

精制原人参二醇皂苷对小鼠学习记忆的影响

潘欣萍, 王玉芹*

(上海中药创新研究中心, 上海 201203)

摘要: 目的 研究精制原人参二醇皂苷(PDS)对亚硝酸钠、乙醇和东莨菪碱所致小鼠记忆障碍的改善作用。**方法** 连续给精制 PDS 组、阳性对照药石杉碱甲组小鼠 ig 相应药物 2 周, 正常和模型对照组小鼠 ig 等量生理盐水, 末次给药 1 h 后, 除空白组 sc 等量生理盐水外, 其余各组均立即 sc 亚硝酸钠、或乙醇、或东莨菪碱, 用被动回避实验观察 PDS 对小鼠学习记忆功能的影响, 并比较精制 PDS 与粗品 PDS、人参皂苷 Rb₁ 单体的改善学习记忆的作用。**结果** 精制 PDS 各剂量均有良好的改善小鼠记忆障碍的作用; 与精制 PDS 相比, 同样剂量的粗品 PDS 和人参皂苷 Rb₁ 单体则均未显示改善记忆的作用。**结论** 精制 PDS 是极有前途的益智药物或保健产品的原料。

关键词: 精制原人参二醇皂苷; 人参皂苷 Rb₁; 亚硝酸钠; 东莨菪碱; 记忆障碍

中图分类号: R282.710.5

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)04-0290-03

Effect of notoginseng saponins with high concentration of protopanaxadiol on learning and memory of mice

PAN Xin-Ping, WANG Yu-Qin

(Shanghai Innovative Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of notoginseng saponins containing high-concentration protopanaxadiol (PDS) on dysmnnesia of mice induced by sodium nitrite, ethanol and scopolamine. **Methods** Mice in experimental groups were intragastrically administrated tested drugs for two weeks continuously, and mice in normal group and model control group were intragastrically administered the same amount of physiological saline. The functions of improving learning and memory of PDS were evaluated by using passive shock avoidance paradigm, and were compared with those of crude PDS and single saponins Rb₁. **Results** The results showed that different doses of refined PDS improved significantly the memory disorder of mice. But the same doses of single ginsenoside Rb₁ and crude PDS had no effects on scopolamine-induced dysmnnesia. **Conclusion** High concentration of PDS may be quite promising materials of nootropics drugs and health products.

Key words: PDS; ginsenoside Rb₁; sodium nitrite; scopolamine; dysmnnesia

几千年来, 人参属植物被公认为益智中药, 能增强学习和记忆能力^[1]。入药的人参属植物主要有 人参、西洋参和三七, 三七是中国特有植物, 已有 600 多年药食两用的历史。中医认为人参补气第一, 三七补血第一, 故三七被称为“人参三七”。大量的动物实验显示, 人参和三七中的皂苷类成分人参皂苷对改善学习和记忆起重要作用^[2]。人参皂苷类主

要由原人参二醇型皂苷(PDS)和原人参三醇型皂苷(PTS)组成^[3]。不同类型的人参皂苷药理活性亦不相同, 甚至相反, 曾报道这 2 种类型皂苷在神经系统表现出相反的药理作用, 如人参皂苷 Rg₁ 缩短在 Y 迷宫实验中已学习大鼠的反应潜伏期和行走时间且能促进学习与反转学习的获得, 而人参皂苷 Rb₁ 则有延长作用^[4]。Joo^[5]等证实人参皂苷 Rg₁ 刺

* 通讯作者 王玉芹, 博士, 研究方向中药化学与药理。Tel: 021-50801717-204, fax: 021-50800509, E-mail: wangyq@sirc-tcm.sh.cn

激 NO 与前炎症细胞因子, 而人参皂苷 Rb_1 则抑制前炎症细胞因子。故分离人参皂苷中促智组分、使人参类的健脑益智作用得到更好地应用成为研发人参的重要组成部分^[6-8]。笔者采用被动逃避实验, 研究了从三七中提取精制的 PDS 对小鼠学习记忆的影响, 并与粗品 PDS 进行了比较。

1 材料

1.1 动物

雄性昆明种小鼠 210 只, 体质量 18~20 g, 由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供, 合格证号: SCXK(沪) 2003-0003。

1.2 药物与试剂

粗品 PDS(三七的 70%乙醇提取物, 其中人参皂苷 Rb_1 质量分数 9.88%、人参皂苷 Rg_1 13.64%)、精制的 PDS(为三七的 70%乙醇提取物, 经 HPD 100 大孔吸附树脂精制而成, HPLC 检测其中人参皂苷 Rb_1 质量分数 46.17%、人参皂苷 Rd 质量分数 15.03%, 二者质量分数之和大于 50%) 均自制。人参皂苷 Rb_1 , 中国药品生物制品检定所生产, 批号: 704-200115。石杉碱甲, 上海复旦复华药业有限公司生产, 批号: 050601。氢溴酸东莨菪碱, 上海禾丰制药有限公司生产, 批号: 4AL8002。亚硝酸钠, 分析纯, 批号: 060314。

