

醒脑益智胶囊对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍模型的影响

张晓平, 侯林, 聂克, 崔清华, 田景振*
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] 目的:研究醒脑益智胶囊对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍模型的影响。方法:昆明种小鼠 60 只随机分为空白对照组,模型组,阳性对照组(石杉碱甲 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),醒脑益智胶囊高、中、低剂量组($179.2, 89.6, 44.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 10 只。每天 ig 给药 2 次,连续 15 d 进行预防性给药。给药后一次性腹腔注射东莨菪碱($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)复制小鼠学习记忆获得障碍模型,避暗法、跳台法测定学习记忆能力,测定脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力、丙二醛(MDA)的含量。结果:与模型组比较,高剂量组($179.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)能在一定程度上延长小鼠潜伏期,减少 5 min 内错误次数,提高 SOD 活力,降低 MDA 的含量,差异具有显著性($P < 0.05$)。结论:醒脑益智胶囊有促进记忆和改善东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的作用。

[关键词] 醒脑益智胶囊;学习记忆;超氧化物歧化酶;丙二醛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0228-03

[doi] 10.11653/syfy2013230228

Effects of Xingnao Yizhi Capsule on Learning and Memorizing Consolidation of Dismnesia Mice Induced by Scopolamine Hydrobromide

ZHANG Xiao-ping, HOU Lin, NIE Ke, CUI Qing-hua, TIAN Jing-zhen*
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Xingnao Yizhi capsule on learning and memorizing consolidation of dysmnesia mice induced by scopolamine hydrobromide. **Method:** Sixty mice were divide into normal control group, model group, Huperzine-A group ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), Xingnao Yizhi capsule of high dose group, middle dose group and low dose group ($179.2, 89.6, 44.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). After the intragastric administration twice a day respectively for 15 days, the learning and memory consolidation of dysmnesia model was induced by scopolamine hydrobromide intraperitoneal injection ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Learning and memory function of various group rats were assessed with step-through test and step-down test; The content of malondiadehyde (MDA), activity of superoxide dismutase (SOD) in brain tissue were detected. **Result:** Compared with model group, Xingnao Yizhi capsule ($179.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) prolonged the latency periods of memory and significantly reduced the error times within 5 mins in dysmnesia groups ($P < 0.05$), increased the activity of SOD and decreased the content of MDA in brain tissue ($P < 0.05$). **Conclusion:** Xingnao Yizhi capsule has protective effects on learning and memorizing consolidation of dysmnesia mice induced by scopolamine hydrobromide.

[Key words] Xingnao Yizhi capsule; learning and memorizing; superoxide dismutase; malondiadehyde

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)属于老年痴呆症范畴,是老年人中常见的一种中枢神经系统退行性疾病,患者记忆力、社会活动力多有障

碍。随着人口老龄化的加剧,其发病率呈增高趋势,给患者及家庭带来很大负担^[1]。中医认为 AD 发病本质为本虚标实,气血阴阳衰少,病理产物堆积而

[收稿日期] 20130724(016)

[基金项目] 重大新药创制专项-治疗老年性痴呆创新中药(2011ZX09102-003-06)

[第一作者] 张晓平, 硕士在读, 从事中药制剂研究, Tel:0531-89628597, E-mail: xia_opingzhang@126.com

[通讯作者] * 田景振, 博士, 教授, 从事中药制剂研究, Tel:0531-89628597, E-mail: tianjingzhen@163.com

致,治疗宜采用补肾益智、益气活血、开窍等法^[2]。

醒脑益智胶囊主要由远志、三七、淫羊藿、冰片4种药物有效部位配伍而成,远志皂苷是远志益智的有效成分,为君药;淫羊藿苷能提高免疫功能,保护神经细胞受损^[3],三七总皂苷具有保护和改善中枢胆碱能系统的功能,发挥抗老化、抗痴呆作用^[4],二者合为臣药;冰片有开窍醒神之功,具有促进血脑屏障通透性增加和引药上行的作用^[5],兼为佐使。整方具有活血醒脑,化痰开窍,补肾填髓的功效,本研究主要从行为学和抗氧化指标测定两方面探讨了醒脑益智胶囊对东莨菪碱致学习记忆巩固障碍模型小鼠学习记忆功能的影响。

1 材料

1.1 药物 醒脑益智胶囊由远志总皂苷、三七总皂苷、淫羊藿苷、冰片组成。冰片(β -环糊精包含GC,60%);远志(建联大药店,经山东中医药大学中药鉴定教研室李峰老师鉴定,符合《中国药典》2010年版标准)。远志有效部位远志总皂苷为实验室自制,经提取、分离、纯化而得。远志总皂苷(以细叶远志皂苷计25%);三七总皂苷(南京泽朗医药科技有限公司,纯度85%);淫羊藿苷(南京泽朗医药科技有限公司,纯度98%);石杉碱甲(上海融禾医药科技发展有限公司,纯度99.23%,批号121021)。

