

黃連對嚙齒類動物抗焦慮作用之研究

彭文煌 謝明村 陳瓊芳 關甫仔

中國醫藥學院 中國藥學研究所

摘要

本研究以明暗室及舉臂式十字形迷宮誘發動物焦慮模式，探討黃連粗抽物之抗焦慮作用，結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5g/kg) 可延長小鼠在明暗室之明室滯留時間及減少暗室之滯留時間並增加兩室間的穿梭次數；且可增加小鼠在舉臂式十字形迷宮之開放臂之滯留時間及進入次數，並減少在封閉臂之滯留時間及進入次數。口服黃連甲醇粗抽物 (0.5g/kg) 會延長 hexobarbital 誘發之睡眠時間及降低大鼠運動量。

綜合以上結果，顯示黃連 0.1 g/kg 不論明暗室或舉臂式十字形迷宮誘發小鼠焦慮模式中均具明顯之抗焦慮作用。

關鍵詞：黃連，明暗室，舉臂式十字迷宮，抗焦慮作用

前言

焦慮是由於壓力、不安及憂慮等情緒反應所造成的不愉快狀態，為一種不知源於何處之恐懼。而由於焦慮所造成的身心失調則為最普遍常見的精神不安的現象。另外嚴重的焦慮症狀與恐懼的症狀類似（如心跳加快、盜汗、發抖、心悸），而這些現象的發生主要是由於交感神經的興奮所產生的。一般認為係中樞神經系統對外在刺激所引起的一連串自主神經/周邊/荷爾蒙之反應。

一般而言，理想的抗焦慮藥物希望可以完全的抑制或去除所有的焦慮症狀，而不會影響大腦皮質之正常功能，及產生鎮靜作用⁽¹⁾。臨床上治療焦慮之藥物，目前仍以 benzodiazepine 類藥物為主，具鎮靜安眠、抗痙攣及高度肌肉鬆弛等作用⁽¹⁾；但嗜睡及運動功能失調等中樞抑制作用⁽²⁾，與藥理上的依賴性等副作用⁽¹⁾，

使得 benzodiazepine 類藥物之長期使用具有爭議性。因此從中藥尋找並開發具抗焦慮療效且副作用較低之藥物，乃是值得探索與研究的方向。

黃連為毛茛科多年生草本植物黃連 *Coptis chinensis* FRANCH. 的根莖。首載於神農本草經，列為上品，自古以來即為清熱解毒常用中藥之一。日華子本草記載：「治五勞七傷，益氣，止心腹痛，驚悸煩躁。」。現代藥理學研究證實黃連具有抗菌⁽³⁾、抗高血壓⁽⁴⁾、抗潰瘍⁽⁵⁾及中樞抑制⁽⁶⁾等作用，然有關黃連治驚悸煩躁之抗焦慮作用研究並未見有文獻報告發表。

目前最廣泛被使用於研究焦慮的動物模式有二，一是依據嚙齒類動物厭惡高處及開放空間的天性而設計的舉臂式十字形迷宮 (elevated plus-maze)⁽⁷⁾ 模式，二是依嚙齒類動物害怕紅光及白光的天性而設計之明暗室 (light and dark test) 模式⁽⁸⁾，本研究擬利用此二模式探討黃連甲醇粗抽物之抗焦慮作用，並以現今臨床常用之抗焦慮藥物 diazepam 與 buspirone 作為正對照組，藉以評估其抗焦慮作用之療效。

聯絡作者：彭文煌

通訊處：台中市學士路 91 號

中國醫藥學院 中國藥學研究所

電話：+886-4-22053366 ext. 1016

收文日期：7/28/2000

收受日期：9/05/2000

材料與方法

一、實驗藥材之製備

本實驗所使用之黃連藥材經鑒定，其基原為：

毛茛科植物黃連 *Coptis chinensis* FRANCH. 的根莖。

將黃連藥材，以甲醇浸潤之，在 50℃ 下迴流抽取四～五次，每次約四小時，合併抽取液，經減壓濃縮乾燥後，即得黃連甲醇粗抽物（以下簡稱 CR_{MeOH}），抽取率為 13.64%。

