

氧化苦参碱的中枢抑制和神经保护作用研究进展

张明发, 沈雅琴

上海美优制药有限公司, 上海 201204

摘要: 氧化苦参碱具有镇静、催眠、降体温、抗癫痫、改善认知功能、保护脑神经和外周神经作用。其作用机制可能是激活大麻素2型受体和上调电压门控钙离子N型通道表达, 促进抑制性神经递质(γ -氨基丁酸、甘氨酸)合成与释放, 下调 γ -氨基丁酸转运体-1表达, 使突触间隙 γ -氨基丁酸浓度升高以及上调 γ -氨基丁酸_A受体表达, 从而增强 γ -氨基丁酸能神经功能。 γ -氨基丁酸能神经功能的增强可抑制兴奋性神经递质谷氨酸过度表达并下调N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体和蛋白激酶C γ 表达, 从而下调电压门控钙离子L型通道的表达, 抑制钙离子内流, 阻滞钙/钙调素依赖性蛋白激酶II/c-AMP反应元件结合蛋白通路, 抑制炎症反应, 产生中枢抑制和神经保护作用。

关键词: 氧化苦参碱; 中枢抑制; 神经保护; γ -氨基丁酸; 蛋白激酶C γ

中图分类号: R282 **文献标志码:** R **文章编号:** 1674-6376(2018)10-1916-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.10.033

Research advance on central suppression and neuroprotection of oxymatrine

ZHANG Mingfa, SHEN Yaqin

Shanghai Meiyu Pharmaceutical Co. Ltd., Shanghai 201204, China

Abstract: Oxymatrine has the effects of sedation, hypnotism, hypothermia, anti-epilepsy, enhancing cognitive function and neuroprotective effect to peripheral nerve, and cranial nerves injury. The active mechanism of oxymatrine may can activate cannabine receptor-2 and up-regulate the expression of N-type voltage-gated calcium channels, improve synthesis and release of inhibitory neurotransmitters, γ -aminobutyric acid (GABA) and glycine, down-regulate the expression of GABA transporter 1 (GAT-1), increase the concentration of GABA in synaptic cleft, and up-regulate the expression of GABAA receptor, thus strengthen GABAergic nerve function. Enhancement of GABAergic nerve function can inhibit the expression of excitatory neurotransmitter, glutamic acid, N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor, and protein kinase C γ , thus down-regulate the expression of L-type voltage-gated calcium channels, and inhibit Ca²⁺ influent, and blocking CaMK II/CREB pathway to inhibit inflammation and product central suppression and neuroprotection.

Key words: oxymatrine; central suppression; neuroprotection; γ -aminobutyric acid (GABA); protein kinase C γ

苦参碱类生物碱(matrine-type alkaloids)具有广泛的生物活性,如抗菌、抗病毒、抗炎、免疫调节、抗肿瘤、保护心、肝、肺、肾、脑、血管作用,对心脏有正性肌力、负性频率、抗心律失常作用,还有升高白细胞,平喘,抗溃疡,抗肝纤维化以及镇静、催眠、镇痛、神经保护等药理作用^[1-6]。苦参碱类生物碱在中毒剂量时常常伤害肝、肾、肺和脑,其中神经毒作用尤为突出,可使动物表现出不安、躁动、痉挛性抽搐等兴奋症状,最后因呼吸困难而死^[7]。但是,苦参碱类生物碱在治疗剂量时,通常对中枢神经系统表现出抑制作用,其中的苦参碱类生物碱的镇痛作用^[8]

及还原型苦参碱类生物碱的中枢抑制和神经保护作用研究进展已经被综述^[9]。苦参碱类生物碱可以分为还原型和氧化型2类。苦参碱类生物碱的N-1位被氧化的称为氧化型苦参碱类生物碱。本文综述氧化苦参碱除镇痛作用以外的中枢抑制和神经保护作用及其作用机制,供临床应用以及新药研发参考。

1 镇静、催眠和降体温

袁惠南等^[10]报道小鼠ip氧化苦参碱50、100、200 mg/kg,可剂量相关地抑制小鼠自主活动,抑制率分别为39.3%、55.8%、62.6%,当剂量增大到400

收稿日期:2018-07-15

第一作者:张明发,研究员,研究方向为中药药理。Tel: 13816371915 E-mail: 13816371915@139.com

mg/kg,可显著抑制转棒法实验的小鼠被动活动;ip 氧化苦参碱 50、100 mg/kg 能协同增强阈下催眠剂量戊巴比妥钠或水合氯醛致小鼠睡眠作用;也能增强氯丙嗪抑制小鼠自主活动,拮抗中枢兴奋药苯丙胺增强小鼠自主活动。

蒋袁絮等^[11]报道给小鼠 ip 上述剂量的氧化苦参碱能抑制自主活动,但无量效关系;对阈下剂量戊巴比妥钠的催眠虽然也有协同增强作用,但无量效关系;对催眠剂量的戊巴比妥钠可显著缩短入睡潜伏期,缩短率分别为 32.9%、32.9%、43.8%,延长睡眠持续时间,分别延长 2.10、4.21、6.87 倍。可是山崎幹夫^[12]报道 ip 氧化苦参碱 50 mg/kg 并不延长戊巴比妥对小鼠的睡眠持续时间,给小鼠 ig 氧化苦参碱 50 mg/kg 才显著延长戊巴比妥的睡眠持续时间和对抗甲基苯丙胺引起的运动亢进,然而 iv 50 mg/kg 也不拮抗甲基苯丙胺引起的运动亢进。而 ig 和注射苦参碱 25 mg/kg 的镇静和催眠作用之间无明显差异^[12]。ig 氧化苦参碱的镇静和催眠作用之所以强于注射给药,可能与氧化苦参碱经消化道后迅速代谢成苦参碱有关^[13]。氧化苦参碱是肝药酶诱导剂,在反复多次给药后,可加快戊巴比妥钠的代谢,缩短其对小鼠睡眠的持续时间^[14-15]。

