

# 五子衍宗丸对小鼠记忆力、免疫功能、耐缺氧及耐疲劳的影响

金龙, 葛争艳, 刘建勋\*

(中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091)

[摘要] 目的: 观察五子衍宗丸对小鼠记忆力、免疫功能、耐缺氧及耐疲劳的影响。方法: 选用 ICR 雄性小鼠, 五子衍宗丸高、中、低剂量分别按生药计为 2.4, 1.2, 0.6 g·kg<sup>-1</sup>, ig 给药。以 Morris 水迷宫测定小鼠记忆力和认知能力; 碳粒廓清率、迟发型变态反应测定免疫功能; 常压缺氧和常温游泳法测定耐缺氧和耐疲劳能力。结果: 与对照组比较, 五子衍宗丸各剂量组小鼠寻找隐藏平台的逃避潜伏期及总路程明显缩短 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 高剂量组廓清指数  $K$  值明显增加 ( $P < 0.01$ ); 各剂量组耳肿胀度无明显差异; 高、中剂量组耐缺氧时间明显延长 ( $P < 0.01$ ); 高剂量组常温游泳时间有所延长 ( $P < 0.05$ ); 结论: 五子衍宗丸具有明显增强小鼠记忆力和空间认知力, 提高小鼠耐缺氧、抗疲劳能力的作用; 同时可提高非特异性免疫功能, 但对细胞免疫功能无明显作用。

[关键词] 五子衍宗丸; 记忆力; 免疫功能; 耐缺氧; 耐疲劳

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0123-03

## Effects of Wuzi Yanzong Pill on Memory, Immune Function, Anti-hypoxia and Anti-fatigue in Mice

JIN Long, GE Zheng-yan, LIU Jian-xun\*

(Research Center, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of Wuzi Yanzong Pill on the memory, immune function, anti-hypoxia and anti-fatigue in mice. **Method:** Wuzi Yanzong Pill was administered to ICR mice at oral doses of crude drug 0.6, 1.2, 2.4 g·kg<sup>-1</sup>. The learning and memory ability in mice were tested by Morris water maze experiment. Carbon expurgation method and delayed allergy were used to determine the immune function. Fatigue and acute anoxia in mice were produced by swimming and hypoxia under normal pressure respectively and survival time was determined. **Result:** Compared with control group, the escape latency and swimming distance of all dose groups were shorter ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). High dosage increased the expurgatory index ( $P < 0.01$ ) but all dose groups had no effect on swelling of ear. High and middle dosage significantly prolonged the survival time under hypoxia ( $P < 0.01$ ). High dosage prolonged the swimming time of mice ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Wuzi Yanzong Pill has remarkable effect on enhancing the ability of learning and memory in ICR mice, improving the tolerance of hypoxia and fatigue, promoting non-specific immune function but has no effect on cellular immune function.

**[Key words]** Wuzi Yanzong Pill; memory; immune function; anti-hypoxia, anti-fatigue

五子衍宗丸是中医补肾益精传统名方, 由枸杞子、菟丝子、覆盆子、五味子、车前子 5 味中药组成。临床上主要用于治疗肾虚腰痛, 遗精早泄, 阳痿不育

等男性性功能疾病, 疗效卓著。近年来有文献报道从中医补肾生髓益智的理论出发, 将该药用于健忘、轻度认知障碍的干预上疗效明显<sup>[1]</sup>, 并能提高机体免疫功能和抗应激能力等。本文对其进行相关药效学研究。

### 1 材料

**1.1 药物** 五子衍宗丸, 1 g·g<sup>-1</sup> 生药干粉, 批号

[收稿日期] 20100526(002)

[通讯作者] \* 刘建勋, Tel: 010-62835601, E-mail: liujx0324@sina.com

20080909, 北京同仁堂股份有限公司科学研究所提供; 男宝胶囊, 0.3 g/粒, 批号 1001074, 山西康威制药有限公司生产; 盐酸左旋咪唑片, 批号 060719, 山东省莒南制药厂生产。