二、實驗方法

(一) 抗焦慮實驗

1. 明暗室試驗

分別口服給予小鼠不同劑量黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg)；60 分鐘後，再將小鼠置於明室中央，小鼠頭部背向暗室，記錄小鼠停留在每一室的總時間⁽⁸⁾，小鼠第一次由明室跑至暗室的時間及小鼠在兩室間的穿梭次數。本實驗以 diazepam (1.0 mg/kg, i.p.) 及 buspirone (2.0 mg/kg, i.p.) 作為正對照組，於給藥 30 分鐘後進行試驗。每隻動物測試 5 分鐘，並於每隻動物測試完後將地板擦拭乾淨。實驗進行時間從下午一點至五點。每組 12 隻。

2. 舉臂式十字形迷宮試驗

分別口服給予小鼠不同劑量黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg)；60 分鐘後，將小鼠放入正方形 plus 中，連續測定 5 分鐘，以進入開放臂及封閉臂之次數及滯留開放臂及封閉臂之時間為評估標準⁽⁷⁾。本實驗以 diazepam (1.0 mg/kg, i.p.) 及 buspirone (2.0 mg/kg, i.p.) 作為正對照組，於給藥 30 分鐘後進行試驗。實驗時間從下午一點至五點。每組 12 隻。

(二) 鎮靜實驗

1. Hexobarbital 誘發睡眠試驗

口服給予小鼠不同劑量黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg)；60 分鐘後，再分別腹腔注射 hexobarbital (100 mg/kg, i.p.)，誘發睡眠，觀察記錄從注射 hexobarbital 後至小鼠之翻正

反射 (righting reflex) 消失時間 (onset) 及從翻正反射消失至恢復的時間 (sleeping time, duration)⁽⁹⁾。對照組給予 vehicle。每組 6 隻。

2. 對大鼠自發運動量之影響

口服給予大鼠不同劑量黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg)。運動量之測定是使用「動物運動量測定裝置」(1-Opto-Varimex-3 Animal Activity Meter, USA)，偵測其水平走動之活動量的變化。於口服給藥 55 分鐘後放入此裝置內適應 5 分鐘，再開始記錄，觀察並連續記錄 30 分鐘⁽¹⁰⁾。每組 6 隻。

三、統計學分析

本實驗所得之數據，舉臂式十字形迷宮及大鼠自發運動量均以 One-way ANOVA 分析其變異數，再以 Scheffe's test 檢定其間差異之顯著性，而於明暗室實驗之時間數據，則以無母數 (non-parameter) 統計，以 Kruskal-Wallis 單因子變異數分析，再以 Mann-Whitney *U*-test 檢定其間差異之顯著性；凡 *P* 值小於 0.05 以下時，則認為有統計意義。

結果

一、對明暗室試驗 (light & dark test) 之影響

由圖一結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg) 對小鼠在明暗室中第一次由明室跑至暗室的時間均有延長的作用。

由圖二結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg) 對小鼠在明暗室中停留在明室的時間均有延長的作用；在暗室的時間則均有縮短的作用。

由圖三結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg) 對小鼠在明暗室中兩室間的穿梭次數均有增加的作用。

二、對舉臂式十字形迷宮 (Elevated plus-maze) 誘發焦慮之影響

圖四結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物(0.1, 0.5 g/kg)對小鼠在十字迷宮中開放臂進入次數及時間均有增加的作用，封閉臂的進入次數及時間則有減少的作用。

