

得进一步深入研究。

References:

- [1] Frey N, Katus H A, Olson E N, *et al.* Hypertrophy of the heart: a new therapeutic target? [J]. *Circulation*, 2004, 109 (4): 1580-1589.
- [2] Tarone G, Lembo G. Molecular interplay between mechanical and humoral signalling in cardiac hypertrophy [J]. *Trends Mol Med*, 2003, 9(9): 376-382.
- [3] Wang Y S, Deng W L, Xue C S. *Pharmacology and Application of Chinese Materia Medica* (中药药理与应用) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [4] Kwan C Y, Kwan T K. Effects of *Panax notoginseng* saponins on vascular endothelial cells *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(12): 1101-1105.
- [5] Liu Y, Li X H. Effect of *Panax notoginseng* total saponin on inflammatory immune factors in atherosclerosis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(5): 728-730.
- [6] Hao Y R. Culture of neonatal rat cardiomyocyte [J]. *South Chin J Cardiovasc Dis* (岭南心血管病杂志), 2001, 7(2): 137-139.
- [7] Situ Z Q, Wu J Z. *Cell Culture* (细胞培养) [M]. Xi'an: World Book Publishing Corporation, 1999.
- [8] Steinberg S F. Many pathways to cardiac hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(8): 1381-1384.
- [9] Wang Y B. Signal transduction in cardiac hypertrophy-dissecting compensatory versus pathological pathways utilizing a transgenic approach [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2001, 1(2): 134-140.
- [10] Miao L Y, Guan Y Y, Sun J J. Study in the effects of *Rb₁* extracted from *Panax notoginseng* saponins on Ca^{2+} entry at rat ventricular cells [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1996, 12(1): 39-42.
- [11] Feng P F, Qin N P, Qiao Q, *et al.* Clinical and experimental study of improving left ventricular diastolic function by total saponins of *Panax notoginseng* [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1997, 17(12): 714-717.

槐定碱对小鼠中枢神经系统的影响

余建强, 蒋袁絮*

(宁夏医学院基础学院 药理教研室, 宁夏 银川 750004)

摘要:目的 观察槐定碱对小鼠中枢神经系统的影响。方法 采用行为学方法观察槐定碱对正常小鼠自主活动及对阈剂量戊巴比妥钠小鼠入睡潜伏期和睡眠持续时间的影响; 观察槐定碱与阈下剂量戊四氮、烟碱、土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥的协同作用。结果 小鼠 ip 给予槐定碱 10、20 mg/kg, 小鼠自主活动抑制率分别为 66.9%、76.6%, 延长小鼠 ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg 的入睡潜伏期, 缩短入睡时间 ($P < 0.01$)。每只小鼠 icv 给予槐定碱 2.5 μ g, 能协同土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥作用, 但对戊四氮、烟碱致惊厥无协同作用。小鼠 ip 槐定碱 20 mg/kg, 对其被动运动未见明显影响。结论 槐定碱对中枢神经系统具有明显的兴奋作用。

关键词:槐定碱; 催眠作用; 惊厥

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1688-04

Effects of sophoridine on central nervous system in mice

YU Jian-qiang, JIANG Yuan-xu

(Department of Pharmacology, Faculty of Basic Medicine, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

Abstract: Objective To observe the effects of sophoridine on central nervous system in mice. **Methods** Behavioral methodology was employed to observe the effect of sophoridine on the normal mouse autonomic activities, and sleeping latency and sleep-lasting time of mice under threshold dosage of pentobarbital sodium. And to observe the synergistic effects of inducing convulsion between sophoridine and pentylenetetrazol, nicotin, strychnine, isoniazid, and picrotoxin by subthreshold dosage. **Results** Sophoridine ip administrated (10 and 20 mg/kg) made the autonomic activities of mice suppressed by the rate of 66.9% and 76.6%, the sleeping latency of mice given pentobarbital sodium (40 mg/kg) prolonged, and sleeping time shortened ($P < 0.01$) as well. Sophoridine icv administrated at 2.5 μ g/mice showed the synergistic effects of inducing convulsion with strychnine, picrotoxin, and isoniazid, but no such effects with pentobarbital sodium and nicotin. Sophoridine ip administrated (20 mg/kg) showed no effects on their passive movement. **Conclusion** This study indicates that sophoridine possesses the significant effects of excitation on central nervous system.

