

DOI:10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-04-005

· 论 著 ·

· ORIGINAL ARTICLE ·

一种新型香豆素衍生物 P492B 的抗神经炎症效应分析^①

蒋艳林^{1a}, 向文静², 牙东姗^{1b}, 陈鑫^{1a}, 邓俊刚^{1a}, 廖儒佳^{1b}

(1. 桂林医学院附属医院 a. 药学部, b. 神经科学实验室, 桂林 541001; 2. 桂林市人民医院神经内科, 桂林 541002)

摘要 目的 研究新型香豆素衍生物 P492B 对小胶质细胞介导的神经炎症的作用。方法 以香豆素为母核, 合成新型香豆素衍生物 P95B、P613B 和 P492B。通过 MTT 法评估 P95B、P613B 和 P492B 对 SH-SY5Y 神经细胞系细胞活力的影响, 筛选最优化合物 P492B。构建脂多糖 (LPS) 诱导的 BV-2 小胶质细胞神经炎症模型, 给予 P492B 处理后, 形态学观察 P492B 对小胶质细胞活化的影响。Western blot 法检测 P492B 对小胶质细胞释放一氧化氮合成酶 (iNOS) 蛋白水平的影响。ELISA 法检测 P492B 对小胶质细胞释放的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 水平的影响, DCFH-DA 荧光探针检测 P492B 对小胶质细胞 ROS 水平的影响。结果 香豆素、P95B 和 P613B 均可剂量依赖性降低神经细胞活力, 而 P492B 对神经细胞活力无显著影响。P492B 可显著改善小胶质细胞的活化, 并剂量依赖性的显著降低活化的小胶质细胞 iNOS 蛋白水平、剂量依赖性的显著减少炎症因子 TNF- α 和 IL-6 的表达水平、剂量依赖性的显著降低活化的小胶质细胞活性氧水平。结论 新型香豆素衍生物 P492B 可显著抑制小胶质细胞介导的神经炎症, 为神经炎症相关疾病的治疗提供新的潜在治疗药物。

关键词: 香豆素衍生物; 神经炎症; 小胶质细胞; 神经保护

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)02-0034-07

Effect analysis of the anti-neuroinflammatory properties of P492B, a new coumarin derivative

JIANG Yanlin^{1a}, XIANG Wenjing², YA Dongshan^{1b}, CHEN Xin^{1a}, DENG Jungang^{1a}, LIAO Rujia^{1b}

(1. a. Department of Pharmacy, b. Laboratory of Neuroscience, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China; 2. Department of Neurology, Guilin People's Hospital, Guilin 541002, China)

Abstract Objective To investigate the effects of a novel coumarin derivative, P492B, on the microglia-mediated neuroinflammation. **Methods** Using coumarin as the core structure, new coumarin derivatives P95B, P613B, and

基金项目: 广西壮族自治区药品监督管理局药品安全科研项目 (桂药监科直属 [2023]008 号)。

第一作者: 蒋艳林, 主管药师, 研究方向为临床药学。

通信作者: 廖儒佳, liaorujia@hotmail.com。

P492B were synthesized. The effect of these derivatives on the viability of SH-SY5Y neuronal cells was evaluated using MTT assay, and the optimal compound, P492B, was selected. Next, the neuroinflammation model induced by LPS in BV-2 microglia was established, and the effect of P492B on microglial activation was analyzed through morphological observations. Moreover, the effect of P492B on the expression of iNOS protein in BV-2 microglia was assessed using Western blot analysis. The levels of inflammatory factors tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) released by BV-2 microglia were measured using ELISA. The effect of P492B on the level of reactive oxygen species (ROS) in BV-2 microglia was determined using the DCFH-DA fluorescent probe. **Results** The cell viability of SH-SY5Y cells was significantly reduced in a dose-dependent manner by, P95B, and P613B, while P492B had no significant effect on the cell viability of SH-SY5Y cells. The microglia activation was significantly inhibited by P492B, and the protein level of iNOS of activated microglia was significantly reduced by P492B in dose-dependent manner. The levels of inflammatory factors TNF- α and IL-6 were significantly decreased by P492B in dose-dependent manner and the ROS levels in activated microglia was significantly reduced by P492B. **Conclusion** The novel coumarin derivative, P492B, inhibits microglia-mediated neuroinflammation, which provides new insights and potential therapeutic options for neuroinflammatory-related diseases.

