夏天无总生物碱对东莨菪碱及 D-半乳糖所致大鼠学习记忆障碍的影响

邓湘平, 顾振纶, 谢梅林*

(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 研究夏天无总生物碱对东莨菪碱及 D-半乳糖致学习记忆障碍大鼠行为学的影响。方法 大鼠连续 ig 夏天无总生物碱 15 d 后, 对东莨菪碱造成记忆获得障碍大鼠进行“Y”型电迷宫和 Morris 水迷宫行为学检测; D-半乳糖 sc 6 周, 夏天无总生物碱给药 5 周后进行“Y”型电迷宫行为学检测。结果 在“Y”型电迷宫行为学检测中, 夏天无总生物碱用药组 [0.5-4 mg/(kg·d)] 大鼠学习记忆成绩较模型组均有显著的提高 ($P < 0.05$); Morris 水迷宫行为学检测中, 夏天无总生物碱用药组 [0.25-1.0 mg/(kg·d)] 大鼠对撤去平台的记忆成绩较模型组大鼠有显著的提高 ($P < 0.05$)。结论 夏天无总生物碱对东莨菪碱及 D-半乳糖造成的两种学习记忆获得障碍大鼠的学习记忆能力均有明显的改善作用。

关键词: 夏天无总生物碱; 学习记忆障碍; 东莨菪碱; D-半乳糖

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)04-0350-03

Effects of total alkaloids from *Rhizoma Corydalis Decumbentis* on scopolamine and D-galactose-induced learning and memory impairment in rats.

DENG Xiang-ping, GU Zhen-lun, XIE Mei-lin

(Department of Pharmacology, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China)

Key words total alkaloids from *Rhizoma Corydalis Decumbentis* (TARCD); learning and memory impairment; scopolamine; D-galactose

随着人类进入老龄化社会, Alzheimer 症已成为危害人类健康的主要疾病之一。为此, 许多药物研究者正在致力于开发疗效确切、毒副作用低的抗 Alzheimer 症的理想药物。中药夏天无 *Rhizoma Corydalis Decumbentis* 及其提取物具有抗心律失常、镇痛、扩张血管平滑肌、抗血小板凝集等广泛的药理作用。为验证其是否同时具有改善 Alzheimer 症患者学习记忆能力的作用, 本实验使用夏天无总生物碱进行动物行为学实验, 为其进一步的实验研究与临床应用提供依据。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂: 夏天无总生物碱为苏州中药研究所提供的夏天无总生物碱溶液 (总生物碱含量为 77.06%), 批号: 011215 阳性对照药双益平 (石杉碱甲, huperzine-A) 由上海医科大学红旗制药厂生产, 批号: 020101, 使用时用蒸馏水配成 0.02 mg/mL。东莨菪碱 0.3 mg/mL 针剂, 上海禾丰制药公司产品, 批号: 0112027。D-半乳糖为 Sigma 公司产

品, 使用前用生理盐水配成 50 mg/mL 溶液。

1.2 动物: SD 大鼠, 雄性, 体重 (150±30) g 由苏州大学实验动物中心提供, 合格证: 苏动 19980008 号, 清洁级。随机分组后适应性饲养 2 d, 恢复平稳状态后进入正式实验, 对饮食和饮水不作严格限制。

1.3 仪器: “Y”型电迷宫, 江苏沙洲县三兴声电公司生产; Morris 水迷宫, 中国协和医科大学产品。

2 方法

2.1 分组及给药: SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、双益平组、夏天无总生物碱 3 个剂量给药组, 每组 12 只, 每只 ig 给药 10 mL/(kg·d), 双益平对照组按 0.2 mg/kg 给药, 正常对照、模型组分别给予等体积的蒸馏水。在东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学实验中, 给药 15 d 后进行“Y”型电迷宫行为学检测。第 1 天行为学实验前 0.5 h 除正常对照组外, 其余大鼠均按 2 mg/kg 一次性地 ip 东莨菪碱^[1]。在东莨菪碱造成记忆获得障碍大鼠 Morris 水迷宫行为学检测实验中, 给药 15

* 收稿日期: 2002-09-23

基金项目: 苏州市 2001 年科技发展计划项目 (SS0126); 发明专利申请号: 02111103.0

作者简介: 邓湘平 (1972-), 男, 苏州大学医学院药理学教研室、苏州中药研究所硕士研究生, 主要从事抗老年性痴呆药物的研究。
Tel (0512) 65190599 E-mail dxp300@shou.com

d后进行 Morris 水迷宫行为学检测,在第 1~ 6天训练阶段,行为学实验前 0.5 h 除正常对照组外,每只大鼠按 0.3 mg/kg ip 东莨菪碱,第 7天在撤去平台的记忆实验前 0.5 h 除正常对照组外,每只大鼠按 2 mg/kg 一次性地 ip 东莨菪碱^[1]。在 D-半乳糖致学习记忆障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学实验中,模型组、双益平组、夏天无总生物碱给药组大鼠实验开始时,每日按 50 mg/kg sc 10% D-半乳糖^[2],正常对照组每日 sc 等体积生理盐水 (1 mL/kg),连续 7 d 后,开始夏天无总生物碱及双益平 ig 给药。给药后,按原法继续 sc 10% D-半乳糖 5 周后,即 D-半乳糖造模 6 周后,开始采用“Y”型电迷宫检测药物对大鼠学习能力的影

