

温阳解郁颗粒对抑郁模型大鼠行为学和血清中单胺类神经递质水平的影响^Δ

孟 霜^{1*},冯振宇¹,马小娟¹,周晓荣²,史 敏²,赵 杰^{1#}(1.山西中医学院中西医结合医院中心实验室,太原 030013;2.山西中医药大学研究生学院,太原 030619)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)23-3226-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.23.11

摘要 目的:研究温阳解郁颗粒的抗抑郁作用及可能机制。方法:将60只行为、体质量接近的大鼠随机分为空白对照组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、氟西汀阳性对照组(2.10 mg/kg)和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组(1.89、3.78、7.56 g/kg),每组10只;灌胃给药,每天1次,连续28 d。除空白对照组外,其余各组大鼠均在给药同时采用慢性不可预见性温和刺激配合孤养法复制抑郁模型。在给药第0、7、14、21、28天,测定大鼠体质量变化,通过糖水偏好实验和旷场实验测定大鼠的糖水偏好率和4 min内行径总路程、四角路程;末次给药1 h后,通过强迫游泳实验测定大鼠4 min内挣扎状态时间和漂浮状态时间,并采用高效液相色谱法测定大鼠血清中5-羟色胺(5-HT)和多巴胺(DA)含量。结果:与空白对照组比较,模型组大鼠体质量(给药第7、14、21、28天)、糖水偏好率(给药第14、21、28天)显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),4 min内行径总路程、四角路程(给药第21、28天)显著减少,4 min内挣扎状态时间显著缩短、漂浮状态时间显著延长($P<0.01$),血清中5-HT、DA含量显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,温阳解郁颗粒各剂量组大鼠体质量(低剂量组在给药第28天,中、高剂量组在给药第21、28天)和糖水偏好率(给药第28天)显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),4 min内行径总路程、四角路程(给药第21、28天)显著增加($P<0.01$),4 min内挣扎状态的时间显著延长、漂浮状态时间显著缩短($P<0.01$),血清中5-HT、DA含量显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与氟西汀阳性对照组比较,温阳解郁颗粒各剂量组大鼠上述指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:温阳解郁颗粒对抑郁模型大鼠具有明显的抗抑郁作用,且其作用与氟西汀相当;其机制可能与降低血清中5-HT、DA含量有关。

关键词 温阳解郁颗粒;抗抑郁;行为学;5-羟色胺;多巴胺;大鼠

- [6] 蔡志友,秦碧勇,赵斌.炎症在阿尔茨海默病发病机制中担当了什么样的角色?[J].广东医学院学报,2015,33(1):1-5.
- [7] WANG L, XU Y, YU Q, et al. H-RN, a novel antiangiogenic peptide derived from hepatocyte growth factor inhibits inflammation in vitro and in vivo through PI3K/Akt/IKK/NF- κ B signal pathway[J]. *Biochemi Pharmacol*, 2014, 89(2):255-265.
- [8] OZES ON, MAYO LD, GUSTIN JA, et al. NF- κ B activation by tumour necrosis factor requires the Akt serine-threonine kinase[J]. *Nature*, 1999, 401(6748):82-85.
- [9] 单铁强,单铁英,高立威,等.黄芩提取物对老年痴呆大鼠NF- κ B和I κ B- α 蛋白表达的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(7):802-804.
- [10] 黄金兰,秦嫦云,周楠,等.三七皂苷R₁对D-半乳糖诱导痴呆模型小鼠学习记忆能力的影响及抗氧化应激作用研究[J].中国药房,2015,26(31):4336-4338.
- [11] 周张致智,丁杨芳,胡艳丽.京尼平苷酸对D-半乳糖/亚硝酸钠诱导的阿尔茨海默病小鼠学习记忆的影响[J].中国老年学杂志,2019,39(5):1188-1191.
- [12] 罗焕敏,陈子晟.一种新的老年痴呆动物模型[J].中国老年学杂志,2003,23(3):179-182.
- [13] 郭莉莉,官志忠.灯盏乙素对痴呆大鼠脑组织神经炎症反应的干预作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(15):186-190.
- [14] 殷津津.炎症在阿尔茨海默病中作用的新观点[J].中国保健营养,2016,3(11):135-138.
- [15] 邢鸿飞.炎症与阿尔茨海默病[J].世界科学,2018,15(7):18-20.
- [16] 赵霞,都中蕊,陈文芳.淫羊藿苷对AD小鼠炎症反应和学习记忆能力影响[J].青岛大学医学院学报,2017,53(2):127-132.
- [17] SHAIK-DASTHAGIRISAHEB YB, CONTI P. The role of mast cells in Alzheimer's disease[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2016, 25(4):781-787.
- [18] KIM KY, PARK KI, KIM SH, et al. Inhibition of autophagy promotes salinomycin-induced apoptosis via reactive oxygen species-mediated PI3K/Akt/mTOR and ERK/p38 MAPK-dependent signaling in human prostate cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5):1088-1090.
- [19] CAO ZX, YANG YT, YU S, et al. Pogostone induces autophagy and apoptosis involving PI3K/Akt/mTOR axis in human colorectal carcinoma HCT116 cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 202(2):20-27.

