

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 88-2314-B-039-007

執行期限：87年8月1日至88年7月31日

主持人：蔡輝彥

中國醫藥學院藥理學科

## 一、中文摘要

中國傳統醫學對於藥物配伍的禁忌，其相互作用的機轉，大都懸而未解。於我們先前的研究中，發現芍藥與藜蘆粗提取物對中樞神經鎮痛之作用，確實存在著相互拮抗的作用之關係。故本研究試就芍藥的主成分 Paeoniflorin 及藜蘆的主成分 Veratrine 對於腦內各部位組織的單胺物質及其代謝物的影響，發現當腦室內給予 Paeoniflorin 或併用 Veratrine 可增加在鼯鼠皮質部之 NE 及 DOPAC 的含量；給予 Veratrine 時，則可增加在鼯鼠皮質部之 DOPAC 的含量；Paeoniflorin 併用 Veratrine 時，對皮質部 NE 含量之增加較單獨給引起 Veratrine 為高。腦室內給予 Veratrine 可增加在鼯鼠紋狀體之 NE 的含量；當 Paeoniflorin 併用 Veratrine 時，在紋狀體所增加之 NE 的含量較 Veratrine 為低。腦室內給予 Paeoniflorin 可增加在鼯鼠延腦之 NE 的含量，及減低 5-HT 的含量。

利用麻醉狀態活體微透析試驗中發現，於大鼠皮質部：Veratrine 或併用 Paeoniflorin 可增加 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度；Paeoniflorin 可增加 DOPAC, 5-HIAA 之濃度；Paeoniflorin 併用 Veratrine 時，所增加之 HVA、DOPAC 及 5-HIAA 濃度，較 Veratrine 單獨給予時為低。於大鼠紋狀體：發現 Veratrine 可增加 HVA 之濃度；Paeoniflorin 或併用 Veratrine 可增加 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。

於血管平滑肌細胞的細胞週期中，發現 Paeoniflorin 與 Veratrine 可抑制細胞週期的 S phase；當 Paeoniflorin 併用 Veratrine 時，則會加強藜蘆鹼對 S phase 的抑制作用。

由以上的結果顯示，在活體及離體的實驗中，Paeoniflorin 與 Veratrine 間確實具有相互拮抗的作用，此證實本草十八反中

「諸參辛芍叛藜蘆」的芍藥反藜蘆確實具有藥理意義，且此相反作用應與其主成分之 Paeoniflorin 與 Veratrine 之相互作用有關。

關鍵詞：芍藥甘 藜蘆鹼 腦內單胺物質  
微量透析

## Abstract

The drug interactions are considered to be absolutely incompatible in Chinese traditional prescriptions. In the studies, we attempted to identify the interactions and mechanisms between paeoniflorin (PF) and veratrine (VR) by analyzing the monoamines in animal brain.

In the homogenized brain tissue, PF alone or combined with VR could increase the content of NE and DOPAC in the cortex; VR could increase the content of DOPAC. The increase of NE induced by PF combined VR was greater than that induced by VR alone. VR could increase the content of NE in the striatum; the increased content of NE induced by combination of PF and VR was less than that induced by VR alone. PF could increase the content of NE and decrease the content of 5-HT in medulla. On the microdialysis of anesthetic rat in cortex, VR or combined with PF could increase the content of HVA, DOPAC and 5-HIAA. PF could increase the content of DOPAC and 5-HIAA. The increased content of HVA, DOPAC and 5-HIAA induced by PF combined VR were less than the content induced by VR alone. VR could increase the content of HVA in striatum. PF or combined with VR could increase the content of HVA, DOPAC and 5-HIAA.

On the cell cycle of the A-10 cells, PF and VR could decrease the S phase. When

the combination of PF and VR, the inhibition of VR on the S phase could be potentiated.

From the results, we suggested that PF antagonized significantly the effects of VR *in vivo* and *in vitro* studies.

**Keywords:** Paeoniflorin; Veratrine;  
Monoamines; Microdialysis

## 二、計畫緣由與目的

中醫藥界對於中藥之配伍，一向遵循本草所述七情、十八反、十九畏之戒。十八反歌以儒門事親或珍珠囊補遺·藥性賦所載者為代表：「本草明言十八反，半萋貝釵芫攻烏，藻戟遂芫俱戰草，諸參辛芍叛藜蘆。」

Paeoniflorin 為芍藥中的主成分。芍藥始載於《本經》，為毛茛科多年生草本植物 *Paeonia lactiflora* PALL. 的乾燥根。傳統中醫在臨床方劑中，常作為活血化瘀、解痙及止痛之作用<sup>(1)(2)</sup>。現代藥理學的研究，也發現芍藥粗提取物除具較強的鎮痛作用外<sup>(3)</sup>，對犬的冠狀動脈血管及後肢血管均有擴張作用<sup>(4)</sup>；對豚鼠、家兔之離體腸管呈現抑制作用<sup>(5)</sup>；顯示芍藥確實對不同部位平滑肌有選擇性的解痙作用。其主要成分 Paeoniflorin 對於周邊血管具有擴張及降壓作用，可抑制大鼠胃及子宮平滑肌之蠕動及張力<sup>(6)(7)</sup>，並預防壓力所致潰瘍(stress ulcer)<sup>(8-9)</sup>；於骨骼肌方面，對於離體橫膈肌則可阻斷其 nerve-stimulated twitch responses<sup>(10-14)</sup>；對於 hexobarbital 所誘發之睡眠時間可延長，並具有輕微的降溫及抗痙攣之作用<sup>(15)(16)</sup>；能夠明顯抑制 carrageenin、dextran 及  $\alpha$ -chymotrypsin 所致大鼠足蹠浮腫現象，及抑制血管的通透性。至於有關 paeoniflorin 對於中樞的作用機轉之探討文獻尚少。

