

# 解郁丸抗焦虑及催眠作用的实验研究

马 荣<sup>1\*</sup>, 姚海燕<sup>2</sup>, 库宝善<sup>2</sup>, 钱瑞琴<sup>2</sup>

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 北京大学医学部, 北京 100083)

[摘要] 目的: 研究解郁丸的抗焦虑及催眠作用。方法: 采用小鼠高架十字迷宫实验、应激导致孤养小鼠体温升高实验评价解郁丸的抗焦虑活性; 戊巴比妥钠阈下催眠剂量实验和延长戊巴比妥钠睡眠时间实验评价其与戊巴比妥钠的协同作用。结果: 解郁丸能增加小鼠在开臂内运动时间百分率和抑制应激所致孤养小鼠的体温升高, 在小鼠高架十字迷宫与应激导致孤养小鼠体温升高模型上显示出抗焦虑作用; 解郁丸对小鼠自主活动无影响, 表明其在抗焦虑的剂量下无镇静的副作用。同时解郁丸亦能提高小鼠翻正反射消失数, 增加小鼠入睡率; 与戊巴比妥钠协同明显延长小鼠睡眠时间。结论: 解郁丸有一定的抗焦虑及催眠作用。

[关键词] 解郁丸; 抗焦虑作用; 催眠作用; 高架十字迷宫模型

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)06-0050-04

## The Experimental Research on Anxiolytic and Hypnogenetic Effects of Jieyuwan

MA Rong<sup>1</sup>, YAO Hai-yan<sup>2</sup>, KU Bao-shan<sup>2</sup>, QIAN Rui-qin<sup>2</sup>

(1. Guanganmen Hospital Affiliated to China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;

2. Health Science Center Peking University, Beijing 100083, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the anxiolytic and hypnogenetic effects of Jieyuwan on animal models. **Methods:** The anxiolytic effects of Jieyuwan were tested in the elevated plus-maze (EPM) and stress-induced hyperthermia in singly housed mice (SIH); the hypnosis effects were studied in pentobarbital-induced sleeping time and subthreshold dose of pentobarbital test in mice. **Results:** Jieyuwan exhibited the anxiolytic effects in mice by increasing the time percentage into the open arms in the elevated plus-maze and antagonize stress-induced hyperthermia in singly housed mice. Jieyuwan failed to affect the locomotor activity in mice at the test dose, suggesting Jieyuwan did not induce sedation in the anxiolytic doses. Jieyuwan could prolong the time of sleep in pentobarbital-induced sleeping time in mice and increase the percentage of falling asleep in subthreshold dose of pentobarbital test. **Conclusion:** Jieyuwan has definite antianxiety and hypnotic effects in animal models.

[Key words] Jieyuwan; Antianxiety; Hypnosis; The elevated plus-maze

解郁丸在临床上不仅用于治疗抑郁症, 而且对于失眠症也疗效显著, 同时副作用少, 患者依从性好<sup>[1]</sup>, 说明其不仅具有抗抑郁作用同时也具有改善睡眠的作用。我们在前期的研究结果显示解郁丸在多种抑郁动物模型中均显示一定的抗抑郁作用<sup>[2]</sup>。

本实验旨在进一步探讨解郁丸的抗焦虑及催眠作用。

### 1 材料

**1.1 动物** 实验采用 ICR 雄性小鼠, 体重 18~25g, 由北京大学医学部实验动物中心提供。动物质量许可证号: SCXK(京)2002-0001。给药前禁食不禁水 12~16h。

**1.2 药物** 解郁丸由柴胡 15g、白芍 20g、当归 16g、郁金 10g、茯苓 12g、百合 12g、大枣 10g、合欢皮 12g、

[收稿日期] 2005-08-30

[通讯作者] 马荣, Tel: (010) 88001048; E-mail: mr2003happy@163.com

小麦 15g、甘草 6g 组成。取柴胡、白芍、当归、郁金粉碎成细粉, 备用; 其余药物加水煎煮 2 次, 第 1 次加 12 倍量, 煎煮 1.5h, 第 2 次加 10 倍量, 煎煮 1h, 合并煎液, 滤过, 滤液浓缩至相对密度为 1.30~1.35 (60℃热测) 清膏, 与上述细粉混匀、干燥, 即得。其提取原粉由郑州豫密药业股份有限公司提供, 批号 B20020101。取本品 5g, 研细, 加乙酸乙酯 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取当归对照药材 1g, 加乙醇 10mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液浓缩至 1mL, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取上述两种溶液各 2 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(9:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的两个亮蓝白色荧光斑点。按照文献采用薄层扫描法测定解郁丸中芍药苷的含量<sup>[3]</sup>。羧甲基纤维素钠, 中国医药上海化学试剂站, 批号: 970826。地西洋片剂, 北京益民制药厂, 批号: 0304110。以上药物实验时按所需剂量用羧甲基纤维素钠配制成不同浓度各小鼠灌胃用。戊巴比妥钠, 佛山市化工实验厂, 批号 860901, 用蒸馏水稀释成所需的浓度, 腹腔注射给药。

