

## 异槲皮苷抗抑郁作用实验研究

张利斌<sup>1</sup>, 张晓庆<sup>1,2</sup>, 李玉平<sup>1</sup> (1. 同济大学附属上海市肺科医院药剂科, 上海 200433; 2. 上海交通大学附属第一人民医院药剂科, 上海 200080)

**[摘要]** 目的 研究异槲皮苷对抑郁症模型小鼠的抗抑郁活性。方法 ICR 小鼠, 随机分为空白模型组、阳性对照(盐酸氟西汀)组、异槲皮苷不同剂量组和 10% 异槲皮苷混合物不同剂量组, 观察异槲皮苷对小鼠强迫游泳实验和小鼠悬尾实验的影响。结果 与模型组相比, 0.3 mg/kg 槲皮苷和 3 mg/kg 10% 异槲皮苷混合物能显著缩短小鼠在绝望模型中的不动时间( $P < 0.01$ )。结论 低剂量的异槲皮苷具有一定的抗抑郁活性, 其机制可能与异槲皮苷的抗氧化作用及抑制皮质激素分泌有关。

**[关键词]** 异槲皮苷; 抗抑郁; 强迫游泳实验; 悬尾实验

**[中图分类号]** R961 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)04-0272-03

## Experimental study on the antidepressant activities of Isoquercitrin

ZHANG Li-bin<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-qing<sup>1,2</sup>, LI Yu-ping<sup>1</sup> (1 Department of Pharmacy, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200433, China; 2 Department of Pharmacy, The first People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the antidepressant activities of Isoquercitrin on desperate rats model. **Methods** ICR Mice were randomly divided into control group, fluoxetine hydrochloride group, Isoquercitrin and Isoquercitrin mixture of different dose groups. The Frost Swimming Test (FST) and the Tail Suspension Test (TST) in mice were applied to evaluate antidepressant activities. **Results** Compared with the control group, low dosages (0.3 mg/kg, 3mg/kg) of Isoquercitrin and 10% Isoquercitrin mixture had significantly reduced the immobility time in the behavior tests ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** Low dosage of Isoquercitrin showed some antidepressant activities, which was related to antioxidative effect and inhibiting of adrenocortical hormones.

**[Key words]** Isoquercitrin; antidepressant; the Forced Swimming Test; the Tail Suspension Test

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<sup>[1]</sup>。目前抑郁症的治疗主要采用化学药物, 存在疗效较低, 毒副作用大的弊端。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<sup>[2,3]</sup>。已有研究发现异槲皮苷具有一定的抗氧化, 抗肿瘤和抗血小板凝集作用<sup>[4]</sup>。本实验利用经典抗抑郁模型——小鼠强迫游泳实验和小鼠悬尾实验这两个模型对异槲皮苷及 10% 含量的异槲皮苷、芦丁混合物的抗抑郁活性作了初步的研究。

### 1 实验材料

**1.1 实验动物** ICR 雄性小鼠, (24±2) g, 由第二

军医大学实验动物中心提供, 饲养在 25℃ 条件下, 实验前稳定 3 d, 自由进食水。

**1.2 药物** 盐酸氟西汀 (fluoxetine hydrochloride, 美国 Lilly 公司; 纯度 > 98%), 异槲皮苷、10% 异槲皮苷与芦丁混合物 (第二军医大学天然药物化学教研室), 经 <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 确证结构, 经高效液相检测, 前者纯度大于 95%, 后者异槲皮苷含量为 10%。

### 2 实验方法

**2.1 药液配制和给药方法** 所有药物均用去离子水溶解, 盐酸氟西汀给药剂量为 20 mg/kg, 异槲皮苷给药剂量为 0.3、0.6、0.9、1.5 mg/kg 4 个剂量, 10% 异槲皮苷芦丁混合物剂量分别为 3、6、9、18、36 mg/kg 5 个剂量。所有药物均为灌胃给药。

**2.2 小鼠强迫游泳实验<sup>[5]</sup>** ①实验装置: 直径 10 cm, 高 20 cm 的大烧杯, 内装高 10 cm 的水, 水温控制在 (25±1)℃ 左右, 每次动物实验后换水。②分组方法: 每组 10 只小鼠, 5 组, 共 50 只小鼠。灌胃给药, 给药量 0.1 ml/10 g。③实验方法: 实验开始前

**[作者简介]** 张利斌 (1980-), 男, 主管药师, 学士。Tel: (021) 65115006-3079, E-mail: leebinz@gmail.com.

**[通讯作者]** 张晓庆。Tel: (021) 65115006-3080, E-mail: zxqkitten@163.com.

30 min 给药,然后将小鼠放入玻璃缸中游泳 6 min,记录后 4 min 的不动时间。整个过程用数码摄像记录,结果评判由非本实验人员完成,以保证结果客观。

**2.3 小鼠悬尾实验**<sup>[5]</sup> ①实验装置:带有横杠的实验架,横杠距平面 25 cm,小鼠悬挂在横杠下约 10 cm 处,距平面 15 cm。②分组方法:每组 10 只小鼠,5 组,共 50 只小鼠,灌胃给药,给药量 0.1 ml/10 g。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,由非本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。

