

# 半夏等7种中药超临界CO<sub>2</sub>萃取物抗惊厥作用比较

杨蓉<sup>1</sup>, 王明正<sup>2\*</sup>, 成银霞<sup>2</sup>

(1. 山西中医学院药理教研室, 太原 030024; 2. 山西医科大学药理教研室, 太原 030001)

**[摘要]** **目的:**对柴胡等7种中草药的超临界CO<sub>2</sub>萃取物进行抗惊厥作用的比较,并初步探讨其作用机制。**方法:**将昆明种小鼠1060只随机分为11组,柴胡CO<sub>2</sub>萃取物组(柴I)、柴胡CO<sub>2</sub>乙醇提取物组(柴II)、石菖蒲CO<sub>2</sub>萃取物组(石I)、石菖蒲CO<sub>2</sub>乙醇提取物组(石II)、天南星CO<sub>2</sub>乙醇提取物组(天II)、钩藤CO<sub>2</sub>乙醇提取物组(钩II)、半夏CO<sub>2</sub>乙醇提取物组(半II)、瑞香狼毒CO<sub>2</sub>萃取物组(狼I)和柏子仁CO<sub>2</sub>萃取物组(柏I)、托吡酯组、生理盐水组,每组分为4~6个剂量组,每个剂量组20只,ig给药,观察各剂量组对最大电休克(maximal electroshock seizure, MES)模型的对抗作用;以上述各药抗MES惊厥的ED<sub>50</sub>为给药剂量,观察ig各药对小鼠戊四唑惊厥模型(metrazol seizure test, MET)的对抗作用;由小鼠抗MES惊厥的ED<sub>95</sub>折算得到大鼠ig剂量,建立大鼠皮层定位注射青霉素点燃模型,比较各药对惊厥行为和脑电图的影响。**结果:**①9种受试中药提取物中天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II对MES模型均有对抗作用,且量效均呈正相关性。②7种受试中药提取物均可延长MET惊厥潜伏期,数值由大到小排列依次为天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II,其中天II(11.06±4.32)min的作用效果优于托吡酯(9.57±4.47)min。③CO<sub>2</sub>萃取物较CO<sub>2</sub>乙醇萃取物起效快,作用持续时间短。(4)半II、柴I、天II、钩II、石I、石II均可不同程度的延长青霉素诱发的痫性发作潜伏期、减轻发作程度,延长痫性放电的潜伏期,减少痫波发放频率,减小放电最高波幅。**结论:**天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II均可对抗小鼠MES和MET惊厥;半II、柴I、天II、钩II、石I、石II可抑制大鼠皮层定位注射青霉素诱发的癫痫发作和痫性放电,其中半II是对抗青霉素点燃惊厥发作最有效的药物,且对该模型的对抗作用优于托吡酯。

**[关键词]** 超临界CO<sub>2</sub>萃取物;最大电休克惊厥;戊四唑惊厥;青霉素惊厥模型

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0214-06

## Comparison Study of Supercritical-CO<sub>2</sub> Fluid Extractions of Pinellia Rhizoma on Anticonvulsant Action

YANG Rong<sup>1</sup>, WANG Ming-zheng<sup>2\*</sup>, CHENG Yin-xia<sup>2</sup>

(1. Pharmacology Department, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China; 2. Pharmacology Department, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the anticonvulsion effect of supercritical-CO<sub>2</sub> fluid extractions (SFE-

**[收稿日期]** 20110729(001)

**[基金项目]** 山西省自然科学基金资助项目(20001065)

**[第一作者]** 杨蓉,讲师,药理学硕士,主要从事神经药理学研究, Tel: 13994272196, E-mail: y\_rong@yahoo. cn

**[通讯作者]** \*王明正, E-mail: wang5693693@163. com

[8] 刘华, 廖维靖, 杨万同, 等. 脑缺血再灌注后基质金属蛋白酶-9的早期表达及对血脑屏障的破坏[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2004, 26(4): 203.

[9] 张毅, 徐群, 苏敏, 等. 缺血性脑卒中患者急性期血浆中基质金属蛋白酶-9含量的动态变化[J]. 脑与神经疾病杂志, 2003, 11(4): 226.

