



# 苏木酮 A 快速逆转慢性应激所致小鼠抑郁样行为的产生

王灿明<sup>1</sup> 李植灿<sup>2</sup> 姚庆阳<sup>2\*</sup>

1 福建医科大学附属泉州第一医院药剂科 福建泉州 362000 2 福建医科大学附属泉州第一医院神经内科 福建泉州 362000

**摘要：**目的 对一种提取自苏木心材的物质即苏木酮 A 潜在的抗抑郁样作用进行研究。方法 以小鼠为受试对象，利用强迫游泳、悬尾及新颖抑制性摄食等实验方法及慢性轻度应激和慢性社会挫败应激抑郁模型对苏木酮 A 潜在的抗抑郁样作用进行研究。随后，在利用色氨酸羟化酶抑制剂耗竭小鼠体内 5-HT 的基础上，对 5-HT 系统在苏木酮 A 发挥抗抑郁样作用过程中所扮演的角色进行研究。结果 苏木酮 A 急性系统给药可减少小鼠的强迫游泳及悬尾不动时间。此外，与经典抗抑郁药不同，苏木酮 A 连续系统给药 3 天可使小鼠在新颖抑制性摄食实验中的摄食延迟时间得到缩短，亦可使慢性应激抑郁模型小鼠所表现出的抑郁样行为得到逆转。最后，相关实验结果表明苏木酮 A 抗抑郁样作用的发挥并不是由 5-HT 系统所介导的。结论 苏木酮 A 具有较为快速的抗抑郁样作用。

**关键词：**苏木酮 A 苏木 5-HT 抑郁样行为 慢性应激抑郁模型

**中图分类号：**R749.4 **文献标识码：**A **文章编号：**1009-5187 (2018) 05-001-07

**基金项目：**福建省自然科学基金项目 (2018J05150)

## Sappanone A rapidly reverses chronic stress-induced depression-like behaviors in mice

WANG Can-ming<sup>1</sup>, LI Zhi-can<sup>2</sup>, YAO Qing-yang<sup>2\*</sup> 1. Department of Pharmacy, Affiliated Quanzhou First Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China 2. Department of Neurology, Affiliated Quanzhou First Hospital, Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China

**Abstract :** Objective To investigate the potential antidepressant-like effects of sappanone A (SA, a compound isolated from the heartwood of *Caesalpinia sappan*). Methods Forced swim test (FST), tail suspension test (TST) and novelty suppressed feeding test (NSFT) were used to determine the antidepressant-like action of SA in mice. This action of SA was further confirmed in mouse chronic mild stress and chronic social defeat stress models. On the other hand, by using a tryptophan hydroxylase inhibitor, the role of 5-HT system in mediating the antidepressant-like effects of SA in mice was studied. Results SA displayed acute antidepressant-like effects in mouse FST and TST. More importantly, unlike classical antidepressant, SA treatment for 3 days was sufficient to exert antidepressant-like effects in mouse NSFT and to reverse depression-related behaviors of mice subjected to chronic stress. Finally, 5-HT system was found to be devoid of contribution to SA's antidepressant-like effects in mice. Conclusion SA can induce faster-acting antidepressant-like response in mice.

**Key words :** Sappanone A (SA) *Caesalpinia sappan* 5-HT Depression-like behavior Chronic stress depression models

抑郁症是一种常见的对人们的健康构成严重威胁的精神疾病<sup>[1]</sup>，该患者的主要临床表现为情绪低落、思维迟缓、意志活动减退、认知功能损害和躯体活动减少等<sup>[2]</sup>。现有的抑郁症治疗药物仍存在诸如起效较慢、疗效有限等不足之处<sup>[1, 3]</sup>。有鉴于此，对具有快速起效性质或疗效优异的抗抑郁药进行开发是很有必要和有意义的。

丰富的中草药资源中有可能包含着既安全又有效的抗抑郁候选药物<sup>[4]</sup>，有不少的中草药及其有效成分也确实具有较大的被开发为抗抑郁药的潜力<sup>[5, 6]</sup>。在认识到从现有中草药资源中挖掘抗抑郁候选药物的做法具有一定可行性的基础上，我们在此尝试对一种从豆科药用植物苏木 (*Caesalpinia sappan*) 的干燥心材中提取得到的化合物，即苏木酮 A (sappanone A, SA) 潜在的调控动物抑郁样行为的作用进行了研究。苏木的干燥心材是一种传统的中药材，其具有活血祛瘀、消肿止痛等功效<sup>[7]</sup>。作为一种高异黄酮类化合物，苏木酮 A 业已被证明具有一定的抗炎 (包括抗中枢神经系统炎症)<sup>[8-10]</sup>、抗氧化<sup>[11]</sup>、细胞保护<sup>[11]</sup>、抗流感病毒<sup>[12]</sup>、减少骨吸收<sup>[13]</sup>及抑制黑色素瘤细胞合成黑色素<sup>[14]</sup>等作用。

目前为止，尚不清楚苏木酮 A 是否具有调控动物抑郁样行为的作用。我们在此推测苏木酮 A 可能具有抗抑郁样作用。对此，我们首先利用小鼠强迫游泳及悬尾实验方法对苏木酮 A 潜在的抗抑郁样作用进行了初步的研究，在此基础上，我们进一步利用小鼠新颖抑制性摄食实验 (novelty suppressed feeding test, NSFT) 方法对苏木酮 A 与经典抗抑郁药氯米帕明在抗抑郁样作用发挥速度方面的差异进行了

比较。紧接着，我们又利用小鼠慢性应激抑郁模型对苏木酮 A 的抗抑郁样作用做了更深入的研究 (在这部分研究中，我们对苏木酮 A 与经典抗抑郁药氯米帕明各自所具有的调节慢性应激抑郁模型小鼠抑郁样行为的作用亦进行了比较)。最后，我们对 5-HT 系统在苏木酮 A 发挥抗抑郁样作用过程中所扮演的角色亦进行了研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 (8-10 周龄，购自福建医科大学实验动物中心) 及雄性 CD1 小鼠 (6-8 月龄，购自北京维通利华实验动物技术有限公司) 为本研究所需实验动物。所有动物均在标准的实验环境 (环境温度：18-22℃；光照时间：7a.m. 至 7p.m.) 中进行饲养，动物可自由摄食和饮水。所有动物在接受相关的实验处理之前均至少有一周的适应期。所有的动物实验均获得福建医科大学动物伦理委员会的批准。

#### 1.2 药品

苏木酮 A 购自加拿大 Toronto Research Chemicals 公司。氯米帕明和 para-chlorophenylalanine (pCPA) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。苏木酮 A 经 DMSO 溶解并经生理盐水稀释后使用。氯米帕明经生理盐水溶解后使用。pCPA 经 1% Tween 溶液溶解后使用。所有药物均以腹腔注射给药方式 (intraperitoneally, i.p.) 进行给药，给药体积为 5 ml/kg body weight。

#### 1.3 强迫游泳实验

将受试 C57BL/6J 小鼠单独放入一个装有自来水的玻璃烧杯 (规格：2L) 中，迫使其进行游泳。其中，自来水水温：25±2℃，水位：12cm。利用视频监控软件对受试小鼠在为期 6min 的强迫游泳过程中的后 4min 这一时间段内的强迫游泳不动时间进行统计。动物出现四肢不动、失去挣扎及逃脱欲望等现象时即视为不动。

