

# 黄连阿胶汤对高架十字迷宫焦虑大鼠模型的影响

赵玉堂\*

(河北省承德市承德医院中医系,河北承德 067000)

**[摘要]** 目的:探讨黄连阿胶汤对焦虑小鼠行为干预效果及其作用机制。方法:将实验小鼠随机分为 4 组,即空白对照组、地西洋组(DZP,  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、黄连阿胶汤低、高剂量组( $2.5, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),分别 ig 给予相应药物 10 d。进行高架十字迷宫实验,记录动物进入开臂次数(OE)、进入封闭臂次数(CE)、进入开放臂时间(OT)和进入封闭臂时间(CT)等指标;高效液相色谱检测  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)。结果:黄连阿胶汤低、高剂量均能使小鼠 OE + CE, OE%, OT% 明显升高( $P < 0.01$ ),其中高剂量组对 OE% 及 OT% 影响与 DZP 无显著性差异;黄连阿胶汤低、高剂量均能使小鼠血清 GABA 水平升高( $P < 0.01$ ),其中高剂量组作用与 DZP 效果相当。结论:黄连阿胶汤有明显的抗小鼠焦虑作用,其作用机制可能与调节体内抑制性氨基酸 GABA 的水平有关。

**[关键词]** 黄连阿胶汤; 焦虑; 高架十字迷宫;  $\gamma$ -氨基丁酸

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0281-02

黄连阿胶汤是治疗“心中烦、不得卧”名方,现代广泛用于治疗失眠<sup>[1]</sup>、神经衰弱<sup>[2]</sup>、抑郁症<sup>[3]</sup>等疾病,均有较好疗效。前期初步的研究表明本方具有抗焦虑作用<sup>[4]</sup>,本研究采用国际通用的焦虑动物模型——高架十字迷宫模型(elevated plus-maze, EPM)进一步探讨其抗焦虑的作用机制,为临床使用提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 健康昆明种小鼠 40 只,体质量( $20 \pm 2$ ) g,雄性,由北京维通利华实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2006-0008。

**1.2 试剂与药物** 按黄连阿胶汤原方剂量备药,参照文献配制<sup>[4]</sup>:黄连 12 g,黄芩 6 g,白芍 6 g 加水浸泡 20 min,煎煮 40 min,过滤:药渣再加水煎煮 30 min,合并 2 次滤液,浓缩。阿胶 9 g 捣碎,过 80 目筛,趁所煎药液热时加入,边加边搅拌,直至全部烊化。取鸡蛋黄 2 个,在药液微温时加入,搅拌均匀,制成  $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的药液,置于冰箱中备用。地西洋(DZP,河南凤凰制药股份有限公司,批号 091022),研磨,加入 2% 羧甲基纤维素钠适量,用蒸馏水配成  $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  混悬液,备用。GABA 检测试剂盒(上海时代生物科技有限公司,批号 0921A14)。

**1.3 仪器** 高架十字迷宫视频分析系统(EPM)<sup>[5]</sup>(上海吉量软件科技有限公司),闭臂尺寸(内径,长  $\times$  宽  $\times$  高) =  $30 \text{ cm} \times 5 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$ ,开臂尺寸(内

径,长  $\times$  宽  $\times$  高) =  $30 \text{ cm} \times 5 \text{ cm} \times 0.25 \text{ cm}$ ,中央平台(内径,长  $\times$  宽) =  $5 \text{ cm} \times 5 \text{ cm}$ ,高度 = 50 cm。产品配套软件可以提供小鼠明箱暗箱活动时间、路程、穿梭次数等行为指标,以及运动轨迹图和实时监控录像,并可以将记录的数据输送到数据库中保存。HPLC 系统,美国 Waters 公司。

## 2 方法

**2.1 动物分组与给药** 适应性喂养 1 周后,随机分为 DZP 组( $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、黄连阿胶汤低、高剂量组( $2.5, 5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )及空白等容积蒸馏水组,每组 10 只。各组均 ig,连续 10 d。

