

· 药物代谢 ·

UPLC-MS 考察西洋红参皂苷类成分对大鼠 脑内神经化学物质的影响

黄鑫¹, 李帅坪¹, 张勇¹, 刘淑莹^{1,2*}

(1. 长春中医药大学 吉林省人参科学研究院, 长春 130117;

2. 中国科学院 长春应用化学研究所 长春质谱中心, 长春 130022)

[摘要] 目的:考察西洋红参皂苷组分 I 和 II 对大鼠大脑皮层及海马中 17 种神经化学物质水平的影响。方法:将西洋红参总皂苷经 D101 型大孔吸附树脂分离纯化制备得到组分 I 和 II,采用超高效液相色谱-线性离子阱质谱法(UPLC-LIT-MS)测定组分中皂苷单体的组成。采用超高效液相色谱-三重四级杆质谱法(UPLC-QQQ-MS)测定大鼠大脑皮层及海马中 17 种神经化学物质含量变化情况。结果:在与空白组比较,给予皂苷组分 I 后,大鼠大脑皮层及海马中谷氨酸,天冬氨酸,牛磺酸,乙酰胆碱,酪氨酸,多巴胺,去甲肾上腺的含量升高,与给药剂量成正相关趋势;在给予皂苷组分 II 后, γ -氨基丁酸,色氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸,褪黑素,丝氨酸,甘氨酸,组胺的含量升高,且与给药剂量成正相关趋势。通过分析皂苷组成与脑内神经化学物质含量变化之间的内在联系,发现组分 I 可提高大脑皮层及海马中兴奋性神经化学物质含量,组分 II 可提高大鼠大脑皮层及海马中抑制性神经化学物质含量。结论:西洋红参中皂苷组分具有神经活性,皂苷类成分的极性与其对兴奋性和抑制性神经化学物质的影响具有相关性。

[关键词] 西洋参; 西洋红参; 皂苷类; 组分; 神经化学物质; 谷氨酸; 5-羟色胺

[中图分类号] R945;R969.1;R284.1;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)19-0111-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2017190111

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170711.1134.018.html>

[网络出版时间] 2017-07-11 11:34

Effect of Saponins in Red Panacis Quinquifolii Radix on Neurochemicals in Rat Brain by UPLC-MS

HUANG Xin¹, LI Shuai-ping¹, ZHANG Yong¹, LIU Shu-ying^{1,2*}

(1. Jilin Ginseng Academy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China;

2. Changchun Center of Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry,
Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effects of saponin component I and II in red Panacis Quinquifolii Radix on 17 neurochemicals in rat cerebral cortex and hippocampus. **Method:** Saponin component I and II were prepared from total saponins of red Panacis Quinquifolii Radix by D101 macroporous adsorption resin. The composition of saponins in component I and II were detected by UPLC-LIT-MS. The contents of 17 neurochemicals in rat cerebral cortex and hippocampus were determined by UPLC-QQQ-MS. **Result:** Compared with the blank group, the contents of glutamic acid, aspartic acid, taurine, acetylcholine, tyrosine, dopamine

[收稿日期] 20170417(013)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(21475012);吉林省科技发展计划项目(20160520181JH);吉林省教育厅“十三五”科学技术研究项目(吉教科合字[2016]第30号);首批长春中医药大学百名中青年骨干教师培养计划项目(2017086)

[第一作者] 黄鑫,博士,助理研究员,从事天然产物化学和质谱学研究,Tel:0431-86763990,E-mail:huangxinrose@163.com

[通讯作者] *刘淑莹,博士,研究员,博士生导师,从事中药化学和有机质谱学研究,Tel:0431-86763990,E-mail:syliu@ciac.ac.cn

and norepinephrine in rat cerebral cortex and hippocampus increased after administration of saponin component I; while the contents of γ -aminobutyric acid, tryptophan, 5-hydroxytryptamine, 5-hydroxyindoleacetic acid, melatonin, serine, glycine and histamine increased after administration of saponin component II; and the trends were positively related to dose. Through analyzing the relationship of saponin composition with content variation of neurochemicals, saponin component I could increase the contents of excitatory neurochemicals in rat cerebral cortex and hippocampus, while saponin component II were shown to improve the inhibitory neurochemicals contents in rat cerebral cortex and hippocampus. **Conclusion:** The saponins in red *Panax quinquefolii* Radix has neural activity. The polarity of saponins is related to their effects on excitatory and inhibitory neurochemicals.

