

细脚拟青霉提取物对慢性应激抑郁大鼠 脑脂质过氧化的影响及小鼠急性毒性实验

尹艳艳, 李春如, 阚红卫, 郑丽芳, 明亮

安徽医科大学药理教研室, 合肥 230032, 安徽

摘要 **目的:** 研究细脚拟青霉代谢物提取物(bioactive compounds from *paecilomyces tenuipes*, BCPT) 的小鼠急性毒性及对慢性应激大鼠脑组织脂质过氧化的影响。**方法:** 采用慢性不可预见性应激(CUS)法建立大鼠抑郁模型; 用紫外分光光度计测定大鼠脑组织中 GSH-PX、CAT、SOD 活性和 MDA、NO 含量。采用小鼠最大耐受量法, 观察 BCPT 的急性毒性。**结果:** BCPT 能提高 CUS 大鼠脑组织中 GSH-PX、CAT、SOD 活性, 降低 CUS 大鼠脑组织中 MDA、NO 含量; 小鼠最大耐受量为 $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。**结论:** BCPT 毒性小, 其抗抑郁作用机制可能与抗氧化有关。

关键词 拟青霉; 慢性应激; 最大耐受量; 脂质过氧化

中图分类号: R965.2

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2006)10-1137-03

BCPT (bioactive compounds from *paecilomyces tenuipes*, BCPT) 是细脚拟青霉代谢产物提取物, 含虫草素、神经生长因子、甾醇、环肽类等多种物质。国内学者报道, 抑郁症患者血浆超氧化物歧化酶(SOD) 活性明显降低, 丙二醛(MDA) 含量明显升高^[1], 但在抑郁动物模型上观察脂质过氧化变化的报道并不多见。本课题组前期动物实验发现 BCPT 有一定的抗抑郁作用, 并具有明显的抗氧化作用^[2,3]。为进一步探讨抑郁症与脂质过氧化的作用,

本实验以孤养加慢性不可预见性应激造成大鼠抑郁模型, 观察 BCPT 对脑组织脂质过氧化的影响。同时进行了小鼠急性毒性实验, 观察 BCPT 的安全性。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂与仪器 BCPT 由安徽农业大学虫生真菌研究所提供, 批号: 20050112, $1.25 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$; 吗氯贝胺(moclobemide, Moc), 上海信谊百路达药物有限公司产品, 批号: 031001, 0.15 g/片 ; 丙二醛(MDA) 测试盒, 批号: 050911; 一氧化氮(NO) 测试盒, 批号: 050913; 超氧化物歧化酶(SOD) 测试盒, 批号: 050908; 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX) 测试盒, 批号: 050911; 过氧化氢酶(CAT) 测试盒, 批号: 050912 均购自南京建成生物制品研究所; FA1004 电子天平, 上海精科天平厂产品; LG10-2.4A 型超速离心机, 北京医用离心机厂产品; 756MC 紫外可见分光光度计, 上海精密仪器有限公司产品。

1.2 动物、分组与给药 昆明种小鼠, ♀♂各半, 体重 $18 \sim 20 \text{ g}$; Sprague-Dawley (SD) 大鼠, ♂, 体重 $230 \sim 260 \text{ g}$, 安徽医科大学实验动物中心提供, 动物质量合格证: 皖医实动准 01 号。自由摄食饮水, 12 h 明/12 h 暗(光照时间 7:00 ~ 19:00), 室温 $(22 \pm 2) ^\circ\text{C}$ 条件下饲养。大鼠饲养 1 周后采用开野(Open-Field) 法作行为学评分^[4,5], 选择评分相近的大鼠 48 只, 随机分为 6 组: 正常对照组、模型组、Moc ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组和 BCPT (80 、 40 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组 8 只。从造模 d 1 开始, 各组开始 ig 给药, qd \times 21 d, 正常对照组、模型组 ig 等容量蒸馏水。

1.3 大鼠慢性应激抑郁模型 参考文献^[4,6,7] 对照组大鼠每笼 4 只群养, 模型组和用药组大鼠每笼 1 只孤养。模型组和用药组(给药同时) 大鼠每天给予 1 种不同的应激刺激, 包括: 冷水游泳($4 ^\circ\text{C}$, 5 min)、

2006-03-29 收稿 2006-07-11 修回

安徽省科技厅重点科研项目 (No04023048); 安徽省教育厅重点科研项目 (No2004KJ194ZD); 安徽省高校青年科研资助计划项目 (No2006jql096)