[10] Gursoy-Ozdemir Y, Bolay H, Saribas O, et al. Role of endothelialNO generation and peroxynitrite formation in

reperfusion injury after focal cerebral ischemia [J]. Stroke, 2000, (31): 1974.

[11] Asahi M, Wang X Y, Mori T, et al. Effects of Matrix Metalloproteinase-9 Gene Knock-Out on the proteolysis of Blood-Brain Barrier and White Matter Components after Cerebral ischemia [J]. Neurosci, 2004, 21(19): 7724.

[责任编辑 聂淑琴]

CO<sub>2</sub>) of Bupleuri Radix, and explore their mechanism. **Method:** One thousand and sixty mice were randomly divided into 11 groups: RB I group, RB II group, RAT I group, RAT II group, AR II group, UN II group, PR II group, SCL I group, PS I group, topamax group and NS group. Every group was divided into 4-6 dose groups. The maximal electroshock seizure (MES) was used to observe the anticonvulsion effect. ED<sub>50</sub> dose against MES was considered as the administrated dosage to observe the anticonvulsant affects in metrazol seizure test (MET). The rat seizure model was reduced by cortex localion injection of penicillin to investigate the effect of extractions on the convulsant behaviors and hippocampus EEG (the doses were converted by ED<sub>95</sub> of MES). **Result:** ①Except for RB II and PS I, all the other seven extractions (PR II, UN II, RAT I, PR II, SCL I, RB I, RAT II) could dose-dependently antagonize MES in mice. ②All of the seven extractions could prolong the latent period of MET in mice, and the sequence from maximum to minimum was RP II, UN II, RAT I, PR II, SCL I, RB I, RAT II. The effect of RP II (11.06 ± 4.32) min was better than topamax (9.57 ± 4.47) min. ③The extractions with SFE-CO<sub>2</sub> showed a faster onset and shorter duration of he anticonvulsant action than that of supercritical-CO<sub>2</sub> alcohol fluid extractions (SAFE-CO<sub>2</sub>). ④PR II, AR II, UN II, RAT I, RAT II and RB I could prolong the latent period of epileptiform discharge, reduce the frequency of epileptiform discharge, and decrease the highest wave of hippocampus EEG. **Conclusion:** AR II, UN II, RAT I, PT II, SCL I, RB I, RAT II could dose-dependently antagonize MES and MET in mice; PR II, AR II, UN II, RAT I and RB I could antagonize penicillin-kindling seizure in rats. PT II may be the most effective extraction in antagonizing the penicillin-induced seizure, and the effect of which may be better than topamax.

[**Key words**] extractions with supercritical-CO<sub>2</sub> fluid extractions; maximal electroshocfe seizure; metrazol seizure test; penicillin- convulsant model

癫痫是一种常见的慢性脑部疾患,是多种病因引起的一类临床综合征,其本质是大脑局部病灶神经元兴奋性过高,产生阵发性放电,并向周围扩布而引起的大脑机能障碍,临床治疗难度大,发病率高。我国中医药治疗癫痫已有2000多年历史,在中草药治疗癫痫方面积累了丰富的经验。通过文献检索和查阅大量国内外资料发现,有关中医药治疗癫痫的3000余篇文献中,报道有效抗癫痫中草药和方剂约数百种之多,仅46个处方就涉及147种草药<sup>[1-2]</sup>,但大部分资料仅限于临床病例积累,各单味药物及其提取物的基础研究仅有零散报道。本实验结合中医理论,按照化痰、息风、泻火、祛淤、行气、补气的治疗原则在抗癫痫处方中选取了出现频率最高的7种中草药:天南星、钩藤、石菖蒲、柴胡、柏子仁、瑞香狼毒及半夏,通过新型提取技术——超临界CO<sub>2</sub>流体萃取法(SFE-CO<sub>2</sub>)获得萃取物作为研究对象,利用经典的最大电休克(MES)、戊四唑惊厥(MET)模型,以抗癫痫西药为阳性对照,对所获提取成分的量效、时效、效能进行比较研究,同时采用青霉素皮层定位注射诱发大鼠惊厥模型观察各药对痫样放电的影响。

