

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.01281

枳椇子促智活性成分研究

衣淑珍[△], 傅秋生^{△*}

海军总医院药剂科, 北京 100048

[摘要] **目的:**研究枳椇子的促智活性成分。**方法:**从枳椇子中分离出6个皂苷类成分,以跳台法测试小鼠的记忆功能。实验装置为小鼠跳台反应箱,测试小鼠触电潜伏期及其3 min内错误次数作为记忆功能评价指标。将小鼠分为青年组、老年组、老年加吡拉西坦组(剂量0.3 g/kg)和老年加枳椇子总皂苷高、中、低3个剂量组(0.6、0.3、0.15 g/kg)等,研究皂苷类成分对老年小鼠学习和记忆的影响。另将小鼠随机分为空白组、模型组、吡拉西坦组(剂量0.3 g/kg)和老年加化合物3、4、5、6(剂量均为0.3 g/kg)等,研究对由东莨菪碱、亚硝酸钠、40%乙醇分别所致记忆获得、巩固及再现障碍的影响。**结果:**6个皂苷类成分其化学结构经光谱鉴定分别为3-O-豆甾醇-(6-棕榈酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷(1)、 β -胡萝卜苷(2)、hovenidulcioside A₁(3)、hoduloside I(4)、hoduloside IV(5)、saponins C₂(6)。其中,化合物1、2为首次从该植物中分离得到;化合物5、6能增强自然衰老小鼠的学习和记忆能力,并对由东莨菪碱、亚硝酸钠和40%乙醇分别引起的小鼠记忆获得、巩固及再现障碍病理模型有较明显的改善作用。**结论:**枳椇子酸枣仁皂苷元类皂苷可能是枳椇子总皂苷促智活性的物质基础。

[关键词] 酸枣仁皂苷元;枳椇子总皂苷;学习;记忆

[中图分类号] R 931.71; R 964

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2009)11-1281-07

The nootropic components of *Hovenia dulcis*

YI Shu-zhen[△], FU Qiu-sheng^{△*}

Department of Pharmacy, Naval General Hospital, Beijing 100048, China

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the nootropic components of *Hovenia dulcis*. **Methods:** Six saponins were isolated from *Hovenia dulcis* and Step-down test was used to examine the memory ability of mice. The escape latency and the times of wrong performance within 3 min were used to evaluate the memory ability of mice. To study the effects of saponins on learning and memory in mice, we divided the mice into 6 groups: youth group, aged group, aged plus piracetam (0.3 g/kg) group, aged plus saponins (0.6 g/kg) group, aged plus saponins (0.3 g/kg) group, and aged plus saponins (0.15 g/kg) group. To study the influence of saponins on impairment of memory acquirement, consolidation, and reoccurrence (induced by scopolamine, sodium nitrite and 40% ethanol, respectively), mice were also divided into the following 7 groups: control group, untreated group, piracetam group (0.3 g/kg), compound 3 group (0.3 g/kg), compound 4 group (0.3 g/kg), compound 5 group (0.3 g/kg), and compound 6 group (0.3 g/kg). **Results:** The chemical structures of six saponins were elucidated as 3-O-stigmasterol-(6-O-palmitoyl)- β -D-glucopyranoside (1), β -daucosterin (2), hovenidulcioside A₁ (3), hoduloside I (4), hoduloside IV (5), and saponins C₂ (6). Among them, compounds 1 and 2 were isolated from this plant for the first time. Compounds 5 and 6 had enhancing effect on the learning and memory ability of natural senile mice, and they could improve the impairment of memory acquirement, consolidation and recurrence in mice induced by scopolamine, sodium nitrite and 40% ethanol, respectively. **Conclusion:** The aglycone of jujubogenin might be the main saponins contributing to the nootropic effect of total saponins from *Hovenia dulcis*.

[KEY WORDS] jujubogenin; total saponins from *Hovenia dulcis* Thunb.; learning; memory

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(11): 1281-1287]

枳椇子为鼠李科拐枣属植物北枳椇(*Hovenia dulcis* Thunb.)的干燥成熟果实,在我国大部分地区

如陕西、山西、浙江、广东等都有分布。药理活性研究表明枳椇子有显著的解酒^[1]、抗肝纤维化^[2]、提高

[收稿日期] 2009-03-02

[接受日期] 2009-07-03

[作者简介] 衣淑珍, 硕士, 副主任药师. E-mail: ysz263@sina.com.cn; 傅秋生, 硕士, 主管药师. E-mail: navyfu@tom.com

[△]共同第一作者(Co-first authors).