^Δ基金项目:山西省重点研发计划重点项目(No.201603D3113028)

* 中药师,硕士。研究方向:中药复方制剂及新药的开发。

E-mail: mengzhaoshuang@126.com

通信作者:主任医师,硕士生导师。研究方向:经方疑难病治疗。E-mail: mengzhaoshuang@126.com

(收稿日期:2019-06-20 修回日期:2019-09-26)

(编辑:林 静)

Effects of Wenyang Jieyu Granules on the Behavior and Serum Level of Monoamine Neurotransmitter in Depression Model Rats

MENG Shuang¹, FENG Zhenyu¹, MA Xiaojuan¹, ZHOU Xiaorong², SHI Min², ZHAO Jie¹ (1. Central Laboratory, Shanxi Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Shanxi College of TCM, Taiyuan 030013, China; 2. Graduate School, Shanxi University of TCM, Taiyuan 030619, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the anti-depressive effects of Wenyang jieyu granules and its possible mechanism. **METHODS:** A total of 60 rats with similar behavior and body weight were randomly divided into blank control group (distilled water), model group (distilled water), fluoxetine positive control group (2.10 mg/kg) and Wenyang jieyu granules low-dose, medium-dose and high-dose groups (1.89, 3.78, 7.56 g/kg), with 10 rats in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 28 d. Except for blank control group, other groups were given chronic unpredictable mild stress combined with feeding alone to establish depression model. On the 0, 7th, 14th, 21st and 28th day of administration, the changes of body weight were measured. The sucrose reference test and open-field test were adopted to determine the rate of sucrose reference, total distance and four corner distance within 4 min. 1 h after last administration, forced swimming test was used to measure struggling time and floating time within 4 min. The contents of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and dopamine (DA) in serum were determined by HPLC. **RESULTS:** Compared with blank control group, body weight (7th, 14th, 21st and 28th day of administration) and the rate of sucrose reference (14th, 21st and 28th day of administration) were decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); total distance and four corner distance within 4 min (21st and 28th day of administration) were decreased significantly; struggling time within 4 min was shortened significantly and floating time within 4 min was prolonged significantly ($P < 0.01$); serum contents of 5-HT and DA were decreased significantly ($P < 0.01$). Compared with model group, body weight (28th day of administration in low-dose group, 21st and 28th day of administration in medium-dose group and high-dose group) and the rate of sucrose reference (28th day of administration) were increased significantly in Wenyang jieyu granules groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); total distance and four corner distance within 4 min (21st and 28th day of administration) were increased significantly ($P < 0.01$); struggling time within 4 min was prolonged significantly and floating time within 4 min was shortened significantly ($P < 0.01$). Serum contents of 5-HT and DA were increased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with fluoxetine positive control group, there was no statistical significance in above indexes among Wenyang jieyu granules groups ($P > 0.05$). **CONCLUSIONS:** Wenyang jieyu granule has obvious anti-depression effect on depression model rats, which is similar to fluoxetine, and its mechanism may be related to the down-regulation of serum contents of 5-HT and DA.

