

葛根总黄酮对小鼠记忆行为的影响^{*}

禹志领¹ 张广钦¹ 赵红旗² 吕建锋

(中国药科大学中药研究所,¹药理研究室,南京 210038

河南省平顶山市药品检验所,平顶山 467000)

摘要 在避暗法实验中,小鼠 po 葛根总黄酮 400, 800, 1200 mg/kg 连续 7 d,能够对抗东莨菪碱、亚硝酸钠、乙醇、氮气吸入、双侧颈总动脉阻断再灌注引起的记忆障碍;500,1000 mg/kg 连续 po 42 d,可显著改善 D-半乳糖所致亚急性衰老小鼠的记忆功能。在 Y 形迷宫试验中,po 葛根总黄酮 400,800,1200 mg/kg 还可剂量依赖性地对东莨菪碱引起的自主选择能力降低。

关键词 葛根总黄酮;记忆;避暗法;Y 形迷宫

葛根总黄酮是中药葛根的主要有效成分。药理研究报道,葛根水煎剂对小鼠学习记忆功能有促进作用^[1],在跳台法实验中葛根总黄酮及醇提物对东莨菪碱和乙醇引起的记忆障碍有对抗作用,醇提物尚能对抗东莨菪碱所致的大鼠操作式条件反射的抑制及小鼠大脑皮层和海马乙酰胆碱含量降低及海马胆碱乙酰转移酶活性降低^[2]。本文应用避暗法及迷宫法探讨葛根总黄酮对小鼠记忆行为的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物 ICR 雄性小鼠,18~22 g,用于亚急性衰老造模试验;雄性昆明种小鼠 25~30 g,用于其余试验,均由本校动物房提供。

1.2 药品与试剂

葛根为野葛 *Pueraria lobata* (Wild) O-hwi 干燥根,购自南京市药材公司,本校生药研究室周铜水博士鉴定。聚酰胺吸附法制备葛根总黄酮 (Puerariae isoflavone, PIF) 东莨菪碱 (Scopolamine, Scop),上海天丰制药厂,890902 D-半乳糖 (D-galactose, D-gala),上海试剂二厂,921212 尼莫地平 (Nimodipine,

NIM),天津中央制药厂,950210 脑复康 (Racetam, PIR),杭州民生药厂,950313 亚硝酸钠 (NaNO₂),无水乙醇 (EtOH)均为南京化学试剂厂产品。

1.3 仪器

一次性被动回避反射仪,中国中医研究院中药研究所产品 Y 形迷宫,参考文献尺寸制做^[3],每臂长 40 cm,高 12 cm,底部宽 3.5 cm,顶部宽 10 cm,相邻两臂间角度相等。

1.4 避暗法

参考文献法^[4]进行。刺激电压 40 V,训练时潜伏期小于 3 s 及大于 30 s 者,弃之不用。训练 24 h 后测验,以测验潜伏期作为记忆能力的大小。测验时限 300 s,潜伏期大于 300 s 者按 300 s 计。潜伏期按 Wilcoxon-Mann-Whitney 法统计处理。

1.5 迷宫法

依文献法^[5]将小鼠分别放入 Y 形迷宫中,让其自由出入三个臂,记录 8 min 内每只小鼠进入三个臂的总次数 (N) 及顺序。以连续进入三个不同的臂为一个选择,以选择数除以 (N-2),乘以 100% 即得选择率。用选择率反映自主选择能力 (短时记忆能力) 的大小。如小鼠进入 A B C 三个臂的顺序为

* 收稿日期 1997-04-17

ACBBAC,那么其选择率为 $2 \div (6 - 2) \times 100\% = 50\%$ 。选择率以组间 t -检验进行统计。

所有实验都在 8 30至 12 30进行,室温 $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$,湿度 40% ~ 50%,保证安静

