

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 成果報告
 期中進度報告

芍藥甘對腦缺血保護機制之探討

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫
計畫編號：NSC 93-2320-B-039-041-
執行期間：93年8月1日至95年7月31日

計畫主持人：陳玉芳副教授
共同主持人：謝慶良教授
計畫參與人員：陳宗德

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、
列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢
 涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：中國醫藥大學 藥理學科

中華民國 95 年 12 月 23 日

目 錄

報告內容

| | |
|--------------|-----|
| 一、前言----- | 3 |
| 二、研究目的----- | 3 |
| 三、研究方法----- | 3-5 |
| 四、結果與討論----- | 5-9 |
| 參考文獻----- | 10- |
| 計畫成果自評----- | 11 |

報告內容

一、前言

隨著高科技之發展，許多疾病之治療已有突破性進展，但對缺血性腦中風之治療，至今仍無突破性之發展。臨床上有超過 75% 腦血管疾病患者，因腦血管阻塞而導致缺血性腦中風⁽¹⁾，台灣地區每年因腦中風而死亡之人數仍高居國人十大死因之第二位⁽²⁾，目前臨床上常用於嘗試用來治療腦中風之藥物，如抗血小板凝血劑(如 Aspirin)，抗凝血劑(如 heparin)及血栓溶解劑(urokinase)等⁽³⁾，其效果皆不彰；至於腦中風 3 小時內雖可投予 t-PA (tissue plasminogen activator)，以減少腦組織因出血所造成之傷害，但其有效治療期太狹窄及有出血之危險⁽⁴⁾，使得此藥之使用受限，因此尋找有效且安全的腦中風治療方法及藥物是刻不容緩。

二、研究目的

中藥配伍禁忌之探討，是本研究室研究方向之一，其中藜蘆與芍藥交互作用之研究從粗提取物開始探討⁽⁵⁾，進而以其主成分(veratrine, paeoniflorin)進行離體心血管及輸精管與鎮痛等作用之相互作用研究，已經發表多篇論文^(6-11,13)。由我們先前之研究發現，芍藥之主成分 Paeoniflorin (芍藥甙)，具有鎮痛作用⁽¹²⁾及減弱脊髓內注射高劑量嗎啡所引起之類似痙攣作用，亦可明顯減緩小鼠注射番木鱈鹼所致之痙攣及死亡；對小鼠注射 P 物質(substance P)所引起之搔、咬等動作亦有減緩之作用⁽¹⁴⁾。且在我們之試驗中發現，paeoniflorin 可抑制小鼠由脊髓注射 glutamate、NMDA、AMPA 及 trans-ACPD 等藥物活化 NMDA 接受體所引起之搔、咬等行為，此作用可能是經由 NMDA 接受體 2B 次單元(NMDA receptor 2B subunit)所媒介⁽¹⁵⁾。此外，Paeoniflorin 可抑制大鼠海馬迴腦薄片 NMDA 接受體所媒介之 field-EPSP；進一步在大鼠海馬迴初代培養細胞發現，paeoniflorin 可明顯抑制 NMDA 所致海馬迴初代培養細胞內鈣增加(抑制 84%)，其作用較單獨使用 MK-801 減低 NMDA 所致神經細胞鈣離子內流之作用(抑制 60%)強⁽¹⁶⁾。本研究室進一步以 paeoniflorin 與 [³H]MK-801 在 NMDA 接受體結合實驗初步顯示，paeoniflorin 的確會結合在 NMDA 接受體上。由以上種種實驗數據支持 paeoniflorin 抑制 NMDA 所媒介之種種作用可能來自其對 NMDA 接受體之抑制。

