

· 论著 ·

盐酸哌甲酯速溶膜抗疲劳作用及其机制的研究

张利红^{1,2}, 徐平华², 武娜^{1,2}, 沈成英², 袁海龙², 韩晋² (1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330000; 2. 解放军 302 医院, 北京 100039)

[摘要] **目的** 研究盐酸哌甲酯(methylphenidate hydrochloride, MPH)口腔速溶膜(oral fast dissolving films, OFDF)抗疲劳作用及其机制。**方法** 将 60 只小鼠随机分为 6 组:正常对照组(生理盐水)、游泳对照组(生理盐水)、益气养血口服液阳性组(7 mg/kg)、MPH-OFDF 高、中、低剂量组(5.2、2.6、1.3 mg/kg)。正常对照组、游泳对照组及阳性组小鼠予以灌胃,其他组小鼠每天舌下给药 1 次,连续 15 d,末次给药 30 min 后进行负重游泳实验,记录小鼠游泳至力竭的时间,并检测小鼠血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)和三酰甘油(TG)水平。**结果** 与游泳对照组比较,高、中剂量 MPH-OFDF 可显著延长小鼠的力竭性游泳时间($P<0.05$, $P<0.01$),降低小鼠血清中 LDH、CK 水平($P<0.05$, $P<0.01$),且中剂量 MPH 能降低小鼠血清的 TG 含量($P<0.05$)。**结论** MPH-OFDF 具有明显的抗疲劳作用,其机制可能与降低血清 LDH、CK 及 TG 含量有关。

[关键词] 盐酸哌甲酯速溶膜;抗疲劳;负重游泳;乳酸脱氢酶;肌酸激酶;三酰甘油

[中图分类号] R971 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)06-0522-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.06.011

Study of anti-fatigue effect of methylphenidate hydrochloride oral fast dissolving films and its mechanism

ZHANG Lihong^{1,2}, XU Pinghua², WU Na^{1,2}, SHEN Chengying², YUAN Hailong², HAN Jin² (1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330000, China; 2. No. 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective** To study the anti-fatigue effect of methylphenidate hydrochloride oral fast dissolving films (MPH-OFDF) and its mechanism. **Methods** 60 mice were randomly divided into 6 groups as: normal control group (physiological saline), model group (physiological saline), Yiqiyangxue oral liquids positive group (7.00 mg/kg), MPH-OFDF high-dose group (5.20 mg/kg), MPH-OFDF middle-dose group (2.60 mg/kg) and MPH-OFDF low-dose group (1.30 mg/kg). Besides the normal control group, model group and positive group were orally administered, the other groups are administered with the drug once daily sublingually daily for consecutive 15 days. The mice were put in the load-weighted swimming test 30 min after the last oral administration, then the anti-fatigue effect was assessed based on recording exhausting swimming time and detecting the levels of serum lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), triglycerides (TG) in mice. **Results** Compared with control group, the middle-dose and the high-dose MPH could prolong the exhausting swimming time ($P<0.05$, $P<0.01$) and decrease the activity of LDH and CK significantly ($P<0.05$, $P<0.01$); in addition the middle-dose MPH could decrease the content of TG ($P<0.05$). **Conclusion** The MPH had marked anti-fatigue effect that may be associated with reduced serum LDH, CK and TG.

[Key words] methylphenidate hydrochloride; anti-fatigue; load-weighted swimming test; lactate dehydrogenase; creatine kinase; triglycerides

盐酸哌甲酯(methylphenidate hydrochloride, MPH)是一种人工合成的中枢神经兴奋剂,类似交感神经作用药,能直接兴奋延髓,改善精神活动,解

除轻度抑郁及疲劳感^[1]。目前,MPH 是注意力缺陷、多动障碍(attention-deficit hyperactivity disorder, ADHD)的一线治疗药物^[2]。临床研究表明,MPH 对癌症及慢性疲劳综合征患者的疲劳感具有缓解作用^[3-5]。口腔速溶膜剂(oral fast dissolving films, OFDF)是一种新型药物传递系统,载药多聚体膜剂,将其置于舌上,可在 1 min 内溶解,且在唾液中能快速溶解、释放药物,具有良好的口服顺应性^[6]。本研究利用自制的 MPH-OFDF,拟对其抗

[基金项目] 重大新药创制(No.2013ZX09J13109-06C)

[作者简介] 张利红,硕士研究生,研究方向:药物新制剂、新剂型、新技术研究.E-mail: 1109249936@qq.com

[通讯作者] 韩晋,硕士,博士生导师,研究方向:医院药学.Tel: (010)66933225;E-mail: hanjin302embd@163.com

疲劳作用进行实验研究,并初步评价其作用机制。

1 实验材料

1.1 仪器 YP-AFA-III型烘干式刮刀涂膜机(上海亚培实业有限公司),101型电热鼓风干燥箱(北京中兴伟业仪器有限公司),数显外径千分尺(上海益宇机械科技有限公司),游泳箱(42 cm×27 cm×19 cm),TGL-16GB型离心机(上海安亭科学仪器厂),BS-120型生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

