

鹰嘴豆异黄酮提取物对 *D*-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响

竺平晖

浙江省舟山市普陀区人民医院, 浙江 舟山 316100

摘要: 目的 探讨鹰嘴豆异黄酮提取物(CIE)对 *D*-半乳糖致衰老模型小鼠学习记忆能力的影响。方法 sc 10% *D*-半乳糖 6 周建立衰老小鼠模型, 同时 ig 给予 CIE (25、50、100 mg/kg), 对照组和模型组给予等量的生理盐水。用 Morris 水迷宫试验检测小鼠的学习记忆能力, 同时检测小鼠脑组织超氧化物歧化酶(SOD)活力以及丙二醛(MDA)水平。结果 与对照组比较, 模型组小鼠学习记忆能力降低, 脑组织 SOD 活力下降, MDA 水平增加, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。ig 不同剂量的 CIE 后, 小鼠各检测指标均明显改善, 与模型组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 CIE 可改善 *D*-半乳糖致衰老模型小鼠的学习记忆能力, 其作用机制可能与 CIE 具有抗氧化能力有关。

关键词: 鹰嘴豆; 异黄酮; 学习记忆; *D*-半乳糖; 超氧化物歧化酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0969-03

Effect of isoflavone extract from *Cicer arietinum* on learning and memory abilities in senile mice induced by *D*-galactose

ZHU Ping-hui

People's Hospital in Putuo District of Zhoushan City in Zhejiang Province, Zhoushan 316100, China

Key words: *Cicer arietinum* L.; isoflavone; learning and memory; *D*-galactose; superoxide dismutase (SOD)

鹰嘴豆 *Cicer arietinum* L. 又名鸡豆、桃豆等, 在新疆已有 2 500 年的栽培历史, 为维吾尔族人民喜爱的药食两用植物^[1]。研究表明鹰嘴豆具有广泛的药理活性, 包括抗癌、调血脂、保护心血管功能等, 这些功效均与其活性成分异黄酮有关, 鹰嘴豆异黄酮主要为鸡豆黄素 A (biochanin A)、芒柄花黄素 (formononetin)^[2]。实验研究表明鹰嘴豆异黄酮具有抗氧化作用^[3]。本实验通过 *D*-半乳糖致小鼠衰老模型, 观察鹰嘴豆异黄酮对该模型小鼠的学习记忆能力的影响, 从而为鹰嘴豆临床预防老年痴呆提供实验依据, 为进一步利用维药奠定一定的理论基础。

1 材料

1.1 动物

雄性 ICR 小鼠 50 只, 二级, 体质量 23~25 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司。

1.2 药品、试剂与仪器

鹰嘴豆异黄酮提取物 (*Cicer arietinum* isoflavone extract, CIE) 为自行制备^[4], 紫外分光

光度法测得异黄酮量为 39%; *D*-半乳糖购自 Sigma 公司, 用生理盐水配成质量分数为 10% 的溶液; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。UV-3100 紫外可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、给药及模型制备

将雄性 ICR 小鼠随机分为 5 组: 对照组, 模型组, CIE 低、中、高剂量 (25、50、100 mg/kg) 组, 每组 10 只。模型组与 CIE 各剂量组小鼠每天颈背部 sc 10% *D*-半乳糖 0.25 mL/20 g, 连续 6 周; 对照组 sc 等量的生理盐水。从第 1 天开始, 各实验组均 ig 给药进行干预, 模型组及对照组 ig 等量生理盐水。

2.2 学习记忆能力测试

采用改良的 Morris 水迷宫方法^[5], 测试过程中室温保持在 18~22 °C。在槽壁上等距离标记 4 个点, 分别为 N、E、S、W, 这 4 个点作为试验起始点。在 NW 象限中间固定位置处放一透明玻璃平台, 高 9.5 cm, 直径 6 cm, 使其低于水面 1.5 cm。在水

