

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.10.010

白果内酯对慢性应激导致小鼠抑郁的保护作用及机制研究

杨程英, 惠爱玲, 吴泽宇, 张文成

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:为了探究白果内酯(BB)对抑郁小鼠的保护作用及其作用机制,文章以 40%白果内酯粗品为原料,通过分子印迹固相萃取法(molecular imprinting solid phase extraction, MISPE)制备纯度为 98.21%白果内酯。采用 6~8 周龄 ICR 小鼠 36 只,随机分为对照组、模型组、氟西汀组(10 mg/kg)、低剂量组(BB 3.5 mg/kg)、中剂量组(BB 7.0 mg/kg)、高剂量组(BB 14.0 mg/kg)6 组。除对照组外,其余组均通过慢性不可预测性轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型构建小鼠抑郁模型。实验过程中观察白果内酯干预后小鼠抑郁行为的变化,并记录小鼠体重。实验结束检测小鼠血清中炎症因子、脑组织内单胺类神经递质和海马区脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的相对表达量。研究发现,白果内酯的干预使得小鼠抑郁情况得到改善,能够显著降低炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的质量浓度,提高单胺类神经递质多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)和 5-羟色胺(5-HT)的质量比,并促进 BDNF 的表达。结果表明,白果内酯能够通过抑制炎症促进脑内单胺类神经递质的发生和 BDNF 的表达,从而发挥对抑郁小鼠的保护作用。

关键词:白果内酯(BB);慢性不可预测性轻度应激(CUMS)模型;抗抑郁;单胺类神经递质;脑源性神经营养因子(BDNF)

中图分类号:R915

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2024)10-1362-06

Protective effect and mechanism of bilobalide on depression induced by chronic stress in mice

YANG Chengying, HUI Ailing, WU Zeyu, ZHANG Wencheng

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: In order to clarify the protective effect of bilobalide(BB) on depressed mice as well as its mechanism, BB with a purity of 98.21% was prepared from 40% BB by molecular imprinting solid phase extraction(MISPE). Thirty-six ICR mice aged six-to-eight weeks were randomly divided into six groups: control group, model group, fluoxetine group(10 mg/kg), low, middle and high dose groups of BB(3.5, 7.0 and 14.0 mg/kg). Except for the control group, the depression models of mice were established by chronic unpredictable mild stress(CUMS) model. In the course of the experiment, the changes of depression in mice after BB intervention were observed, and the body weight of mice was recorded. At the end of the experiment, the contents of inflammatory factors in serum, monoamine neurotransmitters in brain and brain-derived neurotrophic factor(BDNF) in hippocampus were measured. The results showed that BB could improve the depression of mice, significantly reduce the contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6(IL-6), increase the contents of

收稿日期:2022-04-22;修回日期:2022-05-30

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(1808085MC77);阜阳市科技重大专项揭榜挂帅类资助项目(FKJB202105)

作者简介:杨程英(1996—),女,山东烟台人,合肥工业大学硕士生;

张文成(1973—),男,山东栖霞人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师,通信作者, E-mail:zwc1012@163.com.

monoamine neurotransmitters dopamine(DA), norepinephrine(NE) and serotonin(5-HT), and promote the expression of BDNF. In general, BB can play a protective role in depressed mice by inhibiting inflammation, promoting the production of monoamine neurotransmitters in brain and promoting the expression of BDNF.

Key words: bilobalide(BB); chronic unpredictable mild stress(CUMS) model; antidepressant; monoamine neurotransmitters; brain-derived neurotrophic factor(BDNF)

抑郁症是一种以心境低落和快感缺乏为主要特征的在医学上非常常见的情感性精神疾病,给家庭和社会都带来了极大的精神负担和危害^[1]。主要表现为情绪压抑、悲观和沮丧^[2]。近年来,由于慢性压力等其他诱因,抑郁症患者人数在不断增长,世界上平均每年有 11.2%的成年人^[3]患有抑郁性障碍。因此,对抑郁症发病机制和治疗方法的探究是很有必要的。

慢性不可预测性轻度应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型采用多种应激源进行刺激,导致动物出现快感缺乏、运动倾向减弱、学习记忆力降低、体力减少等行为学范畴的不正常反应。构建该模型时可根据季节、动物种类、性别、年龄等差异进行调节,这种不确定性与人类抑郁症患者应激反应机制有一定程度的相似性^[4],且在重复实验时发现仍可实行,因此选用该模型评价白果内酯(BB)的药效反应。