[Key words] *Panax quinquefolii* Radix; red *Panax quinquefolii* Radix; saponins; components; neurochemicals; glutamic acid; 5-hydroxytryptamine

西洋参为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* 的干燥根,原产于北美洲的加拿大南部和美国北部,在中国东北三省普遍引种栽培。西洋参性凉,味甘、微苦,具有抗疲劳、抗氧化、抗衰老、提高免疫力、抗癌等作用^[1-2]。西洋参中的主要药效成分皂苷类可以有效增强中枢神经功能,达到静心凝神、消除疲劳、增强记忆力等作用,适用于治疗失眠、烦躁、记忆力衰退及老年痴呆等^[1-3]。红参为人参的最常见炮制品,而西洋红参是西洋参经蒸制加工得到的炮制品。众所周知,人参加工成红参后,化学成分的种类和含量发生了明显的变化,二者药性、药效也具有显著性差异。目前,关于西洋参的研究主要是针对其经简单烘干加工制得的生晒西洋参,而对于西洋红参化学成分和药理活性的研究鲜见报道。因此,研究西洋红参的药理活性对于扩大西洋参的临床应用具有重要意义。

神经化学物质在人体和哺乳动物的中枢神经、心血管和内分泌等组织系统中发挥着广泛的调节作用,参与情绪、情感、应激行为和睡眠觉醒等多种生理过程^[4],其含量的变化与人类多种疾病密切相关,是诊断阿尔茨海默症、唐氏综合征、抑郁症和帕金森病等的重要依据^[5-9]。神经化学物质广泛分布于脑内不同区域,其中大脑皮层是维持人体和哺乳动物意识活动的物质基础,海马是生物学习和记忆的关键部位,大脑皮层及海马对维持生物正常生命活动具有重要意义。中枢神经化学物质大致分为氨基酸类和生物原胺类,其中谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、牛磺酸和乙酰胆碱与学习记忆密切相关;脑内多巴胺系统与躯体运动、行为、觉醒、情感等调节有关;体内 5-羟色胺及其前体和产物是维持大脑节律的重要神经递质; γ -氨基丁酸、丝氨酸和甘氨酸具有调节神经保护的作用,为神经药理学中常涉及的抑制性神经化学物质^[10-15]。本实验拟采用超高效液

相色谱-质谱联用技术研究西洋红参皂苷类组分对大鼠大脑皮层及海马中 17 种神经化学物质的影响,分析西洋红参中不同极性皂苷类组分与兴奋性、抑制性神经活性的关系,为进一步探究西洋红参对中枢神经系统发挥作用的物质基础和作用机制具有重要意义。

1 材料

UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪-LTQ 质谱, Synchronis C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m), UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪-TSQ Endura 型三重四级杆质谱仪, Hypercarb 色谱柱 (2.1 mm × 100 mm, 5 μ m) 和 ULTI386 型超低温冰箱均购自美国赛默飞世尔科技公司; BT25S 型电子分析天平 (赛多利斯科学仪器有限公司), Bio-Gen PRO 200 型精密匀浆器 (美国 PRO Scientific 公司), AG 22331 Hamburg 型离心机 (德国 Eppendorf 公司), Vortex-Genie 2 型涡旋振荡器 (美国 SI 公司), Milli-Q 型超纯水系统 (美国密理博公司)。

鲜西洋参 (6 年生) 购自于吉林省抚松县, 经长春中医药大学王淑敏教授鉴定为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* 的干燥根; 西洋红参 (鲜西洋参蒸制品, 自制); 多巴胺, 肾上腺素, 去甲肾上腺, 5-羟色胺, 5-羟吲哚乙酸, 酪氨酸, 甘氨酸, 谷氨酸, 谷氨酰胺, 天冬氨酸, 牛磺酸, 丝氨酸, 组胺对照品 (阿拉丁试剂公司, 批号分别为 H110868, L137183, N107258, S111161, H133485, T103976, A110749, G103978, G105425, A108708, T103829, S103483, H110868, 纯度均为 99%); 色氨酸、乙酰胆碱、褪黑素和 γ -氨基丁酸对照品 (百灵威试剂公司, 批号分别为 231123, A0084, 211835, A104200, 纯度均为 99%), 水为超纯水, 甲醇、甲酸和乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 180 ~ 200 g, 合格证

号 SCXK(辽)2015-0001,适应性喂养 1 周后,随机分为空白组,西洋红参皂苷组分 I 组(高、中、低剂量组)和西洋红参皂苷组分 II 组(高、中、低剂量组),高、中、低剂量分别相当于生药量 4,2,1 g·kg⁻¹,按 20 mL·kg⁻¹灌胃给药,空白组灌胃给予水,每天 1 次,连续 8 周。本实验经长春中医药大学实验动物伦理委员会批准。

2 方法与结果

2.1 西洋红参皂苷的制备与分析

2.1.1 西洋红参的炮制 称取鲜西洋参约 500 g,洗净,晾干表面水分,用纱布包好,放入蒸参锅中,100 ℃ 蒸制 6 h,蒸制完毕后置于 50 ℃ 烘箱内干燥,烘干后取出,晾凉,即得西洋红参,此工艺经本课题组正交试验优化得到的。将西洋红参粉碎成细粉(过 80 目筛),备用。

2.1.2 西洋红参皂苷组分 I 和 II 的制备 称取西洋红参粉末 300 g,加 8 倍量 75% 乙醇回流提取 2 次,提取时间分别为 2.0,1.5 h,滤过,合并 2 次滤液,50 ℃ 水浴蒸干,制备成冻干粉,得西洋红参总皂苷提取物。经 D101 型大孔吸附树脂分离,加不同体积分数(28%,40%,60%,80%)乙醇各 8 L 洗脱,分别收集洗脱液,各组洗脱液减压浓缩,50 ℃ 水浴蒸干,制备成冻干粉。取出其中 40% 乙醇洗脱的西洋红参皂苷组分(组分 I)和 80% 乙醇洗脱的西洋红参皂苷组分(组分 II)各 5 mg,加 50% 甲醇定容至 5 mL,过 0.22 μm 微孔滤膜,待测。