收稿日期: 2010-12-02

作者简介: 竺平晖, 男, 副主任药师。Tel: (0580)3030646 E-mail: wz14516@163.com

面覆盖一层大小相似,直径约为 1.5 mm 的泡沫颗粒屑,使平台不可见。水槽周围有丰富的固定不变的参照物(包括实验者本身),以供小鼠定位。参考 Williams 等^[6]的方法,共训练 5 d,分为每天上午及下午两个时段,每个时段训练 4 次,即将小鼠从槽壁 4 个起始点分别放入水槽中,记录从小鼠放入到找到平台的时间(逃避潜伏期);小鼠找到平台后,让小鼠在平台上休息 30 s,再进行下 1 次训练。如小鼠 120 s 仍找不到平台,则由实验者将小鼠放置于平台上,逃避潜伏期记为 120 s。

2.3 脑组织 SOD、MDA 检测

实验结束后取小鼠同一部位的脑组织 150 mg,吸干水渍后置入液氮保存。测定前称质量,剪取适量脑组织块,研磨成 100 g/L 匀浆,−4 °C,3 500 r/min 低温离心 15 min,取上清液,测定上清液中 SOD 活性及 MDA 水平。SOD 测定采用羟胺法,MDA 测定采用 TBA 法,按试剂盒说明书进行操作。

2.4 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS13.0 软件对数据进行统计学处理。

3 结果

3.1 CIE 对衰老模型小鼠学习记忆能力的影响

与对照组相比,模型组小鼠逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.01$); ig CIE 后,逃避潜伏期缩短,与模型组相比 CIE 中、高剂量组差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

表 1 CIE 对 *D*-半乳糖致衰老模型小鼠学习记忆能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of CIE on learning and memory ability of senile mice induced by *D*-galactose ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	逃避潜伏期/s
对照	—	36.04 ± 4.54
模型	—	44.63 ± 5.13**
CIE	25	42.37 ± 5.68
	50	38.95 ± 5.25 [#]
	100	36.65 ± 3.38 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

3.2 CIE 对衰老模型小鼠脑组织 SOD 活性及 MDA 水平的影响

模型组小鼠脑组织 SOD 活性降低,MDA 水平升高,与对照组比较差异显著 ($P < 0.01$),CIE 各剂量组 SOD 活性均有所升高,MDA 水平下降,与模型组比较,CIE 中、高剂量组差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 2。

4 讨论

D-半乳糖致衰老模型是基于衰老的代谢学说而复制的一种衰老模型,是目前最常用的制备衰老动物模型的方法,其衰老反应接近或相当于自然衰老。研究表明^[7],*D*-半乳糖造成的衰老模型可使实验动物出现认知功能障碍,本研究结果也表明,sc *D*-半乳糖 6 周后,小鼠逃避潜伏期明显延长,学习

表 2 CIE 对 *D*-半乳糖致衰老模型小鼠脑组织 SOD 活性和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of CIE on SOD activity and MDA level in brain tissues of senile mice induced by *D*-galactose ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	451.04 ± 13.64	46.72 ± 5.38
模型	—	379.37 ± 18.75**	55.56 ± 5.12**
CIE	25	388.50 ± 22.44	53.12 ± 3.02
	50	402.69 ± 14.71 [#]	49.81 ± 3.93 [#]
	100	435.66 ± 21.90 ^{##}	47.18 ± 4.59 ^{##}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group

记忆能力下降。而在 *D*-半乳糖造模的同时 ig CIE,可明显改善小鼠的学习记忆能力。

D-半乳糖致衰老模型具有与自然衰老相似的自由基代谢紊乱特征^[8],主要表现为脂质过氧化产物 MDA 生成增多、脂褐素沉积、清除自由基酶类 SOD 的活性降低^[9],这在本实验中得到了进

一步证实。研究表明,CIE 具有显著的抗氧化作用^[2]。本实验研究发现 CIE 通过提高脑组织中 SOD 活性,降低 MDA 水平,提高衰老小鼠脑组织清除自由基的能力,减少过氧化产物对脑组织的损伤,进而改善脑老化的程度,发挥其抗衰老作用。

