

· 实验研究 ·

吴茱萸次碱对慢性不可预见性温和刺激诱导大鼠的抗抑郁作用及其机制研究

袁志坚, 吴小瑜*, 何文涓

无锡卫生高等职业技术学校, 江苏 无锡 214028

摘要: 目的 研究吴茱萸次碱对慢性不可预见性温和刺激(CUMS)诱导的大鼠抑郁模型的作用及其机制。方法 将大鼠随机分为对照组、模型组、氟西汀组(1 mg/kg)和吴茱萸次碱低、高剂量(10、20 mg/kg)组, 每组10只, 除对照组外, 其他各组动物连续复制CUMS模型28 d, 在造模的第15天开始每天ig给药1次, 连续14 d。记录大鼠体重, 通过糖水偏好实验、旷场实验、强迫游泳实验检测各组大鼠的行为学, 并检测大鼠海马5-羟色胺(5-HT)和去甲肾上腺素(NA)水平及脑源性神经营养因子(BDNF) mRNA表达水平。结果 与模型组比较, 吴茱萸次碱高低剂量组均能显著抑制大鼠体重下降($P < 0.05$); 与模型组比较, 吴茱萸次碱高剂量组大鼠的糖水偏好度、大鼠穿越格数和中央格停留时间明显增加($P < 0.05$); 与模型组比较, 吴茱萸次碱高低剂量组大鼠强迫游泳不动时间明显减少($P < 0.05, 0.01$); 与模型组比较, 吴茱萸次碱高剂量组大鼠海马中5-HT、NA水平和BDNF mRNA表达明显增加($P < 0.05, 0.01$)。结论 吴茱萸次碱具有一定的抗抑郁效果, 其机制可能与其提高大鼠海马单胺神经递质水平、增加BDNF mRNA的表达有关。

关键词: 吴茱萸次碱; 抗抑郁; 慢性不可预见性温和刺激; 5-羟色胺; 去甲肾上腺素; 脑源性神经营养因子

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2019)11-3197-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.11.001

Anti-depressant effects of rutaecarpine on chronic unpredictable mild stimulation in rats and its mechanism

YUAN Zhi-jian, WU Xiao-yu, HE Wen-juan

Wuxi Higher Health Vocational Technology School, Wuxi 214028, China

Abstract: Objective To investigate the anti-depressant effects and its mechanism of rutaecarpine on chronic unpredictable mild stress (CUMS) induced depression model rats. **Methods** The rats were randomly divided into 5 groups: control group, model group, fluoxetine group (1 mg/kg), rutaecarpine high dose and low dose (10 and 20 mg/kg) groups, and each group had 10 rats. Except the control group, the chronic unpredictable mild stress for 28 d was used to induce the depression in other groups. The drug was administered on the 15th day of modeling, once a day for 14 d. The body weight was measured, and the effect of rutaecarpine on the behaviors of stressed rats was evaluated by sucrose preference test, open field test, and forced swimming test. The 5-hydroxytryptamine (5-HT), noradrenalin (NA), and BDNF mRNA expression levels in hippocampus were examined. **Results** Compared with the model group, rutaecarpine high dose and low dose groups could significantly inhibit the decrease of body mass in rats ($P < 0.05$). Compared with the model group, sugar water preference, numbers of rats crossing lattice, and time of staying in center in the rutaecarpine high dose group were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, immobility time in forced-swimming test in the rutaecarpine high dose and low dose groups were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). Compared with the model group, 5-HT, NA levels, and BDNF mRNA levels in the rutaecarpine high dose and low dose groups were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Rutaecarpine has certain antidepressant effects, and the anti-depressant effect of rutaecarpine is likely mediated by increasing 5-HT, NA levels, and the expression of BDNF mRNA in hippocampus.

Key words: rutaecarpine; anti-depression; CUMS, 5-HT; NA; BDNF

收稿日期: 2019-09-15

基金项目: 江苏省卫计委科研项目(JZ201614)

