

定志丸对东莨菪碱诱发大鼠 被动回避反应的影响

谢明村 褚俊杰 彭文煌 吴启瑞
(中国医药学院中国药理学研究所 台湾)

摘要 唐·孙思邈《备急千金要方》的定志丸在防治记忆障碍作用上,较《太平惠民和剂局方》记载的定志丸为佳。茯苓、远志、石菖蒲有协同人参之作用。《和剂局方》中的朱砂未见有改善学习记忆障碍的作用,故无组成方剂意义。

关键词 定志丸 氢溴酸东莨菪碱 记忆保持

中药方剂组成按君、臣、佐、使,各药均有其组成意义,若能以现代科学方法加以探讨研究,将有助于中药之现代化及科学化。定志丸始载于唐·孙思邈之《备急千金要方》(简称《千金方》)名为定志小丸,由人参、远志、茯苓及石菖蒲组成。至宋·陈昭遇之《太平惠民和剂局方》(简称《和剂局方》)多加一味,以朱砂为衣,改名为定志丸,主治:神志不清、惊悸健忘、言语失伦、喜笑发狂等症。以人参为君药,用于补益心气;茯苓为臣药,用于养心安神;远志、石菖蒲为佐药,用于化痰开窍、健脑醒神;朱砂为使药,用于清心宁神,主治因心气不足所致之心悸、失眠、健忘等症^[1]。本研究乃依传统的方剂组成原则,分别采君药、臣佐药、《千金方》及《和剂局方》4种配伍方式,以现代行为药理学方法(被动回避法、自发运动量及热板法等),来探讨其对氢溴酸东莨菪碱诱发记忆保持障碍的影响。

1 材料

1.1 动物 ICR系♂小鼠,体重20~25g,SD系♂大鼠,体重200~250g,本院动物中心供应。

1.2 药物

1.2.1 药材 经生药学鉴定:人参为 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根,远志为 *Polygala tenuifolia* Willd. 的干燥根,茯苓为 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 寄生在松根的菌核,石菖蒲为 *Acorus gramineus* Soland 的根茎,朱砂为天然硫

化汞矿石辰砂 Cinnabar。

1.2.2 药物之制备 本实验按宋代《和剂局方》所载之定志丸,以方剂组成为:A组(君药);人参组,B组(臣佐药);石菖蒲;远志;茯苓=2:2:3,C组(千金方定志丸);石菖蒲;远志;茯苓;人参=2:2:3:3,D组(朱砂定志丸);石菖蒲;远志;茯苓;人参;朱砂=2:2:3:3:1。将各组之组成药材按组成比例称量混合,先以50%乙醇浸润之,后在50℃下回流抽取4~5次,每次约4小时,合并提取液,于50℃下进行减压浓缩并于烘箱中干燥之。

1.3 仪器 条件反应测定装置(室町机械公司,东京,日本),分成两部分:穿梭箱(Shuttle Box)中间以闸门分隔为相同大小二室(48cm×20cm×30cm)及控制器(MCU-101 控制器)。

2 方法与结果

2.1 急性毒性试验 使用体重20~25g之ICR小鼠,将定志丸粗萃取物以不同剂量经口服或腹腔注射给药,连续观察72小时,记录中毒死亡情形,依Litchfield and Wicoxon氏方法,求得使实验动物一半死亡的剂量及其95%可信度^[2]。结果口服各组粗萃取物10g/kg,观察72小时均未死亡,但呈现活动量减少。由腹腔注射给药后,小鼠在72小时内LD₅₀及其95%可信度,如表1所示。此时除了活动量明显减少外,数分钟后呈现步履不稳、心跳加快、震颤、呼吸窘促等现象,于死亡前有剧烈跳动。

表1 定志丸口服及腹腔注射给药之急性毒性试验

组别	给药途径	LD ₅₀ g/kg	95%可信限
A组	po	>10	0.32~1.43
	ip	>10	
B组	po	>10	
	ip	0.68	
C组	po	>10	
	ip	0.84	
D组	po	>10	
	ip	0.60	