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 010-66958329, E-mail: navyfu@tom.com

实验动物的综合体能和抗疲劳^[3-4]以及镇静催眠^[5]作用,化学成分研究表明枳椇子中含有皂苷^[6-7]、黄酮^[8]、生物碱^[9-10]等成分。本研究对枳椇子的亲水性成分进行了系统研究,并首次对枳椇子总皂苷和酸枣仁皂苷元类皂苷的促智活性进行了初步研究。

1 材料和方法

1.1 药物和试剂 枳椇子(购自本院中药房,经史成和副主任药师鉴定为北枳椇干燥成熟果实),吡拉西坦片(合肥制药厂,批号 20080519),氢溴酸东莨菪碱片(上海禾丰制药厂,批号 20080110),亚硝酸钠片(上海医药集团,批号 20071125),无水乙醇(上海医药集团,批号 20080702),氯仿(上海医药集团,批号 20080323),正丁醇(上海医药集团,批号 20070819),AB-8 大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂,批号 20070823)。

1.2 动物 昆明种小鼠,雄性,体质量(20±2) g。老龄小鼠,昆明种,雄性,14 个月龄,体质量(38±5) g。由本院实验动物中心提供。

1.3 皂苷类化合物的制备与结构鉴定 取生药 2.0 kg,捣碎,加 75% 乙醇回流提取(3.0 L×3 次,30 min,15 min,15 min),提取液合并,减压浓缩至无醇

味,残液依次以氯仿、正丁醇分别萃取 3 次(1.0 L、0.5 L、0.5 L),萃取液减压浓缩至干。正丁醇萃取残留物以适量水溶解,上清液以 AB-8 大孔吸附树脂(500 g)吸附,依次以 H₂O(2.5 L)、10% NaOH(5.0 L)、10% EtOH(5.0 L)、30% EtOH(2.5 L)、50% EtOH(5.0 L)、70% EtOH(5.0 L)和 95% EtOH(5.0 L)(V/V)洗脱。50%和 75%乙醇洗脱液合并后减压浓缩、干燥,得枳椇子总皂苷 35 g。取 20 g 总皂苷以硅胶柱色谱分离,CHCl₃/CH₃OH(20 : 1, 3 L;15 : 1,2 L;10 : 1,2 L;6 : 1,2 L;4 : 1,2 L;2 : 1,2 L;1 : 1,2 L)为流动相。所有洗脱流份再依次上 Sephadex LH-20(MeOH)和反相硅胶(ODS)色谱,流动相(H₂O/CH₃OH,100 : 0 → 0 : 100);最后再以半制备 HPLC(MeOH/H₂O,65 : 35,流速 3 ml/min)纯化,得化合物 1(35 mg,98.7%)、2(27 mg,99.3%)、3(41 mg,97.6%)、4(53 mg,98.3%)、5(38 mg,99.2%)和 6(67.7 mg,98.6%),其化学结构经¹HNMR、¹³CNMR、²DNMR、ESIMS、UV 和 IR 鉴定分别为 3-O-豆甾醇-(6-棕榈酰基)-β-D-吡喃葡萄糖苷、β-胡萝卜苷^[11]、hovenidulcioside A₁^[12-13]、hoduloside I、hoduloside IV 和 saponins C₂^[14](化学结构式见图 1)。

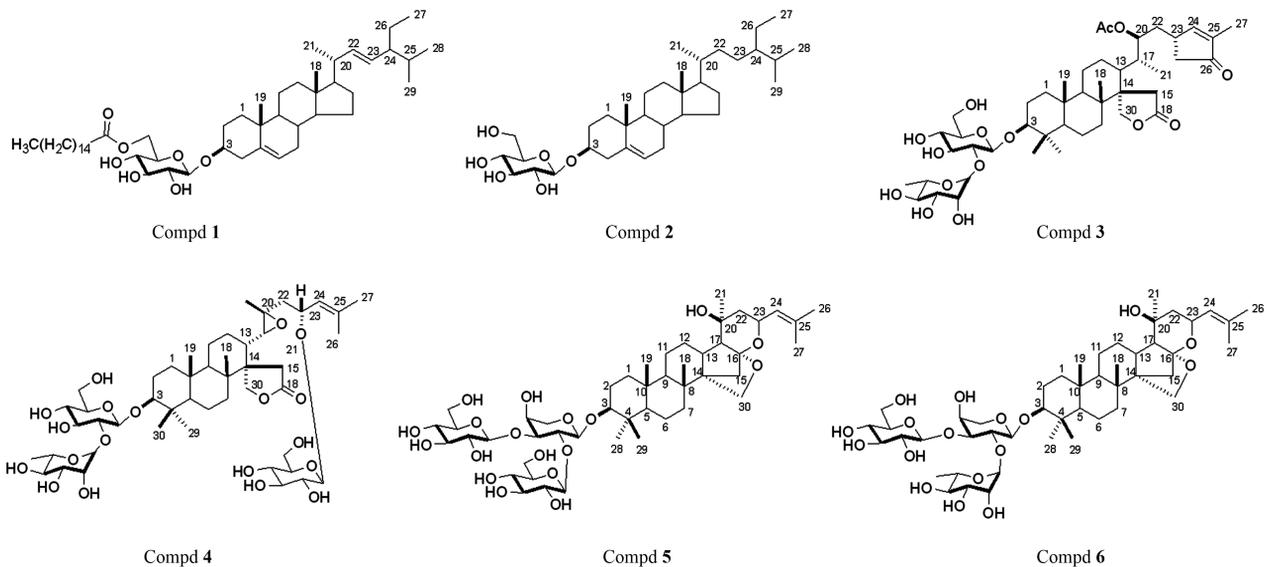


图 1 化合物 1~6 的化学结构式

Fig 1 Chemical structure of compounds 1-6

1.4 跳台法考察化合物对小鼠学习和记忆的影响 利用一次性被动回避反应(One trial passive avoidance response)的跳台法,研究药物对学习和记忆的影响。实验装置为小鼠跳台反应箱,体积为 30

cm×12 cm×30 cm,分为 3 室,底面为可通电的铜栅。训练时先将小鼠放在跳台箱内适应环境 5 min 后,轻放于橡皮台(安全区)上,当动物从跳台上跳下四肢接触铜栅时即通电(36 V,50 Hz),小鼠受到电

