

逍遥散与柴胡疏肝散延缓肝郁衰老的实验研究

姚丽梅¹, 李伟荣^{2*}, 孙龙川³

(1. 广东化工制药职业技术学院, 广东 广州 510520;

2. 广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405; 3. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

[摘要] 目的: 从免疫、自由基、神经系统三个角度观察逍遥散与柴胡疏肝散对肝郁衰老小鼠的影响。方法: 选用昆明种老龄小鼠, 用束缚四肢法造肝郁模型, 以胸腺指数、脾脏指数、血清超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量、脑组织去甲肾上腺素(NE)含量为检测指标, 对两方进行比较。结果: 逍遥散与柴胡疏肝散可提高胸腺、脾脏指数、血清SOD活性和脑组织NE含量, 降低MDA含量, 逍遥散的效果优于柴胡疏肝散。结论: 逍遥散与柴胡疏肝散均能增强机体免疫功能, 提高机体抗氧化酶活性, 清除自由基损伤, 调整神经系统功能, 两方可延缓肝郁所致的衰老。

[关键词] 逍遥散; 柴胡疏肝散; 肝郁衰老

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)05-0065-02

情志不畅、肝气郁结是加速机体衰老的重要因素, 选用疏肝解郁方药结合精神上的调摄不失为延缓衰老的一种有效途径。逍遥散、柴胡疏肝散为疏肝解郁之代表方剂, 两方均依据《内经》“木郁达之”之旨而设。本实验从免疫、自由基、神经系统三个角度观察逍遥散与柴胡疏肝散对肝郁衰老小鼠的影响, 初步探讨两方延缓肝郁衰老的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物 昆明种老龄小鼠(20月龄)50只, 雌雄各半, 体重35g~50g, 由江西省实验中心提供, 在自然条件下饲养3d后用于实验。

1.2 药物及试剂 逍遥散由柴胡10g、当归10g、白芍10g、白术10g、茯苓10g、炙甘草5g、生姜2片、薄荷3g组成, 柴胡疏肝散由柴胡12g、川芎9g、香附9g、陈皮12g、枳壳9g、白芍9g、炙甘草3g组成; 剂型由散剂改为汤剂。分别取上述药量1剂, 用蒸馏水浸泡30min后, 煎煮2次, 取汁合并, 浓缩至含生药0.29g/mL(逍遥散)、0.30g/mL(柴胡疏肝散), 置4℃冰箱保存备用。维生素E胶丸, 中国厦门鱼肝油厂生产, 批号991163, 配制成浓度为1.25mg/mL的混悬液。超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)测定试剂盒, 南京聚力生物医学工程研究所生产, 批号分别为

001206、001208。去甲肾上腺素(NE)标准品, 美国Fluka公司, 批号011570/1, 纯度 $\geq 98\%$ 。

2 方法

2.1 小鼠肝郁衰老模型的建立 按文献方法^[1]将昆明种老龄小鼠用医用胶布束缚四肢, 使其行走困难, 活动受限, 自然饮食和水。造模小鼠一般于5~6d后出现较典型的外观改变: 胡须下垂, 叫声尖细, 贴边, 喜扎堆, 活动及饮食减少。

2.2 分组及给药 实验小鼠随机分为5组, 每组10只, 雌雄各半: 正常组与模型组均灌胃生理盐水; 维生素E组造模的同时灌胃维生素E混悬液; 逍遥散组与柴胡疏肝散组分别于造模的同时灌胃逍遥散水煎液和柴胡疏肝散水煎液; 给药体积20mL/kg体重, 每日上、下午各一次, 连续30d。第31d小鼠称重, 眼眶取血约1mL, 断头处死, 迅速取出脑组织、胸腺、脾脏, 进行各项指标测定。

2.3 胸腺指数、脾脏指数测定 取小鼠胸腺、脾脏, 分离结缔组织, 用生理盐水洗净, 滤纸吸干, 放托盘式扭力天平称重, 按下式计算。

$$\text{胸腺/脾脏指数} = \frac{\text{胸腺/脾脏(g)}}{100\text{g 体重}}$$

2.4 血清SOD活性、MDA含量测定 取血, 离心(2000r/min, 10min), 分别取血清0.1mL按试剂盒所示方法进行SOD活性、MDA含量测定。

2.5 脑组织NE含量测定 脑组织称重, 置玻璃匀浆器中, 加5mL预冷酸性正丁醇溶液匀浆1~2min,

[收稿日期] 2005-10-08

[通讯作者] 李伟荣, Tel: (020) 36585532; E-mail: liwr222@yahoo.com.cn

匀浆液置离心管中离心(2000r/min, 10min), 吸取上清液, 加入 3mL 石油醚和 0.1mol/L 的 HCl 溶液 1.5mL 振荡 5min, 离心(2000r/min, 5min), 吸取下层水相(即为单胺类提取液), 用荧光法^[2]进行脑组织 NE 含量测定。

2.6 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所得数据方差分析有显著性差异, 按 q 检验处理。

3 结果

3.1 一般情况观察 正常组: 毛色洁白光泽, 反应敏锐, 行动迅捷, 对外来激惹呈攻击防守态; 模型组: 形体瘦小, 背毛枯黄无光泽, 眼睛眯小, 有眼屎, 动作迟缓且明显减少, 对外来激惹呈躲避态; 给药组: 形体适中, 毛色尚光泽, 无眼屎, 动作未见明显减少, 对外来激惹不躲避。

