

左旋延胡索乙素对快速眼动睡眠剥夺大鼠学习记忆和睡眠活动节律的影响

王艳艳, 卞宏生, 李海妮, 陈芋霏, 李玟玟, 李廷利, 黄莉莉*
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 研究左旋延胡索乙素对快速眼动睡眠剥夺大鼠学习记忆、睡眠活动节律及能量代谢的影响。**方法** 采用改良多平台水环境法对大鼠进行快速眼动睡眠剥夺, 通过六角迷宫实验考察左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠学习记忆的影响, 利用 CLAMS 系统分析大鼠的产热量、进食量和饮水量、睡眠时间和睡眠活动节律、自主活动次数等指标, 同时检测血清中 Glu 和 GABA 水平。**结果** 与模型组比较, 左旋延胡索乙素组可提高快速眼动睡眠剥夺大鼠的认知能力, 减少自主活动次数, 增加睡眠发生次数, 延长睡眠时间, 降低 Glu 和 GABA 水平 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与地西洋比较, 左旋延胡索乙素药效维持时间相对较短, 大鼠活动力恢复较快, 且无宿醉现象。**结论** 左旋延胡索乙素具有改善快速眼动睡眠剥夺大鼠学习记忆作用, 其作为镇静、催眠药物应用于临床具有独特优势。

关键词: 左旋延胡索乙素; 快速眼动睡眠剥夺; 学习记忆; 能量代谢; 睡眠活动节律

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)09-2812-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.011

Effects of *L*-tetrahydropalmatine on learning and memory, and sleep rhythm in rats with rapid eye movement sleep deprivation

WANG Yan-yan, BIAN Hong-sheng, LI Hai-ni, CHEN Yu-fei, LI Wen-wen, LI Ting-li, HUANG Li-li*

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects of *L*-tetrahydropalmatine (*L*-THP) on learning and memory, energy metabolism and sleep rhythm and activity in rats with rapid eye movement sleep deprivation. **METHODS** The rats developed rapid eye movement sleep deprivation under modified multi-platform water environment were subsequently subjected to the investigations of the effect of *L*-THP on their learning and memory by the hexagonal maze; and on their energy metabolism, food and water intakes, sleep time and rhythm, and the number of voluntary activities by the CLAMS system. Simultaneously, the rats had their serum levels of Glu and GABA detected as well. **RESULTS** Compared with the model group, *L*-THP group displayed improved cognitive ability, reduced number of voluntary activities, increased number of sleep occurrences, extended sleep time, and reduced levels of Glu and GABA ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with diazepam, *L*-THP maintained relatively shorter effective time, but quicker recovery time from its activity with no hangover. **CONCLUSION** Being a clinical sedative and hypnotic with its unique advantages, *L*-THP can improve the learning and memory of rats with rapid eye movement sleep deprivation.

KEY WORDS: *L*-tetrahydropalmatine; rapid eye movement sleep deprivation; learning and memory; energy

收稿日期: 2021-06-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82003974); 黑龙江省青年科学基金项目 (QC2013C085, LH2019H106); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (12531623); 哈尔滨市科技局项目 (2013RFQXJ070); 黑龙江中医药大学博士创新基金 (2015bs08)

作者简介: 王艳艳 (1982—), 女, 副教授, 研究方向为中药及复方改善睡眠药效物质基础及其作用机制。E-mail: 729930185@qq.com

*通信作者: 黄莉莉 (1978—), 女, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中药及复方改善睡眠药效物质基础及其作用机制。E-mail: 908668198@qq.com

metabolism; rhythm of sleep and activity

现代社会越来越多的人受到睡眠障碍的困扰,经历着不同程度的睡眠剥夺^[1]。据调查,在我国30~79岁人群中,患有睡眠障碍的高达23.1%^[2]。睡眠障碍会影响重要的大脑功能,如警觉性、认知功能,亦可增加负面情绪^[3-5]。有研究表明,快速眼动睡眠剥夺可影响记忆的巩固,导致海马依赖性学习和记忆障碍等^[6-7]。睡眠具有昼夜节律,与饮食、情绪、代谢、认知、行为等多项生理指标有关联,对于维持机体稳态和生理活动的正常具有重要意义^[8]。