#### 1.4 悬尾实验

作者简介：王灿明 (1983-)，男，药师，博士，研究方向：动物抑郁样行为的调控研究。

\* 通讯作者：姚庆阳，副主任医师，研究方向：神经精神疾病的基础与临床研究。



按照相关文献所述方法来开展悬尾实验<sup>[15]</sup>。悬尾实验的开展方法如下所示：捏住受试 C57BL/6J 小鼠的尾巴，将受试小鼠提起使其悬空，利用胶带将其尾巴固定于一根距离地面有一定距离的横杆上并保证被悬吊的小鼠周围 15cm 内无其他物体存在。在此基础上，即可开始利用视频监控软件对受试小鼠在为期 6min 的悬尾实验过程中的不动时间进行统计。在对动物的悬尾不动时间进行判读时，动物仅前肢在摆动时被视为不动，惯性所致身体振动亦被视为不动。

#### 1.5 旷场实验

旷场实验在灰暗的灯光条件下进行。在实验开始时将受试 C57BL/6J 小鼠单独放入一个规格为 42×42×34cm 的白色塑料敞箱内使其在敞箱内自由活动。通过视频监控软件对受试小鼠在为期 6min 的测试时间内的自发活动及滞留于敞箱中央区域（21×21cm）的时间进行监控与统计。

#### 1.6 新颖抑制性摄食实验（novelty suppressed feeding test, NSFT）

NSFT 旨在对动物的焦虑 / 抑郁样行为进行测定。该实验在一个规格为 42×42×34cm 且底部铺有 2cm 厚垫料的白色塑料敞箱内进行。在实验开始之前，将一小块饲料置于一白色纸板上，然后将纸板连同饲料置于敞箱中央位置。在此基础上，将已接受过禁食处理（禁食持续时间：24 h）的受试 C57BL/6J 小鼠单独放入敞箱一角，紧接着，开始利用视频监控软件对受试小鼠在为期 5 min 的 NSFT 测试时间内的摄食延迟时间（latency to feed）进行监控与统计。摄食延迟时间指动物从被放入敞箱之时到其开始啃咬饲料之时的时间间隔。在 NSFT 测试结束之后，立即将受试小鼠重新放回各自的饲养笼内，并对各受试小鼠在为期 5 min 的摄食量测试实验开展过程中的摄食量进行测定。

#### 1.7 小鼠慢性轻度应激（chronic mild stress, CMS）抑郁模型的构建

按照相关文献所述方法来构建小鼠 CMS 抑郁模型<sup>[16]</sup>。小鼠 CMS 抑郁模型的具体构建方法如下所示：首先，对拟接受 CMS 处理的 C57BL/6J 小鼠进行孤养。随后，使 C57BL/6J 小鼠连续 8 周在每天的一段时间内被暴露于 1 种或多种的轻度应激当中。这些应激的类型包括：打湿垫料应激、频繁更换垫料应激、在未铺设垫料的饲养笼内进行饲养的应激、在未铺设垫料且底部盛有水的饲养笼内进行饲养的应激、变更昼夜节律应激、倾斜饲养笼应激（饲养笼倾斜角度 45°）、束缚应激（每次应激持续 30min）及被 CD1 小鼠进行攻击的应激，等等。C57BL/6J 小鼠每天所应接受的应激的类型是随机分配的。作为对照的 C57BL/6J 小鼠不接受 CMS 处理。将作为对照的 C57BL/6J 小鼠以 4 只一笼的方式饲养于另一个独立的房间内。

#### 1.8 糖水偏爱实验

糖水偏爱实验旨在对动物的快感缺失程度进行测定。该实验的开展方法如下所示：首先，对业已接受过慢性应激处理的受试 C57BL/6J 小鼠进行单笼饲养，随后，使受试小鼠获得这样一种饮水模式，即受试小鼠可以选择从两个充满液体的、规格为 50ml 的塑料瓶子中的任何一个瓶子进行自由饮水。对于这两个瓶子而言，其中一个瓶子充以自来水，另一个瓶子则充以 1% 的蔗糖溶液。这两个瓶子的位置每隔 12h 就被对调一次以防止位置偏好现象的产生并使动物对糖水产生充分的适应。在连续 3 次的瓶子对调操作结束 12h 之后，开始对各受试小鼠在为期 24h 的糖水偏爱测试实验开展过程中的自来水摄入量 and 糖水摄入量分别进行计算。用糖水摄入量与液体总摄入量的比值来对各受试小鼠所表现出的糖水偏爱水平进行反映。

#### 1.9 小鼠慢性社会挫败应激（chronic social defeat stress, CSDS）抑郁模型的构建

按照相关文献所述方法来构建小鼠 CSDS 抑郁模型<sup>[17]</sup>。小鼠 CSDS 抑郁模型的构建周期为 10 天，接受 CSDS 处理的 C57BL/6J 小鼠在每天的一小段时间内均接受来自具有攻击性的 CD1 小鼠的攻击。在攻击结束 24h 之后继续以一只新的 CD1 小鼠对该 C57BL/6J 小鼠进行攻击。余此类推，保证同一只 C57BL/6J 小鼠受到 10 次来自不同 CD1 小鼠的攻击（为期 10 天，每天受到一次攻击）。

小鼠 CSDS 抑郁模型的具体构建方法如下所示：1）在正式实验开

始前，将 C57BL/6J 小鼠随机分为对照鼠和接受 CSDS 处理鼠。2）将拟接受 CSDS 处理的 C57BL/6J 小鼠放入只装有 1 只 CD1 小鼠的笼子里并遭受来自 CD1 小鼠的攻击，待 C57BL/6J 小鼠因受到持续攻击而表现出明显的僵直不动、逃避接触或试图逃逸等行为并且毛发出现杂乱现象时（一般而言，在攻击开始之后 5min 之内 C57BL/6J 小鼠即会出现上述所谓的挫败现象）即用一块透明塑料隔板将 C57BL/6J 小鼠与 CD1 小鼠分隔开来。上述隔板上开有很多小孔，使 C57BL/6J 小鼠尽管已经与对其进行过攻击的 CD1 小鼠分隔开来却仍能看到对面的 CD1 小鼠的一举一动，闻到其气味，听到其所发出的声响。3）在隔离时间持续 24h 之后，将 C57BL/6J 小鼠取出，然后将其继续放入下一个装有陌生 CD1 小鼠的笼子里并开始接受来自新的 CD1 小鼠的攻击，同样地，待 C57BL/6J 小鼠再次出现上述挫败现象时即利用隔板终止 CD1 小鼠对 C57BL/6J 小鼠的攻击。在分隔时间持续 24h 之后，继续对 C57BL/6J 小鼠进行新一轮新的攻击。4）余此类推，对 C57BL/6J 小鼠进行总共 10 次的来自 CD1 小鼠的攻击。在最后一次攻击结束 24h 之后对 C57BL/6J 小鼠进行孤养，并立即通过糖水偏爱实验及社会接触行为学实验等实验方法对其所表现出的抑郁样行为进行检测。5）作为对照的 C57BL/6J 小鼠不接受 CSDS 处理。以 2 只一笼的方式对作为对照的 C57BL/6J 小鼠进行饲养（仍用隔板对 2 只动物进行隔离），每天更换相互接触对象。

