

# 染料木素抗阿尔茨海默病的机制研究进展



赵明勇<sup>1</sup>, 凌迎春<sup>2</sup>, 李玲玲<sup>3</sup>, 钟芳芳<sup>4</sup>

1. 绍兴文理学院医学院附属精神卫生中心精神科 (浙江绍兴 312000)
2. 绍兴文理学院医学院附属精神卫生中心检验科 (浙江绍兴 312000)
3. 绍兴文理学院医学院附属精神卫生中心产科 (浙江绍兴 312000)
4. 绍兴文理学院附属医院/绍兴人民医院神经内科 (浙江绍兴 312000)

**【摘要】**随着世界人口的老龄化,阿尔茨海默病(AD)的发病率不断上升。目前,AD已成为现代医学面临的最严重问题之一。染料木素是一种黄酮类的植物活性物质,由于其结构与雌激素相似,可以模拟雌激素的作用,具有多种生物活性,因其具有多途径靶向性和低毒性等特点,被认为是AD的一种有效的潜在治疗药物。本文对染料木素的药动学进行介绍,并从其类雌激素作用、抗氧化、抗炎、抗 $\beta$ -淀粉样蛋白、调节胆碱能神经传递和抑制Tua蛋白磷酸化等多个方面对染料木素在AD中的神经保护作用及作用机制进行综述。

**【关键词】**染料木素;植物活性药物;阿尔茨海默病;神经保护;雌激素;研究进展

**【中图分类号】**R964 **【文献标识码】**A

## Research progress on the mechanism of genistein in Alzheimer's disease

ZHAO Mingyong<sup>1</sup>, LING Yingchun<sup>2</sup>, LI Lingling<sup>3</sup>, ZHONG Fangfang<sup>4</sup>

1. Department of Psychiatry, Affiliated Mental Health Center, School of Medicine, Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China
2. Department of Laboratory, Affiliated Mental Health Center, School of Medicine, Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China
3. Department of Obstetrics, Affiliated Mental Health Center, School of Medicine, Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China
4. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Shangxing University, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: ZHONG Fangfang, Email: 13867536519@126.com

**【Abstract】**With the aging of the world's population, the incidence of Alzheimer's disease (AD) is continuously increasing. Currently, AD has become one of the most severe challenges faced by modern medicine. Genistein is a flavonoid phytoactive substance, whose structure is similar to that of estrogen, allowing it to mimic the effects of estrogen and possess various biological activities. Due to its multi-pathway targeting and low toxicity characteristics, it is considered to be an effective potential therapeutic source for AD. In this paper, the pharmacokinetics of genistein

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202408105

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划基金项目(2022KY1309)

通信作者: 钟芳芳, 硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, Email: 13867536519@126.com

are introduced, and its neuroprotective effects and mechanisms in AD are reviewed from the aspects of its estrogen-like action, antioxidant, anti-inflammatory, anti- $\beta$ -amyloid, regulation of cholinergic neurotransmission and inhibition of Tau protein phosphorylation.

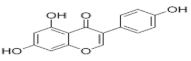
**【Keywords】** Genistein; Phytoactive drugs; Alzheimer's disease; Neuroprotective; Estrogen; Research progress;

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是痴呆的主要原因, 其最常见、最典型的临床表现是老年患者隐匿性的、进行性的短时记忆的丧失<sup>[1]</sup>。目前 AD 的确切发病机制仍不清楚, 不同机制之间亦存在错综复杂的关系, AD 的治疗也仍在不断的研究与摸索中。

近年来, 诸多研究证实染料木素可通过多种机制发挥神经保护作用。染料木素, 又名金雀异黄酮, 是一种黄酮类的植物活性药物, 其化学结构为 5,7-二羟基-3-(4-羟基苯基)色烯-4-酮, 分子式为  $C_{15}H_{10}O_5$  (表 1), 其具有的多酚羟基结构是其发挥抗氧化活性的关键, 而其苯酚环上的 C4 和 C7 在结构和功能上与雌激素 E2 上的酚基团相似, 从而使其发挥类雌激素的生理活性。本文将对染料木素的药动学进行介绍, 并对染料木素在体内外实验中所表现的类雌激素作用、抗氧化、抗炎、抗  $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $A\beta$ )、调节胆碱能神经传递和抑制 T $\alpha$  蛋白磷酸化等多种抗 AD 作用及其机制进行阐述, 以期揭示其在改善患者认知功能、延缓疾病进展等方面的潜在临床应用价值, 为 AD 的治疗提供新的思路和方法。

表 1 染料木素的基本信息

Table 1. Basic information of genistein

项目	染料木素
英文名称	genistein
别名	金雀异黄酮、染料木黄酮
分类	异黄酮类
CAS号	446-72-0
化学名称	5,7-二羟基-3-(4-羟基苯基)色烯-4-酮
化学结构	
分子量	270.24
熔点	297~298 °C
主要来源	豆科植物

## 1 染料木素的药动学

药动学研究表明染料木素的口服生物利用度很低, 其组织或血浆浓度已远低于其体外半抑制

浓度, 这可能影响其体内效率<sup>[2-3]</sup>。同时, 门静脉血浆水平的生物利用度研究表明, 染料木素苷元的生物利用度大于其糖苷的生物利用度, 染料木素以糖苷形式被部分吸收<sup>[4]</sup>。与其他异黄酮类似, 染料木素的内分泌作用也可归因于其主要代谢物 (-)-(-S)-雌马酚, 这是一种由肠道微生物代谢产生的植物雌激素, 染料木素被摄入体内后即被肠道微生物群代谢, 这一代谢步骤包括  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解糖部分, 释放染料木素的苷元形式被认为是最活跃的代谢产物, 但由于肠道和肝脏的广泛代谢, 大多数吸收的染料木素在血浆中以葡萄糖醛酸盐或硫酸偶联的形式循环<sup>[5]</sup>。