## 1 材料

1.1 动物 健康普通级昆明种小鼠,体重18~

22 g,雌雄皆用,合格证号为314第070101号;健康清洁级Wistar大鼠,体重180~220 g,合格证号为314第070102号,雌雄皆用,单笼喂养,均由山西医科大学实验动物中心提供。实验动物均以标准饲料喂养,自由摄食及饮水,自然光照射,换气扇通风。

1.2 药品 实验用柴胡、石菖蒲、天南星、钩藤、半夏、瑞香狼毒、柏子仁均购于山西省药材公司,经山西医科大学药学系植化教研组鉴定后用于实验。超临界CO<sub>2</sub>萃取由山西省康友药业有限公司完成。萃取流程为:原生药(5 kg)-粉碎-进样-CO<sub>2</sub>流体压缩-萃取-减压-分离-得萃取物I;之后用70%的乙醇作携带剂进行二级提取,得萃取物II。柴胡、石菖蒲提取后得萃取物I,II,柏子仁和瑞香狼毒提取后得萃取物I,天南星、钩藤和半夏只得到萃取物II。

取以下药物作为受试药物:柴胡CO<sub>2</sub>萃取物(柴I, Bupleuri Radix I, RB I)、柴胡CO<sub>2</sub>乙醇提取物(柴II, Bupleuri Radix II, RB II)、石菖蒲CO<sub>2</sub>萃取物(石I, Acori Tatarinowii Rhizoma I, RAT I)、石菖蒲CO<sub>2</sub>乙醇提取物(石II, Acori Tatarinowii Rhizoma II, RAT II)、天南星CO<sub>2</sub>乙醇提取物(天II, Arisaematis Rhizoma II, AR II)、钩藤CO<sub>2</sub>乙醇提取物(钩II, Uncaria Ramulus Cum Unicis II, UN II)、半夏CO<sub>2</sub>乙醇提取物(半II, Pinellia

Rhizoma II, PR II)、瑞香狼毒 CO<sub>2</sub> 萃取物(狼 I, *Stellera chamaejasme* L I, SCL I)和柏子仁 CO<sub>2</sub> 萃取物(柏 I, *Platycladi Semen* I, PS I)。萃取物 I 用色拉油配制,萃取物 II 用蒸馏水配制。托吡酯(Topamax),瑞士 Cilag 公司生产,批号 02CS063,用生理盐水配制。

**1.3 试剂** 戊四唑(metrazol, MET),荷兰癫痫研究中心惠赠。青霉素(penicillin, PNC),华北制药股份有限公司生产,批号 U0204033。

**1.4 仪器** JY-II 型电惊厥仪,山西医科大学药理教研室研制。江弯 I 型-C 脑立体定向仪,上海川沙花木农机厂制造;RM6240C 型多道生理信号采集处理系统,成都仪器厂制造;不锈钢针电极,带绝缘层,直径 0.5 mm,由山西医科大学药理教研室自行研制。

## 2 方法

**2.1 最大电休克惊厥(maximal electroshock seizure, MES)实验**

**2.1.1 MES 模型的建立** 采用 Swinyard<sup>[3]</sup> 法稍加改良。两个耳电极夹住小鼠双耳部,用 70 V 电压刺激 0.4 s,以后肢强直为 MES 指标。实验前 12 h 筛选动物,凡经刺激未见后肢强直者弃之不用。

**2.1.2 动物分组及给药** 取昆明种小鼠 1 060 只,设 11 组,每组随机分为 4~6 个剂量组,每个剂量组 20 只,均采用 ig 给药法,正常对照组 ig 等容积的生理盐水。各剂量组的给药剂量见表 1。

表 1 受试中药提取物及托吡酯的给药剂量 g·kg<sup>-1</sup>

生理盐水	柴I	柴II	石I	石II	钩II	天II	半II	狼I	柏I	托吡酯
-	0.19	5	0.75	2.50	5.00	1.25	5.00	0.15	5	0.032
-	0.38	10	1.50	5.00	10.00	2.50	10.00	0.30	10	0.063
-	0.75	20	3.00	10.00	20.00	5.00	20.00	0.45	20	0.125
-	1.50	40	6.00	20.00	30.00	10.00	30.00	1.00	40	0.25
-	3.00	-	12.00	40.00	60.00	20.00	60.00	1.50	-	0.50
-	6.00	-	-	-	-	40.00	-	3.00	-	1.00

