

香水莲花提取物对东莨菪碱诱导 记忆障碍小鼠学习记忆能力的影响

王 微,叶虔臻,项 婷,吴晓琴,沈建福*

浙江大学生物系统工程与食品科学学院,杭州 310058

摘要:探究香水莲花提取物(*Nymphaea hybrid extract*, NHE)对东莨菪碱诱导记忆障碍小鼠的学习记忆能力的影响。采用腹腔注射东莨菪碱建立记忆障碍模型, Morris 水迷宫实验测定小鼠空间学习和记忆能力。水迷宫实验结束后,断头处死小鼠,进行生化指标的测定。结果表明,与模型组小鼠相比, NHE 干预后,小鼠的逃避潜伏期明显缩短($P < 0.01$),目标象限停留时间百分比和穿越平台次数增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),小鼠海马和皮质区的 SOD 和 GSH-PX 活力显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),MDA 含量极显著降低($P < 0.01$),AChE 活性显著降低($P < 0.01$),ACh 含量增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。同时,免疫印迹结果表明, NHE 能够改善东莨菪碱引起小鼠海马和皮质中 ERK、CREB 磷酸化水平和 BDNF 蛋白表达的减少。综上,香水莲花提取物可以提高东莨菪碱诱导的记忆障碍小鼠的学习记忆能力,具体机制涉及缓解大脑的氧化应激损伤,平衡胆碱能系统,激活 ERK-CREB-BDNF 信号通路。

关键词:香水莲花提取物;东莨菪碱;记忆障碍

中图分类号:R285;R961

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)2-0299-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.2.019

Effect of *Nymphaea hybrid extract* on learning and memory ability of scopolamine-induced memory impaired mice

WANG Wei, YE Qian-zhen, XIANG Ting, WU Xiao-qin, SHEN Jian-fu*

College of Biosystem Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: This research explored the effect of *Nymphaea hybrid extract* (NHE) on the learning and memory ability of scopolamine-induced memory impairment mice. The memory impairment model was established by intraperitoneal injection of scopolamine, and the spatial learning and memory ability of mice was determined by Morris water maze test. After the water maze experiment was completed, the mice were killed by decapitation and biochemical indicators were measured. The results showed that compared with the model group, after NHE intervention, the escape latency of the mice was significantly shortened ($P < 0.01$), the target quadrant residence time percentage and the number of crossing platforms were increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the activity of SOD and GSH-PX in hippocampus and cortex of mice was significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), the content of MDA was significantly decreased ($P < 0.01$), and the activity of AChE was significantly decreased ($P < 0.01$), ACh content was increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). At the same time, the results of immunoblotting showed that NHE could ameliorate the decrease of the phosphorylated ERK and CREB, as well as BDNF protein expression in hippocampus and cortex of mice induced by scopolamine. In summary, NHE could enhance the learning and memory ability of scopolamine-induced memory impairment mice. The specific mechanism involved alleviating oxidative stress damage in the brain, balancing the cholinergic system, and activating the ERK-CREB-BDNF signaling pathway.

Key words: *Nymphaea hybrid extract*; scopolamine; memory impairment

阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种

常见的神经退行性疾病,其临床主要表现为记忆力减退和认知功能障碍。研究表明,影响 AD 患者的认知障碍的发病机制十分复杂,存在多种假说,如胆碱能损伤假说、氧化应激假说、A β 毒性假说、Tau 蛋

收稿日期:2018-09-11 接受日期:2018-12-28

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31270722);国家农业部首席科学家项目(KN20170058)

* 通信作者 Tel:86-532-88963253; E-mail: shenjfl07@zju.edu.cn

白假说等^[1]。另外,AD 患者的短期和长期记忆还受到神经元分子水平上的调节。脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)影响神经元的存活、分化和生长,并且介导突触可塑性和认知过程,其水平的变化与认知障碍密切相关^[2],而 ERK/CREB/BDNF 信号通路的激活可能是开发具有记忆增强特性的新化合物有希望的靶点^[3]。就目前而言,临床治疗 AD 的首选药物还主要是针对胆碱能损伤假说研发的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)抑制剂,包括多奈哌齐、加兰他敏、卡拉巴汀和石杉碱甲(Huperzine A, Hup. A)等。但是,这些药物只能减轻症状,并不能延缓或阻止 AD 的病程,还具有一定的副作用。因此,研究者正积极寻找一种天然、安全、有效的预防和治疗手段。

