

## 丹参素钠的抗抑郁作用

石翠格<sup>1</sup>, 李慧<sup>2</sup>, 王丽丽<sup>1</sup>, 王宁<sup>1</sup>, 王介东<sup>1</sup>, 徐志卿<sup>2</sup>, 张树成<sup>1\*</sup>

(1. 国家人口计生委科学技术研究所, 北京 100081; 2. 首都医科大学神经生物学系, 北京 100069)

**[摘要]** **目的:**研究丹参素钠的抗抑郁作用以及对 PC12 细胞损伤的保护作用。**方法:**在大鼠强迫游泳、小鼠强迫游泳、小鼠悬尾实验 3 种急性抑郁模型上,将动物随机分为空白对照组、丹参素钠低、中、高剂量组和阿米替林组,观察药物预先单次灌胃对大/小鼠强迫游泳不动时间、悬尾不动时间的影响;并在细胞水平建立皮质酮损伤 PC12 细胞模型,观察丹参素钠对 PC12 细胞存活率的影响。**结果:**在大鼠强迫游泳实验中,空白对照组不动时间为(139 ± 34)s,丹参素钠(12, 24, 48 mg·kg<sup>-1</sup>)可分别缩短大鼠的强迫游泳不动时间至(107 ± 23), (89 ± 18), (76 ± 18)s,与空白对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ );在小鼠强迫游泳和小鼠悬尾实验中,空白对照组不动时间分别为(123 ± 39), (110 ± 26)s,丹参素钠(18, 36, 72 mg·kg<sup>-1</sup>)可分别缩短小鼠的强迫游泳不动时间至(97 ± 28), (89 ± 23), (78 ± 19)s;缩短小鼠的悬尾不动时间至(92 ± 24), (83 ± 26), (67 ± 15)s,与空白对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ )。PC12 细胞经皮质酮损伤,细胞存活率显著降低吸光度(A)为0.68 ± 0.08,与空白对照组 A 1.41 ± 0.39 相比,有显著差异( $P < 0.05$ )。丹参素钠(1, 10, 100 mg·L<sup>-1</sup>)可显著提高 PC12 细胞的存活率,与皮质酮组比较有显著差异。**结论:**丹参素钠具有抗抑郁作用,作用机制可能与其细胞保护作用有关。

**[关键词]** 抑郁; 丹参素钠; 皮质酮; 不动时间

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)07-0170-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014070170

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000018.html>

**[网络出版时间]** 2014-01-21 9:16

## Evaluation of Antidepressant Effect of Tanshinol Sodium

SHI Cui-ge<sup>1</sup>, LI Hui<sup>2</sup>, WANG Li-li<sup>1</sup>, WANG Ning<sup>1</sup>, WANG Jie-dong<sup>1</sup>, XU Zhi-qing<sup>2</sup>, ZHANG Shu-cheng<sup>1\*</sup>

(1. National Research Institute of Family Planning, Beijing 100081, China;

2. Department of Neurobiology, Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the antidepressant effect and the protective effects against neurotoxicity of tanshinol sodium. **Method:** The animals were randomly divided into five groups: control group, low dose tanshinol sodium group, medium dose tanshinol sodium group, high dose tanshinol sodium group and amitriptyline group. The effects of tanshinol sodium on immobility time were deserved through the forced swimming test and tail suspension test in rats and mice. Likewise, PC12 cells injury was induced by corticosterone and the effect of tanshinol sodium on the cell viability were measured by MTT assay. **Result:** In the rat forced swimming test, the immobility time in the control group was (139 ± 34) s, tanshinol sodium (12, 24, 48 mg·kg<sup>-1</sup>) could shorten the immobility time to (107 ± 23), (89 ± 18), (76 ± 18) s (compared with the control group,  $P < 0.05$ ). In the mouse forced swim and tail suspension test, the immobility time in control group was (123 ± 39), (110 ± 26) s, tanshinol sodium (18, 36, 72 mg·kg<sup>-1</sup>) could shorten the forced swimming immobility time to (97 ± 28), (89 ± 23), (78 ± 19) s, shorten the tail suspension immobility time to (92 ± 24), (83 ± 26), (67 ± 15) s, there were significant differences compared with the control group ( $P < 0.05$ ). In addition, PC12

**[收稿日期]** 20130929(002)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(2010CB530403);首都医科大学开放课题(2013NZDJ01)

**[第一作者]** 石翠格,博士,助理研究员,E-mail:yushuiyushui@sina.com

**[通讯作者]** \*张树成,副研究员,E-mail:nrifp@263.net

cell viability with treatment of corticosterone was significantly reduced ( $A$ ) value ( $0.68 \pm 0.08$ ), there was a significant difference compared with the control group  $A$  value ( $1.41 \pm 0.39$ ). Tanshinol sodium ( $1, 10, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) can significantly improve the survival rate of PC12 cells, there were as significant differences compared with the corticosterone group. **Conclusion:** Tanshinol sodium possessed antidepressant effect, the mechanism may be related to its cytoprotective effect.