耿群美等^[16]报道给小鼠 ip 氧化苦参碱 20 mg/kg,自主活动开始增加,约 20 min 后减少,探究反射 20 min 时消失,约 30 min 后恢复,有翻正反射;也能延长戊巴比妥钠的小鼠睡眠持续时间。袁惠南等^[10]报道给大鼠 sc 氧化苦参碱 50、100 mg/kg,可降低其正常体温,在给药 3 h 时降温作用达到最大,其中 50 mg/kg 组降温约 1 °C,100 mg/kg 组降温约 2 °C。山崎幹夫^[9]报道 iv 氧化苦参碱 50 mg/kg 不降低小鼠正常体温,ig 给药 50 mg/kg 可降低小鼠正常体温,降体温峰值出现在给药后 1 h。

2 抗癫痫

袁惠南等^[10]报道给小鼠 ip 氧化苦参碱 100、200 mg/kg,对戊四氮惊厥无明显影响,但有易化土的宁惊厥作用;阈下剂量土的宁不发生惊厥和死亡,可是 100 mg/kg 氧化苦参碱使阈下剂量土的宁致小鼠的惊厥率和死亡率分别提高到 8/10 和 5/10,200 mg/kg 组分别提高到 10/10 和 8/10。蒋袁絮等^[11]报道 ip 氧化苦参碱的剂量增大到 200、400 mg/kg 也不影响戊四氮的惊厥作用,也不对抗最大电惊厥。可是当小鼠 ip 氧化苦参碱剂量降为 20 mg/kg 时可对抗最大电惊厥发生:使对照组的惊厥率(10/10)和死亡率(3/10)分别降为 6/10 和 0/10;也可使苯甲酸咖啡

因的惊厥率(10/10)和死亡率(10/10)均降为 4/10^[16]。张伏龙^[17]报道给大鼠 ip 氧化苦参碱 150 mg/kg 显著减轻海人藻酸[激动非 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)受体中的海人藻酸受体]致大鼠癫痫发作,对抗大鼠海马 Fas L、半胱天冬酶-3 的蛋白表达上调、神经元密度减少,即明显减少癫痫大鼠脑神经元死亡,呈现出抗癫痫作用。

青霉素是经典的致病剂,能抑制 γ -氨基丁酸(GABA)能神经元,使内源性抑制性突触活动减弱,同时谷氨酸或乙酰胆碱介导的神经细胞兴奋性增强,导致病灶神经元群体的同步化发作性放电并传播,从而产生癫痫发作。宁夏医科大学的白洁团队较为深入地研究了氧化苦参碱抗青霉素癫痫的作用:预先 1 h 给大鼠 ip 氧化苦参碱 50、100、200 mg/kg,能剂量相关地延长青霉素诱导的大鼠惊厥潜伏期,降低惊厥发生率和痫性发作程度;光、电镜观察可见海马神经元细胞肿胀减轻、细胞器等损伤改善;也能剂量相关地降低模型大鼠大脑皮层脑电波中的痫波波幅和棘波数以及脑组织丙二醛(MDA)含量,升高超氧化物歧化酶含量;抑制青霉素致病大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1(IL-1)、IL-2、IL-6、IL-8 等炎症细胞因子含量升高。提示氧化苦参碱的抗氧化和抗炎作用参与了其抗癫痫和神经保护作用,并认为氧化苦参碱是通过抑制细胞外信号调节激酶(ERK)磷酸化,使兴奋性神经递质的 NMDA 受体 NR2B 亚基表达下调的机制发挥抗癫痫和神经保护作用^[18-24]。

刘国卿等^[25]报道给大鼠 ip 氧化苦参碱 100 mg/kg,对脑内纹状体和前脑边缘区的单胺含量和代谢无明显影响。放射受体结合实验表明氧化苦参碱与多巴胺 D_2 受体、5-羟色胺₁受体、5-羟色胺₂受体无亲和力。与 γ -氨基丁酸_A受体/苯二氮卓受体(GABA_A/BDZ)也无亲和力^[26]。耿群美等^[27]报道给小鼠 ip 氧化苦参碱 12.5、19、38 mg/kg,可剂量相关地提高小鼠脑中的抑制性神经递质 GABA 和甘氨酸含量。ip 氧化苦参碱 147.45 mg/kg 也能提高青霉素致病大鼠海马的 GABA 阳性细胞数,减少谷氨酸阳性细胞数^[28-29],提示氧化苦参碱可通过提高 GABA 能神经功能,抑制谷氨酸能神经功能产生抗癫痫作用。马丽焱等^[30]报道氧化苦参碱对谷氨酸促进离体培养的大鼠大脑皮层神经细胞释放乳酸脱氢酶的兴奋性毒性无直接拮抗作用。

3 改善学习记忆

白洁团队还报道 ip 氧化苦参碱 147.45 mg/kg 能

改善青霉素致痫大鼠的学习记忆功能障碍,缩短 Morris 水迷宫的逃避潜伏期、游泳路径,增加穿越平台次数,提高空间搜索策略,抑制重复环绕策略,还能降低模型大鼠海马组织内磷酸化 c-JUN 氨基末端激酶阳性细胞数,提示氧化苦参碱通过神经保护作用抑制 c-JUN 氨基末端激酶信号通路的激活,提高癫痫大鼠的学习记忆功能^[21, 31-33]。

