

近红外光谱法快速测定肉桂药材的水分^Δ

秦斌^{1*}, 闫研¹, 殷果^{1#}, 庾红萍¹, 王炳志², 王铁杰¹ (1. 深圳市药品检验研究院/深圳药品质量标准研究重点实验室, 广东深圳 518057; 2. 深圳市易瑞生物技术股份有限公司, 广东深圳 518101)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)14-1949-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.14.18

摘要 目的: 建立快速测定肉桂药材水分的方法。方法: 采用甲苯法测定药材样品含水量(作为参考值)。采用近红外光谱法结合偏最小二乘法建立药材样品水分的定量模型。根据药材样品水分测定参考值, 采集80批药材样品, 以常数偏移消除法预处理光谱, 药材样品水分测定最佳波段范围为7 502.2~6 896.6、5 600.6~4 998.9 cm^{-1} 。结果: 药材样品水分定量模型的内部交叉验证决定系数(R^2)为0.974 9, 交叉验证均方差为0.404; 模型外部验证 R^2 为0.940 4, 预测均方差为0.306。结论: 该方法快速准确, 简便无污染, 可用于肉桂药材水分的快速测定。

关键词 肉桂; 近红外光谱法; 水分; 定量模型

Rapid Determination of Moisture in *Cinnamomum cassia* by Near-infrared Spectroscopy

QIN Bin¹, YAN Yan¹, YIN Guo¹, YU Hongping¹, WANG Bingzhi², WANG Tiejie¹ (1. Shenzhen Institute for Drug Control/Shenzhen Key Lab of Drug Quality Standard Research, Guangdong Shenzhen 518057, China; 2. Shenzhen Bioeasy Technology, Inc., Guangdong Shenzhen 518101, China)

醇、乙醇为溶剂时最大吸收峰峰形欠佳, 故选择以水为提取溶剂。通过比较不同溶剂用量(10、15、20倍), 发现15倍水提取时提取率最高且不再增加, 故选择溶剂用量为15倍水。通过比较不同提取时间(30、45、60 min)、提取次数(2、3、4次), 发现提取时间30 min、提取3次的提取率最高, 故选择提取时间30 min、提取次数3次。

在预试验中, 通过对不同色谱柱 Agilent TC C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、岛津 ODS-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 进行比较, 发现采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 对5种核苷类成分均可达到良好的分离。通过以甲醇-水、乙腈-水为流动相进行比较, 发现流动相为甲醇-水(4:96, V/V)时次黄嘌呤与尿苷色谱峰不能较好地分离; 又尝试加入不同比例的冰醋酸, 发现加入0.07%冰醋酸后, 峰形得到改善, 可实现5种核苷类成分色谱峰均较好地分离。确定检测波长为254 nm、柱温为28 $^{\circ}\text{C}$ 时, 尝试对不同流速(1.0、0.8、0.5 mL/min)进行比较, 发现当流速为1 mL/min时, 5种核苷类成分能在20 min内快速分离。确定流速1 mL/min、检测波长254 nm时, 尝试对不同柱温(28、30、35 $^{\circ}\text{C}$)进行比较, 发现当柱温为28、35 $^{\circ}\text{C}$ 时, 出峰时间均较快, 故选择柱温28 $^{\circ}\text{C}$ 。

本研究结果显示, 5种核苷类成分含量以吉林地区和黑龙江地区药材样品最高, 其他省(区)药材样品中上述核苷类成分的含量相对较低, 但同一地区的药材样品

中上述核苷类成分含量差别不大。这可能与梅花鹿养殖技术和当地的生态环境有关。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[J]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 323-324.
- [2] 薄士儒, 李庆杰, 王春雨, 等. 鹿茸的化学成分与药理作用的研究概述[J]. 经济动物学报, 2010, 14(3): 243-248.
- [3] 胡太超, 刘玉敏, 陶荣珊, 等. 鹿茸多肽的抗疲劳作用机制研究[J]. 吉林农业大学学报, 2015, 37(4): 469-475.
- [4] 宗颖, 牛晓辉, 王玉, 等. 梅花鹿鹿茸的高效液相色谱的指纹特征分析研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(2): 354-356.
- [5] SR LEE, BT JEON, SJ KIM, et al. Effects of antler development stage on fatty acid, vitamin and GAGs contents of velvet antler in spotted deer (*Cervus nippon*) [J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2007, 20(10): 1546-1550.
- [6] LI C, ZHAO H, LIU Z, et al. Deer antler: a novel model for studying organ regeneration in mammals [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014. DOI: 10.1016/j.biocel.2014.07.007.
- [7] 吴菲菲, 金礼吉, 李晓宇, 等. 鹿茸活性成分及其药理功能的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医(科技版), 2012(2): 32-34.
- [8] 杨秀伟. 花鹿茸、马鹿茸碱基成分的 HPLC 定量分析和其 MAO 活性抑制作用[J]. 中草药, 1995, 26(1): 17.
- [9] 张雪梅, 杨丰庆, 夏之宁. 食品中核苷类成分的药理作用研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 277-282.