香水莲花(*Nymphaea hybrid*)是睡莲科睡莲属热带大型睡莲,集观赏和食用价值于一身,其食用安全性已经得到证实^[4]。研究证实,香水莲花富含多酚类化合物,具有较强的抗氧化能力,且整花优于花瓣,蓝色花和紫色花优于黄色花^[5]。香水莲花中已鉴定出有柚皮素、柯里拉京、蜡菊素 A 等化合物^[6,7]。其中,柚皮素和柯里拉京在神经保护方面具有一定的作用^[8,9]。目前,国内外对香水莲花生物学活性的研究较少,而香水莲花对学习记忆能力的影响更是未见报道。基于此,本研究采用腹腔注射东莨菪碱(scopolamine, SCO)建立记忆障碍的 AD 小鼠模型,研究香水莲花提取物对小鼠学习记忆能力的影响,并对其作用机制进行探究,以期为进一步研究香水莲花的食用价值,开发功能性食品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

蓝色香水莲花(干花)由杭州芸麒龙祥生物技术有限公司提供;东莨菪碱(批号 S107418),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;石杉碱甲,上海复旦复华药业有限公司;总超氧化物歧化酶、丙二醛、谷胱甘肽过氧化物酶、乙酰胆碱酯酶、乙酰胆碱、BCA 蛋白浓度等测定试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;BDNF 抗体(ab108319)、CREB 抗体(ab32515)、p-CREB(ab32096)抗体均购自 Abcam 公司;p-ERK1/2(#9106)、ERK1/2(#4696)抗体购自 Cell Signaling Technology 公司;辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔或山羊抗小鼠 IgG 二抗购自 Thermo Pierce 公司;其他试剂均为分析纯或化学纯。

1.2 实验动物

清洁级健康 ICR 雄性小鼠 40 只(体重 30 ~ 35 g),由浙江中医药大学动物实验中心提供,合格证号 IACUC-20180319-05。饲养条件:自由饮水、进食标准小鼠饲料;室内适度通风,光照 12 h,室温 25 °C,湿度(60 ± 10)%。

1.3 仪器与设备

酶标仪,美国 BioTek 公司;低温高速离心机,德国 Eppendorf 公司;Mini-PROTEAN 电泳系统以及 MiniTrans-Blot 转印系统,美国 Bio-Rad 公司;水平脱色摇床,国产华利达;Morris 水迷宫装置,北京硕林苑科技有限公司。

1.4 方法

1.4.1 香水莲花提取物制备

香水莲花提取物(*Nymphaea hybrid* extract, NHE)制备参照董柳青的方法^[7]:蓝色香水莲花干花粉碎,过 60 目筛,称取香水莲花粉末 200 g,按 1:10 料液比(W/V)加入 60% 乙醇,50 °C 超声浸提 1 h 后,离心分离,上清液减压浓缩除去有机溶剂,真空冷冻干燥后得到香水莲花提取物,得率为 34.68%。NHE 经 Folin-Ciocalteu 法测得总酚含量为 309.73 ± 4.42 mg GAE/g,酚类化合物含量较高。

1.4.2 动物分组、给药及造模

ICR 小鼠适应性喂养一周后,随机分为 5 组,每组 8 只:正常组、模型组、NHE 低剂量组、NHE 高剂量组、阳性对照组。NHE 的低、高剂量组和阳性对照组分别灌胃给药 200 mg/kg、400 mg/kg 的 NHE 和 0.2 mg/kg 的阳性对照药石杉碱甲,正常组和模型组则以等量蒸馏水灌胃。每天上午 8 点给药,连续给药 22 天,并且每天一次,灌胃体积为 0.02 mL/g。

在第 17 ~ 22 天进行 Morris 水迷宫行为学实验,测试时间在每天上午 10 点至下午 4 点之间。测试前 30 min,模型组、阳性对照组、NHE 低、高剂量组均腹腔注射东莨菪碱(3 mg/kg),建立小鼠学习记忆障碍模型。正常组则注射等量生理盐水。腹腔注射体积为 0.01 mL/g。

