

新型天麻素衍生物对阿尔茨海默病模型小鼠的保护作用

杨婷婷¹, 周红静¹, 曾晨叶¹, 陈维², 杜俊蓉^{1*} (1.四川大学华西药学院, 成都 610041; 2.四川省中医药科学院, 成都 610041)

摘要: 目的 采用双侧侧脑室注射 β 淀粉样蛋白的寡聚体(amyloid- β oligomers, A β Os)建立阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)小鼠模型, 并研究阿魏酸、天麻素以及天麻素衍生物 3 种不同化合物对其保护作用。方法 C57BL/6 小鼠随机分为 5 组, 假手术组、模型组、阿魏酸组、天麻素组和天麻素衍生物组。双侧侧脑室注射 A β Os 建立 AD 模型小鼠后, 连续灌胃给药 14 d。采用 Y 迷宫试验和跳台试验检测小鼠的记忆能力; 免疫荧光法检测小鼠脑内炎症细胞星形胶质细胞和小胶质细胞的表达; qRT-PCR 法检测小鼠脑内肿瘤坏死因子- α 、白介素-1 β 、线粒体超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的 mRNA 水平。结果 与模型组相比, 阿魏酸组、天麻素组和天麻素衍生物组能显著提高小鼠记忆能力, 降低小鼠脑内炎症反应和氧化损伤, 与阿魏酸组、天麻素组相比, 天麻素衍生物组也有显著性差异。结论 与阿魏酸组、天麻素组相比, 天麻素衍生物更能有效地对抗 A β Os 所致的记忆损伤、炎症反应和氧化损伤, 是一种潜在的治疗 AD 的药物。

关键词: 阿尔茨海默病; β 淀粉样蛋白; 天麻素衍生物; 记忆损伤; 炎症; 氧化损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)05-0537-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.05.005

引用本文: 杨婷婷, 周红静, 曾晨叶, 等. 新型天麻素衍生物对阿尔茨海默病模型小鼠的保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(5): 537-541.

Protective Effect of Novel Gastrodin Derivatives on Alzheimer's Disease Model Mice

YANG Tingting¹, ZHOU Hongjing¹, ZENG Chenye¹, CHEN Chu², DU Junrong^{1*} (1. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effect of ferulic acid(FA), gastrodin(Gas) and gastrodin derivative(Gas-D) in an Alzheimer's disease mouse model induced by bilateral intracerebroventricular injection of amyloid- β oligomers(A β Os). **METHODS** C57BL/6 mice were randomly divided into 5 groups: sham group, model group, FA group, Gas group and Gas-D group. After the bilateral lateral ventricle was injected with A β Os to establish AD model mice, continuous intragastric administration for 14 d. Y maze test and step down test were used to evaluate the memory ability. The expressions of astrocytes and microglial cells were determined by immunofluorescence. The mRNA levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), superoxide dismutase 2(SOD2) and catalase(CAT) in brain of mice were measured by qRT-PCR. **RESULTS** Compared with model group, FA, Gas and Gas-D groups could significantly improve the ability of memory of mice, reduce the inflammation and oxidative damage of brain tissues. Furthermore, compared with FA and Gas group, Gas-D group also had significant differences. **CONCLUSION** Compared with FA and Gas, Gas-D is more effective to alleviate the memory loss, inflammation and oxidative damage induced by A β Os. Thus, it provides a clinic application potential of Gas-D as a therapy of AD.