Key words: sophoridine; hypnosis action; convulsion

收稿日期: 2006-02-19

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金项目 (2003-C103)

作者简介: 余建强 (1965—), 男, 宁夏回族自治区青铜峡市人, 硕士, 副教授, 主要从事神经药理学研究。

Tel: (0951) 4076063 E-mail: yujq@nxmc.edu.cn

* 通讯作者 蒋袁絮 Tel: (0951) 4076063 E-mail: jiangyuanxu33@hotmail.com

苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 属豆科槐属植物,具有清热解毒、利湿、杀虫、抗癌等功效^[1]。槐定碱系从苦豆子中分离出的单体生物碱,是苦豆子所含多种生物碱中得率较高的一种。国内学者对槐定碱进行了大量的研究,已发现其有抗心律失常、保护心肌、抗病毒、抗肿瘤、增强免疫力等多种药理作用^[1],但有关槐定碱的中枢药理作用报道不一致。有的研究认为该药对中枢具有兴奋作用^[1],有的研究认为其具有中枢抑制作用^[2]。本研究通过系统观察槐定碱对不同模型小鼠行为学的影响,探讨其中枢药理作用性质及可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物:ICR 小鼠,雌雄兼用,体重(20.5±2.0)g,SPF 级,由宁夏医学院实验动物中心提供(批号 20049814)。

1.2 药品、试剂与仪器:槐定碱(宁夏药物研究所,批号 021020,质量分数 98.4%);戊巴比妥钠(上海新华制药厂,批号 961089);戊四氮(Sigma 公司);烟碱(GMBH 公司),硝酸土的宁(天津市人民制药厂,批号 981027),印防己毒素(天丰制药厂生产,批号 9910578);异烟肼(广州明兴制药有限公司,批号 MD2202)。YSL-B 型自主活动计数仪(山东省医学科学院设备站),X2B-4B 转模式疲劳仪(山东省医学科学院设备站),秒表(日本)。

2 方法

2.1 槐定碱急性毒性(LD₅₀)测定:ICR 小鼠,按序贯法,剂量对数间距(D)为 0.041 5,观察尾 iv 不同剂量槐定碱后的死亡动物数,填表并计算 LD₅₀。

2.2 槐定碱对小鼠一般行为和自主活动的影响^[3]:ICR 小鼠 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只。分别 ip 槐定碱 5、10、20 mg/kg 和 NS,比较给药前和给药后各组小鼠的一般行为变化。给药后 20 min 分别将小鼠放入自主活动计数仪中(每盒 1 只),测定各小鼠 10 min 内的活动数。

2.3 槐定碱对戊巴比妥钠催眠作用的影响:ICR 小鼠 40 只随机分为 4 组,每组 10 只。分别 ip 槐定碱 5、10、20 mg/kg 和 NS。20 min 后,分别 ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg。以注射戊巴比妥钠完毕至翻正反射消失的时间为入睡潜伏期,以翻正反射消失至恢复时间为睡眠持续时间,观察槐定碱对戊巴比妥钠催眠潜伏期和睡眠持续时间的影响。

2.4 槐定碱 icv 小鼠的 98% 致惊厥量测定^[4]:ICR 小鼠 70 只随机分组,每组 10 只。icv 注射不同剂量

槐定碱,对照组给予 NS,体积均为每只 10 μL,给药后观察 30 min 内小鼠的行为反应,测定小鼠产生 98% 以上惊厥反应(以小鼠出现四肢阵挛或强直性惊厥为指标)的剂量及阈下惊厥剂量。

2.5 槐定碱对阈下剂量戊四氮、烟碱、土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥作用的影响^[5]:实验各组分别尾 iv 阈下惊厥剂量戊四氮(25 mg/kg)、烟碱(0.013 mg/kg)、土的宁(0.23 mg/kg)、印防己毒素(1.4 mg/kg)及 ip 异烟肼(100 mg/kg),除异烟肼间隔 30 min 外,其余均在 15 min 后 icv 槐定碱(每只 2.5 μg),对照组给予 NS,体积均为每只 10 μL,均以阵挛性惊厥为指标,观察槐定碱与以上各中枢兴奋药有无协同作用。

