

· 药理实验和临床观察 ·

大黄素-8-O β -D-吡喃葡萄糖苷的促智活性及其机制

陈万生,徐江平,李力,乔传卓

(第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要:目的 研究制首乌活性单体化合物大黄素-8-O β -D-吡喃葡萄糖苷(PMEG)的促智活性以及作用机制。方法 小鼠跳台实验以及胆碱酯酶活力测定。结果 ig PMEG后,正常小鼠及东莨菪碱所致学习记忆障碍小鼠错误次数显著减少;离体实验和整体实验中 PMEG对酶活力具可逆性抑制作用,体内外酶活力恢复 50%所需时间分别为 $T_{1/2}=115\text{ min}$, $T_{1/2}=165\text{ min}$ 。结论 PMEG能提高正常小鼠学习记忆功能,对东莨菪碱所致学习记忆障碍具保护作用;初步认为 PMEG作用机制是对胆碱酯酶可逆性的抑制。

关键词: 制首乌;大黄素-8-O β -D-吡喃葡萄糖苷;促智活性;胆碱酯酶

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0039-03

Studies on nootropic activity and mechanism of emodin-8-O β -D-glucopyranoside

CHEN Wan-sheng, XU Jiang-ping, LI Li, QIAO Chuan-zhuo

(College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract **Object** To investigate the nootropic activity of emodin-8-O β -D-glucopyranoside, the active principle of *Radix Polygoni Multiflori Preparata* (PMEG), and its mechanism of action. **Methods** Nootropic activity was evaluated with step down test of mice, and its nootropic mechanism studied by its antiacetylcholinesterase (anti-AchE) effect on mice brain *in vivo* and *in vitro* as determined by spectrophotometry. **Results** PMEG (ig) significantly improved the learning and memory of both normal and intellectual deficit mice induced by scopolamine. PMEG showed dose-dependent inhibition of AchE, and the antiacetylcholinesterase effect is reversible both *in vivo* and *in vitro*. In acute experiment, the half recovery time of AchE is 115 min, and 165 min in chronic experiment. **Conclusion** PMEG showed good nootropic activity, and it is a reversible AchE inhibitor.

Key words *Radix Polygoni Multiflori Preparata* (PMEG); emodin-8-O β -D-glucopyranoside; nootropic activity; acetylcholinesterase

制首乌性微温,味甘涩,有补肝肾和益精血的功能。近年来,制首乌作为主药在治疗脑功能障碍方面取得了较好的疗效,如复方制剂抗脑衰胶囊对神经衰弱、记忆力衰退、脑血管和脑外伤后遗症、老年痴呆及低智能儿大脑发育不全的总有效率达 93.8%^[1];我们以体外乙酰胆碱酯酶抑制活性为模型,对制首乌防治老年性痴呆性部位进行跟踪筛选并进行活性成分的分离鉴定,发现首乌中大黄素-8-O β -D-吡喃葡萄糖苷(PMEG)对乙酰胆碱(真性)酯酶(AchE)有较强的抑制活性,推测其可能为制首乌的促智活性成分,为确证 PMEG的促智活性,本文采用小鼠跳台试验,考察了 PMEG对正常小鼠及东莨菪碱导致学习记忆障碍小鼠学习记忆功能的

影响,并从乙酰胆碱酯酶活力抑制角度探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体重(20 $\pm$ 2)g,供学习记忆功能研究;ICR小鼠,雌雄各半,体重(23 $\pm$ 3)g,供乙酰胆碱酯酶活力研究;由第二军医大学实验动物中心提供。在室温(20 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$ 实验室适应 3 d后开始实验。

1.2 药品与试剂: PMEG自提,纯度为 98.7%,用时以生理盐水配成 100 mg/L;石杉碱甲(HupA)由军事医学科学院毒物药物研究所提供,用时以生理盐水配成 20 mg/L;氢溴酸东莨菪碱注射液,无色透明,每支 1 mL,0.3 mg/mL,由上海禾丰制药有

(20) 收稿日期: 2000-06-28

基金项目: 国家自然科学基金(29872057)、上海市科技发展基金(984319117)资助项目

作者简介: 陈万生(1968-),男,生药学博士,从事生药活性成分及道地性系统研究,发表论文 30余篇,专著 1部

Tel (021) 25070345-8015 E-mail: Chenwansheng@21cn.com

限公司生产,批号 951101Q,羟胺(分析纯),三氯化铁(分析纯),溴化乙酰胆碱(Sigma公司)。

1.3 对学习记忆功能的影响:取 60 只小鼠,随机分为 3 组,每组 20 只,各组分别 ig 生理盐水(每只 2 mL)、PMEG(10 mg/kg 体重)及 HupA(2 mg/kg 体重),每日 2 次,连续 7 d 后测试学习记忆功能。另取 60 只小鼠,随机分为 3 组,同样方法给药 7 d 后,于训练前 10 min iv 东莨菪碱(2 mg/kg)制造损伤模型,参照文献^[2],以跳台法测定,记录受电击的动物数及 3 min 内的错误总数。

