

魏山山,王孟迪,姜宁,等. 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 改善东莨菪碱致小鼠认知障碍的作用比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(4): 94-101.

Wei SS, Wang MD, Jiang N, et al. Comparison of the effects among ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 on scopolamine-induced cognitive impairment in mice [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(4): 94-101.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 04. 013

人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 改善东莨菪碱致小鼠 认知障碍的作用比较

魏山山^{1,2}, 王孟迪¹, 姜 宁³, Ayaz Ahmed⁴, 刘新民^{1,3*}, 王 琼^{1,2*}

(1.西南医科大学附属中医医院中葡中医药国际合作中心/中西医结合学院,四川 泸州 646000;2.中国农业科学院农产品加工研究所,北京 100193;3.中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所药理毒理研究中心,北京 100193;
4.巴基斯坦卡拉奇大学国际化学和生命科学研究院 Panjwani 博士分子医学和药物研究中心,巴基斯坦 卡拉奇 74200)

【摘要】 目的 比较人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 改善东莨菪碱模型小鼠短期空间与非空间学习记忆的作用及机制。方法 建立东莨菪碱所致认知障碍模型,采用物体认知实验、液相色谱-质谱联用(LC-MS/MS)法、比色法观察人参皂苷 Rg1 或 Rb1(60 μmol/kg),Rg1+Rb1(各 30 μmol/kg 相加)对模型小鼠的行为学和神经递质及氧化应激水平的影响。结果 与对照组比较,模型小鼠的短期空间学习记忆和非空间学习记忆都受到严重损伤($P<0.001, P<0.001$);而石杉碱甲和人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 给药能显著逆转模型小鼠所引起的短期非空间学习记忆损伤,但人参皂苷 Rg1+Rb1 改善短期空间学习记忆的能力弱于人参皂苷 Rb1($P<0.01$)。与对照组比较,模型小鼠海马 ACh、5-HT、Glu 水平都显著下降,石杉碱甲和人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 给药能使模型小鼠海马 ACh、5-HT、Glu 水平显著增加。与对照组比较,模型小鼠血清氧化应激水平显著增高,而石杉碱甲和人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 给药能使模型小鼠血清 SOD、CAT、GSH 活力显著增加和 MDA 水平显著下降,虽然人参皂苷 Rg1+Rb1 调节 GSH 活力水平的能力弱于人参皂苷 Rb1($P<0.01, P<0.05$),但在调节 MDA 的能力上,人参皂苷 Rg1+Rb1 强于人参皂苷 Rg1、Rb1。结论 尽管人参皂苷 Rg1+Rb1 在各自有效剂量减半组合的情况下,改善空间短时学习记忆的能力有所下降,但三者在改善短时非空间学习记忆损伤的效果是一样的。其差异可能与剂量的选择、调节脑内不同类神经递质 ACh、5-HT、Glu 和氧化应激水平 SOD、CAT、GSH、MDA 的能力有关。

【关键词】 短期空间学习记忆;短期非空间学习记忆;人参皂苷 Rg1;人参皂苷 Rb1

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 04-0094-08

Comparison of the effects among ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 on scopolamine-induced cognitive impairment in mice

WEI Shanshan^{1,2}, WANG Mengdi¹, JIANG Ning³, Ayaz Ahmed⁴, LIU Xinmin^{1,3*}, WANG Qiong^{1,2*}

(1. Sino-Portugal TCM International Cooperation Center, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China. 2. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193. 3. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193. 4. Dr. Panjwani Center for Molecular Medicine and Drug Research, International Center for Chemical and Biological Sciences, University of Karachi, Karachi 74200, Pakistan)

[基金项目](泸州-医科大)应用基础研究项目(2018LZXNYD-ZK32);中国农业科学院农产品加工研究所创新工程院所重点任务(CAAS-ASTIP-2020-IFST);泸州市高端人才引进项目(刘新民团队);国家重点研发计划(2016YFE0131800)。

