

# 圆柏枝叶对小鼠自发行为及生理生化指标的影响

卓盼, 刘金娟, 李晓储, 王琦祺, 李长根, 蒋继宏\*

(江苏师范大学江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

**摘要:**选择城市绿化重要树种圆柏为研究对象,探讨北美圆柏枝叶对小鼠自发活动及其生理生化指标的影响及挥发性物质与环境间的关系。采用旷场分析法,将入组的30只昆明小鼠分成3组:对照组、低剂量组和高剂量组,低剂量组和高剂量组分别对应地暴露于210 g和420 g圆柏枝叶中,每天4 h,连续处理6 d,观察小鼠各行为指标,结合医学手段分析小鼠相应的生理生化指标。结果表明,小鼠的中央格运动路程、总路程及中央格运动时间都呈现一定的剂量反应;体质量呈稳定增长趋势;生理指标正常,生化指标有部分超出正常范围。经低浓度枝叶挥发物处理的小鼠兴奋性增强,探究和认知能力增强,且其食欲没有受到影响,但是引起部分生化指标的异常,其作用机制还需进一步的探索。研究结果为圆柏作为生态保健树用于城市森林人居环境建设绿化配置提供科学依据。

**关键词:**北美圆柏;挥发性物质;自发活动;生理生化指标;生态保健

中图分类号:S791.44

文献标识码:A

## Effects of *Sabina chinensis* Volatiles on Spontaneous Behavior and Some Physiologic and Biochemical Indicators of Mice

ZHUO Pan, LIU Jin-juan, LI Xiao-chu, WANG Qi-qi, LI Chang-gen, JIANG Ji-hong

(Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plants of Jiangsu Province, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, Jiangsu, China)

**Abstract:** The effects of volatiles from branch and leaf of *Sabina chinensis* on open-field behaviors and the physiological and biochemical parameters of Kunming mice and the relationship between the volatiles and the environment conditions were investigated and evaluated. The results showed that distance in central grid, total distance and the time of movement had dose-dependent relationship. The behavior index of low-dose group was higher than that of the control while the behavior index of high-dose group was lower than that of the control group. It suggested that low concentration of volatile matter can improve the excitability of mice, and higher concentration would cause the mice showing inhibiting activity. The weight of all the mice showed a steady growth trend, indicating there was no effect on the appetite of mice. The physiological indicators of mice were normal, while the biochemical indicators of apolipoprotein A was significant different from the control group. The mechanism needs further exploration.

**Key words:** *Sabina chinensis*; volatile organic compounds; open field test; physiologic and biochemical

北美圆柏(*Sabina virginiana* (Linn.) Ant.), 圆柏属(*Sabina*), 柏科(Cupressaceae), 是主要的城市绿化植物及庭园观赏树种<sup>[1]</sup>。研究发现该科植物枝

叶挥发物主要成分为挥发油,主要是萜烯类化合物、有单萜、倍半萜、二萜及酯和酮的挥发物等<sup>[2-4]</sup>,具有止血、镇咳祛痰、扩张支气管、抑菌、抗肿瘤、抗氧

收稿日期:2014-06-15

基金项目:“十二五”国家科技支撑项目(2011BAD38B03)。

作者简介:卓盼(1986—),女,硕士研究生,江苏徐州人,主要从事药用植物生物技术的研究。

\* 通讯作者:教授,博士,主要从事药用植物生物技术研究。E-mail:jhjiang@xznz.edu.cn

化等多种药理作用<sup>[5-7]</sup>。张文慧用水蒸气蒸馏法对北美圆柏(*Sabina virginiana* (Linn.) Ant.)的挥发性物质进行提取,100 g 圆柏枝叶挥发油得率为2.23%,含有34种挥发物,其中含量最高的为左旋乙酸冰片酯和 $\alpha$ -杜松醇,相对含量分别为21.259%和10.013%<sup>[8]</sup>。

