

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0190-05

大黄素在行为模型上的抗抑郁作用

吴晓青¹,陈晓珍^{2*},童妍¹,蒋合众¹,谭睿^{1*}¹西南交通大学生命科学与工程学院,成都 610031; ²中国科学院成都生物研究所,成都 610041

摘要:为探讨大黄素(Emodin)的抗抑郁作用及其机制,选取雄性昆明小鼠随机分为空白对照组,盐酸氟西汀组(5 mg/kg)和大黄素组(200,100,50 mg/kg),连续灌胃给药7 d后,进行小鼠悬尾试验(TST)和小鼠强迫性游泳试验(FST);除空白对照组外,各组连续灌胃给药7d后,分别腹腔注射利血平(1 mg/kg),观察大黄素对利血平所致小鼠眼睑下垂和体温下降的拮抗作用。实验结果显示:在小鼠悬尾试验和小鼠强迫性游泳试验中,大黄素高剂量(200 mg/kg)能明显缩短小鼠在悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间($P < 0.05$)。在利血平诱导小鼠抑郁试验中,大黄素高剂量(200 mg/kg)能显著对抗利血平诱导的小鼠体温下降和眼睑下垂($P < 0.05$)。由此可见,大黄素具有明显的抗抑郁作用,其作用机制可能与单胺递质有关。

关键词:大黄素;抗抑郁;强迫游泳;利血平**中图分类号:**R965.2**文献标识码:**A**DOI:**10.16333/j.1001-6880.2018.S.029

Anti-depressant Effects of Emodin on Animal Model

WU Xiao-qing¹, CHEN Xiao-zhen^{2*}, TONG Yan¹, JIANG He-zhong¹, TANG Rui^{1*}¹College of life science and Engineering, Southwest Jiao Tong University, Chengdu 610031, China;²Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, 610041, China

Abstract: To investigate the antidepressant effect and the possible mechanism of emodin in animal model. Male Kunming mice were randomly divided into 5 groups: Control group (normal saline), fluoxetine group (5 mg/kg), emodin groups (200, 100, 50 mg/kg). After oral administration for 7 days, the tail-suspending test (TST), the forced swimming test (FST) and reserpine-antagonism test were carried out to evaluate the antidepressant effects of emodin. In particular, reserpine (1 mg/kg) was given by intraperitoneal injection before the reserpine-antagonism test. Compared with the control group, the immobility time of TST and FST were shortened in emodin high dose group ($P < 0.05$). Compared with the model group, emodin high dose could significantly reverse the ptosis, and decrease body temperature induced by reserpine in mice ($P < 0.05$). The results showed that emodin possesses significant antidepressant effect, and the mechanism may be related to monoamine neurotransmitters.

Key words: emodin; antidepressant effect; forced swimming test; reserpine

抑郁症是以情绪低落,言语减少,行为迟缓、及自罪自责等情感障碍为主要特征的一种常见病,目前的抗抑郁药物只能缓解部分症状,毒副作用较多,因此研究开发疗效好、毒副作用少的抗抑郁新药成为近年来研究的热点。目前已经建立了许多抗抑郁研究的行为药理学模型,如强迫游泳、悬尾、学习记忆障碍等。强迫游泳是一种经典的抗抑郁药筛选、评价模型,具有操作简单、快捷、预测性高的特

点^[1]。何首乌是临床常用中药,药用历史悠久,始载于《开宝本草》,有生首乌和制首乌之分,制品性温、味甘,归肝、肾经。功善补益精血,固肾乌须。制首乌主要含有二苯乙烯类化合物、蒽醌类化合物、黄酮类化合物和其他类化合物。大黄素(Emodin)、大黄素甲醚、二苯乙烯苷等是制首乌的有效成分。现代研究表明,大黄素具有抗炎、免疫调节、抗病原微生物、保肝利胆、影响胃肠道运动、抗癌等药理作用^[2,3]。我们前期发现,制首乌提取物及大黄素甲醚具有显著的抗抑郁作用^[4],至今未见基于小鼠行为模型的大黄素抗抑郁作用的报导。本研究首次采用经典的动物模型小鼠悬尾实验、小鼠强迫游泳实验、药物诱导的抑郁状态实验,观察大黄素的抗抑郁

收稿日期:2018-03-22 接受日期:2018-05-03

基金项目:成都市科技局项目(2016-GH02-00100-HZ, 2015-HM01-00588-SF);四川省中医药管理局科研项目(2016C050);四川省重点研发项目(2017SZ0075);国家自然科学基金项目(81473337)

