

积雪草总苷元抗抑郁作用的研究

曹尉尉¹, 李晏¹, 伊佳² (1. 中国人民解放军四一一医院药械科, 上海 200081; 2. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

摘要:目的 探讨积雪草总苷元的抗抑郁作用及其可能作用机制。方法 采用大鼠强迫游泳实验, 抑制单胺重摄取作用实验等动物模型来考察积雪草总苷元抗抑郁作用及其可能作用机制。结果 积雪草总苷元能够显著缩短大鼠游泳不动时间; 对单胺类递质去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA) 重摄取抑制作用不明显, 但是显著增加 5-羟色氨酸致小鼠甩头作用。结论 积雪草总苷元有抗抑郁活性, 可能与其增加 5-羟色胺 (5-HT) 能神经系统有关。

关键词:积雪草总苷元; 抑郁; 应激

中图分类号: R964 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693 (2009) 02-092-04

The Effects on Anti-depression of Centella Triterpenic Genine

CAO Weiwei¹, LI Yan¹, YI Jia² (1. Department of Pharmacy, 411 hospital of PLA, Shanghai 200081, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the anti-depressed effects of Centella triterpenic genines and to explore its possible mechanism. **METHODS** Rat force-swim model test were used to observe the effect of Centella triterpenic genines on relieving depression. The mechanism was examined by inhibiting reuptake of monoamine neurotransmitters. **RESULTS** Centella triterpenic genines dramatically reduced the immobility time in the forced swim test of rats. Centella triterpenic genines had no obvious inhibition from reuptake of monoamine neurotransmitters of noradrenalin and dopamine, but could distinctly increased the frequency of head-twitch in the 5-hydroxytryptophan (5-HTP) induced head-twitches test. **CONCLUSION** Centella triterpenic genines has antidepressant effects, and its mechanism may be related to the reinforcement of 5-hydroxytryptamine (5-HT) nerves system.

KEY WORDS: Centella triterpenic genines; depression; stress

积雪草 (*Centella asiatica* (L.) Urb), 又称落得打、半边钱, 为伞形科积雪草属植物, 性寒、味苦、

基金项目: 上海市自然科学基金 (064119608)

作者简介: 曹尉尉, 女, 硕士, 主任药师 Tel: (021) 65407620 E-mail: sophia0904@126.com

辛,具有清热利湿,解毒消肿之功效,在我国已经有两千多年的药用历史。积雪草目前已知的化学成分主要有三萜类、黄酮类、多炔烯类、挥发油类、甾醇类、木脂素类和香豆素类^[1]。秦路平等^[2]发现积雪草挥发油、积雪草总苷具有抗实验性抑郁作用;试验研究^[3]发现积雪草总苷元能显著缩短小鼠强迫游泳和小鼠悬尾的不动时间,有效拮抗利血平引起的眼睑下垂,表明其有较好的抗抑郁活性。但积雪草总苷元抗抑郁的作用机制未见报道。本实验不仅研究了积雪草总苷元对大鼠强迫游泳不动时间的影响,而且进一步从抑制单胺重摄取的角度初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

ICR 小鼠,体重 18~20 g,第二军医大学实验动物中心提供[许可证号:SCXK(沪)2002-0006],自由觅食和饮水,室温(23±2)℃,自然光照。

SD 大鼠,体重 180~220 g,第二军医大学实验动物中心提供[许可证号:SCXK(沪)2002-0003],自由觅食和饮水,室温(23±2)℃,自然光照。

1.2 药品和试剂

积雪草总苷元,纯度 95%,广西昌洲天然产物开发有限公司提供;盐酸氟西汀胶囊(百优解),礼来苏州制药有限公司分装,批号:070606;盐酸多塞平片,上海信谊九福药业有限公司,批号:061201;甲磺酸瑞波西汀胶囊(叶洛抒),重庆药友制药有限责任公司,批号:071101;氟哌噻吨美利曲辛片(黛力新),丹麦灵北制药有限公司,批号:1072;重酒石酸去甲肾上腺素注射液,上海禾丰制药有限公司,批号 071101;盐酸多巴胺注射液,上海禾丰制药有限公司,批号 071008;5-羟色氨酸(5-HTP),Sigma 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠强迫性游泳实验 实验动物随机分为 5 组,每组 10 只。试验药物 3 个剂量组,分别为 15、30、60 mg·kg⁻¹,阳性药物盐酸多塞平组剂量为 25 mg·kg⁻¹,空白对照组给予等体积生理盐水。大鼠每天上午 ig 一次,连续给药 7 d。给药第 6 天时大鼠置水中预先强迫游泳 15 min(将大鼠单个置入高 40 cm,直径 20 cm,缸内水深 23 cm,水温 25℃的敞口玻璃缸,每次实验前换水),取出烘干,24 h 后进行正式实验。末次给药后 1 h 游泳 5 min。记录 5 min 内的累计不动时间,各组大鼠平行操作。

