

## 开郁胶囊对抑郁动物模型的影响

李雅莉, 赵玲, 魏海峰, 李林\*

(首都医科大学宣武医院药物研究室, 神经变性病教育部重点实验室, 北京 100053)

**[摘要]** **目的:**开郁胶囊是本室自行研制的由 8 种传统中药组成的中药新复方制剂,本研究观察开郁胶囊对数种抑郁动物模型的影响。**方法:**采用 ICR 小鼠随机分为对照组、开郁胶囊低、中、高剂量组(按生药量计为 6.6, 13.2, 26.4 g·kg<sup>-1</sup>)及阳性对照药帕罗西汀组。连续 ig 14 d,于末次给药 1.5 h 后采用小鼠悬尾、强迫游泳、5-羟色胺酸(5-HTP)诱导甩头及利血平拮抗实验动物模型,评价开郁胶囊的抗抑郁作用。**结果:**与对照组相比,开郁胶囊中、高剂量组能显著缩短小鼠悬尾不动时间( $P < 0.05$ );开郁胶囊高剂量组显著增加 5-HTP 诱导的小鼠甩头次数( $P < 0.01$ ),缩短甩头潜伏期( $P < 0.05$ )。注射利血平后动物出现利血平化,即眼睑下垂、体温下降及活动抑制;开郁胶囊中、高剂量 ig 14 d,可改善利血平化小鼠的眼睑下垂及活动抑制( $P < 0.01$ ),对体温下降亦有显著的拮抗作用( $P < 0.01$ )。**结论:**开郁胶囊对拟抑郁症小鼠模型具有明显的拮抗作用,其作用机制可能与增强 5-羟色胺能和去甲肾上腺素能神经功能有关。

**[关键词]** 抑郁症;悬尾;强迫游泳;利血平;5-羟色胺;去甲肾上腺素;开郁胶囊

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0182-04

## Effects of Kaiyu Capsule on Depression-like Animal Models

LI Ya-li, ZHAO Ling, WEI Hai-feng, LI Lin\*

(Department of Pharmacology, Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Key Laboratory for Neurodegenerative Diseases of Ministry of Education, Beijing 100053, China)

**[Abstract]** **Objective:** Kaiyu capsule is a new compound preparation which consists of 8 traditional Chinese herbs. The purpose of the study was to investigate the effects of Kaiyu capsule on depression-like animal models. **Method:** ICR mice were randomly allocated to five groups: control, Kaiyu capsule low, middle and high dose groups (6.6, 13.2, 26.4 g·kg<sup>-1</sup> accordingly), and Paroxetine (positive control). After intragastric administration for 14 d, the antidepressant effect of Kaiyu capsule was evaluated by using mice tail suspension test, mice forced swimming test, 5-hydroxytryptophan (5-HTP)-induced head-twitches and reserpine reversal model in mice. **Result:** Compared with control group, the middle and high doses of Kaiyu capsule significantly decreased the accumulative immobility time in mice tail suspension test ( $P < 0.05$ ). High dose Kaiyu capsule obviously increased the head-twitching number induced by 5-HTP ( $P < 0.01$ ), and shortened the latency period ( $P < 0.05$ ). After sc reserpine, the mice appeared physical signs such as blepharoptosis, akinesia and hypothermia. The middle and high doses of Kaiyu capsule significantly ameliorated the blepharoptosis and akinesia ( $P < 0.01$ ), and decreased the range of hypothermia in reserpine-induced model mice ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Kaiyu capsule has the significant antidepressant effect, and the mechanisms may be related to the enhancement of serotonergic and noradrenergic functions.