2.1.3 UPLC-LIT-MS 分析条件 色谱条件为柱温 35 ℃,流速 0.2 mL·min⁻¹,流动相 0.1% 甲酸水(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~10 min,10% B;10~50 min,10%~100% B;50~60 min,100% B),进样量 5 μL。质谱条件为电喷雾电离源(ESI),负离子模式,扫描范围 *m/z* 100~2 000,喷雾电压 3.0 kV,毛细管温度 320 ℃,毛细管电压设定 20 V,鞘气流速 40 arb,辅助气流速 10 arb。

2.1.4 西洋红参皂苷组分 I 和 II 的分析 应用 UPLC-LIT-MS 对组分 I 和 II 的皂苷类成分组成进行分析,总离子流图见图 1。结果显示组分 I 和 II 的分离度较好,相对保留时间 < 28 min 的皂苷类成分主要在组分 I 中,而相对保留时间 > 28 min 的皂苷类成分主要在组分 II 中,表明组分 I 和 II 在皂苷类成分组成方面存在明显差异。

2.2 神经化学物质的检测与分析

2.2.1 对照品溶液的配制 精密称取多巴胺,肾上腺素,去甲肾上腺素,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸,酪氨

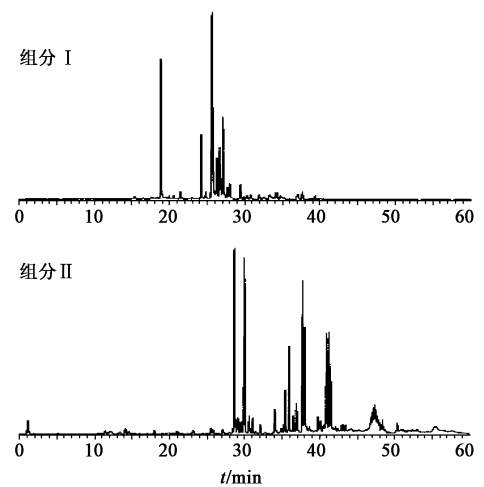


图 1 西洋红参皂苷组分 I 和 II 的总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatograms of saponin component I and II in red Panacis Quinquefolii Radix

酸,甘氨酸,谷氨酸,谷氨酰胺,天冬氨酸,牛磺酸,丝氨酸,组胺,色氨酸,乙酰胆碱,褪黑素和 γ -氨基丁酸对照品各 10 mg,加 0.1% 甲酸水溶液溶解并分别定容至 5 mL,配成 2 g·L⁻¹ 对照品溶液。用 0.1% 甲酸水溶液-甲醇(9:1)稀释为混合对照品溶液(含多巴胺 1 mg·L⁻¹,肾上腺素 50 mg·L⁻¹,去甲肾上腺素 5 mg·L⁻¹,5-羟色胺 50 mg·L⁻¹,5-羟吲哚乙酸 100 mg·L⁻¹,酪氨酸 5 mg·L⁻¹,甘氨酸 50 mg·L⁻¹,谷氨酸 100 mg·L⁻¹,谷氨酰胺 0.5 mg·L⁻¹,天冬氨酸 100 mg·L⁻¹,牛磺酸 100 mg·L⁻¹,丝氨酸 10 mg·L⁻¹,组胺 0.5 mg·L⁻¹,色氨酸 200 mg·L⁻¹,乙酰胆碱 1 mg·L⁻¹,褪黑素 200 mg·L⁻¹, γ -氨基丁酸 50 mg·L⁻¹),逐级稀释配制系列质量浓度的标准曲线工作液。

2.2.2 供试样品的处理 取大鼠断头处死,冰台上立即取脑,放于冰冷的生理盐水中漂洗,滤纸吸干生理盐水,将脑置于冰台上迅速剥离海马体与大脑皮层,称重。加 9 倍量冰冷的 0.1% 甲酸水溶液至脑组织中,匀浆。于 4 ℃,12 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,待测。

2.2.3 神经化学物质的 UPLC-QQQ-MS 检测条件^[15] 色谱条件为柱温 25 ℃,流速 0.2 mL·min⁻¹,流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-甲醇(B)梯度洗脱(0~3 min,0% B;3~10 min,0%~100% B;10~12 min,100%~0% B),进样量 2 μL。10~12 min 流出物切换至废液,不进入质谱检测。质谱条件为 ESI 正离子模式,多反应检测模式(MRM),毛细管电压 3.0 kV,雾化器温度 300 ℃,离子传输管温度

300 ℃,鞘气流速 35 arb,辅助气流速 5 arb。所检测的 17 种神经化学物质的 MRM 质谱采集定量离子对选择和碰撞能力等参数的设置见本课题组前期研究报道^[15]。

