

天麻灵芝颗粒药效学实验研究

吴静澜¹, 刘明¹, 刘莉², 罗战彪², 王海洋², 张永萍^{1*}

1. 贵阳中医学院药学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵阳德昌祥药业有限公司, 贵州 贵阳 550081

摘要: **目的** 对天麻灵芝颗粒进行药效学研究。**方法** 通过小鼠断头张口喘气实验、耐常压缺氧实验、豚鼠氯仿所致眩晕实验、旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠水迷宫实验, 考察天麻灵芝颗粒抗眩晕作用; 通过小鼠自主活动实验、小鼠协同戊巴比妥钠催眠实验, 考察天麻灵芝颗粒的镇静催眠作用; 通过小鼠扭体法实验、小鼠热板法实验, 考察天麻灵芝颗粒镇痛作用; 通过游泳和调节免疫实验, 考察天麻灵芝颗粒抗疲劳及调节免疫的作用。**结果** 天麻灵芝颗粒能促进大脑供血供氧; 能明显减少小鼠的自主活动次数, 增加阈下剂量戊巴比妥钠睡眠小鼠只数, 缩短阈剂量戊巴比妥钠小鼠入睡潜伏期并延长睡眠时间; 能显著地增加醋酸致小鼠扭体反应潜伏期并减少扭体反应次数, 增加热板法小鼠痛阈值; 能明显延长小鼠游泳时间, 增加幼龄小鼠脾脏、胸腺指数, 增加小鼠的碳粒廓清指数和吞噬指数。**结论** 天麻灵芝颗粒具有抗眩晕、镇静催眠、镇痛、抗疲劳及提高免疫功能的作用。

关键词: 天麻灵芝颗粒; 抗眩晕; 镇静催眠; 镇痛; 抗疲劳; 调节免疫

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)16-3440-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.16.030

Pharmacodynamic study on Tianma Lingzhi Granules

WU Jing-lan¹, LIU Ming¹, LIU Li², LUO Zhan-biao², WANG Hai-yang², ZHANG Yong-ping¹

1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Guiyang Dechangxiang Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550081, China

Abstract: **Objective** To study the pharmacodynamics of Tianma Lingzhi Granules (TLG). **Methods** Mouth breathing experiment and hypoxia tolerance experiment under atmospheric pressure with mice, experiment of dizziness of guinea pigs caused by chloroform, and stimulus ischemic vertigo of model rats caused by rotating in water maze experiment was used to investigate the anti-vertigo effect of TLG; The experiment of autonomic activities of mice and hypnosis experiment of mice with pentobarbital sodium was used to investigate the sedative hypnotic effect of TLG; The experiments of torsion body and hot plate of mice was used to investigate the analgesic effect of TLG; The experiments of swimming and regulating immune experiment was used to investigate the anti-fatigue and immune regulation effect of TLG. **Results** TLG could promote the supplying of oxygen in the brain, significantly reduce the times of autonomic activities of mice, increase the number of sleeping mice at the subthreshold dose of sodium pentobarbital, shorten the sleep latency of mice with hreshold dose of sodium pentobarbital and prolong the sleep time, significantly increase mice body torsion reaction latency by the acetic acid and reduce the body torsion times, and increase the spleen thymus index, clearance coefficient and phagocytic index of mice. **Conclusion** TLG has the effect of treating dizziness, forgetfulness, waist and knee fatigue weakness and so on.

Key words: Tianma Lingzhi Granules; anti-vertigo; sedative-hypnotic; analgesia; anti-fatigue; regulation of immunity

