

丁香酚与甲基丁香酚的抗焦虑作用机制研究

张洁¹, 王强^{1,2}, 梁雨璐¹, 李忆红¹, 解嘉琪¹, 刘传鑫¹, 黄建梅^{1*}

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102400

2. 中国药科大学 药学院, 江苏 南京 210000

摘要: 目的 探究丁香酚及甲基丁香酚的抗焦虑作用及机制。方法 90只雄性SPF级SD大鼠, 随机分为对照组, 模型组, 地西洋(1 mg/kg)组, 丁香酚低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg)组和甲基丁香酚低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg)组, 每组10只, 对照组和模型组给予0.5% CMC-Na溶液, 每只大鼠给药1 mL, ig给药, 给药7 d后, 除对照组外, 进行高架十字迷宫实验。采用酶联免疫法(ELISA)测定焦虑大鼠血清中沉默信息调节因子2相关酶1(SIRT1)、单胺氧化酶A(MAO-A)、儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、乙醛脱氢酶(ALDH)及醛糖还原酶(AR)的表达量, 同时通过逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测各组海马体组织中相应的基因表达水平。**结果** 丁香酚高剂量组大鼠进入开放臂次数(OE)百分比和开放臂停留时间(OT)百分比显著高于模型组($P < 0.01$), 作用呈剂量相关性; 随着剂量的增加, 甲基丁香酚表现出抗焦虑作用趋势, 但差异无统计学意义。与对照组比较, 模型组大鼠SIRT1和MAO-A酶含量及基因表达显著升高($P < 0.05$ 、 0.01), 丁香酚与甲基丁香酚均发挥显著回调作用($P < 0.01$)。与对照组比较, 模型组大鼠血清中ALDH与AR含量显著下降, COMT含量显著升高($P < 0.01$); 海马组织中COMT与ALDH的基因表达显著上调, AR的基因表达显著下调($P < 0.01$)。与模型组比较, 丁香酚可显著回调血清COMT、ALDH及AR含量($P < 0.05$ 、 0.01), 甲基丁香酚显著回调血清COMT、AR含量($P < 0.05$ 、 0.01); 丁香酚与甲基丁香酚能够显著抑制焦虑大鼠海马体COMT与ALDH的基因表达上调($P < 0.01$), 甲基丁香酚显著抑制AR的基因表达下调($P < 0.05$)。**结论** 丁香酚和甲基丁香酚抗焦虑活性良好, 可通过调控SIRT1-MAO-A信号通路进而影响单胺类神经递质5-羟色胺(5-HT)的代谢以及儿茶酚胺代谢通路中COMT、ALDH及AR酶的活性和基因表达发挥作用。

关键词: 丁香酚; 甲基丁香酚; 抗焦虑; 作用机制; 沉默信息调节因子2相关酶1; 单胺氧化酶A; 儿茶酚-O-甲基转移酶; 乙醛脱氢酶; 醛糖还原酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)06-1259-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.06.018

Anti-anxiety mechanisms of eugenol and methyleugenol

ZHANG Jie¹, WANG Qiang^{1,2}, LIANG Yulu¹, LI Yihong¹, XIE Jiaqi¹, LIU Chuanxin¹, HUANG Jianmei¹

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102400, China

2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210000, China

Abstract: Objective To explore the anti-anxiety effect of eugenol and methyleugenol and its possible mechanisms. **Methods** Totally ninety male Sprague-Dawley Rats (SPF) were randomly divided into nine groups: control group, model group, diazepam (1 mg/kg) group, eugenol low, middle and high-dose (10, 20, and 40 mg/kg) group, methyleugenol low, middle and high-dose (10, 20, and 40 mg/kg) group. Then the contents of NAD-dependent deacetylase sirtuin-1 (SIRT1), monoamine oxidase-A (MAO-A), catechol-o-methyl transferase (COMT), acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) and aldose reductase (AR) in serum of anxiety rats were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), at the same time, the corresponding gene expression level in hippocampus was detected by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). **Results** The percentage of OE and OT in eugenol high-dose group were significantly higher than those in model group ($P < 0.01$); With the increase of dosage, methyl eugenol showed the trend of anti anxiety effect, but the difference was not statistically significant. Compared with the control group, SIRT1 and MAO-A enzyme contents and mRNA levels in the anxiety model rats were significantly increased ($P < 0.05$ and 0.01), and eugenol and methyleugenol treatment reversed this trend ($P < 0.01$). The contents of ALDH and AR in serum of anxiety rats

收稿日期: 2020-12-10

第一作者: 张洁, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为抗焦虑中药研究。E-mail: zj70709620@126.com

