

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.03.018

# 冰片灌胃或滴鼻给药对氯胺酮-咪达唑仑麻醉大鼠苏醒和认知功能的对比研究

钱丽萍, 翟青新, 余飞, 王玉娟

(南京大学医学院附属鼓楼医院科研部实验动物中心, 南京 210008)

**[摘要]** **目的** 考察并比较冰片灌胃或滴鼻给药对氯胺酮-咪达唑仑麻醉大鼠苏醒和认知功能的影响。**方法** 将受训大鼠按逃避潜伏期分为 6 个组: 对照组, 模型组, 冰片灌胃低剂量组(1.0 mL/100 g), 冰片灌胃高剂量组(2.0 mL/100 g), 冰片滴鼻低剂量组(0.1 mL/100 g), 冰片滴鼻高剂量组(0.2 mL/100 g), 每组 16 只。实验前 20 min 给药。除对照组, 其余大鼠均给予全身麻醉。记录大鼠的翻正反射恢复时间、血气、逃避潜伏期和空间探索能力并进行组间比较。**结果** 与对照组比较, 模型组 PaCO<sub>2</sub> 和 P(A-a)DO<sub>2</sub> 升高, pH 和 PaO<sub>2</sub> 降低, 潜伏逃避时间延长, 平台穿越次数减少 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 冰片灌胃或滴鼻组全身麻醉后翻正反射恢复时间均有减少、血气有改善, 潜伏逃避时间缩短 ( $P < 0.05$ ), 平台穿越次数增多 ( $P < 0.05$ ); 冰片灌胃高、低剂量组内的翻正反射恢复时间、血气和平台区穿越次数差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 与冰片灌胃低剂量比较, 冰片灌胃高剂量的逃避潜伏期较短 ( $P < 0.05$ ); 与冰片灌胃组比较, 冰片滴鼻组全身麻醉后翻正反射恢复时间明显减少、血气明显改善, 潜伏逃避时间明显缩短, 平台区穿越次数增多 ( $P < 0.05$ ); 与冰片滴鼻低剂量比较, 冰片滴鼻高剂量的全身麻醉后翻正反射恢复时间明显减少、血气明显改善, 逃避潜伏期较短 ( $P < 0.05$ )。**结论** 冰片可通过滴鼻途径改善血气达到缩短麻醉大鼠翻正反射恢复时间并改善认知功能。

**[关键词]** 冰片; 氯胺酮; 咪达唑仑; 滴鼻; 大鼠; 认知**[中图分类号]** R338.6; R614.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)03-0345-03

## The comparative effect of orally or intranasally administered borneol on ketamine-midazolam anesthetized rats' regained consciousness and cognitive functions

Qian Liping, Zhai Qingxin, Yu Fei, Wang Yujuan

(Department of Experimental Animal Research Center, Nanjing Drug Tower Hospital Affiliated to Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate and compare the effect of orally or intranasally administered borneol on ketamine-midazolam anesthesia anesthetized rats' regained consciousness and cognitive functions. **Methods** The rats were trained to escape latency and divided into 6 groups: control group, model group, low dose oral borneol group, high dose group oral borneol group, low dose intranasal borneol group and high dose intranasal borneol group, 16 rats in each group. All groups were given general anesthesia, beside the control group. The reflex recovery time, blood gas analysis, escape latency and space exploration capability were recorded and compared within groups. **Results** Compared with the control group, PaCO<sub>2</sub>, P(A-a)DO<sub>2</sub> and latent escape time increased ( $P < 0.05$ ), pH, PaO<sub>2</sub> and times of platform across decreased in the model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the righting reflex test time, times of platform across and latent escape time decreased ( $P < 0.05$ ), blood gas analysis improved ( $P < 0.05$ ) in intranasal borneol groups and oral borneol groups. The righting reflex test time, blood gas analysis and times of platform across had no significantly differences within borneol oral groups ( $P > 0.05$ ). Compared with low dose oral borneol group, latent escape time decreased in high dose oral borneol group ( $P < 0.05$ ). Compared with borneol oral groups, the righting reflex test time, times of platform across and latent escape time decreased ( $P < 0.05$ ), blood gas analysis improved ( $P < 0.05$ ) in intranasal borneol groups. Compared with low dose intranasal borneol group, the righting reflex test time and latent escape time decreased ( $P < 0.05$ ), blood gas analysis improved ( $P < 0.05$ ) in high dose intranasal borneol group. **Conclusion** Intranasal borneol could reduce righting reflex test time and improve cognitive function by improving the blood gas analysis.