**1.2 仪器** Morris 水迷宫实验系统(中国医学科学院药物研究所), 由圆形水池、图像自动采集和处理系统组成。紫外分光光度计 SHIMADZU UV-120-02(日本产); 电子天平 DENVER INSTRUMENT(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

**1.3 试剂** 炭黑墨汁(生物染色), 批号 20081128, 国药集团化学试剂有限公司生产; 2,4-二硝基氟苯(DNFB), 批号 080702, 中国医药(集团)上海化学试剂公司生产; 丙酮, 批号 20081017, 北京世纪红星化工有限责任公司生产; 橄榄油, 批号 F20080219, 国药集团化学试剂有限公司生产; 钠石灰, 批号 20080315, 上海五四化学试剂有限公司生产。

**1.4 动物** 选用 ICR 雄性小鼠, 体重 18~22 g, 动物合格证号 SCXK(京)2007-0001; 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。在中国中医科学院西苑医院实验动物中心饲养, 二级动物饲养设施, 合格证号 SYXK(京)2009-0001。室温 22~25℃, 相对湿度 45%~60%。

## 2 方法<sup>[2-3]</sup>

**2.1 对小鼠记忆力的影响** 将小鼠随机分为 5 组, 10 只/组。即: 正常对照组、男宝组(0.5 g·kg<sup>-1</sup>)、五子衍宗丸高、中、低剂量组(2.4, 1.2, 0.6 g 生药·kg<sup>-1</sup>)。(五子衍宗丸临床用量按生药计为 9.47 g/人, 按 70 kg/人计算为 0.135 g·kg<sup>-1</sup>, 小鼠等效剂量为 1.23 g·kg<sup>-1</sup>)。

所有动物 ig 给药, 正常对照组 ig 等体积蒸馏水。1 次/d, 连续 2 周, 训练 4 d 后进行水迷路实验(训练期间继续 ig 给药)。第 5 天药后 1 h, 进行水迷宫定位航行实验。通过观察和记录小鼠寻找并爬上平台的路线图及所需时间, 分析和推断小鼠的学习、记忆和空间认知等方面的能力。

Morris 水迷宫图像自动采集和处理系统能自动地采集动物的入水位置、游泳的速度、搜索目标的所需时间、运行轨迹和搜索策略等参数, 并可对所采集的各种数据进行统计和分析。

**2.2 对小鼠非特异性免疫功能的影响** 将实验小鼠随机分为 6 组, 左旋咪唑组(25 mg·kg<sup>-1</sup>), 其他组别同实验 2.1。各组按剂量连续 ig 给药, 正常对照

组 ig 等体积蒸馏水。1 次/d, 连续给药 1 周。末次给药后 1 h, 尾静脉注射 10% 炭黑墨汁(0.2 mL/只)。分别于 2 min 和 10 min, 从眼眶静脉取血 20 μL, 加入 4 mL 蒸馏水中摇匀。用分光光度计在 600 nm 下比色, 测吸收度(A), 计算廓清指数 K 值。

$$\text{廓清指数 } K = \frac{\log A_2 - \log A_{10}}{t_{10} - t_2}$$

**2.3 对 DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应的影响** 将实验小鼠随机分为 7 组, 模型组, 左旋咪唑组(25 mg·kg<sup>-1</sup>), 其他组别同实验 2.1。各组按剂量 ig 给药, 1 日/次, 连续给药 3 d 后, 除正常对照组外, 每鼠腹部电推去毛, 范围约 2 cm × 2 cm 大小。将新鲜配制的 1% DNFB 溶液 50 μL 均匀涂抹于小鼠腹部(致敏)。致敏后第 5 天, 将新鲜配制的 1% DNFB 溶液 20 μL 均匀涂抹于各组小鼠右耳两面(攻击)。在致敏和攻击期间各组继续 ig 给药, 24 h 后, 颈椎脱臼处死小鼠剪下左右耳壳, 用打孔器取下直径 8 mm 的耳片称质量。左右耳片质量之差为肿胀度(FPR)。