Keywords: coumarin derivative; neuroinflammation; microglia; neuroprotection

神经系统疾病包括各种神经退行性疾病、神经发育疾病和神经精神疾病,已经给全球医疗体系带来巨大挑战^[1]。尽管开展大量的研究工作,但许多神经系统疾病的确切病因和发病机制仍然不清。近年来,越来越多的研究^[2]结果表明,神经炎症是众多神经系统疾病发展和恶化的关键因素。神经炎症是指中枢神经系统的炎症反应,涉及多种免疫细胞的激活和炎症介质的释放。尽管炎症是机体自我保护的一种机制,但在某些情况下,过度的炎症反应会导致神经细胞的损伤,进而引发或加剧神经系统疾病的发生和发展^[3]。在参与神经炎症的免疫细胞中,小胶质细胞因其作为中枢神经系统内的常驻免疫细胞而在神经炎症的发生和发展中起到关键的作用^[4-5]。因此,抑制小胶质细胞介导的神经炎症,为治疗神经系统疾病提供一种极具潜力的治疗策略。

香豆素(coumarin)是一类天然存在的呋喃骈香豆素类生物活性化合物,广泛分布于植物界,特别是豆科、伞形科、芸香科等植物中^[6]。由于其独特的芳香气味和显著的药理活性,香豆素在食品、医药和农业等多个领域都有着广泛的应用^[7]。香豆素具有多种药理作用,包括抗炎、抗肿瘤、抗菌、抗病毒和免疫

调节等^[8]。近年来,相关研究^[9]结果表明,香豆素化合物在神经系统疾病的治疗中具有潜在的应用价值,其可通过多种机制,如调节神经递质、抗炎、抗氧化等发挥对神经系统的保护作用。例如,某些香豆素衍生物被发现可以通过抑制神经炎症减轻阿尔茨海默病和帕金森病等神经退行性疾病的症状,并改善患者的认知功能^[10]。然而,香豆素也存在潜在的毒副作用,特别是当世界卫生组织国际癌症研究机构将其列为三类致癌物后,如何在保留香豆素原有药理活性的基础上,进一步增强疗效、提高选择性并降低毒副作用,成为当前研究的热点和难点^[11]。

在本研究中,课题组前期合成一系列基于香豆素母核结构的衍生物,并对其进行神经细胞的毒性评估,再筛选出最优的化合物 P492B,对这一新型香豆素衍生物进行深入研究,旨在探讨它对小胶质细胞介导的神经炎症的作用,以期对神经炎症相关的神经系统疾病提供新的潜在治疗药物。

1 资料与方法

1.1 实验试剂

香豆素购自美国 Sigma-Aldrich 公司、新型香豆

素系列衍生物 P95B、P613B 与 P492B 由本课题组合成。化合物已经经过质谱 MS(购自美国 SCIEX 公司)和核磁氢谱(购自瑞士布鲁克公司)联合分析后绘制了相应的结构图。香豆素及其系列衍生物 P95B、P613B 和 P492B 均是通过二甲基亚砷溶剂稀释后进行后续实验。

1.2 细胞培养

BV-2 小胶质细胞与人神经母细胞瘤细胞系 SH-SY5Y 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司,上述细胞均已通过细胞 STR 鉴定验证。细胞培养的具体方法^[12]为:将购买的细胞种植在含有 5% 胎牛血清的细胞培养基中,然后将此培养基置于 37 ℃,含 5% CO₂ 的细胞培养箱中。随后,密切观察细胞的贴壁情况。当细胞融合度达 90% 时,进行传代培养。传带培养状态良好的细胞,进行保种处理后,其他细胞可用于后续实验。

1.3 MTT 法检测细胞活力

将人神经母细胞瘤细胞 SH-SY5Y 接种到 96 孔板中,每孔约 10 000 个细胞。培养 24 h 后,加入不同浓度的药物或对照组,继续培养 48 h。在每个孔中加入 20 μL 的 MTT 溶液(5 mg/mL),继续孵育 4 h。吸去培养液,加入 150 μL 的二甲基亚砷,轻轻摇动 96 孔板,使结晶物充分溶解。用酶标仪(购自美国 Molecular Devices 公司)在 570 nm 波长处测量各孔的吸光度值,并计算细胞的存活率。

