

文章编号:1003-2754(2020)03-0255-06

doi:10.19845/j.cnki.zfysjbbz.2020.0315

天麻制剂通过腺苷途径治疗偏头痛相关的分子机制研究

郑海非^{1,2}, 陈金波¹, 宋维伟^{1,2}, 张德福^{1,2}, 张颖^{1,2}, 宋晓文¹,
董晓梦¹, 苏毅鹏¹, 鲁文先¹, 李斌¹, 吴欣彤^{1,2}

摘要: **目的** 探讨天麻制剂各有效成分对偏头痛模型大鼠的降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)与腺苷 A1 受体(adenosine A1 receptor, A1R)表达的影响。**方法** 将 SPF 级雄性 SD 大鼠 84 只随机分为 7 组($n=12$):假手术组(A组/阴性对照组)、电刺激三叉神经节(electrical stimulation of the trigeminal ganglion, ESTG)模型组(B组)、舒马普坦干预组(C组/阳性对照组)、天麻素干预组(D组)、对羟基苯甲醇干预组(E组)、香荚醇干预组(F组)、 β -谷甾醇干预组(G组)。通过建立 ESTG 模型,采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa)、免疫荧光及 Western-Blot 技术检测天麻制剂各有效成分对 CGRP 与 A1R 表达的影响。**结果** 与 A 组相比, B 组大鼠三叉神经节(trigeminal ganglia, TG)、三叉神经脊束尾核(trigeminal nucleus caudalis, TNC)中的 CGRP 表达明显增高, A1R 的表达明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.01$)。与 B 组相比, C、D 组大鼠 TG、TNC 中的 CGRP 表达明显降低, A1R 的表达明显增高, 差异具有统计学意义($P < 0.01$); 而 E、F、G 组与 B 组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 C 组相比, D 组大鼠 TG、TNC 中的 CGRP、A1R 的表达无明显差异($P > 0.05$)。**结论** 预防应用天麻素, 与舒马普坦一样可对偏头痛发作起到一定保护作用, 而香荚醇、对羟基苯甲醇及 β -谷甾醇对缓解偏头痛的作用疗效甚微, 且天麻制剂有效成分中天麻素可通过激活 A1R 及抑制 CGRP 表达来抑制偏头痛的发生。

关键词: 偏头痛; 电刺激三叉神经节模型; 天麻素; 香荚醇; 对羟基苯甲醇; β -谷甾醇; CGRP; A1R
中图分类号: R747.2 文献标识码: A 开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Title: The molecular mechanism of the Tianma preparation in the treating migraine by adenosine pathway
ZHENG Haifei, CHEN Jinbo, SONG Weiwei, et al. (Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou, 256600, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of the active ingredients of Tianma preparation on the expression of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and adenosine A1 receptor in migraine model rats. **Methods** Eighty-four SPF rats were randomly divided into 7 groups ($n=12$): sham operation group (group A), electrical stimulation of the trigeminal ganglion group (ESTG group), Sumatriptan group (group C), gastrodin group (group D), 4-hydroxybenzyl alcohol group (group E), vanillin group (group F), β -sitosterol group (group G). The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunofluorescence and western-blot techniques were used to detect the effect of the active components of Tianma preparation on the expression of CGRP and adenosine A1 receptor. **Results** Compared with group A, the expression of CGRP in trigeminal ganglia (TG) and trigeminal nucleus caudalis (TNC) in group B rats was significantly increased, while the expression of adenosine A1 receptor was significantly decreased, with statistically significant differences ($P < 0.01$). Compared with group B, the expression of CGRP in TG and TNC in group C and D was significantly decreased, and the expression of adenosine A1 receptor was significantly increased, with statistically significant differences ($P < 0.01$). There was no significant difference between group E, F, G and group B ($P > 0.05$). Compared with group C, the expression of CGRP and adenosine A1 receptor in TG and TNC of rats in group D was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** Like sumatriptan, The preventive application of gastrodin can alleviate the migraine attack, while the effects of vanillin, 4-hydroxybenzyl alcohol and β -sitosterol were not good enough. In addition, gastrodin can inhibit the occurrence of migraine by activating adenosine A1 receptor and inhibiting the release of CGRP.