2.2 对大鼠自发运动量的影响 使用动物运动量测定装置(ANIMEX Auto activity Meter

表2 定志丸粗提物对大鼠自发运动量之影响

组别	剂量 g/kg	不同时间(min)运动量					
		20	40	60	80	100	120
对照组		158±15	48±8	51±70	90±13	86±15	57±3
A组	0.05	203±25	105±8 ¹⁾	119±9 ²⁾	66±3 ²⁾	79±10	49±5
B组	0.05	116±9 ¹⁾	51±7	64±9	61±7 ²⁾	60±7	48±5
C组	0.05	112±8 ¹⁾	61±9	46±6	62±6 ²⁾	52±8 ¹⁾	49±4
D组	0.05	107±9 ¹⁾	55±6	45±2	45±2 ²⁾	61±8	53±5
A组	0.5	127±13 ¹⁾	43±5	57±4	55±6 ²⁾	52±4 ¹⁾	47±4
B组	0.5	102±7 ¹⁾	57±4	44±5	32±3 ²⁾	43±6 ²⁾	40±4
C组	0.5	80±6 ²⁾	58±6	53±6	28±3 ²⁾	43±4 ²⁾	41±5
D组	0.5	102±18 ¹⁾	55±7	39±6	36±6 ²⁾	89±12	43±4

注:与对照组比较(以ANOVA分析变异数,再以Duncan's多重范围检定) ¹⁾P<0.05 ²⁾P<0.01

2.3 对小鼠镇痛作用之影响 将小鼠放置于实验箱之定温板上(55±0.5℃),外罩以透明亚克力圆筒。首先测出给药前之反应时间,经5分钟后,再测之,以二次反应时间差在5秒内者筛选做此项实验。经口服给予雄性小鼠不同剂量(0.05,0.5g/kg)之各实验组粗提物后,每间隔30分钟,将小鼠置于上述热板上,测其开始有痛的反应所需之时间,共测3次(90分钟)。判读标准为舔后脚,缩后肢或跳跃等。对照组给予vehicle。结果,定志丸(0.05,0.5g/kg)于一次给药后,均无镇痛之作用(如表3所示)。

2.4 对大鼠避暗学习反应的影响 本实验使用条件反应测定装置,将相同大小二室区分为明暗二室,中以门闸控制,明室上方置一20W之电灯泡。实验时,先将大鼠置入明室,同时开启闸门,以大鼠在90秒内进入暗室者,供做本实验。训练期,将筛选过之大鼠,置入明室,同时开启闸门,待大鼠进入暗室,关闭闸门,同时于

Model MK-110,室町机械公司,东京,日本),敏感度设定为Sensitivity 1=450, Sensitivity 2=350,记录大鼠经口服给予不同剂量之A组、B组、C组及D组的粗提取物后之各种活动行为的变化(包括走动、站立、整饰及嗅鼻等)。使用体重180~250g之雄性大鼠,每组6只。于口服55分钟后放入装置内适应5分钟,再开始记录,观察并连续记录2小时(每隔2分钟记录1次),实验时间从上午8时至下午6时^[3]。对照组均给予vehicle。结果如表2所示。

底板通以电流(0.85mA,2s),待电刺激后5秒,自暗室取出大鼠,回归饲养笼。测定期,于训练后24小时,再将大鼠置入明室,同时并开启闸

表3 定志丸粗提物对热板诱发痛反应之影响

组别	剂量 g/kg	不同给药时间 min 后的痛反应时间 s		
		30	60	90
对照组		25.0±1.3	24.0±1.0	19.0±0.6
A组	0.05	25.0±0.9	23.0±0.8	14.0±0.7
B组	0.05	27.0±0.8	18.0±1.5	19.0±1.0
C组	0.05	25.0±0.9	24.0±0.8	19.0±0.8
D组	0.05	24.5±0.9	29.0±1.6	25.0±1.7
对照组		25.0±1.3	24.0±1.0	19.0±0.6
A组	0.5	21.0±0.9	22.0±0.8	15.0±0.7
B组	0.5	21.5±0.9	21.0±1.0	16.0±0.8
C组	0.5	27.0±1.6	25.0±1.2	25.0±1.0
D组	0.5	20.5±0.9	26.0±1.2	19.0±0.7