KEYWORDS Wenyang jieyu granules; Anti-depressant; Behavior; 5-hydroxytryptamine; Dopamine; Rat

抑郁症是一种常见的心境障碍,以显著而持久的情绪低落为主要特征,具体表现为精力减退、兴趣丧失、思维迟缓或言语动作减少、疲乏感、自我评价过低或有内疚感,并伴有睡眠障碍、性功能减退、食欲减退等躯体症状,严重者还可出现自杀念头和行为^[1]。近年来,随着社会节奏的不断加快,工作和生活压力的不断提高,抑郁症逐渐成为临床中的常见病、多发病^[2]。抑郁症的病因复杂,病程多变,发病机制尚不明确。目前公认的病因包括遗传因素、生化因素、社会文化因素、心理素质因素等^[3-4]。其中,生化因素包括单胺类神经递质代谢异常、受体假说、神经内分泌紊乱等。而单胺类神经递质代谢异常又包括5-羟色胺(5-HT)假说,去甲肾上腺素(NE)假说,多巴胺(DA)假说和 α -氨基丁酸假说等^[5]。

温阳解郁方为我院(即山西中医学院中西医结合医院)的临床验方,由桂枝、附子、乌梅、炙甘草、大枣、生姜六味中药组成,具有温阳助肾、开郁安神的功效。方中附子为君药,辛热,能补坎中真阳,真阳为君火之种,补真火即是补君火也,同时其可上助心阳,中温脾阳;桂枝、生姜为臣药,辛通心阳、疏肝气,温肝阳,补肝用;炙

甘草、大枣为佐药,甘缓其中,合辛甘化阳、酸甘化阴之意,同时“甘草补中有引火归根之妙”;生姜、大枣温中焦,助脾阳;乌梅为使药,统领阳药入肝,温补肝阳,使肝中阳气得以升发,又可敛肝气、养肝血以柔肝,正合肝“体阴而用阳”的生理特性。诸药合用,复肾阳、补肝阳、暖心阳、运脾阳,收纳微阳于肾,伏虚火于中。

本项目组在2010年7月—2011年3月对60例抑郁患者进行了观察,其中观察组30例服用温阳解郁汤,对照组30例服用盐酸氟西汀。治疗1个月后,结果显示治疗组总有效率 $>93.3\%$,与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。但该方在临床传统应用上主要以汤剂为主,而汤剂具有携带不方便、患者依从性差、不能长久贮藏等缺点,因此拟将其开发为温阳解郁颗粒。本课题组前期已对温阳解郁颗粒的制备工艺进行了研究,并制订了该颗粒剂的质量控制方法。在本研究中,课题组将以温阳解郁颗粒为研究对象,采用慢性不可预见性温和刺激(CUMS)配合孤养复制抑郁症大鼠模型,观察温阳解郁颗粒对模型大鼠行为学的影响,并测定大鼠血清中单胺类神经递质5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)含量的变

化,来探讨其抗抑郁的作用与机制,为该制剂的临床应用及作用机制的阐明奠定基础。

1 材料

1.1 仪器

XR-XZ301旷场实验装置、XR-XQ202-S SuperFst 强迫游泳装置(上海欣软生物技术有限公司);e2695 高效液相色谱仪、2475 荧光检测器(美国 Waters 公司);KQ-800KDE 高功率数控超声清洗器、电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);BT 25S 十万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸氟西汀分散片(礼来苏州制药有限公司,批号:7339A,规格:20 mg);温阳解郁颗粒(山西中医学院中西医结合医院药剂科,批号:20181018,规格:6 g/袋,每1 g 相当于生药量 6.9 g);5-HT 对照品(批号:11656-200401,纯度:>98%)、DA 对照品(批号:100070-201006,纯度:>98%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、磷酸二氢钠均为色谱纯;其余试剂为分析纯。

1.3 动物

SPF 级健康 Wistar 大鼠 60 只,♂,体质量 180~200 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0006,合格证号:11400100303296。大鼠购入后饲养于山西中医药大学实验动物中心,室温为(22±1)℃、相对湿度为 65%~70%、光照周期为 12 h/12 h。饲养期间大鼠自由饮水和摄食,适应性饲养 7 d 后进行实验。本实验经过山西中医药大学实验动物伦理委员会批准。

