

虎杖水提和乙醇提取物抗抑郁作用的比较

王君明^{1,2*}, 张月月¹, 牛会霞¹, 阳勇龙¹, 崔瑛¹, 闫英奇¹, 董磊鹏¹, 王颖超¹

(1. 河南中医学院 药学院, 郑州 450046; 2. 郑州大学化学与分子工程学院, 郑州 450001)

[摘要] 目的: 考查虎杖水提物(HZ-W)和虎杖 75% 乙醇提取物(醇提物, HZ-E)的抗抑郁作用。方法: 雄性昆明种小鼠随机分为模型组、盐酸氟西汀(FH, 10 mg·kg⁻¹)、HZ-W(1.5, 3 g·kg⁻¹)和 HZ-E(1.5, 3 g·kg⁻¹)组, 连续灌胃(ig)给药 7 d, 1 次/d, 末次给药后 1 h, 进行悬尾实验(TST)、强迫游泳实验(FST)和开场实验(OFT)测试。结果: 模型组小鼠 TST 和 FST 不动时间分别为(95.83 ± 17.18), (126.00 ± 20.79) s, HZ-W 低剂量和高剂量、HZ-E 高剂量以及 FH 均显著缩短了不动时间(P < 0.05), 而 HZ-E 低剂量对此无显著影响。OFT 中, 模型组小鼠 3 min 内穿格次数为(88.44 ± 19.22)次, 各给药组与之相比均无显著差异。结论: 首次证实 HZ-W 和 HZ-E 均具有抗抑郁活性, 且以 HZ-W 作用更强。

[关键词] 虎杖; 水提物; 乙醇提取物; 悬尾实验; 强迫游泳实验; 开场实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0185-03

[doi] 10.11653/syjf2013120185

Antidepressant Effect of Extracts from Rhizome of *Polygonum cuspidati*

WANG Jun-ming^{1,2*}, ZHANG Yue-yue¹, NIU Hui-xia¹, YANG Yong-long¹,
CUI Ying¹, YAN Ying-qi¹, DONG Lei-peng¹, WANG Ying-chao¹

(1. School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;
2. College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antidepressant effect of extracts of the water (HZ-W) and 75% ethanol (HZ-E) from rhizome of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. **Method:** Mice were treated with HZ-W (1.5, 3 g·kg⁻¹), HZ-E (1.5, 3 g·kg⁻¹), and fluoxetine hydrochloride (FH, 10 mg·kg⁻¹) everyday for seven consecutive days by intragastric administration (ig). The mouse forced swim test (FST), tail suspension test (TST) and open field test (OFT), were used to observe antidepressant activities of HZ-W and HZ-E, respectively, at 1 h after the last administration. **Result:** The immobility time of TST and FST in model mice was (95.83 ± 17.18), (126.00 ± 20.79) s respectively and there was significant decrease among HZ-W (1.5, 3 g·kg⁻¹), HZ-E (3 g·kg⁻¹), FH (10 mg·kg⁻¹) groups compared with model group. The numbers of crossing squares in 3 min in model mice during OFT were (88.44 ± 19.22), and there was no significant difference among HZ-W, HZ-E, FH groups compared with model group. **Conclusion:** The present study firstly indicates that HZ-W and HZ-E exerts antidepressant activity and the former is more potent than the latter at the same dose.

[Key words] *Polygonum cuspidati*; water extract; ethanol extract; tail suspension test; forced swim test; open field test

抑郁症是以显著而持久的情绪低落、行为木僵和悲观厌世为主要特征的一组疾病;实际上它很普通,以致被称为精神疾病中的“普通感冒”,同时它

还是严重的、威胁生命的疾病,折磨着世界上数以千万计的人^[1-3]。目前用于治疗抑郁症的药物主要有三环类抗抑郁剂、单胺氧化酶抑制剂和 5-羟色胺再

[收稿日期] 20121221(011)

[基金项目] 中国博士后科学基金(2012M521412);郑州市科技领军人才(121PLJRC534);河南中医学院博士科研基金(BSJJ2010-22);河南中医学院科技创新团队(2011XCXTD01)

[通讯作者] * 王君明, 博士, 副教授, 从事中药药效作用机制及毒效相关性研究, Tel: 13592604581, E-mail: mjw98_2010@163.com

摄取抑制剂,但均有不同程度的副作用,如嗜睡、视物模糊、高血压、惊厥和性欲低下等,临床中尚无疗效好且无副作用的治疗药物^[1-3]。

大量研究表明,中药中所含的黄酮类成分^[4-6]、多糖类成分^[7-9]均可产生抗抑郁作用。中药虎杖含黄酮类、多糖类化学成分^[10-11],但迄今为止,还未见含黄酮类和多糖类成分的中药虎杖在抗抑郁方面的任何报道。本研究通过动物实验考查虎杖提取物的抗抑郁作用,以期为其可能作为潜在抗抑郁药物提供初步的药效学实验基础。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雄性,体质量 18~22 g,由河南省实验动物中心提供[SCXK(豫)2010-0002]。

