

人参皂苷水解产物 DS-1227 改善东莨菪碱致小鼠的学习记忆障碍

武宏伟¹, 王克柱¹, 冯利¹, 卢聪¹, 徐攀¹, 廖永红¹,
曲丽娜², 李莹辉², 刘新民

(1. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;
2. 中国航天员科研训练中心航天医学基础与应用国家重点实验室, 北京 100094)

【摘要】 目的 研究人参皂苷水解产物 DS-1227 (Dammarane Sapogenins-1227) 对东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的改善作用, 为老年痴呆等疾病的药物研究提供科学数据。方法 将 60 只 ICR 小鼠随机分为空白对照组、模型组、阳性对照组、DS-1227 低、中、高剂量组共 6 组, 每组 10 只。连续灌胃给药 2 周后, 检测自主活动, 第 15 天开始除空白对照组腹腔注射生理盐水, 其他各组均腹腔注射东莨菪碱 (0.75 mg/kg), 阳性对照组在注射东莨菪碱 5 min 后另腹腔注射毒扁豆碱 (0.3 mg/kg), 给药完成 20 min 后进行物体认知实验和 Morris 水迷宫实验检测动物的学习记忆能力。结果 DS-1227 对小鼠的自主活动无显著性影响。腹腔注射东莨菪碱后, 小鼠的相对辨别指数降低, 水迷宫定位航行实验中 d1、d2、d3、d4 和 d5 潜伏期均明显延长。DS-1227 低、中、高剂量和给予 M 受体激动剂毒扁豆碱均能不同程度增加东莨菪碱致学习记忆障碍模型小鼠的相对辨别指数, 缩短水迷宫定位航行潜伏期。结论 DS-1227 有改善东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的作用。

【关键词】 DS-1227; 东莨菪碱; 学习记忆障碍

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 04-0027-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.004.006

Improving effect of the ginsenoside hydrolysis product DS-1227 on scopolamine-induced learning and memory impairment in mice

WU Hong-wei¹, WANG Ke-zhu¹, FENG Li¹, LU Cong¹,
XU Pan¹, LIAO Yong-hong¹, QU Li-na², LI Ying-hui², LIU Xin-min¹
(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences &
Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;
2. China Astronaut Research and Training Center, State Key Lab of Space Medicine
Fundamentals and Application, Beijing 100094)

【Abstract】 Objective The aim of this experiment was to study the improving effects of a ginsenoside hydrolysis product DS-1227 on scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. **Methods** Sixty healthy 5-6-week old male ICR mice (body weight 22 ± 2 g) were randomly divided into control group, model group, three DS-1227 groups (25

[基金项目] 重大新药创制 (编号: 2012ZX09J12110-04C); 国际科技合作专项 (编号: 2011DFA32730); 全军医学科技“十二五”科研项目 (编号: BWS11J052)。

[作者简介] 武宏伟 (1979 -), 女, 研究方向: 中药药理。E-mail: wuhongwei-2004@163.com。

[通讯作者] 刘新民 (1962 -), 男, 研究方向: 神经药理, E-mail: liuxinmin@hotmail.com。

mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg), and positive control group (0.3 mg/kg). Fourteen days after oral administration of DS-1227, an open-field test was conducted to determine the mouse locomotor activity. Fifteen days after oral administration of DS-1227, all experimental animals were intraperitoneally administered scopolamine (0.75 mg/kg) and the mice of control group received the same volume of saline. In addition to scopolamine, the mice of positive control group received intraperitoneal injection of physostigmine in a dose of 0.3 mg/kg. Twenty minutes after completion of all the drug administration, object recognition test and Morris water maze test were conducted to evaluate the learning and memory abilities of the mice. **Results** DS-1227 had no significant effect on locomotor activity of the mice. Scopolamine obviously decreased the discrimination indexes in object recognition test, and prolonged the escape latency of water maze place navigation test. While 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg of DS-1227 increased the discrimination indexes and decreased the escape latency of place navigation in the mice. **Conclusion** DS-1227 can improve the learning and memory impairment induced by scopolamine in mice.

