

川芎-白芷药对不同配比不同剂型对 偏头痛动物模型的影响

杨胜^{1*}, 张定堃², 苏柘僮², 徐佳丽², 杨金辉²

(1. 成都医学院, 成都 610083; 2. 成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] 目的: 观察川芎-白芷药对不同配比、不同剂型对偏头痛动物模型的影响。方法: 利用硝酸甘油($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ip 一次造成大鼠偏头痛模型, sc 利血平($0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 7 d 造成小鼠偏头痛模型, 川芎-白芷药对 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 进行治疗, 对模型动物脑组织中 5-羟色胺(5-HT)、5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA)、降钙素基因相关肽(CGRP)含量进行检测。结果: 偏头痛大鼠模型组脑组织中 5-HT 含量($720.44 \pm 92.1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$), CGRP 含量($618.32 \pm 139.3 \text{ pg} \cdot \text{g}^{-1}$); 与模型组比较, 川芎-白芷药对不同配比、不同剂型 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 可升高偏头痛大鼠脑组织中 5-HT 48.41% ~ 73.18%, 降低头痛大鼠脑组织中 CGRP 38.02% ~ 50.02% ($P < 0.01$); 与小鼠偏头痛模型组比较, 川芎-白芷药对不同配比、不同剂型 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 可升高偏头痛小鼠脑组织中 5-HT 36.60% ~ 69.52% ($P < 0.05, P < 0.01$)。结论: 川芎-白芷药对不同配比、不同剂型主要是通过影响单胺类递质的释放, 缓解神经源性炎症而改善偏头痛的症状。

[关键词] 川芎; 白芷; 偏头痛模型; 5-羟色胺; 降钙素基因相关肽

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0225-04

Effect of Different Proportion and Different Dosage Forms of Combination of Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix on Migraine in Animal Models

YANG Sheng^{1*}, ZHANG Ding-kun², SU Zhe-tong², XU Jia-li², YANG Jin-hui²

(1. Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China;

2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of different proportion and different dosage forms of the

[收稿日期] 20101222(004)

[通讯作者] * 杨胜, 硕士, 讲师, 从事中药新制剂开发, 新工艺研究与中药药理学研究, Tel: 028-61800127, E-mail: 3474322@qq.com

e6-polyvinylpyrrolidone as a fluorescent marker for fluorescence diagnosis of human bladder cancer implanted on the chick chorioallantoic membrane model [J]. *Cancer Lett*, 2007, 245(1/2):127.

[5] Demir R, Naschberger L, Demir I, et al. Hypoxia generates a more invasive phenotype of tumour cells: an in vivo experimental setup based on the chorioallantoic membrane [J]. *Pathol Oncol Res*, 2009, 15(3):417.

[6] Kunzi-Rapp K, Genze F, Küfer R, et al. Chorioallantoic membrane assay: vascularized 3-dimensional cell culture system for human prostate cancer cells as an animal substitute model [J]. *J Urol*,

2001, 166(4):1502.

[7] 甄永苏. 抗肿瘤药物研究与开发[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004:724.

[8] Folkman J. Angiogenesis [J]. *Annu Rev Med*, 2006, 57(1):1.

[9] 郑秀海, 王曙光, 倪嘉, 等. 人胆管癌鸡胚移植瘤模型的建立及其生物学特性的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(9):757.

[10] Leng T, Miller J M, Bilbao K V, et al. The chick chorioallantoic membrane as a model tissue for surgical retinal research and simulation [J]. *Retina*, 2004, 24(3):427. **[责任编辑]** 聂淑琴

combination of Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix on migraine in animal models. **Method:** One experimental migraine animal model was duplicated by abdominal injection of nitroglycerin ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) once, the other was duplicated by subcutaneous injection of reserpine ($0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) seven days. After model establishment, the animals were treated with the combination of Chuanxiong Rhizoma and Radix Angelicae Dahuricae, and the levels of 5-hydroxytryptamine (5-HT), 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) and calcitonin gene related peptide (CGRP) were determined. **Result:** Compared with model group, the combination of Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix ($3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) could raise the contents of 5-HT about 48.41% -73.18%, reduce the contents of CGRP about 38.02% -50.02% ($P < 0.01$) in migraine rats, and the combination ($5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) could raise the contents of 5-HT about 36.60% -69.52% in migraine mouse ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion:** The combination of Chuanxiong Rhizoma and Angelicae Dahuricae Radix has the best effect when it was given by the form of powders. It could improve migraine symptoms by controlling single of neurotransmitter dopamine release and alleviating neurogenic inflammation.