**1.3 仪器** Jzz98 鼠跳台避暗自主活动监测仪(中国医学科学院药物研究所); 数字测温仪(北京师范大学司南仪器厂)。DigBehv 动物行为分析系统 2.0。

## 2 方法

**2.1 自主活动的观察** 参照文献 Irwin<sup>[4]</sup> 报道的方法。

**2.2 高架十字迷宫实验** 参照文献 Lister<sup>[5]</sup> 报道的方法, 高架十字迷宫包括两个开臂(长 30cm, 宽 6cm) 与两个闭臂(长 30cm, 宽 6cm, 高 10cm), 闭臂上部敞开, 中央有一 5×5cm 的开阔部。迷宫距地面高 50cm。小鼠随机分成 4 组, 分别为对照组(0.5% 羧甲基纤维素钠)、地西洋组(5mg/kg)、解郁丸中剂量组(简称解中 131.5mg/kg)、解郁丸高剂量组(简称解高 263mg/kg)。连续灌胃给药 14d, 1 次/d, 末次给药 60min 后, 将小鼠置于高架十字迷宫中央开阔部, 头朝闭臂。DigBehv 动物行为分析系统 2.0 自动记录 5min 内动物进入开臂与闭臂的次数及在开臂与闭臂内及迷宫中央区内的运动时间及运动距离。以进入开臂次数与总入臂次数的百分比及在开臂内运动时

间与开臂闭臂内的总时间的百分比代表抗焦虑作用指标。

**2.3 应激导致孤养小鼠体温升高实验** 参照文献 Berend Olivier<sup>[6]</sup> 报道的方法, 分组和给药方法同上, 于实验第 13d 将每只小鼠分别置于 12×18×13cm 的笼中。末次灌胃给药 60min 后, 测量肛温( $T_0$ ), 10min 后再次测量肛温( $T_{10}$ ), 计算各组小鼠肛温变化的差异( $\Delta T = T_{10} - T_0$ )。

**2.4 戊巴比妥钠阈下催眠剂量实验** 参照文献<sup>[7]</sup> 报道的方法, 小鼠随机分成 5 组, 分别为对照组、地西洋组(2mg/kg)、解郁丸低剂量组(简称解低 65.8mg/kg)、解中组、解高组。灌胃给药 60min 后, 分别腹腔注射戊巴比妥钠(30mg/kg)。观察并记录入睡动物数(15min 内小鼠翻正反射消失达 1min 以上的鼠数作为入睡动物数), 计算入睡率。

**2.5 延长戊巴比妥钠睡眠时间实验** 参照文献<sup>[7]</sup> 报道的方法, 分组及给药方法同上。灌胃给药 60min 后, 分别腹腔注射戊巴比妥钠(40mg/kg, 预实验测得引起 100% 小鼠睡眠的最小阈剂量)。记录小鼠的睡眠时间(从开始注射戊巴比妥钠到翻正反射消失的时间为入睡时间, 从翻正反射消失至恢复时间为睡眠时间)。

**2.6 统计学处理** 用 SPSS11.0 统计软件包进行处理, 所得数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 对组间差异采用方差分析, 用 Dunnet's 检验。用 Excel 对组间率进行比较, 用  $\chi^2$  检验。

## 3 结果

**3.1 对自主活动的影响** 地西洋组对小鼠的自主活动与对照组比较有显著差异。解郁丸对小鼠的自主活动与对照组比较无统计学意义( $P > 0.05$ , 数据从略)。

**3.2 对高架十字迷宫实验的影响** 见表 1, 地西洋组可以增加小鼠进入开臂的次数、开臂滞留时间及其百分比与对照组相比  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ 。解中与对照组比较无明显差异( $P > 0.05$ )。解高组可以增加小鼠在开臂滞留时间及其百分比与对照组相比  $P < 0.05$ 。

