

## • 药理与临床 •

## 复方柴归方抗抑郁作用及其调控 5-羟色胺代谢途径机制研究

张 涛<sup>1,2</sup>, 赵 芳<sup>1,2</sup>, 张 潇<sup>1,2</sup>, 高晓霞<sup>1,2</sup>, 周玉枝<sup>1,2</sup>, 田俊生<sup>1,2\*</sup>, 秦雪梅<sup>1,2\*</sup>

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

**摘要:** 目的 研究复方柴归方抗抑郁作用及其调控 5-羟色胺 (5-HT) 代谢途径的机制。方法 SD 大鼠随机分为 7 组: 对照组, 模型组, 化学药阳性对照组 (文拉法辛 0.035 g/kg), 中药阳性对照组 (舒肝解郁胶囊 0.15 g/kg), 复方柴归方高、中、低剂量 (生药 16.6、8.3、4.2 g/kg) 组, 复制慢性温和不可预知应激 (CUMS) 抑郁模型, 造模同时 ig 给药 4 周, 观察给药后大鼠体质量、糖水偏爱率、旷场行为; 采用 LC-MS 方法检测血清中色氨酸 (Trp)、5-HT、5-羟吲哚乙酸 (5-HIAA) 的量。结果 复方柴归方可显著回调 CUMS 模型大鼠异常水平的体质量、糖水偏爱率、旷场行为和血清中 Trp、5-HT、5-HIAA 的量。结论 复方柴归方抗抑郁作用明显, 与文拉法辛或舒肝解郁胶囊作用相当, 其作用机制可能与调控 5-HT 代谢途径有关。

**关键词:** 复方柴归方; 抑郁症; 5-羟色胺代谢途径; 慢性温和不可预知应激; 色氨酸; 5-羟吲哚乙酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)06-1338-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.06.016

## Antidepressant effect of Compound Chaigui Prescription and its mechanism of regulating 5-HT metabolic pathway

ZHANG Tao<sup>1,2</sup>, ZHAO Fang<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiao<sup>1,2</sup>, GAO Xiao-xia<sup>1,2</sup>, ZHOU Yu-zhi<sup>1,2</sup>, TIAN Jun-sheng<sup>1,2</sup>, QIN Xue-mei<sup>1,2</sup>

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM, Taiyuan 030006, China

**Abstract: Objective** To study the antidepressant effect of Compound Chaigui Prescription and its mechanism of regulating 5-hydroxytryptamine (5-HT) metabolic pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into seven groups: blank control group, model group, western medicine positive control group (venlafaxine 0.035 g/kg), traditional Chinese medicine positive control group (Shugan Jieyu Capsule 0.15 g/kg), high-, mid-, and low-doses of Compound Chaigui Prescription (crude drug 16.6, 8.3, and 4.2 g/kg). And the rats were treated with chronic unpredictable mild stress (CUMS) for 4 weeks, the body weight, sugar preference rate and opening behavior were observed after administration; The levels of tryptophan (Trp), 5-HT, and 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) in serum were measured by LC-MS. **Results** Compound Chaigui Prescription can significantly callback CUMS model rats abnormal level of body weight, sugar preference rate and opening behavior and the levels of Trp, 5-HT, and 5-HIAA in serum. **Conclusion** The Compound Chaigui Prescription has significant antidepressant effect, which is equivalent to the antidepressant effect of venlafaxine and Shugan Jieyu Capsule, and the mechanism may be related to the regulation of 5-HT metabolic pathway.

**Key words:** Compound Chaigui Prescription; depression; 5-HT metabolic pathway; chronic unpredictable mild stress; tryptophan; 5-hydroxyindole acetic acid

抑郁症属于情感性心境障碍, 以显著而持久的情绪低落、快感缺失为核心症状, 具有发病率高、复发率高、致残率高的“三高”特点<sup>[1]</sup>。WHO 数据显示, 目前全球抑郁症患者已达 3.22 亿人, 2005

收稿日期: 2017-07-27

基金项目: 山西省科技重点研发计划 (201603D3113013, 201603D321077); 山西省重点实验室项目 (201605D111004); 山西省科技创新重点团队项目 (201605D131045-18)

作者简介: 张 涛 (1991—), 男, 硕士生, 研究方向为中药神经药理。Tel: 13073595853 E-mail: ztyimolin@163.com

\*通信作者 田俊生, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药药理与新药研发。Tel: (0351)7019297 E-mail: jstian@sxu.edu.cn

秦雪梅, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药质量控制及新药研发。Tel: (0351)7011202 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

