

• 实验研究 •

湖北海棠叶总黄酮改善衰老大鼠认知功能障碍的研究

周桦¹, 樊强强², 刘基², 翟秉涛², 郭东艳^{2*}

1. 陕西省西咸新区市场监督管理局沣东新城分局, 陕西 西安 710116

2. 陕西中医药大学 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046

摘要:目的 探讨湖北海棠 *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd. 叶总黄酮对衰老大鼠认知功能障碍的影响。方法 选取 48 只雌性 SD 大鼠, 随机分为对照组、模型组、VC 组及湖北海棠叶总黄酮高、中、低剂量组 (150、300、600 mg/kg), 每组 8 只。其中模型组大鼠 ip *D*-半乳糖 200 mg/kg, 对照组 ig 给予等量生理盐水; VC 组 ig VC 溶液 200 mg/kg; 湖北海棠叶总黄酮组 ig 湖北海棠叶总黄酮 150、300、600 mg/kg。连续给药 6 周, 并根据体质量调整给药量。记录大鼠日常活动能力、体质量、记忆功能、氧化指标、炎症因子和病理变化的情况。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠体质量减轻, 学习记忆能力减退, 并且脑组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (CAT) 活力显著下降 ($P < 0.01$), MDA 水平显著增加 ($P < 0.01$)。大鼠脑组织中炎症因子一氧化氮 (NO)、总一氧化氮合成酶 (T-NOS) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 含量显著增加 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 湖北海棠叶总黄酮能显著缩短 Morris 水迷宫实验中衰老大鼠到达平台的潜伏期和到平台的距离, 并降低其穿越平台的次数 ($P < 0.01$); 湖北海棠叶总黄酮能够显著提高脑组织中抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT 活性, 降低 MDA 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 湖北海棠叶总黄酮还可显著降低炎症因子 NO、T-NOS 和 iNOS 含量 ($P < 0.05$ 、 0.01)。**结论** 湖北海棠叶总黄酮对衰老大鼠的认知功能障碍有改善作用, 其机制与通过抗氧化、抗炎作用、恢复神经细胞完整性有关。

关键词: 湖北海棠叶总黄酮; 衰老; 神经元细胞; 认知障碍; 氧化应激; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)05-0917-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.05.001

Improvement of cognitive impairment in aging rats by total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves

ZHOU Hua¹, FAN Qiang-qiang², LIU Ji², ZHAI Bing-tao², GUO Dong-yan²

1. Shaanxi Xixian New Area Administration for Market Regulation Fengdong Branch Office, Xi'an 710116, China

2. Shaanxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Foundation and New Drug Research, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To investigate the effects of total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves on the cognition impairment of aging rats. **Methods** A total of 48 female SD rats were randomly divided into control group, model group, VC group, and total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves high-dose, medium-dose and low-dose groups (150, 300, 600 mg/kg), with 8 rats in each group. Model group was ip *D*-galactose 200 mg/kg, and control group was given normal saline intragaally. VC group ig VC solution 200 mg/kg; total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves group was given 150, 300, 600 mg/kg. Dosing lasted for 6 weeks and was adjusted according to body mass. Daily activity ability, body weight, memory function, oxidation index, inflammatory factors and pathological changes of rats were recorded. **Results** Compared with the control group, the body weight and learning and memory ability of model group were decreased, and the activities of SOD, GSH-Px, and CAT in brain tissue were significantly decreased ($P < 0.01$), while the level of MDA was significantly increased ($P < 0.01$). The contents of inflammatory factors NO, TNOS, and iNOS in rat brain tissue were

收稿日期: 2022-03-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81202905); 陕西中医药大学学科创新团队项目 (2019-YL11); 陕西省教育厅科研项目 (15JF015)

作者简介: 周桦 (1982—), 女, 研究方向为中药复方作用机制研究。E-mail: 13389272241@189.cn

*通信作者: 郭东艳 (1973—), 女, 博士, 教授, 研究方向为中药制剂新剂型及体内过程研究。E-mail: winter180@163.com

significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves could significantly shorten the latency and distance of reaching platform, and reduce the times of crossing platform in Morris water maze test ($P < 0.01$). Total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves could significantly increase the activities of antioxidant enzymes SOD, GSH-Px, and CAT in brain tissue, and reduce the level of MDA ($P < 0.05, 0.01$). The contents of inflammatory factors NO, T-NOS, and iNOS were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves has an ameliorative effect on cognitive impairment in aging rats, and the mechanism is related to the restoration of neuronal cell integrity through antioxidant and anti-inflammatory effects.