门,记录大鼠在明室之滞留时间(step-through latency,STL)。当于明室之滞留时间大于5分钟(300秒)时,则称大鼠之学习记忆能力正常^[4]。2.5 对诱发避暗学习反应障碍物质的影响 实验分1次给药组及2周长期给药组。1次给药之各组分别于训练前1小时口服给予不同剂量(0.05,0.5g/kg)之定志丸各组粗提取物,再与下述诱发学习障碍物质并用。依前法(方法2.4),将大鼠放入明室,进行训练后,待24小时后,将大鼠再次置入明室,进行测定,记录大鼠于明室之滞留时间。2周长期给药之各组,则分别于最后1次口服给药后1小时进行训练,且与下述之诱发学习障碍物质并用,将大鼠放入明室,进行训练后,待24小时后,将大鼠再次置入明室,进行测定,记录大鼠于明室之滞留时间。病理对照组给予下述之诱发学习记忆障碍物质,而空白对照组则给予vehicle。本实验所使用于诱发大鼠学习记忆障碍物质之剂量及时间分别为:氢溴酸东莨菪碱(SCOP,1mg/kg,ip)于训练前30分钟给药^[5]。结果如表4所示。SCOP给药后,可使大鼠滞留于明室之滞留时间(STL)明显缩短。于1次给药后定志丸(0.05,0.5g/kg)各组,对SCOP诱发之明室滞留时间缩短现象均无明显之改善作用。于2周长期给药后,定志丸(0.05,0.5g/kg)各组对SCOP诱发之明室滞留时间缩短现象有明显之延长作用(如表4所示)。

2.6 统计学分析 实验数据均以one-way ANOVA法统计并分析其间差异之显著性,凡P值小于0.05以下时,则认为有统计意义。

3 小结与讨论

从急性毒性试验结果可得知定志丸各组粗提取物经口服给予均未具毒性(LD₅₀>10g/kg),但经腹腔注射后以定志丸和剂局方组之急性毒性最大,人参最小。

在镇痛试验中,定志丸之各组药材于热板法之实验下,均无镇痛作用。

在避暗学习反应之实验中,定志丸千金方组于一次给药对东莨菪碱所诱发学习记忆障碍之改善情形并不显著;于2周长期给药则有明

显改善学习记忆障碍之作用。其作用机转可能与增强中枢胆碱系统之活性有关。

表4 定志丸粗提取物对SCOP诱发大鼠抑制性被动回避反应障碍之影响

药物	剂量 g/kg	明室滞留时间 s	
对照组		>300	
SCOP		12.2±0.6	
一 次 给 药 组	A组+SCOP	0.05 11.2±1.9	
		0.50 10.9±1.4	
	B组+SCOP	0.05 12.4±0.9	
		0.50 13.5±1.5	
	C组+SCOP	0.05 13.1±1.8	
		0.50 12.4±2.1	
	D组+SCOP	0.05 14.3±1.4	
		0.50 14.6±3.7	
连 续 给 药 · 周 组	对照组	>300	
	SCOP		12.4±1.1
	A组+SCOP	0.05 14.3±2.6	
		0.50 16.1±3.4 ¹⁾	
	B组+SCOP	0.05 14.2±0.9	
		0.50 14.1±1.1	
	C组+SCOP	0.05 12.1±0.4	
		0.50 18.6±1.8 ¹⁾	
D组+SCOP	0.05 14.3±0.7		
	0.50 14.1±3.7		

