

二色桂木正丁醇提取物的抗抑郁活性研究

卢海啸^{1*}, 王琼秋², 李家洲¹, 李铭珍¹

(1. 玉林师范学院, 广西 玉林 537000; 2. 玉林市第十一中学, 广西 玉林 537000)

[摘要] **目的:**探讨二色桂木提取物的抗抑郁活性及其作用机制。**方法:**采用KM种小鼠(雄性)悬尾、强迫游泳和利血平诱导抑郁症模型,以ig连续给药10 d(空白组等容生理盐水;氟西汀组 50 mg·kg⁻¹;二色桂木粗提物及其石油醚、乙酸乙酯、正丁醇部位及水部位各给药组 200 mg·kg⁻¹),研究二色桂木醇提物及其不同极性部位的抗抑郁活性;采用荧光分光光度法测定海马及纹状体5-羟色胺(5-HT)。**结果:**二色桂木醇提物及石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位均可不同程度地缩短小鼠游泳和悬尾的不动时间,其中正丁醇部位的作用最显著($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并能显著拮抗利血平引起的体温下降和眼睑下垂等生理变化($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),显著提高5-HT在海马、纹状体中的含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**二色桂木醇提物具有抗抑郁作用,其活性成分主要分布在正丁醇部位。

[关键词] 二色桂木; 抗抑郁; 提取物; 5-羟色胺

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0156-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160156

Antidepressant Activity of *N*-butanol Extracts from *Artocarpus styracifolius* Pierre

LU Hai-xiao^{1*}, WANG Qiong-qiu², LI Jia-zhou¹, LI Ming-zhen¹

(1. Yulin Normal University, Yulin 537000, China;

2. Yulin No. 11 Middle School, Yulin 537000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antidepressant activity and mechanism of extracts from *Artocarpus styracifolius* Pierre (AS). **Method:** Antidepressant activity was tested by tail suspension test, force swimming test and reserpine model of different polar extracts from AS, and serotonin (5-HT) content was determined by fluorescence spectrophotometry. AS was given by intragastric administration for 10 days (fluoxetine group 50 mg·kg⁻¹; each AS group 200 mg·kg⁻¹). **Result:** The different polar extracts of AS could shorten immobility time in tail suspension test and force swimming test on mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Action of *n*-butanol extract of AS could have an antagonistic action on reserpine caused drop of body temperature and blepharoptosis and improved 5-HT content in hippocampal convolution and corpus striatum on mice ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Extracts of AS had antidepressant activity, and activity part may be *n*-butanol extract.

[Key words] *Artocarpus styracifolius*; antidepressant; extract; serotonin

二色桂木,亦称红山梅、红半枫荷,为桑科波罗蜜属植物二色波罗蜜的干燥根。性温味甘,具有祛风除湿,舒筋活血的功效。用于风湿性关节炎,腰肌劳损,慢性腰腿痛,半身不遂等。主产广西,分布于

广西玉林、平南、苍梧等地^[1-2]。目前,从二色桂木的根皮和树皮中分离得到9个异戊烯基黄酮和7个其他化合物^[3-4]。目前,对抑郁症的研究中,尚未发现应用活血化痰药来治疗的报道,本研究首次报道

[收稿日期] 20140315(001)

[基金项目] 广西教育厅科研项目(2013YB203)

[通讯作者] *卢海啸,博士,副教授,从事天然活性物质研究, Tel:0775-2821132, E-mail:luhaixiao76@163.com

活血化瘀药二色桂木的抗抑郁活性。

1 材料

1.1 动物 雄性清洁级昆明雄性小鼠,体质量 20~25 g,购于广西医科大学动物实验研究中心。合格证号 SCXK(桂)2003-000。

1.2 药物和试剂 二色桂木茎采于广西岑溪市吉太乡,经广西林业勘察设计院钟业聪高级工程师鉴定为桑科植物二色波罗蜜 *Artocarpus styracifolius* Pierre,采后粉碎,60℃烘干备用。盐酸氟西汀(苏州俞氏药业有限公司,批号 120601),利血平注射液(广东邦民制药厂有限公司,批号 H44021892),5-羟色胺(5-HT, Sigma 公司),均为国产分析纯(广东汕头西陇化工有限公司)。

