

养寿丹改善学习记忆功能的实验研究*

黄兆胜¹ 刘明平¹ 陈长洲² 万 幸¹ 邓响潮¹

黎锦城¹ 李盛青¹ 何国林¹

内容提要 目的:观察养寿丹对实验动物学习记忆功能的影响。方法:采用避暗法、跳台法和水迷路法研究养寿丹对正常幼龄小鼠及正常幼龄大鼠被动反应、樟柳碱所致小鼠记忆获得障碍、氢溴酸东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍、戊巴比妥钠所致小鼠方向辨别障碍及对老龄小鼠被动回避反应障碍的影响。结果:养寿丹能减少正常幼龄小鼠、正常幼龄大鼠 5min 内学习试验及记忆测验的错误次数($P < 0.05$, $P < 0.01$),可提高戊巴比妥钠造成的方向辨别障碍模型小鼠的正确反应平均数和正确反应百分率;并可缩短樟柳碱氢溴酸东莨菪碱所致记忆获得障碍模型小鼠或学习记忆障碍小鼠的记忆潜伏期,降低 5min 内错误次数($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:养寿丹能增强正常动物的记忆功能,对药物所致记忆障碍动物及记忆障碍的老龄小鼠均有改善作用,初步显示养寿丹有改善学习记忆功能及抗痴呆的药理作用。

关键词 养寿丹 学习记忆 记忆障碍 模型动物 方向辨别障碍

Studies on Improving the Ability of Learning and Memories of Yangshoudan HUANG Zhao-sheng, LIU Ming-ping, CHEN Chang-zhou et al *Guangzhou University of TCM, Guangzhou (510407)*

Objective: To observe the effects of Yangshoudan (YSD) on the ability of learning and memories in experimental animals. **Methods:** The tests of darkness-avoidance response in normal young mice and rats, aged mice, as well as in model mice with dysmnnesia induced by anisodine, model rats with dysmnnesia induced by scopolamine hydrobromide and with orientation disturbance induced by pentobarbital sodium. **Results:** In normal young mice and rats, the error times in five minutes in learning and memories tests was reduced ($P < 0.01 \sim 0.05$) by YSD, while in dysmnnesia groups the error times in five minutes also reduced ($P < 0.01 \sim 0.05$) and the incubation period of memories could be shortened by YSD. In orientation disturbance mice, the averages and percentages of correct response times increased by YSD. **Conclusions:** YSD could improve the memory ability both in normal and dysmnnesia which either induced by drugs or due to age. This indicates primarily that YSD has the effects of improving the ability of learning and memories and of antidementia.

Key words Yangshoudan, ability of learning and memories, dysmnnesia, model animal, orientation disturbance

以往研究表明,养寿丹具有延缓衰老、抗应激及免疫调节等方面的药理作用^[1,2]。为了进一步探讨其药理作用机制,本实验观察了养寿丹对增强正常动物记忆和改善药物所致记忆障碍动物及学习记忆障碍的老年小鼠的影响。现将结果报道如下。

实验材料

1 动物 NIH 系幼龄小鼠(体重 16~18g, 平均 17g), Wistar 系幼龄大鼠(体重 160~190g, 平均 180g)

由广州中医药大学实验动物中心提供; NIH 系 8 周龄成龄小鼠(体重 18~22g, 平均 20g), 18 月龄老龄鼠(体重 22~28g, 平均 25g), 由广东省卫生厅实验动物场提供。

2 药物及试剂 养寿丹浸膏粉(主要成分含何首乌、枸杞子、白术、肉苁蓉、菟丝子、远志、石菖蒲、茯苓等, 每克浸膏粉含生药 10g, 由广州兴华制药厂提供, 批号 951012), 脑复康(东北制药厂生产, 批号 941010); 樟柳碱(天津制药厂生产, 批号 940812), 氢溴酸东莨菪碱(上海第二制药厂生产, 批号 951105), 戊巴比妥钠(上海第二制药厂生产, 批号 950916)。

3 仪器 (1)小鼠避暗箱:参照钱伯初方法^[3]改

*广东省自然科学基金资助课题(No. 93043)