绿色植物在正常的生长过程中不断地向周围环境释放挥发性物质,植物产生的挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs)能够参与其与周围环境的信息交流及相互作用<sup>[9]</sup>。植物挥发性物质中的某些萜烯类物质,在空气中以极低的浓度存在,增强了空气的清新感,对人的身心具有良好的调节作用,使人感到舒缓和安逸,有助于消除疲劳<sup>[10-11]</sup>。为了在城市森林建设人居环境绿化中科学应用圆柏树种,本研究特对圆柏枝叶挥发性物质对小鼠旷场行为和生理生化指标的影响进行了研究。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试北美圆柏(*Sabina virginiana* (Linn.) Ant.)其枝叶样品采自江苏师范大学校园。

昆明小鼠,购自徐州医学院实验动物中心,18~22 g,雌雄各半。室温25℃,每日12 h光照,12 h黑暗,自由进食饮水。开场实验前先在实验室观察饲养3 d后选择健康状况良好的30只小鼠雌雄各半,用于实验,分高剂量组、低剂量组和对照组进行处理,每个处理组10只。

### 1.2 试验仪器与设备

测试仪器为:ZH-ZFT型自发活动实验视频分析系统(淮北正华生物仪器设备有限公司)。4个独立自动化视频采集系统;全自动生化分析仪:Olympus AU400(日本);全自动血液分析仪:AMS AUTOLAB(意大利);试验处理箱(自制);另有眼科剪、眼科镊、解剖刀、解剖盘等。

### 1.3 试验方法

因所选植物枝叶挥发物成分多,是多种成分的混合体,为了尽可能保持小白鼠熏气实验气体成分真实状态,故以枝叶质量差异和处理时间的不同反应枝叶挥发物的浓度变化。

1.3.1 植物处理方法 将采摘的新鲜枝叶用切割机切成同等大小(机械损伤的目的是为了使枝叶挥发物的气味更充分散发),混合均匀后,用天平分别称取420 g、210 g各2份放入自制的处理箱底部(根

据之前对圆柏挥发油的提取率,用420 g和210 g分别代表修剪后和自然状态下圆柏林中的挥发物含量)<sup>[12]</sup>。

1.3.2 动物处理方法 试验按随机分组设计,每组10个重复。将雌雄小鼠分别按高剂量组、低剂量组和对照组进行处理,其中420 g枝叶挥发物处理定为高剂量组,210 g枝叶挥发物处理定为低剂量组,对照组为空白组,在没有圆柏枝叶的自然空气中,并将雌雄小鼠分开饲养在实验室中,饲养3 d以适应实验室环境及实验人员。进入正式实验阶段,每天称量后分别放入处理箱,每天处理4 h,连续处理6 d。

1.3.3 自发活动试验 将处理后的小鼠放入ZH-ZFT型自发活动实验视频分析系统中,观察其在5 min内的活动情况,每天进行1次。观察的指标为:小鼠运动总路程、小鼠中央活动路程、小鼠中央活动时间、小鼠站立次数等<sup>[13-16]</sup>。

### 1.4 测定指标

1.4.1 血常规和血液生化指标 在用枝叶挥发物处理第6天后,摘眼球采血,进行血常规检查和血清生化指标检测。由徐州市铜山中医院协助检测。血常规指标包括红细胞、红细胞压积、平均红细胞体积、红细胞分布宽度、白细胞、淋巴细胞;生化指标包括总胆红素、直接胆红素、总蛋白、白蛋白、球蛋白、丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、尿素氮、肌酐<sup>[17-18]</sup>。

1.4.2 主要脏器系数 小鼠处死后,解剖取心脏、肝脏、肾脏、脾脏、肺、胸腺、脂肪组织,生理盐水洗涤,吸水纸吸干后,称质量,计算脏器系数。

脏器系数 = 脏器质量 / 体质量

### 1.5 数据处理方法

测定数据采用SPSS 17.0软件进行单因素方差分析,数据以 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 表示,比较两个剂量组与对照组之间变化,用one way ANOVA进行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠运动总路程的变化

运动总路程反映小鼠的运动量。运动量大表明小鼠中枢神经系统兴奋,反之,小鼠则呈现一定程度的抑郁状况。采用不同质量的圆柏枝叶挥发性物质对小鼠进行处理,总路程的变化结果见图1。从图1结果看出,处理组与对照组的总路程变化均呈随处

