

## 川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠作用的研究

潘媛, 彭成\*, 刘建林

(成都中医药大学, 成都 610075)

**摘要:** **目的** 观察川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠的作用。**方法** 将 60 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、佐米曲普坦组(0.83 mg 每千克体质量)、川芎定痛颗粒高剂量组(1.75 g 浸膏粉每千克体质量)、中剂量组(0.88 g 浸膏粉每千克体质量)、低剂量组(0.44 g 浸膏粉每千克体质量)6 组,灌胃给予相应药物 5 d 后,除正常对照组外,对大鼠皮下注射硝酸甘油每千克体质量 10 mg,建立偏头痛大鼠模型,通过 ELASA 方法检测大鼠血浆中 5-羟色胺(5-HT)、内皮素(ET)、去甲肾上腺素(NE)和脑组织中 5-HT、多巴胺(DA)、NE 的含量。**结果** 与正常对照组比较,模型组血浆中 5-HT 与 ET 含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量组可明显升高其含量,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),佐米曲普坦组、川芎定痛颗粒低剂量组有升高的趋势;NE 含量明显降低,正常对照组与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高剂量组可明显升高其含量,而佐米曲普坦组、川芎定痛颗粒中、低剂量组则是含量降低,与模型组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常对照组比较,模型组脑组织内 5-HT 含量差异虽无统计学意义,但降低趋势明显,且川芎定痛颗粒高剂量组能明显升高其含量,与模型组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),佐米曲普坦组、中、低剂量亦有升高的趋势;与正常对照组比较,模型组脑组织内 NE 含量明显升高,有统计学差异( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量组能明显降低其含量,与模型组比较有统计学差异( $P < 0.05$ );与正常对照组比较,模型组脑组织中 DA 含量降低,有统计学差异( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量组能升高其含量,具有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠有治疗作用,其机制可能与调节模型大鼠血浆及脑组织内单胺类神经递质 5-HT、NE、ET、DA 含量有关。

**关键词:** 川芎定痛颗粒; 偏头痛; 单胺类神经递质

中图分类号: Q95-33 文献标志码: A 文章编号: 1000-7083(2016)02-0252-04

## Study of the Effect of the Chuanxiong Dingtong Grains on the Rats with Migraine

PAN Yuan, PENG Cheng\*, LIU Jianlin

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Chuanxiong Dingtong grains (CXDT grains) on the rats with migraine. **Method** A total of 60 rats were randomly divided into 6 groups including the normal control group, the model control group, the zolmitriptan control group ( $0.83 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), the high-dose ( $1.75 \text{ g powdered extract per kg}$ ), the medium-dose ( $0.88 \text{ g powdered extract per kg}$ ) and the low-dose group ( $0.44 \text{ g powdered extract per kg}$ ). Five days after intragastric administration of appropriate drugs, except the normal control group, the rats were subcutaneously injected with nitroglycerin ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) to establish migraine rat model. The content of 5-hydroxytryptamine (5-HT), norepinephrine (NE), endothelin (ET) in the plasma and 5-HT, NE, dopamine (DA) in the brain were tested by ELASA. **Results** Compared with the normal control group, the contents of 5-HT, NE, and ET were significantly decreased ( $P < 0.05$ ) in the plasma of the migraine model rats, and the content of 5-HT in brain tissue showed a decreasing trend, the content of NE was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the content of DA was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Therefore, CXDT grains can significantly improve the active substance in rat plasma and brain neurotransmitter content of migraine rat model. **Conclusion** CXDT grains had a positive effect on the rats with migraine by adjusting the levels of the brain neurotransmitters.