KEYWORDS: Alzheimer's disease; amyloid- β ; gastrodin derivative; memory loss; inflammation; oxidative stress

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种中枢神经系统退行性疾病, 临床上主要表现为认知功能障碍^[1-2]。AD 最显著的神经病理学特征是淀粉样斑块——老年斑, 且它的主要成分是 β 淀粉样蛋白(amyloid- β , A β), 它是从淀粉样前体蛋白由 β -分泌酶和 γ -分泌酶通过连续的蛋白水解生成的^[2-3]。有研究表明, A β 可诱发脑内活性氧堆积、神经炎症反应等^[4]。老年斑中的 A β 主要是由 40 或 42 个氨基酸组成的多肽链, 易于错误折叠并聚集成可溶性寡聚体, 最终形成淀粉样纤维缠结。

研究表明, 可溶性寡聚体是 AD 患者脑内毒性最强的一种 A β 形式^[5-6]。关于 A β 的神经毒性已经有大量研究, 存在许多学说, 比如炎症反应学说、自由基损伤学说以及细胞凋亡学说等, 其中炎症学说越来越得到重视, 该学说认为 A β 沉积激活小胶质细胞和星形胶质细胞, 这些细胞可释放大量的炎性介质引起神经不良反应^[7-8]。

阿魏酸是从当归、川芎等中药中提取的有效单体, 具有较强的抗炎和抗氧化能力, 能抑制 A β 聚集, 从而减缓 A β 诱导的相关毒性反应^[9]。天麻

作者简介: 杨婷婷, 女, 硕士 Tel: (028)85503938 E-mail: 315379274@qq.com *通信作者: 杜俊蓉, 女, 博士, 教授 Tel: (028)85503938 E-mail: dujr_1@163.com

素是中药天麻块茎的主要成分之一, 药理实验表明, 天麻素具有镇静, 镇痛, 抗炎, 抗自由基及改善心脑血管功能等作用。在小鼠的 AD 模型中发现, 天麻素具有保护神经, 对抗记忆障碍, 减缓 A β 沉积, 抑制胶质细胞的激活等功能^[10]。然而由于阿魏酸和天麻素的结构限制, 在脑内的浓度较低, 疗效较弱^[11-12]。因此, 课题组合成了阿魏酸与天麻素的酯类衍生物——天麻素衍生物, 以期发现活性更强、疗效更佳的化合物。

本研究采用双侧侧脑室注射 β 淀粉样蛋白的寡聚体(amyloid- β oligomers, A β Os)来建立 AD 小鼠模型^[5-6], 比较阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物 3 种药物对 AD 模型鼠的治疗作用, 旨在探究天麻素衍生物是否具有更好的对抗 AD 相关症状的能力。

1 材料

1.1 动物

24~30 g δ C57BL/6 小鼠 50 只, 购自四川省人民医院实验动物研究所, 合格证号: SCXH(川)2013-15。常规饲养, 自由饮水与摄食。饲养环境温度维持(24 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C, 相对湿度 50%左右。

1.2 试剂与仪器

阿魏酸(批号: MUST-18032928)、天麻素(批号: MUST-18030827)均来自成都曼斯特; 天麻素衍生物由四川省中医药科学院陈维副研究员制备, 结构式见图 1; A β ₁₋₄₂(上海强耀, 批号: 04010011526); 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP, 中国万类生物, 批号: HO1120251); 离子钙接头分子(ionized calcium binding adapter molecule-1, Iba-1, 日本和光纯药工业株式会社, 批号: LKR1186); 山羊抗兔二抗(北京中杉金桥, 批号: 132141); RevertAid 第一链 cDNA 合成试剂盒(美国 Thermo Fisher, 批号: 00374074)。

SR-6H 小鼠立体定位仪(日本 Narishige 科学仪器实验室); LSP01-1A 微量注射泵(保定兰格恒流泵有限公司); CM1950 冷冻切片机(德国 Leica); ECLIPSE Ni-U 显微镜(日本 Nikon); DT-200 跳台自动测试仪(成都泰盟科技有限公司); iQ5 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad)。

