

贝那替秦对最大电休克发作模型和戊四氮惊厥发作阈模型小鼠的抗惊厥作用

陈小飞², 李建雄³, 王永安¹

(1. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850; 2. 解放军总参谋部总医院药剂科, 北京 100091; 3. 解放军总医院肿瘤内科, 北京 100853)

摘要:目的 评价贝那替秦等抗胆碱药在不同惊厥模型的抗惊厥疗效, 探讨其可能的作用机制。方法 通过 ig 给予贝那替秦 2~40 mg·kg⁻¹ 记录最大电休克发作模型 (MES) 及戊四氮惊厥发作阈模型 (MST) 模型小鼠的未出现惊厥数。制备新生 Wistar 小鼠海马神经元细胞, 加入贝那替秦 1~100 μmol·L⁻¹, MTT 检测细胞存活率。结果 贝那替秦 2~40 mg·kg⁻¹ 在 MES 模型未出现惊厥数为 2/10~7/10, 在 MST 模型上未出现惊厥数为 1/10~9/10 均明显高于模型组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 2 个模型的 ED₅₀ 分别为 12.2 (4.7~53.6) mg·kg⁻¹ 和 12.5 (7.0~25.9) mg·kg⁻¹。贝那替秦 1~100 μmol·L⁻¹ 能明显对抗 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (NMDA) 对海马神经元的损伤作用, 细胞存活率明显增加 ($P < 0.05$)。结论 贝那替秦在 MES 及 MST 惊厥模型均具明显抗惊厥作用, 其作用机制可能与其对 NMDA 受体的拮抗作用有关。

关键词: 贝那替秦; *N*-甲基-*D*-天冬氨酸; 惊厥

中图分类号: R971.92 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)03-0258-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.03.008

胆碱能拮抗剂贝那替秦 (benactyzine) 是军事医学科学院毒物药物研究所研发的“解磷注射液”的主要成分, 其对有机磷中毒所具有的良好治疗效果已获大量临床验证。既往研究结果表明, 贝那替秦与胆碱酯酶重活化剂氯解磷定伍用时, 可显著提升有机磷农药中毒患者治愈率、缩短住院时间、降低治疗费用, 其作用明显优于阿托品与氯解磷定伍用的临床常规治疗方案^[1]; 而 McDonough 等^[2] 则发现贝那替秦在对抗另外一种有机磷毒物梭曼中毒所致惊厥的过程中, 表现出独特的作用机制: 在梭曼所致惊厥发作后期, 在阿托品及东莨菪碱等抗胆碱药失去抗惊厥疗效时, 贝那替秦常规剂量下仍具显著抗惊厥作用^[2]。由于非胆碱能系统特别是 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (*N*-methyl-*D*-aspartate, NMDA)、 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 受体功能异常目前被认为可能是梭曼所致惊厥后期得以维持

和延续的主要原因^[3], 因此, 贝那替秦在梭曼所致惊厥后期所表现出的明显抗惊厥作用, 提示其抗惊厥作用机制除在于其已知的抗胆碱作用外, 还可能与其对非胆碱受体的直接拮抗作用相关。

为进一步探讨贝那替秦对有机磷毒剂中毒特别是梭曼所致惊厥的作用机制, 本实验通过与 NMDA 和 GABA 等非胆碱受体功能紊乱密切相关^[4-5] 的惊厥模型即最大电休克发作模型 (maximal electroshock seizure, MES) 和戊四氮惊厥发作阈模型 [penterazol (Metrazol seizure threshold test, MST)], 评价比较了贝那替秦、盐酸戊乙奎醚及阿托品等抗胆碱药的抗惊厥疗效; 在此基础上, 制备致死剂量 NMDA 中毒小鼠模型及 NMDA 诱导原代培养大鼠海马神经细胞损伤模型, 同时在体内体外水平进一步观察上述药物对 NMDA 受体的对抗作用。

1 材料与方法

1.1 小鼠

昆明小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~22 g; 由军事医学科学院实验小鼠中心提供, 小鼠合格证号: SCXK-(军)-2002-001。新生 Wistar 大鼠 (<12 h)。

