

中國醫藥大學
China Medical University

「健廷活性肽對小鼠性功能及憂鬱模式抗憂鬱作用試驗」

委託單位：健廷生技實業有限公司

中 華 民 國 1 0 2 年 0 1 月 0 3 日



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	1/〇〇

目錄

目錄.....	0
簽署頁.....	2
實驗目的.....	3
實驗原理.....	4
實驗方法.....	6
實驗結果.....	9
結論.....	13
附件.....	14

中國醫藥大學 China Medical University

404-02 台中市北區學士路 91 號
(04)-2205-3366 #〇〇〇〇



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	2/00

簽署頁

計畫/檢驗名稱：	健廷活性肽對小鼠性功能及憂鬱模式抗憂鬱作用試驗
計畫編號：	
委託單位：	健廷生技實業有限公司
委託單位地址：	
執行單位：	中國醫藥大學
執行期間：	民國 101 年 8 月 01 日起至民國 101 年 12 月 31 日止

注意事項：

- 一、未獲中國醫藥大學書面同意，不得於其產品宣傳或包裝上使用任何「中國醫藥大學」等有關之字樣。
- 二、本報告所記載事項僅作為參考資料，不得作為廣告、出版物等商業宣傳推銷之用。
- 三、本報告所用樣品與名稱係由委方提供，本單位僅負責試驗分析。
- 四、本報告數據更正無效。
- 五、本檢測結果僅對受測樣品負責。
- 六、本報告內容以任何方式翻印或複印無效。
- 七、本報告中同一測試件（物品）之報告不得分離使用。

計畫主持人：_____102/01/03 執行機構：中國醫藥大學

中 華 民 國 1 0 2 年 0 1 月 0 3 日

中國醫藥大學 China Medical University

404-02 台中市北區學士路 91 號
(04)-2205-3366 #0000



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	3/○○

實驗目的

本實驗為探討健廷生技公司所提供之每日肽素產品健廷活性肽對小鼠性功能之影響及抗憂鬱作用。



中國醫藥大學 China Medical University

404-02 台中市北區學士路 91 號
(04)-2205-3366 #○○○○



實驗原理

壹、抗憂鬱試驗

一、強迫游泳實驗 (Forced Swimming Test ; FST)

Porsolt 在 1978 年提出的方法，利用動物在惡劣環境下，出現逃逸行為，當努力掙扎無效後，會呈現放棄狀態，這狀態稱之為行為絕望。方法為將大鼠或小鼠被迫侷限在透明圓柱桶裡游泳，老鼠會在水裡掙扎試圖逃脫，隨後會放棄掙扎而漂浮在水面上處於靜止不動的狀態。不動時間愈長顯示老鼠愈絕望。

二、尾部懸吊試驗 (Tail Suspension Test ; TST)

尾部懸吊試驗是 Steru 等人於 1985 所發明，小鼠尾巴被吊起而呈倒掛狀態懸於半空中，為克服不正常體位而掙扎扭動，但是幾分鐘之後，小鼠會變得無助而不再掙脫扭動，呈現失望之現象。此現象與強迫游泳試驗中的靜止不動很相似，且已廣泛用來評估抗憂鬱藥物的療效。

三、自發性運動量試驗 (Locomotor activity test)

抗憂鬱藥在無中樞興奮作用的劑量下，可劑量依賴性的減少不動時間，中樞興奮劑如 amphetamine、caffeine 在中樞興奮作用劑量下也可假陽性的減少不動時間，故須同時檢測藥物的中樞興奮作用，可用自發性活動或其他方法測定。



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	5/○○

本法有種屬差異，該注意考察所用種屬的敏感性，不敏感的種系，個體差異大，必要時請先篩選。動物水深為實驗關鍵，應避免大鼠或小鼠尾巴觸及水底。

貳、性功能試驗

性功能試驗是將 1 隻雄性小鼠與 3 隻雌性小鼠置於交配箱中，在弱光、安靜條件下進行，每日觀察時間自 17:00 至翌日上午 5:00，共 12 小時，觀察小鼠交配次數，若試驗藥品具有功效，則可以增加交配次數。



中國醫藥大學 China Medical University

404-02 台中市北區學士路 91 號

(04)-2205-3366 #○○○○



實驗方法

壹、抗憂鬱試驗

(1) 強迫游泳試驗 (Forced Swimming Test ; FST)

