

- human liver cell [J]. *Tumor* (肿瘤), 2001, 21(3): 229-232.
- [5] Hussain R F, Nouri A M, Oliver R T. A new approach for measurement of cytotoxicity using colorimetric assay [J]. *J Immunol Methods*, 1993, 160(1): 8996.
- [6] Ahmad N, Feyes D K, Nieminen A L, *et al.* Green tea constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333: 1757.
- [7] Guo J X, Huang S Z, Zhang L S, *et al.* Effect of Chinese green tea polyphenols (GTP) on human liver cancer cell *in vitro* [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 1995, 14(6): 425-428.
- [8] Xie B F, Hao D L, Liu Z C, *et al.* The effects of tea polyphenol on DNA cleavage and cell cycle of human NPC cell line CNE2 cell [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 1999, 15(5): 424-427.
- [9] Luo F J, Hu Z, Deng X Y, *et al.* Tea polyphenols induce the activity of caspase-3 in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 2000, 19(12): 1082-1086.
- [10] Tan X H, Zhang Y L, Zhou D Y. EGCC induced apoptosis and expression change of bcl-2 protein in gastric and hepatic carcinoma cells [J]. *Chin J Cancer* (癌症), 2000, 19(7): 638-641.
- [11] Foldman J. Seminars in medicine of the Beth Isreal Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333: 1757.
- [12] Gasprini G, Harris A L. Clinical importance of the determination of tumor angiogenesis in breast carcinoma: much more than a new prognostic tool [J]. *J Clin Oncol*, 1995, 13(3): 765-782.

夏天无对小鼠学习记忆及脑内乙酰胆碱酯酶的影响

盛 瑞, 顾振纶, 蒋 航, 曹 奕*

(苏州大学医学院 药理教研室、苏州中药研究所, 江苏 苏州 215007)

摘 要: 目的 阐明夏天无制剂对记忆障碍小鼠的学习记忆功能及对小鼠脑内乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的影响。方法 以东莨菪碱造成小鼠记忆获得障碍和乙醇造成小鼠记忆再现障碍, 同时测定了小鼠脑内 AChE 的活性。结果 夏天无口服液及胶囊剂 0.5, 1, 2 mg/kg 对记忆障碍小鼠的学习记忆功能有不同程度的改善作用, 并可抑制小鼠脑内 AChE 活性。结论 夏天无口服液及胶囊剂能增强小鼠的学习记忆功能, 该作用可能与抑制 AChE 有关。

关键词: 夏天无; 学习记忆; 跳台法; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: R 285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)06-0543-03

Effects of *Rhizoma Corydalis Decumbentis* on learning and memory ability and brain acetylcholinesterase activity in mice

SHENG Rui, GU Zhen-lun, JIANG Hang, CAO Yi

(Department of Pharmacology, Suzhou Institute of Chinese Materia Medica, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China)

Key words: *Rhizoma Corydalis Decumbentis* (RCD); learning and memory ability; step down test; acetylcholinesterase (AChE)

阿尔茨海默病 (AD) 是严重危害老年人健康的疾病之一, 研究表明, 痴呆的发生与脑内神经递质的异常密切相关, 其中胆碱 (ACh) 系统尤为重要。胆碱能假说认为中枢胆碱系统功能下降导致认知功能受损。痴呆病人的认知能力受损程度与乙酰胆碱酯酶 (AChE) 活性相对增高及 ACh 的相对减少呈正相关, 而且胆碱能系统在认知功能的恢复中也起重要作用^[1]。

夏天无 *Rhizoma Corydalis Decumbentis* (RCD) 具有降压镇痉, 活血化瘀, 行气止痛功效。临床主要

治疗脑梗死, 周围神经损害性瘫痪, 腰椎间盘突出症, 坐骨神经痛, 关节腰腿等疼痛及中小学生的假性近视^[2]。但对老年性痴呆的作用未见报道。本实验从夏天无中提取有效部位, 筛选实验发现其体外有较强的 AChE 抑制作用, 推测可能对动物的学习记忆功能产生影响。为此本实验探讨其对小鼠学习记忆等脑功能的作用, 同时检测小鼠脑组织中 AChE 活性, 以期阐明该药的作用机制, 为临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药物与试剂: 夏天无口服液及胶囊剂由苏州中