[作者简介]魏山山(1995—),女,硕士研究生,研究方向:中药神经药理与航天医学。E-mail:734558757@qq.com

[通信作者]王琼(1975—),女,博士,研究员,博士生导师,研究方向:中药神经药理与航天医学。E-mail:luyiwangqiong@163.com

刘新民(1962—),男,博士,研究员,博士生导师,研究方向:中药神经药理与方法学研究。E-mail:liuxinmin@hotmail.com

* 共同通信作者

[Abstract] **Objective** To compare the effects and mechanisms of the ginsenosides Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 on improving spatial and non-spatial learning memory in a scopolamine-induced mouse model for cognitive impairment. **Methods** A scopolamine-induced cognitive impairment mouse model was established, and the effects of ginsenoside Rg1 or Rb1 (60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) and Rg1+Rb1 (30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ each combined) on behaviors were observed by using object cognition experiments. Liquid chromatography-mass spectrometry-mass spectrometry will be used to determine neurotransmitter levels in mice, while colorimetric methods will be used to determine oxidative stress levels. **Results** Compared with the control group, the model mice showed severe impairment on both short-term spatial learning memory and non-spatial learning memory ($P<0.001$). Huperzine A and ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 administration significantly reversed the short-term non-spatial learning memory impairment in the model mice, but the effect of ginsenoside Rg1+Rb1 on improving short-term spatial learning memory was weaker than that of ginsenoside Rb1 ($P<0.01$). Hippocampal Ach, 5-HT and Glu levels were decreased in the model mice compared with controls. Administration of Huperzine A or ginsenosides Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 significantly increased hippocampal Ach, 5-HT and Glu levels in the model mice. Serum oxidative stress levels were significantly increased in the model mice compared with controls. Administration of ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 significantly increased serum SOD, CAT and GSH activity and significantly decreased MDA levels in the model mice. Although ginsenoside Rg1+Rb1 was weaker than ginsenoside Rb1 in regulating GSH activity ($P<0.01$, $P<0.05$), ginsenoside Rg1+Rb1 was stronger than ginsenoside Rg1 and Rb1 in the ability to regulate MDA. **Conclusion** Although half dosage combination of ginsenoside Rg1+Rb1 exhibited decline in the ability to improve spatial short-term learning memory. However, ginsenosides Rg1, Rb1 and Rg1+Rb1 were comparable in their ability to improve short-term non-spatial learning memory impairment. The differences may be related to the dose and the ability of different ginsenosides on the regulation of neurotransmitters and oxidative stress levels in the brain.

[Keywords] short-term spatial learning memory; short-term non-spatial learning memory; ginsenoside Rg1; ginsenoside Rb1

认知障碍是阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的主要症状, 其短期学习记忆受损是该疾病特征性的早期临床表现, 也是脑疾病诊断和治疗中最困难的问题之一^[1-2]。据阿尔茨海默病协会报告, 每 3 s 就会有一人患痴呆症^[3]。预计到 2050 年, 国际上的痴呆症患者数将高达 1.52 亿, 其照护费用高达 2 万亿美元, 给整个社会带来沉重的经济负担^[4-5]。

AD 发病机制复杂, 至今为止, 其详细明确的病因仍不清楚, 神经元结构及功能的损伤以及相关蛋白通路的异常表达都会导致认知障碍。尽管西医标准化的靶向治疗能短期改善临床症状, 但并不能延缓疾病的发展, 且副作用大^[6]。

中药对于认知功能障碍的治疗, 始终坚持“辩证论治”和“整体观”的原则, 已在病因病机探讨、疾病预防、药物治疗方面取得了大量的进展, 且中药具有副作用小, 多靶点多途径的特点^[7-8]。在中医学中, 痴呆早期阶段多为虚证, 且以补益药为主。作为补益药之首的人参在不同疾病的不同阶段发挥了重要作用^[9]。近年来, 随着传统中药的现代药理研究, 借助分离技术的应用, 我们发现人参具有复杂的化学成分、广泛的生物活性和独特的药理作

用, 其中最重要的活性成分是人参皂苷^[10]。在大量现代药理研究中, 人参皂苷已被证明其能应用多元化的靶点治疗相关疾病^[11]。此外, 在中药神经药理学研究中, 人参皂苷已被证明具有显著的神经保护作用^[12]。其中, 达玛烷型人参皂苷 Rg1、Rb1 已被广泛证明在不影响中枢运动神经的情况下可从多途径改善认知功能障碍, 包括介导氧化应激引起的细胞凋亡、抑制淀粉样蛋白的沉积、调节各类神经递质水平等^[13-15]。尽管人参皂苷 Rg1、Rb1 的单独使用已被证明能够改善认知功能障碍^[16], 但人参皂苷 Rg1+Rb1 对于东莨菪碱 (scopolamine, Scop) 模型小鼠所引起的短时空间与非空间学习记忆改善作用及机制尚不清楚。因此, 本研究采用东莨菪碱腹腔注射所致认知障碍模型, 比较人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱认知障碍模型所引起短时空间与非空间学习记忆力的影响及差异, 并对其作用及机制进行初步探讨。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只体重为 20~22 g 的雄性 SPF 级 ICR 小鼠 (3 周龄) 购自北京维通利华实验动物公司 [SCXK

(京)2021-0006]并饲养于中国医学科学院药用植物研究所[SYXK(京)-2017-0020]。小鼠在正式实验前适应性喂养 7 d。在此期间保持饮食和水源的充足。光暗将交替循环(12 h:12 h),室温 21℃~24℃,湿度条件为(55±10)%。本实验经中国医学科学院药用植物研究所实验动物伦理委员会审批(SLXD-202107020023)。