**Key words:** Chuanxiong Dingtong grains; migraine; monoamine neurotransmitters

收稿日期:2015-11-18 接受日期:2016-01-30 基金项目:国家支撑计划项目(2009BAI84B00)

作者简介:潘媛(1987—),女,博士研究生,助理实验师,研究方向:中药药效与毒理学, E-mail:panyuan1129@163.com

\* 通信作者 Corresponding author, E-mail:pengchengchengdu@126.com

偏头痛是一种间断性反复发作的、以一侧头痛为主的搏动性头痛疾病。现代医学之偏头痛在中医学中多属内伤头痛,属于中医“头风”“脑风”“偏头痛”“厥头痛”等疾病范畴。川芎定痛颗粒为中药复方制剂,主要由川芎、白芷、延胡索、钩藤等药组成,功效有活血镇痛、平肝潜阳。皮下注射硝酸甘油所致的大鼠偏头痛模型动物所出现的耳红、震颤、前肢频繁挠头、烦躁不安、爬笼次数增多等现象与肝阳上亢证、风火上扰证的偏头痛类似(王玲玲,范吉平,2007)。本文通过研究川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠的作用,探讨其治疗偏头痛的效果及可能存在的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验药物** 川芎定痛颗粒浸膏粉由奥康药物研究所提供,每克浸膏粉相当于生药 5.6 g;阳性药物:佐米曲普坦(国药集团川抗制药有限公司,生产批号 100701);硝酸甘油注射液(河南润弘制药股份有限公司,生产批号 1202251)。

**1.1.2 实验动物** SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体重 200 g ± 20 g,由成都中医药大学实验动物研究中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(川)2008-11,实验动物使用许可证号:SYXK(川)2008-049。

**1.1.3 主要试剂** 大鼠 5-羟色胺(5-HT)酶联免疫分析 ELISA 试剂盒,批号 201203;大鼠多巴胺(DA)酶联免疫分析 ELISA 试剂盒,批号 201203;大鼠去甲肾上腺素(NE)酶联免疫分析 ELISA 试剂盒,批号 201203;大鼠内皮素(ET)酶联免疫分析 ELISA 试剂盒,批号 201203。

**1.1.4 主要仪器** 多功能酶标仪(美国 Thermo 公司, Varioskan 型),冷冻离心机(美国 Thermo 公司,型号 Legend Micro 17R),电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司,型号 DZKW-4),分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司,型号 JA1003);低温冰箱(日本三洋电器集团)。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组与给药** 待大鼠适应环境 1 周后,按体重随机分为 6 组,分别为模型组、正常对照组、川芎定痛颗粒高、中、低剂量组和佐米曲普坦组,每组 10 只。川芎定痛颗粒高、中、低剂量组分别灌胃给予川芎定痛颗粒浸膏粉 1.75 g、0.88 g、0.44 g 每千克体重(分别相当于人临床服用剂量的 20 倍、10

倍、5 倍),佐米曲普坦组灌胃给予佐米曲普坦片 0.83 mg 每千克体重(相当于人临床推荐剂量 5 mg 的 10 倍),模型组、正常对照组给予蒸馏水灌胃,各组给药容积均为 10 mL · kg<sup>-1</sup>,每日 1 次,连续灌胃 5 d。

**1.2.2 造模** 除正常对照组外,各组在给药第 5 天灌胃前 1 h 皮下注射硝酸甘油注射液,10 mg 每千克体重。正常对照组皮下注射等体积生理盐水。

**1.2.3 标本的采集与处理** 于第 5 天造模 4 h 后,分别取大鼠动静脉混合血 5 mL 于抗凝剂为 10% EDTA-Na<sub>2</sub> 的采血管和抗凝剂中。4 °C 3 000 rpm 离心 10 min,分离血浆,于低温冰箱中 -20 °C 储存备用。取血后,断头取脑,在 0 °C ~ 4 °C 的生理盐水中分离含脑干、丘脑、下丘脑区域的脑组织约 300 mg,称重,放入预先编号的锡箔纸中,置于 -20 °C 低温冰箱储存,备用。按照试剂盒要求,测定血浆中 5-HT、NE、ET 含量,测定脑组织中 5-HT、NE、DA 含量。

**1.2.4 统计学处理** 以上数据均采用 SPSS 13.0 建立实验结果数据库并进行分析,以( $\bar{x} \pm SD$ )表示各定量指标的平均值和分散程度。多样本均数的比较采用 One-Way ANOVA 分析。

## 2 结果

除正常对照组外,各组于皮下注射硝酸甘油后 5 ~ 10 min,大鼠均出现摇头、震颤、前肢频繁挠头、头颈部抽动、烦躁不安,爬笼次数增多等反应。模型组大鼠的上述反应持续 1.5 h 后逐渐消失,大鼠表现为静卧不动;给药组大鼠的上述反应持续 0.5 h 后逐渐消失,大鼠表现为静卧不动。