延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎,具有活血化瘀、行气止痛等功效,李时珍记载延胡索“专治一身上下诸痛,用之中的,妙不可言”。延胡索镇痛的主要活性物质为生物碱,其中以延胡索乙素作用最强^[9-10],镇痛效果被称为中药中的吗啡^[11]。现代研究发现,延胡索乙素除具有镇痛镇静作用外,还有抗心律失常、改善血脂、保护缺血再灌注组织等作用^[12-13],并且该成分为消旋体,其左旋体活性较强,但它是否干预快速眼动睡眠剥夺所致的认知障碍和睡眠活动觉醒节律尚不清楚。因此,本研究通过六角迷宫实验和动物监测系统,考察左旋延胡索乙素对快速眼动睡眠剥夺大鼠学习记忆功能、睡眠觉醒节律和能量代谢的影响。

1 材料

1.1 动物 SPF级SD大鼠,雄性,体质量(240±20)g,由黑龙江中医药大学GLP实验室提供,实验动物生产许可证号SCXK(黑)2018-007。饲养环境为温度(22±2)℃,相对湿度(55±15)%,12h/12h明暗交替。经黑龙江中医药大学实验动物管理和使用委员会审核,实验动物伦理审查批准编号DWLL20191228001。

1.2 试剂与药物 左旋延胡索乙素(纯度≥98%,上海融禾医药科技发展有限公司,批号170926);地西洋片(山东信谊制药有限公司,批号191006)。氯化钠注射液(哈尔滨三联药业股份有限公司,批号200907D06);2% DMSO(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号D103273); γ -氨基丁酸(GABA)酶联免疫检测试剂盒(货号H168-1-2)、谷氨酸测试盒(货号A074-1-1)均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 睡眠剥夺箱(自制);六角迷宫箱

(俄罗斯阿穆尔国立医学院);实验动物监测系统(型号CLAMS,美国Columbus公司);动物行为学采集与分析系统(型号BL420F,成都泰盟软件有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 32只大鼠随机分为空白组、模型组、阳性药组及左旋延胡索乙素高、低剂量组,每组8只。左旋延胡索乙素各组分别灌胃给予15、5 mg/kg左旋延胡索乙素溶液,空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水,阳性药组给予1 mg/kg地西洋溶液,每天19:00给药1次,连续7 d。

2.2 建立睡眠剥夺模型 采用多平台水环境法建立大鼠睡眠剥夺模型。给予药物或生理盐水5 d后,将动物放入睡眠剥夺箱(90 cm×70 cm×50 cm,内有12个平台,高8.0 cm,直径6.3 cm,平台之间间隔15 cm,平台周边注满水,水面距平台面约1.0 cm,水温保持在25℃左右)内进行快速眼动睡眠剥夺,共24 h。

2.3 六角迷宫实验 六角迷宫箱,由俄罗斯阿穆尔国立医学院格里格力耶夫教授发明,箱体为六角形,周壁带有6个可关闭的门,底面铺有可通电的铜栅。训练时,以铃声为刺激,足底电击为非条件刺激。实验通过摄像系统及计算机记录大鼠的寻找时间、寻找频率和认知率,综合以上指标,可考察动物的探究积极性、兴奋性、认知能力^[14]。本实验各组动物于给药后第3天开始学习记忆训练,训练时间为3 d,于第5天进行24 h的快速眼动睡眠剥夺,剥夺后的动物休息24 h后,于给药第7天放入六角迷宫箱中进行学习记忆的测试,并记录各指标。

2.4 能量代谢、自主活动、睡眠时间和睡眠活动节律检测 分别将睡眠剥夺后的各组大鼠置于实验动物监测系统的代谢笼内,在定时光照(照明时间为7:00~19:00,熄灯时间为19:00~次日7:00)的条件下,采用CLAMS系统对大鼠进行24 h的监测,该系统还持续监测大鼠的进食活动^[15]。通过撞击红外光束,判断大鼠活动次数^[12](在系统监测前设置参数,采集率为1 samples/60 s,即系统每1 min自动收集1次样本数据,每天有1 440个采集点),以活动次数为0作为依据,计算大鼠24 h的睡眠时间,由于19:00~20:00为灌胃给药时间,自主活动和睡眠时间影响较大,