1. 广州中医药大学(广东 510407); 2. 广州兴华制药厂

良自制而成,该装置为 20cm×13cm×35cm 的有机玻璃箱,分明暗两室,两间隔板底部有一直径为 2cm×3cm 的洞口,明暗两室底部均铺以铜栅,暗室底部的铜栅通以 36V 的电流,明室底部不通电。(2)小鼠跳台仪:参照李仪奎方法^[4]改良而成,该装置体积为 60cm×12cm×18cm,箱内用有机玻璃分隔成 5 间,箱底铺以直径 2mm 的铜栅,与可调变压器相连,每间左后方放置一个高度和直径均为 4.5cm 的橡皮塞作为跳台。(3)小鼠“Y”型水迷路箱:参照李仪奎方法^[4]改良而成,该装置体积为 100cm×19cm×19cm,从中部分支,一侧用黑色有机玻璃遮住光线,称为暗道,另一侧支路用 25W 日光灯照明,称为明道。在明道上置一平台,

略高出水面。

方法与结果

1 养寿丹对正常动物学习记忆功能的影响

1.1 养寿丹对正常幼龄小鼠被动回避反应的影响 用避暗法,将幼龄小鼠 60 只随机分为 4 组,即空白对照组、药物对照组、药物 I 组和药物 II 组,每组 15 只,依次分别以蒸馏水 0.2ml/10g、脑复康液 10g/kg 和养寿丹 12.5g/kg、25g/kg(按核算后生药量)灌胃,每天 1 次,连续给药 21 天。给药结束后测定学习记忆功能。结果见表 1。

表 1 结果表明,药 I 组、药 II 组及脑复康组均能

表 1 养寿丹对正常幼龄小鼠被动回避反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药量 (g/kg)	学习试验		记忆测验	
			潜伏期(s)	错误数(次)	潜伏期(s)	错误数(次)
空白对照	15	等体积水	108.5±58.2	3.6±0.9	190.4±63.6	1.6±0.7
脑复康	15	10.0	93.2±45.5	1.9±1.2**	231.5±77.4	1.2±0.9**
药 I	15	12.5	119.1±72.4	2.4±0.8*	262.1±54.5	1.0±0.6**
药 II	15	25.0	123.4±64.7	1.8±0.9**	277.3±66.2	0.7±0.5**

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

明显减少正常幼龄小鼠学习试验及记忆测验的错误次数,提示养寿丹对正常幼龄小鼠的学习记忆功能有一定的促进作用。

1.2 养寿丹对幼龄大鼠被动回避反应的影响

幼龄大鼠 39 只,分组及给药方法同前。给药结束后测定学习记忆功能。结果见表 2。

表 2 养寿丹对正常幼龄大鼠被动回避反应的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	给药量 (g/kg)	学习试验		记忆测验	
			潜伏期(s)	错误数(次)	潜伏期(s)	错误数
空白对照	10	等体积水	78.2±46.5	1.9±0.7	170.3±54.5	1.2±0.6
脑复康	9	10.0	63.6±34.1	1.3±0.5*	211.4±66.2	0.9±0.7*
药 I	10	12.5	85.7±59.3	1.2±0.4*	242.5±47.3	0.8±0.4*
药 II	10	25.0	92.5±53.4	1.0±0.6**	257.4±56.2	0.6±0.5**

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 2 结果表明,药 I 组、药 II 组及脑复康组均能减少正常幼龄大鼠学习试验及记忆测验的错误次数,提示养寿丹能增进正常幼龄大鼠的学习记忆功能。

2 养寿丹对记忆障碍动物学习记忆功能的影响

2.1 养寿丹对樟柳碱所致小鼠记忆获得障碍的影响

选合格 NIH 小鼠 50 只随机分为 5 组,每组 10 只,养寿丹组剂量分别为 12.5g/kg、25g/kg;空白对照组与模型组分别给对照液蒸馏水 0.2ml/10g 体重,阳性对照组给脑复康 10.0g/kg,各组每天分别灌胃 1 次,连续给药 21 天。

于连续给药 21 天后,第 22 天开始试验,采用跳台法^[4],将跳台仪与可变调压器相连,控制电压在 36V。于训练前 1h 给药,训练前 10min 模型组与给药组小鼠分别腹腔注射樟柳碱 10mg/kg,空白对照组腹腔注射

