

引用:梅本圆,宋琳,朴钟源,李莉.读书丸调控PI3K/Akt通路改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞线粒体凋亡的机制研究[J].中医药导报,2026,32(1):21-28.

# 读书丸调控PI3K/Akt通路改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞线粒体凋亡的机制研究\*

梅本圆<sup>1</sup>,宋琳<sup>2</sup>,朴钟源<sup>3</sup>,李莉<sup>1</sup>

(1.黑龙江中医药大学基础医学院,黑龙江 哈尔滨 150040;

2.惠州学院生命科学学院,广东 惠州 516007;

3.惠州市第三人民医院/广州医科大学附属惠州医院,广东 惠州 516002)

[摘要] 目的:研究古方读书丸通过线粒体凋亡途径对 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞的保护作用及机制。方法:利用10  $\mu\text{mol/L}$ 的 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞构建体外阿尔茨海默病(AD)模型,CCK-8法检测细胞活力筛选最佳培养时间及读书丸浓度,实验设置对照组、模型组、读书丸低剂量组(0.05 mg/mL)、读书丸中剂量组(0.10 mg/mL)、读书丸高剂量组(0.50 mg/mL)和盐酸多奈哌齐组。各组细胞给药预处理1 h加入 $A\beta_{25-35}$ 诱导48 h,利用试剂盒检测细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、SOD、MDA含量,荧光探针检测线粒体总量、线粒体ROS、线粒体膜电位及通透性转换孔开放水平,透射电镜观察线粒体结构,qRT-PCR检测线粒体DNA拷贝数,蛋白质印迹法(Western blotting)检测PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Bax、Bcl-2、Caspase-3蛋白表达。结果:与对照组比较,模型组HT22细胞活力明显下降,细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、MDA含量增加,SOD含量降低,线粒体总量减少,线粒体ROS增加,线粒体膜电位坍塌下降,线粒体通透性转换孔大量开放,线粒体肿胀、线粒体嵴断裂,线粒体DNA拷贝数降低( $P<0.05$ ),细胞内p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt及Bcl-2蛋白表达减少( $P<0.05$ ),Bax、Caspase-3蛋白表达增加( $P<0.05$ )。与模型组比较,经读书丸干预后, $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞活力明显增加,细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、MDA含量减少,SOD活性升高,线粒体总量增加,线粒体ROS累积减少,线粒体膜电位上升,线粒体通透性转换孔关闭,被破坏的线粒体结构有所改善;读书丸高剂量组线粒体DNA拷贝数增加( $P<0.05$ ),细胞内p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt及Bcl-2蛋白表达增加( $P<0.05$ ),Bax、Caspase-3蛋白表达减少( $P<0.05$ )。结论:读书丸能够明显改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞线粒体氧化应激损伤和细胞凋亡,其潜在作用机制可能与调控PI3K/Akt信号通路有关。

[关键词] 阿尔茨海默病;读书丸;线粒体;氧化应激;凋亡;PI3K/Akt信号通路

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)01-0021-08

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2026.01.004

## Mechanism of Dushu Pill (读书丸) in Ameliorating $A\beta_{25-35}$ -Induced Mitochondrial Apoptosis in HT22 Cells by Regulating the PI3K/Akt Pathway

MEI Benyuan<sup>1</sup>, SONG Lin<sup>2</sup>, PIAO Zhongyuan<sup>3</sup>, LI Li<sup>1</sup>

(1.School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang 150040, China; 2.School of Life Science, Huizhou University, Huizhou Guangdong 516007, China; 3.Huizhou Hospital Affiliated to Guangzhou Medical University/The Third People's Hospital of Huizhou, Huizhou Guangdong 516002, China)

[Abstract] Objective: To investigate the protective effect and mechanism of the ancient formula Dushu pill on  $A\beta_{25-35}$ -induced HT22 cells through the mitochondrial apoptosis pathway. Methods: An in vitro Alzheimer's disease (AD) model was established by inducing HT22 cells with 10  $\mu\text{mol/L}$   $A\beta_{25-35}$ . Cell viability was detected by the CCK-8 method to screen for the optimal culture time and concentration of Dushu pill. The experiment

\*基金项目:广东省基础与应用基础研究基金项目(2024A1515140031);2025年惠州学院自主创新能力提升计划项目(HZU202508)

通信作者:宋琳,女,教授,研究方向为阿尔茨海默病发病机制及中医药防治

was set up with control group, model group, Dushu pill low-dose group (0.05 mg/mL), Dushu pill medium-dose group (0.10 mg/mL), Dushu pill high-dose group (0.50 mg/mL), and donepezil hydrochloride group. After the cells in each group were pretreated with the corresponding drugs for 1 h,  $A\beta_{25-35}$  was added for 48 h of induction. Commercial kits were used to detect intracellular contents of  $A\beta_{1-42}$ , superoxide dismutase (SOD), and malondialdehyde (MDA). Fluorescent probes were used to detect mitochondrial mass, mitochondrial ROS, mitochondrial membrane potential, and the opening level of the mitochondrial permeability transition pore. Mitochondrial structure was observed by transmission electron microscopy. Mitochondrial DNA copy number was detected by qRT-PCR. Protein expression of PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, Bax, Bcl-2, and Caspase-3 was detected by Western blotting. Results: Compared with the control group, the model group showed significantly decreased HT22 cell viability, increased intracellular contents of  $A\beta_{1-42}$  and MDA, decreased SOD content, reduced mitochondrial mass, increased mitochondrial ROS, collapse (decrease) of mitochondrial membrane potential, massive opening of the mitochondrial permeability transition pore, mitochondrial swelling and cristae breakage, and decreased mitochondrial DNA copy number ( $P<0.05$ ). The expression levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and Bcl-2 protein in the cells decreased ( $P<0.05$ ), while the expression of Bax and Caspase-3 protein increased in model group ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, after intervention with Dushu pill, the viability of  $A\beta_{25-35}$ -induced HT22 cells significantly increased, intracellular contents of  $A\beta_{1-42}$  and MDA decreased, SOD activity increased, mitochondrial mass increased, mitochondrial ROS accumulation decreased, mitochondrial membrane potential rose, the mitochondrial permeability transition pore closed, and the damaged mitochondrial structure was improved. In the Dushu pill high-dose group, the mitochondrial DNA copy number increased ( $P<0.05$ ), the expression levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt, and Bcl-2 protein in the cells increased ( $P<0.05$ ), and the expression of Bax and Caspase-3 protein decreased ( $P<0.05$ ). Conclusion: Dushu pill can significantly ameliorate  $A\beta_{25-35}$ -induced mitochondrial oxidative stress damage and apoptosis in HT22 cells, and its potential mechanism may be related to the regulation of the PI3K/Akt signaling pathway.

