

癲癇的中西醫學整合研究
中藥方柴胡加龍骨牡蠣湯抗癲癇效果及機
轉的電生理研究（5-2）

The Integration of Chinese and Western Medi-
cine in Epilepsy Research--The Electrophysi-
ological Study of Antiepileptic Effect and
Mechanism of Action of the Chinese Herb
Mixture “Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan”
（TW-001）

成功大學醫學院暨附設醫院 癲癇研究中心

蔡 景 仁

摘 要

中藥方“柴胡加龍骨牡蠣湯（TW-001）”的抗癲癇效果已經由初步的抗癲癇藥物篩檢研究獲得正面肯定的結果（見第一年成果報告）。本年度繼續進行TW-001對MEST試驗的抗癲癇效應並深入探討TW-001在腦組織薄片的抗癲癇效應及作用機轉。

在 MEST 的急性試驗，將八週大的大鼠分成三組，分別餵食安慰劑 4g/kg、TW-001 2g/kg 和 4g/kg 後 0.5、1 和 2 小時施予電擊，並與目前上市的抗癲癇藥物，phenytoin (10mg/kg, 20mg/kg (i.p.)), valproic acid (100mg/kg, 200mg/kg (i.p.)), lamotrigine (2.5mg/kg, 5mg/kg (i.p.)) 做比較。當大鼠達到抽搐現象時電擊之電流即為此大鼠的最大電擊閾值。結果顯示在 1 和 2 小時前餵食 TW-001 4g/kg 組對抗電擊的閾值 ($32.4 \pm 1.5\text{mA}$; $31.4 \pm 1.8\text{mA}$) 顯著有統計意義地比對照組高 ($24.6 \pm 1.9\text{mA}$)，且閾值增加的程度與 phenytoin ($34.1 \pm 1.5\text{mA}$ under 10mg/kg, i.p.) 和 valproate ($34.3 \pm 1.7\text{mA}$ under 100mg/kg, i.p.) 相當，但較 lamotrigine ($43.8 \pm 1.7\text{mA}$ under 2.5mg/kg, i.p.) 來得小。而 TW-001 2g/kg 組則比對照組有提高的傾向 (28.7 ± 1.5)。顯示 TW-001 對 MEST 試驗有劑量相關的抗癲癇效果，且在服用 TW-001 1 小時後才有明顯的抗癲癇作用。

在 MEST 的慢性試驗，將 5-6 週大的大鼠分成三組，分別每天 2 次餵食安慰劑 4g/kg，TW-001 2g/kg 和 TW-001 4g/kg，在 2 週和 4 週後施予電擊試驗，結果顯示餵食 TW-001 4g/kg 組之 MEST 閾值 ($43.1 \pm 2.0\text{mA}$; $n=18$) 明顯有統計意義地比對照組高 ($35.0 \pm 2.0\text{mA}$; $n=18$)，餵食 TW-001 2g/kg 組之 MEST 閾值 ($38.3 \pm 1.1\text{mA}$; $n=18$) 也比對照組高，但未達統計意義。比較餵食 TW-001 4g/kg 2 週組和 4 週組對 MEST 的測試結果相近，顯示餵食 TW-001 在 2 週即可達到效果，而且長期服用效果並未減少。

在電生理研究方面，係摘取 285 天大的大鼠海馬迴區做成腦薄片，依 Hsu 氏細胞內、外實驗步驟和記錄進行各項電氣生理和抗癲癇作用研究。結果顯示：(1) TW-001 對 picrotoxin ($50\mu\text{M}$) 在 CA1 區誘發類癲癇活動和在 CA3 激發自發性類癲癇活動具有可逆性的抑制作用。(2) TW-001 對海馬迴 CA1 區的 glutamatergic synaptic transmission 在 5mg/ml 濃度時明顯地具有可逆性地降低 fEPSP 和 PS。(3) TW-001 可以明顯增加 paired-pulse fac-

ilitation 的大小。(4) TW-001 可以明顯壓制由去極化脈沖電流入錐體神經元誘發的反覆激發的動作電位，並降低動作電位的 V_{max} 。(5) TW-001 可以明顯降低 tetrodotoxin-sensitive 快速鈉離子流和高壓激發的鈣離子流。TW-001 在細胞內、外電氣生理及抗癲癇作用實驗結果顯示 TW-001 極可能經由抑制鈉和鈣離子通道，可以穩定細胞本體 (soma) 及細胞突觸和軸突的神經物質分泌及傳導，減低細胞不正常放電的發生與傳遞達到抗癲癇的效應，且 TW-001 壓制癲癇活動與劑量成正相關。

TW-001 在抗癲癇藥物篩檢方法中的抗癲癇動物行為模式及癲癇電氣生理基礎研究皆有明顯的正面效果，值得往後進一步的規畫進行臨床試驗研究。

關鍵詞：柴胡加龍骨牡蠣湯，癲癇，細胞電生理，最大電擊抽搐閾值

Epilepsy Research Center, Cheng Kung University Hospital

Tsai Jing-Jane

ABSTRACT

This study was undertaken to evaluate the antiepileptic potentiality of the Chinese herb mixture “Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan” (TW-001) during maximal electroshock seizure threshold (MEST) test, and its mechanisms in several standard rodent models of generalized seizures in Sprague-Dawley rats. TW-001, both in the acute and chronic feeding with 4g/kg p.o., significantly increased the threshold tonic hindlimb extension induced by electroshock ($32.4 \pm 1.5\text{mA}$ vs $24.6 \pm 1.9\text{mA}$). The level of anti-convulsant efficacy attained by TW-001 in the MEST test was also compared with that generated by the market anticonvulsants. The threshold increase obtained with TW-001 ($32.4 \pm 1.5\text{mA}$ under 4g/kg, p.o.) was equal to both phenytoin ($34.1 \pm 1.5\text{mA}$ under 10mg/kg, i.p.) and valproate ($34.3 \pm 1.7\text{mA}$ under 100mg/kg,

i.p.) , but was clearly less than lamotrigine (43.8 ± 1.7 mA under 2.5 mg/kg, i.p.) .

To characterize further the mechanisms underlying the anticonvulsant effect of TW-001, we have investigated the effects of TW-001 on the excitatory synaptic transmission and epileptiform activity in the CA1 region of rat hippocampal slice with the use of both intracellular and extracellular recording techniques. TW-001 effectively and reversibly suppressed both stimulus-triggered epileptiform activity in CA1 region and spontaneous epileptiform activity in CA3 region evoked by picrotoxin ($50 \mu\text{M}$) . Both field excitatory postsynaptic potential (fEPSP) and population spikes (PSs) were reversibly depressed by TW-001 in a dose-dependent manner. The sensitivity of postsynaptic neurons to the glutamate receptor agonist, AMPA or NMDA was not affected by TW-001 (10 mg/ml) pretreatment. However, TW-001 (5 mg/ml) clearly increased the magnitude of paired-pulse facilitation. Superfusion of TW-001 ($5\text{-}10 \text{ mg/ml}$) reversibly limited the repetitively evoked action potentials elicited by injection of depolarizing current pulse (0.4 nA , 200 ms) into the pyramidal cells. In addition, the limitation of the repetitively evoked action potential by TW-001 was accompanied by the reduction of the maximal rate of the rise of the action potentials. In acutely dissociated hippocampal CA1 neurons, TW-001 exerted a dose-dependent reduction of the tetrodotoxin-sensitive fast sodium currents and high voltage-activated calcium currents under voltage-clamp condition.

The results suggest that TW-001 may have antiepileptic activity through inhibition of sodium and calcium channels to stabilize neuronal membrane excitability and to inhibit glutamate release.

Keywords: Chinese medicine, Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan, Epilepsy, Hippocampus, Sodium channel, Calcium channel.

