

文章编号:1001-6880(2015)1-0031-04

乳香精油抗抑郁作用的研究

张业奇¹, 邓鲲华¹, 杨 怡¹, 王玉婷¹, 王 诗^{2*}, 丁 虹^{1*}¹ 武汉大学药学院, 武汉 430072; ² 湖北科技学院药学院, 咸宁 437100

摘要:为探讨乳香精油的抗抑郁作用及其可能机制,以慢性轻度不可预见性应激方法建立小鼠抑郁症模型,造模同时每日灌胃给药。用旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验对小鼠进行行为学评测,并用高效液相——电化学方法检测小鼠大脑内5-HT含量。试验显示,0.1、0.2 mL/100 g的乳香精油可不同程度地改善小鼠的行为学行为,显著提高小鼠脑内的5-HT含量($P < 0.05$)。乳香精油具有抗抑郁作用,对中枢单胺类神经递质5-HT的调节是其作用机制之一。

关键词:乳香精油;慢性不可预见性应激;抗抑郁;行为学;5-羟色胺

中图分类号:R964; R285.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.01.006

Anti-depression Effect of Frankincense Essential Oil

ZHANG Ye-qi¹, DENG Kun-hua¹, YANG Yi¹, WANG Yu-ting¹, WANG Shi^{2*}, DING Hong^{1*}¹ School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Hubei Wuhan 430072, China;² School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Hubei Xianning 437100, China

Abstract: The aim of this research was to explore the anti-depression effect of frankincense essential oil and its possible mechanism. Chronic unpredictable mild stress (CUMS) model was established and the model mice were intraperitoneal injected with the essential oil on the same day. The open-field test, forced swimming test (FST) and tail suspending test (TST) were then carried to observe and evaluate the ethological changes in model mice. By using HPLC-ECD, content of 5-HT in brain was determined. The results revealed that frankincense essential oil with the concentration of 0.1, 0.2 mL/100 g can influence behaviors of mice differently, including the increase of the frequency of crossing in the open-field test and the decrease of the motionless time in the FST. Besides, both concentration of frankincense essential oil increased the content of 5-HT in brain significantly ($P < 0.05$). The results suggested that frankincense essential oil has anti-depression effect which may be related to the regulation of 5-HT in brain.

Key words: Frankincense essential oil; the chronic unpredictable mild stress; depression behavior; anti-depression effect; 5-HT

乳香为橄榄科植物卡氏乳香树(*Boswellia carterii* Birdw.)及同属其它数种植物皮部切伤后渗出的油胶树脂。中药乳香基源植物是乳香树,产自索马里和埃塞俄比亚。乳香于《名医别录》、《本草拾遗》和《本草纲目》均有记载并沿用至今,认为其辛散温通,具有活血行气等功效,广泛用于风湿、类风湿性关节炎和骨关节炎的治疗^[1]。乳香的主要有效成分有挥发油,其中含有醋酸辛酯和芳樟醇等物质,天然的芳樟醇气味纯正、圆和,甜润、幽雅,具有安神镇静的作用^[2]。有文献表明,乳香精油(Frankincense)芳香疗法和灸法综合应用于治疗抑郁症(Depres-

sion)的临床疗效同盐酸氟西汀相近^[3]。但是单一使用乳香精油治疗抑郁症尚未见报道,并且其抗抑郁的机制并不清楚。本实验通过观察单一使用乳香精油对慢性不可预见性应激抑郁小鼠行为学及大脑内单胺类神经递质5-HT的影响,探究乳香精油抗抑郁的作用并初步探究其抗抑郁机理,为其临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要药品与试剂