氧化苦参碱也能提高阿尔茨海默病动物的认知功能。崔奎等^[34]给老龄小鼠 ip 氧化苦参碱 5、10、20 mg/kg 连续 7 d,可剂量相关地缩短 Morris 水迷宫法达到终点平台的潜伏期,增加穿越平台次数;延长跳台法中的平台潜伏期,减少错误次数,显示出氧化苦参碱能提高老龄小鼠学习记忆功能。瞿小虎等^[35]给 D-半乳糖造模后 1 h 的小鼠 ip 氧化苦参碱 5、10、20 mg/kg 连续 30 d,3 个剂量都能对抗 D-半乳糖延长到达终点平台的潜伏期和减少穿越平台次数(Morris 迷宫法);虽然也能对抗跳台法中的 D-半乳糖缩短潜伏期和增加错误次数作用,但作用不显著;均能对抗 D-半乳糖致衰老小鼠血清超氧化物歧化酶活性下降,丙二醛(MDA)含量升高。提示氧化苦参碱可通过抗氧化应激作用,改善 D-半乳糖致衰老小鼠的学习记忆障碍。丁未尧等^[36]给侧脑室注射链脲霉素制作的认知功能障碍模型大鼠 ig 氧化苦参碱 50 mg/kg 连续 14 d, Morris 迷宫法测得氧化苦参碱显著增加模型大鼠在目标象限停留时间,缩短逃避潜伏期,并能降低模型大鼠海马组织炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素(IL)-6 含量。但氧化苦参碱对正常大鼠的认知功能和海马组织炎症因子含量无影响,提示氧化苦参碱是通过抑制脑组织炎症反应,改善链脲霉素致学习记忆功能障碍。乙酰胆碱是与学习记忆相关的重要神经递质,有报道称氧化苦参碱抑制昆虫的乙酰胆碱酯酶和肝炎患者的血清胆碱酯酶活性^[4],可以提高机体的乙酰胆碱水平,因此抑制乙酰胆碱酯酶可能也是氧化苦参碱改善认知功能障碍的机制之一。

4 脑缺血缺氧损伤的保护作用

闵冬雨等^[37]报道连续 7 d 给大鼠预先 ip 氧化苦参碱 10、20、40 mg/kg 可明显减轻大鼠中动脉闭塞再灌注的局灶性脑损伤大鼠的脑组织水肿,改善海马区、纹状体和皮层区的损伤,使神经元细胞存活数增多、细胞结构完整。给小鼠预先 ig 氧化苦参碱 5、20、80 mg/kg 连续 7 d,对小鼠急性脑缺血也有明显保护作用:增加小鼠断头后的张口喘息次数和持续时间。张海宁等^[38]也报道预先给小鼠 ig 氧化苦

参碱 50、200 mg/kg 连续 6 d,200 mg/kg 组增加小鼠断头后的张口喘息次数和持续时间以及降低断头脑组织的 MDA 水平。50 mg/kg 组虽然无明显作用,但与阿司匹林 20 mg/kg 合用,也能增加断头小鼠的张口喘息次数和持续时间,并降低脑组织 MDA 水平。

吉林大学陈霞团队^[39-46]也报道给小鼠 ip 氧化苦参碱 49、98、147 mg/kg 均可延长常压密闭缺氧小鼠的存活时间和断头小鼠的张口喘息持续时间。在给大鼠行大脑中动脉闭塞的局灶性脑缺血再灌注损伤模型前 5 d,每天 ip 氧化苦参碱 35、70、105 mg/kg 或手术后 ip 35、70、105 mg/kg 或脑室注射 0.35 mg/kg 连续 5 d,均可降低模型大鼠的神经学评分、脑梗死体积和脑水肿程度;减轻脑缺血大鼠脑组织超微结构的损伤。以上的这些作用存在着一定的量效关系,如 35、70、105 mg/kg 3 个预防剂量组大鼠神经学评分分别为 3.05、2.67、2.28 分(对照组为 3.32 分);脑梗死体积比分别为 0.43、0.39、0.23(对照组为 0.49)。预防和治疗给药的作用相差不大,治疗组稍优于预防组。由于脑室注射小剂量给药也有效,提示氧化苦参碱的脑保护作用是中枢性的。由于发现氧化苦参碱同时还降低模型大鼠血清一氧化氮、MDA 水平,提高超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性,降低缺血脑组织中髓过氧化物酶、环氧化酶-2、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)水平、葡萄糖调节蛋白 78(系一种热休克蛋白)、X 盒结合蛋白-1、激活转录因子-6、内质网应激相关蛋白 CHOP 和半胱天冬酶-12 的蛋白表达以及半胱天冬酶-12 活力,提示氧化苦参碱可能是通过抗氧化应激和抗炎作用,抑制内质网应激和诱导细胞凋亡的途径,产生脑保护作用。

付燕燕等^[47-48]报道缺血前 30 min 给大鼠 ip 氧化苦参碱 150 mg/kg 也可促进大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的恢复,且持续 3 d 以上抑制脑组织半胱天冬酶-12 的基因和蛋白表达上调。采用预先 5 d 连续 ip 35、70、105 mg/kg 重复陈霞团队的研究过程,结果证实氧化苦参碱有降低局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的神经学评分和促进恢复作用,并认为其作用机制还可能与上调皮层脑源性神经生长因子及其受体酪氨酸蛋白酶 B 表达有关。

