

苏郁胶囊改善慢性应激抑郁行为与抗氧化作用

黄真, 毛庆秋

浙江中医药大学药学院, 杭州 310053, 浙江

摘要 目的: 研究苏郁胶囊改善慢性应激抑郁行为与抗氧化作用。**方法:** 将 48 只雄性大鼠分为正常组、模型组、苏郁胶囊高、中、低剂量组(22.8、11.4、5.7 g/kg)及氯米帕明组(0.02 g/kg)。采用长期不可预见中等强度应激结合孤养造成大鼠抑郁模型, 测定各组大鼠体重增长克数, Open-field 法和糖水消耗实验测定各组大鼠的行为变化; 测定各组大鼠血清及大脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量。**结果:** 苏郁胶囊可不同程度增加慢性应激大鼠的体重增长速度及糖水消耗量, 改善大鼠行为缺损, 同时提高血清及大脑中 SOD 活性, 降低 MDA 含量。**结论:** 苏郁胶囊能够改善慢性应激抑郁大鼠行为; 其抗抑郁作用机制可能与清除体内过多自由基及抗脂质过氧化作用有关。

关键词 苏郁胶囊; 抑郁症; 行为学; 抗氧化

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2007)11-1237-04

苏郁胶囊是根据多年临床验方研制而成的中药新药, 由柴胡、苏梗、郁金、石菖蒲等中药组成, 具有舒肝解郁、理气宽中、宁心安神之功效, 主治肝气郁结、痰火扰神所致的轻、中度抑郁症。本课题组前期的药效学实验研究表明, 苏郁胶囊具有显著的抗抑郁作用^[1~3]。本研究通过观察苏郁胶囊对慢性应激抑郁模型大鼠脂质过氧化作用的影响, 探讨该药抗抑郁的作用机制。

2007-03-02 收稿 2007-10-07 修回

浙江省自然科学基金项目(X206952); 浙江省中医药科技计划重点项目(2006Z001); 浙江省教育厅科研项目(20050833)

黄真, 女, 教授, 博士生导师, 研究方向: 治疗神经精神系统疾病中药新药研究。

Tel: 0571-86613576 E-mail: zhen626@yahoo.com.cn

1 材料和方法

1.1 动物 SD 雄性大鼠, 体重(180±20) g, 由浙江省实验动物中心提供, 动物使用许可证: SYXK(浙)2003-0001。

1.2 药物与试剂 苏郁胶囊(浸膏)由浙江中医药大学中药资源工程重点实验室制备, 批号: 060917; 盐酸氯米帕明片(安拿芬尼)购于北京诺华制药有限公司, 批号: X0007; 超氧化物歧化酶(SOD), 丙二醛(MDA)及考马斯亮兰检测试剂盒均购于南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 756M 紫外可见分光光度计, 上海分析仪器厂; TG16A-WS 型台式高速离心机, 湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司; HH-601 型恒温水浴箱, 江苏省金坛市环宇科学仪器厂。

1.4 分组及给药 将大鼠置于昼夜节律光照条件下, 自由进食进水, 饲养 1 周以适应环境, 每日触摸动物以适应实验人员的操作。后采用 Open-Field 法及糖水消耗实验作行为学评分, 选择评分相近的大鼠 48 只随机分为 6 组, 即正常组、模型组、苏郁胶囊高、中、低剂量组(分别相当于原生药 22.8、11.4、5.7 g/kg)及氯米帕明组(0.02 g/kg), 每组 8 只。除正常组外, 其余各组大鼠均单笼饲养。于造模同时灌胃(i.g.)给药, 正常组和模型组给以相同剂量的生理盐水(i.g.), 每天 1 次, 共 24 d。

1.5 慢性应激抑郁大鼠模型的建立^[2] 由于机体对同种强度的单一应激原易产生耐受性, 因此本实验运用多种不可预知的刺激方式以每天 1 次的频率交替应激大鼠 24 d, 应激包括: 禁食 48 h、禁水 24 h、夹尾 60 s、45℃热刺激 5 min、悬吊 15 min、昼夜颠倒、10℃冷刺激 5 min 及电击足底等。平均每种刺激各 2~3 次。

