

· 药理 ·

缬草素抗焦虑活性研究

王延丽, 石晋丽^{1*}, 郭建友², 刘勇¹, 郑虎占¹, 赵保胜¹

(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 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: 研究缬草素的抗焦虑作用。方法: 雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为 5 组: 缬草素高、中、低剂量组(剂量分别为 20, 10, 5 mg·kg⁻¹)、阳性药地西洋(diazepam, DZP)组和空白组, ig 10 d 后采用国际通用的高架十字迷宫(elevated plus maze, EPM)焦虑动物模型, 从行为学角度观察了缬草素的抗焦虑作用。结果: EPM 行为学观察表明: 与空白组相比, DZP 和缬草素中剂量组可明显提高大鼠在开臂时间百分率(14.07%, 38.09%, 37.42%, $P < 0.01$)和次数百分率(16.98%, 30.10%, 37.19%, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 缬草素有明显的抗焦虑作用。

[关键词] 焦虑症; 缬草素; 高架十字迷宫

[中图分类号] 285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)06-0126-03

Anxiolytic Activity of Valeportiate

WANG Yan-li¹, SHI Jin-li^{1*}, GUO Jian-you², LIU Yong¹, ZHENG Hu-zhan¹, ZHAO Bao-sheng¹

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

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

[Abstract] **Objective:** To study anxiolytic activity of valeportriate isolated from the root of *Valeriana jatamansi*. **Method:** Sixty Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups for daily intragastric administration of drugs: valeportriate high-dose (20 mg·kg⁻¹), valeportriate medium-dose (10 mg·kg⁻¹), valeportriate low-dose (5 mg·kg⁻¹), the positive drug group and normal control group, treated ig for 10 days. Adopting the international common-used anxiety animal model with the elevated plus-maze test (EPM), we observed the effect of anti-anxiety of valeportriate from the angle of behavior. **Result:** The results of EPM showed that DZP and valeportriate medium-dose group obviously increased the percentages of open arm time (14.07%, 38.09%, 37.42%, $P < 0.01$) and entry (16.98%, 30.10%, 37.19%, $P < 0.05$ or $P < 0.01$) comparing with control group. **Conclusion:** Valeportriate has obvious anti-anxiety activity.

[Key words] anxiety disorders; valeportriate; elevated plus maze

蜘蛛香为败酱科缬草属植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根及根茎, 又名马蹄香、老虎七、印度缬草等, 收载于 2010 年版《中国药典》(一部)。具有理气止痛, 消食止泻, 祛风除湿, 镇静安神

的功效, 用于食积不化, 腹泻痢疾, 风湿痹痛, 腰膝酸软, 失眠等^[1]。缬草素类成分是其重要的活性成分。本研究从蜘蛛香中提取分离得到缬草素, 并对其进行了抗焦虑作用研究。

[收稿日期] 20100921(001)

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

[第一作者] 王延丽, 硕士生, 从事中药抗焦虑药效学研究, Tel: 13401053654, E-mail: wangyanli2097@126.com

[通讯作者] * 石晋丽, 博士, 教授, 从事中药药效成分与新药源的开发利用研究, Tel: 010-84738623, E-mail: shijl@vip.sina.com

1 材料

1.1 药物与试剂 蜘蛛香药材购自云南师宗县,经北京中医药大学石晋丽教授鉴定为败酱科植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones 的干燥根及根茎。缬草素自制,并经高效液相色谱鉴定。临用时将缬草素与生理盐水和聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温 80)配成所需浓度的混溶液。同时,空白组用生理盐水和吐温 80 作为对照。氯化钠注射液,山东金洋药业有限公司,批号 080501。地西洋(DZP),北京益民药业有限公司,批号 0806007。用生理盐水配成所需浓度的溶液,给药容量 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,新鲜配制。乙腈为色谱纯,美国 Tedia 公司。蒸馏水为色谱纯,广州屈臣氏食品饮料有限公司。石油醚、乙酸乙酯、无水乙醇、95%乙醇为分析纯,北京化工厂。