2.2.4 分析方法评价 取同一混合对照品溶液,按 **2.2.3** 项下条件测定 6 次,计算各神经化学物质峰

面积的 RSD。取同一脑组织样品匀浆液 6 份,按 **2.2.2** 项下方法处理,按 **2.2.3** 项下条件测定,计算各神经递化学物质峰面积的 RSD。采用外标法定量,各待测物的线性方程、线性范围、相关系数、精密度和重复性试验结果见表 1。结果表明各待测物的精密度和准确度满足分析要求。

表 1 17 种神经化学物质的线性方程、线性范围、相关系数、精密度和准确度

Table 1 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, precision and accuracy of 17 neurochemicals

神经化学物质	线性方程	线性范围/mg·L ⁻¹	R ²	精密度 RSD/%	准确度/%
多巴胺	$Y = 13.8X + 1.7$	0.05 ~ 1.0	0.999	2.9	4.0
肾上腺素	$Y = 1.5X + 34.9$	1 ~ 50	0.997	4.7	7.3
去甲肾上腺素	$Y = 67.7X + 408.6$	0.1 ~ 5.0	0.999	5.8	3.6
5-羟色胺	$Y = 1.4X + 58.3$	1 ~ 50	0.990	6.9	-0.3
5-羟吲哚乙酸	$Y = 2.0X + 82.7$	5 ~ 100	0.999	7.2	-4.7
乙酰胆碱	$Y = 0.6X + 0.5$	0.05 ~ 1.0	0.999	2.8	5.7
组胺	$Y = 104.4X - 0.59$	0.01 ~ 0.5	0.998	7.0	4.9
谷氨酰胺	$Y = 11.1X + 0.5$	1 ~ 50	0.999	6.5	2.7
谷氨酸	$Y = 4.8X + 8.7$	1 ~ 100	0.998	4.3	9.6
丝氨酸	$Y = 28.7X + 5.5$	0.2 ~ 10	0.998	9.8	8.4
甘氨酸	$Y = 4.3X + 2.9$	0.5 ~ 50	0.997	2.7	6.5
天冬氨酸	$Y = 8.6X + 3.9$	5 ~ 100	0.999	6.5	-9.0
牛磺酸	$Y = 5.2X + 80.4$	1 ~ 100	0.997	10.0	3.1
酪氨酸	$Y = 8.5X + 46.2$	0.1 ~ 5	0.999	1.9	7.3
色氨酸	$Y = 42.3X + 13.0$	5 ~ 200	0.998	2.1	6.8
褪黑素	$Y = 4.6X + 72.7$	4 ~ 200	0.997	1.4	5.4
γ-氨基丁酸	$Y = 5.9X + 10.1$	0.1 ~ 50	0.996	2.5	6.9

2.2.5 组分 I 和 II 对大鼠大脑皮层中神经化学物质水平变化的影响 17 种神经化学物质在不同组别大鼠大脑皮层中的含量测定结果见表 2,采用方差分析比较各组结果差异的显著性。结果表明在给予西洋红参皂苷组分 I 后,大鼠大脑皮层中谷氨酸、天冬氨酸、牛磺酸、乙酰胆碱、酪氨酸、多巴胺、去甲肾上腺素及肾上腺素的含量升高,且与给药剂量成正相关趋势;在给予西洋红参皂苷组分 II 后,大鼠大脑皮层中 γ-氨基丁酸,色氨酸,5-羟色胺,5-羟吲哚乙酸,褪黑素,丝氨酸,甘氨酸,组胺的含量显著升高,且与给药剂量成正相关趋势。

2.2.6 组分 I 和 II 对大鼠海马中神经化学物质水平变化的影响 17 种神经化学物质在不同组别大鼠海马中的含量测定结果见表 3,采用方差分析比较各组结果差异的显著性。在给予西洋红参皂苷组分 I 后,大鼠海马中酪氨酸、牛磺酸、谷氨酸、天冬氨酸、去甲肾上腺素、乙酰胆碱、多巴胺的含量升高,且与

给药剂量成正相关,此结果与大脑皮层中趋势基本一致;在给予西洋红参皂苷组分 II 后,大鼠海马中 γ-氨基丁酸,丝氨酸,5-羟色胺,褪黑素,甘氨酸,5-羟吲哚乙酸,色氨酸,组胺的含量升高,且与给药剂量成正相关,此结果也与大脑皮层中趋势一致。此外,在给予西洋红参皂苷组分 I 和 II 后,在海马中去甲肾上腺素,多巴胺,5-羟色胺变化最为明显;5-羟吲哚乙酸,酪氨酸和褪黑素,同样变化较为突出。海马是学习记忆的关键部位,提示这几种神经化学物质与学习记忆过程密切相关。

3 讨论

应用 UPLC-MS 技术考察西洋红参皂苷组分对大鼠大脑皮层和海马中 17 种神经化学物质含量的影响,同时分析了从西洋红参中制备得到的 2 个皂苷组分的组成,探讨了皂苷组成与神经活性的相关性。组分 I 和 II 皂苷成分组成差异明显,组分 I 中皂苷成分极性较大,而极性较小皂苷集中在组分 II

