

覆盆子不同提取部位 对小鼠记忆障碍的改善作用研究

李昆, 夏轩轩, 丁研华, 周文颖, 谢宝石, 蔡俊斌, 谢一辉, 黄丽萍*
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

[摘要] **目的:**观察覆盆子不同提取部位对东莨菪碱、亚硝酸钠及40%乙醇造成的小鼠记忆障碍模型的影响,探索覆盆子对这3种记忆障碍模型的有效部位,为进一步研究覆盆子对学习记忆改善作用的机制提供依据。**方法:**昆明种小鼠130只,随机分成13组,每组10只。即正常组,模型组,阳性组,覆盆子全药高剂量和低剂量组,三氯甲烷部位高剂量和低剂量组,正丁醇部位高剂量和低剂量组,乙酸乙酯部位高剂量和低剂量组,水提部位高剂量和低剂量组。给药组小鼠分别以高、低剂量(24, 12 g·kg⁻¹) ig 覆盆子全药、三氯甲烷部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位、水提部位;阳性药组给银杏叶制剂量为7.6 mg·kg⁻¹,正常组和模型组给予等量的蒸馏水,连续12 d。7 d后除正常组外,东莨菪碱所致模型测试前30 min ip 1 mg·kg⁻¹,亚硝酸钠所致模型训练后 ip 120 mg·kg⁻¹,40%乙醇所致模型测试前30 min ig 0.1 mL·kg⁻¹,检测小鼠在Morris水迷宫的定位航行能力和空间探索能力。**结果:**与正常组比较,3种记忆障碍逃避潜伏期明显延长,穿越平台次数明显缩短($P < 0.05$);与模型组比较,覆盆子全药、三氯甲烷部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位、水提部位均可缩短3种记忆障碍逃避潜伏期,增加其穿越平台次数($P < 0.05$)。**结论:**覆盆子水提部位高剂量组对东莨菪碱、亚硝酸钠造成的小鼠记忆障碍模型改善效果最优;覆盆子全药高剂量组对40%乙醇造成的记忆障碍小鼠模型改善效果最优。

[关键词] 覆盆子; 学习记忆; 东莨菪碱; 亚硝酸钠; 40%乙醇

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0142-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020142

Effect of Different Extract Parts From Rubi Fructus on Improving Memory Disorder in Mice

LI Kun, XIA Xuan-xuan, DING Yan-hua, ZHOU Wen-ying,
XIE Bao-shi, CAI Jun-bin, XIE Yi-hui, HUANG Li-ping*

(College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Rubi Fructus's different extract parts on the memory disorders induced by scopolamine, Sodium nitrite and 40% Ethanol in rats, explore the effective extract parts of Rubi Fructus for the 3 memory disorder models, and provide the experimental evidence for research of mechanism of Rubi Fructus in improving the memory ability. **Method:** Intragastric 130 Kunming mice were randomly divided into 13 groups, $n = 10$ in each group, including blank group, model group, positive group, Rubi Fructus whole prescription high dose group and low dose group, chloroform extract high dose group and low dose group, n-butyl alcohol extract high dose group and low dose group, ethyl acetate extract high dose group and low dose group, aqueous extract high dose group and low dose group. Administration groups respectively received ig high dose and low dose (24, 12 g·kg⁻¹) Rubi Fructus whole prescription, chloroform extract, n-butyl alcohol extract, ethyl

[收稿日期] 20150107(009)

[基金项目] 江西省自然科学基金项目(20133BAB20002);江西省卫生厅中医药科研计划项目(2013A010);江西省高等学校大学生创新创业计划项目(201310412005)