2 结 果

2.1 对 Scop所致记忆障碍的影响

小鼠随机分为 6组,连续 po给药 7 d,对照组与模型组 po等容积自来水,于 d6进行避暗训练,训练前 0.5 h参考文献法^[4]造型组及给药组 ip Scop 0.5 mg/kg,对照组 ip等容积生理盐水 训练后 24 h测验各鼠潜伏期。结果如表 1所示,造型组与对照组相比,潜伏期明显缩短,造成了记忆障碍,葛根总黄酮 (400, 800, 1000 mg/kg)剂量依赖性地对抗 Scop的这种作用。脑复康 (1000 mg/kg)也有效

Tab 1. Influence of PIF on Scop- induced memory deficit($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose, mg /kg \times d		n	Latency, s
	Drug, po	Scop, ip		
Control			15	204.2 \pm 116.2 ^{***}
Model		0.5 \times 1	16	34.9 \pm 31.8
PIF	400 \times 7	0.5 \times 1	16	90.6 \pm 71.7 [*]
	800 \times 7	0.5 \times 1	16	141.9 \pm 137.8 [*]
	1200 \times 7	0.5 \times 1	15	190.1 \pm 168.4 ^{***}
PIR	1000 \times 7	0.5 \times 1	15	162.2 \pm 110.3 ^{***}

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

2.2 对 NaNO₂所致记忆障碍的影响

小鼠分组 测试同上,只是用 NaNO₂于训练后立即 sc 120 mg/kg复制记忆障碍模

Tab 3. Influence of PIF on EtOH induced amnesia ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose		n	Latency, s
	Drug, mg /kg \times d, po	30% EtOH, ml/10g \times d, po		
Control			20	151.9 \pm 106.9 ^{***}
Model		0.1 \times 1	20	21.4 \pm 14.3
PIF	400 \times 7	0.1 \times 1	19	118.8 \pm 106.0 [*]
	800 \times 7	0.1 \times 1	18	142.5 \pm 116.7 [*]
	1200 \times 7	0.1 \times 1	20	158.2 \pm 128.4 [*]
	1000 \times 7	0.1 \times 1	20	142.3 \pm 126.1 [*]

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

型^[4]。对照组 sc等容积生理盐水。结果葛根总黄酮三个剂量均能非常显著地对抗 NaNO₂所致的记忆障碍,效果与尼莫地平相当。见表 2

Tab 2. Effect of PIF on NaNO₂ induced amnesia($\bar{x} \pm s$, n= 15)

Group	Dose, mg /kg \times d		Latency, s
	Drug, po	NaNO ₂ , sc	
Control			195.0 \pm 131.5 ^{***}
Model		120 \times 1	24.1 \pm 15.2
PIF	400 \times 7	120 \times 1	130.3 \pm 89.4 ^{***}
	800 \times 7	120 \times 1	160.5 \pm 101.1 ^{***}
	1200 \times 7	120 \times 1	194.1 \pm 114.9 ^{***}
NIM	30 \times 7	120 \times 1	152.5 \pm 88.5 ^{***}

*** $P < 0.01$ vs model group

2.3 对 EtOH所致记忆再现障碍的影响

小鼠分组,测试同上,于测验前 0.5h用 30% EtOH po 0.1 ml/10 g造成记忆再现障碍^[4]。对照组 po等容积自来水,结果(表 3)三个剂量的葛根总黄酮及脑复康均能明显改善 EtOH引起的记忆再现障碍。

2.4 对吸入 N₂缺氧所致记忆障碍的影响

分组 测试同上 给药的第 5天,模型及给药组按文献法^[6]将小鼠分别放于一干燥器内,充入 N₂,小鼠躺倒不能翻起时立即取出放入新鲜空气中让其恢复。对照组不吸 N₂ d6避暗训练,d7测验。结果葛根总黄酮 1200 mg/kg可显著对抗 N₂吸入引起的记忆障碍,效果与尼莫地平相当,400及 800 mg/kg时,效果不明显