## 2 染料木素治疗AD的作用机制

### 2.1 类雌激素作用

雌激素已被发现可以改善记忆力并降低 AD 的风险。雌激素是主要的甾体类女性性激素, 主要在刺激初级卵泡发育时合成, 具有控制排卵的多种生理作用之一。雌激素均具有神经活性, 有显著的神经保护作用; 更年期由于原始女性卵泡池的自然耗竭导致雌激素产生停止, 内源性激素水平迅速下降, 可能导致女性患 AD 的易感性增加<sup>[6-7]</sup>。早期流行病学研究发现, 与未接受激素替代疗法 (hormone replacement therapy, HRT) 的妇女相比, 接受 HRT 的妇女 AD 发病率降低<sup>[8-9]</sup>。然而, 由于雌激素对非神经元细胞 (乳腺细胞) 也有增殖和致癌作用, 极大增加了使用雌激素的风险<sup>[10]</sup>。因此, 结构与雌激素相似、能结合并激活雌激素受体的植物雌激素备受关注。

染料木素是所有异黄酮中雌激素活性最高的, 由于其结构与雌激素相似, 因此也被称为植物雌激素<sup>[11]</sup>。根据结合的雌激素受体不同, 染料木素可以作为雌激素激动剂与内源性激素 (雌二醇、E2 或 17 $\beta$ -雌二醇) 发挥协同作用, 或作为雌激素拮抗剂阻断雌激素受体 (雌激素受体和  $\beta$ ) 诱导其构象变化从而导致其功能特性丧失, 因此, 染料木素又被称为选择性雌激素受体调节

剂<sup>[12-13]</sup>。Setiawan等<sup>[14]</sup>通过评估含染料木素食物喂养卵巢子宫切除大鼠模型中的雌激素水平发现,含染料木素的食物显著提高了大鼠血清雌二醇水平。Liu等<sup>[15]</sup>实验则是通过生物信息学的手段阐明了雌激素受体通过细胞焦亡通路导致神经炎症,并加重AD的过程。还通过进一步的分子对接试验证明染料木素与雌激素受体具有良好的结合能力,其有望成为AD治疗的相关靶点。既往体内研究表明,染料木素可能依赖于老年女性内源性大脑雌激素水平的方式发挥改善AD病理的作用,使 $\beta$ -分泌酶的mRNA和蛋白质表达下调,减少大脑淀粉样斑块形成<sup>[16]</sup>。而且作为一种植物雌激素,染料木素并不会增加乳腺癌风险,因为植物雌激素为雌激素受体调节剂,而非与雌二醇类似以同样的亲和力与雌激素受体结合。相较于雌激素替代疗法治疗AD可能增加癌症发生的风险,染料木素在治疗AD的同时还具有抗肿瘤作用的优势。研究表明,染料木素可促进肿瘤细胞凋亡和细胞周期阻滞,抑制血管生成和转移,在预防癌症方面具有较大潜力<sup>[17]</sup>。因此,染料木素有望作为一种植物雌激素且低致癌风险的潜在HRT药物在AD中起保护作用。

## 2.2 抗氧化作用

氧化应激在AD的神经退行性变过程中也起重要作用,研究结果支持氧化应激是AD的早期事件,并随着疾病进展和病变形成而减少。此外, $A\beta$ 本身是一种促氧化剂, $A\beta$ 肽毒性是由自由基对细胞膜的损伤介导, $A\beta$ 可引起了脑细胞细胞膜的脂质过氧化。染料木素具有较强的抗氧化性能,可以消除活性氧和自由基,染料木素在预防和治疗AD方面也显示出良好的抗氧化作用。一项探究染料木素抑制 $A\beta$ 毒性作用及其机制的研究显示,染料木素可显著减轻转基因表达 $A\beta$ 肽的秀丽隐杆线虫AD模型的神经毒性,并揭示了染料木素促进衰变加速因子蛋白16(decay acceleration factor protein 16, DAF-16)入核,提高热休克蛋白-16.2(heat shock protein-16.2, HSP-16.2)的表达水平;并通过其抗氧化活性降低脂褐素水平,调节固醇代谢通路抑制 $A\beta$ 毒性的作用机制<sup>[18]</sup>。而一项探究染料木素与核红细胞2相关因子(Nrf2)关系在AD发病机制中的研究提示,染料木素可促进血红素氧合酶-1(heme oxygenase, HO-1)mRNA和蛋白的表达,以及磷

脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)p85的磷酸化水平,此外,染料木素通过HO-1信号通路增加了 $A\beta$  25-35处理过的人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y)的存活率,而这一过程可被Nrf2的小干扰核糖核酸(siRNA)抑制<sup>[19]</sup>。汪婷婷等<sup>[20]</sup>也探究了染料木素对AD模型小鼠氧化应激水平和B淋巴细胞-2基因(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)的影响,通过使用不同剂量染料木素连续49d灌胃处理 $A\beta$  25-35构建的AD大鼠模型,发现AD大鼠血清超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及谷胱甘肽(glutathione, GSH)的水平明显升高,丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平降低,表明染料木素可提高机体抗氧化能力,同时染料木素还可上调凋亡相关蛋白Bcl-2的表达,有效减少神经元丢失,改善AD模型大鼠的学习记忆能力。此外,一项探究胆固醇氧化产物与AD发病机制的研究证明24-羟化胆固醇可促进神经元细胞的氧化,增强 $A\beta$ 诱导的神经元细胞坏死和凋亡,而染料木素可抑制促氧化剂24-羟化胆固醇的作用,减少 $A\beta$ 诱导的大鼠脑突触中活性氧的过量产生以及氧化型GSH/GSH比,从而保护神经元细胞<sup>[21]</sup>。Petry等<sup>[22]</sup>发现10 mg/kg染料木素灌胃10d可显著减轻 $A\beta$  42引起的大鼠额叶皮质的神经节苷脂水平的降低。锰-SOD(Mn-SOD)可以消除超氧化物自由基,在线粒体功能障碍中起关键防御作用,MnSOD的缺失会增加AD脑中斑块和神经原纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFT)的形成,Kairane等<sup>[23]</sup>探究了AD患者中染料木素与脑皮质MnSOD活性的关系,发现染料木素可直接清除自由基,增加MnSOD的表达。Setiawan等<sup>[14]</sup>研究还发现,含染料木素的食物喂养大鼠显著提高了大鼠血清SOD水平,表明染料木素可通过抗氧化活性发挥神经保护作用(表2)。