1.2 药品和试剂

盐酸戊乙奎醚 (批号: 030610, 纯度 99.8%); 阿托品 (批号: 051025, 纯度 99.1%) 及贝那替秦 (批

基金项目: 国家新药创制重大专项 (2008ZXJ09002-003); 国家新药创制重大专项 (2008ZXJ09009-001); 国家自然科学基金资助项目 (30400551); 国家自然科学基金资助项目 (30500682)

作者简介: 陈小飞 (1979-), 女, 主管药师, 硕士研究生, 主要从事药理毒理学研究。

通讯作者: 王永安, E-mail: yonganw908@yahoo.com.cn, Tel: (010)66874607

号:7108,纯度 98.6%)均由军事医学科学院毒物药物研究所提供;东莨菪碱,批号:K28714647 购自德国 Merck 公司;地西洋注射液,批号:0907301,由天津金耀氨基酸有限公司生产;地佐环平(dizocilpine, MK-801)、NMDA 及戊四氮为美国 Sigma 公司产品;噻唑蓝(MTT)为 Merck 产品;苯妥英钠,批号:030320 及巴比妥钠,批号:000510 购于北京化学试剂公司;DMEM 高糖培养基、胎牛血清、马血清、N-2 添加剂、B-27 添加剂、胰蛋白酶和 L-多聚赖氨酸及阿糖胞苷均购于美国 Gibco 公司;L-谷氨酰胺(批号:0508255)购自 Amresco 公司;青霉素,链霉素购自华北制药厂。

1.3 主要仪器

电惊厥仪(军事医学科学院仪器厂);超级洁净工作台(哈尔滨市东联电子科技有限公司);MCC/340 型多孔扫描分光光度计(美国 Flow 公司);二氧化碳培养箱(德国 Heraeus 公司)。

1.4 最大电休克发作模型抗惊厥实验^{[6]675}

选用抗胆碱药阿托品及盐酸戊乙奎醚作为阴性对照药,选用临床常用抗癫痫药苯妥英钠及巴比妥钠作为阳性对照药,评价、比较贝那替秦及上述药物的抗惊厥疗效。按照分组设计分别 ip 给予贝那替秦(2, 5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹), 苯妥英钠(5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹), 巴比妥钠(5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹), 阿托品(10, 20 和 40 mg·kg⁻¹)和盐酸戊乙奎醚(10, 20 和 40 mg·kg⁻¹), 模型对照组小鼠按 0.01 ml·g⁻¹ 给予相应体积的生理盐水, 30 min 后,参照文献[6]将齿状夹电极浸生理盐水,分别夹于小鼠两耳,然后通以周期为 0.2 s,频率为 60 Hz,强度为 7.93 mA 的电流,以给药后未出现后肢伸展的强直性惊厥作为惊厥控制的指标。

1.5 戊四氮所致惊厥模型的抗惊厥实验^{[6]676}

按照分组设计分别 ip 给予贝那替秦(2, 5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹) 苯妥英钠(5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹)、巴比妥钠(1, 10, 15, 20 和 30 mg·kg⁻¹)、阿托品(10, 20 和 40 mg·kg⁻¹)和盐酸戊乙奎醚(10, 20 和 40 mg·kg⁻¹), 模型对照组小鼠按 0.01 ml·g⁻¹ 给予相应体积的生理盐水, 30 min 后 sc 给予致惊剂量戊四氮 92.1 mg·kg⁻¹, 以小鼠给药后未出现躯体强直性痉挛作为惊厥控制的指标,观察药物的抗戊四氮致惊疗效。

1.6 测定对 NMDA 致死小鼠的对抗作用^[7]

小鼠 ip 给予地佐环平 2 mg·kg⁻¹、地西洋 10, 20, 40 和 80 mg·kg⁻¹、阿托品 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹、盐酸戊乙奎醚 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 及贝那替秦 10,

20, 30 和 40 mg·kg⁻¹, 30 min 后,再 ip 给予致死剂量 NMDA 190 mg·kg⁻¹, 记录小鼠在 NMDA 注射后 4 h 活存数量;对照组小鼠按 0.01 ml·g⁻¹ 给予相应体积的生理盐水。