*通信作者: 黄建梅, 女, 博士、教授、博士生导师, 研究方向为中药体内过程分析。E-mail: huangjm@bucm.edu.cn

decreased significantly, while the contents of COMT increased ($P < 0.01$); The mRNA levels of COMT and ALDH were up-regulated, while AR gene expression was down-regulated ($P < 0.01$). Compared with model group, eugenol reversed the change trend of COMT, ALDH and AR ($P < 0.05, 0.01$), and methyl eugenol significantly reversed the change trend of serum COMT and AR ($P < 0.05, 0.01$); Eugenol and methyl eugenol significantly inhibited the up regulation of COMT and ALDH gene expression in hippocampus of anxiety rats ($P < 0.01$), while methyl eugenol significantly inhibited the down regulation of AR gene expression ($P < 0.05$). **Conclusion** Eugenol and methyleugenol have good anti-anxiety activity. They can adjust the metabolism of 5-hydroxytryptamine (5-HT) by regulating SIRT1-MAO-A signal pathway and affect the enzyme activity and gene expression of COMT, ALDH and AR in the metabolic pathway of catecholamine.

Key words: eugenol; methyleugenol; anti-anxiety; mechanisms; SIRT1; MAO-A; COMT; ALDH; AR

焦虑症(anxiety disorder)是一种以焦虑情绪体验为主要特征的常见精神性疾病,患者临床常表现出无明确客观对象的紧张、恐惧、不安等,并伴有头晕、出汗、呼吸困难等症状^[1]。目前临床上治疗焦虑症以缓解症状为主^[2],主要的治疗药物包括苯二氮草类及选择性5-羟色胺(5-HT)再摄取抑制剂等,但因具有成瘾性、认知损害等副作用,已不能满足治疗焦虑症的需要。由于对化学药安全性的争议,越来越多的学者将目光转向天然药物,希望能从中找到安全有效的抗焦虑药^[3]。研究发现,含有酚羟基的小分子酚类成分具有抗焦虑作用,包括去氢厄弗酚、厄弗酚、灯心草酚等菲类成分,黄芩素、芹菜素等黄酮类成分,咖啡酸、丹参素、芥子酸等苯丙素类成分以及没食子酸、香芹酚等成分^[4-5]。

丁香酚(图1)是一种从罗勒、肉豆蔻、月桂叶、丁香油和肉桂等精油中分离出来的小分子酚类成分^[6]。课题组前期研究发现^[4],5 mg/kg丁香酚具有明显的抗焦虑活性,能显著增加小鼠在高架十字迷宫装置中开放臂的停留时间与进入开放臂的次数,但其作用机制尚不明确。甲基丁香酚(图1)是丁香酚的甲基醚,其结构中没有酚羟基,是肉豆蔻、罗勒、山茱萸、肉桂、毛茛及其精油组分的天然成分^[6]。据报道,甲基丁香酚具有抗抑郁、抗惊厥、神经保护等中枢药理活性,可能通过激活 γ -氨基丁酸(GABA)受体发挥作用^[7],其是否具有抗焦虑作用尚待进一步研究。

焦虑症的发病机制非常复杂,目前尚未完全清

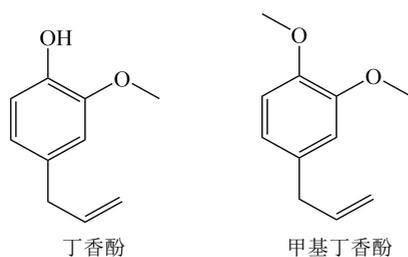


图1 丁香酚与甲基丁香酚的结构式

Fig. 1 Structural formula of eugenol and methyl eugenol

晰,主要的生化病理机制包括神经递质假说、神经内分泌功能紊乱假说及免疫功能紊乱假说。现代医学认为焦虑的发生与突触间隙单胺类神经递质浓度的变化密切相关^[8]。单胺类神经递质是参与情绪调控的一类重要神经递质,包括吲哚胺和儿茶酚胺两大类,吲哚胺主要包括5-HT,儿茶酚胺包括多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)和肾上腺素(E)等。研究发现,当突触间隙单胺类神经递质浓度异常时,个体会表现出焦虑症状。

