

## 积雪草总三萜酸及其主要成分的抗抑郁活性研究

曹尉尉, 陆 波 (中国人民解放军第 411 医院药械科, 上海 200081)

**摘要** 目的:探讨积雪草总三萜酸和其主要成分积雪草酸、羟基积雪草酸的抗抑郁作用。方法:采用小鼠强迫游泳实验、小鼠悬尾实验、开野实验和拮抗利血平所致的小鼠眼睑下垂实验,分别以小鼠不动时间、自主活动数和拮抗率作为评价指标。结果:在强迫游泳实验中积雪草总三萜酸、积雪草酸、羟基积雪草酸 60 mg/kg、120 mg/kg 剂量均能显著缩短小鼠不动时间,在悬尾实验中 30 mg/kg、60 mg/kg、120 mg/kg 剂量均能显著缩短小鼠不动时间,开野实验结果表明给药后小鼠的自主活动无明显变化,在利血平拮抗实验中积雪草总三萜酸、积雪草酸、羟基积雪草酸均可减少小鼠眼睑下垂。结论:积雪草总三萜酸、积雪草酸、羟基积雪草酸有抗抑郁作用。

**关键词** 积雪草总三萜酸;积雪草酸;羟基积雪草酸;抗抑郁

中图分类号:R965 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2008)03-0185-03

## Antidepressant activity of Centella Asiatic Triterpenic acid and its main constituents

CAO Weiwei, LU bo (Department of Pharmacy, 411 Hospital of PLA, Shanghai 200081, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the antidepressant activity of Centella asiatic triterpenic acid (CATA), and its main constituents asiatic acid (AA) and madecassic acid (MA). **Methods:** The forced swimming test (FST), tail suspension test (TST), open field activity (OFA) test and reserpine-induced ptosis test were carried out to examine the antidepressant activity in mice. Mice immobility duration in FST and TST, spontaneous activity frequency in OFA, and ptosis in reserpine antagonistic test were observed. **Results:** CATA, AA and MA could significantly shorten mice immobility time in FST at the dosages of 60 and 120 mg/kg and could markedly shorten mice immobility time in TST at the dosages of 30, 60 and 120 mg/kg. They could not reduce mice spontaneous activity in OFA. CATA, AA and MA could reduce ptosis mice in reserpine antagonistic test. **Conclusion:** CATA, AA and MA exert an antidepressant activity in animal models.

**KEY WORDS** centella asiatic triterpenic acid; asiatic acid; madecassic acid; antidepressant effect

积雪草为《中国药典》收载的常用中药,为伞形科积雪草属植物积雪草 (*Centella asiatica* L. Urban) 的干燥全草,始载于《神农本草经》,主要分布于南方地区,具有清热利湿、解毒消肿的功效,临床上多用于治疗跌打损伤、皮肤病等<sup>[1]</sup>。积雪草主要含有三萜酸和三萜皂苷等成分,其在印度传统草药中被广泛用于精神病、癫痫及瘰疬的治疗。张中启<sup>[2]</sup>等发现积雪草的 3 种提取物均剂量依赖的显著抑制小鼠体外单胺氧化酶 A 的活性,其中以 50% 醇提取物抑制效果最佳,提示积雪草具有抗抑郁作用;秦路平<sup>[3,4]</sup>等发现积雪草挥发油具有抗实验性抑郁作用;积雪草总苷可以减轻小鼠抑郁行为,并影响脑内氨基酸的含量,积雪草总苷中羟基积雪草苷具有抗

抑郁作用,并有抑制大鼠脑内单胺氧化酶的活性。以往的研究均集中在积雪草极性较大的苷类成分或挥发油,但对积雪草非挥发的脂溶性成分,特别是三萜酸类的抗抑郁活性未见报道,我们从积雪草氯仿萃取部分制备了积雪草总三萜酸,并研究了积雪草总三萜酸 (centella asiatic triterpenic acid, CATA) 和其主要成分积雪草酸 (asiatic acid, AA)、羟基积雪草酸 (madecassic acid, MA) 的抗抑郁活性,报道如下:

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** ICR 小鼠, 体重 18~20 g, 由第二军医大学实验动物中心提供 (许可证号: SCXK (沪) 2002-0006), 每 10 只 笼群养, 自由觅食和饮水, 室温 (23 ± 2), 自然光照。

**1.2 药品和试剂** 积雪草总三萜酸 (主要成分为积雪草酸和羟基积雪草酸)、积雪草酸、羟基积雪草

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: caoww411@163.com.

