

# 龙眼果肉提取物改善东莨菪碱诱导小鼠学习记忆功能

白亚娟<sup>1,2</sup>, 刘磊<sup>1</sup>, 张瑞芬<sup>1</sup>, 邓媛元<sup>1</sup>, 黄菲<sup>1</sup>, 张名位<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所/农业部功能食品重点实验室/广东省农产品加工重点实验室, 广州 510610;

<sup>2</sup>华中农业大学食品科技学院, 武汉 410070)

**摘要:**【目的】比较不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物对东莨菪碱所致记忆获得性障碍小鼠学习记忆功能的影响, 初步解释龙眼果肉改善学习记忆的作用机制。【方法】分析龙眼果肉醇提物和水提物中主要活性物质含量。将无特定病原体 (SPF 级) 雄性昆明小鼠随机分为空白组、模型组、龙眼果肉醇提物低剂量组/高剂量组 (150 mg·kg<sup>-1</sup>/300 mg·kg<sup>-1</sup>)、龙眼果肉水提物低剂量组/高剂量组 (150 mg·kg<sup>-1</sup>/300 mg·kg<sup>-1</sup>), 共 6 组, 连续灌胃 28 d 后, 空白组腹腔注射等量生理盐水, 各试验组腹腔注射东莨菪碱造模, 0.5 h 后, 以潜伏期和穿梭次数为考察指标, 采用避暗试验进行行为学测试, 作为习得成绩; 24 h 后再次进行避暗试验, 对小鼠进行记忆保持测试, 测试结束后摘眼球取血, 脱颈致死, 取脑组织进行生化指标检测。测定脑组织的胆碱类 (乙酰胆碱转移酶 choline acetyltransferase, ChAT 和乙酰胆碱酯酶 acetylcholinesterase, AChE 活力) 及抗氧化相关指标 (超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活力及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量), 血清中抗氧化相关指标 (SOD、GSH-Px 活力及 MDA 含量)。通过综合比较各组间行为学试验指标、脑组织、血清生化指标, 判断龙眼果肉改善学习记忆功能的作用效果及作用机制。【结果】分析龙眼果肉提取物成分发现, 龙眼果肉水提物主要为多糖及蛋白质, 醇提物除含有糖类外, 还含有较丰富的酚类、黄酮类和磷脂物质, 其中, 醇提物中总酚、总黄酮、总磷脂含量显著高于水提物的 ( $P < 0.05$ )。行为学试验表明, 模型组小鼠在避暗试验中 5 min 内穿梭次数为 2.89 次, 是正常小鼠的 6.09 倍, 高剂量龙眼果肉醇提物和水提物组小鼠穿梭次数分别为 0.75 次和 0.56 次, 与正常组无显著差异; 痴呆小鼠在避暗试验中的潜伏期仅为正常组的 0.43 倍, 与模型组相比, 各剂量龙眼果肉醇提物和水提物均能显著增加痴呆小鼠在避暗试验中的潜伏期 ( $P < 0.05$ ), 且存在一定剂量效应关系, 其中龙眼果肉醇提物和水提物高剂量组小鼠的避暗潜伏期分别为 289.18 s、290.80 s, 与正常组相比无显著差异 ( $P > 0.05$ )。生化指标方面, 与模型组相比, 各剂量龙眼果肉醇提物和水提物均能显著增加痴呆小鼠脑组织中 ChAT 活力, 显著降低 AChE 活力 ( $P < 0.05$ ), 且存在一定的剂量效应关系。相同剂量时, 龙眼果肉水提物效果优于醇提物, 其中龙眼果肉醇提物高剂量组, 龙眼果肉水提物低、高剂量组小鼠脑组织中 ChAT 活力基本恢复正常水平; 在抗氧化水平方面, 与模型组相比, 龙眼果肉醇提物高剂量组显著增加痴呆小鼠脑组织和血清中 SOD、GSH-Px 活力, 显著降低 MDA 含量 ( $P < 0.05$ ), 基本达到正常水平, 效果优于同等剂量的龙眼果肉水提物。【结论】龙眼果肉水提物和醇提物均可改善东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠的学习记忆功能, 但二者的作用机制可能存在差异, 龙眼果肉水提物主要通过调节胆碱能神经系统改善学习记忆功能, 其主要作用的物质基础可能为多糖或糖蛋白; 醇提物则主要通过提高机体抗氧化活力改善学习记忆功能, 其主要作用物质可能为多酚、黄酮、磷脂等。

**关键词:** 龙眼果肉; 东莨菪碱; 学习记忆功能; 乙酰胆碱转移酶; 抗氧化

## Longan Pulp Extracts Ameliorate Scopolamine-Induced Learning and Memory of Impairment Mice

BAI Ya-juan<sup>1,2</sup>, LIU Lei<sup>1</sup>, ZHANG Rui-fen<sup>1</sup>, DENG Yuan-yuan<sup>1</sup>, HUANG Fei<sup>1</sup>, ZHANG Ming-wei<sup>1,2</sup>

收稿日期: 2016-03-31; 接受日期: 2016-08-08

基金项目: 国家自然科学基金 (31301459, 31401662)、广东省自然科学基金 (2014A030313568)、广州市珠江科技新星专项 (201506010028)

联系方式: 白亚娟, E-mail: xbaizxyq@sina.com.cn. 通信作者张名位, E-mail: mwzhh@vip.tom.com

(<sup>1</sup>*Sericultural & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610*; <sup>2</sup>*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 410070*)

**Abstract:** 【Objective】 The objective of this experiment is to study the effect of different doses of both ethanol extract and aqueous extract of longan pulp on learning and memory function in dementia mice induced by scopolamine and to clarify the mechanism of longan pulp in improving learning and memory of impairment mice. 【Method】 The contents of the main active substances in the ethanol extract and water extract of longan pulp were analyzed. SPF male Kunming mice were randomly divided into 6 groups for 28 d administration: normal control group, model group, low/high dose longan pulp ethanol extract group (150 mg·kg<sup>-1</sup>/300 mg·kg<sup>-1</sup>), low/high dose longan pulp aqueous extract group (150 mg·kg<sup>-1</sup>/300 mg·kg<sup>-1</sup>). At the end of last time administration, the passive avoidance tests were performed after mice received scopolamine intraperitoneal injection, the indexes of step-through latency and shuttle number were marked as acquisition trial, the passive avoidance tests were performed again after 24 h which was marked as retention trial. Then detection of the antioxidant activities of serum and brain, such as SOD, GSH-Px, MDA, as well as ChAT and AChE of brain tissue were carried out. 【Result】 By analyzing the constituents of longan pulp extract, it was found that longan pulp aqueous extract contains mainly polysaccharide and protein, and ethanol extract contains not only carbohydrates, but also abundant phenolic acid, flavonoid and phospholipid substances. Moreover, the content of total phenols, total flavonoids and total phospholipid in ethanol extraction was significantly higher than that of aqueous extract. The shuttle number of model mice in acquisition trial of passive avoidance test in 5 min (2.89) was 6.09 times of normal control (0.46). Meanwhile shuttle numbers of the high dose longan pulp ethanol extract and aqueous extract groups were 0.75 and 0.56, respectively, the numbers had no significant difference with normal control. The step-through latency of model group in acquisition trial of passive avoidance test was decreased to 130 s (normal control group was 300 s,  $P < 0.05$ ). Compared with model group, each dose of longan pulp ethanol extract and aqueous extract could significantly increase the dementia mice in the step-through latency of passive avoidance test ( $P < 0.05$ ) with dose-dependent, especially the high dose longan pulp ethanol extract and aqueous extract group (289.18 s, 290.80 s, respectively,) basically reached normal level. Biochemical examinations revealed that each dose of longan pulp ethanol extract and aqueous extract could significantly increase the activity of ChAT in brain of dementia mice and significantly reduce AChE activity ( $P < 0.05$ ) in a dose-dependent manner. At the same dose level, aqueous extract of longan pulp performed better than ethanol extract. ChAT activity recovered normal in high dose longan pulp ethanol extract group, low/high dose longan pulp aqueous extract groups. In the antioxidation, compared with the model group, longan pulp ethanol extract in high dose group was significantly increased SOD and GSH-Px activities and decreased MDA content significantly in serum and brain of dementia mice ( $P < 0.05$ ), basically reached normal, the effect was better than the same dose of aqueous extract of longan pulp. 【Conclusion】 Both ethanol extract and aqueous extract of longan pulp have repairing effects on memory deficits and behavioral disorders produced by scopolamine. It was suggested that ethanol extract and aqueous extract of longan pulp may be beneficial to the treatment of Alzheimer's disease, but their action mechanisms might be different: to promote learning and memory, aqueous extract of longan pulp mainly regulates cholinergic nerve system by polysaccharide or glycoprotein, and ethanol extract is mainly by means of providing antioxidation protection, phenolic acid, flavonoid and phospholipid are principal bioactive substances.

