

## 金花小檗提取物及组分对小鼠学习记忆能力及抗氧化能力的影响

王雪力<sup>1</sup>, 刘刚<sup>1,2\*</sup>, 夏伟<sup>3</sup>, 邓钱江<sup>1</sup>, 赵甲元<sup>1</sup>, 李学理<sup>1</sup>, 张晓瑜<sup>1,2</sup>, 杜娟<sup>4</sup>, 汪淑芳<sup>1,2</sup>

1. 四川师范大学生命科学学院, 四川 成都 610101
2. 四川师范大学食品功能及加工应用研究所, 四川 成都 610101
3. 四川省医学科学院·四川省人民医院, 四川 成都 610072
4. 四川师范大学地理与资源科学学院, 四川 成都 610101

**摘要:** 目的 测定金花小檗根、茎和叶及根、茎提取物的总生物碱及其组分含量, 研究根、茎提取物及组分对小鼠学习记忆能力和抗氧化能力的改善作用。方法 采用酸性染料比色法测定金花小檗根、茎、叶和根、茎提取物及组分的总生物碱含量, 以 HPLC 法同时测定药根碱、巴马汀和小檗碱的含量。用东莨菪碱制备记忆障碍小鼠模型, 给不同剂量的金花小檗根、茎提取物及组分 30 d, 以跳台实验和水迷宫实验检测根、茎提取物及组分对小鼠学习记忆的影响, 测定血清丙二醛 (MDA) 和总超氧化物歧化酶 (T-SOD)。结果 金花小檗提取物及水溶性组分显著延长小鼠跳台实验的潜伏期 ( $P < 0.01$ ), 显著减少错误次数 ( $P < 0.01$ ); 在一定程度上, 缩短水迷宫的定位航行时间 ( $P < 0.01$ ), 并显著减少错误次数 ( $P < 0.05$ )。根、茎提取物和水溶性组分能显著提高小鼠体内 T-SOD 活性 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 而显著降低 MDA 水平 ( $P < 0.05, 0.01$ )。结论 金花小檗根、茎提取物及水溶性组分对小鼠的学习记忆能力有一定的改善作用, 对其体内抗氧化能力也有提高。

**关键词:** 金花小檗; 学习记忆; 抗氧化活性; 药根碱; 巴马汀; 小檗碱

中图分类号: R284, R285.51 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)02-0428-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.023

## Effect of extract and components of *Berberis wilsonae* on improving ability of learning memory and anti-oxidant in mice

WANG Xue-li<sup>1</sup>, LIU Gang<sup>1,2</sup>, XIA Wei<sup>3</sup>, DENG Qian-jiang<sup>1</sup>, ZHAO Jia-yuan<sup>1</sup>, LI Xue-li<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-yu<sup>1,2</sup>, DU Juan<sup>4</sup>, WANG Shu-fang<sup>1,2</sup>

1. College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China
2. Institute of Food Function and Application Research, Chengdu 610101, China
3. Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China
4. College of Geography and Resource Science, Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China

**Abstract: Objective** To determine the content of total alkaloids and their components in roots, stems, and leaves of *Berberis wilsonae*, and investigate the effects of their extracts and components on the improvement of learning and memory ability and anti-oxidant activity of mice. **Methods** In this study, the total alkaloid content of roots, stems, leaves, and roots, stem extracts and components of *B. wilsonae* was determined by acid dye colorimetry. The HPLC method and conditions were established for determination jateorrhizine, palmatine, and berberine. The memory impairment mice model was established with scopolamine, and the root and stem extracts and components of *B. wilsonae* were ig administrated for 30 d. Jumping platform test and water maze test were used to detect the effect of roots and stem extracts and components on learning and memory, and the levels of MDA and T-SOD in serum was determined by kit method. **Results** The results showed that the latency of the mice in step-down test was significantly prolonged ( $P < 0.01$ ), and the reduction of the number of errors was also significant ( $P < 0.01$ ). To a certain extent, the place navigation time in water maze was shortened ( $P < 0.01$ ), and the number of errors was reduced significantly ( $P < 0.05$ ). Extracts and components can significantly increase the level of T-SOD ( $P < 0.05, 0.01$ ) in mice, and reduce the level of MDA significantly ( $P < 0.05, 0.01$ ). **Conclusion** The extracts and components of *B. wilsonae* had a certain effect on the improvement of learning and memory ability

收稿日期: 2018-08-22

基金项目: 四川省教育厅重点项目 (17ZA0328); 西昌市教育和科学技术局 2014 年产研学合作项目; 四川省教育厅项目 (17ZB0353)

作者简介: 王雪力 (1994—), 女, 四川广安市人, 硕士研究生, 研究方向为微生物学、植物学等。E-mail: 1826700067@qq.com

\*通信作者 刘刚 (1968—), 男, 四川崇州市人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事植物资源的开发与研究。E-mail: rh682@sohu.com

of mice, and the anti-oxidant capacity *in vivo* was also improved.