(收稿日期: 2018-01-31 修回日期: 2018-05-21)

(编辑: 陈宏)

^Δ 基金项目: 国家药品抽验项目(No. 中检监督函[2017]16号-101)

* 副主任药师。研究方向: 药物分析与质量标准。E-mail: dinal29@126.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 药品质量控制。E-mail: ayinguoa@126.com

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for rapid determination of water content in *Cinnamomum cassia*. **METHODS:** The moisture of sample was determined by toluene method (as reference value). IFRS-PLS was used to establish quantitative correction model of moisture in sample. According to moisture determination of sample, 80 batches of samples were collected, and constant offset elimination method was used to pretreat spectrum. The optimal spectrum range for moisture determination of medicinal sample were 7 502.2-6 896.6 cm^{-1} and 5 600.6-4 998.9 cm^{-1} . **RESULTS:** The internal cross validation decision coefficient (R^2) of moisture quantitative correction model was 0.974 9, and the root mean square error of cross validation (RMSECV) was 0.404. R^2 of model external validation was 0.940 4, and the predicted root mean square error was 0.306. **CONCLUSIONS:** The method is rapid, accurate, simple and free from pollution. It can be used for rapid determination of moisture in *C. cassia*.

KEYWORDS *Cinnamomum cassia*; Near-infrared spectroscopy; Moisture; Quantitative model

肉桂收载于2015年版《中国药典》(一部),为樟科植物肉桂(*Cinnamomum cassia* Presl)的干燥树皮,其性大热,味辛、甘,是我国传统的名贵中药材,同时也是著名的辛香食用调料的来源之一,可补火助阳、引火归元、温通经脉、散寒止痛^[1-3]。中药材中含有过量的水分易导致药材发生霉烂变质或使有效成分分解^[4-6],因此,控制中药材水分对于保证其质量有重要意义。常用中药材水分测定方法有烘干法、甲苯法等^[7],但前者耗时较长,后者所用试剂具有毒性且操作烦琐,因此,需建立一种准确、简便、快速检测中药材水分含量的方法。近红外光谱法(NIR)在评价中药材质量时,无需样品前处理,测定过程快速、无损、绿色健康、经济环保,具有常规分析方法所不具有的优点^[8-9]。本研究通过建立肉桂药材水分的NIR定量模型,为中药材水分含量的快速测定提供参考。

1 材料

1.1 仪器

MATRIX-F型NIR仪(包括光纤探头、InGaAs检测器)、OPUS 5.0软件(德国Bruker公司);AJ210A型多功能粉碎机(东莞市塘厦兴万电子厂);MS105DU型电子分析天平(美国Mettler-Toledo公司)。

1.2 试剂

甲苯为色谱纯,水为纯化水。

1.3 药材

80批肉桂药材分别来源于江西、安徽、广西等地(见表1),经深圳市药品检验研究院中药室鉴定为真品。药材样品粉碎过65目筛,备用。

2 方法与结果

2.1 水分(参考值)的测定

取80批药材样品粉末适量,精密称定,按照2015年版《中国药典》(四部)通则0832水分测定法第四法^[7]操作,测定其中水分,每批平行测定3份。结果显示,药材样品水分含量为6.8%~21.0%,详见表1。

表1 肉桂药材来源和水分含量测定结果

Tab 1 Source of *C. cassia* and detection result of water content

编号	生产企业	批号	水分, %
1	江西樟树市庆仁中药饮片有限公司	201610159	10.8
2	安徽惠隆中药饮片有限公司	20160901	11.0
3	南京松龄中药饮片有限公司	160218	11.0
4	安国市善天和中药饮片有限公司	170101	12.7
5	安国市同义中药饮片有限公司	16110012	13.3

