

实验验证,其可能的作用机制也需要通过对其脑内单胺类神经递质的检测等手段作进一步的探讨。

参考文献:

- [1] World Bank: Global Economic Prospects and Developing Countries [M]. Washington, DC: World Bank, 1993.
- [2] Zhang Z J. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders [J]. Life Sci 2004, 75(14): 1659.
- [3] Hua H, Guo Y. Research progress of pharmacology study of flavonoids [J]. Guang dong Pharm Sci, 1999, 9(4): 9.
- [4] Butterweck V, Jurgenliemk G, Nahrstedt A, et al. Flavonoids from Hypericum perforatum show antidepressant activity in the forced swimming test [J]. Planta Med 2000, 66(1): 3.
- [5] Nakazawa T, Yasuda T, Ueda J, et al. Antidepressant-like effects of apigenin and 2,4,5-trimethoxycinnamic acid from Perilla frutescens in the forced swimming test [J]. Biol Pharm Bull 2003, 26(4): 474.
- [6] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1997, 229(2): 327.
- [7] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology (Berl), 1985, 85(3): 367.
- [8] Porsolt RD, LePichon M, Jalfre M. Depression: A new animal model sensitive to antidepressant treatment [J]. Nature, 1977, 266(5604): 730.
- [9] 张中启,袁莉,罗质璞,等.巴戟天对大鼠低速率差式强化程序和小鼠强迫性游泳的影响[J].军事医学科学院院刊,2004,24(2): 114.

补气养阴解郁茶抗抑郁作用研究

王君明^{1,2}, 屈沛然¹, 李鹏¹, 张月月¹, 王颖超¹, 田晓萌¹, 崔雅萍¹

(1. 河南中医学院 药学院, 河南 郑州 450046; 2. 郑州大学 化学与分子工程学院, 河南 郑州 450001)

摘要:目的 考察补气养阴解郁茶(由山药:大枣:枸杞子:玫瑰花:绞股蓝=1:1:1:1:1组成)的抗抑郁作用。方法 采用昆明(KM)雄性小鼠,每组10只。补气养阴解郁茶(Tean)及阳性药盐酸氟西汀(FH)均以0.5% CMC-Na溶解或混悬至所需给药浓度,Teian剂量5,10,20 g/kg, FH剂量10 mg/kg,模型组给予同等体积的0.5% CMC-Na,各组均连续灌胃(ig)给药7天,1次/d,末次给药1 h后,开展小鼠悬尾实验(TST)、强迫游泳实验(FST)和开场实验(OFT)测试。结果 Teian(5,10,20 g/kg)可使小鼠在TST及FST的不动时间均显著性缩短($P < 0.05$),且呈现出良好的量效关系;各组小鼠OFT穿梭次数比较,均无显著性差异($P > 0.05$)。结论 首次证实补气养阴解郁茶具有抗抑郁作用。

关键词: 抗抑郁; 补气养阴解郁茶; 悬尾实验; 强迫游泳实验; 开场实验

DOI标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2013.05.009

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2013)05-1045-02

Study on Antidepressant-like Effects of Buqi Yangyin Jieyu tean

WANG Jun-ming^{1,2}, QU Pei-ran¹, LI Peng¹, ZHANG Yue-yue¹, WANG Ying-chao¹, TIAN Xiao-meng¹, CUI Ya-ping¹
(1. School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, 450046, China; 2. College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, 450001, China)

Abstract: Objective To investigate the antidepressant-like effects of Buqi Yangyin Jieyu tean (Teian) for the first time. **Methods** Mice were treated with doses of Teian and fluoxetine hydrochloride (FH) as positive drug everyday for seven consecutive days by intragastric administration (ig). The mouse forced swim test (FST), tail suspension test (TST) and open field test (OFT) were used to observe antidepressant-like effects of Teian at 1 h after the last administration. **Results** Compared with the model group (CMC-Na), Teian (5, 10, 20 g/kg) significantly reduced the immobility time in dose-dependent manners during the FST and the TST. **Conclusion** Teian exerts antidepressant-like effect.

