

姜黄素衍生物Cur20通过抑制乙酰胆碱酯酶改善阿尔茨海默病小鼠的记忆和认知能力实验研究

李晓晖¹, 王艳霞¹, 董依依¹, 郑贝贝², 冯 硕², 岑 娟^{1, 2*}

1. 河南大学第一附属医院, 河南 开封 475000

2. 河南大学, 河南 开封 475004

摘要: 目的 研究姜黄素类似物Cur20对乙酰胆碱酯酶(AChE)的作用, 评价其对阿尔茨海默病(AD)的治疗潜力。方法 昆明小鼠随机分4组: 对照组、模型组、姜黄素($20\ \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$)组和Cur20($20\ \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$)组, 每天ig给药1次, 给药体积 $10\ \text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$, 除对照组外, 其他各组小鼠每次给药30 min后ip东莨菪碱 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 制备AD模型, 共给药16 d。第11天开始进行5 d的Morris水迷宫实验, 第16天进行Y迷宫实验, 检测小鼠的行为认知情况; 第17天处死小鼠, 取脑分离出海马组织, 试剂盒检测乙酰胆碱(ACh)含量; 体外实验检测姜黄素和Cur20对AChE、丁酰胆碱酯酶(BuChE)活性的影响; 分子对接实验预测Cur20与AChE的作用模式。结果 小鼠实验结果表明, 与模型组比较, Cur20在总游泳距离、游泳速度无显著差异的情况下, 能够显著降低水迷宫的逃避潜伏期、增加目标象限的停留时间和路程比例($P<0.05, 0.01$), 明显增加平台穿越次数; 在入臂次数无显著性差异的情况下, Cur20组小鼠的自发交替率明显升高; Cur20组海马组织ACh水平显著升高($P<0.01$)。体外实验结果表明, Cur20对AChE的半数抑制浓度(IC_{50})为 $(32.44\pm 4.46)\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cur20对BuChE抑制率为 $(-1.8\pm 2.3)\%$, Cur20对AChE的抑制作用具有良好的选择性。分子对接实验表明Cur20能与AChE的活性部位结合。结论 Cur20能抑制AChE活性、提高ACh含量, 显著改善东莨菪碱所致学习记忆损伤, 可能是一种潜在的治疗AD的药物。

关键词: 姜黄素衍生物Cur20; 阿尔茨海默病; 乙酰胆碱酯酶; Morris水迷宫; Y迷宫; 分子对接

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2022) 03-0449-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.03.007

Study on curcumin derivatives Cur20 improving memory and cognitive ability of Alzheimer's mice by inhibiting acetylcholinesterase

LI Xiaohui¹, WANG Yanxia¹, DONG Yiyi¹, ZHENG Beibei², FENG Shuo², CEN Juan^{1, 2}

1. The First Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475000, China

2. Henan University, Kaifeng 475004, China

Abstract: Objective To study the effect of curcumin derivatives Cur20 on AChE and evaluate its therapeutic potential for Alzheimer's disease (AD). **Methods** Kunming mice were randomly divided into four groups: Control group, model group, curcumin ($20\ \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) group and Cur20 ($20\ \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) group, mice were ig administered once a day at a volume of $10\ \text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ for a total of 16 days. Except for control group, mice in other groups were given scopolamine $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ to prepare AD model. Morris water maze test for five days began on day 11, and Y maze test was performed on day 16 to detect the behavioral cognition of mice. On the 17th day, the mice were sacrificed and the hippocampal tissue was isolated from the brain. The ACh content was detected by kit method. The effects of curcumin and Cur20 on the activities of AChE and BuChE were detected *in vitro*. Molecular docking experiment predicted the interaction mode between AChE and Cur20. **Results** Compared with model group, Cur20 could significantly reduce the escape latency of water maze, increase the residence time and swimming distance in the target quadrant ($P<0.05$ and 0.01), and increase the number of platform crossings, when there was no significant difference in total swimming distance and swimming speed. Besides, the percentages of spontaneous alterations in Y maze in Cur20 group was increased than that of model group, while the number of entering the arm was of no significant differences. Moreover, Cur20 showed selective inhibition

