

油莎草须根油树脂成分及抗抑郁作用分析

陈菲^{1,2}, 敬思群^{1*}, 张俊艳¹, 刘根梅¹, 叶俊¹, 李玉扩², 曹庸³

¹ 韶关学院英东食品学院, 韶关 512005; ² 吉林农业大学食品科学与工程学院, 长春 130118;

³ 华南农业大学食品学院, 广州 510642

摘要: 揭示油莎草须根油树脂抗抑郁作用及成分。采用超高效液相色谱与串联四级杆飞行时间质谱联用技术分析油莎草须根油树脂化学成分; 建立慢性不可预见温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 抑郁小鼠模型, 从动物行为学、神经递质含量变化、海马组织病理学考察油莎草须根油树脂抗抑郁作用。结果表明: 油莎草须根油树脂含有酮类 (68.891%)、酯类 (8.787%)、醇类 (4.258%)、烯类 (0.374%) 及其他物质 (12.879%), 主要成分为 α -香附酮 (59.536%)、吉马酮 (5.875%)。CUMS 抑郁模型小鼠给药后, 油莎草须根油树脂显著缩短了小鼠强迫游泳静止时间, 悬尾静止时间; 显著提高了中央总路程、平均速度、中央持续时间, 油莎草须根油树脂高剂量组明显提升了小鼠血清中 5-羟色胺 (5-HT) 含量、去甲肾上腺素 (NE) 含量, 油莎草须根油树脂高剂量组小鼠海马细胞排列整齐, 神经元细胞膜基本完整。油莎草须根油树脂可能通过参与调节 CUMS 抑郁模型小鼠血清中 5-HT 和 NE 的表达, 修复小鼠海马组织损伤来改善抑郁样行为。

关键词: 油莎草须根油树脂; 成分分析; 慢性不可预见温和应激模型; 抗抑郁作用

中图分类号: R284.1; TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)4-0612-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.4.008

Analysis of constituents and antidepressant effect of oleoresin from the fibrous roots of *Cyperus esculentus* L.

CHEN Fei^{1,2}, JING Si-qun^{1*}, ZHANG Jun-yan¹, LIU Gen-mei¹, YE Jun¹, LI Yu-kuo², CAO Yong³

¹ Henry Fok College of Food Science & Engineering, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China;

² College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

³ College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: To reveal the antidepressant effect and components of the fiber roots of *Cyperus esculentus* L. (FRCEL) oleoresin. Ultra-performance liquid chromatography coupled with quadruple time-of-flight mass spectrometry (UPLC/Q-TOF-MS) was used to analyze the chemical composition of FRCEL oleoresin. The mouse model of chronic unpredictable mild stress (CUMS) depression was established, the antidepressant effect of FRCEL oleoresin was investigated from the aspects of animal behaviors, changes of neurotransmitter content and hippocampal histopathology. It can be concluded that FRCEL oleoresin contained ketones (68.891%), esters (8.787%), alcohols (4.258%), alkenes (0.374%) and other substances (12.879%), and the main components are α -cyperone (59.536%) and germacrene (5.875%). After CUMS model mice were administered, FRCEL oleoresin significantly shortened the rest time of forced swimming and tail suspension. The total distance, average speed and duration of the center were significantly increased. The content of 5-hydroxytryptamine (5-HT) and norepinephrine (NE) in the serum of mice were significantly increased in the high-dose FRCEL oleoresin group. The hippocampal cells of mice in the high-dose FRCEL oleoresin group were arranged neatly, and the cell membrane of neurons was basically intact. FRCEL oleoresin may improve depression-like behavior by regulating the expression of 5-HT and NE in the serum of CUMS depression model mice, repairing the damage of hippocampus in mice.

Key words: oleoresin from fiber roots of *Cyperus esculentus* L.; constituents analysis; chronic unpredictable mild stress model; antidepressant effect

收稿日期: 2022-09-18

接受日期: 2023-02-17

基金项目: 广东省普通高校重点研究项目 (2019KZDXM053); 2021 年度广东省自然科学基金面上项目 (2021A1515011262); 国家自然科学基金 (31770385)

* 通信作者 E-mail: jingsiqun@163.com

抑郁症是以抑郁为主要症状的心境障碍或情绪障碍性病症,由多种因素导致,临床症状为情绪低落、快感不足、对自身价值感下降,乃至自杀等。目前治疗抑郁症的药物大多是化学合成的,如氯胺酮^[1]、丙咪嗪和曲唑酮等^[2],虽疗效明显,但大多存在抗抑郁谱窄、毒副作用大等缺陷。因此从天然产物中开发出疗效更好、副作用低的抗抑郁药物成为当务之急^[3]。植物化学物因其天然、高效、低毒等特点,已成为治疗抑郁症的研究热点^[4]。抑郁症发病机制有单胺类神经递质缺乏假说^[5]、细胞因子假说^[6]、神经因子再生假说^[3]等,单胺类神经递质假说被广泛接受,其潜在机制与患者大脑或血清中5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)能、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)能及多巴胺(dopamine, DA)能低下有关^[7]。相关文献证明盐酸氟西汀具有治疗抑郁症的临床疗效^[8]。

油莎草(*Cyperus esculentus* L.)是莎草科(Cyperaceae)、莎草属(*Cyperus*)草本植物。油莎草整个植株包括根、茎、叶三个部位,其中油莎草须根中含有挥发油、蛋白质、有机酸、油脂类等营养成分^[9]。Wiebe等^[10]研究发现油莎草地下块茎提取物香附醇可引起人大脑电活动的变化,可能具有抗焦虑的潜力。油莎草活体香气的药理成分及作用机制尚未报道。本课题组实验室前期研究过关于油莎草三部位(根、茎、叶)提取物的抗抑郁作用,研究表明以油莎草须根挥发油抗抑郁作用最强。关于油莎草须根油树脂抗抑郁作用尚未报道,但Jia等^[11]研究发现同属莎草科的香附子根醇提取物抗抑郁作用机制是抑制血清素单胺递质的重吸收和单胺氧化酶的活性。

