

# 芎芷石膏汤对硝酸甘油致偏头痛大鼠血浆 NO, NOS, CGRP 及脑中 5-HT, 5-HIAA 含量的影响

张慧<sup>1\*</sup>, 李冬霞<sup>2</sup>, 栗志勇<sup>3</sup>, 张婷<sup>4</sup>

(1. 新乡医学院药学院药理学教研室, 河南 新乡 453003;

2. 新乡医学院基础医学院机能学教研室, 河南 新乡 453003;

3. 安阳市第三人民医院胸外科, 河南 安阳 455000; 4. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003)

**[摘要]** 目的:研究芎芷石膏汤的镇痛作用及对硝酸甘油致偏头痛大鼠血浆一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)和降钙素基因相关肽(CGRP)及脑组织中5-羟色胺(5-HT)、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量的影响。方法:将小鼠和大鼠分为空白、模型、实验药物3个剂量和阳性对照组(阿司匹林 $0.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),以芎芷石膏汤低、中、高剂量(小鼠: $6, 12, 24\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ;大鼠: $3, 6, 12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )灌胃给药干预7 d。福尔马林实验末次给药后30 min后小鼠右后足跖皮下注射浓度为2.5%的福尔马林 $20\mu\text{L}$ (正常对照组除外)记录小鼠给福尔马林后第I时相(0~5 min)和第II时相(10~60 min)内小鼠舔右后足的累计时间。热板法于末次给药后15, 30, 60, 90, 120 min,在热盘痛觉测试仪( $55\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 上记录每只小鼠首次舔后足或跳跃时间(s)。硝酸甘油所致大鼠偏头痛实验,末次给药后30 min,除空白对照组大鼠以相应剂量95%乙醇sc外,其余各受试组均sc硝酸甘油注射剂 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,复制偏头痛模型。分光光度法和放免法测大鼠血浆NO, NOS和CGRP含量,高效液相-电化学法测脑组织中5-HT, 5-HIAA含量。结果:与正常组比较,福尔马林实验模型组小鼠右后足跖皮下注射福尔马林后,第I时相舔足时间,第II时相舔足时间均明显增多。在注射硝酸甘油造模后,与空白对照组相比,模型组30 min内大鼠前肢挠头次数较空白对照组均明显增加( $P<0.01$ ),大鼠血浆中的NO, NOS, CGRP明显升高( $P<0.01$ ),5-HT明显下降( $P<0.05$ )。芎芷石膏汤能有效抑制福尔马林致小鼠疼痛反应,明显减少小鼠I时相舔足时间和II时相舔足时间,与模型组比较差异有统计学意义( $P<0.05, P<0.01$ ),并对热板致痛小鼠的物理疼痛镇痛效果明显,能显著提高小鼠的痛阈值,与空白对照组比较差异显著( $P<0.05, P<0.01$ )。硝酸甘油致偏头痛模型组大鼠血浆NO, NOS, CGRP与空白对照组相比均明显增高( $P<0.05$ ),而脑中5-HT, 5-HIAA含量与空白对照组相比明显下降( $P<0.05$ )。与模型组相比,经不同剂量芎芷石膏汤灌胃后大鼠血浆NO, NOS, CGRP增加受到抑制,同时脑中5-HT向5-HIAA的代谢减少,5-HT的量增加,尤以中、高剂量组明显( $P<0.05, P<0.01$ )。结论:芎芷石膏汤具有明显镇痛作用,可能通过降低血浆中NO, NOS, CGRP含量和升高脑中5-HT含量,发挥对偏头痛的治疗作用。

**[关键词]** 芎芷石膏汤; 偏头痛; 一氧化氮; 一氧化氮合酶; 降钙素基因相关肽; 5-羟色胺; 5-羟吲哚乙酸

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)17-0175-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014170175