Key words: Antidepressant; Buqi Yangyin Jieyu tean; Tail suspension test; Forced swim test; Open field test

抑郁症是以显著而持久的情绪低落、行为木僵和悲观厌世为主要特征的一组疾病;实际上它很普通,以致被称为精神疾病中的“普通感冒”,同时它还是严重的、威胁生命的疾病,折磨着世界上数以千万计的人^[1,2]。目前用于治疗抑郁症的药物主要有三环类抗抑郁剂、单胺氧化酶抑制剂和5-羟色胺再摄取抑制

剂,但均有不同程度的副作用,如嗜睡、视物模糊、高血压、惊厥和性欲低下等。临床中尚未有疗效好且无副作用的治疗药物^[1,2]。中医学是个大宝库,治疗各种疾病有独特之处,抑郁症发病率高,且社会危害大,但至今未见有针对抑郁症进行防治的茶饮料的公开报道。

本课题组在中医药理论的指导下,首次以山药、大枣、枸杞、玫瑰花、绞股蓝为主要原料组成补气养阴解郁方,并以该方开发补气养阴解郁茶。该茶配方,发挥了绞股蓝与山药合用的补益脾肺气肾气、大枣的补益心经养血安神、枸杞的滋补肝肾阴虚、玫瑰花的疏肝理气止痛,可用于防治临床中常见的心脾两虚型、脾肺肾多虚型、肝郁气滞型、心神不养型、肝肾阴虚型等多种类型的抑郁症。此外,绞股蓝药性偏寒凉而大枣、玫瑰花均偏温,山药和枸杞均为平性,整个茶的配方近于平性,避免了长期饮用偏寒或偏温伤胃的弊端。

收稿日期: 2012-06-18; 修订日期: 2012-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30772794);

河南中医学院博士科研基金(No. B5JJ2010-22);

河南中医学院大学生创新学习项目(No. YXC X(2011)7);

国家博士后科学基金(No. 2012M521412)

作者简介: 王君明(1980-),男(汉族),河南洛阳人,现任河南中医学院副教授,博士学位,主要从事中药药效物质基础作用机理及毒效相关性研究工作。

鉴于抑郁症的高发病率、高危害性、且目前缺乏针对抑郁症进行防治的保健茶的现状,本研究在对补气养阴解郁茶配方有望发挥抗抑郁分析的基础上,首次通过药效实验考察了补气养阴解郁茶的抗抑郁作用,以期为其作为抗抑郁保健茶的应用提供实验基础。

1 材料

1.1 动物 昆明(KM)小鼠,雄性,体质量 18~22 g,由河北省实验动物中心提供[SCXK(冀)2008-1-003]。

1.2 试药 羧甲基纤维素钠(CMC-Na):天津市恒兴化学试剂制造有限公司,批号:20100116。盐酸氟西汀(FH):常州四药制药有限公司,批号:20100623。玫瑰花:产地兰州,批号 110901,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为蔷薇科植物玫瑰的 *Rosa rugosa* Thunb. 的干燥花蕾。绞股蓝:产地广西,批号 1108010,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为葫芦科植物绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. 的干燥根茎。大枣:产地河南,批号 QF-1101216,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。山药:产地河南,批号 110005,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为薯蓣科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎。枸杞子:产地宁夏,批号 1109010,经本校药学院生药学科陈随清教授鉴定为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。

2 方法

2.1 补气养阴解郁茶制备 补气养阴解郁茶(Tean):按照补气养阴解郁茶配方(山药:大枣:枸杞子:玫瑰花:绞股蓝=1:1:1:1:1),每 1 g 补气养阴解郁茶粗粉加 50 ml 沸水(W/V=1:50)浸泡 6 次,每次 5 min,合并每次泡茶液,减压回收水,使药液浓度以生药计,含补气养阴解郁茶 1 g/ml。

