

桂枝加葛根汤抗炎镇痛作用研究

马麟^{1*}, 赵玉堂²

(1. 广东省中医院, 广州 510120; 2. 河北省承德市承德医院中医系, 河北 承德 067000)

[摘要] 目的:研究桂枝加葛根汤(GGT)治疗颈椎病的作用机制。方法:分为5组:正常组(生理盐水组),阿司匹林 0.2 g·kg⁻¹组, GGT 0.5, 1.0, 1.5 g·kg⁻¹组。采用冰醋酸所致小鼠扭体反应、小鼠福尔马林致痛、兔神经根周围炎症因子等模型观察 GGT 抗炎镇痛作用。结果:GGT 3 个剂量组能显著减少扭体反应次数($P < 0.01$),中、高剂量组与阿司匹林组相当;GGT 3 个剂量组可明显抑制福尔马林致痛试验的第二时相的疼痛强度($P < 0.01$),高剂量组与阿司匹林组相当;灌胃后 2 周,GGT 组前列腺素 E₂(PGE₂)、6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-K-PGF_{1α})水平高于正常对照组,但低于模型组($P < 0.01$),灌胃后 4 周,GGT 组 PGE₂、6-K-PGF_{1α}水平持续降低($P < 0.01$)。结论:桂枝加葛根汤具有抗炎镇痛作用。

[关键词] 桂枝加葛根汤;动物模型;抗炎镇痛;前列腺素 E₂;6-酮-前列腺素 F_{1α}

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0249-03

桂枝加葛根汤出自汉代张仲景的《伤寒论》,具有解肌祛风,升津舒经之功,近来临床广泛用于治疗颈椎病,本课题对其抗炎镇痛作用进行了研究,现报道如下。

1 材料与方

1.1 动物 昆明种小鼠,体质量(21 ± 2)g,雌雄各半,由北京维通利华实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2006-0072。健康家兔 46 只,雌雄各半,体重 1.4 ~ 1.8 kg,北京维通利华实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(京)2009-0024。

1.2 主要试剂与药物

1.2.1 试剂 6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-K-PGF_{1α})放免试剂盒;前列腺素 E₂(PGE₂)放免试剂盒,均购自北京华英生物技术研究所。

1.2.2 药物 桂枝加葛根汤(GGT)麻黄 45 g,桂枝 75 g,白芍 75 g,生姜 90 g,大枣 24 枚,甘草 60 g,葛根 120 g。均购自承德医药公司,以仲景法煎煮(诸药加水 2 000 mL,一次煎取 600 mL),浓缩至 50%。阿司匹林,石家庄市华新药业有限责任公司,批号 11756。

1.2.3 仪器 752 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司),离心机, YSD24G 药理生理实验多用仪(安徽蚌埠医学院无线电二厂),全自动高速冷冻离心机(湘西仪器仪表总厂)。400R 低温离心机(德国 Heraeus)。

2 方法

2.1 镇痛作用

2.1.1 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 小鼠随机分为 5 组:正常组(生理盐水组),阿司匹林 0.2 g·kg⁻¹组, GGT 0.5, 1.0, 1.5 g·kg⁻¹组(中剂量相当于人常用剂量 8 倍;用生理盐水稀释至 0.02 mL·g⁻¹给药。各组 ig 给药,1 次 Tid,连续 7 d。末次给药 1 h 后,各组小鼠 ip 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL/只,记录 30 min 内各组发生扭体反应的次数。

2.1.2 对小鼠福尔马林致痛的影响 模型及方法参照文献[1],分组给药同上,末次给药后于小鼠左后足跖 sc 5% 福尔马林溶液(10 μL/只),置 15 cm × 13 cm × 13 cm 玻璃笼中观测。以舔左后足时间为小鼠痛反应指标,分别记录小鼠注射后 0 ~ 5 和 15 ~ 30 min 的累计舔足时间,代表第一时相和第二时相疼痛强度。用改良的 Dubuission 加权积分法^[1]对小鼠的痛反应做如下评分:行走自如计 0 分;跛行、不动时足撑地计 1 分;抬足计 2 分;舔足、咬足或抖足计 3 分。分别记录 2 个时相内各组累计分并计算加权值。

