

实验研究

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.20.015

远志-石菖蒲药对对注意缺陷多动障碍模型大鼠夜周期行为学的影响

倪新强¹, 廖颖钊¹, 郑敏¹, 吴正治^{2*}, 李利民², 陈景¹

(1. 深圳市中医院, 广东省深圳市福田区福华路 1 号, 518038; 2. 深圳市老年医学研究所)

摘要 目的 探讨远志-石菖蒲药对治疗注意缺陷多动障碍 (ADHD) 的可能作用机制。方法 将 30 只自发性高血压 (SHR) 大鼠随机分为模型组、阳性对照组、远志-石菖蒲组, 每组 10 只, 另设 WKY 大鼠 10 只作为对照组。远志-石菖蒲组给予远志-石菖蒲混悬液 4.76 mg/(kg·d) 灌胃; 阳性对照组给予利他林混悬液 2 mg/(kg·d) 灌胃; 正常组和模型组均以 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液 2 ml/(kg·d) 灌胃, 在大鼠夜周期 9:30~10:30、15:30~16:30 分两次灌胃, 连续给药 4 周。分别于给药前、给药 4 周及停药 2 周时, 采用开场实验评价大鼠自发性行为; 给药 4 周采用高架十字迷宫、新物体识别实验评估大鼠冲动行为及学习记忆功能。停药 2 周时检测前额叶皮质中多巴胺 (DA)、多巴胺转运体 (DAT) 水平。结果 给药 4 周远志-石菖蒲组大鼠在开场实验中的总运动距离及直立次数、进入高架十字迷宫开臂次数百分比和开臂滞留时间百分比均低于模型组 ($P < 0.05$), 而在新物体识别实验对新物体的偏好指数则高于模型组 ($P < 0.05$); 停药 2 周远志-石菖蒲组大鼠总运动距离及直立次数仍少于模型组, 前额叶皮质中 DA 水平较模型组明显升高 ($P < 0.05$), 而 DAT 含量与模型组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 远志-石菖蒲药对可提高 ADHD 大鼠前额叶皮质中 DA 含量, 可能是其治疗 ADHD 的作用机制之一。

关键词 注意缺陷多动障碍; 远志; 石菖蒲; 药对; 多巴胺; 多巴胺转运体

注意缺陷多动障碍 (attentional deficit hyperactivity disorder, ADHD) 为儿童期最常见的行为障碍性疾病, 其病理机制复杂, 而多巴胺缺陷理论在 ADHD 的众多假说中是经得起时间检验的^[1]。我们前期对临床辨治 ADHD 的有效中医复方进行数据挖掘, 发现中医化痰开窍经典药对“远志-石菖蒲”为 ADHD 最常用药物及药对^[2]。既往对 ADHD 模型大鼠——自发性高血压大鼠 (SHR) 幼龄鼠相关中药的药效学研究设计方案不一, 如药物干预及行为学观察均是在大鼠日周期进行, 而大鼠日周期 (睡眠周期) 常为少动, 在此期间观察大鼠多动、记忆力等行为学表现, 结果的可靠性尚值得推

敲^[3]。本研究观察远志-石菖蒲对 ADHD 模型大鼠夜周期行为学 (自发性活动、焦虑、学习记忆) 的影响, 并初步探讨其是否通过调控前额叶皮质多巴胺 (DA) 及多巴胺转运体 (DAT) 水平发挥其停药后的持久疗效, 为临床用于治疗 ADHD 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SHR 大鼠 30 只, WKY 大鼠 10 只, 均雄性, 3 周龄, 体重 (40 ± 10) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。大鼠饲养于 12 h 光照/12 黑暗逆转交替 (9:00 熄灯, 21:00 开灯)、温度 22~24℃ 的 SPF 级动物房中。

1.2 药物

石菖蒲、远志购自北京同仁堂药店 (批号分别为 160402, 160503)。水提物制备: 准确称取石

基金项目: 国家自然科学基金 (81503616); 中国博士后科学基金 (2016M590840); 广东省省级科技计划 (2014A020221003); 广东省中医药局科研项目 (20161218); 深圳市科技计划 (JCYJ20160428105935612); 深圳市卫生计生系统科研项目 (201505019)

