

细辛水提物与尼莫地平合用的镇痛作用及其机制研究

叶英响

义乌市中心医院, 浙江 义乌 322000

摘要: 目的 研究细辛水提物和钙通道拮抗剂尼莫地平合用的镇痛作用及其机制。方法 40 只健康 Wistar 雄性大鼠随机分为对照组、模型组、细辛组、尼莫地平组和联合用药组, 除对照组外其他各组大鼠均进行结扎坐骨神经制备神经病理性疼痛模型。各组大鼠手术后 ig 给药 2 周, 细辛组大鼠给予细辛水提物 (200 mg/kg, 相当于细辛药材 2 g/kg), 尼莫地平组大鼠给予尼莫地平 (40 mg/kg), 联合给药组大鼠给予尼莫地平 (40 mg/kg) 30 min 后给予细辛水提物 (200 mg/kg), 对照组和模型组给予生理盐水。各组大鼠分别于手术前 1 d 及手术后第 1、3、5、9、14 天给药 30 min 后分别测量热缩足潜伏期以及机械刺激缩足反射阈值。结果 各组大鼠手术前的热缩足潜伏期以及机械刺激缩足反射阈值的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 手术后各时间点模型组大鼠的热缩足潜伏期和机械刺激缩足反射阈值均较对照组显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 细辛组和尼莫地平组大鼠的热缩足潜伏期和机械刺激缩足反射阈值均从术后第 5 天起较模型组大鼠显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 联合用药组大鼠热缩足潜伏期和机械刺激缩足反射阈值从术后第 3 天起均较模型组大鼠显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 从术后第 5 天起均较细辛组和尼莫地平组高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。联合用药组的镇痛作用强于细辛水提物和尼莫地平。结论 细辛水提物和尼莫地平合用具有镇痛作用。

关键词: 细辛; 尼莫地平; 镇痛作用; 联合用药; 神经病理性疼痛

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)24-3521-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.017

Study on analgesic effects of aqueous extract from *Asari Radix et Rhizoma* combined with Nimodipine and its mechanism

YE Ying-xiang

Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, China

Abstract: Objective To study the analgesic effects of aqueous extract from *Asari Radix et Rhizoma* (ARR) combined with Nimodipine and its mechanism. **Methods** Forty healthy male Wistar rats were randomly divided into control, model, ARR, Nimodipine, and ARR + Nimodipine groups. Except the control group, the neuropathic pain models of rats were produced in the rest groups by the ligation of sciatic nerve. Rats in each group were ig administered for two weeks after operation. The aqueous extract (200 mg/kg) from ARR was given to rats in ARR group, Nimodipine (40 mg/kg) was given to rats in Nimodipine group, and the aqueous extract (200 mg/kg) from ARR was given to rats after 30 min administration of Nimodipine (40 mg/kg) in ARR + Nimodipine group, and physiological saline was given to rats in the control and model groups. Thermal paw withdrawal latency and mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in each group were measured on one day before operation and on the days 1, 3, 5, 9, and 14 after 30 min of administration. **Results** The thermal paw withdrawal latency and mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in each group were not significantly different before and after the operation ($P > 0.05$). The thermal paw withdrawal latency and mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in the model group were significantly lower than those in the control group at various time points after the operation ($P < 0.05$ and 0.01). The thermal paw withdrawal latency and mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in ARR and Nimodipine groups were significantly higher than those in the model group from the day 5 after the operation ($P < 0.05$ and 0.01). The thermal paw withdrawal latency and mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in ARR + Nimodipine group were significantly higher than those in the model group from the day 3 after the operation ($P < 0.05$ and 0.01), and were significantly higher than those of both in ARR and Nimodipine groups from

收稿日期: 2013-07-16

作者简介: 叶英响, 男, 浙江义乌人, 副主任中药师, 主要从事中药制剂新技术和传统中药成分测定研究。

Tel: 13575949899 E-mail: ywyx21cn@163.com

the day 5 after the operation ($P < 0.05$ and 0.01). Analgesic effects of ARR + Nimodipine group were better than those of separate ARR and Nimodipine groups. **Conclusion** The aqueous extract from ARR combined with Nimodipine has the ideal analgesic effects.

