

开心散药效物质基础和药理作用机制的研究进展

王瑾^{1,2}, 周小江¹, 胡园¹, 陈超¹, 段冬梅¹, 刘屏^{1*}, 董宪喆^{3*}

1. 中国人民解放军总医院临床药理研究室, 北京 100853

2. 山西中医药大学中药学院, 山西 晋中 030619

3. 首都医科大学宣武医院药物研究室, 北京 100053

摘要: 开心散始载于唐代孙思邈的《备急千金要方》, 由人参、茯苓、远志、石菖蒲 4 味药按 3:3:2:2 的比例组成。开心散发挥药理作用的物质基础主要涉及人参皂苷、远志皂苷、远志糖酯和远志酮, 而茯苓、石菖蒲的活性成分是否为开心散的药效成分的研究较少, 研究范围较局限; 开心散药理作用的研究主要集中在抗抑郁作用、抗老年痴呆、改善学习记忆能力、抗疲劳和镇静安神等方面, 涉及机制包括神经系统、免疫系统和内分泌系统。对开心散的药效物质基础、药理作用及其机制进行较为系统的阐述, 以期对日后开心散的临床应用提供一定的思路。

关键词: 开心散; 药效物质基础; 适应症; 药理作用; 作用机制

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)18-4780-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.18.023

Research progress on pharmacodynamic material basis and pharmacological action mechanism of Kai-Xin-San

WANG Jin^{1,2}, ZHOU Xiao-jiang¹, HU Yuan¹, CHEN Chao¹, DUAN Dong-mei¹, LIU Ping¹, DONG Xian-zhe³

1. Laboratory of Clinical Pharmacology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

2. College of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

3. Department of Drug Research, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China

Abstract: Kai-Xin-San (KXS) is a well-known formula that was first recorded in an ancient Chinese book “*Important Prescriptions Worth a Thousand Gold for Emergency*” by Si-miao Sun from the Tang Dynasty. KXS is composed of *Panax ginseng*, *Poria cocos*, *Polygala tenuifolia*, and *Acorus tatarinowii* at a ratio of 3:3:2:2. The material basis of the pharmacological action of KXS is mainly related to ginsenosides, polygala saponins, polygala oligosaccharide esters, and polygalactone. However, the active components of *P. tenuifolia* and *A. tatarinowii* are less studied, and the research scope is limited. The pharmacological researches of KXS are mainly focused on antidepressant effect, antisenile dementia, improving learning and memory ability, antifatigue, and sedation. The mechanisms involved include nervous system, immune system and endocrine system. The material basis, pharmacological effects and known mechanisms of KXS are systematically described in this paper in order to provide some ideas for the clinical application of KXS in the future.

Key words: Kai-Xin-San; pharmacodynamics substance basis; indication; pharmacological effects; mechanism of action

开心散始载于孙思邈的《备急千金要方》, 由人参、远志、茯苓和石菖蒲 4 味中药组成, 具有养心安神、益智健脑等功效。现代研究表明开心散对抑郁、阿尔兹海默病 (AD) 的治疗具有显著作用^[1-2]。开心散是一首中药复方, 其药理作用不仅是各药味的排列组合, 更是药物之间和活性物质之间相互协

同作用的结果。研究表明开心散具有抗抑郁、抗老年痴呆和改善学习记忆能力等多种药理作用^[3]。本文主要对开心散的药效物质基础和药理作用机制进行综述, 以期为其后续研究提供一定参考。

1 开心散的药效物质基础

开心散出自唐代孙思邈的《备急千金要方》, 由

收稿日期: 2019-12-23

基金项目: 国家杰出青年科学基金资助项目 (81302909); 国家自然科学基金面上项目 (81373996, 81673877, 81674082)

作者简介: 王瑾 (1994—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药理学。Tel: 18435166791 E-mail: wangjin466232166@qq.com

*通信作者 刘屏 (1956—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为肿瘤和神经药理学。E-mail: liuping301@126.com

董宪喆 (1986—), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为肿瘤药理学。E-mail: dongxianzhe@163.com

人参(三两)、茯苓(三两)、远志(二两)、石菖蒲(二两)4味药组成,是中医养心安神的基本方。该方药简而力宏,按《中医基础理论》对其组方进行分析,方中人参大补元气、安神益智;茯苓健脾宁心、利水渗湿;石菖蒲化痰开窍、醒神明;远志宁心安神,祛痰开窍,既可合石菖蒲加强化痰开窍之效,又可合茯苓加强交通心肾之功。纵观全方,4味药药性平和,且均有开心益智、安神宁心之功;全方以补为主,标本兼顾,配伍严谨,用药准确。现代研究表明开心散对治疗抑郁、老年痴呆、学习记忆能力减弱等疾病均有显著疗效^[3]。