**2.4 小鼠自主运动实验**<sup>[5]</sup> 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,每个暗室放一只,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** 实验结果均以均值±标准误差( $\bar{x}\pm s$ )表示。采用 *t* 检验统计分析。

### 3 结果

**3.1 自主运动实验结果** 如表 1 所示,各给药组小鼠的自主运动情况与空白组之间无显著差异,包括阳性对照药盐酸氟西汀,说明实验结果并非所试药物的神经兴奋性所致。

表 1 各组小鼠自主运动实验结果( $n=10, \bar{x}\pm s$ )

组别	计数(5 min 内)
空白	408.0±82.5
盐酸氟西汀	386.0±51
异槲皮苷	440.6±48.6
10%异槲皮苷-芦丁混合物	389.1±84.7

**3.2 小鼠强迫游泳实验结果** 异槲皮苷和 10%异槲皮苷分别进行强迫游泳实验,结果见表 2,表 3。

表 2 异槲皮苷对小鼠强迫游泳不动时间的影响( $n=10, \bar{x}\pm s$ )

组别	剂量(mg/kg)	不动时间(S)
空白	10 ml/kg	109.5±30.0
盐酸氟西汀	20	43.4±13.8 <sup>1)</sup>
异槲皮苷	0.3	62.9±19.1 <sup>1)</sup>
	0.6	90.9±28.7 <sup>2)</sup>
	0.9	93.8±26.6
	1.5	134.1±21.2

<sup>1)</sup>  $P<0.05$ , <sup>2)</sup>  $P<0.001$ ;与空白组相比较。

表 3 10%异槲皮苷对小鼠强迫游泳

不动时间的影响( $n=10, \bar{x}\pm s$ )

组别	剂量(mg/kg)	不动时间(S)
空白	10 ml/kg	26.7±23.9
盐酸氟西汀	20	64.5±9.7 <sup>1)</sup>
10%异槲皮苷-芦丁混合物	3	69.4±17.5 <sup>2)</sup>
	6	138.8±25.3
	9	136.7±28.9
	18	133.7±23.8
	36	127.7±23.3

<sup>1)</sup>  $P<0.05$ , <sup>2)</sup>  $P<0.001$ ;与空白组相比较。

**3.3 小鼠悬尾实验结果** 异槲皮苷和 10%异槲皮苷分别进行小鼠悬尾实验,根据实验统计结果,异槲皮苷和 10%异槲皮苷与空白相比能够显著降低小鼠的悬尾不动时间,结果见表 4,表 5。

表 4 异槲皮苷对小鼠悬尾不动时间的影响( $n=10, \bar{x}\pm s$ )

组别	剂量(mg/kg)	不动时间(S)
空白	10 ml/kg	85.3±18.8
异槲皮苷	0.3	39.6±18.1 <sup>1)</sup>
	0.6	55.4±20.7 <sup>2)</sup>
	0.9	93.8±31.5
	1.5	82.8±18.3
盐酸氟西汀	20	42.4±24.2 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>  $P<0.05$ , <sup>2)</sup>  $P<0.001$ ;与空白组相比较。

表 5 10%异槲皮苷对小鼠悬尾不动时间的影响( $n=10, \bar{x}\pm s$ )

组别	剂量(mg/kg)	不动时间(S)
空白	10 ml/kg	105.2±17.8
10%异槲皮苷-芦丁混合物	3	66.9±17.1 <sup>1)</sup>
	6	93.4±15.5
	9	95.4±21.7
	18	101.2±9.6
	36	104.5±24.22
盐酸氟西汀	20	37.5±16.0 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>  $P<0.001$ ;与空白组相比较。

### 4 讨论

小鼠强迫游泳和悬尾模型,都提供了一个无可回避的压迫环境,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(behavioral despair and variant)”或“对高压环境适应的失败(failure to adapt to stress)”状态<sup>[6]</sup>。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,被广泛用于该类药物的初筛<sup>[7]</sup>。本实验使用这个经典模型对异槲皮苷及 10%异槲皮苷芦丁混合物进行了初步的抗抑郁活性筛选,发现了 0.3、0.6 mg/kg 异槲皮苷和 3 mg/kg 的 10%异槲皮苷芦丁混合物能够显著减少小鼠游泳和悬尾的不动时间,表

(下转第 290 页)

合物含有两组亚甲基氢信号( $\delta$  2.52,  $\delta$  3.51), 每组两个氢。HMQC数据显示, 两组氢信号对应的亚甲基碳化学位移分别为  $\delta$  33.0 和  $\delta$  23.8。<sup>1</sup>H-NMR 中氢信号非常少, 可初步估计分子结构是成环状排列。<sup>13</sup>C-NMR 中 110-150 有 6 个峰, DEPT 谱中显示 6 个峰均为季 C, 表示有 6 取代苯环存在。结合相关谱图, 分析出化学结构式, 通过二维谱, 验证其正确性, 根据 HMQC, 可以对化合物的碳氢作进一步的归属。