1.3.2 抑制 NE 重摄取作用研究

ICR 小鼠,♂,随机分为 5 组,每组 10 只。试验药物积雪草总苷元 3 个剂量组,分别为 30、60、120 mg·kg⁻¹,阳性药为甲磺酸瑞波西汀胶囊剂量为 1.6 mg·kg⁻¹,空白对照组给予等体积生理盐水。小鼠每天上午 ig 一次,连续给药 7 d。末次给药后 1 h,小鼠 sc 亚致死剂量(3 mg·kg⁻¹)的 NE,观察各组小鼠的死亡率。

1.3.3 抑制 DA 重摄取作用研究

实验动物及药物分组同“1.3.2”项,阳性药为氟哌噻吨美利曲辛片剂量为 0.2 mg·kg⁻¹,空白对照组给予等体积生理盐水。小鼠每天上午 ig 一次,连续给药 7 d。末次给药后 1 h,小鼠 iv 亚致死剂量(100 mg·kg⁻¹)的 DA,观察各组小鼠的死亡率。

1.3.4 抑制 5-HT 重摄取作用研究

实验动物及药物分组同“1.3.2”项,阳性药为盐酸氟西汀胶囊剂量为 20 mg·kg⁻¹,空白对照组给予等体积生理盐水。小鼠每天上午 ig 一次,连续给药 7 d。末次给药后 1 h,小鼠 ip 150 mg·kg⁻¹的 5-HTP,观察各组小鼠的甩头行为。

1.4 统计学处理

结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS13.0 进行单因素方差分析处理。

2 结果

2.1 积雪草总苷元对大鼠强迫游泳不动时间的影响

大鼠在强迫游泳模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为,可模拟人类的抑郁状态。盐酸多塞平组和 CATA 15、30、60 mg·kg⁻¹剂量组均能显著缩短强迫游泳大鼠的不动时间,与生理盐水组比较,差异具有显著性($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 积雪草总苷元(CATA)对大鼠强迫游泳实验不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 The effect of CATA on the immobility time in the forced swim test of rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组 别	不动时间/s
空白对照组	161.6 ± 42.4
阳性组	77.2 ± 28.9 ¹⁾
高剂量组	121.0 ± 31.2 ¹⁾
中剂量组	110.4 ± 29.5 ¹⁾
小剂量组	93.8 ± 35.1 ¹⁾

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with blank control group,¹⁾ $P < 0.05$

2.2 抑制 NE 重摄取试验

阳性药甲磺酸瑞波西汀是选择性 NE 再摄取抑制剂,可提高中枢内 NE 的浓度,因此明显增加小鼠

皮下注射亚致死剂量 NE 后的小鼠死亡数,死亡率达 80%;而积雪草总苷元 3 个剂量组均未明显增加皮下注射亚致死剂量 NE 的小鼠死亡,表示其不抑制 NE 的重摄取。结果见表 2。

表 2 积雪草总苷元(CATA)对 NE 重摄取作用的影响
Tab 2 The effect of CATA on reuptake of monoamine neurotransmitters of noradrenalin

组别	死亡数	死亡率/%
空白对照组	1	10
阳性组	8	80
高剂量组	1	10
中剂量组	1	10
小剂量组	0	0

2.3 抑制 DA 重摄取试验

阳性药氟哌噻吨美利曲辛片可抑制 DA 的重摄取,提高中枢内 DA 的浓度,因此明显增加小鼠静脉注射亚致死量 DA 后的小鼠死亡数,死亡率达 60%;而积雪草总苷元 3 个剂量组均未明显增加静脉注射亚致死剂量 DA 的小鼠死亡,表示其不抑制 DA 的重摄取。结果见表 3。

表 3 积雪草总苷元(CATA)对 DA 重摄取作用的影响
Tab 3 The effect of CATA on reuptake of dopanime

组别	死亡数	死亡率/%
空白对照组	1	10
阳性组	6	60
高剂量组	2	20
中剂量组	2	20
小剂量组	0	0

2.4 抑制 5-HT 重摄取试验

阳性药盐酸氟西汀能高度选择性抑制突触前膜对 5-HT 的再摄取,提高中枢内 5-HT 的浓度,因此明显增加 5-HTP 诱导小鼠诱导甩头行为。积雪草总苷元 3 个剂量组明显增强 5-HTP 诱导小鼠诱导甩头行为,提示积雪草总苷元的抗抑郁活性可能与抑制 5-HT 重摄取有关。结果见表 4。

表 4 积雪草总苷元(CATA)对 5-HTP 诱导小鼠甩头行为的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 4 The effect of CATA on the frequency of head-twitch induced by 5-HTP($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	甩头次数	增加率/%
空白对照组	5.2 ± 2.04	-
阳性组	29.2 ± 2.44 ¹⁾	461
高剂量组	15.1 ± 3.00 ¹⁾	190
中剂量组	14.8 ± 5.05 ¹⁾	185
小剂量组	9.6 ± 1.35 ¹⁾	85