壹、前言

本研究中心依美國國家研究院在猶他大學對新型抗癲癇藥開發研究計畫所提出之施行準則，在上年度已成功地建立動物實驗模式評估中藥方（TW-001）的抗癲癇效果，並發現 TW-001 在以 Pentylenetetrazol 及 Picrotoxin 誘發大鼠癲癇發作的發生率和嚴重度有明顯的抑制作用，並且具有劑量正相關傾向（詳見本研究第一年成果報告）。

今年度研究工作，延續第一年度新型抗癲癇藥物之鑑定，用最大電擊抽搐試驗（MEST）評估 TW-001 抗癲癇的效果，其次進行本年度主要的研究工作，用大鼠腦組織薄片進行細胞內、外的電生理研究，並以 field excitatory postsynaptic potentials（fEPSPs）和 population spikes（PS）等來評估 TW-001 的抗癲癇效果及其作用機轉。

貳、材料與方法

（一）、中藥

本實驗使用的中藥方為柴胡加龍骨牡蠣湯加減而成，主要成份為柴胡、半夏、大黃、茯苓、桂枝、龍骨、黃芩、牡蠣、人參、生姜、大棗、天麻、鉤藤，委由 GMP 中藥廠將上述成份依處方劑量用 600 毫升水煎至每毫升湯液含方劑 1 克的生藥成分，持對等比例製作研究所需的試驗藥品，簡稱 TW-001，並利用 TLC 對本方做定性分析以確保實驗藥品的品質一致。

（二）、實驗動物

採用 adult male Sprague Dawley rats（180-200g），並遵循“Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”（HEW publication（NIH）No.8623）進行實驗研究。

實驗動物於 6-8 週大時，開始給予實驗用藥的餵食，並飼養在

室溫 25°C，溫度 50-60%，明暗環境交替各 12 小時。

(三)、最大電擊抽搐閾值試驗 (Maximal electroshock seizure threshold (MEST) test)

藉電擊刺激器，經由夾耳電擊線電極 (transauricular electrodes)，施予一定的電流 (1 sec duration, 50Hz, sinewave form, fully adjustable between 1-99mA)，以觀察大鼠在接受電擊產生抽搐 (tonic hindlimb extension) 的刺激強度 (stimulus intensity)，實驗之前先行做 20 隻大鼠的刺激強度的閾值，以求得 50% 大鼠的 MEST。

TW-001 對 MEST 試驗的抗癲癇效果，在急性試驗時，將八週大的大鼠分成數組分別餵食安慰劑，TW-001 2g/kg 與 4g/kg，並與目前上市的抗癲癇藥物做比較，phenytoin (10mg/kg, 20mg/kg (i.p.))，valproic acid (100mg/kg, 200mg/kg (i.p.))，lamotrigine (2.5mg/kg, 5mg/kg (i.p.))。在慢性試驗時，將 5-6 週大的大鼠分成數組，分別每天 2 次餵食安慰劑，TW-001 2g/kg, TW-001 4g/kg 三組共 2 週及 4 週，後即施予 MEST 試驗。

(四)、腦組織薄片製備

採用 5-6 週大的雄性大鼠，依 Hsu 和 Huang 氏的實驗步驟進行細胞內和細胞外的傳遞記錄。在摘取大鼠腦組織後，將海馬迴組織橫切成 400 μ m 的薄片，後將薄片放置於人造的腦脊髓液 (ACSF) 約 1 小時，ACSF 的組成為 (in mM) NaCl 117, KCl 4.7, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, NaH₂PO₄ 1.2 和 glucose 11，並以 95%O₂ 及 5%CO₂ 沖浸，且保持 PH 值在 7.3-7.4 之間，然後將單一薄片放在兩耐龍網之間，維持在 32 $\pm$ 1°C，而此盆並能容納 1-2 毫克及每分鐘 2-3 毫克水的灌注。

在腦細胞的實驗記錄，將藉由 1M NaCl (阻力 2-3M Ω) 微電極在 stratum radiatum 和 stratum pyramidal 兩處記錄 fEPSPs 和 PSs。

雙極性不繡鋼刺激電極放置於 stratum radiatum 以激發 Schaffer collateral / commissural 傳入神經。實驗之初先測定刺激反應性電流的值，後用達 fEPSP 或 PS 最大強度的 30-40% 和 0.033Hz 進行實驗。在施予實驗用藥前 30 分鐘先行 synaptic 傳遞的基準值測定，synaptic 傳遞強度以 fEPSP 的斜率和 PS 的振幅來表示。fEPSP 的斜率從上升期的 20-70% 用 least-squares 迴歸計算。PS 振幅由第 1 至第 2 大正波間由負波高峰的 tangent 線求得腦細胞內的實驗記錄。使用充滿 4M potassium acetate (80-100M) 的玻璃電極放置於海馬迴的 CA1 錐體神經元上，進行胞內記錄。微電極係利用 Brown-Flaming Electrode Puller (Sutter Instruments, San Rafael, CA, U.S.A) 將外徑 1.0-mm 內含微細纖維的毛細管拉成的。細胞電訊資料的收集由 Axoclamp-2B (Axon Instrument, Foster, CA, USA) 來執行，並由 IBM 586 電腦在 pCLAMP 軟體下進行分析。

(五)、實驗藥品的施予

在體外海馬迴薄片紀錄時，TW-001 的萃取液將溶於 ACSF，然後再將含 TW-001 的 ACSF 灌注於薄片，TW-001 溶液在使用前必需經 0.45 μ m 微篩過濾。其它實驗藥品如 picrotoxin， α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic (AMPA)，N-methyl-D-aspartate (NMDA)，tetrodotoxin (TTX)，phenytoin，valproic acid，lamotrigine 等則購自 Sigma 公司。

(六)、統計方法

研究資料都與對照組的基準值做比較，所有圖形亦以平均值 $\pm$ 標準差來表示。統計分析以 Student's two-tailed unpaired t-test 計算資料的差異性，用 ANOVA 來比較多項變數的差異度，當 P 值小於 0.05 時，則視為具有統計學上的顯著差異。

參、結 果

TW-001 對 MEST 試驗的抗癲癇效果，在急性試驗時，將八週大的大鼠分成數組分別餵食安慰劑，TW-001 2g/kg 與 4g/kg，並與目前上市的抗癲癇藥物做比較，phenytoin (10mg/kg, 20mg/kg (i.p.)), valproic acid (100mg/kg, 200mg/kg (i.p.)), lamotrigine (2.5mg/kg, 5mg/kg (i.p.))，發現 TW-001 在事先 1-2 小時餵食 4g/kg 組有明顯的抗癲癇作用，且閾值增加的程度與 phenytoin (10mg/kg, i.p.) 和 valproate (100mg/kg, i.p.) 相當，但較 lamotrigine (2.5mg/kg, i.p.) 來得小 (表一)。在慢性試驗時，將 5-6 週大的大鼠分成數組，分別每天 2 次餵食安慰劑，TW-001 2g/kg, TW-001 4g/kg 三組共 2 週及 4 週，後即施予 MEST 試驗，發現餵食 TW-001 4g/kg 2 週和 4 週這兩組有明顯的抗癲癇作用，但餵食兩週和四週的抗癲癇作用相似 (圖一)。

TW-001 在海馬迴薄片對 Schaffer collateral-commissural synaptic transmission 的影響為在濃度 5mg/ml 明顯地降低 fEPSP 的斜率 ($30.2 \pm 5.3\%$, $n=6$, $P<0.05$) (圖二) 及降低 PS 的振幅 ($41.4 \pm 5.8\%$, $n=7$, $P<0.05$) (圖三)，而且 TW-001 對 fEPSP 和 PS 的抑制作用呈濃度正相關性 (圖四)。其最大效果是在施予 TW-001 後 10-15 分鐘之間，用 ACSF 洗除 TW-001 後 10-15 分則會回復至基準狀態 (圖二、三)。

再進一步則是決定 TW-001 是作用在 glutamatergic synaptic transmission 的突觸前或突觸後。於突觸後給予 AMPA 或 NMDA，結果發現先行給予 TW-001 (10mg/ml) 處理的海馬迴薄片並無明顯影響 AMPA 或 NMDA 誘發膜電位去極化的情況 (圖五)，顯示 TW-001 對 glutamatergic synaptic transmission 的抑制作用並非經由突觸後 AMPA 或 NDMA 接受器的調節作用。而 TW-001 是否作用在突觸前神經上，則利用 paired-pulse facilitation 作用於海馬迴 CA1 神經以促使突觸前神經傳遞物質 (transmitter) 在刺激後釋放增加的實驗時，先行給予 TW-001 5mg/ml 20 分鐘的前

置處理，再施予 paired-pulse 刺激，發現 fEPSP 將明顯地受抑制，若洗除 TW-001 則可回復至基準值（圖六），顯示 TW-001 可能作用在 CA1 突觸前神經傳遞物質的釋放。

利用致抽搐物質誘發癲癇活動以評估 TW-001 之作用，係利用 picrotoxin 50 μ M 阻斷海馬迴 CA1 的 GABAA 接受器誘發棘波的類癲癇活動模式，給予 TW-001 5 和 10mg/ml 可以明顯地縮短其反應期和棘波數，在洗除 TW-001 20 分後則可回復到基準值（圖七）。在 CA3 給予 picrotoxin 規律反覆地灌注 15-20 分，可誘發自發性的棘波叢，在給予 TW-001 10mg/ml 則可明顯減少其期間（duration）和棘波反應數，在洗除 TW-001 後則可回復至基準值（圖八），顯示 TW-001 可以壓制 picrotoxin 在海馬迴誘發神經細胞的放電。

