

推进作用可能与肠动力相关。为此在探讨紫苏叶油对胃肠动力障碍模型大鼠结肠肌条张力影响的基础上,为避免神经、体液因素的干扰,本实验采用离体单个平滑肌细胞分离技术,观察了紫苏叶油对结肠平滑肌细胞收缩活动的直接作用。结果表明,31.25~250 $\mu\text{g/mL}$ 紫苏叶油可促进结肠平滑肌细胞收缩,其效应呈剂量依赖关系,最大效应质量浓度为 250 $\mu\text{g/mL}$ 。当紫苏叶油质量浓度大于 250 $\mu\text{g/mL}$ 时,对细胞收缩作用反呈下降趋势,500 $\mu\text{g/mL}$ 对细胞收缩作用明显低于 250 $\mu\text{g/mL}$ ($P<0.01$)。提示,药物对细胞的作用效应存在一个适宜浓度范围,不及或超越这个范围不但不能达到预期的疗效,甚至适得其反。

研究证实,钙离子在介导平滑肌收缩反应中起核心作用^[5]。平滑肌细胞收缩时,细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 升高源于细胞外钙内流和细胞内钙库的释放。细胞外的 Ca^{2+} 可通过质膜离子通道进入细胞内,主要包括电压门控钙通道和配体门控钙通道,前者是胞外 Ca^{2+} 内流的主要通道^[6]。本实验选用钙螯合剂 EGTA 螯合细胞外缓冲液中的 Ca^{2+} ,观察其对紫苏叶油刺激结肠平滑肌细胞收缩的影响,结果紫苏叶油对细胞收缩效应明显降低($P<0.01$)。进一步观

察了 L 型 Ca^{2+} 通道阻断剂维拉帕米的影响,紫苏叶油收缩作用完全被抑制($P<0.01$)。且 EGTA 和维拉帕米对紫苏叶油刺激细胞收缩效应影响无差异($P>0.05$)。提示,紫苏叶油通过促进细胞外 Ca^{2+} 内流介导结肠平滑肌细胞的收缩,且主要经 L 型 Ca^{2+} 通道实现。紫苏叶油对结肠平滑肌细胞收缩作用是否与胞内钙库 Ca^{2+} 释放有关,有待于进一步研究。

References:

- [1] Koezuka Y, Honda G, Tabata M. An intestinal propulsion promoting substance from *Perilla frutescens* and its mechanism of action [J]. *Planta Med*, 1985 (6): 480.
- [2] Yassin M M I, Barros D' S A, Parks T G, et al. Lower limb ischemia-reperfusion injury alters gastrointestinal structure and function [J]. *Br J Surg*, 1997, 84: 1425-1429.
- [3] Xie Y C, Tang F. Experimental study on protecting intestinal barrier function of Huoxiang Zhengqi Soft Capsule [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(3): 252-254.
- [4] Xie Y C, Tang F. Experimental study on protecting intestinal barrier function of Huoxiang Zhengqi Soft Capsule [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(5): 456-458.
- [5] Boyer J C, Magous R, Christen M O, et al. Contraction of human colonic circular smooth muscle cells is inhibited by the calcium channel blocker pinaverium bromide [J]. *Cell Calci*, 2001, 29(6): 429-438.
- [6] Nelson M T, Quayle, J M. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268: c799-c822.

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

王卫星,胡新颖,刘 鹏,郭洪祝*,果德安

(北京大学药学院 生药学生物技术研究室,北京 100083)

抑郁症是一种以显著而持久的心境低落为主要特征的综合症,已经成为危害现代人类健康的重要疾病之一,据世界卫生组织预测,到 2020 年抑郁症将成为仅次于心脏病的第二大疾病^[1]。目前抑郁症主要采用化学药物治疗,存在疗效较低,不良反应较大的弊端。因此,国内外在抗抑郁药物的研制与开发方面逐渐重视传统药物和天然药物^[2]。天然黄酮类化合物广泛存在于药用植物、水果和蔬菜中,现代药理研究表明,其在心血管系统、内分泌系统和抗肿瘤方面具有明显的药理作用^[3]。近年来,黄酮类化合物的抗抑郁作用陆续有了研究报道^[4,5],其中对抗抑郁