#### 1.10 社会接触行为学实验

社会接触行为学实验旨在检测动物对陌生目标的靠近、探索和躲避行为。该实验是在一个规格为 42×42×34cm 的白色塑料敞箱里进行的。动物在其中的活动情况均通过视频监控软件来进行监控。社会接触行为学实验的开展方法如下所示：首先，在敞箱的一侧将规格为 25×14cm 的一块区域划定为社会接触区域。在社会接触区域内又用透明塑料隔板隔出一小块隔间（面积大小：10×6cm<sup>2</sup>，用于放置 CD1 小鼠）。上述塑料隔板开有很多小孔，使得即将接受测试的 C57BL/6J 小鼠能对处于隔间内的陌生 CD1 小鼠进行闻嗅。接下来，开始开展第一部分测试：在隔间内不放入 CD1 小鼠的情况下（target absent 阶段），将受试 C57BL/6J 小鼠置于敞箱的中央区域并使其在敞箱内自由活动 2.5 min，与此同时，对受试小鼠在这 2.5 min 的测试期内进入社会接触区域的时间进行统计。在第一部分测试结束之后对敞箱进行清洁。待清洁操作完成之后立即开始开展第二部分测试：在隔间内放入从未与受试 C57BL/6J 小鼠进行过接触的陌生 CD1 小鼠（target present 阶段），然后将刚刚接受过第一部分测试的 C57BL/6J 小鼠再次放入敞箱内，并对其在为期 2.5min 的测试过程中进入社会接触区域的时间进行记录。最后，按如下公式对受试 C57BL/6J 小鼠的社会接触比率进行计算：

$$\text{社会接触比率} = \frac{\text{处于社会接触区域的时间}_{\text{target present 阶段}}}{\text{处于社会接触区域的时间}_{\text{target absent 阶段}}}$$

根据受试动物所具有的社会接触比率的大小，可以对各受试动物进行初步分组：社会接触比率小于 1 者可初步被视为应激易感鼠，而社会接触比率大于或等于 1 者则可初步被视为应激抵抗鼠。

#### 1.11 数据的统计分析

利用 SPSS 软件对实验数据进行统计分析。所有实验数据均以均值 ± 标准误（means ± SEM）进行表示。应用单因素方差分析（one-way ANOVA）、双因素方差分析（two-way ANOVA）或重复测量方差分析（repeated-measures ANOVA）方法，并借助 post hoc 最小显著差异（least significant difference, LSD）t 检验方法对实验数据进行统计分析。p<0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 苏木酮 A 急性给药处理减少小鼠在强迫游泳及悬尾实验中的不动时间

我们首先利用强迫游泳及悬尾实验（这两种实验手段被广泛用来对潜在的抗抑郁药物进行初步筛选）对苏木酮 A 潜在的抗抑郁样作用进行了研究。在小鼠强迫游泳实验中，我们以腹腔注射给药方式对各组动物分别施予空白溶剂、10、20 及 40mg/kg 的苏木酮 A，并于给



药处理结束 30 min 之后对各组动物进行强迫游泳测试。强迫游泳实验结果表明 10、20 及 40mg/kg 这 3 个剂量的苏木酮 A 均可使小鼠的强迫游泳不动时间得到显著减少 (one-way ANOVA,  $F_{3,40}=6.079$ ,  $p=0.002$ ; Fig. 1A)。另一方面, 在小鼠悬尾实验中, 我们发现苏木酮 A 在急性给药处理情况下可以剂量依赖型的方式来减少小鼠的悬尾不动时间 (one-way ANOVA,  $F_{3,44}=4.477$ ,  $p=0.008$ ; Fig. 1B)。以上来自于小鼠强迫游泳及悬尾实验的实验结果表明苏木酮 A 在急性给药处理情况下即具有抗抑郁样作用。

在上述的小鼠强迫游泳及悬尾实验中, 我们是以不动时间来作为动物抑郁样行为的一个评价指标的。在此, 为排除这样一种可能性即“苏木酮 A 通过影响小鼠的自发活动能力来使小鼠在强迫游泳及悬

尾实验中的不动时间发生改变”, 我们利用旷场实验方法研究了苏木酮 A 急性给药处理对小鼠自发活动能力及基础焦虑水平的影响。如 Fig. 1C-D 所示, 旷场实验结果表明苏木酮 A 急性给药处理在不影响小鼠的自发活动能力的情况下可使其基础焦虑水平得到一定程度的下降 (locomotion: one-way ANOVA,  $F_{3,28}=1.223$ ,  $p=0.32$ ; basal anxiety levels: one-way ANOVA,  $F_{3,28}=4.085$ ,  $p=0.016$ )。据此, 可以认为苏木酮 A 所致小鼠强迫游泳及悬尾不动时间的改变真实地反映了苏木酮 A 对小鼠抑郁样行为的影响。

考虑到 20mg/kg 这一剂量的苏木酮 A 在上述的小鼠强迫游泳及悬尾实验中均足以显示出明显的抗抑郁样作用, 我们在后续所有使用到苏木酮 A 的研究中均以 20mg/kg 这一剂量作为苏木酮 A 的给药剂量。

