



# 槲皮素对阿尔茨海默症神经保护作用研究

赵雨薇 甄艳杰 戴月英 沈丽霞

河北北方学院药学院, 张家口, 075000, 中国

**【摘要】** 阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 临床特征为进行性认知能力下降和记忆力减退, 目前临床上仍未发现有效的药物和治疗途径从根本上防治 AD 的进展。槲皮素是一种黄酮类植物雌激素, 可激动雌激素受体产生弱的雌激素活性, 对神经系统具有保护作用。槲皮素具有较高的生物活性, 且来源广泛, 又无致畸、致癌和致死作用, 逐渐受到了国内外学者广泛的关注。该文就槲皮素的生物活性、吸收、代谢, 在 AD 中的神经保护作用以及作用机制作一综述, 以期对 AD 相关治疗药物研究提供参考。

**【关键词】** 阿尔茨海默病; 槲皮素; 神经保护作用

**【中图分类号】** R964 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-1396.2020.05.012

## Study on the Neuroprotective Mechanism of Quercetin in Alzheimer's Disease

ZHAO Yu-wei, ZHEN Yan-jie, DAI Yue-ying, SHEN Li-xia

Department of Pharmacy, Hebei North University, Zhangjiakou, 075000, China

**【ABSTRACT】** Alzheimer's disease (AD) is characterized by progressive cognitive decline and memory loss, and its pathogenesis is complex. At present, no effective drugs and therapeutic approaches have been found clinically to fundamentally prevent and cure AD. Quercetin is a flavonoid phytoestrogen that simulates estrogen stimulation of estrogen receptors to produce weak estrogen activity and has a protective effect on the nervous system. Quercetin has high biological activity, wide source, no teratogenicity, no carcinogenesis, no lethal effect, so it has been widely concerned. In this review, the biological activity of quercetin, its neuroprotective effect on AD and its mechanism of action were reviewed, with a view to providing reference for the research of related drugs for AD.

**【KEY WORDS】** Alzheimer's disease; quercetin; neuroprotective effect

阿尔茨海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种进行性发展的神经退行性疾病, 多发于老年人, 临床上主要表现为认知、记忆和行为等功能方面严重减退。据估计, 2010 年到 2050 年, 中国 60 岁以上的老年人口患病率从 12% 将增长到 33%, 预计到 2050 年, 中国的 AD 患者人数将达到 2 800 万, 治疗 AD 的费用将超过

1 万亿美元<sup>[1]</sup>。因此, AD 的治疗和预防受到了全世界的关注。AD 的主要病理特征为细胞外  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $\beta$ -amyloid protein, A $\beta$ ) 大量沉积形成的老年斑 (senile plaques, SP)、细胞内 Tau 蛋白高度磷酸化形成的神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFT)、神经元突触缺失和神经元凋亡。虽然 AD 的发病机制研究已百年

**基金项目:** 河北省自然科学基金项目 (No.H2019405057); 河北省高等学校科学技术研究项目 (No.ZD2020136)

**作者简介:** 赵雨薇, 女, 硕士研究生; 研究方向: 神经药理学; E-mail: zhaoyuwei961229@163.com

**通讯作者:** 沈丽霞, 女, 博士, 教授, 硕士生导师; 研究方向: 神经药理学; Tel: +86-0313-4029305, E-mail: shenlixia@163.com

有余,但至今仍没有明确的结果,只存在大部分假说,包括胆碱能神经元假说、 $\beta$ -淀粉样蛋白毒性假说、Tau 蛋白异常磷酸化假说、自由基与氧化应激假说、炎症假说。临床中所运用治疗 AD 的一线药物也只是减缓病程的发展。槲皮素是一种植物雌激素,其化学结构与 17- $\beta$  雌二醇 (estrone,  $E_2$ ) 相似,可竞争性激动雌激素受体发挥雌激素样作用或拮抗雌激素作用。槲皮素及其活性成分可通过多种作用机制抑制  $A\beta$  毒性、Tau 蛋白过度磷酸化和神经细胞凋亡,从而产生防治 AD 的作用。本文针对槲皮素化学结构特点和其在 AD 中发挥的神经保护作用以及可能的机制作一阐述。

## 1 AD 的发病机制

$A\beta$  在脑组织及血管周围异常沉积形成的老年斑是 AD 的一个重要的病理学特征。Hardy 和 Higgins 首次提出的  $\beta$  淀粉样蛋白沉积假说认为,  $A\beta$  沉积是 AD 病理学起因,也是各种原因诱导 AD 的共同通路,在发病过程中发挥核心作用,  $A\beta$  的生成增加或清除障碍均可导致 AD 患者脑中  $A\beta$  异常积聚<sup>[2]</sup>。有研究表明,早期 AD 患者突触可塑性破坏与记忆力下降和晚期 AD 患者细胞严重变性、痴呆,都与  $A\beta$  作用于特定的神经信号转导通路有关<sup>[3]</sup>。  $A\beta$  是具有 39~42 个氨基酸残基的多肽,由  $\beta$ -淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 异常水解产生的。目前,  $A\beta$  最主要的形式是  $A\beta_{1-40}$  和  $A\beta_{1-42}$ 。其中  $A\beta_{1-42}$  蛋白更易于形成致密纤维状斑块,沉积在大脑皮层和海马区域,毒性相比  $A\beta_{1-40}$  也更强。而  $A\beta_{25-35}$  主要生理性地存在于老年人脑中。在 AD 患者的脑中, APP 异常代谢形成不溶性的  $A\beta$  寡聚体可引起氧化应激造成线粒体损伤,过度激活胶质细胞触发神经炎症级联发生,导致神经细胞的凋亡<sup>[4]</sup>。此外,  $A\beta$  的沉积可诱导 Tau 蛋白过度磷酸化,加剧 AD 的发展。大多数临床 AD 患者中 APP 功能丧失,引起 Tau 蛋白的高度磷酸化,导致胞内产生一系列的变化,最终形成 NFT<sup>[5]</sup>。在 AD 转基因果蝇实验中表明  $A\beta_{1-42}$  使 Tau 蛋白在 Ser 262 位点高度磷酸化,加剧了  $A\beta_{1-42}$  诱导的神经元功能障碍。同时提出了 Ser 262 位点 Tau 磷酸化对体内  $A\beta_{1-42}$  诱导 Tau 蛋白毒性至关重要<sup>[6]</sup>。

Tau 蛋白的异常高度磷酸化是出现 NFTs 主要的原因,因此 AD 的发生与 Tau 异常高度磷酸化的关系是密不可分的。Tau 蛋白是一种微管结构的相关蛋白,在大脑中的分布区域很是广泛,如海马、内嗅区神经元、额叶、颞叶,还有外周神经的轴突中。在正常机体中, Tau 蛋白与微管蛋白纵向结合而减少微管的弹性,维持微管的稳定性,并且参与调节细胞形态、物质转运、以

及细胞内外信息传递等功能<sup>[7]</sup>。Tau 蛋白的异常磷酸化可被视为是 Tau 蛋白激酶和磷酸酯酶活性失衡所致,过度磷酸化后的 Tau 蛋白将进一步促进 Tau 蛋白积聚。研究证实 AD 患者脑中 Tau 蛋白磷酸化位点增多。值得注意的是其中 Thr 231 和 Ser 262 位点的 Tau 蛋白磷酸化直接影响了微管的平衡<sup>[8]</sup>,造成神经细胞功能退化,引发神经系统退行性疾病的发生。