[第一作者] 李昆, 硕士, 从事中药药理学研究, Tel:0791-87118919, E-mail:20080823lk@sian.com

[通讯作者] *黄丽萍, 博士, 教授, 从事中药药理学研究工作, Tel:0791-87118919, E-mail:jxnchlp@163.com

acetate extract, and aqueous extract. The positive group received ginkgo leaves preparation $7.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The blank group and the model group received same-volume-gavage of saline, continuous for 12 days. After 7 days, all mice except those in the blank group were intraperitoneally injected with corresponding $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ dose 30 min before test for the scopolamine-induced models, intraperitoneally injected with corresponding $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ after training for the sodium nitrite-induced models, and received intragastric administration of $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 30 min before test for 40% ethanol-induced models, to explore the navigation ability and space exploration ability in the Morris water maze. **Result:** Compared with the normal group, escape latency of three memory disorders were significantly prolonged, and the number of times for passing the platform was significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, Rubi Fructus whole prescription, chloroform extract, ethyl acetate extract, n-butanol extract, and water extract can shorten the escape latency of three memory disorders and enhance the number of times for passing the platform ($P < 0.05$). **Conclusion:** Rubi Fructus' s water extract high dose group has the best effect for improving the memory disorders induced by scopolamine and sodium nitrite. Rubi Fructus whole prescription high dose group has the best effect for improving memory disorders induced by 40% ethanol in mice.

[**Key words**] Rubi Fructus; learning and memory; scopolamine; sodium nitrite; 40% ethanol

覆盆子为蔷薇科植物华东覆盆子的干燥果实。具有益肾固精缩尿,养肝明目的功能;临床用于肾虚所致阳痿早泄,尿频,遗精滑精,目暗昏花,须发早白^[1]。覆盆子具有抗衰老作用,在 *D*-半乳糖和 $\text{A}\beta$ 诱导的记忆障碍模型中,可增加脑内超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的含量,降低丙二醛(MDA)的含量^[2]。在前期研究发现了覆盆子三氯甲烷提取部位和乙酸乙酯提取部位对 *D*-半乳糖联合氢化可的松造成的肾阳虚型痴呆大鼠和东莨菪碱所致学习记忆障碍大鼠有很明显的改善其学习记忆的作用^[3-4],并对其作用机制做了初步研究发现其通过降低乙酰胆碱酯酶(AChE)活性,升高乙酰胆碱转移酶(ChAT)活性,保护海马 CA1 区神经元等作用改善大鼠的学习记忆能力。为了进一步确证覆盆子对于学习记忆的生理过程即获得记忆、巩固记忆和再现记忆 3 个过程的影响。本文采用东莨菪碱、亚硝酸钠、40% 乙醇 3 种化学药物给小鼠造成 3 种记忆障碍模型,系统地观察覆盆子不同提取部位对于学习记忆的影响,为进一步研究覆盆子中改善学习记忆的有效成分的药理作用及机制打下基础。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雄性,体重 $18 \sim 22 \text{ g}$,清洁级。江西中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(赣)2011-0001。

1.2 药物及试剂 氢溴酸东莨菪碱注射液(广州白云山明兴制药有限公司,批号 130403),亚硝酸钠(天津市大茂化学试剂厂,批号 20130622),40% 的乙醇(江西健定医药科技有限公司,批号 20130508),银杏叶制剂(深圳海王药业有限公司,批号 20121004)。

覆盆子原药,三氯甲烷部位,正丁醇部位,乙酸乙酯部位,水提部位(覆盆子购于江西樟树,由江西中医药大学谢一辉教授鉴定为华东覆盆子成熟果实;由江西中医药大学药物分析室提取制备)。

1.3 仪器 Morris 型水迷宫(北京众实迪创科技发展有限公司),电子天平(上海平轩科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响 将小鼠称重后随机分成 13 组,每组 10 只。即正常组,模型组,阳性组,覆盆子全药高剂量和低剂量组,三氯甲烷部位高剂量和低剂量组,正丁醇部位高剂量和低剂量组,乙酸乙酯部位高剂量和低剂量组,水提部位高剂量和低剂量组($24, 12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。正常组、模型组给与等量的蒸馏水,阳性组给银杏叶制剂量为 $7.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药 7 d 后,以东莨菪碱 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 在每只小鼠每次训练前 30 min 腹腔注射,正常组给予等量生理盐水。

