

# 川芎-天麻不同配比对血瘀型偏头痛大鼠药效学分析

郭思宇, 刘明平\*, 周赛妮, 王美静, 赖有勤, 柯国韩  
(广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的:探讨川芎-天麻配伍对血瘀型偏头痛的治疗作用及不同配比的疗效差异性。方法:SD 雄性大鼠 42 只,随机分为正常组(Z),模型组(M),假手术组(J),川芎-天麻(4:1)组(A),川芎-天麻(1:1)组(B),川芎-天麻(1:4)组(C),舒马曲坦组(阳性组,Y)。A,B,C 3 组大鼠,将川芎-天麻浓缩液按剂量  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续灌胃 8 d,Z,J 组将舒马曲坦水溶液按  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,连续灌胃 8 d。大鼠冰水浴后皮下注射盐酸肾上腺素( $0.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )和硝酸甘油( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )复制血瘀证偏头痛模型,采用酶联免疫吸附(ELISA)检测各组大鼠血清中降钙素基因相关肽(CGRP),血栓烷素  $B_2$ ( $\text{TXB}_2$ ),6-酮-前列腺素  $F_{1\alpha}$ (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ )和脑组织一氧化氮(NO),一氧化氮合酶(NOS),降钙素基因相关肽(CGRP),内皮素(ET)水平。结果:与正常组比较,模型组血清中 NO,NOS,CGRP,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$  含量,NO/ET 明显升高( $P < 0.05$ );脑组织中 NO,NOS,ET,CGRP, $\text{TXB}_2$ ,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$  含量明显升高( $P < 0.05$ );各比例组比较,川芎-天麻(4:1)组能显著降低模型组血清中 CGRP,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$  含量,NO/ET( $P < 0.05$ ),提高  $\text{TXB}_2$  含量, $\text{TXB}_2/6\text{-Keto-PGF}_{1\alpha}$ ( $P < 0.05$ );(4:1)组显著降低模型动物脑组织中 NO,ET, $\text{TXB}_2$ ,6-Keto-PGF $_{1\alpha}$  含量与 NOS 活性,提高  $\text{TXB}_2/6\text{-Keto-PGF}_{1\alpha}$ ( $P < 0.05$ )。结论:川芎-天麻配伍对治疗血瘀型偏头痛具有疗效,不同配比组疗效有差异,综合多项指标考虑,川芎-天麻(4:1)组疗效最好。

**[关键词]** 川芎-天麻不同配比; 偏头痛; 血瘀证; 酶联免疫吸附; 6-酮-前列腺素  $F_{1\alpha}$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0127-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017170127

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170526.0958.022.html>

**[网络出版时间]** 2017-05-26 9:58

## Pharmacodynamics Analysis of Various Combinations of Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma in Rats with Blood Stasis Type Migraine

GUO Si-yu, LIU Ming-ping\*, ZHOU Sai-ni, WANG Mei-jing, LAI You-qin, KE Guo-han  
(School of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of  
Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the efficacy differences of various combinations of Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma in treatment of blood stasis type migraine. **Method:** Total 42 SD rats were randomly divided into 7 groups: normal group (Z), model group (M), sham-operated group (J), Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma groups A (1:4), B (4:1), C (1:1), and Sumatriptan group positive control group (Y). In groups A, B, C, intragastric administration of Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma concentrated solution at  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  was given for continuous 8 weeks; in groups Z and J, water and sumatriptan solution at  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  was given respectively for 8 weeks by intragastric administration. SD rats received subcutaneous injection of hydrochloride ( $0.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and trinitrin ( $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) after ice bathing to establish blood stasis type margarine models. Calcitonin gene related peptide (CGRP), thromboxane  $B_2$  ( $\text{TXB}_2$ ), 6-keto-prostaglandin  $F_{1\alpha}$  (6-Keto-PGF $_{1\alpha}$ ) in serum and nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), CGRP, endothelin (ET)

