

绞股蓝对学习记忆影响及抗脑组织损伤机制的研究进展

陈桂芳¹ 张晓喻² 黎 艳² 黎 霞² 李天东¹

绞股蓝 [*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino] 为葫芦科植物绞股蓝属, 又名五叶参、七叶胆等。绞股蓝中含有皂苷、黄酮类化合物、多糖、磷脂、氨基酸、维生素、常量和微量无机元素等活性成分。其中绞股蓝皂甙(gypenosides, GPSs)是绞股蓝主要的药效成分, 具有抗癌、抗溃疡、降血脂、镇静、抗疲劳、延长细胞寿命等作用, 而且几乎无毒性^[1]。绞股蓝为除五加科人参属植物以外, 唯一含有人参皂甙的植物, 有 84 种皂甙类物质, 其中 4 种皂甙即 GyP—3、4、8、12 分别与 4 种人参皂甙即 Gin—Rb1、Rb3、Rd、F2 同物异名, 6 种单体与人参皂甙结构完全相同^[2]。在神经药理方面表现为具有较强的神经活性作用^[3,4]。近年来, 有系列实验报道了绞股蓝或绞股蓝皂甙具有促进学习记忆和保护脑组织的作用, 其功效与人参类似。但与人参生物学特性相比较, 绞股蓝生长条件要求低, 对生态环境具有广泛的适应性, 主要分布于中国及其他亚洲国家, 因此, 绞股蓝具有比较高的经济价值^[1]。由于目前尚缺乏对这方面研究的综述。本文概述了有关绞股蓝对动物学习记忆障碍的改善和几种脑组织损伤模型的保护机制研究, 探讨今后有待研究的问题。为进一步研究和开发应用绞股蓝提供一定的参考。

1 绞股蓝对学习记忆影响的行为学研究 一次性被动回避反射实验(如: 跳台实验、避暗实验、Y 型电迷路实验)和空间分辨学习记忆实验(如: Y 型迷宫实验和 Morris 水迷宫实验)是测试动物学习记忆能力的客观指标。在 SD 大鼠海马注射 $\text{A}\beta_{1-40}$ 前 1 周开始灌胃绞股蓝皂甙 200 mg/(kg·d), 连续 5 周, 海马注射 $\text{A}\beta_{1-40}$ 后第 28 天, Y 型迷宫测出绞股蓝皂甙组的学习记忆能力较模型组有明显提高, 其达到学会标准所需训练次数、错误反应次数明显减少, 潜伏期和全天总反应时间明显缩短。而绞股蓝皂甙组与健康对照组之间的学习记忆能力差异无统计学意义^[5]。用 2.5% 绞股蓝提取物液 8 mL/(100 g·d) 灌胃由电休克造成的记忆障碍 SD 大鼠 8 天后, Y 型迷宫测试出记忆成绩较生理盐水对照组有了明显提高^[6]。绞股蓝皂甙 LXX-

IV(G-74)可以显著改善由东莨菪碱所致的记忆障碍小鼠的学习记忆水平, 明显缩短模型小鼠在 Morris 水迷宫实验中的潜伏期, 明显延长模型小鼠在平台象限内的游泳时间^[7]。

研究发现两种复方绞股蓝分别以 20、15 g/(kg·d) 水煎生药剂量连续灌胃 5 天, 对腹腔注射氟哌啶醇所致的小鼠学习记忆障碍有明显的改善作用, 可以使老龄小鼠在跳台试验中的潜伏期明显延长, 错误次数明显减少^[8]。在小鼠造模前 30 天, 持续灌胃(2 次/天)复方绞股蓝(茯苓、石菖蒲、远志和绞股蓝皂甙)11.1、22.2、33.3 mg/kg 剂量组都可以使由腹腔注射东莨菪碱所致学习记忆获得障碍、皮下注射亚硝酸钠所致学习记忆巩固障碍及灌胃乙醇所致学习记忆再现障碍 3 种记忆障碍模型小鼠的学习记忆得到改善, 可延长小鼠跳台、避暗实验的潜伏期、减少小鼠跳台、避暗的次数, 对其记忆获得、巩固和再现过程有一定促进作用, 其中以复方高剂量组效果更明显^[9]。乙酰胆碱酯酶同工酶电泳技术研究进一步发现, 随着复方绞股蓝剂量的增加, 乙酰胆碱(Ach)含量增加, 且每组间差异有统计学意义。因此推测复方绞股蓝的这种益智作用可能是通过增强胆碱乙酰转移酶(ChAT)活性, 抑制乙酰胆碱酯酶(AChE)活性, 从而达到增加 Ach 含量、促进学习记忆的作用^[10]。

2 有关绞股蓝抗脑组织损伤的组织学与生化机制研究

2.1 抗脑缺血损伤

在缺血过程中, NO 可能成为诱导海马迟发性神经元凋亡(DND)及血管性痴呆(VD)的重要因素之一, 海马组织中 NO 含量达峰值及恢复时间与海马神经元凋亡率的变化时程相一致^[11]。脑缺血损伤中、后期, 由(iNOS)激活产生了大量 NO, NO 生成的氧自由基引起的脂质过氧化作用增强, 细胞内 Ca^{2+} 超载, 出现脑组织病理变化, 兴奋性氨基酸的毒性增强, TAN 蛋白的异常磷酸化增加, 发生阿尔茨海默(AD)病样病理变化, 神经元产生凋亡和坏死^[12]。研究发现, 在大鼠局灶性脑缺血再灌注(大脑中动脉栓塞 MCAO)造模之前, 连续 5 天腹腔注射绞股蓝皂甙 25、50、100 mg/(kg·d), 中、高剂量绞股蓝皂甙能显著降低模型鼠胞浆和线粒体中 NO 水平, 显著增加 CA1 区活