Key words: total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves; aging; neuronal; cognitive impairment; oxidative stress; inflammatory factors

衰老是导致正常细胞调节功能障碍的关键因素,影响神经系统、免疫系统和心血管系统等多种系统^[1]。大脑是衰老过程中最重要的器官^[2]。大脑衰老的特点是广泛的行为异常,以及氧化应激增加、线粒体功能受损、炎症反应、聚集蛋白沉积和神经元凋亡激活等,这些因素共同导致神经元的丢失或神经退化^[3]。神经元变性是各种与衰老相关的神经变性疾病的主要病理特征,如阿尔茨海默病帕金森病等神经疾病,临床表现为记忆障碍、运动功能障碍、认知缺陷、情绪和行为问题^[4-5]。因此,如何延缓脑老化、改善记忆认知能力,对神经系统退行性疾病的防治具有重大意义。目前临床常用的认知障碍治疗药物包括胆碱酯酶抑制剂类、钙拮抗剂类、吡咯烷类等,具有机制确切、疗效肯定等优点。然而,长期使用具有一定的副作用,如厌食、腹泻、恶心、呕吐等^[6-7]。近年来,天然产物在治疗认知功能障碍方面以其疗效确切、作用稳定、毒副作用小等特点突显出优势。湖北海棠 *Malus hupehensis* (Pamp.)Rehd.为蔷薇科苹果属植物,又名花红茶、野海棠等,主分布于湖北西部海拔 1 500~2 600 m^[8]。现代化学成分及药理研究表明,黄酮类成分是湖北海棠的主要活性成分,具有降血糖、调血脂、抗氧化、雌激素样活性和抗病原微生物等作用^[9]。课题组前期研究发现,湖北海棠叶总黄酮能够清除自由基,提高相关抗氧化酶的活性,具有良好的抗衰老功效^[10]。然而,其是否能改善衰老大鼠认知障碍尚不清楚。因此,本实验采用 D-半乳糖建立衰老大鼠模型,研究湖北海棠叶总黄酮对衰老大鼠学习记忆能力的影响,并探讨其可能的作用机制,以期湖北海棠药食功能的进一步开发利用提供依据。

1 实验材料与方法

1.1 试剂与仪器

湖北海棠叶(天津尖峰天然产物研究开发有限公司,批号 20170710),经陕西中医药大学王继涛教授鉴定为蔷薇科苹果属湖北海棠 *Malus*

hupehensis (Pamp.) Rehd.的干燥叶; BCA 蛋白浓度测定试剂盒(博士德生物科技有限公司,批号 13D14846); 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px,批号 2081106)、过氧化氢酶(CAT,批号 20181106)、超氧化物歧化酶(SOD,批号 20181106)、丙二醛(MDA,批号 20181109)、一氧化氮(NO,批号 20181112)、总一氧化氮合酶(TNOS,批号 20181112)和诱导型一氧化氮合成酶(iNOS,批号 20181112)试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 乌拉坦(上海山浦化工有限公司,批号 20180412); D-半乳糖(上海源叶生物科技有限公司,批号 426J8C4054); VC(天津市天力化学试剂有限公司,批号 20170718); HPD100 型大孔树脂(陕西博晖生化科技有限公司,批号 160809); 生理盐水(山东齐都药业有限公司,批号 10B18091004); 其他试剂均为分析级。

GQ76 型管式离心机(上海市离心机械研究所有限公司); Centrifuge 1580R 型台式冷冻高速离心机(基因有限公司); BIO-RAD Model680 型酶标仪(北京伯乐生命科学发展有限公司); Scientz-48 型高通量组织研磨器(宁波生物技术有限公司); Morris 水迷宫(上海信润信息技术有限公司); 显微镜(DM4000B,日本徕卡)。

