

刺五加注射液UPLC-MS成分分析及其抗抑郁作用研究

严妍¹, 李杏花², 王旭¹, 房城¹, 吴修红^{1*}

1. 黑龙江中医药大学 药物安全性评价中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: 目的 建立超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS)分析方法, 对刺五加注射液(CWJI)主要化学成分进行鉴定或表征; 进一步研究CWJI对抑郁症模型大鼠行为学及神经肽水平的影响。方法 采用优化后的UPLC-MS分析方法, 在正负离子模式下提取质谱峰的一级质谱和二级质谱信息, 鉴定CWJI中主要化学成分的化学结构。将雄性SD大鼠随机分为6组, 分别为对照组、模型组、盐酸多塞平注射液(DH, 阳性药, 4.5 mg·kg⁻¹)组和CWJI低、中、高剂量(44.1、88.2、132.3 mg·kg⁻¹)组, 除对照组外, 其余各组均利用孤养结合慢性温和不可预知应激(28 d)的方法制备抑郁大鼠模型, 在造模的同时开始ip给药, 每天2次, 每次间隔3 h。观察各组大鼠体质量、糖水偏好率、敞箱实验(水平穿越格数、直立次数、粪便粒数)的变化; 采用放射免疫试剂盒测定血浆中神经肽Y(NPY)、P物质(SP)、生长抑素(SS)水平。结果 在CWJI中共鉴定出29个主要化学成分, 包括刺五加苷D、刺五加苷E、异嗪皮啶、咖啡酸、绿原酸等。抗抑郁实验结果表明, 与模型组比较, CWJI高剂量组与DH组在实验第21、28天大鼠体质量均显著升高($P<0.05, 0.01$); CWJI低、中、高剂量组及DH组大鼠的糖水偏好率显著增加($P<0.05, 0.01$); CWJI低、中、高剂量组及DH组大鼠的水平穿越格数均显著增加($P<0.01$), 中、高剂量组及DH组大鼠的直立次数均显著增多($P<0.01$), 粪便粒数均显著减少($P<0.05, 0.01$); CWJI低、中、高剂量组和DH组大鼠血浆中的NPY水平均显著升高, SP水平均显著降低($P<0.05, 0.01$), 中、高剂量组和DH组的SS水平均显著升高($P<0.05, 0.01$)。结论 CWJI具有显著的抗抑郁作用, 其化学成分以苷类和黄酮类化合物为主, 可能是其抗抑郁的主要活性成分。

关键词: 刺五加注射液; 化学成分; 刺五加苷D; 刺五加苷E; 异嗪皮啶; 咖啡酸; 绿原酸; 慢性温和不可预知应激; 抗抑郁; 神经肽Y; P物质; 生长抑素

中图分类号: R284.1; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)07-1332-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.07.014

Analysis of main chemical components of Ciwujia Injection based on UPLC-MS and study on its anti-depression effect

YAN Yan¹, LI Xinghua², WANG Xu¹, FANG Cheng¹, WU Xiuhong¹

1. Drug Safety Evaluation Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: **Objective** Establish the analytical method of the main chemical components in Ciwujia Injection (CWJI), identify and characterize the main chemical components, and clarify the chemical basis from the whole. Further to investigate the antidepressant effects of CWJI on the behavior and neuropeptide level of depression rats induced by chronic unpredictable mild stress (CUMS). **Methods** The optimized UPLC-MS analysis methods were used to extract the first-order and second-order mass spectrometry information of peaks in positive and negative ion mode, and to identify the chemical structures of the main chemical components in CWJI. Male SD rats were randomly divided into six groups: control group, model group, doxepin hydrochloride injection (DH, positive drug, 4.5 mg·kg⁻¹) group and CWJI low-dose, medium-dose and high-dose (44.1, 88.2, 132.3 mg·kg⁻¹) groups. The other groups were treated with solitary rearing combined with chronic unpredictable stress (28 d) to prepare the depressed rat model. Administration of ip was started at the same time of modeling, twice a day at an interval of 3 h. The changes of body weight, sugar water preference rate and open box experiment (number of horizontal crossing bars, number of vertical positions and fecal particles)

收稿日期: 2022-01-29

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(LH2019H049); 黑龙江省应用技术与开发计划(GA19C113)

第一作者: 严妍(1980—), 女, 副研究员, 研究方向为中医方证代谢组学及中药毒理学研究。E-mail: yanfly_8@126.com

*通信作者: 吴修红(1978—), 女, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究。E-mail: wxh8088@163.com

were observed in each group. Plasma levels of neuropeptide Y (NPY), substance P (SP) and somatostatin (SS) were determined by radioimmunoassay. **Results** A total of 29 chemical constituents were identified in CWJI, including eleutheroside D, eleutheroside E, isofraxidin, caffeic acid, chlorogenic acid, etc. Compared with model group, the body weight of CWJI high-dose group and DH group was significantly increased at 21 and 28 days of experiment ($P < 0.05, 0.01$). The preference rate of sugar water in CWJI low, medium and high dose groups and DH group was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). The number of horizontal crossing bars in CWJI low-dose, medium-dose and high-dose groups and DH groups was significantly increased ($P < 0.01$), the number of upright positions in CWJI low-dose, medium-dose and high-dose groups and DH groups was significantly increased ($P < 0.01$), and the fecal grains were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). The plasma level of NPY and SP in CWJI low, medium and high dose groups and DH groups were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), and the plasma level of SS in CWJI low, medium and high dose groups and DH groups was significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** CWJI had antidepressant effects, and its chemical components were mainly glycosides and flavonoids, which were the main active ingredients of anti-stress reaction, anti-fatigue reaction and anti-oxidation reaction.