**Key words:** *Berberis wilsonae* Hemsl.; learning memory; antioxidant activity; jateorhizine; palmatine; berberine

金花小檗 *Berberis wilsonae* Hemsl. 是小檗科 (Berberidaceae) 小檗属 *Berberis* Linn. 植物, 为半常绿小灌木<sup>[1]</sup>, 为中国特有的一种集观花、果、赏叶和药用于一体的植物, 主要分布在我国西北、西南地区<sup>[2-3]</sup>, 其茎上多生三叉状针刺, 又被称为“三颗针”。小檗属植物主要含有多种生物碱, 生物碱是植物次生代谢产物的一种, 是一种重要的活性物质, 具有很强的生物活性。传统中药主要应用其抗炎<sup>[4]</sup>、抗菌、抗病原微生物<sup>[5]</sup>、降血压<sup>[6-7]</sup>、降血糖<sup>[8]</sup>、调血脂<sup>[9]</sup>、抗心律失常<sup>[10]</sup>、抗肿瘤、抗癌<sup>[11]</sup>和抗老年痴呆<sup>[12]</sup>等功能。近年来研究发现小檗属植物提取物抗氧化功能强, Ahmed 等<sup>[13]</sup>研究发现, 金花小檗提取物能有效地清除超氧离子, 其机制可能是一种不可逆化学反应, Albrecht 等<sup>[14]</sup>研究发现, 刺檗 *Berberis vulgaris* L. 果实的提取物能减少活性氧 (ROS) 浓度, 具有强抗氧化能力。氧化应激水平与学习记忆功能相关, 清除体内多余自由基, 能保护氧化对脑组织损伤, 能对学习记忆功能进行显著的改善<sup>[15]</sup>。小檗属植物的成分丰富、作用靶点多、功能多样, 其中的小檗碱除了传统抗菌消炎功能外, 近年来研究发现, 小檗碱对神经系统<sup>[16]</sup>及糖尿病靶点均有作用<sup>[17]</sup>。

本研究以金花小檗为材料, 利用酸性染料比色法对金花小檗总生物碱含量进行测定, 然后建立 HPLC 法测定金花小檗的生物碱组分<sup>[18]</sup>, 进一步研究金花小檗提取物及组分对小鼠学习记忆能力的改善作用, 并测定了小鼠血清中丙二醛 (MDA) 和血清总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活性, 从而考察金花小檗提取物及组分对东莨菪碱导致的小鼠记忆障碍模型体内抗氧化能力的影响, 为金花小檗的进一步开发及利用提供理论依据。

## 1 材料

金花小檗样品采于四川省西昌市冕宁县, 经西昌学院罗强教授鉴定为金花小檗 *Berberis wilsonae* Hemsl., 样品采集后将根、茎和叶分开, 分别阴干, 粉碎过 4 号筛, 备用。昆明小鼠, 体质量 (20±3) g, 成都达硕实验动物有限公司, 许可证号 SCXK (川) 2015-030。东莨菪碱对照品 (质量分数 >98%, 批号 MUST-13092312)、小檗碱对照品 (质量分数 ≥98%, 批号 16062404)、药根碱对照品 (质量分数 ≥98%,

批号 160405)、巴马汀对照品 (质量分数 ≥98%, 批号 110732-201108), 成都普菲德生物技术有限公司; MDA、T-SOD 试剂盒, 南京建成生物工程研究所; 其余化学试剂均为分析纯。SDT-8 型跳台视频分析系统, 成都泰盟软件有限公司; ZH0065 Morris 水迷宫, 安徽正华生物仪器设备有限公司; ESJ220-4B 型天平, 沈阳龙腾电子有限公司; Agilent1200 高效液相色谱仪, 安捷伦科技有限公司。

## 2 方法

### 2.1 受试样品的制备

**2.1.1 金花小檗根、茎和叶样品的处理** 分别精确称取干燥样品 1.00 g, 置于圆底烧瓶中, 准确加入 90% 甲醇 40 mL, 称取全质量, 回流提取 40 min, 自然冷却, 再称质量, 90% 甲醇补足损失的质量, 混合均匀, 用滤纸将提取液滤过, 收集滤液。再用 0.45 μm 滤膜滤过, 然后精密量取滤液 1.0 mL, 置于 25 mL 量瓶, 用 90% 甲醇定容, 摇匀, 得待测样品溶液, 冷藏, 备用。

**2.1.2 金花小檗根、茎提取物的制备** 各称取 300 g 金花小檗的根、茎样品, 按 1:10 的料液比加 3 L 95% 乙醇, 回流提取 3 次, 每次 1 h, 合并 3 次提取液, 减压浓缩, 各加等体积正丁醇萃取 3 次, 萃取液合并, 减压浓缩, 得到根的浸膏 24.22 g 和茎的浸膏 12.39 g。