1.6 大鼠体重变化测定 分别于造模 d 1、8、16、24 测定各组大鼠体重, 以造模 d 1 体重为基础体重, 计

算大鼠的体重变化。

1.7 Open-Field 法测定大鼠行为学指标 实验 d 25 用 Open-Field 法测定各组大鼠的行为学指标, 实验装置为 100 cm×100 cm×50 cm (长×宽×高) 木箱, 周壁黑色, 底部等分为 25 方格, 记录 3 min 内大鼠自发活动情况, 观察指标: (1) 中央格停留时间; (2) 水平活动, 三爪以上跨入邻格的次数; (3) 垂直运动, 两前肢离地 1 cm 以上的次数。

1.8 糖水消耗实验 实验 d 25, 进行糖水消耗实验。在进行糖水消耗实验时所有大鼠均单笼饲养, 每只大鼠给以 1%蔗糖溶液 150 mL, 计算大鼠 24 h 内饮用 1%蔗糖溶液的量。

1.9 血清及大脑组织中 SOD 活性及 MDA 含量的测定 大鼠眼眶取血, 离心分离血清, -20℃保存待测; 后将大鼠于冰盘上快速断头取脑, 分离大脑, 制备 10%脑组织匀浆液, 匀浆液于 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液-20℃保存待测。用黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性, 用硫代巴比妥酸法测定 MDA

含量, 大脑组织中蛋白含量以考马斯亮兰法测定, 所有的测定方法按试剂盒说明进行。

1.10 统计学处理 实验数据均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用 SPSS 11.5 分析应用软件处理分析数据, 组间样本比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠体重变化的影响 与正常组比较, 模型组大鼠在 d 8、d 16 及 d 24 体重增加明显减少, 差异皆有统计学意义($P < 0.01$), 说明慢性应激可使大鼠体重增加明显下降。苏郁胶囊高剂量(22.8 g/kg)组于 d 8、d 16 及 d 24 时大鼠体重增长明显高于模型组($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.01$); 苏郁胶囊中剂量(11.4 g/kg)组于 d 16 及 d 24 时大鼠体重增长明显高于模型组($P < 0.01$, $P < 0.01$); 苏郁胶囊低剂量(5.7 g/kg)组于 d 24 时大鼠体重增长明显高于模型组($P < 0.01$, 表 1)。

表 1 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠体重变化的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	体重变化(g)		
		8 d	16 d	24 d
正常组	—	38.0±3.2 ^c	82.3±5.2 ^c	141.0±7.7 ^c
模型组	—	28.5±4.9 ^f	58.3±6.4 ^f	74.6±11.2 ^f
苏郁胶囊高剂量组	22.8	34.9±5.2 ^b	74.4±6.0 ^c	119.1±9.9 ^c
苏郁胶囊中剂量组	11.4	31.3±2.7	70.8±4.8 ^c	109.6±9.0 ^c
苏郁胶囊低剂量组	5.7	30.9±7.6	66.5±6.4	99.5±7.3 ^c
氯米帕明组	0.02	31.8±2.1	68.0±7.0 ^b	107.3±9.4 ^c

与模型组比较^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与正常组比较^f $P < 0.01$

2.2 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠行为学及糖水消耗量的影响 经过 24 d 造模后, 模型组大鼠的中央停留时间、水平活动得分、垂直活动得分和糖水消耗量均较正常组显著减少, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与模型组比较, 苏郁胶囊高、中剂量组能增加抑郁大鼠的中央停留时间($P < 0.01$, $P < 0.01$)、水

平活动得分($P < 0.01$, $P < 0.01$)和垂直活动得分($P < 0.05$, $P < 0.01$); 苏郁胶囊低剂量组能增加抑郁大鼠的垂直活动得分($P < 0.05$); 苏郁胶囊高、中、低剂量组能明显增加大鼠糖水消耗量($P < 0.01$, $P < 0.01$, $P < 0.05$, 表 2)。

表 2 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠行为学及糖水消耗量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	中央停留时间(s)	水平运动(次/min)	垂直运动(次/min)	糖水消耗量(mL)
正常组	—	1.1±0.4 ^c	45.5±6.3 ^c	16.0±2.6 ^c	110±9 ^c
模型组	—	4.6±1.1 ^f	11.1±2.2 ^f	3.3±1.5 ^f	54±18 ^f
苏郁胶囊高剂量组	22.8	2.3±0.5 ^c	16.3±2.0 ^c	5.4±1.2 ^b	102±17 ^c
苏郁胶囊中剂量组	11.4	2.5±0.5 ^c	22.8±3.3 ^c	6.3±2.0 ^c	89±18 ^c
苏郁胶囊低剂量组	5.7	3.7±0.6	12.8±1.7	4.6±1.4 ^b	80±16 ^b
氯米帕明组	0.02	2.4±0.5 ^c	16.8±2.3 ^c	5.1±0.8 ^c	98±14 ^c