AD 的发病机制复杂,至今仍未提出明确的发病机制。除上述  $A\beta$  级联假说和 Tau 蛋白假说以外,研究较多的为线粒体级联假说<sup>[9]</sup>。线粒体是哺乳动物细胞中 ATP 的主要来源之一,神经元活性高度依赖于线粒体的能量供应。早期研究表明<sup>[10]</sup>, AD 转基因小鼠和患者脑内  $A\beta$  主要沉积在线粒体内,  $A\beta$  与线粒体二者相互作用导致氧化应激的产生,从而影响钙离子的稳态,改变线粒体膜电位和膜的通透性,释放细胞色素 C 等凋亡因子,致使细胞死亡<sup>[11]</sup>。此外,氧化应激又进一步刺激淀粉样蛋白变性和 Tau 蛋白磷酸化,最终导致毒性恶性循环<sup>[12-13]</sup>。Mayeux 等对 AD 患者死后的大脑皮层样本分析的结果表明, AD 患者脑组织中线粒体 DNA 重排缺失是 AD 病理的重要原因,抑制线粒体障碍可能是 AD 的潜在治疗靶点。当前治疗 AD 的药物不直接靶向线粒体,而是通过各种机制最终改善线粒体的功能,如胆碱酯酶抑制剂和 N-甲基-D-天冬氨酸受体抑制剂<sup>[14]</sup>。但因药物的副作用,在临床上使用存在着很大的争议。因此,仍需要寻找有效的候选药物来延缓和治疗 AD。

## 2 槲皮素的生物活性

槲皮素的英文名称 Quercetin 源自拉丁语 Quercetum,取自 Quercus<sup>[15]</sup>,是一种具有多种生物活性的黄酮类化合物,其化学名为 3,3',4',5,7-五羟基黄酮,富含于果蔬和药用植物中。槲皮素占每天摄入的膳食黄酮类的 60%~75%,其中洋葱、苹果、红酒、浆果、卷心菜和茶等是日常生活中常见的槲皮素膳食摄入来源<sup>[16-17]</sup>。自然界中的槲皮素通常以糖苷衍生物形式存在,其糖基化位点常见于 3 号位和 7 号位的羟基,如槲皮素-7-O-葡萄糖苷和槲皮素-3-O 鼠李糖苷<sup>[18]</sup>。目前针对槲皮素的化学结构和药理学活性,众多学者做了大量的研究,证实槲皮素具有抗癌、抗炎、抗氧化、抗心血管、免疫调节等重要的药理学活性<sup>[19-21]</sup>,已经被广泛应用于心血管、内分泌、消化等系统疾病的防治当中。近些年,槲皮素在神经退行性疾病中的神经保护作用受到了广泛的关注。研究显示槲皮素能够促进神经营养因子作用,刺激神经轴突生长和增强突触蛋白的表达,恢复受损大脑的重建能力<sup>[22]</sup>,还可通过调节硫氧还蛋

白的表达和维持凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal regulating kinase-1, ASK1) 与硫氧还蛋白之间的相互作用来介导其神经保护功能,改善衰老过程中认知功能障碍<sup>[23]</sup>。

### 3 槲皮素的吸收和药代动力学

槲皮素根据其不同的结合型化学结构在人体不同部位以不同的方式被吸收。槲皮素与寡糖或多糖结合的槲皮素糖苷通过肠道菌群降解方式形成苷元在大肠被吸收;槲皮素单糖苷经肠道微生物衍生的糖苷酶水解后在小肠上部被吸收;部分槲皮素单糖苷可被钠依赖性葡萄糖转运蛋白-1 (sodium-glucose co-transporters-1, SGLT-1) 直接转运进入小肠上皮细胞<sup>[24-26]</sup>。人体血浆内槲皮素的代谢物为葡萄糖醛酸和硫酸盐,并通过血浆转运至靶组织或透过血脑屏障发挥重要的生物活性<sup>[27]</sup>。槲皮素的药理学参数研究表明,槲皮素在体内的生物利用率低,限制了槲皮素在医药工业的应用。溶解度低、吸收差和新陈代谢快是槲皮素生物利用低的主要方面<sup>[28]</sup>。Moon 等<sup>[29]</sup>研究了槲皮素在人体内的药代动力学,受试者每日三次补充 500 mg 槲皮素,采集并检测受试者的血浆和尿液,发现槲皮素在体内的清除率为  $3.5 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ ,在体内平均半衰期为 3.5 h,尿液中的槲皮素苷元和结合代谢物的回收率分别为 0.05%~3.6% 和 0.08%~2.6%。为了提高槲皮素的生物利用度,研究人员通过对其结构进行改造合成了槲皮素衍生物和研究了不同的给药系统,如纳米粒、纳米乳剂、胶束和包合物等提高槲皮素在体内的生物利用度。槲皮素不仅具有极高的药用价值,又无致畸,无致癌,无致死作用,逐渐受到国内外医药学者的重视。

### 4 槲皮素在 AD 的神经保护作用

#### 4.1 拮抗 $\beta$ -淀粉样蛋白的毒性作用

APP 异常水解导致  $A\beta$  在脑细胞外间隙内聚集而形成的 SP 是 AD 的主要病理特征之一。APP 在细胞内通常有两种酶解过程:非淀粉样蛋白途径和淀粉样蛋白途径。非淀粉样蛋白途径过程中,APP 经  $\alpha$ -分泌酶和  $\gamma$ -分泌酶顺式切割产生  $A\beta$  片段,其形成的大的可溶性片段不具有神经毒性,而在淀粉样蛋白途径中,APP 被  $\beta$ -分泌酶 1 (beta-secretase-1, BACE-1) 和  $\gamma$ -分泌酶裂解产生可溶性的  $A\beta$ s 具有神经毒性<sup>[30]</sup>。Mohebbi<sup>[31]</sup>等将  $A\beta_{1-42}$  注入大鼠双侧海马 CA1 区制备 AD 模型大鼠,造模 5 天后给予刺山柑提取物,其主要成分为芦丁和槲皮素,灌胃给药 42 d 后,结果显示药物保护组中 BACE-1、APP、PSEN-1 和 PSEN-2 基因表达与对照组相比明显下调,表明槲皮素和槲皮素衍生物对

AD 模型大鼠起到一定的保护作用。Jiménez 等<sup>[32]</sup>通过体外实验研究发现槲皮素可与  $A\beta$  寡聚体的淀粉样原纤维结构可逆性结合,以浓度依赖的方式显著减少淀粉样蛋白的形成,逆转  $A\beta_{25-35}$  对 APPswe 细胞损伤。Ansari<sup>[33]</sup>等发现用槲皮素预处理原代培养的海马神经元,可有效减弱由  $A\beta_{1-42}$  对其诱导产生的细胞毒性。其作用机制可能是槲皮素通过调节氧化应激抑制蛋白质氧化、脂质过氧化和细胞凋亡。

