

逍遥散及其拆方对老年性痴呆模型小鼠 学习记忆能力及抗氧化能力的影响

吴红彦*, 王虎平
(甘肃中医学院, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] **目的:** 研究逍遥散对 D-半乳糖(D-gal)所致老年性痴呆(AD)模型小鼠学习记忆能力及血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、脑组织丙二醛(MDA)含量的影响,探讨逍遥散防治AD的作用及其机制。**方法:** 采用 ip D-gal 复制 AD 小鼠模型,同时用逍遥散全方组、疏肝健脾组、疏肝养血组、健脾养血组进行对抗治疗,共 42 d。41 d 进行学习能力训练,42 d 进行记忆能力测试。然后取血及脑组织,测定小鼠血清 SOD 活性及脑组织 MDA 含量。**结果:** 全方组、疏肝健脾组、疏肝养血组、健脾养血组均可提高小鼠学习记忆能力,降低潜伏时间,但以全方组最为明显;全方组、疏肝健脾组、疏肝养血组、健脾养血组皆可提高血清 SOD 活性,降低脑组织匀浆 MDA 含量,但亦以全方组最为明显。**结论:** 逍遥散能较好的改善 AD 模型小鼠行为学指标,其可能与对抗自由基氧化有关。

[关键词] 逍遥散;拆方;老年性痴呆;学习记忆能力;潜伏时间;超氧化物歧化酶;丙二醛

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-0102-03

The Effect of Xiaoyao San and It's Splited Prescription on the Ability of Learning and Memory and Antioxidant of Alzheimer's Disease Model Mice

WU Hong-yan*, WANG Hu-ping
(Gansu College of Traditional Chinese Medicion, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Xiaoyao San and it's splited prescription on the ability of learning and memory, SOD in blood serum, MDA in brain tissue of Alzheimer's Disease(AD) model mice made by D-gal and discuss the function and mechanism that Xiaoyao San defend AD. **Methods:** Using inject D-gal to make AD model mice while cured by Quanfang group, Shugan Jianpi group, Shugan Yangxue group, Jianpi Yangxue group of Xiaoyao San for 42 days. In the 41st day, make training of ability of learning and memory, in the 42nd day, test ability of learning and memory, then, collect blood and brain tissue to mensurate SOD in blood serum, MDA in brain tissue. **Results:** Quanfang group, Shugan Jianpi group, Shugan Yangxue group, Jianpi Yangxue group of Xiaoyao San could improve ability of learning and memory and reduce the latency, but Quanfang group was the most obvious. Quanfang group, Shugan Jianpi group, Shugan Yangxue group, Jianpi Yangxue group of Xiaoyao San could increase SOD in blood serum and reduce MDA in brain tissue, but Quanfang group is the most obvious too. **Conclusions:** Xiaoyao San can amend the behavioral index of AD model mice and that may be relate to antioxidation.

[Key words] Xiaoyao San; splited prescription; AD; ability of learning and memory; latency; SOD; MDA

[收稿日期] 2008-11-11

[通讯作者] * 吴红彦, Tel: (0931) 8765470; E-mail: wu. hy@ 163. com

老年性痴呆(Alzheimer Disease, AD)是一种由于大脑皮层退化导致包括记忆力、判断力、抽象思维力、推理能力及空间关系等正常的活动功能丧失的神经退化性疾病。中医药对其防治取得了一定的进展。依据中医药基本理论和现代药理研究,首次将逍遥散用于老年性痴呆动物模型相关实验研究,探讨其药效及作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级昆明种小鼠,60 只,体重(20±2)g,雌、雄各半,由甘肃中医学院科研实验动物中心提供,合格证号:syxk(甘)2007-121。

1.2 药物与试剂 逍遥散各组成生药由甘肃中医学院附属医院中药房提供。D-半乳糖由北京中泰化学试剂公司提供,批号:20071214;丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒及考马斯亮兰蛋白测试盒均为南京建成生物化学试剂有限公司提供,批号:20071227。

1.3 主要仪器 Y 型水迷宫,甘肃中医学院科研实验中心自制。

2 方法

2.1 模型复制 空白对照组小鼠每天 ip 生理盐水 24 mL·kg⁻¹,其余各组动物每天 ip D-半乳糖 120 mg·kg⁻¹,共 42 d 造模^[1]。

2.2 分组和给药方法 小鼠 60 只,随机分为空白对照组、模型组、全方组、疏肝健脾组、疏肝养血组、健脾养血组等 6 组,每组各 10 只。空白对照组和模型组小鼠每天 ig 生理盐水 24 mL·kg⁻¹。全方组、疏肝健脾组、疏肝养血组、健脾养血组,各组皆用对应生药的水煎液。方中各药的剂量均按照 2005 版《中华人民共和国药典》中的逍遥丸^[2]剂量换算得到:全方组 2.485 g·kg⁻¹(生药量,下同),疏肝健脾组(柴胡、茯苓、白术、煨姜、甘草、薄荷)1.775 g·kg⁻¹,疏肝养血组(柴胡、当归、白芍、薄荷)1.136 g·kg⁻¹,健脾养血组(当归、白芍、茯苓、白术、煨姜、甘草)组 2.059 g·kg⁻¹·d⁻¹,均 ig,共 42 d。

2.3 指标测定 给药 41 d 开始用水迷宫进行学习能力训练,使用甘肃中医学院医学实验中心自制 Y 型水迷宫进行测量,小鼠从入水臂直接游至安全臂停靠台为正确,反之进入另一臂则为错误。学习能力以达到连续 9 次正确所需的次数为指标,超过 30 次则记为 30,并记录每次达到安全台所需的时间为潜伏时间;次日进行记忆能力测试,记忆能力以 15

