

清宫汤抗焦虑作用及其机制的实验研究

张世亮, 李越兰*, 张丽英, 宋玉良
(浙江中医药大学, 杭州 310053)

[摘要] **目的:**观察清宫汤对高架十字迷宫小鼠行为学及脑神经递质的影响,探讨其抗焦虑作用及机制。**方法:**将雄性小鼠随机分为空白对照组(生理盐水)、地西洋对照组($0.0015\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、清宫汤高、中、低剂量组($12,6,3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组 10 只。灌胃给药,每天 1 次,连续 10 d 后,采用高架十字迷宫焦虑动物模型,观察清宫汤对小鼠行为学的影响,酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测小鼠脑神经递质含量。**结果:**清宫汤明显提高小鼠在高架十字迷宫装置中的开放臂进入次数比(OE%)和开放臂停留时间比(OT%);与地西洋组比较,清宫汤高剂量组 OE% 有显著差异($P < 0.01$),低剂量组 OT% 有显著差异($P < 0.05$)。脑神经递质测试,清宫汤明显降低 5-羟色胺(5-HT),去甲肾上腺素(NE)浓度,其中中剂量组 5-HT 浓度降低显著($P < 0.05$),高剂量组 NE 浓度降低显著($P < 0.01$);与地西洋组比较,清宫汤各组 5-HT,NE 浓度无显著差异;多巴胺(DA)浓度各组无统计学差异。**结论:**清宫汤具有抗焦虑作用,其作用机制与降低小鼠脑组织中 5-HT,NE 浓度相关。

[关键词] 清宫汤; 高架十字迷宫; 抗焦虑; 神经递质

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0215-03

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1153.026.html>

[网络出版时间] 2012-08-27 11:53

Research on the Anti-anxiety Effects and the Mechanisms of Qinggong Decoction

ZHANG Shi-liang, LI Yue-lan*, ZHANG Li-ying, SONG Yu-liang
(Zhejiang Traditional Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of Qinggong decoction (QGD) on behavior and neurotransmitter in the elevated plus-maze mice, and to explore the anti-anxiety effects and the mechanisms. **Method:** Fifty male mice were randomly divided into 5 groups: control group (normal saline), diazepam group ($0.0015\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), QGD high-dose group ($12\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), medium-dose group ($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and low-dose group ($3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and gavage administration was carried out once per day for continuous 10 days. Then adopted anxiety animal model with the elevated plus-maze was used to observe the influence of QGD on behavior, and the concentration of brain neurotransmitter was detected in mice by ELISA. **Result:** QGD could increase the percentage of the times entering the open arms (OE%) and stay duration in the total period (OT%); compared with diazepam group, the high-dose group had a significant difference in OE%, and low-dose group had a significant difference in OT%. In the neurotransmitter testing, QGD significantly lowered the concentration of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and noradrenaline (NE), and in which medium-dose group significantly reduced the concentration of 5-HT ($P < 0.05$), and high-dose group reduced significantly concentration of NE ($P < 0.01$); compared with diazepam group, the concentration of 5-HT and NE of QGD groups had no obvious difference; the concentration of dopamine (DA) was not statistically different in groups. **Conclusion:** QGD has anti-anxiety

[收稿日期] 20120507(002)

[基金项目] 2010 年浙江省教育厅项目(Y201016975)

[第一作者] 张世亮,硕士研究生,从事中药临床药效及药性研究,Tel:18969934631,E-mail:zhangshiliang_8888@163.com

[通讯作者] *李越兰,副教授,从事中医药防治睡眠障碍症,Tel:18957130565,E-mail:yuelanli@163.com

effect, and the mechanism is related to lowering the concentration of 5-HT and NE in mice brain tissues.

