

蜘蛛香抗焦虑复方的抗焦虑作用及其机制

彭敏¹, 石晋丽^{1*}, 郑虎占¹, 刘勇¹, 赵保胜¹, 郭建友²

1. 北京中医药大学, 北京 100102

2. 中国科学院心理研究所 心理健康重点实验室, 北京 100101

摘要: **目的** 研究蜘蛛香抗焦虑复方的药效及其与 γ -氨基丁酸受体 (GABA-R) 作用的关系。**方法** 采用高架十字迷宫、明暗箱、自主活动、尼可刹米致小鼠惊厥试验, 观察了蜘蛛香抗焦虑复方低、中、高剂量 (1.2、2.4、4.8 g/kg) ig 给药 10 d 对小鼠行为的影响; 另设对照组 (给予生理盐水) 和地西洋 (2 mg/kg) 阳性对照组。**结果** 高架十字迷宫和明暗箱试验结果显示, 蜘蛛香抗焦虑复方中、高剂量具显著的抗焦虑作用 ($P < 0.05$), 并呈量效关系, 这种抗焦虑作用可被氟马西尼所拮抗, 小鼠自主活动试验结果显示, 蜘蛛香抗焦虑复方各剂量对小鼠自主活动的次数无显著影响 ($P > 0.05$), 提示无镇静作用, 蜘蛛香抗焦虑复方各剂量对尼可刹米致小鼠惊厥的潜伏期及死亡率无显著影响 ($P > 0.05$)。**结论** 蜘蛛香抗焦虑复方有显著抗焦虑作用, 并可能是通过 GABA-R 发挥抗焦虑作用的, 且该复方无镇静及抗惊厥作用。

关键词: 蜘蛛香抗焦虑复方; 抗焦虑; 高架十字迷宫; 明暗箱; γ -氨基丁酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)11-2283-04

Anxiolytic-like effects of Antianxietic Compound Prescription with *Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix*

PENG Min¹, SHI Jin-li¹, ZHENG Hu-zhan¹, LIU Yong¹, ZHAO Bao-sheng¹, GUO Jian-you²

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China

2. Key Laboratory of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Key words: Antianxietic Compound Prescription with *Valerianae Jatamansi Rhizoma et Radix* (ACPV); antianxietic; elevated plus maze (EPM) test; light dark box (LDB); gamma-aminobutyric acid (GABA)

焦虑症是一种以焦虑情绪为主的神经症, 主要表现为发作性或持续性的焦虑、紧张、惊恐不安等焦虑情绪, 伴有自主神经紊乱、肌肉紧张与运动不安等症状。在当今社会, 伴随着人们生活节奏的加快和工作压力加大, 焦虑症患者日渐增多。临床常用的抗焦虑药如苯二氮䓬类、丁螺环酮以及抗抑郁药, 长期服用易成瘾、耐受, 存在记忆力下降、胃肠道不适、疗效降低等不良反应^[1], 在一定程度上限制了这些药物的使用。蜘蛛香抗焦虑复方为中医治疗焦虑症的临床经验方, 该方中蜘蛛香宣达气机, 合欢皮解郁安神, 酸枣仁养血安神, 灯心草清热除烦, 全方具有疏肝解郁、养血安神的功效。本实验基于中医药理论, 初步探讨了蜘蛛香抗焦虑复方的药理作用及其机制, 为进一步将蜘蛛香抗焦虑复方

研发成治疗肝郁气滞、心神不宁型焦虑症的新药奠定药理学基础。

1 材料

1.1 动物

ICR 小鼠, 雄性, 体质量 18~22 g, 购自军事医学科学院, 动物许可证号 SCXK-(军)2007-004。

1.2 药品与试剂

蜘蛛香药材购自云南省师宗县, 炒酸枣仁、合欢皮和灯心草购于河北省安国市蔺氏有限责任公司, 经北京中医药大学石晋丽教授鉴定, 蜘蛛香为败酱科缬草属植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根茎及根; 酸枣仁为鼠李科枣属植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou 的干燥种子; 合欢皮为豆科植物合欢 *Albizia*

收稿日期: 2011-03-09

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项 (2009ZX09103-381)

作者简介: 彭敏 (1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药抗焦虑药效学研究。Tel: 13401053875 E-mail: pengmin86@163.com

