中国中药杂志
China Journal of Chinese Materia Medica

桔梗与氯丙嗪伍用对大鼠脑纹状体多巴胺的影响

何新荣[1]，宦定才[2]，曹征[3]，刘萍[1]*

（1. 解放军总医院 药品保障中心中药房，北京 100853；
2. 解放军总医院 药品保障中心门诊药房，北京 100853；
3. 首都医科大学，北京 100069）

［摘要］ **目的**：研究桔梗与氯丙嗪联合应用对大鼠脑纹状体单胺类神经递质多巴胺的影响，探讨中西药配伍应用后可能发生的药物相互作用与机制。**方法**：大鼠随机分成 4 组：生理盐水组、桔梗（生药 15.2 g·kg^{-1}·d^{-1}）单独给药组、氯丙嗪（20 mg·kg^{-1}·d^{-1}）单独给药组、氯丙嗪与桔梗（20 mg·kg^{-1}·d^{-1} + 15.2 g·kg^{-1}·d^{-1}）合并给药组，每组 6 只，给药 10 d 后，利用微透析法在大鼠脑纹状体取样，HPLC 仪检测透析液中多巴胺水平。**结果**：药后 140 min（取样点 80 min）时，氯丙嗪 + 桔梗组中多巴胺水平（1.52 ± 0.34）μg·L^{-1}显著高于氯丙嗪组（1.25 ± 0.22）μg·L^{-1}（P < 0.05）和生理盐水组（1.06 ± 0.24）μg·L^{-1}（P < 0.01）。**结论**：桔梗与氯丙嗪合用后大鼠脑内多巴胺水平升高，治疗时同时给予桔梗，可以减少氯丙嗪的用量，达到保持疗效，降低其不良反应。

［关键词］ 氯丙嗪；桔梗；微透析；多巴胺；电化学检测

氯丙嗪为二甲胺类抗精神病药，为多巴胺（dopamine，DA）受体阻滞剂，临床用于治疗精神系统疾病。口服易吸收，血浆蛋白结合率达 90%。经肝微粒体酶代谢，其不良反应有嗜睡、无力、鼻塞、体位性低血压（注射后应卧床休息）、过敏反应、锥体外系反应（帕金森氏综合征，静坐不能，急性肌张力障碍），迟发性运动障碍等。对于该药应该注意给药剂量个体化，以免药物不良反应所带来的影响。

桔梗 *Platycodon grandiflorum* 是一味常用中药，有宣肺、祛痰、利咽、排脓之功效，主治咳嗽痰多、咽喉肿痛、肺痈吐脓、胸满胁痛、痢疾腹痛、小便癃闭等，桔梗在中药方剂中为引经药，能引导方中药物上行，以加强治疗上半身疾病的作用。《本草求真》载："桔梗开提肺气，可为诸药之舟楫"，舟楫之剂是主升主浮，可以认为，桔梗在方剂配伍中有能载药上升的特殊作用。

桔梗、甘草等舟楫之剂与中枢神经系统西药在一起应用的机会较多，其相互作用尚未有人研究。本实验运用微透析技术研究桔梗是否能载氯丙嗪上行入脑，其目的希望能从合理用药角度出发，探讨中药桔梗与西药氯丙嗪合用能否产生积极的药物相互作用，达到在效果不变的情况下，减少氯丙嗪用药量，从而降低氯丙嗪的不良反应。

1 材料

1.1 仪器 WDT-Ⅱ型脑立体定位仪（国营西北光学仪器厂）；MD-2204 微透析探针（美国，BAS 公司），CMA-400 型微量注射泵（瑞士，CMA 公司）。Agilent 1200 型高效液相色谱仪（HPLC，美国）；G1329A ALS 自动进样器，数据由 Agilent Chemstation on-line 系统处理，色谱柱 Alltima C_{18}（4.6 mm × 250 mm，5 μm）；Intro 电化学检测器（ECD）（玻璃碳工作电极和 Ag/AgCl 参考电极，荷兰 ANTEC LEYDEN）。

1.2 试剂及药品 Dopamine（Sigma 公司），辛烷磺酸钠（Sigma 公司），甲醇（国产）为色谱纯试剂，无水乙酸钠、氯化纳、氯化钙、碳酸氢钠、氯化镁、氯化钾、硫酸钠、磷酸二氢钾、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠等均为国产分析纯试剂；桔梗饮片，经解放军总医院中药房刘萍主任药师鉴定（购自北京同仁堂有限公司，自制为水煎剂）。

1.3 动物与分组 雄性 SD 大鼠，起始体重 185 g 左右，购于解放军总医院动物实验中心［合格证号 SCXK（京）2005-0013］，并在中心洁净室饲养。分 4 组，每组 6 只。分组为：桔梗组，给与桔梗水煎剂