1.4 Western blot 法检测诱导型 iNOS

BV-2 小胶质细胞接种到 96 孔板中,培养 24 h 后加入药物或对照组,继续培养 24 h。收集细胞,离心后弃去上清液。用细胞裂解液将细胞充分裂解,然后在 4 ℃ 下离心,取上清液。测定蛋白质浓度,并进行电泳和转膜。将膜放在含有抗兔 iNOS 抗体(1:800, AF0199, 江苏亲科生物研究中心有限公司)、内参抗兔 GAPDH 抗体(1:5 000, 江苏亲科生物研究中心有限公司)的孵育液中,4 ℃ 孵育过夜。然后洗涤并加入羊抗兔 HRP 二抗(1:5 000, 江苏亲科生物研究中心有限公司)孵育 1 h。洗膜后进行化

学发光显影,并使用 Image J 软件对结果进行定量分析。

1.5 ELISA 检测 IL-6 和 TNF-α

将 BV-2 小胶质细胞接种到 96 孔板中,培养 24 h 后加入药物或对照组,继续培养 24 h。收集上清液,用 ELISA 试剂盒(购自碧云天生物技术有限公司)检测 IL-6 和 TNF-α 的浓度。按照试剂盒说明书进行操作,包括加样、温育、洗涤和显色等步骤。使用酶标仪在 450 nm 波长处测量各孔的吸光度值,并根据标准曲线计算 IL-6 和 TNF-α 的浓度。

1.6 细胞活性氧水平检测

将 BV-2 小胶质细胞接种到含载玻片的培养皿中,待细胞贴壁后加入药物或对照组,继续培养 1 h。用无血清培养基洗涤细胞 2 次,然后加入 DCFH-DA 荧光探针(购自江苏碧云天生物技术有限公司),37 ℃ 孵育 30 min。洗涤细胞并加入正常培养基,使用荧光酶标仪检测细胞内的荧光强度,根据荧光强度,计算各组细胞的活性氧水平。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件处理数据,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用配对 *t* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 香豆素及其系列衍生物化学结构

香豆素(coumarin),又名邻氧萘酮、1,2-苯并吡喃酮,化学式为 C₉H₆O₂,香豆素的系列衍生物 P95B[3-(1H-benzimidazol-2-yl)-7-hydroxy-chromen-2-one]、P613B[3-(1H-benzimidazol-2-yl)-6-methyl-chromen-2-one]与 P492B[3-(1H-benzimidazol-2-yl)-8-ethoxy-chromen-2-one]均在 3 位添加苯并咪唑基,而 P95B 在此基础上在 7 位添加了 1 个羟基,而 P613B 在此基础上在 6 位添加了 1 个甲基,P492B 在此基础上在 8 位添加了 1 个乙氧基。香豆素与香豆素系列衍生物化学结构如图 1 所示。

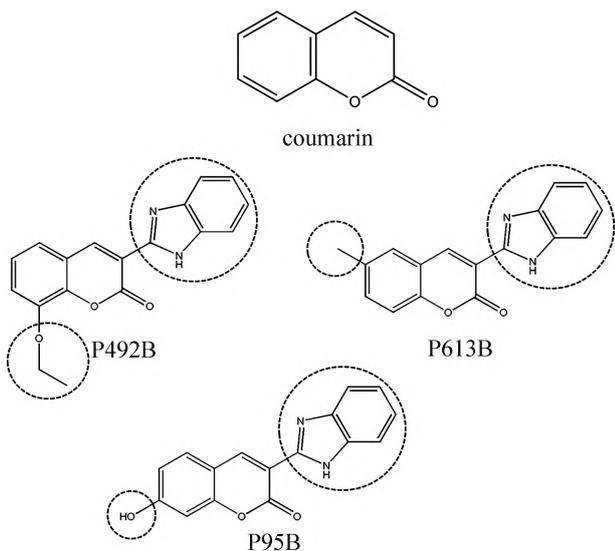
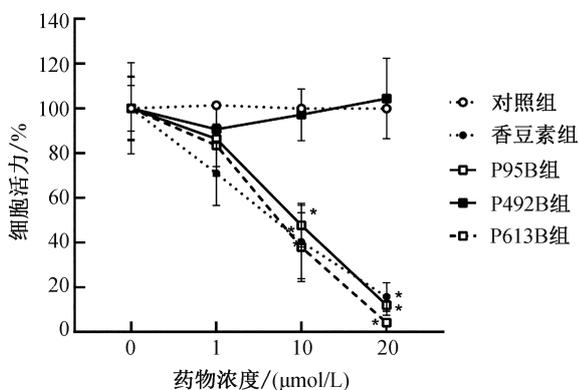