击后的正常逃避反应为跳上橡皮台。记录小鼠逃避至橡皮台上的潜伏期,并记录 5 min 内的触电次数(错误次数),以此作为学习成绩。24 h 后,将小鼠置平台上,记录小鼠第一次从平台跳下受电击的时间为触电潜伏期及其 3 min 内受电击次数(错误次数),以此作为记忆功能评价指标。测试时若小鼠停留在平台上超过 3 min,其潜伏期按 180 s 计。

将小鼠分为青年组、老年组、老年加吡拉西坦组(剂量 0.3 g/kg)和老年加枳椇子总皂苷高、中、低 3 个剂量组(0.6、0.3、0.15 g/kg)共 6 组。青年组、老年组给生理盐水,其余各组每天灌胃给相应药物 1 次,连续 7 d。末次给药 30 min 后开始训练,24 h 后进行测试(跳台法)。

将小鼠随机分为空白组、模型组、吡拉西坦组(剂量 0.3 g/kg)和老年加化合物 3、4、5、6(剂量均为 0.3 g/kg)共 7 组。空白组、模型组给生理盐水,每日灌胃给药 1 次,连续 7 d。(1)观察对记忆获得影响时,小鼠末次给药后,除空白组外,均分别腹腔注射氢溴酸东莨菪碱 2 mg/kg,30 min 后开始训练,24 h 后测试(跳台法);(2)观察对记忆巩固的影响时,小鼠末次给药后开始训练,训练 5 min 后,立即腹腔注射 NaNO₂ 120 mg/kg,24 h 后测试(跳台法);(3)观察对记忆再现影响时于训练后 24 h 灌胃 40% 乙醇 0.1 ml/10 g,10 min 后测试(跳台法)。

1.5 统计学处理 用 SPSS 12.0 软件分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,所有资料均进行正态性检验,多组间均数进行方差齐性检验和单因素方差分析。均以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 化合物的鉴定 化合物 1:白色腊状固体;ES-MS m/z : 835 $[M + Na]^+$; EI-MS m/z : 161, 239, 410。¹HNMR(CDCl₃) δ : 0.69(3H, s, H-18), 0.90(3H, s, H-19), 1.00(3H, d, $J = 6.65$ Hz, H-21), 0.81(3H, t, $J = 8.0$ Hz, H-27), 0.85(3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-28), 0.80(3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-29), 3.95(1H, m, H-3), 5.11(1H, dd, $J = 9.0$ Hz, 15.0 Hz, H-23), 5.26(1H, dd, $J = 9.0$ Hz, 15.0 Hz, H-22), 5.39(1H, t, $J = 2.5$ Hz, H-6); 3-O- β -D-Glu: 4.37(1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1), 3.34(1H, m, H-2), 3.57(1H, m, H-3), 3.40(1H, m, H-4), 3.46(1H, m, H-5), 4.30(1H, dd, $J = 3.0$ Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.42(1H, dd, $J = 6.0$ Hz, 12.0 Hz, Hb-6); ¹³CNMR(CDCl₃) δ : 37.5(C-1), 31.5(C-2), 79.9(C-3), 39.4(C-4), 140.8(C-5), 121.9(C-6), 31.9(C-7), 32.0

(C-8), 50.4(C-9), 36.9(C-10), 21.5(C-11), 39.7(C-12), 42.2(C-13), 57.0(C-14), 24.6(C-15), 29.1(C-16), 56.2(C-17), 12.4(C-18), 19.8(C-19), 40.9(C-20), 21.5(C-21), 138.8(C-22), 129.5(C-23), 51.7(C-24), 31.9(C-25), 19.3(C-26), 12.3(C-27), 21.4(C-28), 18.7(C-29)。确定该化合物为豆甾醇-3-O- β -D-(6-棕榈酰基)吡喃葡萄糖苷。

化合物 2:白色无定型粉末;EI-MS m/z : 576 $[M]^+$; ¹HNMR(CDCl₃) δ : 0.78(3H, s, H-18), 0.89(3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-29), 0.93(3H, t, $J = 8.0$ Hz, H-27), 0.97(3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-28), 1.23(3H, s, H-19), 1.15(3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-21), 3.85(1H, m, H-3), 5.44(1H, t, $J = 2.3$ Hz, H-6); β -D-Glu: 5.12(1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1), 3.54(1H, m, H-2), 4.43(1H, m, H-3), 4.44(1H, m, H-4), 3.98(1H, m, H-5), 4.90(1H, dd, $J = 3.0$ Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.81(1H, dd, $J = 6.0$ Hz, 12.0 Hz, Hb-6); ¹³CNMR(CDCl₃) δ : 37.5(C-1), 31.8(C-2), 72.0(C-3), 42.3(C-4), 141.1(C-5), 121.9(C-6), 32.1(C-7), 31.0(C-8), 50.5(C-9), 36.8(C-10), 21.7(C-11), 40.2(C-12), 42.5(C-13), 56.8(C-14), 24.7(C-15), 29.3(C-16), 56.1(C-17), 12.3(C-18), 19.6(C-19), 40.7(C-20), 21.5(C-21), 138.6(C-22), 129.7(C-23), 51.4(C-24), 32.0(C-25), 19.4(C-26), 12.7(C-27), 21.3(C-28), 19.5(C-29)。 β -D-Glu: 103.1(C-1), 75.1(C-2), 78.3(C-3), 71.4(C-4), 78.0(C-5), 62.5(C-6)。其 ¹HNMR 和 ¹³CNMR 谱数据与文献^[11]一致,故确定该化合物为 β -胡萝卜素。

