

# 石菖蒲及其有效成分对小鼠学习记忆的作用及 $\alpha$ -细辛醚药物动力学研究

□顾 健\* 胡锦涛 谭 睿 (成都中医药大学药学院 成都 610075)

**摘 要：**采用不同的动物实验方法，用石菖蒲去油煎剂(I)、总挥发油(II)、 $\alpha$ -细辛醚(III)进行实验。结果表明：对正常小鼠学习和记忆获得能力（跳台法试验），戊巴比妥钠造成的记忆获得障碍模型（电迷宫法试验），亚硝酸钠造成的记忆巩固不良模型（跳台法试验），乙醇造成的记忆再现缺失模型（跳台法试验）均有不同程度的促进作用和改善作用。测定其主要有效成分 $\alpha$ -细辛醚在大鼠体内各项药物动力学参数，结果表明： $\alpha$ -细辛醚口服吸收快，在大鼠体内分布广泛。以上实验结果还表明：石菖蒲对学习记忆作用的主要有效部位是总挥发油(II)，其中 $\alpha$ -细辛醚(III)是其主要有效成分，去油煎剂(I)有一定作用，但作用较弱。

**关键词：**石菖蒲 去油煎剂 挥发油  $\alpha$ -细辛醚 药效学 药物动力学

药用石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 (*Acorus Tatarinowii* Shott) 的根状茎。在《神农本草经》中列为上品，历代本草记载，具有延年益心智的功效，临床广泛用于益智等方面。

我们从石菖蒲药材中分离得到挥发油和单体成分，并将其中含量较高的单体成分进行了波谱测定。经UV、IR、<sup>1</sup>HNMR、H-

HCOSY和MS鉴定为。 $\alpha$ -细辛醚。通过系统的药效实验研究证明其为石菖蒲的主要有效成分。

本文是石菖蒲及其有效成分的药效学比较研究中的对小鼠学习记忆作用及 $\alpha$ -细辛醚药物动力学研究部分。

## 一、实验材料

### 1. 实验药物及试剂

50% (g/100ml) 石菖蒲去油

煎剂；0.53% (g/100ml) 石菖蒲总挥发油 (3%吐温-80及蒸馏水配制)；0.24% (g/100ml)  $\alpha$ -细辛醚 (3%吐温-80及蒸馏水配制)；以上3种受试药每ml 均相当于原生药0.5g；空白对照液 (3%吐温-80及蒸馏水配制)；以上4种受试药均由成都中医药大学中药化学教研室提供，冰箱保存备用。

日本岛津LC—4A型高效液相色谱仪；包括RP—530型荧光检测

收稿日期：2002-12-01

\* 本文联系人：顾健，博士，从事中药药效和毒理研究，E-mail: gj66@263.sina.com, Tel: 028-89050661。

器和C—R2AX型数据处理仪, 色谱柱 $5 \times 200\text{mm}$ , 固定相为YW— $G_{18}H_{37}$  ( $10\mu\text{m}$ ).

## 二、方法与结果

### 1. 对小鼠学习记忆的作用<sup>[5]</sup>

(1) 对正常小鼠学习和记忆获得能力的影响 (跳台法)。

按程秀娟等介绍的方法<sup>[6]</sup>稍加修改。用跳台法预选合格小鼠44只, 体重 $20 \pm 2\text{g}$ , 全雄性, 随机分成4组, 每组11只。分别ig受试药 $0.2\text{ml}/10\text{g}$  (剂量见表1), 1次/d, 连续给药21d。第20d以跳台法分别训练每只小鼠一次, 24h后开始测试并记录每组小鼠的跳下潜伏期 (自跳台上跳下的时间) 及5min内错误次数。结果见表1。