故此时间段数据不作处理,实验结果计算总时间为 23 h (20:00~次日 19:00)。

2.5 神经递质水平检测 行为学实验完成后,大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.4 mL/100 g) 进行麻醉,颈总动脉取血,3 000 r/min 离心 20 min,取上清液。按试剂盒说明书操作方法进行检测,并计算大鼠血清中 Glu 和 GABA 水平。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理,

数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠学习记忆的影响 如表 1 所示,与空白组比较,模型组大鼠寻找时间、错误次数增加 ($P < 0.05$),认知率降低;与模型组比较,左旋延胡索乙素高剂量组大鼠认知率提高,寻找时间和错误次数减少 ($P < 0.01$)。

表 1 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠学习记忆的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab. 1 Effects of L-THP on the learning and memory of sleep deprived rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	寻找时间/min	错误次数/次	寻找频率/(次·min ⁻¹)	认知率/%
空白组	3.72±2.44	8.75±3.45	5.09±2.21	42.55±9.25
模型组	6.58±1.73 [*]	12.38±4.14 [*]	2.91±0.79	34.04±7.12
阳性药组	5.33±3.50	10.88±3.14	4.63±3.03	34.34±6.71
左旋延胡索乙素高剂量组	2.27±1.39 ^{##}	5.00±2.33 ^{##}	13.47±22.75	56.54±10.83 ^{##}
左旋延胡索乙素低剂量组	4.23±2.98 [#]	8.83±4.67 [#]	4.27±1.71	43.60±18.56

注:与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

3.2 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠自主活动的影响 如表 2 所示,与空白组比较,模型组大鼠白天、夜晚及全天平均活动次数均减少 ($P < 0.01$);

与模型组比较,阳性药组和左旋延胡索乙素各剂量组大鼠白天、夜晚及全天活动次数均减少 ($P < 0.01$)。

表 2 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab. 2 Effects of L-THP on autonomous activities in sleep deprived rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	白天平均活动次数/次	夜晚平均活动次数/次	总平均活动次数/次
空白组	12.90±9.51	17.00±10.73	15.04±10.36
模型组	8.48±7.06 ^{**}	11.45±9.86 ^{**}	10.03±8.76 ^{**}
阳性药组	5.60±5.96 ^{##}	9.58±9.23 ^{##}	7.68±8.08 ^{##}
左旋延胡索乙素高剂量组	5.46±4.44 ^{##}	8.55±5.82 ^{##}	7.08±5.43 ^{##}
左旋延胡索乙素低剂量组	4.74±4.39 ^{##}	7.36±5.85 ^{##}	6.10±5.36 ^{##}

注:与空白组比较,^{**} $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$ 。

3.3 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠睡眠时间的影响 如表 3 所示,与空白组比较,模型组大鼠白天、夜晚及全天睡眠时间均增加,但无统计学差异 ($P > 0.05$);与模型组比较,阳性药组大鼠白天、夜晚及全天睡眠时间均增加,其中夜晚睡眠时间具

有统计学差异 ($P < 0.05$),左旋延胡索乙素高剂量组夜晚及全天睡眠时间增加,但无统计学差异 ($P > 0.05$),左旋延胡索乙素低剂量组夜晚和全天睡眠时间均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表 3 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠睡眠时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab. 3 Effects of L-THP on sleep time of sleep deprived rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	白天睡眠时间/min	夜晚睡眠时间/min	全天睡眠时间/min
空白组	163.50±46.17	221.17±37.74	384.67±81.71
模型组	213.83±34.17	247.50±47.59	461.33±66.22
阳性药组	262.50±55.00	311.83±36.86 [#]	574.33±56.88
左旋延胡索乙素高剂量组	212.83±56.42	304.00±67.53	516.83±101.11
左旋延胡索乙素低剂量组	275.50±80.57	340.00±68.15 ^{##}	615.50±144.75 [#]

