

王雅欣, 郭姗姗, 高英杰, 等. 参味宁郁片对三种药物诱发动物模型的抗抑郁作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (1): 57-61.

Wang YX, Guo SS, Gao YJ, et al. Antidepressant effect of Shenwei Ningyu tablets on animal models induced by three drugs [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(1): 57-61.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 01. 007

参味宁郁片对三种药物诱发动物模型的抗抑郁作用研究

王雅欣¹, 郭姗姗¹, 高英杰¹, 图 娅², 崔晓兰^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京 100029)

【摘要】 目的 探索参味宁郁片对三种药物诱发动物模型的抗抑郁机制。**方法** 建立了三种药物诱发的动物模型, 均在给药 1 周后进行造模, 在加强单胺作用试验中, 各组动物进行腹腔注射盐酸帕吉林 (pargyline hydrochloride), 再尾静脉注射 5-羟色胺酸 (5-hydroxytryptophan, 5-HTP), 观察 25 min 内的甩头次数。在抑制去甲肾上腺素 (noradrenaline, NE) 重吸收实验中, 各给药组皮下注射 NE 后统计死亡率。在单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 抑制实验中, 各给药组尾静脉注射盐酸色胺并逐只观察大鼠“蹬踩”运动。**结果** 加强单胺作用实验: 各给药组的甩头次数较模型组明显增多, 并具有显著性差异。抑制 NE 重吸收实验: 与模型组比较, 各给药组小鼠的死亡率均明显增加, 其中低剂量组与模型组比较有显著性差异 ($P<0.05$)。MAO 抑制实验: 模型组可出现明显的“蹬踩”运动, 各给药组动物造模后的“蹬踩”运动次数较模型组虽有明显增多, 但无显著性差异。**结论** 参味宁郁片的抗抑郁作用可能与增强 NE 神经功能及五羟色胺 (5-HT) 两个方面有关。

【关键词】 抑郁症; 参味宁郁片; 加强单胺作用; 抑制去甲肾上腺素重吸收; 单胺氧化酶抑制作用

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 01-0057-05

Antidepressant effect of Shenwei Ningyu tablets on animal models induced by three drugs

WANG Yaxin¹, GUO Shanshan¹, GAO Yingjie¹, TU Ya², CUI Xiaolan^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China.
2. School of Acupuncture-moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

【Abstract】 Objective To explore the antidepressant mechanism of Shenwei Ningyu tablets on animal models induced by three drugs. **Methods** Three drug-induced animal models were established, following 1 week of drug administration. For the experiment aimed at strengthening the effect of monoamine, the animals in each group were injected with pargyline hydrochloride by intraperitoneal injection, followed by a tail vein injection of 5-hydroxytryptamine acid. The frequency of head-shaking within 25 min was observed. For the inhibition of norepinephrine (NE) reabsorption test, mortality was counted in each group following subcutaneous injection of NE. In the monoamine oxidase (MAO) inhibition test, tryptamine hydrochloride was injected into the tail vein of the animals in each administration group, and the “pedal”

【基金项目】 国家科技重大专项课题 (重大新药创制) (2019ZX09301-005)。

【作者简介】 王雅欣 (1995—), 女, 硕士, 研究方向: 中药抗病毒研究。E-mail: wyx_18434376603@163.com

【通信作者】 崔晓兰 (1961—), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 中药抗病毒研究。E-mail: cuixiaolan2812@126.com

movement of each rat was observed. **Results** For the enhanced monoamine action test, the frequency of head-shaking in mice in each administration group was significantly higher than that in the model group. For the inhibition of NE reabsorption assay, compared with the model group, the mortality of mice in each administration group was significantly higher, and there was a significant difference between the low-dose and model groups ($P<0.05$). For the MAO inhibition test, obvious “pedaling” movements were observed in the model group, and the number of “pedaling” movements after animal modeling in each administration group was significantly higher than that in the model group; however, the difference was not significant. **Conclusions** The antidepressant effect of Shenwei Ningyu tablets may be related to its efficacy in enhancing NE nerve function and 5-hydroxytryptamine(5-HT).

