



达玛烷昔元对睡眠干扰所致小鼠 学习记忆障碍的改善作用

卜兰兰^{1,2}, 石哲², 武宏伟², 卢聪², 王克柱², 李莹辉³, 曲丽娜³, 刘新民^{1,4}

- (1. 湖南中医药大学 病理学教研室, 湖南, 长沙 410208;
2. 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193;
3. 中国航天员中心 航天医学基础与应用国家重点实验室, 北京 100094;
4. 湖南省实验动物中心 湖南省药物安全评价研究中心, 湖南 长沙 410331)

【摘要】 目的 研究达玛烷昔元(dammarane sapogenins, DS-1226)对睡眠干扰(sleep interruption, SI)致认知障碍小鼠学习记忆能力的影响。方法 将ICR小鼠随机分为对照组, 模型组, DS-1226低、中、高三个剂量组。用改良滚筒法对小鼠进行睡眠干扰, 同时灌胃给药15 d后, 用自主活动仪检测自主活动, 水迷宫、避暗实验检测学习记忆能力。结果 与模型组比较, DS-1226各给药组总路程、平均速度、运动总时间均增加。模型组水迷宫定位航行D5、D6潜伏期增加; 与模型组和低剂量组比较, DS-1226中剂量组D6潜伏期降低, 高剂量组D1-D6潜伏期降低; 与中剂量组比较, DS-1226高剂量组D1-D5潜伏期降低。模型组水迷宫空间探索目标象限穿台次数及游程比率均低于对照组; DS-1226高剂量组目标象限穿台次数、目标象限游程比率及时间比率均高于模型组, 目标象限穿台次数高于中剂量组, 目标象限游程比率高于低剂量组。模型组避暗学习错误次数、暗室路程、暗室时间、暗室静息时间增加; 与模型组比较, DS-1226低、中剂量组错误次数、暗室路程减少, 高剂量组错误次数、暗室时间、暗室路程、暗室静息时间减少, 明室时间增加。结论 水迷宫和避暗实验结果表明 DS-1226 给药对 SI 所致小鼠学习记忆障碍有改善作用, 且有剂量相关性。

【关键词】 DS-1226; 滚筒; 睡眠干扰; ICR 小鼠; 自主活动; 水迷宫; 避暗

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 10-0048-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.010.009

Improving effects of dammarane sapogenins on sleep interruption-induced learning and memory impairment in mice

BU Lan-lan^{1,2}, SHI Zhe², WU Hong-wei², LU Cong², WANG Ke-zhu², LI Ying-hui³, QU Li-na³, LIU Xin-min^{1,4}

- (1. Department of Pathology, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193;
3. the State Key Lab of Space Medicine Fundamentals and Application, China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094;

【基金项目】 国际科技合作专项-人参益智药效与基因/蛋白表达谱关联规律合作研究(编号:2011DFA32730); 全军医学科技“十二五”科研项目(编号:BWS11J052); 极限环境认知损伤保护药临床前药效评价技术体系-国家科技重大专项课题(编号:2012ZX09J12201); 湖南中医药大学 病理学与病理生理学重点学科(2012)。

【作者简介】 卜兰兰(1983-), 女, 研究方向为病理学与病理生理学、神经药理学。E-mail: bulanlan216@163.com。

【通讯作者】 刘新民(1962-), 男, 研究方向为神经药理学。E-mail: liuxinmin@hotmail.com。

4. Hunan Laboratory Animal Center, Hunan Provincial Research Center for Safety
Evaluation of Drugs, Changsha 410331)

【Abstract】 Objective To study the effects of dammarane sapogenins (DS-1226) on sleep interruption-induced learning and memory impairment in mice. **Methods** 130 SPF healthy 5 – 6-week old male ICR mice were randomly divided into control, model, DS-1226 low dose, DS-1226 medium dose and DS-1226 high dose groups. The behavioral alterations in open field (OF), Morris water maze (MWM) and step-through (ST) tests were detected at 15 days after rotating drum-induced sleep interruption (SI). **Results** The total distance, movement speed, total duration of movement were increased in OF test ($P < 0.05$, vs. the model group) after treatment. The latency of place navigation was increased from day 5 in the MWM test after 15 d sleep interruption, and the number of crossing in the target quadrant and the percent distance in target quadrant were decreased after 15 d sleep interruption ($P < 0.05$, vs. the control group), while the latency of place navigation was decreased, and the percent distance in target quadrant and percent time in target quadrant after high dose DS-1226 oral administration ($P < 0.05$, vs. the model group) were increased. Error times, distance in dark chamber, time in dark chamber and immobility time in dark chamber were increased in training of step through test ($P < 0.05$, vs. the control group); while these indexes were decreased after DS-1226 oral administration ($P < 0.05$, vs. the model group). But there was no significant difference in the step through testing course. **Conclusions** The results show that orally administrated DS-1226 can ameliorate SI-induced learning and memory impairment, and there is a significant dosage-effect relationship.