許多文獻指出，缺血性腦中風所造成之腦細胞損傷及死亡與 NMDA 接受體之過度活化有關，本研究室利用大鼠兩側頸總動脈及中大腦動脈結紮造成之腦缺血梗塞模式，結果發現 paeoniflorin 對大鼠腦缺血梗塞面積有明顯之抑制作用，由體外實驗亦發現 paeoniflorin 對 NMDA 誘發之神經細胞傷害有抑制作用，推論 paeoniflorin 可能透過抑制 NMDA 接受體之活化而對大鼠腦缺血具保護作用。因此本研究擬利用大鼠兩側總頸動脈及中大腦動脈結紮之腦梗塞缺血模式，以及 NMDA 對神經細胞傷害之實驗，進一步探討 paeoniflorin 對大鼠腦梗塞缺血之作用，評估其應用於腦梗塞缺血之預防或治療可能性，以期能提供芍藥在傳統中醫用法外之另一種臨床應用參考。

三、研究方法

1. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷之腦梗塞之影響

本實驗分成三組，每組至少 6 隻大鼠，組別依序為①假手術組(sham)，②對照組(control)，③給藥組(投與 paeoniflorin)。使用 300–350 公克之雄性 SD 大鼠，秤重後以

chloral hydrate (400 mg/kg ip)麻醉，將大鼠仰臥，由頸部中線剪開，在氣管兩側游離出左右頸總動脈(common carotid artery)，以尼龍繩套(直徑約 0.5mm)分別繞過兩側頸總動脈，再將套管(直徑約 1.5mm)套上，暫不拉緊阻斷血流。接著將大鼠俯臥，將其頭部固定於腦部立體定位儀上，首先在大鼠頭部之眼角及耳翼間之皮膚剪開，再將右側顳肌切開，小心以骨剪剪開顳骨以形成一個直徑約 8-12mm 之骨窗，先尋找大腦動脈，並以雷射血流偵測儀(Laser Doppler blood-flow monitor)來確認其位置，之後以 8-0 尼龍單線微形手術針(8-0 monofilament nylon tie)由 olfactory tract 上緣與下大腦靜脈(inferior cerebral vein)之間穿過中右側中大腦動脈(middle cerebral artery)，8-0 尼龍線以單套活結綁緊，再將兩側頸總動脈之套管套緊，以同時阻斷右側中大腦動脈及兩側頸總動脈之血流。缺血 90 分鐘後，鬆開右側中大腦動脈活結及除去兩側頸總動脈之套管，讓血液再次灌流，此時以自動縫合器將傷口縫合，再將手術後之大鼠放回飼養籠內。24 小時後，觀察並記錄手術後大鼠之神經學狀態，其評估標準⁽³⁶⁾依神經缺損的程度劃分為 0 級至 3 級：

①0 級：輕輕拉起老鼠尾巴懸空，老鼠呈雙臂向前伸展，代表正常，沒有神經方面缺陷，紀錄為 0 分。

②一級：輕輕拉起老鼠尾巴懸空，老鼠呈對側前臂彎曲，代表有神經方面缺陷，紀錄為 1 分。

③二級：輕輕拉起老鼠尾巴懸空，老鼠對側前臂彎曲，軀幹對側外力阻抗降低，但行進時部會偏向一側，則紀錄為 2 分。

④三級：除前述第二級症狀外，行進時會繞圈偏向麻痺側而無法直行，紀錄為 3 分。

經過神經學狀態之評估紀錄後，大鼠再以 chloral hydrate 麻醉，待麻醉後，剪開胸部皮膚使露出胸骨柄，以止血鉗夾住胸骨柄並往上拉，沿著肋骨邊緣將胸腔剪開，露出心臟，立即自左心室快速灌流 0.9%生理食鹽水，並在右心房剪一小孔，讓生理食鹽水由左心室流入，循環全身一週以清洗大鼠組織中的血液。灌流完成後，取出全腦並放入 brain matrix 中，將腦部自前往後切成 2 mm 厚度之連續切片，將切片置於已預熱 37°C 之 TTC(2% 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride)溶液中，放回 37°C 恆溫箱中，經 15 分鐘之染色後，腦梗塞區呈現白色，而非梗塞區則為紫紅色。將用過之 TTC 溶液倒入廢液回收瓶中，腦切片再以 10%福馬林溶液固定之後，再置於濾紙上照相，並利用電腦圖像處理及分析系統以計算其腦梗塞面積，並算出梗塞面積與總面積間之比值。腦梗塞面積之計算是選取自前額葉算起之 6 片。將不同劑量之 paeoniflorin 在血管阻塞手術前 15 分鐘由大鼠側腦室給藥，其他血管阻塞手術，手術步驟、灌流及染色等步驟同前述。並分析 paeoniflorin 對於腦梗塞面積之影響。

2. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷大鼠腦部 ED1 表現之影響

許多之研究指出：腦缺血發生時，梗塞區(infarct core)同時包含著 resident microglia 及 recruit 進來之 leukocyte。無論是 microglia 或是 leukocyte 其遷移、聚集至梗塞核心，會同時出現 ED1 抗原，故 ED1 染色成陽性細胞通常亦侷限於梗塞核心，而 ED1 抗原並不會出現於 resting microglia，故 ED1 抗原之表現不僅代表梗塞核心之變化，同時也反應神經退化及神經元損傷之程度。因此，Paeoniflorin 給藥後對於梗塞核心 ED1 之影響也將被研究。

將 paeoniflorin 在血管阻塞手術前 15 分鐘由大鼠側腦室給藥，然後進行血管阻塞手術，其手術步驟同前述。大鼠腦部再灌流 24 小時之後，在低溫下迅速以 0.9%生理食鹽水由心臟進行灌流，待腦部血液灌流乾淨後，再以 4% paraformaldehyde 經心臟灌流以固定腦組織，待實驗鼠前肢均僵硬時取出全腦。取出之全腦再度放入含 4% paraformaldehyde 之試管中，於 4°C 下靜置三天，待完全固定後將 4% paraformaldehyde 倒除，改加入 30%

sucrose 於 4°C 下靜置四天，待鼠腦沉入試管底後取鼠腦，放入 brain matrix slicer，選取腦切片之的 3 片至第 5 片之切片，用 Tissue freezing medium 包埋，放入 -80°C 冰箱中儲存備用。待切片時，取出腦鼠包埋組織以冷凍切片機切片，厚度為 20mm，並將其平鋪於 coating gelatin 之玻片上，進行 ED1 之免疫組織化學染色定量分析。

3. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷後 oxidative stress 之影響

因腦梗塞時，除梗塞區之細胞因產生缺血損傷而死亡外，其支持之 microglia 及 astrocytes 亦會隨之活化、增殖及產生 cytokines 使血管內 leukocyte 活化然後進行滲透、遷移、聚集至腦梗塞核心區，而 microglia 及 leukocyte 於腦梗塞核心區形成 macrophage 進行細胞碎片清除作用^(17,18)，此過程稱為缺血後炎症反應，除造成微血管之栓塞外，亦分泌 protease、chemokines 及 free radical，而形成缺血後腦梗塞之二次損傷。此外，再灌流期間產生大量之 superoxide anion 和活化之 microglia 中之 iNOS 相互作用而產生 nitric oxide⁽¹⁹⁾，此二者結合形成之 hydroxyl radical 會攻擊細胞中之脂質、蛋白質集合酸而造成細胞死亡，因此能否減少缺血性神經損傷所產生之 superoxide anion，將對保護或減緩腦栓塞扮演極重要角色。為評估 Paeoniflorin 對這些氧化壓力產物之影響，我們設計以下之實驗：

將 paeoniflorin 在血管阻塞手術前 15 分鐘由大鼠側腦室給藥，進行血管阻塞手術，其手術步驟同前述。再灌流 24 小時之後，在前述實驗進行之同時分別在不同時間點採血，即腦血流阻斷後 90 分鐘及再灌流後 24 小時，自右股動脈抽取 0.2 ml 血液，進行 superoxide anion⁽²⁰⁾。將先前採得之全血取 0.2 ml 和 0.1 ml 的 PBS 緩衝液混合後，以微量化學發光分析儀 (Chemiluminescence analyzer system) 使用 Lucigenin-Chemiluminescence (CL) 來測定。