组方药味是开心散发挥药效作用的必要条件,而药物中的活性成分才是其真正的药效物质基础。研究表明开心散中的主要活性成分包括人参中的人参皂苷,远志中的皂苷类、糖酯类、甾酮类成分,石菖蒲中的 α -细辛醚, β -细辛醚和 γ -细辛醚等挥发性成分,茯苓中的三萜酸和多糖类成分,其中人参中的人参皂苷 Rb₁、Rg₁、Re,远志中的皂苷元、糖酯 A (tenuifolioside A, TFSA)、寡糖酯 2,3,6'-二芥子酰基蔗糖、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6,甾酮 III,石菖蒲中的 α -细辛醚、 β -细辛醚等已被证实可作为开心散的质量控制成分^[4-5],这些成分极有可能是开心散发挥药效的物质基础。人参皂苷 Rb₁、Rg₁ 和 Re 通过调控血清中炎症因子如白细胞介素 IL-10(interleukin-10, IL-10)、白细胞介素 IL-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 和白细胞介素 IL-6(interleukin-6, IL-6)的表达对皮质酮损伤的人神经胶质瘤细胞 SH-SY5Y 具有神经保护作用^[6]。远志中糖酯类成分 TFSA 通过激活脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)/胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号通路可明显促进大鼠海马神经元的存活,糖酯 B(tenuifolioside B, TFSB)通过增强胆碱能系统功能可显著改善大鼠的老年痴呆症^[7]。药理学研究证明并不是所有的活性物质在开心散发挥药理作用时均有参与,而仅是那些被吸收的药物成分才是真正产生药效的成分^[8]。对经开心散给药的抑郁大鼠的血浆、胆汁、尿液和粪便中的代谢产物进行分析^[9]。人参二醇型和三醇型化合物主要出现在抑郁大鼠的粪便和尿液中,齐墩果酸型皂苷和远志皂苷类化合物在胆汁、粪便、尿液和血浆中均有出现。而远志中寡糖脂类化合物的代谢产物仅在粪便中被检测

到,远志酮 III 的代谢产物主要存在于胆汁和尿液中,提示人参中人参二醇、人参三醇和齐墩果酸,远志中的远志皂苷、远志寡糖酯和远志酮 III 是开心散抗抑郁的主要药效成分。

2 药理作用及机制

2.1 抗抑郁作用

抑郁症是以显著且持久的心情低落为主要特征的情绪障碍性疾病。主要表现为情绪低沉、思维迟缓、意志活动减退,严重者甚至出现悲观厌世或自杀行为。目前,该病多采用药物治疗,常以单胺递质为靶点的药物作为抗抑郁症的首选药物,但具有显效慢、不良反应严重、依从性差等缺点。研究表明开心散可通过调节中枢神经系统中相关分子的表达,影响神经元及海马结构和功能发挥明显的抗抑郁作用^[10]。

2.1.1 对神经递质表达的影响 抑郁症发病的单胺假说认为脑内神经突触间隙中单胺递质含量的不足,使神经信息在细胞间的传递受阻,导致患者精神活动处于低迷状态。研究发现开心散可通过调节单胺类神经递质的表达发挥抗抑郁作用^[11]。HPLC 检测到慢性不可预知性温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)大鼠在以 1.785 g/(kg·d) 开心散给药 2 周后,大鼠脑内单胺类神经递质 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)含量明显增加。朱维煜等^[12]发现开心散可显著上调 CUMS 大鼠海马中 5-HT 和其上游的微小 RNA(miRNA-16, miR-16)的表达,降低海马内 5-HT 转运体(serotonin transporter, SERT)的表达。100 μ mol/L 皮质酮或 30 mmol/L 谷氨酸损伤的海马神经元细胞经开心散干预 3 周后,miR-16 的表达量升高,SERT 的表达量降低,提示开心散可通过促进脑内 miR-16 的释放,增强对靶基因 SERT 的抑制作用,从而抑制 5-HT 的重摄取,提高突触间隙 5-HT 的水平。单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)是单胺类神经递质的分解酶,研究发现以 338 mg/(kg·d) 开心散给药 3 周后可一定程度地抑制 CUMS 大鼠脑内线粒体中单胺氧化酶 A(monoamine oxidase A, MAO-A)的表达,提示开心散也可通过降低 MAO 的活性,阻碍单胺递质的氧化来增加脑内 5-HT 的含量^[13]。以上结果说明,开心散可能是通过上调脑内 5-HT、NE 和 DA 的表达,抑制 5-HT 的重摄取和单胺递质的氧化来发挥抗抑郁作用的。

中枢胆碱能神经系统对维持中枢神经系统稳态,促进神经细胞分化及形成网络具有重要作用,乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)是其主要的神经递质,经胆碱乙酰转移酶(choline acetyltransferase, ChAT)合成,由乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AchE)分解,参与中枢皮质神经元的发育和形态生成。研究发现开心散可通过调节胆碱能神经递质的表达发挥抗抑郁作用^[14]。CUMS 大鼠经 300 mg/(kg·d) 开心散给药 3 周后可显著增加脑内 Ach 和 ChAT 的含量,抑制 AchE 活性,提示开心散可通过增加脑内 ChAT 的含量促进 Ach 的合成,抑制 AchE 活性以减缓 Ach 的分解来上调脑内 Ach 的表达发挥抗抑郁作用^[15]。而大鼠脑内 Ach 含量的增加,促进胆碱能 M 受体发挥作用,同时可以增加肝、脾和胸腺的脏器质量比,提示开心散的抗抑郁机制还可能与增加 Ach 的表达,促进机体的免疫功能有关^[16]。

2.1.2 对 BDNF 表达的影响 BDNF 广泛存在于中枢神经系统,能有效阻止神经元受损,改善神经元的病理状态,维持神经元的生长发育,促进受损神经元的再生。研究发现开心散可通过调节 BDNF 的表达发挥抗抑郁作用^[17]。采用 qPCR 和 Western blotting 技术检测经 550 mg/(kg·d) 开心散给药 7 d 后的悬尾小鼠脑内转录因子 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP-response-element-binding protein, CREB)和磷酸化 cAMP 反应元件结合蛋白(phosphorylated cyclic AMP response element binding protein, p-CREB)的 mRNA 和蛋白表达影响,发现海马中 CREB 和 P-CREB 的 mRNA 和蛋白较抑郁小鼠均明显上调,提示开心散可能通过调控 BDNF/CREB 信号通路发挥抗抑郁作用。BDNF 通常由星型胶质细胞产生,与神经末梢上的相应受体相结合,经血浆运输至神经细胞及组织,促进神经元的生长发育,支持神经元的功能完整性。曹程^[18]发现 10 g/(kg·d) 开心散给药 7 d 后可明显增加抑郁小鼠脑内皮层和海马中酪氨酸激酶 A (tyrosine kinase receptor A, TrkA) 和酪氨酸激酶 B (tyrosine kinase receptor B, TrkB) 的转录水平和蛋白表达,上调神经生长因子(nerve growth factor, NGF)的表达,提示通过促进 BDNF 的分泌,上调 BDNF 的相应受体 TrkA 和 TrkB 的表达来促进受损神经元的修复,维持神经元正常功能是开心散抗抑郁作用的途径之一。以上结果说明,开心散可通过调控 BDNF/CREB 信号通路,上调 BDNF 受体的表达以促进 BDNF 的分泌,上调 BDNF