银杏叶中的萜内酯类化合物是其活性成分之一^[5],主要为二萜类银杏内酯和倍半萜类白果内酯^[6](BB),BB的活性作用众多,尤其在神经系统的保护方面表现出高生物活性^[7]。近年来,BB在抗焦虑、改善认知能力缺陷^[8]等方面受到研究者的关注,然而在对抑郁症的预防和改善作用方面的报道较少,故本文通过 CUMS 模型构造小鼠抑郁模型,观察 BB 对 CUMS 小鼠抑郁行为的改善作用,对炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的质量浓度,单胺类神经递质多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)和 5-羟色胺(5-HT)质量比以及脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达的影响。探究 BB 对 CUMS 小鼠抗抑郁的作用效果和可能机制。为 BB 作为治疗抑郁症的潜在药物提供理论依据,为临床上对抑郁症的防治提供新的治疗思路。

1 实验材料及方法

1.1 主要试剂及材料

BDNF 单克隆抗体(货号 ab205067)(Ab-

cam); HSP90 多克隆抗体(货号 13171-1-AP)(Proteintech); TNF- α 、IL-6 ELISA 试剂盒(上海泛柯生物科技有限公司);纯度为 40%的白果内酯粗提物(合肥拓峰生物工程公司);白果内酯晶体、多巴胺盐酸盐、去甲肾上腺素、5-羟色胺盐酸盐(南京广润生物科技有限公司);多壁碳纳米管和金属有机框架复合材料聚合物(MWCNTs/ZIF-67@MIPs)实验室自制;盐酸氟西汀(山东力诺制药有限公司);ICR 小鼠(安徽医科大学实验动物中心),生产许可证号 scxk(皖)2017-001。

1.2 白果内酯的分离纯化

BB 的分离纯化参考文献^[9]进行。采用干法装固相萃取柱(solid phase extraction, SPE)将聚乙烯筛板放置 6 mL SPE 柱底部,将 50 mg MWCNTs/ZIF-67@MIPs 用小长颈漏斗加入 SPE 柱中,放入聚乙烯筛板。装柱结束后在柱中注入 6 mL 超纯水,待水流尽后缓缓加入甲醇溶液,甲醇活化后将 6 mL 的 BB 粗提物溶液缓慢注入分子印迹固相萃取(molecular imprinting solid phase extraction, MISPE)柱中。上样结束后用氯仿做淋洗剂进行淋洗。最后用 8 mL 甲醇与乙酸混合溶液(体积比为 8:2)进行洗脱。重复萃取 3 次后用高效液相色谱(蒸发光检测器)测得白果内酯纯度为 98.21%。

1.3 分组、构建模型及给药

小鼠随机分为 6 组,每组 6 只,分别为对照组(生理盐水, 10 mL/kg)、模型组(生理盐水, 10 mL/kg)、氟西汀组(10 mg/kg)、低剂量组(BB 3.5 mg/kg)、中剂量组(BB 7.0 mg/kg)和高剂量组(BB 14.0 mg/kg)。小鼠适应环境 7 d 后进行模型构建, CUMS 模型开始建立的同时每天 8:00—9:00 对各组小鼠进行灌胃给药干预。CUMS 模型搭建期间 11 种应激源随机分配,每天 2 种应激,同一种应激至少需间隔 1 d,每种应激至少出现 3 次^[10]。应激源:禁食(24 h),禁水(24 h),夹尾(2 min),摇晃鼠笼(5 min),垫料潮湿(24 h),倾斜鼠笼(24 h, 45°),昼夜颠倒(24 h),束缚(2 h),强光射眼(5 min),4 °C 冷水游泳,

45 °C 热水游泳。为后续行为学指标的顺利测定,建模最后一天即第 21 天全部禁食、禁水。

1.4 行为学实验检测小鼠抑郁情况

糖水偏好实验(sucrose preference test, SPT)于构建模型的第 19 天开始,在每个笼子里放置 2 瓶 1% 的糖水溶液 24 h,然后将其中一瓶糖水溶液换成水再放置 24 h。小鼠适应糖水溶液后禁食禁水 24 h,然后给每个笼子放置 2 个瓶子,一个瓶子里有 1% 糖水溶液,另一个瓶子里有水。记录糖水溶液和水溶液的体积,每隔 6 h 调换 2 个瓶子的位置,防止产生位置偏好。实验进行 12 h 后重新记录瓶子内溶液的数值,通过记录饮用数据的差异反映抑郁状态。糖水偏好(sucrose preference, SP)指数计算公式为:

$$\varphi = [V_{糖水} / (V_{糖水} + V_{水})] \times 100\% \quad (1)$$

其中, V 为小鼠摄入溶液的体积。

悬尾实验(tail suspension test, TST)开始时用胶布在距离小鼠尾巴尖端 1 cm 处将小鼠头部向下悬挂于高度可以调节的宽 20 cm 的 H 形支架上,小鼠头部距离桌面 10 cm。用计时器计时 6 min,统计后 4 min 内小鼠静止不动时间。测试结束后将小鼠放回笼子。

强迫游泳实验(forced swimming test, FST)开始前在高 20 cm、直径 14 cm 的圆柱形玻璃缸内装 25 °C 的温水,缸中水深使小鼠后爪刚触及水底,但又不能支撑身体。小鼠在缸中游泳 6 min,计时器统计后 4 min 内小鼠静止不动时间。测试结束后小鼠放在棉垫上热风烘干后放回笼子。

模型构建开始的第 1 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天称量并记录小鼠的体质量,比较组间差异和每组小鼠不同阶段的体质量变化。

1.5 小鼠血清中炎症因子的检测

实验结束后取眼球血,25 °C 环境静置 20 min,配平后放置离心机中 4 000 r/min 离心 3 min,取上清液用于酶联免疫吸附(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA) 试验。使用商用 ELISA 试剂盒测量血清中 TNF- α 、IL-6 的质量浓度,根据试剂盒说明书进行实验操作。

1.6 小鼠脑组织中单胺神经递质的检测

取血后的小鼠采取颈椎断头法处理,迅速完整取出脑组织,同时用生理盐水反复清洗,吸干水分、称重,置于离心管内,加入酸性正丁醇搅拌均匀备用,离心 5 min 获得上清液(4 000 r/min),使用荧光分光光度计分别测定 DA、NE、5-HT 的质量比,其计算公式为:

$$\omega = \frac{F_{样品} - F_{组织空白}}{F_{标准品} - F_{试剂空白}} \cdot \frac{c_{标准品} V_{标准品}}{m_{脑组织}} \times 1.5 \times 10^3 \quad (2)$$

其中: F 为荧光强度; $c_{标准品}$ 为液体浓度; $V_{标准品}$ 为液体体积; $m_{脑组织}$ 为脑组织质量。

1.7 小鼠海马区 BDNF 的检测

取出的脑组织后分离海马进行蛋白质印迹(western blot, WB)实验,取 30 mg 海马组织倒入 2 mL 离心管中,加入 500 μ L 裂解液和钢珠,50 Hz 研磨 5 min,于 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,随后通过 BCA 法测蛋白浓度,定量检测 50 μ g 蛋白中 BDNF 蛋白的表达,先于 100 °C 热变性 5 min,随后上样,跑胶,转膜,脱脂牛奶室温封闭 2 h, BDNF、HSP90 一抗过夜孵育, PBS 清洗 3 次,每次 8 min,对应二抗于室温孵育 30 min, PBS 清洗 3 次,每次 8 min,最后使用 ECL 显色液在曝光机中曝光。

1.8 统计学处理

实验数据均以(平均值 \pm 标准差)表示。采用单因素方差法分析多组之间的差异,两组分之间使用 t 检验法比较。与对照组相比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。所有实验至少平行 3 次($n \geq 3$)。

2 结果与讨论

2.1 BB 对 CUMS 小鼠 SPT 的影响

为评估 BB 对抑郁小鼠快感缺失的影响,对 CUMS 小鼠进行 SPT 实验,结果见表 1 所列。

表 1 BB 对 CUMS 小鼠糖水偏好的影响

组别	剂量/(mg/kg)	SP 指数/%	SP 增加率/%
对照组		(81.27 \pm 7.01)	152.00
氟西汀组	10	(72.38 \pm 6.27)**	93.43
模型组		(44.92 \pm 9.21)##	
低剂量组	3.5	(55.03 \pm 5.76)	66.86
中剂量组	7.0	(61.08 \pm 6.72)*	63.71
高剂量组	14.0	(68.58 \pm 11.54)**	90.57