1.7 MTT 法测定 NMDA 诱导的原代培养大鼠海马神经细胞存活率^[8]

新生 Wistar 大鼠(<12 h)断头并分离出海马,参照既往方法分散、消化并培养海马细胞。至培养后 12 d,将培养细胞的 96 孔板取出,吸去细胞液,分别加入由地佐环平 1 μmol·L⁻¹、阿托品 100 μmol·L⁻¹、盐酸戊乙奎醚 100 μmol·L⁻¹、贝那替秦 10 和 100 μmol·L⁻¹ 及 NMDA 200 μmol·L⁻¹ 组成的高糖无血清 DMEM, 37°C 5% CO₂ 培养 24 h(对照组不含任何药品)。此后,吸去培养液,用含 10% 胎牛血清及 10% 马血清的 DMEM 液洗 2 遍,每孔加入含浓度为 MTT 0.5 g·L⁻¹ 的无血清 DMEM, 培养 4 h 后吸去培养液,每孔加入 10% SDS 100 μl。12~16 h 后,待蓝色颗粒完全溶解,用多孔扫描分光光度计测定标本在 570 nm 波长处的吸光度(absorbance, A)值,细胞存活率(%) = $A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.8 统计学分析

采用 SAS 软件中的 Fisher 精确检验及 ANOVA 方差分析进行统计学分析;ED₅₀ 值的计算采用概率单位(Probit)法。

2 结果

2.1 贝那替秦在最大电休克发作模型的抗惊厥作用

如表 1 所示,在 MES 模型上,贝那替秦 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 和临床常用抗癫痫药苯妥英钠 20 和 40 mg·kg⁻¹ 及巴比妥钠 20 和 40 mg·kg⁻¹ 均具明显抗惊厥作用($P < 0.05$, $P < 0.01$);其中,贝那替秦抗 MES 的 ED₅₀ 值 12.2(4.7~53.6) mg·kg⁻¹ 低于巴比妥钠 15.2(5.5~24.1) mg·kg⁻¹ 及苯妥英钠 16.6(7.1~26.3) mg·kg⁻¹;而阿托品及盐酸戊乙奎醚 10~40 mg·kg⁻¹ 无明显抗惊厥作用。

2.2 贝那替秦在戊四氮惊厥发作阈模型上的抗惊厥作用

如表 2 所示,在 MST 上,贝那替秦 20 和 40 mg·kg⁻¹ 及巴比妥钠 20 和 30 mg·kg⁻¹ 均具明显抗惊厥作用($P < 0.05$, $P < 0.01$),且贝那替秦抗 MST 的 ED₅₀ 值 12.5(7.0~25.9) mg·kg⁻¹ 同样低于临床常用抗癫痫药巴比妥钠 17.2(12.8~22.6) mg·kg⁻¹;同时可见另外一种临床常用抗癫痫药苯妥英钠 5, 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 在所选用剂量范围

表 1 贝那替秦等药物在最大电休克发作模型 (MES) 上小鼠的抗惊厥作用

Tab. 1 Anticonvulsant effects of benactyzine and other chemicals on maximal electroshock seizure (MES) mice

| 组别 | 未出现惊厥小鼠数/总数 |
|-----------|-------------|
| MES 模型 | 0/10 |
| 贝那替秦 2 | 2/10 |
| 5 | 3/10 |
| 10 | 5/10* |
| 20 | 6/10** |
| 40 | 7/10** |
| 苯妥英钠 5 | 2/10 |
| 10 | 4/10 |
| 20 | 6/10** |
| 40 | 9/10** |
| 巴比妥钠 5 | 2/10 |
| 10 | 4/10 |
| 20 | 7/10** |
| 40 | 9/10** |
| 阿托品 10 | 2/10 |
| 20 | 3/10 |
| 40 | 2/10 |
| 盐酸戊乙奎醚 10 | 2/10 |
| 20 | 2/10 |
| 40 | 3/10 |