超高效液相色谱与串联四级杆飞行时间质谱联用(UPLC/Q-TOF-MS)技术已广泛应用于物质基础研究^[12]。UPLC/Q-TOF-MS技术具有灵敏度高、高选择性等优点,可以达到传统与先进技术的结合。慢性不可预见温和应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)抑郁模型用于选择抗抑郁药和抗焦虑药机制研究^[13];如CUMS抑郁模型小鼠吸入柑橘精油能显著减轻其抑郁相关行为^[14];此模型在植物提取物葛根素^[15]和紫苏醛^[16]抗抑郁作用及抗抑郁潜在机制方面有所研究,都可减轻CUMS抑郁模型诱导的抑郁样行为。

基于此,本实验采用超高效液相色谱与四级杆飞行时间质谱联用技术对油莎草须根油树脂成分含量进行鉴定,建立CUMS抑郁模型研究油莎草须根

油树脂抗抑郁作用。以期将为进一步阐明油莎草须根油树脂抗抑郁作用机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品及试剂

油莎草须根油树脂(利用低温连续相变萃取设备提取);正丁烷(广州生旺燃气);甲酸、乙腈(分析纯,天津市大茂厂);盐酸氟西汀98%(礼来苏州制药有限公司);5-羟色胺(5-HT)ELISA试剂盒、去甲肾上腺素(NE)ELISA试剂盒(南京建成)、多巴胺(DA)ELISA试剂盒(南京建成)。

1.2 实验设备

Q Exactive Plus Orbitrap 高分辨液质联用仪(美国赛默飞);U3000 超高效液相色谱及自动进样器(美国赛默飞);Vortex-2 Genie 涡旋混合器(美国Scientific Industries公司);低温离心机5810R(德国Eppendorf公司);超声波清洗器WD-9415C(北京市六一仪器厂)。

1.3 实验动物

选取健康的ICR雄性小鼠(25±3)g, SPF级,4周龄,由浙江维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号:SYXK(粤)2019-0136,环境温度25~30℃,湿度35%~50%,动物实验方案经华南农业大学实验动物伦理委员会批准。

1.4 方法

1.4.1 UPLC-Q-TOF/MS 分析油莎草须根油树脂化学成分

1.4.1.1 样品信息

100 毫克的样品冷冻、研磨和干燥。放入15 mL离心管中,加入10 mL 50% 甲醇水溶液,超声30 min,取上清液1 mL,放入离心管中,以14 000 r/min离心5 min,上清通过0.22 μm 微孔过滤膜后,取上清液放入注射瓶中,待UHPLC-MS/MS分析。空白样品采用相同条件处理。

1.4.1.2 实验条件

液相条件 色谱柱:ACQUITY UPLC HSS T3 柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm),柱温:35℃,进样体积:10 μL,流速:0.3 L/min,流动相为0.1% 甲酸水溶液(A)及0.1% 甲酸乙腈(B),梯度洗脱程序如下:乙腈(0~10 min, 0%→30% B; 10~25 min, 30%→40% B; 25~30 min, 40%→50% B; 30~40 min, 50%→70% B; 40~45 min, 70%→100% B; 45~60 min, 100% B; 60~60.5 min, 100%→0% B; 60.5~70 min, 0% B),流速0.3 L/min,柱温35℃。

质谱条件:采用 Q Exactive Orbitrap 高分辨质谱进行质谱数据采集,检测模式为 Full MS-ddMS²,正离子和负离子模式分别扫描,扫描范围为 m/z 100-1 200,MS¹ 分辨率设置为 70 000,MS² 分辨率为 17 500,离子源电压为 3.2 kV,毛离子传输管温度(capillary temp)为 320 ℃,辅助气加热温度(Aux gas heater temp)为 350 ℃,鞘气流速(Sheath gas flow rate)为 40 L/min,辅助气流速(Aux gas flow rate)为 15 L/min,AGC Target 设置为 1e6,TopN 设置为 5,触发 MS2 扫描的碰 MS² 撞能量采用阶梯式碎裂电压 NCE,设置为 30、40、50。

1.4.2 分组、造模及给药

参考前期研究方法,小鼠适应性喂养一周,分成 5 组,每组 12 只小鼠,分别为空白组、模型组、盐酸氟西汀组(阳性对照组)、油莎草须根油树脂高、低剂量组,除空白组外其余组进行五周 CUMS 抑郁模型的构造;空白组:给予纯水 0.2 mL/d,模型组:给予纯水 0.2 mL/d,盐酸氟西汀组:2 mg/mL 盐酸氟西汀灌胃剂量 0.2 mL/d,油莎草须根油树脂高剂量组:0.8 mL/kg 油莎草须根油树脂灌胃剂量 0.2 mL/d,油莎草须根油树脂低剂量组:0.4 mL/kg 油莎草须根油树脂灌胃剂量 0.2 mL/d;CUMS 期间需单笼饲养,给予充足的水和食物,前 3 周每天 1~2 种,每天不重复,后面可酌情增加应激,持续 5 周,造模成功,开始给受试物 3 周。建模期间应激按表 1 进行。

