

大孔树脂纯化瓜馥木总黄酮工艺及抗抑郁活性研究

傅春燕^{1*}, 刘永辉², 杨林¹, 陈波³¹邵阳医学高等专科学校; ²湖南省新邵县红十字会医院, 邵阳 422000;³湖南师范大学化学学生物学及中药分析教育部重点实验室, 长沙 410081

摘要: 本文采用大孔树脂纯化瓜馥木总黄酮, 并评价其抗抑郁活性。以大孔树脂 AB-8、HPD-600、HPD-826、X-5 和 D4006 对瓜馥木总黄酮的吸附率和解吸率为指标筛选树脂种类, 并对优选树脂的吸附特性和各影响因素进行研究, 优化工艺条件。利用小鼠强迫游泳、小鼠悬尾和小鼠开野实验对瓜馥木总黄酮的抗抑郁活性进行了评价。结果表明 AB-8 具有较好的吸附率和解吸率, 最佳纯化工艺为: 上样流速为 1.0 mL/min, 树脂床用 7 BV 5% 乙醇除杂, 再用 8 BV 50% 乙醇洗脱, 洗脱流速 1.0 mL/min, 经 AB-8 大孔树脂纯化 1 次后, 瓜馥木总黄酮含量为 57.3%。瓜馥木总黄酮 100 mg/kg 剂量给药组能明显缩短小鼠强迫游泳和悬尾的不动时间, 且该给药组小鼠的自主运动情况与阳性对照和空白之间没有显著差异。AB-8 大孔树脂能较好地用于瓜馥木总黄酮的纯化, 瓜馥木总黄酮具有明确的抗抑郁活性。

关键词: 瓜馥木; 总黄酮; 大孔树脂; 纯化; 抗抑郁活性

中图分类号: R914

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.08.024

Purification and Antidepressant Activity of Total Flavonoids from *Fissistigma oldhamii*FU Chun-yan^{1*}, LIU Yong-hui², YANG Lin¹, CHEN Bo³¹Department of Pharmacy, Shaoyang Junior Medicine College;²Red Cross Hospital at Xinshao County of Hunan Province, Hunan Shaoyang 422000, China;³Key Laboratory of Chemical Biology & Traditional Chinese Medicine Research, Ministry of Education, Hunan Normal University, Hunan Changsha 410081, China

Abstract: To study the purification technology of total flavonoids from *Fissistigma oldhamii* by macroporous adsorptive resins and evaluate its antidepressant activity. The adsorption and desorption capacity of 5 resins (AB-8, HPD-600, HPD-826, X-5 and D4006) for total flavonoids was investigated to select the optimal macroporous resin. The adsorption characters and the influencing factors of the selected macroporous resin were also investigated to optimize the purification technology. The classical animal models of depression including the forced swimming of the mouse, tail suspension and open-field test were applied to evaluate the antidepressant-like effect of total flavonoids from *F. oldhamii*. The results demonstrated that AB-8 macroporous resin had the best property for the purification of total flavonoids. The optimized conditions were as follows: the flow rate was set at 1.0 mL/min, the elution reagent used was 50% ethanol, and the volume of elution was 8 BV. Under the optimized purification conditions, the content of total flavonoids was 57.3%. The result showed that administration at 100 mg/kg significantly reduced immobility time in TST (being $P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively), and in FST (being $P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively), but did not cause significant changes in crossing numbers compared to the vehicle group. AB-8 macroporous resin was suitable to refine total flavonoids from *F. oldhamii*. Total flavonoids from *F. oldhamii* showed a clear antidepressant activity in different animal models of depression.

