

**癲癇的中西醫學整合研究
中藥方 TW-001 與西藥抗癲癇藥物
整合使用的基礎實驗研究(5-3)**

**The Integration of Chinese and Western
Medicine in Epilepsy Research: Experimental
Study of the Rational Combination Use of
TW-001 and Antiepileptic Drugs**

成功大學醫學院暨附設醫院 癲癇研究中心

蔡 景 仁

摘 要

本年度的目標為(1)探討 TW-001 和上市抗癲癇藥物(AED)如 Phenytoin(PHT), Lamotrigine(LTG), Valproate(VPA)和 Vigabatrin(VGT)在實驗動物之併用是否具有“加成/協同”作用,(2)評估 TW-001 對 kainic acid 誘發癲癇發作的抗癲癇效果,(3)檢測 TW-001 之神經毒性和一般毒性。在加成/協同”作用的研究,分成急性和慢性最大電擊抽搐閾值試驗(MES)和抽搐藥品 Pentylenetetrazol (PTZ)試驗。TW-001 和 AED 的劑量又分成低、高劑量組。

(一)併用 TW-001 和 AED 在 MES 的急性試驗:低劑量時,四組大鼠分別餵食安慰劑, TW-001 2g/kg, PHT5mg/kg 和 TW-001 2g/kg+PHT5mg/kg, 其抽搐閾值顯示併用 PHT 明顯提昇, 併用 VPA50mg/kg 或 LTG 1mg/kg 時, 結果亦同, 但併用 VGT 時則未顯著提昇抽搐閾值。高劑量時, TW-0014g/Kg 併用

PHT10mg/Kg, VPA 100mg/kg, LTG 2mg/kg 或 VGT1g/Kg, 皆能顯著提昇抽搐閾值。

(二)併用 TW-001 和 AED 在 MES 的慢性試驗：大鼠分成六組並餵食(1)安慰劑,(2)TW-001 2g/kg,(3)TW-001 4g/kg,(4)PHT 5mg/kg,(5)TW-001 2g/kg+PHT 5mg/kg 和(6)TW-001 4g/kg+PHT 5mg/kg, 兩週後之抽搐閾值併用組都明顯比對照組提昇；且高劑量組又比低劑量組效果好，表示效果與劑量有關，併用 VPA 50mg/kg, LTG 1mg/kg 或 VGT 0.5g/kg 時也均有相同的結果。

(三)併用 TW-001 和 AED 在 PTZ 的急性試驗：分組方式與(一)相同，低劑量時，顯示 TW-001 和 PHT 併用明顯提昇抽搐閾值，且併用 VPA 50mg/kg, LTG 1mg/kg 或 VGT 0.5g/kg 時亦獲得相同結果。高劑量時，TW-001 4g/Kg 併用 PHT10mg/Kg, VPA 100mg/kg, LTG 2mg/kg 或 VGT1g/Kg, 皆能顯著提昇抽搐閾值。

(四)併用 TW-001 和 AED 在 PTZ 的慢性試驗：分組方式與(二)相同，結果也顯示併用組都有顯著意義的比對照組提昇抽搐閾值；高劑量組又比低劑量組效果好。添加 VPA 50mg/kg LTG 1mg/kg 或 VTG 0.5g/kg 亦均比對照組顯著有意義提昇抽搐閾值。

(五)KA 誘發癲癇發作時，給予 TW-001 4g/kg 的前置處理時，可以明顯減輕癲癇發作嚴重度，甚至能預防癲癇發作的發生。同時給予 KA 和 TW-001 時，TW-001 仍可明顯減輕癲癇發作的嚴重度，在癲癇發作後才給 TW-001，則減低其嚴重度的效果較不明顯。

(六)TW-001 神經毒性試驗和全身毒性試驗：急性神經毒性試驗時，大鼠分組分別餵食安慰劑，TW-001 2g/kg、4g/kg、8g/kg、16g/kg 和 32g/kg，並在 Rotarod treadmills 上測試，各組結果並無差異。慢性神經毒性試驗時，分別餵食 TW-001 2g/kg 和 4g/kg，餵食前 1 天和餵食後每天測試連續 16 天，結果兩組與基準值並無明顯差異。顯示 TW-001 既無急性亦無慢性神經毒性。大鼠分別餵食安慰劑、TW-001 4g/kg, TW-001 8g/kg 和 TW-001 32 g/kg, 2 週後抽血做血液、生化和電解質檢查，3 組實驗組和安慰組在統計上無差異，顯示 TW-001 劑量到 32g/kg 仍無全身性毒性。

本研究結果發現 TW-001 與上市 AED 併用時，能增強其抗癲癇作用，而且其效果與劑量相關。TW-001 能預防 KA 誘發之癲癇發作及減輕其發作嚴重度。TW-001 並無急性神經毒性，亦無長期全身性毒性。

關鍵詞：柴胡加龍骨牡蠣湯，癲癇，抗癲癇藥物，添加治療，毒性

Epilepsy Research Center, Cheng Kung University Hospital

Tsai Jing-Jane

Abstract

In this project, we investigated the effect of the Chinese herbal mixture “Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan” (TW-001) add-on to the antiepileptic drugs in market, such as Phenytoin(PHT), Lamotrigine(LTG), Valproate(VPA) and Vigabatrin(VGT) and the acute as well as chronic neurotoxicity and systemic toxicity in experimental animals. We also investigated the effect of TW-001 on the kainic acid induced seizure.

During maximal electroshock test (MES) test, the seizure thresholds were significantly increased ($p<0.05$) in rats one hour after administration of TW-001 2g/kg, p.o. in combination with the standard AEDs, PHT 5mg/kg, LTG 1mg/kg, and VPA 50mg/kg. The levels of threshold induced by electroshock were significantly increased ($p<0.05$) in rats one hour after treatment with TW-001 4g/kg, p.o. add-on with PHT 10mg/kg, LTG 2mg/kg, and VPA 100mg/kg. TW-001 was found to markedly increase threshold for electroshock in rats 14 days after combination with the standard AEDs, PHT 5mg/kg, LTG 1mg/kg, VPA 50mg/kg, and VGT 0.5g/kg.

During PTZ test, the seizure thresholds were significantly increased ($p<0.05$) in rats one hour after administration of TW-001 2g/kg, p.o. in combination with the standard AEDs, PHT 5mg/kg, LTG 1mg/kg, and VPA 50mg/kg. The levels of

threshold induced by PTZ i.v. were significantly increased ($p<0.05$) in rats one hour after treatment with TW-001 4g/kg, p.o. add-on with PHT 10mg/kg, LTG 2mg/kg, and VPA 100mg/kg. TW-001 was found to markedly increase threshold for PTZ i.v. in rats 14 days after combination with the standard AEDs, PHT 5mg/kg, LTG 1mg/kg, VPA 50mg/kg, and VGT 0.5g/kg.

The severity of kainic acid-induced seizures in rats was significantly decreased by pretreatment with TW-001 4g/kg p.o. for 7 and 14 days. The similar effect was observed in simultaneous treatment with TW-001 and kainic acid in rats. However, the anticonvulsant effect of TW-001 in rats seemed less effective after kainic acid administration.