与模型组比较^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与正常组比较^f $P < 0.01$

2.3 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠血清及大脑中 SOD 活力及 MDA 含量的影响 与正常组比较, 模型组大鼠血清及大脑 SOD 活力明显下降($P<0.01$, $P<0.01$), MDA 含量明显升高($P<0.01$, $P<0.01$)。与模型组比较, 苏郁胶囊高、中、低剂量组能明显增加抑郁模型大鼠血清 SOD 活性($P<0.01$, $P<0.01$, P

<0.01); 苏郁胶囊高、中剂量组能明显降低抑郁模型大鼠血清 MDA 含量($P<0.05$, $P<0.05$); 苏郁胶囊高、中、低剂量组能明显增加抑郁模型大鼠大脑 SOD 活性($P<0.01$, $P<0.01$, $P<0.05$); 苏郁胶囊高、中、低剂量组能明显降低抑郁模型大鼠大脑 MDA 含量($P<0.01$, $P<0.05$, $P<0.05$, 表 3)。

表 3 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠血清 SOD 活力及 MDA 含量的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量 (g/kg)	血清		大脑	
		SOD	MDA	SOD	MDA
		(U/mL)	(nmol/mL)	(U·mg ⁻¹ ·prot)	(nmol·mg ⁻¹ ·prot)
正常组	—	146±8 ^c	3.6±0.9 ^c	132±10 ^c	2.8±0.8 ^c
模型组	—	123±9 ^f	5.7±1.6 ^f	108±6 ^f	4.8±1.0 ^f
苏郁胶囊高剂量组	22.8	157±10 ^c	3.8±0.7 ^b	135±10 ^c	3.0±0.7 ^b
苏郁胶囊中剂量组	11.4	145±8 ^c	4.2±1.0 ^b	125±10 ^c	3.6±0.6 ^b
苏郁胶囊低剂量组	5.7	136±8 ^c	4.6±0.9	116±6 ^c	3.7±0.8
氯米帕明组	0.02	147±9 ^c	3.8±0.7 ^b	128±10 ^c	3.1±0.8 ^b

与模型组比较^b $P<0.05$, ^c $P<0.01$, 与正常组比较^f $P<0.01$

3 讨论

本实验采用慢性轻度不可预见性的应激刺激, 与人类抑郁症中慢性低水平的应激源促进抑郁症的发生及发展的机理更为接近, 是抑郁症病理生理研究较好的模型之一, 也是目前国内外学者在抑郁症研究中广泛应用的动物模型。在实验中可见模型组大鼠体重增加减慢, 行为学明显缺损, 1%糖水消耗量减少, 说明模型组大鼠食欲减退, 快感缺失, 活动能力下降, 兴趣丧失等; 经过氯米帕明片及抗抑郁中药新药苏郁胶囊治疗后上述症状明显改善, 说明抑郁动物模型复制成功。

抑郁症的发病机制非常复杂, 传统的“单胺假说”尚不能完全解释抑郁症的发病。目前国内外研究显示脂质过氧化可能参与抑郁症的发病过程^[4~6]。在正常情况下, 机体依赖自身的调节机制使体内处于相对自稳态, 尽管人体氧化代谢可以产生少量自由基, 但可被体内的活性酶所清除, 产生和消除过程维持着动态平衡, 使自由基处于机体允许的低浓度生理范围内。慢性应激状态下, 机体代谢异常产生大量的自由基, 过量的自由基与核酸、蛋白质、氨基酸及脂质等反应生成过氧化脂质如 MDA, 造成神经细胞代谢和功能形态上的变化, 引起神经细胞死亡, 从而导致精神障碍。因此测定 MDA 含量能反应组织脂质过氧化程度, 间接反映细胞的损伤程度。SOD 是机体清除氧自由基的重要酶, 测定 SOD 活性可以间接反映机体清除氧自由基的能力。