1.2 主要试剂与仪器

人参皂苷 Rg1(CAS:22427-39-0)、人参皂苷 Rb1(CAS:41753-43-9)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;石杉碱甲(Huperzine A,批号:H10940156)购于河南太龙药业股份有限公司;氧化应激的试剂盒包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD,批号:20210924)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH,批号:20210923)、过氧化氢酶(catalase,CAT,批号:20210917)、丙二醛(malondialdehyde,MDA,批号:20210916)购于南京建成生物工程研究所;东莨菪碱氢溴酸盐(Scopolamine hydrobromide trihydrate,1 g,CAS号:6533-68-2)购于麦克林公司;乙酰胆碱(Acetylcholine,Ach,批号:123K262)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT,批号:114K702)、谷氨酸(Glutamate,Glu,批号:140690-20120)均购于美国Sigma公司。

小鼠物体认知识别实验仪器是由中国医学科学院药用植物研究所、中国航天员科研训练中心和北京康森益友科技有限公司联合研发;Q-Trap5500型质谱分析仪(美国应用生物技术公司);Vibra-Cell型超声波破碎仪(美国Sonics公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及给药

将 60 只实验鼠按照每组 10 只的标准分为对照组,模型组(东莨菪碱组,Scop,1 mg/kg),石杉碱甲组(Hup,0.1 mg/kg),人参皂苷 Rg1 组(60 μmol/kg),人参皂苷 Rb1 组(60 μmol/kg),人参皂苷 Rg1+Rb1 组(30+30 μmol/kg)。给药组灌胃给药 14 d,其余组给予蒸馏水,第 15 天时,除对照组外,其余组将在给药 30 min 后进行东莨菪碱腹腔注射,使其诱导认知障碍。腹腔注射间隔 30 min 再进物体认知识别实验,每天持续给药直到行为学结束为止。

1.3.2 物体位置识别实验

物体位置识别实验参考本实验室建立的方法^[17]并作细微修改后进行。简而言之,该实验共计 4 d(3 个阶段)。前 3 d 为适应期,熟悉期和测试期

在第 4 天分时段进行。适应期时,动物每天同一时间段被放于测试箱中自由活动 10 min。第 4 天上半时段为熟悉期,在两测试箱内右上角侧内固定位置分别放一个相同的物体,将小鼠放入后 5 min 的探索行为将被自动记录。间隔 30 min 进入测试期。测试期间,两个相似物体中的其中一个将被移到另一物体的斜对角,5 min 的自由探索行为将再次被记录。

1.3.3 新物体识别实验

新物体实验的方法与物体位置识别实验基本相同。不同的是,测试期内将其中一个物体换为另一新物体,其放置位置未作改变。记录 5 min 内小鼠对两物体的探索时间^[18]。

1.3.4 海马神经递质水平测定

(1) 样品处理

所有行为学检测完成后,将小鼠处死,剥开头骨,在冰上迅速分离出海马并称重之后加入超纯水(50 μL)超声匀浆(10 s)。20 μL 的 IS 溶液将被加入到 50 μL 匀浆液中,涡旋混匀后,加入 10 μL 的三氯乙酸沉淀蛋白,4℃ 低温离心(2×10⁴ r/min,15 min),取 40 μL 上清液放入 4℃ 冰箱,次日检测^[19]。

(2) 含量测定

含量测定参见本课题组先前建立的方法^[20],用于定量分析的离子为 m/z 146.1→87.4(ACh);m/z 177.0→160.0(5-HT);m/z 148.0→84.0(Glu)。

1.3.5 氧化应激水平测定

四个氧化应激相关指标(SOD、CAT、GSH、MDA)按照试剂盒标准方法进行测定。

1.4 统计学方法

数据采用统计软件 SPSS 21.0 进行分析,所有值记为平均数±标准误差($\bar{x}\pm s\bar{x}$), $P<0.05$ 表示数据有统计学差异。物体位置识别实验和新物体识别实验熟悉期对 A1 和 A2 的探索时间采用配对 t 检验进行分析。其余实验数据符合正态分布,各参数组间差异采用单因素方差(One-way ANOVA)分析;若数据为非正态分布或者方差不齐,使用非参数检验(Nonparametric tests)进行组间比较。

2 结果

2.1 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠短时空间记忆力的影响

图 1A 所示,在熟悉期实验阶段,与 Scop(1 mg/kg)组比较,对照组人参皂苷 Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)、Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)的探索总时间没有显著差异,与人参皂苷 Rg1(60 μmol/kg)

比较,Hup(0.1 mg/kg)的总探索时间显著减少($P<0.01$),表明模型组动物对物体的探索能力没有差异。图1B所示,各组动物对熟悉期的两物体未见位置偏好。图1C所示,与对照组比较,Scop(1 mg/kg)的相对辨别指数显著下降($P<0.001$);与Scop(1 mg/kg)比较,HUP(0.1 mg/kg)、人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)、Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)给药组都能显著提高东莨菪碱小鼠的相对辨别指数($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.001$, $P<0.05$)。但与人参皂苷Rb1(60 μmol/kg)比较,人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)改善短时空间记忆力的能力无显著性差异,而人参皂苷Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)改善短时空间记忆力的能力有所下降($P<0.01$)。