2.2 对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响 分组及给药同 2.1 项。给药第 7 天后,每组小鼠每次训练后立即以亚硝酸钠 $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重 *ih* 24 h 后再测^[5],正常组给予等量生理盐水。

2.3 对 40% 乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响 分组及给药同 2.1 项。给药第 7 天后,以 40% 乙醇在测试前 30 min 按 $0.1 \text{ mL} \cdot 10 \text{ g}^{-1}$ 体重的剂量给小鼠 *ig*,正常组给予等量蒸馏水。

2.4 Morris 水迷宫测试 给药第 7 天后进行水迷宫测试。前 4 d 定位航行实验,最后 1 天空间探索实验。水迷宫分 I, II, III, IV 4 个象限,将小鼠面

向池壁从除平台所在象限之外的 3 个象限任意放入水中 1 次,入水点分别为象限的中点,每只小鼠每天连续训练 2 次,每次间隔 2 min。每组小鼠每天在相同的时间训练。每次 60 s,小鼠从入水到找到安全平台所需的时间即为逃避潜伏期。若小鼠在 60 s 内找到平台,则使其在平台上停留 10 s;若在 60 s 内未找到平台,则由实验人员将其引至平台,并停留 10 s,将潜伏期设定为 60 s 连续 4 d。第 5 天开始空间探索,撤掉平台,将小鼠从远离目标象限的任意一点入水,持续时间 60 s。观察小鼠第 II 象限游泳路程、进入第 II 象限次数及穿越平台次数。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析和 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对东莨菪碱致小鼠获得记忆障碍的影响 与

正常组比较,模型组逃避潜伏期第 3 天开始时间有明显延长($P < 0.05$);空间探索中穿越平台次数明显减少,在目标象限的路程明显缩短,进入目标象限次数也明显减少,说明此模型造模成功。与模型组比较,覆盆子水提高部位剂量组第 2 天逃避潜伏期时间明显缩短;银杏叶制剂、三氯甲烷部位、全药和乙酸乙酯部位低剂量组、正丁醇部位、水提部位和全药高剂量组第 3 天逃避潜伏期时间均有明显缩短。三氯甲烷和原药低剂量组第 4 天潜伏期时间有明显缩短;空间探索中,银杏叶制剂、三氯甲烷部位、正丁醇部位、全药和乙酸乙酯部位低剂量组,水提部位、全药、乙酸乙酯部位高剂量组较模型组穿越平台次数也有明显增加;正丁醇部位高剂量组、全药、乙酸乙酯部位低剂量组在目标象限的路程均明显增长;银杏叶制剂及所有给药组进入目标象限次数均有显著增加。见表 1,2。

表 1 覆盆子不同给药部位对东莨菪碱致小鼠获得记忆障碍的逃避潜伏期的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on escape latency induced by scopolamine in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	第 1 天/s	第 2 天/s	第 3 天/s	第 4 天/s
正常	-	57.00 ± 6.04	48.16 ± 18.18	33.60 ± 17.96 ¹⁾	21.31 ± 17.41 ¹⁾
模型	-	56.10 ± 11.98	49.88 ± 16.70	52.36 ± 14.48	47.18 ± 14.14
银杏叶制剂	0.007 6	48.43 ± 17.49	37.03 ± 18.38	34.87 ± 18.89 ¹⁾	32.63 ± 21.20
三氯甲烷部位	12	50.19 ± 14.54	50.71 ± 16.51	32.55 ± 20.73 ¹⁾	29.48 ± 12.60 ¹⁾
	24	56.60 ± 10.05	57.14 ± 8.20	41.47 ± 19.29	34.05 ± 16.44
正丁醇部位	12	47.60 ± 16.86	41.34 ± 22.56	38.55 ± 15.63	43.54 ± 17.44
	24	54.08 ± 11.21	45.17 ± 21.12	34.31 ± 19.18 ¹⁾	33.76 ± 14.31
水提部位	12	52.66 ± 12.88	40.47 ± 19.09	34.40 ± 20.16	32.52 ± 15.63
	24	48.36 ± 11.17	33.68 ± 20.95 ¹⁾	35.23 ± 17.06 ¹⁾	38.18 ± 20.09
覆盆子	12	56.60 ± 7.14	45.44 ± 15.81	34.32 ± 19.53 ¹⁾	28.59 ± 17.81 ¹⁾
	24	51.60 ± 12.46	37.71 ± 17.53	35.90 ± 18.36 ¹⁾	35.62 ± 15.86
乙酸乙酯部位	12	54.56 ± 11.82	43.9 ± 12.36	30.64 ± 14.70 ¹⁾	34.23 ± 19.92
	24	48.40 ± 14.31	37.9 ± 19.57	43.51 ± 14.71	38.19 ± 17.03