注:与空白对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$

Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P < 0.05$

3 讨论

随着生活节奏的加快,各种心理疾病的发病率正逐年提高,而抑郁症患者人数的增加更为引人注目。抑郁症(depression)是由各种原因引起的以抑郁为主要症状的一组心境障碍(mood disorders)或情感性障碍(affective disorders),是一种以抑郁心境自我体验为中心的临床症状群或状态。目前的抗抑郁药普遍存在有效率低,易复发的问题^[4],祖国医药历史悠久,对多种疾病疗效显著,且副作用小,对抑郁症这种不易治愈、疗程较长的疾病来说,更有明显的优势。积雪草入药历史已久,且分布较广资源稳定,笔者的研究证明,小鼠 ig 积雪草总苷元的最大耐受量 $MTD > 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,大鼠 ig 积雪草总苷元的最大耐受量 $MTD > 4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (相当于大鼠游泳试验低剂量 $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 267 倍),并且对主要脏器无影响,说明积雪草总苷元的毒性小,可以加以临床应用,有很高的开发利用价值。

目前抑郁动物模型的建立方法主要分 3 类:行为绝望、习惯性无助和慢性温和的不可预知性应激^[5]。大鼠或小鼠的强迫性游泳是目前评价抗抑郁药作用效果最常用的公认抑郁动物模型,此模型可对抗抑郁药有很好的预测效度。大鼠在强迫游泳模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为,可模拟人类的抑郁状态。本实验中积雪草总苷元三个剂量组均可较显著的缩短大鼠游泳不动时间,且表现出剂量依赖性,说明积雪草总苷元具有一定的抗抑郁活性。

抑郁症是一类与应激密切相关的精神类疾病,根据抑郁症的下丘脑-垂体-肾上腺轴假说,应激会引起下丘脑释放 CRF(促肾上腺皮质激素释放激素),CRF 作用于 CRF 受体,可作用于脑中广泛区域,引起单胺类神经元的损伤和相关疾病的产生^[6],抗抑郁药如可阻断神经组织对生物胺的重摄取,则可增强外源性 NE/DA/5-HT 等的作用,直至出现毒性、死亡等^[7]。阳性药盐酸氟西汀是一种选择性的 5-HT 再摄取抑制剂(SSRI),其能有效地抑制神经元从突触间隙中摄取 5-HT,增加间隙中可供实际利用的这种神经递质,从而改善情感状态,治疗抑郁性精神障碍。甲磺酸瑞波西汀是选择性去甲肾上腺素重摄取抑制剂,通过对 NE 再摄取的选择性阻滞提高中枢的 NE 活性,对 DA/5-HT 重吸收位点没有亲和力。氟哌噻吨美利曲辛片是复方制剂,其中氟哌噻吨成分为 DA 重摄取阻滞剂,能有效阻滞 DA 重摄取,增加中枢 DA 含量。本实验中积雪草总

昔元 ig 7 d 后,并未增加小鼠给予亚致死量 NE 或 DA 所致小鼠死亡率,但是显著增加 5-HTP 致甩头作用,表明积雪草总昔元不能阻断 NE/DA 的重摄取,但是有可能通过阻断 5-HT 重摄取增强脑内 5-HT 神经功能而发挥抗抑郁作用。

REFERENCES

- [1] XU H, LI X S, WU S Q. Studies on medicinal effect of *Centella asiatica* (L.) Urb [J]. Amino Acids Biotic Resour (氨基酸和生物资源), 2005, 27(2): 17-20.
- [2] CHEN Y, HAN T, Qin L P, et al. Effect of total triterpenes from *Centella asiatica* on the depression behavior and concentration of amino acid in forced swimming mice [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2003, 26(12): 870-873.
- [3] CAO W W, LU B. Antidepressant activity of *Centella Asiatic*

Triterpenic acid and its main constituents [J]. J Pharm Pract (药学实践杂志), 2008, 26(3): 195-197.

- [4] WONG M L, LICILLO J. Research and treatment approaches to depression [J]. Nat Rev Neurosci, 2001, (2): 343-251.
- [5] YANG X Y, CHEN J, YANG X M, et al. Advances in antidepressants and research methods of depression [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2007, 32(9): 770-774.
- [6] YE Y L, QI Y T, SHAN L, et al. The expression of galanin and galanin receptor2 in the brain of chronic stress model of depression [J]. J Mol Cell Bio (分子细胞生物学报), 2007, 40(6): 380-386.
- [7] CHEN W X, LIU L, LI L, et al. Antidepressant action of curcumin and its mechanism [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2006, 17(5): 317-320.

收稿日期: 2008-07-24