

九节木不同极性提取物对小鼠学习记忆能力的影响

卢海啸^{1,2}, 李家洲^{2*}, 勾玲², 邓恒泉², 李典鹏¹

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西 桂林 541006; 2. 玉林师范学院, 广西 玉林 537000)

[摘要] **目的:**探讨九节木不同极性提取物对小鼠学习记忆能力的影响。**方法:**采用95%乙醇进行提取,然后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,得到各部分提取物,各种提取物灌胃给药的剂量为200 mg·kg⁻¹,脑复康组的给药剂量为120 mg·kg⁻¹。运用跳台法检测九节木不同萃取物对盐酸氯丙嗪、亚硝酸钠、乙醇、东莨菪碱所致记忆障碍小鼠学习记忆能力的影响,并筛选出活性部位。**结果:**九节木的提取物能延长小鼠跳台实验的潜伏期,减少错误次数,活性部位为乙酸乙酯部位($P < 0.05$)。**结论:**九节木的乙酸乙酯提取物和水提取物具有改善学习记忆障碍小鼠学习记忆能力的作用,其中乙酸乙酯部位为活性部位,且其作用呈现一定的量效关系。

[关键词] 九节木; 学习记忆; 活性部位

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0140-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014070140

Effect of Different Polar Extracts from *Psychotria rubra* on Learning and Memory Abilities of Mice

LU Hai-xiao^{1,2}, LI Jia-zhou^{2*}, GOU Ling², DENG Heng-quan², LI Dian-peng¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China; 2. Yulin Normal University, Yulin 537000, China)

[Abstract] **Objective:** To assess the effect of different polarity extracts from *Psychotria rubra* on learning and memory abilities of mice. **Method:** *P. rubra* was extracted by 95% ethanol, and then was extracted by petroleum ether, ethyl acetate and butanol respectively. The dose of different polar extracts and piracetam was 200, 120 mg·kg⁻¹, respectively. Effect of different polarity extracts from *P. rubra* on learning and memory abilities was tested in the mice model caused by chlorpromazine hydrochloride, sodium nitrite, ethanol and scopolamine, respectively, and screened the active part of *P. rubra*. **Result:** Extracts from *P. rubra* could prolonged latency and decreased error frequency of mice. **Conclusion:** The ethyl acetate extracts and the water extracts of *P. rubra* can improve the learning and memory abilities and the ethyl acetate extract may be an active part.

[Key words] *Psychotria rubra*; learning and memory; activity part

九节木为茜草科九节属植物,根、叶药用,有清热解毒、消肿拔毒、祛风除湿之效,治感冒、白喉、痢疾、跌打损伤和风湿骨痛、月经不调等^[1-2]。在民间

用药中,九节木有清热解毒,消肿接骨、祛风除湿的功效,主要用于扁桃体炎、白喉、创疡肿毒、风湿疼痛、跌打损伤、毒蛇咬伤及外伤出血等的药方^[1-3]。

[收稿日期] 20131030(008)

[基金项目] 广西植物功能物质研究与利用重点实验室开放基金(FPRU2013-5)

[第一作者] 卢海啸,博士,副教授,从事中药与天然药物活性成分及药效筛选的研究工作, Tel: 15907758504, E-mail: luhaixiao76@163.com

[通讯作者] *李家洲,教授,从事药理学及动物生理学研究, Tel: 13907750778, E-mail: ljz5810@163.com

该植物成分对 KB 细胞还有显著的细胞毒作用^[4]。从该属植物中分离出了多个生物碱成分^[4-7]。在前期的研究中本课题组发现九节木的粗提物具有提高小鼠学习记忆的作用^[8],为了进一步研究九节木的活性部位,本课题组对九节木的活性部位进行了筛选并初步探讨了九节木的作用机制。