## 2.3 抗炎作用

神经炎症假说被认为是AD的发生机制之一,其标志是中枢神经系统的固有免疫细胞,主要是小胶质细胞和星形胶质细胞,在各种病理损伤的情况下产生一系列促炎细胞因子,这些促炎因子的释放会导致突触功能障碍,抑制神经形成,甚至导致神经元死亡<sup>[24]</sup>。AD患者最初的神经系统改变是 $A\beta$ 沉积部位周围的小胶质细胞激活,增加促炎细胞因子水平,同时,核因子 $\kappa$ B(nuclear



表2 染料木素抗氧化机制

Table 2. Antioxidant mechanism of genistein

模型	机制	参考文献
转基因表达A $\beta$ 肽的秀丽隐杆线虫AD模型	促进DAF-16入核、提高HSP 16.2表达、降低脂褐素水平等途径调节脂代谢过程来抑制A $\beta$ 毒性	[18]
SH-SY5Y细胞系	促进HO-1表达以及PI3K的磷酸化, 这一过程可被Nrf2抑制	[19]
A $\beta$ 25-35双侧海马注射致AD大鼠模型	提高血清SOD活力和GSH含量, 降低MDA含量, 上调海马Bcl-2蛋白表达, 减少神经元丢失	[20-27]
24-OH和A $\beta$ 处理的SK-N-BE和NT-2神经元细胞	抑制24-羟化胆固醇, 进而抑制神经元细胞内A $\beta$ 诱导的活性氧的过量产生	[21-28]
密度梯度离心法分离的AD去世患者的颞叶皮层线粒体	染料木素可以直接清除自由基, 增加抗氧化酶MnSOD的表达	[23-29]

factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号通路中激活引起的炎症也是 AD 等神经退行性疾病发生的关键<sup>[25]</sup>。

染料木素具有抗炎作用。为探究染料木素在小胶质细胞活化与神经炎症这两个与 AD 发病密切相关的病理进程中的作用, Zhou 等<sup>[26]</sup>研究发现, 随着 A $\beta$  25-35 的积累, BV-2 小胶质细胞中 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的表达增加, TLR4 被激活后, 可通过信号转导激活 NF- $\kappa$ B 信号通路, NF- $\kappa$ B 可通过调节几种炎症介质和细胞因子的表达引起炎症反应。其结果显示, 经 50  $\mu$ mol/L 染料木素预处理 BV-2 小胶质细胞 2 h 后, 可抑制 TLR4 的表达, 说明染料木素可通过阻断 TLR4 抑制 NF- $\kappa$ B 活性, 从而发挥抗炎作用。这与 Seo 等<sup>[27]</sup>探究染料木素抗神经炎症作用机制的研究相一致, 即染料木素可以阻断 NF- $\kappa$ B 与靶向 DNA 的结合, 从而拮抗 AD 的神经炎症作用。染料木素的抗炎作用还体现在抑制炎症因子

水平上。在一项研究染料木素改善脂多糖诱导的认知功能障碍的研究中发现, 染料木素可降低小鼠模型海马中白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、Nrf2、NF- $\kappa$ B、TLR4、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 等多种炎症因子水平, 改善小鼠的神经炎症和认知功能<sup>[28-29]</sup>。Valles 等<sup>[30]</sup>也为探究染料木素在改善神经炎症中的作用机制开展了相关研究, 结果显示, 使用染料木素预处理 A $\beta$  诱导损伤的星形胶质细胞后, 过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator activated receptor, PPARs) 表达上调, COX-2、iNOS、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  等多种炎症介质也受到控制, 表明染料木素的抗炎作用可能是通过 PPARs 介导和激活, 进而抑制原代培养的星形胶质细胞中 A $\beta$  引起的多种炎症反应 (表 3)。

表3 染料木素抗炎机制

Table 3. Anti-inflammatory mechanism of genistein

模型	机制	参考文献
A $\beta$ 25-35诱导的BV-2小胶质细胞	可减轻A $\beta$ 25-35诱导的细胞毒性和炎症损伤, 抑制TLR4和NF- $\kappa$ B表达, 抑制NF- $\kappa$ B和DNA结合及其转录活性	[26-27]
脂多糖诱导的认知功能障碍小鼠模型	通过调节Nrf2/NF- $\kappa$ B/IL-6/TNF $\alpha$ /COX-2/iNOS/TLR4, 改善认知功能障碍和神经炎症	[29]
A $\beta$ 诱导的原代星形胶质细胞	激活PPARs, 抑制COX-2、iNOS、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等多种炎症介质的产生	[30]

## 2.4 抗A $\beta$ 作用

淀粉样斑块, 通常也称为老年斑块, 在 AD 患者大脑中发现由 A $\beta$  沉积形成的, 其蛋白沉积核心周围被结构异常的神经元包围, A $\beta$  由淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 水解, 在正常生理条件下, APP 分泌可溶性 A $\beta$ , 可促进

神经突生长, 提高神经元存活率, 保护神经元活性, 然而, 在病理状态下, APP 在  $\beta$  位点 APP 切割酶 1 ( $\beta$ -site APP cleaving enzyme, BACE1) 的作用可下分泌不溶性的 A $\beta$ , 不溶性 A $\beta$  在沉积和聚集后具有强烈的神经毒性作用, 导致 AD 神经元凋亡和功能障碍<sup>[31-32]</sup>。因此, 减少 A $\beta$  生成与加速 A $\beta$

分解的尝试可能成为治疗 AD 的潜在有效手段。

染料木素已被证明具有抗 A $\beta$  作用。Fang 等<sup>[33]</sup>通过分子对接和分子动力学模拟来揭示染料木素对 A $\beta$  42 多肽构象改变机制的研究表明,染料木素对其构象转换有抑制作用,降低 A $\beta$  42 肽的  $\beta$ -片层二级结构比例,同时诱导无规则卷曲结构的形成。Youn 等<sup>[34]</sup>通过 BACE1 抑制实验及酶动力学预测评估了染料木素体外抗 AD 活性,结果显示染料木素通过可逆非竞争性机制与 BACE1 中的重要氨基酸残基,如 ASN37、GLN73 和 TRP76,通过氢键相互作用,显著抑制 BACE1,从而减少不溶性 A $\beta$  的产生。Das 等<sup>[35]</sup>的研究筛选了抑制 BACE1 的天然活性药物,并通过硫黄素 T 及绿色荧光蛋白偶联的 A $\beta$  筛选出的染料木素还具有抑制 A $\beta$  聚集的作用。此外,Shentu 等<sup>[36]</sup>发现染料木素可以抑制 APP T668 位点的磷酸化,从而抑制 A $\beta$  的产生。Hirohata 等<sup>[37]</sup>观察到染料木素与 A $\beta$  单体、寡聚体和纤维均可相互作用,还与多种不同 A $\beta$  片段相互作用,并可直接结合

