

龟龄集对衰老引起的学习记忆功能障碍的改善作用

赵思俊^{1,2}, 赵晓喆¹, 柳花兰³, 高晓霞¹, 田俊生¹, 张 蕙², 秦雪梅^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西省食品药品检验所, 山西 太原 030001

3. 山西广誉远国药有限公司, 山西 晋中 030800

摘要: **目的** 探讨龟龄集对衰老引起的学习记忆功能障碍的改善作用。**方法** 分别应用 *D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠模型和自然衰老大鼠模型, 考察龟龄集对小鼠跳台实验和大鼠 Morris 水迷宫等学习记忆功能指标的改善作用, 同时考察其对大鼠胸腺、脾脏、睾丸、附睾脏器指数和血液生化指标的影响。**结果** 龟龄集能显著延长模型小鼠的跳台潜伏期 ($P < 0.05$), 明显减少 5 min 内的错误次数 ($P < 0.05, 0.01$)。龟龄集能够缩短自然衰老大鼠定位航行逃逸潜伏期 ($P < 0.01$), 延长空间探索象限滞留时间 ($P < 0.05, 0.01$), 增加进入平台次数 ($P < 0.05$); 能够增加睾丸、胸腺、脾脏指数 ($P < 0.05$), 降低血清中丙氨酸转氨酶 (ALT) 水平 ($P < 0.05$)。**结论** 龟龄集具有明显改善衰老引起的学习记忆功能减退的作用, 同时在提高免疫、改善生殖、保护肝脏方面也具有一定的作用。

关键词: 龟龄集; *D*-半乳糖; 自然衰老大鼠; 学习记忆功能; 脏器指数

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)22-5352-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.22.020

Effects of Guilingji on improving learning and memory dysfunction caused by aging

ZHAO Si-jun^{1,2}, ZHAO Xiao-zhe¹, LIU Hua-lan³, GAO Xiao-xia¹, TIAN Jun-sheng¹, ZHANG Hong², QIN Xue-mei¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine of Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001, China

3. Shanxi Guangyuyuan Chinese Medicine Co., Ltd., Jinzhong 030800, China

Abstract: Objective To explore the effects of Guilingji on improving learning and memory dysfunction caused by aging. **Methods** The mouse model of subacute aging caused by *D*-galactose and the rat model of natural aging were used respectively to imitate learning and memory dysfunction caused by aging. The effects of Guilingji on improving of learning and memory function index were focused in the diving platform experiment and the Morris water maze experiment. At the same time, the effect of that on rat organ index and blood biochemical index were investigated. **Results** Guilingji can significantly prolong step down latency ($P < 0.05$) and reduce the number of errors within 5 min ($P < 0.05, 0.01$) of the model mice. It can shorten positioning navigation escape incubation period ($P < 0.01$), extend the space exploration quadrant retention time ($P < 0.05, 0.01$), and increase the number of access to the platform ($P < 0.05$). Guilingji can increase testicular, thymus and spleen index ($P < 0.05$) and reduce the ALT content in serum ($P < 0.05$). **Conclusion** Guilingji can obviously improve the impairment of learning and memory function caused by aging. It also has some good effects on enhancing immunity, improving reproductive capacity, and protecting liver.

Key words: Guilingji; *D*-galactose; natural aging rats; learning and memory function; organ index

龟龄集在我国有近 500 年的应用历史^[1-2], 其处 誉为中药炮制的活化石。龟龄集具有强身补脑、固 方精妙, 是目前仅存的“炉鼎升炼”工艺品种, 被 肾补气、增进食欲之功效, 临床用于肾亏阳弱、记

收稿日期: 2018-03-22

基金项目: 山西省科技重点研发计划 (201603D3113006); 山西省科技创新重点团队 (201605D131045-18); 山西省重点实验室 (201605D111004)

作者简介: 赵思俊 (1982—), 男, 山西太原人, 在读博士研究生, 主管药师, 研究方向为中药药理与毒理。

Tel: (0351)2021925 E-mail: zsj4429731@163.com

*通信作者 秦雪梅, 女, 博士研究生导师, 教授, 研究方向为中药质量标准及代谢组学研究。Tel: (0351)7011501 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

忆减退、夜梦精溢、腰痠腿软、气虚咳嗽、五更泄、食欲不振等症。龟龄集在现代临床及药理实验研究中多集中于男科领域,包括少弱精子症、勃起功能障碍等^[3-4],但龟龄集对学习记忆功能方面的影响鲜有文献报道,尤其是其对由生理性衰老引起的学习记忆功能障碍的研究未见报道。

