

# 天麻钩藤饮不同分离部位对偏头痛模型大鼠的影响

徐慧青<sup>1</sup>, 夏伯侯<sup>2</sup>, 赵珺彦<sup>3</sup>

1. 江山市中医院, 浙江 江山 324100
2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208
3. 杭州市萧山区第一人民医院, 浙江 杭州 311200

**【摘要】**目的: 观察天麻钩藤饮大孔树脂不同分离部位对偏头痛模型大鼠的影响。方法: 按随机数字表法将 70 只 SD 大鼠随机分为阳性对照组(西比灵组)、正常对照组、模型对照组、天麻钩藤饮(TMGTY)组、天麻钩藤饮 30% part 组(以下简称 30% part 组)、天麻钩藤饮 60% part 组(以下简称 60% part 组)、天麻钩藤饮 90% part 组(以下简称 90% part 组)共 7 组。采用皮下注射硝酸甘油注射液复制偏头痛大鼠模型; 采用时间分段计数法持续观察造模后大鼠耳红出现和消失时间、挠头等行为学的变化情况; 采用酶免法测定各组大鼠血清 5-羟色胺(5-HT)和肾上腺素(E)含量。结果: 正常对照组未出现耳红症状, 其余各组均出现耳红症状( $P < 0.01$ )。除正常对照组外, 各组耳红出现时间整体比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型对照组比较, TMGTY 组、60% part 组的耳红消失时间均缩短( $P < 0.05$ ); 30% part 组、90% part 组大鼠耳红消失时间虽有缩短趋势, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。模型对照组在皮下注射 10 mg/kg 硝酸甘油注射液后 30~150 min 的挠头次数较正常对照组增加( $P < 0.01$ )。与模型对照组比较, 60% part 组在 0~150 min 内不同时间段的挠头次数均减少( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); TMGTY 组仅在 30~60 min 时间段挠头次数减少( $P < 0.05$ ); 30% part 组和 90% part 组仅在 120~150 min 时间段挠头次数减少( $P < 0.05$ )。与正常对照组比较, 模型组对照组的血清 5-HT 含量降低( $P < 0.01$ ), 血清 E 含量升高( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较, TMGTY 组、60% part 组和 90% part 组的血清 5-HT 水平均升高( $P < 0.01$ ), 30% part 组的血清 5-HT 水平有升高趋势, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); TMGTY 组、30% part 组、60% part 组和 90% part 组的血清 E 水平均下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 天麻钩藤饮 60% 乙醇洗脱部位能有效改善模型大鼠耳红、挠头等症状, 调节模型大鼠的血清 5-HT、E 含量。

**【关键词】**偏头痛; 大孔树脂; 天麻钩藤饮; 5-羟色胺(5-HT); 肾上腺素(E)

**【中图分类号】** R747.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 0256-7415(2016)09-0222-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2016.09.098

## Effect of Different Fractions of Tianma Gouteng Yin on migraine Model Rats

XU Huiqing, XIA Bohou, ZHAO Junyan

**Abstract:** Objective: To observe macroporous resin fraction of Tianma Gouteng Yin on migraine model rats, to provide reference for selecting effective parts of Tianma Gouteng tang anti-migraine. Methods: Seventy rats were divided into seven groups: positive control group, normal control group, model control group, Tianma Gouteng tang(TMGTY)group, TMGTY 30% part, 60% part, 90% part group. Copied migraine models by injecting subcutaneously nitroglycerin injection, observed constantly appearance and disappearance time of red ears, as well as ethology changes including scratching head after modeling by time slicing counting method, detected levels of 5-hydroxytryptamine(5-HT) and epinephrine(E) in serum of every group by ELISA method. Results: There was no symptom of red ears in normal control group, other groups appeared symptom of red ears( $P < 0.01$ ). Except normal control group, comparing appearance time of red ears in each group, there was no significant difference( $P > 0.05$ ). Comparing with model control group, disappearance time of red ears in TMGTY group and TMGTY 60% part group was reduced( $P < 0.05$ ); although disappearance time of red ears in 30% part and 90% part group had reduction tendency, there was no statistical significance( $P > 0.05$ ). The phenomenon of scratching head appeared in model control group after 30~150 min of injecting 10 mg/kg nitroglycerin injection subcutaneously( $P < 0.01$  compared with before). Comparing with model control group, the number of scratching head on different time period during 0~150 min in 60% part group were all reduced( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the number of scratching head were reduced only during 30~60 min in TMGTY

