

## ·研究报告·

# 柴郁温胆汤对大鼠抑郁模型行为学及脑内单胺类神经递质的影响\*

周海虹<sup>1</sup>, 陆汎<sup>1</sup>, 陈艳玲<sup>2</sup>, 朱红梅<sup>1</sup>, 王训<sup>2</sup>, 胡纪原<sup>2</sup>, 韩咏竹<sup>2</sup>( <sup>1</sup>厦门大学医学院, 厦门 361005; <sup>2</sup>安徽中医学院神经病学研究所, 合肥 230061 )

**摘要:** 目的: 探讨中药复方柴郁温胆汤抗抑郁作用的机制。方法: 以孤养加慢性轻度不可预见性应激方法建立大鼠抑郁模型, 用旷场行为测定及糖水消耗试验进行行为学评分, 并用高效液相-电化学方法检测其脑内单胺类神经递质的含量, 观察模型大鼠给药前后的变化。结果: 抑郁模型大鼠体质量增长缓慢, 水平和垂直活动及糖水消耗量均明显减少 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); 杏仁核NE、DA、5-HT、HVA含量减少 ( $P < 0.05$ ); 纹状体NE、DA、5-HT含量减少 ( $P < 0.05$ )。柴郁温胆汤能改善模型大鼠行为学变化, 升高杏仁核NE、5-HIAA、5-HT、HVA ( $P < 0.05$ ) 及DA含量 ( $P < 0.01$ ), 升高纹状体DA和5-HT含量 ( $P < 0.05$ )。结论: 柴郁温胆汤具有抗抑郁作用, 对中枢单胺类神经递质的调节作用是其疗效机制之一。

**关键词:** 抑郁症; 柴郁温胆汤; 行为学; 单胺类神经递质; 大鼠

## Effects of Chaiyuwendan Decoction on ethology and monoamine neurotransmitters in brain of depressive disorder rats

ZHOU Hai-hong<sup>1</sup>, LU Fan<sup>1</sup>, CHEN Yan-ling<sup>2</sup>, ZHU Hong-mei<sup>1</sup>, WANG Xun<sup>2</sup>, HU Ji-yuan<sup>2</sup>, HAN Yong-zhu<sup>2</sup>( <sup>1</sup>Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, China; <sup>2</sup>Institute of Neuroscience, Anhui College of TCM, Hefei 230061, China)

**Abstract:** Objective: To study the anti-depression mechanism of Chaiyuwendan Decoction (CYWDD). Methods: Rat models were established by separation and chronic unpredictable mild stress (CUMS). Ethology of rats were detected by open-field test and sucrose consumption test, contents of monoamine neurotransmitters were detected by HPLC-ECD. Results: Compared with normal group, the weight, the frequency of crossing, rearing and the contents of consumption to sucrosus water in depressive disorder rats decreased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the contents of NE, DA, 5-HT and HVA in amygdaloid nucleus decreased significantly ( $P < 0.05$ ), and the contents of NE, DA and 5-HT in corpus striatum of depressive disorder rats decreased significantly ( $P < 0.05$ ). CYWDD can improve ethology of depression rats and increase the contents of NE, 5-HIAA, 5-HT and HVA in amygdaloid nucleus significantly ( $P < 0.05$ ) and increase the contents of DA significantly ( $P < 0.01$ ) in the amygdaloid nucleus. In the corpus striatum, CYWDD can increase the contents of DA, 5-HT significantly ( $P < 0.05$ ). Conclusion: The effects of anti-depression of CYWDD may be related to the regulation of monoamine neurotransmitters in brain.

**Key words:** Depressive disorder; Chaiyuwendan Decoction; Ethology; Monoamine neurotransmitter; Rat

温胆汤始载于唐代孙思邈《备急千金要方》, 后《三因极一病证方论》、《世医得效方》中均有记载, 其组成和功用大同小异。柴郁温胆汤由《世医得效方》中温胆汤加柴胡、郁金组成, 临床治疗抑郁症取得较好疗效, 且未见明显不良反应。为了探讨该方抗抑郁作用的机制, 笔者采用孤养加慢性轻度不可预见性应激方法建立大鼠抑郁模型<sup>[1-2]</sup>, 观察其对模型大鼠行为学及脑杏仁核和纹状体单胺类神经递质的影响, 并以四环类抗