天麻灵芝颗粒来源于天麻灵芝合剂, 主要由天麻、灵芝、淫羊藿、黄精、首乌等组成, 具有补益肝肾、养心安神的功能, 临床主要用于肝肾不足引

起的失眠、头晕、目眩、心悸、腰膝酸软、体虚乏力等症, 临床疗效确切, 无明显毒副作用, 但存在质量控制标准简单, 产品质量不稳定, 运输携带不

收稿日期: 2017-07-21

基金项目: 天麻医药产业深度开发关键问题研究(黔科合重大专项字 [2011] 6005); 贵州省普通高等学校中药民族药(苗药)新剂型新制剂工程研究中心(黔教合 KY 字 [2014] 22 号); 贵州省中药民族药炮制与制剂工程技术研究中心(黔科合重 G 字 [2012] 4001 号); 贵州省中药(民族药)药剂学专业学位研究生工作站(黔教合 YJS 字 [2013] 05 号); 贵州省现代民族药(苗药)协同创新中心(黔教合协同创新字 [2013] 02 号)

作者简介: 吴静澜(1973—), 女, 苗族, 贵州黎平人, 教授, 硕士研究生导师, 从事药物新制剂、新技术与新剂型研究。

***通信作者** 张永萍(1965—), 女, 山东诸城人, 教授, 博士研究生导师, 从事药物新制剂、新技术与新剂型研究。E-mail: 642055255@qq.com

便等缺点。在不改变原工艺的前提下将天麻灵芝合剂制成颗粒剂,本研究根据其功能主治对天麻灵芝颗粒进行了相关的药效学实验,为其临床应用提供依据和参考。

1 材料

1.1 动物

SD 大鼠,雌雄兼用,体质量 200~250 g;豚鼠,雌雄兼用,体质量 250~300 g;昆明种小鼠,雌雄兼用,体质量 12~14 g、18~22 g;均由贵州医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(黔)2012-001。

1.2 药物

天麻灵芝颗粒,由贵阳德昌祥药业有限公司提供,批号 20130520;天保宁,浙江康恩贝制药股份有限公司产品,批号 130226;盐酸地芬尼多片,湖南千金湘江药业股份有限公司,批号 130318。

1.3 仪器与试剂

JM-B 型电子天平,余姚市纪铭称重校验设备有限公司;ALC-210.3 型电子天平,上海良平仪器仪表有限公司;台式高速离心机,上海安亭科学仪器有限公司;721 分光光度计,上海精密仪器仪表有限公司;ZZ-6 小鼠自主活动仪,成都泰盟科技有限公司;RB-200 智能热板仪,上海益联科教设备有限公司;Morris 水迷宫,安徽正华生物仪器设备有限公司。冰醋酸,成都市科龙化工试剂厂,批号 20120803;戊巴比妥钠,中国医药(集团)上海化学试剂公司生产,批号 F20090417;印度墨汁,北京市西中化工厂,批号 0803101。

2 方法与结果

2.1 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行多组间计量资料单因素方差分析。

2.2 抗眩晕实验

2.2.1 小鼠断头张口喘气实验^[1] 取健康合格的昆明小鼠,雌雄各半,体质量 18~22 g,随机分为 6 组,即对照组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量(20.60、10.30、5.15 g/kg)组,天保宁(9.6 mg/kg)组,盐酸地芬尼多片(25 mg/kg)组,每组 12 只动物。各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 20 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。末次给药 30 min,用手术剪沿着两耳根部剪断小鼠头,立即计数小鼠张口次数,结果见表 1。各给药组均能够增加小鼠断头张口喘气次数,其中以天麻灵芝颗粒高、中剂量组和

天保宁组作用最为明显,与对照组比较差异显著($P<0.05$)。

2.2.2 小鼠耐常压缺氧实验^[2] 取健康合格的昆明小鼠,雌雄各半,体质量、分组、给药方法同“2.2.1”项,将小鼠置于准备好的广口瓶中,每瓶 1 只,盖严瓶盖,立即计时记录小鼠存活时间,结果见表 2。各给药组均能够延长小鼠的存活时间,其中以天麻灵芝颗粒高、低剂量组和天保宁组作用最为显著,与对照组比较,差异显著($P<0.05$ 、 0.01)。

表 1 天麻灵芝颗粒对小鼠断头张口喘气次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of TLG on times of mouth breathing in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	张口次数
对照	—	9.0±2.3
天麻灵芝颗粒	20.60	11.0±2.4*
	10.30	10.9±2.1*
	5.15	10.5±2.5
天保宁	0.009 6	11.2±2.9*
盐酸地芬尼多片	0.025	10.1±1.8