年至 2015 年间患者数量增加了 18.4%<sup>[2]</sup>。且大量研究已证明,抑郁的发生与大脑或者外周 5-羟色胺(5-HT)代谢途径紊乱有关<sup>[3-4]</sup>。复方柴归方是本题组经过系统溶剂提取,药效筛选和化学成分指纹图谱分析等方法,并通过药效成分归属和原方汤剂临床观察对逍遥散进行化裁得到的新处方,由柴胡、当归、白芍、炒白术、炙甘草、薄荷 6 味中药组成<sup>[5-11]</sup>。前期应用小鼠悬尾、强迫游泳等实验初步证明了复方柴归方的抗抑郁作用<sup>[12-14]</sup>,但其确切的抗抑郁效果及作用机制尚需进一步深入研究。

本研究采用慢性温和不可预知应激(CUMS)抑郁模型,通过行为学指标验证复方柴归方抗抑郁的药效,并应用超高效液相色谱-三重四极杆质谱方法(UHPLC-MS/MS)测定大鼠血清中色氨酸(Trp)、5-HT、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)的量,探讨抑郁模型大鼠 5-HT 代谢途径的改变及复方柴归方干预后的作用机制。为复方柴归方的抗抑郁药效及其调控 5-HT 代谢途径的作用机制研究提供依据,也为后期将其开发成抗抑郁新药奠定基础。

## 1 材料

### 1.1 动物

雄性 SD 大鼠, SPF 级,体质量 180~200 g, 购买于中国食品药品检定研究院,动物许可证号为 SCXK(京)2014-0013,饲养于中国辐射防护研究院药物安全评价中心动物饲养室。

### 1.2 药品与试剂

复方柴归方由柴胡、当归、白芍、炒白术、炙甘草、薄荷 6 味药材提取而成(组方药材质量比为 6:6:6:6:3:2),由湖南九芝堂股份有限公司加工制备(批号 20150701,提取物中含芍药苷 4.5 mg/g);盐酸文拉法辛胶囊(25 mg/粒,批号 130101,成都康弘药业集团股份有限公司);舒肝解郁胶囊(0.36 g/粒,批号 130101,成都康弘药业集团股份有限公司)。

对照品 Trp(批号 089K00081V)、5-HT(批号 BCBR6327V)、5-HIAA(批号 BCBM0852V)均购于 Sigma 公司,各对照品质量分数均在 98%以上;内标 3,4-二羟基苯甲酸(DHBA,批号 MKBS7646V)购于 Sigma 公司;甲醇、乙腈和甲酸为色谱纯,水为超纯水。

### 1.3 仪器

1290II 超高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 3200 QTRAP 三重四极杆串联质谱仪(美国 AB

Sciex 公司); Neofuge 13R 高速冷冻离心机(中国力康公司); MX-S 可调式混匀仪(美国 Scilogex 公司); Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司); 大鼠旷场实验行为测试箱(自制,长 100 cm、宽 100 cm、高 70 cm 的无顶部长方体,内部四壁及底面涂成黑色,底部用白线划出 25 个边长为 20 cm 的正方形小格)。

## 2 方法

### 2.1 CUMS 模型复制、分组与给药

大鼠适应性饲养 7 d 后根据糖水偏爱实验基线、旷场实验和体质量基线测定的数据随机分为 7 组, 每组 12 只,即对照组,模型组,化学药阳性对照组(盐酸文拉法辛胶囊 35 mg/kg),中药阳性对照组(舒肝解郁胶囊 150 mg/kg),复方柴归方高、中、低剂量(16.6、8.3、4.2 g/kg)组,除对照组外,其余各组单笼孤养,同时依据 Willner 等<sup>[15-16]</sup>的造模程序并结合本实验室前期基础进行造模,刺激程序包括:禁水 24 h、热刺激 10 min、冰水游泳 5 min、超声刺激 3 h、夹尾 2 min、昼夜不分 12 h、足底电击 10 次、束缚 3 h、禁食 24 h。造模同时 ig 给药,对照组和模型组 ig 给予蒸馏水 10 mL/kg,各给药组 ig 给予相应剂量药物,给药 1 h 后给予上述刺激,每天 1 种,为保证刺激程序的随机不可预知性,每种刺激不连续出现,出现总次数不超过 4 次,实验持续 28 d。在实验第 0、28 天分别测定各组大鼠体质量、糖水偏爱率和大鼠旷场实验中的穿越格数、直立次数、中央格停留时间、进入中央九宫格次数。