#### 4.2 抑制 Tau 过度磷酸化作用

有研究表明<sup>[34]</sup>,异常的 Tau 蛋白通过在神经元之间相互传递,导致 AD 在脑中扩散,因此致病性的 Tau 蛋白与 AD 的发生具有密切的关联。在显微镜下可观察到 AD 患者脑组织神经元中 NFT,其产生的主要原因是 Tau 异常磷酸化形成双螺旋细丝 (paired helical filaments, PHFs) 进一步形成的,最终导致神经元变性死亡<sup>[35]</sup>。Tau 蛋白磷酸化程度是由蛋白激酶和脱磷酸化的蛋白磷酸酯酶共同作用的结果,糖原合酶激酶-3 (glycogensynthase kinase-3, GSK-3) 和细胞周期素依赖蛋白激酶 5 (cyclin-dependent kinase 5, CDK5) 则是诱导 Tau 蛋白磷酸化的主要蛋白激酶,因此,PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  信号通路可能是调节 Tau 蛋白磷酸化的主要通路之一。蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 是磷酸化 Tau 蛋白的主要磷酸酶,其去磷酸化的作用可抑制 NFT 形成。有研究表明,槲皮素可显著提高 PP2A 活性表达,对谷氨酸诱导的 HT22 细胞具有神经保护作用<sup>[36]</sup>。Jiang 等<sup>[37]</sup>实验研究提出槲皮素通过抗氧化和抗凋亡协同保护作用减少冈田酸引起的 Tau 蛋白异常磷酸化。另外,槲皮素还可通过抑制 CDK5 的活性,从而抑制 Tau 蛋白在 Ser 396、Ser 199、Thr 231 和 Thr 205 位点的过度磷酸化,减轻相关的神经病理<sup>[38]</sup>。

#### 4.3 抗氧化作用

氧化应激是细胞内 ROS 过量积累而引起的,在 AD 类神经退行性疾病的发病中起着核心作用<sup>[39]</sup>。ROS 主要来源是线粒体中氧化磷酸化过程中产生的超氧阴离子自由基,正常情况下,机体内含有超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD),可将超氧离子转化为过氧化氢、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶,进而消除自由基。当机体受到有害刺激时,SOD 活性降低,造成自由基堆积。 $A\beta$  主要沉积在线粒体中并与线粒体相互作用导致 ROS 产生过量和 ATP 耗竭<sup>[40]</sup>。槲皮素是一种具有抗氧化特性的黄酮类化合物,其抗氧化活性与其结构中两个功能基团相关:一个是 B 环上的邻苯二酚,另一个是 C-3 位的 OH 基团<sup>[41]</sup>。Costa 等<sup>[42]</sup>评价了在海马神经元中槲皮素对  $H_2O_2$  和  $A\beta_{25-35}$  诱导细胞损伤的不同神经保护作用,结果显示与其抗氧化



活性一致。槲皮素可完全抑制  $H_2O_2$  诱导神经元的丢失、ROS 的增加和线粒体的损伤,并且发现这种抗氧化剂减轻了  $H_2O_2$  对神经元线粒体动力学和能量代谢的影响。但在  $A\beta_{25-35}$  诱导的细胞损伤中只起到部分保护作用,表明淀粉样蛋白可能通过其他途径诱导神经元的损伤。Liu 等<sup>[43]</sup>研究发现槲皮素对慢性 HG 中枢神经元的保护作用可能是通过激活 Nrf2/ARE 信号通路实现的,Nrf2 (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 是细胞防御氧化应激的重要转录因子。在病理状态下,Nrf2 转位到细胞核与 Maf 蛋白结合形成异源二聚体后和抗氧化反应元件 (antioxidant responsive element, ARE) 结合促进抗氧化基因的转录<sup>[44]</sup>,因此激活 Nrf2-ARE 通路可以保护神经免受氧化损伤和细胞死亡。

#### 4.4 抗炎作用

脑组织炎症反应与 AD 的发生和发展密切相关,流行病学调查也显示抗炎治疗明显降低了 AD 发生的风险,对 AD 发挥保护作用。参与 AD 炎症反应的主要有小胶质细胞、星胶质细胞和炎性因子。研究已证实<sup>[45]</sup>槲皮素可通过减少小胶质细胞诱导的一氧化氮合酶基因的表达、一氧化氮的生成并激活巨噬细胞产生的炎性细胞因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素  $-\gamma$ 、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 和核转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 抑制神经炎症的发生。Sun 等<sup>[46]</sup>通过比较槲皮素和花青素对 BV-2 小胶质细胞的抗炎活性实验中,发现槲皮素本身可以刺激未经处理的 BV-2 细胞产生炎症保护因子 Nrf2 和 HO-1,而当细胞受到 LPS 刺激时,这种保护活性增强。Kao 等<sup>[47]</sup>实验表明槲皮素和高亮姜素可显著降低一氧化氮、诱导型一氧化氮合酶和白细胞介素 -6 的生成,减少 NF- $\kappa$ B 的核转位,还可抑制 LPS 诱导的细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 的激活,提示槲皮素抗炎特性可能与激活 ERK1/2、c-Jun 和抑制 NF- $\kappa$ B 有关,起到防治 AD 的作用。据报道槲皮素是抑制小胶质细胞氧化应激和炎症反应的最有效的黄酮类成分<sup>[48]</sup>。

#### 4.5 改善认知功能障碍

认知障碍和记忆丧失是老年人痴呆最常见的原因。槲皮素已被广泛认为是可以预防或减缓与年龄相关的神经退行性疾病的一种潜在治疗药物。Hayakawa 等<sup>[49]</sup>用槲皮素长期喂养 APP23 AD 模型小鼠后研究结果表明,槲皮素可通过诱导小鼠脑内受损细胞内 Gadd34 的表达,抑制 eIF2 $\alpha$  的磷酸化和激活转录因子 4 的翻译,从而改善衰老小鼠的认知和记忆损伤,延缓 AD 模型小

鼠早期记忆的恶化。Li 等<sup>[50]</sup>通过 1,1-二苯基-2-苦基肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 法和 Y-迷宫实验评价了槲皮素对  $A\beta$  处理小鼠 4 d 后的自由基猝灭能力和对工作记忆的影响。结果表明,槲皮素使 DPPH 自由基活性降低了 76.5%。明显改善  $A\beta$  所致的小鼠学习记忆衰退。Paula 等<sup>[51]</sup>实验提出,长期口服槲皮素可有效抑制三重转基因 AD 小鼠脑组织中  $A\beta$  的变性,并且可减少海马和杏仁核的病变。以上结果均可表明,槲皮素有助于延缓 AD 的组织病理学特征和认知功能缺陷的发展。