2 方法

2.1 药物配制

2.1.1 A β Os 的配制 取 1 mg A β ₁₋₄₂ 于 4 $^{\circ}$ C 离心至蛋白固体至瓶底, 取 222 μ L 六氟异丙醇溶解固

体, 室温孵育 40 min, 每管 5 μ L 分装, 通风橱中过夜, 真空冷冻干燥 1 h 后封口放入装有干燥剂的广口瓶中, -80 $^{\circ}$ C 保存。临用时取 1 支分装管加入 50 μ L 灭菌生理盐水溶解, 使其终浓度为 100 pmol $\cdot\mu$ L⁻¹, 并于 4 $^{\circ}$ C 放置 24 h 后得到 A β Os。

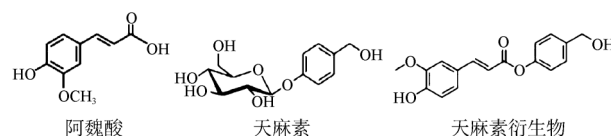


图 1 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物的结构

Fig. 1 Structures of ferulic acid, gastrodin and gastrodin derivative

2.1.2 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物溶液的配制 分别准确称取 45 mg 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物于 EP 管中, 加入 1 800 μ L 的甘油-乙醇溶液, 18 μ L 的冰醋酸, 超声至均匀, 最后加入 7 182 μ L 含 1%吐温 80 的生理盐水, 使其终浓度为 5 mg $\cdot$ mL⁻¹。

2.2 分组

将小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只。假手术组(生理盐水+溶媒)、模型组(A β Os+溶媒)、阿魏酸组(A β Os+阿魏酸 50 mg $\cdot$ kg⁻¹)、天麻素组(A β Os+天麻素 50 mg $\cdot$ kg⁻¹)、天麻素衍生物组(A β Os+天麻素衍生物 50 mg $\cdot$ kg⁻¹)。

2.3 模型建立及给药

小鼠麻醉后固定于小鼠立体定位仪。前囟左右侧各 1 mm, 前囟后 0.2 mm 颅骨钻孔, 用 30 号针插入颅骨下 2.5 mm, 微量注射泵控制 0.5 μ L $\cdot$ min⁻¹ 的恒定速率, 向小鼠双侧侧脑室内各注射 100 pmol $\cdot\mu$ L⁻¹ 的 A β Os 3 μ L 建立 AD 小鼠模型。整个手术过程动物体温维持在 37 $^{\circ}$ C。手术 24 h 后, 各组连续灌胃给药 14 d, 于末次给药前 3 d 开始 Y 迷宫试验和跳台试验, 跳台试验结束后立即取材。

2.4 行为学试验

2.4.1 Y 迷宫试验 Y 迷宫包括 A、B、C 3 条相等的臂(40 cm $\times$ 10 cm $\times$ 12 cm), 3 条臂按中心点各成 120 $^{\circ}$ 角。实验开始时将小鼠从其中任意一条臂放入, 记录小鼠在 5 min 内的连续进臂顺序, 小鼠成功连续进入 3 条不同臂的次数记录为正确次数, 总共连续进入 3 条臂的次数记录为总次数, 计算交替率(正确次数/总次数 $\times$ 100%)。实验时, 室内保持暗光、安静。

2.4.2 跳台试验 实验装置为一长方形反应箱。大小为 10 cm $\times$ 30 cm $\times$ 60 cm, 底面铺以铜栅, 间距

为 0.5 cm, 可以通电, 电压强度由一稳压器控制, 反应箱正中放置一橡胶平台。将小鼠放入反应箱中, 通以 0.25 mA 交流电, 小鼠受电击后会跳回到平台以躲避伤害性刺激。实验分为 2 d, 第 1 天先将小鼠放置在未通电的反应箱内熟悉环境 1 min, 然后通电 5 min 以训练小鼠受电击后跳回平台。24 h 后进行第 2 天的正式测试, 首先将小鼠放置在安全平台上, 然后反应箱通电, 以小鼠第 1 次从平台上跳下来的时间作为潜伏期, 以小鼠在 5 min 内从平台上跳下来的次数记为错误次数。

