

本文引用:韩远山,蔺晓源,邵乐,杨蕙,王宇红,杜青,孟盼.复方柴金解郁片抗抑郁作用的实验研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(1):18-21.

复方柴金解郁片抗抑郁作用的实验研究

韩远山¹,蔺晓源¹,邵乐¹,杨蕙¹,王宇红^{2,3*},杜青^{2,3},孟盼²

(1.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙410007;2.湖南省中药粉体与创新药物省部共建国家重点实验室培育基地,湖南长沙410208;3.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 初步探讨复方柴金解郁片的抗抑郁作用。**方法** 建立两种小鼠抑郁模型,即小鼠强迫游泳实验和悬尾实验复制应激行为绝望抑郁模型,五羟色胺酸和利血平诱导药物所致抑郁模型;检测小鼠强迫游泳实验和悬尾实验不动时间,五羟色胺酸诱导的抑郁小鼠甩头次数,利血平诱导的抑郁小鼠体温、眼睑闭合、运动不能差异程度。**结果** 小鼠强迫游泳实验和悬尾实验中,与空白对照组比较,复方柴金解郁片2倍或(1倍)剂量组不动时间明显减少($P<0.05$)。在五羟色胺酸诱导的小鼠甩头实验中,与空白对照组比较,复方柴金解郁片2倍剂量组甩头次数明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。在利血平诱导的小鼠抑郁实验中,与空白对照组比较,模型组小鼠眼睑不能睁开1/2和运动不能动物数明显增加,1h后及4h后其余各组小鼠体温均有所下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与模型组比较,复方柴金解郁片2倍或1倍剂量组小鼠眼睑不能睁开1/2和运动不能动物数明显减少,药后1h及4h小鼠体温明显上升($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。**结论** 复方柴金解郁片对各种小鼠抑郁模型都有明显的抗抑郁作用。

[关键词] 复方柴金解郁片;抗抑郁;强迫游泳实验;悬尾实验;五羟色胺酸诱导实验;利血平诱导实验

[中图分类号] R285.5;R749

[文献标识码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.01.004

Study on Anti-depressant Effect of Compound Chaijin Jieyu Tablet

HAN Yuanshan¹, LIN Xiaoyuan¹, SHAO Le¹, Yang Hui¹, WANG Yuhong^{2,3*}, DU Qing^{2,3}, MENG Pan²

(1.The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 2. Training Bases, Hunan Key Laboratory of Chinese Materia Medica Powder and Innovative Drugs Established by Provincial and Ministry, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** Preliminary study on the anti-depressant effect of compound Chaijin Jieyu tablet (CJJY). **Methods** Two kinds of mice models of depression were established, the mice forced swimming test and hanging tail test replication stress behavioral despair models of depression, serotonin acid and reserpine induced drug-induced depression model; detection of mouse forced swimming test and the tail suspension test in the time of immobility, serotonin acid induced depression in mice the number of head twitches, reserpine induced depression of body temperature, eyelid closure, akinesia difference degree of mice. **Results** Compared with the control group, the immobility time of 4 times and 2 times or (1 times) dose CJY groups by the forced swimming test and tail suspension test in mice was significantly reduced ($P<0.05$). Compared with the control group, the head-twitching number of 4 times and 2 times dose CJY group, in 5-HT acid induced head twitches test, was significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). In the experiment of depression induced by reserpine, compared with the control group, the number of mice in the model group, which the eyelids were unable to open 1/2 and akinesia, was significantly increased. After 1h and 4h, the body temperature of the rest mice was decreased ($P<0.01$ or $P<0.05$). Compared with model group, the number of mice in the CJY 4 times and 2 times dose groups, which the eyelids were unable to open 1/2 and akinesia. was significantly decreased. After 1h and 4h, the body temperature of the rest mice in each group was increased ($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion** CJY shows obvious anti-depression effect on all kinds of depression mouse models.

