

枢抑制作用,大剂量则可能表现出较弱的中枢兴奋作用。另一个值得注意的现象是,除大剂量(100 mg/kg) E 外,PE、ES 和 PES 均使小鼠表现出自主活动减少的现象,这似乎与前面拮抗戊巴比妥钠催眠作用相悖。有文献表明,动物在受到某些刺激产生惊厥之前会有一段静止状态的潜伏期^[4,5],可能本实验记录自主活动的时间正好落在其中枢兴奋之前的潜伏期内,也可能药物中枢兴奋作用强度尚未达到使动物自主活动增加的程度。而较大剂量的 E、PE 和 ES 与阈下剂量的戊四氮、烟碱和印防己毒素有协同作用的实验结果一方面支持以上推测,另一方面也提示它们的中枢兴奋作用机制可能与多种神经系统的功能有关,至少与 γ -氨基丁酸(GABA)能神经及 N 胆碱能神经有关。PES 未表现出与以上致惊剂有协同作用的结果及其在小剂量时表现的与戊巴比妥钠催眠协同作用的结果均提示 PES 无明显的

中枢兴奋作用,这与 PE 对中枢的兴奋作用不尽相同。而 ES 具有和 E 相似的中枢兴奋作用。产生这种现象的具体原因及它们对中枢神经系统的作用机制尚待进一步研究。

References

- [1] He R S. A hundred year history of ephedrine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1986, 21(8): 488-491.
- [2] Wu G R, Wang X W. The pharmaceutical study of pseudoephedrine salicylate (I): analgesic action, anti-inflammation and the stimulation on the gastric mucosa [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2000, 24(2): 107-110.
- [3] Wu G R, Wang X W. The pharmaceutical study of pseudoephedrine salicylate (II): antipyretic action and the effects on heart rate, blood pressure and histamine-induced allergic reactions [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2000, 24(4): 238-241.
- [4] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [5] Jiang Y X, Peng J Z. The effect of convulsion produced by pirenzepine in mice [J]. *J Ningxia Med* (宁夏医学院学报), 1995, 17(4): 301-333.

何首乌提取物对高胆固醇血症大鼠学习记忆及血脂的影响

赵玲¹, 李雅莉¹, 靳洪涛², 李林^{1*}

(1. 首都医科大学宣武医院 药理研究室, 北京脑老化重点实验室, 北京 100053; 2. 中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所 新药安全评价中心, 北京 100050)

阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD) 是痴呆中最常见的一种, 以记忆、语言和其他认知功能的进行性障碍为特征。近年来, 越来越多的证据显示胆固醇在 AD 发病过程中起着直接作用^[1], 现代研究表明, 中药何首乌具有抗氧化、调血脂等作用, 本室制备的何首乌提取物(主要含二苯乙烯苷)经前期研究表明, 具有改善拟 AD 动物模型学习记忆能力, 促进神经营养因子及受体的表达等作用。本实验用高胆固醇饲料长期喂养 Wistar 大鼠, 建立高胆固醇血症大鼠模型^[2], 同时用何首乌提取物对本模型进行药物干预, 观察其对动物学习记忆功能及血脂的影响。

1 材料

1.1 动物及饲料: Wistar 大鼠, 雄性, 体重 160~180 g, SPF 级, 由首都医科大学实验动物中心提供, 许可证号: SYXK-11-00-0047。高胆固醇饲料由

88.7% 普通鼠饲料, 1% 胆固醇, 10% 猪油和 0.3% 胆酸钠组成, 北京九江口饲料厂提供。

1.2 药品与试剂: 何首乌提取物[含二苯乙烯苷(2, 3, 5, 4-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside) 70%, TSG], 由本室自行研制提取工艺, 委托中国医药研究开发中心加工, 批号 020823。舒降之片(辛伐他汀), 杭州默沙东制药有限公司提供, 批号 02120。胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 测定试剂盒, 由首都医科大学首医临床科技中心提供。

1.3 仪器: Morris 水迷宫及分析软件, 由中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所提供; 400 R 低温离心机, 德国 Heraeus 产品; Selectra-E 全自动生化测定仪, 荷兰威图产品。

