

柴胡-白芍药对抗抑郁作用的实验研究

于春泉, 李苒, 张敏, 高杉, 王怡*

(天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的:研究不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍的抗抑郁作用。方法:雄性 ICR 小鼠按体重随机分为空白对照组、阳性药对照组(盐酸氟西汀 $0.015 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)及柴胡-白芍(1:1)药对高、中、低剂量组($32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 柴胡高、中、低剂量组($32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 白芍高、中、低剂量组($32, 16, 8 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)共计 11 组。各组小鼠灌胃给药 7 d 后采用小鼠开场实验(OFT)排除假阳性结果,并通过小鼠悬尾实验(TST)、小鼠强迫游泳实验(FST)研究各药的抗抑郁作用。结果:在 OFT 中,各组小鼠实验结果无显著差异。在 TST 和 FST 中,各给药组小鼠的不动时间均显著减少,其中以柴胡-白芍药对高剂量组对小鼠不动时间的影响较为明显,在 TST 中不动时间为(51.3 ± 31.7) s,在 FST 中不动时间为(86.3 ± 25.9) s,分别与空白组比较均有显著性差异($P < 0.01$),并且 TST 和 FST 的结果具有一致性。结论:不同剂量的柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍均具有明显的抗抑郁作用,但它们抗抑郁作用强度存在差异。

[关键词] 柴胡; 白芍; 抗抑郁; 小鼠悬尾实验; 小鼠强迫游泳实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0286-04

Study on the Antidepressant-like Effect of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba in Different Doses

YU Chun-quan, LI Ran, ZHANG Min, GAO Shan, WANG Yi*

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[收稿日期] 20120928(007)

[第一作者] 于春泉,博士,副研究员,从事中医药治疗心脑血管病及中医证候学研究,Tel:022-59596309,E-mail:ycq-4@163.com

[通讯作者] *王怡,博士,研究员,从事中药药理学研究,Tel:022-59596572,E-mail:13212268020@126.com

[参考文献]

- [1] 吴久健,邓凯文,唐旭东. 噻唑烷二酮类药物作用机理及应用研究进展[J]. 西部医学,2010,33(4):756.
- [2] 李光伟,潘孝仁,Lillovias,等. 检测人群胰岛素敏感性的一项新指数[J]. 中华内科杂志,1993,32(10):656.
- [3] Haffoer S M, Kennedy E, Gonzalez C, et al. A prospective analysis of the HOMA modle [J]. Diabetes Care,1996,19:1138.
- [4] Graham T E, Yang Q, Blüher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects [J]. N Engl J Med, 2006, 354(24):2552.
- [5] Cho Y M, Youn B S, Lee H, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. Diabetes Care,2006,29(11):2457.

- [6] Ost A, Danielsson A, Liden M, et al. Retinol-binding protein-4 attenuates insulin induced phosphorylation of IRS1 and ERK1/2 in primary human adipocytes [J]. FASEB J,2007,21(13):3696.
- [7] Yang Qin, Graham T E, Mody N, et al. Serum retinol binding protein-4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes [J]. Nature, 2005, 436(7049):356.
- [8] Steppan C M, Bailey S T, Bhat S T, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes [J]. Nature, 2001,409(3):307.
- [9] Steppan C M, Brown E J, Wright C M, et al. A family of tissue-specific resistin-like molecules [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2001,98(2):502.
- [10] Haugen F, Jorgensen A, Drevon C A, et al. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes [J]. FEBS Lett,2001,507(1):105.

[责任编辑 聂淑琴]

[Abstract] Objective: To study the antidepressant-like effect of the coupled drug dispensing of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba, single use of Bupleuri Radix and single use of Paeoniae Radix Alba in different doses. **Method:** Male ICR mice were divided into 11 groups: control group, fluoxetine ($0.015 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, the coupled drug dispensing of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba (1:1) in high, middle and low doses ($32, 16, 8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups, single use of Bupleuri Radix in high, middle and low doses ($32, 16, 8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), single use of Paeoniae Radix Alba in high, middle and low doses ($32, 16, 8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups. The open field test (OFT) was used to exclude false-positive results at 7 d after the administration (ig). And the tail suspension test (TST) and the forced swimming test (FST) were used to study the antidepressant-like effect of different groups. **Result:** There was no significant difference in different groups in the experiment of OFT. Different groups reduced the immobility time both in the TST and FST. Most obviously in the coupled drug dispensing of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba (1:1) in high doses ($32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), in the TST, the immobility time was (51.3 ± 31.7) s, and in the FST, the immobility time was (86.3 ± 25.9) s. Compared with the control group, the coupled drug dispensing of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba (1:1) in high doses ($32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) had significant difference in TST and FST test ($P < 0.01$). In addition, the results of the TST were in agreement with those in the FST. **Conclusion:** The results suggested that the coupled drug dispensing of Bupleuri Radix and Paeoniae Radix Alba, single use of Bupleuri Radix and single use of Paeoniae Radix Alba in different doses performed antidepressant-like effect, while there was difference in the antidepressant-like effect.