自然衰老大鼠模型能全面反映衰老的病理生理状态,而D-半乳糖致亚急性衰老大鼠模型因具有与自然衰老相似的学习记忆功能下降、神经损伤等表现,也被广泛用于抗衰老药物的研究^[5-11]。本研究分别以D-半乳糖致亚急性衰老小鼠和自然衰老大鼠为动物模型,以吡拉西坦为阳性对照药,选取与学习记忆功能相关的跳台实验、Morris水迷宫行为学为观察指标,考察龟龄集对衰老引起学习记忆功能障碍的改善作用;同时选取与免疫、生殖相关的脏器指数,与保护肝脏相关的血清生化等指标,考察龟龄集改善学习记忆功能的同时对衰老机体免疫、生殖和肝脏等系统的影响,为其临床合理用药提供依据,也为其改善衰老引起的记忆功能障碍的作用机制研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

龟龄集(批号20151108,山西广誉远国药有限公司),临用前采用纯化水配制成混悬液;吡拉西坦片(批号1603403,济南利民制药有限责任公司)。

总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、葡萄糖(GLU)、总蛋白(TP)、碱性磷酸酶(ALP)、丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、白蛋白(ALB)试剂盒,上海华臣生物试剂有限公司;0.9%氯化钠注射液(批号A15081705-1,河南科伦药业有限公司);乌拉坦(批号20160726,质量分数≥98.0%,国药集团化学试剂有限公司);D-半乳糖(批号NZPMN-HQ,质量分数>97.0%,东京化成工业株式会社)。

1.2 仪器

PRIME60i全自动生化仪(Thermo Fisher公司);ME204/02电子天平[梅特勒托利多仪器(上海)有限公司];WMT 100 Morris水迷宫(成都泰盟软件有限公司);SDT-8跳台实验视频分析系统(成都泰盟软件有限公司);KDC-1042低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

1.3 实验动物

健康雄性ICR小鼠(体质量18~20 g)、健康雄性SD大鼠均购自中国人民解放军军事医学科学

院实验动物中心,动物许可证号SCXK(军)2012-0004,质量合格证号:小鼠0002963,23月龄大鼠0034282,4月龄大鼠0023521。SPF级动物房饲养,温度(23±2)℃,相对湿度(50±10)%,自由摄食饮水、节律照明,所用大、小鼠实验前均适应1周。

1.4 分组与给药

60只小鼠按体质量随机分为6组,每组10只,分别为对照组,模型组,龟龄集高(400 mg/kg)、中(200 mg/kg)、低(100 mg/kg)剂量组,阳性对照药吡拉西坦(0.72 g/kg)组,除对照组外,其余各组小鼠每日上午颈背部sc 500 mg/kg的D-半乳糖溶液,每日1次,连续8周。造模的同时,从第5周开始各组ig给予相应的药物10 mL/kg,连续4周,对照组和模型组给予等体积纯化水。

50只23月龄自然衰老大鼠按体质量随机分为5组,每组10只,分别为模型组,龟龄集高(150.0 mg/kg)、中(75.0 mg/kg)、低(37.5 mg/kg)剂量组,阳性对照药吡拉西坦(0.48 g/kg)组,10只4月龄青年大鼠作为对照组。各组大鼠ig给予相应的药物5 mL/kg,连续4周,对照组和模型组大鼠给予等体积纯化水。

1.5 学习记忆行为功能测定

1.5.1 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠跳台实验 实验第55天将小鼠放入跳台反应箱内适应环境3 min,然后放置于反应箱内的铜栅上,立即通以36 V的交流电。小鼠受到电击,其正常反应是跳回平台,以躲避伤害性刺激。如此训练5 min为学习阶段。24 h后重新测验,将小鼠放在平台上,记录5 min内小鼠跳下平台的错误次数和第1次跳下平台的潜伏期。

1.5.2 自然衰老大鼠Morris水迷宫实验 Morris水迷宫由直径150 cm、高70 cm的圆形水池组成,水池被等分为4个象限,平台位于第二象限的中间,水中加入钛白粉使其浑浊,水面高于平台表面1~2 cm,水温控制在(24.0±0.5)℃,实验过程采用视频跟踪分析系统进行记录。参照文献方法进行试验^[12-14]。①定位航行实验:实验第24~27天进行训练,训练时随机选择1个象限将大鼠放入水中,分别记录每只大鼠从入水至寻找到潜伏平台的时间(逃逸潜伏期)。无论大鼠在60 s内能否找到平台,均让其在平台上站立15 s,每天训练4次。②空间探索实验:实验第28天将平台移走,将大鼠放入水中,分别记录每只大鼠60 s内穿越原平台所在位置