### 2.1 川芎定痛颗粒对偏头痛大鼠血管活性物质的影响

与正常对照组比较,模型组血浆中 5-HT 与 ET 含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量组可明显升高其含量,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),佐米曲普坦组、川芎定痛颗粒低剂量组有升高的趋势;NE 含量明显降低,正常对照组与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高剂量组的含量明显升高,而佐米曲普坦组、川芎定痛颗粒中、低剂量组则是含量降低,与模型组比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )(表 1)。

### 2.2 川芎定痛颗粒对偏头痛大鼠脑组织神经递质的影响

与正常对照组比较,模型组脑组织内 5-HT 含量差异虽无统计学意义,但模型组含量降低趋势明显,

且川芎定痛颗粒高剂量组的含量明显升高,与模型组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),佐米曲普坦组、川芎定痛颗粒中、低剂量组含量亦有升高的趋势;与正常对照组比较,模型组脑组织内 NE 含量明显升高,有统计学差异( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量

组的含量明显降低,与模型组比较有统计学差异( $P < 0.05$ );与正常对照组比较,模型组脑组织内 DA 含量降低,有统计学差异( $P < 0.05$ ),川芎定痛颗粒高、中剂量组的含量升高,与正常对照组比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表 2)。

表 1 川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠血浆中活性物质含量的影响( $\bar{x} \pm SD, n = 10$ )  
Table 1 The effect of CXDT grains on the serum vascular active matter content of rats with migraine ( $\bar{x} \pm SD, n = 10$ )

分组	剂量/(g · kg <sup>-1</sup> )	5-羟色胺 5-HT/(ng · L <sup>-1</sup> )	去甲肾上腺素 NE/(ng · L <sup>-1</sup> )	内皮素 ET/(ng · L <sup>-1</sup> )
正常对照组	—	226.64 ± 18.97	238.18 ± 18.13	38.93 ± 14.69
模型组	—	199.02 ± 5.37*	220.12 ± 28.38*	24.43 ± 6.75*
佐米曲普坦组	0.000 83	230.12 ± 32.62	186.18 ± 16.44 <sup>Δ</sup>	31.07 ± 7.60
川芎定痛颗粒高剂量组	1.75	236.36 ± 29.86 <sup>Δ</sup>	238.19 ± 16.36 <sup>Δ</sup>	44.14 ± 9.70 <sup>Δ</sup>
川芎定痛颗粒中剂量组	0.88	240.99 ± 24.08 <sup>Δ</sup>	201.36 ± 6.87 <sup>Δ</sup>	45.58 ± 8.35 <sup>Δ</sup>
川芎定痛颗粒低剂量组	0.44	223.37 ± 27.25	194.83 ± 11.13 <sup>Δ</sup>	30.87 ± 7.14

注:与正常对照组比较,\*  $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>Δ</sup>  $P < 0.05$ ;下表同。

Notes: Compared with normal control group, \*  $P < 0.05$ ; compared with the model group, <sup>Δ</sup>  $P < 0.05$ ; the same below.

表 2 川芎定痛颗粒对硝酸甘油致偏头痛大鼠脑组织内神经递质含量的影响( $\bar{x} \pm SD, n = 10$ )  
Table 2 The effect of CXDT grains on the brain neurotransmitter content of rats with migraine ( $\bar{x} \pm SD, n = 10$ )