Key words: *Fissistigma oldhamii*; total flavonoids; macroporous resin; purification; antidepressant activity瓜馥木 [*Fissistigma oldhamii* (Hemsl.) Merr.],又名铁牛钻石、钻山风、香藤, 为番荔枝科 (Annonaceae) 馥木属 (*Fissistigma griffii*) 植物, 是广西药材“十八钻”中的“铁钻”。根和藤茎入药, 性温味辛, 具有祛风除湿、活血止痛等功效, 用于跌打损伤、关节炎、腰痛、胃痛及坐骨神经痛的治疗^[1]。瓜馥木中

收稿日期: 2015-01-08 接受日期: 2015-05-26

基金项目: 湖南省教育厅科研基金 (13C863); 湖南省科技厅科研计划 (2013SK3280); 国家自然科学基金 (21275049)

* 通讯作者 Tel: 86-013762850152; E-mail: syyzcy2013@163.com

富含黄酮类化合物、生物碱等活性成分^[2]。黄酮类化合物具有抗肿瘤、抗炎、抗菌等活性^[3],天然来源黄酮类成分还具有广泛抗抑郁活性^[4-7]。在前期研究中,本课题组对瓜馥木总黄酮的最佳提取工艺进行了研究,并报道了瓜馥木富集纯化的总黄酮部位具有较强的清除自由基能力^[8]。在此基础上,本实验以瓜馥木总黄酮为研究对象,首次报道筛选了5种大孔树脂分离纯化瓜馥木总黄酮的工艺,并进行了总黄酮抗抑郁活性的测试,为进一步研究瓜馥木黄酮类化合物奠定理论基础,为开发新结构及新作用的高效低毒抗抑郁剂提供新的思路。

1 材料与仪器

瓜馥木药材2011年8月采自广西临桂,由广西师范大学生命科学院唐绍清教授鉴定为瓜馥木藤茎 [*F. oldhamii* (Hemsl.) Merr.]。芦丁对照品(纯度 $\geq 98\%$, HPLC,批号:080-9303),中国药品生物制品检定所提供;其他试剂均为市售分析纯。电子天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司);TU-1901双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);KQ-500E型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);AB-8、HPD-600、HPD-826、X-5和D4006型大孔吸附树脂购自天津南开大学化工厂。雄性ICR小鼠,5周龄,体重20~22g,由湖南农业大学动物医学院提供[生产许可证号:SCXK(湘)2013-0004]。

2 实验方法

2.1 大孔树脂预处理

选择五种大孔吸附树脂作为考察对象,分别为:AB-8、HPD-600、HPD-826、X-5和D4006。按文献^[9-11]报道预处理方法:各种型号树脂用95%乙醇浸泡12h后,湿法装柱,用95%乙醇4BV动态清洗,再用水洗至无醇味;依次用5%盐酸(浸泡3h后,3BV清洗,水洗至中性)和5%NaOH(浸泡3h后,3BV清洗,然后水洗至中性)处理;最后用95%乙醇清洗至乙醇洗脱液与水混合(1:5)不呈白色混浊为止;用水洗至无醇味,备用。

2.2 上样液制备

将瓜馥木藤茎于60℃干燥烘干,粉碎,过60目。精密称取一定量瓜馥木药材粉末,按本课题组的工艺提取(即提取时间3h,乙醇浓度90%,固液比1:10,提取温度为70℃)^[8],趁热过滤,减压回收

溶剂至无醇味,残留物加药材10倍量水超声分散,离心,即得浓度1.0g生药材/mL的上样液,备用。

2.3 考察指标

树脂的吸附量是评价树脂性能的一项重要指标^[12]。以树脂对总黄酮的吸附量、吸附-解吸率以及洗脱物中总黄酮的含量作为考察指标,优选纯化瓜馥木总黄酮的最佳树脂。

2.3.1 动态吸附量考察

取5种不同型号大孔树脂(AB-8、X-5、D4006、HPD-826、HPD-600)各20mL,装入色谱柱,测定死体积后,将浓度为1.0g生药材/mL样品液分别通过树脂柱,以1.0mL/min流速进行动态吸附,流出液每10mL收集1份,用HCl-Mg反应检测,待显色反应呈明显阳性时,停止上样,记录上样量,并计算总黄酮吸附量。

2.3.2 吸附-解析率测定

取“2.3.1动态吸附量测定”项下树脂柱用蒸馏水清洗除杂,50%乙醇洗脱至无色。收集50%乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,称重。取50%乙醇洗脱物适量,按瓜馥木总黄酮含量测定方法^[8]分别测定洗脱物中总黄酮含量,计算吸附-解析率^[13-15]。

