

## 中药预知子乙醇提取物抗抑郁作用的实验研究

毛峻琴<sup>1</sup>, 伊佳<sup>2</sup>, 李铁军<sup>2</sup> (1. 中国人民解放军第85医院, 上海 201314; 2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433)

**摘要** 目的:研究预知子乙醇提取物的抗抑郁作用,并初步探讨其作用机制。方法:采用小鼠悬尾实验、强迫游泳实验,抑制单胺重摄取作用实验等动物模型来考察预知子乙醇提取物抗抑郁作用及其作用机制。结果:预知子乙醇提取物能够显著缩短小鼠悬尾及强迫游泳不动时间;显著增加多巴胺(DA)致小鼠死亡作用和阿朴吗啡致小鼠刻板运动作用;增加5羟色胺酸(5-HTP)致甩头作用,但对去甲肾上腺素(NE)重摄取抑制作用不明显。结论:预知子乙醇提取物有抗抑郁活性,与其增强5-HT、DA神经系统作用有关。

**关键词** 预知子;乙醇提取物;抗抑郁

中图分类号:RR285;R965 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)02-0126-03

### Studies on the anti-depressant effects of Akebia fruit alcohol extract

MAO Jun-Qin<sup>1</sup>, YI Jia<sup>2</sup>, LI Tie-Jun<sup>2</sup> (1 Department of Pharmacy, the 85th Hospital of PLA, Shanghai 200053, China; 2 Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the anti-depressant effects of *Akebia fruit* alcohol extract and to explore its mechanism. **Methods:** Tail suspension model and force-swim model of mice were used to observe the effect of *Akebia fruit* alcohol extract on relieving depression. The mechanism was examined by inhibiting reuptake of monoamine neurotransmitters. **Results:** *Akebia fruit* alcohol extract can reduced the immobility time in both of the tail suspension test and the forced swim test of mice. *Akebia fruit* alcohol extract significantly increased the rate of death of injecting dopamine and enhanced the apomorphine-induced stereotypy, could increase the head-twitch response evoked by 5-HTP, but it had no direct activation on reuptake of noradrenalin. **Conclusion:** *Akebia fruit* alcohol extract has antidepressant effects, and its mechanism may be related to the reinforcement of 5-HT nerves system and DA nerves system.

**KEY WORDS** *Akebia fruit* alcohol extract; anti-depressant

抑郁症是一种常见的精神疾病,以情感持续性低落为基本特征,常伴有思维迟钝和行为迟滞以及各种躯体化症状,在我国的发病率为1.3%~19.1%,并呈逐年上升的趋势<sup>[1]</sup>。目前对其治疗多为药物治疗联合心理治疗。但是此类药物多有疗效缓慢、依赖性等现象存在。因此,开发出安全、高效、依赖性小的抗抑郁药物是当前研究的一个热点。预知子(*Akebiae fructus*),别名八月炸、野香蕉,为木通科植物木通 *Akebia Quinata* (Thunb.) Decne. 的果实。《开宝本草》记载其味苦,寒,无毒。主要含有木通皂苷(akebin)A、B、C、D、E、F、G,其皂苷元均为常春藤皂苷元。主治精神病(心气不足,精神恍惚,语言错妄,忪悸烦郁,忧悉惨戚等)和疔风(眉落、声变)<sup>[2]</sup>。赵振兴等<sup>[3]</sup>报道用夜交藤预知子汤治疗抑郁症。我们研究了预知子的抗抑郁作用,发现预知子

乙醇提取物是抗抑郁作用的活性部位,并从抑制单胺重摄取的角度初步探讨其作用机制,现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** ICR小鼠,体重18~20g,第二军医大学实验动物中心提供[许可证号:SCXK(沪)2002-0006],自由觅食和饮水,室温(23±2),自然光照。

**1.2 药品和试剂** 圣·约翰草提取物(路优泰,德国威玛舒培博士药厂,批号:0840508);盐酸氟西汀胶囊(百优解,礼来苏州制药有限公司分装,批号:070606),甲磺酸瑞波西汀胶囊(叶洛抒,重庆药友制药有限责任公司,批号:071101),氟哌噻吨美利曲辛片(黛力新,丹麦灵北制药有限公司,批号:1072),重酒石酸去甲肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号071101)盐酸多巴胺注射液(上海禾丰制药有限公司,批号071008),育亨宾,阿朴吗啡,5羟色氨酸均购自sigma公司。