2.6 槐定碱对小鼠被动运动的影响:先将小鼠置水平旋转棒上(直径 23 cm),调节转速至 16 次/min,选择 3 min 内不跌落的小鼠 20 只,分为 2 组。次日分别 ip 槐定碱 20 mg/kg 和 NS,给药 20 min 后,将小鼠分别置水平旋转棒上,观察 3 次试验中均在 1 min 内跌落的小鼠数。

2.7 统计学分析:实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS10.0 软件包进行统计学处理,两样本均数间比较采用 Independent-sample 检验,多样本均数间比较采用 One-way ANOVA 检验,分类资料采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 槐定碱急性毒性(LD₅₀):小鼠 iv 槐定碱后,表现为烦躁、惊跳、竖尾、阵挛、强直、死亡。小鼠 iv 槐定碱的 LD₅₀为(47.6±1.81) mg/kg。

3.2 槐定碱对小鼠一般行为和自主活动的影响:与 NS 组比较,随着槐定碱剂量的增加,小鼠依次表现为安静、出汗、对峙、竖胡须、震颤等兴奋症状。10、20 mg/kg 组小鼠的自主活动数明显低于 NS 组($P < 0.01$),见表 1。

3.3 对戊巴比妥钠催眠作用的影响:槐定碱 10、20 mg/kg 能明显延长戊巴比妥钠致小鼠入睡潜伏期($P < 0.01$)。20 mg/kg 能明显缩短小鼠的睡眠持续时间($P < 0.01$),见表 2。

3.4 槐定碱 icv 小鼠的 98% 致惊厥量测定:小鼠 icv 槐定碱后,短暂的安静后即出现兴奋、跳跃、奔跑、竖尾、四肢阵挛、强直性惊厥。随着槐定碱剂量的增加,惊厥的发生率和死亡率均增加,其中每只 25 μg 致惊厥率达 98%。每只 2.5 μg 为阈下惊厥剂量。

3.5 对阈下剂量戊四氮、烟碱、土的宁、印防己毒素、异烟肼致惊厥作用的影响:槐定碱与阈下剂量戊

四氮、烟碱无明显的协同作用 ($P>0.05$);与阈下剂量土的宁、印防己毒素、异烟肼有明显的致惊厥协同作用 ($P<0.01$),见表 3。

3.6 对小鼠被动活动的影响:槐定碱 20 mg/kg 对小鼠被动活动未有明显影响 ($P>0.05$)。

表 1 槐定碱对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of sophoridine on autonomic activity in mice ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	10 min 内自主 活动次数	自主活动 抑制率/%
NS	—	363.90±74.65	—
槐定碱	5	336.10±78.59	7.6
	10	120.40±50.02**	66.9
	20	85.10±56.34**	76.6

与 NS 组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs NS group

表 2 槐定碱对小鼠戊巴比妥钠催眠作用的影响 ($n=10$)

Table 2 Effect of sophoridine on synergism induced by pentobarbital sodium in mice ($n=10$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	入睡潜伏 期/min	入睡潜伏期 延长率/%	睡眠持续 时间/min	睡眠持续时 间延长率/%
NS	—	4.00±0.98	—	26.91±13.30	—
槐定碱	5	4.61±1.68	15.25	31.74±13.93	17.9
	10	7.03±2.09**	75.76	19.14±15.01	-28.9
	20	7.05±2.41**	76.25	8.10±4.03**	-69.8

与 NS 组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs NS group

表 3 槐定碱与阈下剂量戊四氮、烟碱、土的宁、印防己毒素及异烟肼致惊厥的协同作用

Table 3 Synergism of both sophoridine and pentylene-tetrazole, nicotine, strychnine, picrotoxin, and isoniazid for convulsing by subthreshold dosage

组 别	总动物数/只	惊厥数/只	死亡数/只
槐定碱+NS	10	0	0
槐定碱+戊四氮 (2.5 mg · kg ⁻¹)	10	1	0
槐定碱+烟碱 (0.013 mg · kg ⁻¹)	10	2	0
槐定碱+土的宁 (0.23 mg · kg ⁻¹)	10	4*	0
槐定碱+印防己毒素 (1.4 mg · kg ⁻¹)	10	4*	0
槐定碱+异烟肼 (100 mg · kg ⁻¹)	10	5**	0

与槐定碱+NS 组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs sophoridine+NS group

