

石菖蒲不同部位对戊四唑点燃大鼠药效学研究

林双峰^{*}, 邹衍衍, 李小兵, 李翎, 王丽新, 何玉萍, 梁毅
(广州中医药大学第一附属医院 实验中心, 广州 510405)

[摘要] 目的: 研究石菖蒲不同部位对戊四唑点燃癫痫模型大鼠的作用。方法: SD 大鼠 80 只, ip 戊四唑溶液 $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重, 隔天 1 次, 共 14 次。点燃成功的大鼠, 分 8 组, 每天 ig 1 次, 分别给予石菖蒲挥发油 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、石菖蒲去油水提液高、中、低剂量分别为 $28, 14, 7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; -细辛醚 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, -细辛醚 $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 阳性对照组给予丙戊酸钠 $126 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 治疗, 模型组给予同量生理盐水。另设正常组 5 只, 正常喂养, 不作任何处理。治疗 36 d 后用同剂量戊四唑点燃测试药效, 记录惊厥发作的潜伏时间、发作的级别和次数、湿狗样次数。结果: 石菖蒲去油水提液高剂量组治疗后 3 级发作次数较治疗前减少 ($P < 0.05$), -细辛醚治疗后 2 级发作次数较治疗前减少 ($P < 0.05$), 3 级发作次数较治疗前减少 ($P < 0.01$)。结论: 石菖蒲水溶性部分和 -细辛醚有减少戊四唑点燃大鼠癫痫发作次数的作用。

[关键词] 石菖蒲; -细辛醚; 戊四唑; 癫痫; 大鼠; 药效学

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0158-04

Pharmacodynamics Study of Different Parts of *Acori tatarinowii* for Pentylenetetrazol Kindling Rats

LIN Shuang-feng^{*}, ZOU Yan-yan, LI Xiao-bing, LI Ling, WANG Li-xin, HE Yu-ping, LIANG Yi
(Central Laboratory, First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antiepileptic effect of different parts of *Acori tatarinowii* for pentylenetetrazol kindling rats. **Method:** Eighty SD rats were intraperitoneally injected with pentylenetetrazol solution at a dosage of $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ once every the other day for 14 times. The successfully kindled rats for epilepsy were then divided into 8 groups and drugs were ig given once a day accordingly. Volatile oil from *Acori tatarinowii* was given at $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; the high doses of liquid extract with the volatile oil removed from *A. tatarinowii* at $28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; the medium dose of liquid extract with the volatile oil removed at $14 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; the low-dose at $7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; -asarone at $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; -asarone at $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Positive control group was given sodium valproate at $126 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. The normal group of 5 rats was given a normal ration without any special treatment. The model group was given the same volume of physiological saline. 36 days after the above mentioned treatments, the rats were injected intraperitoneally with the same dose of pentylenetetrazol, a test was done to determine the efficacy: the potential seizure observation time, the level and frequency of attacks, and the number of wet dogs. **Result:** The frequency of third-level seizure attack in the high dose group of *A. tatarinowii* water extracts without oil was reduced significantly ($P < 0.05$). The frequency of the second-level attack after the treatment by means of -asarone was reduced significantly ($P < 0.05$), and the frequency of the third-level attack was also reduced significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** The ingredients for antiepileptic effect in *A. tatarinowii* are its water-soluble parts and -asarone.

[收稿日期] 20100412(003)

[基金项目] 广州中医药大学科研创新基金项目(2005C074); 广东省科技计划项目(73032); 广东省中医药局课题(2007050)。

[通讯作者] * 林双峰, 医学硕士, 主管药师, 主要研究方向: 中药制剂工艺及中药药理, Tel: 020-36591640, E-mail: linshfeng2004@163.com

[Key words] *Aconus tatarinowii* Schott; -asarone; pentylenetetrazol; epilepsy; pharmacodynamics; rat

