

# 定志小丸组方规律的研究(1)

范淦彬, 马世平, 习温瑜  
(中国药科大学, 江苏 南京 210038)

**摘要:**目的: 研究定志小丸的组方规律, 探索其组成药物(人参、远志、石菖蒲、茯苓)之间的最佳用量配伍比例。方法: 采用正交试验设计对方中组成药物进行药味及药量的加减拆方, 检测各方对小鼠学习记忆能力和脑内乙酰胆碱酯酶(AchE)活力的影响。结果: 试验表明, 全方的益智作用大于其它方。人参益智作用最强, 其余依次为远志、石菖蒲、茯苓。方中各药的最佳用量配伍比例为 3: 2: 0.6: 3。结论: 定志小丸全方的益智作用最强, 方中四味药物的最佳用量配伍比例与原方基本一致, 表明定志小丸的用量配伍比较为合理。

**关键词:** 定志小丸; 正交试验; 用量配比; 跳台法; 乙酰胆碱酯酶; 益智作用

中图分类号: R289.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0008-04

## Study on the Formula of Dingzhi Xiaowan (NO. 1)

FAN Gan-bin, MA Shi-ping, XI Wen-yu

(China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

**Abstract** Objective: To study the formula of Dingzhi Xiaowan, and discuss the best proportion of four Chinese medicines which compose it. Methods: Detect the ability of learning, memory and the energy of acetylcholine esterase (AchE) of the mice which were treated with different solutions prepared according to the orthogonal layout. Results & Conclusion: The effects of the formula composed of all four Chinese medicines are better than others. Among the four Chinese medicines, Radix Ginseng presented the most significant effects on improving the ability of learning and memory in model mice, whereas Radix Polygalae, Rhizoma Acori Tatarinowii and Poria exhibited the attenuated properties in turn. This study showed that the best proportion of four Chinese medicines should be 3: 2: 0.6: 3 and indicated that the traditional proportion was reasonable.

**Key words:** Dingzhi Xiaowan; Orthogonal Experiments; Proportion; Step-down Test; Acetylcholine Esterase; Improve the Ability of Learning and Memory

定志小丸源于唐代孙思邈的《备急千金要方》, 由人参、远志、茯苓、石菖蒲四味药组成。主治“心气不定, 五脏不足, 甚者忧愁悲伤不乐, 忽忽喜忘, 朝瘥暮剧, 暮瘥朝发狂眩”<sup>[1]</sup>。目前, 该方已成为临床用于改善和治疗以记忆障碍为早期临床症状的老年性痴呆的基本方剂之一<sup>[2]</sup>。

现代药理研究证实, 本方对化学药物所致小鼠学习障碍模型有显著改善作用, 对 D-半乳糖所致亚急性衰老鼠学习记忆功能减退和老年鼠学习记忆功能低下无有明显改善作用<sup>[3]</sup>, 研究还表明定志小丸

有显著降低年长小鼠脑内乙酰胆碱酯酶(AchE)活力的作用<sup>[4]</sup>, 其改善老龄小鼠的学习记忆能力可能与调节中枢胆碱能神经系统的活动有关。

人参、远志、茯苓、石菖蒲是众多治疗老年痴呆方剂所用药物中出现频率较高的四味药<sup>[2]</sup>, 但各方中它们的配伍用量却不尽一致, 如在定志小丸中, 四味药的用量为: 石菖蒲、远志各二两, 茯苓、人参各三两; 而在开心散中, 四味药的用量却为远志、人参各四分、茯苓二两, 石菖蒲一两<sup>[1]</sup>。本研究探索了此四味药益智作用的大小以及它们之间的最佳用量配伍比例。

## 1 材料与方法

**1.1 动物** ICR 小鼠, 雌雄各半, 18~22g, 由中国药科大学实验动物中心提供。

**1.2 仪器** SIT-2 跳台仪, 医科院药研所; RE52CS

收稿日期: 2004-09-07

基金项目: 江苏省科学技术厅社会发展基金项目, (NO. BS2000090)