### 2.2 行为学观察

**2.2.1 糖水偏爱率实验** 实验前孤养每只大鼠并予以 1 瓶自来水,1 瓶现配的 1% 蔗糖水进行糖水甜度偏好的训练,自来水瓶和蔗糖水瓶位置固定,12 h 糖水训练后撤掉水瓶禁水 23 h,进行 1 h 的糖水偏爱率测定。

糖水偏爱率=蔗糖水消耗量/总饮水消耗量

**2.2.2 旷场实验** 实验期间将大鼠平托放于旷场实验行为测试箱中央格,开始计时 5 min,记录大鼠的中央格停留时间:从放入大鼠置中央格到逃离中央格所需时间(s),穿越格数:后 4 min 中大鼠跨越格子的数量,直立次数:后 4 min 中大鼠两爪抬起远离地面的次数,穿越中央九宫格次数:后 4 min 中大鼠进入中央九宫格区域的次数。

### 2.3 大鼠血清 Trp、5-HT、5-HIAA 水平的测定

**2.3.1 血清样本收集** 在实验结束后,股动脉方式

采集大鼠血液,置于 EP 管中,静置 30 min,在 4 ℃, 3 500 r/min 离心 15 min,分离血清并分装,置于 -80 ℃冰箱保存。

**2.3.2 对照品溶液和内标溶液的配制** 分别取 Trp 对照品约 50 mg, 5-HT、5-HIAA 对照品约 10.0 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶,加入溶剂(0.2%甲酸水溶液-甲醇 8:2)溶解,制成质量浓度分别为 5.146、1.001、1.024 mg/mL 的对照品溶液,作为母液。

分别精密吸取适量对照品母液,置于同一量瓶中,混匀,加入溶剂(0.2%甲酸水溶液-甲醇 8:2)至刻度,混匀,制得质量浓度分别为 867.0、693.6、433.5、173.4、86.7、43.35、8.67 μg/mL 的 Trp, 15.3、12.24、7.65、3.06、1.53、0.765、0.153 μg/mL 的 5-HT, 2.55、2.04、1.275、0.51、0.255、0.127 5、0.025 5 μg/mL 的 5-HIAA 混合对照品系列溶液。置 4 ℃冰箱保存,备用。

称取 DHBA 对照品约 5 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加入溶剂(0.2%甲酸水溶液-甲醇 8:2)溶解,制成质量浓度约为 1 mg/mL 内标母液。精密吸取适量内标母液,置 100 mL 量瓶中,加溶剂(0.2%甲酸水溶液-甲醇 8:2)至刻度,制成质量浓度为 3.6 μg/mL 的 DHBA 内标溶液。置 4 ℃冰箱保存,备用。

**2.3.3 供试样本制备** 血清样本解冻后摇匀,取 100 μL 置于 1.5 mL EP 管中,加入 20 μL 内标溶液和 20 μL 溶剂(0.2%甲酸水溶液-甲醇 8:2),涡旋,加入 200 μL 0.1%甲酸乙腈溶液,涡旋,在 4 ℃、13 000 r/min 离心 10 min,取上清进行检测分析。

### 2.3.4 色谱与质谱测定条件

(1) 色谱条件: Waters Acquityuplc hss3 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm);流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度条件: 0~2.5 min, 95% A; 2.5~4 min, 95%~80% A; 4~7 min, 80%~40% A; 7~7.5 min, 40%~95% A; 7.5~10 min, 95% A; 体积流量 0.2 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 3 μL。

(2) 质谱条件: 电喷雾离子源(ESI); 正离子模式; 多反应监测模式(MRM); 气帘气 275.8 kPa(40.0 psi); 碰撞气体 N<sub>2</sub>; 喷雾电压 5 500 V; 离子源温度 500 ℃; GS1 344.75 kPa(50 psi), GS2 344.75 kPa(50 psi); 气体体积流量 12 L/min。扫描范围: Trp *m/z* 205.1→146.1、5-HT *m/z* 177.1→160.1、5-HIAA *m/z* 192.1→146.1、内标 DHBA *m/z* 140.2→123.1。

### 2.4 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。

## 3 结果

### 3.1 对 CUMS 模型大鼠体质量的影响

由表 1 可知,与对照组比较,CUMS 造模 28 d 后,模型组大鼠体质量显著下降( $P<0.01$ ),表明 CUMS 刺激程序的应用可能引起大鼠胃肠功能失调,食欲下降,导致个体生长迟缓。与模型组比较,文拉法辛组和复方柴归方各给药组逆转造模引起大鼠体质量下降的能力相当( $P<0.01$ ),且优于舒肝解郁组( $P<0.05$ )。综上,各给药组增加 CUMS 模型大鼠体质量作用明显,表明经抗抑郁药物干预后,抑郁样大鼠的生长迟缓有一定的改善作用。