Key words: Migraine; Electrical stimulation of the trigeminal ganglion; Gastrodin; Vanillin; 4-hydroxybenzyl alcohol; β -sitosterol; CGRP; Adenosine A1 receptor

偏头痛是一种临床常见的、慢性的、反复发作的神经血管疾病,其发作以单侧搏动性头痛为特征,常见症状还包括恶心、呕吐、畏光、恐声、视觉障碍及自主神经功能障碍。在美国,偏头痛发病率女性为18%,男性为6%^[1],偏头痛目前被列为仅次于背痛的全世界第二大致残疾病,是神经功能障碍最常见的原因,严重影响了人类生活质量,给世界各地的医疗系统造成巨大负担^[2]。目前临床中,应用于缓解偏头痛发作的药物应用最多的主要有曲坦类及非甾体

类抗炎药等,其不良反应相对较多,而中药(traditional Chinese medicine, TCM)具有多药、多成分、多靶点的特点,在偏头痛的治疗中已被公认具有临床

收稿日期:2020-01-20;修订日期:2020-02-25

基金项目:山东省自然科学基金(ZR201702220320)

作者单位:(1. 滨州医学院附属医院神经内科,山东 滨州 256600; 2. 滨州医学院,山东 烟台 264003)

通讯作者:陈金波, E-mail: chenjinbo6720@126.com

疗效,虽然其确切的分子机制尚不清楚,但其不良反应相对较少,已经引起越来越多研究者的关注,诸多临床试验证实天麻制剂可有效缓解偏头痛发作^[3]。本实验采用 ESTG 方法复制大鼠偏头痛模型,通过免疫荧光、Western Blot、ELisa 技术检测 TG、TNC、外周血中的 CGRP 及 TG、TNC 中的 A1R 的表达量变化来探讨天麻制剂各有效成分在偏头痛发病机制中的作用,为研究天麻制剂治疗偏头痛的分子机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 84 只 SPF 级雄性 SD 大鼠(230 ~ 260 g),购于济南朋悦实验动物繁育有限公司,实验动物在滨州医学院 SPF 级动物房饲养,光/暗循环饲养 12 h,给予紫外线消毒后的标准颗粒和高压蒸汽灭菌水喂养,温度在 18 ~ 25 °C,经过至少 1 w 的适应,大鼠按随机数字法分为假手术组(A 组/阴性对照组)、偏头痛模型组(B 组)、舒马普坦干预组(C 组/阳性对照组,6 mg/kg·d)、天麻素干预组(D 组,200 mg/kg·d)、对羟基苯甲醇干预组(E 组,20 mg/kg·d)、香荚兰醇干预组(F 组,70 mg/kg·d)、 β -谷甾醇干预组(G 组,250 mg/kg·d)。

1.2 主要试剂及仪器

1.2.1 主要试剂 琥珀酸舒马普坦片(天津华津制药有限公司),天麻素、香荚兰醇、对羟基苯甲醇及 β -谷甾醇(上海源叶生物科技有限公司),CGRP 相关的 ELisa 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),CGRP 抗体、A1R 抗体(美国 Abcam 公司), β -actin 抗体(武汉三鹰生物技术有限公司),辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(博士德生物公司),Western Blot 试剂盒(博士德生物公司)、FITC-驴抗兔 IgG(美国 Abcam 公司)。

1.2.2 主要仪器 YLS-9A 生理药理电子刺激仪(济南益延科技发展公司),ZH 蓝星脑立体定位仪及 ZHRXZ 柔性颅骨钻(安徽正华生物仪器设备有限公司),低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司),电泳仪、湿转膜仪及酶标仪(美国 Biorad 公司),共聚焦荧光显微镜(美国 Biorad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 大鼠偏头痛模型 电刺激三叉神经节(ESTG)模型:10%水合氯醛按照 0.4 ml/100 g 的剂量将大鼠进行腹腔注射麻醉,然后固定在大鼠立体定位仪上,头顶正中去毛、消毒暴露处皮肤,以“十”字型切口依次切开皮肤、筋膜、肌肉,暴露颅骨。以大鼠前囟为基点,在旁开 3 mm、后移 3.2 mm 处,用颅骨钻小心钻直径为 1.5 mm 的小孔,然后将电极经此孔向内垂直轻轻插入,遇阻力后微向上抬电极约 1 mm,即至 TG 处(以硬脑膜算起深度约为 9.5 mm)。调试好刺激电极,设电刺激参数为周期 200 ms,波宽 5 ms,幅度 10 V,刺激 30 min。ESTG