分组	剂量/(g · kg <sup>-1</sup> )	5-羟色胺 5-HT/(ng · L <sup>-1</sup> )	去甲肾上腺素 NE/(ng · L <sup>-1</sup> )	多巴胺 DA/(ng · L <sup>-1</sup> )
正常对照组	—	440.53 ± 51.14	161.73 ± 31.30	207.56 ± 46.07
模型组	—	380.46 ± 43.66	187.21 ± 21.64*	170.06 ± 23.46*
佐米曲普坦组	0.000 83	414.35 ± 106.84	177.55 ± 37.10	179.85 ± 32.49
川芎定痛颗粒高剂量组	1.75	496.16 ± 68.95 <sup>Δ</sup>	157.40 ± 30.68 <sup>Δ</sup>	210.26 ± 23.74 <sup>Δ</sup>
川芎定痛颗粒中剂量组	0.88	463.16 ± 119.92	163.42 ± 16.46 <sup>Δ</sup>	210.98 ± 24.61 <sup>Δ</sup>
川芎定痛颗粒低剂量组	0.44	436.55 ± 79.01	183.85 ± 17.78	172.27 ± 29.36

### 3 讨论

5-HT 又名血清素,是一种自体活性物质,约 90% 合成和分布于肠嗜铬细胞,通常与 ATP 等物质一起储存于细胞颗粒内。赵斌等(2008)以经颅多普勒超声检查 40 例偏头痛患者和 30 例正常者的颅内多条动脉的平均血流速度,高效液相色谱紫外光法测定患者血浆内 5-HT 含量来研究偏头痛患者脑血流动力学与血浆内 5-HT 含量关系时发现,偏头痛患者双侧大脑中动脉、双侧椎动脉以及基底动脉的血流速度与血浆内 5-HT 含量存在明显正相关。本实验在造模前预防给予川芎定痛颗粒,能明显升高偏头痛大鼠血浆中 5-HT 含量,推测川芎定痛颗粒可能有调节偏头痛前驱期 5-HT 大量从血小板释放或发作期 5-HT 过度耗竭的作用,而具体是在哪个环节发挥作用还有待于进一步的研究。另外,模型大鼠脑组织内 5-HT 含量较正常组显著下降,而提前给予川芎定痛颗粒可以显著升高偏头痛大鼠脑组织内的 5-HT 含量,考虑可能与 5-HT 是一种痛调制递质,调节中枢内 5-HT 含量可以防止偏头痛发作期 5-HT 含量的过度减少所导致丘脑的痛阈值降低,疼痛敏感性增强(郭宇博,2010)。

NE、ET、DA 也是与偏头痛的发生密切相关的单胺类神经递质。有国外资料表明,偏头痛病人血浆内 DβH 的活性较高,而 DβH 可以催化 DA 产生 NE (Fettes *et al*,1985)。国内也有学者研究了偏头痛患者的 NE 变化。谢炜等(1999)对 20 例无先兆偏头痛患者进行了发作期和间歇期血浆以及血小板内 NE 含量的比较,结果发作期偏头痛患者血浆中 NE 含量低于对照组,与本研究结果吻合。川芎定痛颗粒提高偏头痛发作期血管中 NE 的含量可能还有利于对抗由于 5-HT 的大量耗竭而致使的血管扩张,减轻头痛症状。硝酸甘油致偏头痛大鼠脑组织内的 NE 含量较正常组高,与血浆内相反,预防给予川芎定痛颗粒能降低偏高的 NE 水平,有利于缓解头痛。在偏头痛发病过程中,DA 是除 5-HT 外最重要的神经递质,但对其作用机制认识还较少(Mascia *et al.*, 1998)。本研究中,川芎定痛颗粒预防给药能升高硝酸甘油致偏头痛大鼠脑组织内较低的 DA 水平。中外学者大量研究表明,ET 可能通过血管收缩、增加微血管通透性及调节痛觉感知等参与了偏头痛发作的病理生理过程,临床上也检测到偏头痛患者在发作期和间歇期血浆内 ET 含量高于正常对照组(任旭,牛争平,2005)。但本研究中硝酸甘油致偏头痛

大鼠血浆内 ET 含量低于正常对照组,与国内一些实验研究结果相似(姚干,2002)。川芎定痛颗粒预防给药可以升高偏头痛大鼠血浆内降低的 ET 水平。实验研究和临床研究为什么会出现相悖的结果需要进一步的探讨研究。

此外,本研究中仅检测了 5-HT、DA、NE、ET 几个对于偏头痛比较重要的实验指标。其他如降钙素相关基因肽(CGRP)、一氧化氮(NO)、P 物质、 $\beta$ -内啡肽、组织胺等重要的指标尚未检测,未来的工作需要进一步完善,以进一步探索川芎定痛颗粒治疗偏头痛的机制。

## 参考文献:

郭宇博. 2010. 不同配伍中药方剂对偏头痛大鼠血清和脑组织中 5-HT 含量的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 16(3): 206-208.