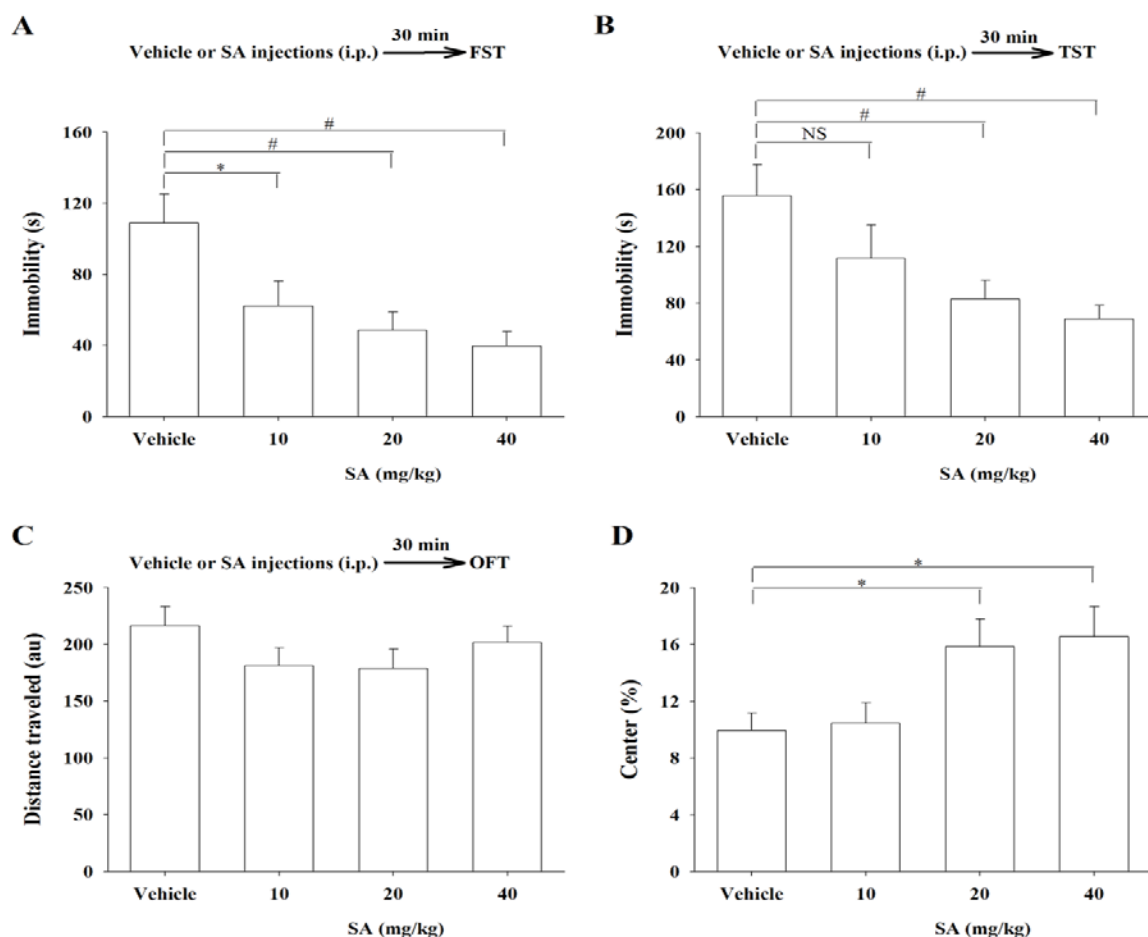


Fig. 1 Acute sapanone A (SA) treatment produces antidepressant-like effects in the mouse forced swim test (FST) and tail suspension test (TST). (A) 10, 20 or 40 mg/kg SA injected intraperitoneally (i.p.) 30 min prior to FST reduced immobile time of mice in FST.  $n=11$  mice/group. \* $p<0.05$ . # $p<0.01$ . (B) Acute SA treatment dose-dependently reduced immobile time of mice in TST. An injection of SA (20 or 40 mg/kg, i.p.) led to decreased immobility of mice in TST at 30 min post-injection.  $n=12$  mice/group. NS, not significant. # $p<0.01$ . (C-D) In open field test, acute administration of SA (10, 20 or 40 mg/kg, i.p.) had no effects on the locomotion (C) but could diminish the anxiety behaviors of mice in a dose-dependent manner (D).  $n=8$  mice/group. \* $p<0.05$ . All data are expressed as means  $\pm$  SEM.

2.2 苏木酮 A 连续给药 3 天即可使小鼠在 NSFT 中的摄食延迟时间得到显著减少

我们通过小鼠强迫游泳及悬尾实验初步发现苏木酮 A 可能具有快速的抗抑郁样作用。在此基础上, 我们进一步利用 NSFT 实验方法对苏木酮 A 的这一作用进行验证。在相关的 NSFT 实验中, 我们评估了 3 种不同的苏木酮 A 给药方案 (在不同的给药方案中, 苏木酮 A 的给药次数分别为 1 次、2 次和 3 次, 而每天的给药次数均为 1 次。在最后一次给药处理结束 24 h 之后, 开始对受试动物进行 NSFT 测试) 对小鼠摄食延迟时间的影响, 并对苏木酮 A 与经典抗抑郁药氯米帕明各自所具有的调节小鼠摄食延迟时间的作用进行了比较。

如 Fig. 2B-C 所示, 虽然苏木酮 A 连续给药 1 天或 2 天 (20 mg/

kg per day, i.p.) 并无减少小鼠摄食延迟时间的作用, 但苏木酮 A 连续给药 3 天可在不影响小鼠食欲的情况下使小鼠的摄食延迟时间得到缩短 (latency to feed: one-way ANOVA for 1 day of treatment,  $F_{2,21}=0.178$ ,  $p=0.838$ ; one-way ANOVA for 2 days of treatment,  $F_{2,21}=1.758$ ,  $p=0.197$ ; one-way ANOVA for 3 days of treatment,  $F_{2,21}=4.708$ ,  $p=0.02$ ; Fig. 2B; home cage feeding: one-way ANOVA,  $F_{2,21}=0.353$ ,  $p=0.707$ ; Fig. 2C)。值得注意的是, 与苏木酮 A 相比, 氯米帕明连续给药 3 天 (10 mg/kg per day, i.p.) 并不会影响小鼠的摄食延迟时间和食欲 (Fig. 2B-C)。以上实验结果表明苏木酮 A 确实具有较为快速的抗抑郁样作用。



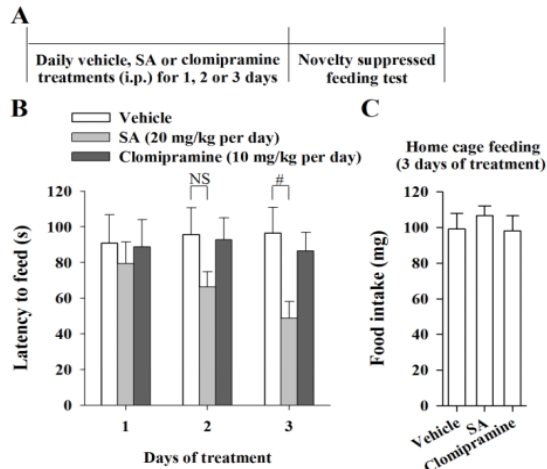
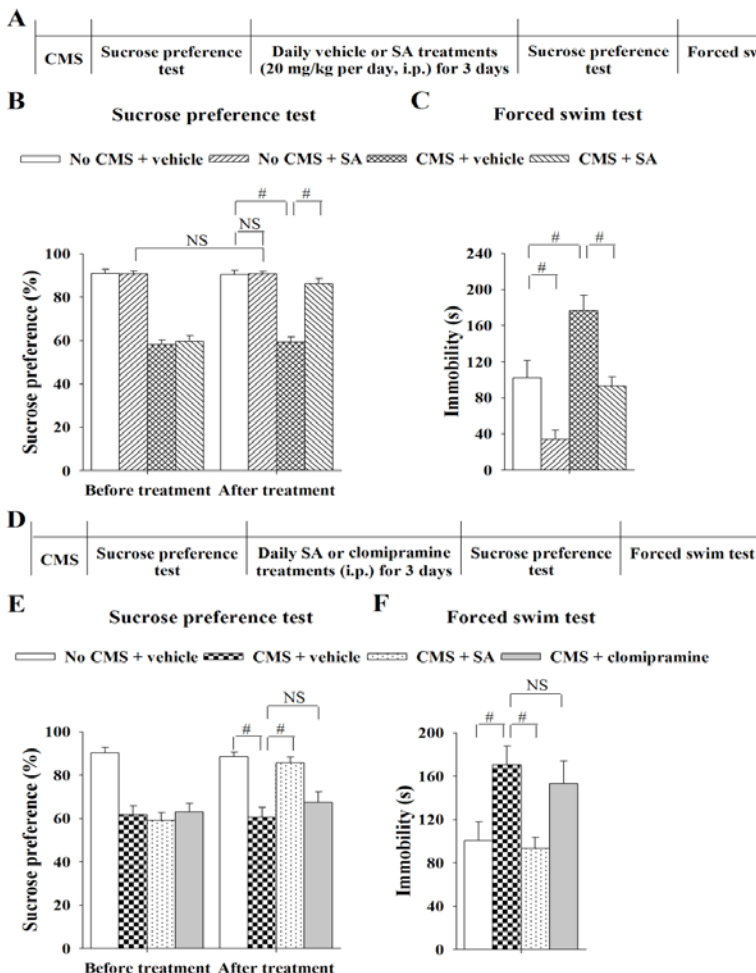