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。

3.2 覆盆子不同给药部位对亚硝酸钠致小鼠巩固记忆障碍的影响 与正常组比较,模型组在潜伏期第 4 天时间明显增长;空间探索中,穿越平台次数明显减少,在目标象限路程明显缩短,进入目标象限次数明显减少,说明此模型造模成功。与模型组比较,给药组中除全药和乙酸乙酯低剂量组外,其余给药组第 4 天逃避潜伏期时间明显缩短。在空间探索中,银杏叶制剂及所有给药组穿越平台次数均有不同程度增加。除银杏叶制剂、三氯甲烷部位、正丁醇部位、水提部位低剂量及全药高剂量组外,其他给药组进入目标象限次数明显增加。见表 3,4。

3.3 对 40% 乙醇致小鼠记忆再现障碍的影响 与正常组比较,模型组第 3 天开始逃避潜伏期时间明

显延长;空间探索中,穿越平台次数明显减少,在目标象限路程明显缩短,进入目标象限次数明显减少。与模型组比较,正丁醇部位和全药高剂量组、全药和乙酸乙酯部位低剂量组第 4 天逃避潜伏期时间均有明显缩短;空间探索中,银杏叶制剂及给药组穿越平台次数较模型组均有不同程度增加;在目标象限的路程全药低剂量及乙酸乙酯部位高剂量组较模型组有明显增加。银杏叶制剂及所有给药组进入目标象限的次数较模型组均有明显增多。见表 5,6。

3.4 对 3 种小鼠记忆障碍模型改善作用的综合评价 根据多指标加权评分的方法,对 3 种模型的逃避潜伏期和空间探索穿越平台次数进行效应整合。各权重值采用专家评分法,即同行专家对于模型中

表 2 覆盆子不同给药部位对东莨菪碱所致小鼠获得记忆障碍空间探索的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on space exploration ability induced by scopolamine in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第二象限路程/m	第二现象进入数/次	穿越平台数/次
正常	-	3 832.1 ± 1 248.8 ¹⁾	12.6 ± 2.3 ¹⁾	4.8 ± 1.9 ¹⁾
模型	-	1 698.8 ± 671.5	3.4 ± 1.1	1.1 ± 0.9
银杏叶制剂	0.007 6	3 150.8 ± 1 369.0	9.0 ± 3.6 ¹⁾	3.5 ± 1.9 ¹⁾
三氯甲烷部位	12	3 861.7 ± 1 463.2	9.9 ± 3.1 ¹⁾	3.6 ± 2.0 ¹⁾
	24	3 813.4 ± 1 696.1	8.6 ± 3.8 ¹⁾	2.3 ± 1.6
正丁醇部位	12	2 978.4 ± 718.3	8.5 ± 2.5 ¹⁾	2.8 ± 1.3 ¹⁾
	24	3 609.3 ± 1 088.7 ¹⁾	9.5 ± 3.5 ¹⁾	2.6 ± 2.5
水提部位	12	3 344.1 ± 1 295.0	8.9 ± 3.1 ¹⁾	2.5 ± 1.4
	24	3 068.6 ± 1 468.3	9.8 ± 3.3 ¹⁾	3.1 ± 1.4 ¹⁾
覆盆子	12	3 770.8 ± 932.9 ¹⁾	8.5 ± 3.1 ¹⁾	2.9 ± 1.6 ¹⁾
	24	3 478.8 ± 1 223.5	10.3 ± 3.8 ¹⁾	3.7 ± 2.2 ¹⁾
乙酸乙酯部位	12	3 392.9 ± 758.4 ¹⁾	9.4 ± 3.1 ¹⁾	3.0 ± 1.9 ¹⁾
	24	3 475.8 ± 1 570.6	9.1 ± 4.4 ¹⁾	3.5 ± 2.5 ¹⁾