［收稿日期］ 2009-00-00

［通信作者］ * 刘萍，主任药师，Tel：（010）66936427，E-mail：liuping0707@yahoo.com.cn

［作者简介］ 何新荣，药师，Tel：（010）66937426，E-mail：hexinrong666@163.com

(生药 15.2 g·kg^{-1}·d^{-1},*ig*);氯丙嗪组,给予氯丙嗪片制备的混悬液(20 mg·kg^{-1}·d^{-1},*ig*);桔梗+氯丙嗪组,给予桔梗水煎剂(桔梗组剂量)后,相隔 0.5 h 再给氯丙嗪混悬液(氯丙嗪组剂量)。

2 方法与结果

2.1 人工脑脊液的配制 分别取 NaCl 7.363 g, $CaCl_2$ 0.122 g, $NaHCO_3$ 2.31 g, $MgCl_2$ 0.172 8 g, KCl 0.179 g, Na_2SO_4 0.071 g, KH_2PO_4 0.068 g,加入 1 000 mL 蒸馏水,溶解后调 pH 7.38,再经孔径 0.22 μm 水系微孔滤膜抽滤即得,冰箱内冷藏备用。

2.2 色谱条件 流动相的配制:35.723 8 g 柠檬酸(85 mmol·L^{-1}),16.406 0 g 无水乙酸钠(100 mmol·L^{-1}),0.148 9 g Na_2-EDTA(0.2 mmol·L^{-1}),0.389 4 g 辛烷磺酸钠(0.9 mmol·L^{-1}),溶于 1 700 mL 超纯水中,浓 HCl 调节 pH 3.7,加入 300 mL 甲醇(15%)。0.22 μm 水系滤膜抽滤后备用。设定流速 1.0 mL·min^{-1};柱温箱 35 ℃;电化学检测器工作电压 +0.70 V;电极温度 35 ℃;RANGE 2 nA/V;FILTER 1;进样量 20 μL。

2.3 动物手术 灌胃给药 10 d 后的 SD 大鼠,体重 290 g 左右,用 10% 水合氯醛按 3.45 mL·kg^{-1} 剂量腹腔注射麻醉后,置于立体定位仪上固定大鼠头部,根据大鼠脑定位坐标位置[1]在颅骨上钻孔。在立体定向仪导引下旋转垂直臂将微透析探头导引管植入脑纹状体区,并用牙托粉固定。然后将大鼠单独饲养,保持清洁充足的饮水及食物,术后恢复 1 d,备用。

2.4 微透析采样[2] 采样前照常进行灌胃给药,药后将大鼠麻醉,进行取样。以配制好的人工脑脊液作为灌流液,调节流速为 2.5 μL·min^{-1},收集前先平衡 60 min,用 EP 管以固定流速收集透析液,每份间隔时间 20 min,共收集 6 份。将收集到的样品放于 −70 ℃ 的冰箱冷藏,备用。实验结束后,大鼠麻醉处死,剪下头部并取出大脑,快速找到大鼠纹状体,证实探针所插入的部位是否准确。

2.5 探针的相对回收率测定[3] 微透析的相对回收率(R)指渗析液中被测物质的浓度与渗析管外部介质中该物质的原始浓度之比。

$$R(\%) = C_{out}C_{in}/C_{out}$$

(C_{out}:渗析液中被测物质的浓度,C_{in}:物质的已知原始浓度)。用脑内微透析所用灌流液配制 DA 溶液、将探针插入后,以相同的流速和间隔时间收集体外透析液,按前述色谱条件进行测定,测得 DA 的体外探针回收率为 18.2%。

2.6 标准曲线的绘制及检测灵敏度 精密称定 DA 适量,配制系列对照品溶液为 0.888, 1.776, 3.552, 7.104, 14.208, 28.416 μg·L^{-1}。各取 10 μL 进样,利用 Agilent 1200 工作站软件校正功能以峰面积对照品浓度制作标准曲线(图 1)。采用 Laszlo 等[4]报道的方法,本实验 DA 最低检测限 0.02 μg·L^{-1},定量限 0.04 μg·L^{-1}。