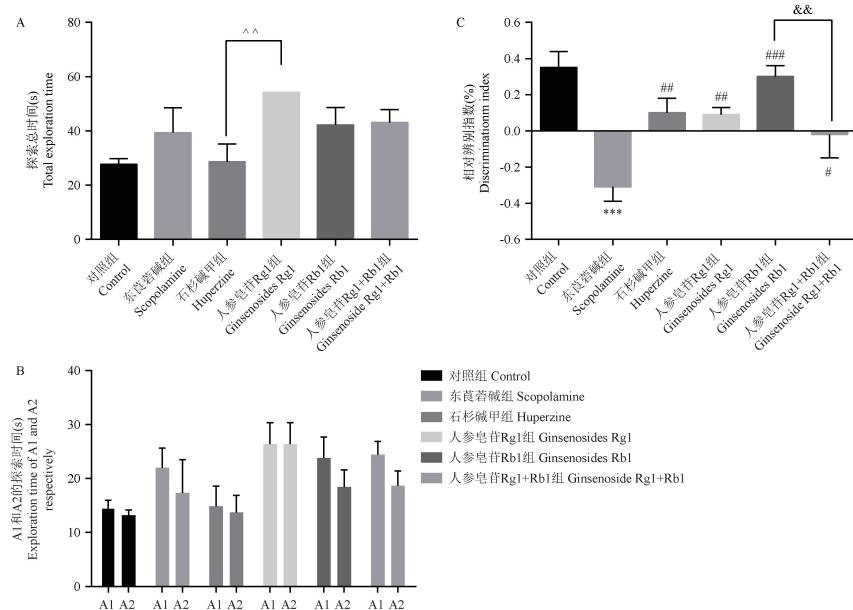
2.2 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠短时非空间记忆能力的影响

图2A所示,在熟悉期实验阶段,与Scop(1 mg/kg)组比较,对照组和人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)、Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)的探索总时间没有显著差异;与人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)比较,模型组动物对物体的探索能力没有差异。图2B所示,各组动物对熟悉

期的两物体未见位置偏好。图2C所示,与对照组比较,Scop(1 mg/kg)组的相对辨别指数显著下降($P<0.001$);与Scop(1 mg/kg)组比较,HUP(0.1 mg/kg)、人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)、Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)给药组都能显著提高东莨菪碱小鼠的相对辨别指数($P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.01$, $P<0.01$)。此外,与人参皂苷Rb1(60 μmol/kg)比较,人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、人参皂苷Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)给药组改善短时非空间记忆能力并未出现显著差异性。

2.3 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠海马神经递质的影响

图3A~3C所示,与对照组比较,Scop(1 mg/kg)组海马中的神经递质ACh、5-HT、Glu水平都显著下降($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.01$);与Scop(1 mg/kg)比较,Hup(0.1 mg/kg)、人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、Rb1(60 μmol/kg)、Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)都能显著提高神经递质ACh、5-HT、Glu水平。此外,与人参皂苷Rb1(60 μmol/kg)比较,人参皂苷Rg1(60 μmol/kg)、人参皂苷Rg1+Rb1(30+30 μmol/kg)对于调节神经递质ACh、5-HT、Glu水平的



注:与对照组比较,*** $P<0.001$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$;与人参皂苷Rb1组比较, && $P<0.01$;与人参皂苷Rg1组比较, ^ ^ $P<0.01$ 。

图1 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠物体位置识别实验中左右位置偏好、探索总时间、相对辨别指数的影响($\bar{x}\pm s\bar{x}$, $n=8\sim 10$)

Note. Compared with the control group, *** $P<0.001$. Compared with the model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

Compared with ginsenoside Rb1, && $P<0.01$. Compared with ginsenoside Rg1, ^ ^ $P<0.01$.

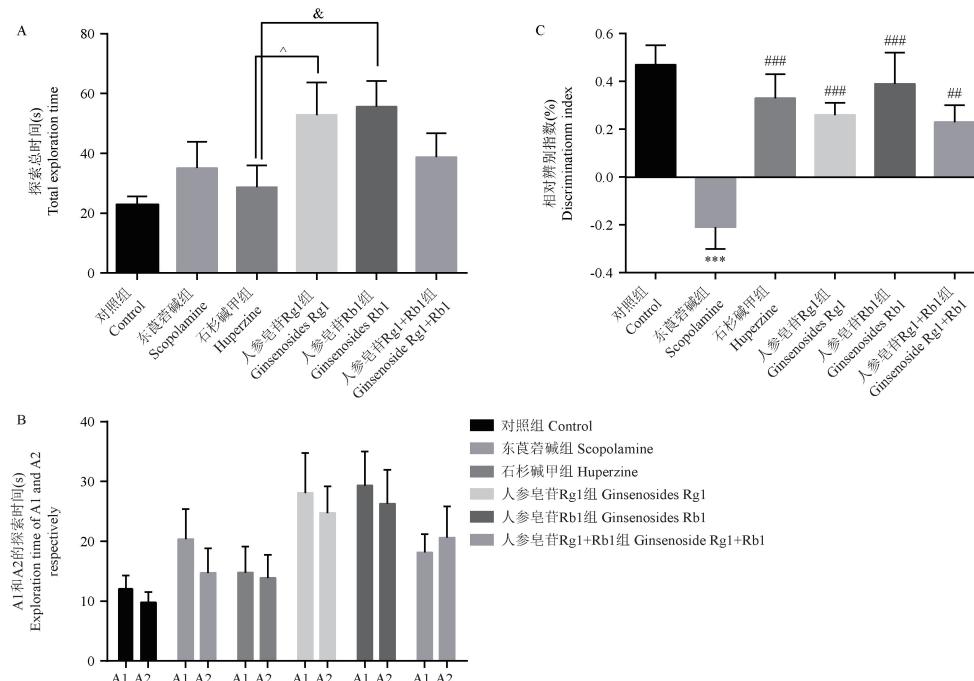
Figure 1 Effects of Ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1 + Rb1 on left-right position preference, total exploration time and relative discrimination index of scopolamine mice in object recognition task