三、對Hexobarbital誘發睡眠時間之影響

如圖五結果顯示，口服黃連甲醇粗抽物

(0.5g/kg)對hexobarbital誘發小鼠的睡眠時間有延長作用。

四、對大鼠運動量之影響

如圖六所顯示，口服黃連甲醇粗抽物(0.5 g/kg)對大鼠自發運動量均有抑制作用。

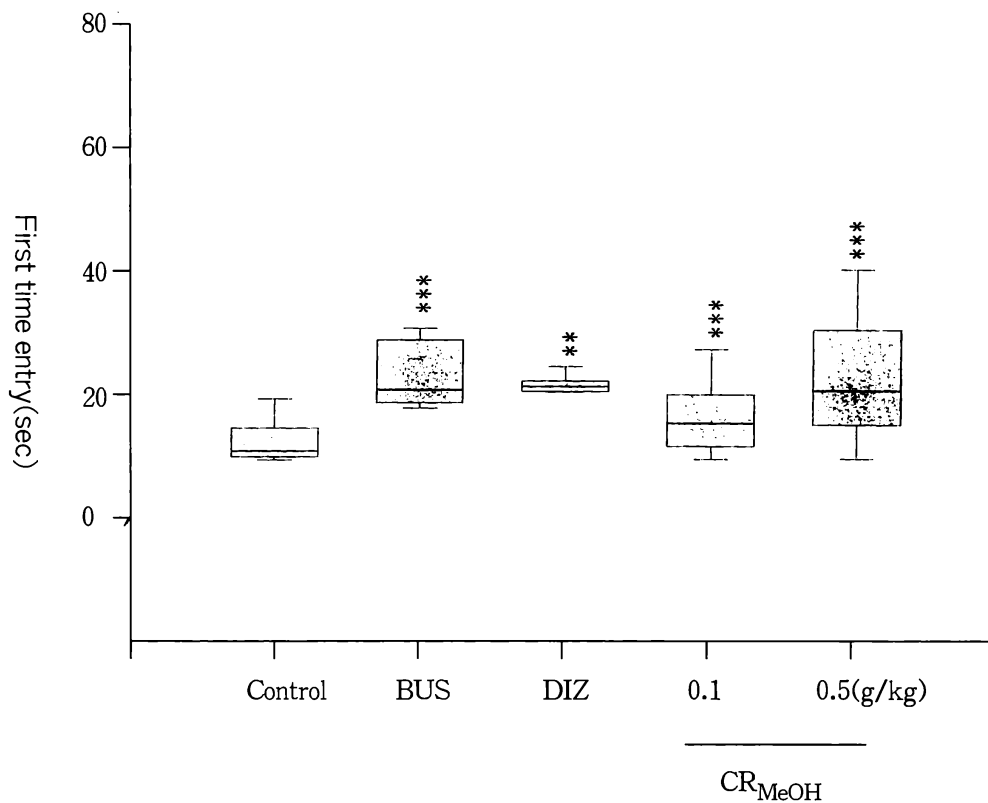


Fig 1. Effects of BUS, DIZ, methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}) on the first time entry in the light & dark test in mice. BUS : buspirone , 2.0 mg/kg , i.p ;. DIZ : diazepam , 1.0 mg/kg, i.p., ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ as compared with the control group (Kruskal-Wallis H following by Mann-Whitney U test).