聚集程度最高的 A $\beta$  25–35 片段,防止 A $\beta$  25–35 聚集体的形成,这表明染料木素的抗淀粉样变性特性是由其与 A $\beta$  结合所介导的。染料木素还被发现具有很强的抑制能力,可以抑制 A $\beta$  的聚集,改变 A $\beta$  的二级结构,将 A $\beta$  重塑为无结构并且具有较低的神经毒性的聚集体,当 A $\beta$ -染料木素的摩尔比为 1:5 时,对 A $\beta$  诱导损伤的细胞保护效果最好<sup>[12]</sup>。Sang 等<sup>[38]</sup>在其前期研究的基础上开发了染料木素的多靶点靶向配体,体外实验证实其显著抑制了自诱导、人源乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 诱导和铜离子诱导的 A $\beta$  聚集,并具有良好的血脑屏障通透性。Viña 等<sup>[39]</sup>建立在前期动物实验的基础上,开展了染料木素治疗伴有前驱症状的 AD 患者的双盲、安慰剂对照的二期临床研究,发现每天口服补充 120 mg 染料木素持续 1 年可显著改善患者神经认知功能,并且可减少前扣带回的 A $\beta$  的沉积。因此,染料木素能有望成为 AD 中针对形成的预防策略的一种治疗选择 (表 4)。

表4 染料木素的抗A $\beta$ 机制

Table 4. Anti-A $\beta$  Mechanism of Genistein

模型	机制	参考文献
分子对接和分子动力学模拟	抑制A $\beta$ 构象转换,降低其 $\beta$ 片层二级结构比例,同时诱导其无规则结构形成	[33]
3D模拟和分子对接	在10~100 $\mu$ mol范围内,染料木素以剂量依赖的方式显著抑制BACE1	[15, 34]
CIP2A/APP过表达的HEK293-T细胞	染料木素能降低T668位点APP的磷酸化,抑制A $\beta$ 的产生	[36]
化合物三维荧光光谱分析	染料木素与A $\beta$ 单体、寡聚体和纤维均可相互作用,可直接与A $\beta$ 25–35的结合	[37]
Pharmacist软件构建药效团模型后进行虚拟筛选	抑制BACE1,抑制A $\beta$ 聚集	[35]
A $\beta$ 诱导的SH-SY5Y and RIN-m5神经元细胞	将A $\beta$ 重塑为无结构并且具有较低的神经毒性的聚集体	[12]
GFP-LC3 U87细胞系	抑制自诱导、AChE诱导和铜离子诱导的A $\beta$ 聚集	[38]

## 2.5 调节胆碱能神经传递

中枢胆碱能神经系统功能障碍和神经递质乙酰胆碱缺乏是 AD 患者认知能力下降的关键机制。与正常人相比,AD 患者基底核胆碱能神经元丢失严重,健康成人约五十万个,而晚期 AD 患者不到十万个<sup>[40]</sup>,并且剩余的神经元中胆碱乙酰转移酶的转录水平也有显著的降低<sup>[41]</sup>。鉴于 AD 的典型临床表现,Rosenberg 等<sup>[42]</sup>推断胆碱能神经元的丧失以及随之而来的多巴胺传递受损可能是导致 AD 相关精神症状的重要因素。

越来越多的研究证明染料木素可能通过

调节胆碱能神经传递在 AD 治疗中发挥作用。Jhamandas 等<sup>[43]</sup>通过膜片钳检测到 A $\beta$  可引起胆碱能布洛卡斜角带 (diagonal band of broca, DBB) 神经元兴奋性增加和适应性丧失,而染料木素除了可以作为一种酪氨酸蛋白激酶 (protein tyrosine kinase, PTK) 抑制剂发挥作用外,还可以改善 A $\beta$  介导的胆碱能神经元细胞 K<sup>+</sup> 电流的降低及 Ca<sup>2+</sup>、K<sup>+</sup> 通道开放。Guo 等<sup>[44]</sup>亦观察到染料木素能有效逆转 A $\beta$  引起的海马神经元细胞烟碱型乙酰胆碱受体 (nAChR) 的降低。Orhan 等<sup>[45]</sup>报道染料木素及多

种黄酮类化合物对 AChE 和丁酰胆碱酯酶均有不同程度的抑制作用。李长兴等<sup>[46]</sup> 同样证明低剂量染料木素可降低雌激素诱导的 AD 大鼠海马区内乙酰胆碱、5-羟色胺、多巴胺等多种神经递质水平, 改善 AD 大鼠的学习记忆功能。此外, 低剂量的染料木素会延长大鼠的逃避潜伏周期, 表明染料木素可能促进乙酰胆碱与胆碱能受体的结合能力或促进了突触前膜对胆碱的摄取能力。时健<sup>[3]</sup> 设计了一种新型的染料木素-O-烷基胺衍生物, 体外试验表明该衍生物是一种可逆的高选择性的 AChE 抑制剂, 进而通过动力学研究和分子对接分析发现该衍生物是一种混合型 AChE 抑制剂, 可与 AChE 上的催化活性位点结合。一项评估染料木素对 A $\beta$  42 诱导的大鼠认知功能障碍的保护作用的研究发现, 连续 10 d 的侧脑室注射 10 mg/kg 的染料木素可显著减轻 A $\beta$  42 引起的突触小泡及突触后密度蛋白 95 的减少和胞外信号调节激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 失活<sup>[47]</sup>。Qiang 等<sup>[48]</sup> 通过设计一系列染

料木素衍生物探究其改善 AD 的作用及其相关机制, 发现一些染料木素的衍生物表现出良好的 AChE 抑制作用, 从而改善小鼠的认知障碍和记忆障碍, 表明染料木素可以通过调节胆碱能神经传递来发挥神经保护作用 (表 5)。