### 5 槲皮素治疗 AD 的潜在作用机制

#### 5.1 通过雌激素受体介导的雌激素样神经保护

大量实验研究表明,雌激素替代治疗不仅对骨质疏松、心血管、心脏等具有保护作用,还可改善认知能力以及延缓 AD 的发病<sup>[52-54]</sup>。雌激素可透过血脑屏障,也可由大脑胆固醇产生内源性雌激素来调节中枢神经系统能量代谢的重要信号分子。如葡萄糖运输、有氧糖酵解和促进线粒体生物合成<sup>[55]</sup>。雌激素的神经保护作用主要是与雌激素受体 (estrogen receptor, ER) 结合介导的,包括雌激素受体  $\alpha$  (ER $\alpha$ )、雌激素受体  $\beta$  (ER $\beta$ ) 和 G 蛋白偶联雌激素受体 (GPER30)。ER 在整个大脑的神经元和神经胶质细胞上均有表达,雌激素与不同靶细胞内 ER 结合启动基因的转录、翻译和激活一系列信号通路的级联反应,快速产生生物学效应。研究表明,雌激素可通过抑制天冬氨酸蛋白水解酶活性,上调抗凋亡分子 Bcl-2 活性,抑制促凋亡分子 Bax 的表达,抑制细胞的凋亡<sup>[56]</sup>;促进 APP 的分解和代谢来抑制  $A\beta$  诱导的神经细胞损伤<sup>[57-58]</sup>;激活 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路抑制 GSK3 $\beta$  活性,减少 Tau 蛋白过度磷酸化<sup>[59]</sup>。

槲皮素具有与雌激素相似的结构特征,含有相似距离的羟基和一个酚环,在是否能与雌激素受体结合中起到重要的作用。本课题组前期研究结果表明槲皮素在一定剂量范围内能促进雌激素受体阳性细胞系 MCF-7、T47D 细胞增殖,但对雌激素受体阴性细胞系 MDA-MB231 无影响,当槲皮素与雌激素受体拮抗剂 (ICI182780) 共同作用时,其对细胞增殖作用与溶剂对照组相比无统计学差异,表明槲皮素具有雌激素样作用并且是通过 ERs 介导的<sup>[60]</sup>。进一步采用 RT-PCR 和 Western Blot 法检测槲皮素对 ERs 表达的影响,结果显示 ER $\alpha$  mRNA 和蛋白均有表达,对 ER $\beta$  表达无影响<sup>[61]</sup>,这与槲皮素对大鼠皮层神经元保护实验研究的结果一致<sup>[62]</sup>,槲皮素可显著提高 ER $\alpha$  蛋白表达量,通过雌激素样作用对体外培养的皮层神经元的活性具有保护作用,其保护作用可被 ICI182780 阻断。槲皮素不仅有雌

激素样作用还有抗雌激素样作用。槲皮素对子宫形态学和增殖影响的研究中发现小剂量的槲皮素对子宫形态学和增殖的作用表现为抗雌激素特性,而大剂量的槲皮素则表现为雌激素特性<sup>[63]</sup>。因此,槲皮素具有与 E<sub>2</sub> 相似但不完全相同的机制。槲皮素作为一种植物雌激素,在治疗和缓解 AD 发病方面受到了学者的广泛关注。已有实验证实<sup>[64]</sup>,槲皮素通过 ERα 对神经元具有雌激素样保护作用,上调 Bcl-2 蛋白的表达,下调 Bax 和 Caspase-3 蛋白的表达,减轻 Aβ<sub>25-35</sub> 致 PC12 细胞的损伤,但作用机制尚不明确。因此,需要深入研究槲皮素运用于 AD 治疗的雌激素样的作用机制。

### 5.2 通过抑制线粒体凋亡发挥神经保护

研究表明<sup>[65]</sup>,线粒体功能障碍是导致 AD 发病早期阶段神经元能量缺乏的主要原因。线粒体功能障碍会加剧 Aβ 沉积和 Tau 蛋白异常磷酸化,这两种病理反过来又促进了线粒体损伤,并通过线粒体依赖性凋亡通路诱导细胞凋亡。维持线粒体形态和功能可能是治疗 AD 发病的潜在治疗策略<sup>[66]</sup>。Bcl-2 家族蛋白是线粒体凋亡的主要调控蛋白,其成员包含抑凋亡蛋白,如 Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-w 和促凋亡蛋白,如 Bax、Bak、Bim。前者可通过影响线粒体膜通透性的改变或转运孔的开放抑制细胞色素 C (cytochrome C, Cyt C) 的释放<sup>[67]</sup>。Cyt C 为一种促凋亡物质,正常情况下存在于线粒体的膜间隙,不能通过线粒体,当受到相应的凋亡信号刺激时才释放到胞质中引起细胞的凋亡。

最近研究发现<sup>[68-70]</sup>,槲皮素可能不只依赖于其清除自由基的特性而发挥对线粒体的保护作用。槲皮素可通过调节与线粒体生物合成、线粒体膜电位、ATP 合成代谢的氧化还原相关的信号通路,减少线粒体诱导的细胞凋亡。Sharma 等<sup>[71]</sup>实验表明槲皮素预处理后上调 Bcl-2 和下调 Bax 蛋白的表达,可减少铝诱导的大鼠脑内细胞的死亡。此外,槲皮素还抑制了线粒体细胞色素 C 的释放以及 Caspase 的活化,减轻了铝诱导的线粒体肿胀、嵴丢失和染色质的凝聚等情况。Wang 等<sup>[72]</sup>发现槲皮素可使 APP<sup>swe</sup>/PS1dE9 转基因 AD 模型小鼠的海马、皮层和纹状体中线粒体的 ATP 水平恢复 50%~85%,提高 AMPK 的活性,改善线粒体功能障碍,减少衰老斑块沉积。在体外实验中<sup>[73]</sup>,槲皮素可减轻 3-硝基丙酸对线粒体造成的肿胀,恢复大鼠线粒体内 CAT 和 Mn-SOD 的活性,降低脂质过氧化水平。但槲皮素单独作用时对 CAT 和 Mn-SOD 线粒体酶没有调节作用,也没有引起其他氧化还原参数的变化。因此推论出,槲皮素可能通过维持线粒体稳态来抑制细胞的凋亡。

### 5.3 通过激活 MAPK 信号转导通路发挥神经保护

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein

kinase, MAPK) 是一种高度保守的丝氨酸 / 苏氨酸激酶超家族成员,将膜信号传递到细胞核中,是细胞中主要的信息传递链。在 AD 的基因表达、调控细胞周期、增殖、分化、炎症到细胞死亡等过程中发挥着重要作用<sup>[74]</sup>。MAPK 信号转导途径通过磷酸化三级酶促级联反应依次激活,即细胞接受细胞外刺激后激活 MAPKK 激酶 (MAPKKK),磷酸化的 MAPKK 激酶激活 MAPK 激酶 (MAPKK),最后磷酸化 MAPKs,并通过转录或非转录途径应答不同的细胞外刺激。目前已发现存在着多条并行的 MAPKs 信号通路,ERK1/2、JNK/ 应激激活蛋白激酶 (stress-activated protein kinase, SAPK) 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, p38MAPK) 是 MAPK 最具特征性的三条通路。ERK1/2 信号转导通路主要调控细胞的生长和分化; JNK 和 p38MAPK 信号转导通路在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥重要作用,故常把二者放在一起研究。

在哺乳类动物细胞中,与 ERK1/2 相关的细胞内信号转导途径被认为是经典的 MAPK 信号转导途径。少量 Aβ 即可通过 Ras 依赖的信号转导通路激活 MEK 以及下游的 ERKs,进而启动转录因子 Fos、c-Myc、Jun、Elk-1 等,表达一些促进神经细胞生存或者产生抗神经细胞凋亡的蛋白。槲皮素抗氧化损伤机制研究中,槲皮素通过激活 ERK1/2 信号转导通路,上调 Bcl-2/Bax 的比例,对 P19 神经元产生保护作用。当 ERK1/2 抑制剂 UO126 存在的情况下,可逆转槲皮素的保护作用<sup>[75]</sup>。Lee<sup>[76]</sup>等实验结果同样证实了槲皮素可通过激活 ERK1/2 信号通路使小鼠胚胎皮质神经元免受左丁硫氨酸亚砷的损伤。激活 ERK1/2 可能是槲皮素发挥神经保护作用的机制之一。