表 1 应激方式及周期
Table 1 Stress mode and cycle

时间 Time(d)	应激方式 Stress mode
1	垫料潮湿悬尾
2	空笼、冰上站立
3	冷水游泳夹尾
4	禁水噪音刺激
5	大鼠垫料交换鼠笼
6	禁食空笼加水至 12 cm
7	束缚拥挤

1.4.3 糖水偏好实验

在糖水偏好试验前 72 h 进行蔗糖适应性实验。将两瓶 1% 蔗糖放入笼中 24 h,用两瓶清水代替 24 h,使小鼠能够适应糖水的摄入量。断食 24 h 后,给予所有小鼠相同体积的 1% (W/V) 蔗糖水和纯水(每瓶 200 g)。每 12 h 更换一次水瓶的位置,以防止位置偏好。蔗糖偏好百分比增加量采用以下公式计算得出:

蔗糖偏好 = 蔗糖摄入量/总液体摄入量 × 100%

1.4.4 小鼠体重测试

适应喂养 1 周后测量体重,造模及给药期间每周称重。比较造模前、造模后、给药后小鼠体重变化。

1.4.5 旷场实验

各实验组均在末次给药 30 min 进行旷场实验,旷场箱为长 100 cm,宽 100 cm,高 50 cm,将旷场箱底面划分为面积相等的 25 块方格将实验组小鼠逐个放入旷场箱中心位置,对其自主活动情况进行摄影记录观察,共观察 6 min,记录 5 min 后在旷场箱中央停留时间及中央总路程。

1.4.6 悬尾实验

各实验组均在末次给药 30 min 后进行悬尾实验,参考 Yan 等^[17]方法进行悬尾实验,小鼠的尾巴末端(1 cm)距离尾巴末端倒挂。头部距离底部约 10 cm。箱子的四面板隔开小鼠的视线。共观察 6 min。前 2 min 为适应时间,记录后 4 min 内小鼠静止时间为失望时间。

1.4.7 强迫游泳实验

各实验组均在末次给药 30 min 后进行强迫游泳实验,参考 Can 等^[18]的方法。将小鼠头部朝下放入 2 000 mL 的游泳杯中,强迫游泳实验总测 6 min,前 2 min 为适应时间,记录后 4 min 游泳静止不动时间。比较组间的差异显著性。

1.4.8 酶联免疫分析(ELISA)

酶联免疫分析(ELISA)法检测小鼠血清中 NE、DA、5-HT 含量,行为实验结束后,小鼠禁食,第二天 CO₂ 麻醉后心脏取血,分离血清,采用 ELISA 法检测油莎草须根油树脂对小鼠血清中 5-HT、NE、DA 含量的影响。根据说明书操作步骤进行操作。

1.4.9 海马神经元细胞观察

海马神经元细胞观察:行为实验后,CO₂ 麻醉、采血后颈椎脱位处死小鼠。解剖取出脑组织后,分离海马组织,将分离的左侧海马组织与右侧海马分别置于多聚甲醛中在 4 ℃ 下保存,待病理切片。海马组织经石蜡切片、染色、脱水、透明及封闭,用光学显微镜观察海马组织神经元形态,并拍照。

1.5 数据处理

所有实验均至少重复三次,结果以平均数 ± 标准差(mean ± SD)表示,并通过 SPSS 23.0 软件采用单因素方差分析法进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 油莎草须根油树脂化学成分

UPLC-Q-TOF/MS 分析结果见图 1、图 2。

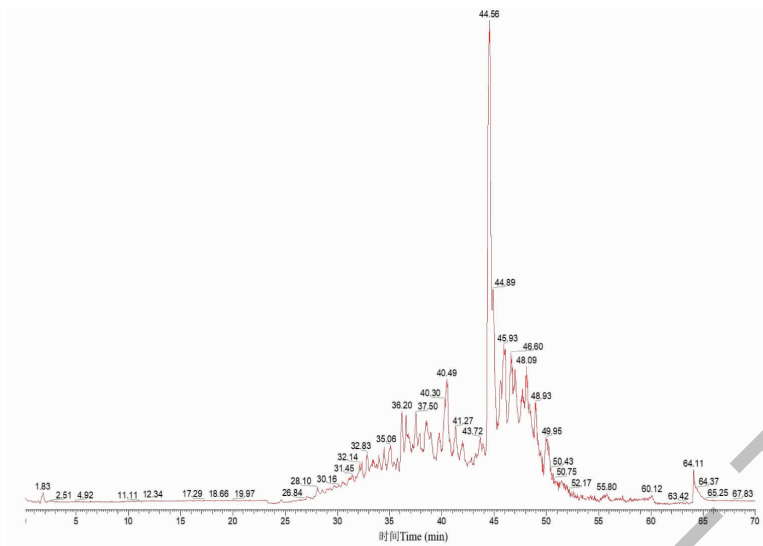


图 1 正离子模式下的油莎草须根油树脂 TIC 图

Fig. 1 TIC diagram of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* in positive ion mode