**Key words:** longan pulp; scopolamine; learning and memory function; choline acetyltransferase; antioxidation

## 0 引言

【研究意义】龙眼 (*Dimocarpus longan* Lour.) 作为中国重要的药食同源食材, 其果肉的养血安神、益智宁心、补益心脾等功效在《神农本草经》《本草纲目》等中国古代医药书上早有记载<sup>[1]</sup>。虽然药用历史已有上千年, 但龙眼补益心智的功效缺少科学依据支撑, 其活性成分仍不明确。记忆力损伤和认知障碍是阿尔茨海默病 (Alzheimer Disease, AD) 的主要临床表现,

这种中枢神经系统退行性疾病主要发生在老年期, 严重危害老年人的身心健康。长期食用龙眼有改善记忆、防治 AD 的功效。因此, 通过动物试验探讨龙眼果肉醇提物和水提物对记忆获得性障碍小鼠学习记忆能力的影响, 初步分析龙眼果肉醇提物和水提物主要活性成分及含量, 对进一步明确龙眼果肉益智机制及物质基础具有重要意义。【前人研究进展】目前国内外关于天然植物改善 AD 已有许多研究, 脑内乙酰胆碱水平下降是 AD 主要伴随症状之一<sup>[2]</sup>, 因此有效提高乙酰胆碱可以改

善 AD。RABIEI 等<sup>[3]</sup>发现百香果醇提取物可以缩短东莨菪碱诱导记忆障碍大鼠在避暗试验中的潜伏期, 通过调节乙酰胆碱相关酶类改善其记忆能力。李富仁等<sup>[4]</sup>研究发现远志茯苓醇提取物能够通过抑制乙酰胆碱酯酶活力改善东莨菪碱诱导的学习记忆障碍小鼠的学习记忆能力。YANG 等<sup>[5]</sup>研究表明金针菇多糖通过调节海马和大脑皮层中乙酰胆碱转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT) 和乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 活性来修复东莨菪碱诱导记忆障碍小鼠脑中乙酰胆碱水平, 从而改善记忆能力。此外, 氧化应激在 AD 发病机制中也起着重要的作用, 是自由基氧化和抗氧化系统失衡所致<sup>[6]</sup>, 因此, 抗氧化也是改善 AD 有效途径之一。FOYET 等<sup>[7]</sup>发现 *E. coccinae* (菊科) 叶甲醇-水提取物可以提高东莨菪碱诱导记忆障碍大鼠空间记忆能力及脑组织内抗氧化能力。王丹等<sup>[8]</sup>的研究表明远志水提取物能通过增强小鼠自由基清除能力提高正常小鼠学习记忆能力。龙眼改善记忆的功能在古代医书上早有记载, 而采用现代科学技术手段研究其作用机制从近些年才开始。PARK 等<sup>[9]</sup>发现龙眼果肉水提取物显著延长小鼠在避暗试验中的潜伏期, 增加了海马中脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) 表达及未成熟神经细胞的生成, 对其他作用机制如胆碱能系统、抗氧化系统并未涉及。骆萍等<sup>[10]</sup>研究发现龙眼果肉水提取物、醇提取物均可以显著改善大鼠在 Morris 水迷宫中的空间记忆能力, 并从抗氧化系统角度对其作用机制进行探究, 发现龙眼果肉提取物可显著提高脑组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 酶活, 减少丙二醛 (MDA) 生成, 且有一定剂量效应关系, 表明龙眼果肉提取物可通过增强机体抗氧化能力达到改善记忆功能, 但其未对提取物的化学成分作进一步分析。【本研究切入点】关于龙眼果肉的生物活性的研究, 目前国内外主要集中于免疫调节、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等<sup>[11-16]</sup>, 对其改善学习记忆功能的研究较少, 其活性成分及作用机制仍不明确、不完善。【拟解决的关键问题】本研究对龙眼果肉醇提取物和水提取物主要化学成分进行分析, 选用急性腹腔注射东莨菪碱建立记忆损伤小鼠模型, 比较不同剂量龙眼果肉醇提取物和水提取物对痴呆小鼠学习记忆能力的改善作用, 分析其对血清抗氧化系统及脑内胆碱能系统、抗氧化系统的影响, 为揭示龙眼改善学习记忆功能及作用机制提供依据。

## 1 材料与方 法

试验于 2014 年 3—9 月在广东省农业科学院蚕业

与农产品加工研究所/农业部功能食品重点实验室/广东省农产品加工重点实验室进行。

### 1.1 材料与供试动物

1.1.1 材料、药品与试剂 龙眼果干 (含水量为 12.40%), 由广东省农业科学院果树研究所提供, 品种为 ‘储良’; 氢溴酸东莨菪碱注射液 (scopolamine hydrobromide injection) 购于徐州莱恩药业有限公司产品; 丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、乙酰胆碱转移酶 (choline acetyltransferase, ChAT)、乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 和总蛋白质 (total protein, TP) 试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。没食子酸、原儿茶酸、绿原酸、儿茶素、表儿茶素、香草酸、芦丁、鞣花酸、阿魏酸、异阿魏酸、水杨酸、香豆酸及鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖标准品均购自美国 Sigma 公司, 甲酸、乙酸、乙腈为色谱纯试剂, 购于美国 Fisher 公司。95%乙醇 (分析纯) 购于天津市大茂化学试剂厂, 其余试剂均为分析纯。

1.1.2 实验动物 SPF 级雄性 KM 小鼠, 体重 20—25 g, 由南方医科大学实验动物中心提供。实验动物许可证号: SCXK (粤) 2011-0015。饲养环境: 室温 (23±2) °C, 相对湿度 50%—60%, 12/12 h 明暗交替, 自由饮食、摄水。小鼠于试验前 7 d 置于实验室适应环境。

