

- colchicine, detected by multicolor FISH with centromeric and telomeric DNA probes [J]. *Mutagenesis*, 2001, 16 (2): 145-149.
- [3] Qian S Z, Hu Y Z, Wang S M, *et al.* Effects of *Tripterygium hypoglaucum* (Iêvl.) Hutch on male fertility [J]. *Adv Contracept* 1998, 4 (4): 307-310.
- [4] Zhao X Z. Effects of *Astragalus membranaceus* and *Tripterygium hypoglaucum* on natural killer cell activity of peripheral blood mononuclear in systemic lupus erthematosus [J]. *Chin J Integrated Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1992, 12 669-671.
- [5] Darzynkiewicz Z, Li X, Gong J P, *et al.* *Analysis of Cell Death by Flow Cytometry, in Cell Growth and Apoptosis* [M]. (Studzinski GP ed), Oxford Oxford University Press, 1995.
- [6] Compton M M. A biochemical hallmark of apoptosis: Inter-nucleosomal degradation of the genome [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 1992, 11 105-109.
- [7] Kurian K M, Watson C J, Wyllie A H. DNA chip technology [J]. *J Pathol*, 1991, 187 (3): 267-271.
- [8] Wilding P, Kricka L J. Micro-microchips just how small can we go? [J]. *Trends Biotechnol*, 1999, 17 (2): 465-468.
- [9] Schafer H, Trauzold A, Siegel E G, *et al.* PRG1: a novel early-response gene transcriptionally induced by pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in a pancreatic carcinoma cell line [J]. *Cancer Res*, 1996, 56 (11): 2641-2648.
- [10] Athanasios G P. *Transcription Factors in Eukaryotes* [M]. New York: Springer Press, 1997.
- [11] Ross G C, George F. *Apoptosis and Its Modulation by Drug*. [M]. New York: Springer Press, 1999.

草问荆总生物碱对大鼠脑内氨基酸类神经递质含量和纹状体内乙酰胆碱含量的影响

季宇彬¹,高世勇^{2*}

(1. 哈尔滨商业大学药物研究所 博士后科研工作站,黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 哈尔滨商业大学 制药工程系,黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 研究草问荆总生物碱 (TAEP) 对大鼠脑内氨基酸类神经递质含量和纹状体内乙酰胆碱 (Ach) 含量的影响,揭示其对中枢神经系统抑制作用的作用机制。方法 采用双波长扫描定量法和豚鼠回肠生物测定法观察大鼠脑内氨基酸类神经递质的含量和纹状体内 Ach 含量。结果 TAEP 对大鼠脑内 4 种氨基酸类神经递质 (谷氨酸、甘氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬氨酸) 的含量均无影响,但可显著降低大鼠纹状体内 Ach 的含量。结论 TAEP 对中枢神经系统的抑制作用与脑内 4 种氨基酸类神经递质 (谷氨酸、甘氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬氨酸) 的含量无关,而是通过降低 Ach 的含量,进而影响多巴胺-2 (DA-2) 受体达到的。

关键词: 草问荆总生物碱;氨基酸类神经递质;乙酰胆碱

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)04-0338-03

Effect of total alkaloids of *Equisetum pratense* on amino acid neurotransmitters and Ach of striatum in rat brain

Ji Yu-bin, GAO Shi-yong

(1. Postdoctoral Research Station, Institute of Materia Medica, Harbin Commercial University, Harbin 150076, China; 2. Department of Pharmaceutical Engineering, Harbin Commercial University, Harbin 150076, China)

Abstract Object To study the effect of total alkaloids of *Equisetum pratense* Ehrh. (TAEP) on the contents of amino acid neurotransmitters and Ach in rat brain to reveal the mechanism of TAEP inhibitory action on the central nervous system (CNS). **Methods** Contents of amino acid neurotransmitters and Ach in rat brain were determined by double-wavelength scan and GPI mensuration. **Results** TAEP could not influence four kinds of content of amino acid neurotransmitter (glutamic acid, glycine, γ -aminobutyric acid, aspartic acid), but TAEP could significantly lower the content of Ach in striatum of rat. **Conclusion** The inhibition of TAEP to CNS is attained by lowering the content of Ach in striatum to affect DA-2 receptor, and it is irrelevant to the amino acid neurotransmitters (glutamic acid, glycine, γ -aminobutyric acid, aspartic acid).

Key words total alkaloids of *Equisetum pratense* Ehrh. (TAEP); amino acid neurotransmitters; Ach

收稿日期: 2002-10-19

基金项目: 黑龙江省科委自然科学基金资助项目 (D01-05)

作者简介: 季宇彬 (1956-), 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, 多年来一直致力于中药药理、肿瘤药理、分子药理学研究, 1999 年进入哈尔滨医科大学博士后科研流动站工作。

