

4-甲基环十五烷酮对血管性痴呆大鼠学习记忆力的影响

张自然, 刘册家, 毕丽娟, 李海燕, 李秀凤, 史权*

(山东宏济堂制药集团有限公司, 济南 250100)

[摘要] 目的: 评价 4-甲基环十五烷酮对血管性痴呆大鼠学习记忆力的影响。方法: 采用大鼠 90 只, 按体重随机分为金纳多注射液 ($6.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 阳性对照组, 模型对照组, 以及假手术对照组, 4-甲基环十五烷酮高、中、低剂量组 ($8.1, 2.7, 0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。以结扎双侧颈动脉法造模, 各组从造模后 7 d 开始灌胃给药, 每天 1 次, 连续给药 28 d, 给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。模型对照组和假手术对照组给予等容量的生理盐水, 观察各组实验动物的行为学和脑组织匀浆相关的生化指标。结果: 4-甲基环十五烷酮以 $8.1, 2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃时, 避暗计数及脑组织匀浆总胆碱酯酶 (TChE) 活性较模型组明显降低 ($P < 0.05$); 4-甲基环十五烷酮在 $8.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 脑组织匀浆超氧化物歧化酶 (SOD) 活性较模型组明显升高 ($P < 0.05$)。结论: 4-甲基环十五烷酮对改善血管性痴呆大鼠学习记忆力有一定的作用。

[关键词] 4-甲基环十五烷酮; 血管性痴呆; 学习记忆力

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0228-03

Effect of 4-methyl-cyclopentadecanone on Learning and Memory in Vascular Dementia Rats

ZHANG Zi-ran, LIU Ce-jia, BI Li-juan, LI Hai-yan, LI Xiu-feng, SHI Quan*
(Shandong Hongjitang Pharmaceutical Group Co. Ltd., Ji'nan 250100, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effect of 4-methyl-cyclopentadecanone on learning and memory in vascular dementia rats. **Method:** Ninety rats were divided randomly into positive control group ($6.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), model group, sham operation group, 4-methyl-cyclopentadecanone low, medium and high dose group ($8.1, 2.7, 0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). The model was induced by arteria carotis ligation, and after 7 days these rats were administrated orally once a day for 28 days and given a administration dose at $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. The model group and sham operation group were administrated normal saline. Related biochemical indicators and praxiology in each group were observed. **Result:** Avoiding dark counts and total cholinesterase (TChE) activity degrade obviously ($P < 0.05$) while the intragastric administration was $8.1, 2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, meanwhile the SOD activity increase at a dose of $8.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Conclusion:** 4-methyl-cyclopentadecanone can enhance learning and memory in vascular dementia rats.

[Key words] 4-methyl-cyclopentadecanone; vascular dementia; learning and memory

麝香来源麝科动物林麝, 而林麝濒临灭绝, 来源受限, 人工麝香替代天然麝香在国内早已经应用, 效果基本等同。而作为人工麝香主要活性成分的麝香酮早已经在工业上实现了化学合成, 其药理作用一直受到关注, 而 4-甲基环十五烷酮既是麝香酮生产

中的副产物又是异构体, 因此为进一步提高对麝香酮生产中的副产物综合利用率, 结合麝香酮除了在心血管病方面的应用之外^[1], 可能对老年性痴呆有效^[2-3], 因此将 4-甲基环十五烷酮精制后在血管性痴呆方面进行广泛的活性筛选检测。

1 材料

1.1 动物 健康 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重 250 g 左右, 试验前适应性饲养 1 周, 由山东鲁抗医药股份有限公司提供。动物生产许可证号 SCXK(鲁)20080002。动物饲养于普通级环境, 实验动物使用

[收稿日期] 20120411(001)

[第一作者] 张自然, 医学博士, 从事新药研究与开发

[通讯作者] * 史权, 医学博士, 从事新药研究与开发, Tel: 053188116666-8531, E-mail: shiquan8918@126.com

许可证号 SYXK(鲁)20050055。辐照鼠饲料由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。

1.2 药品与试剂 4-甲基环十五烷酮(HJT03)由济南宏济堂制药有限责任公司提供。金纳多注射液(17.5 mg,批号 BC017,台湾济生化学制药厂股份有限公司),0.9%氯化钠注射液(批号 1D09040203,山东齐都药业有限公司),注射用硝普钠(批号 091001-1,武汉人福药业有限责任公司);戊巴比妥钠(批号 090205,济南诚言经贸有限公司),考马斯亮蓝、总胆碱酯酶(TChE)、单胺氧化酶(MAO)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号 20090707,南京建成生物工程研究所)。