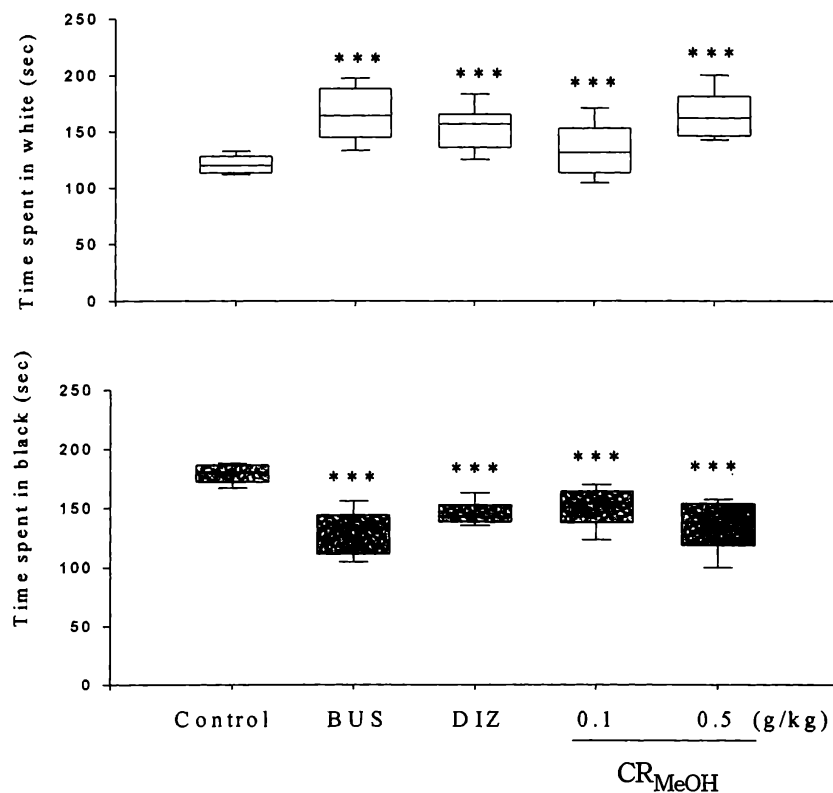


Fig 2. Effects of BUS, DIZ, methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}) on the time spent in the light & dark compartments in mice. BUS : buspirone , 2.0 mg/kg , i.p ; DIZ : diazepam , 1.0 mg/kg, i.p., ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ as compared with the control group (Kruskal-Wallis H following by Mann-Whitney U test). (n=12).

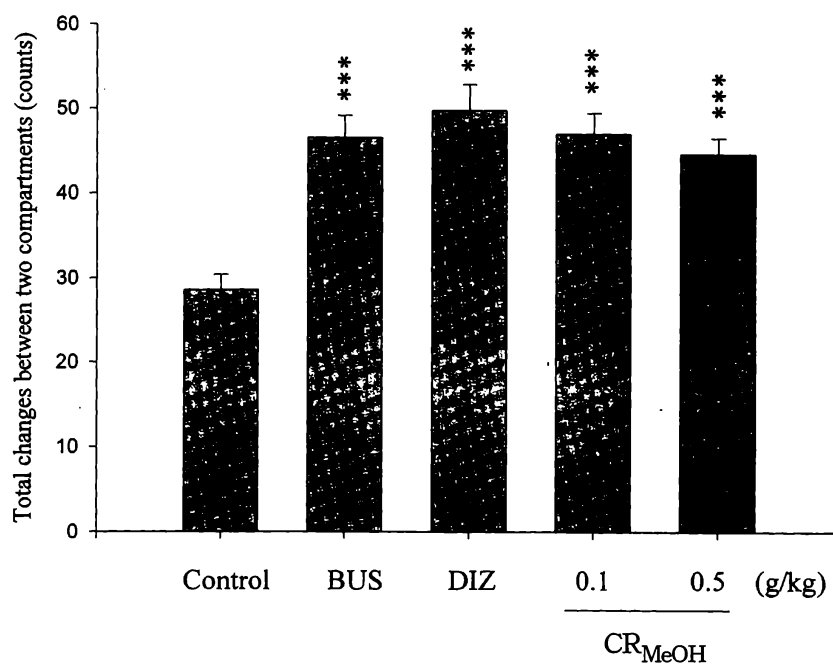


Fig 3. Effects of BUS, DIZ, methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}) on the total changes between two compartments in light & dark test in mice. BUS : buspirone , 2.0 mg/kg , i.p.; DIZ : diazepam , 1.0 mg/kg, i.p. , *** $P < 0.001$ as compared with the control group (One-way ANOVA following by ScheffeSs test). (n=12).

