

有很强的酪氨酸激酶的活性有关。因此,夏枯草是否通过抑制酪氨酸激酶活性而诱导 K562 细胞凋亡,尚需进一步研究。

综上所述夏枯草注射液具有较强的抗肿瘤作用,其发挥抗肿瘤作用的机制之一在于诱导肿瘤细胞凋亡。本实验仅探讨了夏枯草注射液在体外对 K562 细胞增殖及对 K562 细胞凋亡的影响,其在体内对细胞凋亡的影响尚不清楚,其抗肿瘤作用的分子机制还有待于进一步研究。此外,本实验目前仅用夏枯草粗提物进行了抗白血病和诱导细胞凋亡的探讨,今后还有待于分离鉴定抗肿瘤的活性单体,并在单体水平上进一步对夏枯草的作用机制进行较深入的探讨,以便将其开发成抗肿瘤新药用于临床治疗。

References:

- [1] Mans D R, Rocha A B, Schwartzmann G. Anticancer drugs discovery and development in Brazil: Targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds [J]. *Oncologist*, 2000, 5(3): 185-198.
- [2] Lozzio C B, Lozzio B B. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome [J]. *Blood*, 1975, 45(3): 321-334.
- [3] McGahon A, Bissonnette R, Schmitt M, et al. BCR/ABL maintains resistance of chronic myelogenous leukemia cells to apoptotic cell death [J]. *Blood*, 1994, 83(5): 1179-1187.
- [4] Wang J Y. Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase [J]. *Oncogene*, 2000, 19(49): 5643-5650.
- [5] Blankson H, Grotteron E M, Seglen P O. Prevention of toxin-induced cytoskeletal disruption and apoptotic liver cell death by the grapefruit flavonoid, naringin [J]. *Cell Death Differ*, 2000, 7(8): 739-746.

石菖蒲及其有效成分 α -细辛醚对癫痫幼鼠运动行为和记忆功能的影响

杨立彬¹, 李树蕾^{2*}, 黄艳智³, 梁建民¹, 王宇虹⁴, 张淑琴⁴

(1. 吉林大学第一医院 儿科, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学基础医学院 组胚教研室, 吉林 长春 130021;
3. 长春市儿童医院, 吉林 长春 130021; 4. 吉林大学第一医院 神经内科, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 探讨石菖蒲及其成分 α -细辛醚对戊四氮 (PTZ) 诱发的实验性癫痫幼鼠运动行为和空间学习记忆能力的影响。方法 Wistar 幼鼠随机分为正常对照组 (NC) 和致痫模型组 (A)、苯巴比妥钠组 (B)、石菖蒲组 (C)、 α -细辛醚组 (D), 以 ip PTZ 60 mg/kg 建立癫痫模型, 各组 ig 给药。动态观察各组幼鼠在斜板试验、悬吊试验、自主活动试验中行为运动的变化以及在 Morris 水迷宫试验中空间学习记忆能力的改变。结果 A 组动物的转体能力、悬吊能力、自主活动能力和空间学习记忆能力明显下降, 与惊厥发作严重程度呈正相关, B 组次之, 与其他各组比较差异均显著 ($P < 0.05$)。而 C 组、D 组各项结果与正常对照组比较差异不显著。结论 PTZ 诱发的幼鼠多次惊厥发作损害其行为运动能力和空间学习记忆能力, 与苯巴比妥钠相比, α -细辛醚和石菖蒲能够有效地逆转 PTZ 所致的损害。

关键词: 石菖蒲; α -细辛醚; 苯巴比妥钠; 癫痫

中图分类号: R286.16

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)07-1035-04

Effect of *Acorus gramineus* and its active component α -asarone on behavior and memory function of epileptic young rats

YANG Li-bin¹, LI Shu-lei², HUANG Yan-zhi³, LIANG Jian-min¹, WANG Yu-hong⁴, ZHANG Shu-qin⁴

(1. Department of Pediatrics, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Department of Histology and Embryology, Basic Medical College of Jilin University, Changchun 130021, China;
3. Children's Hospital of Changchun City, Changchun 130021, China; 4. Department of Neurology, The First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: Objective To explore the effect of *Acorus gramineus* and its component α -asarone on the ability of the experimental young rats with epilepsy induced by pentylenetetrazol (PTZ) to move and memorize. **Methods** Wistar young rats were randomly divided into normal control group (NC), epileptic model group (A), phenobarbital sodium group (B), *A. gramineus* group (C), and α -asarone group (D). The epileptic model was established by ip PTZ 60 mg/kg and rats in all groups were given the tested drugs by

