

醋制香附挥发油抗抑郁活性及化学成分分析

刘欢¹, 张孟历¹, 于猛², 鲍守民³, 张宏武², 贾红梅^{2*}, 邹忠梅^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 中国医学科学院&北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193

3. 青海大学生态环境工程学院, 青海 西宁 810016

摘要: 目的 评价醋制香附挥发油抗抑郁活性并分析其化学成分。方法 应用小鼠敞箱、悬尾和强迫游泳实验模型考察水蒸气蒸馏提取的醋制香附挥发油(3.9 g生药量/kg)对小鼠自主活动、悬尾和强迫游泳不动时间的影响,以盐酸氟西汀为阳性对照;应用ELISA检测小鼠脑皮质中5-羟色胺(5-HT)的含量;采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用分析醋制香附挥发油化学成分,通过NIST MS search 2.0谱库检索鉴定结构。结果 醋制香附挥发油对敞箱实验中小鼠的自主活动无影响,表明其不具有中枢神经系统兴奋作用;与对照组比较,醋制香附挥发油可显著缩短小鼠悬尾的不动时间($P < 0.01$),亦可缩短小鼠强迫游泳不动时间,但不具有显著性差异;醋制香附挥发油可显著升高小鼠脑皮质中5-HT的含量($P < 0.01$);从挥发油中共鉴定36个化合物,其中 α -香附酮的相对含量最高,达15.93%,其它含量较高的成分主要为烯类和酮类成分,依次为异长叶烯-5-酮(8.53%)、氧化石竹烯(3.76%)、Ledene oxide-(II)(3.48%)和桉油烯醇(3.45%)。结论 醋制香附挥发油具有抗抑郁作用,提高脑组织中5-HT的含量是其抗抑郁作用机制之一;主要组成成分有: α -香附酮、异长叶烯-5-酮、氧化石竹烯、Ledene oxide-(II)和桉油烯醇等。

关键词: 醋制香附;挥发油;抗抑郁;5-羟色胺;化学成分;气相色谱-质谱(GC-MS)联用; α -香附酮

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)03-0436-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.03.012

Antidepressant activity evaluation and GC-MS analysis of volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome*

LIU Huan¹, ZHANG Mengli¹, YU Meng², BAO Shoumin³, ZHANG Hongwu², JIA Hongmei², ZOU Zhongmei²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. School of Ecological Environment Engineering, Qinghai University, Xining 810016, China

Abstract: **Objective** To evaluate the antidepressant activity and analysis its chemical compositions of the volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome*. **Methods** The volatile oil was extracted by steam distillation method. Mice acute stress models (tail suspension and forced swimming test) were applied to evaluate the antidepressant effects and open box experiment to detect mouse's autonomous activity. The content of serotonin (5-HT) in cerebral cortex of mice was detected by ELISA method. The chemical constituents of volatile oil were analyzed by GC-MS, and further identified through comparison with the data in NIST MS search 2.0. **Results** The results of open box experiment showed that the volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome* has no central nervous system excitatory effect. Compared with the normal group, volatile oil treatment significantly shortened the immobility time was in tail suspension test ($P < 0.01$). It also shortened the immobility time in force swimming test but had no significantly. Volatile oil can significantly increase the content of 5-HT. A total of 36 compounds were identified in the volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome*. Among them, α -cyperone was the main compound and its relative content was as high as 15.93%. The other

收稿日期: 2019-11-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(81503230、81973461);国家“重大新药创制”科技重大专项(2018ZX09711001-008)

第一作者: 刘欢(1995-),女,硕士研究生,研究方向为中药及复方药效物质基础和作用机制。Tel: (010)57833302 E-mail: 903028654@qq.com

*通信作者: 邹忠梅,女,研究员,研究方向为中药及复方药效物质基础研究。Tel: (010)57833290 E-mail: zzmou@implad.ac.cn

贾红梅,女,副研究员,研究方向为中药药效物质基础研究。Tel: (010)57833302 E-mail: hmjia@implad.ac.cn

components with higher content were mainly alkenes and ketones, such as isolongifolene-5-one (8.53%), caryophyllene oxide (3.76%), ledene oxide - (II) (3.48%) and cineole (3.45%). **Conclusion** The results indicated that the volatile oil of *Cyperi rhizome* processing with vinegar exhibit anti-depression effect and increase the level of 5-HT would be one of its mechanism of action. The main components have α -cyperone, isolongifolene-5-one, caryophyllene oxide, ledene oxide- (II) and cineole and so on.