结果表明: 石菖蒲总挥发油、 $\alpha$ -细辛醚均能延长小鼠跳下潜伏期, 减少5min内错误次数; 去油煎剂作用稍弱, 仅能减少5min内错误次数。

(2) 对戊巴妥钠造成记忆获得障碍的作用 (电迷宫法)。

取小鼠55只, 体重 $18 \sim 20\text{g}$ , 全雄性, 随机分成5组, 每组11只, 分别ig受试药 $0.2\text{ml}/10\text{g}$  (剂量见表2), 1次/d, 连续21d。第21d试验前4h再ig受试药1次, 实验前20min, ip戊巴妥钠 $15\text{mg}/\text{kg}$ , 按韩怡凡介绍的电迷宫法<sup>[7]</sup>稍加改动, 训练小鼠10次。24h后测试并记录每组动物10次走迷宫的错误次数。结果见表2。

结果表明: 石菖蒲总挥发油、去油煎剂、 $\alpha$ -细辛醚对戊巴妥钠造成小鼠记忆获得障碍有明显

的改善作用。

(3) 对亚硝酸钠造成记忆巩固不良的影响 (跳台法)。

按张均田等介绍的方法<sup>[8]</sup>, 用跳台法预选合格小鼠55只, 体重 $18 \sim 20\text{g}$ , 全雄性, 随机分成5组, 每组11只。ig受试药 $0.20\text{ml}/10\text{g}$  (剂量见表3), 1次/d, 连续给药21d。第21天给药4h后, 每只小鼠以跳台法训练一次, 之后立即SC亚硝酸钠 $120\text{mg}/\text{kg}$ 。24h后测试并记录跳下潜伏期及5min内错误次

数。结果见表3。

结果表明: 空白对照组与模型组有显著性差别, 即造模成功; 总挥发油、 $\alpha$ -细辛醚对亚硝酸钠造成小鼠记忆巩固不良有改善作用, 去油煎剂的作用稍弱。

(4) 对乙醇造成记忆再现缺失的影响 (跳台法)。

按张均田等介绍的方法<sup>[8]</sup>, 跳台法预选合格小鼠55只, 体重 $18 \sim 20\text{g}$ , 全雄性, 随机分成5组, 每组11只。给受试药同上。第21d给

表1 石菖蒲各提取部位 成分对正常小鼠学习和记忆获得能力的影响 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	跳下潜伏期	5min内错误次
空白对照	11	同体积 3% 吐温	$9.4 \pm 5.1$	$4.5 \pm 2.7$
去油煎剂	11	5	$16.8 \pm 13.0$	$2.0 \pm 0.8^{**}$
总挥发油	11	0.053	$21.0 \pm 10.4^{***}$	$1.6 \pm 0.7^{***}$
$\alpha$ -细辛醚	11	0.024	$18.4 \pm 3.6^{***}$	$1.8 \pm 0.8^{***}$

\*\* 与空白对照组比较  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

表2 石菖蒲各提取部位 成分对戊巴妥钠造成小鼠记忆获得障碍的影响 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	戊巴妥钠	错误次数
空白对照	11	同体积 3% 吐温	同体积 N.S	$3.3 \pm 1.7^{**}$
模型	11	同体积 3% 吐温	15	$5.7 \pm 2.1$
去油煎剂	11	5	15	$2.7 \pm 2.0^{**}$
总挥发油	11	0.053	15	$3.1 \pm 1.5^{**}$
$\alpha$ -细辛醚	11	0.024	15	$2.9 \pm 1.4^{**}$

\*\* 与模型组比较  $P < 0.01$ 。

表3 石菖蒲各提取部位 成分对亚硝酸钠造成小鼠记忆巩固不良的影响 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ )

组别	动物数 (只)	受试药 (g/kg)	亚硝酸钠 (mg/kg)	跳下潜伏期 (s)	5min内错误次数
空白对照	11	同体积 3% 吐温	同体积 N.S	$107.3 \pm 18.4^{***}$	$1.7 \pm 0.8^{**}$
模型	11	同体积 3% 吐温	120	$69.4 \pm 25.2$	$2.7 \pm 0.5$
去油煎剂	11	5	120	$97.5 \pm 32.7$	$1.8 \pm 0.9^*$
总挥发油	11	0.053	120	$109.9 \pm 14.0^*$	$1.6 \pm 1.1^*$
$\alpha$ -细辛醚	11	0.024	120	$104.2 \pm 35.4^*$	$1.8 \pm 1.0^*$