给药时, FH 及补气养阴解郁茶均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需浓度。

2.2 抗抑郁测试

2.2.1 悬尾实验(TST) 采用 KM 雄性小鼠,体质量 18~22 g,每组 10 只。阳性药 FH 及补气养阴解郁茶 Tean 均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需给药浓度, FH 剂量 10 mg/kg, Tean 剂量为 5、10、20 g/kg, 模型组给予同等体积的 0.5% CMC-Na, 各组均连续灌胃(ig)给药 7 d, 1 次/d, 末次给药 1 h 后测试。测试方法如下。

参照 Steru^[3]报道的方法,将单个小鼠尾端(在距尾尖部约 2 cm 处)用医用胶布粘于悬尾箱(30 cm × 30 cm × 25 cm)上部支架上,使成倒挂状态,头部离箱底约 5 cm。小鼠为了克服不正常体位而挣扎活动,但活动一段时间出现间断性不动,显示失望状态。悬挂时间为 6 min,统计后 4 min 内悬尾累计不动时间(不动状态即小鼠停止挣扎不动或无任何活动)。

2.2.2 强迫游泳实验(FST) 采用 KM 雄性小鼠,体质量 18~22 g,每组 10 只。阳性药 FH 及补气养阴解郁茶 Tean 均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需给药浓度, FH 剂量 10 mg/kg, Tean 剂量为 5、10、20 g/kg, 模型组给予同等体积的 0.5% CMC-Na, 各组均连续 ig 给药 7 d, 1 次/d, 末次给药 1 h 后测试。测试方法如下。

参考 Porsolt 等^[4]报道的方法,将小鼠单独放入高 20 cm、直径 14 cm 的圆柱形玻璃缸中,缸内水深 10 cm,水温(25 ± 2) °C,从小鼠入水后计时 6 min,记录后 4 min 内游泳累计不动时间(指小鼠在水中停止挣扎,或显示漂浮状态,仅有微小的肢体运动以保持头部浮在水面)。

2.2.3 开场实验(OFT) 采用 KM 雄性小鼠,体质量 18~22 g,每组 10 只。阳性药 FH 及补气养阴解郁茶 Tean 均以 0.5% CMC-Na 溶解或混悬至所需给药浓度, FH 剂量 10 mg/kg, Tean 剂量为 5、10、20 g/kg, 模型组给予同等体积的 0.5% CMC-Na, 各组

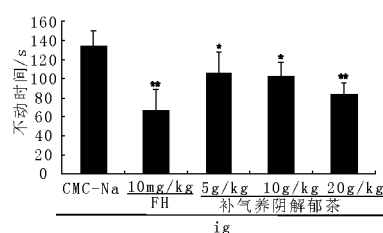
均连续 ig 给药 7 d, 1 次/d, 末次给药 1 h 后测试。测试方法如下。

参考 Archer^[5]报道的方法,敞箱装置为长宽各 50 cm,高 25 cm,底面划分为 25 个等边方格的木箱,内面用黑漆涂满。将小鼠放入中心方格内,观察小鼠在 3 min 内,穿越格数(四爪均进入的方格方可计数),彻底清洁敞箱后再进行下 1 只小鼠的观察。

2.3 统计方法 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析,多组间比较用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 补气养阴解郁茶对小鼠 TST 不动时间的影响 如图 1 所示,与模型组(CMC-Na 组)比较,补气养阴解郁茶(5、10、20 g/kg)和阳性药 FH(10 mg/kg)被连续 ig 给予小鼠 7 d,均可显著缩短悬尾不动时间($P < 0.05$),提示 FH 和 Tean 在给定给药方案内在 TST 实验均表现出明显的抗抑郁作用,且呈现出良好的量效关系。



与模型组(CMC-Na)比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 1 补气养阴解郁茶对小鼠 TST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