[Keywords] Alzheimer's disease; Dushu pill; mitochondria; oxidative stress; apoptosis; PI3K/Akt signaling pathway

阿尔茨海默病(alzheimer's disease,AD)是一种以记忆衰退和认知障碍为主要临床特征的中枢神经系统疾病,多发于老年人<sup>[1]</sup>。我国约有1 000万例AD患者,数量居全球之首。随着人口老龄化进程的加快,预计至2050年,我国AD患者数量将突破4 000万<sup>[2]</sup>。AD发病机制目前尚未明确,主要有 $\beta$ -淀粉样蛋白(beta-amyloid peptide,  $A\beta$ )级联<sup>[3-4]</sup>、氧化应激<sup>[5]</sup>、线粒体功能障碍<sup>[6]</sup>及细胞凋亡<sup>[7]</sup>等发病假说。临床治疗AD以盐酸多奈哌齐、美金刚等药物为主<sup>[8]</sup>,但均无法阻断AD的病程进展,亟需寻找新的AD防治策略。

读书丸出自《赤水玄珠·健忘门》<sup>[9]</sup>,全方由菟丝子、远志、五味子、石菖蒲、地骨皮、生地黄和川芎7味药组成,具有滋肾宁心、化痰开窍之功效。孙宏宇等<sup>[10]</sup>研究发现读书丸能够减轻AD小鼠海马组织线粒体损伤,改善小鼠的学习记忆能力。线粒体参与调控细胞氧化应激、凋亡等过程,其功能紊乱在AD发病中起着关键作用。本课题组前期对读书丸冻干粉成分进行质谱分析,并结合网络药理学方法,发现读书丸可能通过调节PI3K/Akt信号通路干预AD。PI3K/Akt信号通路是经典的抗凋亡通路,也是重要的内源性抗氧化通路之一。调控该通路在神经保护方面具有良好作用。基于此,本研究利用 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞构建体外AD模型,研究读书丸对AD线粒体途径凋亡的保护作用及潜在机制。

## 1 材 料

1.1 细胞 小鼠海马神经元细胞(HT22,上海璞贝生物科技有限公司,批号:iCell-m020)。

1.2 药物 读书丸组成:石菖蒲、菟丝子、远志、生地黄、北五味子、川芎各10 g,地骨皮20 g。石菖蒲(批号:22060901)、菟丝子(批号:221201)、远志(批号:230502002)、生地黄(批号:2212D0012022)、北五味子(批号:210801)、川芎(批号:2302C0022016)和地骨皮(批号:20230727)均购于北京同仁堂惠州药店有限责任公司,中药由广州中医药大学惠州医院主任医师刘海全鉴定为正品。上述中药饮片加水浸泡30 min,武火煮沸后改文火煎煮1 h,滤出药液加水二次煎煮,合并两次药液浓缩至生药质量浓度为1 g/mL,将浓缩后的药液分装至无菌器皿中用保鲜膜覆盖,-80 ℃冰箱预冻16 h,待冻干机预冷至-40 ℃后放入冻干仓,启动真空泵,采用阶梯降温法,-60 ℃低温冷冻48 h。读书丸冻干粉外观色泽均匀、结构疏松多孔,成型良好,水分 $\leq 3\%$ ,主要有效成分含量符合标准(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS法),每克冻干粉含生药量6.67 g。用培养基将冻干粉复溶为20 mg/mL的母液,复溶后溶液澄清,无明显异物或沉淀,0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜除菌,-20 ℃密封保存,实验时稀释至所需浓度。

1.3 试剂  $\beta$ -淀粉样蛋白25~35(beta-amyloid peptide 25~35,

$A\beta_{25-35}$ )(北京博奥森生物公司,批号:Y-0044);盐酸多奈哌齐片(植恩生物技术有限公司,批号:02230230);DMEM-F/12培养基(美国Gibco公司,批号:C11330500BT);细胞增殖与毒性检测试剂盒(cell counting kit-8,CCK-8)(大连美仑生物公司,批号:MA0218-3); $\beta$ -淀粉样蛋白1~42( $\beta$ -amyloid peptide 1~42, $A\beta_{1-42}$ )酶联免疫吸附试剂盒(上海江莱生物科技有限公司,批号:JL11386);线粒体活性氧(mitochondria reactive oxygen species,mtROS)检测试剂盒(美国ThermoFisher公司,批号:M36008-1);丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒(批号:S0131S)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)检测试剂盒(批号:S0101S)、线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore,mPTP)检测试剂盒(批号:C2009S)、JC-1荧光探针检测线粒体膜电位(批号:C2006)、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin, $\beta$ -actin)一抗(批号:AF6003)和SDS-PAGE凝胶试剂盒(批号:A231250225)均购自上海碧云天生物公司;实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction,qRT-PCR)试剂盒(广州诺莱希生物公司,批号:AG11701);磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase,PI3K)一抗(批号:N09JL2P)、蛋白激酶B(protein kinase B,Akt)一抗(批号:N24JU5P)、磷酸化-磷脂酰肌醇3-激酶(phosphorylation-phosphatidylinositol 3-kinase,p-PI3K)一抗(批号:N25JL04)、磷酸化-蛋白激酶B(phosphorylation-protein kinase B,p-Akt)一抗(批号:N21MY04)、BCL-2相关X蛋白(BCL-2 associated X protein,Bax)一抗(批号:R380709)、B细胞淋巴瘤因子2(B-cell lymphoma factor 2,Bcl-2)一抗(批号:R23309)和胱天蛋白酶-3(cysteine-specific proteinase 3,Caspase-3)一抗(批号:R23315)均购自成都正能生物技术有限公司;山羊抗兔IgG(HRP)二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号:GB23303)。

1.4 主要仪器  $CO_2$ 细胞培养箱(型号:Heracell 150i)、生物安全柜(型号:1300 SERIE8 A2)、荧光倒置显微镜(型号:EVOS FL)和实时荧光PCR仪(型号:QuabiStudio 7 Flex)均购于美国Thermo Fisher公司;冷冻干燥机(东京理化器械株式会社,型号:FDU-2110);酶标仪(美国Bio Tek公司,型号:Synergy H1);电泳仪(北京六一公司,型号:DYCZ-24DN);化学发光成像系统(英国Syngene公司,型号:Gene Gnome)。

## 2 方 法

2.1 细胞培养 将HT22细胞从液氮中取出后复苏,使用含10%FBS和1%青链霉素双抗的DMEM完全培养基于37℃、5%  $CO_2$ 恒温培养箱中培养,观察细胞生长状态,当细胞密度达到70%~80%时进行传代。

### 2.2 细胞分组与给药

2.2.1 读书丸干预HT22细胞 将细胞接种于96孔板中培养,分为对照组、读书丸1组(0.05 mg/mL)、读书丸2组(0.10 mg/mL)、读书丸3组(0.50 mg/mL)、读书丸4组(1.00 mg/mL)和读书丸5组(5.00 mg/mL),分别干预12 h、24 h、48 h,筛选最佳培养时间。