理时间先上升,2 d 达到峰值,尔后下降,4~6 d 趋于平缓的规律。低剂量组各时段总体上高于对照组和高剂量组,而高剂量组最低。表明低剂量组的圆柏挥发物可促进小鼠的神经系统兴奋,而高剂量组的圆柏枝叶挥发物则使小鼠呈现一定程度的抑郁。说明圆柏枝叶挥发物所发挥的作用有一定的阈值,超过一定的浓度后对小鼠的中枢神经兴奋性起到了抑制作用,但是与对照组相比,差异尚未达显著水平 ( $P > 0.05$ )。

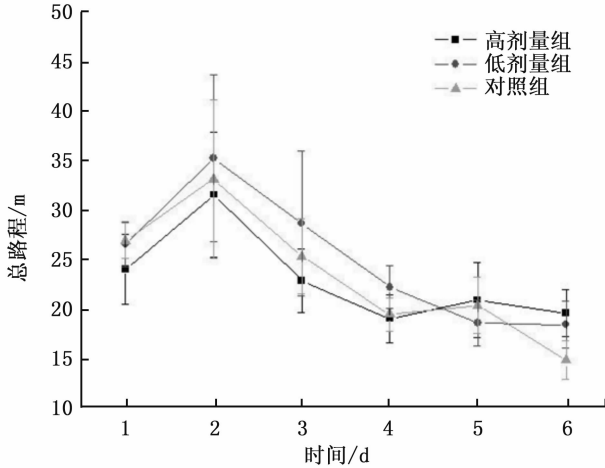


图1 3组小白鼠运动总路程的比较

## 2.2 小鼠中央格运动路程的变化

中央区域属于小鼠不偏爱的区域,中央区域活动频率可以评价小鼠的探究行为。在特殊生理情况下,如警觉、中枢兴奋或抑制等,可以增加或减少中央活动的频率。不同质量的圆柏枝叶挥发性物质对小鼠处理表明(图2),各处理组小鼠的中央格路程变化的基本趋势相似。低剂量组3 d内各时段均高于高剂量组;但与对照组差异未达显著水平。结果说明高浓度的圆柏枝叶气味不利于小鼠的探究能力和记忆能力的提高,低浓度反之,表现出一定的促进作用。

## 2.3 小鼠中央格运动时间的变化

中央格停留的时间的长短也是小鼠认知能力反映重要指标之一,不同处理对小鼠中央格运动时间的影响见图3:处理组与对照组的小鼠在中央格运动的时间总体呈下降趋势,实验前3 d 差异较显著,与进入中央格的路程变化趋势基本相同,与小鼠总路程和中央格运动路程变化相似。结果表明,高浓度的圆柏枝叶挥发物对小鼠的认知能力产生抑制作用,相对来说低浓度作用比较明显。