Veratrine 是藜蘆的主成分，其藥理作用很廣，常用來作為研究藥物藥理作用之工具。其對於易興奮性細胞膜，包括周邊神經、骨骼肌及心肌都有作用，這些作用與其活化鈉離子管道，而經由  $\text{Na}^+$ - $\text{Ca}^{2+}$  的交換，導致細胞內鈣離子增加之機轉有關

(17-26)；在中樞方面，Veratrine 會造成一些神經傳遞物質，如  $\gamma$ -amino-butyric acid(GABA)<sup>(27-29)</sup>、acetylcholine<sup>(29-32)</sup>、noradrenaline<sup>(28)(33-34)</sup>、dopamine<sup>(35)</sup>、glutamate 及 aspartate<sup>(30)(36-37)</sup> 之釋放，且可誘發腦中 nitric oxide 之合成及增加 c-GMP 之含量<sup>(38)</sup>；甚制可以活化輸入迷走神經而引起鎮痛作用<sup>(39)</sup>；並可改變腦組織切片中 opioid 及 muscarinic 之結合部位<sup>(40)</sup>。

鎮痛系統中，除中樞 opioid 系統外，腦中之單胺物質(monoamine)亦扮演相當重要的角色，尤其是 serotonergic 和 noradrenergic 這兩條下行路徑<sup>(41)(42)</sup>。Serotonin 在中樞具有鎮痛作用，主要是源自延腦之中縫核(nucleus raphe magnus；NRM)下行抑制神經路徑<sup>(43-44)</sup>，刺激 NRM 或用 5,7-DHT 損毀 serotonergic neurons，則鎮痛作用消失<sup>(44-48)</sup>。在中樞直接給與外源性的 5-HT 或其前驅物(5-HTP)皆可加強鎮痛之作用<sup>(49-51)</sup>，而將 5-HT 以 PCPA 抑制其生成後，鎮痛作用則明顯受到抑制<sup>(48)</sup>。同樣的，近年來 Noradrenergic 神經原在中樞對於鎮作用所扮演的角色亦被重視<sup>(52)</sup>，主要經係來自藍斑(Locus coeruleus；LC)的下行性 noradrenergic 神經抑制纖維，由脊髓給與 NE 亦可加強鎮痛作用<sup>(49)(53)</sup>。許多學者為認為單胺類物質(monoamines)與鴉片樣物質間有交互作用<sup>(54)(55)</sup>，如在大腦導水管旁灰質(periaqueductal gray matter；PAG)處注射 morphine 可活化上行的 serotonergic fiber，促進 nucleus accumbens 釋放 5-HT，並活話 enkephalin 系統產生鎮痛作用<sup>(56)</sup>； $\kappa$ -opioid receptor 所媒介的鎮痛作用亦被認為與 5-HT 有關<sup>(57)</sup>； $\delta$ -opioid receptor 亦被提及與鴉片樣物質之鎮痛作用有關<sup>(58)</sup>。

近年來，許多學者相繼提出 nitric oxide(NO)在疼痛傳導上扮演著重要角色<sup>(59-64)</sup>。而 NO 在痛的調節方面，與 Met-enkephalin<sup>(65)</sup> 及 beta-endorphin<sup>(66)</sup> 有關，且分別經由不同的 opioid receptors 在腦及脊髓中扮演著調節傷害性(nociceptive)訊息的重要角色，顯示 NO 與 opioid receptors 在鎮痛方面存在著關連性。

芍藥與藜蘆於傳統中醫中被認為具有相反之性質，不能相配伍。在我們先前對芍藥及藜蘆之粗抽取液在中樞神經系統進行藥理研究之實驗結果顯示，芍藥與藜蘆併用時，藜蘆能拮抗芍藥之鎮靜、鎮痛、抗痙攣作用，但芍藥能加強藜蘆對鼯鼠之毒性和增加作嘔次數<sup>(67)</sup>。此種相互作用意味著它們之間有著拮抗或加強之作用。更進一步就芍藥與藜蘆所含之主成分加以探討，發現 Paeoniflorin 能拮抗 Veratrine 在離體心房所引起的收縮及心律不整的作用，與 Paeoniflorin 阻斷鈣離子管道有關<sup>(68)</sup>；且 Paeoniflorin 對於醋酸所致鼯鼠之扭體反應有明顯之抑制作用；而 Veratrine 也有類似作用，但當 Veratrine 與 Paeoniflorin 併用時，其鎮痛作用有相互拮抗之現象<sup>(69)</sup>。

