

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2011.01.003

枸杞山茱萸水煎液对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍模型的影响

林丽文 王传功 辛 勤

(济宁医学院基础医学与法医学院, 山东 济宁 272067)

摘 要 **目的** 研究枸杞山茱萸对东莨菪碱所致的小鼠记忆障碍的改善作用。**方法** 以腹腔注射东莨菪碱的方法制作小鼠记忆获得障碍模型;以穿梭箱、跳台和水迷宫实验,观察枸杞山茱萸对小鼠记忆的改善作用。**结果** 枸杞山茱萸(7.5~30g/kg)能显著减少小鼠在穿梭箱实验中遭受电击的时间;减少小鼠在跳台实验中的错误次数,延长跳台潜伏期;30g/kg 枸杞山茱萸可缩短小鼠在水迷宫实验中的潜伏期,减少错误次数。**结论** 枸杞山茱萸对东莨菪碱所致的小鼠记忆障碍有改善作用。

关键词 枸杞;山茱萸;东莨菪碱;记忆获得障碍

中图分类号:R931 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-9760(2011)02-009-03

Effects of the decoction of lycium barbarum and cornus officinalis on mice with memory acquisition impairment induced by scopolamine

LIN Li-wen, WANG Chuan-gong, XIN Qin

(Basic Medical Science and Forensic college, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To research the improvement of Lycium barbarum and Cornus Officinalis in the memory acquisition impairment of mice induced by scopolamine. **Methods** Memory acquisition impairment model in mice with the method of scopolamine intraperitoneal injection was made, the improvement of Lycium barbarum and Cornus Officinalis in the memory acquisition impairment of mice was observed by means of shuttle box test, step-down test and water maze test. **Results** Medlar and Corne 7.5 to 30g/kg could significantly reduce the time subjected to electric shocks in the shuttle box test, reduce the number of errors, extend the incubation period in the step-down test. Medlar and Corne 30g/kg could shorten the incubation period, reduce the number of errors in the water maze test. **Conclusion** Lycium barbarum and Cornus Officinalis have the improvement in the memory acquisition impairment of mice induced by scopolamine.

Key words: Lycium barbarum; Cornus Officinalis; Scopolamine; Memory acquisition impairment

枸杞是茄科植物宁夏枸杞(Lycium barbarum L.)的成熟果实,又名甘枸杞、枸杞子、枸杞。味甘、平,主要药效成分包括菜碱、多糖、粗脂肪、粗蛋白、硫胺素、核黄素、胡萝卜素、抗坏血酸、尼克酸及钙、磷、铁、锌等元素,具有增强免疫、降低血糖及保肝作用^[1]。以枸杞或以枸杞配伍的古方颇多,既可作为体弱虚羸者的强壮滋补药,也可作为润肝益肾、疗虚补阴的良剂,还可用作延年益寿的营养品。

山茱萸为山茱萸科灯台树属植物山茱萸(Cornus officinalis Sieb. et Zucc.)除去种子的成熟干燥果肉,又名山萸肉、药枣、枣皮、肉枣等,味酸性

温,主要药效成分包括甙类(马钱素)、有机酸类(熊果酸、没食子酸)和鞣质类,具有补益肝肾、收敛补血、利尿降压、健胃明目、强力、延年等作用^[2]。枸杞和山茱萸合用具有协同作用,我们选用二者的混合液,观察其对东莨菪碱致记忆获得障碍小鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 动物 昆明种小鼠,雄性,体重 18~22g,山东鲁抗医药股份有限公司实验动物中心提供。

1.2 仪器 ZIL-2 型程控自主活动箱,STT-2 型

小鼠跳台仪, SMG-2 型程控水迷宫, SCS-2 型程控小鼠穿梭箱, 均由中国医学科学院药物研究所生产。

1.3 药品与试剂

枸杞、山茱萸: 均由济宁邦尔中药饮片有限公司提供。

枸杞药液制备: 称取适量, 先用水浸泡 1h, 放入 3 倍水熬制, 煎煮 2 次, 合并滤液至每 ml 药液含枸杞 1.5g。置于冰箱中保存, 临用前摇匀。

山茱萸药液制备: 称取适量, 先用水浸泡 1h, 放入 3 倍水熬制, 煎煮 2 次, 合并滤液至每 ml 药液含山茱萸 1.0g。置于冰箱中保存, 临用前摇匀。