从表 1 可以看出:模型组小鼠相比对照组 SP 指数极显著下降($P < 0.01$),对糖水的甜味兴奋能力减弱,表明模型构建成功;经过 BB 处理后高剂量组相较于模型组,糖水 SP 指数极显著提高($P < 0.01$),表明 BB 能够在建模过程中保护小鼠,减弱其抑郁行为;但低剂量组小鼠 SP 指数上升不明显($P > 0.05$),表明 BB 对抑郁小鼠的保护作用需要在一定的剂量下起作用。

2.2 BB 对 CUMS 小鼠 TST 的影响

为评估 BB 对抑郁小鼠运动倾向和运动能力

的作用,对 CUMS 小鼠进行 TST 实验,结果见表 2 所列。由表 2 可知,与对照组相比,模型组小鼠的 TST 不动时间显著增长($P < 0.05$),表明经过建模后小鼠运动倾向减弱,抑郁行为明显;相比于模型组,高剂量组的 TST 不动时间极显著降低($P < 0.01$),表明小鼠抑郁行为得到了明显的改善,运动能力增强;中剂量组小鼠的不动时间与模型组相比显著下降($P < 0.05$),说明 BB 有效逆转了小鼠因抑郁导致的习得性无助感。

表 2 BB 对 CUMS 小鼠 TST 不动时间的影响

组别	剂量/ (mg/kg)	TST 不动时间	
		数值/s	减少率/%
对照组		(62.67±7.36)	22.46
氟西汀组	10	(51.33±7.42)**	36.48
模型组		(80.81±4.22)#	
低剂量组	3.5	(86.22±9.18)	-6.68
中剂量组	7.0	(72.07±10.04)*	10.82
高剂量组	14.0	(55.98±6.96)**	30.73

2.3 BB 对 CUMS 小鼠 FST 的影响

为评估 BB 对抑郁小鼠在无可回避的压迫环境下行为绝望的影响,对 CUMS 鼠进行 FST 实验,结果见表 3 所列。

表 3 BB 对 CUMS 小鼠 FST 不动时间的影响

组别	剂量/ (mg/kg)	FST 不动时间	
		数值/s	减少率/%
对照组		(65.12±14.50)	28.15
氟西汀组	10	(64.95±20.28)*	28.34
模型组		(90.63±15.48)##	
低剂量组	3.5	(83.08±9.61)*	8.33
中剂量组	7.0	(70.42±15.50)*	22.31
高剂量组	14.0	(65.63±8.23)*	27.58

从表 3 可以看出:与对照组相比,模型组中小鼠的 FST 不动时间极显著提高($P < 0.01$),表明经过建模后小鼠求生欲大幅降低,运动能力显著下降;与模型组相比,低、中、高剂量组均能显著降低小鼠的 FST 不动时间($P < 0.05$),表明经过 BB 干预能够显著缓解抑郁小鼠的求生欲降低现象;3 组 FST 不动时间减少率分别为 8.33%、22.31%、27.58%,随 BB 剂量的增大 FST 不动时间减少率也随之增加,表明 BB 对抑郁小鼠的保护作用效果可能与剂量呈正相关。

2.4 BB 对 CUMS 小鼠体质量的影响

为分析抑郁小鼠在 BB 干预下食欲减弱和心情抑郁造成体质量的变化,模型构建过程中记录不同时间小鼠的体质量,如图 1 所示。从图 1 可

以看出,建模初各组小鼠平均体质量接近,随建模时间的增长各组小鼠平均体质量差异越来越明显。与对照组小鼠相比,模型组小鼠在第 7 天、第 14 天和第 21 天体质量均极显著降低($P < 0.01$),表明建模期间模型组小鼠未经药物干预食欲减退明显、心情持续低落,最终导致体质量增长缓慢。高剂量组小鼠较模型组第 14 天体质量显著增长($P < 0.05$),第 7 天、第 21 天体质量极显著增长($P < 0.01$),表明经过 BB 的干预,小鼠食欲明显好转,食量增加使得体质量增加显著。与模型组小鼠相比,氟西汀组小鼠第 7 天、第 14 天平均体质量无显著增长($P > 0.05$),第 21 天平均体质量极显著增长($P < 0.01$),说明氟西汀药物虽然能够保护抑郁小鼠,在 SPT、TST 和 FST 表现明显的抑郁改善作用,但在服用氟西汀药物的前期可能会影响小鼠食欲,使小鼠机体适应较慢,导致药物见效较缓慢。

