

文章编号: 1674-8085 (2023) 03-0063-07

# 黄藤水提物对 AD 果蝇疗效和寿命的影响

#陈泳鹤<sup>1</sup>, #罗玉莹<sup>2</sup>, 顾潇航<sup>2</sup>, \*曹进国<sup>2</sup>

(1. 赣南医学院公共卫生与健康管理学院, 江西, 赣州 341000; 2. 赣南医学院基础医学院, 江西, 赣州 341000)

**摘要:** 探讨黄藤水提物对 AD 果蝇疗效和寿命的影响。Elav-gal4 基因型雌性果蝇和 UAS-A $\beta$ 42 基因型雄性果蝇进行杂交, 收集三天内子代 Elav-gal4 >> UAS-A $\beta$ 42 雄性果蝇, 利用 UAS-A $\beta$ 42/cyo 雄性果蝇作为对照, 实验组果蝇和对照组果蝇放置在浓度为 0、0.5、1、2 mg/mL 的黄藤水提物培养基中饲养 0、7、14 d, 观察爬管实验阳性的果蝇数量, 并每天计数果蝇的死亡数直至全部果蝇死亡, 计算果蝇平均寿命。结果表明黄藤水提物浓度为 0.5 mg/mL 饲养 7 d 和 14 d 时, 与对照组相比, AD 果蝇的神经行为学表现和存活时间有改善作用, 但效果不显著 ( $P > 0.05$ ); 浓度增加到 1 mg/mL 时, 实验组饲养 7 d 和 14 d 爬管实验阳性的果蝇数量与对照组相比均有所上升 ( $P < 0.05$ ), 并且延缓果蝇死亡时间, 延长果蝇寿命 ( $P < 0.05$ ); 然而随着浓度的增加, 饲养 7 d 和 14 d 的果蝇爬管行为学与对照组相比均有明显的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 果蝇的生存时间也显著减少 ( $P < 0.01$ )。此次实验还发现黄藤水提物在低浓度时治疗 AD 作用并不明显, 但超过 2 mg/mL 时对 AD 果蝇爬管行为学和寿命均产生不利影响, 因此只有在剂量和给药天数均合适的情况下才会产生积极作用。

**关键词:** 黄藤水提物; 抗 AD; 果蝇; 神经保护; 寿命

中图分类号: Q969.462.1

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1674-8085.2023.03.010

## EFFECT OF WATER EXTRACT FROM *FIBRAUREA RECISA* ON THE EFFICACY AND LIFE SPAN IN AD *DROSOPHILA MELANOGASTER*

#CHEN Yong-he<sup>1</sup>, #LUO Yu-ying<sup>2</sup>, GU Xiao-hang<sup>2</sup>, \*CAO Jin-guo<sup>2</sup>

(1. School of Public Health and Health Management, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, China;

2. School of Basic Medical Sciences, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi, 341000, China)

**Abstract:** To investigate the effect of *Fibraurea recisa* on neuroethology and life span of *Drosophila melanogaster* with overexpression of human A $\beta$ 42 protein. The Elav-gal4 genotype female and UAS-A $\beta$ 42 genotype were screened for hybridization, and the male offsprings of Elav-gal4>>UAS-A $\beta$ 42 within three days were collected. The male offsprings of UAS-A $\beta$ 42/cyo were set as the control, they were placed in 0, 0.5, 1, 2 mg/mL of FR and fed for 0, 7 and 14 days respectively. The number of the flies with positive climbing assay was observed, and their death number was counted every day until all flies died, and the average life span of the flies was calculated. The results showed that when the FR was 0.5 mg/mL for 7 and 14 days, compared with the control group, the climbing ability and life time of AD flies had no significant improvement. When the concentration was increased to 1 mg/mL, the number of the flies with positive climbing assay in the experimental group fed for 7 days and 14 days had increased compared with the control group, and it also delayed the death time of the flies, and there was a significant statistical difference compared with the control group ( $P < 0.05$ ). However, with the continuous increase of the concentrations, the climbing ability of flies fed for 7 days and 14 days was obviously inhibited compared with the control group, the life span of the flies was reduced. In this experiment, we found that

收稿日期: 2022-11-06; 修改日期: 2023-01-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32160177); 研究生创新专项资金项目 (YC2021-S794)

标 注: \*为共同第一作者

作者简介: \*曹进国(1982-), 男, 江西南昌人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事医学生理学相关研究(E-mail:jinguo676767@aliyun.com).

the anti-AD effect of the FR was not obvious at low concentration, and it had a negative impact on the climbing ability and life span of AD flies when the concentrations exceeded a certain dosage, so only when the dosage and days of administration were appropriate it would have a positive effect.