2 方法

2.1 分组与给药

经前期筛选,将行为、体质量接近的大鼠随机分为空白对照组、模型组、氟西汀阳性对照组和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组,每组 10 只。空白对照组大鼠正常群居饲养,其余各组大鼠均单笼孤养。各组药物均用蒸馏水制备成所需质量浓度:氟西汀阳性对照组大鼠给药剂量为 2.10 mg/kg(根据人临床等效剂量按体表面积换算法换算而得);温阳解郁颗粒低、中、高剂量组大鼠给药剂量分别为 1.89、3.78、7.56 g/kg,分别为临床的等效剂量和等效剂量的 2、4 倍剂量;空白对照组和模型组大鼠给予等量蒸馏水。灌胃给药,给药体积为 10 mL/kg。每天给药 1 次,连续给药 28 d。

2.2 大鼠抑郁模型的建立

每次给药 1 h 后,除空白对照组外,其余各组大鼠均进行慢性不可预见性温和刺激(CUMS),通过 CUMS 配合孤养法建立大鼠抑郁模型。CUMS 方式包括^[6-7]:禁食(24 h)、禁水(24 h)、冰水浴(4℃、6 min)、热刺激(40℃、10 min)、束缚(3 h)、夹尾(2 min)、潮湿垫料(24 h)、超声

(60 W、3 h)、昼夜颠倒、24 h 光照。按以上 10 种刺激方式连续刺激 28 d,每日随机选择一种刺激方式进行刺激,同种刺激方式不能连续 2 d 出现。空白对照组大鼠不给予任何刺激。

2.3 体质量变化

在给药第 0、7、14、21、28 天,分别测定每只大鼠的体质量。

2.4 糖水偏好实验

在给药第 0、7、14、21、28 天,分别进行糖水偏好实验。实验开始前大鼠先禁水 14 h。实验时,给予大鼠定量的一瓶纯水和一瓶 1% 蔗糖水溶液,60 min 后将水瓶取走,定量测定,计算大鼠的纯水消耗量、糖水消耗量和液体总消耗量(纯水消耗量和糖水消耗量的总和),计算糖水偏好率[糖水偏好率(%)=糖水消耗量/液体总消耗量×100%]。

2.5 旷场实验

在给药第 0、7、14、21、28 天,糖水消耗实验结束 2 h 后,进行旷场实验。实验在安静的房间内进行。将大鼠置于旷场实验箱中央,由摄像机观察并记录大鼠在 6 min 内的活动状况,使用 SuperMaze 软件记录后 4 min 内大鼠的行径总路程和四角路程。每只大鼠完成以后要彻底清洁敞箱,然后再用下一只大鼠进行实验,防止粪便气味等对实验结果的影响。

2.6 强迫游泳实验

在末次给药 1 h 后,将各组大鼠依此放入 SuperFst 强迫游泳装置中进行强迫游泳实验,水温控制在 25℃左右。实验时间设置为 6 min,根据 SuperFst 软件记录大鼠在后 4 min 内的挣扎状态时间和漂浮状态时间。每只大鼠进行实验前应更换透明玻璃圆桶内的实验用水,避免粪便气味等对实验结果的影响。

2.7 大鼠血清中单胺类神经递质 5-HT、DA 含量的测定

强迫游泳实验结束后,股动脉采集大鼠血液,在 4℃下以 10 000 r/min 离心 15 min,取上清。采用高效液相色谱法测定各组大鼠血清中 5-HT、DA 含量。

2.7.1 色谱条件 色谱柱:Diamondsil C₁₈(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1 mol/L 磷酸二氢钠缓冲液(10:90,V/V);流速:1 mL/min;激发波长:254 nm,发射波长:338 nm;柱温:30℃;进样量:10 μL。

2.7.2 对照品溶液的制备 称取 5-HT、DA 对照品适量,加 0.1 mol/L 盐酸制成 5-HT、DA 质量浓度分别为 0.065、0.030 mg/mL 的对照品溶液。

2.7.3 供试品溶液的制备 取 500 μL 血清于离心管内,加入相同体积的 0.4 mol/L 高氯酸溶液,在 4℃下以 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,待测。

2.7.4 方法学考察 严格按照 2015 年版《中国药典》(四部)通则 9012 生物样品定量分析方法中验证指导原则^[8]

进行方法学考察。

2.8 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 体质量变化观察结果

在给药第0天,各组大鼠的体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。给药后,与空白对照组比较,模型组大鼠体质量(给药第7、14、21、28天)显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,氟西汀阳性对照组、温阳解郁颗粒低剂量组(给药第28天)和温阳解郁颗粒中、高剂量组(给药第21、28天)大鼠体质量显著增加($P < 0.01$)。由上述结果可提示,氟西汀和温阳解郁颗粒均能增加抑郁模型大鼠的体质量,改善抑郁大鼠生长迟缓状态。各组大鼠体质量测定结果见表1。