實驗分別給予小鼠不同劑量 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 每日肽素產品 60 分鐘後及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 30 分鐘後，進行第一次實驗。兩週長期給予不同劑量 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 後，再進行一次試驗。實驗時間為 6 分鐘，前 2 分鐘為適應期，記錄後 4 分鐘小鼠不動時間 (immobility time)。Immobility time 反應小鼠的絕狀行為而抗憂鬱藥能減少小鼠的 immobility time。

(2) 尾部懸吊試驗 (Tail Suspension Test ; TST)

實驗分別給予小鼠不同劑量 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 每日肽素產品 60 分鐘後及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 30 分鐘後，進行實驗。兩週長期給予 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 後，再進行一次試驗。實驗時間為 6 分鐘，前 2 分鐘為適應期，記錄後 4 分鐘小鼠不動時間 (immobility time)。

(3) 自發性運動量試驗 (Locomotor activity test)

實驗分別口服給予小鼠不同劑量 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 每日肽素產品



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	7/○○

60 分鐘後及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 30 分鐘後，進行實驗。兩週長期給予 (0.1, 0.5 及 2.5 g/kg, p.o.) 及 imipramine (10 mg/kg, i.p.) 後，再進行一次試驗，利用 TRU Scan™ photobeam sensor E63-12 之裝置，偵測其 rest time (休息時間)、total movement distance (總移動距離)、total movement time (攀爬移動時間) 及 total movement (總移動次數)，放入此裝置適應 2 分鐘後，再開始觀察並連續紀錄 5 分鐘。





貳、性功能試驗

一、小鼠交配試驗

取六週齡雄性小鼠，隨機分組，分成空白對照組(給予等體積的水)、每日肽素產品低劑量組(0.1 g/kg)、中劑量組(0.5 g/kg)及高劑量組 (1.0 g/kg)，每組各6隻雄性小鼠；另取六週齡雌性小鼠，隨機分成以上組別，每籠3隻，每組6籠。各組動物每天以口服給藥。試驗開始時將雄性小鼠放入交配箱中，每籠均有1隻雄性小鼠與3隻雌性小鼠，每日觀察時間自17:00至翌日上午5:00，共12小時，以攝影機記錄，試驗在弱光、安靜條件下進行，紀錄此時間內交配次數。

二、睪固酮含量試驗

睪固酮試驗是在小鼠交配試驗完成後，雄性小鼠以乙醚麻醉，由頸動脈採血，再以冷凍離心機於4°C下，每分鐘3000 rpm，離心10分鐘，分離血清，取上清液，以供測定血清中睪固酮含量。



實驗結果

壹、抗憂鬱試驗

一、強迫游泳試驗

將小鼠個別放置於水深 15 公分，水溫維持在 23-25°C 的透明玻璃圓柱容器裡（高度：25 公分，口徑：10 公分），老鼠會在水中掙扎試圖逃脫，努力無效後會放棄掙扎而在水面上呈現靜止不動的狀態。此狀態稱之為行為絕望（behavioural despair）。以每日肽素在強迫游泳下，比較一次及兩週長期給藥後的抗憂鬱作用比較。

由圖 1 結果顯示，一次給藥後，每日肽素產品中劑量 (0.5 g/kg)、高劑量 (2.5 g/kg) 及正對照組 imipramine (10 mg/kg) 均能明顯減少小鼠於強迫游泳中的不動時間。而兩週長期給藥後，中劑量 (0.5 g/kg)、高劑量 (2.5 g/kg) 及正對照組 imipramine (10 mg/kg) 均有效減少小鼠於強迫游泳中的不動時間(如圖 2 所示)。

二、尾部懸吊試驗

懸尾試驗是將小鼠尾部一公分黏貼膠帶，貼至離地面 50 公分高的壓克力箱，當小鼠被懸吊於半空中，為了克服不正常體位而掙扎，但努力無效後，小鼠會顯得無助而不再扭動。顯示絕望現象。此現象與強迫游泳試驗中的靜止不動很相似。以每日肽素在懸尾試驗下，比較一次及兩週長期給藥後的抗憂鬱作