**Key words:** *Fibraurea recisa*; anti-AD; *Drosophila melanogaster*; neuroprotection; life span

老年性痴呆症中最常见的为阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD), 占所有痴呆诊断病例的 80%, 其主要的临床表现为记忆力减退、认知功能障碍, 严重者日常生活不能自理甚至死亡<sup>[1]</sup>。据阿尔兹海默国际组织报道, 全球 AD 患者近 4000 万人, 预估计到 2050 年其患病率将高达 8000 万人<sup>[2]</sup>, 是全球面临的非常严峻的公共卫生问题。

AD 主要发病机制是淀粉样前体蛋白 (APP) 片段 $\beta$ -淀粉样蛋白 ( $A\beta$ ) 的产生和过度磷酸化 tau 蛋白 (P-tau) 的聚积, 两者共同作用导致突触数量的减少, 引起神经退行性病变<sup>[3]</sup>。研究发现, 临床目前用于治疗 AD 常用药物主要为乙酰胆碱酯酶抑制剂和 N-甲基-D 天冬氨酸 (NMDA) 受体拮抗剂<sup>[4,6-7]</sup>。Peskind<sup>[4]</sup>收集 403 名轻中度 AD 患者, 给予美金刚和安慰剂进行为期 24 周临床对照实验发现, 服用美金刚药物患者的认知水平和学习记忆能力得到明显改善。AD 患者 NMDA 受体表现出高活性,  $Ca^{2+}$  过量则导致兴奋性毒性和细胞死亡, 美金刚作为非竞争性拮抗剂通过降低 NMDA 受体高活性而发挥作用<sup>[5]</sup>。另一种治疗方法则是通过阻断乙酰胆碱脂酶的分解增强大脑中胆碱能神经递质的释放治疗 AD, 常用药物有他克林、多奈哌齐和加兰他敏等乙酰胆碱酯酶抑制剂<sup>[6-8]</sup>。研究报道称合成药物具有一定程度的临床应用效果, 但并不能根治或减少致死率, 并且存在的副作用会给机体带来二次伤害, 例如恶心呕吐、食欲减退、肌无力、呼吸困难, 严重者损害肝脏<sup>[8-10]</sup>。

合成药物的局限性使得国内外学者将研究重点转移到天然药植物抗 AD 的作用<sup>[11]</sup>。天然药物具有多靶点、多环节和副作用较小等优势, 科学家们对天然药物对神经保护作用进行了深入研究。木犀草素是一种天然黄酮类化合物, 可通过降低嗜铬细胞瘤的 6-羟基多巴胺毒性作用, 减少细胞

凋亡保护神经组织<sup>[12]</sup>。此外, Rezai-Zadeh<sup>[13]</sup>发现木犀草素也可通过降低糖原合酶激酶-3 (GSK-3) 活性, 减少早衰蛋白-1 (PSEN1) 磷酸化, 降低  $A\beta$  蛋白的积累。生物碱类药物是最大的天然产物之一, 黄连生物碱药物可通过抑制胆碱酯酶活性和清除  $A\beta$  蛋白的蓄积, 以及降低亚硝酸根 ( $ONOO^-$ ) 和活性氧 (ROS) 的数量, 发挥神经保护作用<sup>[14]</sup>。金叉石斛生物碱可激活海马神经元自噬体的形成, 促进自噬的发生, 保护神经元<sup>[15]</sup>。异喹啉类是生物碱中含量最多的类别, 黄藤则是异喹啉类生物碱化合物中最具代表性的, 其具有抗癌、神经保护、调节血脂、抗病毒、抗炎和抗氧化作用<sup>[16-17]</sup>。黄藤生物碱片剂可提高 AD 小鼠抗氧化活性和胆碱乙酰转移酶 (ChAT), 并降低大脑中乙酰胆碱酯酶 (AChE) 和 P-tau 的活性, 改善 AD 小鼠的学习记忆能力<sup>[18]</sup>。此外黄藤素可减少促凋亡因子蛋白 (Bax) 的表达和相关凋亡 DNA 断裂, 同时会增加抗凋亡因子 (Bcl-2) 的数量, 通过抑制神经元细胞的凋亡进而保护神经组织<sup>[19]</sup>。黄藤是治疗 AD 的一种有前途的药物, 目前临床的使用效果远大于合成药物, 但对其作用机制的研究仍处于入门阶段, 现存有关资料较少。

