

# 以柠檬烯为主的两种复方精油对 PMS 小鼠的情绪舒缓功效研究

谢丹青<sup>1</sup>, 姚雷<sup>1</sup>, 黄翠玉<sup>2</sup>, 林元霞<sup>2</sup>, 李玉红<sup>1</sup>, 王文翠<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>上海交通大学, 上海 200240; <sup>2</sup>福建恒安集团有限公司, 泉州 362200

**摘要:**为探究两种以柠檬烯为主的复方精油针对经前期综合征 (premenstrual syndrome, PMS) 小鼠的情绪舒缓功效及作用效果, 采用孕酮戒断 (progesterone withdrawal, PWD) 诱导的 PMS 小鼠模型, 通过旷场 (open field, OF) 测试、高架十字迷宫 (elevated plus maze, EPM) 测试、强迫游泳测试 (forced swimming test, FST) 等动物行为学实验和小鼠血清皮质酮含量检测, 综合评估两种复方精油对 PMS 小鼠的情绪舒缓功效。结果表明, 以含 61.96% 柠檬烯、10.41% 的乙酸芳樟酯和 8.48% 的芳樟醇的复方精油 A 和 52.12% 柠檬烯、18.17% 乙酸芳樟酯和 15.86% 芳樟醇的复方精油 B, 对 PMS 模型组实施腹腔注射后, 在 OF 测试和 EPM 测试中, 两种精油均对 PMS 小鼠产生明显的抗焦虑作用; 在 FST 测试中, 两种精油均能显著降低小鼠的不动时间百分比, 对 PMS 小鼠表现出明显的抗抑郁作用 ( $P < 0.01$ )。其中 100 mg/kg 剂量的精油 A 和 200 mg/kg 剂量的精油 B 效果最好, 在该浓度下 EPM 测试的抗焦虑作用显著 ( $P < 0.05$ )。在血清皮质酮水平上, 精油 A 在 200 mg/kg 浓度时对小鼠皮质酮的降低效果最好, 精油 B 在 100 mg/kg 和 200 mg/kg 浓度时效果优于精油 A, 且明显优于高浓度组。综上, 两种复方精油均能对 PWD 造模的 PMS 小鼠产生明显的抗焦虑和抗抑郁功效, 同时这两种精油中的柠檬烯可能正是该功效的主要贡献成分。

**关键词:**经前期综合症; 柠檬烯; 精油; 行为学实验; 皮质酮

中图分类号: Q599

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880 (2023) Suppl-0001-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.S.001

## Study on the emotional soothing effect of two limonene-based compound essential oils on PMS mice

XIE Dan-qing<sup>1</sup>, YAO Lei<sup>1</sup>, HUANG Cui-yu<sup>2</sup>, LIN Yuan-xia<sup>2</sup>, LI Yu-hong<sup>1</sup>, WANG Wen-cui<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China; <sup>2</sup>Fujian Hengan Group Co., Ltd., Quanzhou 362200, China

**Abstract:** The aim of this study was to investigate the emotional soothing effects of two limonene-based compound essential oils on premenstrual syndrome (PMS) mice. A progesterone withdrawal (PWD)-induced PMS mouse model was used, and the mood-relieving efficacy of the essential oils was evaluated by assays of serum corticosterone levels and animal behavioral experiments such as the open field (OF) test, elevated cross maze (EPM) test, and forced swim test (FST). The results showed that compound essential oil A contained 61.96% limonene, 10.41% linalyl acetate and 8.48% linalool; compound essential oil B contained 52.12% limonene, 18.17% linalyl acetate and 15.86% linalool. Intraperitoneal injection of both essential oils showed significant anxiolytic effects in PMS mice in the OF and EPM tests. In the FST, both essential oils significantly reduced the percentage of immobility time in mice and demonstrated a significant antidepressant effect in PMS mice ( $P < 0.01$ ). Essential oil A at 100 mg/kg and essential oil B at 200 mg/kg was the most effective, with significant anxiolytic effects at this concentration tested by EPM ( $P < 0.05$ ). In serum corticosterone level assay, essential oil A showed the optimal effect on the reduction of corticosterone in mice at 200 mg/kg concentration, and essential oil B was more effective than essential oil A at 100 mg/kg and 200 mg/kg concentrations, and significantly superior to the high concentration group. In conclusion, both essential oils produced significant anxiolytic and antidepressant effects in PWD-PMS mice, and the limonene in both oils may be the main contributor to this effect.

**Key words:** premenstrual syndrome; limonene; essential oil; behavioral experiment; corticosterone

收稿日期: 2022-07-27

接受日期: 2023-01-04

基金项目: 校企合作项目 (21H020100872)