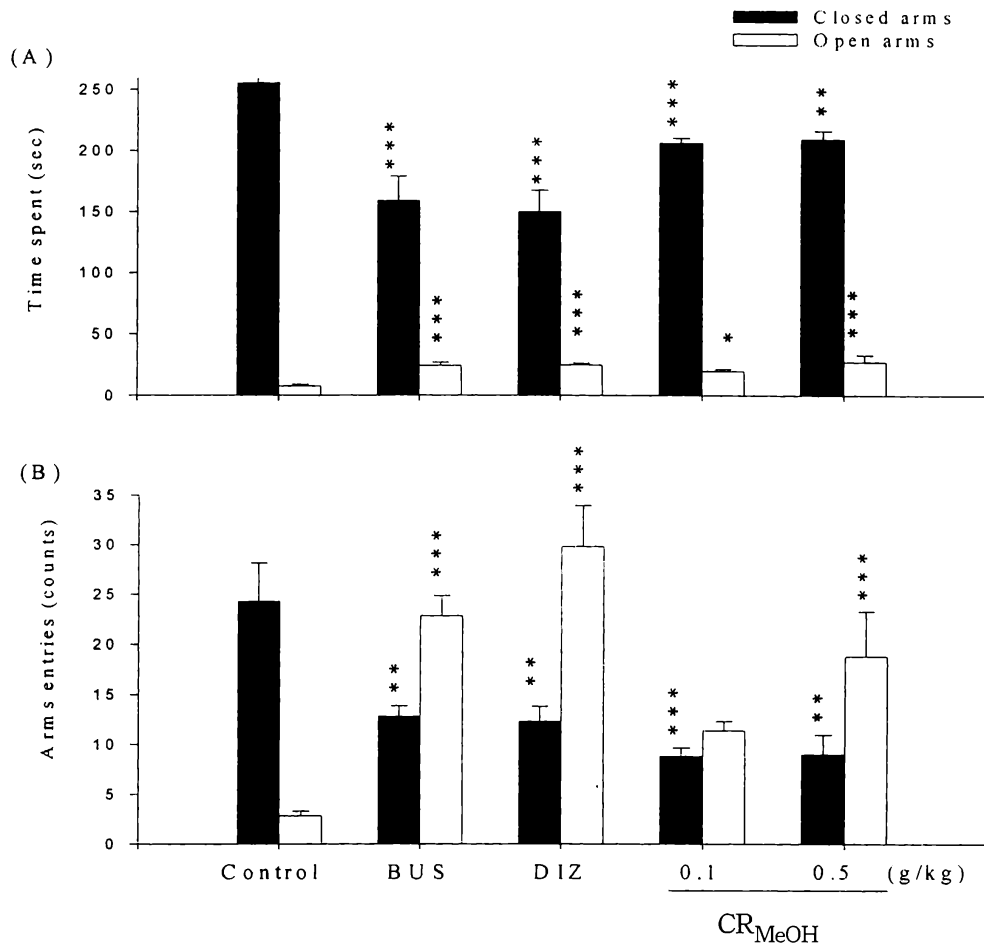


Fig 4. Effects of BUS, DIZ, methanol extract of *Coptis rhizome* (CR_{MeOH}) on the (A) time spent and (B) arm entries in the open and closed arms in the elevated plus maze in mice. BUS : buspirone ,2.0 mg/kg , i.p.; DIZ : diazepam , 1.0 mg/kg,i.p. , ***P < 0.001 as compared with the control group (One-way ANOVA following by ScheffeSs test). (n=12).