收稿日期: 2021-09-06

基金项目: 河南省医学科技攻关计划(联合共建项目)(LHGJ20190504); 河南省自然科学基金资助项目(202300410038); 河南省教育厅科学技术研究重点项目资助计划(21A350002)

第一作者: 李晓晖(1977—), 男, 副主任医师, 研究方向为神经病学。Tel: 13837871229 E-mail: lixiaohui7753@163.com

*通信作者: 岑 娟, 女, 教授, 主要从事神经药理学研究。E-mail: cenjuan@vip.henu.edu.cn

on acetylcholinesterase, while molecular docking experiment revealed that it could combine with the active site of acetylcholinesterase to exert inhibitory effect. **Conclusion** Cur20 can inhibit the activity of acetylcholinesterase, increase the content of acetylcholine, and significantly improve the learning and memory damage caused by scopolamine. Cur20 may be a potential drug for the treatment of dementia, especially for Alzheimer's disease.

Key words: curcumin derivatives; Alzheimer's disease; acetylcholinesterase inhibitor; Morris water maze; Y maze; molecular docking

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是最常见的一种神经退行性疾病,其发病率近年来在发展中国家中急剧上升^[1]。在海马及相关脑区,胆碱能神经元的选择性变性显著影响认知功能,尤其是记忆,从而导致AD的不可逆进展^[2]。除了神经退行性变,公认的病理生理学特征还包括 β 淀粉样蛋白(A β)的细胞外沉积,tau蛋白的细胞内聚集,最终导致神经原纤维缠结。虽然AD的确切病理机制尚未完全揭示,但许多研究发现胆碱能障碍与记忆和认知障碍密切相关。在美国食品和药物管理局(FDA)批准的目前可用于AD治疗的有限药物中,乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂占优势^[3]。但这些药物仍然无法逆转AD进程,临床上仍对AD的药物研发需求巨大。

中药为现代药物开发提供了重要来源和新的契机。天然产物有效成分则以其多靶、高效、低毒等作用特点成为新药研发的重要源头。姜黄素是一种天然类色素,在姜黄根中含量较高,具有广泛的抗氧化、抗炎等生物活性,因其对癌症、心血管疾病、呼吸系统疾病、传染病、糖尿病、肥胖症、代谢综合征和神经系统疾病等的疗效而受到越来越多的关注。但姜黄素不稳定,易降解,质量难以控制。虽然加入脱甲氧基姜黄素或十二烷基硫酸钠可以提高姜黄素的稳定性,但添加剂的使用不仅增加了生产成本,还带来了各种不安全风险^[4]。因此,本课题组通过对姜黄素不稳定部分的修饰,合成了一系列姜黄素衍生物^[5]。其中Cur20(结构式见图1)具有极佳的水解稳定性,又保留了与姜黄素相似的生物活性,前期研究证明其对缺血性痴呆大鼠具有较好的抗氧化和促血管生成作用^[6],表明其在药物开发中具有广阔的应用前景。

大量研究表明,姜黄素及其衍生物对神经退行性疾病[包括AD、血管性痴呆(VD)、帕金森病、亨廷顿病和卒中]均具有很强的保护作用,其作用机制主要涉及抗炎、抗氧化、抗淀粉样变抑制了可溶性tau二聚体等^[7-8]。本实验研究姜黄素类似物Cur20对胆碱酯酶的作用,评价其对AD的治疗潜力。

