

· 药理 ·

## 郁心效的抗抑郁作用及其机制研究

王瑜<sup>1</sup>, 钱令嘉<sup>2\*</sup>, 赵云<sup>2</sup>, 潘勤<sup>3</sup>, 石卿<sup>4</sup>, 张岭<sup>4</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 解放军军事医学科学院, 北京 100850;  
3. 天津中新药业股份有限公司, 天津 300193; 4. 河北联合大学, 河北 唐山 063009)

**[摘要]** 目的: 确认郁心效的抗抑郁作用, 并初步探讨其抗抑郁作用的机制。方法: 小鼠随机分 5 组: 模型组、阳性药物对照组、郁心效低、中、高剂量 (320, 640, 1 280 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 均 ig 7 d, 于末次给药后建立 5-羟色氨酸 (5-HTP) 诱导小鼠甩头和育亨宾小鼠致死增强模型, 观察郁心效对 5-HTP (10 mg·kg<sup>-1</sup>, iv) 诱导小鼠甩头行为和对小鼠皮下注射 (sc) 育亨宾 (35 mg·kg<sup>-1</sup>) 致死增强的影响; 大鼠随机分 6 组: 正常组、模型组、盐酸舍曲林 (10 mg·kg<sup>-1</sup>) 组、郁心效低、中、高剂量 (220, 440, 880 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 建立慢性不可预知性温和应激模型 (CUMS), 造模同时 ig 给药 8 周, 观察郁心效对大鼠糖水偏嗜度、旷场行为和海马中 5-羟色胺 (5-HT), 多巴胺 (DA), 去甲肾上腺素 (NE) 含量的影响。结果: 郁心效可显著增加 5-HTP 诱导的小鼠甩头次数, 对育亨宾诱导的小鼠致死量没有显著影响; 可显著提高 CUMS 大鼠的糖水偏嗜度、旷场行为总评分和海马中 5-HT, DA 的含量。结论: 郁心效具有明确的抗抑郁作用, 其作用机制可能与 5-HT 系统有关。

**[关键词]** 郁心效; 抗抑郁作用; 小鼠甩头实验; 育亨宾致死增强实验; 慢性不可预知温和应激抑郁模型

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0129-04

**[DOI]** CNKI:11-3495/R.20120113.1032.008 **[网络出版时间]** 2012-01-13 10:32

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120113.1032.008.html>

## Preliminary Study on Antidepressant Effect of Yuxinxiao and its Mechanism

WANG Yu<sup>1</sup>, QIAN Ling-jia<sup>2\*</sup>, ZHAO Yun<sup>2</sup>, PAN Qin<sup>3</sup>, SHI Qing<sup>4</sup>, ZHANG Ling<sup>4</sup>

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Academy Of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China;

3. Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Corporation, Tianjin 300193, China;

4. Hebei United University, Tangshan 063009, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the antidepressant effect and mechanism of Yuxinxiao. **Method:** Mice were randomly divided into five groups as follows: the model group, positive control group, Yuxinxiao groups (320, 640, 1 280 mg·kg<sup>-1</sup>), all groups were administered ig for 7 days, 5-hydroxytryptophan (5-HTP) - induced head-twitch and yohimbine-induced lethality tests were used after the last administration to observe the impact of 5-HTP (10 mg·kg<sup>-1</sup>, iv) induced head twitch behavior and yohimbine-induced (35 mg·kg<sup>-1</sup>, sc) lethality in mice; rats were randomly divided into control group, model group, sertraline hydrochloride group (10 mg·kg<sup>-1</sup>), Yuxinxiao groups (220, 440, 880 mg·kg<sup>-1</sup>). The chronic unpredictable mild stress model was established by continuous gavage 8 weeks, the sucrose preference degree, open-field behavior and the content of 5-HT, dopamine (DA) and norepinephrine (NE) in hippocampus were tested to evaluate the impact of Yuxinxiao on CUMS models. **Result:** Yuxinxiao (320, 640, 1 280 mg·kg<sup>-1</sup>, ig) significantly increased the frequency of 5-HTP (10 mg·kg<sup>-1</sup>, iv) induced head-twitch in mice after 7 days of continuous administrations while it did not