作者单位: 1. 绵阳师范学院生命科学与技术学院(四川绵阳 621000);

2. 四川师范大学生命科学学院(成都 610068)

通讯作者: 李天东, Tel: 13990125189, E-mail: tiandongli63@163.com

的锥体细胞数,减轻 CA1 区海马神经元的坏死,其药效与 5 mg/(kg·d) 尼莫地平抗脑缺血相当^[13]。在 Pulsinelli 4-血管阻断(4-VO)法建立全脑缺血 VD 大鼠模型之前连续灌胃 200 mg/kg 绞股蓝皂甙 1 周,可以明显减轻缺血再灌注对大鼠皮层及海马 CA1 区、CA3 区锥体细胞层 DNA 和 RNA 的损伤,增强 DNA 和 RNA 吖啶橙染色后的荧光强度^[14]。海马神经元型一氧化氮合酶(nNOS)在学习记忆中作用关键,它催化的 NO 是介导海马长时程增强效应(LTP)的逆行信使。在全脑缺血 VD 大鼠造模之前,灌胃 200 mg/kg 绞股蓝皂甙 1 周可保护 VD 大鼠海马内 nNOS 阳性神经元免受大量的 NO 所导致的迟发性神经元坏死(DND)^[15]。在光化学法诱导 MCAO 大鼠模型之前,连续 4 天腹腔注射绞股蓝皂甙 200 mg/(kg·d),不仅可以升高模型鼠脑缺血早期 NO 水平,减少脑缺血早期由于 eNOS 源性 NO 合成减少所引起的脑血流量减少、脑梗死面积增加、组织水含量增高的病理现象,并上调脑缺血早期脑组织超氧化物歧化酶(SOD)活性,降低脂质过氧化产物 TBARS 水平^[16]。MCAO/R 大鼠造模之前,1 天内灌胃绞股蓝丹(绞股蓝、丹参、黄芪等)2 次,连续 3 天,每次 30 g/kg,可以明显减轻脑组织坏死灶,降低脑梗塞区含水量及梗死区重量比,改善脑水肿程度,有利于增加局部脑组织血流量,促进神经功能的恢复。而在全脑缺血再灌注小鼠造模前连续 5 天灌胃 30 g/kg 绞股蓝丹,能明显提高模型鼠损伤脑组织的总抗氧化能力(T-AOC)及过氧化氢酶(CAT)活性,明显抑制损伤脑组织中脂质过氧化反应产物(MDA)升高^[17-18]。

研究还发现,同时作预防和治疗作用的两个绞股蓝皂甙剂量组(MCAO 造模前后均分别腹腔注射绞股蓝皂甙 200、400 mg/kg 各 1 次)都可以明显缩小大鼠脑组织梗死面积,明显减少 TUNEL 染色阳性细胞数,抑制神经细胞凋亡作用,明显升高 SOD 和降低 MDA 水平,对 MCAO 造成的脂质过氧化脑损伤具有保护作用^[19,20]。绞股蓝乙醇提取物可以减轻体外海马切片神经细胞在缺氧复氧刺激下由缺氧缺血损害引起的 Ca^{2+} 超载、线粒体膜通透性增加和脂质过氧化作用^[21]。

即早基因(IEGs) c-fos 和 c-jun 为原癌基因,正常情况下, c-fos、c-jun 在神经元中仅呈极低水平表达,但在脑缺血再灌注后, c-fos 和 c-jun 即被快速而短暂地诱导表达,启动晚期效应基因的转录,从而促进神经元的凋亡^[22]。FOS 蛋白、JUN 蛋白是细胞对脑缺血反应的敏感标记,其免疫组化反应常作为神经元形态和功

能活动状态检测手段。大鼠造模(4-VO)之前,连续 7 天灌胃绞股蓝皂甙 200、400 mg/(kg·d),与损伤模型组比较,2 个剂量组绞股蓝皂甙在不同再灌注时间(6、24、72 h)均具有显著抑制大鼠海马各区的 FOS 蛋白和 JUN 蛋白表达的作用,并有一定的剂量相关趋势^[23,24],表明绞股蓝皂甙的保护作用与抑制神经元凋亡相关基因表达相关。

2.2 抗衰老

机体因衰老脑组织内部的各种酶系、递质水平发生了相应的变化。45 岁以后与衰老密切相关的脑内单胺氧化酶 MAO 活性急剧增强,致使儿茶酚胺类递质失活增多,影响了学习记忆。而衰老脑组织内作为参与机体能量供应的主要酶 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性却降低,致使神经细胞内 Na^+ 积累, K^+ 流失,细胞内环境紊乱,更加重细胞的损伤。研究发现,75、150 mg/(kg·d) 灌胃绞股蓝皂甙 D-半乳糖老化模型小鼠 1 个月,两组剂量的绞股蓝皂甙均使脑中 MAO 活力较模型组有明显降低,分别降低 16.4% 和 26.0%,使脑中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力分别提高 7.0% 和 11.2%,且高低剂量组结果差异有统计学意义^[25]。100 mg/(kg·d) 灌胃绞股蓝皂甙连续 42 天 D-半乳糖模型小鼠,其降低衰老小鼠脑组织 MAO 活性和脂褐质水平的疗效作用与同剂量的阔叶山麦冬总皂苷相当^[26]。