【Key words】 Dammarane sapogenins; Rotating drum test; Sleep Interruption; ICR mice; Spontaneous activity; Morris water maze test; Step-through test

人参是现代药理研究最多和最充分的传统中药之一,而以改善各种学习记忆障碍的研究报导最多。现代研究证明人参皂苷为人参的主要活性成分,对神经系统有多种调节作用,如改善学习记忆障碍、抗抑郁、镇静安神、兴奋中枢等。研究表明,人参皂苷 Rg1、Rb1 能改善多种学习记忆障碍模型动物的学习记忆障碍^[1-3],保护多种条件下的神经细胞损伤和凋亡^[4-6]。本实验室前期研究也发现,人参皂苷 Rg1、Rb1 对睡眠干扰大鼠认知能力有改善作用,人参皂苷 Rg1、Rb1、Rh1、PPT 对东莨菪碱模型小鼠认知能力有改善作用^[7,8]。本实验旨在通过研究人参皂苷元类化合物 DS-1226 对睡眠干扰致认知障碍小鼠学习记忆能力的影响,为改善睡眠障碍致学习记忆损害的药物研究提供参考。

1 材料

1.1 药物

DS-1226, dammarane sapogenins, 成分:原人参二醇[20(S)-aglycone protopanaxadiol, aPPD], 原人参三醇[20(S)-aglycone protopanaxatriol, aPPT], 人参皂苷 Rh2 (ginsenoside Rh2), PAM120 等。成分含量:aPPD >12%, aPPT >26%, Rh2 >8%。由加拿大天马药业集团惠赠。

1.2 动物

ICR 小鼠, 雄性, 5 – 6 周龄, 体重 22 ± 2 g, 130 只, SPF 级, 购自军事医学科学院实验动物中心, 许可证号 [SCXK-(军)2007-004]。使用合格证号: [SYXK(京)2003-0009]。

1.3 仪器

小鼠自主活动实时检测分析处理系统、小鼠 Morris 水迷宫计算机自动控制 and 图像分析处理系统、小鼠避暗实验检测系统、滚筒式大小鼠睡眠干扰仪均由中国航天员科研训练中心和中国医学科学院药用植物研究所联合研发。

2 实验方法

2.1 动物分组及给药

2.1.1 分组:采用随机数字表法分为水迷宫组(环境对照组,模型组,DS-1226 低、中、高剂量组)和避暗组(环境对照组,模型组,DS-1226 低、中、高剂量组),共 10 组,每组 13 只。

2.1.2 给药:DS-1226 低剂量 18.75 mg/kg, 中剂量 37.5 mg/kg, 高剂量 75 mg/kg。分析天平称取药物,加蒸馏水配成混悬液,0.2 mL/10 g 灌胃。环境对照组及模型组给等体积蒸馏水。造模开始前(8 am)开始给药,每天 1 次。行为学检测期间,每只动物检测前 1 h 给药。给药持续直至行为学检测完成。

2.2 睡眠干扰实验

每天 3 h (8~11 am), 连续 3 d 滚筒适应 (1 min/r, 间隔 5 min) 后, 将模型组及各给药组动物灌胃给药后放入滚筒 (8 AM) 开始干扰。滚筒以 1 min/r 间隔 5 min 模式^[9]运转并开始计时。15 d 时间到 (8 am) 取出水迷宫/避暗测试组与其环境对照组动物进行相应行为学检测。检测结束后, 将干扰组动物放回滚筒继续干扰 (除行为学检测期间取出动物外, 其余时间动物均在滚筒中)。如此直至相应行为学检测结束。