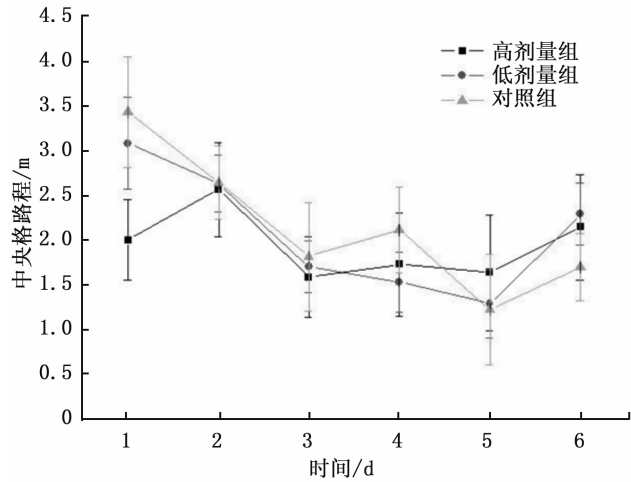


图2 3组小白鼠中央格运动路程的比较

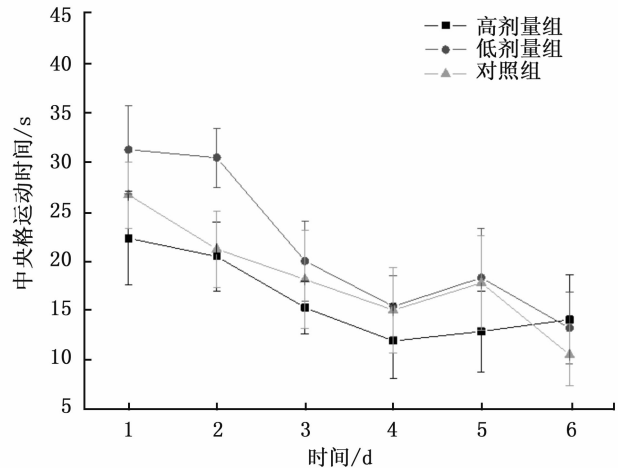


图3 3组小白鼠的中央格运动时间的比较

## 2.4 小鼠死亡率和体质量的变化

实验期间,无小鼠死亡。与对照组相比,不同剂量处理组间小鼠体质量没有显著的差异。但总体变化趋势基本相似,处理组和对照组体质量都呈增长趋势,差异也未达显著水平(图4)。因小鼠体质量的变化可以反映出处理方式是否对小鼠的食欲造成影响,故实验结果表明圆柏枝叶挥发物对小鼠的食欲并无明显影响。

## 2.5 小鼠脏器系数的变化

正常时各脏器与体质量的比值比较恒定。动物染毒后,受损脏器质量可以发生改变,故脏器系数也随之而改变。脏器系数增大,表示脏器充血、水肿或增生肥大等;脏器系数减小,表示脏器萎缩及其他退行性改变。本试验选用肝、肾、肺、脾、心等主要脏器和脂肪系数,脏器系数是毒理实验中常用的指标。此法简便易行,而且较为敏感。从表1看出,与对照

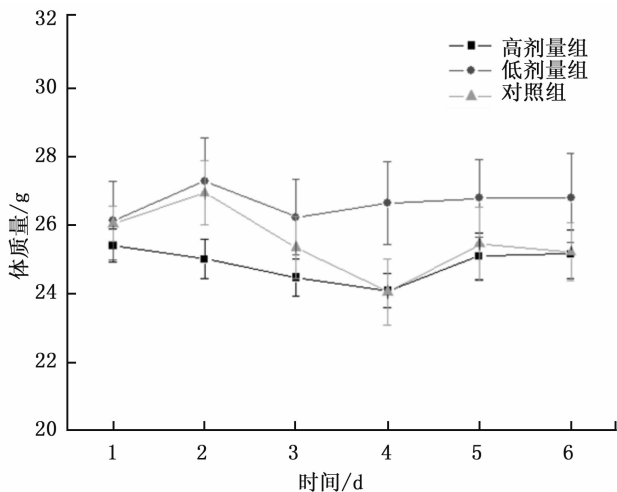


图4 3组小白鼠体重变化的比较

组相比,各处理组小白鼠的心脏系数、肝脏系数、肾脏系数、脾脏系数、脂肪系数、肺系数无显著差异,高剂量组的小鼠胸腺系数显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ),低剂量组则没有明显的差别 ( $P > 0.05$ )。

表1 脏器系数结果

指标	组别		
	高剂量组	低剂量组	对照组
肝脏系数	5.79 ± 0.092	6.13 ± 0.81	5.18 ± 0.73
肾脏系数	1.39 ± 0.16	1.36 ± 0.15	1.16 ± 0.17
脾脏系数	0.58 ± 0.50	0.67 ± 0.49	0.54 ± 0.28
胸腺系数	0.44 ± 0.10 *	0.30 ± 0.12	0.30 ± 0.09
脂肪系数	1.49 ± 0.31	1.13 ± 0.76	1.42 ± 0.56
心脏系数	0.51 ± 0.06	0.52 ± 0.06	0.48 ± 0.04
肺系数	0.64 ± 0.04	0.77 ± 0.04	0.71 ± 0.04

