

酚性糖苷化合物抗抑郁活性的研究

杨 敏^{1,2}¹ 云南农业大学香料研究所, 昆明 650201; ² 云南大学教育部自然资源药物化学重点实验室, 昆明 650091

摘要: 采用经典的抗抑郁动物模型—小鼠悬尾、强迫小鼠游泳、利血平拮抗、小鼠 5-HTP 增强实验对酚性糖苷化合物进行抗抑郁活性的筛选。结果表明酚性糖苷化合物表现出明显的抗抑郁活性, 有进一步开发的价值。

关键词: 酚性糖苷; 抗抑郁活性

中图分类号: R9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.S.015

Antidepressant Activity of Phenolic Monoglycoside

YANG Min^{1,2}¹ *Institute of Flavour and Fragrance, Yunnan Agriculture University, Yunnan Kunming 650201, China;*² *Key Laboratory of Medicinal Chemistry for Natural Resource, Yunnan University, Yunnan Kunming 650091, China*

Abstract: The screenings for anti-depression activities of phenolic monoglycosides were done with TST, FST, reserpine reversal and 5-hydroxytryptophan potentiation in mice. The screening results show that phenolic monoglycosides exhibit obvious anti-depression activities and this kind of compounds deserve further study.

Key words: phenolic monoglycoside; antidepressant activity

抑郁症是以抑郁为主要症状的一种常见病, 其发病机制十分复杂, 与多种受体和神经递质的紊乱有关, 治疗抑郁症的药物也主要与神经生化机制的调节有关, 而目前抗抑郁药只能缓解部分症状, 对神经及血管等多种系统和组织有不同程度的毒副作用。因此研究开发疗效好, 毒副作用少的抗抑郁新药成为近年来研究的热点^[1,2]。糖苷是糖或糖的衍生物与另一非糖物质通过糖的端基碳原子连接而成的一类化合物。糖苷化合物广泛存在于生物体内, 是普遍存在的天然产物, 其中很多由于具有特殊的生物活性而担负着重要的生物功能。天麻素、豆腐果苷、熊果苷等天然小分子酚性糖苷具有广泛的生理活性, 其糖部分为单糖, 而其苷元部分为酚性化合物。植物的叶、种子和树皮中存在有数目众多的糖苷, 中草药中许多主要有效成分均属糖苷化合物。由于糖苷类药物的作用位点是在细胞的表面, 而不进入细胞内部, 因此这类药物对于整个细胞, 进而对整个机体的干扰, 要比进入细胞质、细胞核内的药物小得多, 是毒副作用较小的药物。酚性糖苷化合物具有较好的生理活性, 有很多已经在疾病治疗上应

用或进入临床研究, 在医药领域应用广泛。本研究对酚性糖苷化合物的抗抑郁活性用经典动物抑郁模型进行研究, 为酚性糖苷化合物抗抑郁新药的进一步开发研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验药物

盐酸丙米嗪 (Imipromine hydrochloride, IMI), 5-羟色氨酸 (5-Hydroxy-L-tryptophan, 5-HTP), 盐酸帕吉林 (Pargyline hydrochloride, PAR), Sigma 公司产品; 利血平注射液 (Reserpine Injection, RES) 广东邦民制药厂有限公司产品; 盐酸氟西汀分散片 (Fluoxetine hydrochloride Tablets, Flu), 美国礼来制药公司产品; 受试化合物 **1**、**2** 和 **3** 由实验室提供。

1.2 动物

昆明种小鼠, 雄性, 体质量 18 ~ 22 g, 由昆明医学院实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(滇)2005-0008, 动物分笼饲养, 自由采食。

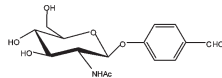
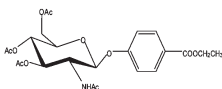
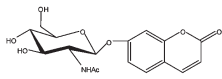
1.3 仪器