**[Key words]** borneol; ketamine; midazolam; intranasal; rat; cognitive

苏醒延迟及术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCDF)是临床全身麻醉的常见并发症,如何缩短苏醒延迟及降低认知功能障碍是麻醉界的研究热点<sup>[1-2]</sup>。冰片,也称为龙脑,是常用的芳香开窍中药,研究显示冰片可以缩短戊巴比妥钠的持续睡眠时间,可明显改善老年痴呆症患者的认知功能,那么冰片对全身麻醉是否有缩短苏醒延迟同时改善术后功能障碍,这方面尚未有研究报道。另外,冰片传统的给药方法为口服,但近些年的研究显示冰片通过滴鼻的效果更为

显著,因冰片可绕过血脑屏障,直达脑部。因此,本课题考察比较冰片灌胃或滴鼻给药对氯胺酮-咪达唑仑麻醉大鼠苏醒和认知功能的影响,现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 实验材料** 选取健康 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 180~220 g,由上海杰思捷实验动物有限公司提供,动物许可证号:SCXK(沪)2013-0006。

表 1 冰片不同给药途径对大鼠全身麻醉后翻正反射恢复时间和血气的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	翻正反射恢复 时间(min)	pH( $10^2$ )	PaCO <sub>2</sub> (mm Hg)	PaO <sub>2</sub> (mm Hg)	P(A-a)DO <sub>2</sub>
对照组	—	74.7±0.1	40.2±4.2	110.4±6.7	0.9±0.3
模型组	56.7±12.4	72.5±0.6 <sup>a</sup>	63.5±3.9 <sup>a</sup>	65.8±3.7 <sup>a</sup>	4.2±0.3 <sup>a</sup>
冰片灌胃低剂量组	50.7±10.1	72.5±0.8	57.4±5.1 <sup>b</sup>	69.4±5.5	3.8±0.2 <sup>b</sup>
冰片灌胃高剂量组	45.6±8.9	73.2±0.4 <sup>b</sup>	54.2±1.8 <sup>b</sup>	72.4±6.4 <sup>b</sup>	3.0±0.5 <sup>b</sup>
冰片滴鼻低剂量组	38.4±8.7 <sup>bcd</sup>	73.9±0.8 <sup>bcd</sup>	49.1±4.8 <sup>bc</sup>	75.6±5.1 <sup>bc</sup>	2.5±0.7 <sup>bcd</sup>
冰片滴鼻高剂量组	29.7±6.7 <sup>bcde</sup>	74.6±0.3 <sup>bcde</sup>	45.6±5.7 <sup>bcde</sup>	86.4±4.7 <sup>bcde</sup>	2.0±0.4 <sup>bcd</sup>
F	9.8	24.6	32.4	73.1	62.2
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

—:无数据;<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与冰片灌胃低剂量组比较;<sup>d</sup>: $P<0.05$ ,与冰片灌胃高剂量组比较;<sup>e</sup>: $P<0.05$ ,与冰片滴鼻低剂量组比较。

**1.1.2 仪器与药物** Morris 水迷宫,北京普升科技有限公司生产;便携式血气分析仪,美国 Abbott 公司生产;天然冰片,南京大学医学院附属鼓楼医院药房提供;氯胺酮(2 mL:0.1 g,江苏恒瑞医药股份有限公司);咪达唑仑注射(1 mL:5 mg,江苏恩华药业股份有限公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 水迷宫实验** Morris 水迷宫分为东南、西南、东北和西北 4 个部分。水池东南的中央放圆柱平台,水池表面平铺聚乙烯碎屑,将平台制成隐匿型平台。将大鼠置于水迷宫进行定位航行训练。将大鼠从水池其他 3 个方向面壁放入水池,大鼠可通过游泳游到隐匿平台,从入水游至平台的时间记为逃避潜伏期,历时 5 d,4 次/天。

**1.2.2 分组和给药** 冰片用 5% 的乙醇溶解,将接受训练的大鼠按逃避潜伏期和性别均匀分为 6 个组别(对照组、模型组、冰片灌胃低剂量组、冰片灌胃高剂量组、冰片滴鼻低剂量组、冰片滴鼻高剂量组),每组 16 只,雌雄各半。其中对照组给予滴鼻 20% 乙醇溶液,冰片滴鼻低剂量组滴鼻 0.1 mL/100 g,冰片溶解于 20% 乙醇,浓度为 9 mg/mL,冰片滴鼻高剂量组滴鼻 0.2 mL/100 g,冰片灌胃低剂量组灌胃 1.0 mL/100 g,冰片溶解于 20% 乙醇,浓度为 9 mg/mL,再用蒸馏水稀释至 0.9 mg/mL,冰片灌胃高剂量组灌胃 2.0 mL/100 g。