2.4 试验设计

选择大孔树脂的吸附条件优化(吸附浓度、吸附流速、树脂床径高比、泄漏曲线)、除杂条件优化(除杂溶剂、除杂体积)和洗脱条件优化(洗脱剂、洗脱流速、洗脱曲线)几个单因素水平分析来考察瓜馥木总黄酮最佳纯化工艺,最后采用工艺验证试验确定最佳纯化工艺条件。

2.5 瓜馥木总黄酮抗抑郁作用的研究

将小鼠60只随机分为五组,分别为空白对照组,阳性药盐酸氟西汀胶囊5mg/kg给药组,瓜馥木总黄酮50、100、150mg/kg三个剂量给药组,每天给药一次,连续给药10d,空白对照组同时给以同体积的1%羧甲基纤维素钠水溶液20mL/kg。末次给药后1h,开始检测。

2.5.1 小鼠强迫游泳试验

根据Porsolt建立的方法^[16],加以改进。末次给药后1h,将小鼠分别置于温度 25 ± 1 ℃、深度10cm的水中强迫游泳6min。先适应2min,记录后4min内小鼠累计不动时间。判定不动的标准是动物在水中停止挣扎,呈漂浮状态,仅有细小的肢体运动以保持头部浮在水面。

2.5.2 小鼠悬尾试验

根据 Lucien Steru 等建立的方法^[17],加以改进。末次给药后 1 h,分别将小鼠尾部 2 cm 处的部分固定于自制的悬尾支架上,使小鼠呈倒挂状态,其头部离台面约 5 cm,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 6 min 之内后 5 min 的累计不动时间。判定不动的标准是动物在停止挣扎,身体呈垂直倒悬状态,静止不动。

2.5.3 小鼠自主运动实验

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 1 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。

2.6 统计学方法

每组样本以均数 ± 标准差表示,采用单因素方差分析比较各组间的差异,然后用 GraphPad Software (Version 4.0) 进行统计学分析。

3 结果与分析

3.1 指标考察

动态吸附量考察和吸附-解析率测定结果见表 1。

表 1 不同树脂动态吸附量、吸附-解析率、含量测定结果

Table 1 Results of dynamic adsorption quantity, adsorption-desorption and content with different resins

树脂型号 Resin type	AB-8	X-5	D4006	HPD-826	HPD-600
吸附量 Adsorption quantity (mg/mL)	19.43	9.01	10.14	13.92	8.55
吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)	79.81	66.44	71.03	68.50	69.33
含量 Content (%)	47.94	37.05	43.17	32.34	36.98

由总黄酮吸附量、吸附-解析率、含量可知,AB-8 型树脂明显优于其他树脂,故选择 AB-8 型大孔吸附树脂作为瓜馥木总黄酮纯化工艺用树脂。

3.2 AB-8 型大孔吸附树脂纯化工艺优化

3.2.1 吸附条件优化

3.2.1.1 吸附浓度考察

对上述瓜馥木的提取液减压回收溶剂至无醇味,残留物加水超声分散,离心,配制成表 2 所述各

浓度上样液,分别通过 AB-8 型大孔吸附树脂柱(树脂体积 20 mL),吸附流速 1.0 mL/min,进行动态吸附。HCl-Mg 反应监测流出液,反应呈明显阳性时,停止上样,记录上样量,计算总黄酮吸附量。树脂柱用蒸馏水清洗除杂,50% 乙醇洗脱至无色。收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,称重。分别测定洗脱物中总黄酮含量,并计算吸附-解析率。结果见表 2。

表 2 吸附浓度对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 2 Effect of adsorption concentration on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

吸附浓度 Adsorption concentration (g/mL)	0.5	1.0	1.5	2.0
吸附量 Adsorption quantity (mg/mL)	20.01	20.97	19.82	19.70
吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)	70.11	75.86	71.58	70.89
含量 Content (%)	36.08	39.91	35.66	33.93

由上表可知,上样液浓度为 1.0 g 生药材/mL 时,总黄酮吸附-解析率和含量优于其他浓度,故最终选择上样液的浓度为 1.0 g 生药材/mL。

3.2.1.2 吸附流速考察

将浓度为 1.0 g 生药材/mL 的样品液通过 AB-8 型树脂柱,分别以 1.0、2.0、3.0 mL/min 的流速进行动态吸附。用 HCl-Mg 反应监测流出液,待反应呈