### 1.2 主要仪器

避暗系统 (上海欣软信息科技有限公司), SB-5200TD 超声仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司), FDU-2110 真空冷冻干燥机 (东京理化器械株式会社), EYELA CA-2600 旋转蒸发仪 (东京理化器械株式会社), UV1800 型紫外可见分光光度计 (日本岛津有限公司), 多功能荧光分析仪 Fluoroskan Ascent FL (美国 Thermo Fisher Scientific 公司), HZQX 型全温振荡器 (哈尔滨东联电子开发有限公司), 冷冻离心机 (美国 Thermo Electron 公司), DS-1 高速组织捣碎机 (上海标本模型厂)、Agilent Technologies 1260 Series、6890N-5975B GC-MS (美国 Agilent 公司)。

### 1.3 龙眼果肉提取物的制备

1.3.1 龙眼果肉醇提取物的制备 取一定量的龙眼干果肉, 按 1:4 (m/v) 加入 95%乙醇打浆, 室温浸泡 1 h, 超声提取 30 min, 如此反复 2 次, 离心 (4 000

r/min, 10 min) 收集上清液, 滤渣重复提取 1 次, 合并上清液。55℃减压浓缩至无乙醇蒸出, 此浓缩浸膏即为龙眼果肉醇提物(含水量为 10.86%)。

**1.3.2 龙眼果肉水提物的制备** 在 1.3.1 离心后的沉淀物中以 1:20 (m/v) 加入蒸馏水, 按 1.3.1 的方法提取, 收集上清液。将滤渣用 1:5 的蒸馏水复提一次, 合并上清液, 减压浓缩后加 95%乙醇沉降(终浓度为 80%), 4℃冷藏过夜, 离心收集沉淀物用无水乙醇洗涤 3 次, 冷冻干燥得龙眼果肉水提物。

#### 1.4 龙眼果肉提取物主要活性成分含量分析

分别对龙眼果肉醇提物和水提物的主要活性成分含量进行如下分析: 总糖含量通过苯酚-硫酸法测定, 采用葡萄糖做标准品<sup>[17]</sup>。还原糖用 DNS 法测定, 采用葡萄糖做标准品<sup>[18]</sup>。多糖总量为总糖质量分数与还原糖质量分数的差值。蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定, 以牛血清蛋白作为标准品。总酚通过福林酚法测定, 没食子酸作为标准品<sup>[19]</sup>。总黄酮通过三氯化铝法测定, 以儿茶素为标准品<sup>[20]</sup>。总磷脂含量采用钼蓝比色法测定, 以磷酸二氢钾溶液作为标准品<sup>[21]</sup>。单糖组成通过 GC-MS 测定<sup>[22]</sup>。酚类组成通过 HPLC 测定<sup>[23]</sup>。

#### 1.5 动物分组及处理

将 72 只小鼠随机分成 6 组, 每组 12 只, 分别为: 空白组、模型组、龙眼果肉醇提物低剂量组 (150 mg·kg<sup>-1</sup>)、龙眼果肉醇提物高剂量组 (300 mg·kg<sup>-1</sup>)、龙眼果肉水提物低剂量组 (150 mg·kg<sup>-1</sup>)、龙眼果肉水提物高剂量组 (300 mg·kg<sup>-1</sup>)。各剂量以提取物干基计, 参照龙眼干果肉每日摄入量 (9—15 g)<sup>[24]</sup>基于人-动物剂量转换公式<sup>[25]</sup>得到, 并参考文献<sup>[9]</sup>做一定调整。各组均按 10 mL·kg<sup>-1</sup>·b.w.<sup>-1</sup>灌胃给药(空白组和模型组灌胃生理盐水), 每天一次, 连续 28 d。在最后一次给药 1 h 后, 除空白组腹腔注射生理盐水外, 其他组均腹腔注射东莨菪碱 (3 mg·kg<sup>-1</sup>·b.w.<sup>-1</sup>) 制备小鼠学习记忆障碍模型, 并于注射 20 min 后进行避暗试验。

#### 1.6 避暗试验

方法参考 DONG 等<sup>[26]</sup>进行并做一些改进, 该试验分为习得测试 (Acquisition trial) 和记忆保持测试 (Retention trial) 两部分。

小鼠灌胃第 26 天起, 连续 2 d 在同一时间将小鼠放入避暗仪中适应 5 min。第 28 天腹腔注射东莨菪碱 20 min 后开始习得测试, 将小鼠背对拱门放入明箱后, 给暗室不锈钢栅栏通以 0.3 mA 电流持续 5 min, 由于

小鼠具有趋暗的习性会由明室向暗室探索, 小鼠一进入暗室即受电击, 其正确反应是回到明室, 记录小鼠第 1 次进入暗室的时间即为避暗潜伏期 (step-through latency), 步入潜伏期大于 5 min 者弃去不用, 5 min 内小鼠进入暗室的次数即为穿梭次数 (shuttle number), 作为习得成绩; 24 h 后对小鼠进行记忆保持测试, 记录小鼠 5 min 内的潜伏期及进入暗室的次数 (即穿梭次数), 作为记忆成绩, 5 min 内未进入暗室的小鼠其潜伏期按 300 s 计, 穿梭次数计 0 次。

#### 1.7 小鼠血浆、脑组织内生化学指标检测

行为学试验结束后, 乙醚麻醉小鼠, 摘眼球取血, 全血离心后取血清; 脱颈椎处死小鼠, 迅速于冰上断头取脑, 加 9 倍体积 (m/v) 的冰生理盐水进行匀浆, 4℃离心 (3 000 r/min, 10 min), 取上清液, 即为 10% 组织匀浆。分别按照试剂盒说明书测定脑组织匀浆中 ChAT 和 AChE 活力, 脑组织匀浆和血清中 SOD、GSH-Px 活力及 MDA 含量, 采用考马斯亮兰法测定组织蛋白含量。

#### 1.8 数据统计与分析

用 SPSS19.0 软件进行试验数据统计分析, 组间差异比较采用单因子方差分析 (one way ANOVA), 显著性用 LSD 法及 Dunnett's 检验 ( $P < 0.05$ ), 所有数据采用平均数±标准差 ( $\bar{x} \pm sd$ ) 表示。

## 2 结果

### 2.1 龙眼果肉提取物主要活性成分含量分析

龙眼果肉醇提物和水提物中主要活性成分含量见表 1。由表 1 可知, 龙眼果肉水提物以多糖和蛋白为主, 总比例超过干物质质量的 60%, 其中多糖含量达到 45.46%, 而醇提物则含有较高的多糖和还原糖, 总占比高达 68.5%, 其中还原糖含量占比高达 35.21%。龙眼果肉醇提物和水提物的单糖组成成分相同, 主要为鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖, 但其组成比例存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。龙眼果肉醇提物单糖组成中葡萄糖含量最高, 高达 69.55%, 水提物的单糖组成主要是阿拉伯糖和半乳糖, 占比分别为 43.29%、34.81%。磷脂含量方面, 龙眼果肉醇提物约为水提物的 4 倍。与龙眼果肉水提物相比, 醇提物中抗氧化物质含量更高, 总酚、总黄酮含量分别约为水提物的 2 倍、3.6 倍。其中, 醇提物酚类组成丰富, 含有 12 种酚类物质, 鞣花酸含量最高; 水提物酚酸组成相对简单, 含有 5 种酚类物质, 表儿茶素含量最高。

表 1 龙眼果肉提取物中主要活性成分含量 (均以干基计,  $\bar{x} \pm sd$ ,  $n=3$ )Table 1 Content of the main bioactive components in the extract of longan pulp (All based on dry basis,  $\bar{x} \pm sd$ ,  $n=3$ )