收稿日期: 2004-12-20

基金项目: 吉林省科委自然科学基金资助项目 (20030430); 吉林省中医药管理局资助项目 (2004-079)

作者简介: 杨立彬 (1968—), 男, 吉林省长春市人, 副主任医师, 副教授, 医学博士, 主要从事儿科神经医学。

Tel: 13944930624 E-mail: yanglibin1968@tom.com

* 通讯作者 李树蕾 Tel: 13504316256 E-mail: lishulei@tom.com

ig. Changes of movement in inclined plate test, over hanging test, autonomic movement test and changes of spatial learning ability and memory in Morris water maze test were observed in Wistar young rats.

Results The ability of rats in group A to writhe body, suspend body, and move automatically as well as spatial learning ability and memory were obviously decreased, which had positive correlation to the extent of eclampsia. Group B is secondary to group A. There were significant differences between the above mentioned results and the other three groups ($P < 0.05$). But there was no obvious difference among group NC, group C, and group D. **Conclusion** The damage of moving and learning ability and memory function of the young rats caused by frequent epilepsy paroxysm induced by PTZ could be reversed more efficiently by α -asarone and *A. gramineus* than phenobarbital sodium.

Key words: *Acorus gramineus* Soland.; α -asarone; phenobarbital sodium; epilepsy

癫痫引起的脑损害包括脑形态结构改变、生理功能改变和对认知功能的影响。近年来,癫痫对认知功能的影响逐渐引起人们的重视。选择治疗癫痫的药物不仅要纠正神经元的异常放电,同时也要以尽量改善认知功能损害为原则。石菖蒲 *Acorus gramineus* Soland. 治疗癫痫已应用于临床,疗效肯定^[1],其主要成分 α -细辛醚已在临床上广泛用于支气管炎的治疗。笔者发现 α -细辛醚还能够有效抑制戊四氮 (PTZ) 诱导的癫痫幼鼠额叶神经元放电活动和缓解癫痫发作。为了深入了解 α -细辛醚的抗癫痫作用,本实验进一步考察了石菖蒲及 α -细辛醚对反复惊厥后幼鼠运动行为和记忆功能的影响。

1 材料

1.1 动物:3 周龄 Wistar 幼鼠,体重 (35 ± 5) g,由长春高新医学动物实验研究中心提供。

1.2 药物:石菖蒲粉剂为江阴天江药业有限公司产品,批号 0307113。 α -细辛醚片剂为沈阳天维制药厂产品,批号 030219,质量分数 99.8%。苯巴比妥钠片剂由上海新亚药业有限公司提供,批号 020608。PTZ 为 Sigma 公司产品。

2 方法

2.1 分组及给药:3 周龄的 Wistar 幼鼠 ip PTZ 60 mg/kg 建立癫痫模型,模型成功与否以其发作时的行为变化为主要依据,按 Racine 分级^[2]。选用的癫痫模型幼鼠随机分为致病模型组 (A 组)、苯巴比妥钠组 (B 组)、石菖蒲组 (C 组)、 α -细辛醚组 (D 组),另设正常对照组 (NC 组),每组各 10 只。各组均 ig 给药,每天 2 次,共 7 d。NC 组给予生理盐水每次 0.5 mL;参考临床用药剂量及人和动物药物剂量换算法,其余各组分别 ig 苯巴比妥钠 18 mg/kg,石菖蒲 2 350 mg/kg, α -细辛醚 29 mg/kg。给药 7 d 后,除 NC 组外的 Wistar 幼鼠再次 ip PTZ 60 mg/kg 后,分别考察以下指标。