Tab 4. Effect of PIF on amnesia induced by hypoxia($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose, mg /kg \times d, po	n	Latency, s
Control		19	168. \pm 104. 6 **
Model		20	42. 0 \pm 20. 6
PIF	400 \times 7	19	61. 0 \pm 47. 5
	800 \times 7	19	80. 5 \pm 48. 4
	1200 \times 7	18	125. 2 \pm 93. 7 *
NIM	30 \times 7	19	130. \pm 87. 2 *

** $P < 0. 05$,*** $P < 0. 01$ vs model group

2.5 对颈总动脉阻断再灌流所致记忆障碍的影响

小鼠随机分为 5 组,参考文献法^[7,8]进行手术,模型组和给药组阻断双侧颈总动脉 5 min,恢复供血后 1 h 再次阻断 5 min,假手术

Tab 6. Effect of PIF on memory in *D*-gala induced subacute senile mice($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Group	Dose		Latency, s
	Drug, mg /kg \times d, po	5% <i>D</i> -gala, ml/mice \times d, sc	
Control			194. 4 \pm 140. 0 **
Model		0. 5 \times 42	50. 0 \pm 51. 3
PIF	500 \times 42	0. 5 \times 42	150. 3 \pm 99. 6 *
	1000 \times 42	0. 5 \times 42	176. 5 \pm 110. 5 **

** $P < 0. 05$,*** $P < 0. 01$ vs model group

2.6 对 *D*-gala 所致亚急性衰老小鼠记忆功能的影响

小鼠随机分为 4 组,po 给药 42 d,给药同时按文献法^[9]模型组和给药组小鼠每天 sc 5% *D*-gala 0. 5 ml 只,对照组 sc 等容积生理盐水 d41 避暗训练,d42 测验,结果如表 6,葛根总黄酮 500 mg/kg 1000 mg/kg 均能显著增强由 *D*-gala 引起的亚急性衰老小鼠的记忆功能

2.7 对东莨菪碱所致小鼠在 Y 形迷宫中自主选择能力低下的影响

小鼠随机分为 6 组,连续 po 给药 7 d,末次给药后 0. 5 h,模型组及给药组小鼠 ip Scop 1 mg/kg,对照组 ip 等容积生理盐水 ip 后 0. 5 h 放入 Y 形迷宫中测验 结果(表 7) 葛根总黄酮剂量依赖性地对抗 Scop 所致小鼠在 Y 形迷宫中的自主选择能力(以选择率

组只做手术但不阻断血流,作为对照组 于手术当天恢复正常后即给药,连续 7 d,d6 避暗训练,d7 测验 结果葛根总黄酮 800 mg/kg 1200 mg/kg 均可显著对抗双侧颈总动脉阻断再灌流引起的记忆障碍,效果优于尼莫地平。如表 5 所示。

Tab 5. Effect of PIF on amnesia induced by ischemia($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Group	Dose, mg /kg \times d, po	Latency, s
Control		166. 0 \pm 118. 1 **
Model		35. 5 \pm 22. 1
PIF	800 \times 7	150. \pm 107. 1 **
	1200 \times 7	162. 3 \pm 99. 5 **
NIM	30 \times 7	129. \pm 100. 9 *

** $P < 0. 05$,*** $P < 0. 01$ vs model group

percent alternation 表示)降低,说明有改善短时记忆障碍的作用,脑复康也有效

Tab 7. Effect of PIF on the impairment of spontaneous alternation performance induced by Scop ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose, mg /kg \times d		n	Percent alternation, %
	Drug, po	Scop, ip		
Control			18	66. 9 \pm 17. 0 **
Model		K 1	20	45. 2 \pm 18. 3
PIF	400 \times 7	K 1	18	52. 9 \pm 21. 2
	800 \times 7	K 1	20	60. 2 \pm 17. 0 *
	1200 \times 7	K 1	20	65. 8 \pm 15. 2 **
PIR	100 \times 7	K 1	20	59. 4 \pm 17. 8 *

