

吡拉西坦对大鼠脑 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶、单胺氧化酶的影响及其抗氧化作用

钱曾年、顾振纶、金黎清、谢梅林、陈葆荃 (苏州医学院药理教研室, 苏州 215007, 中国)

Effects of piracetam on $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ and monoamine oxidase in rat brain and its antioxidation effect

QIAN Zeng-Nian, GU Zheng-Lun, JIN Li-Qing, XIE Mei-Ling, CHEN Bao-Quan
(Department of Pharmacology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007, China)

ABSTRACT Piracetam, $\text{ig } 600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ for 30 d, caused a 20% decrease in the activity of $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ and monoamine oxidase (MAO) *in vivo*. *In vitro*, it presented an inhibitory effect on MAO, but had no direct effect on $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ at a concentration of $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$. Piracetam had a potential action in scavenging free radicals. This action may be related to its clinical effects on amnesia and Alzheimer's disease.

KEY WORDS piracetam; sodium, potassium adenosine triphosphatase; monoamine oxidase; free radicals

摘要 大鼠 ig 吡拉西坦 ($600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 连续 30 d 可分别使脑突触膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶和单胺氧化酶活力减少 20%。体外实验中, 该药可直接抑制单胺氧化酶的活力, 但对 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶无明显抑制作用 ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)。此外该药还具有较强的清除自由基能力。吡拉西坦对健忘和老年性痴呆的治疗机制可能与上述作用有关。

关键词 吡拉西坦; 钠, 钾腺苷三磷酸酶; 单胺氧化酶类; 自由基

吡拉西坦(piracetam)具有促进记忆和思维作用, 临床上主要用于治疗记忆和思维减退及 Alzheimer 氏病⁽¹⁾, 其作用机制迄今尚未阐明, 但一般认为与中枢神经系统能量代谢关系密切。有报道该药可增加腺苷激酶(AK)的活性⁽²⁾, 提高低氧状态⁽³⁾和低血糖状态⁽⁴⁾下脑内

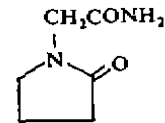
Received 1991 Mar 13

Accepted 1991 Jul 3

R965.1
三磷酸腺苷(ATP)的浓度。

神经系统单胺氧化酶(MAO)的活性与年龄关系密切, 随着年龄增加其活性也急剧增加⁽⁵⁾, 而该药对 MAO 系统有影响⁽⁶⁾。

本文主要报道吡拉西坦对大鼠脑突触膜 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶及 MAO 的影响, 及其清除自由基的作用。



Piracetam

MATERIALS AND METHODS

吡拉西坦粉剂(东北制药总厂, 批号 860712), 片剂(常州制药厂, 批号 890428), 体内试验使用片剂生理盐水悬液, 体外试验使用粉剂。三磷酸腺苷钠盐(Na_2ATP , Sigma), 哇巴因(ouabain, E Merck), 5-hydroxy[G-³H] tryptamine creatinine sulphate (Amersham 公司, 放射性活度 $455.1 \text{ TBq} \cdot \text{mol}^{-1}$), 盐酸苄胺(中国药科大学提供), 黄嘌呤氧化酶(华东师大生物系提供), 鲁米诺和黄嘌呤(Sigma)。

体内试验 5月龄 Wistar 大鼠 20 只, ♀♂各半, 体重 $213 \pm s 25 \text{ g}$, 随机分成两组, 用药组 ig 吡拉西坦片剂悬液 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 对照组给以同容量生理盐水, 两组连续 ig 30 d, 在 d 30 给药后 1 h, 快速断头取脑, 除去嗅球和小脑, 按 Jones & Matus⁽⁷⁾方法制备粗突触膜。制得的膜标本分别用 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶和 MAO 反应液稀释, 用酚试剂法测定蛋白浓度, -40°C 冷藏备用。实验

时同时测定同一实验室的 1 a 龄大鼠(体重: 327 ± 25 g)的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力, 以与 5 月龄进行比较.