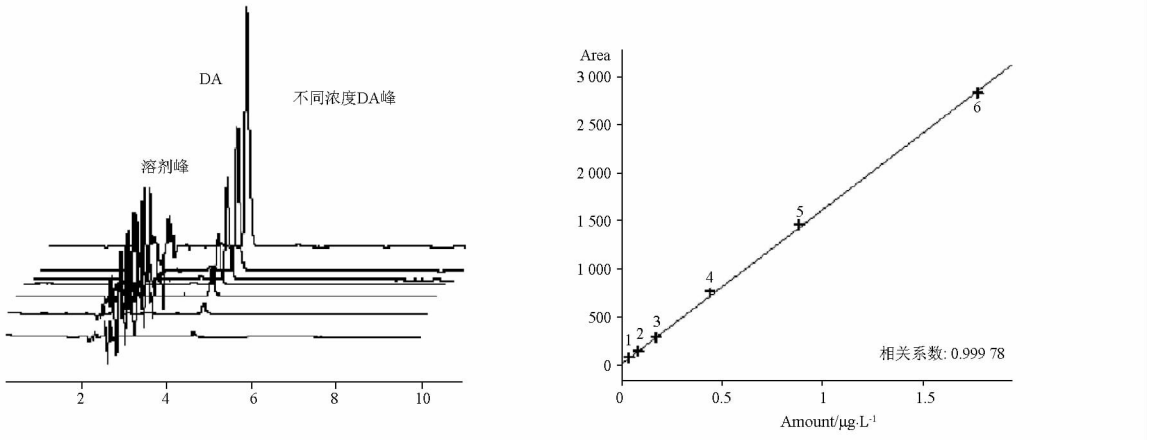

图 1 HPLC-ECD 测定 DA 的色谱图(左)和标准曲线(右)

2.7 精密度与准确度 精密吸取同一浓度对照品液,按 **2.2** 项下色谱条件在同 1 d 内重复进样 5 次、连续进样 5 d,测 DA 峰面积。计算日内 RSD 为 3.4%,日间 RSD 为 5.3%。迁移时间的 RSD 不超过 2%。得透析液样品 HPLC-ECD 色谱图,DA 色谱峰分离度好(图 2)。

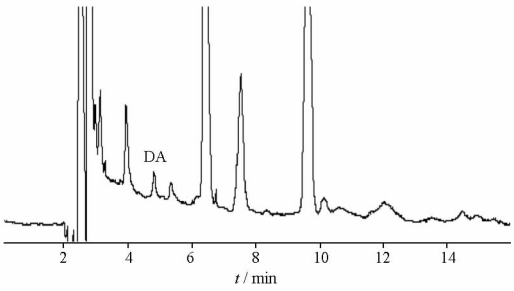

图 2　透析液样品中 DA 的 HPLC-ECD 色谱图

2.8　统计学处理　以 **2.6** 项标准曲线，计算每只动物给药后每个样品各个时间点的测定值浓度，再统计每组动物的透析浓度（$\bar{x} \pm s$）；所测数据使用 SPSS 9.0 统计软件进行分析，采用组间 t 检验并进行方差分析比较。

2.9　大鼠脑透析液中 DA 的含量测定　将 **2.4** 项下制备的样品，在前述色谱条件下，以外标法进行含量测定，并按探针体外回收率计算大鼠脑内各物质的真实浓度。DA 的含量随时间变化数据见表 1，结果表明，氯丙嗪组与桔梗 + 氯丙嗪组 DA 含量均随时间而上升，在取样点 80 min（不含平衡时间 60 min，即给药后 140 min）时，大鼠纹状体透析液中 DA 含量达到峰值，翠后都有所下降。桔梗 + 氯丙嗪组透析液中 DA 水平高于氯丙嗪组，有显著性差异，表明桔梗能增加大鼠脑纹状体中 DA 的含量。

表 1　给药后不同时间大鼠脑纹状体中 DA 含量的变化（$\bar{x} \pm s$，$n = 6$）

组别	DA 含量/μg · L^{-1}					
	20 min	40 min	60 min	80 min	100 min	120 min
氯丙嗪	1.13 ± 0.28	1.15 ± 0.22	1.24 ± 0.21[1)]	1.25 ± 0.22[1)]	1.15 ± 0.26	1.15 ± 0.29
桔梗	1.05 ± 0.31	1.04 ± 0.27	1.04 ± 0.28	1.06 ± 0.31	1.05 ± 0.25	1.04 ± 0.20
桔梗 + 氯丙嗪	1.18 ± 0.27	1.29 ± 0.29[1)]	1.41 ± 0.31[1,3)]	1.52 ± 0.34[2,3)]	1.31 ± 0.23[1)]	1.25 ± 0.26
对照	1.04 ± 0.34	1.05 ± 0.21	1.04 ± 0.22	1.06 ± 0.24	1.04 ± 0.34	1.05 ± 0.24