明显阳性时,停止上样,记录上样量,计算总黄酮比吸附量。树脂柱用蒸馏水水清洗除杂,50% 乙醇洗脱至无色。收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,称重。取 50% 乙醇洗脱物适量,分别测定洗脱物中总黄酮含量,计算吸附-解析率。结果见表 3。

表3 吸附流速对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 3 Effect of adsorption velocity on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

吸附流速 Adsorption velocity (mL/min)	1.0	2.0	3.0
吸附量 Adsorption quantity (mg/mL)	18.01	12.53	10.09
吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)	79.14	78.99	75.06
含量 Content (%)	43.08	40.64	39.07

由表3可知,流速为1.0 mL/min时,总黄酮吸附-解析率和含量优于其他浓度,故最终选择上样液的浓度为1.0 mL/min。

3.2.1.3 树脂床径高比考察

选择相同直径(2.0 cm)色谱柱3根,填充AB-8型树脂使树脂床径高比分别为1:5、1:7、1:9。取浓度为1.0 g生药材/mL的样品液通过树脂柱,进行

动态吸附。用HCl-Mg反应监测流出液,待反应呈明显阳性时,停止上样,记录上样量,计算总黄酮比吸附量。树脂柱用蒸馏水清洗除杂,50%乙醇洗脱至无色。收集50%乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,称重。取50%乙醇洗脱物适量,分别测定洗脱物中总黄酮含量,计算吸附-解析率。结果见表4。

表4 树脂床径高比对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 4 Effect of diameter height ratio of resin bed on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

树脂床径高比 Diameter height ratio of resin bed	1:5	1:7	1:9
吸附量 Adsorption quantity (mg/mL)	18.01	18.13	18.67
吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)	86.72	86.94	76.09
含量 Content (%)	44.54	46.07	38.90

由上表可知,树脂床径高比为1:5和1:7时的含量和吸附-解析率明显优于1:9的含量和吸附解析率,1:7的含量和吸附-解析率比1:5较好,最终确定径高比为1:7。

3.2.1.4 泄漏曲线考察

按上述所确定的吸附条件,取样品液通过AB-8型树脂床(径高比为1:7),吸附流速为1.0 mL/min,进行动态吸附,流出液每10 mL收集一份,共收集20份,每份流出液取一定体积,HCl-Mg比色法测定总黄酮量并计算泄漏量。以每份总黄酮泄漏率为纵坐标,累计上样体积(mL)为横坐标绘制泄漏曲线。

由泄漏曲线(图1)可知,在上述吸附条件下,上样体积为550 mL时,总黄酮开始泄漏明显。

3.2.2 除杂条件优化

3.2.2.1 除杂溶剂考察

取浓度为1.0 g生药材/mL的上样液550 mL,按已确定的最佳吸附条件进行动态吸附,待吸附完成后,树脂柱先分别用蒸馏水、5%乙醇和10%乙醇洗脱,再用50%乙醇洗脱至无色。收集50%乙醇洗脱液,蒸干,称重,测定总黄酮含量,计算吸附-解吸率。结果见表5。

由表5可知,用5%乙醇溶剂除杂时,洗脱物总黄酮含量和吸附-解析率最高,因此确定除杂溶剂为5%乙醇。

3.2.2.2 除杂体积确定

取浓度为1.0 g生药材/mL的上样液550 mL,按已确定的最佳吸附条件进行动态吸附,待吸附完成后,树脂柱先分别用5%乙醇5倍、7倍、9倍体积洗脱,再用50%乙醇洗脱至无色。收集50%乙醇洗脱液,蒸干,称重,测定总黄酮含量,计算吸附-解吸率。结果见表6。

