

· 综述 ·

加味五子衍宗方的神经保护作用机制研究现状

黎巍威, 王琳琳, 富宏, 刘庚信, 王学美*

(北京大学第一医院 中西医结合研究室, 北京 100034)

[摘要] 阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种以进行性记忆认知障碍、行为异常、人格改变为主要特征的神经退行性疾病,目前全球对 AD 的治疗效果不佳,其原因主要在于 AD 发病因素复杂,干预过晚,越来越多的学者提出治疗 AD 应及早着手,多靶点干预。本课题组在中医“补肾益精促智”和“未病先防”原则的指导下,采用现代生物医学技术,对补肾益精促智方“加味五子衍宗方”防治阿尔茨海默病前期——轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)的作用及机制进行了深入研究。临床研究证实该方可改善 MCI 患者的临床症状,延缓 MCI 患者向 AD 发展。高效液相色谱-光电二极管阵列检测器-串联质谱分析方法共检出 58 种复方主要成分,并对其饮片来源进行了归属。鉴定或推测了其中 51 种成分的结构,建立了加味五子衍宗方的 HPLC 指纹图谱。整体及离体药理研究证实加味五子衍宗方及其有效组分可有效改善 AD 大鼠的行为学症状,并可从多条通路、多个靶点发挥调节中枢胆碱能系统,拮抗 A β 神经毒性、氧化应激损伤及炎症损伤等 AD 致病因素的作用,这为该方的科学应用及开发提供了实验室依据。

[关键词] 加味五子衍宗方; 临床研究; 药效物质基础; 药理研究

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0219-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060219

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150127.1150.010.html>

[网络出版时间] 2015-01-27 11:50

Research Status of Neuroprotective Effect of Jiawei Wuzi Yanzong Fang LI Wei-wei, WANG Lin-lin, FU Hong, LIU Geng-xin, WANG Xue-mei* (*Integratd Laboratory of Chinese Medicine and Western Medicine, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China*)

[Abstract] Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease with characteristics of progressive cognitive impairment, abnormal behavior and personality change. There is no effective treatment method for AD in a global context as AD is a multifactorially complex disease. Intervention to AD is always late. More and more researchers proposed that early intervention and multiple targets are needed in AD treatment. In the guidance of the principles of nourishing the kidney, strengthening the essence, and prevention before disease onset, we studied the neuroprotective effects of Jiawei Wuzi Yanzong Fang on mild cognitive impairment. Clinic study showed Jiawei Wuzi Yanzong Fang can improve the clinical symptoms of mild cognitive impairment (MCI) patients, delay the development of MCI to AD, the mechanism is related to the inhibition activity of acetylcholine esterase, and reduce the oxidative damage of DNA in mitochondria and the A β level in serum. Imageology study also proved that this prescription can prevent and cure the hippocampal volume shrinkage as it can reduce the hippocampal index and the temporal angle width. We also used the method of high performance liquid chromatography-photodiode array detector-tandem mass spectrum (HPLC-PDA-MS/MS) to analyze the prescription's compositions. Then we constructed the HPLC Fingerprint of the Jiawei Wuzi Yanzong Fang. Finally, the further experiments *in vivo* and *in*

[收稿日期] 20140704(014)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30973813,30672760,81173369,81102683);教育部博士点博导基金(20070001707);教育部博士点新老师基金(20110001120055);首都医学发展科研基金重点项目(03-II-04);北京大学 985 项目

[第一作者] 黎巍威, 博士, 助理研究员, 从事中西医结合防治老年病工作, Tel:010-83575802, E-mail:weiwei_ivy@163.com

[通讯作者] *王学美, 博士, 教授, 从事中西医结合防治老年病工作, Tel:010-83575802, E-mail:wangxuemeibjmu@163.com

in vitro confirmed that the Jiawei Wuzi Yanzong Fang and its effective compositions could improve the AD rats models' behavioristics symptoms, regulate the central nervous cholinergic system, inhibit the impairment induced by $A\beta$, oxidative stress and inflammation. Thus we concluded that the Jiawei Wuzi Yanzong Fang and its effective compositions could exerts neuroprtective effect at multipletargets and in multiplepathways.

