

香叶天竺葵精油和罗勒精油的抗抑郁功效及其作用机制研究

刘晓生¹, 王郁玲², 马瑞君³, 刁远明¹, 张洁文⁴, 吴清韩^{3*}

¹广州中医药大学基础医学院, 广州 510006; ²广州市城市建设职业学校, 广州 510320;

³韩山师范学院生命科学与食品工程学院, 潮州 521041; ⁴中山大学第一附属医院, 广州 510006

摘要:研究两种芳香类中草药植物精油的抗抑郁功效及其作用机制。本文采用鼠尾悬挂和强迫游泳两种试验构建“行为绝望抑郁”模型,并测定模型小鼠不动时间;以皮质酮(CORT)诱导PC12细胞损伤来构建细胞应激损伤模型,MTT法检测细胞活力;对香叶天竺葵和罗勒精油抗抑郁功效及其作用机制进行研究。结果发现,在两种“行为绝望抑郁”模型试验中,与正常对照组相比,两种精油的各实验剂量组(0.24、0.36、0.48 mL/kg)均能有效缩短抑郁模型小鼠不动时间。而在CORT应激损伤细胞模型试验中,模型组细胞存活率明显降低,细胞突触收缩。当给予两种精油后,细胞存活率均显著提高,细胞突触有所恢复。另外,研究发现PI3K/Akt和PKA的信号通路阻断剂能显著减弱香叶天竺葵和罗勒精油对抗皮质酮的保护作用。以上结果表明,香叶天竺葵和罗勒的精油具有一定的抗抑郁作用,其神经保护作用可能由PI3K/Akt和PKA信号通路介导。

关键词:香叶天竺葵;罗勒;精油;PI3K/Akt;PKA;抗抑郁

中图分类号:R285

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)11-1829-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.11.003

Antidepressant effect and mechanism of the essential oil from *Pelargonium graveolens* and *Ocimum basilicum* L.

LIU Xiao-sheng¹, WANG Yu-ling², MA Rui-jun³, DIAO Yuan-ming¹, ZHANG Jie-wen⁴, WU Qing-han^{3*}

¹School of Basic Medical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

²Guangzhou Urban Construction Vocational School, Guangzhou 510320, China;

³Hanshan Normal University, School of Life Sciences and Food Engineering, Chaozhou 521041, China;

⁴Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Abstract: To study the antidepressant effect and mechanism of the essential oil (EO) from *Pelargonium graveolens* and *Ocimum basilicum* L. In this study, the model of “behavioral despair and depression” was established by using mouse tail suspension test (TST) and forced swimming test (FST), and then the immobility time of the model mice was measured. PC12 cells were injured by corticosterone (CORT) to establish stress injury model, and MTT assay was used to detect cell viability. The antidepressant effect and mechanism of EO from *P. graveolens* and *O. basilicum* were studied. The results showed that in the two “behavioral despair and depression” model tests, compared with the normal control group, each experimental dose group (0.24, 0.36, 0.48 mL/kg) of the two EO could effectively shorten the immobility time of depression model mice. However, in CORT stress injury cell model test, the cell survival rate of the model group decreased obviously, and the cell synapses contracted. When two kinds of EO were given, the cell survival rate was significantly improved, and the synapses were recovered. In addition, it was found that PI3K/Akt and PKA signal pathway inhibitor could significantly reduce the protective effect of geranium and basil essential oil against corticosterone. The above results indicated that EO have certain antidepressant effects, and their neuroprotective effects may be mediated by PI3K/Akt and PKA signaling pathways.

Key words: *Pelargonium graveolens*; *Ocimum basilicum* L.; essential oil; PI3K/Akt; PKA; antidepressant effect