**1.2.3 翻正反射恢复时间** 实验前禁食过夜,不禁水。进行实验前 20 min,每个组别分别给药。除对照组,其余大鼠均给予 75 mg/kg 氯胺酮和 5 mg/kg 咪达唑仑全身麻醉。记录并比较各组翻正反射恢复时间:大鼠连续 3 次仰卧后 5 s 未能恢复站立即为翻正反射消失,连续 3 次仰卧后恢复站立为翻正反射恢复,记录并比较各组翻正反射恢复时间。

**1.2.4 血气比较** 每组取 8 只大鼠,雌雄各半,于全身麻醉苏醒后即刻腹腔注射水合氯醛全身麻醉下,开胸暴露心脏,使用肝素化注射器穿刺左心室,抽取动脉血样,采用便携式血气分析仪行 pH、O<sub>2</sub> 分压(PaO<sub>2</sub>)、CO<sub>2</sub> 分压(PaCO<sub>2</sub>)和肺泡-动脉氧分压差[P(A-a)DO<sub>2</sub>],并进行组间比较。

**1.2.5 逃避潜伏期和空间探索** 剩余 8 只大鼠翻正反射恢复后 4 h,测定大鼠的水迷宫逃避潜伏期和空间探索,最后 1 次定位航行测试后,撤离平台,由同一入水点将大鼠面向池壁放入水中,自由泳 120 s,记录跨过原平台相应区域的次数。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析;计数资料用率表示,组间采用 $\chi^2$ 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ ,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 冰片不同给药途径对大鼠全身麻醉后翻正反射恢复时间和血气的影响** 与对照组比较,模型组的 PaCO<sub>2</sub> 和 P(A-a)

DO<sub>2</sub> 升高( $P<0.05$ ),pH 和 PaO<sub>2</sub> 降低( $P<0.05$ );冰片灌胃或滴鼻组全身麻醉后翻正反射恢复时间均有减少、血气有改善;冰片灌胃高、低剂量组内的翻正反射恢复时间和血气比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );与冰片灌胃组,冰片滴鼻组翻正反射恢复时间明显减少( $P<0.05$ ),血气改善明显( $P<0.05$ );冰片滴鼻高剂量组较低剂量组的翻正反射恢复时间明显减少( $P<0.05$ )、血气明显改善( $P<0.05$ ),见表 1。

**2.2 冰片不同给药途径对大鼠在水迷宫的潜伏逃避和平台穿越的影响** 与对照组比较,模型组的潜伏逃避时间延长( $P<0.05$ ),平台穿越次数减少( $P<0.05$ );与模型组比较,除了冰片灌胃低剂量组,3 个冰片组的潜伏逃避时间有不同程度的缩短( $P<0.05$ ),平台穿越次数也有不同程度的增多( $P<0.05$ )。与冰片灌胃组比较,冰片滴鼻组的潜伏逃避时间明显缩短( $P<0.05$ ),平台穿越次数明显增多( $P<0.05$ )。冰片灌胃高、低剂量组的平台区穿越次数相当( $P>0.05$ ),与冰片灌胃低剂量组比较,冰片灌胃高剂量组的逃避潜伏期较短( $P<0.05$ );冰片滴鼻高、低剂量组平台区穿越次数差异无统计学意义( $P>0.05$ ),与冰片滴鼻低剂量组比较,冰片滴鼻高剂量组的逃避潜伏期较短( $P<0.05$ ),见表 2。

表 2 冰片不同给药途径对大鼠在水迷宫的潜伏逃避和平台穿越的影响( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	逃避潜伏期(min)	原平台区穿越次数(n)
对照组	36.8±12.1	8.9±2.7
模型组	75.8±15.1 <sup>a</sup>	2.1±0.4 <sup>a</sup>
冰片灌胃低剂量组	73.4±12.2	3.0±0.5 <sup>b</sup>
冰片灌胃高剂量组	62.5±13.9 <sup>bc</sup>	3.2±0.6 <sup>b</sup>
冰片滴鼻低剂量组	46.7±11.7 <sup>bcd</sup>	4.5±1.2 <sup>bcd</sup>
冰片滴鼻高剂量组	39.8±6.7 <sup>bcde</sup>	4.9±0.7 <sup>bcd</sup>
F	16.0	28.1
P	<0.05	<0.05