在鈉離子流及離子通道研究方面，則於 CA1 神經元上給予去極化的電流脈衝（depolarizing current pulses），以誘發反覆性的動作電位，並經由微電極記錄。在給予 TW-001 5mg/ml 和 10mg/ml 則可明顯地降低反覆性動作電位波（ 7.2 ± 0.8 降至 5.8 ± 0.4 ； 7.2 ± 0.8 降至 4.1 ± 0.6 ）（圖九）。動作電位上升的最大速率（ V_{max} ）代表著鈉離子的內流指標，TW-001 在反覆性動作電位實驗時，可觀察到 TW-001 可以降低動作電位的 V_{max} 值且具有濃度正相關性，顯示 TW-001 可能經由阻斷 use-dependent 的鈉離子通道作用抑制海馬迴 CA1 神經元棘波的產生。

目前上市的抗癲癇藥物其作用機轉主要在阻斷鈉、鈣離子通道，在 12-14 天大的大鼠海馬迴薄片 CA1 區，利用全細胞 Voltage clamp 紀錄實驗，發現 TW-001（1-10mg/ml）隨著濃度的增加而明顯地抑制鈉離子通道的電流（圖十），這個現象與 phenytoin 和 lamotrigine 阻斷鈉離子通道電流相似（圖十）。在鈣離子通道電流實驗，TW-001 明顯地抑制鈣離子電流且與濃度成正相關，而 phenytoin 和 lamotrigine 則不明顯（圖十一）。

肆、討 論

本年度對 TW-001 研究的主要發現有以下四項：（1）TW-001 可以降低 MEST 誘發 tonic hindlimb extension 抽搐的閾值，（2）TW-001 可以降低在 CA1 區神經細胞突觸前的 glutamatergic synaptic transmission，且與濃度成正相關，並可抑制 picrotoxin 在 CA1 誘發的棘波和 CA3 的類癲癇波活動，（3）TW-001 可以抑制在 CA1 神經元去極化電流脈衝誘發反覆性 firing 和 V_{max} ，（4）TW-001 可以降低鈉離子、鈣離子通道電流且與濃度成正相關。這應是首篇有系統和科學化的証實中藥方 TW-001 抗癲癇作用的基礎研究。

TW-001 對於 glutamatergic synaptic transmission 的抑制作用可能來自突觸前或突觸後的抑制，從實驗資料得知 TW-001 無法改變突觸後對於 AMPA 和 NMDA 的 fEPSP 和 PS；而 PPF 的反應有賴於突觸前 intraterminal 的鈣離子的聚積，而影響胞內神經傳遞物質的釋放。TW-001 可以提昇 PPF 降低 fEPSP，應可解釋 TW-001 對 glutamatergic synaptic transmission 的壓抑制作用是來自於降低突觸前神經傳遞物質的分泌。

海馬迴神經元動作電位的上升期主要是由鈉離子流所致， V_{max} 反應著鈉離子內流的高峰指標，於實驗中觀察到 Voltage clamp 條件下，TW-001 可以在 TTX-sensitive 鈉離子內流產生與濃度相關的高張，且其壓抑制作用也與濃度相關，支持 TW-001 能阻斷 voltage-dependent 鈉離子通道，這種效應與 phenytoin 和 carbamazepine 相似。TW-001 除了降低第一次的 V_{max} 亦可隨著反應漸漸地再降低 V_{max} ，因此 TW-001 阻斷鈉離子內流是屬於 use-dependent。

抑制 picrotoxin 誘發的癲癇模式可有許多的機轉，voltage-dependent 鈉和 high-voltage 鈣離子通道關係著細胞膜的穩定和 glutamate 的釋放，因此在海馬迴的神經元的放電反應有著重要的影響。在實驗中，TW-001 可以壓制 voltage-dependent 鈉離子和 high-voltage 鈣離子通道的阻斷，而對

突觸後 NMDA 和 AMPA 接受器的影響不明顯，這些現象說明 TW-001 對 picrotoxin 誘發的癲癇活動的壓制作用應來自於 TW-001 能阻斷鈉和鈣離子通道，而使其神經元細胞膜穩定和抑制興奮性神經傳遞物質的釋放。

在海馬迴錐體神經元的電生理和藥理學上有多種類型之鈣離子通道，在實驗中 TW-001 可以強烈地抑制 L-和 N-型 high-voltage 鈣離子通道，因 N-和 L-型鈣離通道在突觸前可以調節神經傳遞物質的分泌，在突觸後可抑制其興奮作用，對這兩型鈣離子通道的阻斷可以推論 TW-001 可能具有較廣的抗癲癇作用。TW-001 不同於 phenytoin 和 lamotrigine 是 TW-001 具有此兩種鈣離子通道阻斷作用。

伍、結論與建議

TW-001 經抗癲癇藥物篩檢實驗研究，在抗癲癇行為試驗及電生理抗癲癇機轉試驗已獲正面肯定的抗癲癇效果，甚至在對鈣離子通道阻斷效應還優於 lamotrigine 和 phenytoin 等，顯示 TW-001 抗癲癇藥物的潛力值得再與其它上市抗癲癇藥物作整合性的比較研究，從而提供規畫未來的臨床試驗策略。另一方面則在簡化此一複雜的中藥方而找出真正有效的成份也是未來研究的重點方向。

陸、參考文獻

1. Davies CH, Davies SN, Collingridge GL: Paired-pulse depression of mono-synaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. J Physiol 1990; 424, 513-531.
2. Delgado-Escueta AV, Ward AA Jr, Woodbury DM, et al: New wave of research in the epilepsies. Adv Neurol 1986; 44, 3-55.
3. Dingledine R, McBain CJ, McNamara JO: Excitatory amino acid receptors

- in epilepsy. *Trends Pharmacol Sci* 1990; 11, 334-338.
4. Dunwiddie TV, Hass HL: Adenosine increases synaptic facilitation in the in vitro rat hippocampus: Evidence for a presynaptic site of action. *J Physiol* 1985; 369, 365-377.
 5. Harris EW, Cotman CW: Effects of acidic amino acid antagonists on paired-pulse potentiation at the lateral perforant path. *Exp Brain Res* 1983; 52, 455-460.
 6. Hsu KS: Characterization of dopamine receptors mediating inhibition of excitatory synaptic transmission in the rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 1996; 76, 1887-1895.
 7. Hsu KS, Huang CC, Kan WM, et al: TXA₂ agonists inhibit high-voltage-activated calcium channels in rat hippocampal CA1 neurons. *Am J Physiol* 1996; 271, C1269-C1277.
 8. Hsu KS, Huang CC: Characterization of the anoxia-induced long-term synaptic potentiation in area CA1 of the rat hippocampus. *Br J Pharmacol* 1997; 122, 671-681.
 9. Huang CC, Hsu KS: Nitric oxide signaling is required for the generation of anoxia-induced long-term potentiation in the hippocampus. *Eur J Neurosci* 1997; 9, 2202-2206.
 10. Juul-Jenson P: Epidemiology of intractable epilepsy. In *Intractable Epilepsy: Experimental and Clinical Aspects*. Ed. Schmidt D, Morselli PL, 1986; pp. 5-11. New York: Raven Press.
 11. Kable JS, Cotman CW: Adenosine, L-AP₄, and baclofen modulation of paired-pulse potentiation in the dentate gyrus: Interstimulus interval-dependent pharmacology. *Exp Brain Res* 1993; 94, 97-104.
 12. Kinball AW, Burnett WT, Doherty DG: Chemical protection against ionizing radiation. I. Sampling methods for screening compounds in radiation protec-

- tion studies with mice. *Radiation Res* 1957; 7, 1-12.
13. Lang DG, Wang CM, Cooper BR: Lamotrigine, phenytoin and carbamazepine interactions on the sodium current present in N4TG1 mouse neuroblastoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 266, 829-835.
 14. Lee WL, Hablitz JJ: Involvement of non-NMDA receptors in picrotoxin-induced epileptiform activity in the hippocampus. *Neurosci Lett* 1989; 107, 129-134.
 15. Lee WL, Hablitz JJ: Initiation of epileptiform activity by excitatory amino acid receptors in the disinhibited rat neocortex. *J Neurophysiol* 1991; 65, 87-95.
 16. Litchfield JT, Wilcoxon F: A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Ext Ther* 1949; 96, 99-113.
 17. Loscher W: Basic aspects of epilepsy. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1993; 6, 223-232.
 18. Loscher W, Honack D: Profile of ucb L059, a novel anticonvulsant drug, in models of partial and generalized epilepsy in mice and rats. *Eur J Pharmacol* 1993; 232, 147-158.
 19. Loscher W, Schmidt D: Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res* 1988; 2, 145-181.
 20. Macdonald RL, Kelly K: New antiepileptic drug mechanisms of action. In *An appraisal of some new anticonvulsants- a clinical perspective*. Ed. Trimble M. 1994; pp. 35-50. New York: Wiley.
 21. Manabe T, Wyllie DJA, Perkel DJ, et al: Modulation of synaptic transmission and long-term potentiation: Effects on paired pulse facilitation and EPSC variance in the CA1 region of the hippocampus. *J Neurophysiol* 1993; 70, 1451-1459.