Oral administration of TW-001 to rats at 2-32 g/kg for 14 days did not result in any neurological toxic symptoms or hematological as well as biochemical abnormalities. These results suggest that TW-001 is a very safe and effective anticonvulsant agent.

In conclusion, we found TW-001 add-on to traditional and new AED can increase antiepileptic effect in experimental seizure models. In the acute and chronic use of TW-001, there was neither neurological toxicity nor systemic toxicity. By the way, TW-001 can not only decrease seizure severity induced by kainic acid but also prevent kainic acid induced seizure.

Keywords : Chinese medicine, Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan, Epilepsy, Antiepileptic drug, polytherapy, toxicity

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[1]，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 Pentylentetrazol 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)。第二年度在 MES 的急性和慢性試驗中，TW-001 具有明顯的提高抗癲癇的閾值，在電生理研究方面，顯示 TW-001 極可能經由阻斷鈉和鈣離子通道，達到穩定細胞本體和細胞突觸和軸突神經物質的分泌和傳導，而抑制癲癇發作(詳見本研究第二年成果報告)。此二成果的部份結果已正式發表[2]

今年度研究工作，將以前兩年的研究結果為基石，探討 TW-001 和市售抗癲癇藥物合併使用是否具有“加成/協同”作用，其次將探討 TW-001 對 Kainic acid 誘發癲癇模式的抗癲癇效果，最後則檢測 TW-001 的神經毒性和一般毒性，以做為臨床人體試驗的準備工作。

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 (180-250g)，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℃，溼度 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 test (MES))

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[3]。

(四)抽搐藥品 Pentylenetetrazol(PTZ)的製備

本實驗用 Pentylenetetrazol(PTZ)當抽搐藥品，在製備上，其濃度必需能引發 97%以上的大鼠抽搐(ED97)，而這抽搐藥品必需在 30 分內被使用，且經由皮下注入大鼠頸部中間皺摺的地方[4]。

(五)Kainic acid kindling

將紅藻胺酸(Kainic acid, KA)以側腦室注射法(intracerebroventricular injection, i.c.v.)注射[5]。首先以 sodium pentobarbital (100mg/kg,i.p.)將品種為 Sprague-Dawley (SD)的雄性大白鼠體動約 230-300 公克麻醉，使用腦部立體定位儀將大白鼠的腦部固定後，以電動剃毛機將手術部位的毛剃除，並以優碘將上表皮消毒，以手術刀劃開頭蓋骨的上表皮，並將皮下組織撐開，使前囟(Bregma)及人字縫尖(Lambda)露出，調整 teeth bar 的位置，使 Bregma 及 Lambda 位於相同水平高度。以 Bregma 為原點，利用定位圖譜定出右側腦室(right lateral ventricle;LV)之位置，(Bregma 後方 3.5mm, 右方 4.2mm)。此位置的頭顱骨上方，以電鑽鑽開一小洞，將導藥管充填 kainic acid(0.5mg/ μ l)，溶於 PH7.4 的 phosphate buffer)由此洞插入老鼠腦中 4mm，以 micropumper 緩緩注入(30min)。隔 10 分鐘後，將傷口縫合，以優碘擦試並肌內注射氨苄青黴素(Ampicillin, 125mg/ml, 0.2ml)以防傷口感染。隔天開始每天固定一小時觀察癲癇發作的等級。

(六)Rotarod performance 試驗

神經毒性試驗，將對照組和餵食 TW-001 組的大鼠置於 Rotarod performance 的儀器上爬行，觀察並記錄大鼠的行為和停留的時間。

(七)一般毒性試驗

對照組和餵食 TW-001 組的大鼠用麻醉劑麻醉後，將其腹腔打開露出腎靜脈，用 5c.c 的空針抽取其靜脈血分別置於血液和生化管。

(八)統計方法

研究資料都與對照組的基準值做比較，所有圖形以平均值 \pm 標準差來表示。統計分析以 Student's two-tailed unpaired ttest 計算資料的差異性，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

本年度研究主要有三項工作，(1)探討 TW-001 和上市抗癲癇藥物是否具有‘加成-協同’作用，(2)TW-001 在 KA 誘發癲癇發作的抗癲癇效果評估，(3)檢測 TW-001 的神經毒性和一般毒性。

TW-001 和上市抗癲癇藥物合併使用在 MES 的急性試驗(低劑量組)：大鼠分成四組，分別餵食安慰劑，TW-001 2g/kg，PHT5mg/kg 和 TW-001 2g/kg+PHT5mg/kg，1 小時後電擊測定其抽搐閾值各為 24.7 ± 1.9 ， 28.7 ± 1.5 ， 26.3 ± 2.3 和 34.6 ± 2.7 (mA)，併用 PHT 明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖一)。而併用 VPA50mg/kg 各組其抽搐閾值各為 25.7 ± 2.3 ， 28.7 ± 1.5 ， 27.7 ± 2.5 和 38.7 ± 2.3 (mA)，併用 VPA 明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖四)；併用 LTG 1mg/kg 各其抽搐閾值各為 24.6 ± 1.9 ， 28.7 ± 1.5 ， 36.6 ± 2.4 和 41.3 ± 2.4 (mA)，添用 LTG 明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖三)，添用 VGT0.5g/kg 各組其抽搐閾值為 24.6 ± 1.9 ， 26.2 ± 1.5 ， 25.1 ± 1.4 和 29.7 ± 2.4 (mA)，併用 VGT 並未顯著提昇抽搐閾值(圖二)。

TW-001 和上市抗癲癇藥物合併使用在 MES 的急性試驗(高劑量組)：大鼠分成四組，分別餵食安慰劑，TW-001 4g/kg，PHT10mg/kg 和 TW-001 4g/kg+PHT10mg/kg，1 小時後電擊測定其抽搐閾值各為 24.7 ± 1.9 ， 32.4 ± 1.5 ， 34.1 ± 1.5 和 46.8 ± 2.3 (mA)，併用 PHT 明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖一)，而併用 VPA100mg/kg 各組其抽搐閾值各為 26.6 ± 1.9 ， 32.4 ± 1.5 ， 34.3 ± 1.7 和 45.6 ± 2.3 (mA)，明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖四)；LTG 2mg/kg 各組時其抽搐閾值各為 24.6 ± 1.9 ， 32.4 ± 1.5 ， 42.8 ± 1.7 和 56.8 ± 2.1 (mA)，併用 LTG 明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)(圖三)，併用 VGT 1g/kg 各組時其抽搐閾值各為 24.6 ± 1.9 ， 32.4 ± 1.5 ， 32.7 ± 1.3 和 45.7 ± 2.1 (mA)，併用 VGT 明顯提昇抽搐閾值(圖二)，以上合併各種抗癲癇藥物皆明顯提昇抽搐閾值($P<0.05$)，且 TW-001 併用各種 AEDs 則更著顯著地增加抽搐閾值。