大脑蛋白质和核苷酸水平是大脑衰老程度和学习记忆强弱的物质基础。复方绞股蓝水煎剂 30、15 g/(kg·d) 连续灌胃老龄小鼠 7 d 后,高低剂量组都可以显著升高老龄小鼠脑组织蛋白含量和降低老年小鼠脑内单胺氧化酶 B(MAO-B) 水平,其作用较 10、5 g/(kg·d) 石菖蒲挥发油组明显^[8]。

衰老过程中产生的自由基可直接攻击细胞 DNA 分子中的碱基、核糖、磷酸二酯键,造成碱基与核糖氧化键断裂或与蛋白质交联等多种损伤,其对 DNA 的氧化损伤在机体衰老进程中起重要作用。研究报道, D-半乳糖亚急性衰老模型小鼠的脑细胞 DNA II 级及 II 级以上损伤率高达 87.95%, III 级损伤达到 60% 以上。但如果在造模的同时灌胃绞股蓝皂甙 180、120、60 mg/(kg·d),高、中剂量组可以使模型小鼠大脑 DNA 损伤程度有所减轻,损伤程度仅以 II 级为主。随着绞股蓝皂甙药量的增加,可使模型鼠脑细胞的拖尾率呈现逐渐下降的趋势,并且有一定的量效关系,但 3 种剂量之间差异无统计学意义^[27]。180、120、60 mg/kg 剂量灌胃绞股蓝皂甙 D-半乳糖大鼠衰老模型,其中 120 mg/kg 绞股蓝皂苷能显著升高衰老大鼠血清、心脏和脑组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、T-AOC)、

CAT, 显著下降血清、心脏和脑组织中 MDA、NO 含量。中高剂量的绞股蓝皂甙还能显著增强大鼠特异性和非特异性免疫功能^[28]。

AD 造模前 1 周开始灌胃绞股蓝皂甙 200 mg/(kg · d), 连续 5 周, 能明显减轻 $A\beta_{1-40}$ 引起模型大鼠 (AD) 海马 CA1 区细胞线粒体肿胀, 空泡样变化, 嵴断裂等损害现象, 具有稳定和保护大鼠海马细胞线粒体的超微结构作用。绞股蓝皂甙还能通过提高 AD 模型鼠大脑海马线粒体细胞色素氧化酶 (COX) 活性和细胞色素氧化酶 II 型亚基 (CO II) mRNA 表达, 改善脑细胞内线粒体能量代谢和胆碱能系统功能的作用, 而且在术后不同时间点绞股蓝皂甙都可以明显减轻 AD 大鼠海马 CA2 区 TAN 蛋白的异常磷酸化, 降低大鼠海马 CA2 区神经元异常表达的细胞周期蛋白 cyclin A、cyclin B1 蛋白和胞浆 Ca^{2+} 含量水平, 从而抑制由神经原纤维缠结、Bax 相关凋亡途径激活和 Ca^{2+} 超载可能带来的神经元损伤和凋亡^[5,29]。

2.3 抗谷氨酸 (Glu) 诱导的氧化性神经毒性

谷氨酸 (Glu) 是脑内正常的兴奋性神经递质, 在介导突触兴奋性活动和突触可塑性等方面起着重要的作用。但过量的 Glu 将产生兴奋性或氧化性神经毒性。早期原代培养的神经细胞 (48 h) 尚未成熟, 不含活跃的亲离子型谷氨酸受体, Glu 主要通过抑制谷氨酸/胱氨酸转运体使胱氨酸入胞减少, 从而降低细胞内氧自由基清除剂谷胱甘肽 (GSH) 的生成, 造成氧自由基的堆积产生氧化性毒性, 导致神经细胞发生凋亡和坏死。体外实验研究表明, 在早期原代培养的神经细胞培养液中提前加入 25、200 $\mu\text{g/mL}$ 绞股蓝皂甙能有效拮抗 Glu 介导的氧化性神经毒性, 降低细胞凋亡率, 其保护作用具有时间和剂量依赖效应, 即损伤前 12 h 加入绞股蓝皂甙组的细胞存活率明显高于损伤同时和损伤后加入绞股蓝皂甙组细胞存活率。而且 200 $\mu\text{g/mL}$ 绞股蓝皂甙保护作用好于 25 $\mu\text{g/mL}$ 绞股蓝皂甙^[30]。损伤前 12 h 加入绞股蓝皂甙组保护作用也优于在 Glu 损伤前 2 h 加入绞股蓝皂甙组^[31]。绞股蓝皂甙抗 Glu 氧化性神经损伤机制研究表明, 绞股蓝皂甙可以通过提高 GSTs 酶的活力调节 GSH 的生成, 抑制线粒体细胞色素 C 的释放, 减少 caspase 引发细胞死亡, 以及通过降低钙内流、减少 ROS 生成等环节作用于 MAPK/ERK1/2 信号转导途径, 下调 ERK1/2 的磷酸化水平, 抑制启动早基因 c-fosmRNA 表达^[31], 以及通过上调磷酸化 Akt 的表达水平, 激活 PI3K/Akt 信号转导通路, 来拮抗 Glu 诱导的胎鼠大脑皮层神经元氧化性损伤^[32]。绞股蓝皂甙还可以明显降低 Glu 损伤组