**2.2 行为学检测**<sup>[5]</sup> 第 10 天 ig 1 h 后开始行为学测试。将小鼠置于迷宫中央,头朝封闭臂,观察者距离迷宫中央 1 m 以外。分别记录 5 min 内小鼠进入开臂次数(OE)、进入开放臂时间(OT)、进入封闭臂次数(CE)、进入封闭臂时间(CT)。并计算:开放臂和封闭臂总的进入次数(OE + CE),表示小鼠的运动能力;开放臂进入次数比(OE%),即  $\text{OE}/(\text{OE} + \text{CE}) \times 100\%$ ;开放臂停留时间比(OT%),即  $\text{OT}/(\text{OT} + \text{CT}) \times 100\%$ 。行为检测操作时应保持实验室内光线昏暗(以 1.5 m 距离处能区分小鼠细微活动的最低亮度为准)、室温 20  $^{\circ}\text{C}$ 、环境安静下条件进行。

**2.3 血清 GABA 检测** 小鼠摘眼球取血,于室温凝固,4  $^{\circ}\text{C}$  过夜,1 000  $\text{g} \times 10 \text{ min}$  离心,取血清, - 20  $^{\circ}\text{C}$  保存。96 孔板中加入样品和对照品,37  $^{\circ}\text{C}$  反应 90 min,洗板 2 次,加入生物素化抗体工作液,37  $^{\circ}\text{C}$  反应 60 min,洗板 3 次,加入 ABC 工作液,37  $^{\circ}\text{C}$  反应 30 min,洗板 5 次,加入 TMB 显色液,37  $^{\circ}\text{C}$  避光反应,见对照品的前 4 孔差别不明显即加入 TMB 终

**[收稿日期]** 20120210(161)

**[通讯作者]** \* 赵玉堂,讲师,从事经方实验的研究, Tel: 15076372458, E-mail: 852506398@ qq. com

止液。30 min 内酶标仪于 450 nm 处测定吸光度 (A)。

**2.4 统计学处理** 使用 SPSS 15.0 统计软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用  $q$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 EPM 小鼠行为学 OE + CE, OE%, OT% 的影响** 与空白对照组比较, DZP 组及黄连阿胶汤低、高剂量组 OE + CE, OE%, OT% 均显著增高,差异显著 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 与 DZP 组比较, 黄连阿胶汤高剂量组 OE% 及 OT% 均无显著性差异,见表 1。

表 1 黄连阿胶汤对 EPM 小鼠行为学 OE + CE, OE%, OT% 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	OE + CE /次	OE /%	OT /%
空白	-	13.7 ± 3.1	12.1 ± 5.6	13.9 ± 6.7
DZP	1 × 10 <sup>-3</sup>	21.5 ± 5.2 <sup>2)</sup>	33.4 ± 12.7 <sup>2)</sup>	35.6 ± 14.8 <sup>2)</sup>
黄连阿胶汤	2.5	17.8 ± 4.5 <sup>1)</sup>	22.5 ± 10.4 <sup>2)</sup>	23.3 ± 12.4 <sup>2)</sup>
	5.0	18.9 ± 4.8 <sup>2)</sup>	27.6 ± 11.5 <sup>2)</sup>	29.6 ± 14.7 <sup>2)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05, ^{2)}$  $P < 0.01$ 。

**3.2 对 EPM 小鼠血清 GABA 水平的影响** 与空白对照组比较, DZP 组、黄连阿胶汤低、高剂量组血清 GABA 水平均明显增高,差异显著 ( $P < 0.01$ ); 与 DZP 组比较, 黄连阿胶汤高剂量组 GABA 水平无显著性差异,见表 2。

