

# 石菖蒲挥发油中主要成分 $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚的神经药理学作用及机制研究进展

徐飞飞<sup>1</sup>, 李钦青<sup>1</sup>, 楚世峰<sup>2</sup>, 贺文彬<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>山西中医药大学 中医脑病学山西省重点实验室, 太原 030624; <sup>2</sup>中国医学科学院药物研究所, 北京 100050

**摘要:**石菖蒲是我国一种药用历史悠久的传统中药。现代研究发现石菖蒲中含有挥发油类、黄酮类、生物碱类、氨基酸类及糖类等多种化学成分, 其中挥发油类为主要活性成分, 包括 $\alpha$ -细辛醚、 $\beta$ -细辛醚等。研究表明 $\alpha$ -细辛醚、 $\beta$ -细辛醚具有广泛的药理活性, 极具开发价值。近年来, 尤其在抗神经系统疾病的研究中,  $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚已经受到国内外学者的极大关注。本文通过对石菖蒲活性物质 $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚的神经药理作用进行总结归纳, 重点探讨其在抗脑缺血再灌注损伤中的潜在机制, 为深入研究与开发石菖蒲提供依据。

**关键词:** $\alpha$ -细辛醚;  $\beta$ -细辛醚; 神经系统疾病; 脑缺血再灌注损伤

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)11-1969-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.11.021

## Research progress on the neuropharmacological effects and mechanisms about the main components $\alpha$ - and $\beta$ -asarone in volatile oils of *Acorus tatarinowii* Schott

XU Fei-fei<sup>1</sup>, LI Qin-qing<sup>1</sup>, CHU Shi-feng<sup>2</sup>, HE Wen-bin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Shanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Encephalopathy, Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China;

<sup>2</sup>Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

**Abstract:** *Acorus tatarinowii* Schott is a traditional Chinese herbal with a long history of medicinal application. It had been found in modern research that it contains many chemical components such as volatile oils, flavonoids, alkaloids, aminoacids, and saccharides, among which volatile oils are the principal active components.  $\alpha$ -Asarone and  $\beta$ -asarone, the effective ingredients of volatile oils, are considered to have great potential for drug development due to their extensive bioactivities. Furthermore, the effects of  $\alpha$ -asarone and  $\beta$ -asarone on nervous system disorders have aroused great concern worldwide. To further investigate and develop the neuropharmacological effects of  $\alpha$ -asarone and  $\beta$ -asarone as well as *A. tatarinowii*, we review and discuss their underlying mechanisms in cerebral ischemia injury and ischemia-reperfusion injury in this article.

**Key words:** $\alpha$ -asarone;  $\beta$ -asarone; nervous system diseases; cerebral ischemia-reperfusion injury

传统中药石菖蒲(*A. tatarinowii* Schott)始载于《神农本草经》, 来源于多年生草本植物石菖蒲的干燥根茎, 其气味芳香, 性辛, 味苦, 温, 归胃、心经, 作为一种开窍药被广泛熟知<sup>[1]</sup>。石菖蒲具有化湿开胃、豁痰镇咳、醒神益智等功效, 现代临床主要将其应用于治疗消化道疾病, 如由于湿导致的胃痛、腹痛; 以及神经系统疾病, 如痰症导致的昏迷、健忘等

症<sup>[2]</sup>。石菖蒲中含有挥发油类、黄酮类、醌类、生物碱类、三萜皂苷类、苯丙素类、有机酸类、氨基酸类及糖类等多种化合物, 其中挥发油类为石菖蒲的主要有效成分, 挥发油含量随种类和产地的不同而变化<sup>[3]</sup>。 $\alpha$ -细辛醚和 $\beta$ -细辛醚作为挥发油中主要活性成分, 发挥广泛且重要的药理作用<sup>[4]</sup>, 挥发油类各化学成分占比详见图1。现今越来越多的研究已经证实它们在神经系统、心血管系统以及免疫系统中的显著作用<sup>[5]</sup>, 尤其在抗神经系统疾病的研究中,  $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚已经引起国内外学者的高度重视。

$\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚二者互为同分异构体, 分子式为 $C_{12}H_{16}O_3$ , 见图2。因其挥发油特性,  $\alpha$ -和 $\beta$ -细辛醚

收稿日期:2020-03-10 接受日期:2020-07-30

基金项目:国家自然科学基金(81473375);山西省重点研发计划(国际科技合作)重大区域创新合作项目(201803D421006, 201903D421018);山西省回国留学人员科研资助项目(2013-134)

\*通信作者 Tel:86-351-3179855; E-mail:hewb@sxtcm.edu.cn

能够快速通过血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)发挥药理活性<sup>[6]</sup>, 研究表明它们对于神经系统疾病, 如轻度认知功能障碍、抑郁症、帕金森病、癫痫和脑卒中等疾病均有潜在治疗优势<sup>[7-11]</sup>。本文主要对  $\alpha$ -

和  $\beta$ -细辛醚的神经系统药理作用及机制进行总述, 重点探讨其在抗脑缺血再灌注损伤引起的级联反应中的潜在机制, 作用机制详见表 1。

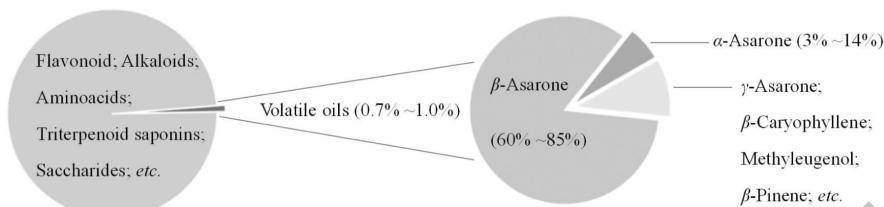


图 1 石菖蒲挥发油类化学成分比例图

Fig. 1 Proportion of chemical components of volatile oils

注: Flavonoids(黄酮类); Alkaloids(生物碱类); Aminoacids(氨基酸类); Triterpenoid saponins(三萜皂苷类); Saccharides(糖类); Volatile oils(挥发油类);  $\gamma$ -Asarone( $\gamma$ -细辛醚);  $\beta$ -Caryophyllene( $\beta$ -石竹烯); Methyleugenol(甲基丁香酚);  $\beta$ -Pinene( $\beta$ -蒎烯)。

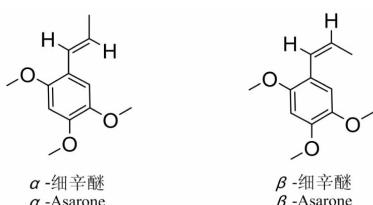


图 2  $\alpha$ -细辛醚和  $\beta$ -细辛醚的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of  $\alpha$ -asarone and  $\beta$ -asarone

## 1 对轻度认知功能障碍的作用

轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment)是机体正常衰老和痴呆之间的过渡阶段, 临床表现伴随有轻微但可检测到的认知功能损伤。脑内胆碱能系统损害、氧化应激、兴奋性神经毒性以及突触与神经元的退化等众多因素, 均能够引起机体轻度认知功能障碍<sup>[12]</sup>。中草药用于治疗认知功能障碍近年来得到越来越多研究, 其中石菖蒲作为益智方配伍中的基础药物, 其有效成分  $\alpha$ -细辛醚和  $\beta$ -细辛醚已成为研究热点。