2.2 行为学检测

2.2.1 “Y”型电迷宫行为学检测:按文献进行^[1,3,4]。东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠“Y”型电迷宫法行为学检测中,固定起步区和安全区,凡大鼠受电击后从起步区直接逃至左侧臂安全区为正确反应,否则为错误反应。实验分 2 d 进行,每只大鼠第 1 天训练 15 次,记录正确次数 (R/15) 及达到连续 2 次正确所需的电击次数作为学习成绩。次日,每只大鼠检测 12 次,记录正确次数作为记忆成绩。在 D-半乳糖致学习记忆障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学检测中,前一次试验的安全区为下一次试验的起步区。对大鼠进行为期 5 d 每天 10 次的训练,分别记录 50 次中正确的次数,达到连续两次正确所需的电击次数,并记录达到 10 次试验 9 次正确的标准所需的次数。如果未达到标准的大鼠在第 5 天 50 次试验结束后继续训练,直至达标。休息 7 d 后进行记忆能力检测,每只大鼠共检测 15 次,大鼠在起步区在延迟期未受电击直接逃到安全区得 2 分,受电击后直接逃到安全区得 1 分,否则不得分,以总得分作为记忆成绩

2.2.2 Morris 水迷宫法行为学检测:实验装置为一高度 60 cm 直径 120 cm 的不锈钢圆形水池通过摄像机与电脑连接,实验时水深约 40 cm,加入鲜牛奶使水面呈白色;水池分四个象限,在第一象限正中处放一平台,平台低于水面约 3 cm,实验前大鼠头部染成黑色以便摄像机分辨,实验时使水温保持 (22±1)℃。每次大鼠从离平台最远处两点入水,摄像机记录大鼠游泳的轨迹,通过图象处理软件分析实验结果。实验共进行 7 d,在正式实验前一天每只大鼠在水池中自由游泳 2 min 以适应环境。实验时记录大鼠从入水至爬上平台的时间,并使其在平台

站立休息 10 s,每次实验持续 70 s,若 70 s 后未找到平台,便引导大鼠至平台并在平台上站立 10 s。每只大鼠每天检测两次,第 2 次在第 1 次结束 10 min 后从与第 1 次不同入水点入水。第 7 天撤去平台,检测大鼠在原平台象限游泳时间,每次实验持续 60 s,记录动物在原平台象限游泳时间作为记忆成绩。

2.3 统计学处理:实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析 F 检验

3 结果

3.1 东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学检测:15 次的学习成绩检测中,双益平组及夏天无总生物碱各用药组的正确次数均较模型组大鼠正确次数显著增加 ($P < 0.05$),记忆成绩亦显示同样的结果。结果见表 1

表 1 夏天无总生物碱对东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of TARCD on praxiology of impaired memory acquiring rats induced by scopolamine with Y-electronic maze ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 (mg·kg ⁻¹)	连续两次正确所需电击次数	15次训练的 正确次数	记忆成绩 正确次数
正常	-	14.83±5.25	8.92±1.68	9.83±1.59
模型	-	33.33±11.07	4.67±2.50	5.50±2.67
双益平	0.2	18.83±6.35	8.08±2.23	8.17±1.99
夏天无	0.5	19.08±7.09	7.92±2.07	8.50±1.45
	1.0	18.42±5.92	8.25±2.83	9.25±2.14
	2.0	18.17±6.34	8.42±1.83	8.75±1.71

与模型组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs model group

3.2 东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠 Morris 水迷宫行为学检测:东莨菪碱 0.3 mg/kg ip 不能增加模型组大鼠找到平台的时间,6 d 的游泳训练实验中,各组大鼠找到平台的潜伏期无明显差异。而在东莨菪碱 2 mg/kg 一次性 ip 后的撤去平台的记忆实验中,正常组及各用药组大鼠均表现在原平台象限游泳时间较长,差异有统计学意义。结果见表 2

3.3 D-半乳糖致学习记忆障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学检测:模型组大鼠不仅在总共 50 次训练中正确次数较正常组、双益平组及各用药组次数明显减少,达到连续两次正确时所需电击次数明显增多,而且在达到 10 次试验 9 次正确的标准所需的试验次数明显增多;在记忆成绩测试中,各用药组大鼠的得分较模型组大鼠显著增高。结果见表 3