Key words: *Cyperi rhizome* processing with vinegar; volatile oil; antidepressant; 5-HT; chemical constituents; GC-MS; α -cyperone

香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,味辛、微苦、性平,入肝、脾、三焦三经,具有行气解郁,调经止痛功效,常用于肝郁气滞,胸胁、脘腹胀痛,胸脘痞闷等症状^[1]。香附的化学成分多样,包括挥发油、黄酮、糖、三萜等成分^[2-5]。其中,挥发油是香附的主要成分,具有多种生物活性,包括镇痛^[6]、抗炎^[7]、抗焦虑^[8]及雌激素样^[9]等。李世英等^[8]开展了香附药材挥发油对慢性束缚应激小鼠焦虑行为改善作用的观察,发现香附挥发油可通过调节中枢胆碱能系统起到抗焦虑作用。王明君等^[10]研究发现,香附药材95%醇提物能够显著缩短小鼠悬尾和强迫游泳不动时间,明显升高小鼠大脑额叶皮质5-羟色胺(5-HT)和多巴胺含量。本课题组前期采用网络药理学方法对香附开展了抗抑郁作用靶点及通路分析,发现其可能通过改善神经元细胞损伤以及调节炎症反应和免疫反应起到抗抑郁疗效^[11]。中医理论认为,醋味酸为肝所喜,故能引药入肝^[12-13],香附醋制后,能增强其疏肝止痛之功效,在临床治疗肝郁气滞的经典复方如柴胡疏肝散、越鞠丸中均为醋制香附^[14],但目前尚无针对醋制香附开展抗抑郁活性评价及成分的研究。

小鼠悬尾和强迫游泳实验是经典的抑郁药物筛选动物实验模型,小鼠的不动状态反映其行为的绝望状态以及对应激的无反应状态^[15],小鼠不动时间的缩短体现了药物的抗抑郁疗效。因此,为了明确醋制香附挥发油是否具有抗抑郁作用以及发挥作用可能的化学成分,本研究采用小鼠行为绝望模型(悬尾和强迫游泳),对醋制香附挥发油抗抑郁作用进行了评价,检测给药小鼠脑皮质部位5-HT含量,初步评价并推断其抗抑郁作用机制;并通过气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对挥发油化学成分进行定性鉴定,为香附挥发油抗抑郁作用药效物质基础研究提供依据。

1 材料

1.1 试剂

醋制香附药材,购自北京同仁堂药店,批号201803,经中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所张本刚研究员鉴定为莎草科植物莎草

Cyperus rotundus L. 的干燥根茎;盐酸氟西汀,规格为10 mg/片,批号20170829,购自常州四药制药有限公司;实验用纯净水,娃哈哈纯净水;正己烷,欧普森色谱级公司;聚山梨酯-80,批号20180201,购自天津市光复精细化工研究所;5-HT ELISA检测试剂盒,批号20181020,购自上海优选生物科技有限公司。

1.2 实验仪器

气相-色谱质谱联用仪,仪器型号:Thermo ISQ(美国Thermo公司);离心机型号:KQ-118B超声振荡仪(昆山市超声仪器有限公司);酶标仪型号:Tecan Infinite F50酶标仪(R&D公司);自制小鼠悬尾实验观察箱20cm实验观察箱,5L玻璃烧杯、计时器。