22. McLean MJ, Macdonald RL: Sodium valproate, but not ethosuximide, produces use- and voltage-dependent limitation of high frequency repetitive firing action potentials of mouse central neurons in cell culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1986a; 237, 1001-1011.
23. McLean MJ, Macdonald RL: Carbamazepine and 10,11-epoxycarbamazepine produce use- and voltage-dependent limitation of rapidly firing action potentials of mouse central neurons in cell culture. *J Pharmacol Ext Ther* 1986b; 238, 727-738.
24. Nathan T, Jensen MS, Lambert JDC: GABAB receptors play a major role in paired-pulse facilitation in area CA1 of the rat hippocampus. *Brain Res* 1990; 531, 55-65.
25. Peacock JH, Walker CR: Development of calcium action potentials in mouse hippocampal cell cultures. *Dev Brain Res* 1983; 8, 39-52.
26. Rausche G, Sarvey JM, Heinemann U: Slow synaptic inhibition in relation to frequency habituation in dentate granule cells of rat hippocampal slices. *Exp Brain Res* 1989; 78, 233-242.
27. Rogawski MA, Porter RJ: Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. *Pharmacol Rev* 1990; 42, 223-286.
28. Reuter H: Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzymes and drugs. *Nature* 1983; 301, 569-574.
29. Regesta G, Tanganelli P: Clinical aspects and biological bases of drug-resistant epilepsies. *Epilepsy Res* 1999; 34, 109-122.
30. Salvati P, Maj R, Caccia C, et al: Biochemical and electrophysiological studies on the mechanism of action of PNU-151774E, a novel antiepileptic compound. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288, 1151-1159.
31. Schulz PE, Cook EP, Johnston D: Changes in paired-pulse facilitation sug-

- gest presynaptic involvement in long-term potentiation. *J Neurosci* 1994; 14, 5325-5337.
32. Shen D, Chang H: The anticonvulsant and analgesic activities of Tianma (*Gastrodia elata* B1.) . *Acta Physiol Sin* 1963; 10, 242-245.
 33. Straub H, Kohling R, Speckmann EJ: Picrotoxin-induced epileptic activity in hippocampal and neocortical slices (guinea pig) : suppression by organic calcium channel blockers. *Brain Res* 1994; 658, 119-126.
 34. Sugaya E, Sugaya A: Cellular physiology of epileptogenic phenomena and its application to therapy against intractable epilepsy. *Comp Biochem Physiol* 1991; 98, 249-270.
 35. Thompson SM, Wong RKS: Development of calcium current subtypes in isolated rat hippocampal cells. *J Physiol* 1991; 439, 671-689.
 36. Twombly DA, Yoshii M, Narahashi T: Mechanisms of calcium channel block by phenytoin. *J Pharmacol Exp Ther* 1988; 246, 189-195.
 37. Walker MC, Sander JW: Developments in anti-epileptic drug therapy. *Curr Opin Neurol* 1994; 7, 131-139.
 38. Zuker R: Short-term plasticity. *Annu Rev Neurosci* 1989; 12, 13-31.

表、圖

表一、Effect of TW-001, phenytoin, valproate and lamotrigine on the threshold for maximal (tonic hindlimb extension) electroshock seizures in rats.

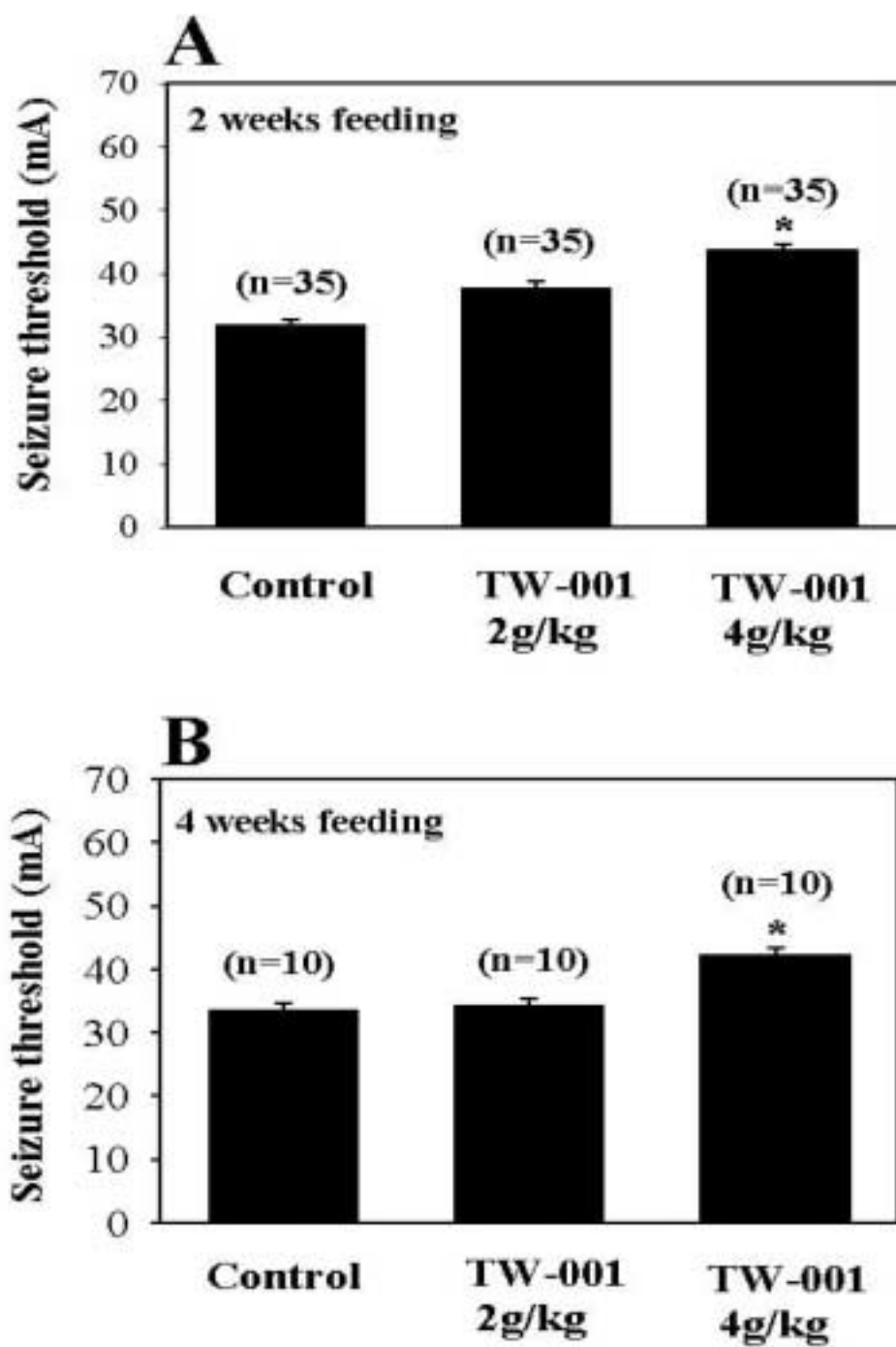
Treatment	Pretreatment time (hr)	Dose	Seizure threshold (mA)
Placebo	1	4 g/kg (p.o.)	24.6±1.9
TW-001	1	2 g/kg (p.o.)	28.7±1.5
TW-001	1	4 g/kg (p.o.)	32.4±1.5 *
TW-001	0.5	4 g/kg (p.o.)	28.6±1.3
TW-001	2	4 g/kg (p.o.)	31.4±1.8 *
Placebo	1	— (i.p.)	26.2±2.1
Phenytoin	1	10 mg/kg (i.p.)	34.1±1.5 **
Placebo	1	— (i.p.)	27.3±1.5
Valproate	1	100 mg/kg (i.p.)	34.3±1.7 **
Valproate	1	200 mg/kg (i.p.)	42.3±1.7 ***
Placebo	3	— (i.p.)	29.2±2.1
Lamotrigine	3	2.5 mg/kg (i.p.)	43.8±1.7 ***
Lamotrigine	3	5 mg/kg (i.p.)	53.7±1.5 ***

The seizure thresholds were evaluated as CC50 (with confidence limits for 95% probability) in group of 20 rats. Significant difference between placebo and drug-treated groups is indicated (*p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001) .