草问荆 *Equisetum pratense* Ehrh. 系木贼科问荆属多年生草本植物。关于问荆 *E. arvense* L. 的药用价值在我国古本草多有记载,《本草拾遗》记载:“问荆有止血,利尿之功”;《本草纲目》记载:“问荆性味苦,平,功能活血化瘀,清热利尿”;“主结气瘤痛,上气急”。但是对于同属植物草问荆的药用价值,国内外尚无报道。草问荆总生物碱 (TAEP) 是从草问荆中提取的生物碱类化合物,主要成分为犬问荆碱 (palustrine)^[1],占总生物碱的 95%。我研究室对其进行药理作用研究发现,TAEP 具有显著的安定作用。为了探讨 TAEP 对中枢神经系统抑制作用的机制,本研究主要观察了 TAEP 对大鼠脑内氨基酸类神经递质含量和纹状体内 Ach 含量的影响。

1 材料

1.1 药品: TAEP 系从草问荆中提取出来的总生物碱,由我研究所药物化学教研室从草问荆中提取,并进行分离纯化,经黑龙江省药品检验所鉴定,主要成分为犬问荆碱 (palustrine),其绝对构型是 (13*R*, 17*S*, 1'*S*)-(1-羟丙基)-1,5,10-三氮杂二环 [11,4,0]十七碳-15烯-11-酮^[2],占总生物碱的 95%。

1.2 动物: Wistar 大鼠由哈尔滨医科大学实验动物学部提供,雌雄各半,体重 (210±50) g。

1.3 主要仪器: 20PD-53D 低温高速离心机 (日本日立公司); MSE-50 低温超速离心机 (英国); G-910 双波长薄层扫描仪 (日本岛津)。

2 方法

2.1 TAEP 对大鼠脑内氨基酸类神经递质含量的影响

2.1.1 样品的提取^[3]: 取实验用大鼠,断头处死,迅速在冰台上取出脑组织,称重。在冰浴下加 10% 三氯乙酸制成 1:10 的脑匀浆,3 000 r/min 离心 10 min。取一定量的上清液加 2 倍正丁醇-4 倍石油醚振摇 10 min,静置后取出水层,低温干燥至 0.5 mL (相当 1 g 脑组织) 做为样品,低温放置待测。标准品配成 1 mg/mL,用上述方法处理。

2.1.2 样品的含量测定: 采用双波长扫描定量法。实验条件: 谷氨酸、天冬氨酸的 $\lambda_{\max}$ 为 500 nm, γ -氨基丁酸、甘氨酸的 $\lambda_{\max}$ 为 490 nm,参比波长为 700 nm; TLC 采用青岛硅胶厂出品的硅胶 G 薄层板,显色剂为 20% 三酮乙醇液,点样量为 1.5 μ L。展开剂为正丙醇-氨水 (6:4),采用双波长锯齿扫描反射法,积分跨度为 7~97,狭缝 12.5 mm×1.25 mm,扫描速度 20 mm/min。

2.2 TAEP 对大鼠纹状体内 Ach 含量的影响: 实验用大鼠,分为 TAEP 组及对照组。将大鼠断头处死,在冰台上迅速分离出两侧纹状体,称重。用冰冷的匀浆液 (每毫升含毒扁豆碱 $\times 10^{-9}$ 、吗啡 $\times 10^{-5}$ 、扑尔敏 $\times 10^{-6}$ 、NaCl 9×10^{-3} g) 在冰浴下匀浆,超声波匀浆 (12 kHz) 2 次,每次 20 s。将匀浆液 300 r/min 离心,弃沉淀,取上清液为供试品。含量测定采用高效液相色谱法测定^[4]。

3 结果

3.1 TAEP 对大鼠脑内氨基酸类神经递质含量的影响: 见表 1。实验结果表明,TAEP 对大鼠脑内 4 种氨基酸类神经递质 (谷氨酸、甘氨酸、 γ -氨基丁酸、天冬氨酸) 的含量均无影响 ($P > 0.05$)。

表 1 TAEP 对大鼠脑内 4 种氨基酸递质含量的影响

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

Table 1 Effect of TAEP on four kinds of amino acid neurotransmitter in rat brain

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

组别	动物数	剂量 / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	谷氨酸	γ -氨基丁酸	甘氨酸	天冬氨酸
TAEP	8	60	104.46±173.26	219.75±47.05	119.23±13.65	153.83±43.47
NS 对照	8	-	103.85±220.20	232.50±27.00	118.87±23.65	164.93±63.92

3.2 TAEP 对大鼠纹状体内 Ach 含量的影响: 见表 2。结果表明,TAEP 可显著降低大鼠纹状体内 Ach 的含量 ($P < 0.05$)。TAEP 60 mg/kg 可使纹状体内的 Ach 含量下降 48.04%。

表 2 TAEP 对大鼠纹状体内 Ach 含量的影响

Table 2 Effect of TAEP on Ach in striatum of rat

组别	动物数	剂量 / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	纹状体 Ach 含量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	含量降低率 / %
TAEP	10	60	10.22±0.45 [*]	48.04
对照	10	-	19.67±7.40	-

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

4 讨论

TAEP 使纹状体内 Ach 含量显著降低,这符合安定剂阻滞 DA 突触后受体功能的作用原理。因为纹状体内胆碱能神经元是黑质-纹状体 DA 通路的跟随神经元。有 DA 突触后受体位于胆碱能神经元上,并通过受体施予紧张性抑制作用,当安定剂阻滞 DA 受体的功能后,胆碱能神经元脱抑制,活动增强, Ach 释放随之增加,贮存的 Ach 含量减少。这是 TAEP 可能影响 DA 受体的证据。

