

人参皂苷 R_{g₁} 鼻腔喷雾剂的药效学研究

陈新梅*

(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

[摘要] **目的:**考察人参皂苷 R_{g₁} (GR_{g₁}) 鼻腔喷雾剂的药效学。**方法:**采用水迷宫考察 GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂对正常小鼠空间学习能力的影响;小鼠随机分成空白组、GR_{g₁} 生理盐水溶液鼻腔给药组、GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂组。每组 16 只,每天给药 2 次,连续 7 d。GR_{g₁} 生理盐水溶液鼻腔给药组、GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂组给药剂量均为 30 mg·kg⁻¹;空白组给予等体积的生理盐水。采用跳台法考察 GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂对模型小鼠记忆获得障碍、记忆巩固障碍和记忆再现障碍的影响;小鼠随机分为 5 组:正常组、模型组、GR_{g₁} 生理盐水溶液 ig 组、GR_{g₁} 生理盐水溶液鼻腔给药组、GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂组,每组 14 只,每天给药 2 次,连续 7 d。GR_{g₁} 生理盐水溶液 ig 组、GR_{g₁} 生理盐水溶液鼻腔给药组、GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂组给药剂量均为 30 mg·kg⁻¹;正常组和模型组鼻腔给予等体积的生理盐水。于末次给药 30 min 后,除正常组外各组均造模,用跳台法测试。**结果:**GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂使正常小鼠第 3 天和第 7 天在水迷宫中到达平台时间缩短($P < 0.05$)、在水迷宫中 5 min 内错误次数减少($P < 0.05$);对东莨菪碱致记忆获得障碍小鼠在跳台内的错误次数减少($P < 0.01$)、潜伏期延长($P < 0.05$);对亚硝酸钠所致记忆巩固障碍小鼠在跳台内的错误次数减少($P < 0.05$)、潜伏期延长($P < 0.01$);对 35% 乙醇所致记忆再现障碍小鼠在跳台内的错误次数减少($P < 0.05$)、潜伏期延长($P < 0.01$)。**结论:**GR_{g₁} 鼻腔喷雾剂鼻腔给药使正常小鼠和记忆障碍小鼠的学习和记忆功有不同程度的改善。

[关键词] 人参皂苷 R_{g₁};老年痴呆;鼻腔给药

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0219-04

Experimental Study on Pharmacodynamics of Ginsenoside R_{g₁} Nasal Spray

CHEN Xin-mei*

(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the pharmacodynamics of ginsenoside R_{g₁} (GR_{g₁}) nasal spray. **Method:** Water maze was used to observe the ability of learning and memory in the mice administrated with GR_{g₁} nasal spray (30 mg·kg⁻¹). Step-down test was used to observe the impairment of memory acquisition, memory consolidation and memory retrieval induced by scopolamine, NaNO₂ or ethanol. **Result:** The time required to the safe area and the error times were shortened in the normal mice administrated with GR_{g₁} nasal spray. The error number was decreased and the latency was extended by the treatment of GR_{g₁} nasal spray in the model mice with impaired memory acquisition, memory consolidation and memory retrieval. **Conclusion:** The ability of learning and memory in normal mice and in model mice can be improved to different degrees after administration of GR_{g₁} nasal spray.

[Key words] ginsenoside R_{g₁}; Alzheimer's disease; nasal administration

老年痴呆按发病机制不同,分为阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD, 又称老年性痴呆 senile dementia)、血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 以及两者并存的混合型痴呆等 3 种类型,其中以 AD 最

常见。随着世界人口日趋老龄化,该病已经成为当前老年医学面临的最严峻的问题之一。抗痴呆药物的研究和开发已引起世界各国医药界的高度重视。目前治疗老年痴呆的药物种类较多,但这些药物具有很多不足:目前尚无对因治疗或逆转病程的理想药、某些药物副作用大、进口药价格昂贵、化学合成新的药物难度大,因此科研人员把目光移向天然药

[收稿日期] 20101203(015)