3.2 糖水偏好实验考察结果

在给药第0、7天,各组大鼠糖水偏好率差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与空白对照组比较,模型组大鼠糖水偏好率(给药第14、21、28天)显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀阳性对照组(给药第21、28天)和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组(给药第28天)大鼠糖水偏好率显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。由上述结果可提示,氟西汀和温阳解郁颗粒均能显著提高抑郁模型大鼠对糖水的偏好程度。各组大鼠糖水偏好

率测定结果见表2。

3.3 旷场实验考察结果

在给药第0、7、14天,各组大鼠4 min内行径总路程、四角路程差异均无统计学意义($P > 0.05$)。与空白对照组比较,模型组大鼠4 min内行径总路程、四角路程(给药第21、28天)显著减少($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀阳性对照组和温阳解郁低、中、高剂量组大鼠4 min内行径总路程(给药21、28天)以及温阳解郁颗粒高剂量组大鼠4 min内四角路程(给药第14天)显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。由上述结果可提示,氟西汀和温阳解郁颗粒均能改善抑郁模型大鼠的行为活动能力。各组大鼠4 min内行径总路程测定结果见表3,4 min内四角路程测定结果见表4。

3.4 强迫游泳实验考察结果

与空白对照组比较,模型组大鼠4 min内挣扎状态持续时间显著缩短($P < 0.01$),漂浮状态持续时间显著延长($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀阳性对照组和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组大鼠4 min内挣扎状态持续时间显著延长($P < 0.01$),漂浮状态持续时间明显缩短($P < 0.01$)。上述结果提示,氟西汀和温阳解郁颗粒均能改善抑郁模型大鼠的游泳状态。各组大鼠4 min内挣扎状态时间和漂浮状态时间测定结果见表5。

3.5 血清中单胺类神经递质5-HT、DA含量测定结果

3.5.1 方法学考察结果 线性关系关系考察结果显示,5-HT的回归方程为 $y = 41\ 827x + 60\ 815$ ($r = 0.999\ 6$)、DA的回归方程为 $y = 15\ 955x - 29\ 994$ ($r = 0.999\ 5$)(式中, y

表1 各组大鼠体质量测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

Tab 1 Determination results of body weight of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10, g$)

组别	剂量	给药时间				
		第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白对照组		221.22 ± 6.03	244.00 ± 12.54	257.74 ± 15.29	280.24 ± 18.19	309.57 ± 22.89
模型组		216.60 ± 7.52	227.79 ± 11.64*	229.15 ± 20.81**	241.03 ± 25.32**	261.20 ± 26.20**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	215.55 ± 10.46	232.01 ± 10.93	240.21 ± 12.29	263.10 ± 23.32	294.13 ± 20.37###
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	216.47 ± 6.76	234.25 ± 5.65	243.05 ± 8.93	260.44 ± 13.48	296.43 ± 10.24###
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	215.81 ± 6.11	231.76 ± 8.20	239.79 ± 8.53	268.25 ± 7.64###	295.98 ± 12.72###
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	223.34 ± 7.40	229.42 ± 9.51	244.44 ± 10.43	276.20 ± 13.53###	293.62 ± 15.57###

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,### $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model group, ### $P < 0.01$

表2 各组大鼠糖水偏好率测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10, \%$)

Tab 2 Determination results of the rate of sucrose preference of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10, \%$)

组别	剂量	给药时间				
		第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白对照组		62.42 ± 2.87	66.13 ± 3.51	67.76 ± 4.47	60.96 ± 4.91	64.73 ± 6.33
模型组		62.32 ± 4.11	63.98 ± 5.38	56.53 ± 4.08**	57.64 ± 5.61*	56.06 ± 4.77**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	63.38 ± 5.47	62.87 ± 4.08	59.43 ± 2.72	63.03 ± 3.72#	71.01 ± 10.65###
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	62.52 ± 5.42	64.67 ± 6.30	58.15 ± 4.50	61.62 ± 4.53	61.32 ± 3.74#
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	63.62 ± 8.98	62.19 ± 6.84	61.06 ± 5.64	56.24 ± 3.50	63.45 ± 5.85###
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	62.03 ± 2.80	63.04 ± 8.65	54.74 ± 6.53	61.14 ± 5.18	63.28 ± 5.74###