能力并未出现显著性差异。

2.4 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠血清氧化应激的影响

如图 4A~4D 所示,与对照组比较,Scop(1 mg/kg)组能使小鼠血清中 SOD、CAT、GSH 活力显著下降和使 MDA 含量显著升高($P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.05$, $P<0.001$)。与 Scop(1 mg/kg)组比较,Hup(0.1 mg/kg)、人参皂苷 Rg1(60

$\mu\text{mol}/\text{kg}$)、Rb1(60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)、Rg1+Rb1(30+30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)能显著提高血清中 SOD、CAT、GSH 活力和降低 MDA 的含量。此外,与人参皂苷 Rb1(60 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)比较,人参皂苷 Rg1+Rb1(30+30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)对于调节 GSH 的能力有所下降($P<0.01$)。与人参皂苷 Rg1、Rb1(30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)比较,人参皂苷 Rg1+Rb1(30+30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$)调节 MDA 含量的能力显著上升($P<0.05$)。

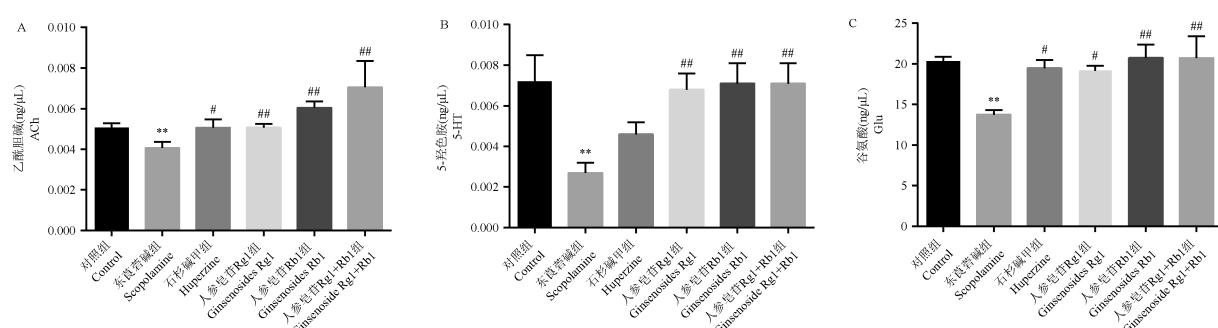


注:与对照组比较,*** $P<0.001$;与模型组比较,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与人参皂苷 Rb1 比较,^P < 0.05;与人参皂苷 Rg1 比较,^P < 0.05。

图 2 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠新物体识别实验探索总时间、左右位置偏好、相对辨别指数的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8\sim 10$)

Note. Compared with the control group, *** $P<0.001$. Compared with the model group, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$. Compared with ginsenoside Rb1, ^P < 0.05. Compared with ginsenoside Rg1, ^P < 0.05.

Figure 2 Effects of Ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1 + Rb1 on left and total exploration time, right position preference and relative discrimination index of scopolamine mice in novel object recognition