表 3 覆盆子不同给药部位对亚硝酸钠致小鼠巩固记忆障碍逃避潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on escape latency induced by sodium nitrite in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第 1 天/s	第 2 天/s	第 3 天/s	第 4 天/s
正常	-	57.00 ± 6.04	48.16 ± 18.18	33.60 ± 17.96	21.31 ± 17.41 ¹⁾
模型	-	48.12 ± 17.93	45.80 ± 19.53	39.50 ± 22.33	43.20 ± 21.80
银杏叶制剂	0.007 6	52.53 ± 17.13	45.36 ± 20.13	44.29 ± 16.99	32.00 ± 18.40
三氯甲烷部位	12	51.91 ± 17.24	41.25 ± 22.38	39.89 ± 21.79	30.94 ± 18.43 ¹⁾
	24	47.83 ± 20.47	41.18 ± 19.19	29.66 ± 21.5	26.86 ± 20.72 ¹⁾
正丁醇部位	12	36.15 ± 23.71	40.75 ± 23.75	44.35 ± 18.68	29.32 ± 15.33 ¹⁾
	24	57.14 ± 8.56	42.07 ± 26.88	28.95 ± 17.60	30.54 ± 112.10 ¹⁾
水提部位	12	51.40 ± 15.15	44.33 ± 7.66	46.10 ± 16.33	26.96 ± 12.57 ¹⁾
	24	45.20 ± 22.09	34.74 ± 23.03	21.82 ± 20.46	28.33 ± 23.36 ¹⁾
覆盆子	12	54.15 ± 11.54	35.78 ± 23.18	40.71 ± 17.81	35.38 ± 18.35
	24	46.40 ± 15.88	44.42 ± 19.61	29.59 ± 19.45	29.35 ± 20.14 ¹⁾
乙酸乙酯部位	12	47.61 ± 18.09	48.75 ± 15.61	36.43 ± 24.99	43.12 ± 19.90
	24	42.40 ± 23.09	47.98 ± 18.14	31.81 ± 24.34	28.66 ± 23.36 ¹⁾

表 4 覆盆子不同给药部位对亚硝酸钠致小鼠巩固记忆障碍空间探索的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on space exploration ability induced by sodium nitrite in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第二象限路程/m	第二现象进入数/次	穿越平台数/次
正常	-	3 832.1 ± 1 248.8 ¹⁾	12.6 ± 2.3 ¹⁾	4.8 ± 1.9 ¹⁾
模型	-	2 060.9 ± 841.8	4.3 ± 2.1	0.9 ± 0.56
银杏叶制剂	0.007 6	2 932.3 ± 941.5	7.9 ± 3.1	3.3 ± 1.5 ¹⁾
三氯甲烷部位	12	3 060.5 ± 961.5	8.2 ± 2.6	3.4 ± 1.2 ¹⁾
	24	3 364.9 ± 774.1	9.4 ± 3.6 ¹⁾	3.7 ± 2.1 ¹⁾
正丁醇部位	12	3 444.5 ± 936.8	10.7 ± 3.8	3.5 ± 1.6 ¹⁾
	24	3 221.1 ± 2 194.5	8.3 ± 5.2 ¹⁾	4.2 ± 1.9 ¹⁾
水提部位	12	2 899.5 ± 861.5	7.8 ± 2.3	3.1 ± 1.7 ¹⁾
	24	3 216.5 ± 1 532.1	8.6 ± 3.5 ¹⁾	3.9 ± 2.4 ¹⁾
覆盆子	12	4 102.9 ± 1 268.7	9.8 ± 2.2 ¹⁾	3.2 ± 1.9 ¹⁾
	24	3 047.2 ± 709.5	8.9 ± 2.4	3.2 ± 1.4 ¹⁾
乙酸乙酯部位	12	3 697.6 ± 1 377.1	9.7 ± 3.6 ¹⁾	2.6 ± 1.4 ¹⁾
	24	3 323.9 ± 1 044.1	8.9 ± 2.5 ¹⁾	3.6 ± 2.3 ¹⁾

