

# 百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内单胺类神经递质的影响

管家齐<sup>\*</sup>, 孙燕, 陈文东<sup>1</sup>

(浙江中医药大学药学院, 杭州 310053; 1. 杭州市第三人民医院, 杭州 310009)

[摘要] 目的: 观察百合地黄汤对小鼠孤养加慢性温和不可预知应激(CUMS)抑郁模型的影响。方法: 以孤养加慢性温和不可预知应激所致抑郁症小鼠为模型, 灌服百合地黄汤 21 d, 以荧光分光光度法测定脑组织中单胺类神经递质多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)含量。结果: 与模型组相比, 高剂量百合地黄汤可显著增加脑组织内单胺类神经递质 DA、5-HT 的含量( $P < 0.01$ ); 低剂量组能有效增加 5-HT 含量( $P < 0.05$ )。结论: 百合地黄汤能显著增加脑组织内单胺类神经递质 DA、5-HT 含量。提示百合地黄汤有很好的抗抑郁作用, 其机制可能是通过增加脑内单胺类递质含量来实现。

[关键词] 百合地黄汤; 抑郁症

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0131-03

对于抑郁症的治疗, 国外以心理治疗结合药物治疗。我国则以药物治疗为主。由于许多西药具有副作用大、费用高等缺陷, 中药治疗常常为临床提供另外一种途径。中医药在防治抑郁症方面有着丰富的经验, 药物多以养心安神、补益心脾、滋补肝肾为主。其中具有抗抑郁活性的中药复方已成为比较受关注的领域<sup>[1]</sup>。

百合地黄汤方出张仲景《金匱要略》, 是治疗百合病专用方, 原书云: “百合病者, 百脉一宗, 悉致其病也。意欲食复不能食, 常默然。欲卧不能卧, 欲行不能行, 饮食或有美时, 或有不用闻食臭时, 如寒无寒, 如热无热, 口苦, 小便赤, 诸药不能治, 得药则剧吐利, 如有神灵者, 身形如和, 其脉微数”<sup>[2]</sup>。

百合病的症状与现代医学上的“抑郁症”症状比较相似, 临床上用百合地黄汤或者其加减方来治疗抑郁症也取得很好的疗效<sup>[3-6]</sup>。其抗抑郁的现代药理研究较少, 笔者观察了百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内单胺类神经递质含量的影响, 探讨其抗抑郁作用的药理基础。

## 1 材料

### 1.1 动物

健康昆明小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 雌雄各半, 浙江中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 SYXK

(浙) 2007-003。首先用 Open-field 法做行为学评分, 选择得分相近的 58 只。

**1.2 药物** 百合地黄汤煎液(百合和生地用量比例为 4:3, 水煮浓缩为按生药量计  $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 备用。百合、生地黄由浙江中医药大学门诊部提供, 经浙江中医药大学资源与鉴定教研室黄真教授鉴定为正品)。盐酸阿米替林片(常州四药制药有限公司, 批号 0709222)。盐酸多巴胺(DA, 中国药品生物制品检定所, 编号 100070-200405); 5-羟色胺盐酸盐(5-HT, 中国药品生物制品检定所, 编号 111656-200401)。

**1.3 器材** 电子分析天平(上海精密仪器仪表有限公司生产); DY89-I 电动玻璃匀浆机(宁波新芝生物科技股份有限公司); 荧光分光光度计(上海精密科学仪器有限公司 P60CRT), GL-20A 全自动高速冷冻离心机(湖南仪器仪表总厂离心机厂)。

## 2 方法

**2.1 分组** 将小鼠随机分为 5 组, 对照组、模型组、阿米替林组( $0.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 百合地黄汤高、低剂量组( $24, 6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。对照组每笼饲养 5 只, 分 2 笼饲养, 其余各组每笼养 1 只。