图 1 香豆素与香豆素系列衍生物化学结构

2.2 香豆素系列衍生物对 SH-SY5Y 神经元细胞系毒性活化的影响

与对照组相比,香豆素组在 10 $\mu\text{mol/L}$ 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理下均可显著降低 SH-SY5Y 神经元细胞系的活性,并呈剂量依赖性($P < 0.05$)。与对照组相比,香豆素系列衍生物 P95B、P613B 对 SH-SY5Y 神经元细胞系活性的影响与香豆素的作用类似,均表现出剂量依赖性的降低细胞活性($P < 0.05$)。而香豆素系列衍生物 P492B 组则在 1 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理下,均不能显著影响 SH-SY5Y 神经元细胞系的活性($P > 0.05$),结果如图 2 所示。



注:与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

图 2 香豆素与香豆素系列衍生物不同浓度处理对 SH-SY5Y 神经元细胞系的细胞活性

2.3 香豆素系列衍生物 P492B 对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞激活的影响

在对照组中,小胶质细胞表现出典型的静息小胶质细胞分支形态。用 LPS 处理后,小胶质细胞被激活,细胞体分支显著减少,皱缩变圆,形成活化小胶质细胞的特征形态。而单纯给予 P492B 处理后,不影响小胶质细胞的形态变化。但是,同时给予 LPS 和 P492B 处理后,与 LPS 组相比,可以显著抑制小胶质细胞的活化状态,使大部分小胶质恢复成为具有分支的静息状态的小胶质细胞,结果如图 3 所示。

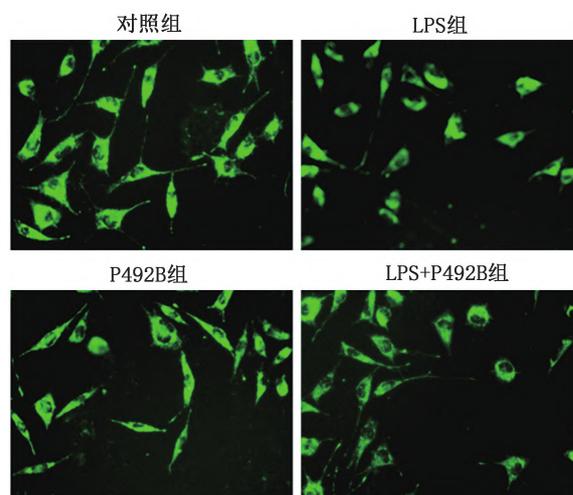
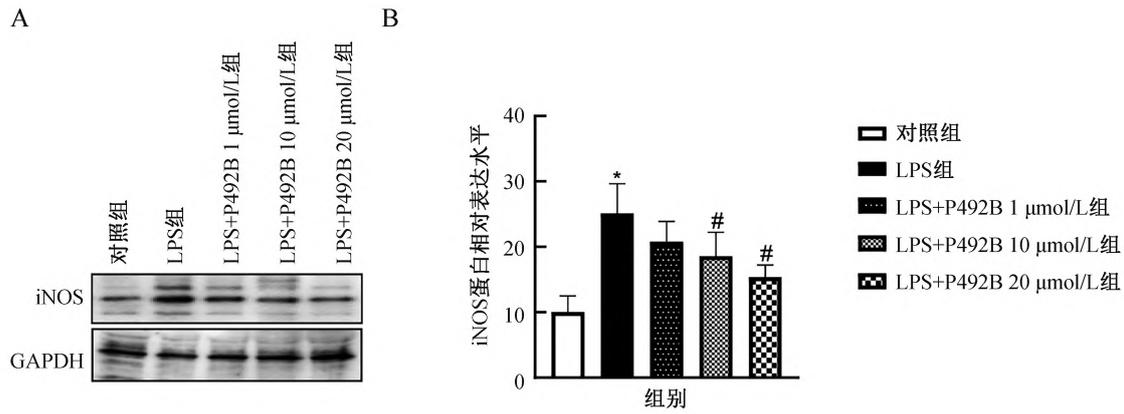