**2.1.3 金花小檗根、茎提取组分的制备** 取“2.1.2”项制备的根、茎浸膏, 用 200 mL 水分散浸膏, 再分别依次使用等体积石油醚、醋酸乙酯、正丁醇和水萃取, 分别减压浓缩, 得到各组分。

### 2.2 各受试样品中总生物碱及小檗碱、药根碱和巴马汀的定量测定

参照李路扬等<sup>[19]</sup>报道, 采用酸性染料比色法测定总生物碱, HPLC 法检测小檗碱、药根碱和巴马汀的含量。测定总生物碱的检测波长 345 nm, 以小檗碱对照品质量浓度为横坐标 (X), 吸光度 (A) 值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得到线性方程  $Y = 0.0013X + 0.0662$  ( $r^2 = 0.9995$ ), 小檗碱在 20~120 μg/mL 线性关系良好。

HPLC 测定色谱条件: 色谱柱 Platisil C<sub>18</sub> ODS (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A) - 水 (B, 含 0.01 mol/L 磷酸二氢铵, 磷酸调 pH 值至

2.8), 柱温 25 °C, 体积流量 0.8 mL/min, 进样量 10  $\mu$ L, 梯度洗脱条件: 0~8 min, 15%~25% A; 8~15 min, 25%~35% A; 15~20 min, 35%~65% A; 20~25 min, 65%~80% A。对照品用甲醇溶解, 二倍稀释法稀释, 每个质量浓度的样品进样 10  $\mu$ L, 重复测定 3 次。以对照品的质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 峰面积积分值为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线, 得到回归方程药根碱  $Y=59.077 X-7.696 9 (r^2=0.999 6)$ , 1.875~60.000  $\mu$ g/mL; 巴马汀  $Y=43.572 X-18.884 (r^2=0.999 9)$ , 线性范围 31~65  $\mu$ g/mL; 小檗碱  $Y=15.786 X-9.089 7 (r^2=0.999 9)$ , 线性范围 1.95~62.50  $\mu$ g/mL。

### 2.3 金花小檗提取物及组分对小鼠学习记忆能力及抗氧化能力的影响

**2.3.1 分组及给药**<sup>[20]</sup> 选用雄性昆明小鼠, 饲养期间保证温度 (23 $\pm$ 2) °C、自由饮水与进食, 控制每天 12 h 循环的光照/黑暗, 早上 8:00 时停止光照。小鼠先适应性喂养 3 d, 再按体质量随机分成 10 组, 每组 12 只。分别为对照组、模型组、金花小檗根提取物 (1 000、500、250 mg/kg, 均以生药计, 以下同) 组、金花小檗茎提取物 (1 000、500、250 mg/kg) 组、金花小檗茎水溶性组分 (1 000 mg/kg) 组、金花小檗根水溶性组分 (1 000 mg/kg) 组。在第 1 次给药前进行首次称体质量, 各组均 ig 给药, 期间每 3 天称体质量 1 次, 各组均给药 30 d。给药结束后先进行跳台实验及水迷宫实验, 再进行小鼠眼球取血, 测定其血清的 MDA 和 T-SOD 水平。

**2.3.2 跳台实验**<sup>[21]</sup> 在正式实验前 1 d, 小鼠 ig 给药 30 min 后, 分别放入电击室, 用 100  $\mu$ A 电流电击训练 5 min, 使小鼠产生电刺激记忆, 剔除对电刺激不敏感的个体。次日进行正式实验, 小鼠给药 10 min 后, 再根据小鼠体质量按 0.1 mL/g 的剂量, ig 适量的 30% 乙醇, 造成记忆再现缺失<sup>[22]</sup>, 过 30 min 将小鼠放在跳台上, 记录小鼠第 1 次跳下跳台的时间, 即为潜伏期, 同时, 记录 5 min 内小鼠受到电击的总次数, 即为错误次数。

**2.3.3 水迷宫实验**<sup>[21]</sup> 正式实验前 2 d, 将小鼠分别放入水迷宫中进行适应性游泳, 剔除不游泳的个体。正式实验总耗时 5 d, 前 4 d 为定位航行测定。第 1 天给药 1 h 后, 对照组 ip 生理盐水, 其余组均按 10 mL/kg, ip 3 mg/kg 东莨菪碱<sup>[23]</sup>, 造成获得性记忆障碍模型<sup>[22]</sup>, 过 20 min 将小鼠放入水迷宫, 自由游泳, 记录 60 s 内找到平台花费的时间, 即为潜

伏期。如果 60 s 内, 小鼠没找到平台, 经人工引导, 小鼠游至平台, 记录为 60 s 潜伏期。第 1~4 天, 分别记录小鼠的游泳总路程、潜伏期、目标象限时间百分比和平均速度。第 5 天进行空间探索实验, 先将水迷宫中的平台撤除, 分别让小鼠从原来平台象限对面的象限入水, 记录其进入原平台位置象限的时间和穿越的次数。

**2.3.4 血清 MDA 和 T-SOD 水平检测** 水迷宫实验后, 眼球取血 2 mL, 静置 30 min, 4 °C 低温 4 000 r/min 离心 10 min, 收集血清 150  $\mu$ L, 立即放入 -20 °C 冰箱, 保存备用。按试剂盒的操作说明, 检测血清 MDA 和 T-SOD 水平<sup>[24]</sup>。

### 2.4 统计学分析

用 SPSS 18.0 软件进行方差分析, 组间比较用 LSD 法, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 金花小檗总生物碱及其组分的定量分析

