

头痛宁滴丸治疗偏头痛的实验研究

沈廷明¹, 姜 溪^{2*}, 陈芙蓉^{2*}, 只德广², 岳 南², 孙双勇²

1. 福建省宁德市中医院, 福建 宁德 352100

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘 要: **目的** 采用多种实验模型评价头痛宁滴丸治疗偏头痛的有效性。**方法** 采用硝酸甘油致大鼠实验性偏头痛模型, 观察头痛宁滴丸对偏头痛的治疗作用; 采用小鼠化学性刺激、热刺激及大鼠机械性刺激、福尔马林刺激实验模型, 观察头痛宁滴丸的镇痛作用; 采用硝酸土的宁致小鼠惊厥实验模型、正常小鼠自主活动实验模型, 观察头痛宁滴丸的镇静作用; 采用高黏滞血症大鼠模型、微循环障碍小鼠耳廓微循环实验模型, 观察头痛宁滴丸的活血作用。**结果** 与模型组比较, 头痛宁滴丸给药 5 d, 1、2 g/kg 剂量能明显减少大鼠挠头次数、爬笼次数, 缩短耳红消退时间; 头痛宁滴丸 1.5、3 g/kg 剂量明显减少醋酸引起的小鼠扭体次数; 对热刺激模型无明显影响; 头痛宁滴丸 1、2 g/kg 剂量能明显提高机械性刺激致痛大鼠的痛阈值, 缩短福尔马林致痛大鼠实验 II 相时间; 头痛宁滴丸 1.5、3 g/kg 剂量能明显延长小鼠惊厥潜伏期、减少自主活动次数; 头痛宁滴丸 0.5、1、2 g/kg 剂量明显抑制大鼠全血黏度的升高; 1.5、3 g/kg 剂量明显改善微循环障碍小鼠耳廓微循环的血液流态、减少红细胞聚集、增加毛细血管交点数。**结论** 头痛宁滴丸有明显的镇痛、镇静、活血作用, 对实验性偏头痛有明显的治疗作用。

关键词: 头痛宁滴丸; 硝酸甘油; 偏头痛; 镇痛; 镇静; 血液流变学; 活血作用

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)04-1016-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.04.027

Therapeutic effect of Toutongning Dropping Pills on migraine

SHEN Ting-ming¹, JIANG Xi², CHEN Fu-rong², ZHI De-guang², YUE Nan², SUN Shuang-yong²

1. Fujian Province Ningde Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ningde 352100, China

2. New Drug Evaluation Co., Ltd., Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To evaluate the therapeutic effect of Toutongning Dropping Pills in the treatment of migraine in various experimental models. **Methods** The experimental model of nitroglycerin-induced migraine in rats was used to observe the preventive effect of Toutongning Dropping Pills. The analgesic effect of Toutongning Dropping Pills was observed by chemical stimulation, thermal stimulation in mice, mechanical stimulation and formalin stimulation in rats. The sedative effect of Toutongning Dropping Pills was observed by using the mice convulsion model induced by strychnine nitrate and the model of spontaneous activity in normal mice. The blood-activating effects of Toutongning Dropping Pills were observed in rats with hyperviscosity and mice with microcirculation disorder. **Results** Five days after Toutongning Dropping Pills were given, compared with the model group, 1 g/kg and 2 g/kg drug dose group significantly reduced the number of climbing cage and scratching head in migraine rats, and shortened the fading time of pink ears. Toutongning Dropping Pills 1.5 g/kg and 3 g/kg dose group significantly reduced the number of writhing induced by acetic acid in mice; While it had no obvious effect on the thermal stimulation model. Toutongning Dropping Pills 1 g/kg and 2 g/kg dose group could significantly improve pain threshold of the mechanical stimulation of rats, and shorten the phase II time of formalin pain in rats; 1.5 g/kg and 3 g/kg drug dose group could significantly prolong the incubation period of convulsion and reduce the number of spontaneous activities in mice; 0.5 g/kg and 1 g/kg and 2 g/kg drug dose group significantly inhibited the increase of whole blood viscosity in rats; 1.5 g/kg and 3 g/kg drug dose group significantly improved the blood flow pattern in mice, reduced erythrocyte aggregation, and increased the number of capillary intersection points. **Conclusion** Toutongning Dropping Pills have obvious analgesic, sedative, blood-activating functions, and have therapeutic effects on experimental migraine.

Key words: Toutongning Dropping Pills; nitroglycerin; migraine; analgesia; sedateness; hemorheology; activating blood

收稿日期: 2019-09-03

作者简介: 沈廷明 (1975—), 男, 副主任中药师, 主要从事医院药学研究。Tel: (0593)2315799 E-mail: yjk2827300@163.com

*通信作者 姜 溪 (1988—), 女, 助理研究员, 主要从事药物临床前药效学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: jiangx@tjipr.com

陈芙蓉 (1982—), 女, 副研究员, 主要从事药物临床前药效学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: chenfr@tjipr.com