植物药贯叶金丝桃的研究发现,黄酮类化合物在其抗抑郁有效成分中发挥着重要的作用^[4]。这些研究结果提示黄酮类化合物可能是一类安全有效的抗抑郁先导化合物,但是目前关于黄酮类化合物的抗抑郁作用仅见零散报道,其结构与活性之间的联系未见研究。鉴于此,本实验拟通过研究常见黄酮类化合物的抗抑郁活性,来阐述可能存在的构效关系。通过利用经典抗抑郁模型——小鼠强迫游泳实验和小鼠悬尾实验对所选择的 10 个典型天然黄酮类化合物的抗抑郁活性作了初步的筛选。

1 实验材料

收稿日期:2006-10-21

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7062039)

作者简介:王卫星(1980—),男,江苏吴江人,北京大学药学院硕士研究生。E-mail: wangwx@bjmu.edu.cn

* 通讯作者 郭洪祝 Tel/Fax: (010) 82802024 E-mail: guohz@bjmu.edu.cn

1.1 实验动物:ICR 雄性小鼠, (24±2) g, 由北京大学医学部实验动物科学部提供, 饲养在 25℃ 条件下, 实验前稳定 3 d, 自由进食饮水。

1.2 药物:阳性对照药:盐酸氟西汀, 美国 Lilly 公司, 质量分数大于 98%。空白组去离子水为阴性对照。金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁、槲皮素、槲皮素-3-O-洋槐糖苷、二氢槲非醇、落新妇苷、黄芩苷、2-羟基-柚皮素、2-羟基-柚皮素-7-O-葡萄糖苷 10 个黄酮类化合物为本室自不同植物中分离得到, 并经 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 和 ESI-MS 确证结构, 经 HPLC 检查, 质量分数均大于 95%。

2 实验方法

2.1 药物溶液的配制和给药方法:所试药物均用去离子水溶解, 氟西汀给药剂量为 20 mg/kg, 金丝桃苷等 10 个受试化合物分别设置 10、20、40 mg/kg 做为低、中、高 3 个剂量组, 所有药物均为 ig 给药。

2.2 小鼠强迫游泳实验

2.2.1 实验装置:直径 10 cm、高 20 cm 的大烧杯, 内装 10 cm 高的水, 水温控制在 (25±1)℃, 每做完一只后即换水。

2.2.2 分组方法:每组 10 只, 5 组。ig 给药, 给药量 0.1 mL/10 g。

2.2.3 实验方法:实验开始前 30 min 给药, 30 min 后将小鼠放入烧杯中游泳 6 min, 记录后 4 min 内的不动时间。整个过程用数码摄像记录, 结果评判由非实验人员完成, 以保证结果客观^[6]。

2.3 小鼠悬尾实验

2.3.1 实验装置:带有横杠的实验架, 横杠距平面 25 cm, 夹住小鼠尾部末端约 2 cm 处, 头部距平面约 5 cm。

2.3.2 分组方法:每组 10 只, 5 组, ig 给药, 给药量 0.1 mL/10 g。

2.3.3 实验方法:实验开始前 30 min 给药, 然后将小鼠悬挂在横杠上 6 min。用数码摄像记录实验过程, 由非实验人员计算绝对不动时间, 实验数据进行统计学检验, 比较给药组与空白组是否有显著差异^[7]。

2.4 小鼠自主运动实验:使用小鼠自由活动计时器, 仪器分为 4 个直径 15 cm 的圆柱形暗室, 小鼠给药 30 min 后, 每个暗室放 1 只, 仪器自动记录 5 min 内小鼠自主运动情况。动物给药方法与剂量均与活性实验一致。

2.5 数据统计处理:实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单向方差分析 (ANOVA) 检测。

3 结果

3.1 小鼠强迫游泳实验:统计结果表明, 10 mg/kg 金丝桃苷, 落新妇苷和黄芩苷的 3 个剂量组与空白组相比都能够显著降低小鼠强迫游泳的不动时间, 结果见表 1。