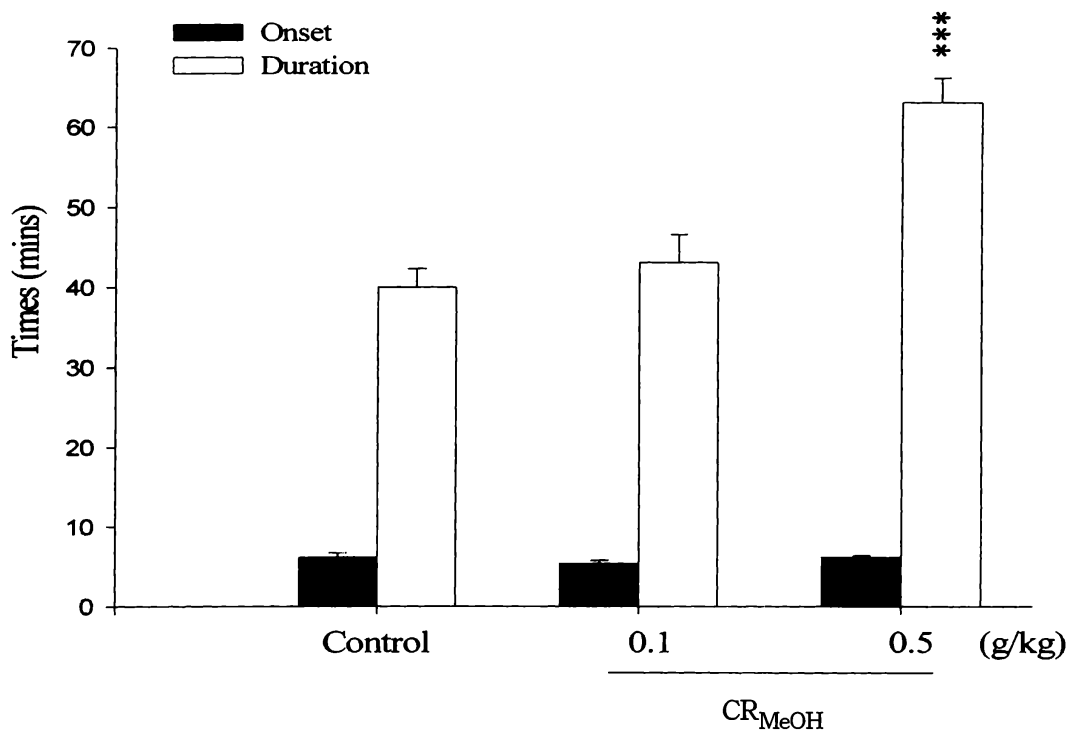


Fig 5 .Effects of methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}) , on the hexobarbital-induced hypnosis in mice.***P < 0.001 as compared with the control group (One-way ANOVA following by ScheffeSs test). (n=6).

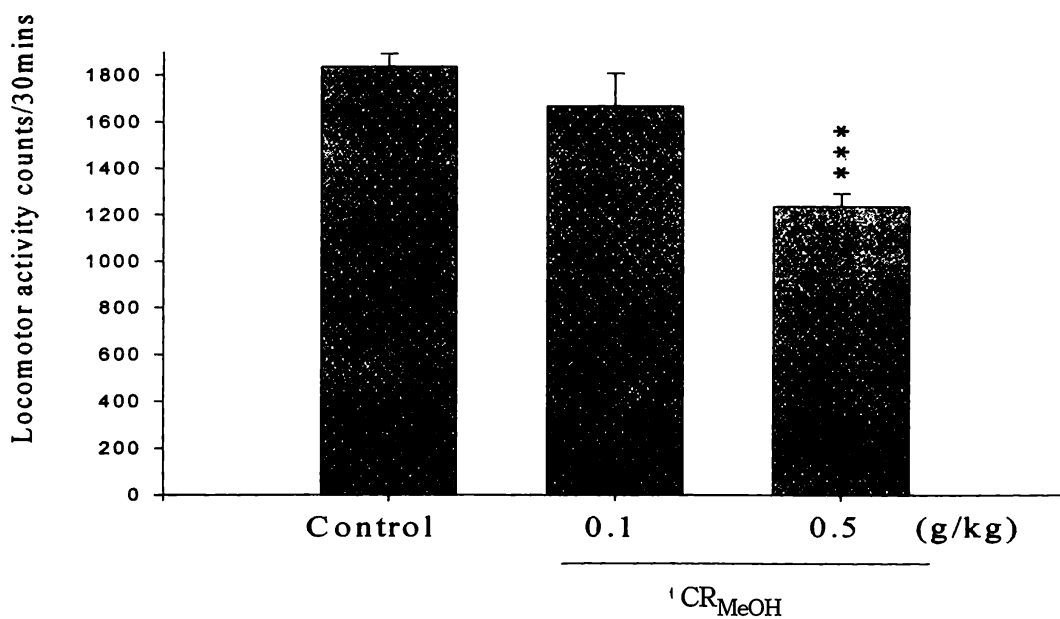


Fig 6. Effects of methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}), on the locomotor activity in rats. ***P < 0.001 as compared with the control group (One-way ANOVA following by Scheffe Ss test). (n=6).

討 論

本研究以明暗室 (light and dark test)⁽⁸⁾ 及舉臂式十字迷宮 (elevated plus-maze)⁽⁷⁾ 誘發動物焦慮之模式，來探討黃連之抗焦慮作用，並以常用之抗焦慮藥物 diazepam 及 buspirone 為正對照組，藉以評估其抗焦慮作用之療效。