用。

由圖 3 結果可知，一次給藥後，每日肽素產品中劑量 (0.5 g/kg)、高劑量 (2.5 g/kg) 及正對照組 imipramine (10 mg/kg) 均能明顯減少小鼠於懸尾試驗中的不動時間。而兩週長期給藥後，如圖 4 所示，每日肽素產品中劑量 (0.5 g/kg)、高劑量 (2.5 g/kg) 及正對照組 imipramine (10 mg/kg) 均有效減少小鼠於懸尾試驗中的不動時間。

三、自發性運動量試驗

由圖 5 及圖 6 結果顯示，一次給藥及兩週長期給予每日肽素產品，在自發性運動量試驗，均無影響小鼠 resting time (休息時間)、total movement distance (總移動距離)、total movement time (攀爬移動時間) 及 total movement (總移動次數)，顯示在口服給予的劑量下不會產生鎮靜的作用。



貳、性功能試驗

一、小鼠交配試驗

小鼠性功能試驗是以觀察雄性小鼠與雌性小鼠發生交配次數，每日觀察時間自 17:00 至翌日上午 5:00，共 12 小時，以攝影機記錄，實驗結果如圖 7 所示，中劑量 (0.5 g/kg) 及高劑量組 (2.5 g/kg) 之雄性小鼠交配次數明顯優於控制組，顯示每日肽素可以有效增加小鼠交配次數。

實驗過程中，觀察懷孕母鼠數，母鼠有無懷孕則是觀察其陰道有無陰道栓子產生，若有即可確定小鼠交配成功(如圖 8A&B)，給藥一週後開始統計懷孕母鼠隻數，結果如圖 9 所示，第 7 天每日肽素產品中劑量 (0.5 g/kg) 及高劑量組 (2.5 g/kg) 已懷孕之雌性小鼠隻數明顯高於控制組，第 9 天及第 11 天每日肽素產品高劑量組 (2.5 g/kg) 已懷孕之雌性小鼠仍明顯高於控制組，顯示服用每日肽素之小鼠其受孕機率較高。

懷孕之母鼠持續觀察，待仔鼠出生後，計算出生之仔鼠數量(如圖 8C)，結果顯示，各組間出生仔鼠數並無明顯差異(如圖 10)。

二、睪固酮含量試驗

小鼠交配試驗完成後，將雄性小鼠犧牲，採血取血清，測其血清中睪固酮含量，結果如圖 11 所示，結果顯示服用每日肽素產品中劑



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	12/〇〇

量 (0.5 g/kg) 及高劑量組 (2.5 g/kg) 之雄性小鼠，其血清中睪固酮含量明顯較控制組高，顯示每日肽素可有效提高雄性小鼠血清中睪固酮含量。



中國醫藥大學 China Medical University

404-02 台中市北區學士路 91 號

(04)-2205-3366 #〇〇〇〇



中國醫藥大學
China Medical University

報告編號：	(報告流水號)
報告頁碼：	13/○○

結論

本試驗以行為藥理試驗（動物行為絕望模式、自發性運動量試驗），探討抗憂鬱作用，結果顯示，口服每日肽素產品於小鼠 FST 及 TST 試驗中具有抗憂鬱的能力。

性功能試驗方面，口服每日肽素產品之雄性小鼠交配次數明顯優於控制組，顯示可以有效增加小鼠交配次數；懷孕之雌性小鼠隻數亦明顯高於控制組雌性小鼠，顯示口服每日肽素產品之雌性小鼠較易受孕，然而對於出生仔鼠數則無明顯差異。





附件

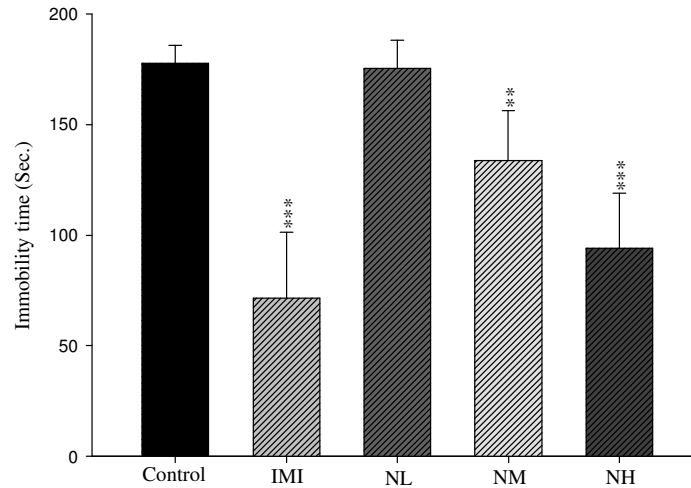


Fig. 1. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI, 10 mg/kg, i.p.) on the immobility time in the forced swimming test. The value are mean \pm SEM for each group (n= 10). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test)