1.2 试药 羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号 20110116),盐酸氟西汀(FH,常州四药制药有限公司,批号 20110623),虎杖(购自老百姓大药房,产地四川,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. 的干燥根茎)。

2 方法

2.1 提取物制备

2.1.1 虎杖水提取物(HZ-W) 采用虎杖根茎饮片粗粉,每 1 g 虎杖粗粉加 8 mL 水(W/V=1:8),回流提取 3 次,每次 2 h,以 4 000 r·min⁻¹离心 10 min,合并离心上清液,回收水,使药液浓度以生药计,含虎杖 1 g·mL⁻¹。

2.1.2 虎杖 75% 乙醇提取物(HZ-E) 采用虎杖根茎饮片粗粉,每 1 g 虎杖粗粉加 8 mL 的 75% 乙醇(W/V=1:8),回流提取 3 次,每次 2 h,以 4 000 r·min⁻¹离心 10 min,合并离心上清液,回收乙醇至无醇味,使药液浓度以生药计,含虎杖 1 g·mL⁻¹。

给药时,FH 及虎杖各提取物均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需浓度。

2.2 抗抑郁测试

2.2.1 悬尾实验(TST) 雄性小鼠,每组 10 只。阳性药 FH, HZ-W, HZ-E 均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需给药浓度, FH 剂量 10 mg·kg⁻¹, HZ-W 和 HZ-E 均分为低剂量 1.5 g·kg⁻¹ 和高剂量 3 g·kg⁻¹, 模型组给予同等体积的 0.5% CMC-Na, 各组均连续 ig 给药 7 d, 1 次/d, 末次给药 1 h 后测试。参照 Steru 报道的方法^[12], 将单个小鼠尾端(在距尾尖部约 2 cm 处)用医用胶布粘于悬尾箱(30 cm×30 cm×25 cm)上部支架上,使成倒挂状态,头部离箱底约 5 cm。小鼠为了克服不正常体位而挣扎活动,

但活动一段时间出现间断性不动,显示失望状态。悬挂时间为 6 min,统计后 4 min 内悬尾累计不动时间(不动状态即小鼠停止挣扎不动或无任何活动)。

2.2.2 强迫游泳实验(FST)

动物分组给药同 2.2.1,末次给药 1 h 后测试。参考 Porsolt 等报道的方法^[13],将小鼠单独放入高 20 cm,直径 14 cm 的圆柱形玻璃缸中,缸内水深 10 cm,水温(25±2)℃,从小鼠入水后计时 6 min,记录后 4 min 内游泳累计不动时间(指小鼠在水中停止挣扎,或显示漂浮状态,仅有微小的肢体运动以保持头部浮在水面)。

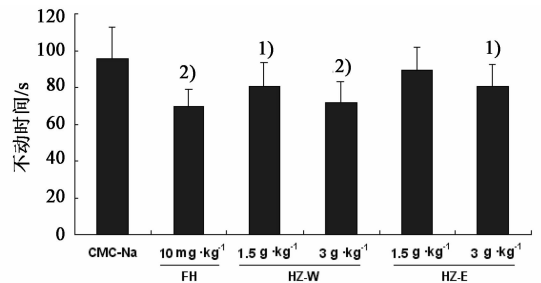
2.2.3 开场实验(OFT)

动物分组给药同 2.2.1,末次给药 1 h 后测试。参考 Archer 报道的方法^[14],敞箱装置为长宽各 50 cm,高 25 cm,底面划分为 25 个等边方格的木箱,内面用黑漆涂满。将小鼠放入中心方格内,观察小鼠在 3 min 内,穿越格数(4 爪均进入的方格方可计数),彻底清洁敞箱后再进行下 1 只小鼠的观察。

2.3 统计分析 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,多组间比较用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠 TST 不动时间的影响 与模型组比较, HZ-W 低、高剂量、HZ-E 高剂量、阳性药 FH (10 mg·kg⁻¹) ig 给予小鼠 7 d, 均可显著缩短悬尾不动时间($P < 0.05$), 而 HZ-E 低剂量对此没有显著影响,提示 HZ-W, HZ-E 和 FH 均表现出明显的抗抑郁活性,且以 HZ-W 作用强。如图 1 所示。



与模型组(CMC-Na)比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (图 2 同)

图 1 虎杖提取物对小鼠 TST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.2 对小鼠 FST 不动时间的影响 与模型组比较, HZ-W 低、高剂量、HZ-E 高剂量、阳性药 FH (10 mg·kg⁻¹) 被连续 ig 给予小鼠 7 d, 均可显著缩短强迫游泳不动时间($P < 0.05$), 提示 HZ-W, HZ-E 和 FH 在 FST 实验均表现出明显的抗抑郁活性,且以 HZ-W 作用强。如图 2 所示。