1.3 实验动物

雄性ICR小鼠,体质量18~22 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号SCXK(京)2016-0006。小鼠每笼6只群养,自由摄食饮水,室温23~25℃,湿度50%,自由摄食饮水,12 h光照。动物在新环境中适应7 d,剔除自主活动状态异常小鼠后开始实验。

2 方法

2.1 挥发油的制备

挥发油制备步骤按照《中国药典》2015年版挥发油测定法(通则2204甲法)提取制备^[16],药材粉碎成粗粉,称取100 g,置于圆底烧瓶中,加10倍量蒸馏水浸泡过夜,置电热套中缓缓加热至沸,保持微沸提取6 h,静置30 min,于提取器下端接取挥发油于离心管中,13 000 r/min离心5 min,取上清,置于棕色小瓶中,即得挥发油,提取率为0.55%(1 mL/100 g)。

2.2 实验分组

小鼠随机分为3组:对照组、盐酸氟西汀(20 mg/kg)组、醋制香附挥发油(3.9 g生药量/kg)组,每组12只。对照组:给予1%的聚山梨酯-80生理盐水溶液;盐酸氟西汀组:盐酸氟西汀片研磨粉碎后,溶于1%的聚山梨酯-80生理盐水溶液;挥发油组:混悬挥发油溶于聚山梨酯-80溶液后,配制成1%的溶液,给药剂量依据课题组前期剂量筛选结果,为

香附临床最高给药剂量的3.39倍^[17]。每天ig给药1次,连续给药14 d。

2.3 小鼠自主活动实验

采用底面为正方形的敞箱,长100 cm、宽100 cm、高50 cm,底面用黑线分为100个面积相近的扇形。实验时将小鼠放在敞箱正中心,以小鼠5 min内水平运动越格数(至少3爪跨过边界)评价其运动性;以垂直运动直立次数(两前爪离开地面)评价其探究性。分别于给药前和给药7 d后观察小鼠在敞箱内的活动,记录5 min内水平运动越格数以及垂直运动直立的次数。通过比较各给药组给药前后自主运动变化情况来考察醋制香附挥发油是否有自主兴奋作用。

2.4 小鼠悬尾应激实验

于第12天给药后1 h进行实验,实验采用文献中建立的方法^[18]加以改进:悬尾箱大小为30 cm×30 cm×60 cm,顶部中心设置一个小夹子,将医用胶布粘在小鼠尾端2 cm处,用夹子夹住胶布,使小鼠呈倒悬姿势,头部离箱底约10 cm,观察6 min,记录后4 min的累计不动时间。不动的判断标准为动物静止不动、不挣扎。实验采用盲法,即实验人员不知道动物的给药情况,且实验前训练实验人员、制定实验评判标准、操作方式和实验命令口号等,并且保证实验环境的隔离和安静。

2.5 小鼠强迫游泳实验

连续ig给药14 d,于第14天末次给药后1 h进行实验。实验依据Porsolt建立的方法^[19-20]加以改进,将小鼠放入高30 cm、直径14 cm、水深15 cm的烧杯中,每缸测量1只小鼠,水温(22±1)℃。实验时,小鼠在缸中游泳6 min,记录后4 min内小鼠的累计不动时间。不动时间是指小鼠在水中停止挣扎、呈漂浮状态,或仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面的时间。实验采用盲法,即实验人员不知道动物的给药情况,且实验前训练实验人员、制定实验评判标准、操作方式和实验命令口号等,并且保证实验环境的隔离和安静。

表1 给药前与给药7天后各给药组小鼠开场实验自主运动变化情况($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 1 The spontaneous movement changes of each group before and after 7 days treatment ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	水平运动/次		垂直运动/次	
		给药前	给药7 d后	给药前	给药7 d后
对照	—	161.1±10.5	163.3±14.3	25.3±2.4	22.6±1.5
盐酸氟西汀	0.02	165.4±12.9	164.1±10.3	27.4±1.7	29.0±4.2
醋制香附挥发油	3.9	166.2±11.4	164.7±12.3	29.4±2.1	28.9±3.1