神经细胞培养液中 NO 和 H_2O_2 的含量, 升高细胞内 GSH 含量, 并使细胞线粒体膜电位升高, 保护线粒体膜结构和功能的稳定。其中 200 $\mu\text{g/mL}$ 绞股蓝皂甙细胞存活率高于 50、100、400 $\mu\text{g/mL}$ 绞股蓝皂甙剂量组及 Glu 损伤组^[33]。绞股蓝皂甙可以通过调控与 GSH 合成相关的酶和循环, 增强 γ -GCS mRNA、GR mRNAs 表达和合成酶活性, 使细胞内 GSH 含量升高, 从而减弱 Glu 介导的脂质过氧化反应和 Ca^{2+} 超载, 使 Bcl-2/Bax 的表达比例增加, 由此减少细胞凋亡, 高剂量组 (400 $\mu\text{g/mL}$) 绞股蓝皂甙对体外培养的皮肤神经细胞的保护作用最明显^[34]。研究还发现, 50、100、200、300、400、1000 mg/(kg · d) 绞股蓝皂甙灌胃大鼠后, 经体内转化后的含药血清均能拮抗 Glu 介导的体外培养的胎鼠大脑皮层神经细胞损伤作用, 其中以 400 mg/(kg · d) 绞股蓝皂甙效果最为显著, 能维持细胞内较高 GSH 含量和 SOD 活性, 抑制细胞内游离 Ca^{2+} 浓度, 明显提高细胞的存活率 (89.84%), 该实验反映了绞股蓝皂甙在体内的真实药理效应, 使结果更具参考意义^[35]。

经大鼠侧脑室注射微量 Glu 溶液, 建立体内海马组织氧化损伤模型之前, 预先灌胃 200、400、800 mg/(kg · d) 绞股蓝皂甙 10 天, 绞股蓝皂甙可减轻模型鼠脑内海马组织病理形态学损伤, 减轻海马组织中由 Glu 引起的羟自由基生成增加, 降低 MDA 的生成, 提高脑内 SOD 和 GSH-Px 的活性, 其中以 400 mg/kg 剂量绞股蓝皂甙的作用最为显著^[36]。

绞股蓝多糖成分对神经保护作用研究相对较少, 有报道, 从绞股蓝中分离纯化得到的多糖成分 GPS-2 (鼠李糖: 木糖 = 1: 12.25) 和 GPS-3 (鼠李糖: 木糖: 阿拉伯糖: 半乳糖: 葡萄糖 = 1.75: 1: 8.70: 3.07: 5.90) 在体外对神经细胞谷氨酸损伤都有明显保护作用, 其中, 在 100 ~ 400 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, GPS-2 随浓度的增大, 保护作用明显增强; GPS-3 随浓度的增大, 保护作用相对减小^[37]。

总之, 不同脑损伤, 如缺血、早衰等慢性神经变性疾病都与谷氨酸的氧化性神经毒性密切相关。因此, 深入研究绞股蓝抗谷氨酸氧化性神经损伤机制, 可为治疗这类脑疾病提供一种新的思路。

2.4 抗炎症

NF- κ B 是一种与免疫、炎症有关的转录因子。在脑缺血再灌注损伤^[38]、阿尔茨海默病 (AD)^[39]、颅脑损伤早期^[40]、谷氨酸氧化性损伤^[41] 的脑组织内都存在各种炎症反应, 损伤反应区内 NF- κ B 活性水平增高, 激活的 NF- κ B 诱导的 TNF- α 、IL-1、IL-6、黏附分子

(ICAM-1、VCAM-1 等)、趋化因子(MCP-1 等)、急性期蛋白、免疫受体和选择素等的表达明显增高,从而促进中性粒细胞黏附及迁移,诱发了脑组织的各种炎症反应。

实验证明,从绞股蓝分离提取到的绞股蓝皂甙 XLIX 是天然的过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α) 激动剂,可以抑制 NF- κ B 的激活^[42]。绞股蓝皂甙 XLIX 通过 PPAR- α 途径抑制细胞因子对于人内皮细胞表达血管黏附因子-1 (VCAM-1) 的诱导作用,其活性类似于 Wy-14643,酶联免疫实验方法证明绞股蓝皂甙 XLIX 可以抑制 TNF- α 诱导人脐静脉内皮细胞表达黏附分子 VCAM-1 mRNA 的作用^[43]。绞股蓝皂甙 XLIX 通过 PPAR- α 途径还可以抑制炎性刺激物 LPS 诱导的 THP-1 单核细胞组织因子的过度表达,并激活 THP-1 单核细胞活性,具有抗心血管疾病、抗炎反应、抗癌症的作用^[44]。绞股蓝皂甙 XLIX 以上作用在 0~300 μ mol/L 范围内呈现浓度依赖关系。绞股蓝皂甙能显著降低高脂诱导动脉粥样硬化大鼠血管黏附分子 ICAM-1,单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1),减轻血管壁炎性损害。其作用机制与降低 NF- κ Bp65 活性和血清中 MDA、氧化低密度脂蛋白 (ox-LDL) 水平和提高血清总的抗氧化水平有关^[45]。绞股蓝皂甙还可以抑制小鼠巨噬细胞内 iNOS 活性以及 NF- κ B 介导的 iNOS 表达作用,从而减轻大量 NO 产生的毒害作用,绞股蓝皂甙这种抑制作用与其浓度相关,其中 25 μ g/mL 效果最显著^[46]。

