

理气散结颗粒对肝气郁结模型大鼠的改善作用研究[△]

肖成^{1*}, 胡凤娇², 魏潭军¹, 周殿儒¹, 梁源², 王张², 孙位军², 王毅^{1#} (1.达州市中西医结合医院制剂室, 四川达州 635000; 2.成都中医药大学民族医药学院, 成都 611137)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0371-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.18

摘要 目的:考察理气散结颗粒对肝气郁结模型大鼠的改善作用。方法:将80只大鼠按体质量随机分为空白对照组(生理盐水)、模型对照组(生理盐水)、逍遥丸对照组(阳性对照a,以生药量计为750 mg/kg)、小金丸对照组(阳性对照b,以丸质量计为200 mg/kg)、理气散结丸对照组(原型对照,以生药量计为1 957 mg/kg)和理气散结颗粒低、中、高剂量组(以生药量计分别为978.5、1 957、3 914 mg/kg),每组10只。各组大鼠均每天灌胃给药1次,灌胃体积均为20 mL/kg,连续给药21 d;每次给药1 h后,除空白对照组外的其余各组大鼠均采用束缚法复制肝气郁结模型。通过设计糖水偏嗜度实验测定大鼠的糖水偏嗜度、鼠尾悬吊实验测定大鼠悬吊不动时间和挣扎次数、旷场行为学实验测定大鼠行为总得分判断大鼠的肝郁程度以及药物的作用效果。结果:与空白对照组比较,模型对照组大鼠的悬吊不动时间显著延长,糖水偏嗜度和旷场行为学实验中行为总得分显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型对照组比较,小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒中剂量组大鼠的挣扎次数显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);逍遥丸对照组、小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒低、中剂量组大鼠的悬吊不动时间显著缩短,糖水偏嗜度和旷场行为学实验中行为总得分显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与理气散结丸对照组比较,仅理气散结颗粒高剂量组大鼠的挣扎次数显著减少,悬吊不动时间显著延长($P<0.05$ 或 $P<0.01$),理气散结颗粒低、中剂量组大鼠上述指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:理气散结颗粒对束缚法致肝气郁结模型大鼠有明显的改善作用,且低、中剂量理气散结颗粒与理气散结丸的作用效果相当。

关键词 理气散结颗粒;肝气郁结模型;束缚法;行为学;抑郁;大鼠

Study on Improvement Effects of Liqi Sanjie Granule on Liver-qi Stagnation Model Rats

XIAO Cheng¹, HU Fengjiao², WEI Tanjun¹, ZHOU Dianru¹, LIANG Yuan², WANG Zhang², SUN Weijun², WANG Yi¹ (1.Dept. of TCM Preparation, Dazhou Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Sichuan Dazhou 635000, China; 2.College of Ethnic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the improvement effects of Liqi sanjie granule on liver-qi stagnation model rats. METHODS: According to the weight, totally 80 rats were randomly divided into blank control group (normal saline), model control group (normal saline), Xiaoyao pill control group (positive control a, 750 mg/kg, calculated by crude drug), Xiaojin pill control group (positive control b, 200 mg/kg, calculated by pill weight), Liqi sanjie pill control group (prototype control, 1 957 mg, calculated by crude drug) and Liqi sanjie granule low-dose, medium-dose and high-dose groups (978.5, 1 957, 3 914 mg/kg, calculated by crude drug), with 10 rats in each group. Each group was given medicine 20 mL/kg intragastrically once a day, for consecutive 21 d. 1 h after per medication, liver-qi stagnation model was established in those groups by binding method except for blank control group. The syrup preference of rats was determined by designing syrup preference test. Rattail suspension test was adopted to determine the hanging immobility time and struggling times of mice. Open-field behavior test was used to determine total behavior score so as to judge the extent of liver-qi stagnation and effect of the drug in rats. RESULTS: Compared with blank control group, hanging immobility time of model control group was significantly prolonged, the syrup preference and the total behavior score of open field test were decreased significantly, with statistical significance ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model control group, the struggling times of rats were increased significantly in Xiaojin pill control group, Liqi sanjie pill control group and Liqi sanjie granule medium-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$); the hanging immobility time of Xiaoyao pill control group, Xiaojin pill control group, Liqi sanjie pill control group, Liqi sanjie granule low-dose and medium-dose groups were shortened significantly; syrup preference and total behavior score of open-field behavior test were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with Liqi sanjie pill control group, the struggling times of rats were decreased significantly and hanging