在对慢性铅暴露引起的大鼠认知障碍的研究中,  $\beta$ -细辛醚能迅速通过血脑屏障, 明显提高大鼠海马 CA1 区和齿状回区树突棘密度, 对铅诱导的空间学习记忆障碍有一定的神经保护作用<sup>[13]</sup>。对于胆碱能系统损害以及海马内  $A\beta$  沉积引起认知障碍, Deng 等<sup>[14]</sup>发现  $\beta$ -细辛醚能够同时降低 APP/PS1 转基因小鼠海马体中乙酰胆碱酯酶(AChE)和  $A\beta_{42}$  水平, 也有研究认为  $\beta$ -细辛醚可通过保护星形胶质细胞缓解  $A\beta$  沉积, 也能够通过调节氧化应激及相关蛋白表达从而改善认知障碍<sup>[15,16]</sup>。虽然相对于  $\beta$ -细辛醚,  $\alpha$ -细辛醚在学习记忆领域的研究不

多, 但早在 2002 年, Cho 等<sup>[17]</sup>在体外实验中发现, 它能够通过阻断 N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体活性, 抑制大鼠皮层神经元谷氨酸所致的兴奋性毒性, 从而产生抗氧化和神经保护作用; 并且在最新的研究<sup>[18]</sup>中这一作用机制得到印证, 本课题组的前期研究结果证实  $\alpha$ -细辛醚(15, 30 mg/kg, i. p.)能够降低小鼠海马体内钙超载, 通过调节谷氨酸相关受体蛋白的异常表达, 包括  $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionicacid, AMPA)受体、谷氨酸转运体-1(glutamate transporter 1, GLT-1)及 NMDA 受体, 降低谷氨酸蓄积过多引起的兴奋性神经毒性, 从而改善乙醇诱导的认知功能障碍小鼠的学习记忆行为表现。

## 2 对抑郁症的作用

抑郁症(depression disorder)是一种持续而严重的精神疾病, 其临床表现以精神低落为主, 并伴有焦躁不安、活力丧失以及注意力减退等症状, 严重者会出现自残及自杀行为。抑郁症在 2020 年取代冠心病, 成为世界第二大负担疾病<sup>[19]</sup>。在世界自杀人群中, 抑郁症患者已占到了三分之二, 预估到 2030 年, 抑郁症将成为全球最大的死亡原因<sup>[20,21]</sup>。抑郁症作为一种多因素疾病, 其发病机制主要有炎症假说、谷氨酸神经递质异常假说、神经营养因子假说以及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴异常假说等<sup>[22-25]</sup>。

研究证实<sup>[25]</sup>低剂量石菖蒲提取精油对小鼠自主活动不具有显著影响, 并且在此前提下, 它们能够调节去甲肾上腺素能与 5-羟色胺能系统, 改变抑郁模型小鼠在悬尾实验中的行为表现, 产生一定的抗

抑郁样效应。同样, Wang 等<sup>[27]</sup>通过评价石菖蒲超临界萃取物, 证实在萃取物药液的作用下, 抑郁模型大鼠的抑郁样行为症状也得到不同程度的改善。 $\beta$ -细辛醚能够显著增加慢性不可预知温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)诱发的抑郁症大鼠糖水消耗量; 并且在悬尾行为测试中, $\beta$ -细辛醚组与 CUMS 模型组大鼠相比, 悬尾静止时间降低了 29% ( $P < 0.05$ )。除改善抑郁样行为之外, 他们通过对大鼠海马 CREB-ERK1/2-BDNF 蛋白水平的测定, 结果显示 CREB、ERK1/2 磷酸化水平及 BDNF 水平均显著增加, RT-PCR 实验结果与 WB 结果相一致, 所以  $\beta$ -细辛醚改善 CUMS 大鼠体重降低、缺氧以及明显的抑郁样行为, 可能的机制是通过调节神经元的存活表现出抗抑郁作用<sup>[28]</sup>。同样, 有研究<sup>[29]</sup>发现  $\alpha$ -细辛醚也能够通过调节抑郁小鼠海马 p-CREB 水平能够减轻抑郁样行为。不过 Chellian 等<sup>[30]</sup>研究发现  $\alpha$ -细辛醚能使小鼠在悬尾实验中能够激发双向作用, 即在较低剂量(15 和 20 mg/kg, i. p.)出现抗抑郁样作用, 在相对较高剂量(50 和 100 mg/kg, i. p.)下则出现了抑郁样行为。他们提示低剂量  $\alpha$ -细辛醚的抗抑郁作用可能是通过调节去甲肾上腺素能( $\alpha_1$  和  $\alpha_2$  肾上腺素受体)和 5-羟色胺能系统(特别是 5-HT1A 受体)介导。调节 5-羟色胺能系统是现今治疗抑郁症药物的主要作用机理,  $\alpha$ -细辛醚能够调节 5-羟色胺能系统的研究结论, 以及  $\beta$ -细辛醚对抑郁样行为的显著改善作用, 这意味着  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚可以作为改善抑郁症的潜在化合物开发并值得进一步研究。

### 3 对帕金森病的作用

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种与年龄相关的常见于中老年人的中枢神经系统退行性疾病, 以静息性震颤、运动迟缓、痴呆、步态紊乱和姿势不稳为主要临床表现<sup>[31]</sup>。帕金森病病因复杂, 尚无统一明确的发病机制, 但多数研究认为与氧化应激、炎性反应相关<sup>[32,33]</sup>。帕金森病主要的病理改变特征是黑质多巴胺(DA)能神经元变性缺失以及  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -synuclein)沉积。

早在 1965 年 Dandiya 等<sup>[34]</sup>通过观察大鼠行为, 提出细辛醚预处理能够完全消除 tremorine(三尖杉碱, 一种毒蕈碱激动剂)引起的帕金森病样症状, 如头部和四肢震颤、肌力低下和肌肉僵硬, 认为可将细辛醚作为抗帕金森药物进一步研究并探讨其作用机制。近年来, Huang 等<sup>[35-38]</sup>于 2014 年至 2017 年丰

富了  $\beta$ -细辛醚抗帕金森病的作用机制。起初, 通过  $\beta$ -细辛醚与 Levodopa(左旋多巴, 帕金森治疗药物)联合用药发现,  $\beta$ -细辛醚能够通过调节 DA 降解酶(catechol-O-methyltransferase, COMT)活性和多巴胺(DA)代谢而影响左旋多巴向 DA 的转化<sup>[35]</sup>; 后来发现  $\beta$ -细辛醚能够下调自噬相关蛋白 Beclin-1 和 LC3B 表达, 增加 P62 蛋白表达来发挥作用<sup>[36]</sup>; 另外他们还认为  $\beta$ -细辛醚够通过调节血脑屏障 P-糖蛋白和紧密连接蛋白, 促进左旋多巴进入脑内, 提高大鼠纹状体多巴胺水平<sup>[37]</sup>。总之,  $\beta$ -细辛醚作用效果是积极的, 它能通过提高血脑屏障通透性, 下调自噬相关蛋白对帕金森病起到辅助治疗作用。Zhang 等<sup>[39]</sup>以 MPTP(1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶)诱导的 PD 小鼠模型和体外培养的 SH-SY5Y 细胞为模型, 观察  $\beta$ -细辛醚对 PD 的影响, 认为  $\beta$ -细辛醚通过调节肺腺癌转移相关转录 1(MALAT 1)和  $\alpha$ -synuclein 的表达, 在体内和体外 PD 模型中发挥神经保护作用。同样, Kim 等<sup>[40]</sup>通过将  $\alpha$ -细辛醚作用于 MPTP 诱导的 PD 小鼠模型以及以脂多糖(LPS)刺激的 BV-2 小胶质细胞模型, 发现  $\alpha$ -细辛醚能减轻帕金森病小鼠行为缺陷, 并认为可能机制是通过抑制 NF- $\kappa$ B 而减轻小胶质细胞介导的神经炎症实现的。