TW-001 和上市抗癲癇藥物合併使用在 MES 的慢性試驗(高低劑量組): 大鼠分成六組, 早晚分別餵食(1)安慰劑, (2)TW-001 2g/kg, (3)TW-001 4g/kg, (4)PHT 5mg/kg, (5)TW-001 2g/kg+PHT 5mg/kg 和 (6)TW-001 4g/kg+PHT 5mg/kg, 兩週後施予電擊, 其抽搐閾值依序為(1)34.28 \pm 1.12, (2)37.54 \pm 1.15, (3)43.54 \pm 1.02, (4)33.56 \pm 0.62, (5)42.56 \pm 0.88, (6)48.59 \pm 1.12(mA)。併用 VPA 50mg/kg 各組其抽搐閾值依序為(1)31.6 \pm 1.1, (2)37.5 \pm 1.2, (3)43.5 \pm 1.02, (4)32.6 \pm 1.15, (5)42.56 \pm 1.65, (6)54.3 \pm 2.38(mA); 併用 LTG 1mg/kg 各組其抽搐閾值依序為(1)31.58 \pm 1.12, (2)37.74 \pm 1.15, (3)43.54 \pm 1.02, (4)35.68 \pm 1.02, (5)43.65 \pm 1.03, (6)49.85 \pm 1.052(mA); 或 VGT 0.5g/kg 時其抽搐閾值依序為(1)31.58 \pm 1.12, (2)37.54 \pm 1.15, (3)43.54 \pm 1.02, (4)32.08 \pm 1.08, (5)39.65 \pm 1.03, (6)48.95 \pm 1.05(mA), 以上 TW-001 併用各種抗癲癇藥物中的第 5 和 6 組明顯比對照組提昇抽搐閾值($P < 0.05$), 第 6 組又比第 5 組效果好($P < 0.05$), 表示其“加成-協同”作用的效果與劑量有正相關(圖一至四)。

TW-001 與上市抗癲癇藥物合併使用在 PTZ 的急性試驗(低劑量組): 分組方式與 MES 急性試驗相同, 注射 PTZ 後之抽搐閾值, 在添加 PHT 分別為 70.29 \pm 1.9, 76.67 \pm 3.03, 76.58 \pm 2.32 和 85.62 \pm 3.25(mg/Kg) (圖五); 且併用 VPA 50mg/kg 抽搐閾值, 分別為 70.29 \pm 1.9, 76.67 \pm 3.03, 75.62 \pm 4.21 和 86.85 \pm 3.34(mg/Kg) (圖八); 併用 LTG 1mg/kg 抽搐閾值, 分別為 70.29 \pm 1.9, 76.67 \pm 3.03, 89.65 \pm 3.42 和 98.45 \pm 3.57(mg/Kg) (圖七), TW-001 和以上各種抗癲癇藥物併用明顯提昇抽搐閾值($P < 0.05$)。但添加 VGT 0.5g/kg 時抽搐閾值, 分別為 70.29 \pm 1.9, 76.67 \pm 3.03, 73.52 \pm 3.2 和 78.65 \pm 2.38(mg/Kg), 則未顯著提昇抽搐閾值(圖六)。

TW-001 上市抗癲癇藥物合併使用在 PTZ 的急性試驗(高劑量組): 分組方式與 MES 急性試驗相同, 注射 PTZ 後之抽搐閾值, 在添加 PHT 分別為 70.29 \pm 1.9, 91.62 \pm 5.3, 98.45 \pm 5.32 和 132.58 \pm 4.56(mg/Kg) (圖五); 併用 VPA 50mg/kg 抽搐閾值, 分別為 70.29 \pm 1.9, 91.62 \pm 5.3, 92.54 \pm 4.32 和 122.52 \pm 3.45(mg/Kg) (圖八); 併用 LTG 2mg/kg 抽搐閾值, 分別為 70.29 \pm 1.9, 91.62 \pm 5.3, 104.52 \pm 3.52 和 138.65 \pm 3.25(mg/Kg) (圖七)。添加 VGT 0.5g/kg 時抽搐

閾值，分別為 70.29 ± 1.9 , 91.62 ± 5.3 , 86.85 ± 3.54 和 115.62 ± 4.25 (mg/Kg), TW-001 和以上各種抗癲癇藥物顯著提昇抽搐閾值($P < 0.05$) (圖六)。

TW-001 和上市抗癲癇藥物合併使用在 PTZ 的慢性試驗(高低劑量組)：分組方式與 MES 慢性試驗相同,添加 PHT 之注射 PTZ 後之抽搐閾值在添加 PTH 分別為(1) 75.68 ± 4.52 , (2) 87.5 ± 4.35 , (3) 105.32 ± 5.02 , (4) 79.85 ± 3.68 , (5) 98.65 ± 5.45 , (6) 132.54 ± 4.86 (mg/Kg) (圖五); 而添加 VPA 50mg/kg 抽搐閾值分別為(1) 75.68 ± 4.52 , (2) 89.52 ± 5.42 , (3) 105.32 ± 5.42 , (4) 75.62 ± 4.21 , (5) 97.54 ± 3.75 , (6) 124.52 ± 3.65 (mg/Kg) (圖八); 併用 LTG 1mg/kg 抽搐閾值在分別為(1) 75.68 ± 4.52 , (2) 87.5 ± 4.35 , (3) 105.32 ± 5.02 , (4) 89.65 ± 3.42 , (5) 99.85 ± 3.62 , (6) 134.52 ± 4.21 (mg/Kg)(圖七); 併用 VGT 0.5g/kg 抽搐閾值分別為(1) 75.68 ± 4.52 , (2) 87.5 ± 4.35 , (3) 105.32 ± 5.42 , (4) 74.52 ± 3.42 , (5) 88.52 ± 3.75 , (6) 118.52 ± 3.42 (mg/Kg) (圖六), TW-001 和以上各種抗癲癇藥物合併使用中的第 5 組和第 6 組顯著有意義的比對照組提昇抽搐閾值($P < 0.05$); 第 6 組又比第 5 組效果好, 顯示 TW-001 與各種抗癲癇藥物的”加成/協同”作用劑量正相關的關係。

大鼠依 Kainic acid kindling 的步驟誘發癲癇發作, 分成對照組和 TW-001 4g/kg 實驗組。在給予 TW-001 前置處理, 大鼠發生癲癇發作的嚴重度明顯地降低, 且前置處理 14 天者比前置處理 7 天者效果更好。在同時給 KA 和 TW-001 處理組, TW-001 可以明顯地降低大鼠癲癇發作的嚴重度, 但不若前置處理組。在 TW-001 後處理組(post-treatment), TW-001 可以降低大鼠癲癇發作的嚴重度, 但效果又不如 KA 和 TW-001 同時處理組及前置處理組(圖九)。

TW-001 神經毒性試驗：在急性神經毒性試驗中, 大鼠分組分別餵食安慰劑, TW-001 2g/kg, 4g/kg, 8g/kg, 16g/kg 和 32g/kg, 1 小時後, 放置於 Rotarod treadmills 上測試, 各組的結果並無差異。在慢性神經毒性試驗中, 大鼠分別餵食 TW-001 2g/kg 和 4g/kg, 餵食前 1 天和餵食後每天施予 Rotarod treadmills 測試連續 16 天, 結果兩組與基準值並無明顯差異。顯示 TW-001 既無急性亦無慢性神經毒性的不良反應(圖十)。

