

罗布麻叶总黄酮抗抑郁作用及其机制研究

郑梅竹¹, 吴山力², 时东方¹, 刘春明^{1*}

1. 长春师范学院 中心实验室, 吉林 长春 130032

2. 吉林大学白求恩医学院 生物化学与分子生物学系, 吉林 长春 130021

摘要:目的 探讨罗布麻叶总黄酮的抗抑郁作用及与多巴胺能系统相关的可能机制。方法 采用经典的小鼠强迫游泳和悬尾抑郁模型, 观察罗布麻叶总黄酮的抗抑郁作用。同时观察多巴胺 D₁ 受体阻滞剂 SCH23390、D₂ 受体阻滞剂舒必利对小鼠强迫游泳和悬尾试验中罗布麻叶总黄酮抗抑郁作用的影响, 研究罗布麻叶总黄酮抗抑郁的作用机制。结果 罗布麻叶总黄酮具有明确的抗抑郁作用; SCH23390、舒必利与罗布麻叶总黄酮联合 ig 给药 10 d, 能明显延长悬尾小鼠累计不动时间 ($P < 0.05$)。结论 罗布麻叶总黄酮的抗抑郁作用与多巴胺能系统有关。

关键词: 罗布麻叶总黄酮; 抗抑郁作用; 多巴胺能系统; 强迫游泳试验; 悬尾试验

中图分类号: R282.710.5; R971.43

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)12-2468-03

Antidepressive-like effects of total flavonoids from *Apocynum venetum* leaves and their mechanisms

ZHENG Mei-zhu¹, WU Shan-li², SHI Dong-fang¹, LIU Chun-ming¹

1. The Central Laboratory, Changchun Normal University, Changchun 130032, China

2. Biochemical and Molecular Biological Department, Norman Bethune College of Medicine, Jilin University, Changchun 130021, China

Key words: total flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves (TFAVL); antidepressive-like effect; dopaminergic systems; forced swimming test; tail suspension test

从植物中寻找高效低毒的抗抑郁药成为近几年精神类药物研究领域中新方向。罗布麻叶为夹竹桃科植物罗布麻 *Apocynum venetum* L. 的干燥叶, 在我国分布范围广泛, 资源非常丰富, 其茶饮及药用有悠久的历史, 具有清热利水、平肝安神的功能, 用于治疗高血压、心悸失眠、神经衰弱等症^[1]。近年来研究发现罗布麻叶还具有抗抑郁作用^[2], 该作用主要与其黄酮类化合物, 尤其是与金丝桃苷和异槲皮素有关, 但尚未得到证实^[3]。

单胺能系统在中枢神经系统中占有重要地位, 其末梢释放去甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT)、多巴胺 (DA) 等单胺类介质, 作用于下一个效应细胞。在抑郁症的发病机制中, 单胺类递质备受关注, NE、5-HT、DA 均被认为与抑郁症密切相关。传统

的抗抑郁药物普遍通过调节大脑内单胺能系统来达到抗抑郁的效果。本实验采用经典抑郁动物模型, 评价罗布麻叶总黄酮 (TFAVL) 的抗抑郁作用, 并选用相关多巴胺受体阻滞剂进一步探讨罗布麻叶总黄酮抗抑郁的作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

罗布麻叶总黄酮粉剂, 以金丝桃苷计质量分数 > 95%, 长春师范学院中心实验室提供; 盐酸氟西汀胶囊, 20 mg/粒, 上海中西制药有限公司, 批号 100102; 多巴胺 D₁ 受体阻滞剂 SCH23390、多巴胺 D₂ 受体阻滞剂舒必利, 均购自美国 Sigma 公司。羧甲基纤维素钠 (CMC-Na), 天津市光复精细化工研究所; 二甲基亚砜 (DMSO), 汕头市西陇化工厂。

收稿日期: 2012-03-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30970299); 吉林省科技厅重点项目 (20090936); 吉林省教育厅项目 ([2012]D228)

作者简介: 郑梅竹 (1981—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为生物技术。

Tel: (0431)86168874 Fax: (0431)86168875 E-mail: zhengmeizhu2008@126.com

*通讯作者 刘春明 Tel: (0431)86168777 E-mail: ccsfxy777@163.com

1.2 动物

雄性 ICR 小鼠, 体质量 20~22 g, 购自长春生物制品研究所生产管理中心, 合格证号: SCXD(吉) 2001-0003。

1.3 仪器

3K30 型低温超速离心机, 美国 Sigma 公司; 尤尼柯 UV—2800 紫外分光光度计, 尤尼柯仪器有限公司。

2 方法

2.1 分组与给药

强迫游泳试验和悬尾试验各采用 50 只小鼠。将 50 只小鼠随机分为 5 组, 分别为模型组, 盐酸氟西汀胶囊 (5 mg/kg) 阳性药组, 罗布麻叶总黄酮 (100、50、25 mg/kg) 3 个剂量组, 每组 10 只。各给药组每天 ig 给予相应药物 (溶于 1% CMC-Na 水溶液) 1 次, 连续给药 10 d, 模型组同时给以同体积的 1% CMC-Na 水溶液 20 mL/kg。末次给药后 1 h 开始进行各种测试。