[Key words] Bupleuri Radix; Paeoniae Radix Alba; antidepressant; tail suspension test; forced swimming test

抑郁症是极度危害人类身心健康的常见精神疾病。世界卫生组织统计发现,世界上前10种致人残疾或丧失劳动能力的疾病中,抑郁症居第5位,发病率在3%~5%。世界卫生组织已经将其列为10大严重疾病之一,预测到2020年抑郁症将成为仅次于心血管疾病的第二大致残原因。轻度者表现为心境不佳、兴趣缺失、自责、自我评价下降和乏力等,多伴有食欲和性欲下降、早醒和体重减轻等症状,严重者可痛不欲生,悲观绝望,常有自杀倾向^[1-2]。中药对于抑郁症的治疗疗效显著,其优点为不良反应少、可长期服用、较安全可靠等,因此,从天然中草药中开发和研制新型的抗抑郁药也愈来愈受到科研工作者的关注^[3-5]。

柴胡-白芍药对出自《太平惠民和剂局方》,为逍遥散的君药。根据记载,逍遥散的原方由柴胡、白芍、当归、白术、茯苓各一两,甘草五钱,生姜一块,薄荷少许组成,作汤剂煎服。其中柴胡-白芍药对配伍具有疏肝解郁的功效,主要用于治疗肝气郁结,气血不调等引起的各种病症^[6]。本实验的目的是希望通过对不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍的作用研究,了解其抗抑郁的作用。

1 材料

1.1 动物 健康ICR小鼠,雄性,18~22 g,饲养于天津中医药大学实验动物中心,动物许可证号

SCXK(京)2012-0001(北京维通利华实验动物技术有限公司)。实验期间保持自由饮水和进食,饲养环境温度(24 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,湿度为 $55\% \pm 5\%$,适应性喂养7 d后进行实验。

1.2 药品 醋柴胡饮片(产地河北)、白芍饮片(产地安徽),饮片均购自安徽省亳州市药材总公司中西药公司)、盐酸氟西汀分散片(礼来苏州制药有限公司,批号1798A)。

柴胡、白芍药材各0.1 kg,粉碎为粒径0.5 cm粗颗粒,用10倍量70%乙醇回流提取2次,每次1.5 h,2次提取液合并,所得液体静置后过滤,滤液在水浴 60°C 下旋转蒸发至近干,之后真空干燥,干燥后称量所得膏状物质量或粉末质量,计算浸膏萃取率,用时按比例稀释。单用柴胡、白芍提取方法同上, 4°C 冰箱保存备用。柴胡-白芍药对配伍组共0.2 kg生药,出膏率:16.89%。柴胡组0.2 kg生药,出膏率:16.46%。白芍组0.2 kg生药,出膏率:19.71%。

实验药为之前所得粉末或膏状物按不同比例稀释,柴胡-白芍药对高、中、低剂量组质量浓度分别为提取物0.540 0,0.270 0,0.135 0 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,单用柴胡高、中、低剂量组质量浓度分别为0.526 0,0.263 0,0.131 5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,单用白芍高、中、低剂量组质量浓度分别为0.630 0,0.315 0,0.157 5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,以上9

种溶液或混悬液经超声(功率 250 W,频率 50 Hz,30 min)溶解备用。

1.3 仪器 Digibehave 双画面动物行为视频分析系统 2.1 版(上海吉量软件科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 将小鼠按体重随机分为 11 组,分别为空白对照组(蒸馏水)、阳性药对照组(盐酸氟西汀 0.015 g·kg⁻¹)及柴胡-白芍(1:1)高、中、低剂量(按生药量计,下同)组(32,16,8 g·kg⁻¹),柴胡高、中、低剂量组(32,16,8 g·kg⁻¹)、白芍高、中、低剂量组(32,16,8 g·kg⁻¹)。各组小鼠均按 10 mL·kg⁻¹体重 ig 给药,连续 7 d,每日 1 次。

