



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102641411 A

(43) 申请公布日 2012.08.22

(21) 申请号 201210146802.4

(22) 申请日 2012.05.14

(71) 申请人 童瑶

地址 香港薄扶林置富花园富辉园 8 楼 A 室

(72) 发明人 童瑶 施祖荣 张艳波 叶俊伟

张浩斌

(74) 专利代理机构 北京天奇智新知识产权代理

有限公司 11340

代理人 朱培杰

(51) Int. Cl.

A61K 36/8964 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页 附图 1 页

(54) 发明名称

中药复方二仙汤提取物改善更年期认知功能

(57) 摘要

本发明涉及中药现代药理学的研究,尤其是对中药复方二仙汤提取物改善更年期认知功能,首次通过体内实验证明,中药复方二仙汤提取物能提高老年大鼠中海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平,二仙汤同时能增加 NMDA 受体之表达。所以中药复方二仙汤可进一步开发用于女性因年纪增加而引致的学习和认知功能衰退,特别是对学习、记忆和思考的影响。

1. 本发明中药复方二仙汤提取物改善更年期认知功能,其特征在于提高老年大鼠海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平的作用。
2. 中药复方二仙汤提取物能提高老年大鼠中前额叶皮质之 NMDAR GluN2A 亚单位水平。
3. 中药复方二仙汤提取物能改善因年纪增加而引致的学习和认知功能衰退。
4. 中药复方二仙汤提取物能提高更年期学习、记忆和思考能力。
5. 如权利要求 1-4 任一项中的应用,其中所述的中药复方二仙汤提取物体内实验各成分(仙茅、淫羊藿、巴戟天、当归、黄柏、知母)比例为 12 : 12 : 10 : 10 : 9 : 9。

## 中药复方二仙汤提取物改善更年期认知功能

### 技术领域：

[0001] 本发明属于药学领域的现代中药药理学的研究。具体涉及中药复方二仙汤提取物提高老年大鼠中海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平,同时能促进 NMDA 受体之表达,从而改善更年期引起的学习和认知功能衰退。

### 背景技术：

[0002] 女性步入更年期后体内雌激素水平随之下降,而雌激素水平下降被认为与各种更年期综合症之征状有关,包括记忆力及学习能力等认知功能的衰退。其中一些与认知功能关系密切的分子,包括脑源性神经营养因子 (Brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、TrkB 受体及 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受体等与衰老的关系亦曾被报导。

[0003] 二仙汤 (EXD) 由上海中医药大学张伯讷教授于 50 年代首先创立的中药复方,临床广泛应用于治疗更年期综合症。

### 发明内容：

[0004] 本课题组在大鼠实验证明了二仙汤能激活芳香环转化酶 (Aromatase) 之表达,藉此产生雌激素,所以减轻更年期综合症之症状,研究也发现,二仙汤不仅能帮助更年期女性产生雌激素,也能帮助增加 BDNF 分泌,同时促进 NMDA 受体之表达,从而改善更年期引起的学习和认知功能衰退。

[0005] 本发明首次通过体内实验证明,中药复方二仙汤提取物能提高老年大鼠中海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平,二仙汤同时能增加 NMDA 受体之表达。所以中药复方二仙汤可进一步开发用于女性因年纪增加而引致的学习和认知功能衰退,特别是对学习、记忆和思考的影响。

[0006] 本发明的目的是为二仙汤提取物用于改善更年期引起的学习和认知功能衰退提供动物研究水平的依据。发明人经过多次药理学实验,发现中药复方二仙汤仙茅、淫羊藿、巴戟天、当归、黄柏、知母以 12 : 12 : 10 : 10 : 9 : 9 比例提取时,可有效对抗老年大鼠中海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平和 NMDA 受体之表达下降。该药理作用在本发明以前尚无文献报道。

### 具体实施方式：

[0007] 1) 药材制备二仙汤 (EXD) 由以下六种植物材料制成:仙茅,淫羊藿,巴戟天,当归,黄柏,知母(成分比例:12 : 12 : 10 : 10 : 9 : 9)。煎 2 次,每次煎一小时,把两次煎液混合。

[0008] 2) 实验动物十二个月龄雌性 SD(SD) 大鼠被用作研究。雌性 SD- 大鼠,年龄 8 个月,购自香港大学动物实验室。动物被安置在有空调的房间,温度为 24℃,相对湿度为 50-65%,自动 12h 光照:黑暗照明周期。大鼠饲养 4 个月至所需 12 个月月龄后喂药。

[0009] 3) 药物治疗大鼠随机分为 EXD 组、普力马林 (Premarin) 组及对照组,每组 4 只。

EXD 组以 EXD 提取物灌 (4.1g/kg) 灌胃给药。普力马林组以西药胶囊普力马林 (每粒含 0.3mg 雌激素) 灌胃给药 (31.25mg/kg)。对照组喂服同等体积的水代替 EXD。每天喂药一次,连续 8 周后处死大鼠。取脑部海马区及前额叶皮质等部份并存放于  $-80^{\circ}\text{C}$  作进一步分析。