*P<0.05 compared with placebo pretreatment

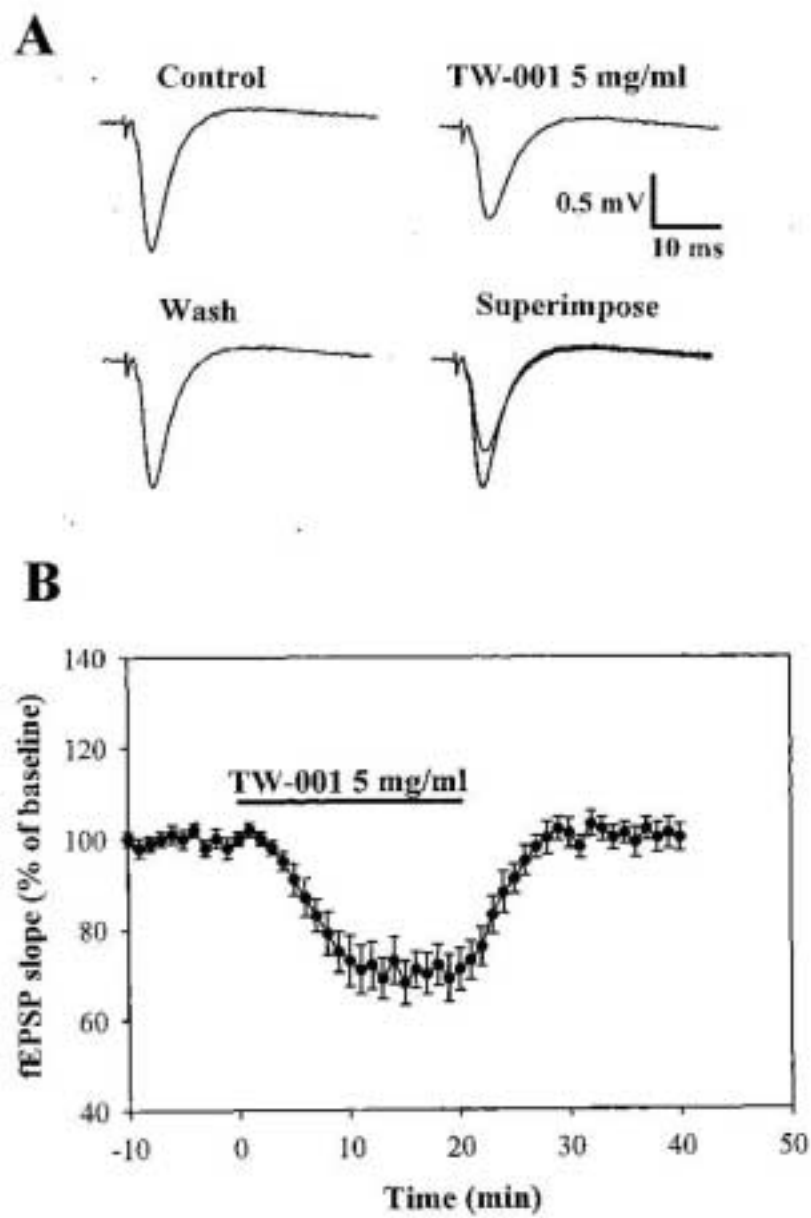
**P<0.005 compared with placebo pretreatment

***P<0.001 compared with placebo pretreatment

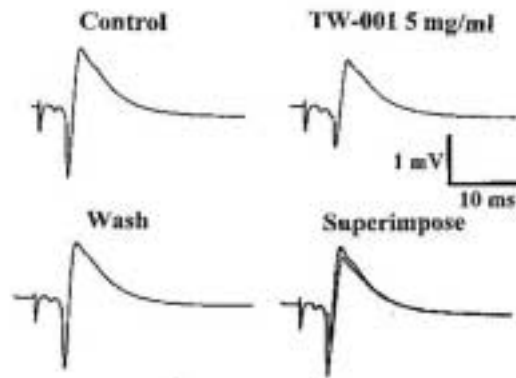
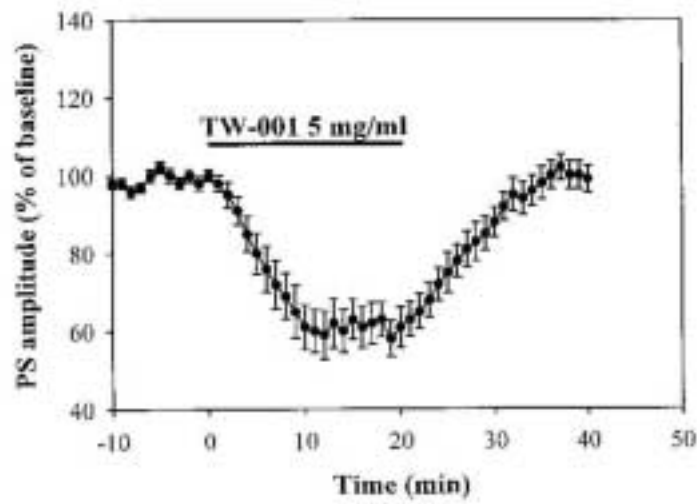


* $P < 0.05$ as compared with control group

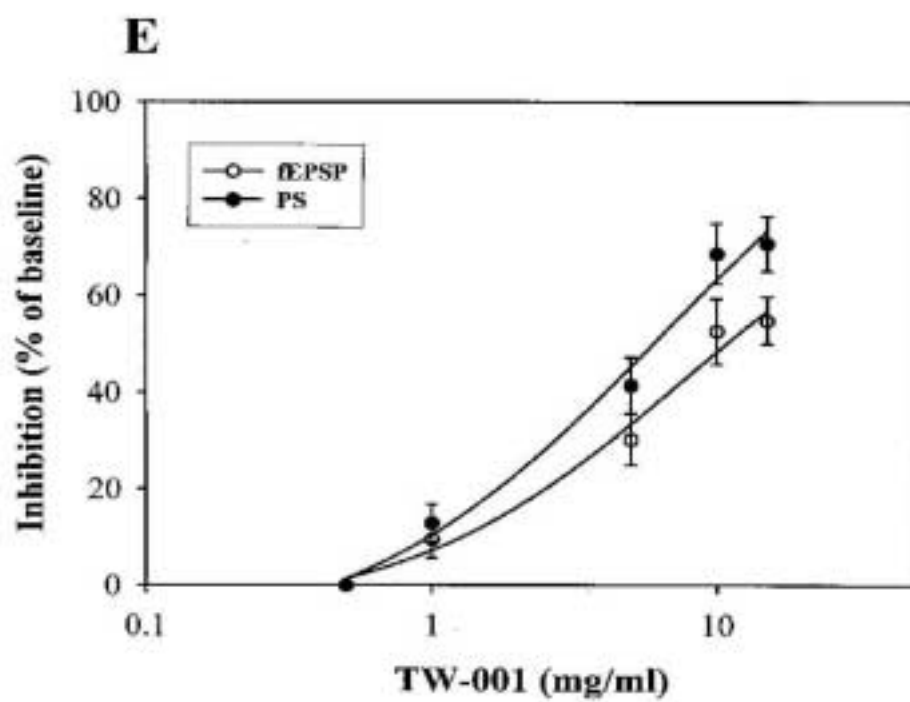
圖一、大鼠慢性投與 TW-001 兩週和四週後對 MEST 試驗有明顯的增加抗癲癇閾值 (mean±S.E.M)