2.3 水迷宫实验

睡眠干扰 15 d 时间到 (8 am) 后, 自主活动实验结束后进行水迷宫定位航行实验。

小鼠 Morris 水迷宫计算机自动控制 and 图像分析处理系统在本实验室原有仪器^[10]基础上开发, 由一个不锈钢喷塑圆柱形水池 (直径 100 cm, 高 38 cm) 和图像采集分析系统组成。平台直径 6 cm, 高 14 cm。按东西南北将水池划分为 4 象限 (NE, SE, SW, NW), 象限池壁圆弧中点为动物入水点。向池中注水并用墨汁调黑保证目标准确识别。软件记录动物游泳轨迹, 用于指标提取和分析。

2.3.1 定位航行: Day1-6: 平台固定于 NE 象限中心, 水面下 1.5 cm。实验室物品及人员位置固定作为小鼠空间参照物。每天训练 3 次, 每次从不同入水点 (SE, SW, NW) 将动物面向池壁放入水中。检测时间 90 s, 在台上停留超过 2 s 视为寻台成功, 每次测试前将动物放在台上适应 10 s (前适应), 测试完毕无论寻台是否成功均将其放在台上适应 10 s (后适应)。将动物入水到寻台成功所需时间记作潜伏期, 寻台失败潜伏期记 90 s。用潜伏期评价动物空间学习能力。

2.3.2 空间探索: Day 7: 撤去平台, 从实台所在象限对角象限 SW 入水。以 90 s 内穿台次数、目标象限游程比率、目标象限时间比率评价动物空间记忆能力。

2.4 避暗实验

睡眠干扰 15 d 时间到 (8 am) 后, 自主活动实验结束后进行避暗训练。

小鼠避暗实验检测系统^[11]由避暗测试箱和图像采集分析系统组成。避暗测试箱为封闭结构, 内含两个测试箱, 每个测试箱分明暗两室 (20 cm × 12 cm × 60 cm), 两室之间均有一个小门 (5 cm × 3 cm), 底部为可独立控制通断电的不锈钢栅栏, 应用软件控制实验流程并自动分析动物活动信息, 提

取指标。

2.4.1 避暗训练: Day1: 将动物从明室放入自由活动 5 min 后取出。设置参数: 再现模式 B (摄像头识别到动物在暗室, 暗室栅栏通电, 动物离开, 暗室断电)、刺激电压 31V、实验时间 5 min。将动物放入暗室开始实验, 动物遭受电击逃到明室。以 5 min 内错误次数 (第 1 次被电不计入错误次数), 潜伏期 (第 1 次从暗室到明室的时间)、暗室 (错误区) 时间、明室 (安全区) 时间、暗室路程评价动物避暗学习能力。

2.4.2 避暗检测: Day 2: 避暗训练后 24 h 进行。参数设置同前。将动物放入明室开始实验, 以 5 min 内错误次数 (进入暗室的次数), 潜伏期 (第 1 次从明室到暗室的时间)、暗室时间、明室时间、暗室路程评价动物避暗记忆能力。

2.5 自主活动实验

睡眠干扰 15 d 时间到 (8 am), 水迷宫定位航行 Day 1/避暗训练 Day 1 前进行。

小鼠自主活动实时检测分析处理系统^[12]由一个封闭箱体 (80 cm × 80 cm × 155 cm)、4 个可移动锥桶 (底直径 30 cm, 上口直径 40 cm, 高 60 cm) 和图像采集分析系统组成。检测时, 将小鼠沿壁放入桶内, 设定参数后开始实验。软件自动采集分析动物 10 min 内运动轨迹, 通过总路程、平均速度、运动总时间、静息总时间反映动物自主活动情况。

3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD, 数据以均数 ± 标准误 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 时差异有统计学意义。

4 实验结果

4.1 DS-1226 对睡眠干扰小鼠水迷宫成绩的影响
如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组定位航行 D5、D6 潜伏期增加 ($P < 0.05$); 与模型组和低剂量组比较, DS-1226 中剂量组 D6 潜伏期降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, DS-1226 高剂量组 D1-D6 潜伏期降低 ($P < 0.01$); 与低剂量组比较, DS-1226 高剂量组 D2、D4 潜伏期降低 ($P < 0.05$), D1、D3、D5、D6 潜伏期明显降低 ($P < 0.01$); 与中剂量组比较, DS-1226 高剂量组 D1 潜伏期降低 ($P < 0.05$), D2-D5 潜伏期明显降低 ($P < 0.01$)。