1.4.3 Morris 水迷宫实验

根据文献^[10],采用 Morris 水迷宫实验测定小鼠空间学习和记忆能力。实验在给药的第 17 天进行,历时 6 天,分为定位航行实验和空间搜索实验两部分。(1)定位航行实验:实验开始前,让小鼠自由游泳 2 min 以适应周围环境。正式实验时,每天训练 4

次,每次从不同的入水点将小鼠面向池壁放入水池,仪器自动记录从入水到找到水下隐蔽平台并立于其上所需时间即逃避潜伏期。如果小鼠在 60 s 内未找到平台,由实验者将其引至平台上停留 10 s,逃避潜伏期记为 60 s。记录每天各组 4 次寻找平台的潜伏期,以 4 次的平均值作为当天寻找平台的潜伏期,此项用于检测动物的学习能力。(2)空间搜索实验:第 6 天撤除平台进行空间搜索实验,用于测量记忆保持能力。任选一个入水点将小鼠放入水中,记录 60 s 内小鼠的游泳轨迹并进行分析。计算小鼠停留在目标象限停留时间的百分比及穿越原平台的次数。

1.4.4 生化指标测定

行为学实验结束后,每组取 4 只,断头处死小鼠,迅速取出脑组织(分离海马和皮质),称重,用冰冷的生理盐水洗净,然后加入 9 倍体积的冰冷生理盐水制成 10% 的脑组织匀浆,用低温离心机 3 500 rpm 离心 10 min,取上清液,按照试剂盒的方法测定其中的 SOD、MDA、GSH-PX 等氧化应激相关指标,测定 AChE 活性及 ACh 含量等胆碱能系统相关指标^[11]。

1.4.5 Western blot 检测海马和皮质 ERK-CREB-BDNF 信号通路相关蛋白的表达

行为学实验结束后,每组取 4 只,断头处死小鼠,迅速取出脑组织,冰上分离海马和皮质,液氮保存。海马和皮质加适量 RIPA 裂解液冰上裂解 15 min,12 000 rpm 离心 15 min,取上清,利用 BCA 法测定总蛋白浓度。用 10% SDS-PAGE 分离蛋白样品,并转移到 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂奶粉的 TTBS 封闭膜 1 h,加入一抗(BDNF(稀释 1:1 500), CREB(稀释 1:800), p-CREB(稀释 1:5 000), ERK(稀释 1:2 000), p-ERK(稀释 1:2 000), β -actin(稀释 1:1 500), 4 °C, 过夜。次日,以 TTBS 洗膜 3 次,再加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h 后 TTBS 洗膜,化学发光法检测蛋白条带,用 Band-Scan 5.0 软件进行分析。

1.4.6 数据处理与统计

实验结果均采用 SPSS 20.0 软件进行分析,数据均以表示。采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 Morris 水迷宫实验结果

2.1.1 定位航行结果

各组小鼠找到平台的逃避潜伏期如图 1 所示,随着训练天数的增加,各组小鼠的逃避潜伏期均呈减少的趋势。训练第 1 天,各组小鼠的逃避潜伏期无显著性差异。第 2~5 天,与正常组相比,模型组小鼠的逃避潜伏期明显延长($P < 0.01$),这说明东莨菪碱致记忆障碍模型成功建立;与模型组相比,NHE 低、高剂量组的小鼠逃避潜伏期极显著缩短($P < 0.01$),尤其是高剂量组;同样地,阳性对照组小鼠的逃避潜伏期在第 2 天时显著小于模型组($P < 0.05$),第 3~5 天的训练中极显著小于模型组($P < 0.01$)。

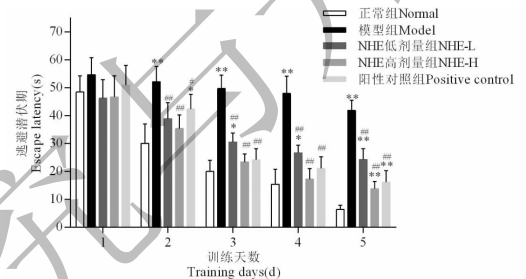


图 1 定位航行实验中各组小鼠的逃避潜伏期 ($n=8$)

Fig. 1 Escape latency of each group of mice in the navigational experiment ($n=8$)

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组比较。

Note: compared with the normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

