

黄芩主要黄酮成分的抗抑郁活性筛选

栗俞程^{1*}, 沈继朵¹, 刘亚敏¹, 易立涛²

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 华侨大学, 福建 厦门 361021)

[摘要] 目的:对黄芩中 4 种主要黄酮成分进行抗抑郁活性筛选。方法:雄性 ICR 小鼠随机分为 10 组,分别为:空白对照组、阳性对照氟西汀组(20 mg·kg⁻¹)、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素治疗组,其中 4 种黄酮各自分为 10 mg·kg⁻¹ 和 20 mg·kg⁻¹ 2 个剂量组。连续 ig 给药 7 d。末次给药 1 h 后,分别采用强迫游泳、悬尾和开场实验对小鼠进行行为学观察。结果:与空白对照组相比,20 mg·kg⁻¹ 的黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素可分别将强迫游泳小鼠不动时间由(107.6 ± 28.5) s 缩短至(64.4 ± 25.1), (73.2 ± 30.8), (69.6 ± 20.4), (79.7 ± 32.6) s,并将悬尾不动时间由(85.2 ± 27.3) s 缩短至(43.1 ± 16.4), (52.0 ± 21.1), (48.3 ± 25.9), (62.2 ± 35.8) s,差异具有显著性意义,其中以黄芩苷和汉黄芩苷的作用尤为显著。另外,4 种黄酮成分对小鼠的自发活动无明显影响。结论:4 种黄酮成分均具有不同程度的抗抑郁活性,其中黄芩苷、汉黄芩苷的活性较强,这可能与这些药物在体内的代谢过程有关。

[关键词] 抑郁症;黄芩;黄酮;强迫游泳实验;悬尾实验;开场实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)11-0166-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120327.2700.002 **[网络出版时间]** 2012-03-27 14:39

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120327.1439.002.html>

[收稿日期] 20111206(005)

[基金项目] 河南中医学院博士科研基金项目(BSJJ2010-24)

[通讯作者] * 栗俞程,博士,讲师,从事中药神经精神药理研究, Tel:0371-65962746, E-mail:Liyucheng@hactcm.edu.cn

- [4] Zhang A, Zhang J, Sun P, et al. EIF2 α and caspase-12 activation are involved in oxygen-glucose-serum deprivation/restoration-induced apoptosis of spinal cord astrocytes[J]. Neuroscience Letters, 2010, 478:32.
- [5] Blattner S M, Tu Y, Tisherman R, et al. Molecular mechanisms of the LPS-induced non-apoptotic ER Stress-CHOP pathway [J]. J Biochem, 2010, 147(4):471.
- [6] 周小舟,张盛光,阳晓,等. 腺嘌呤所致大鼠慢性肾功能衰竭的机理研究[J]. 基础医学与临床, 1997, 17(1):54.
- [7] 吴小玮,何娅妮,丁涵露,等. 慢性肾病患者肾小管上皮细胞内质网应激与细胞凋亡的关系[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(11):1010.
- [8] McGuckin M A, Eri R D, Das I, et al. ER stress and the unfolded protein response in intestinal inflammation [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 298:G820.
- [9] Tagawa Y, Hiramatsu N, Kasai A, et al. Induction of apoptosis by cigarette smoke via ROS-dependent endoplasmic reticulum stress and CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein (CHOP) [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2008, 45:50.
- [10] Masud A, Mohapatra A, Lakhani S A, et al. Endoplasmic reticulum Stress induced death of mouse embryonic fibroblasts requires the intrinsic pathway of apoptosis [J]. J Biol Chem, 2007, 282(19):14132.
- [11] Ron D, Walter P. Signal interaction in the endoplasmic reticulum un-folded protein response [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(7):519.
- [12] Ohse T, Inagi R, Tanaka T, et al. Albumin induces endoplasmic reticulum stress and apoptosis in renal proximal tubular cells [J]. Kidney International, 2006, 70(8):1447.
- [13] 白玉新,傅亮,高进. 黄芪对缺血性急性肾功能衰竭的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(7):74.
- [14] 邓晓风,舒月,周莹,等. 黄芪注射液联合中药灌肠治疗慢性肾衰竭[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14):234.