[**Key words**] Chuanxiong Rhizoma; Angelicae Dahuricae Radix; animal model of migraine; 5-hydroxytryptamine; calcitonin gene related peptide

偏头痛是一种常见、多发的神经内科疾病,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,常伴有视觉、感觉、运动、情绪及胃肠道自主神经功能紊乱等症状,如恶心呕吐,怕光、怕声或情绪低落,烦躁,容易激动。在中医学中,偏头痛属于

“头风”、“偏头风”、“偏头痛”范畴。^[1]

川芎、白芷是治疗偏正头痛的常用药物,在古今中药制剂中广泛使用。为了确定两药配伍治疗偏头痛的最佳比例与剂型,我们对古代医家运用川芎-白芷药对治疗头风的经验进行了梳理,结果见表 1。

表 1 部分含有川芎-白芷药对治疗头风的方剂

方名	出处	芎芷用量比例	剂型	主治
都梁丸	《百一选方》	1:4	丸剂	诸风眩晕,妇人产前后,乍伤风邪,头目昏重及血风头痛
芷芎散	《普济方》	1:1	散剂	头风
川芎茶调散	《和剂局方》	2:1	散剂	外感风邪之偏正头痛与巅顶作痛
如圣饼子	《内经拾遗》	1:1	丸剂	头痛,头风因寒者
定风饼子	《袖珍小儿》	2:1	丸剂	头风头痛
芷桂川芎汤	《辨证录》	10:3	汤剂	头痛如破,走来走去,发无定处
风热散	《仙拈集》	1:1	散剂	风热头痛
芎芷汤	《竹林女科》	1:1	汤剂	头部挫伤,肿痛伴有头晕者
芷芎散	《直指》	2:1	散剂	风邪入脑所致头疼
救破汤	《辨证录》	10:1	汤剂	头痛如破,走来走去,发无定处
清香散	《普济方》	1:1	散剂	偏正头痛
清上至圣丸	《石室秘录》	1:1	丸剂	风入太阳经,头疼
清上蠲痛汤	《寿世保元》	1:1	汤剂	治一切头痛
开关散	《重楼玉钥》	5:4	散剂	头目痛
茶调散	《魏氏家藏方》	6:5	散剂	头风,头痛
茶调散	《普济方》	2:5	散剂	偏正头风,诸药不愈者
芎芷香苏散	《医方类聚》	1:1	散剂	四时伤寒,发热,头痛项强

从上表可以看出,古人在治疗头风时川芎、白芷两药比例以 1:1 或接近 1:1 的情况最多,超过一半,

其次是 2:1 的配伍比例。在给药剂型上以丸、散剂为多,超过 75%,其次是汤剂。由于丸剂给药不方

便,我们主要考察了散剂与汤剂。以两种类似中医证候的偏头痛动物模型筛选“川芎-白芷”药对配伍的最佳比例与给药剂型,以期为临床用药及新药研发提供实验支撑。

1 材料

1.1 药品与试剂 川芎、白芷饮片(四川新荷花饮片公司)。川芎、白芷药对(1:1)汤剂(两药各300 g,8倍量水,合煎3次,减压浓缩至1 g生药/mL)。川芎、白芷药对(2:1)汤剂(川芎400 g,白芷200 g,8倍量水,合煎3次,减压浓缩至1 g生药/mL)。川芎、白芷药对(1:1)散剂(两药各300 g,粉碎过6号筛,用0.3% CMC-Na配成混悬液,现配现用)。川芎、白芷药对(2:1)散剂(川芎400 g,白芷200 g,粉碎过6号筛,用0.3% CMC-Na配成混悬液,现配现用)。琥珀酸舒马普坦片(天津华津制药厂,20070516)。硝酸甘油注射液(郑州羚锐制药有限公司,070817)。利血平注射液(山东圣鲁制药有限公司,071025)。大鼠降钙素基因相关肽(CGRP)试剂盒(北京北免东雅生物技术研究所,20071019);大鼠5-羟色胺(5-HT)试剂盒(20070316);大鼠5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA)试剂盒(20070316);考马斯亮蓝试剂盒(20070316);小鼠5-羟色胺(5-HT)试剂盒(20070410)均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 动物 SD大鼠,雌雄各半,180~220 g,清洁级,合格证号SCXK(川)2004-15,购于四川省医学科学院实验动物研究所。KM小鼠雌雄各半,体重18~22 g,清洁级,合格证号SCXK(川)2004-15,购于四川省医学科学院实验动物研究所。