\* 与模型组比较  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

表4 石菖蒲各提取部位成分对乙醇造成小鼠记忆再现缺失的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	动物数 (只)	剂 量 (g/kg)	40%乙醇 (ml/10g)	跳下潜伏期 (s)	5min内 错误次数
空白对照	11	同体积 3%吐温	同体积 N.S	92.4 ± 26.6 ***	2.1 ± 0.9 **
模 型	11	同体积 3%吐温	0.1	32.4 ± 37.2	6.1 ± 4.2
去油煎剂	11	5	0.1	67.4 ± 52.5	2.6 ± 1.3 *
总挥发油	11	0.053	0.1	80.9 ± 43.71	2.2 ± 1.0 **
$\alpha$ -细辛醚	11	0.024	0.1	70.2 ± 39.59	2.3 ± 1.1 **

\*与模型组比较  $P < 0.005$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。

药4h后进行一次跳台训练, 24h后测试前30min ig 40%乙醇0.1ml/10g, 之后测试并记录跳下潜伏期和5min内错误次数。结果见表4。

结果表明: 空白对照组与模型组有显著性差别, 即造模成功; 总挥发油、 $\alpha$ -细辛醚均能显著改善乙醇造成小鼠的记忆再现缺失, 减少5min内错误次数; 去油煎剂作用比较弱。

## 2. $\alpha$ -细辛醚药物动力学研究

[2-21]

### (1) 色谱条件。

流动相: 甲醇-水 (70:30) 混

合液, 流速: 1ml/min, 柱温40℃, 激发波长: 262nm, 发射波长: 362nm。标准色谱图见图1。

### Q) 测定方法。

#### ①样品处理

取含 $\alpha$ -细辛醚的血清0.2ml, 用4ml二氯甲烷提取, 并转移到另一锥形试管中, 置室温下 $N_2$ 吹干, 残渣用流动相50 $\mu$ l溶解, 进样20 $\mu$ l。

#### ②测定方法学评价

$\alpha$ -细辛醚出峰时间 $t_R$ 10.2min, 峰形陡尖, 对称, 并不受其它杂质峰干扰。血清 $\alpha$ -细辛醚最低有

效检出浓度达1ng/ml。标准曲线线性范围1~200ng/ml,  $r=0.9996$ 。准确加入1, 5, 25, 50ng的 $\alpha$ -细辛醚后, 回收率为99.6±0.8%。

### (3) 药物动力学参数测定。

取大鼠6只, 体重300±50g,  $\delta$  ♀各半, 一次ig  $\alpha$ -细辛醚2.0mg/kg (3%吐温-80及蒸馏水配制), 尾静脉取血。分别于ig后15, 40, 80min及2, 3, 4, 5, 6, 8, 12h取血样, 分离血清置-18℃保存。按测定方法项下测定。结果见图2, 图3。

### (4) 实验结果。

大鼠的药时曲线选二室模型。药物动力学方程为  $C = 561.3e^{-1.90t} + 11.2e^{-0.26t} - 572.5e^{-4.05t}$ 。按此式计算得理论值与实验值比较, 结果满意。各项药物动力学参数见表5, 平均血液浓度-时间曲线见图4。

结果表明:  $\alpha$ -细辛醚口服吸收迅速,  $T_{1/2\alpha, \beta}$ 仅0.17h, 口服后可在0.89h内达到峰浓度。药物半衰期,  $T_{1/2\alpha, \beta}$ 为2.67h。但口服12h后, 仍能测其血中浓度。

## 三、讨 论

1. 在学习记忆药理研究中, 迄今尚无一种普遍满意的行为测试模式

目前, 学习记忆实验方法主要是对动物行为的观察, 人们无法直接观察动物脑内思维活动变化过程, 只能依据其对某种特殊刺激的反应来判断。常用的测试方法有: 跳台法、迷宫法等[21]。上述学习记忆测定方法, 往往在正常动物身上不易观察到药物的作用, 所以常在记忆损伤模型动物