4. Paeoniflorin 對體外缺血模式 (serum-, glucose-, oxygen-deprivation) 所致神經細胞損傷之保護作用

因為在腦缺血-再灌流所造成之腦損傷中，glutamate-Ca-NO pathway 被活化而參與神經之損傷及死亡；因此，本研究擬進一步以神經細胞以體外缺血之模式 (serum-, glucose-, oxygen-deprivation, SGOD)，進行 paeoniflorin 對神經細胞之影響，以應證其在腦損傷中之保護作用。

四、結果與討論

1. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷之腦梗塞之影響

將不同劑量之 paeoniflorin (10 μ m, 30 μ m) 在血管阻塞手術前 15 分鐘由大鼠側腦室給藥，其他血管阻塞手術，手術步驟、灌流及染色等步驟同前述，同時測量大鼠於手術前、中、後之血壓變化。並分析 paeoniflorin 對於腦梗塞面積之影響。在血管阻塞手術進行前，或是缺血再阻塞後，其平均動脈壓和心跳，在各組間並沒有呈現明顯之差異(如表一所示)，其他如體溫及血液 pH 值等生理數值皆不見有明顯差異。

| | Before ischemia | Ischemia | Reperfusion |
|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Sham | 100.5 \pm 7.8 | 106.4 \pm 6.3 | 108.3 \pm 7.4 |
| Control | 95.3 \pm 7.3 | 102.1 \pm 5.4 | 120.1 \pm 6.9 |
| PF 10 μ m | 89.7 \pm 4.8 | 83.5 \pm 6.1 | 106.9 \pm 8.1 |
| PF 30 μ m | 96.4 \pm 4.4 | 90.0 \pm 4.2 | 110.8 \pm 6.3 |

Data are expressed as mean \pm S.E. (mmHg). No statistical significances are found during ischemia-reperfusion

結果發現 Paeoniflorin 呈現劑量依存性地減低急性缺血再阻塞對腦組織之傷害所呈現之梗塞面積，發生梗塞之腦組織精 TTC 染色後呈現白色，而非梗塞組織則為紫紅色，腦組織切片經 formaldehyde 固定後，以數位相機定距拍照，儲存圖像檔，經電腦影像軟體(Image-Pro plus, USA) 處理計算每張切片之腦梗塞面積。其結果如下圖一所示：

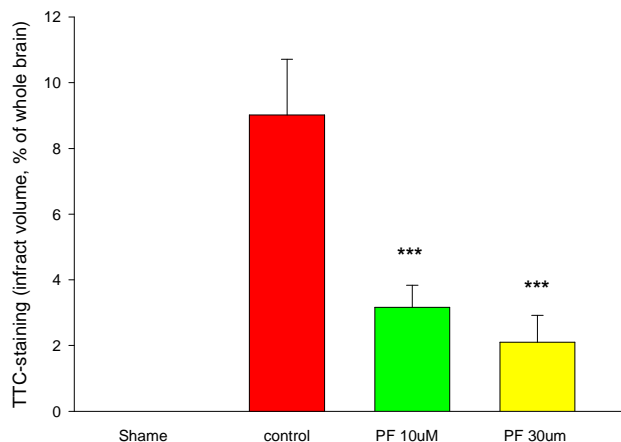


Fig 1. Effect of paeoniflorin (PF) on cerebral infract in ischemia-reperfusion injured rat. Pretreatment with PF 10 μ M and 30 μ M reduced the area of cerebral infract. Vertical bars represented mean and S.E. ***p<0.001, compared with the values of the control group. In this figure, Sham = sham group, Control = control group and PF 10 μ M, PF 30 μ M = PF 10 μ M, PF30 μ M pretreatment 15 min prior to