枸杞山茱萸复方制剂: 枸杞、山茱萸按 2:1 比例称取, 先用水浸泡 1h, 放入 3 倍水熬制, 煎煮 2 次, 合并滤液至每 ml 药液含枸杞 1.5g 和山茱萸 0.75g。置于冰箱中保存。临用时再用生理盐水稀释成所需浓度。

生理盐水: 由山东鲁抗辰欣药业有限公司提供, 批号为 050122402。

氢溴酸东莨菪碱注射液: 由上海禾丰制药有限公司提供, 批号为 6A18006。

1.4 方法

1.4.1 穿梭箱实验^[3] 将小鼠随机分成 7 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组、模型组、枸杞山茱萸高剂量组 (30g/kg)、枸杞山茱萸中剂量组 (15g/kg)、枸杞山茱萸低剂量组 (7.5g/kg)、枸杞组 (15g/kg)、山茱萸组 (7.5g/kg)。各给药组按剂量灌胃给药, 空白对照组和模型组给予等体积生理盐水, 给药体积均为 0.2ml/10g, 每日 1 次。各组小鼠连续灌胃给药 8d 后, 于末次给药后 1h 除空白对照组外, 其余各组小鼠均腹腔注射东莨菪碱 2mg/kg (造模), 空白对照组腹腔注射等体积 NS, 30min 后进行穿梭箱实验训练 (设定电刺激 1mA, 时间 15s, 蜂鸣 5s, 间隔 15s)。训练时先将小鼠放入穿梭箱适应环境 3min, 然后给予电刺激, 小鼠受到电刺激后逃到另一端, 蜂鸣及电刺激立即停止。每日训练 1 次, 每次 20 个循环, 共训练 7d。第 15~17 天进行测验, 记录小鼠主动逃避次数和遭受电刺激的时间。

1.4.2 跳台实验^[4-6] 取小鼠 70 只, 小鼠分组、给药、造模均同前。造模后 30min 进行跳台实验训练。训练时将小鼠放置在橡皮垫上, 适应环境 3min, 再接通 36V 电源。小鼠跳到铜栅上时即受到电击, 其正常反应是跳回安全区以躲避伤害性刺

激。但多数小鼠可能再次或多次跳至铜栅上, 受到电击后又迅速跳回安全区。如此训练 5min, 并记录每只小鼠受到电击的次数为错误次数。第 9 天 (24h 后) 灌胃后 1h, 重新测试小鼠记忆情况, 观察并记录小鼠首次从跳台上跳下的潜伏期及 5min 内错误次数, 作为记忆成绩。测试时若小鼠停留在平台上超过 5min, 其潜伏期以 300s 计。

1.4.3 水迷宫实验^[7] 取小鼠 70 只, 小鼠分组、给药、造模均同前。造模后 30min 进行水迷宫训练。第 9~10 天训练, 第 11~13 天测试且数据计为记忆成绩。第 9 天留 2 处盲端, 使小鼠从起点游到终点, 训练 2 次; 第 10 天留 3 处盲端, 依照第 9 天的方法训练 2 次; 第 11、12、13 天均设 4 个盲端。实验开始时将小鼠放在终点附近, 让其自行爬上安全平台 2 次, 后将小鼠头朝迷宫壁放在起点, 记录小鼠到达终点的时间 (潜伏期) 及错误次数 (进入盲端次数), 5min 内游不出者按 5min 计。若小鼠在规定时间内不能游至终点平台, 则帮助其游出, 并使其在终点停留 20s。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 11.0 软件。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析和 *t* 检验。

2 结果

2.1 穿梭箱实验

结果表明, 模型组小鼠主动逃避电击的能力明显下降, 与空白对照组比较, 模型组小鼠在一定时间内受到电击的时间明显延长 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 枸杞山茱萸 30g/kg 可以明显缩短小鼠遭受电击的时间 ($P < 0.01$), 枸杞山茱萸水煎液 15g/kg、7.5g/kg 也可缩短小鼠遭受电击的时间 ($P < 0.05$), 且两药合用效果更好。见表 1。

表 1 枸杞山茱萸水煎液对小鼠穿梭箱实验的影响 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	总电击时间 (s)
枸杞山茱萸组	30	23.2 ± 16.6**
	15	32.4 ± 15.9*
	7.5	38.3 ± 16.2*
枸杞组	15	36.1 ± 22.9*
山茱萸组	7.5	59.3 ± 21.2
空白对照组		42.0 ± 15.5*
模型组		73.1 ± 38.9