等容量的生理盐水。每批实验各组分别有 1 只小鼠给药,平行操作。10min 后再给第 2 只小鼠注射,以此类推。训练时将第一批用药的 5 只小鼠(每组 1 只)分别放入跳台仪的 5 个格子内,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 并记录 5min 内触电次数,24h 后重新测试。

测试时先将小鼠放置在跳台上,同时开动秒表记录小鼠第 1 次跳下时间,此为触电潜伏期,并记录 5min 内跳下次数(即错误次数),作为记忆指标。结果见表 3。

表 3 结果表明,模型组与对照组比较,模型组潜伏期显著缩短,5min 内跳下次数显著增多,说明 10mg/kg 樟柳碱腹腔注射已造成记忆获得障碍。养寿丹

表 3 养寿丹对樟柳碱所致小鼠
记忆障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	给药量 (g/kg)	樟柳碱 (mg/kg)	潜伏期 (s)	5min 内错误 次数(次)
对照	对照液	生理盐水	293.2 ± 94.5	0.3 ± 0.6
模型	对照液	10	96.5 ± 102.7 [△]	1.6 ± 1.4 [△]
脑复康	10.0	10	265.8 ± 103.5**	0.6 ± 0.7**
药 I	12.5	10	230.4 ± 86.4*	0.7 ± 0.9*
药 II	25.0	10	269.5 ± 85.1**	0.4 ± 0.7**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组比较, $^{\Delta}P < 0.01$;各组动物均为 10 只

大、小剂量组及脑复康组与模型组比较,潜伏期显著延长,5min 错误次数降低,说明养寿丹对记忆获得障碍有较好改善作用。

2.2 养寿丹对氢溴酸东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍的影响 分组及给药同上一实验。检测学习记忆:采用避暗法⁽³⁾,训练前 30min 腹腔注射氢溴酸东莨菪碱 2mg/kg,对照组注射等容量生理盐水,测定时将小鼠放入明箱,记录小鼠放入明箱到进入暗箱的潜伏期及 5min 内错误次数作为记忆指标。结果见表 4。

表 4 养寿丹对氢溴酸东莨菪碱所致小鼠
记忆障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	给药量 (g/kg)	东莨菪碱 (mg/kg)	潜伏期 (s)	5min 内错误 次数(次)
对照	10.0	生理盐水	108.3 ± 47.6	0.3 ± 0.2
模型	10.0	2	69.4 ± 30.1 [△]	2.4 ± 0.6 [△]
脑复康	10.0	2	185.3 ± 64.5**	0.6 ± 0.3**
药 I	12.5	2	176.2 ± 65.7*	0.6 ± 0.2*
药 II	25.0	2	197.5 ± 68.3**	0.4 ± 0.3**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组比较, $^{\Delta}P < 0.01$;各组动物均为 10 只

表 4 结果表明,模型组与对照组比较,潜伏期明显缩短,5min 内错误次数增加,说明氢溴酸东莨菪碱造成了记忆障碍。给药组与模型组比较,潜伏期延长,5min 内错误次数减少,说明养寿丹对氢溴酸东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍有改善作用。

3 养寿丹对戊巴比妥钠所致小鼠方向辨别障碍的影响 分组给药同上一实验。训练与测试采用水迷路法⁽⁵⁾,于给药 21 后天开始训练,水深约 10cm,水温保持在 25℃ ± 1℃ 左右。每天训练前 30min 模型组和给药组分别腹腔注射戊巴比妥钠 1.5mg/kg,对照组腹腔注射等量生理盐水。每批实验每组给药 2 只,经 30min 后第 2 批给药。训练时将小鼠从长臂端尾对“Y”型叉口轻放入水中,以在 15min 内抵达平台为正确反应,休息 15min 后重复训练,每天训练 10 次,连续 5 天,训练过程中继续药物灌胃,以各组小鼠每天平

均反应百分率和正确反应平均数为指标,实验结果见表 5(表内数据为 5 天训练的平均数)。

表 5 养寿丹对戊巴比妥钠所致
小鼠方向辨别障碍的影响

组别	给药量 (g/kg)	戊巴比妥钠 (mg/kg)	正确反应 平均数 (次)	正确反应 百分率 (%)
空白对照	10.0	生理盐水	6.5	65
模型	10.0	1.5	3.0 [△]	30 [△]
脑复康	10.0	1.5	6.0**	60**
药 I	12.5	1.5	5.5*	55*
药 II	25.0	1.5	7.0**	70**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与对照组比较, $^{\Delta}P < 0.01$;各组动物均为 10 只