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

表 2 天麻灵芝颗粒对小鼠耐常压缺氧实验中存活时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of TLG on survival time of mice in atmospheric pressure hypoxia test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	存活时间/min
对照	—	16.1±3.4
天麻灵芝颗粒	20.60	18.9±4.3*
	10.30	17.2±3.4
	5.15	19.2±2.2**
天保宁	0.009 6	19.8±4.1*
盐酸地芬尼多片	0.025	16.5±2.8

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$, 下同

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group, same as below

2.2.3 豚鼠氯仿所致眩晕实验^[3] 取健康合格的豚鼠,雌雄各半,体质量 250~300 g,随机分为 6 组,即对照组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量(10.30、5.15、2.58 g/kg)组,天保宁(4.8 mg/kg)组,盐酸地芬尼多片(12.5 mg/kg)组,每组 10 只动物,各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 10 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。末次给药 30 min,自豚鼠右耳滴入 15 μ L 氯仿,观察出现眼球震颤的潜伏

期和持续时间,持续时间以 60 min 为界,结果见表 3。各给药组均能明显地延长豚鼠眼球震颤潜伏期,缩短眼球震颤持续时间,与对照组比较,差异显著($P<0.05$ 、 0.01)。

2.2.4 旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠水迷宫实验^[4-5]
取健康合格的 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 200~250 g,大鼠采用 10%水合氯醛(3.5 mL/kg)麻醉后,仰卧位固定。剪开颈部皮肤,钝性分离肌肉,暴露并分离右侧颈总动脉,穿线结扎;沿右侧颈总动脉向胸腔内找至与右侧锁骨下动脉的分叉处,用弯镊勾出右侧锁骨下动脉,穿线结扎。待动物清醒后,按照体质量随机分为 6 组,即模型组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量(14.42、7.21、3.61 g/kg)组,天保宁(6.7 mg/kg)组,盐酸地芬尼多片(17.5 mg/kg)组,每组 10 只动物。另取 10 只正常动物

表 3 天麻灵芝颗粒对氯仿致豚鼠眼球震颤潜伏期及震颤持续时间的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of TLG on latent period and duration of nystagmus in guinea pigs induced by chloroform ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	眼球震颤	
		潜伏期/min	持续时间/min
对照	—	5.86±0.77	52.64±7.02
天麻灵芝颗粒	10.30	7.26±1.48**	41.07±8.12**
	5.15	6.91±1.70*	44.60±10.32*
	2.58	6.96±1.72*	46.74±7.81*
天保宁	0.004 8	7.00±1.46*	43.63±9.54*
盐酸地芬尼多片	0.012 5	8.35±2.64**	36.92±10.79**

作为对照组。各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 10 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。于给药第 7 天开始进行水迷宫实验。

(1) 定位导航实验:首先进行 7 d 的定位航行实验,每天 1 次,实验时于平台正对的第二象限处,将大鼠面向池壁放入水中,观察并记录大鼠寻找并爬上平台的路线图、持续时间(潜伏期)。如果大鼠在 90 s 内未找到平台,则将其引至平台,停留 15 s,这时潜伏期记为 90 s。前 6 次为正常的训练,在第 7 次定位导航实验前,将大鼠放入离心机内以 200 r/min 的速度匀速旋转 30 s 骤停,立即放置于水中,观察并记录大鼠寻找并爬上平台的路线图、持续时间(潜伏期)。

(2) 空间搜索实验:测量大鼠对平台空间位置记忆的保持能力。通过 7 次训练后,撤除水中平台由同一水点将大鼠面向池壁放入水中(实验前先将大鼠放入离心机内以 200 r/min 的速度匀速旋转 30 s 骤停,立即放置于水中),记录其在第四象限运动的总路程和时间(时限 90 s)。

上述观察完成后,将动物断头处死,分离大脑,去除血污,精密称量大脑湿质量,并将大脑放置于烘箱中,60 ℃烘干 24 h,取出称量大脑干质量,计算大鼠脑含水量,结果见表 4~6。

