

鲜天麻对睡眠干扰诱导小鼠学习记忆障碍的改善作用

黄红¹, 陈碧清², 姜宁¹, 吕静薇¹, 王海霞¹, 卢聪³, 刘新民^{1*}, 吕光华^{4*}

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. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

3. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193

4. 成都中医药大学民族医药学院, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 研究鲜天麻对睡眠干扰(sleep interruption, SI)诱导的小鼠学习记忆障碍的改善作用。**方法** HPLC法测定鲜天麻中天麻素、对羟基苯甲醇的含量, 苯酚硫酸法测定多糖的含量。60只ICR雄鼠随机分为对照组、睡眠干扰模型组、阳性药(莫达非尼)组和鲜天麻低(3 g/kg)、高(9 g/kg)剂量组。睡眠干扰造模14 d后, 依次进行自主活动、新物体识别、水迷宫和避暗等动物行为学检测实验, 并测定小鼠血清和海马组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平及海马组织乙酰胆碱(Ach)、谷氨酸(Glu)和去甲肾上腺素(NE)水平。**结果** 自主活动实验中, 各组小鼠运动功能无显著性差异。与对照组比较, 模型组小鼠在新物体识别实验中的相对辨别指数(DI)显著性下降, 水迷宫寻台潜伏期明显延长, 避暗实验错误次数增加、入暗潜伏期缩短; 血清和海马组织MDA水平升高, 海马组织的SOD水平降低; 海马组织Ach、Glu和NE水平均显著降低。与模型组比较, 莫达非尼和鲜天麻各剂量能不同程度增加小鼠新物体识别DI, 提高新物体辨别能力; 增强空间学习获得和保持能力, 缩短水迷宫潜伏期; 减少避暗错误次数、延长避暗潜伏期; 提高血清和海马组织中SOD、Ach、Glu和NE水平, 降低MDA水平。**结论** 鲜天麻能改善睡眠干扰引起的学习记忆障碍, 改善氧化应激和神经递质水平, 是一种有潜力的改善学习记忆中药。

关键词: 鲜天麻; 睡眠干扰; 学习记忆; 氧化应激; 神经递质; 天麻素; 对羟基苯甲醇

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)09-2509-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.09.028

Fresh *Gastrodia elata* ameliorates learning and memory impairments in sleep interruption induced mice

HUANG Hong¹, CHEN Bi-qing², JIANG Ning¹, LV Jing-wei¹, WANG Hai-xia¹, LU Cong³, LIU Xin-min¹, LV Guang-hua⁴

1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

2. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing 100193, China

4. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To study the learning and memory enhancement effect of fresh *Gastrodia elata* (FG) on deficits induced by sleep interruption (SI) in mice. **Methods** The contents of gastrodin and *p*-hydroxybenzyl alcohol in FG were determined by HPLC, and the content of polysaccharide were determined by phenol-sulfuric acid method. Then the learning and memory enhancement effects of FG on sleep deficits induced mice were studied. A total of 60 ICR male mice were randomly divided into the control group, the SI model group, the modafinil group, and the FG groups (3 and 9 g/kg). The mice were sleep interrupted continuously for 14 d, behavioral tests were performed by using open field test, novel object recognition (NOR) experiment, Morris water maze (MWM) task,

收稿日期: 2019-12-08

基金项目: 建生鲜药创新基金资助项目(JSYY-20190106-048); 四川省科技计划项目: 天麻及其产品改善记忆的药效学评价的关键技术研究(19ZDYF0603); 国家重点研发计划项目: 保健食品风险评估及功能评价基础研究(2018YFC1602100)

作者简介: 黄红(1993—), 女, 在读博士研究生, 主要研究方向为中药神经药理及实验方法研究。E-mail: huanghong2012@163.com

***通信作者** 刘新民(1962—), 男, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药神经药理及实验方法研究。E-mail: liuxinmin@hotmail.com
吕光华, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药及民族药品种、品质及资源利用。E-mail: lughcd@aliyun.com