[Keywords] depression; Shenwei Ningyu tablets; strengthening monoamine action; inhibition of norepinephrine reabsorption; monoamine oxidase inhibition

抑郁症已经成为近年来严重危害人类健康的常见精神类疾病之一,约有 3.5 亿人正受抑郁症的困扰^[1],重度抑郁症在全球范围内患病率逐年升高,给公共卫生系统带来极大的负担^[2],然而因其致病因素复杂、临床表现多样^[3]、发病年龄跨度较大,且常作为其他疾病的并发症,这些因素都极大阻碍了抑郁症的治疗及相关药物的研发工作,且常用的抗抑郁药物通常具有副作用大且病情易复发等缺点^[4],所以近年来的天然抗抑郁药物逐渐受到广泛关注^[5]。

抗抑郁新药-参味宁郁片是由郁金、酸枣仁、西洋参、五味子 4 味中药材组成,其中郁金的重量份为 600~1200、酸枣仁为 600~1200、西洋参为 100~600、五味子为 400~1000。该药在 2005 年获得 CFDA 临床研究批件(批件号:2005L02629),并于 2007 年 2 月获国家发明专利(专利号:ZL031531040),它作为国内首个批准进入临床试验的治疗抑郁症的纯中药小复方制剂(6.1 类)能够调节慢性束缚模型大鼠的免疫炎症反应,临床试验证实该药对于治疗气阴两虚型抑郁症有显著疗效^[6]。

目前关于抑郁症发病机制的研究主要有单胺类神经递质假说、受体假说、下丘脑-垂体-肾上腺轴假说等^[7]。本次研究主要以单胺类神经递质假说为依据展开,因使用单一抑郁症模型易产生假阳性或受到主观偏好的影响,而使用多种抑郁模型进行试验能更准确判断药物的抗抑郁效果^[8]。故本实验中使用 3 种药物诱发的不同动物模型来探索参味宁郁片的抗抑郁作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验纳入 6 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠 60 只,体重 160~180 g;KM 小鼠雄性 120 只,体重 13~15

g。实验动物均由北京维通利华公司实验动物中心提供[SCXK(京)2016-0011]。动物饲养于中国中医科学院中药研究所屏障动物实验设施[SYXK(京)2016-0013],并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。本实验中所有操作均遵循国家卫生研究院(national institutes of health, NIH)及北京市实验动物伦理委员会的规定。

1.2 主要试剂与仪器

受试药物:参味宁郁片(实验采用压片前的药粉),由郁金、酸枣仁、西洋参、五味子 4 味中药材组成,经中国中医科学院中药研究所剂型室提供,批号:030802。性状:浅棕色粉末。阳性对照:百忧解,英国礼来公司产品,批号(98)卫药准字 J-23 号。临床适应症:抑郁症。剂型:胶囊。用法用量:20~40 mg/d,口服给药。实验试剂:重酒石酸去甲肾上腺素(上海禾丰制药有限公司产品,批号:沪卫药准字(1995)第 010044 号);5-羟色胺酸(Sigma 公司产品,批号:035G4672);盐酸帕吉林(Sigmag 公司产品,批号:053K3675);盐酸色胺(中国医药公司北京采购供应站提供,批号 850906)。实验仪器:小鼠自主活动记录仪(DPOT-VARIMEX.3 型,美国产品);小鼠悬尾平衡支架(自制)。

1.3 方法

1.3.1 动物分组

将实验动物进行适应性喂养后采用随机数字表(随机数字由 SPSS 25.0 统计学软件产生)将大鼠及小鼠分为正常组、模型组、百忧解组、参味宁郁片高剂量、中剂量组和低剂量组共 6 组,每组 10 只。

1.3.2 给药方法

剂量设计:参味宁郁片:人临床用量为 34 g/60 (kg·d),即 0.57 g/(kg·d),换算成小鼠用量即为 3.6、12 g/(kg·d),大鼠用量即为 1.5、3.6 g/(kg·d),均分别相当于人临床用量的 1/2 倍、等倍和 2