* 通讯作者: szwzz001@163.com

菖蒲与远志 (1 : 1 比例), 加入 10 倍量蒸馏水, 浸泡 0.5 h, 武火煎至沸腾后改用文火煎 40 min, 倾出药液, 8 层纱布过滤, 药渣再加 8 倍量水, 再煎 30 min; 合并药液, 60℃ 减压浓缩。采用水蒸汽蒸馏法提取石菖蒲挥发油^[4]: 取与水提物提取时同质量的石菖蒲, 加 8 倍量水, 提取 11 h, 收集挥发油。将水提物与挥发油混合并真空冷冻干燥, 置 4℃ 冰箱密封保存备用。利他林 (哌醋甲酯速释剂型), 购于诺华制药有限公司, 批号: NDC 0078-0440-05。全部药物使用之前采用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 配置成混悬液, 超声溶解。

1.3 主要试剂与仪器

多巴胺 ELISA 试剂盒 (Novus biologicals 公司, 批号 KA1887); 多巴胺转运体 ELISA 试剂盒 (CUSABIO 公司, 批号 P23977)。开场试验箱 (70010067A 型)、高架十字迷宫 (70010338A 型) 均购于美国 San Diego Instruments 公司; Anymaze 动物行为视频跟踪系统 4.20 (Anymaze 型, 美国 Stoelting 公司); 多功能酶标仪 (Synergy 2 型, 美国 BioTek 仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

动物适应性喂养 5 天后采用开场实验^[4]观察大鼠自发性行为, 采用随机区组设计, Microsoft Excel 2010 产生随机数字, 按 5 min 内总运动距离长短排序, 将 SHR 大鼠分为模型组、阳性对照组、远志-石菖蒲组, 每组 10 只。SHR 大鼠各组分 5 min 内总运动距离差异无统计学意义 ($P > 0.05$); WKY 大鼠 10 只作为正常组。远志-石菖蒲组给予远志-石菖蒲混悬液 4.76 mg/(kg · d) 灌胃; 阳性对照组给予利他林混悬液 2 mg/(kg · d) 灌胃; 正常组和模型组均以 0.5% CMC-Na 溶液 2 ml/(kg · d) 灌胃, 分 2 次灌胃, 在大鼠夜周期 (9:00—21:00) 9:30~10:30、15:30~16:30 分 2 次灌胃, 连续给药 4 周。在抓取动物及灌胃时采用 20 瓦的可夹式红色电灯照明 (大鼠眼睛对红光不敏感)^[4]。

2.2 大鼠行为学检测

在大鼠夜周期进行, 具体为当天首次给药 30 min 后至第 2 次灌胃前进行行为学测试, 动物分组对操作人员设盲, 过程中保持周边光线和噪声的一致性; 每只大鼠测试完后采用 75% 乙醇及时擦拭迷宫清除粪便及气味, 以免干扰下一只大鼠测试

结果。

2.2.1 开场实验^[4] 采用黑色内壁 100 cm × 100 cm × 50 cm 的木质敞箱, 通过动物行为视频跟踪系统 4.20 将箱底设置成 25 个方格 (20 cm × 20 cm), 分别在治疗前、给药 4 周时、停药 2 周时观察。测试开始时将每只大鼠放在开场箱底部中央, 通过视频分析系统自动记录其 5 min 内的总运动距离 (cm)、直立次数、理毛次数以及粪便量。

2.2.2 高架十字迷宫^[4] 在给药 4 周时进行, 测试时将幼鼠置于高架十字迷宫的中央平台, 头朝一开放臂, 记录 5 min 内的活动指标: 开放臂进入次数 (必须有两只前爪进入臂内)、开放臂停留时间、闭合臂进入次数、闭合臂停留时间、高架十字迷宫总进入次数、开放臂次数比 (开放臂进入次数与迷宫总进入次数比值) 及开放臂时间比 (开放臂进入时间与迷宫总进入时间比值)。

