

• 药理 •

# 当归芍药散防治老年期痴呆的 物质基础与作用机理研究 I ——组方作用协同性与选择性研究

林志宏, 朱丹妮, 严永清, 余伯阳  
(中国药科大学中药复方研究室, 南京 210038)

**摘要:** 分别用东莨菪碱与反复缺血再灌注制备阿尔采末病(AD)与血管性痴呆(VD)模型, 考察当归芍药散(DSS)防治老年期痴呆的配伍机理。避暗法与跳台法检测发现, AD组较正常组潜伏期缩短( $P < 0.01$ ), 错误次数增多( $P < 0.05 \sim 0.01$ ); VD组较假手术组潜伏期缩短( $P < 0.01$ ), 错误次数增多( $P < 0.01$ ), DSS中活血补血药组(DCS)与健脾利湿药组(FBZ)可协同延长AD小鼠潜伏期, 减少错误次数( $P < 0.05 \sim 0.01$ ); 对VD小鼠, 仅FBZ可延长潜伏期( $P < 0.05$ ), 减少错误次数( $P < 0.01$ ), 提示FBZ较DCS可能具有更大的防治意义。

**关键词:** 当归芍药散; 老年期痴呆; 东莨菪碱; 缺血再灌注; 学习记忆

中图分类号: R. 485.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)01-0016-04

## Study I on Substance Basis and Mechanism of Action of Danggui Shaoyao San in the Prevention and Treatment of Senile Dementia Cooperative and Selective Actions in the Prescription

LIN Zhi-hong, ZHU Dan-ni, YAN Yong-qing, YU Bo-ying

(Department of Chinese Prescription, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

**Abstract:** Applying scopolamine and ischemia-reperfusion to establish murine models for Alzheimer's disease(AD) and vascular dementia(VD), respectively, might help explicate the formula mechanism of Danggui Shaoyao San(DSS). In comparison with the normal group, step-through latency taken by mice injured with scopolamine got shortened( $P < 0.01$ ), step-through and step-down number of errors increased ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ); Both drugs used to promote blood circulation and nourish the blood (DCS) and drugs used to nourish the spleen and disperse the pathogenic damp (FBZ) in DSS at low dosage, made step-through latency longer ( $P < 0.05$ ), decreased obviously step-through and step-down number of errors ( $P < 0.05 \sim 0.01$ ). If DCS and FBZ were in combination with each other, their cooperative melioration would be furthered; Compared with the sham operational group, step-through latency taken by ICR mice injured with ischemia-reperfusion got shortened( $P < 0.01$ ), step-through number of errors increased ( $P < 0.01$ ), However, it was FBZ other than DCS that could at high dosage elongate step-through latency ( $P < 0.05$ ), decrease obviously step-through number of errors ( $P < 0.01$ ), antagonize selectively the memory impairment of ICR mice induced by ischemia-reperfusion, those discovery maybe indicated that to nourish the spleen and disperse the pathogenic damp played a more important role in the prevention and treatment of senile dementia than to promote blood circulation and nourish the blood.

**Key words:** Danggui Shaoyao San; Senile dementia; Scopolamine; ischemia-reperfusion; learning and memory.

当归芍药散(Danggui Shaoyao San, DSS)源于汉·张仲景《金匮要略》,由当归、白芍、川芎、茯苓、白术、泽泻6味药组成,具有泄肝补血,健脾利湿功效。原

方虽为妇人妊娠病而设,现代已将其用于治疗老年期痴呆<sup>[1-3]</sup>。方剂学上, DSS按功效可分为活血补血药组(当归、川芎与白芍, DCS)和健脾利湿药组(茯苓、白术与泽泻, FBZ);而老年期痴呆主要包括阿尔采末病(Alzheimer's disease, AD)与血管性痴呆(vascular dementia, VD)两大类型。已有报道<sup>[2]</sup>, DSS能同

收稿日期: 2001-05-14

基金项目: 国家新药基金资助项目(96-901-05-38)