1.2 药物与试剂 MPH原料药(武汉宏信康精细化工有限公司,批号:20140411,含量>98%);羟丙甲基纤维素 E15(HPMC-E15)、低取代羟丙基纤维素(L-HPC)、微晶纤维素(MCC,北京凤礼精求商贸有限责任公司,批号:201403037、20140448、6610141712);聚乙二醇400(PEG 400,西陇化工股份有限公司,批号:140427);超纯水,自制;益气养血口服液(规格:10 ml/支,吉林龙泰制药股份有限公司,批号:20140217);MPH-OFDF(自制);乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、三酰甘油(TG)试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,批号:142714012、142514015、141714028)。

1.3 实验动物 昆明种小鼠,SPF级,20~23 g,雄性,由军事医学科学院实验动物中心提供(动物合格证号:SCXK-(军)2012-004)。饲养实验室为解放军302医院动物实验中心,温度保持在25℃,相对湿度为40%~70%。

2 方法

2.1 MPH-OFDF的制备 采用溶剂浇铸法制备MPH-OFDF。将6%(g/ml)HPMC-E15加入到温度为50℃的纯化水中,搅拌使其均匀分散,静置1 h。依次加入6%(g/ml)PEG400、0.22%(g/ml)MPH,超声,使药物充分溶解,最后加入0.15%(g/ml)MCC和0.5%(g/ml)L-HPC。待体系均匀后,真空脱去气泡,然后倒入涂膜机涂膜(厚度100 μm),将涂抹玻璃板放入电热鼓风干燥箱(50℃),完全干燥脱膜后,切割至规格大小(2 cm×2 cm)MPH-OFDF(0.25 mg/cm²),即为本品速溶膜片。

2.2 分组与给药 取健康小鼠60只,适应性饲养3 d后,随机分为6组,每组10只,分别为正常对照组、游泳对照组、益气养血口服液阳性组、MPH-OFDF低、中、高剂量组。其中,正常对照组、游泳对照组给予生理盐水灌胃;阳性组给予益气养血口服液(7 mg/kg)灌胃;将MPH-OFDF剪成所需

大小,低、中、高剂量组分别舌下给药1.3、2.6、5.2 mg/kg,每日给药1次,连续给药15 d。

2.3 小鼠负重游泳实验 小鼠末次给药30 min后,除正常对照组外,将其余各组小鼠尾部分别栓上重量为其体重5%的铁夹进行负重游泳,用尺子不断轻轻搅动水面使小鼠不停游动,以小鼠沉入水后10 s不能上浮并且将其放在平面上时无法完成翻正反射为力竭标志^[7,8],记录小鼠的力竭性游泳时间。

2.4 LDH、CK、TG的测定 游泳实验结束20 min后,于小鼠眼眶取血约0.5 ml,备用。血液以3 000 r/min的速度离心15 min,分离出血清,吸取100 μl,加适量生理盐水稀释,全自动生化分析仪测定LDH、CK和TG值。

2.5 数据处理 多组间两两比较采用SPSS17.0统计软件进行单因素方差分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 MPH-OFDF对小鼠力竭性游泳时间的影响 与游泳对照组比较,阳性组、MPH-OFDF高、中剂量组小鼠游泳至力竭的时间均显著延长($P < 0.05$, $P < 0.01$),低剂量组无显著差异($P > 0.05$)。结果表明,MPH-OFDF能够显著延长小鼠游泳至力竭的时间,即具有抗疲劳作用,但其作用高剂量组不及中剂量组(表1)。

表1 MPH-OFDF对小鼠力竭性游泳时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量(mg/kg)	力竭性游泳时间(t/min)
游泳对照组	0	99.00±4.59
阳性组	7	125.44±10.11*
低剂量组	1.3	105.37±8.28
中剂量组	2.6	143.59±16.69**
高剂量组	5.2	136.63±15.49*

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,与游泳对照组比较

3.2 MPH-OFDF对小鼠血清中LDH、CK及TG的影响 与正常对照组比较,游泳对照组小鼠血清中LDH、CK和TG的含量均显著增加($P < 0.01$);与游泳对照组比较,阳性组、MPH高、中剂量组小鼠血清中的LDH和CK含量均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),MPH中剂量组小鼠血清中的TG含量明显降低($P < 0.05$)。结果表明,MPH的抗疲劳作用可能与降低血清中的LDH、CK及TG含量有关。结果见表2。

