

# 天麻乙酸乙酯提取物对行为绝望小鼠的抗抑郁作用

孙晓菲\*, 林青, 代蓉, 解宇环, 周宁娜  
(云南中医学院, 昆明 650500)

**[摘要]** **目的:**研究天麻乙酸乙酯提取物(EtoAc extracts of *Gastrodia elata*, EEG)的抗抑郁作用。**方法:**雄性小鼠随机分为空白对照组, 氟西汀组(20 mg·kg<sup>-1</sup>), 氯丙咪嗪组(20 mg·kg<sup>-1</sup>), EEG低、高剂量组(0.063, 0.126 g·kg<sup>-1</sup>), 每组连续ig给药7 d后, 观察小鼠在悬尾实验(tail suspension test, TST), 强迫游泳实验(forced swimming test, FST)中不动时间的变化情况以及小鼠在开场实验中自主活动的变化情况。**结果:**EEG高剂量(0.126 g·kg<sup>-1</sup>)能明显缩短小鼠悬尾不动时间, EEG高、低剂量(0.126, 0.063 g·kg<sup>-1</sup>)均能明显缩短小鼠强迫游泳不动时间。EEG高、低剂量对小鼠在开场实验中的自主活动次数没有明显影响。**结论:**天麻乙酸乙酯提取物对“行为绝望”小鼠有抗抑郁作用。

**[关键词]** 天麻; 抗抑郁; 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(2012)19-0205-03

## Anti-depression Effect of EtoAc Extracts of *Gastrodia elata* in Mice with Behavioral Despair

SUN Xiao-fei\*, LIN Qing, DAI Rong, XIE Yu-huan, ZHOU Ning-na  
(Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the antidepressant effect of EtoAc extracts of *Gastrodia elata* (EEG). **Method:** Male mice were randomly divided into control group, fluoxetine group (20 mg·kg<sup>-1</sup>), chlorimipramine group (20 mg·kg<sup>-1</sup>) and EEG low, high dose groups (0.063, 0.126 g·kg<sup>-1</sup>). Different groups were intragastrically administrated corresponding medicine once per day for seven days. Then tail suspension test and forced swimming test were used to observe immobility time of mice. And open field test were applied to observe autonomic activity of mice. **Result:** Intragastric administration of EEG significantly reduced immobility time in both forced swimming test (0.126, 0.063 g·kg<sup>-1</sup>) and tail suspension test (0.126 g·kg<sup>-1</sup>) in mice. However, EEG did not affect the number of autonomic activitt of mice in the open-field test. **Conclusion:** The EEG shows an antidepressant-like effect in the despair animal models of depression in mice.

**[Key words]** *Gastrodia elata*; antidepressants; forced swimming test; tail suspension test; open field test

天麻为兰科植物天麻(*Gastrodia elata* Blume)的干燥块茎,是云南省昭通地区优质名贵中药材。有平肝息风、止痉之功效<sup>[1]</sup>。中医临床用于治疗惊风抽搐、风湿痹、头痛、眩晕、胸痹、癫痫等病。近年研究发现天麻具有增智、健脑、延缓衰老的作用<sup>[2]</sup>,在防治脑缺血缺氧尤其是在保护海马区细胞、提高自由基清除剂活性、降低脑内脂质过氧化物产生和调

节氨基酸含量等方面,具有良好的效果<sup>[3-4]</sup>。天麻还是有效的抗焦虑药物<sup>[5-6]</sup>,其乙醇提取物具有抗抑郁作用<sup>[7]</sup>。本室前期实验发现,天麻乙酸乙酯提取物有良好的抗脑缺血再灌注损伤的作用,具减轻自由基损伤,缩小脑梗死体积和改善脑组织病理损伤方面作用。但天麻乙酸乙酯提取物的抗抑郁作用国内外尚未见报道,因此本实验对天麻乙酸乙酯提取物的抗抑郁作用进行了初步研究。

### 1 材料

**1.1 动物** 昆明种小鼠,清洁级,雄性,体重18~22 g,由四川省医学科学院实验动物研究所提

**[收稿日期]** 20111209(017)

**[通讯作者]** \*孙晓菲,硕士,讲师,从事药理学、中药药理学研究, E-mail: xiaofeisun@163.com

供。许可证号 SCXk(川)2004-16。

**1.2 药品与试剂** 天麻(*Gastrodia elata* Blume):购自云南省昭通天麻研究所,经云南中医学院药植鉴定教研室张洁老师鉴定,天麻乙酸乙酯提取部位用聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯(吐温-80)助溶,于临用前配成所需浓度,溶液为淡黄澄明液体;吐温-80(天津市化学试剂三厂,批号 051021),盐酸氟西汀胶囊(法国 Patheon france 公司生产,礼来苏州制药有限公司分装,生产批号 9902A),盐酸氯丙咪嗪片(江苏恩华药业股份有限公司,批号 20091204)乙醇(批号 0502101),乙酸乙酯(批号 0502101),均购自上海申博化工有限公司。