### 3.2 对 CUMS 模型大鼠糖水偏爱率的影响

糖水偏爱率是衡量动物抑郁模型是否成功的一个重要标志,其模拟抑郁症的核心症状(快感缺失)。由表 2 可知,与对照组比较,模型组大鼠糖水偏爱

表 1 复方柴归方对 CUMS 模型大鼠体质量的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别    | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 体质量/g      |                            |
|-------|------------------------------|------------|----------------------------|
|       |                              | 0 d        | 28 d                       |
| 对照    | —                            | 244.6±9.4  | 377.9±21.1                 |
| 模型    | —                            | 252.2±9.9  | 305.4±7.2 <sup>##</sup>    |
| 文拉法辛  | 0.035                        | 250.5±12.1 | 329.0±15.2 <sup>###*</sup> |
| 舒肝解郁  | 0.150                        | 248.7±8.1  | 317.8±12.5 <sup>###*</sup> |
| 复方柴归方 | 16.6                         | 240.9±9.3  | 327.1±27.1 <sup>###*</sup> |
|       | 8.3                          | 243.3±9.6  | 332.1±11.1 <sup>###*</sup> |
|       | 4.2                          | 252.0±9.5  | 336.3±25.8 <sup>###*</sup> |

与对照组比较: <sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P<0.05$

<sup>\*\*</sup> $P<0.01$ , 下同

<sup>#</sup> $P<0.05$  <sup>##</sup> $P<0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P<0.05$  <sup>\*\*</sup> $P<0.01$  vs model group, same as below

表 2 复方柴归方对 CUMS 模型大鼠糖水偏爱率的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Effects of Fufang Chaigui Prescription on preference rate of sugar in CUMS model rats ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别    | 剂量/<br>(g·kg <sup>-1</sup> ) | 糖水偏爱率/%     |                           |
|-------|------------------------------|-------------|---------------------------|
|       |                              | 0 d         | 28 d                      |
| 对照    | —                            | 77.07±11.26 | 86.36±7.81                |
| 模型    | —                            | 79.22±9.55  | 45.39±8.16 <sup>##</sup>  |
| 文拉法辛  | 0.035                        | 78.65±10.22 | 82.52±12.11 <sup>**</sup> |
| 舒肝解郁  | 0.150                        | 83.58±16.11 | 67.83±15.34 <sup>##</sup> |
| 复方柴归方 | 16.6                         | 77.46±16.56 | 79.86±16.61 <sup>**</sup> |
|       | 8.3                          | 77.36±13.06 | 81.58±7.74 <sup>**</sup>  |
|       | 4.2                          | 80.79±10.28 | 70.31±18.71 <sup>**</sup> |

率显著下降 ( $P < 0.01$ ), 表明 CUMS 造模程序可能对动物的奖赏反应具有抑制作用, 引起快感缺失, 造成抑郁样行为的产生。与模型组比较, 各给药组均能提高 CUMS 大鼠糖水偏爱率 ( $P < 0.01$ ), 其中, 文拉法辛组和复方柴归方高、中剂量组可明显提高 CUMS 模型大鼠糖水偏爱率, 且与对照组比较无统计学差异。

### 3.3 对 CUMS 模型大鼠旷场行为的影响

由图 1 可知, 在造模 4 周后, 与对照组比较, 模型组大鼠穿越格数、直立次数、穿越中央九宫格次数明显减少 ( $P < 0.01$ ), 中央格停留时间显著增加 ( $P < 0.01$ ), 表明 CUMS 刺激引起大鼠运动能力和探索能力下降, 并伴随对新环境适应性降低的情况。与模型组比较, 各给药组改善模型大鼠穿越格数的作用非常显著 ( $P < 0.01$ ), 提示

给予抗抑郁药物干预后, 抑郁样大鼠的运动能力有所回调; 在增加直立次数方面, 文拉法辛组, 舒肝解郁组, 复方柴归方高、中剂量组作用非常显著 ( $P < 0.01$ ), 低剂量组作用显著 ( $P < 0.05$ ), 表明各给药组均可逆转造模引起大鼠探索能力的下降; 在减少中央格停留时间方面, 复方柴归方高剂量组和文拉法辛组可以显著减少中央格停留时间, 改善大鼠探索能力的下降 ( $P < 0.05$ ), 其余各给药组具此作用但无统计学差异; 在增加穿越中央九宫格方面, 文拉法辛组和复方柴归方中剂量组作用显著 ( $P < 0.05$ ), 复方柴归方高、低剂量组和舒肝解郁组也可增加穿越中央九宫格次数, 但无统计学差异。综上, 在给予 CUMS 模型大鼠复方柴归方后, 其行为活动能力均有不同程度的改善。

