

## 抗阿尔茨海默病的多靶向药物研究进展

刘睿婷<sup>2</sup>, 吕秋军<sup>1\*</sup>

(1. 杰华(北京)生物医药研究院, 北京 100102; 2. 沈阳药科大学生命科学与生物制药学院, 沈阳 110086)

**摘要:** 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以进行性认知功能减退为主要临床症状的慢性中枢神经系统退行性疾病, 发病机制复杂, 病因仍未完全阐明。目前应用于抗 AD 临床治疗的药物多属于单靶向化合物, 临床疗效不佳。多靶向抗 AD 药物是指能同时干预多个 AD 发生和发展相关靶分子的药物。本文在简要介绍目前抗 AD 药物开发的基础上, 主要阐述国内外多靶向抗 AD 药物的研究进展, 尤其是选择性雌激素受体调节剂在 AD 多靶向治疗药物方面的研究进展。

**关键词:** 阿尔茨海默病; 多靶向; 选择性雌激素受体调节剂

中图分类号: R916.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2009) 03-0258-06

## Progress in the research on multi-target-directed drugs against Alzheimer's disease

LIU Rui-ting<sup>2</sup>, LÜ Qiu-jun<sup>1\*</sup>

(1. Genova (Beijing) Biopharmaceutical Research Institute, Beijing 100102, China;

2. School of Life Science and Biological Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110086, China)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disorder and one of the earliest signs of AD is deficit in short term memory. Till now, the pathogenesis of AD has not been elucidated and the present one-drug-one-target paradigm of anti-AD-drug treatment seems not to be effective in clinic. Multi-target-directed anti-AD-drugs are those agents that may act on two or more targets implicated in AD. Based on the brief introduction of progress in the development of present anti-AD-drugs, the paper mainly focused on the advances in the field of multi-target-directed drug development both home and abroad, especially those studies on selective estrogen receptor modulators.

**Key words:** Alzheimer's disease; multi-target-directed; selective estrogen receptor modulators

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年痴呆中首要的疾病之一, 以认知障碍和记忆力损害为其特征。AD 发病率在 65 岁以上的老年人中约为 10%, 85 岁以上约为 47%, 老年痴呆症目前全世界约有 2 600 万人。在我国 1.3 亿老年人中, 痴呆患者 600~700 万人, 发病率在 5% 以上, 即 20 个老年人中就有一个患有痴呆症, 约占世界总病例的 1/4, 成为世界老年痴呆症第一大国。该病病程较长, 给社会、家庭和患者带来沉重的负担和巨大的痛苦。

AD 患者脑组织有三大显著的病理变化: 过度磷酸化的 tau 蛋白造成的神经元纤维缠结 (NFT)、 $\beta$ -

淀粉样肽 ( $A\beta$ ) 构成的老年斑 (SP) 和脑内基底核和前脑胆碱能神经元受损为主的神经元大量丢失。但 AD 的病因机制仍不清楚, 市场上尚无能阻止 (stop)、延缓 (defer) 或防止 (prevent) 这一疾病发生和发展的药物<sup>[1]</sup>。另外, 目前在研的抗 AD 药物主要是针对  $A\beta$  和 tau 蛋白过磷酸化, 但其临床试验多以失败告终, 提示传统的“一药一靶”抗 AD 药物的研究思路受到挑战。本文在简要介绍目前抗 AD 药物研究的基础上, 重点阐述国内外多靶向抗 AD 药物的研究进展。

### 1 抗 AD 药物研发现状

目前 AD 的治疗药物大致可分为改善症状药物 (symptom-management drugs, SMDs) 和针对病理药物 (disease-modifying drugs, DMDs) 两种<sup>[2]</sup>。如现在

收稿日期: 2008-12-08.