2.6 小鼠脑皮质中5-HT含量检测

实验结束后立即处死小鼠,冰浴上快速分离脑皮质,液氮冻存,转移于-80℃冰箱保存。检测前取出样本,室温解冻,按照小鼠5-HT ELISA检测试剂盒说明书进行操作。

2.7 GC-MS分析

2.7.1 样品制备 精密称取适量挥发油,溶于正己烷溶液中,配制质量浓度为5 mg/mL的样品溶液,待测。

2.7.2 GC-MS检测条件 色谱条件:色谱柱:TG-5MS 30 m×0.32 mm×0.25 μm弹性石英毛细管柱;柱温60℃(保持4 min)以5℃/min升至110℃,以4℃/min的速度上升至135℃,以2℃/min的速度上升至160℃(保持3 min),以15℃/min上升至250℃(保持1 min);载气:高纯He(99.999%);载气流速1.0 mL/min;进样量2 μL。

质谱条件:离子源:EI源;离子源温度250℃;电子能量70 eV;溶剂延迟4 min;扫描范围 m/z :35~500,质谱检索标准库:NIST MS search 2.0。

2.7.3 样品制备 精密称取适量挥发油,溶于正己烷溶液中,配制浓度为5 mg/mL的样品溶液,待测。

2.8 数据统计分析

采用SPSS 17.0统计软件分析数据,各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 醋制香附挥发油对小鼠自主活动的影响

小鼠敞箱试验自主活动变化见表1,各组在给药7 d后与给药前进行比较,小鼠水平运动和垂直运动均无显著性差异,表明醋制香附挥发油对小鼠自主活动没有影响,提示其无中枢神经系统兴奋作用,排除了由于药物神经兴奋作用可能带来的假阳性结果。

3.2 醋制香附挥发油对小鼠悬尾不动时间的影响

小鼠悬尾实验结果如表2所示,与对照组比较,醋制香附挥发油可显著缩短小鼠悬尾不动时间($P < 0.01$),不动时间缩短率达39.53%,与阳性药盐酸

表2 醋制香附挥发油对小鼠悬尾不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Effect of volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome* on immobility times in tail suspension test ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	悬尾不动时 间/s	缩短率/%
对照	—	85.11±9.90	—
盐酸氟西汀	0.02	48.24±15.97**	43.32
醋制香附挥发油	3.9	51.47±9.37**	39.53

与对照组比较:** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

氟西汀作用相似,提示醋制香附挥发油具有明显的抗抑郁活性。

3.3 醋制香附挥发油对小鼠强迫游泳不动时间的影响

小鼠强迫游泳实验结果如表3所示,与对照组比较,醋制香附挥发油可缩短小鼠游泳不动时间,与阳性药盐酸氟西汀一样,均不具有显著性差异。结果提示,醋制香附挥发油对强迫游泳造成的抑郁症状具有一定的改善作用。

表3 醋制香附挥发油对小鼠强迫游泳不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 3 Effect of volatile oil from vinegar-made *Cyperi rhizome* on the immobility times in forced swimming test ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	不动时间/s	缩短率/%
对照	—	89.17±25.56	—
盐酸氟西汀	0.02	69.04±26.39	22.57
醋制香附挥发油	3.9	70.18±22.41	21.30

3.4 醋制香附挥发油对小鼠脑皮质中5-HT含量的影响

如图1所示,与对照组比较,醋制香附挥发油和阳性药盐酸氟西汀均可显著增加小鼠脑皮质中5-HT的含量($P < 0.01$)。结果提示,升高脑组织中5-HT含量是醋制香附挥发油抗抑郁起效机制之一。