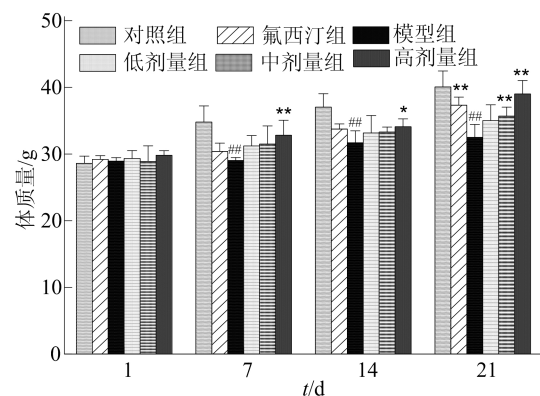


图 1 实验期间小鼠的体质量变化

2.5 BB 对 CUMS 小鼠血清中炎症因子的影响

为进一步评估 BB 对小鼠体内炎症的影响,取小鼠血清通过 ELISA 模型测量其炎症因子的质量浓度,如图 2 所示。由图 2a 可知:与对照组相比,模型组小鼠的 TNF- α 质量浓度极显著增大($P < 0.01$),平均质量浓度超过对照组的 2 倍,表明建模后模型组小鼠血清中 TNF- α 质量浓度急剧升高,除抑郁症外患其他疾病的风险也增大;经过 BB 的干预,高剂量组相较于模型组 TNF- α 质量浓度显著下降($P < 0.05$),表明 BB 对小鼠血清 TNF- α 有下调作用。由图 2b 可知:与对照组相比,模型组小鼠 IL-6 质量浓度显著上升($P < 0.05$),表明建模使小鼠体内炎症因子水平迅速增加;与模型组相比,高剂量组小鼠 IL-6 质量浓度显著降低($P < 0.05$),低剂量组和中剂量组 IL-6

质量浓度下降不显著($P>0.05$),表明 BB 能够在一定程度上对血清中的 IL-6 起到抑制作用;高剂量的 BB 干预能够显著降低小鼠血清炎症因子的水平和小鼠患抑郁症的风险。

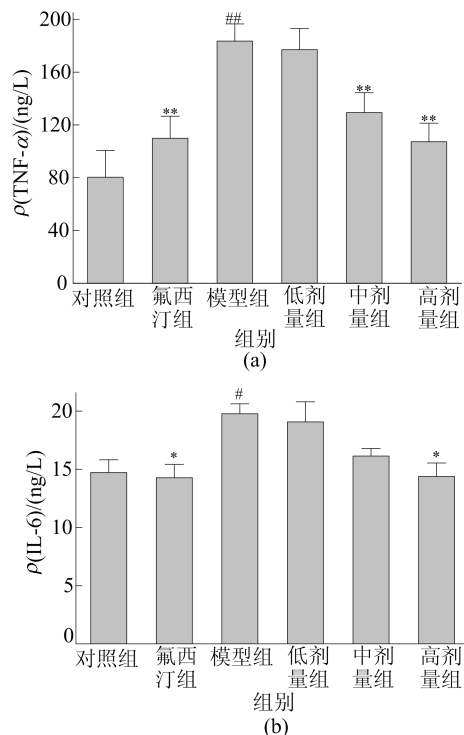


图 2 BB 干预对 CUMS 小鼠血清中炎症因子的影响

2.6 BB 对 CUMS 小鼠单胺神经递质的影响

抑郁症的神经递质假说认为其发生与 DA、NE、5-HT 的质量比有关^[11],为评估 BB 对抑郁小鼠的作用效果,确定其作用机制,检测小鼠脑中 DA、NE、5-HT 的质量比,如图 3 所示。

由图 3a 可知:与对照组相比,模型组小鼠脑组织内 DA 质量比极显著降低($P<0.01$),表明 CUMS 建模成功使小鼠抑郁,脑中 DA 质量比迅速降低;与模型组相比,中剂量组和高剂量组小鼠脑组织中 DA 质量比极显著增加($P<0.01$),表明 BB 干预可以极显著提高小鼠大脑内 DA 的质量比,保护小鼠降低患抑郁症的机率。

由图 3b 可知:与对照组相比,模型组小鼠 NE 质量比极显著下降($P<0.01$),验证了神经递质假说,建模成功的小鼠脑中神经递质的质量比急剧下降;与模型组相比,低、中、高剂量组小鼠脑组织中 NE 质量比均极显著增加($P<0.01$),表明 BB 促进小鼠脑组织中 NE 的生成与剂量相关性不高,低剂量 BB 仍能起到良好的效果。