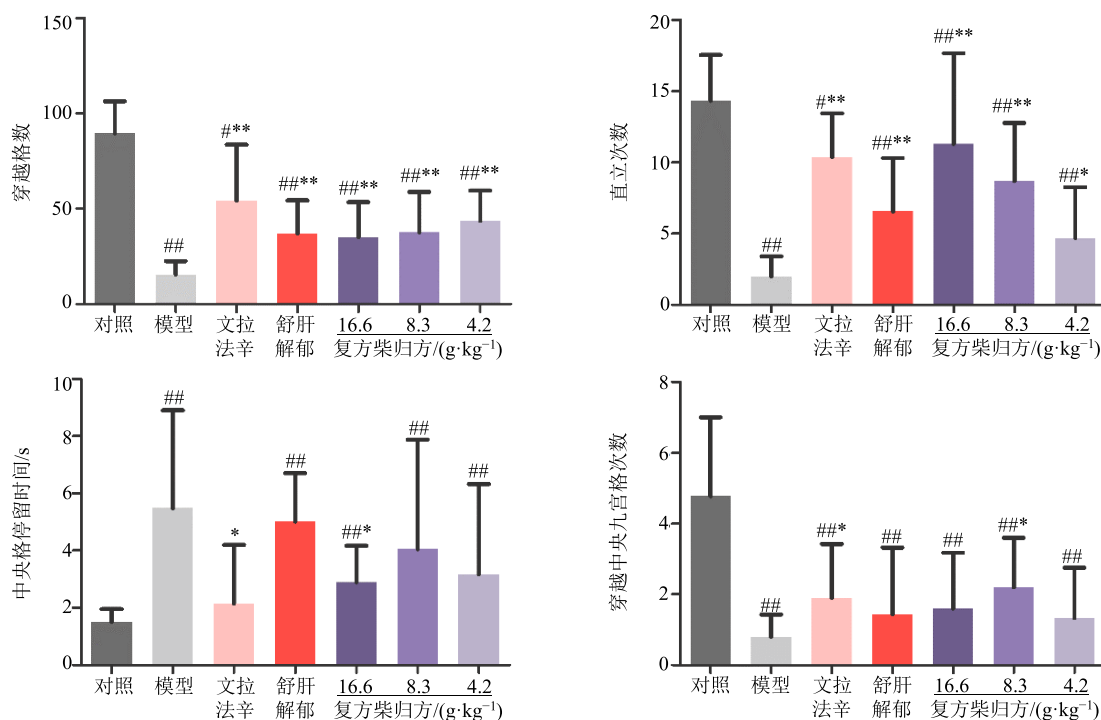


图 1 复方柴归方对 CUMS 模型大鼠旷场实验的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 1 Effects of Fufang Chaigui Prescription on open-field experiment of CUMS model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

### 3.4 对 CUMS 模型大鼠血清 Trp、5-HT、5-HIAA 水平的影响

如表 3 所示, 与对照组比较, 经过 28 d 造模后, 模型组大鼠血清 5-HT 代谢途径上 Trp、5-HT 水平明显降低, 5-HIAA 水平明显升高 ( $P < 0.05$ )。Trp 作为 5-HT 的合成前体, 其量不足可导致突触间隙 5-HT 水平下降, 5-HIAA 作为 5-HT 的代谢物, 其

量增加表明 5-HT 降解增多, 进一步引发突触间隙 5-HT 水平下降, 说明模型的结构有效性较好。与模型组比较, 各给药组均能不同程度提高 Trp 的量, 舒肝解郁组和复方柴归方各给药组相当 ( $P < 0.01$ ), 且优于文拉法辛组 ( $P < 0.05$ ); 对于 5-HT 和 5-HIAA 的调控, 各给药组均可调控其水平趋近对照组, 但无统计学差异, 复方柴归方中剂量组 ( $P < 0.05$ )、