如表 2 示, 与对照组比较, 模型组目标象限穿台

次数减少 ($P < 0.01$)、目标象限游程比率减少 ($P < 0.05$)；与模型组比较，DS-1226 高剂量组目标象限穿台次数增加 ($P < 0.01$)、目标象限游程比率和目标象限时间比率增加 ($P < 0.05$)；与低剂量组比较，

DS-1226 高剂量组目标象限游程比率增加 ($P < 0.05$)；与中剂量组比较，DS-1226 高剂量组目标象限穿台次数增加 ($P < 0.05$)。

表 1 DS-1226 对睡眠干扰小鼠定位航行潜伏期的影响 ($n = 13$)
Tab. 1 Effects of DS-1226 on latency of water maze (place navigation) test in the mice ($n = 13$)

组别 Groups	第 1 天 D1	第 2 天 D2	第 3 天 D3	第 4 天 D4	第 5 天 D5
对照组 Control group	78.74 ± 3.84	60.32 ± 5.68	53.75 ± 5.34	51.35 ± 5.24	41.31 ± 4.93
模型组 Model group	82.63 ± 3.34	73.53 ± 4.71	67.31 ± 4.76	64.32 ± 5.07	60.72 ± 5.05 ^{##}
DS-1226 低剂量组 DS-1226-L	84.62 ± 2.18	63.78 ± 5.50	64.25 ± 5.19	58.16 ± 5.80	52.84 ± 5.50
DS-1226 中剂量组 DS-1226-M	74.33 ± 4.62	68.06 ± 4.99	60.76 ± 5.18	65.66 ± 5.15	49.95 ± 5.64
DS-1226 高剂量组 DS-1226-H	61.67 ± 5.55 ^{△△△&&*}	45.62 ± 5.44 ^{△△△&*}	25.82 ± 4.36 ^{△△△&&*}	40.38 ± 5.41 ^{△△△&*}	27.26 ± 4.29 ^{△△△&&*}

注：[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 与对照组比较；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 与模型组比较；[&] $P < 0.05$ ，^{&&} $P < 0.01$ 与低剂量组比较；^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 与中剂量组比较。
Note. [#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ，compared with the control group；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ，compared with the model group；[&] $P < 0.05$ ，^{&&} $P < 0.01$ ，compared with the DS-1226-L group；^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ ，compared with the DS-1226-M group.

表 2 DS-1226 对睡眠干扰小鼠空间探索的影响 ($n = 13$)
Tab. 2 Effects of DS-1226 on water maze (spatial probe) test in the mice ($n = 13$)

组别 Groups	目标象限穿台次数 Number of crossing in the target quadrant	目标象限游程比率 (%) Percent distance in target quadrant	目标象限时间比率 (%) Percent time in target quadrant
对照组 Control group	2.92 ± 0.58	0.32 ± 0.02	0.31 ± 0.02
模型组 Model group	0.69 ± 0.26 ^{##}	0.25 ± 0.02 [#]	0.25 ± 0.03
DS-1226 低剂量组 DS-1226-L	1.62 ± 0.45	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.02
DS-1226 中剂量组 DS-1226-M	1.15 ± 0.34	0.29 ± 0.02	0.29 ± 0.02
DS-1226 高剂量组 DS-1226-H	2.46 ± 0.53 ^{△△*}	0.32 ± 0.02 ^{△&}	0.32 ± 0.02 [△]

注：[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 与对照组比较；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 与模型组比较；[&] $P < 0.05$ 与低剂量组比较；^{*} $P < 0.05$ 与中剂量组比较。
Note. [#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ，compared with the control group；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ，compared with the model group；[&] $P < 0.05$ ，compared with the DS-1226-L group；^{*} $P < 0.05$ ，compared with the DS-1226-M group.