偏头痛是一种常见且危害性很大的慢性神经血管紊乱性疾病,表现为一侧或双侧搏动性的剧烈头痛,常伴有恶心、呕吐、胃肠道功能紊乱等症状,在世界范围内造成惊人的周期性残疾和生产损失^[1-2]。美国偏头痛的每年发病率约为 15%^[3],中国偏头痛的每年发病率为 9.3%^[4],其发病率高,迁延难愈,严重影响人们的工作效率和生活质量,威胁身心健康。偏头痛发病急、发病快,且无明显征兆,临床上常用镇痛药缓解急性发作,却难以根治,不良反应较大。偏头痛发病机制仍不明确,至今较为公认和完善的假说有三叉神经血管学说、皮质扩散性抑制学说等^[5]。因此,防治偏头痛是亟待解决的临床难点之一。头痛宁滴丸是一种用于治疗急性偏头痛的复方制剂(由天麻、土茯苓、制何首乌、当归、防风、全蝎组成),它多途径、多靶点的作用特点恰恰与偏头痛复杂的病理机制相吻合。滴丸制剂毒性小、起效快、生物利用度高,便于服用携带,尤其适用于急性发作的缓解及治疗,具备开发成为治疗偏头痛新药的潜能。

硝酸甘油在体内可生成 NO,使血管扩张,刺激损害三叉神经,释放血管活性肽类物质,诱发神经源性炎症反应^[6]。本实验采用硝酸甘油 sc 诱导实验性偏头痛大鼠模型,观察头痛宁滴丸对大鼠耳红出现及消退时间,前肢挠头、爬笼次数,评价其对偏头痛模型大鼠行为症状的影响;采用外周性、中枢性疼痛刺激模型、惊厥模型及血瘀模型,从偏头痛、镇静及血液流变学等方面全面观察头痛宁滴丸的作用,为临床提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

头痛宁滴丸提取液浸膏粉,浅棕色粉末,每克浸膏粉相当于生药量 3.84 g,由天津药物研究院中药现代研究部提供;佐米曲普坦片(2.5 mg/片,批号 20090601,海南万特制药有限公司产品);硝酸甘油注射液(5 mg/mL,批号 20090904,北京益民药业有限公司产品);吗啡对照品(质量分数 99%,批号 043-8908,中国食品药品检定研究院产品);地西泮(2.5 mg/片,批号 090537,山西亨瑞达有限公司产品);阿司匹林(25 mg/片,批号 018090529,石药集团欧意药业有限公司产品);复方丹参片(0.26 g/片,批号 091208,天津飞鹰制药有限公司产品);硝酸士的宁注射液(2 mg/mL,批号 090225,北京双鹤药业股份有限公司产品);高分子右旋糖酐

(相对分子量 3.0×10^6 ,中国医学科学院天津血液病研究所产品);甲醛(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司产品);冰醋酸(分析纯,天津市凯信化学工业有限公司产品)。

1.2 动物

昆明种小鼠,SPF 级,天津市山川红实验动物科技有限公司提供,许可证编号 SCXK(津)2009-0001;Wistar 大鼠,SPF 级,北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号 SCXK(京)2006-0009;Wistar 大鼠,SPF 级,天津市实验动物中心,许可证编号 SCXK(津)2005-0001。

1.3 仪器

YT-100 电子压痛仪,成都泰盟科技有限公司产品;YLS-68 智能热板仪,山东省医学科学院设备站产品;JZZ98 型鼠自主活动检测仪,中国医学科学院药物研究所产品;LG-R-80C 型血液黏度计,北京中勤世帝科学仪器有限公司产品;微循环仪图像处理系统,徐州鑫光光学仪器有限公司产品。

2 方法

2.1 对硝酸甘油致大鼠实验性偏头痛的预防作用^[7]

选用 Wistar 大鼠,按性别、体质量随机分为 6 组,每组 12 只,雌雄各半,分别为对照组、模型组、阳性药佐米曲普坦(0.45 mg/kg)组及头痛宁滴丸(0.5、1、2 g/kg,生药剂量,以下各实验均已生药剂量计)组。各组均 ig 给药,对照组及模型组大鼠给予等容量 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na),各给药组 ig 相应剂量药物,给药体积均为 10 mL/kg,每天 1 次,连续 5 d。末次给药后 1 h,除对照组外,其余各组均 sc 硝酸甘油 10 mg/kg,观察并记录各组大鼠给予硝酸甘油后 180 min 内耳红出现时间和消退时间;以 30 min 为 1 个时间段,分段记录爬笼次数、挠头次数,观察头痛宁滴丸的作用。

2.2 镇痛作用

2.2.1 对化学性刺激致小鼠疼痛的影响^[8] 选用昆明种小鼠,体质量 20~22 g,按性别、体质量随机分为 5 组,每组 12 只,雌雄各半。分别为对照组、阳性药阿司匹林(300 mg/kg)组及头痛宁滴丸(0.75、1.5、3 g/kg)组。各组均 ig 给药,对照组给予等容量 0.5% CMC-Na,给药体积均为 20 mL/kg,每天 1 次,连续 5 d,末次给药后 1 h,各组小鼠均 ip 0.7%冰醋酸 10 mL/kg,观察小鼠的疼痛潜伏期及 15 min 内的扭体次数,观察头痛宁滴丸的镇痛作用。