因此本計畫在第一年計畫中，就整體(*in vivo*)實驗，探討 Paeoniflorin 及 Veratrine 與鎮痛有關之 opioids、serotonergics、adrenergics 及 NO 的 Agonists 及 Antagonists 相互間的關係。由於早期 Martin<sup>(70)</sup>將 opioid receptors 分成  $\mu$ 、 $\kappa$ 、 $\delta$  三型，故在整體(*in vivo*)實驗中，利用各亞型之選擇性拮抗劑，測定藥物之作用機轉；而藥物對於 opioid receptors 之作用情形除在整體動物中，亦利用離體器官來分析鎮痛藥物之不同作用情形，在離體(*in vitro*)實驗中，一般除利用 Guinea-pig 之迴腸外，由於較常使用之離體器官中輸精管較常使用於測定各種不同亞型之 opioid receptors<sup>(71-72)</sup>。但常因動物之不同，其上所含之 opioid receptors 亦略有差異，故本研究以鼯鼠之離體輸精管上所含之  $\mu$  -、 $\kappa$  -、 $\delta$  - opioid receptor 探討 Paeoniflorin 及 veratrine 與 opioid receptors 之相互關係。

又，離體主動脈血管上具有 serotonergic receptors 及 adrenergic receptors，而 serotonergic 及 adrenergic agonists 可產生主動脈血管收縮之作用；NO 除在中樞扮演鎮痛作用外，在主動脈血管的舒張作用上亦具重要角色<sup>(73-75)</sup>。在我們第一年的研究中，發現 Veratrine 對於 norepinephrine 所誘發之離體大鼠之主動脈血管之收縮有抑制作用，其作用機轉可能與 NO 及 cGMP 之

增加有關；而 Veratrine 本身所致離體大鼠之主動脈血管之收縮可被 Paeoniflorin 所抑制<sup>(65)</sup>；也發現 Paeoniflorin 與 Veratrine 在輸精管的拮抗作用可能與其阻斷鈣離子管道的作用有關，而使得細胞外的鈣離子無法進入細胞內，因而減低 Veratrine 在輸精管的收縮。

故本年度計畫更進一步直接利用微量透析(microdialysis analysis)與離體腦組織，藉 HPLC EC Detector 來探討 Paeoniflorin 及 Veratrine 對於中樞單胺神經遞質之變化；更觀察二者對於平滑肌細胞之相互影響。

### 三、結果與討論

#### 1. 結果

#### Paeoniflorin 及 Veratrine 對於麻醉大鼠之腦內單胺及其代謝物之影響

腦室內投與 10  $\mu$ g veratrine，對於皮質部(cortex)之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度並無明顯之影響，但可增加其代謝物 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。腦室內投與 100  $\mu$ g paeoniflorin，對於皮質部(cortex)之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度並無明顯之影響，但可增加其代謝物 DOPAC, 5-HIAA 之濃度，而對 HVA 的濃度則無增加作用。同時由腦室內投與 100  $\mu$ g paeoniflorin 併用 10  $\mu$ g veratrine，對於皮質部(cortex)之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度亦無明顯之影響，但可明顯增加其代謝物 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。

當 paeoniflorin 併用 veratrine 時，於給藥後 60 分鐘時，在皮質部所增加之 HVA 的濃度，較 veratrine 單獨腦室給予時為低，但於給藥後 40~120 分鐘時，較 paeoniflorin 單獨腦室給予時為高；於給藥後 40~60 分鐘時，在皮質部所增加之 DOPAC 之濃度，較 veratrine 單獨腦室給予時為低，但與 paeoniflorin 單獨腦室給予間並無異差；於給藥後 60 分鐘時，在皮質部所增加之 5-HIAA 濃度，較 veratrine 單獨腦室給予時為低，於給藥後 40~120 分鐘時，較

paeoniflorin 單獨腦室給予時為高。

腦室內投與 10  $\mu\text{g}$  veratrine，對於紋狀體(striatum)之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度並無明顯之影響，但可增加其代謝物 HVA 之濃度，而對 DOPAC, 5-HIAA 的濃度則無增加作用。腦室內投與 100  $\mu\text{g}$  paeoniflorin，對於紋狀體之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度並無明顯之影響，但可增加其代謝物 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。同時由腦室內投與 100  $\mu\text{g}$  paeoniflorin 併用 10  $\mu\text{g}$  veratrine，對於紋狀體之單胺物質 EPI, NE, DA, 5-HT 之透析濃度亦無明顯之影響，但可明顯增加其代謝物 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。

當 paeoniflorin 併用 veratrine 時，給藥後 40~100 分鐘，在紋狀體所增加之 HVA 的濃度，較 paeoniflorin 單獨腦室給予時為高，但與 veratrine 單獨腦室給予間並無差異；在紋狀體所增加之 DOPAC 之濃度，與 veratrine 及 paeoniflorin 單獨腦室給予間並無異差；給藥後 20~100 分鐘，在紋狀體所增加之 5-HIAA 濃度，較 paeoniflorin 單獨腦室給予時為高，但與 veratrine 單獨腦室給予間則無異差。