TW-001 在大鼠的全身毒性試驗：將大鼠分組, 分別餵食安慰劑、TW-001

4g/kg, TW-001 8g/kg 和 TW-001 32 g/kg, 早晚餵食, 2 週後由大鼠的腎靜脈抽血做血液檢查, 生化檢查和電解質檢查, 3 組實驗組和安慰劑組在統計上無差異, 顯示 TW-001 劑量到 32g/kg 仍無全身性毒性產生(表一)。

肆、討論

在漢醫和其它的傳統醫家, 醫師大多只能依經驗調配藥物醫治病人, 根本無法明確地預期藥物的效果和不良的反應, 主要原因之一當然是所用的藥味多成份複雜及製備過程無法標準化[6]。TW-001 在這兩年多的研究已解開其具有抗癲癇作用效果的端倪, 了解其可能的抗癲癇作用的機轉, 主要是經由抑制鈉和鈣離子管道的不正常電氣生理病理反應[2]。目前上市的抗癲癇藥物 phenytoin 主要經抑制鈉離子管道[7], Lamotrogine 亦主要經由抑制鈉離子管道和可能降低興奮性神經傳進物質 glutamate 的分泌[8], valproate 主要經由抑制鈉離子管道和影響鈣離子通道和 GABA 的作用[9], vigabatrin 主要經由抑制 GABA transaminase 的作用[10], 來達到抗癲癇發作的的作用。在 PTZ 和 MES 組急性試驗時, 低劑量的 TW-001 和低劑量的 PHT、LTG 和 VPA 單獨使用時不能產生明顯的抗癲癇作用, 此時 TW-001 和 PHT、LTG 和 VPA 合併則可能產生明顯的抗癲癇作用, 但與 VGT 合併使用則無此效果。顯示 TW-001 與鈉離子管道阻斷劑的抗癲癇藥物有著加成-協同作用, 而與 GABA 類的 VGT 則無此作用。在高劑量的 TW-001 4g/kg 和 PHT、LTG 和 VPA 和 VGT 的 MES 和 PTZ 的急性試驗, 本身皆可單獨顯著提昇抗癲癇效果, 合併使用時更能顯著地提昇抗癲癇作用, 且在 MES 組時以 TW-001 4g/kg+LTG 2mg/kg 效果最佳, 在 PTZ 組時以 TW-001 4g/kg+PHT 10mg/kg 或 LTG 2mg/kg 效果最佳, 而 TW-001 4g/kg+VGT 1g/kg 在 MES 和 PTZ 皆有顯著提昇抗癲癇作用, 但效果不若 LTG 和 PHT。

上述結果顯示 TW-001 和各類抗癲癇藥物併用時有不同的'加成/協同'機制, 例如 TW-001, PHT, LTG 和 VPA 個別對鈉離子管道的作用機制可能不同, 因為在併用時顯現其加成作用。此外 TW-001 對鈣離子管道的影響也可能佔有

重要的角色。

在 MES 和 PTZ 組的慢性試驗，在 TW-001 2g/kg+低量 AEDs 時，其提昇抗癲癇效果皆優於同條件的急性試驗組，但在 TW-001 4g/kg+低劑量的 AEDs 時以 VGT 和 VPA 組提昇抗癲癇的效果最顯著。顯現 TW-001 和 AEDs 長期使用的“加成/協同”作用將可繼續增加，而 GABA 類有關的抗癲癇藥物的“加成/協同”作用將更加的增益。

Kainic acid (KA) 注射入腦組織將藉由興奮性毒性機轉 (excitotoxic mechanism)，產生過量的自由基破壞神經細胞誘發癲癇發作[11]。TW-001 在 KA 誘發癲癇發作前置處理將可顯著地降低癲癇發作的嚴重度，甚至可降低至非癲癇的程度，且前置處理的時間愈長效果愈好，當 KA 和 TW-001 同時給予時，仍可降低癲癇發作的嚴重度，但不若前置處理者。在施予 KA 後再給 TW-001 則抑制癲癇發作的效果不如 KA 和 TW-001 同時給予者，顯示 TW-001 可能具有預防癲癇發生和降低癲癇發作的嚴重度。

伍、結論與建議

本研究結果得知，TW-001 和市售的抗癲癇藥物合併使用具有顯著的“加成-協同”作用，且使用的時間愈長效果愈好。在 Kainic acid 誘發癲癇發作能顯著降低癲癇發作的嚴重度，尤其在注射 KA 之前或同時給予 TW-001 效果最好。在毒性試驗具有很高的安全性。綜合以上的結果，TW-001 值得進一步做臨床人體試驗研究。而進一步分析探討 TW-001 中那些成份或其組合最具抗癲癇作用也是很值得的研究。

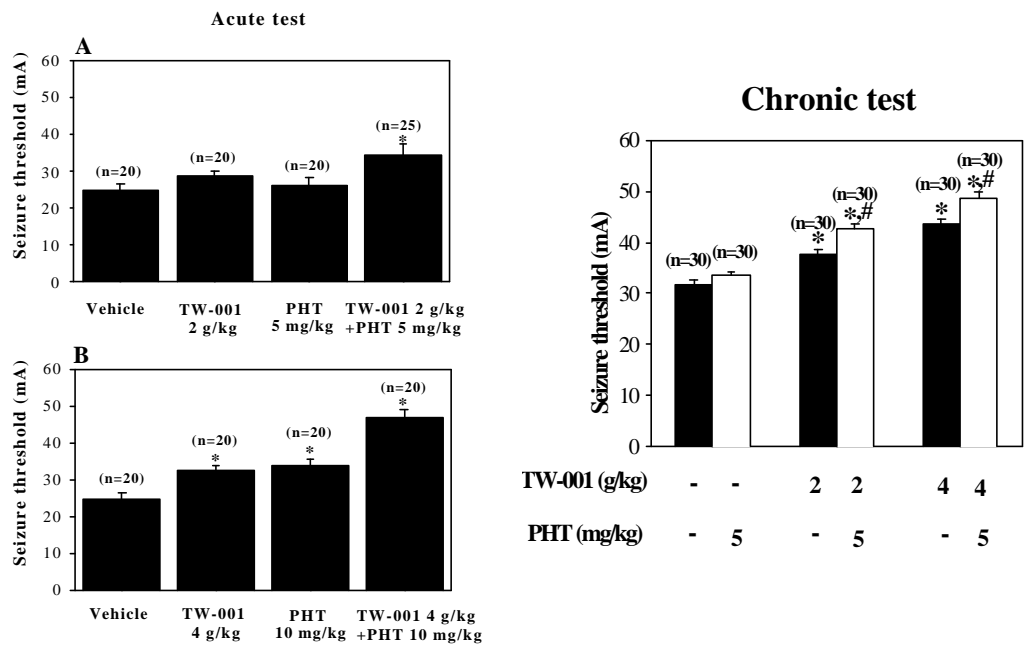
陸、參考文獻

1. White HS, Woodhead JH, Franklin MR, Swinyard EA, Wolf HH. General Principles: Experimental Selection, Quantification and Evaluation of Antiepileptic Drugs. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS(eds), Antiepileptic Drugs, 4th ed Raven Press, New York, PP 99-110.