<sup>a</sup>: $P<0.05$ ,与对照组比较;<sup>b</sup>: $P<0.05$ ,与模型组比较;<sup>c</sup>: $P<0.05$ ,与冰片灌胃低剂量组比较;<sup>d</sup>: $P<0.05$ ,与冰片灌胃高剂量组比较;<sup>e</sup>: $P<0.05$ ,与冰片滴鼻低剂量组比较。

## 3 讨论

理论上,随着全身麻醉药物在体内退却,大脑的神经功能应完全恢复,但临床数据显示,全身麻醉后大脑发生了神经元凋亡和淀粉样沉积的广泛变化,即便短时间全身麻醉也可造成动物或患者长时间的认知功能障碍,但全身麻醉苏醒与全身麻醉后的认知功能恢复密切相关,即全身麻醉后苏醒时间越短,认知功能恢复将越快,因此研究缩短全身麻醉苏醒时间对大脑神经功能的恢复,降低认知功能障碍具有明显的临床意义<sup>[3-4]</sup>。

冰片是龙脑香科植物龙脑香树脂的加工品,主要成分为龙脑和龙脑的差向异构体异龙脑。冰片味辛苦,微寒,归心、脾和肺经,具有开窍醒神和通诸窍功效。临床常用于抗炎、抗菌和止痛<sup>[5-6]</sup>。本课题结果显示,与对照组和冰片灌胃组比较,经滴鼻给予冰片,可改善全身麻醉大鼠后气血,缩短翻正反射恢复时间,缩短大鼠在水迷宫的逃避潜伏期和空间探索能力,提示冰片滴鼻可明显提高全身麻醉大鼠的苏醒时间,且明显提高大鼠全身麻醉后的认知。原因有以下几点<sup>[7-12]</sup>:(1)药物经鼻黏膜吸入脑至少存在 3 条通路,嗅神经、嗅黏膜上皮和血液循环。经鼻腔给药后,药物滞留在嗅黏膜,经嗅神经和嗅黏膜上皮前进入嗅球与脑脊液,同时也可绕过血脑屏障进入中枢神经系统,避免胃肠道酶破坏及肝脏首过效应;(2)冰片具有促进血脑屏障开放,但与脑外伤或脑炎的病理性开放有本质不同,冰片开放血脑屏障不仅不会引起脑病理性损害反而具有保护作用,冰片可促使脑的微血管内皮细胞生成一氧化氮(NO),抗脑缺血损伤作用,加速脑缺血后脑血管内皮的修复;(3)冰片通过增加海马超氧化物歧化酶(SOD)活性,增强 SOD 对自由基的清除能力,降低慢性脑缺血所引起的氧化应激对脑神经的影响;(4)冰片可以调节下丘脑去甲肾上腺素(NA)、多巴胺(DA)、组胺(His)及 5-羟色胺(5-HT)含量,这些递质与机体觉醒状态的发生和维持密切相关;(5)冰片可增加脑中总  $Ca^{2+}$  含量,增加脑游离  $Ca^{2+}$  水平,游离  $Ca^{2+}$  可促进血脑屏障进一步开放,使更多冰片进入,使得冰片延长在脑内的时间,增加冰片在病灶的水平;(6)冰片的相对分子质量为 154,是小分子脂溶性单萜类化合物,虽然可经肠道迅速吸收,也有益于缩短全身麻醉后苏醒时间,但与滴鼻给药仍存在明显差异,全身麻醉昏迷患者经口服给药并不方便,因此,冰片适于鼻黏膜吸收而发挥作用。

本课题中冰片滴鼻低剂量和高剂量的滴鼻剂量分别为 0.9 mg/100 g 和 1.8 mg/100 g,有效剂量折合人用为 0.54~1.08 mg/人,远远低于 2010 版中国药典的使用低限 0.15 g/kg。因此,从安全性考虑滴鼻的高低剂量均是人体可接受的;从有效性方面,高剂量效果优于低剂量,可见给药时,首选高剂量,尤其适用于实热证患者。但冰片味辛、凉,微寒,存在肝肾虚或虚寒体质者若用本品需减量。

本课题显示,冰片独立滴鼻给药可显著改善全身麻醉大鼠的苏醒时间和全身麻醉后的认知功能,与冰片经鼻腔给药可迅速透过血脑屏障达到中枢神经有关,中医古籍记录冰片具有

“独行则势弱,佐使则有功”和“芳香走窜,引药上行”的特点,可见冰片通常与其他药物配伍,如麝香保心丸、复方丹参片、安宫牛黄丸和冰硼散,尤其麝香具有醒脑开窍功能,那么冰片与麝香配伍是否较冰片在术后苏醒方面更具效果值得下一步研究。