### Paeoniflorin 及 Veratrine 對於不同腦組織中單胺及其代謝物之影響

腦室內給予 paeoniflorin 可增加其在鰐鼠皮質部之 NE 及 DOPAC 的含量；腦室內給予 veratrine 可增加其在鰐鼠皮質部之 DOPAC 的含量；併用 paeoniflorin 及 veratrine 則可增加其在鰐鼠皮質部之 NE 及 DOPAC 的含量；且 paeoniflorin 併用 veratrine 時，對皮質部 NE 含量之變化較 veratrine 單獨腦室給予時為高(PF+VR: 52.40 $\pm$ 8.17 ng/g v.s. VR: 17.16 $\pm$ 5.27ng/g, P<0.01)。室內給予 veratrine 可增加其在鰐鼠之紋狀體之 NE 的含量；且 paeoniflorin 併用 veratrine 時，在紋狀體所增加之 NE 的含量較 veratrine 為低(PF+VR: 157.79 $\pm$ 28.91 ng/g v.s. VR: 539.12 $\pm$ 136.62 ng/g, P<0.05)。腦室內給予 paeoniflorin 可增加其在鰐鼠延腦(medulla)之 NE 的含量，及減低 5-HT 的含量。Paeoniflorin 及

veratrine 對於脊髓(spinal cord)中之單胺類物質及其代謝物之含量變化則無異差。

### 對於平滑肌細胞之影響

Paeoniflorin 在 300 及 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  濃度下，對於血管平滑肌細胞之生長週期並未顯示統計學上的抑制作用；但當濃度增加至 500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  以上時，則可減低血管平滑肌細胞於細胞週期中的 S phase 所佔的百分比 [對照組：27.45 $\pm$ 3.41% v.s. positive control：44.28 $\pm$ 4.19%，P<0.01；v.s. PF：12.36 $\pm$ 1.22% (600  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), 16.75 $\pm$ 0.90% (500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), P<0.01, P<0.05]。Veratrine (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 可明顯抑制血管平滑肌細胞於生長週期中之 S phase (對照組：10.60 $\pm$ 0.47% v.s. positive control：24.13 $\pm$ 2.13%，P<0.01；v.s. VR：6.22 $\pm$ 0.62%，P<0.01)；當 Veratrine 的濃度大於 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  時，則引起血管平滑肌細胞的死亡。當 paeoniflorin 併用 veratrine 時，會加強 veratrine 對 S phase 的抑制作用 (VR：7.41 $\pm$ 0.81% v.s. PF+VR：4.30 $\pm$ 0.14%，P<0.05)。

## 2. 討論

Dopamine 經由 MAO(monoamine oxidase) 及 COMT(catechol-O-methyl transferase) 的作用，生成代謝物 HVA 及 DOPAC；Serotonin 經由 MAO 的作用，生成代謝物 5-HIAA。於麻醉狀態的大鼠活體微透析試驗中，腦室投與 veratrine 或併用 paeoniflorin 皆可增加皮質部(cortex)之單胺代謝物質 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度。腦室投與 paeoniflorin 可增加皮質部之單胺代謝物質 DOPAC, 5-HIAA 之濃度。顯示 veratrine 及 paeoniflorin 單獨或兩者併用，皆可增加腦中皮質部之 dopamine 及 serotonin 的轉換率(turnover rate)。Paeoniflorin 併用 veratrine 時，在皮質部所增加之 HVA 及 DOPAC 的濃度，較 veratrine 單獨給予時低，顯示 paeoniflorin 併用 veratrine 時，的確會拮抗 veratrine 增加 dopamine 的代謝作用。在皮質部所增加之 5-HIAA 濃度，較 veratrine 單獨腦室給予時

低，顯示 paeoniflorin 併用 veratrine 時，會拮抗 veratrine 增加 serotonin 的代謝作用。由此可知，paeoniflorin 及 veratrine 對於大鼠皮質部的單胺類物質的代謝作用，具有相互拮抗之影響。Paeoniflorin 併用 veratrine 會抑制 veratrine 在皮質部對 dopamine 及 serotonin 轉換率之增加，顯示兩者於中樞皮質部的相互作用與 catecholaminergic 及 serotonergic system 有關。

於麻醉狀態的大鼠活體微透析試驗中，腦室內投與 veratrine，可增加紋狀體單胺物質之代謝物 HVA 之濃度，顯示 veratrine 增加 dopamine 在紋狀體的轉換率。若腦室內投與 paeoniflorin 或併用 veratrine 可增加紋狀體單胺物質之代謝物 HVA, DOPAC, 5-HIAA 之濃度，顯示 paeoniflorin 單獨或併用 veratrine 皆可增加 dopamine 及 serotonin 在紋狀體的轉換率。而 paeoniflorin 併用 veratrine 時，在紋狀體所增加之 HVA, DOPAC, 5-HIAA 的濃度，與 veratrine 單獨給予間並無差異。此結果顯示，Paeoniflorin 併用 veratrine 時並不會拮抗 veratrine 於紋狀體中，對單胺物質轉換率的變化。

對於腦組織各部位的實驗中，腦室內給予 paeoniflorin 可增加其在鼯鼠皮質部之 NE 及 DOPAC 的含量；若給予 veratrine 可增加其在鼯鼠皮質部之 DOPAC 的含量；當併用 paeoniflorin 及 veratrine 則可增加其在鼯鼠皮質部之 NE 及 DOPAC 的含量。而且 paeoniflorin 併用 veratrine 時，可增加 veratrine 在皮質部對 NE 含量之變化。腦室內給予 veratrine 可增加其在鼯鼠紋狀體之 NE 的含量；且 paeoniflorin 併用 veratrine 時，可抑制 veratrine 在紋狀體所增加之 NE 的含量。腦室內給予 paeoniflorin 可增加其在鼯鼠延腦之 NE 的含量，及減低 5-HT 的含量。由以上結果顯示，Paeoniflorin 及 veratrine 皆會增加影響中樞 catecholaminergic 及 serotonergic system 的作用；於福馬林試驗中，亦發現 5-HT<sub>3</sub> antagonist(LY-278584)會加強 veratrine 的鎮痛作用，5-HT<sub>3</sub> receptor 會活化 5-HT gated cation channel<sup>(76)</sup>；Paeoniflorin 的鎮痛作用