表 2 17 种神经化学物质在不同组别大鼠大脑皮层中的质量分数

Table 2 Contents of 17 neurochemicals in cerebral cortex of rats from different groups

mg · g⁻¹

神经化学物质	空白组	西洋红参皂苷组分 I 组		
		1 g·kg ⁻¹ 给药	2 g·kg ⁻¹ 给药	4 g·kg ⁻¹ 给药
谷氨酸	1.17 ± 0.01	1.17 ± 0.02	1.24 ± 0.04 ¹⁾	1.37 ± 0.03 ²⁾
谷氨酰胺	0.37 ± 0.01	0.38 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.42 ± 0.01 ²⁾
天冬氨酸	1.34 ± 0.03	1.35 ± 0.02	1.37 ± 0.03	1.38 ± 0.03
牛磺酸	0.37 ± 0.01	0.44 ± 0.02 ²⁾	0.44 ± 0.03 ²⁾	0.43 ± 0.01 ¹⁾
乙酰胆碱	(1.29 ± 0.01) × 10 ⁻³	(1.36 ± 0.09) × 10 ^{-3 1)}	(1.42 ± 0.06) × 10 ^{-3 2)}	(1.51 ± 0.05) × 10 ^{-3 2)}
酪氨酸	(5.78 ± 0.15) × 10 ⁻²	(6.50 ± 0.22) × 10 ^{-2 2)}	(6.41 ± 0.31) × 10 ^{-2 2)}	(15.36 ± 0.86) × 10 ^{-2 2)}
多巴胺	(1.89 ± 0.01) × 10 ⁻³	(2.83 ± 0.10) × 10 ^{-3 1)}	(3.51 ± 0.09) × 10 ^{-3 2)}	(6.61 ± 0.24) × 10 ^{-3 2)}
去甲肾上腺素	(1.49 ± 0.04) × 10 ⁻³	(2.28 ± 0.13) × 10 ^{-3 2)}	(2.42 ± 0.13) × 10 ^{-3 2)}	(3.70 ± 0.15) × 10 ^{-3 2)}
肾上腺素	0.18 ± 0.01	0.24 ± 0.02 ¹⁾	0.26 ± 0.02 ¹⁾	0.51 ± 0.01 ²⁾
γ-氨基丁酸	0.27 ± 0.01	0.26 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.01
色氨酸	195.17 ± 0.58	174.26 ± 3.14 ²⁾	154.42 ± 0.92 ²⁾	150.25 ± 3.20 ²⁾
5-羟色胺	1.25 ± 0.04	0.66 ± 0.01 ²⁾	0.42 ± 0.01 ²⁾	0.13 ± 0 ²⁾
褪黑素	1.10 ± 0.02	1.09 ± 0.06	0.61 ± 0.01 ²⁾	0.56 ± 0.01 ²⁾
5-羟吲哚乙酸	1.27 ± 0.03	1.23 ± 0.01	1.04 ± 0.02 ¹⁾	0.84 ± 0.02 ²⁾
丝氨酸	(5.50 ± 0.30) × 10 ⁻²	(5.59 ± 0.32) × 10 ⁻²	(4.62 ± 0.31) × 10 ^{-2 1)}	(4.35 ± 0.17) × 10 ^{-2 2)}
甘氨酸	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.14 ± 0
组胺	(2.50 ± 0.12) × 10 ⁻⁴	(2.14 ± 0.07) × 10 ^{-4 1)}	(2.16 ± 0.05) × 10 ^{-4 1)}	(1.65 ± 0.02) × 10 ^{-4 2)}