[△] 基金项目:四川省科技计划项目(基本科技研究)(No. 2014SZ0189);达州市科技计划项目(No.达市财建[2017]8号)

* 副主任中药师。研究方向:医院药学、中药制剂的研发。电话:0818-2258871。E-mail:153004830@qq.com

通信作者:主任中药师。研究方向:医院药学、中药制剂的研发。电话:0818-2350388。E-mail:scdz87wyys@sina.com

immobility time were prolonged significantly only in Liqi sanjie granule high-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$); there was no statistical significance in above indexes of rats in Liqi sanjie granule low-dose and medium-dose groups ($P>0.05$). CONCLUSIONS: Liqi sanjie granule can significantly improve liver-qi stagnation caused by binding method, and the

effects of low-dose and medium-dose Liqi sanjie granule are similar to those of Liqi sanjie pill.

KEYWORDS Liqi sanjie granule; Liver-qi stagnation model; Binding method; Open-field behavior; Depression; Rat

抑郁症是一种由生物、心理、社会等多种因素作用导致的疾病,以精神抑郁为主^[1],主要表现为遇事烦躁、身心俱疲、食欲和性欲减退、思维迟钝、失眠健忘等^[2]。中医学认为,肝为刚脏,性阳,喜动恶静,喜条达恶抑郁^[3]。肝气作为把控全身气机的疏泄、保障血液津液正常运行的一大要素,其主要在于疏泄功能^[4]。肝失疏泄容易造成机体内肝气郁结、气滞血瘀,常表现为精神抑郁、多愁善虑、沉闷欲哭^[5]。在日常工作生活中,工作压力大、长期大量吸烟喝酒、喜好辛辣和油腻等食物的人群,为肝气郁结高发人群。在肝气郁结患者中,女性占比约为80%^[6]。肝气郁结容易引起胸肋胀痛、乳房和小腹胀痛以及月经不调等症状,且不同年龄段的女性症状有所不同^[7]。

达州市中西医结合医院通过对前人认识的总结和长期的临床观察,总结出乳腺增生既存在肝郁血虚,又存在气滞血瘀的病机特点,病位之本在肝,标在乳房。而传统的治法欠于全面,多重在消除肿痛、结块等局部病灶,忽视了脏腑气机的总体功能^[8]。进而根据《伤寒论》第101条所遵从的“但见一证便是,不必悉具”的原则^[9],提出了养肝调肝之治疗大法,以理气散结丸对本病进行治疗,应用于临床多年,取得了较满意的效果。理气散结丸(批准文号:川药制字Z20070503)由柴胡、香附、延胡索等十味药材组成,具有理气调血、散结止痛的功效,主治肝郁血瘀、乳腺增生、乳癖结块、乳痈初起、乳房胀痛^[10]。但由于先前制剂的技术水平、辅料有限,导致该制剂存在着服用量大(其规格为9 g/丸,一次2~3丸,一日3次,每日服用量在54~81 g)、口感差、携带不便、起效缓慢等缺点。故根据方中药材的有效成分及理化性质,运用现代科学技术和设备对理气散结丸这一传统剂型进行剂型改进,研制出了一种生物利用度高、服用量小、携带方便的新制剂——理气散结颗粒,以达到提高原有剂型质量及顺应性的目的。根据《四川省医疗机构制剂研究技术指南(试行版)》^[11]中的规定:“处方组成含有法定标准中标识有毒性或现代毒理学证明有毒性的药材,需报送注册急性毒性、长期毒性和药效学资料”。由于本处方中含有山慈菇和蜂房两味有毒药物,应选用疾病的相关动物模型,全面评价理气散结颗粒的理气调血、散结止痛等作用的药理学基础。故本文研究理气散结颗粒对束缚筒致肝气郁结模型大鼠行为学的影响,以为后期评价理气散结颗粒对肝气郁结的预防和治疗作用提供实验基础。