1 材料

1.1 动物 昆明小鼠 300 只,体质量为(20 ± 5) g,雄性,清洁级,购于广西医科大学实验动物中心。许可证号 SCXK(桂)2003-000。

1.2 药物和试剂 九节木根于 2013 年 5 月采于广西玉林市名山镇龟山公园,经广西中医学院刘寿养教授鉴定为茜草科植物九节 *Psychotria rubra* (Lour.) Poir. 采后粉碎,阴干备用;75% 消毒乙醇、乙醇(分析纯)、石油醚(分析纯)、乙酸乙酯(分析纯)、正丁醇(分析纯)购于天津百世化工有限公司;0.9% 氯化钠注射液(A130724H、贵州科伦药业有限公司)

1.3 仪器 DT-200 小鼠跳台测试箱(成都泰盟科技有限公司),RE-2000A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(III)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)等。

2 方法

2.1 九节木萃取物的制备 取九节木干燥药材粉末适量,用 95% 乙醇热回流提取 2 h,过滤,得到九节木提取液,重复 3 次,合并提取液,减压浓缩至干,得九节木粗提取物,取部分九节木粗提取物用水溶解成混悬液,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取液和水萃取液,分别减压浓缩得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水部位提取物,备用。

2.2 动物分组 在各项实验分组之前均用跳台仪对小鼠进行测试和筛选,剔除与其他小鼠具有较大差异的小鼠,将其余的小鼠随机分组,每组 10 只。

2.3 九节木不同极性提取物对学习记忆障碍模型小鼠的影响

2.3.1 分组及给药 每种模型均将小鼠分为空白对照组、模型组、脑复康组、九节木石油醚提取物组、九节木乙酸乙酯提取物组、九节木正丁醇提取物组、水部位组共 7 组。采用灌胃给药,给药剂量分别为:脑复康组 120 mg·kg⁻¹·d⁻¹、九节木不同极性提取物 200 mg·kg⁻¹·d⁻¹、空白组和模型组灌胃等体积的生理盐水,共 10 d。

2.3.2 对乙醇所致记忆障碍模型小鼠的影响 实验小鼠于给药第 9 天进行跳台训练,第 10 天除空白对照组外,在末次给药后灌胃 40% 乙醇,30 min 后测定小鼠在跳台测试箱中 5 min 内的错误次数及潜伏期。

2.3.3 对亚硝酸钠所致记忆障碍模型小鼠的影响 除空白对照组外,实验小鼠于给药第 9 天进行跳台训练后立即皮下注射亚硝酸钠水溶液(120 mg·kg⁻¹),第 10 天末次给药 30 min 后测定小鼠在跳台测试箱中 5 min 内的错误次数及潜伏期。

2.3.4 对盐酸氯丙嗪所致记忆障碍模型小鼠的影响 除空白对照组外,实验小鼠于给药第 9 天皮下注射盐酸氯丙嗪注射液(4 mg·kg⁻¹),30 min 后进行跳台训练后,第 10 天末次给药 30 min 后测定小鼠在跳台测试箱中 5 min 内的错误次数及潜伏期。

2.3.5 对东莨菪碱所致记忆障碍模型小鼠的影响 除空白对照组外,实验小鼠于给药第 9 天腹腔注射东莨菪碱氢溴酸盐注射液(3 mg·kg⁻¹),10 min 后进行跳台训练后,第 10 天末次给药 30 min 后测定小鼠在跳台测试箱中 5 min 内的错误次数及潜伏期。

2.4 九节木乙酸乙酯部位不同剂量对学习记忆障碍模型小鼠的影响 所有模型均采用灌胃给药,给药剂量分别为:脑复康组 120 mg·kg⁻¹·d⁻¹,九节木乙酸乙酯提取物高、中、低剂量组(300,200,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、空白组和模型组灌胃等体积的生理盐水,共 10 d。实验方法同 2.3.2 ~ 2.3.5 项。