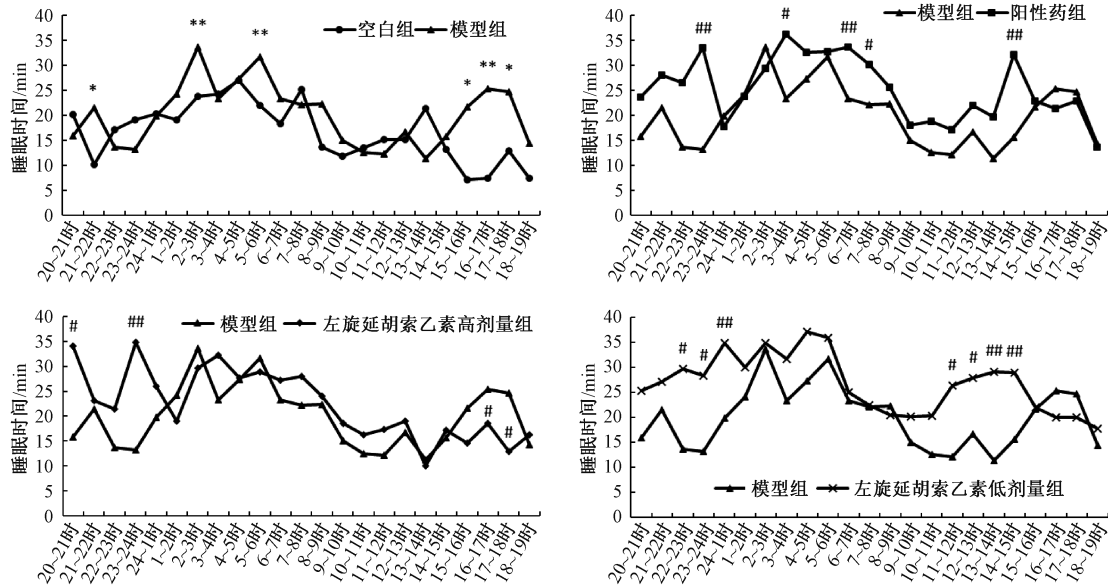
注:与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

3.4 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠睡眠活动节律的影响 通过降噪处理,对各组大鼠给药后每小时的睡眠时间进行分析,结果如图 1 所示,与空白组比较,模型大鼠在 21~22 时、2~3 时、5~6 时、

15~18 时睡眠时间增加 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组在 22~24 时、6~7 时、7~8 时、13~15 时睡眠时间增加 ($P < 0.05, P < 0.01$),左旋延胡索乙素高剂量组在 20~21 时、

23~24时睡眠时间增加 ($P<0.05$, $P<0.01$), 16~18时睡眠时间减少 ($P<0.05$), 左旋延胡索乙素

低剂量组在22~1时、11~15时睡眠时间增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)。



注: 与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图1 大鼠23 h睡眠时间折线图

Fig. 1 Broken line graph of 23 h sleep time of rats

3.5 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠睡眠活动节律的影响 如图2所示, 与阳性药地西洋比较, 左旋延胡索乙素作用特点为给药后睡眠发生次数增加, 睡眠时间延长, 药效发挥迅速, 但其药效维持时间相对较短, 其中高剂量给药12 h后大鼠活动力恢复。

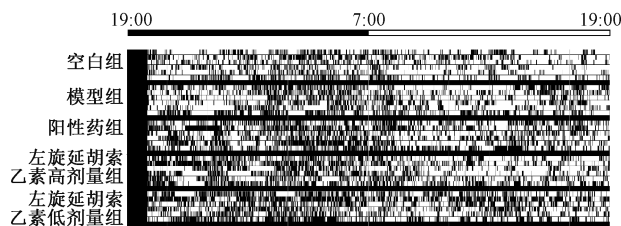


图2 大鼠睡眠-觉醒节律图

Fig. 2 Sleep-wake rhythm diagram of rats

3.6 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠神经递质水平的影响 如表4所示, 与空白组比较, 模型组大鼠海马中Glu和GABA水平升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 阳性药组和左旋延胡索乙素高剂量组大鼠海马中Glu和GABA水平均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