采用酸性染料比色法测定各样品的总生物碱含量, 结果金花小檗根中含总生物碱 5.82%, 茎中含总生物碱 4.90%, 叶中含总生物碱 1.90%。可见, 金花小檗根中总生物碱含量最高, 叶中最低。本实验测得的金花小檗根的总生物碱含量与本属其他植物的含量基本一致<sup>[25]</sup>。

用本实验室建立的 HPLC 法检测金花小檗各样品中小檗碱、巴马汀和药根碱的含量, 色谱图见图 1。金花小檗根、茎样品所含的小檗碱、巴马汀和药根碱差别不大, 只是茎的色谱峰数量比根的多, 推测与茎的化合物种类比根的化学成分多有关。与根和茎的生物碱成分比较, 叶的差别非常大, 结果表明叶几乎不含小檗碱、巴马汀和药根碱。3 种生物碱主要存在于金花小檗的根、茎中, 因此, 药效实验只考察根和茎的作用。

金花小檗根、茎及其提取物和各组分中的总生物碱及生物碱单体的测定结果见表 1。可见, 金花小檗根、茎样品中含总生物碱 4.90%~5.82%, 金花小檗根、茎提取物中含总生物碱 69.57%~72.09%, 各组分中含总生物碱 26.15%~79.82%。根、茎提取物中小檗碱的含量最高, 巴马汀的含量最低; 水提取组分的小檗碱含量最高, 巴马汀的含量最低; 正丁醇组分的药根碱含量较高, 小檗碱与巴马汀含量都较低而且无显著差异性; 茎的醋酸乙酯组分和石油醚组分中小檗碱含量较高, 药根碱与巴马汀含量较低, 但根的醋酸乙酯组分和石油醚组分中各成分

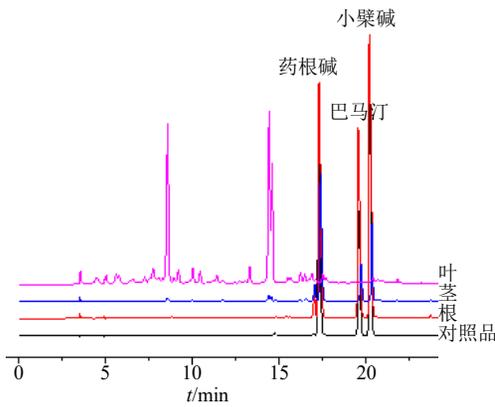


图 1 金花小檗叶、茎和根样品的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of root, stem, and leaf samples of *B. wilsonae*

含量均较低，其中小檗碱含量最高，药根碱与巴马汀的含量很低。因此，分别将根、茎水提取组分和正丁醇组分合并，即为水溶性组分，进行药效实验。

### 3.2 金花小檗根、茎提取物及其组分对小鼠体质量的影响

各组小鼠分别给药 30 d，各组小鼠体质量的变化情况见图 2。与对照组比较，各组小鼠第 1、10、19、30 天的 4 个阶段，体质量没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )，说明金花小檗的根、茎提取物及水溶性组分对小鼠的体质量无显著影响。

### 3.3 跳台实验的结果

跳台实验中记录得到的潜伏期越长、错误次数越少，说明小鼠的记忆能力越好。结果见表 2。与对

表 1 金花小檗各样品中总生物碱及生物碱单体定量结果 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Total alkaloids and alkaloids monomer in roots and stems of *B. wilsonae* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品	总生物碱/%	小檗碱/%	药根碱/%	巴马汀/%
根	5.820 ± 0.001	4.420 ± 0.002	0.730 ± 0.001	0.500 ± 0.002
根提取物	72.090 ± 0.001	54.720 ± 0.001	9.020 ± 0.001	6.190 ± 0.002
根水提取组分	55.190 ± 0.001	38.650 ± 0.001	7.690 ± 0.001	4.620 ± 0.001
根正丁醇组分	43.810 ± 0.001	10.000 ± 0.001	14.290 ± 0.001	10.950 ± 0.001
根醋酸乙酯组分	26.150 ± 0.001	7.690 ± 0.001	0.770 ± 0.001	0.770 ± 0.001
根石油醚组分	36.840 ± 0.001	14.030 ± 0.001	1.750 ± 0.001	1.750 ± 0.001
茎	4.900 ± 0.001	2.080 ± 0.001	0.480 ± 0.002	0.310 ± 0.001
茎提取物	69.570 ± 0.001	50.250 ± 0.002	11.560 ± 0.001	7.330 ± 0.002
茎水提取组分	79.820 ± 0.001	44.910 ± 0.001	18.950 ± 0.001	13.160 ± 0.001
茎正丁醇组分	63.410 ± 0.001	15.240 ± 0.001	25.000 ± 0.001	13.410 ± 0.001
茎醋酸乙酯组分	74.440 ± 0.001	50.000 ± 0.001	6.670 ± 0.001	6.670 ± 0.001
茎石油醚组分	65.520 ± 0.001	41.380 ± 0.001	6.900 ± 0.001	3.450 ± 0.001