果蝇具有繁殖能力强繁殖快、生存周期短、易饲养、操作简便等特点。在本实验中, 利用 Gal4-UAS 系统得到过表达  $A\beta$  蛋白转基因品系的果蝇作为模式动物, 本研究中统称为 AD 果蝇, 将转基因果蝇放置在含有不同浓度的黄藤提取物培养基中进行饲养。为了保证黄藤中有效药物浓度, 在黄藤最佳采收期 11 月的时候, 进行黄藤水提物的研究<sup>[20]</sup>。通过研究不同浓度黄藤提取物是否可以缓解  $A\beta$  蛋白过度蓄积引起的瘫痪以及对其寿命的影响, 更加完善黄藤抗 AD 治疗效果及神经保护作用的资料, 为进一步研究黄藤治疗 AD 疾病作用

机理和新药物研发做好基础数据铺垫。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

Elav-gal4 果蝇和 UAS-A $\beta$ 42 果蝇, 置于室温 25℃, 湿度 70%, 自然光照下培养。

#### 1.1.2 药物及试剂

表 1 药物及试剂

Table 1 Drugs and reagents

实验药品及试剂	生产厂家	生产编号
玉米淀粉	市售	SC12337078209283
红糖	广西马山南华糖业有限公司	SC12145012400220
白糖	辽宁铁岭东方食品加工厂	SC12121122101978
氯化钙	生工生物工程(上海)股份有限公司	SC20146990201089
琼脂粉	生工生物工程(上海)股份有限公司	NO.9283025
酵母	安琪酵母股份有限公司	SC13153312404747
丙酸	生工生物工程(上海)股份有限公司	A601757-0500
水		/
黄藤片	MedChemExpress	HY-N0110A

#### 1.1.3 实验仪器

表 2 实验仪器及厂家

Table 2 Experimental instruments and manufacturers

实验仪器	生产厂家
电子天平	奥豪斯国际贸易(上海)有限公司
智能人工气候培养箱	宁波赛福实验仪器有限公司
移液枪	艾本德股份有限公司
电饭锅	合肥荣事达小家电有限公司
砂锅、试剂瓶、玻璃棒、玻璃量筒、计时器、注射器等	

#### 1.1.4 给药剂量设计

根据预实验中得出的半数致死量设计果蝇给药量, 黄藤高剂量组为 2 mg/mL, 中剂量组为 1 mg/mL, 低剂量组为 0.5 mg/mL, 阴性对照为普通的果蝇培养基。称取 20 g 的黄藤片加水经过熬制、浓缩等步骤得到 100 mL 的黄藤水提取物。按照实验所需的量加入到普通食物中作为实验管。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 果蝇培养基的制作

分别称取适量的玉米淀粉、红糖、白糖、氯化钙、琼脂粉和酵母, 用自来水将玉米淀粉溶解, 待沸腾后计时 30 min; 随后加入溶解好的红糖、白糖、氯化钙和琼脂粉, 煮沸后计时 30 min; 最后加入溶解好的酵母粉, 煮沸后计时 60 min。煮好的食物冷却后加入适量的丙酸。另取实验所需的量加入黄藤水提取物, 搅拌均匀倒入管子中直到培养基凝固塞好塞子并标记日期和浓度置于 4℃ 备用。剩余食物按上述操作倒管, 做好标记 4℃ 保存。对照组和实验组培养基配方如表 3。