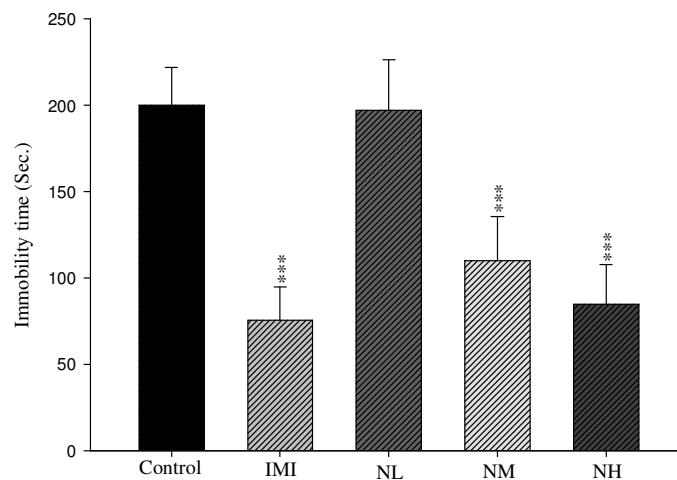


Fig. 2. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI, 10 mg/kg, i.p.) for two weeks administration on the immobility time in the forced swimming test. The value are mean \pm SEM for each group (n= 10). *** $p < 0.001$ as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test)

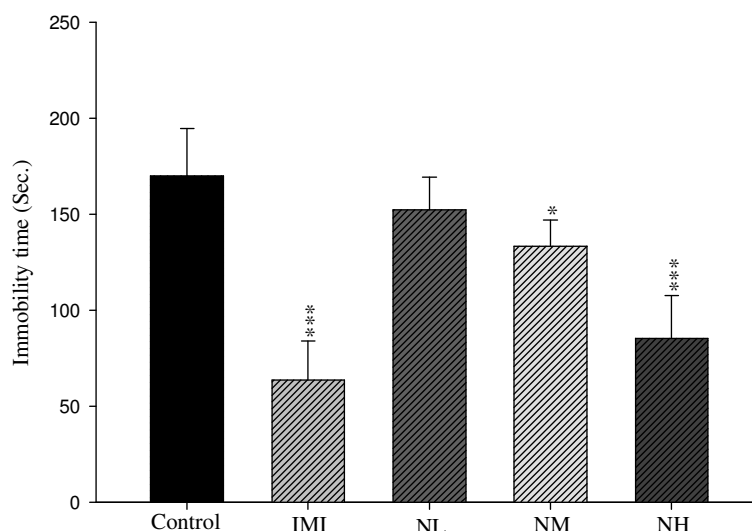


Fig 3. The effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI, 10 mg/kg, i.p.) on the immobility time in the tail suspension test. The value are mean \pm SEM for each group (n=10). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test).

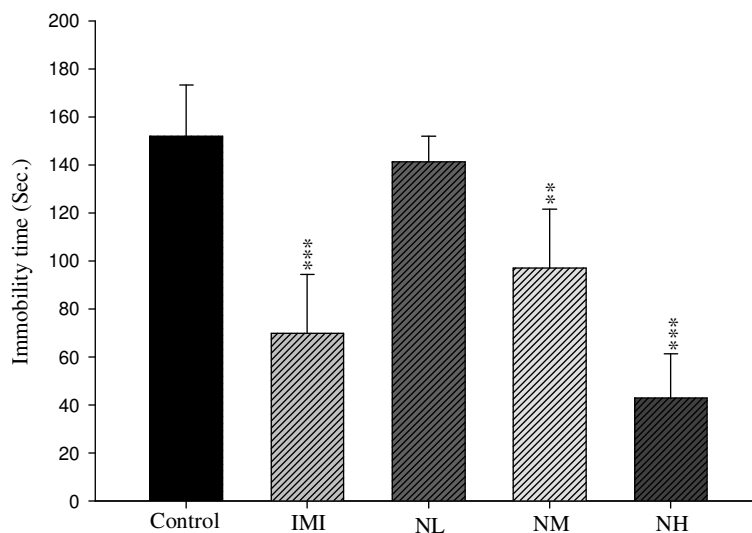


Fig 4. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI, 10 mg/kg, i.p.) for two weeks administration on the immobility time in the tail suspension test. The value are mean \pm SEM for each group (n=10). ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test).