2.2.3 新物体识别实验 用于评估学习记忆功能^[8-9], 在给药 4 周时进行。测试流程分训练期和测试期。在训练期, 测试箱内放入两个相同物体, 然后将大鼠放入其中 3 min, 当大鼠头部朝向物体且在距离物体 1 cm 范围内时, 即被认为探索物体, 记录大鼠在此阶段对两个相同物体的探索时间。1 天后进入测试期, 将其中 1 物体换成颜色和形状均不相同的新物体, 记录 5 min 内大鼠对新物体与熟悉物体的探索时间。采用偏好指数即大鼠在训练期探索其中一个物体或测试期探索新物体的时间与探索两物体总时间的比值作为评价大鼠记忆能力的指标; 偏好指数越大, 动物学习记忆功能越好。

2.3 前额叶皮质 DA 及 DAT 检测

大鼠停药 2 周时 (开场实验后) 将大鼠放置于可密封的透明安乐死仓内, 向安乐死仓内以 6 L/min 流速缓慢充入纯 CO₂, 当大鼠无意识后断头处死, 迅速在冰盒上 PBS 溶液中取大脑, 剥离出前额叶皮质并于 PBS 中冲洗干净, 液氮急冻, 备用。采用酶联免疫 (ELISA) 法测定前额叶皮质 DA 及 DAT 的含量, 标准品及样品均设 2 个复孔, 按试剂盒说明书操作。

2.4 统计学方法

用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据处理, 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较, 方差齐则采用单因素方差分析; 方差不齐则采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 各组大鼠不同时间开场实验结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	总运动距离 (cm)	直立次数	理毛次数	粪便量 (粒)
正常组	给药前	10	1089.13 $\pm$ 82.21	18.33 $\pm$ 2.94	6.33 $\pm$ 1.86	0.83 $\pm$ 0.75
	给药 4 周	10	802.81 $\pm$ 37.34 [*]	17.45 $\pm$ 6.76	6.17 $\pm$ 1.47	1.00 $\pm$ 0.63
	停药 2 周	10	749.02 $\pm$ 36.59 ^{*△}	15.17 $\pm$ 3.43	5.50 $\pm$ 1.05	1.00 $\pm$ 0.63
模型组	给药前	10	1710.23 $\pm$ 70.44 [▲]	35.17 $\pm$ 4.45 [▲]	10.50 $\pm$ 3.45 [▲]	2.83 $\pm$ 1.17 [▲]
	给药 4 周	10	1485.03 $\pm$ 38.52 ^{*▲}	32.50 $\pm$ 3.73 [▲]	10.83 $\pm$ 2.56 [▲]	2.17 $\pm$ 0.41 [▲]
	停药 2 周	10	1447.97 $\pm$ 39.08 ^{*▲}	34.17 $\pm$ 3.06 [▲]	10.17 $\pm$ 3.49 [▲]	1.67 $\pm$ 1.03
阳性对照组	给药前	10	1707.46 $\pm$ 58.49 [▲]	34.83 $\pm$ 3.48 [▲]	10.83 $\pm$ 2.79 [▲]	2.67 $\pm$ 1.21 [▲]
	给药 4 周	10	1006.36 $\pm$ 38.03 ^{*▲○}	23.83 $\pm$ 2.93 ^{*▲○}	9.50 $\pm$ 2.59 [▲]	1.83 $\pm$ 0.75
	停药 2 周	10	1259.77 $\pm$ 22.14 ^{*△▲○}	31.33 $\pm$ 2.16 ^{△▲}	9.67 $\pm$ 2.58 [▲]	1.17 $\pm$ 0.75
远志-石菖蒲组	给药前	10	1713.65 $\pm$ 53.39 [▲]	35.33 $\pm$ 2.34 [▲]	11.67 $\pm$ 3.08 [▲]	2.50 $\pm$ 0.87 [▲]
	给药 4 周	10	1155.40 $\pm$ 42.68 ^{*▲○#}	24.17 $\pm$ 3.06 ^{*▲○}	10.16 $\pm$ 2.31 [▲]	2.00 $\pm$ 1.10 [▲]
	停药 2 周	10	1152.54 $\pm$ 27.07 ^{*▲○#}	25.17 $\pm$ 1.72 ^{*▲○#}	10.67 $\pm$ 2.42 [▲]	1.50 $\pm$ 0.55