表 3 复方柴归方对 CUMS 模型大鼠血清中 Trp、5-HT、5-HIAA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )Table 3 Effects of Fufang Chaigui Prescription on serum Trp, 5-HT, and 5-HIAA in CUMS model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别    | 剂量/(g·kg <sup>-1</sup> ) | Trp/(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 5-HT/(μg·mL <sup>-1</sup> ) | 5-HIAA/(μg·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 对照    | —                        | 26.01 ± 4.32               | 1.43 ± 0.24                 | 0.019 ± 0.003                 |
| 模型    | —                        | 21.77 ± 4.38 <sup>#</sup>  | 1.19 ± 0.19 <sup>#</sup>    | 0.025 ± 0.007 <sup>#</sup>    |
| 文拉法辛  | 0.035                    | 26.57 ± 5.25 <sup>*</sup>  | 1.24 ± 0.20                 | 0.022 ± 0.005                 |
| 舒肝解郁  | 0.150                    | 31.81 ± 8.02 <sup>**</sup> | 1.45 ± 0.35                 | 0.024 ± 0.006                 |
| 复方柴归方 | 16.6                     | 29.55 ± 4.04 <sup>**</sup> | 1.44 ± 0.51                 | 0.019 ± 0.004 <sup>*</sup>    |
|       | 8.3                      | 29.89 ± 4.52 <sup>**</sup> | 1.43 ± 0.19 <sup>*</sup>    | 0.018 ± 0.007 <sup>*</sup>    |
|       | 4.2                      | 30.19 ± 4.93 <sup>**</sup> | 1.54 ± 0.21 <sup>**</sup>   | 0.020 ± 0.004                 |

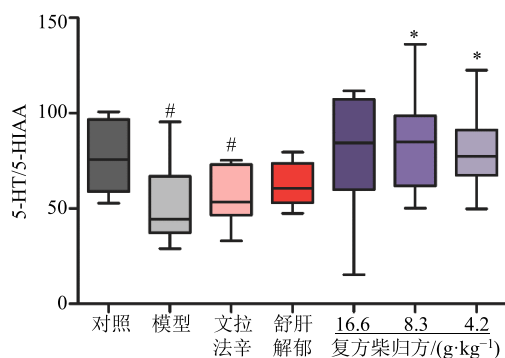
低剂量组 ( $P < 0.01$ ) 升高 5-HT 效果较好, 高、中剂量组降低 5-HIAA 效果明显, 且都优于文拉法辛组和舒肝解郁组。此外, 由图 2 可知, 模型组 5-HT/5-HIAA 的值低于对照组和复方柴归方中、低剂量组, 具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。综上, 通过药物干预后, 各给药组可以不同程度升高模型大鼠血清 5-HT 代谢途径上 Trp 水平和降低 5-HIAA 的量来增加 5-HT 的量。其中复方柴归方各给药组与舒肝解郁组相当, 优于文拉法辛组, 表明复方柴归方可能是通过调控异常的 5-HT 代谢途径增加血清 5-HT 的量来达到抗抑郁作用的。

#### 4 讨论

目前, 临床上对于抑郁症患者的治疗主要以药物为主, 但是已上市的抗抑郁化学药效果并不理想, 且多存在起效慢、有效率低、副作用明显等缺陷<sup>[17-19]</sup>。近年来, 随着中医药的不断发展, 其在治疗抑郁症时所表现出多成分、多靶点协同增强, 毒副作用小的优势逐渐被研究者重视。国内治疗抑郁症的中药复方包括舒肝解郁胶囊、金香疏肝片、舒眠胶囊、

安乐胶囊、舒郁胶囊、太子神悦胶囊、奥生乐赛特胶囊等, 它们在临床上使用广泛, 副作用小, 展现出良好的应用前景<sup>[20-21]</sup>。复方柴归方是本实验室前期从抗抑郁经典名方逍遥散化裁茯苓、生姜形成的中药新复方, 与逍遥散相比, 在抗抑郁方面有着相似的作用, 为其在今后研发成新一代有效的抗抑郁制剂提供了药物有效性方面的保障; 在处方组成上, 保留了柴胡、当归、白芍、炒白术、炙甘草、薄荷 6 味中药。方中柴胡疏肝解郁, 以使肝气条达, 为君药。白芍滋阴柔肝, 当归养血活血, 二味相合, 养肝体以助肝用, 兼制柴胡疏泄太过, 为臣药。炒白术、甘草健脾益气, 使营血生化有源。薄荷少许, 助柴胡疏肝而散郁热, 为佐药。甘草调和药性, 兼为使药之用。综上, 逍遥散经过化裁得到的本处方, 虽然药味组成简单, 但依然遵守中医遣药组方原则, 兼顾了方剂君臣佐使配伍的基本规律。