[Keywords] compound Chaijin Jieyu tablet; anti-depression; forced swimming test; hanging tail test; 5-HT acid inducing test; reserpine inducing test

[收稿日期] 2016-08-22

[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(81403387);湖南省科技厅重点项目(2015DK3003)。

[作者简介] 韩远山,男,在读硕士研究生,研究方向:中药神经药理学。

[通讯作者] *王宇红,女,研究员,博士研究生导师,E-mail:wyh107@126.com。

抑郁症是一种危害全人类身心健康的常见情感障碍疾病,具有高发病、高复发、高自杀、高医疗成本的特点^[1]。药物是治疗抑郁症的主要手段,但目前抗抑郁西药存在抗抑郁谱窄、毒副作用大、易复发、依赖性高及价格昂贵等缺点^[2]。抑郁症在中医学属于郁证的范畴。中医治疗郁症立足整体,辨证论治,可对其进行多环节、多途径、多靶点的调节,具有毒副作用小^[3]、疗效持久的优势,抗抑郁中药或天然药物的研究已逐渐成为全球研究热点。本课题根据郁证“瘀、郁”的中医病机特点,以“疏肝理气、活血解郁”为治则立方药“复方柴金解郁片”(专利授权号为ZL201210126887.X)临床治疗抑郁症疗效独特。为了进一步明确其作用,本实验采用应激绝望行为、药物相互作用两种抑郁动物模型,观察了复方柴金解郁片对实验性抑郁动物模型的防治作用。

1 材料

1.1 实验动物

ICR小鼠,SPF级,雄性,体质量18~22g,320只。由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,动物合格证号为43004700003437,许可证号:SCXK(湘)2011-0003。

1.2 药品及试剂

复方柴金解郁片浸膏粉,相当生药量为6.6g生药/g(文中均按生药量计算),由湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供,批号为20121025,该药物临床拟用成人每日生药量为20.5g。百忧解(盐酸氟西汀分散片,规格20mg/片,Patheon France生产,批号2860A、2087A),临床用量20~60mg/d。利血平注射液(规格1mg/mL,广东邦民制药厂有限公司,批号120304)。五羟色胺酸、帕吉林均由sigma公司进口分装。

1.3 主要仪器

AY-120电子分析天平,日本岛津;DJ-10002电子天平,福州华志科学仪器有限公司;ZZ-6小鼠自主活动测试仪,成都泰盟科技技术有限公司;动物行为活动记录系统,成都泰盟科技技术有限公司;小鼠悬尾仪(西班牙Panlab)。

2 方法

2.1 分组及给药

SPF级ICR小鼠适应性饲养3d后,按体质量随机分为4组:强迫游泳实验组($n=50$)、悬尾实验组($n=50$)、五羟色胺酸诱导组($n=100$)、利血平诱导

组($n=120$),其中,前三组每组再随机分为5组($n=10$ 或 20):空白对照组、阳性药(百忧解14mg/kg)组,复方柴金解郁片2、1、0.5倍剂量(4.0、2.0、1.0g/kg)组。利血平诱导组再随机分为6组($n=10$):空白对照组、模型组、阳性药(百忧解14mg/kg)组、复方柴金解郁片2、1、0.5倍剂量组(4.0、2.0、1.0g/kg),灌胃给药体积20mL/kg,每日1次,连续给药21d。空白对照组给予纯净水。

2.2 小鼠应激行为绝望模型的建立^[4]

2.2.1 强迫游泳实验 强迫游泳实验组于末次给药1h后,将小鼠放入动物行为活动记录系统的高25cm、直径10cm、水深10cm、水温24℃的水缸中,共观察6min,适应2min,记录后4min内累计不动时间(s)(不动即小鼠停止挣扎或小鼠呈漂浮状态,小鼠四肢有轻微动作以保持头部在水面)。

2.2.2 悬尾实验^[5] 悬尾实验组于末次给药1h后,放入小鼠悬尾仪中,通过计算机显示小鼠的活动曲线,适应2min后,开始观察并记录4min之内小鼠的不动时间。

2.3 小鼠药物诱导抑郁模型的建立^[6]

2.3.1 五羟色胺酸诱导实验 五羟色胺酸诱导组小鼠在第21天皮下注射100mg/kg帕吉林,1h后灌胃给予药物或纯净水,45min后腹腔注射五羟色胺酸,15min后观察其甩头行为,记录5min内小鼠甩头次数。

2.3.2 利血平诱导实验 利血平诱导组小鼠末次给药的同时给予利血平2.0mg/kg腹腔注射,空白对照组注射生理盐水。比较各组小鼠体温、眼睑闭合和运动不能的差异程度。