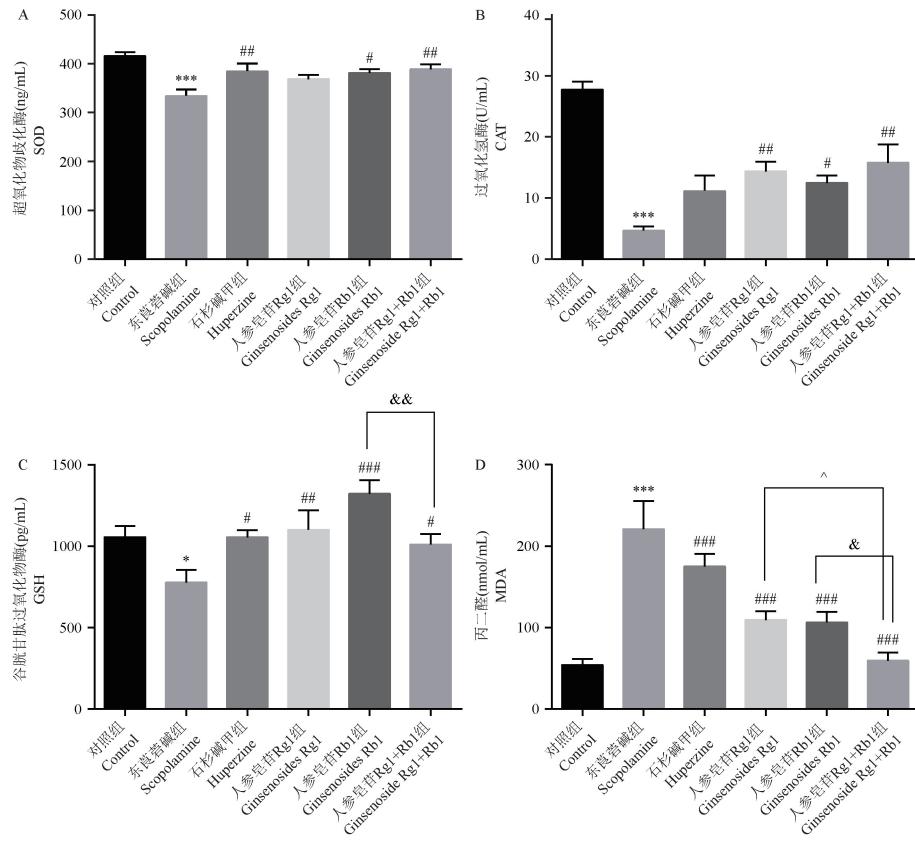


注:与对照组比较, ** $P<0.01$;与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 3 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠海马神经递质的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8\sim 10$)

Note. Compared with the control group, ** $P<0.01$. Compared with the model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

Figure 3 Effects of Ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1 + Rb1 on hippocampal neurotransmitters of scopolamine mice



注:与对照组比较, *P<0.05, *** P<0.001;与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001;与人参皂苷 Rb1 比较, &P<0.05, &&P<0.01;与人参皂苷 Rg1 比较, ^P<0.05。

图 4 人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 对东莨菪碱小鼠血清氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, n=8)

Note. Compared with the control group, *P<0.05, *** P<0.001. Compared with the model group, #P<0.05, ##P<0.01, ###P<0.001. Compared with ginsenoside Rb1, &P<0.05, &&P<0.01. Compared with ginsenoside Rg1, ^P<0.05.

Figure 4 Effects of Ginsenoside Rg1, Rb1 and Rg1 + Rb1 on serum oxidative stress level of scopolamine mice

3 讨论

在老年痴呆防治药物筛选的研究中,模拟痴呆主要症状的认知障碍模型占据重要地位^[21-22]。胆碱能功能障碍假说在 AD 发病机制中占据不可估量的地位^[23-24]。东莨菪碱腹腔注射所致认知障碍模型是模拟认知障碍模型的经典模型^[25]。学习记忆的行为学检测方法分为三大类:惩罚(跳台、避暗、穿梭和迷宫)、奖赏(奖赏操作条件反射、食物性迷宫)和自主选择(物体识别)等。水迷宫、物体位置和新物体识别是检测空间学习记忆和非空间学习记忆的主要行为学检测方法,而后两者是公认的评价短时空间和非空间学习记忆的动物行为学评价方法^[26]。有研究表明,胆碱能神经功能障碍可引起短时学习记忆的损伤^[27]。本实验结果与其一致,在物体位置识别实验中,与空白组比较,东莨菪碱模型小鼠的短时空间学习记忆显著下降;在新物体识别实验中,与空白组比较,模型小鼠的短时非空间学

习记忆也出现显著性下降的结果。

越来越多的研究发现,除中枢胆碱能系统中胆碱能神经递质维持正常水平是认知功能正常的重要影响因素之外^[28],单胺类、氨基酸类神经递质与神经精神疾病密切相关^[29-30]。例如,大蒜素通过调节神经递质 DA、NE、5-HT、GABA 和 Glu 的水平可以改善铝和铜诱导 Wistar 大鼠导致的认知功能障碍^[31]。本研究也表明,模型组的胆碱能神经递质 Ach、单胺类神经递质 5-HT、氨基酸类神经递质 Glu 水平显著下降。

氧化应激可引起神经细胞膜脂质过氧化、突触功能受损及线粒体损伤。大量研究证明, SOD、GSH、MDA、CAT 的水平变化可以综合反映大脑的氧化应激状态^[32-35]。GSH 和 SOD 为机体内的主要抗氧化酶,MDA 是机体氧化应激反应中的脂质过氧化产物,CAT 可清除体内的过氧化氢而保护机体免受损害^[36]。本研究模型组的 SOD、GSH、CAT 水平显著下降、MDA 的水平显著增高。