2.5 标本处理

行为学结束后, 用 4%的水合氯醛(10 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉小鼠, 用预冷的含 1% DEPC 的生理盐水灌流后迅速分离大脑, 左侧大脑先浸泡在 4%多聚甲醛固定过夜, 后依次转移至 15%, 30%的蔗糖溶液中脱水, 当脑组织自然沉降到瓶底后将其取出, 包埋后切成 20 μm 厚的冰冻切片, 储存于 -80 °C 冰箱待用; 右侧大脑液氮急冻后浸泡在 Trizol 中待用

2.6 免疫荧光染色法

冰冻切片分别经 4%多聚甲醛固定 40 min, 0.03%的 Triton 溶液浸泡 30 min, 抗原微波修复 10 min, 5%的牛血清蛋白 37 °C 孵育 1 h, 再用一抗(GFAP 为 1:100, Iba-1 为 1:250)4 °C 孵育过夜。滴加二抗后 37 °C 孵育 1 h, 最后用 4',6-二脒基-2-苯基四唑复染细胞核, 盖片观察。

2.7 qRT-PCR 法

经液氮急冻后, 浸泡在 Trizol 中的脑组织先按步骤依次加入氯仿、异丙醇、75%冰乙醇和 DEPC 水提取总 RNA, 再按逆转录试剂盒操作合成 cDNA, 最后在八联管中依次加 5 μL Ssofast EvaGreen Super Mix, 0.5 μL 反向引物, 0.5 μL 正向引物, 4 μL cDNA, 反应条件为 95 °C 30 s 预变性, 95 °C 5 s, 56 °C 10 s, 40 个循环。测定肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase 2, SOD2)和过氧化氢酶

(catalase, CAT)的 mRNA 水平。

2.8 统计学分析

应用 Image-pro plus 6.0 软件统计各组 GFAP 和 Iba-1 阳性面积, 用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 数据表示为 $\bar{x} \pm s$, 单因素方差分析(ANOVA)进行 *t* 检验。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对小鼠记忆功能的影响

于给药 11 d 后进行 Y 迷宫和跳台试验。小鼠在 Y 迷宫中交替率越高, 跳台试验中潜伏期越长, 错误次数越少表明其记忆能力越强。模型组小鼠在双侧侧脑室注射 AβOs 后未给予药物治疗, 与双侧侧脑室未注射 AβOs 的假手术组相比, 模型组小鼠 Y 迷宫交替率降低(*P*<0.01), 跳台试验潜伏期缩短(*P*<0.01), 错误次数增多(*P*<0.01), 表明小鼠的记忆能力减退。与模型组比, 给予阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物治疗后, 小鼠交替率明显升高(*P*<0.01 或 *P*<0.05), 潜伏期明显延长(*P*<0.01 或 *P*<0.05), 错误次数明显减少(*P*<0.01 或 *P*<0.05)。此外, 观察到天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组比较也存在显著差异(*P*<0.05), 提示天麻素衍生物在改善小鼠记忆能力方面效果显著, 并且较阿魏酸和天麻素的效果更为显著。结果见图 2。

3.2 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对小鼠脑内炎症反应的影响

3.2.1 对小鼠脑内胶质细胞的影响 与假手术组相比, 模型组小鼠脑内海马区的星形胶质细胞活化标志物 GFAP 和小胶质细胞活化标志物 Iba-1 的表达明显增加(*P*<0.01), 说明胶质细胞激活增多。给予阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物治疗后, GFAP 和 Iba-1 表达均显著降低(*P*<0.01 或 *P*<0.05), 且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组比较也存在显著差异(*P*<0.01 或 *P*<0.05)。提示天麻素衍生物能显著减少脑内胶质细胞的激活, 且与阿魏酸和天麻素相比效果更显著。结果见图 3。

