

# 加味四逆散对慢性应激所致大鼠 雌激素紊乱的调节作用

王丽岩<sup>1\*</sup>, 张玉兰<sup>1</sup>, 肖洪彬<sup>2</sup>

(1. 大庆医学高等专科学校, 黑龙江 大庆 163312; 2. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** **目的:** 研究加味四逆散对慢性不可预计性刺激致抑郁雌性大鼠血清皮质酮(Cort)、血清雌二醇(E<sub>2</sub>)的影响,揭示其对雌性大鼠抑郁模型内分泌紊乱的调节机制。**方法:** Wistar大鼠按体重和基础糖水消耗量随机分为6组:空白组(不施加任何刺激)、慢性轻度不可预计应激模型组、加味四逆散高、中、低剂量组(315, 158, 78 mg·kg<sup>-1</sup>, ig),阳性药氟西汀组(18 mg·kg<sup>-1</sup>, ig),应激第1天开始每天8:30 ig给药,正常组及慢性应激模型组每次ig蒸馏水。应激第22天取材。放射免疫法检测用药前后雌性大鼠血清Cort, E<sub>2</sub>的含量变化。**结果:** 大鼠血清Cort空白组(0.05 ± 0.04) μg·L<sup>-1</sup>,模型组为(0.11 ± 0.08) μg·L<sup>-1</sup>,较空白组显著升高(P < 0.05),加味四逆散各组Cort较模型组低但差异无统计学意义;血清E<sub>2</sub>含量模型组大鼠的E<sub>2</sub>水平(0.04 ± 0.02) μg·L<sup>-1</sup>较空白组(0.12 ± 0.03) μg·L<sup>-1</sup>明显下降(P < 0.05),加味四逆散高、中、低剂量组E<sub>2</sub>依次为(0.10 ± 0.04), (0.08 ± 0.02), (0.07 ± 0.05) μg·L<sup>-1</sup>均明显升高,与模型组相比有显著性差异(P < 0.01, P < 0.05)。**结论:** 加味四逆散抗抑郁作用与其维持E<sub>2</sub>正常分泌有关。

**[关键词]** 加味四逆散; 抗抑郁作用; 激素水平

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0208-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1044.005.html>

**[网络出版时间]** 2012-08-27 10:44

## Regulation Effects of Jiawei Sini San on Chronic Stress-induced Estrogen Disorders in Rats

WANG Li-yan<sup>1\*</sup>, ZHANG Yu-lan<sup>1</sup>, XIAO Hong-bin<sup>2</sup>

(1. Daqing Medical College, Daqing 163312, China;

2. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe influence of Jiawei Sini San on serum corticosterone (Cort), estradiol (E<sub>2</sub>) content in chronic mild unpredictable stress rats, and reveal the adjustment mechanism of endocrine disorders in female rat depression. **Method:** Wistar rats were randomly divided into six groups according to the weight and basis for sucrose: control group, model group, Jiawei Sini San high, medium and low dose group (315, 158, 78 mg·kg<sup>-1</sup>, ig), positive drug fluoxetine group (18 mg·kg<sup>-1</sup>, ig), stress with every day 8:30 ig, was performed on the first day control group and model group were ig given distilled water. On 22 day of stress, samples were collected to measure serum Cort, serum E<sub>2</sub> content changes by radioimmunoassay in female rats. **Result:** Serum Cort concent in model group (0.11 ± 0.08) μg·L<sup>-1</sup>, compared with the control group (0.05 ± 0.04) μg·L<sup>-1</sup> was significantly increased (P < 0.05). In Jiawei Sini San group cort concentration was lower than in model group, but the difference was not statistically significant. In model group serum E<sub>2</sub> levels (0.04 ± 0.02) μg·L<sup>-1</sup> compared with control group (0.12 ± 0.03) μg·L<sup>-1</sup> decreased significantly (P < 0.05). but compared