Sony DCR-IP5 数码摄像机 (日本索尼公司), Oregon Scientific WB388 三通道多功能计时器 (美国欧亚)。

用于活性筛选的化合物的结构。

表 1 用于活性筛选的化合物的结构

Table 1 The structures of the screened compounds

编号 Number	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight
1		341
2		495
3		365

1.4 方法

小鼠随机分成 5 组, 空白对照组 (蒸馏水), 阳性对照组 (IMI 5 mg/kg), 酚性糖苷三剂量组, 各组均按 0.2 mL/10 g 体重灌胃, 1 日 1 次, 连续 7 d, IMI 组前 6 d 灌胃蒸馏水, 实验前 30 min 腹腔注射给药。

1.4.1 开野实验

参照 Elliott 等^[3]的方法, 末次给药 60 min (IMI 组为末次给药 30 min) 后, 将动物放入 40 cm × 40 cm × 25 cm 底面 25 等分的不透明箱子, 适应 1 min 后, 记录动物 5 min 内由底面中心开始走动的穿越格数。

1.4.2 小鼠悬尾实验

参照 steru 等^[4]的方法, 末次给药 60 min (IMI 组为末次给药 30 min) 后, 用胶布将小鼠尾在距尾尖 2 cm 处粘在一根水平木棍上, 使动物成倒挂状态, 其头部离桌面约 5 cm, 悬挂两侧用木板隔开动物视线。观察 6 min, 记录后 5 min 内的累计不动时间。

1.4.3 强迫小鼠游泳实验

参考文献^[5], 小鼠末次给药 60 min (IMI 组为末次给药 30 min) 后, 将小鼠置于高 30 cm, 直径 18 cm, 水深 10 cm 的玻璃水缸中, 水温 (23 ± 2) °C, 观察小鼠 6 min, 记录后 4 min 内的累计不动时间。

1.4.4 利血平拮抗

参考 Askew^[6]的方法, 动物随机分组后不禁食, 各组按相应浓度分别灌胃给予受试药或蒸馏水, 每天 1 次, 连续 7 d, 最后一次给药前用 2202 型数字温度计探头插入动物肛门内 2 cm 处测肛温 3 次, 其均数作为基础体温 (T_0)。小鼠末次给药后 1 h 腹腔注

射 (ip.) 5 mg/kgBW 利血平, 此后每小时测定 1 次肛温, 共计 4 h (T_{1h} 、 T_{2h} 、 T_{3h} 和 T_{4h})。观察比较各时间点给药组与对照组肛温变化的差异。

1.4.5 小鼠 5-HTP 增强实验

参考 come 等^[7]的方法, 小鼠禁食 16 h 后随机分组, 各组分别灌胃相应浓度的受试药或蒸馏水 (IMI 为 ip 给药), 30 min 后腹腔注射帕吉林 (100 mg/kgBW), 90 min 后腹腔注射 5-HTP (10 mg/kgBW), 并立即放入敞口箱内, 10 min 后开始观察, 记录 10 min 内小鼠的甩头次数, 比较给药组和对照组甩头次数的差异, 给药体积均为 0.2 mL/10 gBW。

1.4.6 统计学方法

实验所得数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS13.0 统计软件包进行统计学处理, 统计采用 Dunnet 检验。

2 实验结果

2.1 糖苷化合物对小鼠自发活动、小鼠悬尾不动时间和强迫游泳不动时间的影响

与空白对照组相比, 阳性对照药 IMI 组小鼠自主活动明显减少, 糖苷化合物对小鼠自主活动无显著影响。糖苷化合物各剂量组与空白对照组相比, 能明显缩短小鼠悬尾不动时间和小鼠强迫游泳不动时间, 表明糖苷化合物具有一定的抗抑郁作用。

2.2 糖苷化合物对利血平引起体温下降的影响

腹腔注射给予 RES 后, 与空白对照组比较, 只有 IMI 在不同时间点能非常显著地拮抗 RES 诱导的体温下降, 糖苷化合物各剂量组对 RES 诱导的体温下降没有拮抗作用, 且它们之间无明显区别。