1.2 动物 雄性SPF级昆明种小鼠,体重18~22g,60只。由山东鲁抗医药股份有限公司质检中心实验动物室提供,动物合格证编号SCXK(鲁)20080002。

1.3 试剂 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术研究所);东莨菪碱(Sigma-Alorich,批号SLBD0119V)。

1.4 仪器 电热恒温水箱(常州博远实验分析仪器厂);低速自动平衡微型离心机(北京医用离心机厂,型号LD24-0.8);酶标仪(赛默飞世尔仪器有限公司);避暗仪(安徽淮北正华生物仪器有限公司);XZC-5A型小鼠跳台仪(山东省医学科学院设备站提供);Sartorius BT125D电子天平。

2 方法

2.1 跳台实验 将小鼠随机分成6组,每组10只,分别为空白对照组、模型组、阳性对照组(石杉碱甲 $0.05\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、醒脑益智胶囊高、中、低剂量组($179.2, 89.6, 44.8\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。造模前中药预防组要先给予醒脑益智胶囊,中药预防3个组分别按高、中、低3个剂量的醒脑益智胶囊ig给药(等效剂量

参照成人常规剂量按人与动物体型系数折算)^[6],模型组、空白对照组给予等容积的生理盐水ig,每天ig给药2次,持续15d。末次给药1h后,在小鼠进行跳台实验前20min,采用 $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的东莨菪碱溶液按照 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,空白对照组ip等量生理盐水。注射完毕,将各组鼠放入跳台仪,跳台训练5min^[7](36V,2mA,AC)。24h后进行跳台测试,记录5min内各鼠跳台实验中第一次跳下平台的潜伏期和5min内的错误次数。

2.2 避暗实验^[8] 分组及给药方法同2.1。末次给药1h后,在小鼠进行跳台实验前20min,采用 $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的东莨菪碱溶液按照 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip,空白对照组ip等量生理盐水。注射完毕,将各组鼠放入避暗,避暗训练5min(36V,2mA,AC)。24h后进行避暗测试,记录动物从放入明室至进入暗室受到电击所需时间,即潜伏期及5min内受电击次数。

2.3 脑组织相关指标检测 上述小鼠行为学试验结束后,脱颈椎处死,低温条件下取出脑组织,生理盐水冲洗,以滤纸吸干,称重,放置于匀浆器中,生理盐水配成10%匀浆液,以 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 低温离心10min^[9],取上清液置4℃冰箱保存,以备生化检测。小鼠脑组织蛋白含量测定、SOD活性测定、脑组织MDA含量测定检测严格按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学处理 采用GraphPad Prism 4统计软件进行数据处理,进行单因素方差分析,数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,以 $P<0.05$ 为差别有统计学意义。

3 结果

3.1 对东莨菪碱致记忆获得障碍模型小鼠避暗实验结果的影响 与空白对照组比较,模型组的记忆潜伏时间明显缩短,且记忆错误次数增加,说明造模成功;与模型组相比阳性药物石杉碱甲组、醒脑益智胶囊高剂量组的记忆潜伏时间明显增长,记忆错误次数减少,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

3.2 对东莨菪碱致记忆获得障碍模型小鼠跳台实验的影响 与空白对照组比较,模型组记忆潜伏时间缩短,且记忆错误次数增多($P<0.01$);与模型组相比,阳性药物石杉碱甲组、醒脑益智胶囊高剂量组记忆潜伏时间延长,记忆错误次数减少,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

3.3 对记忆获得障碍模型小鼠脑组织SOD活性和MDA含量影响 与空白对照组相比模型组SOD活力降低,MDA含量升高($P<0.05$);与模型组相比,石杉碱甲组和醒脑益智胶囊高剂量组SOD活力升高,MDA含量降低($P<0.05$)。见表3。

表 1 醒脑益智胶囊对东莨菪碱致记忆获得障碍模型小鼠避暗实验($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	记忆潜伏时间 /s	记忆错误数 /次
空白对照组	-	107.8 ± 30.9 ³⁾	2.4 ± 0.6 ²⁾
模型组	-	11.0 ± 2.8	5.4 ± 1.1
石杉碱甲	0.05	52.0 ± 6.0 ¹⁾	3.2 ± 0.8 ¹⁾
醒脑益智胶囊	179.2	49.4 ± 12.3 ¹⁾	3.2 ± 1.3 ¹⁾
	89.6	22.8 ± 8.4	3.8 ± 0.8
	44.8	17.8 ± 6.4	5.2 ± 1.5