\*通讯作者 Tel / Fax: 86-10-64392239, E-mail: luqj66@yahoo.com.cn

常用的抗 AD 药物乙酰胆碱酯酶抑制剂 (acetylcholinesterase inhibitor, AchEI) 多奈培佐 (donepezil)、雷司替明 (rivastigmine)、加兰他敏 (galantamine)、他克林 (tracrine) 及 NMDA 受体调节剂美金刚 (memantine) 等, 虽不能扭转病情, 但能够改善病人症状, 因此这一类药物在 AD 治疗药物市场中占据了重要地位。DMDs 主要包括以  $A\beta$  为靶标开发的新药, 是目前抗 AD 药物研究的热点。此类药物包括  $A\beta$  形成抑制剂、聚集抑制剂以及  $A\beta$  清除剂。例如在研的美国 Myriad Genetic 公司的  $\gamma$ -分泌酶的抑制剂 tarenflurbil, Elan/Wyeth 公司的  $A\beta$  主动免疫疫苗 ACC-001 及其他一些公司的被动免疫疫苗, 另外包括 tau 聚集抑制剂亚甲蓝 (TauRX) 等都是该类药物的代表。针对 AD 病理药物的疗效确切, 发展前景广阔, 是今后 AD 新药研发的方向。

## 2 单一靶向药物治疗 AD 存在问题

鉴于 AD 发病的复杂性, 以往单一靶向的治疗药物效果欠佳, 即使是正在开发的 DMDs 也难以从根本上解决问题, 主要原因有以下几点: ① AD 本身发病机制复杂且相互影响, 病程漫长, 存在器质性病理变化, 涉及多个基因关联 (如 21 号染色体上的  $\beta$ APP 基因、14 号染色体上的 PS-1 基因、1 号染色体上的 PS-2 基因、19 号染色体上的 ApoE 基因、12 号染色体上的 A2M 基因等)。这样, 使用单一药物或针对单一靶点干预很难有效控制或治愈疾病。② 现有药靶有多功能性, 强烈抑制或激活某一药靶会导致副作用的产生, 如使用 AchEI 治疗 AD 往往会导致外周 Ach 积累增多, 引起恶心、呕吐等外周胆碱样反应; ③ 单一靶点的理论忽视了细胞内或体内生物大分子的相互影响, 细胞内的信号通路可以通过回路或启用备份系统, 最终不影响细胞的功能和状态, 或通过其他信号分子, 产生不良反应; ④ 从目前情况看, 很难在短期内全面揭示 AD 发病机制, 研制出高选择性的有效药物比较困难。

## 3 多靶向抗 AD 药物的研究

### 3.1 多靶向治疗 AD 策略的理论基础

按照拓扑网络模型理论, 在一个系统中对 3~5 个因素 (相当于药靶) 的部分抑制即可以达到对单一最重要因素的完全抑制效果<sup>[3]</sup>。多靶点药物的设计是旨在利用生物结构信息和药效团模型, 获得所需的多样生物活性, 同时去除不需要的生物活性。多靶向化合物作用的特点是针对疾病的不同病理生理环节发挥作用而增强疗效。而且, 多靶向化合物的亲和力相对较低, 因此它不会强烈抑制或激活某一靶点, 不会

完全抑制靶点承担的某些正常生理功能, 仅局部作用于相应靶点就能产生足够的疗效。多靶向化合物能够增加细胞内弱键数量, 它可以通过发挥缓冲作用来稳定复杂的网络系统<sup>[4]</sup>。相对于单靶向药物, 多靶向化合物可减少不良反应、降低临床使用剂量、减轻耐药性和提高疗效。临床上常用的抗高血压病复方制剂、抗肿瘤药物伍用方案和抗 AIDS 治疗的鸡尾酒疗法均是这一思想的体现。

随着对 AD 的病因、发病机制和候选药物临床研究和观察的深入, 研究和开发同时具有神经营养和再生作用的多靶向药物将是抗 AD 药物发展的新方向。拟开发的目标化合物不仅能够对乙酰胆碱能神经元的功能有调节作用, 而且对多个 AD 特征性的病理变化 (如神经元凋亡、 $A\beta$  沉积、tau 蛋白过磷酸化等) 和神经营养或神经再生相关的机制 (如神经营养因子、神经干细胞分化途径、突触可塑性等) 也有作用, 起到强烈的减轻神经元损伤、显著延缓神经元退行性病变进程并修复已受损神经元的作用。