and passive avoidance method. The levels of SOD and MDA in the serum and the hippocampus, Ach, Glu and NE in the hippocampus were measured. **Results** There were no significant changes in locomotor activities among all groups. Compared with the control group, the discrimination index (DI) of SI model group in NOR was decreased significantly, the longer escape latency in MWM was observed in SI mice group, in passive avoidance test the errors times increased and the latent period decreased. In addition, the levels of MDA in the serum and the hippocampus were increased, while the contents of SOD, Ach, Glu and NE in the serum and the hippocampus were decreased significantly. In comparison with the SI group, FG (3 and 9 g/kg) treatment markedly enhanced the discriminative ability by elevating DI in NOR, improved the acquisition and retention of spatial memory by decreasing escape latency, decreased the errors times, and prolonged the latency time in passive avoidance test. Administration of FG significantly reduced the elevated MDA level in the serum and the hippocampus and raised the reduced SOD, Ach, Glu and NE levels in the hippocampus. **Conclusion** The results reveal that FG treatment can improve SI-induced learning and memory impairments, and ameliorate oxidative stress damage and raise neurotransmitter content. FG is a potential traditional Chinese medicine for improving learning and memory impairments.

Key words: fresh *Gastrodia elata* Bl.; sleep interruption; learning and memory; oxidative stress; neurotransmitter; gastrodin; *p*-hydroxybenzyl alcohol

天麻来源于兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的块茎, 为我国贵重中药之一, 具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络的功效。其入食鲜用最早见于《本经》: “天麻久服益气, 长阴肥健, 嵩山、衡山人取生者蜜煎作果食之, 甚珍”。现在民间常将鲜天麻用做药膳原料, 成为保健佳品。但是, 对于鲜天麻的药理机制研究较少。因此, 本实验采用实验室前期建立的滚筒法睡眠干扰模型造成小鼠学习记忆障碍, 研究鲜天麻在睡眠干扰致小鼠学习记忆障碍模型中的药效作用, 为鲜天麻改善学习记忆作用新产品的开发提供依据。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠, 体质量 21~23 g, 雄性 (避免小鼠生理周期及激素等对实验的影响), 购自北京维通利华实验动物公司, 许可证号 SCXK (京) 2016-0006。实验期间喂养于中国医学科学院药用植物研究所 SPF 级实验动物房, 许可证号 SYXK (京) 2018-0020, 自由供给标准饲料和清洁自来水, 光照时间 12 h/12 h (光/暗), 室温 22~25 °C, 湿度条件为 (55±10) %。实验前适应性喂养 3 d。

1.2 药材

鲜天麻药材样品于 2018 年 11 月采集于四川广元, 由成都中医药大学民族医药学院吕光华教授鉴定为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的新鲜块茎。

1.3 仪器

睡眠干扰仪、自主活动实时检测分析处理系统、Morris 水迷宫测试仪、物体认知实验装置、避暗实

时监测分析系统均为本实验室与北京康森益友科技有限公司、仪康科技 (北京) 有限公司联合研制; Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (配置 G1322A 真空在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1329B 自动进样仪、G1315C 二极管阵列检测器、G1316A 柱温箱)、Agilent Cary100 变温紫外-可见分光光度计, 美国 Agilent 公司; Q-Trap 5500 型质谱分析仪 (美国 AB Sciex 公司); TSK Gel amide 80 色谱柱 (150 mm×2.0 mm, 3 μm), 日本 Tosoh 公司; Varioaqa 高级多功能酶标仪 (美国 Thermo Scientific 公司); BSA224S 型电子天平、BP211D 型电子天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司); DZKW-4 电子恒温水浴锅 (北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.4 药品与试剂

莫达非尼 (Aladdin, 批号 E1723133, 质量分数≥98%); 超氧歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 试剂盒均购于南京建成生物工程研究所; 乙酰胆碱 (Ach)、谷氨酸 (Glu)、3,4-二羟基苯胺 (DHBA, 内标 IS) 均购自 Sigma 公司; 对照品去甲肾上腺素 (NE) 购于中国食品药品检定研究院; 对照品天麻素 (批号 11807-200205, 质量分数≥98%)、对羟基苯甲醇 (批号 H20806, 质量分数≥98%) 购于 Sigma-aldrich 公司; 对照品 D-无水葡萄糖 (批号 CHB171220) 购于成都克洛玛生物科技有限公司; 甲醇 (色谱纯)、乙腈 (色谱纯, LC-MS 用), Merck 公司; 甲酸铵 (分析纯)、甲酸 (色谱纯)、浓硫酸 (分析纯)、苯酚 (分析纯) 均购于北京化工厂; 乙腈 (色谱纯, HPLC 用), 美国 Fisher 公司; 超纯水。