3.7 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠能量代谢的影响 如表5所示, 与空白组比较, 模型组大鼠白天产热量、摄食量和饮水量均增加, 夜晚产热量和饮水量则减少; 与模型组比较, 阳性药组和左旋延

表4 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠神经递质水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab. 4 Effects of L-THP on neurotransmitter levels of sleep deprived rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	Glu/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	GABA/($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
空白组	89.15 $\pm$ 19.91	273.39 $\pm$ 61.45
模型组	152.10 $\pm$ 23.43**	422.50 $\pm$ 38.41**
阳性药组	106.74 $\pm$ 32.02##	273.80 $\pm$ 47.82##
左旋延胡索乙素高剂量组	117.30 $\pm$ 20.40#	301.94 $\pm$ 43.21##
左旋延胡索乙素低剂量组	134.65 $\pm$ 17.52	367.52 $\pm$ 71.89

注: 与空白组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

胡索乙素各剂量组大鼠白天摄食量减少 ($P<0.01$)。

3.8 大鼠睡眠时间与能量代谢的相关性分析 如表6所示, 大鼠白天睡眠时间与产热量呈负相关 ($P<0.01$), 夜晚睡眠时间与白天产热量和摄食量均呈负相关 ($P<0.01$), 上述结果提示能量代谢指标如产热量、饮水量等与睡眠时间具有一定相关性。

4 讨论

有研究显示, 正常睡眠能够促进记忆的巩固, 而睡眠障碍则会导致认知能力下降^[16]。王纯等^[1]发现慢性睡眠剥夺可加重9月龄3xTg-AD小鼠的识别记忆能力、工作记忆和条件恐惧记忆能力损伤。另有报道称左旋延胡索乙素能抑制冰毒诱导的小鼠

表 5 左旋延胡索乙素对睡眠剥夺大鼠能量代谢的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab. 5 Effects of L-THP on energy metabolism in sleep deprived rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	白天产热量	白天摄食量	白天饮水量	夜晚产热量	夜晚摄食量	夜晚饮水量
空白组	95.05±10.12	4.53±3.29	7.53±5.22	78.83±5.61	0.71±0.79	5.44±2.63
模型组	79.47±8.44**	7.29±5.65	7.85±6.76	77.10±7.95	2.47±3.03	4.15±2.67
阳性药组	69.69±8.47	1.48±0.66 ^{##}	1.73±1.31 [#]	68.47±8.71	1.30±1.00	3.33±2.85
左旋延胡索乙素高剂量组	85.42±9.65	2.05±1.19 ^{##}	4.44±3.91	83.50±8.35	4.42±2.47	5.25±4.26
左旋延胡索乙素低剂量组	75.13±14.79	1.54±1.75 ^{##}	3.84±4.59	79.25±5.87	2.92±2.09	3.96±3.16

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

表 6 大鼠睡眠时间与能量代谢的相关分析

Tab. 6 Correlation analysis of sleep time and energy metabolism in rats

组别	白天产热量	白天摄食量	白天饮水量	夜晚产热量	夜晚摄食量	夜晚饮水量
白天睡眠时间	r	-0.519	-0.303	-0.032	-0.059	0.309
	P	0.003	0.104	0.868	0.758	0.097
夜晚睡眠时间	r	-0.501	-0.508	-0.103	-0.060	0.193
	P	0.005	0.004	0.587	0.753	0.306

空间记忆损伤^[17]。本实验结果显示,快速眼动睡眠剥夺后,模型组大鼠寻找时间延长,寻找频率和认知率降低,表明睡眠剥夺后大鼠出现学习记忆障碍。左旋延胡索乙素干预后,高剂量组大鼠认知率提高,错误次数减少,提示该成分可改善快速眼动睡眠剥夺后大鼠的学习记忆能力。