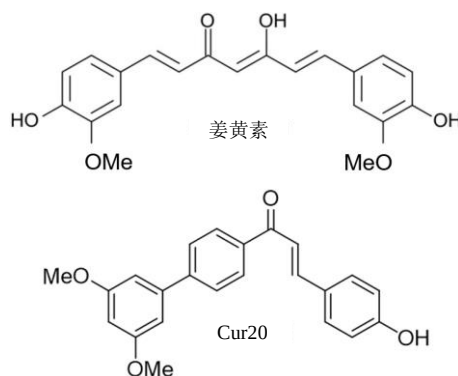


图1 姜黄素及其衍生物Cur20的结构

Fig. 1 Structure of curcumin and its derivative Cur20

1 材料

1.1 药品与主要试剂

姜黄素(东京化成工业株式会社,质量分数>97.0%,货号GG01);Cur20为本实验室合成,质量分数大于98%;水合氯醛(天津市光复精细研究所,分析纯);抗生素(深圳华药南方制药有限公司);羧甲基纤维素钠(CMC-Na)(天津市科密欧化学试剂有限公司,分析纯);医用碘伏(洛阳市尚春生物科技有限公司);东莨菪碱(Adamas试剂公司,货号P1185590);乙酰胆碱(ACh)、总蛋白定量试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;测试所用的AChE、丁酰胆碱酯酶(BuChE)、碘化硫代乙酰胆碱酯酶(ACI)、碘化硫代丁酰胆碱酯酶(BCI)、二硫代二硝基苯甲酸(DTNB)均购自美国Sigma公司;磷酸二氢钾及其他试剂购自阿拉丁。

1.2 主要仪器

电子天平(慈溪市天东衡器厂,型号HX501);分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,型号BSA224S-CW];自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂,型号SZ-93);超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,型号KQ-500E);恒温磁力搅拌器(江苏中大仪器厂,型号85-2);立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂,型号LDZX-75KB);Morris水迷宫视频分析系统(北京众实迪科技发展有限公司,型号ZS-001);Y迷宫视频分析系统(北京众实迪科技发展有限公司,型号ZS-MGY);水迷宫、Y迷宫及Panlab Smart小动物行为

记录分析系统(瑞沃德生命科技有限公司);1500-831型全长酶标仪(Thermo Fisher Scientific)。

1.3 实验动物

雄性昆明小鼠,购自河南省实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(豫)2015-0004,体质量20~25 g,6~9周龄,动物饲养温度(22±1)℃,12 h明暗循环,分笼饲养并自由饮水饮食。所有行为学的实验均在10:00—17:00时进行。遵循的程序符合国家及提供实验动物单位的实验动物福利规则和制度,动物实验获得河南大学医学伦理与实验动物福利委员会批准,批准号为HUSOM2016-97。

2 方法

2.1 动物分组、给药、造模及行为学检测

2.1.1 动物分组、给药、造模 小鼠随机分4组,分别为对照组、模型组、姜黄素(20 μmol·kg⁻¹)组和Cur20(20 μmol·kg⁻¹)组。姜黄素和Cur20使用0.5%的羧甲基纤维素钠混悬后ig给药,给药体积10 mL·kg⁻¹,剂量参考前期Cur20在缺血性痴呆模型中的有效剂量设置^[6],除对照组外,其他各组小鼠每次给药30 min后ip东莨菪碱1 mg·kg⁻¹制备AD模型^[9],共给药16 d。

2.1.2 水迷宫实验 第11天开始对小鼠进行5 d的水迷宫实验^[10]。水迷宫由1个直径150 cm、高50 cm,水温20℃的池子,摄像头及行为分析系统组成。水迷宫的水池水深30 cm,在距水面1.5 cm处放置直径10 cm的1个逃离平台。水迷宫的定位航行试验为4 d,每天训练4次,每次试验间隔30 min以上。每次随机将小鼠从池子的4个不同象限放入水中,用自动跟踪系统记录小鼠发现平台的潜伏时间,实验不超过90 s,计算每天的平均潜伏期。水迷宫第5天为空间探索实验,撤除平台后将小鼠随机从平台对面的象限面向并靠近池壁放入水中,记录90 s内小鼠寻找原平台的运动轨迹并记录其在原平台穿越次数。实验期间保持平台位置、实验环境及参照物基本不变。

2.1.3 Y迷宫实验 第16天对小鼠进行Y迷宫实验^[11]。Y迷宫为三等分辐射式迷宫,每臂长40 cm,宽3 cm,壁高12 cm,每臂之间呈120°角。每只小鼠测试时置于其中一臂的末端,让其在迷宫中自由活动8 min,记录小鼠进入3条臂的总次数以反映小鼠的活动能力,及运动中的特异臂转移顺序(如CBA、BAC、ABC,而不算ABA,作为1次交替)以反映短时记忆。每次测试之后清理残留物。