倍。百忧解:临床人用量为 40 mg/60(kg·d),实验时小鼠用量为 5.2 mg/(kg·d);大鼠用量为 2.6 g/(kg·d);均为临床等效用量。

给药方式:小鼠按 0.2 mL/10 g 灌胃给药,大鼠按 1 mL/100 g 灌胃给药。

1.3.3 实验方法

加强单胺作用实验-5-HTP 诱发小鼠甩头模型^[9-10]:各给药组灌胃给药,正常、模型组给予等量的生理盐水,每天 1 次,连续 6 d,第 7 天除正常对照组外,其余各组动物腹腔注射盐酸帕吉林 100 mg/kg,浓度为 6 mg/mL。1 h 后给药 1 次,再过 30 min,尾静脉注射 10 mg/kg 的 5-HTP,浓度为 0.8 mg/mL,正常对照组给予生理盐水。之后立即放入 24 cm×15 cm×15 cm 的小鼠箱内,观察小鼠每 5 min 内的甩头次数,共测定 25 min。5-HTP 诱发小鼠甩头模型是预先给予 5-HTP 药物后使外源性 5-HT 水平上升进而出现甩头行为^[11]。

抑制 NE 重吸收实验-增强 NE 对小鼠的毒性实验^[12]:各给药组灌胃给药,正常、模型组给予等量的生理盐水,每天 1 次,给药量为 0.2 mL/10 g,连续给药 1 周。除正常对照组外,其余各组于第 7 天灌胃 1 h 后,皮下注射 NE(12 mg/kg),药物浓度为 1.2 mg/mL 然后将小鼠置于塑料笼中,自由饮水、进食。观察各组小鼠的死亡数,48 h 后统计死亡率,死亡率=(死亡数/动物总数)×100%。能够抑制 NE 重摄取的抗抑郁药可以显著提高 NE 的浓度,也能增强外源性给予 NE 的毒性,此模型主要适用于 NE 重摄取抑制剂^[13]。

MAO 抑制实验-对增强色胺引起大鼠惊厥模型的影响:各给药组灌胃给药,正常、模型组给予等量的生理盐水,每天 1 次,连续 7 d。第 7 天给药后除正常组外各组于给药后 1 h 尾静脉注射新鲜配制的盐酸色胺溶液(6 组大鼠交叉进行注射)10 mg/kg,浓度为 2 mg/mL。然后逐只观察前肢特有的阳性反应-阵挛性“蹬踩”运动。色胺作为单胺氧化酶的底物在大鼠注射后可出现阵挛性惊厥反应,具有单胺氧化酶抑制作用的抗抑郁药物可增强色胺引起的惊厥作用^[14]。

1.4 统计学方法

待实验结束后,各组数据采用 SPSS 25.0 进行统计,实验结果均以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义;死亡率统计用 χ^2 检验,为降低 I 型错误

的概率, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 加强单胺作用实验——5-HTP 诱发小鼠甩头模型

表 1 中结果显示:正常组不出现甩头现象,与正常组相比,模型组出现明显的甩头现象,与模型组相比,各给药组的甩头次数明显增多,其中低剂量组稍高于高、中剂量组,各给药组与模型组比较均具有显著性差异($P < 0.05$)。

2.2 抑制 NE 重吸收实验——增强 NE 对小鼠的毒性实验

表 2 结果显示:与正常组相比,皮下注射 NE(12 mg/kg)后模型组小鼠的死亡率为 10%,与模型组相比,参味宁郁片各给药组小鼠的死亡率均明显增加,其中低剂量组为 60%,与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$)。

2.3 MAO 抑制实验——对增强色胺引起大鼠惊厥模型的影响

表 3 结果显示:正常组动物不出现“蹬踩”运动,与正常组相比,模型组的动物可出现明显的“蹬踩”运动。与模型组相比,各给药组动物造模后的“蹬踩”运动次数较模型组虽有明显增多,但并无显著性差异($P > 0.05$)。

3 讨论

抑郁症是一种病因复杂的精神类疾病,目前关于其发病机制的研究主要集中在中枢单胺类神经递质如 5-HT、NE 和多巴胺(DA)等方面^[15],大多数抗抑郁药可通过抑制单胺类递质重吸收、抑制 MAO 活性等方式体现药效^[16]。5-HT 作为一种常见的单胺类神经递质,在神经元中常参与包括情绪、睡眠及认知功能等方面的调控^[17],早在 19 世纪 50 年代就有临床实验发现与正常人相比抑郁症患者脑内缺乏 5-HT^[18],因此如何抑制 5-HT 在患者脑内的代谢过程成为治疗抑郁症的关键环节。

鉴于参味宁郁片抗抑郁的具体机制尚不明确,本研究通过建立 3 种不同的动物模型对参味宁郁片的抗抑郁作用进行初步探索。在 5-HT 诱发小鼠甩头模型中,与模型组相比,参味宁郁片 3 个剂量组的甩头次数均有所增多,其中小剂量组甩头次数最多,其次,在增强 NE 对小鼠的毒性实验中,与模型组比较各给药组小鼠的死亡率均明显增加,其中低剂量组具有显著性差异,此外,在增强色胺引大鼠