### 3.2 多靶向抗 AD 药物研究进展

**3.2.1 双靶向作用化合物或药物** 将具有不同药效的基团同时结合到一个母核上有可能产生新的具有双重作用的化合物。例如 Fink 等<sup>[5]</sup>将 AchE 抑制剂毒扁豆碱和不可逆 MAO 抑制剂塞利吉林 (*L*-depreny) 的药效团结合, 得到了一系列新的 AchE 和 MAO 的双重抑制剂 (imino 1, 2, 3, 4-tetrahydrocyclopent [b] indole carbamates) (图 1)。再如 Sterling 等<sup>[6]</sup>结合了抑制 AchE 和 MAO 的药效团 (氨基甲酸酯基团和炔丙基基团) 得到同时抑制 AchE 和 MAO 的新化合物 TV3326, 可能对 AD 的治疗具有潜在活性。除此以外, 有人将能够释放 NO 的基团加入到具有天然抗氧化和抗炎活性的化合物 4-羟基-3-甲氧基肉桂酸 (FA) 上, 从而合成了同时具有 NO 和 FA 特性的新化合物 NCX2057, 体内外实验均证实其抗炎作用强于 FA,  $IC_{50}$  在  $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  左右, 而无 NO 释放基团的同类化合物 NCX2059 抗炎作用的  $IC_{50}$  在  $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  以上<sup>[7]</sup>。Rodriguez-franco 等<sup>[8]</sup>在 AchEI 他克林和自由基清除剂褪黑素的基础上合成了一系列的杂环化合物, 其抑制 AchE 的  $IC_{50}$  在  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  到  $\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$  之间, 自由基清除能力也强于褪黑素。体外试验证实该类化合物的活性比联合应用他克林和褪黑素的活性高, 并且很容易通过血脑屏障。AF267B 同时具有部分  $M_1$  受体激动剂和  $\alpha$  分泌酶激动剂活性, 进而减少 tau 蛋白磷酸化, 已完成 I 期临床试验<sup>[9]</sup>。研究还发现 NMDA 受体拮抗剂美金刚 (图 1) 兼有拮抗 NMDA 受体和

tau 蛋白过度磷酸化的双重作用<sup>[10]</sup>。

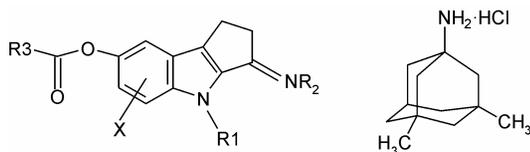


图 1 imino 1, 2, 3, 4-tetrahydrocyclopent [b] indole carbamates (以 AchE 和 MAO 为靶) 和美金刚 (兼有拮抗 NMDA 受体和 tau 蛋白过度磷酸化的双重作用)

**3.2.2 多靶向作用化合物** Medivation 公司开发的 dimebon 同时具有抑制胆碱酯酶、拮抗 NMDA 受体和调节瞬时线粒体通透性的活性, II 期临床研究表明 dimebon 对轻至中度 AD 有效<sup>[11]</sup>。Rosini 等通过连接 AchEI 他克林和抗氧化剂硫辛酸的功能基团而设计一种新的化合物 lipocrine, 它是第一个同时具有抑制 AchE、活性氧 (ROS) 生成以及由 AChE 导致的 A $\beta$  缠结作用的化合物, 并且生物活性较他克林和硫辛酸明显提高<sup>[12]</sup>。化合物 M30 (图 2) 是 Youdim 等在具有神经保护作用的铁离子螯合剂 VK-28 和具有 MAO 抑制活性的雷沙吉兰的结构基础上合成的高效铁离子螯合剂, 体内外试验证实它同时具有铁离子结合能力, 选择性抑制脑 MAO-B 活性, 清除自由基作用, 能够抑制三氯化铁导致的线粒体膜脂质过氧化, 有效浓度低至  $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 且血脑屏障通透性良好, 因此在 AD 治疗药物研究方面开发潜力巨大<sup>[13]</sup>。

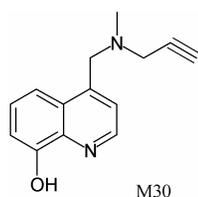


图 2 M30 (以金属离子、自由基和 MAO 为靶)