**[收稿日期]** 20170409(009)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81274107)

**[第一作者]** 郭思宇, 硕士, 从事中药药性配伍研究, Tel:13226626154, E-mail:1049013966@qq.com

**[通讯作者]** \* 刘明平, 博士, 教授, 从事中药药性配伍研究, Tel: 020-39358089, E-mail:liumingpingfly@163.com

in brain tissues were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** As compared with the normal group, the levels of NO, NOS, CGRP, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> and the ratio of NO/ET in serum, and the levels of NO, NOS, ET, CGRP, TXB<sub>2</sub> and 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> in brain tissues were increased in model group ( $P < 0.05$ ). As compared with the model group, NO/ET, CGRP and 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> in serum were reduced ( $P < 0.05$ ) in Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma 4:1 group, TXB<sub>2</sub> content and TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> ratio were increased ( $P < 0.05$ ). Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma 4:1 group could reduce NO, ET, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> levels in brain tissues and NOS activity ( $P < 0.05$ ), and increase the ratio of TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> ( $P < 0.05$ ) in brain tissues. **Conclusion:** All the combination groups were effective for blood stasis type migraine, and group (4:1) had the best efficacy in consideration of multiple indexes.

[**Key words**] various combinations of Chuanxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma; migraine; blood stasis; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> (6-Keto-PGF<sub>1α</sub>)

川芎-天麻是自古以来治疗头痛眩晕最为常用的药对,其主要效应成分为川芎嗪、阿魏酸<sup>[1]</sup>、天麻素和天麻苷元<sup>[2]</sup>等。临床上对于不同证型,具有不同的比例,如明·李时珍《本草纲目》记载天麻丸“之头痛欲倒,项急……偏正头痛,并宜服之,川芎二两,天麻半两”,川芎-天麻比例为 4:1;明·孙一奎《赤水玄珠》大川芎丸“主治首风眩晕,外合阳气……身体拘倦,川芎一两,天麻四两”,川芎-天麻比例为 1:4,分别为治疗血瘀型<sup>[3]</sup>、肝阳上亢型<sup>[4]</sup>偏头痛的常见治疗方案。本课题组前期实验通过 HPLC 测定了川芎、天麻 4 种指标性成分的含量,并通过川芎-天麻不同提取物对血瘀型偏头痛药效学研究发现醇提物效果优于水提物。本文通过在血清和脑组织中对川芎-天麻的不同比例配伍进行药效学研究,旨在研究此药对对于血瘀证治疗的最佳配伍比例,为临床治疗用药提供指导。本文以中医临床验方为立题基础,通过电刺激三叉神经复制神经源性炎症偏头痛模型,采用激光多普勒血流仪监测血流 PU 值来评估血瘀证模型,并通过检测一氧化氮合酶(NOS),降钙素基因相关肽(CGRP),6-酮-前列腺素 F<sub>1α</sub>(6-Keto-PGF<sub>1α</sub>)等药效学指标用以比较川芎-天麻不同配伍治疗血瘀型偏头痛的差异。

## 1 材料

**1.1 仪器** 68912 型双臂数字式脑立体系统(深圳市瑞沃德生命科技有限公司),PI2PT30.1A5 型刺激电极针(Microelectrodes 公司),BL-420E<sup>+</sup>型生物机能系统(成都泰盟科技有限公司),Multiskan GO 型全波长酶标仪(英国 Thermo Fisher Scientific 公司),722S 型可见分光光度计(上海精密科学有限公司),DL80-2B 型离心机(上海安亭科学仪器厂),STRONG 204 型牙科钻(深圳市瑞沃德生命科技有限公司),DY89-II 型电动匀浆机(宁波新芝生物科技有

限公司),PeriFlux 5000 型激光多普勒血流仪(瑞典 Perimed AB 公司)。

**1.2 试剂** 大鼠内皮素(ET),血栓烷素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>),6-Keto-PGF<sub>1α</sub>酶联免疫(ELISA)试剂盒(北京诚林生物科技有限公司,批号分别为 201409,201409,201409);一氧化氮(NO)测试盒,NOS 测试盒,考马斯亮蓝(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20140903,20140918,20140829);大鼠降钙素基因相关肽(CGRP)ELISA 试剂盒(武汉华美生物工程公司,批号 201412)。

**1.3 药材** 川芎(伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎,批号 131002671)和天麻(兰科植物天麻 *Gastrodia elata* 的干燥块茎,批号 130603771)药材均购于康美药业股份有限公司,经南方医科大学中药鉴定教研室刘传明副教授鉴定均为正品;盐酸肾上腺注射剂(远大医药有限公司,批号 111206);琥珀酸舒马曲坦片(江苏先声药业,批号 10-130701)。

**1.4 动物** SD 大鼠,SPF 级,雄性,体重(200 ± 20)g,由广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2015-0020。由广州中医药大学伦理委员会批准(编号 44005900002467)。