的各指标相对整个实验的重要程度给出相对应的权重系数。综合意见,把每次实验的最优值定为 100 分,潜伏期的权重值为 0.6,空间探索权重值为 0.4,即效应值 = 权重值 × [(100 + 最优值) - 测量值],

各个效应值加和即为最终评分。见表 7。

4 讨论

老年痴呆又称阿尔茨海默病(AD)是一种进行性神经退行性疾病,临床表现记忆障碍、认知及语言

表 5 覆盆子不同给药部位对 40% 乙醇致小鼠记忆再现障碍逃避潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on escape latency induced by 40% ethanol in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第 1 天/s	第 2 天/s	第 3 天/s	第 4 天/s
正常	-	57.00 ± 6.04	48.16 ± 18.18	33.60 ± 17.96 ¹⁾	21.31 ± 17.41 ¹⁾
模型	-	59.60 ± 1.26	54.74 ± 12.40	48.65 ± 13.85	51.55 ± 14.70
银杏叶制剂	0.007 6	44.71 ± 17.14	47.82 ± 16.70	41.98 ± 17.94	39.98 ± 13.85
三氯甲烷部位	12	55.01 ± 15.77	34.37 ± 18.50	47.35 ± 17.13	40.03 ± 17.08
	24	52.86 ± 15.37	44.01 ± 17.93	39.94 ± 21.01	42.35 ± 17.58
正丁醇部位	12	56.08 ± 11.98	45.24 ± 18.88	43.91 ± 14.71	38.93 ± 17.94
	24	51.44 ± 14.31	38.25 ± 18.14	49.72 ± 13.47	30.02 ± 21.61 ¹⁾
水提部位	12	47.04 ± 14.69	42.62 ± 17.55	47.65 ± 14.54	41.84 ± 14.00
	24	47.81 ± 16.85	42.55 ± 14.83	44.92 ± 19.79	42.20 ± 16.27
覆盆子	12	54.35 ± 9.90	37.84 ± 18.43	42.92 ± 22.58	29.19 ± 17.82 ¹⁾
	24	48.09 ± 18.99	38.43 ± 17.73	45.41 ± 19.66	29.95 ± 13.51 ¹⁾
乙酸乙酯部位	12	57.01 ± 9.45	36.10 ± 18.91	41.95 ± 22.23	29.84 ± 14.46 ¹⁾
	24	46.11 ± 19.13	42.49 ± 17.50	51.84 ± 14.80	40.00 ± 20.56