不同劑量之 paeoniflorin 對腦梗塞所致神經損傷之指標，則呈現抑制作用(如圖二所示)。

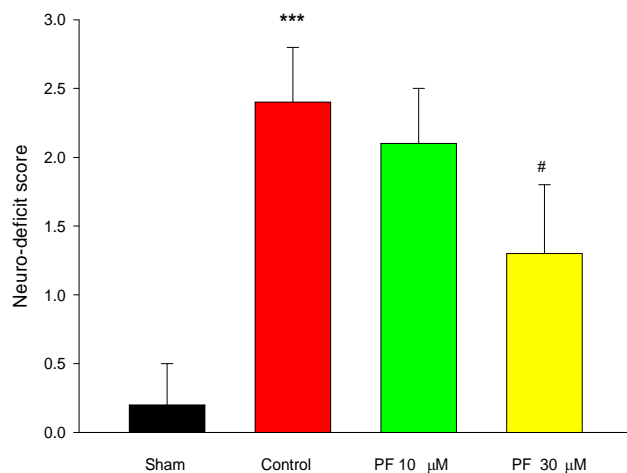


Fig 2. Effect of paeoniflorin (PF) on neuro-deficit in ischemia-reperfusion injured rat. Pretreatment with PF 10 μ M and 30 μ M reduced the neuro-deficit scores ischemia-reperfusion injured rats. Vertical bars represented mean and S.E. ***p<0.001, compared with sham group. # p<0.05 compared with control group. Sham = sham group, Control = control group and PF 10 μ M, PF 30 μ M = PF 10 μ M, PF30 μ M pretreatment 15 min prior to the operation.

2. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷大鼠腦部 ED1 表現之影響

ED1 抗原之表現不僅代表梗塞核心之變化，同時也反應神經退化及神經元損傷之程度。因此，Paeoniflorin 給藥後會減少梗塞核心 ED1 之表現，代表 paeoniflorin 會減少梗塞對腦組織之傷害，其結果如圖三所示。

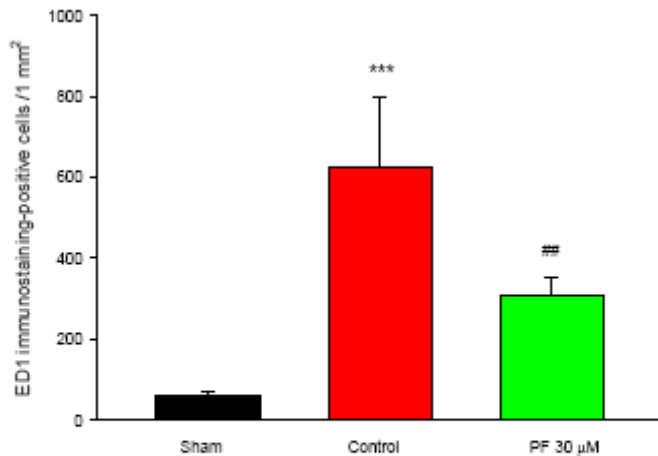


Fig 3. Effects of paeoniflorin on ED1 Immunostaining-positive cells in ischemia-reperfusion injured rats. The Immunostaining-positive cells were assessed in infarct cortex with immunohistochemistry assay after 24-h reperfusion. Data are presented as mean and S.E., $p < 0.001$ compared with the sham group; $##p < 0.01$ compared with control group.

3. Paeoniflorin 對缺血—再灌流損傷後 oxidative stress 之影響

paeoniflorin 在血管阻塞手術前 15 分鐘由大鼠側腦室給藥，進行血管阻塞手術，在腦血流阻斷後 90 分鐘及再灌流後 24 小時，抽取 0.2 ml 血液，進行 superoxide anion 分析。結果發現，再灌流後 24 小時 CL counts 明顯增加，paeoniflorin 對灌流後 24 小時 CL counts 與 control 組間並無有意義之差異。如圖 4 所示。