[通讯作者] * 陈新梅, 博士, 讲师, E-mail: xinmeichen@126.com

物。人参皂苷 Rg_1 (ginsenoside Rg_1 , GRg_1) 是人参中的一个代表性单体, 现代药理学的研究表明: GRg_1 能够作用于神经系统, 用于预防和治疗阿尔茨海默症, 但 GRg_1 口服后生物利用度很低, 只有 1.9% ~ 20%^[1]。本课题组研制了 GRg_1 鼻腔喷雾剂, 通过鼻腔给药, 治疗和预防中枢神经系统退行性疾病^[2]。本研究分别以正常小鼠和模型小鼠为对象, 考察 GRg_1 鼻腔喷雾剂的药效学。

1 材料

1.1 药品与试剂 GRg_1 (吉林省宏久生物科技股份有限公司, 批号 20040504; 纯度 98.9%); 氢溴酸东莨菪碱注射液 (上海禾丰制药有限公司, 批号 4A18006); 亚硝酸钠 (南京化学试剂一厂, 批号 020203); 乙醇 (南京化学试剂一厂, 批号 040810817); 水为双蒸水, 其余试剂为分析纯。

1.2 仪器 SMG-2 型小鼠通道式水迷宫 (中国医科院药研所); STT-2 型小鼠跳台仪 (中国医科院药研所); 752-C 型可见-紫外分光光度计 (上海第三分析仪器厂); 鼻腔定量喷雾泵 [万通 (苏州) 定量阀系统有限公司]。

1.3 动物 健康 ICR 种小鼠雌雄各半, 体重 (25 ± 5) g; 实验动物由中国药科大学动物中心提供, 动物证号 SCXK (苏) 2002-0011。

2 方法

2.1 对正常小鼠空间学习能力的影响 (水迷宫法)^[3] 健康小鼠实验室适应性饲养 3 d 后, 随机分为 3 组, 空白组、 GRg_1 生理盐水溶液鼻腔给药组、 GRg_1 鼻腔喷雾剂组。每组 16 只小鼠。分别给药, 每天 2 次, 连续 7 d。 GRg_1 生理盐水溶液鼻腔给药组、 GRg_1 鼻腔喷雾剂组给药剂量均为 30 mg·kg⁻¹; 空白组给予等体积的生理盐水。于第 3 天给药后 30 min, 将小鼠放入通道式水迷宫中进行测试, 游第 1 个盲端; 第 4 天给药后 30 min 游第 2 个盲端; 第 5 天给药后 30 min 游第 3 个盲端; 第 6 天给药后 30 min 游第 4 个盲端; 第 7 天给药后 30 min 游第 4 个盲端。

测试开始前, 将小鼠放在梯子附近, 使其自动爬上 3 次。测试开始时, 将小鼠面向壁面放入水迷宫中开始游泳, 达到平台后, 让小鼠在平台上休息 30 s。小鼠进入盲端为错误反应。测试开始后, 记录每组小鼠到达平台的时间 5 min 之内的错误次数。

2.2 对模型小鼠的影响 (跳台法)

^[4]

2.2.1 对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的影响

健康小鼠实验室适应性饲养 3 d 后, 随机分为 5 组, 分别为正常组、模型组、 GRg_1 生理盐水溶液 ig 组、 GRg_1 生理盐水溶液鼻腔给药组、 GRg_1 鼻腔喷雾剂组, 每组 14 只小鼠。分别给药, 每天 2 次, 连续 7 d。 GRg_1 生理盐水溶液 ig 组、 GRg_1 生理盐水溶液鼻腔给药组、 GRg_1 鼻腔喷雾剂组给药剂量均为 30 mg·kg⁻¹; 正常组和模型组鼻腔给予等体积的生理盐水。于末次给药 30 min 后, 除正常组外各组均 ip 氢溴酸东莨菪碱注射液, 剂量 0.5 mg·kg⁻¹, 空白组 ip 等体积生理盐水, 注射 10 min 后训练。每批各组分别有一只小鼠给药, 平行操作, 10 min 后再给第 2 批小鼠注射, 依次类推。