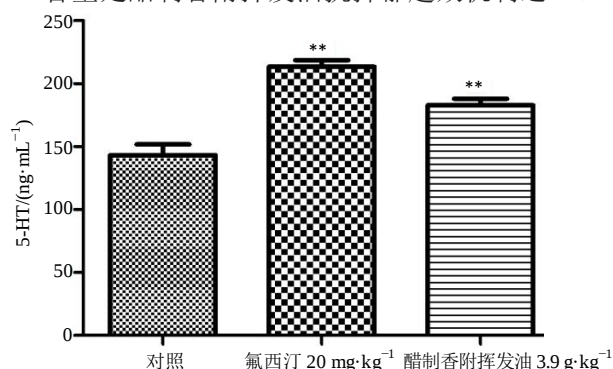


图1 各组小鼠脑皮质中5-HT含量柱状图($\bar{x} \pm s, n=12$)

Fig. 1 Contents of 5-HT in the cerebral cortex of each groups ($\bar{x} \pm s, n=12$)

3.5 醋制香附挥发油化学成分分析

按照优化的GC-MS条件进行数据检测,质谱仪记录质谱图,总离子流图见图2。进一步通过与NIST MS search 2.0谱库进行离子碎片比对,并结合标准质谱图鉴定了醋制香附挥发油中的36个化学成分(表4)。以面积归一化法测定挥发油中各成分的相对百分含量,其中 α -香附酮的含量最高,相对含量高达15.93%,其它含量较高的成分主要为烯类和酮类成分,按照相对含量由高至低依次为异长叶烯-5-酮(8.53%)、氧化石竹烯(3.76%)、Ledene oxide-(II)(3.48%)和桉油烯醇(3.45%)。

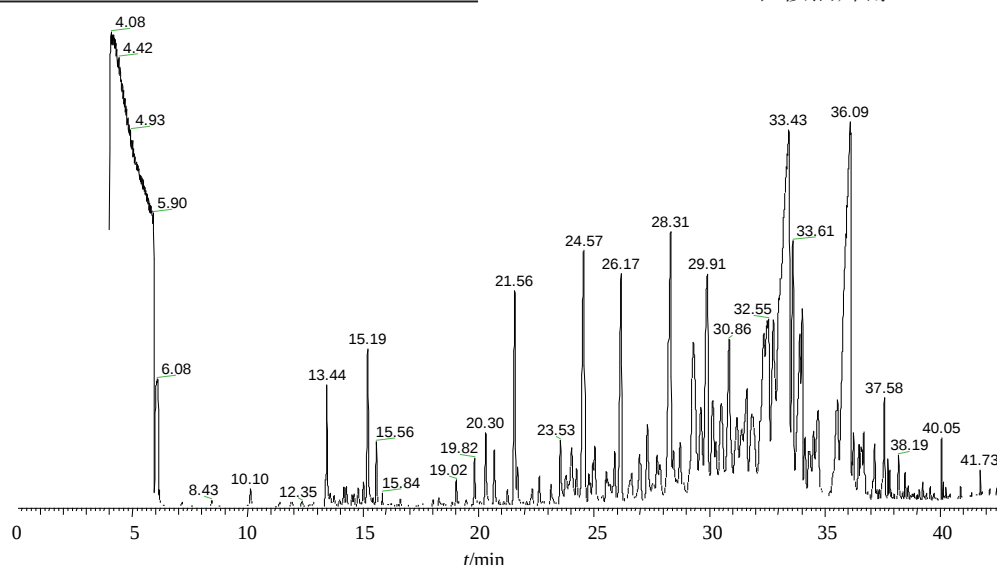


图2 醋制香附挥发油的GC-MS总离子流图

Fig. 2 Total ion current diagram of GC-MS of volatile oil from vinegar made *Cyperi rhizome*

表4 GC-MS 鉴定醋制香附挥发油中的化学成分

Table 4 The chemical constituents in the volatile oil from vinegar-made Cyperi rhizome detected by GC-MS

