

冰片对脑部疾病作用机制的研究进展

谭东宇¹, 王静宇¹, 康伟聪¹, 杨阳^{1*}, 杨桢^{2*}

(1. 河北中医学院 基础医学院, 石家庄 050200; 2. 北京中医药大学 中医学院, 北京 100029)

[摘要] 在传统中医药中,芳香开窍类的代表药物冰片常以“佐使”的功效广泛应用于神志类疾病的临床治疗。近年来,国内外很多学者通过对冰片的有效成分和药理作用进行深入的研究与分析,认为冰片的单独应用对于脑部疾病的作用显著。本文主要围绕冰片对脑循环系统以及中枢神经系统的作用机制展开论述。在抑制脑损伤方面,冰片可以降低神经元以血管内皮损伤,减轻脑水肿状态,降低缺血侧脑组织中 Ca^{2+} 的含量;在抗炎方面,冰片可以降低诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达,减少白细胞浸润的数目、减少细胞间黏附分子-1(ICAM-1)阳性血管数和 TNF- α 阳性细胞数;在调节血脑屏障方面,冰片可提高微血管内皮细胞上紧密连接蛋白-1(ZO-1)和紧密连接因子-5(claudin-5)蛋白的表达量;冰片透皮吸收的强弱,可能与其构型、抽提脂质的能力以及亲水性相关;冰片提高他药的生物利用度的作用,在临床应用比较广泛;冰片的鼻内给药可绕过血脑屏障(BBB),直达脑部中枢神经,在治疗脑血管病方面具有良好前景;在癫痫、阿尔茨海默病等脑部疾病的治疗方面,冰片的作用机制与其对各类脑神经递质如 γ -氨基丁酸(GABA)、甘氨酸(GLY)、天冬氨酸(ASP)及谷氨酸(GLU)、 β -内啡肽(β -EP)、去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)、5 羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)等密切相关,然而实验结果不尽相同,可能与冰片的不同给药剂量和时间有关,尚待研究。

[关键词] 冰片; 中枢神经系统; 脑循环系统; 非选择性阳离子通道; 综述; 机制
[中图分类号] R2-0;R22;R285. 5;R284 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)21-0212-08
[doi] 10. 13422/j. cnki. syfjx. 20192007
[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11. 3495. r. 20190701. 1648. 007. html>
[网络出版时间] 2019-07-04 13:28

Mechanism of Borneolum Syntheticum Effect on Central Nervous and Vascular System Diseases

TAN Dong-yu¹, WANG Jing-yu¹, KANG Wei-cong¹, YANG Yang^{1*}, YANG Zhen²

(1. College of Basic Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China;
2. College of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] In traditional Chinese medicine, Borneolum Syntheticum, a representative drug of aromatic orifice, is often widely used in the clinical treatment of neurotic diseases. In recent years, many scholars at home and abroad have studied and analyzed the effective components and pharmacological effects of Borneolum Syntheticum, and it is considered that Borneolum Syntheticum alone has a significant effect on brain diseases. In this paper, the mechanism of Borneolum Syntheticum on cerebral circulatory system and central nervous system is discussed. In inhibiting brain injury, Borneolum Syntheticum can reduce neuronal vascular endothelial injury, reduce brain edema and decrease the content of Ca^{2+} in ischemic brain tissue. In the aspect of anti-inflammation, Borneolum Syntheticum can reduce the expression of induced nitric oxide synthase (iNOS) and tumor necrosis factor- α (TNF- α), the number of leukocyte infiltration, the number of intercellular adhesion molecule-1

[收稿日期] 20190317(002)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81573847);河北省中医药管理局专项课题
[第一作者] 谭东宇,在读硕士,从事方剂与治法的机制研究,Tel:0311-89926263,E-mail:1309822793@qq.com
[通信作者] * 杨阳,博士,副教授,从事方剂与治法的机制研究,Tel:0311-89926263,E-mail:yangyangtcm@163.com;
* 杨桢,博士,教授,从事中医处方法、辛味中药药效的临床与机制研究,Tel:010-64286992,E-mail: for3000yz@ aliyun. com

(ICAM-1) positive vessels and the number of TNF- α positive cells. In regulating the blood-brain barrier, Borneolum Syntheticum can increase the expression of zonula occluden-1 (ZO-1) and claudin-5 protein in microvascular endothelial cells. The strength of the transdermal absorption of the Borneolum Syntheticum may be related to its configuration, the ability to extract the lipid, and the hydrophilicity. The effect of Borneolum Syntheticum on improving the bioavailability of other drugs is widely used in clinic. Nasal administration of Borneolum Syntheticum can bypass blood-brain barrier (BBB), and reach the central nervous system of the brain. It has a good prospect in the treatment of cerebrovascular disease. In the treatment of brain diseases such as seizures and Alzheimer's disease, the mechanism of Borneolum Syntheticum is closely related to its effect on various brain neurotransmitters such as γ -aminobutyric acid (GABA), glycine acid (GLY), *D*-aspartic acid (ASP), glutamic acid (GLU), β -endorphin (β -EP), norepinephrine (NE), epinephrine (E), 5-hydroxytryptamine (5-HT), dopamine (DA). However, the experimental results are not the same. It may be related to the different dosage and time of Borneolum Syntheticum administration, which needs to be studied.