可被  $\kappa$ -opioid receptor antagonist 所阻斷，於先前之研究中指出  $\kappa$ -opioid receptor 所媒介的鎮痛作用與 5-HT 有關<sup>(77)</sup>；在本實驗的研究結果中更發現 paeoniflorin 可減低延腦中 5-HT 的含量。因此 paeoniflorin 拮抗 veratrine 的鎮痛作用可能與 paeoniflorin 減低 5-HT 的含量，且經由  $\kappa$ -opioid receptor 的作用影響細胞內鈣離子濃度，透過 5-HT<sub>3</sub> ligand gated-ion channel 而影響 veratrine 的鎮痛作用。在活體微透析試驗中，Paeoniflorin 及 veratrine 可增加 5-HT 及 dopamine 的轉換率，當神經末梢釋放 neurotransmitter 時，必需伴隨細胞外鈣離子經由鈣離子管道內流的作用<sup>(78-79)</sup>。在大鼠的皮質部中，L-Type voltage-sensitive calcium channel 會參與 noradrenaline 的釋放<sup>(80)</sup>。因此 paeoniflorin 與 veratrine 影響單胺物質的變化可能與其對鈣離子流的影響有關。於先前的研究文獻中指出，Paeoniflorin 能抑制細胞內鈣離子的流動<sup>(10-13)</sup>，藉由阻斷鈣離子管道而抑制 veratrine 在心房之作用<sup>(48)</sup>，因此 paeoniflorin 可能經由改變鈣離子的流動而影響 veratrine 在腦中對單胺物質的影響。但 veratrine 於 Ca<sup>2+</sup>-free 的情況下，亦能促使腦部 synaptosomes 釋放 noradrenaline，可能與細胞內鈣離子的移動有關<sup>(81)</sup>，因此可能須進一步探討。

細胞生長中的細胞皆具有染色體複製的能力，細胞 DNA 的複製和組織蛋白(histone)的合成只發生在 S 期，利用流式細胞計數儀(Flow cytometer)分析血管平滑肌細胞的細胞週期，發現 paeoniflorin 及 veratrine 可減低血管平滑肌細胞於細胞週期的 S phase，顯示 paeoniflorin 及 veratrine 可抑制血管平滑肌細胞的增生；但當 veratrine 的濃度大於 30  $\mu\text{g/ml}$  時，卻造成血管平滑肌細胞的死亡，顯示 veratrine 對血管平滑肌細胞具有毒性；而 paeoniflorin 併用 veratrine 時，會加強 veratrine 對血管平滑肌細胞生長的抑制作用，顯示 paeoniflorin 可能加強 veratrine 對血管平滑肌細胞的毒性。

由以上結果得知，在整體及離體實驗

中，Paeoniflorin 與 Veratrine 間具有相互拮抗的作用，此相反作用應與其主成分之 Paeoniflorin 與 Veratrine 之相互作用有關。於細胞的培養中，更發現 Paeoniflorin 會增加 Veratrine 對於細胞的毒性，顯示芍藥與藜蘆之相互配伍可能造成不良之作用，甚至產生毒性作用。

#### 四、參考文獻

1. 顏正華: 中藥學(上), 知音出版社, 台北, 162-4, 831-6, 1991。
2. 李念秋: "芍藥能鎮痛、鎮痛不離歸"鎖談, 中國中藥雜誌, 14(1): 52-3, 1989。
3. 劉冰青: 芍藥湯新用, 江西中醫藥, 5:31-6, 1984。
4. 王欽茂: 芍藥總對心血管的藥理作用, 中國藥理學通報, 2(5): 26-8, 1984。
5. 崔豐年: 芍藥甘草湯的藥理研究和臨床應用, 中成藥, 13(7):36-7, 1991。
6. Takagi K. and Harada M. Pharmacological studies on herb paeony root. I. Effects of paeoniflorin on circulatory and respiratory systems and isolated organs. Yakugaku Zasshi, 89(7):893-98, 1969.
7. Kobayashi M., Ueda C., Aoki S., Tajima K., Tanaka N. and Yamahara J. Anticholinergic action of paeony root and its active constituents. Yakugaku Zasshi, 110(12):964-8, 1990.
8. Takagi K. and Harada M. Pharmacological studies on herb paeony root. II. Anti-inflammatory effect, inhibitory effect on gastric juice secretion, preventive effect on stress ulcer, antidiuretic effect of paeoniflorin and combined effects with licorice component Fm 100. Yakugaku Zasshi, 89(7):887-92, 1969.
9. Yamahara J., Yamada T., Kimura H., Sawada T. and Fujimura H. Biologically active principles of crude drugs. II. Anti-allergic principles in "Shoseiryu-To" anti-inflammatory properties of paeoniflorin and its derivatives. J