表 1 PCR 引物序列

Tab. 1 Primer sequence of real-time PCR

基因	正向引物序列(5'-3')	反向引物序列(5'-3')
GAPDH	AGCGAGACCCCACTAACATC	GGTTCACACCCATCACAAAC
TNF-α	CCCTCAGCTCAGATCATCTTCT	GCTACGACGTGGGCTACAG
CAT	AGCGACCAGATGAAGCAGTG	TCCGCTCTCTGTCAAAGTGTT
SOD2	CAGACCTGCCTTACGACTATGG	CTCGGTGGCGTTGAGATTGTT
IL-1β	ATGAAGGGCTGCTTCCAAAC	GAAGGTGCTCATGTCTCATC

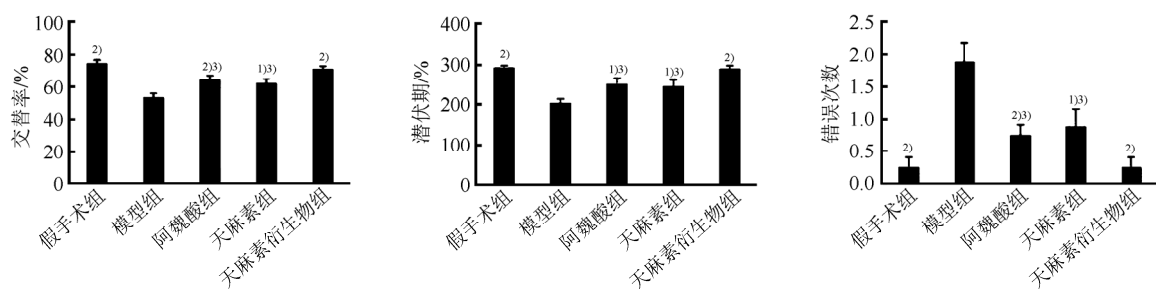


图2 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对注射 AβOs 小鼠记忆能力的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

与模型组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与天麻素衍生物组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 2 Effect of ferulic acid, gastrodin and gastrodin derivative on the memory ability in AβOs-injected mice($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with gastrodin derivative group, ³⁾ $P<0.05$.

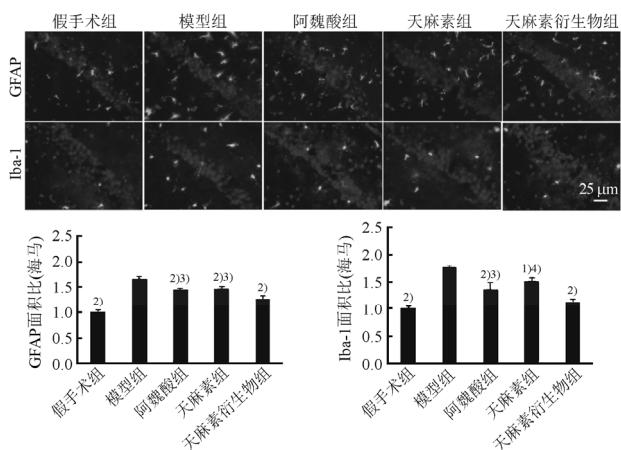


图3 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对注射 AβOs 小鼠脑内海马区胶质细胞 GFAP 和 Iba-1 的水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

与模型组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与天麻素衍生物组相比, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effect of ferulic acid, gastrodin and gastrodin derivative on GFAP and Iba-1 level in hippocampus of AβOs-injected mice brain($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with gastrodin derivative group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

3.2.2 对小鼠脑内炎症因子的影响 与假手术组相比,模型组小鼠脑内炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的 mRNA 水平明显升高($P<0.01$),给予阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物治疗后,炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 显著性降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组相比也有显著差异($P<0.05$)。提示 A β 能诱导脑内的炎症反应,并且与阿魏酸和天麻素相比,天麻素衍生物更能有效对抗脑内的炎症反应。结果见图 4。

3.3 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对小鼠脑内抗氧化酶的影响

与假手术组相比,模型组小鼠脑内的阻断氧化损伤的相关酶 SOD2 和 CAT 的 mRNA 水平明显降低($P<0.01$),给予阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物

