

偏痛宁片的主要药效学实验研究

张双全^{1*}, 马仁强², 苏志源¹, 詹 鸿¹, 盘卫东¹, 肖生红¹, 陈浩文¹

(1. 广州医学院第三附属医院麻醉科, 广东 广州 510150;

2. 广州博济医药生物技术有限公司, 广东 广州 510605)

[摘要] 目的: 进行偏痛宁片与治偏痛颗粒的药效学对比研究, 为偏痛宁片的临床应用提供药理学依据。方法: 采用硝酸甘油诱发偏头痛和 5-羟色胺(5-HT)耗竭剂利血平诱发偏头痛两种动物模型, 观察偏痛宁片的药理作用, 并与原剂型治偏痛颗粒进行疗效比较。结果: 治偏痛颗粒和偏痛宁片对两种偏头痛动物模型均有良好治疗作用, 可明显提高造模动物脑组织中的 5-HT 含量, 减轻偏头痛症状, 提高小鼠的痛阈。结论: 在相近生药剂量下偏痛宁片作用强于治偏痛颗粒, 提示改变处方比例和提取工艺后, 药效更加明显。

[关键词] 偏头痛; 硝酸甘油; 利血平; 5-羟色胺

[中图分类号] F285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)05-0071-03

偏头痛(migraine)是反复发作的一侧或双侧头部搏动性疼痛, 并伴有恶心呕吐等植物神经症状, 是临床常见的原发性头痛, 也是常见病、多发病之一, 且其发病率呈上升趋势^[1]。治偏痛颗粒为《卫生部中药成方制剂》第二十册收载品种, 由川芎、香附、白芍、柴胡、白芷等 8 味药组成, 具有行气活血、祛风止痛之功效, 用于血管性头痛和偏头痛, 由于处方量大(日用生药量达 69 g, 日用颗粒 60 g), 口感不好, 影响其使用。偏痛宁片是在原处方工艺基础上, 进行处方量、提取工艺和剂型的改进而成的新制剂。本文进行治偏痛颗粒和偏痛宁片的药理作用比较研究, 为偏痛宁片的临床用药提供药理学依据。

1 实验材料

1.1 药物与试剂 偏痛宁片, 根据调整后的处方和制备工艺制备, 0.58 g/片(相当于生药 4.7 g), 3 片/次, 3 次/d, 批号: 050903; 治偏痛颗粒, 根据《卫生部中药成方制剂》第二十册治偏痛颗粒标准中的处方与制备工艺制备, 含川芎、柴胡、白芷、香附、白芍、郁李仁、白芥子、甘草。20 g/袋(含生药量 23 g), 每次 20 g, 1 日 3 次, 口服。批号 050911。利血平 1 mg·mL⁻¹, 上海复旦复华药业有限公司, 030108; 硝酸甘油注射液, 硝酸甘油 5 mg·mL⁻¹, 由广州明兴制药厂

生产, 批号: 20050122; 5-羟色胺(5-HT)标准品(sigma 公司产品), 批号: 28H0462; 半胱氨酸、邻苯二甲醛(OPT)、浓盐酸、正丁醇、石油醚(沸程 60~90 °C)均为分析纯。

1.2 仪器与试剂 TGL 16M 型高速离心机(湖南凯达科学仪器有限公司); T8 型调速式高速分散器(德国 IKA 公司); F22500 型荧光分光光度计(日本 HITACHI)。

1.3 动物 清洁级昆明种小鼠, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 合格证号: 2001A030; 清洁级 SD 雄性大鼠, 体重 240~280 g, 合格证号: 2001A029。

饲养条件: 动物进入清洁级动物实验室后, 饲养 3 d 后启用。动物室灯光 12 h 照明, 通风和空调设备良好, 室温控制在(22±2) °C, 相对湿度为 50%~60%。实验室按常规定期消毒。

1.4 统计学方法 用 SPSS 13.0 统计软件对实验数据进行处理。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用成组 *t* 检验。

2 试验方法与结果

2.1 对小鼠偏头痛模型的影响^[2]

2.1.1 方法 取昆明小鼠 70 只, 随机分为 7 组, 每组 10 只(雌雄各半), 第 1 组为正常对照组; 第 2 组为阴性对照组, 皮下注射(sc)等体积 0.9% 氯化钠注射液; 第 3~7 组造模(小鼠每只 sc 利血平 10 mg·kg⁻¹, 共 14 d)。第 3 组为模型对照组。第 4~5 组分别为治偏痛颗粒 10, 20 g·kg⁻¹ 组, 第 6~7 组为偏痛宁

[收稿日期] 2008-09-10

[通讯作者] * 张双全, Tel: (020) 31611698, E-mail: wggdry@sina.com

片 6, 12 g•kg⁻¹ 组。连续给药 5 d, 第 1, 2, 3 组给予等容积的蒸馏水。末次给药后 1 h, 热板法 55 °C 测痛阈值, 然后处死, 取脑匀浆, 荧光分光光度法测定测 5-HT。