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,### $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$

表3 各组大鼠4 min内行径总路程测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$)Tab 3 Determination results of the total distance of rats within 4 min in each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$)

组别	剂量	给药时间				
		第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白对照组		21 474.76 ± 3 756.63	10 654.26 ± 5 053.77	10 813.51 ± 4 608.70	10 079.95 ± 3 627.38	8 444.72 ± 24 750.20
模型组		20 903.71 ± 2 800.53	15 049.17 ± 7 529.39	11 918.55 ± 2 635.11	3 367.17 ± 932.38**	3 190.83 ± 682.40**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	20 280.02 ± 3 170.43	17 810.37 ± 7 028.79	12 243.63 ± 4 436.84	15 011.08 ± 5 395.52**	10 925.22 ± 2 040.90**
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	22 225.54 ± 6 142.19	14 920.46 ± 5 166.03	12 386.51 ± 5 311.01	10 537.59 ± 3 545.53**	9 779.62 ± 1 627.55**
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	24 078.49 ± 6 931.51	11 900.81 ± 4 597.70	12 680.41 ± 5 479.79	8 525.90 ± 2 408.63**	10 995.22 ± 2 472.24**
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	23 487.01 ± 5 642.92	11 961.26 ± 4 484.17	13 691.29 ± 3 246.79	13 354.36 ± 4 223.38**	10 163.66 ± 2 486.55**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$ Note: vs. blank control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ** $P < 0.01$ 表4 各组大鼠4 min内四角路程测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$)Tab 4 Determination results of four corners distance of rats within 4 min in each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{mm}$)

组别	剂量	给药时间				
		第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白对照组		13 539.63 ± 1 917.07	9 234.21 ± 2 217.03	8 698.62 ± 1 528.16	7 008.28 ± 3 097.56	7 710.25 ± 2 402.69
模型组		13 803.41 ± 3 060.95	11 352.00 ± 4 245.56	8 283.80 ± 1 877.11	1 778.34 ± 463.98**	2 871.71 ± 691.24**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	11 649.92 ± 3 190.01	12 204.94 ± 3 670.64	8 783.42 ± 3 091.55	10 934.15 ± 3926.77**	8 785.61 ± 1 395.62**
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	14 516.91 ± 3 555.09	10 483.48 ± 2 690.25	8 021.98 ± 3 186.88	7 061.83 ± 2 108.93**	6 871.88 ± 1 295.51**
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	13 132.10 ± 4 039.16	9 010.26 ± 3 008.31	9 747.12 ± 4 430.34	8 168.41 ± 3 940.00**	9 940.72 ± 1 655.68**
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	15 792.48 ± 2 741.23	10 037.11 ± 4 385.52	11 980.15 ± 3 865.93*	1 0525.6 ± 2 655.47**	5 365.59 ± 819.86**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ Note: vs. blank control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 表5 各组大鼠4 min内挣扎状态时间和漂浮状态时间测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \text{s}$)Tab 5 Determination results of struggling time and floating time of rats within 4 min in each group($\bar{x} \pm s, n=10, \text{s}$)

组别	剂量	挣扎状态时间	漂浮状态时间
空白对照组		167.13 ± 17.12	19.71 ± 5.84
模型组		96.31 ± 16.11**	66.75 ± 13.67**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	146.74 ± 13.09**	25.25 ± 12.75**
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	141.01 ± 23.35**	27.64 ± 9.82**
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	134.98 ± 31.18**	30.38 ± 15.11**
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	148.09 ± 17.15**	25.41 ± 14.22**

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,** $P < 0.01$ Note: vs. blank control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, ** $P < 0.01$