图 3 各组 BV-2 小胶质细胞代表性免疫荧光染色图($\times 400$)

2.4 香豆素系列衍生物 P492B 对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞释放 iNOS 的影响

与对照组相比,LPS 处理的 BV-2 小胶质细胞的 iNOS 蛋白水平显著升高($P < 0.05$)。而在给予 LPS 处理并同时给予不同浓度(1 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$)的 P492B 治疗时,与 LPS 单纯处理组比较,10 $\mu\text{mol/L}$ 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 P492B 均可以显著降低 BV-2 小胶质细胞的 iNOS 蛋白水平,并呈现剂量依赖性下降($P < 0.05$),结果如图 4 所示。



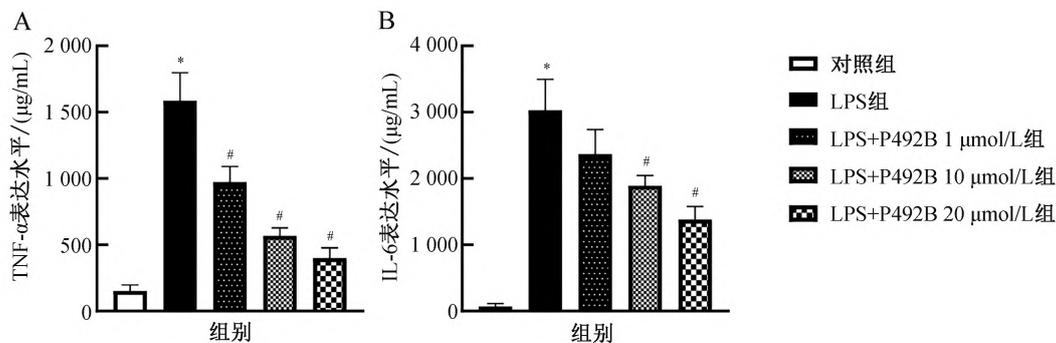
注:A. 各组 BV-2 小胶质细胞中 iNOS 蛋白代表性条带图;B. 各组 BV-2 小胶质细胞中 iNOS 蛋白定量分析图。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 P492B 对 BV-2 小胶质细胞中 iNOS 蛋白表达的影响

2.5 香豆素系列衍生物 P492B 对 LPS 诱导的 BV-2 细胞释放炎症因子的影响

与对照组比较,LPS 处理的 BV-2 小胶质细胞释放的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 水平均显著升高 ($P < 0.05$)。而在给予 LPS 处理并同时给予不同浓度 (1 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$) 的 P492B 治疗

时,与 LPS 单纯处理组比较,各浓度的 P492B 均可以显著降低 BV-2 细胞的 TNF- α 水平,并呈现剂量依赖性下降 ($P < 0.05$)。与 LPS 单纯处理组比较,10 $\mu\text{mol/L}$ 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 P492B 均可以显著降低 BV-2 细胞的 IL-6 水平,并呈现剂量依赖性下降 ($P < 0.05$),结果如图 5 所示。



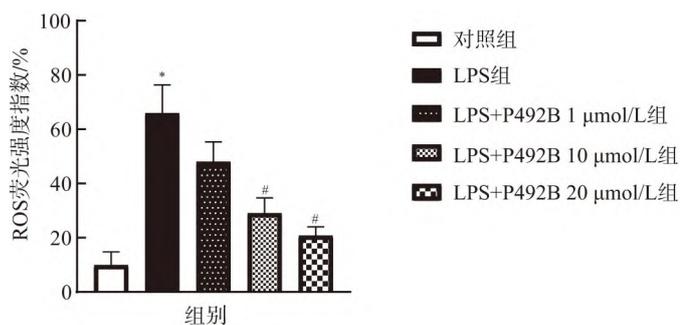
注:A. 各组 BV-2 小胶质细胞培养基中炎症因子 TNF- α 的水平;B. 各组 BV-2 小胶质细胞培养基中炎症因子 IL-6 的水平。与对照组比较, * $P < 0.05$; 与 LPS 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 5 P492B 对 BV-2 小胶质细胞释放的炎症因子 TNF- α 和 IL-6 水平的影响