注:和对照组相比, \*  $p < 0.05$ 。

## 2.6 小鼠血液生化指标检测

小白鼠血液生化指标测定表明(表2),在用圆柏枝叶挥发物处理小白鼠实验期间,各处理组与对照组小白鼠的各生化指标如胆红素、直接胆红素、总蛋白、丙氨酸转氨酶、天门冬氨酸转氨酶、尿素氮等指标均无显著差别 ( $P > 0.05$ );但载脂蛋白A指标差异显著,高剂量组极显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ),低剂量组显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。

## 3 结论与讨论

在本实验条件下,旷场实验的行为指标测定表明,小鼠的中央格运动路程、总路程及中央格运动时间都呈一定的剂量反应。生理生化试验结果表明,生理指标检测在正常范围内;生化指标检测有个别指标超出正常范围,整个试验过程中小鼠体重呈稳定增长趋势,无死亡发生。高剂量组的小鼠各项

行为指标均低于对照组,产生一定的抑郁作用;而低剂量组的小鼠各项行为指标均高于对照组,兴奋性、

表2 试验小鼠血液生化指标

生化指标	组别		
	高剂量组	低剂量组	对照组
总胆红素/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	6.03 ± 1.32	6.83 ± 0.58	8.48 ± 1.45
直接胆红素/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.92 ± 0.43	1.6 ± 0.26	2.46 ± 0.47
间接胆红素/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	4.11 ± 1.41	5.23 ± 0.67	6.02 ± 1.24
总蛋白/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	54.27 ± 1.59	55.13 ± 2.28	58.4 ± 12.5
白蛋白/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	28.31 ± 3.47	25.31 ± 1.45	27.1 ± 1.69
球蛋白/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	28.98 ± 1.23	28.35 ± 7.01	34.39 ± 7.78
白球蛋白比	0.89 ± 0.05	0.75 ± 0.13	0.84 ± 0.06
谷草转氨酶/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	179.30 ± 12.99	232.01 ± 28.10	188.33 ± 19.95
谷丙转氨酶/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	71.10 ± 17.59	94.56 ± 12.34	56.67 ± 7.01
谷草/谷丙	3.50 ± 0.74	3.18 ± 0.44	3.53 ± 0.37
乳酸脱氢酶/ ( $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1 501.50 ± 79.35	1 629.00 ± 70.51	1 613.33 ± 88.06
总胆固醇/ ( $\text{mmol/L}$ )	1.55 ± 0.10	1.87 ± 0.134	1.63 ± 0.11
尿素氮/ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	5.00 ± 0.24	6.16 ± 0.45	5.85 ± 0.45
肌酐/ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	22.23 ± 1.85	21.72 ± 3.14	30.52 ± 6.51
甘油三酯/ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.93 ± 0.13	1.01 ± 0.25	0.63 ± 0.05
载脂蛋白A/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.03 ± 0.01 * *	0.076 ± 0.014 *	0.12 ± 0.01
载脂蛋白B/ ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.004	0.02 ± 0.00
高密度脂蛋白/ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.33 ± 0.02	0.349 ± 0.045	0.31 ± 0.04
低密度脂蛋白/ ( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0.70 ± 0.07	0.87 ± 0.07	0.62 ± 0.11

注:和对照组相比, \* \*  $p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$ 。

探究和认知能力增强,且对其食欲没有影响。此外,供试小白鼠的各项生理指标均正常,雌雄相同处理组间几乎没有差异。对于个别生化指标的异常,本文中还不能给出合理的推断,其作用机制还需进一步的探索。

旷场实验主要反映动物的主动行为、探究行为及抑郁或警觉等情绪<sup>[15]</sup>。在本实验研究处理条件下,小鼠在供试圆柏枝叶挥发物的气味环境中各项自发活动指标都发生了一系列的变化。血常规和生

理生化指标的检测表明:虽然个别生化指标出现显著差异,但小白鼠本身的生理指标并没有受到植物挥发物的影响,说明供试枝叶挥发物对小白鼠无毒副作用。研究结果为城市森林人居环境绿化建设应用圆柏构建生态保健型群落提供了科学依据。