化合物 3:无色针晶; m. p. 184~186°C; ESI-MS m/z : 875 $[M + Na]^+$; ¹HNMR(Py-d₅) δ : 0.90(3H, s, H-29), 0.91(3H, s, H-19), 0.95(3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-21), 1.05(3H, s, H-18), 1.10(3H, s, H-28), 1.91(3H, dd, $J = 1.6, 1.7$ Hz, H-27), 2.10(3H, s, H-Ac-Me), 2.49、2.70(2H, ABq, $J = 19.0$ Hz, H-15), 3.21(1H, m, H-3), 4.30、4.51(2H, ABq, $J = 10.5$ Hz, H-30), 4.74(1H, m, H-20), 5.11(1H, brs, H-23), 7.30(1H, brs, H-24); β -D-Glu: 4.83(1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1), 4.24(1H, m, H-2), 4.13(1H, m, H-3), 4.04(1H, m, H-4), 3.88(1H, m, H-5), 4.29(1H, dd, $J = 5.0$ Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.71(1H, dd, $J = 6.0$ Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。 α -L-Rha: 6.43(1H, brs, H-1), 4.84(1H, m, H-2), 4.63(1H, m, H-3), 4.24(1H, m, H-4), 4.81(1H, m, H-5), 1.69(3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6)。 ¹³CNMR(Py-d₅) δ : 39.2(C-1), 27.0(C-2), 89.8(C-3), 40.2(C-4), 57.1

(C-5), 19.1(C-6), 35.2(C-7), 42.6(C-8), 54.5(C-9), 37.8(C-10), 21.7(C-11), 25.2(C-12), 39.5(C-13), 53.8(C-14), 34.7(C-15), 179.3(C-16), 36.4(C-17), 18.3(C-18), 16.6(C-19), 74.7(C-20), 11.5(C-21), 35.6(C-22), 80.7(C-23), 151.4(C-24), 130.2(C-25), 176.4(C-26), 10.7(C-27), 28.3(C-28), 17.5(C-29), 21.3、172.0(AcO)。β-D-Glu: 105.4(C-1), 78.9(C-2), 79.6(C-3), 72.4(C-4), 77.6(C-5), 62.8(C-6)。α-L-Rha: 101.4(C-1), 71.9(C-2), 72.0(C-3), 73.7(C-4), 69.6(C-5), 17.8(C-6)。其¹H NMR和¹³C NMR谱数据与文献^[13]一致,故确定该化合物为hovenidulcioside A₁。

化合物 4: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z: 905 [M-H]⁻; ¹H NMR (Py-d₅) δ: 0.69(3H, s, H-19), 0.75(3H, s, H-18), 1.19(3H, s, H-29), 1.24(3H, s, H-28), 1.39(3H, s, H-21), 1.68(3H, s, H-26), 1.74(3H, s, H-27), 3.28(1H, dd, J = 4.0 Hz, 11.0 Hz, H-3), 2.63, 2.95(2H, ABq, J = 18.5 Hz, H-15), 3.01(1H, d, J = 9.0 Hz, H-17), 1.71, 2.41(2H, ABq, J = 14.0, H-22), 4.90(1H, dd, J = 10.0, 6.0 Hz, H-23), 5.41(1H, d, J = 10.0 Hz, H-24), 4.43, 4.71(2H, ABq, J = 10.5 Hz, H-30); 3-O-β-D-Glu: 4.93(1H, d, J = 7.0 Hz, H-1), 4.34(1H, m, H-2), 4.30(1H, m, H-3), 4.14(1H, m, H-4), 3.98(1H, m, H-5), 4.39(1H, dd, J = 5.0 Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.57(1H, dd, J = 6.0 Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。α-L-Rha: 6.63(1H, s, H-1), 4.80(1H, m, H-2), 4.65(1H, m, H-3), 4.34(1H, m, H-4), 4.81(1H, m, H-5), 1.73(3H, d, J = 6.0 Hz, H-6)。23-O-β-D-Glu: 4.91(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 3.94(1H, m, H-2), 4.25(1H, m, H-3), 4.23(1H, m, H-4), 3.80(1H, m, H-5), 4.33(1H, dd, J = 5.0 Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.47(1H, dd, J = 6.0 Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。¹³C NMR (Py-d₅) δ: 38.3.2(C-1), 27.0(C-2), 88.8(C-3), 39.2(C-4), 55.1(C-5), 18.1(C-6), 33.2(C-7), 39.6(C-8), 52.5(C-9), 36.8(C-10), 20.4(C-11), 25.2(C-12), 39.5(C-13), 51.8(C-14), 34.4(C-15), 176.3(C-16), 63.4(C-17), 17.3(C-18), 15.6(C-19), 56.7(C-20), 17.5(C-21), 44.6(C-22), 74.4(C-23), 127.4(C-24), 134.2(C-25), 26.4(C-26), 18.7(C-27), 27.3(C-28), 16.5(C-29), 69.5(C-30)。3-O-β-D-Glu: 105.9(C-1), 77.9(C-2), 79.6(C-3), 72.3(C-4), 78.6(C-5), 62.4(C-6)。α-L-Rha: 101.5(C-1), 72.1(C-2), 72.0(C-3), 74.3(C-4), 69.9(C-5), 18.8(C-6)。23-O-β-D-Glu: 103.3(C-1), 75.9