Fig. 2 SA treatment for 3 days is sufficient to exhibit antidepressant-like effects in the novelty suppressed feeding test (NSFT). (A) Designs of the experiment. Specifically, mice were administered vehicle, SA (20mg/kg per day, i.p.) or clomipramine (a classical antidepressant, 10mg/kg per day, i.p.) for 1, 2 or 3 days. 24h after the last drug treatment, they were submitted to the NSFT. (B) The effects of different SA dosing regimens on the latency to feed in mice in the NSFT. 3 days of SA treatment was capable to decrease the latency to feed in mice, whereas 1 or 2 days of SA treatment did not. It was noteworthy that either 1, 2 or 3 days of clomipramine treatment failed to change the latency to feed in mice.  $n=8$ mice/group. NS, not significant.  $^{\#}p<0.01$ . (C) SA treatment



for 3 days had no effect on the appetite of mice which had undergone NSFT.  $n=8$ mice/group. All data are means  $\pm$  SEM.

2.3 苏木酮 A 连续给药 3 天即具有逆转慢性应激所致小鼠抑郁样行为的产生之作用

尽管上述的以正常小鼠为受试对象的强迫游泳实验、悬尾实验和 NSFT 实验业已表明苏木酮 A 具有较为快速的抗抑郁样作用, 但仍不清楚苏木酮 A 的这一作用在抑郁模型小鼠身上是否依然存在。对此, 我们借助于 CMS 抑郁模型和 CSDS 抑郁模型这两种得到广泛认可的慢性应激抑郁模型<sup>[17, 18]</sup>, 研究了苏木酮 A 对抑郁模型小鼠所表现出的抑郁样行为的影响。

在以 CMS 抑郁模型小鼠为受试对象的相关实验中, 我们发现苏木酮 A 连续给药 3 天 (20 mg/kg per day, i.p.) 对 CMS 所致小鼠的抑郁样行为具有逆转作用, 这种作用具体表现在: 苏木酮 A 可使 CMS 抑郁模型小鼠所表现出的糖水偏爱缺失现象得到有效改善 (repeated-measures ANOVA, stress $\times$ treatment $\times$ test time interaction  $F_{1, 28}=27.642$ ,  $p<0.001$ ; main effect of treatment  $F_{1, 28}=18.078$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 3B), 并可使其所表现出的强迫游泳不动时间增加现象得到逆转 (two-way ANOVA, stress $\times$ treatment interaction  $F_{1, 28}=0.264$ ,  $p=0.612$ ; main effect of treatment  $F_{1, 28}=27.311$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 3C)。在另一个仍以 CMS 抑郁模型小鼠为受试对象的实验中, 我们对苏木酮 A 与经典抗抑郁药氯米帕明各自所具有的调节抑郁模型小鼠抑郁样行为的作用进行了比较。相关实验结果表明: 为期 3 天的氯米帕明给药处理 (10mg/kg per day, i.p.) 并不能像为期 3 天的苏木酮 A 给药处理 (20mg/kg per day, i.p.) 一样, 具有逆转 CMS 所致小鼠抑郁样行为的产生之作用 (sucrose preference test: repeated-measures ANOVA, treatment $\times$ test time interaction  $F_{3, 24}=26.056$ ,  $p<0.001$ ; main effect of treatment  $F_{3, 24}=13.691$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 3E; forced swim test: one-way ANOVA,  $F_{3, 24}=5.034$ ,  $p=0.008$ ; Fig. 3F)。

Fig. 3 SA treatment for 3 days rescues chronic mild stress (CMS)-triggered depression-like behaviors in mice. (A) Designs of the experiments used to evaluate the effects of SA on depressive symptoms of CMS-exposed mice. Specifically, mice which had been subjected to CMS and subsequent sucrose preference test were administered vehicle or SA (20mg/kg per day, i.p.) for 3 days. The impacts of SA on CMS-caused depression-like behaviors were assessed by sucrose preference test and FST. (B-C) SA corrected CMS-induced depression-related phenotype of mice after 3 days of treatment, as evidenced by the improved sucrose preference (B) and the reduced FST immobility (C) in stressed mice receiving SA for 3 days. Notably, while having no effects upon the sucrose preference of unstressed mice (B), SA treatment for 3 days markedly decreased the FST immobile time in these mice (C).  $n=8$ mice/group. NS, not significant.  $^{\#}p<0.01$ . (D) Schematic of experimental protocols adopted to compare the effects of SA with those of clomipramine. (E-F) In comparison with clomipramine, SA displayed faster-onset antidepressant-like effects. 3days of treatment with SA (20mg/kg per day, i.p.) but not clomipramine (10mg/kg per day, i.p.) had the effects to mitigate sucrose preference (E) and shorten the FST immobile time (F) in stressed mice.  $n=7$ mice/group. NS, not significant.  $^{\#}p<0.01$ . All data are means  $\pm$  SEM.

另一方面, 在以 CSDS 抑郁模型小鼠为受试对象的



相关实验中,我们发现苏木酮A连续给药3天(20 mg/kg per day, i.p.)可使CSDS抑郁模型小鼠所表现出的糖水偏爱缺失现象及社交厌恶行为得到有效逆转(social interaction test: repeated-measures ANOVA, treatment $\times$ target $\times$ test time interaction  $F_{4,80}=2.612$ ,  $p=0.041$ ; main effect of treatment  $F_{4,80}=3.752$ ,  $p=0.008$ ; Fig. 4B; sucrose preference test: repeated-measures ANOVA, treatment $\times$ test time interaction  $F_{4,40}=17.318$ ,  $p<0.001$ ; main effect of treatment  $F_{4,40}=36.505$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 4C)。