\* 通信作者 Tel: 86-21-34206606; E-mail: wwh123@sjtu.edu.cn

月经是健康妇女特有的生理现象, 大部分人都会在经前期或经期出现不同程度的郁闷、烦躁不安、焦虑和易怒等情绪问题, 这是经前期综合症 (pre-

menstrual syndrome, PMS) 中常见的心理症状。据统计,约有 80% 的女性受到经期情绪变化的影响,而成年女性中 PMS 的患病率约为 20%~40%,其中约 5% 有经前烦躁不安 (premenstrual dysphoric disorder, PMDD) 等严重症状<sup>[1,2]</sup>,很大程度上影响了患者的正常生活与工作。研究表明,柠檬烯精油对大学生的焦虑具有缓解作用<sup>[3]</sup>;Wang 等<sup>[4]</sup>通过让子代自闭症大鼠嗅闻香柠檬精油,发现可以减少模型鼠的焦虑行为;Liang<sup>[5]</sup>让应激导致抑郁、焦虑的小鼠嗅闻苏合香精油,发现嗅闻精油后可以缓解慢性应激小鼠的抑郁和焦虑行为;Rombolà 等<sup>[6]</sup>发现佛手柑精油对大鼠具有抗焦虑作用。上述这些精油或者是以柠檬烯为主要成分,或者是含有柠檬烯,可见柠檬烯应该对抑郁、焦虑、恐惧等情绪具有一定的舒缓作用,但对 PMS 中出现的情绪症状是否有效果,目前不得而知。

本研究以啮齿类动物的孕酮戒断 (progesterone withdrawal, PWD) 进行造模,通过使雌性动物体内的孕酮含量在短期内发生急剧变化来模拟女性经期的激素波动情况,该模型已被证明能够稳定地模拟 PMS 的焦虑和抑郁行为,是常用的 PMS 动物模型<sup>[7-11]</sup>。

配制两种以柠檬烯为主的复方精油,对 PMS 模型鼠注射精油后,通过旷场测试、高架十字迷宫测试、强迫游泳实验等动物行为学实验和小鼠血清皮质酮含量测定,综合评估两种复方精油对 PMS 小鼠的情绪舒缓功效,以探究其对 PMS 女性情绪症状的舒缓潜力,同时通过本研究进一步验证主成分相似的精油功效是否也会相近。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

健康 SPF 级 ICR 雌性小鼠,约 7 周龄,体重 26~28 g,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司(许可证号:SYXK(沪)2022-0012)。本研究的动物实验方案已通过上海交通大学实验动物管理、学术、伦理与使用委员会(IACUC)审核和批准,许可证编号为 A2021019。

#### 1.1.2 药物与试剂

两种复方植物精油 A 和 B(上海交通大学芳香植物研发中心);盐酸氟西汀(上海迈瑞尔化学技术有限公司,批号 M19855);羧甲基纤维素钠(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 C104984);孕酮

(安徽泽升科技有限公司,批号 A0502040050);无菌生理盐水(上海碧云天生物技术有限公司,批号 ST341);吐温-80(上海麦克林生化科技股份有限公司,批号 T818928);小鼠皮质酮 ELISA 试剂盒(Corticosterone ELISA Kit,美国 Cayman Chemical 公司,批号 No. 501320);无水乙醇(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,批号 E111989-10L)。

#### 1.1.3 实验仪器

##### 1.1.3.1 行为学实验

旷场(open field, OF)测试装置:采用上海欣软信息科技有限公司生产的旷场设备,尺寸为 50 cm × 50 cm × 50 cm,仪器板材材质为医用有机板,正上方安装摄像头进行实时录像及分析。

高架十字迷宫(elevated plus maze, EPM):采用上海欣软信息科技有限公司生产的小鼠高架十字迷宫装置,该装置由 2 个开放臂(30 cm × 6 cm)和 2 个闭合臂(35 cm × 6 cm × 15 cm)组成,4 条臂呈十字形交叉,形成一个 6 cm × 6 cm 的中央区域。整个装置距离地面高 55 cm,开放臂和闭合臂的内壁及底部均呈深灰色,中央区域上方安装有 USB 摄像头(Aoni C11,深圳奥尼电子股份有限公司)用于录像。

强迫游泳测试(forced swimming test, FST)装置:该装置参考 Porsolt 等<sup>[12]</sup>的方法进行定制,并根据实验对象作出相应改动。该装置主体为一个高 20 cm、直径 14 cm 的圆筒状玻璃器皿,前方 50 cm 处安置有 USB 摄像头用于录像。

##### 1.1.3.2 小鼠血清制备及血清激素检测

Sigma 3K15 离心机(德国 Sigma Laborzentrifugen 公司);Multiskan Go 酶标仪(上海赛默飞仪器有限公司);冰箱(伊莱克斯(Electrolux)股份有限公司);DLAB 单道移液器(北京大龙兴创实验仪器股份有限公司);JOANLAB 8 道移液器(浙江群安实验仪器有限公司)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 动物分组、模型建立与给药方法

将 54 只雌性 ICR 小鼠适应性饲养 7 d,按 6 只一组随机分为 9 组,分别命名为空白对照组(CK 组)、造模组(PWD 组)、阳性药组(Flx 组)、精油 A 低、中、高剂量组(A1、A2、A3 组)和精油 B 低、中、高剂量组(B1、B2、B3 组)。参照 Beckley 等<sup>[9]</sup>和 Hashiguchi 等<sup>[13]</sup>的方法进行 PMS 小鼠的 PWD 模型构建。从第 1~5 d,对除 CK 组外的小鼠进行孕酮腹腔注射(5 mg/kg 小鼠体重,溶于生理盐水-0.5%