**[收稿日期]** 20110921(008)

**[基金项目]** 国家 973 课题计划项目 (2011CB505106)

**[第一作者]** 王瑜, 硕士研究生, 从事药物抗抑郁作用机制研究, Tel:18210283727, E-mail: wangyu19891103@163.com

**[通讯作者]** \* 钱令嘉, 研究员, 博士生导师, 从事心血管病理生理学和应激医学研究, Tel:010-66931392, E-mail: newjia@vip.sina.com

enhance the yohimbine-induced ( $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , sc) lethality in mice. The contents of 5-HT and DA were increased remarkably in hippocampus of the model group treated with high dose of Yuxinxiao ( $880 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) after 8 weeks of continuous administrations compared with model groups. **Conclusion:** Yuxinxiao has a clear antidepressant effect with manner of dose-dependent. The mechanism may be related to the system of 5-HT in central nervous system.

[**Key words**] Yuxinxiao; antidepressant effect; head-twitch tests in mice; yohimbine-induced lethality tests; chronic unpredictable mild stress models

抑郁症是以抑郁为主要症状的一组心境障碍或情感性障碍,即以抑郁心境的自我体现为中心的临床症候群,复发率高,严重危害人类的身心健康,约 15%~20% 的人一生中曾有过抑郁的体验,患病率高达 2%~9%<sup>[1-3]</sup>。郁心效是本实验室根据中医学中“郁证”的理论及实验室前期研究所研制的一种治疗抑郁症的中药复方制剂。本实验室前期通过小鼠悬尾、强迫小鼠游泳和利血平诱发小鼠体温下降实验已初步确定郁心效具有明显的抗抑郁作用,本文将进一步确认郁心效的抗抑郁作用并探讨其可能的作用机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性昆明种小鼠,体重 20~22 g,军事医学科学院动物中心提供;雌性 Wista 大鼠,体重 160~180 g,军事医学科学院动物中心提供,许可证编号 SCXK-(军)2002-001。

**1.2 药物与试剂** 郁心效颗粒是由丹参、石菖蒲、五味子等 5 味药材按一定工艺制备而成,郁心效颗粒含丹参酮 II<sub>A</sub> 不少于  $1.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,由实验室自制,批号为 20101023,给药量按人的给药剂量换算成动物有效剂量;盐酸氟西汀胶囊,礼来苏州制药有限公司,批号 9902A;吗氯贝胺,上海信谊百路达药业有限公司,批号 090101;盐酸舍曲林,辉瑞制药有限公司,批号 1072007;5-羟色胺酸(5-HTP),批号 101018743;帕吉林,批号 101073596;育亨宾,批号 049K1203;Sigma 公司。5-羟色胺(5-HT) ELISA 试剂盒, RB 公司,批号 16091002;去甲肾上腺素(NE) ELISA 试剂盒, RB 公司,批号 16091022;多巴胺(DA) ELISA 试剂盒, RB 公司,批号 17091001。

**1.3 仪器** 玻璃匀浆器,军事医学科学院环境医学研究所;BP221S 型电子天平, Sartorius 公司;Multiskan MK3 酶标仪, Thermo Electron 公司;束缚仓(长 15~19 cm,直径约 5 cm,大小可调且透气的铁质圆桶,自制);旷场(长 100 cm×宽 100 cm×高 40 cm,暗色糙面铁质), Smart 系列小动物行为记录分析系统(西班牙 Panlab 公司),多功能读数仪(美

Thermo 公司)。

## 2 方法

**2.1 5-HTP 诱导甩头行为实验**<sup>[4-6]</sup> 小鼠按体重随机分为 5 组,每组 10 只,分别为模型对照组,阳性药氟西汀对照组( $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),郁心效低、中、高剂量组( $320, 640, 1\ 280 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。各组 ig 给药或给与等容量蒸馏水,每日 1 次,连续 7 d,最后 1 d 各组动物先腹腔注射盐酸帕吉林( $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),1 h 后 ig 给药或蒸馏水,45 min 后再静脉注射 5-HTP( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),15 min 后记录各组小鼠 5 min 内的甩头次数。

