

Huperzin A: Gölgede Kalmış Bir Nootropik Ajan

Nazlı TURAN YÜCEL* , Özgür Devrim CAN***

Huperzine A: A Nootropic Agent in The Shade

SUMMARY

Huperzine A is a sesquiterpene alkaloid found in the chemical composition of the medical plant Huperzia serrata. Huperzine A has attracted the attention of neuroscientists after the discovery of its strong and selective inhibitory activity on the acetylcholinesterase enzyme. Preclinical pharmacological studies have indicated that this alkaloid has strong neuroprotective effects against various agents such as β -amyloid protein, hydrogen peroxide, staurosporine and glutamate, or toxicity induced by ischemia. According to the obtained findings, Huperzine A has multiple action mechanisms due to its acetylcholinesterase inhibitory, neuroprotective and neurogenesis-supporting activities. In vivo studies have suggested that, Huperzine A has significant nootropic activity against cognitive impairments induced by various experimental models. Data from clinical trials have also pointed out that Huperzin A may be an effective agent for the treatment of cognitive disorders caused by senile senescence, Alzheimer's Disease (AD), cerebrovascular events or psychotic disorders. Apart from the mentioned nootropic efficacy, it has been suggested that Huperzine A has an important potential for the treatments of myasthenia gravis and neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy and also for the prophylaxis of organophosphate poisonings.

Despite its potent and multidirectional activity potential and safe side-effect profile, Huperzine A is licensed for symptomatic treatment of AD only in the People's Republic of China. Well-designed clinical trials are needed to confirm the efficacy and the safety of long-term treatment of this agent in order to consider Huperzine A as a potent, safe and low-cost new alternative among the limited number of drugs already used in the treatment of AD.

Key Words: Acetylcholinesterase inhibitor, alzheimer's disease, cognitive functions, huperzine a, neuroprotective, nootropic.

Huperzin A: Gölgede Kalmış Bir Nootropik Ajan

ÖZ

Huperzin A, Huperzia serrata adlı tıbbi bitkinin kimyasal içeriğinde bulunan seskiterpen bir alkaloiddir. Huperzin A, asetilkolinesteraz enzimi üzerine güçlü ve selektif inhibitör aktivitesinin keşfinden sonra sinir bilimcilerin dikkatini çekmiştir. Huperzin A'nın farmakolojik etkilerine ilişkin prelinik çalışmalar bu alkaloidin β -amiloid protein, hidrojen peroksit, staurosporin ve glutamat gibi çeşitli ajanlarla ya da iskemi ile indüklenmiş olan toksisiteye karşı güçlü nöroprotektif etkilere sahip olduğuna işaret etmiştir. Elde edilen bulgular, Huperzin A'nın asetilkolinesteraz inhibitörü, nöroprotektif ve nörojenezi destekleyici aktiviteleri nedeniyle çoklu etki mekanizmasına sahip bir molekül olduğu görüşünü doğurmuştur. In vivo çalışmalar Huperzin A'nın çeşitli deneysel modeller ile indüklenen kognitif bozukluklara karşı nootropik etkinliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur. Klinik araştırmalardan elde edilen veriler de Huperzin A'nın yaşlılık, Alzheimer Hastalığı (AH), serebrovasküler olay ya da psikotik hastalık gibi çeşitli nedenlerden kaynaklanan bilişsel bozuklukların tedavisi için etkili bir ajan olabileceğine işaret etmiştir. Huperzin A'nın sözü edilen nootropik etkinliğinin dışında, miyasteniya gravisin ve yenidoğan hipoksik-iskemik ensefalopatisinin tedavisi ve ayrıca organofosfat zehirlenmelerinin profilaksisi için de önemli bir potansiyele sahip olduğu ileri sürülmüştür.

Güçlü ve çok yönlü etki potansiyeline ve düşük yan etki profiline rağmen Huperzin A, AH'nın semptomatik tedavisi için sadece Çin Halk Cumhuriyeti'nde ruhsatlandırılmıştır. Huperzin A'nın AH tedavisi için zaten sınırlı sayıda olan ilaçların arasına potent, güvenli ve düşük maliyetli yeni bir alternatif olarak eklenebilmesi için, bu ajanın etkinliğini ve uzun dönem tedavinin güvenilirliğini doğrulayacak iyi tasarlanmış klinik araştırmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler: Asetilkolinesteraz inhibitörü, alzheimer hastalığı, bilişsel işlevler, huperzin a, nootropik, nöroprotektif.

Received: 21.02.2018

Revised: 27.04.2018

Accepted: 07.05.2018

* ORCID: 0000-0002-0371-2703, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

** ORCID: 0000-0002-2260-3174, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Eskişehir

Corresponding Author: Özgür Devrim CAN

Tel: +90 222 3350580 (3749), Fax: +90 222 3350750, E-mail: ozgurdt@anadolu.edu.tr

GİRİŞ

Huperzia serrata (Thunb.) Trev. (*Lycopodium serratum* Thunb. Ex Murray), *Huperziaceae* familyasına ait tıbbi bir bitkidir. Çin'de "Qian Ceng Ta" adıyla bilinen bu bitki, geleneksel Çin tıbbında bin yıldan uzun süredir yaralanmaların, burkulmaların, şişliğin, inflamasyonun, ateşli hastalıkların, çeşitli kan hastalıklarının ve hatta şizofreninin tedavisinde kullanılmaktadır (Liu ve ark., 1986; Zangara, 2003; Ma ve ark., 2007; Guo ve ark., 2009). Bu bitki, kimyasal içeriğinde bulunan seskiterpen bir alkaloid olan Huperzin A (Huperzin A, (1 R, 9S, 13E) -1-amino-13-etiliden-11-metil-6-azatrisiklo-[7.3.1.02,7] trideka-2 (7), 3,10-trien-5-on)'nın güçlü ve selektif bir asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörü olduğunun ortaya konmasından sonra dünya çapında popülerlik kazanmıştır (Liu ve ark., 1986; Wang ve Tang, 1998). Huperzin A'nın AChE inhibitörü etkinliğinin keşfedilmesi, bu maddenin *in vivo* koşullarda kognitif fonksiyonlar üzerine etki gösterip göstermediği sorusunu gündeme getirmiştir. Huperzin A'nın kolinerjik sistem üzerindeki etkinliğine bağlı olarak nootropik bir potansiyele sahip olabileceğine ilişkin ön bulguları, bu molekülün nöroprotektif etkinliğine ilişkin raporlar izlemiş ve Huperzin A'nın Alzheimer Hastalığı'nın (AH) tedavisi için çoklu etki mekanizmasına sahip yeni bir ilaç adayı olabileceği düşünülmeye başlanmıştır. Klinik çalışmalardan elde edilen veriler konuya ilişkin pre-klinik bulguları büyük ölçüde desteklemiştir. Yapılan çalışmalar, bir yandan Huperzin A'nın çeşitli nedenlere bağlı olarak oluşan kognitif bozuklukların tedavisi için güçlü bir etkinliğe sahip olduğuna işaret ederken, diğer yandan da bu alkaloidin yan etki profili açısından da güvenli olduğu rapor edilmiştir. Günümüzde Huperzin A AH'nın semptomatik tedavisinde kullanılmak üzere Çin Halk Cumhuriyetinde ruhsatlandırılmış olan bir ilaçtır. Bitkinin toz hale getirilmesi ile hazırlanan tablet ve kapsüller de Amerika Birleşik Devletleri'nde nutrasötik olarak pazarlanmaktadır (Ma ve ark., 2007).

Bu derlemede Huperzin A'nın pre-klinik ve klinik araştırmalara dayanan farmakolojik etkileri sunulmuş ve bu maddenin kognitif bozuklukların tedavisinde ilaç olarak kullanılma potansiyeli tartışılmıştır.

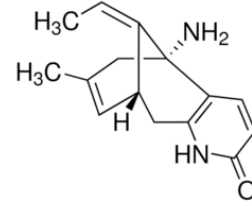
HUPERZİN A'NIN KİMYASAL YAPISI VE FARMAKOLOJİK ÖZELLİKLERİ

Huperzin A'nın Kimyasal Yapısı

Huperzin A, kapalı formülü $C_{15}H_{18}N_2O$ ve moleküler ağırlığı 242.322 g/mol olan bir alkaloiddir. Kompakt ve sıkı bir kimyasal iskeleti olan Huperzin A'nın moleküler yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir. Huperzin A'nın (-)-Huperzin A ve (+)-Huperzin A olmak üzere 2 adet stereoisomeri olduğu bilinmektedir (Yamada

ve ark., 1991; Ha ve ark., 2011). Huperzin A'nın farmakolojik etkinliğinin araştırıldığı pek çok çalışmada kullanılan enantiyomeri (-)-Huperzin A'dır.

Huperzin A'nın bitkilerde düşük miktarda bulunması ve ekstraksiyon veriminin çok düşük olması, araştırmacıları bu alkaloidi sentez yolu ile elde etmek üzere harekete geçirmiştir. Günümüzde Huperzin A, hem kimyasal sentez hem de biyosentez yolu ile elde edilebilmektedir (Ha ve ark., 2011).



Şekil 1. Huperzin A'nın moleküler yapısı

Huperzin A'nın Farmakokinetik Özellikleri

Huperzin A'nın vücuda alınmasını takiben ortaya çıkan farmakokinetik profilini araştırmak üzere sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Bunlardan biri olan ve Qian ve arkadaşları tarafından 1995 yılında gerçekleştirilen bir çalışmada Huperzin A'nın 0.99 mg/lık tek doz tablet formundaki uygulamasının neden olduğu farmakokinetik değişim 6 adet Çinli gönüllü üzerinde araştırılmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda, Huperzin A'nın emiliminin birinci derece kinetiğe ve dağılımının da bir kompartımanlı modele uygunluk gösterdiği ileri sürülmüştür. İlaç plazma konsantrasyonlarının ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak test edildiği bu çalışmada, Huperzin A'nın emilim ve eliminasyon yarı ömürlerinin sırasıyla 12.6 ve 288.5 dakika; t_{max} ve C_{max} değerlerinin ise sırasıyla 79.6 dakika ve 8.4 mg/L olduğu bulunmuştur. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın hızla emildiği, vücutta geniş dağılıma sahip olduğu ancak düşük-orta derecede bir hızla elimine edildiği rapor edilmiştir (Qian ve ark., 1995).