1.2 动物

SD 大鼠,雌性,体质量(200±20)g,动物生产许可证号: SCKX(川)2015-030,清洁级。

1.3 湖北海棠叶总黄酮的制备

按照文献方法^[11]制备湖北海棠叶总黄酮,即湖北海棠叶加入 8 倍量 70%乙醇回流提取 2 次,每次 150 min; 大孔树脂进行湿法装柱,树脂与药材的质量比为 1:1.74,加入质量浓度为 0.15 g/mL 的药液以 2 BV/h 的流速进行吸附后,先用 4 BV/h 水进行洗脱除杂,再用 1 BV/h 的流速用 70%乙醇进行洗脱,收集洗脱液。减压干燥后打粉备用,经测定总黄酮质量分数可达 96.4%。

1.4 实验方法

1.4.1 试验动物分组、造模及处理 选取 48 只雌性 SD 大鼠, 适应饲养 1 周后随机分为 6 组, 即对照组、模型组、VC 组以及湖北海棠叶总黄酮高、中、低剂量组, 每组 8 只。参照课题组前期研究结果^[10], 建立 *D*-半乳糖诱导的大鼠亚急性衰老模型。其中对照组 ig 给予等量生理盐水; 模型组大鼠 ip *D*-半乳糖 200 mg/(kg·d); VC 组 ig VC 溶液 200 mg/kg; 湖北海棠叶总黄酮组 ig 湖北海棠叶总黄酮 150、300、600 mg/kg^[10]。连续给药 6 周, 并根据体重调整给药量。

1.4.2 Morris 水迷宫试验 Morris 水迷宫实验是根据文献描述进行^[12], 在处理前对大鼠进行连续 5 d (每天 6 次试验) 的训练, 以找到逃逸的平台。该平台隐藏在游泳池 (直径 160 cm, 高度 60 cm) 中, 固定于距水面 1 cm 处。游泳池被分成 4 个相等的象限。在整个训练和测试期间, 游泳池周围的箭头杆始终保持在同一位置。经过 5 d 的训练, 每只大鼠被允许游泳 120 s。找到平台后, 大鼠停留 15 s。除此之外, 未能在规定时间 (120 s) 内定位平台的大鼠被放置在平台上 15 s, 逃逸潜伏期为 120 s。之后, 移除平台, 将大鼠置于与目标象限相反的象限内, 允许其自由游泳 120 s, 记录大鼠在目标象限中平台跨越的次数, 数据由自动跟踪系统记录分析。

1.4.3 脑组织采集及生化分析 水迷宫试验后, 大鼠不进食, 但可自由饮水 12 h。大鼠麻醉后迅速分离大脑。取部分脑组织, 用 0.9% NaCl 溶液制备脑组织匀浆, 于 4 °C 下 3 500 r/min 离心 15 min, 收集上清液, -80 °C 保存, 用于分析。按照试剂盒说明检测脑组织匀浆中 SOD、GSH-Px、CAT、MDA、NO、T-NOS 和 iNOS 含量, 脑组织匀浆的蛋白含量采用 BCA 试剂盒测定。

1.4.4 组织病理学检查 将脑组织置于 10% 福尔马林浸泡 24 h, 然后用乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 切片 (5~7 μm), 苏木精-伊红 (HE) 染色, 在显微镜下观察组织病理形态。

1.5 统计分析

所有实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并使用 SPSS 19.0 进行统计分析。

2 结果

2.1 湖北海棠叶总黄酮对 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠行为及体质量的影响

在实验的 6 周期间, 每周观察并记录大鼠的日

常外观、行为活动和体质量。对照组大鼠精神状态良好, 活泼、活跃、敏捷, 饮食健康。如图 1 所示, 在 *D*-半乳糖注射第 4 周后, 模型组大鼠体质量增长呈下降趋势, 并伴有明显衰老迹象, 包括行动缓慢、饮食量减少、抑郁和毛发干燥, 这些现象初步表明通过 ip *D*-半乳糖诱导的衰老模型建立成功。与模型组相比, VC 组和湖北海棠叶总黄酮各剂量组大鼠的上述衰老特征均有不同程度的消退。