抑郁药马普替林作为对照。现报告如下。

### 材料与方法

#### 1. 材料

1.1 动物 清洁级健康雄性SD大鼠32只, 鼠龄6-8周, 体质量(200±20)g, 由安徽医科大学实验动物中心提供(皖医实动准字01号)。随机分为正常组、模型组、柴郁温胆汤组、马普替林组, 每组8只。

\*厦门市卫生局医学科资助项目 (No.WSK0535)

通讯作者: 周海虹, 厦门市大学路168号厦门大学医学院, 邮编: 361005, 电话: 0592-2183069, E-mail: hhzhou@xmu.edu.cn

1.2 药物 柴郁温胆汤组成:陈皮12g,柴胡、郁金、半夏、竹茹、枳实、茯苓各10g,人参、甘草、生姜、大枣各5g。水煎两次,滤汁弃渣,合并药液,浓缩至50ml(浓度为1ml/100g,含生药量18.4g/kg)冷藏备用。马普替林(北京诺华制药有限公司生产,国药准字H19991047)用之前以双蒸水配制成1mg/ml混悬液。

1.3 主要试剂与仪器 去甲肾上腺素(NE)、高香草酸(HVA)、5-羟色胺(5-HT)、5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA)均为Sigma公司产品;多巴胺(DA)、3,4-二羟苯胺(DHBA)均为Fluka公司产品;其余试剂为国产色谱纯或分析纯。Goldsystem高效液相仪(美国Beckman公司)、LC-4B电化学检测仪(美国BAS公司)、ODS反相色谱柱(250mm×4.6mm,5μm,大连依利特公司)、HC-160R高速冷冻离心机(科大创新公司)、超声粉碎仪(日本Sanyo公司)。

## 2. 方法

2.1 实验大鼠旷场(Open-field)行为评分<sup>[3]</sup> 将大鼠置于高40cm、直径80cm的黑色圆柱体内,底面用黑线划分为面积相等的25块。以动物穿越地面积数作为水平活动得分,以直立次数为垂直活动得分。每只动物仅进行一次测定,每次3min。

2.2 实验大鼠造模与给药 正常组每笼饲养4只,正常饮食,不给任何刺激,其余3组,每笼饲养1只,并接受21天的应激刺激。根据Katz等的方法<sup>[3-4]</sup>改进,包括:禁食、禁水、4℃冷水游泳、高速水平振荡(160Hz)、闪光刺激(120次/s)等。每天随机给予一种刺激,每种刺激各2次,使大鼠不能预料刺激的发生。各组在刺激的第2天灌胃给药,给药量分别为:柴郁温胆汤组18.4g/kg,马普替林组10mg/kg,正常组、模型组给等量生理盐水,持续给药至实验的第23d。

2.3 实验大鼠称质量、行为学及糖水消耗测试 分别在实验的第1、7、14和21d测定动物的体质量变化;在实验第21d再次给Open-field评分;糖水消耗测试<sup>[2]</sup>于实验第22d进行,所有大鼠均单笼饲养并禁食,给予1%蔗糖水160ml,计算其24h饮用量。

2.4 样品制备及测定 于末次给药60min后,断头处死大鼠,根据大鼠脑立体定位图谱<sup>[5]</sup>,在冰盘上剥离大脑,分离杏仁核和纹状体。每组选取6个分离完整的标本置冻存管中液氮速冻,-86℃低温保存待测。脑标本称质量后加入0.1ml的0.1mol/L HClO<sub>4</sub>溶液(含内标DHBA 0.1μg/ml、EDTANa<sub>2</sub>

0.1mmol/L、Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>0.5mmol/L),超声匀浆器冰浴下匀浆1min,4、12 000 r/min离心20min,取上清液50μl进样。色谱条件参考袁氏等<sup>[6]</sup>方法:流动相为无水乙酸钠(100mmol/L)-柠檬酸(85mmol/L)缓冲液,内含0.4mmol/L正二丁胺,1.0mmol/L辛烷磺酸钠,0.2mmol/L EDTANa<sub>2</sub>及15%甲醇,pH3.6;流速1.0ml/min;柱温30℃;单胺类神经递质及其主要代谢产物的浓度按内标法计算。

2.5 统计学处理 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用SPSS11.5统计软件对两组间的均数进行两独立样本t检验。