3.2 补气养阴解郁茶对小鼠 FST 不动时间的影响 如图 2 所示,与模型组(CMC-Na 组)比较,补气养阴解郁茶(5、10、20 g/kg)和阳性药 FH(10 mg/kg)被连续 ig 给予小鼠 7 d,均可显著缩短悬尾不动时间($P < 0.05$),提示 FH 和 Tean 在给定给药方案内在 TST 实验均表现出明显的抗抑郁作用,且呈现出良好的量效关系。

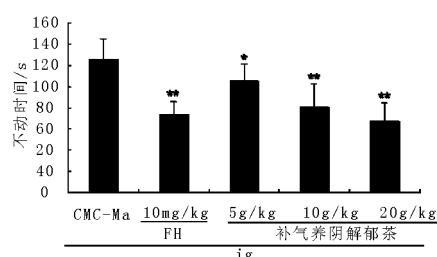


图 2 补气养阴解郁茶对小鼠 FST 不动时间的影响($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

3.3 补气养阴解郁茶对小鼠 OFT 穿格次数的影响 如图 3 所示,小鼠 OFT 穿格次数,各组间比较均无显著性差异($P > 0.05$)。

4 讨论

TST 和 FST 抑郁症模型对绝大多数抗抑郁药敏感,操作简单、快捷,被广泛应用于抗抑郁药物的初筛^[6-8]。本研究采用小鼠 TST 和 FST 抑郁症模型,首次考察了补气养阴解郁茶的抗抑郁效果,结果表明,补气养阴解郁茶具有明显的抗抑郁作用。

虽然 TST 和 FST 抑郁症模型对抗抑郁药有高选择性,但一些增加动物活动性的药物也可能出现假阳性结果^[9]。为避免可能出现的假阳性结果,需要同时测定小鼠的自主活动,以提高 TST 和 FST 方法筛选抗抑郁药的选择性和可靠性。小鼠 OFT 穿格次数可反映药物的自主活动情况^[9],因此,本研究组在 TST 和 FST 上考察了补气养阴解郁茶的抗抑郁作用之后,又进一步通过

OFT 考察了补气养阴解郁茶对小鼠自主活动的影响 结果显示补气养阴解郁茶对小鼠 OFT 穿格次数无明显影响,从而排除了由于自主活动性可能带来的抗抑郁的假阳性结果。

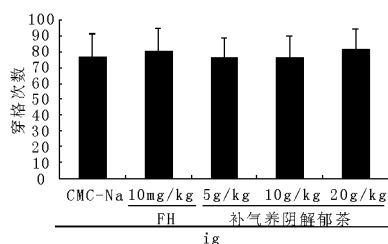


图3 补气养阴解郁茶对小鼠 OFT 穿格次数的影响($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

综上所述,本研究采用 TST 和 FST 考察了补气养阴解郁茶的抗抑郁作用,并结合 OFT 排除了假阳性结果,提高了实验结果的可靠性,首次证实了补气养阴解郁茶具有明显的抗抑郁作用,为补气养阴解郁茶作为抗抑郁保健茶的应用提供了初步的实验基础。

参考文献:

[1] 龚绍麟. 抑郁症[M]. 北京: 人民卫生出版社 2003: 1.

- [2] 赵志刚, 张星虎, 张石革. 当代神经精神科用药选择[M]. 北京: 人民卫生出版社 2003: 45.
- [3] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology (Berl) 1985 85(3): 367.
- [4] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1977 229(2): 327.
- [5] Archer J. Tests for emotionality in rats and mice: a review [J]. Anim Behav, 1973 21(2): 205.
- [6] Campos MM, Fernandes ES, Ferreira J, et al. Pharmacological and neurochemical evidence for antidepressant-like effects of the herbal product Catuama [J]. Pharmacol Biochem Behav 2004 78(4): 757.
- [7] ChatterHEe M, Verma P, Maurya R, et al. Evaluation of ethanol leaf extract of Ocimum sanctum in experimental models of anxiety and depression [J]. Pharm Biol 2011 49(5): 477.
- [8] Li S, Wang C, Li W, et al. Antidepressant-like effects of piperine and its derivative antiepilepsirine. J Asian Nat Prod Res 2007 9(3-5): 421.
- [9] Bourin M, Fiocco AJ, Clenet F. How valuable are animal models in defining antidepressant activity [J]. Hum Psychopharmacol 2001 16(1): 9.