### 4 对癫痫的作用

癫痫(epilepsy)是大脑神经元突发性异常放电, 导致短暂的大脑功能障碍以中枢神经系统功能失常为特征的一种慢性疾病。即刻早期基因 c-fos 作为神经功能活动的代谢产物, c-fos 基因及 FOS 蛋白的表达被认为在癫痫发病机制中有重要作用<sup>[41]</sup>。此外, 癫痫被认为是脑内兴奋性神经递质谷氨酸(glutamate, Glu)与抑制性神经递质  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA)平衡失调的结果, 谷氨酸脱羧酶(GAD)是 Glu 脱羧形成 GABA 的关键限速酶, GAD 的活性对该平衡状态也有主要作用<sup>[42]</sup>。Fu 等<sup>[43]</sup>通过  $\beta$ -细辛醚作用于青霉素点燃致癫痫大鼠, 发现  $\beta$ -细辛醚能激活大鼠额叶皮质中 c-fos 基因从而明显提高 FOS 的表达, 还能够降低谷氨酸脱羧酶 GAD 65 的表达, 并且呈明显的剂量-效应关系。在化学作用(*N*-甲基-D-天门冬氨酸、毛果芸香碱)和电作用(最大电休克)诱导癫痫试验中<sup>[44]</sup>,  $\alpha$ -细辛醚能够延缓阵挛和强直性发作, 降低试验小鼠死亡率。 $\alpha$ -细辛醚还能够通过增强 GABA 能抑制作用而抑制海马神经元的活动, 并在中枢神经系统产生抗癫痫

作用<sup>[45]</sup>, 上文有研究也提到  $\alpha$ -细辛醚能够对小鼠海马内 Glu 水平产生一定的影响<sup>[18]</sup>, 可以认为  $\alpha$ -细辛醚能够调节脑内兴奋性神经递质与抑制性神经递质, 维持二者平衡水平。所以, He 等<sup>[46]</sup>认为  $\alpha$ -细辛

醚具有较好的神经保护作用和低毒性, 有望成为一种新的芳香烯丙醇类抗惊厥药物, 作为抗癫痫药物具有很大的开发潜力。

表 1  $\alpha$ -细辛醚和  $\beta$ -细辛醚抗神经系统疾病作用机制

Table 1 Mechanism of  $\alpha$ -asarone and  $\beta$ -asarone anti-nervous system diseases

抗神经系统疾病 Anti-nervous system disease	药物 Drug	作用机制 Mechanism	用法用量 Usage and doses	参考文献 Ref.
抗轻度认知功能障碍 Anti-mild cognitive impairment	$\alpha$ -Asarone	降低钙超载从而维持海马体谷氨酸水平, 减轻兴奋性毒性。  调节核转录因子 NF- $\kappa$ B 转录水平, 通过阻断 NF- $\kappa$ B $\alpha$ 和 $\beta$ 激酶在 SE 大鼠和原代培养的小胶质细胞中的降解途径, 抑制炎症过程。  抑制促炎细胞因子和海马小胶质细胞活化。	C57BL/6 小鼠, 15、30 mg/kg(i. p.)  SD 大鼠, 100 mg/kg(i. p.); 小胶质细胞, 25、50、100 $\mu$ g/mL, 25 h  C57BL/6 小鼠, 30 mg/kg(p. o.), 3 天	18  67  8
	$\beta$ -Asarone	调节促炎细胞因子的过量释放和小胶质细胞的激活来改善认知和突触可塑性的损害。  通过调节即刻早期基因 Arc/Arg3.1 基因和 Wnt 通路调节其介导的突触发生。	C57BL/6 小鼠, 25 mg/kg(p. o.), 14 天	80
抗抑郁 Anti-depressant	$\alpha$ -Asarone	增加体内外突触素和谷氨酸受体 GluR 1 的表达, 抗体 A $\beta$ 神经毒性。  通过 PI3K/Akt/mTOR 通路抑制自噬相关蛋白 Beclin-1 依赖的自噬。	SD 大鼠幼崽, 10、40 mg/kg(i. p.), 7 天  APP/PS1 小鼠, 42.4、84.8 mg/kg(p. o.), 2.5 月; NG108-15 细胞, 12.5、25 $\mu$ M/L, 36 h  C57BL/6 小鼠, 10 mg/kg(p. o.), 30 天	13  81  14
	$\beta$ -Asarone	通过调节 CORT 反应, 从而调节 BDNF 和 CREB 功能以及抗凋亡。  通过调节 ROCK(Rho 激酶)信号通路降低自噬及突触缺失。	SD 大鼠, 200 mg/kg(p. o.), 21 天  SAMP 8 小鼠, 34 mg/kg(p. o.), 2 月	82  83
抗帕金森 Anti-parkinson	$\alpha$ -Asarone	通过调节海马 p-CREB 水平来减轻抑郁样行为。	C57BL/6 小鼠, 5、10、20 mg/kg(i. p.), 40 天	29
	$\beta$ -Asarone	通过调节去甲肾上腺素能和 5-羟色胺(特别是 5-HT1A 受体)系统介导抗抑郁作用。  通过调节丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1(MKP-1)的表达来调节海马神经元的存活。	ICR 小鼠, 15、20 mg/kg(i. p.)  SD 大鼠, 25 mg/kg(p. o.), 4 周	30  84
		提高 CREB 和 ERK 1/2 磷酸化水平以及 BDNF 水平。	SD 大鼠, 25 mg/kg(p. o.), 28 天。	28
	$\alpha$ -Asarone	通过抑制 NF- $\kappa$ B 的激活, 减轻小胶质细胞介导的神经炎症。	C57BL/6 小鼠, 10 mg/kg(p. o.), 15 天; BV-2 小胶质细胞, 10、50、250 $\mu$ M/L, 24 h	40
	$\beta$ -Asarone	通过抑制 PERK / CHOP / Bcl-2 / Beclin-1 通路来调节内质网应激自噬。	SD 大鼠, 15 mg/kg(p. o.), 30 天	85
		通过调节 COMT 以及 DA 的代谢, 降低 DA 分解为 DOPAC 与 HVA, 减轻 PD 大鼠行为障碍。	SD 大鼠, 15、30 mg/kg(p. o.), 30 天	38
		通过调节肺腺癌转移相关转录 1(MALAT 1)和 $\alpha$ -synuclein 的表达, 在体内和体外 PD 模型中发挥神经保护作用。	C57BL/6 小鼠, 10 mg/kg(p. o.), 28 天; SH-SY5Y 细胞, 100 $\mu$ M/L, 24 h	39

续表1(Continued Tab. 1)