1.3 仪器 电子分析天平(BP211D,德国赛多利斯公司);酶标定量测定仪(Varioskan™,美国Thermo Fisher公司);高速冷冻离心机(Legend RT+230V,美国Thermo Fisher公司);低温冰箱;组织匀浆机。

2 方法

2.1 分组给药 大鼠80只按体重分层随机分为8组,每组10只,分别是空白组、模型组、汤剂(1:1)组、汤剂(2:1)组、散剂(1:1)组、散剂(2:1)组、CMC-Na组以及阳性药组。于实验开始前适应环境3 d。于造模前预防ig给药3 d,每天1次,汤剂各组、散剂各组按 $3.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 体重给药(按成人每天30 g生药用量折算),阳性对照组ig给予琥珀酸舒马普坦 $0.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 重给药,空白组、模型组

给予蒸馏水,CMC-Na组给予CMC-Na,不造模。小鼠分组同大鼠,实验前适应性饲养3天。于造模前预防ig给药3 d,每天1次,汤剂各组、散剂各组按 $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 体重给药(按成人每天30 g生药用量折算),阳性对照组ig给予琥珀酸舒马普坦 $0.015 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 体重给药,空白组、模型组给予蒸馏水,CMC-Na组给予CMC-Na,不造模。

2.2 造模方法

2.2.1 硝酸甘油 ip 1次造成大鼠偏头痛模型 大鼠每天ig给药1次,连续3 d。于末次给药后,各组大鼠sc硝酸甘油注射剂(空白组注射生理盐水)10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 造模1次,sc定位于额区、颞区或右肩部皮下。造模后3 min左右,动物出现双耳发红、前肢频繁挠头、爬笼次数增多、烦躁不安等现象。此现象持续约3 h,继而出现蜷卧,活动减少状态,表明偏头痛动物模型复制成功。

2.2.2 sc利血平小鼠偏头痛模型 小鼠雌雄各半,除空白组外,其余各组每天sc利血平注射液($0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) $0.2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续7 d,同时各组每天给药1次。

2.3 检测指标 大鼠造模4 h后,10%的水合氯醛($3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)ip麻醉,断头取出脑组织,操作时在冰台上完成,快速取出全脑组织(剔除小脑),用冰冷的生理盐水冲洗,除去血迹,滤纸拭干,切取含中缝核、蓝斑的脑干及下丘脑部分,立即投入液氮中固化,备用;测定时用组织匀浆机制备脑组织匀浆液,荧光法测定脑组织中5-HT,5-HIAA,CGRP的含量。

小鼠操作同2.3大鼠,制备脑组织匀浆液,荧光法测定脑组织中5-HT的含量。

2.4 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,统计检验用方差分析, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 川芎-白芷药对对大鼠脑组织中5-HT,5-HIAA,CGRP含量的影响 结果见表2,与空白组比较,模型组大鼠脑组织中5-HT含量均明显降低,CGRP含量明显升高,结合动物表现,说明造模成功。与空白组比较,CMC-Na组5-HT,CGRP含量无显著性差异,说明CMC-Na对实验结果影响可忽略。与模型组比较,各给药组均能明显升高模型大鼠脑组织中5-HT的含量,降低模型大鼠脑组织中CGRP的含量。在汤剂与散剂各组中,散剂(1:1)组效果最好。