调节单胺类神经递质代谢是中药抗焦虑机制研究的重要切入点。沉默信息调节因子2相关酶1(SIRT1)、单胺氧化酶(MAO)、儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、乙醛脱氢酶(ALDH)及醛糖还原酶(AR)对单胺类神经递质的代谢发挥重要作用^[9-18]。其中,单胺氧化酶A(MAO-A)是调节大脑5-HT水平的关键酶。MAO抑制剂是一种传统的抗焦虑抑郁药,它通过抑制MAO的活性,减少单胺类神经递质的降解以发挥抗焦虑作用^[10]。SIRT1又称为NAD-依赖性去乙酰化酶Sirtuin-1,是MAO-A基因转录的重要调节酶^[11]。研究发现,SIRT1基因在焦虑情绪的产生中具有重要作用,它能通过激活MAO-A基因来驱动患者的焦虑情绪上升^[12]。研究证实,COMT基因是焦虑的易感基因,敲除COMT基因会导致雌性小鼠情绪低落,雄性小鼠产生更强攻击性^[13-14]。AR是人交感神经节NE神经内代谢中的一种醛清除酶^[15],越来越多的研究表明,内源性醛类物质具有一定的神经毒性,焦虑症的发生可能与内源性醛的水平增加有关^[16-17],消耗内源性醛可能对焦虑症的治疗产生正面影响。此外,ALDH-2基因多态性与嗜酒者焦虑抑郁、自杀行为及反社会人格障碍等相关^[18]。

高架十字迷宫(EPM)是开展焦虑抑郁研究的经典行为学实验,它利用动物对新异环境的探究特性和对高悬敞开臂的恐惧形成矛盾冲突行为,来考察动物的焦虑状态^[19]。本研究首先应用高架十字

迷宫实验诱导大鼠焦虑状态,同时评价丁香酚和甲基丁香酚的抗焦虑作用。进一步采用酶联免疫法(ELISA)考察焦虑大鼠血清中SIRT1、MAO-A、COMT、ALDH及AR的酶浓度,同时通过逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测海马体中相应的基因表达情况,拟阐释丁香酚和甲基丁香酚抗焦虑作用的机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级健康雄性SD大鼠,体质量220~250 g,购自北京斯贝福实验动物技术有限公司,饲养于北京中医药大学动物实验中心SPF级动物房,实验动物生产许可证号SCXK(京)2012-0001。大鼠适应性喂养3 d,期间自由饮水饮食,光照节律12 h:12 h(7:00—19:00),室温(23±2)°C,湿度(55±10)%,保持安静。

1.2 药品与主要试剂

丁香酚、甲基丁香酚(质量分数≥98%),购于上海源叶生物科技有限公司;地西洋来自北京大学医学部药物依赖性研究所;羧甲基纤维素钠(CMC-Na)购于天津光复精细化工研究所;氯仿、异丙醇(色谱纯)购于国药集团化学试剂有限公司;RNA溶解液、TRIZOL、qRT-PCR试剂盒购于北京全式金生物技术有限公司;焦碳酸二乙酯水(DEPC)购于Amresco(美国,E174);FastKingcDNA第一链合成试剂盒购于天根生化科技有限公司;大鼠SIRT1、大鼠MAO-A、大鼠COMT、大鼠ALDH、大鼠AR ELISA试剂盒均购自江苏酶标生物科技有限公司。

1.3 实验仪器

Thermo FC酶标仪(450 nm)购自北京普朗新技术有限公司;Thermo 37 °C恒温箱购自上海建恒仪器有限公司;Centrifuge5415R离心机及5333PCR仪购自Eppendorf公司;ABI7500实时荧光定量PCR仪购自美国应用生物系统公司。

2 方法

2.1 动物分组与给药

将90只大鼠随机分为对照组,模型组,地西洋(1 mg/kg)组,丁香酚低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg)组和甲基丁香酚低、中、高剂量(10、20、40 mg/kg)组,对照组和模型组给予0.5% CMC-Na溶液,每组10只,每只大鼠给药1 mL,ig给药,给药7 d。

2.2 高架十字迷宫实验(EPM)

高架十字迷宫装置是由两个开放臂(50 cm×10 cm×1 cm)、两个闭合臂(50 cm×10 cm×40 cm)

以及1个连接四臂的中央平台(10 cm×10 cm)组成的1个类似“十”字形的迷宫,迷宫装置比房间地板高50 cm,四周有布幔遮挡。除对照组外,第7天给药后30 min,进行高架十字迷宫实验。将大鼠置于高架十字迷宫中央平台,面向其中1个开放臂,背对实验操作者,释放后即开始记录6 min内大鼠进入各臂的次数和停留时间:①进入开放臂次数(OE);②进入闭合臂次数(CE);③开放臂停留时间(OT,s);④闭合臂停留时间(CT,s)。并根据以上数据分别计算出:①OE百分比=OE/(OE+CE);②OT百分比=OT/(OT+CT),以OE和OT百分比作为评价大鼠焦虑的指标。测试过程中大鼠进入任一臂以四足都进入到臂内为准,任一足退出该臂则表示此次活动的完成。每只大鼠测试后,清除装置中的粪便并用75%乙醇溶液擦拭实验装置,以去除大鼠残留气味的影响。