神经化学物质	空白组	西洋红参皂苷组分 II 组		
		1 g·kg ⁻¹ 给药	2 g·kg ⁻¹ 给药	4 g·kg ⁻¹ 给药
谷氨酸	1.17 ± 0.01	1.16 ± 0.02	1.14 ± 0.02	1.04 ± 0.03 ²⁾
谷氨酰胺	0.37 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.01
天冬氨酸	1.34 ± 0.03	1.28 ± 0.01	1.25 ± 0.02	1.30 ± 0.01
牛磺酸	0.37 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.32 ± 0.01 ¹⁾
乙酰胆碱	(1.29 ± 0.01) × 10 ⁻³	(1.32 ± 0.09) × 10 ⁻³	(0.92 ± 0.03) × 10 ^{-3 2)}	(0.84 ± 0.10) × 10 ^{-3 2)}
酪氨酸	(5.78 ± 0.15) × 10 ⁻²	(3.69 ± 0.16) × 10 ^{-2 2)}	(3.46 ± 0.23) × 10 ^{-2 2)}	(1.53 ± 0.16) × 10 ^{-2 2)}
多巴胺	(1.89 ± 0.01) × 10 ⁻³	(1.70 ± 0.08) × 10 ⁻³	(1.46 ± 0.06) × 10 ^{-3 1)}	(1.20 ± 0.07) × 10 ^{-3 1)}
去甲肾上腺素	(1.49 ± 0.04) × 10 ⁻³	(1.46 ± 0.06) × 10 ⁻³	(1.37 ± 0.08) × 10 ^{-3 1)}	(0.96 ± 0.01) × 10 ^{-3 2)}
肾上腺素	0.18 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01 ¹⁾
γ-氨基丁酸	0.27 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.01	0.30 ± 0.00
色氨酸	195.17 ± 0.58	198.24 ± 0.26	214.42 ± 0.37 ¹⁾	268.18 ± 0.22 ²⁾
5-羟色胺	1.25 ± 0.04	1.33 ± 0.07	1.46 ± 0.06 ¹⁾	1.55 ± 0.02 ¹⁾
褪黑素	1.10 ± 0.02	1.15 ± 0.06	1.38 ± 0.04 ¹⁾	1.90 ± 0.02 ²⁾
5-羟吲哚乙酸	1.27 ± 0.03	1.35 ± 0.02 ¹⁾	1.66 ± 0.07 ²⁾	1.79 ± 0.04 ²⁾
丝氨酸	(5.50 ± 0.30) × 10 ⁻²	(6.38 ± 0.16) × 10 ^{-2 1)}	(6.41 ± 0.24) × 10 ^{-2 1)}	(7.53 ± 0.23) × 10 ^{-2 2)}
甘氨酸	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.00	0.15 ± 0.01	0.16 ± 0.00
组胺	(2.50 ± 0.12) × 10 ⁻⁴	(2.61 ± 0.06) × 10 ⁻⁴	(3.20 ± 0.07) × 10 ^{-4 2)}	(3.30 ± 0.02) × 10 ^{-4 2)}

注:与空白组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表 3 同)。

中。大脑皮层及海马中 17 种神经化学物质含量在不同剂量西洋红参皂苷组分 I, II 的作用下,与空白

组相比发生了不同程度的变化。

谷氨酸、谷氨酰胺和天冬氨酸是中枢神经系统

表 3 17 种神经化学物质在不同组别大鼠海马中的质量分数

Table 3 Contents of 17 neurochemicals in hippocampus of rats from different groups

mg · g⁻¹

神经化学物质	空白组	西洋红参皂苷组分 I 组		
		1 g·kg ⁻¹ 给药	2 g·kg ⁻¹ 给药	4 g·kg ⁻¹ 给药
谷氨酸	0.91 ± 0.02	0.93 ± 0.02	1.06 ± 0.03 ¹⁾	1.08 ± 0.04 ¹⁾
谷氨酰胺	0.28 ± 0.02	0.27 ± 0.02	0.35 ± 0.02 ¹⁾	0.35 ± 0.02 ¹⁾
天冬氨酸	0.82 ± 0.03	0.88 ± 0.01	0.88 ± 0.01	0.94 ± 0.02 ¹⁾
牛磺酸	0.35 ± 0.02	0.44 ± 0.02 ¹⁾	0.45 ± 0.03 ¹⁾	0.42 ± 0.01 ¹⁾
乙酰胆碱	(1.24 ± 0.02) × 10 ⁻³	(1.49 ± 0.04) × 10 ^{-3 1)}	(1.54 ± 0.02) × 10 ^{-3 1)}	(1.57 ± 0.06) × 10 ^{-3 2)}
酪氨酸	(3.69 ± 0.25) × 10 ⁻²	(7.61 ± 0.33) × 10 ^{-2 2)}	(13.96 ± 0.43) × 10 ^{-2 2)}	(11.44 ± 0.66) × 10 ^{-2 2)}
多巴胺	(2.16 ± 0.05) × 10 ⁻³	(3.57 ± 0.08) × 10 ^{-3 2)}	(3.71 ± 0.14) × 10 ^{-3 2)}	(3.70 ± 0.09) × 10 ^{-3 2)}
去甲肾上腺素	(8.54 ± 0.18) × 10 ⁻⁴	(8.69 ± 0.20) × 10 ⁻⁴	(14.77 ± 0.34) × 10 ^{-4 2)}	(32.72 ± 0.69) × 10 ^{-4 2)}
肾上腺素	0.25 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.35 ± 0.01 ¹⁾	0.31 ± 0.01 ¹⁾
γ-氨基丁酸	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.23 ± 0.01 ¹⁾
色氨酸	170.73 ± 0.53	147.17 ± 0.81 ²⁾	145.29 ± 1.05 ²⁾	143.14 ± 0.23 ²⁾
5-羟色胺	0.58 ± 0	0.51 ± 0.01	0.44 ± 0.01 ¹⁾	0.12 ± 0.00 ²⁾
褪黑素	0.74 ± 0.01	0.66 ± 0.01	0.61 ± 0.01 ¹⁾	0.24 ± 0.01 ²⁾
5-羟基吲哚乙酸	1.06 ± 0.02	0.87 ± 0.01 ²⁾	0.83 ± 0.01 ²⁾	0.73 ± 0.03 ²⁾
丝氨酸	(4.44 ± 0.24) × 10 ⁻²	(4.62 ± 0.18) × 10 ⁻²	(3.72 ± 0.18) × 10 ^{-2 2)}	(3.67 ± 0.08) × 10 ^{-2 2)}
甘氨酸	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.13 ± 0
组胺	(1.55 ± 0.06) × 10 ⁻⁴	(1.49 ± 0.03) × 10 ⁻⁴	(1.21 ± 0.07) × 10 ^{-4 1)}	(1.34 ± 0.02) × 10 ⁻⁴