物治疗后, SOD2 和 CAT 水平均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组相比有显著差异($P<0.05$)。提示 A β 可引起小鼠脑内氧化损伤,与阿魏酸和天麻素相比,天麻素衍生物能更有效地提高脑内抗氧化酶的含量。结果见图 5。

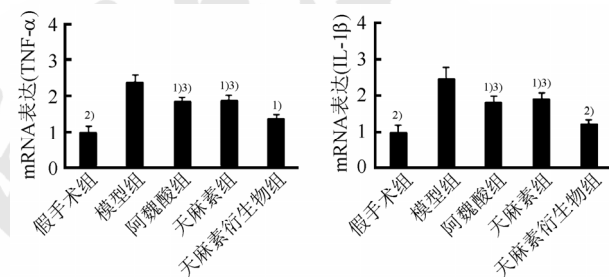


图4 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对注射 AβOs 小鼠脑内 TNF- α 、IL-1 β mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

与模型组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与天麻素衍生物组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 4 Effect of ferulic acid, gastrodin and gastrodin derivative on TNF- α , IL-1 β mRNA level in AβOs-injected mice($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with gastrodin derivative group, ³⁾ $P<0.05$ 。

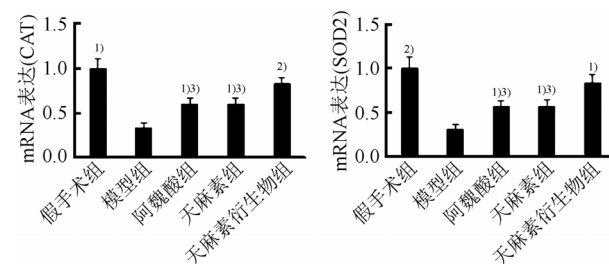


图5 阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物对注射 AβOs 小鼠脑内 SOD2、CAT mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

与模型组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与天麻素衍生物组相比, ³⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 5 Effect of ferulic acid, gastrodin and gastrodin derivative on SOD2, CAT mRNA level in AβOs-injected mice($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Compared with model group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with gastrodin derivative group, ³⁾ $P<0.05$ 。

4 讨论

A β 在脑内的沉积是 AD 脑中主要的病理变化,它在 AD 的发生发展中起着非常重要的作用^[2]。A β 多肽有 40~42 个氨基酸,由 β 淀粉样前体蛋白经 β -分泌酶和 γ -分泌酶水解后产生。A β 多肽在大脑海马区和皮层区经聚集及沉积形成具有神经不良反应的 A β 纤维性斑块,最终导致神经系统的退行性病变和记忆认知功能的退化^[13],且可溶性寡聚体是 AD 患者脑内毒性最强的一种 A β 形式^[5]。研究表明,阿魏酸和天麻素都有较强的抗炎、抗氧化作用,能保护神经,减缓 A β 诱导的相关毒性反应,改善记忆障碍,但由于其结构限制,阿魏酸和天麻素在中枢神经系统中浓度低,活性弱^[11-12],因此课题组期待阿魏酸和天麻素的酯类衍生物天麻素衍生物能发挥更强的对抗 AD 相关症状的能力。

小鼠在双侧侧脑室注射了 A β Os 后成功模拟了 AD 患者的记忆损伤,表现为 Y 迷宫中交替率降低,跳台实验中潜伏期缩短和错误次数增多。阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物药物能逆转上述行为学的改变,缓解记忆损伤,并且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组相比有显著差异,这表明天麻素衍生物可显著抑制 AD 模型鼠记忆能力的退化,减缓模型鼠行为学上痴呆症状的发展。

已有报道称,A β 能刺激胶质细胞的活化,并相继分泌炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 等^[14]。实验结果显示,模型组小鼠脑内胶质细胞激活增多,炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 表达增加,表明小鼠脑内有炎症损伤。而阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物的干预可以改善 A β 导致的炎症反应,并且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组相比有显著差异,提示记忆损伤的缓解可能与天麻素衍生物超强的抗炎作用有关。