益加快,社会竞争压力逐渐增大,它已成为现代社会最常见的心理疾病之一^[1]。因为目前临床使用的抗抑郁药物主要是单胺氧化酶(MAO)抑制剂、选择性5-羟色胺重吸收抑制剂(SSRI)、非典型抗抑郁药、三环和四环类抗抑郁药物这四大类化学合成药物,它们虽然对各种程度抑郁症具有一定的治疗效果,但均普遍存在抗抑郁谱窄、药价高、副作用大等弊端^[24]。另一方面,已有研究表明以中医药理论为支撑的天然芳香类中草药植物在治疗抑郁症方面有着丰富经验和独特疗效。如Shen等^[5]研究发现大鼠吸入薰衣草精油可影响自主神经系统,调节大鼠情绪。Park等^[6]证实细辛精油对缓解小鼠抑郁症状具有一定效果。Yang等^[7]发现嗅闻甜橙精油能有效缓解实验小鼠抑郁症样。Wang等^[8]初步证实复方精油香气经由人体嗅吸对抑郁症康复具有一定辅助干预作用。Fernandez等^[9]证实薰衣草精油对女性产后抑郁症状缓解能起很大作用。因而从天然芳香类中草药植物中探寻高疗效、毒副作用小的抗抑郁药用活性成分,日益受到国内外学者的重视。

本研究所选取的两种常见芳香类中草药植物:罗勒(*Ocimum basilicum* L.)和香叶天竺葵(*Pelargonium graveolens*),均有安抚神经紧张、平抚焦虑沮丧心情之功效^[10,11]。目前有关这两种植物的研究,主要是对其精油(essential oil, EO)成分分析^[12,13]、抗菌性^[14,15]、抗氧化活性^[16,17]等方面的报道。而关于其抗抑郁功效研究除了Khalaj等^[18]用小鼠强迫游泳试验发现香叶天竺葵精油对缓解抑郁症具有一定功效外,国内外还鲜有其他相关研究报道。本文拟采用两种“行为绝望抑郁”模型小鼠尾悬挂试验和小鼠强迫游泳试验,测定各实验组小鼠不动时间变化;皮质酮诱导PC12细胞损伤模拟抑郁症患者人脑神经元损伤状态,并通过相关抑制剂预处理,检测细胞损伤程度。分别从动物和细胞水平对香叶天竺葵和罗勒的精油的抗抑郁功效及其可能的信号通路进行研究,以期为研发具抗抑郁功效的芳香类中草药植物精油产品奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香叶天竺葵精油和罗勒精油(浓度均为99.9%),由韩山师范学院植物资源研究所提供。昆明种小鼠,SPF级,雌雄各半,体重18~22 g,由汕头大学医学院提供。盐酸氟西汀(Sigma,纯度98%,货号:F0253000);DMEM培养基(Gibco,货号:

11965092);胎牛血清(四季青,货号:22011-8612);D-HANKS(Gibco,货号:10010072);MTT试剂(Gibco,货号:M6494);胰酶(Gibco,货号:25200056);Perifosine(碧云天,纯度98%,货号:SC0227-10mM);LY294002(碧云天,纯度98%,货号:S1737-1mg);H-89(碧云天,纯度98%,货号:S1643-1 mg);皮质酮(阿拉丁,纯度98%,货号:C119329-100 mg);DMSO(Sigma,纯度99.9%,货号:276855)。PC12细胞(肾上腺嗜铬细胞瘤细胞株)由广州中医药大学基础医学院实验教学中心提供。YLS-1C小动物活动记录仪(北京金洋万达科技有限公司);计时器(TaKaRa);imark酶标仪(美国伯乐);CKX41倒置显微镜(日本Olympus);AXTGL 16M离心机(盐城市安信实验仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物实验方法

动物试验饲养方式如下:自由进食饮水,室温26~27℃,每日保持12 h/12 h昼夜规律。

1.2.1.1 小鼠自主运动试验

参考Deng等^[19]方法。将筛选合格的80只小鼠,随机分成8组,每组10只。先适应饲养2天。第3天到第8天中,先对各实验组进行不同方式灌胃处理。其中正常生理盐水组(空白对照组)以及氟西汀阳性对照组均每天灌胃给予生理盐水,1天1次,每次灌胃剂量0.25 mL/10 g;香叶天竺葵和罗勒精油组每天灌胃给予特定剂量的精油(小剂量组0.24 mL/kg、中剂量组0.36 mL/kg、高剂量组0.48 mL/kg)。实验时,将精油溶于0.9%生理盐水中,配制成各剂量精油相应浓度的溶液,灌胃前振荡均匀。每天灌胃一次,每次灌胃剂量为0.25 mL/10 g。第9天,除了氟西汀阳性对照组灌胃给予盐酸氟西汀,剂量为40 mg/kg,灌胃量为0.25 mL/10 g外。其他组仍按照之前的给药剂量和方式分别进行灌胃。在各组小鼠给药30 min后,使用YLS-1C小动物活动记录仪,记录每个笼子里的小鼠5 min内的自主活动次数。