编号	保留时间/min	化合物中文名称	化合物英文名称	分子式	相对分子质量	质量分数/%
1	8.43	β -蒎烯	β -pinene	C ₁₀ H ₁₆	136.23	0.05
2	9.89	邻异丙基甲苯	1-isopropyl-2-methylbenzene	C ₁₀ H ₁₄	134.22	0.01
3	10.11	桉叶油醇	cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.17
4	12.66	(+)-葑醇	fenchyl alcohol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.01
5	13.44	松香芹醇	10-pinen-3-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	1.39
6	13.97	5-异丙基双环[3.1.0]己烷-2-酮	sabina ketone	C ₉ H ₁₄ O	138.21	0.06
7	14.15	香芹蒎酮	pinocarvone	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	0.19
8	14.50	蒎蒎酮	pinocamphone	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	0.09
9	14.60	(-)-4-萜品醇	(-)-4-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.12
10	14.81	三甲基苯异丙醇	2-(4-methylphenyl)propan-2-ol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	0.19
11	15.00	松油醇	(S)-2-(4-methyl-3-cyclohexenyl)-2-propanol	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	0.21
12	15.19	(-)-桃金娘烯醇	(1R)-(-)-myrtenol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	1.69
13	15.56	马鞭草烯醇	(-)-verbenone	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	0.57
14	15.84	反-香芹醇	trans-carveol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	0.11
15	16.60	左旋香芹酮	L(-)-carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	0.06
16	18.02	对异丙基苯甲醇	cumicalcohol	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	0.05
17	18.28	紫苏醇	perilla alcohol	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	0.08
18	19.03	1,1-二甲基-2-亚甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	1,1-dimethyl-2-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	C ₁₄ H ₂₄	192.34	0.24
19	21.56	1,1,3a,7-四甲基-1a,2,3,3a,4,5,6,7 β -八氢-1H-环丙烷[a]萘	1,1,3a,7-tetramethyl-1a,2,3,3a,4,5,6,7 β -octahydro-1H-cyclopropa[a]naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	2.59
20	22.31	4,5-二甲基-1,2,3,6,7,8,8a,8 β -八氢联苯	4,5-dimethyl-1,2,3,6,7,8,8a,8 β -octahydrobiphenylene	C ₁₄ H ₂₀	188.31	0.23
21	23.53	1,2,3,3a,4,7,8,8a-八氢萘-1,4-二甲基-4,7-(2-甲基乙基)-萘	rotundene	C ₁₅ H ₂₄	204.35	0.74
22	23.77	4,6,10,10-四甲基-5-氧杂三环[4.4.0.0(1,4)]癸烷-2-烯-7-醇	4,6,10,10-Tetramethyl-5-oxatricyclo[4.4.0.0(1,4)]dec-2-en-7-ol	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	208.30	0.27
23	24.23	4a-甲基-4,4a,5,6,7,8,9,10-八氢苯并[8]环-2(3H)-酮	4a-methyl-4,4a,5,6,7,8,9,10-octahydrobenzo[8]annulen-2(3H)-one	C ₁₂ H ₁₈	178.27	0.29
24	26.17	桉油烯醇	espatulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	3.45
25	26.62	A-二去氢菖蒲烯	α -calacorene	C ₁₅ H ₂₀	200.32	0.54
26	28.31	氧化石竹烯	caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	3.76
27	29.34	氧化喇叭烯	ledene oxide-(II)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	3.48
28	33.44	异长叶烯-5-酮	Isolongifolen-5-one	C ₁₅ H ₂₂ O	218.33	8.53
29	36.10	α -香附酮	α -cyperone	C ₁₅ H ₂₂ O	218.33	15.93
30	37.58	诺卡酮	nootkatone	C ₁₅ H ₂₂ O	218.33	1.21
31	38.61	1,2,2,4-四(丙-2-亚甲基)环丁烷	1,2,3,4-tetra(propan-2-ylidene)cyclobutane	C ₁₆ H ₂₄	216.36	0.11
32	39.72	6-(3-羟基丙-1-烯-2-基)-4,8a-二甲基-3,5,6,7,8,8a-六氢萘-2(1H)-酮	6-(3-hydroxyprop-1-en-2-yl)-4,8a-dimethyl-3,5,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-2(1H)-one	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	218.33	0.05
33	40.05	6-(3-羟基丙-1-烯-2-基)-4,8a-二甲基-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢萘-2-醇	6-(3-hydroxyprop-1-en-2-yl)-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydronaphthalen-2-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	0.30
34	40.13	棕榈酸	palmitic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	0.13
35	40.87	2,6,6,11-四甲基三环[5.4.0.0(2,8)]十一烷-10-烯-9-酮	longiver benone	C ₁₅ H ₂₂ O	218.33	0.06
36	41.73	1,2,3,3a,4,5,5a,6,7,8,8a,9,10,10a-十四氢吡喃	1,2,3,3a,4,5,5a,6,7,8,8a,9,10,10a-Tetradecahydopyrene	C ₁₆ H ₂₄	216.36	0.10