[责任编辑 聂淑琴]

Screening of Antidepressant Effects of Four Main Flavonoids Compounds from *Scutellaria baicalensis*

LI Yu-cheng^{1*}, SHEN Ji-duo¹, LIU Ya-min¹, YI Li-tao²

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

[Abstract] Objective: To screen antidepressant activity of baicalin, baicalein, wogonoside and wogonin, the flavonoids from *Scutellaria baicalensis*. **Method:** Male ICR mice were randomly divided into 10 groups: control group, fluoxetine group and baicalin, baicalein, wogonoside and wogonin groups. The treatment groups were received four flavonoids at dose of 10, 20 mg·kg⁻¹ and fluoxetine at 20 mg·kg⁻¹ for 7 days respectively. Forced swimming test (FST), tail suspension test (TST) and open field test (OFT) were applied to evaluate antidepressant activity at 1 hour after the last administration. **Result:** Compared with control groups, the immobility time of FST mice was significantly shorten from (107.6 ± 28.5) s to (64.4 ± 25.1), (73.2 ± 30.8), (69.6 ± 20.4), (79.7 ± 32.6) s, following treatment at dose of 20 mg·kg⁻¹, with baicalin, baicalein, wogonoside and wogonin. Moreover, the immobility time of TST mice was also significantly shorten from (85.2 ± 27.3) s to (43.1 ± 16.4), (52.0 ± 21.1), (48.3 ± 25.9), (62.2 ± 35.8) s, respectively. Particularly, the effects of baicalin and wogonoside were more obvious. In addition, four flavonoids had no effect on spontaneous locomotor activity in mice. **Conclusion:** Our results suggest that all of four flavonoids compounds from *S. baicalensis* exhibit antidepressant activity. Moreover, the roles of baicalin and wogonoside were more visible than baicalein and wogonin, which may be relate to the different metabolic processes of these compounds.

[Key words] depression; *Scutellaria baicalensis*; flavonoid; forced swimming test; tail suspension test; open field test

抑郁症是一种常见的精神性疾病,临床主要表现为情绪低落、兴趣低下、思维缓慢、自我评价过低等,给患者带来了沉重的精神负担,甚至滋生自杀情绪。抑郁症的发病机制非常复杂,涉及神经内分泌、神经化学、免疫等多个系统功能紊乱^[1],从天然产物中筛选具有抗抑郁活性的药物日益成为当前研究的热点^[2-5]。中药黄芩是唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的干燥根,具有清热燥湿、止血安胎之功效。现代研究表明,黄芩中的主要活性成分是黄酮类化合物,其中含量较高并且具有明显药理作用的是黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素4种^[6-7]。我们在前期研究中发现,黄芩总黄酮可显著缩短小鼠强迫游泳和悬尾的不动时间,具有潜在的抗抑郁作用^[8]。然而,是否这4种黄酮成分都具有抗抑郁活性,抑或是哪一种成分在抗抑郁中发挥了主要作用尚未可知。因此,本实验采用小鼠行为绝望模型对黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素这4种成分的抗抑郁活性作初步的筛选,拟从中发现起主要抗抑郁作用的化合物,并进一步研究

其作用机制。

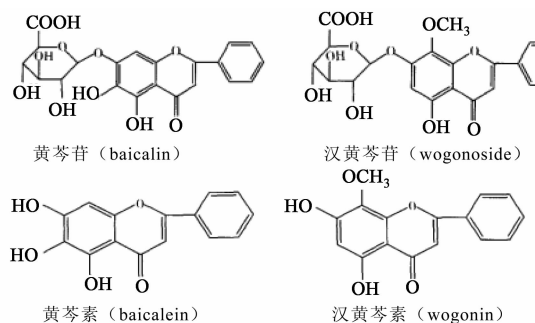


图1 4种黄酮化合物的结构^[9]

1 材料

1.1 药品 盐酸氟西汀购自常州四药制药有限公司(批号为20100623.No144);黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素购自南京泽朗医药科技有限公司(批号依次为ZL111024,ZL111103,ZL110924,ZL111008),纯度为98%。

1.2 动物 雄性ICR小鼠,体重20~25g,购自河南省实验动物中心,许可证号SCXK(豫)2005-0001。动物饲养室环境温度控制为(25±2)℃,光

照 12 h 明暗交替。整个实验过程中,动物可自由饮水和进食。

1.3 仪器 FS-21 数码摄像机(佳能);PS-363 秒表(深圳市追日电子科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 正常小鼠随机分为 10 组,设空白对照(生理盐水)和阳性对照(20 mg·kg⁻¹ 氟西汀),黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素组分别设 10,20 mg·kg⁻¹ 2 个剂量。每天上午 9 点 ig 给药,连续给药 7 d。