【Key words】 Ginsenoside hydrolysis product DS-1227; Scopolamine; Learning and memory impairment; Mice

随着老龄化社会的到来,阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病率逐年升高,严重威胁着人类健康,给社会和家庭带来沉重负担。国内外虽投入大量人力物力财力研究防治 AD 的药物,但目前收效甚微,因此研究防治 AD、改善学习记忆的药物十分必要。AD 是一种以进行性认知障碍和记忆力损害为主的中枢神经系统退行性疾病^[1],早期主要表现为短时记忆损害、空间辨别能力障碍等。研究表明,AD 患者认知功能损伤与脑内神经递质乙酰胆碱(acetylcholine, Ach)水平下降密切相关,针对 AD 患者脑内 Ach 水平下降这个特异性神经化学变化,研究人员采用给予 M 胆碱受体阻断剂东莨菪碱(scopolamine, SCOP),使脑内 Ach 水平显著下降,复制 AD 动物模型,可稳定诱导动物的学习记忆障碍,该方法操作简便,是筛选防治 AD 药物的较好动物模型。

人参作为传统中药,是现代药理研究最多和最充分的传统中药之一,长期临床实践证明,人参有确定的益智作用,人参皂苷为人参的主要益智活性成分,人参皂苷对神经系统有多种调节作用,如抗抑郁、改善学习记忆障碍、镇静安神、兴奋中枢等。人参皂苷不易被吸收,并且生物利用度较低^[2-3],然而人参皂苷去糖代谢后形成的苷元或次苷比皂苷本身更容易被机体吸收,而且活性增强,毒性降低^[4-10]。因此,本研究采用东莨菪碱模型,通过动物行为学对人参皂苷水解产物 DS-1227 改善学习记忆的作用进行研究,为研制 AD 等的防治药物提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物及实验环境

60 只 SPF 级雄性 ICR 小鼠,5~6 周龄,体重(22

±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号[SCXK(京)2012-0001]。实验在中国医学科学院药用植物研究所进行,饲养于本实验室的屏障环境[SYXK(京)2008-0019],温度(20~26)℃,12 h 照明/12 h 黑暗环境(8:00-20:00 亮灯),饲养期间给予标准饲料及纯净水。本实验遵循实验动物伦理原则。

1.2 仪器与试剂

小鼠行为学检测仪器包括自主活动实验计算机图像实时检测分析处理系统、物体认知检测装置、小鼠 Morris 水迷宫计算机自动控制和图像分析处理系统均由中国医学科学院药用植物研究所和中国航天员科研训练中心联合研发。

DS-1227,人参皂苷水解产物:原人参二醇[20(S)-aglycone protopanaxadiol, PPD] 9.18%,原人参三醇[20(S)-aglycone protopanaxatriol, PPT] 20.55%,人参皂苷 Rh1(ginsenoside Rh1)18.8%,人参皂苷 Rh2(ginsenoside Rh2)10.1%。由加拿大天马药业集团惠赠。东莨菪碱(Sigma 公司产品,批号:4A96820);毒扁豆碱(Sigma 公司产品,批号:BCBF8289)

1.3 动物实验

1.3.1 实验动物分组及给药:ICR 小鼠适应性饲养 3 d 后,随机分为 6 组,每组 10 只,分组如下:空白对照组、模型组(东莨菪碱,0.75 mg/kg/d)、阳性对照组(毒扁豆碱,0.3 mg/kg)、DS-1227 低剂量组(25 mg/kg)、DS-1227 中剂量组(50 mg/kg)、DS-1227 高剂量组(100 mg/kg)。空白对照组、模型组和阳性对照组灌胃给予蒸馏水,灌胃体积均为 0.2 mL/10 g 体重,每天 1 次。行为学实验前连续灌胃给药 2 周,于第 14 天检测自主活动,第 15 天开始给予东莨菪碱造模并进行物体认知实验和水迷宫实验等行为

学检测。行为学检测期间,每只动物检测前 1 h 给药,给药持续至行为学检测完成。

行为学实验当天,小鼠灌胃给药 40 min 后,除对照组腹腔注射生理盐水外,其余各组均腹腔注射东莨菪碱(0.75 mg/kg)。阳性对照组在腹腔注射东莨菪碱 5min 后再腹腔注射毒扁豆碱(0.3 mg/kg)。腹腔注射东莨菪碱 20 min 后进行行为学检测。

1.3.2 自主活动实验:采用王琼等^[11]研制的小鼠自主活动实验计算机图像实时检测分析处理系统,将小鼠放入桶内,设定实验参数后开始测试。系统自动记录分析 10 min 动物的自发活动,如总路程、运动时间、静止时间等。