## Effect of Xiongzhi Shigao Tang on Plasma NO, NOS, CGRP and 5-HT, 5-HIAA of Brain in Migraine Model Rats

ZHANG Hui<sup>1\*</sup>, LI Dong-xia<sup>2</sup>, LI Zhi-yong<sup>3</sup>, ZHANG Ting<sup>4</sup>

(1. College of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xingxiang 453003, China; 2. Basic Medical

Function to Teaching and Research Section, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China;

3. Department of Cerebral Surgery, the Third People's Hospital of Anyang City, Anyang 455000, China;

4. Sanquan Medical College, Xinxiang Medical University, Xingxiang 453003, China)

**[收稿日期]** 20140312(003)

**[基金项目]** 新乡医学院高学历人才资助项目(2007)

**[通讯作者]** \*张慧, 硕士, 讲师, 从事中药活性成分及药效、作用机制研究, Tel: 037-33029101, E-mail: zhanghui12070300@163.com

**[ Abstract ] Objective:** To observe the analgesic effect of Xiongzhi Shigao tang and the influence on the level of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), calcitonin gene-related peptide (CGRP) in blood plasma and 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) in the brain tissue in the rat models of migraine. **Method:** The mice and rats were divided into blank control group, model group, three doses groups of Xiongzhi Shigao tang (mice: 6, 12, 24 g · kg<sup>-1</sup>; rat: 3, 6, 12 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>), Chinese medicine and western medicine control groups. The chemical and physical pain threshold were observed. Nitroglycerin was used to make rat migraine model. The changes of behavior were detected. The contents of plasma NO, NOS, CGRP were measured by the way of radioactive immunoreaction or spectrophotometry. Contents of 5-HT and 5-HIAA in brain tissue were assayed HPLC. **Result:** Compared with the normal group, the first phase of paw licking time and the second phase of paw licking time were increased significantly in the model group of formalin test ( $P < 0.01$ ). In the test of migraine model induced by nitroglycerin, the forelimb scratching frequency of rats were increased markedly compared with the blank control group ( $P < 0.01$ ) during the period of 0 min to 30 min. The contents of NO, NOS, CGRP in model group were higher than blank group significantly ( $P < 0.05$ ), but the content of 5-HT and 5-HIAA in the brain was decreased ( $P < 0.05$ ). Xiongzhi Shigao tang could suppress Faure Marin induced pain reaction effectively, which could significantly reduce rats' first phase of paw licking time and second phase of paw licking time compared with the model group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). And Xiongzhi Shigao tang could significantly increase the pain threshold of mice induced by hot plate compared with the blank control group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared to model group, the contents of NO, NOS and CGRP in high and middle dosage group of Xiongzhi Shigao tang were decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and the content of 5-HT were increased in brain ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The remedial Xiongzhi Shigao tang can treat migraine through adjusting the contents of NO, NOS, CGRP and 5-HT. This might be one of the possible mechanisms of Xiongzhi Shigao tang in the treatment of migraine.

**[ Key words ]** Xiongzhi Shigao tang; migraine; nitric oxide; nitric oxide synthase; calcitonin gene-related peptide; 5-hydroxytryptamine; 5-hydroxyindole acetic acid

芎芷石膏汤源于《医宗金鉴》卷四十三。由川芎、白芷、石膏、藁本、羌活、菊花组成。主治:头痛眩晕,头风盛时发作,外感风热头痛。临床疗效验证对偏头痛效果佳<sup>[1-4]</sup>。为进一步明确其作用机制,本实验采用硝酸甘油复制偏头痛动物模型,观察其对血浆中一氧化氮(nitric oxide, NO)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)及脑中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟吲哚乙酸(5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA)含量的影响,以探讨芎芷石膏汤治疗偏头痛模型大鼠的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物与试药** SD大鼠,体重180~200g,昆明种小鼠,18~22g,均购自山东鲁抗医药股份有限公司实验动物室,生产许可证号SCKX(鲁)2008-0003。芎芷石膏汤方剂组成川芎12g,白芷9g,石膏20g,藁本12g,菊花9g,羌活9g。药材均购于新乡医学院第三附属医院中药房,均由新乡医学院

