

天舒胶囊对利血平致小鼠偏头痛的影响

孙晓萍,吕新勇,刘莉娜,周军,王振中,萧伟*

(江苏康缘药业股份有限公司,中药制药过程新技术国家重点实验室,江苏 连云港 222002)

[摘要] 目的:观察天舒胶囊对利血平致小鼠偏头痛模型的作用,并探讨其作用机制。方法:ICR 小鼠背部皮下注射利血平 0.1 mg·kg⁻¹造模,共 12 d,正常对照组注射 0.9% 氯化钠注射液,于造模第 7 天开始 ig 给予天舒胶囊,剂量分别为生药 1.55,4.65 g·kg⁻¹,连续 6 d,第 12 天测定小鼠痛阈值,次日摘眼球采血检测凝血时间,取脑部组织分别测定 5 羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NA)含量,阳性对照为佐米曲普坦片(0.66 mg·kg⁻¹)。结果:与模型组相比,天舒胶囊能明显提高小鼠痛阈值($P<0.01$),延长凝血时间($P<0.01$),提高脑部 NA 和 5-HT 含量($P<0.05$, $P<0.01$),与阳性药相比,天舒胶囊明显提高脑部 5-HT 的含量($P<0.05$)。结论:天舒胶囊对利血平低化 5-HT 致小鼠偏头痛有明显的改善作用,其平衡神经递质释放、抑制偏头痛发作期血管过度扩张可能是作用机制之一。

[关键词] 天舒胶囊;偏头痛;5 羟色胺;去甲肾上腺素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)16-0210-03

[doi] 10.11653/syjf2013160210

Effect of Tianshu Capsule on Migraine Model Induced by Reserpine

SUN Xiao-ping, LV Xin-yong, LIU Li-na, ZHOU Jun, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei*
(Jangsu Kangyuan Pharmaceutical CO., LTD, State Key Laboratory of Pharmaceutical
New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222002, China)

[Abstract] Objective: To study the effect and mechanism of Tianshu capsule on the migraine's mice, which was composed of Gastrodiae Rhizoma and Ligustici Chuanxiong Rhizoma. Method: Model was building on ICR mice after subcutaneous injection of reserpine 0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹×12 d, control group mice were injected 0.9% sodium chloride injection, treatment were started on the seventh day of modeling for 6 consecutive days, dose were 1.55, 4.65 g·kg⁻¹. The pain threshold was tested on the twelve day, the clotting time was tested next day and concentration of serotonin (5-HT), noradrenaline (NA) in the brain. was detected. Zolmitriptan tablets were used as a positive drug. Result: Compared with model group, the tianshu capsule could increase the pain threshold ($P<0.01$), prolong the clotting time ($P<0.01$), increase the concentration of 5-HT and NA in brain ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with positive drug, the capsule could increase the concentration of 5-HT ($P<0.05$). Conclusion: The capsule can treat the migraine's mice by balancing release of 5-HT, inhibiting vascular dilatation of migraine attacks.

[Key words] Tianshu capsule; migraine; 5-HT; NA

天舒胶囊是依据宋代医学巨著《圣济总录》所载的处方研制而成,由川芎、天麻组成。临床上主要用于偏头痛,紧张性头痛,颈性眩晕,单硝酸异山梨酯所致的头痛,血液透析所致头痛等。该药对硝酸甘油致大鼠头痛的动物模型有显著疗效,能抑制头痛时软脑膜血管的异常扩张,平衡与疼痛相关的

[收稿日期] 20121210(012)
[基金项目] 国家科技部重大新药创制项目(2011ZX09401-097)
[第一作者] 孙晓萍, Tel:0518-85521946, E-mail:sunxiaoping721@163.com
[通讯作者] * 萧伟, 博士, 研究员, 级高级工程师, 从事中药新型制剂的研究与开发, Tel:0518-85506503

神经递质、神经肽及血管活性物质水平^[1-2],且天舒胶囊能明显降低单硝酸异山梨酯所致的偏头痛患者间歇期血浆、血小板 5 羟色胺(5-HT)含量,促进 5-HT 降解而延缓偏头痛的发作^[3-4]。研究表明^[5-6],偏头痛病人外周血 5-HT 发病先兆期升高,发病高峰时降低,表现为 5-HT 先释放后消除的过程,这种 5-HT 含量的变化是偏头痛发作的主要原因之一。因此探讨天舒胶囊对利血平低化 5-HT 所致偏头痛的作用及神经递质水平的影响有助于深入了解其作用机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 天舒胶囊,400 g 生药材先水提再醇提,得水提浸膏 137 g,醇提浸膏 59.5 g,临用前取 4.77 g 水提浸膏,2.07 g 醇提浸膏(相当于 13.95 g 生药材)以双蒸水配成 30 mL 混悬液,作为天舒高剂量组用药,低剂量组所用浸膏量为高剂量组的 1/3,相当于 4.65 g 生药材,由江苏康缘药业股份有限公司提供;佐米曲普坦片(批号 110301,山东安泰药业有限公司),利血平注射液(批号 1005281,天津金耀氨基酸有限公司),5-HT 和 NA 放免试剂盒(批号 20111201,北京华英生物技术研究所)。