结果表明,模型组每天正确反应平均数和正确反应百分率均低于空白对照组,经统计学处理, $P < 0.01$,有非常显著性差异,说明造模成功;两剂量组养寿丹和脑复康组正确反应平均数和正确反应百分率与模型组相比,均有增加,经统计学处理, $P < 0.01$,有非常显著性差异,表明养寿丹对戊巴比妥钠造成的小鼠方向辨别障碍有改善作用。

4 养寿丹对老龄小鼠记忆障碍的影响 用避暗法将 18 月龄老龄小鼠 40 只随机分成 4 组,每组 10 只,即空白对照组、脑复康组、药 I 组、药 II 组,分别以蒸馏水 0.2ml/10g、脑复康液 10g/kg、养寿丹 12.5g/kg、25g/kg 灌胃给药,连续 30 天,给药结束后测定学习记忆功能。结果见表 6。

表 6 养寿丹对老龄小鼠被动回避
反应障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	剂量 (g/kg)	学习试验	
			潜伏期(s)	5min 内错误数(次)
对照	10	—	89.2 ± 26.5	1.9 ± 0.7
脑复康	10	10.0	172.4 ± 43.3*	1.1 ± 0.4**
药 I	10	12.5	168.5 ± 34.6*	1.3 ± 0.5*
药 II	10	25.0	204.7 ± 36.1**	0.8 ± 0.4***

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$

表 6 结果表明,药 I 组、药 II 组与脑复康组均能减少老龄小鼠学习试验的错误次数,尤以药 II 组(养寿丹 25g/kg)的作用较为显著,说明养寿丹对老龄小鼠的学习记忆功能有一定改善作用。

讨 论

衰老的一个重要特征是认知记忆功能的减退,甚至丧失。在引起机体衰老的诸多因素中,中枢神经系统功能退行性病变占很重要的地位。同时老年性痴呆

症的早期表现为记忆力及认知力减退、空间定向不良、学习能力下降等。Bowen 等⁽⁶⁾首先报告老年性痴呆症 Alzheimer's 患者脑胆碱乙酰转移酶 (CHAT) 下降, 并且其下降程度与认知功能丧失和老年斑及神经纤维缠结有关。Dandee 等⁽⁷⁾的研究表明, Alzheimer's 患者脑胆碱乙酰转移酶 (CHAT) 下降幅度高达 50% ~ 80%, 阻断中枢胆碱能神经活动的药物可产生伴随记忆丧失的痴呆样症状。

中医理论认为, “肾主骨生髓”, “脑为髓之海”, 老年人因年老体弱, 气血不足而致心脾虚弱。肾精不足、髓海空虚而致心脑失用, 从而引起学习记忆能力的下降。养寿丹由何首乌、肉苁蓉、枸杞子、白术、茯苓、石菖蒲、远志等组成, 具有补肝肾、养心脾、益气血、安神等功效, 临床观察到养寿丹对老年性痴呆症有较好的改善作用^(1,2)。为进一步探讨其作用机理, 我们在观察了其具有延缓衰老等方面的药理基础上, 进行养寿丹改善学习记忆、抗痴呆作用的实验研究。本研究除了观察养寿丹对正常动物记忆功能的影响外, 并采用戊巴比妥钠、樟柳碱、氢溴酸东莨菪碱造成方向辨别障碍和学习记忆障碍动物模型及记忆障碍老年动物, 观察养寿丹对学习记忆和空间识别的影响。研究发现, 不同剂量组的养寿丹不仅能增强正常幼龄动物的学习记忆能力, 而且能明显对抗樟柳碱、东莨菪碱对小鼠记忆获得的破坏和戊巴比妥钠对小鼠中枢神经的抑制, 其改善学习记忆和对方向辨别障碍的保护与兴奋中枢神经系统, 尤其是与兴奋胆碱能神经相关。养寿丹通过作用于中枢胆碱能神经而起到改善学习记忆的作用。此项研究为养寿丹改善学习记忆功能及抗痴