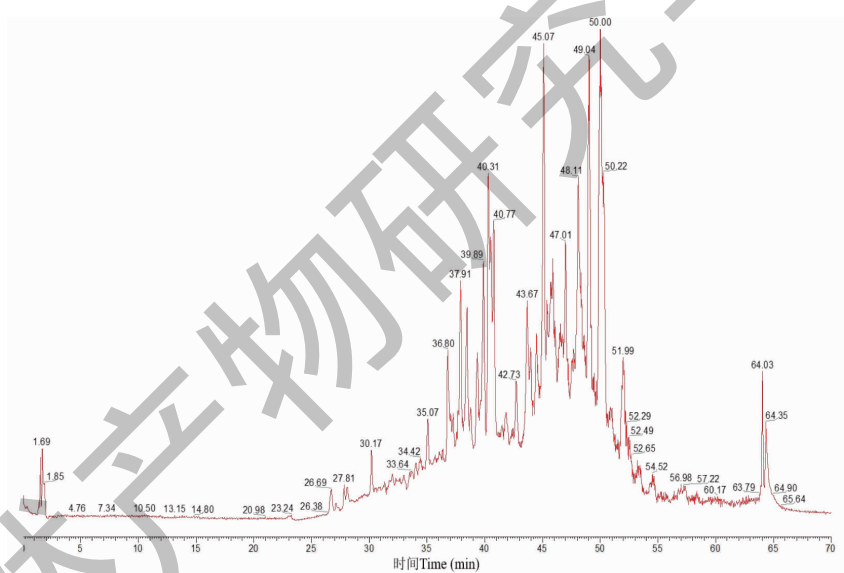


图 2 负离子模式下的油莎草须根油树脂 TIC 图

Fig. 2 TIC diagram of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* in negative ion mode

油莎草须根油树脂含有 57 种化学成分。检测到的化合物以质谱响应值排序,排名前 20 化合物的活性见表 2。表中化合物活性来源根据中国药典 2020 版^[19]总结,文献查询基于 Pubmed,化合物数据查询基于 Pubchem、Chemical book 以及 Scifinder 数据库。油莎草须根油树脂含有酮类(68.891%)、酯类(8.787%)、醇类(4.258%)、烯类(0.374%)及其他物质(12.879%)等化学成分,其中含量最高的是 α -香附酮(59.536%),其次是吉马酮(5.875%)。

据相关文献记载酮类具有抗抑郁活性^[20]。 α -香附酮为莎草科植物香附主要成分之一,Xia 等^[21]

证明了香附子中主要活性化合物 α -香附酮的抗抑郁特性,并为在抑郁症治疗中靶向 SIRT3/ROS 信号提供支持。

2.2 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠体重的影响

实验结果见图 3,由图 3 可知实验前各组小鼠体重不存在显著性差异;建模 35 d 后:空白组小鼠体重较其他组小鼠体重出现显著性差异($P < 0.01$);给药后(第 56 d):与空白组比,模型组小鼠体重明显降低($P < 0.01$),油莎草须根油树脂低剂量、高剂量较模型组存在显著性差异($P < 0.01$)。

表2 排名前20化合物的活性信息
Table 2 Activity information of top 20 compounds

序号 No.	名称 Name	相对含量 Relative content (%)	活性机制 Active mechanism
1	α -香附酮 α -Cyperone	59.536	具有解热镇痛的作用
2	吉马酮 Germacrone	5.875	具有镇咳、平喘等作用
3	白术内酯 II Attractylenolide II	4.164	有抗炎、抗肿瘤作用,调节胃肠道等功能
4	莪术烯醇 Curcumenol	3.769	为莪术降血脂、抗氧化、抗炎的主要有效成分
5	青蒿酸 Artemisinic acid	2.990	具有多种药理活性,如抗疟活性、抗肿瘤活性、解热作用、抗菌活性、化感作用、抗脂肪生成作用
6	小白菊内酯 Parthenolide	2.879	主要用于治疗皮肤感染、风湿病和偏头疼
7	莪术二酮 Curdione	2.621	抗癌、具有抑制血小板聚集、抵抗血栓形成的功效
8	姜黄素 Curcumin	2.304	具有抗氧化特性,能诱导癌细胞凋亡
9	青蒿乙素 Arteannuin	2.280	具有抗炎、抗疟的作用
10	去甲氧基姜黄素 Demethoxycurcumin	2.274	具有抗肿瘤,抗自由基、降脂的作用
11	α -亚麻酸 α -Linolenic acid	1.821	脂肪酸
12	Isoalantolactone 异土木香内酯	1.744	具有驱虫、抗菌的作用
13	甘松新酮 Nardosinone	0.859	具有抗抑郁、促神经生长、改善认知能力、的作用
14	双脱氧基姜黄素 Bisdemethoxycurcumin	0.841	具有抗肿瘤,抗自由基、降脂的作用
15	桔皮素 Tangeretin	0.728	具有天然抗真菌特性。桔皮素已被证明对抗肿瘤启动子诱导的细胞间通讯抑制和一些癌细胞株细胞增殖的抑制
16	川陈皮素 Nobiletin	0.664	具有抗血栓形成、抗真菌、抗炎作用
17	莪术醇 Curcumol	0.489	具有抗肿瘤作用
18	香兰素 Vanillin	0.392	香精
19	紫苏烯 Perillene	0.374	具有抑制肿瘤的作用
20	维生素 D ₂ Vitamin D ₂	0.315	用于防治佝偻病、骨软化症、婴儿手足搐搦症等

因此,从体重变化结果可知,给药前后同组小鼠的体重变化不大,且与正常对照组比较无显著差异,同时建模后小鼠体重降低说明 CUMS 抑郁模型建立成功^[21]。

2.3 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠糖水偏好影响

糖水偏好实验是考察小鼠在建模前建模后给药后三个时期(7、35、56 d)对 1% 蔗糖偏好程度,结果从图 4 可得,造模前各组糖水偏好率无显著差异(P

>0.05);建模后,与空白组比较,阳性组、油莎草须根油树脂低剂量组、油莎草须根油树脂高剂量组小鼠糖水偏好百分比显著降低,分别降低 41.25%、35.63%、49.84%;给药后,与空白组比,模型组糖水偏好百分比显著降低($P < 0.001$);与模型组比,阳性对照组、油莎草须根油树脂低剂量组、油莎草须根油树脂高剂量组存在显著性差异($P < 0.001$)。结果表明,油莎草须根油树脂低剂量和油莎草须根油树脂高剂量能够通过改善抑郁小鼠糖水偏好百分比