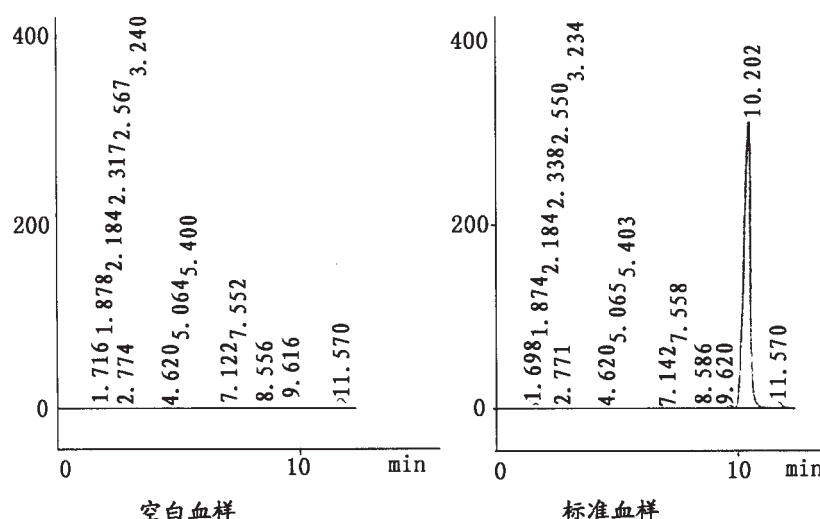


图1 标准色谱图

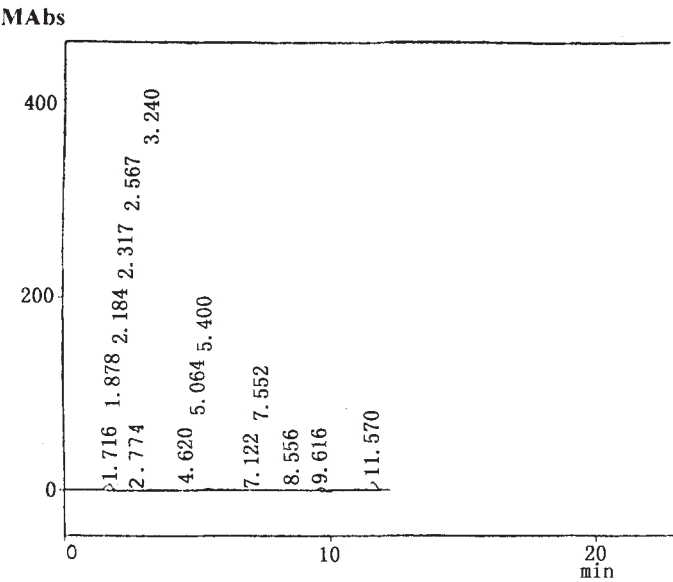


图2 α-细辛醚药物动力学空白血样HPLC图

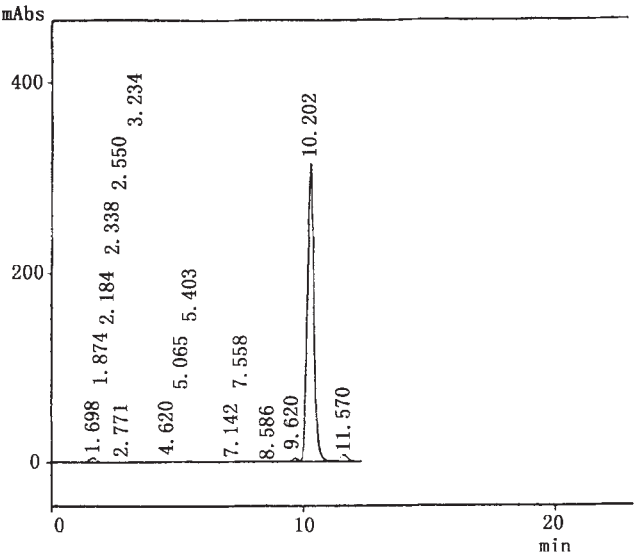


图3 α-细辛醚药物动力学标准血样HPLC图

表5 大鼠口服α-细辛醚后药物动力学参数

$\alpha$	$\beta$	$K_a$	$K_{21}$	$K_{12}$	$K_{10}$	$T_{1/2\alpha}$	$T_{1/2\beta}$	$T_{1/2\beta}$	$T_{1/2\beta}$	$T_{1/2\beta}$	$T_d$	$T_{max}$	$AUC_{0-12}$
( $h^{-1}$ )	( $h^{-1}$ )	( $h^{-1}$ )	( $h^{-1}$ )	( $h^{-1}$ )	( $h^{-1}$ )	(h)	(h)	(h)	(L/kg)	(L/kg)	(L/kg)	(h)	(ng·h/ml)
1.90	0.26	4.05	0.32	0.30	1.54	0.17	0.36	2.67	80	16.0	96	0.94	188