JNK 及其底物 c-jun 磷酸化激活也常被认为与细胞凋亡有关。紫外线照射,蛋白合成抑制剂、自由基、炎症因子,生长因子等均可激活 JNK 信号通路,因此 JNK 信号通路又被称为 SAPK。研究表明<sup>[77]</sup>,Aβ 可以诱导 JNK 在神经元中表达,进而激活 c-jun、ATF-2、Elk-1 等转录因子,导致神经元凋亡。相反,抑制 JNK 的活性表达可减轻 Aβ 引起 PC12 神经元的损伤<sup>[78]</sup>。JNK 和 p38 信号通路含有相同的上游激活因子,如 ASK1 和 TAK1。一般认为能激活 JNK 信号通路的细胞外刺激也能激活 p38MAPK 信号通路。AD 生物学研究中细胞和动物模型实验表明<sup>[79]</sup>,p38MAPK 参与 AD 的发生和发展等多个环节,包括 Tau 磷酸化、神经毒性、神经炎症和突触功能障碍。最近一项临床研究报告显示<sup>[80]</sup>,AD 患者中磷酸化的 p38MAPK 程度与病程呈正相关。因此,抑制 p38MAPK 被广泛认为是治疗 AD 的一种有前途的策略。Yung 等<sup>[81]</sup>将包裹槲皮素的脂质体与



缓激肽类似物 RMP-7 和乳铁蛋白 LF 形成复合物,研究其在人脑微血管内皮细胞的穿透能力和 A $\beta$  对 SK-N-MC 细胞毒性实验中发现,复合物增强了槲皮素通过血脑屏障的能力,显著抑制 SK-N-MC 细胞内 JNK 和 p38MAPK 磷酸化,降低了 A $\beta$  诱导的细胞毒性,提高细胞的存活率。高糖诱导的大鼠海马神经元凋亡实验中<sup>[82]</sup>,模型组中 p-p38/p38、p-JNK/JNK 比值均明显升高。为进一步探索神经元凋亡是否与 p-38MAPK 和 JNK 信号通路有关,使用 p38MAPK 通路抑制剂 SB239063 和 JNK 通路抑制剂 SP200125 分别进行干预,观察到抑制剂组 p38 和 JNK 磷酸化水平均显著的下降,抑制了细胞凋亡数目。另外发现药物保护组中槲皮素同样通过抑制 p38MAPK 和 JNK 磷酸化,发挥与抑制剂组相似的神经保护作用。综上实验结果表明,槲皮素可依赖激活 MAPK 信号转导通路,介导神经保护作用。

#### 5.4 通过激活 PI3K/Akt 信号转导通路发挥神经保护

磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase,PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B,PKB,又称 AKT)是以 AKT 为中心的信号级联通路,广泛存在于各种类型的细胞中,接收胞外信号并作出细胞应答,参与细胞的增殖分化和生长调节,在治疗 AD 研究中受到极大的关注<sup>[83]</sup>。G 蛋白偶联受体和蛋白酪氨酸激酶受体均可激活 PI3K<sup>[84]</sup>,激活的 PI3K 可诱导 AKT 的活化。AKT 是重要的下游靶激酶,活化的 AKT 可抑制促凋亡蛋白 FOXO、Bad、caspase-9 的表达而直接发挥抗凋亡作用,还可启动 CREB、NF- $\kappa$ B 等转录因子的表达来促进细胞存活<sup>[85]</sup>。AKT 参与调控的抗细胞凋亡途径主要是通过磷酸化 GSK-3 $\beta$  使其失活介导的。当 AKT 的 Ser 473 和 Thr 308 位点磷酸化受到抑制时,AKT 活性降低,减弱了下游 GSK-3 $\beta$  的 Ser 9 位点磷酸化,增强细胞内线粒体膜通透性,释放细胞凋亡因子,诱导细胞凋亡<sup>[86]</sup>。

GSK-3 $\beta$  激活下游因子,导致微管相关的 Tau 蛋白发生磷酸化,是形成神经原纤维缠结的重要原因之一<sup>[87]</sup>。此外,A $\beta$  诱导神经元或干细胞神经毒性主要是由于 A $\beta$  寡聚体阻断 PI3K/AKT 信号通路的活性,激活了 GSK-3 $\beta$  表达,致使增加 Tau 蛋白的高磷酸化<sup>[88]</sup>。除通过 GSK-3 $\beta$  来调控 Tau 蛋白的磷酸化,PI3K/AKT 还可通过其他信号通路交叉作用来影响 AD。抑制 PI3K/AKT 信号通路可诱导线粒体下游通路的激活,促进细胞凋亡;激活 PI3K/AKT 信号通路引起 AKT 级联的磷酸化,可抑制氧化损伤<sup>[89]</sup>。大量研究表明,槲皮素的神经保护作用与 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路相关。Chang<sup>[90]</sup>等研究表明,在脑缺血大鼠脑中,槲皮

素显著减少了缺氧后活性氧的生成和脑梗死面积,促进抗氧化和抗凋亡蛋白的表达,与 PI3K/AKT 抑制剂(LY294002)共同作用后,消除了槲皮素的神经保护作用,槲皮素的抗氧化作用可能是通过 PI3K/AKT 信号通路介导的。槲皮素对 PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  信号通路的作用在冈田酸诱导的 HT22 海马神经元损伤研究中也得到了证实<sup>[37]</sup>。另外一项研究也证实了,槲皮素在脑内的神经保护作用与上调 AKT 相关,并通过抑制线粒体依赖的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶介导的凋亡途径减少缺血后的细胞凋亡<sup>[91]</sup>。

## 6 总结与展望

槲皮素及其苷类化合物对抗 AD 具有广泛的神经保护作用。如上所述,槲皮素治疗 AD 的机制主要包括干扰  $\beta$ -淀粉蛋白的形成和沉积,抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化来干预 AD 的疾病发展过程,通过抗炎反应、抗氧化应激和抑制细胞凋亡等发挥对神经细胞的保护作用,另外对神经细胞还具有雌激素样作用。近年来,槲皮素的雌激素样神经保护作用受到越来越多学者的关注。流行病学发现,绝经后的妇女人群患 AD 的概率远大于男性,提示雌激素减少是 AD 的危险因素,雌激素替代治疗有可能防治和延迟 AD 的发生<sup>[92]</sup>。但雌激素替代治疗的潜在的致癌风险,影响了雌激素在临床上的应用。植物雌激素含有与雌激素类似的作用效果,但植物雌激素可通过雌激素抵抗作用减少某些癌症的发生。槲皮素属于黄酮类植物雌激素,已有大量研究表明,槲皮素对神经细胞具有雌激素样保护作用,但其具体的信号转导通路以及药理机制尚缺乏深入研究。总之,槲皮素在治疗 AD 方面有望作为具有保护作用的雌激素替代物之一。