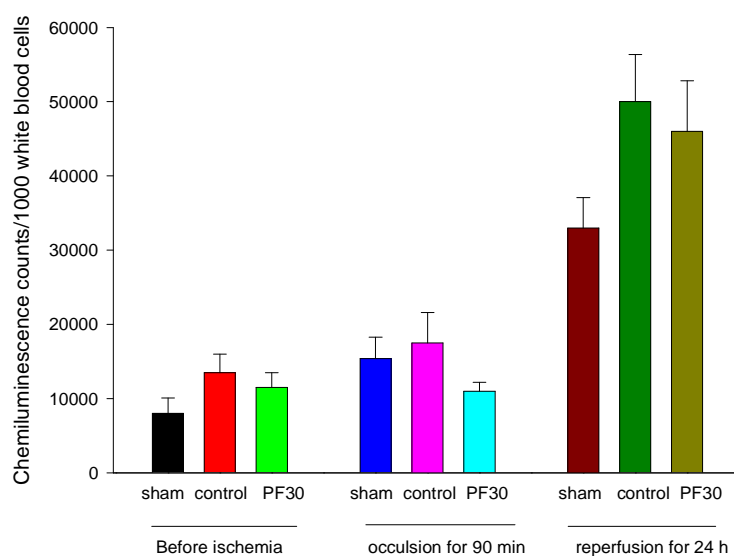


Fig. 4. Effects of paeoniflorin on superoxide anion in ischemia-reperfusion injured rats. The chemiluminescence measurements of superoxide anion were assessed before or after ischemia-reperfusion. All data were expressed as mean and S.E. There is no significance among each each group.

4. Paeoniflorin 對體外缺血模式 (serum-, glucose-, oxygen-deprivation) 所致神經細胞損傷之保護作用

進一步以神經細胞以體外缺血之模式 (serum-, glucose-, oxygen-deprivation, SGOD) 進行 paeoniflorin 對神經細胞之影響，結果發現 Paeoniflorin 以 SGOD 處理不同時間 (如 6 h, 12h, 24h, 36h) 對神經細胞皆具有保護作用。此處僅以 36 h 之結果為代表，其結果如圖 5 所示。

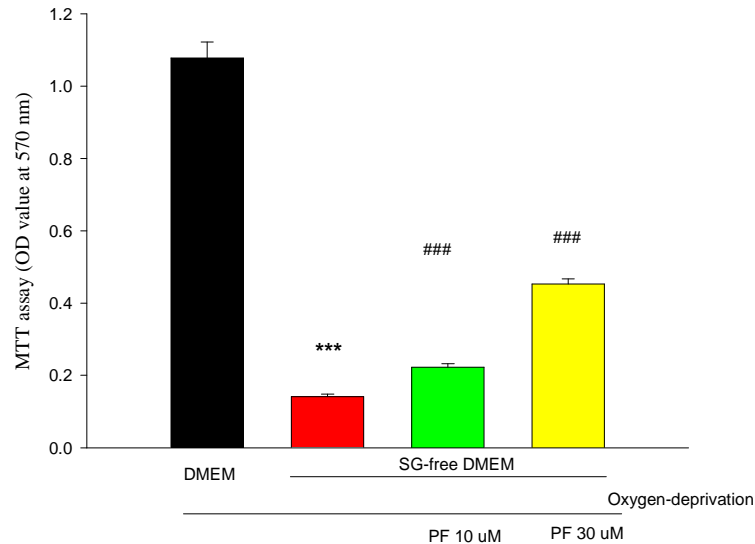


Fig. 5. Effects of paeoniflorin on ischemic insult in SHSY-5Y cell line. SHSY-5Y cells were incubated in SG-free DMEM (sugar- and glucose-free) under oxygen-deprived condition for 48 h. Different doses of paeoniflorin (PF) (10 uM, 30 uM) were prepared in SG-free DMEM and were added to SHSY-5Y cells 15 min before oxygen-deprivation started. Each vertical bar represented mean and S.E. *** $p < 0.001$ compared with DMEM group; ### $p < 0.001$ compared with SG-free DMEM group.

由於先前所進行之研究結果顯示，paeoniflorin 對於 NMDA 接受體所媒介之作用，如疼痛行為、高劑量嗎啡所致之搔癢行為、field-EPSP 之形成、細胞內鈣之增加等皆有抑制作用，再加上利用 NMDA-R subunit anti-sense ODNs 研究其對前述 NMDA 所媒介之行為，paeoniflorin 皆有加強之作用，由 immunohistochemistry study 亦發現 paeoniflorin 單獨投與，7 日後會減少 NMDA-R 之蛋白質表現。以 paeoniflorin 會與 [3 H-MK801] 競爭在腦部 NMDA 接受體之結合，因此，我們推論 paeoniflorin 應該是藉由抑制 NMDA 接受體之活性而表現出 paeoniflorin 之鎮痛、抑制 NMDA 所致之內鈣增加以及其神經保護作用。Paeoniflorin 與 NMDA 接受體之結合，我們利用 molecular modeling 之方式，證實了 paeoniflorin 的確會結合在 NMDA 接受體之 S2 位置上 (如下圖六所示)。以上這些研究結果已整理，準備投稿中。