**3.2.3 中药与多靶向抗 AD 药物** 中药复方或提取物和有效组分, 重视整体调节和平衡, 其基础是活性物质群, 往往具有多效性。在 AD 的多靶向治疗方面, 我国传统中药也有着出色的表现。例如, 新近发现具有抗氧化和抗炎活性的姜黄 (curcumin, 图 3) 能够高效阻止 A $\beta$  缠结的形成<sup>[14]</sup>, 此外, 姜黄还是很好的金属离子螯合剂, 能够有效结合  $\text{Cu}^{2+}$ 。转基因鼠试验结果发现姜黄对 AD 有预防作用, 流行病调查研究显示长期食用含有姜黄食物的印度农民中, 65 岁以上 AD 患病率仅为 1%。石杉碱甲有显著的选择性乙酰胆碱酯酶抑制活性, 还具有神经保护、神经营养和保护线粒体多重作用<sup>[15]</sup>。含 6 味中药的新复方参乌

胶囊及其有效成分二苯乙烯苷, 在多种拟 AD 动物模型上显示对老年性痴呆复杂发病机制中的多个靶点和环节起到明显的干预作用, 有神经营养和神经保护作用, 提示两者可能具有延缓神经元死亡和 AD 病理进程的作用<sup>[16]</sup>。

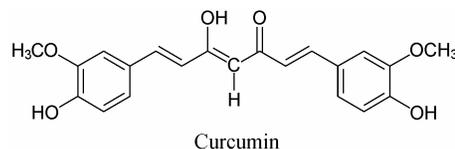


图 3 姜黄 (以 A $\beta$ 、金属离子和 ROS 为靶)

#### 4 选择性雌激素受体调节剂抗 AD 的研究进展

妇女健康倡议 (WHI) 的研究结果表明雌激素的替代疗法会带来严重的副作用, 对 AD 患者无明显益处, 但不少的流行病学研究结果证实绝经期开始进行雌激素替代治疗可以减少 AD 的风险<sup>[17]</sup>, 同时大量的基础研究结果提示雌激素具有抗 AD 作用。因此从雌激素入手进行多靶向抗 AD 药物的研究前景广阔。

##### 4.1 雌激素抗 AD 的潜在活性与存在的问题

目前研究发现雌激素抗 AD 的潜在活性主要包括以下几个方面<sup>[18]</sup>: ① 对 A $\beta$  代谢的调节。雌激素可以调节  $\beta$  样前体蛋白 (APP) 的代谢, 促进可溶性 APP (sAPP) 的生成, 减少 A $\beta$  聚集, 发挥神经保护作用; ② 拮抗 A $\beta$  的毒性。A $\beta$  的毒性作用之一是能和神经元表面相互作用 (脂类过氧化作用) 产生 ROS, ROS 损伤膜蛋白的功能, 影响离子稳态平衡, 膜去极化并通过谷氨酸 NMDA 受体通道使  $\text{Ca}^{2+}$  内流。ROS 和  $\text{Ca}^{2+}$  进一步促进 DNA 和脂类的损害, 最终导致细胞死亡。近年研究发现, 雌二醇 (图 4) 是膜磷脂过氧化反应的天然抗氧化剂, 其作用依赖于甾体激素 A 环 C3 位置上羟基的完整性; ③ 对细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的影响。雌激素通过一种快速的非基因组机制使神经细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  快速释放, 此过程不受细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  浓度和拮抗剂的影响。雌激素可显著抑制由谷氨酸诱发的海马神经元内  $\text{Ca}^{2+}$  的升高, 并明显对抗由 A $\beta$  引起的细胞内钙离子失衡; ④ 对炎症的影响。雌激素能够抑制由核转录因子 (NF- $\kappa$ B) 介导的炎症反应; ⑤ 促进神经突触的生长, 并增加神经生长因子 (NGF) 及其

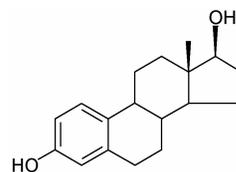


图 4 17 $\beta$ -雌二醇

受体的表达。而神经生长因子能增加胆碱乙酰转移酶 (ChAT) mRNA 的数量, 增强 ChAT 的活性, 促进乙酰胆碱的释放, 因此雌激素具有神经细胞生长因子增强剂的作用; ⑥ 雌激素可以防止 tau 蛋白过磷酸化。

然而, 雌激素也能够对一些非神经细胞产生副作用, 如促进乳腺癌和子宫内膜癌细胞的增生从而使其患病率增加<sup>[19, 20]</sup>。据估计, 鉴于上述副反应, 病人对雌激素的长期依从性只有 15%~40%<sup>[21]</sup>。所以, 雌激素的临床应用前景大大降低。