盐酸氟西汀(批号2079A,礼来苏州制药有限公司),纯乳香精油(江西亿森源香料有限公司,水蒸气蒸馏法萃取),5-HT标准品(美国Sigma公司),盐

酸、乙酸钠等其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器

摇床,烘箱(上海申光仪器有限公司),小鼠行为观察敞箱,1/100秒表,HPLC-ECD(日本岛津LC-10Avp plus)。

1.1.3 实验动物

健康昆明 δ 小鼠60只,体质量22~25 g,购自湖北省疾控中心,动物合格证号:SCXK(鄂)2008-0005。

1.2 方法

1.2.1 抑郁模型造模及给药

参照文献方法^[4],采用慢性轻度不可预见性应激抑郁模型(chronic unpredictable mild stress,CUMS):将小鼠予以夹尾(1 min)、禁水(24 h)、禁食(24 h)、45 °C热烘(5 min)、昼夜颠倒(24 h)、4 °C冰水游泳(5 min)、水平振荡(30 min)等方法随机刺激21 d,除空白组外其它组每日给予1种刺激。小鼠随机分为5组,每组12只,分别为:空白组、模型组、氟西汀(2 mg/kg)组、低剂量(0.1 mL/100 g)乳香精油组,高剂量(0.2 mL/100 g)乳香精油组。每组按小鼠体重1 mL/100 g进行灌胃(其中乳香精油组以豆油稀释后灌胃),空白组及模型组灌服等量生理盐水,造模同时即开始给药,每日1次,连续21 d。

1.2.2 行为学实验

行为学实验共进行三次,分别在实验第7 d、实验第14 d和实验第21 d进行。

1.2.2.1 旷场实验

末次给药60 min后进行,敞箱高40 cm,长和宽均为100 cm,敞箱底面划分为面积相等的25块方格。小鼠放入敞箱中央1 min后再记录小鼠5 min内的行为学表现包括其水平方向移动格数和垂直方向直立(两前肢离地1 cm以上)次数^[5]。

表1 乳香精油对旷场实验中小鼠水平方向移动格数的影响

Table 1 Effect of frankincense on the frequency of horizontal movement in open-field test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别 Group	剂量 Dose	实验第7 d 7th day	实验第14 d 14th day	实验第21 d 21th day
空白组 Blank	-	86.31 ± 41.60 **	85.90 ± 30.20 *	89.00 ± 20.92 *
模型组 Model	-	56.5 ± 30.75 △△	62.22 ± 35.31 △	48.67 ± 20.03 △
氟西汀组 Fluoxetine	2 mg/kg	126.62 ± 51.09 **	79.50 ± 14.02 *	125.33 ± 72.18 *
乳香精油组 Frankincense	0.1 mL/100 g	119.15 ± 57.35 **	119.10 ± 51.37 **	101.25 ± 23.26 *
乳香精油组 Frankincense	0.2 mL/100 g	118.83 ± 44.97 **	112.63 ± 51.37 **	135.00 ± 65.05

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与空白组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compare with blank group, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$.

1.2.2.2 悬尾实验

旷场实验完成60 min后,在距尾尖1 cm处固定小鼠尾端,使其呈倒挂悬空状,头部离箱底5 cm,四周以板隔离小鼠视线。记录小鼠6 min内后5 min的悬尾不动时间^[6]。

1.2.2.3 强迫游泳实验

悬尾实验完成60 min后,将小鼠头部朝下放入直径16 cm、水深18 cm的游泳杯中,水温20 ± 2 °C,记录小鼠6 min内后5 min的游泳不动时间^[6]。

1.2.3 脑组织匀浆样本制备及5-HT的测定

实验第22 d,解剖小鼠,将剪取的大脑置于液氮中速冻待测。从液氮中取出大脑称重,根据大脑重量,加入其重量4倍数值体积的0.1 M 过氯酸(含0.3 M EDTA 和 0.5 mM 亚硫酸钠),于冰浴下用匀浆机快速匀浆。在4 °C下14000 rpm 离心15 min,取上清液,经0.22 μm 针头过滤器过滤^[7]。采用高效液相色谱-电化学检测器系统(HPLC-ECD)进行测定,色谱条件为:色谱柱为4 mm × 250 mm, Nova-pak C₁₈, 5 μm(武汉大学实验中心提供);流动相为15 mM 盐酸-乙酸钠缓冲液,pH 4.0(内含0.5% 三乙胺和0.5 mM EDTA 二钠),流速0.6 mL/min。

1.2.4 统计方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用SPSS 17.0软件进行统计学处理,采用t检验比较组间的差异显著, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 实验结果

2.1 乳香精油对旷场实验中小鼠水平方向移动格数的影响

与空白组比较,模型组小鼠水平方向移动格数显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较,实验第7、14

与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;

与模型组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$ 。

d, 氟西汀组、低剂量乳香精油组和高剂量乳香精油组小鼠水平方向移动格数均显著增加($P < 0.05$) , 实验第 21 d, 这三组小鼠水平方向移动格数明显增加, 分别增加了 157.5%、108.0%、177.4%。