表 3 DS-1226 对睡眠干扰小鼠避暗学习的影响 ($n = 13$)
Tab. 3 Effects of DS-1226 on step-through test in the mice ($n = 13$)

组别 Groups	错误次数 Error times	明室时间 Time in light chamber (s)	暗室时间 Time in dark chamber (s)	潜伏期 Latency (s)	暗室路程 Distance in dark chamber (cm)	暗室静息时间 Immobility time in dark chamber (s)
对照组 Control group	3.38 ± 0.47	264.87 ± 10.30	34.56 ± 10.27	5.93 ± 1.37	16.28 ± 1.97	30.40 ± 9.86
模型组 Model group	6.17 ± 1.02 ^{##}	219.90 ± 11.97 [#]	79.53 ± 11.98 [#]	8.53 ± 1.73	35.21 ± 6.38 ^{##}	69.72 ± 10.82 [#]
DS-1226 低剂量组 DS-1226-L	3.85 ± 0.59 [△]	199.68 ± 19.46	99.82 ± 19.49	18.98 ± 8.38	20.84 ± 2.70 ^{△△}	94.27 ± 19.39
DS-1226 中剂量组 DS-1226-M	3.38 ± 0.51 ^{△△}	230.55 ± 16.25	69.04 ± 16.25	19.70 ± 9.76	18.91 ± 3.07 ^{△△}	64.07 ± 15.97
DS-1226 高剂量组 DS-1226-H	2.77 ± 0.50 ^{△△}	267.47 ± 6.23 ^{△△&&}	32.05 ± 6.22 ^{△△&&}	6.54 ± 0.85	15.82 ± 2.00 ^{△△}	28.01 ± 5.72 ^{△△&&}

注：[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ 与对照组比较；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ 与模型组比较；[&] $P < 0.05$ ，^{&&} $P < 0.01$ 与低剂量组比较。
Note. [#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ，compared with the control group；[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ，compared with the model group；[&] $P < 0.05$ ，^{&&} $P < 0.01$ ，compared with the DS-1226-L group.

表 4 DS-1226 对睡眠干扰小鼠避暗巩固的影响 ($n = 13$)Tab. 4 Effects of DS-1226 on the memory consolidation in step-through test of the mice ($n = 13$)

组别 Groups	错误次数 Error times	明室时间 Time in light chamber (s)	暗室时间 Time in dark chamber (s)	潜伏期 Latency (s)	暗室路程 Distance in dark chamber (cm)	暗室静息时间 Immobility time in dark chamber (s)
对照组 Control group	1.08 ± 0.17	296.89 ± 1.01	2.64 ± 1.02	115.23 ± 28.92	5.18 ± 0.96	1.41 ± 0.76
模型组 Model group	1.92 ± 0.55	296.57 ± 0.98	3.03 ± 1.01	81.35 ± 37.84	8.92 ± 1.97	1.52 ± 0.69
DS-1226 低剂量组 DS-1226-L	1.31 ± 0.21	295.87 ± 0.75	3.61 ± 0.77	75.48 ± 23.83	7.67 ± 1.38	1.80 ± 0.55
DS-1226 中剂量组 DS-1226-M	2.08 ± 0.45	295.30 ± 1.15	4.11 ± 1.17	61.44 ± 17.66	9.14 ± 1.78	2.44 ± 0.91
DS-1226 高剂量组 DS-1226-H	1.54 ± 0.24	295.58 ± 1.03	3.89 ± 0.99	81.52 ± 29.11	7.26 ± 1.26	2.43 ± 0.74

表 5 DS-1226 对睡眠干扰小鼠自主活动的影响 ($n = 13$)Tab. 5 Effects of DS-1226 on open field test in the mice ($n = 13$)

组别 Groups	总路程 (cm) Total distance (cm)	平均速度 (cm/s) Movement speed (cm/s)	运动总时间 (s) Total duration of movement (s)	静息总时间 (s) Total resting duration (s)
对照组 Control group	1780.65 ± 147.78	2.97 ± 0.25	136.50 ± 9.09	463.35 ± 9.08
模型组 Model group	1457.58 ± 134.24	2.43 ± 0.22	112.14 ± 8.10	487.73 ± 8.09
DS-1226 低剂量组 DS-1226-L	2177.09 ± 286.73 [△]	3.63 ± 0.48 [△]	152.06 ± 16.58 [△]	447.79 ± 16.58
DS-1226 中剂量组 DS-1226-M	2366.72 ± 242.47 ^{△△}	3.94 ± 0.40 ^{△△}	157.22 ± 12.07 ^{△△}	442.62 ± 12.07
DS-1226 高剂量组 DS-1226-H	2306.88 ± 215.85 ^{△△}	3.85 ± 0.36 ^{△△}	157.67 ± 10.12 ^{△△}	442.19 ± 10.12

注: [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ 与模型组比较。

Note. [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$, compared with the model group.