[Key words] Jiawei Wuzi Yanzong Fang; clinical research; medicinal material basic research; pharmacological research

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种多发于老年人群的神经退行性病变,临床上主要表现为缓慢持续加重且不可逆转的记忆力减退,认知和执行功能下降,人格和行为改变等。AD 的发病机制复杂,目前研究显示 $A\beta$ 调节系统的异常,炎症反应,氧化应激损伤,中枢胆碱能系统受损等因素均参与了 AD 的发生发展过程。由于 AD 发病有不可逆转及发病机制复杂等特点,研究者认为对 AD 的干预和治疗应从早期入手,并从多靶点调控。

未病先防是中医哲学体系中的一个核心内容,中医认为“上医治未病,中医治欲病,下医治已病”,强调预防疾病的发生比治疗疾病更加重要。轻度认知功能障碍 (mild cognitive impairment, MCI) 是一种介于正常老化和痴呆之间的阶段,常常是 AD 发病的警报信号。在“未病先防”理论的指导下,本课题组提出对 AD 患者的干预应从 MCI 阶段开始。

根据 AD 及 MCI 的临床表现,可将此类疾病归于中医的“痴呆”、“善忘”、“颤震”、“颤证”、“振掉”等病范畴。对 MCI 患者中医辨证分型规律的研究证实大部分 MCI 患者均表现为肾虚髓空型^[1-2],而现代医学技术则帮助找到了肾虚证的客观物质基础。如磁共振成像技术证实属肾虚证的 MCI 患者右内侧颞叶的 NAA/mI 与其 MMSE 量表得分与明显正相关,而肾虚证患者代谢异常部位也以累及右内侧颞叶为主^[3]。

五子衍宗丸(菟丝子、枸杞子、覆盆子、五味子、车前子)是传统的中医经典补肾方,临床上常用于治疗肾虚精亏的患者。基于“未病先防”的中医理论和前期 MCI 中医辨证分型的研究结果,本课题组在五子衍宗丸的基础上加味补肾药淫羊藿拟方加味五子衍宗方,在临床上用于延缓 MCI 向 AD 进展取得了良好的疗效。本文将对该方防治 MCI 的临床疗效及其发挥神经保护作用的物质基础,药理作用机制等研究成果进行综述。

1 加味五子衍宗方可改善 MCI 患者的临床症状

处于 AD 早期的 MCI 患者最早出现的临床症状常表现为记忆损害,日常自理能力下降^[4],在影像学上表现为与记忆认知相关的海马部位出现萎缩,容积明显下降,海马指数和颞角宽度较健康人群显著增高^[5]。改善患者的记忆和认知损害,减缓海马萎缩进程,是阻止 MCI 向 AD 进展的首要任务。本课题组采用随机双盲、双模拟方法考察了 44 名符合 MCI 诊断标准的 MCI 患者用药前后记忆功能及脑 CT 的变化,结果证实加味五子衍宗方可显著改善患者的 MQ ($P < 0.01$),其指向记忆、联想学习、图像自由回忆、无意义图形再

认、人像特点联系回忆等能力均有不同程度的提高,并且海马指数和颞角宽度也明显减小 ($P < 0.05$),证实加味五子衍宗方既可提高患者的记忆能力也能在一定程度上延缓海马萎缩的进程^[6]。跟踪随访 36 例服用加味五子衍宗方的 MCI 患者后的结果也证实药物安全可靠,治疗组无不良反应发生。并且停药 1 年后治疗组的 MQ 值仍高于患者用药前的 MQ 值,而对照组则有 2 例患者转换为 AD^[7-8],可见加味五子衍宗方可提高 MCI 患者的记忆功能。深入的机制研究还进一步证实该方改善患者记忆功能的作用与提高患者抗氧化应激水平,调节血清 β 淀粉样蛋白代谢功能相关^[7, 9-10]。

2 加味五子衍宗方的活性物质分析

本课题组利用建立高效液相色谱-光电二极管阵列检测器-串联质谱分析技术,检测出 58 种加味五子衍宗方的主要成分。通过与对照品比对,依照各自的紫外图谱、色谱保留时间和质谱裂解行为,笔者对其中 51 种成分的结构进行了鉴定或推测,其中苯丙素类成分有 15 种,季铵生物碱有 2 种,黄酮类成分 34 种。在前述研究的基础上建立了该复方的 HPLC 指纹图谱,并对加味五子衍宗方汤剂中绿原酸、金丝桃苷和淫羊藿苷等 10 余种成分的含量进行了测定^[11-12]。