河北医科大学的张祥建团队^[49-54]也采用大鼠大脑中动脉闭塞模型探讨模型建立后立即 ip 氧化苦参碱 60、120 mg/kg 连续 3 d 进行治疗,能降低模型大鼠的神经功能评分、脑组织含水量和脑梗死体

积,其中120 mg/kg剂量组的作用比较理想。由于120 mg/kg剂量组氧化苦参碱能进一步提高脑梗死模型大鼠脑组织的核因子-红细胞系2-相关因子-2(Nrf2)和血红素加氧酶-1(HO-1)的蛋白表达^[51],因此能对抗脑梗死时诱发的氧化应激性脑损伤。由于120 mg/kg剂量组也能下调脑组织的把关受体-4和把关受体-2的基因和蛋白表达^[49-50],下调TWEAK[一种II型跨膜蛋白,能与其受体Fn14结合,激活下游核因子- κ B(NF- κ B)通路]和NF- κ B的基因和蛋白表达^[52],下调胞质型磷脂酶A₂/12/15-脂氧化酶、磷酸化p38丝裂源活化蛋白激酶(MAPK)的基因和蛋白表达^[53],因此能通过抗炎作用,抑制脑组织的炎性损伤。由于120 mg/kg剂量组还能下调脑组织的鞘氨醇激酶的基因和蛋白表达,抑制神经细胞凋亡;上调紧密连接蛋白-5的表达;改善血脑屏障的通透性,产生脑保护作用^[51]。

程刚等^[55]给永久性大脑中动脉闭塞模型大鼠术后ip氧化苦参碱30、60、120 mg/kg,可剂量相关地降低脑含水量,脑梗死体积由对照组的33.25%分别降为28.24%、22.57%、13.72%,行为学症状由对照组的3.33分分别降为2.83、2.50、1.50分,并认为是通过对抗模型大鼠脑组织半胱天冬酶-3、Bax蛋白表达的上调和Bcl-2蛋白表达的下调,抑制细胞凋亡,改善神经细胞的形态和增加神经细胞的存活率,进而产生神经保护作用。李成等^[56]采用小鼠永久性大脑中动脉闭塞模型进行实验,术前30 min给动物ip氧化苦参碱35 mg/kg,术后24 h的神经功能缺损评分由对照组的4.91分降为2.58分,脑梗死体积由对照组的50.78%缩小为30.82%,并提高脑组织的超氧化物歧化酶活性,降低MDA水平,减轻神经细胞凋亡。李俐涛等^[57]报道在给小鼠行局灶性大脑中动脉闭塞再灌注后立即ip氧化苦参碱120 mg/kg,神经功能缺损评分由对照组的3.27分降为2.11分,脑梗死体积比由对照组的0.48降为0.30,并进一步提高脑组织Nrf2的核蛋白表达和核转位。

李海宁等^[58]和成江等^[59]给体质量16~18 g的7日龄大鼠行结扎和剪断左侧颈总动脉并放入缺氧箱缺氧2.5 h后立即ip氧化苦参碱30、60、120 mg/kg,2次/d,共2 d,可剂量相关地减少缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的脑梗死体积;使模型新生大鼠海马CA3区和皮层神经元损伤性病理变化减弱,神经元数目增加,水肿、空泡样改变、核固缩边集显著减弱;降低脑组织MDA水平,升高超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶活性和总抗氧化

能力;认为氧化苦参碱是通过减轻缺氧缺血引起的氧化应激损伤,上调Bcl-2表达和下调半胱天冬酶-3、Bax表达,减少神经细胞凋亡,发挥脑保护作用。

鄢卫华^[60]探讨了氧化苦参碱抗缺氧的另一项机制:给小鼠ip氧化苦参碱100~400 mg/kg连续7 d,可剂量相关地延长小鼠在密闭缺氧条件下的存活时间。剂量300 mg/kg时可使小鼠存活时间延长1.86倍,于初次注射1 h即可发挥最佳效果,与注射3、5、7 d的结果无区别。离体实验发现氧化苦参碱在0.2、0.8、1.5 mmol/L时对正常大鼠脑线粒体呼吸耗氧与能量生成无明显影响,对模拟高原缺氧大鼠的脑线粒体呈浓度相关性降低线粒体IV态呼吸耗氧,提高氧化磷酸化效率并增加线粒体膜电位;在1.5 mmol/L时能使缺氧大鼠脑线粒体的呼吸控制率升高33.04%,膜电位增加18.13%,而2 mmol/L时分别提高47.10%和18.13%,使线粒体IV态呼吸耗氧降低26.03%,并使ATP含量、ATP/ADP比值、能荷、ATP/总腺苷酸比值分别升高30.63%、120.47%、18.18%和36.00%,ADP含量降低40.56%;显著抑制缺氧线粒体脱偶联蛋白活性和表达的升高,使结合解离常数提高44.08%,最大结合量降低20.90%;因此氧化苦参碱也可通过抑制缺氧脑线粒体脱偶联蛋白活性和表达的上调,抑制脱偶联效应,增加线粒体ATP生成,从而提高线粒体能量生成效率,产生脑保护作用。

5 对其他原因脑损伤的保护作用

王刚等^[61]给敲击制作的脑外伤模型大鼠ip氧化苦参碱60、120 mg/kg连续5 d,剂量120 mg/kg组除对脑外伤后2、6 h无作用外,对脑外伤12 h、1、2、3、5 d的脑组织神经细胞凋亡数、血清超氧化物歧化酶活性及MDA、IL-1 β 、IL-6和TNF- α 浓度均较模型对照组显著降低,而60 mg/kg剂量组对这些指标均无明显影响,提示氧化苦参碱可通过对抗氧化应激和抗炎症反应,抑制脑外伤后神经细胞凋亡,达到神经保护作用。