4.2 DS-1226 对睡眠干扰小鼠避暗成绩的影响

如表 3 所示,与对照组比较,模型组错误次数、暗室路程增加($P < 0.01$),暗室时间、暗室静息时间增加($P < 0.05$);与模型组比较,DS-1226 低剂量组错误次数减少($P < 0.05$),暗室路程减少($P < 0.01$),DS-1226 中剂量组错误次数、暗室路程减少($P < 0.01$),DS-1226 高剂量组错误次数、暗室路程减少($P < 0.01$),暗室时间、暗室静息时间减少($P < 0.05$),明室时间增加($P < 0.05$);与低剂量组比较,DS-1226 高剂量组暗室时间及暗室静息时间减少,明室时间增加($P < 0.01$)。

如表 4 示,模型组与对照组以及各给药组与模型组之间,错误次数、明室时间、暗室时间、潜伏期、暗室路程、暗室静息时间均无统计学差异。

4.3 DS-1226 对睡眠干扰小鼠自主活动的影响

如表 5 示,与对照组比较,模型组在以上各指标上无差异;与模型组比较,DS-1226 低剂量组总路程、平均速度、运动总时间增加($P < 0.05$),DS-1226 中、高剂量组总路程、平均速度、运动总时间均增加($P < 0.01$)。

5 讨论

人参是五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的根。《神农本草经》上经(品)中记载,人参“主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明目,开心益智。久服,轻身延年”。因其作用广泛神奇

享有“百草之王”的美誉而备受国内外学者的重视。关于其开心益智作用的研究也成了热门。随着现代分离技术和分析技术的进步,人参的化学成分得到进一步阐明,人参皂苷被认为是人参的主要有效物质。有研究表明,口服人参皂苷对睡眠干扰大鼠学习记忆能力受损有明显的保护作用^[13]。另有研究表明,口服人参皂苷 Rb1、腹腔注射人参皂苷 Rd 对东莨菪碱和环己米特所致的小鼠获得性及巩固性记忆障碍均具有明显的改善作用^[14]。在实验室前期研究的基础上,本实验选用人参皂苷碱水解后得到的人参次苷和人参苷元混合物 DS-1226,探索其对滚筒法睡眠干扰致学习记忆损害的影响。

水迷宫实验结果表明,睡眠干扰一定时间(15 d)后会造动物空间学习记忆能力下降。DS-1226 高剂量(75 mg/kg)给药则可以显著改善小鼠空间学习和记忆能力,效果优于中剂量。避暗实验结果表明,模型组小鼠避暗学习能力受损,DS-1226 低、中、高三个剂量给药均可改善造模动物避暗学习能力,且高剂量优于低、中剂量。研究发现人参皂苷 Rg1、Rb1 可以提高东莨菪碱痴呆动物的水迷宫空间定位学习和记忆能力^[15],人参茎叶皂甙对睡眠干扰大鼠“Y”迷宫空间分辨学习能力有明显改善作用^[16]。人参皂苷的主要促智成分 Rb1 和 Rg1 可增强胆碱能系统的功能,增加脑突触受体对 3H-胆碱的摄取,增加乙酰胆碱的合成与释放^[17]。睡眠干扰后大鼠脑中缝核群 5-HT 明显增加且随着扰时间

延长而加大,连续口服人参皂甙可使短时间干扰大鼠脑中缝核群 5-HT 增加,对于长时间干扰,则使 5-HT 累积程度减轻^[18]。还有研究报道,人参皂苷对中枢 5-HT 的影响呈双向性,中枢 5-HT 能系统对学习记忆的影响是与胆碱能系统交互作用的结果,5-HT 不但作为递质,而且作为调质发挥作用^[19]。张均田等为评价人参 Rg1 的益智作用,建立了多种记忆障碍模型,包括老年鼠、应激鼠、缺血-再灌注、东莨菪碱及 β 淀粉样蛋白等所致的认知障碍,研究证明 Rg1 通过多种途径和机制增加神经可塑性,如提高突触效能和结构可塑性、中枢乙酰胆碱含量和 M-胆碱受体密度增加和 FOS 蛋白、BDNF 表达增加^[20-22]。DS-1226 改善睡眠干扰动物空间定位学习记忆能力及避暗学习能力可能与以上机制有关,有待进一步研究。至于避暗巩固结果显示模型组避暗记忆能力未受损害,各给药组与模型组之间避暗记忆也无差别,可能与电击这种恐怖记忆一旦获得就很难忘记有关^[23]。