[Key words] Qinggong decocted; elevated plus-maze; anti-anxiety; neurotransmitter

清宫汤出自清代吴鞠通《温病条辨》，由玄参、莲子心、竹叶卷心、连翘心、连心麦冬、犀角尖（水牛角代用）组成，是治疗温热之邪陷入心营，逆传心包的清宫城之方，现代临床报道治疗强迫性神经症、焦虑性神经症、癔症等病有效^[1]，本课题组发现清宫汤有明显的镇静、催眠、抗惊厥作用^[2]，前期研究表明清宫汤有明显抗焦虑作用^[3]。本文观察清宫汤对高架十字迷宫小鼠行为学及其脑神经递质含量的影响，进一步探讨其抗焦虑作用及机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 SPF 级昆明种小鼠，体重(20 ± 2) g，浙江中医药大学实验动物中心提供，合格证号 SYXK(浙)2003-003。动物自然昼夜节律光照，自由饮水、摄食，适应 5 d 后进行实验。

1.2 仪器 高架十字迷宫（自制，包括两个 30 cm × 6 cm 开臂和两个 30 cm × 6 cm × 15 cm 的闭臂，开放臂和封闭臂交叉处为一个 5 cm × 5 cm 的中央平台，离地面 50 cm），MK3 型酶标仪（赛默飞世尔仪器有限公司），5804R 高速冷冻离心机（Hamburg Germany），超低温冰箱（Thermo Forma 86c ULT Freezer），HH-S 恒温水浴锅（巩义市英峪予华仪器厂），PRO200 组织精密匀浆器（美国）。

1.3 药物及试剂 中药材购于浙江中医药大学附属第二门诊部。麦冬、玄参、水牛角、淡竹叶、连翘、莲子心按 3:3:2:2:2:0.5 比例水煎并浓缩为 0.56, 0.28, 0.14 g · mL⁻¹；地西洋片（北京益民药业有限公司，批号 H1102089）；小鼠去甲肾上腺素（NE）、多巴胺（DA）、5-羟色胺（5-HT）酶联免疫吸附（ELISA）测试试剂盒（南京建成生物工程研究所提供，批号 201112）。

2 方法

2.1 动物分组及给药 取小鼠 50 只，随机分为空白对照组（生理盐水）、阳性药物地西洋片对照组（0.001 5 g · kg⁻¹）、受试药清宫汤高、中、低剂量（12, 6, 3 g · kg⁻¹）共 5 组，每组 10 只。ig 给药，每天 1 次，连续 10 d。

2.2 行为学测试^[4] 末次给药 30 min 后，将实验小鼠置于中央开阔部，每次 1 只，头部朝闭臂，释放后即开始记录 5 min 内以下指标：①开放臂进入次数（OE）；②封闭臂进入次数（CE）；③开放臂停留时间（OT），单位为 s；④封闭臂停留时间（CT），单位

为 s。分别计算出：开放臂进入次数比（OE%），即 OE/(OE + CE) × 100%；开放臂停留时间比（OT%），即 OT/(OT + CT) × 100%。

2.3 动物取材 小鼠高架十字迷宫测试结束后，立即断头处死，迅速在冰盘上分离出全脑组织，称重后保存于超低温冰箱 -70 ℃。

2.4 NE, DA, 5-HT 测定 ELISA 法检测小鼠脑组织中 NE, DA, 5-HT 神经递质浓度（试剂盒样本数限制，实测 42 样）。

2.5 统计学处理 应用 SPSS 13.0 统计软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较用 *t* 检验， $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

3 结果

3.1 对高架十字迷宫小鼠行为学 OE% 和 OT% 的影响 低剂量组有 1 只小鼠因操作失误死亡。与空白对照组比较，地西洋组和清宫汤中、低剂量组 OE% 显著提高（*P* < 0.01），地西洋组和清宫汤高、中、低剂量组 OT% 显著提高（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）；与地西洋组比较，清宫汤高剂量组 OE% 有显著差异（*P* < 0.01），低剂量组 OT% 有显著差异（*P* < 0.05）。见表 1。

表 1 清宫汤对高架十字迷宫小鼠行为学 OE% 和 OT% 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	<i>n</i>	开放臂进入次数比 /OE%	开放臂停留时间比 /OT%
空白对照	-	10	35.18 ± 4.68	25.24 ± 6.02
地西洋	1.5 × 10 ⁻³	10	46.41 ± 3.70 ²⁾	44.52 ± 7.42 ²⁾
清宫汤	12	10	38.61 ± 2.90 ⁴⁾	40.43 ± 10.22 ²⁾
	6	10	45.46 ± 4.75 ²⁾	37.64 ± 8.27 ²⁾
	3	9	46.77 ± 4.36 ²⁾	34.60 ± 11.63 ^{1,3)}