结果表明,各给药组均能缩短大鼠定位导航潜伏期,其中以天麻灵芝颗粒中剂量组作用最为明显,从第 4 次实验开始表现出显著缩短定位导航潜伏期作用,对缺血性眩晕模型大鼠的学习能力有明显的改善作用,与模型组比较差异显著($P<0.05$)。

表 4 天麻灵芝颗粒对旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠定位导航实验潜伏期的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of TLG on latent period of location and navigation test in swing rotation and ischemic vertigo model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	潜伏期/s						
		第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次	第 5 次	第 6 次	第 7 次
对照	—	82.1±13.5	67.5±24.4	58.5±28.6	35.5±20.9	19.5±9.5 [#]	14.8±7.5 [#]	23.7±12.8 [#]
模型	—	85.6±8.2	78.8±16.1	63.1±26.1	52.3±24.9	37.8±26.1	32.7±26.9	44.8±26.2
天麻灵芝颗粒	14.42	77.6±22.6	73.3±17.2	59.0±25.7	43.4±30.7	22.2±21.4	16.9±10.4	29.3±16.8
	7.21	80.6±16.9	81.0±14.7	50.3±23.7	32.3±17.8 [#]	17.6±7.9 [#]	16.2±11.6 [#]	23.2±9.4 [#]
	3.61	81.0±19.3	69.1±18.4	55.9±26.3	38.5±21.9	21.1±11.7 [#]	16.4±10.5 [#]	26.5±13.0 [#]
天保宁	0.006 7	86.0±8.6	70.8±22.3	54.5±24.2	52.1±3.2	19.8±16.0 [#]	11.4±7.3 [#]	23.6±16.0 [#]
盐酸地芬尼多片	0.017 5	88.0±4.6	71.5±17.7	55.3±23.1	46.8±3.2	24.9±17.8	19.2±13.3	27.2±11.3 [#]

与模型组比较: [#] $P<0.05$

[#] $P<0.05$ vs model group

表 5 天麻灵芝颗粒对旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠空间搜索实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effect of TLG on spatial probe test in swing rotation and ischemic vertigo model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	第四象限总 路程/cm	第四象限 时间/s
对照	—	911.3 ± 119.1 [#]	19.7 ± 7.2 [#]
模型	—	781.4 ± 154.0	14.2 ± 5.4
天麻灵芝颗粒	14.42	872.9 ± 143.6	18.5 ± 8.4
	7.21	933.9 ± 136.5 [#]	20.2 ± 8.8 [#]
	3.61	851.1 ± 182.1	15.7 ± 7.7
天保宁	0.006 7	910.9 ± 135.6 [#]	20.2 ± 7.9 [#]
盐酸地芬尼多片	0.017 5	900.5 ± 138.6 [#]	19.4 ± 6.8 [#]

与模型组比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs model group

表 6 天麻灵芝颗粒对旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠大脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effect of TLG on moisture content of brain in swing rotation and ischemic vertigo model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	大脑含水量/%
对照	—	61.7 ± 4.2
模型	—	62.3 ± 5.4
天麻灵芝颗粒	14.42	60.9 ± 3.9
	7.21	61.7 ± 2.5
	3.61	63.9 ± 4.3
天保宁	0.006 7	60.9 ± 3.9
盐酸地芬尼多片	0.017 5	63.2 ± 3.2

在第 7 次定位导航实验中,天麻灵芝颗粒中、低剂量组和天保宁组、盐酸地芬尼多片组均能缩短旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠定位导航潜伏期,表

明其对机械刺激合并缺血性眩晕具有一定的治疗作用,能改善其眩晕症状,提高学习能力,与模型组比较,差异显著 ($P < 0.05$)。

在空间搜索实验中,天麻灵芝颗粒中剂量组、天保宁组和盐酸地芬尼多片均能够增加旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠第四象限路程和时间,表明其对机械刺激合并缺血性眩晕具有一定的治疗作用,能改善其眩晕症状,提高记忆能力,与模型组比较,差异显著 ($P < 0.05$)。