## 2 方法

**2.1 药液的制备** 川芎-天麻不同配比供试液的配制:根据药代动力学,高剂量下体内暴露量应大于或等于最佳有效浓度的 20 倍左右,故各组取川芎、天麻按临床 20 倍等效量,各加 10 倍 70% 乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 h,合并滤液,浓缩至 800 mL,终质量浓度为 0.7145 g·mL<sup>-1</sup>。

舒马曲坦溶液配制:舒马曲坦片研粉,取 150 mg 溶于 300 mL 水中,得终质量浓度为 0.5 g·L<sup>-1</sup>。

**2.2 动物分组及给药** SD 雄性大鼠 42 只,分为正

常组 (Z), 模型组 (M), 假手术组 (J), 川芎-天麻 (4:1) 组 (A), 川芎-天麻 (1:1) 组 (B), 川芎-天麻 (1:4) 组 (C), 舒马曲坦组 (阳性组, Y), 每组 6 只, 并适应性饲养 1 周。A, B, C 3 组大鼠, 按剂量  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 连续灌胃给芎-天麻不同配比供试液 8 d。Y 组大鼠, 按剂量  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 连续灌胃给舒马曲坦溶液 8 d。Z, M, J 组则按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 连续灌水 8 d。

### 2.3 血瘀型偏头痛模型造模方法

**2.3.1 大鼠急性血瘀证模型** 除正常组和假手术组外, 所有大鼠于给药第 7 天晚上皮下注射盐酸肾上腺素  $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 共 2 次, 2 次间隔 4 h, 并于第 1 次 2 h 后将大鼠浸于  $5 \sim 8 \text{ }^\circ\text{C}$  的水中 5 min<sup>[5]</sup>。

**2.3.2 电刺激大鼠三叉神经节致偏头痛** 将大鼠以 10% 水合氯醛 ( $3.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 腹腔注射进行麻醉后, 将大鼠固定在立体定位仪上, 门齿固定插设在正中处, 头部备皮, 头顶正中切口, 暴露皮下筋膜, 用浸满双氧水的棉签摩擦暴露的筋膜, 直至暴露颅骨前囟及颅盖骨。在前囟为起点后移 3.2 mm, 旁开 2.8 mm 处, 用牙科钻插孔, 然后将电极插入三叉神经节 (以硬脑膜算起深度为 9.3 mm), 术后持续麻醉。调试好刺激电极, 电刺激参数为周期 195 ms, 幅度 10 V, 波宽 5 ms, 刺激 10 min。注意, Z 组不予电刺激, J 组插入电极但不予电刺激, 其余组皆电刺激 10 min<sup>[6]</sup>。

**2.4 激光多普勒血流仪 (LDF) 检测** 在电刺激三叉神经造模前, 牙科钻打孔至穿透颅骨但未破坏硬脑膜为宜, 将 LDF 的探针固定在孔上, 待基线平稳时, 开始记录脑血管中血流值 (PU)。

**2.5 模型评估大鼠急性血瘀证** 实验中观察到模型组大鼠在冰水中出现多动、烦躁、寒颤、游泳力度逐渐减弱即疲劳等, 从冰水中取出后, 症状表现为蜷缩少动, 爪、尾部紫暗, 耳色暗红, 舌质紫暗, 喜扎堆, 呼吸微弱, 朦胧欲睡, 被毛无光泽, 饮水量少, 畏寒喜暖等症状, 模型给药组大鼠的上述症状稍轻, 取血可见血色暗红, 激光多普勒血流仪 (LDF) 检测, PU 较正常大鼠小。

电刺激大鼠三叉神经节致偏头痛: 刺激大鼠三叉神经节时刺激侧大鼠咀嚼肌是否收缩、口鼻分泌物是否增多; 刺激后大鼠三叉神经节是否被破坏。

**2.6 取材** 血清制备: 停止电刺激 30 min 后, 所有大鼠腹主动脉取血, 并于  $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取血清,  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中保存备用。

脑匀浆制备: 取全脑, 用生理盐水洗去血渍, 去除

脑膜及可见血管, 用滤纸把生理盐水吸干, 加 3 倍量 PBS (pH 7.4) 匀浆, 静置 20 min, 于  $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 离心 15 min, 取上清液置  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存待测。