表 2 黄连阿胶汤对小鼠血清 GABA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	GABA
空白	-	28.6 ± 5.73
DZP	1 × 10 <sup>-3</sup>	50.1 ± 6.93 <sup>1)</sup>
黄连阿胶汤	2.5	41.6 ± 4.59 <sup>1)</sup>
	5.0	45.3 ± 6.42 <sup>1)</sup>

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ 。

### 4 讨论

焦虑症是一种以持续性紧张、担心、恐惧或发作性惊恐为特征的情绪障碍,伴有植物神经系统症状和运动不安等行为特征,包括广泛性焦虑和惊恐障碍<sup>[6]</sup>。随着现代社会工作、人际关系、经济压力等诸多因素作用的加剧,发病率不断升高。

EPM 是抗焦虑研究中应用最广泛的模型之一,它以自发行为为基础,小鼠不需特殊训练,利用小鼠对新异环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧心理,形成动物的矛盾冲突从而诱导焦虑产生。OE% 和 OT% 反映的是动物趋近—规避冲突的结果,与焦

虑程度直接相关,被认为是 EPM 的经典指标<sup>[7]</sup>。OE + CE 反映了动物总的运动能力,常用来评价药物有无镇静作用及镇静强度<sup>[8]</sup>。本组资料显示黄连阿胶汤低、高剂量均能使小鼠 OE + CE、OE%, OT% 明显升高 ( $P < 0.01$ ),其高剂量组对 OE% 及 OT% 影响与 DZP 无显著性差异,提示黄连阿胶汤有较好抗焦虑的作用,高剂量作用与 DZP 程度相当。黄连阿胶汤组 OE + CE 次数低于 DZP 组,提示黄连阿胶汤的镇静作用可能弱于 DZP。

$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是一种哺乳动物神经系统中的功能性氨基酸,是神经中枢最重要的抑制性氨基酸递质,具有许多重要的生理功能,是目前焦虑症发病机制及开发抗焦虑新药的一个重要靶标。以往研究证实焦虑、惊厥发作、失眠和认知能力改变的病因学变化都与 GABA 受体功能异常有关<sup>[9]</sup>。本组资料显示黄连阿胶汤低、高剂量均能使小鼠血清 GABA 水平升高 ( $P < 0.01$ ),其中高剂量组作用与 DZP 效果相当,提示了黄连阿胶汤可以通过调节 GABA 能神经元的释放发挥抗焦虑作用。

### [参考文献]

- [1] 董宏利,刘海燕. 黄连阿胶汤加减治疗阴虚火旺型失眠 36 例疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2009, 36(8):1336.
- [2] 贾金铭,武小妮,陈华. 黄连阿胶汤治疗神经衰弱 60 例[J]. 现代医药卫生, 2003, 19(9):60.
- [3] 侣雪平,丛慧芳,王虹. 黄连阿胶汤加减治疗围绝经期抑郁症 30 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(9):43.
- [4] 李彦冰,耿慧春,李庭利,等. 黄连阿胶汤抗焦虑作用的药理学研究[J]. 中医药学报, 2004, 32(5):21.
- [5] Rodgers R J, Johnson N J. Behaviorally selective effects of neuroactive steroids on Plus-Maze Anxiety in mice[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1998, 59(1):221.
- [6] 白洁,臧东静,徐静. 焦虑症的中医辨证分型及治疗概述[J]. 世界中西医结合杂志, 2011, 6(7):612.
- [7] Barbalho C A, Nunes-de-Souza R L, Canto-de-Souza A. Similar anxiolytic-like effects following intra-amygdala infusions of benzodiazepine receptor agonist and antagonist: Evidence for the release of an endogenous benzodiazepine inverse agonist in mice exposed to elevated plus-maze test [J]. Brain Res, 2009, 1267(24):65.
- [8] Lister R G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse[J]. Psychopharmacology, 1987, 92(2):180.
- [9] 郑辉,甄荣. 黄芩苷对  $\gamma$ -氨基丁酸受体和抗焦虑症作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(4):304.

[责任编辑 何伟]