Diğer yandan Huperzin A'nın farmakokinetik özelliklerini araştırmak üzere 12 sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 0.4 mg tek doz oral tablet şeklinde uygulanan Huperzin A'nın hızlı bir emilim ve dağılımı takiben yavaş bir eliminasyon hızı ile karakterize bifazik bir farmakokinetik profile sahip olduğu rapor edilmiştir. Huperzin A'nın oral uygulamayı takiben 5-10 dakika sonra plazmada saptanmaya başladığı ve plazma doruk konsantrasyonuna ($C_{max} = 2.59 \pm 0.37$ mg/L) 58.33 ± 3.89 dk'lık (t_{max}) bir sürede ulaştığı; dağılımın ise sırasıyla 21.13 ± 7.28 ve 716.25 ± 130.18 dakikalık α ve β yarı ömür değerleri ile iki kompartımanlı dışa açık modele uygunluk gösterdiği bildirilmiştir. Elde edilen bulgular doğ-

rultusunda Huperzin A'nın vücutta geniş bir dağılım gösterdiği (Li ve ark., 2007), diğer AChE inhibitörlerine oranla kan-beyin bariyerinden daha çok geçtiği, daha yüksek bir oral biyoyararlanıma ve daha uzun etki süresine sahip olduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2006).

Huperzin A'nın Farmakolojik Etkileri

Preklinik araştırmalara ilişkin bulgular

Huperzin A'nın asetilkolinesteraz enzim inhibitörü etkinliği

Potent, kompetitif ve geri-dönümlü bir AChE inhibitörü olan Huperzin A'nın AChE enzimi üzerine etkinliğinin bütirilkolinesteraz (BuChE) enzimine göre çok daha güçlü olduğu rapor edilmiştir (Xiao ve ark, 2002; Ohba ve ark., 2015). Huperzin A'nın AChE enzimi ile beş farklı noktada etkileşime girdiği ve bu enzim üzerine inhibitör etkisini nanomolar konsantrasyonlarda gösterdiği bilinmektedir (Ashani ve ark., 1992).

Huperzin A'nın etki gücünün fizostigmin, galantamin, takrin, donepezil ve rivastigmin gibi AChE inhibitörlerine eşit, hatta onlardan daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (Cheng ve ark., 1996; Wang ve Tang, 1998; Zangara, 2003; Liang ve Tang, 2004). Bunun bir nedeninin Huperzin A'nın tercihen AChE'nin esas olarak memeli beyinde bulunan tetramerik formunu inhibe etmesi (Zhao ve Tang, 2002) ve diğer nedeninin ise enzimle beş farklı noktada girdiği güçlü etkileşimler olabileceği ileri sürülmüştür (Ha ve ark., 2011). Huperzin A'nın AChE enzimi üzerine inhibitör etki gücünü belirleyen diğer bir faktör de stereoselektivitedir. Sıçan kortikal preparatlarında yapılan bir çalışmada, Huperzin A'nın doğal formu olan (-)-Huperzin A'nın, (+)-Huperzin A enantiomerine göre 38 kat daha güçlü olduğu gösterilmiştir (McKinney ve ark., 1991).

Huperzin A'nın nöroprotektif etkinliği

Yapılan pek çok *in vitro* ve *in vivo* çalışma Huperzin A'nın güçlü nöroprotektif etkinliğe sahip olduğuna işaret etmektedir. Huperzin A'nın yaşlı erkek sıçanların hipokampus, serebral korteks ve serumlarında artmış olan lipid peroksidasyonu ve süperoksit dismutaz (SOD) seviyeleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, Huperzin A'nın 0.05 mg/kg dozda 7-14 gün süre ile uygulanmasının artmış olan malondialdehit (MDA) düzeylerini ve manganez-SOD (Mn-SOD) aktivitelerini belirgin şekilde azalttığı rapor edilmiştir. MDA düzeylerinin 7 günlük uygulama ile % 44.7-52.8 ve 14 günlük uygulama ile % 52.6-54.7 oranlarında; Mn-SOD aktivitelerinin ise 7 günlük uygulama ile % 25.0-57.6 ve 14 günlük uygulama ile de % 56.0-74.2 oranlarında azaldığı gösterilmiştir. Bu

sonuçlar, Huperzin A uygulamasının yaşlı farelerde artmış serbest radikal seviyelerini düşürmekte başarılı olduğunu ortaya koymuştur (Shang ve ark., 1999).

Huperzin A'nın β -amiloid protein (A β) (Xiao ve ark, 2000a, 2000b, 2002; Gao ve Tang, 2006), hidrojen peroksit (H₂O₂) (Tang ve ark., 2005a), staurosporin (Zhang ve Tang, 2003; Wang ve Tang, 2005), iskemi (Zhou ve ark., 2001a, 2001b) ve glutamat (Ved ve ark., 1997; Wang ve ark., 1999; Gordon ve ark., 2001; Zhang ve Hu, 2001; Zhang ve ark., 2002a) ile indüklenmiş sitotoksikite ve apoptoza karşı koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir.

Huperzin A'nın A β (25-35) ile indüklenen hücre lezyonu, lipid peroksidasyon seviyesi ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin sıçan PC12 hücre hattı kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada, A β (25-35)'e 48 saat maruz bırakılan hücrelerin glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktivitelerinin ve yaşam sürelerinin önemli ölçüde azaldığı; MDA ve SOD üretimlerinin ise anlamlı ölçüde arttığı saptanmıştır. Diğer yandan, A β (25-35) maruziyetinden önce Huperzin A ile pre-inkübasyonun hücre yaşam süresini, glutatyon peroksidaz ve katalaz enzim aktivitelerini artırdığı ve MDA ve SOD enzim aktivitesini düşürdüğü belirlenmiştir. Huperzin A'nın, A β -kaynaklı hücre toksisitesine karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu gösteren bu çalışmanın sonucunda bu alkaloidin AH tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (Xiao ve ark, 2000a). Aynı araştırma grubu tarafından yürütülen ve Huperzin A'nın A β -kaynaklı oksidatif hasar üzerine etkilerinin sıçan PC12 hücrelerinin yanı sıra kültüre edilmiş primer kortikal nöronlarda araştırıldığı diğer bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş; Huperzin A'nın A β toksisitesine karşı takrin'e benzer şekilde nöroprotektif etki gösterdiği bildirilmiştir (Xiao ve ark, 2000b). Literatürde Huperzin A'nın nöronları A β (25-35) ile indüklenmiş hasara karşı koruyucu etkisinin nörit gelişimi ile ilişkili gen ağını regüle etmesi ile olabileceğini ileri süren çalışmalara da rastlamak mümkündür (Shen ve ark., 2012).

Xiao ve arkadaşları tarafından 2002 yılında yapılan bir başka çalışmada ise Huperzin A'nın A β (25-35) ile indüklenen nöronal apoptoz üzerine etkileri primer sıçan kortikal nöron kültürü kullanılarak araştırılmıştır. Hücrelerin A β (25-35)'e maruziyetinin hücre canlılığında önemli ölçüde azalmaya, nöronal morfolojide değişikliklere ve deoksiribo nükleik asit (DNA) parçalanması ile karakterize apoptotik hücre ölümüne yol açtığı; diğer yandan maruziyetten önce Huperzin A (0.01-10 μ M) ön-uygulamasının hücre sağkalımını artırdığı ve çekirdek parçalanmasını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın nöronları, A β (25-35)'in indüklediği apoptoza karşı, reaktif oksijen türlerinin

oluşumunun ve kaspaz-3 aktivitesinin inhibisyonu yoluyla koruduğu gösterilmiştir (Xiao ve ark, 2002).

Huperzin A'nın A β (25-35)'e maruz bırakılan PC12 hücrelerinde mitokondriyal disfonksiyonu azaltma yeteneğinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, çeşitli sürelerle 1 μ M A β (25-35)'e maruz bırakılan hücrelerin adenozin trifosfat (ATP) seviyelerinde hızlı bir düşüş görülmüş, mitokondriyal membranda morfolojik değişimler ortaya çıkmış, zar potansiyeli ve iyon kanallarının aktivitesi azalmıştır. Mitokondriyal membranda homeostaz ve bütünlüğün belirgin biçimde bozulmasının yanı sıra, A β (25-35) uygulaması, elektron taşıma zinciri ve trikarboksilik asit döngüsündeki kilit enzimlerin aktivitelerinin inhibisyonuna ve hücre içi reaktif oksijen türlerinin de artmasına neden olmuştur. Huperzin A ile 2 saatlik ön-inkübasyon sadece A β 'nin sebep olduğu hücrel stres belirtilerini zayıflatmakla kalmayıp, aynı zamanda ATP konsantrasyonunu artırmış ve zarar görmemiş sağlıklı hücrelerde reaktif oksijen türlerinin birikimini azaltmıştır. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın mitokondriyi A β -kaynaklı hasarlara karşı, en azından kısmen oksidatif stresin engellenmesi ve enerji metabolizmasının iyileştirilmesi yoluyla koruduğu; bu koruyucu etkilerin de nöronal hücrelerde apoptoz olayını azalttığı ileri sürülmüştür (Gao ve Tang, 2006).

Aynı araştırma grubu tarafından yapılan ve Huperzin A'nın izole sıçan beyindeki mitokondriyal etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, 0.01 veya 0.1 μ M dozlarda Huperzin A uygulamasının mitokondriyal solunum, ATP sentezi, enzim aktivitesi ve transmembran potansiyelinde A β (25-35) ile indüklenen azalmayı inhibe ettiği ve ayrıca mitokondriyal şişmeyi, reaktif oksijen türevlerindeki artışı ve sitokrom C salıverilmesini de etkili şekilde önlediği gösterilmiştir. Huperzin A'nın mitokondriyi A β 'nin olumsuz etkilerine karşı, enerji metabolizmasını iyileştirmenin yanı sıra membran bütünlüğünün bozulmasını önleyerek de koruduğu öne sürülmüştür (Gao ve ark., 2009).

Yang ve arkadaşları tarafından 2012 yılında yapılan bir başka çalışmada da Huperzin A'nın, izole beyin korteks mitokondriyelerinde A β (1-42) ile indüklenen ATP redüksiyonu ve mitokondriyal şişme üzerine de iyileştirici etkiler gösterdiği; respiratuvar zincir komplekslerinin enzimatik aktivitelerindeki azalmayı düzelttiği ve bu etkilerin A β (1-42)'nin mitokondriye nüfuz etmesinin engellenmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Yang ve ark., 2012).