1 材料

1.1 仪器

BP-121S 电子天平(德国赛多利斯仪器有限公司); BS-600L 电子秤(上海有声衡器有限公司)。

1.2 药品与试剂

理气散结颗粒(批号:151125,规格:15 g/袋,每g颗粒相当于0.538 4 g原药材);理气散结丸(理气散结颗粒原剂型,批号:160812,规格:9 g,每g丸剂相当于0.434 8 g原药材)均来源于达州市中西医结合医院;逍遥丸(仲景宛西制药股份有限公司,批号:151221,规格:每8丸相当于3 g原药材);小金丸(九寨沟天然药业集团有限责任公司,批号:160114,规格:0.6 g);氯化钠注射液(四川科伦药业股份有限公司,批号:L216090908,规格:500 mL:4.5 g);水合氯醛(成都市科龙化工试剂厂,批号:20111123)。

1.3 动物

SPF级SD大鼠80只,♀,体质量(200±20)g,由成都达硕实验动物有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(川)2015-030,四川省实验动物质量合格证号:51203500000542。大鼠购入后,饲养于成都中医药大学温江校区科技楼[实验动物使用许可证号:SYXK-(川)2014-124],每笼5只,室温控制在20~25℃、相对湿度控制在50%~65%。

2 方法

2.1 分组与给药

将80只大鼠按照体质量分层后随机分为8组,分别为空白对照组、模型对照组、逍遥丸对照组(阳性对照a,750 mg/kg,以生药量计)、小金丸对照组(阳性对照b,200 mg/kg,以丸质量计)、理气散结丸对照组(原型对照,1 957 mg/kg,以生药量计)和理气散结颗粒低、中、高剂量组(978.5、1 957、3 914 mg/kg,以生药量计),每组10只。逍遥丸对照组、小金丸对照组和理气散结丸对照组给药剂量均根据相应药物的临床人用剂量和人与大鼠的用药系数计算而得,其中理气散结丸的剂量为临床等效剂量的5倍,其余均为临床等效剂量;因理气散结颗粒没有临床用药经验和动物实验数据,故在实验方案设计时,理气散结颗粒中剂量的日服剂量选择与理气散结丸日服原药材量一致以方便对比研究,故按照理气散结丸的用药标准,理气散结颗粒低、中、高剂量分别为人(60 kg)临床等效剂量的2.5、5、10倍。各给药组大鼠均以20 mL/kg灌胃给药(以生理盐水溶解),空白对照组和模型对照组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天给药1次,连续给药21 d。

2.2 造模

每天给药1 h后,通过束缚法^[12]复制大鼠肝气郁结模型。造模用的束缚器(专利号:ZL201720527639.4)为自制:采用保龄瓶状的硬塑料瓶制作^[13],上下细下粗,原长约24 cm,上口径(瓶口)约2.5 cm,下口径约6.5 cm并制作气孔(气孔为4列,每列9~10个气孔),将瓶底剪开作

为出入口,剪后瓶身约长 21 cm。大鼠在束缚时用 6 cm 宽的透明胶带将瓶底与瓶身粘合固定,束缚结束后去掉透明胶带即可。每日束缚制动 1 次,每次持续 3 h,连续造模 21 d。造模结束后,采用鼠尾悬吊实验、糖水偏嗜度实验、旷场行为学实验来检测大鼠的肝郁程度^[14]。

2.3 一般状况观察

造模期间,每日观察各组大鼠的精神状态、自发活动、被毛及大便性状等一般状况的变化。

2.4 体质量和饲料消耗量测定

在给药前 1 天和给药后第 1、7、14、20 天,称定大鼠体质量;并计算每笼大鼠的饲料消耗量(g/kg),即每天每笼大鼠 8~10 h 内消耗的饲料量与每笼大鼠体质量总和的比值。