来起到抗抑郁的作用。

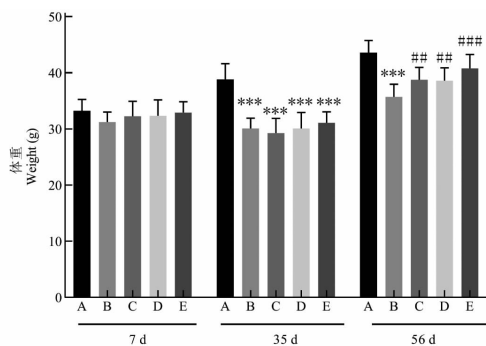


图3 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠体重影响

Fig. 3 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on body weight of CUMS depression model mice

注:A:空白对照组;B:模型组;C:阳性对照组;D:油莎草须根油树脂低剂量组;E:油莎草须根油树脂高剂量组。与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。下同。Note: A: Control group; B: Model group; C: Positive control group; D: Low dose group of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus*; E: High dose group of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus*. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; Compared with model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$. The same below.

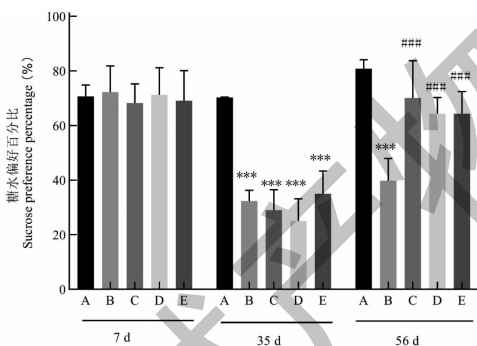


图4 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠糖水偏好百分比的影响

Fig. 4 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on sucrose preference percentage of CUMS depressed mice

2.4 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠强迫游泳行为的影响

强迫游泳实验结果见图5。由图5可知,与空白组相比,小鼠在经历了35天的CUMS之后显著增加了静止总时间($P < 0.01$),在给药后(第56d),与空白组相比,模型组小鼠强迫游泳静止时间明显延长($P < 0.001$);与模型组比较,其他各组小鼠强迫游泳静止时间明显缩短($P < 0.001$)。35天的建模过程使小鼠出现抑郁样行为,油莎草须根油树脂

显著缩短了 CUMS 抑郁小鼠静止总时间($P < 0.001$),结果显示油莎草须根油树脂高剂量与低剂量都可有效改善 CUMS 抑郁小鼠出现的抑郁样行为。

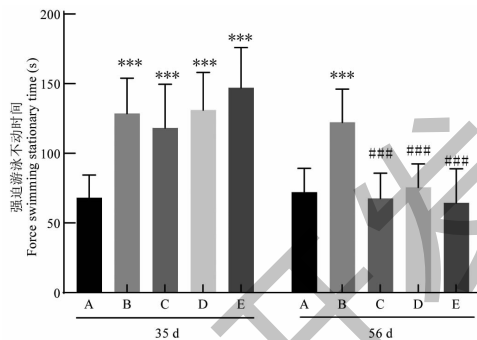


图5 油莎草须根油树脂对小鼠强迫游泳的影响

Fig. 5 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on forced swimming in mice

2.5 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠悬尾实验行为的影响

建立 CUMS 抑郁模型后,小鼠毛色暗沉,情绪不安等症状,通过给药可以缩短小鼠的静止时间显示抗抑郁活性。如图6,35d后,与空白组相比,各造模组小鼠的总静止时间有所增加,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。给药后(第56d),与空白组相比,模型组悬尾静止时间显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组、油莎草须根油树脂低剂量与高剂量显著缩短悬尾静止时间($P < 0.001$)。

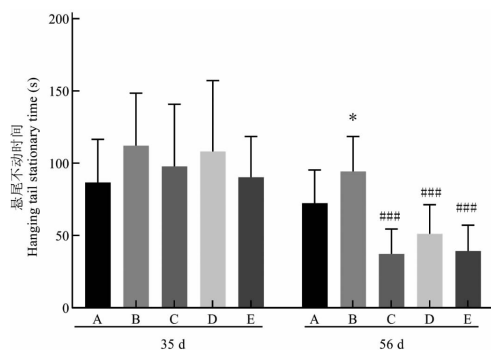


图6 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠悬尾的影响

Fig. 6 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on hanging tail in CUMS depressed mice