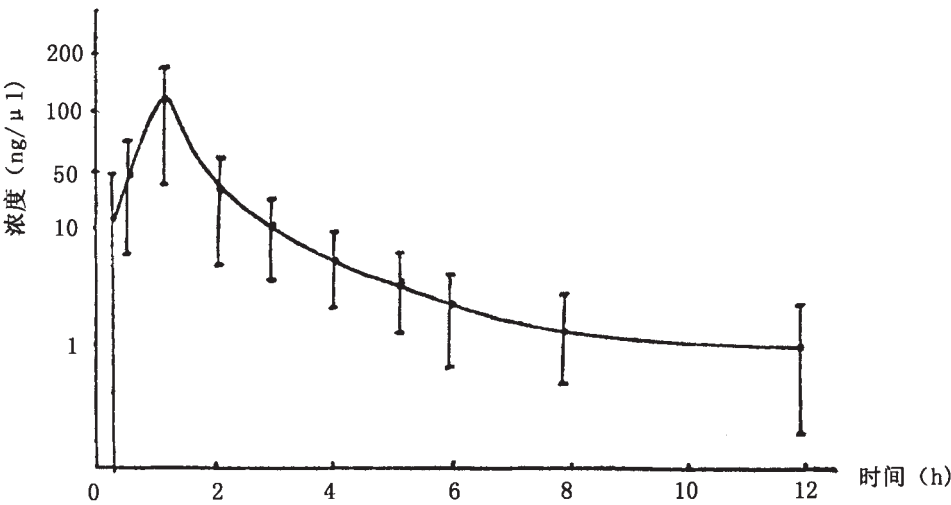


图4 大鼠 ig α-细辛醚2.0mg/kg后的平均血药浓度-时间曲线

身上观察药物的益智作用。  
常用的学习记忆损伤动物模型包括3种类型：

(1) 记忆获得障碍模型：常用致损伤的药物有东莨菪碱，戊巴比妥钠等；  
(2) 记忆巩固障碍模型：常用致损伤的药物有环己酰亚胺，亚硝酸钠等；  
(3) 记忆再现障碍模型：常用致损伤的药物有乙醇等。我们在实验中选择了戊巴比妥钠、亚硝酸钠、乙醇分别建立记忆获得障碍模型，记忆巩固障碍模型，记忆再现障碍模型，采用跳台法和电迷宫法进行实验。结果发现：石菖

蒲的各提取部位(成分)对小鼠正常学习有促进作用及对小鼠各种类型记忆障碍模型均有不同程度的改善作用。

## 2. $\alpha$ -细辛醚药物动力学的研究

实验表明: $\alpha$ -细辛醚口服吸收迅速, $T_{1/2\alpha}$ 仅0.17h,口服后可在0.89h内达到峰浓度。药物半衰期短, $T_{1/2\beta}$ 为2.67h。但口服12h后,仍能测到其血中浓度。