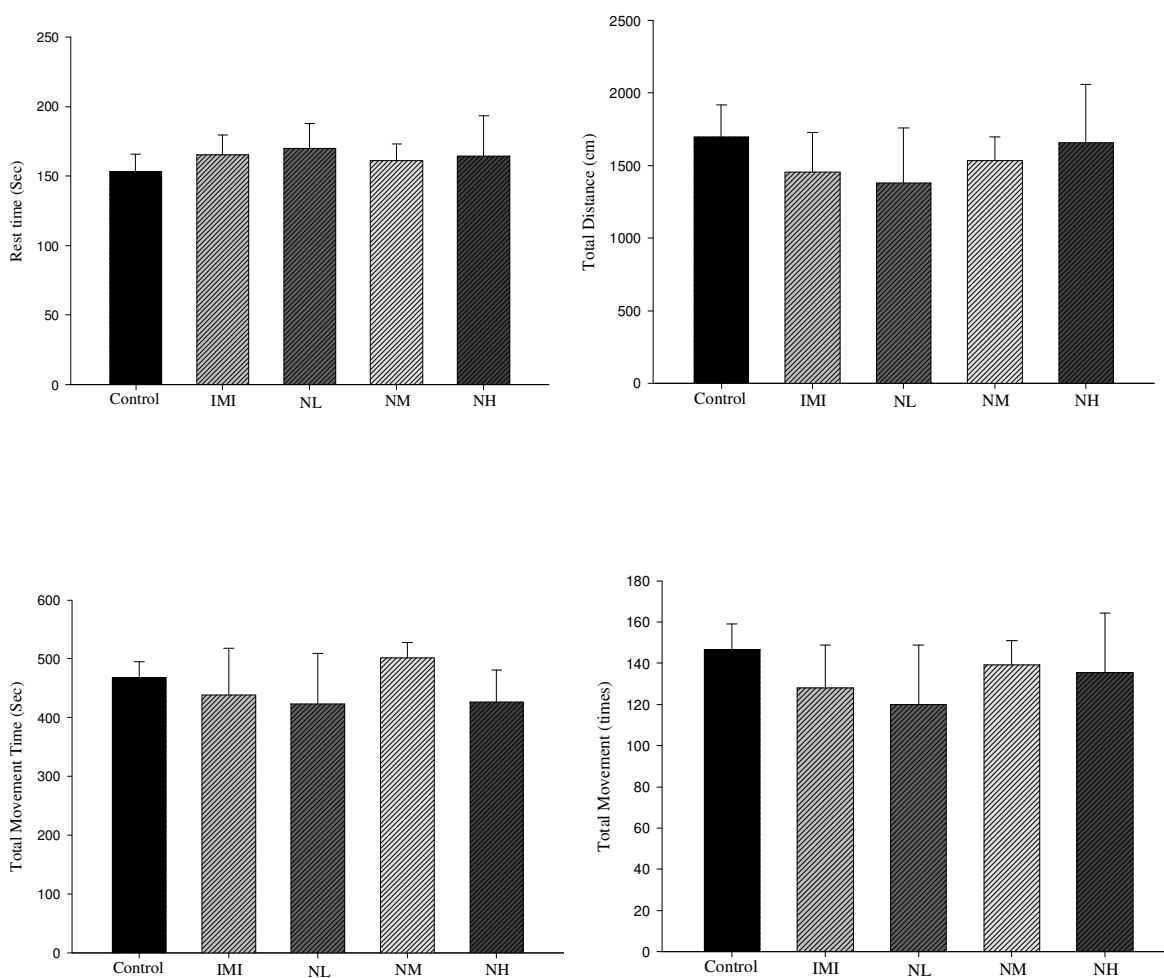


Fig 5. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI,10 mg/kg, i.p.) on resting time, total movement distance, total movement time and total movement in the locomotor. The value are mean \pm SEM for each group (n=10).