1.2 动物 ICR 小鼠 51 只,雄性 25 只,雌性 26 只,体重 20~22 g,SPF 级,上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2008-0016。

1.3 仪器 r-911 全自动放免计数仪(中国科技大学实业总公司)。390 型爪痛测试仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组及剂量 取 ICR 小鼠 51 只,适应性喂养 4 d 后,随机分为正常组、模型组、佐米曲普片组(0.66 mg·kg⁻¹)、天舒胶囊低、高剂量组(生药 1.55,4.65 g·kg⁻¹),其中模型组 11 只,其余组各 10 只。

2.2 造模、给药及检测指标 参考文献方法^[7],背部皮下注射利血平溶液(生理盐水配制),剂量 0.1 mg·kg⁻¹,每日 1 次,共 12 d,正常对照组注射 0.9% 氯化钠注射液。每日注射前小鼠称重,并根据体重调整利血平用量,于造模后第 7 日起用药,连续 6 d,第 12 天测定小鼠痛阈值,次日摘眼球采血,玻片法检测凝血时间。取血后立即断头,在冰台上快速取全脑,铝箔包装,标号,立即置干冰中。取材结束后-80℃保存。每日观察动物体重变化情况,记录小鼠痛阈值,凝血时间,放免法测定脑部 5-HT,NA 含量。

2.3 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,量反应资料采用 Kolmogorov-Smirnova 进行正态性检验,组间差异采用单因素方差分析,统计软件 SPSS 17.0, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠体重变化 模型组体重从第 8 天开始明显下降($P < 0.01$),小鼠表现为体温下降,身体蜷缩,少动;给予天舒胶囊后,高、低剂量组体重降低趋势减缓,高剂量组在造模 11~12 d 体重明显大于模型组($P < 0.05$),阳性药组小鼠体重变化不明显,实验第 12 天阳性组小鼠死亡 1 只,体重 17 g,形体消瘦,尸检未见明显病理变化,胃部无食物。

3.2 对小鼠痛阈值的影响 与正常组比较,模型组小鼠痛阈值明显降低($P < 0.05$);药物干预后,佐米曲普坦片和天舒胶囊高剂量组均能明显提高小鼠痛阈值(分别为 $P < 0.05, P < 0.01$),见表 1。

表 1 天舒胶囊对小鼠痛阈值的影响($\bar{x} \pm s$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	痛阈值/s
正常	-	11	7.1 ± 1.7
模型	-	9	5.4 ± 0.9 ¹⁾
佐米曲普坦	0.66 × 10 ⁻³	10	6.6 ± 1.3 ³⁾
天舒胶囊	1.55	10	5.6 ± 1.5
	4.65	10	7.8 ± 2.1 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.0$;与佐米曲普坦组比较⁵⁾ $P < 0.05$ (表 2~3 同)。

3.3 对小鼠凝血时间的影响 与正常组比较,模型组小鼠凝血时间明显缩短($P < 0.01$);药物干预后,佐米曲普坦组、天舒胶囊低、高剂量组均能显著延长小鼠凝血时间($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 天舒胶囊对小鼠凝血时间的影响($\bar{x} \pm s$)			
组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	凝血时间/s
正常	-	11	82.2 ± 21.0
模型	-	9	48.7 ± 25.8 ²⁾
佐米曲普坦	0.66 × 10 ⁻³	10	77.0 ± 12.7 ⁴⁾
天舒胶囊	1.55	10	103.4 ± 33.2 ⁴⁾
	4.65	10	80.0 ± 14.1 ⁴⁾

3.4 脑组织 5-HT,NA 的影响 与正常组比较,模型组小鼠脑组织 5-HT,NA 含量显著降低($P < 0.05$);药物干预后,佐米曲普坦组、天舒胶囊低、高剂量均能明显提高 NA 含量($P < 0.05$),天舒胶囊低、高剂量能提高 5-HT 含量($P < 0.05$),与佐米曲普坦药相比,天舒胶囊对 5-HT 含量的影响尤为显著,其中低剂量组 $P < 0.05$ 。见表 3。

表 3 天舒胶囊对脑组织 5-HT 及 NA 的影响($\bar{x} \pm s$)				
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	5-HT /ng·mg ⁻¹	NA /pg·mg ⁻¹
正常	—	11	1.08 ± 0.36	17.57 ± 1.85
模型	—	9	0.76 ± 0.25 ¹⁾	14.40 ± 3.31 ²⁾
佐米曲普坦	0.66 × 10 ⁻³	10	0.88 ± 0.33	17.29 ± 1.54 ³⁾
天舒胶囊	1.55	10	1.35 ± 0.46 ^{4,5)}	18.18 ± 2.55 ³⁾
	4.65	10	1.23 ± 0.57 ³⁾	19.31 ± 2.28 ⁴⁾