2.1.2 空间探索结果

第 6 天撤去平台,让小鼠进行 60 s 的空间探索。如图 2A 和 2B 所示,与正常组相比,模型组小鼠的穿越平台次数和在目标象限停留时间百分比明显减少($P < 0.01$);与模型组相比,NHE 低、高剂量组和阳性对照组穿越平台的次数和目标象限停留的时间百分比明显增多($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。而 Morris 水迷宫实验轨迹类型主要分为 4 种:趋向型、直线型、随机型、边缘型^[12]。小鼠的游泳轨迹如图 2C 所示,正常组以趋向型和直线型为主,表现为有目的搜索;模型组以边缘型为主,表现为无目的搜索;NHE 低、高剂量组和阳性对照组改善了小鼠的游泳模式,尤其是高剂量组,趋向型轨迹增多。

2.2 NHE 对小鼠脑组织 SOD、GSH-PX 活力及 MDA 含量的影响

由表 1 可知,与正常组相比,模型组小鼠海马和皮质的 SOD、GSH-PX 活力均极显著降低($P < 0.01$),

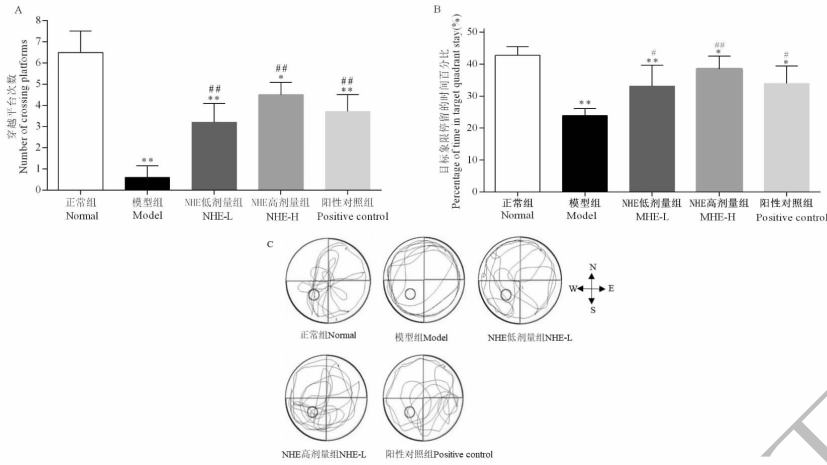


图 2 空间探索实验中各组小鼠的记忆保持能力 (n = 8)

Fig. 2 Memory retention ability of each group of mice in the space exploration experiment (n = 8)

注: * P < 0.05, ** P < 0.01, 与正常组比较; # P < 0.05, ### P < 0.01, 与模型组比较。

Note: compared with the normal group, * P < 0.05, ** P < 0.01; compared with the model group, # P < 0.05, ### P < 0.01.

MDA 含量极显著升高 (P < 0.01); 与模型组相比, NHE 低剂量组小鼠的海马和皮质的 MDA 含量极显著 (P < 0.01) 减少, 而 SOD 和 GSH-PX 活力的影响则无显著性差异; 与模型组相比, NHE 高剂量组小鼠的海马和皮质中 SOD 和 GSH-PX 活力显著升高 (P < 0.01, P < 0.05), MDA 含量极显著降低 (P <

0.01); 与模型组相比, 阳性对照组的小鼠皮质中 SOD 活力显著升高 (P < 0.05), GSH-PX 活力极显著升高 (P < 0.01), 海马中 SOD 和 GSH-PX 的活力有所提高但无显著性差异 (P > 0.05), 而海马和皮质中的 MDA 含量均极显著减少 (P < 0.01)。

表 1 NHE 对小鼠脑组织 SOD、GSH-PX 活力及 MDA 含量的影响 (n = 4)

Table 1 Effect of NHE on SOD, GSH-PX activity and MDA content in brain tissue of mice (n = 4)