**1.3 仪器及设备** EYELA 旋转蒸发仪(Tokyo Rikakikai Co. LTD.),HH-6 恒温水浴锅(国华电器有限公司),ZDHW 调温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司),小鼠开场实验箱(高 50 cm,长 40 cm,宽 30 cm,划分为 12 个 10 cm × 10 cm 的格子,自制),小鼠悬尾实验观察箱(高 55 cm,长 40 cm,宽 30 cm,自制);小鼠游泳槽(直径 18 cm,水深 10 cm);BI2000 医学图像分析系统,成都泰盟科技有限责任公司。

## 2 方法

**2.1 天麻的提取分离** 取 10 kg 粉碎,用 95% 乙醇浸泡 6 h,连续提取 3 次,减压浓缩得到乙醇醇提取物。所得乙醇醇提取物再用乙酸乙酯萃取,浓缩回收得到乙酸乙酯萃取部分。天麻乙酸乙酯提取物得率 = 天麻乙酸乙酯提取物重/天麻重 × 100% = 126.3 g/10 000 g × 100% = 1.26%。

**2.2 动物分组及处理** 小鼠分笼饲养,明暗周期 12 h/12 h,室温 20 ~ 23 °C,自由饮水和取食。实验均在上午 8:00 ~ 12:00 进行。小鼠适应 1 周后,根据体重分层随机分成 5 组:正常对照组、盐酸氟西汀组(20 mg·kg<sup>-1</sup>)、氯丙咪嗪组(20 mg·kg<sup>-1</sup>)、EEG 高剂量组(0.126 g·kg<sup>-1</sup>,相当于生药 10 g·kg<sup>-1</sup>)、EEG 低剂量组(0.063 g·kg<sup>-1</sup>,相当于生药 5 g·kg<sup>-1</sup>)。分别 ig 给药,每天 2 次,连续 1 周;正常对照组 ig 给予等量的溶媒。

**2.3 小鼠悬尾实验**<sup>[8]</sup> 小鼠末次给药 30 min 后,将小鼠尾末端 1 cm 处用透明胶带固定于悬尾实验观察箱的悬棒上,使小鼠呈倒挂悬空状,头部离箱底 50 cm,为减少对实验的干扰,通过 BI 2000 生物分析系统观察并用秒表记录小鼠 6 min 内的不动时间。

**2.4 小鼠强迫游泳实验**<sup>[9]</sup> 小鼠末次给药 30 min

后,将小鼠放入直径 18 cm,水深 10 cm 的游泳杯中,水温(23 ± 2) °C,放入小鼠使游泳 6 min,适应 2 min,为减少对实验的干扰,通过 BI2000 生物分析系统观察并用秒表记录后 4 min 累计不动的时间。

**2.5 小鼠开场实验**<sup>[10]</sup> 小鼠末次给药后 30 min,将小鼠放入开场实验箱,适应 2 min,为减少对实验的干扰,通过 BI2000 生物分析系统观察并记录后 4 min 内小鼠的水平、垂直活动次数,即爬行格子数和站立次数。

**2.6 数据统计和处理** 数据用以  $\bar{x} \pm s$  的形式表示,采用 SPSS 17.0 统计软件,选用单因素方差分析来检验各组数据之间的差异性。 $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠悬尾实验不动时间的影响** 与空白对照组相比,0.126 g·kg<sup>-1</sup> EEG 能明显缩短小鼠 TST 的不动时间( $P < 0.01$ ),提示 EEG 具有一定的抗抑郁作用。见表 1。

表 1 EEG 对小鼠悬尾不动时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	6 min 累计不动时间/s
空白对照	-	101 ± 36
氟西汀	0.02	35 ± 18 <sup>2)</sup>
氯丙咪嗪	0.02	62 ± 38 <sup>1)</sup>
EEG	0.063	85 ± 27
	0.126	59 ± 22 <sup>2)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.2 EEG 对小鼠强迫游泳实验不动时间的影响** 与空白对照组相比,0.063 g·kg<sup>-1</sup>及 0.126 g·kg<sup>-1</sup> EEG 均能明显缩短小鼠 FST 的不动时间( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ ),提示 EEG 具有一定的抗抑郁作用。见表 2。

表 2 EEG 对小鼠强迫游泳不动时间的影响( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	4 min 累计不动时间/s
空白对照	-	171 ± 31
氟西汀	0.02	145 ± 42 <sup>1)</sup>
氯丙咪嗪	0.02	120 ± 43 <sup>2)</sup>
EEG	0.063	141 ± 43 <sup>1)</sup>
	0.126	113 ± 41 <sup>2)</sup>