3 加味五子衍宗方的体内和体外实验研究

3.1 加味五子衍宗方的复方研究

3.1.1 复方在 β 淀粉样肽 ($A\beta$) 诱导的 AD 动物模型中的作用 $A\beta$ 具有神经毒性作用,是诱导 AD 发病的重要病理基础。在基础研究中常采用大鼠侧脑室定向注射 $A\beta_{25-35}$ 的方法来建立 AD 动物模型。本课题组早期使用该方法成功建立了 AD 大鼠模型,并灌胃加味五子衍宗方治疗 15 d,结果证实加味五子衍宗方可显著提高 AD 大鼠的空间学习记忆能力^[13]。体内注射 $A\beta_{25-35}$ 后大鼠的乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性显著提高,乙酰胆碱 (ACh) 含量降低,加味五子衍宗方治疗可以降低模型中 AChE 活性^[14]。采用膜片钳技术考察复方对 $A\beta_{25-35}$ 诱导的 AD 大鼠模型中海马齿状回 (dentategyrus, DG) 基础突触传递活动和高频刺激 (high-frequency stimulation, HFS) 所致长时程增强 (LTP) 的影响,结果显示该方可以在一定程度上恢复被抑制的 LTP 过程,对 AD 大鼠的突触易化机制进行保护和维持^[15]。

3.1.2 复方在东莨菪碱所致 AD 大鼠模型的作用 由于中枢胆碱能系统中的海马胆碱能投射纤维及基底前脑胆碱能细胞的功能障碍可诱导动物学习记忆减退,因此采用 M_2 型乙酰胆碱阻滞剂东莨菪碱阻断大脑皮质和海马的胆碱能传递也是建立学习记忆障碍动物模型的一个常用方法。以本模型为载体证实,加味五子衍宗方可改善中枢胆碱能系统损

伤小鼠的空间学习记忆障碍^[16],其作用机制与加味五子衍宗方调节脑 Ach 含量及 AChE 活性有关^[17]。

3.1.3 复方拮抗 $A\beta$ 神经毒性的体外研究 脑脊液药理学方法常用于在体外模拟中药在体内的分布、代谢过程。对正常大鼠灌胃加味五子衍宗方后,抽取大鼠的含药脑脊液,将含药脑脊液与 $20 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 共同作用海马神经元 24 h,结果证实加味五子衍宗方含药脑脊液在体外可有效拮抗 $A\beta_{25-35}$ 神经毒性作用,抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导的细胞凋亡,其作用机制与降低细胞内凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 PARP 的活化,提高 Bcl-2 和 Bcl-XL 的蛋白表达,抑制 JNK 和 p38 MAPK 信号通路的激活相关^[18]。

3.1.4 复方抑制细胞氧化应激损伤的体外研究 氧化应激损伤作为一个重要的致病因素参与了 MCI 和 AD 发生发展的病理过程。本课题组通过 H_2O_2 孵育细胞的方法,在一个常用的神经药理细胞模型——大鼠肾上腺嗜铬细胞系(PC12 细胞)上建立了体外氧化应激损伤模型。利用该模型笔者证实 $125 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 加味五子衍宗方预处理细胞 2 h,可成剂量依赖性地降低细胞凋亡率,提高细胞生存率,此作用与复方通过抑制细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,从而降低乳酸脱氢酶(LDH),丙二醛(MDA)水平,提高超氧化物歧化酶(SOD),紊乱性房心动过速(CAT)活性相关^[19]。

3.1.5 复方拮抗氯化钴诱导的神经缺氧性损伤的研究 缺氧损伤是引发神经元凋亡,导致神经退行性疾病发生的重要诱因之一^[20-21]。本研究以 PC12 细胞为研究载体,利用氯化钴(CoCl_2)诱导 PC12 细胞发生缺氧性损伤^[22-24],并在此基础上研究复方拮抗缺氧损伤的作用及机制。结果证实复方可拮抗 CoCl_2 诱导细胞损伤,其具体机制包括调节活性氧自由基和细胞线粒体膜电位,调控凋亡相关蛋白 Bcl-2, Bcl-XL, Caspase-3 的表达,抑制 PARP 和 MAPK 信号通路的磷酸化等^[25]。