- Pharmacobio-Dynamics, 5(11):921 -9, 1982.
10. Kimura M., Kimura I., Muroi M., Nakamura T and Shibata S. Depolarizing effects of glycyrrhizin-derivatives relating to the blend effects with paeoniflorin on mouse diaphragm muscle. Japan J Pharmacol, 41 (2):263-5, 1986.
  11. Kimura M., Kimura I. and Kimura M. Decreasing effects by glycyrrhizin and paeoniflorin on intracellular Ca<sup>2+</sup>-aequorin luminescence transients with or without caffeine in directly stimulated-diaphragm muscle of mouse. Japan J Pharmacol, 39(3):387-90, 1985.
  12. Kimura M., Kimura I. And Nojima H. Depolarizing neuromuscular blocking action induced by electropharmacological coupling in the combined effect of paeoniflorin and glycyrrhizin. Japan J Pharmacol, 37(4):395-9, 1985.
  13. Kimura M., Kimura I., Takahashi K., Muroi M., Yashizaki M., Kanaoka M. and Kitagawa I. Blocking effects of blended paeoniflorin or its related compounds with glycyrrhizin on neuromuscular junction in frog and mouse. Japan J Pharmacol, 36(3):275-82, 1984.
  14. Dezaki K., Kimura I., Miyahara K. and Kimura M. Complementary effects of paeoniflorin and glycyrrhizin on intracellular Ca<sup>2+</sup> mobilization in the nerve-stimulated skeletal muscle of mice. Japan J Pharmacol, 69, 281-4, 1995.
  15. Takagi K. and Harada M. Pharmacological studies on herb paeony root. I. Central effects of paeoniflorin and combined effects with licorice component Fm 100. Yakugaku Zasshi, 89(7):879-86, 1969.
  16. Sugishita E., Amagaya S. and Ogihara Y. Studies on the combination of Glycyrrhizae Radix in Shakuyakukanzo-To. J. Pharmacobio-Dynamics, 7(7):427-35, 1984.
  17. Brazil OV and Fontana MD. Unequal depolarization of the membrane of the rat

- diaphragm muscle fibers caused by veratrine. *Pflugers Arch*, 404:45-9, 1985.
18. Horackova M and Vassort G. Ionic mechanism of ionotropic effect of veratrine on frog heart. *Pflugers Arch*, 341 :281 -4, 1973.
  19. Brill DM and Wasserstrom JA. Intracellular sodium and positive inotropic effect of veratridine and cardiac glycoside in sheep peukinje fibers. *Circ Res*, 58:109-19, 1986.
  20. Pang DC. And Sperelakis N. Veratridine stimulation of calcium uptake by chick embryonic heart cells in culture. *J Mol Cell Cardiol*, 14:703-9, 1982.
  21. Honerjager P. and Rerter M. The relation between the effects of veratridine on action potential and contraction in mammalian ventricular myocardium. *Naunyn- Schmiedberg's Arch Pharmacol*, 289:1-28,1975.
  22. Arbel ER, Lazzari J, Glick G. Effect of veratrine on repolarization in the canine right bundle branch. *Am J Physiol*, 229:1254-60,1975.
  23. Patmore L, Duncan GP, Spedding M. The effects of calcium antagonist on calcium overload contractures in embryonic chick myocytes induced by ouabain and veratridine. *Br J Pharmacol*, 97:83-94,1989.
  24. Sperelakis N, Pappano AJ. Increase in PNa and PK of cultured heart cells produced by veratridine. *J Gen Physiol*, 53:97-114, 1969.
  25. Erecinska M., Nelson D., Silver I.A. Interactions of benztrapine, atropine and ketamine with veratridine-activated sodium channels: effects on membrane depolarization, K<sup>+</sup>-efflux and neurotransmitter amino acid release. *Br J Pharmacol*, 94,871-81,1988 .
  26. Lang D.G., Wang C.M., Cooper B.R. Lamotrigine, Pheytin and carbamazepine interactions of the sodium current present in N4TG1 mouse neuroblastoma sells . *J Pharmacol Exp Ther* ,266(2),829-35,1993 .
  27. Sitges M. Effect of organic and inorganic calcium channel blockers on r -amino-butyric acid release induced by monensin and veratrine in the absence of external calcium. *J Neurochem* ,53(2),436-47, 1989 .
  28. Neal M.J., Bowery NG. Differential effects of veratridine and potassium depolarization on neuronal and glial GABA release. *Brain Res*, 167, 337-43, 1979 .
  29. Leach M.J., Marden CM., Miller A.A. Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug: II. Neurochemical studies on the mechanism of action . *Epilepsia*, 27(5), 490-7, 1986.
  30. Adam-Vizi V., Deri Z., Bors P., Tretter L. Lack of involvement of [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> in the external Ca<sup>2+</sup>-independent release of acetylcholine evoked by veratridine, ouabain and (-latrotoxin: Possible role of [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> . *JPhysiol*, 87,43-50, 1993 .
  31. Kirkpatrick K.A., Richardson P.J. Adenosine receptor-mediated modulation of acetylcholine release from rat striatal synaptosomes . *Br J Pharmacol*, 110, 949-54, 1993 .
  32. Zoltay G. and Cooper J.R. Dendrotoxin blocks a class of potassium channels that are opened by inhibitory presynaptic modulation in rat cortical synatosomes and slices . *Cell Mol Neuobiol*, 13(1), 59-68, 1993.
  33. Huang H.Y. (-Conotoxin GVIA inhibits release of noradrenaline from rat hippocampal slices in the absence of extracellular calcium. *Neuropharmacol*, 32(2), 133-7, 1993 .
  34. Iredale P.A., Martin K.F., Hill S.J. and Kendall D.A. The control of intracellular calcium and neurotransmitter release in guinea-pig derived cerebral cortical synaptoneurosomes . *Biochem Pharmacol*, 45(2), 407-14, 1993.
  35. Boireau A., Miquet JM., Olivier V. Neurotensin modulates differently potassium, veratridine and 4-aminopyridine-evoked release of dopamine in rat striatal slices. *Fundam Clin Pharmacol*, 7, 109-14, 1993 .
  36. Butcher S.P., Hamberger a. In vivo