1.2.1.2 小鼠尾悬挂试验

参考Deng等^[19]方法并改进。将筛选合格的90只小鼠,随机分成9组,每组10只。适应饲养2天。第3天到第9天中,先对各实验组进行不同方式灌胃处理,除正常组小鼠不做尾悬外,其他8组小鼠都通过小鼠尾悬,利用小鼠不能逃逸出恶劣环境,导致其产生行为绝望的抑郁小鼠。其中正常组(未尾悬

组),生理盐水组(空白对照组)以及氟西汀阳性对照组、香叶天竺葵和罗勒精油组每天灌胃均参照本文“1.2.1.1”项。8组小鼠进行小鼠尾悬挂不动时间的测定:根据 Steru 等^[20]建立的方法,加以改进。实验第9天,进行小鼠尾悬挂不动时间的测定。试验前30 min,除了氟西汀阳性对照组灌胃给予盐酸氟西汀,剂量为40 mg/kg,灌胃量为0.25 mL/10 g外。其他组仍按照之前的给药剂量和方式分别进行灌胃。试验时,除正常组小鼠不做尾悬,记录正常活动状态下小鼠在6 min 之内的后5 min 内的累计不动时间外,其他8组小鼠分别将小鼠尾部1 cm 处的部分固定于自制的悬尾支架上,使小鼠呈倒挂状态,其头部离底部约5 cm,四周以纸板隔离小鼠视线。小鼠为了克服不正常体位而挣扎活动,但活动一段时间后出现间断性不动,表现出失望状态。观察各组小鼠在6 min 之内的后5 min 内的累计不动时间,即为失望时间,其判定不动标准是动物停止挣扎,身体呈垂直倒悬状态,静止不动^[21]。

1.2.1.3 小鼠强迫游泳试验

将100只昆明小鼠(雌雄各半),先适应饲养2天。第3天单个放入垂直放置的盛水的有机玻璃大烧杯中(高22 cm × 直径13 cm,水深12 cm,水温25℃),预试15 min 后将小鼠烘干。剔除预试中不合格者,将筛选的合格90只小鼠随机分成9组,每组10只。试验第3天到第9天的实验分组和给药剂量,参照本文“1.2.1.2”项。其中8组小鼠强迫游泳不动时间的测定:参考 Porsolt 方法^[17],并做一些改进。试验的第9天,试验前30 min,氟西汀阳性对照组灌胃用量与小鼠尾悬挂试验中的一致,其他组仍也按以前的给药方式和剂量分别进行灌胃。试验时,除正常组小鼠不做强迫游泳实验,记录正常活动状态下小鼠在6 min 之内的后5 min 内的累计不动时间外,其他8组小鼠分别在与预试验相同实验条件下,测定各组小鼠强迫游泳6 min 之内后5 min 的累计不动时间。其判定不动标准是小鼠微卷躯体,但保持垂直姿势,鼻孔露出水面^[23]。