2.6 香豆素系列衍生物 P492B 对 LPS 诱导的 BV-2 小胶质细胞产生 ROS 的影响

与对照组比较,LPS 处理的 BV-2 小胶质细胞的 ROS 水平显著升高 ($P < 0.05$)。而在给予 LPS 处理并同时给予不同浓度 (1 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、

20 $\mu\text{mol/L}$) 的 P492B 治疗时,与 LPS 单纯处理组比较,10 $\mu\text{mol/L}$ 与 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的 P492B 均可以显著降低 BV-2 小胶质细胞的 ROS 水平,并呈现剂量依赖性下降 ($P < 0.05$),结果如图 6 所示。



注:与对照组比较,* $P<0.05$;与LPS组比较,# $P<0.05$ 。

图6 P492B对BV-2小胶质细胞ROS水平的影响

3 讨论

神经炎症是指中枢神经系统内的免疫细胞(包括小胶质细胞、星形胶质细胞和浸润性免疫细胞)在各种病理刺激下被激活^[13]。虽然神经炎症最初是作为一种对抗感染和损伤的保护机制演变而来的,但失调或慢性神经炎症过程会对神经元的健康和功能产生有害影响。在神经炎症条件下,激活的小胶质细胞可以释放多种炎症介质,加重炎症反应和神经细胞的损伤。相关研究^[14]结果表明,激活的小胶质细胞可以分泌包括肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 等炎症介质,从而促进 β -淀粉样蛋白的沉积和神经元死亡,加剧阿尔茨海默病的症状。而在阿尔茨海默病中,激活的小胶质细胞可以分泌包括一氧化氮、超氧化物等多种介质,促进氧化应激进而导致敏感的多巴胺能神经元的损伤和死亡^[15]。此外,小胶质细胞介导的神经炎症还与许多其他神经系统疾病有关,包括卒中、亨廷顿氏病、肌萎缩侧索硬化症、癫痫等^[16-17]。因此,针对小胶质细胞的治疗策略,可能对治疗这些神经系统疾病具有重要意义。

本研究中,发现了一个新的香豆素系列衍生物P492B对小胶质细胞活化介导的神经炎症具有明显的抑制作用。本研究结果显示,P492B可以显著抑制小胶质细胞的活化,并且可以剂量依赖性的显著降低活化的小胶质细胞释放促炎因子水平以及ROS水平,表明香豆素系列衍生物P492B具有一定抗神经炎症的治疗作用,可能在多种炎症相关的神经系统疾病中具有潜在的应用价值。

在本研究中,也对香豆素及其香豆素系列衍生物P95B、P613B与P492B进行了筛选。本研究结果显示,经过神经细胞毒性评估,只有P492B在不同浓度下对神经细胞活力无影响,而香豆素和其他两个化合物在高浓度下显著降低神经细胞的活力,表明香豆素和其他两个化合物可能具有潜在神经毒性风险,在应用上需谨慎。后续的研究也进一步发现,在无神经细胞毒性的情况下,P492B可显著抑制处于激活状态下的小胶质细胞,表明该化合物在保证足够安全性的同时,还具有良好的抗神经炎症的效果,具有潜在的临床应用价值。

香豆素衍生物既有天然存在,也可通过合成方法获得。许多衍生物具有显著的经济价值,例如双香豆素。过去,双香豆素是从甜苜蓿植物中提取,现在则可以通过人工合成,现在已成为常用的抗凝血剂,而且几种常见的香豆素衍生物,如双香豆素、华法林和醋硝香豆素,都是重要的抗凝血药物。然而,香豆素衍生物的药理作用远不止于此。目前,相关研究表明,香豆素衍生物在神经系统疾病中存在5种重要药理作用^[18-19]。①神经保护作用。香豆素可减少氧化应激、炎症和神经系统疾病中的细胞凋亡,其可能有助于保护神经元免受损伤并促进其存活。②抗氧化活性。香豆素具有抗氧化特性,有助于抵消自由基和氧化应激对大脑的有害影响,这种抗氧化活性可能是香豆素具有神经保护作用的原因之一。③抗炎作用。炎症在各种神经系统疾病中都扮演着重要角色。香豆素可通过抑制促炎分子的产生和调节炎症途径来发挥抗炎作用。④抗胆碱酯酶活性。有些香豆素衍生物对乙酰胆碱酯酶有抑制作用,通过抑制这种酶,香豆素可增加乙酰胆碱的含量,从而对某些神经系统疾病患者的认知功能产生潜在的益处。⑤神经递质调节。香豆素可调节多巴胺、血清素和谷氨酸等多种神经递质的水平和活性。