- studies on the extracellular, and veratrine-releasable, pools of endogenous amino acids in the rat striatum: Effects of corticostriatal deafferentation and kainic acid lesion. *J Neurochem*, 48, 713-21, 1987.
37. Jacobson I., Hamberger A. Veratridine-induced release *in vivo* and *in vitro* of amino acids in the rabbit olfactory bulb. *Brain Res*, 299, 103-12, 1984.
  38. Lizasoain I., Richard G.K. and Moncada S. Inhibition by lamotrigine of generation of nitric oxide in rat forebrain slices. *J Neurochem*, 64, 636-42, 1995.
  39. Randich A., Simpson T.A., Hanger P.A. and Fisher R.L. Activation of vagal afferents by veratrine induces antinociception. *Physiol Psychol*, 12(4), 293-301, 1984.
  40. Van Huizen F., Wilkinson M., Cynader M. and Shaw C. Sodium channel toxins veratrine and veratridine modify opioid and muscarinic but not beta-adrenergic binding sites in brain slices. *Brain Res Bull*, 21(1), 129-32, 1988.
  41. Basbaum AI and Field HL. Endogenous pain control mechanisms: Review and hypothesis. *Ann Neurol*, 4:451-62, 1978.
  42. Wigdor S. and Wilcox GL. Central and systemic morphine-induced antinociception in mice: contribution of descending serotonergic and noradrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*. 242(1):90-5, 1987.
  43. Messing R.B. and Lytle L.D. Serotonin-containing-neurons: their possible role in pain and analgesia. *Pain*, 4: 1-21, 1977.
  44. Liu M.Y., Su C.F. and Lin M.T. The antinociceptive role of a bulbospinal serotonergic pathway in the rat brain. *Pain*, 33: 123-9, 1988.
  45. Sorkin L.S., McAdoo D.J. and Willis W.D. Raphe magnus stimulation-induced antinociception in the cat is associated with release of amino acids as well as serotonin in the lumbar dorsal horn. *Brain Res*, 618:95-108, 1993.
  46. Rodriguez F.D. and Rodriguez R.E. Intrathecal administration of 5,6-DHT reduces morphine and substance P antinociceptive activity in the rat. *Neuropeptides*, 13:139-46, 1989.
  47. Deakin J.F.W. and Dostrovsky J.O. Involvement of the periaqueductal gray matter and spinal 5-hydroxy-tryptaminergic pathways in morphine analgesia: Effects of lesions and 5-hydroxytryptamine depletion. *Br J Pharmacol*, 63: 159-65, 1978.
  48. Eide P.K., Holl K., Berge O.G. and Broch O.J. 5-HT depletion with 5,7-DHT, PCA and PCPA in mice: differential effects on the sensitivity to 5-MeODMT, 8-OH-DPAT and 5-HTP as measured by two nociceptive tests. *Brain Res*, 440:42-52, 1988.
  49. Yaksh T.L. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinociceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain Res*, 160: 180-5, 1979.
  50. Wang J.K. Antinociceptive effect of intrathecally administered serotonin. *Anesthesiology*, 47:269-71, 1977.
  51. Hylden J.L.K. and Wilcox G.L. Intrathecal serotonin in mice: Analgesia and inhibition of a spinal action of substance P. *Life Sci*, 33 :789-95, 1983.
  52. Segal M. and Sandberg D. Analgesia produced by electrical stimulation of catecholamine nuclei in the rat brain. *Brain Res*, 123, 369-72, 1977.
  53. Kuraishi Y., Hirota N., Satoh M and Takagi H. Antinociceptive effects of intrathecal opioids, noradrenaline and serotonin in rats: Mechanical and thermal algesic tests. *Brain Res*, 326:168-71, 1985.
  54. Arts K.S., Holmes B.B. and Fujimoto J.M. Differential contribution of descending serotonergic and noradrenergic systems to central Tyr-D-Ala-Gly-NMePHe-Gly-ol (DAMGO) and morphine-induced antinociception in mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 256(3):890-6, 1991.
  55. Xie C.W., Du X.L., Tang J. and Han J.S. Participation of spinal norepinephrine in