表2 糖苷化合物对小鼠自发活动、小鼠悬尾不动时间和强迫游泳不动时间的影响($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effect of the simple monoglycosides and IMI on open field test in mice, the total duration of immobility in the tail suspension test in mice and in the forced swimming test in mice($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	例数 <i>n</i>	剂量 Dose/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	格数 Number of lattices (OFT)	不动时间 Immobility time/s (TST)	不动时间 Immobility time/s (FST)
Control	10	-	172.8 ± 20.8	117.4 ± 54.2	125.8 ± 27.6
IMI	10	5	99.7 ± 47.2 *	38.3 ± 26.9 **	50.1 ± 34.9 **
1	10	30	119.3 ± 89.6	84.9 ± 26.6 *	83.9 ± 23.8
2	10	30	166.0 ± 85.9	65.1 ± 45.1 *	65.8 ± 50.1 **
3	10	30	176.9 ± 60.2	73.2 ± 27.7 **	39.8 ± 21.0 **

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.表3 糖苷化合物对利血平引起体温下降的影响($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of simple monoglycosides and IMI on the reserpine-induced hypothermia in mice($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	例数 <i>n</i>	剂量 Dose/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	t/°C				
			0 h	1 h	2 h	3 h	4 h
RES	10	5	36.3 ± 0.3	36.4 ± 0.4	35.0 ± 0.4	33.6 ± 0.5	32.6 ± 0.5
IMI	10	5	36.3 ± 0.2	37.4 ± 0.2 **	36.3 ± 0.4 **	35.5 ± 0.6 **	34.5 ± 0.7 **
1	10	10	36.1 ± 0.3	35.3 ± 0.2	34.6 ± 0.5	32.9 ± 0.5	32.4 ± 0.3
2	10	30	36.5 ± 0.5	36.0 ± 0.6	34.5 ± 0.7	32.3 ± 1.5	30.0 ± 1.6
3	10	30	21.0 ± 0.9	22.0 ± 0.8	22.5 ± 0.8	22.9 ± 1.1	22.6 ± 1.2

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.3 糖苷化合物对5-HTP诱导的甩头行为的影响

给予5-HTP后,小鼠不同程度地出现全身震颤、易受惊吓、无方向感及甩头症状。与空白对照组相比,FLU与IMI能显著增加5-HTP诱导的甩头行

为次数,糖苷化合物各剂量组与空白对照组相比,均能明显增强5-HTP诱导的甩头行为次数,且与阳性对照药FLU及IMI作用一致。

表4 糖苷化合物对5-HTP诱导的甩头行为的影响($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of simple monoglycosides and IMI on 5-HTP induced head-twitches in mice($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	例数 <i>n</i>	剂量 Dose/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	甩头次数 Times
control	10	-	5.5 ± 5.2
Flu	10	20	20.7 ± 6.7 **
IMI	10	10	35.5 ± 15.8 **
1	10	30	11.7 ± 9.3
2	10	30	31.5 ± 10.1 **
3	10	30	16.5 ± 7.8 *

注:与空白对照组相比, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。Note: Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

3 讨论

本研究主要采用小鼠悬尾模型、小鼠强迫游泳模型、利血平拮抗和小鼠5-羟色氨酸增强模型,探

讨了糖苷化合物抗抑郁活性的作用机制,实验结果表明糖苷化合物能明显缩短小鼠的悬尾不动时间和强迫游泳不动时间;对利血平引起的小鼠体温下降症状无明显影响;能显著增加5-HTP诱导的甩头次