3.2 胸腺与脾脏指数测定结果 与模型组相比, 逍遥散和柴胡疏肝散均能提高肝郁衰老小鼠的胸腺、脾脏指数, 逍遥散组升高脾脏指数的能力强于柴胡疏肝散组, 表明两方均能延缓胸腺、脾脏的萎缩, 增强机体的免疫功能(见表 1)。

表 1 对小鼠胸腺、脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	胸腺指数	脾脏指数
正常组	20mL/kg	0.101 ± 0.014	0.175 ± 0.022
模型组	20mL/kg	0.066 ± 0.015 ¹⁾	0.112 ± 0.019 ¹⁾
维生素 E 组	0.03g/kg	0.072 ± 0.013 ¹⁾	0.130 ± 0.083 ¹⁾
逍遥散组	5.8g/kg	0.091 ± 0.014 ^{3, 6)}	0.163 ± 0.020 ^{3, 5, 7)}
柴胡疏肝散组	6.0g/kg	0.087 ± 0.016 ⁴⁾	0.138 ± 0.022 ^{1, 4)}

注: 与正常组比较: ¹⁾ $P < 0.01$; ²⁾ $P < 0.05$; 与模型组比较: ³⁾ $P < 0.01$; ⁴⁾ $P < 0.05$; 与维生素 E 组比较: ⁵⁾ $P < 0.01$; ⁶⁾ $P < 0.05$; 与柴胡疏肝散组比较: ⁷⁾ $P < 0.05$ 。下同。

3.3 血清 SOD 活性、MDA 含量及脑组织 NE 含量测定结果 与模型组相比, 逍遥散和柴胡疏肝散均能明显提高肝郁衰老小鼠血清 SOD 活性、降低 MDA 含量, 减轻自由基对机体的损伤, 逍遥散组升高 SOD 活性的能力强于柴胡疏肝散组; 同时, 能提高肝郁衰老小鼠脑组织中 NE 的含量, 缓解肝郁所致的精神症状(见表 2)。

表 2 对小鼠血清 SOD 活性、MDA 含量及脑组织 NE 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)	NE(ng/g)
正常组	20mL/kg	46.47 ± 9.06	13.39 ± 3.65	208.51 ± 25.96
模型组	20mL/kg	18.36 ± 6.87 ¹⁾	24.37 ± 6.19 ¹⁾	132.81 ± 20.40 ¹⁾
维生素 E 组	0.03g/kg	28.92 ± 7.60 ^{1, 3)}	17.74 ± 4.14 ³⁾	143.30 ± 25.22 ¹⁾
逍遥散组	5.8g/kg	41.02 ± 6.62 ^{3, 5, 7)}	16.64 ± 4.03 ³⁾	180.15 ± 18.36 ^{2, 3, 5)}
柴胡疏肝散组	6.0g/kg	30.47 ± 8.76 ^{1, 3)}	17.32 ± 3.09 ³⁾	177.60 ± 18.06 ^{2, 3, 5)}

4 讨论

机体免疫功能随年龄增长而减退, 免疫器官亦

日渐萎缩。胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官, 二者的萎缩及功能衰退与机体衰老密切相关^[3]。本实验结果显示, 逍遥散和柴胡疏肝散均能在一定程度上提高肝郁衰老小鼠脾脏、胸腺指数, 增强机体免疫功能。

自由基学说是抗衰老研究中较活跃的领域之一。随着年龄增长, 体内自由基产生增多, 而清除自由基的酶活性下降, 过剩的自由基对机体的损伤是导致衰老的重要机理之一。本实验选用血清 SOD 活性与 MDA 含量为检测指标, 对逍遥散、柴胡疏肝散和脂溶性抗氧化剂维生素 E 进行了比较。结果显示, 三组药物均能极显著降低血清 MDA 含量, 逍遥散和柴胡疏肝散能明显提高血清 SOD 活性, 逍遥散作用强于柴胡疏肝散, 而维生素 E 作用稍逊。

NE 是中枢神经系统重要的神经递质之一, NE 含量的变化反映了中枢活动状态, 并与人的精神情志密切相关。经多数学者研究证实, 中枢 NE 含量显著下降最终导致抑郁症状的出现^[4]。实验中我们采用束缚造模的方法使小鼠由起初的愤怒、焦虑、急躁转入后期的郁怒、压抑、恐惧, 甚至绝望的大幅度情绪波动, 使有助于维持精神稳定的 NE 大量消耗。实验结果显示, 逍遥散和柴胡疏肝散均能使脑组织中下降的 NE 含量回升, 从而起到缓解肝郁精神症状的作用。

中医学认为, 衰老与五脏六腑、气血津液的病变均有关, 其中肝气郁结亦是加速机体衰老的重要因素之一。逍遥散、柴胡疏肝散均为疏肝解郁之代表方剂, 可通过调理肝经滞气, 疏畅全身气机, 缓解肝郁症状而达到延缓衰老的目的。本实验结果证实了两方具有增强机体免疫功能, 提高抗氧化酶活性, 清除自由基损伤, 调整神经系统功能的作用, 也从一定角度论证了肝郁致衰科学性。

[参考文献]

[1] 马超英. 实验中医基础[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2000. 62.

[2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 446.

[3] 陈可冀, 李春生. 新编抗衰老中药学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 279.

[4] 万选才. 现代神经生物学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1999. 137.