

脑心清片大鼠长期毒性实验研究

蔡永明^{1,3}, 项宗尚², 宋紫辉², 张宗鹏², 刘昌孝^{3*}

1. 天津大学化工学院 制药工程系, 天津 300072
2. 天津市新药安全评价研究中心, 天津 300301
3. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 确定脑心清片在大鼠体内毒性的潜在靶器官和未观察到毒性反应剂量。方法 大鼠每天分别 ig 给予脑心清片低、中、高剂量(生药 35、70、140 g/kg) 1 次, 每周 6 次, 连续给药 180 d, 停药恢复 30 d。给药期间和恢复期间观察各组大鼠一般状况, 每周测定大鼠体质量及进食量, 给药期结束和恢复期结束检测大鼠各项血液学指标和血清生化学指标, 并对大鼠脏器进行系统观察和组织病理学检查。结果 脑心清片高剂量组雄性大鼠的进食量在给药期间有一过性轻微减少; 脑心清片中、高剂量组大鼠血清总胆红素(TBIL)与对照组相比有轻微降低; 其他各项观察及检测指标均未发生与药物相关的异常改变。结论 脑心清片对大鼠 ig 给药的基本安全剂量为 35 g/kg。

关键词: 脑心清片; 柿叶; 长期毒性; 总胆红素; 安全性评价

中图分类号: R285.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)04-0752-05

Experimental study on long-term toxicity of Naoxingqing Tablets in rats

CAI Yong-ming^{1,3}, XIANG Zong-shang², SONG Zi-hui², ZHANG Zong-peng², LIU Chang-xiao³

1. Department of Pharmaceutical Engineering, School of Chemical Engineering and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China
2. Tianjin Centre for Drug Safety Evaluation and Research, Tianjin 300301, China
3. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Key words: Naoxingqing (NXQ) Tablets; persimmon leaves; long-term toxicity; total bilirubin; safety evaluation

柿树科植物柿 *Diospyros kaki* Thunb. 叶含有黄酮、氨基酸、蛋白质和维生素^[1], 具有抗炎、降压、调脂和抗癌等广泛药理活性^[2-3]。脑心清片是由采用现代制药技术从柿叶中提取的有效成分精制而成的中药制剂, 主要成分为黄酮类化合物, 还含有酚酸类成分^[4], 临床上用于预防和治疗动脉粥样硬化、高血压、冠心病和抗脑缺血损伤等^[5]。然而脑心清片的长期毒性研究鲜见报道。本实验观察了脑心清片重复 ig 给予大鼠 180 d、恢复 30 d 的毒性反应, 以研究大鼠长期给药的非临床安全性及可逆性, 确定中毒靶器官和未观察到毒性反应剂量 (NOAEL), 为脑心清片临床用药安全性评价提供借鉴。

1 材料

1.1 药品

脑心清片, 每片 0.4 g, 每片相当于生药 12.5 g、干浸膏(醋酸乙酯浸出物) 0.05 g, 由广州白云山和记黄埔中药有限公司提供, 批号 A9A001。药品室温及干燥密封条件下保存, 临用前用蒸馏水配制成均一稳定的溶液。

1.2 动物

SD 大鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 (132±9) g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK(京) 2007-0001。大鼠饲养环境为屏障系统, 室温 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 换气量 10~15 次/h, 光照 12 h。实验动物使用许可证号

收稿日期: 2011-10-05

基金项目: 国家“十一五”重大新药创制项目(2008ZX09305-005); 国家“十二五”重大新药创制项目(2009ZX03904-005)

作者简介: 蔡永明(1962—), 女, 天津人, 博士研究生, 副研究员, 研究方向为新药非临床安全性评价。

Tel: (022)84845246 E-mail: caiymtj@126.com

*通讯作者 刘昌孝 中国工程院院士 Tel: (022)23006863 E-mail: liuchangxiao@vip.163.com

SYXK (津) 2006-0002。SPF 大鼠标准颗粒饲料, 北京科澳协力饲料有限公司生产 [SCXK (京) 2009-0012]。大鼠自由饮用纯净水。本安全性试验在国家食品药品监督管理局 (SFDA) 药物非临床研究质量管理规范 (GLP) 认证的实验室完成。