作者简介: 袁志坚, 男, 江西赣州人, 教授, 研究方向为中医中药。

*通信作者 吴小瑜, 女, 研究方向为生物药物分离技术。E-mail: 615685049@qq.com

抑郁症是一种以情绪持续低落超过两周、思维和行为发生改变为主要特征,严重影响正常生活的精神疾病^[1]。虽然现代医学对抑郁症有广泛深入的研究,但其具体的病因和发病机制仍不明确。近年来有学者提出了“神经营养假说”,认为抑郁症的发生与脑源性神经营养因子(BDNF)及其信号通路密切相关^[2-3]。当前抗抑郁的药物大部分是合成药,普遍存在起效慢、有效率不高、价格昂贵、不良反应多等缺点,制约了临床使用。因此安全、低毒的天然药物成了抗抑郁药研究领域的研究热点^[4]。吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 的干燥近成熟果实,始载于《神农本草经》,在临床应用已有千年历史。吴茱萸次碱是吴茱萸中的一种主要活性成分,化学结构为 8,13-二氢咪啉-[2',3':3,4]吡啶并[2,1-b]喹啉-5(7H)-酮,是一种咪啉喹啉类生物碱^[5-6]。本研究通过对大鼠慢性不可预见性温和应激模型,观察给药后的大鼠行为学、海马病理形态学的变化,并进一步检测大鼠海马内的多种相关神经递质及相关蛋白表达的变化情况,从而深入探讨吴茱萸次碱的抗抑郁作用及其可能机制,为吴茱萸的研究提供实验基础和理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

Sprague-Dawley (SD) 大鼠,清洁级,雄性,50 只,180~220 g,由浙江省实验动物中心提供,合格证号为 SCXK(浙)2014-0001。

1.2 药物与试剂

吴茱萸次碱,质量分数为 98%,购自杭州东岸生物医药有限公司;氟西汀片,规格 10 mg/片,产品批号 171201,购自常州四药制药有限公司;羟甲基纤维素钠,产品批号 950420,购自国药集团化学试剂有限公司;5-羟色胺(5-HT)和去甲肾上腺素(NA)酶联免疫吸附测定试剂盒,产品批号 AK0017NOV25019,购自 Elabscience 公司;PCR 引物购自上海捷瑞生物工程公司;qPCR 逆转录试剂盒,产品批号 RR036A,购自宝生物工程(大连)有限公司。

1.3 仪器

分析天平由上海民侨精密仪器公司提供;酶标仪由 Thermo Fisher 提供;恒温水浴超声仪由昆山超声仪器有限公司提供。

2 方法

2.1 分组及给药

实验开始前大鼠在实验室适应性饲养一周,以

适应环境。适应性饲养结束后大鼠进行旷场实验(open-field test),根据得分将 50 只大鼠随机分为 5 组:对照组、模型组(0.5% CMC-Na 溶液)、吴茱萸次碱低剂量组(10 mg/kg)、吴茱萸次碱高剂量组(20 mg/kg)、氟西汀组(1 mg/kg)^[7]。吴茱萸次碱的剂量是通过预实验确定的;氟西汀剂量根据人的剂量换算成大鼠的剂量,文献显示一般人的剂量是 20 mg/d(按 70 kg/人,200 g/鼠),人鼠换算系数为 0.018,算得鼠的剂量为 1.8 mg/kg,前期按这个剂量做了预实验,发现连续给药 2~4 周后鼠的耐受性较差,故调整为 1 mg/kg 给药。除对照组外,模型组及各给药组于造模的第 15 天开始,每天一次 ig 给药,完成后 1 h,继续进行慢性不可预见性刺激抑郁造模刺激,连续 14 d 直至实验结束。室温(22±2)℃,大鼠自由摄食饮水,光照节律为 12 h(8:00~20:00)。

2.2 大鼠慢性不可预见性刺激抑郁模型的建立

参照文献的方法^[8]加以改进,建立大鼠抑郁模型:大鼠在 28 d 实验期内接受 7 种不同的刺激,分别为:禁食(24 h),禁水(24 h),夹尾(1 min),鼠笼摇晃(5 min),潮湿饲养(12 h),冰水游泳(5 min),昼夜颠倒。每天一种刺激,同种刺激不连续出现。

2.3 体质量检测

分别于造模第 1、14、28 天称取大鼠体质量。

2.4 糖水偏好实验^[9]

糖水消耗实验在模型组造模两周后(第 14 天)和给药两周后(第 28 天)进行。实验开始前先训练大鼠饮用 1%糖水 24 h,然后再给予蒸馏水 24 h,训练期间正常饮食。训练结束后禁食禁水 12 h,同时给予大鼠 1%糖水一瓶和蒸馏水一瓶,24 h 后称量记录糖水消耗量和蒸馏水消耗量。

糖水偏好度 = 糖水消耗量 / (糖水消耗量 + 蒸馏水消耗量)

2.5 旷场实验^[10]