羧甲基纤维素钠溶液), CK 组接受等量生理盐水-0.5% 羧甲基纤维素钠溶液注射。第 6 d 至第 8 d, 停止孕酮注射, 小鼠每日腹腔注射如下: PWD 组、CK 组: 10% Tween-80 的生理盐水; Flx 组: 20 mg/kg 氟西汀; A1、A2、A3 组: 100、200、500 mg/kg 精油 A; B1、B2、B3 组: 100、200、500 mg/kg 精油 B; 以上药品均溶于 10% Tween-80 的生理盐水。腹腔注射体积为 0.1 mL/10 g 小鼠体重, 给药时间为每日上午 9:00 ~ 12:00。

### 1.2.2 行为学测试

#### 1.2.2.1 OF 测试

测试开始时, 将小鼠置于旷场装置的中心位置, 并允许其在整个装置中自由探索 5 min。旷场被划分为 4 × 4 的网格, 中心位置 25% 的网格区域指定为“中央区域”。对小鼠在旷场中的行为进行实时追踪和分析, 记录其在旷场中的总运动距离、跨格次数、进入中央区域的次数、停留时间及运动距离等数据。小鼠在中央区域的停留时间和运动距离越长, 说明小鼠的焦虑程度越低<sup>[14,15]</sup>。

#### 1.2.2.2 EPM 测试

在测试开始时, 将小鼠放在中央平台上, 头朝向一侧的开放臂, 并允许其自由探索整个迷宫。记录小鼠 5 min 内的行为学参数, 包括: 小鼠在开放臂 (open arms) 和闭合臂 (closed arms) 上的停留时间 (time in open arms, OT; time in close arms, CT) 和进入次数 (entries into open arms, OE; entries into close arms, CE), 以及运动距离。计算小鼠开放臂的进入次数百分比 (进入次数百分比 =  $OE / (OE + CE) \times 100\%$ ) 以及开放臂的停留时间百分比 (停留时间百分比 =  $OT / (OT + CT) \times 100\%$ )。当小鼠的四肢均进入某一个臂中时, 视为小鼠进入该臂; 当小鼠的任一只爪子退出时, 视为该次进入已结束。小鼠的焦虑程度越低时, 进入开放臂的次数和停留时间将会增加<sup>[16,17]</sup>。

#### 1.2.2.3 FST

测试开始前, 在作为强迫游泳装置的透明圆柱筒 (高 25 cm, 直径 13 cm) 中注入 10 cm 深的清水, 水温保持在 24 ~ 26 °C。将小鼠放入水中 6 min, 用摄像头记录小鼠的活动, 并分析后 4 min 小鼠在水中静止不动的时间占比。小鼠的不动时间越长, 说明抑郁程度越高<sup>[18]</sup>。

### 1.2.3 实验流程

正式实验共计 9 d, 其中第 1 ~ 5 d 为孕酮造模

期, 第 6 ~ 8 d 为孕酮戒断期及给药期, 第 8 d、9 d 进行行为学测试及取血。第 8 d 当天, 各组小鼠给药结束后 30 min 开始进行 OF 测试, 随后进行 EPM 测试; 第 9 d 在同一时间给药 30 min 后开始进行 FST, 所有行为学测试结束后对所有小鼠取血。所有小鼠均在行为学测试前 2 h 放置于测试场地中, 以提前熟悉测试环境。为避免受小鼠昼夜节律影响, 行为学测试均在 9:30 ~ 16:30 之间进行。

#### 1.2.4 小鼠血清制备及血清皮质酮含量检测

行为学测试全部结束后, 立即对小鼠进行眼眶取血 0.5 mL。随后以 3000 r/min 的速度、4 °C 温度下离心 10 min, 取上层血清, 置于 -20 °C 冰箱保存。采用 ELISA 法检测小鼠血清样本中皮质酮的含量。

#### 1.2.5 精油成分分析

样品准备: 取 10 μL 待测精油, 用乙醇-正己烷混合溶液 (1:1, V/V) 稀释至 1 mL。

色谱条件: 色谱柱为 DB-WAX (30 m × 250 μm × 0.25 μm); 载气为氦气 (99.999%); 载气流速 1 mL/min; 进样量 1 μL, 分流比 30:1; 进样口温度 260 °C, 升温程序: 柱温 50 °C 维持 3 min, 随后以 4 °C/min 升至 120 °C, 维持 10 min, 再以 2 °C/min 升至 220 °C, 维持 2 min。

质谱条件: 离子源温度为 230 °C; 四级杆温度为 150 °C; 电离方式为 EI+, 70 eV; 检测器电压为 2047 V; 扫描方式为全扫描。

#### 1.2.6 统计与分析

采用 VisuTrack 啮齿动物行为视频分析软件 (上海欣软信息科技有限公司) 对小鼠在 OF、EPM 和 FST 行为学测试中的表现进行记录和分析。通过 IBM SPSS Statistics 23 软件对实验数据进行统计分析。采用单因素方差分析 (ANOVA) 对比不同处理组之间的数据差异性, 组间两两比较采用事后 Duncan 检验,  $P < 0.05$  表示差异有显著性。

## 2 结果

### 2.1 精油在 OF 测试中对小鼠的影响

如表 1 所示, 在 OF 测试中, 腹腔注射 100、200、500 mg/kg 的复方精油 A 和精油 B 均能降低 PMS 小鼠的焦虑水平。与 PWD 组相比, 精油 A 和精油 B 各浓度组小鼠在 OF 中的总运动距离和跨格次数均增加, 说明 2 种复方精油均能提升 PMS 小鼠在 OF 测试中的运动能力; 其中, 腹腔注射 200 mg/kg 精油 B 对总运动距离的增加效果最好, 其次是 500 mg/kg 精油 A; B2 组小鼠的跨格次数也最多, 其次是 B3 组