从自主活动结果来看,睡眠干扰 15d 对 ICR 小鼠自主活动影响较小。这也与前期研究结果一致,可能是因为动物对滚筒滚动已经产生了适应,同时也再次验证了滚筒法睡眠干扰结果的稳定性和可靠性^[9]。人参对中枢神经系统的镇静和兴奋双向调节作用与用药时神经系统的功能状态、用药剂量及人参不同成分有关^[24]。DS-1226 给药各剂量组动物自主活动均显示总体活动增加,这可能与以上三种因素相关,还需进一步研究。

综上所述,DS-1226 口服给药可以改善滚筒法睡眠干扰 15 d 导致的小鼠空间定位学习、记忆能力及避暗学习能力障碍,且高剂量(75 mg/kg)效果最为明显,可为益智中药的研究提供参考。

参考文献:

- [1] 王晓英,陈霖,张均田. 人参皂苷 Rg1 对 β -淀粉样肽(25-35)侧脑室注射所致小鼠学习记忆障碍的改善作用及其机制[J]. 药理学报, 2001, 36(01): 1-4.
- [2] Tohda C, Matsumoto N, Zou K, et al. Abeta(25-35)-induced memory impairment, axonal atrophy, and synaptic loss are ameliorated by M1, a metabolite of protopanaxadiol-type saponins[J]. Neuropsychopharmacology, 2004, 29(5): 860-868.
- [3] 罗天飞,刘姗姗,葛鹏飞,等. 人参皂甙 Rb1 对短暂脑缺血后神经元损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(19): 1892-1894.
- [4] 吴蕾,陈云波,王奇,等. 人参皂苷对 $A\beta_{(25-35)}$ 蛋白诱导的老年性痴呆体外模型 NG108-15 神经元细胞凋亡的抑制作用[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(02): 126-131.
- [5] Liao B, Newmark H, Zhou R. Neuroprotective effects of ginseng total saponin and ginsenosides Rb1 and Rg1 on spinal cord neurons in vitro[J]. Exp Neurol, 2002, 173(2): 224-234.
- [6] 魏翠柏,贾建平,王芬,等. 人参皂苷 Rg1 及 Rb1 对 $A\beta_{25-35}$ 诱导 CHO 细胞毒性影响[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(07): 616-618.
- [7] 金剑. 一种基于睡眠干扰动物模型的中药药效研究方法[D]. 吉林长春:长春中医药大学药学院, 2013.
- [8] Wang Q, Sun LH, Jia W, et al. Comparison of ginsenosides Rg1 and Rb1 for their effects on improving scopolamine induced learning and memory impairment in mice[J]. Phytother Res, 2010, 24(12): 1748-1754.
- [9] 卜兰兰,石哲,孙秀萍,等. 一种辅助改善记忆保健食品功能评价的动物模型[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(5): 402-406.
- [10] 刘新民,陈善广,王圣平,等. 益智中草药研究中的一种新方法[J]. 中草药, 1998, 29(03): 174-177.
- [11] 薛丹,陈善广,徐淑萍,等. 构建自动、智能及敏感度高的避暗实验检测系统[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(15): 2778-2782.
- [12] 王琼,买文丽,李翊华,等. 自主活动实时测试分析系统的建立与开心散安神镇静作用验证[J]. 中草药, 2009, 40(11): 1773-1779.
- [13] 杨国愉,皇甫恩,张大均,等. 人参皂甙对睡眠剥夺大鼠学习记忆和主动性的影响[J]. 中国临床心理学杂志, 2007, 15(1): 81-84.
- [14] 陈声武,王丽娟,王岩,等. 人参皂苷 Rb1 和 Rd 对不同类型记忆障碍模型小鼠学习记忆功能的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 15(5): 330-332.
- [15] Chen SW, Wang LJ, Wang Y, et al. Effects of ginsenoside Rb1 and Rd on learning and memory function of mice[J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2001, 15: 330-332.
- [16] Wafford KA, Ebert B. Emerging anti-insomnia drugs: tackling sleeplessness and the quality of wake time[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(6): 530-540.
- [17] Salim KN, McEwen BS, Chao HM. Ginsenoside Rb1 regulates ChAT, NGF and trkA mRNA expression in the rat brain[J]. Brain Res, 1997, 47(1-2): 177-182.
- [18] 杨国愉,冯正直,皇甫恩,等. 人参皂甙对睡眠剥夺下大鼠脑中缝核群 5-HT 的影响[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(2): 158-160.
- [19] Thakkar M, Mallick BN. Effect of rapid eye movement sleep deprivation on rat brain monoamine oxidases[J]. Neuroscience, 1993, 55(3): 677-683.
- [20] Wang XY, Zhang JT. Effect of ginsenoside Rg1 on synaptic plasticity of freely moving rats and its mechanism of action[J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(7): 657-662.
- [21] Zhang JT, Liu M. Modern research on the nootropic and anti-aging effects of ginseng[C]. Adv Pharmacol Clin Res, 1996: 170-179.