4 讨论

香附是传统的理气中药,被誉为“气病之总司,女科之主师”,因其行气解郁的功效,临床用于脑卒中后抑郁症的治疗^[21]。本课题组前期应用网络药理学研究方法,开展了香附抗抑郁作用靶点和通路分析,发现其可能通过改善神经元细胞损伤以及调节炎性反应和免疫反应从而起到抗抑郁疗效^[11]。香附醋制后,醋能引药入肝经^[12-13],增强香附疏肝止痛之功,临床治疗肝郁气滞的方剂中均为醋制香附^[14]。本文针对醋制香附的主要活性部位——挥发油开展了抗抑郁药效评价,并通过测定脑组织中5-HT含量初步揭示了其起效机制。同时,基于GC-MS技术对其化学组成开展了定性鉴别分析。

小鼠行为绝望模型主要是模拟人类无法逃避的压抑状态,从而表现出典型的“行为绝望状态”,因其方便快捷,多被用于抗抑郁药物的筛选^[15]。本文复制该动物模型,并应用于醋制香附挥发油抗抑郁活性评价研究。结果发现,醋制香附挥发油可显著缩短小鼠悬尾不动时间,也可减少强迫游泳小鼠不动时间,提示醋制香附挥发油具有抗抑郁作用。

5-HT是单胺类神经递质,在大脑皮层质及神经突触内含量很高,是一种强血管收缩剂和平滑肌收缩刺激剂^[22]。5-HT参与多种中枢神经系统功能活动,特别是情绪的调节过程^[23],已有研究表明,中枢神经系统5-HT含量及功能异常可导致抑郁症的发生^[24-27]。5-HT再摄取抑制作为一类抗抑郁药已在临床被开发应用^[25]。本研究发现,醋制香附挥发油可能通过显著增加小鼠脑皮质中5-HT的含量来发挥抗抑郁作用,这一发现为醋制香附挥发油抗抑郁起效机制研究奠定了基础。

香附挥发油成分主要是倍半萜类化合物^[28],目前已经分离出一百余种^[29]。现有香附挥发油成分研究多集中在生香附药材,不同产地的香附挥发油组成成分含量差异较大^[30]。以挥发油主要成分 α -香附酮为例,8个不同产地香附药材中 α -香附酮的含量差异大,相对含量变化范围在8.64%~41.07%^[31]。比较分析生香附和醋香附的挥发油成分及含量差异时发现,香附醋制后 α -香附酮的含量(17.56%)低于生香附(19.10%)^[32]。本文研究发现,经水蒸气蒸馏提取制备的醋制香附挥发油中,除含量较高的 α -香附酮(15.93%)外,还含有较高含量的异长叶烯-5-酮(8.53%),氧化石竹烯(3.76%)、ledene oxide-(II)(3.48%)和桉油烯醇(3.45%),但这些成分对抗抑郁活性的贡献及作用机制尚有待进