参考文献

- [1] 李晓静, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 程 珍, 等. 维药鹰嘴豆的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(3): 188-190.
- [2] Saloniemi H, Wähälä K, Nykänen-Kurki P, *et al.* Phytoestrogen content and estrogenic effect of legume fodder [J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1995, 208: 13-17.
- [3] 李 燕, 巫冠中, 张巨松, 等. 鹰嘴豆异黄酮提取物对糖尿病小鼠血糖和氧化-抗氧化态的效应 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 38: 7625-7629.
- [4] 周建军, 赵曙辉, 高 鹏, 等. 鹰嘴豆中总异黄酮的提取工艺 [J]. 食品研究与开发, 2009, 30(12): 8-12.
- [5] 聂荣庆, 张 进, 胡国柱, 等. 脑细胞活性因子对消化素学习、记忆能力的影响 [J]. 中国行为医学科学, 2002, 11(5): 488-489.
- [6] Williams M T, Morford L L, Wood S L, *et al.* Developmental *D*-methamphetamine treatment selectively induces spatial navigation impairments in reference memory in the Morris water maze while sparing working memory [J]. *Synapse*, 2003, 48(3): 138-148.
- [7] 朱坤杰, 孙建宁. 六味地黄丸对 *D*-半乳糖所致衰老大鼠学习记忆的改善作用及机理 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(8): 44-46.
- [8] 秦粉菊, 袁红霞, 邵爱华, 等. 纳米硒对衰老小鼠学习记忆的保护作用 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 38(5): 512-523.
- [9] Song X, Bao M, Li D. Advanced glycation in *D*-galactose induced mouse ageingmode 1 [J]. *Mech Ageing Dev*, 1999, 108(3): 239-251.

欢迎订阅《中草药》杂志 1996—2009 年增刊

为了扩大学术交流, 提高新药研究水平, 经国家新闻出版主管部门批准, 我部从1996年起, 每年出版增刊一册。

1996年增刊: 特邀了国内知名专家就中药新药研究的方向、法规及如何与国际接轨等热点问题撰文阐述。

1997年增刊: 包括紫杉醇的化学成分、提取工艺及组织培养等方面的科研论文, 并特邀国内从事紫杉醇研究的知名专家撰写综述文章, 充分反映了紫杉醇研究方面的新成果、新进展和新动态。

1998年增刊: 以当今国际研究的热点银杏叶为专论重点, 包括银杏叶的化学成分、提取工艺、质量控制、药理作用及临床应用等方面, 充分反映了国内银杏叶开发研究方面的新成果、新进展和新动态。

1999年增刊: 为“庆祝《中草药》杂志创刊30周年”会议论文集, 特邀中国工程院院士、国家药品监督管理局药品评审中心及知名专家就中药新药研究热点问题撰写了综述文章。

2000年增刊: 以“中药新理论、新剂型、新工艺和新技术”为主要内容。

2001年增刊: 特邀了中国工程院院士、专家就加快中药现代化的进程, 我国入世后中药产业的发展新对策及西部药用植物资源的保护、开发和利用等撰写综述文章。

2002年增刊: 以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容。

2003—2008年增刊: 包括中药创新药物开发的思路和方法、中药现代化研究、中药知识产权保护、中药专利的申请及中药走向国际等热点内容。

2009年增刊: 为庆祝“《中草药》杂志创刊40周年”和“*中草药*英文版 (*Chinese Herbal Medicines*, CHM) 创刊”, 以中药创新药物开发的思路和方法、活性天然产物的发现及其作用机制研究、中药代谢组学研究、生药学研究、中药的安全性评价和不良反应监控、中药新药审评法规的最新进展、中药知识产权保护和专利的申请、民族药研究为主要内容; 学术水平高, 内容丰富, 信息量大。

以上各卷增刊选题广泛、内容新颖、学术水平高、科学性强, 欢迎广大读者订阅。以上增刊为我部自办发行, 邮局订阅《中草药》不含增刊, 但能提供订阅凭证者, 购买增刊7折优惠, 款到寄刊。

地址: 天津市南开区鞍山西道308号

邮编: 300193

网址: www.tiprpress.com; www.中草药杂志社.中国

电话: (022)27474913 23006821

传真: (022)23006821

E-mail: zcy@tiprpress.com

《中草药》杂志编辑部