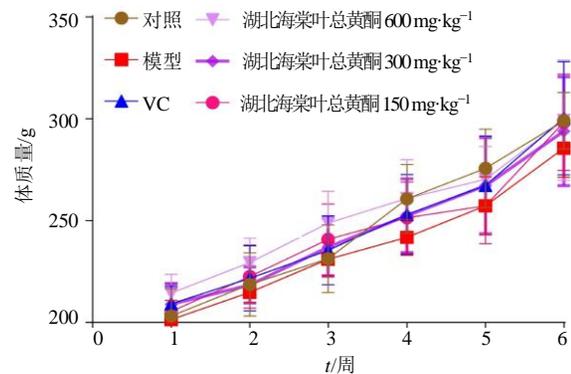
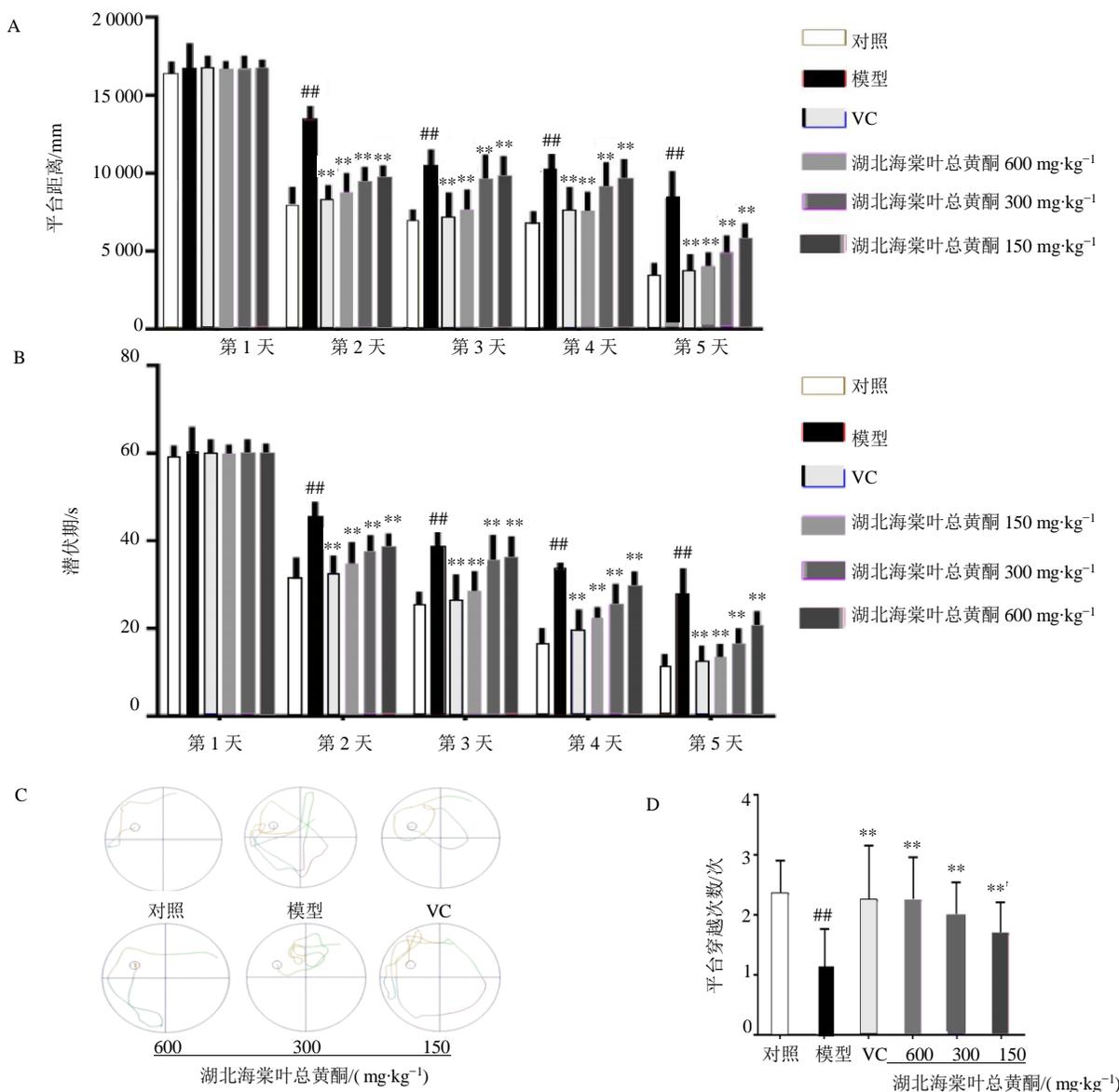


图 1 湖北海棠叶总黄酮对大鼠体质量影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)
Fig. 1 Effect of total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves on body weight after treatment ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