1.3 仪器

HEMAVET950FS 型多物种血液分析仪, Drew Scientific 公司; ACL9000 血凝分析仪, 美国贝克曼库尔特公司; 日立 7080 型全自动生化分析仪, 日本日立公司; EASYLUTE 电解质分析仪, 美国 Medica 公司; 显微镜, 日本奥林巴斯光学工业株式会社。

2 方法

2.1 分组与给药

144 只大鼠按体质量随机分成 4 组, 每组 36 只, 雌雄各半, 分别为脑心清片低、中、高剂量 (生药 35、70、140 g/kg) 组, 分别相当于临床拟用剂量的 16、33、65 倍, 另设对照组。脑心清片各组 ig 给予相应剂量药物, 对照组给予等体积的蒸馏水, 给药体积均为 8.0 mL/kg, 每天给药 1 次, 每周 6 次, 连续给药 180 d, 停药后恢复观察 30 d。分别于给药 90、180 d 和恢复期 30 d 后各组随机取 12 只大鼠 (雌雄各半), 进行血液学、血清生化学和病理学检查。

2.2 大鼠一般状况、体质量及进食量观察

每天观察大鼠一般状况 1 次; 每周测量大鼠体质量和进食量 1 次, 其中进食量按每笼称量, 再计算每只大鼠的每天平均进食量。

2.3 血液学检查

取 EDTA 抗凝的大鼠腹主动脉全血, 用多物种血液分析仪进行红细胞计数 (RBC)、红细胞容积 (HCT)、血红蛋白 (Hb)、平均红细胞容积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白的量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、白细胞计数 (WBC) 及其分类、血小板计数 (PLT) 等检测; 取枸橼酸钠抗凝的血浆 (3 000 r/min 离心 10 min), 用血凝分析仪测定凝血酶原时间 (PT); 含 0.4% 新亚甲蓝的全血, 涂片、染色后, 显微镜下计数网织红细胞 (Ret)。

2.4 血清生化学检查

大鼠腹主动脉取血, 3 000 r/min 离心 10 min, 制备血清, 用全自动生化分析仪测定天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶

(ALP)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、总胆固醇 (TC)、血糖 (GLU)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆红素 (TBIL)、三酰甘油 (TG)、肌酸磷酸激酶 (CK) 等主要生化学指标; 用电解质分析仪检测 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 浓度。

2.5 系统尸检、脏器指数和组织病理学检查

大鼠经 20% 乌拉坦 ip 麻醉, 取血后处死, 剖检, 肉眼观察脏器后摘取心、肺、肝、肾、脾、胸腺、肾上腺、睾丸、附睾、子宫、卵巢和脑等, 剔除脂肪或结缔组织后称质量, 计算脏器指数 [脏器湿质量 (mg) / 体质量 (g)]。另摘取胰腺、胃、十二指肠、回肠、结肠、膀胱、垂体、脊髓 (颈、胸、腰)、淋巴结 (肠系膜)、胸骨 (骨、骨髓)、甲状腺、甲状旁腺、气管、食管、乳腺、坐骨神经、主动脉、前列腺、淋巴结等, 放入 12% 福尔马林液中固定, 组织经修块、梯度酒精脱水、石蜡包埋, 切片厚度 5 μ m, HE 染色, 光镜下检查病理学改变。

2.6 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料采用方差分析 (Dunnett-*t* 检验), 组间差异比较采用统计软件 SPSS 11.5, 病变等级指数检验采用 SPSS 11.5 NPar Tests Mann-Whitney Test 方法。

3 结果

3.1 对大鼠一般状况、体质量和进食量的影响

实验期间, 各组动物均未见死亡, 动物眼、鼻等未见异常分泌物, 无尿黄、稀便和软便等现象。在给药期和恢复期, 大鼠体质量均呈增长趋势, 饮水量也未见异常。脑心清片高剂量组雄性大鼠在给药中期 (8~18 周) 的平均进食量低于同期对照组 ($P < 0.05$ 、 0.01), 恢复期未见异常, 提示脑心清片对雄性动物的进食量有一过性的影响。结果见表 1。