2.5 鼠尾悬吊实验

第 21 天造模结束 2 h 后,在安静、暗光的环境下,握住大鼠的尾巴根部 1/3 处,将大鼠头向下固定在自制的大鼠悬尾实验架上^[15-17](鼠尾夹采用长尾票夹)。每只大鼠观察 5 min,并记录其不动时间(大鼠处于完全放松、静止不动状态的累计时间)以及挣扎次数(大鼠由倒挂向上翻转的总次数)。

2.6 糖水偏嗜度实验

正式实验前先训练大鼠适应含糖饮水:每笼同时放置 2 个水瓶,第 1 次放置 24 h(造模第 19 天),两瓶均装有 1% 蔗糖水;第 2 次放置 24 h(造模第 20 天),1 瓶装有 1% 蔗糖水,另 1 瓶装纯净水^[17-18]。造模第 21 天后,大鼠禁食、禁水 24 h,然后进行基础糖水/纯水消耗实验,即同时给予每笼大鼠事先定量好的两瓶水(1 瓶 1% 蔗糖水和 1 瓶纯净水),自由饮水。1 h 后,取走两瓶水并称定其质量(g),计算大鼠的总液体消耗量、糖水消耗量、纯净水消耗量以及糖水偏嗜度[糖水偏嗜度(%)=糖水消耗量/总液体消耗量×100%]。

2.7 旷场行为学实验

造模第 21 天后 26 h,亦即糖水偏嗜度实验结束后 1 h 开展旷场行为学实验^[13]。采用自制矩形旷场行为学实验敞箱[长宽为 150 cm×150 cm×30 cm,底面用直线均匀划分为面积相等的 25 块方格]进行实验。在暗光条件下,以大鼠穿越方格数(4 爪均进入的方格方可计数)作为水平活动得分;穿越 1 格为 1 分;若大鼠沿线行走,每走 10 cm 为 1 分。以大鼠直立次数作为垂直活动得分:两前肢腾空或攀附墙壁为 1 分。将水平活动得分和垂直活动得分相加,即为行为总得分。每只大鼠均测试 1 次,每次持续时间为 3 min。

2.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。并应用 Levene 检验进行方差齐性检验,当方差齐时组间两两比较采用 LSD 检验,方差不齐时组间两两比较采用 Tam-

hane's *T2* 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况观察结果

观察期内,空白对照组大鼠的摄食、饮水和行为等均正常,其余各造模组大鼠在造模一段时间后,先后出现了少动、大便干结和恶臭等症状,但未见其他毒性反应和死亡现象。

3.2 体质量及饲料消耗量测定结果

3.2.1 体质量变化 与给药前 1 天比较,在给药第 1 天时,各组大鼠的体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$);在给药第 7、14、20 天时,除逍遥丸对照组和小金丸对照组外,其余各组大鼠体质量均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与空白对照组比较,在给药前 1 天及给药不同时间后,模型对照组大鼠体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$);与模型对照组比较,除逍遥丸对照组大鼠体质量在给药前 1 天以及给药第 1、7、14、20 天时显著降低外($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),其余各组大鼠体质量差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示各组大鼠的体质量均呈稳定自然增长态势,结果见表 1。

表 1 给药不同时间后各组大鼠体质量测定结果($\bar{x} \pm s$, $n = 10$, g)

Tab 1 Determination result of body mass of rats in each group after different time of administration ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$, g)

组别	给药前 1 天	给药第 1 天	给药第 7 天	给药第 14 天	给药第 20 天
空白对照组	198.89 ± 6.23	200.71 ± 6.34	212.18 ± 11.68*	213.92 ± 17.47**	220.14 ± 13.74**
模型对照组	203.06 ± 9.61	205.46 ± 11.92	219.00 ± 21.49*	224.17 ± 16.32**	229.19 ± 14.15**
逍遥丸对照组	193.01 ± 5.39**	195.80 ± 3.72#	196.44 ± 7.56**	197.21 ± 11.21**	196.03 ± 15.35**
小金丸对照组	199.77 ± 6.63	202.98 ± 9.27	214.26 ± 15.37	214.77 ± 20.84	215.12 ± 25.57
理气散结丸对照组	201.98 ± 7.88	204.91 ± 9.78	218.10 ± 16.23*	222.14 ± 19.42**	218.59 ± 19.08*
理气散结颗粒低剂量组	197.38 ± 7.55	199.31 ± 13.92	229.07 ± 12.50**	215.50 ± 13.23**	227.21 ± 15.16**
理气散结颗粒中剂量组	203.42 ± 8.33	210.77 ± 11.43	226.89 ± 11.43**	222.08 ± 14.02*	226.76 ± 12.39**
理气散结颗粒高剂量组	203.05 ± 9.15	207.60 ± 11.93	218.63 ± 17.05*	224.74 ± 15.73**	228.98 ± 16.40**

