

甘松对动物行为绝望模型的影响

武姣姣¹, 石晋丽^{1*}, 唐民科¹, 赵保胜¹, 郭建友², 游杰舒¹

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 中国科学院心理研究所, 北京 100101)

[摘要] 目的: 观察甘松 95% 乙醇提取物及其不同极性部位对动物行为绝望模型的影响。方法: ICR 小鼠, 雌雄兼用, 分为两批, 每批均设正常组和 5 个治疗组。第 1 批, 治疗组连续 10 d, ig 给予甘松 95% 乙醇提取物 (14.7, 29.3, 48.8, 146.5 mg·kg⁻¹) 和阳性药氢溴酸西酞普兰 (10.0 mg·kg⁻¹); 第 2 批, 治疗组连续 10d, ig 给予甘松的 4 个极性部位 (均为 48.8 mg·kg⁻¹) 和阳性药氢溴酸西酞普兰 (10.0 mg·kg⁻¹)。末次给药后 1h, 用小鼠悬尾及强迫游泳实验进行行为学观察。结果: 甘松 95% 乙醇提取物 (29.3, 48.8, 146.5 mg·kg⁻¹) 能显著降低小鼠悬尾不动时间及强迫游泳不动时间 ($P < 0.05$)。在甘松 4 个极性部位中, 乙酸乙酯部位与正丁醇部位均能显著降低小鼠悬尾不动时间及强迫游泳不动时间 ($P < 0.05$)。结论: 甘松 95% 乙醇提取物有一定的抗实验性抑郁的作用, 其活性部位可能为乙酸乙酯部位与正丁醇部位。

[关键词] 甘松; 抗抑郁; 悬尾实验; 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)07-0205-03

Effects of Nardostachyos Radix et Rhizoma on the Despair Animal Models

WU Jiao-jiao¹, SHI Jin-li^{1*}, TANG Min-ke¹, ZHAO Bao-sheng¹, GUO Jian-you², YOU Jie-shu¹

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of ethanol extract and its four fractions from Nardostachyos Radix et Rhizoma on the despair animal models of depression. **Method:** ICR mice were divided into two batches,

[收稿日期] 20111128(003)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09103-381); 国家科技基础条件平台工作项目(2005DKA21000)

[第一作者] 武姣姣, 在读硕士研究生, 从事中药药效物质基础与中药新药源的开发利用研究; E-mail: underbigtree@sina.com

[通讯作者] * 石晋丽, 教授, E-mail: shijl@vip.sina.com

进一步的深化研究。

[参考文献]

[1] Wenying Yang, Juming Lu, Jianping Weng, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China [J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090.

[2] 林兰. 现代中医糖尿病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 729.

[3] Rerup C C: Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells[J]. Pharmacol Rev, 1970, 22(4): 485.

[4] Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, et al. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological

screening[J]. Pharmacol Res 2005, 52(4): 313.

[5] 李秀钧, 邹云红. 糖尿病是一种炎症反应性疾病? [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2003, 19(4): 251.

[6] 李宏亮, 余叶蓉. 2 型糖尿病患者血管内皮细胞功能异常及其机理研究 [J]. 中华糖尿病杂志, 2004, 12(2): 146.

[7] Senn J J, Klover P J, Nowak I A, et al. Interleukin induces cellular insulin resistance in hepatocytes [J]. Diabetes, 2002, 51(12): 3391.

[8] Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, et al. Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2004, 16(6): 367.

[责任编辑 聂淑琴]

then every batch divided into control and five treatment groups. In the first batch, treatment groups were received ethanol extract at dose of 14.7, 29.3, 48.8, 146.5 mg·kg⁻¹ and citalopram hydrobromide at 10.0 mg·kg⁻¹ for ten days. In the second batch, treatment groups were received four fractions at dose of 48.8 mg·kg⁻¹ and citalopram hydrobromide at 10.0 mg·kg⁻¹ for ten days. 1 h after the last administration, forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST) were conducted for evaluation of behavior. **Result:** 95% ethanol extract (29.3, 48.8, 146.5 mg·kg⁻¹) could significantly reduce the duration of murine immobility ($P < 0.05$). Among four fractions *n*-butanol fraction and ethyl acetate fraction could significantly reduce the duration of murine immobility ($P < 0.05$), and ethyl acetate fraction was better than *n*-butanol fraction. **Conclusion:** Nardostachys Radix et Rhizoma possesses antidepressant effect, *n*-butanol fraction and ethyl acetate fraction could be the effective fractions.