## 结果

### 1. 行为学、糖水消耗量及体质量的变化

1.1 各组大鼠行为学变化 见表1。与正常组比较,实验第21d模型组水平、竖直得分均明显减少( $P < 0.05$ );与模型组比较,柴郁温胆汤组水平、竖直得分均明显提高( $P < 0.05$ );马普替林组水平得分有显著差异( $P < 0.05$ )。运用配对t检验对各组实验第1d与实验第21d的水平与竖直得分进行检验,模型组在实验第21d的水平与竖直得分均比实验第1d明显减少,有极显著差异( $P < 0.01$ );其余各组无统计学意义( $P > 0.05$ )。

1.2 各组大鼠糖水消耗量变化 见表2。与正常组比较,模型组大鼠糖水消耗量明显降低( $P < 0.01$ );与模型组相比,柴郁温胆汤能极显著提高大鼠对糖水的消耗量( $P < 0.01$ );马普替林组能显著提高大鼠对糖水的消耗量( $P < 0.05$ )。

1.3 各组大鼠体质量变化 见表2。与正常组比较,模型组体质量增长缓慢( $P < 0.05$ );实验第14、21d模型组体质量明显低于正常组,有极显著差异( $P < 0.01$ )。其余各组体质量增长比模型组有升高趋势,但差异无显著性( $P > 0.05$ )。

### 2. 脑内单胺类神经递质的变化

2.1 杏仁核单胺类神经递质的变化 见表3。与正常组比较,模型组大鼠杏仁核NE、DA、5-HT、HVA含量均明显降低( $P < 0.05$ ),5-HIAA有降低趋势,但无显著差异( $P > 0.05$ );与模型组比较,柴郁温胆汤组杏仁核NE、5-HT、5-HIAA、HVA含量显著提高( $P < 0.05$ ),DA含量极显著提高( $P < 0.01$ );马普替林组NE含量显著提高( $P < 0.05$ ),DA含量极显著提高( $P < 0.01$ )。

2.2 纹状体单胺类神经递质的变化 见表4。与正常组比较,模型组大鼠纹状体NE、DA、5-HT含量明显降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,柴郁温胆汤组纹状体DA、5-HT含量显著提高( $P < 0.05$ )。

表1 各组大鼠行为学评分的变化(n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	水平得分		竖直得分	
	第1天	第21天	第1天	第21天
正常组	67.9±24.4	61.8±19.5	15.9±7.2	11.3±5.0
模型组	73.1±16.2	37.9±19.3	13.0±4.2	5.5±3.7
柴郁温胆汤组	58.9±20.4	59.6±20.2	13.8±9.1	11.3±5.6
马普替林组	61.5±20.6	58.5±13.6	17.6±7.8	11.4±7.7

注:与正常组比较, $^*P < 0.05$ ;与模型组比较, $^{\#}P < 0.05$ ;与本组第1d比较, $^{\Delta}P < 0.01$ 。

表2 各组大鼠及糖水消耗量体质量的变化 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	糖水消耗量 (ml/24h)	体质量(g)			
		第1天	第7天	第14天	第21天
正常组	63.0±7.9	197.6±10.5	221.9±13.7	240.2±12.7	253.9±7.2
模型组	41.9±5.8 <sup>**</sup>	195.3±12.2	207.0±13.4 <sup>*</sup>	218.5±12.3 <sup>**</sup>	226.6±13.8 <sup>**</sup>
柴郁温胆汤组	59.1±16.3 <sup>**</sup>	195.5±10.0	208.3±11.4	222.3±12.8	232.9±13.2
马普替林组	53.0±11.8 <sup>*</sup>	190.0±10.5	203.4±12.2	226.9±13.7	234.0±15.1

注:与正常组比较, <sup>\*</sup>P<0.05, <sup>\*\*</sup>P<0.01。

表3 各组大鼠杏仁核单胺类神经递质的变化 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ , ng/g)

组别	NE	DA	5-HT	5-HIAA	HVA
正常组	445.4±206.7	51.2±18.0	764.2±267.2	636.8±365.1	16.0±6.6
模型组	180.9±67.0 <sup>*</sup>	27.1±15.1 <sup>*</sup>	377.2±209.3 <sup>*</sup>	422.6±281.3	7.6±5.7 <sup>*</sup>
柴郁温胆汤组	476.7±263.8	72.7±28.3	766.1±397.4	768.5±309.1	22.4±13.7
马普替林组	258.3±42.2	69.9±27.1	302.3±72.1	227.2±63.6	3.4±3.1