1.2.2 细胞实验方法

1.2.2.1 细胞培养

复苏的PC12细胞使用预先配好的DMEM完全培养基(含有10%胎牛血清和1%双抗)进行分装培养,每隔1天换液一次。

1.2.2.2 实验分组

PC12细胞用0.25%胰酶消化重悬,制备细胞

悬液(1×10^5 个/mL)。制备现配精油:100 μ L 精油加入DMSO中定容至1 mL混合成现配精油。96孔板上随机划分14组(每组3个复孔,100 μ L/孔),培养24 h后,待细胞长满孔底,弃旧液,换成不含胎牛血清的基础培养液,进行饥饿处理1 h。1 h后弃旧液,其中空白对照组进行正常的换液,无任何添加;皮质酮损伤细胞模型组(CORT)加入含0.1 mmol/L皮质酮(CORT)的培养液;各精油组各孔均先加入相应剂量现配精油,预处理细胞1 h,之后再加入基础培养液和皮质酮母液,使各孔皮质酮终浓度为0.1 mmol/L,精油组各孔的精油终浓度为60、70、80 μ L/mL。其中,Pg60为香叶天竺葵精油组(60 μ L/mL);Pg70为香叶天竺葵精油组(70 μ L/mL);Pg80为香叶天竺葵精油组(80 μ L/mL);Ob60为罗勒精油组(60 μ L/mL);Ob70为罗勒精油组(70 μ L/mL);Ob80为罗勒精油组(80 μ L/mL)。另外,抑制剂组各孔均先加入相应剂量现配信号通路抑制剂预处理细胞1 h,其中PI3K信号通路抑制剂(PI3K组)加入通路抑制剂LY294002(50 μ M/100 μ L)。其中,AKt信号通路抑制剂(AKt组)加入通路抑制剂KRX-0401(100 μ M/100 μ L),PKA信号通路抑制剂(PKA组)加入通路抑制剂H-89(50 μ M/100 μ L)。再分别加入相应剂量现配精油预处理细胞1 h,之后再加入基础培养液和皮质酮母液共处理24 h,使各精油组的精油终浓度为70 μ L/mL。处理结束后进行MTT assay检测细胞存活状态。

1.3 统计学处理

所有数据均用平均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析比较各组间的差异,以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 香叶天竺葵精油和罗勒精油对小鼠自主活动的影响

如表1所示,各精油实验组的小鼠自主活动次数,与氟西汀阳性对照组和生理盐水空白对照组比较,自主活动次数均没有显著性增加,表明本实验中香叶天竺葵精油和罗勒精油缩短小鼠尾悬和强迫游泳的不动时间所具有的抗抑郁作用与提高小鼠中枢神经系统兴奋性无关。

2.2 小鼠尾悬挂试验结果

如表2所示,在小鼠尾悬挂试验中,与正常组(未悬尾组)相比,悬尾造模的生理盐水空白对照组的模型小鼠的不动时间显著增加,并表现出停止挣

表 1 主运动试验中各组小鼠的自主活动次数($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 The spontaneous locomotor activity of mice in each experimental group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

试验组别 Test group	浓度 Concentration	自主活动次数 Number of voluntary activity (s)
空白对照 Blank control	0.9% 的 NaCl 溶液	72.80 ± 22.27
氟西汀 Fluoxetine	0.025 mL/g	69.40 ± 15.03
香叶天竺葵精油 <i>P. graveolens</i> EO	0.24 mL/kg	32.00 ± 24.56 ^{*a}
	0.36 mL/kg	18.00 ± 24.06 ^{*a}
	0.48 mL/kg	24.30 ± 17.58 ^{*a}
罗勒精油 <i>O. basilicum</i> EO	0.24 mL/kg	69.90 ± 13.38
	0.36 mL/kg	66.30 ± 13.38
	0.48 mL/kg	77.10 ± 14.67

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$; 与氟西汀(阳性对照),^a $P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with fluoxetine group, ^a $P < 0.05$ 。

扎,身体呈垂直倒悬状态,静止不动的抑郁状态。另外,抑郁小鼠的不动时间减少最明显的实验组依次为:罗勒精油中剂量组(0.36 mL/kg)、氟西汀阳性对照组、罗勒精油高剂量组(0.48 mL/kg)、香叶天竺葵精油高剂量组(0.48 mL/kg),与生理盐水空白对照组相比,不动时间分别缩短了 79.07%、

75.75%、69.72%、64.75%。在香叶天竺葵精油各试验组中,香叶天竺葵精油高剂量组的效果最好,精油高剂量组的效果要好于低剂量组(0.24 mL/kg)的;在罗勒精油各试验组中,精油中高剂量组的效果比精油小剂量组的效果好。

表 2 小鼠尾悬挂试验中各组小鼠的不动时间($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 The motionless time of mice in each experimental group on the TST($\bar{x} \pm s, n = 10$)