**2.2 小鼠育亨宾毒性增强实验**<sup>[7-9]</sup> 小鼠按体重随机分为 5 组,每组 15 只,分别为模型对照组,阳性药吗氯贝胺对照组( $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),郁心效低、中、高剂量组( $320, 640, 1\ 280 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。各组 ig 给药或给与等容量蒸馏水,每日 1 次,连续 7 d,末次给药 1 h 后各组动物皮下注射亚致死量的育亨宾( $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),观察 24 h 后各组小鼠的死亡率。

**2.3 对慢性不可预知温和应激抑郁模型(CUMS)大鼠海马神经递质含量的影响**

**2.3.1 CUMS 模型建立**<sup>[10-12]</sup> 选用 Wistar 大鼠 60 只,体重 160~180 g,按糖水偏爱度随机分为 6 组,分别为空白对照组,模型组,阳性对照组(盐酸舍曲林  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),郁心效低、中、高剂量组( $220, 440, 880 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。每组 10 只。空白对照组 5 只/笼,其他组大鼠均单养。除空白组外,其余各组均接收 8 周的不可预知性刺激,包括倾斜笼子 17 h、束缚 3 h、潮湿笼子 17 h、禁水 16 h 加 1 h 空瓶刺激、成组饲养 17 h、通宵照明、禁食禁水 23 h。根据实验室前期研究结果,造模同时郁心效连续给药 8 周可以显著改善 CUMS 诱导的大鼠快感缺失及自主行为活动减少,故刺激开始后,正常对照组正常饮食饮水,其他组 ig 给药或等容量蒸馏水,每日 1 次。

**2.3.2 糖水偏爱实验** 造模成功后,各组动物禁食禁水 23 h 后测定每只大鼠 1 h 内的 1% 蔗糖水偏爱度。

糖水偏爱度 = 糖水摄入(g) / 总摄入(g) × 100%

**2.3.3 旷场实验** 敞箱由不透明材料制成,底面为100 cm×100 cm的正方形,周壁高40 cm为黑色,底面分为面积均等的25块方格,由小动物行为学分析系统软件测定各组大鼠3 min内穿越格数和直立次数。

**2.3.4 大鼠海马神经递质含量测定** 大鼠断头取脑后冰上剥离海马,称重后按1:10(质量:体积)加入生理盐水匀浆,离心15 min(14 000 r·min<sup>-1</sup>,4℃)取上清,ELISA检测海马匀浆液中神经递质5-HT,NE,DA的水平。

**2.4 统计学处理** 采用SPSS 13.0统计软件处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对5-HTP诱导小鼠甩头行为的影响** 从表1可见,氟西汀组和郁心效低、中、高剂量组均可增加小鼠甩头次数,与模型组比较 $P < 0.05$ 。

表1 郁心效对5-HTP诱导的小鼠甩头行为的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	5 min内甩头数/次
模型对照	-	16.8 ± 6.8
氟西汀	20	43.6 ± 19.3 <sup>1)</sup>
郁心效	320	30.1 ± 8.4 <sup>1)</sup>
	640	34.4 ± 15.5 <sup>1)</sup>
	1280	42.9 ± 13.5 <sup>1)</sup>

注:与模型对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ 。

**3.2 对小鼠育亨宾毒性增强的影响** 注射育亨宾24 h后对照组小鼠死亡1只,吗氯贝胺组死亡11只,郁心效低、高剂量组死亡各2只,中剂量死亡3

只,与模型对照组相比,吗氯贝胺组小鼠死亡率明显升高( $P < 0.05$ ),郁心效不同剂量组小鼠死亡率均没有显著改变。

**3.3 对CUMS大鼠糖水偏嗜度和旷场实验的影响**

与正常对照组相比,模型组大鼠糖水偏嗜度显著降低,在旷场中活动显著减少;与模型组相比,郁心效中、高剂量组和盐酸舍曲林组大鼠糖水偏嗜度显著升高,郁心效高剂量组和盐酸舍曲林组大鼠在旷场中的活动显著增加( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 郁心效对CUMS大鼠蔗糖水偏嗜度的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	蔗糖水偏嗜度/%	旷场实验总评分
正常对照	-	82.22 ± 9.97	118.40 ± 26.31
模型对照	-	62.69 ± 13.56 <sup>1)</sup>	68.70 ± 25.59 <sup>1)</sup>
盐酸舍曲林	10	76.64 ± 12.62 <sup>2)</sup>	121.10 ± 26.77 <sup>2)</sup>
郁心效	220	70.05 ± 12.13	64.40 ± 15.96
	440	73.02 ± 6.94 <sup>2)</sup>	74.30 ± 17.23
	880	75.51 ± 9.09 <sup>2)</sup>	91.90 ± 20.88 <sup>2)</sup>

