DOI:10.19789/j.1004-9398.2015.01.011

益智仁乙醇提取物对东莨菪碱痴呆小鼠学习记忆的影响

李裕倩 王英锋 时小礼 李天一 张 颖

(首都师范大学化学系,北京 100048)

摘 要

目的: 探讨益智仁40% 乙醇提取物对东莨菪碱模型小鼠学习与记忆的影响. 方法: 雄性ICR小鼠,初筛后随机分组. 连续灌胃20 d,第16 d开始采用Morris水迷宫法对各组小鼠的学习、记忆能力进行评价. 结果: 与空白组相比,腹腔注射4 mg/kg的氢溴酸东莨菪碱溶液可造出稳定、明显的痴呆模型. 与模型组相比,益智仁乙醇提取物、吡拉西坦可以明显降低痴呆小鼠的潜伏期. 结论: 4 mg/kg的氢溴酸东莨菪碱注射液造模效果稳定、明显,4 g/kg益智仁乙醇提取物对东莨菪碱痴呆小鼠学习、记忆有明显的改善作用.

关键词: 益智仁乙醇提取物,东莨菪碱,Morris水迷宫.

中图分类号: R285

学习和记忆是两个相联系的神经过程,是大脑的高级功能. 记忆则是学习到的信息贮存和"读出"的神经活动过程. 记忆障碍、地点定向障碍是阿尔茨海默病(AD)的主要临床症状之一. 随着社会人口老龄化加剧,AD正严重地危害着老年人健康.

益智仁为姜科多年生草本植物益智(Alpinia oxyphylla Miq.)的干燥成熟果实,是我国四大南药之一. 现代研究发现,以益智仁为主的方剂在益智健脑方面的临床应用越来越多[1],并且在动物实验中进一步证实益智仁具有良好的脑保护作用[2,3],可用于老年性痴呆及其他智能障碍类疾病的治疗. 但益智仁乙醇提取物对东莨菪碱致学习记忆障碍小鼠模型的作用研究尚未见报道. 本实验制备并研究益智仁乙醇提取物对东莨菪碱所致大鼠学习记忆能力获得性障碍的改善作用,为益智仁进一步研究及开发利用提供实验依据.

1 材 料

1.1 实验动物

ICR小鼠100只,雄性,体重(20±2) g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号SCXK(京)2006-0009,实验室环境温度16~20 ℃,明暗交替(12 h∶12 h).

收稿日期: 2014-04-02

1.2 试剂和药品

益智仁购于安国药材市场; 吐温-20,购于北京鼎国昌盛生物技术有限公司; 吡拉西坦购于天津金世制药有限公司(国药准字H12020667). 氢溴酸东莨菪碱为Sigma公司产品. 生理盐水,购于辰欣药业股份有限公司(国药准字H37022336). 其他试剂均购于北京市试剂厂.

1.3 益智仁乙醇提取物的制备

智仁乙醇提取物为40% 乙醇对益智仁粗粉进行超声提取后,过滤后,浓缩滤液. 醇沉后离心,取上清,减压蒸发,在60 ℃水浴上蒸发成稠膏,经减压干燥恒重后存于真空干燥箱备用. 使用时,以0.5% 的吐温-20水溶液为溶媒配制,现用现制.

1.4 仪器和设备

水迷宫监测系统购于中国医学科学院药物研究所; 天平为Sartorius公司产品,中型旋转蒸发仪购于瑞士Buchi公司. 真空干燥箱(DZF-6090)购于上海柏欣仪器设备厂),高速粉碎机(HY-08)购于北京环亚天元机械技术有限公司.

2 方 法

2.1 小鼠的筛选

小鼠到实验室,自由饮食三天后,使用水迷宫测试的方法对小鼠进行筛选. 测定2 d,每日5次,每次以60 s为限. 将10次都能在到达、10次都不能到达

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的和有抑郁、逃逸行为的小鼠筛除,剩下的小鼠参与后续实验.