首先，明暗室誘發小鼠焦慮模式為 1980 年 Crawley 和 Goodwin 等學者利用老鼠不喜歡陌生、明亮環境及喜好探索陌生環境之習性所設計之實驗模式⁽¹¹⁾，研究中發現當老鼠處於此明暗室儀器中會誘發焦慮行為的產生，包括老鼠於明暗兩室間穿梭次數減少，第一次由明室至暗室的時間縮短及停留在暗室的時間較明室長等探索行為的改變，故可利用這些行為之變化程度作為致焦慮或抗焦慮藥物之評估指標⁽¹²⁾。許多研究報告指出抗焦慮藥物 benzodiazepine 類藥物 (如：chlordiazepoxide 及 diazepam) 及 buspirone⁽⁸⁾ 等，在此誘發小鼠焦慮之研究模式中，均可延長老鼠在明室之停留時間，而縮短在暗室滯留時間⁽¹³⁾；此與本研究之正對照組 DIZ 及 BUS 實驗結果相同。而口服給予黃連甲醇粗抽物於 (0.1, 0.5 g/kg) 劑量下均可延長小鼠於明室之滯留時間，減少於暗室之滯留時間，並可延長小鼠第一次由明室跑至暗室的時間及增加其於兩室間的穿梭次數；可推知黃連甲醇粗抽物對明暗室誘發小鼠焦慮之實驗模式確具有抗焦慮之作用。

其次，在舉臂式十字形迷宮誘發小鼠焦慮模式之實驗方面，此實驗乃是 1955 年 Montgomery 等學者利用當老鼠處於較高處及開放空間時會引起恐懼，因而誘發焦慮的產生，所設計之實驗模式，此模式對大鼠及小鼠均有作用⁽⁷⁾。舉臂式十字形迷宮實驗中一般常以老鼠在開放臂及封閉臂之進入次數及滯留時間，作為評估焦慮作用的指標⁽¹⁴⁾。許多研究報告證實 benzodiazepine 類藥物及 buspirone⁽¹⁵⁾ 可明顯增加小鼠進入開放臂次數及延長滯留時間⁽¹⁶⁾；此與本研究之正對照組 diazepam 及 buspirone 之實驗結果一致。而分別口服給予小鼠黃連甲醇粗抽物 (0.1, 0.5 g/kg)，實驗結果顯示均可明顯增加小鼠之開放臂進入次數及滯留時間；及減少小鼠之封閉臂進入次數及滯留時間；顯示黃

連甲醇粗抽物對於舉臂式十字形迷宮誘發小鼠焦慮之模式亦具有抗焦慮作用。

此外，由於明暗室及舉臂式十字型迷宮誘發小鼠焦慮模式均牽涉動物之運動行為與鎮靜作用，為釐清此二作用是否對黃連甲醇粗抽物之抗焦慮作用實驗結果有所影響，因此本研究利用動物之自發運動量活性測定及 hexobarbital 誘發睡眠之鎮靜實驗等實驗模式，進一步探討黃連甲醇粗抽物對大鼠自發運動量及鎮靜作用之影響。實驗結果顯示，口服給予黃連甲醇粗抽物於 0.5 g/kg，可顯著降低大鼠之自發運動量及延長 hexobarbital 誘發之睡眠時間；而口服給予黃連甲醇粗抽物於 0.1g/kg 劑量下，對於大鼠之自發運動量及 hexobarbital 誘發之睡眠時間均無明顯之影響。一般而言，許多抗焦慮藥物 (如 benzodiazepine 類藥物) 在低劑量下具抗焦慮作用，但在高劑量時亦會呈現鎮靜作用⁽²⁾。由此可知，在明暗室及舉臂式十字形迷宮實驗中，黃連甲醇粗抽物口服 0.5 g/kg 之較大劑量，可能與其鎮靜作用產生有關；而口服較低劑量之黃連甲醇粗抽物於 0.1 g/kg，在上述二誘發小鼠焦慮模式中之抗焦慮活性，則非由鎮靜作用所致。綜合以上結果顯示，黃連甲醇粗抽物於較低劑量下具有抗焦慮作用，較高劑量下則具有鎮靜作用。

謝 辭

本研究承蒙行政院國家科學委員會經費補助 (NSC87-2314-B-039-010)，得以順利完成，僅此致謝。

參考文獻

1. Rech RH. Drugs to treat anxiety and related disorders. In: Wingard LB, Brody TM, Larner J, Schwartz A, Human Pharmacology-- Molecular To Clinical, International student ed. Wolfe Publishing, London 1991; 353-359.
2. Stahl SM. Anxiolytics and Sedative-Hypnotics, Neuroscientific basis and practical applications. In : Stahl SM, Essential psychopharmacology. Cambridge University