的表达来发挥抗抑郁作用。此外,采用 150 mg/(kg·d) 开心散治疗 CUMS 大鼠模型 3 周后,发现开心散能够显著增加 CUMS 大鼠的海马和前额皮层中 TrkB 受体水平以及 BDNF、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)、丝氨酸蛋白激酶 3 β (serine protein kinase 3 β , GSK3 β)和 ERK 的蛋白表达,上调海马 CA1、CA3 和 DG 区 P-CREB 的表达,对 p-GSK3 β 蛋白的水平无影响,提示开心散的抗抑郁作用机制还可能通过激活 TrkB/PI3K/CREB 信号系统中 ERK 和 PI3K 通路来上调 BDNF 的表达^[19]。

2.1.3 对炎症因子表达的影响 慢性应激刺激下丘脑-垂体-肾上腺皮质(hypothalamic-pituitary-adrenal, HPA)轴促使促肾上腺皮质激素大量释放,导致肠道黏膜壁通透性增加,肠道致病菌易转移至循环系统激活巨噬细胞,产生大量的炎症因子。炎症因子经大循环由血脑屏障上相应的炎症因子转运体携带入脑,激活小胶质细胞,产生大量的炎症因子,从而诱发中枢神经炎症。探究开心散对氟西汀耐药性抑郁(FRD)大鼠的影响,发现 1.785 g/(kg·d) 开心散治疗 2 周后可显著下调抑郁大鼠血清中环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、IL-2、IL-6 和 TNF- α 的表达,明显上调血清和海马中 IL-10 和干扰素 γ (interferon-gamma, INF- γ) 的表达^[20],推测开心散的抗抑郁作用可能与调节炎症因子的表达有关。慢性应激还可改变肠道微生物组成,导致肠道内有益菌的减少和有害菌的增加,增加肠道炎症的发生几率,产生的炎症因子由肠道屏障上相应的炎症因子转运蛋白进行转移进入大循环。采用 16S rRNA 技术测定 10 g/(kg·d) 开心散给药 7 d 前后抑郁小鼠的肠道菌群结构,发现开心散可显著增加有益菌的丰度,改善菌群结构,下调小肠炎症因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达,上调肠道屏障蛋白、紧密连接蛋白的表达,促进肠道屏障的恢复^[19],提示调节炎症因子的表达,改善肠道菌群结构可能是开心散的抗抑郁机制之一。

2.1.4 对褪黑素表达的影响 褪黑素(melatonin, MT)是由松果体分泌的一种吲哚类激素,在神经系统中,具有调节情绪、调节生物节律和促进睡眠等作用。抑郁症患者在治疗前,MT 的表达明显低于正常组,在 40 mg/(kg·d) 开心散治疗 6 周后血浆中 MT 水平接近正常组,提示抑郁症与 MT 表达有显著相关性^[21]。进一步观察抑郁大鼠在开心散给药前

后血浆中 MT、芳香烷胺-N-乙酰转移酶(arylalkylamine-N-acetyltransferase, AANAT)和羟基吲哚-氧-甲基转移酶(hydroxyindole-O-methyltransferase, HIOMT)的浓度变化,发现与模型组相比,开心散组大鼠血浆中 MT 浓度显著升高,AANAT 和 HIOMT 的转录水平上调,AANAT 活性提高,推测开心散通过上调 MT 合成的关键酶 AANAT 和 HIOMT 的表达,促进 MT 的生物合成,进而调节机体抑郁情绪^[22]。

2.1.5 对神经元细胞的影响 抑郁动物模型中,机体中过量的自由基无法清除,攻击细胞膜上的不饱和脂肪酸,产生脂质过氧化物(lipid peroxidation, LPO),进而损伤 DNA 和其他大分子引起海马神经元的萎缩甚至死亡。研究发现 500 mg/(kg·d) 开心散给药 2 周可明显增加 CUMS 大鼠血清及脑组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性,降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)和 LPO 的含量,促进抗氧化剂还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)的表达^[23]。提示开心散可通过增加机体内自由基的清除能力,降低脂质过氧化损伤程度发挥海马神经元细胞的保护作用。此外,皮质酮损伤 SH-SY5Y 细胞建立体外抑郁模型,与正常的 SH-SY5Y 细胞相比,模型组细胞存活率较低,乳酸脱氢酶(layered double hydroxide, LDH)的释放量明显增加。经开心散治疗 3 周后,细胞存活率显著上升,LDH 的释放减少,提示开心散可能通过保护神经元细胞发挥抗抑郁作用^[24]。

