

表4 SQWP 抗戊巴四氮致小鼠惊厥作用

组别	剂量 (g/kg)	惊厥动物只数	抗惊厥动物只数	惊厥发生率(%)
生理盐水对照组	—	12	0	100.00
SQWP 低剂量组	0.06	8	4	67.7*
SQWP 中剂量组	0.12	3	9	25.0**
SQWP 高剂量组	0.24	2	10	16.7**
地西洋组	0.001	0	12	0**

注:与生理盐水对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

表4示,高、中、低剂量SQWP能显著减少戊四氮致小鼠惊厥发生百分率,与生理盐水组比较,差异有显著性。提示SQWP具有抗惊厥作用。

3 讨论

参芪五味子片由人参、黄芪、五味子等药组成。片中人参具有安神益智、扶正益气、活血、强身延年、抗肿痛,黄芪能补中益气,五味子具有宁心安神、镇静、抗惊厥等作用。

失眠是临床比较常见又难治的疾病。目前大量使用的西药类镇静催眠药物在治疗失眠的同时会产生一定的依赖性,因此,利用中医药理论,开发出有效且无依赖性的镇静催眠药物必将产生良好的社会和经济效益。

参考文献

[1]漏新芬.灵芝研究概况[J].浙江中西医结合杂志,1998,8(3):188.
[2]李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科技出版社,1992:330-335.
[3]陈奇.中药药理实验[M].贵州人民出版社,1987:171.
[4]陈奇.中药药理研究方法学[M]北京:人民卫生出版社,1994:671,661-672.
[5]Miller J W, Ferrenli JA. The cental medial nucleus: thalamic site of seizure regulation[J]. Brain Res, 1990, 508: 297.
* 河南省南阳市张仲景医院(473000)

中药抗焦虑作用研究

张加宇*

【摘要】目的 通过观察参芪五味子片对EPM大鼠的影响来研究其抗焦虑作用。**方法** 将大鼠随机分为模型、地西洋(DZP)、参芪五味子片(SQWW)I、SQWWII、SQWWIII、SQWWIV组,每组15只,其中SQWWI、II、III、IV组分别按 $0.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $2\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给予SQWW灌胃,DZP组给予 $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃。于第10d观察所有EPM大鼠进入开放臂次数(OE)、进入开放臂时间(OT)、进入封闭臂次数(CE)、进入封闭臂时间(CT)、向下探究次数(head-dipping)、封闭臂后腿直立次数(rearing)。**结果** 与模型组比较DZP、SQWWII组大鼠OE%和OT%、SQWWIII组OE%均明显增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),SQWWIV组大鼠OE+CE有所增加($P<0.05$),其他各组之间比较无统计学差异($P>0.05$);与模型组比较,DZP和SQWWII、SQWWIII组大鼠head-dipping次数显著增加($P<0.01$),SQWWI、SQWWIV组增加不明显($P>0.05$);SQWW组rearing亦较模型组明显增多($P<0.05$),其他各组之间比较无统计学差异($P>0.05$)。**结论** 参芪五味子片在 $1\text{g}/\text{kg}\sim 2\text{g}/\text{kg}$ 剂量范围内确有抗焦虑效用,但该效应可能与其镇静催眠作用无关;达到一定剂量后,参芪五味子片抗焦虑效应不再伴随剂量的增加而增强,而呈现一定的镇静作用。

【关键词】 参芪五味子片;抗焦虑;EPM;地西洋

参芪五味子片主要成份为南五味子、党参、黄芪、酸枣仁(炒)。有健脾益气、宁心安神之功效,用于心悸气短、动则气喘易汗、少寐多梦、倦怠乏力、健忘等症。其中黄芪和酸枣仁都有文献报道具有一定的抗焦虑作用^[1-3]。为了研究参芪五味子片抗焦虑的确切疗效和可能的机制,本实验对参芪五味子片的药效学进行初步研究,为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

健康Wistar大鼠90只,级别SPF/VAF,体重(180±10)g,由四川大学华西实验动物中心提供。

1.2 药物与试剂

参芪五味子片(SQWW)由甘肃独一味生物制药股份有限公司提供,经研钵粉碎后以双蒸水溶解4℃保存。地西洋(DZP)经研钵粉碎后以双蒸水溶解,加入2%羧甲基纤维素钠1~2滴充分混匀,配成10%浓度。4℃保存,使用前混摇均匀。