4 讨论

利血平致小鼠偏头痛模型是国内外比较常用的偏头痛动物模型^[7-9],其原理是用单胺类递质耗竭剂利血平耗竭模型动物体内 5-HT,造成血浆及脑组织 5-HT 降低,血管过度扩张从而诱发偏头痛。本试验结果表明小鼠在给予利血平 7 d 后,体温下降,身体蜷缩,肛门处污秽,畏光,眼眶处痛觉敏感,连续给予 12 d 后,小鼠痛阈值降低,凝血时间缩短,脑部 5-HT 及 NA 水平降低,这与偏头痛急性发作病机相似。根据现有文献笔者比较了连续注射 14 d 及 12 d 的体重、动物状态、死亡情况,结果发现连续注射利血平 12 d,动物死亡率最小,血液样本采集容易,药效指标观察时动物自主活动影响较小,因此实验选用 12 d 造模并观察药物对偏头痛模型小鼠的作用。

实验用阳性药为曲坦类药物^[10-11],它能够选择性地激动 5HT_{1B/1D}受体,强烈收缩已扩张的脑血管及脑膜血管,刺激三叉神经的突触前 5-HT_{1D}受体抑制硬脑膜的神经源性炎症反应和血浆外渗,从而缓解头痛。本实验采用该药为阳性药,临床等效剂量连续给药 6 d 后,佐米曲坦片能明显提高小鼠痛阈值,延长凝血时间,提高脑部 NA 含量,但对脑部已耗竭的 5-HT 没有影响。

天舒胶囊由天麻和川芎组成,二者协同主要应用于各种偏头痛及眩晕的预防和治疗^[12-13]。但天舒胶囊对偏头痛急性发作期的血管扩张的影响尚不明确,本实验通过复制利血平致小鼠偏头痛模型,观察药物的干预作用,结果表明天舒胶囊能明显提高小鼠痛阈值,延长凝血时间,提高脑部 NA 和 5-HT 含量,与阳性药相比,可提高脑部 5-HT 的含量,避免 5HT_{1D}受体激动剂之类药物可能导致的冠脉痉挛,对于有心绞痛或心律失常,基底动脉性偏头痛等患者仍然适用。这与低 5-HT 下大川芎方抑制过度扩张的脑血管作用^[14]一致,其类似 5-HT 再摄取抑制剂药物效应与天麻提取物抗抑郁,调节 DA 循环

实验结果^[15]也有相似之处,而天舒胶囊是否具有这种作用及其升高 5-HT 的机制将有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 杨天华,张勤,周沐科.天舒胶囊对偏头痛大鼠血浆 β 内啡肽、五羟色胺含量及其脑组织 c-fos 表达的影响[J]. 临床神经病学杂志,2008,21(5):368.

[2] 张勤,杨天华,周沐科.天舒胶囊对偏头痛动物模型血浆一氧化氮、一氧化氮合酶、降钙素基因相关肽含量及血流动力学的影响[J]. 临床神经病学杂志,2008,21(4):279.

[3] 丁大植,杨长青,金振一.天舒胶囊对老年冠心病患者用单硝酸异山梨酯所致头痛的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2007,9(11):754.

[4] 丰广魁,商洪涛,胡坚.天舒胶囊对偏头痛患者间歇期血浆、血小板 5-HT 及尿 5-HIAA 含量的影响[J]. 江苏中医药,2005,26(2):18.

[5] Totaro R, Matteis G D, Marini C, et al. Sumatriptan and cerebral blood flow velocity changes during migraine attacks[J]. Headache,1997,37:635.

[6] Saper J R. Diagnosis and symptomatic treatment of migraine[J]. Headache,1997,37(1):14.

[7] 杜力军,孙虹,李敏,等.精制吴茱萸胶囊对偏头痛小鼠的作用[J]. 中药药理与临床,1999,15(3):3.

[8] Supornsilpchai W, Sanguanrangsirikul S, Maneesri S, et al. Serotonin depletion, cortical spreading depression, and trigeminal nociception[J]. Headache, 2006,46(1):34.

[9] 叶小菊.偏头痛发病机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,32(3):280.

[10] 韩喜梅,毛西京.曲坦类药物对偏头痛疗效及副作用的 Meta 分析[J]. 中国疼痛医学杂志,2012,18(2):86.

[11] 贺永进.偏头痛发病机制和治疗研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):631.

[12] 贺小丽.川芎治疗头痛的配伍使用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):141.

[13] 陶云海.天麻药理研究新进展[J]. 中国中药杂志,2008,33(1):108.

[14] 杨洪军,李耿,边宝林.低 5-羟色胺状态介导的 NO 超敏实验及大川芎丸的干预作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(1):28.

[15] 孙晓菲,林青.天麻乙酸乙酯提取物对行为绝望小鼠的抗抑郁作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(19):205.

[责任编辑 聂淑琴]