2.1.6 对海马结构和功能的影响 海马结构由海马、齿状回、下托和围绕胼胝体的海马残体组成,是大脑边缘系统的重要组成部分。海马结构在功能上不仅与嗅觉有关,更与内脏活动、情绪反应密切相关。雌激素作为促进雌性动物第二性征发育和性器官成熟的物质,具有保护神经元的作用。当体内雌激素表达低于正常水平时,神经元易受损,导致海马结构失调而影响情绪^[25]。通过检测雌性抑郁大鼠血清中雌二醇(estradiol, E₂)的含量和齿状回神经干细胞(Neural stem cell, NSC)的增殖情况,发现与正常大鼠相比,抑郁大鼠血清中 E₂ 含量显著降低,NSC 增殖明显减少,而在 100 mg/(kg·d) 开心散治疗 3 周后可逆转这一现象^[26]。提示开心散可能通过上调 E₂ 的表达以保护神经元,并促进 NSC 增殖,支持海马结构不受损害来发挥抗抑郁作用。不仅如此,通过 HE 染色和电镜技术观察海马 CA3 区神经元形态,发现抑郁大鼠 CA3 区锥体细胞凌乱且不完

整,有大量坏死,细胞器较少,线粒体空泡化明显,而经开心散给药后,细胞密集且完整,排列整齐,细胞器丰富^[27]。提示修复受损的海马结构和功能也是开心散抗抑郁途径之一。

血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)由血管内皮细胞产生,广泛存在于机体各个组织。VEGF 对萎缩海马结构的修复,神经元的保护均有重要作用。免疫组化法发现与开心散治疗前相比,给药后血管内皮细胞内 VEGF 表达增加,棕黄色的阳性产物较多,有明显强阳性^[28]。作为刺激抵抗区的海马 CA3 区供血最为丰富,对其血管进行电镜扫描,发现开心散给药后的血管口径明显变大,血管壁明显变厚。以上数据进一步佐证,开心散可能通过保护海马结构和功能发挥抗抑郁作用^[27]。

2.2 抗老年痴呆

老年痴呆症是由病程缓慢的进行性大脑损伤所致的中枢神经系统变性疾病,主要特征是脑内皮层功能的紊乱,涉及学习、记忆、思维、定向和言语等多个方面。患者通常有记忆力减退、学习能力下降、情绪多变等临床表现,病情严重者甚至无法分辨人事时物。目前,痴呆症的治疗方案主要是药物治疗,因临床上并无该病的特效药,常选择胆碱酯酶抑制剂和 NMDA 类药物作为抗痴呆的首选药物,但其具有起效慢,副作用多,疗效不明显等缺点。研究表明开心散具有明显的抗老年痴呆作用,对神经系统功能退化、脑血管疾病所致的脑组织缺血缺氧或大脑皮层损伤等多种病机引发的痴呆症具有显著疗效^[29]。

2.2.1 抗 AD AD 是一种起病隐匿的神经系统退行性疾病,高发于 65 岁以上的老年人群。患者常有记忆缺失、言语颠倒、空间定位能力下降等临床表现,严重者甚至影响社交及生活能力。随着社会人口老龄化,AD 的患病率出现逐年上升趋势。据统计,我国老年人群中 AD 的患病人口已超过 600 万,患病人数居全球第 1 位^[30],但目前全世界仍没有发现治愈该病的有效手段。研究发现开心散有明显的抗 AD 效果^[31]。

(1) 对自由基表达的影响:构建氯化铝联合 D-半乳糖诱导的 AD 大鼠模型,经 225 mg/(kg·d) 开心散给药 7 d 后,发现与模型组相比,开心散组大鼠在定位航行实验中的逃避潜伏期明显缩短,在空间搜索实验中的穿越平台次数显著增加,证实了开心

散的抗 AD 作用^[31]。糖基化终产物 (advanced glycation end-products, AGEs) 是在非酶促反应下, 蛋白质、氨基酸等生物大分子经连接、缩合、重排、裂解和氧化修饰后产生的一类终末产物, 若机体 AGEs 蓄积过多, 在 AGEs 与蛋白质交联的同时, 还可能结合其他特异性受体, 改变内环境稳态, 进而引发神经病变。观察开心散对衰老小鼠脑、肝脏内 AGEs 的表达, SOD 活性和 MDA 含量的影响, 发现开心散能够明显降低模型组小鼠脑、肝脏 AGEs 和 MDA 的含量, 增加 SOD 活性^[32]。提示开心散可能通过清除体内多余的 AGEs 和抗氧化来发挥抗衰老作用。

(2) 对炎症因子表达的影响: TNF- α 和 IL-8 参与免疫应答和炎症反应, 对神经元具有保护及修复作用, 当含量异常增高时, 亦会对神经系统产生毒性作用。淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP) 经 β -蛋白酶分解后可产生 A β , 而 A β 是导致脑内老年斑形成和神经细胞凋亡的重要原因, 使 AD 发病的因素之一。研究开心散对快速老化痴呆小鼠脑组织及血浆中炎症因子及 β -淀粉样前体蛋白 (β -amyloid precursor protein, β -APP) 的影响, 发现 5.4 g/(kg·d) 开心散治疗 7 d 后, 衰老小鼠脑内 TNF- α 、IL-8 和 β -APP 的表达明显下调, 而血浆中 TNF- α 、IL-8 和 β -APP 的表达明显上调, 推测开心散可能通过降低脑内 TNF- α 、IL-8 的含量减轻神经系统毒性, 降低 β -APP 以减少脑内 A β 的产生和神经细胞凋亡, 同时还增加体液中 TNF- α 、IL-8 的水平, 促进机体产生免疫应答, 维持内环境稳态^[33]。

(3) 对细胞凋亡的影响: 研究发现细胞凋亡与 AD 的发生密切相关^[34]。B 细胞淋巴瘤-2 (B cell lymphoma-2, Bcl-2) 家族、半胱氨酸蛋白酶 (cysteine aspartate specific proteinase, F) 家族和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路都参与调控细胞凋亡。Bcl-2 家族中的 Bcl-2 基因能抑制细胞凋亡, Bcl-2 相关 X 的蛋白质 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 基因能促进细胞凋亡, 这两种基因是一对对立基因, 共同参与细胞凋亡的过程。Caspase 家族中 Caspase-3 是细胞凋亡过程中主要的终末剪切酶, 而 MAPK 信号通路中的 P38MAPK 通过在细胞凋亡过程中对 Caspase 上游和下游起作用参与细胞凋亡^[35]。分析开心散对 AD 海马神经元凋亡结果以及 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 P38MAPK 通路的影响, 发现与正常大鼠相比,