数,所以糖苷化合物具有一定的抗抑郁作用。

5-HTP 诱导的小鼠甩头行为模型可作为研究 5-HT 与抑郁症发生机理的联系,以及评价药物对 5-HT 能神经元功能活动硬性的一种理想动物模型。研究表明糖苷化合物 **1**、**2** 和 **3** 能显著增强 5-HTP 诱导的甩头行为,说明糖苷化合物能使突触间隙中的 5-HT 浓度增高,其可能的抗抑郁作用与阻断中枢 5-HT 重摄取或单胺氧化酶抑制有关。糖苷化合物有很多具有较好的生理活性,如天麻素、熊果苷、水杨苷、豆腐果苷及其他苷元的糖苷,有很多已经在疾病治疗上应用或进入临床研究,在医药领域应用广泛。抑郁症是全球性疾病,以显著的持续性情绪低落为主要特征的精神障碍,常伴有相应的思维和行为改变,目前药物治疗仍是抑郁病的主要治疗手段之一,随着长期使用现有治疗药的不良反应出现,期盼着更多更好的新药面世。迄今为止,已有大量糖苷类化合物成功开发成药物,涉及的临床适应症主要包括抗感染、抗肿瘤和神经疾病的治疗等。目前还有许多酚性糖苷的活性未知,通过现代科技手段,尤其是小分子化合物文库的建立和药物的高通量筛选,会进一步发现更多的糖苷化合物所具有的活性。这些活性较好的糖苷化合物也是药物合成中非常好的先导化合物,把它们做进一步的化学修饰会找出更高活性,更低副作用的新型药物。本研究抗抑郁活性筛选结果表明,糖苷化合物 **1**、**2** 和 **3** 在 TST、FST 和小鼠 5-HTP 甩头增强实验上有效,说明具有明显的抗抑郁活性,有进一步研究的价值,但其抗抑郁作

用效果及作用机制有待进一步的探讨研究。同时本研究对糖苷化合物进行药效筛选,寻找有研发前景的临床前化合物,力求获得高效、低毒的抗抑郁新药。由于研究的化合物数量不多,因此加大此类化合物的药效筛选,有利于丰富此类化合物的构效关系研究,对基础研究和新药开发均具有重要意义。

参考文献

- 1 Tamminga CA, Nemeroff CB, Blakely RD, *et al.* Developing novel treatments for mood disorders accelerating discovery. *Biological Psychiatry*, 2002, 52: 589-609.
- 2 Adell A, Castro E, Celada P, *et al.* Strategies for producing faster acting antidepressants. *Drug Discov Today*, 2005, 10: 578-585.
- 3 Elliott PJ, Chan J, Parker YM, *et al.* Behavioral effects of neurotensin in the open field: structure-activity studies. *Brain Res*, 1986, 381: 259-265.
- 4 Steru L, Chermat R, Thierry B, *et al.* The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in Mice. *Psychopharmacology*, 1985, 85: 367-370.
- 5 Xu SY (徐叔云). *Experimental Methodology of Pharmacology (药理实验方法学)*. People's Medical Publishing House, 3rd ED, 2001: 808.
- 6 Askew BW. A simple screening procedure for imipramine-like antidepressant drugs. *Life Sci*, 1963, 10: 725-730.
- 7 Corne SJ, Pickering RW, Warne BT. A method for assessing the effect of drugs on the central action of 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol*, 1963, 20: 106-120.

(上接第 369 页)

- 4 Li XF (李喜凤), An S (安硕), Zhang WX (张伟晓), *et al.* Optimization of spray-drying process for compound *Platycodon grandiflorum* Extract. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2015, 27: 1151-1155.
- 5 Zuo JJ (左静静), Li X (李响), Zhao MW (赵明伟), *et al.*

Technical study of spray drying for Da Jianzhong Tang. *Chin J Chin Med (中医学报)*, 2014, 29: 242-243.

- 6 Qu CH (曲彩红), Yang L (杨莉), Cheng ZL (陈志良), *et al.* Study on spray-drier preparation technology of Weitai granules using orthogonal experiments. *J Chin Med Mater (中药材)*, 2006, 29: 390-392.