2.2.2 对热刺激致小鼠疼痛的影响^[8] 选用昆明种

雌性小鼠, 体质量 20~22 g, 首先对实验动物进行筛选, 采用温度为 (55±1) °C 的热板筛选出痛阈合格的小鼠 (5 s<痛阈值<30 s), 共进行 2 次, 去除跳跃以及 2 次结果差别较大的小鼠。选用合格的小鼠随机分为 5 组, 每组 12 只, 分别为对照组、阳性药吗啡 (10 mg/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.75、1.5、3 g/kg) 组。对照组 ig 给予等容量 0.5% CMC-Na, 头痛宁滴丸 ig 给予相应剂量的药物, 给药体积均为 20 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d, 吗啡组测定前 ig 给药 1 次, 分别在给药第 3、5 天测定各组小鼠给药后 1 h 的痛阈值, 观察头痛宁滴丸的镇痛作用。

2.2.3 对机械性刺激致大鼠疼痛的影响^[8] 选用 Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 首先进行动物筛选, 采用电子压痛仪在距离大鼠尾尖部约 1 cm 处施压, 以大鼠嘶叫为指标, 记录痛阈值 (压力)。选择痛阈值范围在 500~1 100 g 的大鼠, 按痛阈值随机分为 5 组, 每组 11 只 (雌性 6 只、雄性 5 只), 分别为对照组、阳性药阿司匹林 (200 mg/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.5、1、2 g/kg) 组。各组均 ig 给予相应剂量药物, 对照组 ig 给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d。测定各组小鼠末次给药后 1 h 的痛阈值, 观察头痛宁滴丸的镇痛作用。

2.2.4 对福尔马林致大鼠疼痛的影响^[9] 选用 Wistar 大鼠, 体质量 200~260 g, 按性别、体质量随机分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。分别为对照组、阳性对照吗啡 (7 mg/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.5、1、2 g/kg) 组。头痛宁滴丸各组均 ig 给药, 给药体积为 10 mL/kg, 对照组 ig 给予等容量的 0.5% CMC, 每天给药 1 次, 连续 5 d。吗啡组造模前 1 h ig 给药 1 次。各组末次给药后 1 h, 大鼠左后足足跖 sc 2.5% 福尔马林溶液 0.05 mL/只。记录 I 相 (0~5 min) 及 II 相 (15~60 min) 各组大鼠咬、舔、抖注射侧后足的累计时间, 观察头痛宁滴丸的镇痛作用。

2.3 镇静作用

2.3.1 对硝酸士的宁致小鼠惊厥的影响^[8] 选用昆明种小鼠, 体质量 20~22 g, 雌雄兼用, 按性别、体质量随机分为 5 组, 每组 13 只 (雌性 7 只, 雄性 6 只)。分别为对照组、阳性药地西洋 (4.5 mg/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.75、1.5、3 g/kg) 组。各组均 ig 给药, 对照组给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 20 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d, 末次给药后 1 h, 各组小鼠均 ip 硝酸士的宁 1.5 mg/kg, 记录各组小鼠惊厥的潜伏期、惊厥发生率及小鼠死亡率,

观察头痛宁滴丸的镇静作用。

2.3.2 对正常小鼠自主活动的影响^[10] 选用昆明种小鼠, 体质量 20~22 g, 雌雄兼用, 首先进行动物筛选, 测定禁食不禁水 12 h 后小鼠在自主活动仪上的活动次数 (5 min 内), 去除活动过多、过少及跳跃小鼠, 合格小鼠按性别、体质量随机分为 5 组, 每组 13 只 (雌性 7 只, 雄性 6 只)。分别为对照组、阳性药地西洋 (2 mg/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.75、1.5、3 g/kg) 组。各组均 ig 给药, 对照组给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 20 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d。末次给药后 1 h, 测定各组小鼠 5 min 内的自主活动次数, 观察头痛宁滴丸的镇静作用。

2.4 活血作用

2.4.1 对高黏滞血症大鼠全血黏度的影响^[11] 选用健康 Wistar 大鼠, 体质量 220~260 g, 按性别、体质量随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半。分别为对照组、模型组、阳性药复方丹参片 (0.62 g/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.5、1、2 g/kg) 组。各组均 ig 给药, 对照组、模型组给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 10 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d。末次给药后 50 min, 除对照组外, 其余各组大鼠均尾 iv 10% 高分子右旋糖酐 1 mL/kg, 注射后 10 min, 4% 戊巴比妥钠 ip 麻醉, 腹主动脉取血 4 mL, 用 3.8% 枸橼酸钠抗凝 (抗凝剂与全血的比例为 1:9), 在 LG-R-80C 血液黏度计上测定不同切速下的全血黏度, 观察头痛宁滴丸的作用。

2.4.2 对微循环障碍小鼠耳廓微循环的影响^[11-13] 选用昆明种小鼠, 体质量 20~22 g, 按性别、体质量随机分为 6 组, 每组 12 只, 雌雄各半。分别为对照组、模型组、阳性药复方丹参片 (0.91 g/kg) 组及头痛宁滴丸 (0.75、1.5、3 g/kg) 组。各组小鼠均 ig 给药, 对照组、模型组 ig 给予等容量 0.5% CMC-Na, 给药体积均为 20 mL/kg, 每天 1 次, 连续 5 d。末次给药后 1 h, 各组小鼠均 ip 戊巴比妥钠 60 mg/kg 麻醉, 麻醉后, 在载玻片上滴 1 滴橄榄油, 将小鼠左耳平展、固定。在 50 倍显微镜下观察并记录小鼠耳廓微血管的流态、红细胞聚集程度、毛细血管交点数, 作为造型前数值。然后尾 iv 10% 高分子右旋糖酐 (对照组除外) 10 mL/kg, 分别记录注射后 5、10、20、30 min 同一部位微血管的流态、红细胞聚集程度、毛细血管交点数, 比较造型前后的变化, 观察头痛宁滴丸的作用。