Huperzin A'nın H₂O₂ ile indüklenen oksidatif hasara karşı nöroprotektif etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, 200 μ M H₂O₂'ye geçici olarak maruz kalan SHSY5Y hücrelerinin canlılığında önemli bir azalma olduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerin sinir

büyüme faktörü (NGF), nörotrofin P75 reseptörü ve tirozin kinaz A reseptörü mRNA ve protein seviyeleri de düşmüştür. Hücrelerin H₂O₂'ye maruz bırakılmadan önce 10 μ M Huperzin A ile inkübe edilmesi ise sağkalımlarını önemli ölçüde artırmış ve sözü edilen mRNA ve protein seviyelerindeki azalmayı düzeltmiştir. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın sitoprotektif etkisine, NGF ve NGF reseptörlerinin up-regülasyonunun, en azından kısmen aracılık ettiği ve mitojen ile aktive edilen protein kinaz/ekstraselüler sinyal-düzenleyici kinaz (MAPK/ERK) sinyal yolağının söz konusu protektif etkinlikte önemli oynadığı ileri sürülmüştür (Tang ve ark., 2005a).

Benzer bir çalışmada da sıçan feokromositoma hücrelerinin 100 μ M H₂O₂'ye geçici olarak maruz kalması sonucunda pro-apoptotik genler olan p53'ün ve Bax'ın up-regüle ve anti-apoptotik gen Bcl-2'nin down-regüle olduğu; kromatin yoğunlaşması, çekirdek fragmentasyonu ve DNA merdivenlenmesi ile karakterize tipik bir apoptozun tetiklendiği gösterilmiştir. Diğer yandan, 1 μ M Huperzin A ile preinkübasyonun, hücreleri apoptozdan önemli ölçüde koruduğu, Bax ve p53'ün aşırı ekspresyonunu hafiflettiği ve Bcl-2 düzeyini eski haline döndürdüğü bildirilmiştir. Huperzin A'nın H₂O₂'ye bağlı apoptoza karşı, olasılıkla apoptoz ile ilişkili genlerin ekspresyonunu düzenleyerek, önemli bir koruma sağladığı ileri sürülmüştür (Wang ve ark., 2001a).

Huperzin A'nın staurosporin ile indüklenen nöronal apoptoz üzerine nöroprotektif etkisinin sıçan kortikal hücre kültüründe araştırıldığı bir çalışmada ise 0.5 μ M staurosporin'e 24 saat süreyle maruziyetten 2 saat önce yapılan Huperzin A (0.1-100 μ M) ön-uygulamasının, hücre sağkalımını belirgin şekilde artırdığı rapor edilmiştir. Yüksek Huperzin A (1 μ M) ile inkübasyonun staurosporinin neden olduğu DNA fragmentasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Huperzin A bu dozda, pro-apoptotik gen Bax'ın upregülasyonunu ve anti-apoptotik gen Bcl-2'nin down-regülasyonunu azaltmış ve immünreaktif kaspaz-3 proenzimindeki azalmayı antagonize etmiştir. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın kaspaz-3 proenzimini ve apoptoz ile ilişkili genleri düzenleyerek nöronları staurosporin-kaynaklı apoptoza karşı koruduğu ortaya konmuştur (Zhang ve Tang, 2003; Wang ve Tang, 2005).

Huperzin A'nın oksijen-glukoz yoksunluğu (OGY) ile indüklenmiş hasara karşı koruyucu etkileri C6 hücreleri kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada 6 saat OGY ve 6 saat re-oksjenasyonun I κ B α 'nın fosforilasyonunu/degradasyonunu ve nükleer faktör-kappa B'nin (NF- κ B) nükleer translokasyonunu artırdığı; indüklebilir nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve nitrik oksit (NO) miktarlarında ciddi artışları tetiklediği gösterilmiştir. 1 μ M Huper-

zin A uygulamasının NF- κ B'nin aktivitesini inhibe ettiği, iNOS, COX-2 ve NO miktarlarındaki artışı azalttığı ve OGY'ye maruz kalan C6 hücrelerinde sağ kalımı arttırdığı ileri sürülmüştür. Çalışmada sunulan bulgular ışığında, Huperzin A'nın koruyucu etkilerinin kısmen nikotinik asetilkolin reseptörü (nAChR)-aracılı kolinerjik antiinflamatuvar yolak üzerinden gerçekleştiği ileri sürülmüştür (Wang ve Tang, 2007). Aynı araştırma grubu, Huperzin A'nın kronik inflamasyon üzerindeki yararlı etkilerini kronik hipoksi uygulanan hücreler üzerinde de göstermiş ve söz konusu yararlı etkileri yine aynı mekanizma ile ilişkilendirmişlerdir (Wang ve ark., 2010).

Huperzin A'nın OGY ile indüklenen iskemik hasarı hafifletme yeteneği sıçan feokromasitoma PC12 hücre hattı kullanılarak da test edilmiştir. Çalışmada, 30 dakika süreyle OGY'ye maruziyetin lipid peroksit, SOD aktivitesi ve laktat düzeylerinin artışı da olmak üzere önemli biyokimyasal ve morfolojik değişikliklere neden olduğu ve hücrelerin % 50'sinden fazlasının ölümünü tetiklediği gösterilmiştir. Huperzin A (1.0-10 μ M) ile 2 saatlik ön-tedaviye tabi tutulan hücrelerin sağkalımlarının arttığı ve bu hücrelerde biyokimyasal ve morfolojik toksisite belirtilerinin azaldığı gösterilmiştir. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın PC12 hücrelerini, OGY kaynaklı toksisiteye karşı, olasılıkla oksidatif mekanizmalardaki ve enerji metabolizmasındaki bozuklukları hafifleterek koruduğu ileri sürülmüştür (Zhou ve ark., 2001a).

Aynı çalışma grubu tarafından yapılan bir başka çalışmada, 3 saat OGY'yi takiben 24 saat reoksijenasyon uygulanarak apoptoz tetiklenmiş; ancak hücrelerin 2 saat süreyle 1 μ M Huperzin A ile ön-inkübasyonunun kromatin kondenzasyonu, çekirdek parçalanması ve DNA merdivenlenmesi ile karakterize olan apoptotik süreci önemli ölçüde zayıflatmış gösterilmiştir. Aynı tedavi c-jun ve Bax'ın up-regülasyonunu ve Bcl-2'nin down-regülasyonunu da azaltmıştır. Çalışmanın sonucunda Huperzin A'nın, OGY'den kaynaklanan apoptozu zayıflatıcı etkisinin, apoptoz ile ilgili genlerin ekspresyonunu değiştirme yeteneğinden kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (Zhou ve ark., 2001b).

Huperzin A'nın nöroprotektif etki profili ile ilgili bazı çalışmalar ise bu alkaloidin beyinde eksitator nörotransmitter toksisitesini azalttığına işaret etmiştir (Wang ve ark., 1999; Zhang ve Hu, 2001; Zhang ve ark., 2002a). Embriyonik nöronal hücre kültürlerinde Huperzin A ön-uygulamasının, hücre içi serbest kalsiyum düzeylerinde, potasyum klorür veya Bay K 8644 ile indüklenen artışları etkilemezken glutamat ile indüklenen kalsiyum mobilizasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Ved ve ark., 1997). Huperzin A'nın eksitator aminoasit toksisitesini N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörü üzerinde negatif allosterik modü-

lasyon ile önlediği ileri sürülmüştür (Gordon ve ark., 2001; Zhang ve Hu, 2001; Zhang ve ark., 2002a). Diğer yandan, Huperzin A'nın NMDA reseptörlerini bloke ederken psikometrik yan etkilere neden olmadığı da bildirilmiştir (Gordon ve ark., 2001).

Huperzin A'nın nöroprotektif etkinliği *in vivo* deney modelleri ile de gösterilmiştir. Sıçanlarda orta serebral arter oklüzyonu ile indüklenmiş geçici fokal serebral iskemi modelinde, oklüzyon başlangıcında ve oklüzyondan 6 saat sonra, 0.1 mg/kg (i.p.) uygulanan Huperzin A'nın, reperfüzyondan 24 saat sonra bölgesel serebral kan akışını belirgin olarak iyileştirdiği, infarkt alanını küçülttüğü ve nörolojik hasar skorunu düşürdüğü bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada elde edilen bulgular Huperzin A'nın NF- κ B'nin nükleer translokasyonunu inhibe ederek antiinflamatuvar bir mekanizma ile iskemik hasara karşı koruyucu olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2008). Ayrıca 5 hafta boyunca karotis arter ligasyonu ve takiben 1 saatlik hipoksi uygulamasına maruz bırakılan ve iskemik-hipoksik beyin hasarı oluşturulan yavru sıçanlarda, günlük 0.1 mg/kg (i.p.) Huperzin A uygulamasının striatum, korteks ve hipokampusta gözlenen belirgin doku hasarını önlediği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2002a).

Başka bir çalışmada 5 gün süreyle hipobarik hipoksiye maruz kalan sıçanlarda, apoptotik proteinlerin (Bax, kaspaz-3) ekspresyonlarında artma ile seyreden belirgin oksidatif stres artışı görüldüğü, ancak 0.1 mg/kg (p.o.) Huperzin A tedavisinin bu artışı anlamlı ölçüde azalttığı görülmüştür (Shi ve ark., 2012).

Huperzin A'nın beyin demir regülasyonu üzerindeki olumlu etkilerinin, bu alkaloidin nöroprotektif etkisinin altında yatan mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmektedir. Nitekim, Huperzin A'nın sıçan beyinde demir içeriğini azaltmada önemli bir role sahip olduğu; transferrin-reseptör 1 ekspresyonunu ve transferrine bağlı demir alımını azalttığı öne sürülmüştür. (Huang ve ark., 2014).

Huperzin A'nın mitokondriyi A β 'nin olumsuz etkilerine karşı, enerji metabolizmasını iyileştirmenin yanı sıra membran bütünlüğünün bozulmasını önleyerek koruduğu öne sürülmüştür (Gao ve ark., 2009).

Huperzin A'nın nörogenез üzerine etkileri

Huperzin A'nın hipokampal nörogenезdeki rolünün araştırıldığı bir çalışmada, bu alkaloidin fare embriyonik hipokampal nöron kültüründe kök hücre proliferasyonunu indüklediği gösterilmiştir. Ancak, Huperzin A'nın nöronal kök hücre proliferasyonunu artırıcı etkisini düşük konsantrasyonda gerçekleştirdiği, yüksek konsantrasyonda uygulandığında ise proliferasyonu azalttığı rapor edilmiştir. Aynı çalışmada, Huperzin A'nın hücre çoğalması ve farklılaş-

ması da olmak üzere biyolojik süreçlerin iyi bilinen bir regülatörü olan MAPK/ERK yolağını aktive ettiği gösterilmiştir (Ma ve ark., 2013). Huperzin A'nın yetişkin farelere uygulanmasının ise hipokampus dentat girusunda hücre proliferasyonunu belirgin şekilde arttırdığı ve uygulamadan 4 hafta sonra yeni doğan hücre sayısının da arttığı gösterilmiştir. Çalışmanın sonucunda, Huperzin A'nın nörogenez üzerine etkili olduğu bildirilmiş ve nörolojik bozukluklardaki potansiyel terapötik etkinliğinin altı çizilmiştir (Ma ve ark., 2013).