任旭, 牛争平. 2005. 偏头痛病人血浆内皮素及降钙素基因相关肽测定的临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 3(11): 960-962.

王玲玲, 范吉平. 2007. 偏头痛动物模型在中药研究中的应用[J]. 中华中医药学刊, 25(4): 760-762.

谢炜, 陈宝田, 朱成全. 1999. 无先兆偏头痛患者血 DA、NE 变化的初步研究[J]. 中华神经科杂志, 32(6): 346.

姚干. 2002. 大川芎丸治疗偏头痛的细胞及分子药理作用机理的实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学.

赵斌, 董军立, 秦碧勇, 等. 2008. 偏头痛患者脑血流动力学与血浆 5-羟色胺的关系[J]. 广东医学, 29(12): 2022-2023.

Fettes I, Gawel M, Kuzniak S, et al. 1985. Endorphin levels in headache syndromes[J]. Headache, 25(1): 37.

Mascia A, Afra J, Schoenen J. 1998. Dopamine and migraine: a review of pharmacological, biochemical, neurophysiological, and therapeutic data[J]. Cephalalgia An International Journal of Headache, 18(4): 174-182.

(上接第 251 页)

综上所述,甲苯咪唑片剂无异味,经研磨成粉后可均匀拌入灵长类动物的饲料中,灵长类动物无拒食现象,该药对其毛首线虫的驱虫效果较好,使用安全。

## 参考文献:

顾永熙, 曹杰. 2002. 金丝猴毛尾线虫驱虫药物筛选及驱虫程序实验[J]. 中国兽医杂志, 38(11): 12-13.

韩飞, 张曼, 张周, 等. 2014. 甲苯咪唑在水产养殖中的研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 30(7): 197-198.

和占龙, 杨建发, 杨亮宇, 等. 2006. 自繁猕猴肠道寄生虫的调查报告[J]. 云南畜牧兽医, (1): 42-43.

菅复春, 张庆涛, 李少英, 等. 2008. 郑州市动物园草食动物和灵长类动物寄生虫感染情况及驱虫试验[J]. 中国农学通报, 24(5): 29-34.

蒋则孝. 1981. 甲苯咪唑[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 8(2): 89-91.

王成东, 杨光友, 王强, 等. 2000. 佳灵三特-CA 对灵长类动物内寄生虫的驱除试验[J]. 四川动物, 19(4): 252-253.

解天珍, 包燕芬. 1998. 云南滇金丝猴毛首线虫一形态相似种的发现[J]. 中国兽医寄生虫病, 6(3): 54-55.

杨光友, 张志和. 2013. 野生动物寄生虫病学[M]. 北京: 科学出版社.

周忠勇, 朱雪勇. 1997. 芬苯达唑驱除野生动物寄生蠕虫试验[J]. 中国兽医寄生虫病, 5(2): 33-34.

Coles G, Bauer C, Borgsteede F, et al. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance [J]. Veterinary Parasitology, 44(1): 35-44.

Li B, Zhao B, Yang GY, et al. 2012. Mebendazole in the treatment of *Hymenolepis nana* infections in the captive ring-tailed lemur (*Lemur catta*), China[J]. Parasitology Research, 111(2): 935-937.

Li M, Zhao B, Li B, et al. 2015. Prevalence of gastrointestinal parasites in captive non-human primates of twenty-four zoological gardens in China[J]. Journal of Medical Primatology, 44(3): 168-173.

Vercruysse J, Holdsworth P, Letonja T, et al. 2001. International harmonisation of anthelmintic efficacy guidelines[J]. Veterinary Parasitology, 96(3): 171-193.

Wang T, Yang GY, Yan HJ, et al. 2008. Comparison of efficacy of selamectin, ivermectin and mebendazole for the control of gastrointestinal nematodes in rhesus macaque, China[J]. Veterinary Parasitology, 153(1): 121-125.