## 参考文献

- [1] Marcus R Keoghbrown, Henning Tarp Jensen, H Michael Arrighi, *et al.* The impact of Alzheimer's disease on the chinese economy [J]. *EBioMedicine*, 2016, 4: 184-190.
- [2] John A Hardy, Gerald A Higgins. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis [J]. *Science*, 1992, 256(5054): 184-185.
- [3] Lambert M P, Barlow A K, Chromy B A, *et al.* Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A $\beta$ 1-42 are potent central nervous system neurotoxins [J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1998, 95(11): 6448-6453.
- [4] Sedighi Mohsen, Baluchnejadmojarad Tourandokht, Afshin-Majd Siamak, *et al.* Anti-aging Klotho Protects

- SH-SY5Y Cells Against Amyloid  $\beta$ 1-42 Neurotoxicity: Involvement of Wnt1/pCREB/Nrf2/HO-1 Signaling [J]. Mol Neurosci, 2021, 71 (2): 1-9.
- [ 5 ] Cui Liao, Wu Tie, Li Q N, *et al.* Preventive effects of ginsenosides on osteopenia of rats induced by ovariectomy [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22 (5): 428-434.
- [ 6 ] Iijima Koichi, Gatt Anthony, Iijima-Ando Kanae. Tau Ser262 phosphorylation is critical for Abeta42-induced tau toxicity in a transgenic Drosophila model of Alzheimer's disease [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19 (15): 2947-2957.
- [ 7 ] Hoe Hyang-Sook, Freeman Jacob, Rebeck G William. Apolipoprotein E decreases tau kinases and phospho-tau levels in primary neurons [J]. Mol Neurodegener, 2006, 1 (1): 18.
- [ 8 ] Neddens Joerg, Temmel Magdalena, Flunkert Stefanie, *et al.* Phosphorylation of different tau sites during progression of Alzheimer's disease [J]. Acta Neuropathol Commun, 2018, 6 (1): 52.
- [ 9 ] 应侠, 吴振, 雷严, 等. 阿尔茨海默病的发病机制及治疗药物研究进展 [J]. 中国药房, 2014, 25 (33): 3152-3155.
- [ 10 ] Casper Caspersen, Wang Ning, Yao Jun, *et al.* Mitochondrial Abeta: a potential focal point for neuronal metabolic dysfunction in Alzheimer's disease [J]. FASEB J, 2005, 19 (14): 2040-2041.
- [ 11 ] 刘艳萍, 陆征宇, 董强. 阿尔茨海默病病理改变的线粒体机制 [J]. 神经损伤与功能重建, 2015, 10 (3): 239-241.
- [ 12 ] Elena Tamagno, Michela Guglielmotto, Manuela Aragno. Oxidative stress activates a positive feedback between the  $\gamma$ - and  $\beta$ -secretase cleavages of the  $\beta$ -amyloid precursor protein [J]. J Neurochemistry, 2008, 104 (3): 683-695.
- [ 13 ] Mark Lovell, Xiong Shu-ling, Xie Chen-wei, *et al.* Induction of hyperphosphorylated tau in primary rat cortical neuron cultures mediated by oxidative stress and glycogen synthase kinase-3 [J]. J Alzheimer's Disease, 2004, 6 (6): 659-671.
- [ 14 ] Richard Mayeux. Clinical practice. Early Alzheimer's disease [J]. N Engl J Med, 2010, 362 (23): 2194-2201.
- [ 15 ] Kamkar Jaimand, Mohammad Bagher Rezaee, Zahra Behrad, *et al.* Comparison of extraction and measurement of quercetin from stigma, style, sepals, petals and stamen of Crocus sativus by HPLC in combination with heat and ultrasonic [J]. Med Plants By-Prod, 2012, 1 (2): 167-170.
- [ 16 ] Formica JV, Regelson W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids [J]. Food & Chemical Toxicology, 1995, 33 (12): 1061-1080.
- [ 17 ] Parul Lakhanpal, Deepak Kumar Rai. Quercetin: a versatile flavonoid [J]. Internet J Medical Update, 2007, 2 (2): 19.
- [ 18 ] Munvar Miya Munvar, Ian Tamargo, Murtala Bello Abubakar, *et al.* The Role of microRNAs in Alzheimer's disease and their therapeutic potentials [J]. Genes, 2018, 9 (4): 174.
- [ 19 ] Grazia M Liuzzi, Claudio Maria Mastroianni, Tiziana Latronico, *et al.* Anti-HIV drugs decrease the expression of matrix metalloproteinases in astrocytes and microglia [J]. Brain, 2004, 127 (Pt2): 398.
- [ 20 ] Padmapriya Ramamoorthy, Sankar Ashwini, Ramasamy Raveendran. In vitro antioxidant and cytotoxic potential of different parts of Tephrosia purpurea [J]. Research in Pharmaceutical Sciences, 2017, 12 (1): 31-37.
- [ 21 ] Chonlathip Thipkaew, Jintanaporn Wattanathorn, Supaporn Muchimapura. Electrospun nanofibers loaded with quercetin promote the recovery of focal entrapment neuropathy in a rat model of streptozotocin-induced diabetes [J]. BioMed Research International, 2017, (3): 1-12.
- [ 22 ] Sandeep More, Sushruta Koppula, In-Su Kim. The role of bioactive compounds on the promotion of neurite outgrowth [J]. Molecules, 2012, 17 (6): 6728-6753.
- [ 23 ] Dong-Ju Park, Ju-Bin Kang, Fawad-Ali Shah, *et al.* Quercetin attenuates decrease of thioredoxin expression following focal cerebral ischemia and glutamate-induced neuronal cell damage [J]. Neuroscience, 2020, 428: 38-49.
- [ 24 ] Federico Dajas. Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin [J]. J Ethnopharmacology, 2012, 143 (2): 383-396.
- [ 25 ] Marcos Roberto de Oliveira, Seyed Mohammad Nabavi, Nady Braidy, *et al.* Quercetin and the mitochondria: A mechanistic view [J]. Biotechnology Advances, 2016, 34 (5): 532-549.
- [ 26 ] Terao Jun-ji. Factors modulating bioavailability of quercetin-related flavonoids and the consequences of their vascular function [J]. Biochemical Pharmacology, 2017, 139: 15-23.
- [ 27 ] Kyuichi Kawabata, Rie Mukai, Akari Ishisaka. Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability [J]. Food & Function, 2015, 6 (5): 1399-1417.
- [ 28 ] Cai X, Fang Z, Dou J, *et al.* Bioavailability of quercetin: problems and promises [J]. Current Medicinal Chemistry,