*通信作者 Tel: 86-28-87634667; E-mail: tanrui@home.swjtu.edu.cn, -chenxz@cib.ac.cn

作用及可能机制^[5-8],为进一步研发高效、低毒的抗抑郁新药提供实验依据。

1 材料

1.1 药物

雄性昆明系小鼠,开始试验体重18~22 g,购于四川省医学实验动物中心,SCXK[川]2008-14,每天接受12 h光照/12 h黑暗,光照周期为8:00~20:00,实验室温度20±2℃,湿度60%,动物可以自行摄取标准饲料和清洁用水,动物实验遵守国际实验动物伦理学要求。小鼠适性饲养1周后进行实验。

1.2 药物与试剂

大黄素(自制),用0.5%梭甲基纤维素水溶液制成混悬,备用;利血平(广东邦明制药厂有限公司,国药准字H44021892),盐酸氟西汀(礼来苏州制药有限公司,批号A070884)。

1.3 仪器

多功能小鼠自主活动记录仪YLS-1A,北京吉安得尔科技有限公司。

2 方法

2.1 何首乌中大黄素的分离

取何首乌饮片2 kg,以95%乙醇回流提取2次,每次1 h,减压抽滤,合并2次提取液,减压蒸馏回收乙醇得何首乌醇浸膏。取稠膏,加水,80℃水浴加热分散,用乙酸乙酯萃取3次,减压回收溶剂,得乙酸乙酯部分。以丙酮拌样,进行硅胶柱层析,以氯仿-甲醇为洗脱剂进行洗脱,合并洗脱液,将洗脱液减压浓缩至干,即得黄色大黄素粗晶,用95%乙醇进行重结晶。

2.2 强迫小鼠游泳实验

KM小鼠按体重随机分为5组,每组20只,即空白对照组,阳性药盐酸氟西汀组(5 mg/kg),大黄素高、中、低剂量组200,100,50 mg/kg。每日1次,连续给药7天,空白对照组给予等体积的生理盐水。正式实验前2天开始对小鼠进行训练,即将小鼠单独放置水箱中,强迫游泳10 min,然后放回鼠笼中。各组小鼠末次给予相应药物或蒸馏水30 min后,将小鼠头部朝下放入直径16 cm、水深18 cm的游泳杯中,水温25±2℃,随即用秒表记录小鼠6 min内的不动时间。

2.3 小鼠悬尾实验

给药方法同2.2项。给药30 min后,将小鼠尾

部距末端约2 cm处用夹子固定,使小鼠倒挂在悬尾箱内,其头部离箱底约5 cm。小鼠悬挂2 min后,立刻开始观察,观察持续6 min,累计此6 min内小鼠的不动时间(小鼠在空中停止挣扎,或仅有细小的肢体运动)。

2.4 对利血平诱导小鼠抑郁模型的影响

2.4.1 眼睑下垂和体温下降的观测

小鼠按体重随机分为6组,每组20只,即空白对照组,模型组,阳性药盐酸氟西汀组(5 mg/kg),大黄素高、中、低剂量组200,100,50 mg/kg。每日1次,连续给药7 d,空白对照组给予等体积的生理盐水。末次给药或生理盐水30 min后,除正常组外各组腹腔注射利血平1 mg/kg,1 h后观察小鼠眼睑下垂的情况,计算对抗百分率。3 h后测小鼠肛温(将电子体温计探头插入小鼠肛门内约1.5 cm处)。

$$\text{对抗率} = \left(1 - \frac{\text{睁眼不能只数}}{\text{动物只数}}\right) \times 100$$

2.4.2 小鼠开场实验

分组及给药方法同2.4.1项,末次给药或生理盐水30 min后,除空白对照组外各组腹腔注射利血平1 mg/kg,1 h后放入小鼠开场实验箱中,适应2 min,观察随后4 min内小鼠的水平、垂直活动次数,即爬行格子数和站立次数。

2.4.3 小鼠自主活动实验

给药方法同2.4.1项。实验时,打开电源开关,通过定时按钮设定好时间(5 min),时间一到,仪器自动停止计数。小鼠在自主活动仪中适应1 min后,记录5 min的活动数作为自主活动的指标。小鼠末次给药后30 min放入小鼠自主活动仪,记录5 min内的活动次数。

2.5 统计学方法

实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 11.0统计软件进行处理,用One-Way ANOVA进行分析。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 EM对小鼠悬尾实验中和强迫游泳实验中不动时间的影响