2.2 强迫游泳实验^[10] 末次给药 1 h 后,进行行为学观察。将小鼠单个放入水深 10 cm 的圆形玻璃容器中(高 20 cm,直径 18 cm),水温 25 ℃。记录 6 min 内小鼠的活动状态,并计算后 4 min 内小鼠的不动时间。

2.3 悬尾实验^[11] 动物分组、给药方式、剂量及时间同 2.1。末次给药 1 h 后,将小鼠尾端(距尾尖 2 cm)固定,使小鼠倒悬于悬尾箱支架上,头部距箱底 5 cm。记录 6 min 内小鼠的活动状态,并计算后 4 min 内小鼠的不动时间。

2.4 开场实验^[12] 动物分组、给药方式、剂量及时间同 2.1。末次给药 1 h 后,将小鼠单个放入开场活动观察箱(40 cm × 40 cm × 40 cm),底面等分为 25 个格子,依次将每只小鼠轻放于中央,记录 3 min 内小鼠的自发活动情况,统计小鼠穿格次数和理毛次数。

2.5 统计分析 采用 SPSS 13.0 对数据进行单因素方差分析,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠强迫游泳不动时间的影响 与空白对照组相比,4 种黄酮成分均显著缩短了小鼠强迫游泳不动时间,其中以 20 mg·kg⁻¹ 黄芩苷作用最为显著($P < 0.001$)。汉黄芩素作用弱于黄芩苷,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。其他各药间无统计学差异。见表 1。

3.2 对小鼠悬尾不动时间的影响 与空白对照组相比,4 种黄酮均可显著缩短小鼠悬尾不动时间,其中以 20 mg·kg⁻¹ 黄芩苷作用最为显著($P < 0.001$),与氟西汀相当。汉黄芩素作用弱于黄芩苷和汉黄芩苷($P < 0.01, P < 0.05$),差异具有统计学意义。其他各药间无统计学差异。见表 1。

3.3 对小鼠自发活动的影响 空白对照组小鼠 3 min 内穿格次数和理毛次数分别为(65.2 ± 24.7),

表 1 黄芩总黄酮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	强迫游泳不动 时间	悬尾不动 时间
空白对照	-	107.6 ± 28.5	85.2 ± 27.3
氟西汀	20	68.2 ± 17.4 ³⁾	43.5 ± 18.7 ³⁾
黄芩苷	10	72.3 ± 22.6 ²⁾	48.6 ± 21.8 ²⁾
	20	64.4 ± 25.1 ³⁾	43.1 ± 16.4 ³⁾
黄芩素	10	78.9 ± 24.5 ²⁾	59.5 ± 25.6 ¹⁾
	20	73.2 ± 30.8 ²⁾	52.0 ± 21.1 ²⁾
汉黄芩苷	10	76.3 ± 31.1 ²⁾	54.7 ± 17.5 ²⁾
	20	69.6 ± 20.4 ³⁾	48.3 ± 25.9 ³⁾
汉黄芩素	10	86.1 ± 22.5 ¹⁾	66.4 ± 28.6 ¹⁾
	20	79.7 ± 32.6 ¹⁾	62.2 ± 35.8 ¹⁾

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ 。

(16.4 ± 6.5)次,对比分析结果发现,各给药组小鼠 3 min 内穿格次数和理毛次数与空白对照组之间差异无统计学意义,说明在所研究剂量范围内,各药物均无明显中枢兴奋作用。

4 讨论

近年来,黄酮类化合物在抗抑郁方面的报道日益增多^[13-14],越来越多的研究者开始在黄酮类化合物中寻找安全有效的抗抑郁药物^[15-16]。本文在前期研究发现黄芩总黄酮抗抑郁作用的基础上,进一步对黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷和汉黄芩素这 4 种黄酮成分进行抗抑郁活性的筛选,结果发现这 4 种成分均具有不同程度的抗抑郁活性,其中以黄芩苷作用最为显著。

小鼠强迫游泳和悬尾这两种行为绝望模型,是常用的抗抑郁药物筛选评价模型。实验中通过给小鼠提供一个不可逃避的压迫环境,使小鼠表现出来挣扎或者不动的状态,来反映小鼠的绝望情绪^[17]。该模型对于临床常用的抗抑郁药物非常敏感,抗抑郁药物能显著缩短小鼠的不动时间。然而,在行为绝望模型中,一些具有中枢兴奋作用的药物可能导致出现假阳性结果。因此,在筛选抗抑郁药物时需要排除这种假阳性结果的可能性。开场实验通过观察动物在不受干扰下的自发性活动,以其活动性来反映中枢神经系统的兴奋性。本实验结果表明,各给药组小鼠的自发活动性与对照组相比均无显著性差异,提示这 4 种黄酮类化合物在本研究剂量范围内无明显中枢兴奋作用。