刘楠等^[62]和郭小彬等^[63]采用豚鼠全脊髓匀浆和完全弗氏佐剂造成的大鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎模型进行实验,自免疫当天开始ip氧化苦参碱100、150、200、250 mg/kg连续16 d,可剂量相关地延长大鼠自身免疫性脑脊髓炎潜伏期;降低模型大鼠的神经功能评分;减轻中枢神经系统的炎性浸润和髓鞘脱失;下调脊髓中的把关受体-4表达、血清中骨髓样分化蛋白-2和 γ -干扰素表达,上调血清中IL-4表达,提示氧化苦参碱通过增强免疫抑制,促进

Th1/Th2平衡,起到防治自身免疫性脑脊髓炎作用。

余上才等^[64]给乳小鼠脑内接种巨细胞病毒制备病毒感染性脑损伤模型,于病毒感染第2天开始ip氧化苦参碱50 mg/kg连续15 d,能明显减轻模型鼠脑组织出现炎性细胞浸润、灶性坏死、脑神经细胞核膜凹陷、染色质聚集成团块状、细胞质透明样改变成空泡、内质网排列不整齐、尼氏小体变小等一系列组织病理改变。

毛家慧等^[65]报道预先3 d给大鼠ip氧化苦参碱,能抑制脑海马区注射脂多糖建立的脑内神经炎症模型大鼠海马区的IL-1 β 、TNF- α 的基因和蛋白表达,降低海马区把关受体-4和NF- κ Bp65含量,提示氧化苦参碱是通过下调把关受体-4/NF- κ B信号通路,抑制脑内神经炎症反应。离体实验发现在BV2小胶质细胞的培养液中加入20 μ g/mL氧化苦参碱可抑制脂多糖激活后的小胶质细胞表达和释放热休克蛋白60以及TNF- α 生成,也提示氧化苦参碱可通过抑制热休克蛋白信号通路降低炎症因子的产生,发挥神经保护作用^[66]。马丽焱等^[30]报道给麻醉小鼠iv氧化苦参碱4 mg/kg可显著提高小鼠脑膜微血管口径、流速和流量,并使高频运动红细胞明显增多。表明氧化苦参碱不仅扩张微血管,而且加强微动脉自律运动的增幅和频率,激活处于抑制状态的微动脉自律运动调节微血管功能,防止血细胞聚集,从而使局部血流重新分布,改善缺血区组织的血流灌注和血氧交换,即改善脑组织微循环也是氧化苦参碱的脑保护作用机制之一。

6 外周神经损伤的保护作用

辽宁中医药大学杨丽团队^[67-71]给部分坐骨神经结扎的神经损伤模型小鼠ip氧化苦参碱150 mg/kg并进行实时步态行为录像,用Catwalk步态分析法进行数据分析,发现氧化苦参碱显著上调模型小鼠坐骨神经功能指数,手术侧后足足印长度、足印宽度、足印面积、最大接触时间的足印面积、站立时间、单足接触时间、最大接触时间的最大强度及完整足印的平均强度9项指标,显著下调手术对侧前足足印长度、足印宽度、足印面积、最大接触时间的足印面积4项指标,不影响手术侧后足的身体协调性相关指标:步周长、摆动时间、身体速度及正常步序比,说明氧化苦参碱对坐骨神经损伤引起的异常步态行为有明显改善和纠正作用;也能提高手术侧后足的机械缩足反应阈值,即能降低坐骨神经结扎引起的痛觉超敏。并认为氧化苦参碱通过对抗模型小鼠脑和脊髓组织电压门控钙离子L型通

道(Cav1.3)基因表达的上调,抑制钙离子内流,显著降低坐骨神经损伤小鼠背根神经节细胞内钙离子浓度,产生镇痛作用;认为氧化苦参碱还可通过对抗模型小鼠背根神经节组织中电压门控钙离子N型通道(Cav2.2)基因和蛋白表达下降,也能对抗模型小鼠脑和脊髓组织中Cav2.2基因表达的下调,以及对抗模型小鼠脑、脊髓、背根神经节组织中电压门控钙离子通道辅助亚基 α 2 δ 1基因表达的上调,从而促进GABA释放,提高脑组织的GABA含量,提高痛阈。

宁夏医科大学余建强团队^[72-77]报道给坐骨神经结扎的慢性损伤模型小鼠ip氧化苦参碱40、80、160 mg/kg,呈剂量相关地提高机械刺激缩足反应阈值和热刺激缩足反应潜伏期以及减少冷刺激缩足反应次数。其中40 mg/kg组作用不明显。氧化苦参碱还能升高坐骨神经功能指数、感觉神经和运动神经(坐骨-胫神经和坐骨-腓神经)的动作电位振幅并加快神经传导速度,减少模型小鼠脊髓NF- κ Bp65免疫阳性细胞数和NF- κ Bp65的基因和蛋白表达,下调脊髓TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的基因和蛋白表达,上调IL-10表达,并认为氧化苦参碱是通过抑制脊髓Janus激酶-2/信号转导和转录激活因子(JAK2/STAT3)信号通路激活,抑制炎症细胞因子表达,对坐骨神经结扎的慢性损伤产生抗炎镇痛作用。氧化苦参碱也可显著减少模型小鼠脊髓磷酸化钙/钙调素依赖性蛋白激酶II(CaMK II)免疫阳性细胞数和磷酸化CaMK II以及磷酸化cAMP反应元件结合蛋白(CREB)的蛋白表达,CaMK II拮抗剂KN-93和AIP鞘内注射显著提高阈下剂量氧化苦参碱(35 mg/kg)对模型小鼠的镇痛作用。

