

石杉碱甲透皮控释贴片对小鼠学习记忆的改善作用

史红 叶金翠 张望刚 陈国神(杭州 310013 浙江省医学科学院药物所)

摘要 目的:观察石杉碱甲透皮控释贴片(Hup-A TDDS)对正常小鼠及记忆障碍模型小鼠学习记忆功能的影响。方法:跳台试验测定 Hup-A TDDS 对正常小鼠学习成绩的影响;建立东莨菪碱记忆获得障碍模型及亚硝酸钠记忆巩固障碍模型,采用一次性训练的空间辨别反应实验-电迷宫实验和一次性学习的回避性条件反射试验-跳台试验测定小鼠记忆功能,观察 Hup-A TDDS 对其影响。结果:Hup-A TDDS 53.4 μ g/只对正常小鼠跳台试验有促进学习成绩作用,对1 mg/kg 东莨菪碱引起的记忆获得障碍及120 mg/kg 亚硝酸钠产生记忆巩固障碍有明显的反转作用。结论:石杉碱甲透皮控释贴片具有较好的促进正常小鼠及记忆障碍小鼠的学习记忆功能作用。

关键词 石杉碱甲;透皮控释贴片;记忆障碍

The Improvement Function of Huperzine-A Transdermal Drug Delivery System on Learning and Memory in Mice

Shi Hong, Ye Jincui, Zhang Wanggang, Chen Guoshen (Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To observe the effect of Hup-A TDDS on learning and memory in normal and memory deficits mice, in order to provide the clinical pharmacological evidence of enhancing curative effect and reducing side-effects through changing the drug form. **METHOD:** Step down test to determine the effect of Hup-A TDDS on memory improvement in normal mice; To establish the model of memory obtain induced by scopolamine and memory strengthen induced by sub-sodium nitrite, Y maze test and step down test were used to determine the same indexes. **RESULTS:** Hup-A TDDS 53.4 μ g/a mouse indicated the promote learning function on normal mice, indicated the reversal effects on memory deficits mice induced by 1 mg/kg scopolamine and 120 mg/kg sub-sodium nitrite. **CONCLUSION:** Hup-A TDDS showed the better improvement function on learning and memory in normal and memory deficits mice.

KEY WORDS Huperzine-A, Transdermal drug delivery system, memory deficits

石杉碱甲(Huperzine-A, Hup-A)是从石杉科石杉属植物千层塔(Huperzia serrata)中分离得到的新生物碱。药理研究表明,Hup-A是强效、可逆的ChEI,其改善、促进学习、记忆过程的作用已有定论^[1]。为了满足临床不同患者使用的需要,减少石杉碱甲片口服的副作用,减少用药次数,发挥透皮控释贴片能控制药物缓慢不断地释放,使体内较长时间能保持一定的药物浓度等优点,我们研制了石杉碱甲透皮控释贴片(Hup-A TDDS,国家专利号:ZL95 11588.X)。本文观察其对正常与学习记忆障碍小鼠学习记忆功能的影响。

1 实验材料

1.1 药品与试剂: Hup-A TDDS 制剂由本院药物所制剂室提供,每片面积为1 cm²,内含不同浓度石杉碱甲。东莨菪碱注射液为上海禾丰制药厂产品,批号991003,亚硝酸钠为坎山水器化学试剂厂产品,批号010103,均为市售。

1.2 仪器: DS-2型小鼠条件反射声光电控制仪,DS-2型小鼠单向穿梭箱,DS-2型小鼠Y型电迷宫均由浙江宁波白石药检仪器厂生产。

1.3 动物: 实验用ICR清洁级小鼠,♀,体重19-23g,均由浙江省实验动物中心提供,合格证:浙医动字[第22-2001001]号。

2 实验方法

2.1 给药方法

根据制剂室对小鼠进行离体鼠皮渗透实验结果表明,小鼠透皮控释贴片的药物渗透量在贴片后3-6h达峰值,故以下各实验给药组均于训练前3h贴上药片,对照组与模型组贴单纯赋形剂贴片。实验前小鼠背部皮肤用Na₂S脱毛,脱毛24小时后放置含药贴片并用胶带固定。东莨菪碱(Scop)1 mg/kg于训练前15-20 min腹腔注射,亚硝酸钠(NaNO₂)120 mg/kg于训练后立即皮下注射。全部实验于上午8:00-12:00进行。