Huperzin A'nın nöritojenik aktivite ve NGF ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada, 10 µM Huperzin A ile muamele edilen PC12 hücrelerinde nörit gelişimi incelenmiştir. Elde edilen bulgular, PC12 hücrelerinin Huperzin A ile 48 saat süre ile muamele edilmesinin, hücre canlılığında veya sitotoksitenin diğer işaretlerinde önemli bir değişikliğe neden olmaksızın, nörit taşıyan hücrelerin sayısında belirgin bir artışa neden olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, astrositlerin 10 µM Huperzin A'ya 2 saat maruz bırakılması sonucu, NGF ve onun P75 reseptör mRNA'larının anlamlı biçimde up-regüle olduğu, 24 saatlik tedaviden sonra ise NGF'nin protein seviyesinin arttığı gösterilmiştir. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın doğrudan veya dolaylı nörotrofik bir aktiviteye sahip olduğu ve AH gibi nörodejeneratif bozuklukların tedavisinde yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (Tang ve ark., 2005b).

Huperzin A'nın nootropik etkinliği

Huperzin A'nın AChE enzim inhibitörü etkinliğinin ortaya konulması, bu alkaloidin nootropik etki potansiyelinin araştırılmasına neden olmuştur.

Huperzin A'nın kognitif performans üzerine etkilerini araştırmak üzere çeşitli amnezi modellerinden yararlanılmıştır. Örneğin, Lu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, erişkin sıçanlara 0.4 mg/kg (i.g.) dozda uygulanan Huperzin A'nın 0.5 mg/kg (i.p.) skopolamin (non-selektif muskarinik reseptör antagonisti) ile indüklenen amneziyi geri çevirdiği gösterilmiş; hatta Huperzin A'nın öğrenme ve bellek süreçleri üzerindeki etkisinin fizostigmin'den daha güçlü olduğu ileri sürülmüştür (Lu ve ark., 1988). Huperzin A'nın skopolamin'in neden olduğu bilişsel işlev bozukluğu üzerindeki yararlı etkisini bildiren başka çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin, Liu ve arkadaşları tarafından 1998 yılında yapılan bir başka çalışmada, Huperzin A'nın nootropik etkisi su labirenti testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, gerek doğal gerekse sentetik Huperzin A'nın 0.05 mg/kg (i.g.) dozda uygulanmasının farelerde skopolamin ile indüklenen uzamsal bellek bozukluğunu hafiflettiği rapor edilmiştir (Liu ve ark., 1998). Cheng ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılan diğer bir

çalışmada da Huperzin A'nın, skopolamin ile indüklenen bellek bozukluğu üzerindeki etkisi radyal kollu labirent testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın 0.1-0.4 mg/kg (p.o.) dozlarda uygulanmasının sıçanlarda skopolamin ile oluşturulmuş uzamsal bellek hasarını tersine çevirdiği gösterilmiş; hatta bu alkaloidin anti-amnezik etkisinin E2020 (0.5-1.0 mg/kg, p.o.) ve takrin (1.0-2.0 mg/kg, p.o.) gibi ajanlardan daha güçlü olduğu ileri sürülmüştür (Cheng ve ark., 1996).

Huperzin A'nın nootropik etki potansiyeli skopolamin'in yanı sıra bir GABA-A reseptör agonisti olan musimol ile indüklenmiş uzamsal bellek bozukluğu modelleri kullanılarak da araştırılmıştır. Örneğin, Gao ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, pasif sakinme testinden 15 dakika önce 25 ng dozda intrakraniyal olarak enjekte edilen Huperzin A'nın, gerek skopolamin'in ve gerekse müsimol'ün neden olduğu bellek bozukluklarını anlamlı ölçüde düzelttiği saptanmıştır. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın bellek oluşumu sürecini sadece AChE'yi kuvvetli ve seçici biçimde inhibe ederek değil, aynı zamanda GABA-A reseptörü aracılığıyla oluşan etkileri antagonize ederek de güçlendirdiği ileri sürülmüştür (Gao ve ark., 2000).

Diğer bir çalışmada ise Huperzin A'nın, kolinerjik nörona spesifik bir nörotoksin olan AF64A (etilkolini mustard aziridinyum iyonu) ile indüklenen bellek bozukluğu üzerine etkinliği radyal kollu labirent testi ile değerlendirilmiştir. AF64A (2 nmol, i.c.v.) sıçanların uzamsal çalışma belleği ile ilişkili performanslarında önemli bir bozulmaya neden olmuş; ancak Huperzin A tedavisi (0.4-0.5 mg/kg, i.p.), hipokampal kolinerjik disfonksiyonun neden olduğu söz konusu bilişsel performans bozukluğunu önemli ölçüde iyileştirmiştir (Zhi ve ark., 1995).

Hiperkapni ile indüklenen öğrenme ve bellek bozukluğunun Y labirent testi ile değerlendirildiği bir başka çalışmada ise hiperkapniden 20 dk önce, 0.1 mg/kg (i.p.) ya da 0.3 mg/kg (i.g.) dozlarında uygulanan Huperzin A'nın, sıçanların parlaklık ayırımını öğrenme ve hatırlama performanslarında CO₂ ile indüklenen bozukluğu, fizostigmin'e benzer şekilde düzelttiği gösterilmiştir (Lu ve ark., 1988). Huperzin A'nın akut hipobarik hipoksiye bağlı öğrenme ve bellek bozukluğu üzerine etkisinin Morris su labirenti testi ile araştırıldığı diğer bir çalışmada ise 0.1 mg/kg (p.o.) dozda Huperzin A takviyesinin uzamsal belleği anlamlı derecede iyileştirdiği ortaya konulmuştur (Shi ve ark., 2012). Huperzin A'nın sıçanlarda ana karotis arterlerin kalıcı bilateral ligasyonu ile indüklenen öğrenme bozukluğu üzerine etkisinin Morris su labirenti testi ile araştırıldığı bir çalışmada ise iskemiden sonraki 15.-33. günler arasında, günde 2 kez 0.1 mg/

kg (p.o.) Huperzin A uygulamasının kronik olarak hipoperfüze edilmiş sıçanlarda geç faz kognitif işlev bozukluğunu anlamlı ölçüde düzelttiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, Huperzin A uygulamasının hipokampusta kolin asetiltransferaz aktivitesindeki azalmayı belirgin şekilde düzelttiği ve SOD, lipid peroksit, laktat ve glukoz seviyelerindeki artışları da normalize ettiği rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2002b). Aynı deneysel modelde, Huperzin A'nın vasküler oklüzyondan 150 dakika sonra başlayan ve 7, 14 ve 28 günlük periyodlar boyunca günde bir defa 0.1 mg/kg (p.o.) dozda tekrar eden uygulamalarının da sıçanların bozulmuş Morris su labirenti performanslarını anlamlı ölçüde düzelttiği gösterilmiştir (Wang ve ark., 2010). Huperzin A'nın gerbillerde geçici olarak oluşturulmuş global iskemi üzerine koruyucu etkileri de Morris su labirenti testi kullanılarak araştırılmıştır. 5 dakika süre ile uygulanan global iskeminin gerbillerin uzamsal öğrenme ve bellek performanslarında bozulmalara neden olduğu; bu davranışsal sonuca hipokampal CA1 nöronlarında dejenerasyonun ve AChE aktivitesinde azalmanın eşlik ettiği gösterilmiştir. İskemi sonrası Huperzin A'nın 0.1 mg/kg (p.o.) dozda subkronik (14 gün süre ile günde iki defa) olarak uygulanmasının kognitif performansı artırdığı, nöronal dejenerasyonu azalttığı ve hipokampal kolin asetiltransferaz aktivitesini kısmen eski haline getirdiği rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2001c).

Huperzin A'nın kognitif performans üzerine olumlu etkilerine işaret eden çalışmaların büyük bir bölümü kemirgenler üzerinde gerçekleştirilmiş olmakla birlikte, bu alkaloidin anti-amnezik etkinliği primatlar üzerinde de gösterilmiştir (Ye ve ark., 1999). Söz konusu çalışmada "yaşlı" ve "skopolamin uygulanmış genç erişkin" maymunlar kullanılmış ve Huperzin A'nın uzamsal bellek performansındaki aksaklıkları düzeltici etkileri "gecikmeli yanıt testi" kullanılarak değerlendirilmiştir. Skopolamin (0.03 mg/kg, i.m.)'in genç erişkin maymunlarda seçim doğruluğunu anlamlı biçimde azalttığı, ancak Huperzin A'nın 0.01-0.1 mg/kg (i.m.) dozlarında uygulanmasının kognitif performansta skopolamin ile indüklenen aksaklıkları önemli ölçüde düzelttiği gösterilmiştir. Optimal dozlarda uygulanan Huperzin A'nın, yaşlı maymunların seçim doğruluğunu da anlamlı ölçüde artırdığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, Huperzin A'nın gecikmeli yanıt performansı üzerindeki yararlı etkilerinin uzun ömürlü olduğuna ve nootropik etkisinin tek bir enjeksiyondan yaklaşık 24 saat sonra bile devam ettiğine işaret etmişlerdir (Ye ve ark., 1999).

Huperzin A'nın kognitif performans üzerindeki söz konusu olumlu etkinliğinin altında yatan en temel mekanizmanın AChE enziminin inhibisyonu sonucunda kolinerjik nörotransmisyonun güçlenmesi olduğu kabul edilmektedir. Bununla birlikte, Huperzin A'nın

söz konusu nootropik etkinliğine başka farmakolojik mekanizmaların da katılıyor olması olasıdır. Örneğin, Huperzin A'nın nöroprotektif, anti-apoptotik, anti-inflamatuar ve nörogezezi destekleyici etkilerinin de beyin sağlığının korunması ve bilişsel işlevlerin sürekliliği açısından önemi ortadadır (Wang ve ark., 2001b; Zhang ve ark., 2008; Wang ve ark., 2010; Shen ve ark., 2012). Nitekim Huperzin A'nın kognitif işlev bozukluğunu düzeltici etkileri kolinerjik sistem üzerindeki etkinliğinin yanı sıra serbest radikaller ve enerji metabolizması üzerindeki etkileri ile de ilişkilendirilmiştir (Wang ve ark., 2002b).