(C-2), 78.6(C-3), 71.4(C-4), 78.4(C-5), 62.5(C-6)。其¹H NMR和¹³C NMR谱数据与文献^[14]一致,故确定该化合物为hoduloside I。

2.5 化合物 5: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z: 927 [M-H]⁻; ¹H NMR (Py-d₅) δ: 3.28(1H, dd, J = 4.0 Hz, 12 Hz, H-3), 2.72(1H, m, H-13), 1.03(3H, s, H-18), 0.68(3H, s, H-19), 1.27(3H, s, H-21), 5.17(1H, m, H-23), 5.88(1H, d, J = 9.0 Hz, H-24), 1.68(3H, s, H-26), 1.61(3H, s, H-27), 1.27(3H, s, H-28), 1.01(3H, s, H-29)。α-L-ara: 4.80(1H, d, J = 7.0 Hz, H-1), 4.74(1H, m, H-2), 4.33(1H, m, H-3), 4.54(1H, m, H-4), 4.14(1H, dd, J = 2.5 Hz, 11.0 Hz, Ha-5), 3.67(1H, d, J = 11.0 Hz, Hb-5)。β-D-Glu(1→2): 5.51(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 4.04(1H, m, H-2), 4.23(1H, m, H-3), 4.19(1H, m, H-4), 3.72(1H, m, H-5), 4.30(1H, dd, J = 5.0 Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.37(1H, dd, J = 6.0 Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。β-D-Glu(1→3): 5.31(1H, d, J = 8.0 Hz, H-1), 4.01(1H, m, H-2), 4.20(1H, m, H-3), 4.17(1H, m, H-4), 3.92(1H, m, H-5), 4.33(1H, dd, J = 5.0 Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.47(1H, dd, J = 6.0 Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。¹³C NMR (Py-d₅) δ: 38.4(C-1), 26.4(C-2), 88.7(C-3), 39.3(C-4), 55.7(C-5), 17.9(C-6), 35.7(C-7), 37.2(C-8), 52.6(C-9), 36.8(C-10), 21.4(C-11), 28.3(C-12), 36.8(C-13), 53.2(C-14), 36.6(C-15), 110.0(C-16), 53.6(C-17), 18.4(C-18), 15.9(C-19), 68.2(C-20), 29.7(C-21), 45.1(C-22), 68.3(C-23), 126.8(C-24), 133.8(C-25), 25.2(C-26), 18.2(C-27), 27.7(C-28), 16.5(C-29), 65.5(C-30)。α-L-ara: 105.2(C-1), 77.5(C-2), 83.3(C-3), 68.6(C-4), 66.6(C-5)。β-D-Glu(1→2): 104.5(C-1), 76.6(C-2), 78.7(C-3), 72.5(C-4), 77.8(C-5), 62.9(C-6)。β-D-Glu(1→3): 105.5(C-1), 75.6(C-2), 78.2(C-3), 71.5(C-4), 78.8(C-5), 62.4(C-6)。其¹H NMR和¹³C NMR谱数据与文献^[14]一致,故确定该化合物为hovenoside IV。

化合物 6: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z: 1043 [M-H]⁻; ¹H NMR (Py-d₅) δ: 3.31(1H, dd, J = 4.0 Hz, 12 Hz, H-3), 2.81(1H, m, H-13), 1.06(3H, s, H-18), 0.72(3H, s, H-19), 1.36(3H, s, H-21), 1.65, 1.74(2H, ABq, J = 2.0 Hz, 14.0 Hz; H-22), 5.18(1H, m, H-23), 5.52(1H, d, J = 8.0 Hz, H-24), 1.67(3H, s, H-26), 1.65(3H, s, H-27), 1.27(3H, s, H-28), 0.96(3H, s, H-29)。α-L-ara: 4.83