在大脑含水量的检测中,各组大鼠大脑含水量均在 60.9%~63.9%,各组间无显著性差异,表明模型大鼠在手术 14 d 后脑水肿已经恢复到正常水平,与对照组相似。

2.3 镇静催眠实验

2.3.1 小鼠自主活动实验^[6] 取健康合格的昆明小鼠,雌雄兼用,体质量 18~22 g,分组给药前先小鼠置于 ZZ-6 小鼠自主活动仪中,记录每只小鼠 5 min 内的活动次数,即爬行次数和站立次数,根据实验数据将动物分为 6 组,即对照组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量 (20.60、10.30、5.15 g/kg) 组,天保宁 (9.6 mg/kg) 组,盐酸地芬尼多片 (25.0 mg/kg) 组,每组 12 只动物。各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 20 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。末次给药后 30 min,将小鼠置于 ZZ-6 小鼠自主活动仪中,记录每只小鼠 5 min 内的爬行次数和站立次数,结果见表 7。天麻灵芝颗粒在较长时间给药 (给药 14 d) 后表现出明显地减少小鼠自主活动的作用,其中以天麻灵芝颗粒高、低剂量的作用最为明显,明显减少小鼠的爬行次数,与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)。天保宁组和盐酸地芬尼多片组未见抑制小鼠自主活动的作用。

表 7 天麻灵芝颗粒对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 7 Effect of TLG on autonomic activities in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	5 min 内爬行次数		5 min 内站立次数	
		给药前	给药后	给药前	给药后
对照	—	168.3 ± 34.2	120.5 ± 20.8	79.5 ± 30.3	66.3 ± 19.1
天麻灵芝颗粒	20.60	168.8 ± 39.9	99.3 ± 22.7 [*]	81.8 ± 28.7	66.6 ± 19.6
	10.30	173.3 ± 33.7	117.3 ± 30.8	80.5 ± 27.8	66.0 ± 21.1
	5.15	162.3 ± 37.0	102.3 ± 25.4 [*]	80.3 ± 28.3	62.9 ± 21.2
天保宁	0.009 6	170.2 ± 35.9	113.3 ± 23.9	81.1 ± 35.0	72.8 ± 19.3
盐酸地芬尼多片	0.025 0	165.0 ± 30.6	112.2 ± 25.2	78.8 ± 20.1	71.4 ± 12.4

2.3.2 小鼠协同戊巴比妥钠催眠实验^[7]

(1) 阈下剂量戊巴比妥钠催眠实验: 取健康合格的昆明小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 随机分为 6 组, 即对照组, 天麻灵芝颗粒高、中、低剂量 (20.60、10.30、5.15 g/kg) 组, 天保宁 (9.6 mg/kg) 组, 盐酸地芬尼多片 (25.0 mg/kg) 组, 每组 12 只动物, 各组均 ig 给予相应的药物, 给药体积 20 mL/kg, 每天 1 次, 共给药 14 次。末次给药 30 min, ip 戊巴比妥钠 30 mg/kg, 记录小鼠入睡只数 (以翻正反射消失达 1 min 以上者为睡眠), 计算各组小鼠睡眠发生率, 结果见表 8。

(2) 阈剂量戊巴比妥钠催眠实验: 动物体质量、分组及给药方法同阈下剂量戊巴比妥钠催眠实验, 末次给药 30 min, ip 戊巴比妥钠 50 mg/kg, 记录小鼠入睡潜伏期和睡眠持续时间 (以翻正反射消失达 1 min 以上者为睡眠), 结果见表 9。

结果表明, 天麻灵芝颗粒能增加阈下剂量戊巴比妥钠小鼠入睡只数; 缩短阈剂量戊巴比妥钠小鼠入睡潜伏期, 并延长睡眠时间, 表明天麻灵芝颗粒具

表 8 天麻灵芝颗粒对小鼠阈下剂量戊巴比妥钠催眠实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 8 Effect of TLG on pelltobarbitalum natricum with sub-threshold dose in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	入睡只数	睡眠发生率/%
对照	—	2	16.7
天麻灵芝颗粒	20.60	6	50.0
	10.30	4	33.3
	5.15	5	41.7
天保宁	0.009 6	3	25.0
盐酸地芬尼多片	0.025 0	2	16.7