旷场实验在模型组造模两周后(第 14 天)和给药两周后(第 28 天)进行。实验室旷场箱为高 100 cm,宽 100 cm,高 40 cm 的木质箱,底面为黑色,四周为白色,通过 Anymaze 视频追踪软件将底面划分为 25 个小方格。实验进行时室内保持安静,将大鼠缓慢放至中央格,观察并记录 5 min 内大鼠穿越的格数和中央格停留时间。每只大鼠实验过后将木箱底部清理干净,并用酒精棉擦拭底部,以保证下只大鼠实验时不受粪便气味等因素的影响。

2.6 强迫游泳实验^[11]

强迫游泳实验在模型组造模两周后(第14天)和给药两周后(第28天)进行。透明塑料游泳桶直径26 cm,高50 cm,加入自来水(25±1)℃,至30 cm。实验进行第1天大鼠适应性训练被迫游泳15 min,第2天将大鼠放入游泳桶中被迫游泳5 min,记录5 min内大鼠游泳不动时间。判定大鼠不动状态是指大鼠停止挣扎而漂浮在水面,只伴随有轻微的肢体动作以保证其头部在水面之上,这种状态被称为行为绝望。

2.7 抗抑郁机制研究

实验第29天用10%的水合氯醛,按0.3 mL/100 g腹腔注射麻醉大鼠,心脏取血后处死大鼠,在冰盒上迅速剥离大脑皮层暴露出海马组织,用玻璃分针和眼科镊小心分离周围组织取出双侧海马组织,迅速放入冻存管、投入液氮中,随后置于-80℃低温冰箱保存、备用。

2.7.1 HE染色观察海马病理形态学变化 取海马组织,用10%甲醛浸泡过夜固定,常规石蜡包埋,4 μm组织切片。HE染色,观察大鼠海马区神经细胞形态变化。

2.7.2 单胺神经递质含量测定 取海马组织称重后放入PIPA裂解液于组织匀浆器中冰盒上研磨制成10%组织匀浆液,按试剂盒说明书检测5-HT和NA含量。

2.7.3 Real-time quantitative PCR检测海马源性神经营养因子(BDNF)mRNA表达 引物设计合成:在GeneBank中找到BDNF基因序列,由上海生工

生物生物工程有限公司合成。引物序列如下:
BDNF: 5'-3' F: AGACAG CCGCATCTTCTTGT, R: TGATGGCAACAATGTCCACT; GAPDH: 5'-3' F: AGCTGAGCGTGTGTGACAGT, R: ACCCATG GGATTACACTTGG。取海马组织,采用Trizol法提取总RNA,溶解在20 μL无RNA酶的去离子水中,反应体系为:cDNA 1 μL,10×buffer 2 μL,dNTP(10 mmol/L)1.5 μL,上游引物1 μL,下游引物1 μL,TaqDNA聚合酶0.5 μL,MgCl₂ 1 μL,DEPC水12 μL。95℃预变性2 min,94℃变性30 s,60℃退火45 s,72℃延伸45 s,共32个循环,最后72℃延伸3 min。运用ΔΔCT法根据CT值来计算BDNF mRNA表达水平^[12]。

2.8 统计学分析

统计学分析软件采用SPSS 19.0进行分析,数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析及独立样本t检验进行分析。

3 结果

3.1 吴茱萸次碱对大鼠体质量的影响

体质量变化能够反映抑郁模型建立是否成功。第14天应激刺激后,对照组大鼠体质量增长较快,与模型组相比有显著性差异($P < 0.05$),表明建模成功。与模型组比较,在第28天,氟西汀组和吴茱萸次碱高低剂量组均能显著抑制大鼠体质量下降($P < 0.05$),吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异,说明吴茱萸次碱能够改善抑郁大鼠的食欲,增加进食量,保持体质量增长,改善抑郁症状,见表1。

表1 吴茱萸次碱对大鼠体质量影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Effect of rutaecarpine on the body weight of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体质量/g		
		第1天	第14天	第28天
对照	—	223.4±22.4	274.3±24.2	308.1±32.9
模型	—	225.1±17.1	219.7±35.6 [#]	226.6±14.4 [#]
氟西汀	1	217.3±18.7	224.7±20.6	278.6±23.8 [*]
吴茱萸次碱	10	220.1±17.8	233.7±13.4	262.6±32.5 [*]
	20	215.8±14.2	213.2±30.2	272.7±30.2 [*]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