酸,由本实验室自制;利血平注射液,上海复旦复华制药厂,批号:050301;盐酸多塞平片,上海福得瑞药业有限公司,批号:050201。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 小鼠强迫游泳实验** 基本按照 Porsolt方法进行<sup>[6]</sup>。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30、60、120 mg/kg;阳性药物盐酸多塞平组剂量为50 mg/kg,空白对照组给予等体积生理盐水。小鼠每天上午灌胃1次,连续给药7 d。末次给药后1 h,将小鼠单独放入高20 cm、直径14 cm的圆柱型玻璃缸中,缸内水深10 cm,水温23~25。从小鼠入水后记时6 min,记录后4 min内的累计不动时间,各组小鼠平行操作。

**1.3.2 小鼠悬尾实验<sup>[7]</sup>** 药物和剂量同小鼠强迫游泳实验,小鼠每天上午灌胃一次,连续给药7 d。末次给药后1 h,将动物尾端2 cm部位贴在一水平支撑物上,使动物成倒挂状态,支撑物放置于一敞口箱内,其头部离底面约5 cm。记录小鼠6 min内不动时间,各组小鼠平行操作。

**1.3.3 开野实验<sup>[8]</sup>** 采用 YLS-1A 多功能小鼠自主活动记录仪,对1.3.1和1.3.2各组小鼠进行自主活动测定。测定仪有4个记录小鼠活动的隔室,每一隔室的直径为19 cm,高为13 cm,内有4对光电管计量小鼠活动情况。将小鼠放入隔室内适应环境5 min后开始计时。强迫游泳实验或悬尾实验结束后即给药第8 d开始开野实验。给药前和给药后1 h各记录1次小鼠15 min内自发活动次数。实验均在安静的环境下进行。

**1.3.4 拮抗利血平诱发的小鼠眼睑下垂实验** 实验动物随机分为5组,每组10只,为空白对照组、阳性药物组、积雪草总三帖酸组、积雪草酸组、羟基积雪草酸组。积雪草总三帖酸组、积雪草酸组、羟基积雪草酸组剂量均为60 mg/kg,阳性药物盐酸多塞平组剂量为50 mg/kg,空白对照组给予等体积生理盐水。小鼠尾静脉注射利血平2 mg/kg后,立即灌胃给药,60 min后将动物单个竖放15 s,观察出现眼睑下垂的动物数,计算拮抗率。

拮抗率(%) = (每组实验动物数 - 眼睑下垂的动物数) / 每组实验动物数

**1.4 统计学处理** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS10.0 软件,ANOVA 方法检验差异的显著性。拮抗利血平诱发的小鼠眼睑下垂实验中拮抗率(%)比较采用卡方检验。

## 2 结果

### 2.1 CATA、AA、MA对强迫游泳小鼠不动时间的影

响 小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、AA、MA 60、120 mg/kg 剂量组均能显著缩短强迫游泳小鼠的不动时间,CATA 和 MA 组 30 mg/kg 无此作用,结果如表 1。

**2.2 CATA、AA、MA对悬尾小鼠不动时间的影响** 小鼠在悬尾模型中出现的不动状态反映了动物的绝望行为,盐酸多塞平组和 CATA、AA、MA 30、60、120 mg/kg 剂量组均能显著缩短悬尾小鼠的不动时间,结果如表 1。

表 1 CATA、AA、MA 对小鼠强迫游泳实验不动时间和悬尾不动时间的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	强迫游泳实验不动时间 (s)	悬尾实验不动时间 (s)
生理盐水组	-	182.8 ± 23.9	138.5 ± 24.3
多塞平组	50	108.5 ± 67.6 <sup>2)</sup>	100.1 ± 41.7 <sup>3)</sup>
CATA组	30	162.3 ± 31.7 <sup>1)</sup>	114.1 ± 23.0 <sup>3)</sup>
CATA组	60	147.2 ± 43.8 <sup>1)</sup>	105.8 ± 26.1 <sup>3)</sup>
CATA组	120	140.5 ± 36.4 <sup>2)</sup>	101.7 ± 24.2 <sup>4)</sup>
AA组	30	159.9 ± 24.3	104.4 ± 25.7 <sup>3)</sup>
AA组	60	156.5 ± 28.5 <sup>1)</sup>	87.9 ± 30.1 <sup>4)</sup>
AA组	120	147.5 ± 29.3 <sup>2)</sup>	86.8 ± 22.5 <sup>4)</sup>
MA组	30	161.1 ± 24.4	110.5 ± 30.6 <sup>3)</sup>
MA组	60	154.9 ± 33.0 <sup>1)</sup>	107.4 ± 37.4 <sup>3)</sup>
MA组	120	149.6 ± 34.0 <sup>1)</sup>	97.7 ± 25.4 <sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与生理盐水组比较 (强迫游泳实验不动时间);