2.4 统计学方法

使用SPSS 19.0统计学软件进行数据分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD法。计数资料采用 χ^2 检验比较组间差异。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 复方柴金解郁片对小鼠应激行为绝望模型的影响

3.1.1 强迫游泳实验 与空白对照组比较,阳性药组小鼠强迫游泳不动时间明显减少($P<0.01$);复方柴金解郁片2倍剂量组小鼠强迫游泳不动时间明显减少($P<0.05$)。结果见表1。

3.1.2 悬尾实验 与空白对照组比较,阳性药组小鼠悬尾不动时间明显减少($P<0.01$);复方柴金解郁片2倍和1倍剂量组小鼠悬尾不动时间明显减少

($P<0.05$);复方柴金解郁片 0.5 倍剂量组小鼠悬尾不动时间未见显著性差异($P>0.05$)。结果见表 1。

表 1 各组小鼠强迫游泳和悬尾实验结果 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 游泳不动时间(s) | 悬尾不动时间(s) |
|------------|----------|-------------|-------------|
| 空白对照组 | - | 104.2±26.1 | 118.6±24.7 |
| 阳性药组 | 0.014 | 67.6±26.2** | 81.6±27.9** |
| 复方柴金 | 4.0 | 82.7±21.6* | 88.6±24.5* |
| 解郁片组 | 2.0 | 90.2±28.8 | 93.1±29.4* |
| | 1.0 | 103.6±32.8 | 101.5±33.8 |
| <i>F</i> 值 | | 10.984 | 8.930 |
| <i>P</i> 值 | | 0.004 | 0.008 |

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.2 复方柴金解郁片对药物所致的抑郁模型的影响

3.2.1 五羟色胺酸诱导小鼠甩头实验 与空白对照组比较,阳性药组、复方柴金解郁片 2 倍剂量组小鼠甩头次数明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 2。

表 2 五羟色胺酸诱导的小鼠甩头实验结果 ($\bar{x}\pm s, n=20$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 甩头次数(次) | 增加率(%) |
|------------|----------|------------|--------|
| 空白对照组 | - | 7.5±2.6 | - |
| 阳性药组 | 0.014 | 20.4±6.9** | 184 |
| 复方柴金 | 4.0 | 9.5±3.3* | 36 |
| 解郁片组 | 2.0 | 8.9±2.5 | 20 |
| | 1.0 | 8.6±2.3 | 18 |
| <i>F</i> 值 | | 64.071 | |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | |

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.2.2 利血平诱导小鼠抑郁实验 (1)小鼠眼睑闭合程度检测结果与空白对照组比较,模型组小鼠眼睑不能睁开 1/2 的动物数量明显增加($P<0.01$)。与模型组比较,阳性药组、复方柴金解郁片 2 倍和 1 倍剂量组小鼠眼睑不能睁开 1/2 的动物数量明显减少($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见表 3。

表 3 利血平诱导的抑郁小鼠眼睑闭合程度检测结果 ($n=20$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 眼睑不能睁开 1/2 动物数(只) | 对抗百分率(%) |
|------------|----------|-------------------|----------|
| 空白对照组 | - | 0 | 100 |
| 模型组 | - | 15** | 25 |
| 阳性药组 | 0.014 | 3 ^{##} | 85 |
| 复方柴金 | 4.0 | 4 ^{##} | 80 |
| 解郁片组 | 2.0 | 5** | 75 |
| | 1.0 | 9** | 55 |
| χ^2 值 | | 5.990 | |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | |

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

(2)小鼠运动不能差异程度检测结果,与空白对照组比较,模型组小鼠运动不能动物数量增加($P<0.01$)。与模型组比较,阳性药组小鼠运动不能动物数量明显下降($P<0.01$);复方柴金解郁片 2 倍剂量组小鼠运动不能动物数量下降($P<0.05$)。结果见表 4。

表 4 利血平诱导的抑郁小鼠运动不能差异程度检测结果 ($n=20$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 运动不能数(只) | 对抗百分率% |
|------------|----------|-----------------|--------|
| 空白对照组 | - | 0 | 100 |
| 模型组 | - | 16** | 20 |
| 阳性药组 | 0.014 | 6 ^{##} | 70 |
| 复方柴金 | 4.0 | 7 ^{##} | 65 |
| 解郁片组 | 2.0 | 10** | 50 |
| | 1.0 | 12** | 40 |
| χ^2 值 | | 6.640 | |
| <i>P</i> 值 | | 0.000 | |