表 3 果蝇培养基配方

Table 3 Drosophila culture medium formulation

编号	玉米粉/g	红糖/g	白糖/g	氯化钙(CaCl <sub>2</sub> )/g	琼脂粉/g	酵母/g	丙酸/mL	水/mL	黄藤水提取物 mg/mL
*	5.5	3.5	7.5	0.05	0.675	2.5	0.5	80	0
1	5.5	3.5	7.5	0.05	0.675	2.5	0.5	80	0.5
2	5.5	3.5	7.5	0.05	0.675	2.5	0.5	80	1
3	5.5	3.5	7.5	0.05	0.675	2.5	0.5	80	2

\*为普通培养基, 1 为高剂量组, 2 为中剂量组, 3 为低剂量组

#### 1.2.2 分组及造模

收集 8 h 内羽化的两种基因型果蝇, 用二氧化碳进行麻醉并在显微镜下区分果蝇性别。利用果蝇特有的 Gal4-UAS 表达系统进行造模, 将新生 Elav-gal4 雌果蝇和 UAS-A $\beta$ 42 雄果蝇共同转入普通培养基中进行杂交, 置于室温 25℃, 湿度 70%, 自然光照下培养。挑取子一代中 3 d 内新生的 Elav-gal4>>UAS-A $\beta$ 42 直翅雄性果蝇, 即为实验所需的 AD 果蝇, 对照组果蝇为 UAS-A $\beta$ 42/cyo 雄性果蝇。将收集好的 AD 果蝇和对照组果蝇按照每组 20 只的标准分别进行不同浓度的给药处理。

#### 1.2.3 不同浓度黄藤水提取物对 AD 果蝇寿命的影响

挑取子一代中 3 d 内新生的 Elav-gal4>>UAS-A $\beta$ 42 雄性果蝇和 UAS-A $\beta$ 42/cyo 雄性果蝇, 每组 20 只分别置于含 0、0.5、1、2 mg/mL 黄藤水提取物培养基中, 置于室温 25℃, 湿度 70%, 自然光照

下饲养。每天定时观察统计每管中果蝇死亡数目,直至果蝇全部死亡。计算每组果蝇的平均寿命。

#### 1.2.4 不同浓度的黄藤水提物对 AD 果蝇爬管行为学的影响

挑取子一代中 3 d 内新生的 *Elav-gal4>>UAS-Aβ42* 雄性果蝇和 *UAS-Aβ42/cyo* 雄性果蝇, 每组 20 只分别置于 0、0.5、1、2 mg/mL 含黄藤水提物培养基, 置于室温 25℃, 湿度 70% 饲养。饲养后的 0、7、14 d 进行果蝇爬管实验。

#### 1.2.5 爬管实验

爬管实验: 取 50 mL 玻璃量筒 ( $d < 2.5$  cm) 在距离底部 8 cm 处做好标记, 将果蝇倒入玻璃量筒中 (不可麻醉), 立即用棉絮塞住筒口, 秒表计时 3~4 min 让果蝇适应新环境。后将果蝇全部敲打至量筒最底端, 计数 12 s 内穿过量筒高度 8 cm 的果蝇数量即为爬管实验阳性, 每管至少进行 3 次平行实验, 每次间隔 3~4 min。

#### 1.2.6 数据统计与分析

统计方法与评判标准: 把数据录入 GraphPad Prism 8.0 进行绘图, 运用多因素方差分析的统计方法进行数据分析。每次测试 20 只果蝇, 图中数据为 3 次重复测量的平均值。 $P > 0.05$  表示差异无统计学意义 (ns);  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义 (\*);  $P < 0.01$  表示差异有明显统计学意义 (\*\*)。

数据的表现形式: 不同浓度的黄藤水提物对果蝇爬管行为学的影响 (图 1 至图 4); 不同浓度的黄藤提取物对果蝇平均寿命的影响 (图 5)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度的黄藤水提物对 AD 果蝇爬管行为学的影响

为了探究黄藤水提物对 AD 果蝇爬管行为学的影响, 设计了 0、0.5、1、2 mg/mL 四个浓度的黄藤水提物培养基, 将 AD 果蝇和对照组果蝇分别放置其中饲养 0、7、14 d, 随后进行爬管实验, 实验数据如下:

将新生的 AD 果蝇和对照组果蝇放在浓度为

0 mg/mL 的黄藤水提物培养基饲养时, 图 1 所示, AD 果蝇通过量筒高度 8 cm 的果蝇数量为 15 只, 与对照组果蝇相比数量未见明显差异 ( $P > 0.05$ ); 饲养天数增加到 7 d 时, AD 果蝇爬管实验阳性数量为 7 只, 与对照组果蝇爬管实验阳性数量相比, 存在明显差异且具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 继续在此浓度培养基中饲养至 14 d 时, AD 果蝇爬管实验阳性数量为 5 只, 与对照组爬管实验阳性数量相比下降了约 72%, AD 果蝇的行为学缺陷表现越明显, 且存在显著的统计学差异 ( $P < 0.01$ )。实验结果表明, 新生的 AD 果蝇便表现出 AD 疾病的表型, 随着饲养天数的增加, 其 AD 果蝇行为缺陷表现更加明显, 也说明我们选用的 AD 果蝇具有 AD 疾病的行为学表型, 可用作后续实验模型。

为了探究黄藤水提物对 AD 果蝇的治疗效果, 将两种基因型果蝇饲养在黄藤水提物浓度为 0.5 mg/mL 的培养基中, 观察攀爬能力。图 2 所示, 新生 AD 果蝇爬管实验阳性的数量为 13 只, 与对照组相比其数量有所下降, 但并不存在统计学差异 ( $P > 0.05$ ); 继续在 0.5 mg/mL 的培养基饲养至七天时, AD 果蝇爬管实验阳性数量为 8 只, 与对照组相比爬管实验阳性的果蝇数量下降了约 50%, 且具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ); 当果蝇饲养天数增加至 14 d 时, 对照组爬管实验阳性的数量为 16 只, AD 果蝇则为 9 只, 同比下降约 44%, 且两者具有统计学差异 ( $P < 0.05$ )。黄藤水提物的浓度为 0.5 mg/mL 时, 具有一定的治疗效果, 但不明显。

图 3 所示, 将 AD 果蝇饲养在含有 1 mg/mL 黄藤水提物的培养基中, 新生 AD 果蝇爬管实验阳性的果蝇数量为 13 只, 与对照组相比并没有明显差异 ( $P > 0.05$ ); 当饲养天数达到 7 d 时, AD 果蝇爬管实验阳性的数量为 14 只, 与对照组相比也未见有明显差异 ( $P > 0.05$ ); 当饲养天数增加到 14 d 时, AD 果蝇的行为学表现有显著性改善, 其爬管实验阳性的数量为 17 只, 与对照组相比也未见有明显差异 ( $P > 0.05$ )。由此可见, 黄藤水提物浓度为 1 mg/mL 时, 可以明显改善 AD 果蝇的攀爬能力, 其治疗效果最佳。

当培养基中黄藤水提物浓度增加至 2 mg/mL 时, 图 4 所示, 新生 AD 果蝇爬管实验阳性果蝇数量为 12 只, 与对照组相比有下降趋势, 但统计学不存在差异 ( $P > 0.05$ ); 随着饲养天数增加到 7 d 时, AD 果蝇爬管实验阳性数量为 4 只, 与对照组相比, 其爬管实验阳性的果蝇数量下降了两倍, 具有统计学差异 ( $P < 0.05$ ); 继续饲养至 14 d 时, AD 果蝇爬管实验阳性数量仅为 2 只, 而对照组爬管实验阳性数量也有所下降, 两者相比统计学具有差异 ( $P < 0.05$ )。通过实验得出, 无论是 AD 果蝇还是对照组果蝇, 当药物浓度超过一定剂量时, 则会产生一定的毒性作用, 这也提示在今后的药物治疗过程中要严格掌握药物的有效剂量。

综上, 当黄藤水提物浓度为 1 mg/mL 且饲养 14 d 时, 治疗 AD 效果最佳, AD 果蝇行为学得到明显的改善, 寿命也没有收到太多影响。当浓度过低 (0.5 mg/mL) 或过高均 (2 mg/mL), 从行为学实验和寿命检测结果显示, 不能取到很好地治疗效果。