2.3 酶含量测定

EPM结束后,立即麻醉大鼠(3%戊巴比妥钠),腹主动脉取血,置于5 mL EP管内,4 °C、3 000 r/min离心15 min,上清液于4 °C、3 500 r/min离心8 min,取上清液,置于-80 °C冰箱保存。ELISA实验检测血清SIRT1、MAO-A、COMT、ALDH、AR活性。

2.4 转录水平检测

取血后立即处死大鼠,断头取脑,分离出海马体。取海马组织剪碎后,应用Trizol试剂提取总RNA,逆转录为cDNA,以cDNA为模板进行PCR扩增。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成,序列见表1。扩增产物于1.5%的琼脂糖凝胶电泳,自动电泳凝胶成像分析仪采集并测定灰度值。以目的条带与β-actin灰度值比值反映各基因相对表达水平。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列
GAPDH	正向 5'-GATGACATCAAGAAGGTGGTGA-3'
	反向 5'-ACCCTGTTGCTGTAGCCATATTC-3'
SIRT1	正向 5'-GCTGGCCTAATAGACTTGCAA-3'
	反向 5'-TCCGTCAGCTCCAGATCCT-3'
MAO-A	正向 5'-TGTGGCTGCATGATCATTG-3'
	反向 5'-TAGCAGCCCCCGGAGTA-3'
COMT	正向 5'-AGTCCACAACCTGATCATGG-3'
	反向 5'-GCTGTACTCCCGAATCACTG-3'
ALDH	正向 5'-GCTGGCTGACTTAATGGAGA-3'
	反向 5'-TGTTTGACCATGGATCTTGTC-3'
AR	正向 5'-CCATCCACGTTGTCCCTACT-3'
	反向 5'-GATATGGTTCGAATTGCCCC-3'

2.5 统计方法学

以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各mRNA的相对表达水平,对试验数据进行描述性统计,使用单向ANOVA分析所有数据,SPSS 22.0软件进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 行为学测试结果

通过EPM研究丁香酚和甲基丁香酚的抗焦虑作用,结果见图2。丁香酚高剂量组大鼠OE百分比和OT百分比显著高于模型组($P < 0.01$),且与阳性药地西洋的抗焦虑表现相似,作用呈剂量相关性,说明丁香酚具有明显的抗焦虑活性。随着剂量的增加,甲基丁香酚表现出抗焦虑作用趋势,但差异无统计学意义。

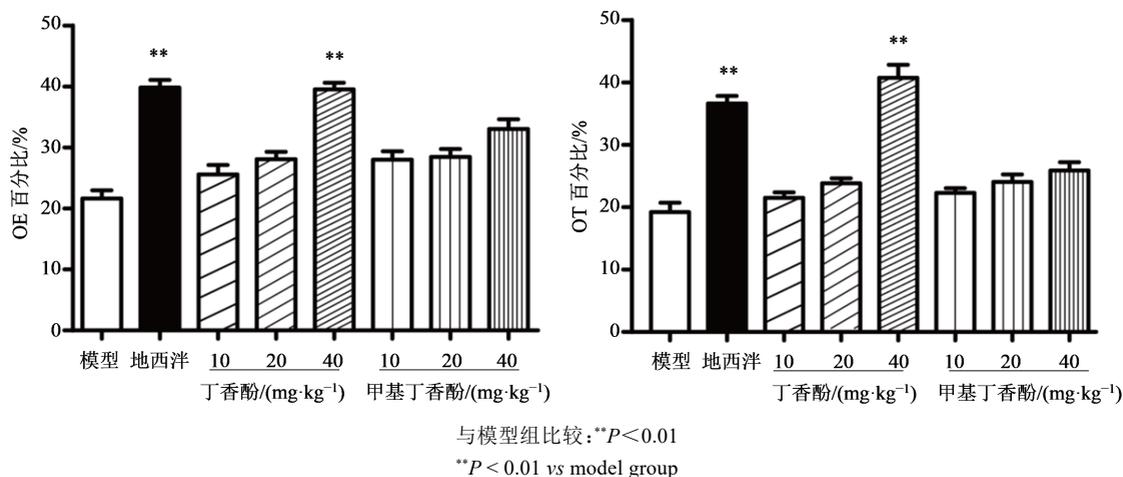


图2 丁香酚和甲基丁香酚对大鼠焦虑样行为的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effects of eugenol and methyl eugenol on anxiety-like behavior in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