注:与给药前 1 天比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,# $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. one day before administration, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; vs. model control group, # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2.2 饲料消耗量变化 与给药前 1 天比较,在给药第 1 天时,各组大鼠适量消耗量差异均无统计学意义($P > 0.05$);在给药第 7 天时,空白对照组、模型对照组、小金丸对照组和理气散结颗粒中、高剂量组大鼠的饲料消耗量显著减少($P < 0.05$);在给药第 14 天时,模型对照组、小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒中、高剂量组大鼠的饲料消耗量显著增加($P < 0.05$);在给药第 20 天时,理气散结丸对照组和理气散结颗粒中、高剂量组大鼠的饲料消耗量显著增加($P < 0.05$)。与模型对照组比较,理气散结丸组大鼠在给药第 20 天时饲料消耗量显著增加($P < 0.05$),其余各组大鼠给药不同时间后饲料消耗量差异均无统计学意义($P > 0.05$),结果见表 2。

表2 给药不同时间后各组大鼠饲料消耗量测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=2, \text{g/kg}$)

Tab 2 Determination result of feed consumption of rats in each group after different time of administration ($\bar{x} \pm s, n=2, \text{g/kg}$)

组别	给药前1天	给药第1天	给药第7天	给药第14天	给药第20天
空白对照组	85.92±10.21	109.69±9.13	73.19±9.38 [†]	67.97±2.76	88.40±3.46
模型对照组	109.80±4.17	110.56±7.90	79.60±3.08 [†]	85.00±5.92 [*]	88.04±6.29
逍遥丸对照组	116.65±13.92	104.64±3.20	84.31±5.15	86.86±10.11	98.14±11.66
小金丸对照组	107.63±1.61	108.99±1.71	77.83±3.79 [†]	89.02±1.18 [*]	104.18±31.57
理气散结丸对照组	112.50±0.05	110.71±6.45	79.89±22.48	84.70±0.75 [*]	120.18±2.43 ^{††}
理气散结颗粒低剂量组	95.86±2.48	111.91±2.76	90.89±2.67	80.58±2.14	97.75±21.33
理气散结颗粒中剂量组	113.88±4.48	108.19±1.79	75.77±7.11 [†]	79.62±1.20 [*]	87.43±7.48 [†]
理气散结颗粒高剂量组	110.17±0.56	115.99±2.98	78.74±2.43 [†]	83.31±0.72 [*]	79.49±1.25 [*]

注:与给药前1天比较, * $P<0.05$;与模型对照组比较, $^{\dagger}P<0.05$

Note: vs. one day before administration, * $P<0.05$; vs. model control group, $^{\dagger}P<0.05$

3.3 鼠尾悬吊实验结果

与空白对照组比较,模型对照组大鼠的悬吊不动时间显著延长($P<0.05$);与模型对照组比较,逍遥丸对照组、小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒低、中剂量组大鼠的悬吊不动时间显著缩短($P<0.05$ 或 $P<0.01$),小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒中剂量组大鼠的挣扎次数显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与理气散结丸对照组比较,理气散结颗粒高剂量组大鼠的悬吊不动时间显著延长($P<0.05$),挣扎次数显著减少($P<0.01$),结果见表3。