[Key words] Borneolum Syntheticum ; central nervous system; cerebral circulatory system; non-selective cation channel; review; mechanism

冰片又称龙脑,《名医别录》载“龙脑香”,被收录于《新修本草》。2015 年版《中国药典》载,冰片分为天然冰片、合成冰片、艾片。天然冰片取材于樟科植物龙脑香树或称龙脑樟树的新鲜枝、叶茎,经人工提取、加工制成结晶,其主要成分是右旋龙脑[(+)-borneol],属于小分子脂溶性萜类化合物。龙脑樟的最佳采收年限为 2 年,最佳采收期为 11 月底至 12 月初^[1]。干燥效果以真空冷冻干燥最好,其次为真空干燥、恒温干燥和自然阴干^[2];合成冰片又称机制冰片,用樟脑及松节油经人工化学方法加工而成,主要成分为右旋龙脑、左旋龙脑[(-)-borneol]和异龙脑,其人工合成的副产物异龙脑具有较大的毒性;艾片取材于菊科植物艾纳香的新鲜叶,经人工提取、加工制成的结晶,其主要成分为左旋龙脑。冰片具有开窍醒神,通诸窍,清热止痛之功效。历代记载其功效如《新修本草》:“主心腹邪气,风湿积聚,耳聋,明目,去目赤肤翳”;《本草纲目》:“通诸窍、散郁火”;《本草衍义》:“独行则势弱,佐使则有功。”冰片常作为“药引”,被广泛应用于神志类疾病的中药方剂中,以增加其他药物的治疗效果,即中医所谓的“芳香走窜,引药上行”^[3]。现代研究发现,冰片对于脑部疾病的治疗作用主要涉及脑循环系统以及中枢神经系统,现综述如下。

1 对脑循环系统的作用机制

1.1 抗脑缺血损伤的作用机制 中医药具有整体调节、多靶点以及多组分等优势特点,可对脑缺血再灌注损伤后神经血管单元起到整体保护的作用^[4]。肇丽梅等^[5]发现冰片注射液减少了脑缺血再灌注小鼠跳台实验中回避反应中的错误次数,延长了 Y

型迷宫实验中的潜伏期,缩短了逃避时间,认为冰片可以改善小鼠脑缺血后的记忆障碍。田徽等^[6]发现艾片与合成冰片对脑缺血缺氧小鼠模型均有显著的脑保护作用,表现为小鼠的张口次数增加、存活时间延长,且艾片的作用优于合成冰片。DONG 等^[7]通过研究左旋龙脑、右旋龙脑和合成冰片 3 种冰片分别对永久性大脑中动脉闭塞的大鼠神经血管单元中的作用,结果表明左旋龙脑能明显改善脑缺血后 24 h 的神经功能缺损,*L*-冰片和合成冰片均能改善脑水肿和脑梗死面积。黄丽等^[8]研究发现, β -细辛醚、冰片、麝香酮及苏合香挥发油均能不同程度地改善缺血再灌注所致的脑损伤情况,其中冰片在降低脑含水量方面的效果是最强的。ZHANG 等^[9]发现超声靶向微泡破坏(UTMD)在缺血再灌注期对缺血脑微血管造成明显的内皮损伤,同时也增加了毛细血管内皮细胞质中的腔隙数,冰片能有效地减轻 UTMD 诱导的血管内皮损伤,维持血脑屏障(BBB)的完整性。体外细胞实验研究发现^[10],合成冰片可以显著抑制 Na₂S₂O₄ 对 PC12 细胞缺血缺氧的损伤,并对 PC12 细胞内 Ca²⁺ 的含量具有降低的趋势。可以看出,合成冰片对脑缺血小鼠的脑保护作用毋庸置疑,且很可能与抑制神经元损伤以血管内皮损伤密切相关。周宗元等^[11]研究发现,艾片与合成冰片均能改善脑缺血大鼠模型的体温升高,并认为其发挥脑保护作用机制与显著降低模型大鼠脑水肿率和降低缺血侧脑组织中 Ca²⁺ 含量密切相关。

1.2 抗炎的作用机制 KONG 等^[12]对小鼠双侧颈总动脉(CCA)和迷走神经进行结扎,结果发现,与空白对照组、溶剂对照组相比,冰片低、中、高剂量组

能显著延长小鼠断头后喘息时间,延长存活时间,且与血栓通注射液组相比,大剂量冰片组小鼠存活时间延长更明显,各冰片组均能显著减少白细胞浸润、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)阳性血管的数目以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)阳性细胞的数量。邵新然等^[13]采用酶联免疫吸附实验测定脑组织 TNF- α 含量并进行组间对比,结果显示,模型组 > 实验组 > 假手术组,且两两比较后均具有统计学意义,认为天然冰片可显著抑制炎症反应,从而减轻脑缺血-再灌注损伤。CHANG 等^[14]研究发现,右旋龙脑($1.0\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)可显著改善永久性脑缺血大鼠改善梗死面积和神经功能评分,并且该发生机制是以剂量依赖性地降低一氧化氮合酶(iNOS)和 TNF- α 的表达。何晓静等^[15]利用线栓法阻塞 Wistar 大鼠左侧大脑中动脉的方式,建立脑缺血再灌注损伤引起的局部炎症反应模型,结果表明与模型对照组比较,静脉注射冰片脂质体注射液可显著减少白细胞浸润的数目、减少 ICAM-1 阳性血管数和和 TNF- α 阳性细胞数,然而静脉注射冰片脂质体注射液具有减少白细胞介素- 1β (IL- 1β)表达的趋势,但无显著性差异。