2.1.2 结果 模型对照组痛阈低于正常对照组和阴性对照组 ($P < 0.01, P < 0.05$), 5-HT 含量低于正常对照组和阴性对照组 ($P < 0.01, P < 0.01$); 治偏痛颗粒高, 低剂量组痛阈明显高于模型组 ($P < 0.05, P < 0.01$), 脑组织 5-HT 含量高于模型组 ($P < 0.05, P < 0.01$); 偏痛宁片同样表现明显的治疗作用, 且偏痛宁片 12 g 生药•kg⁻¹ 组对痛阈和 5-HT 含量的作用和治偏痛颗粒 10 g•kg⁻¹ 组比较有显著差异 ($P < 0.05, P < 0.05$), 与治偏痛颗粒 20 g•kg⁻¹ 剂量组无显著性差异。(见表 1)

表 1 对小鼠偏头痛作用的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药 g•kg ⁻¹)	痛阈值 (s)	5-HT 含量 (ng•g ⁻¹)
正常对照	-	29.35 ± 11.62 ²⁾	236.5 ± 28.1 ²⁾
阴性对照	-	31.06 ± 13.25 ¹⁾	258.1 ± 17.4 ²⁾
模型对照	-	21.54 ± 11.45	148.5 ± 22.7
治偏痛颗粒	10	33.51 ± 15.21 ¹⁾	164.2 ± 32.8 ¹⁾
	20	45.25 ± 16.57 ²⁾	199.8 ± 44.0 ²⁾
偏痛宁片	6	31.18 ± 15.71 ¹⁾	145.2 ± 30.8
	12	46.27 ± 17.86 ²⁾³⁾	183.8 ± 21.6 ²⁾³⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与治偏痛颗粒剂量组比较³⁾ $P < 0.05$ (下同)

2.2 对硝酸甘油致大鼠偏头痛模型的影响

2.2.1 方法 参照文献^[3-4], 经预试确定本实验所用的造模剂量: 以硝酸甘油 10 mg•kg⁻¹ 右肩 sc 可复制出较为理想的偏头痛模型。SD 大鼠 56 只, 随机分成 7 组, 每组 8 只。第 1 组为正常对照组, 仅予蒸馏水 20 mL•kg⁻¹ ig; 第 2 组阴性对照组, 0.9% 氯化钠注射液 20 mL•kg⁻¹ sc; 第 3 组为模型组, 硝酸甘油 10 mg•kg⁻¹ 右肩 sc; 第 4、5 组分别为偏痛宁片 4.0, 8.0 g•kg⁻¹ ig 组; 第 6、7 组为治偏痛颗粒 6.7, 13.4 g•kg⁻¹ ig 组。所有 ig 组均连续给药 5 d; 末次药后 30 min, 除第 2 组动物予生理盐水外, 3~7 组均在右肩 sc 硝酸甘油 10 mg•kg⁻¹ 造模。观察大鼠造模后耳红出现时间和持续时间, 以及造模后 30 min~45 min 和 60 min~75 min 两时间段中的挠头次数; 采用荧光分光光度法测定脑组织中 5-HT 的含量^[5]。于 Ex356nm/Em 483nm 波长处测定, 结果以 ng•g⁻¹ 脑重

表示。

2.2.2 结果

2.2.2.1 耳红 耳红出现时间与模型组比较, 治偏痛颗粒与偏痛宁片高剂量组明显延迟, 各治疗组耳红持续时间明显延长 ($P < 0.05, P < 0.01$)。偏痛宁片 8.0 g 生药•kg⁻¹ 组耳红出现时间明显延迟, 持续时间明显短于治偏痛颗粒 6.7 g•kg⁻¹ 组 ($P < 0.05, P < 0.05$), 与治偏痛颗粒 13.4 g•kg⁻¹ 组效果相近。提示相近生药量剂量偏痛宁片作用强于治偏痛颗粒。(见表 2)

表 2 大鼠耳红出现时间和持续时间的比较($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g•kg ⁻¹)	耳红出现时间 (min)	耳红持续时间 (min)
正常对照	-	0	0
阴性对照	-	0	0
模型对照	-	3.2 ± 0.66	154.6 ± 20.6
治偏痛颗粒	6.7	3.6 ± 0.81	124.2 ± 12.7 ²⁾
	13.4	4.2 ± 0.96 ²⁾	101.5 ± 19.0 ²⁾
偏痛宁片	4.0	3.8 ± 0.81	115.8 ± 9.2 ²⁾
	8.0	4.7 ± 0.85 ²⁾³⁾	93.8 ± 8.7 ²⁾³⁾

2.2.2.2 不同时间段挠头次数比较 模型组大鼠明显出现挠头 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组在两个时间段内挠头次数均有减少, 其中 30~45 min 两药高剂量组有统计学意义, 60~75 min 两药高, 低剂量组挠头次数均显著低于模型组 ($P < 0.01$)。偏痛宁片 8.0 g•kg⁻¹ 组在 60~75 min 时间段的挠头次数与治偏痛颗粒 13.4 g•kg⁻¹ 组效果相近。提示相近生药量剂量偏痛宁片作用强于治偏痛颗粒。(见表 3)