表3 各组大鼠挣扎次数和悬吊不动时间测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Determination result of struggling times and hanging immobility time of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	挣扎次数	悬吊不动时间,s
空白对照组	106.10±23.88	117.30±45.48
模型对照组	75.90±23.01	164.20±48.31 [†]
逍遥丸对照组	96.90±18.45	106.30±29.56 ^{††}
小金丸对照组	144.90±40.70 ^{†††}	107.20±43.30 ^{††}
理气散结丸对照组	111.40±44.00 ^{††}	101.20±50.60 ^{††}
理气散结颗粒低剂量组	84.00±27.56	116.90±31.91 [†]
理气散结颗粒中剂量组	101.60±26.45 [†]	98.80±39.66 ^{††}
理气散结颗粒高剂量组	59.80±12.24 ^{†††}	152.30±30.97 [†]

注:与空白对照组比较, * $P<0.05$;与模型对照组比较, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger}P<0.01$;与理气散结丸对照组比较, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger\dagger}P<0.01$

Note: vs. blank control group, * $P<0.05$; vs. model control group, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger}P<0.01$; vs. Liqi sanjie pill control group, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger\dagger}P<0.01$

3.4 糖水偏嗜度实验结果

与空白对照组比较,模型对照组大鼠的糖水消耗量、总液体消耗量、糖水偏嗜度均显著减低($P<0.01$);与模型对照组比较,小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒低、中剂量组大鼠的糖水消耗量、总液体消耗量、糖水偏嗜度均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),逍遥丸对照组大鼠的糖水消耗量、糖水偏嗜度显

著升高($P<0.01$),理气散结颗粒高剂量组大鼠的糖水消耗量、总液体消耗量显著升高($P<0.01$),各组大鼠的纯水消耗量差异均无统计学意义($P>0.05$);与理气散结丸对照组比较,仅理气散结颗粒低剂量组大鼠的糖水消耗量显著升高($P<0.05$),其余各组上述指标差异均无统计学意义($P>0.05$),结果见表4。

表4 各组大鼠糖水偏嗜度测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 Determination result of syrup preference of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	糖水消耗量,g	纯水消耗量,g	总液体消耗量,g	糖水偏嗜度,%
空白对照组	36.40±2.69	3.10±1.13	39.50±3.82	92.15±70.37
模型对照组	13.75±2.05 ^{††}	5.30±0.57	19.05±2.62 ^{††}	72.18±78.38 ^{††}
逍遥丸对照组	26.60±3.54 ^{†††}	2.05±0.49	28.65±4.03	92.84±87.72 ^{††}
小金丸对照组	32.60±0.71 ^{†††}	4.05±0.35	36.65±1.06 ^{†††}	88.95±66.67 ^{†††}
理气散结丸对照组	34.45±4.45 ^{†††}	4.60±1.84	39.05±6.29 ^{†††}	88.22±70.79 ^{†††}
理气散结颗粒低剂量组	43.45±0.35 ^{††††}	5.30±2.40	48.75±2.76 ^{††††}	89.13±12.82 ^{††††}
理气散结颗粒中剂量组	40.80±6.79 ^{††††}	6.60±1.41	47.40±8.20 ^{††††}	86.08±82.76 ^{††††}
理气散结颗粒高剂量组	35.20±0.57 ^{††††}	9.55±6.43	44.75±7.00 ^{††††}	78.66±8.08

注:与空白对照组比较, $^{\dagger\dagger}P<0.01$;与模型对照组比较, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.01$;与理气散结丸对照组比较, $^{\dagger\dagger\dagger\dagger}P<0.05$

Note: vs. blank control group, $^{\dagger\dagger}P<0.01$; vs. model control group, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.01$; vs. Liqi sanjie pill control group, $^{\dagger\dagger\dagger\dagger}P<0.05$

3.5 旷场行为学实验结果

与空白对照组比较,模型对照组大鼠的行为总得分显著降低($P<0.01$);与模型对照组比较,逍遥丸对照组、小金丸对照组、理气散结丸对照组和理气散结颗粒低、中剂量组大鼠的行为总得分均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与理气散结丸对照组比较,理气散结颗粒低、中、高剂量组大鼠的行为总得分差异均无统计学意义($P>0.05$),结果见表5。