(1H, d, $J=7.0$ Hz, H-1), 4.70(1H, m, H-2), 4.36(1H, m, H-3), 4.58(1H, m, H-4), 4.19(1H, dd, $J=2.5$ Hz, 11.0 Hz, Ha-5), 3.70(1H, d, $J=11.0$ Hz, Hb-5)。α-L-Rha: 6.60(1H, s, H-1), 4.79(1H, m, H-2), 4.63(1H, m, H-3), 4.33(1H, m, H-4), 4.85(1H, m, H-5), 1.76(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-6)。β-D-Glu: 5.34(1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1), 4.11(1H, m, H-2), 4.25(1H, m, H-3), 4.21(1H, m, H-4), 3.89(1H, m, H-5), 4.30(1H, dd, $J=5.0$ Hz, 12.0 Hz, Ha-6), 4.64(1H, dd, $J=6.0$ Hz, 12.0 Hz, Hb-6)。¹³CNMR(Py-d₅) δ: 38.3(C-1), 26.4(C-2), 88.1(C-3), 39.4(C-4), 55.7(C-5), 17.9(C-6), 35.7(C-7), 37.2(C-8), 52.6(C-9), 36.9(C-10), 21.4(C-11), 28.2(C-12), 36.7(C-13), 53.4(C-14), 36.5(C-15), 110.2(C-16), 53.6(C-17), 18.5(C-18), 15.9(C-19), 68.1(C-20), 29.7(C-21), 45.1(C-22), 68.2

(C-23), 126.7(C-24), 133.7(C-25), 25.2(C-26), 17.9(C-27), 27.6(C-28), 16.4(C-29), 65.4(C-30)。α-L-ara: 104.8(C-1), 77.7(C-2), 83.6(C-3), 69.0(C-4), 66.3(C-5)。α-L-Rha: 102.0(C-1), 71.9(C-2), 72.4(C-3), 74.0(C-4), 69.3(C-5), 18.1(C-6)。β-D-Glu: 106.0(C-1), 75.4(C-2), 78.0(C-3), 71.2(C-4), 78.3(C-5), 62.3(C-6)。其¹HNMR 和¹³CNMR谱数据与文献^[14]一致, 故确定该化合物为 saponins C₂。

2.2 枳椇子总皂苷对老龄小鼠学习和记忆的影响 结果表明, 14 个月龄的老年小鼠学习记忆能力明显低于青年组 ($P<0.01$); 服用枳椇总皂苷高、中剂量组和吡拉西坦组小鼠学习、记忆能力明显提高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。枳椇总皂苷小剂量组能明显减少学习时 5 min 内错误次数 ($P<0.05$), 对其他指标有改善但无显著性差异 (表 1)。

表 1 枳椇子总皂苷对老年小鼠学习和记忆的影响

Tab 1 Effects of total saponins from *Hovenia dulcis*. on study and memory ability of aged mice

Groups	No. of errors		Latency t/s	
	Learning(5 min)	Memory(3 min)	Learning	Memory
Youth group	4.0±1.8**	1.1±0.8**	14.4±5.1**	126.0±44.8**
Aged group	6.8±1.6	2.8±1.4	23.6±6.1	68.2±24.8
Aged+piracetam group				
0.3 g/kg	4.2±1.7**	1.6±0.7*	16.0±4.8*	102.7±36.2*
Aged+total saponins group				
0.6 g/kg	4.1±1.8**	1.3±0.9*	14.8±4.6**	116.2±42.6*
0.3 g/kg	4.4±1.5**	1.5±1.1*	17.0±5.2*	114.6±51.7*
0.15 g/kg	4.9±1.6*	2.0±1.3	21.5±5.8	89.5±53.9

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs aged group

2.3 化合物对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响 模型组与空白组比较触电潜伏期缩短 ($P<0.05$), 3 min 内错误次数增加 ($P<0.01$), 表明造模成功。与模型组比较, 化合物 3 对跳台法 2 项指标均无改善作用, 化合物 5、6 组、吡拉西坦组对 2 项指标均有明显改善作用 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 化合物 4 组能明显减少 3 min 内错误次数 ($P<0.05$), 对另一指标的改善无统计学意义 (表 2)。

2.4 化合物对 NaNO₂ 造成小鼠记忆巩固障碍的影响 与空白组比较, 模型组 2 项指标均有显著变化 ($P<0.01$), 表明小鼠记忆巩固出现障碍。与模型组比较, 化合物 3 对各项指标无改善作用; 化合物 5、6 组、吡拉西坦组触电潜伏期延长, 3 min 内错误次数减少 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 化合物 4 组对指标的改善无统计学意义 (表 3)。

表 2 枳椇子皂苷对东莨菪碱所致小鼠记忆障碍获得的影响

Tab 2 Effects of total saponins from *Hovenia dulcis*. on scopolamine-induced impairment of memory acquirement in mice

Groups	No. of errors		Latency t/s
Control group	1.1±1.2	168.2±68.4	
Untreated group	3.2±1.5**	98.6±40.2*	
Piracetam group 0.3 g/kg	1.5±1.4 [△]	156.6±64.2 [△]	
Compound 3 0.3 g/kg	3.0±1.2	113.8±50.3	
Compound 4 0.3 g/kg	1.6±1.3 [△]	121.8±52.4	
Compound 5 0.3 g/kg	1.2±1.1 ^{△△}	149.1±55.3 [△]	
Compound 6 0.3 g/kg	1.3±1.0 ^{△△}	170.1±72.4 [△]	

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$ vs untreated group

表 3 枳椇子皂苷对 NaNO₂ 造成小鼠记忆巩固障碍的影响

Tab 3 Effects of total saponins from *Hovenia dulcis*. on sodium nitrite-induced impairment of memory consolidation in mice