2.2　分组、给药、造模和行为学监测

参考小鼠的体重和到达平台的次数对小鼠进行分组. 连续给药 15 d,益智仁组灌胃 4 g/Kg 的益智仁乙醇提取物吐温水溶液,吡拉西坦组灌胃 800 mg/kg吡拉西坦吐温水溶液,模型组和空白组均灌胃 0.5 % 吐温水溶液. 第 16 d,灌胃 30 min 后,除空白组腹腔注射生理盐水外,其余各组腹腔注射 4 mg/kg的氢溴酸东莨菪碱生理盐水溶液,结束后将小鼠转移到水迷宫所在实验室适应环境,20 min 后进行水迷宫测试.

2.3　水迷宫测试

参考 Young Jin Jang. 等的方法[4] 进行水迷宫测试. 测试时,按预设的顺序将小鼠从"东""南""西""北"四个方向,头朝着池壁慢慢放入水中,入水后开始计时. 若小鼠 60 s 内能够到达平台并且站立10 s,则将从入水到到达平台所用的时间(即潜伏期)记录下来; 若小鼠 60 s 内不能够到达平台,则将其到达平台所用的时间(潜伏期)记为 60 s,并在实验员的引导下,使小鼠在平台上站立 10 s 后,再由实验员引导离开水池,迅速擦干,置于暖风下烘干. 连续实验 5 d,每天 5 次,每次之间相隔 10 min,记录到达平台所用的时间(潜伏期)和运动轨迹图. 5 次潜伏期成绩的平均值作为当日最终成绩进入最后的统计分析,用来评价小鼠空间记忆的学习能力.

2.4　统计学分析

本实验所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 12.0 统计软件处理组间差异,采用 One-Way ANOVA 方法,$P < 0.05$ 为有统计学意义.

3　结　果

3.1　小鼠的筛选

共 100 只 ICR 雄性小鼠分两批进行筛选; 在筛选过程中(以 100 只计),共 1 只小鼠出现抑郁现象,筛去; 有 9 只出现逃匿现象,筛去; 10 次学习过程中,都没有找到和都找到平台的小鼠共计 17 只,筛去; 筛选后,除去体重差异较大的 8 只小鼠,65 只小鼠参与后期实验.

3.2　各组潜伏期的比较

结果见表 1.

表 1　各组小鼠潜伏期($\bar{x} \pm s$/s)

	D1	D2	D3	D4	D5
空白组	34.0 ± 12.7	19.9 ± 8.7	24.3 ± 14.1	18.7 ± 10.8	16.5 ± 9.9
模型组	51.6 ± 7.2***	45.3 ± 9.3***	38.9 ± 8.7**	33.0 ± 9.3***	32.2 ± 8.5**
吡拉西坦组	42.9 ± 13.3▲	28.8 ± 11.3▲▲▲	31.0 ± 14.6	18.9 ± 9.3▲▲	22.6 ± 14.8▲
益智仁组	41.1 ± 12.2▲	30.2 ± 14.8▲▲▲	19.8 ± 12.1▲▲	19.9 ± 12.3▲▲	20.1 ± 14.0▲▲

显著性差异表示模型与空白比较用"*"表示; $P < 0.05$ "*" $P < 0.01$ "**" $P < 0.001$ "***"; 吡拉西坦组、益智仁组与模型用"▲"表示; $P < 0.05$ "▲" $P < 0.01$ "▲▲" $P < 0.001$ "▲▲▲"($n = 15$)

从表 1 可以看出,模型组与空白组在潜伏期上 5 d 之内均具有显著差别,表示 4 mg/kg 的氢溴酸东莨菪碱腹腔注射模型效果明显、稳定. 益智仁组和吡拉西坦组在潜伏期上均与模型组有所区别,说明益智仁乙醇提取物确实存在改善东莨菪碱型痴呆小鼠学习与记忆能力的作用,且作用效果与阳性药吡拉西坦相当.

3.3　水迷宫训练中小鼠运动典型轨迹图的比较

如图 1 所示,空白组小鼠需要较短的距离就能到达平台,目标清晰,轨迹简单; 吡拉西坦组和益智仁组需要较空白组长的距离能够到达平台; 模型组小鼠需要很长的一段距离才能到达平台,有的甚至不能到达平台. 说明腹腔注射 4 mg/kg 的氢溴酸东莨菪碱液能够明显造成小鼠学习、记忆障碍的模型,吡拉西坦和益智仁乙醇提取物对小鼠的学习与记忆有明显的改善作用.