4 讨论

在面对 Alzheimer 症 (AD) 这一世界性医学难题时,现在许多药物研究者开始把目光转向中国的

表 2 夏天无总生物碱对东莨菪碱致记忆获得障碍大鼠 Morris水迷宫行为学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$) s

Table 2 Effects of TARCD on praxiology of impaired memory acquiring rats induced by scopolamine with Morris water maze ($\bar{x} \pm s, n=12$) s

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	第 1天	第 2天	第 3天	第 6天	记忆成绩
正常	-	52.56±10.23	43.34±8.76	31.36±7.54	12.35±4.56	26.24±5.41
模型	-	55.73±12.32	45.2±9.45	33.79±7.36	13.64±5.23	17.30±4.61
双益平	0.2	54.65±13.45	45.63±11.35	32.58±8.69	14.37±6.45	23.85±5.66
夏天无	0.25	56.92±13.21	46.32±10.32	35.45±9.32	14.78±6.78	21.59±2.52
	0.5	53.76±14.35	45.63±9.87	30.54±10.63	11.75±6.34	22.35±3.32
	1.0	57.42±15.32	46.67±13.12	34.39±9.43	14.32±5.87	23.2±5.01

与模型组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs model group

表 3 夏天无总生物碱对 D-半乳糖致记忆获得障碍大鼠“Y”型电迷宫行为学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 3 Effects of TARCD on praxiology of impaired learning and memory rats induced by D-galactose with Y-electronic maze ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	连续两次正确所需电击次数	50次中正确次数	9/10正确所需次数	记忆成绩 / 分
正常	-	14.55±8.31	37.73±5.93	27.36±10.15	27.1±1.7
模型	-	31.82±15.91	23.9±9.87	48.73±14.39	19.9±4.3
双益平	0.2	20.45±8.76	33.82±7.35	34.18±11.29	28.1±2.1
夏天无	1	21.27±7.73	32.55±6.09	33.00±11.76	27.5±2.3
	2	21.73±9.13	32.45±8.49	33.9±14.47	26.8±1.4
	4	19.55±8.88	34.55±7.62	31.64±14.24	26.8±2.6

与模型组比较: * P < 0.05

* P < 0.05 vs model group

中医中药,但由于中药产地、药材品质等因素使中药治疗效果差异性很大。研究中药提取有效部位及单体是条行之有效的途径,石杉碱甲就是一个成功的例子^[5]。中药夏天无及其提取物有抗心律失常、镇痛、扩张血管平滑肌、抗血小板凝集以及保肝等作用^[6,7]。这些作用对大多数老年患者是极为有益的,如果能验证其能提高AD患者的学习记忆能力,在应用其治疗AD的同时,也对AD患者伴随的其他老年性疾病如高血压、脑梗死等起着很好的治疗和预防作用。在本实验条件下,我们首次证实夏天无总生物碱对AD的学习记忆功能障碍有改善作用,我们另外实验初步表明其可能的作用机制为抑制脑内过高的胆碱酯酶及促进脑内蛋白合成。

在研究抗AD的药物时,实验动物模型的选择至关重要。在此,我们选择了两个比较成熟的实验动物模型,即东莨菪碱及D-半乳糖所致大鼠学习记忆障碍的两种模型。为尽量减少人为判断带来的主观性误差,我们使用了配有摄影装置及电脑图象处理功能的Morris水迷宫,而在“Y”型电迷宫实验中我们不仅记录了通用的正确次数(或错误次数),还记录了达到某一标准的电击次数及所需的试验次数,从而从不同方面来增加实验的准确性。在实验中还发现不同的大鼠对电击的反应、记忆的程度不一样,表现

为有些大鼠一进入迷宫立即逃至安全区,而有些大鼠却只有在受到电击后才逃至安全区。为了更客观地反映实验结果,在记忆能力测试中,我们首次引入了评分制,即大鼠一进入迷宫立即逃至安全区者每次得2分,而受到电击后才逃至安全区者每次得1分,错误者每次得0分。这是我们期望能更客观地准确记录大鼠行为学实验数据的探索。

References

[1] Zhang J T. *Modern Methodology in Pharmacological Experiment* (现代药理实验方法) [M]. Beijing: Beijing University of Medical Science & Peking Union Medical College United Press, 1998.

[2] Zhang X, Li W B, Zhang B L. Biochemical event of subacute intoxication in rat induced by D-galactose [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1990, 4 (4): 309-310.

[3] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

[4] Ji S L, Chi Y Q, Zhang T M. Experimental research of DHA improving rats' memory [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 1996, 15 (4): 22-24.

[5] Ma Q, Ma C. A mechanism research on effective components of Chinese herb curing Alzheimer's disease [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (4): 243-246.

[6] Deng M, Song X Y, Wang J F. Progress in studies on pharmacological effect of protopin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (3): 275-276.

[7] Huang Y H, Zhang Z Z, Jiang J X. Effect of relaxing smooth muscle by protopin [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1991, 12 (1): 16-19.