表5 各组大鼠旷场行为学实验行为总得分测定结果 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 5 Determination result of total score of open-field behavior test of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	行为总得分
空白对照组	99.70±49.98
模型对照组	56.70±22.06 ^{††}
逍遥丸对照组	130.30±37.93 ^{†††}
小金丸对照组	92.90±25.24 ^{†††}
理气散结丸对照组	91.20±19.89 [†]
理气散结颗粒低剂量组	103.80±20.72 ^{†††}
理气散结颗粒中剂量组	80.00±21.32 [†]
理气散结颗粒高剂量组	72.70±20.13

注:与空白对照组比较, $^{\dagger\dagger}P<0.01$;与模型对照组比较, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.01$

Note: vs. blank control group, $^{\dagger\dagger}P<0.01$; vs. model control group, $^{\dagger}P<0.05$, $^{\dagger\dagger\dagger}P<0.01$

4 讨论

逍遥丸由柴胡、白芍、当归、茯苓、白术、炙甘草、薄荷七味药材组成,诸药配伍,共奏疏肝解郁、健脾养血之功^[9],为中医药治疗抑郁症的最常用经典方,故本文选择其为阳性对照药。另外,小金丸由人工麝香、乳香

(制)、五灵脂(醋炒)、当归(酒炒)、地龙、香墨等组成,诸药配伍,共奏散结消肿、化瘀止痛之功^[20],而理气散结颗粒亦有理气调血、散结止痛的功效,主治肝郁血瘀,考虑到理气散结颗粒与小金丸改善抑郁症状的功能作用有相似之处,故本文亦将小金丸作为阳性对照药,这有利于从散结止痛这个方面进一步阐释其作用机制。

鼠尾悬吊实验是经典的反映大鼠心理抑郁程度的行为学评判实验,主要通过大鼠的悬吊不动时间和挣扎次数来反映大鼠的心理抑郁程度,其悬吊不动时间越长、挣扎次数越少,表明大鼠心理抑郁程度越重^[21]。在糖水偏嗜度实验中,糖水偏嗜度的下降是衡量快感缺乏的有效客观指标,动物糖水消耗量和糖水偏嗜度的变化,能反映肝气郁结的核心症状——快感缺失的改变情况^[22]。旷场行为实验法是一种能够反映大鼠自发性行为、探究活动及情绪反应的方法,行为总得分越低,说明大鼠越消极^[23]。本研究结果显示,中剂量理气散结颗粒能增加大鼠在鼠尾悬吊时的挣扎次数,低、中剂量理气散结颗粒能缩短大鼠在鼠尾悬吊时的悬吊不动时间;低、中、高剂量理气散结颗粒均能明显增加大鼠的糖水偏嗜度,其作用强度依次为低剂量>中剂量>高剂量;低、中剂量理气散结颗粒能明显升高旷场行为实验中行为总得分,其作用强度依次为低剂量>中剂量>高剂量。

综上,理气散结颗粒能明显改善束缚筒致大鼠肝气郁结时的心理抑郁程度、快感缺失、自发性行为减少、探究活动减少及情绪降低等症状,并且低、中剂量与理气散结丸的作用强度相当。在给药前1天,逍遥丸对照组大鼠的体质量较模型对照组明显减轻,其主要原因是实验动物分组进行于给药前2天,分组时各组间体质量并无明显差异,实验分组是均衡的。但饲养2天后,逍遥丸对照组大鼠的体质量呈现降低趋势,由于本实验的主要测试指标和体质量的相关性不大,故而未进行二次分组。且本研究结果显示,在3个剂量中以理气散结颗粒低剂量的作用最强,其次为中剂量,再次为高剂量,该量效关系提示,实验前根据理气散结丸临床成人日用剂量设置的理气散结颗粒的大鼠中剂量(生药量相同),其作用强度不如低剂量,这可能是由于调整理气散结丸的制备工艺后,理气散结颗粒的药效物质基础与拮抗作用成分之间的比例发生了变化,从而出现了该结果,这也进一步提示理气散结颗粒的临床等效剂量可以较理气散结丸少,这不仅减少了潜在的不良反应,而且降低了用药成本。

参考文献

[1] 郭秋平,高英,李卫民.百合有效部位对抑郁症模型大鼠脑内单胺类神经递质的影响[J].中成药,2009,31(11):1669-1672.
[2] 陈胜会,李春鹏,龚洁芹.养血清脑颗粒抗抑郁作用的实验观察[J].中成药,2015,37(1):202-204.
[3] 王梅.肝为刚脏辨析[J].山东中医药大学学报,2016,40(1):23-24.