**[收稿日期]** 20120322(003)

**[基金项目]** 2011年度黑龙江省教育厅高职高专科研立项课题(12515105)

**[通讯作者]** \*王丽岩,医学博士,讲师,从事神经系统疾病康复教学、科研及临床, Tel:18945620117, E-mail:wly12188@sina.com

with model group was not significant. In Jiawei Sini San group high, medium and low dose group serum  $E_2$  levels ( $0.10 \pm 0.04$ ), ( $0.08 \pm 0.02$ ), ( $0.07 \pm 0.05$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  were significantly elevated, increased compared with the model group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The antidepressant effect of Jiawei Sini San may be related to secretion of the  $E_2$ .

[**Key words**] Jiawei Sini San; antidepressant effects; hormone levels

近年来,临床治疗发现抑郁症患者中女性多于男性,内分泌紊乱是抑郁症发病机制中一个重要方面,如皮质酮(Cort)分泌过多、雌激素( $E_2$ )水平下降,对女性抑郁症患者来说,雌激素水平下降与抑郁症的发病密切相关。但是应用雌激素制剂有诱发乳腺癌和子宫内膜癌的副作用,这就限制了雌激素化学药品在抗抑郁临床治疗中的应用,因此从植物药中寻找具有抗抑郁的天然药物已成为国际抗抑郁药物研发的新航向<sup>[1-4]</sup>。

本实验在四逆散的基础上加味而成实验方剂,其主要功效为疏肝理脾、解郁,调畅气机<sup>[5]</sup>,运用放射免疫等技术,检测慢性应激所致抑郁雌性大鼠模型血清Cort、血清 $E_2$ 的含量变化,为本方剂防治围绝经期抑郁症提供科学依据。

## 1 材料

**1.1 药品** 加味四逆散,取白芍 50 g,当归 100 g,香附 50 g,柴胡 30 g,郁金 50 g,加 5 倍量水浸泡 1 h 后煎煮,水沸后煎煮 45 min,以纱布过滤取液,药渣再以前法煎煮,重复煎煮 2 次,和 3 次药液,加热浓缩。使药液有效成分含量相当于 1 g 生药/mL,灌封于干燥瓶中,灭菌,置 4 °C 保存备用;阳性对照药:盐酸氟西汀分散片(Lilly SA),进口药品注册证号 H20050463。

**1.2 动物** SPF 级 Wistar 大鼠,雌性,体重 220 ~ 240 g,由上海中科院实验动物中心提供,质量合格证号 95047。

**1.3 试剂及仪器** 大鼠 Cort 免疫试剂盒(批号 101032), $E_2$  免疫试剂盒(批号 110952)均为北京北方免疫试剂研究所生产。PFM-96 型 10 管放射免疫  $\gamma$  计数器(中国科技大学中佳公司),BX-50 多功能显微镜系统(日本 Olympus),BI-2000 医学图像分析系统(中国成都泰盟科技有限公司),DY89-I 型电动玻璃匀浆机(中国南京建成生物工程研究所)等。

## 2 方法

**2.1 动物造模** 采用 Willner P 慢性轻度不可预计应激动物模型<sup>[6]</sup>,并加以改良。接受应激处理的组别大鼠单独放在一间独立的房间,在 21 d 接受不同应激源的刺激,应激源包括有限制空间 1 h, 45 度斜

笼 7 h,湿笼 17 h(湿笼是 200 g 铺料倒 100 mL 水,使垫料湿透),新入侵者(两笼并笼)23 h,持续光照 36 h,空瓶 1 h,禁食禁水 23 h。

**2.2 分组、给药方法** Wistar 大鼠按体重和基础糖水消耗量随机分为 6 组:空白组(不施加任何刺激)、慢性轻度不可预计应激模型组、加味四逆散高、中、低剂量组( $315, 158, 78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),应激第 1 天开始,每天 8:30 分 ig 中药加味四逆散,阳性药氟西汀组(每次 8:30 ig 给药, $18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。正常组及慢性应激模型组每次灌胃蒸馏水。每次 20 mL  $\cdot \text{kg}^{-1}$ 。其中正常组与其余各组分房饲养。应激第 22 天取材。