为峰面积积分值、 x 为进样量),结果表明5-HT、DA分别在进样量为108~1 080 μg 、60~600 ng范围内与其峰面积线性关系良好。5-HT的定量下限为108 μg ,DA的定量下限为60 ng。精密度试验中,5-HT、DA峰面积的RSD分别为0.65%、0.70% ($n=6$),表明仪器精密度较好。重复性试验中,5-HT、DA含量的RSD分别为2.16%、2.93% ($n=6$),表明该方法重复性较好。在室温条件下放置0、2、4、6、8、10、12 h后测得5-HT、DA峰面积的RSD分别为1.21%、2.46% ($n=7$),将含药血清于-80 $^{\circ}\text{C}$ 反复冻融3次后测得其峰面积的RSD分别为2.78%、3.25% ($n=3$),将含药血清于-80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下放置1周再室温溶解后测得其峰面积的RSD分别为3.68%、3.47% ($n=6$),表明样品稳定性较好。加样回收试验结

果显示,5-HT、DA的平均回收率分别为98.35%、98.73%,RSD分别为2.48%、2.95% ($n=6$),表明该方法准确度较好。基质效应结果显示,5-HT在低、中、高质量浓度(0.005、0.05、0.5 mg/mL)下的基质效应分别为(102.46 ± 5.23)%、(98.33 ± 4.25)%、(99.10 ± 5.58)%,DA在低、中、高质量浓度(0.003、0.03、0.3 mg/mL)下的基质效应分别为(98.32 ± 6.27)%、(99.61 ± 5.29)%、(101.11 ± 6.63)%,表明该方法可以有效避免血清基质效应。

3.5.2 含量测定结果 与空白对照组比较,模型组大鼠血清中5-HT、DA含量显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀阳性对照组和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组大鼠血清中5-HT、DA含量均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。由上述结果可知,氟西汀和温阳解郁颗粒均能提高大鼠血清中5-HT、DA的含量。各组大鼠血清中5-HT、DA含量测定结果见表6。

4 讨论

目前,抑郁症发病机制尚不明确,被广为接受的几类主流研究学说有单胺类神经递质学说、下丘脑-垂体-肾上腺轴功能性失调学说、细胞因子学说等。其中,以单胺类神经递质学说在抑郁症的发病机制中认可度较高,该假说认为抑郁症与人类情感活动有关的神经递质的变化有关,如NE、5-HT、DA含量降低等^[9-10]。5-HT和DA是中枢神经系统中重要的兴奋性神经递质,抑郁症的发生与5-HT、DA等神经递质浓度的变化密切相关,其可通过中枢及外周的多种受体参与调节情绪、睡眠、

表6 各组大鼠血清中5-HT、DA含量测定结果($\bar{x} \pm s$, $n=10$, mg/mL)

Tab 6 Determination results of serum contents of 5-HT and DA of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$, mg/mL)

组别	剂量	5-HT	DA
空白对照组		26.75 ± 3.97	6.94 ± 0.52
模型组		22.58 ± 3.68**	5.14 ± 0.60**
氟西汀阳性对照组	2.10 mg/kg	30.15 ± 4.30 ^{##}	6.68 ± 0.95 ^{##}
温阳解郁颗粒低剂量组	1.89 g/kg	27.76 ± 5.30 [#]	6.48 ± 0.35 [#]
温阳解郁颗粒中剂量组	3.78 g/kg	29.42 ± 5.22 [#]	7.55 ± 0.70 ^{##}
温阳解郁颗粒高剂量组	7.56 g/kg	28.72 ± 1.87 ^{##}	7.47 ± 0.91 ^{##}

注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, ** $P < 0.01$; vs. model group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$

摄食、呕吐、记忆、性活动、内分泌、胃肠动力等多种生命活动,而抑郁症的证候涉及绝大多数5-HT受体参与调控的生理活动^[11-12]。治疗抑郁症的药物一类是选择性5-HT再摄取抑制剂,这类药物主要是选择性抑制中枢神经突触前膜对5-HT的再摄取,从而增加突触间隙的5-HT浓度,达到抗抑郁的效果;还有一类是单胺氧化酶抑制剂,这类药物通过抑制单胺氧化酶对5-HT、DA、NE的降解,导致5-HT、DA、NE浓度升高,从而起到抗抑郁的作用^[13-14]。盐酸氟西汀是目前治疗抑郁症的一线药物之一,其作用机制是抑制5-HT神经末梢突触前膜对5-HT再摄取,增加突触间隙5-HT的浓度,从而发挥抗抑郁的作用,因此,在本研究中选择盐酸氟西汀分散片作为阳性对照药物。