2.2 湖北海棠叶总黄酮对 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠学习记忆的影响

Morris 水迷宫实验结果表明, 训练后大鼠的潜伏期和到平台的距离都有所降低。图 2-A 为训练后 5 d 内各组到平台的距离。与对照组比较, 第 2 天后模型组大鼠离平台的距离明显增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, VC 组和湖北海棠叶总黄酮给药组大鼠离平台的距离不同程度缩短 ($P < 0.01$)。湖北海棠叶总黄酮高剂量组与 VC 组离平台的距离相近。图 2-B 显示大鼠寻找平台的潜伏期。与对照组相比, 第 2 天后模型组大鼠的平台潜伏期显著延长 ($P < 0.01$); 与模型组比较, VC 组和湖北海棠叶总黄酮给药组大鼠平台潜伏期不同程度缩短 ($P < 0.01$)。表明 *D*-半乳糖模型大鼠存在显著的记忆障碍, 而湖北海棠叶总黄酮高剂量组和 VC 组的平台潜伏期与对照组相近。图 2-C 为第 6 天大鼠到达平台的路径, 发现对照组大鼠到达平台的距离最短, 而模型组大鼠到达平台的距离较长, VC 组和湖北海棠叶总黄酮给药组均有不同程度的改善。图 2-D 为大鼠撤掉平台后穿越平台的次数。与对照组比较, 模型组大鼠穿越平台次数明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, VC 组和湖北海棠叶总黄酮给药组



A-到目标平台的距离 B-逃逸潜伏期 C-第 5 天游泳轨迹图 D-穿越平台次数
与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$

A-distance to target platform B-escape incubation period C- swimming track chart on day 5 D- number of platform crossings
$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs model group

图 2 Morris 水迷宫实验 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 2 Morris water maze experiment ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

均显著升高 ($P < 0.01$)。这些结果表明, *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠学习记忆障碍模型成功建立, 而湖北海棠叶总黄酮对大鼠的记忆能力有明显的改善作用。

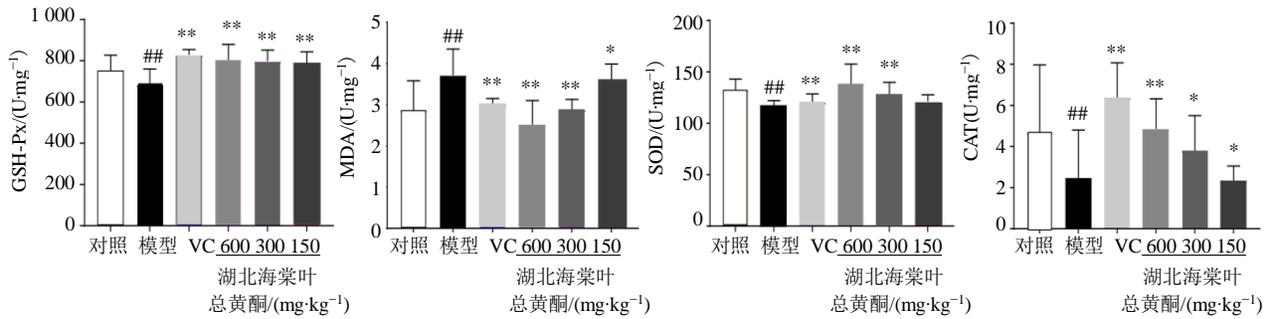
2.3 湖北海棠叶总黄酮对 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠脑组织中氧化指标的影响

由图 3 可知, 与对照组相比, 模型组中 GSH-Px、SOD、CAT 水平显著降低 ($P < 0.01$), MDA 水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比, VC 组和湖

北海棠叶总黄酮 600、300 mg/kg 组 GSH-Px、SOD、CAT 水平均显著升高 ($P < 0.01$), MDA 降低 ($P < 0.01$), 其中 600 mg/kg 组与 VC 组比较接近。结果表明, 湖北海棠叶总黄酮具有抗氧化潜力, 可增加抗氧化能力, 减少衰老造成的损害。