Key words: *Asari Radix et Rhizoma*; Nimodipine; analgesia effects; drug combination; neuropathic pain

细辛 *Asari Radix et Rhizoma* 属于马兜铃科, 具有疏风解痛的功效, 暖肺、排湿, 同时也有毒性, 它的主要成分为石脑油、甲基丁香酚、消旋去甲乌药碱等^[1]。有研究表明细辛水提物在动物实验中具有明显的中枢神经抑制作用^[2], 并已广泛用于临床。相关研究显示钙拮抗剂 (CAA) 与阿片类镇痛药具有明显的协同镇痛作用^[3], 且具有镇痛效应的中药与 CAA 的协同作用也已开始引起人们的关注。近年来有研究指出, CAA 如硝苯吡啶、维拉帕米、尼卡地平、尼莫地平以及不少中药如细辛、天麻等均具有镇痛作用。本实验通过动物模型考察细辛水提物与尼莫地平合用的镇痛作用, 以期为临床应用提供参考。

1 材料

1.1 动物

雄性 Wistar 大鼠 (SPF 级) 共 40 只, 8 周龄, 体质量 180~220 g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 许可证号: SCXK (沪) 2007-0005。

1.2 药物与试剂

细辛药材由本院中药室提供, 粉碎, 取粗粉 300 g 加 10 倍量蒸馏水, 浸泡 0.5 h, 文火煎煮 0.5 h, 滤过, 滤渣加 10 倍量蒸馏水文火煎煮 0.5 h, 滤过, 合并 2 次滤液, 减压浓缩, 经冷冻干燥得到细辛水提物冻干粉, 每克冻干粉相当于 10 g 生药。尼莫地平片 (批号 20100905) 由亚宝药业集团股份有限公司提供。

2 方法

2.1 分组及给药

40 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、模型组、细辛组、尼莫地平组和联合用药组, 除对照组外, 其他各组大鼠参照 Bennett 等^[4]的方法均进行坐骨神经松扎制备神经病理性疼痛动物模型。各组大鼠手术后 ig 给药 2 周: 细辛组大鼠给予细辛水提物 200 mg/kg (相当于细辛药材 2 g/kg), 尼莫地平组大鼠给予尼莫地平 40 mg/kg, 联合给药组大鼠给予尼莫地平 40 mg/kg, 30 min 后给予细辛水提物 200 mg/kg, 对照组和模型组给予同体积的生理盐水。

2.2 观察指标

分别采用文献方法^[4-5]在手术前 1 d 以及手术后

1、3、5、9、14 d 给药后 30 min 测量机械刺激缩足反射阈值以及热缩足潜伏期, 以评价机械痛觉超敏情况和热痛觉过敏情况。热缩足潜伏期的测量: 保持室内温度 (22 ± 1) °C, 将有机玻璃箱置于 6 mm 厚的玻璃板上, 待大鼠在箱中适应 10 min 后用可移动光束照射左足底中部, 从照射开始至出现抬腿的时间为热缩足潜伏期, 每只动物测定 3 次, 结果表示为 3 次测量均值。机械刺激缩足反射阈值的测量: 将有机玻璃箱置于金属筛网上, 待大鼠在有机玻璃箱中适应 10 min 后, 用不同内径的 VonFrey 尼龙丝, 选择一根合适的 VonFrey 尼龙丝垂直刺激大鼠左后肢足底中部, 逐渐加压至出现抬足或舔足行为时作为阳性反应, 参照 up-down 法推测阈值。所有大鼠的抬腿反射时间均在 5~30 s。

2.3 统计学处理

采用 SPSS 15.0 软件进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组大鼠热缩足潜伏期的比较

术前各组大鼠的热缩足潜伏期差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。模型组大鼠手术后各时间点热缩足潜伏期较对照组均显著缩短 ($P < 0.01$)。细辛组大鼠术后第 5 天起热缩足潜伏期较模型组显著延长 ($P < 0.05$); 联合组大鼠手术后第 3 天起热缩足潜伏期较模型组显著延长 ($P < 0.01$), 从手术后第 5 天起热缩足潜伏期较细辛组显著延长 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果见表 1。