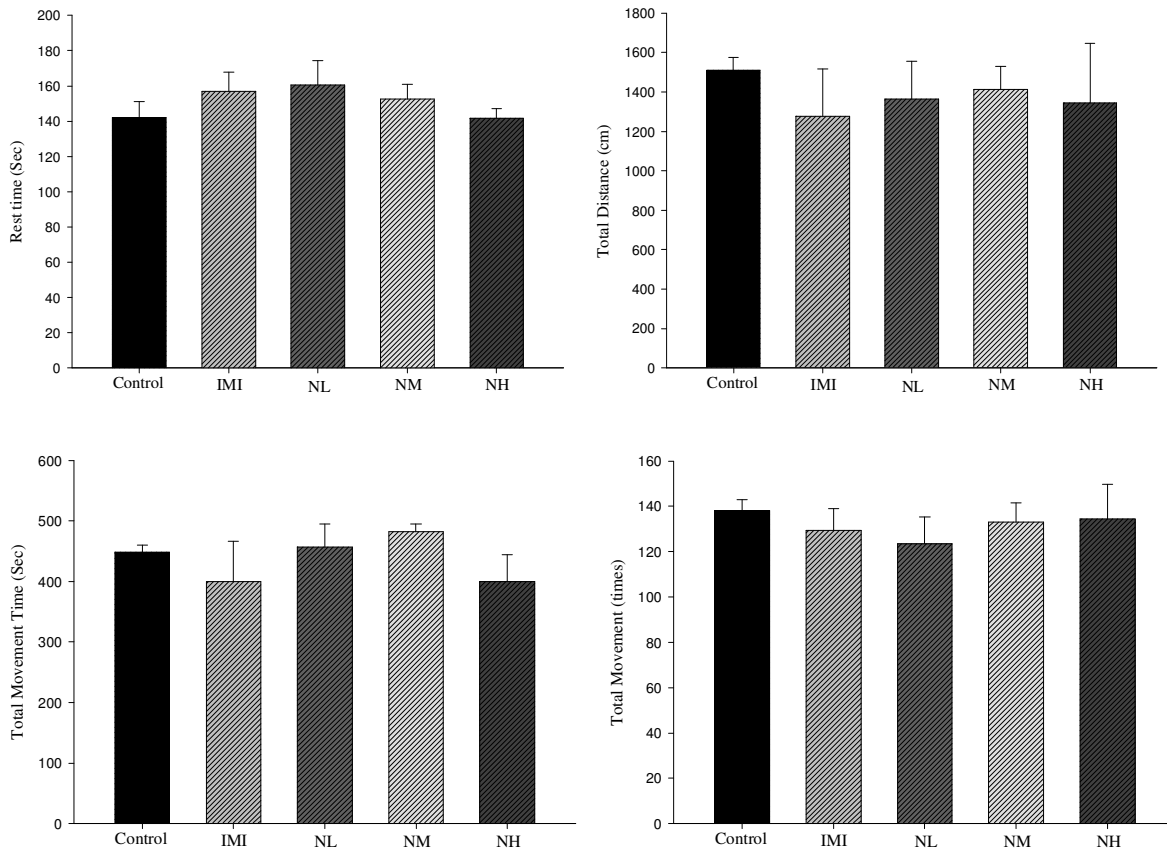


Fig 6. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) or Imipramine (IMI,10 mg/kg,i.p.) for two weeks administration on resting time, total movement distance, total movement time and total movement in the locomotor. The value are mean \pm SEM for each group (n=10).