**[收稿日期]** 20101229(008)

**[基金项目]** 北京市新医药学科群建设项目(XK100270569)

**[第一作者]** 李雅莉,主管技师,从事神经药理学研究,Tel:010-83198881

**[通讯作者]** \*李林,药理学教授,从事神经药理学,中药药理学研究,Tel:010-83198886, E-mail:linli97@hotmail.com

[ **Key words** ] depression; tail suspension; forced swimming; reserpine; 5-hydroxytryptamine; noradrenaline; Kaiyu capsule

抑郁症是一种以显著而持久的心境低落为主要特征的综合征,表现为情绪低落、自责、厌生、失落、烦躁、沮丧、紧张和情绪及精神失常等诸多精神生理不适症状。目前在我国有超过2 600万抑郁症患者,在自杀和自杀未遂的人群中抑郁症的患者占50%~70%,严重地影响了社会发展与安定。抑郁证属于中医“郁证”范畴,多因情志所伤或素体偏弱,致气机失和,脏腑气血失调所致<sup>[1]</sup>。因此近年来中药抗抑郁实验也成为了研究热点<sup>[2-3]</sup>。

开郁胶囊是本室自行研制的中药新复方制剂,由黄芪、石菖蒲、柴胡、升麻、山茱萸、合欢皮、巴戟天及黄连8味中药组成,具有补益肝气、化痰解郁的功效。本文采用经典抗抑郁药物的高选择性动物模型小鼠尾悬挂试验、强迫游泳试验、5-羟色胺酸诱导的甩头模型及利血平拮抗试验对开郁胶囊的抗抑郁作用进行研究,为临床应用和进一步的开发研究打下基础。

## 1 材料

**1.1 动物** ICR小鼠,体重(18±2)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号SCXK(京)2002-0003。

**1.2 药品及试剂** 开郁胶囊,由本室自制。阳性对照药盐酸帕罗西汀片,由中美天津史克制药有限公司提供,批号04050011。5-羟色胺酸(5-hydroxytryptophan, 5-HTP),购自Sigma公司;利血平注射液,1 g·L<sup>-1</sup>,购自上海复旦复华药业有限公司。

## 2 方法

**2.1 开郁胶囊的制备** 黄芪、石菖蒲、柴胡、升麻、山茱萸、合欢皮、巴戟天和黄连购自北京同仁堂药店。黄芪水煎后过滤、浓缩;其余7味药物水煎、过滤、浓缩后进行乙醇沉淀,冷藏,过滤;滤液减压回收乙醇后加入黄芪浓缩液,继续减压浓缩成清膏,干燥得到浸膏;浸膏粉碎,过80目筛,加入适量糊精,充分混匀,制成颗粒,干燥,装胶囊。

**2.2 分组与给药** 小鼠随机分为5组:对照组(仅给蒸馏水)、开郁胶囊低、中、高剂量组(按生药量计为6.6,13.2,26.4 g·kg<sup>-1</sup>)、帕罗西汀组(3.3 mg·kg<sup>-1</sup>),按剂量分别给各组小鼠ig 14 d。

**2.3 悬尾实验** 小鼠末次给药1.5 h后,将小鼠尾

端2 cm的部位贴在一根水平木棍上,使动物成倒挂状态,其头部离台面约5 cm,用间隔板隔开相邻动物的视线。判断标准:小鼠被动悬挂期间,无任何活动时,定为不动状态。观察6 min,记录后5 min内小鼠的不动时间<sup>[4]</sup>。

**2.4 强迫游泳实验** 小鼠末次给药1.5 h后,将小鼠置于玻璃器皿中,水深14 cm,水温(25±2)℃,观察6 min,记录后4 min内小鼠累加不动状态时间。不动时间判定:小鼠漂浮在水面,不努力爬出容器,仅做一些必须保持其头部在水面的动作<sup>[5]</sup>。