主要成分 Basis	龙眼果肉醇提物 Ethanol extract of longan pulp	龙眼果肉水提物 Aqueous extract of longan pulp
总蛋白 Total protein (%)	1.12±0.01a	16.56±2.03b
总磷脂 Total phospholipids (mg·g <sup>-1</sup> )	10.89±0.02b	2.52±0.08a
还原糖 Reducing sugars (%)	35.21±0.04b	3.00±0.05a
多糖 Polysaccharides (%)	33.34±0.98a	45.46±1.06b
单糖组成 Monosaccharide composition (%)		
鼠李糖 Rhamnose	1.09±0.02a	5.22±0.02b
阿拉伯糖 Arabinose	14.15±0.01a	43.29±0.03b
木糖 Xylose	1.47±0.02a	3.64±0.05b
甘露糖 Mannose	3.11±0.02a	3.49±0.08b
葡萄糖 Glucose	69.55±0.10b	9.55±0.03a
半乳糖 Galactose	11.14±0.03a	34.81±0.04b
总黄酮 Total flavonoids (mg CE·g <sup>-1</sup> )	1.53±0.02b	0.42±0.01a
总酚 Total phenol (mg GAE·g <sup>-1</sup> )	9.52±0.16b	4.82±0.19a
酚类组成 Phenols composition (mg/100 g)		
没食子酸 Gallic acid	10.51±0.47b	0.87±0.35a
原儿茶酸 Protocatechuic acid	6.27±0.73	—
绿原酸 Chlorogenic acid	2.22±0.04a	4.77±0.08b
儿茶素 Catechin	11.13±0.54b	0.19±0.02a
表儿茶素 Epicatechin	4.81±0.35a	8.24±0.14b
香草酸 Vanillic acid	0.65±0.03	—
芦丁 Rutin	4.81±0.35	—
鞣花酸 Gallogen	135.51±14.02b	5.8±0.43a
阿魏酸 Ferulaic acid	0.59±0.07	—
异阿魏酸 Isoferulic acid	0.26±0.02	—
水杨酸 Salicylic acid	4.49±0.12	—
香豆酸 Coumaric acid	1.16±0.04	—

表中不同小写英文字母代表差异显著, 即  $P<0.05$ 。下同

Values different letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below

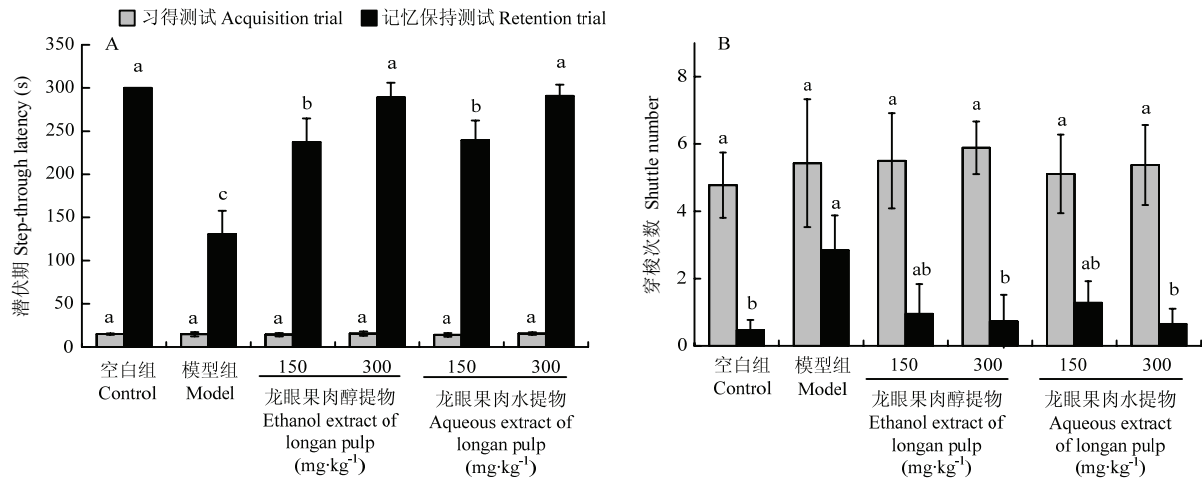
## 2.2 小鼠避暗试验行为表现

不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物对东莨菪碱致衰小鼠在避暗试验中学习记忆能力的影响见图 1。在习得测试时, 各组间潜伏期与穿梭次数均无显著性差异 ( $P>0.05$ )。在记忆保持测试时, 与空白组相比, 模型组潜伏期由 300 s 缩短至 130.83 s, 穿梭次数显著增加至 2.44 次 ( $P<0.05$ ), 表明腹腔注射东莨菪碱使小鼠产生学习记忆障碍。与模型组相比, 龙眼果肉各剂量醇提物和水提物组潜伏期均显著延长 ( $P<0.05$ ), 穿梭次数减少 ( $P<0.05$ ), 且同一提取物的高剂量组比低剂量组效果显著, 醇提物和水提物高剂

量组的潜伏期分别为 289.18 s、290.80 s, 穿梭次数分别为 0.75、0.65, 与空白组相比均无显著差异 ( $P>0.05$ ), 表明龙眼果肉醇提物与水提物均有改善痴呆小鼠学习记忆的能力, 高剂量组处理小鼠的记忆能力已基本恢复到正常小鼠水平。

## 2.3 小鼠脑组织中 ChAT 和 AChE 活性

不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠脑组织中 ChAT 和 AChE 活性的影响, 见图 2。模型组 ChAT 活性显著降低 ( $P<0.05$ ), AChE 活性增高 ( $P<0.05$ ), 表明东莨菪碱损伤小鼠胆碱能系统。与模型组相比, 龙眼果肉水提



A: 潜伏期 Step-through latency; B: 穿梭次数 Shuttle number。图中同组测试中不同小写英文字母代表差异显著, 即  $P < 0.05$ 。下同 Values different letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as below

图 1 龙眼果肉提取物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠避暗实验行为表现的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

Fig. 1 Effect of the dementia mice on memory performances using the passive avoidance task by treatment of extract of longan pulp ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

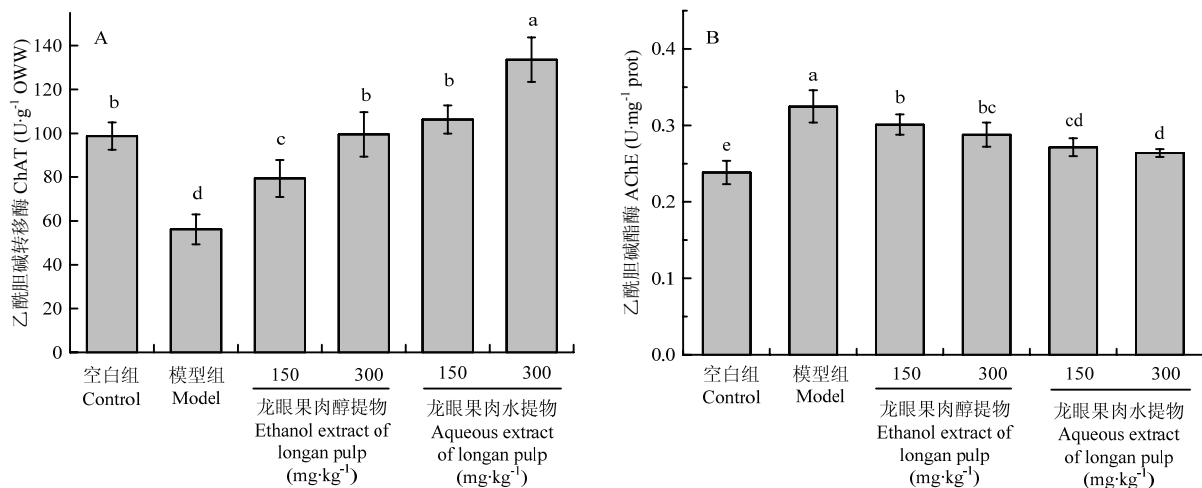


图 2 龙眼果肉提取物东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠脑组织 ChAT 和 AChE 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