Yapılan mikrodializ çalışmaları, Huperzin A'nın i.p. ya da intrakortikal uygulamalarının beyinde asetilkolin'in yanı sıra noradrenalin ve dopamin seviyelerini de belirgin şekilde artırdığına işaret etmiştir (Zhu ve Jacobini, 1995). Diğer yandan Huperzin A'nın uzun süreli potansiyalizasyonu (LTP) güçlendirme yeteneğinin ve ayrıca LTP üzerindeki supresif etkileri (örneğin A β -aracılı) antagonize edebilme potansiyelinin (Ye ve Qiao, 1999) de bu alkaloidin öğrenme ve bellek üzerindeki olumlu etkileri ile ilişkili olabileceği açıktır.

Huperzin A'nın nootropik etkinliğinin, beyinde fizyolojik ve patolojik süreçler üzerinde önemli işlevlere sahip olan astrositler üzerindeki bazı olumlu etkileriyle ilişkili olması da olası görünmektedir. Nitekim Huperzin A'nın primer astrosit kültürlerinde, kalsiyum bağlayıcı bir protein olan ve hücre iskeletinde ve hücre döngüsünde düzenleyici bir rol oynayan S100B proteininin sekresyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu alkaloidin 100 μ M'lık derişimde S100B sekresyonunu belirgin şekilde artırdığı gösterilmiştir (Lunardi ve ark., 2013).

Huperzin A'nın nootropik etki potansiyelinden yola çıkılarak, bu alkaloidin AH üzerindeki olası etkileri çeşitli deney hayvanı modelleri kullanılarak araştırılmıştır. Bu amaçla en sık kullanılan deneysel modellerden biri A β (1-40)'ın sıçan serebral ventriküllerine infüzyonu ile oluşturulan modeldir. Huperzin A'nın A β (1-40) ile indüklenen nörokimyasal, yapısal ve kognitif bozukluklar üzerine etkilerinin Morris su labirenti testi kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada, bu alkaloidin sıçanlara 0.1 ve 0.2 mg/kg i.p. dozlarında 12 gün süre ile uygulamasının, A β -kaynaklı öğrenme ve bellek bozukluklarını düzelttiği ortaya konulmuştur. Söz konusu davranışsal etkilere ek olarak, Huperzin A tedavisinin serebral kortekste azalmış olan kolin asetiltransferaz aktivitesini artırdığı ve A β (1-40) ile indüklenen nöronal dejenerasyonu azalttığı gösterilmiştir. Huperzin A'nın A β enjeksiyonunu takiben propoptotik Bax ve P53 proteinleri up-regülasyonunu ve anti-apoptotik Bcl-2'nin down-regülasyonu kısmen de olsa tersine çevirdiği ve apoptozu azalttığı gösteril-

miştir (Wang ve ark., 2001b). Aynı deneysel modelin kullanıldığı bir başka çalışmada ise Huperzin A'nın amiloid prekürsör protein (APP) prosesi üzerine etkileri araştırılmıştır. 12 gün boyunca günlük 0.2 mg/kg (i.p.) dozda Huperzin A uygulamasının, sıçanlarda A β (1-40) ile indüklenen sekreter APP ve protein kinaz C (PKC) down-regülasyonunu belirgin şekilde geri döndürdüğü görülmüştür. Çalışma sonucunda, Huperzin A'nın APP prosesini PKC up-regülasyonu aracılığıyla etkileyebileceği ileri sürülmüştür (Zhang ve ark., 2004). Huperzin A'nın sekreter APP-alfa üzerindeki etkisinin altında yatan mekanizmaların araştırıldığı diğer bir çalışmada da muskarinik reseptör stimülasyonu ile aktive olan PKC yolağının ve MAPK-C sinyal aktivasyonunun, APP-alfa sekresyonunun Huperzin A-aracılı artışında rolü olduğu gösterilmiştir (Yan ve ark., 2007). Huperzin A'nın AH üzerine olası etkinliğinin transgenik fareler kullanılarak araştırıldığı bir başka çalışmada ise, bu alkaloidin transgenik AH farelerin kortekslerinde ve hipokampuslarında çözülebilir ve çözünemez A β seviyelerini azalttığı, amiloid plak oluşumunu önlediği ve hiperfosforile Tau'yu azalttığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, Huperzin A'nın AH fareler üzerindeki bu olumlu etkilerinin, yüksek demir diyeti uygulanması ile büyük oranda ortadan kalktığı gösterilmiş ve Huperzin A'nın beyindeki demir düzeyini düşürücü etkilerinin bu alkaloidin anti-Alzheimer etkilerine aracılık eden yeni bir etki mekanizması olabileceği ileri sürülmüştür (Huang ve ark., 2014). Yang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada da, Huperzin A'nın A β PP/PS1 çift transgenik farelerde mitokondriyel disfonksiyon ve bellek bozuklukları üzerine, AChE inhibitörü etkinliğinden bağımsız biçimde, olumlu etkiler gösterdiğine işaret edilmiştir (Yang ve ark., 2012).

Klinik araştırmalara ilişkin bulgular

Huperzin A'nın nootropik ve nöroprotektif etkilerinin moleküler ve prelinik çalışmalar ile ortaya konulmasını takiben, bu alkaloidin kognitif bozuklukların tedavisindeki olası terapötik etkinliğini araştırmak üzere çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. Söz konusu çalışmalardan birinde, Huperzin A'nın multi-infarakt ya da senil demansı olan (56 hasta) ve senil/presenil basit hafıza bozuklukları bulunan hastalar üzerinde terapötik etkinliği randomize, çift körlü bir çalışma ile araştırılmıştır. Huperzin A'nın multi-infarakt demans için 4 hafta boyunca günde iki kez 0.05 mg (i.m.); senil/presenil basit hafıza bozuklukları için ise 2 hafta boyunca günde iki kez 0.03 mg (i.m.) uygulandığı çalışmada, terapötik etkiyi değerlendirmek için Wechsler Bellek Ölçeği (WBÖ) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın belirgin bir tedavi edici etkisi olduğu ve sadece birkaç hastada hafif baş dönmesi görüldüğü rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 1991).

2012 yılında Xu ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka araştırmada ise, Huperzin A'nın hafif-orta şiddette vasküler demans tedavisindeki etkililiği ve güvenilirliği randomize, çift-körlü ve plasebo kontrollü bir çalışma ile test edilmiştir. Çalışmada 39 hastaya 12 hafta boyunca günde iki defa 0.1 mg Huperzin A uygulamasının demanslı hastaların mini-mental durum değerlendirmesi (MMDD), klinik demans skorlaması (KDS) ve günlük yaşam aktivitesi skorlarını plasebo uygulanan demanslı hastalara oranla anlamlı ölçüde düzelttiği bildirilmiştir. Ayrıca, tedavi sırasında herhangi bir ciddi advers olay gelişmediğinin de altı çizilmiştir (Xu ve ark., 2012).

Huperzin A'nın AH'na bağlı kognitif bozuklukların tedavisindeki olası etkinliğini değerlendirmek amacıyla da bazı klinik çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla yapılan açık etiketli, randomize, prospektif bir çalışmada 8 hafta süre ile günde iki kez 0.12 mg/kg Huperzin A uygulanan 23 Alzheimer hastasının WBÖ ve MMDD skorlarının, uygulama öncesine göre anlamlı biçimde düzeldiği bildirilmiştir. Huperzin A'nın hastaların kognitif performanslarını artırmada pirasetamdan daha güçlü terapötik etkiye sahip olduğu ve nadiren yan etki indüklediği ileri sürülmüştür (Jiannong ve ark., 1998). 2002 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından, Huperzin A'nın hafif-orta şiddette AH'nın tedavisindeki klinik etkililiğini ve güvenilirliğini değerlendirmek üzere yapılan bir başka çalışmada da, 12 hafta süreyle 400 μ g/gün Huperzin A uygulanan hastaların MMDD, Alzheimer Hastalığı Değerlendirme Ölçeği-kognitif alt ölçek (ADAS-Cog) ve Alzheimer Hastalığı Değerlendirme Ölçeği-non-kognitif alt ölçek (ADAS-non-Cog) skorlarını artırdığı gösterilmiştir. Çalışma sonucunda Huperzin A'nın hafif ve orta şiddette Alzheimer'i olan hastaların kognitif performanslarını artırıcı ve non-kognitif sorunlarını düzeltici etkilerinin yanı sıra, bu hastalardaki günlük yaşam aktivitelerini de iyileştirdiği ileri sürülmüştür. Ayrıca, Huperzin A ile tedavi edilen hastaların yalnızca %3'ünde bilateral ayak bileği ödemi ve uykusuzluk gibi hafif ve geçici advers olaylar gözlemlendiğinin altı çizilmiştir (Zhang ve ark., 2002b). Huperzin A'nın AH'nın tedavisindeki etkililiğini ve güvenilirliğini değerlendirmek üzere Yang ve arkadaşları tarafından yapılan randomize tek körlü benzer bir çalışmada da hafif-orta şiddette AH olan 35 hastaya 16 hafta süre ile günde üç kez 0.1 mg Huperzin A uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, Huperzin A ile tedavi edilen gruptaki hastaların MMDD, KDS ve günlük yaşam aktivitesi skorlarının plasebo grubuna göre belirgin şekilde iyileştiği; ancak ilaç verilen gruptaki 3 hastada kolinerjik eksitabiliteye bağlı hafif advers reaksiyon meydana geldiği bildirilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda, Huperzin A'nın hafif ve orta dereceli Alzheimer hastalarında bilişsel

işlevleri ve günlük öz bakım aktivitelerini artırabilen, iyi tolere edilebilen, güvenilirliği yüksek bir ajan olduğu öne sürülmüştür (Yang ve ark., 2003). Rafii ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan randomize, çok merkezli bir çalışmada, 16 hafta süre ile günde iki kez 200 µg veya 400 µg Huperzin A uygulanan hastalarda, Huperzin A'nın 2x200 µg dozda ADAS-Cog skorlarını etkilemediği ancak 2x400 µg dozda bu skorları artırdığı gösterilmiştir. Diğer yandan, Huperzin A'nın uygulandığı iki dozda da hastalarda davranışsal bir düzelmeye neden olmadığı ve günlük yaşam aktivitelerini de anlamlı olarak iyileştirmediği rapor edilmiştir (Rafii ve ark., 2011).