注:与正常组比较, <sup>\*</sup>P<0.05; 与模型组比较, <sup>\*</sup>P<0.05, <sup>\*\*</sup>P<0.01。

表4 各组大鼠纹状体单胺类神经递质的变化 (n=6,  $\bar{x} \pm s$ , ng/g)

组别	NE	DA	5-HT	5-HIAA	HVA
正常组	511.4±174.9	66.6±19.0	391.5±180.1	356.4±218.4	16.6±7.4
模型组	282.3±104.1 <sup>*</sup>	44.2±11.5 <sup>*</sup>	176.3±99.0 <sup>*</sup>	228.2±99.2	14.6±5.1
柴郁温胆汤组	260.8±161.1	71.4±19.0	356.2±11.8	290.0±236.7	17.0±11.3
马普替林组	324.7±155.1	57.9±10.4	584.6±196.0	535.3±216.8	11.7±2.5

注:与正常组比较, <sup>\*</sup>P<0.05; 与模型组比较, <sup>\*</sup>P<0.05, <sup>\*\*</sup>P<0.01。

<0.05); 马普替林组5-HT含量极显著提高(P<0.01), 5-HIAA含量显著提高(P<0.05)。

### 讨论

笔者认为素体禀赋不足是患抑郁症的重要体质因素, 在此基础上, 因情志不遂、郁怒思虑、悲伤忧愁等不良刺激, 导致气机阻滞, 血行不畅, 气血失调; 肝郁抑脾, 脾失运化, 痰浊内生而发病。初起多以气郁、血瘀、痰阻等邪实为主, 病久耗伤气血, 损及心脾, 元神失养, 而成虚实夹杂证。柴郁温胆汤具有疏肝活血、化痰清胆、养心健脾的功效, 切合抑郁症气郁、血瘀、痰阻及心脾两虚之病机, 故临床上曾获得较好疗效。

本研究采用孤养加慢性轻度应激方法建立大鼠抑郁模型, 经行为学评分、糖水消耗及体质量测定, 证实该模型基本模拟了抑郁症患者的快感缺乏, 兴趣缺失, 精神运动迟滞及体重偏轻等抑郁表现。柴郁温胆汤组在水平、垂直运动及糖水消耗方面均较模型组有明显改善 (P<0.01), 且优于马普替林组 (P<0.05), 证明该方有良好的抗抑郁作用。

单胺类神经递质在抑郁症发病机制中的作用已被越来越多的实验和临床证据所证明<sup>[7]</sup>。资料显示, 减少DA水平的药物如利血平可以导致抑郁心境, 一些增加脑内DA水平的药物如苯丙胺可产生兴奋; 条件回避和强化训练实验表明, 脑内DA含量的增加可使动物产生兴奋、增强行为动机<sup>[8]</sup>。额叶新皮质、杏仁

核复合体、海马和下丘脑等4个关键脑结构间的功能与人类情感活动关系密切, 其中杏仁核是介导情绪的躯体反应和新皮层中参与意识、情感、特别是恐惧的核团之间的联系者<sup>[9]</sup>。近年还发现抑郁症患者杏仁核的胶质细胞减少<sup>[10]</sup>。纹状体位于基底节区。有研究表明一些累及基底节的脑器质性疾病往往继发抑郁<sup>[11]</sup>。以上提示纹状体和杏仁核可能与抑郁症的发生有关。

本研究结果显示, 模型组大鼠杏仁核NE、DA、5-HT、HVA及纹状体NE、DA、5-HT的含量均明显低于正常组, 表明存在中枢单胺递质的代谢异常。柴郁温胆汤能明显升高杏仁核NE、DA、5-HIAA、5-HT、HVA含量和纹状体DA、5-HT含量, 表明该方对杏仁核和纹状体单胺神经递质具有调节作用, 是其抗抑郁作用的机制之一。

### 参考文献

- [1] Hennessy M B, Deak T, Schiml Webb P A. Stress-induced sickness behaviors: an alternative hypothesis for responses during maternal separation. *Dev Psychobiol*, 2001, 39: 76-83
- [2] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic mild unpredictable stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 1987, 93: 358-346
- [3] Katz R J, Roth K A, Carroll B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression.