续表1

Continued tab 1

编号	生产企业	批号	水分, %
6	安国市安兴中药饮片有限公司	160301	11.0
7	北京同仁堂(亳州)饮片有限责任公司	601002066	11.8
8	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	20160901	10.3
9	安国市伊康药业有限公司	161103	11.3
10	绍兴震元中药饮片有限公司	170104	13.7
11	绍兴震元中药饮片有限公司	161025	13.3
12	四川润澳中藏药业有限公司	160801	11.5
13	安徽易元堂中药饮片科技有限公司	161207	17.0
14	安徽尚德中药饮片有限公司	160902	18.7
15	安徽金正元中药饮片有限公司	16110109	12.8
16	安徽纪源堂中药饮片有限公司	20161202	10.6
17	金百正和光药业有限责任公司	161002	8.8
18	江西樟树市庆仁中药饮片有限公司	1611008	8.4
19	江西樟树市庆仁中药饮片有限公司	201610159	11.8
20	北京宏济药业有限公司	432160601	11.3
21	佛山市御嘉中药饮片有限公司	16Z0401	13.6
22	湖北聚瑞中药饮片有限公司	160801	12.5
23	茂名市德邦中药饮片有限公司	170219	13.0
24	叶珍堂巴东药业有限公司	161201	14.6
25	上海德华国药制品有限公司	2017022803	10.2
26	北京任草中药饮片有限公司	160601003	9.6
27	菏泽牡丹医药有限责任公司	160326	9.0
28	黄冈金贵中药产业发展有限公司	D6100201	8.9
29	河北康派中药材有限公司	160301	12.8
30	安徽协和成药业饮片有限公司	14072301	10.6
31	亳州中强中药饮片有限公司	170301	9.8
32	内蒙古怡生堂药业有限公司	20150201	11.4
33	湖北辰美中药有限公司	606100	10.0
34	安徽新盛中药饮片有限公司	160801	13.9
35	安徽普仁中药饮片有限公司	111608023	12.1
36	沈阳红药安徽制药有限公司	160901	12.7
37	河北祁一堂药业有限公司	1609081	9.9
38	四川麟源药业有限责任公司	161001	9.6
39	亳州市远光中药饮片厂	1612001	13.2
40	北京卫仁中药饮片厂	502316102	9.5
41	云南向辉药业有限公司	P20161225	9.7
42	安国市聚药堂药业有限公司	1702001	10.5
43	安徽人民中药饮片有限公司	150901	12.0
44	安徽鑫泰药业有限公司	160901	11.5
45	安徽普仁中药饮片有限公司	1702011	12.3
46	安徽孟氏中药饮片有限公司	170415	10.6
47	四川中庸药业有限公司	p01516m01	11.8
48	亳州金药堂中药饮片有限公司	150802	14.3
49	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	20150601	10.4
50	北京盛世龙药业有限公司	1608109	8.4
51	民生药业集团珍医堂印象中药饮片	Y170301	12.9

续表 1

Continued tab 1

编号	生产企业	批号	水分, %
52	南阳仲景百信医药科技有限公司	170401	13.6
53	南宁生源中药饮片有限责任公司	170201	6.8
54	北京乾元本堂饮片有限公司	16102501	9.5
55	江苏福源中药饮片有限公司	316090053	13.4
56	陕西兴盛德药业有限责任公司	20170301	13.3
57	安徽药知源中药饮片有限公司	160701	21.0
58	安徽药知源中药饮片有限公司	160302	9.9
59	宝鸡汉方国药饮片有限责任公司	043A170327	13.0
60	广西贵港市神农药业有限公司	170301	10.4
61	南宁市宾阳县万润草本有限责任公司	16062301	11.2
62	北京本草方源药业有限公司	20160617	11.3
63	南宁市百济中药有限公司	20170101	12.3
64	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	20160901	10.0
65	西安中药饮片厂有限公司	151201	10.3
66	广西柳州百草堂药业有限公司	20170421	8.7
67	天津市中药饮片厂有限公司	g1609181-03	11.0
68	哈尔滨宇泰药业有限公司	20160101	14.3
69	安徽省金芙蓉中药饮片有限公司	160901	10.5
70	安徽孟氏中药饮片有限公司	161101	12.7
71	上药宜兴药业有限公司	170427	9.2
72	上药宜兴药业有限公司	160722	9.6
73	邵阳神农中药科技发展有限公司	170523	14.7
74	广州至信中药饮片有限公司	160901	8.4
75	广西同福堂中药饮片有限责任公司	170501	9.6
76	盛实百草药业有限公司	16122101	12.2
77	湖南然洞堂中药有限公司	2017021102	12.6
78	安徽亳药千草国药股份有限公司	1612133	10.7
79	云南向辉药业有限公司	P20161225	8.9
80	昆明蓝海中药材饮片有限公司	20160522	10.0