试验组别 Test group	浓度 Concentration	不动时间 Immobility time (s)
正常组 Normal group	0.9% 的 NaCl 溶液	44.70 ± 6.29 [*]
空白对照 Blank control	0.9% 的 NaCl 溶液	102.70 ± 32.34 ^a
氟西汀 Fluoxetine	0.025 mL/g	24.90 ± 9.80 ^{*a}
香叶天竺葵精油 <i>P. graveolens</i> EO	0.24 mL/g	40.90 ± 25.06 [*]
	0.36 mL/kg	37.10 ± 21.32 [*]
	0.48 mL/kg	36.20 ± 23.13 [*]
罗勒精油 <i>O. basilicum</i> EO	0.24 mL/kg	49.70 ± 15.97 [*]
	0.36 mL/kg	21.50 ± 14.14 ^{*a}
	0.48 mL/kg	31.10 ± 20.71 [*]

注:与正常组(未悬尾组)比较,^a $P < 0.05$;与空白对照组比较, * $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal group, ^a $P < 0.05$; Compared with blank group, * $P < 0.05$ 。

2.3 小鼠强迫游泳试验结果

如表 3 所示,在小鼠强迫游泳试验中,与正常组(未强迫游泳)相比,强迫游泳造模的生理盐水空白对照组的模型小鼠的不动时间显著增加,并表现出微卷躯体,保持垂直姿势,鼻孔露出水面的不动抑郁状态。另外,抑郁小鼠的不动时间减少最明显的实验组依次为:香叶天竺葵精油中剂量组,罗勒精油高剂量组、罗勒精油中剂量组、香叶天竺葵精油高剂量组,与生理盐水空白对照组相比,不动时间分别缩短

了 72.20%、71.37%、70.95%、70.22%。在香叶天竺葵精油各试验组中,精油中高剂量组效果最好,小剂量效果次之;在罗勒精油各试验组中,精油高剂量组效果最好、中剂量组和小剂量组分别次之。

2.4 香叶天竺葵和罗勒精油对 CORT 损伤 PC12 细胞存活率的影响

如图 1 所示,与空白组比较,CORT 组的 PC12 细胞存活率显著降低,说明 0.1 mmol/L 的 CORT 能导致细胞损伤,降低细胞存活率。与 CORT 组相比,

表 3 各试验组在小鼠强迫游泳试验中的不动时间($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 The motionless time of mice in each experimental group on the FST($\bar{x} \pm s, n = 10$)

试验组别 Test group	浓度 Concentration	不动时间 Immobility time(s)
正常组 Normal group	0.9%的 NaCl 溶液	37.80 ± 8.56 *
空白对照 Blank control	0.9%的 NaCl 溶液	95.70 ± 21.64 ^a
氟西汀 Fluoxetine	0.025 mL/g	40.80 ± 20.81 *
香叶天竺葵精油 <i>P. graveolens</i> EO	0.24 mL/kg	34.60 ± 19.40 *
	0.36 mL/kg	26.60 ± 12.18 *
	0.48 mL/kg	28.50 ± 9.68 *
罗勒精油 <i>O. basilicum</i> EO	0.24 mL/kg	41.50 ± 25.14 *
	0.36 mL/kg	27.80 ± 17.46 *
	0.48 mL/kg	27.40 ± 14.57 *

注:与正常组(未强迫游泳)比较, ^a $P < 0.05$;与空白对照组比较, * $P < 0.05$ 。
 Note: Compared with normal group, ^a $P < 0.05$; Compared with blank group, * $P < 0.05$.

香叶天竺葵和罗勒的精油各剂量处理后均能提高 PC12 细胞存活率,其中低、中剂量精油处理组的效果较好,并以中剂量精油处理组的效果最佳($P < 0.05$)。

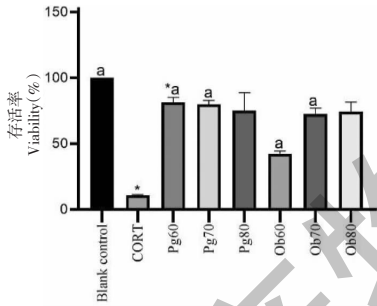


图 1 香叶天竺葵和罗勒精油对 CORT 损伤 PC12 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Effects of different concentrations of *P. graveolens* and *O. basilicum* EO on the viability of CORT-injured PC12 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与空白对照组比较, * $P < 0.05$;与 CORT 组比较, ^a $P < 0.05$ 。
 Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$; Compared with CORT group, ^a $P < 0.05$.