抗神经系统疾病 Anti-nervous system disease	药物 Drug	作用机制 Mechanism	用法用量 Usage and doses	参考文献 Ref.
		抑制葡萄糖调节蛋白 78 (GRP 78) 和 C/EBP 环磷酸腺苷反应元件结合转录因子同源蛋白 (CHOP) 基因的表达,通过内质网应激 IRE 1/XBP 1 途径介导。	SD 大鼠, 15 mg/kg (p. o.), 4 周	86
		通过下调自噬相关蛋白 Beclin-1 和 LC3B 表达,增加 P62 蛋白表达。	SD 大鼠, 15 mg/kg (p. o.), 30 天	37
		通过下调 JNK 蛋白激酶和 p-JNK 的表达,间接增加 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 的表达;抑制 Beclin-1 的功能,从而抑制自噬激活。	SD 大鼠, 40 mg/kg (p. o.), 28 天	11
抗癫痫 Anti-epilepsy	$\alpha$ -Asarone	通过增强 GABA 能抑制作用,调节 A 型 GABA 受体从而抑制海马神经元在体外和体内的过度兴奋性。	C57BL/6 小鼠, 50 mg/kg (i. p.), 3 天	45
	$\beta$ -Asarone	使即刻早期基因 c-fos 蛋白表达上调并促进迟反应基因 LRG 的表达,通过生成更多的抑制性神经递质及受体,减少异常放电。	SD 大鼠, 25、50、100 mg/kg (p. o.), 7 天	43
抗缺血性脑卒中 Anti-cerebral arterial thrombosis	$\alpha$ -Asarone	缓解能量及离子代谢障碍	C57BL/6 小鼠, 15、30 mg/kg (i. p.)	18
	$\beta$ -Asarone	通过降低 CaMK II 表达量,改善钙离子浓度过高引起的钙超载。	SD 大鼠, 10 mL/kg (p. o.) ( $\beta$ -asarone 用水配成 0.34% 溶液), 7 天	56
		提高 L/R 小鼠的耐缺氧能力,增加耐缺氧死亡时间。	原代大鼠海马神经元细胞, $7.2 \times 10^{-5}$ 、 $14.4 \times 10^{-5}$ mol/L, 6、12、24 h	57
		使神经元线粒体内细胞色素 C (Cyt C) 趋于正常, JNK 磷酸化水平降低,从而降低 caspase 级联反应诱导的细胞凋亡,保护作用海马神经元。	Wistar 大鼠, 10、20、30 mg/kg (p. o.), 30 天	51
		升高海马体中的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活性	PC12 细胞, 20、30、45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1 h	52
		通过降低 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度,增强线粒体膜电位来抑制 Beclin-1 的表达,从而减少自噬。	PC12 细胞, 4、8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 24 h	58
		降低细胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 水平,升高线粒体膜电位 (MMP) 以及自噬相关蛋白 Beclin-1 的表达。	C57BL/6 小鼠, 15、30 mg/kg (i. p.)	18
	$\alpha$ -Asarone	降低兴奋性毒性	PC12 细胞, 10 $\mu\text{M}/\text{L}$ , 2 h	59
	$\beta$ -Asarone	通过降低谷氨酸受体 AMPA、NMDA 过度兴奋,调节谷氨酸转运体 GLT-1 以及突触素蛋白 SYN I 的蛋白表达量,降低谷氨酸浓度从而减轻兴奋性毒性。	Wistar 大鼠, 3、6、9 mg/kg (i. p.), 30 天	62
	$\alpha$ -Asarone	降低自基氧化应激	Wistar 大鼠, 10、20、30 mg/kg (p. o.), 30 天	51
	$\beta$ -Asarone	通过调节 NMDA 受体的表达,增强突触素 (SYN) 在细胞内的表达来减轻谷氨酸过高引起的细胞损伤。	C57BL/6 小鼠, 40 mg/kg (p. o.), 5 天; 神经祖细胞, 3 $\mu\text{M}/\text{L}$ , 24 h	53
	$\alpha$ -Asarone	调节 SOD、CAT、GSH-Px、GSH、维生素 C、维生素 E 以及控制蛋白质硫醇含量。	SD 大鼠, 200 mg/kg (i. p.), 1 h	68
	$\beta$ -Asarone	调节抗氧化酶 GSH-Px、CAT,恢复缺血损伤后的抗氧化系统稳态。	C57BL/6 小鼠, 10 mg/kg (p. o.), 15 天; BV-2 小胶质细胞, 10、50、250 $\mu\text{M}/\text{L}$ , 24 h	40
	$\alpha$ -Asarone	激活 $\beta$ -catenin、cyclin D1、p-ERK 表达,促进神经祖细胞 (NPCs) 向神经元样细胞的增殖与分化。	SD 大鼠, 15、30、60 mg/kg (i. p.), 4 天	54
	$\beta$ -Asarone	通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路减少了 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的产生。		
		通过阻断 NF- $\kappa$ B 激酶即 $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$ 和 $\beta$ (inhibitor kappa B- $\alpha$ , $\beta$ ) 的降解途径,调节 NF- $\kappa$ B 转录水平,抑制小胶质细胞介导的神经炎症。		
		通过降低 JNK、p-JNK 水平来升高 Bcl-2,干扰 Beclin-1 在自噬过程中的作用,抑制自噬。		

续表1(Continued Tab. 1)

抗神经系统疾病 Anti-nervous system disease	药物 Drug	作用机制 Mechanism	用法用量 Usage and doses	参考文献 Ref.
$\alpha$ -Asarone	保护血脑屏障及其他作用	通过抑制炎性细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和 IL-6)的产生,减轻炎性反应及自噬作用。	SH-SY5Y 细胞, 50 $\mu$ M/L, 2 h	66
		下调紧密连接蛋白 claudin 家族基因表达,使紧密连接结构疏松,内皮细胞皱缩,开启了血脑屏障。	斑马鱼幼鱼, 60 min	71
$\beta$ -asarone		能够对体内实验血栓的形成产生抑制作用,并且能够降低体外实验中血小板聚集程度。	Swiss 小鼠, 100 mg/kg, (i. p.), 1 h; 人血小板细胞, 300 $\mu$ M/L, 10 min	73
		调节血脑屏障 P-糖蛋白和紧密连接蛋白。	SD 大鼠, 15 mg/kg (p. o.), 30 天	37
		降低黏附分子 CD106、CD62P 以及 CD62E 的表达,改善血小板的粘附和聚集。	ECV304 细胞, 0.015 mg/mL, 30 h	6
		降低脑中内皮素(ET)含量,并升高降钙素基因相关肽(CGRP)浓度,从而舒张血管,改善血液供应。	SD 大鼠, 42.4 mg/kg (p. o.), 7 天	74

## 5 对脑缺血再灌注损伤的作用

脑卒中(cerebral stroke),包括出血性卒中(脑出血)和缺血性卒中(脑梗死),其中缺血性卒中占比约 85%<sup>[47]</sup>。急性缺血性脑卒中的治疗方法可分为溶栓治疗和神经保护治疗两大类<sup>[48]</sup>。目前,溶栓治疗药物重组人组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)是 FDA 获批临床用于治疗急性缺血性脑卒中、深静脉血栓及其他血管疾病的药物<sup>[49]</sup>。由于急性缺血性脑卒中本身是一种复杂的生理病理破坏性疾病,缺血后再灌注会引起缺血组织的继发性损伤和功能障碍,造成更加严重的病理反应<sup>[50]</sup>。所以近年来,国内外研究偏向于寻找神经保护治疗方法及机制探讨。传统开窍药石菖蒲作为天然药物,其活性物质  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚在缺血再灌注损伤中发挥的显著作用得到了国内外研究的重视。