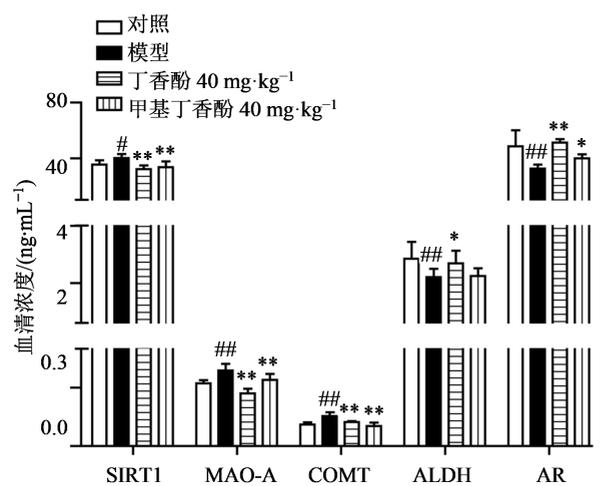


图3 各组大鼠血清中SIRT1、MAO-A、COMT、ALDH、AR水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Serum levels of SIRT1, MAO-A, COMT, ALDH and AR in each group were compared ($\bar{x} \pm s, n=10$)

3.2 丁香酚和甲基丁香酚对焦虑大鼠SIRT1-MAO-A信号通路的影响

3.2.1 对焦虑大鼠血清中的SIRT1与MAO-A酶含量的影响 结果如图3所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中的SIRT1及MAO-A水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,丁香酚与甲基丁香酚显著回调SIRT1与MAO-A水平($P < 0.01$)。

3.2.2 对焦虑大鼠海马体中SIRT1与MAO-A基因表达的影响 结果如图4所示,模型组大鼠海马中SIRT1及MAO-A的基因表达水平显著上调($P < 0.01$);与模型组比较,丁香酚与甲基丁香酚能够显著抑制焦虑大鼠海马中SIRT1及MAO-A的基因表达上调($P < 0.01$)。

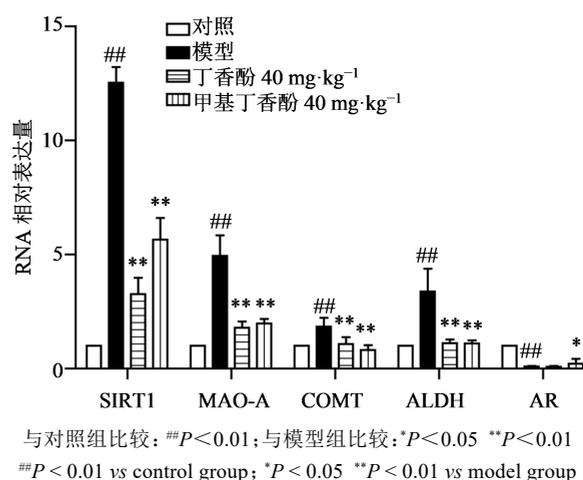


图4 各组大鼠海马体中SIRT1、MAO-A、COMT、ALDH、AR的基因水平比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Comparison of SIRT1, MAO-A, COMT, ALDH and AR gene levels in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

3.3 丁香酚和甲基丁香酚对焦虑大鼠 COMT、ALDH 与 AR 酶含量及基因表达的影响

3.3.1 对焦虑大鼠血清中 COMT、ALDH 及 AR 酶含量的影响 如图 3 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中的 ALDH 与 AR 含量显著下降($P < 0.01$),COMT 含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,丁香酚可显著回调 COMT、ALDH 及 AR 含量($P < 0.05, 0.01$),甲基丁香酚显著回调 COMT、AR 含量($P < 0.05, 0.01$)。

3.3.2 对焦虑大鼠海马体中 COMT、ALDH 与 AR 基因表达的影响 如图 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠海马体 COMT 与 ALDH 的基因表达水平显著上调,而 AR 的基因表达显著下调($P < 0.01$)。与模型组比较,丁香酚与甲基丁香酚能够显著抑制焦虑大鼠海马体 COMT 与 ALDH 的基因表达上调($P < 0.01$),甲基丁香酚显著抑制 AR 的基因表达下调($P < 0.05$)。