注: 与本组给药前比较, * $P < 0.05$; 与本组给药 4 周比较, $\Delta P < 0.05$; 与正常组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$; 与模型组同时时间比较, $\Delta P < 0.05$; 与阳性对照组同时时间比较, # $P < 0.05$

3 结果

3.1 各组大鼠开场实验结果比较

表 1 示, 各组大鼠给药 4 周及停药 2 周时总运动距离较同组给药前均明显减少 ($P < 0.05$); 正常组大鼠停药 2 周总运动距离少于给药 4 周时 ($P < 0.05$), 阳性对照组停药 2 周时总运动距离较给药 4 周时增加 ($P < 0.05$), 而远志-石菖蒲组停药 2 周与给药 4 周时总运动距离差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。阳性对照组给药 4 周时直立次数较给药前明显减少 ($P < 0.05$), 停药 2 周时直立次数多于给药 4 周时 ($P > 0.05$), 而与给药前差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 远志-石菖蒲组给药 4 周及停药 2 周时直立次数较给药前均明显减少 ($P < 0.05$), 而停药 2 周与给药 4 周时直立次数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

与正常组给药前比较, 其余各组大鼠总运动距离、直立次数、理毛次数及粪便均呈明显增多 ($P < 0.05$), 但各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。给药 4 周时, 远志-石菖蒲组及阳性对照组大鼠总运动距离及直立次数均少于模型组 ($P < 0.05$), 阳性对照组大鼠粪便量少于模型组 ($P < 0.05$)。停药 2 周, 远志-石菖蒲组及阳性对照组大鼠总运动距离及直立次数仍少于模型组 ($P < 0.05$), 而远志-石菖蒲组大鼠总运动距离及直立次数改善程度明显优于阳性对照组 ($P < 0.05$)。

3.2 各组大鼠高架十字迷宫结果比较

表 2 示, 模型组大鼠开臂次数比及开放臂时间均较正常组明显增加 ($P < 0.05$); 阳性对照组和远志-石菖蒲组开臂次数比及开放臂时间比均明显减少 ($P < 0.05$), 两组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠高架十字迷宫结果比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	开放臂次数比	开放臂时间比
正常组	10	19.37 $\pm$ 6.46	11.68 $\pm$ 3.51
模型组	10	29.92 $\pm$ 7.60 [*]	21.50 $\pm$ 5.69 [*]
阳性对照组	10	26.30 $\pm$ 6.40 ^{*△}	14.87 $\pm$ 4.32 ^{*△}
远志-石菖蒲组	10	24.20 $\pm$ 6.64 ^{*△}	16.64 $\pm$ 6.27 ^{*△}

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3.3 各组大鼠新物体识别实验偏好指数比较

表 3 示, 在训练期, 各组大鼠偏好指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 对物体没有明显偏好选择。在测试期, 其余各组大鼠偏好指数均高于正常组 ($P < 0.05$), 远志-石菖蒲组 R 大鼠偏好指数较模型组明显增加 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠新物体识别实验偏好指数比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	训练期	测试期
正常组	10	49.60 $\pm$ 6.52	51.64 $\pm$ 5.51
模型组	10	52.82 $\pm$ 6.48	58.20 $\pm$ 7.14 [*]
阳性对照组	10	50.59 $\pm$ 7.89	60.85 $\pm$ 6.71 [*]
远志-石菖蒲组	10	49.73 $\pm$ 8.20	62.78 $\pm$ 9.46 ^{*△}

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3.4 各组大鼠前额叶皮质 DA 及 DAT 含量比较

表 4 各组大鼠前额叶皮质 DA 及 DAT 含量比较 (ng/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	DA	DAT
正常组	10	135.03 $\pm$ 9.78	84.94 $\pm$ 7.42
模型组	10	112.84 $\pm$ 10.43 [*]	130.16 $\pm$ 8.83 [*]
阳性对照组	10	119.04 $\pm$ 9.30 [*]	128.50 $\pm$ 8.14 [*]
远志-石菖蒲组	10	125.40 $\pm$ 7.29 ^{*△}	120.45 $\pm$ 5.89 [*]