3.2 对大鼠血液学及血清生化学指标的影响

在给药期和恢复期, 脑心清片各剂量组动物的血液学指标均未见与药物相关的异常变化。血清生化学指标检测显示, 脑心清片中、高剂量组大鼠给药期结束时, TBIL 均值略低于同期对照组且差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01), 恢复期结束时未见明显异常。提示脑心清片中、高剂量对动物的 TBIL 有轻微影响, 但该作用可逆, 无蓄积毒性。结果见表 2、3 和图 1。

3.3 对大鼠脏器指数和组织病理学等的影响

在给药 90、180 d, 大鼠解剖未见腹腔内有积液、粘连, 被检脏器形态、颜色、位置等未见肉眼可见

表 1 脑心清片 ig 给药 180 d 恢复 30 d 对雄性大鼠进食量的影响 ($\bar{x} \pm s$)
 Table 1 Effect of NXQ Tablets on food intake in male rats by ig administration for 180 d and then followed by a recovery period of 30 d ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	进食量 / (g·d ⁻¹)									
		第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周	第 6 周	第 7 周	第 8 周	第 9 周	第 10 周
对照	—	23.4±1.9	26.7±0.7	25.2±0.4	25.5±0.9	25.5±1.5	23.5±2.2	23.4±0.8	23.8±0.1	23.7±1.1	23.3±1.3
脑心清片	35	22.2±0.6	25.8±1.3	25.1±2.1	24.9±0.6	23.2±2.8	23.3±0.6	22.8±0.9	22.6±0.8	22.3±1.6	22.5±1.3
	70	23.8±0.3	26.3±1.0	26.3±1.1	25.3±0.6	20.6±2.9	24.5±0.7	24.3±0.3	23.4±0.6	25.2±0.4	22.5±0.5
	140	22.6±0.9	27.5±2.3	23.9±1.0	23.8±1.0	23.2±0.4	22.4±0.6	22.6±1.1	21.9±1.0*	22.1±0.8	20.8±0.5*

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	进食量 / (g·d ⁻¹)									
		第 11 周	第 12 周	第 13 周	第 14 周	第 15 周	第 16 周	第 17 周	第 18 周	第 19 周	第 20 周
对照	—	22.3±0.7	23.5±0.3	24.9±1.1	24.8±0.8	24.8±1.0	25.5±0.7	27.0±0.9	25.9±1.3	23.9±2.6	25.3±2.1
脑心清片	35	20.6±0.8	21.4±0.8*	23.0±3.6	25.5±2.4	25.9±2.1	25.3±2.6	26.6±2.6	26.5±1.3	22.8±3.1	25.8±2.3
	70	21.0±1.7	23.6±1.0	24.3±0.8	25.6±0.4	25.0±0.7	25.1±2.1	26.0±1.5	24.9±0.5	21.3±2.9	27.9±1.3
	140	20.7±0.3*	21.3±1.2*	20.8±1.8*	23.3±1.6	24.6±0.4	22.6±1.3*	23.5±0.9**	21.0±0.5**	20.3±0.9	24.0±1.0

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	进食量 / (g·d ⁻¹)									
		第 21 周	第 22 周	第 23 周	第 24 周	第 25 周	恢复第 1 周	恢复第 2 周	恢复第 3 周	恢复第 4 周	恢复第 5 周
对照	—	24.3±1.1	24.6±0.3	26.6±2.6	23.6±1.7	25.8±1.6	25.3±2.5	24.1±2.5	24.8±2.6	25.8±0.4	24.9±2.2
脑心清片	35	24.9±2.5	24.2±2.1	25.9±3.1	22.8±3.3	24.6±3.6	26.3±2.7	25.9±2.0	26.4±4.1	25.3±3.1	24.8±3.1
	70	25.2±0.9	23.5±1.3	27.0±1.7	25.2±1.7	25.5±2.6	25.3±2.4	24.2±2.1	23.7±3.8	28.3±1.9	26.3±2.8
	140	22.8±0.5	24.3±1.6	23.1±0.4	21.9±1.4	21.4±3.7	25.4±1.3	24.8±0.8	24.5±0.2	26.6±0.4	27.7±0.9