注:与正常对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表3同)。

**3.4 对CUMS大鼠海马单胺神经递质的影响** 与正常对照组相比,模型组大鼠海马中5-HT,NE,DA含量均显著降低。与模型组相比,郁心效高剂量组和盐酸舍曲林组大鼠海马中5-HT和DA水平显著升高( $P < 0.05$ ),盐酸舍曲林组大鼠海马NE水平明显升高( $P < 0.05$ ),而郁心效各剂量组大鼠海马NE水平均无显著差异。见表3。

表3 郁心效对CUMS大鼠海马单胺神经递质的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	5-HT	NE	DA
正常对照	-	751.15 ± 201.46	311.41 ± 44.16	496.04 ± 129.26
模型对照	-	244.33 ± 72.58 <sup>1)</sup>	262.26 ± 40.04 <sup>1)</sup>	158.21 ± 50.10 <sup>1)</sup>
盐酸舍曲林	10	595.82 ± 138.41 <sup>2)</sup>	304.91 ± 42.08 <sup>2)</sup>	422.21 ± 131.56 <sup>2)</sup>
郁心效	220	298.00 ± 73.85	275.15 ± 54.56	156.60 ± 50.79
	440	324.84 ± 132.22	284.77 ± 26.07	196.81 ± 74.72
	880	522.26 ± 139.65 <sup>2)</sup>	276.26 ± 23.50	336.49 ± 75.31 <sup>2)</sup>

### 4 讨论

抑郁症严重危害人类的身心健康。目前对于抑郁症的治疗,临床用药主要集中于西药抗抑郁药。随着近年来“回归自然”理念的出现,人们开始从中草药中寻找治疗抑郁症的有效药物。目前国内治疗抑郁症应用的中草药有贯叶金丝桃、银杏、柴胡等,

另外还有一些中药复方已在临床上广泛使用,不良反应较小,有很好的发展前景。

郁心效是本实验室根据抑郁症的发病机制和前期研究自主研发的一种抗抑郁中药复方制剂。实验室前期利用小鼠利血平体温下降、小鼠强迫游泳和悬尾实验证明郁心效具有明显的抗抑郁作用<sup>[14]</sup>。

本实验选用了大鼠 CUMS 模型,结果表明郁心效有效剂量范围内能显著提高大鼠糖水偏嗜度和旷场行为总评分,进一步确认了郁心效的抗抑郁作用。

抑郁症发病机制十分复杂,多数人较为认同的是单胺类神经学说,多数药物都是通过调节 5-HT, NE, DA 等脑神经递质的含量而发挥抗抑郁作用,因此本实验利用 5-HTP 诱导的小鼠甩头实验、小鼠育亨宾致死增强实验和大鼠 CUMS 实验研究郁心效的可能作用机制。5-HTP 诱导的小鼠甩头行为常用来初筛抗抑郁药物对 5-HT 系统是否具有活化作用<sup>[15-16]</sup>。小鼠给予 5-HT 的前体物质 5-HTP,再给予 MAO 抑制剂抑制代谢,如果给予选择性 5-HT 重摄取抑制剂后即可看到小鼠特征性反应——甩头行为。实验证明郁心效(320 ~ 1 280 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)可剂量依赖性地增加 5-HTP 诱导的小鼠甩头行为,氟西汀(20 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)也可显著增加 5-HTP 诱导的小鼠甩头次数,提示郁心效抗抑郁活性可能与增强 5-HT 神经系统功能有关。育亨宾可以刺激 NE 的大量的释放,使 NE 神经功能增强,如果与通过抑制 NE 失活或抑制 NE 重摄取而发挥抗抑郁作用的药物同时给予,则机体可以因增加 NE 的浓度而中毒死亡。实验结果显示吗氯贝胺(75 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)可以显著增强育亨宾(35 mg·kg<sup>-1</sup>, ih)的致死率,而郁心效则不能使育亨宾致死增强,说明郁心效不能产生 NE 神经活化作用。CUMS 大鼠海马单胺类神经递质的检测结果显示,郁心效中低剂量(440, 220 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)对大鼠海马 5-HT, NE, DA 均没有显著影响,但其高剂量(880 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)可显著提高模型大鼠海马 5-HT, DA 水平,该药有效剂量范围内对大鼠海马 NE 水平均没有影响,而阳性药物盐酸舍曲林(10 mg·kg<sup>-1</sup>, ig)可显著提高海马 5-HT, NE, DA 的含量,提示郁心效的抗抑郁作用可能具有剂量依赖性,且其可能是通过拮抗脑内 5-HT, DA 的下降而发挥抗抑郁作用,并有研究发现组方中的石菖蒲可以阻断中枢 5-HT 等递质的重摄取而发挥抗抑郁效应<sup>[17]</sup>,但其确切的作用机制还需进一步研究。