注：与空白对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01；与地西洋组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01(表 2 同)。

3.2 对脑组织神经递质的影响 与空白对照组比较，地西洋组和清宫汤中剂量组 5-HT 浓度显著降低（*P* < 0.05），地西洋组和清宫汤高剂量组 NE 浓度显著降低（*P* < 0.05 或 *P* < 0.01）；与地西洋组比较，清宫汤各组 5-HT, NE 浓度无显著差异；DA 浓度各组无统计学差异。见表 2。

表2 清宫汤对脑组织神经递质的影响($\bar{x} \pm s$)ng·L⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	n	5-HT	DA	NE
空白对照	-	8	423.43 ± 59.75	230.20 ± 25.16	240.94 ± 34.02
地西洋	1.5 × 10 ⁻³	8	338.21 ± 59.33 ¹⁾	225.07 ± 22.77	203.21 ± 51.85 ¹⁾
清宫汤	12	8	353.50 ± 54.76	253.66 ± 74.24	185.36 ± 28.01 ²⁾
	6	9	336.78 ± 75.78 ¹⁾	232.25 ± 23.56	214.36 ± 34.12
	3	9	374.89 ± 92.77	248.49 ± 45.88	215.30 ± 27.66

4 讨论

清宫汤通过清心泻火,滋肾养阴,使偏亢之心阳下潜入阴,浮越之心神内安于舍,从而解除焦虑患者精神紧张,恐惧惊慌,心烦不宁,多虑失眠等症状。

高架十字迷宫是抗焦虑研究中应用最广泛的模型之一。小鼠在高架十字迷宫装置中会出现紧张担心、恐惧或发作性惊恐种种焦虑行为,实验指标以开放臂进入次数比(OE%)和开放臂停留时间比(OT%)反映动物的焦虑状态,焦虑动物的OE%和OT%值明显降低,经典抗焦虑药物地西洋则使两者升高^[5]。通过观察发现清宫汤高、中、低剂量组使小鼠OT%明显升高,其中、低剂量组使小鼠OE%明显升高,与前期研究相符,结合前期研究提示清宫汤有抗焦虑作用。

焦虑症发病机制主要有神经递质假说和神经内分泌功能紊乱假说,前者主要与5-HT,NE,DA等系统功能的亢进有关,降低5-HT,NE功能的药物则有抗焦虑作用^[6-7]。本实验发现清宫汤中剂量组明显降低小鼠脑组织5-HT浓度,其高剂量组明显降低小鼠脑组织NE浓度,而对DA浓度无显著影响,推测清宫汤的抗焦虑作用机制与5-HT,NE的含量变化相关,与DA相关性不大,这与有关文献报道一致^[8]。

[参考文献]

- [1] 王伟,唐戈. 清宫汤加减治疗狂证[J]. 吉林中医药, 2002, 22(1):16.
- [2] 李越兰,陆红,张丽英. 清宫汤镇静作用的实验研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(11):27.
- [3] 张世亮,李越兰,张丽英,等. 清宫汤对大鼠群居接触及旷场实验的影响[J]. 陕西中医学院学报, 2012, 35(4):72.
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2002:815.
- [5] 郭花玲,崔瑛,李阳阳,等. 黄连对小鼠焦虑行为影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):169.
- [6] Broderick P A. Alprazolam, diazepam, yohimbine: *in vivo* CA1 hippocampal norepinehrine and serotonin release profiles under chloral hydrate anesthesia [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 1997, 21(7):1117.
- [7] Hegarty A A, Vogel W H. The effect of acute and chronic diazepam treatment on stress-induced changes in cortical dopamine in the rat [J]. Pharmacol Biochem Behav, 1995, 52(4):771.
- [8] 王欣,谢鸣. 酸枣仁汤对高架十字迷宫模型大鼠单胺类递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6):47.

[责任编辑 聂淑琴]