如表1所示,与空白对照组相比,连续给药7 d后,大黄素高、中、低剂量组明显缩短了小鼠在悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间,中剂量组有统计学意义($P < 0.05$)对行为绝望抑郁模型具有明显的抗抑郁作用。

表 1 大黄素对小鼠悬尾实验中和强迫游泳实验中不动时间的影响 ($\bar{x} \pm S, n = 20$)Table 1 Effect of emodin on immobility time in mouse tail suspension test and forced swimming test ($\bar{x} \pm S, n = 20$)

组别 Group	剂量 Does (g/kg)	悬尾不动时间 Immobility time (Tail suspension)	游泳不动时间 Immobility time (Forced swimming)
正常组 Control	-	141 ± 34	68 ± 28
氟西汀 Fluoxetine	0.005	80 ± 28 ²⁾	34 ± 12 ²⁾
大黄素 Emodin	0.2	106 ± 33 ¹⁾	41 ± 14 ¹⁾
大黄素 Emodin	0.1	124 ± 38	61 ± 16
大黄素 Emodin	0.05	112 ± 43	60 ± 21

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with blank control group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$.

3.2 大黄素对利血平诱导的抑郁状态的影响

3.2.1 对利血平所致体温下降和眼睑下垂的影响

大黄素高剂量组能显著对抗利血平所致小鼠体

温下降和眼睑下垂,与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 大黄素对利血平所致体温下降和眼睑下垂的影响 ($\bar{x} \pm S, n = 20$)Table 2 Effect of emodin on the decrease of body temperature and eyelid droop caused by reserpine ($\bar{x} \pm S, n = 20$)

组别 Group	剂量 Does (g/kg)	体温 Body temperature (℃)	睁眼不能 Eyelid droop quantity (Number)	对抗率 Confrontation rate (%)
正常组 Control	-	37.77 ± 0.02	0	100
模型组 Model	0.001	35.60 ± 0.61 ³⁾	20	0
氟西汀 Fluoxetine	0.005	78.11 ± 2.02 ²⁾	6	70
大黄素 Emodin	0.2	36.56 ± 1.03 ¹⁾	8	60
大黄素 Emodin	0.1	36.32 ± 0.63	10	50
大黄素 Emodin	0.05	36.02 ± 0.45	14	30

注:与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白对照组比较,³⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with blank control group,³⁾ $P < 0.01$.

3.2.2 大黄素对小鼠开场实验爬行格子数和站立次数的影响

如表 3 所示,利血平所致小鼠抑郁模型的爬格数和站立次数均较空白对照组显著减少 ($P < 0.$

01);与模型组比较,大黄素高、中剂量组增加抑郁小鼠的爬格数 ($P < 0.05$) 但无量效关系,对利血平所致小鼠抑郁模型具有明显的抗抑郁作用。

表 3 大黄素对小鼠开场实验爬行格子数和站立次数的影响 ($\bar{x} \pm S, n = 20$)Table 3 Effect of Emodin on Quantity of Creep Numbers and Standing Times of Mice ($\bar{x} \pm S, n = 20$)

组别 Group	剂量 Does (g/kg)	爬行格子数 Creep Numbers (Number)	站立次数 Standing Times
正常组 Control	-	55.77 ± 13.66	18.54 ± 4.70
模型组 Model	0.001	13.50 ± 4.56 ³⁾	2.50 ± 0.65 ³⁾
氟西汀 Fluoxetine	0.005	29.17 ± 10.19 ¹⁾	5.42 ± 0.30 ¹⁾
大黄素 Emodin	0.2	16.00 ± 4.48 ²⁾	5.00 ± 0.16 ¹⁾
大黄素 Emodin	0.1	18.38 ± 3.83 ²⁾	5.50 ± 0.19 ¹⁾
大黄素 Emodin	0.05	11.15 ± 3.11	4.77 ± 1.77 ²⁾

注:与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白对照组比较,³⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with blank control group,³⁾ $P < 0.01$.