(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Groups	No. of errors	Latency t/s
Control group	1.1 ± 0.8	188.4 ± 67.2
Untreated group	2.8 ± 1.4**	100.2 ± 44.3**
Piracetam group 0.3 g/kg	1.5 ± 1.0 [△]	163.2 ± 58.4 [△]
Compound 3 0.3 g/kg	1.9 ± 1.3	108.5 ± 61.3
Compound 4 0.3 g/kg	1.8 ± 1.3	146.2 ± 54.6
Compound 5 0.3 g/kg	1.4 ± 1.1 ^{△△}	157.8 ± 57.3 [△]
Compound 6 0.3 g/kg	1.3 ± 1.2 ^{△△}	179.5 ± 60.1 ^{△△}

** P < 0.01 vs control group; [△] P < 0.05, ^{△△} P < 0.01 vs untreated group

2.5 化合物对 40%乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响 40%乙醇可致小鼠记忆再现障碍。化合物 3 对各项指标无改善作用;化合物 5、6 组、吡拉西坦组可使 2 项记忆指标明显改善 (P < 0.05 或 P < 0.01)。化合物 4 组对 2 项指标的改善无统计学意义 (表 4)。

表 4 枳椇子皂苷对 40%乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响

Tab 4 Effects of total saponins from *Hovenia dulcis*. on 40% ethanol-induced impairment of memory recurrence in mice

(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Groups	No. of errors	Latency t/s
Control group	1.3 ± 0.9	162.4 ± 60.6
Untreated group	2.9 ± 1.2**	103.2 ± 48.3*
Piracetam group 0.3 g/kg	1.5 ± 1.1 [△]	158.0 ± 47.8 [△]
Compound 3 0.3 g/kg	2.8 ± 1.2	107.2 ± 43.6
Compound 4 0.3 g/kg	1.8 ± 1.0	139.7 ± 46.3
Compound 5 0.3 g/kg	1.6 ± 1.2 ^{△△}	156.6 ± 54.4 [△]
Compound 6 0.3 g/kg	1.4 ± 1.1 ^{△△}	162.2 ± 58.7 [△]

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control group; [△] P < 0.05, ^{△△} P < 0.01 vs untreated group

3 讨论

促智药物的研究对于老年痴呆、脑卒中后的康复训练和各种创伤所致脑功能受损等都具有重大意义。随着我国逐步进入老龄化社会,迫切需要加强这方面的研究。目前国外对促智药物的研究开发以化学药物为主,对天然药物的研究以单体为主,进展也很快。作为中医药的故乡,我们也应该加大开发

中药促智药物研究的力度。

银杏、党参、葛根、红花、川芎、天麻等及许多复方制剂都具有促智作用。中医药认为促智药物的功能主要在于补肾脾、补血养心、改善血瘀,以填精充髓、益气醒脑。现代医学研究发现,促智中药可以通过多个途径和机制增强学习记忆,其作用机制可能为:抗氧化,清除自由基;为损伤神经元提供能量,减轻缺血、缺氧对神经元造成的损害;抑制损伤后相关凋亡基因的表达,减少神经元的延迟死亡;参与能量代谢,改善代谢障碍,促进神经细胞的修复和再生;重建海马的信息通路;扩张脑血管,解除血管痉挛,改善微循环等等^[15-17]。

文献^[18-22]报道,鼠李科植物酸枣仁、玄参科植物假马齿苋均有显著的神经药理活性,其共同特点是活性物质均为(伪)酸枣仁皂苷元的皂苷类成分。本研究采用跳台法,研究枳椇子总皂苷对动物学习记忆和记忆受损后的影响,先对动物进行训练(即学习),之后一定时间内测定其训练内容的记忆量来作为判断记忆能力的参数,首次将枳椇子中分离得到的酸枣仁皂苷元皂苷进行促智活性筛选。结果表明,枳椇总皂苷可以明显提高小鼠学习、记忆能力;枳椇子中的酸枣仁皂苷元类皂苷,对东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍、NaNO₂造成小鼠记忆巩固障碍、40%乙醇所致小鼠记忆再现障碍均有明显改善作用。枳椇子中的酸枣仁皂苷元类皂苷对记忆的 3 个环节都有作用,具有潜在的促智活性,其作用机制可能是多重的,尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 嵇扬,李俊,杨平. 枳椇子对急性酒精中毒的作用[J]. 中药材,2001,24:126-128.
- [2] 叶丽萍,张洪,刘秀琳. 枳椇子乙醇提取物对肝纤维化保护作用的形态学研究[J]. 武汉大学学报(医学版),2005,26:293-296.
- [3] 嵇扬,王文俊,孙芳. 枳椇子水提取液对小鼠综合体能的影响[J]. 中医药学报,2003,31:22-23.
- [4] 汪海涛,嵇扬,徐永祥,徐江平. 枳椇子乙醇提取物抗疲劳作用的实验研究[J]. 解放军药学报,2008,24:121-123.
- [5] 嵇扬,张葵荣,姜春来,王文俊. 枳椇正丁醇提取物镇静催眠作用的实验研究[J]. 中医药学刊,2004,22:656,669.
- [6] Kobayashi Y, Takeda T, Ogihara Y. Novel dammarane triterpenoid glycoside from the leaves of *Hovenia dulcis* [J]. J Chem Soc Perkin Trans, 1982, 1: 2795-2799.
- [7] Yoshikawa K, Kondo Y, Kimura E. A lupine-tmrpene and A 3 (2-1) Abeolupane glucoside from *Hovenia trichocatea* [J]. Phytochemistry, 1998, 49: 2057-2060.
- [8] Lee H Y, Kim H S, Park Y. ShikHovenodulinol, an active com-