## 参考文献

- [1] 陈易. 全麻术后认知恢复特征及其与苏醒期躁动的相关性分析[D]. 宁夏:宁夏医科大学,2013.
  - [2] 许传通. 两种麻醉方法对患者术后认知功能障碍影响的评价[J]. 海军医学杂志,2013,30(5):330-332.
  - [3] 陈锋卫,李军,连庆泉. 不同麻醉方法对老年患者术后早期认知功能的影响[J]. 中国现代医生,2011,5(21):121-123.
  - [4] 文利东,代传兴,林丽,等. 不同全麻方式对腹部手术患者术后认知功能影响的比较[J]. 重庆医学,2013,42(29):3508-3509,3511.
  - [5] 田徽. 艾片与合成冰片脑保护及其对血脑屏障影响机制的研究[D]. 成都:成都中医药大学,2013.
  - [6] 张博. 冰片等开窍药对实验动物的睡眠时间与睡眠时相的影响[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学,2013.
  - [7] 林竹贞. 阿魏酸钠联合冰片灌胃对小鼠短暂性全脑缺血的神经保护作用[D]. 广州:中山大学,2007.
  - [8] 薛丽. 冰片对长时连续作业大鼠觉醒能力损害干预的神经机制[D]. 重庆:第三军医大学,2006.
  - [9] 刘煜德,郭珊珊,余玲,等. 冰片经鼻给药对鼻黏膜纤毛传输系统功能的影响[J]. 四川中医,2010,29(7):39-41.
  - [10] 黄勇华. 脑清喷鼻微乳治疗急性缺血性脑卒中的临床研究[D]. 广州:广州中医药大学,2011.
  - [11] Zhao JY, Du SY, Lu Y, et al. Study on tissue distribution of borneol in mice by intravenous and intranasal administrations[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2013, 38(7):1071-1074.
  - [12] Zhao JY, Lu Y, Du SY, et al. Comparative pharmacokinetic studies of borneol in mouse plasma and brain by different administrations[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2012, 13(12):990-996.
- (收稿日期:2015-08-10 修回日期:2015-10-26)
- 
- (上接第 344 页)
- 较医学杂志,2012,22(3):32-35,81.
  - [5] 李志雄,梁蔚波,唐晖,等. 龙葵碱对前列腺癌 LNCaP 及 Du145 细胞系的作用及机制[J]. 广东医学,2013,34(8):1153-1156.
  - [6] 高世勇,苏怡君,季宇彬. 龙葵碱对 HepG2 细胞 NAT1 酶活性及动力学影响的研究[J]. 中国药学杂志,2011,46(8):589-594.
  - [7] 季宇彬,刘家源,高世勇. 龙葵碱对乳腺癌 MCF-7 细胞微管系统的影响[J]. 中草药,2012,43(1):111-114.
  - [8] 张卫东,孙睿,李莉,等. 龙葵碱对人胃癌 MGC-803 荷瘤小鼠癌细胞钙粘蛋白表达的影响[J]. 安徽农业科学,2013,41(30):11965-11966.
  - [9] 许扬,潘瑞乐,常琪,等. 龙葵抑制鸡胚绒毛尿囊膜血管新生的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(5):549-552.
  - [10] 赵新汉,田方. 肿瘤血管生成抑制剂的研发现状与展望[J]. 现代肿瘤医学,2008,16(11):2004-2006.
  - [11] 李贵新,郭璐,李鹏鑫,等. 乳腺癌组织 p53 和 nm23 及 VEGF 表达相关性的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2010,17(12):923-925.
  - [12] 郑青平,陈龙华,石玉生,等. 放疗联合抗 VEGF 抗体对肝癌移植瘤血管形成因子影响的实验观察[J]. 中华肿瘤防治杂志,2008,15(24):1852-1855.
  - [13] 李明娥,彭芝兰,王和,等. 抗血管内皮生长因子抗体对人浆液性卵巢癌裸鼠移植瘤生长的影响[J]. 山西医科大学学报,2006,37(10):1011-1013.
  - [14] 马波,张汉超,徐新戈,等. Vpr 对人结肠癌细胞抑制作用及其机制[J]. 中华消化外科杂志,2012,11(1):86-90.
- (收稿日期:2015-07-29 修回日期:2015-10-24)