3.2.3 EM 对小鼠自主活动的影响

如表 4 所示,连续给药 7 天后,大黄素的中剂量

组可提高小鼠自主活动次数。高、低剂量组对小鼠的自主活动没有显著的影响。

表 4 大黄素对小鼠自主活动次数的影响($\bar{x} \pm S, n = 20$)Table 4 Effect of emodin on the number of spontaneous activities in mice($\bar{x} \pm S, n = 20$)

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	自主活动数 Spontaneous activities (Number)
正常组 Control	-	92.77 ± 20.15
模型组 Model	0.001	59.08 ± 14.79 ³⁾
氟西汀 Fluoxetine	0.005	78.11 ± 24.02
大黄素 Emodin	0.2	62.83 ± 11.26
大黄素 Emodin	0.1	82.60 ± 13.23
大黄素 Emodin	0.05	76.27 ± 23.25

注:与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与空白对照组比较,³⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with blank control group,³⁾ $P < 0.01$.

4 讨论

本实验采用行为绝望模型(Behavioral despair, BD)观察大黄素(Emodin)对行为绝望及应激性抑郁中的影响发现,大黄素连续给药7天,明显缩短了在强迫游泳和悬尾实验中的不动时间,缓解了小鼠在强迫游泳实验和悬尾实验中表现的绝望状态,表现出明显的抗抑郁作用。BD模型包括强迫游泳实验(Forced Swimming Test, FST)和悬尾实验(Tail Suspension Test, TST),其理论基础是:在强迫游泳或悬尾的应激条件下,动物经挣扎后出现绝望表现,即不动状态,而抗抑郁剂能缩短动物的不动时间,是筛选和观察抗抑郁药物作用效果的可靠实验方法。这种行为绝望状态被认为与抑郁症患者的症状相似。研究表明,当前大多数抗抑郁药能缩短这种不动状态时间,故这种模型被有效地应用于评价抗抑郁药的抗抑郁疗效。

本论文首先选用小鼠强迫游泳和小鼠悬尾模型动物应激模型,从整体动物行为药理学观察EM的抗抑郁作用,与空白对照组相比,连续给药7d后,大黄素高、中、低剂量组明显缩短了小鼠在悬尾实验和强迫游泳实验中的不动时间,进一步证实大黄素具有对抗动物绝望行为的作用。

利血平拮抗模型是经典的药物相互作用模型之一^[9]。药理学研究显示,利血平的基本药理作用是耗竭神经末梢囊泡内的单胺递质,由此提出了抑郁症的单胺假说,认为突触间隙单胺递质减少是抑郁发生的机理,而抗抑郁药通过阻断单胺再摄取或抑制单胺氧化酶(MAO),使递质代谢减少而发挥抗抑郁作用^[10,11]。目前,临幊上使用的4大类抗抑郁药的作用机制大多与脑内单胺递质有关。小鼠腹腔注

射利血平后出现眼睑下垂,体温下降,运动不能。大黄素能对抗利血平所致小鼠抑郁模型,表明大黄素可能是通过抑制单胺类递质的摄取发挥抗抑郁作用。

本研究为首次使用行为绝望模型对大黄素的抗抑郁作用进行探讨,对其他动物模型的抗抑郁作用及药效作用的物质基础及作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- Zhou XY, Liu LX, Zhang YQ, et al. Metabolomics identifies perturbations in amino acid metabolism in the prefrontal cortex of the learned helplessness rat model of depression[J]. *Neurosci*, 2017, 343(20):1-9.
- Huang WF(黄伟峰). Progress in pharmacological effects of emodin[J]. *Liu Zhou Med*(柳州医学), 2013, 26:241-244.
- Yang N(杨念), Xiang LC(向龙超), Cao FZ(曹风军), et al. Research progress on the effects and mechanisms of emodin in the tumor metastasis[J]. *Anti-tumor Pharmacy*(肿瘤药学), 2016, 6:173-177.
- Tong Y(童妍), Wu XQ(吴晓青). Experimental study on antidepressant effect of physcion[J]. *Pharm Clin Chin Materia Medica*(中医药理与临床), 2013, 29(1):60-62.
- Zhao J(赵静), Zhang M(张明), Geng LJ(耿卢婧), et al. Antidepressant activities of Tibetan medicine Zutai in two mouse depression models[J]. *Chin Traditi Pat Med*(中成药), 2016, 38:1461-1467.
- Liu M(刘梅), Zhou HS(周海松), Xu JW(许锦文), et al. The anti-depressant effect of Yuhuan Jieyu Capsule[J]. *Chin Traditi Pat Med*(中成药), 2016, 38:1383-1387.
- Shao LW(邵利伟), Huang F(黄锋), Zhan HQ(詹合琴), et al. Antidepressant effect and mechanism of fried jujube extract[J]. *Chin Traditi Pat Med*(中成药), 2016, 38:912-917.

(下转第 56 页)