[**Key words**] Nardostachys Radix et Rhizoma; antidepressant; tail suspension test; forced swimming test

甘松 (*Nardostachys jatamansi* DC.) 为败酱科甘松属植物, 分布于我国西藏、青海、甘肃、四川、云南等地, 药用部位为根及根茎。甘松中主要含有倍半萜类化合物, 其它还有单萜类、黄酮类、挥发油类等, 具有抗心律失常、健脾利胃、活血化瘀、镇静、抗惊厥、抗焦虑等药理作用。本课题组前期的预实验结果表明, 甘松及其单体甘松新酮的抗抑郁效果明显, 且不增加小鼠的自主活动⁽¹⁾。为了进一步明确甘松的抗抑郁作用, 并初步筛选出其活性部位, 本实验采用小鼠悬尾和小鼠强迫游泳对甘松 95% 乙醇提取物的抗抑郁作用进行验证, 并对 4 个不同极性部位进行活性筛选。

1 材料

1.1 药物 甘松: 购自四川省阿坝州若尔盖县, 经北京中医药大学中药学院石晋丽教授鉴定为败酱科甘松属甘松 (*Nardostachys jatamansi* DC.) 的根及根茎; 氢溴酸西酞普兰片: 丹麦灵北药厂生产, 西安杨森制药有限公司分装, 批号 2202204, 分装批号 100121952; 羧甲基纤维素钠: 天津市光复精细化工研究所, 分析纯试剂。

1.2 动物 ICR 小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 雌雄各半。北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物许可证编号 SCXK(京)2006-0009。在实验前, 小鼠适应环境 3 d, 自由饮水进食。

2 方法

2.1 受试药物的制备方法

2.1.1 甘松乙醇提取物受试药物的制备 将甘松药材粉碎, 过 40 目筛, 用 95% 的乙醇超声提取 3 次, 每次 45 min, 合并提取液, 减压回收, 得到甘松乙醇提取物浸膏。分别取 293.0, 97.7, 58.6, 29.3 mg 乙醇提取物浸膏, 用 40 mL 的 0.5% CMC-Na 溶解, 得到 4 个不同剂量组甘松乙醇提取物的混悬溶液。

2.1.2 甘松不同极性部位受试药物的制备 取甘松 95% 乙醇提取物浸膏 40 g 加入 400 mL 蒸馏水, 制成混悬溶液, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇 1:1 萃取, 各 3 次, 最后剩余的溶液为水溶性部位。合并萃取液, 回收溶剂, 分别得到石油醚部位浸膏、乙酸乙酯部位浸膏、正丁醇部位浸膏、水溶性部位浸膏。分别取各部位浸膏 97.7 mg, 用 40 mL 的 0.5% CMC-Na 溶解, 得到 4 个不同极性部位的混悬溶液。

2.2 动物分组与给药

2.2.1 甘松 95% 乙醇提取物不同剂量的药效比较 将 120 只小鼠随机分成 6 组, 每组 20 只, 雌雄各半。分别是正常组、甘松 95% 乙醇提取物 14.7, 29.3, 48.8, 146.5 mg·kg⁻¹ 4 个剂量组、阳性对照 (氢溴酸西酞普兰 10.0 mg·kg⁻¹) 组。ig 给药, 给药容积 20 mL·kg⁻¹ 体重, 正常组给予等容量 0.5% CMC-Na。连续给药 10 d, 末次给药 1 h 后, 进行行为学实验。

2.2.2 甘松不同极性部位的药效比较 将 120 只小鼠随机分成 6 组, 每组 20 只, 雌雄各半。分别是正常组、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水溶性部位组 (均为 48.8 mg·kg⁻¹)、阳性对照 (氢溴酸西酞普兰 10.0 mg·kg⁻¹) 组。ig 给药, 给药容积 20 mL·kg⁻¹ 体重, 正常组 ig 等剂量 0.5% CMC-Na。连续给药 10 d, 末次给药 1 h 后, 进行行为学实验。

2.3 小鼠悬尾实验 参照 Steru 方法⁽²⁾ 并稍加改动, 用医用胶带固定住小鼠尾端 2 cm 的部位, 将其倒挂于箱 (30 cm × 30 cm × 25 cm) 中, 头部离箱底约 5 cm, 观察 6 min, 计算后 4 min 内小鼠悬尾的不动时间。

2.4 小鼠强迫游泳实验 参照 Porsolt 方法⁽³⁾ 并稍加改动, 将单只小鼠放入水深 10 cm 的烧杯 (20 cm × 14 cm) 中, 水温 (24 ± 2) °C, 观察 6 min, 计算