**2.2 造模与给药** 小鼠抑郁动物模型为孤养加慢性温和不可预知应激模型。造模遵从文献方法<sup>[7-9]</sup>, 并加以改进。由于集体对同种强度的单一应激源易产生耐受性, 因此本实验运用多种不可预知的随机方式每天 1 次交替刺激小鼠 21 d, 应激源包括: 禁食 4 h, 禁水 24 h, 夹尾 60 s, 45 °C 热刺激 5 min, 悬吊 5 min, 昼夜颠倒, 4 °C 冷刺激 5 min。平均每种刺激各 3 次。同时配合单笼饲养。造模同时, 百合地黄汤

[收稿日期] 20100226(001)

[基金项目] 浙江省中医药管理局项目(64204038)

[通讯作者] \* 管家齐, 研究方向: 临床中药学, Tel: 13067776450, 0571-86613631, E-mail: guanjq99@163.com

高剂量组灌胃给予  $24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  百合地黄汤煎液, 连续 21 d; 百合地黄汤低剂量组 ig 给予  $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  的百合地黄汤煎液, 连续 21 d; 阿米替林组 ig 给予阿米替林  $0.01 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 连续 21 d。模型组则 ig 给予等体积 0.9% 生理盐水, 连续 21 d。对照组实验过程中不给予任何刺激, 仅 ig 给予等体积 0.9% 生理盐水, 连续 21 d。

**2.3 试剂配制** DA 荧光测定试剂: 酸性正丁醇 (500 mL 重蒸正丁醇中加入 0.85 mL 浓盐酸, 充分振荡混匀);  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲液 (在  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$  32 mL 中加入  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_4$  68 mL, 充分混匀后调 pH 至 6.45); 4% EDTA (调 pH 至 6.5); 碘试剂 (NaI 4.8 g, I 20.25 g, 加双蒸水至 100 mL 混匀溶解);  $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaOH}$ ,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$  和  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ ; DA 标准液 (按游离胺计算, 用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 配成  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度, 冰冻储存。用前用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$  稀释成  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ); 45%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 。

5-HT 荧光测定试剂: 酸性正丁醇 (同上)、正庚烷、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$  和  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ ; 1% 半胱氨酸 (存放于棕色瓶内保存); 8 mg/100 mL 的 OPT (用浓 HCl 配制, 放于棕色瓶内, 冰箱保存); 0.02%  $\text{NaIO}_4$  (放置于棕色瓶内保存); 5-HT 标准液 (按游离胺计算, 用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 配成  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  贮备液, 冰冻保存。临用时用  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的稀 HCl 稀释成  $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

**2.4 指标测定** 末次给药后 24 h, 迅速断头取出大脑组织, 放于称量纸上称重, 求得脑组织净重。然后按 1:30 的比例放入装有酸性正丁醇溶液的匀浆器中, 制备组织匀浆。将组织匀浆倒入具塞离心管中, 振荡 5 min,  $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取适量的正丁醇上清液进行提取, 并以化学荧光法测定脑组织中单胺类神经递质 DA 和 5-HT 的含量。

设  $X$  为递质含量, 则

$$X = \frac{\text{样品管荧光读数} - \text{空白管荧光读数}}{\text{内标管荧光读数} - \text{样品管荧光读数}} \times \text{所加标准品量}$$

$$(\text{ng})^* \times \frac{1}{\text{组织湿重}(\text{g})} \times \frac{\text{正丁醇体积}(\text{mL})}{\text{正丁醇测定体积}(\text{mL})} = (\text{ng/g})$$

注: \* 加入标准品量, DA 为 100 ng; 5-HT 为 200 ng。

\*\* 测定时取正丁醇上清液, DA 为 1.5 mL, 5-HT 为 1.0 mL。

**2.5 数据处理** 结果用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS13.0 统计软件进行 LSD- $t$  检验,  $P < 0.05$  为有显著差异。

### 3 结果

**3.1 对抑郁模型小鼠脑内 DA 含量的影响** 结果见表 1。与正常对照组相比, 模型组脑内 DA 含量显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比百合地黄汤高剂量组和阿米替林组脑内 DA 含量显著增加 ( $P < 0.05$ )。