模型制作成功的标志为:大鼠电刺激 TG 侧咀嚼肌收缩,口鼻分泌物增多。

1.3.2 实验给药 D、E、F、G 组大鼠于模型制作前 7 d 连续每天分别给予天麻制剂各有效成分灌胃处理;C 组大鼠则提前 7 d 连续每天给予琥珀酸舒马普坦片灌胃;B 组大鼠于模型制作前 7 d 连续每天分别给予生理盐水灌胃处理;A 组大鼠不进行电刺激,余处理同 B 组。每天 1 次,持续 7 d。最后一次灌胃后 1 h,建立 ESTG 模型,以上所有操作均在无菌条件下进行,操作过程保持动作轻柔、环境安静、避免强光,室温保持 25 °C 左右,灌胃后大鼠被送回各自的笼子里,自由获取食物和水。本次研究人员会对动物进行监测,以确保不会出现任何治疗后的反胃现象。电刺激结束后 30 min 内处死大鼠。

1.3.3 ELisa 颈外静脉取血 2 ml 注入预冷的抗凝试管中,3000 r/min 离心 10 min,取上层清液分装后置于 -80 °C 冰箱保存待测。按试剂盒说明检测各组大鼠血清中 CGRP 水平,根据标准品的浓度及对应的吸光度(OD)值在回归方程上计算出对应的样品浓度。

1.3.4 免疫荧光 大鼠造模成功后电刺激 30 min 后,开胸经左心室插管至升主动脉快速注射 37 °C 生理盐水至右心耳流出液变清、肝脏变白,多聚甲醛磷酸缓冲液灌注至大鼠肝脏变韧,肢体变僵直后取出 TG、TNC 对应的脑干部位,4%多聚甲醛磷酸缓冲液中固定 12 ~ 24 h 后,蔗糖梯度脱水 48 h 后制作冰冻切片,PBS 洗涤后封闭 2 h,加入一抗(1:500),4 °C 孵育过夜,滴加用 FITC 标记稀释(1:100)后的 IgG(二抗)37 °C 孵育 4h(孵育至 3.5 h 后加入 hoechst 染色,直至 4 h 充分反应后展片、封片,最后将制作好的载玻片放于共聚焦荧光显微镜下观察。

1.3.5 Western Blot 测定蛋白浓度 大鼠造模成功后电刺激 30 min 处死取 TG 及 TNC 组织,分别置于玻璃匀浆器中,加入裂解液和蛋白酶抑制剂研磨均匀,将裂解的液体以 12000 r/min、4 °C 离心 5 min,取上清,按照 BCA 法测定蛋白浓度,然后 100 °C 煮沸 10 min,放入 -20 °C 冰箱保存备用。配置 SDS-PAGE 胶,在每个上样孔中加入蛋白样品进行电泳,然后电转移到 PVDF 膜上,7%脱脂奶粉封闭 2 h 后加用一抗稀释液稀释的一抗(1:1000), β -actin(1:1000)作为内参对照,4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜,加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/小鼠 IgG 二抗(1:5000),37 °C 振荡孵育 2 h,TBST 洗膜,加 ECL 发光剂、曝光,Image J 软件分析吸光度值(A 值),最终结果以目的蛋白 A 值与内参蛋白 A 值的比值表示。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析进行多组间比较,Bonferroni 检验进行两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

大鼠最后一次灌胃 1 h 后,建立 ESTG 模型,刺激 30 min 后处死大鼠,颈外静脉取血 2 ml 注入预冷的抗凝试管中,并正确解剖出 TG、TNC,进行相关处理后,采用免疫荧光与 western blot 技术检测 TG、TNC 中 CGRP 的水平及通过免疫荧光与 western blot 技术测定 TG、TNC 中 A1R 的水平。

2.1 天麻制剂各有效成分对大鼠偏头痛模型中 CGRP 表达的影响 本实验通过 ELISA 技术检测颈外静脉血 CGRP 的表达,通过免疫荧光与 western blot 技术检测 TG、TNC 部位 CGRP 的表达。与 A 组相比,B 组大鼠颈外静脉血、TG、TNC 中的 CGRP 表达明显高于 A 组,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与 B 组相比,C、D 组大鼠 CGRP 的表达量明显下

调,差异具有统计学意义($P < 0.01$),而 E、F、G 组的 CGRP 的表达量与 B 组相比差异无统计学意义($P > 0.05$);与 C 组相比,D 组大鼠的 CGRP 表达无明显差异($P > 0.05$)(见图 1 ~ 图 4、表 1)。