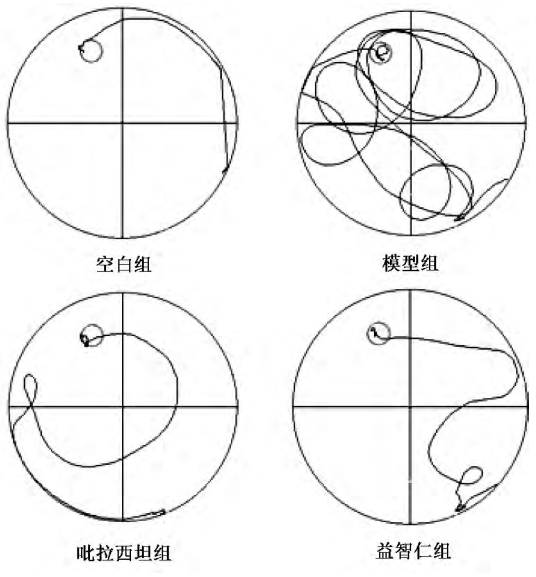


图 1　各组小鼠的搜索路径

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

4 讨 论

药物改善动物学习与记忆存在很多机制,如 M 受体含量的变化,脑组织内神经递质如:单胺类神经递质,乙酰胆碱类神经递质的影响等诸多因素,益智仁乙醇提取物改善动物学习与记忆作用的机制仍待进一步的研究.

在水迷宫实验中,要注意 5 d 内实验环境的重复性,如每日的灯光、每日换水、实验人员的座位、实验人员身上的气味等,要尽量保持 5 d 内实验环境不发生变化. 在实验中,要特别注意将小鼠面朝池壁缓慢入水,否则呛过水的小鼠会出现抑郁和逃匿现象. 小鼠一旦抑郁或者逃匿后,它的行为学数据将会影响实验结果.

参 考 文 献

[1] 惠振亮,刘淑雅. 益智聪明汤配合心理疏导智力训练治疗血管性痴呆 42 例[J]. 陕西医药,2008,29(2):172.

[2] Yu X Y,Zhao H,Xu Z Q. Neuroprotective effect of Alpinia oxyphylla fruits extract against glutamate excitotoxicity in cuhured mouse cortial neurons [J]. Neurosci Res Commun,2003,33:105.

[3] 嵇志红,于新,张晓利,等. 益智仁水提取物对东莨菪碱所致记忆获得障碍大鼠的干预效应[J]. 中国临床康复,2008,9(28):120.

[4] Jang Y J,Kim J,Shim J,et al. Decaffeinated coffee prevents scopolamine-induced memory impairment in rats. [J]. Behavioural Brain Research,2013,245:113.

Effects of Ethanol Extract of Fruit of Alpinia oxyphylla Miq. on Learning and Memory Ability in Scopolamine-induced Dementia Mice

Li Yuqian Wang Yingfeng Shi Xiaoli Li Tianyi Zhang Ying

(Department of Chemistry, Capital Normal University, Beijing 100048)

Abstract

Objective: To explore the effects of ethanol extract of fruit of Alpinia oxyphylla Miq. (EFOA) on learning and memory ability in scopolamine-induced dementia mice. Methods: Sixty-three male ICR mice were randomly divided into four groups and EFOA given by P. O. for consecutive 20 days. Learning and memory ability was continually tested by Morris water maze on the 16th day. Drugs were intraperitoneally given 20 minutes before the test for mice in each group, normal saline in normal control group, scopolamine 4 mg·kg^{-1} in other groups. Results: Compared with the dementia model control group, EFOA obviously improved the learning and memory ability in scopolamine-induced mice. Conclusion: EFOA can significantly improve the learning and memory ability in learning and memory disorder mice induced by scopolamine.

Key words: ethanol extract of fruit of Alpinia oxyphylla Miq., scopolamine, Morris water maze.

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net