组别 Group	SOD 活力 SOD activity (U/mgprot)		GSH-PX 活力 GSH-PX activity (U/mgprot)		MDA 含量 MDA content (nmol/mgprot)	
	海马 Hippocampus	皮层 Cerebral cortex	海马 Hippocampus	皮层 Cerebral cortex	海马 Hippocampus	皮层 Cerebral cortex
	正常组 Normal	109.80 ± 2.35	118.35 ± 6.35	79.02 ± 3.36	86.18 ± 2.23	3.16 ± 0.15
模型组 Model	76.83 ± 4.17**	90.52 ± 4.69**	62.09 ± 2.07**	70.35 ± 3.49**	5.06 ± 0.22**	4.87 ± 0.26**
NHE 低剂量组 NHE-L	83.90 ± 5.18	104.41 ± 5.64	64.62 ± 2.68	70.55 ± 5.33	3.18 ± 0.30###	3.53 ± 0.33###
NHE 高剂量组 NHE-H	102.45 ± 4.94###	112.60 ± 2.71###	73.71 ± 2.74###	78.47 ± 3.54#	3.00 ± 0.15###	2.87 ± 0.27###
阳性对照组 Positive control	85.60 ± 3.38	108.17 ± 8.43#	66.19 ± 6.22	82.16 ± 2.41###	3.31 ± 0.43###	3.48 ± 0.35###

注: * P < 0.05, ** P < 0.01, 与正常组比较; # P < 0.05, ### P < 0.01, 与模型组比较。

Note: Compared with the normal group, * P < 0.05, ** P < 0.01; compared with the model group, # P < 0.05, ### P < 0.01.

2.3 NHE 对小鼠脑组织 ACh 和 AChE 的影响

如图 3A 和 3B 所示, 与正常组相比, 模型组小鼠海马和皮质的 ACh 含量极显著减少 (P < 0.01), AChE 活性极显著增加 (P < 0.01); 与模型组相比, NHE 低、高剂量组小鼠的海马和皮质 ACh 含量均极显著增加, AChE 活性极显著降低 (P < 0.01); 与模型组相比, 阳性对照组小鼠的海马和皮质的 ACh 含量明显增加 (P < 0.01, P < 0.05), AChE 活性极显著

降低 (P < 0.01)。

2.4 NHE 对小鼠脑组织 ERK-CREB-BDNF 信号通路的影响

为了进一步阐明 NHE 保护东莨菪碱诱导的记忆障碍的作用机制, 本研究探究了 NHE 对 BDNF、p-ERK 和 p-CREB 表达的影响 (图 4)。如图 5C 所示, 东莨菪碱明显降低了大脑海马和皮层中的 BDNF 蛋白的表达水平 (P < 0.01)。同时, 低剂量的 NHE

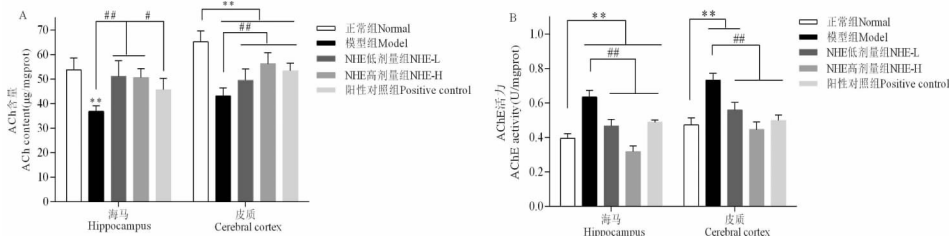


图3 NHE 对小鼠脑组织 ACh 和 AChE 的影响 (n = 4)

Fig. 3 Effect of NHE on ACh and AChE in mouse brain tissue (n = 4)

注: * P < 0.05, ** P < 0.01, 与正常组比较; # P < 0.05, ## P < 0.01, 与模型组比较。

Note: Compared with the normal group, * P < 0.05, ** P < 0.01; compared with the model group, # P < 0.05, ## P < 0.01.

(200 mg/kg) 和石杉碱甲 (0.2 mg/kg) 可以预防东莨菪碱诱导的 BDNF 蛋白表达水平的降低 (P < 0.01)。此外,如图 5A 和 5B 所示,对 ERK 和 CREB