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01; 下表同
 *P<0.05 **P<0.01 vs control group; same as below

表 2 脑心清片给药期结束和恢复期结束对雄性大鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 Table 2 Effect of NXQ Tablets on serum biochemical indices of male rats in end of ig administration and of a recovery period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT / (U·L ⁻¹)		AST / (U·L ⁻¹)		ALP / (U·L ⁻¹)		BUN / (mmol·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	42.6±7.2	45.7±11.6	132.6±25.7	158.9±15.8	121.2±24.5	94.3±7.2	6.18±0.56	6.59±1.01
脑心清片	35	53.5±37.5	42.4±12.5	144.8±53.3	146.1±28.0	85.8±15.3*	103.7±7.0*	7.39±0.80*	6.18±0.63
	70	38.8±10.6	45.7±12.1	127.9±19.4	158.9±45.3	93.3±19.3	110.0±20.2	5.04±0.61**	6.52±0.57
	140	48.1±35.4	44.8±19.6	130.5±43.2	143.4±24.7	109.8±23.4	81.3±9.6	5.95±0.54	5.63±0.63

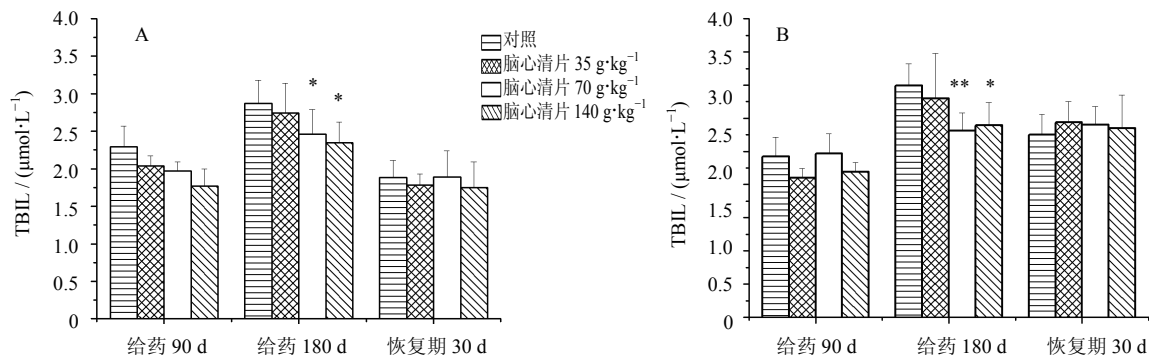
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	Cr / (μmol·L ⁻¹)		TP / (g·L ⁻¹)		ALB / (g·L ⁻¹)		GLU / (mmol·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	67.5±3.2	72.2±4.2	70.1±4.6	72.3±2.0	39.1±1.5	39.9±0.6	7.80±0.31	6.01±0.97
脑心清片	35	70.7±3.1	68.8±2.0	68.6±3.4	73.0±2.6	38.5±1.4	40.5±0.9	6.82±0.72*	6.53±0.72
	70	64.9±2.1	70.0±2.4	70.2±2.2	72.6±3.1	39.4±1.0	40.1±1.0	7.22±0.46*	6.01±0.47
	140	68.1±3.8	68.4±3.3	69.7±3.1	68.6±2.8*	39.2±1.2	38.5±0.9*	7.27±0.67	6.20±0.69

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	TC / (mmol·L ⁻¹)		TBIL / (μmol·L ⁻¹)		TG / (mmol·L ⁻¹)		CK / (U·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	1.53±0.26	1.88±0.23	2.87±0.31	3.06±0.28	1.33±0.65	0.62±0.23	456±116	574±115
脑心清片	35	1.56±0.23	1.78±0.15	2.74±0.40	2.92±0.28	0.71±0.24	0.96±0.45	456±148	555±150
	70	1.70±0.19	1.89±0.35	2.46±0.33*	3.04±0.36	0.97±0.47	0.75±0.35	559±114	569±127
	140	1.85±0.47	1.75±0.34	2.35±0.27*	2.74±0.34	0.70±0.24	0.78±0.17	542±95	559±93