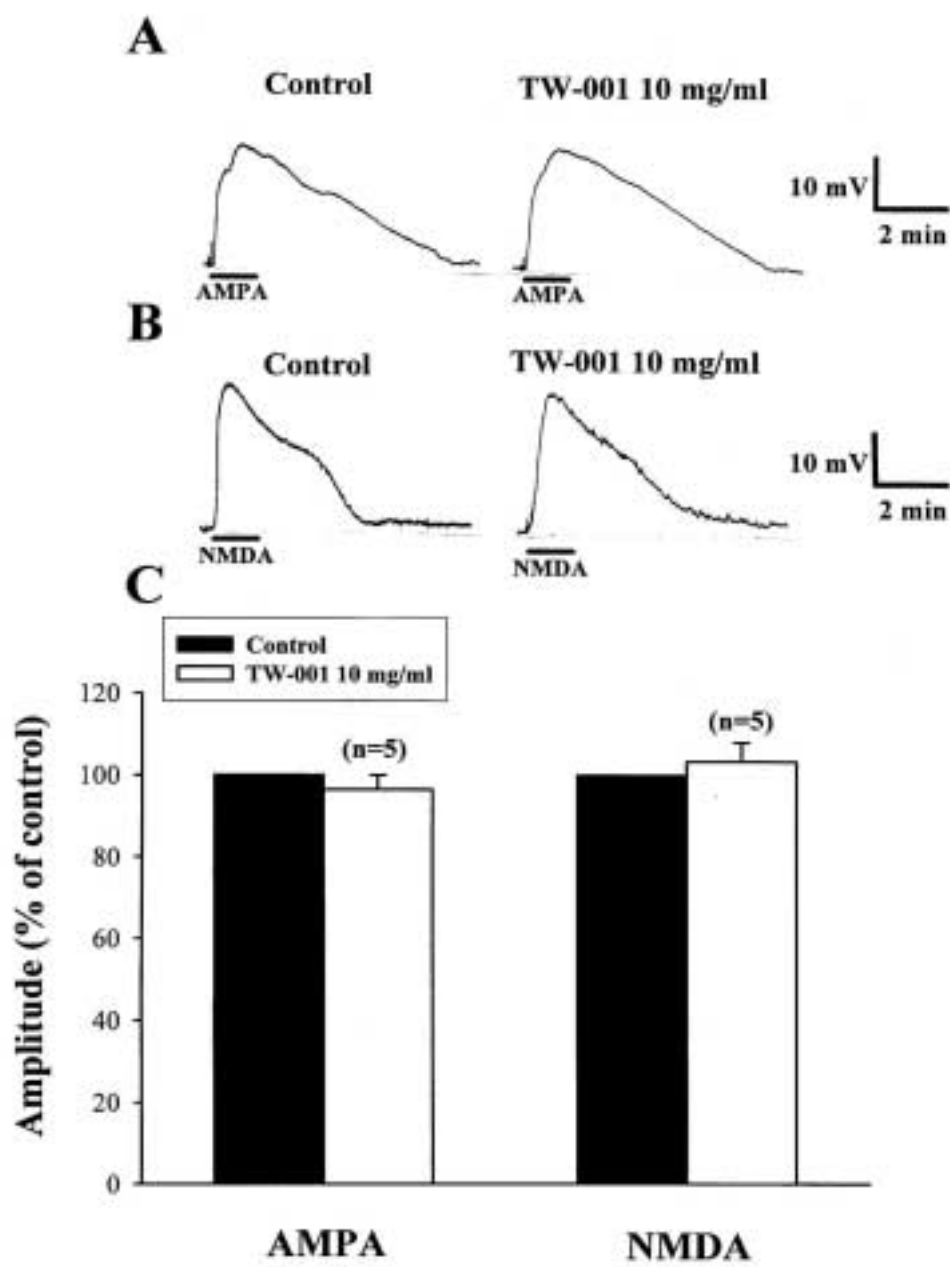
圖二、TW-001 對 CA1 的 glutamatergic synaptic transmission 的 fEPSP 及其作用時間的關係，顯示 TW-001 在 10-20 分鐘時達最大效應 (mean±S.E.M.)

C**D**

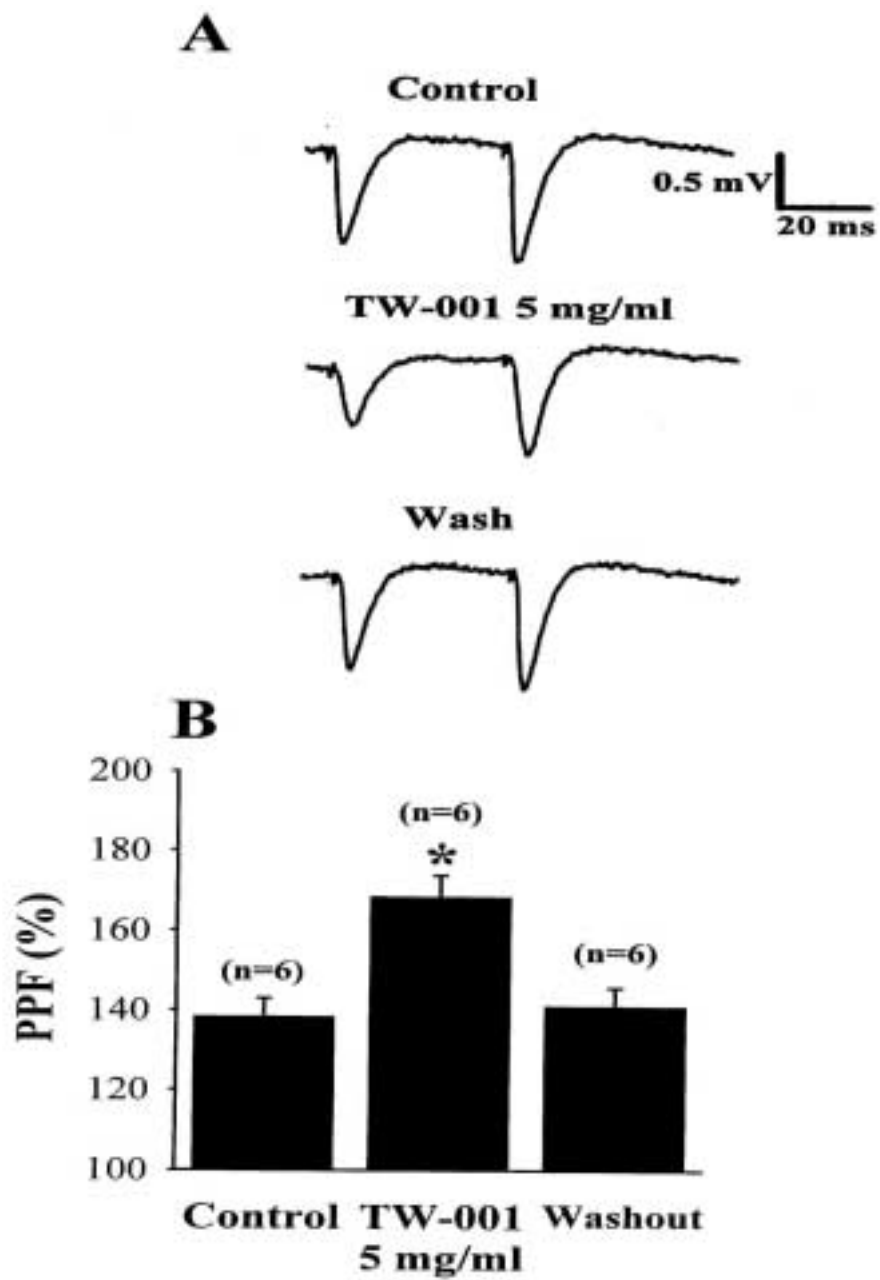
圖三、TW-001 對 CA1 的 glutamatergic synaptic transmission 的 P.S. 及其作用時間的關係，顯示 TW-001 在 10-20 分鐘時達最大效應 (mean±S.E.M.)。