中药学教研室吕洁丽博士鉴定。芎芷石膏汤水煎液由实验室自制,将各味药物水煎后合并滤液并浓缩至1g生药/mL的药液,用时以蒸馏水稀释至所需浓度。

**1.2 仪器与试剂** SHIMADZU LC-6AD型HPLC仪、SPD-20A型紫外检测器(日本岛津公司),色谱柱Lichrospher5-C<sub>18</sub>(4.6mm×250mm)(江苏汉邦科技有限公司),甲醇(色谱纯),蒸馏水(三蒸水),琥珀酸舒马普坦片(先声药业有限公司,用蒸馏水配成1g·L<sup>-1</sup>舒马普坦药液备用),硝酸甘油注射液,广州白云山明兴制药有限公司)。阿司匹林片(北京曙光药业有限责任公司)。热盘痛觉测试仪(固安县双玉仪器设备有限公司),盐酸曲马多(北京四环医药科技股份有限公司),福尔马林(莱阳经济技术开发区精细化工厂),阿司匹林(广东九明制药有限公司,批号1301125),95%乙醇(批号120418,天津市东丽区光大化学试剂厂),戊巴比妥钠(批号20110611, Sigma公司),抑肽酶(批号130419,丽珠集团丽珠制药厂),乙二胺四乙酸二钠

(批号 110923,河南鑫隆化工厂)。

## 2 方法

**2.1 对小鼠化学致痛的影响(福尔马林法)**<sup>[5]</sup> 小鼠 70 只,按体质量随机分为 7 组,每组 10 只,分别为正常对照组,模型组,阳性对照组(盐酸曲马多组、阿司匹林组),芫芷石膏汤高、中、低剂量组。其中正常对照组和模型组 ig 蒸馏水,盐酸曲马多组 ig 盐酸曲马多( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),阿司匹林组 ig 阿司匹林( $0.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),芫芷石膏汤高、中、低剂量组分别灌胃 24,12,6  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (生药量)的药液,每天给药 1 次,连续 7 d。末次给药后 30 min 后小鼠右后足跖皮下注射 2.5% 的福尔马林 20  $\mu\text{L}$ (正常对照组除外),立即置入 5 000 mL 大烧杯内,烧杯下方置倾斜 30 度左右的大镜子,从镜面观察动物足部运动。记录小鼠给福尔马林后第 I 时相(0~5 min)和第 II 时相(10~60 min)内小鼠舔右后足的累计时间。芫芷石膏汤动物用量根据有关芫芷石膏汤临床上的应用及课题研究前期预实验结果确定。

**2.2 对小鼠物理致痛的影响(热板实验)** 小鼠 70 只,雌性,于热盘痛觉测试仪( $55 \pm 0.5$ )  $^{\circ}\text{C}$  上记录每只小鼠首次舔后足或跳跃时间(s),凡首次舔后足或跳跃时间  $< 5 \text{ s}$ ,  $> 30 \text{ s}$  者弃之不用。筛选合格小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,各组分别为空白组(等量生理盐水),芫芷石膏汤高、中、低剂量组分别 ig 给予 24,12,6  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (生药量),阳性对照组(盐酸曲马多  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。随机分组后先不给药,分别测量每组每只动物痛阈值 3 次,每次间隔 30 min,取其平均值为基础痛阈值给药前痛阈,之后空白组每只小鼠每天 ig 生理盐水 1 次,给药组每只小鼠每天 ig 给药 1 次,连续给药 7 d,分别于末次给药后 15,30,60,90,120 min,在热盘痛觉测试仪( $55 \pm 0.5$ )  $^{\circ}\text{C}$  上记录每只小鼠首次舔后足或跳跃时间(s)。