· 经方差分析, 两两比较: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 跳台实验

与空白对照组比较,模型组小鼠在跳台实验中的错误次数显著增加($P<0.01$),潜伏期缩短($P<0.05$);与模型组比较,枸杞山茱萸 30,15,7.5g/kg 可以使小鼠的记忆能力明显改善,表现为错误次数减少、潜伏期明显延长($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 枸杞山茱萸水煎液对小鼠跳台试验的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	错误次数(次)	潜伏期(s)
枸杞山茱萸组	30	1.0±0.8**	168±96**
	15	1.7±1.4*	136±101*
	7.5	1.1±1.2**	140±113*
枸杞组	15	2.7±1.7	73±111
山茱萸组	7.5	1.6±1.1*	126±103
空白对照组		1.0±0.9**	172±107*
模型组		4±2.5	41±42

经方差分析,两两比较:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

2.3 水迷宫实验

与空白对照组比较,模型组小鼠在水迷宫实验中进入盲端的次数即错误次数明显增加($P<0.05$),游完全程到达终点平台的潜伏期明显延长($P<0.05$);与模型组比较,枸杞山茱萸 30g/kg 明显减少小鼠的错误次数($P<0.05$),明显缩短小鼠的潜伏期($P<0.05$)。见表 3。

表 3 枸杞山茱萸水煎液对小鼠水迷宫试验的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	错误次数(次)	潜伏期(s)
枸杞山茱萸组	30	3.6±1.5*	71±29*
	15	6.7±3.0	101±54
	7.5	7.0±3.3	120±81
枸杞组	15	6.1±3.5	138±78
山茱萸组	7.5	5.8±1.9	133±73
空白对照组		3.5±2.3*	76±31*
模型组		6.5±4.0	144±86

经方差分析,两两比较:与模型组比较,* $P<0.05$

3 讨论

记忆障碍是衰老及老年性疾病常见的症状,发病机制相当复杂,涉及多系统、多环节的异常。已知中枢胆碱能神经系统和学习、记忆有着密切的关

系。东莨菪碱通过阻断脑内 M 受体干扰记忆和认知功能,现已广泛用于动物实验中建立认知功能损伤的动物模型,以验证药物的作用。本研究利用腹腔注射 2mg/kg 的东莨菪碱造成小鼠记忆获得障碍。

本研究结果证实,枸杞山茱萸(7.5~30g/kg)能改善东莨菪碱小鼠在穿梭箱实验中的主动回避反应障碍,使小鼠遭受电击时间缩短;能明显改善小鼠在跳台实验中的记忆再现缺失,使小鼠的跳台错误次数减少,潜伏期明显延长;30g/kg 的枸杞山茱萸能拮抗小鼠在水迷宫实验中的空间定向学习记忆障碍,表现为从起点到达终点平台的潜伏期缩短,进入盲端的错误次数减少,明显提高学习的记忆能力,且两药合用效果更好。

综上所述,本研究用 3 种行为学实验方法,证明枸杞山茱萸水煎液能很好改善记忆获得障碍模型小鼠的记忆功能。其作用机制可能与两药抗氧化作用相关^[8-9]。

参考文献:

[1] 郭兰忠. 现代实用中医学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:924-926.

[2] 郭兰忠. 现代实用中医学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2001:965-968.

[3] Dzau VJ. Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease; a unifying hypothesis[J]. Hypertension, 2001, 37(4):1047-1052.

[4] Lien EJ. Design and discovery of new drugs by stepping-up and stepping-down approaches[J]. Progr Drug Res, 1993, 40:163-189.

[5] 张均田. 学习、记忆实验法. 见徐叔云, 卞如廉, 陈修主编. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 826-827.

[6] Luo J, Yin JH, Wu HZ, et al. Extract from Fructus cannabis activating calcineurin improved learning and memory in the mice with chemical drug-induced dysmnesia[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(11):1137-1142.

[7] 王月华, 杜冠华. L-肉毒碱对 D-半乳糖衰老模型小鼠的作用[J]. 中国老年学杂志, 2003, 23(1):49-51.

[8] 王颖, 石庆华, 阿依古丽, 等. 新疆枸杞及枸杞三七复方有效成分的抗衰老作用[J]. 新疆农业大学学报, 2008, 31(1):85-89.

[9] 杨柳, 王明艳, 蔡宝昌. 山茱萸抗衰老研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(3):507-508.

(收稿日期 2011-01-05)