训练时将每批 5 只小鼠分别放入跳台仪的 5 个格子中, 小鼠在跳台仪中适应 3 min 后, 给予 36 V 电流电击。小鼠受电击后, 多数跳上跳台, 逃避电击。跳下时以小鼠双足同时接触铜栅为触电, 视为错误反应, 训练 5 min。24 h 后进行测试。测试时先将小鼠放在跳台上, 同时开始计时, 记录小鼠第 1 次跳下时间, 为触电潜伏期, 即为错误潜伏期 (step-down latency), 并记录 5 min 内跳下次数, 即为错误次数 (error number, EN), 作为观察指标。

2.2.2 对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响

分组、给药及训练方法同实验 2.2.1。训练结束后, 除空白对照组 sc 等量生理盐水, 其余各组立即 sc 亚硝酸钠 120 mg·kg⁻¹, 24 h 后进行测定, 测定方法同实验 2.2.1, 记录实验结果。

2.2.3 对 35% 乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响

分组、给药及训练方法同实验 2.2.1。测试前 30 min, 分别 ig 35% 乙醇 0.1 mL·(10 g)⁻¹ 或等容积生理盐水, 测定方法同实验 2.2.1, 记录实验结果。

2.3 统计学方法 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 PEMS 医学统计软件进行方差分析和 *t* 检验, *P* < 0.05 具有统计学意义。

3 结果

3.1 对正常小鼠空间学习能力的影响

3.1.1 对正常小鼠到达安全区时间的影响 实验结果见表 1, GRg_1 生理盐水鼻腔给药组在给药第 3 天能显著减少到达安全区的时间 (与空白组比, *P* < 0.05); 而 GRg_1 鼻腔喷雾剂组分别在第 3 天和第 7 天显著减少到达安全区的时间 (与空白组比, *P* < 0.05)。

3.1.2 对正常小鼠在水迷宫中 5 min 之内的错误

次数的影响 结果见表 2, GR_{g1} 鼻腔喷雾剂组在给药第 7 天能显著减少错误次数(与空白组比, $P < 0.05$);而 GR_{g1} 生理盐水溶液鼻腔给药组无此作用。

表 1 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂对小鼠在水迷宫中达到安全区时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

分组	剂量 /mg·kg ⁻¹	到达安全区的时间/s				
		第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
空白	-	46 ± 43	74 ± 97	95 ± 90	166 ± 112	158 ± 120
鼻腔给 GR _{g1} 溶液	30	20 ± 19 ¹⁾	48 ± 72	91 ± 73	161 ± 101	154 ± 117
鼻腔给 GR _{g1} 喷雾剂	30	20 ± 18 ¹⁾	78 ± 100	90 ± 103	149 ± 96	77 ± 71 ¹⁾

注:与空白组相比¹⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

表 2 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂对正常小鼠在水迷宫中 5 min 内错误次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 16$)

分组	剂量 /mg·kg ⁻¹	5 min 内的错误数/次				
		第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天
空白	-	2.06 ± 2.67	3.81 ± 3.78	5.94 ± 3.89	11.88 ± 8.67	11.19 ± 10.06
鼻腔给 GR _{g1} 溶液	30	0.88 ± 1.31	2.50 ± 1.59	5.88 ± 3.01	11.63 ± 7.5	9.5 ± 5.63
鼻腔给 GR _{g1} 喷雾剂	30	0.88 ± 1.45	2.94 ± 2.14	4.19 ± 2.81	8.06 ± 2.67	5.31 ± 3.22 ¹⁾

3.2 对模型小鼠的影响(跳台法)

3.2.1 对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的影响
结果见表 3。与空白组比较,模型组潜伏期显著缩短($P < 0.01$),5 min 内错误次数显著增加($P < 0.01$),表明 ip 注射东莨菪碱已造成小鼠记忆获得障碍。GR_{g1} 鼻腔喷雾剂组与模型组相比,潜伏期显著延长($P < 0.05$),5 min 内错误次数显著减少($P < 0.01$);而 GR_{g1} 生理盐水溶液鼻腔给药组与模型组相比,潜伏期和 5 min 内错误次数无显著差异;GR_{g1} 生理盐水溶液 ig 组与模型组相比,潜伏期显著延长,5 min 内错误次数显著减少($P < 0.05$)。