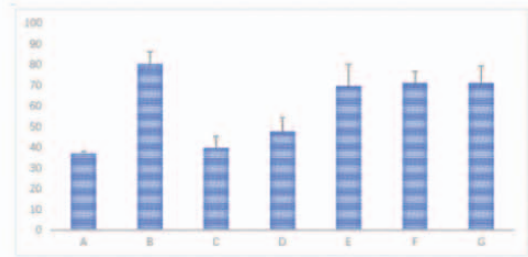


图1 各组大鼠外周血中 CGRP 的表达量($n = 12$,与 A 组相比, B 组 $P < 0.01$;与 B 组相比,C、D 组 $P < 0.01$,而 E、F、G 组 $P > 0.05$;与 C 组相比,D 组 $P > 0.05$)

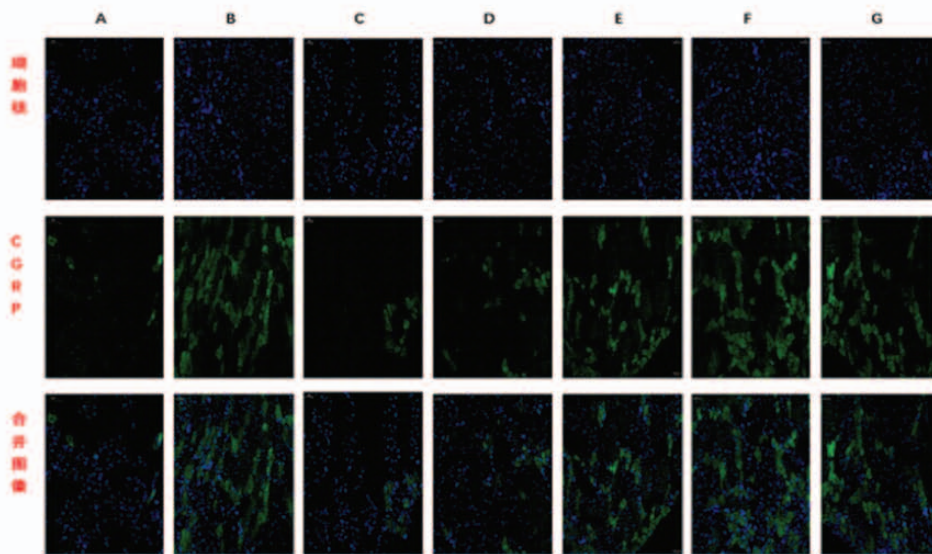


图2 免疫荧光检测各组大鼠 TG 中 CGRP 的表达情况(标尺均为 50 μm)

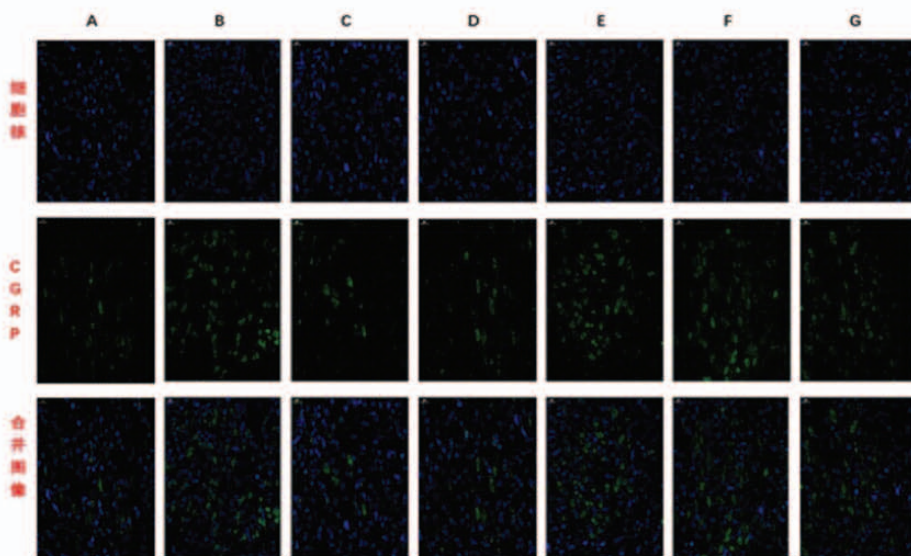


图3 免疫荧光检测各组大鼠 TNC 中 CGRP 的表达情况(标尺均为 50 μm)