综上所述,苏木酮A对抑郁模型小鼠所表现出的抑郁样行为亦具有较为快速的逆转作用。

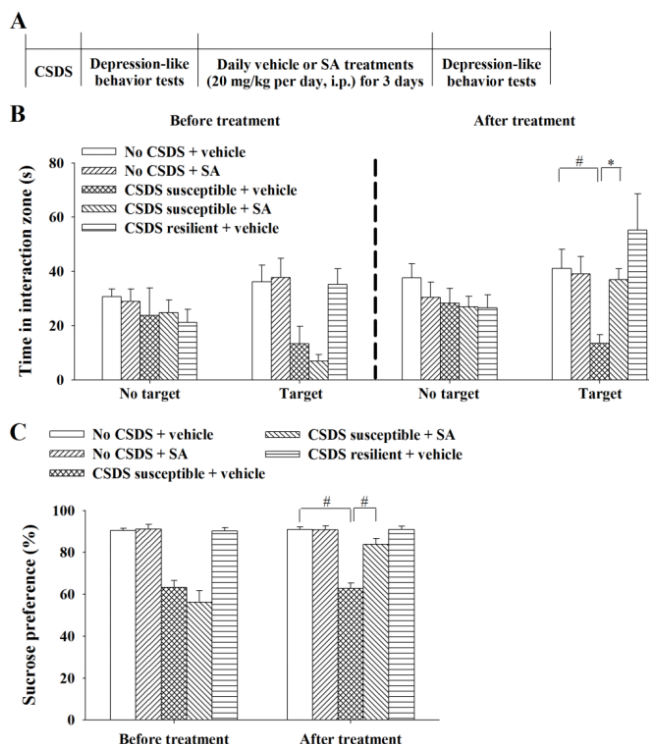


Fig. 4 SA treatment for 3 days reverses chronic social defeat stress (CSDS)-induced depression-like behaviors in mice. (A) Experimental timeline. Mice were submitted to CSDS and then received depression-like behaviors tests (i.e., sucrose preference test and social interaction test). Subsequently, they underwent 3 days of treatment with vehicle or SA (20 mg/kg per day, i.p.). The effects SA conferred on depression-like behaviors of CSDS-exposed mice were determined by depression-like behaviors tests. (B-C) Repeated SA administrations for 3 days normalized the depression-like behaviors in CSDS susceptible mice, as evidenced by increased social interaction behaviors (B) and sucrose preference levels (C) in depressed mice receiving SA.  $n=9$  mice/group. \* $p<0.05$ . # $p<0.01$ . All data are shown as means  $\pm$  SEM.

#### 2.4 苏木酮A抗抑郁样作用的发挥并不是由5-HT系统所介导的

在对苏木酮A所具有的快速抗抑郁样作用进行明确之后,我们提出了如下一个问题,即苏木酮A抗抑郁样作用的发挥是否是由5-HT系统所介导的?为了对此问题进行解答,我们以CSDS抑郁模型小鼠为受试对象,对受试小鼠进行为期3天的苏木酮A给药处理(20 mg/kg per day, i.p.),并在每次的苏木酮A给药处理开始之前利用色氨酸羟化酶抑制剂pCPA(300 mg/kg per day, i.p.)耗竭受试小鼠体内的5-HT。在最后一天的苏木酮A给药处理结束24 h之后,对受试小鼠的抑郁样行为进行测试。相关实验结果表明:苏木酮A对CSDS所致小鼠抑郁样行为的逆转作用并不会被pCPA所取消(sucrose preference test: repeated-measures ANOVA, treatment $\times$ test time interaction  $F_{5,36}=11.717$ ,  $p<0.001$ ; main effect of treatment  $F_{5,36}=17.424$ ,  $p<0.001$ ; Fig. 5B; social interaction test: repeated-measures ANOVA, treatment $\times$ test time $\times$ target interaction  $F_{5,72}=3.398$ ,  $p=0.008$ ; main effect of treatment  $F_{5,72}=1.602$ ,  $p=0.171$ ; Fig. 5C)。据此可知,苏木酮A并非是通过调控5-HT系统的功能来发挥抗抑郁样作用的。

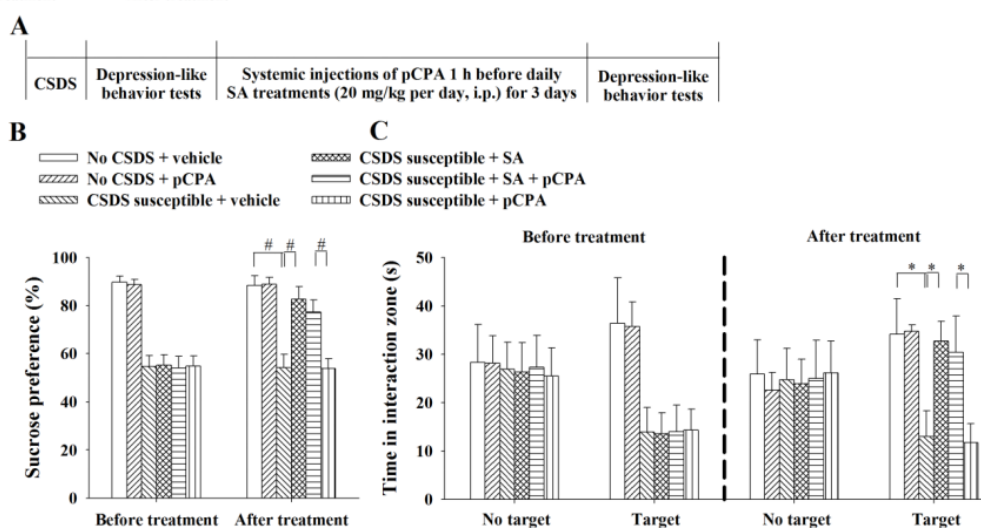


Fig. 5 Serotonin system is not involved in the antidepressant-like actions of SA in mice. (A) Timeline of experiments. After being subjected to CSDS, mice received depression-like behaviors tests. Subsequently, they were treated with para-chlorophenylalanine methyl ester (pCPA, 300 mg/kg per day, i.p.) 1 h before daily SA administration (20 mg/kg per day, i.p.) for 3 days. 24 h after the last drug treatment, the depression-like behaviors tests were again employed to determine whether pCPA could influence the antidepressant-like activity of SA. (B-C) pCPA failed to blunt the effects of SA on CSDS-induced anhedonia (B) and social interaction deficits (C) in mice.  $n=7$  mice/group. \* $p<0.05$ . # $p<0.01$ . Error bars represent SEM.

### 3 讨论

开发快速起效抗抑郁药具有重要意义。在本研究中,我们先后以正常小鼠和慢性应激抑郁模型小鼠作为研究对象,对苏木酮A潜在的

抗抑郁样作用进行了研究。本研究的结果表明:与经典抗抑郁药氯米帕明相比,苏木酮A具有较为快速的抗抑郁样作用,另一方面,苏木酮A抗抑郁样作用的发挥并不是由5-HT系统所介导的。



在本研究中,我们发现苏木酮 A 对慢性应激抑郁模型小鼠所表现出的糖水偏爱缺失现象具有快速而显著的改善作用。考虑到抑郁模型动物所表现出的糖水偏爱缺失现象正好与抑郁症患者所具有的快乐缺失症状是相对应的<sup>[19]</sup>,我们有理由推测苏木酮 A 因其对抑郁模型动物所表现出的糖水偏爱缺失现象的改善作用而可能具有使抑郁症患者的快乐缺失症状得到减轻的作用。