表 6 覆盆子对 40% 乙醇致小鼠记忆再现障碍模型空间探索的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effects of different extract parts of Rubi Fructus on space exploration ability induced by 40% ethanol in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	第二象限路程/m	第二现象进入数/次	穿越平台数/次
正常	-	3 832.1 ± 1 248.8 ¹⁾	12.6 ± 2.3 ¹⁾	4.8 ± 1.9 ¹⁾
模型	-	1 698.8 ± 800.4	4.1 ± 1.3	1.1 ± 0.7
银杏叶制剂	0.007 6	3 150.8 ± 1 369.0	9.0 ± 3.6 ¹⁾	2.9 ± 1.8 ¹⁾
三氯甲烷部位	12	3 420.7 ± 985.6	9.3 ± 2.6 ¹⁾	3.0 ± 1.8 ¹⁾
	24	3 479.5 ± 1 876.3	8.6 ± 3.8 ¹⁾	3.8 ± 1.9 ¹⁾
正丁醇部位	12	2 978.4 ± 718.3	8.5 ± 2.5 ¹⁾	4.0 ± 2.5 ¹⁾
	24	3 484.3 ± 844.4	8.1 ± 2.1 ¹⁾	4.1 ± 2.2 ¹⁾
水提部位	12	3 344.2 ± 1 295.0	8.9 ± 3.1 ¹⁾	3.2 ± 1.8 ¹⁾
	24	3 068.6 ± 1 459.3	9.8 ± 3.3 ¹⁾	3.1 ± 1.8 ¹⁾
覆盆子	12	3 395.7 ± 699.2 ¹⁾	8.1 ± 3.1 ¹⁾	3.7 ± 1.6 ¹⁾
	24	3 478.8 ± 1 223.5	10.0 ± 4.3 ¹⁾	3.2 ± 1.3 ¹⁾
乙酸乙酯部位	12	3 392.9 ± 758.4 ¹⁾	9.4 ± 3.1 ¹⁾	3.1 ± 1.4 ¹⁾
	24	3 640.8 ± 1 543.3	8.8 ± 4.2 ¹⁾	3.7 ± 2.3 ¹⁾

表 7 覆盆子不同提取部位对 3 种小鼠记忆障碍模型改善作用的综合评价

Table 7 Comprehensive evaluation of different extract parts of Rubi Fructus on three kinds of model

组别	剂量/g·mg ⁻¹	东莨菪碱所致记忆障碍模型			亚硝酸钠所致记忆障碍模型			40% 乙醇致小鼠记忆障碍模型		
		潜伏期	空间探索	综合评分	潜伏期	空间探索	综合评分	潜伏期	空间探索	综合评分
三氯甲烷部位	56.66	39.96	96.62	53.34	39.68	93.02	55.93	39.56	95.49	
	52.68	39.44	92.12	56.11	39.80	95.91	55.57	39.88	95.45	
正丁醇部位	55.42	39.64	95.06	55.35	39.72	95.07	54.82	39.96	94.78	
	55.97	39.57	95.54	54.13	40.00	94.13	57.03	40.00	97.03	
水提部位	57.06	39.52	96.58	52.62	39.56	92.18	55.57	39.64	95.21	
	57.75	39.76	97.51	58.42	39.88	98.30	55.82	39.60	95.42	
覆盆子	56.34	39.68	96.02	53.03	39.60	92.63	57.80	39.84	97.64	
	56.95	40.00	96.95	55.47	39.60	95.07	58.16	39.65	97.81	
乙酸乙酯部位	56.57	39.72	96.29	51.55	39.36	90.91	55.38	39.84	95.22	
	55.87	39.92	95.79	55.31	39.76	95.07	57.71	39.60	97.31	

功能障碍等,发病率高且逐年呈逐年增长趋势。其病理表现为老年斑的出现及 $A\beta$ 的形成和沉淀。对于 AD 的发病原因主要分为遗传和非遗传。遗传因素是一些遗传基因主要包括 Tau 蛋白基因 APP 基因,早老素-1 基因和早老素-2 基因,载脂蛋白 $\epsilon 4$ 基因, $\alpha 2$ 巨球蛋白基因等引起了 AD 的病理表现;非遗传因素包括验证免疫学说、胆碱能学说、氧化应激学说、自由基学说等几类主流学说。

Morris 水迷宫是英国心理学家 Morris 于 20 世纪 80 年代初设计并应用于学习记忆脑机制研究的。它包括一个圆形水池、隐藏在水面下的平台以及一套图象自动采集和处理系统(摄像头、录像机、显示器和分析软件等)^[6]。现主要应用于学习记忆、老年痴呆、智力与衰老、行为生物学等方面的研究。