2.2 小鼠强迫游泳试验

参照 Porsolt 等^[4]的方法, 加以改进。末次给药后 1 h, 将小鼠分别置于水温 (25±1) °C、深度 10 cm 的水中强迫游泳 6 min (先适应 2 min), 记录后 4 min 内小鼠累计不动时间。

2.3 小鼠悬尾试验

根据 Steru 等^[5]的方法, 加以改进。末次给药后 1 h, 将小鼠尾部距根部 2 cm 处的部分固定于自制的悬尾支架上, 使小鼠头部离台面约 5 cm 呈倒挂状态, 每只动物两侧用板隔开, 遮挡动物视线, 使之互相不干扰。观察各组动物在悬尾后 6 min 内后 5 min 的累计不动时间。

2.4 抗抑郁作用机制研究

2.4.1 多巴胺 D₁ 受体阻滞剂对罗布麻叶总黄酮作用的影响 健康小鼠 40 只随机分为 4 组: 模型组 (生理盐水)、多巴胺 D₁ 受体阻滞剂 SCH23390 (0.05 mg/kg) 组、罗布麻叶总黄酮 (50 mg/kg) 组、罗布麻叶总黄酮 (50 mg/kg) + SCH23390 (0.05 mg/kg) 组。每天 ig 给药 1 次, 连续给药 10 d。末次给药后 1 h, SCH23390 组、罗布麻叶总黄酮 + SCH23390 组均 sc SCH23390 (0.05 mg/kg) 药液, 模型组和罗布麻叶总黄酮组 sc 同体积生理盐水。30 min 后按“2.3”项方法对小鼠进行悬尾试验。

2.4.2 多巴胺 D₂ 受体阻滞剂对罗布麻叶总黄酮作用的影响 健康小鼠 40 只随机分为 4 组: 模型组、

舒必利 (50 mg/kg) 组、罗布麻叶总黄酮 (50 mg/kg) 组, 罗布麻叶总黄酮 (50 mg/kg) + 舒必利 (50 mg/kg) 组。每天 ig 给药 1 次, 连续给药 10 d。末次给药后 1 h, 舒必利组、罗布麻叶总黄酮 + 舒必利组均 ip 舒必利 50 mg/kg, 另两组均 ip 1% CMC-Na 水溶液。30 min 后按“2.3”项方法对小鼠进行悬尾试验。

2.5 数据处理

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 除作用机制研究结果组间差异采用双因素方差 (Two-way ANOVA) 分析外, 其他数据组间差异采用单因素方差 (One-way ANOVA) 分析。

3 结果

3.1 对小鼠强迫游泳行为的影响

与模型组相比, 罗布麻叶总黄酮各剂量组和盐酸氟西汀胶囊组均能明显缩短小鼠强迫游泳中的累计不动时间 ($P < 0.05$ 、 0.001)。结果见表 1。

3.2 对小鼠悬尾试验的影响

与模型组相比, 罗布麻叶总黄酮 100、50 mg/kg 组和盐酸氟西汀胶囊组均能明显缩短悬尾小鼠的累计不动时间 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 结果见表 2。

表 1 罗布麻叶总黄酮对小鼠强迫游泳试验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Effect of TFAVL on forced swimming test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	累计不动时间 / s
模型	—	168.80 ± 31.07
罗布麻叶总黄酮	100	113.20 ± 61.12*
	50	99.20 ± 43.22***
	25	94.30 ± 49.49***
盐酸氟西汀	5	90.20 ± 50.52***

与模型组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs model group

表 2 罗布麻叶总黄酮对小鼠悬尾试验的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 Effect of TFAVK on tail suspension test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	累计不动时间 / s
模型	—	142.10 ± 47.93
罗布麻叶总黄酮	100	75.00 ± 29.07**
	50	59.60 ± 26.82***
	25	118.10 ± 36.34
盐酸氟西汀	5	94.90 ± 27.32*

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

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

3.3 多巴胺 D₁ 受体阻滞剂对罗布麻叶总黄酮作用的影响

罗布麻叶总黄酮组能明显缩短悬尾小鼠累计不动时间, 与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$); 而罗布麻叶总黄酮与 SCH23390 同时给药明显延长悬尾小鼠累计不动时间, 与 SCH23390 组和罗布麻叶总黄酮组相比差异显著 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