大脑内的 5-HT 系统在动物情感行为的调节过程中发挥重要作用,现有大多数的抗抑郁药,甚至于某些具有快速抗抑郁作用的药物(如氯胺酮等)都是通过调控脑内 5-HT 系统的功能来发挥抗抑郁作用的<sup>[20, 21]</sup>。基于这些知识,我们起初也推测 5-HT 系统有可能在苏木酮 A 发挥抗抑郁样作用的过程中扮演重要角色。不过,我们所开展的相关研究的结果却提示苏木酮 A 并非是通过 5-HT 系统依赖的机制来发挥抗抑郁样作用的。那么,是其他何种机制介导了苏木酮 A 抗抑郁样作用的发挥的?我们并未通过开展相关研究对这一问题进行解答。然而,考虑到炎症在抑郁症的发生发展过程中可能扮演重要角色<sup>[22-24]</sup>,外周及或中枢系统炎症的存在可能可作为抑郁症的一个临床指征<sup>[25]</sup>,再考虑到苏木酮 A 又已被证明具有显著的抗外周及中枢系统炎症的作用,我们推测苏木酮 A 有可能是通过抑制体内炎症反应的发生来发挥抗抑郁样作用的。对此,有必要开展相应的研究来对这种推测的合理性进行验证。

当前,在快速起效抗抑郁药研发领域,氯胺酮这种具有快速抗抑郁作用的药物受到人们的极大关注。相关的药物临床前及临床试验研究结果已表明氯胺酮急性给药处理可在很短的时间之内(如半小时之内)就产生出显著而持久的抗抑郁作用<sup>[26-28]</sup>。显然,与氯胺酮相比,本研究的研究对象即苏木酮 A 发挥抗抑郁样作用的速度(起效时间:3 天)是要比氯胺酮逊色不少的。不过,如果是与经典抗抑郁药相比的话,则苏木酮 A 在抗抑郁样作用发挥速度方面就会显现出不小的优势。

最后,值得一提的是,根据本研究的相关研究结果,可以推断苏木酮 A 可能具有被开发为快速起效抗抑郁药的潜力。

#### 参考文献

- [1]Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines[J]. *Nat Rev Neurosci*. 2006,7(2):137-51.
- [2]Shin S, Kwon O, Kang JI, Kwon S, Oh S, Choi J, Kim CH, Kim DG. mGluR5 in the nucleus accumbens is critical for promoting resilience to chronic stress[J]. *Nat Neurosci*. 2015,18(7):1017-24.
- [3]Martinowich K, Jimenez DV, Zarate CA, Jr., Manji HK. Rapid antidepressant effects: moving right along[J]. *Mol Psychiatry*. 2013,18(8):856-63.
- [4]Yeung WF, Chung KF, Ng KY, Yu YM, Ziea ET, Ng BF. A systematic review on the efficacy, safety and types of Chinese herbal medicine for depression[J]. *J Psychiatr Res*. 2014,57:165-75.
- [5]Dwyer AV, Whitten DL, Hawrelak JA. Herbal medicines, other than St. John's Wort, in the treatment of depression: a systematic review[J]. *Altern Med Rev*. 2011,16(1):40-9.
- [6]Farahani MS, Bahramsoltani R, Farzaei MH, Abdollahi M, Rahimi R. Plant-derived natural medicines for the management of depression: an overview of mechanisms of action[J]. *Rev Neurosci*. 2015,26(3):305-21.
- [7]Zhao H, Bai H, Wang Y, Li W, Koike K. A new homoisoflavan from *Caesalpinia sappan*[J]. *J Nat Med*. 2008,62(3):325-7.
- [8]Liao LX, Song XM, Wang LC, Lv HN, Chen JF, Liu D, Fu G, Zhao MB, Jiang Y, Zeng KW, Tu PF. Highly selective inhibition of IMPDH2 provides the basis of antineuroinflammation therapy[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017,114(29):E5986-E94.
- [9]Lee S, Choi SY, Choo YY, Kim O, Tran PT, Dao CT, Min BS, Lee JH. Sappanone A exhibits anti-inflammatory effects via modulation of Nrf2 and NF- $\kappa$ B[J]. *Int Immunopharmacol*. 2015,28(1):328-36.
- [10]Liu X, Yu D, Wang T. Sappanone A Attenuates Allergic Airway Inflammation in Ovalbumin-Induced Asthma[J]. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016,170(3):180-6.
- [11]Kang L, Zhao H, Chen C, Zhang X, Xu M, Duan H. Sappanone A protects mice against cisplatin-induced kidney injury[J]. *Int Immunopharmacol*. 2016,38:246-51.
- [12]Jeong HJ, Kim YM, Kim JH, Kim JY, Park JY, Park SJ, Ryu YB, Lee WS. Homoisoflavonoids from *Caesalpinia sappan* displaying viral neuraminidases inhibition[J]. *Biol Pharm Bull*. 2012,35(5):786-90.
- [13]Choo YY, Tran PT, Min BS, Kim O, Nguyen HD, Kwon SH, Lee JH. Sappanone A inhibits RANKL-induced osteoclastogenesis in BMMs and prevents inflammation-mediated bone loss[J]. *Int Immunopharmacol*. 2017,52:230-7.
- [14]Chang TS, Chao SY, Ding HY. Melanogenesis inhibition by homoisoflavavone sappanone A from *Caesalpinia sappan*[J]. *Int J Mol Sci*. 2012,13(8):10359-67.
- [15]Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice[J]. *Psychopharmacology (Berl)*. 1985,85(3):367-70.
- [16]Barthas F, Humo M, Gilsbach R, Waltisperger E, Karatas M, Leman S, Hein L, Belzung C, Bouteiller AL, Barrot M, Yalcin I. Cingulate Overexpression of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase-1 as a Key Factor for Depression[J]. *Biol Psychiatry*. 2017,82(5):370-9.
- [17]Golden SA, Covington HE, 3rd, Berton O, Russo SJ. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice[J]. *Nat Protoc*. 2011,6(8):1183-91.
- [18]Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation[J]. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997,134(4):319-29.
- [19]Fischel J, Van Dyke AM, Kvarta MD, LeGates TA, Thompson SM. Rapid Antidepressant Action and Restoration of Excitatory Synaptic Strength After Chronic Stress by Negative Modulators of  $\alpha$ 5-Containing GABA Receptors[J]. *Neuropsychopharmacology*. 2015,40(11):2499-509.
- [20]Pham TH, Mendez-David I, Defaix C, Guiard BP, Tritschler L, David DJ, Gardier AM. Ketamine treatment involves medial prefrontal cortex serotonin to induce a rapid antidepressant-like activity in BALB/cJ mice[J]. *Neuropharmacology*. 2017,112(Pt A):198-209.
- [21]du Jardin KG, Muller HK, Elfving B, Dale E, Wegener G, Sanchez C. Potential involvement of serotonergic signaling in ketamine's antidepressant actions: A critical review[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016,71:27-38.
- [22]Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression[J]. *Biol Psychiatry*. 2009,65(9):732-41.
- [23]Hashimoto K. Inflammatory biomarkers as differential predictors of antidepressant response[J]. *Int J Mol Sci*. 2015,16(4):7796-801.
- [24]Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain[J]. *Nat Rev Neurosci*. 2008,9(1):46-56.
- [25]Ren Q, Ma M, Ishima T, Morisseau C, Yang J, Wagner KM, Zhang JC, Yang C, Yao W, Dong C, Han M, Hammock BD, Hashimoto K. Gene deficiency and pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase confers resilience to repeated social defeat stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016,113(13):E1944-52.