**【收稿日期】** 2016-05-17

**【作者简介】** 徐慧青(1971-), 女, 副主任中药师, 主要从事中药治疗心脑血管疾病的临床研究。

group( $P<0.05$ ); the number of scratching head were reduced only during 120~150min in 30% part and 90% part group( $P<0.05$ ). Comparing with normal control group, levels of 5-HT in serum of model control group were reduced( $P<0.01$ ), levels of E in serum were increased( $P<0.05$ ). Comparing with model control group, levels of 5-HT in serum of TMGTY group, 60% part group and 90% part group were all increased( $P<0.01$ ); levels of 5-HT in serum of 30% part group had increasing tendency( $P>0.05$ ). Levels of E in serum of TMGTY group 30% part group, 60% part group and 90% part group were all reduced( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Conclusion: TMGTY 60% part can improve red ears, scratching head and other syndromes effectively, regulate levels of 5-HT and E in rat.

Keywords: Migraine; Macroporous resin; Tianma Gouteng yin; 5-hydroxytryptamine(5-HT); Epinephrine(E)

天麻钩藤饮为临床常用潜阳方,具有平肝熄风、清热安神的功效。已有研究表明,该方治疗肝阳上亢型偏头痛<sup>[1]</sup>具有良好的疗效,但有关该方不同分离部位抗偏头痛的药理作用的实验研究报道尚少,需进一步深入研究。为此,笔者制备了多个天麻钩藤饮分离部位进行对比分析,旨在观察天麻钩藤饮不同分离部位对偏头痛模型大鼠行为学及血清单胺类神经递质等的影响。研究结果报道如下。

### 1 实验材料

1.1 动物 选取清洁级SD大鼠70只,雌雄各半,体重(200±20)g,均由浙江省医学科学院动物中心提供,合格证号:SCXK(浙)20080033。

1.2 药物及试剂 造模药:硝酸甘油注射液(广州明兴白云制药厂,10 mg/kg);阳性药:西比灵胶囊(西安杨森制药有限公司),用蒸馏水配制成0.167 mg/mL溶液。天麻钩藤饮不同分离部位:取天麻钩藤饮(TMGTY)各组方药材,加12倍量的蒸馏水,提取3次,每次1.5 h,滤取药液合并后减压浓缩至约1 g(生药)/mL,得TMGTY水提取液;TMGTY水提取液经D101大孔树脂吸附后,依次用蒸馏水、30%、60%、95%乙醇溶液洗脱。收集各乙醇洗脱液,减压回收溶剂,得3个分离部位(30% part, 60% part, 90% part),各部位每1 mL药液相当于1 g生药。5-羟色胺(5-HT)酶联免疫试剂盒型号(Lot: BP-E30236)、肾上腺素(E)酶联免疫试剂盒(型号 Lot: BP-E30233),均购于上海信帆生物科技有限公司。

1.3 主要仪器 冷冻离心机(德国 HERAEUS 公司), STAT FAX 2100 全自动酶免疫分析仪(美国 AWARENESS 公司); FA2204B 型电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司)。

### 2 实验方法

2.1 分组与给药 按随机数字表法将70只SD大鼠随机分为阳性对照组(西比灵组)、正常对照组、模型对照组、天麻钩藤饮(TMGTY)组、天麻钩藤饮30% part组(以下简称30% part组)、天麻钩藤饮60% part组(以下简称60% part组)、天麻钩藤饮90% part组(以下简称90% part组)共7组,每组10只。实验期间予基础饲料,自由采水饮食。正常对照组、模型对照组给予10 g/kg蒸馏水,西比灵组给予1.67 mg/kg西比灵溶液,其余各组均相应给予天麻钩藤饮与分离部位提取液。灌胃

容积每100 g体重1 mL,每天1次,连续给药7天。末次给药30 min后,除正常对照组注射生理盐水外,其余各组均皮下注射10 mg/kg硝酸甘油注射液复制偏头痛模型。