小鼠 ip 给予贝那替秦 2~40 mg·kg⁻¹、苯妥英钠 5~40 mg·kg⁻¹、巴比妥钠 5~40 mg·kg⁻¹、阿托品 10~40 mg·kg⁻¹、盐酸戊乙奎醚 10~40 mg·kg⁻¹ 后 30 min, 给予可引起全部小鼠惊厥的电流(周期 0.2 s, 频率 60 Hz, 强度 7.93 mA) 刺激。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 MES 模型组比较。

内无抗惊厥作用, 不能测定 ED₅₀ 值。此外, 与在 MES 模型上的抗惊厥效果类似, 阿托品及盐酸戊乙奎醚在所选剂量 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 范围内无明显抗惊厥作用。

2.3 贝那替秦等对 NMDA 致死剂量中毒小鼠的对抗作用

如表 3 所示, 小鼠 ip 给予致死剂量 NMDA 190 mg·kg⁻¹ 后不久, 模型对照组 9 只小鼠均出现过度激惹、前抓样运动、翘尾, 最后惊厥发作导致全身抽搐, 因呼吸抑制而全部死亡。与模型组相比, ip 给予 NMDA 受体特异性拮抗剂 MK-801 2 mg·kg⁻¹ 可完全对抗 NMDA 的致死效应 ($P < 0.01$), 9 只小鼠全部存活; 贝那替秦 20, 30 和 40 mg·kg⁻¹ 同样可显著

表 2 贝那替秦等药物在戊四氮惊厥发作阈模型 (MST) 小鼠上的抗惊厥作用

Tab. 2 Anticonvulsant effects of benactyzine and other chemicals on penterazol (Metrazol) seizure threshold test (MST) mice

| 组别 | 未出现惊厥小鼠数/总数 |
|-----------|-------------|
| MST 模型 | 0/10 |
| 贝那替秦 2 | 1/10 |
| 5 | 3/10 |
| 10 | 4/10 |
| 20 | 5/10* |
| 40 | 9/10** |
| 巴比妥钠 1 | 1/10 |
| 10 | 2/10 |
| 15 | 3/10 |
| 20 | 7/10** |
| 30 | 9/10** |
| 苯妥英钠 5 | 2/10 |
| 10 | 1/10 |
| 20 | 2/10 |
| 40 | 2/10 |
| 阿托品 10 | 1/10 |
| 20 | 2/10 |
| 40 | 1/10 |
| 盐酸戊乙奎醚 10 | 3/10 |
| 20 | 3/10 |
| 40 | 3/10 |

小鼠 ip 给予贝那替秦 2~40 mg·kg⁻¹、苯妥英钠 5~40 mg·kg⁻¹、巴比妥钠 1~30 mg·kg⁻¹、阿托品 10~40 mg·kg⁻¹、盐酸戊乙奎醚 10~40 mg·kg⁻¹ 后 30 min, sc 致惊剂量戊四氮 92.1 mg·kg⁻¹。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与 MST 模型组比较。

提升中毒小鼠存活数量 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 9 只小鼠有 5~6 只存活; 但 GABA 受体激动剂地西洋 10, 20, 40 和 80 mg·kg⁻¹、抗胆碱药阿托品 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 及盐酸戊乙奎醚 10, 20 和 40 mg·kg⁻¹ 等给药组小鼠全部死亡, 与模型组相比无显著差异。

2.4 贝那替秦等药物对 NMDA 诱导的原代培养大鼠海马神经细胞损伤的保护作用

如表 4 所示, NMDA 200 μmol·L⁻¹ 可明显诱发大鼠海马神经细胞损伤; 而贝那替秦 1, 10 和 100 μmol·L⁻¹ 可显著对抗 NMDA 的致死效应 ($P < 0.01$), 其作用类似于特异性的 NMDA 受体拮抗剂

表 3 贝那替秦等药物对 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸 (NMDA) 致死小鼠的对抗作用

Tab.3 Antagonism of *N*-methyl-*D*-aspartic acid (NMDA)-induced lethality by benactyzine and other chemicals in mice

| 组别 | 存活小鼠数/总数 |
|-----------|----------|
| NMDA 模型 | 0/9 |
| 贝那替秦 10 | 0/9 |
| 20 | 5/9* |
| 30 | 5/9* |
| 40 | 6/9** |
| 地佐环平 2 | 9/9** |
| 地西洋 10 | 0/9 |
| 20 | 0/9 |
| 40 | 0/9 |
| 80 | 0/9 |
| 阿托品 10 | 0/9 |
| 20 | 0/9 |
| 40 | 0/9 |
| 盐酸戊乙奎醚 10 | 0/9 |
| 20 | 0/9 |
| 40 | 0/9 |