在本次研究中发现,黄芩苷和汉黄芩苷的抗抑郁活性略强于黄芩素和汉黄芩素,其中以黄芩苷的

作用最为显著,这可能与其体内代谢过程有关。有研究表明黄芩苷和汉黄芩苷是黄芩发挥作用的可能物质基础^[18],而黄芩素和汉黄芩素在体内部分转化为黄芩苷和汉黄芩苷^[19-20],因此活性可能略低于黄芩苷和汉黄芩苷。在黄芩总黄酮中,由于黄芩苷的含量远远高于其他黄酮成分^[21-22],因此黄芩总黄酮发挥抗抑郁作用的主要成分可能仍是黄芩苷。对于黄芩苷的抗抑郁作用机制,我们将进一步在更为稳定的慢性应激模型上进行探讨。

[参考文献]

- [1] 柴丽,赵博. 抑郁症与HPA轴关系及中药干预的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):268.
- [2] Zhang Z J. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders[J]. Life Sci, 2004, 75(14):1659.
- [3] 王景霞,张建军,苗春平,等. 白芍提取物对嗅球损毁抑郁模型大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):155.
- [4] 管家齐,孙燕,陈文东. 百合地黄汤对抑郁模型小鼠脑内单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9):131.
- [5] 赵启铎,舒乐新,王颖. 酸枣仁油对行为绝望小鼠模型的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):190.
- [6] 李欣,魏朔南. 黄芩的生物学研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(6):11.
- [7] 徐丹洋,陈佩东,张丽. 黄芩的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1):78.
- [8] 栗俞程,李寒冰,张宾. 黄芩总黄酮对小鼠的抗抑郁作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):161.
- [9] 周锡钦,梁鸿,路新华,等. 中药黄芩主要黄酮类成分及其生物活性研究[J]. 北京大学学报:医学版, 2009, 41(5):578.
- [10] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants[J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1977, 229(2):327.
- [11] Steru L, Chermat R, Thierry B. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice[J]. Psychopharmacology, 1985, 85(3):367.
- [12] Mao Q Q, Xian Y F, Ip S P, et al. Antidepressant-like effect of ethanol extract from paeonia lactiflora in mice[J]. Phytotherapy Research, 2008, 22:1496.
- [13] Hua H, Guo Y. Research progress of pharmacology study of flavonoids[J]. Guangdong Pharm Sci, 1999, 9(4):9.
- [14] Butterweck V, Jurgenliemk G, Nahrstedt A, et al. Flavonoids from Hypericum perforatum show antidepressant activity in the forced swimming test[J]. Planta Med, 2000, 66:3.
- [15] Nakazawa T, Yasuda T, Ueda J, et al. Antidepressant-like effects of apigenin and 2, 4, 5-trimethoxycinnamic acid from Perilla frutescens in the forced swimming test[J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(4):474.
- [16] 王卫星,胡新颖,刘鹏,等. 金丝桃苷等10个天然黄酮类化合物的抗抑郁活性筛选研究[J]. 中草药, 2007, 38(6):900.
- [17] Wiillner P. Animal models as stimulations of depression[J]. Trends Pharmacol Sci, 1991(12):131.
- [18] Lai M Y, Hsiu S L, Tsai S Y, et al. Comparison of metabolic pharmacokinetics of baicalin and baicalein in rats[J]. J Pharm Pharmacol, 2003, 55(2):205.
- [19] Chen X, Wang H, Du Y, et al. Quantitation of the flavonoid wogonin and its major metabolite wogonin-7 beta-D-glucuronide in rat plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2002, 775(2):169.
- [20] 路通,宋珏,谢林,等. HPLC法同时测定灌胃黄芩水煎剂后大鼠血浆中黄芩苷和汉黄芩苷的质量浓度及药动学研究[J]. 中草药, 2005, 36(6):870.
- [21] 丁芳林,张雯杰,陈波,等. HPLC法测定黄芩提取物中4种主要活性成分的含量[J]. 湖南农业科学, 2008(3):128.
- [22] 李晓明,罗毓健,袁媛. 高效液相色谱法测定黄芩愈伤组织中黄芩苷、黄芩素含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(8):1.

[责任编辑 聂淑琴]