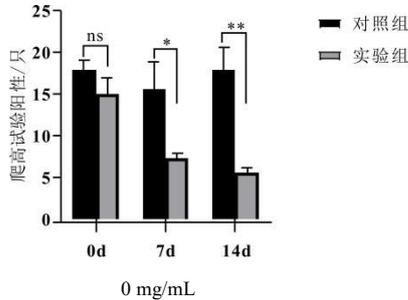


图 1 黄藤提取物浓度为 0 mg/mL 对 AD 果蝇爬管行为学的影响

Fig.1 Effect of *Fibraurea recisa* Pierre at a concentration of 0 mg/mL on climbing ability of AD flies

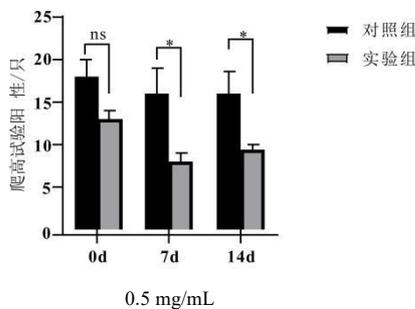


图 2 黄藤提取物浓度为 0.5 mg/mL 对 AD 果蝇爬管行为学的影响

Fig.2 Effect of *Fibraurea recisa* Pierre at a concentration of 0.5 mg/mL on climbing ability of AD flies

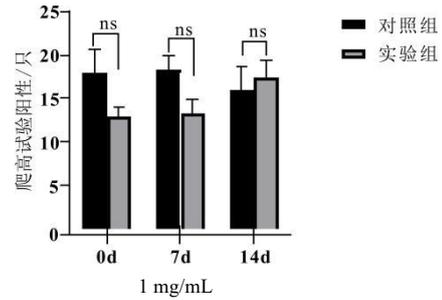


图 3 黄藤提取物浓度 1 mg/mL 对 AD 果蝇爬管行为学的影响

Fig.3 Effect of *Fibraurea recisa* Pierre at a concentration of 1 mg/mL on climbing ability of AD flies

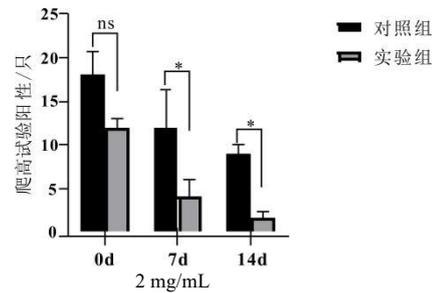


图 4 黄藤提取物浓度 2 mg/mL 对 AD 果蝇爬管行为学的影响

Fig.4 Effect of *Fibraurea recisa* Pierre at a concentration of 2 mg/mL on climbing ability of AD flies

## 2.2 黄藤水提物对 AD 果蝇平均寿命的影响

将 AD 果蝇和对照组果蝇饲养在不同浓度 (0、0.5、1、2 mg/mL) 的含有黄藤水提物的培养基中, 观察对果蝇寿命的影响。图 5 所示, 在黄藤水提物浓度 0 mg/mL 的培养基中分别饲养对照组与实验组果蝇, AD 果蝇的存活时间为 16 d, 相比于对照组果蝇生存时间下降了 62%, 且统计学存在明显差异 ( $P < 0.01$ ); 当药物浓度为 0.5 mg/mL 培养基中 AD 果蝇的存活时间为 20 d, 与对照组相比同样存在明显统计学差异 ( $P < 0.01$ ), 但与黄藤水提物浓度为 0 mg/mL 的培养基中饲养的 AD 果蝇生存时间相比有所延长但不具有统计学差异 ( $P > 0.05$ ); 而在 1 mg/mL 的培养基中, AD 果蝇的存活时间为 34 d, 与对照组相比没有差异 ( $P > 0.05$ ), 但与 0 mg/mL 培养基中饲养的 AD 果蝇相比, 存活天数上升了 53%, 并且统计学存在明显差异 ( $P < 0.01$ ); 饲养在 2 mg/mL 浓度下 AD 果蝇存活天数显著下降, 与对照组相比未见明显差异, 且与饲养在 0 mg/mL 的培养基中 AD 果蝇存