### 1.3 实验方法

资助项目:上海市卫生局中医药科研基金(2006Y003A)。

作者简介:毛峻琴(1973-),女,硕士,主管药师。Tel:(021)58172412, E-mail:maojq204@163.com。

通讯作者:李铁军。E-mail:ltj204@163.com。

**1.3.1 预知子乙醇提取物的制备:**药材粗粉 500 g,用石油醚 1 000 mL回流脱脂 2次,药材粗粉挥去石油醚后,用 80%乙醇 2 L回流提取二次,每次 1 h,提取液减压浓缩至 500 mL,放置过夜,过滤,滤液部份加水至 800 mL,依次用 EtOAc 2 400mL(分 3次),水饱和 n-BuOH 3 200mL(分 4次)提取,减压回收 n-BuOH近干,得浸膏。

**1.3.2 小鼠悬尾实验** 实验动物随机分为 4组,每组 10只。试验药物 2个剂量组,分别为 50、100 mg/kg,阳性药物圣·约翰草提取物组剂量为 100 mg/kg,空白对照组给予等体积生理盐水。每天灌胃一次,灌胃量 0.2 mL/10 g,连续给药 7 d。末次给药后 1 h,将动物尾端 2 cm部位贴在一水平支撑物上,使动物成倒挂状态,支撑物放置于一敞口箱内,其头部离底面约 5 cm。记录小鼠 6 min内不动时间,各组小鼠平行操作。

**1.3.3 小鼠强迫游泳实验** 分组与给药同“1.3.2”,末次给药后 1 h,将小鼠单独放入高 20 cm、直径 14 cm的圆柱型玻璃缸中,缸内水深 10 cm,水温(23~25)。从小鼠入水后记时 6 h,记录后 4 min内的累计不动时间,各组小鼠平行操作。

**1.3.4 育亨宾致小鼠死亡实验** 分组同“1.3.2”,阳性药甲磺酸瑞波西汀胶囊剂量为 1.6 mg/kg,小鼠每天上午灌胃一次,连续给药 7 d。末次给药后 1 h,各组动物分别皮下注射育亨宾 30 mg/kg,观察 0.5、1、2、4、24 h内的死亡率。

**1.3.5 DA致小鼠死亡实验** 分组同“1.3.2”,阳性药氟哌噻吨美利曲辛片剂量为 0.2 mg/kg,末次给药后 1 h,小鼠尾静脉注射亚致死剂量(100 mg/kg)的 DA,观察死亡率。

**1.3.6 5-HTP诱导的小鼠甩头行为实验** 分组同“1.3.2”,阳性药盐酸氟西汀剂量为 20 mg/kg,末次给药后 1 h腹腔注射 150 mg/kg的 5-HTP,给药后 5 min开始,15 min内小鼠的甩头次数。

**1.3.7 阿朴吗啡致小鼠刻板运动实验** 分组同“1.3.2”,阳性药氟哌噻吨美利曲辛片剂量为 0.2 mg/kg,各组小鼠在末次给药 1 h后,皮下注射阿朴吗啡 16 mg/kg,立即单独放入 16 × 27 cm的小鼠笼中,笼底部预先铺上揉有皱褶的纸,皱褶向上。根据小鼠刻板运动的评分标准(见表 1),观察阿朴吗啡 1 h内动物出现刻板运动的程度。

**1.4 统计学处理** 结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS13.0进行单因素方差分析处理。死亡率采用  $\chi^2$  检验评价差异的显著性。

## 2 结果

### 2.1 对小鼠悬尾不动时间及强迫游泳不动时间的

影响 小鼠在悬尾及强迫游泳模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为,可模拟人类的抑郁状态。如表 2所示,圣·约翰草提取物和预知子乙醇提取物两个剂量组均能显著缩短悬尾不动时间和强迫游泳不动时间,与空白对照组比较,差异具有显著性意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );预知子乙醇提取物作用具有一定的剂量依赖关系,作用强度与圣·约翰草提取物组相当。