Huperzin A'nın AH tedavisindeki etkinliğini değerlendiren bir meta analizde Haziran 2013 tarihine kadar konu ile ilgili olarak yapılan randomize klinik çalışmalar taranmıştır. 1823 katılımcıyı içeren 20 randomize klinik araştırmanın dahil edildiği bu çalışmada, Huperzin A'nın Alzheimer hastalarının bilişsel işlevlerini ve günlük yaşam aktivitelerini iyileştirdiği ve klinik global izlenim ölçeği ile yapılan değerlendirmede olumlu değişimlere neden olduğu rapor edilmiştir. Diğer yandan, söz konusu klinik araştırmaların metodolojik kalitesinin zayıflığının da altı çizilmiştir (Yang ve ark., 2013).

Huperzin A'nın Alzheimer hastalarına tablet şeklinde uygulanmasının etkililiğini ve güvenilirliğini değerlendirmek üzere yapılan çok merkezli, prospektif, çift-körlü, paralel, plasebo kontrollü ve randomize bir çalışmada, 8 hafta boyunca günde iki defa oral 0.2 mg Huperzin A tableti kullanan 50 hastanın WBÖ, Hasegawa demans ölçeği, MMDD ölçeği, günlük yaşam aktiviteleri ölçeği ve tedavi acil semptom ölçeği ile değerlendirilen skorlarında plasebo kullanan hastalara göre anlamlı bir iyileşme görüldüğü bildirilmiştir. Elde edilen bulgular ışığında, Huperzin A tabletlerinin Alzheimer hastalarında ciddi bir yan etkiye neden olmaksızın kognitif ve davranışsal fonksiyonları iyileştirdiği sonucuna varılmıştır (Xu ve ark., 1995). Bu çalışmayı takiben, Huperzin A'nın tablet ya da kapsül olarak uygulanmasının tedavi etkinliğini ve güvenilirliğini değiştirip değiştirmediği çok merkezli, prospektif, çift-körlü, paralel, pozitif kontrollü ve randomize bir çalışma ile araştırılmıştır. 60 Alzheimer hastasının katıldığı çalışmada, bir gruba 4 kapsül Huperzin A (her biri 50 µg) ve 4 tablet plasebo (laktöz ve nişasta); diğer gruba ise 4 tablet Huperzin A (her biri 50 µg) ve 4 kapsül plasebo 60 gün boyunca günde iki kez olacak şekilde verilmiştir. Çeşitli ölçekler kullanılarak yapılan değerlendirmelerde, Huperzin A uygulanan her iki grupta da tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre anlamlı iyileşme olduğu ve gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Ayrıca, her iki grupta da orta-hafif seviyede bulantı dışında ciddi yan etki gözlenmediği bildirilmiştir. Elde edilen

veriler doğrultusunda, Alzheimer hastalarının tedavisinde, Huperzin A'nın kapsül ya da tablet olarak uygulanmasının etkililik ve güvenilirlik açısından fark göstermediği sonucuna ulaşılmıştır (Xu ve ark., 1999).

Huperzin A'nın psikotik hastalıklara eşlik eden kognitif bozuklukların tedavisi için de yararlı olabileceği düşüncesinden hareketle bazı araştırmalar yapılmıştır. Bu bağlamda, gerçekleştirilen açık etiketli bir klinik çalışmada, antipsikotik tedaviye yeterli yanıt vermeyen ve belirgin kognitif hasara sahip olan şizofrenik hastalarda ek tedavi olarak Huperzin A uygulanmıştır. Huperzin A'nın 0.3 mg/kg/gün dozda 12 hafta uygulamasının hastaların kognitif performanslarını artırdığı, duygu-durumlarını düzelttiği ve sosyal geri-çekilmeleri üzerine de iyileştirici etki gösterdiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2007). Benzer amaçla yapılan diğer çalışmalarda da risperidon (Jie ve ark., 2012), klozapin (Huang ve ark., 2007), ketiapin (Tao, 2012) ve olanzapin (Wu ve Zhang, 2015) gibi nöroleptik ilaçların yanına Huperzin A ilavesinin psikotik hastalardaki kognitif bozukluklar üzerine iyileştirici yönde etki ettiğine işaret edilmiştir. Huperzin A'nın, rehabilitasyon sürecindeki şizofrenik hastalarda da bellek fonksiyonlarında iyileşmeye neden olduğu ileri sürülmüştür (Ma ve ark., 2003). Konu ile ilgili olarak yapılan randomize kontrollü çalışmaların tarandığı güncel bir meta analiz çalışmasında da adjuvan olarak kullanılan Huperzin A'nın şizofreni hastalarında kognitif işlevlerin iyileştirilmesi için etkili bir seçenek olduğu bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2016a).

Huperzin A'nın majör depresif bozukluğa eşlik eden kognitif bozuklukların tedavisi için de yararlı olabileceği ileri sürülmüştür. Antidepresan tedaviye Huperzin A ilavesinin, hastaların depresif semptomları üzerinde herhangi bir etkinlik göstermediği; ancak kognitif işlevselliği ve yaşam kalitesini monoterapiye oranla anlamlı ölçüde artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, gruplar arasında advers ilaç reaksiyonu insidansı açısından da anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2016b).

Huperzin A'nın Diğer Olası Endikasyonları

Huperzin A'nın sözü edilen nootropik etkinliğinin dışında, miyasteniya gravis hastalığının (Zhang ve ark., 1991) ve yenidoğan hipoksik-iskemik ensefalopatisinin (Wang ve ark., 2002a) tedavisi ve ayrıca organofosfat zehirlenmelerinin profilaksisi (Gordon ve ark., 2001; Lallement ve ark., 2002a, 2002b) için de önemli bir potansiyele sahip olduğu bilinmektedir.

Huperzin A'nın organofosfat zehirlenmelerine karşı profilaktik etkinliğinin AChE'yi organofosfatların neden olduğu geri-dönüşümsüz fosforilasyondan koruma yeteneği ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Grunwald ve ark., 1994). Huperzin A'nın karar-

lı yapısı, kan-beyin bariyerine nüfuz edebilmesi ve Huperzin A:AChE enzim kompleksinin diğer profilkaktik ajanlar ile oluşan komplekslerden daha uzun yarılanma ömrüne sahip olması gibi özellikleri nedeniyle avantajlı olabileceği ileri sürülmüştür (Gordon ve ark., 2001). Nitekim, primatlarla yapılan bir çalışmada soman gazının konvülsiyon ve epileptik aktivite indüklemek için gerekli olan kümülatif dozunun Huperzin A uygulanan hayvanlarda, piridostigmin uygulanan hayvanlara göre 1.55 kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Lallement ve ark., 2002a). Huperzin A'nın piridostigmine karşı söz konusu üstünlüğünün öncelikle serebral AChE'nin korunması ile ilgili olduğu açıktır. Diğer yandan, Huperzin A'nın eritrosit AChE'si için seçici olması ve dolayısıyla plazma BuChE'nin organofosfat ajan süpürücü kapasitesinin korunuyor olması da Huperzin A'ya piridostigmin'e karşı önemli bir avantaj sağlamaktadır (Lallement ve ark., 2002b).

Huperzin A'nın Yan Etki Profili

Yapılan klinik araştırmalar Huperzin A ile indüklenen yan etkilerin sersemlik, baş dönmesi, mide bulantısı, gastroenterik semptomlar, baş ağrısı ve bradikardi gibi kolinerjik yan etkiler olduğuna işaret etmektedir (Zangara, 2003; Ha ve ark., 2011). Ancak bu yan etkilerin diğer AChE inhibitörlerine oranla daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Wang ve Tang, 2005). Diğer yandan, Yang ve arkadaşları tarafından yapılan yakın tarihli bir çalışmada Huperzin A kullanımı yukarıdakilere ek olarak anoreksi, konstipasyon, susama ve eksitabilite belirtileri ile de ilişkilendirmiştir (Yang ve ark., 2013). Sözü edilen bu minimal yan etkilerin dışında Huperzin A kullanımının beklenmeyen bir yan etki ya da toksisite indüklediği rapor edilmiştir (Zangara, 2003).

SONUÇ

Bu çalışma kapsamında gözden geçirilen bilimsel raporların önemli bir kısmı, güçlü antikolinesteraz aktiviteye sahip bir alkaloid olan Huperzin A'nın selim yaşlılık unutkanlığına, serebrovasküler demansa ve AH'ya bağlı öğrenme ve bellek bozukluklarını iyileştirme potansiyeline sahip olduğu görüşünde birleşmektedir (Wang ve ark., 2002b; Wang ve Tang, 2005; Zhang ve ark., 2008; Özkay ve ark., 2011).

Literatür bilgileri Huperzin A'nın özellikle AH'nın semptomatik tedavisi için alternatif bir ilaç adayı olabileceğine işaret etmektedir. Nitekim, Huperzin A'nın anti-Alzheimer etkinliğinin, klinikte kullanılan AChE inhibitörleri ile semptomatik etkililik açısından kıyaslanabilir düzeyde olduğu (Rafii ve ark., 2011); dahası bu etkiyi diğer AChE inhibitörlerine göre minimal periferik kolinerjik yan etkiler ile gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 1991, 2002b; Xu ve ark.,

1999; Wang ve Tang, 2005). Huperzin A'yı AH tedavisi için güçlü bir terapötik ajan adayı yapan ilk neden bu alkaloidin çok iyi bilinen antikolinesteraz etkinliğidir. Ancak Huperzin A, AChE inhibitörü etkinliğinin yanı sıra kayda değer nöroprotektif özelliklere de sahip bir moleküldür (Huang ve ark., 2014). Bu alkaloidin antioksidan, antiapoptotik ve mitokondriyal fonksiyonları koruyucu aktiviteleri nedeniyle, Aβ ile ilişkili patogeneze üzerine yararlı etkiler gösterdiği bilinmektedir (Zhou ve ark., 2001a; Wang ve ark., 2001b; Xiao ve ark., 2002; Gao ve Tang, 2006; Zhang ve ark., 2008; Gao ve ark., 2009; Yang ve ark., 2012). Diğer yandan, Huperzin A'nın nörojenezi destekleyici etkilere (Shen ve ark., 2012) ve anti-inflamatuvar (Wang ve ark., 2008; Wang ve ark., 2010) potansiyele sahip olması da AH tedavisi için bir avantaj olarak kabul edilebilir. Huperzin A'nın AH'daki terapötik potansiyelini arttıran diğer bir özelliği ise NMDA reseptör blokörü etkinliğe ve buna bağlı olarak nöronları glutamat ek-sitotoksitesine karşı koruma kapasitesine sahip olmasıdır (Ved ve ark., 1997; Zangara, 2003). Huperzin A'nın NMDA iyon kanallarını psikomimetik yan etkilere neden olmaksızın bloke edebilmesi de farmakoterapi açısından bir avantajdır (Gordon ve ark., 2001).