<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ , 与生理盐水组比较 (悬尾实验不动时间)。

**2.3 CATA、AA、MA对开野实验小鼠自主活动的影响** 将各组给药前后小鼠的自主活动进行比较,结果表明给药后小鼠的自主活动无影响,结果如表 2。

**2.4 CATA、AA、MA拮抗利血平诱发的小鼠眼睑下垂** 盐酸多塞平 50 mg/kg, CATA、AA、MA 60 mg/kg 均能显著拮抗利血平诱发的小鼠眼睑下垂,结果如表 3。

## 3 讨论

抑郁症是一种常见的情感性精神疾病,是一种以显著而持久的心境低落为主要临床特征的综合征,属于中医学郁症的范畴。随着竞争的加剧,抑郁症已成为现代社会的常见病、多发病。抑郁症的发病机制甚为复杂,尚未完全阐明。目前认为抑郁症的发病机制可能与脑内单胺类神经功能紊乱有关,主要表现为神经传导通路上的神经递质 5 羟色胺 (5-HT) 含量不足或功能降低,进而引

起去甲肾上腺素 (NA) 功能减弱,胆碱能神经系统 相对占优势。

表 2 CATA、AA、MA 对小鼠自主活动的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	强迫游泳小鼠活动次数		悬尾小鼠活动次数	
		给药前	给药后	给药前	给药后
生理盐水组		203 ±116	189 ±96	274 ±98	238 ±102
多塞平组	50	217 ±149	162 ±87	246 ±117	131 ±94
CATA 组	30	238 ±135	208 ±120	286 ±149	227 ±129
CATA 组	60	228 ±128	153 ±91	219 ±105	161 ±117
CATA 组	120	218 ±129	145 ±97	262 ±123	233 ±106
AA 组	30	247 ±131	161 ±124	228 ±114	166 ±118
AA 组	60	288 ±151	197 ±126	256 ±139	178 ±134
AA 组	120	227 ±126	175 ±110	258 ±109	198 ±112
MA 组	30	213 ±151	174 ±104	251 ±96	193 ±92
MA 组	60	235 ±128	146 ±110	253 ±126	239 ±112
MA 组	120	230 ±129	214 ±115	283 ±133	229 ±104

表 3 CATA、AA、MA 对利血平诱发小鼠 眼睑下垂的拮抗作用 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	小鼠眼睑下垂数 (只)	拮抗率 (%)
生理盐水组		0	0
多塞平组	50	6	40 <sup>1)</sup>
CATA 组	60	3	70 <sup>1)</sup>
AA 组	60	3	70 <sup>1)</sup>
MA 组	60	4	60 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , 与生理盐水组比较。

强迫游泳实验是非特异性抗抑郁模型,如兴奋剂、惊厥剂、抗组胺药等均能缩短实验动物的不动时间<sup>[8]</sup>,但它们均是通过兴奋或拮抗副交感神经的生理作用。CATA、AA、MA 在强迫游泳和悬尾试验中均能显著缩短小鼠不动时间,开野实验表明 CATA、AA、MA 对实验动物自主活动无显著性影响,所以这种缩短不动时间的作用不是通过增加小鼠的自主活动而引起的,即 CATA、AA、MA 表现出抗抑郁作用。

通过利血平拮抗实验可以判断药物对肾上腺素能或 5-HT 能神经的激动作用,CATA、AA、MA 可以有有效的拮抗利血平引起的眼睑下垂,结合前面强迫游泳实验的结果,进一步证明了 CATA、AA、MA 的抗抑郁作用。

参考文献:

- [1] 苏立德. 积雪草治疗硬皮病 100例临床观察 [J]. 中医杂志, 1985; 26 (12): 3.
- [2] 张中启, 袁 莉, 罗质璞. 积雪草提取物抑制小鼠体外脑单胺氧化酶 A 的活性 [J]. 军事医学科学院院刊, 2000, 24 (2): 158.
- [3] 秦路平, 丁如贤, 张卫东, 等. 积雪草挥发油成分分析及其抗抑郁作用研究 [J]. 第二军医大学学报, 1998, 19 (2): 186.
- [4] 陈 瑶, 韩 婷, 秦路平, 等. 积雪草总苷对小鼠抑郁行为和脑内氨基酸含量的影响 [J]. 中药材, 2003, 26 (12): 870.
- [5] 刘沐荣, 韩 婷, 陈 瑶, 等. 羟基积雪草苷对小鼠抑郁行为和和大鼠不同脑区单胺氧化酶活性的影响 [J]. 中西医结合学报, 2004, 2 (6): 440.
- [6] Porsolt R, Le pichon M, Jalfre M. Depression: a new method animal model sensitive to antidepressant treatments [J]. Nature, 1977, 266: 730.
- [7] Steu L, Chemat R, Thicrry B, et al The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology, 1985, 85: 367.
- [8] Porsolt RD. Behavioural despair [M] // Enna SJ, Malick JB, Richelson E. Antidepressants: Neurochemical, behavioural and clinical perspectives New York: Raven Press, 1981: 121.
- [9] Betin C, De Feudis FV, Blavet N, et al Further characterization of the behavioural despair in mice: Positive effects of convulsants [J]. Physiol Behav, 1982, 28: 307.
- [10] Kitada Y, Miyauchi T, Satoh A, et al Effects of antidepressants in the rat forced swimming test [J]. Eur J pharmacol, 1981, 72: 145.

收稿日期: 2007-07-24