表 2 川芎-白芷药对对大鼠脑组织中 5-HT, 5-HIAA, CGRP 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	5-HT/ng·g ⁻¹	5-HIAA/ng·g ⁻¹	CGRP/pg·g ⁻¹
空白	-	973.04 ± 67.2 ²⁾	580.63 ± 28.3	467.45 ± 107.4 ²⁾
模型	-	720.44 ± 92.1	605.29 ± 84.6	618.32 ± 139.3
汤剂芎芷(1:1)	3.5	1 120.41 ± 136.8 ²⁾	547.31 ± 37.1	368.78 ± 75.5 ²⁾
汤剂芎芷(2:1)	3.5	1 069.25 ± 89.6 ²⁾	635.11 ± 56.4	383.23 ± 79.6 ²⁾
散剂芎芷(1:1)	3.5	1 247.66 ± 104.4 ²⁾	493.79 ± 44.6 ²⁾	309.01 ± 58.3 ²⁾
散剂芎芷(2:1)	3.5	1 194.13 ± 61.5 ²⁾	486.38 ± 68.2 ²⁾	335.66 ± 71.8 ²⁾
CMC-Na	-	1 080.12 ± 46.8 ²⁾	679.52 ± 61.7 ¹⁾	500.03 ± 106.9 ²⁾
舒马普坦	0.01	1 328.34 ± 41.2 ²⁾	431.27 ± 101.3 ²⁾	243.61 ± 80.7 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表 3 同)。

3.2 对小鼠脑组织中 5-HT 含量的影响 结果见表 3。小鼠经利血平造模后,模型组脑组织中 5-HT 水平明显低于空白组,造模成功。与空白组比较,CMC-Na 组 5-HT 含量无显著性差异。与模型组比较,汤剂、散剂各组与阳性药组 5-HT 的含量有显著性差异。在汤剂、散剂各组中,散剂(1:1)组升高 5-HT 效果最好。

表 3 川芎-白芷药对对小鼠脑组织中 5-HT 含量的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	5-HT/ng·g ⁻¹
空白	-	489.28 ± 42.6 ²⁾
模型	-	194.24 ± 45.2
汤剂芎芷(1:1)	5.0	280.61 ± 33.4 ²⁾
汤剂芎芷(2:1)	5.0	265.34 ± 41.1 ¹⁾
散剂芎芷(1:1)	5.0	327.88 ± 20.0 ²⁾
散剂芎芷(2:1)	5.0	296.73 ± 39.4 ²⁾
CMC-Na	-	464.80 ± 18.7 ²⁾
舒马普坦	0.015	379.92 ± 26.4 ²⁾

4 讨论

偏头痛发病机制复杂,尚无定论。血管源学说认为 5-HT 在偏头痛的发生中起着重要的作用。三叉神经-血管源学说认为,在偏头痛发作过程中 CGRP 和 SP 是关键性物质,中枢神经系统功能紊乱引起 CGRP 含量升高,进而引起三叉神经感觉 C 纤维释放 CGRP,导致神经源性炎症。神经源性炎症期间释放的神经生长因子 NGF 可激活由丝裂素激活的蛋白激酶(MAPK)信号转导级联途径,引起偏头痛发作。^[2]

川芎-白芷药对能显著升高脑组织中 5-HT 的含

量,能显著降低脑组织中 CGRP 的含量。结果提示,两药以散剂等比配伍疗效最佳,说明药物中的脂溶性成分对偏头痛有影响,提示在考察提取工艺时应注意保留该类成分。川芎中的川芎嗪可以在偏头痛前驱期调节 TXA₂/PGI₂ 局部平衡障碍引起的血小板的聚集,促进已聚集的血小板迅速解聚;通过抑制血管平滑肌 Ca²⁺ 内流而扩张颅内脑血管,增加脑血流量。^[1]白芷中的挥发油可促进 β-内啡肽的前体物质前阿黑皮素(POMC)mRNA 的表达,通过增加中枢(POMC)mRNA 表达阳性细胞数和内源性镇痛物质含量,激活内源性镇痛机制而发挥镇痛作用。^[3]白芷挥发油在中枢能显著升高 DA, 5-HT 含量,降低 NE 和 5-HIAA 含量,故调整体内单胺类神经质含量是其镇痛的机制之一。^[4]川芎-白芷药对对偏头痛的治疗体现了中药多成分、多环节、多靶点的综合治疗效应,具有进一步研究的价值。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005.
- [2] 申崇标, 曾照芳. 降钙素基因相关肽与偏头痛关系的研究[J]. 生物信息学, 2010, 8(1): 57.
- [3] 聂红, 沈映君. 白芷总挥发油对疼痛模型大鼠的 β-内啡肽、促肾上腺皮质激素、一氧化氮及前阿黑皮素的影响. 中国中药杂志[J], 2002, 27(9): 690.
- [4] 聂红, 沈映君, 曾南, 等. 白芷总挥发油对疼痛模型大鼠的神经递质的影响[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(3): 11.

[责任编辑 聂淑琴]