2 方法

2.1 动物分组及处理

大鼠每笼7~8只,不限饮食。光照节律12L:12D(6:00~18:00),室温(18±2)℃,保持安静。将大鼠随机分为模型、DZP、SQWWI、SQWWII、SQWWIII、SQWWIV组,每组15只。其中SQWWI、II、III、IV组分别按 $0.5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $1\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $2\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给予SQWW灌胃,DZP组每d给予 $1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃,模型组灌服等容积的生理盐水。各组连续给药10d,于第10d分别在SQWW末次给药2h、DZP或生理盐水末次灌胃0.5h后做行为测试,各组交叉进行。所有动物均提前2h进入测试实验室。

2.2 高架十字迷宫模型制作

在文献基础上^[4],采用国际通用方法制作:迷宫由两个相对的开放臂(open arm,长×宽分别为50cm×10cm)、两个相对的封闭臂(enclosed arm, close arm,长×宽×高分别为50cm×10cm×40cm)、一个连接四只臂的中央平台(central platform, 10cm×10cm)(即:开放臂—中央平台—开放臂或封闭臂—中央平台—封闭臂,此二者互相垂直成为“+”形状)和围绕在开放臂边缘的1cm高的矮挡板组成(目的是防止动物在探究过程中不慎滑下迷宫)。本迷宫由国产有机玻璃制作(1cm厚),除四个臂的底板及中央平台为黑色外,其余部位均为无色透明。有机玻璃部分整体固定于(由黑色等长宽的“+”木架和不锈钢可升降底座组成的)支架上,迷宫底板调节到距实验室地面50cm处。

2.3 行为学测试

测试实验室内光线昏暗(以1.5m距离处能区分大鼠细微活

动的最低亮度为准)并保持恒亮,室温 21℃,安静。测试箱放置于实验室一角,周围布以 2m 高黑色单调背景。实验过程中只有 1 名参与日常处理的人员搬运动物。迷宫测试前将每只大鼠放入一个 60cm×60cm×35cm 塑料盒中,任其自由探究 5min 后迅速置于 EPM 的中央平台处,使其头部正对其中 1 个开放臂,释放后即开始记录下述指标:①进入开放臂次数(OE):进入到任意 1 个开放臂的次数,以大鼠 4 个爪子均进入臂内为准,中途 1 个爪子从该臂中完全退出则为该次进入活动完成;②进入开放臂时间(OT):③进入封闭臂次数(CE):进入到任意 1 个封闭臂的次数,以大鼠 4 个爪子均进入到臂内为准;④进入封闭臂时间(CT):⑤向下探究次数(head-dipping):大鼠置身于中央平台或开放臂时,一边用前爪握住迷宫边缘一边把头部和肩部伸出开放臂的边缘向迷宫下面探究的行为次数;⑥封闭臂后腿直立次数(rearing):大鼠在封闭臂前腿抬起以后腿支持使身体竖立的次数。由①~④分别计算出:①进入开放臂和封

闭臂的总次数(OE+CE):表示大鼠的运动活力;②进入开放臂次数比例(OE%),即开放臂进入次数/(OE+CE)×100%;③开放臂停留时间比例(OT%),即开放臂停留时间/(OT+CT)×100%。每只大鼠测试 5min。中间用湿布擦拭迷宫,清除粪便,继用干布擦净后再进行下只大鼠的测试。

2.4 统计学方法

所得数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 11.0 for windows 软件统计处理,先采用单因素方差分析进行检验,后采用 Student-Newman-Keuls 检验。

3 结果

3.1 各组 EPM 大鼠 OE+CE、OE%、OT%比较

表 1 示,与模型组比较 DZP、SQWW II 组大鼠 OE%和 OT%、SQWW III 组 OE%均明显增加($P<0.01$ 或 $P<0.05$),SQWW IV 组大鼠 OE+CE 即总的入臂次数有所增加($P<0.05$),其他各组之间比较无统计学差异($P>0.05$)。