2.2 NIR的采集

取药材样品粉末装入样品杯,粉末均匀分布,采用漫反射扫描法,以光纤探头接触药材药品粉末,在不透光状态下采集药材样品光谱。以仪器内置背景为参比,扫描间隔为 2 cm^{-1} ,扫描范围为 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$,累计扫描次数为32次,分辨率为 8 cm^{-1} 。每批药材样品采集6张光谱,得平均图谱,则80批药材样品的NIR光谱叠加见图1。

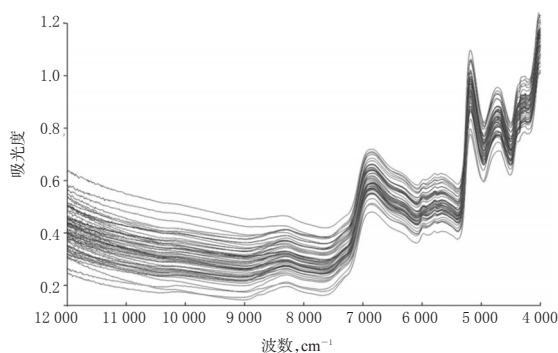


图1 80批药材样品的近红外光谱叠加图

Fig 1 Primitive NIR spectrum of 80 batches of samples

2.3 校正集和验证集样品的选择

根据“2.1”项下含水量分布情况,将80批药材样品

按约2:1的比例用OPUS 5.0软件自动分为校正集和验证集,其中所选建模用校正集样品的水分含量范围覆盖验证集样品,详见表2。

表2 校正集和验证集药材样品含水量统计

Tab 2 Water content statistics of validation set and calibration set

集合	样品数,批	参考值范围, %	平均值, %
校正集	56	6.8~21.0	11.7
验证集	24	8.9~13.3	11.1

2.4 光谱预处理方法的选择

在建立NIR定量分析模型前,为了消除光谱噪音、光谱漂移等非线性因素对定量结果的影响,首先要对药材样品的NIR原始光谱进行预处理。常用的预处理方法有常数偏移消除法(Constant offset elimination, COE)、直线差减法(Straight line subtraction, SLS)、一阶导数法(First derivative, FD)、二阶导数法(Second derivative, SD)等^[10]。通过采用不同预处理方法可得不同的决定系数(R^2)、交叉验证均方差(RMSECV)、预测均方差(RMSEP),详见表3。

表3 不同光谱预处理方法对模型性能的影响

Tab 3 Effects of different spectrum preprocessing methods on model performance

预处理方法	内部交叉验证		外部验证	
	R^2	RMSECV	R^2	RMSEP
不处理	0.972 6	0.433	0.932 8	0.325
COE	0.974 9	0.404	0.940 4	0.306
SLS	0.972 0	0.427	0.941 0	0.304
FD	0.971 0	0.435	0.930 0	0.332
SD	0.966 5	0.467	0.924 1	0.345
FD+SLS	0.971 4	0.432	0.926 1	0.341

运用OPUS 5.0软件对表1数据进行处理,以 R^2 、RMSECV、RMSEP为评价指标,综合评价所建不同模型的准确性与适用性。其中, R^2 越接近1,NIR预测值与参考值相关性越好;RMSECV、RMSEP越小,所建定量分析模型适用性越强、预测效果越好。结果表明,以COE法预处理效果最好,可以消除多重光谱偏差。对光谱进行微调处理,经最佳光谱预处理方法处理后得NIR,详见图2。