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (表 2 ~ 3 同)。

表 2 醒脑益智胶囊对东莨菪碱致记忆获得障碍模型小鼠跳台实验($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	记忆潜伏时间 /s	记忆错误次数 /次
空白对照组	-	228.2 ± 73.9 ²⁾	1.6 ± 0.3 ²⁾
模型组	-	39.0 ± 8.1	5.6 ± 1.5
石杉碱甲	0.05	177.0 ± 30.9 ¹⁾	1.6 ± 0.1 ²⁾
醒脑益智胶囊	179.2	167.1 ± 19.2 ¹⁾	2.2 ± 0.5 ¹⁾
	89.6	78.4 ± 8.0	3.4 ± 1.1
	44.8	52.8 ± 8.2	3.6 ± 0.8

表 3 醒脑益智胶囊对东莨菪碱致记忆获得障碍模型小鼠脑组织 SOD 活性和 MDA 含量影响

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	SOD 活力 /U·mg ⁻¹	MDA 含量 /nmol·mg ⁻¹
正常对照组	-	35.82 ± 8.52 ¹⁾	2.13 ± 1.27 ¹⁾
模型组	-	14.02 ± 0.50	5.44 ± 1.51
石杉碱甲	0.05	33.03 ± 9.02 ¹⁾	1.99 ± 0.42 ¹⁾
醒脑益智胶囊	179.2	32.71 ± 11.51 ¹⁾	2.53 ± 0.84 ¹⁾
	89.6	16.13 ± 1.17	3.08 ± 1.28
	44.8	14.30 ± 5.66	4.42 ± 1.34

4 讨论

学习记忆障碍是老年痴呆的一种表现,记忆障碍模型是评价药物对记忆过程影响的有效手段之一,跳台法和避暗法是考察受试物对记忆过程影响的敏感方法。学习障碍的发生与氧化应激也有密切关系,氧自由基过量生成和体内抗氧化防御系统受损导致氧自由基及其相关代谢产物过量聚集有关,导致机体出现病理状态,其中 SOD,MDA 与其关系密切,中药尤其是复方在延缓脑老化方面比单一药物治疗更有优势^[12]。

实验对小鼠进行预防性给药后一次性腹腔注射东莨菪碱进行造模,抑制中枢胆碱能系统,神经元缺失后神经递质 Ach 减少,造成学习记忆功能受损,以跳台和避暗试验中的潜伏期和错误次数作为行为

学评价指标,同时测定脑组织中 SOD 活力及 MDA 含量。实验结果表明,醒脑益智胶囊组小鼠学习记忆能力均有所改善,SOD 活力升高、MDA 含量降低,综合行为学和相关指标测定来看,以高剂量组作用明显,作用机制可能与提高体内抗氧化物质含量,降低自由基生成,保证机体自由基代谢平衡,减轻脂质过氧化,防止脂褐质生成影响细胞正常代谢,延缓机体衰老有关,为醒脑益智胶囊的进一步研发提供了临床前药理学实验依据。

本研究从治疗老年性痴呆的经验方剂入手,通过组分配伍的方法产生一个治疗老年性痴呆疗效确切的中药创新药物。课题组前期研究发现通过对药材有效部位的提取纯化和比例筛选后,与原方相比效果改善,达到了给药精炼化的目的。在醒脑益智方的基础上,将以药材入药转变为以药效部位和药效成分入药,使药物剂量更加精确可控,克服了以药材给药因药材质量不稳定造成的实际给药量不稳定的问题,但组分中药与单用某种单体相比是否更有疗效,且其具体量效关系以及能否进一步从药材中更有效的提取单体成分,降低药物成本还有待于进一步研究、探讨。

[参考文献]

- [1] 闫敬来,陈燕清.老年痴呆病机的中医学认识概述[J].中华中医药杂志,2008,23(7):640.
- [2] 马宜明,李俊,金涌.中医药关于老年性痴呆的发病机制及治疗进展[J].安徽医药,2002,6(4):3.
- [3] 聂晶,罗勇,石京山.淫羊藿苷对 $A\beta_{25-35}$ 所致神经细胞损伤的保护作用研究[J].遵义医学院学报,2007,30(3):229.
- [4] 谢甦,李丽红,李丽.三七总皂苷抗衰老的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2008,3(2):86.
- [5] 奚卉.冰片促进血脑屏障开放机制的探讨[J].安徽医学,2009,30(6):696.
- [6] 陈奇,王建华.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:33.
- [7] 宋晓斌,何波,陈鹏.三七皂苷 Rg1 对动物学习记忆功能的影响及其机理研究[J].昆明医学院学报,2010,31(6):21.
- [8] 安耀荣,朱向东,王燕.抗衰益智胶囊对实验性老年痴呆大鼠脑组织中 SOD、CAT 活性及 MDA 含量的影响[J].中医研究,2009,6,22(6):13.
- [9] 雍彬,刘建廷,张晓喻等.石杉碱甲改善老年痴呆症的药效学研究[J].食品科学,2007,28(5):327.

[责任编辑 聂淑琴]