$\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚凭借其挥发油特性,能够从血液快速透过血脑屏障入脑,作用于缺血部位。研究证实<sup>[51-54]</sup>, $\alpha$ -细辛醚、 $\beta$ -细辛醚均能够降低大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型大/小鼠脑组织含水量,减轻脑水肿,减少梗死面积,降低动物死亡率以及改善神经行为学评分,对脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion, I/R)小鼠起保护作用。在体外实验中<sup>[50,53]</sup>,也发现  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚能够改善氧糖剥夺/复糖复氧(oxygen-glucose deprivation/reperfusion, OGD/R)导致的细胞凋亡与死亡,对海马神经元细胞、星形胶质细胞均有保护作

用。由于  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚在改善缺血再灌注损伤相关研究有限,下文所述主要通过现已明确的改善机制与  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚在急性缺血性脑卒中各级联反应中的潜在机制结合进行讨论。

### 5.1 通过缓解能量代谢及离子代谢障碍发挥作用

脑最为代谢最为活跃的器官,自身能量和氧储备量最少,所以脑对缺血、缺氧损伤极为敏感<sup>[55]</sup>。脑缺血后,脑组织氧糖缺乏并引发能量代谢障碍,依靠 ATP 转运的离子泵活性因能量障碍受到抑制,同时因为钾泵、钙泵活性降低,使大量 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 内流,由于渗透压作用,大量水被摄入从而导致脑水肿。研究<sup>[56]</sup>证实  $\beta$ -细辛醚能够提高 I/R 小鼠的耐缺氧能力,增加耐缺氧死亡时间。线粒体作为为机体提供能量的来源,在缺血再灌注损伤发生时,线粒体能量代谢异常。经过  $\beta$ -细辛醚处理 OGD/R 的原代海马神经元,JNK 磷酸化水平降低,神经元线粒体内细胞色素 C(Cyt C)趋于正常,从而降低 caspase 级联反应诱导的细胞凋亡,对损伤海马神经元起到了很好的保护作用<sup>[57]</sup>。当脑内 ATP 逐渐耗竭,能量代谢障碍会直接抑制细胞膜上 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性,同时使神经元去极化,电压依赖性与配体门控性 Ca<sup>2+</sup> 通道激活,造成大量 Ca<sup>2+</sup> 内流。Ca<sup>2+</sup> 水平紊乱又可以影响线粒体内 ATP 生成障碍,形成恶循环,进一步加重损伤。研究<sup>[50]</sup>发现  $\beta$ -细辛醚作用的 I/R 大鼠,其海马体中的 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性显著升高,并且在体外实验<sup>[58,52]</sup>中也发现, $\beta$ -细辛醚可以

降低 PC12 细胞  $\text{Ca}^{2+}$  水平以及降低线粒体膜电位,通过调节离子通道改善细胞损伤。

## 5.2 通过降低兴奋性毒性发挥作用

$\text{Ca}^{2+}$  水平的升高会刺激突触素蛋白释放过多谷氨酸,引起谷氨酸受体过度活化,使神经元过度兴奋,从而导致神经元演变、死亡<sup>[18]</sup>。NMDA 受体作为谷氨酸离子型受体, $\beta$ -细辛醚能够调节 NMDA 受体的表达,增强突触素(SYN)在细胞内的表达,对谷氨酸损伤的 PC12 细胞有一定的保护作用<sup>[59]</sup>。另一项动物实验<sup>[18]</sup>发现, $\alpha$ -细辛醚也能够改善中枢神经系统兴奋性毒性引起的神经疾病,它能够调节  $\text{Ca}^{2+}$  浓度,对谷氨酸受体(AMPA、NMDA)、转运体 GLT-1 以及控制释放谷氨酸的突触素蛋白(SYN I)来维持谷氨酸的浓度。谷氨酸作为引起兴奋性神经毒性的主要神经递质,在认知功能障碍、癫痫这两类神经系统疾病中也有关键影响,所以  $\alpha$ -细辛醚与  $\beta$ -细辛醚的降低兴奋性毒性的作用,具有广泛的应用领域及研究价值。

## 5.3 通过降低自由基氧化应激发挥作用

脑缺血时,抗氧化防御系统活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)蓄积过多,攻击机体,参与抗氧化的内源性酶,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)等引起缺血部位氧化应激<sup>[60]</sup>。有研究者表示再灌注后脑内抗氧化稳态的恢复可能有助于脑缺血损伤的恢复。Yang 等<sup>[51]</sup>首先通过对缺血再灌注损伤小鼠神经功能缺损评分以及握力的行为学测试,发现 $\beta$ -细辛醚能够对损伤大鼠行为表现起到显著的改善作用。其次他们通过测定内源性抗氧化酶乳酸脱氢酶(LDH)、谷胱甘肽(GSH)含量、GSH-Px 活性、谷胱甘肽还原酶(GR)活性、CAT 以及  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶来评估氧化应激,发现 $\beta$ -细辛醚能够使各酶水平均明显恢复。可见 $\beta$ -细辛醚通过增加与病变发病相关的抗氧化活性,从而增强脑缺血防御机制。Manikandan 等<sup>[62]</sup>通过研究 $\alpha$ -细辛醚对噪音引起的大鼠脑内抗氧化酶的影响,发现 $\alpha$ -细辛醚能调节模型大鼠 SOD、CAT、GSH-Px、GSH、维生素 C、维生素 E 和蛋白质硫醇含量高低而起到有效的保护作用。

## 5.4 通过抑制炎性因子的表达发挥作用

氧自由基和其他信使激活炎性细胞因子,释放趋化因子,上调黏附分子,在白细胞和内皮细胞的相互作用下,白细胞黏附于血管内皮细胞,从而阻塞微血管,导致微血管闭塞而引发“无复流现象”<sup>[63]</sup>。炎性反应作为一把双刃剑,在病理条件下,炎性因子在协调天然和获得性免疫反应中起关键作用,其引起的炎性反应对机体稳态起着保护性效应,同时过度的炎性反应又能够损伤机体<sup>[64]</sup>。脑缺血时,氧自由基累积,炎性反应增加,激活的白细胞在微血管内聚集,释放大量的炎性介质和细胞因子,使更多的中性粒细胞聚集到炎性反应部位,从而加重炎症反应,造成恶性循环<sup>[65]</sup>。Chang 等<sup>[66]</sup>通过研究 SH-SY5Y 细胞炎性反应及自噬作用,发现 $\beta$ -细辛醚可抑制炎性细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6)的产生,保护细胞免受  $\text{A}\beta_{25-35}$  诱导的炎性反应。 $\alpha$ -细辛醚是一种很有前途的神经保护剂,可以用于预防和治疗小胶质细胞介导的神经炎症状态,因为有研究<sup>[67]</sup>在体内/体外实验中发现, $\alpha$ -细辛醚能够阻断 NF- $\kappa$ B 激酶即  $\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$  和  $\beta$ (inhibitor kappa B- $\alpha$ ,  $\beta$ )在 SE 大鼠和原代培养细胞中的降解途径,调节 NF- $\kappa$ B 转录水平,抑制小胶质细胞介导的神经炎症。Xu 等<sup>[68]</sup>的研究结论与该研究结果相一致,另外他们认为 $\alpha$ -细辛醚减轻炎症是通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路减少了炎性因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  的产生。