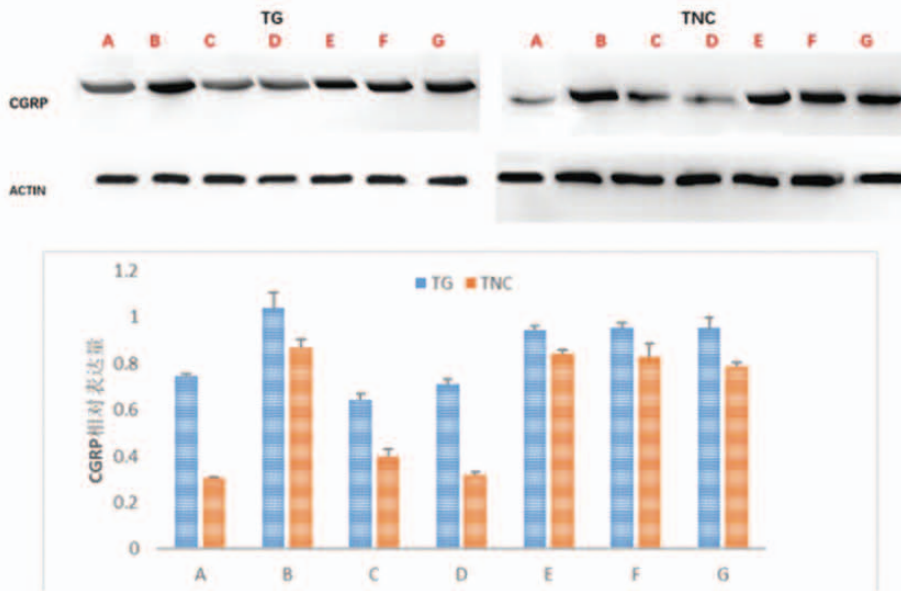


图4 Western Blot 检测各组大鼠 TG、TNC 中 CGRP 的表达情况($n=6$,与 A 组相比, B 组 $P<0.01$;与 B 组相比, C、D 组 $P<0.01$,而 E、F、G 组 $P>0.05$;与 C 组相比, D 组 $P>0.05$)

表 1 各组大鼠 TG、TNC 中 CGRP 的表达情况

组别	A 组	B 组	C 组	D 组	E 组	F 组	G 组
TG	1.5301 ± 0.08641	0.8472 ± 0.05221	1.2235 ± 0.01069	1.3970 ± 0.1037	0.8209 ± 0.05462	0.8197 ± 0.2428	0.8755 ± 0.5782
TNC	1.0257 ± 0.00743	0.6059 ± 0.05309	1.0811 ± 0.08921	0.9813 ± 0.06067	0.5916 ± 0.02314	0.6166 ± 0.7128	0.5628 ± 0.02626

$n=6, \bar{x} \pm s$, 与 A 组相比 B 组 $P<0.01$;与 B 组相比 C、D 组 $P<0.01$,而 E、F、G 组 $P>0.05$;与 C 组相比 D 组 $P>0.05$

2.2 天麻制剂各有效成分在大鼠偏头痛模型中对 A1R 表达的影响 本实验通过免疫荧光与 western blot 技术检测 TG、TNC 部位 A1R 的表达。与 A 组相比, B 组大鼠 TG、TNC 中的 A1R 的表达明显偏低, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$); 与 B 组相

比, C、D 组大鼠 A1R 表达明显上调, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$), 而 E、F、G 组大鼠 A1R 的表达与 A 组相比差异无统计学意义 ($P>0.05$); 与 C 组相比, D 组大鼠的 A1R 表达无明显差异 ($P>0.05$), (见图 5 ~ 图 7、表 2)。