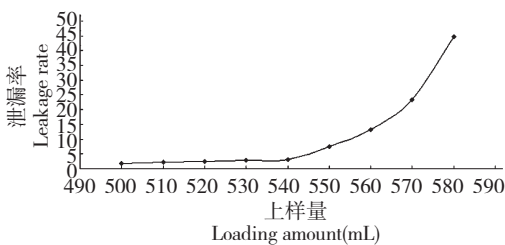


图1 AB-8大孔树脂纯化瓜馥木总黄酮泄漏曲线

Fig. 1 Leak curve of total flavonoids from *F. oldhamii* with AB-8 resins

表 5 不同除杂溶剂对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 5 Effect of different mixed solvent on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

除杂溶剂 Mixed solvent	总黄酮含量 Total flavonoid content (%)	总黄酮吸附-解析率 Adsorption-desorption rates (%)
蒸馏水 Distilled water	44.17	81.05
5% 乙醇 5% Ethanol	46.24	83.17
10% 乙醇 10% Ethanol)	41.09	79.03

表 6 除杂体积对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 6 Effect of mixed solvent multiple on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

除杂溶剂倍数 Mixed solvent multiple	总黄酮含量 Total flavonoid content (%)	总黄酮吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)
5	43.01	81.04
7	50.93	88.07
9	47.15	79.09

由表 6 可知,用 7 倍 5% 乙醇除杂时,洗脱物总黄酮含量和吸附-解析率最高,因此确定除杂溶剂用量为 7 倍。

3.2.3 洗脱条件优化

3.2.3.1 洗脱剂考察

取浓度为 1.0 g 生药材/ mL 的上样液 550 mL,

按已确定的最佳吸附条件进行动态吸附,待吸附完成后,树脂柱用 5% 乙醇 7 BV 进行除杂,再分别用 50% 乙醇、70% 乙醇、90% 乙醇洗脱至无色,洗脱流速为 1.0 mL/min。分别收集洗脱液,回收溶剂,减压干燥,测定总黄酮含量,计算吸附-解析率。结果见表 7。

表 7 洗脱剂对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 7 Effect of eluent on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

洗脱剂 Eluent	总黄酮含量 Total flavonoid content (%)	总黄酮吸附-解析率 Adsorption-desorption rate (%)
50% 乙醇 50% Ethanol	50.71	88.03
70% 乙醇 70% Ethanol	48.02	87.17
90% 乙醇 90% Ethanol	46.01	79.44

从表 7 数据可知,用 50% 乙醇洗脱时,洗脱物总黄酮含量和吸附-解析率最高,故确定洗脱溶剂为 50% 乙醇。

3.2.3.2 洗脱流速考察

取浓度为 1.0 g 生药材/ mL 的上样液 550 mL,

分别通过 3 根 AB-8 型树脂床,按已确定的吸附及除杂条件操作,然后用 50% 乙醇洗脱至无色,洗脱流速分别为 1.0、2.0、3.0 mL/min。收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,称重,测定总黄酮含量,计算吸附-解析率。结果见表 8。

表 8 洗脱流速对瓜馥木总黄酮吸附-解析率和含量的影响

Table 8 Effect of elution velocity on adsorption-desorption rate and content of total flavonoids from *F. oldhamii*

洗脱流速 Elution velocity (mL/min)	总黄酮含量 Total flavonoid content (%)	总黄酮吸附-解析率 Adsorption-desorption (%)
1.0	51.29	91.03
2.0	46.07	87.81
3.0	44.03	91.14

从表 8 数据可知,洗脱流速 1.0 mL/min 时,洗脱物总黄酮含量最高,总黄酮吸附-解析率较高。从总黄酮含量考虑,故确定洗脱流速为 1.0 mL/min。

3.2.3.3 洗脱曲线考察

取浓度为 1.0 g 生药材/mL 的样品液通过 AB-8 型树脂柱,按已确定的吸附、除杂和洗脱条件操作,等体积收集洗脱液(每 20 mL 收集一份),共收集 10 份。洗脱液完全转移至蒸发皿中,蒸干溶剂并减压干燥,测定总黄酮量,计算洗脱量。以洗脱量为纵坐标,洗脱液体积为横坐标绘制洗脱曲线,见图 2。