交替率=交替次数/(总进入次数-2)

2.1.4 海马组织中ACh水平检测 第17天处死小

鼠,同时取脑分离出海马组织,称质量,在冰浴下制成10%的海马组织匀浆,2 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液冷藏备用,按照试剂盒的说明书检测海马组织匀浆液中ACh含量^[12]。小鼠实验流程见图2。

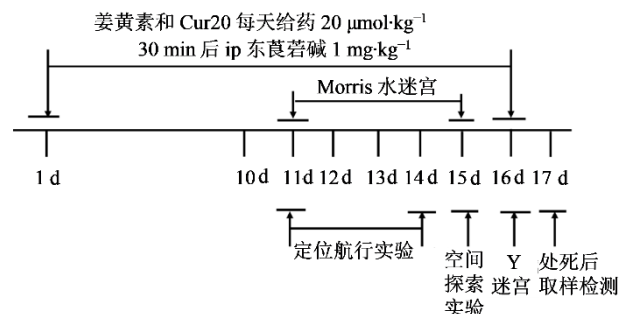


图2 小鼠实验流程图

Fig. 2 Flow chart of mouse experiment

2.2 体外检测胆碱酯酶活力

配制pH=7.4的磷酸二氢钾缓冲液:精确称取磷酸二氢钾1.36 g,加入0.1 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液79 mL,加水稀释至200 mL即可。现配现用AChE、BuChE:采用配制的磷酸二氢钾缓冲液稀释至0.2 U·mL⁻¹。DTNB、ACI、BCI也用磷酸二氢钾缓冲液稀释至1 mmol·L⁻¹即可。姜黄素和Cur20先用DMSO配制为10 mmol·L⁻¹溶液,再用磷酸二氢钾缓冲液稀释至50、100、500、750、1 000 μmol·L⁻¹,加入反应体系后使所测药物终浓度为5、10、50、75、100 μmol·L⁻¹。反应体系设置如下:96孔板每孔加入25 μL的PBS,25 μL的ACI或BCI,125 μL的DTNB,25 μL的待测样品,然后加入50 μL的AChE或BuChE,空白组用水代替待测样品和酶,对照组用水代替待测样品。37℃反应15 min后,应用酶标仪于405 nm处测定吸光度(A)值,根据不同浓度下的抑制率计算半数抑制浓度(IC₅₀)。实验重复3次。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.3 分子对接

使用ChemBio3D ultra(美国剑桥软件公司,16.0版)生成并优化Cur20的结构;使用Sybyl-X 2.1.1进行对接研究,4EY7.pdb1代表AChE结构^[13],蛋白质结构的制备包括添加氢原子和去除水分子。Surflex Dock模块用于化合物的选择和形态预测。化合物Cur20的对接形态使用PyMOL(美国纽约Schrödinger公司,0.99rc6版)进行可视化。

2.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据用SPSS 17.0统计软件处理,各组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 水迷宫结果比较

如图3所示,与对照组比较,水迷宫实验第2、3、4天模型组小鼠的逃避潜伏期显著增加($P<0.01$),说明造模成功;与模型组比较,姜黄素组第2、3、4天和Cur20组第2、4天小鼠的逃避潜伏期显著缩短($P<0.05$ 、 0.01)。随着训练时间的延长,各组小鼠的逃避潜伏期均逐渐缩短,其中对照组的缩短幅度较大,给药组也呈缩短趋势。

与对照组比较,模型组小鼠的平台穿越次数、目标象限路程比例、目标象限时间比例均显著减少($P<0.01$)。与模型组比较,姜黄素组的平台穿越次数显著增加($P<0.01$),Cur20组小鼠的平台穿越次数有所增加,与姜黄素组比较无显著性差异;姜黄素组和Cur20组小鼠目标象限路程比例、目标象限时间比例均显著增加($P<0.01$)。