* 收稿日期: 2002-10-05

基金项目: 苏州市科技局社会发展基金 (SS0126); 专利号: 02111103.0

作者简介: 盛 瑞 (1975—), 女, 江苏常州人, 苏州大学在读博士, 主要从事心血管药理研究。

Tel: (0512) 65190599 E-mail: sheng_rui@163.com

药研究所植化一室提供。夏天无口服液 10 mL/支, 含中间体 7.5 mg, 总碱含量为 0.54 mg/mL, 批号 011215。夏天无胶囊剂 75 mg/粒, 含中间体 7.5 mg, 总碱含量为 0.072 mg/mg, 批号 010910。双益平 (HupA) 由上海医科大学红旗制药厂提供, 批号 011001。氢溴酸东莨菪碱 (scoplamine, Scop) 购自上海禾丰制药有限公司, 批号 0112027。AchE 测定试剂盒 (批号 20020326), 考马斯亮蓝蛋白测定盒 (批号 20020326) 由南京建成生物工程公司提供。其他试剂均为分析纯。

1.2 动物: 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由苏州大学实验动物中心提供, 适应性饲养 2 d 后进入正式实验。

2 方法

2.1 分组及给药方法: 将小鼠随机分成空白对照组, 模型组, 双益平 0.4 mg/kg 组, 夏天无口服液组 (含夏天无中间体剂量 0.5, 1, 2 mg/kg), 夏天无胶囊组 (含夏天无中间体剂量 0.5, 1, 2 mg/kg)。各组小鼠按各自所配浓度 0.2 mL/10 g ig, 每天 1 次, 连续给药 15 d, 对照组及模型组 ig 等体积蒸馏水。

2.2 跳台实验方法: 参照文献方法^[3,4], 应用 XZC-5T 型小鼠跳台装置, 实验时将动物放在反应箱中, 适应 3 min, 然后通 36 V 电流, 动物受电击, 其正常反应是跳上平台, 如此训练 5 min。24 h 后测验, 记录 3 min 内错误次数及第一次跳下平台潜伏期。

2.3 东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍实验: 第 14 天给药后 1 h 训练, 训练前 15 min 模型组及各给药组 ip 东莨菪碱 2 mg/kg, 对照组 ip 等体积生理盐水。记录 24 h 后跳台测验成绩。

2.4 小鼠脑内 AchE 含量测定^[5,6]: 跳台实验后立即处死小鼠, 断头取脑, 按 1:9 于 PBS 液中制成 10% 脑匀浆, 在 4℃ 下 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液。按照 AchE 测定试剂盒说明书依次加入底物缓冲液和显色应用剂, 混匀, 37℃ 准确反应 6 min, 再依次加入抑制剂、透明剂和稳定剂, 混匀后放置 15 min, 测定 412 nm 波长下吸光度 (A) 值, 计算得脑匀浆内 AchE 含量。同时用考马斯亮蓝试剂盒测定脑匀浆内蛋白含量。用药后 AchE 抑制率按下列公式计算:

$$\text{抑制率} = (\text{模型组 } A - \text{用药组 } A) / \text{模型组 } A \times 100\%$$

2.5 乙醇致小鼠记忆再现障碍模型实验: 第 14 天给药后 1 h 训练, 24 h 后重新测试, 测试前 30 min, 除对照组 ig 等体积蒸馏水外, 模型组及各给药组均分别 ig 30% 乙醇 0.1 mL/10 g, 记录小鼠跳台实验