## 参考文献

- 1 Bartus RT, et al. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. Science. 1982, 217: 408.
- 2 Coyle JT et al. Alzheimer's disease: A disorder of cortical cholinergic innervation. Ibid, 1983, 219: 118.
- 3 Weinachter-SN, et al. Models of hippocampal and cerebral ischemia. pharmacopsychiatry, 1990Feb; 23Suppl2: 94-7.
- 4 SPiser-Z, et al. Central catecholaminergic dysfunction and behavioural disorders following hypoxia in adult rats. Behav - Brain-Res, 1990, 37 (1): 19-27.
- 5 Ford-LM, et al. MK-801 Proven neuroprotective in neonatal hypoxic ischemic rats. Arch -neuro, 1989, 46 (10): 1090-6.
- 6 程秀娟等. 脑血管扩张剂—尼莫地平、硝苯吡啶和长春胺对大鼠和小鼠记忆障碍的改善作用. 药理学杂志, 1986; 21 (10): 731.
- 7 韩怡凡、陈先喻. 樟柳碱及其它胆碱能药物对小鼠空间分辨学习和记忆的影响. 中国药理学杂志, 1983; 4 (4): 220.
- 8 张均田等. 十二种化学药品破坏小鼠被动回避性行为—跳台试和避暗法试验的作用比较观察. 药理学杂志, 1986; 21 (1): 12.
- 9 杨苍菁, 赵真玲. 气相色谱法测定血液中 $\alpha$ -细辛醚的浓度. 药物分析杂志, 1987, 18 (10): 442.
- 10 q Peck cc, et al. Nonlinear Least squares regression programmes for microcomputers. J Pharm Pharmacokin Biopharm, 1979, 7: 537.
- 11 Lachman L, et al. the theory and practice of industrial pharmacy. Seconded, New York: Lea and Febiger, 1976: 83.
- 12 Natafi RE. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. Thirded, New York: Marcel Dekker, 1980: 53.
- 13 Natafi RE. Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics. Thirded, New York: Marcel Dekker, 1980: 52.
- 14 Sharhel L. 李安良译. 应用生物药剂学与药物动力学. 北京: 中国医药出版社, 1989: 78.
- 15 M. 吉伯尔迪等. 朱家璧译. 药物动力学. 第二版. 北京: 科技出版社, 1987: 305.
- 16 Wagner JG, Relevant pharmacokinetic of antimicrobial drugs. Med Clin North Am. 1974, 58: 479.
- 17 Wei SL, et al. Studies on mitomycin C dextran microspheres. J of Chinese Pharmacol Sci. 1992, (1): 33.
- 18 Taylor T et al. Isosorbide-5-mononitrate Pharmacokinetics in humans. Biopharm Drug Dispos. 1981, 2: 255.
- 19 何素梅, 魏树礼等. 反相高效液相色谱法测定血浆或肝组织中阿霉素含量. 药物分析杂志, 1994, 14: 8.
- 20 Levy G. Pharmacokinetics of salicylate elimination in man. J Pharm Sci. 1965, 54: 959.
- 21 Harrison LI, et al. Physiologically based pharmacokinetic model for digoxin distribution and elimination in the rat. J Pharm Sci. 1977, 66: 1138.
- 22 陈奇等. 中药药理研究方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 739.

(责任编辑: 柳莎 刘维杰)

## 2003年“现代医学新进展学术研讨会”征文通知

现代中西医结合杂志社定于2003年8月在北戴河举办“现代医学新进展学术研讨会”, 有关征文事项如下:

征文内容: 现代医学发展新动态, 分子中医学研究, 中医、西医、中西医结合基础理论研究及其发展, 中西药的开发应用, 中医、西医、中西医结合对各类疾病的治疗及预防, 现代麻醉学、免疫学、口腔学、护理学、影像学、检验学进展, 生殖医学、美容医学、性医学及社区健康教育现状及发展前景, 医院管理新举措等。

论文必须是未公开发表的, 无一稿两投。每篇以2000字左右为宜, 各学科热点、难点问题研究及实验研究要带中英文摘要、3条件以上参考文献(在文中引用处标明角注)、作者简介及一寸照片。摘要统一按“目的、方法、结果、结论”格式书写。来稿请提供详细地址及联系电话。

征文截止日期: 2003年6月15日(以邮戳为准)。大会选用论文将在《现代中西医结合杂志》正刊上发表, 刊物在会议期间与参会者见面, 优秀论文将在大会上宣读并颁发获奖证书, 参会者可获国家一类继续教育学分。

来稿请寄: 河北省石家庄市北城路35号万信花园D区8-1-201

现代中西医结合杂志社编辑部刘武章收

邮编: 050061

联系电话: 0311-7738668

E-mail: zxyjhzzs@heinfnet.