神经化学物质	空白组	西洋红参皂苷组分 II 组		
		1 g·kg ⁻¹ 给药	2 g·kg ⁻¹ 给药	4 g·kg ⁻¹ 给药
谷氨酸	0.91 ± 0.02	0.92 ± 0.01	0.88 ± 0.01	0.84 ± 0.01 ¹⁾
谷氨酰胺	0.28 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.27 ± 0.01
天冬氨酸	0.82 ± 0.03	0.87 ± 0.03	0.83 ± 0.02	0.82 ± 0.01
牛磺酸	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.02	0.35 ± 0.01	0.32 ± 0
乙酰胆碱	(1.24 ± 0.02) × 10 ⁻³	(1.27 ± 0.08) × 10 ⁻³	(1.15 ± 0.07) × 10 ⁻³	(0.79 ± 0.01) × 10 ^{-3 2)}
酪氨酸	(3.69 ± 0.25) × 10 ⁻²	(1.57 ± 0.23) × 10 ^{-2 2)}	(1.74 ± 0.26) × 10 ^{-2 2)}	(0.83 ± 0.02) × 10 ^{-2 2)}
多巴胺	(2.16 ± 0.05) × 10 ⁻³	(1.77 ± 0.09) × 10 ^{-3 2)}	(1.19 ± 0.04) × 10 ^{-3 2)}	(0.01 ± 0) × 10 ^{-3 2)}
去甲肾上腺素	(8.54 ± 0.18) × 10 ⁻⁴	(5.16 ± 0.05) × 10 ^{-4 2)}	(4.71 ± 0.11) × 10 ^{-4 2)}	(3.18 ± 0.04) × 10 ^{-4 2)}
肾上腺素	0.25 ± 0.01	0.18 ± 0.01 ¹⁾	0.16 ± 0.01 ¹⁾	0.12 ± 0.01 ²⁾
γ-氨基丁酸	0.26 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.29 ± 0.01	0.30 ± 0.01 ¹⁾
色氨酸	170.73 ± 0.53	195.30 ± 0.40 ²⁾	221.14 ± 0.15 ²⁾	224.09 ± 0.16 ²⁾
5-羟色胺	0.58 ± 0	0.67 ± 0.02	0.86 ± 0.01 ²⁾	1.56 ± 0.03 ²⁾
褪黑素	0.74 ± 0.01	0.93 ± 0.01 ²⁾	1.54 ± 0.06 ²⁾	3.15 ± 0.04 ²⁾
5-羟基吲哚乙酸	1.06 ± 0.02	1.37 ± 0.07 ²⁾	2.07 ± 0.03 ²⁾	2.20 ± 0.01 ²⁾
丝氨酸	(4.44 ± 0.24) × 10 ⁻²	(5.37 ± 0.24) × 10 ^{-2 2)}	(5.73 ± 0.20) × 10 ^{-2 2)}	(6.54 ± 0.26) × 10 ^{-2 2)}
甘氨酸	0.12 ± 0	0.12 ± 0	0.13 ± 0	0.15 ± 0 ¹⁾
组胺	(1.55 ± 0.06) × 10 ⁻⁴	(2.57 ± 0.06) × 10 ^{-4 2)}	(5.10 ± 0.07) × 10 ^{-4 2)}	(29.61 ± 0.21) × 10 ^{-4 2)}

中重要的兴奋性神经递质,主要存在于神经末梢的突触囊泡内,通过释放到突触间隙而作用于突触后膜受体发挥生理作用,能调节大脑活动,防止和恢复

脑部疲劳。牛磺酸能抑制 β 淀粉样蛋白的聚集,对智力发育有明显促进作用,还能增加脑中乙酰胆碱的含量,乙酰胆碱与学习记忆关系最为密切,可以

改善学习记忆功能。多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素及三者的前体酪氨酸都参与了多种感觉和情绪等生理功能的调节,有提高机体抗应激能力和抗抑郁的作用^[16]。而西洋红参皂苷组分 I 能促进这几种神经化学物质在大鼠大脑皮层和海马的合成和释放,表明组分 I 可提高中枢兴奋性。

γ -氨基丁酸是中枢神经系统中很重要的抑制性神经递质,能促进脑的活化性,健脑益智,促进睡眠,延缓脑衰老机能。色氨酸经色氨酸羟化酶和 5-羟色氨酸脱羧酶催化生成 5-羟色胺;5-羟色胺可在 *N*-乙酰基转移酶的作用下,合成褪黑素;也可以经单胺氧化酶催化生成代谢产物 5-羟吲哚乙酸。5-羟色胺和褪黑素可削弱应激反应,调节精神节律和改善睡眠^[17-18]。丝氨酸是甘氨酸的前体,可以抑制神经元兴奋性毒性,发挥保护神经作用。组胺通过影响脑部神经传导调节神经活动,参与睡眠、荷尔蒙的分泌、体温调节、食欲与记忆形成等功能。组分 II 能显著增加大鼠大脑皮层和海马中这几种神经化学物质的含量,表明西洋红参皂苷组分 II 具有抑制性神经活性,与组分 I 相比,其镇静安神的作用更显著。