2.2 小鼠开场实验(OFT)^[7] 各组小鼠分别在给药第 7 天于给药 1 h 后进行实验。各组小鼠在给药 1 h 后,置于 50 cm×50 cm×40 cm 箱子(内壁为黑色,底部用白线平均分成 25 格)中央,使用动物行为视频分析系统记录 4 min 内小鼠的自主活动行为,分析后 3 min 内小鼠穿越横格数量和直立的次数,每次测试后及时清理动物排泄物。

2.3 小鼠悬尾实验(TST)^[8] 各组小鼠分别在第 7 天给药 1 h 后,将小鼠尾尖 1 cm 处黏贴倒置悬挂,每次操作 1 只,使用动物行为视频分析系统记录 6 min 内小鼠的绝望行为,分析后 4 min 内的累计不动时间(s)。不动时间判断为小鼠停止挣扎,呈倒悬垂状态,静止不动。

2.4 小鼠强迫游泳实验(FST)^[9] 各组小鼠分别第 7 天给药 1 h 后,将小鼠置于高 20 cm,直径 10 cm 的有机玻璃缸中,其中放入(25±1)℃的水,高度 15 cm,每次操作 1 只,并且使用动物行为视频分析系统记录 6 min 内小鼠的游泳行为,分析后 4 min 内小鼠强迫游泳的累计不动时间(s)。不动时间判断为小鼠在水中停止挣扎,呈漂浮状态,只有细小的肢体运动以保持头部浮在水面上。

2.5 统计学分析 数据用 SPSS 19.0 软件进行分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用单因素方差分析法,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 OFT 的影响 小鼠开场实验结果表明给药 7 d 后,阳性药对照组、不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍与空白对照组比较,小鼠穿越横格数量及直立的次数无显著差异,见表 1。

3.2 对 TST 的影响 小鼠悬尾实验结果表明给药 7 d 后,不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍与空白对照组比较,不动时间均明显减少,其中柴胡-

表 1 不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍对 OFT 穿越横格数和直立次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	穿越横格数 /格	直立次数 /次
空白对照	-	119.3 ± 15.5	32.4 ± 7.0
盐酸氟西汀	0.015	115.2 ± 21.5	30.6 ± 8.3
柴胡-白芍(1:1)	8	117.2 ± 13.4	29.8 ± 6.0
	16	118.3 ± 20.7	33.0 ± 10.3
	32	110.6 ± 16.6	36.3 ± 7.9
柴胡	8	112.4 ± 31.4	29.0 ± 9.2
	16	109.2 ± 16.8	34.4 ± 6.2
	32	114.3 ± 39.3	31.6 ± 11.8
	8	105.3 ± 17.7	26.8 ± 8.2
白芍	16	104.3 ± 21.5	27.4 ± 5.6
	32	108.3 ± 14.8	30.3 ± 6.9

白芍低、高剂量组、柴胡中、高剂量组、白芍低、中、高剂量组具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但实验药各剂量组与盐酸氟西汀组比较无显著差异,见表 2。

表 2 不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍对 TST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	不动时间/s
空白对照	-	10	110.7 ± 44.0
盐酸氟西汀	0.015	11	67.5 ± 22.0 ²⁾
柴胡-白芍(1:1)	8	10	73.0 ± 26.7 ¹⁾
	16	12	85.8 ± 35.1
	32	9	51.3 ± 31.7 ²⁾
柴胡	8	10	74.3 ± 34.4
	16	10	67.6 ± 18.9 ¹⁾
	32	10	64.4 ± 31.6 ¹⁾
白芍	8	10	64.7 ± 31.7 ¹⁾
	16	12	66.9 ± 30.9 ¹⁾
	32	10	62.9 ± 35.9 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 对 FST 的影响 小鼠强迫游泳实验结果表明给药 7 d 后,不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍与空白对照组比较,不动时间均明显减少,具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。实验药中柴胡-白芍药对高剂量组,单用柴胡高、低剂量组,单用白芍高、低剂量组与盐酸氟西汀组比较具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 3。