**2.4 对小鼠耐缺氧能力的影响** 实验分组、给药剂量同实验 2.1。各组按剂量 ig 给药, 1 次/d, 连续 1 周。末次药后 1 h, 将小鼠迅速放入装有钠石灰(10 g/瓶)的 250 mL 广口瓶中, 用凡士林密封瓶盖, 秒表记录小鼠缺氧死亡时间。

**2.5 对小鼠耐疲劳能力的影响** 实验分组、给药剂量同实验 2.1。各组按剂量 ig 给药, 1 次/d, 连续 1 周。末次给药后 1 h, 将小鼠迅速放入常温水(水深 20 cm), 用秒表计算自小鼠落水至溺死所需时间。

**2.6 统计学处理** 所有实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 11.5 for Windows 软件进行方差分析, 以  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠记忆力的影响** 实验数据见表 1。经过 4 d 的训练, 五子衍宗丸各剂量组及男宝组小鼠寻找并爬上平台所需时间及总路程明显缩短, 与正常对照组比较具有非常显著性差异( $P < 0.05$  或 0.01); 但小鼠游泳的速度各组间无明显差异。

**3.2 对小鼠非特异性免疫功能的影响** 实验数据见表 2。五子衍宗丸高剂量组廓清指数 K 值明显增加, 与正常对照组比较具有非常显著性差异( $P < 0.01$ )。

表 1 五子衍宗丸对小鼠记忆力的影响 (  $\bar{x} \pm s, n=10$  )

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	时间 / s	路程 / cm	速度 / $cm \cdot s^{-1}$
正常对照		124.25 $\pm$ 47.21	1519.36 $\pm$ 662.98	12.11 $\pm$ 1.80
男宝	0.5	57.37 $\pm$ 31.71 <sup>4)</sup>	713.58 $\pm$ 396.56 <sup>4)</sup>	12.30 $\pm$ 1.06
五子衍宗丸	2.4	63.30 $\pm$ 39.34 <sup>4)</sup>	717.87 $\pm$ 405.01 <sup>4)</sup>	11.84 $\pm$ 1.38
	1.2	91.47 $\pm$ 42.51	969.90 $\pm$ 421.11 <sup>3)</sup>	10.76 $\pm$ 1.98
	0.6	71.01 $\pm$ 61.75 <sup>3)</sup>	822.13 $\pm$ 802.68 <sup>4)</sup>	10.73 $\pm$ 2.80

注:与模型组比较: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.001$ ; 与正常对照组比较: <sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>5)</sup>  $P < 0.001$ (表 2 ~5 同)。

表 2 五子衍宗丸对小鼠非特异免疫的影响 (  $\bar{x} \pm s, n=10$  )

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	廓清速度 $K$
正常对照		0.041 $\pm$ 0.004
左旋咪唑	0.025	0.042 $\pm$ 0.005
男宝	0.5	0.045 $\pm$ 0.004
五子衍宗丸	2.4	0.049 $\pm$ 0.006 <sup>4)</sup>
	1.2	0.045 $\pm$ 0.006
	0.6	0.041 $\pm$ 0.007

**3.3 对 DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应的影响** 实验数据见表 3。实验小鼠各组耳肿胀度明显增加,与正常对照组比较具有极显著性差异 ( $P < 0.001$ ),说明造模成功;左旋咪唑组肿胀度明显增加与模型组比较具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ),五子衍宗丸各剂量组及男宝组与模型组比较无明显差异,且保持在正常水平上。

表 3 五子衍宗丸对 DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应的影响 (  $\bar{x} \pm s, n=10$  )