[0010] 4) BDNF 酶联免疫吸附试验 BDNF 酶联免疫吸附试验使用 Chemikine™ Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Sandwich ELISA Kit (Millipore) 试剂。大脑海马体及前额叶皮质中 BDNF 水平测定方法根据试剂盒内之说明进行。

[0011] 5) 西方墨点法提取药物治疗组及对照组之大脑海马体及前额叶皮质中之蛋白并测定浓度。15mg 的变性蛋白在 8% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳中分离并转移到聚二氟乙烯膜 (PVDF) 上,浸泡在 5% 牛血清蛋白中 (Sigma) 摇晃 1 小时,然后在  $4^{\circ}\text{C}$  环境中与初级抗体培育过夜。是次检测所用抗体包括、Anti-NR2A (Millipore) 及 Anti-GADPH (Millipore)。培育完竣后用 TBS-T 泡洗 PVDF 膜三次,再以次级抗体室温培育 1 小时。培育完竣后用 TBS-T 额外泡洗 PVDF 膜三次后利用 Bio-Rad ChemiDoc 系统以化学发光法进行西方墨点印迹检测。光带强度由 Quantity-One (Bio-Rad) 软件量化再以 GAPDH 带修正。

[0012] 6) 统计分析上述实验之数据以 GraphPad Prism 4 软件作统计学分析。

[0013] 如图 1 所示:前额叶皮质中 BDNF 水平,数值以总前额叶皮质中总蛋白水平修正。药效组对比年老对照组以 t-test 检测 ( $N \geq 4$ ,  $*p < 0.05$ )。

[0014] 如图 2 所示:大脑海马体中 BDNF 水平,数值以总前额叶皮质中总蛋白水平修正。药效组对比年老对照组以 t-test 检测 ( $N \geq 4$ ,  $*p < 0.05$ )

[0015] 如图 3 所示:前额叶皮质中 NMDAR GluN2A 亚单位水平,数值以前额叶皮质中 GAPDH 蛋白水平修正。各组对比年老对照组以 t-test 检测 ( $N \geq 4$ ,  $*p < 0.05$ ) 结论:

[0016] 1) 二仙汤能提高老年大鼠中海马体及前额叶皮质之 BDNF 水平,二仙汤同时能增加 NMDA 受体之表达。

[0017] 2) 二仙汤提高大脑海马体及前额叶皮质中 BDNF 蛋白水平经 8 周喂饲二仙汤后,老年大鼠前额叶皮质及海马体中 BDNF 水平与老年对照组相比明显提高 ( $n = 4$ ,  $P < 0.05$ )。

[0018] 3) 二仙汤对前额叶皮质中 NR2A 水平之影响,经 8 周喂饲二仙汤后,老年大鼠前额叶皮质中 NR2A 水平与老年对照组相比明显提高 ( $n = 4$ ,  $P < 0.05$ )。

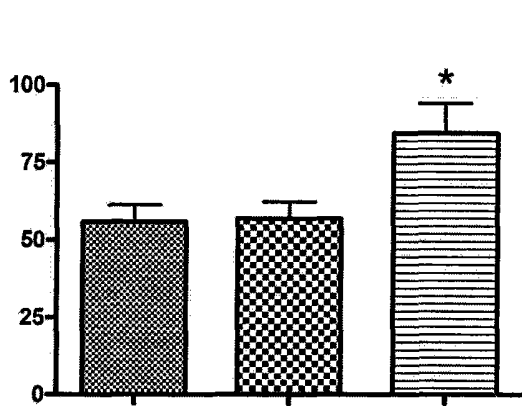


图 1

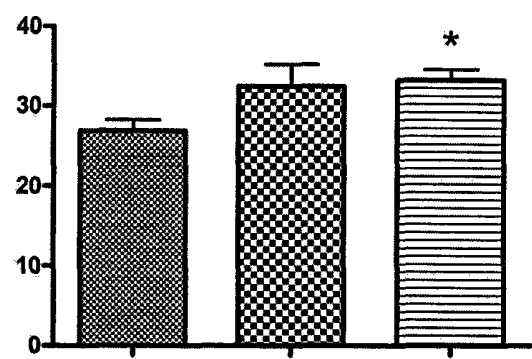


图 2

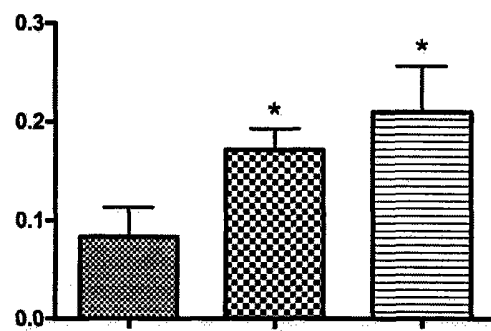


图 3