尹艳艳, 通讯作者, 女, 讲师, 硕士, 博士在读, 专业方向: 神经药理学。

Tel: 0551-5161133 E-mail: yinyanyan5678@126.com

热刺激(45℃, 5 min)、电击足底(36 V 交流电, 每隔 1 min 刺激 1 次, 每次持续 10 s, 共 30 次)、高速水平摇晃(10 min)、夹尾(1 min)、禁水(24 h)、禁食(48 h)、悬吊(5 min)和昼夜颠倒。平均每种刺激各两次(表 1)。

表 1 应激实验日程表

天数	刺激方式	时间
d 1	夹尾	1 min
d 2	4℃冰水游泳	5 min
d 3、4	禁食	48 h
d 5	45℃热刺激	5 min
d 6	悬吊	5 min
d 7	禁水	24 h
d 8	电击足底 36 V 交流电, 1 次·min ⁻¹ 、10 s/次、30 次	
d 9	高速水平摇晃	10 min
d 10	昼夜颠倒	24 h
d 11	悬吊	5 min
d 12	45℃热刺激	5 min
d 13	夹尾	1 min
d 14	电击足底 36 V 交流电, 1 次·min ⁻¹ 、10 s/次、30 次	
d 15	禁水	24 h
d 16	4℃冰水游泳	5 min
d 17	昼夜颠倒	24 h
d 18	悬吊	5 min
d 19	高速水平摇晃	10 min
d 20、21	禁食	48 h

1.4 小鼠急性毒性实验 经预试, 受试药灌胃 ig 给药未做出 LD₅₀, 于是做小鼠最大耐受量实验。取小鼠 40 只, 随机分为对照组和 BCPT 组, 每组 20 只。ig 给药前禁食不禁水 8 h, 药物浓度为 0.3 g·ml⁻¹, 给药容量为 0.03 ml·g⁻¹。ig 给药后观察小鼠反应, 并连续观察 14 d。

1.5 MDA、NO、SOD、GSH-PX、CAT 的测定 d 22, 股动脉放血处死大鼠, 在冰盒上取出大脑, 制备脑组织匀浆, 放入-20℃冰箱待测。严格按试

剂盒说明进行测定。
1.6 统计学处理 资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用软件 SPSS 11.0 软件统计包处理, 进行单因素方差分析和 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠急性毒性实验 ig 给予 BCPT, 小鼠最大耐受量为 9 g·kg⁻¹。与对照组比较, 给药后小鼠无异常反应, 在此后的 14 d, 给药组小鼠在精神活动、体重和摄食量等方面与对照组小鼠无明显差异。
2.2 BCPT 对慢性应激抑郁模型大鼠脑组织 MDA、NO 含量的影响 结果如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠脑组织中 MDA、NO 含量均高于对照组; 与模型组比较, BCPT(80、40、20 mg·kg⁻¹) 明显降低脑组织中 MDA、NO 含量。

表 2 BCPT 对慢性应激模型大鼠脑组织中 MDA、NO 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量	MDA	NO
	/mg·kg ⁻¹	/mmol·mg ⁻¹ prot	/μmol·g ⁻¹ prot
对照组	—	32.1±4.4	125±27
模型组	—	40.8±9.3 ^b	243±57 ^c
吗氯贝胺组	40	38.0±11.1	115±35 ^f
BCPT 组	80	28.1±4.6 ^f	110±25 ^f
BCPT 组	40	29.6±4.7 ^f	128±25 ^f
BCPT 组	20	30.3±6.5 ^e	118±34 ^f

与对照组比较^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与模型组比较^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$

2.3 BCPT 对慢性应激模型大鼠脑组织 SOD、CAT、GSH-PX 活性的影响 结果如表 3 所示, 与对照组比较, 慢性应激抑郁大鼠模型组脑组织中 SOD、CAT、GSH 活性明显降低; 与模型组比较, BCPT(80、40 mg·kg⁻¹) 组明显增强脑组织中 CAT、GSH 活性, BCPT(80、40、20 mg·kg⁻¹) 组增强脑组织中 SOD 的活性。

表 3 BCPT 对慢性应激模型大鼠脑组织 SOD、CAT、GSH-PX 活性的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

分组	剂量	CAT	GSH-PX	SOD
	/mg·kg ⁻¹	/U·mg ⁻¹ prot	/U·mg ⁻¹ prot	/U·mg ⁻¹ prot
对照组	—	51.6±14.8	82.6±14.8	104.5±20.3
模型组	—	34.8±7.7 ^c	68.0±9.7 ^b	82.8±15.9 ^b
吗氯贝胺组	40	39.9±10.0	77.5±17.8	112.8±34.6 ^e
BCPT 组	80	47.5±13.7 ^e	87.0±14.4 ^f	129.6±17.2 ^f
BCPT 组	40	46.8±11.0 ^e	85.6±17.7 ^e	132.1±21.6 ^f
BCPT 组	20	35.1±11.1	71.1±7.7	106.3±17.5 ^e