**2.5 5-HTP诱导小鼠甩头实验** 小鼠末次给药1.5 h后,ip 120 mg·kg<sup>-1</sup>5-HTP,观察记录20 min内小鼠甩头潜伏期和甩头次数<sup>[6]</sup>。

**2.6 利血平拮抗实验** 小鼠末次给药1.5 h后,sc 2 mg·kg<sup>-1</sup>利血平,1.5 h后将小鼠放于支架上观察15 s,对各组动物进行上睑下垂及运动不能状况的评分。上睑下垂评分标准:闭眼为4分,3/4闭眼为3分,1/2闭眼为2分,不闭眼为0分<sup>[3]</sup>。运动不能评分标准:将动物放于直径7.5 cm的圆形白纸的中央观察,测量各组动物僵直持续的时间,僵直持续时间大于60 s为5分,在30~60 s为4分,在10~30 s为3分,在5~10 s为1分,小于5 s为0分。注射利血平4 h后将温度计探头插入小鼠肛门内1.5~2 cm处测量肛温,连续检测肛温8 h至给药后12 h,比较给药组及对照组肛温的差异<sup>[7]</sup>。

**2.7 数据处理** 组间样本均数比较使用SPSS 11.5软件进行单因素方差分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠悬尾不动时间的影响** 小鼠在悬尾模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为。与空白对照组相比,给予中、高剂量开郁胶囊(13.2,26.4 g·kg<sup>-1</sup>)在悬尾模型中能明显缩短小鼠不动时间( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ ),显示开郁胶囊具有减轻小鼠绝望行为、抗抑郁作用(表1)。

**3.2 对小鼠强迫游泳不动时间的影响** 小鼠在强迫游泳模型中出现的不动状态也反映了动物的绝望行为,可以模拟人类的抑郁状态。与空白对照组强迫游泳不动时间(118±43) s相比,给予开郁胶囊后

表 1 开郁胶囊对小鼠悬尾不动时间的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	悬尾不动时间/s
空白对照	-	14	107.1 ± 49.4
开郁胶囊	6.6	13	74.5 ± 49.0
	13.2	13	61.5 ± 29.4 <sup>2)</sup>
	26.4	12	67.7 ± 42.9 <sup>1)</sup>
帕罗西汀	3.3 × 10 <sup>-3</sup>	13	68.5 ± 31.3 <sup>1)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01。

各试验组动物的强迫游泳时间(96 ± 39)s 有一定的下降趋势,但差异无统计学意义。

**3.3 对 5-HTP 诱导的小鼠甩头模型的影响** 小鼠 ip 120 mg·kg<sup>-1</sup> 5-HTP 后,可诱发小鼠甩头。开郁胶囊高剂量能够明显增加 5-HTP 诱导的小鼠甩头次数(P < 0.01),并且缩短甩头潜伏期(P < 0.05)。见表 2。

表 2 开郁胶囊对 5-HTP 诱导的小鼠甩头的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	甩头潜伏期/s	甩头数/次
5-HTP 模型	-	556.5 ± 379.5	6.58 ± 4.92
开郁胶囊	6.6	384.3 ± 134.5	9.00 ± 5.02
	13.2	396.3 ± 262.2	10.00 ± 7.00
	26.4	251.6 ± 73.6 <sup>1)</sup>	16.17 ± 8.82 <sup>2)</sup>
帕罗西汀	3.3 × 10 <sup>-3</sup>	145.7 ± 47.8 <sup>2)</sup>	37.83 ± 8.72 <sup>2)</sup>