的次数和原平台所在象限的滞留时间。

1.6 自然衰老大鼠血清生化指标的测定

自然衰老大鼠 Morris 水迷宫实验结束后, ip 20%乌拉坦溶液 5 mL/kg, 腹主动脉采血, 静置 30 min 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 采用全自动生化仪测定血液生化指标 TC、TG、GLU、TP、ALP、ALT、AST、ALB。

1.7 自然衰老大鼠免疫、生殖脏器指数的测定

自然衰老大鼠采血完毕后, 解剖取胸腺、脾、睾丸、附睾等脏器, 剔除脂肪和结缔组织, 称质量, 并计算脏器指数(脏器指数=脏器质量/体质量)。

1.8 数据统计

采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析, 数据

采用 ANOVA 分析, 组间有差异者进一步采用 LSD 检验。

2 结果与分析

2.1 对 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠跳台实验的影响

由图 1 可见, 与对照组比较, 模型组小鼠的潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$), 错误反应次数明显增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 龟龄集高剂量、吡拉西坦能显著延长小鼠跳台潜伏期 ($P < 0.05$), 龟龄集高、中、低剂量和吡拉西坦能明显减少 5 min 内小鼠的错误次数 ($P < 0.05$ 、 0.01)。表明龟龄集能够改善 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠的学习记忆能力, 且与阳性对照药吡拉西坦作用相当。

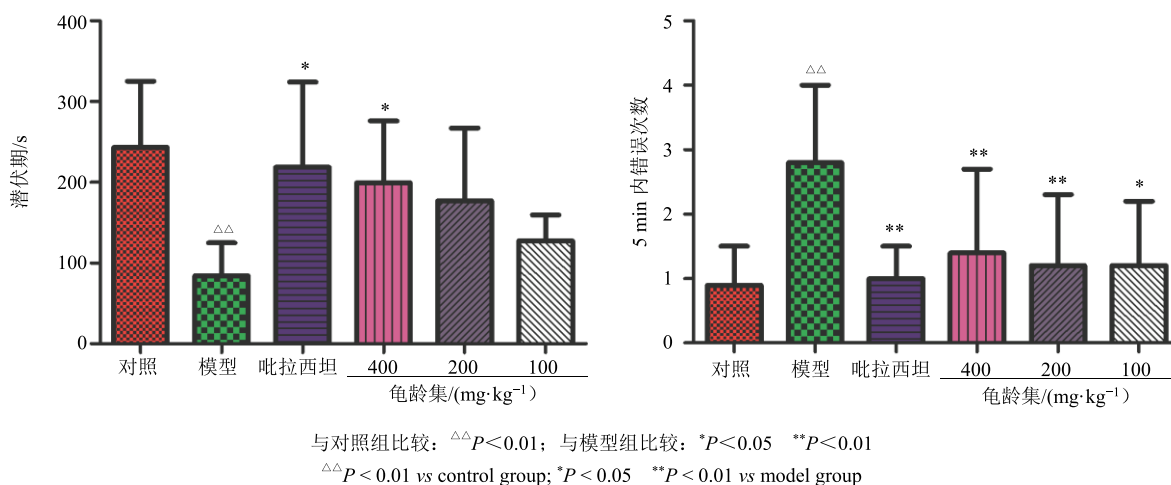


图 1 龟龄集对 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠跳台实验的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of Guilingji on step down test of D-galactose induced sub-aging mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

2.2 对自然衰老大鼠 Morris 水迷宫行为学的影响

2.2.1 定位航行实验 由图 2 可知, 与对照组比较, 模型组大鼠定位航行逃逸潜伏期从训练第 2 天起显著延长 ($P < 0.01$); 龟龄集各剂量组大鼠随着训练时间的推进定位航行逃逸潜伏期缩短, 龟龄集高剂量组和吡拉西坦组训练第 4 天能定位航行逃逸潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$)。各组大鼠训练第 4 天的典型游泳热力图如图 3 所示, 对照组大鼠以最短的时间找到平台, 而模型组大鼠则表现为在池中沿池壁寻找平台, 不能确定平台的确切位置, 龟龄集高剂量组和吡拉西坦组大鼠寻找平台的模式明显优于模型组, 龟龄集中、低剂量组大鼠寻找平台模式略逊, 但最终均确定了平台的位置。