模型组大鼠海马神经元经 Tunel 染色成功的棕黄色的神经元数量明显增加, 海马区 Bcl-2 蛋白表达显著上调, 而 P38MAPK 和 Caspase-3 的表达明显下调。经 150 mg/(kg·d) 开心散治疗 6 周后, 以上指标均恢复至正常水平^[34]。推测开心散可能通过上调 Bcl-2 的表达, 下调 P38MAPK 和 Caspase-3 蛋白表达, 抑制神经细胞凋亡来发挥抗 AD 作用。

2.2.2 抗血管性痴呆 (vascular dementia, VD) VD 是指由脑血管疾病引起的脑组织缺血、缺氧导致的严重认知功能障碍综合征。患者记忆、空间认知能力降低, 累及视觉、远动、语言、泌尿等系统发生病变, 严重者甚至丧失自理能力或死亡。VD 高发于 55 岁以上人群, 随着年龄的增长, 患病率也逐渐攀升。研究发现 VD 大鼠在 Morris 水迷宫中央区的探索时间较正常大鼠明显增加, 学习记忆能力也明显下降, 痴呆评分上升, 同时 VD 大鼠微血管和神经元水肿均显著增加, 皮层锥体细胞尼氏体数量明显下降, 海马 CA1 区细胞数明显减少^[36]。而 0.75 g/(kg·d) 开心散治疗 2 周后可逆转这些改变, 说明开心散具有显著的抗 VD 作用

(1) 对细胞间黏附分子-1 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 分子表达的影响: ICAM-1 又称为 CD54, 在促进炎症部位的黏连, 调节免疫反应中起重要作用。内皮细胞上的细胞黏附分子可介导细胞与细胞间或细胞与基质间信息的传递, 参与免疫应答、炎症反应和血管生成等生理过程。对 VD 患者的智能状况和血浆中 ICAM-1 的浓度进行分析, 结果显示 440 mg/(kg·d) 开心散治疗 7 d 后, VD 患者血浆中 ICAM-1 含量明显降低, 而其智能评分显著增加, 提示开心散可能通过降低 VD 患者血浆内 ICAM-1 水平, 促进患者脑内免疫系统的调控作用, 提升患者智力水平, 进而发挥其抗 VD 作用^[37]。

(2) 对炎症因子表达的影响: 白细胞介素-18 (interleukin-18, IL-18) 是由巨噬细胞产生, 可诱导辅助性 T 细胞和自然杀伤细胞产生 IFN- γ , 共同参与免疫调节、炎症反应等多项生理功能。分析 VD 患者治疗前后, 血清中 IL-18 和 IFN- γ 的含量变化, 发现开心散治疗后, VD 患者 IL-18 和 IFN- γ 的水平明显降低^[38]。提示开心散的抗 VD 作用与炎症因子的表达下调有关。进一步分析 VD 患者血清中凋亡抑制蛋白 Livin 的表达, 发现 Livin 的表达水平与 IL-18 和 IFN- γ 呈负相关, 经 5 mg/(kg·d) 开心散治疗 4 周后, Livin 的表达发生逆转, 提示炎症反应可

能会阻碍 VD 患者血清中的细胞凋亡进程,而开心散可能通过调节这一机制发挥抗 VD 作用^[36]。

(3) 对 AchE mRNA 表达的影响: AchE 作为神经转导的关键酶之一,参与神经细胞的生长发育进程,促进神经元的发育和受损神经的再生^[39]。检测 VD 大鼠海马中 AchE 转录水平,发现与正常大鼠相比,VD 大鼠海马中 AchE mRNA 的表达明显上调,而 225 mg/(kg·d) 开心散治疗 2 周后可显著下调 AchE mRNA 的水平^[40]。提示降低海马内 AchE 的表达,修复受损神经,恢复神经信息转导功能是开心散抗 VD 的主要原因。

2.2.3 抗多发梗死性痴呆 (multi-infarct dementia, MID) MID 是最常见的一类血管性痴呆,是由脑血管病变引起的大脑皮层及皮层下区域损伤所致。患者常有记忆力减退、定向力差、自制力和判断力缺失等临床表现,严重者甚至会脑萎缩。研究发现多发性腔隙性脑梗死是导致多发性梗死性痴呆的主要原因,多发性腔隙性脑梗死主要涉及能量代谢障碍,而脑内三磷酸腺苷 (Adenosine Triphosphate, ATP)/一磷酸腺苷 (Adenosine Monophosphate, AMP) 的比值可通过调控腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase acid, AMPK) 的表达间接反映大脑的能量代谢水平。 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 是中枢神经系统的一种抑制性神经递质,与脑内能量代谢相关,在脑缺血过程中, GABA 含量减少能显著降低葡萄糖酸酯酶的活性,阻碍脑组织新陈代谢,损伤神经功能。诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 在 NO 合成的关键酶,脑缺血时, NO 浓度升高加快脑内能量消耗,促使神经元损伤并死亡^[41]。采用 HPLC 测定 MID 大鼠在 212 mg/(kg·d) 开心散给药 45 d 前后脑内 ATP 和 AMP 的含量,采用 ELISA 试剂盒检测脑内 GABA 和血清 iNOS 的含量,发现与 MID 大鼠相比,开心散组大鼠脑内 ATP/AMP 的比值明显上调,而 GABA 和 iNOS 的表达明显下调^[42]。推测提高脑内 ATP/AMP 的比值,降低 GABA 和 iNOS 的表达,修复受损神经元,改善脑内能量代谢可能是开心散抗 MID 的生物学途径之一。