#### 4.2 雌激素的替代物

雌激素受体选择性调节剂 (selective estrogen receptor modulators, SERMs) 选择性作用于中枢系统或骨骼系统, 而无明显的刺激雌性生殖系统作用, Brinton 将选择性作用于中枢神经系统的雌激素替代物定义为 NeuroSERMs<sup>[22]</sup>, 与天然的雌激素及合成类似物不同, NeuroSERMs 有其独特的药理性质, 对骨骼、胆固醇代谢、子宫、乳腺以及脑等作用不同。近年来, 国际上许多研究者在该领域做出了许多研究工作, 大致可归为以下两类:

**4.2.1 雌激素类似物** 该类化合物主要是一些雌激素衍生物, 如非固醇类的第一代 SERM 他莫昔酚 (tamoxifen, TAM) 及其主要代谢产物 4-羟基-他莫昔酚 (4-hydroxy-tamoxifen, OHT); 苯并噻吩类的第二代 SERM 雷洛昔酚 (raloxifene, RAL) 以及雌二醇的 7 $\alpha$ -烷基酰胺修饰产物 ICI 182 780 等。Brinton 等对上述化合物做了较系统全面的研究<sup>[23-25]</sup>。他们的研究表明, 上述化合物都能在一定范围内对抗 A $\beta$ 、谷氨酸等的神经毒性, 起到神经保护作用。其中 RAL 还能适度促进海马神经元的突触可塑性, 只是治疗窗很窄, 并且该作用可以被谷氨酸 NMDA 受体拮抗剂阻断。但为期 3 年的有关 RAL 临床试验结果发现, 与安慰剂组相比, 用药组患者认知功能未有改善<sup>[26]</sup>。尽管如此, 上述研究为 NeuroSERMs 的研发奠定了有益的基础。

**4.2.2 来源于天然的雌激素受体  $\beta$  亚型激动剂** 雌激素受体 (ER) 主要包括行使不同生理功能的 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  两种亚型, 其中 ER $\alpha$  主要与性别相关, 而 ER $\beta$  与情绪调节和认知行为的关系更为密切<sup>[27]</sup>。有人用快速老化小鼠模型研究表明脑内 ER $\beta$  的表达随增龄呈明显下降趋势, ER $\alpha$  无此明显表现<sup>[28]</sup>。从组织分布上看, ER $\beta$  比 ER $\alpha$  的分布更为普遍, 特别是 ER $\beta$  在许多非生殖组织中表达明显, 如骨骼、脑组织、垂体、尿道、血管系统和前列腺, 而在生殖组织 (如卵巢和睾丸) 中则表达量较低或不表达, ER $\alpha$  则在子宫、

肝脏、乳腺和肾脏等组织表达量较高<sup>[29]</sup>。并且有人在 APP/PS1/Tau 三重转基因 AD 动物模型上考察两个经典的 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  选择性激动剂 PPT 和 DPN (图 5) 对学习记忆的影响, 结果发现二者都具有一定的改善学习记忆作用, 只是作用不甚相同<sup>[30]</sup>。以上研究结果提示 ER $\beta$  激动剂可能是潜在的 NeuroSERMs。

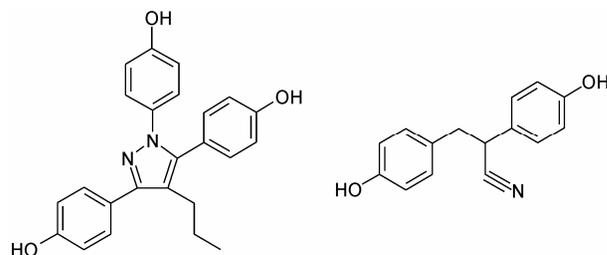


图 5 PPT (ER $\alpha$  选择性激动剂) 和 DPN (ER $\beta$  选择性激动剂)