## 5.5 通过保护血脑屏障发挥作用及其他作用

上述各级联反应的作用下,特别是在炎性反应中聚集的白细胞能够释放氧自由基、蛋白水解酶等直接损伤脑毛细血管内皮细胞,破坏血脑屏障。血脑屏障作为保持脑组织内环境稳定的重要屏障,中枢神经系统疾病常引起其结构与功能的变化。病理状态下,血脑屏障的内皮细胞间紧密连接开放,使得屏障的通透性增加,从而产生脑水肿造成神经元损伤,导致脑组织严重破坏。有观点<sup>[69]</sup>认为,若降低血脑屏障通透性,阻止大分子物质通过血脑屏障,将能够保护血脑屏障,改善脑缺血再灌注损伤。虽然已有研究<sup>[70]</sup>证实石菖蒲及石菖蒲挥发油成分能够保护血脑屏障,降低脑缺血再灌注损伤,但也有结果<sup>[71, 37]</sup>表明 $\alpha$ -与 $\beta$ -细辛醚能使内皮细胞皱缩,紧密连接疏松,从而增加血脑屏障的通透性,辅助药物进入脑组织,这与上述研究机制相矛盾。所以, $\alpha$ -和 $\beta$ -

细辛醚对于血脑屏障是否具有保护作用还需要进一步研究来证实。

除此之外,  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚在扩张血管以及抗血栓中也发挥重要作用。有研究表明  $\beta$ -细辛醚和  $\alpha$ -细辛醚都能够抗血小板聚集<sup>[72,73]</sup>。另外, 内皮素、去甲肾上腺素(NE)、降钙素基因相关肽(CGRP)等作为调节血管的收缩与舒张的重要因子,  $\beta$ -细辛醚能降低内皮素含量, 升高CGRP表达<sup>[74]</sup>, 降低NE含量<sup>[75]</sup>。总之,  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚可以通过扩张血管, 降低病理条件下血小板聚集, 从而使血管平滑肌舒张, 改善组织血液供应, 起到一定的抗血栓作用。

## 6 讨论与展望

石菖蒲挥发油主要成分  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚的药理作用广泛, 由于其高脂溶性, 它们极易通过血脑屏障分布于脑组织, 在神经系统疾病方面展示了广泛药理活性。近年来, 国内外学者对于  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚作用机制进行了系统的研究, 证实了它们具有抗认知功能障碍、抗抑郁、抗帕金森、抗癫痫和抗缺血性脑卒中的显著作用。临床已将  $\alpha$ -细辛醚用于支气管哮喘、慢性支气炎、肺炎及其它呼吸道疾病的治疗, 其抗血小板和抗血栓作用也在冠心病、心肌梗死以及肺栓塞的治疗中发挥了优势<sup>[76]</sup>。此外,  $\beta$ -细辛醚通过诱导癌细胞凋亡, 对结肠癌、直肠癌显示出有效的抗肿瘤活性<sup>[77]</sup>。然而, 对  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚开发与应用还需要解决一系列问题。首先,  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚虽然具有吸收快、分布快的特点, 但它们的口服生物利用度低, 血浆中药物消除的速度快, 半衰期短;其次,  $\beta$ -细辛醚在机体内约22%可转变为  $\alpha$ -细辛醚(顺式结构转变为反式结构), 使得  $\beta$ -细辛醚的药理作用变得不明确;另外, 毒理学研究表明,  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚具有致突变性、遗传毒性和致畸性, 临床应用具有一定风险<sup>[78,79]</sup>。因此, 可以对  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚进行一定的化学结构修饰来提高药物的稳定性, 改善  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚的代谢过程, 从而提高生物利用度;对其用药安全及用药剂量进行进一步评价, 提高药物作用的安全性和有效性;并且, 还需要对现今有关  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚致肝癌与抗癌的不同观点进行进一步研究。总之, 继续深入开展对石菖蒲挥发油主要成分  $\alpha$ -和  $\beta$ -细辛醚药理活性等方面的研究将具有重要意义。

## 参考文献

- 版) [M]. Beijing: China Chinese Medicine Press, 2007: 420-421.
- 2 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010: 91-92.
  - 3 Guo MT, et al. Study of the substance basis and mechanism of effects of *Acorus tatarinowii* Schott [J]. *Pharmacol Clin Chin Mat Med* (中医药理与临床), 2019, 35: 179-184.
  - 4 Shao FP, et al. The research progress of Shichangpu (Rhizoma Acori Graminei) [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm* (中医药导报), 2018, 24 (22): 65-69.
  - 5 Chellian R, et al. Pharmacology and toxicology of  $\alpha$ - and  $\beta$ -asarone: a review of preclinical evidence [J]. *Phytomedicine*, 2017, 32: 41-58.
  - 6 Liu JX, et al. Research progress of the effects and mechanisms of alpha-asarone and beta-asarone in cardio-cerebro-vascular diseases [J]. *Prog Mod Biomed* (现代生物医学进展), 2019, 19: 1797-1800.
  - 7 Kumar H, et al. Cognitive enhancing effects of alpha-asarone in amnesic mice by influencing cholinergic and antioxidant defense mechanisms [J]. *Biosc Biotech Bioch*, 2012, 76 (8): 1518-1522.
  - 8 Shin JW, et al. alpha-Asarone ameliorates memory deficit in lipopolysaccharide-treated mice via suppression of pro-inflammatory cytokines and microglial activation [J]. *Biomol Ther*, 2014, 22 (1): 17-26.
  - 9 Lam KY, et al. Asarone from *Acori tatarinowii* Rhizoma potentiates the nerve growth factor-induced neuronal differentiation in cultured PC12 cells: a signaling mediated by protein kinase A [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (9): e0163337.
  - 10 Liu S, et al. Anxiolytic-like effect of alpha-asarone in mice [J]. *Phytother Res*, 2012, 26: 1476-1481.
  - 11 Zhang S, et al. Neuroprotective Effects of beta-asarone against 6-Hydroxy Dopamine-induced parkinsonism via JNK/Bcl-2/Beclin-1 pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 53 (1): 83-94.
  - 12 Expert group meeting on the prevention and treatment of cognitive disorders in China. Expert consensus on prevention and treatment of cognitive dysfunction in China [J]. *J Neurol Neurorehabil* (神经病学与神经康复学), 2006, 3 (2): 98-99.
  - 13 Yang QQ, et al.  $\beta$ -Asarone rescues Pb-induced impairments of spatial memory and synaptogenesis in rats [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (12): e0167401.
  - 14 Deng M, et al.  $\beta$ -Asarone improves learning and memory and