血清或者脑脊液中 C 反应蛋白(CRP) 浓度反映了神经元的损害程度,也是脑组织破坏后较合适的生化标记物^[47]。高脂血症后形成的动脉粥样硬化动物伴有血流变异常和炎症反应。如果在高胆固醇饲料和标准饲料中每天给动物添加 5 g/kg 绞股蓝,6 周和 9 周时测得动物血清 CRP 值显著低于高脂血症模型动物组(喂高胆固醇饲料和标准饲料),其效果与在饲料中每天添加辛伐他汀 5 mg/kg 的动物组比较差异无统计学意义。已证明,绞股蓝可以改善由炎症反应导致的血液纤溶系统、血小板功能异常、红细胞的聚集性异常,以及最终导致的循环功能障碍和血脂代谢异常^[48]。

3 讨论

3.1 绞股蓝对脑组织的保护机制有待深入研究

目前利用不同的动物模型或体外实验模型探讨了绞股蓝或复方、以及绞股蓝皂甙对学习记忆障碍的改善作用和对脑组织的保护机制,其作用机制包括清除氧自由基和抗氧化性损伤作用;促进脑组织蛋白质、核

酸合成作用;抑制 Ca^{2+} 超载和神经元凋亡相关基因表达作用;抑制炎症反应;以及改善神经递质功能和生化酶学指标作用。但鉴于神经细胞损伤是一个多因素、多环节、多途径的损伤,绞股蓝和绞股蓝皂甙抗神经细胞损伤的作用也可能是多靶点、多环节的结果。因此,其详细的神经保护机制尚待进一步的实验研究。例如:绞股蓝或绞股蓝皂甙对皮层或海马突触形态结构参数的变化影响;对神经干细胞,特别是内源性神经干细胞分化的影响^[49];以及对学习记忆相关蛋白表达及分子机制信号通路的影响。

3.2 绞股蓝保护脑组织的量效和时效作用有待进一步分析

绞股蓝保护脑组织的量效和时效作用分析表明,用药的时效关系通常是预防给药效果明显优于在造模同时或者之后给药。量效作用,通常在一定剂量范围内,较高剂量组的作用效果优于低剂量组。但对影响绞股蓝作用的量效和时效的诸多因素还有待深入研究,例如,药物在实验动物内的吸收转化;预防给药的最佳时间、给药的最佳剂量与所采用的动物模型、给药方式、药效检测指标等的相关性。

3.3 绞股蓝产品研发趋势

目前主要集中于绞股蓝或绞股蓝皂甙的药理药效研究,而不同产地、萃取溶剂、方法和条件将使绞股蓝或绞股蓝皂甙的成分、含量不同从而影响了药效的结果评价。随着有关绞股蓝皂甙单体对动物学习记忆影响机制的深入研究,以及提取分离纯化单一皂甙成分工艺技术的发展,将有助于定向分离纯化绞股蓝皂甙单体目的成分和研发系列绞股蓝产品。另一方面,尚需进一步研究绞股蓝与其他益智类中药的不同组合配方对动物认知、病理、生化指标的影响,探索复方绞股蓝物质基础与药效、作用机制的相关性,进而为研制出临床上能取得确切疗效的优良复方绞股蓝提供实验依据。

参 考 文 献

- [1] 刘敏华,刘桂芝,刘影响. 绞股蓝 [M]. 北京:中国中医药出版社, 2001:1.
Liu MH, Liu GZ, Liu XY. Gold Theragran [M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2001:1.
- [2] 沈宏伟,肖彦春,车仁国,等. 绞股蓝化学成分研究的现状 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(7): 1561-1564.
Shen HW, Xiao YC, Che RG, et al. Research progress on the chemical ingredients of gynostemma pentaphyllum [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2008, 19(7): 1561-1564.
- [3] Hu Y, Ip FC, Fu G, et al. Dammarane saponins from Gyn-