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

(3)小鼠体温变化检测结果,实验前各组动物的基础体温没有统计学上的差异。给予利血平后,与空白对照组比较,1 h 后及 4 h 后其余各组小鼠体温均有所下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,药后 1 h 及 4 h 阳性药组与复方柴金解郁片 2 倍和 1 倍剂量组小鼠体温明显上升($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结果见表 5。

表 5 利血平诱导的抑郁小鼠体温变化结果 ($\bar{x}\pm s, n=20$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 体温(°C) | | |
|------------|----------|------------|--------------------------|--------------------------|
| | | 药前 | 药后 1 h | 药后 4 h |
| 空白对照组 | - | 38.11±0.64 | 38.56±0.74 | 36.99±1.45 |
| 模型组 | - | 38.86±0.65 | 36.97±0.85** | 33.40±2.92** |
| 阳性药组 | 0.014 | 39.01±0.55 | 37.45±0.43 ^{##} | 36.11±1.45 ^{##} |
| 复方柴金 | 4.0 | 38.88±0.44 | 38.01±0.35 ^{##} | 35.34±2.34 ^{##} |
| 解郁片组 | 2.0 | 38.97±0.37 | 37.78±0.61** | 35.12±2.45** |
| | 1.0 | 38.90±0.45 | 37.74±0.75** | 35.08±2.61** |
| <i>F</i> 值 | | 0.098 | 30.281 | 28.225 |
| <i>P</i> 值 | | 0.756 | 0.000 | 0.000 |

注:与空白对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

4 讨论

21 世纪人类面对的最大疾患是精神疾病,而抑郁症是其中的重点,且抑郁症大规模爆发的危险率为 15%~20%^[7]。因此,进行抑郁症药物研究具有重要的应用价值与科学意义,而抑郁动物模型对抗抑郁药物发现和开发又具有至关重要的作用。小鼠悬尾模型与小鼠强迫游泳模型系经典的行为绝望模型,与人类的抑郁症发病有相似的病理学基础,并

具有简单、快捷、敏感的特点,对多种类型的抗抑郁药敏感,因而常用于抗抑郁药物筛选^[7]。复方柴金解郁片 4.0 g/kg 剂量可有效减少小鼠强迫游泳不动时间;4.0、2.0 g/kg 可以有效减少小鼠悬尾不动的时间,说明复方柴金解郁片对绝望行为模型小鼠具有明显的抗抑郁活性,最小起效剂量为 2.0g/kg。

药物相互作用模型包括利血平拮抗模型和 5-羟色胺酸增强模型等,利血平是一种囊泡再摄取抑制剂,使递质留在囊泡之外易被单胺氧化酶降解,从而使去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(E)、多巴胺(DA)和 5-羟色胺(5-HT)耗竭,使动物处理后出现上眼睑下垂、体温下降及运动抑制^[9];5-羟色胺酸(5-HTP)是 5-HT 的前体物质,脱羧后转变为 5-HT 对机体起作用,使用单胺氧化酶抑制剂帕吉林可抑制 5-HT 的代谢,再给予抗抑郁药可使 5-HT 蓄积,增强其特征性的症状——甩头行为,该类模型常用在作用于 5-HT 和 NE 系统的抗抑郁药物的筛选^[10]。本实验研究结果表明,复方柴金解郁片 4.0、2.0 g/kg 剂量具有对抗利血平所致小鼠眼睑下垂、体温下降的作用;4.0 g/kg 剂量有对抗利血平所致的小鼠运动不能的作用;4.0 g/kg 剂量能增加五羟色胺酸诱导的小鼠甩头次数,说明复方柴金解郁片对 5-HT 和 NE 系统有一定的改善作用。综上,复方柴金解郁片对药理相互作用模型动物具有明显的抗抑郁作用,最小起效剂量为 2.0g/kg,其作用可能是通过提高 5-HT、NE 和 DA 来实现的。