笔者分析氧化苦参碱可能是通过下调电压门控钙离子L型通道的表达,抑制细胞内钙离子浓度升高,阻滞CaMK II/CREB通路,产生抗炎镇痛作用。由于鞘内注射GABA、GABA_A受体激动剂蝇蕈醇、GABA转运体-1(GAT-1)特异性抑制剂NO-711均可显著提高阈下剂量氧化苦参碱(ip 35 mg/kg)的机械刺激缩足反应阈值;腹腔注射3-巯基丙酸、鞘内注射GABA合成酶抑制剂L-烯丙基甘氨酸和GABA受体特异性拮抗剂荷包牡丹碱均能拮抗其镇痛作用,由于氧化苦参碱上调模型小鼠脊髓、大脑皮层及海马 γ -GABA_A受体 α 1和 α 2亚基的蛋白表达和免疫阳性细胞数,下调小鼠脊髓GAT-1蛋白表达和免疫阳性细胞数,因此增强GABA递质/受体系统功能(上调GABA_A受体的表达,促进GABA合成

和释放,抑制突触前膜再摄取 GABA)可能是氧化苦参碱保护神经的作用机制之一。

7 结语

与还原型苦参碱类生物碱^[9]类似,氧化苦参碱也具有镇静、催眠、降体温、抗癫痫、改善学习记忆、保护脑神经和外周神经作用。唐蜜等^[78]报道苦参碱是大麻素 2 型受体激动剂,通过激动大麻素 2 型受体对脑产生神经保护作用,结合氧化苦参碱的镇痛作用及其机制^[8]一文和以上叙述,推测氧化苦参碱通过激活大麻素 2 型受体和上调电压门控钙离子 N 型通道表达,促进抑制性神经递质(GABA、甘氨酸)合成和释放,下调 GABA 转运体-1 表达,抑制突触前膜摄取 GABA,使突触间隙 GABA 浓度升高以及上调 GABA_A 受体表达,从而增强 GABA 能神经功能。GABA 能神经功能的增强可抑制兴奋性神经递质谷氨酸过度表达并下调 NMDA 受体和蛋白激酶 C- γ 表达,使 NMDA 受体磷酸化减弱,降低 NMDA 受体对谷氨酸的兴奋性,从而下调电压门控钙离子 L 型通道的表达,抑制钙离子内流,阻滞钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II/cAMP 反应元件结合蛋白(CaMK II/CREB)通路,抑制炎症反应,最终产生中枢抑制和神经保护作用。

大麻素 2 型受体在神经保护作用中起重要作用,因此需要证实氧化苦参碱是否像苦参碱一样,是大麻素 2 型受体激动剂。建议采用离体受体结合试验的方法,筛选包括氧化苦参碱在内的苦参碱类生物碱与大麻素 2 型受体的亲和力,此方法不仅可以证实氧化苦参碱对大麻素 2 型受体是否有亲和力,由于氧化苦参碱的中枢神经作用和神经保护作用已经得到证实,如果氧化苦参碱与大麻素 2 型受体有亲和力,就可证明氧化苦参碱与苦参碱一样,是大麻素 2 型受体激动剂,如果能筛选出一两种亲和力很高的苦参碱衍生物,也许能开发出特异性更高的神经保护药物。

参考文献

[1] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱的抗菌药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(3): 369-375.
 [2] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗乙型肝炎病毒的临床药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(1): 1-6.
 [3] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱抗病毒的临床药理作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(2): 185-191.
 [4] 张庆,茹庆国,刘艳,等. 苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结直肠癌的化学预防作用研究 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1548-1553.

[5] 张明发,沈雅琴. 苦参碱抗炎和免疫抑制作用研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(5): 737-743.
 [6] 张明发,沈雅琴. 槐定碱、氧化槐定碱、13 α -羟基苦参碱抗炎和免疫抑制作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(6): 921-925.
 [7] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱的毒性研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(4): 682-691.
 [8] 张明发,沈雅琴. 苦参碱类生物碱的镇痛作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(5): 904-911.
 [9] 张明发,沈雅琴. 还原型苦参碱类生物碱的中枢抑制和神经保护作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(8): 1541-1547.
 [10] 袁惠南,尹玉琴,何汉增,等. 苦豆子的药理研究(第二报)氧化苦参碱的神经药理作用 [J]. 药物分析杂志, 1986, 6(6): 349-352.
 [11] 蒋袁絮,余建强,彭建中. 氧化苦参碱对小鼠的中枢抑制作用 [J]. 宁夏医学院学报, 2000, 22(3): 157-158.
 [12] 山崎幹夫. 創薬をえる薬用天然資源の役割--Matrine 及び Oxymatrine の薬理活性を例題として [J]. Yakugaku Zasshi, 2000, 120(10): 1025-1033.
 [13] 王明雷,周秋丽,王本祥. 氧化苦参碱肠内菌代谢及吸收入血活性成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(4): 272-274.
 [14] 袁霖,吕式琪,姚娴. 氧化苦参碱对小鼠肝微粒体药物代谢酶的诱导作用 [J]. 首都医学院学报, 1987, 8(1): 23-25.
 [15] 卢宁清,王锐,杨彩艳,等. 苦参碱和氧化苦参碱影响戊巴比妥钠催眠作用的实验研究 [J]. 宁夏医科大学学报, 2011, 33(2): 130-131,135.
 [16] 耿群美,李兰城,贾晓英. 苦参碱、氧化苦参碱对小白鼠中枢神经系统的作用 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(特辑), 164-165.
 [17] 张伏龙. 氧化苦参碱对癫痫性脑损伤神经元的保护作用 [J]. 实用临床医药杂志, 2010, 14(19): 66-67.
 [18] 张琳娜,李斌,白洁. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠影响的实验研究 [J]. 山西中医, 2005, 21(4): 50-52.
 [19] 张琳娜,陈晓霞,白洁,等. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠的实验性研究 [J]. 陕西中医, 2007, 28(6): 755-757.
 [20] 张茜,白洁,张琳娜,等. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠血清中细胞因子的影响 [J]. 宁夏医学院学报, 2006, 28(3): 202-203, 206.
 [21] 杨文谦. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠海马神经元保护机制的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2010.
 [22] 赵衍. 氧化苦参碱对青霉素致痫大鼠海马组织 ERK 信号转导通路的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2010.
 [23] 赵衍,张琳娜,陈晓霞,等. 氧化苦参碱对癫痫大鼠海马组织 ERK 信号转导通路及 NR2B 表达的影响 [J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(3): 198-200, 190.
 [24] Zhang M, Li Y J, Yang Q, et al. Neuroprotective effects