1.3.3 新物体识别实验:利用宋广青等^[12]研制的物体认知检测装置,参照王逸等^[13]的实验方法进行实验,实验过程分为 3 个阶段:适应期、熟悉期和测试期。适应期为 3 d,每天将动物依次放入没有任何物体的实验箱内,适应环境 10 min。第 4 天开始熟悉期和测试期。熟悉期实验,将两个完全相同的物体放入实验箱内对称的位置处,此两物体距离侧箱壁、箱后壁的距离均为 10 cm。记录小鼠 5 min 内对两物体的总探索时间(s)。熟悉期后将动物取出放入饲养笼,间隔 20 min 进入测试期实验。测试期时,将其中一个熟悉期使用的物体换为另一个大小相近但形状和颜色不同的新物体,分别记录小鼠对新物体和已熟悉物体的探索时间(s),用相对辨别指数(relative discrimination index)来评价动物的学习记忆能力。相对辨别指数的计算为 $(N-F)/(N+F) \times 100\%$,其中 N(new)为新物体探索时间,F(familiar)为熟悉物体探索时间。

1.3.4 物体位置识别实验:实验方法和操作过程与新物体识别实验相似,只是在测试期时将熟悉期过程中的两个完全相同物体中的一个移到另外新的

位置,由原来两物体相邻变成相对,其他过程完全相同。

1.3.5 Morris 水迷宫实验:小鼠 Morris 水迷宫由一个不锈钢喷塑圆柱形水池(直径 100 cm,高 38 cm)和配有数码摄像机的图像实时采集分析系统组成。平台直径 6 cm,高 14 cm。按东西南北将水池划分为 4 个象限(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,水温控制在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。图像采集系统记录动物游泳轨迹,用于后续指标提取和分析。

该实验历时 5 天,第 1~5 天: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 2 次,随机选取两个不同入水点(SE,SW,NW)将小鼠面向池壁放入水中。检测时间 90 s,小鼠在台上停留超过 2 s 视为寻台成功,每次测试前将小鼠放在台上适应 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)。将小鼠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。记录小鼠在 90s 内的潜伏期。

1.3.6 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析,各组间比较采用单因素方差分析。实验结果以均值 \pm 标准误($\bar{x} \pm s$)表示,显著性水平设置为 0.05。

2 结果

2.1 DS-1227 对小鼠自主活动的影响

实验结果表明,与空白对照组比较,DS-1227 各给药组的总路程、运动时间、静止时间、中央区运动路程比率、中央区运动时间比率、外周区运动路程比率和外周区运动时间比率等指标均无显著性差异。结果见表 1。

表 1 DS-1227 对小鼠自主活动的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
Tab.1 Effect of DS-1227 on locomotor activity in the mice of different groups ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	总路程/cm Total distance of movement	运动时间/s Total duration of movement	静止时间/s Resting time	中央区运动 路程比率 Ratio of movement distance in central area	中央区运动 时间比率 Ratio of movement time in central area	外周区运动 路程比率 Ratio of movement distance in peripheral area	外周区运动 时间比率 Ratio of movement time in peripheral area
对照组 Control	-	4563 \pm 236	254.9 \pm 16.3	345.2 \pm 16.3	63.9 \pm 1.0	24.6 \pm 1.5	0.77 \pm 0.18	0.56 \pm 0.15
DS-1227	25	4747 \pm 169	267.7 \pm 9.7	332.4 \pm 9.7	61.5 \pm 0.8	24.6 \pm 1.1	0.76 \pm 0.18	0.58 \pm 0.14
DS-1227	50	4489 \pm 155	251.1 \pm 12.7	349.0 \pm 12.7	62.9 \pm 1.7	24.1 \pm 1.6	0.66 \pm 0.21	0.44 \pm 0.14
DS-1227	100	4754 \pm 274	260.6 \pm 17.4	339.5 \pm 17.4	63.6 \pm 1.1	24.8 \pm 1.5	0.81 \pm 0.21	0.62 \pm 0.17