2.6 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠旷场实验行为的影响

图7是小鼠在旷场箱内的行为轨迹追踪图,与空白组相比较,模型组小鼠在中央区域活动轨迹较少,阳性对照组小鼠活动轨迹类似于空白组。油莎

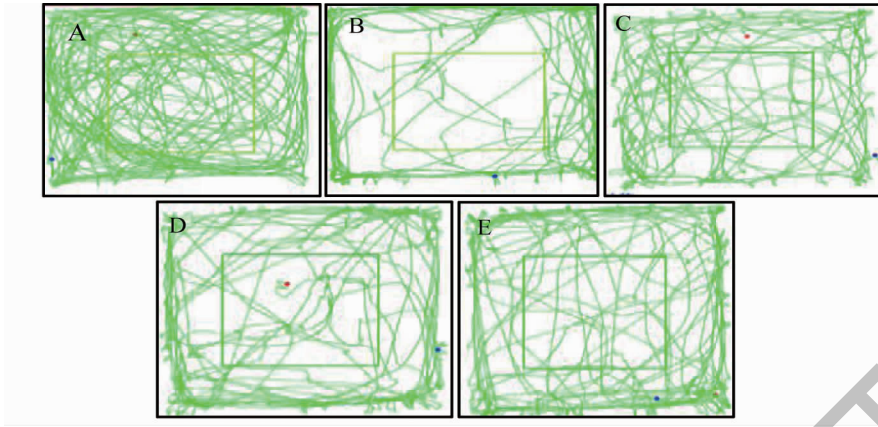


图7 CUMS 抑郁小鼠旷场实验运动行为轨迹

Fig. 7 Movement behavior track of CUMS depression mice in field experiment

草须根低剂量小鼠的行为轨迹图较模型组其活动范围及在中央区域活动范围频繁, 轨迹也逐渐混乱; 油莎草须根高剂量组行为轨迹图比油莎草须根低剂量小鼠行为轨迹混乱, 在中央活动也较频繁 (详见表 3)。小鼠在旷场箱中央活动的总路程结果如图 8 可知, 建模后, 与空白组比, 模型组小鼠在旷场中央总路程显著下降 ($P < 0.05$), 说明 CUMS 抑郁模型建立成功。给药后, 与空白组比, 模型组小鼠中央总路程显著缩短 ($P < 0.01$); 与模型组比, 阳性对照

组小鼠中央总路程显著增加 ($P < 0.01$); 油莎草须根油树脂高剂量在给药后显著增加了小鼠旷场中央总路程 ($P < 0.05$), 具有统计学意义。

小鼠在旷场中央区域停留时间越长, 则说明小鼠适应力较好。剔除不合格小鼠, 结果如图 9 所示, 建模后各组与空白组呈现显著性差异 ($P < 0.05$), 建模有效果。给药后, 与模型组比, 阳性对照组小鼠在中央区域停留时间显著增加 ($P < 0.05$), 油莎草须根油树脂高剂量组中央停留时间显著提高 ($P < 0.01$)。

表 3 给药后各组小鼠旷场实验结果对比 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Comparison of open field test results of mice in each group after administration ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	总路程 Total distance (mm)	中央运动时间 Central exercise time (s)	平均速度 Average speed (mm/s)	中央路程 Central distance (mm)
A	1 691 7.51 ± 3 283.47	39.67 ± 8.89	52.45 ± 4.50	2 98 8.98 ± 722.32
B	1 434 8.05 ± 1 90 5.75	27.38 ± 6.69 *	47.12 ± 5.66	191 4.86 ± 665.14 * *
C	1 779 3.33 ± 3 46 6.04#	33.02 ± 11.76	61.16 ± 8.40###	306 0.11 ± 673.41###
D	1 622 5.25 ± 3 88 8.11	30.48 ± 11.88	51.09 ± 6.87	232 0.56 ± 751.46
E	1 660 1.41 ± 2 80 8.14	41.08 ± 10.39###	53.52 ± 7.04#	294 6.07 ± 1 20 8.44#

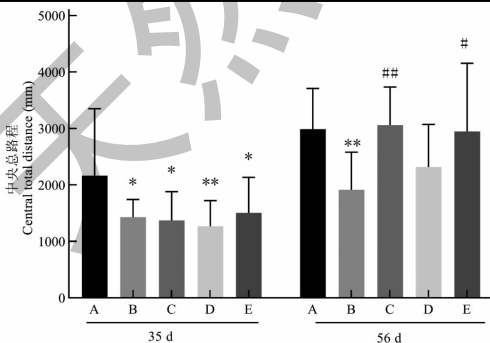


图8 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠中央总路程的影响

Fig. 8 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on central total distance in CUMS depressed mice

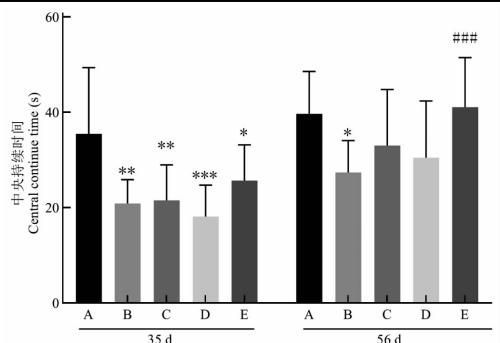


图9 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠旷场中央停留时间的影响

Fig. 9 effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on the central residence time in the mine of CUMS depression mice

2.7 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠血清 5-HT 含量的影响

5-羟色胺(5-HT)又名血清素,是兴奋的信使^[22]。小鼠血清中 5-HT 含量结果如下(见图 10)。与空白组比,模型组小鼠血清中 5-HT 含量显著降低($P < 0.01$);与模型组比,阳性对照组及油莎草须根油树脂低剂量及高剂量显著提高了小鼠血清中 5-HT 含量($P < 0.01$),其升高了 49.81%、47.02%;油莎草须根油树脂高剂量组显著提高了小鼠血清中 5-HT 含量($P < 0.01$),提高了 51.58%。

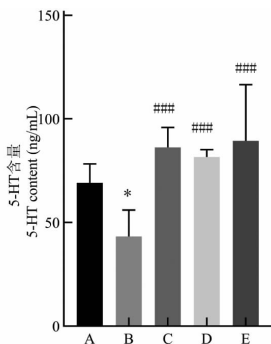


图 10 油莎草须根油树脂对小鼠血清中 5-HT 含量的影响

Fig. 10 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on 5-HT content in mouse serum

2.8 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠血清 DA 含量的影响

小鼠血清中多巴胺含量结果如图 11 所示,与空白组比,阳性对照组小鼠血清中 DA 含量显著升高($P < 0.01$);其他组 DA 含量与无显著性差异($P > 0.05$)。