2.5 LY294002、KRX-0401 和 H-89 干预对 PC12 细胞存活率的影响

如图 2 所示, PI3K 组(PI3K 信号通路抑制剂 LY294002) AKt 组(AKt 信号通路抑制剂 KRX-0401) PKA 组(PKA 信号通路抑制剂 H-89)分别与香叶天竺葵精油组和罗勒精油组比较,细胞存活率均有显著的降低,表明两种精油对 CORT 损伤 PC12 细胞的保护作用可能由 PI3K/Akt 和 PKA 信号通路介导。

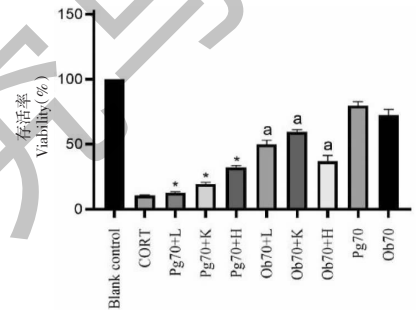


图 2 LY294002、KRX-0401、H-89 干预对 PC12 细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Inhibition effect of LY294002, KRX-0401 and H-89 on viability of PC12 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与香叶天竺葵精油组比较, * $P < 0.05$;与罗勒精油组比较, ^a $P < 0.05$ 。其中, Pg70 + L 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 香叶天竺葵精油 + LY294002; Pg70 + K 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 香叶天竺葵精油 + KRX-0401; Pg70 + H 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 香叶天竺葵精油 + H-89; Ob70 + L 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 罗勒精油组 + LY294002; Ob70 + K 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 罗勒精油 + KRX-0401; Ob70 + H 为 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 罗勒精油 + H-89。Note: Compared with *P. graveolens* EO group, * $P < 0.05$; Compared with *O. basilicum* EO group, ^a $P < 0.05$. Pg70 + L is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *P. graveolens* EO + LY294002; Pg70 + K is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *P. graveolens* EO + KRX-0401; Pg70 + H is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *P. graveolens* EO + H-89; Ob70 + L is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *O. basilicum* EO + LY294002; Ob70 + K is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *O. basilicum* EO + KRX-0401; Ob70 + H is 70 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *O. basilicum* EO + H-89.

2.6 香叶天竺葵精油和罗勒精油对 CORT 损伤 PC12 细胞形态的改变

如图 3 所示,倒置显微镜下,空白对照组 PC12 细胞贴壁生长良好,突触粗长,细胞呈纤维状或多角形。CORT 组, PC12 细胞经 CORT 处理 24 h 后,细

胞突触收缩,形态变圆,贴壁数减少,细胞碎片增多。而当给予香叶天竺葵和罗勒这两种精油后,CORT损伤的PC12细胞形态逐渐恢复,突触收缩状况明

显改善。表明这两种精油能对CORT损伤PC12细胞起到一定的保护作用。

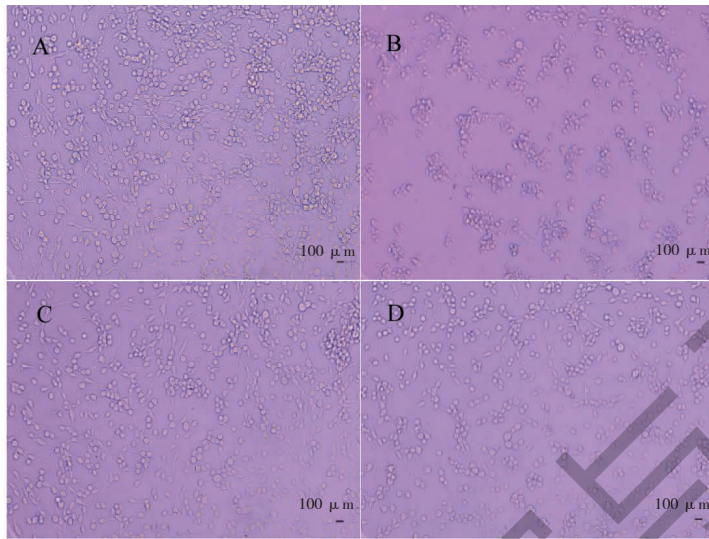


图3 不同药物处理组对PC12细胞形态的影响

Fig. 3 Changes of cell morphologies induced by different drugs

注:A:空白对照组;B:皮质酮损伤细胞模型组;C:罗勒精油组;D:香叶天竺葵精油组。Note:A:Blank control group;B:The PC12 cells injured by corticosterone to establish stress injury model;C:*O. basilicum* EO group (70 $\mu\text{L/mL}$);D:*P. graveolens* EO group (70 $\mu\text{L/mL}$).