4 讨论

抑郁症是情感性精神障碍的主要类型,是一种

表3 不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍对 FST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	不动时间/s
空白对照组	-	11	171.3 ± 35.1
盐酸氟西汀	0.015	9	140.5 ± 38.1
柴胡-白芍(1:1)	8	10	127.2 ± 45.0 ¹⁾
	16	11	112.2 ± 41.0 ²⁾
	32	10	86.3 ± 25.9 ^{2,4)}
柴胡	8	12	100.3 ± 45.7 ^{2,3)}
	16	11	126.2 ± 43.0 ¹⁾
	32	11	53.3 ± 28.7 ^{2,4)}
白芍	8	12	96.4 ± 48.9 ^{2,3)}
	16	12	115.1 ± 43.3 ²⁾
	32	12	94.1 ± 27.9 ^{2,4)}

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与盐酸氟西汀组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

以显著而持久的心境低落为主要特征的综合征,随着现代生活压力的增大,节奏的加快,抑郁症已成为常见病、高发病,发病率也在逐年攀升。有统计结果显示柴胡类方在改善抑郁症引起的胸肋不适、不寐等主要身体症状及烦躁、易怒、情绪抑郁等主要精神症状都有较好的疗效。部分此类复方的抗抑郁效果甚至可与抗抑郁的化学药相比较,其临床意义显著。许多临床与试验研究显示柴胡类方的抗抑郁作用与调节下丘脑-垂体-肾上腺轴功能及脑内单胺类递质有一定联系,柴胡皂苷对大鼠海马区的神经具有与氟西汀相仿的保护作用,均是通过调节脑内神经营养因子起抗抑郁作用。白芍在大多数柴胡类方中均有出现,如逍遥散^[10]、柴胡疏肝散、四逆散等,且有实验证明芍药苷或芍药内酯苷,或是这两者综合后可起抗抑郁作用^[11]。故柴胡-白芍药对配伍使用在治疗抑郁症方面具有应用前景,但其物质基础及其作用机制不是十分明确,值得进一步研究。结合以上观点本文主要研究不同剂量柴胡-白芍药对及单用柴胡、白芍在小鼠抑郁模型中的作用。

通过实验结果可以看出在 TST 和 FST 这两个行为绝望动物模型中不同剂量的柴胡-白芍药对及

单用柴胡、白芍的给药组都会在不同程度上明显缩短小鼠的不动时间,给药 7 d 后以柴胡-白芍高剂量组对小鼠不动时间的影响较为明显,并且 TST 和 FST 的结果具有一致性。本研究对不同剂量的柴胡-白芍药对抑郁作用作了初步探索,也为今后对其抗抑郁作用的有效组分和相关作用机制的研究奠定了基础。

[参考文献]

- [1] Belmaker R H, Agam G. Major depressive disorder [J]. N Engl J Med, 2008, 358(1): 55.
- [2] 顾牛范. 抑郁症——全科医生诊疗中的误区[J]. 中国新药与临床杂志, 2005, 24(8): 592.
- [3] 陶震, 鲁毅, 司梁宏, 等. 人参总皂苷对小鼠的抗抑郁作用[J]. 药学与临床研究, 2010, 18(4): 360.
- [4] 栗俞程, 李寒冰, 张宾. 黄芩总黄酮对小鼠的抗抑郁作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 168.
- [5] 李腾飞, 孙秀萍, 高江晖, 等. 石菖蒲水提物对获得性无助模型的抗抑郁作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 132.
- [6] 周爱婷, 张荣恩. 陈士铎运用柴胡白芍对药的经验[J]. 中国民间疗法, 1997, 5(4): 3.
- [7] Herrera-Ruiz M, García-Beltrán Y, Mora S, et al. Antidepressant and anxiolytic effects of hydroalcoholic extract from salvia elegans [J]. J Ethnopharmacol, 2006, 107(1): 53.
- [8] 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.
- [9] Xu Y, Ku B S, Yao H Y, et al. The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2005, 518(1): 40.
- [10] 胡燕, 洪敏. 柴胡类方治疗抑郁症研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 247.
- [11] 王景霞, 张建军, 李伟, 等. 白芍提取物治疗抑郁症的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 183.

[责任编辑 聂淑琴]