2.2.2 空间探索实验 由图 4 可知, 与对照组比较, 模型组大鼠空间探索象限滞留时间和平台进入次数

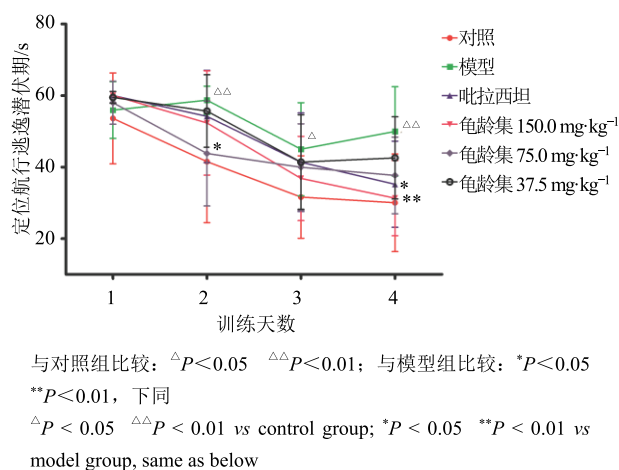


图 2 龟龄集对自然衰老大鼠 Morris 水迷宫定位航行的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Effects of Guilingji on Morris water maze positioning navigation of natural aging rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

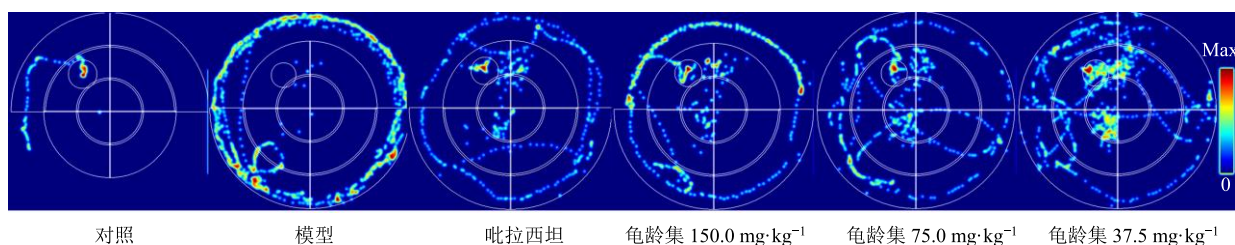
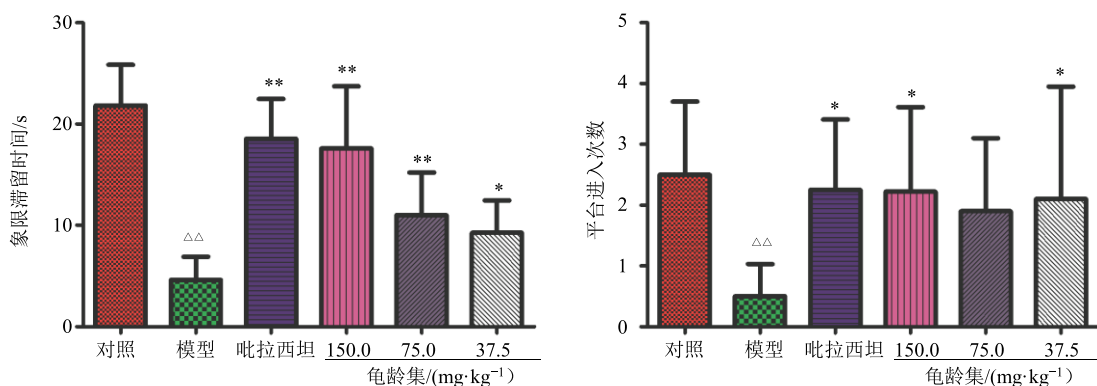


图 3 各组大鼠 Morris 水迷宫训练第 4 天定位航行典型游泳热力图

Fig. 3 Typical swimming heat map of Morris water maze positioning navigation of rats in 4th day in each group

图 4 龟龄集对自然衰老大鼠 Morris 水迷宫空间探索的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Fig. 4 Effects of Guilingji on Morris water maze space exploration of natural aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