有研究表明, 植物雌激素鸡豆黄素 A 及其代谢产物染料木黄酮 (图 6)、拟雌内酯及大豆黄素对 ER $\beta$  的选择性高于 ER $\alpha$ , 其相对亲和力指数分别为 55.6、27.0、8.3 和 8.3<sup>[31]</sup>。Brinton 等同时研究了染料木黄酮、染料木苷、大豆黄素、大豆黄苷、芒柄花素和牛尿酚 6 种植物雌激素的神经保护和神经营养作用, 结果表明该 6 种化合物都能够在一定程度上对抗谷氨酸以及 A $\beta$  引起的海马神经元的损伤而起到神经保护作用, 但遗憾的是没有从中发现能够像雌二醇那样有助于维持神经元线粒体代谢活性, 或者促进神经元突触发生的化合物<sup>[32]</sup>。无独有偶, Bang 等<sup>[33]</sup>研究发现染料木黄酮能够通过 ER 途径抑制 A $\beta$  的神经毒性, 同时不会像雌二醇那样引起子宫内皮细胞的增生。鉴于以上研究结果, 通过研究雌二醇神经营养作用的药效基团, 或许可以通过结构改造得到同时具有神经保护和神经营养的多靶向高效低毒 NeuroSERMs。

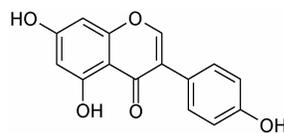


图 6 染料木黄酮 (ER $\beta$  选择性激动剂)

作者所在课题组近年来也致力于筛选来源于植物的 ER $\beta$  激动剂, 力求从受体选择性的角度筛选神经活性相对较弱、激活 ER $\beta$  的活性相对高于 ER $\alpha$  的先导化合物。与以往从受体亲和力角度研究不同, 作者筛选化合物注重的是化合物的内在活性, 即运用基因重组技术建立基于报告基因的 ER $\alpha$  及 ER $\beta$  亚型转录激动剂的细胞筛选模型<sup>[34, 35]</sup>, 从天然产物中筛选 ER $\beta$

选择性激活剂,再剔除雌活性较强的化合物,然后从神经保护、神经营养和神经再生等多方面考察其药理活性。研究结果发现,松果菊苷具有强的 ER $\beta$  选择性激动活性,而且不会刺激乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖(未发表资料),这也可能是其具有抗 AD 潜在活性的内在机制<sup>[36]</sup>。除此以外,甘草黄酮类化合物甘草苷也具有较好的神经保护及神经营养作用,能够抑制 A $\beta$  及谷氨酸的神经毒性,促进大鼠海马干细胞向胆碱能神经元方向定向分化<sup>[37,38]</sup>。国外学者研究证实,甘草苷的苷元甘草素是 ER $\beta$  的高选择性激动剂<sup>[39]</sup>,能够通过 NF- $\kappa$ B 途径产生很好的抗炎作用<sup>[40]</sup>。综上所述,ER $\beta$  亚型激动剂在 AD 的治疗方面有着巨大的潜力,值得广泛深入地研究。

## 5 小结与展望

具有神经营养和神经再生作用的多靶向策略为新型抗 AD 药物的发现提供了一种新方向。依据这一策略发现活性化合物可以调节 AD 相关的多个信号通路或靶标,有可能在临床上产生显著疗效,同时弥补多种药物联合应用带来的生物利用度、药物动力学和代谢性相互作用等方面的缺陷。近年来多靶向化合物的发现技术更加成熟,如高内涵药物筛选和计算机辅助药物设计方法等的发展,为多靶向药物的发现提供了技术保证。AD 基因组工程的研究发现有 70 条基因与 AD 发生、发展相关, cyclophilin D (CYPD) 及谷氨酰胺环转移酶 (glutaminyl cyclase) 与 A $\beta$  损伤有关<sup>[41]</sup>,这些基础研究结果提示抗 AD 先导化合物不能仅仅针对 A $\beta$  或 Tau 蛋白磷酸化,需在 AD 相关的更上游的信号通路或多个位点进行调节,影响众多 AD 相关的病理环节,但又不至于对无关基因产生影响引起副作用,进而开发出更有效的抗 AD 药物。作者认为多靶向抗 AD 药物的发现,除针对 AchE、A $\beta$ 、tau 蛋白过磷酸化作用的研究,应更加重视化合物对神经营养相关信号通路(如神经营养因子表达或信号通路的激活)和成体神经再生的研究(包括神经干细胞或祖细胞的增殖和分化、成熟、迁移、神经环路的整合、突触可塑性等),才有可能开发出终止、减轻以至于逆转 AD 病理变化的新药。值得注意的是,在前述的系统研究前,需要对活性化合物或先导化合物进行肠道和血脑屏障通透性等的预测或实验研究。在作者进行的抗 AD 药物发现过程中,发现一些天然植物来源的化合物体外活性较好,但其生物利用度低、不易通过血脑屏障(与其分子质量大、极性大、易被 II 相代谢酶代谢等相关)、药用性质差等,故应尽早淘汰或进行有针对性的结构改造。