在 AD 的各种病因中比较公认的一种就是胆碱能学说,乙酰胆碱是学习记忆过程中的重要神经递质^[7-8],所以脑内乙酰胆碱含量和老年痴呆的严重程度有关。而东莨菪碱属于 M 胆碱受体阻断剂,可以阻断乙酰胆碱与其受体结合,使脑内乙酰胆碱的含量降低,造成认知和学习记忆的障碍。本实验采用 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的东莨菪碱给小鼠腹腔注射制造动物模型。结果表明正常组与模型组比较潜伏期时间明显缩短,在空间探索中穿越平台、穿越目标象限次数和目标象限路程都有明显的增加,说明造模成功。

人大脑的供氧对大脑功能有重要的保护作用,如果大脑出现缺血缺氧时极易出现认知和记忆障碍。亚硝酸钠可以使血红蛋白变性,血红蛋白携氧能力下降,从而使大脑缺血缺氧影响学习记忆的过程。所以本实验采用腹腔注射亚硝酸钠 $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 来造模。结果显示正常组与模型组比较潜伏期时间明显缩短,在空间探索中穿越平台和进入目标象限次数都有明显增加,目标象限路程也有增长,说明造模成功。

经大量实验证明乙醇具有中枢抑制作用,具体的作用机制较为复杂,但低剂量的乙醇确实可导致记忆障碍,主要影响的是记忆再现障碍^[9],所以本实验采用灌胃 40% 乙醇造模。结果显示正常组与模型组比较潜伏期时间明显缩短,在空间探索中穿越平台和进入目标象限次数都有明显增加,目标象

限路程也有增长,说明造模成功。

覆盆子的不同提取部位对东莨菪碱,亚硝酸钠及 40% 乙醇所致的 3 种记忆障碍模型都有不同程度的缩短潜伏期时间,增加空间探索中穿越平台次数、进入目标象限次数和在目标象限中的路程。说明这几种提取部位都散在覆盆子的有效成分,但为了筛选出最优的提取部位为进一步研究提供依据,综合 3 种模型的数据采用多指标加权评分法做出综合效应评分表来进行评价。根据综合评分在东莨菪碱所致小鼠记忆障碍模型中和在亚硝酸钠所致小鼠记忆障碍模型中,水提部位高剂量组效果最好;在 40% 乙醇所致小鼠记忆障碍模型中,全药高剂量组效果最好。在覆盆子水提部位和全药中具体的有效成分及有效成分的作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 265.
- [2] 程丹, 李洁, 周斌, 等. 覆盆子化学成分及药理作用的研究进展[J]. 中药材, 2012, 35(11): 1873-1876.
- [3] 黄丽萍, 熊玉洁, 赵梦岚, 等. 覆盆子对肾阳虚型 AD 大鼠学习记忆的影响[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(4): 111-113.
- [4] 黄丽萍, 熊玉洁, 赵梦岚, 等. 覆盆子有效部位改善肾阳虚型痴呆大鼠学习记忆作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 192-196.
- [5] 张小超, 何波, 陈鹏, 等. 三七皂苷 Rg1 对学习记忆功能障碍的影响[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(3): 13-16.
- [6] Morris R G M, Garrud P, Rawlins J N P, et al. Placemavigation impaired in rats with hippocampal lesions [J]. Nature, 1982, 297(5868): 681-683.
- [7] 万文斌, 赵明星, 董振华. 益智防呆方对学习记忆障碍小鼠的行为学影响[J]. 成都医学院学报, 2012, 7(3): 363-366.
- [8] 孙向红, 刘洪玲, 戚欣, 等. 中药复方海康灵对东莨菪碱所致痴呆小鼠学习记忆影响及其机制的实验研究[J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(6): 442-446.
- [9] 孙蓉, 吕丽莉, 刘国卿. 芍药苷对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 中药药理与临床, 2006, 22(1): 23-25.

[责任编辑 周冰冰]