2.2 乳香精油对旷场实验中小鼠垂直方向竖直次数的影响

与空白组比较, 第 7、14 d 模型组小鼠垂直方向竖直次数显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 第 7、14 d 氟西汀组、低剂量乳香精油组、高剂量乳香

精油组小鼠垂直方向竖直次数均显著提高($P < 0.05$)。

2.3 乳香精油对小鼠悬尾不动时间的影响

与空白组比较, 模型组小鼠悬尾不动时间显著增加($P < 0.05$)。与模型组比较, 第 7、14 d 氟西汀、低剂量乳香精油组和高剂量乳香精油组小鼠悬尾不动时间均显著减少($P < 0.05$), 实验第 21 d, 这三组小鼠的悬尾不动时间分别缩短了 67.8%、65.1%、62.8%。

表 2 乳香精油对旷场实验中小鼠垂直方向竖直次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of frankincense on the frequency of vertical movement in open-field test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别 Group	剂量 Dose	实验第 7 d 7th day	实验第 14 d 14th day	实验第 21 d 21th day
空白组 Blank	-	21.38 ± 18.14 *	22.33 ± 16.84 *	14.17 ± 10.25
模型组 Model	-	8.17 ± 7.06 Δ	11.78 ± 8.84 Δ	13.80 ± 6.87
氟西汀组 Fluoxetine	2 mg/kg	25.15 ± 14.64 **	15.75 ± 7.52 *	12.67 ± 6.47
乳香精油组 Frankincense	0.1 mL/100 g	27.38 ± 18.45 **	26.67 ± 15.98 *	15.00 ± 10.98
乳香精油组 Frankincense	0.2 mL/100 g	31.25 ± 19.93 **	19.9 ± 10.74 **	46.50 ± 45.96

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与空白组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compare with blank group, $\Delta P < 0.05$.

表 3 乳香精油对小鼠悬尾不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 3 Effect of frankincense on the time of tail suspending test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别 Group	剂量 Dose	实验第 7 d 7th day	实验第 14 d 14th day	实验第 21 d 21th day
空白组 Blank	-	73.36 ± 14.62 **	93.00 ± 24.07 *	62.53 ± 22.59 *
模型组 Model	-	59.58 ± 12.92 Δ	134.71 ± 44.52 Δ	141.20 ± 48.69 Δ
氟西汀组 Fluoxetine	2 mg/kg	48.38 ± 10.57 *	64.17 ± 24.26 **	45.50 ± 24.87 **
乳香精油组 Frankincense	0.1 mL/100 g	49.33 ± 11.10 *	53.50 ± 40.14 **	49.25 ± 12.66 **
乳香精油组 Frankincense	0.2 mL/100 g	41.80 ± 15.65 **	76.88 ± 56.97 *	52.50 ± 48.79

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与空白组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compare with blank group, $\Delta P < 0.05$.

表 4 乳香精油对小鼠游泳不动时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 4 Effect of frankincense on the time of forced swimming test ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别 Group	剂量 Dose	实验第 7 d 7th day	实验第 14 d 14th day	实验第 21 d 21th day
空白组 Blank	-	193.33 ± 51.65 *	41.24 ± 35.64 **	128.40 ± 23.77 *
模型组 Model	-	140.27 ± 56.18 Δ	105.43 ± 59.32 $\Delta\Delta$	181.60 ± 32.32 Δ
氟西汀组 Fluoxetine	2 mg/kg	203.44 ± 65.25 **	36.50 ± 48.48 *	91.17 ± 61.91 **
乳香精油组 Frankincense	0.1 mL/100 g	84.20 ± 48.98 *	47.8 ± 23.98 *	115.33 ± 16.86 **
乳香精油组 Frankincense	0.2 mL/100 g	49.83 ± 78.74 **	23.25 ± 11.44 **	136.40 ± 28.17 *

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与空白组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compare with blank group, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$.