时有效治疗 AD 与 VD, 我们的初步研究(待发表)也发现, 相同剂量下的 DCS 与 FBZ 的水提合并液(dss)和 DSS 均可有效改善东莨菪碱诱发小鼠记忆障碍与反复缺血再灌注诱发小鼠记忆障碍, 二者药效无显著差异。然而, AD 与 VD 的发病机理不完全相同, 这可能暗示 DSS 组方物质 DCS 与 FBZ 对防治 AD 与 VD 具有一定的协同性与选择性。本研究试图从此角度, 考察 DSS 防治老年期痴呆的配伍机理以及老年期痴呆的发病机理。

### 1 实验材料

**1.1 制剂** 当归、炒白芍、白茯苓、炒白术、川芎、炒泽泻均购自南京市药材公司。经本中药复方研究室余伯阳教授鉴定, 其原植物分别为 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.、*Paeonia lactiflora* Pall.、*Poria cocos* (Schw) Wolf、*Atractylodes macrocephala* Koidz.、*Ligusticum chuanxiong* Holt.、*Alisma orientale* (Sam.) Juzep.。各药用量按《金匱要略》比例: 当归: 白芍: 茯苓: 白术: 川芎: 泽泻= 3: 16: 4: 4: 8: 8。将 DCS 组当归、川芎、白芍与 FBZ 组茯苓、白术、泽泻分别混合, 各加水冷浸 3h, 16 倍量水微沸 2 × 1h, 合并滤液制成浓度均为 0.10g 生药/ml 的 DCS 与 FBZ 水提液, 冷却合并混匀二者得 0.10g 生药/ml 的 dss 水提液。依上步骤, 再分别制备 0.063g 生药/ml 的 DCS 水提液与 0.037g 生药/ml 的 FBZ 水提液, 实验中所用的 dss、DCS 与 FBZ 剂量均以各水提液计算。

**1.2 药品** 东莨菪碱(scopolamine, Scop)注射液购自上海禾丰制药有限公司(批号: 000201), 临用前用生理盐水配成 0.06mg/ml 溶液; 石杉碱甲片(huperzine A, Hup A)购自上海红旗制药厂(批号: 990101), 临用前蒸馏水溶解高速分散配成  $1.0 \times 10^{-3}$  mg/ml 溶液。

**1.3 动物** 雄性昆明小鼠, 18~ 22g, 由中国药科大学新中新药研究中心提供; 雄性 ICR 小鼠, 30~ 40g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供。

**1.4 仪器** 被动回避反射仪与跳台仪由中国中医研究院中药研究所研制; SMG-2 型水迷宫程序自动控制仪由中国医学科学院药物研究所研制, 行为学实验 1.0 软件进行数据采集。

**1.5 统计分析** 使用 NDST4.4 软件包进行统计, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。计时资料用调和均数法将数据对数转换后行组间 t 或 t' 检验, 计量资料行组间 t 或 t' 检验。

### 2 方法与结果

**2.1 DCS 与 FBZ 对东莨菪碱诱发小鼠记忆障碍的影响** 将昆明小鼠随机分为组: (1) 正常组; (2) 模型组; (3) (4) dss 2.50, 1.25g/kg 组; (5) (6) DCS 1.57, 0.79g/kg 组; (7) (8) FBZ 0.93, 0.46g/kg 组; (9) 阳性组(Hup A  $2.50 \times 10^{-5}$  g/kg)。各水提液与药品液均按 25ml/kg 给药。(3) - (9) 组连续 ig qd × 5d, d4 上午(2) - (9) 组 ip Scop 1.50mg/kg, (1) 组 ip 等容量生理盐水, 15min 后用被动回避反射仪与跳台仪进行避暗(step-through)或跳台(step-down)训练, 参数为方波刺激: 波宽: 125ms; 幅度: 40V.PP(避暗法); 36V.PP(跳台法), 24h 后安静环境下分别测定小鼠从明室进入暗室的潜伏期(Latency)与 5min 内的错误次数(Number of errors), 以潜伏期与错误次数衡量小鼠的学习记忆能力。

表 1 dss、DCS 与 FBZ 对避暗被动回避任务中东莨菪碱致记忆障碍小鼠的影响( $\bar{x} \pm s$ ; n= 8)