人参作为治疗痴呆的中药已多有报道^[37]。近几十年的现代药理研究中发现,人参皂苷是人参的主要活性成分,其结构确定的皂苷成分就有 40 余种,而人参皂苷 Rg1、Rb1 的含量最高^[38]。例如,向玥等^[39]通过惩罚类 Morris 水迷宫行为学检测方法发现人参皂苷 Rg1 能显著改善 D-半乳糖 (D-gal) 所致认知障碍小鼠的空间位置辨知的长时学习记忆能力。Zhang 等^[40]通过惩罚类 Morris 水迷宫法发现人参皂苷 Rb1 能显著改善淀粉样蛋白 1-42 (Aβ1-42) 脑室注射学习记忆障碍模型大鼠的长时空间学习能力。本实验结果表明,人参皂苷 Rg1、Rb1、人参皂苷 Rg1+Rb1 在改善空间短时学习记忆和非空间短时学习记忆的能力有一定差异。在新物体实验中发现人参皂苷 Rg1、Rb1、人参皂苷 Rg1+Rb1 改善模型组非空间短时学习记忆的能力相当,其主要表现为对于神经递质 ACh、5-HT、Glu 和氧化应激 SOD、CAT 水平的调节。在早期对 Rg1 和 Rb1 抗学习记忆机制的初步研究中就发现^[39],Rb1 可以拮抗脂质过氧化,清除氧自由基,增加过氧化氢酶和 GSH-PX 活性,而 Rg1 没有。在本研究中在 GSH 指标,Rb1 的效果优于联合用药,可能是 Rg1、Rb1 联合应用用药剂量减半组合后改善这类指标的剂量未达到。且先前有研究表明,人参皂苷 Rg1 和 Rb1 组合与黄芪甲苷联合应用会增强 MDA 含量的增加。在本研究中,与其结果一致,联合用药调节 MDA 含量的效果优于单独使用任何一个药^[41]。

综上所述,本实验采用东莨菪碱小鼠腹腔注射成功建立了短期空间与非空间学习记忆损伤的认知障碍模型,并分别运用了动物认知行为学评价方法、LC-MS-MS 法、比色法对人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 改善认知障碍模型小鼠行为学和脑组织进行了一系列的观察,发现尽管人参皂苷 Rg1+Rb1 在各自有效剂量减半重新组合的情况下,人参皂苷 Rg1+Rb1 改善短时空间短时学习记忆的能力有所下降。但人参皂苷 Rg1、Rb1、Rg1+Rb1 在改善短时非空间学习记忆损伤的能力依然相当,足以说明 Rg1+Rb1 联用依然显示出在改善学习记忆损伤上有一定的优势。其机制可能与有效调节脑内不同类神经递质和氧化应激水平的能力有关。

参考文献:

- [1] Cai H, Li G, Hua S, et al. Effect of exercise on cognitive function in chronic disease patients: a meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials [J]. Clin Interv Aging, 2017, 12: 773–783.
- [2] Zheng C, Xu R. The Alzheimer's comorbidity phenotype: mining from a large patient database and phenotype-driven genetics prediction [J]. JAMIA Open, 2019, 2(1): 131–138.
- [3] Bron EE, Klein S, Papma JM, et al. Cross-cohort generalizability of deep and conventional machine learning for MRI-based diagnosis and prediction of Alzheimer's disease [J]. Neuroimage Clin, 2021, 31: 102712.
- [4] Krivanek TJ, Gale SA, McFeeley BM, et al. Promoting successful cognitive aging: a ten-year update [J]. J Alzheimers Dis, 2021, 81(3): 871–920.
- [5] Park KH, Lim JS, Seo SW, et al. Executive summary of the 2019 international conference of korean dementia association: exploring the novel concept of Alzheimer's disease and other dementia: a report from the academic committee of the korean dementia association [J]. Dement Neurocogn Disord, 2020, 19(2): 39–53.
- [6] Li Y, Hai S, Zhou Y, et al. Cholinesterase inhibitors for rarer dementias associated with neurological conditions [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 3: CD009444.
- [7] Boopathi S, Poma AB, Garduño-Juárez R. An overview of several inhibitors for Alzheimer's disease: characterization and failure [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(19): 10798.
- [8] Song Z, Luo D, Wang Y, et al. Neuroprotective effect of danggui shaoyao san via the mitophagy-apoptosis pathway in a rat model of Alzheimer's disease [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 3995958.
- [9] Sun Y, Liu Y, Chen K. Roles and mechanisms of ginsenoside in cardiovascular diseases: progress and perspectives [J]. Sci Chin Life Sci, 2016, 59(3): 292–298.
- [10] Wang K, Zhang Z, Li S, et al. Transcriptome-wide analysis for ginsenoside Rb3 synthesis-related genes and study on the expression of methyl jasmonate treatment in panax ginseng [J]. Life (Basel), 2021, 11(5): 387.
- [11] Ratan ZA, Haidere MF, Hong YH, et al. Pharmacological potential of ginseng and its major component ginsenosides [J]. J Ginseng Res, 2021, 45(2): 199–210.
- [12] Fernández-Moriano C, González-Burgos E, Iglesias I, et al. Evaluation of the adaptogenic potential exerted by ginsenosides Rb1 and Rg1 against oxidative stress-mediated neurotoxicity in an in vitro neuronal model [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182933.
- [13] Qiong W, Yong-Liang Z, Ying-Hui L, et al. The memory enhancement effect of Kai Xin San on cognitive deficit induced by simulated weightlessness in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 187: 9–16.
- [14] Ahmed A, Zeng G, Jiang D, et al. Time-dependent impairments in learning and memory in Streptozotocin-induced hyperglycemic rats [J]. Metab Brain Dis, 2019, 34(5): 1431–1446.
- [15] 王琼. 跳台/自主活动实验方法改进和人参皂苷及代谢产物益智作用比较 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2010.
- [16] Yang Y, Li S, Huang H, et al. Comparison of the protective effects of ginsenosides Rb1 and Rg1 on improving cognitive