表 1 10 个黄酮类化合物对小鼠强迫游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of ten flavonoids on immobility time of mice in forced-swimming test ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	不动时间/ s	组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	不动时间/ s
空白	—	120.6±23.4	空白	—	131.4±17.9
氟西汀	20	52.2±20.3***	氟西汀	20	54.1±14.6***
金丝桃苷	10	86.5±29.2*	二氢槲非醇	10	128.4±36.4
	20	118.2±24.8		20	122.8±28.9
	40	92.9±20.8		40	125.1±35.2
空白	—	136.5±36.5	空白	—	145.8±34.7
氟西汀	20	59.2±15.5***	氟西汀	20	54.5±19.1***
异槲皮苷	10	126.6±19.6	落新妇苷	10	74.5±38.7***
	20	126.6±15.6		20	91.3±27.5**
	40	129.9±22.2		40	58.9±18.5***
空白	—	128.6±36.0	空白	—	137.1±26.8
氟西汀	20	53.2±20.5***	氟西汀	20	57.7±21.7***
芦丁	10	126.5±30.8	黄芩苷	10	68.7±27.8***
	20	131.7±15.0		20	106.8±25.6*
	40	153.8±34.3		40	72.1±35.5**
空白	—	96.6±11.7	空白	—	131.7±28.8
氟西汀	20	60.7±11.5***	氟西汀	20	42.6±17.8***
槲皮素	10	66.3±25.5*	2-羟基-柚皮素	10	133.7±23.6
	20	111.4±46.2		20	152.6±22.7
	40	123.0±40.3		40	143.6±30.9
空白	—	131.2±24.3	空白	—	112.4±22.8
氟西汀	20	50.0±24.7***	氟西汀	20	43.7±19.3***
槲皮素-3-O-洋槐糖苷	10	146.5±32.0	2-羟基-柚皮素-7-O-葡萄糖苷	10	124.2±18.9
	20	126.1±24.8		20	112.9±46.3
	40	130.2±20.6		40	122.2±29.7

与空白组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs blank group

3.2 小鼠悬尾实验:统计分析的结果与强迫游泳实验结果一致, 10 mg/kg 金丝桃苷, 落新妇苷和黄芩苷 3 个剂量组与空白组相比都能够显著降低小鼠悬尾的不动时间, 结果见表 2。

3.3 自主运动实验:各给药组小鼠的自主运动情况与阳性对照和空白之间没有显著差异, 说明实验结果非所试药物的神经兴奋性所致。

4 讨论

小鼠强迫游泳和悬尾模型, 各自提供了一个无法回避的压迫环境, 实验中小鼠所体现出来的不动状态, 反映了一种被称之为“行为绝望和扭曲”或“对强压环境适应的失败”状态^[8]。这两种行为绝望模型对绝大多数抗抑郁药敏感, 操作简单快捷, 被广泛用

表2 10个黄酮类化合物对小鼠悬尾不动时间的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of ten flavonoids on immobility time
of mice in tail suspension test ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	不动时间/ s	组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	不动时间/ s
空白	—	111.5 ± 16.7	空白	—	84.5 ± 29.9
氟西汀	20	52.9 ± 22.2***	氟西汀	20	47.6 ± 23.4***
金丝桃苷	10	74.0 ± 25.5*	二氢槲皮素	10	79.0 ± 13.1
	20	97.3 ± 30.8		20	85.4 ± 19.2
	40	94.6 ± 30.6		40	95.8 ± 22.3
空白	—	114.6 ± 40.9	空白	—	88.8 ± 17.2
氟西汀	20	56.5 ± 21.3***	氟西汀	20	40.8 ± 19.9***
异槲皮苷	10	97.0 ± 22.2*	落新妇苷	10	58.8 ± 16.4**
	20	95.2 ± 21.4		20	55.3 ± 22.3*
	40	98.3 ± 20.0		40	46.5 ± 24.5**
空白	—	118.5 ± 54.6	空白	—	80.0 ± 12.8
氟西汀	20	48.8 ± 14.6***	氟西汀	20	41.4 ± 22.5***
芦丁	10	90.5 ± 20.3	黄芩苷	10	45.1 ± 24.8**
	20	91.7 ± 39.5		20	65.8 ± 25.7
	40	94.7 ± 13.5		40	39.9 ± 15.6***
空白	—	96.5 ± 29.9	空白	—	100.6 ± 33.7
氟西汀	20	42.7 ± 22.2***	空白	20	37.8 ± 11.3***
槲皮素	10	53.7 ± 19.0*	2-羟基-	10	93.8 ± 7.3
	20	65.4 ± 24.0	槲皮素	20	99.3 ± 24.3
	40	74.5 ± 22.8		40	91.6 ± 17.9
空白	—	76.8 ± 18.4	空白	—	107.9 ± 29.6
氟西汀	20	40.4 ± 14.9***	氟西汀	20	55.5 ± 16.1***
槲皮素-3-O-	10	71.6 ± 13.3*	2-羟基-槲皮	10	102.0 ± 29.2
洋槐糖苷	20	97.6 ± 25.4	素-7-O-葡	20	81.5 ± 35.0
	40	79.7 ± 21.1	萄糖苷	40	104.0 ± 33.3