的磷酸化水平进行测定发现,低剂量的 NHE (200 mg/kg) 和石杉碱甲恢复了大脑海马和皮层中东莨菪碱引起的 ERK 和 CREB 磷酸化减少。

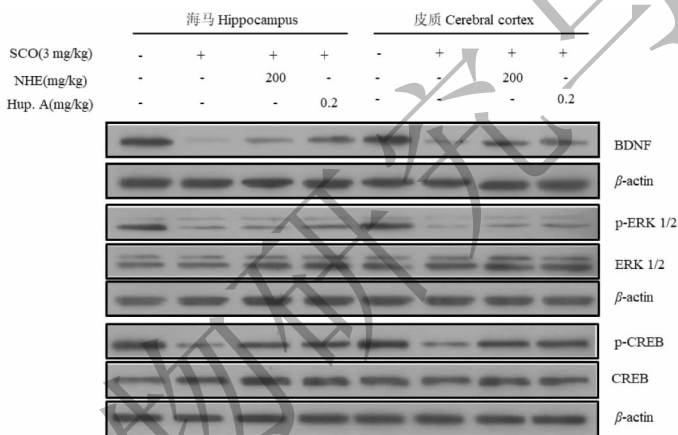


图4 免疫印迹实验检测小鼠脑组织 ERK-CREB-BDNF 信号通路的蛋白表达

Fig. 4 The protein expression of ERK-CREB-BDNF signaling pathway in mouse brain tissue by Western blot

3 讨论

研究证实 AD 的病理学特征主要为:受影响的脑区产生广泛的氧化应激、胆碱功能障碍、淀粉样斑块、神经元纤维缠结以及神经元的丢失等,尤其是在与学习和记忆密切相关的大脑海马和前额叶皮质^[13],但是具体发病机制至今尚未十分清楚。为了寻求有效的防治手段,研究者从影响 AD 认知缺陷的不同机制出发,开发了各种体内外实验模型。其中,东莨菪碱诱导的记忆障碍动物模型,因其简单、经济、方便等优点,常用于防治 AD 活性化合物的初步筛选^[14]。东莨菪碱是一种毒蕈碱受体拮抗剂,可以透过血脑屏障阻断中枢乙酰胆碱与其受体的结合,造成胆碱能神经信号传递障碍,从而干扰动物和人类的记忆,特别是学习获得和短期记忆的过程。研究证实,东莨菪碱能够影响动物的行为学、大脑的氧化

应激状态和神经化学变化等多方面^[15]。本研究采用腹腔注射东莨菪碱造模,通过 Morris 水迷宫实验检测小鼠的学习记忆能力。结果显示,与正常组比较,模型组小鼠逃避潜伏期明显延长,穿越平台次数和目标象限停留时间百分比显著减少,游泳轨迹以边缘型为主,说明记忆力障碍模型造模成功;与模型组比较,低剂量(200 mg/kg)的 NHE 即可逆转东莨菪碱对小鼠造成的记忆缺陷,具体表现在逃避潜伏期显著缩短,穿越平台次数和目标象限停留时间百分比显著增加,改善了小鼠的游泳模式。

广泛的氧化应激是 AD 患者脑内的主要特征^[16]。大脑主要由脂质组成,且具有较高的耗氧率,使得其容易受到活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)的攻击^[17]。MDA 是机体内的一种重要的脂质过氧化物产物,其含量的高低反映机体的

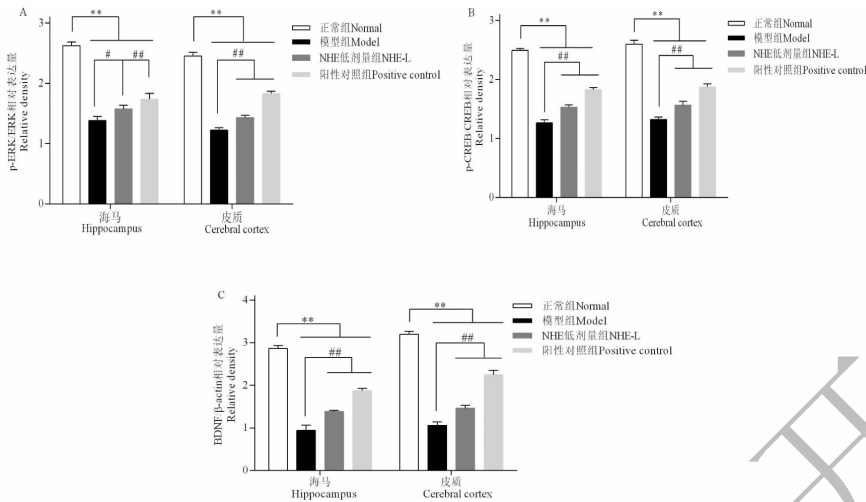


图5 NHE对小鼠脑组织ERK-CREB-BDNF信号通路的影响($n=4$)

Fig. 5 Effect of NHE on ERK-CREB-BDNF signaling pathway in mouse brain tissue ($n=4$)