小鼠 ip 给予贝那替秦 10~40 mg·kg⁻¹、地佐环平 2 mg·kg⁻¹、地西洋 10~80 mg·kg⁻¹、阿托品 10~40 mg·kg⁻¹、盐酸戊乙奎醚 10~40 mg·kg⁻¹ 后 30 min, 再 ip 给予致死剂量 NMDA 190 mg·kg⁻¹。记录 4 h 后小鼠存活数量。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 4 贝那替秦对 NMDA 诱导海马神经细胞损伤的作用

Tab.4 Effect of benactyzine on NMDA-induced hippocampal neuron damage

| 组别 | 存活率/% |
|-------------------|------------|
| 正常对照 | 100 ± 4 |
| NMDA 模型 | 63 ± 8** |
| NMDA + 贝那替秦 1 | 80 ± 6### |
| 10 | 93 ± 4### |
| 100 | 105 ± 8### |
| NMDA + 地佐环平 1 | 101 ± 3### |
| NMDA + 阿托品 100 | 59 ± 3 |
| NMDA + 盐酸戊乙奎醚 100 | 70 ± 8 |

药物作用 24 h. $\bar{x} \pm s$, $n = 9$. ** $P < 0.01$, 与正常对照组相比; ### $P < 0.01$, 与模型组比较。

地佐环平; 而阿托品及盐酸戊乙奎醚 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, 对海马神经细胞存活率无影响与模型对照

组存活情况相当。

3 讨论

贝那替秦是作用明确的抗胆碱药, 其在梭曼所致惊厥模型的良好抗惊厥作用已经大量研究证实。为更好解释贝那替秦的良好抗毒作用机制, 本实验通过建立多个经典小鼠模型, 观察了贝那替秦对 NMDA 及 GABA 等非胆碱能受体的影响。

本实验结果表明, 贝那替秦在 MES 及 MST 惊厥模型上均表现出明显的抗惊厥作用, 并且对致死剂量的 NMDA 中毒小鼠及 NMDA 诱导的原代培养大鼠海马神经损伤具明显保护作用; 其作用与经典毒蕈碱 (muscarine, M) 受体拮抗剂阿托品, 以及同时作用于 M 及烟碱 (nicotine, N) 受体的药物—盐酸戊乙奎醚存在明显不同。

目前一般认为, GABA 系统功能降低, 连同 NMDA 受体敏感性增强是 MES 主要的发生机制^[4,9]; 而戊四氮本身就是一种 GABA 受体拮抗剂, 大剂量可通过拮抗脑内相应的 GABA 受体, 引起相关脑区抑制性功能下降, 诱发惊厥发生^[5,10]。大量研究表明, 许多增强 GABA 受体功能^[9,11] 及抑制谷氨酸 (glutamate, Glu) 系统功能^[5,10] 的药物, 在 MES 及 MST 模型上均具良好抗惊厥疗效; 而一些胆碱能受体特异性拮抗剂如阿托品 (M 受体拮抗剂)^[12-13] 及盐酸戊乙奎醚 (M 及 N 受体拮抗剂)^[6] 均不能对抗 MES 或 MST。因此, MES 及 MST 无论从惊厥发生机制, 还是从治疗药物而言, 确与胆碱能系统无直接关系。贝那替秦在上述两种惊厥模型上所表现出的明显抗惊厥作用, 初步提示贝那替秦抗惊厥作用机制可能与其对 NMDA 及 GABA 受体的直接作用相关。