1.3 仪器 Rotina38R 冷冻超速离心机(德国 Hettich 公司),RF25000 荧光分光光度计(日本岛津公司),RE-2000 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司),MC-612 电子体温计(深圳市安康莱生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 二色桂木萃取物的制备 取二色桂木干燥药材粉末适量,用 95% 乙醇热回流提取 2 h,过滤,得到二色桂木提取液,重复 3 次,合并提取液,减压浓缩至干,得二色桂木粗提取物,取部分二色桂木粗提取物用水溶解成混悬液,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取液和水萃取液,分别减压浓缩得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇和水部位提取物,备用。给出各部位得率。

2.2 动物分组 在各项实验分组之前均用相应仪器对小鼠进行神经行为学测试和筛选,剔除差异较大的,再将差异较小的小鼠随机分组,每组 10 只。

2.3 二色桂木抗抑郁活性部位的筛选 小鼠随机分为空白组、氟西汀组(50 mg·kg⁻¹)、二色桂木粗提取物组、二色桂木石油醚部位组、二色桂木乙酸乙酯部位组、二色桂木正丁醇部位组和二色桂木水部位组(均为 200 mg·kg⁻¹),ig 给药,其中空白对照组 ig 等容积生理盐水,1 次/d,连续 10 d,于第 10 天给药后 30 min 参照文献[5]的方法测定小鼠悬尾不动时间(小鼠倒位 6 min,记录后 4 min 内累计不动时间);参照文献[6]的方法测定小鼠强迫游泳不动时间(小鼠放入水中 6 min,记录后 4 min 内累计不动时间)。

2.4 二色桂木正丁醇提取物抗抑郁的量效关系 小鼠随机分为空白组、氟西汀组(50 mg·kg⁻¹)、正

丁醇高、中、低剂量组(300,200,100 mg·kg⁻¹)。实验方法同 2.3 项。

2.5 二色桂木正丁醇提取物对利血平诱导小鼠抑郁症模型的影响 小鼠随机分为空白组、模型组、氟西汀组(50 mg·kg⁻¹)、正丁醇提取物高、中、低剂量组(300,200,100 mg·kg⁻¹,ig),其中空白对照组、模型组 ig 等容积生理盐水,1 次/d,连续 10 d。末次给药同时,除空白对照组外,各组 ip 利血平 5 mg·kg⁻¹。1 h 后将小鼠竖起,根据眼睑下垂情况评分,评分标准为:眼闭 1/4 为 1 分,眼闭 2/4 为 2 分,眼闭 3/4 为 3 分,全闭为 4 分;2 h 后测定小鼠肛温。

2.6 单胺类神经递质 5-HT 的测定 最后一次行为学实验之后立即将动物断头,取脑,参照文献[7]的方法测定实验小鼠海马、纹状体的 5-HT 含量。

2.7 统计学处理 用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本平均数比较用 *t* 检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 二色桂木抗抑郁活性部位的筛选 二色桂木 5 种提取物均具有缩短小鼠悬尾和强迫游泳的不动时间(*P* < 0.05)。在二色桂木的 4 种不同极性提取物中,乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物作用较为明显(*P* < 0.01)。见表 1。

表 1 二色桂木不同提取物对小鼠强迫游泳和悬尾不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	不动时间/s	
		悬尾	强迫游泳
空白对照	-	139 ± 20	97 ± 7
氟西汀	50	67 ± 33 ²⁾	50 ± 12 ²⁾
二色桂木粗提取物	200	103 ± 26 ¹⁾	65 ± 27 ¹⁾
二色桂木石油醚部位	200	100 ± 11 ¹⁾	63 ± 34 ¹⁾
二色桂木乙酸乙酯部位	200	73 ± 30 ²⁾	53 ± 34 ²⁾
二色桂木正丁醇部位	200	64 ± 20 ²⁾	49 ± 33 ²⁾
二色桂木水部位	200	91 ± 18 ¹⁾	67 ± 26 ¹⁾

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

3.2 二色桂木正丁醇提取物抗抑郁的量效关系 二色桂木正丁醇提取物随着剂量的提高,其悬尾不动时间及强迫游泳不动时间缩短,具有一定的量效关系。见表 2。

3.3 二色桂木正丁醇提取物对利血平诱导小鼠抑郁症模型的影响 模型组由于利血平的作用出现了体温下降和眼睑下垂的症状(*P* < 0.01)。而二色桂木正丁醇提取物能拮抗利血平所引起的体温下降和