## References

- [1] Opar A. Mixed results for disease-modification strategies for Alzheimer's disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 717–718.
- [2] Melnikova I. Therapies for Alzheimer's disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 341–342.
- [3] Agoston V, Csermely P, Pongor S. Multiple weak hits confuse complex systems: a transcriptional regulatory network as an example [J]. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 2005, 71 (5 Pt 1): 051909.
- [4] Csermely P. Strong links are important, but weak links stabilize them [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29: 331–334.
- [5] Fink DM, Palermo MG, Bores GM, et al. Imino 1, 2, 3, 4-tetrahydrocyclopent [b] indole carbamates as dual inhibitors of acetylcholinesterase and monoamine oxidase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 1996, 6: 625–630.
- [6] Sterling J, Herzig Y, Goren T, et al. Novel dual inhibitors of AChE and MAO derived from hydroxy aminoindan and phenethylamine as potential treatment for Alzheimer's disease [J]. *J Med Chem*, 2002, 45: 5260–5279.
- [7] Ronchetti D, Impagnatiello F, Guzzetta M, et al. Modulation of iNOS expression by a nitric oxide-releasing derivative of the natural antioxidant ferulic acid in activated RAW 264.7 macrophages [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 532: 162–169.
- [8] Rodriguez-franco MI, Fernandez-bachiller MI, Perez C, et al. Novel tacrine-melatonin hybrids as dual-acting drugs for Alzheimer disease, with improved acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties [J]. *J Med Chem*, 2006, 49: 459–462.
- [9] Fisher A. M1 muscarinic agonists target major hallmarks of Alzheimer's disease - the pivotal role of brain M1 receptors [J]. *Neurodegener Dis*, 2008, 5: 237–240.
- [10] Li L, Sengupta A, Haque N, et al. Memantine inhibits and reverses the Alzheimer type abnormal hyperphosphorylation of tau and associated neurodegeneration [J]. *FEBS Lett*, 2004, 566: 261–269.
- [11] Doody RS, Gavrilova SI, Sano M, et al. Effect of dimebon on cognition, activities of daily living, behaviour, and global function in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled study [J]. *Lancet*, 2008, 372: 207–215.
- [12] Rosini M, Andrisano V, Bartolini M, et al. Rational approach to discover multipotent anti-Alzheimer drugs [J]. *J Med Chem*, 2005, 48: 360–363.
- [13] Youdim MBH, Fridkin M, Zheng HL. Bifunctional drug derivatives of MAO-B inhibitor rasagiline and iron chelator VK-28 as a more effective approach to treatment of brain ageing and ageing neurodegenerative diseases [J]. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126: 317–326.