表 9 天麻灵芝颗粒对小鼠阈剂量戊巴比妥钠催眠实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 9 Effect of TLG on pelltobarbitalum natricum with threshold dose in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/min	睡眠持续时间/min
对照	—	7.08±1.73	28.33±12.09
天麻灵芝颗粒	20.60	5.83±1.64*	39.17±13.68*
	10.30	6.25±1.71	38.42±14.16*
	5.15	6.33±2.19	31.83±14.53
天保宁	0.009 6	6.33±2.57	28.17± 8.32
盐酸地芬尼多片	0.025 0	7.17±1.75	26.25±10.58

有协同戊巴比妥钠催眠作用。其中, 以天麻灵芝颗粒高剂量组作用最为明显, 其睡眠发生率达 50%。天保宁组和盐酸地芬尼多片组未见具有协同戊巴比妥钠催眠作用。

2.4 镇痛实验

2.4.1 醋酸致小鼠扭体反应实验^[8] 取健康合格的昆明小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~22 g, 随机分为 6 组, 即对照组, 天麻灵芝颗粒高、中、低剂量 (20.60、10.30、5.15 g/kg) 组, 天保宁组, 盐酸地芬尼多片组, 每组 12 只动物, 各组均 ig 给予相应的药物, 给药体积 20 mL/kg, 每天 1 次, 共给药 7 次。末次给药 30 min, ip 0.6%醋酸溶液 0.2 mL/只, 立即观察记录每只小鼠的扭体潜伏期 (即第 1 次出现扭体反应的时间) 及 15 min 内的扭体次数, 结果见表 10。天麻灵芝颗粒各剂量组和天保宁组均能显著地延长小鼠扭体潜伏期, 并显著地减少小鼠扭体反应次数, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.05$ 、0.01)。盐酸地芬尼多片组未见具有减少醋酸致小鼠扭体反应次数的作用。

表 10 天麻灵芝颗粒对醋酸致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 10 Effect of TLG on reaction of torsion body under acetic acid in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/min	15 min 内扭体次数
对照	—	5.37±1.77	26.6±11.9
天麻灵芝颗粒	20.60	8.45±3.61**	13.4±10.7**
	10.30	7.32±3.04*	14.8± 7.2**
	5.15	6.74±1.82*	16.8± 8.0*
天保宁	0.009 6	7.71±2.43**	16.1± 7.7**
盐酸地芬尼多片	0.025 0	5.52±1.42	26.3± 7.6

2.4.2 小鼠热板法镇痛实验^[9] 昆明种小鼠, 雌性, 实验前用热板仪进行筛选, 选择舔后足时间 (即潜伏期) 在 5~30 s 的小鼠为合格的小鼠。按体质量随机分成 6 组, 即对照组, 天麻灵芝颗粒高、中、低剂量 (20.60、10.30、5.15 g/kg) 组, 天保宁组, 盐酸地芬尼多片组, 每组 12 只动物, 各组均 ig 给予相应的药物, 给药体积 20 mL/kg, 每天 1 次, 共给药 7 次。末次给药后 30、90、150 min, 各组小鼠分别进行热板实验, 记录镇痛潜伏期 (痛阈值), 结果见表 11。天麻灵芝颗粒高、中剂量组和天保宁

表 11 天麻灵芝颗粒对小鼠热板法痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 11 Effect of TLG on pain threshold under hot plate test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	痛阈值/s			
		给药前	给药后 30 min	给药后 90 min	给药后 150 min
对照	—	15.45±4.79	13.16±4.94	12.84±4.08	15.69±5.97
天麻灵芝颗粒	20.60	14.51±5.26	18.61±7.01*	19.47±8.99*	14.68±4.36
	10.30	14.51±3.77	17.97±4.66*	19.12±8.19*	15.28±5.27
	5.15	15.72±4.92	15.91±5.62	15.91±6.38	17.67±8.25
	0.009 6	13.55±3.29	19.12±9.82*	21.61±7.12**	21.19±11.15
盐酸地芬尼多片	0.025 0	14.46±4.90	14.37±4.13	14.97±8.07	17.16±14.14