2.2.2 读书丸干预 $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞 将细胞接种于96孔板中,分为对照组、模型组、读书丸1组(0.05 mg/mL)、读书丸2组(0.10 mg/mL)和读书丸3组(0.50 mg/mL),不同剂量

读书丸组用药物预处理0.5 h、1.0 h和2.0 h后,除对照组外均加入10  $\mu$ mol/L的 $A\beta_{25-35}$ 诱导<sup>[11]</sup>,继续干预48 h,筛选读书丸最佳预处理时间及低、中、高剂量。

2.2.3 盐酸多奈哌齐干预 $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞 将细胞接种于96孔板中,分为对照组、模型组、盐酸多奈哌齐1组(1.00  $\mu$ mol/L)、盐酸多奈哌齐2组(5.00  $\mu$ mol/L)、盐酸多奈哌齐3组(10.00  $\mu$ mol/L)、盐酸多奈哌齐4组(15.00  $\mu$ mol/L)、盐酸多奈哌齐5组(20.00  $\mu$ mol/L),各浓度盐酸多奈哌齐组药物预处理0.5 h、1.0 h和2.0 h后,除对照组外均加入10  $\mu$ mol/L的 $A\beta_{25-35}$ ,继续干预48 h,筛选盐酸多奈哌齐最佳预处理时间及浓度。

2.2.4 后续实验分组 将细胞分为对照组、模型组、读书丸低剂量组(0.05 mg/mL)、读书丸中剂量组(0.10 mg/mL)、读书丸高剂量组(0.50 mg/mL)、盐酸多奈哌齐组(10.00  $\mu$ mol/L)。除对照组外,各组细胞药物预处理1h后加入 $A\beta_{25-35}$ 诱导,所有处理组的细胞均在培养箱中继续培养48 h,进行后续相关实验。

### 2.3 观察指标

2.3.1 CCK-8法检测细胞活力 取对数生长期的细胞制成单细胞悬液,以每孔100  $\mu$ L含 $5 \times 10^4$ 个细胞密度接种于96孔细胞板中,37℃、5%  $CO_2$ 培养箱中培养,待细胞贴壁后,弃原培养基,按“2.2”项下方法进行分组给药干预,每组设置5个复孔,实验重复3次。培养结束后,弃原培养基,每孔加入100  $\mu$ L含10% CCK-8溶液的培养基,于37℃培养箱中避光孵育1 h,酶标仪450 nm波长处测定吸光光度(optical density,OD)值,计算细胞存活率。

2.3.2 HT22细胞形态学变化 将细胞接种于6孔板中培养,待细胞贴壁后,按“2.2.4”项下进行分组,除对照组外,各组细胞药物预处理1 h后加入 $A\beta_{25-35}$ 诱导,继续培养48 h,在显微镜下观察细胞形态。

2.3.3 细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、MDA、SOD水平检测 将细胞接种于培养皿中培养,按“2.2.4”项分组给药处理细胞,收集细胞及细胞上清液,按照试剂盒说明书进行操作,利用酶标仪检测吸光度,绘制标准曲线,计算细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、MDA、SOD含量。

2.3.4 线粒体总量、mtROS、线粒体膜电位、mPTP检测 将细胞接种于24孔板中,按“2.2.4”项下方法分组给药处理后,弃原培养基,PBS清洗2次,配置好所需工作液及缓冲液,随后严格按照试剂盒说明书进行染色、孵育等操作,检测线粒体总量、mtROS、线粒体膜电位、mPTP,利用倒置荧光显微镜观察并拍照,ImageJ软件进行荧光半定量分析。

2.3.5 透射电镜观察线粒体超微结构 将细胞接种于6孔板中,待细胞贴壁后,分组给药干预后,弃原培养基,用胰酶消化后收集细胞至离心管中,1 000 r/min,离心半径10.8 cm,离心5 min后弃上清,加入电镜固定液室温固定30 min,随后进行包埋、制片、拍照观察。

2.3.6 qRT-PCR检测线粒体DNA(mitochondrial DNA,mtDNA)拷贝数 将细胞接种于6孔板中,分组给药干预后收集细胞,用预冷PBS吹打成细胞悬液,1 200 r/min,离心半径10.8 cm,离心10 min,利用DNA提取试剂盒提取细胞DNA,分光光度计检测DNA浓度,制备质粒标准品,按10倍稀释,加入扩增反应体系,运用RT-qPCR法进行扩增,实验结果用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算质粒的拷贝数。所用引物由武汉金开瑞生物工程有限公司设计。(见表1)

表 1 qRT-PCR 引物序列

目的基因	引物(5'-3')	扩增产物片段长度bp
GAPDH	上游引物:TGG CCT TCC GTG TTC CTA C	23
	下游引物:GAG TTG CTG TTG AAG TCG CA	
ND1	上游引物:CTC TGA AGG GTG GAA TAA GCA G	21
	下游引物:ATG GTT GAT TAG CAG TTC CTG G	

2.3.7 蛋白质印迹法(Western blotting, WB)检测相关蛋白 收集药物处理后的细胞,加入细胞裂解液于冰上裂解10 min,离心半径10.8 cm, 12 000 rpm/min,离心5 min后收集上清液,BCA法进行蛋白浓度定量。随后进行制胶、电泳、转膜、封闭,4℃孵育一抗β-actin、PI3K、Akt、p-PI3K、p-Akt、Bax、Bcl-2、Caspase-3(1:1000)过夜,TBST洗涤3次,加入二抗室温孵育1 h,TBST洗涤3次,均匀滴加ECL发光液进行曝光,利用Image J对蛋白条带进行灰度值分析。

2.4 统计学方法 采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。计量资料符合正态分布且方差齐,以“均数±标准差”(x̄±s)表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),两两比较采用LSD-*t*检验。*P*<0.05为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 细胞活力

3.1.1 读书丸对HT22细胞活力的影响 与对照组比较,读书丸5组分别处理HT22细胞12 h、24 h、48 h,均对细胞存活率有明显抑制作用(*P*<0.05);读书丸1~3组处理HT22细胞48 h,能明显提升细胞存活率(*P*<0.01),故后续实验选择48 h作为培养时间。(见表2)

表 2 不同浓度读书丸对 HT22 细胞存活率比较 (x̄±s)