研究表明, CUMS 抑郁大鼠模型中, 大鼠所表现出来的抑郁状态: 行为活动减少, 兴趣缺乏以及快感缺失等, 被认为与临床诊断为抑郁症的患者所表现出来的精神运动改变、兴趣或快感的丧失密切相关<sup>[22-23]</sup>。基于此, 本研究采用 CUMS 大鼠抑郁模型, 持续慢性应激 28 d 后, 与对照组相比, 模型组大鼠体质量, 糖水偏爱率, 穿越格数、直立次数和穿越中央九宫格次数明显减少, 中央格停留时间显著延长, 表明模型复制成功。在给予复方柴归方后, 这些行为学指标的异常状态均有不同程度的回调, 提示复方柴归方具有一定的抗抑郁作用。在明确其抗抑郁药效后, 基于抑郁症单胺类神经递质缺乏假说, 进一步测定 CUMS 模型大鼠血清中 Trp、5-HT、5-HIAA 水平, 以往研究报道这 3 种神经递质与抑郁症密切相关<sup>[24]</sup>, Trp 在色氨酸羟化酶的作用下生成 5-羟色胺酸, 再经芳香族氨基酸脱羧酶的作用脱

图 2 复方柴归方对 CUMS 模型大鼠血清 5-HT/5-HIAA 值的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )Fig. 2 Effects of Fufang Chaigui Prescription on serum 5-HT/5-HIAA ratio in CUMS model rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

去羧基生成 5-HT, 在单胺氧化酶作用下生成 5-HIAA。结果表明, 复方柴归方各给药组能够不同程度增加血清中 Trp 和 5-HT 的量, 降低 5-HIAA 的量, 提示复方柴归方可能通过调控 5-HT 代谢途径达到抗抑郁作用。

经过 CUMS 造模后, 模型组大鼠 5-HIAA 的量会降低, 对照组 5-HIAA 的量会升高, 而本实验对照组 5-HIAA 的量却降低, CUMS 模型组 5-HIAA 的量升高, 对于此种现象, 笔者认为: 正常状态下的大鼠单胺氧化酶有着稳定代谢 5-HT 的作用, CUMS 造模促进了单胺氧化酶代谢 5-HT 的能力, 从而造成 5-HIAA 的量增加, 图 2 中 5-HT/5-HIAA 值从侧面反映了此种现象, 这也与近期报道一致<sup>[25-26]</sup>。但是, 复方柴归方各给药组 5-HIAA 的量与对照组非常接近, 提示其可能具有抑制单胺氧化酶活性达到抗抑郁药效的作用机制。此外, 复方柴归方各给药组 5-HT 的量高于文拉法辛组可能是由于中药多成分单靶点叠加、多成分多靶点协同<sup>[27]</sup>促进 5-HT 的升高达到抗抑郁作用。文献报道<sup>[28-29]</sup>, 复方柴归方中的阿魏酸、芍药苷影响 5-HT 能神经系统, 苯酞类化合物、多炔类化合物抑制 5-HT 重摄取, 异甘草素抑制单胺氧化酶活性。因此, 作为一个中药复方, 其中所含活性成分多不胜数, 以上这些成分可能从不同靶点协同提高 5-HT 的量, 进而达到最终的单靶点叠加即 5-HT 量的升高起到抗抑郁作用, 当然这还需要更多的实验来研究证实, 如从动态研究 5-HT 代谢途径的变化, 并从蛋白、基因层面做进一步的探索。

本研究采用了中药阳性对照组(舒肝解郁)、化学药阳性对照组(文拉法辛)双重阳性药进行对比, 弥补了药效研究中的不足, 主要体现在以下 2 点: 第一, 化学药阳性对照组文拉法辛是市场上较为公认的抗抑郁药物, 可以验证抑郁模型复制的成功与否, 并能作为药效参照证明复方柴归方的有效性(药物的基本特性)。除此之外, 因其作用机制明确, 可进一步探究复方柴归方的抗抑郁作用机制。第二, 中药阳性对照组舒肝解郁胶囊作为一个中药复方, 相比于副作用较为明显的抗抑郁化学药, 其在安全性方面存在优势, 可考察复方柴归方不良反应、耐受性等问题。而且, 它是国内上市的第一个用于临床治疗轻中度抑郁症的中药复方, 与复方柴归方的适应症接近, 在一定程度上为将复方柴归方研发成新药提供了市场定位和临床前参考。

综上所述, 本实验成功复制了 CUMS 抑郁大鼠模型, 通过观察大鼠体质量、糖水偏爱率和旷场实验各行为学的变化, 验证了复方柴归方的抗抑郁作用, 并进一步检测大鼠 5-HT 代谢途径上 Trp、5-HT、5-HIAA 神经递质的变化, 揭示了复方柴归方的抗抑郁作用机制可能与调控 5-HT 代谢途径有关。