2 方法

2.1 样品处理及化学成分测定

2.1.1 样品处理 鲜天麻洗净后切成丁,放入榨汁机,加入 2~3 倍蒸馏水榨汁,纱布滤过。取滤渣加入 2 倍量水,重复 1 次,保证榨汁完全。取汁液于 -20 ℃ 冷冻 12 h,于冷冻干燥机冷冻干燥。

2.1.2 化学成分测定 参照《中国药典》2015 年版一部天麻项下的含量测定方法,测定鲜天麻中天麻素和对羟基苯甲醇含量。天麻多糖含量的测定按实验室前期建立的方法^[1]。化学成分含量计算按《中国药典》2015 年版折算成干天麻的量。

2.2 分组及给药

将小鼠随机分为 5 组,每组 12 只,正常饮食饮水。鲜天麻用时配制成相当于原生药 1 g/mL,给药剂量参考天麻传统用量及文献报道^[2]。对照组和模型组小鼠 ig 等体积蒸馏水,阳性药莫达非尼(100 mg/kg)和鲜天麻低、高剂量(3、9 g/kg)组小鼠 ig 给予相应药物。按小鼠体质量给药,给药体积 20 mL/kg,每天 1 次,共给药 27 d。

2.3 睡眠干扰模型制备

用滚筒法睡眠干扰仪诱导小鼠学习记忆障碍。实验方法参照文献报道^[3],滚筒适应 3 d(转速为 1 圈/min,每转 1 圈休息 2 min,3 h/d)后,连续造模 14 d,造模的同时 ig 给药,小鼠在睡眠干扰仪中可自由饮食饮水。

干扰第 15 天(上午 8:00)开始,进行相应行为学检测。当天的行为学检测完成后,立即将小鼠放回睡眠干扰仪。如此直至所有行为学检测结束,行为学检测共 12 d。

2.4 行为学检测

2.4.1 自主活动(空场)实验 睡眠干扰第 15 天,通过空场实验检测药物对小鼠自主活动的影响。给药 60 min 后,将小鼠从空场测试箱的一侧置于空场测试箱中央,让小鼠自由适应空场环境 3 min,然后开始记录 10 min 内小鼠的自主活动情况^[4]。通过软件分析得到平均速度、总路程 2 个主要评价指标。

2.4.2 新物体识别实验 睡眠干扰第 16~18 天进行新物体识别实验的环境适应,第 19 天进行测试。新物体识别操作参照本实验室前期研究方法^[5],实验开始前 60 min 给药。小鼠学习记忆能力用相对辨别指数(DI)评价。

$$DI = (T_n - T_f) / (T_n + T_f)$$

T_n 和 T_f 分别表示 5 min 内小鼠对新、旧物体的探索时间

2.4.3 水迷宫实验 睡眠干扰第 20~24 天进行水迷宫实验。实验参照 Morris 水迷宫经典方法^[6]进行改进,测定小鼠的空间学习记忆能力,定位航行 5 d。给药 60 min 后进行实验。水温 24~26 ℃,圆柱形平台固定在一个象限内,并低于水面 1~1.5 cm,给予小鼠 90 s 的时间寻找平台,在小鼠入水前和入水后都将其放在平台上停留 10 s。系统记录小鼠找到平台的时间(寻台潜伏期),评价其学习记忆能力。

2.4.4 避暗实验 第 25~26 天进行避暗实验。参照本实验室前期研究方法^[7],给药 60 min 后,将每只小鼠背向拱门由明室放入,适应 3 min;当其进入暗室时,给予 0.5 mA(5 s)的电击,共学习 5 min。避暗获得实验 24 h 后,进行避暗巩固实验,给药 60 min 后,将小鼠按原方式由明室放入,记录 5 min 内小鼠的错误次数、进入暗室的潜伏期等指标。

2.5 小鼠血清和组织取材

睡眠干扰第 27 天,给药 1 h 后,进行取血,小鼠颈椎脱臼处死,低温分取大脑海马组织。全血于 4 ℃ 静置 4 h,4 ℃ 低温离心后,分取血清。小鼠血清和大脑海马组织均保存于 -80 ℃ 待测。

2.6 氧化应激指标和神经递质水平测定

氧化应激以 SOD 和 MDA 含量进行评价,其测定按试剂盒说明书进行。神经递质 Ach、Glu 和 NE 水平按本实验室前期建立的方法^[8]测定。

2.7 统计分析

应用 SPSS 21.0 软件对小鼠行为学结果进行统计分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。水迷宫检测中的上台潜伏期数据选择多因素方差分析。实验中的其他行为学结果数据用单因素方差分析,各实验组差异通过 LSD analysis 进行两两比较。小鼠行为学分析结果用 GraphPad Prism software 5.0 绘制图表。