**2.1.3 量效、时效关系的测定** 仿文献[4]法,各剂量组小鼠 ig 给药后,分别于 15,30 min,1,2,12 h 用上述同样参数刺激,记录抗 MES 数,计算抗惊率,分析各药作用高峰期的量效关系,用 Bliss 法计算各药的 ED<sub>50</sub>,ED<sub>95</sub>,比较各药的效能。以各药最大剂量不同时间点的抗 MES 结果作时效关系分析,比较各药的起效时间、达峰时间和作用持续时间。

**2.2 抗戊四唑(metrazol seizure test, MET)惊厥实验** 根据抗 MES 结果,取昆明种小鼠 90 只,随机分为

9 组,每组 10 只。各药以抗 MES 惊厥的 ED<sub>50</sub> 为给药剂量:托吡酯组 0.22 g·kg<sup>-1</sup>,柴 I 组 1.16 g·kg<sup>-1</sup>,石 I 组 2.81 g·kg<sup>-1</sup>,石 II 组 10.10 g·kg<sup>-1</sup>,半 II 组 19.49 g·kg<sup>-1</sup>,钩 II 组 16.27 g·kg<sup>-1</sup>,天 II 组 9.10 g·kg<sup>-1</sup>,狼 I 组 0.77 g·kg<sup>-1</sup>,以上各组均采用 ig 给药,ig 容量 1.0 mL·kg<sup>-1</sup>,正常对照组 ig 等容积的生理盐水。于各药作用高峰期皮下注射(sc)MET 100 mg·kg<sup>-1</sup>,以全身阵挛性惊厥为观察指标,记录惊厥潜伏期(seizure latency, SL)、惊厥数(凡注射戊四唑 10 min 内出现惊厥者为阳性)和死亡数,计算抗惊厥率及死亡率。

**2.3 大鼠皮层定位注射青霉素诱发惊厥实验**

**2.3.1 动物分组及给药方法** 取 Wistar 大鼠 54 只,随机分为 9 组,每组 6 只,各组给药剂量(小鼠抗 MES 惊厥的 ED<sub>95</sub> 折算得到)如下:正常对照组(假手术组)ig 生理盐水,模型组(PNC 组)ig 生理盐水,柴 I 组 2.56 g·kg<sup>-1</sup>,石 I 组 5.34 g·kg<sup>-1</sup>,石 II 组 17.94 g·kg<sup>-1</sup>,钩 II 组 26.76 g·kg<sup>-1</sup>,天 II 组 17.59 g·kg<sup>-1</sup>,半 II 组 29.96 g·kg<sup>-1</sup>,托吡酯组 0.44 g·kg<sup>-1</sup>,以上各组均采用 ig 给药,ig 容量 10 mL·kg<sup>-1</sup>。

**2.3.2 模型的建立** 取 Wistar 大鼠称重并 ig 受试药物后,ip 25% 乌拉坦 4.0 mL·kg<sup>-1</sup> 麻醉,固定于江弯 I 型-C 脑立体定向仪上,剪毛,沿脑正中切开头皮 3 cm,按照 Konig 定位图谱<sup>[5]</sup>,在大鼠海马(前囟后 3.8 mm,中线旁 2.0 mm,硬脑膜下 2.6 mm)处颅骨钻孔,将直径 0.5 mm 的不锈钢电极插入相应部位,并与 RM6240C 多道生理信号采集处理系统相连。于各药作用高峰期用微量注射器硬膜下(感觉运动皮层)定位注射青霉素 400 U,当脑电图出现尖波、棘波或尖(棘)慢波综合波时造模成功。