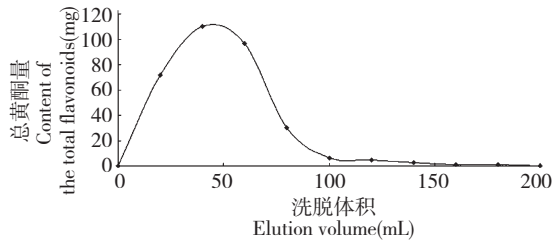


图 2 AB-8 大孔树脂纯化瓜馥木总黄酮的洗脱曲

Fig. 2 Elution curve of total flavonoids from *F. oldhamii* with AB-8 resin

由洗脱曲线可知,当用 50% 乙醇洗脱 120 mL 时,总黄酮基本洗脱完全,因此确定洗脱体积为 120 mL。

表 10 瓜馥木总黄酮对小鼠强迫游泳行为的影响($\bar{X} \pm S$)

Table 10 Effect of total flavonoids from *F. oldhamii* on the duration of immobility in the forced swimming test ($\bar{X} \pm S$)

组别 Group	动物数(只) Animal number	累计不动时间 Immobility time (s)
对照组 Control	12	137.19 ± 47.13
盐酸氟西汀胶囊(5 mg/kg) Fluoxetine 5 mg/kg	12	93.08 ± 32.81 *
总黄酮 1 (50 mg/kg) Total flavonoids 1 (50 mg/kg)	12	84.10 ± 27.10 **
总黄酮 2 (100 mg/kg) Total flavonoids 2 (100 mg/kg)	12	103.47 ± 66.11
总黄酮 3 (150 mg/kg) Total flavonoids 3 (150 mg/kg)	12	110.03 ± 55.19

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.4.2 瓜馥木总黄酮对小鼠悬尾行为的影响

由表 11 结果可见,阳性药盐酸氟西汀、瓜馥木

3.3 工艺验证试验

瓜馥木总黄酮最佳纯化工艺为:提取物上样液浓度为 1.0 g 生药材/mL,吸附流速为 1.0 mL/min,树脂床径高比为 1:7,最大上样量为 550 mL,除杂溶剂为 5% 乙醇,除杂溶剂用量为 140 mL (7 BV),洗脱溶剂为 50% 乙醇,洗脱流速为 1.0 mL/min,洗脱体积为 160 mL (8 BV),收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,得瓜馥木总黄酮。按上述工艺条件制备 3 批样品,结果见表 9。

表 9 3 批样品瓜馥木总黄酮含量测定结果

Table 9 Results of total flavonoids content in three batches samples (% ; n = 3)

批次 Batch	总黄酮含量 Total flavonoids content (%)	RSD (%)
1	57.79	
2	56.98	0.75
3	57.13	

3.4 瓜馥木总黄酮抗抑郁活性研究

3.4.1 对小鼠强迫游泳行为的影响

由表 10 结果可见,阳性药盐酸氟西汀胶囊、瓜馥木总黄酮 50 mg/kg 剂量给药组能明显缩短小鼠强迫游泳累积不动时间。

表 11 瓜馥木总黄酮对小鼠悬尾行为的影响($\bar{X} \pm S$)

Table 11 Effect of total flavonoids from *F. oldhamii* on the duration of immobility in tail suspension test ($\bar{X} \pm S$)

组别 Group	动物数(只) Animal number	累计不动时间 Immobility time (s)
对照组 Control	12	129.60 ± 45.90
盐酸氟西汀胶囊(5 mg/kg) Fluoxetine 5 mg/kg	12	91.80 ± 21.40 *
总黄酮 1 (50 mg/kg) Total flavonoids 1 (50 mg/kg)	12	73.70 ± 24.90 **

总黄酮 50、100 mg/kg 2 个剂量给药组均能明显缩短悬尾小鼠累计不动时间。

总黄酮2(100 mg/kg) Total flavonoids 2 (100 mg/kg)	12	91.46 ± 29.50 *
总黄酮3(150 mg/kg) Total flavonoids 3 (150 mg/kg)	12	97.70 ± 31.80