和 A3 组,以上 3 组的跨格次数均超过 Flx 组。与 PWD 组相比,腹腔注射精油 A 和精油 B 均能提升小鼠的中央区域进入次数、运动距离比及停留时间;其中, B2 组小鼠的中央区域进入次数最多,平均为 16.50 次,其次是 A3 组(14.83 次);从中央区域运动距离比和停留时间来看,相较于 PWD 组,腹腔注射 200、500 mg/kg 精油 B 和 500 mg/kg 精油 A 能够将 PMS 小鼠的中央区域运动距离比提升 50% 左右,对

小鼠在中央区域停留时间的提升也均超过 Flx 组。

结果表明,在 OF 测试中,腹腔注射所有浓度的精油 A 和精油 B 均对 PMS 小鼠显示出一定程度的抗焦虑效果;其中 200、500 mg/kg 精油 B 和 500 mg/kg 精油 A 的效果最好,优于阳性药;整体来看,精油 B 组小鼠在 OF 测试中的表现优于精油 A 组;但以上差异均在统计学上不显著( $P > 0.05$ )。

表 1 两种复方精油对小鼠在 OF 测试中的影响( $\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$ )

Table 1 The effect of two compound EOs on mice in the OF test( $\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$ )

组别 Group	总运动距离 Total distance moved (m)	跨格次数 Squares crossed	中央区域 进入次数 Entries to the central area	中央区域 运动距离比 Ratio of distance moved in the central area (%)	中央区域 停留时间 Time spent in the center area (s)
CK	27.92 ± 1.28	148.80 ± 7.48	15.00 ± 2.28	11.39 ± 1.51	21.25 ± 2.88
PWD	24.45 ± 2.39	129.00 ± 15.70	8.20 ± 2.52	8.57 ± 0.80	17.13 ± 2.10
Flx	28.43 ± 0.88	149.60 ± 4.38	13.00 ± 1.10	11.44 ± 1.70	20.55 ± 3.82
A1	26.23 ± 1.62	141.67 ± 11.09	13.00 ± 2.75	11.57 ± 2.07	19.07 ± 3.09
A2	25.29 ± 2.08	137.20 ± 12.14	9.67 ± 1.99	11.22 ± 1.75	17.78 ± 3.38
A3	27.40 ± 1.78	151.00 ± 13.42	14.83 ± 4.24	12.62 ± 2.78	22.31 ± 5.43
B1	25.85 ± 0.89	130.20 ± 3.97	11.80 ± 2.31	11.13 ± 2.10	18.93 ± 3.71
B2	29.34 ± 1.72	153.40 ± 10.69	16.50 ± 2.79	13.17 ± 1.70	24.44 ± 2.95
B3	26.19 ± 2.27	152.83 ± 14.10	13.50 ± 1.43	13.13 ± 1.15	22.29 ± 2.75

## 2.2 精油在 EPM 测试中对小鼠的影响

如图 1 所示,在 EPM 测试中,腹腔注射所有浓度的复方精油 A 和精油 B 均对 PMS 小鼠表现出抗焦虑作用。由图 1a、1b 可见,相较于 PWD 组,各浓度的精油 A 组和精油 B 组小鼠在 EPM 中的总运动距离均有增加,提升效果优于 Flx 组,但各组之间差异不显著( $F(8, 39) = 0.914, P > 0.05$ );与 PWD 组(620 mm)相比,所有浓度的精油 A 和精油 B 均对小鼠在开放臂上的运动距离有提升效果,其中 A1 组(1 708 mm)和 B2 组(1 659 mm)均达到显著水平( $P < 0.05$ )。

由图 1c、1d、1e 可见,与 PWD 组相比,施用各浓度的精油 A 和精油 B 均能提升小鼠的 OT、OE 和 OT%,但是对小鼠的 OE% 没有明显效果( $F(8, 36) = 1.367, P > 0.05$ )(见图 1f)。其中, A1 组小鼠 OT 和 OT% 的提升效果最好,分别为 37.65s 和 14.06%,均达到显著水平( $P < 0.05$ ),其次是 B2 组,OT 和 OT% 分别为 33.16s 和 12.38%;此外, B2

组小鼠的 OE 也显著高于 PWD 组( $P < 0.05$ ),其次是 A1 组和 A2 组,但效果不显著( $P > 0.05$ )。

结果表明,在 EPM 测试中,腹腔注射 100、200、500 mg/kg 的复方精油 A 和精油 B 均能降低 PMS 小鼠的焦虑水平,其中 100 mg/kg 精油 A 和 200 mg/kg 精油 B 表现出明显的抗焦虑作用( $P < 0.05$ )。