**2.3.3 脑电图记录方法** 硬膜下微量注射青霉素后,连续记录脑电图 5 min,以后每间隔 5 min 记录 1 次,每次记录 1 min,共描记 1 h,同时观察大鼠的行为变化。

**2.3.4 观察指标**

**2.3.4.1 行为观察** 惊厥指标参照 Racine 标准<sup>[6]</sup>,将动物惊厥发作的行为表现分为 6 级。0 级:无反应或抽搐停止;I 级:节律性嘴或面部抽动;II 级:点头或甩尾;III 级:单肢抽动;IV 级:多肢抽动或强直;V 级:全面性强直-阵挛发作。硬膜下注射 PNC 后,连续观察大鼠行为 1 h,并记录惊厥发作的潜伏期(注射 PNC 到首次出现须动所需的时间)和发作程度。以出现 IV~V 级发作为重度发作,仅出现 III 级或 III 级以下轻度发作。

**2.3.4.2 脑电观察指标** 当出现尖波、棘波或尖(棘)慢波综合波时判定为痫性活动。观察并统计痫性放电的潜伏期(注射青霉素到首次出现痫性放电波的时间, min)、放电最高波幅(mV)、痫波发放频率(次/min)。

**2.4 统计方法** 结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示,多样本均数比较采用方差分析,率的比较采用  $\chi^2$  检验。全部数据均使用 SPSS 11.0 统计软件处理,  $P < 0.05$  有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 9种超临界CO<sub>2</sub>萃取物抗MES效应比较**

**3.1.1 量效关系比较** 结果显示,除柴II和柏I外,其余7种药物对最大电休克模型均有效,不同剂量的柴I对应的抗惊率分别为0%,10%,20%,30%,40%,40%,不同剂量的石I对应的抗惊率分别为0%,10%,20%,30%,30%,不同剂量的石II对应的抗惊率分别为0%,10%,40%,60%,60%,不同剂量的钩II对应的抗惊率分别为0%,10%,50%,60%,60%,不同剂量的天II对应的抗惊率分别为0%,10%,20%,50%,70%,70%,不同剂量的狼I对应的抗惊率分别为0%,10%,20%,40%,60%,60%,不同剂量的托吡酯对应的抗惊率分别为0%,10%,40%,60%,90%,90%,分别以7种药物的抗惊率为纵坐标,对数剂量为横坐标均可作出S形量效曲线,说明7种提取物均有不同程度的抗MES作用。各药抗MES的ED<sub>50</sub>和LD<sub>50</sub>见表2。

表2 7种提取物对小鼠最大电休克模型的ED<sub>50</sub>和LD<sub>50</sub>

指标	柴I	石I	石II	钩II	天II	半II	托吡酯
ED <sub>50</sub>	1.16	2.81	10.10	16.27	9.10	19.46	0.22
LD <sub>50</sub>	2.56	5.34	17.94	26.76	17.59	29.96	0.44

**效能比较** 各药效能从大到小依次为半II(80%),天II(70%),钩II(60%),狼I(60%),石II(60%),柴I(40%),石I(30%),但均不及托吡酯(90%)。

**3.1.2 7种超临界CO<sub>2</sub>萃取物时效关系比较** 7种超临界CO<sub>2</sub>萃取物的起效时间、达峰时间和作用持续时间见表3,可看出,柴I、石I和狼I3种CO<sub>2</sub>萃取物的起效时间均为15min,达峰时间均为30min,作用持续时间有所不同,以狼I为最长;石II、钩II、天II和半II4种CO<sub>2</sub>乙醇提取物起效时间均为30min,达峰时间均为1h,天II作用持续时间最长。

表3 7种提取物对小鼠最大电休克模型的时-效关系

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	起效时间 /h	达峰时间 /h	作用持续 时间/h
柴I	6.00	0.25	0.5	1
石I	12.00	0.25	0.5	2
狼I	3.00	0.25	0.5	4
石II	40.00	0.5	1	2
钩II	60.00	0.5	1	6
天II	40.00	0.5	1	8
半II	60.00	0.5	1	7
托吡酯	1.00	1	2	12

**3.2 7种超临界CO<sub>2</sub>萃取物抗MET效应比较** 7种萃取物中石I、钩II、天II、半II与对照组比较均使小鼠MET惊厥潜伏期明显延长,具有显著性差异( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),狼I、柴I、石II可使潜伏期延长,但与对照组相比无显著性差异。只有天II的惊厥潜伏期较托吡酯组延长,但无显著性差异(表4)。