显著减少 ($P < 0.01$); 龟龄集高、中、低剂量和吡拉西坦能显著延长大鼠空间探索象限滞留时间 ($P < 0.05, 0.01$); 龟龄集高、低剂量和吡拉西坦能显著增加平台进入次数 ($P < 0.05$)。表明龟龄集能够改善自然衰老大鼠的学习记忆能力, 且与阳性对照药吡拉西坦作用相当。

2.3 对自然衰老大鼠血清生化指标的影响

龟龄集对自然衰老大鼠血清生化指标的影响如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 ALT、AST 和 TC 水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), GLU、

ALB 和 ALP 水平显著降低 ($P < 0.01$), TP 和 TG 水平各组间均无明显变化。龟龄集中剂量能显著降低大鼠血清中 ALT 水平 ($P < 0.05$)。

2.4 对自然衰老大鼠免疫、生殖脏器指数的影响

龟龄集对自然衰老大鼠免疫、生殖等脏器指数的影响如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠的胸腺指数和脾脏指数显著下降 ($P < 0.01$), 表明自然衰老大鼠的免疫器官发生了衰退, 导致免疫功能减退。给药后, 龟龄集中剂量能显著提高衰老大鼠的胸腺指数和脾脏指数 ($P < 0.05$), 提示其具有增

表 1 龟龄集对自然衰老大鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Effects of Guilingji on serum biochemical indexes of natural aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	血清生化指标							
		ALT/ (U·L ⁻¹)	AST/ (U·L ⁻¹)	ALB/ (g·L ⁻¹)	ALP/ (U·L ⁻¹)	TP/ (g·L ⁻¹)	GLU/ (mmol·L ⁻¹)	TG/ (mmol·L ⁻¹)	TC/ (mmol·L ⁻¹)
对照	—	52.3±18.5	207.1±63.1	34.7±1.5	110.3±16.3	62.1±2.6	12.51±1.51	0.54±0.10	1.52±0.28
模型	—	85.1±36.5 [△]	293.9±60.1 ^{△△}	31.3±2.2 ^{△△}	79.8±20.4 ^{△△}	62.4±3.4	9.78±0.88 ^{△△}	0.78±0.15	2.32±0.36 ^{△△}
吡拉西坦	480.0	82.3±45.7	304.1±75.3	30.2±2.8	82.1±15.0	62.7±4.0	9.65±2.85	0.77±0.31	2.11±0.77
龟龄集	150.0	62.0±28.4	294.3±32.5	33.0±2.2	86.6±20.0	64.9±1.2	9.74±1.02	0.75±0.23	2.31±0.46
	75.0	42.1±10.5*	283.9±52.7	31.4±1.4	82.2±16.7	64.8±2.7	10.65±1.61	1.03±0.29	2.71±0.60
	37.5	58.6±22.5	274.9±73.4	31.2±2.5	79.2±14.7	63.7±3.8	10.08±3.30	0.95±0.40	2.69±0.57

表 2 龟龄集对自然衰老大鼠免疫、生殖脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Effects of Guilingji on indexes of immune and reproductive organs of natural aging rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	免疫系统		生殖系统	
		胸腺指数	脾脏指数	睾丸指数	附睾指数
对照	—	0.066±0.020	0.146±0.041	0.764±0.068	0.332±0.038
模型	—	0.018±0.008 ^{△△}	0.105±0.018 ^{△△}	0.416±0.172 ^{△△}	0.180±0.031 ^{△△}
吡拉西坦	480.0	0.028±0.013	0.118±0.026	0.476±0.080	0.191±0.027
龟龄集	150.0	0.030±0.014	0.124±0.024	0.549±0.080*	0.202±0.024
	75.0	0.039±0.010*	0.139±0.028*	0.475±0.133	0.206±0.040
	37.5	0.037±0.013*	0.109±0.018	0.466±0.081	0.191±0.039

强免疫功能的作用。与对照组比较,模型组大鼠的睾丸指数、附睾指数均显著下降($P < 0.01$),表明随着衰老的推进,生殖器官开始萎缩,生理机能开始下降。龟龄集高剂量能显著提高睾丸指数($P < 0.05$),提示这可能与龟龄集的补肾阳虚作用有关。