结果表明,Cur20在总游泳距离、游泳速度无显著差异的情况下,能够降低AD小鼠水迷宫的逃避潜伏期、增加平台穿越次数、增加目标象限的停留

时间和路程比例。

3.2 Y迷宫结果比较

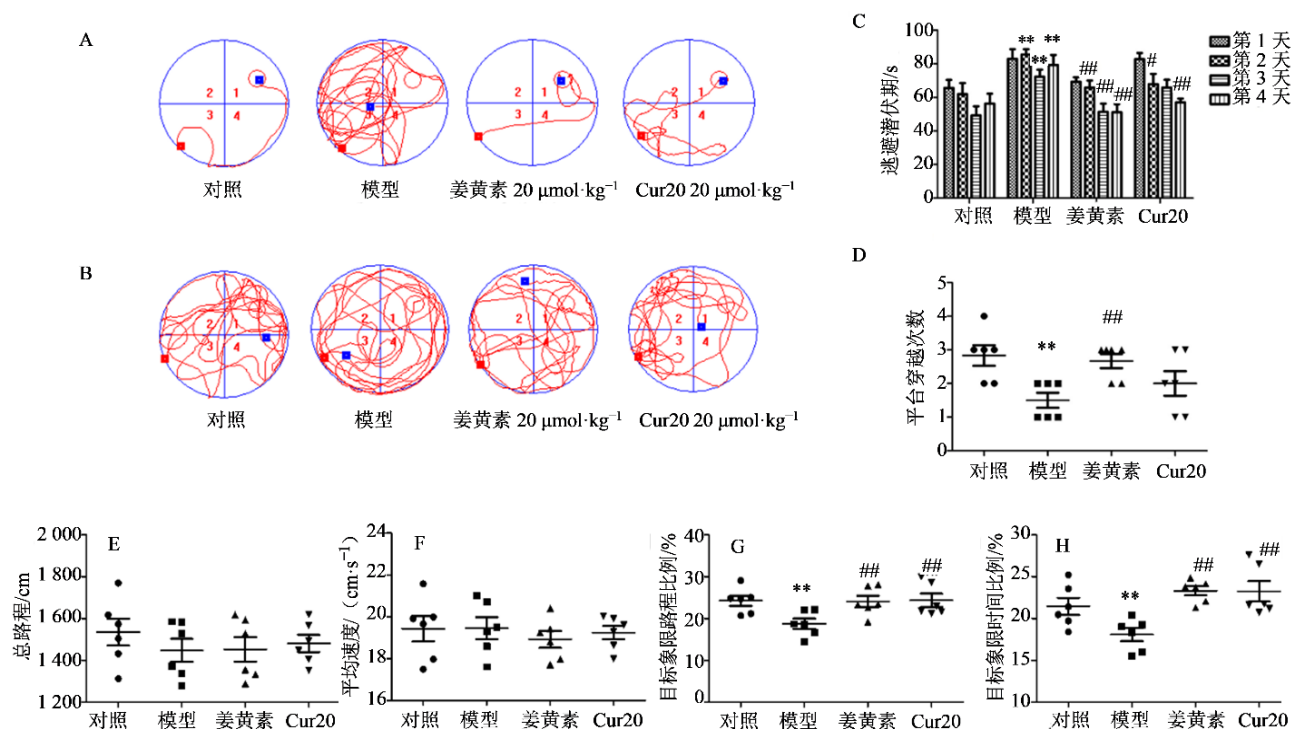
如图4所示,各组小鼠的总进入次数无显著性差异。与对照组比较,模型组小鼠的自发交替率显著降低($P<0.01$),证实造模成功。与模型组比较,姜黄素组小鼠的自发交替率显著增加($P<0.05$),Cur20组小鼠的自发交替率呈升高趋势,但无统计学差异,与姜黄素比较无显著性差异。

3.3 ACh的含量变化

在体检测海马中ACh含量,与对照组比较,模型组ACh水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,姜黄素组和Cur20组ACh水平显著升高($P<0.01$)。结果提示,Cur20可通过抑制AChE发挥增加脑内ACh含量的作用,其作用与姜黄素相似。结果见表1。