- compound extracted from *hovenia dulcis* thunb, a process for preparing the same, and an alcohol decomposing agent or an agent for alleviating lingering intoxication containing the same: The Republic of Korea, Patent WO2002/ 24678, Patent PCT/KR 2000/01050[P]. 2002-03-28.
- [9] Makoto T, Yukio O, Shoji S. New peptide alkaloids from *Hovenia dulcis* and *H. tomentella* [J]. *Phytochemistry*, 1973, 12: 2985-2987.
- [10] Park M K, Park J H. Study on the alkaloidal component of seed of *Hovenia dulcis* [J]. *Seoul Univ J Pharm Sci*, 1990, 14: 41-45.
- [11] 郭学敏, 周卓轮, 洪永福. 猫爪草化学成分的研究 [J]. *药理学学报*, 1995, 30: 931-935.
- [12] Yoshikawa M, Ueda T, Muraoka O, Aoyama H, Matsuda H, Shimoda H, et al. Absolute stereostructures of hovenidulciosides A1 and A2, bioactive novel triterpene glycosides from *Hovenia Semen Seu Fructus*, the seeds and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb [J]. *Chem Pharm Bull*, 1995, 43: 532-534.
- [13] Yoshikawa M, Murakami T, Ueda T, Matsuda H, Yamahara J, Murakami N. Bioactive saponins and glycosides. IV. Four methyl-migrated 16, 17-seco-dammarane triterpene glycosides from Chinese natural medicine, *hovenia semen seu fructus*, the seeds and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. absolute stereostructures and inhibitory activity on histamine release of hovenidulciosides A1, A2, B1, and B2 [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44: 1736-1743.
- [14] Yoshikawa, Kazuko, Shinichi. Antisweet natural products VIII. Hodulosides I II III IV V from the leaves of *Hovenia dulcis* Thunb [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40: 2287-2290.
- [15] 孙 蓉, 吕丽莉, 刘国卿. 芍药苷对小鼠学习记忆能力的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2006, 22: 23-25.
- [16] 管孝鞠, 袁伯俊. 中药促智药研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 1997, 8: 55-59.
- [17] 周文丽, 周婷婷, 张建鹏, 冯伟华, 焦炳华. 贻贝多糖对老龄 SD 大鼠抗衰老作用 [J]. *第二军医大学学报*, 2009, 30: 786-789.
- Zhou W L, Zhou T T, Zhang J P, Feng W H, Jiao B H. Anti-aging activity of *Mytilus coruscus* polysaccharide in aged SD rats [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2009, 30: 786-789.
- [18] 侯建平, 张恩户, 胡 悦, 孙 涛. 酸枣仁对小鼠学习记忆能力的影响 [J]. *广州中医学院学报*, 2002, 5: 11-13.
- [19] 封洲燕, 郭殿武, 苏 松, 赵 辉, 郑筱祥. 酸枣仁皂甙 A 镇静和抗惊厥作用试验 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2002, 31: 103-106.
- [20] Singh H K, Dhawan B N. Effect of *Bacopa monniera* Linn. (brahmi) extract on avoidance responses in rat [J]. *J Ethnopharmacol*, 1982, 5: 205-214.
- [21] Stough C, Lloyd J, Clarke J, Downey L A, Hutchison C W, Rodgers T, et al. The chronic effects of an extract of *Bacopa monniera* (Brahmi) on cognitive function in healthy human subjects [J]. *Psychopharmacology(Berl)*, 2001, 156: 481-484.
- [22] Zhou Y, Shen Y H, Zhang C, Su J, Liu R H, Zhang W D. Triterpene saponins from *Bacopa monnieri* and their antidepressant effects in two mice models [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70: 652-655.

[本文编辑] 尹 茶

• 书 讯 •

《糖尿病饮食治疗学》已出版

本书由刘志民、石勇铨主编, ISBN: 978-7-81060-957-9, 16 开本, 定价: 45.00 元。

饮食治疗是糖尿病治疗的基础和有效措施, 本书通过介绍糖尿病及其慢性并发症的发病机制及流行病学, 阐明了糖尿病及相关疾病饮食治疗的机制和重要性, 并详细介绍了糖尿病饮食疗法的原则及其应用、糖尿病慢性并发症的饮食治疗、特殊类型糖尿病的饮食治疗、糖尿病特殊人群的饮食治疗、糖尿病并发其他疾病的饮食治疗等具体方法, 内容新颖、实用。

本书为内分泌专科和相关专业的医务工作人员制定和实施糖尿病患者饮食治疗方案提供了理论依据和方法指导。对糖尿病患者也有一定参考价值, 能够帮助糖尿患者在医生指导下学会自行配制食谱, 在控制疾病的同时提高生活质量。

本书由第二军医大学出版社发行科发行, 全国各大书店均有销售。

通讯地址: 上海市翔殷路 800 号, 邮编: 200433

邮购电话: 021-65344595, 65493093

<http://www.smmup.com>