注：与对照组相比[1)] $P < 0.05$，[2)] $P < 0.01$；与氯丙嗪组相比[3)] $P < 0.05$。

3　讨论

单胺类神经递质如 DA，是哺乳动物重要的信息传递物质，检测脑或体液中微量递质，对与递质代谢功能有关的疾病诊断及治疗有重要的意义。精神分裂症患者的临床症状是由于脑内 DA 功能过强所致，即 D_2 受体密度特异性增高，氯丙嗪抗精神病作用机制是阻断中枢多巴胺 D_2 受体使精神病人症状改善。在以往的研究中[5]，发现中药桔梗作为载药上浮的舟楫之剂，能增强与其同用之其他中药的作用。为了进一步探讨舟楫之剂与药物相互作用的关系，笔者用微透析方法研究氯丙嗪与桔梗合用后对大鼠脑内纹状体内细胞外液中多巴胺的影响。

本实验结果显示，DA 的含量随氯丙嗪给药时间变化而变化，在给药 140 min 时吸收达到峰值。桔梗与氯丙嗪联合给药后，桔梗能促进脑脊液中 DA 的含量增高。分析其作用机制可能是桔梗在与氯丙嗪形成胶束，促进氯丙嗪透过胃肠屏障，使吸收增加，桔梗或能促进氯丙嗪透过血脑屏障，从而增加脑脊液中 DA 含量，进而阻断中脑-边缘系统和中脑-皮层系统的 D_2 受体而发挥抗精神病作用。

联合用药虽有很多成功的报道，但不少合并用药并没有减少剂量，有的总量往往超过单一用药足以有效的剂量；有的却因合并后减少剂量反而达不到理想的治疗效果；有的疗效没有提高，副作用反而有所增加[6]。而将桔梗与氯丙嗪联合应用，脑纹状体中 DA 的增高证明疗效没有下降。笔者下一步考虑进行联合应用桔梗后逐步减少氯丙嗪的日用剂量，观察既不降低治疗效果又减少氯丙嗪不良反应的最佳剂量。

[参考文献]

[1]　诸葛启钏主译（原著 George Paxinos, Charles Watson）. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 北京：人民卫生出版社，2007.

[2]　姬汴生，敬永升. 微透析技术及其在脑内药物转运研究中的应用[J]. 河南大学学报，2006，25(4)：11.

[3]　樊官伟，高秀梅. 微透析技术及其应用进展[J]. 时珍国医国药，2006，17(9)：1781.

[4]　Virag L, Whittington R A. Highly sensitive chromatographic assay for dopamine determination duringin vivocerebral microdialysis in the rat[J]. J Chromatogr B, 2002, 772: 267.

[5]　刘萍，何新荣，周文斌，等. 大鼠纹状体微透析法研究天王补心方剂中桔梗的应用与抑制性神经递质变化的相关性[J]. 中国中药杂志，2008，33(23)：2830.

[6]　陈福新. 氯丙嗪与药物的相互作用[J]. 中国执业药师，2009，4(6)：8.

中国中药杂志
China Journal of Chinese Materia Medica

Effect of Chlorpromazine combined with *Platycodon grandiflorum* on change of dopamine in rat striatum by microdialysis

(1. *Traditional Chinese Medicine Pharmacy of PLA General Hospital*, *Beijing* 100853, *China*;
2. *Dispensary for outpatients of PLA General Hospital*, *Beijing* 100853, *China*;
3. *Capital University of Medical Sciences*, *Beijing* 100069, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To study the effects of Chlorpromazine was combined with *Platycodon grandiflorum* on the Striatal Extracellular dopamine Level, one of the Monoamine Neurotransmitters in rats and to research the interaction and the mechanism of action after combination utilization traditional Chinese medicine with western medicine. **Method**: 24 rats were randomly assigned one of four study groups: the control group, *Platycodon* group, chlorpromazine group and Chlorpromazine combine with *P. grandiflorum* group. The levels of dopamine in CSF Microdialysis sampling was detected with high performance liquid chromatography with electrochemical detector after administration 10 days. **Result**: The CSF levels of DA (1.52 ± 0.34) $\mu g \cdot L^{-1}$ was significantly higher ($P < 0.01$) in Chlorpromazine combine with *P. grandiflorum* than the chlorpromazine group (1.25 ± 0.22) $\mu g \cdot L^{-1}$ ($P < 0.05$) and the normal control (1.06 ± 0.24) $\mu g \cdot L^{-1}$ ($P < 0.01$). **Conclusion**: The combine utilization of *P. grandiflorum* and Chlorpromazine may increase the DA concentration of monoamine neurotransmitters, which result in under the therapeutic effect maintain invariably, the dosage of Chlorpromazine used to individuals were decreased, the incidence rate of the adverse reactions of Chlorpromazine would descend.

[**Key words**] Chlorpromazine; *Platycodon grandiflorum*; microdialysis; dopamine; electrochemical detection

[责任编辑　古云侠]