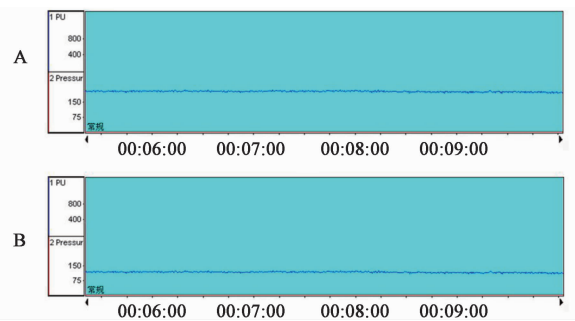
**2.7 ELISA 检测** 取 2.6 项血清及脑匀浆制品进行 ET,  $\text{TXB}_2$ , 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , CGRP, NO, NOS 试剂盒检测, 具体操作详见说明书。

**2.8 统计学方法** 数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SPSS 19.0 统计软件中的单因素方差分析处理数据, 多样本均数间比较采用 One-Way ANOVA。  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 血瘀型偏头痛模型评估

**3.1.1 大鼠急性血瘀证模型评估** 根据急性血瘀证造模方法, 采用激光多普勒技术简单的评估模型成功, 比较正常组和模型组大鼠的脑 PU, 见图 1。



A. 正常组; B. 模型组

图 1 正常组及模型组大鼠血流

Fig. 1 Laser doppler blood flow diagram of normal group and model group

经检测, 正常组及模型组血流 PU 分别为 ( $261.6 \pm 35.9$ ), ( $128.9 \pm 19.5$ ); 与正常组比较, 模型组 PU 值显著降低, 具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 因此从血流量值数据显示大鼠急性血瘀型模型成功。

**3.1.2 电刺激三叉神经致大鼠偏头痛评估** 根据电刺激三叉神经节造模方法, 依据神经行为学判定偏头痛模型是否成功, 实验中可见大鼠口鼻分泌物增多, 咀嚼肌收缩剧烈, 且解剖后可观察到大鼠三叉神经节有电极针刺刺激后的痕迹。另外, 可根据药效学指标判断。

### 3.2 药效学指标分析

**3.2.1 川芎-天麻不同剂量配比对血瘀型偏头痛大鼠血清 NO, NOS, ET 和 NO/ET 影响** 与正常组比较, 模型组血清中 NO 含量, NOS 活性和 NO/ET 均明显升高, 且都有显著性差异, ET 含量明显降低 ( $P < 0.05$ ), 说明造模成功; 假手术组血清中 NOS

活性含量明显升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,假手术组和舒马曲坦组大鼠血清中 NOS 含量均明显降低,ET 含量均明显升高 ( $P < 0.05$ );川芎-天麻(4:1,1:4)组均能显著降低血清中 NOS 含量

( $P < 0.05$ );川芎-天麻(1:1)组血清中 NOS 含量无明显差异。川芎-天麻(1:4)组降低血清中 NOS 含量,优于川芎-天麻(4:1,1:1)组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 川芎-天麻不同剂量对比对血瘀型偏头痛大鼠血清 NO,NOS,ET 和 NO/ET 影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 1 Contents of NO,NOS,ET and NO/ET various combination of Chuangxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma migraine with blood stasis rats in serum samples ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别         | 剂量/ $g \cdot kg^{-1}$ | NO/ $\mu mol \cdot L^{-1}$ | NOS/ $U \cdot mL^{-1}$         | ET/ $\mu g \cdot L^{-1}$   | NO/ET                       |
|------------|-----------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 正常         | -                     | 1.82 ± 0.68                | 22.47 ± 0.57                   | 33.10 ± 2.70               | 0.050 ± 0.023               |
| 假手术        | -                     | 2.22 ± 1.02                | 29.66 ± 0.46 <sup>1,2)</sup>   | 34.22 ± 2.76 <sup>2)</sup> | 0.067 ± 0.037               |
| 模型         | -                     | 2.47 ± 0.71 <sup>1)</sup>  | 35.21 ± 1.02 <sup>1)</sup>     | 28.19 ± 1.32 <sup>1)</sup> | 0.092 ± 0.025 <sup>1)</sup> |
| 舒马曲坦       | 0.005                 | 1.83 ± 0.47                | 33.36 ± 1.16 <sup>2)</sup>     | 33.44 ± 7.29 <sup>2)</sup> | 0.059 ± 0.027               |
| 川芎-天麻(4:1) | 14.29                 | 2.83 ± 1.60                | 33.13 ± 0.61 <sup>2)</sup>     | 30.65 ± 3.13               | 0.090 ± 0.045               |
| 川芎-天麻(1:1) | 14.29                 | 2.64 ± 1.16                | 35.37 ± 0.64 <sup>1)</sup>     | 32.61 ± 7.09               | 0.081 ± 0.033               |
| 川芎-天麻(1:4) | 14.29                 | 2.04 ± 1.15                | 30.34 ± 0.64 <sup>2,3,4)</sup> | 29.06 ± 2.15               | 0.071 ± 0.042               |