的记忆成绩。

2.6 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间 t 检验。

3 结果

3.1 夏天无对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的影响: 见表 1。东莨菪碱组和对照组相比, 错误次数显著增多, 跳台潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$)。不同浓度的夏天无口服液及胶囊剂组与东莨菪碱组比较, 可不同程度减少跳台错误次数及延长跳台潜伏期。夏天无 1 mg/kg 以上可显著改善学习记忆 ($P < 0.05$)。

表 1 夏天无对东莨菪碱造成记忆获得障碍小鼠跳台实验的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of RCD on Scop-induced memory disturbance in step-down test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/(mg \cdot kg^{-1})$	动物数	错误次数/次	潜伏期/s
对照	—	13	$0.38 \pm 0.51^{**}$	$150.0 \pm 49.0^{**}$
模型	—	13	1.46 ± 1.05	84.6 ± 65.2
双益平 口服液	0.4	12	$0.33 \pm 0.49^{**}$	$147.9 \pm 55.7^{**}$
	0.5	12	1.25 ± 1.36	97.4 ± 78.3
	1.0	12	$0.67 \pm 0.78^{*}$	125.8 ± 71.1
	2.0	12	$0.33 \pm 0.49^{**}$	$139.2 \pm 64.7^{*}$
胶囊剂	0.5	12	1.17 ± 0.98	95.2 ± 68.7
	1.0	13	$0.62 \pm 0.65^{*}$	125.0 ± 61.6
	2.0	13	$0.46 \pm 0.52^{**}$	$136.2 \pm 55.0^{*}$

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

3.2 夏天无对小鼠脑内 AchE 活性的影响: 见表 2。口服液及胶囊剂给药 15d 后, 可显著降低脑内

表 2 夏天无对东莨菪碱造成记忆获得障碍小鼠脑内 AchE 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of RCD on AchE activity in Scop-induced memory impairment mice brain ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $/(mg \cdot kg^{-1})$	动物数	AchE 含量 $/(U \cdot mg^{-1})$	抑制率/%
对照	—	13	$0.827 \pm 0.308^{**}$	—
模型	—	13	0.857 ± 0.197	—
双益平 口服液	0.4	12	$0.645 \pm 0.202^{*}$	24.41
	0.5	12	$0.695 \pm 0.122^{*}$	18.57
	1.0	12	$0.636 \pm 0.261^{*}$	25.48
	2.0	12	$0.599 \pm 0.146^{**}$	29.79
胶囊剂	0.5	12	$0.676 \pm 0.235^{*}$	21.42
	1.0	13	$0.651 \pm 0.253^{*}$	23.68
	2.0	13	$0.588 \pm 0.249^{**}$	31.09

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

AchE 活性 ($P < 0.05$), 夏天无口服液 0.5, 1, 2 mg/kg 对 AchE 抑制率分别为 18.57%, 25.48%, 29.79%; 夏天无胶囊剂 0.5, 1, 2 mg/kg 对 AchE 抑制率分别为 21.42%, 23.68%, 31.09%。

3.3 夏天无对乙醇致小鼠记忆再现障碍的影响: 见

表 3。乙醇组和对照组相比, 错误次数显著增多, 跳台潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$)。不同浓度的夏天无口服液及胶囊剂组与乙醇组比较, 可不同程度减少跳台错误次数及延长跳台潜伏期。夏天无 1 mg/kg 以上可显著改善小鼠学习记忆能力 ($P < 0.05$)。

表 3 夏天无对乙醇造成记忆再现障碍小鼠跳台实验的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of RCD on ethanol induced memory retrieval balk in step-down test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (mg · kg ⁻¹)	动物数	错误次数/ 次	潜伏期/ s
对 照	—	12	0.25 ± 0.45**	149.42 ± 66.03**
模 型	—	12	2.83 ± 1.95	54.83 ± 55.77
双益平 口服液	0.4	12	2.25 ± 2.05	69.58 ± 70.69
	0.5	11	1.36 ± 1.63	73.36 ± 62.38
	1.0	11	1.27 ± 0.90*	93.36 ± 65.44
胶囊剂	2.0	11	0.64 ± 0.81**	131.27 ± 70.50**
	0.5	11	1.73 ± 1.85	94.55 ± 80.95
	1.0	11	1.27 ± 1.85	116.36 ± 78.87*
	2.0	12	0.73 ± 1.27**	133.64 ± 68.89**