2.2 斜板试验:幼鼠头向下置于 45° 倾斜的木板

上,记录幼鼠本能性转体为头向上所需的时间。

2.3 悬吊试验:幼鼠双前肢抓住一悬空 (高度 50 cm) 的水平铜棒 (直径 0.5 cm),记录幼鼠从放置至跌落的时间。

2.4 自主活动试验:将幼鼠放置于 YLS-1A 多功能自主活动仪黑色盒底部的中央,应用红外线探测技术,记录幼鼠 10 min 内活动的次数。

以上 3 项测试于第 2 次给予 PTZ 诱发癫痫发作后的幼鼠 1 d 内非连续测试 3 次,取其均值为当日成绩。

2.5 Morris 水迷宫试验:利用 YLS-1A 多功能自主活动仪的图像采集系统及分析系统,自动记录定位航行试验 (PNT) 中幼鼠 120 s 内的运动轨迹、找到站台的总游泳时间、站台区域游泳时间和寻找站台的搜寻策略等信息,以及空间探索试验 (SPT) 中幼鼠在 60 s 内为搜寻站台而穿过站台区域的次数、时间比例。4 种搜寻策略的优劣次序依次为直线式、趋向式、随机式、边缘式。

2.6 统计方法:所有资料采用 SPSS10.0 统计软件处理。依资料性质分别进行 t 检验, F 方差分析、 q 检验、Ridit 分析。

3 结果

3.1 运动行为学改变:结果见表 1。试验中 A 组动物转体能力、悬吊能力和自主活动最差,表现为与惊厥发作严重程度正相关,B 组次之,与其他 3 组比较差异显著。NC、C、D 3 组间差异无显著性。

3.2 空间学习记忆能力变化:结果见表 2~4。方差分析表明在 PNT 和 SPT 试验中,A 组幼鼠搜寻站台的总游泳时间明显延长,站台区域搜寻时间百分比最低,穿过站台次数最少,同其他 4 组相比差异显著;B 组次之,较 NC、C、D 3 组差异显著;NC、C、D 3 组间差异无显著性。A 组 PNT 搜寻策略主要为边缘式,B 组主要为趋向式,NC、C、D 组主要为直线式。Ridit 分析提示 A、B 组与其他 3 组比较差异显著。

表 1 药物治疗后 PTZ 诱发的癫痫幼鼠的运动行为 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Movement behavior of young rats with epilepsy induced by PTZ after treatments ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	转体时间/ s	悬吊时间/ s	自主活动/ (次 · 10 min ⁻¹)
NC	—	3.4±2.0*	56.8±9.0*	284.5±32.3*
A	—	8.8±2.6	32.5±8.1	203.2±28.5
B	18	6.3±2.2*	42.4±8.8*	241.8±31.8*
C	2 350	3.7±2.3*△	53.2±9.3*△	272.6±27.9*△
D	29	3.6±2.1*△	51.7±8.5*△	279.4±28.6*△

与 A 组比较: * $P<0.05$; 与 B 组比较: △ $P<0.05$
* $P<0.05$ vs group A; △ $P<0.05$ vs group B

表 2 药物治疗后 PTZ 诱发的癫痫幼鼠 PNT 检测结果 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Results of PNT in young rats with epilepsy induced by PTZ after treatment ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	总游泳 时间/s	站台区游泳 时间/s	站台区游泳 时间比例/%
NC	—	11.1±3.0*	8.7±2.0	78.15
A	—	18.8±3.6	9.4±2.1	49.89
B	18	15.3±3.2*	10.9±2.8	71.05
C	2 350	11.8±3.3*△	8.9±2.3	75.11
D	29	11.6±3.1*△	8.5±2.5	73.55

与 A 组比较: * $P<0.05$; 与 B 组比较: △ $P<0.05$
* $P<0.05$ vs group A; △ $P<0.05$ vs group B

表 3 药物治疗后 PTZ 诱发的癫痫幼鼠 PNT 搜寻策略分析 ($n=10$)

Table 3 Analysis of PNT strategy in young rats with epilepsy induced by PTZ after treatment ($n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	直线式/ 次	趋向式/ 次	随机式/ 次	边缘式/ 次	95% 可信限
NC	—	22	3	3	2	0.475~0.529*
A	—	7	6	7	10	0.349~0.417
B	18	7	16	4	3	0.367~0.425
C	2 350	15	7	4	4	0.448~0.482*
D	29	18	5	4	3	0.451~0.492*