1.3 仪器

DT-200 型小鼠跳台记录仪, 成都泰盟科技有限公司; YLS-1A 型小鼠避暗记录仪, 山东省医学科学院设备站。

2 方法

2.1 PDS 对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响

参照文献 [9] 的方法, 取经过预先筛选的昆明种小鼠 60 只, 随机分为空白组, 模型对照组, 阳性药石杉碱甲 (66.7 $\mu\text{g/kg}$) 组, 精制 PDS 低、中、高剂量 (30、50、100 mg/kg) 组, 除空白组和模型对照组 ig 等量的生理盐水外, 其他各组小鼠每天在固定时间内 ig 给药 1 次, 连给 14 d。末次给药后 1 h, 除空白组 sc 等量生理盐水外, 其余各组均立即 sc 亚硝酸钠 (120 mg/kg)。30 min 后将小鼠放入跳台箱内使其适应环境 5 min。然后将小鼠放在平台上, 待其适应后不动时, 开始记录 5 min 内每鼠受到电击的次数 (错误次数), 以此作为学习成绩。24 h 后复测, 记录受电击的动物数第一次跳下平台

的潜伏期和 3 min 内的出错次数。

2.2 PDS 对乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响

参照文献 [10] 的方法, 取经过预先筛选的昆明种小鼠 60 只, 分组与给药方法同“2.1”项。末次给药后 1 h, 采用避暗法训练小鼠 1 次 (5 min), 测试小鼠自明处逃往暗处的潜伏期、错误次数及受刺激时间。24 h 后再进行测试, 测试前 30 min, 正常对照组 ig 等量生理盐水, 其余各组小鼠 ig 相应药物的 45% (体积分数) 的乙醇溶液, 实验方法及观察指标同“2.1”项。

2.3 精制 PDS、人参皂苷 Rb_1 及粗品 PDS 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响

参照文献[10-11]等的方法, 取经过预先筛选的昆明种小鼠 90 只, 随机分成空白组、模型对照组、石杉碱甲阳性药 (66.7 $\mu\text{g/kg}$) 组、PDS 低剂量 (15 mg/kg) 组和高剂量 (30 mg/kg) 组、人参皂苷 Rb_1 低剂量 (15 mg/kg) 组和高剂量 (30 mg/kg) 组、粗品 PDS 低剂量 (15 mg/kg) 组和高剂量 (30 mg/kg) 组。除空白组和模型对照组 ig 等量的生理盐水外, 其他各组小鼠每天在固定时间内 ig 给药 1 次, 连给 14 d。末次给药 1 h 后, 除正常组、模型对照组 sc 等量生理盐水外, 其余各组均立即 sc 东莨菪碱 2 mg/kg 。训练及测试方法同“2.1”项。

2.4 统计学处理

方差分析采用 t 检验法, 各组数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 PDS 对亚硝酸钠致小鼠记忆巩固障碍的影响

结果显示, 与模型组比较, 精制 PDS 3 个剂量均可明显延长小鼠第一次跳下平台的潜伏期, 减少错误的次数 ($P < 0.01$ 、0.05)。阳性药石杉碱甲 66.7 $\mu\text{g/kg}$ 未显示明显的改善作用。结果见表 1。

表 1 PDS 对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	错误次数	潜伏期/s
空白	—	7.2 ± 1.2	131.4 ± 62.5
模型对照	—	8.3 ± 0.9	48.1 ± 18.9
石杉碱甲	0.066 7	11.8 ± 0.7	77.9 ± 22.2
精制 PDS	100	7.6 ± 1.0	$189.7 \pm 34.3^{**}$
	50	8.5 ± 0.5	$178.2 \pm 54.1^*$
	30	7.7 ± 0.9	$169.8 \pm 44.6^*$

与模型对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3.2 PDS 对乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响

精制 PDS 3 个剂量均明显延长记忆再现障碍小鼠由明室进入暗室的潜伏期,与模型对照组比较有显著差异;减少出错次数,显示了良好的改善动物学习记忆的作用。与模型对照组比较,阳性药石杉碱甲 66.7 μg/kg 明显延长了记忆再现障碍小鼠由明室进入暗室的潜伏期 ($P<0.05$),显示了一定的改善动物学习记忆的作用。结果见表 2。