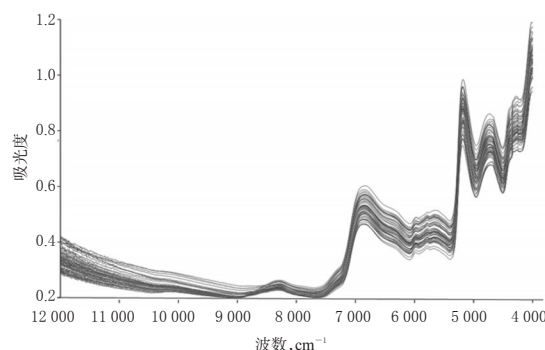


图2 预处理后的药材样品近红外光谱图

Fig 2 NIR spectrum after pretreatment

2.5 建模波段的选择

采用COE法对不同的波段范围进行手动优化比较,通过OPUS 5.0软件分析得到检测水分含量预测最佳波段为7 502.2~6 896.6、5 600.6~4 998.9 cm^{-1} ,详见表4。

表4 不同波段对模型性能的影响

Tab 4 Effects of different bands on model performance

光谱范围, cm^{-1}	R^2	RMSECV
12 000~4 000	0.971 4	0.432
7 502.2~6 896.6	0.969 8	0.443
5 600.6~4 998.9	0.972 3	0.425
7 502.2~6 896.6, 5 600.6~4 998.9	0.972 6	0.423

2.6 定量模型的建立

采用OPUS 5.0软件,并结合偏最小二乘法(PLS),对光谱采用COE法预处理光谱,在“2.5”项下波段内对56批药材样品中的含水量进行建模。结果,模型内部交叉验证 $R^2=0.974\ 9$, $\text{RMSECV}=0.404$;模型外部验证 $R^2=0.940\ 4$, $\text{RMSEP}=0.306$ 。在6.8%~21.0%的水分含量范围内,以参考值(x)为横坐标、预测值(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=0.981\ 1x+0.224\ 4$ ($r=0.974\ 9$),详见图3。

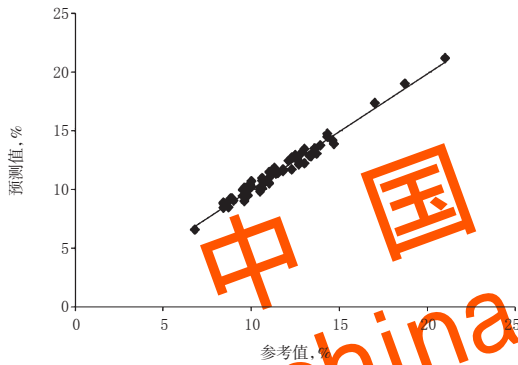


图3 预测值与参考值的线性关系

Fig 3 Linear relationship of predicted value and reference value

2.7 定量模型的验证

利用建立的水分定量模型对验证集药材样品的水分含量进行预测,并与参考值进行比较,结果见表5。

由表5可见,该模型预测值与参考值接近,验证相对偏差范围在0.17%~5.11%,准确度在94.89%~103.43%之间,即该模型准确度较高,可用于预测肉桂药材的水分。

3 讨论

NIR分析技术是一种可以快速、高效地对样品进行定性和定量分析的低碳环保的检测技术,近年来在中药领域的应用日益普遍^[11-15]。NIR定量模型是对已知含量的样品建立定量模型,通过PLS法对未知含量的样品进行准确定量分析。经查询,目前尚无肉桂药材的NIR研究报道,现行药典NIR模型库中也无肉桂药材的NIR模型。本研究利用NIR结合PLS法建立肉桂药材水分定量分析模型后,仅需要采集药材样品的NIR,并代入所建NIR模型中,便可预测药材样品的水分含量。本试验

表5 验证集药材样品水分定量模型预测结果($n=6, \%$)

Tab 5 Prediction results of validation set medicinal samples by moisture quantitative model ($n=6, \%$)