4 讨论

本实验结果显示,ip 槐定碱 10、20 mg/kg 对小鼠一般行为的影响表现为兴奋。给予催眠剂量的戊巴比妥钠后,槐定碱能显著延长由戊巴比妥钠诱导的入睡潜伏期,缩短睡眠持续时间。每只小鼠 icv 槐定碱 2.5 μ g 对阈下剂量土的宁、印防己毒素、异烟肼的致惊厥作用有明显协同效果,提示槐定碱对小鼠中枢神经系统的作用性质主要表现为兴奋,与文

献报道相同^[1]。值得注意的现象是,槐定碱使小鼠表现出自主活动减少的现象,这似乎与拮抗戊巴比妥钠催眠作用相悖,但有文献表明,动物在受到某些刺激产生惊厥前会有一段静止状态的潜伏期^[6,7],可能本实验记录自主活动的时间正好落在其中枢强烈兴奋之前的潜伏期内,也可能药物中枢兴奋作用的强度尚未达到使动物自主活动增加的程度。

关于槐定碱中枢兴奋作用的机制,目前尚未见有文献报道。甘氨酸是中枢神经系统中主要的抑制性神经递质,广泛分布于中枢神经系统,在脊髓中的量最高。可与甘氨酸特异性拮抗剂土的宁结合的甘氨酸受体,主要分布在脊髓、小脑。因此,甘氨酸被认为是脊髓中间神经元的抑制性递质,甘氨酸与受体结合后,激活与其偶联的氯离子通道,引起细胞膜超极化而产生抑制作用。土的宁可选择性地阻断甘氨酸受体,导致惊厥^[8]。

γ -氨基丁酸 (GABA) 是中枢最重要的抑制性递质。中枢神经系统中,大约有 20%~40% 的中枢突触主要是以 GABA 作为神经递质。在多数神经元中,不论 GABA 作用于突触前末梢还是突触后膜的受体,不论是通过 GABA 中间神经元紧张性控制,还是通过 GABA 投射神经元的位相控制都是抑制性调控^[8]。印防己毒素是 GABA 受体的拮抗剂,通过阻断由 GABA 受体介导的抑制性反应而引起惊厥^[8]。异烟肼为 GABA 合成阻滞剂,通过降低 GABA 合成酶,而减少 GABA 的合成,使脑内抑制性神经系统功能减弱,从而使小鼠产生阵挛-强直性惊厥^[7,9]。槐定碱与甘氨酸受体竞争性拮抗剂土的宁、GABA 受体拮抗剂印防己毒素及 GABA 合成酶抑制剂异烟肼有协同作用的结果,提示槐定碱的中枢兴奋性作用可能与拮抗抑制性 GABA 能神经和甘氨酸能神经有关。

References:

- [1] Zhong R S. Study and Usage of *Sophora alopecuroides* (苦豆子的研究及其应用) [M]. Yinchuan: Ningxia People's Publishing House, 1983.
- [2] Wang X K, Li J S. The effects of matrine and other 5 *Sophora* alkaloids on GABA_A receptor [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2000, 23(Suppl): 42-44.
- [3] Jang Y X, Yu J Q, Peng J Z. The inhibitory effects of oxymatrine on central nervous system in mice [J]. *J Ningxia Med Coll* (宁夏医学院学报), 2002, 22(3): 157-158.
- [4] Jang Y X, Peng J Z. The effect of convulsion produced by pirenzepine in mice [J]. *J Ningxia Med Coll* (宁夏医学院学报), 1995, 17(4): 301-303.
- [5] Wang L Y, Yu J Q, Yan L. The comparison of central between ephedrine and pseudo-ephedrine [J]. *J Lanzhou Med Coll* (兰州医学院学报), 2001, 27(2): 4-5.

- [6] Jang Y X, Yan L, Yu J Q. Comparison of effects of ephedrine, pseudoephedrine, and their salicy late derivative on central nervous system in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(11): 1274-1277.
- [7] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [8] Zhu C G. *Neuroanatomy* (神经解剖学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.
- [9] Yang G M, Zhang X R, Hu J T, et al. Effect of lidocaine on four types of seizure [J]. *J Nanchang Univ* (南昌大学学报), 1995, 19(3): 210-213.