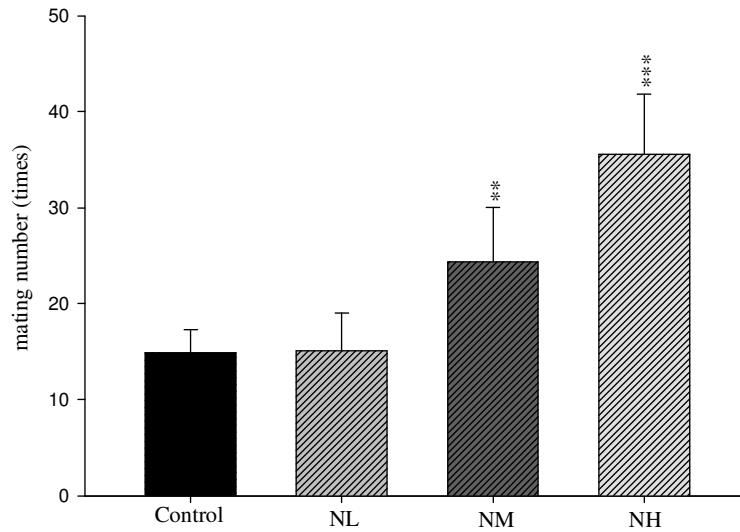


Fig 7. Effect of the peptide life (0.1, 0.5, 2.5 g/kg, p.o.) on mice mating numbers. The value are mean \pm SEM for each group (n=6). **p < 0.01, ***p < 0.001 as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test).



Fig 8. The observation of female mice. (A)Vagina plug (B)Pregnant female mice (C)New born mice °

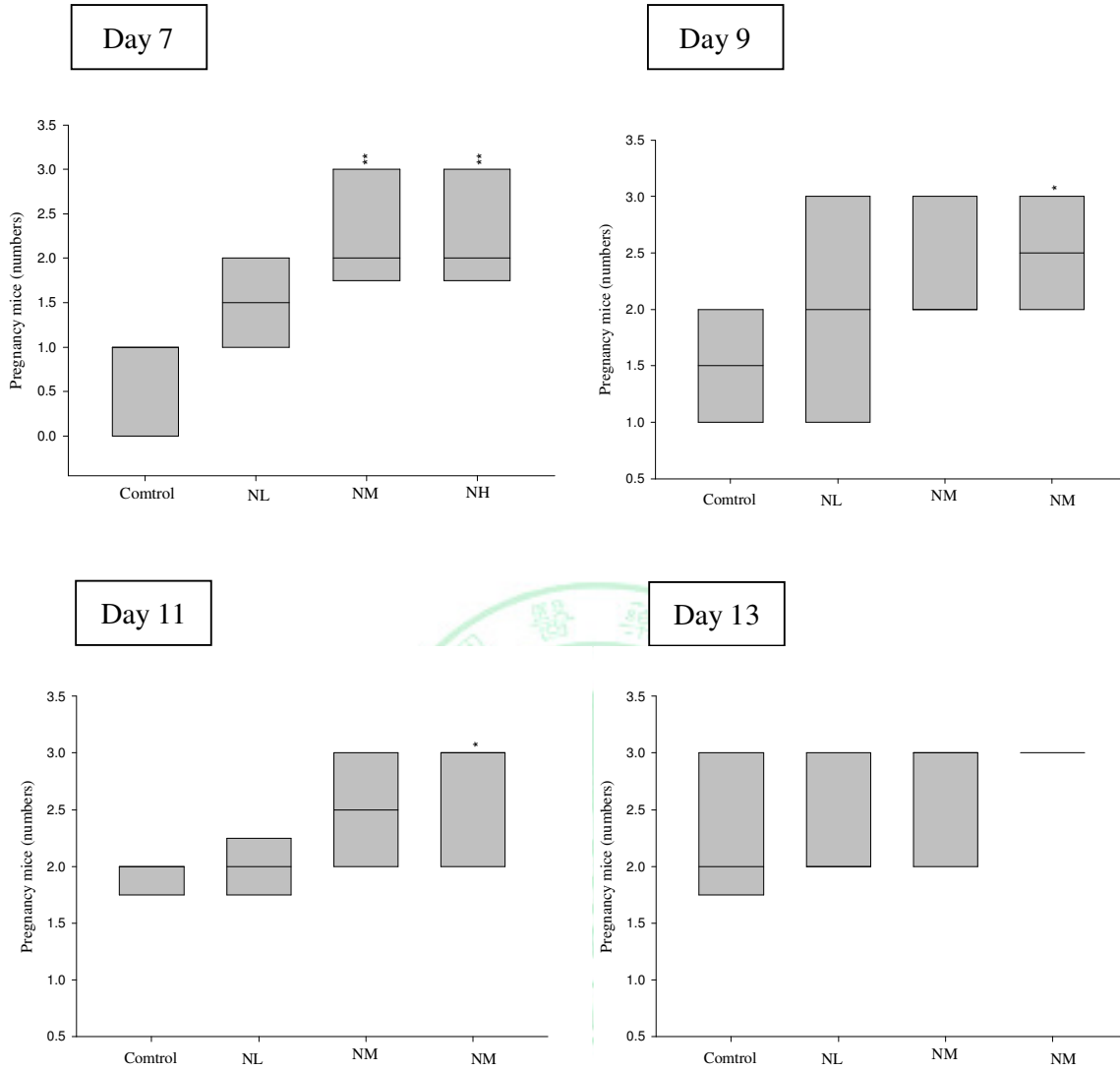


Fig 9. Effect of peptide life on the numbers of pregnancy mice at 7th, 9th, 11th, and 13th day after test. The value are mean \pm SEM for each group (n=6). *p < 0.05, **p < 0.01 as compared with control group.