徐波等^[18]采用对氯苯丙氨酸腹腔注射叠加多平台水环境剥夺可造成大鼠睡眠节律紊乱,并考察了安寐丹对不同周期睡眠剥夺模型大鼠昼夜节律、学习记忆及食欲素的影响。本实验结果显示,快速眼动睡眠剥夺大鼠的睡眠时间增加,自主活动次数减少,但睡眠活动节律未改变,提示睡眠剥夺 24 h 未改变大鼠的昼夜节律。给药后,阳性药地西洋组大鼠各时间段睡眠时间均有延长,活动力降低,且维持时间长。镇静催眠药物如地西洋等具有中枢神经系统抑制作用,其副反应为易产生依赖性、戒断症状和宿醉反应。宿醉反应作为化学类助眠药物的常见后遗效应,表现为服药次晨出现头晕、嗜睡、精细运动不协调等^[19]。与阳性药地西洋组比较,左旋延胡索乙素作用特点为给药后睡眠剥夺大鼠睡眠发生次数增加,睡眠时间延长,且药效发挥迅速,但维持时间相对较短,大鼠活动力恢复较快,无宿醉现象,且未呈现剂量依赖性。本实验在夜晚给药时,发现大鼠夜晚睡眠时间延长,前期研究发现,当白天给药时,左旋延胡索乙素可增加大鼠的白天睡眠时间。因此,推测延胡索可能具有调节睡眠剥夺大鼠睡眠活动节律的作用。

清醒状态下测得的代谢率为静息代谢率,估算了在日常生活中大多数清醒状态下的最低能耗。睡眠时测得的代谢率为睡眠代谢率,因为睡眠时测得

的能耗值明显减少了意识活动带来的额外能耗部分,测得的结果具有更高重复性和精确性^[20-21]。本实验进行了快速眼动大鼠睡眠时间与能量代谢相关指标的相关分析。结果显示,大鼠白天和夜晚睡眠时间与白天产热量呈负相关,提示睡眠时间延长,产热量减少,大鼠在睡眠状态下意识活动减少时能耗降低。

综上所述,左旋延胡索乙素可提高快速眼动睡眠剥夺大鼠的认知能力,减少自主活动,延长睡眠时间,且无宿醉现象,是一个极具潜力的催眠剂。然而该成分作为镇静催眠药物的临床应用频率较低,近年来实验研究和临床数据均较少,故本研究可为其广泛应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 王 纯,曹 旭,尹 静,等.慢性睡眠剥夺加重 APP/PS1/tau 小鼠学习记忆能力和病理损伤[J].生理学报,2021,73(3):471-481.
- [2] 郑 棒,林丽玲,余灿清,等.中国成年人睡眠时长、午睡与失眠症状的分布及关联研究[J].中华流行病学杂志,2017,38(4):452-456.
- [3] Klinzing J G, Niethard N, Born J. Mechanisms of systems memory consolidation during sleep[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(10):1598-1610.
- [4] Palmer C A, Alfano C A. Sleep and emotion regulation: an organizing, integrative review[J]. *Sleep Med Rev*, 2017, 31:6-16.
- [5] Kahn M, Sheppes G, Sadeh A. Sleep and emotions: bidirectional links and underlying mechanisms[J]. *Int J Psychophysiol*, 2013, 89(2):218-228.
- [6] Peever J, Fuller P M. The biology of REM sleep[J]. *Curr Biol*, 2017, 27(22):R1237-R1248.