3.2 复方活性成分总黄酮和总多糖的研究

3.2.1 对 $A\beta$ 诱导的 AD 动物模型的影响 加味五子衍宗方总黄酮、总多糖成分是复方的重要活性成分。整体实验研究证实经本方总黄酮和总多糖成分治疗后, $A\beta$ 诱导的 AD 模型鼠的空间学习记忆能力得到了显著改善,AD 鼠的逃避潜伏期和搜索距离明显减少,其空间探索实验中平台所在象限搜索时间和距离占总时间和距离的百分比亦显著增加^[13]。采用膜片钳技术也证实总黄酮组、总多糖可显著提高高频刺激后 PS 的幅度,并在一定程度上恢复被抑制的 LTP 过程,保护和维持 AD 大鼠的突触易化机制,并且总黄酮的效果优于总多糖^[15]。

3.2.2 对东莨菪碱所致 AD 小鼠模型的影响 本课题组通过氢溴酸东莨菪碱腹腔注射制备小鼠记忆获得障碍模型,然后分别给予复方总黄酮、总多糖灌胃治疗,15 d 后总黄酮组和总多糖组的记忆获得障碍模型小鼠的空间学习记忆成绩均得到了显著改善,小鼠在 Morris 水迷宫定位航行试验中的逃避潜伏期和搜索距离明显缩短,动物在空间探索试验中原平台所在象限搜索的时间百分比和距离百分比明显增加,并

且总多糖的作用优于总黄酮^[16, 26]

3.2.3 拮抗 $A\beta$ 毒性的机制研究 本课题组证实加味五子衍宗方活性成分总黄酮和总多糖均可透过血脑屏障进入脑脊液,含有总黄酮和总多糖的脑脊液可以有效拮抗 $A\beta_{25-35}$ 诱导的细胞毒性,其作用机制与抑制细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 PARP 的活化,调节 JNK 和 p38 MAPK 磷酸化过程相关,其中总黄酮类还可促进 Bcl-XL 的蛋白表达。在采用全细胞膜片钳技术记录海马神经元 Ica 电流的研究中也证实 $A\beta_{25-35}$ 可通过增强 Ica 诱导细胞内 Ca^{2+} 超载,而加味五子衍宗方总黄酮可通过抑制 Ca^{2+} 超载保护神经元^[27]。上述研究证实虽然总多糖和总黄酮共同参与保护神经元,但其抑制神经元损伤的具体机制并不完全相同^[18-27]。

3.2.4 拮抗氧化应激损伤的机制研究 本研究证实加味五子衍宗方总黄酮可通过降低细胞脂质过氧化水平,增加抗氧化酶活力,抑制细胞内 Ca^{2+} 内流,从而减少细胞凋亡,发挥拮抗 H_2O_2 诱导的 PC12 细胞氧化应激损伤的作用^[19]。

3.3 复方活性成分——淫羊藿苷的体外研究

3.3.1 拮抗 $A\beta$ 毒性的机制研究 淫羊藿苷是本复方中最重要的一个活性成分。对淫羊藿苷的体外研究结果显示淫羊藿苷可通过 PI3K/Akt/GSK-3 β 和 Wnt/ β -catenin 等多条信号通路拮抗 $A\beta_{25-35}$ 所诱导的神经毒性,抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导的 tau 蛋白的过度磷酸化^[28]。电生理学研究亦证实淫羊藿苷可抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导 Ca^{2+} 内流,其抑制作用与剂量存在量效关系。同时研究还发现淫羊藿苷虽然对于 $A\beta_{25-35}$ 改变的突触后膜 NMDA 受体通透性没有明显作用,但可恢复被其抑制的 NMDA 受体介导的突触电流发放频率,保护 NMDA 受体通道^[30]。

3.3.2 拮抗氧化应激损伤的机制研究 前期已证实复方总黄酮具有拮抗氧化应激损伤的作用,淫羊藿苷作为黄酮类单体成分是否参与了总黄酮拮抗氧化应激损伤的过程呢?在 H_2O_2 诱导建立的体外细胞氧化应激损伤模型上,我们证实淫羊藿苷可通过抑制 JNK/p38 MAPK 通路的磷酸化,从而调控通路中游的凋亡相关蛋白以及氧化/抗氧化平衡系统,进而抑制通路下游的 p53 的活力,最终阻断 p53 依赖的细胞死亡^[31]。