2.2 行为学指标观察 ①耳红时间:造模后立即观察各组大鼠耳红出现和消失时间;②挠头次数:造模后,以每30 min作为一个时间段,观察大鼠在每个时间段的挠头次数。

2.3 血清单胺类神经递质含量测定 造模4 h后,分别对大鼠进行眼眶采血,采血剂量为2 mL,而后进行离心处理,离心率为3000 r/min,离心时间为10 min,分离出上层血清备用。随后采取酶联免疫法测定血清单胺类神经递质5-HT、E的含量,操作过程严格按照说明书进行。

2.4 统计学方法 采用SPSS16.0统计学软件进行数据分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用t检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

### 3 研究结果

3.1 各组耳红出现和消失时间比较 见表1。正常对照组未出现耳红症状,其余各组均出现耳红症状。除正常对照组外,各组耳红出现时间整体比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );各组耳红消失时间整体比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与模型对照组比较,TMGTY组、60% part组的耳红消失时间均缩短( $P<0.05$ );30% part组、90% part组大鼠耳红消失时间虽有缩短趋势,但差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

表1 各组耳红出现和消失时间比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	耳红出现时间(min)	耳红消失时间(min)
正常对照组		0	0
模型对照组		5.8±0.3	177.1±8.4 <sup>①</sup>
西比灵组	1.67×10 <sup>-3</sup>	6.8±1.2	148.3±11.9 <sup>②</sup>
TMGTY组	10	4.9±1.3	157.3±11.6 <sup>②</sup>
30% part组	10	4.0±2.3	164.3±18.7
60% part组	10	5.6±2.3	141.1±23.0 <sup>②</sup>
90% part组	10	5.1±2.1	161.4±24.1

与模型对照组比较,① $P<0.05$

3.2 各组不同时间段挠头次数比较 见表2。模型对照组在皮下注射10 mg/kg硝酸甘油注射液后30~150 min的挠头次

数均较正常对照组增加,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型对照组比较,60% part 组在 0~150 min 内不同时间段的挠头次数均减少( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); TMGTY 组仅在 30~60

min 挠头次数减少( $P < 0.05$ ); 30% part 组和 90% part 组仅在 120~150 min 挠头次数减少( $P < 0.05$ )。

表2 各组不同时间段挠头次数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	挠头次数				
		0~30/min	30~60/min	60~90/min	90~120/min	120~150/min
正常对照组		0.7±0.2	0.6±0.1	0.6±0.2	0.4±0.1	0.3±0.1
模型对照组		32.9±4.8	37.2±6.8 <sup>①</sup>	28.1±4.8 <sup>①</sup>	21.3±7.9 <sup>①</sup>	19.5±6.3 <sup>①</sup>
西比灵组	1.67×10 <sup>-3</sup>	27.1±8.8 <sup>①②</sup>	29.2±8.1 <sup>①②</sup>	22.1±6.3 <sup>①②</sup>	14.5±3.7 <sup>①②</sup>	13.8±3.1 <sup>①②</sup>
TMGTY组	10	31.4±3.1 <sup>①</sup>	31.8±3.9 <sup>①②</sup>	26.5±5.6 <sup>①</sup>	19.3±3.1 <sup>①</sup>	15.7±3.2 <sup>①</sup>
30% part 组	10	31.8±6.1 <sup>①</sup>	34.5±2.6 <sup>①</sup>	25.6±3.5 <sup>①</sup>	17.9±4.6 <sup>①</sup>	13.9±5.1 <sup>①②</sup>
60% part 组	10	27.5±7.2 <sup>①②</sup>	29.1±5.7 <sup>①②</sup>	22.9±3.7 <sup>①②</sup>	15.9±2.7 <sup>①②</sup>	13.3±3.7 <sup>①③</sup>
90% part 组	10	30.3±8.0 <sup>①</sup>	32.0±6.3 <sup>①</sup>	25.2±4.1 <sup>①</sup>	17.4±3.0 <sup>①</sup>	14.8±4.1 <sup>①②</sup>