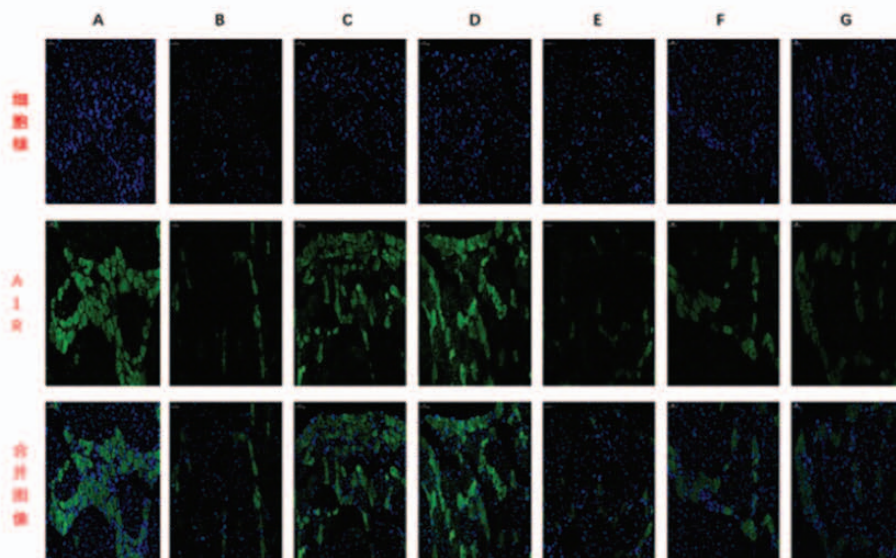


图 5 免疫荧光检测各组大鼠 TG 中 A1R 的表达情况 (标尺均为 50 μm)

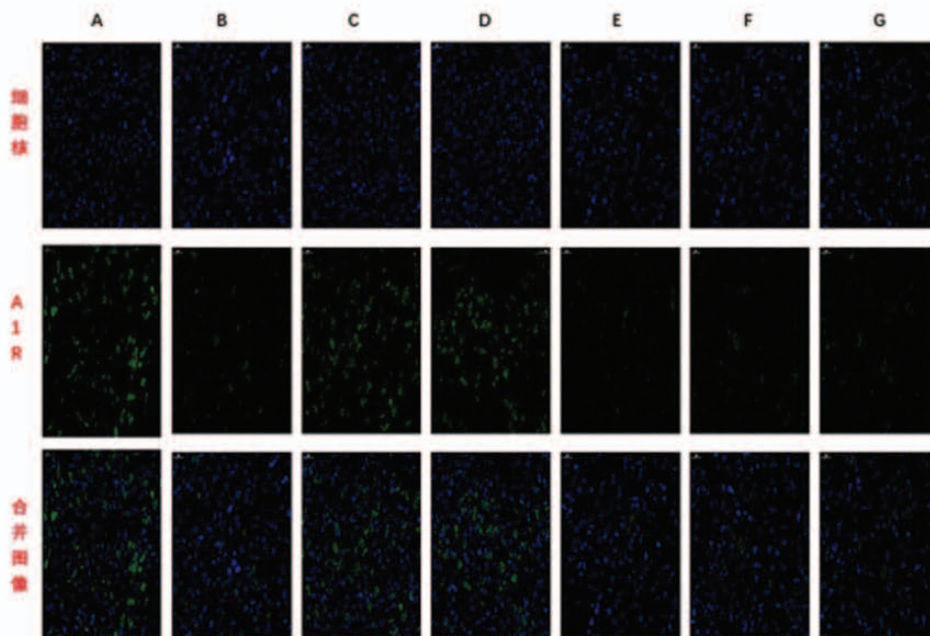


图6 免疫荧光检测各组大鼠TNC中A1R的表达情况(标尺均为50 μm)