组别	<i>n</i>	12 h	24 h	48 h
对照组	3	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
读书丸1组	3	89.31±7.53	94.48±7.88	112.99±6.92 <sup>b</sup>
读书丸2组	3	85.95±3.47	96.89±1.85	120.89±3.80 <sup>b</sup>
读书丸3组	3	84.84±4.65 <sup>a</sup>	97.37±9.76	126.87±5.11 <sup>b</sup>
读书丸4组	3	85.11±9.92 <sup>a</sup>	85.77±6.97	93.44±4.27
读书丸5组	3	44.62±8.88 <sup>a</sup>	39.36±5.04 <sup>a</sup>	26.29±4.12 <sup>b</sup>
<i>F</i>		16.891	25.323	196.075
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P*<0.05,<sup>b</sup>*P*<0.01。

3.1.2 读书丸对Aβ<sub>25-35</sub>诱导HT22细胞活力的影响 与对照组比较,模型组HT22细胞存活率均明显下降,差异有统计学意义(*P*<0.01);读书丸1~3组预处理0.5 h、1.0 h均明显提高HT22细胞存活率(*P*<0.05或*P*<0.01);读书丸2~3组预处理2.0 h提高细胞存活率(*P*<0.05)。故选择0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.50 mg/mL作为读书丸低、中、高剂量预处理细胞1 h用于后续实验。(见表3)

表 3 不同浓度读书丸对 Aβ<sub>25-35</sub> 诱导 HT22 细胞存活率比较 (x̄±s)

组别	<i>n</i>	0.5 h	1.0 h	2.0 h
对照组	3	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
模型组	3	71.52±2.63 <sup>a</sup>	70.21±3.18 <sup>a</sup>	71.10±4.33 <sup>a</sup>
读书丸1组	3	80.38±6.29 <sup>b</sup>	81.12±2.65 <sup>c</sup>	79.95±9.67
读书丸2组	3	86.96±6.28 <sup>c</sup>	85.55±2.98 <sup>c</sup>	86.55±10.18 <sup>b</sup>
读书丸3组	3	86.23±3.55 <sup>c</sup>	89.92±3.47 <sup>c</sup>	86.67±8.58 <sup>b</sup>
<i>F</i>		13.532	44.401	3.996
<i>P</i>		0.000	0.000	0.023

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P*<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>*P*<0.05,<sup>c</sup>*P*<0.01。

3.1.3 盐酸多奈哌齐对Aβ<sub>25-35</sub>诱导HT22细胞活力的影响 与对照组比较,模型组细胞存活率均下降(*P*<0.01);与模型组比较,不同浓度盐酸多奈哌齐预处理HT22细胞0.5 h、1.0 h、2.0 h后,仅10 μmol/L的盐酸多奈哌齐预处理细胞1.0 h、2.0 h细胞存活率明显提高(*P*<0.05或*P*<0.01)。结合上述实验结果,后续实验选取10 μmol/L的盐酸多奈哌齐预处理HT22细胞1.0 h作为西药对照组。(见表4)

表 4 不同浓度盐酸多奈哌齐对 Aβ<sub>25-35</sub> 诱导 HT22 细胞存活率比较 (x̄±s)

组别	<i>n</i>	0.5 h	1.0 h	2.0 h
对照组	3	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
模型组	3	67.21±3.48 <sup>a</sup>	70.17±4.46 <sup>a</sup>	73.57±6.05 <sup>a</sup>
盐酸多奈哌齐1组	3	71.63±6.45	74.75±5.37	75.27±5.62
盐酸多奈哌齐2组	3	66.45±6.92	75.64±5.68	74.54±4.56
盐酸多奈哌齐3组	3	69.81±6.85	84.84±4.40 <sup>b</sup>	84.34±3.69 <sup>b</sup>
盐酸多奈哌齐4组	3	54.95±4.23 <sup>b</sup>	73.29±4.06	70.67±6.92
盐酸多奈哌齐5组	3	49.59±5.15 <sup>c</sup>	66.75±2.15	63.75±5.28 <sup>b</sup>
<i>F</i>		28.139	6.466	10.965
<i>P</i>		0.000	0.002	0.000

注:与对照组比较,<sup>a</sup>*P*<0.01;与模型组比较,<sup>b</sup>*P*<0.05,<sup>c</sup>*P*<0.01。

3.2 HT22细胞形态学变化 对照组HT22细胞均匀地贴壁于细胞板上,结构完整,密度较高,细胞核无明显固缩,有正常伸出的细胞突起;与对照组比较,模型组细胞贴壁较松散,密度明显减小,分布不均,细胞形态明显改变,细胞突起减少;与模型组比较,读书丸组和盐酸多奈哌齐组细胞受损形态有明显改善,细胞数量增多,结构较完整,以读书丸高剂量组和盐酸多奈哌齐组最为明显。(见图1)

3.3 细胞内Aβ<sub>1-42</sub>、MDA、SOD水平 与对照组比较,模型组细胞内Aβ<sub>1-42</sub>、MDA含量明显增加(*P*<0.01),SOD含量明显降低(*P*<0.01)。与模型组比较,读书丸低剂量组Aβ<sub>1-42</sub>含量降低(*P*<0.05);读书丸中、高剂量组Aβ<sub>1-42</sub>、MDA含量明显降低(*P*<0.05

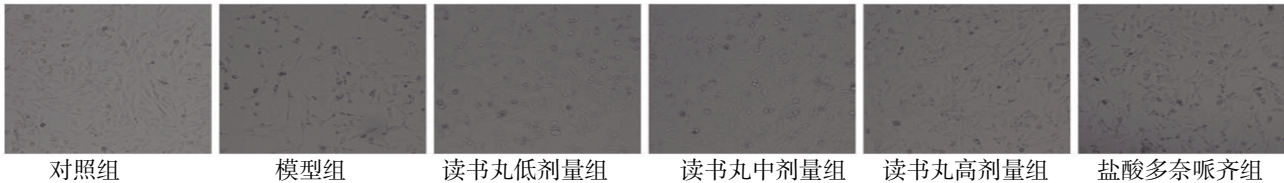


图 1 HT22 细胞形态学变化 (×400)



或 $P<0.01$ ),SOD含量明显增加( $P<0.05$ );盐酸多奈哌齐组 $A\beta_{1-42}$ 、MDA含量明显降低( $P<0.01$ ),SOD含量明显增加( $P<0.05$ )。(见表5)

表5 读书丸对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞内 $A\beta_{1-42}$ 、MDA、SOD的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	$A\beta_{1-42}$	MDA	SOD
对照组	3	$199.41\pm 7.57$	$1.38\pm 0.86$	$11.74\pm 0.99$
模型组	3	$237.52\pm 4.46^a$	$8.79\pm 1.85^a$	$7.54\pm 1.09^a$
读书丸低剂量组	3	$225.51\pm 5.32^b$	$7.37\pm 1.49$	$9.32\pm 0.91$
读书丸中剂量组	3	$213.48\pm 6.94^c$	$6.18\pm 0.88^b$	$9.94\pm 1.17^b$
读书丸高剂量组	3	$214.01\pm 7.66^c$	$5.82\pm 0.78^b$	$10.42\pm 1.25^b$
盐酸多奈哌齐组	3	$202.22\pm 5.70^c$	$5.32\pm 1.16^c$	$10.40\pm 1.55^b$
F		15.067	12.345	4.224
P		0.000	0.000	0.019