通讯作者: 马世平, Tel: (025) 85322594, E-mail: spma@cpu.edu.cn

旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; HH-4 数显恒温水浴锅, 常州国华电器有限公司; SHB- III 循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; FJ-200 高速分散均质机, 上海标本模型厂; UV-9100 紫外可见分光光度计, 北京瑞利分析仪器公司; LD5-2A 离心机, 北京医用离心机厂。

**1.3 药品与试剂** 定志小丸方中各药材均购于南京药业股份有限公司, 并经本校中药分析教研室王强教授鉴定, 分别为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根, 远志科植物远志 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根, 多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 天南星科植物石菖蒲 *Acorus tatarinowii* Schott. 的干燥根茎。

供试药液的配制: 先用水蒸气蒸馏法提取石菖蒲挥发油, 药渣干燥备用、水液备用。再按正交表  $L_9(3^4)$  (见表 1、表 2) 准备其它药材, 按比例加入上述石菖蒲药渣, 用 8 倍量 (V/W) 50% 乙醇加热回流提取 2 次, 合并药液, 加入提取石菖蒲挥发油所剩水液, 回收溶剂并浓缩, 按比例加入挥发油, 定容至 180mL, 制成混悬液供试。

表 1 因素水平表

水平	人参	石菖蒲	远志	茯苓
1	2.47	1.65	2.47	3.29
2	1.65	0.69	1.65	2.47
3	0	0	0	0

注: 水平“0”表示, 该味药不用。

表 2 供试药液的配制表

组号	人参	石菖蒲	远志	茯苓
D1	1	1	1	1
D2	1	2	2	2
D3	1	3	3	3
D4	2	1	2	3
D5	2	2	3	1
D6	2	3	1	2
D7	3	1	3	2
D8	3	2	1	3
D9	3	3	2	1

氢溴酸东莨菪碱注射液 (上海禾丰制药有限公司), 批号: 030201; 乙酰胆碱酯酶试剂盒 (南京建成生物工程研究所), 批号: 20040419。

**1.4 正交表  $L_9(3^4)$  的设计<sup>[15-6]</sup>** 人参、石菖蒲、远志、茯苓四味药各作为一个因素, 每个因素各取三个用量水平。用量的确定以《备急千金要方》<sup>[1]</sup> 卷十四所载“定志小丸”、“开心散”两方为主要依据, 同时参

照同卷“令人不忘方”、“补心汤”两方。(见表 1、表 2)

**1.5 分组与给药** 小鼠随机分成 11 组: 空白组, 东莨菪碱模型组, D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9 给药组 (药物组成详见表 1、表 2)。空白组和模型组给予蒸馏水, D1~D9 组分别给予按正交表制备的混悬液。给药体积为 0.2mL/10g 体重, 每天灌胃一次, 连续给药 10d。

### 1.6 学习记忆功能测试

**1.6.1 训练<sup>[4]</sup>** 将 STT-2 小鼠跳台仪电压控制在 36V。于末次给药 1h 后进行小鼠学习记忆功能的训练。训练前 10min, 模型组与给药组分别腹腔注射氢溴酸氢溴酸东莨菪碱 1mg/kg, 空白组腹腔注射等容量生理盐水。每批分别有 4 只小鼠给药, 平行操作, 10min 后再给第二批小鼠注射, 以此类推。训练时将每批 4 只小鼠分别放入跳台仪的 4 个格子中, 先适应环境 3min, 然后通电, 小鼠受电击后, 多数跳上跳台, 逃避电击, 跳下时以小鼠双足同时接触铜栅为触电, 视为错误反应, 训练 5min, 24h 后测试。

**1.6.2 测试** 先将小鼠放在跳台上, 同时开始计时, 记录小鼠第一次跳下的时间, 此为触电潜伏期 (即错误潜伏期), 并记录 5min 内跳下的次数 (即为错误次数), 作为观察指标。

**1.7 小鼠脑内乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活力的测试** 学习记忆功能测试完毕后, 迅速剥离小鼠脑组织 (除去小脑), 加入预冷的生理盐水, 冰浴制成 10% 组织匀浆。