Sözü edilen güçlü ve çok yönlü etki potansiyeline ve farmakoterapi açısından sahip olduğu avantajlara (farmakokinetik profilinin uygunluğu, uzun etki süresi, yan etki insidansının düşüklüğü vs) rağmen, Huperzin A ile ilgili klinik çalışmaların genellikle Çin Halk Cumhuriyeti ile sınırlı kaldığı ve bu ilacın AH'nın semptomatik tedavisi için sadece bu ülkede ruhsatlandırıldığı dikkati çekmektedir. Huperzin A, örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde bir nutrasötik olmanın ötesine geçememiştir (Huang ve ark., 2014).

Konu ile ilgili olarak gözden geçirilen tüm literatür bilgilerinin ışığında, Huperzin A'nın başta AH olmak üzere kognitif bozuklukların tedavisindeki rolünün doğrulanması açısından iyi tasarlanmış yeni ve güvenilir klinik çalışmalara gereksinim duyulduğu söylenebilir. Huperzin A'nın söz konusu endikasyonlardaki etkinliğinin ve uzun dönem tedavinin güvenilirliğinin doğrulanması durumunda, AH tedavisi için zaten sınırlı sayıda olan ilaçların arasına potent, güvenli ve düşük maliyetli yeni bir ajanın eklenmesi söz konusu olabilir. Diğer yandan, bu alkaloidin hipoksik-iskemik ensefalopati, miyasteniya gravis ve organofosfat zehirlenmeleri gibi farklı endikasyonlardaki terapötik etkinliğinin doğrulanmasının da klinik açıdan değer taşıdığına altını çizmek gerekir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar finansal veya başka bir yolla çıkar çatışmaları olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Ashani, Y., Peggins, J.O., Doctor, B.P. (1992). Mechanism of inhibition of cholinesterase by huperzine A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 184, 7719-7726.
- Cheng, D.H., Ren, H., Tang, X.C. (1996). Huperzine A, a novel promising acetylcholinesterase inhibitor. *NeuroReport*, 8, 1, 97-101.
- Gao, X., Tang, X.C. (2006). Huperzine A attenuates mitochondrial dysfunction in beta-amyloid-treated PC12 cells by reducing oxygen free radicals accumulation and improving mitochondrial energy metabolism. *Journal of Neuroscience Research*, 83, 6, 1048-1057.
- Gao, X., Zheng, C.Y., Yang, L., Tang, X.C., Zhang, H.Y. (2009). Huperzine A protects isolated rat brain mitochondria against beta-amyloid peptide. *Free Radical Biology and Medicine*, 46, 11, 1454-1462.
- Gao, Y., Tang, X.C., Guan, L.C., Kuang, P.Z. (2000). Huperzine A reverses scopolamine- and muscimol-induced memory deficits in chick. *Acta Pharmacologica Sinica*, 21, 1169-1173.
- Gordon, R.K., Nigam, S.V., Weitz, J.A., Dave, J.R., Doctor, B.P., Ved, H.S. (2001). The NMDA receptor ion channel: a site for binding of Huperzine A. *Journal of Applied Toxicology*, 21, 1, 47-51.
- Grunwald, J., Raveh, L., Doctor, B.P., Ashani, Y. (1994). Huperzine A as a pretreatment candidate drug against nerve agent toxicity. *Life Sciences*, 54, 14, 991-997.
- Guo, B., Xu, L., Wei, Y., Liu, C. (2009). Research advances of Huperzia serrata (Thunb.) Trev. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 34, 2018-2023.
- Ha, G.T., Wong, R.K., Zhang, Y. (2011). Huperzine A as potential treatment of Alzheimer's disease: an assessment on chemistry, pharmacology, and clinical studies. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 1189-1204.
- Huang, C.H., Deng, X.M., Yang, Z.B. (2007). A comparative study of efficacy of Huperzine-A in the treatment of memory dysfunction of schizophrenia. *Sichuan Mental Health*, 20, 69-70.
- Huang, X.T., Qian, Z.M., He, X., Gong, Q., Wu, K.C., Jiang, L.R., Lu, L.N., Zhu, Z.J., Zhang, H.Y., Yung, W.H., Ke, Y. (2014). Reducing iron in the brain: a novel pharmacologic mechanism of huperzine A in the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 35, 5, 1045-1054.
- Jiannong, L., Ziyong, H., Yuandong, Z. (1998). The clinical observation of Alzheimer's disease treated by Huperzine A. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 6.
- Jie, Y., Wang, Z.W., Liu, R.S., Wang, Y.G. (2012). Effects of Huperzine a combined with risperidone on cognitive function in chronic schizophrenic patients. *Journal of Psychiatry*, 25, 191-194.
- Lallement, G., Baille, V., Baubichon, D., Carpentier, P., Collombet, J.M., Filliat, P., Foquin, A., Four, E., Masqueliez, C., Testylier, G., Tonduli, L., Dorandeu, F. (2002a). Review of the value of huperzine as pretreatment of organophosphate poisoning. *Neurotoxicology*, 23, 1, 1-5.
- Lallement, G., Demoncheaux, J.P., Foquin, A., Baubichon, D., Galonnier, M., Clarencon, D., Dorandeu, F. (2002b). Subchronic administration of pyridostigmine or huperzine to primates: compared efficacy against soman toxicity. *Drug and Chemical Toxicology*, 25, 309-320.
- Li, Y.X., Zhang, R.Q., Li, C.R., Jiang, X.H. (2007). Pharmacokinetics of huperzine A following oral administration to human volunteers. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 32, 4, 183-187.
- Liang, Y.Q., Tang, X.C. (2004). Comparative effects of huperzine A, donepezil and rivastigmine on cortical acetylcholine level and acetylcholinesterase activity in rats. *Neuroscience Letters*, 361, 1-3, 56-59.
- Liu, J., Zhang, H.Y., Tang, X.C., Wang, B., He, X.C., Bai, D.L. (1998). Effects of synthetic (-)-huperzine A on cholinesterase activities and mouse water maze performance. *Acta Pharmacologica Sinica*, 19, 5, 413-416.
- Liu, J.S., Zhu, Y.L., Yu, C.M., Zhou, Y.Z., Han, Y.Y., Wu, F.W., Qi, B.F. (1986). The structures of huperzine A and B, two new alkaloids exhibiting marked anticholinesterase activity. *Canadian Journal of Chemistry*, 64, 837-839.
- Lu, W.H., Shou, J., Tang, X.C. (1988). Improving effect of huperzine A on discrimination performance in aged rats and adult rats with experimental cognitive impairment. *Acta Pharmacologica Sinica*, 9, 11-5.
- Lunardi, P., Nardin, P., Guerra, M.C., Abib, R., Leite, M.C., Gonçalves, C.A. (2013). Huperzine A, but not tacrine, stimulates S100B secretion in astrocyte cultures. *Life Sciences*, 92, 12, 701-707.

- Ma, J.D, Zheng, H., Wang, Y.J. (2003). Effect of huperzine on the memory disorders of schizophrenic patient during rehabilitation period. *Health Psychology Journal*, 11, 340-341.
- Ma, T., Gong, K., Yan, Y., Zhang, L., Tang, P., Zhang, X., Gong, Y. (2013). Huperzine A promotes hippocampal neurogenesis in vitro and in vivo. *Brain Research*, 1506, 35e43.
- Ma, X., Tan, C., Zhu, D., Gang, D.R., Xiao, P. (2007). Huperzine A from Huperzia species-an ethnopharmacological review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 1, 15-34.
- McKinney, M., Miller, J.H., Yamada, F., Tuckmantel, W., Kozikowski, A.P. (1991). Potencies and stereoselectivities of enantiomers of huperzine A for inhibition of rat cortical acetylcholinesterase. *European Journal of Pharmacology*, 203, 2, 303-305.
- Ohba, T., Yoshino, Y., Ishisaka, M., Abe, N., Tsuruma, K., Shimazawa, M., Oyama, M., Tabira, T., Hara, H. (2015). Japanese Huperzia serrata extract and the constituent, huperzine A, ameliorate the scopolamine-induced cognitive impairment in mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 79, 11, 1838-1844.
- Özkay, Ü.D., Öztürk, Y., Can, O.D. (2011). Yaşlanan dünyanın hastalığı: Alzheimer hastalığı. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 18, 1, 35-42.
- Qian, B.C., Wang, M., Zhou, Z.F., Chen, K., Zhou, R.R., Chen, G.S. (1995). Pharmacokinetics of tablet huperzine A in six volunteers. *Acta Pharmacologica Sinica*, 16, 5, 396-398.
- Rafii, M.S., Walsh, S., Little, J.T., Behan, K., Reynolds, B., Ward, C., Jin, S., Thomas, R., Aisen, P.S. (2011). A phase II trial of huperzine A in mild to moderate Alzheimer disease. *Neurology*, 76, 16, 1389-1394.
- Shang, Y.Z., Ye, J.W., Tang, X.C. (1999). Improving effects of huperzine A on abnormal lipid peroxidation and superoxide dismutase in aged rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 20, 824-828.
- Shen, J.N., Wang, D.S., Wang, R. (2012). The protection of acetylcholinesterase inhibitor on β -amyloid-induced the injury of neurite outgrowth via regulating axon guidance related genes expression in neuronal cells. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, 5, 9, 900-913.
- Shi, Q., Fu, J., Ge, D., He, Y., Ran, J., Liu, Z., Wei, J., Diao, T., Lu, Y. (2012). Huperzine A ameliorates cognitive deficits and oxidative stress in the hippocampus of rats exposed to acute hypobaric hypoxia. *Neurochemical Research*, 37, 9, 2042-2052.
- Tang, L.L., Wang, R., Tang, X.C. (2005a). Huperzine A protects SHSY5Y neuroblastoma cells against oxidative stress damage via nerve growth factor production. *European Journal of Pharmacology*, 519, 9-15.
- Tang, L.L., Wang, R., Tang, X.C. (2005b). Effects of huperzine A on secretion of nerve growth factor in cultured rat cortical astrocytes and neurite outgrowth in rat PC12 cells. *Acta Pharmacologica Sinica*, 26, 6, 673-678.
- Tao, J.M. (2012). Clinical observation of Quetiapine combined with Huperzine A in the treatment of memory dysfunction of patients with schizophrenia. *China Modern Medicine*, 19, 57-58.
- Ved, H.S., Koenig, M.L., Dave, J.R., Doctor, B.P. (1997). Huperzine A, a potential therapeutic agent for dementia, reduces neuronal cell death caused by glutamate. *NeuroReport*, 8, 963-968.
- Wang, H., Tang, X.C. (1998). Anticholinesterase effects of huperzine A, E2020, and tacrine in rats. *Acta Pharmacologica Sinica*, 19, 27-30.
- Wang, J., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2010). Huperzine A improves chronic inflammation and cognitive decline in rats with cerebral hypoperfusion. *Journal of Neuroscience Research*, 88, 4, 807-815.
- Wang, L.M., Han, Y.F., Tang, X.C. (2002a). Huperzine A improves cognitive deficits caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *European Journal of Pharmacology*, 398, 1, 65-72.
- Wang, L., Zhou, J., Shao, X., Tang, X. (2002b). Huperzine A attenuates cognitive deficits and brain injury in neonatal rats after hypoxia-ischemia. *Brain Research*, 949, 1-2, 162.
- Wang, R., Tang, X.C. (2005). Neuroprotective effects of huperzine A. A natural cholinesterase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurosignals*, 14, 1-2, 71-82.
- Wang, R., Xiao, X.Q., Tang, X.C. (2001a). Huperzine A attenuates hydrogen peroxide induced apoptosis by regulating expression of apoptosis-related genes in rat PC12 cells. *Neuroreport*, 12, 12, 2629-2634.