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

### 3.4 线粒体总量、线粒体ROS水平 通过绿色TOMM20来标记

线粒体,红色 $\alpha$ -tubulin标记细胞骨架,以TOMM20/ $\alpha$ -tubulin的比例来体现线粒体总量。结果显示,与对照组比较,模型组绿/红荧光比值降低,线粒体数量明显减少( $P<0.01$ )。与模型组比较,读书丸低、中、高剂量组与盐酸多奈哌齐组绿/红荧光比值增加,线粒体数量明显增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),以读书丸高剂量组最为明显。

与对照组比较,模型组ROS荧光强度明显升高( $P<0.01$ ),提示线粒体内ROS累积增加;与模型组比较,读书丸中、高剂量组和盐酸多奈哌齐组荧光强度均明显降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),以读书丸高剂量组最为明显,提示读书丸可以减少 $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞线粒体ROS累积。(见图2~3、表6)

3.5 线粒体膜电位(JC-1探针) 与对照组比较,模型组细胞红/绿荧光比值降低,线粒体膜电位明显下降( $P<0.01$ );与模型组比较,读书丸低、中、高剂量组及盐酸多奈哌齐组红/绿荧光比值增加,线粒体膜电位明显上升( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。(见图4、表6)

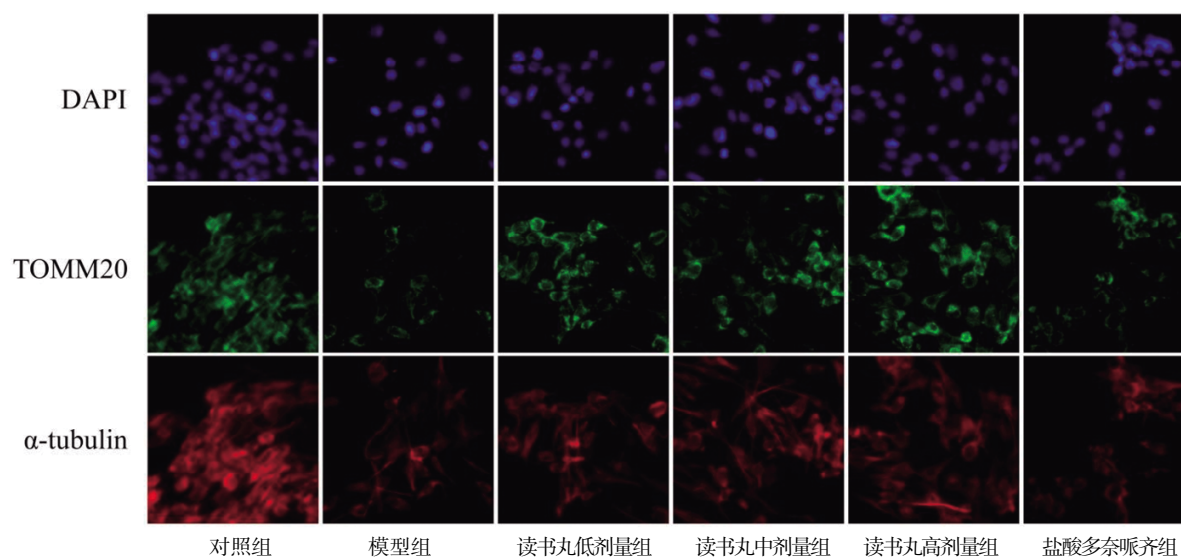


图2 读书丸对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞线粒体总量的影响 (免疫荧光, $\times 100$ )

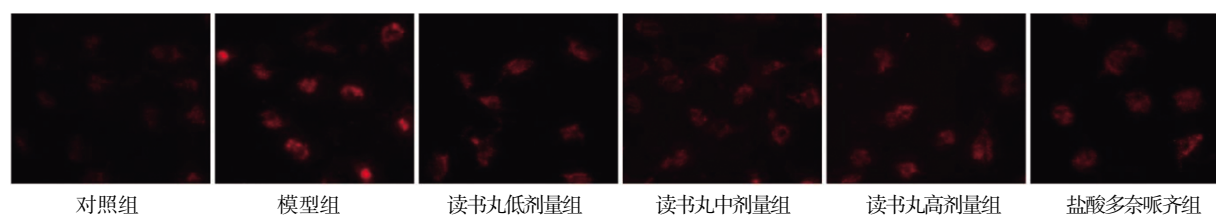


图3 读书丸对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞线粒体 ROS 的影响 (免疫荧光, $\times 100$ )

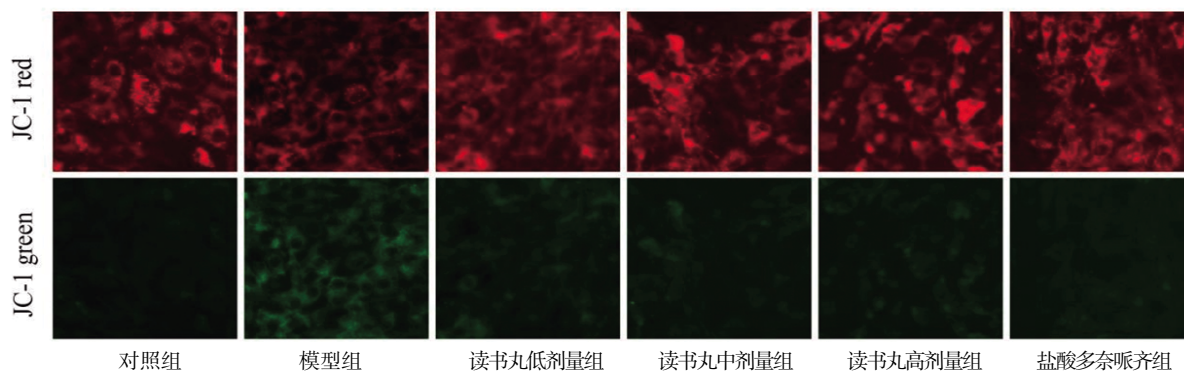


图4 读书丸对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 HT22 细胞线粒体膜电位的影响 (免疫荧光, $\times 100$ )

3.6 线粒体通透性转换孔(mPTP) 与对照组比较,模型组荧光强度明显降低( $P<0.01$ ),提示经 $A\beta_{25-35}$ 诱导后细胞线粒体膜通透性转换孔大量开放;与模型组比较,读书丸低、中、高剂量组及盐酸多奈哌齐组荧光强度明显增加( $P<0.01$ ),提示读书丸可以改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞线粒体膜通透性转换孔开放情况。(见图5、表6)