1.3 调节血脑屏障的作用机制 杨乐等^[16]通过研究冰片对葛根素透过体外模拟 BBB 的影响,结果发现葛根素组、冰片+葛根素组透过率差异显著,认为冰片促进了葛根素透过 BBB,但其开窍机制还需通过细胞的相关紧密连接蛋白水平以及腺苷受体信号通路进一步探究。张娜等^[17]实验发现地西洋合用冰片相比于单用地西洋,大鼠脑纹状体兴奋性神经递质天冬氨酸(ASP)及谷氨酸(GLU)含量变化不明显,抑制性神经递质甘氨酸(GLY)及 γ -氨基丁酸(GABA)明显升高,说明冰片对地西洋透过血脑屏障有一定的促进作用,这为中西药联合应用提供实验依据。冰片对 BBB 的开放作用是一个可逆的生理过程,其特征是 BBB 的快速、短暂渗透和高特异性的脑区域分布。冰片不仅能保护血脑屏障的结构完整性,使其免受病理损伤,还可以进行全身性联合给药以区域、剂量和时间依赖的方式改善了对大脑的药物传递^[18]。赵保胜等^[19]采用自由落体撞击硬脑膜造大鼠脑挫裂伤模型,引起 BBB 病理性的开放,利用免疫组化染色技术测定各组大鼠伤侧脑皮质微血管内皮细胞 ICAM-1 的表达量,结果发现空白对照组无表达或有少量表达,合成冰片组未见显著增强,脑外伤组表达明显增强,脑外伤加合成冰片组表达明显减弱,表明冰片促血 BBB 开放与

ICAM-1 无关。

冰片对 BBB 通透性的调节作用是双向的,其作用机制复杂,与大脑内皮细胞的特殊结构即紧密连接的结构与功能,以及高表达的 P-糖蛋白(P-gp)外排作用和低胞饮内运作用有关^[20]。冰片也可以降低 BBB 通透性。徐露等^[21]研究发现,冰片联合灯盏花素组跨内皮细胞的电阻值明显升高,辣根过氧化物酶的 BBB 透过率明显降低,微血管内皮细胞上的紧密连接相关蛋白闭锁小带蛋白-1(ZO-1)和紧密连接因子 5(claudin-5)蛋白的表达量明显升高,从而使 BBB 的通透性下降。

1.4 促透血脑肿瘤屏障的作用机制 关于冰片促透血脑肿瘤屏障(BTB)开放的机制研究也在不断深入。邢燕梅等^[22]利用体外共培养大鼠 C6 脑胶质瘤细胞和人脐静脉内皮细胞(HUVECs)建立 BTB 模型,实验结果发现冰片通过激活 MAPKs 信号通路的 ERK 磷酸化进而可逆性下调相关蛋白的表达,达到调节可逆性 BTB 开放的效果。吴涛等^[23]建立 C6, RG2 和 9L 大鼠颅内移植瘤模型,对各组大鼠行冰片灌胃术后,测定各组脑肿瘤组织伊文氏蓝的含量,并用免疫组化法检测各组脑肿瘤组织 H2 受体表达情况,认为冰片开放 BTB 的程度与 H2 受体平均光密度呈较好的相关性。吴引萍等^[24]采取辣根过氧化物酶(HRP)流量和酶联免疫吸附测定法(ELISA)对不同时间点 BTB 的通透性以及紧密连接相关蛋白的表达进行测定,冰片增加 BTB 的开放程度以提高化疗药物的透过率,其机制可能是通过调控紧密连接蛋白 ZO-1 和纤维状肌动蛋白(F-actin)的表达而实现的。

1.5 其他促透作用的作用机制 YU 等^[25]采用微透析取样系统,结合超高效液相色谱-三重四级杆串联方式(UPLC-MS)技术,研究冰片(左旋龙脑)对清醒大鼠脑内 4 个区域(皮质、海马、下丘脑和纹状体)中栀子苷药代动力学的影响,结果表明冰片明显促进栀子苷向海马和下丘脑的递送,但稍微阻碍栀子苷在皮层的递送。ZHANG 等^[26]研究发现,骨髓间充质干细胞与冰片联合灌胃能更有效地改善神经功能缺损,减少梗死体积,减少细胞凋亡。这种改变可能使更多的营养因子浸润到病变的核心,从而促进神经元的再生,表明静脉干细胞移植可诱导营养因子分泌,进而达到神经保护作用。天然冰片(NB)与姜黄素(Cur)联合应用,可以提高癌细胞对 Cur 的摄取,从而极大地增强抗癌作用^[27]。王南卜等^[28]通过研究 4 种开窍药的有效组分 β -细辛醚、冰