注:与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.4.3 瓜馥木总黄酮对小鼠自主运动行为的影响

由表 12 结果可见,各给药组小鼠的自主运动情况与阳性对照和空白之间没有显著差异,提示抗抑

郁剂量范围内的瓜馥木总黄酮没有明显的中枢兴奋或抑制作用。

表 12 瓜馥木总黄酮对小鼠自主运动行为的影响 ($\bar{X} \pm S$)

Table 12 Effect of total flavonoids from *F. oldhamii* on movement distance of mice in the open-field test ($\bar{X} \pm S$)

组别 Group	动物数(只) Animal number	运动距离 Movement distance (cm)
对照组 Control	12	144 ± 28
盐酸氟西汀胶囊(5 mg/kg) Fluoxetine 5 mg/kg	12	136 ± 32
总黄酮1(50 mg/kg) Total flavonoids 1 (50 mg/kg)	12	124 ± 33
总黄酮2(100 mg/kg) Total flavonoids 2 (100 mg/kg)	12	124 ± 31
总黄酮3(150 mg/kg) Total flavonoids 3 (150 mg/kg)	12	130 ± 30

4 讨论与结论

本实验在瓜馥木总黄酮部位纯化工工艺用树脂的选择上,对 5 种大孔树脂进行了对比选择,其中以 AB-8 型树脂纯化效果最为理想。瓜馥木总黄酮的最佳纯化工工艺为:药材 90% 乙醇提取液,减压回收溶剂至无醇味,残留物加药材 10 倍量水超声分散,离心,得浓度 1.0 g 生药材/mL 的上样液,加至已处理好的 AB-8 型大孔吸附树脂床(径高比 1:7),吸附流速 1.0 mL/min,待树脂达到饱和吸附后,树脂床用 7 BV 5% 乙醇除杂,再用 8 BV 50% 乙醇洗脱,洗脱流速 1.0 mL/min,收集 50% 乙醇洗脱液,回收溶剂,减压干燥,得瓜馥木总黄酮。经纯化后,产品中总黄酮的纯度提高到 57.3%。由此可见,AB-8 大孔吸附树脂是瓜馥木总黄酮良好的纯化剂,对瓜馥木总黄酮有较高的吸附和解吸性能,适用于总黄酮的纯化研究。实验方法操作简单,所需成本低,能有效纯化瓜馥木总黄酮,回收率高,为瓜馥木的开发利用提供科学依据。

本研究采用经典抑郁动物模型小鼠悬尾、小鼠强迫游泳实验评价瓜馥木总黄酮的抗抑郁活性。结果表明,阳性药盐酸氟西汀胶囊、瓜馥木总黄酮 50 mg/kg 剂量给药组均能明显缩短小鼠强迫游泳和悬尾的不动时间,且各给药组小鼠的自主运动情况与阳性对照和空白之间没有显著差异,提示瓜馥木总黄酮具有明确的抗抑郁作用。本实验中瓜馥木中、

高剂量组(100、150 mg/kg)抗抑郁药效不明显,可能是随着给药剂量增加,药物作用靶点已经达到饱和。目前有关瓜馥木总黄酮抗抑郁活性的机制研究还未见报道,本研究结果也为进一步研究黄酮类化合物的抗抑郁机制、以及发展新结构及新作用的高效低毒抗抑郁剂提供了新的思路。

参考文献

- 1 Jiangsu New Medical College (江苏新医学院). Traditional Chinese Medicine. Shanghai: Shanghai People's Publishing House(上海人民出版社), 1977. 758.
- 2 Fu CY(傅春燕), Liu YH(刘永辉), Zhou ZL(周中流), et al. Inhibitory activity of the total alkaloid from *F. oldhamii* (Hemsl.) Merr. and its three aporphine alkaloids against pathogenic fungi. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2010, 4: 70-72.
- 3 Wu Q(吴茜), Li ZY(李志裕), Tang WF(唐伟方), et al. Chemical modification of flavones and biological activities of modified flavones. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 20: 557-562.
- 4 Wang WX(王卫星), Hu XY(胡新颖), Liu P(刘鹏), et al. Study on the screening of antidepressant-like effect of 10 natural flavanoids. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2007, 38: 900-902.
- 5 Dang HX, Chen Y, Liu XM, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression. *Prog Neuro-Psychoph*, 2009, 33: 1417-1424.