3.2 各组大鼠机械刺激缩足反射阈值的比较

术前各组大鼠的机械刺激缩足反射阈值差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。模型组大鼠手术后各时间点机械刺激缩足反射阈值较对照组均显著降低 ($P < 0.01$)。细辛组大鼠术后第 5 天起机械刺激缩足反射阈值较模型组显著升高 ($P < 0.01$), 联合用药组大鼠手术后第 3 天起机械刺激缩足反射阈值较模型组显著延长 ($P < 0.05$ 、 0.01), 从手术后第 5 天起机械刺激缩足反射阈值较细辛组显著延长 ($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 1 各组大鼠热缩足潜伏期的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 1 Comparison on thermal paw withdrawal latency of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 热缩足潜伏期 / s | | | | | |
|------|------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| | 术前 | 术后第 1 天 | 术后第 3 天 | 术后第 5 天 | 术后第 9 天 | 术后第 14 天 |
| 对照 | 17.4±3.1 | 17.2±3.2 | 16.9±3.0 | 17.3±2.9 | 17.0±2.9 | 17.2±2.8 |
| 模型 | 17.2±2.8 | 12.5±1.9 ^{###} | 11.3±2.2 ^{###} | 9.3±2.1 ^{###} | 8.6±1.7 ^{###} | 7.8±1.6 ^{###} |
| 细辛 | 17.3±3.5 | 13.3±2.5 | 12.7±2.5 | 12.6±1.8 [*] | 11.4±1.9 [*] | 9.4±1.8 [*] |
| 尼莫地平 | 16.8±3.2 | 13.2±2.2 | 12.1±2.3 | 12.4±1.9 [*] | 11.8±1.9 [*] | 10.1±1.5 [*] |
| 联合用药 | 17.1±2.9 | 13.8±2.4 | 15.0±2.2 ^{**} | 15.8±2.4 ^{**&} | 14.3±2.3 ^{**&} | 13.6±2.1 ^{**&&} |

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与细辛组或尼莫地平组比较: [&] $P < 0.05$ ^{&&} $P < 0.01$; 下同
[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [&] $P < 0.05$ ^{&&} $P < 0.01$ vs *Asari Herba* group or Nimodipine group; same as below

表 2 各组大鼠机械刺激缩足反射阈值的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 2 Comparison on mechanical paw withdrawal reflex threshold of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 机械刺激缩足反射阈值 / s | | | | | |
|------|----------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | 术前 | 术后第 1 天 | 术后第 3 天 | 术后第 5 天 | 术后第 9 天 | 术后第 14 天 |
| 对照 | 13.6±1.9 | 13.8±2.1 | 13.5±2.0 | 13.7±2.2 | 13.7±2.0 | 13.6±2.1 |
| 模型 | 13.9±2.1 | 10.2±1.9 ^{###} | 9.3±2.0 ^{###} | 8.0±1.9 ^{###} | 7.5±2.1 ^{###} | 6.3±1.8 ^{###} |
| 细辛 | 13.8±2.2 | 10.8±2.1 | 10.6±1.9 | 11.0±2.0 ^{**} | 9.8±1.9 ^{**} | 8.9±1.7 ^{**} |
| 尼莫地平 | 13.8±2.4 | 10.4±2.2 | 9.6±1.9 | 10.5±2.3 ^{**} | 9.5±1.9 ^{**} | 9.2±2.0 ^{**} |
| 联合用药 | 13.7±2.3 | 11.3±2.0 | 12.6±2.0 [*] | 13.4±1.9 ^{**&} | 12.6±1.8 ^{**&} | 11.9±1.9 ^{**&} |

4 讨论

神经病理性疼痛是由于炎症、外伤、代谢异常、机械压迫和神经退行性病变等引起外周或中枢神经系统的直接损伤或功能紊乱,从而诱发以痛觉过敏、痛觉超敏和自发性疼痛为表现的一系列感觉和运动功能异常。神经病理性疼痛常在神经损伤后持续很长时间,严重影响人们的身体健康和生活质量。