[**Key words**] depression; tanshinol sodium; corticosterone; immobility

丹参素是丹参中的主要水溶性有效成分,具有明显的药理活性,包括心肌保护、抑制血栓形成、抗炎和增强免疫等作用。丹参素在自然界中不稳定,故常用其钠盐,多用于活血化瘀,理气止痛。目前对丹参素药理作用的研究多集中于对心血管系统的保护作用,其对神经系统的保护作用尚不多见<sup>[1-2]</sup>。

抑郁症是一种以心境低落为主要特征的精神疾病综合征。其临床表现为情绪低落、思维迟钝、言语动作减少,对工作失去兴趣等,抑郁症迄今已成为全球性的主要精神卫生问题,是危害全人类的常见病、多发病,给个人、家庭和社会带来巨大的损失。社会学研究也表明,重大应激性生活事件是导致抑郁症的重要原因。本研究拟采用3种经典的行为绝望抑郁模型,包括大鼠、小鼠强迫性游泳试验和小鼠悬尾实验,并在离体建立PC12细胞损伤模型,研究丹参素钠的抗抑郁活性。

## 1 材料

**1.1 药物** 丹参素钠(上海友思生物技术有限公司,批号070120),阿米替林(湖南洞庭药业股份有限公司,批号B130537),皮质酮(Sigma公司,货号C2775)。

**1.2 动物** SD大鼠,雄性,180~220 g;C57小鼠,雄性,18~22 g,由维通利华实验动物中心提供,动物合格证号SCXK(京)2007-0006。

**1.3 仪器** 伯乐680型全自动酶标仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

**2.1 大鼠强迫游泳实验** 50只大鼠随机分为5组:空白对照组;丹参素钠12,24,48  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  3个剂量组;阿米替林5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。大鼠灌胃给药60 min后,将其放入内径20 cm,高40 cm的玻璃缸中,每缸1只,水深24 cm,水温28~29  $^{\circ}\text{C}$ ,试验第1天,每只大鼠预游泳15 min后取出,擦干放入笼中,24 h后进行试验,将大鼠重新放入缸中,累计大鼠5 min在水中的不动时间<sup>[4]</sup>。不动时间判定以大鼠浮在水面,只限于做维持身体平衡并将头部露出水面的微小动作为准。

**2.2 小鼠强迫游泳实验** 50只小鼠随机分为5组:空白对照组;丹参素钠18  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;丹参素钠36  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;丹参素钠72  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;阿米替林5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。小鼠灌胃给药60 min后,放入高20 cm,直径10 cm的圆柱型玻璃缸中,每缸1只,水深10 cm,水温25  $^{\circ}\text{C}$ ,观察6 min,累计后4 min内的不动时间<sup>[5]</sup>。判定不动标准:小鼠在水中停止挣扎,或呈漂浮状态,仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面。

**2.3 小鼠悬尾实验** 50只小鼠随机分为5组:空白对照组;丹参素钠18  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;丹参素钠36  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;丹参素钠72  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;阿米替林5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。小鼠灌胃给药60 min后,将尾部距末端2 cm处固定倒悬于20 cm  $\times$  25 cm  $\times$  25 cm的箱内,小鼠头部距离箱底约10 cm,悬挂6 min,累计后4 min内的不动时间<sup>[6]</sup>。判定不动标准:小鼠在空中停止挣扎,身体呈垂直倒悬状,静止不动。

**2.4 PC12细胞损伤模型** 用含10%胎牛血清的DMEM培养液(含青霉素钠200  $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,链霉素100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,pH7.4)将PC12细胞稀释为含 $2 \times 10^5$  / mL个细胞悬液,接种于96孔培养板,每孔100  $\mu\text{L}$ ,放入37  $^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  孵箱培养,待细胞长满孔底后,吸去细胞液,加入含有皮质酮(corticosterone, Cort)  $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养液,孵育24 h后,吸去培养液,每孔加入含质量浓度为0.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT的无血清DMEM,继续培养4 h后吸去DMEM,每孔加入100  $\mu\text{L}$ 二甲基亚砜(DMSO),待蓝色颗粒完全溶解,用酶标仪测定标本在570 nm波长处的吸光度( $A$ )值,计算细胞存活率<sup>[7]</sup>。