4 讨论

课题组前期采用高架十字迷宫评价丁香酚(5、10、20 mg/kg)和甲基丁香酚(1.25、2.5、5 mg/kg)对小鼠焦虑行为的影响,结果发现,5 mg/kg 的丁香酚具有抗焦虑作用^[20];随着剂量增加,5 mg/kg 的甲基丁香酚表现出明显的致焦虑活性^[21]。甲基丁香酚具有抗抑郁^[22]和抗惊厥^[23-24]等生物活性,但其是否具有抗焦虑作用仍存在争议。另有研究通过旷场、社交干预、十字迷宫和孔板测试等多种行为学方法来评价甲基丁香酚的抗焦虑作用,结果发现各给药组与对照组相比,大鼠的焦虑行为并没有改变^[22]。本研究发现 40 mg/kg 的丁香酚能明显改善模型大鼠的焦虑行为。随着剂量的增加(10、20、40 mg/kg),甲基丁香酚表现出抗焦虑作用趋势,但并不显著。

单胺类神经递质功能紊乱是焦虑症的重要发病机制^[25]。5-HT、DA、NE、E 是中枢神经重要的单胺类神经递质,参与情绪的调节,其浓度变化与焦虑情绪的产生密切相关^[26-28]。

MAO-A 是调节大脑 5-HT 的关键酶,SIRT1 是 MAO-A 基因转录的重要调节酶,而螺旋环螺旋蛋白 2(NHLH2)是调节 MAO-A 的上游转录因子。有研究显示 SIRT1 可以通过使 NHLH2 去乙酰化,间接调控 MAO-A 的转录,影响 MAO-A 表达,进而影响小鼠大脑的 5-HT 代谢,导致焦虑样行为^[12]。本研究结果显示,丁香酚与甲基丁香酚治疗可以显著降低焦虑大鼠 SIRT1 和 MAO-A 的酶含量及基因表达,且丁香酚将 SIRT1 和 MAO-A 基因表达及酶含量调

控至正常水平的能力优于甲基丁香酚。因此,丁香酚可能通过抑制 SIRT1 基因表达及 SIRT1 酶活性,进而抑制 SIRT1 对 NHLH2 的去乙酰化作用,间接调控 MAO-A 的转录,抑制 MAO-A 酶活性,进而影响 5-HT 的代谢,最终发挥抗焦虑作用。

在儿茶酚胺类神经递质的合成过程中,苯丙氨酸和酪氨酸在酶的作用下先产生 DA^[29],DA 又在多巴胺 β 羟化酶(DBH)作用下生成 NE,然后 NE 甲基化生成 E^[30]。MAO、COMT、ALDH 和 AR 在单胺类神经递质 DA、NE 和 E 的代谢过程中发挥重要作用。DA、NE 和 E 经过 MAO、COMT、ALDH 和 AR 的作用,分别代谢为香草扁桃酸(VMA)和香草酸(HVA)。

COMT 是儿茶酚胺的代谢酶,也是 DA 的降解酶。COMT 基因已被证明与多种精神障碍疾病密切相关,如精神分裂症、焦虑障碍、抑郁、强迫性神经症等^[31]。研究发现 COMT 低活性者更易受到刺激,焦虑易感性更高^[32-33]。本实验结果显示,模型组大鼠 COMT 酶含量与基因表达均显著上调,而丁香酚和甲基丁香酚治疗显著降低了这种变化,表明丁香酚可能通过抑制 COMT 基因表达和酶活性来发挥抗焦虑作用。

近年的研究表明,ALDH2 参与机体氧化应激、细胞凋亡等病理和生理过程^[34]。本研究结果显示 ALDH 的酶含量与基因表达的变化趋势相反,模型组大鼠血清中的 ALDH 酶含量显著下降,而海马体中相对的基因表达却显著上调。造成 ALDH 的基因表达水平与酶表达量不一致的原因可能与转录水平的调控、转录后调控、翻译及翻译后调控,以及 mRNA 的降解、蛋白的降解、修饰折叠等因素相关,具体原因还需进一步研究探讨。

AR 是大鼠交感神经元的主要酶,AR 抑制剂可以降低 3,4-二羟基苯基乙醇(DHPG)的水平,增加 2-(3,4-二羟基苯基)2-羟基-乙醛(DOPEGAL)的水平^[15]。本实验结果显示,模型组大鼠 AR 酶含量及基因表达显著下调。经过丁香酚治疗后,显著回调了 AR 酶表达量至正常水平,但基因表达却没有明显变化。甲基丁香酚将 AR 酶含量及基因表达均调控至正常水平。

本研究发现丁香酚与甲基丁香酚均可将焦虑大鼠血清中的 SIRT1、MAO-A、COMT、ALDH 与 AR 酶含量及海马体中相应的基因表达回调至正常水平。在行为学实验中,40 mg/kg 的丁香酚表现出明显的抗焦虑活性,甲基丁香酚则表现出抗焦虑作用