注:与 5-HTP 模型组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01。

表 4 开郁胶囊对利血平诱导的小鼠体温下降的拮抗作用( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	体温下降值/°C								
			4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h	11 h	12 h
利血平模型	-	13	5.6 ± 1.8	6.9 ± 1.7	7.4 ± 2.1	8.8 ± 1.8	8.9 ± 2.0	9.9 ± 1.6	10.0 ± 1.4	10.4 ± 1.6	11.0 ± 1.9
开郁胶囊	6.6	12	3.8 ± 1.2 <sup>1)</sup>	5.0 ± 1.3 <sup>2)</sup>	6.2 ± 1.4	6.8 ± 1.2 <sup>2)</sup>	6.9 ± 1.6 <sup>1)</sup>	8.3 ± 1.6 <sup>1)</sup>	8.3 ± 1.4 <sup>2)</sup>	8.2 ± 2.0 <sup>2)</sup>	9.1 ± 3.2
	13.2	12	1.7 ± 1.3 <sup>2)</sup>	1.6 ± 1.6 <sup>2)</sup>	2.0 ± 1.5 <sup>2)</sup>	2.9 ± 1.6 <sup>2)</sup>	3.5 ± 1.9 <sup>2)</sup>	4.2 ± 2.0 <sup>2)</sup>	4.3 ± 2.5 <sup>2)</sup>	4.6 ± 2.5 <sup>2)</sup>	5.7 ± 3.2 <sup>2)</sup>
	26.4	13	1.3 ± 0.8 <sup>2)</sup>	1.6 ± 1.2 <sup>2)</sup>	2.4 ± 1.7 <sup>2)</sup>	3.2 ± 2.0 <sup>2)</sup>	4.2 ± 1.8 <sup>2)</sup>	4.1 ± 1.9 <sup>2)</sup>	5.2 ± 2.0 <sup>2)</sup>	5.9 ± 2.6 <sup>2)</sup>	6.2 ± 2.8 <sup>2)</sup>
帕罗西汀	3.3 × 10 <sup>-3</sup>	12	1.3 ± 0.5 <sup>2)</sup>	1.6 ± 0.9 <sup>2)</sup>	2.2 ± 1.0 <sup>2)</sup>	2.5 ± 0.9 <sup>2)</sup>	3.4 ± 1.0 <sup>2)</sup>	3.9 ± 1.6 <sup>2)</sup>	4.6 ± 1.7 <sup>2)</sup>	4.7 ± 2.0 <sup>2)</sup>	5.4 ± 1.8 <sup>2)</sup>

抑郁动物模型对其进行药效学研究,旨在为中医药多靶点治疗抑郁症提供思路与方法。小鼠悬尾实验和绝望游泳实验是根据环境因素致病学说,利用绝望行为建立的经典小鼠抑郁模型<sup>[8]</sup>,用于抗抑郁药物药效的初步评价。我们的研究表明:中、高剂量开郁胶囊能够明显缩短小鼠的悬尾不动时间,且有降低强迫游泳模型小鼠在水中绝望不动的持续时间的趋势,提示该药具有一定的抗抑郁作用。由于两个实验中,小鼠脑内多种神经递质和受体的变化

**3.4 对利血平小鼠模型的影响** 小鼠在 sc 2 mg·kg<sup>-1</sup> 利血平 1.5 h 后出现上睑下垂、肢体僵直的状态,注射 4 h 后出现体温持续下降的症状。给予中、高剂量开郁胶囊后,小鼠的闭眼程度显著减少、僵直状态评分显著减低(P < 0.01,表 3);开郁胶囊 3 个剂量均能使小鼠体温下降的幅度减轻(P < 0.05, P < 0.01,表 4)。

表 3 开郁胶囊对利血平诱导的小鼠闭眼程度和僵直状态的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	n	闭眼程度/分	僵直状态/分
利血平模型	-	13	2.38 ± 1.33	3.69 ± 1.94
开郁胶囊	6.6	12	1.50 ± 1.12	2.08 ± 2.33
	13.2	12	0.42 ± 0.95 <sup>2)</sup>	0.42 ± 0.86 <sup>2)</sup>
	26.4	12	0.00 ± 0.00 <sup>2)</sup>	0.42 ± 0.86 <sup>2)</sup>
帕罗西汀	3.3 × 10 <sup>-3</sup>	12	0.50 ± 1.12 <sup>2)</sup>	0.25 ± 0.43 <sup>2)</sup>