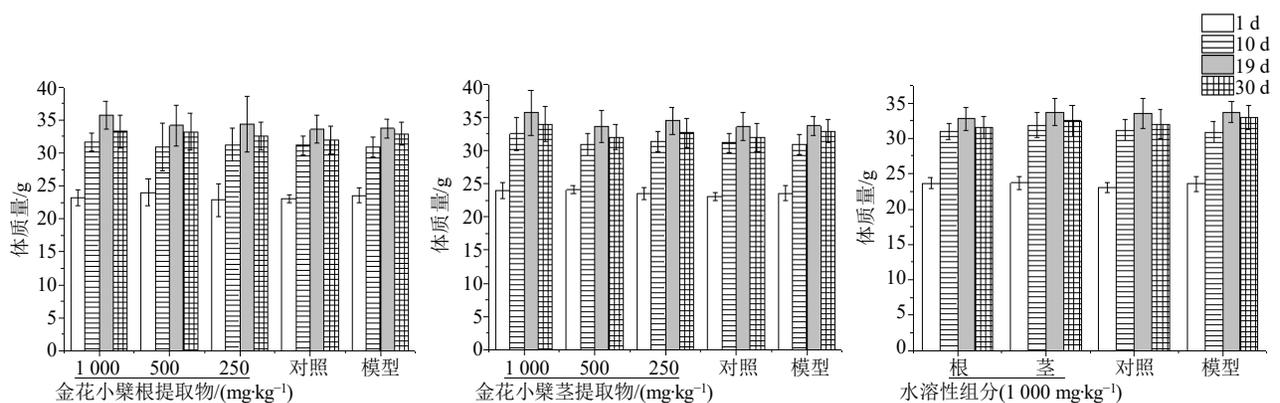


图 2 金花小檗根、茎提取物及其组分对小鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Fig. 2 Effect of root or stem extracts and components of *B. wilsonae* on weight in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

照组比较，模型组小鼠的潜伏期显著降低 ( $P < 0.01$ )，错误次数显著增加 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较，金花小檗根提取物高剂量组小鼠潜伏期显著增加 ( $P <$

0.01)，错误次数显著减少 ( $P < 0.05$ )；根提取物中剂量组潜伏期无明显差异，错误次数显著减少 ( $P < 0.05$ )；根提取物低剂量组潜伏期显著增加 ( $P <$

表 2 金花小檗根、茎提取物及组分对小鼠跳台实验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effect of root or stem extracts and components of *B. wilsonae* on mice in step-down test ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	潜伏期/s	错误次数
对照	—	300.00 ± 0.00	0.67 ± 0.32
模型	—	133.98 ± 6.23**	4.13 ± 0.35**
根提取物	1 000	274.54 ± 9.02##	1.67 ± 0.52#
	500	215.00 ± 11.68	1.33 ± 0.32#
	250	256.50 ± 9.46#	0.83 ± 0.32##
茎提取物	1 000	243.96 ± 7.10#	0.50 ± 0.08##
	500	191.94 ± 8.77	1.00 ± 0.12##
	250	221.14 ± 12.02	0.83 ± 0.21##
根水溶性组分	1 000	269.67 ± 9.30#	1.17 ± 0.28##
茎水溶性组分	1 000	213.32 ± 9.65	1.33 ± 0.11#

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

0.05), 错误次数显著减少 ( $P < 0.01$ ); 茎提取物高剂量组潜伏期显著增加 ( $P < 0.05$ ), 错误次数显著减少 ( $P < 0.01$ ); 茎提取物中剂量组潜伏期无显著差异, 错误次数显著减少 ( $P < 0.01$ ); 茎提取物低剂量组潜伏期无显著差异, 错误次数显著减少 ( $P < 0.01$ ); 根水溶性组分潜伏期显著增加 ( $P < 0.05$ ), 错误次数显著减少 ( $P < 0.01$ ); 茎水溶性组分潜伏期无显著差异, 错误次数显著减少 ( $P < 0.05$ )。同剂量下, 根提取物组的潜伏期大于茎提取物组; 根提取物高、中剂量组的错误次数高于茎提取物, 低剂量根、茎提取物组间的错误次数, 无显著差异。根水溶性组分组的潜伏期大于茎水溶性组分组, 根水溶性组分组的错误次

数略低于茎水溶性组分组。综上, 金花小檗提取物及其水溶性组分处理小鼠后, 其触电的潜伏期显著增加, 错误次数显著减少, 表明金花小檗各提取物给药后小鼠的学习记忆能力得到了提高。