3.2 吴茱萸次碱对大鼠糖水偏好度的影响

与对照组比较,在第14天,模型组大鼠的糖水偏好度明显降低($P < 0.05$)。与模型组比较,在第

28天,氟西汀组和吴茱萸次碱高剂量组大鼠的糖水偏好度明显增加($P < 0.05$),吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异,见表2。

表 2 吴茱萸次碱对各组大鼠糖水偏爱度影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of rutaecarpine on sucrose preference ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	糖水偏爱度	
		第 14 天	第 28 天
对照	—	96.3±2.4	81.5±4.7
模型	—	74.1±6.3 [#]	63.6±8.1 [#]
氟西汀	1	74.6±6.7	81.3±8.4 [*]
吴茱萸次碱	10	72.5±8.1	74.5±3.5
	20	74.3±5.8	80.4±4.2 [*]

与对照组比较: [#]*P*<0.05; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05

[#]*P*<0.05 vs control group; ^{*}*P*<0.05 vs model group

表 3 吴茱萸次碱对各组大鼠在旷场实验中行为的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of rutaecarpine on behaviors of the rats in open-field test ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	穿越格数		中央格停留时间/s	
		第 14 天	第 28 天	第 14 天	第 28 天
对照	—	125.7±34.1	76.8±30.5	15.7±2.5	12.8±2.1
模型	—	63.8±23.1 [#]	30.7±8.0 [#]	3.3±0.8 [#]	1.5±0.7 [#]
氟西汀	1	69.5±18.3	59.8±15.6 [*]	1.6±0.4	4.3±2.1 [*]
吴茱萸次碱	10	67.5±25.2	54.7±13.8	2.5±0.6	2.1±1.0
	20	55.7±23.5	61.2±21.4 [*]	3.4±1.3	3.6±0.7 [*]

与对照组比较: [#]*P*<0.05; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05

[#]*P*<0.05 vs control group; ^{*}*P*<0.05 vs model group

天, 氟西汀组和吴茱萸次碱高低剂量组大鼠强迫游泳不动时间明显减少 (*P*<0.05、0.01), 吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异, 具体结果见表 4。

3.5 吴茱萸次碱对大鼠海马病理形态的影响

第 28 天, 与对照组比较, 模型组大鼠海马区神经细胞排列疏松, 数目减少, 呈梭形或不规则多边形, 出现核固缩, 染色加深。吴茱萸次碱低剂量组有少数细胞呈现梭形或不规则性, 出现核固缩, 而吴茱萸次碱高剂量组大部分细胞呈圆形结构, 清晰完整, 排列紧凑, 层次分明, 见图 1。

3.3 吴茱萸次碱对大鼠在旷场实验中行为的影响

与对照组比较, 在第 14 天, 模型组大鼠穿越格数和中央格停留时间明显减少 (*P*<0.05)。与模型组比较, 在第 28 天, 氟西汀组和吴茱萸次碱高剂量组大鼠穿越格数和中央格停留时间明显增加 (*P*<0.05), 吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异, 见表 3。

3.4 吴茱萸次碱对大鼠强迫游泳不动时间的影响

与对照组比较, 在第 14 天, 模型组大鼠挣扎减少, 长时间处于漂浮不动状态, 大鼠强迫游泳不动时间明显增加 (*P*<0.01)。与模型组比较, 在第 28

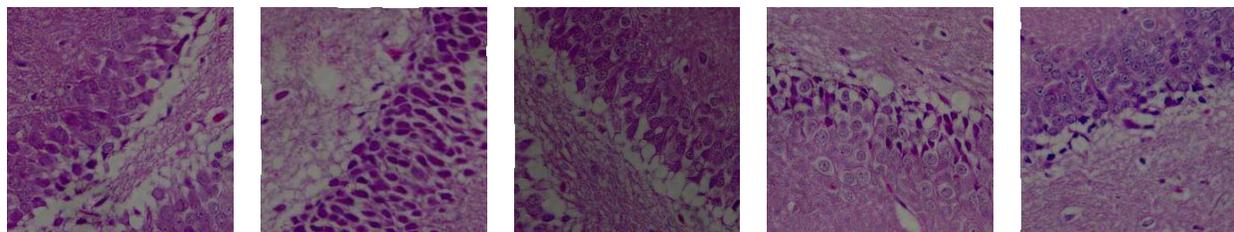
表 4 吴茱萸次碱对大鼠强迫游泳不动时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effect of rutaecarpine on immobility time of the rats in the forced swimming test ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	不动时间/s	
		第 14 天	第 28 天
对照	—	116.1±28.8	136.3±35.3
模型	—	187.0±41.4 ^{##}	221.9±28.1 ^{##}
氟西汀	1	181.8±38.7	162.1±30.2 ^{**}
吴茱萸次碱	10	185.5±37.2	178.5±33.8 [*]
	20	191.4±23.6	168.8±28.6 ^{**}