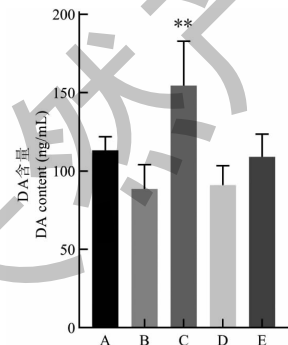


图 11 油莎草须根油树脂对小鼠血清中 DA 含量的影响

Fig. 11 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on DA content in mouse serum

2.9 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠血清 NE 含量的影响

CUMS 抑郁模型小鼠血清中 NE 含量结果如图 12 所示,与空白组比,CUMS 抑郁模型小鼠血清中

NE 含量显著性降低($P < 0.01$);与空白组相比,阳性对照组、油莎草须根油树脂低剂量、油莎草须根油

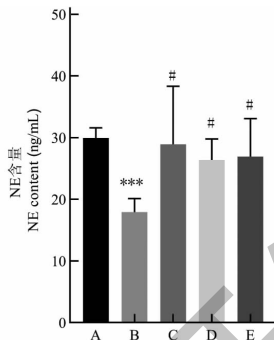


图 12 油莎草须根油树脂对小鼠血清中 NE 含量

Fig. 12 Effect of oleoresin from fiber roots of *C. esculentus* on NE content in mouse serum

树脂高剂量组小鼠血清中 NE 含量无显著性差异($P > 0.05$),与模型组相比,阳性对照、油莎草须根油树脂低剂量高剂量都有显著提高血清中 NE 含量的作用($P < 0.05$)。

2.10 油莎草须根油树脂对 CUMS 抑郁小鼠海马组织的影响

显微镜下观察海马的组织病理学切片见图 13。结果显示:空白组左侧海马 CA3 区完整,海马细胞在显微镜下排列紧密,神经元细胞完整,形状正常;模型组海马结构明显异常,细胞排列明显疏松,细胞带不明显,神经元膜断裂,细胞缩小,神经细胞间隙严重。油莎草须根油树脂高剂量组、阳性药物组海马结构基本完整,细胞排列整齐,神经元膜基本完好,仅部分细胞核变小、萎缩、空洞。而油莎草须根低剂量组小鼠海马组织神经细胞空化较明显,细胞带变得紊乱,神经元细胞排列疏松。综上所述,油莎草须根油树脂高剂量组对 CUMS 抑郁小鼠具有较好的抗抑郁作用活性。

油莎草须根油树脂有缓解 CUMS 小鼠抑郁症状的作用,其机制可能与 5-HT、NE 含量的增加、修复小鼠海马组织细胞、改善抑郁小鼠情绪、行为学等相关。关于油莎草须根油树脂的抗抑郁机制还有待深入研究,为抑郁机制研究奠定理论基础,提供新思路。

3 结论

基于 UPLC/Q-TOF-MS 技术对油莎草须根油树脂成分鉴定,结果发现 α -香附酮(59.536%)是油莎草须根油树脂的主要组成部分。建立 CUMS 抑郁小鼠模型 35 d 后,给药后(第 56 d),小鼠体重、糖水偏

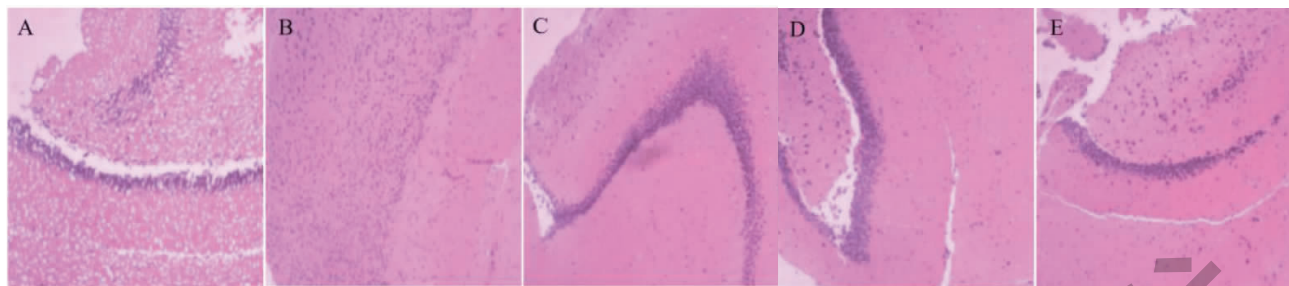


图 13 小鼠海马组织病理学观察(HE,40×)

Fig. 13 Histopathological observation of mouse hippocampus(HE,40×)

好百分比显著下降,旷场行为轨迹图在中央区域活动次数较少,悬尾静止时间、强迫游泳静止时间显著增加,CUMS 抑郁模型建立成功,与文献报道一致结果^[23]。油莎草须根油树脂可以缓解 CUMS 小鼠抑郁样行为,抗抑郁作用可能是通过调节血清中 5-HT 能、NE 能、行为学变化及恢复海马组织完整性来缓解小鼠抑郁状态。关于其发挥抗抑郁作用的目标组分可能是 α -香附酮,关于其抗抑郁机制需进一步深入研究。

本研究中,样品组提高了小鼠血清中 5-HT、NE、DA 的含量,说明油莎草须根油树脂能够调控神经递质水平起到抗抑郁的作用,牛至精油^[24]、氧化玫瑰^[25]、黑胡椒精油^[26]、茉莉酸甲酯^[27]等都在单胺假说基础上研究出抗抑郁活性。本研究将为阐明油莎草须根油树脂抗抑郁功能组分、筛选抗抑郁新的药用部位提供重要参考,同时为抗抑郁候选新药的研发及油莎草资源深层次开发利用奠定理论基础。