注:(A) p-ERK蛋白的相对表达量;(B) p-CREB蛋白的相对表达量;(C) BDNF蛋白相对表达量; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,与正常组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$,与模型组比较。

Note: (A) relative expression of p-ERK protein; (B) relative expression of p-CREB protein; (C) relative expression of BDNF protein; compared with the normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

氧化应激水平。而SOD和GSH-Px等超氧化物酶能够有效清除体内的ROS,其活性的高低能反映机体清除自由基的能力。MDA水平和SOD、GSH-Px活性可以综合评价体内的氧化应激水平。本研究结果表明,与模型组比较,NHE的干预,提高了小鼠海马和皮质的SOD、GSH-PX活性,降低了MDA含量,这提示NHE可能通过缓解脑内的氧化应激来改善东莨菪碱引起的记忆力障碍。

胆碱能系统的异常与记忆障碍有关。AD患者脑内乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)的减少被认为是认知和记忆功能损伤的直接原因。ACh是人脑内的一种重要的神经递质,能调节认知功能和学习记忆过程。ACh能被AChE迅速分解,通过抑制AChE可以增加突触间隙中的ACh,从而改善认知功能。乙酰胆碱酯酶抑制剂依然是现阶段最有效的治疗手段。本研究结果表明,与模型组比较,NHE可以使东莨菪碱诱导的记忆障碍模型小鼠海马和皮层中ACh含量增多,AChE活性降低。这提示,NHE可能通过抑制AChE的活性,减少ACh水解,维持胆碱能系统的功能。

ERK-CREB-BDNF信号通路的激活与提高学习记忆能力有关^[3]。AD患者脑内和血清中BDNF的含量减少,并且不同病程阶段有所差别,与痴呆的严重程度相关^[18],可以作为AD的诊断指标之一。研

究表明,天然产物则可以通过间接调节BDNF水平起到改善认知的作用,如蓝莓提取物^[19],文冠果提取物^[20]等。环磷腺苷反应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)是一种转录因子,在BDNF转录调节中发挥重要作用,但是磷酸化的CREB才能激活下游基因的表达,而CREB的激活依赖于细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路^[21]。因此,ERK-CREB-BDNF信号通路的激活可以改善认知障碍。本研究结果显示,东莨菪碱造成小鼠海马和皮质中BDNF含量减少,ERK和CREB的磷酸化减少。而NHE(200 mg/kg)的干预减轻了东莨菪碱的损伤,使得ERK和CREB的磷酸化增加,BDNF的表达增多。这些结果表明,NHE的记忆增强作用可能是由大海马和皮质中ERK-CREB-BDNF信号通路的激活所介导的。

综上所述,NHE可以提高东莨菪碱诱导的记忆障碍小鼠的学习记忆能力,且200 mg/kg的剂量就能起相应的作用,具体机制可能涉及缓解大脑的氧化应激损伤,平衡胆碱能系统,激活ERK-CREB-BDNF信号通路。但是,NHE只是一个粗提物组分,含有 309.73 ± 4.42 mg GAE/g的酚类化合物,其他的成分可能是多糖、生物碱、皂苷^[7]等,而发挥关键作用的化合物还需进一步研究。