(下转第 8 页)





## 2.4 不良反应发生时间

表 3: ADR 发生时间

时间	例次 /n	构成比 /%
小于 30min	106	67.52
31-60min	5	3.18
大于 1d	46	29.30
合计	157	100.00

## 2.5 给药途径及溶媒

表 4: 给药途径

给药途径	例次 /n	构成比 /%
静脉滴注	148	94.27
静脉注射	9	5.73
合计	157	100.00

## 2.6 临床表现

表 5: 累及系统-器官及临床表现

累及系统-器官	临床表现 (例次 /n)	总例次 /n	构成比 /%
皮肤及附件损害	瘙痒 (4)、皮疹 (70)、 皮炎 (2)、荨麻疹 (3)	79	50.32
消化系统损害	恶心 (11)、呕吐 (11)、 腹泻 (6)	28	17.83
全身性损害	过敏反应 (5)、过敏性 休克 (1)、寒战 (4)	10	6.37
用药部位损害	注射部位疼痛 (6)	6	3.82
中枢及外周神经 系统损害	头晕 (1)、发热 (3)	4	2.55
其他	白细胞减少 (1)、潮红 (17)、 乏力 (1)、腹痛 (1)、肝 功能异常 (1)、疼痛 (3)、 关节疼痛 (5)、心动过 (1)、 血小板减少 (1)、	30	19.11
合计		157	100.00

## 2.7 联合用药

表 6: 联合用药情况

联用品种数	例次 /n	构成比 /%
1	77	88.51
2	9	10.34
≥ 3	1	1.15
合计	87	100.00

## 2.8 不良反应归转

157 例报告中, 有 154 例报告患者在出现不良反应后经停药或对症治疗后呈现好转或痊愈, 3 例不详。

## 3 讨论

## 3.1 性别与年龄

根据表 1 数据分析, 男女发生 ADR 比例为, 从性别上看, 男性多于女性; 从年龄上看, 主要集中发生在 14 岁以下儿童患者。儿童身体器官未发育成熟, 易受病毒性感染。注射用单磷酸阿糖腺苷对治疗疱疹性病毒感染有很好的效果。但该药说明书中却没有提及儿童使用剂量, 只有成人使用剂量。

## 3.2 原患疾病

从用药与所患疾病情况分析可以看出, 该药主要应用于治疗上呼吸道感染 (28.66%)、肺炎 (24.84%)、支气管炎 (14.65%)、

扁桃体炎 (13.38%) 等疾病。有文献报道<sup>[4-5]</sup>阿糖腺苷可引起皮疹、瘙痒。这与该药说明书的适应症并不吻合。说明书中 [适应症] 标示该药用于治疗疱疹病毒感染所致的口炎、皮炎、肺炎及巨细胞病毒感染, 并不适用于普通感冒和呼吸道等疾病的治疗。

## 3.3 药品说明书

药品说明书是指导临床医生正确合理选择用药的重要依据。国内企业说明书基本一致, 部分项目信息过于简单, 对于临床用药选择并不能提供足够的信息。虽然国家食品药品监督管理总局已发布关于修订该药说明书的公告, 完善 [不良反应] 内容; 增加 [儿童用药] 项, 但所查询的国内说明书并未出现相关信息。本组数据也显示在治疗儿童呼吸道感染和感冒等疾病病例中<sup>[6]</sup>, 大部分临床医生都会选择该药治疗, 但该药说明书适应症并不包含治疗以上疾病<sup>[7]</sup>。本组数据中有 139 例报告来源于 14 岁以下儿童, 占总体比例的 88.54%。由表 3 可知, 该药的不良反应发生时间最短为用药 5 分钟后, 最长可在 5d 后, 发生最多的是在用药后的 30 分钟内 (67.52%)。通过数据分析, 在用药过程中临床医护人员要密切观察该药的 ADR 速发和迟发情况<sup>[8]</sup>。通过表 4 数据分析, 该药的给药方式以静脉滴注为主, 占 94.27%。

## 3.4 联合用药

157 例报告中, 联合用药 87 例 (55.41%)。联合用药中联用一种药物的病例有 77 例, 占联合用药的 77.51%; 联合两者药物的病例有 9 例, 占联合用药的 10.34%; 联合 3 种以上药物的病例有 1 例, 占联合用药的 1.15%。其中以抗生素类药品为主, 共 78 例 (49.68%), 品种主要为注射用头孢甲肟、注射用头孢硫脒、注射用美洛西林等。

## 3.5 临床表现

从表 5 数据分析得知, 该药所致 ADR 可累及多个系统<sup>[9]</sup>, 其中皮肤及其附件损害最多 (50.32%), 其次是消化系统损害 (17.83%)、全身性损害 (6.37%) 等。主要表现为皮疹、恶心、呕吐、过敏反应、注射部位疼痛、潮红、寒战等。而该药的说明书中只提及了注射部位疼痛, 其他不良反应均为提及。提醒医生尤其是护士在使用该药时要注意密切观察患者情况, 一旦出现上述不良反应, 立即停药, 避免严重后果<sup>[10]</sup>。

## 参考文献

- [1] 张伟. 单磷酸阿糖腺苷治疗轮状病毒肠炎疗效观察[J]. 中国药物经济学, 2013, (6).
- [2] 冯文利. 单磷酸阿糖腺苷联合伐昔洛韦治疗老年人带状疱疹 51 例疗效观察[J]. 中国中西医结合皮肤性病杂志, 2009, 8(3):179.
- [3] 马爱玲, 张波. 注射用单磷酸阿糖腺苷致变反应性皮疹 2 例[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011, 25(10):1038-1039.
- [4] 冯焯, 李贵华. 中剂量国产阿糖腺苷治疗慢性乙型肝炎患者疗效观察[J]. 广东卫生防疫, 1991, 17(1):17-18.
- [5] 李小波. 单磷酸阿糖腺苷治疗小儿呼吸道腺病毒感染的疗效观察[J]. 世界最新医学信息文摘 (连续型电子期刊), 2014, (35).
- [6] 钟哲峰, 何剑, 周安民. 单磷酸阿糖腺苷联合利巴韦林治疗手足口病 40 例疗效观察[J]. 中南医学科学杂志, 2012, (2):188-189.
- [7] 胡勇, 谢云霞, 黄春艳, 等. 阿糖腺苷治疗手足口病 120 例疗效观察[J]. 中国现代药物应用, 2010, (21):102-103.
- [8] 欧银燕. 关于注射用单磷酸阿糖腺苷适应症的探讨[J]. 求医问药 (学术版), 2011, (12):166-166.
- [9] 兰琳. 阿糖腺苷在传染性单核细胞增多症中的临床应用[J]. 吉林医学, 2012, (8):1600-1601.
- [10] 廖华, 蓝映霞, 张寿斌, 等. 更昔洛韦治疗儿童传染性单核细胞增多症疗效分析[J]. 中国医疗前沿 (上半月), 2007, (17):59-60.

underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists[J]. Science. 2010;329(5994):959-64.

[28] Zarate CA, Jr., Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression[J]. Arch Gen Psychiatry. 2006;63(8):856-64.

(上接第 6 页)

[26] Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients[J]. Biol Psychiatry. 2000;47(4):351-4.

[27] Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, Li XY, Aghajanian G, Duman RS. mTOR-dependent synapse formation