Fig.2 Effect of extract of longan pulp on ChAT and AChE activities in the dementia mice brain ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

物和醇提取物各组 ChAT 活性显著增高 ( $P < 0.05$ ), 且相同剂量下, 水提取物组 ChAT 活性 (低剂量组:  $106.34 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ OWW}$ ; 高剂量组  $133.61 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ OWW}$ ) 显著高于醇提取物组 (低剂量组:  $79.40 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ OWW}$ ; 高剂量组  $99.53 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ OWW}$ ) ( $P < 0.05$ ), 其中水提取物高剂量组 ChAT 活性显著高于空白组 ( $98.70 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ OWW}$ ) ( $P < 0.05$ ), 表明龙眼果肉醇提取物与水提取物均可提高致衰小鼠的 ChAT 活性, 且高剂量

水提取物效果更好。龙眼果肉醇提取物和水提取物低、高剂量组 AChE 活性分别为  $0.30$ 、 $0.29$ 、 $0.27$ 、 $0.26 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ prot}$ , 与模型组相比均有不同程度降低且存在统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 但与空白组相比, 仍未恢复正常水平 ( $P > 0.05$ )。这提示龙眼果肉改善东莨菪碱所致小鼠学习记忆障碍的作用机制可能是通过提高中枢神经 ChAT 活性, 降低 AChE 活性, 从而提高 Ach 的浓度实现的。

## 2.4 小鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量

通过测定小鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量,考察不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠抗氧化水平的影响,如表 2 所示。与空白组相比,模型组小鼠脑组织 SOD 和 GSH-Px 活力显著降低,MDA 含量增加 ( $P<0.05$ ),表明东莨菪碱损伤小鼠清除自由基能力;与模型组相比,龙眼果肉醇提物和水提物各剂量组脑组织 SOD 和 GSH-Px 活力均增高,MDA 含量均降低 ( $P<0.05$ ),表明龙眼果肉醇提物和水提物均能不同程度地提高机体清除自由基能力;另外,与空白组相比,除水提物组的 GSH-Px 活力外,其余龙眼果肉醇提物和水提物组在 MDA、SOD 及 GSH-Px 均恢复正常水平 ( $P>0.05$ )。相同剂量时,与龙眼果肉水提物比,醇提物组的 MDA 含量显著降低,SOD、GSH-Px 活性显著升高,尤其是 GSH-Px 活性,低剂量和高剂量组分别升高了

35.40%和 21.50% ( $P<0.05$ ),表明龙眼果肉醇提物能够更好地增强东莨菪碱致衰小鼠脑组织中抗氧化酶活力,减少氧化产物含量,从而减轻组织过氧化损伤。

## 2.5 小鼠血清 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量

通过测定小鼠血清中 SOD、GSH-Px 活性及 MDA 含量,考察不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠抗氧化水平的影响,如表 3 所示。与空白组相比,模型组血清 SOD 和 GSH-Px 活力显著降低,MDA 含量显著增加 ( $P<0.05$ ),表明东莨菪碱可以降低小鼠血液中的抗自由基能力;与模型组相比,龙眼果肉水提物和醇提物各剂量组血清 SOD 和 GSH-Px 活力均增高,MDA 含量均降低 ( $P<0.05$ ),龙眼果肉醇提物组效果更优,表明龙眼果肉醇提物和水提物均可增强东莨菪碱致痴呆小鼠血液的自由基清除能力,从而对修复神经损伤有一定作用。

表 2 龙眼果肉提取物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠脑组织 MDA 含量及 SOD、GSH-Px 活性的影响

Table 2 Effects of extract of longan pulp on MDA, SOD and GSH-Px in the dementia mice brain ( $\bar{x}\pm s$ , n=12)

组别 Groups	空白对照组 Control	模型组 Model	龙眼果肉醇提物组 Ethanol extract of longan pulp		龙眼果肉水提物组 Aqueous extract of longan pulp	
剂量 Dosage (mg·kg <sup>-1</sup> ·b.w. <sup>-1</sup> )	—	—	150	300	150	300
丙二醛 MDA (nmol·mg <sup>-1</sup> prot)	12.63±0.84b	15.38±1.08a	11.80±0.89bc	11.27±1.02c	12.74±0.78b	12.60±0.90b
超氧化物歧化酶 SOD (U·mg <sup>-1</sup> prot)	67.77±1.34c	59.20±3.53d	89.72±4.60a	92.53±2.08a	82.51±5.29b	94.28±2.52a
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px (U·mg <sup>-1</sup> prot)	63.77±3.32a	29.50±2.74c	63.41±1.77a	61.94±4.05a	46.83±4.33b	50.98±2.77b

表 3 龙眼果肉提取物对东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠血清 MDA 含量及 SOD、GSH-Px 活性的影响

Table 3 Effects of extract of longan pulp on MDA, SOD and GSH-Px in the dementia mice serum ( $\bar{x}\pm s$ , n=12)

组别 Groups	空白对照组 Control	模型组 Model	龙眼果肉醇提物组 Ethanol extract of longan pulp		龙眼果肉水提物组 Aqueous extract of longan pulp	
剂量 Dosage (mg·kg <sup>-1</sup> ·b.w. <sup>-1</sup> )	—	—	150	300	150	300
丙二醛 MDA (nmol·mg <sup>-1</sup> prot)	3.15±0.47b	5.31±0.67a	3.21±0.21b	3.02±0.53b	3.64±0.38b	3.62±0.25b
超氧化物歧化酶 SOD (U·mg <sup>-1</sup> prot)	98.42±5.46c	81.59±0.75d	132.70±2.89a	123.94±1.83b	94.75±4.98c	128.11±4.54b
谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px (U·mg <sup>-1</sup> prot)	1046.86±77.34a	604.49±32.54d	1100.00±67.92a	817.31±18.80c	976.73±84.56ab	900.71±31.56b

## 3 讨论

避暗试验是检测记忆能力改善效果最常用的方法之一。PARK 等<sup>[9]</sup>研究发现,在避暗试验中不同剂量龙眼果肉水提物可以延长小鼠记忆测试的潜伏期,200 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃组效果最佳,与阳性对照比拉西坦组无显著差异 ( $P>0.05$ ),但习得测试时各组的潜伏期无显

著差异。本研究发现,腹腔注射东莨菪碱显著降低小鼠在避暗试验中记忆测试潜伏期,而给予龙眼果肉醇提物和水提物有明显的改善作用,其中 300 mg·kg<sup>-1</sup>水提物组效果最为显著,与上述研究现象一致。马宇昕等<sup>[27]</sup>用石菖蒲不同提取部位对  $\beta$  淀粉样蛋白致学习记忆障碍模型小鼠进行水迷宫测试,结果表明石菖蒲挥发油、水提液和去油水煎液都具有改善记忆障碍模型