注: DA, 多巴胺; DAT, 多巴胺转运体; 与正常组比较,

* $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 示, 模型组大鼠 DAT 较正常组增多, 而

DA 降低 ($P < 0.05$)；远志-石菖蒲组大鼠 DA 较模型组明显升高 ($P < 0.05$)。

4 讨论

注意缺陷多动障碍属于中医学“健忘”“脏躁”“烦躁”“失聪”等范畴。小儿肺脾肾常不足，肺虚不能输布津液，脾虚不能运化水湿，肾虚不能温化津液，水液不能正常运化，聚而为湿，灼而为痰，郁而化火，加之小儿嗜食辛辣香燥厚味之品，易碍脾伤胃，聚热生痰，痰热生则心神扰，肝风内动而诱发此病。因此在临床治疗中重点关注痰邪为患的病理特征遣方用药。远志，苦泄热而辛散郁，通肾气上达于心，强志益智；石菖蒲，开心孔而利九窍，祛湿除痰；石菖蒲与远志相须为用，祛痰开窍，安神益智。远志-石菖蒲作用于中枢神经系统的有效部位相对清楚，以远志皂苷、 α -细辛醚、 β -细辛醚等为主^[1]。研究发现，远志、石菖蒲、茯苓组合(1:1:1)通过激活腺苷 A2A 受体而抑制甲基苯丙胺(中枢兴奋药)诱导的小鼠快速自发活动^[1]；石菖蒲、远志可显著增加小鼠大脑内 5-羟色胺(5-HT)、DA 含量^[2-3]；而由远志提取分离的一类三萜皂苷可能通过抑制 DAT、去甲肾上腺素转运体及 5-HT 转运体而明显增加大鼠前额叶皮质细胞膜外 DA、去甲肾上腺素、5-HT 浓度，但不影响大鼠自发行为^[4]；远志中提取的四氢非洲防己胺则是脑内多巴胺受体的活性化合物^[5]。

SHR 大鼠目前被广泛用作 ADHD 的动物模型，能够模拟 ADHD 的多动、冲动和注意力缺陷等核心症状^[6]。ADHD 多起始于儿童期，幼龄 SHR 大鼠常被用来模拟儿童期 ADHD^[7-18]。随着 SHR 大鼠年龄增长自发性高血压逐渐发展，对大脑功能产生不利影响而易导致实验结果假阳性或假阴性^[6]。因此，本研究采用 4 周龄 SHR 大鼠作为 ADHD 模型动物。

国外研究选择在逆转的暗周期(大鼠/小鼠清醒周期)里，对动物进行哌醋甲酯(MPH)治疗及其他干预，以模仿临床 MPH 用药方案(ADHD 患儿在昼夜节律的“活动”期接受 MPH 治疗)，结果发现在日/夜周期的不同周期，给予 SHR 大鼠 MPH 治疗，可以产生不同的行为学反应：在暗周期中，给予 SHR 大鼠持续 4 周的长期治疗，动物没有表现出行为敏化及药物耐受^[9-20]。本研究在逆转的暗周期分别观察在给药 4 周及停药 2 周时大鼠在开场实验 5min 中的自发性活动水平，发现远

志-石菖蒲可以明显减少 SHR 大鼠的运动距离及直立次数，并在停药后 2 周持续发挥疗效。正常组大鼠总运动距离在 3 个检测时间点也呈下降趋势，可能与大鼠因对开场实验箱渐适应而导致的探索行为减少有关，而理毛次数及反映情绪紧张程度的排便粒数与模型组大鼠的差异并无统计学意义。焦虑相关的冲动采用高架十字迷宫评估，进入开臂次数及滞留时间的增加可能反映了冲动^[21-22]。本研究 SHR 幼鼠进入开臂次数及停留时间均多于 WKY 幼鼠，表明 SHR 幼鼠可表现出 ADHD 样的冲动行为；而 MPH 及远志-石菖蒲均能减少 SHR 幼鼠进入开臂次数及停留时间，表明两者均可以减轻 SHR 大鼠的冲动行为。研究发现，ADHD 患儿长期记忆并无受损^[23]，而 SHR 大鼠在新物体识别实验中也表现出较 WKY 大鼠更好的长期记忆^[24]。本研究发现，SHR 各组大鼠偏好指数均高于正常组大鼠，也验证了此发现；而远志-石菖蒲使 SHR 大鼠对新物体的探索时间增加，表明远志-石菖蒲能够改善 SHR 大鼠学习记忆功能。