表3 脑心清片给药期结束和恢复期结束对雌性大鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of NXQ Tablets on serum biochemical indices of female rats in end of ig administration and of a recovery period ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	ALT / (U·L ⁻¹)		AST / (U·L ⁻¹)		ALP / (U·L ⁻¹)		BUN / (mmol·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	38.4±15.7	40.2±20.1	142.7±30.3	126.7±50.0	30.8±7.4	49.2±12.8	8.43±0.77	7.81±1.64
脑心清片	35	45.4±24.0	45.7±35.0	128.9±32.2	147.8±68.5	26.4±6.9	53.0±19.7	6.59±0.84**	6.73±0.48
	70	30.6±6.4	27.4±4.6	105.8±21.0	103.0±17.3	56.1±19.0*	68.7±19.1	6.97±1.04*	7.15±1.16
	140	29.6±5.0	40.2±6.9	100.4±21.4	119.8±31.3	42.5±18.0	59.3±17.7	6.30±0.76**	7.62±1.32
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	Cr / (μmol·L ⁻¹)		TP / (g·L ⁻¹)		ALB / (g·L ⁻¹)		GLU / (mmol·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	75.3±6.1	78.4±2.8	74.4±4.2	79.9±5.0	42.6±1.7	44.7±2.1	6.51±0.42	6.46±1.06
脑心清片	35	74.0±5.8	76.0±5.0	74.6±3.8	77.3±5.3	42.8±1.8	43.7±2.2	6.86±0.52	6.00±0.86
	70	72.4±6.6	74.5±4.5	79.8±2.8*	76.7±7.1	44.8±1.7	43.9±3.3	6.91±0.60	6.22±0.78
	140	73.3±3.1	76.6±4.2	79.5±7.1	79.4±2.4	45.4±2.9	44.5±1.5	6.96±0.43	6.14±0.73
组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	TC / (mmol·L ⁻¹)		TBIL / (μmol·L ⁻¹)		TG / (mmol·L ⁻¹)		CK / (U·L ⁻¹)	
		给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束	给药结束	恢复期结束
对照	—	1.84±0.28	2.16±0.64	3.49±0.33	2.75±0.31	0.40±0.06	0.76±0.31	4 800±203	364±131
脑心清片	35	2.25±0.36	2.31±0.66	3.30±0.68	2.94±0.31	0.49±0.16	0.47±0.07*	344±108	418±68
	70	2.38±0.44*	2.51±0.51	2.81±0.27**	2.90±0.28	0.48±0.21	0.52±0.14	437±155	376±140
	140	2.45±0.37**	2.78±0.91	2.89±0.35*	2.85±0.50	0.42±0.08	0.80±0.75	364±188	362±45



与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

图1 脑心清片对雄性大鼠 (A) 和雌性大鼠 (B) 血清 TBIL 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of NXQ Tablets on serum TBIL levels in male (A) and female (B) rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

的病理改变。脏器质量和脏器指数未见与药物相关的异常变化。组织病理学观察显示,与对照组比较,给药组大鼠给药期被检脏器的组织结构、细胞形态均未发现明显的由药物引起的病理改变。恢复期后上述脏器亦未发现明显延迟毒性反应。

4 讨论

柿叶为柿树科 (Ebenaceae) 柿树属 *Dispryos* L. 植物的叶,其中以柿 *D. kaki* Thunb. 的叶最为常用^[6],该植物广泛分布于中国、日本、韩国和泰国^[7]。研究表明柿叶的活性成分具有广泛药理作用,黄酮类