与空白组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs blank group

于该类药物的初筛。

本实验使用这两个经典模型对金丝桃苷等10个典型天然黄酮类化合物进行了初步的抗抑郁活性筛选。发现10 mg/kg 金丝桃苷,落新妇苷和黄芩苷3个剂量组与空白相比都能够显著降低小鼠强迫游泳和悬尾的不动时间,表明金丝桃苷、落新妇苷和黄芩苷可能具有一定的抗抑郁活性。

从结构上来看,本实验所试的化合物涵盖了黄酮醇及其单糖苷和双糖苷、二氢黄酮醇单糖苷以及黄酮的葡萄糖醛酸苷类等结构类型。通过对5个以槲皮素为苷元的化合物的活性测试可以看出,只有其半乳糖苷——金丝桃苷表现出弱的抗抑郁作用,

这与文献报道一致;其余化合物包括槲皮素,均未表现出抗抑郁活性。从所试的二氢黄酮类化合物的结果来看,落新妇苷表现出较好的抗抑郁作用,似乎提示了二氢黄酮类化合物的结构更有抗抑郁作用潜力。黄芩苷也表现出较好的抗抑郁作用,这个化合物含有葡萄糖醛酸基团,有趣的是,Butterweck 等^[4]曾报道槲皮素的葡萄糖醛酸苷类化合物 miquelianin 也表现出较好的抗抑郁活性。通常,葡萄糖醛酸化是机体对外源物质代谢的主要途径之一,通过该途径既可以增加吸收又有利于排出。因此,黄芩苷除自身结构有可能产生抗抑郁作用外,其易于机体的吸收^[9]也是一个不可忽视的因素。显然,这些化合物的活性结果还需要进行慢性应激实验的验证,其可能的作用机制也需要通过对其脑内单胺类神经递质的检测等手段作进一步的探讨,而更完整的构效关系的阐明,需要更多结构的化合物进行系统的研究。

References:

- [1] World Bank: *Global Economic Prospects and Developing Countries* [M]. Washington, DC: World Bank, 1993.
- [2] Zhang Z J. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders [J]. *Life Sci*, 2004, 75: 1659-1699.
- [3] Hua H, Guo Y. Research progress of pharmacology study of flavonoids [J]. *Guangdong Pharm Sci* (广东药学), 1999, 9 (4): 9-12.
- [4] Butterweck V, Jurgensliemk G, Nahrstedt A, et al. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test [J]. *Planta Med*, 2000, 66: 3-6.
- [5] 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): 474-480.
- [6] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn*, 1977, 229: 327-336.
- [7] Steru L, Chermat R, Thierry, B, et al. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. *Psychopharmacology*, 1985, 85: 367-370.
- [8] Willner P. Animal models as stimulations of depression [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1991, (12): 131-138.
- [9] Che Q M, Huang X L, Li Y M, et al. Studies on metabolites of baicalin in human urine [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 26(11): 768-769.

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

作者: [王卫星](#), [胡新颖](#), [刘鹏](#), [郭洪祝](#), [果德安](#)
作者单位: [北京大学药学院, 生药学生物技术研究室, 北京, 100083](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38(6)
被引用次数: 10次

参考文献(9条)

1. [World Bank](#) [Global Economic Prospects and Developing Countries](#) 1993
2. [Zhang Z J](#) [Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders](#)[外文期刊] 2004
3. [Hua H;Guo Y](#) [Research progress of pharmacology study of flavonoids](#) 1999(04)
4. [Butterweck V;Jurgenliemk G;Nahrstedt A](#) [Flavonoids from Hypericum perforatum show antidepressant activity in the forced swimming test](#)[外文期刊] 2000(1)
5. [Nakazawa T;Yasuda T;Ueda J](#) [Antidepressant-like effects of apigenin and 2,4,5-trimethoxycinnamic acid from Perilla frutescens in the forced swimming test](#)[外文期刊] 2003(04)
6. [Porsolt R D;Bertin A;Jalfre M](#) [Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants](#) 1977
7. [Steru L;Chermat R;Thierry B](#) [The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice](#)[外文期刊] 1985
8. [Willner P](#) [Animal models as stimulations of depression](#)[外文期刊] 1991(12)
9. [Che Q M;Huang X L;Li Y M](#) [Studies on metabolites of baicalin in human urine](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2000(11)

本文读者也读过(10条)