表6 读书丸对  $A\beta_{25-35}$  诱导 HT22 细胞线粒体损伤相关指标的影响 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	线粒体总量(绿/红)	mtROS	JC-1(红/绿)	mPTP
对照组	3	0.49±0.01	13.36±3.33	4.16±0.83	25.65±2.12
模型组	3	0.27±0.02 <sup>a</sup>	22.82±2.98 <sup>a</sup>	2.37±0.59 <sup>a</sup>	16.41±2.84 <sup>a</sup>
读书丸低剂量组	3	0.41±0.04 <sup>b</sup>	19.95±4.88	3.72±0.26 <sup>b</sup>	23.74±2.15 <sup>c</sup>
读书丸中剂量组	3	0.42±0.06 <sup>b</sup>	14.90±3.01 <sup>b</sup>	3.76±0.85 <sup>b</sup>	23.18±2.09 <sup>c</sup>
读书丸高剂量组	3	0.45±0.04 <sup>c</sup>	13.72±2.61 <sup>c</sup>	4.12±0.76 <sup>c</sup>	24.84±4.82 <sup>c</sup>
盐酸多奈哌齐组	3	0.42±0.12 <sup>b</sup>	16.57±2.34 <sup>b</sup>	4.07±0.61 <sup>b</sup>	22.36±1.43 <sup>c</sup>
F		4.279	3.926	2.986	5.276
P		0.018	0.024	0.046	0.009

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

3.7 线粒体结构 读书丸高剂量组效果最佳,故选择该剂量观察线粒体结构变化。与对照组比较,模型组细胞线粒体发生明显肿胀、线粒体嵴断裂、消失,提示 $A\beta_{25-35}$ 对HT22细胞线粒体结构造成了一定损伤。与模型组比较,读书丸高剂量组细胞线粒体肿胀明显缓解,线粒体嵴排布完整,提示读书丸能改善 $A\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞线粒体受损结构。(见图6)

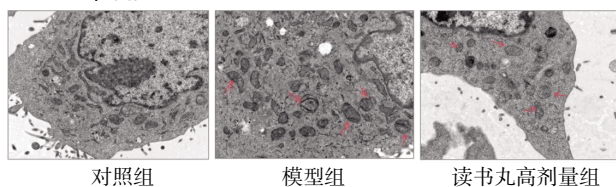
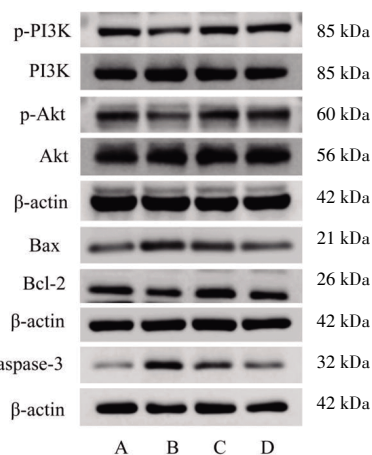


图6 读书丸对  $A\beta_{25-35}$  诱导 HT22 细胞线粒体结构的影响 ( $\times 6000$ )

3.8 qRT-PCR及WB结果 与对照组比较,模型组细胞线粒体DNA拷贝数下降( $P<0.05$ );与模型组比较,读书丸高剂量组及盐酸多奈哌齐组线粒体DNA拷贝数均升高( $P<0.05$ )。

与对照组比较,模型组p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt及Bcl-2蛋白表达降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),Bax、Caspase-3蛋白表达增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。与模型组比较,读书丸高剂量组p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt及Bcl-2蛋白表达增加( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),Bax、Caspase-3蛋白表达降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );盐酸多奈哌齐组p-PI3K/PI3K蛋白表达增加( $P<0.05$ ),Bax、Caspase-3蛋白表达降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。(见图7、表7)



注:A.对照组;B.模型组;C.读书丸高剂量组;D.盐酸多奈哌齐组。

图7 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、Bax、Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达

表7 mtDNA 及凋亡相关蛋白表达 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	mtDNA	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	Bcl-2/β-actin	Bax/β-actin	Caspase-3/β-actin
对照组	3	1.00±0.07	0.99±0.15	0.99±0.11	0.96±0.09	0.85±0.18	0.40±0.09
模型组	3	0.74±0.04 <sup>a</sup>	0.65±0.10 <sup>b</sup>	0.75±0.09 <sup>a</sup>	0.61±0.08 <sup>b</sup>	1.10±0.09 <sup>a</sup>	0.97±0.09 <sup>b</sup>
读书丸高剂量组	3	1.06±0.16 <sup>c</sup>	0.95±0.08 <sup>d</sup>	0.94±0.17 <sup>c</sup>	0.83±0.04 <sup>d</sup>	0.87±0.07 <sup>c</sup>	0.75±0.05 <sup>c</sup>
盐酸多奈哌齐组	3	1.10±0.19 <sup>c</sup>	0.93±0.10 <sup>c</sup>	0.90±0.14	0.66±0.05	0.78±0.10 <sup>d</sup>	0.69±0.17 <sup>c</sup>
F		4.294	6.430	4.930	15.502	4.216	13.107
P		0.043	0.017	0.032	0.001	0.040	0.002

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ 。

#### 4 讨 论

AD是常见的神经退行性疾病,目前治疗手段有限,探索新的AD治疗靶点和策略迫在眉睫。AD属于中医“痴呆”“健忘”等范畴,其病位在脑,病机本虚标实。《黄帝内经》云“脑为髓海”,“肾主骨生髓”。肾精不足则气乏源,髓海失充,气虚日久累及其他脏腑导致气机壅滞、津血运行受阻,衍生痰浊瘀血等病理产物壅塞清窍,引发认知障碍<sup>[12]</sup>。心与肾关系密切。心肾不交、神明失司,亦可导致健忘或痴呆。因此,滋肾宁心、活血化瘀法是临床治疗AD的关键治法。读书丸以滋肾宁心为核心,兼化痰与活血并重。方中菟丝子、五味子补肾宁心以固本;地骨皮、生地黄滋阴清热;辅以远志安神益智、交通心肾;石菖蒲、川芎活血化瘀开窍以治标。诸药合用,相伍相成,标本兼治,恰合AD“心肾亏虚、痰瘀阻窍”的病机,为其治疗提供了理论依据。