表 1 阿朴吗啡致小鼠刻板运动的评分标准

活动情况	分值
无定型活动反应,与 Ns组无区别	0
动物不连续地闻,常伴有兴奋活动	1
动物连续地闻,头稍有活动,伴周期性兴奋活动	2
动物连续地闻和头部活动,伴有不连续地咬、啃、舔的动作,并有短暂活动期	3
动物连续地咬、啃,无兴奋活动期,有时全身迅速移位	4

表 2 预知子乙醇提取物对小鼠悬尾实验和强迫游泳实验不动时间的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	悬尾实验不动时间(s)	强迫游泳实验不动时间(s)
空白对照组	142.5 ± 25.6	186.7 ± 25.3
圣·约翰草提取物组	108.5 ± 42.3 <sup>1)</sup>	115.8 ± 63.9 <sup>2)</sup>
预知子低剂量组	105.3 ± 26.8 <sup>1)</sup>	134.6 ± 30.4 <sup>1)</sup>
预知子高剂量组	81.7 ± 22.2 <sup>2)</sup>	116.7 ± 32.6 <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,与空白组比较。

**2.2 对育亨宾致小鼠死亡的影响** 育亨宾能选择性地阻断突触前的  $\alpha_2$ 受体,促进去甲肾上腺素(NE)的释放。阳性药甲磺酸瑞波西汀是选择性 NE再摄取抑制剂,可提高中枢内 NE的浓度结果,显著增加育亨宾致小鼠死亡率。预知子乙醇提取物在 50~100 mg/kg剂量范围内对亨宾毒性作用无明显影响,提示其作用与 NE能神经功能无关。结果见表 3。

表 3 预知子乙醇提取物对育亨宾致小鼠死亡的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	死亡数	死亡率(%)
空白对照组	1	10
甲磺酸瑞波西汀组	8	80 <sup>2)</sup>
预知子低剂量组	0	0
预知子高剂量组	10	10

<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ,与空白组比较。

**2.3 对 DA致小鼠死亡的影响** 阳性药氟哌噻吨美利曲辛片可抑制 DA的重摄取,提高中枢内 DA的浓度,因此明显增加小鼠静脉注射亚致死量 DA后的小鼠死亡数,死亡率达 60%;预知子乙醇提取物低、高 2个剂量组均明显增加静脉注射亚致死剂量 DA的小鼠死亡率,提示其作用与增强 DA能神经功能有关,结果见表 4。

表 4 预知子乙醇提取物对 DA 致小鼠死亡的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	死亡数死亡率 (%)	
空白对照组	1	10
氟哌噻吨美利曲辛组	6	60 <sup>1)</sup>
预知子低剂量组	4	40
预知子高剂量组	60	60 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , 与空白组比较。

2.4 对 5-HTP 诱导小鼠甩头的影响 阳性药盐酸氟西汀能高度选择性抑制突触前膜对 5-HT 的再摄取, 提高中枢内 5-HT 的浓度, 因此明显增加 5-HTP 诱导小鼠诱导甩头行为。预知子乙醇提取物明显增强 5-HTP 诱导小鼠诱导甩头行为, 其中高剂量组与空白对照比较, 差异具有显著意义 ( $P < 0.05$ ), 提示其作用可能与抑制 5-HT 重摄取有关。结果见表 5。

表 5 预知子乙醇提取物对 5-HTP 诱导小鼠甩头的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	甩头次数	增加率 (%)
空白对照组	5.2 $\pm$ 0.04	—
盐酸氟西汀组	29.2 $\pm$ 0.44 <sup>2)</sup>	461
预知子低剂量组	7.8 $\pm$ 0.01	50
预知子高剂量组	11.9 $\pm$ 0.18 <sup>1)</sup>	129

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , 与空白组比较。

2.5 对阿朴吗啡致小鼠刻板运动的影响 阿朴吗啡 (Apomorphine, APO) 是一种非选择性多巴胺受体激动剂, 阳性药氟哌噻吨美利曲辛片可抑制 DA 的重摄取, 提高中枢内 DA 的浓度, 可协同阿朴吗啡致小鼠刻板运动的程度。预知子乙醇提取物对注射阿朴吗啡后的小鼠刻板运动有增强作用, 其中高剂量组与空白对照比较, 差异具有显著意义 ( $P < 0.05$ ), 提示其作用可能与增强脑内多巴胺的作用有关。