## 2.6 抑制Tua蛋白磷酸化

微管相关蛋白 Tau 的异常磷酸化导致的 NFT 是 AD 的病理特征之一, 也是 AD 的主要发病机制之一。NFT 主要出现在大脑皮层和海马区, 这些区域与记忆和认知功能密切相关, 随着缠结数量的增加, 神经细胞逐渐失去其正常功能, 最终导致细胞死亡<sup>[49]</sup>。NFT 主要由异常的翻译后修饰、异常磷酸化的 Tau 蛋白聚集而成的, Tau 蛋白属于一类与微管结构密切相关的蛋白质, 其在微管的形成、维持稳定以及调控过程中扮演着关键角色, 在神经细胞的生长发育以及神经元的正常功能和信号传递发挥重要作用, 而异常磷酸化的 Tua 蛋白是导致 NFT 的关键机制, 因此, 抑制 Tua 蛋白磷酸化可能是治疗 AD 的一个潜在治疗策略<sup>[50]</sup>。

表5 染料木素调节胆碱能神经传递的机制

Table 5. Mechanism of regulation on cholinergic neural transmission by genistein

模型	机制	参考文献
A $\beta$ 25-35和A $\beta$ 1-40诱导的胆碱能DBB神经元细胞	PTK抑制剂, 阻断A $\beta$ 介导的胆碱能神经元细胞K1电流的降低	[43]
A $\beta$ 25-35诱导的大鼠原代海马神经元细胞	逆转A $\beta$ 25-35处理的细胞中 $\alpha$ 7nAChR mRNA和蛋白表达的降低, 介导PI3K/Akt/Nrf2信号通路的激活	[44]
神经元细胞	染料木素及多种黄酮类化合物对AChE和丁酰胆碱酯酶有不同程度的抑制作用	[45]
雌激素处理的AD大鼠模型	降低海马区乙酰胆碱、5-羟色胺、多巴胺等神经递质的含量, 延长逃避潜伏周期	[46]
A $\beta$ 25-35诱导的SH-SY5Y细胞	染料木素的衍生物具有AChE抑制作用	[3, 48]
双侧侧脑室注射2 nmol A $\beta$ 1-45的Wistar大鼠	减轻A $\beta$ 42引起的突触小泡及突触后密度蛋白95的减少以及ERK的失活	[47]

染料木素可通过多种途径抑制 Tau 蛋白磷酸化。Ye 等<sup>[51]</sup> 发现, Tau 蛋白可被钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 IV (calmodulin-dependent protein kinase IV, CAMK4) 磷酸化, 其磷酸化导致 NFT 的形成, 在 AD 模型大鼠海马中 CAMK4 和 Tau 蛋白均显著增多, 使用染料木素 (90 mg/kg) 腹腔注射给药 49 d 后, AD 大鼠的 CAMK4 和 Tau 蛋白水平降低, 因此, 染料木素可能通过调节 AD 模型大鼠的 CAMK4 来抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化。Petry 等<sup>[47]</sup> 评估了染料木素对 A $\beta$  42 诱导的大鼠认知功能障碍的保护作用, 发现连续

10 d 的侧脑室注射 10 mg/kg 的染料木素可显著抑制 Tau 蛋白的过度磷酸化。占继贤<sup>[52]</sup> 的同样证明了染料木素可以通过 CaM-CAMK4 信号通路减少 Tau 蛋白的磷酸化。Tira 等<sup>[53]</sup> 在 H4-APP<sub>swe</sub> 神经胶质瘤细胞中验证了浓缩咖啡内提取物之一的染料木素具有防止 Tau 蛋白在神经元内以纤维状聚集体的形式积累的作用。蛋白酶磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A) 癌性抑制因子 (cancerous inhibitor of PP2A, CIP2A) 可抑制 AD 脑中的 PP2A, 在 Tau/APP 磷酸化和 Tau/A $\beta$  过量累积中发挥重要作用, 有研究表明染料木素能通



过抑制 CIP2A 对 PP2A 的作用, 改善 Tau 的过度磷酸化, 减少 NFT 的形成<sup>[32]</sup>。这些发现均表明,

染料木素可能通过抑制 Tau 的过度磷酸化, 在 AD 中发挥神经保护作用 (表 6)。

表6 染料木素抑制Tua蛋白磷酸化的机制

Table 6. Mechanism of inhibition of Tua protein phosphorylation by genistein

模型	机制	参考文献
D-半乳糖与A $\beta$ 25-35构建AD大鼠模型	通过CaM-CAMK4信号通路减少tau蛋白的磷酸化	[51-52]
双侧侧脑室注射2 nmol A $\beta$ 1-45的Wistar大鼠	抑制Tau蛋白的过度磷酸化	[47]
H4-APP <sup>swe</sup> 神经胶质瘤细胞和	与Tau纤维结合, 防止Tau蛋白聚集、凝聚	[53]
CIP2A/APP 过表达的HEK293-T细胞	抑制CIP2A对PP2A的抑制作用, 抑制Tau的过度磷酸化	[32]

### 3 结语

染料木素在治疗 AD 方面具有潜在的应用价值, 具有多种生物活性, 包括类雌激素作用、抗炎、抗氧化、抗 A $\beta$ 、调节胆碱能神经传递和抑制 Tau 蛋白磷酸化等多重作用 (图 1), 且不良反应低, 因此染料木素有望成为治疗 AD 的一种新型生物活性药物。尽管染料木素在治疗 AD 方面具有广阔的前景, 但目前关于染料木素抗 AD 作用的研究仍存在一些局限性。例如, 对于染料木

素的具体作用机制尚不完全清楚, 其生物利用度也有待提高。此外, 现有的研究主要集中在体外实验和动物模型上, 尽管这些研究提供了染料木素在 AD 治疗中潜在价值的证据, 可为后续的临床研究提供理论基础和临床依据, 但这些证据尚不足以支持其作为临床治疗手段的直接应用。因此, 未来的研究需要深入探讨作用机制, 提高生物利用度, 并进一步通过严格的临床研究来验证染料木素在 AD 治疗中的实际疗效, 同时探索联合治疗的可行性和有效性。