2 方法

2.1 动物模型的建立及分组给药: Wistar 大鼠, 雄性, 随机分为普通饲料对照组 (15 只) 和高胆固醇

* 收稿日期: 2004-02-05

基金项目: 首都二四八重大创新工程项目 (H010210130113); 国家重点基础研究发展计划“973”项目 (G2000057010); 北京市中医药重点学科项目 (2001); 北京市自然科学基金资助项目 (7032013); 北京市科技新星计划项目 (H020821390190); 首都医学发展基金项目 (2002-3002)

* 通讯作者 Tel: (010) 63013355-28816 (010) 63132779

饲料喂养组 (90 只), 饲喂 2 周后, 以体重为依据, 将高脂饲料喂养大鼠分为高脂模型组、TSG 3 个剂量 (0.03、0.06、0.12 g/kg) 组和阳性对照药舒降之 (0.002 g/kg) 组, 每组 18 只, 继续按前述方法饲喂, 同时 ig 给药, 对照组和模型组 ig 同体积蒸馏水, 每天 1 次, 8 周后开始进行行为学实验, 10 周后禁食 16 h, 股动脉放血, 测血脂水平。

2.2 大鼠 Morris 水迷宫实验^[3]

2.2.1 定位航行试验: 试验共历时 4 d, 每天训练 2 次, 所选入池位置分别为站台所对及相邻象限, 将大鼠于象限边缘 1/2 弧度处头朝池壁入水, 同时摄像机开始记录。记录大鼠找到站台的时间 (逃避潜伏期) 和游泳路径。如大鼠在 120 s 内未找到站台者, 潜伏期记为 120 s。

2.2.2 空间探索试验: 第 5 天上午撤除平台将大鼠从任意的非平台象限, 面向池壁放入水中, 记录 2 min 内大鼠在池中的游泳路径, 然后, 分析大鼠在平台象限游泳路径长度占总路径长度的百分比。

2.3 血清总胆固醇 (TC) 的测定: 按国产试剂法, 取 10 μL 血清加 1.0 mL 试剂 (批号 030801),

37 反应 10 min, 以试剂空白校零, 520 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。计算 TC 水平。

$$TC (mmol/L) = A_{\text{标本}} / A_{\text{标准}} \times \text{标准浓度}$$

2.4 血清 LDL-C 的测定: 按国产试剂法, 取 4 μL 血清加 300 μL 试剂 (批号 030509), 37 反应 5 min, 加 100 μL 试剂, 37 保温 5 min, 以试剂空白校零, 600 nm 波长处测定 A 值, 计算 LDL-C 水平。

$$LDL-C (mmol/L) = A_{\text{标本}} / A_{\text{标准}} \times \text{标准浓度}$$

2.5 统计学方法: 各组数据均采用 SPSS 统计软件包处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 对高胆固醇血症大鼠 Morris 水迷宫游出时间及游出距离的影响: Morris 水迷宫实验反映了动物的空间学习记忆能力。定位航行试验中, 模型组大鼠的逃避潜伏期和游出距离较正常组明显延长; 空间探索试验中, 模型组大鼠在平台象限游泳路径长度占总路径长度的百分比也较正常组明显缩短; 表明高胆固醇血症可引起动物的学习记忆障碍, 各给药组可明显改善模型大鼠的学习记忆能力, 结果见表 1、图 1。