- [7] Zhang L, Zhang H Q, Liang X Y, *et al.* Melatonin ameliorates cognitive impairment induced by sleep deprivation in rats: role of oxidative stress, BDNF and CaMKII[J]. *Behav Brain Res*, 2013, 256: 72-81.
- [8] 王 静, 侯婉婷, 秦雪梅, 等. 昼夜节律的相关研究进展[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(13): 3240-3248.
- [9] 王安铸, 马晓昌. 延胡索乙素的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(4): 1927-1929.
- [10] 关秀锋, 王 锐, 曲秀芬, 等. 延胡索的化学成分与药理作用研究进展[J]. 化学工程师, 2020, 34(3): 57-60.
- [11] 余守洋, 白威峰, 涂 平, 等. 延胡索及其有效成分抗吗啡成瘾多巴胺系统作用机制研究和效果比较[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3643-3648.
- [12] Ling H Y, Wu L M, Li L D. *Corydalis yanhusuo rhizoma* extract reduces infarct size and improves heart function during myocardial ischemia/reperfusion by inhibiting apoptosis in rats[J]. *Phytother Res*, 2006, 20(6): 448-453.
- [13] Ding G S. Important Chinese herbal remedies[J]. *Clin Ther*, 1987, 9(4): 345-357.
- [14] 张 茹. 刺五加改善睡眠剥夺大鼠学习记忆能力的机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [15] 卞宏生. 昼夜节律对大鼠的睡眠模式和能量代谢的影响及褪黑素的干预作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [16] Cellini N. Memory consolidation in sleep disorders[J]. *Sleep Med Rev*, 2017, 35: 101-112.
- [17] Cao G F, Zhang Y, Zhu L, *et al.* The inhibitory effect of levotetrahypalmatine on the methamphetamine-induced spatial memory impairment in mice[J]. *Neurosci Lett*, 2018, 672: 34-39.
- [18] 徐 波, 夏 婧, 蔡 铭, 等. 安寐丹对不同周期睡眠剥夺模型大鼠昼夜节律、学习记忆及食欲素的影响[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(3): 1677-1682.
- [19] 吴传芳. 酸枣仁对地西洋的增效减毒作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.
- [20] 刘 鑫, 游秋云, 王 平, 等. 酸枣仁汤对老年慢性快动眼睡眠剥夺模型大鼠肝脏线粒体能量代谢及其机制的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(16): 53-58.
- [21] Ganpule A A, Tanaka S, Ishikawa-Takata K, *et al.* Interindividual variability in sleeping metabolic rate in Japanese subjects[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2007, 61(11): 1256-1261.

绞股蓝总皂苷对 3T3-L1 前脂肪细胞棕色化和自噬活性的影响

陈 超¹, 黄 平², 林若冰³, 范雪敏¹, 余 绮¹, 傅丹青^{1*}

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州 310005; 3. 浙江药科职业大学, 浙江 宁波 315153)

摘要:目的 探索绞股蓝总皂苷对 3T3-L1 前脂肪细胞棕色化及自噬活性的影响。方法 通过诱导使 3T3-L1 前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞, 油红 O 染色法对其进行鉴定。采用 CCK8 法筛选绞股蓝总皂苷的干预剂量, Western blot 法检测细胞 UCP1、PGC-1 α 、LC3、Beclin-1、SQSTM1/P62 及 Complex I、II、III、IV、V 蛋白表达, RT-qPCR 法检测 *Cidea*、*Dio2*、*Cox2*、*Cox8b* mRNA 表达。结果 绞股蓝总皂苷促进了细胞 UCP1、PGC-1 α 、SQSTM1/P62 及 Complex I、II、V 蛋白表达以及 *Cidea*、*Dio2*、*Cox2*、*Cox8b* mRNA 表达, 抑制了 Complex IV、LC3、Beclin-1 蛋白表达。结论 绞股蓝总皂苷可以促进 3T3-L1 前脂肪细胞棕色化并抑制其自噬活性。

关键词: 绞股蓝总皂苷; 3T3-L1 细胞; 肥胖; 自噬; 棕色化

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)09-2817-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.012

Effects of gypenosides on the browning and autophagy of 3T3-L1 preadipocytes

CHEN Chao¹, HUANG Ping², LIN Ruo-bing³, FAN Xue-min¹, YU Qi¹, FU Dan-qing^{1*}

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. The Second Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou

收稿日期: 2022-02-06

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LY18H290007); 浙江中医药大学校级科研基金项目 (2020ZR06)

作者简介: 陈 超 (1995—), 男, 硕士, 研究方向为内分泌及代谢性疾病。Tel: 18958149737, E-mail: haski_cc@foxmail.com

* 通信作者: 傅丹青 (1990—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为心血管及代谢性疾病的临床及基础研究。Tel: 17826865127, E-mail: fdq_doctor@163.com