3 结果与讨论

3.1 鲜天麻化学成分含量测定

鲜天麻折算成干天麻后,其中天麻素和对羟基苯甲醇的质量分数分别为 1.223%和 0.008%。即鲜天麻含天麻素和对羟基苯甲醇的总量为 1.231%,符合《中国药典》2015 年版中天麻按干燥品计算含天麻素和对羟基苯甲醇的总量不得少于 0.25%的规定。另外测得鲜天麻多糖质量分数为 3.01%。对照品和天麻样品 HPLC 图谱见图 1。

3.2 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠自主活动的影响

从图 2 可以看出,睡眠干扰各组小鼠的运动平均速度、运动总路程较对照组有些许减少,说明睡

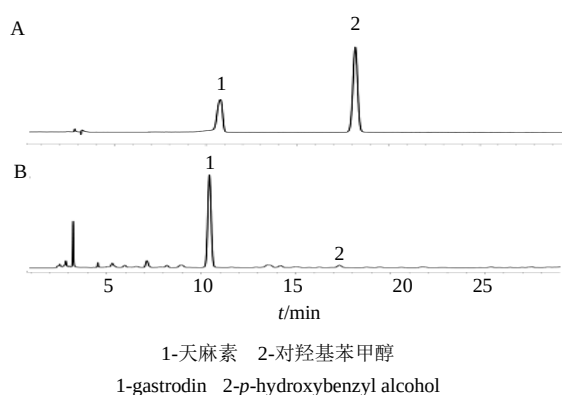


图1 对照品 (A) 和天麻样品 (B) HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC of reference substance (A) and sample of fresh *G. elata* (B)

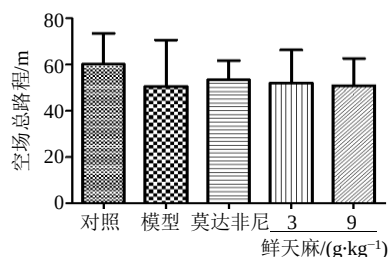
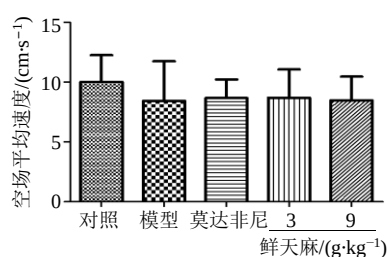


图2 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effect of fresh *G. elata* on locomotor activities of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

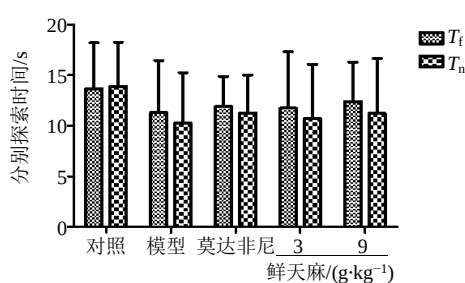
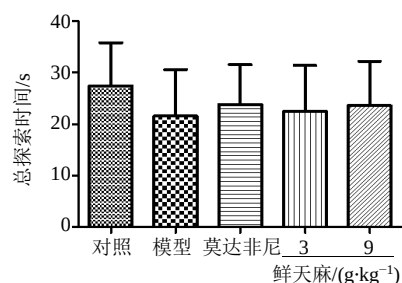


图3 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠新物体识别熟悉期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 3 Effect of fresh *G. elata* in familiar phase of novel object recognition task of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.3.2 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠新物体识别 DI 的影响 新物体识别检测结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠 DI 显著性降低 ($P < 0.05$), 说明模型组小鼠无法识别新旧物体。与模型组比较, 莫达非尼和鲜天麻各剂量组小鼠新物体识别能力均显著提高 ($P < 0.01$)。说明各给药组小鼠能够识别新物体, 且对新物体更具探索性。

3.4 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠空间学习记忆能力的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠在实验第 3~5 天寻台潜伏期延长, 其中第 5 天差异显著