片、苏合香挥发油、麝香酮促进替莫唑胺进入细胞内的作用、对细胞增殖能力的影响,及与 P-gp,多耐药基因 1(MDR1)MDR1 的关系,结果显示 4 种开窍药均可促进替莫唑胺透过细胞膜进入细胞内,其促进能力为 β -细辛醚 > 冰片 > 麝香酮 > 苏合香。其机制可能与降低 P-gp,MDR1 的表达相关。郭淑娟等^[29]研究指出,不同基源冰片的促透作用之间存在差异性,这可能与冰片的构型、抽提脂质的能力以及亲水性有关。冰片的促透作用不仅在内科治疗中表现出显著优势,在外科治疗中也越来越发挥着重要作用^[30]。

王冉等^[31]研究发现,冰片能够促进亲水性氟尿嘧啶经皮渗透,认为其促透机制与疏松角质层脂质排列,以及促进水通道的形成有关。YIN 等^[32]等为了研究冰片与 1,2-二棕榈酰-3-磷脂酰胆碱(DPPC)双层膜的相互作用以及温度效应,利用质量分数为 3.31%~54.59%的冰片进行了一系列粗晶分子动力学模拟。发现当质量分数低于 21.89%时,冰片的存在只导致 DPPC 双层变薄和流动性增加,温度升高可促进冰片的扩散过程。当质量分数为 21.89%或以上时,在双层内部形成了反胶束状结构,从而导致双层厚度增加,并确定了冰片与 DPPC 双层膜相互作用的最佳温度。这些发现表明,最佳浓度和温度的选择对于冰片增强渗透作用是至关重要的。

1.6 提高生物利用度的作用机制 周陆怡等^[33]为探讨冰片对四种丹参脂溶性药效成分的促吸收作用,分别测定其在大鼠血浆、脑和心脏组织中分布含量,结果表明冰片促进了大鼠对隐丹参酮的吸收,并提高隐丹参酮在大鼠血液和心脏组织中的药物浓度。DING 等^[34]研究发现,冰片可促进脑组织中包载长春西汀的混合胶束的峰浓度(C max),使得药-时曲线下面积(AUC_{0~t})增大,结果表明冰片提高了

长春西汀的生物利用度以及脑部蓄积。徐娟玉等^[35]研究认为,冰片可致小儿难治性癫痫脑脊液丙戊酸钠浓度与血液丙戊酸钠浓度比值较治疗前均有明显提高,进一步证实了冰片能促进某些药物透过血脑屏障、提高药物生物利用度的特性。

WU 等^[36]为了评价冰片作为一种渗透促进剂来改善纳米脂质体的脑靶向性,采用荧光分光度法和免疫荧光法研究了冰片对药物动力学、靶向性、脑亚区分布、神经元靶向水平和途径的影响。结果发现冰片(左旋龙脑)不影响盐酸阿霉素纳米脂质体的理化性质,Dox 纳米唇膏与冰片合用可使大脑皮层和海马选择性分布增加,而对侧偏侧无差异,从而提高了脑靶向效率,并认为其机制为冰片通过打开血脑屏障的紧密连接,然后绕过星形胶质细胞,提高了大脑皮层,CA3 区和齿状回区 Dox-纳米唇的神经元靶向水平,表明冰片作为穿透增强剂对纳米脂质体脑靶向性具有极大的影响,可促进对神经元的直接递送。

1.7 鼻内给药的作用机制 赵静宜等^[37]通过 GC-FID 法测定艾片中的主要成分龙脑在小鼠组织含量,并进行艾片静脉和鼻腔给药的小鼠组织分布研究,结果发现,在鼻腔给药中,脑的相对靶向系数和靶向效率均是最大的。CHEN 等^[38]研究表明冰片和麝香酮对栀子苷跨人鼻上皮细胞(HNEC)转运具有有效增强的作用,其机制可能是由于细胞膜流动性增强,紧密连接的破坏作用所致,且这一过程是可逆的。钱丽萍等^[39]发现经滴鼻给予冰片,可明显提高麻醉大鼠的苏醒时间以及全身麻醉后的认知能力,这与冰片绕过血脑屏障,直达脑部中枢神经有关。由此可见,冰片的鼻内给药对于治疗脑血管病具有良好的应用前景。冰片对脑循环系统的作用机制总结见表 1。

表 1 冰片对脑循环系统的作用机制
Table 1 Mechanism of Borneolum Syntheticum on cerebral circulatory system

药理作用	受试对象	受试物(冰片)	作用机制	参考文献
抗缺血	小鼠	吐温微乳液	减轻血管内皮损伤,维持 BBB 的完整性	[9]
抗炎	大鼠	石蜡油混合液	减少 TNF- α 的含量,从而抑制炎症反应	[13]
调节血脑屏障	大鼠脑胶质瘤细胞株(C6)	混悬液	调控紧密连接蛋白 ZO-1 和 F-actin	[25]
促透作用	大鼠	溶剂	对血脑屏障的区域特异性作用	[26]
提高生物利用度	大鼠	混合胶束	调节 BBB 开放,增强靶向作用	[48]