组别	剂量(g/kg)	潜伏期(s)	错误次数
正常组	-	36.90 ± 23.90	1.50 ± 0.76
模型组	-	9.75 ± 6.76 <sup>△△</sup>	3.75 ± 1.28 <sup>△△</sup>
石杉碱甲	$2.50 \times 10^{-5}$	53.90 ± 99.70 <sup>**</sup>	1.75 ± 1.04 <sup>**</sup>
dss	2.50	50.30 ± 101.50	1.86 ± 1.57 <sup>*</sup>
	1.25	27.00 ± 32.30 <sup>*</sup>	1.88 ± 1.13 <sup>*</sup>
DCS	1.57	31.00 ± 38.50	2.38 ± 1.60
	0.79	15.40 ± 8.78	2.25 ± 1.39 <sup>*</sup>
FBZ	0.93	16.10 ± 11.20	4.25 ± 2.96
	0.46	9.89 ± 3.82	2.25 ± 1.49 <sup>*</sup>

注: 与正常组比较<sup>△</sup>P < 0.05, <sup>△△</sup>P < 0.01; 与模型组比较<sup>\*</sup>P < 0.05, <sup>\*\*</sup>P < 0.01(下同)。

表 2 dss、DCS 与 FBZ 对跳台被动回避任务中东莨菪碱致记忆障碍小鼠的影响( $\bar{x} \pm s$ ; n= 8)

组别	剂量(g/kg)	错误次数
正常组	-	2.25 ± 1.58
模型组	-	4.75 ± 2.05 <sup>△</sup>
石杉碱甲	$2.50 \times 10^{-5}$	1.11 ± 0.93 <sup>**</sup>
dss	2.50	1.56 ± 0.88 <sup>**</sup>
	1.25	2.22 ± 1.09 <sup>**</sup>
DCS	1.57	3.13 ± 2.42
	0.79	1.22 ± 0.83 <sup>**</sup>
FBZ	0.93	3.78 ± 1.99
	0.46	1.33 ± 1.12 <sup>**</sup>

由表 1 可见, Scop 造型组被动回避潜伏期与正常对照组比显著缩短(P < 0.01), 错误次数显著增多(P < 0.01), 提示模型组出现明显记忆障碍; 2.50

$\times 10^{-5}$  g/kg Hup A 极显著对抗 Scop 造成的小鼠记忆损害 ( $P < 0.01$ ); 0.79g/kg DCS 与 0.46g/kg FBZ 可显著减少小鼠错误次数 ( $P < 0.05$ ), 二者合用后即 1.25g/kg dss 作用明显增强, 可进一步减少小鼠错误次数 ( $P < 0.01$ ), 并显著延长小鼠被动回避潜伏期 ( $P < 0.05$ ); 1.57g/kg DCS 与 0.93g/kg FBZ 对小鼠记忆损害有改善趋势, 二者合用后即 2.50g/kg dss, 能显著减少小鼠错误次数 ( $P < 0.05$ )。

表 2 也显示, Scop 造型组跳台错误次数较正常组明显增多 ( $P < 0.05$ ),  $2.50 \times 10^{-5}$  g/kg Hup A 板显著减少小鼠错误次数 ( $P < 0.01$ ); 0.79g/kg DCS 与 0.46g/kg FBZ 非常显著减少小鼠错误次数 ( $P < 0.01$ ), 二者合用后即 1.25g/kg dss 也明显减少小鼠错误次数 ( $P < 0.01$ ); 1.57g/kg DCS 与 0.93g/kg FBZ 对小鼠记忆损害有改善趋势, 二者合用后即 2.50g/kg dss 极显著减少小鼠错误次数 ( $P < 0.01$ )。