1.2 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 60 只,体重 $150 \sim 170 \text{ g}$,购自军事医学科学院实验动物中心,合格证号 SCXK(军)2007-004。大鼠饲养于中国科学院心理研究所 SPF 动物房。光照节律 12L:12D (7:00 ~ 19:00),室温 $(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$,湿度 50% 左右,动物可以自行摄取标准饲料和清洁饮用水。动物实验遵守国际实验动物伦理学要求。

1.3 仪器 Agilent1100 型高效液相色谱仪(Agilent Technologies);大鼠高架十字迷宫(ENV-256 I-8 Med Associates Inc)。

2 方法

2.1 缬草素的制备 蜘蛛香药材冷冻粉碎,过 40 目筛,浸泡 30 min 后,用相当于药材 8 倍重量的 95%乙醇超声提取 3 次。超声提取液减压浓缩,浓缩液以粗硅胶拌样,石油醚、乙酸乙酯进行抽提,收集抽滤液,减压浓缩,浓缩液以细硅胶拌样,进行硅胶柱层析,石油醚:乙酸乙酯按一定比例洗脱,反复柱层析得缬草素。经高效液相色谱检测结果表明,缬草素纯度为 96%。色谱条件如下:Agilent C_{18} 柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$);流动相:乙腈-水(68:32);检测波长为 256 nm;流速为 $0.95 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2.2 药效学研究

2.2.1 实验分组 大鼠每笼 4 只,将大鼠随机分为缬草素高、中、低剂量组、DZP 组和空白组共 5 组。其中缬草素高、中、低组分别按 $20, 10, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 给予 ig, DZP 组给予 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ig, 空白组 ig 等容积的生理盐水。1 次/d,连续 10 d ig 给药,于第 10 d

中药组和盐水对照组末次 ig 1 h 后,地西洋组 ig 0.5 h 后,于 8:00 ~ 14:00 进行行为测试。

2.2.2 高架十字迷宫(EPM)测试 迷宫测试前将每只大鼠放入 $45 \text{ cm} \times 30 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$ 塑料盒中,任其自由探究 5 min 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,采用红外线技术记录 5 min 内小鼠的活动情况。

2.2.3 行为学观测指标 ① 进入开放臂次数(open arm entry, OE):进或出入到任一开放臂的次数,以大鼠身体进入 70% 分区为准;② 进入开放臂时间(open arm time, OT):进入开放臂的时间单位(s);③ 进入封闭臂次数(close arm entry, CE):进或出入到任一封闭臂的次数,以大鼠身体进入 70% 分区为准;④ 进入封闭臂时间(close arm time, CT):进入封闭臂的时间单位(s);⑤ 开臂时间百分率: $\text{OT}(\%) = \text{OT} / (\text{OT} + \text{CT}) \times 100\%$ ⑥ 开臂次数百分率: $\text{OE}(\%) = \text{OE} / (\text{OE} + \text{CE}) \times 100\%$ 。

2.2.4 统计学分析 用 SAS 8.2 软件进行数据分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各给药组和空白对照组间的比较用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 缬草素对 EPM 模型大鼠开臂时间和次数的影响 给予缬草素 $10, 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组能显著增加大鼠在高架十字迷宫开臂内的停留时间。给予缬草素 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组大鼠在高架十字迷宫开臂内的进入次数比空白组明显增加,差异有显著性意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 缬草素对 EPM 模型大鼠进入开放臂时间和进入开放臂次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 分组 | 剂量 $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 进入开放臂 时间/s | 进入开放臂 次数/次 |
|-------|---|------------------------|----------------------|
| 空白组 | - | 32.12 ± 5.96 | 1.92 ± 0.60 |
| DZP 组 | 1 | $91.24 \pm 12.98^{2)}$ | $4.42 \pm 0.77^{1)}$ |
| 缬草素 | 5 | $32.92 \pm 9.22^{2)}$ | $1.17 \pm 0.37^{2)}$ |
| | 10 | $87.20 \pm 10.00^{2)}$ | 6.58 ± 1.13 |
| | 20 | 72.29 ± 10.24 | 3.33 ± 0.63 |