表 3 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂对东莨菪碱致小鼠记忆获得障碍的影响(跳台法)($\bar{x} \pm s, n = 14$)

分组	剂量 /mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	错误次数 /次
空白	-	172.79 ± 95.88 ²⁾	0.92 ± 0.86 ²⁾
模型	-	73.55 ± 85.41	2.64 ± 1.49
口服 GR _{g1} 溶液	30	147.52 ± 102.96 ¹⁾	1.36 ± 0.25 ¹⁾
鼻腔给 GR _{g1} 溶液	30	112.29 ± 82.09	1.85 ± 0.95
鼻腔给 GR _{g1} 喷雾剂	30	146.68 ± 108.56 ¹⁾	1.21 ± 1.19 ²⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (表 4 - 5 同)。

3.2.2 对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响
结果见表 4。与空白组比较,模型组潜伏期显著缩短($P < 0.05$),5 min 内错误次数显著增加($P < 0.05$),表明 sc 亚硝酸钠致小鼠记忆巩固障碍。

GR_{g1} 鼻腔喷雾剂组与模型组相比,潜伏期显著延长,5 min 内错误次数显著减少($P < 0.01$, $P < 0.05$);GR_{g1} 生理盐水溶液鼻腔给药组与模型组相比,潜伏期显著延长,5 min 内错误次数显著减少($P < 0.01$, $P < 0.05$);GR_{g1} 生理盐水溶液 ig 组与模型组相比,潜伏期显著延长,5 min 内错误次数显著减少($P < 0.05$)。

表 4 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂对亚硝酸钠所致小鼠记忆巩固障碍的影响(跳台法)($\bar{x} \pm s, n = 14$)

分组	剂量 /mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	错误次数 /次
空白	-	236.39 ± 102.76 ¹⁾	0.78 ± 1.18 ¹⁾
模型	-	120.77 ± 35.05	3.61 ± 4.73
口服 GR _{g1} 溶液	30	229.34 ± 119.89 ¹⁾	0.57 ± 1.28 ¹⁾
鼻腔给 GR _{g1} 溶液	30	299.09 ± 1.42 ³⁾	0.07 ± 0.27 ¹⁾
鼻腔给 GR _{g1} 喷雾剂	30	247.88 ± 60.97 ²⁾	0.22 ± 0.44 ¹⁾

3.2.3 对 35% 乙醇所致小鼠记忆再现障碍的影响
结果见表 5。与空白组比较,模型组潜伏期显著缩短($P < 0.001$),5 min 内错误次数显著增加($P < 0.001$),表明小鼠 ig35% 乙醇致小鼠记忆再现障碍。GR_{g1} 鼻腔喷雾剂组与模型组相比,潜伏期显著延长($P < 0.01$),5 min 内错误次数显著减少($P < 0.05$);而 GR_{g1} 生理盐水溶液鼻腔给药组与模型组相比,潜伏期和 5 min 内错误次数无差异;GR_{g1} 生理盐水溶液 ig 组与模型组相比,潜伏期显著延长,5 min 内错误次数显著减少($P < 0.05$)。

表 5 GR_{g1} 鼻腔喷雾剂对 35% 乙醇所致小鼠
记忆再现障碍的影响(跳台法)($\bar{x} \pm s, n=14$)

分组	剂量 /mg·kg ⁻¹	潜伏期 /s	错误次数 /次
空白	-	223.51 ± 116.59 ³⁾	1.07 ± 1.62 ³⁾
模型	-	20.86 ± 32.03	7.33 ± 5.09
口服 GR _{g1} 溶液	30	86.56 ± 89.26 ¹⁾	3.92 ± 3.27 ¹⁾
鼻腔给 GR _{g1} 溶液	30	80.44 ± 97.83	4.5 ± 2.44
鼻腔给 GR _{g1} 喷雾剂	30	113.73 ± 111.08 ²⁾	3.13 ± 3.21 ¹⁾