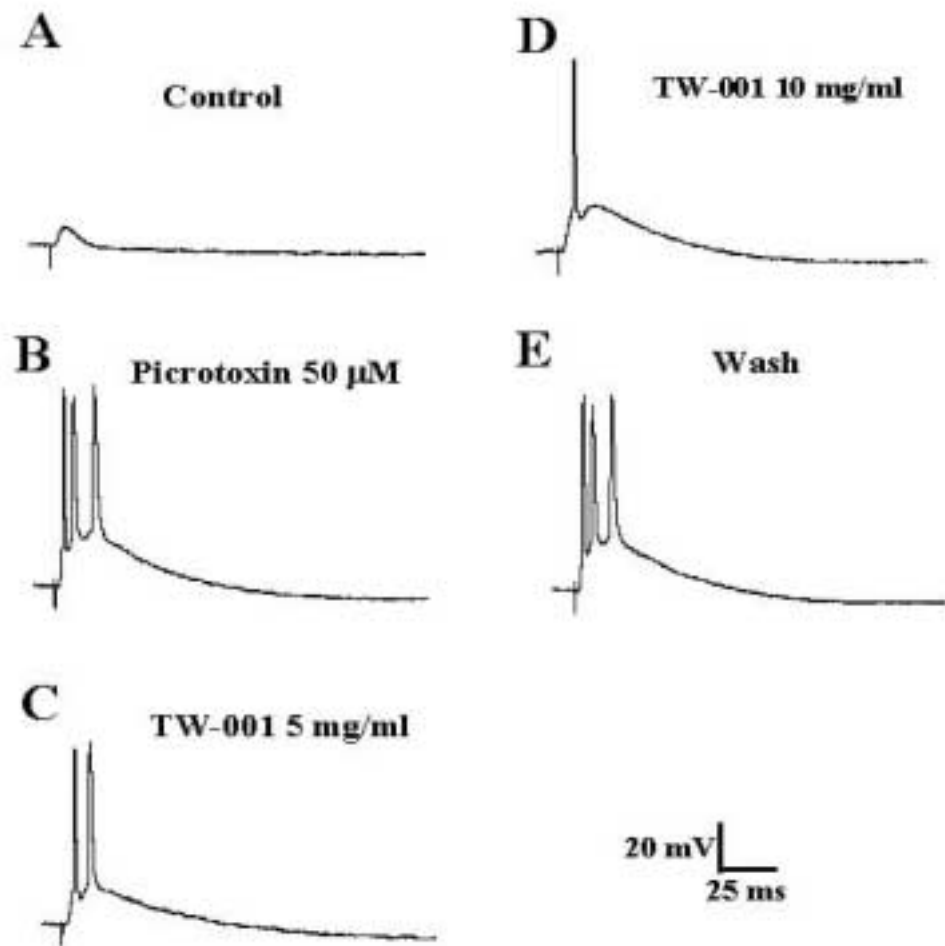
圖四、TW-001 對 CA1 的 glutamatergic synaptic transmission 的 fEPSP 和 P.S.的作用成劑量正相關。



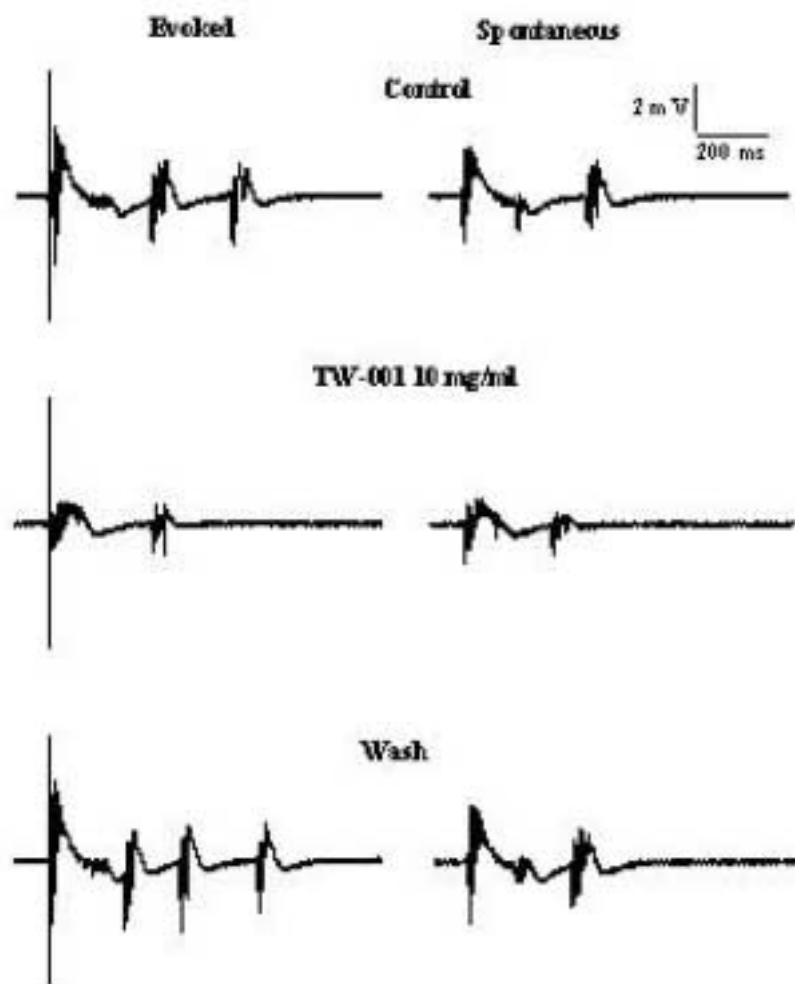
圖五、TW-001 對 AMPA 和 NMDA 誘發胞膜反應並無明顯的效應 (mean±S.E.M.)。



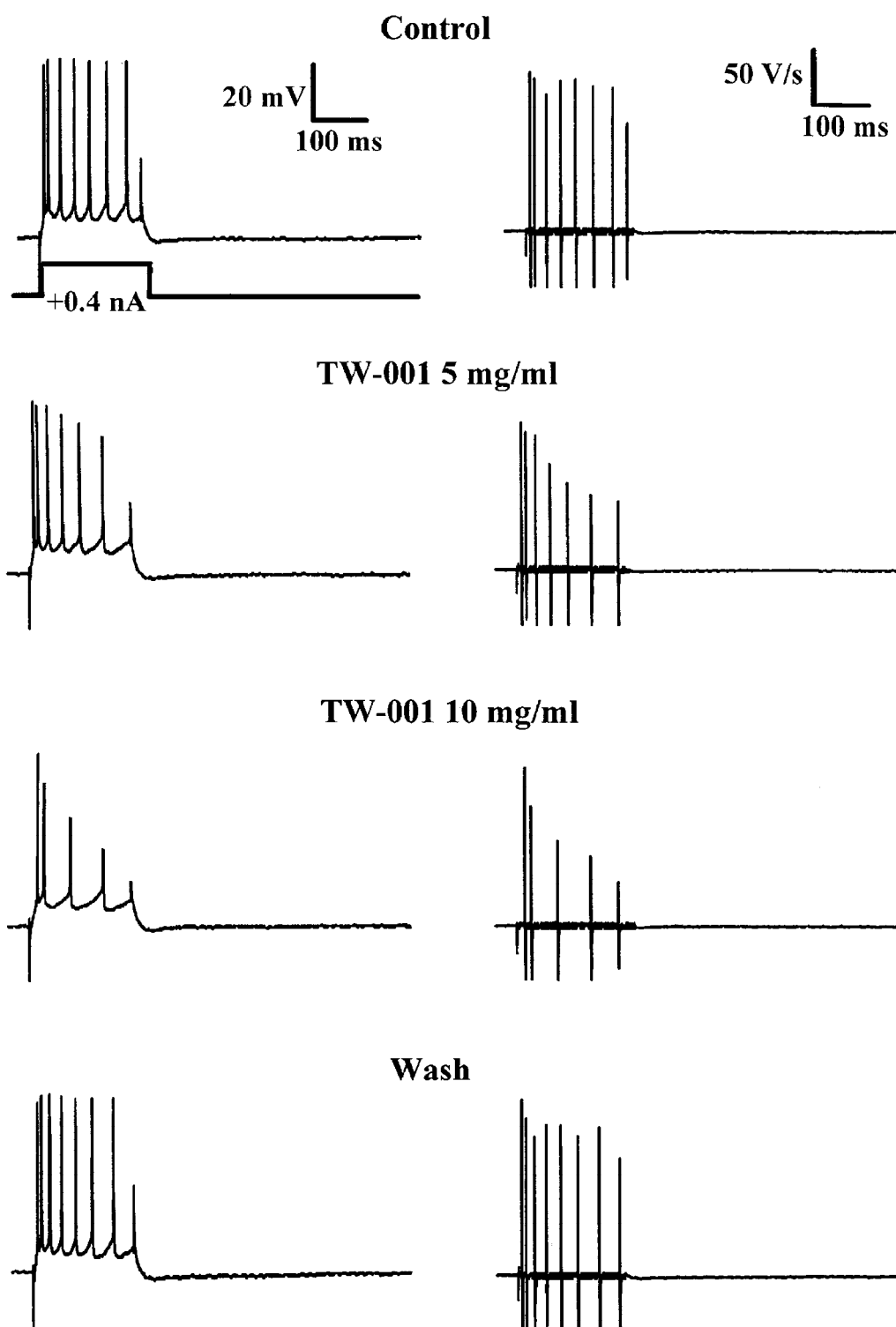
圖六、TW-001 可以明顯地增加 PPF 的比率，且在洗除 TW-001 後又可回復原狀 (mean±S.E.M.)。