表 1 各组 EPM 大鼠 OE+CE、OE%、OT%比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	OE+CE (次)	OE%	OT%
模型	15	7.2±1.55	18.75±5.85	19.58±8.24
DZP	15	8.45±1.37	52.31±2.89**	55.54±6.83**
SQWW I	15	8.12±1.45	22.85±7.20	25.84±6.42
SQWW II	15	8.70±1.14	45.80±4.88*	42.37±7.80*
SQWW III	15	8.92±1.15	35.60±6.84*	25.44±4.75
SQWW IV	15	11.12±1.37*	31.33±4.58	28.37±4.58

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.2 各组 EPM 大鼠 head-dipping 和 rearing 次数比较

表 2 示,与模型组比较,DZP 和 SQWW II、SQWW III 组大鼠在开放臂和中央平台区 head-dipping 次数显著增加($P<0.01$),SQWW I、SQWW IV 组增加不明显($P>0.05$);SQWW 组 rearing 亦较模型组明显增多($P<0.05$),其他各组之间比较无统计学差异($P>0.05$)。

表 2 各组 EPM 大鼠 head-dipping 和 rearing 次数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	Head-dipping (次)	Rearing (次)
模型	15	3.78±1.53	7.68±1.12
DZP	15	14.20±1.25**	10.01±1.57
SQWW I	15	4.70±1.24	10.68±1.35
SQWW II	15	11.27±0.76**	11.20±1.54
SQWW III	15	11.38±1.08**	9.78±1.89
SQWW IV	15	4.32±0.77	13.34±1.79*

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

4 讨论

焦虑症是一种以广泛和持续焦虑或反复发作的惊恐不安为主要特征的神经症,常伴以头晕、胸闷、心悸等植物神经功能症状和运动性紧张,一般属于中医“心神不宁”的范畴,临证可从调神角度辨治。参芪五味子片具有健脾益气、宁心安神之功效,与目前中医治疗焦虑症的基本治法相吻合,其在精神疾病方面的临床有效运用也提示本方可能具有潜在的抗焦虑效用。本研究引入的高架十字迷宫模型,为抗焦虑研究中公认的非条件反射模型。它利用动物对新异环境的探究特性和相对高悬敞开臂的恐惧心理,形成动物的矛盾行为。实验指标以 OE%和 OT%反映动物的焦虑状态,OE%和 OT%是动物趋近-规避冲突的结果,与焦虑程度直接相关,焦虑动物的 OE%和 OT%明显降低,经典抗焦虑药物则使两者升高,而此二者的下降则意味着预处理措施加剧了动物的焦虑程度(致焦虑作用)^[4,5]。通常抗焦虑药物只增加动物对开放臂的探索,使 OT%和 OE%上升,而致焦虑药物也仅是降低 OT%和 OE%,不会使封闭臂的探索减少。动物在开放臂和中央平台区 head-dipping 的次数则

反映了在非保护区内的探索行为,代表动物对陌生环境的好奇探究或因恐惧而寻求逃避,与焦虑程度也有一定相关性。在本实验中,模型组大鼠较少进入或停留于开放臂中,而倾向探究封闭臂,体现了模型的设计原理;1mg/kg 的 DZP 可使 OE%、OT%显著增加,head-dipping 次数明显增多,说明大鼠对开放臂和非保护区的探究增加,反映了 DZP 的抗焦虑作用,符合 Handley 和 Mithani^[5]的模型设计理念,并与 Pellow 的结果^[4]一致,表明本实验中 EPM 模型的复制是成功的。实验还观察到,参芪五味子片 1g/kg 可显著增加 EPM 大鼠 OE%和 OT%值,明显提高大鼠在开放臂和中央平台区 head-dipping 次数;2g/kg 剂量时增加 OE%和 head-dipping 次数,但对 OT%影响不明显;与模型组比较,参芪五味子片 1g/kg、2g/kg 对 OE%、OT%、head-dipping 的影响均不明显。结果表明,参芪五味子片在 1g/kg~2g/kg 剂量范围内,具有一定的抗焦虑效应,与 DZP 的作用方向一致。综合对 EPM 大鼠各项指标影响结果来看,参芪五味子片各剂量组中以 1g/kg 效果最优,而 0.5g/kg 和 2g/kg 几乎不表现抗焦虑效用。在 EPM 模型中,开放臂和封闭臂总进入次数(OE+CE)反映动物总的运动能力(locomotor activity),封闭臂 rearing 值也可用来观察药物有无镇静作用及镇静强度。但多年来关于抗焦虑药究竟如何影响这两个指标一直存在争议显然,在探讨本方药效关系时仍有必要考虑其可能的抗焦虑效应与其镇静作用是否有关。本实验中所采用 EPM 模型检测指标中的 OE+CE 是对实验动物基础运动能力的考察,从而避免了在进行抗焦虑作用行为测试中另需增加运动能力方面的实验。结果显示,1mg/kg DZP 和 1g/kg~2g/kg 的参芪五味子片对 OE+CE 和封闭臂 rearing 均没有明显影响,提示 1mg/kg DZP 和 1g/kg~2g/kg 的参芪五味子片没有镇静作用;但 4g/kg 参芪五味子片可显著增加 OE+CE、提高大鼠在封闭臂的 rearing 值,显示出一定的镇静作用。