2. Bloom FE: Neurotransmitters: post, present, and future direction, FASEB 1988;2:32.
3. Upton N, Blackburn TP, Campbell CA, Cooper D, Evans ML, Herdon HJ, King PD, Ray AM, Stean TO, Chan WN, Evans JM and Thompson M: Profile of SB-204269, a mechanistically novel anticonvulsant drug, in rat models of focal and generalized epileptic seizures. Br. J. Pharmacol. 1997;121:1679-1686.
4. Beekman M, Ungard JT, Gasior M, Carter RB, Dijkstra D, Goldberg SR and Witkin JM: Reversal of behavioral effects of pentylenetetrazol by the neuroactive steroid ganaxolone. J. Pharmacol. Ther. 1998;284:868-877.
5. Lancaster B and Wheal H: A comparative histological and electrophysiological study of some neurotoxins in the hippocampus. J. Comp. Neurol. 1982;211:105-114.
6. Wu HM, Huang CC, Li LH, Tsai JJ, Hsu KS: The Chinese herbal medicine Chai-Hu-Long-Ku-Mu-Li-Tan (TW-001) exerts anticonvulsant effects against different experimental models of seizure in rats. Jpn.J.Pharmacol 2000;82:247-260.
7. Ayala GF, Johnston D: The influence of phenytoin on the fundamental electrical properties of simple neural systems. Epilepsia 1977;2:308-317.
8. Leach MJ, Marden CM, Miller AA: Pharmacological studies on lamotrigine, a novel potential antiepileptic drug. Epilepsia 1986;27:490.
9. Leveil V, Naquet R: A study of action of valproic acid on the kindling effect. Epilepsia 1977;18:229-234.
10. Hammond EJ, Wilder BJ: Efficacy of a new anticonvulsant r-vinyl GABA in experimental seizure models. Neurology 1983; 33(supple 2):216.
11. Olney JW, Rhee V, Ho OL: Kainic acid: a powerful neurotoxic, analog of glutamate. Brain Res 1974;77:501-512.

柒、圖表

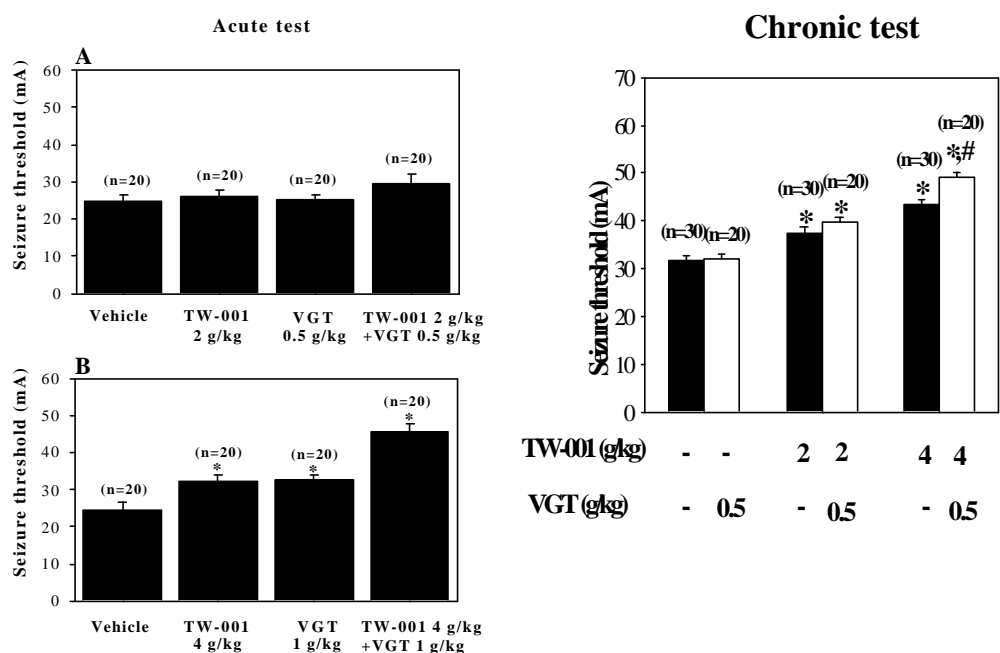
圖一、急性、慢性試驗：MES 組 TW-001 和 Phenytoin 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group

#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

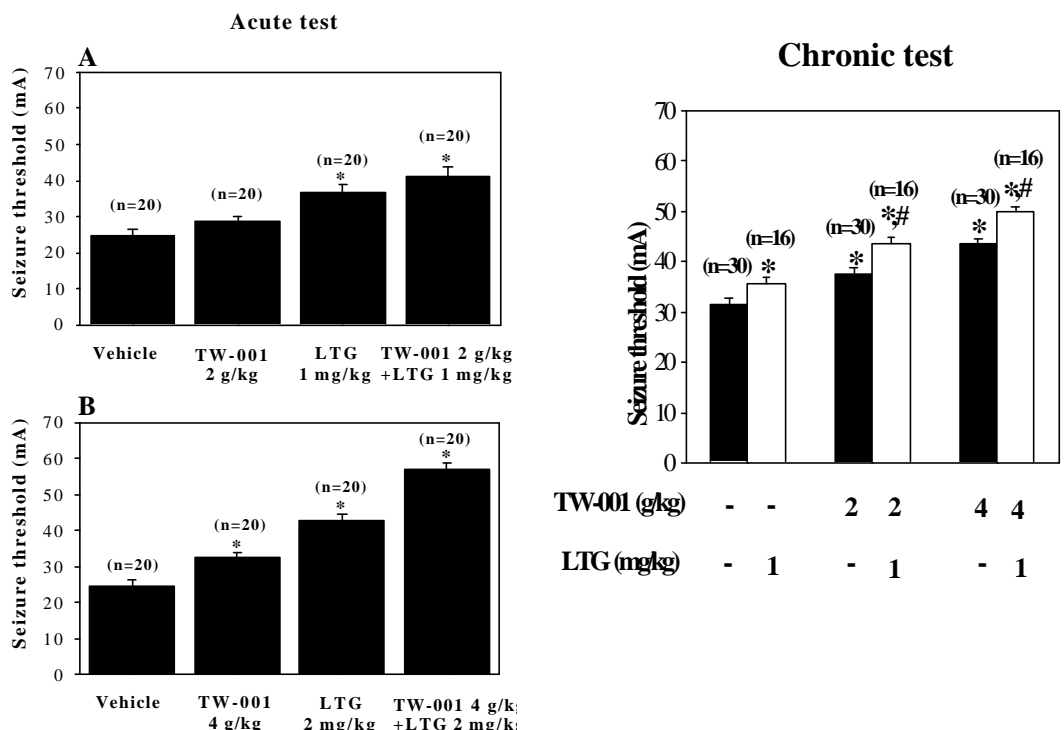
圖二、急性、慢性試驗：MES 組 TW-001 和 Vigabatrin 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group