3 讨论与结论

“行为绝望抑郁模型”是目前评价抗抑郁药的作用效果最常用的抑郁动物模型。本实验先采用此模型对香叶天竺葵和罗勒的精油的抗抑郁作用进行初步研究。结果表明香叶天竺葵和罗勒的精油各试验剂量均能有效的对抗这两种“行为绝望”模型小鼠的绝望行为,使其不动时间显著缩短,表现出一定的抗抑郁效果。并且香叶天竺葵精油的抗抑郁效果呈现一定的剂量依赖性,即精油高剂量效果最好,中剂量好于低剂量或与其相近。而罗勒精油的抗抑郁效果并不呈剂量依赖性,高、中剂量组的抗抑郁效果相近,而低剂量组抗抑郁效果次之。鉴于有研究指出,虽然以上两种“行为绝望”抑郁模型对抗抑郁药具有高选择性,但一些增加动物活动性的药物也可能出现假阳性结果^[24]。为避免可能出现的假阳性结果,本实验还对香叶天竺葵精油和罗勒精油对小鼠自主活动的影响进行研究,结果发现香叶天竺葵精油和罗勒精油的各试验剂量组与空白对照组的小鼠自主活动次数均无显著增多。综上所述,可排除由于自主活动性可能带来的抗抑郁的假阳性结果,说明这两种芳香植物的精油各试验剂量对“行为绝望”模型小鼠有明显抗抑郁作用。

另有报道,采用高浓度的CORT诱导PC12细胞损伤可模拟抑郁症患者的脑神经元损伤状态,并且CORT诱导PC12细胞损伤与细胞中的PI3K/Akt信号通路和PKA信号通路密切相关^[25,26]。因此本实验通过CORT诱导PC12细胞损伤构建皮质酮应激损伤细胞模型,MTT法检测细胞损伤程度。结果显示,0.1 mmol/L CORT可使细胞存活率明显降低,突触收缩,细胞形态改变。当给予一定剂量的香叶天竺葵精油和罗勒精油后,细胞存活率均显著提高,细胞形态有所恢复,说明一定剂量的香叶天竺葵精油和罗勒精油能对CORT诱导PC12细胞具有一定的保护作用,且两种精油的抗抑郁效果并不呈剂量依赖性,以中剂量的效果最佳。另外,当给予PI3K/Akt信号通路阻断剂LY294002、KRX-0401和PKA信号通路H-89干预时,发现两种精油对CORT损伤PC12细胞的保护作用均被显著削弱,表明两种精油对CORT损伤PC12细胞的保护作用可能由PI3K/Akt和PKA信号通路介导。

已有研究报道,植物的一些挥发性成分决定了植物所拥有的多种生理功效^[27]。香叶天竺葵精油的主要成分香茅醇、香叶醇已被证实具有一定抗抑郁功效^[28],罗勒挥发性成分中的蒿脑、芳樟醇、石竹

烯也被证实对人体神经系统具有保健功能^[29],但尚未探讨其他成分是否具有相似抗抑郁功效。

综上所述,香叶天竺葵和罗勒的精油具有一定抗抑郁作用,其神经保护作用可能由 PI3K/Akt 和 PKA 信号通路介导。本实验研究将为后期进一步探讨这两种植物精油的抗抑郁有效成分以及对其分子作用机制提供实验支撑,同时也为研发具抗抑郁功效的芳香类中草药植物精油产品奠定实验基础。