### 3.4 水迷宫定位航行实验的结果

水迷宫定位航行实验中, 潜伏期越短, 总路程越短, 目标象限时间百分比和平均速度越大, 说明小鼠记忆能力越好。空间探索实验中, 进入原平台象限时间越短, 穿越平台的次数越多, 说明小鼠的记忆能力越好。按实验设计方案, 进行水迷宫定位航行试验, 结果见表 3。与对照组比较, 模型组小鼠穿越目标象限时间百分比显著减少 ( $P < 0.05$ ), 潜伏期显著增加 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 根提取物高剂量组穿越目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.01$ ), 潜伏期显著缩短 ( $P < 0.01$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.01$ ); 根提取物中剂量组穿越目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.01$ ), 潜伏期显著缩短 ( $P < 0.01$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.05$ ); 根提取物低剂量组穿越目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.05$ ), 潜伏期显著缩短 ( $P < 0.01$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.05$ ); 茎提取物高剂量组目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.01$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.01$ ); 茎提取物中剂量组目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.01$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.05$ ); 茎提取物低剂量组平均速度显著增加 ( $P < 0.01$ ); 根水溶性组分目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.05$ ); 茎水溶性组分目标象限百分比显著增加 ( $P < 0.05$ ), 平均速度显著增加 ( $P < 0.05$ )。茎提取物组潜伏期长于根提取物组, 其余 3 个指标无明显差异。根水溶性组分与茎水溶性组分组差异不显著。

表 3 金花小檗根、茎提取物及组分对小鼠水迷宫定位航行实验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Effect of root or stem extracts and components of *B. wilsonae* on navigation of mice in water maze test ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	总路程/cm	目标象限时间百分比/%	潜伏期/s	平均速度/(cm·s <sup>-1</sup> )
对照	—	492.31 ± 14.21	33.70 ± 5.07	29.88 ± 1.53	16.98 ± 1.06
模型	—	647.91 ± 12.65	20.45 ± 5.79*	45.96 ± 2.30*	16.60 ± 0.85
根提取物	1 000	891.97 ± 12.22**	34.42 ± 3.80##	27.58 ± 2.78##	22.66 ± 1.45***##
	500	447.51 ± 8.12	42.58 ± 4.47##	18.62 ± 1.27***##	20.88 ± 2.56*#
	250	621.85 ± 10.80	34.62 ± 6.23#	24.92 ± 2.33##	21.13 ± 1.47*#
茎提取物	1 000	906.63 ± 21.19*	33.78 ± 2.94##	37.18 ± 1.37	22.20 ± 0.12***##
	500	785.58 ± 15.64	37.84 ± 3.54##	33.76 ± 3.98	21.16 ± 2.41*#
	250	912.05 ± 19.45**	31.63 ± 2.76	36.51 ± 4.89	22.82 ± 1.91***##
根水溶性组分	1 000	778.12 ± 12.37	38.59 ± 4.87#	34.75 ± 2.48	20.52 ± 2.03
茎水溶性组分	1 000	779.20 ± 17.52	30.28 ± 1.34#	36.50 ± 1.36	19.13 ± 5.13#

### 3.5 水迷宫空间探索实验的结果

按实验设计方案,进行水迷宫的空间探索实验,结果见表 4。与对照组比较,模型组穿越次数显著减少 ( $P<0.05$ ),小鼠穿越目标象限时间百分比显著减少 ( $P<0.01$ )。与模型组比较,根提取物各剂量组穿越次数显著增加 ( $P<0.05$ ),目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ );茎提取物高剂量组穿越次数无显著差异,目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ );茎提取物中剂量组穿越次数无显著差异,目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ );茎提取物低剂量组穿越次数显著增加 ( $P<0.05$ ),目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ );根水溶性组分穿越次数显著增加 ( $P<0.01$ ),目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ );茎水溶性组分穿越次数无显著差异,目标象限时间百分比显著增加 ( $P<0.01$ )。根提取物组穿越次数略高于茎提取物组,目标象限时间百分比无明显差异。根水溶性组分与茎水溶性组分无显著差异。综上,实验处理组小鼠寻找安全平台的时间显著减少,而穿越安全平台的次数显著增加,表明金花小檗提取物及组分有助于小鼠记忆获得。

从跳台实验和水迷宫实验的结果来看,金花小檗提取物及其水溶性组分对小鼠的学习记忆能力有所改善,对记忆障碍模型小鼠的改善作用也明显。

### 3.6 金花小檗提取物及其水溶性组分对小鼠 MDA、T-SOD 的影响

测定各组小鼠的血清 MDA、T-SOD 的水平,

表 4 金花小檗根、茎提取物及组分对小鼠空间探索的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 4 Effect of root or stem extracts and components of *B. wilsonae* on mice in probe trail test ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	穿越次数	目标象限时间 百分比/%
对照	—	2.60±0.40	26.21±2.03
模型	—	0.90±0.02*	13.02±0.12**
根提取物	1 000	2.60±0.12#	26.00±0.88##
	500	2.70±0.24#	20.13±1.47##
	250	2.67±0.11#	22.13±0.25##
茎提取物	1 000	1.20±0.10*	25.43±1.01##
	500	1.83±0.15	21.45±0.55##
	250	2.83±0.21#	29.34±0.43##
根水溶性组分	1 000	1.80±0.08##	24.69±0.48##
茎水溶性组分	1 000	1.67±0.17	20.85±0.33##