各观察指标的评级标准: (1) 流态, 1 级为线

流, 血流快, 呈光滑条索状, 无胶囊感; 2 级为线粒流, 血流较快, 呈条索状, 稍有胶囊感; 3 级为粒线流, 血流较慢, 虽连续成线, 但有明显胶囊感; 4 级为粒流, 血流慢, 轴流、缘流混杂, 如泥沙样; 5 级为粒缓流, 血流呈泥沙样, 连续缓慢流动; 6 级为粒摆流, 血流呈泥沙样, 虽向前流, 但前后摆动; 7 级为停滞, 血流不动。(2) 红细胞聚集程度, 0 级为血流无胶囊感; 1 级为轻度聚集, 血流明显有胶囊感, 轴流、缘流混杂; 2 级为中度聚集, 红细胞聚集成较大的、大小不等的团块, 较紧密; 3 级为重度聚集, 多个红细胞聚集成密集团块, 外形不整, 大小不等, 与血浆分离。(3) 毛细血管交点数, 选取面积为 1 mm^2 的四周由毛细血管围成边界的固定区域, 计数该区域内毛细血管与边界血管的交点数。

2.5 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件分析数据, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验法、等级序值法、Fisher 确切概率法进行组间比较。

3 结果

3.1 头痛宁滴丸对硝酸甘油致大鼠实验性偏头痛的预防作用

3.1.1 对大鼠耳红出现时间、消退时间的影响 表 1 结果显示, 对照组大鼠没有出现耳红症状, 模型组及给药组大鼠在造模后约 5 min 出现耳红, 与模型组比较, 各给药组耳红出现时间无明显差异 ($P > 0.05$); 头痛宁 1、2 g/kg 组大鼠的耳红消退时间明显缩短 ($P < 0.05$ 、 0.01), 阳性对照药佐米曲普坦也有明显缩短耳红消退时间的作用 ($P < 0.01$)。

3.1.2 对大鼠爬笼次数的影响 表 2 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠给予硝酸甘油后出现烦躁、爬笼次数明显增多的情况 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模

表 1 头痛宁滴丸对偏头痛模型大鼠耳红出现时间及消退时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 1 Effect of Toutongning Dropping Pills on occurrence and resolution time of pink ears in migraine rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	耳红时间/s	消退时间/min
对照	—	0±0	0±0
模型	—	255.2±109.9 ^{△△}	166.0±22.6 ^{△△}
佐米曲普坦	4.5×10 ⁻⁴	328.4±104.9	133.7±26.8 ^{**}
头痛宁滴丸	0.5	251.4±93.1	154.5±25.7
	1.0	298.7±117.5	143.2±25.1 [*]
	2.0	317.7±120.3	139.4±21.7 ^{**}

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

型组比较, 头痛宁滴丸 1 g/kg 组在造型后 1~1.5 h 时间段内及头痛宁滴丸 2 g/kg 组在造型后 0.5~1.5、1~1.5 h 时间段内大鼠爬笼次数明显减少 ($P < 0.05$)。阳性对照药佐米曲普坦也有明显作用 ($P < 0.05$)。

3.1.3 对大鼠挠头次数的影响 表 3 结果显示, 对照组大鼠只在少数几个时间段内偶有几次挠头, 模型组大鼠的挠头次数明显增多, 在 1 h 达高峰, 与对照组比较, 差异显著 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 头痛宁 1、2 g/kg 组在造型后 0.5~2 h 时间段内, 挠头次数明显减少 ($P < 0.05$ 、 0.01)。阳性对照药佐米曲普坦也有明显作用 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.2 头痛宁滴丸的镇痛作用

3.2.1 对化学性刺激致小鼠疼痛的影响 表 4 结果显示, 与对照组比较, 头痛宁 1.5、3 g/kg 组小鼠扭体次数明显减少 ($P < 0.05$ 、 0.01); 头痛宁滴丸对扭体潜伏期影响不显著。阳性药阿司匹林明显延长扭体潜伏期 ($P < 0.01$), 减少扭体次数 ($P < 0.01$)。

3.2.2 对热刺激致小鼠疼痛的影响 表 5 结果显

表 2 头痛宁滴丸对偏头痛模型大鼠爬笼次数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 2 Effect of Toutongning Dropping Pills on number of climbing cage in migraine rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	给药后不同时间段爬笼次数					
		0~0.5 h	0.5~1 h	1~1.5 h	1.5~2 h	2~2.5 h	2.5~3 h
对照	—	4.1±2.1	4.7±3.0	3.5±1.7	3.2±1.5	2.8±1.5	2.3±1.7
模型	—	7.0±3.4 [△]	8.2±2.2 ^{△△}	8.4±3.4 ^{△△}	5.7±1.7 ^{△△}	4.4±1.4 [△]	3.6±2.4
佐米曲普坦	4.5×10 ⁻⁴	5.4±2.4	5.9±2.5 [*]	5.8±2.1 [*]	4.4±1.2 [*]	3.9±1.8	3.3±1.5
头痛宁滴丸	0.5	6.7±2.8	6.4±2.2	7.1±5.8	6.8±2.2	4.4±1.9	3.3±2.2
	1	5.6±3.0	7.3±2.3	5.8±2.3 [*]	6.0±2.1	5.1±2.3	3.8±2.1
	2	5.5±2.5	6.1±2.4 [*]	5.8±2.1 [*]	5.0±2.7	4.4±2.2	3.5±2.1