组均能显著地增加小鼠热板痛阈值,其作用从给药后 30 min 开始出现并可以持续到给药后 90 min,至给药后 150 min 时镇痛作用基本消失,与对照组比较,差异显著 ($P < 0.05, 0.01$),表明天麻灵芝颗粒与天保宁均具有显著的镇痛作用,且该作用持续时间较长。盐酸地芬尼多片组未见具有增加热板小鼠痛阈值的作用。

2.5 游泳和调节免疫实验

2.5.1 小鼠游泳实验^[10] 取健康合格的昆明小鼠,雌雄各半,体质量 18~22 g,随机分为 6 组,即对照组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量(20.60、10.30、5.15 g/kg)组,天保宁组,盐酸地芬尼多片组,每组 12 只动物,各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 20 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。末次给药 30 min,每只小鼠负重 5%体质量的重物,置于 25 ℃水中,立即计时观察小鼠游泳时间,结果见表 12。天麻灵芝颗粒和天保宁均能显著地延长小鼠负重游泳时间,与对照组比较差异显著 ($P < 0.05, 0.01$),表明天麻灵芝颗粒与天保宁均具有显著的抗疲劳作用。盐酸地芬尼多片组未见显著延长小鼠负重游泳时间的作用。

2.5.2 小鼠免疫实验^[11] 取健康合格的昆明小鼠,雌雄各半,体质量 12~14 g,随机分为 6 组,即对照组,天麻灵芝颗粒高、中、低剂量(20.60、10.30、5.15 g/kg)组,天保宁组,盐酸地芬尼多片组,每

表 12 天麻灵芝颗粒对小鼠负重游泳时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 12 Effect of TLG on time of weight loading swimming in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	游泳时间/min
对照	—	11.36±2.95
天麻灵芝颗粒	20.60	15.48±4.78**
	10.30	15.51±4.66**
	5.15	14.24±4.06*
天保宁	0.009 6	14.78±4.24*
盐酸地芬尼多片	0.025 0	13.19±3.21

组 12 只动物,各组均 ig 给予相应的药物,给药体积 20 mL/kg,每天 1 次,共给药 14 次。末次给药 30 min,小鼠尾 iv 20%印度墨汁生理盐水溶液 10 mL/kg,注射墨汁后 2 min (t_1) 和 10 min (t_2) 时分别从小鼠内眦取血,移液枪(肝素湿润)精密吸取 20 μ L,移入到 2 mL 0.1% Na₂CO₃ 溶液中,摇匀,以 Na₂CO₃ 溶液作空白对照,于 650 nm 波长处测定吸光度 (A) 值,小鼠脱颈椎处死,迅速取出肝、脾和胸腺,用滤纸吸干表面血污,精密称定质量,计算脾脏指数、胸腺指数、碳粒廓清指数 (K)、吞噬指数 (α),结果见表 13。

$$K = (\lg A_1 - \lg A_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = K^{1/3} \times \text{体质量} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$$

表 13 天麻灵芝颗粒对小鼠免疫器官及廓清指数、吞噬指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 13 Effect of TLG on immune organs, clearance, and phagocytic index in mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾脏指数/(g·kg ⁻¹)	胸腺指数/(g·kg ⁻¹)	K	α
对照	—	4.8±0.7	4.4±0.7	0.229±0.086	9.984±1.799
天麻灵芝颗粒	20.60	5.3±0.4*	4.6±0.5	0.292±0.069*	11.164±2.144
	10.30	5.5±0.9*	4.6±0.9	0.294±0.066*	11.498±2.054*
	5.15	5.4±0.7*	5.0±0.8*	0.235±0.077	10.381±1.645
	0.009 6	5.3±0.7	4.9±0.5*	0.283±0.045*	10.726±1.665
盐酸地芬尼多片	0.025 0	4.9±0.9	4.4±0.7	0.236±0.102	9.808±2.281