参考文献

- 1 Wang HJ, Zhu LQ, Ma C, et al. Effect of shugan jieyu capsule and escitalopram oxalate in the treatment of depression with anxiety symptoms [J]. Chin J Integr Med Cardio-Cerebrovasc Dis (中西医结合心脑血管病杂志), 2018, 16: 2470-2472.
- 2 Hiroyuki S, Kaori I, Oliver G, et al. Antidepressant effect of extracts from ginkgo biloba leaves in behavioral models [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29: 1767-1770.
- 3 Tong SS. Research on the volatile compounds, antidepressant and bacteriostatic actions of rosemary and lemongrass [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (上海交通大学), 2009: 11-12.
- 4 Zhang ZJ. Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders [J]. Life Sci, 2004, 75(14): 1659.
- 5 Shen J, Nijima A, Tanida M, et al. Olfactory stimulation with scent of grapefruit oil affects autonomic nerves, lipolysis and appetite in rats [J]. Neurosci Lett, 2005, 383(1-2): 188-193.
- 6 Park HJ, Lim EJ, Zhao RJ, et al. Effect of the fragrance inhalation of essential oil from *Asarum heterotropoides* on depression-like behaviors in mice [J]. J Au Tradit Med, 2015, 15: 1-8.
- 7 Yang ZY. Effect of orange essential oil on the relieving of depression in mice [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University (华中农业大学), 2017: 99-102.
- 8 Wang Y, Tao FY, Cui DH, et al. Study on the anti-depressant effect of compound essential oil [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32: 278-287.
- 9 Fernandez M, Hernandez-Reif M, Field T, et al. EEG during lavender and rosemary exposure in infants of depressed and non-depressed mothers [J]. Infant Behav Dev, 2004, 27(1): 91-100.
- 10 Li ZK, Zhan CA. Chaoshan Chinese Herbal Medicine (潮汕中草药) [M]. Guangdong: Guangdong Science and Technology Press, 2010: 454.
- 11 Sun W, Qu WJ. Research progress in pharmacology of geranium [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2002, 25: 600-602.
- 12 Song SQ, Gu M, Chen FP, et al. Analysis of volatile compounds from flowers and leaves of *Ocimum basilicum* L. with solid phase microextraction by GC/MS [J]. J Chin Mass Spectrum Soc (质谱学报), 2008, 29(2): 110-114.
- 13 Liu XS, Zhuang DH, Wu QH, et al. Chemical composition of phytoncides from two aromatic plants by HS-SPME and comparison with their essential oil [J]. J Northwest Norm Univ: Nat Sci (西北师范大学学报: 自科版), 2015, 2(51): 58-65.
- 14 Ding H, Wang JQ, Wang YF, et al. Component analysis and antibacterial activity of basil essential oil [J]. China Condiment (中国调味品), 2017, 42(2): 43-48.
- 15 Liu XS, Zhuang DH, Zhu H, et al. The research of the bacteriostatic effect of bronchitis germs of the volatile organic compounds in air and the essential oil from five aromatic plants [J]. Hubei Agr Sci (湖北农业科学), 2016, 55: 354-358.
- 16 Hu M, Quang MP. Research progress on functionality of essential oil from Basil *Ocimum basilicum* L. [J]. Stg Proc (保鲜与加工), 2017, 17(6): 122-125.
- 17 Ren HT, Zhou B. Analysis of volatile components and antioxidant activity evaluation of essential oil and aqueous extract from *Pelargonium graveolens* L' Herit [J]. China Surfactant Deterg Cosmet (日用化学工业), 2017, 47: 463-467.
- 18 Zarghami M, Farzin D, Khalaj L. Evaluation of antidepressant activities of rose oil and geranium oil in the mouse forced swim test [J]. Behav Pharmacol, 2005, 16: 334-335.
- 19 Deng MZ, Li JS, Fan YJ, et al. Study on the screening of antidepressant-like effect of 5 natural flavonoids [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2013, 4: 1044-1043.
- 20 Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology, 1985, 85: 367-370.
- 21 Du GH, Li XJ, Zhang YX. Pharmacological Facts Guide: a New Drug Discovery and Pharmacological Evaluation (药理学实验指南—新药发现和药理学评价) [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- 22 Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn, 1997, 229: 327-336.
- 23 Xu SY, Bian RP, Chen X. Pharmacological Experiment Methodology (药理学实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982: 646.
- 24 Bourin M, Fiocco AJ, Clenel F. How valuable are animal models in defining antidepressant activity? [J]. Hum Psychopharmacol, 2001, 16(1): 9-21.