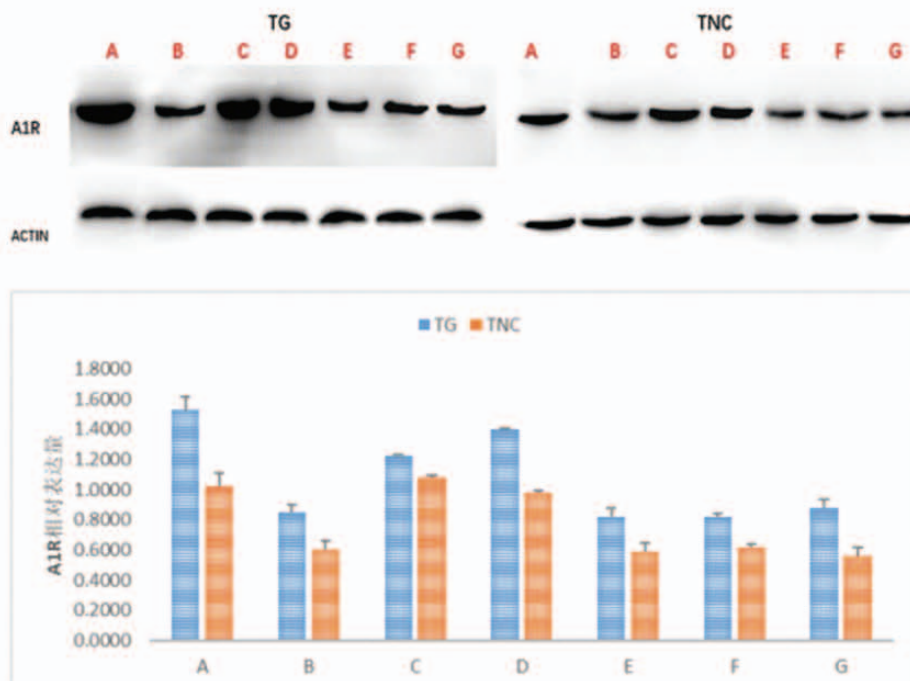


图7 Western Blot 检测各组大鼠TG、TNC中A1R的表达情况($n=6$,与A组相比,B组 $P<0.01$;与B组相比,C、D组 $P<0.01$,而E、F、G组 $P>0.05$;与C组相比,D组 $P>0.05$)

表2 各组大鼠TG、TNC中A1R的表达情况

组别	A组	B组	C组	D组	E组	F组	G组
TG	0.7451 ± 0.01086	1.0394 ± 0.06745	0.6423 ± 0.02652	0.7098 ± 0.02471	0.9445 ± 0.01722	0.9554 ± 0.0198	0.9553 ± 0.04468
TNC	0.3053 ± 0.00389	0.8704 ± 0.03565	0.4006 ± 0.03061	0.3172 ± 0.01603	0.8399 ± 0.01764	0.83 ± 0.05527	0.789 ± 0.01574

$n=6, \chi \pm s$,与A组相比B组 $P<0.01$;与B组相比C、D组 $P<0.01$,而E、F、G组 $P>0.05$;与C组相比D组 $P>0.05$)

3 讨论

偏头痛是临床常见的原发性头痛,其发病机制中三叉神经血管反射学说中占主导地位,神经源性炎症反应及痛觉敏化是该学说的核心部分^[4]:偏头

痛发作时,激活的三叉神经血管系统产生一系列的神经源性炎症反应,导致TG释放CGRP增多,TNC接受来自TG的信号,汇聚在丘脑腹后内侧核神经元上,同时痛觉信号被传递到大脑皮质,从而引起典型

的偏头痛发作^[5-7]。CGRP 在偏头痛中具有一定的特异性和敏感性,由三叉神经感觉传入纤维及 TNC 的激活释放,是 TVS 激活的生物标志物^[6,8,9]。国内外研究发现偏头痛与体内的 CGRP、A1R 密切相关^[10,11],A1R 可通过对 CGRP 的抑制作用来缓解偏头痛急性发作,其镇痛效应十分显著且不良反应相对较少^[11]。临床研究指出,曲坦类药物广泛应用于偏头痛患者,能够通过抑制 CGRP 的过度分泌,起到缓解偏头痛的作用^[12],但因其禁用于心脑血管疾病患者,限制了其在临床中的应用^[13]。研究表明,在天麻制剂主要成分中,天麻素可以显著地缓解偏头痛、血管性头痛等顽固性慢性痛^[14];香英兰醇可对疼痛小鼠产生镇痛作用,对羟基苯甲醇在临床实践中对脑神经衰弱和头痛有效,而 β -谷甾醇的药理具有抗炎及退热作用^[15-17]。由于偏头痛患者缺乏有效的广泛适用的药物治疗方法,使得传统中药方剂(如天麻制剂)越来越受到重视。

基于神经源性炎症反应机制而建立的 ESTG 模型是最常用的偏头痛模型之一^[18],本实验通过大鼠电刺激 TG 侧咀嚼肌收缩及口鼻分泌物增多来评定 ESTG 模型制造成功,该模型主要通过电刺激引起神经源性炎症反应,与目前较为公认的三叉神经血管反射学说相契合。本实验研究显示,与 ESTG 模型组相比,舒马普坦干预组与天麻素干预组大鼠 TG、TNC 中的 CGRP 表达明显降低,A1R 的表达明显增高,差异具有统计学意义($P < 0.01$);而香英兰醇干预组、 β -谷甾醇干预组、对羟基苯甲醇干预组与 ESTG 模型组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),推测天麻素可能是天麻制剂中的主要活性成分,可用于预防及改善大鼠偏头痛发作,而香英兰醇、 β -谷甾醇、对羟基苯甲醇对偏头痛的预防及缓解作用甚微。实验显示,A1R 与 CGRP 在 TG 与 TNC 中的表达量呈负相关关系,使用天麻素治疗后 TVS 中的 A1R 表达增多、CGRP 表达减少,表明天麻素可以通过调节血管活性因子的表达,即激活的 A1R 在一定程度上降低 TVS 的激活,而减少 TVS 释放 CGRP 等相关活性物质,抑制神经源性炎症反应及痛觉敏化,故在偏头痛的治疗和预防中发挥至关重要作用。实验通过研究天麻制剂各有效成分对 ESTG 模型大鼠的 A1R 与 CGRP 的表达的影响,不仅证实了天麻素预防及治疗偏头痛的腺苷相关性分子机制,还有助于揭示偏头痛的病理生理过程,也为研究天麻制剂治疗偏头痛的腺苷相关性分子机制及偏头痛的发病机制提供实验基础和理论依据,随着我们对天麻制剂的进一步深入认识和研究,天麻制剂的应用前景将会更加广阔。