细辛是一味临床常用中药,其镇痛作用被广泛运用于临床,目前已有研究报道细辛可降低脑组织及血清中的疼痛介质 PGE₂ 的量并抑制其合成^[6],从而对中枢疼痛进行调控。同时研究还表明,细辛的镇痛作用可能与氧自由基的清除有关,而氧自由基参与中枢和外周疼痛,其清除因子维生素 E 和 SOD 对机体均有镇痛作用^[7]。尼莫地平是 L 型电压敏感性钙通道特异性拮抗剂,通过阻断电压依赖的 L 型钙通道,使神经细胞钙内流减少,提高感受器的兴奋阈值,神经冲动减弱,从而达到镇痛作用^[8]。

在本研究中,模型组大鼠手术后各时间点热缩足潜伏期较对照组均显著缩短、机械刺激缩足反射阈值较对照组均显著降低,因此制造神经病理性模型成功。细辛组和尼莫地平组大鼠的热缩足潜伏期和机械

刺激缩足反射阈值从术后第 5 天起均较模型组大鼠显著升高,说明细辛和尼莫地平对大鼠神经性疼痛均具有显著的镇痛作用。联合用药组大鼠从手术后第 3 天起大鼠热缩足潜伏期和机械刺激缩足反射阈值均较模型组显著升高,从手术后第 5 天起均较细辛组和尼莫地平组显著升高,说明细辛和尼莫地平联用不但具有镇痛作用,而且两者镇痛作用强于其单方细辛和尼莫地平。这与郑卫红等^[9]得到的结果相符。因此,尼莫地平 and 细辛合用对神经病理性疼痛具有显著效果,在韩俊艳等^[10]的研究中,细辛明显降低了小鼠脑组织和血清中 NO 的量,提示细辛镇痛作用的机制可能与抑制缓激肽、NO 等内源性致痛物质有关,并明显对 Ca²⁺迁移的细胞信息传递系统产生抑制。也有研究证明^[11],NO 作为一种递质传递分子参与脑内的致痛作用,而 NO 量的增高与 Ca²⁺量的增高有直接的关系,从而与钙拮抗剂产生协同镇痛作用。这表明细辛的镇痛作用可能与阿片受体有关,与 Okten 等^[12]的研究结果相同。

细辛水提物和钙拮抗剂尼莫地平合用具有显著镇痛作用,其镇痛作用可能与 NO、PGE₂、SOD 等有关,其确切的镇痛作用机制仍还需进一步研究。

参考文献

- [1] 胡竟一, 邱春燕, 雷玲, 等. 细辛的镇痛和抗炎作用 [J]. 中药药理与临床, 2011, 27(2): 63-69.
- [2] 王本祥. 现代中药药理与临床 [M]. 天津: 天津科技翻译出版社, 2004.
- [3] Verma V, Mediratta P K, Sharma K K, *et al.* Potentiation of analgesia and reversal of tolerance to morphine by calcium channel blocker [J]. *Indian J Exp Biol*, 2011, 39(7): 636-643.
- [4] Bennett G J, Xie Y K. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man [J]. *Pain*, 1988, 33(1): 87-107.
- [5] 武玉清, 周成华, 张永. 维拉帕米增强氯胺酮对神经病理性疼痛的拮抗作用 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(4): 512-517.
- [6] 袁晓琴, 孙莲芬. 细辛不同提取部位镇痛作用及毒性的比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 2050-2051.
- [7] 刘铭佩. 松潘乌头总碱的镇痛作用 [J]. 中药药理与临床, 2007, 23(1): 36-37.
- [8] 郑卫红, 钱京萍. 尼莫地平与乌红天麻种麻的协同镇痛效应研究 [J]. 时珍国医医药, 2005, 16(5): 381-382.
- [9] 郑卫红, 陈超, 钱京萍. 细辛伍用异搏定对牙神经痛的镇痛作用 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2005, 11(5): 284-286.
- [10] 韩俊艳, 孙川力, 纪明山. 中药细辛的研究进展 [J]. 中国农学通报, 2011, 27(9): 46-50.
- [11] 袁晓琴, 孙莲芬. 细辛的镇痛作用及作用机制 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(10): 70-72.
- [12] Okten A I, Gezerean Y, Ergun R. Traumatic subarachnoid Hemorrhage: a prospective study of 58 cases [J]. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*, 2006, 12(2): 107-114.