酶活力测定 应用比色法⁽⁸⁾测定 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力, 酶活力单位以 1 mg 蛋白膜标本在 1 h 内水解生成的磷 ($\mu\text{mol P}_i$) $\cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 表示之; 应用 [^3H]5-HT⁽⁹⁾测定 MAO 活力(活力单位表示为 $\text{dpm} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$).

体外试验 粗突触膜制备, 蛋白测定及 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力测定方法同前. 参照苯醛生成法⁽¹⁰⁾测定 MAO 活力; 采用黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶发光体系⁽¹¹⁾测定吡拉西坦抗氧化作用.

RESULTS

吡拉西坦 ig 对大鼠(5 月龄)脑 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力的影响及该酶与年龄间的关系 吡拉西坦给药组(5 月龄) $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力为 7.9 ± 2.1 , 与生理盐水组(5 月龄, 10.0 ± 1.5)比较该酶活力下降约 20% ($P < 0.05$). 1 a 大鼠该酶活力为 7.7 ± 1.6 , 与 5 月龄生理盐水组比较, 酶活力下降约 30% ($P < 0.01$).

吡拉西坦 ig 对大鼠(5 月龄)脑 MAO 活力的影响 吡拉西坦 $600 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续 ig 30 d, 用药组大鼠脑 MAO 活力为 14.3 ± 1.1 ($\text{dpm} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}, \times 10^{-3}$), 与对照组(17.8 ± 2.1)比较, 酶活力下降 20% ($P < 0.01$).

吡拉西坦对大鼠离体脑 MAO 活力的影响 与对照组比较, 吡拉西坦 $5, 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 均能显著抑制该酶的活力($P < 0.01$), 其抑制率分别为 8.7%和 28.4%, 阳性对照优降宁(pargyline)在 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}, 1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时抑制率分别为 69.0%和 85.5% ($P < 0.01$), 如 Tab 1 所示. 但吡拉西坦对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶无直接抑制作用. 当浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot$

Tab 1. Effects of piracetam on MAO activity in rat brain membrane *in vitro*. $n=10, \bar{x} \pm s, *P < 0.05, ***P < 0.01$

Drug	Concentration / $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	MAO activity / $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
control		28.6 ± 1.3
piracetam	1	$27.6 \pm 1.8^*$
	5	$26.1 \pm 1.7^{**}$
	10	$20.5 \pm 1.9^{***}$
pargyline	0.1	$8.9 \pm 1.7^{***}$
	1	$4.2 \pm 1.0^{***}$

L^{-1} 时仍无明显的抑制作用.

吡拉西坦对黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶发光体系的影响 结果见 Fig 1. 随着药物浓度的增加, 发光强度逐渐下降, 其 IC_{50} 为 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. 结果表明, 吡拉西坦具有很强的消除自由基的能力.

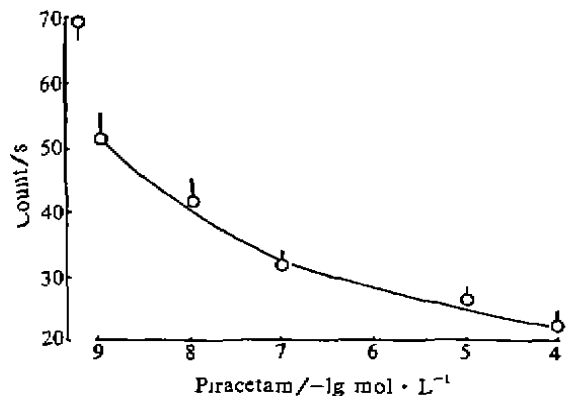


Fig 1. Effects of piracetam on xanthine-xanthine oxidase-luminol chemiluminescence system $n=3, \text{IC}_{50} = 60 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

DISCUSSION

脑组织依赖许多酶系, 使脑内 ATP 浓度维持于一个稳定水平. 这些酶系中, 与 ATP 浓度有直接关系的是腺苷酸激酶(AK)和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶. 一般认为, 长期记忆主要与脑组织中 RNA 和蛋白质的合成有关^(12,13),

而核酸和蛋白质的合成需要大量能量。吡拉西坦加强 AK 活性的作用⁽²⁾及抑制 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶的作用, 有助于提高脑组织中 ATP 的浓度, 为核酸和蛋白质的合成提供原料和能量。