编号	生产企业	参考值	预测值	偏差	相对偏差, %	准确度, %
B1	江西樟树市庆仁中药饮片有限公司	10.8	11.017	-0.22	2.01	102.01
B2	安徽鑫泰药业有限公司	11.5	11.229	0.27	2.36	97.64
B3	四川中胤药业有限公司	11.8	11.632	0.17	1.42	98.58
B4	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	10.4	10.610	-0.21	2.02	102.02
B5	民生药业集团珍医堂印象中药饮片	12.9	12.452	0.45	3.47	96.53
B6	陕西兴盛德药业有限责任公司	13.3	12.686	0.61	4.62	95.38
B7	广西贵港市神农药业有限公司	10.4	10.247	0.15	1.47	98.53
B8	南宁市宾阳县万润草本有限责任公司	11.2	11.006	0.19	1.73	98.27
B9	北京本草方源药业有限公司	11.3	11.224	0.08	0.67	99.33
B10	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	10.0	10.343	-0.34	3.43	103.43
B11	西安中药饮片厂有限公司	10.3	10.317	-0.02	0.17	100.17
B12	天津市中药饮片厂有限公司	11.0	10.869	0.13	1.19	98.81
B13	上药宜兴药业有限公司	9.2	9.432	-0.23	2.53	102.53
B14	盛实百草药业有限公司	12.2	11.576	0.62	5.11	94.89
B15	云南向辉药业有限公司	8.9	8.617	0.28	3.18	96.82
B16	河北祁新中药颗粒饮片有限公司	10.3	10.627	-0.33	3.17	103.17
B17	北京宏济药业有限公司	11.3	11.520	-0.22	1.95	101.95
B18	上海德华国制药有限公司	10.2	10.009	0.19	1.87	98.13
B19	河北康派中药材有限公司	12.8	12.438	0.36	2.83	97.17
B20	安国市普天和中药饮片有限公司	12.7	12.498	0.20	1.59	98.41
B21	四川麒麟药业有限公司	9.6	9.902	-0.30	3.15	103.15
B22	亳州市元光中药饮片厂	13.2	12.761	0.44	3.33	96.67
B23	云南向辉药业有限公司	9.7	9.918	-0.22	2.26	102.26
B24	安徽八里中药饮片有限公司	12.0	11.760	0.24	2.00	98.00

收集到的药材样品来自各个地方的厂家,涵盖范围较广且分布较为均匀,具有一定的代表性,故所建模型预测结果具有较高的准确度。

综上所述,本方法快速准确,简便无污染,可用于肉桂药材水分的快速测定,同时也为生产企业日常自检和主管部门现场检查提供了一定参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:136-137.
- [2] 梁晓艳,郭占京. 肉桂的药理作用研究概况[J]. 现代医药卫生, 2013, 29(10):1501-1503.
- [3] 娜仁其其格. 肉桂的传统应用、化学成分及药理作用的研究概况[J]. 中国蒙医药, 2015(7):29-30.
- [4] 李君,李俊雅. 近红外光谱法测定绞股蓝中水分的含量[J]. 黑龙江医药, 2013, 26(2):179-181.
- [5] 白雁,李珊,张威,等. 近红外光谱法快速检测金银花中水分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(11):1025-1028.
- [6] 白雁,郝敏,雷敬卫,等. 近红外光谱法快速测定白芍中水分及浸出物含量[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(4):1466-1467.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:通则67.
- [8] 郭瑞锋,鄯冰冰,张铨源. 盐酸地芬尼多片近红外光谱定量模型的建立[J]. 中国药房, 2014, 25(25):2352-2354.
- [9] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京:中国石化

七氟烷对小鼠空间记忆能力和海马组织BDNF、TrkB表达的影响

许坤^{1*}, 辛怡纯¹, 陈 愚¹, 陆志俊^{2#} (1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院麻醉科, 上海 200020; 2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院麻醉科, 上海 200025)

中图分类号 R338.64; R614.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)14-1953-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.14.19