1.4 对 AchEI 活力的影响

1.4.1 体外给药对大脑皮层 AchEI 活力的影响:小鼠 2 只,提取大脑皮层 AchEI 酶原,用不同浓度的 PMEG 直接作用于酶原后,测定参照文献^[3],以比色法测定,以最大浓度 PMEG 直接作用于提取的大脑皮层 AchEI 酶原,在给药后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6 h 测定 AchEI 活力,观察计算酶的恢复时间。酶活力计算公式为:

胆碱酯酶活力(30 min) = (非酶水解管吸光度 - 样品管吸光度) × 0.7 / 标准对照管吸光度

1.4.2 体内急性给药对 AchEI 活力的影响:小鼠 90 只,随机分成 9 组,每组 10 只,ig 不同浓度的 PMEG 30 min 后,取大脑皮层提取酶原,按上法测定 AchEI 活力;另取小鼠 60 只,随机分成 10 组,每组 6 只,以 20 mg/kg PMEG 一次性 ig 给药,在给药后 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、8 h 处死小鼠,测定 AchEI 活力,观察并计算酶活力的恢复时间。

1.4.3 体内慢性给药对 AchEI 活力的影响:小鼠 30 只,随机分为 3 组,每组 10 只,分别 ig 生理盐水、PMEG 10、20 mg/kg 体重,连续 15 d,末次给药 30 min 后,取大脑皮层提取 AchEI 酶原,测定 AchEI 活力。

1.5 数据处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间差异的比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对学习记忆功能的影响

2.1.1 对正常学习记忆获得的作用: HupA、PMEG 分别给药 7 d,测试结果见表 1。HupA、PMEG 皆能显著提高正常小鼠学习记忆获得能力,在此剂量条件下,两者无显著差异。

2.1.2 对东莨菪碱所致学习记忆障碍的拮抗作用: HupA、PMEG 分别给药 7 d 后,用东莨菪碱造模,测试结果见表 2。HupA、PMEG 皆能显著提高东莨菪碱所致小鼠学习记忆获得能力,在此剂量条件下,

两者无显著差异。

表 1 PMEG 对正常小鼠学习记忆获得的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	剂量 (mg/kg)	错误次数
生理盐水	20	-	1.25 ± 0.99
HupA	20	2	0.6 ± 0.66
PMEG	20	10	0.80 ± 0.81

与生理盐水组比较: * *P* < 0.05

表 2 PMEG 对东莨菪碱所致小鼠学习记忆获得障碍的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	剂量 (mg/kg)	错误次数
生理盐水	20	-	5.42 ± 1.23
HupA	20	2	2.12 ± 0.96 *
PMEG	20	10	3.04 ± 1.06 *

与生理盐水组比较: ** *P* < 0.01

2.2 对 AchEI 活力的影响

2.2.1 体外给药对 AchEI 的影响: PMEG 直接作用于酶原,酶活力测定结果见表 3。PMEG 可剂量依赖性抑制 AchEI 活力: IC₅₀ = 54 μmol/L (95% 可信限: 50~57 μmol/L),酶活力恢复 50% 所需时间 *T*_{1/2} = 115 min, 235 min 后酶活力恢复正常。表明 PMEG 体外对 AchEI 活力抑制作用是可逆性的。

表 3 PMEG 体外给药对 AchEI 活力的影响 (*n* = 3, $\bar{x} \pm s$)

给药剂量 (μmol/L)	酶活力	抑制率 (%)
0	0.435 ± 0.010	
23.1	0.433 ± 0.023	0.45
34.7	0.376 ± 0.012	13.56
46.3	0.270 ± 0.014 *	37.93
69.4	0.109 ± 0.012 *	74.94
92.6	0.032 ± 0.009 *	92.64

与空白组比较: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01

2.2.2 体内急性给药对 AchEI 活力的影响: 酶活力测定结果见表 4。PMEG 可显著抑制 AchEI 活力,在 0~20 mg/kg 剂量范围内呈良好的量效正相关,之后抑制作用不随给药剂量的增加而加强,维持在 22%~25% 的抑制水平;以 20 mg/kg 剂量给药,酶活力恢复 50% 所需时间 *T*_{1/2} = 165 min, 312 min 后酶活力完全恢复正常。表明 PMEG 在体内对 AchEI 活力抑制作用也是可逆性的。

2.2.3 体内慢性给药对 AchEI 活力的影响: 酶活力测定结果见表 5。PMEG 可显著抑制 AchEI 活力,并呈一定的量效正相关。

4 讨论

老年性痴呆症的临床主要表现之一为学习记忆功能障碍。学习和记忆是脑的重要功能之一,它反映脑的智力水平。通过动物行为中所犯的错误多少可以衡量其学习和记忆的能力。ig PMEG (10 mg/kg),