后 4 min 内小鼠强迫游泳的不动时间。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 甘松 95% 乙醇提取物的抗抑郁作用 甘松 95% 乙醇提取物能显著降低小鼠的悬尾不动时间和强迫游泳不动时间,并且在给药剂量 29.3, 48.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时效果最好。见表 1。

表 1 甘松 95% 乙醇提取物对小鼠悬尾和强迫游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	悬尾不动 时间/s	强迫游泳不动 时间/s
正常	-	91.1 \pm 37.3	140.0 \pm 40.0
氢溴酸西酞普兰	10.0	40.6 \pm 19.6 ¹⁾	94.0 \pm 31.6 ¹⁾
甘松醇提取物	146.5	36.5 \pm 27.5 ¹⁾	95.9 \pm 35.2 ¹⁾
	48.8	33.0 \pm 20.5 ¹⁾	79.3 \pm 20.1 ¹⁾
	29.3	35.2 \pm 13.6 ¹⁾	75.0 \pm 23.6 ¹⁾
	14.7	58.5 \pm 14.7	115.6 \pm 32.0

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 甘松不同极性部位抗抑郁活性的筛选 甘松乙酸乙酯部位和正丁醇部位均能显著降低小鼠的悬尾不动时间和强迫游泳不动时间。见表 2。

表 2 甘松 4 个极性部位对小鼠悬尾和强迫游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	悬尾不动 时间/s	强迫游泳不动 时间/s
正常	-	84.2 \pm 33.7	118.8 \pm 35.2
氢溴酸西酞普兰	10.0	44.4 \pm 27.7 ¹⁾	78.1 \pm 30.0 ¹⁾
甘松石油醚部位	48.8	73.1 \pm 32.5	105.5 \pm 30.1
甘松乙酸乙酯部位	48.8	36.7 \pm 30.0 ¹⁾	57.5 \pm 28.7 ¹⁾
甘松正丁醇部位	48.8	42.2 \pm 33.2 ¹⁾	63.2 \pm 40.4 ¹⁾
甘松水溶性部位	48.8	80.6 \pm 22.5	114.9 \pm 32.8

4 讨论

行为绝望动物模型主要是指大鼠强迫游泳模型、小鼠强迫游泳模型及小鼠悬尾模型。这一类动物模型具有简单、快速、敏感等特点,常用于抗抑郁药物的初筛^[4-5]。

本实验采用小鼠强迫游泳模型和小鼠悬尾模型这两个经典模型考察了不同剂量的甘松 95% 乙醇提取物及其不同极性部位对小鼠行为绝望模型的影响。实验结果表明,甘松 95% 乙醇提取物在给药剂量 29.3, 48.8 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时效果最好,在此剂量下,可以显著降低小鼠悬尾不动时间和游泳不动时间。甘松 4 个不同极性部位中,乙酸乙酯部位和正丁醇部位效果较好,能显著降低小鼠悬尾不动时间和游泳不动时间。

甘松中的化学成分主要为倍半萜类化合物,极性较小,主要存在于石油醚部位及乙酸乙酯部位⁽⁶⁾,且该类成分具有较强的药理活性,有人从甘松的同科植物宽叶缬草中分出 5 个愈创木烷型倍半萜,其中 3 个具有抗抑郁活性⁽⁷⁾,因而笔者推测乙酸乙酯部位中抗抑郁的活性成分主要为倍半萜类。这种推测的证实尚有待于对甘松抗抑郁的物质基础进行更深入的研究。

[参考文献]

- [1] 李琴,唐民科. 甘松新酮抗抑郁作用及作用机制初探 [D]. 北京:北京中医药大学,2011.
- [2] Steru L, Chermat R, Simon P. The Tail Suspension Test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. *Psychopharmacology*, 1985, 85:367.
- [3] Porsolt R D, Anton G, Blavet N, et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatment [J]. *Euro J Pharmacol*, 1978, 47:379.
- [4] 陆蕊杭,王丽娜. 抑郁平胶囊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):174.
- [5] 赵启铎,舒乐新. 酸枣仁油对行为绝望小鼠模型的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(18):190.
- [6] 张毅,徐丽珍,杨世林. 中药甘松化学成分的研究及天然抗肿瘤活性化合物 (-) zeylenone 全合成和构效关系的研究 [D]. 北京:中国协和医科大学,2006.
- [7] Oshima Y, Matsuoka S, Ohizumi Y. Antidepressant principles of valeriana fauriei roots [J]. *Chemical Pharm Bull*, 1995, 43(1): 169.

[责任编辑 聂淑琴]