石菖蒲为天南星科植物石菖蒲 *Aconus tatarinowii* Schott 的干燥根茎, 具有化湿开胃、开窍豁痰、醒神益智之功效, 临床上广泛应用于癫痫、中风失语、耳鸣、健忘、老年性痴呆等病症。本实验研究了石菖蒲挥发油, 石菖蒲去挥发油水提液 3 个剂量, 石菖蒲挥发油中 α -细辛醚、 β -细辛醚 4 个不同部位或单体对戊四唑点燃癫痫模型大鼠的作用, 以期明确石菖蒲抗癫痫的主要有效部位或成分。

1 材料与方

1.1 药物和试剂 石菖蒲饮片 30 kg, 购于广州市药材公司饮片厂, 产地: 四川, 批号 20070901, 经本实验中心吴启端研究员鉴定为石菖蒲 *Aconus tatarinowii* Schott 的根茎; 挥发油含量 1.2%, 符合《中国药典》2005 年版一部石菖蒲项下规定, 经 GC-MS 指纹图谱分析, 符合内控质量标准^[1], 加 2 倍质量的吐温 80 配成 0.788% ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 石菖蒲挥发油水溶液; 石菖蒲去挥发油水提液, 真空浓缩, 依据临床剂量折算成大鼠等效剂量, 配成高、中、低 3 个剂量, 分别相当于石菖蒲药材 4.4, 2.2, 1.1 $\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; α -细辛醚, 本实验中心自制, 经 GC-MS 检测, 相对含量 99.55%, 加 2 倍质量的吐温 80 配成 1.572% ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) α -细辛醚水溶液; β -细辛醚, Sigma 公司, 含量 98%, 批号 S18779-485, 加 2 倍质量的吐温 80 配成 1.101% ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) β -细辛醚水溶液; 戊四唑, Sigma 公司, 批号 085K1711, 用纯水配成 1.4% ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); 丙戊酸钠片, 湖南省湘中制药有限公司, 批号 070626, 用纯水配成 19.81 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 混悬液; 其他试剂均为分析纯。

1.2 动物 SD 大鼠 85 只, 雄性, 200 ~ 220 g, 购于中山大学实验动物中心, 实验动物质量合格证号 0032225, 许可证号 SCXK(粤) 2004-0011。隔离观察 10 d, 未见癫痫发作症状。

1.3 造模方法^[2] 80 只 SD 大鼠 ip 戊四唑 35 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重, 隔天 1 次, 共 14 次, 其中 6 只在造模过程中因癫痫 6 级发作而死亡; 停止注射戊四唑 9 d, 成活的 74 只大鼠全部用相同剂量戊四唑测试, 凡连续 5 次 2 级以上惊厥者为点燃大鼠, 全部点燃成功, 记录注射戊四唑时间、惊厥发作时间, 观察 30 min, 记录每一级惊厥发作的次数; 观察完毕, 用双人抓纸条方法随机分成 8 组, 并记录每只大鼠的分组去向。

另设正常组 5 只, 共 9 组 79 只大鼠进行下轮实验。

1.4 给药方法 给药剂量: α -细辛醚 70 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, β -细辛醚 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 石菖蒲去油水提液高、中、低剂量分别为 28, 14, 7 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 石菖蒲挥发油 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 阳性组丙戊酸钠溶液 126 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 模型组以等量 0.9% NaCl ig; 正常组不作任何处理, 正常喂养。

点燃的大鼠分组后恢复 6 d, 按上述剂量 ig 给药, qd, 每 7 d 称体重调整给药量, 给药 21 d, 恢复 2 周, 再给药 15 d, 最后 1 次给药后次日, 以戊四唑 35 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体重 ip, 点燃大鼠, 观察 30 min, 记录注射时间和惊厥发作时间, 记录每级发作的次数和湿狗样次数, 以及每组死亡个数。

1.5 大鼠惊厥行为评分标准^[3]: 0 级: 没有行为上的发作; 1 级: 节律性点头或头部颤搐; 2 级: 阵挛性咀嚼; 3 级: 头部颤搐加前肢阵挛性抽搐; 4 级: 袋鼠姿势(上身直立); 5 级: 跌倒; 6 级: 强直性惊厥。