4 讨论

采用水迷宫考察对正常小鼠学习能力的影响,小鼠对水迷宫内的空间位置进行比较、评价,从而学会寻找和记住水迷宫中盲端和平台的位置,爬上平台逃避溺死,使得刺激(放入水中)与反应(辨认盲端和平台、寻找平台)之间形成联系,旨在观察正常小鼠的学习能力如:空间定向能力、定位能力及搜索策略的变化。实验结果表明:GR_{g1} 鼻腔喷雾剂给药第 3 d 和第 7 d,使正常小鼠在水迷宫中到达平台时间显著缩短(与空白组比, $P < 0.05$)、第 7 d 在水迷宫中 5 min 内错误次数显著减少(与空白组比, $P < 0.05$),表明鼻腔喷雾剂对正常小鼠的空间学习能力有一定的提高作用。

AD 发病机制和病变过程十分复杂,迄今为止,AD 有多种动物模型,但是每种动物模型都只能在一定程度上模拟 AD 的一部分病理学、生化、神经递质、行为学特征。AD 患者的临床表现为智力减退、记忆缺失以及相关行为能力障碍。临床上治疗老年痴呆的首选的策略是控制记忆障碍的发展。按照信息论的观点,记忆可以分为记忆获得(acquisition)、记忆巩固(consolidation)、记忆再现(recognition)等 3 个阶段。某些化学药品:M 胆碱受体阻滞剂如东莨菪碱、致脑缺氧剂如亚硝酸钠、中枢抑制剂如 35% 乙醇等能造成动物记忆损伤模型,抑制动物学习和学习后的短时记忆,引起类似痴呆症时记忆和认知

功能下降的表现,因此采用东莨菪碱、亚硝酸钠、35% 乙醇造成记忆缺损模型,以跳台为工具,观察喷雾剂对模型小鼠的影响。GR_{g1} 鼻腔喷雾剂能使东莨菪碱致记忆获得障碍小鼠在跳台内的错误潜伏期显著延长(与模型组比, $P < 0.05$),使 5 min 内错误次数显著减少(与模型组比, $P < 0.01$);使亚硝酸钠致记忆巩固障碍小鼠在跳台内的错误潜伏期显著延长(与模型组比, $P < 0.01$),使 5 min 内错误次数显著减少(与模型组比, $P < 0.05$);使 35% 乙醇致记忆再现障碍小鼠在跳台内的错误潜伏期显著延长(与模型组比, $P < 0.01$)、使 5 min 内错误次数显著减少(与模型组比, $P < 0.05$)。

GR_{g1} 鼻腔喷雾剂鼻腔给药对正常小鼠和模型小鼠的学习记忆能力均有不同程度的提高。GR_{g1} 对模型小鼠的记忆获得、记忆巩固和记忆再现等全过程都有一定的改善作用,表明 GR_{g1} 对记忆的全过程的作用是多层次、多环节的。GR_{g1} 的生理盐水溶液小鼠 ig 和人参皂苷 R_{g1} 鼻腔喷雾剂鼻腔给药,对模型小鼠的记忆获得障碍、记忆巩固障碍和记忆再现障碍有一定的改善作用,喷雾剂鼻腔给药效果可能优于 ig 给药。

[参考文献]

- [1] Xu Q F, Fang X L, Chen D F. Pharmacokinetics and bioavailability of ginsenoside Rb₁ and Rg₁ from Panax notoginseng in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 84(2/3):187.
- [2] 陈新梅. 人参皂苷 R_{g1} 鼻腔给药的可行性研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2):229.
- [3] 张均田. 现代药理实验方法学[M]. 北京:北京医科大学-中国协和医科大学联合出版社. 1998:1020, 1029.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2001:826.

[责任编辑 聂淑琴]