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

4 讨论

中枢胆碱能系统是学习记忆的重要生理基础, 人衰老过程及血管性痴呆病程中伴有的记忆减退主要是由于胆碱能系统的全面衰退^[1], 脑内 Ach 含量降低, AchE 活性升高, 胆碱乙酰转移酶活性降低, M 和 N 胆碱受体数量减少均可能造成学习记忆障碍。东莨菪碱是中枢 M 胆碱受体拮抗剂, 可阻断 M₁ 和 M₂ 受体, 降低海马中乙酰胆碱含量, 使记忆形成过程发生障碍^[7], 本实验中小鼠 ip 2 mg/kg 东莨菪碱出现了明显的记忆障碍, 而夏天无制剂可明显

拮抗东莨菪碱引起的小鼠记忆获得障碍, 并能显著降低小鼠脑内 AchE 的活性, 提示夏天无可能是一种 AchE 抑制剂, 而其促智作用的原理是通过影响中枢胆碱能神经系统的功能实现的。

乙醇影响记忆的机制较复杂, 涉及到脑内蛋白质、RNA、胆碱能及多巴胺等方面^[8], 所以很难作出进一步分析。至于夏天无改善学习记忆的确切作用机制, 有待进一步研究。

综上所述, 夏天无具有显著的促智作用。夏天无可能作为一种治疗老年性痴呆的新药应用于临床。

References:

[1] Bartus R T, Dean R L, Beer B, *et al.* The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction [J]. *Science*, 1982, 217: 408.

[2] Chen R, Yang S H, Tang X L. Advances in the studies on *Corydalis decumbentis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(2): 948-949.

[3] Xu S Y, Bian R L, Chen X, *et al.* *Experimental Methods in Pharmacology* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.

[4] Zhang Y, Zhang H Y, Li W P, *et al.* Effects on Anjufu on increase intelligence [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1995, 11(3): 233-236.

[5] Cheng W S, Xu J P, Li L, *et al.* Studies on nootropic activity and mechanism of emodin-8-O-β-D-glucopyranoside [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(1): 39-41.

[6] Liu T, Bian H M, Liu X F. Influence of modified SANJIA-SAN on balk of study and memory disturbance of mice induced by scopolamine [J]. *China J Basic Med Tradit Chin Med* (中国中医基础医学杂志), 1999, 5(2): 18-20.

[7] Bymster F P, Health I, Hendrix J C, *et al.* Comparative behavioral and neurochemical activities of cholinergic antagonist in rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1993, 267: 16-24.

[8] Gerhard F. Chronic central nervous system toxicity of alcohol [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1973, 13: 217-235.

活血化瘀注射液对急性重型胰腺炎大鼠 小肠 CD11b/ CD18 表达的影响

张艳军¹, 金 华¹, 赵连根², 吴咸中^{2*}

(1. 天津中医学院 中药系, 天津 300193; 2. 天津市中西医结合急腹症研究所, 天津 300100)

活血化瘀注射液 (HHI-) 可改善犬肠、胰腺的血液动力学, 并证实与抑酶注射液 (YHI) 合用能延长急性重型胰腺炎 (SAP) 家兔存活时间, 提高存活率^[1,2]。HHI- 可抑制 SAP 大鼠白细胞在肠系

膜毛细血管后静脉的滚动、粘附^[3], 笔者推测可能对 SAP 病理生理过程中白细胞内皮细胞相互作用有影响。白细胞与内皮细胞粘附以及经内皮迁移需要粘附分子的表达, 为揭示 HHI- 对粘附分子

* 收稿日期: 2002-10-12