表 2 MPH-OFDF 对游泳力竭小鼠血清中
LDH、CK 和 TG 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	LDH($z_B/U \cdot L^{-1}$)	CK($z_B/U \cdot L^{-1}$)	TG($z_B/mmol \cdot L^{-1}$)
正常对照组	1 086.90 \pm 230.77	291.09 \pm 222.22	0.64 \pm 0.14
游泳对照组	1 429.52 \pm 247.84**	670.93 \pm 231.64**	1.04 \pm 0.23**
阳性组	1 123.80 \pm 191.78 [#]	419.71 \pm 187.36 [#]	1.07 \pm 0.12
低剂量组	1 320.40 \pm 317.34	595.39 \pm 240.87	0.93 \pm 0.14
中剂量组	981.62 \pm 240.42 [#]	417.13 \pm 198.59 [#]	0.77 \pm 0.18 [#]
高剂量组	1 102.49 \pm 286.76 [#]	424.51 \pm 190.56 [#]	0.90 \pm 0.32

** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; [#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$, 与游泳对照组比较

4 讨论

临床上常用的抗疲劳药物分为中药和化学药物两类,抗疲劳中药多以滋补气血为主,副作用相对较小,但活性成分及作用机制等均不明确,如红景天、西洋参、人参等;抗疲劳化学药物多为大脑皮质兴奋药,能增强中枢神经系统功能,因此可用于预防或治疗中枢抑制,发挥抗疲劳作用,提高连续工作能力,但该类药物(如咖啡因、苯丙胺等)多具有成瘾性,副作用较大^[9,10]。本实验通过观察小鼠力竭性游泳时间,测定血清中 LDH、CK 和 TG 的水平,初步评价了 MPH-OFDF 的抗疲劳作用及其机制。

正常情况下,LDH、CK 存在于肌细胞中,两者均为大分子蛋白质,不能直接进入循环系统。运动介导的氧化应激可使机体氧自由基大量生成,自由基攻击细胞膜、线粒体膜,使细胞和细胞器受到损伤,细胞内容物(LDH、CK)可通过损伤的细胞膜大量释放流入血液中,引发机体离子和细胞代谢功能紊乱、耐力下降,从而引发机体疲劳^[11]。而脂肪动员可以节约糖原,维持血糖稳态,增强运动时脂肪的氧化代谢能力,可以减少肌糖原的损耗,增强肌肉的运动耐力,从而延缓疲劳的发生^[12]。

研究结果显示,中、高剂量 MPH-OFDF 能有效延长小鼠力竭性游泳的时间,增加小鼠的游泳耐力,维持肌细胞膜的稳定性,增强肌肉的运动耐力,降低血清的 LDH、CK 以及 TG 的水平。研究表明,MPH-OFDF 具有明显的抗疲劳作用,其机制可能与降低血清的 LDH、CK 及 TG 含量有关。

【参考文献】

[1] 戴淑萍,卢漓江,马爱民. 哌甲酯的临床应用现状 [J]. 中国药房, 2008, 19(8): 626-627.

- [2] Prommer E. Methylphenidate: established and expanding roles in symptom management [J]. Am J Hosp Palliat Care, 2012, 29:483-490.
- [3] Lower E, Fleishman S, Cooper A, et al. A phase III, randomized, placebo-controlled trial of the safety and efficacy of d-MPH as new treatment of fatigue and "chemobrain" in adult cancer patients [J]. Clin Oncol, 2005;23(16S).
- [4] Daniel B, Philippe P, Boudewijn V H, et al. Does methylphenidate reduce the symptoms of chronic fatigue syndrome? [J]. Am J Med, 2006, 119(2):e23-e30.
- [5] Shun G, Ping S, Hai J, et al. Effect of methylphenidate in patients with cancer-related fatigue: a systematic review and meta-analysis [J]. PLOS ONE, 2014, 9(1):e84391.
- [6] Aggarwal J, Singh G, Saini S, et al. Fast dissolving films a novel approach to oral drug delivery [J]. Int Res J Pharm, 2011, 2(12):69-74.
- [7] Radloff D, Zhao Y, Boico A, et al. Anti-hypotensive treatment and endothelin blockade synergistically antagonize exercise fatigue in rats under simulated high altitude [J]. PLOS One, 2014, 9(6):e99309.
- [8] Thomas DP, Marshall KI. Effect of repeated exhaustive exercise on myocardial subcellular membrane structure [J]. Sports Med, 1988, (9):257-260.
- [9] 徐志刚. 抗疲劳药物的研究进展 [J]. 海峡药学, 2012, 24(1): 21-23.
- [10] 张颖捷,杜万红. 国内外抗疲劳研究进展 [J]. 实用预防医学, 2012, 19(7):1112-1116.
- [11] John B, Michael JM, Patricia AR, et al. Impaired calcium pump function does not slow relaxation in human skeletal muscle after prolonged exercise [J]. J Apply Physiol, 1997, 83: 511-521.
- [12] Walberg JL, Greenwood MRC, Stern JS. Lipoprotein lipase activity and lipolysis after swim training in obese Zucker rats [J]. Am J Physiol, 1983, 245:706-712.

【收稿日期】 2015-03-20 【修回日期】 2015-07-25

【本文编辑】 李睿晏