表 1 百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内 DA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	DA / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$
正常对照	10	-	840.43 $\pm$ 82.63
模型	12	-	382.51 $\pm$ 128.42 <sup>1)</sup>
阿米替林	12	0.01	569.08 $\pm$ 151.22 <sup>2)</sup>
百合地黄汤	12	24	553.20 $\pm$ 160.62 <sup>2)</sup>
	12	6	403.46 $\pm$ 154.74

注: 与正常对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组相比<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 同)。

**3.2 对抑郁模型小鼠脑内 5-HT 含量的影响** 结果见表 2。与正常对照组比较, 模型组脑内 5-HT 含量显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比百合地黄汤高、低剂量组和阿米替林组脑内 5-HT 含量均显著增加 ( $P < 0.01$ )。

表 2 百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内 5-HT 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	5-HT / $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$
正常对照	10	-	882.34 $\pm$ 377.08
模型	12	-	386.28 $\pm$ 176.81 <sup>1)</sup>
阿米替林	12	0.01	654.41 $\pm$ 137.67 <sup>2)</sup>
百合地黄汤	12	24	649.52 $\pm$ 98.53 <sup>3)</sup>
	12	6	572.34 $\pm$ 114.76 <sup>2)</sup>

### 4 讨论

西医认为, 抑郁症是指以情绪低落、思维迟缓并伴有兴趣减低、主动性下降等精神运动性迟滞症状为主要临床表现的一类心境障碍综合症。其发病机制至今未明确阐明, 但大量实验研究表明 5-HT 等单胺类神经递质含量改变与抑郁症有密切关系。

1965 年 Schildkraut 和 Bunney 等几乎同时提出抑郁症发病的“单胺假说”。单胺递质假说认为, 抑郁症的生物学基础是中枢神经系统突触间隙单胺类神经递质水平或功能下降, 药理学的研究也显示, 提高中枢神经系统胺类神经递质功能或提高它们在突触间隙的浓度的药物都有改善情绪或治疗抑郁症状的作用。目前发现主要的单胺类递质有 5-HT, DA

等<sup>[10]</sup>。

百合地黄汤出自张仲景《金匱要略》“百合狐惑阴阳毒病脉证治第三”此方由百合七枚, 生地黄汁一升组成。方中百合润肺清心, 益气安神; 生地益心营, 清血热, 配伍百合, 共成润养心肺、凉血清热之剂。

慢性轻度不可预知应激模型也是应激模型的一种, 多用于抗抑郁药物的筛选及抑郁症病理生理机制的研究。本实验结果百合地黄汤高剂量给药组明显增加了 DA 和 5-HT 含量 ( $P < 0.01$ ); 另外, 百合地黄汤低剂量组和阿米替林组均能有效增加 5-HT 的含量 ( $P < 0.05$ )。提示百合地黄汤能较好地改善抑郁模型小鼠的抑郁状态, 起到干预作用, 确切机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 崔利坤, 谢卫红. 抑郁症的临床亚型及治疗[J]. 临床荟萃, 2004, 19(13): 765.  
[2] 汉·张仲景. 金匱要略[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1963: 8.

[3] 徐文君, 吴国伟, 胡云英. 百合地黄汤加减治疗老年抑郁症 32 例[J]. 浙江中西医结合杂志, 2001, 11(3): 157.  
[4] 湖南医科大学编委会. 精神科评定量表手册[S]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998: 121.  
[5] 白国生. 百合地黄汤加味治疗更年期忧郁症 20 例[J]. 江苏中医, 1995, 16(8): 13.  
[6] 李运兰. 百合地黄汤加味治疗更年期综合征 60 例[J]. 新中医, 2001, 33(1): 63.  
[7] Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation[J]. Psychopharmacology, 1997, 134(4): 319.  
[8] 许晶, 李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及其评价[J]. 中国行为医学科学, 2003, 12(1): 14.  
[9] Porsolt R D. Animal models of depression: Utility for transgenic research[J]. Rev Neurosci, 2000, 11(1): 53.  
[10] 马允香. 抑郁症神经生物学机制研究进展[J]. 河北医科大学学报, 2006, 27(6): 594.

[责任编辑 聂淑琴]