2.4 湖北海棠叶总黄酮对 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠脑组织炎症因子的影响

由图 4 可知, 与对照组相比, 模型组中炎症因子 NO、TNOS 和 iNOS 水平显著升高 ($P < 0.01$)。

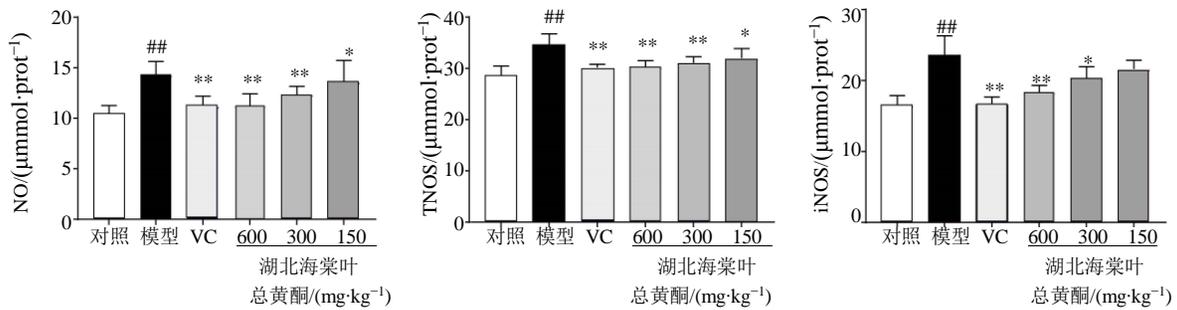


与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图 3 湖北海棠叶总黄酮对脑组织中 GSH-Px、MDA、SOD 和 CAT 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Effect of total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves on the content of GSH-Px, MDA, SOD, and CAT ($\bar{x} \pm s, n = 8$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图 4 湖北海棠叶总黄酮对炎症因子 NO、TNOS 和 iNOS 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 4 Effect of total flavonoids of *Malus hupehensis* leaves on the content of NO, TNOS, and iNOS ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

与模型组相比, VC 组和湖北海棠叶总黄酮 600、300 mg/kg 组 NO、TNOS 和 iNOS 水平均显著降低 ($P < 0.01$), 其中高剂量组抗炎效果较好, 接近 VC 组。结果表明, 湖北海棠叶总黄酮可以通过抗炎作用减轻衰老过程中炎症因子释放对脑组织的损伤。

2.5 组织病理学观察

图 5 显示海马 CA1 区组织病理学改变。其中模型组大鼠海马 CA1 区神经细胞排列疏松, 细胞数量较少, 间质间隙较多, 细胞形态不同且大多不完整, 可见三角形、锥状等不同形态的细胞, 并伴有细胞

核固缩。与模型组比较, VC 组和湖北海棠叶总黄酮组海马 CA1 区神经元排列紧密。细胞数量增多, 细胞大而圆。细胞核大部分位于细胞中央, 颜色较浅, 结构较完整。提示湖北海棠叶总黄酮对衰老大鼠的脑组织具有保护作用。

3 讨论

本研究分析了湖北海棠叶总黄酮对 D-半乳糖诱导的衰老大鼠模型的神经保护作用, 并初步探讨了其可能的作用机制。目前的研究表明, 长期注射 D-半乳糖后, 模型组大鼠伴有明显的衰老迹象, 包

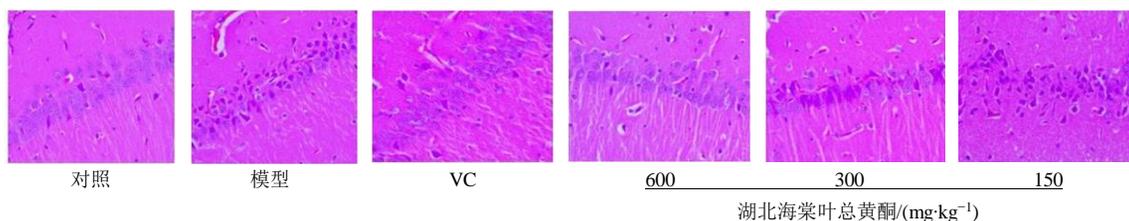


图 5 各组海马 CA1 组织病理学观察 ($\times 400$)

Fig. 5 Histopathological observation of CA1 of hippocampus in different groups ($\times 400$)

括运动缓慢、进食量逐渐减少、抑郁和皮毛干燥,表明构建衰老模型成功。此外, *D*-半乳糖还诱导大鼠大脑中与衰老相关的改变,表现为空间学习和记忆障碍、抗氧化酶活性异常和神经炎症等。而湖北海棠总黄酮提取物治疗可以改善 *D*-半乳糖引起的损伤。