评价金花小檗提取物及组分影响东莨菪碱导致的记忆障碍模型小鼠的体内抗氧化能力情况,结果见表 5。与对照组比较,模型组 T-SOD 水平极显著降低 ( $P<0.01$ ),MDA 水平显著增加 ( $P<0.05$ )。与模型组比较,根提取物各剂量组 T-SOD 水平均显著增加 ( $P<0.01$ ),MDA 水平均显著降低 ( $P<0.01$ );茎提取物各剂量组 T-SOD 水平均显著增加 ( $P<0.01$ ),MDA 水平均显著降低 ( $P<0.01$ );根水溶性组分 T-SOD 水平显著增加 ( $P<0.01$ ),MDA 水平显著降低 ( $P<0.01$ );茎水溶性组分 T-SOD 水平无明显差异,MDA 水平显著降低 ( $P<0.01$ )。根提取物组与茎提取物组的 T-SOD、MDA 水平差异均不显著。根水溶性组分 T-SOD 水平高于茎水溶性组分,MDA 水平差异不显著。综上实验结果表明:金花小檗提取物及组分对小鼠体内抗氧化水平有显著的改善作用。

表 5 金花小檗根、茎提取物及组分对小鼠血清 MDA 和 T-SOD 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 5 Effect of root or stem extracts and components of *B. wilsonae* on levels of MDA and T-SOD in mice serum ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	T-SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	119.99±2.36	9.77±0.02
模型	—	64.40±1.12**	13.10±0.11*
根提取物	1 000	203.52±1.20***##	5.12±0.13***##
	500	223.99±2.82***##	9.61±0.02##
	250	210.32±1.67***##	9.49±0.12##
茎提取物	1 000	204.97±1.30***##	9.41±0.07##
	500	226.74±3.22***##	7.72±0.23##
	250	231.97±1.03***##	7.62±0.24##
根水溶性组分	1 000	154.65±3.73*##	9.31±0.19##
茎水溶性组分	1 000	108.79±2.80	8.88±0.16##

## 4 讨论

金花小檗是一种常用的抗菌消炎中药,其主要功效成分是生物碱。本研究采用酸性染料比色法,测定其总生物碱的含量,结果表明金花小檗总生物碱含量丰富。以本实验建立的 HPLC 法测定结果显示,小檗碱是金花小檗最主要的生物碱,质量分数大于 0.6%,但是,此方法没有检测出叶的小檗碱、药根碱和巴马汀,推测是叶中的 3 种生物碱含量太低所致。通过记忆障碍模型小鼠跳台、水迷宫等实验测定,结果表明金花小檗提取物对记忆障碍小鼠

的记忆能力有显著的改善作用。同时金花小檗提取物能显著提高小鼠体内的 T-SOD 活性、降低体内 MDA 水平。

何丹丹等<sup>[26]</sup>对骆驼蓬子总生物碱和非生物碱部位对东莨菪碱和 30%乙醇所致的记忆获得性障碍和记忆再现障碍性小鼠学习记忆能力的影响进行考察研究表明,总生物碱是骆驼蓬子改善小鼠学习记忆的有效部位。王海波等<sup>[27]</sup>发现钩藤饮片生物碱组分可改善 AD 大鼠的学习记忆能力,其机制与改善胆碱能系统作用有关。姜琳珊等<sup>[28]</sup>研究发现,金钗石斛总生物碱对 APP/PS1 转基因小鼠空间学习记忆能力具有改善作用。生物碱作为金花小檗的主要功效成分,推测其与金花小檗改善小鼠记忆有着较为紧密的关系。通过金花小檗提取物给药后记忆障碍模型小鼠的跳台、水迷宫实验测定,结果表明金花小檗提取物对记忆障碍小鼠的记忆能力有显著的改善作用。同时金花小檗提取物能显著提高小鼠体内的 T-SOD 活性、降低体内 MDA 含量。

有关研究表明<sup>[15,29-30]</sup>,氧化应激水平与学习记忆功能相关,体内氧化应激水平升高,多种抗氧化酶活性降低导致学习记忆功能变差,清除体内多余自由基,能保护氧化对脑组织损伤,对学习记忆功能有显著的改善作用。本研究结果表明金花小檗提取物对记忆障碍模型动物体内的抗氧化能力的提升,可能与改善记忆能力有很强的关联性,该问题值得进一步深入研究。