2.2 跳台法^[2]

实验用DS-2型小鼠声光电单向穿梭箱,以隔板均分两个反应室,两室箱底铺以铜栅,通以36V电流。每室左后方置一4.5×4.5×4.5cm的木头平台(供小鼠站立面有一橡皮

浙江省卫生厅医学科研基金项目“石杉碱甲控释透皮制剂的研究”(2000~2001)

垫),作为跳台,此为小鼠回避电击的安全区。将动物放入反应室适应环境 1 min,然后通以 36 V 电流,动物受到电击时,其正常反应是立即跳回平台以躲避电击。跳下跳台,动物双足同时接触铜栅,视为错误反应。训练 3 min,并记录后 5 min 内遭电击的错误次数。24h 后重新测试,观察其记忆情况:先将小鼠放到跳台上,记录小鼠第一次跳下平台的潜伏期,并比较 3 min 内错误次数。

2.3 电迷宫法^[3]

实验用 DS-2 型小鼠 Y 型电迷路箱,相等的三支臂均长 18cm,宽 8cm,高 15cm,相邻两支臂间均成 120°角。箱底部铺设铜栅,供电刺激用。通过控制器开关,可使三支臂末端二小区(长 10cm)交替作为安全区(不通电)或起步区。适应环境 1 min,然后给以 36 V 电刺激,当小鼠进入左臂安全区,则为正确反应(令其在此停留 30s 以巩固记忆),若逃至右侧电击区,则为错误反应。第二次以安全区作为起步区,再给予电击刺激,以此类推。固定训练 10 次,记录正确和错误的反应次数。24h 后测验记忆成绩。

3 实验结果

3.1 Hup-A TDDS 对正常小鼠学习、记忆功能的改善作用 - 跳台法

实验用小鼠分 4 组,每组 18 只,组 1 为空白对照组,组 2,3,4 为 Hup-A TDDS 小中大三个剂量组。结果表明,Hup-A TDDS 53.4μg/只组与 26.7μg/只组能明显减少错误次数,表明有提高学习记忆的作用。

表 1 Hup-A TDDS 对正常小鼠学习记忆功能的改善作用($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	剂量(μg/只)	错误次数(5 min)
正常对照	18	0	1.89 ± 1.68
Hup-A TDDS 18	18	13.4	1.11 ± 0.83
Hup-A TDDS 18	18	26.7	0.94 ± 0.87a
Hup-A TDDS 18	18	53.4	0.78 ± 0.73a

与对照组比较,a: $P < 0.05$

3.2 Hup-A TDDS 对 Scop 致记忆获得障碍的改善作用 - 电迷宫法

实验用小鼠分 5 组,组 1 为正常对照,组 2 为模型对照,以 Scop 1 mg/kg 腹腔注射,组 3,4,5 为 Hup-A TDDS 小中大三个剂量组,且同时腹腔注射 Scop 同等剂量。实验结果表明,Hup-A TDDS 53.4μg/只组与 26.7μg/只组能明显减少错误次数,表明有提高学习记忆的作用。

表 2 Hup-A TDDS 对 Scop 致记忆获得障碍的改善作用($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	剂量	错误次数(5 min)
正常对照	11	0	6.09 ± 0.70a
模型对照	11	1 mg/kg	6.91 ± 1.04
Hup-A TDDS	11	13.4μg/只	4.91 ± 1.87a
Hup-A TDDS	11	26.7μg/只	4.82 ± 1.54b
Hup-A TDDS	11	53.4μg/只	3.82 ± 1.78c