2.2 对兔神经根周围炎症因子影响 家兔 46 只,随机分为正常对照组 12 只,假手术组 12 只,造模组 22 只,参照文献[2]造模,造模 8 周各处死 2 只后,造模成功后,将造模组随机分为 GGT 组、模型对照组,每组 10 只。各组 ig 给药,GGT 10 mL·kg⁻¹(每 100 mL 蒸馏水含 GGT 10.30 g),每日 2 次,每天 8 Am 和 3 Pm 各 ig 1 次;正常对照组、模型对照组、假手术组每日相同时间等量生理盐水 ig,连续 4 周。于给药后 2 周,4 周各处死 5 只,术前术后自由进

[收稿日期] 2011-11-24

[通讯作者] * 马麟,主管药师,从事医院药学研究, Tel: 13826222765, E-mail: gd642765@126.com.

食。用 25% 苯巴比妥腹腔注射麻醉,取其髓核周围组织约 0.5 g,放入无菌试管中,10% 福尔马林固定。采用放射免疫测定法,测定 PGE₂, 6-K-PGF_{1a}。

2.3 统计方法 采用 SPSS 15.0 统计软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 结果见表 1。与正常组对比,阿司匹林、GGT 3 个剂量能显著减少扭体反应次数 (*P* < 0.01);与阿司匹林组相

表 1 GGT 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	扭体数
正常对照	-	43.2 ± 10.3
阿司匹林	0.2	17.5 ± 5.4 ¹⁾
GGT	0.5	30.2 ± 7.1 ¹⁾
	1.0	23.2 ± 6.6 ^{1,2)}
	1.5	19.2 ± 5.8 ^{1,2)}

注:与对照组比较¹⁾ *P* < 0.01。

表 2 GGT 对小鼠福尔马林致痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	记分		疼痛抑制率/%	
		第一时相	第二时相	第一时相	第二时相
正常对照	-	3.86 ± 1.09	3.58 ± 1.02	-	-
阿司匹林	0.2	1.57 ± 0.71 ¹⁾	1.87 ± 0.84 ¹⁾	65.4	53.2
GGT	0.5	2.88 ± 1.12	2.17 ± 0.79 ¹⁾	16.2	47.3
	1.0	2.45 ± 1.14	2.26 ± 1.10 ²⁾	20.6	44.9
	1.5	2.07 ± 1.22 ¹⁾	1.88 ± 0.89 ¹⁾	19.8	48.8

注:与对照组比较¹⁾ *P* < 0.01, ²⁾ *P* < 0.05。

表 3 GGT 对兔神经根周围炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	pg·mg ⁻¹			
		PGE ₂		6-K-PGF _{1a}	
		2 周	4 周	2 周	4 周
正常对照	-	18.12 ± 2.05	18.07 ± 1.91	12.32 ± 1.28	12.24 ± 1.41
假手术	-	19.07 ± 1.95	18.87 ± 2.01	13.17 ± 1.32	12.73 ± 1.33
模型对照	-	28.74 ± 1.85 ¹⁾	25.41 ± 1.79 ¹⁾	22.02 ± 1.77 ¹⁾	19.64 ± 1.68 ¹⁾
GGT	1.0	23.15 ± 1.55 ^{1,2)}	19.35 ± 1.65 ²⁾	17.72 ± 1.54 ^{1,2)}	13.19 ± 1.37 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ *P* < 0.01;与模型组比较²⁾ *P* < 0.01。

4 讨论

桂枝加葛根汤由桂枝汤加葛根组成,是《伤寒论》中治太阳中风兼太阳经气不舒的名方,可用于“太阳病,项背强几几,反汗出恶风者”,具有发表解肌,调和营卫,舒筋活络的功效。桂枝加葛根汤治疗颈椎病是经方之新用,在临床取得了较好的临床效果^[3,4],作为治疗颈椎病的基本方在临床广泛应用。有研究证实桂枝加葛根汤在防止因纤维环细胞而引起的椎间盘退变具有重要作用^[5]。本研究利用动