结果表明,天麻灵芝颗粒能显著增加脾脏指数、胸腺指数,并能够提高 K 和 α ,表明天麻灵芝颗粒具有一定的增强免疫的作用。天保宁也表现出一定的增强免疫作用,盐酸地芬尼多片未见具有调节免疫的作用。

3 讨论

本研究结果表明:①天麻灵芝颗粒能显著地增加小鼠断头张口次数,延长小鼠常压耐缺氧存活时间,延长氯仿诱发豚鼠眩晕的眼球震颤潜伏期并缩短其持续时间,缩短旋转刺激缺血性眩晕模型大鼠水迷宫实验定位导航潜伏期,并增加空间搜索第四象限路程和时间,对模型大鼠大脑含水量无影响,证明颗粒剂具有抗眩晕作用。②天麻灵芝颗粒能明显减少小鼠的自主活动次数,增加阈下剂量戊巴比妥钠睡眠小鼠只数,缩短阈剂量戊巴比妥钠小鼠入睡潜伏期并延长睡眠时间,证明天麻灵芝颗粒具有镇静催眠作用。③天麻灵芝颗粒能显著地增加醋酸致小鼠扭体反应潜伏期并减少扭体反应次数,增加热板法小鼠痛阈值,其作用可持续到给药后90 min。证明天麻灵芝颗粒具有镇痛作用。④天麻灵芝颗粒能明显延长小鼠游泳时间,增加幼龄小鼠脾脏、胸腺指数,增加小鼠的廓清指数和吞噬指数,具有增强免疫功能的作用。

综上所述,天麻灵芝颗粒通过促进大脑供血供氧而具有抗眩晕作用,并通过镇静催眠、镇痛、抗疲劳、增强免疫功能共同对眩晕产生治疗作用,尤其是对缺血性头晕伴健忘、失眠、腰膝酸软,体虚乏力等症具有较好的疗效。本实验为临床使用天麻灵芝颗粒提供科学依据。

参考文献

- [1] 李佳川,程雪瑶,顾建,等.杞圆桂花膏抗疲劳耐缺氧功能学实验研究[J].西南民族大学学报:自然科学版,2013,39(1):51-53.
- [2] 栾洁,陈雅琳,储智勇,等.冬虫夏草子实体对小鼠抗疲劳及耐缺氧能力的影响[J].时珍国医国药,2013,24(1):47-48.
- [3] 徐宏,刘威,王楚盈,等.川仙眩晕灵颗粒剂抗眩晕作用的实验研究[J].中国中医药科技,2013,20(1):32-33.
- [4] 刘阳,孙建宁,王堃,等.缺血性眩晕大鼠模型的建立[J].中国比较医学杂志,2013,23(1):10-13.
- [5] 毛海芬,邢同岳,朱玉婷.槲皮素对2型糖尿病大鼠学习记忆能力的影响[J].华西药理学杂志,2013,28(6):574-576.
- [6] 储智勇,沈越,李铁军,等.速效抗晕胶囊的安全性药理研究[J].中国新药杂志,2010,19(12):1080-1082.
- [7] 郭素华,黄华花,许飞,等.养心草水提液和醇提液宁心安神药效比较的实验研究[J].福建中医学院学报,2009,19(4):28-29.
- [8] 刘同祥,刘庆山,申刚义,等.大果木姜子镇痛作用活性部位筛选[J].北京中医药大学学报,2010,33(8):550-554.
- [9] 冉启军,赵建峰.贵州苗药黑骨藤总黄酮的抗炎镇痛作用[J].遵义医学院学报,2012,35(4):283-286.
- [10] 张路,朱海芳,陈慧慧,等.复方阿胶浆对小鼠抗疲劳能力的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(19):254-257.
- [11] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].第2版.上海:上海科学技术出版社,2006.