表 1 参味宁郁片对 5-HTP 诱发小鼠甩头次数的影响 (n=10)

Table 1 Effect of Shenwei Ningyu tablets on 5-HTP-induced head-shaking in mice		
分组 Groups	给药剂量 (g/kg) Dose administered	甩头次数 Head flick times
正常组 Normal group	—	0
模型组 Model group	—	68.3±24.6
百优解组 Fluoxetine hydrochloride group	0.0052	89.8±41.7*
高剂量组 High dose of group	12	97.9±39.8*
中剂量组 Medium dose group	6	83.0±36.3*
低剂量组 Low dose group	3	98.7±41.7*

注:与模型组相比,*P<0.05。
Note. Compared with model group, *P<0.05.

表 2 参味宁郁片增强 NE 对小鼠的毒性实验 (n=10)

Table 2 Effect of Shenwei Ningyu tablets on enhancing the toxicity of NE in mice

组别 Groups	给药剂量 (g/kg) Dose administered	死亡数 (只) Deaths number	死亡率 (%) Mortality
正常组 Normal group	—	0	0
模型组 Model group	—	1	10%
百优解组 Fluoxetine hydrochloride group	0.0052	4	40%
高剂量组 High dose of group	12	3	30%
中剂量组 Medium dose group	6	4	40%
低剂量组 Low dose group	3	6	60%*

注:与模型组相比,*P<0.05。
Note. Compared with model group, *P<0.05.

表 3 参味宁郁片对增强色胺引大鼠惊厥试验的影响 (n=10)

Table 3 Effects of Shenwei Ningyu tablets on enhancing tryptamine-induced convulsion test in rats

组别 Groups	给药剂量 (g/kg) Dose administered	“蹬踩”运动 持续时间 (s) “Pedal” movement duration
正常组 Normal group	—	0
模型组 Model group	—	59.8±9.9
百优解组 Fluoxetine hydrochloride group	0.0026	61.1±14.5
高剂量组 High dose of group	6	69.2±14.8
中剂量组 Medium dose group	3	69.4±13.8
低剂量组 Low dose group	1.5	68.4±10.0

惊厥模型的实验中,各给药组动物造模后的“蹬踩”运动次数较模型组均有一定程度的增加,但与模型组比较并无显著性差异。

在小鼠甩头模型及小鼠毒性实验的研究中发现参味宁郁片低剂量组具有更明显的抗抑郁作用,这可能由以下两方面原因导致,其一是有些中药材随着用量的加大会影响甚至改变其临床疗效^[19],因此可能是导致本实验中量效关系不明显的因素之一。其次是高浓度的药液可能会影响机体对药物有效成分的吸收从而影响药效,与高剂量组相比,如果低剂量组在确保疗效的基础上更容易增加机体对其有效成分的利用度,那么低剂量组可能具有更显著的疗效。

以上实验结果显示参味宁郁片可能是通过作用于 NE 能系统、阻断中枢 5-HT 等单胺类递质的重摄取使 5-HT 增多等两个方面发挥抗抑郁作用,对于该药是否具有 MAO 抑制作用的抗抑郁药效还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Solem S, Hagen R, Wang CE, et al. Metacognitions and mindful attention awareness in depression: a comparison of currently depressed, previously depressed and never depressed individuals [J]. Clin Psychol Psychother, 2017, 24(1): 94–102.

[2] Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R) [J]. JAMA, 2003, 289(23): 3095–3105.

[3] 杨钦焱,周敏,罗春琼,等. 抑郁症的诊断研究进展 [J]. 国际精神病学杂志, 2014, 41(2): 100–102.

[4] 马丽娜,李耘. 抗抑郁药物研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(24): 3777–3779.

[5] 李慧婷,李远辉,任桂林,等. 中药挥发油防治情志疾病的研究现状及前景展望 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4031–4040.

[6] 图娅,崔晓兰,曾美桦. 一种用于治疗抑郁症的中药组合物在调节免疫炎性反应中的应用: CN109602884A [P]. 2019-04-12.