活天数相比存在下降趋势,也不具有统计学差异( $P > 0.05$ ),说明黄藤水提物超过一定的浓度会缩短果蝇的寿命,加速果蝇的死亡,果蝇生存时间与黄藤水提物的浓度存在剂量效应关系。

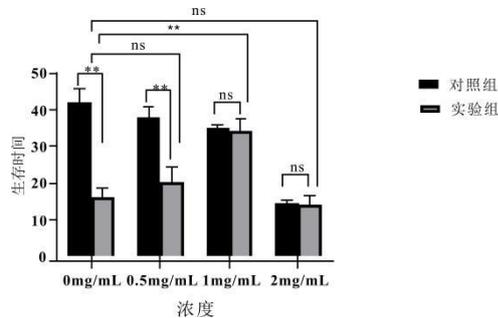


图5 不同的黄藤提取物浓度对AD果蝇生存时间的影响

Fig.5 Effects of different *Fibraurea recisa* Pierre concentrations on the life time of AD flies

注:数据为3次重复的平均值,每次测试10只果蝇。

\*为 $P < 0.05$ ,统计学有差异,\*\*为 $P < 0.01$ ,统计学有显著差异。

### 3 讨论

AD是一种慢性退行性的神经运动障碍疾病,该疾病随着时间的推移病情会逐渐加重,患者首先会记忆力衰退,继而运动能力和语言能力丧失<sup>[19]</sup>。实验中可见实验组0 mg/mL的AD果蝇,随着年龄的增大,爬管实验成功的果蝇数量降低,AD果蝇运动能力逐渐减弱。

黄藤分离得出的生物碱在预防和治疗AD方面有重要作用<sup>[16]</sup>。有学者用小鼠作为AD动物模型,发现黄藤总生物碱能够显著降低AD小鼠脑中的A $\beta$ 蛋白且提高AD小鼠空间工作记忆能力和空间学习能力,从而对AD小鼠有明显的改善作用<sup>[21]</sup>。在AD秀丽线虫中,黄藤素可以缓解A $\beta$ 毒性延缓转基因线虫的瘫痪过程<sup>[22]</sup>。这与本实验的研究结果相似。在黄藤水提物浓度为0.5、2 mg/mL时,对照组和实验组果蝇爬管实验之间的差异具有统计学意义,而在黄藤水提物浓度为1 mg/mL时,对照组和实验组爬管实验之间不存在差异。这提示黄藤水提物浓度过低或过高都不能改善AD果蝇的行为学缺陷,在合适的浓度1 mg/mL时,黄藤

水提物会在一定程度上改善AD果蝇的行为学缺陷,对AD治疗有一定的作用。

黄藤水提物对于AD治疗效果与给药剂量和给药时间有关,在合适给药浓度下延长给药时间才能对AD有治疗效果。研究发现同为异喹啉类生物碱的巴马汀可以治疗AD,且其对AD的治疗效果与巴马汀浓度和给药时间有关,大剂量和长期给药可对机体产生肝毒性<sup>[16]</sup>。实验中对照组果蝇在黄藤水提物浓度逐渐增高时寿命逐渐缩短,实验组AD果蝇在黄藤水提物浓度为0.5、2 mg/mL时,存活时间相比与对照组大幅度降低,而在药物浓度1 mg/mL时,AD果蝇的生存时间开始上升,与对照组几乎相同。这提示过高或过低浓度的黄藤水提物会对AD果蝇的寿命产生影响,过低浓度的黄藤水提物对AD的治疗效果不明显,而过高浓度的黄藤水提物可能对果蝇产生药物毒害作用,从而加速果蝇的死亡降低果蝇寿命。