*通讯作者 石晋丽 Tel: (010)84738623 E-mail: shijl@vip.sina.com

julibrissin Durazz. 的树皮; 灯心草为灯心草科植物灯心草 *Juncus effuses* L. 的干燥茎髓。蜘蛛香 150 g, 冷冻粉碎成粗粉, 用相当于药材 10 倍的 35% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并滤液, 低温浓缩成干膏, 得率 22.67%。合欢皮 200 g 制成粗粉后与等量炒酸枣仁混合, 加 10 倍量的水煎煮 2 次, 每次 3 h, 合并滤液, 浓缩成干浸膏, 得率为 8.87%。灯心草 20 g 用 50 倍量的 95% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 回收乙醇成干浸膏, 得率为 3.95%。蜘蛛香、炒酸枣仁、合欢皮、灯心草 (均为干浸膏) 按照 12:9:9:1 的质量比混合均匀即得蜘蛛香抗焦虑复方 (含橙皮苷 1.05 mg/g、酸枣仁皂苷 A 7.50 mg/g), 实验前用氯化钠注射液将其制成溶液备用。

地西洋片剂, 北京益民药业有限公司, 批号 0806007; 氯化钠注射液, 山东金洋药业有限公司; 氟马西尼, 美国 Sigma 公司, 批号 054k37041; 尼可刹米, 北京市永康药业有限公司, 批号 90610。

1.3 仪器

AES—M02 型小鼠高架十字迷宫, 安来软件科技有限公司; 小鼠用明暗箱, 参照文献方法^[2]自制; ZIL—2 小鼠自主活动程序自动控制仪, 中国医学科学院药物研究所。

2 方法

2.1 对小鼠高架十字迷宫行为的影响^[3-4]

将小鼠随机分成 5 组, 即对照组 (生理盐水溶液), 蜘蛛香抗焦虑复方低、中、高剂量 (1.2、2.4、4.8 g/kg) 组, 地西洋 (2 mg/kg) 阳性对照组, 各组连续 ig 给药或生理盐水 10 d, 给药体积为 0.02 mL/g。第 10 天, 给药组、对照组给药 1 h 后, 地西洋组给药 0.5 h 后, 进行行为测试, 所有实验在 8:00~14:00 时进行。测试前将小鼠单独放入动物盒中, 任其自由活动 5 min, 测试时将小鼠置于高架十字迷宫的中央区, 使其头部正对开臂, 分别记录 5 min 内小鼠进入开臂次数和停留时间、进入闭臂次数和停留时间。以进入开臂次数与进入各臂总次数的百分比 (OE)、在开臂内的活动时间与进入各臂的总活动时间的百分比 (OT) 作为抗焦虑作用的考察指标。测试过程中小鼠一足退出某一臂则表示该次活动的完成, 每次测试完成后清洁迷宫, 再进行下一次测试。

2.2 对小鼠明暗箱行为的影响^[2,5]

实验分组及给药同“2.1”项, 测试时将小鼠置于明暗箱的明箱中央, 头朝暗箱, 释放后记录下 5

min 内小鼠穿箱次数及在明箱活动的时间。

2.3 氟马西尼对蜘蛛香抗焦虑复方抗焦虑作用的影响^[6]

实验分组、给药及测试方法同“2.1”项, 测试前 0.5 h, 除对照组外所有动物 ip 氟马西尼 3 mg/kg 1 次。

2.4 对小鼠自主活动的影响^[7]

实验分组及给药同“2.1”, 测试时将小鼠放入自主活动仪中适应 10 min, 记录小鼠 5 min 内的自主活动次数。

2.5 对尼可刹米致小鼠惊厥的影响^[8]

实验分组及给药同“2.1”项, 给药量为 0.016 mL/g。第 10 天对照组及蜘蛛香抗焦虑复方各剂量组末次给药 1 h 后, 地西洋组给药 0.5 h 后, ip 尼可刹米 350 mg/kg, 小鼠置于笼中, 分别记录各组小鼠的惊厥潜伏期及 2 h 内小鼠死亡数。

2.6 统计学处理

用 SAS8.2 软件对数据进行统计, 采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行检验, 多组间比较采用 Student Newman Keul's Test 检验, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对小鼠高架十字迷宫行为的影响

与对照组相比, 蜘蛛香抗焦虑复方 2.4、4.8 g/kg 均可明显增加小鼠 OT 和 OE ($P < 0.05$), 并呈量效关系, 提示蜘蛛香抗焦虑复方有抗焦虑的作用。结果见表 1。

表 1 蜘蛛香抗焦虑复方对小鼠高架十字迷宫行为的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of ACPV on EPM behavior of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	OT/%	OE/%
对照	—	18.75±2.40	23.90±2.53
蜘蛛香抗焦虑 复方	1.2	22.07±4.27	29.00±3.74
	2.4	25.33±2.43*	31.67±3.45*
	4.8	31.37±4.79*	37.21±4.78*
地西洋	0.002	32.86±4.50**	37.19±4.13**