1. [吴煜](#), [项新新](#), [WU Yu](#), [XIANG Xin-xin](#) [花椒多酚类化合物急性给药的抗抑郁作用及机制研究](#)[期刊论文]-[海峡药学](#) 2010, 22(11)
2. [肖新荣](#), [刘传湘](#), [高治平](#), [祝良勇](#), [陈孟辉](#), [XIAO Xin-Rong](#), [LIU Chuan-Xiang](#), [GAO Zhi-Ping](#), [ZHU Liang-Yong](#), [CHEN Meng-Hui](#) [3-甲基-5-苯基-2-芳基吗啉盐酸盐合成及其抗实验性抑郁活性](#)[期刊论文]-[应用化学](#) 2007, 24(6)
3. [赖亚辉](#), [马中春](#), [潘丽新](#) [仙人掌抗氧化作用的研究](#)[期刊论文]-[中国老年学杂志](#) 2006, 26(9)
4. [曹高](#), [胡艾希](#) [盐酸2-芳基-3,5-二甲基-2-吗啉醇的不对称合成及抗抑郁活性](#)[会议论文]-2006
5. [万德光](#), [裴瑾](#), [周明眉](#), [王光志](#) [三种贯叶连翘组用植物醇提物对小鼠的抗抑郁作用](#)[期刊论文]-[中药材](#) 2003, 26(3)
6. [王丽君](#) [光轴苎叶药的抗抑郁活性部位及其成分分离](#)[学位论文]2008
7. [李云峰](#), [杨明](#), [袁莉](#), [赵毅民](#), [栾新慧](#), [罗质璞](#) [槲皮素-3-芹菜糖基芦丁糖甙对小鼠的抗抑郁作用](#)[期刊论文]-[中国药理学与毒理学杂志](#) 2000, 14(2)
8. [阙灵](#) [氧苷对位希夫碱衍生物的合成及其抗抑郁活性的探索研究](#)[学位论文]2005
9. [张庆建](#), [赵毅民](#), [杨明](#), [王莹](#) [黄酮类化合物对中枢神经系统的作用](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2001, 26(8)
10. [郝吉莉](#), [周兰兰](#), [司力](#), [江秋虹](#), [马颖](#), [颜海燕](#), [HAO Jili](#), [ZHOU Lanlan](#), [Si Li](#), [JIANG Qihong](#), [MA Ying](#), [YAN Haiyan](#) [黄蜀葵总黄酮抗脑卒中后抑郁作用的研究](#)[期刊论文]-[中国药房](#) 2007, 18(12)

引证文献(11条)

1. [田宝成](#), [贾昌平](#), [杨军涛](#), [李彦冰](#) [Box-Behnken效应面法优化红旱莲总黄酮提取工艺的研究](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2010(3)
2. [刘健翔](#), [方吟荃](#), [魏峥曦](#), [杨幸巧](#), [曾玲晖](#) [槲皮素与贯叶连翘提取物合用抗抑郁作用初步研究](#)[期刊论文]-[浙江大学学报（医学版）](#) 2013(6)
3. [杨连荣](#), [张哲锋](#), [齐乐辉](#), [杨军涛](#), [王金杰](#), [李彦冰](#) [长柱金丝桃抗抑郁作用有效部位的实验研究](#)[期刊论文]-[哈尔滨商业大学学报（自然科学版）](#) 2010(1)
4. [龚金炎](#), [洪辉](#), [吴晓琴](#), [张英](#) [黄酮类化合物的促氧化作用及其细胞毒性研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2008(12)
5. [曹小帅](#), [沙美](#), [欧阳强](#), [潘金火](#), [林萍](#) [黄蜀葵花中4种黄酮类成分体内整合药动学研究](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2010(2)
6. [赵东海](#), [张以忠](#), [郑中华](#) [2',4'-二羟基查尔酮类化合物的抗抑郁活性研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2010(5)
7. [龚金炎](#), [吴晓琴](#), [毛建卫](#), [张英](#) [黄酮类化合物抗抑郁作用的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2011(1)
8. [龚金炎](#), [吴晓琴](#), [毛建卫](#), [张英](#) [黄酮类化合物抗抑郁作用的研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2011(1)
9. [尹兴斌](#), [曲昌海](#), [张晓燕](#), [张慧](#), [冯丽君](#), [曹飒丽](#), [倪健](#) [贯叶金丝桃中金丝桃苷在比格犬体内的药代动力学研究](#)[期刊论文]-[中国实验方剂学杂志](#) 2013(2)
10. [周俊](#), [周德生](#) [天然黄酮类化合物对心脑血管的药理研究进展](#)[期刊论文]-[中西医结合心脑血管病杂志](#) 2010(6)
11. [朱琳](#) [抗抑郁植物药的研究进展](#)[期刊论文]-[医药导报](#) 2010(10)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706043.aspx