-2103.
- [4] 谢云亮. 五味子有效成分分离纯化及对记忆障碍模型小鼠学习记忆的影响[D]. 吉林大学, 2013.
XIE Y L. Isolation and Purification of effective components of Schisandra Chinensis and its effect on learning and memory in mice with memory impairment[D]. Jilin University, 2013.
- [5] 张天财. 鲜核桃保鲜及核桃种皮中多酚化合物的测定、纯化及功能研究[D]. 昆明理工大学, 2014.
ZHANG T C. Preservation of fresh walnut and determination, purification and functional study of polyphenols in walnut seed shell[D]. Kunming University of Science and Technology, 2014.
- [6] 程翠林, 王振宇, 赵海田, 等. 核桃资源功能研究与开发现状[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(13): 128-133.
CHENG C L, WANG Z Y, ZHAO H T, et al. Functional research and development of walnut resources[J]. Food Research and Development, 2013, 34(13): 128-133.
- [7] 严贤春. 核桃保健食品的开发利用研究[J]. 食品研究与开发, 2003(6): 85-87.
YAN X C. Development and utilization of walnut health food [J]. Food Research and Development, 2003(6): 85-87.
- [8] 彭静. 涤痰汤改善痰浊证老年 MCI 模型大鼠学习记忆及突触可塑性的研究[D]. 湖北中医药大学, 2019.
PENG J. Study on improvement of learning, memory and synaptic plasticity of MCI model rats with Phlegm-Turbidity syndrome in the elderly[D]. Hubei University of Chinese Medicine, 2019.
- [9] 韩星, 李雪岩, 杨海洋, 等. 基于网络药理学方法研究枸杞子抗癌作用机制[J]. 中国医院药学杂志: 1-7.
HAN X, LI X Y, YANG H Y, et al. Research on anti-cancer mechanism of Chinese wolfberry fruit based on network pharmacology method[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy: 1-7.
- [10] 雷升. 基于数据挖掘及网络药理学探究中药治疗膝骨关节炎的用药规律[D]. 山西中医药大学, 2020.
LEI S. Based on data Mining and network pharmacology, to explore the law of traditional Chinese medicine in the treatment of knee osteoarthritis[D]. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, 2020.
- [11] 汪亚楠, 李思齐, 岳一强, 等. 基于网络药理学的苓桂术甘汤治疗阿尔茨海默病的潜在作用机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5812-5822.
WANG Y N, LI S Q, YUE Y Q, et al. Research on the potential mechanism of action of Ling GUI Zhugan Decoction in the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology[J]. Chinese Herbal Medicine, 2019, 50(23): 5812-5822.
- [12] 陶晓倩, 张新庄, 李娜, 等. 网络药理学方法研究赤芍和黄柏干预阿尔茨海默病的作用机制[J]. 中草药, 2015, 46(11): 1634-1639.
TAO X Q, ZHANG X Z, LI A, et al. Effect of red peony root and Phellodendron chinensis on the intervention mechanism of Alzheimer's disease[J]. Chinese Herbal Medicine, 2015, 46(11): 1634-1639.
- [13] 秦一冰, 曲妮妮, 郑忻, 等. 基于网络药理学探讨柴胡-黄芩治疗新型冠状病毒肺炎的作用机制[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 10-13.
QIN Y B, QU N N, ZHENG X, et al. Discussion on the mechanism of action of Chaihu and Scutellaria baicalensis on the treatment of COVID-19 based on network pharmacology [J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 38(6): 10-13.

- [14] 浦强, 徐巍龙, 李楠, 等. 基于网络药理学芪葵颗粒治疗糖尿病肾病的物质基础及作用机制研究[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5767-5777.
 PU Q, XU W L, LI N, et al. Study on the material basis and mechanism of action of Qi Kui Granules in the treatment of diabetic nephropathy based on network pharmacology[J]. Chinese Herbal Medicine, 2019, 50(23): 5767-5777.
- [15] LINGYAN Y, ZHITONG B, JIANI H, et al. Study on the anti-tumor mechanism related to immune microenvironment of Bombyx Batryticatus on viral and non-viral infections of hepatocellular carcinoma[J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2020, 124: 109838.
- [16] 吕霄晗, 宁炫, 王博, 等. 基于网络药理学研究红核妇洁洗液中酸性成分治疗阴道炎的机制[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(3): 356-361.
 LU X X, NING X, WANG B, et al. Research on the mechanism of the acidic components in red core Fujie Lotion in the treatment of vaginitis based on network pharmacology[J]. Northwestern Pharmaceutical Journal, 2020, 35(3): 356-361.
- [17] SUN J H, SUN F, YAN B, et al. Data mining and systematic pharmacology to reveal the mechanisms of traditional Chinese medicine in Mycoplasma pneumoniae pneumonia treatment[J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2020, 125: 109900.
- [18] 欧海亚, 叶小鹏, 纪意纯, 等. 基于网络药理学的白头翁汤治疗溃疡性结肠炎作用机制研究[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(10): 2438-2443.
 O H Y, YE X P, JI Y I C, et al. Study on the mechanism of Action of Baotou Weng Decoction in the treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(10): 2438-2443.