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

3.2 缬草素对 EPM 模型大鼠 OT% 和 OE% 的影响 与空白组相比, DZP 组、缬草素中剂量组可以明显增加 OT% 和 OE% 值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与空白组相比,缬草素高剂量组可以明显的增加 OT% 值($P < 0.01$)。OE + CE 即总的入臂次数(total arm

entry), 标志着大鼠的运动能力(locomotor activity)。与正常组比较, 缬草素中剂量组大鼠运动能力有所增加($P < 0.05$); 正常对照、DZP、缬草素低、高剂量组之间比较无显著差异。结果表明: 缬草素在剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 在此焦虑模型上有明显的抗焦虑作用, 但是给药组抗焦虑作用并不随着剂量的升高而加强。见表 2。

表 2 缬草素对 EPM 模型大鼠总入臂次数, 开臂时间百分率和开臂次数百分率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 剂量 $/\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 总入臂 /数 | 开臂时间率 /% | 开臂次数率 /% |
|-------|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 空白组 | - | 9.08 ± 1.33 | 14.07 ± 2.63 | 16.98 ± 4.09 |
| DZP 组 | 1 | 12.82 ± 1.09 | $38.09 \pm 4.97^{2)}$ | $30.10 \pm 4.11^{1)}$ |
| 缬草素 | 5 | 9.50 ± 1.59 | 14.72 ± 4.30 | 10.57 ± 3.21 |
| | 10 | $15.73 \pm 2.07^{1)}$ | $37.42 \pm 3.46^{2)}$ | $37.19 \pm 4.16^{2)}$ |
| | 20 | 11.75 ± 1.12 | $31.21 \pm 4.35^{2)}$ | 25.55 ± 4.66 |

注: 总入臂次数为进入开放臂次数(OE)与进入封闭臂次数之和。

4 讨论

在缬草素类生药中, 蜘蛛香中缬草素类成分的含量要远远大于其他常用的缬草类生药^[2]。狄宏晔等^[3]研究蜘蛛香中总缬草素的提取纯化工艺, 以缬草素含量为指标, 采用正交试验法筛选出最佳提取工艺。缬草素类成分为环烯醚萜结构, 稳定性较差, 陈玉娟等^[4]研究缬草素在不同溶媒中的稳定性, 结果得出缬草素单体可冷冻存放于氯仿溶液中, 使其保持相对稳定。缬草素还可能受湿度、温度及光照的影响, 故实验中样品处理及含量测定均须在低温、黑暗、密闭的环境中进行, 为缬草素单体提取、制剂、贮存提供理论依据和技术支持。

动物研究发现, 在 Geler-Seifter 冲突实验和高架

十字迷宫试验中, 缬草素类成分具有抗焦虑的作用^[5]。初步研究报道, 36 个患有广泛性焦虑的医院门诊病人, 均符合《精神疾病诊断与统计手册》(第 3 版的修订版)(DSM III-R)中的焦虑症诊断标准, 缬草素类组服药 4 周后, 能明显的减低汉密尔顿焦虑量表(HAMA)评分, 减缓焦虑症的精神症状^[5]。本实验证明缬草素确实有明显的抗焦虑作用, 与上述报道相一致, 具有良好的开发前景。

本实验得出缬草素在剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 在高架十字迷宫焦虑模型上有明显的抗焦虑作用, 但是给药组抗焦虑效应并不随着剂量的升高而加强, 没有表现一定的量效关系。而本实验中缬草素与安定类地西洋的抗焦虑作用趋势一致, 故实验结果提示缬草素发挥抗焦虑作用机制可能与 γ -氨基丁酸能神经通路有关, 还需要进一步研究探讨。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:345.
- [2] 陈磊, 秦路平, 郑汉臣, 等. 三种缬草属植物的缬草素类含量种间和种内比较[J]. 中药材, 2002, 25(4):237.
- [3] 狄宏晔, 石晋丽, 闫兴丽, 等. 蜘蛛香中总缬草素的提取纯化工艺研究[J]. 中药材, 2007, 30(9):1125.
- [4] 陈玉娟, 石晋丽, 闫兴丽, 等. 蜘蛛香中缬草素在不同溶媒中的稳定性研究[J]. 北京中医药大学学报, 2009, 32(5):349.
- [5] Roberto Andreatini, Vania A Sartori, Maria L V, et al. Effect of Valepotriates (Valerian Extract) in generalized anxiety disorder: a randomized placebo-controlled pilot study[J]. Phytother Res, 2002, 16(7): 650.

[责任编辑 聂淑琴]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110127.1109.001.html>