**2.3 大鼠血清 Cort,  $E_2$  水平检测** ig 给药第 22 天,大鼠经 20% 乌拉坦( $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ )麻醉后,腹主动脉取血 2 mL 离心后取血清, -70 °C 冷藏备用。采用放免法检测血清皮质酮、雌激素。

**2.4 统计分析** 数据以  $\bar{x} \pm s$  形式表示,采用 SPSS 11.5 统计软件处理,统计方法采用单因素方差分析和两两比较,如不满足方差分析条件时用秩和检验。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 各组大鼠造模前后体重及糖水偏爱度** 造模前各组大鼠的体重、糖水偏爱度均无差异,具有可比性。经 21 d 慢性轻度不可预计应激造模后,各组体重及增重明显低于空白组( $P < 0.01$ );与模型组比较,加味四逆散各组对大鼠体重的下降有一定的抑制作用,但无统计学差异。见表 1。

表 1 造模前后各组大鼠体重变化情况( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g		增重/g
		造模前	造模后	
空白对照	-	215.2 $\pm$ 9.3	295.1 $\pm$ 11.6 <sup>2)</sup>	79.9 $\pm$ 12.3 <sup>2)</sup>
模型对照	-	219.6 $\pm$ 8.1	256.0 $\pm$ 10.1	36.5 $\pm$ 12.0
加味四逆散	315	214.9 $\pm$ 10.9	261.1 $\pm$ 12.1	46.2 $\pm$ 11.2
	158	217.8 $\pm$ 9.1	261.2 $\pm$ 12.1	43.5 $\pm$ 13.0
	78	215.7 $\pm$ 8.5	258.6 $\pm$ 11.6	42.9 $\pm$ 13.1
氟西汀	18	217.9 $\pm$ 11.7	268.5 $\pm$ 12.2 <sup>2)</sup>	50.6 $\pm$ 10.6 <sup>2)</sup>

注:与模型组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

模型组大鼠糖水偏爱度明显低于空白组 ( $P < 0.05$ ),表明慢性轻度不可预计性应激可引起大鼠糖水偏爱度下降。与模型组比较加味四逆散各剂量组的糖水偏爱度均有所提高,但无显著性差异。见表 2。

表 2 造模前后各组大鼠糖水偏爱度变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) %

组别	剂量	基础	造模后
	/mg·kg <sup>-1</sup>	糖水偏爱度	糖水偏爱度
空白对照	-	7.52 ± 1.79	8.44 ± 2.16 <sup>2)</sup>
模型对照	-	7.73 ± 1.57	5.14 ± 1.29
加味四逆散	315	7.64 ± 1.24	6.58 ± 2.13
	158	7.41 ± 1.45	6.54 ± 2.14
	78	7.24 ± 1.23	6.41 ± 3.06
氟西汀	18	7.47 ± 1.32	6.33 ± 2.32

3.2 各组大鼠血清 Cort 含量变化 空白组血清 Cort 水平最低,模型组血清 Cort 水平显著升高,两组相比差异显著。加味四逆散各组的血清 Cort 含量与模型组比较有所降低,但均高于空白组,且加味四逆散组与模型组相比无显著差异。见表 3。

表 3 加味四逆散对应激模型大鼠血清 Cort, E<sub>2</sub> 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量	Cort	E <sub>2</sub>
	/mg·kg <sup>-1</sup>		
空白对照	-	0.05 ± 0.04 <sup>1)</sup>	0.12 ± 0.03 <sup>2)</sup>
模型对照	-	0.11 ± 0.08	0.04 ± 0.02
加味四逆散	315	0.06 ± 0.04	0.10 ± 0.04 <sup>2)</sup>
	158	0.08 ± 0.05	0.08 ± 0.02 <sup>2)</sup>
	78	0.09 ± 0.09	0.07 ± 0.05 <sup>1)</sup>
氟西汀	18	0.05 ± 0.04 <sup>1)</sup>	0.12 ± 0.07 <sup>2)</sup>