研究表明,在AD患者大脑中可以观察到明显的线粒体损伤和神经元凋亡特征<sup>[13]</sup>。凋亡主要分为外源性和内源性两种

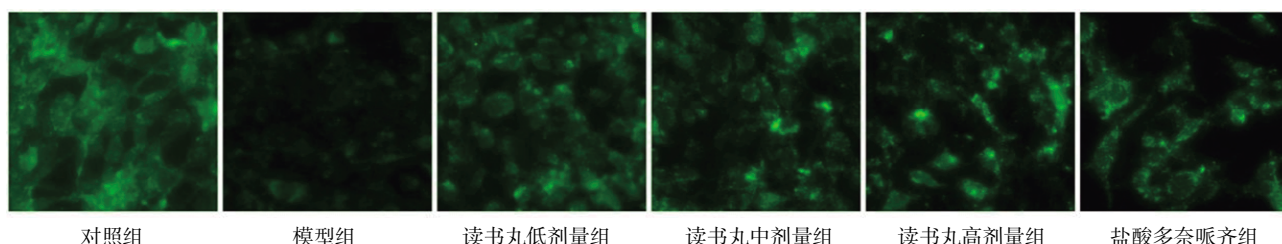


图5 读书丸对  $A\beta_{25-35}$  诱导 HT22 细胞线粒体膜通透性转换孔开放的影响 (免疫荧光, $\times 100$ )

途径。内源性又称线粒体途径,通常在细胞应激条件下发生<sup>[14-15]</sup>。脑内A $\beta$ 过度沉积可致使线粒体结构功能改变<sup>[16]</sup>,抗氧化酶活性降低,从而产生大量过氧化物和ROS攻击细胞膜与线粒体内膜,导致细胞氧化应激,推动神经元的退化和死亡<sup>[17]</sup>。细胞内ROS过量累积高于内环境代谢,则破坏线粒体膜电位,诱导线粒体通透性转换孔开放,引起线粒体功能异常,加剧氧化损伤<sup>[18]</sup>,促使突触功能障碍、神经元胞膜及细胞器结构受损,促进A $\beta$ 聚集和老年斑的形成,导致神经元细胞凋亡<sup>[19]</sup>。这种程序性细胞死亡过程造成海马、皮层等关键脑区神经网络结构破坏,直接导致AD认知衰退与记忆缺损等核心症状。本研究利用A $\beta_{25-35}$ 诱导HT22细胞构建体外AD模型,结果显示,模型组细胞内抗氧化酶SOD活性下降、A $\beta_{1-42}$ 和过氧化物MDA水平增加,导致线粒体内ROS累积、线粒体总量及DNA拷贝数减少,膜电位异常坍塌下降,线粒体通透性转换孔大量开放。电镜观察到线粒体嵴断裂、消失,提示A $\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞线粒体功能障碍,细胞应激损伤。而经读书丸干预后,细胞抗氧化防御增加,SOD水平上升,细胞内A $\beta_{1-42}$ 和MDA水平下降,线粒体ROS累积减少,线粒体总量和DNA拷贝数增加,线粒体膜电位明显恢复,通透性转换孔开放减少。

线粒体凋亡通路受B淋巴细胞瘤2(Bcl-2)家族蛋白调控,主要表现为抗凋亡因子Bcl-2表达抑制,促凋亡因子Bax活化<sup>[20]</sup>,进而引起线粒体外膜通透化,促使细胞色素C和其他促凋亡因子通过线粒体空隙释放至胞质,激活下游胱天蛋白酶如Caspase-3,从而启动细胞凋亡程序<sup>[21-22]</sup>。PI3K/Akt信号通路在细胞生长及凋亡中起着重要作用。PI3K是一种细胞内磷脂酰肌醇激酶,是由催化亚基p110和调节亚基p85组成的异源二聚体。Akt是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,是PI3K下游重要的效应激酶之一<sup>[23]</sup>。Akt被PI3K激活后,通过磷酸化多种下游靶标来参与调控细胞增殖、分化及凋亡过程<sup>[24]</sup>。PI3K/Akt通路可以通过调节线粒体膜通透性相关蛋白Bcl-2家族介导细胞凋亡信号<sup>[25-26]</sup>。有研究发现,激活PI3K/Akt信号通路可减少A $\beta$ 沉积,同时修复线粒体结构及功能,降低ROS含量<sup>[27]</sup>,减少神经元细胞凋亡,发挥对AD的保护作用<sup>[28-29]</sup>。本研究中,模型组细胞内Bcl-2表达下降,Bax及Caspase-3表达增加,p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt下调;相较于模型组,读书丸高剂量组细胞内Bcl-2表达增加,Bax及Caspase-3表达减少,p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt增加,表明读书丸能激活PI3K/Akt信号通路,并抑制促凋亡基因表达,有效减少细胞凋亡的发生。

综上所述,读书丸能够有效改善A $\beta_{25-35}$ 诱导的HT22细胞线粒体结构及功能氧化损伤,减少细胞凋亡,从而发挥神经保护作用,其潜在作用机制可能与调控PI3K/Akt信号通路相关。这一发现为读书丸治疗AD提供了新的实验依据。然而,本研究亦存在一定局限性,一是缺乏动物水平的体内实验验证;二是由于本研究时间较短,未能采用PI3K/Akt通路抑制剂进行联合验证。因此,下一步研究拟用APP/PS1转基因AD小鼠进行体内实验,整合转录组学与网络药理学进一步分析读书丸抗AD的作用机制,并对关键靶点进行验证,以期为后续临床研究读书丸防治AD提供更坚实的理论依据。

## 参考文献

- [1] ZHENG Q Y, WANG X. Alzheimer's disease: Insights into pathology, molecular mechanisms, and therapy [J]. *Protein Cell*, 2025, 16(2): 83-120.
- [2] WANG Q, GAO F, DAIL N, et al. Clinical research investigating Alzheimer's disease in China: Current status and future perspectives toward prevention [J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2022, 9(3): 532-541.
- [3] BEATAB K, WOJCIECH J, JOHANNES K, et al. Alzheimer's disease-biochemical and psychological background for diagnosis and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1059.
- [4] ZHANG H Q, WEI W, ZHAO M, et al. Interaction between a $\beta$  and tau in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(9): 2181-2192.
- [5] LIU E J, ZHANG Y, WANG J Z. Updates in Alzheimer's disease: From basic research to diagnosis and therapies [J]. *Transl Neurodegener*, 2024, 13(1): 45.
- [6] KHAN S, BARVEK H, KUMARM S. Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Curr Neuropsychopharmacol*, 2020, 18(11): 1106-1125.
- [7] TWAROWSKI B, HERBET M. Inflammatory processes in Alzheimer's disease-pathomechanism, diagnosis and treatment: A review [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6518.
- [8] BALÁZS N, BERECSZKI D, KOVÁCS T. Cholinesterase inhibitors and memantine for the treatment of Alzheimer and non-Alzheimer dementias [J]. *Ideggyogy Sz*, 2021, 74(11-12): 379-387.
- [9] 孙一奎.赤水玄珠[M].叶川,建一,校注.北京:中国中医药出版社,1996.
- [10] 孙宏宇,李正敏,翟璐珂,等.基于网络药理学探究读书丸对AD模型小鼠线粒体动力学的调控作用[J].世界科学技术-中医药现代化,2025, 27(1): 255-267.
- [11] CHEN N N, WANG J, HE Y Q, et al. Trilobatin protects against a  $\beta$ (25-35)-induced hippocampal HT22 cells apoptosis through mediating ROS/p38/caspase 3-dependent pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 584.
- [12] 王晓静,赵凰宏,关东升,等.基于“气-痰-瘀”轴探讨老年痴呆中医证治思路[J].中医药导报,2023, 29(6): 114-116, 123.
- [13] SHARMA V K, SINGH T G, SINGH S, et al. Apoptotic pathways and Alzheimer's disease: Probing therapeutic potential [J]. *Neurochem Res*, 2021, 46(12): 3103-3122.
- [14] NGUYENT T, WEI S B, NGUYENT H, et al. Mitochondria-associated programmed cell death as a therapeutic target for age-related disease [J]. *Exp Mol Med*, 2023, 55(8): 1595-1619.
- [15] KUMARI S, DHAPOLA R, REDDY D H. Apoptosis in Alzheimer's disease: Insight into the signaling pathways