2.3 改善学习记忆能力

开心散在抗老年痴呆的同时能够改善患者的学习记忆能力。而研究表明针对不同年龄段的学习记忆能力降低的患者,开心散的作用机制不同^[43]。

2.3.1 对衰老模型的学习记忆能力的改善 通过跳

台实验和“Y”型电迷宫测试自然衰老小鼠的学习记忆能力,发现经开心治疗后的衰老小鼠错误潜伏期明显缩短,遭受的电击数也明显减少,正确反应率和记忆巩固能力均显著提高,再一次验证了开心散可提高老年小鼠的学习记忆能力^[44]。进一步分析老龄大鼠脑内 5-HT、DA、NE 和 5-羟吲哚乙酸 (5-hydroxyindoleacetic acid, 5-HIAA) 的含量,血清和脑组织中 SOD、MDA 的表达,结果显示 100 mg/(kg·d) 开心散给药 2 周后可通过上调脑内单胺递质的含量,提高机体抗氧化来提高大鼠学习记忆能力^[45]。同时,开心散治疗后,小鼠脑组织内 Ach 含量增加, AchE 含量降低,说明对胆碱能功能的调控也是开心散调节学习记忆能力的途径之一^[46]。

对快速老化模型 (senescence-accelerated mouse prone-8, SAMP8) 小鼠脑内线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)、细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达进行研究,发现与模型组相比,开心散组大鼠海马内 mtDNA 明显增加,脑内 Bcl-2 的表达下调,而 Bax 的表达显著上调^[47]。推测开心散可能通过上调海马内线粒体 DNA 的表达,抑制脑内细胞凋亡提高老化小鼠的学习记忆能力。

2.3.2 对年幼模型的学习记忆能力的改善 在中枢神经系统中,谷氨酸 (clusterin, Clu) 脱羧酶可催化合成 GABA,二者均与脑内能量代谢有关。构建东莨菪碱诱导的记忆障碍小鼠模型,检测 350 mg/(kg·d) 开心散给药 7 d 前后小鼠脑内单胺递质、Ach、AchE、Clu 和 GABA 的含量,发现开心散调控小鼠脑内单胺递质、Ach 和 AchE 表达的影响与年龄差无关,且开心散可以上调脑内 Clu,下调 GABA 的表达,提示 Clu/GABA 系统是开心散调节学习记忆能力的重要途径之一^[48]。了解到 Clu 对学习记忆能力有正调节作用之后,对 Clu 相关蛋白进一步研究发现突触后致密蛋白 (postsynaptic density protein, PSD) 是负责谷氨酸受体转运的重要蛋白,而 PSD-95 又是突触稳定性的关键蛋白,推测可能与学习记忆的形成相关^[49]。研究开心散对 APP/PS1 转基因小鼠脑内在体长时程增强 (longterm potentiation, LTP) 和 PSD-95 表达的影响,结果显示开心散通过促进 LTP 的形成,调节 PSD-95 表达,提高突触可塑性来提高 APP/PS1 转基因小鼠的学习记忆能力,提示学习记忆的形成与海马突触结构相关。

2.4 其他药理作用

2.4.1 抗疲劳 疲劳作为主观上的一种疲乏不适的

感觉,与患者营养代谢失调、内分泌紊乱和结缔组织损伤等密切相关。分析 500 mg/(kg·d) 开心散给药 7 d 对转轮疲劳小鼠模型的影响,发现与正常小鼠相比,模型组小鼠常压下耐缺氧存活时间明显缩短,力竭运动中被电击次数明显增加,小鼠脑组织中 SOD 活性下调,MDA 含量增加,而小鼠体内肝糖原和肌糖原的含量降低,肌肉中的乳酸浓度显著增加,开心散可明显逆转这些现象^[41]。说明开心散可通过调节机体抗氧化机制,增强体内能量储备源和降低肌肉中乳酸浓度发挥抗疲劳作用。

2.4.2 镇静安神 咖啡因是一种中枢神经兴奋剂,主要通过增加脑内胆碱能和多巴胺能递质,拮抗腺苷受体调节机体行为、情绪和活动量。构建咖啡因 15 mg/(kg·d) 诱导的小鼠脑神经兴奋模型,同时 ig 给药开心散 8 g/(kg·d),共 9 d。采用自主活动实测系统分析开心散对模型小鼠的活动能力的影响,发现开心散可明显减少模型小鼠的活动量,包括运动总路程、运动时间、运动速度,提示开心散有明显的镇静安神作用^[50]。检测开心散给药前后模型小鼠的脑内 DA 的含量,发现开心散可显著拮抗咖啡因诱导的小鼠脑内 DA 的增加,提示开心散可能通过降低多巴胺能的活性,减少脑内 DA 的释放,或通过抑制咖啡因对腺苷受体的拮抗作用,重新获得腺苷受体对 DA 受体的抑制效应发挥镇静安神作用^[51]。

3 结语

综述了经典古方开心散的药效物质基础、药理作用及已知机制,发现开心散中发挥药理作用的有效成分主要包括人参皂苷、远志皂苷、远志糖酯和远志酮,而茯苓、石菖蒲中的主要活性成分是否为开心散的药效成分至今还未涉及;开心散可明显改善抑郁、老年痴呆、学习记忆能力减退等多种病症,其作用机制主要涉及神经系统、免疫系统和内分泌系统,为之后学者进行开心散的研究和应用提供了方向,具有一定的指导意义。