呆作用提供了部分药理学基础, 其改善学习记忆作用可能与方中何首乌、枸杞子、远志、石菖蒲、茯苓等有关。何首乌所含卵磷脂是构成神经组织的主要成分, 远志、石菖蒲、茯苓有镇静安神的作用, 与扶正固本强壮性药物配伍, 能调节中枢神经系统的兴奋与抑制而改善人的智能。有实验表明, 20% 的何首乌注射液能对抗苯丙胺兴奋中枢作用, 并减少动物自发活动, 延长戊巴比妥的促眠时间; 石菖蒲水提醇沉液能明显促进正常小鼠的记忆能力和改善东莨菪碱、乙醇所致的记忆获得障碍⁽⁸⁾。本研究初步显示养寿丹有改善学习记忆功能方面的药理作用。

参 考 文 献

1. 黄兆胜, 邓响潮, 万 幸, 等. 养寿丹延缓衰老作用的实验研究. 中药新药与临床药理 1993; 4(4): 32—34.
2. 黄兆胜, 邓响潮, 黎锦城, 等. 养寿丹抗应激及免疫调节作用. 中药药理与临床 1996; 12(6): 1—2.
3. 钱伯初. 蜂花粉改善学习记忆功能的实验研究. 中药药理与临床 1988; 4(1): 19—21.
4. 李仪奎, 王钦茂, 周金黄, 等. 中药药理实验方法学. 第 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 172, 174—175.
5. 徐秋萍, 孙建宁, 朱承喜, 等. 复方党参对戊巴比妥钠引起小鼠方向辨别障碍的改善作用. 中药药理与临床 1989; 5(2): 25—28.
6. Bowen DM, Bond MJ, Mobert WD. A study on the CHAT of the brain in Alzheimer's. Brain 1986; (99): 459—460.
7. Dandee JW, Robert HR, Barnes S. A study of mechanism of Alzheimer's disease. Pharmacol 1992; (44): 140—142.
8. 周大兴. 石菖蒲对小鼠学习记忆的促进作用. 中草药 1992; (8): 417—419.

(收稿: 1996-08-09 修回: 1997-05-06)

▲《国医论坛》是面向国内外公开发行的综合性中医药学术期刊。本刊连续被河南省科委评为“河南省优秀科技期刊”, 辟有张仲景学说研究、经方实验录、《周易》与国医、老中医经验、临床报道、研究生论坛、理论探讨、实验研究、医苑百花、文献综述、医著评析等 20 多个栏目。本刊理论与临床并重, 普及与提高兼顾, 是从事中医药临床、教学和科研人员及中医大专院校学生的良师益友。本刊为双月刊。每册定价 2.50 元。国内代号 36—100, 欢迎广大读者及时到当地邮局(所)订阅; 国外代号 BM4417, 可直接与中国国际图书贸易公司(北京 399 信箱)联系订阅; 若错过订期, 也可直接向本刊编辑部求购。本刊地址: 河南省南阳市卧龙路 131 号。邮编: 473061, 电话: 3132497—8608

▲《中医临床杂志》(双月刊)是国家科委和新闻出版署正式批准的中医综合性学术期刊, 创刊于 1988 年。本刊设有专题报道、临床研究、医家经验、临床报道、医案医话、病案讨论、方药运用、学术探讨、新安医学研究、针灸推拿、中医护理、综述讲座、百家园、短篇报道等栏目, 内容以临床为主, 面向基层, 注重实用, 编排规范, 活泼新颖。1998 年还将增加版面, 加大临床报道的深度和广度, 更好地反映中医临床新成果、新经验, 为广大中医临床工作者服务, 适宜广大中医、中西医结合临床医师、临床药学和临床护理工作读者订阅。每册定价 4.00 元, 全年订价 24.00 元。邮发代号: 26—131, 国内统一刊号: CN34—1134/R, 国际标准刊号: ISSN1005—7331。凡订阅本刊的读者如果对本刊不满意, 请函告责任编辑, 也可以电告主编, 共同商讨, 共同提高。本刊地址: 合肥市六安路 205 号, 邮编 230061, 联系电话: (0551)2644214。