**3.3 对小鼠自主活动的影响**,各剂量组小鼠的自主活动与空白组比较无明显差异,表明该药对小鼠自主活动无显著影响。见表 3。

表3 EEG对小鼠开场实验的影响( $\bar{x} \pm s, n=20$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	水平穿越格子数/格	站立次数/次
空白对照	-	$58 \pm 16$	$23 \pm 10$
氟西汀	0.02	$56 \pm 17$	$24 \pm 16$
氯丙咪嗪	0.02	$66 \pm 19$	$30 \pm 17$
EEG	0.063	$61 \pm 23$	$24 \pm 16$
	0.126	$60 \pm 13$	$25 \pm 13$

#### 4 讨论

抑郁症是一种常见的精神病,其典型症状是心情抑郁,消瘦或者体重增加失控,严重失眠,精神恍惚,疲倦,颓废,有负罪感,时有轻生念头。世界卫生组织预计到2020年,抑郁症将成为继冠心病后的第二大疾病负担源。药物治疗仍是抑郁症主要的治疗方法之一,从天然植物中提取抗抑郁有效成分药物越来越引起人们的重视,其具有疗效好、副作用小、适合长期服用及安全可靠等许多优点,如德国生产的路尤泰就为天然植物贯叶连翘的有效成分。因此,在传统中药中寻找抗抑郁的有效药物,逐渐成为人们研究的热点。近期的一些研究显示:如周本宏等人报道天麻乙醇提取物具有抗抑郁的活性, $200, 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 天麻乙醇提取物可以明显缩短小鼠在强迫游泳试验、悬尾试验中不动时间; $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 提取物的效果比阳性对照抗抑郁药氟西汀的作用还强,且对小鼠的自主行为均没有显著的影响。证明天麻醇提取物对抑郁模型小鼠具有显著的抗抑郁作用<sup>[7]</sup>。Chen P J等人也报道天麻可调节DA循环,并可能具有抗抑郁的作用<sup>[11]</sup>。

本实验对天麻乙酸乙酯提取物抗抑郁药效进行了初步筛选,采用了小鼠强迫游泳和悬尾实验的方法,这两种方法是经典的抗抑郁剂评价模型,评价指标是小鼠的不动时间,这反映了小鼠的低落情绪和绝望状态,不动时间可以被大多数临床有效的抗抑郁药和一系列抗抑郁治疗方法所减少。虽然这两种模型对抗抑郁药有较高选择性,但一些具有中枢兴奋作用的药物也可能出现假阳性结果。因此我们用能评价药物是否有中枢兴奋作用的开场实验来排除假阳性的可能,实验结果显示:天麻乙酸乙酯提取物

$0.126, 0.063 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 均能明显对抗两种“行为绝望”模型小鼠的绝望行为,使不动时间缩短,在开场实验中,天麻乙酸乙酯提取物对小鼠自发活动无明显影响,故可排除其假阳性结果的可能性,说明天麻乙酸乙酯提取物对“行为绝望”动物模型有抗抑郁作用。

#### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2005:39.
- [2] 陈颖,常琪,刘新民.天麻对中枢神经系统作用的研究进展[J].中草药,2007,38(6):附4.
- [3] Kim H J, Lee S R, Moon K D. Ether fraction of methanol extracts of *Gastrodia elata*, medicinal herb protects against neuronal cell damage after transient global ischemia in gerbils [J]. *Phytother Res*, 2003, 13(8):909.
- [4] 张艳琼,王晓丹,黄利鸣,等.天麻对中枢神经系统影响的基础研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(4):541.
- [5] Ji Wook Jung, Byung Hoon Yoon, Hye Rim, et al. Anxiolytic-like effects of *gastrodia elata* and its phenolic constituents in mice[J]. *Biol Pharm Bull*, 2006, 29(2) 261.
- [6] 李树蕾.天麻及其酚类化合物对小鼠的抗焦虑作用[J].国外医药:植物药分册,2007(1):35
- [7] 周本宏,李小军,冯琪,等.天麻醇提取物对小鼠的抗抑郁作用[J].中国医院药学杂志,2007,27(11):1525.
- [8] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2):327.
- [9] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2006:646.
- [10] Elliott P J, Chan J, Parker Y M, et al. Behavioral effects of neurotensin in the open field: structure-activity studies[J]. *Brain Res*, 1986, 381(2):259.
- [11] Chen P J, Hsieh C L, Su K P, et al. The antidepressant effect of *Gastrodia elata* Bl. on the forced-swimming test in rats[J]. *Am J Chin Med*, 2008, 36(1):95.

[责任编辑 聂淑琴]