1.3 仪器 MP2000-1型电子秤(上海第二天平仪器厂),JY1002型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),TDL-5型台式低速大容量离心机(江苏省金坛市医疗仪器厂),大鼠避暗箱(中国医学科学院),721型分光光度计(上海申化仪表自控公司)。

2 方法

2.1 分组 取健康大鼠 90 只,按性别体重随机分为 6 组,即 HJT03 高、中、低剂量组,金纳多注射液阳性对照组,模型对照组(每组 16 只),以及假手术对照组(10 只),雌雄各半。

2.2 药物配制 高剂量组溶液:取 1 mL HJT03 溶液,加入 99 mL 1% 聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80),混匀作为稀释液。取 9 mL 稀释液,加入 91 mL 1% 吐温-80 混匀得质量浓度为 $0.81 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;中剂量组溶液:为高剂量的 $1/3$,即质量浓度为 $0.27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;低剂量组溶液:为中剂量的 $1/3$,即质量浓度为 $0.09 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;金纳多阳性对照组溶液:取 10 mL 金纳多注射液,加生理盐水稀释至 57.4 mL,浓度为 $0.61 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;硝普钠,取硝普钠一支(50 mg),加入无菌注射用水稀释至 200 mL,质量浓度为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 给药剂量及给药频率 各药物均按人、鼠体表面积折算等效比率计算表,计算出大鼠的等效剂量,供试品高、中、低剂量($8.1, 2.7, 0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。金纳多注射液大鼠的等效剂量约为 $6.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组从造模后 7 d 开始 ig 给药,每天 1 次,连续给药 28 d,给药体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。模型对照组和阴性对照组给予等容量的生理盐水。

2.4 模型制作 将大鼠用 1% 的戊巴比妥钠($35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip)麻醉后,仰卧固定在手术台上,常规消毒,颈正中切口,分离双侧颈总动脉(CCA),模型组在夹闭双侧 CCA 之前,ip 硝普钠, $2.5 \text{ mg} \cdot$

kg^{-1} , (用无菌生理盐水溶解),随即用无创动脉夹夹闭双侧 CCA,10 min 后,再通 10 min,再夹闭 10 min,再通后缝合伤口,放回笼中保温饲养。假手术组麻醉及手术过程与模型组相同,但不阻断 CCA 及注射硝普钠。在全部造模过程中保持动物直肠温度在 $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右,以防止低温对脑缺血损伤的保护作用。

2.5 观察指标 末次给药后 1 h,进行避暗测试,然后取脑组织,匀浆后用比色法测定 TChE, MAO, SOD 的活性及 MDA 含量。

2.6 统计分析 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据统计采用 SPSS 13.0 软件处理,对各给药组和模型对照组进行差异性比较。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠行为学的影响 4-甲基环十五烷酮在 $8.1, 2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 避暗计数与模型对照组比较明显降低($P < 0.05$), $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时与模型对照组比较降低不明显;4-甲基环十五烷酮各组避暗潜伏期结果统计与模型对照组比较无明显差异,见表 1。

表 1 4-甲基环十五烷酮(HJT03)对大鼠行为学的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 避暗计数 /次 | 避暗潜伏期 /s |
|--------|----|--|--------------------|-----------------------|
| 阴性对照 | 10 | - | $0.9 \pm 1.3^{1)}$ | $134.8 \pm 68.7^{1)}$ |
| 模型对照 | 8 | - | 8.6 ± 7.1 | 42.9 ± 58.8 |
| HJT03 | 10 | 8.1 | $2.4 \pm 3.2^{1)}$ | 95.6 ± 89.4 |
| | 10 | 2.7 | $3.7 \pm 3.9^{1)}$ | 67.6 ± 80.0 |
| | 9 | 0.9 | 5.9 ± 5.6 | 80.7 ± 78.6 |
| 金纳多注射液 | 9 | 6.1 | $2.7 \pm 4.1^{1)}$ | 105.4 ± 88.6 |

注:与模型对照组对比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对大鼠脑匀浆相关生化指标的影响

3.2.1 对 TChE, MAO 活性的影响 与模型对照组比较,4-甲基环十五烷酮在 $8.1, 2.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ TChE, MAO 活性明显下降($P < 0.05$), $0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时 TChE, MAO 活性与模型对照组比无显著性差异。见表 2。

3.2.2 对 MDA 含量 SOD 活性的影响 4-甲基环十五烷酮各组 MDA 含量与模型对照组比较虽有所改善,但无明显差异。与模型对照组比较,4-甲基环十五烷酮 $8.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SOD 活性升高明显($P < 0.05$), $2.7, 0.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时 SOD 活性虽然升高,但与模型对照组比较无显著性差异。见表 2。