- Wang, R., Yan, H., Tang, X.C. (2006). Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine. *Acta Pharmacologica Sinica*, 27, 1-26.
- Wang, R., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2001b). Huperzine A attenuates cognitive dysfunction and neuronal degeneration caused by beta-amyloid protein-(1-40) in rat. *European Journal of Pharmacology*, 421, 149-156.
- Wang, X.D., Zhang, J.M., Yang, H.H., Hu, G.Y. (1999). Modulation of NMDA receptor by huperzine A in rat cerebral cortex. *Acta Pharmacologica Sinica*, 20, 1, 31-35.
- Wang, Z.F., Tang, X.C. (2007). Huperzine A protects C6 rat glioma cells against oxygen-glucose deprivation-induced injury. *FEBS Letters*, 581, 4, 596-602.
- Wang, Z.F., Wang, J., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2008). Huperzine A exhibits anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat model of transient focal cerebral ischemia. *Journal of Neurochemistry*, 106, 4, 1594-1603.
- Wu, G.W., Zhang, C.C. (2015). Influences of olanzapine combined with huperzine A on memory function of convalescence schizophrenia patient. *Journal of Clinical Psychosomatic Diseases*, 2, 41-43.
- Xiao, X.Q., Wang, R., Han, Y.F. and Tang, X.C. (2000a). Protective effects of huperzine A on β -amyloid 25-35 induced oxidative injury in rat pheochromocytoma cells. *Neuroscience Letters*, 286, 155-158.
- Xiao, X.Q., Wang, R., Tang, X.C. (2000b). Huperzine A and tacrine attenuate beta-amyloid peptide-induced oxidative injury. *Journal of Neuroscience Research*, 61, 564-569.
- Xiao, X.Q., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2002). Huperzine A attenuates amyloid beta-peptide fragment 25-35-induced apoptosis in rat cortical neurons via inhibiting reactive oxygen species formation and caspase-3 activation. *Journal of Neuroscience Research*, 67, 1, 30-36.
- Xu, S.S., Cai, Z.Y., Qu, Z.W., Yang, R.M., Cai, Y.L., Wang, G.Q., Su, X.Q., Zhong, X.S., Cheng, R.Y., Xu, W.A., Li, J.X., Feng, B. (1999). Huperzine-A in capsules and tablets for treating patients with Alzheimer Disease. *Acta Pharmacologica Sinica*, 20, 6, 486-490.
- Xu, S.S., Gao, Z.X., Weng, Z., Du, Z.M., Xu, W.A., Yang, J.S., Zhang, M.L., Tong, Z.H., Fang, Y.S., Chai, X.S., Li, S.L. (1995). Efficacy of tablet Huperzine-A on memory, cognition, and behavior in Alzheimer's disease. *Acta Pharmacologica Sinica*, 16, 5, 391-395.
- Xu, Z.Q., Liang, X.M., Juan-Wu, Zhang, Y.F., Zhu, C.X., Jiang, X.J. (2012). Treatment with Huperzine A improves cognition in vascular dementia patients. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 62, 1, 55-58.
- Yamada, F., Kozikowski, A.P., Reddy, E.R., Pang, Y.P., Miller, J.H., McKinney, M. (1991). A route to optically pure (-)-huperzine A; molecular modeling and in vitro pharmacology. *Journal of the American Chemical Society*, 113, 12, 4695-4696.
- Yan, H., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2007). Involvement of M1-muscarinic acetylcholine receptors, protein kinase C and mitogen-activated protein kinase in the effect of huperzine A on secretory amyloid precursor protein-alpha. *Neuroreport*, 18, 7, 689-692.
- Yang, C.Y., Lv, Z.P., Zheng, C.G. (2003). Efficacy and reliability of Huperzine A in mild and moderate Alzheimer's disease. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 7, 31, 4258-4259.
- Yang, G., Wang, Y., Tian, J., Liu, J.P. (2013). Huperzine A for Alzheimer's Disease: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One*, 8, 9, e74916.
- Yang, L., Ye, C.Y., Huang, X.T., Tang, X.C., Zhang, H.Y. (2012). Decreased accumulation of subcellular amyloid-b with improved mitochondrial function mediates the neuroprotective effect of huperzine A. *Journal of Alzheimer's Disease*, 31, 1, 131-142.
- Ye, J.W., Cai, J.X., Wang, L.M., Tang, X.C. (1999). Improving effects of huperzine A on spatial working memory in aged monkeys and young adult monkeys with experimental cognitive impairment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288, 2, 814-819.
- Ye, L., Qiao, J.T. (1999). Suppressive action produced by beta-amyloid peptide fragment 31-35 on long-term potentiation in rat hippocampus is N-methyl-D-aspartate receptor-independent: it's offset by (-)-huperzine A. *Neuroscience Letters*, 275, 187-190.
- Zangara, A. (2003). The psychopharmacology of huperzine A: an alkaloid with cognitive enhancing and neuroprotective properties of interest in the treatment of Alzheimer's disease, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 75, 3, 675-686.

- Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2003). Huperzine A attenuates the neurotoxic effect of staurosporine in primary rat cortical neurons. *Neuroscience Letters*, 340, 2, 91-94.
- Zhang, H.Y., Yan, H., Tang, X.C. (2004). Huperzine A enhances the level of secretory amyloid precursor protein and protein kinase C-in intracerebroventricular β -amyloid-(1-40) infused rats and human embryonic kidney 293 Swedish mutant cells. *Neuroscience Letters*, 360, 21-24.
- Zhang, H.Y., Zheng, C.Y., Yan, H., Wang, Z.F., Tang, L.L., Gao, X., Tang, X.C. (2008). Potential therapeutic targets of huperzine A for Alzheimer's disease and vascular dementia, *Chemico-Biological Interactions*. 175, 1-3, 396-402.
- Zhang, J.M., Hu, G.Y. (2001). Huperzine A, a nootropic alkaloid, inhibits N-methyl-D-aspartate-induced current in rat dissociated hippocampal neurons. *Neuroscience*, 105, 3, 663e669.
- Zhang, R.W., Tang, X.C., Han, Y.Y., Sang, G.W., Zhang, Y.D., Ma, Y.X., Zhang, C.L., Yang, R.M. (1991). Drug evaluation of huperzine A in the treatment of senile memory disorders, *Acta Pharmacologica Sinica*. 12, 3, 250-252.
- Zhang, Y.H., Zhao, X.Y., Chen, X.Q., Wang, Y., Yang, H.H., Hu, G.Y. (2002a). Spermidine antagonizes the inhibitory effect of huperzine A on [3H]dizocilpine (MK-801) binding in synaptic membrane of rat cerebral cortex. *Neuroscience Letters*, 319, 107-110.
- Zhang, Z., Wang, X., Chen, Q., Shu, L., Wang, J., Shan, G. (2002b). Clinical efficacy and safety of huperzine Alpha in treatment of mild to moderate Alzheimer disease, a placebo-controlled, double-blind, randomized trial. *Chinese Medical Journal*, 82, 14, 941-944.
- Zhang, Z.J., Tong, Y., Wang, X.Y., Yao, S.M., Jin, G.X., Wang, X.P. (2007). Huperzine A as add-on therapy in patients with treatment-resistant schizophrenia: an open-labeled trial. *Schizophrenia Research*, 92, 1-3, 273-275.
- Zhao, Q., Tang, X.C. (2002). Effects of huperzine A on acetylcholinesterase isoforms in vitro: comparison with tacrine, donepezil, rivastigmine and physostigmine. *European Journal of Pharmacology*, 455, 2-3, 101-107.
- Zheng, W., Xiang, Y.Q., Li, X.B., Ungvari, G.S., Chiu, H.F., Sun, F., D'Arcy, C., Meng, X., Xiang, Y.T. (2016a). Adjunctive huperzine A for cognitive deficits in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Human Psychopharmacology*, 31, 4, 286-295.
- Zheng, W., Xiang, Y.Q., Ungvari, G.S., Chiu, F.K., H. Ng, C., Wang, Y., Xiang, Y.T. (2016b). Huperzine A for treatment of cognitive impairment in major depressive disorder: a systematic review of randomized controlled trials. *Shanghai Arch Psychiatry*, 28, 2, 64-71.
- Zhi, Q.X., Yi, F.H., Xi C.T. (1995). Huperzine A ameliorates the spatial working memory impairments induced by AF64A. *Neuroreport*, 6, 2221-2224.
- Zhou, J., Fu, Y., Tang, X.C. (2001a). Huperzine A and donepezil protect rat pheochromocytoma cells against oxygen-glucose deprivation. *Neuroscience Letters*, 306, 53-56.
- Zhou, J., Fu, Y., Tang, X.C. (2001b). Huperzine A protects rat pheochromocytoma cells against oxygen-glucose deprivation. *Neuroreport*, 12, 2073-2077.
- Zhou, J., Zhang, H.Y., Tang, X.C. (2001c). Huperzine A attenuates cognitive deficits and hippocampal neuronal damage after transient global ischemia in gerbils. *Neuroscience Letters*, 313, 3, 137-140.
- Zhu, X.D., Giacobini, E. (1995). Second generation cholinesterase inhibitors: effect of (L)-huperzine-A on cortical biogenic amines. *Journal of Neuroscience Research*, 41, 6, 828-835.