小鼠学习记忆的能力,以挥发油灌胃组逃避潜伏期最短,但与其他两组无显著差异。对于人参的研究也呈现出相似的结果, JIN 等<sup>[28]</sup>发现原人参二醇/原人参三醇比例为 1.24 时可以显著改善东莨菪碱诱导获得性障碍小鼠在避暗试验和水迷宫中的空间记忆能力,但对正常小鼠并无记忆提高效果, LYUBIMOV 等<sup>[29]</sup>发现人参多糖也有改善大鼠学习记忆的功效。这表明同一天然产物中可能存在多种具有改善学习记忆功能的物质。骆萍<sup>[10]</sup>用 Morris 水迷宫试验研究了龙眼果肉提取物对东莨菪碱处理大鼠空间学习记忆能力的改善作用,发现龙眼果肉醇提物和水提物均可显著减少痴呆大鼠在 Morris 水迷宫中首次穿台时间,增加穿台次数。本研究结果表明,龙眼果肉醇提物和龙眼果肉水提物均能显著延长东莨菪碱所致记忆获得障碍小鼠在避暗试验中的潜伏期、减少穿梭次数,改善小鼠记忆能力,且存在一定的剂量效应关系,从急性应激角度阐述了龙眼果肉提取物对记忆的改善作用,与上述研究结果一致。

大脑记忆功能衰退会伴随着乙酰胆碱水平下降,神经元损伤,增加炎症和氧化应激<sup>[6]</sup>。其中,乙酰胆碱(ACh)水平下降是 AD 患者主要伴随症状之一<sup>[2]</sup>。ACh 由胆碱在 ChAT 的催化下合成, AChE 可以水解 ACh 为胆碱和醋酸,一定程度上, ChAT 活性可以反应 ACh 的含量。东莨菪碱是一种毒蕈碱胆碱能受体拮抗剂,可对大脑皮层和海马胆碱能系统突触上面的 ACh 受体进行阻断,降低大脑皮层和海马中 ACh 含量,作用于记忆的获得环节,引起模型短时程记忆损害<sup>[30]</sup>。AChE 抑制剂是目前应用最广泛的治疗 AD 药物。其中天然产物中香豆素类、黄酮类、芪类、生物碱类<sup>[2,31-32]</sup>等 AChE 抑制剂已作为一类 AD 治疗药物资源的代表。本研究中,龙眼果肉醇提物与水提物可以降低 AChE 活力,提高 ChAT 活力,可以推测其主要通过有效调节乙酰胆碱水平达到改善学习记忆的作用,表明龙眼果肉可以作为治疗 AD 药物潜在资源之一。研究发现,金针菇多糖可以上调结合素 36 和 p-CaMK II 的表达,调节海马和大脑皮层中 ChAT 和 AChE 酶活修复东莨菪碱诱导记忆障碍小鼠乙酰胆碱水平,从而改善记忆能力<sup>[5]</sup>。周苗苗等<sup>[33]</sup>发现鱿鱼卵磷脂可以通过影响中枢胆碱能神经系统,改善东莨菪碱所致痴呆小鼠学习记忆能力,大豆磷脂也表现出类似效果<sup>[34]</sup>。远志茯苓醇提物可以显著抑制东莨菪碱所致记忆获得障碍小鼠脑组织中乙酰胆碱酯酶活性高达 57.66%,从而发挥改善学习记忆作用<sup>[4]</sup>。本试验分析

龙眼果肉醇提物和水提物的主要活性物质组成发现,龙眼果肉水提物中主要为多糖和蛋白质,含有少量多酚和黄酮,与前人研究结果相似<sup>[13]</sup>,推测其调节胆碱功能的物质基础为多糖或多糖-蛋白复合物;龙眼果肉醇提物除含有较高水平糖类外,黄酮、磷脂类物质含量比水提物高,推测其通过多糖黄酮、磷脂等共作用来调节胆碱功能,确切的物质基础需要进一步研究。

氧化应激是记忆损伤早期发生的病变,是 AD 另一症状<sup>[35]</sup>。当脑组织中枢胆碱能神经退化时,会引起机体抗氧化酶活性不断下降,进而引发体内自由基异常堆积,造成氧化应激<sup>[36]</sup>。脂质丰富的大脑易受到线粒体产生的 ROS 攻击<sup>[37]</sup>,氧化应激与线粒体功能失调有密切联系,线粒体功能失调会增加脑内淀粉样蛋白水平,进而形成 AD<sup>[38]</sup>。东莨菪碱通过干扰乙酰胆碱水平在脑内引起氧化应激,导致认知障碍<sup>[39]</sup>。已有研究表明,记忆损伤与脑内脂质堆积增加,MDA 含量增加,SOD、GSH-Px 活力降低密切相关<sup>[40-42]</sup>。本研究发现,不同剂量龙眼果肉醇提物和水提物均可不同程度提高脑及血清中 SOD、GSH-Px 酶活,降低 MDA 含量,其中 300 mg·kg<sup>-1</sup> 龙眼醇提物效果最好,因此,可以推测龙眼果肉醇提物和水提物可以通过改善体内的氧化应激状态来提高机体学习记忆能力。逯爱梅等<sup>[43]</sup>研究发现香菇多糖可以显著增强东莨菪碱诱导记忆获得性障碍小鼠脑中的 SOD 和 GSH-Px 活力,降低 MDA 含量,从而改善小鼠学习记忆能力。XIAO 等<sup>[44]</sup>发现共饲小鼠莲房原花青素与乳酸菌,可提高东莨菪碱致衰小鼠脑中的 SOD、GSH-Px、T-AOC 等抗氧化酶活减轻脑组织氧化损伤,改善小鼠学习记忆能力。*E. coccinae* (菊科)叶甲醇-水提取物各剂量组均能提高东莨菪碱诱导记忆障碍大鼠提高脑内总抗氧化能力,增强 SOD、GSH-Px 酶活,降低血清中 NO 含量<sup>[6]</sup>,改善其记忆能力。JYOTI 等<sup>[45]</sup>研究表明印度天胡荽甲醇提取物可以提高大鼠海马区神经抗氧化能力,修复神经元损伤,进一步对其活性物质的组成进行研究,发现该提取物含有丰富单宁和总酚,呈现出良好的抗氧化能力<sup>[46]</sup>。由以上可见,天然产物水提物与醇提物都可能通过良好的抗氧化效果保护脑组织氧化应激损伤进而改善其学习记忆能力,其主要活性物质基础为多糖、原花青素、多酚等。KUNWORARATH<sup>[47]</sup>等研究结果表明龙眼果肉水提物有良好的体内抗氧化效果。骆萍<sup>[10]</sup>研究发现,分别用乙醇、水提取得到的龙眼果肉醇提物和水提物均可提高痴呆大鼠脑组织中 SOD、GSH-Px 酶活,减少 MDA