2.5 数据处理 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析采用 SPSS 17.0 for windows 统计软件进行组间 *t* 检验和单因素方差分析比较组间差异。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 九节木不同极性提取物对学习记忆障碍模型小鼠的影响 在乙醇、亚硝酸钠、盐酸氯丙嗪、东莨菪碱模所致记忆障碍模型中,与模型组比较,九节木乙酸乙酯部分组和水部分组都能延长潜伏期,减少错误次数($P < 0.05$),尤其是乙酸乙酯部位组潜伏期最长($P < 0.01$),见表 1。

3.2 九节木乙酸乙酯不同剂量对学习记忆障碍模型小鼠的影响 九节木乙酸乙酯部位各剂量组对乙醇、亚硝酸钠、盐酸氯丙嗪、东莨菪碱所致记忆障碍模型小鼠均有延长潜伏期,减少错误次数的作用。中、高剂量组尤为明显,有非常显著性差异($P < 0.01$),见表 2。

表 1 九节木不同极性提取物对记忆障碍模型小鼠记忆能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	乙醇		亚硝酸钠		盐酸氯丙嗪		东莨菪碱	
		潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次
空白对照	-	249 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.6 ²⁾	260 ± 16 ²⁾	0.6 ± 0.6 ²⁾	245 ± 14 ²⁾	0.7 ± 0.6 ²⁾	252 ± 10.6 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾
模型	-	148 ± 23 ¹⁾	1.6 ± 0.6 ¹⁾	151 ± 15 ¹⁾	1.5 ± 0.6 ¹⁾	150 ± 13 ¹⁾	1.6 ± 0.5 ¹⁾	157 ± 13 ¹⁾	1.6 ± 0.5 ¹⁾
脑复康	120	247 ± 14 ²⁾	0.6 ± 0.7 ²⁾	262 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.5 ²⁾	250 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	260 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾
九节木石油醚部位	200	155 ± 22 ^{1,2)}	1.2 ± 0.8 ¹⁾	164 ± 14 ^{1,2)}	1.2 ± 0.4 ¹⁾	146 ± 14 ^{1,2)}	1.6 ± 0.8 ¹⁾	156 ± 13 ^{1,2)}	1.6 ± 0.4 ¹⁾
九节木乙酸乙酯部位	200	254 ± 35 ²⁾	0.2 ± 0.4 ²⁾	269 ± 15 ²⁾	0.2 ± 0.6 ²⁾	274 ± 14 ^{1,2)}	0.2 ± 0.5 ²⁾	285 ± 12 ^{1,2)}	0.2 ± 0.5 ²⁾
九节木正丁醇部位	200	165 ± 17 ¹⁾	1.0 ± 0.8 ^{1,2)}	167 ± 17 ¹⁾	1.1 ± 0.8 ^{1,2)}	161 ± 16	1.0 ± 0.8 ^{1,2)}	167 ± 10 ¹⁾	1.1 ± 0.7 ^{1,2)}
九节木水部位	200	216 ± 28 ²⁾	0.5 ± 0.8 ²⁾	209 ± 16 ²⁾	0.5 ± 0.6 ²⁾	207 ± 16 ^{1,2)}	0.6 ± 0.6 ²⁾	206 ± 17 ²⁾	0.8 ± 0.5 ²⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表 2 九节木乙酸乙酯提取物对记忆障碍模型小鼠记忆能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	乙醇		亚硝酸钠		盐酸氯丙嗪		东莨菪碱	
		潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次	潜伏期/s	出错数/次
空白对照	-	270 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	246 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.3 ²⁾	246 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	246 ± 12 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾
模型	-	151 ± 13 ¹⁾	1.6 ± 0.6 ¹⁾	153 ± 13 ¹⁾	1.7 ± 0.5 ¹⁾	156 ± 13 ¹⁾	1.6 ± 0.6 ¹⁾	149 ± 13 ¹⁾	1.6 ± 0.5 ¹⁾
脑复康	120	269 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.6 ²⁾	261 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	261 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.5 ²⁾	267 ± 15 ²⁾	0.6 ± 0.6 ²⁾
九节木乙酸乙酯部位	100	217 ± 14 ^{1,2)}	0.5 ± 0.4 ²⁾	226 ± 14 ^{1,2)}	0.6 ± 0.3 ²⁾	226 ± 14 ^{1,2)}	0.7 ± 0.4 ²⁾	240 ± 13 ²⁾	0.6 ± 0.3 ²⁾
	200	269 ± 14 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	257 ± 11 ²⁾	0.6 ± 0.7 ²⁾	257 ± 11 ²⁾	0.6 ± 0.4 ²⁾	263 ± 10 ²⁾	0.6 ± 0.2 ²⁾
	300	289 ± 12 ^{1,2)}	0.3 ± 0.6 ^{1,2)}	293 ± 17 ^{1,2)}	0.2 ± 0.3 ^{1,2)}	279 ± 15 ^{1,2)}	0.2 ± 0.2 ^{1,2)}	289 ± 13 ^{1,2)}	0.2 ± 0.3 ^{1,2)}