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ;与川芎-天麻(4:1)组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ;与川芎-天麻(1:1)组比较<sup>4)</sup> $P < 0.05$ (表 2~4 同)。

**3.2.2** 川芎-天麻不同对比对血瘀型偏头痛大鼠血清 CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  和 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  影响 模型组血清中 CGRP 和 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量升高, TXB<sub>2</sub> 含量降低, 与正常组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 说明造模成功。川芎-天麻各比例组均可降低模型动物血清中 CGRP 含量, 川芎-天麻(4:1,1:4)组可显著降低模型动物血清中 CGRP 含

量 ( $P < 0.05$ )。川芎-天麻各比例组可显著提高模型动物血清 TXB<sub>2</sub> 含量, 川芎-天麻(4:1)组有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。川芎-天麻各比例组均可显著降低模型动物血清 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量, 均有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 川芎-天麻各比例组 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  比值均升高, 均有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 且川芎-天麻(4:1)组效果显著。见表 2。

表 2 川芎-天麻不同对比对血瘀型偏头痛大鼠血清 CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  和 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 2 Contents of CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  and TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in various combination of Chuangxiong Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma migraine with blood stasis rats serum samples ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别         | 剂量/ $g \cdot kg^{-1}$ | CGRP/ $ng \cdot L^{-1}$      | TXB <sub>2</sub> / $ng \cdot L^{-1}$ | 6-Keto-PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> / $ng \cdot L^{-1}$ | TXB <sub>2</sub> /6-Keto-PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> |
|------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| 正常         | -                     | 12.49 ± 2.49                 | 77.95 ± 7.21                         | 62.05 ± 2.19   | 1.250 ± 0.127  |
| 假手术        | -                     | 13.28 ± 3.64 <sup>2)</sup>   | 72.01 ± 6.99                         | 69.80 ± 16.16  | 1.225 ± 0.373  |
| 模型         | -                     | 23.62 ± 6.45 <sup>1)</sup>   | 67.35 ± 5.27 <sup>1)</sup>           | 73.75 ± 6.40 <sup>1)</sup>                                     | 0.922 ± 0.139  |
| 舒马曲坦       | 0.005                 | 13.50 ± 5.45 <sup>2)</sup>   | 73.70 ± 3.40 <sup>2)</sup>           | 45.99 ± 9.95 <sup>1,2)</sup>                                   | 1.691 ± 0.505 <sup>2)</sup>                                  |
| 川芎-天麻(4:1) | 14.29                 | 22.70 ± 4.58 <sup>2)</sup>   | 82.33 ± 7.10 <sup>2)</sup>           | 28.88 ± 7.28 <sup>2)</sup>                                     | 2.994 ± 0.775 <sup>2)</sup>                                  |
| 川芎-天麻(1:1) | 14.29                 | 15.44 ± 5.69                 | 74.72 ± 3.93                         | 31.41 ± 6.85 <sup>2)</sup>                                     | 2.462 ± 0.466 <sup>2)</sup>                                  |
| 川芎-天麻(1:4) | 14.29                 | 11.26 ± 5.94 <sup>2,3)</sup> | 70.45 ± 10.01 <sup>1)</sup>          | 40.48 ± 11.41 <sup>2,3)</sup>                                  | 1.884 ± 0.733 <sup>2,3,4)</sup>                              |

**3.2.3** 川芎-天麻不同剂量对比对血瘀型偏头痛大鼠脑组织 NO,NOS,ET 和 NO/ET 影响 与正常组比较,模型组脑组织中 NO,NOS,ET 含量显著升高,说明造模成功。川芎-天麻各比例组均可降低模型动物脑组织中 NO,NOS 活性与 ET 含量,其中川芎-天麻(4:1)组降低 NO,NOS 活性具有显著效果。各比例组均可使模型动物中 NO/ET 显著升高 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