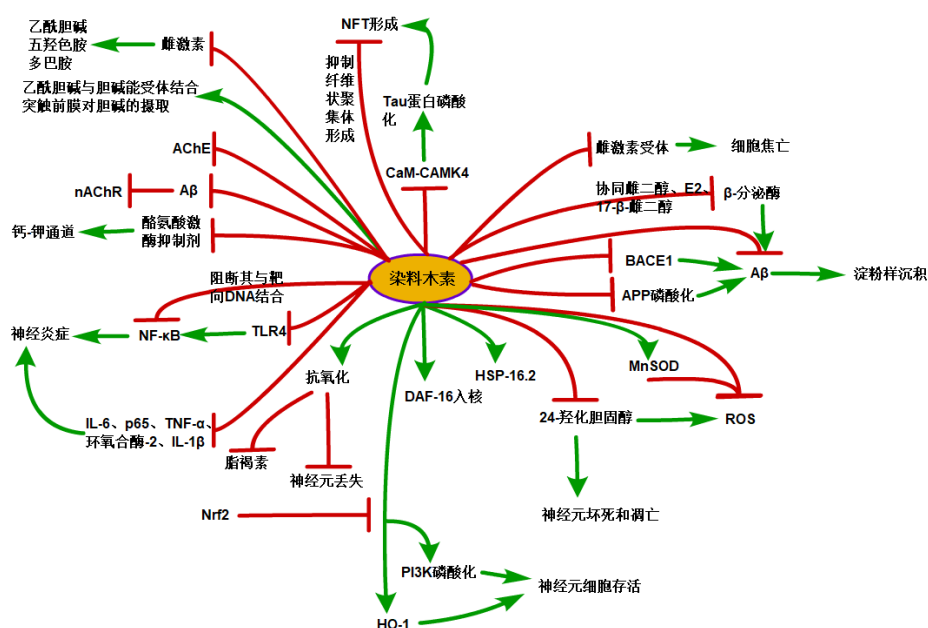


图1 染料木素治疗AD的作用机制

Figure 1. The mechanism of genistein in the treatment of AD

### 参考文献

- Huang YY, Gan YH, Yang L, et al. Depression in Alzheimer's disease: epidemiology, mechanisms, and treatment[J]. *Biol Psychiatry*, 2024, 95(11): 992-1005. DOI: 10.1016/j.biopsych.2023.10.008.
- Coutinho AJ, Pinheiro M, Neves AR, et al. Therapeutic

potential of genistein: preclinical studies, clinical evidence, and nanotechnology application[J]. *Curr Med Chem*, 2023, 30(22): 2480-2517. DOI: 10.2174/0929867329666221004124800.

- 时健. 新型染料木素衍生物的设计、合成及其抗阿尔茨海默病活性研究 [D]. 河南南阳: 南阳师范学院,

2021. DOI: [10.27850/d.cnki.gnysf.2021.000010](https://doi.org/10.27850/d.cnki.gnysf.2021.000010).
- 4 Kwon SH, Kang MJ, Huh JS, et al. Comparison of oral bioavailability of genistein and genistin in rats[J]. *Int J Pharm*, 2007, 337(1–2): 148–154. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2006.12.046](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.12.046).
  - 5 Setchell KD, Brown NM, Zimmer–Nechemias L, et al. Evidence for lack of absorption of soy isoflavone glycosides in humans, supporting the crucial role of intestinal metabolism for bioavailability[J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76(2): 447–453. DOI: [10.1093/ajcn/76.2.447](https://doi.org/10.1093/ajcn/76.2.447).
  - 6 Saif N, Hristov H, Akiyoshi K, et al. Sex–driven differences in the effectiveness of individualized clinical management of Alzheimer's disease risk[J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2022, 9(4): 731–742. DOI: [10.14283/jpad.2022.44](https://doi.org/10.14283/jpad.2022.44).
  - 7 Guo L, Zhong MB, Zhang L, et al. Sex differences in Alzheimer's disease: insights from the multiomics landscape[J]. *Biol Psychiatry*, 2022, 91(1): 61–71. DOI: [10.1016/j.biopsych.2021.02.968](https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.02.968).
  - 8 Zandi PP, Carlson MC, Plassman BL, et al. Cache county memory study investigators. hormone replacement therapy and incidence of Alzheimer disease in older women: the cache county study[J]. *JAMA*, 2002, 288(17): 2123–2129. DOI: [10.1001/jama.288.17.2123](https://doi.org/10.1001/jama.288.17.2123).
  - 9 Kim H, Yoo J, Han K, et al. Hormone therapy and the decreased risk of dementia in women with depression: a population–based cohort study[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2022, 14(1): 83. DOI: [10.1186/s13195-022-01026-3](https://doi.org/10.1186/s13195-022-01026-3).
  - 10 Will M, Liang J, Metcalfe C, et al. Therapeutic resistance to anti–oestrogen therapy in breast cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(10): 673–685. DOI: [10.1038/s41568-023-00604-3](https://doi.org/10.1038/s41568-023-00604-3).
  - 11 Shete V, Mahajan NM, Shivhare R, et al. Genistein: a promising phytoconstituent with reference to its bioactivities[J]. *Phyther Res*, 2024, 38(8): 3935–3953. DOI: [10.1002/ptr.8256](https://doi.org/10.1002/ptr.8256).
  - 12 Ren B, Liu Y, Zhang Y, et al. Genistein: a dual inhibitor of both amyloid  $\beta$  and human islet amylin peptides[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2018, 9(5): 1215–1224. DOI: [10.1021/acchemneuro.8b00039](https://doi.org/10.1021/acchemneuro.8b00039).
  - 13 Ramdhani D, Listiani N, Sriyani ME, et al. Estrogen receptor targeting with genistein radiolabeled technetium–99m as radiotracer of breast cancer: its optimization, characterization, and predicting stability constants by DFT calculation[J]. *Heliyon*, 2023, 9(2): e13169. DOI: [10.1016/j.heliyon.2023.e13169](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13169).
  - 14 Setiawan B, Aulia SS, Sulaeman A, et al. Isoflavone and antioxidant of instant cream soup made from pumpkin and tempeh and their active compound in ovariohysterectomy rat–induced Alzheimer's disease[J]. *Int J Food Sci*, 2022, 2022: 8051624. DOI: [10.1155/2022/8051624](https://doi.org/10.1155/2022/8051624).
  - 15 Liu J, Yuan S, Niu X, et al. ESR1 dysfunction triggers neuroinflammation as a critical upstream causative factor of the Alzheimer's disease process[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(21): 8595–8614. DOI: [10.18632/aging.204359](https://doi.org/10.18632/aging.204359).
  - 16 Li R, He P, Cui J, et al. Brain endogenous estrogen levels determine responses to estrogen replacement therapy via regulation of BACE1 and NEP in female Alzheimer's transgenic mice[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(3): 857–867. DOI: [10.1007/s12035-012-8377-3](https://doi.org/10.1007/s12035-012-8377-3).
  - 17 Joshi H, Gupta DS, Abjani NK, et al. Genistein: a promising modulator of apoptosis and survival signaling in cancer[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2023, 396(11): 2893–2910. DOI: [10.1007/s00210-023-02550-1](https://doi.org/10.1007/s00210-023-02550-1).
  - 18 Li K, Zhang S, Sun Y, et al. Antiamyloid  $\beta$  toxicity effect of genistein via activation of DAF–16 and HSP–16.2 signal pathways in *caenorhabditis elegans*[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(7): e23055. DOI: [10.1002/jbt.23055](https://doi.org/10.1002/jbt.23055).
  - 19 Yi S, Chen S, Xiang J, et al. Genistein exerts a cell–protective effect via Nrf2/HO–1/PI3K signaling in Ab25–35–induced Alzheimer's disease models in vitro[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2021, 59(1): 49–56. DOI: [10.5603/FHC.a2021.0006](https://doi.org/10.5603/FHC.a2021.0006).
  - 20 汪婷婷, 蔡标, 王艳, 等. 染料木素对阿尔茨海默病模型大鼠氧化应激和 Bcl–2 的影响 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2016, 21(12): 1335–1340. [Wang TT, Cai B, Wang Y, et al. The effect of genistein on oxidative stress and Bcl–2 in Alzheimer's disease model rats[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapy*, 2016, 21(12): 1335–1340.] <https://d.wanfangdata.com.cn/periodical/ChlQZXJpb2RpbY2FsQ0hJTMV3UzIwMjQwNzA0EhR6Z2xjeWx4eXpseDIwMTYxMjAwMxolajk0eTFzYWI%3D>.
  - 21 Gamba P, Leonarduzzi G, Tamagno E, et al. Interaction between 24–hydroxycholesterol, oxidative stress, and amyloid– $\beta$  in amplifying neuronal damage in Alzheimer's disease: three partners in crime[J]. *Aging Cell*, 2011, 10(3):