本研究采用CUMS配合孤养法复制大鼠抑郁模型后,模型组大鼠体质量增加显著变慢,糖水偏好率明显降低,大鼠旷场实验4 min内行径总路程和四角路程明显减少,强迫游泳实验大鼠4 min内挣扎状态时间明显缩短,4 min内漂浮状态时间明显增长,这说明抑郁大鼠模型造模成功。连续给药21 d后,氟西汀阳性对照组和温阳解郁颗粒给药组大鼠体质量增加明显,糖水偏好率明显升高,大鼠旷场实验4 min内行径总路程和四角总路程明显增加,强迫游泳实验大鼠4 min内挣扎状态持续时间明显增长、漂浮状态持续时间明显减少。由此可见,温阳解郁颗粒与氟西汀作用相当,即能够抵抗抑郁模型大鼠消化功能紊乱而致的食欲下降、体质量增长变慢的问题,也能改善抑郁模型大鼠的自主活动能力及对糖水的偏好度,增加抑郁大鼠的快感程度和兴趣程度。另外,本课题组采用高效液相色谱-荧光法测定了大鼠血清中的5-HT和DA两种单胺类神经递质的含量,结果表明氟西汀阳性对照组和温阳解郁颗粒低、中、高剂量组大鼠血清中5-HT和DA含量均显著升高,这说明温阳解郁颗粒可能是通过提高突触间隙多巴胺类神经递质

5-HT、DA的含量,进而参与调控情绪、睡眠、摄食等生命活动,达到抗抑郁作用。

综上所述,抑郁症病机复杂,而化学药治疗该病靶点较为单一,疗效有限,且副作用大。中医辨证论治,复方中药通过多靶点整体调整机体,疗效优势明显,因此开发研制有效的中药制剂越来越受到全社会的关注。温阳解郁颗粒治疗抑郁症临床疗效确切,故本研究对其抗抑郁作用及机制进行了初步的探究。结果发现,温阳解郁颗粒能增加大鼠的快感程度和兴趣程度,并能提高大鼠血清中单胺类神经递质5-HT、DA的含量。可见,温阳解郁颗粒抗抑郁作用明确,且可能是与调控5-HT、DA等单胺类神经递质代谢有关,但其具体的作用机制还有待于进一步的深入研究。

参考文献

- [1] 陈明珠,陈静,黄幼霞,等.绿萼梅总黄酮对慢性应激抑郁模型大鼠抑郁行为的影响及机制研究[J].中国药房,2017,28(13):1758-1762.
- [2] SIMON GE. Social and economic burden of mood disorders[J]. *Biol Psychiat*, 2003, 54(3):208-215.
- [3] 蔡辰,陶河清.浅析抑郁症发病机制[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(76):68,71.
- [4] FAKHOURY M. Revisiting the serotonin hypothesis: implications for major depressive disorders[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 53(5):2778-2786.
- [5] ZEMLAN FP, GARVER DL. Depression and antidepressant therapy: receptor dynamics[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1990, 14(4):503-523.
- [6] 钟淑娟,郑忠超,丘秀玉,等.丹参素钠对慢性不可预知温和应激模型小鼠的抗抑郁作用[J].中国新药杂志,2018,27(23):2819-2824.
- [7] 冯振宇,刘慧宇,赵杰.温阳解郁汤对抑郁模型大鼠的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,30(12):99-102.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:364-365.
- [9] 李苒,高杉,李琳,等.抑郁症发病机制的研究进展[J].天津中医药,2013,30(2):121-125.
- [10] 莫贤炜,张雷,关溯,等.作用于5-羟色胺受体的抗抑郁药物研究进展[J].中国药科大学学报,2016,47(6):639-647.
- [11] 陈辰,徐维平,魏伟.抑郁症的神经内分泌学研究进展[J].山东医药,2008,48(37):110-111.
- [12] 文眸,张伟.多巴胺受体及其与抑郁症的相关性研究进展[J].现代医药卫生,2016,32(4):549-552.
- [13] 范志雄,谢和辉.抑郁症的药物治疗进展[J].药学实践杂志,2012,30(3):178-181.
- [14] 李雨瞳,蔡定芳.抑郁症发病机制及其中医药治疗研究进展[J].医学理论与实践,2018,31(15):2234-2235,2246.

(收稿日期:2019-05-14 修回日期:2019-09-03)

(编辑:林 静)