参考文献

- Selkoe DJ, Hardy J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8:595-608.
- Budni J, Bellettini-Santos T, Mina F, et al. The involvement of BDNF, NGF and GDNF in aging and Alzheimer's disease[J]. *Aging Dis*, 2015, 6:331-341.
- Min YU, Dong WL, Son HJ, et al. Phlorotannin-rich fraction from *Ishige foliacea*, brown seaweed prevents the scopolamine-induced memory impairment via regulation of ERK-CREB-BDNF pathway[J]. *J Fun Foods*, 2018, 40:110-116.
- Jin JH, Zhang WM. Acute and chronic toxicity of *Nymphaea hybrida*[J]. *Chin Wild Plant Res (中国野生植物资源)*, 2015, 34(1):5-9.
- Shen JF, Che L, Hu XM, et al. Comparison of antioxidant activity from *Nymphaea Hybrid* of different color[J]. *J Chin Ins Food Sci Tech(中国食品学报)*, 2013, 13:214-218.
- Jiang HF, Shi BJ, Zhao BT, et al. Separation and preparation of naringenin from *Nymphaea hybrid* by high-speed counter-current chromatography[J]. *Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源)*, 2012, 31(6):40-43.
- Dong LQ. Study on the Regulation of lipid metabolism by *Nymphaea hybrid* extracts[D]. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学), 2017.
- Zhang N, Hu Z, Zhang Z, et al. Protective role of naringenin against $A\beta_{25-35}$ -caused damage via ER and PI3K/Akt-Mediated pathways[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 1:1-9.
- Youn K, Lee S, Jeong WS, et al. Protective role of corilagin on $A\beta_{25-35}$ -induced neurotoxicity: Suppression of NF- κ B signaling pathway[J]. *J Med Food*, 2016, 19:901-911.
- Li XX, Wu XL, Jia SL, et al. Effect of chitosan oligosaccharide on learning and memory functions and serum antioxidant status in a rat model of Amyloid- β_{1-42} -induced Alzheimer's disease[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2017, 38:220-225.
- Wu XL, Li XX, Jia SL, et al. Protective effect and mechanism of fisetin on $A\beta_{42}$ -induced rat model of Alzheimer's disease[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2016, 28:2011-2016.
- Peng YR, Zhong FX, Yang B, et al. Effect of royal jelly on learning and memory performance of aged rats[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2011, 32:269-272.
- Ishola IO, Tota S, Adeyemi OO, et al. Protective effect of *cnestis ferruginea* and its active constituent on scopolamine-induced memory impairment in mice: a behavioral and biochemical study[J]. *Pharm Biol*, 2013, 51:825-835.
- Li J, Zhong ZL, Chu JR, et al. Effects of montelukast on learning memory and cholinergic system in model mice induced by scopolamine[J]. *Chin J Clin Pharm Thera(中国临床药理学与治疗学)*, 2014, 19:512-516.
- Haider S, Tabassum S, Perveen T. Scopolamine-induced greater alterations in neurochemical profile and increased oxidative stress demonstrated a better model of dementia: A comparative study[J]. *Brain Res Bull*, 2016, 127:234-247.
- Cheignon C, Tomas M, Bonnefontrousselot D, et al. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease[J]. *Redox Biol*, 2018, 14:450-464.
- Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease[J]. *Biomed Rep*, 2016, 4:519-522.
- Qin XY, Cao C, Cawley NX, et al. Decreased peripheral brain-derived neurotrophic factor levels in Alzheimer's disease: a meta-analysis study(N = 7277)[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22:312-320.
- Tan L, Yang H, Pang W, et al. Investigation on the Role of BDNF in the benefits of Blueberry Extracts for the improvement of learning and memory in Alzheimer's disease mouse model[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 56:629-640.
- Li Y, Xu J, Xu P, et al. *Xanthoceras sorbifolia* extracts ameliorate dendritic spine deficiency and cognitive decline via upregulation of BDNF expression in a rat model of Alzheimer's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 629:208-214.
- Zhang R, Xia ZM, Sun XY, et al. Role of ERK/CREB signal pathway in promotion of BDNF expression in $A\beta$ intoxicated SH-SY5Y cells by smilagenin[J]. *J Shanghai Jiao Tong Univ: Med Sci(上海交通大学学报:医学版)*, 2016, 36:642-647.
- Deng HD, Mei WL, Zuo WJ, et al. Antibacterial Components from Peels of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels[J]. *J Trop and Subt Bot(热带亚热带植物学报)*, 2014, 22:195-200.
- Zuck, Karina, Tawnya, et al. Siamenol, a new carbazole alkaloid from *Murraya siamensis*[J]. *J Nat Prod*, 2000, 63:427-428.
- He ZM, Bai B, Wang H, et al. The antitumour and antiviral activity of total flavonoids from *Senecio scandens* in vitro[J]. *Chin Tradit Pat Med(中成药)*, 2010, 32:2045-2047.

(上接第 272 页)

- Benavides A, Peralta J, Delgado F, et al. Total synthesis of the natural carbazoles murrayanine and murrayafoline A, based on the regioselective diels-alder addition of exo-2-oxazolidinone dienes[J]. *Synthesis*, 2005, 36:2499-2504.
- M Mukhlesur Rahman, Alexander I Gray A. benzoisofuranone derivative and carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* and their antimicrobial activity[J]. *Phyto Chem*, 2005, 66:1601-1606.