**2.2 DCS 与 FBZ 对反复缺血再灌注致小鼠记忆障碍的影响** 取雄性 ICR 小鼠, 在进行反复缺血再灌注前置单盲端水迷宫训练, 水温 21~ 23℃, 观察小鼠游泳时运动机能与空间识别能力, 记录执行第二次水迷宫任务时小鼠游泳时间, 时间超过 25~ 30s 者, 可能存在运动机能与空间识别能力缺陷, 弃去不用。合格小鼠依游泳时间分档, 随机分为 8 组: (1) 假手术组; (2) 模型组; (3) (4) dss 2.50, 1.25g/kg 组; (5) (6) DCS 1.57, 0.79g/kg 组; (7) (8) FBZ 0.93, 0.46g/kg 组。(3) - (8) 组连续 ig bid  $\times$  8d, (1) - (2) 组 ig 等容量的生理盐水。d3 进行手术, 术前 10h 禁食不禁水, (2) - (8) 组小鼠 ip 1.0g/kg 10% 乌拉坦使麻醉, 待翻正反射消失后, 仰位固定, 75% 医用酒精消毒颈部, 行正中切口, 钝性分离两侧颈总动脉, 断流 15min, 再灌 15min, 再断流 15min, 并于鼠尾近尖 1cm 处截断, 使失血约 15% 全血容量, (1) 组小鼠只分离动脉, 不断流再灌也不失血, 术中注意颈部创面点滴 2~ 3 滴  $2.50 \times 10^4$  u/kg 庆大霉素。d5~ 6 分别用单盲端、双盲端水迷宫训练并检测小鼠记忆损伤情况, d7 用被动回避反射仪进行避暗训练, 参数为方波刺激: 波宽: 125ms; 幅度: 40V. PP, 24h 后安静环境下测定小鼠从明室进入暗室的潜伏期与 5min 内的错误次数, 以潜伏期与错误次数衡量小鼠的学习记忆能力。

表 3 显示, 模型组与假手术组比较被动回避潜伏期明显缩短 ( $P < 0.01$ ), 错误次数明显增多 ( $P < 0.01$ ), 暗示脑缺血再灌注导致小鼠学习记忆障碍;

2.50g/kg dss 与 0.93g/kg FBZ 均可显著延长小鼠潜伏期 ( $P < 0.05$ ), 减少错误次数 ( $P < 0.05 - 0.01$ ), 具有对抗脑缺血再灌注导致小鼠学习记忆障碍作用。其他各组有改善趋势, 但作用不确切或无显著意义。

表 3 dss、DCS 与 FBZ 对被动回避任务中反复缺血再灌注致 ICR 小鼠记忆障碍的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ;  $n = 8$ )

组别	剂量(g/kg)	潜伏期(s)	错误次数
假手术组	-	118.12 $\pm$ 116.73	1.00 $\pm$ 1.54
模型组	-	9.29 $\pm$ 6.21 <sup>△△</sup>	2.88 $\pm$ 0.99 <sup>△△</sup>
dss	2.50	34.33 $\pm$ 18.09*	1.80 $\pm$ 0.84*
	1.25	22.67 $\pm$ 19.92	3.67 $\pm$ 4.408
DCS	1.57	19.14 $\pm$ 16.81	3.29 $\pm$ 1.89
	0.79	64.00 $\pm$ 69.38**	2.29 $\pm$ 1.25
FBZ	0.93	82.43 $\pm$ 100.41*	1.29 $\pm$ 0.95**
	0.46	12.43 $\pm$ 11.75	2.86 $\pm$ 1.46

注: 与假手术组比较<sup>△△</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

本研究证实训练前 ip Scop 1.50mg/kg 可造成小鼠避暗潜伏期延长, 错误次数增加, 被动回避能力受损, 且跳台法较避暗法更为敏感与文献报道一致<sup>[4-5]</sup>。预先 po dss、DCS 与 FBZ 可明显对抗 Scop 所致记忆获得障碍, 提示 dss、DCS 与 FBZ 可能通过促进胆碱能系统功能发挥改善记忆不良作用。单用 DCS 与 FBZ 作用未见显著差异, 均有潜力防治 AD; 当二者合用后作用明显增强, 表现出显著的协同增效效应, 即存在协同性。