#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

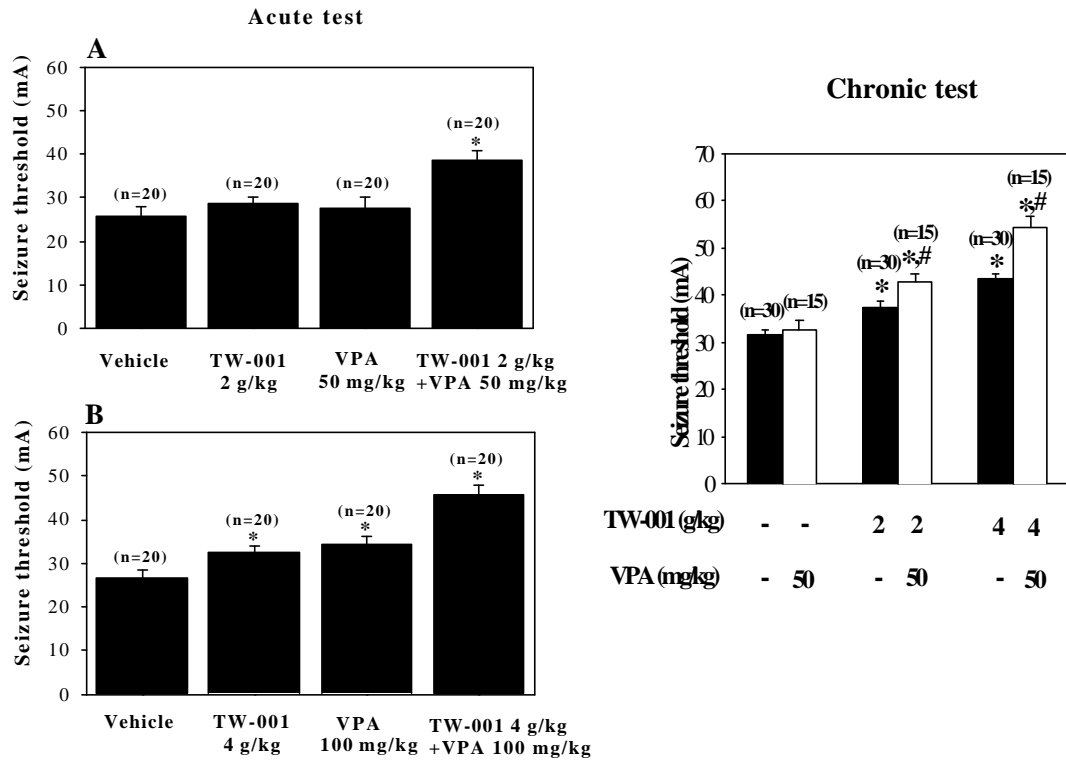
圖三、急性、慢性試驗：MES 組 TW-001 和 Lamotrigine 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group

#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

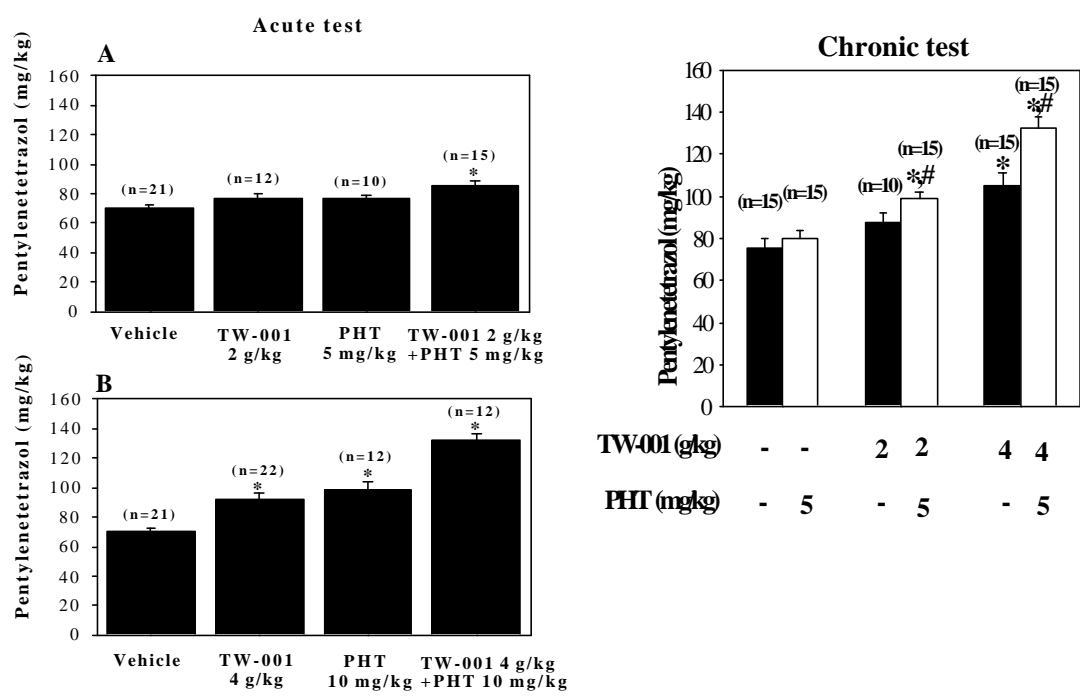
圖四、急性、慢性試驗：MES 組 TW-001 和 Valproic acid 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group

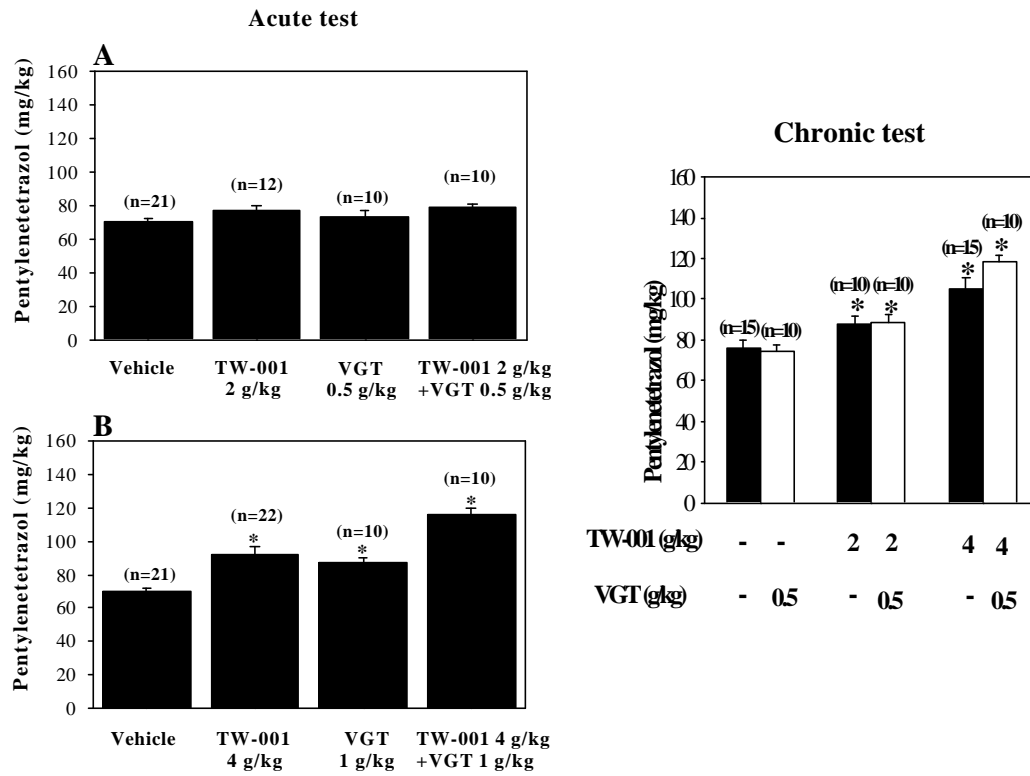
#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