- nostemma pentaphyllum* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(10):1149-1157.
- [4] Schild L, Chen BH, Makarov P, et al. Selective induction of apoptosis in glioma tumour cells by a *Gynostemma pentaphyllum* extract[J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(8-9):589-597.
- [5] 姚柏春, 袁华, 黄翔. 喂饲绞股蓝皂苷对 $A\beta_{1-40}$ 注射海马后大鼠脑内 COX 活性和线粒体超微结构变化的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2005, 25(10):1193-1195.
- Yao BC, Yuan H, Huang X. Effect of feeding gypenoside on rats' intracerebral COX activities and mitochondrial ultrastructural changes after injection of $A\beta_{1-40}$ [J]. *Chin J Gerontol*, 2005, 25(10):1193-1195.
- [6] 郑新铃, 徐陶, 谢丽霞. 绞股蓝对电休克大鼠记忆障碍的改善作用[J]. *现代生物医学进展*, 2007, 7(12):1808-1810.
- Zheng XL, Xu T, Xie LX. Improving effect of gynostemma on memory dysfunction of electrical shocked rats[J]. *Progr Modern Biomed*, 2007, 7(12):1808-1810.
- [7] Joh EH, Yang JW, Kim DH. Gypenoside LXXIV ameliorates scopolamine-induced learning deficit in mice [J]. *Planta Med*, 2010, 76(8):793-795.
- [8] 邓家刚, 杜正彩, 郝二伟. 复方绞股蓝对小鼠学习记忆及脑内单胺氧化酶活性的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2007, 2(12):692-694.
- Deng JG, Du ZC, Hao EW. Effect of Compound Jiaogulan medicines on memory and brain monoamine oxidase activity of mice[J]. *World J Integr Tradit West Med*, 2007, 2(12):692-694.
- [9] 张晓喻, 黎艳, 雍彬, 等. 复方绞股蓝皂甙改善小鼠学习记忆的研究[J]. *食品科学*, 2007, 28(3):330-333.
- Zhang XY, Li Y, Yong B, et al. Study on gynosaponins compound on ameliorating memory in mice[J]. *Food Sci*, 2007, 28(3):330-333.
- [10] 黎艳. 复方绞股蓝皂苷对小鼠学习记忆的影响[D]. 四川师范大学硕士论文, 2006.
- Li Yan. Effect of Compound Gypenosides on memory of mice[D]. *Postgraduates Theses of Sichuan Normal University*, 2006.
- [11] 任丽丽, 李清君, 李文斌, 等. 全脑缺血再灌注后海马神经元凋亡及组织 NO 含量动态变化的研究[J]. *军医进修学院学报*, 2007, 28(1):51-53.
- Ren LL, Li QJ, Li WB, et al. Dynamic changes in hippocampus neuronal apoptosis and nitric oxide content of hippocampal tissues after global cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Acad J PLA Postgrad Med Sch*, 2007, 28(1):51-53.
- [12] 王海均, 赵洪洋, 熊南翔, 等. 局灶性脑缺血再灌注致大鼠大脑皮层 tau 蛋白异常高度磷酸化[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2009, 38(6):739-744.
- Wang HJ, Zhao HY, Xiong NX, et al. Tau protein phosphorylation induced by focal cerebral ischemia-reperfusion in rat parietal cortex neurons[J]. *Acta Med Univ Sci Technol Huazhong*, 2009, 38(6):739-744.
- [13] 曹晓勃, 张岫美, 魏欣冰, 等. 绞股蓝总皂苷对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中国药理学杂志*, 2002, 37(7):499-501.
- Cao XQ, Zhang XM, Wei XB, et al. Protective effects of gypenosides on focal brain ischemia-reperfusion injury in rats[J]. *Chin Pharm J*, 2002, 37(7):499-501.
- [14] 张莉, 吴光亮, 陈小义, 等. 绞股蓝总皂苷对血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的影响[J]. *中草药*, 2002, 33(4):330-331.
- Zhang L, Wu GL, Chen XY, et al. Protective effect of gypenosides on cerebral cortex and hippocampus in vascular dementia rat[J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2002, 33(4):330-331.
- [15] 齐刚, 杨程, 张莉, 等. 绞股蓝总皂苷对血管性痴呆大鼠海马一氧化氮合酶阳性神经元及核酸的保护作用研究[J]. *中国临床康复*, 2004, 8(28):6257-6259.
- Qi G, Yang C, Zhang L, et al. Protective effects of gypenosides on positive neurons of nitric oxide synthase and nucleic acids in hippocampus of rats with vascular dementia[J]. *J Clin Rehabil Tissue Eng Res*, 2004, 8(28):6257-6259.
- [16] 谢志忠, 朱炳阳, 唐小卿, 等. 一氧化氮与光化学法诱导大鼠脑缺血早期损伤的关系和绞股蓝总皂苷对脑缺血损伤的保护作用[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2003, 8(3):282-285.
- Xie ZZ, Zhu BY, Tang XQ, et al. Relationship between nitric oxide and early ischemic brain damage induced by photochemistry in rats and the protective effects of gypenosides on the damage [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2003, 8(3):282-285.
- [17] 池明宇, 梅学文, 郑贵元, 等. 绞股蓝丹对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. *中医研究*, 2003, 16(4):18-20.
- Chi MY, Mei XW, Zheng GY, et al. Protection of Gold theragran Pellet on local ischemia/reperfusion injury of rats [J]. *Res Tradit Chin Med*, 2003, 16(4):18-20.
- [18] 池明宇, 梅学文, 郑贵元, 等. 绞股蓝丹对小鼠脑缺血再灌注损伤的脑保护作用[J]. *广西中医药*, 2003, 26(4):56-57.
- Chi MY, Mei XW, Zheng GY, et al. Protection of Jiaogulandan on the mouse brain with focal cerebral ischemia reperfusion injury[J]. *Guangxi J Tradit Chin Med*, 2003, 26(4):56-57.
- [19] 韦登明, 饶广勋, 张建明. 绞股蓝总甙对大鼠脑局灶性缺血再灌注神经细胞凋亡影响的实验观察[J]. *中国老年*