本实验研究发现慢性应激抑郁模型大鼠血清及大脑组织中的 SOD 活性明显降低, 而脂质过氧化产物 MDA 含量明显升高, 提示慢性应激抑郁模型大鼠体内氧化与抗氧化系统失衡, 与李建梅等^[7~9]的实验结果相一致。苏郁胶囊治疗组可明显提高血清及大脑组织中 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 与模型组比较, 有统计学差异, 并呈现一定的量效关系。

抑郁症属中医“郁证”范畴。其病理机制为情志不舒, 肝气郁结渐致五脏不和引起, 因此中医临床多从肝论治。苏郁胶囊中柴胡具有和表解里、疏肝升阳之功效, 对肝气郁结、气机不畅引起的胸胁胀满、抑郁寡欢等有治疗作用, 苏梗、郁金理气宽中, 行气止痛, 石菖蒲开窍豁痰, 化湿和胃, 诸药合用共奏疏肝解郁、理气宽中、宁心安神之功。从本实验可以得出: 苏郁胶囊改善慢性应激抑郁模型大鼠的抑郁样行为可能与其增强大鼠体内的抗氧化能力相关。

参考文献

1 钟晓明, 毛庆秋, 黄真, 等. 苏郁胶囊对小鼠抑郁模型的影响[J]. 中国新药杂志, 2006; 15: 1247—1250.

2 钟晓明, 毛庆秋, 黄真, 等. 苏郁胶囊对抑郁模型大鼠血浆 ACTH、皮质醇和免疫功能的影响[J]. 中国新药杂志, 2006; 15: 1250—1253.

3 钟晓明, 毛庆秋, 黄真, 等. 苏郁胶囊对抑郁模型小鼠行为及海马神经元损失的影响[J]. 中国中药杂志, 2006; 31: 1192—1195.

4 陈佐明, 张建宏, 张秀明, 等. 单次发作抑郁症过氧化脂质及谷胱甘肽过氧化物酶检测的意义[J]. 新乡医学院学报, 1995; 12: 153—155.

- 5 黄周忠, 陈小维, 吴小南, 等. 情感性精神障碍患者脂质过氧化物、超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶的观察[J]. 中华精神科杂志, 1999; 32: 191.
- 6 张心华, 徐珞, 陶尚敏, 等. 抑郁症及焦虑症病人血浆 SOD 活性和 MDA 含量的变化[J]. 康复与疗养杂志, 1997; 12: 157—158.
- 7 尹艳艳, 李春如, 阚红卫, 等. 细脚拟青霉提取物对慢性应

- 激抑郁大鼠脑脂质过氧化的影响及小鼠急性毒性实验[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006; 11: 1137—1139.
- 8 李建梅, 杨澄, 张伟云, 等. 半夏厚朴汤醇提物对大鼠慢性抑郁模型的影响[J]. 中国中药杂志, 2003; 28: 55—59.
- 9 阚红卫, 郑丽芳, 尹艳艳, 等. BCPT 对慢性应激抑郁大鼠脂质过氧化及免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2005; 21: 1385—1387.

Anti-oxidative properties of Suyu capsule that ameliorates the stress-induced chronic depressive-behavior in rats

HUANG Zhen, MAO Qing-qiu

Zhejiang Chinese Medicine University College of Pharmacy, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT **AIM:** To study the anti-oxidative properties of Suyu capsule that ameliorates the stress-induced chronic depressive-behavior in rats. **METHODS:** 48 male SD rats were separated randomly into 6 groups including the control group, the model group, three suyu capsule groups (the doses were 22.8, 11.4, 5.7 g/kg respectively) and Anafranil (0.02 g/kg). The model was established by separation and chronic unpredictable mild stimulation. Mensurating the increased weight, cane sugar water consumption and residence time, crossing score, rearing score by open-field; the activity of superoxide dismutase (SOD), the content of malondialdehyde (MDA) in serum and cerebra of rats were mensurated, too. **RESULTS:** Suyu capsule could improve the increased

weight, cane sugar water consumption and improve the behavioral impairment obviously in chronic unpredictable stress depression rats; Suyu capsule also increased the activity of SOD and decrease the content of MDA in serum and cerebra of rats. **CONCLUSION:** Suyu capsule can ameliorate the behaviour of chronic unpredictable stressed rats. The inhibition of lipid peroxidation and the scavenging of free radical may account for the observed antidepressant effects.

KEY WORDS Suyu capsule; antidepressant; behavior; antioxidation

本文编辑: 沈杰