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	耳肿胀度 / mg
正常对照		2.00 $\pm$ 1.33 <sup>2)</sup>
模型		9.70 $\pm$ 3.62
左旋咪唑	0.025	13.90 $\pm$ 4.25 <sup>1,5)</sup>
男宝	0.5	10.20 $\pm$ 2.94 <sup>5)</sup>
五子衍宗丸	2.4	12.10 $\pm$ 3.73 <sup>5)</sup>
	1.2	11.20 $\pm$ 2.90 <sup>5)</sup>
	0.6	9.50 $\pm$ 4.30 <sup>5)</sup>

**3.4 对小鼠耐缺氧能力的影响** 实验数据见表 4。五子衍宗丸高、中剂量组及男宝组与正常对照组比较,耐缺氧时间明显延长 ( $P < 0.05$  或  $0.01$ )。

表 4 五子衍宗丸对小鼠耐缺氧能力的影响 (  $\bar{x} \pm s, n=10$  )

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	耐缺氧时间 / min	平均延长率 / %
正常对照		33.66 $\pm$ 5.57	-
男宝	0.5	39.19 $\pm$ 4.01 <sup>3)</sup>	16.43
五子衍宗丸	2.4	41.37 $\pm$ 6.06 <sup>4)</sup>	22.91
	1.2	42.43 $\pm$ 7.68 <sup>4)</sup>	26.05
	0.6	37.20 $\pm$ 5.50	10.52

**3.5 对小鼠耐疲劳能力的影响** 实验数据见表 5。五子衍宗丸高剂量组及男宝组与对照组比较,常温游泳时间有所延长,具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

表 5 五子衍宗丸对小鼠耐疲劳的影响 (  $\bar{x} \pm s, n=10$  )

分组	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	常温游泳时间 / min	平均延长率 / %
正常对照	-	92.65 $\pm$ 41.69	-
男宝	0.5	134.02 $\pm$ 24.35 <sup>3)</sup>	44.65
五子衍宗丸	2.4	126.64 $\pm$ 29.25 <sup>3)</sup>	36.69
	1.2	98.18 $\pm$ 51.49	5.97
	0.6	97.37 $\pm$ 45.66	5.09

### 3 讨论

中医认为“肾为先天之本,生命之根”、“肾主智”,肾虚髓空是智不足之根本。人体的正常生长、发育、衰老与肾密切相关,肾中精气决定着人的生、老、病、死等生命活动的条件。近年来有实验及临床研究报导,肾虚者多记忆力下降,神经递质含量及受体数量下降<sup>[4]</sup>。中医又有“正气存内,邪不可干。邪之所凑,其气必虚”的论述,指出“正气”与机体对疾病抵抗力的内在联系,所以,中医“虚证”与免疫功能有关<sup>[5]</sup>;抗应激作用是机体处于各种不利的内外环境条件下所进行的一系列反应。补肾壮阳药多能增强机体对各种有害刺激的抵抗能力,纠正脑内神经递质含量的改变,使机体在恶劣条件下延长生存时间、提高生存率。

五子衍宗丸是传统的中医古方,始载于唐《悬解录》,一直传承至今。本研究结果表明:五子衍宗丸具有增强小鼠记忆力和空间认知力的作用,可增强非特异性免疫功能;耐缺氧和常温游泳时间明显延长。提示五子衍宗丸具有增强记忆力和免疫功能,以及耐缺氧、抗疲劳等作用,为该药在临床上的应用进一步提供实验依据。

### [参考文献]

- [1] 王学美,富宏,宋萍,等.从神经心理学和影像学探讨加味五子衍宗颗粒对轻度认知障碍患者的影响[J].中国老年学杂志,2004,24(4):299.
- [2] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2005:826.
- [3] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991:149.
- [4] 张魁华,赖世龙,王奇,等.补肾益智方对老年性痴呆模型动物空间探索学习记忆功能的改善作用[J].中草药,2002,33(12):1093.
- [5] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:706.

[责任编辑 聂淑琴]