与模型组比较,a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$; c: $P < 0.001$

3.3 Hup-A TDDS 对 NaNO₂ 致记忆巩固障碍的改善作用 - 跳台法

实验用小鼠分 5 组。组 1 为正常对照;组 2 为模型对

照,给以 NaNO₂ 120 mg/kg 皮下注射;组 3,4,5 为 Hup-A TDDS 小中大三个剂量组,且同时皮下注射 NaNO₂ 同等剂量。实验结果表明,Hup-A TDDS 53.4μg/只组与 13.4μg/只组能明显减少错误次数,表明有提高学习记忆的作用。

表 3 Hup-A TDDS 对 NaNO₂ 致记忆巩固障碍的改善作用($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	剂量	潜伏期(S)	错误次数(5 min)
正常对照	11	0	129.6 ± 50.4a	0.64 ± 0.67a
模型对照	11	120 mg/kg	71.6 ± 74.7	1.55 ± 1.56
Hup-A TDDS	10	13.4μg/只	131.0 ± 65.8	0.50 ± 0.53a
Hup-A TDDS	10	26.7μg/只	142.5 ± 48.6a	0.60 ± 0.70a
Hup-A TDDS	10	53.4μg/只	179.0 ± 3.2c	0.20 ± 0.42b

与模型组比较,a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$; c: $P < 0.001$

4 讨论

脑内胆碱系统参与学习记忆过程,近十余年来对以“智能障碍,记忆减退”为主要特征的早发性痴呆症(Alzheimer disease, AD)的病因研究表明,AD 发病与脑内胆碱能神经元退化,死亡及胆碱能系统功能衰竭有着密切关联。在众多的提高、补偿脑内胆碱能功能的治疗研究中,以应用胆碱酯酶抑制剂(ChEI)的治疗获得较好的对症治疗效果^[4]。石杉碱甲是一种具有强效选择性的抗 CHE 活性的生物碱,口服能很快透过血脑屏障,其提高动物及老年记忆功能已有定论,是一种发展前景广阔的药物。

透皮控释给药系统(Transdermal Drug Delivery System, TDDS)具有可避免药物的肝“首过效应”及胃肠道生理因素对药物的影响,维持稳定、持久的血药浓度,提供可控制的、较长的作用时间及给药方便等优点,已越来越为医药界所重视^[5]。该技术在国内的应用尚处起始阶段,近年来得到迅速发展。美国药学家预言,今后 10-15 年内,现有药物的三分之一可采用透皮给药技术^[6]。

老年痴呆患者由于记忆障碍往往给用药带来诸多不便,发展外用控释药物或长效药物以减少用药次数,是研制新剂型的方向。本研究观察石杉碱甲透皮控释贴片对小鼠学习记忆功能的影响,结果表明,给予不同剂量石杉碱甲贴片,能显著提高正常及记忆障碍小鼠学习记忆成绩,这为临床应用 Hup-A TDDS 提供了实验依据。

参考文献

- 1 Tang Xican. Huperzine-A (shuangyiping); a promising drug for Alzheimer' disease, Acta Pharmacologica Sinica, 1996; 17(6): 481.
- 2 李仪奎主编. 中药药理实验方法学. 第一版. 上海. 上海科学技术出版社, 1991: 172.
- 3 李仪奎主编. 中药药理实验方法学. 第一版. 上海. 上海科学技术出版社, 1991: 175.
- 4 张慈祿, 王国珍. 石杉碱甲片剂对记忆的作用, 新药与临床, 1990; 9(6): 339.
- 5 周莉玲. 青藤碱透皮吸收接受液和实验皮肤的选择研究, 中药新药与临床研究, 1999; 10(1): 40.
- 6 Dae-Duk, Chen Yw. Transdermal delivery of dideoxynucleoside-type anti-HIV drugs. J Pharm Sci, 1995; 84(9): 106.

收稿日期: 2001-12-31