眠不足会影响动物的活动, 但没有出现显著性差异, 因此可以进行后续行为学检测。

3.3 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠新物体识别的影响

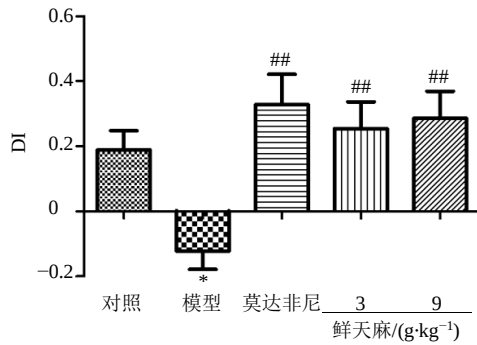
3.3.1 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠新物体识别熟悉期的影响 如图 3 所示, 各组小鼠在新物体识别熟悉期, 对平行位置完全相同的 2 个物体的总探索时间无显著性差异, 说明各组小鼠对物体的探索处于相同水平。

各组小鼠对平行位置相同的 2 个物体的分别探索时间无显著性差异, 说明各组小鼠对左右平行的 2 个位置无偏好。各睡眠干扰组小鼠的总探索时间和分别探索时间有减少的趋势, 这可能与睡眠不足对小鼠的活动度影响有关, 但不会影响 DI 检测结果。

($P < 0.05$)。与模型组比较, 莫达非尼和鲜天麻各剂量组小鼠寻台潜伏期在第 5 天显著缩短 ($P < 0.05$)。说明睡眠干扰模型对小鼠的空间学习记忆造成了损伤, 而鲜天麻能够改善这种损伤, 且对小鼠的空间学习记忆具有显著改善作用。

3.5 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠避暗实验的影响

在避暗实验中 (图 5), 与对照组比较, 模型组小鼠错误次数、入暗潜伏期均差异显著 ($P < 0.05$), 说明睡眠干扰模型能对小鼠获得性记忆造成损伤。与模型组比较, 鲜天麻各剂量组小鼠错误次数均显著减少 ($P < 0.05$), 入暗潜伏期显著延长 ($P < 0.05, 0.01$)。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下图同
* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as below figures

图 4 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠新物体识别 DI 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 4 Effect of fresh *G. elata* in test phase of novel object recognition task of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

表 1 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠水迷宫定位航行寻台潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of fresh *G. elata* on escape latency in Morris water maze task of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	寻台潜伏期/s				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
对照	—	81.60±8.20	76.36±7.39	45.84±3.47	42.93±2.64	34.17±3.16
模型	—	83.93±9.56	69.73±9.98	49.84±4.44	53.95±5.23	53.29±3.23*
莫达非尼	0.1	89.33±0.41	71.22±4.53	52.45±4.80	43.64±3.17	30.42±3.38#
鲜天麻	3.0	74.76±2.73	43.92±2.67*#	27.73±4.03*#	47.27±2.97	36.00±3.27#
	9.0	74.49±4.47	59.97±3.64*	37.51±4.95	32.11±2.92#	36.58±4.08#

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

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

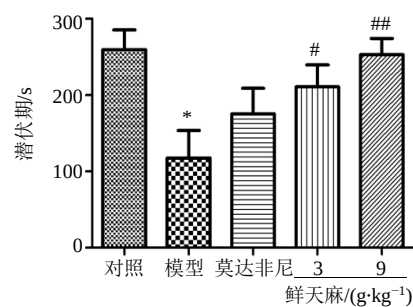
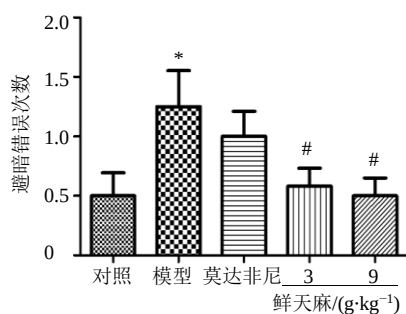


图 5 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠避暗实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 5 Effect of fresh *G. elata* on mice induced by SI in passive avoidance test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.7 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠神经递质的影响

如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠海马 Ach、Glu 和 NE 水平均显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 鲜天麻低、高剂量组小鼠海马 Ach 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01); 鲜天麻高剂量组小鼠 Glu、NE 水平均显著升高 ($P < 0.05$)