## 本刊启事

本刊2002年第4卷第6期所刊药用植物照片说明不是“野百合(农吉利)”, 应是: 百合: 养阴润肺, 清心安神。用于阴虚久咳, 虚烦惊悸, 失眠多梦, 精神恍惚。Lilium brownii F.E. Brown. The drug is used to nourish lung to ease the mind and calm the nerves; for the treatment of chronic cough, hemoptysis, palpitation, hemoptysis, insomnia, dream disturbance. 特此说明, 并向来函提示指正的热心读者林白安先生表示感谢。



*Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094)*

In the medical circle of China people always show much solicitude for the discovery of new drugs from plants in recent years. It should be noticed that in most cases the total constituents of plants have more effectiveness than the single ones and therefore it is necessary to make an overall understanding of the process *in vivo* of the said total constituents. By now quite few studies on the metabolic process of such medicines as made up of multi-constituents have been carried out systematically. The authors have studied the kinetic process *in vivo* of CBN (a complex injection form the active parts of herbal medicines, which are effective for stroke) in order to know and expound the characteristics of pharmacokinetics of herbal medicines and also to explore the methodology of the study on their pharmacokinetics. They have made a test of the pharmacokinetics of puerarin and ginsenoside Rg1 in CBN, which shows that after the injection of CBN into the vein (100mg/kg) puerarin quickly metabolizes in 26 minutes of mean retention time (MRT), while the MRT of ginsenoside Rg1 takes about 3.3 hours, here assuming their great difference ( $P < 0.05$ ). Therefore, it should be indicated that the key to the study on the pharmacokinetics of the total constituents of herbal medicines lies in the selection of the index of test, in which it would be best to select two or three active ones with high content for test first and then everything possible should be done to test their total components. For the unknown parameters which appear in the test and the changeable laws of their changing peak and time should be fitted, i.e., fingerprint in time, etc. By this way it is helpful to clarify the pharmacokinetic laws of studied objects overall.

**Key Words:** puerarin, ginsenoside Rg1, pharmacokinetics, CBN injection

### **Functions of *Acrois Gramineus* and Its Effective Constituents on Learning and Memory of Mouse and Study on Pharmacodynamics of $\alpha$ -asarone**

*Gu Jian, Hu Jinguan and Tang Rui (College of Materia Medica, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, Sichuan Province, China)*

Experiments have been carried out with the extracts (Distilled oil is not included.), total volatile oil and  $\alpha$ -asarone of *Acrois Gramineus* through different animal experiments and their results have showed different functions in the promotion and improvement of the learning and memory of normal mouse, such as the increase of the ability of its learning and memory (by step-down test), the formation of a barrier model made by pentylenetetrazol in its memory (by the experiment of electric maze method), the imperfect model made by sodium nitrite in the consolidation of its memory (by the experiment of diving tower method) and the reappearance of the model of nitobarbitabarbitolum natrium in its memory (by electric maze test), the generation of a imperfect model made by sodium nitrite in the consolidation of its memory (by step-down test) and the reappearance of the model of its amnesia made by ethane (by electric maze test). And various pharmacodynamical parameters of  $\alpha$ -asarone, a main effective constituent of *Acrois Gramineus*, in the body of rat have also been tested and the result has indicated that  $\alpha$ -asarone taken orally can be absorbed quickly and distributed widely. All the main functions of *Acrois Gramineus* on learning and memory are located in its total volatile oil, of which  $\alpha$ -asarone forms its most effective constituent, while the functions of its extracts are relatively weak.

**Key Words:** *Acrois Gramineus*, extracts (Distilled Oil is not included.), Volatile oil,  $\alpha$ -asarone, pharmacodynamics

### **Extraction and Expression of Fingerprinting Characteristics for Danshen by the Plate Chromatography**

*Li Wei<sup>1,2,3</sup>, Frank S.C. Lee<sup>1</sup>, Wang Xiaoru<sup>1,2</sup>*