表 4 PMEG急性给药对 AchEI活力的影响 ($\bar{x}\pm s$)

给药剂量 (mg/kg)	酶活力	抑制率 (%)
0	0.42±0.010	
0.5	0.41±0.022	2.38
5	0.37±0.017	11.90
10	0.35±0.019*	16.67
20	0.33±0.014*	20.87
30	0.32±0.020*	24.37
40	0.33±0.014*	22.06
50	0.32±0.015*	24.60
80	0.33±0.020*	22.46

与空白组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

表 5 PMEG慢性给药对 AchEI活力的影响 ($\bar{x}\pm s$)

给药剂量 (mg/kg)	酶活力	抑制率 (%)
0	0.42±0.02	
10	0.36±0.02 [‡]	14.3
20	0.34±0.02*	19.0

与空白组比较: * $P<0.05$

每天 2 次共 7 d,跳台试验结果显示,PM EG 能显著改善东莨菪碱导致的小鼠学习和记忆功能获得障碍,并能够提高正常小鼠的学习能力。表明 PMEG 具有确切的促智作用。

中枢胆碱能系统递质及其神经活动对学习具有

重要影响,其中乙酰胆碱 (Ach)是学习重要物质基础。东莨菪碱能导致皮层及海马 Ach 含量下降。小鼠脑内 Ach 的含量减少能明显破坏小鼠学习记忆获得过程。Ach EI的主要功能是调控 Ach 的降解过程,抑制 Ach EI活性,能够有效减缓 Ach 的降解,从而提高脑中 Ach 水平^[4],离体实验的结果显示该药对 Ach EI有抑制,酶活力恢复 50% 所需的时间 $T_{1/2}=115\text{ min}$,全部恢复正常需要 235 min,整体实验中,急性给药酶活力恢复 50% 所需时间 $T_{1/2}=165\text{ min}$,312 min 后酶活力完全恢复正常,表明 PMEG 对 AchEI 具有可逆性抑制作用;在慢性给药实验中,PM EG 对 Ach EI亦具有抑制作用;表明对 Ach EI的可逆性抑制是其主要作用途径之一。

参 考 文 献

[1] 李仁俊.抗脑衰胶囊 291例临床观察与疗效分析[J].中成药研究,1987,9(1): 20-21.

[2] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.

[3] 孙蔓霁,李凤珍,周廷冲.双吡啶单脒类化合物对膦酰化 AchE 的重活化作用[J].解放军医学杂志,1984,9(2): 126-128.

[4] Fishman E B, Siek G C, MacCallum R D, *et al.* Distribution of the molecular forms of acetylcholinesterase in human brain alterations in dementia of the Alzheimer type [J]. Ann Neurol, 1986, 19(3): 246-252.

苦参碱的镇痛作用部位及机制研究

罗学娅,张学梅,高卫,吴琴芳
(大连大学医学院,辽宁 大连 116622)

摘 要:目的 研究苦参碱的镇痛作用部位及机制。方法 采用小鼠醋酸扭体法、热板法,观察用药后扭体反应数、舔后足潜伏期及脑组织 NO 含量的变化。结果 苦参碱侧脑室注射 (icv) 0.25、0.5 mg/kg,ip 或 iv 3.75、7.5、15、30 mg/kg 均可显著减少小鼠扭体反应数,并呈量效关系;ip 与 iv 同等剂量的苦参碱,对小鼠扭体反应的抑制程度多以 iv 为强,给药后各时段的 ip 抗扭体半数有效量 (ED_{50})均大于 iv 抗扭体 ED_{50} ;ip 苦参碱 7.5、30 mg/kg 可显著降低醋酸致痛小鼠脑组织 NO 含量;进一步研究发现苦参碱延长小鼠舔后足潜伏期的作用可被氯化钙所拮抗,而被维拉帕米所增强。结论 苦参碱的镇痛作用部位在中枢,其镇痛作用可能与影响 Ca^{2+} 内流和减少 NO 生成有关。

关键词: 苦参碱;镇痛作用; Ca^{2+} 内流; NO

中图分类号: R285; R971 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2001) 01- 0041- 03

Studies on site of analgesic action of matrine and its mechanism

LUO Xue-ya, ZHANG Xue-mei, GAO Wei, WU Qin-fang

Medical College of Dalian University, Dalian Liaoning, 116622, China)

Abstract Object The site of analgesic action of matrine (Ma) and its mechanism were studied.

Methods Adopting acetic acid writhing and hot plate test in mice, the changes of the number of writhing, the latencies of paw licking and the content of nitric oxide (NO) in the brain tissue after administration

② 收稿日期: 2000-05-17
作者简介: 罗学娅 (1960-),女,四川省重庆市人,副教授,医学硕士。1982年毕业于内蒙古医学院医疗系,1989年毕业于贵阳医学院药理学专业,现任大连大学医学院药理学教研室主任,主要从事神经药理及心血管药理的研究。Tel (0411) 7402364