综上所述,参芪五味子片在 1g/kg~2g/kg 剂量范围内确有抗焦虑效用,因其对动物运动能力影响不大,故推测参芪五味子片抗焦虑效应可能与其镇静催眠作用无关;达到一定剂量后,

参芪五味子片抗焦虑效应并不再伴随剂量的增加而增强,而呈现一定的镇静作用。

参考文献

- [1] 荣春蕾,代永霞,崔瑛.酸枣仁对阴虚小鼠焦虑行为的影响[J].中药材,2008,11(31):1703-1705.
- [2] 王欣,王守勇.酸枣仁汤临床与实验研究评述[J].中成药,2003,25(5):414.
- [3] 张丽明,李芝晃,陈文浩.当归黄芪结合心理干预治疗女性

更年期焦虑患者临床研究[J].实用全科医学,2008,6(2):165-166.

- [4] Pellow S, Chopin P, File SE, et al. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat[J]. J Neurosci Methods, 1985, 14(3):149-167.
 - [5] Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mice[J]. Psychopharmacology (Berl), 1987, 92(2):180-185.
- * 四川省安岳中医院 (622650)

益气止血宁药物血清对离体子宫收缩影响的研究

赵宏利¹ 张英蕾² 马宝璋³

功能失调性子宫出血(DUB)简称功血,是妇产科常见病、多发病,益气止血宁是名老中医马宝璋教授在长期临床实践中总结提炼出来的治疗妇科出血性疾病,尤其是功血属于脾肾不足、气虚失摄型的有效方剂。本实验通过观察益气止血宁水溶液及药物血清对小鼠、大鼠离体子宫收缩作用,来验证其疗效,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

Wistar 雌性成年大鼠,体重为(200±20)g,鼠龄4月;昆明种雌性小鼠,体重为(20±2)g,鼠龄8周,均购自黑龙江中医药大学实验动物中心。

1.2 主要仪器

成都仪器厂 LMS-2B 型二道生理记录仪,重庆仪器设备厂 CS501 型超级恒温器,高碑店新航机电设备有限公司肌张力换能器 JZ100 型。

1.3 实验药物

宫血宁胶囊:0.13g/粒,批号:ZZ-5418-滇卫药准字(1995)第 000392,云南白药集团股份有限公司;宫血停颗粒:10g/袋,批号:ZZ-5250-黑卫药准字(1985)第 200384,哈药集团股份有限公司;益气止血宁颗粒:黑龙江中医药大学药厂,批号:200203,规格:10g/袋(每克颗粒相当于生药 2g),中益气止血宁用量皆以成品颗粒重量计算。