趋势,这似乎与之前的研究结果相悖,推测可能与给药剂量、实验动物差异及行为学实验结果的不稳定性有关。在行为学测试中,技术参数设置、检测流程、环境、动物的种属、性别等因素均会对实验结果产生影响^[35]。因此,甲基丁香酚是否具有明确的抗焦虑作用仍需要通过更多的行为学实验进行验证。此外,本研究仅对丁香酚和甲基丁香酚的抗焦虑作用机制进行了初步探索,发现两者通过调节单胺类神经递质代谢发挥作用,具体机制仍未阐明,尚待进一步研究。

丁香酚和甲基丁香酚可通过调节单胺类神经递质的代谢发挥抗焦虑作用,主要通过调控5-HT代谢通路中的SIRT1-MAO-A信号通路,以及影响儿茶酚胺类神经递质代谢通路中COMT、ALDH与AR代谢酶含量及相应的基因表达产生发挥作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rapaport M H, Clary C, Fayyad R, et al. Quality-of-life impairment in depressive and anxiety disorders [J]. *Am J Psychiatry*, 2005, 162(6): 1171-1178.
- [2] Ravindran L N, Stein M B. The pharmacologic treatment of anxiety disorders: a review of progress [J]. *J Clin Psychiatry*, 2010, 71(7): 839-854.
- [3] Sarris J, McIntyre E, Camfield D A. Plant-based medicines for anxiety disorders, part 1: a review of preclinical studies [J]. *CNS Drugs*, 2013, 27(3): 207-219.
- [4] 王小红, 张婵溪, 李贵云, 等. 天然小分子酚的抗焦虑作用研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(8): 1557-1565. Wang X H, Zhang C X, Li G Y, et al. Review on anxiolytic effect of natural small-molecule phenols [J]. *China J Chin Mater Med*, 2017, 42(8): 1557-1565.
- [5] 孙璐, 付茜, 张婵溪, 等. 野灯心草地上部分菲类成分及其抗焦虑作用研究 [J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(6): 1070-1074. Sun L, Fu Q, Zhang C X, et al. Phenanthrenes from aerial part of *Juncus setchuensis* with anxiolytic activity [J]. *China J Chin Mater Med*, 2016, 41(6): 1070-1074.
- [6] Khalil A A, Rahman U U, Khan M R, et al. Essential oil eugenol: sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(52): 32669-32681.
- [7] Ding J, Huang C, Peng Z, et al. Electrophysiological characterization of methyleugenol: a novel agonist of GABA(A) receptors [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2014, 5(9): 803-811.
- [8] 熊庭旺, 吴芹, 刘杰, 等. 基于神经递质途径抗焦虑中药及其复方研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(1): 14-19. Xiong T W, Wu Q, Liu J, et al. Research progress of effect of anxiolytic traditional Chinese medicines and formulas on neurotransmitters [J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45(1): 14-19.
- [9] Tunbridge E M, Harrison P J, Weinberger D R. Catechol-O-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond [J]. *Biol Psychiatry*, 2006, 60(2): 141-151.
- [10] Chester D S, DeWall C N, Derefinko K J, et al. Monoamine oxidase A (MAOA) genotype predicts greater aggression through impulsive reactivity to negative affect [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 283: 97-101.
- [11] Imai S, Armstrong C M, Kaeblerlein M, et al. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase [J]. *Nature*, 2000, 403(6771): 795-800.
- [12] Libert S, Pointer K, Bell E L, et al. SIRT1 activates MAO-A in the brain to mediate anxiety and exploratory drive [J]. *Cell*, 2011, 147(7): 1459-1472.
- [13] Käenmäki M, Tammimäki A, Myöhänen T, et al. Quantitative role of COMT in dopamine clearance in the prefrontal cortex of freely moving mice [J]. *J Neurochem*, 2010, 114(6): 1745-1755.
- [14] Gogos J A, Morgan M, Luine V, et al. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(17): 9991-9996.
- [15] Kawamura M, Eisenhofer G, Kopin I J, et al. Aldose reductase: an aldehyde scavenging enzyme in the intraneuronal metabolism of norepinephrine in human sympathetic ganglia [J]. *Auton Neurosci*, 2002, 96(2): 131-139.
- [16] Wood P L. Neurodegeneration and aldehyde load: from concept to therapeutics [J]. *J Psychiatry Neurosci*, 2006, 31(5): 296-297.
- [17] Ellis E M. Reactive carbonyls and oxidative stress: potential for therapeutic intervention [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 115(1): 13-24.
- [18] Lee S Y, Hahn C Y, Lee J F, et al. MAOA interacts with the ALDH2 gene in anxiety-depression alcohol dependence [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 34(7): 1212-1218.
- [19] 罗丹妮, 李瑛, 周思远. 高架十字迷宫在焦虑大鼠模型判定中的应用 [J]. *福建医科大学学报*, 2019, 53(2): 132-136. Luo D N, Li Y, Zhou S Y. Application of elevated cross maze in the determination of anxiety rat model [J]. *J Fujian Med Univ*, 2019, 53(2): 132-136.
- [20] Wang X H, Chen Y H, Wang Q, et al. Support for natural small-molecule phenols as anxiolytics [J]. *Molecules*, 2017, 22(12): E2138.