**1.8 统计学处理** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较用 Excel 软件进行 *t* 检验或近似 *t* 检验; 正交表作直观与方差分析。

## 2 结果

**2.1 测试结果** 结果显示, 模型组小鼠的错误潜伏期较空白组缩短, 错误次数增加, 乙酰胆碱酯酶活力升高, 且均具有非常显著性意义, 表明氢溴酸东莨菪碱造成小鼠学习记忆获得障碍。

学习记忆功能测试结果见表 3。D1、D2 给药组小鼠错误潜伏期较模型组延长, 有非常显著性意义; 错误次数减少, 有显著性意义。表明二方对模型鼠的学习记忆功能有明显的提高作用。从供试药液的配制表 (表 2) 可看出, D1、D2 是正交表九方中仅有的两组四味药 (人参、远志、石菖蒲、茯苓) 都用全的方剂, 由此可见, 定志小丸全方较其它方 (减 1~3 味药) 益智作用更强。

表 3 正交表各方对小鼠学习记忆功能的影响( $\bar{x} \pm s, n=16$ )

组别	错误次数	潜伏期(s)
空白组	1.36 ± 1.01 <sup>2)</sup>	207.68 ± 63.99 <sup>2)</sup>
模型组	4.78 ± 2.58	35.34 ± 22.83
D1	2.86 ± 1.46 <sup>1)</sup>	61.58 ± 31.09 <sup>2)</sup>
D2	2.79 ± 1.48 <sup>1)</sup>	65.39 ± 34.75 <sup>2)</sup>
D3	4.00 ± 1.62	39.52 ± 24.49
D4	3.14 ± 1.83	53.39 ± 40.04
D5	4.14 ± 2.03	39.26 ± 26.03
D6	3.21 ± 1.42	53.16 ± 31.37
D7	5.00 ± 2.25	23.95 ± 14.28
D8	4.07 ± 2.27	42.34 ± 27.19
D9	4.07 ± 2.20	41.23 ± 27.39

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

小鼠脑内乙酰胆碱酯酶(AchE)活力的测试结果见表4。结果显示,空白组、D1、D2、D4、D6给药组小鼠脑内乙酰胆碱酯酶(AchE)活力与模型组相比降低,且具有非常显著性意义。

表 4 正交表各方对小鼠脑组织 AchE 活力的影响( $\bar{x} \pm s, n=16$ )

组别	AchE(U/mgprot)
空白组	0.499 ± 0.061 <sup>2)</sup>
模型组	0.593 ± 0.054
D1	0.502 ± 0.056 <sup>2)</sup>
D2	0.482 ± 0.064 <sup>2)</sup>
D3	0.576 ± 0.069
D4	0.532 ± 0.051 <sup>2)</sup>
D5	0.571 ± 0.064
D6	0.528 ± 0.067 <sup>2)</sup>
D7	0.628 ± 0.081
D8	0.571 ± 0.047
D9	0.577 ± 0.070

2.2 正交表分析<sup>[5,6]</sup> 结果见表5。学习记忆功能与脑内乙酰胆碱酯酶活力测试结果的极差分析均显示,四味药益智作用的大小依次为人参>远志>石菖蒲>茯苓;方差分析均表明,人参、远志抗东莨菪碱所致学习记忆功能障碍作用显著;因此,四味药的最佳用量配伍比例为3:2:0.6:3(人参:远志:石菖蒲:茯苓)。

### 3 讨论

本方以人参为君药,补益心脾,健脑安神;辅以石菖蒲,远志,茯苓;茯苓宁心安神,健脾利湿,以治生痰之源,石菖蒲、远志化痰利窍,益智安神;四药合用,补气化痰,益智健脑。试验结果显示,人参对全