一步研究。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2015.
- [2] 张跃飞,李鑫,孟宪生,等.香附挥发油的生物活性及其GC-MS分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(14): 32-35.
- [3] 林三清,周中流,张华林,等.香附挥发油的提取工艺及其化学成分研究[J].岭南师范学院学报,2017,38(3): 52-62.
- [4] Lawal O A, Oyediji A O. Chemical composition of the essential oils of *Cyperus rotundus* L. from South Africa [J]. Molecules, 2009, 14(8): 2909-2917.
- [5] 胡栋宝,陆卓东,伍贤学.中药香附子化学成分及药理活性研究进展[J].时珍国医国药,2017,28(2): 430-432.
- [6] 陈运,赵韵宇,王晓轶,等.鲜香附挥发油镇痛活性及其GC-MS分析[J].中药材,2011,34(8): 1225-1229.
- [7] 解宇环,沈映君,纪广亮,等.香附、藿香挥发油抗炎、镇痛、解热作用的实验研究[J].四川生理科学杂志,2005,27(3): 137.
- [8] 李世英,谢云亮.香附挥发油对慢性束缚应激小鼠焦虑行为的影响[J].中成药,2018,40(10): 2140-2143.
- [9] 温东婷,张蕊,陈世忠.香附化学成分分离及对未孕大鼠离体子宫肌收缩的影响[J].北京大学学报:医学版,2003,35(1): 110-111.
- [10] 王君明,马艳霞,张蓓,等.香附提取物抗抑郁作用研究[J].时珍国医国药,2013,24(4): 779-781.
- [11] 贾红梅,唐策,刘欢,等.基于网络药理学的香附抗抑郁作用机制研究[J].药物评价研究,2019,42(1): 49-55.
- [12] 季宁平.醋香附疏肝解郁药效物质基础研究[D].成都:成都中医药大学,2015.
- [13] 肖海青.浅谈香附的药效与临床应用[J].健康之路,2013,12(12): 496.
- [14] 王联生,潘菊华.香附及其复方抗抑郁应用[J].时珍国医国药,2017,28(5): 1180-1182.
- [15] 孙晓燕,陈艾东.抑郁模型的选择策略和优缺点分析[J].医学理论与实践,2018,31(22): 3342-3344, 3349.
- [16] 中国药典[S].四部,2015.
- [17] 刘洋.基于网络药理学和代谢组学策略的香附抗抑郁药效物质基础及作用机制研究[D].天津:天津中医药大学,2017.
- [18] 张军田.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.
- [19] 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.
- [20] 徐淑云,卞如瀛,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1982: 646.
- [21] 段艳霞,李洁,史美育.中药治疗中风后抑郁症用药规

- 律探讨 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(6): 1419-1421.
- [22] 张明森. 精细有机化工中间体全书 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [23] 赵晨. Kv7.4通道在DRN区5-HT神经元兴奋性调节和动物抑郁样行为中的作用 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.
- [24] 李雨潼, 蔡定芳. 抑郁症发病机制及其中医药治疗研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2018, 31(15): 2234-2235, 2246.
- [25] Nordquist N, Orelund L. Serotonin, genetic variability, behaviour, and psychiatric disorders a review [J]. Ups J Med Sci, 2010, 115(1): 2-10.
- [26] 杨先荣, 宋晓攀, 曾成碧, 等. 脑内5-羟色胺的生理特点及检测途径 [J]. 四川精神卫生, 2017, 30(2): 196-200.
- [27] 谷正松, 李建其. 5-HT再摄取抑制/5-HT受体亚型多重作用抗抑郁药物研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(11): 1481-1491.
- [28] 林晓珊, 吴惠勤, 黄芳, 等. 香附挥发油的提取和GC/MS分析 [J]. 质谱学报, 2006, 27(1): 40-44.
- [29] 刘亚萍, 于生, 陈佩东. 不同产地的香附及香附炭挥发油成分分析 [J]. 中国药业, 2013, 22(16): 13-14.
- [30] 田友清, 丁平. 香附挥发油的研究进展及其开发前景 [J]. 中国药业, 2010, 19(3): 1-2.
- [31] 赵新慧, 宿树兰, 段金廛, 等. 香附药材质量相关性分析研究 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(2): 187-192.
- [32] 徐黔江, 王颖, 李零, 等. 醋炙香附与生香附挥发油成分的比较 [J]. 贵阳医学院学报, 2006, 31(5): 413-415.