化合物是柿叶的重要成分,具有抗过敏、抗病毒、抗炎、扩张血管等活性,特别是减少心血管疾病风险的作用受到关注^[8-9]。脑心清片的主要成分是柿叶醋酸乙酯浸出物,含黄酮类成分约 30%,主要为槲皮素、山柰酚苷元及其单、双糖苷类、芦丁、黄芩苷、金丝桃苷、异槲皮苷、杨梅树皮苷等,具有保护神经组织并促进神经细胞功能恢复等作用^[10-11]。

本实验是在完成小鼠单次 ig 给予脑心清片的急性毒性试验 (生药 750 g/kg 为最大给药量,相当于临床拟用剂量的 350 倍) 的基础上,对大鼠进行

的为期 180 d 的长期给药毒性研究, 以进一步评价该药的非临床安全性。结果显示, 脑心清片高剂量组雄性大鼠在给药期间的进食量有一过性减少, 雄性和雌性大鼠的 TBIL 轻微降低, 除此之外的各项检测指标均未发现与药物相关的明显改变; 脑心清片中剂量组大鼠在给药期间的 TBIL 也出现轻微降低, 其余检测指标均未见药物所致的明显改变; 脑心清片中、高剂量组大鼠出现的 TBIL 降低虽与药物相关, 但无临床毒理学意义。脑心清片低剂量组大鼠在给药期间的各项检测指标均未观察到与药物相关的毒性反应。停药恢复 30 d 后, 上述有异常变化的检测指标均恢复正常。组织病理学检查未见主要脏器出现与药物相关的器质性病变及延迟毒性反应。因此提示大鼠 ig 给予脑心清片生药 35 g/kg (相当于临床拟用剂量的 16 倍) 为基本安全剂量。

致谢: 天津市新药评价研究中心郭传敏研究员对本研究病理学检查提供的帮助。

参考文献

- [1] Yin R J, Xiao X F, Xu Y Y, *et al.* Research information and review on the leaves of *Diospyros kaki* L. I. Pharmacological activities of the extracts and main active ingredients of the leaves of *Diospyros kaki* L. [J]. *Asian J Pharmacodyn Pharmacokinet*, 2010, 10(3): 181-207.
- [2] Yin R J, Xiao X F, Xu Y Y, *et al.* Research information and review on the leaves of *Diospyros kaki* L II. Pharmacokinetics of major active compounds of *Diospyros kaki* L. [J]. *Asian J Pharmacodyn Pharmacokinet*, 2010, 10(4): 271-285.
- [3] 周发兴, 梁培瑜, 文洁, 等. 柿叶化学成分的研究 (I) [J]. *中草药*, 1983, 14(2): 4-6.
- [4] Pietta P G. Flavonoids as antioxidants [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63(7): 1035-1042.
- [5] 蔡越冬, 杨少锋. 脑心清片治疗脑动脉硬化症和冠心病心绞痛 60 例临床总结 [J]. *中药新药与临床药理*, 2001, 12(6): 414-416.
- [6] Utsunomiya N, Subhadrabandhu S, Yonemori K, *et al.* *Diospyros* species in Thailand: their distribution, fruit morphology and uses [J]. *Econ Bot*, 1998, 52(4): 343-351.
- [7] 欧阳平, 贝伟剑, 赖文岩, 等. 柿叶黄酮对晚期糖基化终产物诱导的血管外膜成纤维细胞增殖的影响 [J]. *第一军医大学学报*, 2003, 23(12): 1260-1262.
- [8] 李楚源, 贝伟剑, 刘昌孝, 等. 脑心清片防治脑动脉硬化研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2010, 3(4): 296-301.
- [9] Bei W, Zang L, Guo J, *et al.* Neuroprotective effects of a standardized flavonoid extract from *Diospyros kaki* leaves [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 126(1): 134-142.
- [10] Bei W, Peng W, Ma Y, *et al.* Naoxinqing, an anti-stroke herbal medicine, reduces hydrogen peroxide-induced injury in NG108-15 cells [J]. *Neurosci Lett*, 2004, 363(3): 262-265.
- [11] Chadwick D. Does withdrawal of different antiepileptic drugs have different effects on seizure recurrence? Further results from the MRC antiepileptic drug withdrawal study [J]. *Brain*, 1999, 122(3): 441-448.