研究发现,黄藤素具有神经保护作用,可以通过抑制胆碱酯酶的活性、降低A $\beta$ 蛋白的聚集以及提高抗氧化能力来改善AD症状<sup>[22]</sup>;黄藤总生物碱通过PI3K/Akt/Gsk-3 $\beta$ 信号转导通路抑制氧化应激、抗神经炎症和抗神经细胞凋亡从而达到治疗AD的作用<sup>[11,21]</sup>。对于黄藤水提物是如何改善AD果蝇的行为学缺陷机制尚不明确,还需要进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Weller J, Budson A. Current understanding of Alzheimer's disease diagnosis and treatment[J]. Research, 2018, 7: 1152-1161.
- [2] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2021, 397(10284): 1577-1590.
- [3] Soria Lopez J A, González H M, Léger G C. Alzheimer's disease[J]. Handbook of Clinical Neurology, 2019, 167: 231-255.
- [4] Peskind E R, Potkin S G, Pomara N, et al. Memantine treatment in mild to moderate Alzheimer disease: a 24-week randomized, controlled trial[J]. The American Journal of Geriatric Psychiatry, 2006, 14(8): 704-715.
- [5] Lipton S A, Nicotera P. Calcium, free radicals and excitotoxins in neuronal apoptosis[J]. Cell Calcium, 1998.

- 23(2-3):165-171.
- [6] Pellegrini C, D'Antongiovanni V, et al. Donepezil improves vascular function in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Pharmacology Res. Perspectives*, 2021, 9(6): 871-877.
- [7] Razay G, Wilcock G K. Galantamine in Alzheimer's disease[J]. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 2008, 8(1): 9-17.
- [8] Farlow M, Gracon S I, Hershey L A, et al. A controlled trial of tacrine in Alzheimer's disease. The tacrine study group[J]. *JAMA*, 1992, 268(18): 2523-2529.
- [9] Rogers S L, Farlow M R, Doody R S, et al. A 24-week, double-blind, placebo-controlled trial of donepezil in patients with Alzheimer's disease. Donepezil study group[J]. *Neurology*, 1998, 50(1): 136-145.
- [10] Mehta M, Adem A, Sabbagh M. New acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease[J]. *International Journal of Alzheimer's Disease*, 2012, 2012: 728983.
- [11] 张峰. 黄藤素对 A $\beta$ (1-42) 诱导小鼠 AD 模型的作用及跨屏障转运方式的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2021.
- [12] Guo D J, Li F, Yu P H, et al. Neuroprotective effects of luteolin against apoptosis induced by 6-hydroxydopamine on rat pheochromocytoma PC12 cells[J]. *Pharm. Biol.*, 2013, 51(2): 190-196.
- [13] Rezai-Zadeh K R, Douglas Shytle R, Bai Y, et al. Flavonoid-mediated presenilin-1 phosphorylation reduces Alzheimer's disease beta-amyloid[J]. *J. Cell Mol. Med.*, 2009, 13(3): 574-588.
- [14] Jung H A, Min B S, Yokozawa T, et al. Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2009, 32(8): 1433-1438.
- [15] Li L S, Lu Y L, Nie J, et al. Dendrobium nobile lindl alkaloid, a novel autophagy inducer, protects against axonal degeneration induced by A $\beta$ 25-35 in hippocampus neurons in vitro[J]. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 2017, 23(4): 329-340.
- [16] Long J, Song J, Zhong L, et al. Palmatine: A review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics[J]. *Biochimie*, 2019, 162: 176-184.
- [17] Tarabasz D, Kukula-Koch W. Palmatine: A review of pharmacological properties and pharmacokinetics[J]. *Phytotherapy Research*, 2020, 34(1): 33-50.
- [18] 王书宁. 黄藤生物碱片剂制备工艺、质量标准及抗阿尔茨海默症作用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.
- [19] Xing Z, He Z, Wang S, et al. Ameliorative effects and possible molecular mechanisms of action of fibrauretin from *Fibraurea recisa* Pierre on d-galactose/A $\beta$ 13-mediated Alzheimer's disease[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(55): 31646-31657.
- [20] 宋玉鹏, 陈海芳, 谭舒舒, 等. 不同采收期江枳壳中柚皮素和橙皮素 HPLC 含量测定[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2017, 38(1): 83-87.
- [21] 邢志恒. 黄藤总生物碱抗阿尔茨海默症作用及机理研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2019.
- [22] 苏齐娜. 黄藤素对秀丽线虫 A $\beta$  蛋白聚集毒性的影响[D]. 广州: 广东药科大学, 2021.