- [4] 王齐,陈晓宇,刘梅梅,等. 二苯乙炔苷对沙鼠脑缺血/再灌注引发海马损伤的保护作用 [J]. 中国临床解剖学杂志, 2013, 31(2):180-183.
- [5] 徐勇民,周美鸿,郑艳萍,等. 二苯乙炔苷预适应对脑缺血-再灌注损伤大鼠细胞凋亡的保护作用 [J]. 南昌大学学报(医学版), 2013, 53(5):13-16.
- [6] Spencer SS. Neural networks in human epilepsy: evidence of and implications for treatment [J]. 2002,43(3):219-227.
- [7] Katsumato E, Ozaki T, Yototano N, et al. The expression of glial fibrillary acid protein (GFAP)mRNA in EL mouse brain [J]. Epilepsia, 1997, 38(16):61.
- [8] Kaplan MS, Hinds JW. Neurogenesis in the adult rat: electron microscopic analysis of light radioautographs [J]. Science, 1977, 197(4308):1092-1094.
- [9] Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchrony with area CA3 pyramidal cells: functional implications of seizure-induced neurogenesis [J]. J Neurosci, 2000, 20: 6144-6158.
- [10] 张义伟,肖培伦,吕玥,等. 癫痫发作后成鼠及幼鼠海马神经发生的改变 [J]. 神经解剖学杂志, 2013, 29(6):681-685.
- [11] Lledo PM, Alonso M, Grubb MS. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(3):179-193.
- [12] Santos T, Maia J, Agasse F, et al. Nanomedicine boosts neurogenesis: new strategies for brain repair [J]. Integr Biol (Camb), 2012, 4(9):973-981.

[修回日期]2014-07-21

(上接第 47 页)

- [13] Allain CC, Poon LS, Chan CS, et al. Enzymatic determination of total serum cholesterol [J]. Clin Chem,1974, 20:470-475.
- [14] Roeschlau P, Bernt E, Gruber W. Enzymatic determination of total cholesterol in serum [J]. Z Klin Chem Klin Biochem, 1974, 12(9):403-407.
- [15] Xu C, He X, Xu S. Mapping quantitative trait loci underlying triploid endosperm traits [J]. Heredity, 2003, 90(3):228-235.
- [16] Lyons MA, Wittenburg H, Li R, et al. Quantitative trait loci that determine lipoprotein cholesterol levels in DBA/2J and CAST/Ei inbred mice [J]. J Lipid Res,2003, 44(5):953-967.
- [17] Lyons MA, Wittenburg H, Li R, et al. Lith6: a new QTL for cholesterol gallstones from an intercross of CAST/Ei and DBA/2J inbred mouse strains [J]. J Lipid Res, 2003, 44(9):1763-1771.
- [18] Li R, Lyons MA, Wittenburg H, et al. Combining data from multiple inbred line crosses improves the power and resolution of quantitative trait loci mapping [J]. Genetics,2005, 169(3):1699-1709.

[修回日期]2014-07-23

(上接第 53 页)

- [22] Zhang JT. New progress in the study of ginsenoside Rg1 and Rb1 [C]. The 14th Symposium on Natural Products Research, 1999: 1-4.
- [23] Tinsley MR, Quinn JJ, Fanselow MS. The role of muscarinic and nicotinic cholinergic neurotransmission in aversive conditioning: comparing Pavlovian fear conditioning and inhibitory avoidance [J]. Learn Mem, 2004, 11(1):35-42.
- [24] 黎阳,张铁军,刘素香,等. 人参化学成分和药理研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(1):164,附1,附2.

[修回日期]2014-08-24