## 2.3 对硝酸甘油所致偏头痛大鼠作用

**2.3.1 模型制备及药物干预** 将 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为 6 组:空白对照组,模型组,芫芷石膏汤高、中、低剂量组及阳性对照组,每组 8 只。芫芷石膏汤高、中、低剂量组分别 ig 12,6,3  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (生药量)。空白对照组和模型组 ig 配药用生理盐水,阳性对照组 ig 琥珀酸舒马普坦  $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,连续 ig 7 d,1 次/d。末次给药后 30 min,除空白对照组外,其余各受试组均皮下注射硝酸甘油注射剂  $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,复制偏头痛模型<sup>[6]</sup>。空白对照组以 95% 乙醇 2 mL $\cdot\text{kg}^{-1}$ 皮下注射。

## 2.3.2 行为学观察内容及方法

**2.3.2.1 耳红** 观察大鼠造模后耳红出现和消失的时间。

**2.3.2.2 挠头** 从造模之时起,把每 30 min 作为一个时间段,采用持续时间分段计数的方法观察大鼠造模后,在每一时间段挠头的次数,连续观察 6 个时间段,分别记录 6 个时间段的挠头总数。

**2.4 大鼠血浆 NO,NOS 及 CGRP 的检测** 大鼠皮下注射硝酸甘油注射剂 4 h 后,以戊巴比妥钠  $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  麻醉,之后迅速剪开胸腔,用真空采血管于左心室心尖处采血约 6 mL 分别注入 2 个试管中,其中 3 mL 注入加有  $40\ 000 \text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$  抑肽酶( $30 \mu\text{L}$ )和  $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  乙二胺四乙酸二钠( $\text{EDTA-Na}_2$ )  $45 \mu\text{L}$  的预冷的试管中, $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$   $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min,分离血浆, $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存,测定 CGRP 含量。另 3 mL 全血加  $100 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{EDTA-Na}_2$   $45 \mu\text{L}$ , $1\ 500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,离心 10 min,分离血浆, $-70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存,用于测定 NO,NOS。血浆 CGRP 检测严格按放射、免疫试剂盒操作说明书进行。NO 和 NOS 以可见光分光光度法测定,操作均按试剂盒说明书进行。

## 2.5 大鼠脑组织中 5-HT,5-HIAA 的提取和测定

<sup>[7]</sup>

将 2.4 中取血后大鼠断头处死,在冰台上解剖取出脑组织,迅速在液氮中冷冻,称重后加入 0.5 mL  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  高氯酸,在冰浴上研磨匀浆,于  $10\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ( $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 离心 20 min,取上清液 20  $\mu\text{L}$  进样分析,高效液相色谱法测 5-HT,5-HIAA 含量。5-HT,5-HIAA 含量以 1 g 脑组织中含 5-HT,5-HIAA 的 nmol 数( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ )表示。

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计处理。数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 芫芷石膏汤的镇痛作用(福尔马林法)** 表 1 显示,芫芷石膏汤高、中、低剂量均能有效抑制福尔马林致小鼠疼痛反应,明显减少小鼠第 I 时相舔足时间和第 II 时相舔足时间,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

**3.2 对小鼠热板实验的影响** 由表 2 可知,芫芷石膏汤高、中、低剂量组在不同时间的痛阈值均比本组的基础痛阈高,与空白对照组比较,芫芷石膏汤高、中、低剂量组均可使小鼠舔后足的时间延长,痛阈提高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),其中高剂量组作用最强( $P < 0.01$ ),低剂量组较弱。

**3.3 对偏头痛大鼠挠头次数的影响** 表 3 显示,注

表 1 芎芷石膏汤对福尔马林致小鼠舔足时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	第 I 时相舔足	第 II 时相舔足
		时间/s	时间/s
空白	-	0 ± 0	5 ± 1
模型	-	59 ± 14 <sup>2)</sup>	190 ± 97 <sup>2)</sup>
盐酸曲马多	0.05	19 ± 8 <sup>4)</sup>	74 ± 33 <sup>4)</sup>
阿司匹林	0.2	53 ± 24 <sup>4)</sup>	67 ± 22 <sup>4)</sup>
芎芷石膏汤	24	22 ± 10 <sup>4)</sup>	84 ± 33 <sup>4)</sup>
	12	29 ± 12 <sup>4)</sup>	98 ± 35 <sup>4)</sup>
	6	39 ± 15 <sup>3)</sup>	121 ± 42 <sup>3)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ (表 3~6 同)。