- deficits in SAMP8 mice based on anti-neuroinflammation mechanism [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 834.
- [17] 范琳犀, 杨玉洁, 姜宁, 等. 皮质酮诱导小鼠抑郁伴发的学习记忆损伤 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(4): 59–64.
- [18] 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.
- [19] 黄红. 天麻不同品种 DNA 鉴别及改善学习记忆和抗疲劳研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [20] 裴海月, 姜宁, 王孟迪, 等. 槟榔对小鼠的抗抑郁作用影响及机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 24–32.
- [21] 李令文, 陈明苍, 季宇彬. 老年痴呆症模型研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2014, 10(5): 43–45.
- [22] 曾贵刚, 李峻, 彭海东, 等. 大鼠血管性痴呆动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(3): 50–55.
- [23] Chen X, Drew J, Berney W. Neuroprotective natural products for Alzheimer's disease [J]. Cells, 2021, 10(6): 1309.
- [24] Woolf NJ, Butcher LL. Cholinergic systems mediate action from movement to higher consciousness [J]. Behav Brain Res, 2011, 221(2): 488–498.
- [25] 裴名宜. 东莨菪碱对小鼠学习和记忆再现的影响 [J]. 医药产业资讯, 2005, 2(11): 92.
- [26] 郑前敏, 徐平. 认知功能相关的动物行为学实验研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(7): 85–89.
- [27] 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.
- [28] Jasiecki J, Targofiska M, Wasag B. The role of butyrylcholinesterase and iron in the regulation of cholinergic network and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4): 2033.
- [29] Wang Q, Sun LH, Jia W, et al. Comparison of ginsenosides Rg1 and Rb1 for their effects on improving scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. [J]. Phytother Res, 2010, 24(12): 1748–1754.
- [30] 王蕾, 赵明镜, 杨涛, 等. 氨基酸类神经递质与认知活动关系及中医药应用的研究进展 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(35): 40–43.
- [31] Kaur S, Raj K, Gupta YK, et al. Allicin ameliorates aluminium- and copper-induced cognitive dysfunction in Wistar rats: relevance to neuro-inflammation, neurotransmitters and A β _(1–42) analysis [J]. J Biol Inorg Chem, 2021, 26(4): 495–510.
- [32] 秦川, 常洋, 张兵林, 等. 老年性痴呆病转基因动物模型自发疾病病理学观察 [J]. 中国实验动物学杂志, 2001, 11(1): 28–30.
- [33] 许玉琨, 沈晓明, 兰瑞, 等. 开心散对 APP/PS1 小鼠学习记忆能力和突触功能的机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(20): 15–22.
- [34] 谢超敏, 郑桂兰, 钟志勇, 等. 中药银杏叶对老年痴呆症小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(9): 26–29.
- [35] 高冰冰, 徐淑萍, 刘新民, 等. 开心散与去茯苓开心散改善拟 AD 动物学习记忆作用比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(7): 57–62.
- [36] 莫颂铁, 张丽凤, 黄彦峰, 等. 慢性铅中毒小鼠学习记忆与大脑皮层 ACh、 β -EP、SOD 及 MDA 关系的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(7): 63–67.
- [37] 党海霞, 王立为, 刘新民. 人参改善模拟中风大小鼠模型所致认知功能障碍的作用机理分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2007, 17(5): 302–305.
- [38] 王琼, 王逸, 韩春勇, 等. 人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 及其代谢产物益智作用的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(13): 1960–1965.
- [39] 向玥, 陈粼波, 姚辉, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对 D-半乳糖所致衰老小鼠海马的保护机制 [J]. 中草药, 2017, 48(18): 3789–3795.
- [40] Zhang JT, Qu ZW, Liu Y, et al. Preliminary study on antiamnestic mechanism of ginsenoside Rg1 and Rb1 [J]. Chin Med J (Engl), 1990, 103(11): 932–938.
- [41] Huang XP, Qiu YY, Wang B, et al. Effects of Astragaloside IV combined with the active components of Panax notoginseng on oxidative stress injury and nuclear factor-erythroid 2-related factor 2/heme oxygenase-1 signaling pathway after cerebral ischemia-reperfusion in mice [J]. Pharmacogn Mag, 2014, 10(40): 402–409.

[收稿日期] 2021-11-03