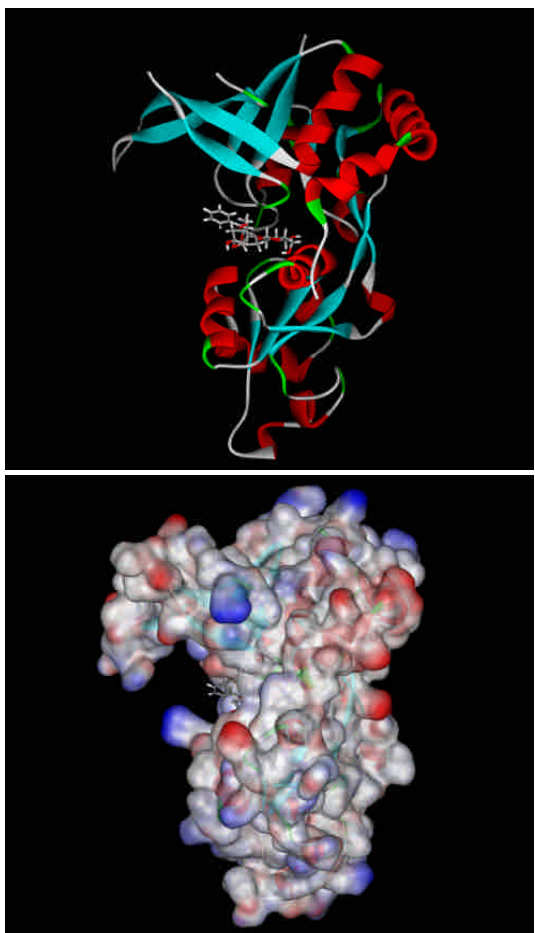


Fig. 6. Molecular modeling of paeoniflorin binds to NMDA receptor. Each simulation was lunched under Discovery Studio Modeling (DS, Accelrys, San Diego, USA). Template structure, structural characterization of autoinhibited NMDA receptor, was employed from protein data bank (PDB ID:2A5T, resolution: 2.0A). The hetams and crystal waters were removed from PDB file. All compounds were taken optimized by MM2 algorithm. Compound structures of potential targeting were docking into binding site, cavity predicted by computational processing, by operating ligandfit (module named "Receptor-Ligand Interactions /Docking ").