鼠脑组织 CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  和 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  的影响 模型组脑组织中 CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量升高, TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  降低, 说明造模成功。与模型组比较, 川芎-天麻各比例组均可降低模型动物脑组织 TXB<sub>2</sub> 含量, 其中川芎-天麻(4:1)组效果显著 ( $P < 0.05$ )。川芎-天麻各比例组均可显著降低模型动物脑组织 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, 川芎-天麻各比例组 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  均升高。见表 4。

**3.2.4** 川芎-天麻不同剂量对比对血瘀型偏头痛大

表 3 川芎-天麻不同剂量对比对血瘀型偏头痛大鼠脑组织 NO, NOS, ET 和 NO/ET 影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 3 Contents of NO, NOS, ET and NO/ET in various combination of Chuangxiang Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma migraine with blood stasis rats brain tissue samples ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别         | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | NOS/U·mL <sup>-1</sup>    | ET/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ | NO/ET                           |
|------------|-----------------------|---|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| 正常         | -                     | 0.11 ± 0.03                             | 0.38 ± 0.08               | 275.66 ± 11.09                        | 0.000 24 ± 0.000                |
| 假手术        | -                     | 0.16 ± 0.03 <sup>1)</sup>               | 0.44 ± 0.03 <sup>2)</sup> | 204.53 ± 37.84 <sup>1,2)</sup>        | 0.000 8 ± 0.000 <sup>1,2)</sup> |
| 模型         | -                     | 0.16 ± 0.02 <sup>1)</sup>               | 0.62 ± 0.18 <sup>1)</sup> | 357.48 ± 17.78 <sup>1)</sup>          | 0.000 5 ± 0.000 <sup>1)</sup>   |
| 舒马曲坦       | 0.005                 | 0.15 ± 0.02                             | 0.54 ± 0.13 <sup>1)</sup> | 274.27 ± 56.36 <sup>2)</sup>          | 0.000 6 ± 0.000                 |
| 川芎-天麻(4:1) | 14.29                 | 0.11 ± 0.01 <sup>2)</sup>               | 0.37 ± 0.06 <sup>2)</sup> | 130.84 ± 21.72 <sup>2)</sup>          | 0.000 9 ± 0.001 <sup>2)</sup>   |
| 川芎-天麻(1:1) | 14.29                 | 0.15 ± 0.03 <sup>1)</sup>               | 0.50 ± 0.11 <sup>1)</sup> | 141.59 ± 26.06 <sup>2)</sup>          | 0.001 1 ± 0.004 <sup>2,3)</sup> |
| 川芎-天麻(1:4) | 14.29                 | 0.14 ± 0.02 <sup>1)</sup>               | 0.52 ± 0.08 <sup>1)</sup> | 196.86 ± 21.31 <sup>2,3,4)</sup>      | 0.000 7 ± 0.003 <sup>2,4)</sup> |

表 4 川芎-天麻不同剂量对比对血瘀型偏头痛大鼠脑组织 CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 和 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 4 Contents of CGRP, TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  and TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in various combination of Chuangxiang Rhizoma-Gastrodiae Rhizoma migraine with blood stasis rats brain tissue samples ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

| 组别         | 剂量/g·kg <sup>-1</sup> | CGRP/ng·L <sup>-1</sup>      | TXB <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup> | 6-Keto-PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> /ng·L <sup>-1</sup> | TXB <sub>2</sub> /6-Keto-PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> |
|------------|-----------------------|------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| 正常         | -                     | 202.47 ± 10.77               | 677.92 ± 96.27                       | 480.42 ± 23.71   | 0.975 ± 0.031  |
| 假手术        | -                     | 207.44 ± 22.32 <sup>2)</sup> | 745.56 ± 53.36 <sup>2)</sup>         | 322.46 ± 113.36 <sup>2)</sup>                                  | 0.623 ± 0.267  |
| 模型         | -                     | 261.59 ± 17.19 <sup>1)</sup> | 984.44 ± 176.37 <sup>1)</sup>        | 602.20 ± 106.07 <sup>1)</sup>                                  | 0.612 ± 0.129  |
| 舒马曲坦       | 0.005                 | 226.99 ± 15.75 <sup>2)</sup> | 674.44 ± 75.74 <sup>2)</sup>         | 297.80 ± 27.10 <sup>2)</sup>                                   | 0.934 ± 0.240 <sup>2)</sup>                                  |
| 川芎-天麻(4:1) | 14.29                 | 237.31 ± 31.92               | 631.17 ± 143.12 <sup>2)</sup>        | 159.52 ± 33.11 <sup>2)</sup>                                   | 0.846 ± 0.207  |
| 川芎-天麻(1:1) | 14.29                 | 218.91 ± 32.00 <sup>2)</sup> | 717.17 ± 146.55                      | 196.49 ± 69.32 <sup>2)</sup>                                   | 0.786 ± 0.260  |
| 川芎-天麻(1:4) | 14.29                 | 262.17 ± 24.49 <sup>4)</sup> | 880.17 ± 163.80                      | 189.76 ± 38.58 <sup>2)</sup>                                   | 1.097 ± 0.360 <sup>2,3,4)</sup>                              |