适合中药研究的小鼠 S_{180} 肿瘤获得性多药耐药模型的建立及稳定性研究

陈 强¹, 李贵海², 孙付军², 尹格平³

(1. 济南市中心医院, 山东 济南 250013; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014;

3. 济南军区总医院, 山东 济南 250031)

摘要:目的 模拟临床化疗 PFC (顺铂、环磷酰胺、5-氟脲嘧啶) 方案, 诱导小鼠 S_{180} 肿瘤细胞多药耐药 (MDR) 相关生物因子的异常表达, 建立获得性多药耐药基因表达产物 P_{170} (P 糖蛋白)、LRP (肺耐药相关蛋白) 及拓扑异构酶 II (TOPO II) 表达小鼠载体模型, 并观察模型稳定性, 为探讨药物干预 MDR 的有效途径提供实验模型, 同时为临床提供全面定量检测肿瘤耐药程度的方法。方法 应用流式细胞术动态检测 MDR 表达产物 P_{170} 、LRP、TOPO II 表达情况及 S_{180} 细胞凋亡指标 (Fas 因子、CD95), 同法检测同期外周血淋巴细胞上述指标, 模型小鼠传代后 ig 给予苦参碱 100 mg/kg, 再次检测上述指标。结果 实验组小鼠自化疗后 1 周 P_{170} 、LRP、TOPO II 表达逐渐增高, 自第 4 周后显著性增加 ($P < 0.05$); 而 S_{180} 细胞凋亡率、细胞杀伤率及 Fas 因子表达率则随化疗时间的延长而逐渐下降。MDR 相关基因表达显著性增加时, S_{180} 细胞凋亡率等则显著性降低 ($P < 0.05$)。第 5 周时实验组 MDR 阳性表达小鼠占 61.4%。实验组外周血淋巴细胞、凋亡率与 S_{180} 细胞有显著相关性。结论 传代后模型小鼠 MDR 相关基因表达稳定, 给予钙离子拮抗剂苦参碱可逆转上述指标的表达。

关键词: 化疗; 多药耐药; P_{170} ; 细胞凋亡; 苦参碱

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)11-1691-04

Establishment of obtained multidrug resistance model of S_{180} cell in mice used for study on Chinese materia medica and its stability

CHEN Qiang¹, LI Gui-hai², SUN Fu-jun², YIN Ge-ping³

(1. Jinan Central Hospital, Jinan 250013, China; 2. Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine,

Jinan 250014, China; 3. Jinan Military General Hospital, Jinan 250031, China)

Key words: chemotherapy; multidrug resistance (MDR); P_{170} ; apoptosis; matrine

以往对肿瘤细胞化疗耐药研究多采用细胞系作体外研究的方法^[1-3]。但在体内化疗过程中, 恶性肿瘤细胞的消亡受到机体免疫系统及化疗药物的影响, 故应用恶性肿瘤细胞系做体外化疗耐药的研究, 难以模拟化疗药物及内环境对肿瘤细胞多药耐药 (MDR) 形成的影响。且中药由其性质决定了难以适合体外细胞培养的要求, 故应建立适合中药干预肿瘤 MDR 的研究载体细胞模型。小鼠肿瘤细胞多药耐药基因的结构和功能与人类肿瘤有相关性^[3]。本研究模拟目前临床常用的 PFC (顺铂、环磷酰胺、5-氟脲嘧啶) 化疗方案, 反复刺激 S_{180} 细胞荷瘤小鼠, 建立获得性 MDR 表达模型, 观察传代后及给予

钙离子拮抗剂苦参碱后模型小鼠相关指标的表达情况, 观察小鼠肿瘤 MDR 实验模型相关因子的稳定性, 并探讨临床早期发现化疗耐药和建立全面定量检测耐药程度的方法。

1 材料

1.1 药品: 苦参碱由西安山川生物制品有限公司提供, 质量分数 98%, 批号 20020516; 注射用顺铂 (Pt), 山东齐鲁制药厂产品, 批号 01111611; 环磷酰胺 (Cytosan, CTX), 上海华联制药有限公司产品, 批号 030703; 5-氟脲嘧啶 (5-Fu), 天津金耀氨基酸有限公司产品, 批号国药准字 H12020959。

1.2 动物: 昆明种小鼠 19~21 g, 雌雄各半, 由山

收稿日期: 2006-02-03

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (Y2002C37)

作者简介: 陈 强 (1962—), 男, 山东省济南市人, 副主任中医师, 中西医结合专业硕士, 研究方向为老年病及微循环。