2 对中枢神经系统的作用机制

2.1 抑制癫痫的作用机制 冰片在古代用于神志

病的治疗较为多见,常常与朱砂等药相配伍^[40]。武凤震等^[41]通过聚类分析发现癫痫方剂的用药规律

以祛风止痉、疏肝行气、开窍醒神、活血化瘀、养心安神为主。Tambe 等^[42]发现冰片显著抑制戊四氮(PTZ)点燃小鼠的癫痫发生过程,并抑制大脑神经元的损伤,降低氧化应激和神经炎性标志物胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的表达水平。Skalicka-Woźniak 等^[43]发现百里香精油高效纯化的在分离物中,冰片、百里香酚和丁香酚对癫痫的保护作用最强,且各单一成分对中枢神经系统的都没有急性毒性作用。Granger 等^[44]采用双电极电压钳技术研究了单用双环单萜类冰片和连用 GABA 对非洲爪蟾卵母细胞表达的重组人 $\alpha 1\beta 2\gamma 2L$ GABAA 受体的影响,结果发现冰片可使低浓度 GABA 的作用提高 1 000% 以上,认为这些增强作用高度依赖于冰片和 GABA 的相对浓度,而对氟马西尼不敏感,则表明冰片对经典的苯二氮卓不起作用。陈瑞玉等^[45]研究表明,高剂量天然冰片对戊四唑致惊厥小鼠有较好的拮抗作用,并能提高脑内 GABA 含量,推测这种抗惊厥作用可能与兴奋性氨基酸与抑制性氨基酸的平衡失调有关。

瞬时受体电位通道香草醛亚型-1 (TRPV1) 在大脑神经元中对很多功能具有调控作用,也是癫痫发病的重要潜在靶点^[46]。TRPV1 在中枢神经系统中表达,包括下丘脑、小脑、大脑皮层、海马等部位^[47],并且广泛表达于海马神经元的突触棘和胞体中。同样作为非选择性阳离子通道冷通道感受器的瞬时受体电位锚蛋白 1 (TRPA1) 在大脑中枢中表达较少,但与 TRPV1 表达分布几乎并行。TRPA1 通道介导的星形胶质细胞静息 Ca^{2+} 水平降低,通过 γ -氨基丁酸转运体 3 (GAT-3) 减少 GABA 的转运,降低细胞外 GABA 水平,从而降低神经元间抑制突触的作用,增加海马神经的兴奋性^[48]。研究指出,冰片是 TRPA1 的有效抑制剂^[49]。

2.2 其他中枢系统疾病的作用机制 Hur 等^[50]通过向人神经母瘤细胞 (SH-SY5Y) 内注入 50 μm 的 β 淀粉样蛋白 ($A\beta$) 诱导发生氧化应激,研究冰片在阿尔茨海默病 (AD) 发病中作用。结果表明,冰片增加了 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 基因表达量,降低了 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达量,且可抑制 $A\beta$ 诱导的细胞毒性,具有抗氧化作用和抑制凋亡的作用。ZHANG 等^[51]发现冰片可以提高抑肽酶结合聚乙二醇-聚乳酸-乙醇酸纳米粒 (Apr-NP) 脑靶向指数达 1.38 倍,对 AD 大鼠有明显修复记忆力损伤的效果。CAO 等^[52]研究发现,对于背侧海马内微量注射冰片的小鼠较腹侧海马微量注射冰片的小鼠恐惧行为

明显减轻,并且明显抑制开放式视野试验、光/暗探索和高倍迷宫实验中的焦虑样行为,认为这与小鼠背侧海马内具备的 GABA 受体含量多有关,从而增强冰片可激活 GABA 能神经递质的释放作用。孙雯等^[53]采取射戊巴比妥钠的方式致小鼠睡眠,发现 5 种不同剂量的给药方式均可延长小鼠的睡眠潜伏期,且有一定的剂量依赖性,冰片给药剂量为 400 $mg \cdot kg^{-1}$ 为改善睡眠作用的最佳给药剂量。马骁等^[54]利用脂多糖 (LPS) 诱导建立“类闭证”发热模型,结果发现艾片、天然冰片、合成冰片 3 种冰片对模型的大鼠体温、心率、血压、活动度等生理指标均有抑制作用。王南卜等^[55]采用 $A\beta_{1-42}$ 诱导 PC12 细胞制备体外模型,以不同剂量的 β -细辛醚、冰片、麝香酮、苏合香挥发油作用 24 h,结果显示四种醒脑开窍药的有效挥发性成分均能改善损伤的细胞形态,提高细胞活力,降低细胞内 Ca^{2+} 水平及升高基质金属蛋白酶 (MMP),升高自噬基因 Beclin-1 蛋白的含量。

2.3 对中枢神经递质的影响 李伟荣等^[56]给予小鼠口服天然冰片后测量脑内冰片和氨基酸类神经递质含量,发现小鼠在 5 min 后开始出现兴奋状态,持续 10 ~ 15 min 后则表现为抑制状态,脑内 ASP 从给药后 0.083 ~ 1 h 含量显著增加,GLU 在给药后 0.333 h 含量显著增加,在给药后 1.5 ~ 4 h 含量显著降低,GABA 从给药后 0.167 ~ 4 h 含量均显著增加,GLY 含量无明显变化,说明天然冰片对中枢神经系统具有兴奋/抑制的双向作用机制。程新萍等^[57]采取全细胞膜片钳的方法,发现在培养的海马椎体神经元上,冰片以内向整流钾通道的方式抑制内向电流 (IGABA),说明冰片可能通过抑制其海马神经元受体 GABAA 来提高大鼠中枢神经系统的兴奋性,从而发挥其醒脑功效。王道刚等^[58]通过冰片对麻醉大鼠海马齿状回区 GABA, GLU, β -内啡肽 (β -EP) 表达的测定,结果发现各组大鼠海马齿状回区 GLU 表达均无显著差别,冰片组 GABA 表达量均较空白组及模型组显著减低,中、高剂量冰片组 β -EP 的表达量较模型组明显增加。陈瑞玉等^[59]研究发现,低剂量的天然冰片可使脑内 ASP 显著增加,GLU 含量显著减少;高剂量的天然冰片可使 GABA 含量显著增加,中剂量的 (+)-顺丁烯二酸单冰片酯可使 GLU 含量显著减少。刘养凤等^[60]发现冰片在各个时相均能降低下丘脑中单胺类神经递去甲肾上腺素 (NE), 肾上腺素 (E) 含量,随着冰片剂量的递增,NE, E 含量有逐渐降低的趋势,表现出一定的