3.4 胆碱酯酶活性及ACh的含量变化

姜黄素对AChE的 IC_{50} 为 $(74.12 \pm 6.84) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,Cur20对AChE的 IC_{50} 为 $(32.44 \pm 4.46) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素和Cur20对BuChE抑制率分别



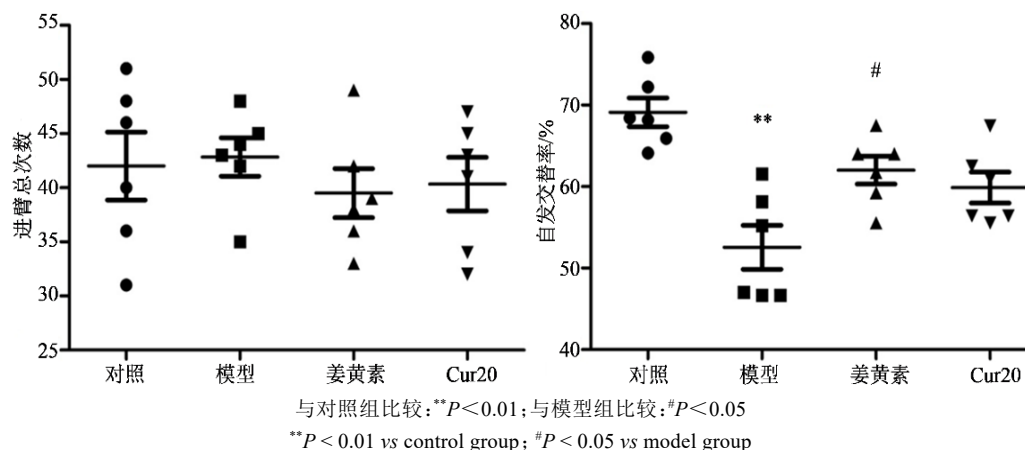
定位航行试验第4天(A)、空间探索实验(B)各组小鼠的代表性游泳轨迹;定位航行试验中小鼠的逃避潜伏期(C);空间探索实验中小鼠在90 s内的平台穿越次数(D)、小鼠的游泳总路程(E)、小鼠的游泳平均速度(F)、小鼠在目标象限游泳路程占总路程的百分比(G)、小鼠在目标象限游泳时间占总时间的百分比(H);与对照组比较: $**P<0.01$;与模型组比较: $^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$

Representative swimming track of mice in each group on 4th day of navigation test (A) and space exploration test (B). Escape latency of mice in navigation test (C). Number of platform crossings of the mice within 90 s (D), total swimming distance (E), average swimming speed (F), percentage of swimming distance in target quadrant (G), percentage of swimming time in target quadrant (H) in space exploration test. $**P<0.01$ vs control group;

$^{\#}P<0.05$ $^{\#\#}P<0.01$ vs model group

图3 Morris水迷宫检测Cur20对AD小鼠空间学习记忆的改善作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Cur20 improves spatial learning and memory in AD mice by Morris water maze test ($\bar{x} \pm s, n=6$)

图4 Y迷宫检测Cur20对AD小鼠工作记忆的改善作用($\bar{x} \pm s, n=6$)Fig. 4 Cur20 improves working memory in AD mice by Y maze test ($\bar{x} \pm s, n=6$)表1 AD小鼠海马内ACh含量($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 Content of ACh in hippocampus of Alzheimer's mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/($\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)	ACh/($\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)
对照	—	72 $\pm$ 5
模型	—	29 $\pm$ 6**
姜黄素	20	66 $\pm$ 9##
Cur20	20	63 $\pm$ 7##

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ ** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group

为(3.2 $\pm$ 1.8)%和(-1.8 $\pm$ 2.3)%。结果提示, Cur20对AChE的选择性抑制作用显著优于姜黄素。

3.5 分子对接结合模式预测

Cur20与AChE的结合模式预测结果如图5所示, Cur20两端的芳香基团形成良好 π - π 相互作用: 一个叠合在活性中心的Trp86位点上, 另一个叠合在外周阴离子中心的Trp286位点上。此外, Cur20中间的苯环与Tyr341位点同样形成 π - π 相互作用。而Cur20的4-羟基苯基与His447位点也形成了潜在的T形 π - π 相互作用。Cur20可能以上述模式对AChE发生了抑制作用。