3 讨论

衰老是机体各系统功能随着年龄的增长而发生的退行性改变,是机体生理、病理过程和生化反应的综合体现,是体内各种综合因素共同作用的结果^[15-16]。认知功能障碍是衰老的主要表现之一,其中学习记忆能力是认知功能的重要组成部分,已被大量研究所证实存在增龄性衰退现象^[17]。跳台实验和 Morris 水迷宫均是测试和评价模型鼠学习记忆能力的经典指标^[18-19]。

在衰老理论中,免疫功能发挥着重要的作用。机体主要的免疫器官胸腺和脾脏,其脏器指数在一定程度上反映了机体免疫功能的强弱。多项研究均报道了其对抗免疫功能的影响^[20],同时,有研究表明^[21]衰老与性腺结构和功能的退化密切相关,且可引起认知功能减退,故实验考察了龟龄集对自然衰老大鼠胸腺、脾脏、睾丸、附睾脏器指数的影响。

本研究结果显示,龟龄集能显著延长亚急性衰老小鼠跳台潜伏期,明显减少 5 min 内错误次数,明显缩短自然衰老大鼠定位航行逃逸潜伏期,显著增加空间探索象限滞留时间和平台进入次数,显著提高衰老大鼠的胸腺、脾脏、睾丸指数,显著降低衰老大鼠血清中 ALT 水平,提示龟龄集能明显改善衰老引起的学习记忆功能减退,同时在提高免疫、改善生殖、保护肝脏方面均具有较强的作用。

吡拉西坦为 γ -氨基丁酸的衍生物,近年来作为阳性对照药多被应用于延缓脑衰老的实验研究中,其抗脑衰老作用不仅在于具有修复因脑衰老而损伤

的基因 DNA 效应,而且可能选择性作用于海马、纹状体等^[22-23]。本研究中,龟龄集高剂量组小鼠跳台潜伏期、5 min 内错误次数以及大鼠 Morris 水迷宫定位航行逃逸潜伏期、空间探索象限滞留时间和平台进入次数均与吡拉西坦组相近,表明龟龄集改善记忆方面与吡拉西坦作用相当。而龟龄集同时具提高免疫、保护肝脏等方面的作用,吡拉西坦均无明显作用,表明龟龄集抗衰老作用更为全面。

文献报道龟龄集还具有一定的保肝作用,对四氯化碳致急性肝损伤模型小鼠和甲状腺机能减退症大鼠肝细胞均具有保护作用,因此本研究对血清 ALT、AST、ALB、ALP、TC、TP 等肝功能指标进行测定,以考察龟龄集对衰老引起的肝功能障碍的影响,同时选择血清 GLU 和 TG 考察自然衰老大鼠血糖和血脂情况^[24-25]。研究结果显示,自然衰老大鼠血清中 ALT、AST 和 TC 含量显著升高,ALB 和 ALP 显著降低,肝功能受到严重损伤,给予龟龄集干预后,能不同程度回调肝功能各项指标,特别是龟龄集中剂量能显著降低衰老大鼠的 ALT 含量,验证了龟龄集的保肝作用。

本研究采用 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠模型和自然衰老大鼠模型对龟龄集改善学习记忆功能进行了初步研究,同时考察了其对抗大鼠免疫、生殖和肝脏功能的影响,为进一步开展龟龄集改善学习记忆功能和增强免疫药理作用机制研究奠定了基础。

后续研究中,在改善学习记忆方面,围绕神经生物化学机制,可进一步探讨龟龄集对自然衰老大鼠大脑海马区的组织形态变化及 Bax、Bcl-2 和胆碱酯酶含量的影响,从代谢通路调控方面采用系统生物学方法探讨其改善学习记忆功能的可能作用机制;在提高免疫功能方面,可采用小鼠脾淋巴细胞转化实验和迟发型变态反应实验,考察龟龄集对细

胞免疫功能的影响,采用抗体生成细胞检测和血清溶血素测定,考察龟龄集对体液免疫功能的影响,采用小鼠碳廓清实验和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬荧光微球实验,考察龟龄集对单核-巨噬细胞功能的影响。