量效关系。冰片对中枢神经递质的影响总结见表 2。

表 2 冰片对中枢神经递质的影响

Table 2 Effect of Borneolum Syntheticum on central neurotransmitters

检测部位	受试对象	受试物	实验结果	参考文献
全脑	小鼠	冰片-食用油混合液	ASP 5 min ~ 1 h 显著增加;GLU 20 min 增高,1. 5 ~ 4 h 降低;GLY 无变化;GABA 10 min ~ 4 h 增高	[56]
海 马 齿 状回	大鼠	冰片-乙醇溶液	与模型组比较 GLU 无差异;GABA 降低; β -EP 中、高剂量增高	[58]
全脑	小鼠	冰片-羧甲基纤维素钠混悬液	ASP 低剂量显著增高;GLU 低剂量显著降低;GLY 无变化;GABA 高剂量显著增高	[59]
下丘脑	大鼠	冰片-羧甲基纤维素钠混悬液	NE 45 min,120 h 中、高剂量组降低,24 h 高剂量组降低;E 45 min 中、高剂量组降低,120 h 高剂量组降低;5-HT 各时相、各剂量均无差异;DA 120 h 中、高剂量组有差异	[60]

3 小结

综上所述,冰片可以有效地降低脑缺血再灌注损伤,从而达到对脑组织的保护作用,其作用机制可能与冰片抑制脑微血管内皮损伤和抗炎作用有关。冰片对 BBB 通透性的调节是双向的,这与大脑内皮细胞的特殊结构即紧密连接的结构与功能,以及高表达的 P-gp 外排作用和低胞饮内运作用有关。病理状态下,冰片可以有效地降低 BBB 的开放,保护其结构的完整性,使脑组织免受病理损伤。同时,利用冰片对 BBB 的开放作用,为进一步治疗脑肿瘤等疾病提供了实验基础。冰片可以促进他药透皮吸收,以提高药物的生物利用度,在临床上应用广泛,而冰片的鼻内给药可绕过 BBB,直接作用于脑组织。冰片对中枢神经系统疾病如癫痫、阿尔茨海默病的治疗作用一直是近来研究的热点。TRPV1 是癫痫的潜在治疗靶点。TRPA1 通道介导的星形胶质细胞静息 Ca²⁺ 水平降低,导致细胞外 GABA 水平降低,从而增加海马神经的兴奋性。作为 TRPA1 的有效抑制剂,冰片是否通过非选择性阳离子通道的作用,抑制癫痫的发生未见研究报道。冰片对各类中枢神经递质的作用一直少有研究,且研究结果不尽相同,推测其原因可能与神经系统的复杂性相关,并且不同的造模方法、给药剂量以及干预时间也是不可忽视的因素。不可否认,冰片对抑制性和兴奋性神经递质的调节和释放在中枢神经系统中起到重要作用。

[参考文献]

[1] 熊科元,胡志文,邵峰,等. 不同采收期龙脑樟挥发油的得率及质量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2018, 24(20) :45-49.

[2] 荔淑楠,王引权,徐名刷,等. 不同干燥方法对龙脑樟叶品质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2018, 24 (10) :72-78.

[3] 施文甫,罗安明,郑曙光. 冰片在脑部疾病中的应用[J]. 贵阳中医学院学报,2010,32(1) :59-61.

[4] 刘抒雯,杨丽华,马春,等. 中医药保护脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(23) :225-234.

[5] 肇丽梅,何晓静,刘玉兰. 冰片注射液对小鼠脑缺血再灌注后学习和记忆行为的影响[J]. 华西药学杂志,2006,21(1) :60-62.

[6] 田徽,王建,高天,等. 艾片与合成冰片对脑缺血缺氧小鼠模型的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(2) : 53-56.

[7] DONG T,CHEN N,MA X,et al. The protective roles of *L*-borneolum, *D*-borneolum and synthetic borneol in cerebral ischaemia via modulation of the neurovascular unit[J]. Biomed Pharmacother,2018,102:874-883.

[8] 黄丽,朱彩霞,张芹欣,等. 四种开窍药对急性不完全性脑缺血再灌注损伤模型大鼠的脑保护作用[J]. 中国比较医学杂志,2018,28(8) :77-82.

[9] ZHANG X,SONG Y,SHAN C,et al. Borneol attenuates ultrasound-targeted microbubble destruction-induced blood-brain barrier opening in focal cerebral ischemia [J]. Front Neurol, 2017, doi: 10.3389/ fneur. 2017. 00704.