3.3.3 拮抗炎症损伤的机制研究 采用 LPS 建立原代神经胶质细胞炎症模型,并在此模型上研究淫羊藿苷是否可以拮抗神经炎症损伤。结果证实淫羊藿苷能够有效的抑制神经胶质细胞中一氧化氮,前列腺素,肿瘤坏死因子- α (TNF- α),白细胞介素(IL-1, IL-6)等炎症因子的释放,其具体作用机制与抑制 IKK/I κ B/NF- κ B 以及 JNK/p38 MAPK 信号通路相关^[32]。

3.4 复方活性成分——五味子乙素的体外研究

3.4.1 拮抗 $A\beta$ 毒性的研究 对复方中的另一种活性成分五味子乙素的研究显示其可较好的拮抗 $A\beta_{1-42}$ 诱导的 PC12 细胞凋亡,其机制在于调节细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2/Bax 比例,降低细胞内 Cyto-c, Caspase-9, Caspase-3 水平,最终调节线粒体凋亡途径密切相关^[33]。

3.4.2 拮抗氧化应激损伤的研究 本课题组通过体外实验证实五味子乙素可显著拮抗氧化应激作用对细胞的损伤,其抗氧化作用的机制主要是降低 GSSG 水平,提高抗氧化酶 GSH 活力^[33]。

3.4.3 拮抗炎损伤的研究 五味子乙素具有较好的拮抗炎损伤的作用。一方面其可以刺激星型胶质细胞释放神经滋养因子以保证神经元的存活,另一方面其可通过调节 IKK/I κ B/NF- κ B 以及 JNK/p38 MAPK 信号通路有效抑制神经胶质细胞炎症因子如一氧化氮、前列腺素, TNF- α , IL-1, IL-6 等的释放^[34]。

3.5 复方活性成分——金丝桃苷的体外研究

3.5.1 拮抗 $A\beta$ 神经毒性的研究 本课题组采用 $A\beta_{25-35}$ 诱导原代培养神经元受损以制备体外 AD 模型,并利用金丝桃苷对受损细胞进行处理。结果证实金丝桃苷可通过保护细胞线粒体膜,抑制 $A\beta_{25-35}$ 诱导的 ROS 生成和细胞色素 C (cytochrome C) 的释放发挥保护细胞线粒体的作用,同时金丝桃苷还可以诱导 PI3K/Akt 信号转导通路活化,并抑制 Caspase 介导的细胞凋亡^[35]。

3.5.2 拮抗神经缺氧性损伤的研究 在 $CoCl_2$ 制备的 PC12 细胞神经缺氧性损伤模型中,金丝桃苷同样发挥了拮抗缺氧对细胞损伤的作用。研究显示其保护机制与金丝桃苷可呈剂量依赖性的抑制 $CoCl_2$ 诱导生成 ROS,提高线粒体膜电位,抑制凋亡相关蛋白 Caspase-3 和多聚二磷酸核糖聚合酶 PARP 的活化相关^[36]。

4 讨论

中医认为“肾藏精,精生髓,髓聚于脑”,肾与脑之间关系密切,如果肾气充足,精髓足够,则人精力充沛,思维敏捷,若肾气亏虚,肾精缺乏,则神疲乏力,反应减慢,记忆力减退。因此在治疗“痴呆”、“善忘”、“颤震”等这类衰老性疾病时常以补肾益精为治则,选取补肾益精之方药进行治疗。现代中医辨证分型研究已明确处于痴呆早期的 MCI 患者多表现为肾虚证,且不同分型的 MCI 患者其脑结构和代谢异常部位的变化不同,如肾虚证患者常累积右内侧颞叶,而痰浊证患者则常累积左内侧颞叶^[3],这为“肾藏精,精生髓,髓聚于脑”中医理论提供了支持证据,也为补肾益精法防治 MCI 提供了理论依据。