2.4 乳香精油对小鼠游泳不动时间的影响

与空白组比较,模型组小鼠游泳不动时间显著增加($P < 0.05$)。与模型组比较,氟西汀组、低剂量乳香精油组和高剂量乳香精油组小鼠游泳不动时间显著减少($P < 0.05$),实验第21 d,这三组小鼠游泳不动时间分别缩短了99.2%、36.5%、24.9%。

表5 乳香精油对慢性应激模型小鼠脑内5-HT的影响($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{ng/g}$)

Table 5 Effect of frankincense on the contents of 5-HT in brain of CUMS model mice ($\bar{x} \pm s, n = 12, \text{ng/g}$)

组别 Group	剂量 Dose	大脑内单胺类递质5-HT含量 The contents of 5-HT in brain
空白组 Blank	-	$193.17 \pm 16.32^{**}$
模型组 Model	-	$115.40 \pm 30.52^{\Delta\Delta}$
氟西汀组 Fluoxetine	2 mg/kg	$209.37 \pm 33.08^{**}$
乳香精油组 Frankincense	0.1 mL/100 g	$176.26 \pm 37.43^*$
乳香精油组 Frankincense	0.2 mL/100 g	$158.36 \pm 10.46^*$

注:与模型组比较, $^* P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$;与空白组比较, $^{\Delta\Delta} P < 0.01$ 。

Note: Compared with model group, $^* P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$; compare with blank group, $^{\Delta\Delta} P < 0.01$.

3 讨论

本研究运用慢性轻度不可预见性应激方法,建立经典小鼠抑郁症模型,经旷场实验、悬尾实验、强迫游泳实验对小鼠进行行为学评测,发现模型组小鼠明显出现抑郁症状,证实该模型建立成功。与模型组比较,氟西汀组和低剂量乳香精油组小鼠在旷场实验、悬尾实验和强迫游泳实验中均有明显的行为改善($P < 0.05$),高剂量乳香精油组小鼠也有一定的行为改善,证明单一使用乳香精油也能起到一定的抗抑郁作用。

在抑郁症的发病机制研究中,脑内单胺类递质,如5-HT、去甲肾上腺素和多巴胺等功能不足的发病机制,早已得到普遍公认^[8]。但是,对于精油类天然产物如乳香精油的抗抑郁作用机制并无定论。本实验中,氟西汀组和乳香精油组小鼠均有不同程度的行为改善,并且在化学物质基础方面,小鼠大脑内的5-HT含量均明显升高($P < 0.05$),表明乳香精油对大脑内的单胺神经递质具有调节作用,揭示了乳香精油抗抑郁作用的一种重要机制。

乳香精油作为药食两用的天然产物,又具有良好的抗抑郁作用。本实验探索了精油灌胃的给药方式,为乳香精油类抗抑郁保健品或药品的开发提供了理论基础,有望降低现行抗抑郁药物如氟西汀等对肝和肾的毒副作用。

2.5 乳香精油对小鼠大脑内5-HT的影响

与空白组比较,模型组小鼠大脑内5-HT含量显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀组、低剂量乳香精油组和高剂量乳香精油组小鼠大脑内5-HT含量均显著升高($P < 0.05$),分别升高了81.4%、52.7%、37.2%。

艳). Research advance on chemical constituents and pharmacological action of *Boswellia carterii*. *Drugs Clin* (现代药物与临床), 2012, 1(27):52-59.

- 2 Liu HL(刘洪玲). GC-MS of essential oil in Frankincense. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2009, 20: 370-371.
- 3 Liu Y(刘璠), Qiao Y(乔瑜), Li L(李玲), et al. Aromatherapy with moxibustion treatment of depression in clinical research. *Pract Tradit Chin Med*(实用中医药杂志), 2009, 25: 213-214.
- 4 Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Phycho pharm*, 1987, 93:358-364.
- 5 Kennett GA, Dickinson SL, Curzon G. Enhancement of some 5-HT-dependent behavioural responses following repeated immobilization in rats. *Brain Res*, 1985, 330:253-263.
- 6 Xiong JY(熊静悦), Zeng N(曾南), Zhang CY(张崇燕), et al. Antidepressant effect of Xiaoyaosan. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2007, 23:3-5.
- 7 Tang YM(唐亚梅), Chen CM(陈春梅), Liu Y(刘勇). Concentration change of DA, 5-HT and their metabolites in brain tissue of depression models rat treated with chronic unpredicted mild stress. *Hunan Normal Univ, Med Sci*(湖南师范大学学报,医学版), 2012, 9(3):57-64.
- 8 Racagni G, Brunello N. Physiology to functionality: The brain and neurotransmitter activity. *Int Clin Psychopharmacol*, 1999, 14:3-7.

参考文献

1 Chang YP(常允平), Han YM(韩英梅), Zhang JY(张俊)