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

3.2 对小鼠明暗箱行为的影响

与对照组相比, 蜘蛛香抗焦虑复方 2.4、4.8 g/kg 均显著增加小鼠进入明箱的次数及在明箱的活动时间 ($P < 0.05$), 且呈量效关系, 提示蜘蛛香抗焦虑

复方有抗焦虑作用。结果见表 2。

3.3 氟马西尼对蜘蛛香抗焦虑复方的影响

与对照组相比, ip 氟马西尼后, 地西洋、蜘蛛香抗焦虑复方 3 个剂量对小鼠在高架十字迷宫 OT、OE 均无显著影响 ($P>0.05$); 对小鼠的穿箱次数、在明箱的活动时间也均无显著影响 ($P>0.05$), 表明地西洋及蜘蛛香抗焦虑复方的抗焦虑作用被氟马西尼所拮抗。结果见表 3。

3.4 对小鼠自主活动的影响^[7]

与对照组相比, 地西洋减少了小鼠自主活动的次数, 差异显著 ($P<0.05$); 蜘蛛香抗焦虑复方减少小鼠自主活动的次数, 并呈剂量相关, 但无显著

表 2 蜘蛛香抗焦虑复方对小鼠明暗箱行为的影响
($\bar{x} \pm s, n = 11$)

Table 2 Effect of ACPV on LDB behavior of mice
($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	穿箱次数	明箱活动时间/s
对照	—	9.64±1.03	112.36± 9.90
蜘蛛香抗焦虑	1.2	10.00±0.75	123.00±12.24
复方	2.4	12.18±0.92*	160.45±23.81*
	4.8	13.45±1.44*	160.09±20.56*
地西洋	0.002	13.91±0.88**	177.27±18.44**

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group

表 3 氟马西尼对蜘蛛香抗焦虑复方抗焦虑作用的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Flumazenil on anxiolytic action of ACPV ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	OT/% (n=12)	OE/% (n=12)	穿箱次数 (n=11)	明箱活动时间/s (n=12)
对照	—	18.75±2.40	23.90±2.53	9.64±1.03	112.36± 9.90
蜘蛛香抗焦虑	1.2+0.003	19.05±3.09	25.05±2.94	8.58±0.93	106.25±16.48
复方+氟马西	2.4+0.003	21.58±3.11	27.90±3.51	8.17±1.10	93.33± 9.70
	4.8+0.003	19.63±3.57	26.97±2.63	10.42±1.01	103.00± 6.69
地西洋+氟马西	0.002+0.003	21.30±3.34	26.77±3.45	10.83±1.19	115.75±11.19

差异 ($P>0.05$), 表明蜘蛛香抗焦虑复方无明显镇静作用。结果见表 4。

3.5 对尼可刹米致小鼠惊厥的影响

与对照组相比, 地西洋延长小鼠的惊厥潜伏期, 差异极显著 ($P<0.001$), 并减少惊厥后小鼠死亡率; 蜘蛛香抗焦虑复方各剂量略延长小鼠的惊厥潜伏期, 但无显著差异 ($P>0.05$), 剂量为 2.4、4.8 g/kg 时略降低小鼠惊厥后的死亡率, 未表现出显著的抗惊厥作用。结果见表 5。

表 4 蜘蛛香抗焦虑复方对小鼠自主活动的影响

($\bar{x} \pm s, n = 15$)

Table 4 Effect of ACPV on spontaneous activity of mice

($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	自主活动次数
对照	—	217.27±14.14
蜘蛛香抗焦虑复方	1.2	195.50±10.81
	2.4	194.56± 9.16
	4.8	193.06± 9.74
地西洋	0.006	183.88±10.55*

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

表 5 蜘蛛香抗焦虑复方对尼可刹米致小鼠惊厥的影响
($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 5 Effect of ACPV on Nikethamide-induced convulsion
of mice ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	惊厥潜伏期/s	死亡率/%
对照	—	88.67±3.47	93.33
蜘蛛香抗焦虑	1.2	88.07±6.04	93.33
复方	2.4	89.73±4.14	86.67
	4.8	92.67±3.93	86.67
地西洋	0.006	114.93±4.03***	13.33

与对照组比较: *** $P<0.001$

*** $P<0.001$ vs control group

4 讨论

《灵枢·本神》曰:“愁忧者, 气闭塞而不行”。《医方论·越鞠丸》云:“凡郁病必先气病, 气得疏通, 郁于何有?”, 《医述·郁》篇引楚季重医话:“所谓郁者, 清气不升, 浊气不降也”。由此可见“气”在郁证的发病过程中起重要的作用, 情志抑郁, 气机不畅是其重要病机, 调畅气机当为基本治法。郁证者, 病程久, 久病多虚, 用药不宜峻猛, 故其治疗当兼以养心益血。气有余则化火, 气机郁滞不通,