[4] 尚立芝,季书,王琦,等.柴胡疏肝散对肝郁性乳腺增生模型大鼠的保护作用[J].中国药房,2015,26(7):908-911.
[5] 程洪燕,梅妍,杜宏伟.柴胡舒肝散联合氯硝西洋治疗肝气郁结型焦虑症的临床观察[J].中国药房,2016,27(17):2407-2409.
[6] 陈移,徐海霞,朱明月,等.慢性低强度应激抑郁模型大鼠组织中5-羟色胺和色氨酸羟化酶的表达变化[J].中国药房,2017,28(22):3061-3064.
[7] 付义.女性肝郁患者心身状态初探及畅郁方药效作用实验研究[D].北京:北京中医药大学,2005.
[8] 陈浮芸.《金匱要略》调理肝脾法在乳腺病中的运用:加味当归芍药散对乳腺增生模型动物LH、FSH、PRL水平及乳腺、子宫、卵巢组织的影响[D].福州:福建中医学院,2008.
[9] 张仲景.伤寒论[M].北京:中国书店出版社,1993:39.
[10] 张光仁,肖成,王育,等.理气散结丸显微与薄层色谱鉴别研究[J].内蒙古中医药,2013,32(18):145-146.
[11] 四川省食品药品监督管理局.四川省医疗机构制剂研究技术指南(试行版)[S].2015-04-17.
[12] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:543-545.
[13] 周国儿,吴静,黄云娟,等.“肝郁气滞”及“肝郁脾虚”型抑郁动物模型建立初探[J].中华中医药学刊,2014,32(5):1035-1038.
[14] 萧闵,周艳艳.不同肝气郁结动物模型行为学指标的对比研究[J].中国中医药科技,2015,22(2):123-132.
[15] 刘梅,周海松,许锦文,等.藜欢解郁胶囊的抗抑郁作用[J].中成药,2016,38(6):1383-1387.
[16] 刘林,王宇红,孟盼,等.百事乐胶囊抗抑郁作用的实验研究[J].中成药,2014,36(8):1756-1758.
[17] 谭攀攀,刘蒙,李秀英,等.西酞普兰联合石杉碱甲对老年抑郁模型大鼠的改善作用[J].中国药房,2017,28(28):3923-3926.
[18] 宗阳,朱立静,孙冰婷,等.利血平诱导的抑郁模型的研究进展[J].中国药房,2016,27(19):2697-2699.
[19] 保芸,张汝学,周珺,等.逍遥丸对慢性应激加高脂模型大鼠HPA轴及糖脂代谢的影响[J].中药材,2013,36(8):1309-1312.
[20] 孙利昆,柳芳,陈文倩,等.基于Meta分析的小金丸治疗乳腺增生疗效评价[J].中国药物评价,2016,33(5):448-451.
[21] 王珑,张迪,田旭升,等.电针对慢性应激抑郁大鼠行为学及其海马CA3区超微结构的影响[J].针灸临床杂志,2016,32(7):66-69.
[22] 刘子旺,赵海滨,张秀静,等.电针肝俞、期门对肝气郁结模型大鼠行为学及HPA轴相关激素的影响[J].针灸临床杂志,2011,27(12):46-48.
[23] 刘玥芸,郭晓玲,赵宏波,等.逍遥散提取物对肝郁脾虚证模型大鼠疗效的行为学评价[J].中华中医药杂志,2013,28(7):2138-2141.

(收稿日期:2018-08-03 修回日期:2018-12-03)

(编辑:林 静)