抑郁症属中医学“郁证”的范畴,病始在肝,及于心神,与脑相关^[11]。因情而郁,气血失调是其病机关键。若情志不舒,肝失疏泄,气机失调,气血运行受阻,气滞血瘀,或肝郁化火,炼津灼血,均致瘀血停积,神明不能内守,则情绪焦虑,精神抑郁。心主血脉和神明,为精神之所舍。若肝郁气滞或肝郁化火,血脉瘀阻,血不养心则心神浮越,精神异常。而脑为元神之府,若气血失调,元神失养,神机运转不利,也会导致抑郁症状的产生。因此,郁证之初以肝郁气滞为主,继发血瘀,瘀血停积,则心神不宁;瘀结于内,不得宣泄,上犯清窍,则神明失用。其具有“瘀、郁”的中医病机特点,治宜“疏肝理气、活血解郁”。

本课题组研发的复方柴金解郁片,由柴胡、贯叶金丝桃、姜黄、紫苏、芍药、知母组成,方中柴胡疏肝解郁为君;贯叶金丝桃疏肝解郁,取散诸结之意,姜黄活血化瘀行气,主血瘀气滞诸证,二者均为臣药;佐以紫苏理气解郁,芍药养血柔肝,知母滋阴除

烦。全方共奏疏肝理气、活血解郁的作用。《王梦英医案》中有述:“肝主一身之气,七情之病必由肝起”^[12];林佩琴在《类证治裁》中概括:“七情内起之郁,始而伤气,继必及血,终乃成劳”^[13];王清任的《医林改错》补充了瘀血可导致郁证的发生^[14]。本次研究恰恰通过郁证“瘀、郁”病机指导下“以法统方”的复方柴金解郁片实验研究反证了“疏肝理气、活血解郁”治法的合理性,同时也验证了郁证病机理论“始而伤气,继必及血”的科学内涵,具有重要的理论意义,为中医药防治抑郁症研究提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 杨敏,康洪钧,戴晓畅.抑郁症的发病机制与治疗进展[J]. 四川生理科学杂志,2015,37(3):146-150.
- [2] 汤久慧,张丽萍,宋瑞雯.中医药抗抑郁实验研究现状[J]. 河南中医,2014,34(7):1248-1250.
- [3] 文平,周宜.中西医结合治疗抑郁症优势探讨[J]. 山东中医杂志,2015(12):903-906.
- [4] Cryan JF, Slattery DA. Animal models of mood disorders: recent developments[J]. Current opinion in psychiatry, 2007, 20(1): 1-7.
- [5] 郭纯,蔡光先,刘柏炎,等.百事乐胶囊对慢性应激抑郁模型小鼠血清 IL-1 β 和 TNF- α 的影响 [J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(11): 24-26.
- [6] Mahesh R, Jindal A, Gautam B, et al. Evaluation of anti-depressant-like activity of linezolid, an oxazolidinone class derivative—an investigation using behavioral tests battery of depression[J]. Biochemical and biophysical research communications, 2011, 409(4): 723-726.
- [7] 唐启盛,曲森.抑郁症的中西医结合治疗[J]. 中国中西医结合杂志,2009,29(3):283-288.
- [8] Chen J, Lin D, Zhang C, et al. Antidepressant-like effects of ferulic acid: involvement of serotonergic and norepinephrine systems[J]. Metabolic brain disease, 2015, 30(1): 129-136.
- [9] Savegnago L, Jesse CR, Pinto LG, et al. Monoaminergic agents modulate antidepressant-like effect caused by diphenyl diselenide in rats [J]. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 2007, 31(6): 1261-1269.
- [10] 乐洪波,马树华,程晓玲.药物诱导的抑郁症动物模型的应用与评价[J]. 国际精神病学杂志,2009,36(1):33-36.
- [11] 杜建新.郁证的中医证治经验[J]. 当代医学,2016, 22(1):12-13.
- [12] 王国强,储兴,王伟,等.焦虑障碍肝证的标准化研究进展[J]. 临床心身疾病杂志,2008,14(5):465-466.
- [13] 罗辉,王玉英.王玉英治疗抑郁症经验[J]. 辽宁中医杂志,2009(4):515-517.
- [14] 陈少玫,王志丹.论王清任调气活血组方思想及在脑内科的临床应用[J]. 中国中医急症,2012,21(11):1798-1800.

(本文编辑 杨 瑛)