#### 参考文献

- [1] 李 剑. 金花小檗迁地栽培与繁殖技术 [J]. 西南林业大学学报, 2009, 29(3): 86-88.
- [2] 潘天春. 四川攀西地区小檗属植物资源及利用价值 [J]. 技术与市场, 2013, 20(5): 314-315.
- [3] 中国药典 [S]. 三部. 2010.
- [4] Alamgeer, Naz H, Rasool S, et al. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the aqueous methanolic extract of *Berberis calliobotrys* in albino mice [J]. *Acta Poloniae Pharm*, 2016, 73(3): 717-728.
- [5] Mahmoudvand H, Sharififar F, Sharifi I, et al. *In vitro* inhibitory effect of *Berberis vulgaris* (Berberidaceae) and its main component, berberine against different leishmania species [J]. *Iranian J Parasitol*, 2014, 9(1): 28-36.
- [6] Alamgeer, Chabert P, Akhtar M S, et al. Endothelium-independent vasorelaxant effect of a *Berberis orthobotrys*, root extract via inhibition of phosphodiesterases in the porcine coronary artery [J]. *Phytomedicine*, 2016, 23(8): 793-799.
- [7] Alamgeer, Akhtar M S, Jabeen Q, et al. Possible mechanism of cardiac depressant activity of *Berberis orthobotrys* roots in isolated rabbit heart [J]. *Acta Poloniae Pharm*, 2014, 71(4): 667-675.
- [8] Ashraf H, Heidari R, Nejati V. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of fruit aqueous extract of *Berberis integerrima* Bge. in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Iranian J Pharm Res*, 2014, 13(4): 1313-1318.
- [9] Derosa G, Bonaventura A, Bianchi L, et al. Effects of *Berberis aristata/Silybum marianum* association on metabolic parameters and adipocytokines in overweight dyslipidemic patients [J]. *J Biol Regul Homeostatic Agents*, 2013, 27(3): 717-728.
- [10] 李 端. 中药化学 (供中药等专业用) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [11] Elmerahbi R, Liu Y N, Eid A, et al. *Berberis libanotica* ehrenb extract shows anti-neoplastic effects on prostate cancer stem/progenitor cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112453.
- [12] Bonesi M, Loizzo M R, Conforti F, et al. *Berberis aetnensis* and *B. libanotica*: A comparative study on the chemical composition, inhibitory effect on key enzymes linked to Alzheimer's disease and antioxidant activity [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(12): 1726-1735.
- [13] Ahmed S, Shakeel F. Voltammetric determination of antioxidant character in *Berberis lycium* Royel, *Zanthoxylum armatum* and *Morus nigra* Linn. plants [J]. *Pakistan J Pharm Sci*, 2012, 25(3): 501-507.
- [14] Albrecht C, Pellarin G, Rojas M J, et al. Beneficial effect of *Berberis buxifolia* Lam, *Ziziphus mistol* Griseb and *Prosopis alba* extracts on oxidative stress induced by chloramphenicol [J]. *Medicina*, 2010, 70(1): 65-70.
- [15] Haider S, Saleem S, Perveen T, et al. Age-related learning and memory deficits in rats: Role of altered brain neurotransmitters, acetylcholinesterase activity and changes in antioxidant defense system [J]. *Age*, 2014, 36(3): 1291-1302.
- [16] 马丽丽, 陈晓红. 小檗碱在神经系统疾病中的应用进展 [J]. 新医学, 2012, 43(7): 437-440.
- [17] 李增强. 小檗碱治疗糖尿病的肠道作用靶点及分子机制研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2012.
- [18] 王柳卜, 贾宪生, 胡成刚, 等. 三颗针中盐酸小檗碱、盐酸药根碱及盐酸巴马汀的含量测定 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(1): 175-177.
- [19] 李路扬, 龙妮芳, 万定荣, 等. 5 种小檗属药用植物总生物碱及小檗碱的含量测定 [J]. 中国实验方剂学杂

- 志, 2014, 20(17): 91-94.
- [20] 李晶. 鱼油制剂改善小鼠记忆作用的实验研究 [J]. 食品科学, 2004, 25(10): 301-304.
- [21] 司茹, 郑梦思, 邹莉波. 美藤果油辅助改善小鼠记忆的功効 [J]. 食品科学, 2017, 38(9): 202-206.
- [22] 吕珊珊, 唐桂英, 杨超, 等. 小儿黄龙颗粒对记忆障碍模型小鼠学习记忆功能的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 172-177.
- [23] 明建, 曾凯芳, 吴素蕊, 等. 天麻多糖 PGEB-3-H 对东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的影响 [J]. 食品科学, 2010, 31(3): 246-249.
- [24] 陈瑾. 血清 T-SOD、GSH-Px、MDA、NO、NOS 水平与衰老的关系及康寿益胶囊的干预作用 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2003.
- [25] 杨伟丽, 马志刚, 祁梅. 甘肃不同产地三颗针不同部位生物碱的含量测定 [J]. 甘肃医药, 2009, 28(5): 349-351.
- [26] 何丹丹, 张磊, 刘力, 等. 骆驼蓬子总生物碱改善小鼠学习记忆能力 [J]. 中成药, 2015, 37(3): 478-482.
- [27] 王海波, 王波, 邸学, 等. 钩藤生物碱部位对 AD 大鼠学习记忆作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1027-1029.
- [28] 姜琳珊, 李菲, 聂晶, 等. 金钗石斛总生物碱对 APP/PS1 转基因小鼠学习记忆能力的影响 [J]. 遵义医学院学报, 2016, 39(3): 246-249.
- [29] An L, Han X, Li H, *et al.* Effects and mechanism of cerebroprotein hydrolysate on learning and memory ability in mice [J]. *Genet Mol Res*, 2016, doi: 10.4238/gmr.15038804.
- [30] 侯志涛, 孙忠人, 刘松涛, 等. 电针对缺血性学习记忆障碍大鼠氧自由基及凋亡相关蛋白表达的影响 [J]. 针刺研究, 2015, 40(6): 431-438.