[7] 马宗国,江南,余梦瑶,等. 抑郁症发病机制及中药治疗研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(6): 548–553.

[8] Hao YZ, Ge HX, Sun MY, et al. Selecting an appropriate animal model of depression [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(19): 4827.

[9] Come SJ, Pickering RW, Warner BT. A method for assessing the effects of drugs on the central actions of 5-hydroxytryptamine [J]. Br J Pharmacol Chemother, 1963, 20(1): 106–120.

[10] 王萍萍. 和厚朴酚抗抑郁作用及机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.

[11] Thomas SJ, Shin M, McInnis MG, et al. Combination therapy

with monoamine oxidase inhibitors and other antidepressants or stimulants; strategies for the management of treatment-resistant depression [J]. *Pharmacotherapy*, 2015, 35(4): 433-449.

[12] 陈文星, 刘乐平, 李璘, 等. 姜黄素抗抑郁作用及其机理研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2006, 17 (5): 317-320.

[13] 高杉, 李蓐. 抑郁症动物模型及其评价标准研究进展 [J]. *天津中医药大学学报*, 2012, 31(1): 57-60.

[14] 江南, 许晓燕, 余梦瑶, 等. 当药黄素抗抑郁作用研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(1): 129-134, 162.

[15] 王海岭, 师天元. 葛根异黄酮抗抑郁作用的实验研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(21): 268-271.

[16] 高霄飞, 王雪琦, 何成, 等. 抑郁症单胺类递质受体研究进展 [J]. *生理科学进展*, 2002, 33(1): 17.

[17] Young SN. How to increase serotonin in the human brain without drugs [J]. *J Psychiatr Neurosci*, 2007, 32(6): 394-399.

[18] López-Muñoz F, Alamo C. Monoaminergic neurotransmission: the history of the discovery of antidepressants from 1950s until today [J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(14): 1563-1586.

[19] 李邦明, 李勇. 15 种中药剂量与疗效关系简述 [J]. *时珍国医国药*, 2000, 11(1): 87-88.

[收稿日期] 2021-10-08

叶酸诱导的肾疾病动物模型

肾损伤临床上通常可分为急性肾损伤(AKI)和慢性肾疾病(CKD)的影响,两者紧密相关,由多种危险因素引起,如缺血、败血症、药物毒性和药物过量、暴露于重金属和糖尿病等。尽管我们对 AKI 和 CKD 的发病机制以及 AKI 向 CKD 的进展过程有了一定的研究成果,但目前仍然没有有效对抗肾疾病的治疗方法,因此,进一步研究 AKI、CKD 以及 AKI 如何进展为 CKD 的病理机制尤为重要。肾疾病的动物模型对于病理机制的研究是不可或缺的,本文对一种应用广泛的、叶酸诱导的肾疾病动物模型进行综述。

北德克萨斯大学健康科学中心药学院的晏良军教授通过本综述,对不同方法诱导的肾疾病动物模型进行了比较,并详细介绍了叶酸诱导的肾疾病动物模型的制作过程及发病特点,回顾了叶酸诱导肾损伤的主要机制。本文的最后,讨论了叶酸诱导的肾疾病动物模型在评价多种治疗方法中的应用。

文中指出,低剂量的叶酸对肾是具有营养作用的,但高剂量的叶酸对肾毒性很大。叶酸(维生素 B9)参与单碳代谢,可被肾小球自由过滤,重吸收率接近 100%,因此在正常叶酸浓度叶酸的肾排泄量很少。由于肾中叶酸受体含量高,所以叶酸在肾中比其他组织中积累更多。低剂量的叶酸(小于 10 mg/d)是有益的,可对抗氧化应激;而高剂量的叶酸具有高毒性,广泛用于诱导动物肾疾病,如大鼠、小鼠肾疾病模型的建立。

同时,文章总结了叶酸损伤肾的主要机制,包括氧化应激、铁死亡、线粒体功能障碍、成纤维细胞生长因子 23(FGF23)水平升高,并列举出通过叶酸诱导下的肾损伤模型对不同药物进行药物评价。

综上,叶酸诱导的肾疾病动物模型易于构建和重复,因此应用广泛,在肾疾病研究领域发挥了重要作用。

该研究成果发表于《动物模型与实验医学(英文)》期刊(*Animal Models and Experimental Medicine*, 2021, 4(4): 329-342; <https://doi.org/10.1002/ame2.12194>)。