參考文獻

1. Watanabe H. Candidates for cognitive enhancer extracted from medicinal plants: paeoniflorin and tetramethylpyrazine. *Behav Brain Res* 83(1-2):135-41, 1997.
2. Meldrum B.S. Excitotoxicity and epileptic brain damage. *Epilepsy Res* 10:55-61, 1991.
3. Stephens D.N., Meldrum B.S., Weidmann R., Schneider C. and Grutzner M. (Does the excitatory amino acid receptor antagonist 2-APH exhibit anxiolytic activity? *Psychopharmacology* 90:166-69, 1996.
4. Trujillo K.A. and Akil H. Excitatory amino acid and drugs of abuse: A role for N-methyl-D-aspartate receptors in drug tolerance, sensitization and physical dependence. *Drug Alcohol Depend* 38:139-54, 1995.
5. Chen YF, HY Tsai, HC Chen, MT Hsieh(1988): The effects of *Veratri formosani rhizoma* on some central actions of *Paeoniae radix*. *Chin Pharm J* 40(2):111-116.
6. Lin YT, YF Chen, HY Tsai, MT Hsieh, CF Chen (1996): Effects of veratrine on isolated rat atria. *Chin Pharm J* 48(6):427-439.
7. Tsai HY, YT Lin, YF Chen, CF Chen(1997): The interactions of paeoniflorin and veratrine on isolated rat atria. *J Ethnopharmacol* 57:169-176.
8. Tsai HY, YT Lin, YF Chen, CF Chen(1997): Effects of veratrine and paeoniflorin in mice by writhing response test. *Chin Med Coll J* 6(3):221-226.
9. Tsai HY, YT Lin, WT Hsieh, CC Lee, YF Chen (1998): Studies of paeoniflorin on induced arrhythmia in the isolated rat atria. *Chin Med Coll J* 7(2):131-136.
10. Tsai HY, YT Lin, CF Chen, CH Tsai, YF Chen (1999): Effects of veratrine and paeoniflorin on the isolated rat aorta. *J Ethnopharmacol* 66:249-255.
11. Tsai HY, YT Lin, TW Tan, YF Chen (2001): The interaction between paeoniflorin and veratrine on the isolated uterus of rats. *Chin Pharm J* 53:137-146.
12. Tsai HY, YT Lin, CH Tsai, YF Chen (2001): Effects of paeoniflorin on the formalin-induced nociceptive behaviour in mice. *J Ethnopharmacol* 75: 267-271.
13. Chen YF, YT Lin, TW Tan, HY Tsai (2002): Effects of veratrine and paeoniflorin on isolated mouse vas deferens. *Phytomedicine* 9:296-301
14. Chen YF, HL Fang, HY Tsai(2006) Paeoniflorin binds to NMDA receptor to inhibit NMDA-induced biting and scratching behavior. *Phytomedicine* (in submission).
15. Chen YF, HL Fang, HY Tsai (2006) Combination of paeoniflorin and antisense ODNs of NMDA receptor inhibit high-dose morphine-induced central excitatory behavior. *Life Sci* (in submission)
16. Chen YF, YJ Chen, HL Fang, HY Tsai (2007) Paeoniflorin binds to NMDA receptor and inhibits NMDA-mediated EPSP and calcium influx in rat hippocampus. *Brain Res* (in preparation).

17. Ito D, Tanaka K, Suzuki S, Dembo T, Fukuuchi Y. Enhanced expression of Iba-1, ionized calcium-binding adaptor molecule 1, after transient focal cerebral ischemia in rat brain. *Stroke* 32:1208-1215, 2001.
18. Lyons SA, Pastor A, Ohemeyer C, Kann O, Wiegand F, Press K, Knapp F, Kettenmann H, Dirnagl U. Distinct physiologic properties of microglia and blood-borne cells in rat brain slices after permanent middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 20: 1537-1549, 2000.
19. Zhang Z, Chopp M, Goussev A, Powers C. Cerebral vessels express interleukin 1 β after focal ischemia. *Brain Res* 784:210-217, 1998.
20. Sum JS, Hang YYS, Huang IH, Lu FT. A simple chemiluminescence assay for detecting oxidative stress in ischemic limb injury. *Free Rad Biol & Med* 20:107-112, 1996.

計畫成果自評

對於本計畫之執行，感謝國科會之研究經費補助，讓我能有研究經費去從事想探討之答案。對於本研究計畫之成果，自覺不滿意，因為除了探討 paeoniflorin 對缺血所致之神經保護作用之外，未能完全完成原先計畫書中之預期目標。研究之成果也因動作較慢，讓中國科學院上海藥物研究所同一實驗室搶先發表和我用相同藥物，雷同之實驗模式，很快地發表了有關 paeoniflorin 對缺血所致之神經保護作用及鎮痛作用共7篇論文(2005/8~2006/12)，我除了因動作比他們實驗室慢而自嘆不如，也更加鞭策自己，要更快將先前之研究成果投稿才行。

Paeoniflorin 之作用除了目前被發表作多之部分—神經保護作用之外，其他尚有鎮痛及抑制細胞內鈣離子濃度等作用，是一個值得研究之成份。我所興趣研究之方向一直是在其對NMDA接受體之作用，所幸這是與上海科學院藥物研究所研究之接受體不同，而最近投出去之論文，由於尚未回覆，故不知是否已被考慮接受，但是我會秉持對研究之興趣，繼續努力，也希望自己之研究成果可以獲得肯定

。