圖五、急性、慢性試驗：PTZ 組 TW-001 和 Phenytoin 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group
#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

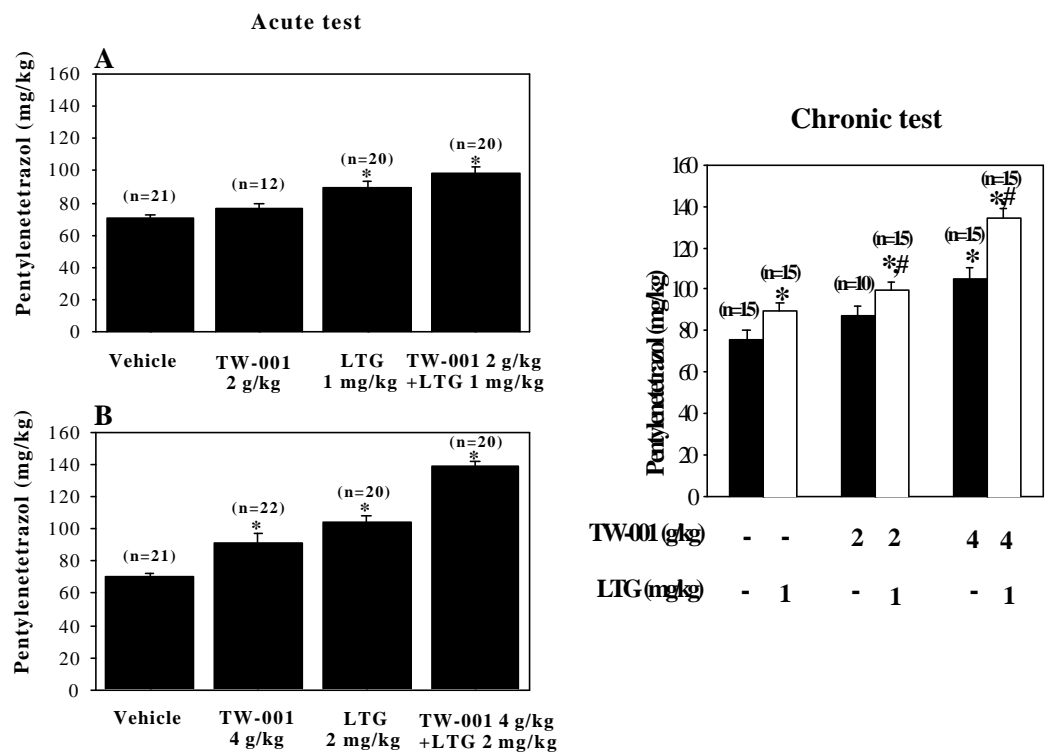
圖六、急性、慢性試驗：PTZ 組 TW-001 和 Vigabatrin 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group

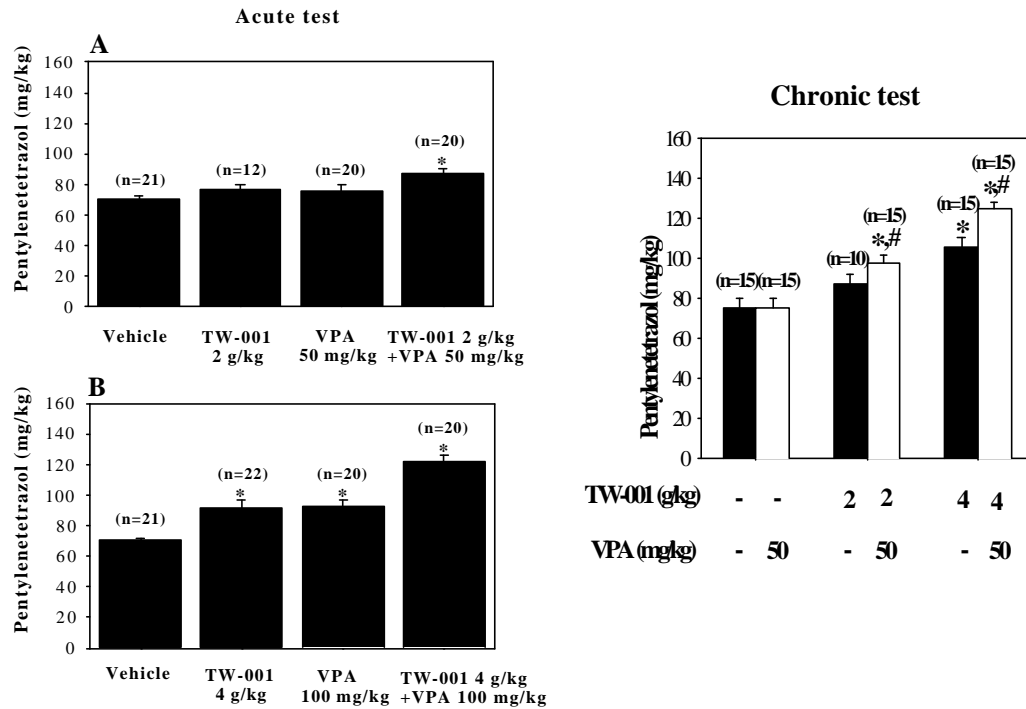
#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

圖七、急性、慢性試驗：PTZ 組 TW-001 和 Lamotrigine 合併使用的療效評估



*P<0.05 compared with vehicle group
#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