同时也发现现有的关于开心散的研究虽取得了一定的成绩,但开心散的药理研究仍主要集中于单个或多个分子机制探索,并且多数仅停留在现象观察水平。因对于复方中的有效成分及各成分之间相互作用的认知不充分,缺乏对已知药物靶点之间内在联系的深入探究,使得未能获得针对适应症较为圆满的解释和对药理作用机制较为完整的阐明。提示在今后的研究中,学者们应着重于与开心散的主要适应症相关的神经、免疫、内分泌系统的生物分

子网络研究,同时对开心散药理作用机制进行多层次、多途径、多靶点的研究,揭示其中潜在联系,以便之后对开心散有更加深刻的理解。

参考文献

- [1] Dong X Z, Wang D X, Zhang T Y, *et al.* Identification of protein targets for the antidepressant effects of Kai-Xin-San in Chinese medicine using isobaric tags for relative and absolute quantitation [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(2): 302-310.
- [2] 杨 依, 桑旭星, 方 芳. 开心散活性成分及药理作用研究进展 [J]. *中华中医药学*, 2018, 36(6): 1420-1424.
- [3] 王常麟, 高 鹏, 姜晶晶, 等. 开心散及其组成药材指纹/特征图谱的研究概况 [J]. *山东中医药大学学报*, 2020, 44(1): 98-104.
- [4] 宋晓晨, 井宏颖, 谢 宁. 古方治疗阿尔茨海默病概况 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2020, 22(2): 77-80.
- [5] Dong X Z, Wang D X, Lu Y P, *et al.* Antidepressant effects of Kai-Xin-San in fluoxetine-resistant depression rats [J]. *Braz J Med Bio Res*, 2017, 50(10): e6161.
- [6] 汪 鼎, 刘晓闯, 纪 娟, 等. 使药石菖蒲对定志小丸中人参皂苷类成分肠吸收的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8): 7-13.
- [7] Zhu Y, Shi Y, Cao C, *et al.* Jia-Wei-Kai-Xin-San, an Herbal Medicine Formula, ameliorates cognitive deficits via modulating metabolism of beta amyloid protein and neurotrophic factors in hippocampus of abeta1-42 induced cognitive deficit mice [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 19(10): 258.
- [8] 许 璐, 刘婉婉, 谭 潇, 等. 抑郁模型大鼠灌胃定志小丸提取物后血浆、尿液、粪便、胆汁中主要代谢产物的鉴定 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(11): 2214-2220.
- [9] 温智林, 王真真, 贺文彬, 等. 开心散及其有效成分抗抑郁作用的研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 2015, 26(3): 420-423.
- [10] 刘婉婉, 许 璐, 董宪喆, 等. 开心散类方对慢性应激大鼠行为学及中枢单胺类神经递质的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(11): 2180-2185.
- [11] 王 石, 董宪喆, 谭 潇, 等. 开心散对单胺氧化酶活性的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(10): 1898-1902.
- [12] 朱维煜, 冯 霞, 王 瑾, 等. 定志小丸对 miR-16 及 5-HT 重摄取的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(17): 3513-3518.
- [13] 卞慧敏, 黄玉芳, 郭海英, 等. 开心散对东莨菪碱模型大鼠脑内单胺类神经递质和胆碱酯酶活性的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2016, 13(1): 5-7.
- [14] 张天艺, 董宪喆, 冯 霞, 等. 定志小丸调控氧化还原系统干预 5-羟色胺水平的研究 [J]. *中国药物应用与监*