甘露消毒丹干预小鼠病毒性肝炎湿热证 Toll 受体通路的实验研究

张志明¹, 刘叶², 林培政³

(1. 顺德职业技术学院, 广东 顺德 528300;

2. 广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; 3. 广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 使用清热祛湿类代表方甘露消毒丹干预病毒性肝炎湿热证小鼠, 通过研究 Toll 受体通路中 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 的表达变化, 探讨清热祛湿法干预温病湿热证的药效机制及可能作用靶点。方法 将小鼠随机分为正常组、模型组(肥甘饮食+湿热环境+病毒 MHV-A59 感染造模)、治疗组(模型组使用甘露消毒丹干预)、安慰剂组(模型组使用生理盐水干预)。采用免疫组化法检测各组小鼠肝脏 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 蛋白阳性表达, 实时荧光定量 PCR 检测各组小鼠肝组织中 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 基因的 mRNA 含量。结果 甘露消毒丹能降低湿热证小鼠体温, 增加小鼠耗食量、饮水量, 对 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 蛋白及 mRNA 表达均有抑制作用。结论 清热祛湿法能够抑制 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 的表达, 通过保护细胞膜, 减轻炎症反应而发挥治疗温病湿热证的效应。

关键词: 甘露消毒丹; 湿热证; TLR2; TLR4; NF- κ Bp65

DOI 标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2013.05.010

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1008-0805(2013)05-1047-02

温病湿热证可见于现代医学多种传染性与感染性疾病中, 是中医急性热病中的一类具有特殊性规律的征候群, 研究认为靶细胞 LBP、CD14、TLR4 等内毒素转导信号适量表达及 NF- κ B 激活既是湿热病证的主要致病机理, 又是湿热病证的特异性指标, 而量的差异可作为温病湿热与内伤湿热的重要参考指标^[1-3]。清热祛湿法是治疗湿热证的大法, 温病学认为本法具有宣畅气机、运脾和胃、通利水道、化湿泄热的作用, 适用于湿热性质温病。现代研究提示, 本法具有一定抗感染、调节胃肠功能、利尿等作

用^[4]。本实验使用清热祛湿法的代表方甘露消毒丹干预病毒性肝炎湿热证小鼠, 通过研究 Toll 受体通路中 TLR2、TLR4、NF- κ Bp65 表达的变化, 探讨清热祛湿法干预温病湿热证的药效机制及可能作用靶点。

1 材料

1.1 动物 4 周龄 SPF 级雄性 BALB/c 小鼠 40 只, 购自广东省医学实验动物中心。动物合格证号: 0046987。

1.2 仪器及试剂 MHV-A59 病毒(南方医科大学公共卫生与热带医学院微生物系病毒研究所); 移液器(法国 Gilson 公司); 数字显示隔水式电热恒温培养箱(型号: PXY-DHS); 5417R 型高速冷冻离心机(德国 EPPENDORF 公司); DF031-1 染色孵育盒; OLYMPUS BX50 系统显微镜; XW-80A 旋涡振荡器(上海青浦沪西仪器厂); K10CD 干式恒温器(杭州蓝焰科技有限公司); 3K15 低温冷冻离心机(美国 Sigma); TYPE B2 生物安全柜(美国

收稿日期: 2012-10-09; 修订日期: 2012-12-20

基金项目: 国家自然科学基金-广东省联合基金项目资助 (No. U0632009)

作者简介: 张志明(1971-), 男(汉族), 江西永丰人, 现任顺德职业技术学院副教授, 博士学位, 主要从事中医临床基础、岭南温病的临床与实验研究工作。