[10] 王丹丹,王建,彭颖,等. 四味芳香开窍药的挥发性成分对缺血缺氧 PC12 细胞及细胞内 Ca²⁺ 的影响[J]. 西安交通大学学报:医学版,2012,33(3) :370-373.

[11] 周宗元,王建,田徽,等. 艾片与合成冰片对脑缺血再灌注损伤大鼠脑保护的比较研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(10) :2349-2351.

[12] KONG Q X,WU Z Y,CHU X,et al. Study on the anti-cerebral ischemia effect of borneol and its mechanism

[J]. Afr J Tradit Complement Altern Med, 2014, 11 (1):161-164.

[13] 邵新然,蔡克瑞,贾茹,等. 冰片对脑缺血再灌注损伤模型大鼠炎症反应和血脑屏障通透性的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34(13):1558-1560.

[14] CHANG L,CHUN Y,WU H Y,et al. (+)-Borneol is neuroprotective against permanent cerebral ischemia in rats by suppressing production of proinflammatory cytokines[J]. J Biomed Res,2017,31(4):306-314.

[15] 何晓静,吕庆杰,刘玉兰. 冰片注射液对缺血再灌注大鼠脑内炎症反应的影响[J]. 华西药学杂志,2006, 21(6):523-526.

[16] 杨乐,吴军勇,胡雄彬,等. 冰片对葛根素透过体外模拟血脑屏障的影响[J]. 中草药,2017,48(16): 3408-3411.

[17] 张娜,刘萍,何新荣. 冰片单用及合用西药地西泮后对大鼠脑纹状体 4 种氨基酸类神经递质含量的影响[J]. 中国中药杂志,2011,36(22):3180-3183.

[18] ZHANG Q L,FU B M,ZHANG Z J,et al. Borneol, a novel agent that improves central nervous system drug delivery by enhancing blood-brain barrier permeability [J]. Drug Deliv,2017,24(1):1037-1044.

[19] 赵保胜,宓德卿,张银卿. 冰片对大鼠脑微血管内皮细胞 ICAM-1 表达量的影响[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(2):88-90.

[20] 汪宏锦,吴俊杰,薛强,等. 冰片对血脑屏障通透性的双向调节作用影响因素及机制探讨[J]. 中国中药杂志,2017,42(11):2200-2207.

[21] 徐露,张太君. 冰片联合灯盏花素对缺氧/复氧损伤血脑屏障通透性的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2016,23(2):76-78.

[22] 邢燕梅,闫晓宁,郭军治,等. 冰片对血肿瘤屏障通透性的影响及机制[J]. 中国中西医结合杂志,2016,36 (6):696-702.

[23] 吴涛,张爱琴,周群琴,等. 冰片开放血脑肿瘤屏障程度与 H2 受体表达的关系[J]. 中华中医药学刊, 2016,34(5):1081-1083.

[24] 吴引萍,郭树林. 冰片对血脑肿瘤屏障开放程度及紧密连接蛋白表达的影响[J]. 癌症进展,2016,14 (10):986-988,992.

[25] YU B,RUAN M,CUI X B,et al. Effects of borneol on the pharmacokinetics of geniposide in cortex, hippocampus, Hypothalamus and striatum of conscious rat by simultaneous brain microdialysis coupled with UPLC-MS [J]. J Pharm Biomed Anal, 2013, 77: 128-132.

[26] ZHANG X G, SHAN C, ZHU J Z, et al. Additive neuroprotective effect of borneol with mesenchymal stem cells on ischemic stroke in mice [J]. Front Physiol, 2018, doi:10.3389/fphys.2017.01133.

[27] CHEN J P,LIN L,SU J Y,et al. Proteomic analysis of G2/M arrest triggered by natural borneol/curcumin in HepG2 cells, the importance of the reactive oxygen species-p53 pathway[J]. J Agric Food Chem,2015,63 (28):6440-6449.

[28] 王南卜,张芹欣,宁百乐,等. 4 种开窍药促进替莫唑胺进入 U251 细胞及减低耐药性的对比研究[J]. 中华中医药杂志,2017,32(5):2206-2209.

[29] 郭淑娟,杨畅,陈丽萍,等. 不同基源冰片促透效果的差异研究[J]. 环球中医药,2019,12(3):348-352.

[30] 杨豪杰,王振宜,刘华. 合成冰片对复方中药湿疹乳膏体外透皮吸收效果的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(18):27-30.

[31] 王冉,史新元,杨树芳,等. 冰片对氟尿嘧啶经皮促透作用的多尺度研究[J]. 环球中医药,2017,10(5): 517-522.

[32] YIN Q Q,SHI X Y,DING H O,et al. Interactions of borneol with DPPC phospholipid membranes:a molecular dynamics simulation study [J]. Int J Mol Sci,2014,15 (11):20365-20381.

[33] 周陆怡,鲁澄宇. 冰片对丹参脂溶性药效成分促吸收作用研究[J]. 中国药业,2019,28(1):14-18.

[34] DING J J,SUN Y J,LI J F,et al. Enhanced blood-brain barrier transport of vinpocetine by oral delivery of mixed micelles in combination with a message guider [J]. J Drug Target,2017,25(6):532-540.

[35] 徐娟玉,朱乐婷,俞雅珍,等. 冰片对小儿难治性癫痫血清和脑脊液丙戊酸钠浓度的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2016,36(9):1138-1140.