1.6 统计方法 用 SPSS 13.0 统计软件处理, 实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示。每组用药前后均数比较用 t 检验, 组间比较采用方差分析, 率的比较用秩和检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗过程中大鼠死亡情况 第 1 次点燃成功的 74 只大鼠在给药治疗期间死亡 9 只, 其中 ig 致死 5 只; 第 2 次点燃测试药效时有 5 只大鼠因癫痫 6 级发作而于 30 min 内死亡。石菖蒲去油水提液中剂量组和低剂量组治疗的点燃大鼠没有死亡, 与其他组不同, 但经秩和检验, 没有统计学意义。

2.2 石菖蒲不同部位对癫痫大鼠惊厥潜伏时间和湿狗样发作次数的影响 治疗后各组惊厥潜伏时间与模型组及同组治疗前比较, 没有明显差别, 以 α -细辛醚组效果较好, 但没有统计学意义; 同组治疗前后比较, 湿狗样发作次数减少, α -细辛醚组差别有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果见表 1。

2.3 石菖蒲不同部位对癫痫大鼠惊厥发作级别和次数的影响 与同组治疗前比较, 各治疗组对降低 5 级和 6 级的高级别的发作没有统计学意义; 石菖蒲去油水提液高剂量组 3 级发作次数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); α -细辛醚组 2 级发作次数减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 3 级发作次数减

表 1 石菖蒲不同部位对戊四唑点燃大鼠惊厥潜伏时间及湿狗样次数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	潜伏时间 / s		湿狗样次数 / 次	
			治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
-细辛醚	70	8	126.9 \pm 41.3	138.8 \pm 73.4	2.00 \pm 2.00	0.75 \pm 2.12 ¹⁾
-细辛醚	100	9	165.0 \pm 105.0	216.7 \pm 125.3	3.50 \pm 5.40	0.50 \pm 0.92
石菖蒲挥发油	50	8	109.4 \pm 53.6	270.0 \pm 212.7	2.75 \pm 3.06	0.62 \pm 0.92
石菖蒲去油水提液	28 $\times 10^3$	8	180.6 \pm 56.0	217.5 \pm 169.5	2.00 \pm 3.34	0.00 \pm 0.00
	14 $\times 10^3$	8	278.8 \pm 236.0	217.5 \pm 283.1	2.38 \pm 2.07	1.12 \pm 1.46
	7 $\times 10^3$	7	147.9 \pm 80.9	397.9 \pm 619.7	1.86 \pm 2.04	1.86 \pm 2.85
丙戊酸钠	126	8	238.8 \pm 95.4	375.0 \pm 317.1	4.50 \pm 7.25	0.75 \pm 2.12
模型	-	9	179.4 \pm 113.0	293.3 \pm 436.2	2.00 \pm 3.74	0.56 \pm 1.01
正常	-	5	-	-	-	-

注:与同组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

少,差异有非常显著的统计学意义($P < 0.01$);阳性组 3 级发作的次数降低,有统计学意义($P < 0.05$)。石菖蒲去油水提液低剂量组癫痫大鼠 1 级发作的次数增加,有统计学意义($P < 0.05$);石菖蒲挥发油组治疗后 1 级发作次数增加,有非常显著的统计学意义($P < 0.01$);-细辛醚组 6 级发作的次数增加,有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 2。

3 讨论

点燃(kindling)是指用亚抽搐剂量的电刺激或化学药物周期性地刺激动物,使之产生自发性的癫痫发作。点燃目前被公认是一种理想的癫痫动物模型,其致病性具有永久的保留能力,较好地模拟了人

类癫痫的进行性发展的长期反复的自限性发作形式^[4]。戊四唑致痫模型是一个理想的全身强直-阵挛发作动物模型,因为药物本身无特殊神经毒性作用,故被广泛用于癫痫发病机制的研究和抗癫痫药物的筛选^[5]。本实验经过 14 次 ip,戊四唑模型点燃成功率 92.5%,说明 $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重的剂量可以降低点,以减少动物的损失。

本实验中心曾报道,对培养的 SD 乳鼠原代心肌细胞,含吐温-80、甘油的基质组的细胞形态与缺血模型组相似,说明助溶剂基质在形态学方面对心肌细胞无明显影响^[6],故本试验没有设置助溶剂吐温 80 对照组以减少实验动物数。