细胞存活率 = (实验组  $A$  / 正常组  $A$ )  $\times$  100%

细胞实验分组如下:(1)正常对照组:吸去原细胞培养液,换为完全培养基;(2)皮质酮组:吸去原细胞培养液,换为含皮质酮 $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 完全培养基;(3)丹参素钠组:吸去原细胞培养液,换为含皮质酮 $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 完全培养基,同时分别加入1,10,100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的丹参素钠;(4)阿米替林组:吸去原细胞培养液,换为含皮质酮 $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 完

全培养基,同时加入  $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的阿米替林。

**2.5 统计学分析** 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 软件分析,多组间比较选择方差分析,  $P < 0.05$  表示有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对大鼠游泳不动时间的影响** 在大鼠强迫游泳试验中,丹参素钠 12, 24, 48  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  均可显著缩短大鼠的不动时间,与空白对照组相比,有显著差异 ( $P < 0.05$ )。阿米替林 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  也可显著缩短大鼠不动时间,与空白对照组相比,有显著差异 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 丹参素钠对大鼠强迫游泳不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	不动时间/s
空白对照	-	139 ± 34
丹参素钠	12	107 ± 23 <sup>1)</sup>
	24	89 ± 18 <sup>1)</sup>
	48	76 ± 18 <sup>1)</sup>
阿米替林	5	79 ± 22 <sup>1)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$  (表 2 ~ 3 同)。

**3.2 对小鼠游泳不动时间和悬尾不动时间的影响**

丹参素钠 18, 36, 72  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  均可显著缩短小鼠强迫游泳和小鼠悬尾不动时间,与空白对照组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ )。阿米替林 5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  也可显著缩短小鼠强迫游泳和小鼠悬尾不动时间,与空白对照组相比,有显著差异 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 丹参素钠对小鼠强迫游泳和悬尾不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	游泳不动时间	悬尾不动时间
空白对照	-	123 ± 39	110 ± 26
丹参素钠	18	97 ± 28 <sup>1)</sup>	92 ± 24 <sup>1)</sup>
	36	89 ± 23 <sup>1)</sup>	83 ± 26 <sup>1)</sup>
	72	78 ± 19 <sup>1)</sup>	67 ± 15 <sup>1)</sup>
阿米替林	5	73 ± 21 <sup>1)</sup>	57 ± 19 <sup>1)</sup>

**3.3 对 PC12 细胞的保护作用** PC12 细胞经  $4 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  皮质酮损伤 24 h 后, A 显著降低,与空白对照组相比,有显著差异 ( $P < 0.05$ )。给予不同浓度丹参素钠和阿米替林共孵育时, A 显著升高,与皮质酮组相比,有显著差异 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 4 讨论

抑郁症属于中医郁证范畴。《伤寒论》和《金匮要略》没有明确提出郁的概念,但其所论百合病、奔豚气等病证及小柴胡汤证、柴胡加龙骨牡蛎汤证等

表 3 丹参素钠对皮质酮损伤 PC12 细胞的保护作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	A <sub>570</sub>
空白对照	-	1.41 ± 0.39
皮质酮 <sup>3)</sup>	$4 \times 10^{-4}$	0.68 ± 0.08 <sup>1)</sup>
皮质酮 <sup>3)</sup> + 丹参素	$4 \times 10^{-4} + 1$	1.21 ± 0.11 <sup>2)</sup>
	$4 \times 10^{-4} + 10$	0.91 ± 0.11 <sup>2)</sup>
	$4 \times 10^{-4} + 100$	0.84 ± 0.08 <sup>2)</sup>
皮质酮 <sup>3)</sup> + 阿米替林	$4 \times 10^{-4} + 1 \times 10^{-5}$	1.13 ± 0.21 <sup>2)</sup>

注:与皮质酮组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>3)</sup> 浓度为  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

方证,均与郁证有关或揭示郁证的某些特点,初步建立了郁证辨证论治的基础。根据《伤寒论》和《金匮要略》,笔者采用抑郁症的动物模型,对丹参素钠治疗抑郁症进行初步的动物实验研究,以期对中药防治抑郁症的研究提供新的研究思路和方法。

抑郁症的动物模型是抗抑郁药物筛选、药物抗抑郁作用机制研究和抑郁症病理生理机制研究的重要方法。小鼠悬尾实验、小鼠强迫游泳实验和大鼠强迫游泳实验是经典的抑郁动物模型,这些实验都是通过造成动物的行为绝望来观察药物的抗抑郁效果<sup>[8-10]</sup>。不动时间是评价抗抑郁药物的指标。不动时间越短,抗抑郁作用越强。本研究结果显示丹参素钠可显著缩短大/小鼠的强迫游泳不动时间和悬尾不动时间,与对照组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ ),改善动物行为,显示出良好的抗抑郁效果,且其作用与阳性药阿米替林相当。