表 2 芎芷石膏汤对热板致痛小鼠痛阈的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	痛阈/s					
		给药前	药后 15 min	药后 30 min	药后 60 min	药后 90 min	药后 120 min
空白	-	17 ± 3	20 ± 5	18 ± 4	19 ± 5	19 ± 7	17 ± 3
盐酸曲马多	0.05	18 ± 5	38 ± 10 <sup>1)</sup>	34 ± 12 <sup>2)</sup>	39 ± 11 <sup>2)</sup>	36 ± 13 <sup>2)</sup>	40 ± 16 <sup>2)</sup>
芎芷石膏汤	24	19 ± 6	32 ± 9 <sup>2)</sup>	30 ± 8 <sup>2)</sup>	34 ± 10 <sup>2)</sup>	32 ± 15 <sup>2)</sup>	32 ± 16 <sup>2)</sup>
	12	19 ± 5	28 ± 7 <sup>2)</sup>	25 ± 10 <sup>1)</sup>	30 ± 10 <sup>2)</sup>	28 ± 12 <sup>2)</sup>	29 ± 12 <sup>2)</sup>
	6	19 ± 5	23 ± 7 <sup>1)</sup>	22 ± 6 <sup>1)</sup>	20 ± 7	22 ± 10 <sup>1)</sup>	22 ± 9 <sup>1)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

表 3 芎芷石膏汤对硝酸甘油致偏头痛大鼠挠头次数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	挠头数/次				
		30 min	60 min	90 min	120 min	150 min
空白	-	1.46 ± 0.33	0.62 ± 0.21	0.52 ± 0.35	0.68 ± 0.37	0.34 ± 0.25
模型	-	37.43 ± 7.34 <sup>2)</sup>	47.32 ± 9.34 <sup>2)</sup>	42.24 ± 11.43 <sup>2)</sup>	27.43 ± 6.76 <sup>2)</sup>	24.54 ± 4.56 <sup>2)</sup>
舒马普坦	0.005	28.64 ± 9.54 <sup>3)</sup>	24.43 ± 4.65 <sup>4)</sup>	21.87 ± 6.27 <sup>4)</sup>	14.35 ± 2.83 <sup>4)</sup>	8.59 ± 1.42 <sup>4)</sup>
芎芷石膏汤	12	30.23 ± 8.65 <sup>3)</sup>	34.54 ± 10.43 <sup>3)</sup>	31.31 ± 2.87 <sup>3)</sup>	16.65 ± 3.54 <sup>4)</sup>	10.82 ± 1.75 <sup>4)</sup>
	6	34.32 ± 8.43	38.72 ± 7.13 <sup>3)</sup>	36.83 ± 5.56 <sup>3)</sup>	18.89 ± 1.93 <sup>3)</sup>	15.57 ± 2.85 <sup>3)</sup>
	3	36.43 ± 9.54	43.88 ± 8.32	39.85 ± 6.58	20.64 ± 3.46 <sup>3)</sup>	17.73 ± 3.46 <sup>3)</sup>

耳红出现时间与模型组比较无差异,但耳红消失的时间明显缩短( $P < 0.05$ );中、高剂量组耳红出现时间均明显延长,耳红消失的时间均明显缩短,与模型组比较有显著差异( $P < 0.05, P < 0.01$ ),表明随剂量增加作用更加明显。见表 4。