#### 参考文献

- [1] Brhlikova P, Pollock A M, Manners R. Global burden of disease estimates of depression-how reliable is the epidemiological evidence? [J]. *J Royal Soc Med*, 2011, 104(1): 25-34.
- [2] World Health Organization. Depression and other common mental disorders: Global health estimates [EB/OL]. [2017-04-25]. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254610/1/WHO-MSD-MER-2017.2-eng.pdf>.
- [3] Hong X, Hui Y, Gang H. Depresssion and neurotransmitter metabolites in plasma [J]. *Nervous Dis Mental Hygj*, 2002, 2(4): 209-210.
- [4] Yang H, Li Y, Yang J, *et al*. Relationship between TCM syndrome types and peripheral neurotransmitter of major depression patients [J]. *Chin J Inform Tradit Chin Med*, 2011, 8(8): 3-4.
- [5] 任艳玲, 贾广成, 马致洁, 等. 逍遥散抗抑郁活性部位筛选 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 23(11): 2689-2691.
- [6] 贾广成. 逍遥散抗抑郁有效部位配伍的谱效关系研究 [D]. 太原: 山西大学, 2012.
- [7] 郑晓芬, 陈 磊, 秦雪梅, 等. 基于 <sup>1</sup>H-NMR 指纹图谱研究逍遥散乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物抗抑郁谱效关系 [J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2015, 17(3): 563-568.
- [8] 郭晓擎. 复方柴归方抗抑郁有效组分筛选及其药效学评价研究 [D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [9] 史碧云. 复方柴归方超临界 CO<sub>2</sub> 萃取组分抗抑郁作用机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2014.
- [10] 郑晓芬. 复方柴归方抗抑郁有效组分制备工艺及质量标准研究 [D]. 太原: 山西大学, 2015.
- [11] 沈小丽. 复方柴归方提取工艺及质量标准研究 [D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [12] 陈 磊, 郑晓芬, 高晓霞, 等. 代谢组学研究复方柴归方超临界 CO<sub>2</sub> 提取物抗抑郁作用及其机制 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(14): 2744-2750.
- [13] 陈 磊, 刘 欢, 陈建丽, 等. 基于神经内分泌激素和代谢组学关联分析的复方柴归方抗抑郁作用机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(20): 4080-4087.
- [14] 刘 欢. 复方柴归方抗抑郁药效研究 [D]. 太原: 山西大学, 2015.
- [15] Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic

- mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation [J]. *Psychopharmacology*, 1997, 134(4): 319-329.
- [16] Tian J S, Shi B Y, Xiang H, *et al.* <sup>1</sup>H-NMR-based metabonomic studies on the anti-depressant effect of genipin in the chronic unpredictable mild stress rat model [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75721.
- [17] Duman R S, Aghajanian G K, Sanacora G, *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants [J]. *Nat Med*, 2016, 22(3): 238-249.
- [18] Anderson H D, Pace W D, Libby A M, *et al.* Rates of 5 common antidepressant side effects among new adult and adolescent cases of depression: a retrospective US claims study [J]. *Clin Therap*, 2012, 34(1): 113-123.
- [19] 马丽娜, 李 耘. 抗抑郁药物研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(24): 3777-3779.
- [20] 张 潇, 田俊生, 刘 欢, 秦雪梅. 抗抑郁中药新药研发进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 29-33.
- [21] 朱世辉, 王 玉. 舒肝解郁胶囊联合帕罗西汀治疗精神分裂症后抑郁的疗效观察 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(3): 314-316.
- [22] 高 杉, 李 苒. 抑郁症动物模型及其评价标准研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(1): 57-60.
- [23] Zhang Y, Gu F, Chen J, *et al.* Chronic antidepressant administration alleviates frontal and hippocampal BDNF deficits in CUMS rat [J]. *Brain Res*, 2010, 1366: 141-148.
- [24] Dowlati Y, Ravindran A V, Segal Z V, *et al.* Selective dietary supplementation in early postpartum is associated with high resilience against depressed mood [J]. *Proceed Nat Acad Sci*, 2017, 114(13): 3509-3514.
- [25] 于泽胜, 路腾飞, 周好波, 等. 柴胡白芍药对慢性温和不可预知性应激抑郁模型大鼠脑内单胺类神经递质的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(16): 2887-2892.
- [26] 杨 帅, 潘 晔, 宋彦奇, 等. 交泰丸对抑郁大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响 [J]. 中草药, 2016, 47(23): 4218-4223.
- [27] 蔡少青, 王 璇, 尚明英, 等. 中药“显效理论”或有助于阐释并弘扬中药特色优势 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(17): 3435-3443.
- [28] 李 肖, 宫文霞, 周玉枝, 等. 逍遥散中抗抑郁有效成分及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(20): 3109-3116.
- [29] 宫文霞, 周玉枝, 李 肖, 等. 当归抗抑郁化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(21): 3905-3911.