由图 3c 可知:与对照组相比,模型组小鼠脑

组织内 5-HT 质量比极显著降低($P<0.01$),表明建模成功后的模型组小鼠脑组织内 5-HT 质量比大幅降低,影响小鼠正常生活;与模型组相比,中、高剂量组小鼠脑组织中 5-HT 质量比极显著增加($P<0.01$),表明 BB 干预可以极显著提升小鼠大脑内 5-HT 的质量比,保护小鼠降低患抑郁症的机率。综合来说,一定剂量的 BB (≥ 7.0 mg/kg)可以有效地改善小鼠脑内 DA、NE、5-HT 的质量比,从而逆转 CUMS 小鼠的抑郁。

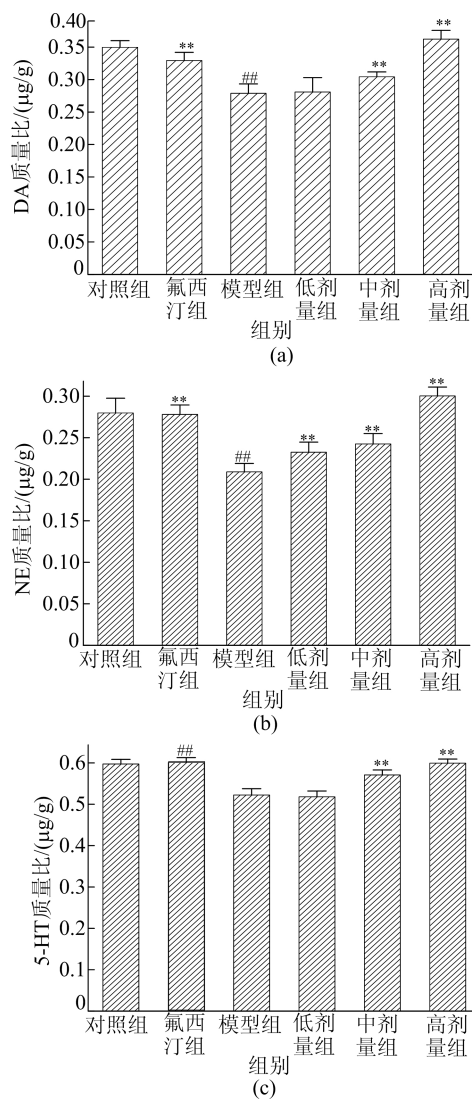


图 3 BB 干预对 CUMS 小鼠脑组织中单胺神经递质的影响

2.7 BB 对 CUMS 小鼠海马中 BDNF 的影响

BDNF 是与抑郁症密切相关的蛋白质,在认知、学习和记忆等方面起着重要作用^[12]。为确定 BB 对 CUMS 小鼠的作用机制,取小鼠海马进行 WB 实验检测各组 BDNF 的表达,如图 4 所示。由图 4 可知:模型组小鼠相较于对照组,BDNF 相对表达量极显著降低($P<0.01$),表明 CUMS 建

模使小鼠脑中 BDNF 相对表达量骤减,严重影响了小鼠的学习和记忆能力;经过 BB 干预后,低、中、高剂量组小鼠海马中 BDNF 相对表达量均极显著增加($P < 0.01$),且 BB 剂量越高 BDNF 相对表达量恢复越明显,表明 BB 能够高效促进 BDNF 的表达,并且呈现一定的剂量依赖性,这可能是 BB 保护抑郁小鼠的作用机制之一。