- [21] 王小红, 张婵溪, 翟海峰, 等. 6种儿茶酚衍生物对小鼠焦虑样行为的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(11): 4787-4789.
Wang X H, Zhang C X, Zhai H F, et al. Anxiolytic/anxiogenic effects of six catechol derivatives in mice [J]. CJTCMP, 2016, 31(11): 4787-4789.
- [22] Norte M C, Cosentino R M, Lazarini C A. Effects of methyl-eugenol administration on behavioral models related to depression and anxiety, in rats [J]. Phytomedicine, 2005, 12(4): 294-298.
- [23] Dallmeier Zelger K R, Zelger J L, Carlini E A. New anticonvulsants derived from 4-allyl-2-methoxyphenol (Eugenol): comparison with common antiepileptics in mice [J]. Pharmacology, 1983, 27(1): 40-49.
- [24] Sayyah M, Valizadeh J, Kamalinejad M. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole- and maximal electroshock-induced seizures [J]. Phytomedicine, 2002, 9(3): 212-216.
- [25] 陈兆斌, 张博, 刘秀敏, 等. 焦虑症发病机制的研究进展 [J]. 天津中医药, 2018, 35(4): 316-320.
Chen Z B, Zhang B, Liu X M. Research progress on the pathogenesis of anxiety [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2018, 35(4): 316-320.
- [26] Kumar J R, Rajkumar R, Lee L C, et al. Nucleus incertus contributes to an anxiogenic effect of buspirone in rats: Involvement of 5-HT_{1A} receptors [J]. Neuropharmacology, 2016, 110(Pt A): 1-14.
- [27] 陶惠康, 汤琴, 戴津津, 等. 多巴胺受体调节对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤后焦虑样行为的影响 [J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(10): 1045-1050.
Tao H K, Tang Q, Dai J J, et al. Impact of dopamine receptor modulation on reduced anxiety-like behavior in neonatal rats after hypoxic-ischemic brain damage [J]. Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(10): 1045-1050.
- [28] Gresack J E, Risbrough V B. Corticotropin-releasing factor and noradrenergic signalling exert reciprocal control over startle reactivity [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2011, 14(9): 1179-1194.
- [29] Rommelfanger K S, Weinschenker D. Norepinephrine: The redheaded stepchild of Parkinson's disease [J]. Biochem Pharmacol, 2007, 74(2): 177-190.
- [30] Molinoff P B, Axelrod J. Biochemistry of catecholamines [J]. Annu Rev Biochem, 1971, 40: 465-500.
- [31] 高力舒, 谢健. COMT基因多态性的研究进展 [J]. 国际精神病学杂志, 2010, 37(4): 212-215.
Gao L S, Xie J. Research progress of COMT gene polymorphism [J]. Inter J Psych, 2010, 37(4): 212-215.
- [32] Annerbrink K, Westberg L, Olsson M, et al. Association between the catechol-O-methyltransferase Val158Met polymorphism and panic disorder: a replication [J]. Psychiatry Res, 2010, 178(1): 196-198.
- [33] Xu K, Ernst M, Goldman D. Imaging genomics applied to anxiety, stress response, and resiliency [J]. Neuroinformatics, 2006, 4(1): 51-64.
- [34] Chen C H, Ferreira J C, Gross E R, et al. Targeting aldehyde dehydrogenase 2: new therapeutic opportunities [J]. Physiol Rev, 2014, 94(1): 1-34.
- [35] 尉强, 杨楠, 刘雁勇. 常见啮齿类动物行为学实验在抑郁症研究中的应用 [J]. 西藏科技, 2020(6): 10-13.
Wei Q, Yang N, Liu Y Y. Application of behavioral experiments of common rodents in depression research [J]. Tibet Sci Tech, 2020(6): 10-13.

[责任编辑 兰新新]