表 4 芎芷石膏汤对硝酸甘油致大鼠耳红出现和消失时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	耳红出现时间	耳红消失时间
		/min	/min
空白	-	-	-
模型	-	5.13 ± 0.67 <sup>2)</sup>	193.5 ± 19.8 <sup>2)</sup>
舒马普坦	0.005	7.53 ± 1.34 <sup>4)</sup>	133.4 ± 17.4 <sup>4)</sup>
芎芷石膏汤	12	7.12 ± 0.92 <sup>4)</sup>	145.5 ± 12.7 <sup>4)</sup>
	6	6.16 ± 1.08 <sup>3)</sup>	156.8 ± 14.3 <sup>4)</sup>
	3	5.34 ± 0.86	173.5 ± 11.4 <sup>3)</sup>

射硝酸甘油造模后,30 min 内各组大鼠前肢挠头次数较空白对照组均明显增加( $P < 0.01$ ),证明造模成功,各组间挠头次数无显著性差异。给药 60 min (造模 90 min)后,芎芷石膏汤高、中、低剂量组与模型组比较,挠头次数均显著减少,以高剂量组作用最强( $P < 0.01$ )。说明芎芷石膏汤可有效减少偏头痛大鼠前肢挠头次数,对实验性偏头痛具有显著的镇痛作用。

3.4 对偏头痛大鼠耳红出现与消失时间的影响  
空白对照组未出现耳红现象。芎芷石膏汤低剂量组

3.5 芎芷石膏汤对血浆中 NO, NOS 和 CGRP 含量的影响  
造模后,大鼠血浆中的 NO, NOS, CGRP 与空白对照组相比明显升高( $P < 0.01$ )。不同剂量的芎芷石膏汤均能不同程度的抑制 NO, NOS, CGRP 的增加,以高、中剂量组明显( $P < 0.05, P < 0.01$ ),与模型组相比,见表 5。

3.6 芎芷石膏汤对脑组织中 5-HT, 5-HIAA 含量的影响  
与空白对照组相比,模型组 5-HT 明显下降( $P < 0.05$ )。与模型组相比,高、中剂量的芎芷石膏汤,均能明显增高脑中 5-HT 的量( $P < 0.05, P < 0.01$ ),而低剂量组变化不明显。同时芎芷石膏汤高、中剂量组 5-HIAA 均明显下降( $P < 0.05, P < 0.01$ ),与模型组相比。见表 6。

#### 4 讨论

福尔马林实验可初步了解受试药物的归类和作用部位。吗啡类镇痛药能抑制本法产生的第 I, II

表 5 芫芷石膏汤对大鼠血浆 NO, NOS, CGRP 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	NO/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	NOS/ $\mu mol \cdot L^{-1}$	CGRP/ $\mu mol \cdot L^{-1}$
空白	-	37.5 ± 11.3	35.7 ± 8.4	42.8 ± 9.5
模型	-	92.6 ± 17.6 <sup>2)</sup>	82.7 ± 12.8 <sup>2)</sup>	86.7 ± 12.3 <sup>2)</sup>
舒马普坦	0.005	46.8 ± 9.5 <sup>4)</sup>	40.0 ± 10.0 <sup>4)</sup>	48 ± 11.5 <sup>4)</sup>
芫芷石膏汤	12	53.8 ± 8.8 <sup>4)</sup>	45.6 ± 9.0 <sup>4)</sup>	54.5 ± 9.8 <sup>4)</sup>
	6	64.7 ± 12.0 <sup>4)</sup>	56.8 ± 12.9 <sup>3)</sup>	69.9 ± 14.5 <sup>3)</sup>
	3	71.6 ± 8.8 <sup>3)</sup>	72.4 ± 11.6	71.5 ± 10.5 <sup>3)</sup>