#### [参考文献]

[ 1 ] Kessler R C, Berglund P, Demler O, et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication [J]. Arch Gen Psychiatry, 2005, 62(6):593.  
[ 2 ] Yamada M, Higuchi T. Functional genomics and depression research; beyond the monoamine hypothesis

[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2002, 12(3):235.  
[ 3 ] Grippio A J, Johnson A K. Biological mechanisms in the relationship between depression and heart disease [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2002, 26(8):941.  
[ 4 ] Takeuchi H, Yatsugi S, Hatanaka K, et al. Pharmacological studies on YM992, a novel antidepressant with selective serotonin re-uptake inhibitory and 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonistic activity [J]. Eur J Pharmacol, 1997, 329(1):27.  
[ 5 ] David L, Willins, Herbert Y, et al. Direct injection of 5-HT<sub>2A</sub> receptor agonists into the medial prefrontal cortex produces a head-twitch response in rats [J]. J Pharmacol Ther, 1997, 282(2):699.  
[ 6 ] Goodwin G M, Green A R, Johnson P. 5-HT<sub>2</sub> receptor characteristics in frontal cortex and 5-HT<sub>2</sub> receptor-mediated head-twitch behavior following antidepressant treatment to mice [J]. Br J Pharmac, 1984, 83(1):235.  
[ 7 ] Joo P S G, Henk V R, Hemmie H G, et al. A set of behaviour altests predicting and antidepressant activity [J]. Drug Dev Res, 1985, 5(2):291.  
[ 8 ] 蔡兵, 崔承彬, 陈玉华, 等. 中药巴戟天抗抑郁作用的大小鼠模型三级组合测试评价 [J]. 解放军药学报, 2005, 21(5):321.  
[ 9 ] Malik J B. Potentiation of yohimbine-induced lethality in mice; Predictor of antidepressant potential [J]. Drug Develop Res, 1983, 3(4):357.  
[ 10 ] Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited; consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS [J]. Neuropsychobiology, 2005, 52(2):90.  
[ 11 ] Banasr M, Duman R S. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors [J]. Biological Psychiatry, 2008, 64(10):863.  
[ 12 ] 战锐, 武磊, 赵云, 等. 血浆 HSP70 在 CUMS 诱导抑郁样行为过程中的变化规律 [J]. 军事医学, 2011, 35(9):672。  
[ 14 ] 刘卫, 杨志华, 钱令嘉, 等. 郁心效的抗抑郁作用研究 [J]. 中草药, 2007, 38(2):250.  
[ 15 ] O'Neil M F, Moore N A. Animal models of depression: are there any? [J]. Hum Psychopharmacol, 2003, 18(4):239.  
[ 16 ] Paidas M J, Cohen A. Disorders of the central nervous system [J]. Semin Perinatol, 1994, 18(4):266.  
[ 17 ] 李明亚, 李娟好, 庄岚, 等. 石菖蒲几种粗提取物的抗抑郁作用 [J]. 广东药学院学报, 2004, 20(2):142.

[责任编辑 聂淑琴]