与对照组比较^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$; 与模型组比较^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$

3 讨论

抑郁症是一种日趋严重的情感障碍性疾病,目前仍缺乏有效的治疗手段,临床多使用西药进行治疗,但其具有的毒副作用又不可避免。BCPT 是一种拟青霉代谢物提取物,实验证实其最大耐受量为 $9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,提示 BCPT 毒性小,用药安全。

抑郁症的发病机理非常复杂,除了认为与脑内神经递质的异常等有关外,国内外研究显示自由基和酶系统功能的改变与精神和神经性疾病的发病有一定的关系^[7,8]。有报道证实^[7],精神分裂症患者体内存在自由基和酶防御系统的显著改变,但是关于情感性精神病与自由基的关系还需要进一步研究。国内学者报道^[1],抑郁症患者血浆 SOD 活性明显降低和 MDA 含量明显升高,说明抑郁症患者酶防御功能降低,提示氧自由基和酶系统功能的改变对抑郁症的发病起一定作用。

前期实验证实^[3],抑郁大鼠血清中 GSH-PX、CAT、SOD 活性降低和 MDA、NO 含量升高,而 BCPT 具有较强抗氧化的作用。抑郁大鼠模型脑组织中自由基和酶系统功能否也会出现上述改变呢?本次实验研究结果显示慢性应激抑郁模型大鼠脑组织中 MDA、NO 含量明显升高, SOD、CAT、GSH-PX 活性明显降低。提示慢性应激可以使大鼠脑组织中脂质过氧化加强,自由基和 NO 生成增多,对神经元产生毒害作用,这可能是引发抑郁的一个原因。BCPT 可以降低模型组大鼠升高的 MDA、NO 含量,增强模型大

鼠降低的 SOD、CAT、GSH-PX 活性。提示 BCPT 抗抑郁作用可能与其抗氧化、增强酶活性有关。

综上所述,BCPT 可望是一种安全有效的抗抑郁药物,其抗抑郁机制可能与 BCPT 抗氧化作用有一定关联。

参考文献

- 1 张向阳,周东丰,郭华. 抑郁症、精神分裂症患者细胞免疫盒血超氧化物歧化酶的对照研究[J]. 中华精神科杂志, 2000; 3: 26—9
- 2 郑丽芳, 阙红卫, 尹艳艳, 明亮. 一种拟青霉代谢物提取物对慢性应激抑郁大鼠血 CORT、ACTH 含量及下丘脑 CRH mRNA 表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005; 10: 1162—5
- 3 阙红卫, 郑丽芳, 尹艳艳, 明亮. BCPT 对慢性应激抑郁大鼠脂质过氧化及免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2005; 21: 1385—8
- 4 Willner P. Animal model of depression: an overview[J]. Pharmacol Ther, 1990; 45: 425—55
- 5 Kohler U, Rauca C. Effects of BCH 325 (Pro-D-Phe-Pro-Gly) on field behavior after chronic stress procedure[J]. Peptides, 1992; 13: 141—4
- 6 晏忠, 罗质璞. 抗抑郁药理实验方法[A]. 见: 张均田, 主编. 现代药理实验方法[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998: 1061—2
- 7 袁国桢, 黄寅平, 姚建军. 精神分裂症、情感性精神障碍患者血超氧化物歧化酶的研究[J]. 中华精神科杂志, 2001; 34: 150—3
- 8 Drewa G, Jakobczyk M, A naszkiewicz A. Role of free radicals in schizophrenia[J]. Med Sci Monit, 1998; 4: 1111—5

Effects of bioactive compounds from paecilomyces tenuipes on lipid peroxidation of brain in chronic stress rats and its acute toxicity

YIN Yan-yan, LI Chun-ru, KAN Hong-wei, ZHENG Li-fang, MING Liang

Department of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China

ABSTRACT **AIM:** To study the acute toxicity of bioactive compounds from paecilomyces tenuipes (BCPT) and the effect of BCPT on lipid peroxidation of brain in chronic stress model (CMS) of depression in rats.

METHODS: The depression animal model was induced by chronic unforeseeable stress (CUS). The maximally tolerated dose (MTD) was used to detect the acute toxicity of BCPT. UV spectrophotometer analysis technique was used to detect the activity of SOD, GSH-PX and CAT,

and content of MDA and NO in rat's brain. **RESULTS:** The MTD of BCPT was $9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$. BCPT could obviously enhance the activities of SOD, GSH-PX and CAT, and also significantly inhibit the increase of MDA and NO content in brain in CMS rats. **CONCLUSION:** BCPT has little toxicity and produces an antidepressant-like effect in antioxidation in CMS rats.

KEY WORDS paecilomyces; chronic stress; maximum tolerable dose; lipid peroxidation