基于临床上 VD 主要为多次缺血性脑梗塞引起的多梗塞性痴呆 (multiinfarct dementia, MID), 本研究通过反复缺血再灌注致小鼠记忆障碍模拟 VD 损伤, 发现模型小鼠避暗潜伏期缩短, 错误次数增多, 被动回避能力受损, 与文献报道一致<sup>[6-7]</sup>。高剂量 dss 与 FBZ 能明显延长小鼠潜伏期, 减少错误次数, 具有对抗缺血再灌注致学习记忆损伤的作用, 而 DCS 却作用不明确, 这暗示 FBZ 对防治 VD 具有显著的选择性。

老年期痴呆, 属中医学“老年呆证”、“文痴”、“癡”、“言语错乱”、“郁证”等范围。本病病位在脑, 与心、肾、肝、脾关系密切, 其共同病因为虚、痰、瘀<sup>[8]</sup>。其中, AD 以心脾肾虚或挟痰瘀为特点, 证候多虚或虚中挟实, 临证以补为主或通补兼施; VD 则以痰瘀阻络、肝肾不足、脾肾不足或气虚血弱, 兼风、火、痰热为特点, 证候多实或虚实并见, 其治疗不宜一味进补, 补则壅滞更甚。

当归芍药散为一有效防治 AD 与 VD 经典古方, 由 DCS 与 FBZ 组成, 分别具有补血活血化瘀、健脾利湿化痰功效, 其补中寓泻又泻中求补, 既益气养血, 又化痰逐瘀, 切中虚痰瘀。DCS 与 FBZ 能协同防治 AD 与 VD, 大致似与中医学防治 AD 的思想相一致。但在痰瘀致病主次关系上, 发现以治痰为重的 FBZ 药效优于以治瘀为重的 DCS, 这又似乎证明在 AD 与 VD, 尤其是 VD 病因中, 痰较瘀更为直接、紧要。

老年期痴呆病候千奇百态, 符合祖国医学“怪病多痰”的观点。张锡纯有“痰火上犯, 瘀塞其心与脑相连窍络, 则致心脑不通, 神明昏乱”的论述。陈士铎在《辨证录》专立呆症门, 提出“治呆无奇法, 治痰即治呆”的治疗大法。此外, 近年对中医药治疗老年期痴呆的方剂综合分析也显示, 115 味中药的用药频率, 以化痰利湿药物居于首位, 其次为健脾益气和活血通络药, 提出本病病机以痰、虚、瘀为主, 治疗宜化痰、活血、补肾、健脾<sup>[9]</sup>。以上的经典论述与统计分析均很好地支持在认识与防治 AD 与 VD 中, 痰较瘀更为直接、紧要。

#### 参考文献:

[1] 冀宏. 当归芍药散治疗血管性痴呆的临床研究[J]. 山

西中医, 2000, 16(2): 10-11.

- [2] 斋藤正己, 苏国斌, 柳生隆视, 等. 老年痴呆の汉方治疗[J]. 现代东洋医学, 1993, 14(4): 44-50.
- [3] 寇俊萍, 禹志领, 刘中, 等. 当归芍药散对小鼠学习记忆及脑内 SOD、MDA 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 1997, 3(4): 24-27.
- [4] 韩怡凡, 陈先瑜. 中枢胆碱能神经递质系统与学习记忆的关系[J]. 生理科学进展, 1983, 14(3): 216-222.
- [5] 张均田, 斋藤洋. 十二种化学药品破坏小鼠被动回避性行为—跳台试验和避暗试验的作用的比较观察[J]. 药理学学报, 1986, 21(1): 12-19.
- [6] Watanabe H, Ni JW, Sakai Y, et al. Permanent occlusion of bilateral carotid arteries produces cognitive deficits in two learning behavior tasks[J]. Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi, 1996, 16(1): 19-24.
- [7] 李巍, 张世仪, 赵惠敏, 等. 小鼠脑缺血性学习记忆障碍模型的建立[J]. 基础医学与临床, 1995, 15(6): 46-49.
- [8] 谢颖楨, 梅建勋, 王同胜, 等. 中医药治疗老年期痴呆的研究概况[J]. 北京中医药大学学报, 1997, 20(5): 61-64.
- [9] 周慎. 老年性痴呆的用药及组方规律探讨[J]. 陕西中医, 1993, 14(8): 374-375.