**3.3 对应激导致孤养小鼠体温升高的影响** 见表 2, 地西洋组与对照组比较明显降低应激所致孤养小鼠体温的升高( $P < 0.01$ )。解中组、解高组与对照组比较亦能明显降低应激所致孤养小鼠体温的升高( $P < 0.05$ )。

表 1 解郁丸对高架十字迷宫实验的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 (mg/kg)	开臂时间 (S)	闭臂时间 (S)	开臂次数 (次数/5min)	闭臂次数 (次数/5min)	开臂时间/ 总时间(%)	开臂次数/总入 臂次数(%)
对照组	—	10.39 ± 10.18	139.53 ± 49.47	2.63 ± 1.92	10.13 ± 3.94	3.47 ± 3.39	19.82 ± 14.17
地西洋	5.0	44.60 ± 31.19 <sup>2)</sup>	113.09 ± 42.98	6.88 ± 4.51 <sup>1)</sup>	16.88 ± 5.06	14.87 ± 10.39 <sup>2)</sup>	26.24 ± 11.29
解 中	131.5	28.38 ± 18.47	98.80 ± 42.69	5.63 ± 3.02	16.13 ± 6.27	9.46 ± 6.15	26.65 ± 15.94
解 高	263.0	38.99 ± 19.73 <sup>1)</sup>	101.29 ± 26.11	5.75 ± 2.54	14.38 ± 3.81	13.05 ± 6.56 <sup>1)</sup>	28.64 ± 12.27

注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ 。(下同)

表 2 解郁丸对应激导致孤养小鼠体温升高的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	<i>n</i>	$T_0$ (°C)	$T_{10}$ (°C)	$\Delta T$ (°C)
对照组	—	10	36.94 ± 0.44	37.86 ± 0.68	0.92 ± 0.47
地西洋	2.0	10	36.84 ± 0.67	36.87 ± 0.62 <sup>2)</sup>	0.05 ± 0.82 <sup>2)</sup>
解 中	131.5	10	36.99 ± 0.59	37.08 ± 0.55 <sup>1)</sup>	0.09 ± 0.42 <sup>1)</sup>
解 高	263.0	9	36.80 ± 0.58	37.02 ± 0.71 <sup>1)</sup>	0.22 ± 0.56 <sup>1)</sup>

与对照组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.4 对戊巴比妥钠阈下催眠剂量的影响** 见表 3, 地西洋组可增加入睡小鼠的只数, 与对照组比较有显著性差异( $P < 0.01$ )。解低、解中、解高组亦可增加入睡小鼠的只数与对照组比较有显著性差异( $P < 0.01$ )。

表 3 解郁丸对戊巴比妥钠阈下催眠剂量(30mg/kg)的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 (mg/kg)	15min 内翻 正反射消失个数	入睡率(%)
对照组	—	1	8.33
地西洋	2.0	11 <sup>2)</sup>	91.67
解 低	65.8	10 <sup>2)</sup>	83.33
解 中	131.5	8 <sup>2)</sup>	66.67
解 高	263.0	9 <sup>2)</sup>	75.00

**3.5 对延长戊巴比妥钠睡眠时间的的影响** 见表 4, 地西洋组对小鼠的入睡时间与对照组比较无明显差异( $P > 0.05$ ), 但可显著延长小鼠睡眠时间与对照组比较  $P < 0.001$ 。解低、解中、解高组对小鼠的入睡

表 4 解郁丸对延长戊巴比妥钠(40mg/kg)睡眠时间的的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	<i>n</i>	入睡时间 (min)	睡眠时间 (min)
对照组	—	12	3.58 ± 1.56	25.00 ± 9.12
地西洋	2.0	12	2.67 ± 1.23	65.00 ± 18.81 <sup>3)</sup>
解低	65.8	13	3.38 ± 2.18	50.08 ± 17.83 <sup>2)</sup>
解中	131.5	12	2.91 ± 1.16	36.42 ± 16.54
解高	263.0	12	2.42 ± 0.9	47.92 ± 17.40 <sup>2)</sup>

时间与对照组比较亦无明显差异( $P > 0.05$ ), 但解低与解高组均能明显延长小鼠睡眠时间( $P < 0.01$ ), 而解中组对小鼠睡眠时间与对照组比较无明显差异( $P > 0.05$ )。解低、解中、解高组对小鼠的入睡时间和睡眠时间与地西洋组比较均无显著性差异( $P > 0.05$ )。