2.2 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠物体辨别记忆能力的影响

表 2 实验结果显示,在熟悉期前 20 min 注射东莨菪碱,与空白对照组比较,模型组探索总时间没有明显差异;与模型组比较,各给药组探索总时间没有明显差异。

图 1 实验结果表明,与空白对照组比较,模型组小鼠相对辨别指数降低($P < 0.05$);与模型组比较,

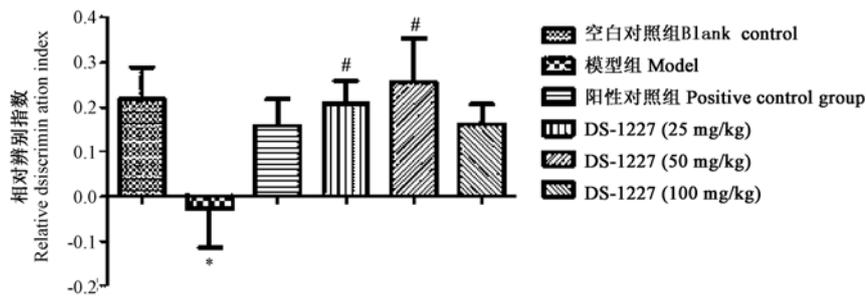
DS-1227 低剂量和中剂量均可增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数($P < 0.05$),毒扁豆碱也增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数,但与模型组相比差异无显著性。

2.3 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠物体位置辨别记忆能力的影响

图 2 实验结果表明,与空白对照组比较,模型组小鼠相对辨别指数降低($P < 0.05$);与模型组比较,

表 2 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠探索总时间的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
Tab.2 Effects of DS-1227 on total exploration time of scopolamine-induced learning and memory impairment in the mice ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	探索总时间/s Total exploration time
空白对照组 Control	-	55.42 ± 5.74
模型组 Model	0.75	53.82 ± 5.92
阳性对照组 Positive control	0.3	48.33 ± 9.31
DS-1227	25	42.78 ± 6.64
DS-1227	50	54.10 ± 6.91
DS-1227	100	60.70 ± 7.77

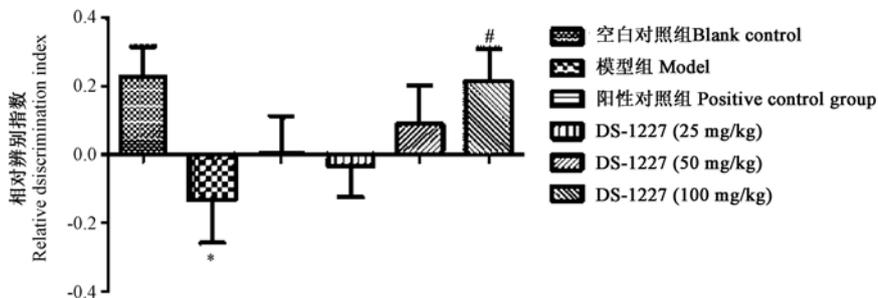


注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 1 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠物体辨别记忆能力的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Note. * $P < 0.05$, compared with the control group. # $P < 0.05$, compared with the model group.
Note: Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the model group, # $P < 0.05$.

Fig.1 Effects of DS-1227 on object discrimination recognition ability of the mice with scopolamine-induced learning and memory impairment ($n = 10, \bar{x} \pm s$)



注:与对照组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

图 2 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠物体位置辨别记忆能力的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Note. * $P < 0.05$, Compared with the control group. # $P < 0.05$, compared with the model group.

Fig.2 Effects of DS-1227 on object location recognition ability of the mice with scopolamine-induced learning and memory impairment ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

DS-1227 高剂量可增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数 ($P < 0.05$), 毒扁豆碱也增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数, 但与模型组相比差异无显著性。

2.4 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠水迷宫定位航行潜伏期的影响

表 3 实验结果表明, 与空白对照组比较, 模型组小鼠定位航行 Day1、Day2、Day3、Day4 和 Day5 潜伏期均明显延长 ($P < 0.01$); 与模型组比较, DS-1227 低剂量组 Day4 和 Day5 定位航行潜伏期均缩短 ($P < 0.05$), DS-1227 中剂量组 Day4 定位航行潜伏期缩短 ($P < 0.05$), 毒扁豆碱在 Day1、Day2、Day3 和 Day5 也缩短东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠定位航行潜伏期 ($P < 0.05$)。