3.3 小鼠 OFT 穿格次数的影响 OFT 中,模型组

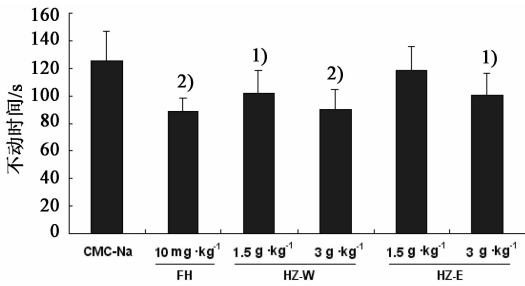


图2 虎杖提取物对小鼠 FST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

小鼠 3 min 内穿格次数为 (88.44 ± 19.22) 次,各给药组与之相比均无显著差异。

4 讨论

TST 和 FST 抑郁症模型对绝大多数抗抑郁药敏感,操作简单、快捷,被广泛应用于抗抑郁药物的初筛^[15-17]。本研究采用小鼠 TST 和 FST 抑郁症模型,首次考察了虎杖水提物 HZ-W 和虎杖醇提物 HZ-E 的抗抑郁效果,结果表明,HZ-W ($1.5, 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 HZ-E ($3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 均具有抗抑郁活性,且以 HZ-W 作用更强。

虽然 TST 和 FST 抑郁症模型对抗抑郁药有高选择性,但一些增加动物活动性的药物也可能出现假阳性结果^[18]。为避免可能出现的假阳性结果,需要同时测定小鼠的自主活动,以提高 TST 和 FST 方法筛选抗抑郁药的选择性和可靠性。小鼠 OFT 穿格次数可反映药物的自主活动情况^[18],因此,本研究组在 TST 和 FST 上考察了 HZ-W 和 HZ-E 的抗抑郁活性之后,又进一步通过 OFT 考察了 HZ-W 和 HZ-E 对小鼠自主活动的影响,结果显示 HZ-W 和 HZ-E 对小鼠 OFT 穿格次数均无明显影响,从而排除了由于自主活动性可能带来的抗抑郁的假阳性结果。

综上所述,本研究采用 TST 和 FST 考察了 HZ-W 和 HZ-E 的抗抑郁作用,并结合 OFT 排除了假阳性结果,提高了实验结果的可靠性,首次证实了 HZ-W 和 HZ-E 均具有抗抑郁活性,为中药虎杖作为潜在抗抑郁药物提供初步的药效学实验基础。

[参考文献]

[1] 龚绍麟. 抑郁症 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 1.

[2] 赵志刚, 张星虎, 张石革. 当代神经精神科用药选择 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 45.

[3] van Servellen G, Heise B A, Ellis R. Factors associated with antidepressant medication adherence and adherence-enhancement programmes: a systematic literature review [J]. Ment Health Fam Med, 2011, 8 (4):255.

[4] Herrera-Ruiz M, Zamilpa A, González-Cortazar M, et

al. Antidepressant effect and pharmacological evaluation of standardized extract of flavonoids from *Byrsonima crassifolia* [J]. Phytomedicine, 2011, 18(14):1255.

[5] Paulke A, Nöldner M, Schubert-Zsilavec M, et al. St. John's wort flavonoids and their metabolites show antidepressant activity and accumulate in brain after multiple oral doses [J]. Pharmazie, 2008, 63 (4):296.

[6] Butterweck V, Jürgenliemk G, Nahrstedt A, et al. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test [J]. Planta Med, 2000, 66(1):3.

[7] Wang J, Flaisher-Grinberg S, Li S, et al. Antidepressant-like effects of the active acidic polysaccharide portion of ginseng in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2010, 132(1):65.

[8] Yan H C, Qu H D, Sun L R, et al. Fuzi polysaccharide-1 produces antidepressant-like effects in mice [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2010, 13(5): 623.

[9] Yi L T, Zhang L, Ding A W, et al. Orthogonal array design for antidepressant compatibility of polysaccharides from *Banxia-Houpu* decoction, a traditional Chinese herb prescription in the mouse models of depression [J]. Arch Pharm Res, 2009, 32 (10):1417.

[10] 周媛, 沈忠明. 虎杖中黄酮类成分的提取分离及性质研究 [J]. 亚太传统医药, 2007, 3(11):37.

[11] 薛梅, 兰卫, 王自军, 等. 虎杖中总黄酮和多糖的含量测定 [J]. 中成药, 2006(5): 735.

[12] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 1985, 85(3): 367.

[13] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1977, 229(2): 327.

[14] Archer J. Tests for emotionality in rats and mice: a review [J]. Anim Behav, 1973, 21(2): 205.

[15] 于春泉, 李苒, 张敏, 等. 柴胡-白芍药对抗抑郁作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (23):286.

[16] 王海岭, 师天元. 葛根异黄酮抗抑郁作用的实验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21):268.

[17] 原红霞, 韦彩柳, 程遥. 小柴胡汤抗抑郁作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15):190.

[18] Bourin M, Fiocco A J, Clenet F. How valuable are animal models in defining antidepressant activity [J]. Hum Psychopharmacol, 2001, 16(1): 9.

[责任编辑 聂淑琴]