[参考文献]

[1] Jesani J. Pharmacologic Management of Acute Migraines in the Emer-

- gency Department[J]. *Advanced Emergency Nursing Journal*, 2019, 41(2):150-162.
- [2] Moreno-Ajona D, Chan C, Villar-Martínez MD. Targeting CGRP and 5-HT Receptors for the Acute Therapy of Migraine: A Literature Review[J]. *Headache*, 2019, 59(s2):3-19.
- [3] Li Y, Zhang J, Zhang L, et al. Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of Tianshu formula[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 174:45-56.
- [4] 郑海非, 陈金波, 吴欣彤, 等. 腺苷 A1 受体介导降钙素基因相关肽缓解偏头痛的相关机制研究进展[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2018, 25(4):299-302.
- [5] Zhao LP, Liu L, Pei P, et al. Electroacupuncture at (GB20) inhibits calcitonin gene-related peptide expression in the trigeminovascular system of a rat model of migraine[J]. *Neural Regeneration Research*, 2017, 12(5):804-811.
- [6] Ramón C, Cernuda-Morollón E. Calcitonin gene-related peptide in peripheral blood as a biomarker for migraine[J]. *Current Opinion in Neurology*, 2017, 30(3):281-286.
- [7] Malhotra R. Understanding migraine: Potential role of neurogenic inflammation[J]. *Annals of Indian Academy of Neurology*, 2016, 19(2):175-182.
- [8] Schuster NM. Calcitonin Gene-Related Peptide-Targeted Therapies for Migraine and Cluster Headache: A Review[J]. *Clinical Neuropharmacology*, 2017, 40(4):169-174.
- [9] Raffaelli B. The Biology of Monoclonal Antibodies; Focus on Calcitonin Gene-Related Peptide for Prophylactic Migraine Therapy[J]. *Neurotherapeutics: the Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, 2018, 15(2):324-335.
- [10] Cieslak M, Czarnecka J, Roszek K. The role of purinergic signaling in the etiology of migraine and novel antimigraine treatment[J]. *Purinergic Signalling*, 2015, 11(3):307-316.
- [11] Lu W, Li B, Chen J, et al. Expression of calcitonin gene-related peptide, adenosine A2a receptor and adenosine A1 receptor in experiment rat migraine models[J]. *Biomedical Reports*, 2016, 4(3):379-383.
- [12] Durham PL. Regulation of calcitonin gene-related peptide secretion by a serotonergic antimigraine drug[J]. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 1999, 19(9):3423-3429.
- [13] Dodick D, Lipton RB, Martin V, et al. Consensus statement: cardiovascular safety profile of triptans (5-HT agonists) in the acute treatment of migraine[J]. *Headache*, 2004, 44(5):414-425.
- [14] Wang L, Zhang J, Hong Y, et al. Phytochemical and pharmacological review of da chuanxiong formula: a famous herb pair composed of chuanxiong rhizoma and gastrodiae rhizoma for headache[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, (4):425369.
- [15] 周俊, 浦湘渝, 杨雁宾. 新鲜天麻的九种酚性成分[J]. *科学通报*, 1981, (18):1118-1120.
- [16] 刘顶鼎, 郭建生, 曾贵荣, 等. 芎麻汤及其提取物对利血平低 5-HT 型偏头痛模型小鼠的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32(3):17-19.
- [17] 刘恒言, 李芝, 刘向前, 等. 芎麻汤治疗偏头痛药效部位化学成分研究[J]. *中药材*, 2014, 37(1):134-136.
- [18] Gupta S. The relevance of preclinical research models for the development of antimigraine drugs; focus on 5-HT(1B/1D) and CGRP receptors[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2010, 128(1):170-190.