- 学杂志, 2004, 24(11): 1046 - 1048.
- Wei DM, Rao GX, Zhang JM. Experimental observation of gypenosides on neurocytes apoptosis of rats' local ischemia/reperfusion injury[J]. Chin J Gerontol, 2004, 24(11): 1046 - 1048.
- [20] 韦登明, 饶广勋, 杨文辉. 绞股蓝总甙对实验性脑缺血损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(1): 20 - 22.
- Wei DG, Rao GX, Yang WH. The protective effects of gypenosides on cerebral injury after focal ischemic reperfusion in rats[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2005, 21(1): 20 - 22.
- [21] Schild L, Roth A, Keilhoff G, et al. Protection of hippocampal slices against hypoxia/hypoglycemia injury by a *Cynostemma pentaphyllum* extract [J]. Phytomedicine, 2009, 16(8): 734 - 743.
- [22] 于志君, 成彩莲. 脑缺血再灌注损伤中凋亡调控基因表达的变化及意义[J]. 武汉科技大学学报(自然科学版), 2006, 29(4): 425.
- Yu ZJ, Cheng CL. Change of apoptosis controlling gene in cerebral ischemia reperfusion injury and its significance [J]. J Wuhan Univ Sci Technol, 2006, 29(4): 425.
- [23] 朱铁梁, 张莉, 齐刚, 等. 绞股蓝总皂苷对全脑缺血再灌注大鼠海马区 c-fos 蛋白表达的影响[J]. 武警医学院学报, 2007, 16(2): 122 - 126
- Zhu TL, Zhang L, Qi G, et al. The effects of gypenosides on expression of c-fos protein on hippocampus in rats after cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Acta Acad Med CPAPF, 2007, 16(2): 122 - 126.
- [24] 朱铁梁, 张莉, 齐刚, 等. 绞股蓝总皂苷对全脑缺血再灌注大鼠海马区 c-Jun 蛋白表达的抑制作用[J]. 武警医学, 2007, 18(5): 347 - 351
- Zhu TL, Zhang L, Qi G, et al. Effect of gypenosides on expression of c-Jun protein in hippocampus of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Med J Chin People's Armed Police Forces, 2007, 18(5): 347 - 351.
- [25] 龚国清, 钱之玉, 周曙. 绞股蓝总皂苷对老化小鼠脑中 MAO 和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性的影响[J]. 中草药, 2001, 32(5): 426 - 428.
- Gong GQ, Qian ZY, Zhou S. Effects of gypenosides on monoamine oxidase and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activities in brain tissues of aging mice[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2001, 32(5): 426 - 428.
- [26] 姜涛, 黄宝康, 张巧艳, 等. 阔叶山麦冬总皂苷对 D-半乳糖衰老小鼠学习记忆及代谢产物的影响[J]. 中西医结合学报, 2007, 5(6): 670 - 674.
- Jiang T, Huang BK, Zhang QY, et al. Effect of *Liriope platyphylla* total saponin on learning, memory and metabolites in aging mice induced by D-galactose[J]. J Chin Integr Med, 2007, 5(6): 670 - 674.
- [27] 安丽霞, 赵俊. 绞股蓝总皂甙对衰老小鼠 DNA 损伤的影响[J]. 中兽医医药杂志, 2007, 6: 16 - 20.
- An LX, Zhao J. Effect of gypenosides (GPS) on DNA damage in senile mice[J]. J Tradit Chin Veter Med, 2007, 6: 16 - 20.
- [28] 王坤. 绞股蓝皂苷对大鼠抗氧化及免疫功能的影响[D]. 东北农业大学硕士论文, 2009
- Wang K. Effect of gypenosides on antioxidation and immune function in rats[D]. Postgraduates Theses of Northeast Agriculture University, 2009.
- [29] 姚柏春, 袁华, 黄翔, 等. 绞股蓝对海马注射 $\text{A}\beta_{1-40}$ 大鼠脑内细胞周期蛋白表达和钙稳态变化的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(8): 1618 - 1622.
- Yao BC, Yuan H, Huang X, et al. Effects of gypenosides on cell cycle-related protein expression and calcium homeostasis in hippocampal neurons of rats treated with β -amyloid₁₋₄₀ [J]. Chin J Pathophysiol, 2006, 22(8): 1618 - 1622.
- [30] 辛华, 商林珊, 刘金成, 等. 绞股蓝抗谷氨酸诱导的氧化性神经毒性[J]. 山东大学学报(医学版), 2004, 42(6): 643 - 647.
- Xin H, Shang LS, Liu JC, et al. Protective effects of gypenoside against oxidative neurotoxicity induced by glutamate[J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2004, 42(6): 643 - 647.
- [31] 曹伟鹏. 绞股蓝皂苷抗谷氨酸诱导的氧化性神经毒性的机制研究[D]. 山东大学硕士论文, 2006.
- Cao WP. The study of gypenosides protecting immature primary cortical neurons from oxidative toxicity induced by glutamate[D]. Postgraduates Theses of Shandong University, 2006.
- [32] 张道来. 绞股蓝皂苷抗谷氨酸氧化性神经损伤保护作用机制研究[D]. 山东大学硕士论文, 2009.
- Zhang DL. The protective mechanism of gypenosides on glutamate-induced oxidative neurotoxicity[D]. Postgraduates Theses of Shandong University, 2009.
- [33] 王旭平, 赵玲, 冯玉新, 等. 绞股蓝总皂苷对谷氨酸诱导的胎鼠大脑皮层神经元氧化性损伤保护机制的研究[J]. 山东大学学报(医学版), 2006, 44(6): 564 - 567
- Wang XP, Zhao L, Feng YX, et al. Protection of gypenoside on glutamate-induced oxidation in the cultured cortical neurons of embryonic rats[J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2006, 44(6): 564 - 567.
- [34] Shang LS, Liu JC, Zhu QJ. Gypenosides protect primary cultures of rat cortical cells against oxidative neurotoxicity[J]. Brain Res, 2006, 1102(1): 163 - 174.
- [35] 刘鲁华, 逯素梅, 孙涛, 等. 绞股蓝皂苷含药血清对谷氨酸氧化神经损伤的保护作用[J]. 山东大学学报(医学版), 2008, 46(4): 370 - 373.