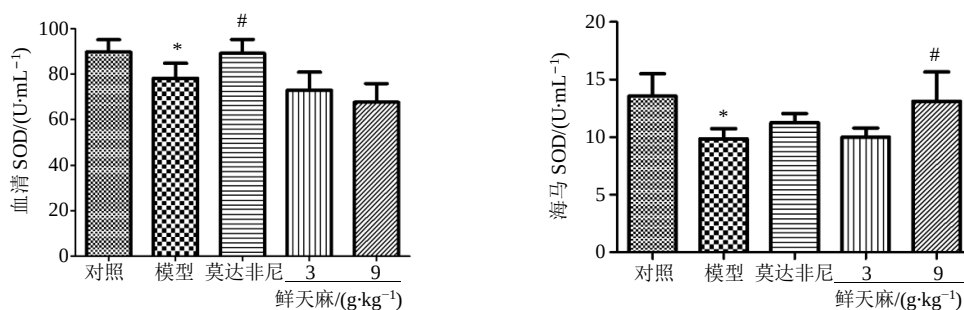
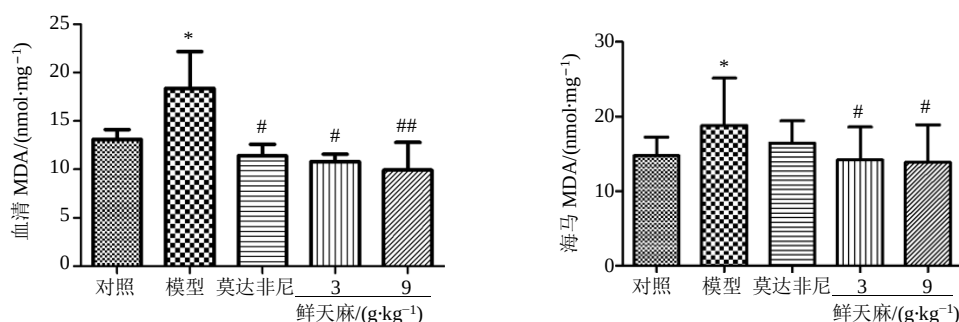
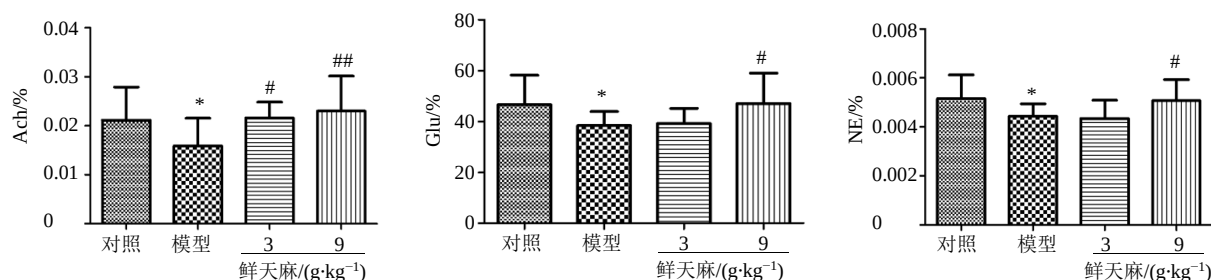
3.6 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠氧化应激指标的影响

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清和海马组织 SOD 水平显著性降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 莫达非尼组小鼠血清 SOD 水平显著升高 ($P < 0.05$), 鲜天麻高剂量组小鼠海马组织中 SOD 水平显著升高 ($P < 0.05$), 但鲜天麻组小鼠血清 SOD 水平较模型组仅有减少的趋势, 可能是药物作用部位强度不同。

如图 7 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清和海马组织中 MDA 水平显著增高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 莫达非尼组和鲜天麻各剂量组小鼠血清 MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01); 鲜天麻各剂量组小鼠海马组织 MDA 水平显著降低 ($P < 0.05$)。

4 讨论

睡眠不足会导致人的学习记忆能力下降^[9], 常用的提高学习记忆药物常伴随副作用, 选择副作用小的药食同源中药改善睡眠、提高学习记忆能力是现在研究的热点。天麻作为名贵的中药材, 具有多种防治神经精神类疾病的作用^[10], 同时天麻也是药

图6 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠血清和海马 SOD 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Fig. 6 Effects of fresh *G. elata* on SOD activity in serum and hippocampus of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)图7 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠血清和海马 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Fig. 7 Effects of fresh *G. elata* on MDA level in serum and hippocampus of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)图8 鲜天麻对睡眠干扰模型小鼠海马神经递质水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Fig. 8 Effect of fresh *G. elata* on concentration of neurotransmitters in hippocampus of mice induced by SI ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