有研究表明,A β 沉积部位氧化应激升高^[15],活性氧基团在 AD 病情的进展过程中起着重要作用。并且有研究证实,抗氧化剂可以预防 AD 并延缓病情进展。实验结果显示,模型组小鼠脑内抗氧化酶活性降低,暗示小鼠脑内氧化应激系统失衡。而阿魏酸、天麻素和天麻素衍生物的干预可以平衡 A β 所致的氧化应激失衡,并且天麻素衍生物组与阿魏酸组、天麻素组相比有显著差异,提示记

忆损伤的缓解可能与天麻素衍生物超强的抗氧化能力相关。

综上,与阿魏酸、天麻素相比,天麻素衍生物更能有效缓解 AD 小鼠的记忆损伤,初步研究结果显示,其机制可能与抑制 A β 斑块所致的炎症反应和氧化应激有关,但仍需进一步研究。

REFERENCES

- [1] CASTELLANI R J, ROLSTON R K, SMITH M A. Alzheimer disease [J]. Dis Mon, 2010, 56(9): 484-546.
- [2] MANDREKAR-COLUCCI S, LANDRETH G E. Microglia and inflammation in Alzheimer's disease [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2010, 9(2): 156-167.
- [3] CUI H Q, YIN F. Advance of modification, trafficking and processing of amyloid precursor protein [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2018, 35(3): 444-447.
- [4] YAN J J, CHO J Y, KIM H S, et al. Protection against β -amyloid peptide toxicity *in vivo* with long-term administration of ferulic acid [J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(1): 89-96.
- [5] BALDUCCI C, BEEG M, STRAVALACI M, et al. Synthetic amyloid- oligomers impair long-term memory independently of cellular prion protein [J]. PNAS, 2010, 107(5): 2295-2300.
- [6] DINELEY K T, KAYED R, NEUGEBAUER V, et al. Amyloid-beta oligomers impair fear conditioned memory in a calcineurin-dependent fashion in mice [J]. J Neurosci Res, 2010, 88(13): 2923-2932.
- [7] SHI S, WANG Z, QIAO Z. The multifunctional anti-inflammatory drugs used in the therapy of Alzheimer's disease [J]. Curr Med Chem, 2013, 20(20): 2583-2588.
- [8] BUTTERFIELD D A, SWOMLEY A M, SULTANA R. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress in Alzheimer disease: importance in disease pathogenesis and progression [J]. Antioxid & redox sign, 2013, 19(8): 823-835.
- [9] MORI T, KOYAMA N, GUILLOTSESTIER M V, et al. Ferulic acid is a nutraceutical β -secretase modulator that improves behavioral impairment and alzheimer-like pathology in transgenic mice [J]. PloS One, 2013, 8(2): e55774.
- [10] HU Y, LI C, SHEN W. Gastrodin alleviates memory deficits and reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. Neuropathology, 2014, 34(4): 370-377.
- [11] ZHANG J L, ZHANG G D, ZHOU T H. Metabolism of ferulic acid in rats [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(1): 49-58.
- [12] WANG Q, CHEN G, ZENG S. Distribution and metabolism of gastrodin in rat brain [J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46(2): 399-404.
- [13] TURNER P R, O'CONNOR K, TATE W P, et al. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory [J]. Prog Neurobiol, 2003, 70(1): 1-32.
- [14] EIKELENBOOM P, VEERHUIS R. The role of complement and activated microglia in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Neurobiol Aging, 1996, 17(5): 673-680.
- [15] TAUPIN P. A dual activity of ROS and oxidative stress on adult neurogenesis and Alzheimer's disease [J]. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 2010, 10(1): 16-21.

收稿日期: 2018-05-19

(本文责编: 沈倩)