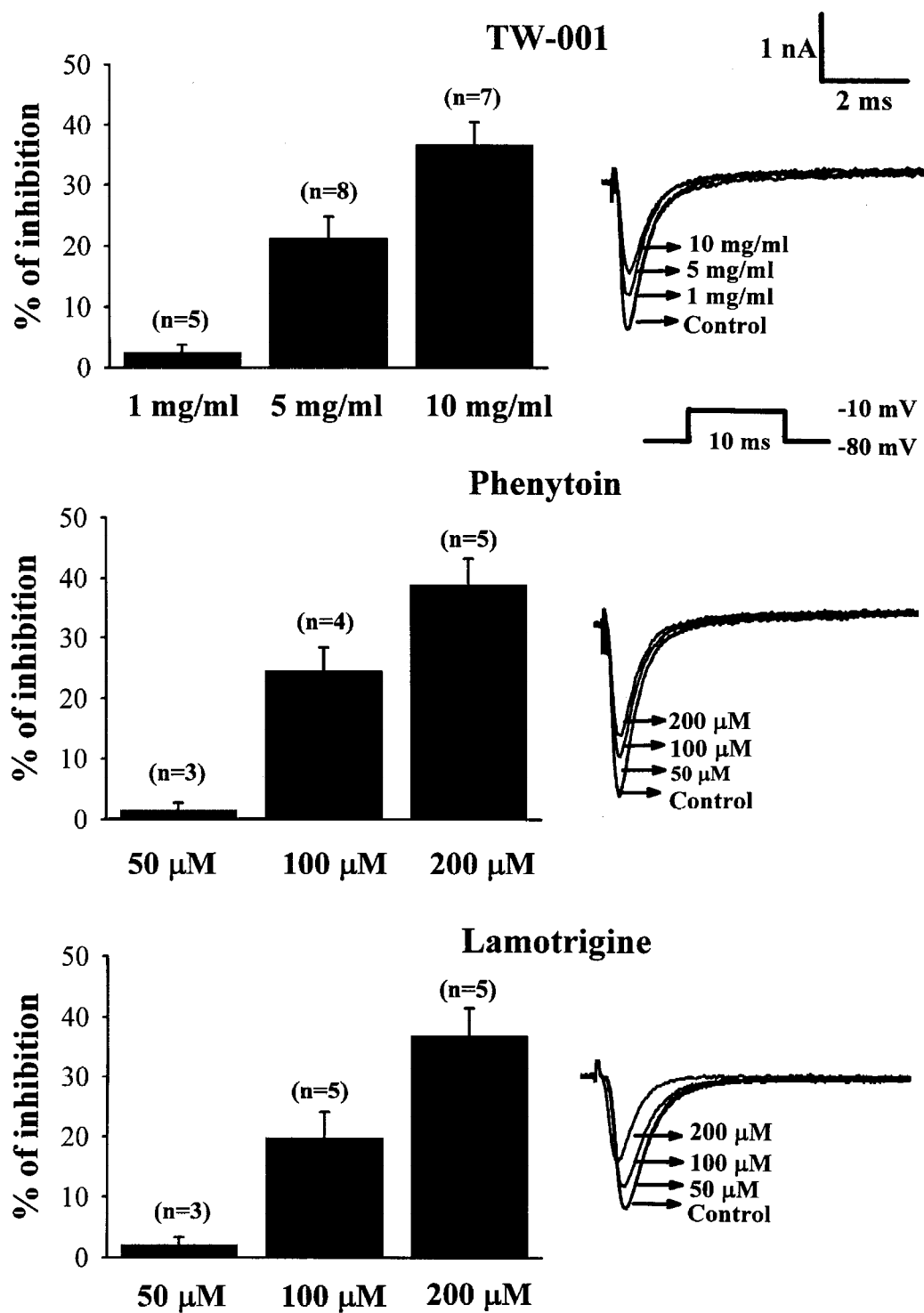
圖七、TW-001 對 picrotoxin 誘發類癲癇波叢有明顯的抑制作用，在 TW-001 濃度為 10mg/ml 時的抑制效果大於 TW-001 濃度為 5mg/ml 時。



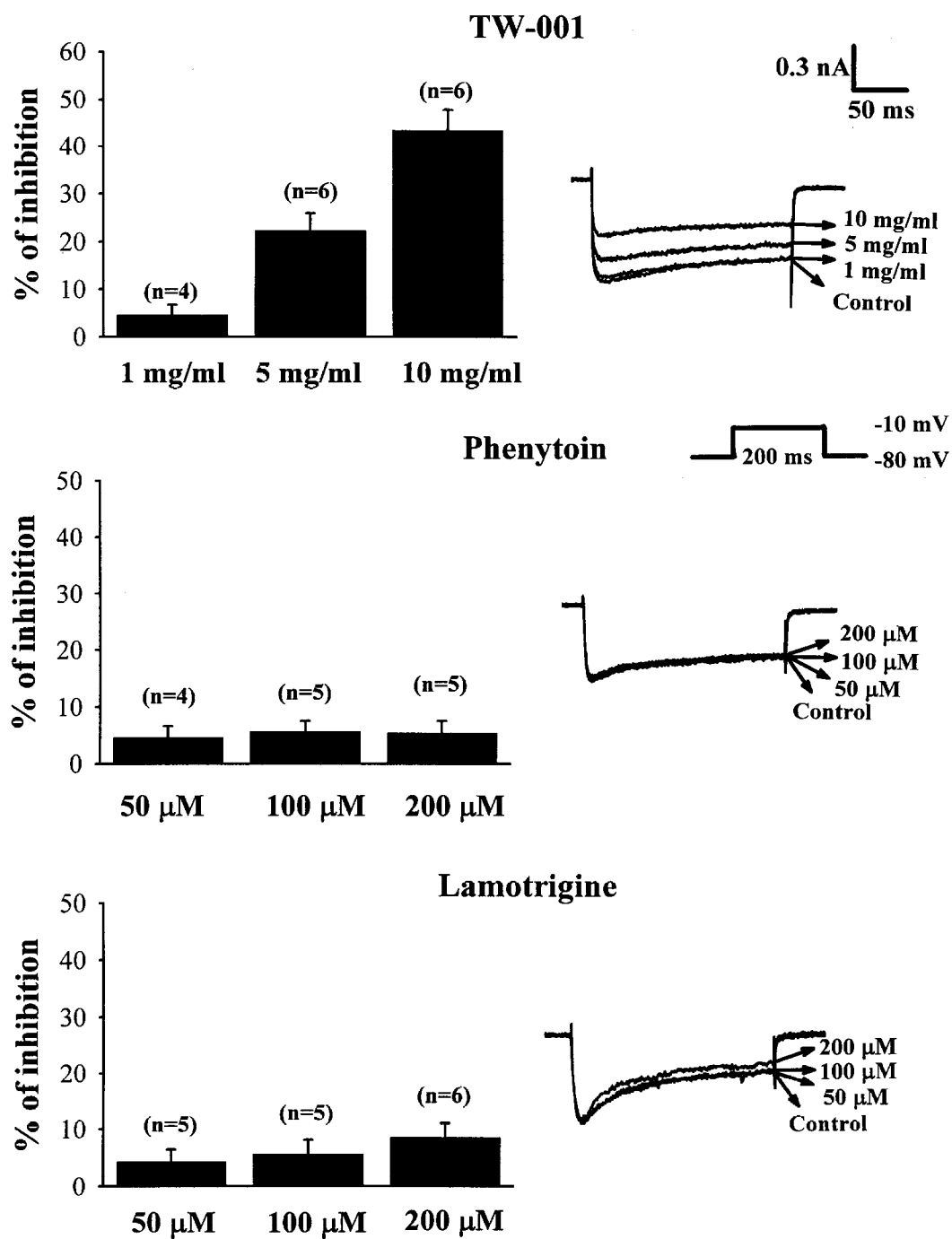
圖八、TW-001 可以明顯壓制 picrotoxin 誘發的自發性類癲癇波叢，且於清洗 TW-001 後回復原狀。



圖九、TW-001 對 repetitive firing 和動作電位 V_{max} 有明顯降低作用。



圖十、TW-001 對 CA1 神經元的鈉離子電流有明顯的抑制作用，並與 phenytoin 和 Lamotrigine 作用相似 (mean±S.E.M)



圖十一、TW-001 對 CA1 神經元鈣離子電流有明顯的抑制作用，
而 phenytoin 和 Lamotrigine 則不明顯 (mean±S.E.M.)