表 2 PDS 对乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	错误次数	潜伏期/s
空白	—	1.4 ± 0.5	168.3 ± 19.9
模型对照	—	4.3 ± 0.9	41.0 ± 11.2
石杉碱甲	0.066 7	3.9 ± 0.3	99.6 ± 60.1*
精制 PDS	100	5.2 ± 0.9	127.3 ± 52.0**
	50	2.6 ± 1.0	117.2 ± 67.5*
	30	1.5 ± 0.3	110.4 ± 55.5*

与模型对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

3.3 精制 PDS、粗品 PDS 及人参皂苷 Rb₁ 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响

结果显示,阳性药石杉碱甲和精制 PDS 30 mg/kg 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍有明显的改善作用,而同样剂量的粗品 PDS 和人参皂苷 Rb₁ 无作用。结果见表 3。

表 3 精制 PDS、粗品 PDS、人参皂苷 Rb₁ 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	错误次数	潜伏期/s
空白	—	1.7 ± 1.0	190.8 ± 63.0
模型对照	—	3.2 ± 1.3	34.6 ± 19.7
石杉碱甲	0.066 7	1.4 ± 0.6	157.5 ± 91.7**
精制 PDS	30	1.5 ± 0.3	154.4 ± 130.6**
	15	4.0 ± 0.8	52.3 ± 87.9
粗品 PDS	30	3.0 ± 0.5	49.2 ± 21.2
	15	3.3 ± 0.7	41.3 ± 18.1
Rb ₁	15	3.5 ± 2.9	64.0 ± 57.5
	30	2.3 ± 1.6	87.3 ± 113.9

与模型对照组比较: ** $P<0.01$

4 讨论

本实验采用亚硝酸钠、乙醇、东莨菪碱分别制备了小鼠记忆巩固障碍、记忆再现障碍、记忆获得障碍模型。从实验结果可以看出,精制 PDS 对上

述 3 种模型具有明显改善记忆的作用,即使剂量仅为 30 mg/kg,作用仍然明显。与粗品 PDS 相比,不含人参三醇组皂苷的精制 PDS 30 mg/kg 对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍有明显的改善作用,因此,推测精制 PDS 比粗品 PDS 的作用强的原因之一可能是排除了人参三醇组皂苷对其作用的影响,而人参三醇组皂苷对神经系统有相反作用。精制 PDS 与目前市场上常用的三七或人参提取物相比,有效成分较为明确(质量分数超过 50%),易于质量控制;同时有效剂量低,易于制备成现代剂型。可以预言,精制 PDS 将是一个极有开发前途的益智药物和益智保健品的原料。

参考文献

[1] 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 2.

[2] 邵碧霞,白洁,孙文虹,等. 人参根和茎叶对大鼠学习记忆功能的影响[J]. 中草药, 2005, 36 (6): 895-898.

[3] 程慧,宋新波,张丽娟. 人参皂苷-Rg₃ 和-Rh₂ 的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33 (4): 304-308.

[4] 斋藤详. 药用人参皂苷和神经生长因子[C] // 日本药学会第 107 次年会论文要旨集. 日本: 东京都涩谷, 1987: 58.

[5] Joo S S, Won T J, Lee D I. Reciprocal activity of ginsenosides in the production of proinflammatory repertoire, and their potential roles on neuroprotection *in vivo* [J]. *Planta Med*, 2005, 71 (5): 476-481.

[6] Yong C, Li H S, Zhang J T. Anti-amnesic and anti-aging effects of ginsenoside Rg₁ and Rb₁ and its mechanism of action [J]. *Acta Pharm Sin*, 2005, 26 (2): 143-149.

[7] Churchill J D, Gerson J L, Hinton K A, *et al*. The nootropic properties of ginseng saponin Rb₁ are linked to effects on anxiety[J]. *Integr Physiol Behav Sci*. 2002, 37 (3): 178-187.

[8] Zhang J T, Qu Z W, Liu Y, *et al*. Preliminary study on anti-amnesic mechanism of ginsenoside Rg₁ and Rb₁ [J]. *Chin Med J (Engl)*, 1990, 103 (11): 932-938.

[9] 刘凯,谢湘林,李晔,等. 西洋参叶三醇皂苷对正常大鼠学习记忆的影响[J]. 中草药, 2007, 38 (11): 1700-1702.

[10] 董文心,阮克锋,顾丰华,等. 归苓片改善动物学习记忆功能的作用[J]. 中草药, 2006, 37 (12): 1831-1835.

[11] 黄晓舞,刘睿婷,吕秋军. 广藿香醇对东莨菪碱致记忆障碍小鼠学习记忆功能的影响[J]. 中草药, 2009, 40 (9): 1431-1433.

(收稿日期 2010-03-26)