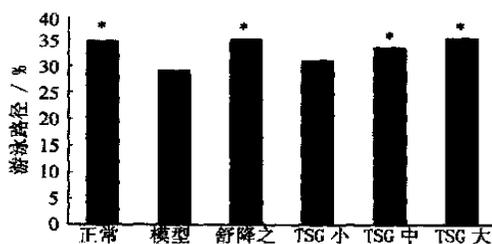
表 1 TSG 对高胆固醇血症大鼠 Morris 水迷宫实验的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of TSG on Morris water maze test in hypercholesterolem ic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g · kg ⁻¹)	动物 / 只	逃避潜伏期/s				游出距离/cm			
			第 2 天	第 3 天	第 4 天	平均值	第 2 天	第 3 天	第 4 天	平均值
正常	-	13	41.16 ± 20.14*	13.77 ± 13.93**	20.52 ± 20.29*	27.98 ± 36.01**	1 010.83 ± 448.16*	417.77 ± 458.36*	539.42 ± 514.19	732.06 ± 903.10**
模型	-	18	65.42 ± 34.53	32.24 ± 22.35	38.28 ± 22.15	45.31 ± 44.05	1 540.98 ± 802.91	863.49 ± 575.28	949.09 ± 594.58	1 117.85 ± 1 062.62
TSG	0.03	17	30.40 ± 27.52*	20.92 ± 15.62	18.30 ± 17.57**	23.21 ± 29.24**	796.89 ± 714.88*	617.38 ± 398.79	474.22 ± 465.86*	635.73 ± 756.15**
	0.06	17	34.91 ± 17.87*	21.87 ± 19.83	9.18 ± 7.72**	21.98 ± 27.94**	904.29 ± 386.28*	581.65 ± 499.47	235.54 ± 201.84*	573.93 ± 685.77**
	0.12	17	55.50 ± 32.61	23.61 ± 18.46	12.58 ± 9.35**	30.56 ± 36.40**	1 375.00 ± 781.18	629.00 ± 483.73	302.35 ± 195.84*	768.78 ± 894.80*
舒降之	0.002	17	34.68 ± 24.31*	23.72 ± 19.88	17.79 ± 24.42*	27.38 ± 32.34**	877.77 ± 526.23*	581.97 ± 423.22	397.24 ± 540.51*	660.94 ± 720.50**

与模型组比较: *P < 0.05 **P < 0.01

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



与模型组比较: *P < 0.05

*P < 0.05 vs model group

图 1 TSG 对高胆固醇血症大鼠空间探索试验的影响

Fig 1 Effects of TSG on spatial probe test in hypercholesterolem ic rats

3.2 对高胆固醇血症大鼠血脂的影响: 高脂大鼠血清 TC、LDL-C 较正常大鼠明显升高, TSG 各剂量组均能明显降低 TC 和 LDL-C, 见表 2。

表 2 TSG 对高胆固醇血症大鼠血脂的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of TSG on blood lipids of hypercholesterolem ic rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g · kg ⁻¹)	动物 / 只	血脂	
			TC / (mmol · L ⁻¹)	LDL-C / (mmol · L ⁻¹)
正常	-	13	2.81 ± 0.21**	0.43 ± 0.07**
模型	-	17	6.64 ± 0.27	1.42 ± 0.08
TSG	0.03	15	5.94 ± 0.43	1.20 ± 0.12
	0.06	14	5.77 ± 0.19*	1.19 ± 0.06*
	0.12	14	5.65 ± 0.31*	1.13 ± 0.10*
舒降之	0.002	17	5.78 ± 0.25*	1.16 ± 0.08*

与模型组比较: *P < 0.05 **P < 0.01

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

4 讨论

AD 是一种以学习记忆功能障碍为主症的神经系统退行性疾病, 其典型的病理改变为老年斑

(SP)、神经原纤维缠结 (NFT) 及神经元丢失。目前 AD 的确切发病机制尚不清楚, 其病因可能是多源性的, 包括基因异常、代谢失调、脑血管因素、环境因素等。近年研究表明, 胆固醇与 β 淀粉样蛋白 (amyloid beta-protein, A β) 相互作用, 在 AD 的发病机制中起着重要作用^[2]。本实验采用长期喂饲高胆固醇饲料的方法建立了高胆固醇血症大鼠, 发现大鼠长期喂饲高胆固醇饲料后, 可出现高胆固醇血症和学习记忆障碍, 表现为在 Morris 水迷宫的定位航行试验中, 模型组的逃避潜伏期和游出距离较正常组明显延长, 空间探索试验中, 模型组大鼠在平台象限游泳路径长度占总路径长度的百分比也较正常组明显缩短, 血清 TC 和 LDL-C 升高, 表明高胆固醇血症可引起动物的学习记忆障碍。