3 讨论

乙酰胆碱广泛分布在脑内, 是参与学习记忆的重要神经递质, 中枢胆碱能系统可调节多种学习记忆能力^[14]。研究表明, 老年痴呆患者脑内 Ach 合成分泌减少, 其合成酶活性下降, 且与痴呆严重程度密切相关^[15-17]。SCOP 为 M 受体阻断剂, 可以拮抗 Ach 与 M 受体的结合, 阻断大脑信息的传递, 干扰短期记忆能力, 引起记忆获得障碍^[18-19]。因此, 在痴呆药物的筛选和评价中得到了广泛应用。本课题组前期研究发现, ICR 小鼠腹腔注射 SCOP 0.375、0.75 和 1.5 mg/kg 均能显著增加 ICR 小鼠水迷宫定位航行潜伏期, 诱导小鼠空间学习记忆能力障碍, 而在物体位置识别实验中, 只有 0.75 和 1.5 mg/kg 两个剂量显著降低了 ICR 小鼠的辨别指

数, 导致小鼠短时空间记忆能力障碍。因此, 本研究采用 ICR 小鼠腹腔注射 SCOP 0.75 mg/kg 复制小鼠学习记忆障碍模型。

自主活动实验用于观察动物一定时间内在特定陌生环境中的自主活动行为。动物由于对陌生环境的恐惧, 主要在周边区域活动, 在中央区域活动较少, 表现出焦虑行为。同时, 动物对陌生环境的好奇, 又产生在中央区域活动的动机, 显示其探究特性。本研究结果显示, 与空白对照组比较, DS-1227 各给药组的运动总路程、运动时间、静止时间、中央区运动路程比率、中央区运动时间比率、外周区运动路程比率和外周区运动时间比率等指标均无显著性差异, 说明 DS-1227 对小鼠自主活动并没有影响。

新物体识别试验显示, DS-1227 给药组能改善对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠的相对辨别指数。新物体识别实验是一种应用较为广泛的认知行为学检测方法, 用于检测啮齿类动物非空间、短期对物体的辨别记忆能力。本研究结果显示, 与对照组比较, 模型组探索总时间没有明显差异, 说明东莨菪碱对 ICR 小鼠的运动能力没有影响。与空白对照组比较, 东莨菪碱所致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, DS-1227 低剂量和中剂量均可增加东莨菪碱所致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数 ($P < 0.05$), 毒扁豆碱也增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数, 但无显著性差异。

物体位置识别实验显示, 高剂量 DS-1227 可增加东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数。

表 3 DS-1227 对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠定位航行潜伏期的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)
Tab.3 Effects of DS-1227 on the latency of water maze (place navigation) test in the mice with scopolamine-induced learning and memory impairment ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别 Groups	剂量 Doses (mg/kg)	时间(Days)				
		Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5
空白对照组 Control	-	68.54 ± 5.99	56.42 ± 7.12	42.81 ± 5.71	42.02 ± 6.80	43.47 ± 7.18
模型组 Model	0.75	89.58 ± 0.02**	82.67 ± 4.38**	71.22 ± 6.40**	70.44 ± 7.91**	77.40 ± 4.98**
阳性对照组 Positive control	0.3	75.37 ± 6.92#	48.44 ± 8.20##	50.22 ± 9.04#	65.35 ± 10.06	53.46 ± 3.69#
DS-1227	25	81.33 ± 4.57	73.20 ± 8.21	75.25 ± 5.85	44.19 ± 9.60#	49.65 ± 9.61##
DS-1227	50	83.36 ± 3.46	77.70 ± 5.36	70.76 ± 8.25	47.86 ± 8.01#	59.22 ± 3.34
DS-1227	100	79.40 ± 6.49	77.78 ± 7.92	71.70 ± 6.80	61.52 ± 6.78	48.85 ± 11.62

注: 与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

Note. ** $P < 0.01$, Compared with the control group. ## $P < 0.01$, Compared with the model group.