表 6 芫芷石膏汤对偏头痛大鼠脑中 5-HT, 5-HIAA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	5-HT/ $nmol \cdot g^{-1}$	5-HIAA/ $nmol \cdot g^{-1}$
空白	-	0.875 ± 0.075	0.626 ± 0.125
模型	-	0.525 ± 0.086 <sup>1)</sup>	0.485 ± 0.057 <sup>1)</sup>
舒马普坦	0.005	0.813 ± 0.032 <sup>4)</sup>	0.266 ± 0.087 <sup>4)</sup>
芫芷石膏汤	12	0.727 ± 0.058 <sup>4)</sup>	0.306 ± 0.054 <sup>4)</sup>
	6	0.613 ± 0.137 <sup>3)</sup>	0.344 ± 0.079 <sup>3)</sup>
	3	0.477 ± 0.895	0.396 ± 0.125

时相反应,而抗炎镇痛药只抑制第Ⅱ时相反应。而热板法是一种经典的物理因素致痛的实验方法。本实验结果表明芫芷石膏汤既能抑制福尔马林实验小鼠的第Ⅰ时相反应,也明显抑制第Ⅱ时相反应,同时对热板致痛小鼠痛阈有明显提高作用,这说明芫芷石膏汤具有物理及化学致痛均有显著的镇痛作用,同时也提示芫芷石膏汤的镇痛作用部位可能既在中枢也在外周。

偏头痛(migraine)是临床最常见的原发性头痛类型,是一种常见的慢性神经血管性疾病。头痛多为偏侧,可伴有恶心、呕吐,以中度到重度的头痛伴有波动性为特征,日常活动或声、光刺激均可加重头痛,环境安静、休息可缓解头痛。

硝酸甘油致大鼠偏头痛模型,支持目前解释偏头痛发病机制的主流学说——三叉神经血管学说且造模简单、容易复制,适合于治疗偏头痛药物的研究。三叉神经血管学说的周围疼痛机制认为,三叉神经节损害可能是偏头痛产生的神经基础。当三叉神经节及其纤维受刺激后,可引起 CGRP、P 物质和其他神经肽释放增加。在这些神经活性物质中, CGRP 发挥最为重要的作用。目前 CGRP 是已知的体内作用最强的内源性舒血管活性肽。研究发现,偏头痛患者在发作时其颈外静脉血的 CGRP 水平明显升高,用 CGRP 受体拮抗剂治疗可使患者的头痛

得到缓解及静脉血的 CGRP 水平恢复正常<sup>[8-9]</sup>。另外,给偏头痛患者静脉注射外源性的 CGRP 可以诱发类似于偏头痛样发作的头痛<sup>[10]</sup>。因此测定血浆 CGRP 对研究偏头痛有重要意义。

硝酸甘油和其他有机硝酸盐本身并无活性,它们在体内首先被转化为 NO,大量 NO 可使脑血管过度扩张,激发三叉神经-血管反射,诱发偏头痛<sup>[11]</sup>。许多实验和临床研究表明,NO 在偏头痛和其他血管性头痛的产生机制中起关键性作用<sup>[12]</sup>。NO 抑制剂和 NOS 抑制剂均可显著减轻偏头痛的发作<sup>[13-14]</sup>。

5-HT 是偏头痛重要的神经递质,目前很多抗偏头痛药物都是通过作用于 5-HT 受体起作用的<sup>[15-16]</sup>。曲坦类药物为选择性的 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受体激动剂,能有效控制偏头痛的急性发作,此类药物已成为治疗偏头痛急性发作最有效的一线药物。5-HIAA 为 5-HT 在中枢释放后的代谢终产物,反应了 5-HT 的代谢水平。