- 403–417. DOI: [10.1111/j.1474-9726.2011.00681.x](https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00681.x).
- 22 Petry F DS, Hoppe JB, Klein CP, et al. Genistein prevents the decrease in ganglioside levels induced by amyloid- $\beta$  in the frontal cortex of rats[J]. *Neurol Res*, 2022, 44(7): 598–604. DOI: [10.1080/01616412.2021.2024731](https://doi.org/10.1080/01616412.2021.2024731).
- 23 Kairane C, Mahlapuu R, Ehrlich K, et al. The effects of different antioxidants on the activity of cerebrocortical MnSOD and Na, K-ATPase from post mortem Alzheimer's disease and age-matched normal brains[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2014, 11(1): 79–85. DOI: [10.2174/15672050113106660179](https://doi.org/10.2174/15672050113106660179).
- 24 Leng F, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here?[J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(3): 157–172. DOI: [10.1038/s41582-020-00435-y](https://doi.org/10.1038/s41582-020-00435-y).
- 25 Xu Y, Lin F, Liao G, et al. Ripks and neuroinflammation[J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61(9): 6771–6787. DOI: [10.1007/s12035-024-03981-4](https://doi.org/10.1007/s12035-024-03981-4).
- 26 Zhou X, Yuan L, Zhao X, et al. Genistein antagonizes inflammatory damage induced by  $\beta$ -amyloid peptide in microglia through TLR4 and NF- $\kappa$ B[J]. *Nutrition*, 2014, 30(1): 90–95. DOI: [10.1016/j.nut.2013.06.006](https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.06.006).
- 27 Seo EJ, Fischer N, Efferth T. Phytochemicals as inhibitors of NF- $\kappa$ B for treatment of Alzheimer's disease[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 129: 262–273. DOI: [10.1016/j.phrs.2017.11.030](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.11.030).
- 28 Dhapola R, Beura SK, Sharma P, et al. Oxidative stress in Alzheimer's disease: current knowledge of signaling pathways and therapeutics[J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 48. DOI: [10.1007/s11033-023-09021-z](https://doi.org/10.1007/s11033-023-09021-z).
- 29 Mirahmadi SMS, Shahmohammadi A, Rousta AM, et al. Soy isoflavone genistein attenuates lipopolysaccharide-induced cognitive impairments in the rat via exerting anti-oxidative and anti-inflammatory effects[J]. *Cytokine*, 2018, 104: 151–159. DOI: [10.1016/j.cyto.2017.10.008](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.10.008).
- 30 Valles SL, Dolz-Gaiton P, Gambini J, et al. Estradiol or genistein prevent Alzheimer's disease-associated inflammation correlating with an increase PPAR gamma expression in cultured astrocytes[J]. *Brain Res*, 2010, 1312: 138–144. DOI: [10.1016/j.brainres.2009.11.044](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.044).
- 31 Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive review on Alzheimer's disease: causes and treatment[J]. *Molecules*, 2020, 25(24): 5789. DOI: [10.3390/molecules25245789](https://doi.org/10.3390/molecules25245789).
- 32 Orobets KS, Karamyshev AL. Amyloid precursor protein and Alzheimer's disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14794. DOI: [10.3390/ijms241914794](https://doi.org/10.3390/ijms241914794).
- 33 Fang M, Zhang Q, Wang X, et al. Inhibition mechanisms of (–)-epigallocatechin-3-gallate and genistein on amyloid- $\beta$  42 peptide of Alzheimer's disease via molecular simulations[J]. *ACS Omega*, 2022, 7(23): 19665–19675. DOI: [10.1021/acsomega.2c01412](https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01412).
- 34 Youn K, Park JH, Lee S, et al. BACE1 inhibition by genistein: biological evaluation, kinetic analysis, and molecular docking simulation[J]. *J Med Food*, 2018, 21(4): 416–420. DOI: [10.1089/jmf.2017.4068](https://doi.org/10.1089/jmf.2017.4068).
- 35 Das S, Datta S, Ghosal A, et al. Screening of BACE1 inhibitors with anti-amyloidogenic activity: a study of flavonoids and flavonoid derivatives[J]. *Neurosci Lett*, 2023, 792: 136965. DOI: [10.1016/j.neulet.2022.136965](https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136965).
- 36 Shentu YP, Hu WT, Liang JW, et al. Genistein decreases APP/Tau phosphorylation and ameliorates A $\beta$  overproduction through inhibiting CIP2A[J]. *Curr Alzheimer Res*, 2019, 16(8): 732–740. DOI: [10.2174/1567205016666190830113420](https://doi.org/10.2174/1567205016666190830113420).
- 37 Hirohata M, Ono K, Takasaki JI, et al. Anti-amyloidogenic effects of soybean isoflavones in vitro: fluorescence spectroscopy demonstrating direct binding to A $\beta$  monomers, oligomers and fibrils[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1822(8): 1316–1324. DOI: [10.1016/j.bbadis.2012.05.006](https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.006).
- 38 Sang Z, Shi J, Zhou Y, et al. Development of genistein-O-alkylamines derivatives as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Bioorg Chem*, 2021, 107: 104602. DOI: [10.1016/j.bioorg.2020.104602](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104602).
- 39 Viña J, Escudero J, Baquero M, et al. Genistein effect on cognition in prodromal Alzheimer's disease patients. The GENIAL clinical trial[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2022, 14(1): 164. DOI: [10.1186/s13195-022-01097-2](https://doi.org/10.1186/s13195-022-01097-2).
- 40 Chen ZR, Huang JB, Yang SL, et al. Role of cholinergic signaling in Alzheimer's disease[J]. *Molecules*, 2022, 27(6): 1816. DOI: [10.3390/molecules27061816](https://doi.org/10.3390/molecules27061816).
- 41 Bowen DM, Smith CB, White P, et al. Neurotransmitter-related enzymes and indices of hypoxia in senile dementia and other abiotrophies[J]. *Brain*, 1976, 99(3): 459–496. DOI: [10.1093/brain/99.3.459](https://doi.org/10.1093/brain/99.3.459).
- 42 Rosenberg PB, Nowrangi MA, Lyketsos CG. Neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease: what might be associated