综上所述, 推断化合物的结构如图 10, 为一新化合物。

### 3 讨论

山莓作为一种治疗腹泻、咽喉肿痛的草药, 在民间应用广泛。但迄今为止, 对山莓的化学成分和其活性的报道较少。作者对山莓干燥果实提取物进行了化学成分的系统分离, 鉴定了 10 个化合物。化合物 4、5、6、7、8、9 首次从山莓中分离得到, 化合物 10 是新化合物。对所得到的单体化合物的活性测试工作正在进行。

### 【参考文献】

- [1] 董振生, 程天印, 李 丹. 山莓叶化学成分分析及其生物碱的抗菌作用[J]. 畜牧兽医杂志, 2008, 27(6):25.
- [2] 张 敏. 湘西山莓叶有效成分提取分离结构鉴定及活性研究[D]. 湖南大学, 2006.
- [3] 陈炳华, 余 望, 刘剑秋. 山莓茎叶香豆素成分的初步研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2001, 17(3):81.
- [4] Feng SL, He L, Wang M, *et al.* Studies on the chemical constituents of Flower of David Lily[J]. China J Chinese Mater Med. 1994, (9):611.
- [5] Naya K, Hayashi M, Takagi I, *et al.* The structural elucidation of sesquiterpene lactones from *Petasites japonicus* Maxim [J]. Bull Chem Soc Jpn. 1972, 45: 3673.
- [6] Cheng JK. Study on structure of compound isolated from *Petasites tricholobus* France[J]. J Chin pharm. 1999, 34(11): 734.
- [7] 田 菁, 赵毅民, 栾新慧. 马鞭草化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(4):268.
- [8] 郭 峰, 梁侨丽, 闵知大. 地胆草中黄酮成分的研究[J]. 中草药, 2002, 33(4):303.

【收稿日期】 2010-10-10

【修回日期】 2011-02-10

(上接第 273 页)

现出一定的抗抑郁作用, 其活性强度与临床上常使用的抗抑郁药盐酸氟西汀相当。其中异槲皮苷的实验结果与文献报道一致<sup>[8]</sup>, 而 10% 异槲皮苷芦丁混合物的抗抑郁作用则是本文首次发现。

大多数抑郁症患者生物学改变是由于下丘脑-垂体-肾上腺轴激活, 已证实是促肾上腺皮质激素 (ACTH) 和皮质醇分泌过多所致。Butterweck 等<sup>[9]</sup> 的研究发现灌胃给予异槲皮苷 0.6 mg/kg 2 周后其循环血浆中 ACTH 和皮质醇的水平下调 40% ~ 70%。有研究认为异槲皮苷消除体内自由基是中药抗抑郁的部分作用机制<sup>[10]</sup>。通过以上研究结合国内外文献报道, 笔者推测异槲皮苷和 10% 异槲皮苷芦丁混合物的抗抑郁作用机制可能如下: ①抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴过度激活, 下调外周血中的 ACTH 和皮质醇的水平, 影响抑郁大鼠脑组织中前额叶 5-羟色胺和多巴胺含量而发挥抗抑郁作用。②异槲皮苷具有一定的抗氧化、抗肿瘤和抗血小板凝集作用, 从而具有一定大脑保护作用, 这些作用可能与其抗抑郁作用机制有关。因此, 异槲皮苷和 10% 异槲皮苷芦丁混合物在抗抑郁方面具有良好的开发前景, 其抗抑郁作用机制方面有待更深入的探讨。

### 【参考文献】

- [1] Steimer W. Pharmacogenetics and Psychoactive Drug Therapy:

Ready for the Patient [J]. Ther Drug Monit. 2010, Aug; 32 (4):381.

- [2] Xu C, Luo L, Tan RX. Antidepressant effect of three traditional Chinese medicines in the learned helplessness model [J]. Journal of Ethnopharmacology 2004, 91: 345.
- [3] Zhang ZJ. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders [J]. Life Sciences 2004, 75:1659.
- [4] 俞一心, 戈升荣, 王桂珍. 槲皮素及其衍生物的药理作用研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(12): 902.
- [5] 徐书云, 卞如濂, 陈 修, 等. 药理实验方法学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:226.
- [6] Doe N, Takahashi T, Kiriya M. Behavioral despair during a water maze learning task in mice [J]. Exp Anim, 2010, 59 (2):191.
- [7] Jang DP, Lee SH, Lee SY, *et al.* Neural responses of rats in the forced swimming test: [F-18]FDG micro PET study [J]. Behav Brain Res, 2009, 203(1):43.
- [8] Butterweck V, Jürgenliemk G, Nahrstedt A, *et al.* Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test [J]. Planta Medica 2000, 66:3.
- [9] Butterweck V, Hegger M, Winterhoff H. Flavonoids of *St. John's Wort* reduce HPA axis function in the rat [J]. Planta Med, 2004, 70(10):1008.
- [10] 黄黎明, 石 鹏, 孙成荣等. 柴芪口服液抗抑郁作用实验研究[J]. 中国药师, 2009, 12(1): 44.

【收稿日期】 2010-07-21

【修回日期】 2010-12-21