

# 香附提取物的抗抑郁活性及其作用机制研究

周中流<sup>1\*</sup>, 刘永辉<sup>2</sup>

(1. 湛江师范学院 化学科学与技术学院制药工程系, 广东 湛江 524048;  
2. 湖南省新邵县红十字会医院, 湖南 邵阳 422000)

**[摘要]** 目的: 筛选香附抗抑郁活性部位并初步探讨其抗抑郁作用机制。方法: 小鼠 ig 香附各提取物给药量均为  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 阳性对照药氟西汀 ( $0.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 连续给药 15 d 后进行测试, 采用小鼠强迫游泳实验和小鼠尾悬挂实验对香附醇提物及其各极性部位进行抗抑郁活性筛选, 继而采用反相高效液相色谱法测定大鼠额叶皮质中单胺类神经递质含量变化, 探讨香附抗抑郁作用机制。结果: 香附醇提取物的乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位与对照品氟西汀类似, 均能显著缩短小鼠游泳和悬尾的不动时间, 乙酸乙酯萃取部位活性强于正丁醇萃取部位。乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位可明显升高小鼠额叶皮质 5-羟色胺 (5-HT) 和多巴胺 (DA) 含量 ( $P < 0.01$ ), 去甲肾上腺素 (NE) 含量无明显改变。结论: 香附醇提物乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位对“行为绝望”动物模型有较明显的抗抑郁作用, 其作用机制可能与调节脑内单胺类神经递质 5-HT 和 DA 的含量有关。

**[关键词]** 香附; 抗抑郁作用; 药理活性; 作用机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)07-0191-03

## Study on Antidepressant Effect and Mechanism by *Cyperus rotundus* Extracts

ZHOU Zhong-liu<sup>1\*</sup>, LIU Yong-hui<sup>2</sup>

(1. Pharmacy Engineering Department of Chemistry Science and Technology School,  
Zhanjiang Normal University, Zhanjiang 524048, China;

2. Red Cross Hospital at Xinshao County of Hunan Province, Shaoyang 422000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To screen the antidepressant fractions from *Cyperus rotundus* and investigate the possible a mechanism. **Method:** The extract and florentine were orally given to mice at a dosage of  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $0.08 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  per day, respectively. The swimming test and the tail suspension test were applied to observe the antidepressant effect of *C. rotundus* extracts. The content of serotonin (5-HT), dopamine (DA) and noradrenalin (NE) was determined by RP-HPLC method to study the mechanism of *C. rotundus* extracts. **Result:** The ethyl acetate and *n*-butanol fractions from the ethanol extract of *C. rotundus* significantly shortened immobility time in swimming test and the tail suspension test. The ethyl acetate and *n*-butanol fractions from the ethanol extract of *C. rotundus* markedly increased the content of 5-HT and DA with no action of NE. **Conclusion:** The ethyl acetate and *n*-butanol fractions from the ethanol extract of *C. rotundus* can produce an antidepressant effect, the mechanism of which may be related to affecting the 5-HT and DA nervous system. They may be the active part of *C. rotundus*.

**[Key words]** *Cyperus rotundus*; antidepressant effect; pharmacology activity; mechanism

香附别名香草头, 作为我国传统中药材, 其味微

苦、辛、性平, 主治痛经、月经不调、消化不良、呕吐泛酸等, 具有行气解郁、调经止痛之功效。现代药理研究证明香附具有抗抑郁、抗肿瘤、抗乙酰胆碱酯酶活性和抗糖尿病等作用<sup>[1-2]</sup>。至今, 有关中药香附抗抑郁活性部位筛选及其作用机制没有相关文献报道。本实验对香附醇提物及其溶剂分级萃取的不同极性部位在小鼠强迫游泳和悬尾的抑郁模型上, 进

**[收稿日期]** 20110822(007)

**[基金项目]** 广东湛江师范学院自然科学研究项目博士专项 (ZL1009)

**[通讯作者]** \* 周中流, 博士, 讲师, 从事药物化学与天然药物化学研究, Tel: 0759-3182455, E-mail: zhou110zhong99@sohu.com

行了抗抑郁活性部位的初步筛选,并采用反相高效液相色谱法测定大鼠额叶皮质中单胺类神经递质含量变化以探讨香附抗抑郁作用机制。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 医用乙醇(汇海科仪科技有限公司);重蒸水;其他化学试剂均为分析纯。盐酸氟西汀对照品(Eli Lilly 有限公司,批号 001PD5)。去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)对照品均为 Sigma 公司产品。枸橼酸和 EDTA 均购自天津市大茂化学试剂厂。中药香附购自广东湛江东海岛香附子供应商有限公司,经笔者鉴定为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的根茎,样品保存在本研究室。

**1.2 动物** 昆明种雄性小鼠,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号 SCXK(沪)2007-0005,体重(20±2)g。

**1.3 仪器** RE-52A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);Sartorius-BS124S 型电子分析天平(德国赛多利斯股份有限公司)。Water 510 型高效液相色谱仪,ESA C4-926 电化学检测器(ESA Bioscience Inc),Phenomenex C<sub>18</sub> 反相色谱柱。悬尾支架(自制)。