- of oxymatrine against excitotoxicity partially through down-regulation of NR2B-containing NMDA receptors [J]. *Phytomedicine*, 2013, 20(3/4): 343-350.
- [25] 刘国卿, 袁惠南, 谢林, 等. 槐果碱等苦豆子生物碱对大鼠单胺代谢及多巴胺和5-羟色胺受体的作用 [J]. *药理学学报*, 1987, 22(9): 645-649.
- [26] 王秀坤, 李家实. 苦参碱等槐属六种生物碱对GABAA受体的作用 [J]. *北京中医药大学学报*, 2000, 23(增刊): 42-43.
- [27] 耿群美, 李兰城, 贾晓英. 苦参碱氧化苦参碱对小白鼠脑中递质 γ -氨基丁酸和甘氨酸含量的影响 [J]. *内蒙古医学杂志*, 1993, 13(1): 3-4.
- [28] 张茜, 白洁. 氧化苦参碱对青霉素致大鼠海马神经递质的影响 [J]. *宁夏医学杂志*, 2009, 31(7): 580-581.
- [29] 胡淑婷, 陈晓霞, 白洁, 等. 氧化苦参碱对青霉素致大鼠海马GABA、Glu及血清中细胞因子的影响 [J]. *宁夏医学院学报*, 2008, 30(6): 706-708, 688.
- [30] 马丽焱, 肖培根, 郭宝林. 几种中药成分对脑组织的保护作用 [J]. *中国中药杂志*, 1999, 24(4): 238-239.
- [31] 杨文谦, 陈晓霞, 白洁, 等. 氧化苦参碱对青霉素致大鼠学习记忆及海马p-JNK表达的影响 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2011, 33(5): 418-420, 501.
- [32] 张琳娜, 周凤兰, 白洁, 等. 氧化苦参碱对癫痫大鼠学习记忆功能的影响 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2012, 34(12): 1269-1271, 1369.
- [33] 张琳娜, 张丽霞, 白洁. 氧化苦参碱对癫痫大鼠学习记忆功能及海马神经元的影响 [J]. *山西医科大学学报*, 2012, 43(10): 723-726, 803.
- [34] 崔奎, 张探, 王毅刚, 等. 氧化苦参碱对改善老龄小鼠学习记忆功能的影响 [J]. *世界临床药物*, 2011, 32(2): 102-105.
- [35] 訾小虎, 周围, 陈倩, 等. 氧化苦参碱对D-半乳糖致小鼠衰老的影响 [J]. *中药材*, 2012, 35(9): 1455-1459.
- [36] 丁未尧, 周凯, 谢航, 等. 氧化苦参碱对阿尔茨海默病认知功能障碍的作用研究 [J]. *湖北科技学院学报: 医学版*, 2017, 31(5): 372-374.
- [37] 闵冬雨, 张建武, 张海宁, 等. 氧化苦参碱对脑缺血损伤的保护作用 [J]. *徐州医学院学报*, 2008, 28(5): 313-316.
- [38] 张海宁, 闵冬雨, 谷淑玲, 等. 氧化苦参碱与阿司匹林联合应用对小鼠脑缺血损伤的保护作用 [J]. *徐州医学院学报*, 2010, 30(1): 38-39.
- [39] 张晓璐. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注的保护作用 [D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [40] 张晓璐, 刘芬, 陈霞, 等. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的中枢机制 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2008, 34(2): 214-216.
- [41] 李娜. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用 [D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [42] 李娜, 李虎彪, 陈霞, 等. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血性损伤的保护作用 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2008, 34(3): 439-441.
- [43] 吕文伟, 张晓璐, 陈霞, 等. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(4): 579-582.
- [44] 张鉴清, 吕文伟, 陈霞, 等. 氧化苦参碱对局灶性脑缺血大鼠脑组织超微结构的保护作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(8): 1093-1094.
- [45] 陈勇. 氧化苦参碱干预脑缺血大鼠应激反应的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2010.
- [46] 包桂兰, 陈勇, 陈霞, 等. 氧化苦参碱对局灶性脑缺血大鼠氧化应激反应的干预作用 [J]. *吉林大学学报: 医学版*, 2012, 38(2): 245-248.
- [47] 付燕燕, 段静雨, 宋远见. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注后caspase-12表达的影响 [J]. *山东医药*, 2009, 49(47): 40-41.
- [48] 付燕燕, 段静雨, 段昌柱. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤BDNF及其受体TrkB表达的影响 [J]. *重庆医科大学学报*, 2011, 36(9): 1047-1050.
- [49] 范宏光. TLR2在脑梗死大鼠脑组织中的动态表达及OMT脑保护机制的研究 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.
- [50] 李俐涛, 张祥建, 尹静, 等. 氧化苦参碱对局灶性脑缺血大鼠脑组织炎症信号TLR4表达的影响 [J]. *中成药*, 2009, 31(2): 195-198.
- [51] 李敏. Nrf2、HO-1在实验性大鼠脑缺血再灌注模型中的动态表达及氧化苦参碱的神经保护作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.
- [52] 刘莹. TWEAK、NF- κ B在脑梗死大鼠脑组织的动态表达及氧化苦参碱的神经保护作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.
- [53] 崔丽丽. 12/15-LOX花生四烯酸代谢通路在脑梗死继发性脑损伤中的作用及氧化苦参碱治疗对脑梗死12/15-LOX通路的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- [54] 杨蕊. Sphk2在急性脑梗死大鼠脑组织的动态表达及氧化苦参碱的神经保护作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [55] 程刚, 秦媛媛, 程迪, 等. 氧化苦参碱对大鼠局灶性脑缺血损伤的保护作用及其抑制凋亡的作用机制 [J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(3): 387-392.
- [56] 李成, 鲁海瑞, 姜显肃. 氧化苦参碱对小鼠局灶性脑梗死的保护作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(6): 2082-2084.
- [57] 李俐涛, 孟笑梅, 尹昱, 等. 氧化苦参碱对局灶性脑缺血小鼠脑保护机制的研究 [J]. *中国全科医生*, 2012, 15(8): 2059-2062.
- [58] 李海宁, 汪玉敏, 余建强, 等. 氧化苦参碱对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织氧化应激指标的影响 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2016, 38(7): 743-745, 853.