与 A 和 B 组比较: * $P<0.05$
* $P<0.05$ vs group A and B

4 讨论

本研究探讨了石菖蒲及其成分 α -细辛醚对 PTZ 诱发的癫痫幼鼠运动行为及空间学习记忆能力的近期影响。实验采用 ip PTZ 建立癫痫模型,在国内外学者研究的基础上^[3],增加惊厥发生频度为每周 2 次,以缩短实验日程,结果显示建模成功。Morris 水迷宫试验采用红外探测方法,客观地反映了药物的作用和持续时间。

由于幼鼠空间学习记忆能力和人类学习认知的可比性,故常用来进行人类学习记忆方面的研究。癫痫方数据

表 4 药物治疗后 PTZ 诱发的癫痫幼鼠 SPT 检测结果 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Results of SPT in young rats with epilepsy induced by PTZ after treatment ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	站台区游泳 时间/s	站台区游泳时间 与总游泳时间比/%	穿过站台 次数
NC	—	33.8±4.0*	56.33	9.9±2.4*
A	—	22.4±4.1	37.33	4.8±1.9
B	18	27.0±4.8*	45.00	7.1±2.5*
C	2 350	32.2±4.3*△	53.67	9.6±2.2*△
D	29	31.7±4.5*△	52.83	9.7±2.3*△

与 A 组比较: * $P<0.05$; 与 B 组比较: △ $P<0.05$
* $P<0.05$ vs group A; △ $P<0.05$ vs group B

痫惊厥发作可造成不同程度的脑损伤和情感行为异常。癫痫后认知功能损害依赖于癫痫发生的年龄、痫性发作的频率和严重程度,并且与抗癫痫药物有关,而与病因、化学致病剂或给予的电刺激关系不大^[4]。偶然的、短暂的单次痫性发作并不引起认知功能损害,大多数认知功能损害都发生在反复痫性发作或癫痫持续状态后。癫痫持续状态持续 30~40 min 就能引起神经元死亡和认知功能损害,且神经元损害的严重性和程度与其持续时间的长短密切相关^[5]。

石菖蒲含有多种化学成分, α -细辛醚是挥发油中的主要成分之一,其毒性较小。为了明确 α -细辛醚在石菖蒲抗癫痫中发挥的作用,本实验采用了人工合成的高纯度单体 α -细辛醚片剂。经过石菖蒲及 α -细辛醚的治疗后,PTZ 诱发的癫痫幼鼠的转体、悬吊及自主活动性方面的能力和空间学习记忆能力均比未治疗组明显增强,并且与苯巴比妥钠治疗组相比也有显著增加,与正常幼鼠相仿。说明石菖蒲及其主要成分 α -细辛醚能够有效逆转癫痫幼鼠运动行为及空间学习记忆的能力的损伤, α -细辛醚是石菖蒲抗癫痫的有效成分,具有神经保护作用。笔者发现经 α -细辛醚治疗后,癫痫幼鼠额叶皮层放电的频率明显少于石菖蒲组(数据未给出),提示 α -细辛醚较石菖蒲更能有效恢复受累损伤的神经元。

癫痫引起的认知功能损害是多因素作用的结果。研究较多的是癫痫引起的海马结构的损伤与认知功能的关系,以及癫痫后谷氨酸 *N*-甲基-*D*-天门冬氨酸(NMDA)受体激活与认知功能损害的关系。惊厥可致海马 CA1 区和门区神经元丢失、海马组织缩小、胶质增生^[6],海马区神经元内线粒体和高尔基体等细胞器发生病理性超微结构改变,并最终导致细胞死亡^[7],同时伴随兴奋性的 NMDA 受体数目增加,其程度和海马区锥体神经元死亡程度密切相关^[8]。石菖蒲和 α -细辛醚可能通过抑制癫痫导

致的神经元凋亡,或者调节兴奋性神经递质/受体与抑制性神经递质/受体之间的平衡,改善癫痫幼鼠的运动行为和认知功能。具体机制仍有待进一步研究。

References:

- [1] Chen L, Liao W P. The antiepileptic pharmacological study of *Acorus tatarinowii* Schott on animal models [J]. *Acta Acad Med Guangzhou* (广州医学院学报), 2002, 30(3): 13-15.
- [2] Erdtmann Vourliotis M, Riechert U, Mayer P, et al. Pentylentetrazole (PTZ)-induced c-fos expression in the hippocampus of kindled rats is suppressed by concomitant treatment with naloxone [J]. *Brain Res*, 1998, 792: 299-308.
- [3] Jiang W, Duong T M, Lanerolle N C. The neuropathology of hyperthermic seizures in the rats [J]. *Epilepsia*, 1999, 40: 5-19.
- [4] Stafstrom C E. Assessing the behavioral and cognitive effects of seizures on the developing brain [J]. *Prog Brain Res*, 2002, 135(3): 377-390.
- [5] Pitkanen A. Drug-mediated neuroprotection and antiepileptogenesis: animal data [J]. *Neurology*, 2002, 59(9 Suppl 5): S27-S33.
- [6] Jiang L, Cai F C, Zhang X P. Tolerance of brain at different maturational stages to prolonged seizure in rats [J]. *China J Pediatr* (中华儿科杂志), 2002, 40(7): 429-433.
- [7] Zhou G P, Qin J, Tang X Y, et al. Febrile convulsions induced hippocampal neuronal damage in rats: a quantitative and ultrastructural study [J]. *China J Pediatr* (中华儿科杂志), 2001, 39(2): 105-108.
- [8] Wang Y F, Yu S Z, Fan H Y, et al. Experimental study on the expression of NMDAR in hippocampus after focal cerebral ischemia in rats [J]. *J Clin Neurol* (临床神经病学杂志), 2001, 14(1): 27-29.

野罂粟总生物碱镇痛作用与前列腺素及阿片受体的关系

杨宇杰¹, 佟继铭¹, 袁亚非¹, 王春民^{2*}, 宋成军¹

(1. 承德医学院, 河北 承德 067000; 2. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000)

摘要:目的 研究野罂粟总生物碱(TAPN)的镇痛作用与前列腺素(PGs)、阿片受体的关系。方法 采用小鼠热板法、扭体法、电刺激法3种致痛模型;测定3种不同致痛物乙酰胆碱(Ach)、醋酸(AA)和硫酸镁(MgSO₄)致小鼠扭体反应后腹腔液中前列腺素E₂(PGE₂)水平及采用纳洛酮拮抗实验的方法,分析TAPN镇痛作用与前列腺素及阿片受体的关系,初步探讨TAPN的镇痛作用机制。结果 TAPN对Ach、AA诱导的小鼠扭体反应的抑制作用明显强于对MgSO₄的作用,且TAPN能明显降低小鼠AA致扭体后腹腔液中PGE₂水平;在纳洛酮拮抗实验中,ip或侧脑室给药(icv)阿片受体拮抗剂纳洛酮均不能对抗TAPN的镇痛作用。结论 TAPN抑制PGs的合成,可能是其发挥外周镇痛作用的主要机制;其中枢镇痛作用与阿片受体无关。

关键词:野罂粟总生物碱;镇痛作用;前列腺素;阿片受体

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)07-1038-04

Relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* and prostaglandins with opium receptors

YANG Yu-jie¹, TONG Ji-ming¹, YUAN Ya-fei¹, WANG Chun-min², SONG Cheng-jun¹

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China; 2. Chengde JFK Pharmaceutic Group Co., Ltd., Chengde 067000, China)

Abstract: Objective To study the relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* (TAPN) and prostaglandins (PGs) with opium receptors. **Methods** The analgesic effect of TAPN was studied by hot-plate, writhing, electric-evoked methods of mice. The analgesic mechanisms of TAPN and PGs with opium receptors were studied by the writhing numbers induced by different substances (Ach, AA, MgSO₄), the PGE₂ level in celiac fluid in mice after treated by AA writhing test and the antagonistic experiment of Naloxone. **Results** The inhibitory effect of TAPN on the writhing induced by Ach and AA in mice was stronger than that induced by MgSO₄. TAPN could also lower the PGE₂ level in celiac fluid. In the antagonistic experiment of Naloxone, no antagonism to the analgesic effect of TAPN had been found by ip or icv Naloxone. **Conclusion** It may be the mainly peripheral analgesic mechanism that TAPN could lower the PGE₂ level in celiac fluid. Its central analgesic mechanisms are not related to opium receptors.

收稿日期:2004-10-16

作者简介:杨宇杰(1969—),女,医学硕士,副教授,研究方向为中药新药开发与研究。

*通讯作者 王春民