摘要 目的: 研究七氟烷对小鼠空间记忆能力和海马组织中脑源性神经营养因子(BDNF)、酪氨酸激酶B(TrkB)表达的影响。方法: 将54只C57BL/6小鼠随机分为麻醉组和对照组, 每组27只。上述2组又分别分为麻醉后第1 d(第一阶段)、第7 d(第二阶段)、第28 d(第三阶段)3个亚组, 每亚组9只。麻醉组小鼠置于麻醉箱中, 给予七氟烷(初始体积分数为5%, 维持1 min, 后降至2.5%, 维持120 min), 完成麻醉后复苏; 对照组小鼠始终给予纯氧。每阶段均进行Morris水迷宫实验, 每阶段结束后分别采用聚合酶链式反应法、酶联免疫吸附法测定海马组织中BDNF、TrkB mRNA和蛋白表达水平。结果: 与对照组比较, 第一阶段麻醉组小鼠平台象限停留时间显著延长, 平台象限停留时间百分比显著升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 穿越平台次数差异无统计学意义($P > 0.05$); 第二、三阶段麻醉组小鼠平台象限停留时间、平台象限停留时间百分比、穿越平台次数差异均无统计学意义($P > 0.05$)。3个阶段中, 麻醉组小鼠海马组织中BDNF、TrkB mRNA和蛋白表达水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 七氟烷麻醉可增强麻醉后早期小鼠空间记忆能力, 且不影响其海马组织中BDNF和TrkB的合成。

关键词 七氟烷; 小鼠; 空间记忆; Morris水迷宫; 脑源性神经营养因子; 酪氨酸激酶B

Effects of Sevoflurane on Spatial Memory Ability and Expression of BDNF and TrkB in Mice Hippocampus

XU Kun¹, XIN Yichun¹, CHEN Ken¹, LU Zhijun² (1. Dept. of Anesthesiology, Luwan Branch, the Affiliated Ruijin Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200020, China; 2. Dept. of Anesthesiology, the Affiliated Ruijin Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of sevoflurane on spatial memory ability and expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and tyrosine kinase B (TrkB) in hippocampus of mice. METHODS: A total of 54 C57BL/6 mice were randomly divided into anesthesia group and control group, with 27 mice in each group. Above 2 groups were divided into first day (first stage), seventh day (second stage), twenty-eighth day (third stage) sub-groups after anaesthesia, with 9 mice in each. In anesthesia group, mice were placed in a narcotic box, given sevoflurane 5% for 1 min and then decreased to 2.5% for 120 min; mice recovered after anaesthesia completion. In control group, mice were always given pure oxygen. Morris water maze test was conducted in each stage. mRNA and protein expression levels of BDNF and TrkB in mice hippocampus were determined by PCR and ELISA after each stage. RESULTS: Compared with control group, platform quadrant and retention time of mice was prolonged significantly in first stage of anesthesia group, and the percentage of platform quadrant time was increased significantly, with statistical significance ($P < 0.05$), but there was no significant change in the times of crossing platform ($P > 0.05$). In second and third stage, there was no significant change in platform quadrant and retention time, the percentage of platform quadrant time or the times of crossing platform in anesthesia group ($P > 0.05$). There was no significant change in mRNA and protein expression levels of BDNF and TrkB in mice hippocampus of anesthesia group ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: Sevoflurane anesthesia can strengthen spatial memory ability of mice in the early stage after anesthesia, but does not influence the generation of BDNF and TrkB in hippocampus.

KEYWORDS Sevoflurane; Mice; Spatial memory; Morris water maze; Brain-derived neurotrophic factor; Tyrosine kinase B

出版社, 2007: 430-441.
[10] 闫研, 殷果, 刘凯双, 等. 近红外光谱法快速鉴别三九胃泰颗粒及其水分定量分析[J]. 中国药房, 2016, 27(18): 2551-2554.
[11] 张迪文, 白雁, 谢彩侠. 近红外光谱法快速测定女贞子药材中女贞苷的含量[J]. 中国药房, 2016, 27(36): 5140-

* 主治医师。研究方向: 全身麻醉与记忆。E-mail: kunny_xu@icloud.com
通信作者: 主任医师, 博士。研究方向: 全身麻醉与记忆。电话: 021-63864050

5143.
[12] 朱静毅, 应忠良, 闻珺毓. 近红外光谱分析技术在药品质量控制中的应用[J]. 中国药房, 2009, 20(7): 550-554.
[13] 阮治纲, 李彬. 近红外光谱分析技术的原理及在中药材中的应用[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(2): 408-412.
[14] 江燕, 杨眉, 张学博, 等. 中药饮片近红外光谱水分定量模型的研究[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(9): 1572-1577.
[15] 马晓青, 蔡皓, 刘晓, 等. 近红外光谱在中药鉴别和质量控制中的应用[J]. 中国药房, 2012, 23(7): 661-663.

(收稿日期: 2017-11-27 修回日期: 2018-01-03)
(编辑: 张 静)