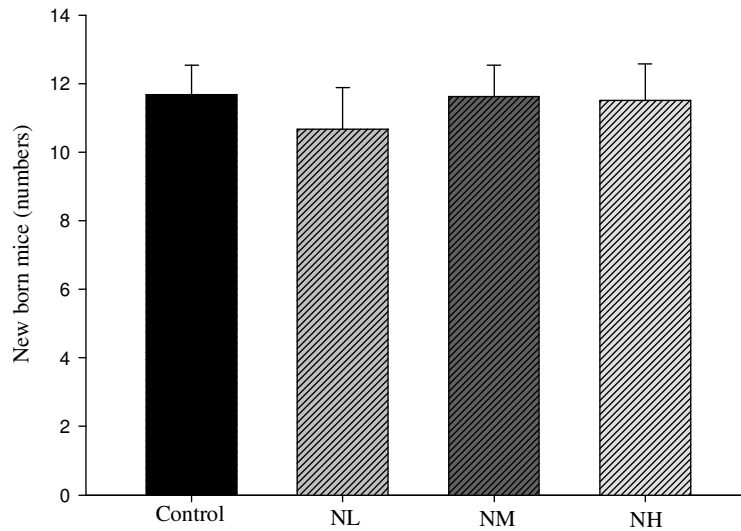
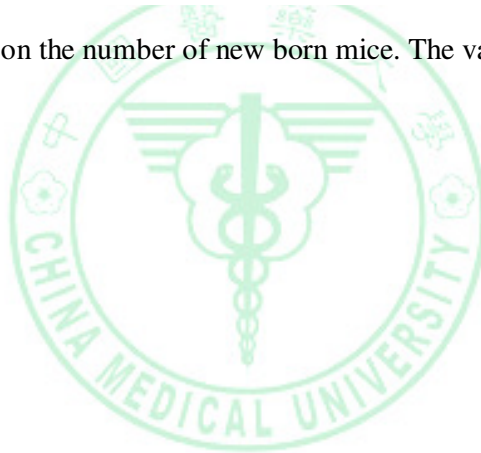


Fig. 10. Effect of peptide life on the number of new born mice. The value are mean \pm SEM for each group (n=6).



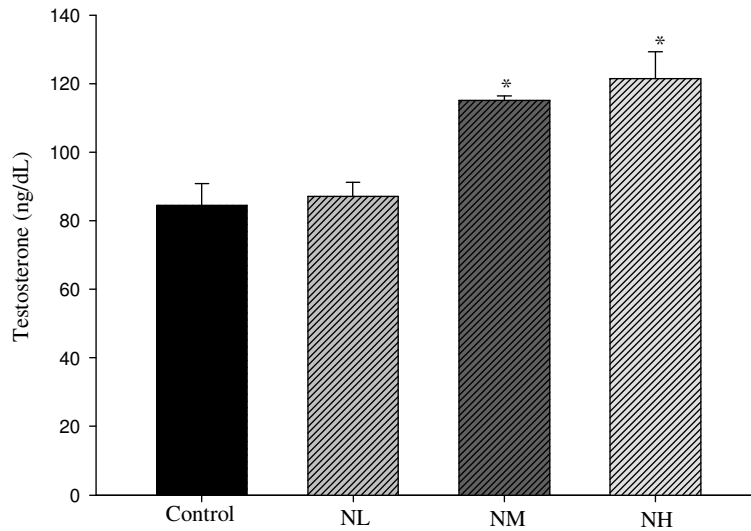


Fig 11. Effect of peptide life on the serum level of testosterone in male mice. The value are mean \pm SEM for each group (n=6). * $p < 0.05$ as compared with control group (One way ANOVA followed by Scheffe's multiple range test).