学习和记忆障碍被认为是与衰老相关的神经退行性疾病的临床表现^[13]。越来越多的证据表明,大脑中的氧化应激和神经炎症可能在认知能力下降的病理生理学中起着关键作用^[12]。实际上,脑组织具有高氧需求、高水平不饱和脂质和抗氧化防御机制相对缺乏的特点,更容易遭受氧化应激的攻击而损伤神经细胞,导致海马突触可塑性受到损害,降低认知能力^[14]。在本研究中,衰老大鼠的认知能力通过 Morris 水迷宫测试。结果表明, *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠模型到目标平台的距离和逃逸潜伏期更长,跨平台次数减少,这表明 *D*-半乳糖可能损伤了大鼠的神经细胞,从而降低了认知能力。为此,使用 HE 染色来评估湖北海棠叶总黄酮对海马神经细胞的影响。结果表明,长期注射 *D*-半乳糖造成大鼠神经元细胞受损,这直接导致大鼠学习和记忆能力下降。然而,湖北海棠叶总黄酮对衰老大鼠神经细胞损伤具有修复作用,从而改善了大鼠学习记忆能力,可以发现治疗后大鼠逃逸潜伏期降低和跨越平台次数增加。

有证据表明,氧化应激是神经元细胞损伤的主要诱因^[15]。氧化应激可通过增加脂质过氧化和削弱抗氧化防御系统,进而导致学习和记忆障碍^[16]。为了证实湖北海棠叶总黄酮改善神经元损伤所致学习记忆障碍的作用是否与其抗氧化活性有关,检测了大鼠脑组织中 SOD、CAT、GSH-Px、MDA 的活性。SOD 作为体内最重要的抗氧化酶,通过清除过量的自由基,减轻机体氧化应激损伤^[17]。CAT 是另一种重要的抗氧化酶,可维持体内 H₂O₂ 的动态平衡,迅速将 H₂O₂ 分解为 H₂O 和 O₂,并防止 H₂O₂ 在细胞中的异常积累^[18]。GSH-Px 的主要作用是阻断脂质过氧化的链式反应,催化脂质过氧化物转化为无毒的羟基化合物。MDA 是自由基链式反应诱导的脂质过氧化产物,已被用作评估氧化损伤的标志物^[18-19]。在这项研究中发现 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠抗氧化能力显著下降,而湖北海棠叶总黄酮能显著降低 *D*-半乳糖诱导的大鼠脑组织 MDA 水平,提高 SOD, CAT 和 GSH-Px 水平。这些结果表明,

湖北海棠叶总黄酮对学习记忆障碍的保护作用可能是通过抑制氧化应激来实现的。

此外,脑内持续的氧化应激不仅会导致神经元损伤,还会激活炎性细胞因子的释放,对神经元细胞造成额外的损伤,从而加剧包括阿尔茨海默病在内的神经退行性疾病的发展^[21]。NO 是一种高度反应性的信号分子,它在中枢神经系统中起着神经调节器的作用,参与突触可塑性的不同机制,包括在大脑学习记忆中发挥关键作用^[20]。iNOS 是重要的炎性因子,属于一氧化氮合酶(NOS)家族,与 NO 的产生密切相关。正常生理情况下 iNOS 表达极少,而持续的氧化应激可以增加细胞因子驱动的 iNOS 的表达,这伴随着 NO 产生的增加,而过量的 NO 可以与超氧化物反应,产生强氧化剂 H₂O₂,增加脂质过氧化,这将损伤海马区神经元,导致记忆力减退和退化性疾病的恶化^[21-22]。进一步的研究表明,湖北海棠叶总黄酮治疗可显著降低衰老大鼠脑组织中炎性因子 NO、TNOS 和 iNOS 的含量,表明湖北海棠叶总黄酮可以通过减轻神经炎症而改善衰老大鼠对学习记忆能力。