- [14] Yang F, Lim GP, Begum AN, et al. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280: 5892–5901.
- [15] Zhang HY, Tang XC. Neuroprotective effects of huperzine A: new therapeutic targets for neurodegenerative disease [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27: 619–625.
- [16] Li L, Zhang L, Zhao L, et al. 2008 Beijing Symposium on Aging and Neurodegeneration [C]. Beijing: Chinese Academy of Medical Sciences, 2008: 17.
- [17] Brinton RD. Investigative models for determining hormone therapy-induced outcomes in brain: evidence in support of a healthy cell bias of estrogen action [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1052: 57–74.
- [18] Brann DW, Dhandapani K, Wakade C, et al. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: basic mechanisms and clinical implications [J]. *Steroids*, 2007, 72: 381–405.
- [19] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer [J]. *Lancet*, 1997, 350: 1047–1059.
- [20] Beresford SA, Weiss NS, Voigt LF, et al. Risk of endometrial cancer in relation to use of oestrogen combined with cyclic progestagen therapy in postmenopausal women [J]. *Lancet*, 1997, 349: 458–461.
- [21] Ravnkar VA. Compliance with hormone replacement therapy: are women receiving the full impact of hormone replacement therapy preventive health benefits? [J]. *Women Health Issues*, 1992, 2: 75–80.
- [22] Brinton RD. Requirements of a brain selective estrogen: advances and remaining challenges for developing a NeuroSERM [J]. *J Alzheimers Dis*, 2004, 6: S27–35.
- [23] O'Neill K, Chen SH, Brinton RD. Impact of the selective estrogen receptor modulator, tamoxifen, on neuronal outgrowth and survival following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2004, 188: 268–278.
- [24] O'Neill K, Chen SH, Brinton RD. Impact of the selective estrogen receptor modulator, raloxifene, on neuronal survival and outgrowth following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease [J]. *Exp Neurol*, 2004, 185: 63–80.
- [25] Zhao LQ, O'Neill K, Brinton RD. Estrogenic agonist activity of ICI 182780 (Faslodex) in hippocampal neurons: implications for basic science understanding of estrogen signaling and development of estrogen modulators with a dual therapeutic profile [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 319: 1124–1132.
- [26] Yaffe KK, Krueger S, Sarkar D, et al. Cognitive function in postmenopausal women treated with raloxifene [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344: 1207–1213.
- [27] Weiser MJ, Foradori CD, Handa RJ. Estrogen receptor beta in the brain: from form to function [J]. *Brain Res Rev*, 2008, 57: 309–320.
- [28] An SJ. The study of the relationship between hippocampal ERs gene expression and brain degeneration and learning and memory function [D]. Beijing: Academy of Military Medical Science, 2002.
- [29] Jarvinen TA, Pelto-Huikko M, Holli K, et al. Estrogen receptor beta is coexpressed with ER $\alpha$  and PR and associated with nodal status, grade, and proliferation rate in breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156: 29–35.
- [30] Carroll JC, Pike CJ. Selective estrogen receptor modulators differentially regulate Alzheimer-like changes in female 3xTg-AD mice [J]. *Endocrinology*, 2008, 149: 2607–2611.
- [31] Escande A, Pillon A, Balaguer P, et al. Evaluation of ligand selectivity using reporter cell lines stably expressing estrogen receptor alpha or beta [J]. *Biochem Pharmacol*, 2006, 71: 1459–1469.
- [32] Zhao LX, Chen Q, Brinton RD. Neuroprotective and neurotrophic efficacy of phytoestrogens in cultured hippocampal neurons [J]. *Exp Biol Med*, 2002, 227: 509–519.
- [33] Bang OY, Hong HS, Kim DH, et al. Neuroprotective effect of genistein against beta amyloid-induced neurotoxicity [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 16: 21–28.
- [34] Sun Z, Lu QJ, Wen LQ, et al. Establishment and its application of a reporter-based screening model for discovering new ligands of estrogen receptor  $\alpha$  subtypes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2000, 35: 747–751.
- [35] Chen LM, Lu QJ, Wen LQ, et al. Establishment of a reporter gene-based cell screening model for discovering new agonists of estrogen receptor  $\beta$  subtype [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2006, 41: 721–726.
- [36] Tu PH, Pu XP, Shang WF, et al. New pharmaceutical usage of echinacoside (松果菊苷的制药新用途): CN, 200510002898 [P]. 2006-08-02.
- [37] Liu RT, Bian GX, Zou LB, et al. Neuroprotective effects of liquiritin and its inhibitory actions on cholinesterase activity [J]. *Chin New Drugs J (中国新药杂志)*, 2008, 17: 41–44.
- [38] Yang Y, Bian GX, Lu QJ. Neuroprotection and neurotrophism effects of liquiritin on primary cultured hippocampal cells [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2008, 33: 931–935.
- [39] Mersereau JE, Levy N, Staub RE, et al. Liquiritigenin is a plant-derived highly selective estrogen receptor beta agonist [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2008, 283: 49–57.
- [40] Kim YW, Zhao RJ, Park SJ, et al. Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF- $\kappa$ B-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production [J]. *Br J Pharmacol*, 2008, 154: 165–173.
- [41] Flight MH. Neurodegenerative disease: new ways of tackling A $\beta$  toxicity [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 889.