- 2013, 20(20):2572-2582.
- [29] Moon Yj, Wang Liang, Robert Dicenzo, *et al.* Quercetin pharmacokinetics in humans [J]. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 2010, 29(4):205-217.
- [30] Heather M Wilkins, Russell H Swerdlow. Amyloid precursor protein processing and bioenergetics [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 133:71-79.
- [31] Nazanin Mohebbi, Seyed abolhassan Shahzadeh Fazeli, Hossein Ghafoori, *et al.* Effect of flavonoids rich extract of Capparis spinosa on inflammatory involved genes in amyloid-beta peptide injected rat model of Alzheimer's disease [J]. *Nutr Neurosci*, 2018, 21(2):143-150.
- [32] Karim Jiménez-Aliaga, Paloma Bermejo-Bescós, Juana Benedí, *et al.* Quercetin and rutin exhibit anti-amyloidogenic and fibril-disaggregating effects in vitro and potent antioxidant activity in APPsw cells [J]. *Life Sci*, 2011, 89(25-26):939-945.
- [33] Mubeen Ahmad Ansari, Hafiz Mohammad Abdul, Gururaj Joshi, *et al.* Protective effect of quercetin in primary neurons against Aβ(1-42): relevance to Alzheimer's disease [J]. *Nutr Biochem*, 2009, 20(4):269-275.
- [34] Miguel Medina, Jessu Avila. The role of extracellular Tau in the spreading of neurofibrillary pathology [J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8(1):113.
- [35] George Bloom. Amyloid-β and tau: the trigger and bullet in Alzheimer disease pathogenesis [J]. *JAMA Neurol*, 2014, 71(4):505-508.
- [36] Park Dong-Ju, Kang Ju-bin, Murad-Ai Shah, *et al.* Quercetin alleviates the injury-induced decrease of protein phosphatase 2A subunit B in cerebral ischemic animal model and glutamate-exposed HT22 cells [J]. *J Vet Med Sci*, 2019, 81(7):1047-1054.
- [37] Jiang Wei, Luo Tao, Li Sheng, *et al.* Quercetin protects against okadaic acid-induced injury via MAPK and PI3K/Akt/GSK3β signaling pathways in HT22 hippocampal neurons [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0152371.
- [38] Shen Xiu-yin, Luo Tao, Li Sheng, *et al.* Quercetin inhibits okadaic acid-induced tau protein hyperphosphorylation through the Ca<sup>2+</sup>-calpain-p25-CDK5 pathway in HT22 cells [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2):1138-1146.
- [39] Michael T Lin, M Flint Beal. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Nature*, 2006, 443(7113):787-795.
- [40] Casley C S, Laura Canevari, Land J M, *et al.* Beta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities [J]. *J Neurochem*, 2002, 80(1):91-100.
- [41] Lucio G Costa, Jacqueline M Garrick, Pamela J Roquè, *et al.* Mechanisms of neuroprotection by quercetin: counteracting oxidative stress and more [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, (7):1-10.
- [42] Juan A Godoy, Carolina Lindsay, Rodrigo A Quintanilla, *et al.* Quercetin exerts differential neuroprotective effects against HO and Aβ aggregates in hippocampal neurons: the role of mitochondria [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(9):7116-7128.
- [43] Liu Yao-wu, Liu Xiao-li, Kong Li, *et al.* Neuroprotection of quercetin on central neurons against chronic high glucose through enhancement of Nrf2/ARE/glyoxalase-1 pathway mediated by phosphorylation regulation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:2145-2154.
- [44] Gan Li, Jeffrey A Johnson. Oxidative damage and the Nrf2-ARE pathway in neurodegenerative diseases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(8):1208-1218.
- [45] Agnes Simonyi, Chen Zi-hong, Jiang Jing-hua, *et al.* Inhibition of microglial activation by elderberry extracts and its phenolic components [J]. *Life Sci*, 2015, 128:30-38.
- [46] Grace Y Sun, Chen Zi-hong, Kimberly J Jasmer, *et al.* Quercetin attenuates inflammatory responses in BV-2 microglial cells: role of MAPKs on the Nrf2 pathway and induction of heme oxygenase-1 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10):e0141509.
- [47] Tsung-Kuei Kao, Yen-Chuan Ou, Shue-Ling Raung, *et al.* Inhibition of nitric oxide production by quercetin in endotoxin/cytokine-stimulated microglia [J]. *Life Sci*, 2010, 86(9-10):315-321.
- [48] Agnes Simonyi, Chen Zi-dong, Jiang Jing-hua, *et al.* Inhibition of microglial activation by elderberry extracts and its phenolic components [J]. *Life Sci*, 2015, 128:30-38.
- [49] Miki Hayakawa, Masanori Itoh, Ohta Kazunori, *et al.* Quercetin reduces eIF2α phosphorylation by GADD34 induction [J]. *Neurobiol Aging*, 2015, 36(9):2509-2518.
- [50] Li Yan-ling, Guo Hua, Zhao Yong-qiang, *et al.* Quercetin protects neuronal cells from oxidative stress and cognitive degradation induced by amyloid β-peptide treatment [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2):1573-1577.
- [51] Paula Perez, Angelica Maria Sabogal Guaqueta, Luis Carlos Carrillo Hormaza, *et al.* Preventive effect of quercetin in a triple transgenic Alzheimer's disease mice