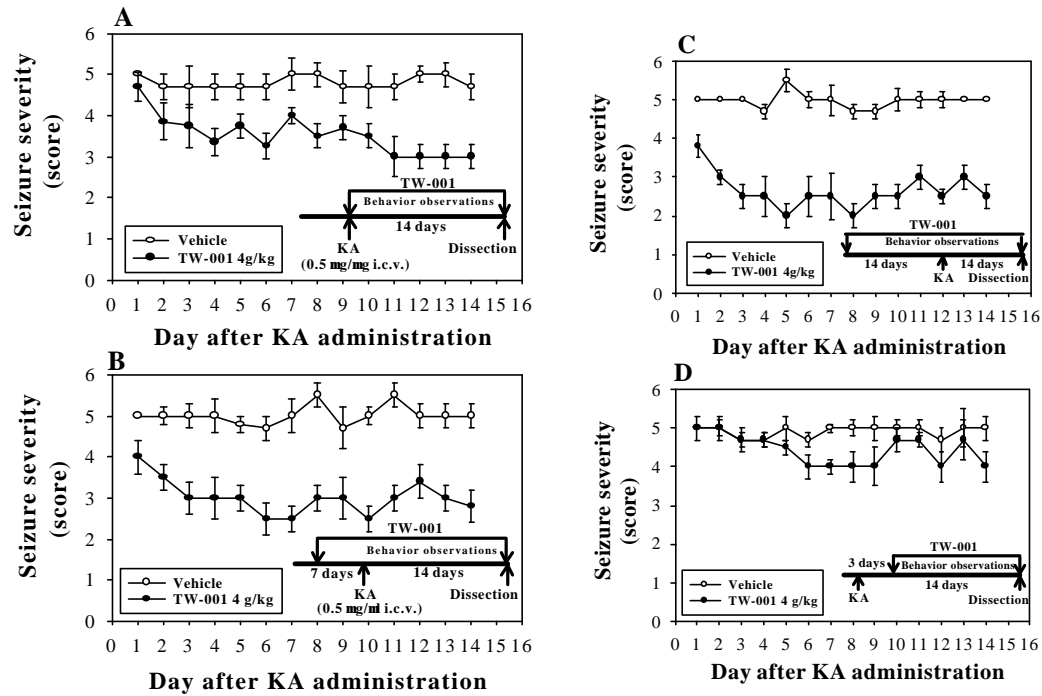
圖八、急性、慢性試驗：PTZ 組 TW-001 和 Valproic acid 合併使用的療效評估



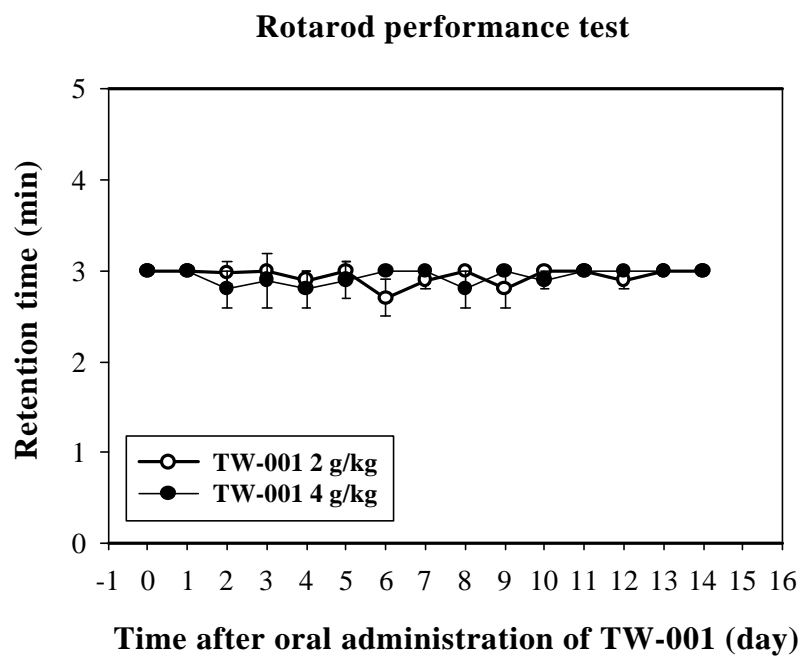
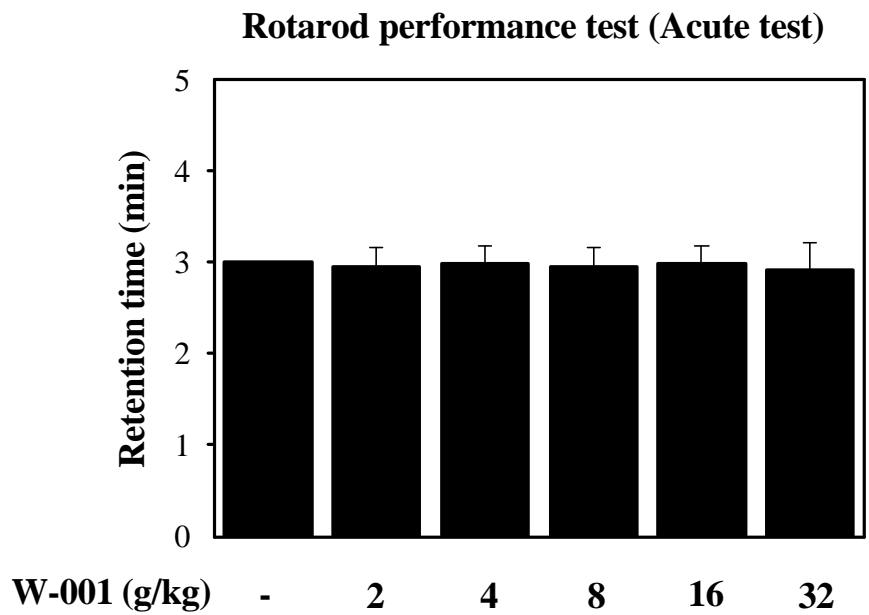
*P<0.05 compared with vehicle group

#P<0.05 compared with TW-001 2g/kg and TW-001 4g/kg respectively

圖九、TW-001 在 KA 誘發癲癇發作的療效評估



圖十、神經毒性試驗(一)



表一、血液生化毒性試驗

	血球					電解質				生化			
	WBC/ 10^3	RBC/ 10^6	HCT/	HB	Plat/ 10^4	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	BUN	Cr	GOT	GPT	
安慰組 (N=5)	11.2± 2	7.26± 0.37	43.38± 7.6	13.8± 0.6	99± 15	143± 0.3	4.3± 0.5	95± 2.1	17.2± 1.1	0.7± 0.1	148± 16	54± 6.7	
TW-001 4g/kg 組 (N=5)	11.6± 1.6	7.5± 0.41	45.75± 1.4	14.2± 0.8	92± 9.8	142± 2	4.25± 0.4	94± 1.9	17.4± 0.8	0.7± 0.1	139± 20	55± 5.6	
TW-001 8g/kg 組 (N=5)	11.8± 2.2	7.56± 0.51	44.88± 4.0	14.1± 1.1	91± 12	142± 1.0	4.3± 0.4	95± 1.01	17.4± 1.1	0.7± 0.15	143± 17	54± 4.9	
TW-001 32g/kg 組 (N=5)	11.6± 2.4	7.16± 0.47	43.48± 2.7	14.1± 1.3	90± 11	141± 2.0	4.3± 0.3	94± 1.9	18.1± 0.4	0.7± 0.1	142± 21	55± 3.8	