#### 4 讨论

本实验内容采用基于三叉神经血管反射学说的造模方法,此学说偏头痛的发病机制为三叉神经受刺激时,周围血管纤维释放活性物质,如降钙素基因相关肽(CGRP)<sup>[7]</sup>,神经激肽A(NKA)<sup>[8]</sup>,致痛成分P物质(SP)<sup>[9]</sup>等,从而使脑膜周围血管扩张(NDV)<sup>[10]</sup>,血浆蛋白外渗,同时肥大细胞释放组胺,引发硬脑膜和其他分布于三叉神经的组织发生神经源性的炎症。这种刺激延着三叉神经传入延脑化学感受区,使大脑皮质产生痛觉<sup>[11]</sup>。当偏头痛发作时体内许多维持和平衡的神经递质产生明显变化,如具有血管舒张作用的NO<sup>[12]</sup>,NOS<sup>[13]</sup>,CGRP,6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> <sup>[14]</sup>明显增高,血管收缩肽ET<sup>[15]</sup>升高,而TXB<sub>2</sub><sup>[16]</sup>明显升高,同时NO/ET, TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 变化血管收缩舒张失调。

目前,电刺激上矢状窦、三叉神经建立偏头痛模型的方法已十分成熟,而我国偏头痛动物模型主要为电刺激上矢状窦和硝酸甘油动物模型,这些模型不足以用来研究说明神经源性炎症导致的偏头痛,因此笔者采用电刺激大鼠三叉神经节的偏头痛模型,来进一步研究偏头痛病理生理学机制。

本实验血瘀证的造模方法是以中医对血瘀证辨证为理论基础的。目前,血瘀证动物模型复制方法有根据血瘀的病因病机如寒邪、外伤、郁怒、气虚等建立的动物模型<sup>[17]</sup>,急性血瘀便是其中一种。古今中医药学者都认为七情中的“忧怒”和六淫中的“寒邪”为急性血瘀主要病因,已知在暴怒时机体会分泌大量的肾上腺素和其他激素,故通过给大鼠皮下注射盐酸肾上腺素来模拟暴怒时的机体状态,再施以冰水浸泡,模拟“寒邪”侵袭,二者综合作用复制大鼠急性血瘀模型<sup>[18]</sup>。在实验中发现该模型复制中也有偶然因素的存在,如实验动物的死亡率较高,体质较差的大鼠在实验过程中状态不好或冰浴游泳后较易死亡,而体质较好的大鼠则抵抗冰浴的能力偏强,因而在动物分组时要确保有足够数据的动物。另外在皮下注射肾上腺的过程中,注射部位应尽量远离头部,同时应避免将肾上腺误注入血管引起大鼠血压突然上升而死亡。

本实验药效学部分所测指标较多,血浆样品不足够测血液流变学,因此通过应用激光多普勒技术监测模型大鼠脑中血流的动态变化<sup>[19]</sup>,简单的评价实时动态脑血流监测模型制作成功与否。

在本实验中药效学指标分析发现脑组织中具有血管舒张作用的 NO, NOS, CGRP, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 明显增高, 同时具有血管收缩作用的 ET 含量也有所升高, 对于收缩血管因子和舒张血管因子同时升高的现象, 作者做出以下两种推测, ①在偏头痛发作时, 血管中加速 NO, NOS, CGRP, ET 等神经递质合成和释放的同时, 自身亦在降解, 此时血浆中血管舒张肽 NO, NOS, CGRP, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>, 血管收缩肽 ET 含量均升高。由于各递质生物活性持续的时间不同, 在两者均升高的情况下, 可能舒张血管肽因子的生物活性、作用强度占主导而致血管扩张。②在生理状态下, NO/ET 和 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 两组血管活性物质处于动态平衡状态, 从而维持血管的基础张力和舒张功能, 当偏头痛发作时两组比值的平衡破坏导致脑血管舒缩功能紊乱。

[参考文献]

[1] ZHANG Q, WANG M, WANG Q, et al. Characterization of the potential new phthalides in *Ligusticum chuanxiong* Hort. using ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight tandem mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2017, doi: 10.1002/jssc.201601443.