4 讨论

学习记忆属于高级神经活动,其基本过程可以大致分为获得(acquisition)、巩固(consolidation)和再现(retrieval)3个阶段^[9]。本研究观察了九节木不同极性萃取物对不同记忆障碍模型小鼠学习记忆功能的影响,结果显示,乙酸乙酯萃取物活性最高,其对不同记忆障碍模型小鼠学习记忆能力均表现出显著的增强作用,与模型组比较差异非常明显($P < 0.01$)。并且九节木乙酸乙酯萃取物各剂量组的测试成绩随剂量的增大而提高,呈现一定的量效关系,其中高剂量组的成绩明显好于正常组($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),说明经过一段时间的给药,小鼠的学习记忆能力有一定的增强。盐酸氯丙嗪能特异性阻滞由第一级记忆向第二级记忆转移过程,造成记忆获得障碍^[10]。亚硝酸钠是致缺氧剂,大量进入机体后,可使正常的血红蛋白变为高铁血红蛋白,失去携带氧的功能,引起组织缺氧,造成记忆巩固障碍^[11]。乙醇也是中枢神经抑制剂,可抑制动物的条件反射过程,使脑内蛋白质和RNA合成受阻,胆碱能和多巴胺等系统发生改变,破坏学习记忆功能^[12]。在测试前给药,可明显干扰记忆的再现,造成记忆再现障碍。东莨菪碱为非选择性M受体阻断剂,可以阻断中枢ACh与其受体的结合,

破坏大脑皮层和海马等部位的胆碱能神经信号传递,使学习记忆功能下降^[13]。实验结果表明,九节木乙酸乙酯萃取物能显著对抗盐酸氯丙嗪、亚硝酸钠、乙醇、东莨菪碱造成的记忆获得障碍,这可能是通过拮抗盐酸氯丙嗪对多巴胺受体、5-羟色胺受体、A-肾上腺素受体、M-型乙酰胆碱受体的阻断作用,从而提高神经递质的含量,促进记忆的改善。同时,其可能具有促进脑代谢,对缺氧缺血等脑损伤有保护作用。

综上所述,九节木乙酸乙酯萃取物能显著增强正常小鼠的学习记忆能力,对抗不同化学试剂所造成的记忆障碍,并且结果比较一致:九节木乙酸乙酯萃取物各组的测试成绩随剂量的增大而提高,呈现一定的量效关系。至于九节木乙酸乙酯萃取物增强小鼠学习记忆功能的有效成分是什么化合物,其作用机制如何,有待进一步深入研究。关于其活性成分的跟踪分离工作正在进行中。

[参考文献]

[1] 《中国植物志》编委会. 中国植物志. 第71(2)卷[M]. 北京:科学出版社,2002:58.
[2] 广西中药资源普查办公室. 广西中药资源名录[M]. 南宁:广西民族出版社,1993:206.