对于 SHR 幼鼠前额叶皮质 DA 功能或水平与正常大鼠的差异也有不一致的报道：Miller 等^[24]认为，SHR 大鼠 DAT 表达的增加可能与纹状体与伏膈核中 DA 再摄取的增加有关，而 Myers 等^[25]则发现 6 周龄 SHR 大鼠纹状体中 DA 再摄取减少。Somkuwar 等^[26]发现青春期长期给予 MPH 可以增强 SHR 大鼠内侧前额叶皮质中的 DAT 功能，而 MPH 治疗停止后仍可减少成年期细胞外的 DA 的水平。本研究中，石菖蒲-远志组及阳性对照组大鼠 DAT 与模型组间差异无统计学意义，而石菖蒲-远志组大鼠 DA 较模型组明显升高，但阳性对照组大鼠前额叶皮质中 DA 含量与模型组差异虽无统计学意义，但有升高趋势，可能因给药方案差异等因素所致。

综上所述，远志-石菖蒲可以减轻 ADHD 模型大鼠夜周期的自发性活动及冲动行为，改善学习记忆功能，并且在停药后仍可减少模型大鼠的自发性活动，其机制可能是与增加 PFC 中 DA 含量有关。

参考文献

- [1] SWANSON JM, KINSBOURNE M, NIGG J, et al. Etiologic subtypes of attention-deficit/hyperactivity disorder: brain imaging, molecular genetic and environmental factors and the dopamine hypothesis [J]. Neuropsychol Rev, 2007, 17 (1): 39-59.
- [2] 倪新强, 韩新民, 尹东奇, 等. 基于数据挖掘的注意缺