## 2.3 精油在 FST 中对小鼠的影响

如图 2 所示,在 FST 中,ANOVA 结果表明,腹腔注射不同浓度的复方精油 A 和精油 B 均会影响小鼠的不动时间百分比( $F(8, 43) = 3.339, P < 0.01$ )。与 PWD 组(43.87%)相比, A1 组和 B1、B2、B3 组小鼠的不动时间百分比均明显下降( $P < 0.05$ ),且均低于 Flx 组(33.91%)。其中 B2 组的效果最好,为 23.21%;其次是 A1 组,为 24.50%;以上 2 组对不动时间百分比的降低效果接近于 CK 组(23.92%)。根据事后 Duncan 检验的结果,同一精油各浓度组小鼠的不动时间百分比无显著差异( $P > 0.05$ ),但精

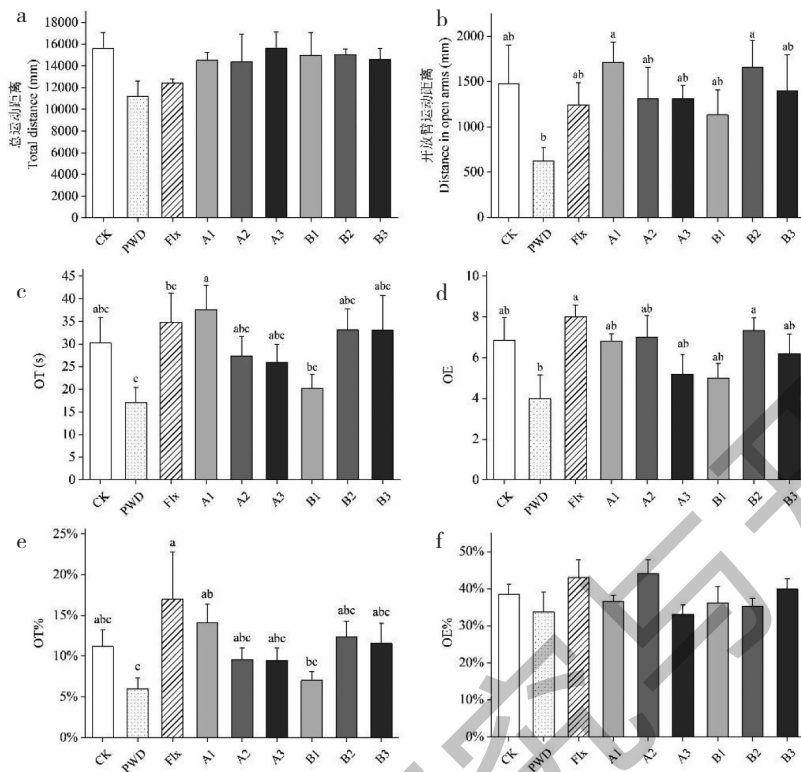


图 1 两种复方精油对小鼠在 EPM 测试中的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

Fig. 1 Effect of two compound EOs on mice in the EPM test ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

注:不同小写字母代表不同处理组别之间存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),下同。Note: Different lowercase letters represent significant differences between the different treatments groups ( $P < 0.05$ ), the same below.

油 B 的效果整体优于精油 A, 其中 B2 组的不动时间百分比显著低于 A3 组 ( $P < 0.05$ )。

结果表明,在 FST 中,腹腔注射复方精油 A 和精油 B 均对 PMS 小鼠表现出明显的抗抑郁作用 ( $P < 0.01$ ),其中 100 mg/kg 精油 A 和 200 mg/kg 精油 B 效果最好。

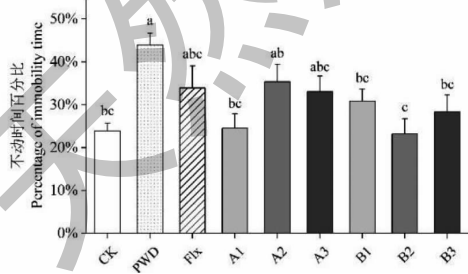


图 2 两种复方精油对小鼠在 FST 中不动时间百分比的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

Fig. 2 Effect of two compound EOs on mice in the FST ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

200、500 mg/kg 的复方精油 A 和精油 B 均会显著影响小鼠的血清皮质酮含量 ( $F(8, 37) = 8.030, P < 0.001$ )。与 PWD 组和 CK 组相比,所有浓度的精油 A 和精油 B 组小鼠的血清皮质酮含量均大幅降低 ( $P < 0.05$ );其中, B2 组的血清皮质酮含量最低,其

表 2 两种复方精油对小鼠血清皮质酮含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

Table 2 The effect of two compound EOs on serum corticosterone levels in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$ )

组别 Group	血清皮质酮含量 Serum corticosterone content (ng/mL)
CK	110.17 ± 11.74 <sup>ab</sup>
PWD	132.52 ± 16.07 <sup>a</sup>
Flx	66.61 ± 13.25 <sup>cd</sup>
A1	63.78 ± 13.86 <sup>cd</sup>
A2	52.68 ± 6.52 <sup>d</sup>
A3	69.39 ± 9.53 <sup>cd</sup>
B1	43.52 ± 6.67 <sup>d</sup>
B2	41.06 ± 3.14 <sup>d</sup>
B3	89.62 ± 10.78 <sup>bc</sup>

### 2.4 精油对小鼠血清皮质酮水平的影响

如表 2 所示,根据 ANOVA 结果,腹腔注射 100、

次是 B1 组、A2 组和 A1 组,以上 4 组均低于 Flx 组。事后 Duncan 检验结果显示,精油 A 各浓度组小鼠的血清皮质酮含量无显著差异( $P > 0.05$ ),但精油 B 中 B3 组的血清皮质酮含量明显高于另外两个较低浓度的组( $P < 0.05$ )。