与正常对照组同时段比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型对照组同时段比较, ② $P < 0.05$ , ③ $P < 0.01$

3.3 各组血清单胺类神经递质含量比较 见表3。与正常对照组比较,模型对照组的血清 5-HT 含量降低( $P < 0.01$ ),血清 E 含量升高( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较, TMGTY 组、60% part 组和 90% part 组的血清 5-HT 水平均升高( $P < 0.01$ ), 30% part 组的血清 5-HT 水平有升高趋势,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); TMGTY 组、30% part 组、60% part 组和 90% part 组的血清 E 水平均下降( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

表3 各组血清单胺类神经递质含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g/kg)	5-HT(ng/L)	E(μg/L)
正常对照组		211.6±78.9	17.2±3.22
模型对照组		98.4±11.9 <sup>①</sup>	28.9±7.94 <sup>①</sup>
西比灵组	1.67×10 <sup>-3</sup>	131.8±37.0 <sup>③</sup>	15.4±2.39 <sup>③</sup>
TMGTY组	10	141.0±28.5 <sup>③</sup>	22.0±4.81 <sup>②</sup>
30% part 组	10	117.5±31.5	19.9±2.19 <sup>③</sup>
60% part 组	10	175.6±50.2 <sup>③</sup>	16.6±4.90 <sup>③</sup>
90% part 组	10	167.3±24.0 <sup>③</sup>	18.5±5.38 <sup>③</sup>

与正常对照组比较, ① $P < 0.01$ ; 与模型对照组比较, ② $P < 0.05$ , ③ $P < 0.01$

4 讨论

已有研究表明,硝酸甘油致偏头痛大鼠动物模型造模成功后,大鼠会出现双耳发红、前肢频繁搔头、烦躁不安等类似人类头痛现象。故耳红出现及消失时间、单位时间段内挠头次数等行为学指标可作为判断模型复制成功与否及防治偏头痛是否有效的指标<sup>[2]</sup>。本研究中,皮下注射硝酸甘油注射液后约 5 min,大鼠出现双耳发红、前肢频繁搔头、烦躁不安的现象,持续约 3 h,继而出现蜷卧、活动减少的状态,提示造模成功。本研究结果显示,天麻钩藤饮及其不同分离部位的乙醇洗脱液均能一定程度改善上述症状,说明各个分离部位对改善偏

头痛病情均有一定作用。

在天麻钩藤饮各受试物中,对模型大鼠行为学的改善作用,以 60% 乙醇洗脱部位的效果最为优越。已有研究表明,偏头痛的发生与血管活性物质、单胺类神经递质的释放或代谢异常有关<sup>[3-4]</sup>。本研究中,模型对照组血清 5-HT 含量下降( $P < 0.05$ ),血清 E 含量上升( $P < 0.05$ ),提示模型大鼠体内这两个神经递质存在代谢紊乱现象。天麻钩藤饮及其不同分离部位的乙醇洗脱液均能一定程度地调节大鼠血清 5-HT、E 水平,其中 60% 乙醇洗脱部位效果最显著。天麻钩藤饮中含有黄芩苷、栀子苷等黄酮类及环烯醚萜苷等成分,可被 D101 等大孔树脂吸附、分离。结合行为学结果和天麻钩藤饮的组成成分分析,推测 60% 乙醇洗脱部位可能有效地聚集了天麻钩藤饮中抗偏头痛的有效成分,但该部位具体的成分分析、含量测定及成分-药效相关性分析尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 黄月芳,楼招欢. 天麻钩藤饮治疗肝阳上亢型偏头痛临床观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2011, 21(12): 858-859.
- [2] 付先军,宋旭霞,周永红,等. 硝酸甘油型实验性偏头痛大鼠模型行为症状学评价[J]. 中华神经医学杂志, 2005, 4(5): 449-451.
- [3] 曾勇,李佳川,孟宪丽. 头风愈滴丸对偏头痛动物单胺类神经递质含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(5): 57-58.
- [4] 殷民,房桂青. 清脑灵对硝酸甘油型偏头痛模型大鼠血清 NE 和 5-HT 的影响[J]. 山东医药, 2008, 48(34): 41-42.

(责任编辑:吴凌,刘迪成)