与对照组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

表 3 头痛宁滴丸对偏头痛模型大鼠挠头次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 3 Effect of Toutongning Dropping Pills on number of scratching head in migraine rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	给药后不同时间段挠头次数					
		0~0.5 h	0.5~1 h	1~1.5 h	1.5~2 h	2~2.5 h	2.5~3 h
对照	—	1.9±2.1	1.3±1.4	1.7±1.7	0.8±1.0	0.6±0.8	0.2±0.4
模型	—	11.3±3.5 ^{△△}	37.1±8.8 ^{△△}	28.6±9.1 ^{△△}	18.3±7.7 ^{△△}	8.6±3.4 ^{△△}	4.8±1.9 ^{△△}
佐米曲普坦	4.5×10 ⁻⁴	9.3±3.4	20.8±6.6 ^{**}	17.0±8.3 ^{**}	10.9±5.0 [*]	6.3±3.1	3.8±2.2
头痛宁滴丸	0.5	10.8±3.2	29.4±4.9 [*]	26.1±8.6	15.3±5.1	10.2±5.0	6.6±3.4
	1	9.6±3.4	24.9±9.2 ^{**}	21.3±7.1 [*]	11.3±4.2 [*]	6.9±3.5	4.2±3.0
	2	8.9±3.0	22.4±8.9 ^{**}	19.1±6.4 ^{**}	11.3±3.4 [*]	6.7±2.5	4.1±1.3

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group表 4 头痛宁滴丸对化学性刺激致小鼠疼痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 4 Effect of Toutongning Dropping Pills on mice migraine caused by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体潜伏期/s	15 min 内扭体数/次
对照	—	409.9±100.1	23.2±7.9
阿司匹林	0.300	661.8±176.6 ^{##}	5.1±3.8 ^{##}
头痛宁滴丸	0.75	408.9±99.1	20.2±13.4
	1.5	432.6±119.6	15.5±8.1 [#]
	3	461.4±125.5	13.5±6.9 ^{##}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group表 5 头痛宁滴丸对热刺激致小鼠疼痛的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 5 Effect of Toutongning Dropping Pills on mice migraine caused by hot stimulation ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	舔足时间/s	
			给药 3 d	给药 5 d
对照	—	12	12.42±4.19	8.49±2.43
吗啡	0.010	11	17.41±3.13 ^{##}	11.52±3.93 [#]
头痛宁滴丸	0.75	12	10.65±2.94	9.96±3.79
	1.5	12	12.00±6.02	9.15±6.96
	3	12	10.83±4.17	9.68±4.46

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group表 6 头痛宁滴丸对机械性刺激致大鼠疼痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)Table 6 Effect of Toutongning Dropping Pills on rats migraine caused by mechanical irritation ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	痛阈值/g				
		给药前	给药 3 d	差值	给药 5 d	差值
对照	—	868.4±111.5	964.3±374.2	95.9±369.0	831.0±144.3	-37.5±176.7
阿司匹林	0.200	855.7±111.5	998.0±343.7	142.3±270.0	1 240.6±494.2 [#]	384.8±473.6 [#]
头痛宁滴丸	0.5	846.3±114.2	891.4±243.0	45.2±211.6	1 064.0±443.0	217.7±411.8
	1	849.6±133.4	919.7±356.8	70.1±345.0	1 009.8±239.6 [#]	160.2±253.7 [#]
	2	851.8±107.5	945.5±190.9	93.8±161.7	1 074.6±307.6 [#]	222.8±259.8 [#]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ [#] $P < 0.05$ vs control group

示,与对照组比较,头痛宁滴丸各剂量组给药 3、5 d 对小鼠痛阈值均无明显影响。阳性对照药吗啡明显提高小鼠的痛阈值 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.2.3 对机械性刺激致大鼠疼痛的影响 表 6 结果显示,与对照组比较,头痛宁滴丸 1、2 g/kg 组给药 5 d 后大鼠痛阈值均不同程度提高 ($P < 0.05$)。阳性对照药阿司匹林也有明显作用 ($P < 0.05$)。

3.2.4 对福尔马林致大鼠疼痛的影响 表 7 结果显示,与对照组比较,头痛宁滴丸 1、2 g/kg 仅明显缩短大鼠 II 相咬、舔、抖注射侧后足的累计时间 ($P < 0.05$),表明对炎症性疼痛有明显镇痛作用,阳性药吗啡明显缩短 I 相及 II 相咬、舔、抖注射侧后足的累计时间 ($P < 0.01$)。