结果表明,在血清皮质酮水平上,腹腔注射所有浓度的复方精油 A 和精油 B 均对 PMS 小鼠表现出明显的抗焦虑效果( $P < 0.001$ ),其中精油 A 在 200 mg/kg 浓度时效果最好,精油 B 在 100 mg/kg 和 200 mg/kg 浓度时效果优于精油 A,且明显优于高浓度组。

## 2.5 两种复方精油化学成分分析

### 2.5.1 复方精油 A 化学成分分析

复方精油 A 中共鉴定出 39 种挥发性成分,占精油总成分的 98.42%,具体成分及相对百分含量排序如表 3 所示。其中,柠檬烯是复方精油 A 中相对百分含量最高的成分,为 61.96%;其次是相对百分含量 10.41% 的乙酸芳樟酯和占比 8.48% 的芳樟醇;另外,精油 A 中相对含量超过 1% 的主要成分还包括侧柏酮(2.75%)、月桂烯(1.56%)、 $\alpha$ -蒎烯(1.30%)和香叶醇(1.14%)。

表 3 复方精油 A 的主要化学成分及相对含量

Table 3 Relative content of the main chemical components in the compound essential oil A

序号 No.	成分 Component	CAS	相对含量 Relative content (%)
1	柠檬烯 Limonene	000138-86-3	61.96
2	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	000115-95-7	10.41
3	芳樟醇 Linalool	000078-70-6	8.48
4	侧柏酮 Thujone	000546-80-5	2.75
5	月桂烯 Myrcene	000123-35-3	1.56
6	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -Pinene	000080-56-8	1.30
7	香叶醇 Geraniol	000106-24-1	1.14
8	$\alpha$ -萜品醇 $\alpha$ -Terpineol	000098-55-5	0.88
9	苯乙醇 Phenylethyl alcohol	000060-12-8	0.67
10	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -Pinene	000127-91-3	0.64
11	乙酸橙花酯 Neryl acetate	000141-12-8	0.64
12	桉叶油醇 Eucalyptol	000470-82-6	0.63
13	橙花醇 Nerol	000106-25-2	0.57
14	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	000105-87-3	0.57
15	$\alpha$ -律草烯 $\alpha$ -Humulene	006753-98-6	0.55
16	香茅醇 Citronellol	000106-22-9	0.55
17	当归酸异丁酯 Isobutyl angelate	007779-81-9	0.54
18	当归酸-3-甲基戊酯 3-Methylpentyl angelate	053082-58-9	0.52
19	桉烯 Sabinene	003387-41-5	0.48
20	$\gamma$ -萜品醇 $\gamma$ -Terpineol	000586-81-2	0.39
21	当归酸-2-甲基丁酯 2-Methylbutyl angelate	061692-77-1	0.38
22	莰烯 Camphene	000079-92-5	0.37
23	2-甲基-2-丁烯酸-2-戊酯 Pentan-2-yl 2-methylbut-2-enoate	063473-51-8	0.29
24	顺式-2-甲基-2-丁烯酸-2-甲基-2-丙烯酯 2-Butenoic acid, 2-methyl-, 2-methyl-2-propenyl ester, (Z)-	061692-78-2	0.27
25	对伞花烃 <i>p</i> -Cymene	000099-87-6	0.24
26	$\beta$ -水芹烯 $\beta$ -Phellandrene	000555-10-2	0.21
27	3-蒎烯 3-Carene	013466-78-9	0.19

续表 3 (Continued Tab. 3)

序号 No.	成分 Component	CAS	相对含量 Relative content(%)
28	邻氨基苯甲酸甲酯 Methyl anthranilate	000134-20-3	0.18
29	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -Caryophyllene	000087-44-5	0.18
30	乙酸冰片酯 Bornyl acetate	000076-49-3	0.13
31	罗勒烯 Ocimene	013877-91-3	0.13
32	萜品油烯 Terpinolene	000586-62-9	0.12
33	(-)-反式-松香芹醇 (-)-trans-Pinocarveol	000547-61-5	0.10
34	$\beta$ -萜品醇 $\beta$ -Terpineol	000138-87-4	0.09
35	1,2-二氢芳樟醇 1,2-Dihydrolinalool	018479-51-1	0.09
36	甲基丙烯酸-3-甲基戊酯 3-Methylpentyl methacrylate	113615-00-2	0.06
37	异丁酸异丁酯 Isobutyl isobutyrate	000097-85-8	0.06
38	$\gamma$ -萜品烯, 松油烯 $\gamma$ -Terpinene	000099-85-4	0.06
39	异丁酸-2-甲基戊酯 2-Methylpentyl isobutyrate	084254-82-0	0.06
总含量 Total content			98.42

### 2.5.2 复方精油 B 化学成分分析

如表 4 所示,在复方精油 B 中共鉴定出 38 种挥发性成分,占精油总成分的 99.71%。精油 B 中相对百分含量最高的前 3 种化合物与精油 A 相同,分别是柠檬烯(52.12%)、乙酸芳樟酯(18.17%)和芳