每兼热象。故郁证治疗,应以疏肝理气为主,兼以养心安神、清泄郁热。蜘蛛香抗焦虑复方以气味芳香、宣达气机的蜘蛛香为君药;用解郁安神、“令人欢乐忘忧”的合欢皮,助君药发挥疏肝理气之功;用酸枣仁养血安神,二药共为臣药;继用甘、淡、微寒的灯心草清热除烦安神,导郁热自小便而去,并引药入走心经,为佐使药。全方切中郁证常见病机,为其治疗焦虑症提供较好的中医药理论基础。

高架十字迷宫是筛选抗焦虑药物常用的非条件反射模型,以动物 OT 和 OE 反映动物的焦虑状态^[3]。明暗箱^[2,6]是用于筛选抗焦虑药的另一种简单易行的方法,以动物在明箱与暗箱的穿梭次数或在明箱活动次数和时间来评价动物焦虑的程度。本实验表明,蜘蛛香抗焦虑复方剂量为 2.4、4.8 g/kg 时,具有抗焦虑效应,其药效随着剂量的加大而增强。自主活动测试,常用来研究药物对神经系统的作用。药物使动物的自主活动次数增加则表示中枢神经系统“兴奋”,反之为“抑制”^[1]。本实验结果表明,蜘蛛香抗焦虑复方在抗焦虑剂量下无镇静作用,提示蜘蛛香抗焦虑复方具有抗焦虑作用而不会导致“嗜睡”、“少动”等不良反应。尼可刹米致小鼠惊厥试验显示,蜘蛛香抗焦虑复方无抗惊厥作用,提示该药具有可开发为治疗精神病药物的潜力,至于能否治疗神经系统疾病,还有待进一步研究。

γ -氨基丁酸(GABA)是脑内主要的抑制性神经递质,其抑制作用主要通过 GABA-A 受体介导,故而 GABA-A 受体在抗焦虑过程中发挥重要作用。如苯二氮草类抗焦虑药地西洋作用于苯二氮草位点,使 GABA-A 受体上调,增强 GABA 的突触后抑制效应,呈现抗焦虑效果。氟马西尼是 GABA-A 受体拮抗剂,可阻滞苯二氮草类药物(如地西洋)与 GABA-A 受体的结合,降低或逆转其抗焦虑的药效^[9-10]。高架十字迷宫实验与明暗箱试验均表明,

小鼠口服蜘蛛香抗焦虑复方 30 min 后 ip 氟马西尼 3 mg/kg,抗焦虑作用被拮抗,推测蜘蛛香抗焦虑复方可能通过 GABA 受体发挥抗焦虑作用。此外,去甲肾上腺素、5-羟色胺、促肾上腺皮质激素释放因子神经肽 Y 等神经递质与焦虑症也有着重要联系^[10],故蜘蛛香抗焦虑复方的确切作用机制仍需进一步探索。

参考文献

- [1] 张建军. 清心安虑胶囊抗焦虑作用药效学研究和机理探讨 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2005.
- [2] Michel B, Martine H. The mouse light/dark box test [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 463: 55-65.
- [3] Lister R G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 92(2): 180-185.
- [4] Yoon B H, Choi J W, Jung J W, et al. Anxiolytic-like effects of phenylpropanoids using the elevated plus-maze in mice [J]. *Yakhak Hoeji*, 2005, 49: 437-442.
- [5] 黄继中, 王祖承. 焦虑动物模型的实验方法和药理学评价 [J]. *上海精神医学*, 2003, 15(2): 106.
- [6] Yu H S, Lee S Y, Jang C G. Involvement of 5-HT_{1A} and GABA_A receptors in the anxiolytic-like effects of *Cinnamomum cassia* in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2007, 87(1): 164-170.
- [7] 杨红菊, 赵楠, 龚正华, 等. 吡啶衍生物 I20 的抗焦虑作用及机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2002, 18(4): 422.
- [8] 王金权. 尼可刹米对呼吸抑制的解救及地西洋的抗惊厥作用药理实验的技术革新 [J]. *中国实用医药*, 2008, 3(7): 152-154.
- [9] Korpi E R, Grunder G, Luddens H. Drug interactions at GABA (A) receptors [J]. *Prog Neurobiol*, 2002, 67: 113-159.
- [10] 米小娟. 青藤碱的抗焦虑作用研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.