表 6 对阿朴吗啡致刻板运动的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	刻板评分	增加率 (%)
空白对照组	1.2 $\pm$ 0.42	—
氟哌噻吨美利曲辛组	3.4 $\pm$ 0.52 <sup>1)</sup>	183
预知子低剂量组	1.8 $\pm$ 0.63	50
预知子高剂量组	2.3 $\pm$ 0.48 <sup>1)</sup>	92

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , 与空白组比较。

### 3 讨论

抑郁症 (depression) 是由多种原因引起的以心理障碍为主要特征的综合征, 目前已成为世界第 4 大疾患<sup>[4]</sup>。抗抑郁药普遍存在副作用多、有效率低、易复发等问题<sup>[5]</sup>, 这带给患者很大的困扰, 因此要求新开发的抗抑郁药安全、高效且依赖性小。预知子入药历史已久, 在我国主要分布于长江流域以

南的各地, 资源稳定易得, 便于长期利用和开发。

小鼠悬尾试验和强迫游泳试验会提供一个不可回避的压迫环境, 小鼠在这两种状态下很快会出现绝望行为, 表现为不再挣扎, 呈现特有的安静不动状态, 可模拟人类的抑郁状态。抗抑郁药能明显缩短不动状态的持续时间, 此模型对抗抑郁药有很好的预测效度, 可用于该类药物的初筛<sup>[6,7]</sup>。本实验中, 预知子乙醇提取物可较显著的缩短小鼠游泳不动时间和悬尾不动时间, 说明预知子乙醇提取物具有一定的抗抑郁活性。

抑郁症的病因复杂, 单胺类神经递质与抑郁症的关系十分密切, 其生物学基础是 DA 和 / 或 5-HT 和 / 或 NE 的利用缺陷。许多抗抑郁药通过影响单胺递质的重摄取或代谢过程来发挥抗抑郁作用。本实验中, 预知子乙醇提取物并不协同育亨宾致死作用, 说明其抗抑郁活性与去甲肾上腺素能神经无关。本实验中预知子提取物可与 5-HTP 产生协同作用, 使小鼠甩头次数明显增加。提示其抗抑郁活性可能与其抑制 5-羟色胺重摄取、增强脑内 5-HT 神经功能有关。阿朴吗啡是脑内多巴胺受体激动剂, 可使啮齿类动物出现强迫性嗜咬现象<sup>[8]</sup>。本实验表明, 预知子乙醇提取物可与阿朴吗啡协同而使阿朴吗啡致小鼠刻板运动 (强迫性嗜咬活动) 增加, 并且明显增加静脉注射亚致死剂量 DA 的小鼠死亡率, 说明其很可能通过阻断 DA 在神经末梢的重摄取, 从而增加突触间隙的 DA 的浓度而发挥抗抑郁作用。总之, 预知子乙醇提取物具有一定的抗抑郁活性, 其作用机制与增强中枢 DA 和 5-HT 的作用有关。

### 参考文献:

- [1] 陈利平, 李 外, 林明雄, 等. 舒郁散对慢性应激性抑郁大鼠行为的影响 [J]. 中国药物应用与监测, 2007, 6: 19, 35.
- [2] 中国药典. 2005 年版一部 [S]. 2005: 208.
- [3] 赵振兴, 魏宇澜, 刘志君. 夜交藤预知子汤的临床应用 [J]. 河北中西医结合杂志, 1995, 4 (1): 73.
- [4] 侯 霖, 李彦华, 王景俊. 抗抑郁药的研究新进展 [J]. 医学综述, 2007, 13 (9): 1511.
- [5] Wong ML, Licinio J. Research and treatment approaches to depression [J]. Nat Rev Neurosci, 2001, (2): 343.
- [6] Curzon C, Green AR. Rapid Method for the Determination of 5-Hydroxytryptanone and 5-Hydroxyindoleacetic Acid in Small Regions of Rat Brain [J]. British Journal of Pharmacology, 1970, 39: 653.
- [7] 杨小莹, 陈 杰, 杨新明, 等. 抗抑郁药物及其研究方法的进展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32 (9): 770.
- [8] 赵 威, 黄国钧. 抑郁康制剂的抗抑郁作用研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17 (6): 43.

收稿日期: 2008-12-08