表 2 石菖蒲不同部位治疗前后各组各级别发作次数统计($\bar{x} \pm s$)

组别	1 级发作次数	2 级发作次数	3 级发作次数	4 级发作次数	5 级发作次数	6 级发作次数
-细辛醚治疗前	0.50 \pm 0.76	0.50 \pm 0.53	33.75 \pm 23.09	2.12 \pm 4.52	0	1 \pm 0.93
-细辛醚治疗后	2.50 \pm 2.67	0 ¹⁾	4.50 \pm 4.87 ²⁾	0.62 \pm 1.41	0.12 \pm 0.35	1 \pm 1.07
-细辛醚治疗前	1.11 \pm 1.76	0.44 \pm 0.73	13.00 \pm 12.14	0.33 \pm 0.71	0.78 \pm 1.72	0.22 \pm 0.44
-细辛醚治疗后	0.62 \pm 0.52	0	6.00 \pm 9.97	0.50 \pm 0.93	0.38 \pm 0.74	0.89 \pm 0.60 ¹⁾
挥发油治疗前	0	1.25 \pm 0.35	11.62 \pm 12.21	0.25 \pm 0.71	0	2.25 \pm 2.05
挥发油治疗后	1.25 \pm 0.89 ²⁾	0	4.50 \pm 7.29	1.00 \pm 1.51	0.12 \pm 0.35	1.38 \pm 2.00
去油水提治疗前	0.50 \pm 1.07	0.50 \pm 0.53	12.50 \pm 9.49	2.88 \pm 7.73	0.12 \pm 0.35	0.62 \pm 0.74
去油水提高治疗后	4.25 \pm 10.42	0.38 \pm 0.74	3.38 \pm 3.70 ¹⁾	0.50 \pm 1.41	0.25 \pm 0.46	0.62 \pm 0.52
去油水提治疗前	0.50 \pm 0.53	0.50 \pm 0.76	9.75 \pm 7.32	0.50 \pm 0.76	0	0.12 \pm 0.35
去油水提中治疗后	4.38 \pm 9.56	0	3.75 \pm 6.36	0.12 \pm 0.35	0	0.50 \pm 0.53
去油水提治疗前	0.14 \pm 0.38	0.43 \pm 0.79	10.14 \pm 9.87	3.14 \pm 6.64	0.14 \pm 0.38	0.71 \pm 0.95
去油水提低治疗后	1.29 \pm 1.11 ¹⁾	0	1.86 \pm 2.04	0.29 \pm 0.76	0.43 \pm 1.13	0.43 \pm 0.53
丙戊酸钠治疗前	1.25 \pm 2.43	0.25 \pm 0.71	14.75 \pm 12.14	0.88 \pm 1.13	0	0.25 \pm 0.46
丙戊酸钠治疗后	1.25 \pm 0.71	0.38 \pm 0.74	2.62 \pm 4.00 ¹⁾	0	0.12 \pm 0.35	0.25 \pm 0.46
模型治疗前	0.22 \pm 0.67	0.67 \pm 1.00	14.33 \pm 19.41	1.00 \pm 1.50	1.11 \pm 2.62	0.33 \pm 0.50
模型治疗后	1.00 \pm 0.71 ¹⁾	0	3.11 \pm 4.78	0.11 \pm 0.33	0.11 \pm 0.33	0.33 \pm 0.50

注:与同组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;各组样本数及给药剂量与表 1 同。

本实验中, 癫痫大鼠的 3 级发作次数比其他级别次数明显增多; 治疗后, 石菖蒲去挥发油水提液高剂量组、丙戊酸钠组 3 级发作的次数减少, γ -氨基丁酸组 2 级和 3 级发作的次数减少, 说明这些部位或单体能减少癫痫的发作。石菖蒲挥发油和 γ -氨基丁酸对降低发作的级别和次数, 效果不明确, 这与以往报道不同^[7-8], 原因可能是选取的点燃模型不同、治疗时间长短不同引起, 本实验经过两阶段的治疗, 中间还因动物状态欠佳, 停药 14 d, 前后治疗时间长达 36 d, 其疗效更接近临床上癫痫需要长期治疗的实际。