参考文献

- Riggs L, Gould TD. Ketamine and the future of rapid-acting antidepressants[J]. *Annu Rev Clin Psychol*, 2021, 17: 207-231.
- Boschmans SA, Perkin MF, Terblanche SE, et al. The effects of imipramine, mianserin and trazodone on the chronotropic, inotropic and coronary vascular responses in the isolated perfused rat heart[J]. *Gen Pharmacol*, 1989, 20: 233-237.
- DAI JF, Effects of Xiaobupleurum Decoction on sleep quality and levels of neural function related factors in patients with depression[J]. *Fujian J Tradit Chin Med*(福建中医药), 2022, 53: 7-9.
- Wang Y, Jiang R, Wu Z, et al. Gut microbiota is involved in the antidepressant-like effect of (S)-norketamine in an inflammation model of depression[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2021, 207: 173226-173226.
- Delgado PL. Depression: the case for a monoamine deficiency [J]. *J Clin Psychiat*, 2000, 61: 7-11.
- Hersey M, Hashemi P, Reagan LP. Integrating the monoamine and cytokine hypotheses of depression: is histamine the missing link? [J]. *Eur J Neurosci*, 2022, 55: 2895-2911.
- Guo WF, Cao XL, Sheng L, et al. Expert consensus on diagnosis and treatment of major depressive disorder by integrated Chinese and Western medicine [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*(中国中西医结合杂志), 2020, 40: 141-148.
- Qing F, Li FZ, Wang Y. Effect of Anshen Bunao liquid and oryzanol on neurasthenia and quality of life [J]. *Guizhou Med J*(贵州医药), 2020, 44: 600-602.
- Jing SQ, Ouyang WQ, Ma ZX. Quality analysis of activity component of *Cyperus esculentus* whole plant in Xinjiang [J]. *Food Ind*(食品工业), 2012, 33: 116-118.
- Wiebe JC, López-Ríos L, Vega-Morales T, et al. Neurophysiological effects of a special extract of *Cyperus esculentus* L. (cyperol) [J]. *J Herb Med Res*, 2019, 2019, 4: 34.
- Jia HM, Zou ZM. Antidepressant effect evaluation of the ethanolic extract from the roots of *Cyperus rotundus* L. on cell membrane chromatography and different depression models [J]. *Eur J Integr Med*, 2014, 6: 742-742.
- Liu C, Fan F, Zhong L, et al. Elucidating the material basis and potential mechanisms of Ershiwuwei Lixue Pill acting on rheumatoid arthritis by UPLC-Q-TOF/MS and network pharmacology [J]. *PLoS One*, 2022, 17: e0262469.
- Xu XJ, Li TY, Ma YX, et al. Overview of animal models of depression [J]. *Med Recapit*(医学综述), 2021, 27: 1345-1349.
- Zhang LL, Yang ZY, Fan G, et al. Antidepressant-like effect of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oil and its main component limonene on mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 13817-13828.
- Song X, Wang W, Ding S, et al. Puerarin ameliorates depression-like behaviors of with chronic unpredictable mild stress mice by remodeling their gut microbiota [J]. *J Affect Disord*,

- 2021,290:353-363.
- 16 Song Y, Sun R, Ji Z, et al. Perilla aldehyde attenuates CUMS-induced depressive-like behaviors via regulating TXNIP/TRX/NLRP3 pathway in rats [J]. *Life Sci*, 2018, 206: 117-124.
- 17 Yan Y, Wang YL, Su Z, et al. Effect of oxytocin on the behavioral activity in the behavioral despair depression rat model [J]. *Neuropeptides*, 2014, 48: 83-89.
- 18 Can A, Dao DT, Arad M, et al. The mouse forced swim test. [J]. *J Vis Exp*, 2012, 29: e3638.
- 19 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 91.
- 20 Xia B, Tong Y, Xia C, et al. α -Cyperone confers antidepressant-like effects in mice via neuroplasticity enhancement by SIRT3/ROS mediated NLRP3 inflammasome deactivation [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 577062.
- 21 Zhang Y, Zhao ZJ, Liu HW. Correlation analysis of behaviors in rat model of cerebral hemorrhage combined with chronic unpredictable mild stimulation [J]. *Basic Tradit Chin Med (基层中医药)*, 2022, 1: 65-71.
- 22 David DJ, Gardier AM. The pharmacological basis of the serotonin system; application to antidepressant response [J]. *Encephale*, 2016, 42: 255-263.
- 23 Liu X, Zheng X, Du G, et al. Brain metabonomics study of the antidepressant-like effect of Xiaoyaosan on the CUMS-depression rats by ^1H NMR analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 235: 141-154.
- 24 Abbasi-Maleki S, Kadkhoda Z, Taghizad-Farid R. The antidepressant-like effects of *Origanum majorana* essential oil on mice through monoaminergic modulation using the forced swimming test [J]. *J Tradit Complement Med*, 2019, 10: 327-335.
- 25 Maia WMN, Andrade FCP, Filgueiras LA, et al. Antidepressant activity of rose oxide essential oil: possible involvement of serotonergic transmission [J]. *Heliyon*, 2021, 7: e06620.
- 26 Ghosh S, Kumar A, Sachan N, et al. Anxiolytic and antidepressant-like effects of essential oil from the fruits of *Piper nigrum* Linn. (black pepper) in mice; involvement of serotonergic but not GABAergic transmission system [J]. *Heliyon*, 2021, 7: e06884.
- 27 Umukoro S, Adebisin A, Agu G, et al. Antidepressant-like activity of methyl jasmonate involves modulation of monoaminergic pathways in mice [J]. *Adv Med Sci*, 2018, 63: 36-42.