表 3 大鼠不同时间段中的挠头次数比较($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g•kg ⁻¹)	30~45 min 挠头次数	60~75 min 挠头次数
正常对照组	-	2.1 ± 1.31 ²⁾	1.3 ± 1.15 ²⁾
阴性对照组	-	3.2 ± 1.62 ²⁾	0 ²⁾
模型对照组	-	15.6 ± 4.41	44.2 ± 13.25
治偏痛颗粒	6.7	10.1 ± 4.12 ¹⁾	31.8 ± 9.83 ²⁾
	13.4	8.8 ± 2.87 ²⁾	21.7 ± 9.04 ²⁾
偏痛宁片	4.0	13.2 ± 5.57	35.8 ± 13.57 ²⁾
	8.0	11.8 ± 2.56 ²⁾	23.8 ± 8.76 ²⁾

2.2.2.3 大鼠脑组织 5-HT 含量比较 模型组大鼠脑组织 5-HT 含量降低 ($P < 0.01$), 两药高, 低剂量组脑组织中的 5-HT 含量均显著高于模型组 ($P <$

0.01), 提示两药对硝酸甘油所致 5-HT 减少的偏头痛大鼠均有治疗作用, 偏头宁片 $8.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组与治偏痛颗粒 $13.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组作用相比, 提示前者作用强于后者。

表 4 大鼠各组动物大鼠中 5-HT 含量比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	5-HT 含量 ($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)
正常对照	-	$196.1 \pm 10.62^{2)}$
阴性对照	-	$184.6 \pm 9.28^{2)}$
模型对照	-	127.8 ± 11.21
治偏痛颗粒	6.7	$141.7 \pm 12.54^{2)}$
	13.4	$152.4 \pm 9.55^{2)}$
偏痛宁片	4.0	$139.6 \pm 10.25^{2)}$
	8.0	$153.2 \pm 12.84^{2)}$

3 讨论

偏头痛发作机制目前尚未完全清楚, 大多数学者认为偏头痛是一组由血管舒缩功能异常所引起的头痛, 5-HT、去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、P 物质、降钙素基因相关肽等递质目前均被认为与偏头痛发作有关^[6], 其中首推 5-HT。研究发现给予 5-HT 可以缓解偏头痛的发作, 偏头痛患者在其头痛发作时血中的 5-HT 减少, 尿中的代谢产物 5-羟吲乙酸增加, 因而推测 5-HT 在偏头痛的发病中起重要作用。

本病属于中医“头风”、“脑风”、“偏头痛”、“厥头痛”等范畴。偏痛宁片的临床适应症正是以上病症。方中川芎活血行气, 辛香升散, 能上行头目, 祛风止痛, 为治头痛要药, 为君药; 白芍、香附, 舒肝解郁, 行气止痛, 柴胡和解表里, 疏肝升阳, 共为臣药; 佐以白芥子、白芷、郁李仁豁痰利气, 散结通瘀, 通窍止

痛; 使以甘草补脾益气, 调和诸药。为验证其疗效, 本研究采用基于血管源学说的硝酸甘油偏头痛模型和 5-HT 耗竭剂利血平诱发偏头痛两种动物模型, 观察通过上市品种治偏颗粒演化而来的偏痛宁片的作用, 并与原品种进行比较。试验结果表明治偏痛颗粒和偏痛定片对利血平致小鼠偏痛模型和硝酸甘油致大鼠偏头痛模型均有良好治疗作用, 可明显提高造模动物脑组织中的 5-HT 含量, 减轻偏头痛症状, 提高小鼠的痛阈。在相近生药剂量下偏痛宁片作用强于治偏痛颗粒, 推测经处方调整和提取工艺调整后, 提出所得有效成分更多, 提取所得物质活性有所提高, 因而日用生药量可得以降低。

[参考文献]

- [1] 郭述苏. 中国偏头痛流行病学调查[J]. 临床神经病学杂志, 1991, 4(2): 65.
- [2] Tassorelli C, Greco R, Wang D, et al. Nitroglycerin induces hyperalgesia in rats: a time course study [J]. *European J Pharmacol*, 2003, 464(2-3): 159-162.
- [3] 周永红, 王新陆, 胡怀强, 等. 硝酸甘油型实验性偏头痛大鼠模型建立与评价[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2005, 12: 113-117.
- [4] Costa A, Smeraldi A, Tassorelli C, et al. Effects of acute and chronic restraint stress on nitroglycerin induced hyperalgesia in rats [J]. *Neuroscience Letters*, 2005, 383: 7-11.
- [5] 徐叔云, 卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 459-464.
- [6] Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL. Migraine: Current concepts and emerging therapies [J]. *Vascular Pharmacology*, 2005; 43: 176-187.