- reduces acetyl cholinesterase and beta-amyloid 42 levels in APP/PS1 transgenic mice by regulating beclin-1-dependent autophagy [J]. Brain Res, 2016, 1652:188-194.
- 15 Yang YX, et al. Neuroprotective effects and mechanism of  $\beta$ -asarone against A $\beta$ 1-42-Induced injury in astrocytes [J]. Evidence-Based Compl ALT, 2017:8516518.
- 16 Dong HY, et al. Effects of  $\beta$ -asarone and tenuigenin on activities of SOD, GSH, CAT, MDA and HO-1 in APP/PS1 double transgenic mice [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29:1551-1557.
- 17 Cho JS, et al. Protection of cultured rat cortical neurons from excitotoxicity by asarone, a major essential oil component in the rhizomes of *Acorus Gramineus* [J]. Life Sci, 2002, 71: 591-599.
- 18 Li QQ, et al. Effect of  $\alpha$ -asarone on ethanol-induced learning and memory impairment in mice and its underlying mechanism [J]. Life Sci, 2019, 238:116898.
- 19 Joseph YJ, et al. Is there progress An overview of selecting biomarker candidates for major depressive disorder [J]. Front Psychiatry, 2016, 7(23):72-86.
- 20 Miret M, et al. Depressive disorders and suicide: epidemiology, risk factors, and burden [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2013, 37:2372-2374.
- 21 Tian JS, et al. 1H-NMR-Based metabonomic studies on the anti-depressant effect of genipin in the chronic unpredictable mild stress rat model [J]. PLoS One, 2013, 8(9):75721.
- 22 Haroon E, et al. Inflammation effects on brain glutamate in depression; mechanistic considerations and treatment implications [J]. Curr Topics Behav Neurosci, 2017, 31:173-198.
- 23 Wang ZZ, et al. Depression and inflammation [J]. J Neuroparmacol(神经药理学), 2013, 3(5):27-37.
- 24 Liu CS, et al. Evidence for inflammation-associated depression [J]. Curr Topics Behav Neurosci, 2017, 31:3-30.
- 25 He XY, et al. Comparative study of the corticosterone and glutamate induced PC12 cells depression model by  $^1$ H NMR metabolomics [J]. Acta Pharm Sin, 2017, 52:245-252.
- 26 Han P, et al. Antidepressant-like effects of essential oil and asarone, a major essential oil component from the rhizome of *Acorus tatarinowii* [J]. Pharm Biol, 2013, 51:589-594.
- 27 Wang XM, et al. Effects of supercritical extract of *Acorus tatarinowii* on behavior of depressive rats [J]. Med Recapit(医学综述), 2019, 25:2064-2068.
- 28 Dong H, et al.  $\beta$ -Asarone reverses chronic unpredictable mild stress-induced depression-like behavior and promotes hippocampal neurogenesis in rats [J]. Molecules, 2014, 19:5634-5649.
- 29 Chellian R, et al. Alpha-asarone attenuates depression-like behavior in nicotine-withdrawn mice: evidence for the modulation of hippocampal pCREB levels during nicotine-withdrawal [J]. Eur J Pharmacol, 2018, 818:10-16.
- 30 Chellian R, et al. Biphasic effects of  $\alpha$ -asarone on immobility in the tail suspension test: evidence for the involvement of the noradrenergic and serotonergic systems in its antidepressant-like activity [J]. Front Pharmacol, 2016, 7:72.
- 31 Bao Q, et al. Advances in Chinese Medicine in the treatment of Parkinson's disease [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med(现代中西医结合), 2019, 28:3416-3420.
- 32 Xiong YY, et al. Protective effects of asiatic acid on rotenone- or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced injury in SH-SY5Y cells [J]. Neurochem Res, 2009, 34:746 -754.
- 33 Chen Q, et al. Progress in inflammatory response and Parkinson's disease [J]. Chin J Neuroimmunol Neurol(中国神经免疫学和神经病学), 2015, 22:434-437.
- 34 Dandiya PC, et al. Interaction of asarone with mescaline, amphetamine and tremorine [J]. Life Sci, 1965, 4:1635-1641.
- 35 Huang L, et al. Co-administration of  $\beta$ -asarone and Levodopa increase dopamine in rat's brain via accelerating transformation of Levodopa: a different mechanism from madopar [J]. Clin Exp Pharmacol P, 2014, 41:685-690.
- 36 Huang LP, et al.  $\beta$ -asarone and levodopa co-administration protects against 6-hydroxydopamine-induced damage in parkinsonian rat mesencephalon by regulating autophagy: down-expression Beclin-1 and light chain 3B and up-expression P62 [J]. Clin Exp Pharmacol P, 2015, 42:269-277.
- 37 Huang LP, et al.  $\beta$ -Asarone and levodopa co-administration increase striatal dopamine level in 6-hydroxydopamine induced rats by modulating P-glycoprotein and tight junction proteins at the blood-brain barrier and promoting levodopa into the brain [J]. Clin Exp Pharmacol P, 2016, 43:634-643.
- 38 Huang LP, et al.  $\beta$ -Asarone and levodopa coadministration increases striatal levels of dopamine and levodopa and improves behavioral competence in Parkinson's rat by enhancing dopa decarboxylase activity [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 94:666-678.
- 39 Zhang QS, et al. Beta-asarone protects against MPTP-induced Parkinson's disease via regulating long non-coding RNA MALAT1 and inhibiting  $\alpha$ -synuclein protein expression [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83:153-159.
- 40 Kim BW, et al.  $\alpha$ -Asarone attenuates microglia-mediated neuroinflammation by inhibiting NF kappa B activation and