本实验从 4 个方面考察了芫芷石膏汤对偏头痛的影响。研究表明,芫芷石膏汤高、中、低剂量均能有效抑制福尔马林致小鼠疼痛反应,明显减少小鼠Ⅰ时相舔足时间和Ⅱ时相舔足时间,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。芫芷石膏汤高、中剂量组对于小鼠的物理疼痛镇痛效果明显,能显著提高小鼠的痛阈值,与空白对照组比较差异显著( $P < 0.05, P < 0.01$ )。芫芷石膏汤高、中剂量组均可以延缓大鼠耳红出现时间,缩短耳红消失时间,对扩张血管有调节作用。芫芷石膏汤各组在 2.5 h 内均可减少大鼠挠头次数,以高剂量组效果最佳。说明芫芷石膏汤对实验性偏头痛有确切疗效。由此可见,芫芷石膏汤有提高痛阈值,缩短偏头痛时间,改善偏头痛状态的作用。

同时通过实验发现,硝酸甘油诱导的偏头痛大鼠血浆 NO, NOS, CGRP 明显升高,而脑中 5-HT 水平明显下降。经不同剂量芫芷石膏汤进行干预后,高、中剂量组血浆中 NO, NOS, CGRP 含量均降低、同时

脑中 5-HT 向 5-HIAA 的代谢转变减少,脑中 5-HT 的含量增加。由此可见芎芷石膏汤通过改善偏头痛发作时血管活性物质和神经递质水平失常,减弱了神经性炎症,改善了血管舒缩功能障碍,从而缓解偏头痛症状。

### [参考文献]

[1] 陈健. 芎芷石膏汤治疗偏头痛 32 例观察[J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2012, 11(3): 60.

[2] 王芳, 刘海燕, 李宏宇. 芎芷石膏汤联合黄芪注射液治疗偏头痛疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2011, 4(5A): 46.

[3] 宁回中. 芎芷石膏汤加减治疗偏头痛 26 例[J]. 湖南中医杂志, 2010, 26(4): 64.

[4] 薛保国. 针刺联合芎芷石膏汤治疗紧张型头痛 40 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(2): 56.

[5] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 884.

[6] 付先军, 宋旭霞, 周永红, 等. 硝酸甘油型实验性偏头痛大鼠模型行为症状学评价[J]. 中华神经医学杂志, 2005, 4(5): 449.

[7] 谭炳炎, 郑琳, 冯翔. 高效液相色谱/电化学法测定大鼠血液和脑组织中单胺类物质的含量[J]. 分析测试学报, 2006, 25(2): 90.

[8] Hewitt D J, Aurora S K, Dodick D W, et al. Randomized controlled trial of the CGRP receptor antagonist MK-3207 in the acute treatment of migraine [J]. Cephalalgia, 2011, 31(6): 712.

[9] Diener H C, Barbanti P, Dahlföf C, et al. BI 44370 TA, an oral CGRP antagonist for the treatment of acute migraine attacks; results from a phase II study [J]. Cephalalgia, 2011, 31(5): 573.

[10] Edvinsson L, Warfvinge K. CGRP receptor antagonism and migraine therapy [J]. Curr Protein Pept Sci, 2013, 14(5): 386.

[11] Christiansen Ingelise, Iversen Helle K, Olesen Jes, et al. Nitric oxide-induced headache may arise from extracerebral arteries as judged from tolerance to isosorbide-5-mononitrate [J]. J Headache Pain, 2008, 9(4): 215.

[12] Uzar E, Evliyaoglu O, Toprak G. Increased nitric oxide stress is associated with migraine [J]. Cephalalgia, 2010, 30(4): 486.

[13] Hoffmann J, Goadsby P J. New agents for acute treatment of migraine: CGRP receptor antagonists, iNOS inhibitors [J]. Curr Treat Options Neurol, 2012, 14(1): 50.

[14] Olsen J. Reliability of the nitroglycerin provocative test in the diagnosis of neurovascular headaches [J]. Cephalalgia, 2005, 25(8): 636.

[15] Hamel E. Serotonin and migraine: biology and clinical implications [J]. Cephalalgia, 2007, 27(11): 1293.

[16] Nagata E, Shibata M, Hamada J. Plasma 5-hydroxytryptamine (5-HT) in migraine during an attack-free period [J]. Headache, 2006, 46(4): 592.

[责任编辑 聂淑琴]