下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴是一个重要的内分泌轴,其功能与抑郁关系密切。应激反应导致 HPA 轴功能亢进,持续高浓度皮质酮可以导致淋巴细胞、皮层及海马神经细胞损伤<sup>[11]</sup>。其中皮质醇持续升高在海马激动糖皮质激素 II 型受体,导致海马萎缩,HPA 轴失去抑制性因素,表现为室旁核神经元促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 的 mRNA 水平增加,CRH 和促肾上腺皮质激素 (ACTH) 分泌亢进,伴垂体和肾上腺肥大。抑郁症患者血浆皮质酮水平升高,且皮质酮水平与抑郁症严重程度有关<sup>[12]</sup>。PC12 细胞可分泌多巴胺、去甲肾上腺素等,常被用于分析神经元分化的研究。本实验用高浓度皮质酮损伤 PC12 神经细胞,可见细胞的损伤与死亡,丹参素钠可以增加细胞存活率,与对照组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ ),表明丹参素钠对皮质酮导致的 PC12 细胞损伤有保护作用,这种保护作用有可能是丹参素钠发挥抗抑郁作用的机制之一。

本研究结果可见,丹参素钠可发挥抗抑郁作用,

可达到与经典的西药阿米替林一样的疗效,且中药不良反应较轻微,值得深入研究和探讨。本实验将进一步根据抑郁发病机制,建立大鼠慢应激模型,结合旷场实验和糖水偏爱实验,对丹参素钠的作用机制进行进一步深入研究,为抗抑郁中药的研制提供实验依据。

#### [参考文献]

- [1] Zhang Y, Shi P, Yao H, et al. Metabolite profiling and pharmacokinetics of herbal compounds following oral administration of a cardiovascular multi-herb medicine (Qishen yiqi pills) in rats [J]. *Curr Drug Metab*, 2012, 13(5):510.
- [2] Lu T, Yang J, Gao X, et al. Plasma and urinary tanshinol from *Salvia miltiorrhiza* (Danshen) can be used as pharmacokinetic markers for cardiotoxic pills, a cardiovascular herbal medicine [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(8):1578.
- [3] Stetler C, Miller G E. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation; a quantitative summary of four decades of research [J]. *Psychosom Med*, 2011, 73(2):114.
- [4] Airahbi B, Zakaria R, Muthuraju S, et al. Preliminary study: effects of social instability stress on depressive behaviours in ovariectomised rats [J]. *Malays J Med Sci*, 2013, 20(2):35.
- [5] Ferreira Mello B S, Monte A S, McIntyre R S, et al. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration [J]. *J Psychiatr Res*, 2013, 47(10):1521.

- [6] Yi L T, Li J, Liu B B, et al. Screening of the antidepressant-like effect of the traditional Chinese medicinal formula Si-Ni-San and their possible mechanism of action in mice [J]. *Pharmacognosy Res*, 2013, 5(1):36.
- [7] Wu F, Li H, Zhao L, et al. Protective effects of aqueous extract from *Acanthopanax senticosus* against corticosterone-induced neurotoxicity in PC12 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(3):861.
- [8] Mc Namara M G, Kelly J P, Leonard B E. Some behavioural and neurochemical effects of ipsapirone in two rodent models of depression [J]. *J Psychopharmacol*, 1996, 10(2):126.
- [9] Pang T Y, Du X, Zajac M S, et al. Altered serotonin receptor expression is associated with depression-related behavior in the R6/1 transgenic mouse model of Huntington's disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(4):753.
- [10] 杨小莹,陈杰,杨新明,等.抗抑郁药物及其研究方法的进展 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(9):770.
- [11] Porter R J, Bourke C, Gallagher P. Neuropsychological impairment in major depression: its nature, origin and clinical significance [J]. *Aust N Z J Psychiatry*, 2007, 41(2):115.
- [12] Ahrens T, Deuschle M, Krumm B, et al. Pituitary-adrenal and sympathetic nervous system responses to stress in women remitted from recurrent major depression [J]. *Psychosom Med*, 2008, 70(4):461.

[责任编辑 聂淑琴]

## 《中国中药杂志》2014年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2014年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 [www.cjcm.com.cn](http://www.cjcm.com.cn) 或 [www.中国中药杂志.com](http://www.中国中药杂志.com)。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。