方益智作用的影响最大,这就从现代药理学的角度验证了其在全方中的君药地位。虽然石菖蒲、茯苓对全方益智作用的影响在统计学上没有显著性意义,但正交表分析结果却显示,剂量水平为“0”时,其效果比其它两个剂量水平差。而行为药理试验结果也表明全方的作用大于其它裁减方。因此,此二味药的在全方中的作用有待增加药理学指标进行更进一步的探讨,不宜将其轻易精减。

表 5 正交表分析

组号	人参	石菖蒲	远志	茯苓
D1	1	1	1	1
D2	1	2	2	2
D3	1	3	3	3
D4	2	1	2	3
D5	2	2	3	1
D6	2	3	1	2
D7	3	1	3	2
D8	3	2	1	3
D9	3	3	2	1
M1	9.64 <sup>3)</sup>	11.00	10.14	11.07
M2	10.50	11.00 <sup>3)</sup>	10.00 <sup>3)</sup>	11.00 <sup>3)</sup>
M3	13.14	11.29	13.14	11.21
S	1.82	0.16	1.78	0.11
R	1.17	0.10	1.05	0.07
F	4.44 <sup>1)</sup>	0.04	4.20 <sup>1)</sup>	0.02
M1	166.49 <sup>3)</sup>	138.92	157.08	142.07
M2	145.81	146.98 <sup>3)</sup>	160.00 <sup>3)</sup>	142.50 <sup>3)</sup>
M3	107.51	133.91	102.73	135.24
S	29.92	6.60	32.26	4.07
R	19.66	4.36	19.09	2.42
F	4.86 <sup>2)</sup>	0.24	5.65 <sup>2)</sup>	0.09
M1	1.56 <sup>3)</sup>	1.66	1.60	1.65
M2	1.63	1.62 <sup>3)</sup>	1.59 <sup>3)</sup>	1.64 <sup>3)</sup>
M3	1.78	1.68	1.77	1.68
S	0.11	0.03	0.10	0.02
R	0.07	0.02	0.06	0.01
F	13.74 <sup>2)</sup>	0.93	12.04 <sup>2)</sup>	0.52

注:<sup>3)</sup>表示同列M1、M2、M3中的最优值。

本试验结果表明,四味药的最佳配伍关系与古方相比,除石菖蒲的用量明显降低外,其余均基本一致,这就证明了定志小丸原方的用量配伍比例较为合理。石菖蒲的用量降低可能与药物的制备有关。在本研究中,石菖蒲先被单独提取有效部位挥发油

后再与其它药物一起煎煮(见 1.4), 而古方的制备方法却是将其直接粉碎与其它药物混合制成散剂服用。因此与古法相比, 本试验药材的利用率大大提高, 较少的剂量就能起到一定的作用。这也从另一个角度揭示了现代制剂工艺的引入, 将有助于传统方剂的二次开发。

本研究中, 小鼠学习记忆功能测试结果与脑内乙酰胆碱酯酶活力测试结果基本一致, 这也就提示定志小丸抗东莨菪碱所致小鼠学习记忆功能障碍可能与调节中枢胆碱能神经系统的活动有关。

各药物的优化剂量分析显示, 远志、石菖蒲、茯苓的优化剂量均为正交表中的中等剂量, 但与高剂量相比, 活性差异并不大。提示上述三味药使用正交表中的中等剂量即有可能达到各自抗东莨菪碱所致小鼠学习记忆功能障碍作用的最大效能。各味药

的量效关系有待增加剂量组数进一步深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 孙思邈(唐). 千金方[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998. 244-247.
- [2] 王欣. 开心散的源流和发展[J]. 山东中医药大学学报, 1997, 21(5): 393-394.
- [3] 瞿融, 马世平, 夏卫军, 等. 定志小丸对不同模型鼠学习记忆功能的影响[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(5): 4-6.
- [4] 邹琼宇, 马世平, 瞿融, 等. 定志小丸对老龄小鼠学习记忆能力的影响[J]. 中药药理与临床, 2004, 20(1): 3-4.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 54-57.
- [6] 方积乾. 医药数理统计方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 266-275.