- [59] 成江, 李海宁, 余建强, 等. 氧化苦参碱对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织 Caspase-3、Bcl-2、及 Bax 表达的影响 [J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(12): 1111-1113.
- [60] 鄢卫华. OMT对模拟高原缺氧大鼠脑线粒体呼吸氧耗与能量生成的影响及抗缺氧效应研究 [D]. 成都: 第三军医大学, 2012.
- [61] 王刚, 董晓巧, 杜权, 等. 氧化苦参碱抗大鼠脑外伤后神经细胞凋亡及机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(4): 289-294.
- [62] 刘楠, 朱琳, 吕莹, 等. 苦参素对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠 TLR4/MD-2 表达的影响 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 47-50.
- [63] 郭小彬, 阚全程, 宋一帆, 等. 苦参素对大鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎的防治作用 [J]. 山东医药, 2010, 50(5): 30-31.
- [64] 余上才, 顾祖曦, 顾菊英, 等. 苦参素对巨细胞病毒感染小鼠脑组织损害的影响 [J]. 中西医结合学报, 2004, 2(3): 205-207.
- [65] 毛家慧, 胡亚娥, 周爱玲. 氧化苦参碱抑制大鼠脑内神经炎性反应的机制探讨(摘要) [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(10): 2027.
- [66] 张燕, 李玲, 王俊燕, 等. 氧化苦参碱对活化的小胶质细胞的抑制作用 [J]. 教育教学论坛, 2017(18): 279-280.
- [67] 王鑫蕊, 杨丽, 徐榕雪. Catwalk 步态分析法检测氧化苦参碱对神经病理性疼痛小鼠步态行为改善 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 10(1): 1-4.
- [68] 姜静, 冯建伟, 陈靖, 等. 氧化苦参碱的镇痛作用 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(6): 50-52.
- [69] 吴世星, 杨丽, 吕晓强. 氧化苦参碱镇痛作用与钙离子通道相关性的研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(4): 461-465.
- [70] 吕晓强, 杨丽, 吴世星, 等. 氧化苦参碱的镇痛作用对钙通道和 γ -氨基丁酸的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(5): 603-607.
- [71] 徐榕雪, 杨丽, 吴世星, 等. 氧化苦参碱对高压电依赖性钙通道辅助亚基的影响 [J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 49-53.
- [72] 杜娟, 张逢源, 余建强, 等. 氧化苦参碱对坐骨神经结扎小鼠的镇痛作用及其对 CaMK II 受体表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2015, 31(12): 1719-1724.
- [73] 顿玲露. 基于 CaMK II/CREB 信号通路探讨氧化苦参碱对神经病理性疼痛的镇痛作用 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2014.
- [74] 刘宁. 氧化苦参碱通过调节脊髓 JAK2/STAT3 信号通路对神经病理性疼痛产生镇痛作用 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2016.
- [75] 许雅琼. 基于 NF- κ B 信号通路探讨氧化苦参碱对神经病理性疼痛的镇痛作用 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2015.
- [76] 刘红艳. 氧化苦参碱对神经病理性疼痛的镇痛作用及其对 GABA 能系统的影响 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2012.
- [77] 李记争. 氧化苦参碱的镇痛作用及其与 GABA 能神经系统相关机制的研究 [D]. 银川: 宁夏医科大学, 2011.
- [78] 唐蜜, 董志, 蔡江晖, 等. 苦参碱通过激动大麻素 2 型受体对脑缺血-再灌注大鼠的神经保护作用 [J]. 中国新药与临床杂志, 2014, 33(4): 311-316.