- brain circuits?[J]. *Mol Aspects Med*, 2015, 43-44: 25-37. DOI: [10.1016/j.mam.2015.05.005](https://doi.org/10.1016/j.mam.2015.05.005).
- 43 Jhamandas JH, Cho C, Jassar B, et al. Cellular mechanisms for amyloid beta-protein activation of rat cholinergic basal forebrain neurons[J]. *J Neurophysiol*, 2001, 86(3): 1312-1320. DOI: [10.1152/jn.2001.86.3.1312](https://doi.org/10.1152/jn.2001.86.3.1312).
- 44 Guo J, Yang G, He Y, et al. Involvement of  $\alpha 7$ nAChR in the protective effects of genistein against  $\beta$ -amyloid-induced oxidative stress in neurons via a PI3K/Akt/Nrf2 pathway-related mechanism[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(2): 377-393. DOI: [10.1007/s10571-020-01009-8](https://doi.org/10.1007/s10571-020-01009-8).
- 45 Orhan I, Kartal M, Tosun F, et al. Screening of various phenolic acids and flavonoid derivatives for their anticholinesterase potential[J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2007, 62(11-12): 829-832. DOI: [10.1515/znc-2007-11-1210](https://doi.org/10.1515/znc-2007-11-1210).
- 46 李长兴, 祁存芳, 李建华, 等. 染料木素对阿尔茨海默病模型大鼠海马区神经递质含量的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(17): 4864-4866. [Li CX, Qi CF, Li JH, et al. The effect of lignin on the content of neurotransmitters in the hippocampus of rats with Alzheimer's disease model[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2014, 34(17): 4864-4866.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-9202.2014.17.071](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-9202.2014.17.071).
- 47 Petry FDS, Hoppe JB, Klein CP, et al. Genistein attenuates amyloid-beta-induced cognitive impairment in rats by modulation of hippocampal synaptotoxicity and hyperphosphorylation of tau[J]. *J Nutr Biochem*, 2021, 87: 108525. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2020.108525](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2020.108525).
- 48 Qiang X, Sang Z, Yuan W, et al. Synthesis and evaluation of genistein-O-alkylbenzylamines as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease[J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 76: 314-331. DOI: [10.1016/j.ejmech.2014.02.045](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.02.045).
- 49 Rawat P, Sehar U, Bisht J, et al. Phosphorylated tau in Alzheimer's disease and other tauopathies[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(21): 12841. DOI: [10.3390/ijms232112841](https://doi.org/10.3390/ijms232112841).
- 50 Sinsky J, Pichlerova K, Hanes J. Tau protein interaction partners and their roles in Alzheimer's disease and other tauopathies[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9207. DOI: [10.3390/ijms22179207](https://doi.org/10.3390/ijms22179207).
- 51 Ye S, Wang TT, Cai B, et al. Genistein protects hippocampal neurons against injury by regulating calcium/calmodulin dependent protein kinase IV protein levels in Alzheimer's disease model rats[J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19(12): 2660. DOI: [10.4103/NRR.NRR-D-24-00234](https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00234).
- 52 占继贤. 染料木素对阿尔茨海默病大鼠 CaM-CaMK IV 信号通路影响的研究 [D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2019. DOI: [CNKI:CDMD.2.1018.134343](https://doi.org/CNKI:CDMD.2.1018.134343).
- 53 Tira R, Viola G, Barracchia CG, et al. Espresso coffee mitigates the aggregation and condensation of Alzheimer's associated tau protein[J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(30): 11429-11441. DOI: [10.1021/acs.jafc.3c01072](https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c01072).

收稿日期: 2024 年 08 月 23 日 修回日期: 2023 年 09 月 19 日  
本文编辑: 李 阳 钟巧妮