目前,城市绿化对植物群落配置的种类、数量、色彩等因素考虑较多,但对植物挥发物对人体的保健功能或有害副作用考虑较少。王艳英等<sup>[12]</sup>研究了侧柏等枝叶挥发物对小鼠自发行为的影响,结果显示经侧柏、龙柏和雪松枝叶处理过的小鼠各项行为指标也呈一定的剂量反应,与作者的研究表现出相近的规律。另外本研究中增加了实验动物的生理生化指标的检测,更深层次的发掘了圆柏与实验动物之间的化学作用。本试验的研究方向对城市人居环境绿化的生态保健树种,尤其是园林植物的保健功能测定应用提供了科学参考。由于植物枝叶修剪前后挥发物的种类及浓度效应不同,受试验条件、时间等的限制本研究只选取了两个浓度,其他不同浓度的处理效应及机理尚需继续深入研究。相信随着研究方法和研究技术的进步,这方面的研究结果必定会为城市居民人居环境绿化植物保健群落配置,生活环境质量的提高提供更有力的科学依据。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1978, 7: 360.
- [2] 贺迪经, 巴 杭, 王志民. 新疆圆柏果实挥发油化学成份的研究[J]. 有机化学, 1991(1): 91-99.
- [3] 许 伟, 王武宝, 巴 杭, 等. 新疆圆柏挥发油化学成分分析[J]. 光谱实验室, 2005, 22(3): 622-624.
- [4] 田旭平, 高 莉, 常 洁. 新疆圆柏干叶香气成分的研究[J].

林业实用技术, 2009(9): 9-10.

- [5] 蒋继宏, 李晓储, 高甜惠, 等. 几种柏科植物挥发物质及抗肿瘤活性初步研究[J]. 福建林业科技, 2006, 33(2): 52-57.
- [6] 田旭平. 新疆圆柏黄酮的提取、精制与抗氧化作用的研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2006.
- [7] 李晓储, 蒋继宏, 陈凤美, 等. 扬州古运河沿岸生态林主要绿化树种抑菌功能的初步研究[J]. 林业科学, 2006, 42(6): 129-133.
- [8] 张文慧. 侧柏挥发性物质及抗肿瘤细胞等生物活性研究[D]. 徐州: 江苏师范大学, 2009.
- [9] 李继泉, 金幼菊, 沈应柏, 等. 环境因子对植物释放挥发性化合物的影响[J]. 植物学通报, 2001, 18(6): 649-656.
- [10] 高 岩, 金幼菊, 邹祥旺, 等. 珍珠梅花挥发物对小鼠旷场行为及学习记忆能力的影响[J]. 北京林业大学学报, 2006, 27(3): 61-66.
- [11] 阮维斌, 张园园, 高 陆. 植物挥发性信号物质介导抗性的生态功能[J]. 生态学报, 2010, 30(3): 801-807.
- [12] 王艳英, 王 成, 鄯光发, 等. 4个针叶树种枝叶气味对小白鼠自发行为影响的比较分析[J]. 林业科学, 2013, 49(5): 188-193.
- [13] 王一奇, 朱朝阳, 魏尔清. 不同品系小鼠自发活动特点及中枢抑制药新评价模型[J]. 科技通报, 2003, 19(4): 292-296.
- [14] 吴开华, 杨冠玲. 四箱式小鼠自发活动检测系统的研究[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(5): 464-466.
- [15] 林晓春, 李云鹏, 卞艳芳, 等. 大鼠旷场实验指标检测及参考值的探讨[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(3): 224-225.
- [16] 钱伯初, 史 红. 实验动物自发活动试验方法学的研究进展[J]. 浙江省医学科学院学报, 2006, 17(2): 21-27.
- [17] 夏介英, 雷培琪, 曾晓兰, 等. SPF级KM小鼠主要脏器重量和血液生化值的测定[J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(03): 104-107.
- [18] 王俊凤, 施美莲, 赵立虎. 无菌级C3H/OrlSlac小鼠生长繁殖、主要脏器参数以及血液生理生化指标的测定分析[J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(2): 124-128.