- morphine analgesia in rats. *Acta Physiol Sin*, 37(3): 258-64, 1985.
56. Xuan Y.T., Shi Y.S., Zhou Z.F. and Han J.S. Studies on the mesolimbic loop of antinociception-II. A serotonin-enkephalin interaction in the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 19(2):403, 1985.
  57. Pickel V., Joh T.H. and Reis D.J. A serotonergic innervation of noradrenergic neurons of the nucleus locus coeruleus: demonstration by immunocytochemical localization of the transmitter specific enzymes tyrosin and tryptophan hydroxylase. *Brain Res*, 308: 197-214, 1977.
  58. Sullivan A.F., Dashwood M.R. and Dickenson A.H. (2-adrenoceptor modulation of nociception in rat spinal cord: location, effects and interactions with morphine. *Eur j Pharmacol*, 138:169-77, 1987.
  59. Duarte I.D.G., Santos I.R.dos, Lorenzetti B.B. and Ferreira S.H. Analgesia by direct antagonism of nociceptor sensitization involves the arginine-nitric oxide- cGMP pathway. *Eur J Pharmacol*, 217, 225-7, 1992.
  60. Moore P.K., Oluyomi R.C., Babbedge R.C., Wallace P. and Hart S.L. L-NG-nitro-arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol*, 102, 198-202, 1991.
  61. Haley J.E., Dickenson A.H. and Schachter M. Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat. *Neuropharmacol*, 31(3), 251-8, 1992.
  62. Meller S.T., Carrie D. and Gebhart G.F. Production of endogenous nitric oxide and activation of soluble guanylate cyclase are required for N-methyl-D-aspartate-produced facilitation of the nociceptive tail-flick reflex. *Eur J Pharmacol*, 214, 93-6, 1992.
  63. Duarte I.D.G., Lorenzetti B.B. and Ferreira S.H. Peripheral analgesia and activation of the nitric oxide-cyclic GMP pathway. *Eur J Pharmacol*, 186, 289-93, 1990.
  64. Meller S.T. and Gebhart G.F. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain*, 52, 127-36, 1993.
  65. Kawabata A., Umeda N. and Takagi H. L-Arginine exerts a dual role in the nociceptive processing in the brain: involvement of Kytorphine-Met-enkephalin pathway and NO-cyclic pathway. *Br J Pharmacol*, 109, 73-9, 1993.
  66. Xu J.Y. And Tseng L.F. Role of nitric oxide / cyclic GMP in i.c.v. administered beta-endorphin-and (+)-cis-dioxolane-induced antinociception in the mouse. *Eur J Pharmacol*, 262(3): 223-31, 1994.
  67. Chen Y.F., Tsai H.Y., Chen H.C. and Hsieh M.T. The effects of Veratri formosani rhizoma on some central actions of Paeoniae radix. *Chin Pharm J*, 40(2), 111-6, 1988.
  68. Tsai H.Y., Chu C.L., Hsieh W.T., Chen, Y.F. and Lee C.C. Effects of norepinephrine on isolated rabbit aorta at different temperatures. *M.Taiwan J. Med.*, 4:57-61, 1999
  69. Tsai H.Y., Lin Y.T., Chen Y.F. and Chen C.F. The interaction of paeoniflorin and veratrine on isolated rat atria. *J. Ethnopharmacol.* 57, 169-176, 1997.
  70. Martin W.R. Opioid antagonists. [Review] *Pharmacol Rev*, 19(4):463-521, 1967.
  71. Leslie F.M. Methods used for the study of opioid receptors. *Pharmacol Rev*, 39(3): 197-239, 1987.
  72. Wild K.D., Carlis V.J., Mosberg H.I., Bowen W.D., Portoghese P.S., Sultand M., Takemori A.E., Hruby V.J. and Porreca F. Evidence for a single functional opioid delta receptor subtype in the mouse isolated vas deferens. *J Pharmacol Exp Ther*, 264:831-7, 1992.
  73. Topouzis S., Schott C. and Stoclet J.C. Participation of endothelium-derived relaxing factor and role of cyclic GMP in inhibitory effects of endothelium on contractile responses elicited by alpha-adrenoceptor agonists in rat aorta. *J of Cardiovascular Pharmacol*,

- 18(5):670-8, 1991.
74. Moritoki H., Ueda H., Yamamoto T., Hisayama T. and Takeuchi S. L-arginine induced relaxation of rat aorta possibly through non-endothelial nitric oxide formation. *Br J Pharmacol*, 102(4) :841-6, 1991.
  75. Kowaluk EA. And Fung HL. Disso-ciation of nitrovasodilator-induced relaxation from cyclic GMP levels during in vitro nitrate tolerance. *Eur J Pharmacol*, 176(1):91-5, 1990.
  76. Cooper J.R. Bloom F.E. and Roth R.H. The biochemical basis of neurpharmacology (seventh edition), New York, Oxoford University press, pp373-375, 1996
  77. Pickel V., Joh T.H. and Reis D.J. A serotonergic innervation of noradrenergic neurons of the nucleus locus coeruleus: demonstration by immunocytochemical localization of the transmitter specific enzymes tyrosin and tryptophan hydroxylase. *Brain Res.*, 308:197-214, 1977
  78. Bourreau J.P. Inter al calcium stores and norepinephrine overflow from isolated, field stimulated rat vas deferens. *Life Sci.*, 58:123-129, 1996
  79. Dunlap K, Luebke J.I. and Turner T.J. Exocytotic Ca<sup>2+</sup> channels in mammalian central neurons. *Trends in Neurosci.*, 18:89-98,1995
  80. Sabria J., Pastor C., Clos M.V., Garcia A. and Badia A. Involvement of different types of voltage-sensitive calcium channels in the presynaptic regulation of noradrenaline release in rat brain and hippocampus. *J. Neurochem.*, 64:2567-2571, 1995
  81. Schoffelmeer A.N.M. and Mulder A.H. 3H-noradrenaline release from rat neocortical slices in the absence of extracellular Ca<sup>2+</sup> and its presynaptic alpha 2-adrenergic modulation. A study on the possible role of cyclic AMP. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*