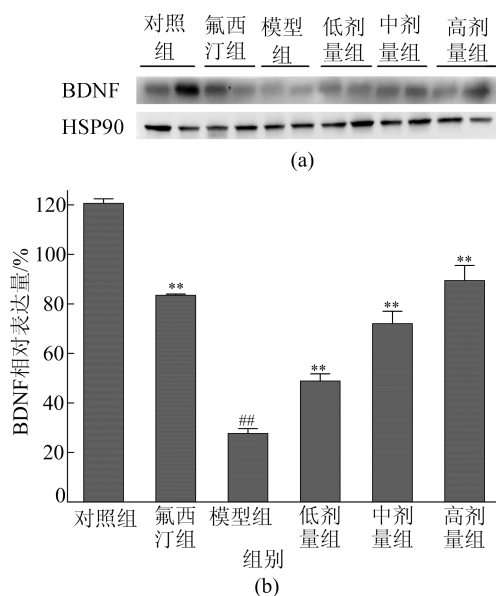


图 4 BB 干预对 CUMS 小鼠海马中 BDNF 的影响

3 结 论

本文通过 CUMS 模型构建小鼠抑郁模型,小鼠的行为学检测结果显示模型组小鼠较对照组 SP 指数显著下降, TST、FST 不动时间显著提高,说明模型构建成功。经过 BB 干预后,中、高剂量组能够明显缓解小鼠的抑郁样行为,显著提升小鼠 SP 指数,缩短 TST、FST 不动时间。说明 BB 的干预能够在一定程度上抑制小鼠大脑对快感的缺失,治疗 CUMS 小鼠的抑郁样行为。通过检测小鼠血清中炎症因子的质量浓度发现,高剂量组小鼠血清中炎症因子 TNF- α 、IL-6 的质量浓度显著降低,表明当 BB 剂量为 14.0 mg/kg 时,对抑郁模型小鼠炎症的抑制作用最好。

为确定 BB 的作用机制检测小鼠脑组织中单胺神经递质的质量比,发现经过 BB 干预后,低、中、高剂量组 DA、NE、5-HT 质量比较模型组均有极显著提升,说明 BB 可以通过提高小鼠大脑 DA、NE、5-HT 的质量比逆转 CUMS 小鼠的抑郁行为表现。进一步检测小鼠海马中 BDNF 的表达,发现经 BB 处理后的各组 BDNF 相对表达量

均显著增长,说明 BB 可能通过调节海马区 BDNF 的表达起到减轻小鼠抑郁的作用。

本文不仅验证了抑郁症的单胺类神经递质假说,也证明了 BB 能够缓解 CUMS 小鼠的抑郁样行为,其机制可能与调节小鼠大脑单胺神经递质 DA、NE、5-HT 质量比、促进海马区 BDNF 的表达有关。该发现为进一步深入探讨 BB 抗抑郁作用机制提供了理论基础,也为 BB 作为天然抗抑郁药物的研究与开发奠定了基础。

[参 考 文 献]

- [1] 任非非. 基于 AMPK/SIRT1/PGC-1 α 通路研究醒脾解郁方对抑郁大鼠海马神经元突触重塑的影响[D]. 北京:北京中医药大学,2021.
- [2] ZHAI X J, CHEN F, CHEN C, et al. LC-MS/MS based studies on the anti-depressant effect of hypericin in the chronic unpredictable mild stress rat model[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015, 169:363-369.
- [3] KESSLER R C, BERGLUND P, DEMLER O, et al. The epidemiology of major depressive disorder-results from the National Comorbidity Survey replication (NCS-R)[J]. *Journal of the American Medical Association*, 2003, 289(23): 3095-3105.
- [4] 王子元. 急性应激障碍向创伤后应激障碍发展模型的建立及机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2021.
- [5] BEEK T, MONTORO P. Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(11): 2002-2032.
- [6] 李从文, 谭文莉, 魏云林. 银杏内酯的研究进展[J]. *基因组学与应用生物学*, 2020, 39(5): 2216-2221.
- [7] 唐远鹏. BB 耐缺氧、抗疲劳、抗氧化作用的研究[D]. 南昌:南昌大学,2015.
- [8] 余俊键, 陈瑜, 杨升平. 白果内酯对大鼠心肌抗氧化机制的初步研究[J]. *医学信息*, 2019, 32(19): 91-93.
- [9] 黄徐胜. 分子印迹固相萃取分离纯化白果内酯及抗抑郁作用研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2021.
- [10] PAPP M, GRUCA P, FARON-GORECKA A, et al. Genomic screening of wistar and Wistar-Kyoto rats exposed to chronic mild stress and deep brain stimulation of prefrontal cortex[J]. *Neuroscience*, 2019, 423:66-75.
- [11] LAMERS F, BEEKMAN A T F, VAN HEMERT A M, et al. Six-year longitudinal course and outcomes of subtypes of depression [J]. *British Journal of Psychiatry*, 2016, 208(1): 62-68.
- [12] EGAN M F, KOJIMA M, CALLICOTT J H, et al. The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function [J]. *Cell*, 2003, 112(2): 257-269.

(责任编辑 闫杏丽)