生成, 且低剂量 ( $6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 效果更优, 但其主要作用物质并不清楚。本试验所采用的样品为依次经过乙醇、水提取得到的醇提物和水提物, 相对成分更纯, 试验剂量 ( $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 参照龙眼干果肉每日摄入量 ( $9\text{--}15 \text{ g}$ ) 并基于人-动物剂量转换公式得到, 且表现出较好效果, 故本研究的数据更适合用于指导龙眼的日常生活消费。所以, 龙眼果肉醇提物效果更好, 可能是因为其总酚、总黄酮含量较水提物高, 这些物质有更好的抗氧化、抗炎作用<sup>[48]</sup>。而且, 与水提物相比, 醇提物酚类组成更为丰富, 含有 12 种酚类物质, 其含量也相对更高, 其中鞣花酸含量最高, 高达  $135.51 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}\text{DW}$ 。以上结果表明, 龙眼果肉醇提物和水提物通过提高机体清除自由基的能力, 降低脂质过氧化损伤程度, 减轻自由基对脑组织的损害, 保护脑组织, 从而发挥抗衰老的作用, 预防和改善学习记忆障碍。

#### 4 结论

龙眼果肉醇提物与水提物均能显著改善东莨菪碱诱导记忆障碍小鼠的学习记忆能力, 二者的作用机制不尽相同。前者改善学习记忆机制主要通过提高机体清除自由基的能力, 降低脂质过氧化损伤程度, 减轻自由基对脑组织的氧化损伤; 后者则主要通过增强脑组织乙酰胆碱转移酶 (ChAT) 活力, 降低乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活力, 从而增加神经递质乙酰胆碱的释放, 加快神经信号的传导。究其原因, 可能与二者中活性物质的种类和含量差异有关, 龙眼果肉醇提物主要作用物质可能为酚类、黄酮、磷脂等, 而水提物则可能为多糖或糖蛋白, 龙眼果肉改善学习记忆功能可能与二者的共同作用有关。本研究结果为揭示龙眼果肉的记忆功能提供了重要信息。

#### References

- [1] YANG B, JIANG Y M, SHI J, CHEN F, ASHRAF M. Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit: A review. *Food Research International*, 2011, 44: 1837-1842.
- [2] HUANG L, SU T, LI X. Natural products as sources of new lead compounds for the treatment of Alzheimer's disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(15): 1864-1878.
- [3] RABIEI Z, MOKHTARI S, ASGHARZADE S, GHOLAMI M, RAHNAMA S, RAFIEIAN-KOPAEI M. Inhibitory effect of *Thymus vulgaris* extract on memory impairment induced by scopolamine in rat. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2015, 5(10): 845-851.
- [4] 李富仁, 丑莉莉, 范新田. 远志茯苓醇提物改善学习记忆障碍的实验研究. 北华大学学报(自然科学版), 2011, 12(2): 172-176.  
LI F R, CHOU L L, FAN X T. Experimental studies on effects of EEPP on learning and memory dysfunctions. *Journal of Beihua University (Natural Science Edition)*, 2011, 12(2): 172-176. (in Chinese)
- [5] YANG W, YU J, ZHAO L, MA N, FANG Y, PEI F, MARIGA A M, HU Q. Polysaccharides from *Flammulina velutipes* improve scopolamine-induced impairment of learning and memory of rats. *Journal of Functional Foods*, 2015, 18: 411-422.
- [6] HARMAN D. Alzheimer's disease pathogenesis: role of aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006, 1067: 454-460.
- [7] FOYET H S, ABAISSOU H H, WADO E, ACHA E A, ALIN C. *Emilia coccinea* (SIMS) G Extract improves memory impairment, cholinergic dysfunction, and oxidative stress damage in scopolamine-treated rats. *BMC Complement and Alternative Medicine*, 2015, 15(1): 1-12.
- [8] 王丹, 张红英, 兰艳. 远志水提取物对小鼠学习记忆及血液学指标的影响. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 188-191.  
WANG D, ZHANG H Y, LAN Y. Effects of water extract from polygalae radix on learning and memory abilities and index of hematology in mice. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2012, 18(5): 188-191. (in Chinese)
- [9] PARK S J, PARK D H, KIM D H, LEE S, YOON B H, JUNG W Y, LEE K T, CHEONG J H, RYU G H. The memory-enhancing effects of *Euphoria longan* fruit extract in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 128(1): 160-165.
- [10] 骆萍. 龙眼肉提取物 (ALE) 对东莨菪碱所致拟痴呆大鼠学习记忆的影响及机制研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2011.  
LUO P. Effects of Extract from *Arillus Longan* (ALE) on the learning and memory abilities in scopolamine-induced dementia rats and its possible mechanism [D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2011. (in Chinese)
- [11] 苏东晓, 张名位, 廖森泰, 侯方丽, 张瑞芬, 唐小俊, 魏振承, 张雁, 池建伟, 邓元媛. 龙眼果肉水溶性提取物对正常小鼠免疫调节作用的影响. 中国农业科学, 2010, 43(9): 1919-1925.  
SU D X, ZHANG M W, LIAO S T, HOU F L, ZHANG R F, TANG X J, WEI Z C, ZHANG Y, CHI J W, DENG Y Y. Effects of water soluble extracts from longan on immune regulation in normal mice. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(9): 1919-1925. (in Chinese)
- [12] RANGKADILOK N, SITHTHIMONCHAI S, WORASUTTAYANGKUN L, MAHIDOL C, RUCHIRAWAT M, SATAYAVIVAD J. Evaluation