3.3 各组大鼠血清 E<sub>2</sub> 含量变化 模型组大鼠的 E<sub>2</sub> 水平明显下降,表明慢性应激刺激导致了 E<sub>2</sub> 分泌减少,此结果与该组大鼠皮质酮水平上升相吻合。而加味四逆散各组大鼠的 E<sub>2</sub> 水平显著升高,与模型组比较差异显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 3。

#### 4 讨论

机体受到强烈刺激时,最主要的变化为下丘脑-垂体-肾上腺轴的强烈兴奋 (HPA)<sup>[7]</sup>,海马是 HPA 轴应激反应的高位调节中枢,慢性激状态下,海马内糖皮质激素受体 (GR) 长期暴露于高浓度皮质酮下,导致 GRmRNA 表达下降、GR 合成少,最终引起 HPA 失去海马抑制而处于功能亢进状态。长期过量的糖皮质激素使海马神经元萎缩死亡,将打断正常应激反应时海马对 HPA 轴的抑制作用而形成恶性循环<sup>[8]</sup>。因此抑制皮质酮分泌就成为保护海马的关键措施<sup>[9]</sup>。本研究检测到模型组大鼠的皮质酮

明显高于空白组,且该组海马形态也发生明显变化,提示慢性应激引起的皮质酮水平升高可能就是海马损伤的原因。氟西汀与加味四逆散组的皮质酮浓度与模型组比较有所降低,但均高于空白组,且加味四逆散组与模型组相比无显著差异,可见加味四逆散对抑制皮质酮分泌作用不显著,其对海马的保护作用可能不是直接通过抑制皮质酮分泌实现的。由于皮质酮对海马的损伤还需要 GR, Glu 及其 NMDA 受体和 NO 等下游因素参与,因此尚不能确定加味四逆散的海马保护作用是否通过上述环节实现,这还有待于深入研究。

生理性雌激素可以促进神经元生长,阻止神经元细胞萎缩,调节突触的可塑性,促进神经元细胞再生。而海马神经细胞损伤及再生障碍可能是围绝经期抑郁症发病的重要原因<sup>[10-15]</sup>。本实验证实加味四逆散能够维持卵巢正常分泌 E<sub>2</sub>,说明加味四逆散抗抑郁作用与其维持 E<sub>2</sub> 正常分泌有关,由于 E<sub>2</sub> 可以促进大脑 VEGF 表达,因此推测加味四逆散的这种作用也可能是通过 E<sub>2</sub> 促进 VEGF 表达实现的,具体机制有待深入研究。

#### [参考文献]

[1] 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.

[2] 李亚明,陈红梅. 石菖蒲对行为绝望动物抑郁模型的抗抑郁作用[J]. 中药材,2010,24(1): 40.

[3] 李雅莉,赵玲,魏海峰. 开郁胶囊对抑郁动物模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(14): 182.

[4] 王景霞,张建军. 白芍提取物对嗅球损毁抑郁模型大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(3): 155.

[5] 陆蕊杭,王丽娜,王丽岩. 加味四逆散对小鼠抗抑郁作用研究及有效部位筛选[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(14):268.

[6] Bremner J, Narayan M, Anderson E R, et al. Smaller hippocampal volume in major depression[J]. Brain Res, 2000,126:413.

[7] 柴丽,赵博. 抑郁症与 HPA 轴关系及中药干预的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):174.

[8] Gould E, Reeves A L, Fallah M, et al. Hippocampal neurogenesis in adult old world primates[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2009,96:5263.

[9] Dekloet E R, Vreugdenhil E, Oitza M S, et al. Brain corticosteroid receptorbalance in health and disease[J]. Endocr Rev, 2007,19:269.