物模型进一步评价桂枝加葛根汤抗炎镇痛作用。

3.2 对小鼠福尔马林致痛的影响 与正常组对比,阿司匹林组第 1 时相和第 2 时相的疼痛强度显著减少 (*P* < 0.01),GGT 3 个剂量均可显著降低第 2 时相的疼痛强度 (*P* < 0.01 或 *P* < 0.05),高剂量对第一时相的疼痛强度降低的程度有显著差异 (*P* < 0.05);与阿司匹林组相比,GGT 高剂量组降低第二时相的疼痛强度无显著性差异见表 2。

3.3 对兔神经根周围炎症因子的影响 灌胃后 2 周,与正常对照组相比,模型组 PGE₂, 6-K-PGF_{1a} 水平明显升高 (*P* < 0.01),表明造模成功;GGT 组 PGE₂, 6-K-PGF_{1a} 水平高于正常对照组,但低于模型组 (*P* < 0.01),表明 GGT 组可抑制兔模型神经根局部炎症因子 PGE₂, 6-K-PGF_{1a};灌胃后 4 周,与模型组相比,GGT 组 PGE₂, 6-K-PGF_{1a} 水平持续降低 (*P* < 0.01),见表 3。

物模型进一步评价桂枝加葛根汤抗炎镇痛作用。

研究表明神经机械性压迫并不是产生神经根型颈椎病的唯一原因,炎症及炎症介质的存在也是造成颈椎根型痛的重要原因。PGE₂, 6-K-PGF_{1a} 等因子在椎间盘组织中被发现,其水平明显升高,并且与退变程度成正比^[6];研究证实椎间盘退变本身具有启动和促进炎症反应的作用^[7]。PGE₂ 为促炎介质,能增强血管通透性、加速溶酶体释放、促进白细胞趋化作用,炎症的全过程中都存在着 PGE₂ 的合成与

释放。PGE₂不引起明显疼痛,而是使痛觉传入神经末梢使其对组织胺、缓激肽的反应更敏感。炎症的发生发展过程中,PGE₂作用最强,其代谢产物6-K-PGF_{1a}可能起着更重要的作用^[6,8]。

本实验结果表明:桂枝加葛根汤可明显抑制福尔马林致痛试验的第二时相的疼痛强度、减少小鼠扭体反应次数;并能有效地抑制兔模型神经根周围局部的炎症因子PGE₂,6-K-PGF_{1a},说明了桂枝加葛根汤具有抗炎止痛功能,这为临床治疗颈椎病提供了科学依据。

[参考文献]

[1] 王爱武,刘娅,雒琪,等.独活寄生汤抗炎、镇痛作用的药效学研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(12):61.

[2] 彭宝淦,施杞,沈培芝,等.一个新的实验性颈椎病动物模型[J].中国中医骨伤科,1996(5):10.

[3] 徐腾,王诗忠,陈水金,等.桂枝加葛根汤结合颈椎牵

引治疗神经根型颈椎病68例随机对照临床研究[J].辽宁中医杂志,2009(12):2095.

[4] 王斌.桂枝加葛根汤治疗神经根型颈椎病63例[J].新中医,2009(6):68.

[5] 王诗忠,黄龙生,陈少清,等.桂枝加葛根汤对椎间盘纤维环细胞蛋白多糖表达的影响[J].中华中医药杂志,2011(11):2543.

[6] 王文岳,刘金华,周强,等.腰椎间盘突出症与前列腺素E₂的相关性研究[J].贵阳中医学院学报,2005,27(2):25.

[7] Kang J D, Stefanovic-Racic M, McIntyre L A, et al. Toward abiochemical understanding of human intervertebral disc degeneration and herniation[J]. Spine, 1997,22(10):1065.

[8] 周福松,王帅,关素珍,等.中药复方肤灵浸膏对PCA大鼠血TXB₂、6-keto-PGF_{1a}的影响[J].浙江中西医结合杂志,2009(3):150.

[责任编辑 古云侠]

欢迎订阅 2012 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于1995年10月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊为半月刊,16开本,288页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。2012年每期定价25元,全年24期定价为600元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:BM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:czd@vip.sina.com,网址:www.syfjzz.com。