食两用的中药材，临床上，天麻被广泛用于镇静失眠症。现代药理研究证明，天麻及其提取物具有改善睡眠^[11]、改善学习记忆能力^[12]等作用。天麻药材（粉）、天麻水提物或醇提物均能改善学习记忆能力^[13-15]，也有对天麻中的天麻素、对羟基苯甲醇等有效成分改善学习记忆作用的研究^[16-17]。可以认为天麻既能提高学习记忆能力，又能改善睡眠。鲜天麻含有多种酚性成分^[18]，相较于干天麻无加工过程成分的流失、保全了营养价值，因此常用作药膳原料。但是鲜天麻的药理研究较少，因此本研究结合天麻药理研究现状，探讨鲜天麻改善睡眠缺失学习记忆障碍的作用。

实验室动物模拟人睡眠不足的模式有水平台

法^[19]、水平转盘法^[20]、旋转圆筒法^[21]、轻柔刺激法^[22]及药物睡眠剥夺^[23-24]等。本实验室前期研究已发现滚筒法睡眠干扰可导致小鼠学习记忆障碍^[25]、抑郁^[26]等脑力疲劳和体力疲劳^[27]。在本研究中，采用本实验室前期建立的滚筒法睡眠干扰致学习记忆障碍模型，研究鲜天麻对学习记忆能力的改善作用。

在本实验中，阳性药莫达非尼是一种新型的促觉醒药物，具有安全、有效的兴奋作用，其对睡眠剥夺小鼠的情绪、认知功能具有明显改善作用^[28-29]。本实验结果表明，莫达非尼和鲜天麻均能一定程度改善睡眠干扰致小鼠学习记忆障碍的行为。在新物体识别、避暗和水迷宫实验中，鲜天麻均能显著逆转睡眠干扰导致的学习记忆下降行为 ($P < 0.05$)。

睡眠不足会引起大脑的代谢增加,耗氧量增多,氧化产物增多,而大脑清除氧自由基的能力降低^[30],同时,氧化应激与神经退行性疾病,如阿尔茨海默症^[31]的发展有关。常以自由基的氧化代谢产物(MDA)和抗氧化酶(SOD)水平来反映机体氧化应激状态。Ach 是中枢神经系统功能、调节睡眠和多种认知过程(包括学习和记忆)所必需的递质,Ach、Glu 和 NE 等神经递质与学习记忆有着密切的关系^[32]。本实验测定了小鼠血清和海马组织中 MDA 和 SOD 水平及 Ach、Glu、NE 水平。与模型组比较,鲜天麻给药组小鼠血清和海马组织中的 MDA 水平均显著降低($P<0.05$),海马 SOD 水平及 Ach、Glu、NE 水平均显著升高($P<0.05$)。

鲜天麻能够改善睡眠干扰致小鼠的学习记忆障碍,主要能提高认知障碍小鼠的辨别能力、空间记忆能力、学习及记忆再现能力等,并且能够改善氧化应激和神经递质水平,这可能与鲜天麻中天麻素和多糖等化学成分含量高有关。鲜天麻是一种有开发前景的改善记忆的药食同源中药,可对鲜天麻改善学习记忆作用进行进一步研究,确定药效物质基础,从而为鲜天麻的应用提供科学依据。