表 2 4-甲基环十五烷酮对大鼠脑组织匀浆相关生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 剂量/mg·kg ⁻¹ | TChE/U·mg ⁻¹ | MDA/nmol·mg ⁻¹ | MAO/U·mg ⁻¹ | SOD/U·mg ⁻¹ |
|--------|----|------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 阴性对照 | 10 | - | 7.91 ± 1.02 ¹⁾ | 28.56 ± 2.75 ¹⁾ | 144.02 ± 16.36 ¹⁾ | 1151.6 ± 304.2 ¹⁾ |
| 模型对照 | 8 | - | 10.56 ± 1.99 | 36.46 ± 4.37 | 172.46 ± 23.07 | 842.6 ± 181.5 |
| HJTO3 | 10 | 8.1 | 6.27 ± 2.52 ¹⁾ | 31.97 ± 11.08 | 123.48 ± 37.55 ²⁾ | 1101.0 ± 257.4 ¹⁾ |
| | 10 | 2.7 | 6.62 ± 2.70 ¹⁾ | 31.75 ± 6.16 | 142.17 ± 24.53 ¹⁾ | 1023.3 ± 260.8 |
| | 9 | 0.9 | 9.72 ± 2.72 | 35.27 ± 8.68 | 167.46 ± 32.54 | 1007.6 ± 153.2 |
| 金纳多注射液 | 9 | 6.1 | 8.37 ± 4.09 | 26.77 ± 8.52 ¹⁾ | 139.67 ± 29.82 ¹⁾ | 1025.1 ± 251.6 |

4 讨论

血管性痴呆病因较多,是由脑血管因素导致脑组织损害引起的痴呆综合征,包括缺血性,出血性或慢性缺氧性脑血管病引起的痴呆,最终临床表现有学习和记忆能力下降。

随着老龄化社会的到来,治疗原发疾病和开发预防治疗 VD 的新药具有重大的社会意义,4-甲基环十五烷酮是麝香酮的异构体,也是在生产中产生的副产物之一,从该化合物对血管性痴呆模型大鼠产生的行为学和生化指标的影响可以看到,在高剂量时该化合物对血管性痴呆大鼠行为学产生了一定的效果,在生化指标上,TChE,MAO,SOD 也与模型组有显著差异,提示大环酮类可能会成为一种全新结构的改善学习记忆能力方面先导化合物。

目前中药在治疗血管性痴呆方面很多研究^[4-6],大多是以中成药为主,成分复杂,涉及多种模型,观察指标不尽相同,机制研究广泛,但不深入^[7-11];而麝香酮也是来自天然中药麝香的有效成分,基于其作为中成药中的有效成分在临床上的广泛应用,有好的发展前景,但其在体内的具体作用机制尚未明确,需要进一步研究。

[参考文献]

[1] 梁辉,陈虎,高颖. 麝香酮抗局灶性脑缺血损伤的实验研究[J]. 中成药,2003, 25(3):225.
[2] 黄丽萍,黄敬耀,涂秀英,等. 麝香酮抗痴呆作用的药

理学实验研究[J]. 江西中医学院学报,2002, 14(4):21.
[3] 黄丽萍,黄敬耀. 麝香酮对 D-半乳糖所致拟痴呆小鼠抗痴呆作用研究[J]. 江西中医学院学报,2002, 14(1):35.
[4] 许成勇,黄权智,王发渭. 中药复方对拟血管性痴呆模型损伤级联反应影响的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):259.
[5] 王时光,杨文明. 血管性痴呆中医药治疗进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):72.
[6] 胡连军,于洪芳,罗增刚. 血管性痴呆的中药药理研究述评[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,5(5):57.
[7] 刘斌,赵彬,毛文静. 参芎化瘀胶囊对血管性痴呆模型大鼠学习记忆行为的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):125.
[8] 李辉,吴颢昕,岳晓杰. 双根清脑颗粒对血管性痴呆模型大鼠行为学及血清超氧化物歧化酶、丙二醛、一氧化氮、一氧化氮合酶的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010, 16(7):134.
[9] 杨文明,王时光,鲍远程. 智脑胶囊对血管性痴呆模型大鼠行为学及脑组织 NO,ET,CGRP 含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008,14(1): 29.
[10] 胡久略,贺又舜,张超云. 补肾醒脑方对血管性痴呆大鼠血管内皮生长因子、白介素-1 β 和肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(5):190.
[11] 金杰,于浩. 丹红注射液治疗血管性痴呆 40 例[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):198.

[责任编辑 聂淑琴]