本研究结果表明湖北海棠叶总黄酮可显著改善 *D*-半乳糖诱导的衰老大鼠学习记忆障碍,表现为通过减轻氧化应激损伤和神经炎症来改善衰老造成的神经元细胞损伤。因此,湖北海棠叶总黄酮可能是预防和治疗学习记忆障碍的潜在治疗药物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 卢春雪,杨绍杰,陶荟竹,等. 衰老机制研究进展 [J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(1): 248-250.
- [2] 李兴安,蒋滢. 脑细胞的基因及其表达与衰老 [J]. 氨基酸和生物资源, 2003(1): 58-61.
- [3] Jellinger K A. Cell death mechanisms in neurodegeneration [J]. *J Cell Mol Med*, 2001, 5(1): 1-17.
- [4] Amor S, Puentes F, Baker D, et al. Inflammation in neurodegenerative diseases [J]. *Immunology*, 2010, 129(2): 154-169.
- [5] Solanki I, Parihar P, Parihar M S. Neurodegenerative diseases: From available treatments to prospective herbal therapy [J]. *Neurochem Int*, 2016, 95: 100-108.
- [6] Marucci G, Buccioni M, Ben D D, et al. Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2021, 190: 108352.
- [7] Wang J M, Irwin R W, Liu L F, et al. Regeneration in a degenerating brain: Potential of allopregnanolone as a

- neuroregenerative agent [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2007, 4(5): 510-517.
- [8] 陈雅林, 谭哲谔, 彭勇. 湖北海棠叶的应用历史与研究现状 [J]. *中国现代中药*, 2017, 19(10): 1505-1510.
- [9] 李艳, 黎开燕. 湖北海棠的化学成分和药理活性研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(2): 226-229.
- [10] Liu J, Guo D, Fan Y, *et al.* Experimental study on the antioxidant activity of *Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd extracts *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Cell Biochem*, 2019. DOI: 10.1002/jcb.28469.
- [11] 郭东艳, 王幸, 唐志书, 等. 湖北海棠总黄酮纯化工艺研究 [J]. *医学研究杂志*, 2014, 43(12): 33-36.
- [12] Liang J, Wu Y, Yuan H, *et al.* *Dendrobium officinale* polysaccharides attenuate learning and memory disabilities via anti-oxidant and anti-inflammatory actions [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 126: 414-426.
- [13] 张丽梅, 程永强, 宋曙辉. 紫山药多糖对 *D*-半乳糖衰老模型大鼠肝、脑的影响 [J]. *食品科学*, 2017, 38(13): 196-200.
- [14] Zhong S Z, Ge Q H, Qu R, *et al.* Paeonol attenuates neurotoxicity and ameliorates cognitive impairment induced by *D*-galactose in ICR mice [J]. *J Neurol Sci*, 2009, 277(1-2): 58-64.
- [15] Garcez M L, Cassoma R, Mina F, *et al.* Folic acid prevents habituation memory impairment and oxidative stress in an aging model induced by *D*-galactose [J]. *Metab Brain Dis*, 2021, 36(2): 213-224.
- [16] Safdar A, Zakaria R, Aziz C, *et al.* Goat milk attenuates mimetic aging related memory impairment via suppressing brain oxidative stress, neurodegeneration and modulating neurotrophic factors in *D*-galactose-induced aging model [J]. *Biogerontology*, 2020, 21(2): 203-216.
- [17] Ramesh T, Kim S W, Sung J H, *et al.* Effect of fermented *Panax ginseng* extract (GINST) on oxidative stress and antioxidant activities in major organs of aged rats [J]. *Exp Gerontol*, 2012, 47(1): 77-84.
- [18] Liu B, Ma R, Zhang J, *et al.* Preventive effect of small-leaved kuding tea (*Ligustrum robustum* (Roxb.) Bl.) polyphenols on *D*-galactose-induced oxidative stress and aging in mice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 3152324.
- [19] Li, S S, Liu M, Zhang C, *et al.* Purification, *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-aging activities of soluble polysaccharides by enzyme-assisted extraction from *Agaricus bisporus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 109: 457-466.
- [20] Siles E, Martínez-Lara E, Cañuelo A, *et al.* Age-related changes of the nitric oxide system in the rat brain [J]. *Brain Res*, 2002, 956(2): 385-292.
- [21] Cau S, Carneiro F S, Tostes R C. Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: Therapeutic opportunities [J]. *Front Physiol*, 2012, 3: 218.
- [22] Zhao H, Li J, Zhao J, *et al.* Antioxidant effects of compound walnut oil capsule in mice aging model induced by *D*-galactose [J]. *Food Nutr Res*, 2018: 62.

[责任编辑 高源]