本实验表明, TSG 可明显改善模型大鼠的学习记忆能力, 降低血清 TC、LDL-C 水平, 说明 TSG 可改善高胆固醇血症引起的学习记忆障碍, 其作用机制与降低血清 TC、改善脂质代谢等作用有关。本研究为 TSG 临床治疗 AD 提供了实验依据。

References:

- [1] Michikawa M. The role of cholesterol in pathogenesis of Alzheimer's disease: dual metabolic interaction between amyloid beta-protein and cholesterol [J]. *Mol Neurobiol*, 2003, 27(1): 1-12.
- [2] Refolo LM, Malester B, La Francois J, et al. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model [J]. *Neurobiol Dis*, 2000, 7(4): 321-331.
- [3] Morris R. Developments of a water maze procedure for studying spatial learning on the rat [J]. *J Neurosci Methods*, 1984, 11: 47-60.

染料木素对大鼠生殖毒性的实验研究(III) 围产期毒性

许建宁¹, 王全凯¹, 崔涛¹, 罗玉妹¹, 王四旺^{2*}

(1. 中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050; 2. 第四军医大学药物研究所, 陕西 西安 710032)

染料木素系从豆科植物槐角 *Sophora japonica* L. 的干燥成熟果实中提取的异黄酮单体成分, 是具有弱雌激素样作用又非雌激素类化合物, 称之为植物雌激素。流行病学调查、动物实验和临床观察均发现, 异黄酮通过抑制骨吸收和促进骨形成过程, 维持骨代谢的动态平衡, 有效地预防骨质疏松^[1,2]。鉴于染料木素是治疗骨质疏松症的有效药物, 为了保证其安全使用, 本实验对其进行了大鼠的围产期毒性试验。

1 材料与方法

1.1 药物: 染料木素由第四军医大学药物研究所提供, 纯度 > 98%。用蒸馏水将其配成混悬液。

1.2 动物: 三级健康 Wistar 大鼠, 由中国药品生物制品检定所实验动物中心提供, 京动许字(2000)第 017 号。动物饲养于中国预防医学科学院二级动物室(医动字第 01-4018 号), 室内温度为 24~26℃, 相对湿度为 40%~60%; 喂饲军事医学科学院实验动物中心提供的清洁级繁殖鼠料[京许字(2000)013 号]; 动物进入动物室后适应环境 1 周。

1.3 试验方法^[1,2]: 健康 Wistar 雄、雌性大鼠各 84 只, 体重分别为 280~300 g 和 185~205 g。大鼠按 1:1 合笼, 合笼时间不超过 5 d, 以查到阴栓确定为交配成功, 计为妊娠第 0 天。将孕鼠随机分为 4 组, 溶剂对照组和 3 个给药组, 分别 ig 5 mL/kg 蒸馏水和 16、160、480 mg/kg 染料木素。从妊娠第 15 天至哺乳第 28 天, 每日 1 次, 连续 ig 给药。仔鼠断乳后, 处死母鼠 (F0 代)。仔鼠 (F1 代) 生长至 28 d 断乳时, 处死部分动物, 且各组均保留 19 窝, 每窝保留 F1 代雌、雄仔鼠各 2 只 (2 对)。

1.4 观察指标^[1-3]

1.4.1 观察母鼠每天的饮水、摄食等一般状况, 记录母鼠妊娠期、哺乳期的体重变化、受孕率、死亡率、妊娠分娩时间、产仔数、胎仔性别比例、胎仔的外观畸形等。记录母鼠主要脏器(心、肺、脾、肝、肾、子宫)的质量并检查内脏畸形。

1.4.2 观察仔鼠一般生活状况。记录仔鼠出生存活率、哺乳存活率; 28 d 断乳时部分动物主要脏器(心、肺、脾、肝、肾、睾丸/子宫)的质量并检查内脏

* 收稿日期: 2004-01-08

作者简介: 许建宁(1968—), 女, 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事化学物致突变、致癌机制和化学物安全性评价方面的研究及检测工作, 专长为遗传毒理学。Tel: (010) 83132918 E-mail: Xujianning@yahoo.com