物体位置识别实验是在新物体识别实验的基础上建立的一种方法,主要用于检测啮齿类动物对物体位置的辨别记忆能力。本研究结果显示,与空白对照组比较,模型组小鼠相对辨别指数降低($P < 0.05$);与模型组比较,DS-1227 高剂量可增加东莨菪碱所致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数($P < 0.05$),毒扁豆碱也增加东莨菪碱所致学习记忆障碍小鼠相对辨别指数,但无显著性差异。

Morris 水迷宫试验结果表明,DS-1227 低、中剂量可使东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠定位航行潜伏期显著性缩短。Morris 水迷宫主要用于检测东莨菪碱对小鼠海马依赖性空间学习记忆能力的影响。结果显示东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠定位航行 Day1、Day2、Day3、Day4 和 Day5 潜伏期与空白对照组比较均明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,DS-1227 低剂量组和 DS-1227 中剂量组的定位航行潜伏期显著性缩短($P < 0.05$, $P < 0.05$),毒扁豆碱在 Day1、Day2、Day3 和 Day5 也缩短东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠定位航行潜伏期($P < 0.05$)。

以上结果表明,DS-1227 口服给药可以改善东莨菪碱致小鼠的学习记忆障碍,是开发防治 AD 的有希望的药物。

参考文献:

- [1] Ferri CP, Prince M, Brayne C, et al. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study [J]. *Lancet*, 2005, 366 (9503): 2112 - 2117.
- [2] Odani T, Tanizawa H, Takino Y. Studies on the absorption, distribution, excretion and metabolism of ginseng saponins. III. The absorption, distribution and excretion of ginsenoside Rb1 in the rat [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1983, 31 (3): 1059 - 1066.
- [3] Xu QF, Fang XL, Chen DF. Pharmacokinetics and bioavailability of ginsenoside Rb1 and Rg1 from *Panax notoginseng* in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84(2-3): 187 - 192.
- [4] Hasegawa H, Lee KS, Nagaoka T, et al. Pharmacokinetics of ginsenoside deglycosylated by intestinal bacteria and its transformation to biologically active fatty acid esters [J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23 (3): 298 - 304.
- [5] Bae EA, Park SY, Kim DH. Constitutive beta-glucosidases hydrolyzing ginsenoside Rb1 and Rb2 from human intestinal bacteria [J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23 (12): 1481 - 1485.
- [6] Popovich DG, Kitts DD. Structure-function relationship exists for ginsenosides in reducing cell proliferation and inducing apoptosis in the human leukemia (THP-1) cell line [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 406(1): 1 - 8.
- [7] Bae EA, Hyun YJ, Choo MK, et al. Protective effect of fermented red ginseng on a transient focal ischemic rats [J]. *Arch Pharm Res*, 2004, 27 (11): 1136 - 1140.
- [8] Hasegawa H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 95(2): 153 - 157.
- [9] Sun J, Wang G, Haitang X, et al. Simultaneous rapid quantification of ginsenoside Rg1 and its secondary glycoside Rh1 and aglycone protopanaxatriol in rat plasma by liquid chromatography-mass spectrometry after solid-phase extraction [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 38(1): 126 - 132.
- [10] Lee J, Lee E, Kim D, et al. Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 122(1): 143 - 148.
- [11] 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.
- [12] 宋广青, 高莉, 孙秀萍, 等. 大鼠物体识别实验装置的研制 [J]. *中国比较医学杂志*, 2013, 23(8): 80 - 86.
- [13] 王逸, 卢聪, 宋广青, 等. 慢性束缚应激对 SD 和 Wistar 大鼠学习记忆能力的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2014, 22 (2): 40 - 44.
- [14] Gold PE. Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory [J]. *Neurobiol Learn Mem*. 2003, 80 (3): 194 - 210.
- [15] Crossberg GT, Desai AK. Management of Alzheimer's disease [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2003, 58(4): 331 - 353.
- [16] Tiraboschi P, Hansen LA, Alford M, et al. Cholinergic dysfunction in disease with Lewy bodies [J]. *Neurology*, 2000, 54(2): 407 - 411.
- [17] 仲崇波, 徐向华, 王晓良. 阿尔采末病胆碱能学说研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 2003, 19(7): 727 - 731.
- [18] Beatty WW, Butters N, Janowsky DS. Patterns of memory failure after scopolamine treatment: Implications for the cholinergic hypothesis of dementia [J]. *Behav Neural Biol*, 1986, 45(2): 196 - 211.
- [19] 叶翠飞, 张兰, 张丽, 等. 牛磺酸对东莨菪碱所致记忆获得性障碍模型小鼠的改善作用 [J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(6): 715 - 717.

[修回日期] 2014-12-29