- 陷多动障碍中医用药规律研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40 (5): 62-69.
- [6] 倪新强, 张艳莉, 韩新民. 中医药对注意力缺陷多动障碍的动物实验规范化探讨 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38 (7): 1103-1107.
- [7] 柯瑜, 倪健, 姚珏成. 石菖蒲挥发油提取及包合工艺的优选 [J]. 中成药, 2006, 28 (9): 1271-1274.
- [8] PRUT L, BELZUNG C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 463 (1-3): 3-33.
- [9] MASSOF RW, JONES AE. Electroretinographic evidence for a photopic system in the rat [J]. Vision Res, 1972, 12 (7): 1231-1239.
- [10] FERGUSON SA, GRAY EP. Aging effects on elevated plus maze behavior in spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley male and female rats [J]. Physiol Behav, 2005, 85 (5): 621-628.
- [11] ENNACEUR A, DELACOUR J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data [J]. Behav Brain Res, 1988, 31 (1): 47-59.
- [12] DIX SL, AGGLETON JP. Extending the spontaneous preference test of recognition: evidence of object-location and object-context recognition [J]. Behav Brain Res, 1999, 99 (2): 191-200.
- [13] 胡锦涛, 顾健, 王志旺. 石菖蒲及其有效成分对中枢神经系统作用的实验研究 [J]. 中药药理与临床, 1999, 15 (3): 19-21.
- [14] KWON YS, NABESHIMA T, SHIN EJ, et al. PAP 9704, a Korean herbal medicine attenuates methamphetamine-induced hyperlocomotion via adenosine A2A receptor stimulation in mice [J]. Biol Pharm Bull, 2004, 27 (6): 906-909.
- [15] 张淑萍, 王昆祥, 辛华. 远志提取物对小鼠脑内多巴胺含量的影响 [J]. 黑龙江医药科学, 2011, 34 (5): 12-13.
- [16] 谢婷婷, 王虹, 刘屏, 等. 中药石菖蒲对脑内单胺类神经递质 5-羟色胺水平的影响 [J]. 中国药物应用与监测, 2007, 4 (3): 15-17.
- [17] JIN ZL, GAO N, LI XR, et al. The antidepressant-like pharmacological profile of Yuanzhi-1, a novel serotonin, norepinephrine and dopamine reuptake inhibitor [J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2015, 25 (4): 544-556.
- [18] 沈行良, WITT MR, DEKERMENDIAN K, 等. 从远志中分离鉴定出 1 种多巴胺受体活性化合物 [J]. 海南医学院学报, 2004, 10 (3): 133-135.
- [19] SAGVOLDEN T, JOHANSEN EB, WØIEN G, et al. The spontaneously hypertensive rat model of ADHD-the importance of selecting the appropriate reference strain [J]. Neuropharmacology, 2009, 57 (7-8): 619-626.
- [20] BIZOT JC, CHENAULT N, HOUZÉ B, et al. Methylphenidate reduces impulsive behaviour in juvenile Wistar rats, but not in adult Wistar, SHR and WKY rats [J]. Psychopharmacology (Berl), 2007, 193 (2): 215-223.
- [21] MARCO EM, ADRIANI W, RUOCCO LA. Neurobehavioral adaptations to methylphenidate: the issue of early adolescent exposure [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2011, 35 (8): 1722-1739.
- [22] GOMES KM, SOUZA RP, INÁCIO CG, et al. Evaluation of light/dark cycle in anxiety- and depressive-like behaviors after regular treatment with methylphenidate hydrochloride in rats of different ages [J]. Rev Bras Psiquiatr, 2011, 33 (1): 55-58.
- [23] GAYTAN O, YANG P, SWANN A, et al. Diurnal differences in sensitization to methylphenidate [J]. Brain Res, 2000, 864 (1): 24-39.
- [24] UENO KI, TOGASHI H, MORI K, et al. Behavioural and pharmacological relevance of stroke-prone spontaneously hypertensive rats as an animal model of a developmental disorder [J]. Behav Pharmacol, 2002, 13 (1): 1-13.
- [25] LANGEN B, DOST R. Comparison of SHR, WKY and Wistar rats in different behavioural animal models: effect of dopamine D1 and alpha2 agonists [J]. Atten Defic Hyperact Disord, 2011, 3 (1): 1-12.
- [26] KIBBY MY, COHEN MJ. Memory functioning in children with reading disabilities and/or attention deficit/hyperactivity disorder: a clinical investigation of their working memory and long-term memory functioning [J]. Child Neuropsychol, 2008, 14 (6): 525-546.
- [27] MILLER EM, POMERLEAU F, HUETTL P, et al. The spontaneously hypertensive and Wistar Kyoto rat models of ADHD exhibit sub-regional differences in dopamine release and uptake in the striatum and nucleus accumbens [J]. Neuropharmacology, 2012, 63 (8): 1327-1334.
- [28] MYERS MM, WHITEMORE SR, HENDLEY ED, et al. Changes in catecholamine neuronal uptake and receptor binding in the brains of spontaneously hypertensive rats (SHR) [J]. Brain Res, 1981, 220 (2): 325-338.
- [29] SOMKUWAR SS, DARNA M, KANTAK KM. Adolescence methylphenidate treatment in a rodent model of attention deficit/hyperactivity disorder: dopamine transporter function and cellular distribution in adulthood [J]. Biochem Pharmacol, 2013, 86 (2): 309-316.

Impact of Yuanzhi [*Radix Polygalae*] -Shichangpu [*Rhizoma Acori Tatarinowii*] Herb Pair on Night Cycle Behavior of Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) Model Rats

NI Xinqiang¹, LIAO Yingzhao¹, ZHENG Min¹, WU Zhengzhi², LI Limin², CHEN Jing¹

(1. Shenzhen Hospital of Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong Province, 518038; 2. Shenzhen Institute of Geriatrics)