## 2 方法

**2.1 供试品的制备** 取香附干燥根茎(粉碎)用 75% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 3 h,趁热过滤,合并滤液并减压蒸干,得到香附醇总提取物。取醇总提取物热水溶解后,依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯和正丁醇萃取 3 次,减压浓缩各萃取液和水液,得到 5 个萃取部位:石油醚萃取部位、氯仿萃取部位、乙酸乙酯萃取部位、正丁醇萃取部位和水部位。

**2.2 分组与给药** 80 只小鼠,适应性饲养 3 d,按体重随机分为 8 组,即空白对照组、盐酸氟西汀组(80 mg·kg<sup>-1</sup>)、香附醇提取物组(10 g·kg<sup>-1</sup>)、香附水萃取组(10 g·kg<sup>-1</sup>)、香附正丁醇萃取组(10 g·kg<sup>-1</sup>)、香附乙酸乙酯萃取组(10 g·kg<sup>-1</sup>)、香附氯仿萃取组(10 g·kg<sup>-1</sup>)和石油醚萃取组(10 g·kg<sup>-1</sup>)。实验给药量由 LD<sub>50</sub> 设计剂量实验初步确定。

**2.3 对小鼠强迫游泳不动时间的影响** 小鼠本室饲养 3 d 后,连续给药 15 d。末次给药 1 h 后,测定强迫游泳的小鼠不动时间。参照 Porsolt 等<sup>[3-4]</sup>的方法,水缸高 20 cm,直径 14 cm,水深 10 cm,水温 25 ℃,将小鼠放入水中 6 min,记录后 4 min 内累计不动时间。所谓不动是指小鼠在水中停止挣扎,或动物呈漂浮状态,仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面。选择游泳的不动时间为 60~180 s 的实验

数据进行统计学处理。

**2.4 对小鼠悬尾不动时间的影响**<sup>[5]</sup> 各组小鼠连续给药 15 d,于末次给药后 1 h,将小鼠倒置固定于悬尾装置上,头部距离地面约 10 cm,悬挂两侧用板隔开动物视线,以防止相互影响。观察并记录各组小鼠悬尾 6 min 内后 4 min 的不动时间。

**2.5 RP-HPLC 测定单胺类神经递质的含量**

**2.5.1 色谱条件** Phenomenex C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相 80 mmol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾溶液:150 mmol·L<sup>-1</sup>枸橼酸:0.1 mol·L<sup>-1</sup> EDTA:甲醇为 87:20:2:16,使用前经 0.45 μm 微孔滤膜过滤 2 次,并超声 15 min;流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温室温。电化学检测器为玻璃工作电极,Ag/AgCl 参比电极,工作电压为 +0.25 V;进样量 20 μL。

**2.5.2 单胺类神经递质含量分析样品制备方法** 最后一次行为学实验之后立即将动物断头处死,取小鼠大脑额叶皮质做单胺类神经递质测定实验。在冰浴上迅速取出大脑皮层,称重。将称重后的组织块倒入玻璃匀浆器中,充分研磨使组织匀浆化。将匀浆液加入离心管,加 0.4 mol·L<sup>-1</sup>高氯酸溶液适量,涡流 2 min,以 10 000 r·min<sup>-1</sup>离心 15 min(-4 ℃)。将离心后的上清液转入离心管中,再以 10 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,取上清液用 0.4 mol·L<sup>-1</sup>高氯酸溶液定容至 1 mL,涡流混匀,得样品溶液。取样品溶液 20 μL 注入液相色谱仪,根据测得的峰面积按回归方程计算神经递质的含量。

**2.6 统计学处理** 实验数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 11.0 软件处理分析,组间差异采用 Student's *t* 检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠悬尾不动时间的影响** 与空白对照组比较,香附醇提取物、香附乙酸乙酯萃取部位和香附正丁醇萃取部位明显缩短小鼠强迫悬尾不动时间(*P* < 0.05)。其他部位也有缩短不动时间的作用趋势,但与空白对照组相比无显著性差异。活性成分集中在乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位。见表 1 和图 1。

**3.2 对小鼠强迫游泳不动时间的影响** 与空白对照比较,香附乙醇提取物及其 3 个不同极性部位可明显缩短小鼠强迫游泳不动时间。其中,香附乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位缩短小鼠强迫游泳不动时间更为明显(*P* < 0.01)。见表 1 和图 2。

**3.3 对抑郁大鼠神经递质含量的影响** 与空白组相比,模型组小鼠大脑皮层 DA, NE, 5-HT 减少(*P* <

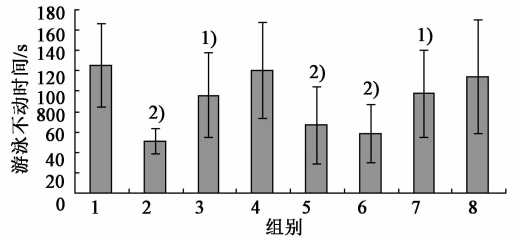
表 1 小鼠游泳及悬尾不动时间的试验设计 (n = 10)