4 结论

本研究首次发现了一种新型的香豆素衍生物

P492B [3-(1H-Benzoimidazol-2-yl)-8-ethoxy-chromen-2-one], 其在不抑制神经细胞活性的同时, 可通过抑制小胶质细胞活化介导的神经炎症, 抑制 ROS 的产生, 从而发挥抗神经炎症的作用。本研究结果为相关神经系统疾病提供新的安全有效的潜在治疗药物。

参考文献

- [1] PIAO J M, HUANG Y Q, HAN C, et al. Alarming changes in the global burden of mental disorders in children and adolescents from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study [J]. *Eur Child Adolesc Psychiatry*, 2022, 31(11): 1827-1845.
- [2] CANDELARIO-JALIL E, DIJKHUIZEN R M, MAGNUS T. Neuroinflammation, stroke, blood-brain barrier dysfunction, and imaging modalities [J]. *Stroke*, 2022, 53(5): 1473-1486.
- [3] HAN V X, PATEL S, JONES H F, et al. Maternal immune activation and neuroinflammation in human neurodevelopmental disorders [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(9): 564-579.
- [4] FELDMAN R A. Microglia orchestrate neuroinflammation [J]. *Elife*, 2022, 11: e81890.
- [5] 何瓌, 邹蔓姝, 韩远山, 等. 小胶质细胞活化介导的神经元损伤与抑郁症的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(1): 12-15.
- [6] 倪秀悦, 倪秀栋, 刘菲菲, 等. 香豆素及其衍生物的应用研究进展 [J]. *壮瑶药研究*, 2023(1): 302-303.
- [7] 潘妍, 范丽莉, 孙海霞, 等. 独活属植物香豆素类化合物及其生物活性研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2023, 39(29): 14-23.
- [8] 董熠, 刘丽佳, 韩璐雯, 等. 香豆素类化学成分的药理作用及毒性机制研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(16): 5462-5472.
- [9] DORABABU A. Pharmacological report of recently designed multifunctional coumarin and coumarin-heterocycle derivatives [J]. *Arch Pharm*, 2022, 355(2): e2100345.
- [10] RODRÍGUEZ-ENRÍQUEZ F, COSTAS-LAGO M C, BE-SADA P, et al. Novel coumarin-pyridazine hybrids as selective MAO-B inhibitors for the Parkinson's disease therapy [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 104: 104203.
- [11] ARYA C G, GONDRU R, LI Y P, et al. Coumarin-benzimidazole hybrids: a review of developments in medicinal chemistry [J]. *Eur J Med Chem*, 2022, 227: 113921.
- [12] ZHOU Z X, CUI Q, ZHANG Y M, et al. Withaferin A inhibits ferroptosis and protects against intracerebral hemorrhage [J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18(6): 1308-1315.
- [13] WOODBURN S C, BOLLINGER J L, WOHLEB E S. The semantics of microglia activation: neuroinflammation, homeostasis, and stress [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 258.
- [14] LENG F D, EDISON P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(3): 157-172.
- [15] BADANJAK K, FIXEMER S, SMAJI Ć S, et al. The contribution of microglia to neuroinflammation in Parkinson's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4676.
- [16] LIAO S, WU J N, LIU R M, et al. A novel compound DBZ ameliorates neuroinflammation in LPS-stimulated microglia and ischemic stroke rats: Role of Akt (Ser473)/GSK3 β (Ser9)-mediated Nrf2 activation [J]. *redox Biol*, 2020, 36: 101644.
- [17] GUO A N, ZHANG H Q, LI H H, et al. Inhibition of connexin hemichannels alleviates neuroinflammation and hyperexcitability in temporal lobe epilepsy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(45): e2213162119.
- [18] SHARMA A, BHARATE S B. Synthesis and biological evaluation of coumarin triazoles as dual inhibitors of cholinesterases and β -secretase [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(12): 11161-11176.
- [19] SAH A, NASEEF P P, KURUNIYAN M S, et al. A comprehensive study of therapeutic applications of chamomile [J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(10): 1284.

[收稿日期: 2024-02-02]

[责任编辑: 杨建香 英文编辑: 周寿红]