- [19] R L, C S, Y X, et al. Identifying potential active components of walnut leaf that action diabetes mellitus through integration of UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and network pharmacology analysis[J]. Journal of ethnopharmacology, 2020, 253: 112659.
- [20] 袁胜男, 袁冲, 余兵, 等. 基于网络药理学的乌药汤治疗原发性痛经的作用机制研究[J]. 中国医院药学杂志, 1-8.
 YUAN S N, YUAN C, YU B, et al. Research on the mechanism of action of Wuyao Decoction in the treatment of primary dysmenorrhea based on network pharmacology[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 1-8.
- [21] 李悦悦, 章斌, 陈慧瑾. 基于网络药理学和分子对接技术预测复方绞股蓝胶囊治疗口腔扁平苔藓的分子机制[J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(4): 530-536.
 LI Y Y, ZHANG B, CHEN H J. Prediction of the molecular mechanism of compound Gynostosis capsule in the treatment of oral lichen planus based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2020, 36(4): 530-536.
- [22] 刘辉, 潘鹏宇, 王姣, 等. 基于网络药理学分析头痛宁治疗蛛网膜下腔出血的机制研究[J]. 中华中医药学刊, 1-12.
 LIU H, PAN P Y, WANG J, et al. Analysis of the mechanism of Headache ning in the treatment of subarachnoid hemorrhage based on network pharmacology[J]. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 1-12.
- [23] 施岚尔, 聂课朝, 张文婧, 等. 基于网络药理学的丹参治疗 2 型糖尿病作用机制研究[J]. 中药材, 2020(2): 444-451.
 SHI L E, NIE K C, ZHANG W J, et al. Mechanism of action of Salvia miltiorrhiza in the treatment of type 2 diabetes based on network pharmacology[J]. Chinese Medicinal Materials, 2020(2): 444-451.
- [24] 王继凤, 郭文军, 阚默, 等. 基于网络药理学的人参活性成分治疗阿尔茨海默病的作用机制研究[J]. 吉林中医药, 2019, 39(12): 1650-1653.
 WANG J F, GUO W J, KAN M, et al. Study on the mechanism of action of ginseng active component in the treatment of Alzheimer's disease based on network pharmacology[J]. Jilin Chinese Medicine, 2019, 39(12): 1650-1653.
- [25] ZHU N, HOU J. Exploring the mechanism of action Xianlingubao Prescription in the treatment of osteoporosis by network pharmacology[J]. Computational biology and chemistry, 2020, 85: 107240.
- [26] JI L, DAN C, ZUKUN W, et al. Protective effect of walnut on d-galactose- induced aging mouse model[J]. Food Science & Nutrition, 2019.
- [27] 刘博会, 张素平, 凌莉, 等. 前列腺素 E1 上调血管性痴呆大鼠海马组织 VEGF、BDNF 的表达[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2015, 41(8): 471-476.
 LIU B H, ZHANG S P, LING L, et al. Prostaglandin E1 up-regulates the expression of VEGF and BDNF in hippocampal tissue of vascular dementia rats [J]. Chinese Journal of Neuropsychiatric Disorders, 2015, 41(8): 471-476.
- [28] 刘志娟. 蛋白激酶 C 对学习记忆能力的影响[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2015, 42(5): 463-466.
 LIU Z J. Effect of protein kinase C on learning and memory ability[J]. International Journal of Neurosurgery, 2015, 42(5): 463-466.
- [29] GILDEA J J, PENG X, A K B, et al. The dopamine D receptor and angiotensin II type-2 receptor are required for inhibition of sodium transport through a protein phosphatase 2A pathway[J]. Hypertension (Dallas, Tex.: 1979), 2019, 73(6): 1258-1265.
- [30] 张敏, 徐桂华, 王维新, 等. 电针调控 p38MAPK 通路降低 AD 大鼠海马磷酸化 tau 蛋白表达的研究[J]. 南京中医药大学学报, 2015, 31(3): 261-264.
 ZHANG M, XU G H, WANG W X, et al. Electroacupuncture regulation of p38MAPK pathway to reduce hippocampal tau protein expression in AD rats[J]. Journal of Nanjing University of Chinese Medicine, 2015, 31(3): 261-264.
- [31] 龚平原. 多巴胺、5-羟色胺和谷氨酸递质系统相关基因与人类认知能力的关系研究[D]. 西北大学, 2010.
 GONG P. Research on the relationship between dopamine, 5-hydroxytryptamine and glutamate transmitter system and human cognitive ability[D]. Northwestern University, 2010.
- [32] KIROUAC L, RAJIC A J, CRIBBS D H, et al. Activation of Ras-ERK signaling and GSK-3 by amyloid precursor protein and amyloid beta facilitates neurodegeneration in alzheimer's disease[J]. eNeuro, 2017, 4(2).
- [33] GOLDIN M, SEGAL M. Protein kinase C and ERK involvement in dendritic spine plasticity in cultured rodent hippocampal neurons[J]. Eur J Neurosci, 2003, 17(12): 2529-2539. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。