试验分组	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	组别
1	-	空白对照
2	0.08	氟西汀
3	10	香附乙醇提取
4	10	香附水萃取
5	10	香附正丁醇萃取
6	10	香附乙酸乙酯萃取
7	10	香附氯仿萃取
8	10	香附石油醚萃取

0.01)。与模型组比较,阳性药氟西汀能显著提高大脑皮层 5-HT 的含量 ( $P < 0.01$ ),而对 DA 和 NE 无显著影响。香附乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位都能显著提高大脑皮层 DA 和 5-HT 的含量 ( $P < 0.01$ ),而对 NE 无显著影响。见表 2。

#### 4 讨论

小鼠强迫游泳实验和悬尾实验为经典的抑郁动物实验模型,小鼠的不动状态反应了行为的绝望状态以及对刺激的无反应状态<sup>[6-9]</sup>。香附醇提取物及



与空白对照组(1)相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (组别剂量同表 1,图 2 同)

图 1 香附不同提取部位对小鼠游泳不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

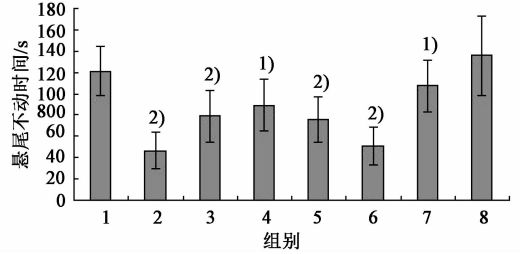


图 2 香附不同提取部位对小鼠悬尾不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

表 2 香附提取部位对小鼠大脑皮层神经递质的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

ng·g<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	DA	NE	5-HT
空白	-	96.8 ± 26.3 <sup>2)</sup>	173.9 ± 37.4 <sup>2)</sup>	119.3 ± 30.2 <sup>2)</sup>
模型	-	54.7 ± 14.7 <sup>1)</sup>	137.5 ± 40.1 <sup>1)</sup>	62.3 ± 20.4 <sup>1)</sup>
氟西汀	0.08	72.4 ± 16.1	152.1 ± 42.2	172.9 ± 59.9 <sup>2)</sup>
香附乙醇提取	10	112.1 ± 27.1 <sup>2)</sup>	143.2 ± 36.3	112.5 ± 61.8
香附正丁醇萃取	10	105.5 ± 30.2 <sup>2)</sup>	164.8 ± 60.4	115.4 ± 25.1 <sup>2)</sup>
香附乙酸乙酯萃取	10	103.4 ± 25.2 <sup>2)</sup>	179.5 ± 32.6	97.3 ± 8.6 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。

其 3 个萃取部位能显著缩短小鼠悬尾和强迫游泳等经典症状模拟抑郁模型的不动时间,其中乙酸乙酯萃取部位和正丁醇萃取部位的作用非常显著,表明香附提取物具有较好的抗抑郁活性,其有效成分主要集中在乙酸乙酯和正丁醇萃取部位。本实验所选用的阳性对照药氟西汀是一种选择性 5-HT 再摄取抑制剂,它能提高突触间隙前膜对 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<sup>[10]</sup>。与模型组比较,氟西汀显著增加了 5-HT 的含量,而对 NE 和 DA 无显著影响。香附乙酸乙酯和正丁醇萃取部位都能显著提高 5-HT 和 DA 的含量,而对 NE 无显著影响。由此,可以推测香附抗抑郁有效成分的作用可能是通过调节脑内单胺类神经递质 5-HT 和 DA 的含量有关。关于香附抗抑郁活性成分有待进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 徐燕,李大详,凌铁军,等. 香附化学成分研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(11): 214.  
 [2] 刘成彬,张少聪,李青天. 香附的现代药理研究进展

[J]. 光明中医, 2009, 24(4): 787.  
 [3] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1982: 646.  
 [4] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice A primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1977, 229 (2): 327.  
 [5] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998: 1062.  
 [6] 钟海波,潘颖,孔令东. 淫羊藿提取物抗抑郁作用研究[J]. 中草药,2005,36(10): 1506.  
 [7] 陆蕊杭,王丽娜,王丽岩,等. 抑郁平胶囊对小鼠抗抑郁作用研究及有效部位筛选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 174.  
 [8] 沈晓明,韩宁,马云枝,等. 舒郁颗粒对卒中后抑郁大鼠模型海马单胺类神经递质及炎症细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 177.  
 [9] 卢峻,时宇静,图娅. 解郁汤对小鼠强迫游泳的作用及机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2003, 9(4): 49.  
 [10] 周本宏,黄付伟,刘敏,等. 香砂六君子汤的抗抑郁活性部位筛选[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(5): 609.

[责任编辑 聂淑琴]