3.4 多巴胺 D₂ 受体阻滞剂对罗布麻叶总黄酮作用的影响

罗布麻叶总黄酮组能明显缩短悬尾小鼠累计不动时间, 与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$); 而罗布麻叶总黄酮与舒必利同时给药能明显延长悬尾小鼠累计不动时间, 与舒必利组和罗布麻叶总黄酮组相比差异显著 ($P < 0.01$)。结果见表 4。

表 3 多巴胺 D₁ 受体阻滞剂 SCH23390 对小鼠悬尾试验中罗布麻叶总黄酮作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of SCH23390 on TFAVL efficacy in tail suspension test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组 别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	累计 不动时间 / s
模型	—	93.60 ± 33.09
SCH23390	0.05	115.30 ± 66.05
罗布麻叶总黄酮	50	57.22 ± 22.42*
罗布麻叶总黄酮 + SCH23390	50 + 0.05	160.50 ± 56.85 ^{***}

与模型组比较: * $P < 0.05$; 与 SCH23390 组比较: ^{##} $P < 0.01$

与罗布麻叶总黄酮组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs model group; ^{##} $P < 0.01$ vs SCH23390 group

^{▲▲} $P < 0.01$ vs TFAVL group

表 4 多巴胺 D₂ 受体阻滞剂舒必利对小鼠悬尾试验中罗布麻叶总黄酮作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of Sulpiride on TFAVL efficacy in tail suspension test in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组 别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	累计不动时间 / s
模型	—	113.40 ± 28.53
舒必利	50	148.30 ± 32.59
罗布麻叶总黄酮	50	77.20 ± 46.37*
罗布麻叶总黄酮 + 舒必利	50 + 50	144.70 ± 57.49 ^{***}

与模型组比较: * $P < 0.05$; 与舒必利组比较: ^{##} $P < 0.01$

与罗布麻叶总黄酮组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs model group; ^{##} $P < 0.01$ vs Sulpiride group

^{▲▲} $P < 0.01$ vs TFAVL group

4 讨论

本实验结果表明, 罗布麻叶总黄酮 100、50、25 mg/kg 均能显著缩短小鼠强迫游泳中的累计不动

时间, 剂量为 100、50 mg/kg 时均能明显缩短悬尾小鼠累计不动时间, 提示其具有显著的抗抑郁作用。

有关抑郁症的发病机制至今尚不清楚, 但存在诸多假说, 如单胺假说、受体假说、第二信使失调假说等, 其中单胺假说是最有名、最为大家广泛接受的假说之一。由于不少新型抗抑郁药物对多巴胺的具有明显抑制作用, 因此研究者们认为多巴胺系统在抑郁症的生化机制中起重要作用。动物实验已证实所有类型的抗抑郁药物均可引起多巴胺转运蛋白亲和力改变, 提示多巴胺转运蛋白的功能可能在抑郁症的病理生理中起关键作用。Brunswick 等^[6]检测了抑郁症患者和健康人脑中多巴胺转运蛋白结合位点的利用率, 发现抑郁症患者基底神经节多巴胺转运蛋白的亲和力可能比正常人更高, 提示抑郁症患者的多巴胺功能是可以改变的, 或许这正是抗抑郁药物作用的结果。Ossowska 等^[7]在研究长期不可预见性应激大鼠模型时发现, 长期应激处理后, 大鼠边缘系统的多巴胺 D₁ 受体密度显著增加 29%, 长期服用抗抑郁药物产生相反作用, 进一步证明多巴胺 D₁ 受体参与了抑郁症的病理机制, 这与本研究罗布麻叶总黄酮抗抑郁作用可能与多巴胺 D₁、D₂ 受体系统相关的结果一致。

本研究结果为进一步证实罗布麻叶总黄酮的抗抑郁机制奠定了基础, 同时为以罗布麻叶为物质基础研发新型抗抑郁药物提供了有力的实验依据。

参考文献

- [1] 侯晋军, 韩利文, 杨官娥, 等. 罗布麻叶化学成分和药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(10): I0009-I0011.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [3] Butterweck V, Simbrey K, Seo S, *et al.* Long-term effects of an *Apocynum velleturn* extract on brain monoamine levels and beta-AR density in rats [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, 75(3): 557-564.
- [4] Porsolt R D, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1997, 229(2): 327-336.
- [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): 367-670.
- [6] Brunswick D J, Amsterdam J D, Mozley P D, *et al.* Greater availability of brain dopamine transporters in major depression shown by [99mTc] TRODAT21 SPECT imaging [J]. *Am J Psychiatry*, 2003, 160(10): 1836-1841.
- [7] Ossowska G, Nowa G, Kata R, *et al.* Brain monoamine receptors in a chronic unpredictable stress model in rats [J]. *J Neural Transm*, 2001, 108(3): 311-319.