本实验表明, 1 a 龄大鼠较 5 月龄大鼠脑 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活性显著低, 该现象可能是动物代偿性升高脑 ATP 浓度的一个机制。因随年龄的增加, 神经组织的供血供氧量可能有所下降, 致使能量代谢不足和 ATP 生成减少。 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶活力的自然减低可代偿性地升高 ATP 水平。

体外实验中, 吡拉西坦对 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶无直接抑制作用, 这与体内结果不一致, 可能与酶接触药物时间过短有关, 也可能该药不是通过直接抑制 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶, 而是通过长期服药后, 使该酶更新受影响而发挥作用。

近年来认为, MAO 活力及自由基与衰老间关系密切。本实验结果显示, 该药不仅在体外具有很强的抗自由基作用, 且在体内外对 MAO 活力均有显著的抑制作用, 这些结果无疑与其促进思维和记忆作用相一致。

维持蛋白质和核酸的正常分子结构是该药促进记忆和思维作用的又一方面。过量的自由基可直接作用于蛋白质和核酸, 使之产生超氧化变性、交联或断裂⁽¹⁴⁾。吡拉西坦通过清除脑内过量的自由基, 可保护“记忆分子”的正常结构和功能。

REFERENCES

- 1 Li WB, Zhang BL, Ma XC, Wang XZ, Liang QX. Antagonistic action of piracetam on impaired avoidance responses in AlCl_3 poisoned rats. *Chin J Pharmacol Toxicol* 1988; 2 : 132-4.
- 2 Nickolson VJ, Wolthuis OL. Effect of the acquisition-enhancing drug piracetam on rat cerebral energy metabolism. Comparison with naftidrofuryl and methamphetamine. *Biochem Pharmacol* 1976; 25 : 2241-4.

- 3 Wyllie MG, Paciorek PM, Waterfall JF. Adenosinetriphosphate conservation by indoramin and other drugs. *Biochem Pharmacol* 1981; 30 : 1605-12.
- 4 Benzi G, Pastoris O, Villa RF, Giuffrida AM. Influence of aging and exogenous substances on cerebral energy metabolism in posthypoglycemic recovery. *Biochem Pharmacol* 1985; 34 : 1477-783.
- 5 Shih JC. Monoamine oxidase in aging human brain. In: Singer TP, Von Korff RW, Murphy DL, eds. *Monoamine oxidase: structure, function, and altered functions*. New York: Academic Press, 1979 : 413-21.
- 6 Станчева СЛ, Алова ЛГ. Влияние центрофеноксина, пиррацетама и анирацетама на моноаминоксидазную активность в различных структурах мозга крыс. *фармакол и Токсикол* 1988; 51 (3) : 16-8.
- 7 Jones DH, Matus AI. Isolation of synaptic plasma membrane from brain by combined flotation-sedimentation density gradient centrifugation. *Biochim Biophys Acta* 1974; 356 : 276-87.
- 8 Cole CH, Waddell RW. Alteration in intracellular sodium concentration and ouabain-sensitive ATPase in erythrocytes from hyperthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42 : 1056-63.
- 9 Xia T, Wang SC. The in vitro effect of thyroid hormones on monoamine oxidase activity in rat brain mitochondria. *Chin J Nucl Med* 1983; 3 : 231-34.
- 10 McEwen C. Monoamine oxidase. In: Tabor H, Tabor CW, eds. *Methods in enzymology XVII B. Metabolism of amino acids and amines*. New York: Academic Press, 1971 : 692-8.
- 11 Li YX, Fang YZ. A new assay for superoxide dismutase activity: chemiluminescence method. *Biochem Biophys* 1983; (2) : 59-62.
- 12 Hyden H, Egyhózi E. Nuclear RNA changes of nerve cells during a learning experiment in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962; 48 : 1366-73.
- 13 Hyden H, Lange PW. Brain-cell protein synthesis specifically related to learning. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970; 65 : 898-904.
- 14 Pryor WA. Free radical reactions and their importance in biochemical systems. *Fed Proc* 1973; 32 : 1862-9.