[36] WU Y,WANG S,SHANG L,et al. Effect of borneol as a penetration enhancer on brain targeting of nanoliposomes: facilitate direct delivery to neurons[J]. Nanomedicine,2018,13(21):2709-2727.

[37] 赵静宜,杜守颖,陆洋,等. 艾片经静脉和鼻腔给药的小鼠组织分布研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(7): 1071-1074.

[38] CHEN Z Z,GONG X,LU Y,et al. Enhancing effect of borneol and muscone on geniposide transport across the human nasal epithelial cell monolayer [J]. PLoS One, 2014,9(7):e101414.

[39] 钱丽萍,翟青新,余飞,等. 冰片灌胃或滴鼻给药对氯胺酮-咪达唑仑麻醉大鼠苏醒和认知功能的对比研究[J]. 重庆医学,2016,45(3):345-347.

[40] 宋婷,张成博,陈维达.《圣济总录·诸风门》神志病证病机及用药特点分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018,24(13):202-208.

[41] 武凤震,赵文光. 基于数据挖掘的癫痫用药规律探索 [J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(8):190-195.

[42] Tambe R,Jain P,Patil S,et al. Antiepileptogenic effects of borneol in pentylenetetrazole-induced kindling in mice [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,2016,389(5):467-475.

[43] Skalicka-Woźniak K,Walasek M,Aljarba T M,et al. The anticonvulsant and anti-plasmid conjugation potential of Thymus vulgaris chemistry:an *in vivo* murine and *in vitro* study[J]. Food Chem Toxicol,2018,120:472-478.

[44] Granger R E,Campbell E L,Johnston G A R. (+)-And (-)-borneol: efficacious positive modulators of GABA action at human recombinant $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ L GABAA receptors [J]. Biochem Pharmacol,2005,69(7):1101-1111.

[45] 陈瑞玉,李伟荣,宓穗卿,等. 天然冰片及其结构修饰物对惊厥模型小鼠氨基酸类神经递质的影响[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(3):282-285.

[46] 马琦,侯帅,孙路强,等. TRPV1:癫痫治疗的潜在靶点 [J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(86):57-59.

[47] Medvedeva Y V, Kim M S, Usachev Y M, et al. Mechanisms of prolonged presynaptic Ca^{2+} signaling and glutamate release induced by TRPV1 activation in rat sensory neurons [J]. J Neurosci, 2008, 28 (20): 5295-5311.

[48] Shigetomi E, TONG X, Kwan K Y, et al. TRPA1 channels regulate astrocyte resting calcium and inhibitory synapse efficacy through GAT-3 [J]. Nat Neurosci, 2012,15(1):70-80.

[49] Sherkheli M A, Schreiner B, Haq R, et al. Borneol inhibits TRPA1, a proinflammatory and noxious pain-sensing cation channel [J]. Pak J Pharm Sci,2015,28(4):1357-1363.

[50] Hur J, Pak S C, Koo B S, et al. Borneol alleviates oxidative stress via upregulation of Nrf2 and Bcl-2 in SH-SY5Y cells[J]. Pharm Biol,2012,51(1),30-35.

[51] ZHANG L,HAN L,QIN J,et al. The Use of Borneol as an enhancer for targeting aprotinin-conjugated PEG-PLGA nanoparticles to the brain [J]. Pharm Res,2013,30(10):2560-2572.

[52] CAO B,NI H Y, LI J,et al. (+)-Borneol suppresses conditioned fear recall and anxiety-like behaviors in mice [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495 (2): 1588-1593.

[53] 孙雯,张博,卞宏生,等. 合成冰片对小鼠睡眠时间影响的量效关系研究 [J]. 中医药学报,2016,44(1):32-33.

[54] 马骁,罗世兰,彭婉,等. 动态观测艾片,天然冰片,合成冰片,苏合香,安息香 5 种开窍药对脂多糖致发热大鼠生理指标的影响 [J]. 中草药,2017,48(15):3110-3116.

[55] 王南卜,张芹欣,宁百乐,等. 四种开窍药对 $A\beta_{1-42}$ 诱导 PC12 细胞损伤线粒体及 Beclin-1 的影响 [J]. 时珍国医国药,2017,28(3):591-593.

[56] 李伟荣,陈瑞玉,黄天来,等. 天然冰片对小鼠脑内氨基酸类神经递质含量的影响 [J]. 中药新药与临床药理,2011,22(2):164-167.

[57] 程新萍,孙灏,余晓华,等. 合成冰片对大鼠海马神经元 GABA A 受体介导电流的作用 [J]. 中药药理与临床,2006,22(5):14-16.

[58] 王道刚,张钰琴,张光荣,等. 冰片对麻醉大鼠海马 GABA、GLU 和 β -EP 表达的影响 [J]. 时珍国医国药,2010,21(8):1913-1915.

[59] 陈瑞玉,李伟荣,宓穗卿,等. 天然冰片及其结构修饰物对惊厥模型小鼠氨基酸类神经递质的影响 [J]. 中药新药与临床药理,2011,22(3):282-285.

[60] 刘养凤,张军平,张伯礼,等. 冰片对大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响 [J]. 中国中医药信息杂志,2004,11(2):122-124.

[责任编辑 周冰冰]