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of Yuanzhi [*Radix Polygalae*, 远志] -Shichangpu [*Rhizoma Acori Tatarinowii*, 石菖蒲] herb pair in treating attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). **Meth-**
ods Thirty spontaneous hypertension (SHR) rats were randomized into a model group, a positive control group and a Yuanzhi-Shichangpu group, with 10 rats in each group. Besides, a normal control group was established with 10 Wistar-Kyoto (WKY) rats. The Yuanzhi-Shichangpu group was given 4.76 mg/(kg·d) of Yuanzhi-Shichangpu sus-
pension by gavage. The positive control group was given 2 mg/(kg·d) of Ritalin suspension by gavage. The normal group and the model group were given 2 ml/(kg·d) of 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution by gavage. Medication was given in rats' night cycle (9:00—21:00) for 4 weeks. Spontaneous behavior of rats was evaluated by opening experiment at the time of before medication, medication for 4 weeks and withdrawal for 2 weeks. Rats' im-
pulsive behavior and learning-memory function were evaluated by elevated plus maze and new object recognition ex-
periments at 4 weeks of medication. Levels of dopamine in prefrontal cortex (DA) and dopamine transporter (DAT) were detected at 2 weeks of withdrawal. **Results** At 4 weeks of medication, rats' total movement distance and up-
right number in the opening experiment, as well as the percentage of opening arms times of entering the elevated cross maze and opening arm retention time in the Yuanzhi-Shichangpu group were lower than those in the model group ($P < 0.05$). While in the new object recognition experiment, the preference index for new objects was higher than that in the model group ($P < 0.05$). At 2 weeks of withdrawal, rats' total movement distance and upright number in the Yuanzhi-Shichangpu group were lower than those in the model group ($P < 0.05$), while DA level in prefrontal cortex was higher than that in the model group ($P < 0.05$). There was no significant difference in DAT levels between the Yuanzhi-Shichangpu group and the model group. of ($P > 0.05$). **Conclusion** Yuanzhi-Shichangpu herb pair might improve DA level in prefrontal cortex of ADHD rats, which might be one of the mechanisms of treating ADHD.

Keywords attention deficit hyperactivity disorder; Yuanzhi [*Radix Polygalae*, 远志]; Shichangpu [*Rhizoma Acori Tatarinowii*, 石菖蒲]; herb pair; dopamine; dopamine transporter

(收稿日期: 2017-04-07; 修回日期: 2017-07-18)

编辑: 王利菊

第 35 次全国特色医疗名医学术交流暨老年病论坛通知

本次会议是由中国民间中医药研究开发协会特色医疗分会、北京聚医杰医药科学研究院学术会议, 定于 2017 年 12 月 27—28 日 (26 日报到) 在云南省昆明市召开。会议主题是: 弘扬中医药特色医疗, 发挥治疗老年病特长。欢迎各级中医特色医疗名医及乡村中医、民间中医参会。

一、征文内容: 运用中医药治疗老年病的经验总结或特色医疗经验介绍, 中医药治疗各种疑难病、常见病的特色疗法等, 稿件需打印, 附 200 字以内作者简介, 邮寄或发电子信箱 13366005273@163.com。

二、有关说明: 1. 向所有参会代表颁发“老年健康卫士奖章”及纪念品, 并赠送《中医药治疗老年病特色疗法经验荟萃》《中华中医药特色医疗优秀文集》(第二辑)、《附子的研究及运用》等书; 2. 投稿论文将参加评选优秀学术成果、优秀学术论文或在会议上交流; 3. 具有副高以上职称或对中医药防治老年病有研究有特长的特色医疗名医、民间中医可申请加入“全国中医药防治老年病研究专家委员会”, 会期颁发聘书; 4. 新参会代表将注册为聚医杰会友, 长期获得有关书刊资料。

三、会议费用: 参会报名费 300 元, 会务及资料培训费 1500 元, 会期食宿参观统一安排, 费用自理。

四、报名方法: 请在 12 月 15 日以前将参会报名费、交流论文 (无论文者也可报名)、个人技术简介、申请聘任专家委员或评选优秀学术成果、优秀论文、优秀人才等材料、二寸照片 4 张用快递寄北京市 100036-98 信箱昆明会议会务组叶续宗收, 邮编: 100036。信封上注明“昆明会议”报名。联系电话: 010-83210238、18511329528、18515917952、18500577884。