1.4 实验方法

1.4.1 药物水溶液对小鼠离体子宫收缩的作用 取昆明种雌性小鼠 10 只,体重(20±2)g,腹腔注射己烯雌酚 0.1mg/kg,以提高子宫对药物的敏感性,24h 后将小鼠颈椎脱臼处死。开腹取出子宫置于盛有预先配制的台式液的培养皿中,剥离子宫上附着的脂肪等结缔组织,将双侧子宫并拢,四号手术丝线结扎远近两端,间隔约 2cm。一端以丝线固定于挂钩上,置于盛有 20ml 的台式液的麦氏浴槽中,另一端连接到肌张力换能器上,加负荷 1g,并将换能器连接于 LMS-2B 型二道生理记录仪。麦氏浴槽的温度由超级恒温器控制在(37±0.5)℃。以每秒 3~4 个小气泡的速度向台式液中通入氧气(含 95%O₂+5%CO₂)。稳定 20min 左右子宫收缩平稳,记录一段正常收缩曲线,然后分别滴加宫血宁(6.5×10⁻³g/ml)、宫血停(1g/ml)、益气止血宁(0.5g/ml)各 0.1ml,使台式液中药物浓度分别达到宫血宁(3.23×10⁻⁵g/ml)、宫血停(4.98×10⁻³g/ml)、益气止血宁(2.49×10⁻³g/ml)并依次记录该药的子宫收缩曲线。各药物滴加量(或药物浓度)的比例与各药物成人每日口服量(或实验动

物等效灌胃量)的比例相同,以保证实验对照的可比性,同时各药液 PH 值均调至 7.0~7.2。换药前均用台式液冲洗 3 次,每次 5min 以上,以使子宫收缩基本恢复到未加药前水平,以免影响实验结果。二道生理记录仪的参数:灵敏度取 0.1 或 0.2(按 0.1 标准两倍折算),时间常数为 2,走纸速度 10mm/min,滤波 10Hz。

1.4.2 药物血清对大鼠离体子宫收缩的作用 取 Wistar 雌性成年大鼠 16 只,随机分 4 组,每组 4 只,分别以成人等效剂量的 10 倍量灌胃,宫血宁每日灌服 0.35g/kg,宫血停 54g/kg,益气止血宁 27g/kg,空白组以等容积的生理盐水灌胃。第 7 天给药后 2h,摘眼球取血,静置 30min 后,以 3000r/min 离心 20min,取血清,-20℃保存备用。另取 Wistar 成年雌性大鼠 10 只,颈椎脱臼处死。开腹剪取一侧子宫,按 1.4.1 中方法,记录一段子宫正常收缩曲线后,分别滴加灌服生理盐水的空白组大鼠血清、宫血宁大鼠血清、宫血停大鼠血清、益气止血宁大鼠血清各 0.1ml,分别记录子宫收缩曲线。二道生理记录仪的参数:灵敏度取 0.2 或 0.5(按 0.2 标准 5/2 折算),时间常数为 2,走纸速度 10mm/min,滤波 10Hz。

2 结果

2.1 药物水溶液对小鼠离体子宫收缩的作用

与台式液比较,益气止血宁对小鼠离体子宫收缩频率无影响($P>0.05$),对收缩振幅有加强作用($P<0.01$);宫血停水溶液对离体小鼠子宫收缩振幅无影响($P>0.05$),对收缩频率反而有抑制作用($P<0.01$)。

2.2 药物血清对大鼠离体子宫收缩的作用

与台式液比较,空白血清可加强离体大鼠子宫的收缩幅度($P<0.01$),却不改变收缩频率;空白血清及各药物血清组均能显著提高离体子宫的收缩幅度($P<0.01$);益气止血宁药物血清对子宫收缩幅度提升作用强于空白血清的作用($P<0.05$),说明其兴奋子宫作用已排除了血清故有活性成分的干扰;而宫血停血清与空白血清作用无差异;益气止血宁药物血清对离体子宫收缩频率有促进作用,与台式液、空白血清、宫血停药物血清相比差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

益气止血宁由党参、黄芪、炒蒲黄、茜草根、煅牡蛎、墨旱莲等药组成。方中党参、黄芪相协益气健脾生血止血;复以墨旱莲、牡蛎肾阳敛固冲止止血,党参、黄芪得墨旱莲、牡蛎,则补益阳气而不致化火,墨旱莲、牡蛎得党参、黄芪,则养阴敛阳而勿忧凉凝;更仿《内经》四乌贼骨一蘼茹丸之意,加茜