- of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. *Food and Chemical Toxicology*, 2007, 45(2): 328-336.
- [13] ZHONG K, WANG Q, HE Y, HE X. Evaluation of radicals scavenging, immunity-modulatory and antitumor activities of longan polysaccharides with ultrasonic extraction on in S180 tumor mice models. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, 47(3): 356-360.
- [14] MENG F Y, NING Y L, QI J, HE Z, JIE J, LIN J J, HUANG Y J, LI F S, LI X H. Structure and antitumor and immunomodulatory activities of a water-soluble polysaccharide from *Dimocarpus longan* pulp. *International Journal of Molecular Sciences*, 2014, 15(3): 5140-5162.
- [15] KUNWORARATH N, RANGKADILOK N, SURIYO T, THIANANAWAT A, SATAYAVIVAD J. Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) inhibits lipopolysaccharide-stimulated nitric oxide production in macrophages by suppressing NF-kappa B and AP-1 signaling pathways. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 179: 156-161.
- [16] APICHRATSRANGKOON A, CHAIKHAM P, PANKASEMSUK T, BAIPONG S. In vitro experiment on *Lactobacillus casei* 01 colonizing the digestive system in the presence of pasteurized longan juice. *Acta Alimentaria*, 2015, 44(4): 493-500.
- [17] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, REBERS P, SMITH F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 1956, 28: 350-356.
- [18] MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 1959, 31(3): 426-428.
- [19] SPIGNO G, TRAMELLI L, FAVERI M D D. Efferts of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 2007, 81: 200-208.
- [20] JIA Z, TANG M, WU J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 1999, 64(4): 555-559.
- [21] 李军, 徐国钧, 徐璐珊, 金蓉鸾. 中药首乌类的研究: III 磷脂的含量测定. *中草药*, 1994, 25(11): 578-579.
- LI J, XU G J, XU L S, JIN R L. Study of traditional Chinese medicine Shouwu class: III Determination of phospholipid content. *Chinese Herbal Medicine*, 1994, 25(11): 578-579. (in Chinese)
- [22] YIN J Y, NIE S P, ZHOU C, WAN Y, XIE M Y. Chemical characteristics and antioxidant activities of polysaccharide purified from the seeds of *Plantago asiatica* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, 90(2): 210-217.
- [23] 张名位. 黑米抗氧化与降血脂的活性成分及其作用机理[D]. 广州: 华南师范大学, 2003.
- ZHANG M W. Active ingredients and mechanism of antioxidative and hypolipidemic of black kernerled rice[D]. Guangzhou: South China Normal University, 2003 (in Chinese)
- [24] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- China Pharmacopoeia Committee. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005. (in Chinese)
- [25] REAGAN-SHAW S, NIHAL M, AHMAD N. Dose translation from animal to human studies revisited. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 2008, 22(3): 659-661.
- [26] KIM D H, KIM S, JEON S J, SON K H, LEE S, YOON B H, CHEONG J H, KO K H, RYUA J H. The effects of acute and repeated oroxylin A treatments on A $\beta$  25-35-induced memory impairment in mice. *Neuropharmacology*, 2008, 55(5): 639-647.
- [27] 马宇昕, 李国营, 孙灵芝, 谭亮, 田素民. 石菖蒲不同提取部位对  $\beta$  淀粉样蛋白致学习记忆障碍模型小鼠的影响. *神经解剖学杂志*, 2011, 27(5): 521-526.
- MA Y X, LI G Y, SUN L Z, TAN L, TIAN S M. Effects of the different extracted parts from *Acori graminei* rhizoma on learning and memory deficits in A  $\beta$ -injected mice. *Chinese Journal of Neuroanatomy*, 2011, 27(5): 521-526. (in Chinese)
- [28] JIN S H, PARK J K, NAM K Y, Park S N, Jung N P. Korean red ginseng saponins with low ratios of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponin improve scopolamine-induced learning disability and spatial working memory in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 66(2): 123-129.
- [29] LYUBIMOV I I. Effect of a polysaccharide fraction of ginseng root on learning and memory in rats (using an active escape response as an example). *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 1997, 27(5): 555-558.
- [30] TARIOT P N, PATEL S V, COX C, Henderson R E. Age-related decline in central cholinergic function demonstrated with scopolamine. *Psychopharmacology*, 1996, 125(1): 50-56.
- [31] RABIEI Z, RAFIEIAN-KOPAEI M, MOKHTARI S, ALIBABAEI Z, SHAHRANI M. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. *Biomedicine Aging Pathology*, 2014, 4(1): 71-76.
- [32] RABIEI Z, HOJJATI M, RAFIEIAN-KOPAEI M, ALIBABAEI Z. Effect of *Cyperus rotundus* tubers ethanolic extract on learning and memory in animal model of Alzheimer. *Biomedicine Aging Pathology*,

- 2013, 3(4):185-191.
- [33] 周苗苗, 孙树红, 宋姗姗, 徐杰, 王玉明, 薛长湖, 李兆杰. 鱿鱼卵磷脂对东莨菪碱痴呆小鼠学习记忆功能的影响. 现代食品科技, 2015, 31(9): 20-25.
- ZHOU M M, SUN S H, SONG S S, XU J, WANG Y M, XUE C H, LI Z J. Effects of squid lecithin on brain function of mice with scopolamine-induced dementia. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(9): 20-25. (in Chinese)
- [34] 毕洁琼, 邵邻相, 徐玲玲, 巩菊芳, 张均平, 吕学维, 麻艳芳. 大豆磷脂对 D-半乳糖致衰大鼠学习记忆及抗氧化能力的影响. 中国粮油学报, 2011, 26(2):9-13.
- BI J Q, SHAO X L, XU L L, GONG J F, ZHANG J P, LÜ X W, MA Y F. Effect of soybean lecithin on learning and memory and antioxidation ability of D-galactose induced aging rats. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2011, 26(2): 9-13. (in Chinese)
- [35] NASRI H, RAFIEIAN-KOPAEI M. Medicinal plants and antioxidants: why they are not always beneficial? *Iran Journal of Public Health*, 2014, 43(2): 255-257.
- [36] DASTJERDI H A, FAZILATI M, MALEKIRAD A A, NAZEM H, ABDOLLAHI M, ZERRATPISHEH A. The relationships between cognitive neuropsychological state, oxidative stress and genotoxicity in radiology staff. *Health*, 2014, 6: 1376-1384.
- [37] HALLIWELL B. Oxidative stress and neurodegeneration: Where are we known. *Journal of Neurochemistry*, 2006, 97:1634-1658.
- [38] PAVLOV P F, PETERSEN C H, GLASER E, ANKARCRONA M. Mitochondrial accumulation of APP and A beta: significance for Alzheimer disease pathogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2009, 3: 4137-4145.
- [39] RAHNAMA S, RABIEI Z, ALIBABAEI Z, MOKHTARI S, RAFIEIAN-KOPAEI M, DERIS F. Anti-amnesic activity of citrus aurantium flowers extract against scopolamine-induced memory impairments in rats. *Neurological Sciences*, 2015, 36(4): 553-560.
- [40] GAO Y, LI C, YIN J, SHEN J, WANG H, WU Y, JIN H. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of A $\beta$  peptide in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2012, 33: 304-311.
- [41] CHRISTEN Y. Oxidative stress and Alzheimer disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 71(2): 621S-629S.
- [42] ZELZER S, OBERREITHER R, BERNECKER C, STELZER I, TRUSCHNIG-WILDERS M, FAULER G. Measurement of total and free malondialdehyde by gas-chromatography mass spectrometry-comparison with high-performance liquid chromatography methology. *Free Radical Research*, 2013, 47(8): 651-656.
- [43] 逯爱梅, 于天贵, 李文杰, 辛晓明. 香菇多糖改善衰老小鼠学习记忆能力的抗氧化机制. 中国老年学杂志, 2011, 31(4): 613-615.
- LU A M, YU T G, LI W J, XIN X M. Antioxidant mechanisms of the improving effects of learning and memory function in aging mice. *Chinese Journal of Gerontology*, 2011, 31(4): 613-615. (in Chinese)
- [44] XIAO J, LI S Y, SUI Y. *Lactobacillus casei*-01 facilitates the ameliorative effects of proanthocyanidins extracted from lotus seedpod on learning and memory impairment in scopolamine-induced amnesia mice. *PLoS ONE*, 2014, 11(9): e112773.
- [45] JYOTI A, SHARMA D. Neuroprotective role of *Bacopa monniera* extract against aluminium-induced oxidative stress in the hippocampus of rat brain. *Neurotoxicology*, 2006, 27: 451-457.
- [46] MEENA H, PANDEY H K, PANDEY P, ARYA M C, AHMED Z. Evaluation of antioxidant activity of two important memory enhancing medicinal plants *bacopa monnieri* and *centella asiatica*. *Indian Journal of Pharmacology*, 2012, 49(1): 114-117.
- [47] KUNWORARATH N, RANGKADILOK N, SURIYO T, THANTANAWAT A, SATAYAVIVAD J. Longan (*Dimocarpus longan* Lour.) inhibits lipopolysaccharide-stimulated nitric oxide production in macrophages by suppressing NF-kappa B and AP-1 signaling pathways. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 179: 156-161.
- [48] 郑公铭, 徐良雄, 谢海辉, 吴萍, 魏孝义. 龙眼果肉化学成分的研究. 热带亚热带植物学报, 2010, 18(1): 82-86.
- ZHENG G M, XU L X, XIE H H, WU P, WEI X Y. Chemical constituents of the pulp of *Dimocarpus longan*. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2010, 18(1): 82-86. (in Chinese)

(责任编辑 赵伶俐)