#### 4 讨论

抑郁症是一种情感性疾病, 以持续的心情低落为主要特征, 常伴有焦虑、躯体不适和睡眠障碍。据报道, 90% 的抑郁病人主诉失眠, 典型的症状是入睡困难, 夜间觉醒次数增多, 早醒, 约 65% 合并有中度焦虑<sup>[8]</sup>。研究显示, 伴有焦虑的抑郁症患者较不伴有焦虑的抑郁症患者的病程长, 疗效差, 复发率高, 自杀的可能性更大<sup>[9]</sup>。这就对抗抑郁药提出新的适应证要求, 而解郁丸是在多年临床治验的基础上, 以逍遥散和甘麦大枣汤为基础, 配伍百合、郁金等药物组成, 具有疏肝解郁、养心安神的功效, 在临床上不仅用于治疗抑郁症, 而且对于失眠症也疗效显著<sup>[1]</sup>。

高架十字迷宫实验是利用动物对新奇环境的探究习性与对高悬开臂的恐惧形成动物的矛盾冲突状态反映动物的焦虑情绪<sup>[5]</sup>。进入开臂的次数(OE)%和在开臂滞留时间(OT)%反映动物的焦虑状态, 抗焦虑剂可使 OE% 和 OT% 明显增高。应激导致孤养小鼠体温升高实验是一种用于筛选抗焦虑药的简便而易于操作的方法<sup>[6]</sup>。肛温  $T_{10}$  和  $\Delta T$  反映动物的焦虑状态, 抗焦虑剂可使肛温  $T_{10}$  和  $\Delta T$  明显降低。本实验结果显示, 地西洋组与对照组比较能显著增加小鼠的 OE% 和 OT%, 并且明显降低应激所致孤养小鼠体温升高。解高组与对照组比较能显著增加小鼠的 OT%, 而解中组与对照组比较无显著性差异, 但解中组和解高组均能明显降低应激所致孤养小鼠体温升高。以上结果表明解郁丸具有一定的抗焦虑作用。

延长戊巴比妥钠睡眠时间实验及其阈下催眠剂

量实验是评价镇静安眠药最常用的方法<sup>[7]</sup>。本实验结果表明,地西洋组对小鼠的入睡时间与对照组比较无明显差异,但可显著延长小鼠睡眠时间;还可增加入睡小鼠的只数,其入睡率为 91.67%。解郁丸各剂量组对小鼠的入睡时间与对照组比较无明显差异,但解低组和解高组均能明显延长戊巴比妥钠的睡眠时间。解郁丸还可增加入睡小鼠的只数与对照组比较有显著性差异,入睡率分别为 83.33%, 66.67%, 75.00%。以上结果表明解郁丸与戊巴比妥钠有协同作用。结合小鼠自主活动实验结果,说明解郁丸在催眠抗焦虑作用的剂量下无中枢神经系统抑制作用。

综上所述,说明解郁丸不仅具有抗抑郁作用,而且也具有一定的抗焦虑和催眠作用。

### [参考文献]

- [1] 洪永波, 罗和春, 姚卫海, 等. 中药解郁丸治疗失眠症 31 例临床观察[J]. 中医杂志, 2004, 4(11): 843-845.
- [2] 马荣, 姚海燕, 库宝善, 等. 解郁丸及其拆方对抑郁模型小鼠的抗抑郁作用[J]. 中国临床康复, 2005, 9(16): 115-117.

- [3] 赵陆军, 周毅生. 薄层扫描法测定解郁丸中芍药苷的含量[J]. 中成药, 2002, 24(12): 827.
- [4] Irwin S. Comprehensive observation assessment: a systematic quantitative procedure for assessing the behavioural and physiologic state of the mouse[J]. Psychopharmacology, 1968, 13: 222-257.
- [5] Lister R. G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse[J]. Psychopharmacology, 1987, 92(2): 180-185.
- [6] Berend Olivier, Theo J. J. Zethof, Eric Ronken, Jan A. M. van der Heyden. Anxiolytic effects of flesinoxan in the stress-induced hyperthermia paradigm in singly-housed mice are 5-HT receptor mediated[J]. European Journal of Pharmacology, 1998, 342: 177-182.
- [7] 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, 2002. 805.
- [8] Fawcettj, Kravitz HM. Anxiety syndromes and the irrelatship to depressive illness[J]. JCL in Psychiatry, 1983, 44(8): 8-11.
- [9] Clayton PJ, Grove WM, Coryell W, et al. Follow up and family study of anxious depression[J]. Am JP syc hiatry, 1991, 148: 1512-1517.