- model [J]. *Molecules*, 2019, 24 (12): 2287.
- [ 52 ] Pattie S Green, James W Simpkins. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action [J]. *Dev Neurosci*, 2000, 18 (4-5): 347-358.
- [ 53 ] Michael E Mendelsohn. Protective effects of estrogen on the cardiovascular system [J]. *Cardiol*, 2002, 89 (12A): 12E-17E.
- [ 54 ] Robert Speth, Mikayla D'Ambra, Ji Hong, *et al.* A heartfelt message, estrogen replacement therapy: use it or lose it [J]. *Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 315 (6): H1765-H1778.
- [ 55 ] Jamaica R Rettberg, Yao Jia, Roberta Brinton. Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body [J]. *Front Neuroendocrinol*, 2014, 35 (1): 8-30.
- [ 56 ] Jakob O Strom, Annette Theodorsson, Elvar Theodorsson. Mechanisms of estrogens' dose-dependent neuroprotective and neurodamaging effects in experimental models of cerebral ischemia [J]. *Int J Mol*, 2011, 12 (3): 1533-1562.
- [ 57 ] Xu Hua-xi, Gunnar K Gouras, Jeffrey P Greenfield, *et al.* Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer beta-amyloid peptides [J]. *Nat Med*, 1998, 4 (4): 447-451.
- [ 58 ] Jaffe A B, Toran-Allerand C D, Paul Greengard, *et al.* Estrogen regulates metabolism of Alzheimer amyloid beta precursor protein [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269 (18): 13065-13068.
- [ 59 ] Claudie Hooper, Richard Killick, Simon Lovestone. The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease [J]. *J Neurochem*, 2008, 104 (6): 1433-1439.
- [ 60 ] 沈丽霞, 赵丕文, 牛建昭, 等. 金雀异黄素和槲皮素对人类乳腺癌细胞增殖和细胞周期的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24 (1): 59-62.
- [ 61 ] 沈丽霞, 牛建昭, 王继峰. 槲皮素、补骨脂素对人乳腺癌 T47D 细胞两种受体亚型表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2009, 25 (4): 461-464.
- [ 62 ] 钟明. 槲皮素对大鼠皮层神经元的雌激素样保护作用及其机制研究 [D]. 张家口: 河北北方学院, 2016.
- [ 63 ] Huma Shahzad, Nelli Giribabu, Sekaran Muniandy, *et al.* Quercetin induces dose-dependent differential morphological and proliferative changes in rat uteri in the presence and in the absence of estrogen [J]. *J Med Food*, 2015, 18 (12): 1307-1316.
- [ 64 ] 刘杨. 槲皮素对 A $\beta$ 25-35 致 PC12 细胞损伤的神经保护作用及机制研究 [D]. 张家口: 河北北方学院, 2017.
- [ 65 ] Gunnar K Gouras, Julia Tsai, Jan Naslund, *et al.* Intraneuronal A $\beta$ 42 accumulation in human brain [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156 (1): 15-20.
- [ 66 ] Junghyung Park, Jinyoung Won, Jincheol Seo, *et al.* Streptozotocin induces Alzheimer's disease-like pathology in hippocampal neuronal cells CDK5/Drp1-mediated mitochondrial fragmentation [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 235.
- [ 67 ] Yang J, Liu X, Bhalla K, *et al.* Prevention of apoptosis by Bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked [J]. *Science*, 1997, 275 (5303): 1129-1132.
- [ 68 ] Lakroun Zhoura, Mohamed Kebieche, Asma Lahouel, *et al.* Oxidative stress and brain mitochondria swelling induced by endosulfan and protective role of quercetin in rat [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, 22 (10): 7776-7781.
- [ 69 ] Vidya Priyadarsini R, Senthil Murugan R, Maitreyi S, *et al.* The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- $\kappa$ B inhibition [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 649 (1-3): 84-91.
- [ 70 ] Zhang Xian-ming, Chen Jia, Xia Yu-gui, *et al.* Apoptosis of murine melanoma B16-BL6 cells induced by quercetin targeting mitochondria, inhibiting expression of PKC- $\alpha$  and translocating PKC- $\delta$  [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2005, 55 (3): 251-262.
- [ 71 ] Sharma D R, Wani W Y, Sunkaria A, *et al.* Quercetin attenuates neuronal death against aluminum-induced neurodegeneration in the rat hippocampus [J]. *Neuroscience*, 2016, 324: 163-176.
- [ 72 ] Wang Dong-mei, Li San-qiang, Wu Wen-lan, *et al.* Effects of long-term treatment with quercetin on cognition and mitochondrial function in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neurochem Res*, 2014, 39 (8): 1533-1543.
- [ 73 ] Li-shar Huang, Sun Gang, David Cobessi, *et al.* 3-nitropropionic acid is a suicide inhibitor of mitochondrial respiration that, upon oxidation by complex II, forms a covalent adduct with a catalytic base arginine in the active site of the enzyme [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (9): 5965-5972.
- [ 74 ] Marie Cargnello, Philippe P Roux. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2011, 75 (1): 50-83.
- [ 75 ] Maja Jazvinščak Jembrek, Josipa Vlaineć, Vida Čadež, *et al.* Atomic force microscopy reveals new biophysical markers for monitoring subcellular changes in oxidative injury: Neuroprotective effects of quercetin at the nanoscale [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (10): e0200119.

- [ 76 ] Bo Kyung Lee, Yi-Sook Jung. Allium cepa extract and quercetin protect neuronal cells from oxidative stress via PKC- inactivation/ERK1/2 activation [ J ]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, (9):1-9.
- [ 77 ] Morishima Y, Gotoh Y, Zieg J, *et al.* Beta-amyloid induces neuronal apoptosis via a mechanism that involves the c-Jun N-terminal kinase pathway and the induction of Fas ligand [ J ]. *Journal of Neuroence*, 2001, 21 (19):7551.
- [ 78 ] Carol M Troy, Sylvia Rabacchi, Xu Z H, *et al.* beta-Amyloid-induced neuronal apoptosis requires c-Jun N-terminal kinase activation [ J ]. *J Neurochemistry*, 2010, 77(1):157-164.
- [ 79 ] Laura Schnöder, Hao Wen-lin, Qin Yi-ren, *et al.* Deficiency of neuronal p38 $\alpha$ -MAPK attenuates amyloid pathology in Alzheimer's mouse and cell models through facilitating lysosomal degradation of BACE1 [ J ]. *J Biological Chemistry*, 2016, 291 (5):2067-2079.
- [ 80 ] Wang Shan, Zhang Chong, Sheng Xiao-na, *et al.* Peripheral expression of MAPK pathways in Alzheimer's and Parkinson's diseases [ J ]. *J Clinical Neuroence*, 2014, 21 (5):810-814.
- [ 81 ] Kuo Yung-Chih, Chien-Wei Tsao. Neuroprotection against apoptosis of SK-N-MC cells using RMP-7- and lactoferrin-grafted liposomes carrying quercetin [ J ]. *International J Nanomedicine*, 2017, 12:2857-2869.
- [ 82 ] 闫斌. 槲皮素、齐墩果酸和淫羊藿苷及其配伍对高糖培养 SD 大鼠海马神经元凋亡及 p38MAPK、JNK 信号通路影响的研究[ D ]. 北京:北京协和医学院, 2018.
- [ 83 ] Elizabeth Sagatys, Christopher R Garrett, David Boulware, *et al.* Activation of the serine/threonine protein kinase Akt during the progression of Barrett neoplasia [ J ]. *Human Pathology*, 2007, 38(10):1526-1531.
- [ 84 ] Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, *et al.* The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling [ J ]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11 (5):329-341.
- [ 85 ] Derek P Brazil, Yang Zhong-zhou, Brian A Hemmings. Advances in protein kinase B signalling:AKTion on multiple fronts [ J ]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5):233-242.
- [ 86 ] Nicholas M Kanaan, Gerardo Morfini, Nichole LaPointe, *et al.* Pathogenic forms of tau inhibit kinesin-dependent axonal transport through a mechanism involving activation of axonal phosphotransferases [ J ]. *J Neurosci*, 2011, 31 (27):9858-9868.
- [ 87 ] Carolyn A Rankin, Sun Qian, T Chris Gamblin. Pre-assembled tau filaments phosphorylated by GSK-3 $\beta$  form large tangle-like structures[ J ]. *Neurobiol Dis*, 2008, 31(3):368-377.
- [ 88 ] Yasuko Kitagishi, Atsuko Nakanishi, Yasunori Ogura, *et al.* Dietary regulation of PI3K/ AKT /GSK-3 $\beta$  pathway in Alzheimer's disease [ J ]. *Alzheimers Research & Therapy*, 2014, 6 (3):35.
- [ 89 ] Carlo Cervellati, Arianna Romani, Davide Seripa, *et al.* Oxidative balance, homocysteine, and uric acid levels in older patients with Late Onset Alzheimer's Disease or Vascular Dementia [ J ]. *J Neurol Sci*, 2014, 337 (1-2):156-161.
- [ 90 ] Heng-Chih Chang, Yea-Ru Yang, Paulus S Wang, *et al.* Quercetin enhances exercise-mediated neuroprotective effects in brain ischemic rats [ J ]. *Medicine & ence in Sports & Exercise*, 2014, 46(10):1908-1916.
- [ 91 ] Lei Xiao-ming, Chao Hai-lian, Zhang Zhen-ni, *et al.* Neuroprotective effects of quercetin in a mouse model of brain ischemic/reperfusion injury via antiapoptotic mechanisms based on the Akt pathway [ J ]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12 (3):3688-3696.
- [ 92 ] Steve Waring, WA Rocca, Ronald C Petersen, *et al.* Postmenopausal estrogen replacement therapy and risk of AD: a population-based study[ J ]. *Neurology*, 1999, 52(5):965-970.