注:与利血平组比较<sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01(表 4 同)。

#### 4 讨论

开郁胶囊是本室自行研制的中药复方新药,由 8 味中药组成。其中黄芪具有补气固表之功效;柴胡归肝、胆经,可舒肝升阳;升麻升举阳气;山茱萸补益肝肾;合欢皮解郁安神;巴戟天补肾阳,强筋骨;石菖蒲开窍豁痰,醒神益智;黄连清热燥湿。全方综合,共奏补益肝气,化痰解郁之功效。本试验采用了

并不一致,这可能是药物在强迫游泳模型中数据未出现明显统计学意义的原因。

单胺类神经递质假说在抑郁症的发病机制中占有重要地位,认为脑内单胺类递质缺乏或相对不足导致抑郁症;提高脑内单胺递质水平,可治疗抑郁症。去甲肾上腺素(NE)假说和 5-羟色胺(5-HT)假说得到普遍的认同。给予 5-HT 的前体 5-HTP 后,转运到脑内增加外源性 5-HT,可产生甩头行为。该模型常用于筛选作用于中枢 5-HT 能神经的抗抑郁药

物。本研究结果表明大剂量开郁胶囊可增强 5-HTP 诱导的小鼠甩头行为,并可缩短甩头潜伏期,这提示其抗抑郁作用机制可能与增强脑内 5-HT 能神经系统功能有关。

利血平是一种囊泡再摄取抑制剂,它使递质留在囊泡外,易被单胺氧化酶降解,从而使儿茶酚胺(去甲肾上腺素、肾上腺素、多巴胺和 5-HT)耗竭,引起行为和生理上的变化<sup>[9]</sup>。经利血平处理的动物出现上眼睑下垂、体温下降及强直症状,预先用三环抗抑郁药及单胺氧化酶抑制剂处理,能拮抗上眼睑下垂及体温下降的症状。事实上此实验包含三方面独立的生物学检测,因为利血平引起的上眼睑下垂、体温下降及强直可分别被  $\alpha$ -肾上腺素能或 5-HT 能激动剂、 $\beta$ -肾上腺素能激动剂及多巴胺能激动剂所拮抗。在本研究中,中、高剂量开郁胶囊能显著降低模型小鼠上睑下垂的闭眼程度,提示其作用机制可能与激动  $\alpha$ -肾上腺素能作用相关。开郁胶囊 3 个剂量均可减小利血平引起的体温下降幅度,提示该药也可通过激动  $\beta$ -肾上腺素能神经发挥作用。在改善强直状态方面,中、高剂量开郁胶囊可明显减轻僵直程度,提示该药物可能在某种程度上提高多巴胺能神经的活性。

综上所述,开郁胶囊可以缓解环境应激因素、药物诱导引起的抑郁症状,其机制可能与增强脑内 5-HT、NE 神经系统功能有关。该药已获得中国发明专利授权,具有良好的开发应用前景。但尚需进一步明确该药抗抑郁作用的机制。

#### [参考文献]

[1] 郭小青,张淑珍,刘瑶,等. 抑郁症中医辨证分型的探

讨[J]. 中外健康文摘:医药学刊,2008,5(1):106.

[2] 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.

[3] 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.

[4] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. *Psychopharmacology*, 1985, 85(3): 367.

[5] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1977, 229(2): 327.

[6] Corne S J, Pickering R W, Warne B T. A method for assessing the effect of drugs on the central action of 5-hydroxytryptamine [J]. *Br J Pharmacol*, 1963, 20:106.

[7] 周兰兰,马传庚,江勤,等. 一种白僵菌代谢产物提取物对利血平拮抗实验的影响[J]. 中国行为医学科学,2004,13(2):129.

[8] Posser T, Kaster M P, Barauma S C, et al. Antidepressant-like effect of the organoselenium compound ebselen in mice: evidence for the involvement of the monoaminergic system [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 602(1):85.

[9] Brugge K L, Hingtgen J N, Aprison M H, et al. Potentiated 5-hydroxytryptophan induced response suppression in rats following chronic reserpine [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1987, 26(2):287.

[责任编辑 聂淑琴]