樟醇(15.86%),其中柠檬烯的相对含量低于精油 A,而后两者的含量则高于精油 A。此外,精油 B 中相对含量高于 1% 的成分还包括丹皮酚(1.35%)、月桂烯(1.30%)及  $\beta$ -石竹烯(1.21%)。

表 4 复方精油 B 主要化学成分及相对含量

Table 4 Relative content of the main chemical components in the compound essential oil B

序号 No.	成分 Component	CAS	相对含量 Relative content(%)
1	柠檬烯 Limonene	000138-86-3	52.12
2	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	000115-95-7	18.17
3	芳樟醇 Linalool	000078-70-6	15.86
4	丹皮酚 Paeonol	000552-41-0	1.35
5	月桂烯 Myrcene	000123-35-3	1.30
6	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -Caryophyllene	000087-44-5	1.21
7	$\alpha$ -萜品醇 $\alpha$ -Terpineol	000098-55-5	0.95
8	乙酸薰衣草酯 Lavandulyl acetate	025905-14-0	0.82
9	反式- $\beta$ -金合欢烯 ( <i>E</i> )- $\beta$ -Famesene	018794-84-8	0.77
10	3-辛酮 3-Octanone	000106-68-3	0.64
11	罗勒烯 Ocimene	013877-91-3	0.60
12	反式- $\beta$ -罗勒烯 <i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	003779-61-1	0.56
13	4-萜品醇 Terpinen-4-ol	000562-74-3	0.48
14	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -Pinene	000080-56-8	0.47
15	乙酸香叶酯 Geranyl acetate	000105-87-3	0.44

续表 4(Continued Tab. 4)

序号 No.	成分 Component	CAS	相对含量 Relative content(%)
16	乙酸橙花酯 Neryl acetate	000141-12-8	0.34
17	龙脑 Borneol	000507-70-0	0.33
18	桉烯 Sabinene	003387-41-5	0.33
19	1-辛烯-3-醇乙酸酯 1-Octen-3-yl-acetate	002442-10-6	0.32
20	香叶醇 Geraniol	000106-24-1	0.29
21	乙酸己酯 Hexyl acetate	000142-92-7	0.28
22	薰衣草醇 Lavandulol	000498-16-8	0.28
23	$\beta$ -水芹烯 $\beta$ -Phellandrene	000555-10-2	0.26
24	桉叶油醇 Eucalyptol	000470-82-6	0.20
25	丁酸己酯 Hexyl butyrate	002639-63-6	0.15
26	$\alpha$ -檀香烯 $\alpha$ -Santalene	000512-61-8	0.14
27	3-辛醇 3-Octanol	000589-98-0	0.13
28	芳樟醇氧化物 Linalool oxide	001365-19-1	0.13
29	乙酸-3-辛醇酯 3-Octanol, acetate	004864-61-3	0.12
30	辛醛 Octanal	000124-13-0	0.10
31	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -Pinene	000127-91-3	0.09
32	1-辛烯-3-醇 1-Nonen-3-ol	021964-44-3	0.09
33	3-萜烯 3-Carene	013466-78-9	0.09
34	隐酮 Cryptone	000500-02-7	0.08
35	对伞花烃 <i>p</i> -Cymene	000099-87-6	0.08
36	1-己醇 1-Hexanol	000111-27-3	0.06
37	萜品油烯 Terpinolene	000586-62-9	0.06
38	丁酸丁酯 Hexyl butyrate	000109-21-7	0.05
总含量 Total content			99.71

### 3 讨论与结论

采用 PWD 诱导的 PMS 小鼠模型,通过行为学测试和血清皮质酮含量测定,评估了两种复方精油对 PMS 小鼠的情绪舒缓功效。在 OF 测试和 EPM 测试中,腹腔注射两种复方精油均对 PMS 小鼠产生明显的抗焦虑作用,且均能提高小鼠在 OF 和 EPM 中的运动距离。在 FST 测试中,腹腔注射两种复方精油均能显著降低小鼠的不动时间百分比,对 PMS 小鼠表现出明显的抗抑郁作用。在行为学测试中,100 mg/kg 剂量的精油 A 和 200 mg/kg 剂量的精油 B 表现出最佳效果。整体而言,相较于 OF 测试,两种精油在 EPM 测试中表现出更明显的抗焦虑作用,可能是由于两种模型之间的差异所致;另外,鉴于啮齿动物对环境的亮度非常敏感<sup>[19]</sup>,在同一光源下,OF 模型和 EPM 模型的亮度也可能存在区别(EPM 器材距离光源更近),因此实验环境也可能影响两种测试中小鼠的行为。

啮齿动物中的皮质酮是一种重要的生物标志物,与压力和焦虑有关<sup>[20,21]</sup>。血清皮质酮含量测定结果表明,与 PWD 组相比,腹腔注射两种复方精油均能显著降低小鼠的血清皮质酮含量,表现出明显的抗焦虑作用,其中精油 A 和精油 B 均在 200 mg/kg 剂量时具有最佳效果,且精油 B 的低浓度组对于血清皮质酮的降低效果明显优于高浓度组,说明两种精油在浓度较低时抗焦虑效果较好。这与 Zhou 等<sup>[22]</sup>在紫苏精油对小鼠血清免疫指标的影响研究中精油的作用效果一致,并不是精油浓度越高效果就越好,可能是与精油的作用机制有关,值得进一步探讨。同时,在注射精油后,检测到血清中皮质酮的含量下降,但是暂不清楚精油是直接抑制了皮质酮的产生,或是通过其他途径调节情绪而导致血清皮质酮含量降低。焦虑的发生机制较复杂,涉及许多因素,有待更全面的探索。