3.3 头痛宁滴丸的镇静作用

3.3.1 对硝酸士的宁致小鼠惊厥的影响 表 8 结果显示,与对照组比较,头痛宁滴丸 1.5、3 g/kg 剂量组明显延长惊厥潜伏期 ($P < 0.05$),对惊厥发生率、死亡率仅有改善的趋势,无明显差异。阳性药地西泮明显延长惊厥潜伏期 ($P < 0.01$),明显降低小鼠死亡率 ($P < 0.01$)。

3.3.2 对正常小鼠自主活动的影响 表 9 结果显示,与对照组比较,头痛宁滴丸 1.5、3 g/kg 组小鼠

表 7 头痛宁滴丸对福尔马林致大鼠疼痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 7 Effect of Toutongning Dropping Pills on rats migraine caused by formalin ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	舔、咬、抖注射侧后足累计时间/s	
		I 相	II 相
对照	—	38.1 ± 9.6	214.2 ± 61.9
吗啡	0.007	16.7 ± 11.0 ^{##}	119.0 ± 80.0 ^{##}
头痛宁滴丸	0.5	31.1 ± 14.3	176.2 ± 54.9
	1	30.8 ± 12.9	152.5 ± 50.2 [#]
	2	30.7 ± 10.7	153.4 ± 38.4 [#]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group

表 8 头痛宁滴丸对硝酸士的宁致小鼠惊厥的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Table 8 Effect of Toutongning Dropping Pills on convulsion of mice induced by strychnine nitrate ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	惊厥潜 伏期/s	惊厥发 生率/%	死亡率 /%
对照	—	263.3 ± 24.8	100.0	83.3
地西洋	0.004 5	416.1 ± 60.4 ^{##}	69.2	7.7 ^{##}
头痛宁滴丸	0.75	321.8 ± 100.5	92.3	61.5
	1.5	318.0 ± 73.3 [#]	76.9	61.5
	3	303.4 ± 47.1 [#]	76.9	61.5

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group

表 9 头痛宁滴丸对小鼠自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 13$)
Table 9 Effect of Toutongning Dropping Pills on mice spontaneous activities ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	小鼠 5 min 活动次数
对照	—	224.0 ± 78.3
地西洋	0.002	141.7 ± 89.3 [#]
头痛宁滴丸	0.75	173.1 ± 76.3
	1.5	157.1 ± 80.0 [#]
	3	111.2 ± 73.9 ^{##}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group

表 10 头痛宁滴丸对高黏滞血症大鼠全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 10 Effect of Toutongning Dropping Pills on whole blood viscosity in rats with hyperviscosity ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa·s)			
		1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	200 s ⁻¹
对照	—	10.25 ± 1.16	5.05 ± 0.44	3.21 ± 0.27	2.55 ± 0.23
模型	—	17.30 ± 2.49 ^{△△}	7.97 ± 1.09 ^{△△}	4.77 ± 0.64 ^{△△}	3.66 ± 0.49 ^{△△}
复方丹参片	0.62	14.35 ± 1.96 ^{**}	6.79 ± 0.81 [*]	4.17 ± 0.46 [*]	3.25 ± 0.34 [*]
头痛宁滴丸	0.5	14.61 ± 1.89 [*]	6.94 ± 0.84 [*]	4.27 ± 0.51	3.34 ± 0.40
	1	14.91 ± 1.94 [*]	6.94 ± 0.71 [*]	4.19 ± 0.40 [*]	3.24 ± 0.33 [*]
	2	14.31 ± 2.10 ^{**}	6.77 ± 0.76 [*]	4.15 ± 0.37 [*]	3.23 ± 0.27 [*]

与对照组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{△△} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

活动次数明显减少 ($P < 0.05$ 、0.01), 阳性药地西洋也有明显作用 ($P < 0.05$)。

3.4 头痛宁滴丸的活血作用

3.4.1 对高黏滞血症大鼠全血黏度的影响 表 10 结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠各切速下的全血黏度明显升高 ($P < 0.01$), 表明已造成高黏滞血症。与模型组比较, 头痛宁滴丸 0.5、1、2 g/kg 组大鼠全血黏度明显降低 ($P < 0.05$ 、0.01), 阳性药复方丹参片也有明显作用 ($P < 0.05$ 、0.01)。

3.4.2 对微循环障碍小鼠耳廓微循环的影响 表 11~13 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠在造模前, 血液流态、红细胞聚集程度、毛细血管交点数均无明显差异, 造模后 5、10、20、30 min, 血流明显减慢 ($P < 0.01$)、红细胞聚集明显增加 ($P < 0.01$)、毛细血管交点数明显减少 ($P < 0.01$), 表明已形成微循环障碍, 模型复制成功。与模型组比较, 头痛宁滴丸 1.5、3 g/kg 组明显改善小鼠造模后 5、10、20、30 min 的血液流态、降低红细胞聚集程度、增加毛细血管交点数 ($P < 0.05$ 、0.01), 对小鼠耳廓微循环障碍有明显改善作用。阳性药复方丹参片也有明显作用。

4 讨论

硝酸甘油诱发的大鼠实验性偏头痛模型在行为症状上表现出耳红、前肢挠头频繁、爬笼次数增多, 能客观、定量地反映模型动物偏头痛程度^[14], 这些行为症状表现同人类偏头痛发作时表现有一定的相似性^[15], 且此模型因造模因素单一, 容易操作, 动物能清醒观察行为学变化而广泛使用^[16]。头痛宁滴丸能明显减少硝酸甘油致偏头痛模型大鼠的挠头次数、爬笼次数, 缩短耳红消退时间。