有人认为 DA 减少是产生帕金森氏症的主要原因,主要由于黑质-纹状体内 DA 减少,而在纹状

体内 DA 神经与 Ach 神经相互拮抗,当 DA 功能降低时,势必导致 Ach 神经元活动加强,Ach 释放增多。而当 M 受体兴奋时,可发生肌肉震颤,肌紧张增加,从这一点推测,TAEP 在发挥中枢安定作用的同时也会产生一定的锥体外系副作用。大鼠、小鼠在注射 TAEP 后则可出现全身颤抖,以及僵直症状。

DA 受体,按其定位有突触前、突触后以及自身 DA 受体 (presynaptic, postsynaptic, auto-receptors) 之分,按其生理功能与 DA 受体的相关性可分为 DA-1 和 DA-2 亚型受体。DA-2 型受体的功能与动物的致吐、定型活动、旋转活动、安定效应、催乳素的分泌等有良好的相关性。DA-1 型受体仅激活腺苷酸环化酶 (AC) 的活力,与上述生理效应缺乏相关性。最近有人提出,精神分裂症患者的一系列躁狂症状是由于 DA-2 型受体增加所致。有报道精神分裂症患者的尾核、壳核、伏膈核中 DA-2 型受体增加 50%~200%。同时受体的敏感性加强即 DA 受体产生超敏现象。而安定剂之所以对精神分裂症有较好的疗效主要是阻断了 DA-2 受体的原故。根据上述观点推测,TAEP 的中枢镇静、安定作用可能与 DA-2 型受体有关,同时也表明 TAEP 对精神分裂症可能具有一定的治疗作用。

γ -氨基丁酸、甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酸是神经药理中常涉及到的 4 种递质,脑内氨基酸神经递质按其功能主要分为两类:兴奋性和抑制性,酸性氨基酸谷氨酸 (Glu) 和天冬氨酸 (Asp) 为兴奋性氨基酸,中性氨基酸 γ -氨基丁酸 (GABA) 和甘氨酸 (Gly) 为抑制性递质^[5]。实验结果表明:TAEP 对这 4 种氨基酸含量均无影响,因此可以推断,TAEP 对中枢神经系统的抑制作用与 4 种递质无关,而是通过降低 Ach 的含量,进而影响 DA-2 受体达到的。

References

- [1] Yin J, Guo L G. *Modern Research and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine* (中药现代化与临床应用) [M]. Beijing: Xueguan Press, 1993.
- [2] Li S H, Jin D H, Li D K, et al. Survey of *Equisetum horsetail* research I. Chemical component study [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (7): s-13-14.
- [3] Zhang R B, Xu X R. *High Performance Liquid Chromatography* (高效液相色谱) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1983.
- [4] Zhang J T. *Modern Methodology in Pharmacological Experiments* (现代药理实验方法) [M]. Beijing: Beijing University of Medical Science and Peking Union Medical College United Press, 1998.
- [5] Jia Y C, Zhong C Y, Wang Y W, et al. Effects of aluminum on amino acid neurotransmitters in hippocampus of rats [J]. *Chin J Prev Med* (中华预防医学杂志), 2001, 35 (6): 397-400.

天一止咳糖浆的祛痰平喘作用研究

吕圭源,来平凡,范春雷,沈康克,石森林,葛卫红*
(浙江中医学院,浙江 杭州 310053)

摘要:目的 观察天一止咳糖浆的祛痰、平喘作用。方法 采用小鼠酚红法和大鼠毛细管法祛痰试验、喷雾致喘法和气管螺旋条法平喘试验,观察天一止咳糖浆不同剂量组相应作用。结果 天一止咳糖浆能明显增加小鼠的酚红排出量和大鼠的排痰量,增加豚鼠的哮喘潜伏期和显著扩张支气管平滑肌。结论 天一止咳糖浆具有显著的祛痰、平喘作用。

关键词:天一止咳糖浆;祛痰;平喘

中图分类号: R286.4 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)04-0340-03

Effect of Tianyizhike Syrup on dispelling phlegm and relieving asthma

LU Gui-yuan, LAI Ping-fan, FAN Chun-lei, SHEN Kang-ke, SHI Sen-lin, GE Wei-hong
(Zhejiang College of TCM, Hangzhou 310053, China)

Abstract **Object** To observe the effect of Tianyizhike Syrup on dispelling phlegm and relieving asthma. **Methods** The phenol red secreting tests in mice, capillary method in rats, asthma induced by spraying and trachea screwy strip method on guinea pig were adopted for observing the related pharmacological effect in different doses of Tianyizhike Syrup. **Results** Tianyizhike Syrup could obviously increase the

* 收稿日期: 2002-07-21

作者简介: 吕圭源 (1954-) ,男,浙江中医学院药理学系主任、教授、博导,国家新药评审专家,全国优秀科技工作者,全国优秀教师,研究方向为中药药理及新产品开发 Tel (0571) 86613601