** $P < 0. 05$,*** $P < 0. 01$ vs model group

3 讨 论

在避暗法实验中葛根总黄酮对东莨菪碱、亚硝酸钠、乙醇、N₂ 吸入及颈总动脉阻断再灌流造成的小鼠记忆障碍均有改善作用,对 *D*-半乳糖所致亚急性衰老小鼠的记忆功能也有改善作用,说明葛根总黄酮有改善长

时记忆的功能。这与文献中跳台法^[2]测得的结果是一致的。对东莨菪碱所致小鼠在 Y 形迷宫中自主选择能力降低的对抗作用,则说明葛根总黄酮有改善短时记忆的功能^[5]。其改善记忆行为的机理有待进一步研究。

据综述报道^[10],葛根总黄酮或其单体成分有降血压、改善脑循环、抗动脉硬化、抗氧化、抑制血小板聚集等作用。提示葛根总黄酮对高血压、动脉硬化、脑循环障碍等引起的脑血管性老年痴呆有治本之效。本文证实的改善记忆障碍作用又说明葛根总黄酮能改善老年痴呆早期的最主要临床症状。总之,葛根总黄酮对脑血管性老年痴呆有标本兼顾之能,预示对该病的防治有一定的应用前景。

参 考 文 献

1 邹莉菠,刘干中. 部分中药对动物学习记忆功能的影响. 中药药理与临床,1990, 6(5): 16
2 邹莉菠,刘干中. 葛根醇提物及总黄酮对动物学习记忆

功能的影响. 中药药理与临床,1990, 6(6): 18
3 Itoh J, Ukai M, Tameyama T. Dopaminergic involvement in the improving effects of dynorphin A-(1-13) on scopolamine-induced impairment of alternation performance. *Euro J Pharmacol*, 1993, 241: 99
4 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则汇编,1993, 43-44
5 禹志领,高桥正克,金户洋. 应用小鼠在 Y 形迷宫中的自主选择能力测定急性及慢性东莨菪碱与吗啡对记忆的影响(英文). 中国药科大学学报,1996, 27(11): 680
6 Kaneto H. *Neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders*. Tokyo: Excerpta Medica, Ltd. 1993, 3-11
7 李 巍,张世仪,赵惠敏,等. 小鼠脑缺血性学习记忆障碍模型的建立. 基础医学与临床,1995, 15(6): 446
8 裘 月,杜冠华,屈志炜,等. 小鼠暂时性脑缺血引起学习记忆障碍模型的制备及人参皂甙的保护作用. 中国药理学通报,1995, 11(4): 299
9 陈 奇. 中药药理研究方法学. 北京: 人民卫生出版社,1993, 937-939
10 郭建平,孙其荣,周 全. 葛根药理作用研究进展. 中草药,1995, 26(3): 163

Effect of Puerariae Isoflavone on Memory in Mice

Yu Zhiling, Zhang Guangqin¹, Zhao Hongqi², Lu Jianfeng
Institute of Chinese Traditional Pharmacy, ¹Research Division of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038; ²Pingdingshan Institute for Drug Control, Pingdingshan 467000

Abstract In Step-through tests, puerariae isoflavone (400, 800 and 1200 mg/kg× 7d, po) significantly antagonized the amnesia induced by scopolamine, NaNO₃, ethanol hypoxia (inhalation of N₂ gas) or cerebral ischemia in mice; At the doses of 500 and 1000 mg/kg× 42 d, it could markedly facilitate the memory of subacute senile mice derived from D-galactose administration. In Y-maze tests, puerariae isoflavone dose dependently improved the impairment of spontaneous alternation performance related to working memory in scopolamine treated mice.

Key words Puerariae isoflavone; Memory; Y-maze; Step-through