肾上腺素加冰水刺激可模拟人体暴怒状态下受到外来寒邪时的血管收缩、痉挛; 高分子右旋糖酐可升高血液黏度, 影响血液流变性。中医学上的“不通

表 11 头痛宁滴丸对微循环障碍小鼠血液流态的影响

Table 11 Effect of Toutongning Dropping Pills on blood flow in microcirculation disorder mice

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	造模前血液流态分级/只							造模后 5 min 血液流态分级/只							造模后 10 min 血液流态分级/只							造模后 20 min 血液流态分级/只							造模后 30 min 血液流态分级/只											
		1	2	3	4	5	6	7	P	1	2	3	4	5	6	7	P	1	2	3	4	5	6	7	P	1	2	3	4	5	6	7	P	1	2	3	4	5	6	7	P
对照	—	8	3	0	0	0	0	0		8	3	0	0	0	0	0		8	3	0	0	0	0	0		8	3	0	0	0	0	0		8	3	0	0	0	0	0	
模型	—	9	3	0	0	0	0	0	>0.05	2	3	6	1	0	0	0	<0.01	2	3	4	3	0	0	0	<0.01	2	4	6	0	0	0	0	<0.01	2	8	1	0	0	0	0	<0.01
复方丹参片	0.91	9	1	0	0	0	0	0	>0.05	4	6	0	0	0	0	0	<0.01	4	6	0	0	0	0	0	<0.01	6	4	0	0	0	0	0	<0.01	6	4	0	0	0	0	0	<0.01
头痛宁滴丸	0.75	10	2	0	0	0	0	0	>0.05	1	5	6		0	0	0	>0.05	2	4	5	1	0	0	0	>0.05	2	6	4	0	0	0	0	<0.01	3	6	1	0	0	0	0	>0.05
	1.5	11	1	0	0	0	0	0	>0.05	7	4	1		0	0	0	<0.01	6	6	0	0	0	0	0	<0.01	5	7	0	0	0	0	0	<0.01	8	4	0	0	0	0	0	<0.01
	3	10	2	0	0	0	0	0	>0.05	5	5	2		0	0	0	<0.01	5	5	2	0	0	0	0	<0.01	5	7	0	0	0	0	0	<0.01	6	5	0	0	0	0	0	<0.01

不同分级下的数为各组达到此分级的动物数(造模后 30 min 有部分动物死亡,模型组 1 只、头痛宁滴丸 0.75 g·kg⁻¹ 剂量组 2 只、头痛宁滴丸 3 g·kg⁻¹ 剂量组 1 只、对照组有 1 只、复方丹参片组有 2 只死于麻醉药敏感)

The number in different grades is the number of animals in each dose group reaching this grade. (Part of mice died 30 min after modeling, including one in model group, two in 0.75 g·kg⁻¹ drug dose group, and one in 3 g·kg⁻¹ drug dose group; one in the normal control group and two in the compound Danshen Tablets group died of anaesthesia sensitivity)

表 12 头痛宁滴丸对微循环障碍小鼠红细胞聚集程度的影响

Table 12 Effect of Toutongning Dropping Pills on degree of erythrocyte aggregation in microcirculation disorder mice

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	造模前红细胞聚集程度					造模 5 min 后红细胞聚集程度					造模 10 min 后红细胞聚集程度					造模 20 min 后红细胞聚集程度					造模 30 min 后红细胞聚集程度				
		分级					度分级					聚集程度分级					聚集程度分级					程度分级				
		0	1	2	3	P	0	1	2	3	P	0	1	2	3	P	0	1	2	3	P	0	1	2	3	P
对照	—	11	0	0	0		11	0	0	0		11	0	0	0		11	0	0	0		11	0	0	0	
模型	—	12	0	0	0	>0.05	2	2	8	0	<0.01	2	2	7	1	<0.01	2	2	7	1	<0.01	2	3	6	0	<0.01
复方丹参片	0.91	10	0	0	0	>0.05	5	5	0	0	<0.01	4	6	0	0	<0.01	7	3	0	0	<0.01	8	2	0	0	<0.01
头痛宁滴丸	0.75	12	0	0	0	>0.05	1	5	6	0	>0.05	2	4	5	1	>0.05	2	4	6	0	>0.05	3	4	3	0	>0.05
	1.5	12	0	0	0	>0.05	8	3	1	0	<0.01	7	5	0	0	<0.01	6	6	0	0	<0.01	8	4	0	0	<0.01
	3	12	0	0	0	>0.05	5	5	2	0	<0.01	5	5	2	0	<0.01	5	6	1	0	<0.01	6	5	0	0	<0.01