- mitigates MPTP-induced behavioral deficits in a mouse model of Parkinson's disease [J]. *Neuropharmacology*, 2015, 97: 46-57.
- 41 Fournier NM, et al. The effect of left and right long-term amygdala kindling on interictal emotionality and Fos expression [J]. *Epilepsy Behav*, 2020, 104 (Pt A): 106910.
- 42 Daif A, et al. Antiglutamic acid decarboxylase 65 (GAD65) antibody-associated epilepsy [J]. *Epilepsy Behav*, 2018, 80: 331-336.
- 43 Fu SY, et al. Effects of  $\beta$ -asarone on expression of FOS and GAD65 in cortex of epileptic rat induced by penicillin [J]. *Chin Med Mat(中药材)*, 2008 (1): 79-81.
- 44 Pages N, et al. Activities of  $\alpha$ -asarone in various animal seizure models and in biochemical assays might be essentially accounted for by antioxidant properties [J]. *Neurosci Res*, 2010, 68: 337-344.
- 45 Huang C, et al. Alpha-asarone from *Acorus gramineus* alleviates epilepsy by modulating A-Type GABA receptors [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 65: 1-11.
- 46 He X, et al. Anticonvulsant activities of  $\alpha$ -asaronol ((E)-3'-hydroxyasarone), an active constituent derived from  $\alpha$ -asarone [J]. *Pharmacol Rep*, 2018, 70 (1): 69-74.
- 47 Rosamond W, et al. Heart disease and stroke statistics -2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee [J]. *Circulation*, 2007, 115 (5): e69-171.
- 48 Zhou M, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990 - 2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394: 1145-1158.
- 49 Qiu L. Observation on the effect of alteplase thrombolysis in the treatment of acute ischemic stroke [J]. *J Chin Prescr Drug(中国处方药)*, 2019, 17 (10): 103-104.
- 50 Eltzschig HK, et al. Ischemia and reperfusion-from mechanism to translation [J]. *Nat Med*, 2011, 17: 1391-1401.
- 51 Yang YX, et al. Beta-asarone, a major component of *Acorus tatarinowii* Schott, attenuates focal cerebral ischemia induced by middle cerebral artery occlusion in rats [J]. *BMC Compl Altern M*, 2013, 13 (1): 236.
- 52 Mo Z, et al.  $\beta$ -Asarone protects PC12 cells against OGD/R-induced injury via attenuating Beclin-1-dependent autophagy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33: 737-742.
- 53 Lee HJ, et al. Positive effects of  $\alpha$ -asarone on transplanted neural progenitor cells in a murine model of ischemic stroke [J]. *Phytomedicine*, 2018, 51: 151-161.
- 54 Liu L, et al. Beta-asarone attenuates ischemia-reperfusion-induced autophagy in rat brains via modulating JNK, p-JNK, Bcl-2 and Beclin 1 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 680 (1-3): 34-40.
- 55 Zhang BY, et al. Energy metabolism disorder and diseases: from effects to potential targets [J]. *Acta Pharm Sin(药学学报)*, 2019, 54: 1372-1381.
- 56 Fang YQ, et al. Protective effects of  $\beta$ -asarone and borneol on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Chin J Tradit M Sci Technol(中国中医药科技)*, 2004, 6: 353-354.
- 57 Wang XL, et al. Protective effects of  $\beta$ -asarone on hippocampal neurons against hypoxia/hypoglycemia and reperfusion injury [J]. *Chin J Pathophysiol(中国病理生理)*, 2014, 30: 928-932.
- 58 Wang NP, et al. The effect of four resuscitation drugs on mitochondrial and Beclin-1 damage induced by  $A\beta$  (1-42) PC12 cells [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药)*, 2017, 28: 591-593.
- 59 Xu WC. Effect of  $\beta$ -asarone to protects PC12 cells was injured by Glu and the expression of NMDAR subunits [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2017.
- 60 He J, et al. Astragalus polysaccharide alleviates oxidative stress response and immune dysfunction of acute cerebral ischemia reperfusion injury [J]. *Chin J Immunol(中国免疫学)*, 2019, 35: 1443-1447.
- 61 Jakesevic M, et al. Antioxidative protection of dietary bilberry, chokeberry and *Lactobacillus plantarum* HEAL19 in mice subjected to intestinal oxidative stress by ischemia reperfusion [J]. *BMC Compl Altern M*, 2011, 11: 8.
- 62 Manikandan S. Antioxidant property of  $\alpha$ -asarone against noise-stress-induced changes in different regions of rat brain [J]. *Pharmacol Res*, 2005, 52: 467-474.
- 63 Lakhan SE, et al. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches [J]. *J Transl Med*, 2009, 97 (7): 773.
- 64 Su WJ, et al. Inflammatory mechanisms of depression and its new strategy for diagnosis and treatment [J]. *Acta Physiol Sin(生理学报)*, 2017, 69: 715-722.
- 65 Zhi N, et al. Neuroinflammation in ischemic stroke [J]. *J Neurol Neurorehabil(神经病学与神经康复学)*, 2016, 12 (1): 41-46.
- 66 Chang WG, et al.  $\beta$ -Asarone prevents  $A\beta$ 25-35-induced inflammatory responses and autophagy in SH-SY5Y cells: down expression Beclin-1, LC3B and up expression Bcl-2 [J]. *Int J*

- Clin Exp Med, 2015, 8:20658-20663.
- 67 Liu HJ, et al.  $\alpha$ -Asarone attenuates cognitive deficit in a pilocarpine-induced status epilepticus rat model via a decrease in the nuclear factor- $\kappa$ B activation and reduction in microglia neuroinflammation [J]. Front Neurol, 2017, 14(8):661.
- 68 Xu Y. Study of the antiepileptic effect of  $\alpha$ -asarone by regulating microglia-mediated brain inflammatory response [D]. Chongqing: Chongqing Medical University(重庆医科大学), 2016.
- 69 Özen I, et al. Loss of regulator of G-Protein signaling 5 leads to neurovascular protection in stroke [J]. Stroke, 2018, 49: 2182-2190.
- 70 Xiao YX, et al. Study on protective effect of water decoction of Rhizoma Acori Tatarinowii on blood brain barrier in rats with different time of acute cerebral ischemia reperfusion [J]. J Chengdu Univ TCM(成都中医药大学学报), 2016, 39(2):32-35.
- 71 Shang YN. Study on the mechanism of  $\alpha$ -asarone regulation blood-brain barrier and biological safety in zebrafish [D]. Inner Mongolia: Inner Mongolia University For The Nationalities (内蒙古民族大学), 2015.
- 72 Perez PR, et al. Hypolipidaemic and antiplatelet activity of phenoxyacetic acid derivatives related to alpha-asarone [J]. J Pharm Pharmacol, 2006, 58:1343-1349.
- 73 Poplawski J, et al. Synthesis and hypolipidemic and antiplatelet activities of alpha-asarone isomers in humans (*in vitro*), mice (*in vivo*), and rats (*in vivo*) [J]. J Med Chem, 2000, 43:3671-3676.
- 74 Chen YZ, et al. Effects of volatile oil of *Acorus* and  $\beta$ -asarone on vasomotion and anti-platelet aggregation in rats with hyperlipidemia [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2004, 24(S1):16-18.
- 75 Wu QR. Pharmacodynamic study and mechanism of *Acorus tatarinowii* Schott and  $\beta$ -asarone on preventing and curing acute myocardial infarction [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine(广州中医药大学), 2006.
- 76 Feng XL, et al. *Acorus Linnaeus*: a review of traditional uses, phytochemistry and neuropharmacology [J]. RSC Adv, 2015, 5:5173-5182.
- 77 Liu L, et al. Beta-asarone induces senescence in colorectal cancer cells by inducing lamin B1 expression [J]. Phytomedicine, 2013, 20:512-520.
- 78 European-commission. Opinion of the Scientific Committee on Food on the presence of  $\beta$ -asarone in flavourings and other food ingredients with flavouring properties [R]. Scientific Committee on Food, 2002:1-15.
- 79 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Monograph on  $\beta$ -asarone [R]. In: WHO Food Additive Series No. 16, 1981;33-44.
- 80 Xiao X, et al. Anti-inflammatory treatment with  $\beta$ -asarone improves impairments in social interaction and cognition in MK-801 treated mice [J]. Brain Res Bull, 2019, 150:150-159.
- 81 Liu S, et al. Neuroprotective effect of  $\beta$ -asarone against Alzheimer's disease; regulation of synaptic plasticity by increased expression of SYP and GluR1 [J]. Drug Des Dev and Ther, 2016, 10:1461- 1469.
- 82 Lee B, et al. Effect of beta-asarone on impairment of spatial working memory and apoptosis in the hippocampus of rats exposed to chronic corticosterone administration [J]. Biomol Ther, 2015, 23:571-581.
- 83 Chen Y, et al.  $\beta$ -Asarone prevents autophagy and synaptic loss by reducing ROCK expression in senescence-accelerated prone 8 mice [J]. Brain Res, 2014, 1552:41-54.
- 84 Sun YR, et al.  $\beta$ -Asarone from *Acorus gramineus* alleviates depression by modulating MKP-1 [J]. Genet Mol Res, 2015, 14:4495-4504.
- 85 Ning B, et al.  $\beta$ -Asarone regulates ER stress and autophagy via inhibition of the PERK/CHOP/Bcl-2/Beclin-1 pathway in 6-OHDA-Induced Parkinsonian rats [J]. Neurochem Res, 2019, 44:1159-1166.
- 86 Ning B, et al.  $\beta$ -Asarone inhibits IRE1/XBP1 endoplasmic reticulum stress pathway in 6-OHDA-induced Parkinsonian rats [J]. Neurochem Res, 2016, 41:2097-2101.