石菖蒲去油水提液低剂量组和模型组的结果一致, 中剂量组没有统计学意义, 高剂量组大鼠癫痫 3 级发作次数的降低 ($P < 0.05$), 说明随着给药剂量增加, 癫痫发作的级别降低、次数减少, 呈一定的量效关系; 高剂量组大鼠死亡数最多, 主要原因是药物浓度太高, 给药困难, 可能造成大鼠内伤, 药物太稠影响大鼠进食和消化, 如能去除无效成分, 减少给药体积, 将能更好地发挥药效。石菖蒲挥发油组大鼠死亡数也较高, 提示挥发油可能有的一定的毒性。 γ -氨基丁酸组、 γ -氨基丁酸和阳性组死亡情况相当, 提示给药剂量是合适的。

综上所述, 对戊四唑点燃模型, 石菖蒲的主要有效部位是高剂量的去油水提液部位和 γ -氨基丁酸; 石菖蒲挥发油和 γ -氨基丁酸在降低发作的级别和次数方

面, 效果尚不明确, 是否从其他方面发挥抗癫痫作用, 有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 魏刚, 林双峰, 方永奇, 等. GC-MS 建立石菖蒲挥发油质量标准研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10): 794.
- [2] 陈俐, 廖卫平. 石菖蒲水煎剂抗癫痫动物模型的药效学研究[J]. 广州医学院学报, 2002, 30(3): 13.
- [3] Ono J, Chamorro G, Tomaus F, et al. Electrocortical observation of seizure induced by pentylenetetrazol injection in rats [J]. Exp Neural, 1982, 78: 7.
- [4] 王晓鹏, 王维平. 癫痫动物模型点燃的研究进展[J]. 脑与神经疾病杂志, 2006, 14(4): 316.
- [5] 程桂玲, 迟兆富, 赵玉英, 等. 尼膜同对戊四氮致痫大鼠海马神经细胞凋亡和 p53 蛋白表达的影响[J]. 陕西医学杂志, 2004, 33(1): 6.
- [6] 吴启端, 王绮雯, 陈奕芝, 等. γ -氨基丁酸对缺血-再灌注损伤心肌细胞的保护作用[J]. 广州中医药大学学报, 2009, 26(3): 251.
- [7] 陈俐, 廖卫平. 石菖蒲萃取挥发油抗癫痫药效研究[J]. 中药新药与临床药理, 2003, 14(3): 171.
- [8] 方若鸣, 方更利, 方永奇. 安脑片治疗癫痫的药效观察[J]. 中成药, 2006, 28(9): 1323

[责任编辑 聂淑琴]

(上接第 157 页)

比较有显著性差异 ($P < 0.05$), 抑瘤率分别为 51.9%, 41.4%。对 S180 肉瘤小鼠生存期可有一定的延长, 莪术醋炙品的小鼠生命延长率为 26.2%, 但生存时间与模型组比较无显著性差异。对 H22 荷瘤小鼠莪术蒸煮品、莪术鲜品也有一定的抑瘤作用, 抑瘤率分别为 32.7%, 35.3%。莪术醋煮品对 H22 荷瘤小鼠生命延长率为 42.5%, 生存时间与模型组有显著性差异 ($P < 0.01$), 提示其对小鼠存活期可有一定的延长作用, 其他各组作用不明显。

综上所述, 广西莪术 5 种不同炮制品对体内移植性肿瘤(肉瘤、荷瘤)小鼠有一定的抑制作用, 以莪术醋煮品、莪术醋炙品抗瘤作用稍强。其抗肿瘤

机制及其抗瘤活性成分有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 吴贻谷. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 2272.
- [2] 叶定江. 中药炮制学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 161.
- [3] 金莉. 中药复方的抑瘤和免疫调节作用的初步研究[J]. 现代肿瘤医学, 1997, 5(1): 55.
- [4] 杨镇. 肿瘤免疫学[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 98.

[责任编辑 何伟]