冠突散囊菌不同溶剂提取物体外抗氧化活性研究

李莹^{1,2}, 邹先伟², 张小娜^{1,2}, 王莹^{1,2}, 唐劲天^{2*}, 张阳德^{1,3*}

(1. 北京中医药大学, 北京 100102;

2. 清华大学工程物理系粒子技术与辐射成像教育部重点实验室, 北京 100084;

3. 卫生部肝胆肠外科研究中心, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 研究冠突散囊菌体外抗氧化活性。方法: 采用萃取法对冠突散囊菌甲醇提取物萃取获得石油醚, 乙酸乙酯和正丁醇3种提取物, 并以维生素C(VC)为阳性对照, 用清除二苯代苦味酰基(DPPH)自由基和[2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基测定法, 对冠突散囊菌3种提取物抗氧化活性进行测定。结果: 冠突散囊菌石油醚提取物清除DPPH和ABTS⁺自由基半数清除浓度(IC₅₀)分别为0.078, 0.083 g·L⁻¹, 乙酸乙酯提取物IC₅₀分别为0.21, 0.13 g·L⁻¹; 正丁醇提取物对DPPH和ABTS⁺自由基几乎没有清除作用; 3种提取物清除DPPH和ABTS⁺自由基的能力均比阳性对照VC(IC₅₀分别为0.032, 0.024 g·L⁻¹)弱。结论: 冠突散囊菌石油醚和乙酸乙酯提取物均具有抗氧化活性, 且石油醚提取物活性较强。

[关键词] 冠突散囊菌; 石油醚提取物; 抗氧化活性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0143-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014070143

[收稿日期] 20131206(004)

[基金项目] 中国博士后科学基金项目(2013M530603)

[第一作者] 李莹, 在读硕士, 从事天然产物化学研究, E-mail: 524350850@qq.com

[通讯作者] *张阳德, 博士, 教授, 博士生导师, 从事外科学基础与临床, E-mail: zyd0731@yahoo.com.cn

- [3] 洗寒梅, 邓家刚. 广西临床常用中草药[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2007: 167.
- [4] Hayashi T, Smith FT, Lee KH. Antitumor agents. 89. Psychorubrin, a new cytotoxic naphthoquinone from *Psychotria rubra* and its structure-activity relationships [J]. J Med Chem, 1987, 30(11): 2005
- [5] Corrêa L R, Soares G L G, Fett-Neto A G. Allelopathic potential of *Psychotria leiocarpa*, a dominant understory species of subtropical forests [J]. South Afr J Bot, 2008, 74: 583.
- [6] Leal M B, Elisabetsky E. Bsence of alkaloids in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae) [J]. J Ethnopharmacol, 1996, 54: 37.
- [7] Amélia T Henriques, Sílvia O Lopes, Juçara T Paranhos, et al. N, b-d-Glucopyranosyl vincosamide, a light regulated indole alkaloid from the shoots of *Psychotria leiocarpa* [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 449.
- [8] 张金花, 卢海啸, 李家洲. 山大颜抗老年痴呆作用的实验研究[J]. 中国药师, 2011, 14(3): 365.
- [9] 吴馥梅, 萧信生. 学习记忆及其脑内突触机制[J]. 自然杂志, 1991, 14(10): 746.
- [10] 张战波, 王力军, 孟凡军, 等. 盐酸氯丙嗪在急性重型大鼠脑损伤中的保护作用[J]. 临床误诊误治, 2007, 20(3): 82.
- [11] 黄厚才, 胡春萍, 彭蕴茹, 等. 钩藤散浸膏对小鼠记忆障碍模型的影响[J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(1): 59.
- [12] 胡海燕, 孟琼, 蒋哲, 等. 清心开窍方对AD小鼠学习记忆能力及海马CA1区神经细胞形态的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(10): 1186.
- [13] Klinkenberg I, Blokland A. The validity of scopolaminea pharmacological model for cognitive impairment: A review of animal behavioral studies [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2010, 34(8): 1307.

[责任编辑] 聂淑琴