- 测, 2018, 15(3): 140-144.
- [15] Wang X, Liu J, Yang X, *et al.* Development of a systematic strategy for the global identification and classification of the chemical constituents and metabolites of Kai-Xin-San based on liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry combined with multiple data-processing approaches [J]. *Sep Sci*, 2018, 41(12): 2672-2680.
- [16] 温 薇, 金在顺, 周 敏, 等. 开心散影响突触可塑性的研究进展 [J]. 中医药学报, 2010, 38(2): 140-141.
- [17] 高 耀, 吴 丹, 田俊生, 等. 逍遥散和开心散“同病异治”抑郁症的网络药理学作用机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3483-3492.
- [18] 曹 程. 基于脑-肠轴调控的开心散抗抑郁功效物质基础研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [19] 曲苏晨, 曹 程, 戚明珠, 等. 中药复方开心散调控慢性压力应激小鼠海马炎症细胞因子水平抗抑郁作用机制研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(11): 2302-2309.
- [20] 陈 超, 胡 园, 董宪喆, 等. 基于比较蛋白质组学研究参苓白术散 (开心散方) 治疗抑郁症的分子调控机制 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2018, 32(9): 729.
- [21] 冯桂芳. 基于质谱技术的定志小丸治疗阿尔茨海默病的体内外化学物质组研究 [D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2019.
- [22] Hu Y, Zhou X J, Liu P, *et al.* Antidepressant and neuroprotective effect of the Chinese herb kaixinsan against lentiviral shRNA knockdown brain-derived neurotrophic factor-induced injury *in vitro* and *in vivo* [J]. *Neuropsychobiology*, 2014, 69(3): 129-139.
- [23] 朱维煜. 参苓白术散改善抑郁及其伴随的认知功能损伤、疲劳症状的初步临床研究及对 5-HT 重摄取过程的影响 [D]. 北京: 中国人民解放军医学院, 2018.
- [24] 许玉珉. 开心散对东莨菪碱致认知障碍模型小鼠学习记忆的影响及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [25] 王义民. 定志小丸治疗阿尔茨海默症的作用机制研究和刺五加活性成分筛选研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- [26] Zhu K Y, Xu S L, Chou R C, *et al.* Kai-xin-san, a chinese herbal decoction containing *Ginseng Radix et Rhizoma*, *Polygalae Radix*, *Acori Tatarinowii Rhizoma*, and *Poria*, stimulates the expression and secretion of neurotrophic factors in cultured astrocytes [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2013, 2013: 731385.
- [27] 史乙伟, 陈 云, 刘梦秋, 等. 加味开心散对多因素神经损伤痴呆小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(1): 44-48.
- [28] Fu H, Xu Z, Zhang X L, *et al.* Kaixinsan, a well-known Chinese herbal prescription, for Alzheimer's disease and depression: A preclinical systematic review [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1421.
- [29] 初 航, 卢盛文, 孔 玲, 等. 基于中医方证代谢组学的开心散干预老年痴呆症大鼠的效应物质动态分析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2016, 18(10): 1653-1669.
- [30] 张 博, 黄树明. 开心散治疗老年性痴呆的研究进展 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(3): 193-196.
- [31] 刘学伟, 刘 爽, 黄树明. 抗老年性痴呆复方开心散有效提取物血清药物化学研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 179-183.
- [32] Chu H, Zhang A, Han Y, *et al.* Metabolomics approach to explore the effects of Kai-Xin-San on Alzheimer's disease using UPLC/ESI-Q-TOF mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 15(5): 50-61.
- [33] Yan L, Xu S L, Zhu K Y, *et al.* Optimizing the compatibility of paired-herb in an ancient Chinese herbal decoction Kai-Xin-San in activating neurofilament expression in cultured PC12 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 162: 55-62.
- [34] Zhang B, Li Y, Liu J W, *et al.* Postsynaptic GluR2 involved in amelioration of abeta-induced memory dysfunction by KAIXIN-San through rescuing hippocampal LTP in mice [J]. *Rejuvenation Res*, 2019, 22(2): 131-137.
- [35] Cao C, Xiao J, Liu M, *et al.* Active components, derived from Kai-xin-san, a herbal formula, increase the expressions of neurotrophic factor NGF and BDNF on mouse astrocyte primary cultures via cAMP-dependent signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 554-562.
- [36] Zhu Y, Chao C, Duan X, *et al.* Kai-Xin-San series formulae alleviate depressive-like behaviors on chronic mild stressed mice via regulating neurotrophic factor system on hippocampus [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1467.
- [37] Dong X Z, Wang D X, Yu B Y, *et al.* Kai-Xin-San, a traditional Chinese medicine formulation, exerts antidepressive and neuroprotective effects by promoting pCREB upstream pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(5): 3308-3314.
- [38] 代 渊, 申重阳, 付 颖, 等. 开心散对多发梗死性痴呆大鼠学习记忆功能及 ATP/AMP 的影响 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(12): 2180-2184.
- [39] Yan L, Hu Q, Mak M S, *et al.* A Chinese herbal decoction, reformulated from Kai-Xin-San, relieves the depression-like symptoms in stressed rats and induces

- neurogenesis in cultured neurons [J]. *Sci Rep*, 2016, 31(6): 30014.
- [40] Qiong W, Yong L Z, Ying H L, *et al.* The memory enhancement effect of Kai Xin San on cognitive deficit induced by simulated weightlessness in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 187(8): 9-16.
- [41] Gao H L, Zhang A H, Yu J B, *et al.* High-throughput lipidomics characterize key lipid molecules as potential therapeutic targets of Kaixinsan protects against Alzheimer's disease in APP/PS1 transgenic mice [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2018, 92(1): 286-295.
- [42] Yan L, Wei M, Gong A G, *et al.* A modified Chinese herbal decoction (Kai-Xin-San) promotes NGF-induced neuronal differentiation in PC12 cells via up-regulating Trk a signaling [J]. *Front Cell Dev Bio*, 2017, 5: 118.
- [43] Guo S, Wang J, Wang Y, *et al.* Study on the multitarget synergistic effects of Kai-Xin-San against Alzheimer's disease based on systems biology [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 259(4): 1707218.
- [44] 狄亚琪, 桑旭星, 方 芳. 开心散对 APP/PS1 转基因小鼠在体 LTP 和 PSD-95 表达的影响 [J]. *中成药*, 2017, 39(3): 471-475.
- [45] Zhou X, Wang J, Lu Y, *et al.* Anti-depressive effects of Kai-Xin-San on lipid metabolism in depressed patients and CUMS rats using metabolomic analysis [J]. *Ethnopharmacology*, 2020, 252(2): 112615.
- [46] 师 冉, 季旭明, 滕佳林, 等. 开心散改善 SAMP8 小鼠 mtDNA 表达及对凋亡相关基因的影响 [J]. *山东中医药大学学报*, 2017, 41(4): 368-371.
- [47] Hu Y, Liu M, Liu P, *et al.* Effect of kai xin san on learning and memory in a rat model of paradoxical sleep deprivation [J]. *J Med Food*, 2013, 16(4): 280-287.
- [48] Hu Y, Cao Y, Liu M, *et al.* Behavioral and biochemical effects of a formulation of the traditional Chinese medicine, Kai-Xin-San, in fatigued rats [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 6(4): 973-976.
- [49] Lu C, Shi Z, Sun X, *et al.* Kai Xin San aqueous extract improves Abeta1-40-induced cognitive deficits on adaptive behavior learning by enhancing memory-related molecules expression in the hippocampus [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 201(4): 73-81.
- [50] Guo S, Wang J, Xu H, *et al.* Classic prescription, Kai-Xin-San, ameliorates Alzheimer's disease as an effective multitarget treatment: From neurotransmitter to protein signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 52(2): 9096409.
- [51] Wang X J, Zhang A H, Kong L, *et al.* Rapid discovery of quality-markers from Kaixin San using chinmedomics analysis approach [J]. *Phytomedicine*, 2019, 54(8): 371-381.