参考文献

- [1] 赵晓喆,赵思俊,田俊生,等.基于药效作用的龟龄集物质基础研究进展[J].中草药,2017,48(7): 1424-1431.
- [2] 李科,赵思俊,秦雪梅,等.基于中药保密品种开发策略的龟龄集二次开发思路[J].世界科学技术—中医药现代化,2014,16(11): 2493-2499.
- [3] 胡森安,贾宁,吴惠强,等.龟龄集胶囊联合腹针对弱精症患者精子活动力的影响[J].国际检验医学杂志,2017,38(9): 1243-1245.
- [4] 梁棉胜,胡军,刘小波.龟龄集胶囊治疗勃起功能障碍的疗效观察[J].实用中西医结合临床,2011,19(5): 14-16.
- [5] 周玉枝,闫明亮,高丽,等.衰老动物模型的研究及其在抗衰老药物活性筛选中的应用[J].中草药,2017,48(6): 1061-1071.
- [6] 赵凡凡,周玉枝,高丽,等.D-半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展[J].药学学报,2017,52(3): 347-354.
- [7] 常艳芬,宫文霞,郑艳红,等.黄芩醇提取物干预D-半乳糖致衰老大鼠的尿液代谢组学研究[J].药学学报,2017,52(3): 347-354.
- [8] 王珂欣,高丽,段丹丹,等.基于¹H-NMR代谢组学的黄芩素干预D-半乳糖致衰老大鼠作用研究[J].中草药,2017,48(3): 511-518.
- [9] Zhou Y Z, Yan M L, Gao L, et al. Metabonomics approach to assessing the metabolism variation and gender gap of *Drosophila melanogaster* in aging process [J]. *Exp Gerontol*, 2017, doi: 10.1016/j.exger.2017.07.020.
- [10] Gao L, Duan D D, Zhang J Q, et al. A bioinformatic approach for discovery of the anti-aging effects of baicalein from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Rejuvenation Res*, 2016, 19(5): 414-422.
- [11] Duan D D, Wang K X, Zhou Y Z, et al. Baicalein exerts beneficial effects in D-galactose induced aging rats through attenuation of inflammation and metabolic dysfunction [J]. *Rejuvenation Res*, 2017, 20(6): 506-516.
- [12] Zou W, Yuan J, Tang Z J, et al. Hydrogen sulfide ameliorates cognitive dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats: Involving suppression in hippocampal endoplasmic reticulum stress [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38): 64203-64216.
- [13] Aski M L, Rezvani M E, Khaksari M, et al. Neuroprotective effect of berberine chloride on cognitive impairment and hippocampal damage in experimental model of vascular dementia [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(1): 53-58.
- [14] 向绍通,徐书雯,肖豪,等.栀子苷通过ERK1/2-Nrf2通路发挥对A β 25-35诱导的阿尔兹海默病大鼠模型神经保护作用[J].华中科技大学学报:医学版,2018,47(1): 27-32.
- [15] 吴祺,吕静.从肾延缓衰老的新思路[J].贵阳中医学院学报,2016,38(6): 79-82.
- [16] Martin G M. The biology of aging: 1985-2010 and beyond [J]. *FASEB J*, 2011, 25(11): 3756-3762.
- [17] 李林子,胡文敏,唐靓,等.柠檬苦素对自然衰老大鼠抗氧化和学习记忆能力的影响[J].中国食品卫生杂志,2016,28(1): 22-27.
- [18] 张丽君,张丽霞,王郝莹,等.二甲双胍对小鼠衰老过程中学习记忆能力的影响[J].中国比较医学杂志,2017,27(12): 33-38.
- [19] David P, Taylor A M, Christopher B, et al. Searching for cognitive enhancement in the Morris water maze: Better and worse performance in D-amino acid oxidase knockout (Dao^{-/-}) mice [J]. *Eur J Neurosci*, 2016, 43(7): 979-989.
- [20] 景晓杨,雷燕,修成奎.人参三七川芎提取物对衰老大鼠免疫器官及行为学的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(22): 184-187.
- [21] Wilson R S, Aggarwal N T, Barnes L L, et al. Cognitive decline in incident Alzheimer disease in a community population [J]. *Neurology*, 2010, 74(12): 951-955.
- [22] 谢展雄,吴建伟,吴铁松,等.吡拉西坦对D-半乳糖致衰老模型大鼠脑组织超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响[J].中国药房,2009,20(19): 1459-1460.
- [23] 姚惠,顾丽佳,郭建友.黄芪多糖改善老年大鼠的学习记忆水平及其机制研究[J].中国中药杂志,2014,39(11): 2071-2075.
- [24] 刘亚明,冯前进,牛欣,等.龟龄集防治大鼠急性肝损伤的实验研究及机理探讨[J].中华中医药杂志,2002,17(5): 280-282.
- [25] 刘亚明.龟龄集抗CCl₄肝损伤实验研究[J].中成药,1992,14(2): 31-32.