表4 7种提取物对小鼠戊四唑惊厥的惊厥潜伏期影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	惊厥潜伏期/min
生理盐水	-	3.22 ± 0.88
柴I	1.16	4.97 ± 0.95
石I	2.81	6.75 ± 0.73 <sup>1)</sup>
石II	10.10	4.22 ± 1.87
钩II	16.27	7.35 ± 2.62 <sup>2)</sup>
天II	9.10	11.06 ± 4.32 <sup>2)</sup>
半II	19.49	6.65 ± 1.52 <sup>1)</sup>
狼I	0.77	5.70 ± 1.56
托吡酯	0.22	9.57 ± 4.47 <sup>2)</sup>

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.3 6种超临界CO<sub>2</sub>萃取物对青霉素诱发大鼠脑电图的影响**

**3.3.1 行为学比较** 模型组6只大鼠(100%)在注入PNC后开始发作即表现为节律性四肢同时抽动(IV级),持续至实验结束(1h)。柴I组和石I组注入PNC后大鼠依次出现I~III级发作,之后有一半(3只)发展为IV级,持续约40min后恢复正常。石II组大鼠开始即为IV级发作,持续1h。钩II组和天II组有83.3%(5只)大鼠出现III级以下的轻型发作,其中只有16.6%(1只)( $P < 0.05$ )发展为IV级发作,持续20min恢复正常。半II组有4只大鼠出现轻型发作,均未发展为重型发作( $P <$

0.05), 发作持续 20 min 后转为正常。见表 5。

6 种萃取物痫性发作的潜伏期由大到小依次为:半 II、柴 I、天 II、钩 II、石 I、石 II, 其中前 4 种药物与 PNC 组比较均有显著性差异 ( $P < 0.01$ ), 后 2 种药物潜伏期长于 PNC 组, 但无统计学意义。半 II、柴 I、天 II 和钩 II 痫性发作的潜伏期较托吡酯组延长, 但均无显著性差异, 其余各药均不及托吡酯。

表 5 6 种提取物对青霉素诱发大鼠惊厥发作的程度和潜伏期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	惊厥潜伏期 /s	轻型 /%	重型 /%
生理盐水	-	64.16 ± 10.72	100	100
柴 I	2.56	147.69 ± 71.17 <sup>2)</sup>	100	50
石 I	5.34	122.46 ± 17.53	100	50
石 II	17.94	77.32 ± 8.94	100	100
钩 II	26.76	141.54 ± 51.81 <sup>2)</sup>	83.3	16.7 <sup>1)</sup>
天 II	17.59	144.66 ± 24.07 <sup>2)</sup>	83.3	16.7 <sup>1)</sup>
半 II	29.96	182.49 ± 51.46 <sup>2)</sup>	66.7	0 <sup>2)</sup>
托吡酯	0.44	138.19 ± 7.98 <sup>1)</sup>	66.7	0 <sup>2)</sup>

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

**3.3.2 脑电图比较** 正常对照组大鼠大脑皮质及海马脑电图以 9 ~ 10 次/min 或 17 ~ 19 次/min 的  $\alpha, \beta$  波为主要表现, 无明显节律性, 波幅 (0.04 ~ 0.07) mV。硬膜下注射 PNC (63.46 ± 11.55) s 后开始出现痫波, 多为尖波、棘波和棘慢波。其余各组与 PNC 组比较痫性放电的潜伏期均有不同程度的延长, 痫波发放频率减少, 放电最高波幅减小。

从海马脑电图 (表 6) 可以看出, 痫性放电潜伏期以柴 I 为最长, 其余各药依次为天 II、钩 II、半 II、石 I、石 II, 其中前 4 组与 PNC 组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 后两组虽延长了潜伏期, 但与 PNC 组比较无显著性差异; 6 组药物的潜伏期均短于托吡酯组。

表 6 表明, 6 种药物痫波放电频率由少到多依次为半 II、钩 II、石 I、天 II、柴 I、石 II, 其中前 5 组与 PNC 组比较痫波发放频率均显著性减少 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 石 II 组略少于 PNC 组, 无统计学意义; 只有半 II、钩 II 组痫波频率少于托吡酯组, 但无显著性差异。