MCI 是 AD 的早期阶段,目前 AD 治疗效果不佳与对患者的干预过晚有密切关系,从 MCI 阶段开始干预治疗患者与中医“未病先防”理论相符合。

本课题组在中医治未病及肾藏精理论的指导下,以补肾益精方加味五子衍宗方防治 MCI 患者在临床上取得了良好的疗效,临床研究显示该方可有效提高 MCI 患者的记忆功能,延缓 MCI 向 AD 进展。物质基础研究进一步鉴定了该方具体活性成分,药理研究从整体、细胞、分子水平对该方进行了由粗到精(总提取物至单体成分),由浅入深(效应至具体靶点)的系统研究,揭示该方的多种成分可从多个靶点发挥神经保护作用,所涉及的靶点效应包括拮抗 $A\beta$ 神经毒性,抑制氧化应激损伤,阻滞炎症损伤,改善中枢胆碱能系统等,

可调控的途径包括 MAPK, IKK/IB/NF- κ B, PI3K/Akt 等信号转导通路,上述研究为补肾益精方防治 MCI 的作用提供了实验室依据。未来的工作重点要进一步明确补肾益精促智方有效成分群神经保护作用与中医补肾益精促智理论之间的联系,如明确有效成分群与各味中药归经之间的关系,以为中药复方的研究提供借鉴思路。

[参考文献]

- [1] 宋萍,王学美,富宏,等. 轻度认知障碍中医辨证分型与自由基代谢和胆碱酯酶的相关性研究[J]. 中医杂志, 2005, 46(4): 291-293.
- [2] 杨志敏,谢东平,陈淑慧,等. 老年人轻度认知功能障碍的中医证候分布情况初步研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2007, 2(4): 219-221.
- [3] 张立苹. 轻度认知损害患者大脑 MR 海马体积及其波普分析[D]. 北京:北京中医药大学, 2010.
- [4] 田金洲,时晶,张学凯,等. 2011 年美国阿尔茨海默病最新诊断标准解读[J]. 中国医学前沿杂志:电子版, 2011, 3(4): 91-100.
- [5] Jack C J, Petersen R C, Xu Y C, et al. Prediction of AD with MRI-based hippocampal volume in mild cognitive impairment [J]. Neurology, 1999, 52(7): 1397-1403.
- [6] 王学美,富宏,宋萍,等. 从神经心理学和影像学探讨加味五子衍宗颗粒对轻度认知障碍患者的影响[J]. 中国老年学杂志, 2004, 19(4): 299-301.
- [7] 王学美,富宏,刘庚信,等. 加味五子衍宗颗粒对轻度认知障碍患者的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(3): 159-162.
- [8] 富宏,王学美,刘庚信,等. 加味五子衍宗颗粒治疗轻度认知障碍的随访研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(2): 67-70.
- [9] 王学美,富宏,刘庚信,等. 从氧化损伤探讨加味五子衍宗颗粒对轻度认知障碍患者的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(1): 76-79.
- [10] Wang X M, Fu H, Liu G X, et al. Effect of Modified Wuzi Yanzong granule on patients with mild cognitive impairment from oxidative damage aspect [J]. Chi J Integ Med, 2007, 13(4): 258-263.
- [11] Zeng K W, Zhang T, Fu H, et al. Modified Wuzi Yanzong prescription, a traditional Chinese polyherbal formula, suppresses lipopolysaccharide-induced neuroinflammatory processes in rat astrocytes via NF-kappaB and JNK/p38 MAPK signaling pathways [J]. Phytomedicine, 2012, 19(2): 122-129.
- [12] 张泰,窦桂芳,王学美,等. RP-HPLC 法同时测定加味五子衍宗方汤剂中 3 种活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(1): 22-26.