与对照组比较: ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01

^{##}*P*<0.01 vs control group; ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01 vs model group



对照 模型 氟西汀 1 mg·kg⁻¹ 吴茱萸次碱 10 mg·kg⁻¹ 吴茱萸次碱 20 mg·kg⁻¹

图 1 大鼠海马的病理形态 (×400)

Fig. 1 Pathological morphology of hippocampus in rats (×400)

3.6 吴茱萸次碱对大鼠海马单胺神经递质含量的影响

第 28 天,与对照组比较,模型组大鼠海马 5-HT 和 NA 含量明显减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较,氟西汀组和吴茱萸次碱高剂量组大鼠海马 5-HT 和 NA 含量明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01),吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异,见表 5。

表 5 吴茱萸次碱对大鼠海马单胺神经递质含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 5 Effect of rutaecarpine on concentration of monoamine in hippocampus of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	5-HT/(ng·g ⁻¹)	NA/(ng·g ⁻¹)
对照		3.51 ± 0.23	1.23 ± 0.12
模型	—	2.39 ± 0.28 ^{##}	0.74 ± 0.08 ^{##}
氟西汀	1	3.36 ± 0.21 ^{**}	1.09 ± 0.13 ^{**}
吴茱萸次碱	10	3.20 ± 0.55 [*]	0.83 ± 0.07
	20	3.31 ± 0.53 ^{**}	0.93 ± 0.08 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

[#] $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.7 吴茱萸次碱对大鼠海马 BDNF mRNA 表达的影响

第 28 天,与对照组比较,模型组大鼠海马 BDNF mRNA 表达明显减少 ($P < 0.05$)。与模型组比较,氟西汀组和吴茱萸次碱高剂量组大鼠海马 BDNF mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$),吴茱萸次碱高剂量组与氟西汀组没有显著性差异,见表 6。

表 6 吴茱萸次碱对大鼠海马 BDNF mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 6 Effect of rutaecarpine on expression of BDNF mRNA in hippocampus of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	2 ^{-ΔΔCT}
对照		1.24 ± 0.16
模型	—	0.87 ± 0.11 [#]
氟西汀	1	1.37 ± 0.15 [*]
吴茱萸次碱	10	1.15 ± 0.07
	20	1.32 ± 0.14 [*]

与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

4 讨论

目前,抑郁症模型可以分为环境刺激模型、社会刺激模型、药物诱导模型、转基因模型、手术制备模型和产后抑郁模型 6 大类。本研究所选取的模

型就属于环境刺激模型,是抑郁症的经典慢性模型之一,利用长期的相对温和的不可预测的人为刺激使动物产生抑郁样行为,其病因和病理机制接近于人类抑郁症,目前已经被广泛接受并运用于抗抑郁药物研究^[13-14]。本实验通过检测大鼠体质量、蔗糖偏爱度和旷场实验等,判断慢性应激抑郁模型建立成功与否,观察吴茱萸次碱对大鼠抑郁行为的影响。结果表明吴茱萸次碱能明显改善大鼠抑郁样行为,高剂量(20 mg/kg)效果较好,与阳性药氟西汀的作用相当。

Schildkraut^[15]提出了抑郁症发病的“单胺假说”理论,认为抑郁症的发生是由脑内单胺神经递质含量降低引起的,如脑内 5-HT、NA 等含量的下降,抗抑郁药通过增加单胺系统活性,提高脑内单胺神经递质水平而发挥抗抑郁作用。在此之后的实验与临床研究使这一假说得到进一步证实^[16]。关于抑郁症发病的最新一种假说是“神经营养缺乏假说”,该假说认为抗抑郁药临床起效延迟与参与中枢神经营养状态和神经可塑性的受体后信号传导和基因转录过程有关^[17]。环磷酸腺苷(cAMP)反应元件结合蛋白(CREB)是一种选择性结合环磷酸腺苷反应元件(CRE)的核蛋白^[18],它能调节下游神经营养因子的转录,其中最重要的一类因子是 BDNF。BDNF 主要分布在海马、纹状体、杏仁核和皮质,研究者对大鼠每天 2 h 束缚应激刺激,结果表明海马 BDNF mRNA 表达明显降低^[19]。多种抗抑郁药能够显著增加 BDNF mRNA 的表达^[20-21],提示 BDNF 在抗抑郁药治疗抑郁症中发挥重要作用。