[2] WONG H Y, HU B, So P K, et al. Rapid authentication of *Gastrodiae Rhizoma* by direct ionization mass spectrometry [J]. *Anal Chim Acta*, 2016, 938 (3): 90-97.

[3] LIU Z K, Ng C F, SHIU H T, et al. A traditional Chinese formula composed of *Chuanxiong Rhizoma* and *Gastrodiae Rhizoma* (Da Chuanxiong Formula) suppresses inflammatory response in LPS-induced RAW 264.7 cells through inhibition of NF-κB pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 196(7): 20-28.

[4] 毛禹康, 苏洁贞, 刘明平, 等. 川芎-天麻不同剂量配比对大鼠肝阳上亢型偏头痛的药效学差异研究 [J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(4): 157-160.

[5] 苗明三, 朱飞鹏. 常用医药研究动物模型 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 438-439.

[6] 张金璐, 陈新林, 吕海侠, 等. c-Jun 氨基末端激酶信号通路参与电刺激大鼠三叉神经节偏头痛模型降钙素基因相关肽表达调控 [J]. *西安交通大学学报: 医学版*, 2016, 37(1): 28-32.

[7] HOU M, XING H, CAI Y, et al. The effect and safety of monoclonal antibodies to calcitonin gene-related peptide and its receptor on migraine: a systematic review and meta-analysis [J]. *J Headache Pain*, 2017, 18(1): 42-50.

[8] Capuani C, Melone M, Tottene A, et al. Defective glutamate and K<sup>+</sup> clearance by cortical astrocytes in familial hemiplegic migraine type 2 [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(8): 967-986.

[9] Del Fiacco M, Quartu M, Boi M. TRPV1, CGRP and SP in scalp arteries of patients suffering from chronic migraine [J]. *Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2015, 86(4): 393-397.

[10] Butt J H, Franzmann U, Kruuse C. Endothelial function in migraine with aura-a systematic review [J]. *Headache*, 2015, 55(1): 35-54.

[11] Sohn J H, Kim C H, Choi H C. Differences in central facilitation between episodic and chronic migraineurs in nociceptive-specific trigeminal pathways [J]. *J Headache Pain*, 2016, 17(1): 35-43.

[12] Kurauchi Y, Mokudai K, Mori A, et al. 1-Citrulline ameliorates cerebral blood flow during cortical spreading depression in rats: involvement of nitric oxide-and prostanoids-mediated pathway [J]. *Pharmacol Sci*, 2017, 133(3): 146-155.

[13] Greco R, Ferrigno A, Demartini C, et al. Evaluation of ADMA-DDAH-NOS axis in specific brain areas following nitroglycerin administration: study in an animal model of migraine [J]. *Headache Pain*, 2015, 16(3): 560-569.

[14] Bas M, Storck K, Strassen U. Potential biomarkers for the diagnosis of angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema [J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2017, 79(1/2): 85-92.

[15] Larrosa-Campo D, Ramón-Carbajo C, Álvarez-Escudero R, et al. Arterial pathology in migraine: endothelial dysfunction and structural changes in the brain and systemic vasculature [J]. *Rev Neurol*, 2015, 61(7): 313-322.

[16] ZHAO G C, YUAN Y L, CHAI F R. Effect of *Melilotus officinalis* extract on the apoptosis of brain tissues by altering cerebral thrombosis and inflammatory mediators in acute cerebral ischemia [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89(2): 1346-1352.

[17] 颜琳琳, 周利红, 李琦. 中医血瘀证动物模型研究概况 [J]. *中医杂志*, 2014, 59(3): 255-258.

[18] 李伟霞, 黄美艳, 唐于平, 等. 大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(12): 1761-1765.

[19] 刘宇, 孟然, 闫峰, 等. 激光多普勒血流仪评价活体大鼠大脑中动脉栓塞模型成功的可行性分析 [J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(3): 620-624.

[责任编辑 邹晓翠]