表 13 头痛宁滴丸对微循环障碍小鼠毛细血管交点数的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 13 Effect of Toutongning Dropping Pills on numbers of capillary intersection in microcirculation disorder mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	毛细血管交点数				
			造型前	造型后 5 min	造型后 10 min	造型后 20 min	造型后 30 min
对照	—	11	6.27±0.79	6.27±0.79	6.27±0.79	6.27±0.79	6.27±0.79
模型	—	11	6.25±0.75	4.25±1.14 ^{△△}	4.08±1.16 ^{△△}	4.17±1.11 ^{△△}	4.91±0.94 ^{△△}
复方丹参片	0.91	10	6.10±0.74	5.30±0.48*	5.30±0.67**	5.60±0.52**	5.70±0.48*
头痛宁滴丸	0.75	10	6.17±0.72	4.58±0.79	4.33±0.98	4.50±0.80	4.80±0.79
	1.5	12	6.00±0.83	5.75±1.22**	5.67±1.15**	5.67±1.07**	5.92±0.90*
	3	11	6.08±0.79	5.33±1.30*	5.33±5.00*	5.42±1.24*	5.82±0.98*

与对照组比较: ^{△△}P<0.01; 与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01

^{△△}P<0.01 vs control group; *P<0.05 **P<0.01 vs model group

则痛”“久痛必瘀”表明长期疼痛会导致血脉瘀阻^[1],表现为全血黏度增加,血流不畅,微循环障碍;国内外研究显示,血液流变性异常和微循环障碍与偏头痛互为因果^[17];血管危险因素在偏头痛和晕厥之间的潜在作用,使患者出现抑郁症和自杀未遂的风

险升高^[18]。头痛宁滴丸能明显抑制高分子右旋糖酐致高黏滞血症大鼠全血黏度的升高,明显改善微循环障碍小鼠耳廓微循环的血液流态、减少红细胞聚集、增加毛细血管交点数。

头痛宁滴丸由天麻、土茯苓、制何首乌、当归、

防风、全蝎组成，其中土茯苓、防风可利尿除湿、镇痛解表，天麻、全蝎平肝熄风通络，当归、何首乌活血化瘀、补精益肾、养肝安神，诸药合用共奏祛风通络、活血止痛、养肝安神之功。实验结果显示，头痛宁滴丸能明显减少小鼠扭体次数，提高机械性刺激的大鼠痛阈值、缩短福尔马林致痛大鼠实验 II 相咬、舔、抖注射侧后足的累计时间，有明显的外周镇痛作用；明显延长小鼠惊厥潜伏期，减少自主活动次数，有明显的镇静作用。

综上所述，头痛宁滴丸能有效改善偏头痛模型大鼠的行为症状，有明显的镇痛、镇静及活血化瘀作用，对偏头痛有良好的治疗作用。

参考文献

- [1] Pradhan A A, Smith M L, McGuire B, *et al.* Characterization of a novel model of chronic migraine [J]. *Pain*, 2014, 155(2): 269-274.
- [2] 顾 静, 李海龙, 吴国泰, 等. 头痛安的镇痛作用及对大鼠血液流变学的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(3): 117-122.
- [3] Burch R C, Loder S, Loder E, *et al.* The prevalence and burden of migraine and severe headache in the United States: Updated statistics from government health surveillance studies [J]. *Headache*, 2015, 55(1): 21-34.
- [4] Yu S, Liu R, Zhao G, *et al.* The prevalence and burden of primary headaches in China: A population-based door-to-door survey [J]. *Headache*, 2012, 52(4): 582-591.
- [5] 刘顶鼎, 郭建生, 郭倩瑶, 等. 芎麻汤药效部位干预硝酸甘油型偏头痛大鼠行为学症状、外周血及脑组织中 5-HT 的研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(5): 1708-1711.
- [6] 相艳丰. 养血清脑颗粒防治偏头痛临床研究 [J]. *中西医结合心脑血管病电子杂志*, 2019, 7(19): 149.
- [7] 郝嘉楠, 牛争平. 偏头痛的动物模型研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2005, 3(12): 1082-1085.
- [8] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修, 等. *药理实验方法学* [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [9] 黄景辉, 邓 姣, 张建彬, 等. 甲醛致痛模型反映疼痛两种指标的差异比较 [J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(19): 1724.
- [10] 王旭东, 王亚丽, 戴体俊. 地西洋对小鼠自主活动和学习记忆功能的影响 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2008, 13(4): 373-376.
- [11] 陈 奇. *中药药理研究方法学* [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [12] 王 瑜, 左从文, 明 亮, 等. 脉管炎丸对小鼠耳廓微循环的影响 [J]. *基层中药杂志*, 1998, 12(2): 40-42.
- [13] 徐叔云, 卞如濂, 陈 修, 等. *药理实验方法学* [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [14] 吴 辉, 陈晓光, 苏曼莉, 等. 白芷、吴茱萸、川芎对偏头痛大鼠行为的影响 [J]. *湖北中医药大学学报*, 2018, 20(1): 20-23.
- [15] 刘琳娜, 程建峰, 张 琰, 等. 归辛颗粒对硝酸甘油诱发的实验性大鼠偏头痛的作用 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2007, 12(3): 308-312.
- [16] Moye L S, Pradhan A A. Animal model of chronic migraine-associated pain [J]. *Curr Protoc Neurosci*, 2017, 80(5): 1-9.
- [17] 刘 静, 郭 珍, 李 蕾, 等. 头痛宁胶囊治疗偏头痛的药效学研究 [J]. *陕西中医药大学学报*, 2018, 41(4): 96-100.
- [18] Kuan A S, Chen S P, Wang Y F, *et al.* Risk factors and psychological impact of syncope in migraine patients [J]. *Cephalalgia*, 2019, 39(14): 1838-1846.