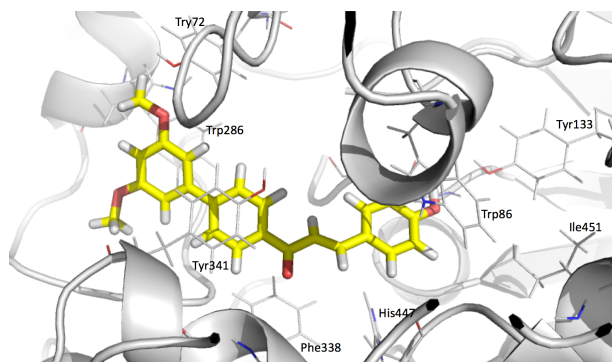


图5 Cur20与AChE(4EY7.pdb1)的结合构型预测

Fig. 5 Binding configuration prediction of AChE (4EY7.pdb1) with Cur20

4 讨论

随着人口的老龄化、饮食结构的改变, 心脑血管病的发病率逐年升高, 痴呆患者也逐渐增多。痴呆是一种智能障碍综合症, 涉及不同程度的认知、情绪、语言、意识障碍。痴呆严重损害患者健康, 影响患者的生命质量, 也给社会和家庭带来沉重的负担, 然而目前世界各国对控制此病的病程进展尚无有效方法和药物。

痴呆的类型主要包括: AD(约占痴呆总人数的50%~60%)、VD(约占痴呆总人数的10%~20%)及“混合型”痴呆(AD+脑血管病)等。近年研究表明, 血管性危险因素在VD和AD的发病中均扮演着重要角色, 因此有理论认为VD与AD可能并非2个独立疾病, 这为抗痴呆的药物研发提供了参考^[14]。

本课题组前期为了解决姜黄素的水解不稳定性对姜黄素进行了结构改造, 合成了一系列具有高水解稳定性的化合物^[5]。经活性筛选获得Cur20, 发现其保留了姜黄素的抗炎、抗氧化活性, 且具有姜黄素不具备的促血管生成作用。实验结果表明Cur20对VD大鼠具有比姜黄素更为优越的神经保护作用 and 认知功能恢复作用^[6]。

本研究以痴呆的另一种主要类型AD为主要研究对象, 揭示Cur20的潜在作用。由于ACh是胆碱能系统的神经递质, M胆碱能突触是学习记忆产生的基础。因此M受体拮抗剂东莨菪碱能特异性阻断记忆的转移过程, 干扰记忆的形成。东莨菪碱诱导的AD模型是一个成熟的、常用的疾病模型, 用于参数化行为和认知损伤研究^[15-16]。因此, 本研究以姜黄素为阳性对照, 揭示了Cur20对东莨菪碱诱导的小鼠认知障碍的行为学改善作用。尽管BuChE近年来也被认为可以通过调控ACh含量改善AD,