Neuroscience Biobehavioral Reviews,1981,5:247-251

[4] Willner P. Validity , reliability and utility of the chronic mild stress model of depression : a 10-year review and evaluation . Psychopharmacology,1997,134:319-320

[5] 包新民,舒斯云.大鼠脑立体定位图谱.北京:人民卫生出版社,1991:17-83  
BAO Xin-min, SHU Si-yun. Stereotaxic Atlas of Rats Brain. Beijing:People's Medical Publishing House,1991:17-83

[6] 袁淑兰,阮金秀,杨晓敏.双柱双泵高效液相色谱电化学检测器测定大鼠脑中生物胺及其代谢产物.中国药理学与毒理学杂志,1990,4(1):4-6  
YUAN Shu-lan, RUAN Jin-xiu, YANG Xiao-min. Determination of biogenic amines and their metabolites in rat brain by a double column and double pump high performance liquid chromatography with electrochemical detection. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology,1990,4(1):4-6

[7] Racagni G,Brunello N. Physiology to functionality: The brain and neurotransmitter activity. Int Clin Psychopharmacol , 1999,14:3-7

[8] D'Aquila P S,Collu M, Gessa G L,et al. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. European Journal of Pharmacology, 2000,405:365-373

[9] 关新民.医学神经生物学.北京:人民卫生出版社, 2002:374 - 375  
GUAN Xin-min. Medical Neurobiology. Beijing:People's Medical Publishing House,2002:374-375

[10] Bowley M P,Drevets W C,Ongur D,et al.Low glial numbers in the amygdala in major depressive disorder. Biol Psychiatry,2002,52(5): 404-412

[11] 喻东山.抑郁症的神经解剖基础.国外医学·精神病学分册, 1995,22(2):107-109  
YU Dong-shan. Neuroanatomic basis of depressive disorder. Foreign Medical Sciences (Section of Psychiatry),1995,22(2):107-109

(收稿日期:2007年9月5日)

•研究报告•

# 肝郁模型大鼠行为学与脑单胺递质的变化及柴胡的干预作用

王桐生,谢鸣,张艳霞,阎玥

(北京中医药大学,北京 100029)

**摘要:** 目的:观察慢性束缚致肝郁模型大鼠行为学及脑内单胺递质的变化以及柴胡对该模型的干预作用,探讨肝郁模型大鼠行为学变化特征以及柴胡疏肝解郁的部分机制。方法:取体质量为200-220g的Wistar大鼠,随机分成正常组、模型组、柴胡疏肝散组(8.50g生药/kg)、柴胡小、中、大剂量组(0.81、2.43、4.86g生药/kg)。除正常组外,其他各组动物采用慢性束缚法,束缚大鼠3h/d,连续束缚3w,制备肝郁模型。从第2w开始按剂量灌胃给药,连续2w。应用Open-field-test试验仪测定大鼠不同造模时间的行为学变化;采用HPLC法测定造模3w后海马组织中NA、5-HT含量。结果:与正常组比较,造模1w后的大鼠水平爬行格数有增加趋势( $P > 0.05$ ),造模1w-3w后大鼠体质量降低( $P < 0.05$ ),水平爬行格数显著性减少( $P < 0.05$ ),海马组织中NA和5-HT含量明显升高( $P < 0.05$ )。与模型组比较,柴胡不同剂量组大鼠的体质量均有不同程度增加,爬行格数明显增加( $P < 0.05$ )、海马组织中NA、5-HT含量显著性降低( $P < 0.05$ )。结论:慢性束缚法诱导的肝郁模型大鼠存在自主性活动和海马单胺递质的异常变化;柴胡能明显改善该模型大鼠行为学异常,其机制可能与调节脑内单胺递质的平衡有关。

**关键词:** 肝郁模型;行为学;单胺递质;柴胡

## Changes of ethology and monamine transmitter in stagnation of liver qi model rats and intervention of bupleurum root

WANG Tong-sheng, XIE Ming, ZHANG Yan-xia, YAN Yue

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

通讯作者:谢鸣,北京市朝阳区北三环东路11号北京中医药大学国家重点方剂学科,邮编:100029,电话:010-64286992  
E-mail:xieming603@263.net