# 九头狮子草有效部位解热作用及其作用机制研究

覃容贵\*, 范菊娣, 龙庆德, 秦拴梅, 周镁  
(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

**[摘要]** **目的:**比较九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位解热作用的差异,初步探讨石油醚部位的解热作用机制。**方法:**雄性 SD 大鼠,经筛选后随机分为正常对照组、模型对照组、石油醚组、水部位组和水提组(不同极性部分的剂量设定以水提物的大鼠剂量为基础,结合各个部位得膏率,按相同生药量  $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$  换算成各极性部位剂量),采用干酵母皮下注射方法制备发热模型,于模型制备后 5 h,分别 ip 石油醚部位( $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、水部位( $1.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、水提液( $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )后分别于各个时间点监测直肠温度,比较三者作用的差异性;采用放射免疫法测定大鼠血清白介素-1(IL-1)、白介素-6(IL-6)及下丘脑内环磷酸腺苷(cAMP)、前列腺素  $E_2$ ( $\text{PGE}_2$ )含量。**结果:**九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位均能降低发热模型大鼠体温,三者对体温指数( $\text{TRI}_9$ )的影响分别为:( $10.24 \pm 0.83$ ), ( $10.08 \pm 0.47$ ), ( $8.23 \pm 0.64$ )  $\text{cm}^2$ ,与模型组比较,差异具有显著性( $P < 0.05$ );放射免疫结果显示,石油醚组血清 IL-6 含量,下丘脑 cAMP,  $\text{PGE}_2$  含量低于模型组,其差异具有显著性( $P < 0.05$ )。**结论:**九头狮子草水提液,石油醚部位及水部位均具有解热作用,石油醚部位及水部位解热作用强于九头狮子草水提液;石油醚部位的解热作用可能是通过抑制 IL-6 的生成进而阻断  $\text{PGE}_2$ , cAMP 等中枢发热介质,或直接对抗 IL-6 的作用而发挥解热作用。

**[关键词]** 九头狮子草;有效部位;干酵母;解热作用

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0211-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1044.006.html>

**[网络出版时间]** 2012-08-27 10:44

## Study on Antipyretic Effect and its Mechanism of *Peristrophe japonica*

QIN Rong-gui\*, FAN Ju-di, LONG Qing-de, QIN Shuan-mei, ZHOU Mei  
(College of Pharmacy of Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the antipyretic effect and the mechanism of *Peristrophe japonica* by comparing with variances of the antipyretic effect among water extract of *P. japonica*, ligarine fraction and water

**[收稿日期]** 20120503(005)

**[基金项目]** 贵州省科技厅(黔科合 J 字(2008)2275 号);贵阳医学院院基金(合同字第 7 号博士);贵阳医学院院基金(合同字第 K2009-29 号)

**[通讯作者]** \*覃容贵,副教授,博士,从事中药资源及药理研究, Tel:0851-6908218-709, E-mail: qinronggui@hotmail.com

- [10] 赵嘉萍. 解郁汤治疗抑郁症[J]. 四川中医, 1992, 10(8):35.
- [11] Ahokas A J, Kaukoranta J, Wahlbeck W, et al. Estrogen deficiency in severe postpartum depression; successful treatment with sublingual physiologic  $17\beta$ -estradiol; a preliminary study [J]. J Clin Psychiatry, 2010, 62:332.
- [12] 冯异, 田占庄, 陈伯英. 围绝经期和抑郁症[J]. 国外医学:妇幼保健分册, 2004, 15(4):235.
- [13] 刑协强, 谢新年. 抑郁症的中医辨证论治[J]. 医学临床研究, 2009, 20(7):541.
- [14] Peter J, Schmidt, Lynette Nieman, et al. Estrogen replacement in perimenopause related depression: a preliminary report [J]. Am J Obstet Gynecol, 2010, 183(2):414.
- [15] Schneier K, Facchinetti F. Coping style and climacteric symptoms in a clinical sample of postmenopausal women [J]. J Obs Gyna, 2003, 18:229.

[责任编辑 聂淑琴]