本文采用 UPLC-QQQ-MS 技术实现了同时对脑组织中 17 种神经活性相关的小分子化合物的定量分析,与以往研究相比,这种多指标同时检测可较为全面地反映西洋红参皂苷组分对神经化学物质的调节作用,也有利于进一步的作用机制分析。随着皂苷成分极性的变化而表现出不同的效应,极性较小的皂苷组分与改善学习记忆功能、防止脑部疲劳和维持觉醒状态等作用相关性较大,而极性较大的皂苷组分与调节精神节律和改善睡眠等作用关系密切。本研究结果初步表明,西洋红参可能是通过调节脑中神经化学物质的含量来发挥增强和保护中枢神经系统功能,从而达到静心凝神、消除疲劳、增强记忆力等作用。这一结果为深入揭示西洋红参发挥神经活性的功效物质基础及其作用机制研究奠定了良好基础,也为后续病理模型状态下结果印证提供了实验依据。

[参考文献]

[1] 尚金燕,李桂荣,邵明辉,等.西洋参的药理作用研究进展[J].人参研究,2016,28(6):49-51.
[2] 王蕾,王英平,许世泉,等.西洋参化学成分及药理活性研究进展[J].特产研究,2007,29(3):73-77.
[3] 唐伟卓,赵余庆,贾力.人参和人参皂苷新近研究证明的生物活性和临床用途[J].人参研究,2010,22(2):32-38.
[4] Brichta L, Greengard P, Flajolet M. Advances in the

pharmacological treatment of Parkinson's disease: targeting neurotransmitter systems[J]. Trends Neurosci, 2013,36(9):543-554.
[5] Kenche V B, Zawisza I, Masters C L, et al. Mixed ligand Cu^{2+} complexes of a model therapeutic with Alzheimer's amyloid- β peptide and monoamine neurotransmitters [J]. Inorg Chem, 2013,52(8):4303-4318.
[6] ZHAO L, ZHENG S, SU G, et al. *In vivo* study on the neurotransmitters and their metabolites change in depressive disorder rat plasma by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2015,988:59-65.
[7] Merazríos M A, Toralríos D, Francobocanegra D, et al. Inflammatory process in Alzheimer's disease [J]. Front Integr Neurosci, 2013,7(7):59.
[8] GUO Q X, LI H M, Cole A L, et al. Modeling Alzheimer's disease in mouse without mutant protein overexpression: cooperative and independent effects of $A\beta$ and tau [J]. PLoS One, 2013,8(11):e80706.
[9] CHENG X R, CUI X L, ZHENG Y, et al. Nodes and biological processes identified on the basis of network analysis in the brain of the senescence accelerated mice as an Alzheimer's disease animal model [J]. Front Aging Neurosci, 2013, doi:10.3389/fnagi.2013.00065.
[10] 刘天雅,洪宗元,曲卫敏,等.中枢组胺能神经系统调节睡眠-觉醒机制研究进展 [J]. 药理学报, 2011,46(3):247-252.
[11] 皮子凤,王倩倩,张静,等.北五味子对糖尿病脑病大鼠脑中神经活性物质含量影响的在线微透析-高效液相色谱-串联质谱联用分析 [J]. 高等学校化学学报, 2015,36(3):442-448.
[12] 景洪江,程义勇,李树田,等.谷氨酸和谷氨酰胺对大鼠学习记忆的影响 [J]. 卫生研究, 2000,29(1):40-42.
[13] 张伟,刘鹏,袁媛,等.阻断谷氨酸-谷氨酰胺循环对大鼠脑缺血-再灌注损伤的神经保护作用 [J]. 中国脑血管病杂志, 2016,13(4):198-203.
[14] 牛晓红,王丹巧,孙晓芳,等.首乌方与美多芭同用对 PD 模型大鼠纹状体细胞外液神经化学物质的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013,19(3):155-159.
[15] 黄鑫,李帅坪,张勇,等. UPLC-MS/MS 法测定大鼠海马和大脑皮层中生物胺类及氨基酸类神经化学物质 [J]. 分析化学, 2016,44(11):1652-1658.
[16] Garcia-Alloza M, Gil-Bea F J, Diez-Ariza M, et al. Cholinergic-serotonergic imbalance contributes to cognitive and behavioral symptoms in Alzheimer's disease [J]. Neuropsychologia, 2005,43(3):442-449.
[17] Perez-Garcia G, Meneses A. Memory time-course; mRNA 5-HT1A and 5-HT7 receptors [J]. Behav Brain Res, 2009,202(1):102-113.
[18] 何文娟,阮怀珍. *D*-丝氨酸在神经元-胶质细胞间通讯的新进展 [J]. 生理科学进展, 2009,40(4):303-307.

[责任编辑 刘德文]