为进一步明确贝那替秦对 NMDA 及 GABA 受体作用的选择性, 又在 NMDA 致死模型上, 观察了上述药物对致死剂量 NMDA 中毒小鼠的保护作用。

NMDA 受体是 Glu 受体的主要亚型, 致死剂量的 NMDA 可过度激动 NMDA 受体, 使小鼠产生系列中毒症状, 最终导致小鼠死亡。目前, NMDA 致死模型被认为是“评价药物是否具有 NMDA 拮抗作用的药物作用终点”^[14]。在 NMDA 致死模型上, GABA 受体激动剂地西洋、M 受体拮抗剂阿托品、M 及 N 受体拮抗剂盐酸戊乙奎醚均不能对抗 NMDA 致死效应; 而既往研究结果也已证实, Glu 受体拮抗剂的其他亚型即非 NMDA 受体拮抗剂, 对 NMDA 致死效应亦无对抗作用^[15]。而贝那替秦在 NMDA 致死模型上所表现的对抗作用, 则初步提示贝那替秦可能

存在对 NMDA 受体直接拮抗作用。上述研究结果,在 NMDA 诱导的原代培养大鼠海马神经细胞损伤模型中得到进一步证实。在体外实验中,贝那替秦对 NMDA 诱导的海马神经细胞损伤仍具明显保护作用。因此,以上结果综合提示贝那替秦可能存在对 NMDA 受体的直接拮抗作用。

以梭曼为代表的有机磷毒剂中毒所致惊厥特别是惊厥后期的救治目前仍是国内外防化医学研究重点。既往已经证实对惊厥具明确拮抗作用的药物,如抗胆碱药、GABA 受体激动剂地西洋及 NMDA 受体拮抗剂等,在发挥良好抗惊厥作用的同时,均存在一定缺陷。如阿托品等抗胆碱药的抗惊厥作用仅限于惊厥发作早期,在后期完全失去抗惊厥疗效;地西洋类药物尽管在惊厥后期仍具显著抗惊厥作用,但亦同时存在惊厥控制后易复发、神经保护作用差等缺点;以 MK-801 为代表的 NMDA 受体拮抗剂虽然可以发挥良好抗惊厥及神经保护作用,但其本身所具有的神经精神样副作用又限制了药物的应用,因此并无实用价值。我们前期的研究结果已经初步证实,对 NMDA 受体具明确拮抗作用的抗胆碱药盐酸苯环壬酯^[3,12],其对梭曼中毒所致惊厥治疗效果明显优于国外目前推荐应用的抗胆碱药阿托品;而在本实验及既往研究中,贝那替秦在梭曼所致惊厥后期所表现的良好抗毒急救效果,以及其可能存在的对 NMDA 受体直接拮抗作用,则进一步验证了同时作用于 NMDA 受体的抗胆碱药,可能成为抗梭曼所致惊厥乃至有机磷毒剂中毒治疗药物的新的选择。因此,本实验为新作用特点抗胆碱药研究提供了新的研究方向。

参考文献:

- [1] 朱旭,王玉宾. 解磷注射液抢救急性有机磷农药中毒 154 例临床分析[J]. 内科, 2009, 4(2):240.
- [2] McDonough JH Jr, Shih TM. Pharmacological modulation of soman-induced seizures[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1993, 17(2):203-215.
- [3] Wang YA, Zhou WX, Li JX, Liu YQ, Yue YJ, Zheng JQ, et al. Anticonvulsant effects of phencyclonate hydrochloride and other anticholinergic drugs in soman poisoning: neurochemical mechanisms[J]. *Life Sci*, 2005, 78(2):210-223.
- [4] Makarska-Bialek K, Kamiński RM, Czuczwar SJ. Influence of the antagonist of the glycine site of NMDA receptors, MRZ 2/576, on the anticonvulsant activity of conventional antiepileptic drugs in mice[J]. *Pharmacol Rep*, 2005, 57(4):458-466.
- [5] Safar MM, Abdallah DM, Arafa NM, Abdel-Aziz MT. Magnesium supplementation enhances the anticonvulsant potential of valproate in pentylenetetrazol-treated rats[J]. *Brain Res*, 2010, 1334:58-64.
- [6] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理学实验方法学[M]. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1994.
- [7] Cruz SL, Gauthereau MY, Camacho-Muñoz C, López-Rubalcava C, Balster RL. Effects of inhaled toluene and 1,1,1-trichloroethane on seizures and death produced by N-methyl-D-aspartic acid in mice[J]. *Behav Brain Res*, 2003, 140(1-2):195-202.
- [8] Hansen MB, Nielsen SE, Berg K. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill[J]. *J Immunol Methods*, 1989, 119(2):203-210.
- [9] Guan LP, Zhao DH, Jiang Z, Piao HR, Quan ZS. Evaluation of anticonvulsant activity of QUAN-0806 in various murine experimental seizure models[J]. *Pharmazie*, 2009, 64(4):248-251.
- [10] Maciejak P, Szyndler J, Turzyńska D, Sobolewska A, Bidziński A, Kołosowska K, et al. Time course of changes in the concentrations of amino acids in the brain structures of pentylenetetrazole-kindled rats[J]. *Brain Res*, 2010, 1342:150-159.
- [11] Jain P, Sharma PK, Rajak H, Pawar RS, Patil UK, Singour PK. Design, synthesis and biological evaluation of some novel benzimidazole derivatives for their potential anticonvulsant activity[J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(7):971-980.
- [12] 王永安,周文霞,刘艳芹,阮金秀. 环壬酯等抗胆碱药对不同致惊厥剂的对抗作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2003, 17(2):111-116.
- [13] Khanna N, Ray A, Alkondon M, Sen P. Effect of beta-adrenoceptor antagonists and some related drugs on maximal electroshock seizures in mice[J]. *Indian J Exp Biol*, 1989, 27(2):128-130.
- [14] Leander JD, Lawson RR, Ornstein PL, Zimmerman DM. N-Methyl-D-aspartic acid-induced lethality in mice: selective antagonism by phencyclidine-like drugs[J]. *Brain Res*, 1988, 448(1):115-120.
- [15] Gmiro VE, Serdiuk SE. The search for selective blockers of NMDA and AMPA/kainate receptors in a series of bis-ammonium compounds with adamantyl radicals[J]. *Eksp Klin Farmakol*, 2000, 63(1):7-13.

Anticonvulsant effects of benactyzine on maximal electroshock seizure and pentetrazole seizure threshold test model mice

CHEN Xiao-fei², LI Jian-xiong³, WANG Yong-an¹

(1. Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;
2. Department of Pharmacy, General Hospital of General Staff of Chinese People's Liberation Army, Beijing 100850; 3. Department of Oncology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China)

Abstract: **OBJECTIVE** To evaluate the anticonvulsant effect of benactyzine and other anti-cholinergic drugs on different seizure models and investigate their anti-seizure mechanism. **METHODS** Benactyzine 2 – 40 mg·kg⁻¹ were given ig to mice. The number of mice without convulsant appearance was recorded in the maximal electroshock seizure (MES) and pentetrazole (Metrazol) seizure threshold test (MST) model. Benactyzine 1 – 100 μmol·L⁻¹ was added to primary cultured hippocampus neurons, and the cell survival was detected by MTT assay. **RESULTS** The number of mice without convulsant appearance was 2/10 – 7/10 in the MES model vs 1/10 – 9/10 in MST model. The ED₅₀ of benactyzine in MES model was 12.2 (4.7 – 53.6) mg·kg⁻¹ vs 12.5 (7.5 – 25.9) mg·kg⁻¹ in the MST model. The cell survival in benactyzine 1 – 100 μmol·L⁻¹ group was significantly higher than that of *N*-methyl-*D*-aspartic acid (NMDA) model group (*P* < 0.05). **CONCLUSION** Benactyzine shows significant anti-seizure effect on both MES and MST. The anticonvulsant mechanism might be related to its antagonism against NMDA receptors.

Key words: benactyzine; *N*-methyl-*D*-aspartic acid; seizure

Foundation item: The project supported by National Key Technologies R&D Program for New Drugs of China (2008ZXJ09002-003); National Key Technologies R&D Program for New Drugs of China (2008ZXJ09009-001); National Natural Science Foundation of China (30400551); and National Natural Science Foundation of China (30500682)

Corresponding author: WANG Yong-an, E-mail: yonganw908@yahoo.com.cn, Tel: (010) 66874607

(收稿日期: 2011-01-08 接受日期: 2011-05-18)

(本文编辑: 付良青)