结合行为学测试结果,说明两种复方精油均能



对 PMS 小鼠产生明显的抗焦虑和抗抑郁功效,具备舒缓 PMS 女性经期情绪症状的潜力。同时,针对该症状而言,2 种精油在效果上虽然有一定差异,精油 B 在 FST 中的抗抑郁效果整体优于精油 A,但功效表现一致,推测这种效果上的差异可能是由于虽然两者的主成分相近,但含量不同所致,或者其他成分的差异导致,但也进一步说明这 2 种精油中的柠檬烯可能正是该功效的主要贡献成分。

本研究中,小鼠精油给药采用了腹腔注射的方式,是为了严格控制使用量。精油具有脂溶性,分子量极小,极易通过透皮吸收的方式进入机体而发挥作用,在确定精油具有舒缓 PMS 女性经期情绪症状的潜力后,可进行后续安全性评估及 PMS 女性志愿者测试,精油的该特性将大幅度提升精油的接受度,促进芳疗产业在我国的进程。

#### 参考文献

- Pizzorno JE, Murray MT, Joiner-Bey H. 67-Premenstrual syndrome [M]//Pizzorno JE, Murray MT, Joiner-Bey H. The Clinician's Handbook of Natural Medicine(Third Edition). Edinburgh:Churchill Livingstone,2016:830-842.
- Parks CJ. Premenstrual Syndrome [M]//Garfunkel LC, Kaczorowski JM, Christy C. Pediatric Clinical Advisor(Second Edition). Philadelphia: Mosby,2007:465.
- Peng ZX, Yao L, Du HM, et al. Effects of two essential oil components on relieving insomnia and anxiety of college students[J]. J Shanghai Jiaotong Univ: Agric Sci(上海交通大学学报:农科版),2019,37:54-58.
- Wang ST, Zhang N, Yao L, et al. Effects of bergamot essential oil on anxiety and cognitive ability in offspring autistic rats [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2020,32:1124-1133.
- Liang M. Suhexiang essential oil inhalation produces antidepressant and anxiolytic-like effects in stressed mice[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University(河北医科大学),2018.
- Rombolà L, Tridico L, Scuteri D, et al. Bergamot essential oil attenuates anxiety-like behaviour in rats [J]. Molecules, 2017,22:614.
- Griffiths J, Lovick T. Withdrawal from progesterone increases expression of  $\alpha 4$ ,  $\beta 1$ , and  $\delta$  GABAA receptor subunits in neurons in the periaqueductal gray matter in female Wistar rats [J]. J Comp Neurol,2005,486:89-97.
- Li Y, Pehrson AL, Budac DP, et al. A rodent model of premenstrual dysphoria: progesterone withdrawal induces depression-like behavior that is differentially sensitive to classes of antidepressants [J]. Behav Brain Res,2012,234:238-247.
- Beckley EH, Finn DA. Inhibition of progesterone metabolism mimics the effect of progesterone withdrawal on forced swim test immobility [J]. J Comp Neurol,2007,87:412-419.
- Iba H, Watanabe T, Motomura S, et al. A Japanese herbal medicine attenuates anxiety-like behavior through GABAA receptor and brain-derived neurotrophic factor expression in a rat model of premenstrual syndrome [J]. J Pharmacol Sci, 2021,145:140-149.
- Zhang H, Geng X, Li Z, et al. Paeonol at certain doses alleviates aggressive and anxiety-like behaviours in two premenstrual dysphoric disorder rat models [J]. Front Psychiatry, 2020,11:295.
- Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. Arch Int Pharmacodyn Ther,1977,229:327-36.
- Hashiguchi A, Okabayashi K, Yamaguchi H, et al. The effect of mung bean (*Vigna radiata* (L.)) coat extract on mouse liver metabolism during progesterone withdrawal [J]. J Med Food,2020,23:967-977.
- Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review [J]. Eur J Pharmacol,2003,463:3-33.
- Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. The Open Field Test [M]//Gould TD. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests. Totowa, NJ: Humana Press,2009:1-20.
- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents [J]. Nat Protoc, 2007,2:322-328.
- Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice [J]. J Vis Exp,2008,22:e1088.
- Chen L, Faas GC, Ferando I, et al. Novel insights into the behavioral analysis of mice subjected to the forced-swim test [J]. Transl Psychiatry,2015,5:e551-e551.
- Cryan JF, Sweeney FF. The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic action in drug discovery [J]. Br J Pharmacol,2011,164:1129-1161.
- Gong S, Miao YL, Jiao GZ, et al. Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice [J]. PLoS One,2015,10:e0117503.
- Colaiana M, Schiavone S, Zotti M, et al. Neuroendocrine profile in a rat model of psychosocial stress: relation to oxidative stress [J]. Antioxid Redox Signal,2013,18:1385-1399.
- Zhou ML, Zhao GQ, Xia C, et al. Effect of essential oil of *Peperilla purpurea* on serum immune parameters in mice [J]. Chin J Animal Sci(中国畜牧杂志),2014,50:62-65.