表 2 二色桂木正丁醇提取物不同剂量对小鼠强迫游泳和悬尾不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	不动时间/s	
		悬尾	强迫游泳
空白对照	-	143 ± 303	112 ± 21
氟西汀	50	27 ± 30 ²⁾	36 ± 26 ²⁾
二色桂木正丁醇提取物	100	82 ± 21 ²⁾	81 ± 20 ¹⁾
	200	81 ± 10 ²⁾	78 ± 18 ²⁾
	300	68 ± 23 ²⁾	67 ± 21 ²⁾

眼睑下垂 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。其中二色桂木正丁醇提取物的中、高剂量组尤其显著 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 二色桂木正丁醇提取物对利血平引起小鼠体温下降及眼睑下垂的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	体温 /°C	眼睑下垂评分 /分
模型	-	34.1 ± 0.2 ¹⁾	3.3 ± 0.9 ¹⁾
氟西汀	50	35.7 ± 0.7	1.7 ± 0.8
二色桂木正丁醇提取物	100	35.0 ± 1.0 ²⁾	2.6 ± 1.3 ²⁾
	200	35.3 ± 0.9 ²⁾	2.1 ± 0.7 ³⁾
	300	35.8 ± 0.6 ³⁾	1.5 ± 0.8 ³⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 4 同)。

3.4 单胺类神经递质 5-HT 的测定 模型组与空白对照组相比,海马和纹状体的 5-HT 含量显著下降 ($P < 0.01$)。与模型组相比较,氟西汀组和二色桂木正丁醇不同剂量组能提高小鼠脑内海马和纹状体的 5-HT 含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),呈现一定的剂量依赖性。见表 4。

表 4 二色桂木正丁醇提取物对海马、纹状体 5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	5-HT/ng·g ⁻¹	
		海马	纹状体
空白对照	-	1 281 ± 90	2 028 ± 81
模型	-	691 ± 60 ¹⁾	1 166 ± 26 ¹⁾
氟西汀	50	1 191 ± 71 ³⁾	1 989 ± 92 ³⁾
二色桂木正丁醇提取物	100	837 ± 101 ²⁾	1 581 ± 90 ²⁾
	200	1 081 ± 51 ³⁾	1 778 ± 98 ³⁾
	300	1 203 ± 63 ³⁾	1 967 ± 98 ³⁾

4 讨论

在小鼠强迫游泳试验和悬尾试验模型中,小鼠

的不动状态反映了行为的绝望状态以及对应激的无反应状态。二色桂木的乙醇粗提取物及其 4 个萃取部位能缩短小鼠在悬尾试验和强迫游泳试验模拟抑郁模型中的不动时间,其中正丁醇提取部位的作用非常显著,可见二色桂木的活性部位应该是正丁醇提取部位。

现在普遍认为,抑郁症的病因可能与脑内单胺类神经递质如 5-HT 等不足有关^[9]。抗抑郁主要通过阻断突触前膜对 5-HT 等单胺类递质的再摄取来增加突触后膜部位神经递质的浓度而起效^[10]。利血平是一种囊泡再摄取抑制剂,它使递质留在囊泡外,易被单胺氧化酶降解,使 5-HT 耗竭,从而引起行为和生理上的变化^[11]。小鼠给予利血平后即出现眼睑下垂、体温下降等症状,而灌胃一定浓度的二色桂木正丁醇萃取物的小鼠能明显拮抗利血平引起的体温下降和眼睑下垂等生理变化,提示二色桂木抗抑郁有效成分的作用机制可能与影响单胺类递质的代谢过程有关。

氟西汀是一种选择性 5-HT 再摄取抑制剂,它能抑制突触前膜对 5-HT 释放后的再摄取,从而提高突触间隙 5-HT 的浓度而发挥抗抑郁效果^[11]。从实验结果可见,灌胃 10 d 后,尽管由于大剂量的利血平使脑内单胺类神经递质大幅度下降,递质增幅未达到正常水平,但与模型组比较,氟西汀显著增加了海马、纹状体中 5-HT 的含量,二色桂木正丁醇部位低、中、高剂量显著提高了 5-HT 在海马、纹状体中的含量。由此推测,二色桂木的抗抑郁作用可能是通过抑制海马、纹状体等脑区突触前膜对 5-HT 的再摄取和抑制单胺氧化酶的活性,从而减少突触间隙 5-HT 的失活,增加其含量而实现的。

[参考文献]

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准. 第二册[S]. 南宁:广西壮族自治区卫生厅, 1996:143.
- [2] 广西中药资源普查办公室. 广西中药资源名录[M]. 南宁:广西民族出版社, 1993:139.
- [3] Gang Ren, Heng-Yun Xiang, Zhi-Cheng Hu, et al. A new isoprenylated flavone from the root bark of *Artocarpus styracifolius* [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013,46:97.
- [4] Bourjot M, Apel C, Martin M T, et al. Antiplasmodial, antitrypanosomal, and cytotoxic activities of prenylated flavonoids isolated from the stem bark of *Artocarpus styracifolius* [J]. *Planta Med*, 2010,76(14):1600.