- press, New York, 1996; 167-215.
3. Franzblau SG, Cross C. Comparative in vitro antimicrobial activity of Chinese medicinal herbs. *J Ethnopharmacol.* 1986; 15(3): 279-288.
 4. Chen HC, Hsieh MT. Hemodynamic effects of "san-huang-hsieh-hsin-tang" in patients with essential hypertension. *Am J Chin Med.* 1986; 14(3-4): 153-156.
 5. Takase H, Imanishi K, Miura O, Yumioka E. A possible mechanism for the gastric mucosal protection by oren-gedoku-to (OGT), a traditional herbal medicine. *Jpn J Pharmacol.* 1989; 51(1): 17-23.
 6. Yamahara J. Behavioral pharmacology of berberine-type alkaloids. (1) Central depressive action of *Coptidis rhizoma* and its constituents. *Folia Pharmacol Jpn.* 1976; 72(7): 899-908.
 7. Montgomery KC. The relation between fear induced by novelty stimulation and exploratory behaviour. *J Comp Physiol Psychol.* 1955; 48: 254-260.
 8. Sanchez C. Serotonergic mechanisms involved in the exploratory behaviour of mice in a fully automated two-compartment light and dark text box. *Pharmacol Toxicol.* 1995; 77(1): 71-78.
 9. Fujomori H. Porentiation of barbital hypnosis as an evaluation method for central nervous system depressant. *Psychopharmacology.* 1965; 7: 374-377.
 10. Sanberg PR, Hagenmeyer SH, Henault MA. Automated measurement of multivariate locomotor behavior in rodents. *Neurobehav Toxicol Teratol.* 1985; 7: 87-94.
 11. Crawley JN, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav.* 1980; 13: 167-170.
 12. Young R, Johnson DN. A fully automated light/dark apparatus useful for comparing anxiolytic agents. *Pharmacol Biochemical Behav.* 1991; 40: 739-743.
 13. Corda MG, Biggio G. Proconflict effect of GABA receptor complex antagonists reversal by diazepam. *Neuropharmacology.* 1986; 25: 541-544.
 14. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Meth.* 1985; 14: 149-167.
 15. Dunn RW, Corbett R, Fielding S. Effects of 5-HT_{1A} receptor agonists and NMDA receptor antagonists in the social interaction test and the elevated plus-maze. *Eur J Pharmacol.* 1989; 169: 1-10.
 16. Aghajanian GK, Bloom FE. Localization of tritiated serotonin in rat brain by electron-microscopic autoradiography. *J Pharmacol Exp Ther.* 1967; 156: 23-30.

Studies on the Anxiolytic Effects of Coptis Rhizome in Rodents

Wen-Huang Peng, Ming-Tsuen Hsieh,
Chiung-Fang Chen, Fu-Yi Chueh

Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences, China Medical College

ABSTRACT

The aim of the present study was to investigate the anxiolytic effects of the methanol extract of Coptis rhizome (CR_{MeOH}) using the light and dark test and the elevated plus-maze test. During the light and dark test, CR_{MeOH} (0.1 and 0.5 g/kg, p.o.) increased the time spent in the dark compartment and total changes between the two compartments, and decreased the time spent in the light compartment. CR_{MeOH} (0.1 and 0.5 g/kg, p.o.) increased the arm entries and the time spent on the open arms, and decreased the arm entries and the time spent on the closed arms during the elevated plus-maze test. However, CR_{MeOH} (0.5 g/kg, p.o.) decreased the horizontal activities and prolonged the hexobarbital-induced sleeping times. From these results, CR_{MeOH} at 0.1g/kg had anxiolytic effects in rodents during the light and dark test and the elevated plus-maze test.

Key words: Coptis rhizome, light and dark, elevated plus maze, anxiolytic effect

received: 7/28/2000

accepted: 9/05/2000

reprint requests: Wen-Huang Peng

address: Institute of Chinese Pharmaceutical Sciences

91, Hsueh-Shin Rd, Taichung,

Taiwan, R.O.C.

Tel: +886-4-22053366 ext. 1016

Fax: +886-0943272017