痫波最高波幅由低到高依次为半 II、石 I、天 II、柴 I、钩 II、石 II, 其中前 4 组与 PNC 组比较痫波最高波幅均显著性降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 后两组虽也降低, 但无统计学差异; 半 II、石 I、天 II、柴 I 组痫波最高波幅与托吡酯组比较均显著性

表 6 6 种提取物对青霉素诱发大鼠惊厥发作脑电图痫性放电潜伏期、痫波发放频率和痫波最高波幅的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	痫性放电潜伏期 /s	痫波发放频率 /次/min	痫波最高波幅 /mV
PNC	-	63.46 ± 11.55	40.17 ± 3.97	1.09 ± 0.11
柴 I	2.56	138.85 ± 72.99 <sup>1)</sup>	29.83 ± 7.94 <sup>1)</sup>	0.75 ± 0.24 <sup>1,3)</sup>
石 I	5.34	115.29 ± 19.92	27.17 ± 6.94 <sup>2)</sup>	0.70 ± 0.31 <sup>2,4)</sup>
石 II	17.94	70.32 ± 8.66	39.00 ± 2.37	1.02 ± 0.08
钩 II	26.76	134.71 ± 51.94 <sup>1)</sup>	21.50 ± 6.83 <sup>2)</sup>	0.85 ± 0.16
天 II	17.59	136.33 ± 27.89 <sup>1)</sup>	27.83 ± 6.18 <sup>2)</sup>	0.72 ± 0.18 <sup>1,4)</sup>
半 II	29.96	129.04 ± 7.55 <sup>1)</sup>	18.67 ± 5.47 <sup>2)</sup>	0.56 ± 0.14 <sup>2,4)</sup>
托吡酯	0.44	174.16 ± 52.06 <sup>2)</sup>	25.00 ± 4.34 <sup>2)</sup>	1.00 ± 0.12

注:与 PNC 组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与托吡酯组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 钩 II 组较托吡酯组虽也降低, 但无统计学意义。

#### 4 讨论

目前公认, MES 是癫痫大发作的实验模型, 是筛选对抗人类局限性和强直-阵挛性发作有效药物的最有价值的实验方法<sup>[7]</sup>。本实验结果显示, 9 种受试中药超临界 CO<sub>2</sub> 提取物中, 除柴 II 和柏 I 外, 其余 7 种提取物对 MES 模型均有对抗作用, 抗 MES 的作用强度虽不及托吡酯, 但作用性质与托吡酯相似。半 II 最大抗惊率可达 80%, 天 II 达 70%, 钩 II 和狼 I 都达 60%, 由此推测以上几种药物通过进一步提取有效成分, 甚至提取单体, 其抗惊率有望进一步提高, 甚至可与抗癫痫西药相媲美。

戊四唑是 GABA 受体拮抗剂, 主要通过影响与 GABA 相关的氯离子通道的活性, 使中枢抑制功能减弱, 神经元过度兴奋, 引起癫痫发作。一般认为能明显对抗 MET 的药物可以治疗人类的癫痫小发作<sup>[7]</sup>。本实验结果显示, 7 种提取物均可对抗 MET 发作, 以各药的 ED<sub>50</sub> 给药, 抗 MET 惊厥潜伏期均有不同程度的延长, 其中天 II 作用最强, 其抗惊率高于托吡酯, 提示天 II 可能成为一种有发展前途的临床治疗癫痫小发作的药物。

时效关系分析可得, CO<sub>2</sub> 萃取物的起效快而作用持续时间短, CO<sub>2</sub> 乙醇萃取物的起效较慢而达峰时间和作用持续时间较长, 该现象可能与 CO<sub>2</sub> 萃取物含脂溶性成分多而易吸收并能迅速透过血脑屏障有关。