综上所述,慢性不可预见性刺激诱发的大鼠抑郁模型产生的机制至少涉及机体单胺神经系统功能失调及 BDNF 表达降低等。吴茱萸次碱在慢性不可预见性刺激诱导的大鼠体内发挥抗抑郁作用除增高 5-HT、NA 水平外,还与增加 BDNF 表达有关。

参考文献

- [1] Millan M J. The role of monoamines in the actions of established and "novel" antidepressant agents: a critical review [J]. *Eur J Pharmacol*, 2004, 500(1/3): 371-384.
- [2] Liu W, Zhou C. Corticosterone reduces brain mitochondrial function and expression of mitofusin, BDNF in depression-like rodents regardless of exercise preconditioning [J]. *Psychoneuroendocrino*, 2012, 37(7): 1057-1070.
- [3] Sapolsky R M. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders [J]. *Arch Gen Psychiat*, 2000, 57(10): 925-935.

- [4] Kowianski P, Lietzau G, Czuba E, *et al.* BDNF: a key factor with multipotent impact on brain signaling and synaptic plasticity [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(3): 579-593.
- [5] Son J K, Chang H W, Jahng Y. Progress in studies on rutaecarpine II--synthesis and structure-biological activity relationships [J]. *Molecules*, 2015, 20(6): 10800-10821.
- [6] 薛宝娟, 李志慧, 张玉杰, 等. 吴茱萸次碱对 5 种黄连生物碱大鼠体外肝代谢的抑制作用 [J]. *中草药*, 2014, 45(9): 1293-1296.
- [7] Qiu J, Hu S Y, Zhang C H, *et al.* The effect of Chaihu-Shugan-San and its components on the expression of ERK5 in the hippocampus of depressed rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(2): 320-326.
- [8] Papp M. Models of affective illness: chronic mild stress in the rat [J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2012, Chapter 5: Unit 5.9.
- [9] D'Aquila P S, Newton J, Willner P. Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference [J]. *Physiol Behav*, 1997, 62(2): 421-426.
- [10] 方锦颖, 陈光耀, 李龙梅, 等. 孤养对单次延长应激建立的创伤后应激障碍模型大鼠行为学的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(3): 32-35.
- [11] Lino-de-Oliveira C, De Lima T C, de Padua Carobrez A. Structure of the rat behaviour in the forced swimming test [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 158(2): 243-250.
- [12] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T)(-Delta Delta C) method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [13] 张臣颢, 张曼芳, 谢青莲, 等. 慢性不可预知温和应激抑郁小鼠模型的建立 [J]. *复旦学报: 自然科学版*, 2011, 50(3): 390-393.
- [14] 刘晓节, 郑兴宇, 李震宇, 等. 慢性温和不可预知应激抑郁模型大鼠脑组织 1H-NMR 代谢组学研究 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(4): 612-621.
- [15] Schildkraut J J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence [J]. *Am J Psychiatry*, 1965, 122(5): 509-522.
- [16] Sharma H, Santra S, Dutta A. Triple reuptake inhibitors as potential next-generation antidepressants: a new hope? [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7(17): 2385-2406.
- [17] Lu X Y, Kim C S, Frazer A, *et al.* Leptin: a potential novel antidepressant [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(5): 1593-1598.
- [18] Meyer T E, Waeber G, Lin J, *et al.* The promoter of the gene encoding 3', 5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) response element binding protein contains cAMP response elements: evidence for positive autoregulation of gene transcription [J]. *Endocrinology*, 1993, 132(2): 770-780.
- [19] Smith M A, Makino S, Kvetnansky R, *et al.* Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus [J]. *J Neurosci*, 1995, 15(3 Pt 1): 1768-1777.
- [20] Aydemir C, Yalcin E S, Aksaray S, *et al.* Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) changes in the serum of depressed women [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2006, 30(7): 1256-1260.
- [21] Castren E, Rantamaki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: reactivation of developmental plasticity [J]. *Dev Neurobiol*, 2010, 70(5): 289-297.
- [22] Wang Y, Ni J, Zhai L, *et al.* Inhibition of activated astrocyte ameliorates lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors [J]. *J Affect Disord*, 2019, 242: 52-59.