- and therapeutic avenues[J]. *Apoptosis*,2023,28(7-8):943-957.
- [16] STROPET A, WILKINSH M. Amyloid precursor protein and mitochondria[J]. *Curr Opin Neurobiol*,2023,78:102651.
- [17] TCHEKALAROVA J, TZONEVA R. Oxidative stress and aging as risk factors for Alzheimer's disease and Parkinson's disease: The role of the antioxidant melatonin[J]. *Int J Mol Sci*,2023,24(3):3022.
- [18] BAI R R, GUO J N, YEX Y, et al. Oxidative stress: The core pathogenesis and mechanism of Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*,2022,77:101619.
- [19] ANZOVINO A, CANEPA E, ALVES M, et al. Amyloid beta oligomers activate death receptors and mitochondria-mediated apoptotic pathways in cerebral vascular smooth muscle cells; protective effects of carbonic anhydrase inhibitors[J]. *Cells*,2023,12(24):2840.
- [20] LALIER L, MIGNARD V, JOALLAND M P, et al. TOM20-mediated transfer of Bcl2 from ER to MAM and mitochondria upon induction of apoptosis[J]. *Cell Death Dis*,2021,12(2):182.
- [21] ALHARBIK M, ALSHEHRIS A, ALMARWANI W A, et al. Effects of cycloastragenol on Alzheimer's disease in rats by reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis[J]. *Curr Alzheimer Res*,2024,21(2):141-154.
- [22] YU Z Y, JIANG N, SU W R, et al. Necroptosis: A novel pathway in neuroinflammation[J]. *Front Pharmacol*,2021,12:701564.
- [23] FONTANA F, GIANNITTI G, MARCHESI S, et al. The PI3K/Akt pathway and glucose metabolism: A dangerous liaison in cancer[J]. *Int J Biol Sci*,2024,20(8):3113-3125.
- [24] VERMA K, JAISWAL R, PALIWAL S, et al. An insight into PI3k/Akt pathway and associated protein-protein interactions in metabolic syndrome: A recent update[J]. *J Cell Biochem*,2023,124(7):923-942.
- [25] XU J W, LI Y, KANG M L, et al. Multiple forms of cell death: A focus on the PI3K/AKT pathway[J]. *J Cell Physiol*,2023,238(9):2026-2038.
- [26] KHEZIM R, GHASEMNEJAD-BERENJI M, MOLODSOURI D. The PI3K/AKT signaling pathway and caspase-3 in Alzheimer's disease: Which one is the beginner?[J]. *J Alzheimers Dis*,2023,92(2):391-393.
- [27] CUI D Q, LIU H X, CAO L L, et al. MST1, a novel therapeutic target for Alzheimer's disease, regulates mitochondrial homeostasis by mediating mitochondrial DNA transcription and the PI3K-Akt-ROS pathway[J]. *J Transl Med*,2024,22(1):1056.
- [28] 彭俊,张杰.中医药通过PI3K/Akt信号通路防治阿尔茨海默病的研究进展[J].*中医药导报*,2022,28(9):105-109.
- [29] WANG J W, ZHANG J Y, YUZ L, et al. The roles of dietary polyphenols at crosstalk between type 2 diabetes and Alzheimer's disease in ameliorating oxidative stress and mitochondrial dysfunction via PI3K/Akt signaling pathways[J]. *Ageing Res Rev*,2024,99:102416.

(收稿日期:2025-05-19 编辑:时格格)

(上接第6页)

- [21] PAN T, XIAO Q, FANHJ, et al. Wuzi Yanzong Pill relieves MPTP-induced motor dysfunction and neuron loss by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated neuroinflammation[J]. *Metab Brain Dis*,2023,38(7):2211-2222.
- [22] TANSEY M G, WALLINGS R L, HOUSER M C, et al. Inflammation and immune dysfunction in parkinson disease[J]. *Nat Rev Immunol*,2022,22(11):657-673.
- [23] 胡梦妮,张小蕾,荣臻,等.电针对MPTP诱导帕金森病小鼠FoXO1/NLRP3通路介导神经炎症的影响[J].*实用医学杂志*,2024,40(11):1494-1499.
- [24] 崔拓拓,曹俊岭,欧阳竞峰,等.大定风珠对帕金森病模型小鼠脑黑质小胶质细胞活化及TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B信号通路的影响[J].*中医杂志*,2023,64(9):930-938.
- [25] 黄瑞松.壮药选编-上册[M].南宁:广西科学技术出版社,2015.
- [26] 黄瑞松.壮药选编-下册[M].南宁:广西科学技术出版社,2019.
- [27] ZHANG C X, ZHOU J Y, ZHUO L X, et al. The TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 and Nrf2/HO-1 pathways mediate the neuroprotective effects of alkaloids extracted from *Uncaria rhynchophylla* in Parkinson's disease[J]. *J Ethnopharmacol*,2024,333:118391.
- [28] ZHANG C X, XUE Z, ZHU L M, et al. Rhynchophylline alleviates neuroinflammation and regulates metabolic disorders in a mouse model of Parkinson's disease[J]. *Food Funct*,2023,14(7):3208-3219.
- [29] HE X L, LIU J Y, LONG G H, et al. 2, 3, 5, 4'-Tetrahydroxystilbene -2-O- $\beta$ -D-glucoside, a major bioactive component from *Polygoni multiflori Radix* (Heshouwu) suppresses DSS induced acute colitis in BALB/c mice by modulating gut microbiota[J]. *Biomed Pharmacother*,2021,137:111420.
- [30] 吴凤荣,曾聪彦,戴卫波,等.宽筋藤醇提物对佐剂性关节炎模型大鼠的影响[J].*中医药导报*,2018,24(7):37-39,47.

(收稿日期:2025-04-21 编辑:时格格)