- [13] 富宏,王学美,刘庚信. 加味五子衍宗方有效部位对 β -淀粉样肽致大鼠行为学改变的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6): 44-47.
- [14] Wang B, Wang X M, Fu H, et al. Protective effects of Wuzi Yanzong Fang on amyloid beta-induced damage *in vivo* and *in vitro* [J]. *Yakugaku Zasshi*, 2009, 129(8): 941-948.
- [15] 李婍. 加味五子衍宗方和淫羊藿苷对于学习记忆保护作用的电生理研究[D]. 北京: 北京大学, 2009.
- [16] 褚松龄, 刘庚信, 王学美. 加味五子衍宗方及其有效组分对记忆障碍小鼠空间行为的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(5): 271-274.
- [17] 褚松龄, 王学美, 富宏, 等. 加味五子衍宗方及有效组分对记忆障碍小鼠中枢胆碱能系统的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(2): 18-19.
- [18] 曾克武, 王学美, 富宏, 等. 加味五子衍宗方含药脑脊液对 β 淀粉样蛋白诱导海马神经元损伤的保护作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(8): 851-856.
- [19] 王斌. 加味五子衍宗方及五味子乙素对PC12细胞的保护作用[D]. 北京: 北京大学, 2008.
- [20] Roman G C. Vascular dementia revisited: diagnosis, pathogenesis, treatment, and prevention [J]. *Med Clin North Am*, 2002, 86(3): 477-499.
- [21] Desmond D W. Vascular dementia: a construct in evolution [J]. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 1996, 8(4): 296-325.
- [22] Zou W, Yan M, Xu W, et al. Cobalt chloride induces PC12 cells apoptosis through reactive oxygen species and accompanied by AP-1 activation [J]. *J Neurosci Res*, 2001, 64(6): 646-653.
- [23] Tan X L, Huang X Y, Gao W X, et al. CoCl_2 -induced expression of p300 promotes neuronal-like PC12 cell damage [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 441(3): 272-276.
- [24] Zou W, Zeng J, Zhuo M, et al. Involvement of caspase-3 and p38 mitogen-activated protein kinase in cobalt chloride-induced apoptosis in PC12 cells [J]. *J Neurosci Res*, 2002, 67(6): 837-843.
- [25] Zeng K W, Wang X M, Ko H, et al. Neuroprotective effect of modified Wuzi Yanzong granule, a traditional Chinese herbal medicine, on CoCl_2 -induced PC12 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(1): 13-18.
- [26] 褚松龄, 王学美, 刘庚信. 加味五子衍宗方对记忆障碍小鼠空间学习记忆成绩的影响[J]. 天津中医药, 2006, 23(3): 231-233.
- [27] 李婍, 蔡浩然, 李琳, 等. 加味五子衍宗方总黄酮对大鼠海马锥体细胞 VGCC 通道的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(15): 1975-1978.
- [28] Zeng K W, Ko H, Yang H O, et al. Icarin attenuates beta-amyloid-induced neurotoxicity by inhibition of tau protein hyperphosphorylation in PC12 cells [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 59(6): 542-550.
- [29] 曾克武, 王学美, 富宏, 等. 淫羊藿苷通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制淀粉样蛋白 $\text{A}\beta_{(25-35)}$ 所诱导的神经毒性 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(22): 1719-1722.
- [30] Li L, Tsai H J, Li L, et al. Icarin inhibits the increased inward calcium currents induced by amyloid-beta $_{(25-35)}$ peptide in CA1 pyramidal neurons of neonatal rat hippocampal slice [J]. *Am J Chin Med*, 2010, 38(1): 113-125.
- [31] Li W W, Gao X M, Wang X M, et al. Icarin inhibits hydrogen peroxide-induced toxicity through inhibition of phosphorylation of JNK/p38 MAPK and p53 activity [J]. *Mutat Res*, 2011, 708(1/2): 1-10.
- [32] Zeng K W, Fu H, Liu G X, et al. Icarin attenuates lipopolysaccharide-induced microglial activation and resultant death of neurons by inhibiting TAK1/IKK/NF-kappaB and JNK/p38 MAPK pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(6): 668-678.
- [33] Wang B, Wang X M. Schisandrin B protects rat cortical neurons against Abeta1-42-induced neurotoxicity [J]. *Pharmazie*, 2009, 64(7): 450-454.
- [34] Zeng K W, Zhang T, Fu H, et al. Schisandrin B exerts anti-neuroinflammatory activity by inhibiting the Toll-like receptor 4-dependent MyD88/IKK/NF-kappaB signaling pathway in lipopolysaccharide-induced microglia [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 692(1/3): 29-37.
- [35] Zeng K W, Wang X M, Ko H, et al. Hyperoside protects primary rat cortical neurons from neurotoxicity induced by amyloid beta-protein via the PI3K/Akt/Bad/Bcl (XL)-regulated mitochondrial apoptotic pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 691(1/3): 45-55.
- [36] 曾克武, 王学美, 富宏, 等. 金丝桃苷对氯化钴所致的PC12细胞损伤模型的保护作用和机制研究[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(17): 2409-2412.

[责任编辑 邹晓翠]