川芎嗪微乳凝胶预防大鼠实验性腹腔粘连抗炎及抗氧化作用

张慧¹, 宋宇¹, 张婷², 曾莉^{3*}

(1. 新乡医学院药学院药理学教研室, 河南 新乡 453000;

2. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003; 3. 南京中医药大学, 南京 210023)

[摘要] **目的:**观察川芎嗪微乳凝胶对肠粘连的防治效果,通过检测大鼠腹腔液细胞因子及粘连组织抗氧化酶进一步探讨其对肠粘连防治作用的机理。**方法:**取 SD 大鼠 70 只,随机分为 7 组:正常组、模型组、川芎嗪对照组、空白微乳凝胶组,川芎嗪微乳凝胶高、中、低剂量组,每组 10 只。除正常对照组外,其余各组大鼠均制备肠粘连模型。正常对照组和模型组 ip 生理盐水,川芎嗪对照组 ip 川芎嗪注射液($15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),连续给药 10 d。川芎嗪微乳凝胶低、中、高剂量组($7.5, 15, 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)造模后,腹腔内以注射器均匀涂抹于创面,并按 10 d 量放大,一次性给药。各组大鼠于术后第 11 天处死,ELISA 法测定腹腔液白介素-6(IL-6)、白介素-18(IL-18)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)含量,并取粘连组织检测超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮合酶(NOS)、还原型谷胱甘肽(GSH)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活力及丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量,同时记录大鼠肠粘连级别。取粘连肠组织观察病理变化。**结果:**与正常组相比,模型组腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 含量增高($P < 0.01$),粘连组织中 MDA, NO, NOS 活性增强($P < 0.01$),CAT, GPx, GSH, SOD 的活性下降($P < 0.01$)。与模型组相比,川芎嗪微乳凝胶低、中、高剂量组的肠粘连程度明显减轻($P < 0.05, P < 0.01$),病理显示肠粘连逐渐松解,腹腔液 IL-6, IL-18 和 TNF- α 含量明显降低($P < 0.05, P < 0.01$),粘连组织中 MDA, NO 含量及 NOS 活性明显下降($P < 0.05, P < 0.01$),CAT, GPx, GSH, SOD 的活性增强($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**川芎嗪微乳凝胶可明显减轻肠粘连的程度,对肠粘连具有防治作用。其作用可能是通过下调 IL-18 的表达,进而使相关基因的表达下调,导致下游炎症因子 TNF- α , IL-6 等表达减少,同时与抗肠组织过氧化损伤有关。

[关键词] 川芎嗪; 微乳凝胶; 肠粘连; 白介素-6; 白介素-18; 肿瘤坏死因子 α ; 氧化损伤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0159-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160159

[收稿日期] 20131202(008)

[基金项目] 江苏省 2012 年度普通高校研究生科研创新计划项(CXZZ12_0620);南京中医药大学基础研究与重点培育项目(09XPY05)

[第一作者] 张慧,硕士,讲师,从事中药药效及作用机制研究, Tel:03733029101, E-mail:zhanghui12070300@163.com

[通讯作者] * 曾莉,博士,教授,从事腹腔粘连防治及慢性肠病中医药诊疗研究, Tel:025-85811788, E-mail:zengbingli@163.com

- [5] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology, 1985, 85(3):367.
- [6] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2001:808.
- [7] 张振德,金国章. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 1994:459.
- [8] 彭云丽,王雯英,蒋春雷,等. 应激诱发抑郁症的细胞因子机制研究进展[J]. 生理学报, 2013, 65(2):229.
- [9] 尹桂华. 抗抑郁药物的分类及作用机制研究进展[J]. 中国民康医学, 2009, 21(12):1429.
- [10] 康大力,瞿融,朱维莉,等. 柴胡加龙骨牡蛎汤有效部位抗抑郁作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1):72.
- [11] 赵立波,徐露,车珂科,等. 氟西汀对卒中后抑郁模型大鼠脑组织中 5-HT、NE 及 NGF 表达的影响[J]. 中国药房, 2013, 24(21):1939.

[责任编辑] 聂淑琴