参考文献

- [1] 雷有成. 基于化学成分特征的天麻真伪鉴别及质量评价研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.
- [2] 周敏, 钱京萍, 陆永利. 天麻种麻、商品麻对小鼠耐缺氧和抗疲劳效应的比较研究 [J]. 中国医药指南, 2008, 6(23): 237-238.
- [3] Lu C, Wang Y, Lv J, et al. Ginsenoside Rh₂ reverses sleep deprivation-induced cognitive deficit in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2018, doi: 10.1016/j.bbr.2018.03.005.
- [4] 王琼, 买文丽, 李翊华, 等. 自主活动实时测试分析处理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.
- [5] 吕静薇, 宋广青, 董黎明, 等. 物体认知——基于动物自发行为的一种学习记忆评价方法的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(3): 21-27.
- [6] Vorhees C V, Williams M T. Morris water maze: Procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory [J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(2): 848-858.
- [7] 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.
- [8] 张蕾, 孔令提, 孙兰, 等. LC-MS/MS 同时测定小鼠脑组织中 7 种神经递质含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(20): 132-136.
- [9] Blissitt P A. Sleep, memory, and learning [J]. *J Neurosci Nurs*, 2001, 33(4): 208-215.
- [10] 黄红, 刘新民, 吕光华. 天麻防治神经精神疾病的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2188-2194.
- [11] 胡鹏程, 王进, 李墨香, 等. 天麻改善小鼠睡眠作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(13): 3140-3146.
- [12] Zhan H D, Zhou H Y, Du X L, et al. The rhizome of *Gastrodia elata* Blume—an ethnopharmacological review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, doi: 10.1016/j.jep.2016.06.057.
- [13] Mishra M, Huang J, Lee Y Y, et al. *Gastrodia elata* modulates amyloid precursor protein cleavage and cognitive functions in mice [J]. *Biosci Trends*, 2011, 5(3): 129-138.
- [14] He S, Qiao N, Niu P, et al. Protective effects of *Gastrodia elata* on aluminium-chloride-induced learning impairments and alterations of amino acid neurotransmitter release in adult rats [J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2008, 26(6): 467-473.
- [15] Chen P J, Liang K C, Lin H C, et al. *Gastrodia elata* Bl. attenuated learning deficits induced by forced-swimming stress in the inhibitory avoidance task and morris water maze [J]. *J Med Food*, 2011, 14(6): 610-617.
- [16] Zhang J S, Zhou S F, Wang Q, et al. *Gastrodin* suppresses BACE1 expression under oxidative stress condition via inhibition of the PKR/eIF2 α pathway in Alzheimer's disease [J]. *Neuroscience*, 2016, doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.03.024.
- [17] Wu L Y, Chen W C, Tsai F S, et al. *p*-Hydroxybenzylalcohol, an active phenolic ingredient of *Gastrodia elata*, reverses the cycloheximide-induced memory deficit by activating the adrenal gland in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(8): 1593-1604.
- [18] 周俊, 浦湘渝, 杨雁宾. 新鲜天麻的九种酚性成分 [J]. 科学通报, 1981, 26(18): 1118-1120.
- [19] Suchecki D, Tufik S. Social stability attenuates the stress in the modified multiple platform method for paradoxical sleep deprivation in the rat [J]. *Physiol Behav*, 2000, 68(3): 309-316.
- [20] Everson C A, Toth L A. Systemic bacterial invasion induced by sleep deprivation [J]. *Am J Physiol-Reg I*, 2000, 278(4): R905-R916.
- [21] Frank M G, Morrisette R, Heller H C. Effects of sleep deprivation in neonatal rats [J]. *Am J Physiol*, 1998, doi: 10.1152/ajpregu.1998.275.1.R148.
- [22] Estabrooke I V, McCarthy M T, Ko E, et al. Fos expression in orexin neurons varies with behavioral state [J]. *J Neurosci*, 2001, 21(5): 1656-1662.

- [23] Charifi C, Paut-Pagano L, Debilly G, *et al.* Effect of noradrenergic denervation of the amygdala upon recovery after sleep deprivation in the rat [J]. *Neurosci Lett*, 2000, 287(1): 41-44.
- [24] 李 振. GABA 能药物干预对 REM 睡眠剥夺大鼠认知功能影响的实验研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [25] Lu C, Shi Z, Dong L, *et al.* Exploring the effect of ginsenoside Rh₁ in a sleep deprivation-induced mouse memory impairment model [J]. *Phytother Res*, 2017, 31(5): 763-770.
- [26] 高江晖, 卜兰兰, 石 哲, 等. 不同时间睡眠干扰所致小鼠的类抑郁样行为 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(5): 405-409.
- [27] 黄 红, 姜 宁, 吕静薇, 等. 不同时间睡眠干扰致小鼠体力疲劳模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 16-20.
- [28] 林晓霞. 莫达非尼对 48 小时睡眠剥夺下认知和情绪影响的实验研究 [D]. 西安: 第四军医大学, 2007.
- [29] Lu C, Dong L, Lv J, *et al.* The protective effect of 20(S)-protopanaxadiol (PPD) against chronic sleep deprivation (CSD)-induced memory impairments in mice [J]. *Brain Res Bull*, 2017, 137: 249-256.
- [30] Reimund E. The free radical flux theory of sleep [J]. *Med Hypotheses*, 1994, 43(4): 231-233.
- [31] Gupta Y K, Gupta M, Kohli K. Neuroprotective role of melatonin in oxidative stress vulnerable brain [J]. *Indian J Physiol Pharmacol*, 2003, 47(4): 373-386.
- [32] Brandon E P. Choline transporter 1 maintains cholinergic function in choline acetyltransferase haploinsufficiency [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(24): 5459-5466.