- Liu LH, Lu SM, Sun T, et al. Protective effect of gypenosides-containing serum against oxidation neurotoxicity induced by glutamate[J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2008,46(4):370-373.
- [36] 韩玉霞,魏欣冰,李霞,等. 绞股蓝总皂苷对谷氨酸所致大鼠海马组织损伤的保护作用[J]. 山东大学学报(医学版)2008,46(5):449-453.
- Han YX, Wei XB, Li X, et al. Protective effects of gypenosides against glutamate-induced hippocampus injury in rats[J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2008,46(5):449-453.
- [37] 宋淑亮. 绞股蓝多糖的分离纯化及其药理活性研究[D]. 山东大学硕士论文, 2006
- Song SL. The separation, purification and pharmacological action research of *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharides [D]. Postgraduates Theses of Shandong University, 2006.
- [38] 唐震宇,申向民,周琳,等. 阿司匹林对脑缺血炎症反应的抑制作用[J]. 卒中与神经疾病, 2005,12(5):262-264,268.
- Tang ZY, Shen XM, Zhou L, et al. Aspirin inhibits the inflammation in brain ischemic reperfusion[J]. Stroke Nervous Dis, 2005,12(5):262-264,268.
- [39] 曹霞飞,让蔚清. 炎症反应与阿尔茨海默病[J]. 中国老年学杂志, 2009,29(19):2544-2546.
- Cao XF, Reng WQ. Inflammatory reaction and Alzheimer's disease[J]. Chin J Gerontol, 2009,29(19):2544-2546.
- [40] Zhu T, Yao Z, Yuan HN, et al. Changes of interleukin-1 beta, tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 in brain and plasma after brain injury in rats[J]. Chin Traumatol, 2004,7(1):32-35.
- [41] 徐磊,孙杰,吕然,等. 谷氨酸增加脑缺血-再灌注损伤后脑和肠的炎症反应[J]. 医学研究生学报, 2007,20(9):912-915,919.
- Xu L, Sun J, Lu R, et al. Glutamate up-regulates inflammatory responses of intestine and brain after focal cerebral ischemia[J]. J Med Postgrad, 2007, 20(9): 912-915,919.
- [42] Huang THW, Yuhao Li, Valentina Razmovski-Naumovski, et al. Gypenoside XLIX isolated from *Gynostemma pentaphyllum* inhibits nuclear factor-kappaB activation via a PPAR-alpha-dependent pathway[J]. J Biomed Sci, 2006, 13(4): 535-548.
- [43] Huang THW, Tran VH, Roufogalis BD, et al. Gypenoside XLIX, a naturally occurring PPAR-alpha activator, inhibits cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression and activity in human endothelial cells[J]. Eur J Pharmacol (Eur Pharmacol), 2007,565(1-3):158-165.
- [44] Huang THW, Tran VH, Roufogalis BD, et al. Gypenoside XLIX, a naturally occurring gynosaponin, PPAR-alpha dependently inhibits LPS-induced tissue factor expression and activity in human THP-1 monocytic cells[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2007,218(1):30-36.
- [45] Quan Y, Qian MZ. Effect and mechanism of gypenosides on the inflammatory molecular expression in high-fat induced atherosclerosis rats[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2010, 30(4): 403-406.
- [46] Fugen A, Sheridan H, Basil DR, et al. Gypenosides derived from *Gynostemma pentaphyllum* suppress NO synthesis in murine macrophages by inhibiting iNOS enzymatic activity and attenuating NF-kB-mediated iNOS protein expression[J]. Nitric Oxide, 2003,8(4): 235-242.
- [47] 王振海,方永鹏,谢鹏,等. C-反应蛋白对初发急性脑梗死患者神经功能康复预测的相关性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2004,29(4):471-473.
- Wang ZH, Fang YP, Xie P, et al. Correlation study of neurologic functional rehabilitation and concentrations of serum and cerebrospinal fluid C-reactive protein in patients with acute cerebral infarction[J]. J Chongqing Med Univ, 2004,29(4):471-473.
- [48] 谭华炳,匡颖文. 绞股蓝对高胆固醇饲料饲养兔的血液流变学和C反应蛋白异常的干预研究[J]. 中国微循环, 2007,11(2):108-110.
- Tan HB, Kuang YW. Research of interference effect of five leaf gynostemma herb on haemorheology and abnormal CRP of the rabbits feeding diets rich in hypercholesterolemia[J]. J Chin Microcirc, 2007,11(2):108-110.
- [49] Wu J, Wen TQ. Evaluating effects of gypenosides and soya saponins on differentiation of neural stem cells as an *in vitro* model[J]. J Shanghai Univ, 2008,12(1):91-94.

(收稿:2010-11-01 修回:2011-02-11)