次中正确的次数为指标,并记录每次的潜伏时间^[3]。记忆能力测定后,取血,分离血清,测定小鼠血清 SOD 的活性;然后取脑组织,测定脑组织匀浆 MDA 含量。SOD 活性及 MDA 含量测定采用分光光度法按试剂盒操作说明进行。

2.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行单因素方差分析,数据用($\bar{x} \pm s$)表示。

3 结果

3.1 对 AD 小鼠学习能力及学习潜伏时间的影响 模型组学习能力低下、潜伏时间较长,与空白对照组有非常显著的差异($P < 0.01$);逍遥散全方组及各拆方组均能提高小鼠的学习能力、降低其潜伏时间,有显著差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),以全方组最为明显($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 逍遥散及其拆方对 AD 小鼠学习能力及学习潜伏时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n	学习能力 (次)	学习潜伏时间 (s)
空白对照组	—	9	13.67±2.87 ²⁾	8.73±4.08 ²⁾
模型对照组	—	10	24.60±4.53	14.87±5.58
全方组	2.485	9	14.67±2.92 ²⁾	11.01±1.60 ²⁾
疏肝健脾组	1.775	8	19.63±8.25 ¹⁾	11.78±1.32 ¹⁾
疏肝养血组	1.136	10	19.40±6.83 ¹⁾	11.70±0.88 ¹⁾
健脾养血组	2.059	10	19.50±2.55 ¹⁾	11.81±1.16 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.2 对 AD 小鼠记忆能力及记忆潜伏时间的影响 模型组记忆能力低下、潜伏时间较长,与空白对照组有非常显著的差异($P < 0.01$);逍遥散全方组及各拆方组均能提高小鼠的记忆能力、降低其潜伏时间,有显著差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),以全方组最为明显($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 逍遥散及其拆方对 AD 小鼠记忆能力及记忆潜伏时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n	记忆能力 (次)	记忆潜伏时间 (s)
空白对照组	—	9	11.89±1.839 ²⁾	7.41±1.29 ²⁾
模型对照组	—	10	8.109±1.52	10.06±1.32
全方组	2.485	9	11.44±1.94 ²⁾	7.72±1.06 ²⁾
疏肝健脾组	1.775	8	9.88±1.13 ¹⁾	8.92±0.96 ¹⁾
疏肝养血组	1.136	10	9.80±6.83 ¹⁾	9.02±1.05 ¹⁾
健脾养血组	2.059	10	9.80±1.62 ¹⁾	8.99±1.08 ¹⁾

3.3 对 AD 小鼠脑组织血清 SOD 活性 MDA 含量的影响 模型组小鼠血清 SOD 活性降低、脑组织 MDA 含量增高,与空白对照组有非常显著的差异($P < 0.01$);逍遥散全方组及各拆方组能显著升高小鼠血清 SOD 活性,降低小鼠脑组织 MDA 含量,有显著性差异($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),以全方组最为明显($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 逍遥散及各拆方组对 AD 小鼠脑组织血清 SOD 活性、MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	n	SOD (U·mL ⁻¹)	MDA (nmol·mgprot ⁻¹)
空白对照组	—	9	93.49±12.26 ²⁾	6.11±1.29 ²⁾
模型对照组	—	10	66.65±10.29	9.05±1.57
全 方 组	2.485	9	87.50±13.22 ²⁾	6.60±1.27 ²⁾
疏肝健脾组	1.775	8	79.96±16.36 ¹⁾	7.54±1.68 ¹⁾
疏肝养血组	1.136	10	79.15±15.95 ¹⁾	7.54±1.54 ¹⁾
健脾养血组	2.059	10	79.13±11.73 ¹⁾	7.61±1.36 ¹⁾

4 讨论

学习、记忆能力的低下是 AD 的特异性表现。现代医学认为 AD 的发生可能与自由基氧化、神经递质及生化改变、神经生长营养因子缺失等诸多因素有关。祖国医学认为,AD 病变与心、肾关系最为密切,总属本虚标实。虚责之气血精亏、脑失所养;实责之气滞血瘀、痰浊蒙蔽脑窍。而我们认为其与肝、脾也有密切关系。盖肝为将军之官,谋虑出焉,

主疏泄而调情志,行气血;脾为谏议之官,主思主智,主运化而生气血,除湿浊。逍遥散以柴胡舒肝理气,调气机而畅情志;当归、白芍养血活血,柔肝缓急;茯苓淡渗利湿,白术燥湿化痰,薄荷芳香除浊、醒神开窍。全方配伍,一则补血养血,补后天而充先天,盖精血同源,血充则肾精自足,髓海充盈则脑有所养;二则血充则心有所养,神明有主,肝有所藏,神魂安藏;三则行气血而利水湿,使脏腑无痰湿瘀滞之碍。正虚得补,邪实得除,如是从根本上调节全身机能,提高体内 SOD 活性,调动机体自卫,清除氧自由基堆积,降低 MDA 含量,有效的抑制了自由基过氧化损伤,阻断了未发 AD,治疗了已发 AD。

实验数据表明,逍遥散及其拆方均能较好的改善 AD 模型小鼠行为学指标,但以全方组最为明显;能显著对抗自由基氧化损伤,但亦以全方组最为明显,可见逍遥散中疏肝、健脾、养血三者的结合是治疗老年性痴呆的合理配伍。

[参考文献]

[1] 龚国清,徐黻本.小鼠衰老模型[J].中国药科大学学报,1991,22(2):10.
[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2005:564.
[3] 陈 勤.抗衰老研究实验方法学[M].北京:中国医药科技出版社,1996:94.