青霉素诱发的 EEG 癫痫样电活动与人类失神性癫痫相似, 其机制为青霉素是 GABA<sub>A</sub>-

benzodiazepine 受体的拮抗剂,可以引起抑制性突触活动减弱或兴奋性突触活动增强,从而导致神经元兴奋性增高。当神经元兴奋性突触后电位综合超过一定阈值即可产生阵发性去极化飘移(paroxymal depolarization shifts, PDS), PDS 是癫痫电生理学的主要特征之一,脑电图记录到的棘波就是 PDS 有关动作电位的反映。阵发性去极化飘移的产生过程与 Ca<sup>2+</sup> 密切相关<sup>[8-11]</sup>。细胞外 Ca<sup>2+</sup> 减少对痫性放电的同步化扩散及发作具有重要作用,细胞内 Ca<sup>2+</sup> 浓度升高一方面可以引起细胞的去极化产生异常放电从而导致癫痫的产生及迅速传播;另一方面细胞内 Ca<sup>2+</sup> 可大量增加谷氨酸的释放从而加剧发作的恶性循环<sup>[12]</sup>。近年来研究发现托吡酯可以阻滞 L 型高电压依赖性 Ca<sup>2+</sup> 通道,从而减少或抑制痫性放电的产生和扩散<sup>[13]</sup>。有文献报道,钩藤的主要成分钩藤碱能阻滞外 Ca<sup>2+</sup> 内流和内 Ca<sup>2+</sup> 释放,以抑制动作电位的产生,从而起到抗癫痫作用<sup>[14]</sup>。本实验结果显示,半Ⅱ、柴Ⅰ、天Ⅱ、钩Ⅱ和石Ⅰ对青霉素点燃惊厥发作均有较好的对抗作用,由此可以推测以上药物的抗痫作用机制和影响 GABA 系统有关。又因半Ⅱ、柴Ⅰ、天Ⅱ和石Ⅰ的抗惊厥作用性质与托吡酯和钩藤相似,可以推测其作用机制和 Ca<sup>2+</sup> 通道有关。

本实验比较了受试各药的最基本的药理学参数,并对其抗惊厥作用机制进行了初步研究,其抗惊厥作用的具体环节将在后续研究中加以探讨。

#### [参考文献]

[1] 侯田臻,孙半润. 抗癫痫中药处方的统计分析[J]. 中国医院统计, 2001, 8(1):44.

[2] 刘燕,廖卫平,张横柳. 中药抗癫痫作用的实验研究概况[J]. 中药新药与临床药理, 2001, 12(1):58.

[3] Swinyard E A, Woodhead J H, White H S, et al. Experimental selection, quantification and evaluation of anti convulsants [M]. Antiepileptic Drugs, Raven Press, New York, 1989:85.

[4] 林志彬,金有豫. 医用药理学基础[M]. 北京:世界图书出版社,1994.

[5] Murao K, Shingu K, Tsushima K, et al. The anticonvulsant effects of volatile anesthetics on penicillin-induced status epilepticus in cats [J]. Anesthesia & Analgesia, 2000, 90(1):142.

[6] Racine R J. Modification of seizure activity by electrical stimulation: II, Motor Seizure [J]. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972, 32(3):281.

[7] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2002:862.

[8] Antoniadis A, Müller W E, Wollert U. Inhibition of GABA and benzodiazepine receptor binding by penicillins[J]. Neurosci Lett, 1980, 18(3):309.

[9] 宋立群,肖洪彬,赵丹阳,等. 安痢宁冲剂对小鼠癫痫模型脑组织中 MDA, SOD, ATP 酶的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3):45.

[10] Gorter J A, Goncalves P M, Vliet E A, et al. Neuronal cell death in a rat model for temporal lobe epilepsy is induced by the initial status epilepticus and not by later repeated spontaneous seizures[J]. Epilepsia, 2003, 44(3):647.

[11] Payne Helen L, Peter S Donoghue, William M K Connelly, et al. Aberrant GABA A receptor expression in the dentate gyrus of the epileptic mutant mouse stargazer[J]. Neurosci, 2006, 26(33):8600.

[12] Willmott N, Sethi J K, Walseth T F, et al. Nitric oxide-induced mobilization of intracellular calcium via the cyclic ADP-ribose signaling pathway [J]. J Biol Chem, 1996, 271(3):3699.

[13] Zhang Xiao-lei, Alexander A, Velumian, et al. Modulation of high-voltage-activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate [J]. Epilepsia, 2000, 41(Suppl): S52.

[14] 徐淑梅,何津岩,林来祥,等. 钩藤对致痫大鼠脑片诱发场电位的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2001, 17(3):259.

[责任编辑 聂淑琴]