但经典胆碱酯酶抑制剂仍关注对AChE的选择性作用^[8]。本实验测定了Cur20的体外胆碱酯酶抑制活性和体内对ACh的含量影响,并通过分子对接实验进一步分析了其与AChE的结合方式。实验结果表明,对AD模型动物,Cur20保留了与姜黄素相似的行为学改善作用,且对AChE的体外抑制活性、对AChE的选择性抑制作用均优于姜黄素。由于Cur20具有优越的水解稳定性,Cur20作为新型姜黄素类似物进行成药开发的前景巨大,本研究结果为进一步开发姜黄素衍生物Cur20提供了重要参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Simunkova M, Alwasel S H, Alhazza I M, et al. Management of oxidative stress and other pathologies in Alzheimer's disease [J]. Arch Toxicol, 2019, 93(9): 2491-2513.
- [2] Bellozi P M Q, Campos A C, Viegas F P D, et al. New multifunctional AChE inhibitor drug prototypes protect against A β -induced memory deficit [J]. Neurol Sci, 2020, 41(2): 451-455.
- [3] Saxena M, Dubey R. Target enzyme in Alzheimer's disease: Acetylcholinesterase inhibitors [J]. Curr Top Med Chem, 2019, 19(4): 264-275.
- [4] 韩刚,毕瑞,全乐,等.去甲氧基姜黄素对姜黄素稳定作用的研究[J].中药材,2008,31(4): 592-594.
Han G, Bi R, Quan L, et al. Study on effect of demethoxycurcumin in Curcuma long on stability of curcumin [J]. J Chin Med Mater, 2008, 31(4): 592-594.
- [5] 张峰,陈敬清,岑娟,等.具有高水解稳定性的姜黄素类似物的抗多药耐药肿瘤作用研究[J].中草药,2014,45(12): 1736-1742.
Zhang F, Chen J Q, Cen J, et al. Study on curcumin analogues with high hydrolytic stability against multidrug-resistant tumor [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2014, 45(12): 1736-1742.
- [6] Zhang R F, Zhao T K, Zheng B B, et al. Curcumin derivative Cur20 attenuated cerebral ischemic injury by antioxidant effect and HIF-1 α /VEGF/TFEB-activated angiogenesis [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 648107.
- [7] 赵爽,程学敏,黎海娟,等.姜黄素干预中枢神经系统疾病生物学机制研究进展[J].中草药,2016,47(3): 512-518.
Zhao S, Cheng X M, Li H J, et al. Research progress on biological mechanisms of curcumin in treatment of central nervous system diseases [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(3): 512-518.
- [8] 仇瑜,张洪兵,郭虹,等.姜黄的研究进展及质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J].中草药,2021,52(15): 4700-4710.
Zhang Y, Zhang H B, Guo H, et al. Research progress on Curcuma Longae Rhizoma and predictive analysis of its quality markers [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(15): 4700-4710.
- [9] Cen J, Guo H Y, Hong C, et al. Development of tacrine-bifendate conjugates with improved cholinesterase inhibitory and pro-cognitive efficacy and reduced hepatotoxicity[J]. Eur J Med Chem, 2018,144:128-136.
- [10] 陈璐,第五永长,温晓强,等.补益脾胃元气方药对SAMP8小鼠海马区形态功能和皮层胆碱能系统的影响[J].中草药,2020,51(20): 5187-5193.
Chen L, Diwu Y C, Wen X Q, et al. Effect of Tonifying Spleen and Stomach Yuanqi Prescriptions on morphology and function of Hippocampus and cortical cholinergic system in SAMP8 mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2020, 51(20): 5187-5193.
- [11] 李静,白玉,张鹏,等.脱氢表雄酮对血管性痴呆小鼠学习和记忆能力的改善作用[J].中国病理生理杂志,2018,34(10): 1905-1909.
Li J, Bai Y, Zhang P, et al. DHEA improves learning and memory abilities of vascular dementia mice [J]. Chin J Pathophysiol, 2018, 34(10): 1905-1909.
- [12] 孙雨诗,李棚,盛艳梅,等.灯盏细辛胶囊对D-半乳糖诱导的模型小鼠认知障碍的改善[J].中药药理与临床,2021,37(3): 162-166.
Sun Y S, Li P, Sheng Y M, et al. The improvement effect of Dengzhan Xixin capsule on cognitive impairment of D-galactose-induced mice [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(3): 162-166.
- [13] Cheung J, Rudolph M J, Burshteyn F, et al. Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands [J]. J Med Chem, 2012, 55(22): 10282-10286.
- [14] Cortes-Canteli M, Iadecola C. Alzheimer's disease and vascular aging: JACC focus seminar [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 75(8): 942-951.
- [15] Chen W N, Yeong K Y. Scopolamine, a toxin-induced experimental model, used for research in Alzheimer's disease [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2020, 19(2): 85-93.
- [16] Cen J, Guo H Y, Hong C, et al. Development of tacrine-bifendate conjugates with improved cholinesterase inhibitory and pro-cognitive efficacy and reduced hepatotoxicity [J]. Eur J Med Chem, 2018, 144: 128-136.

【责任编辑 兰新新】