注:1)与SCOP组比较(以ANOVA分析变异数,再以Duncan's多重范围检定)P<0.05

综合以上结果,显示,于唐·孙思邈之《备急千金要方》,在防治记忆障碍之作用上,较《和剂局方》记载之定志丸为佳。至于茯苓、远志、石菖蒲在方中有协同人参(君药)之作用,单独并用则作用较不明显,甚至不产生效果。再者,《和剂局方》中之朱砂并无增强镇静与改善学习记忆障碍,且因独用多用,反而会有毒性产生,故并无实质的方剂组成意义。其作用之机转,于二周长期口服给药之防治学习记忆障碍的作用上,则可能与中枢胆碱系统之活性调节有关,并非镇痛之效果所致。

4 参考文献

- 1 江克明等,简明方剂辞典,上海,上海科学技术出版社,1980,676

卷柏复方治疗实验性糖尿病及对 血液流变学的影响

苗乃全 陶惠然 佟春玲* 玄花** 张桂芳*
(牡丹江医学院 157011)

摘要 卷柏复方 25g/kg 腹腔注射 12 天,对四氧嘧啶诱发的大鼠实验性糖尿病有明显的降血糖,升高血清胰岛素浓度,降低血清过氧化脂质含量,改善血液流变学异常的作用。胰岛的组织学观察表明,卷柏复方可促进四氧嘧啶所致胰岛 B 细胞损伤的修复。

关键词 卷柏复方 四氧嘧啶 糖尿病

卷柏复方(STS Co)由卷柏、木贼两种中药组成。有治疗闭经、跌打损伤、疏风散热、解肌及退翳之功效^[1]。近代药理研究发现卷柏复方有明显的镇痛作用^[2],1984 年经黑龙江省卫生厅鉴定批准为植物性镇痛剂^[3]。本文报道其治疗实验性糖尿病,改善血液流变学异常的作用。

1 材料

1.1 药物 卷柏 *Selaginella tamariscina* (Beauv) Spring,木贼 *Equisetum hienale* L. 购自黑龙江省佳木斯市医药公司,由佳木斯医学院药学系陈美琳教授鉴定。卷柏复方制剂由佳木斯医学院附属制药厂提供。以水煎醇沉法制成注射液。每支 2ml,每毫升含生药 2g。四氧嘧啶 (AXN)瑞典 Fluka 公司产品。胰岛素放射免疫测定盒由中国原子能科学研究院同位素研究所提供。甲苯磺酰丁脲(D₈₆₀)常州制药厂生产。

1.2 仪器 FT-630G 全自动放射免疫分析仪(核工业部北京仪器厂);NXE-1 型锥板式粘度计(成都仪器厂);KCQ-1 型超薄切片机(上海科技大学);JEM-1200EX 电镜(日本电子株式会社)。

1.3 动物 Wistar 雄性大鼠(沈阳化工研究所提供),体重 200~300g,自由饮水进食。

2 方法

2.1 实验性糖尿病动物模型制备^[4] 大鼠禁食 14~16h,在乙醚麻醉下经尾静脉一次性注射 AXN,剂量为 50mg/kg,48h 形成糖尿病动物模型,以大鼠血糖升高的百分数超过对照组的 100%者用于实验。

2.2 给药方法 治疗组 ip STS Co 25g/(kg·d);阳性对照组 D₈₆₀ 混悬液灌胃 1g/(kg·d);损伤对照组 ip 同体积的生理盐水。

2.3 观察指标

2.3.1 血糖 动物经内眦静脉丛采血,用邻甲苯胺法测定空腹血糖。

2.3.2 血清胰岛素 血样采集与血糖测定同步进行,按药盒说明书提供的方法测定。

2.3.3 血清过氧化脂质(LPO)含量测定 采用硫代巴比妥酸比色法^[5]。

2.3.4 血液流变学 测定低切变率全血比粘度(LS)、高切变率全血比粘度(HS)、血浆比粘度(PV)、红细胞压积(HT)、低切变率全血还原比粘度(LRS)、高切变率全血还原比粘度(HRS)。动物在实验前测定以上指标作为正常对照值。

* 黑龙江省佳木斯医学院 ** 黑龙江省林业厅校