Key words: Ciwujia Injection; chemical component; eleutheroside D; eleutheroside E; isofraxidin; caffeic acid; chlorogenic acid; chronic unpredictable mild stress; antidepressant; neuropeptide Y; substance P; somatostatin

刺五加为常用补益药之一,有益气健脾、补肾安神的功效,主要用于治疗腰膝酸软、失眠多梦、纳差乏力等^[1]。刺五加注射液(Ciwujia Injection, CWJI)是刺五加药材提取后,经过加工制作而成的一种灭菌水溶液,具有平补肝肾、益精壮骨等功效,临床上可用于对肝肾不足所致的短暂性脑缺血发作、脑动脉硬化、脑血栓、脑梗死等疾病的治疗;亦可用于治疗冠心病、心绞痛合并神经衰弱和更年期综合症等,尤其对中枢神经系统具有既兴奋又抑制的双向调节功能^[2-3]。刺五加的化学成分繁多,根据目前文献报道,主要包括苯丙素类^[4]、木脂素类^[5]、香豆素类^[6]、黄酮类^[7]、三萜类^[8]及其相应的苷和多糖^[9]等,CWJI化学物质基础的系统研究报道较少,仅有利用高效液相色谱法等手段对CWJI成分进行定性和定量分析的研究^[10-12]。从刺五加药材及制剂中提取分离出的各类化合物,是刺五加发挥药理药效作用的基础^[13-17],因此深入剖析CWJI的化学物质基础有望为进一步明确药效物质、建立更科学的质量控制方法提供科学数据。

抑郁症是一种严重损害患者社会功能、以精神情绪消沉为主要临床表现的精神类疾病,患病率高达20.6%^[18-19]。随着现代生活和工作节奏的不断加快,社会各领域压力的大幅增加,抑郁症的发病率持续上升,亦有从高龄化向低龄化方向发展的趋势。目前对于抑郁症的治疗多采用化学药,临床上常用的抗抑郁药物包括三环类抗抑郁药(TCAS)、单胺氧化酶抑制剂(MAOI)和选择性5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI)。但这些药物存在起效慢、不良反应大、无法耐受、用药疗程长及停药不良反应等问题,且约有1/3的患者对这些药物反应不敏感,治疗

效果有限且不理想^[20-21]。传统中药以疗效好、成本低及不良反应少等优势,逐渐引起人们的兴趣和关注。

中医学将抑郁症归属于“郁证”范畴,我国传统医学对抑郁症有着较为系统的理论认识和数千年丰富的临床治疗经验^[22]。早在《黄帝内经》时期就有关于治疗“五气郁”的经典论述,即“木郁达之,火郁发之,土郁夺之,金郁泄之,水郁折之”;医圣张仲景也曾《伤寒论》中详述“昼日烦躁不得眠,夜而安静”“气上冲咽喉,眩冒”“心中懊恼而烦”“恍惚心乱”“心下悸”“卧起不安”等与郁证有关的表现^[23]。古代大多数医家认为“郁证”的病机多因郁怒、思虑、悲哀、忧愁等七情所伤,导致肝失调达,脾失健运,心神失养,脏腑阴阳失调而引发情志失常,提示对郁证的治疗应集中在益气解郁、疏肝健脾、安神养心、补益脏腑阴阳等方面^[24]。近年来对于单味中药的研究发现,具有抗焦虑、缓解烦躁、安神定志作用的中药有很多种,并已在临床应用广泛。合欢花、郁金、石菖蒲、香附、刺五加、附子等均被证实有抗抑郁作用^[25]。刺五加作为人参科植物,在免疫和内分泌调节、抗衰老、抗有害应激以及调节中枢神经系统等方面药理作用尤为突出,特别是刺五加茎叶中所含的多种苷类和黄酮类化合物,具有明显的保护和营养神经作用^[26]。药理研究发现CWJI能有效缓解脑缺氧对大鼠脑组织的损伤^[27];还可提高抑郁症大鼠的学习记忆能力,其机制是通过清除细胞内氧自由基,增加机体超氧化物歧化酶活性,从而起到保护神经元的作用^[28]。

近年来刺五加制剂被广泛应用于临床治疗神经系统疾病,其中CWJI在临床上常用于各类抑郁

症的治疗且确有疗效^[29-32]。临床研究发现CWJI对女性更年期抑郁症有一定的治疗作用,能明显改善患者症状^[33];应用CWJI治疗脑卒中所致抑郁症的疗效与化学药作用相当,不良反应却比化学药显著降低^[34];真实世界下的医院信息系统(HIS)数据库显示CWJI与化学药联合应用在临床治疗情志异常类疾病最为广泛^[35]。CWJI治疗抑郁症疗效确切,但大多为临床应用,缺乏理论基础。CWJI对机体的潜在保护作用尚未完全开发出来,其抗抑郁作用的物质基础也尚未清楚。为了进一步阐明CWJI的药效物质基础并为其治疗抑郁症的合理使用提供科学依据,本研究利用超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS)技术建立CWJI主要化学成分的分析方法,对其进行鉴定或表征,从整体阐明其化学物质基础。进一步制备慢性温和和不可预知应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)抑郁症大鼠模型,观察CWJI干预前后抑郁大鼠的行为学表现和神经肽水平的变化,为后续以整合代谢组学与血清药物化学的方证代谢组学技术揭示其抗抑郁症的作用机制、发现药效物质基础、挖掘先导化合物提供参考。

1 材料

1.1 药品及主要试剂

CWJI(多多药业有限公司,国药准字Z20033181,批号20010512,规格每支20 mL);乙腈(色谱级,德国Merck公司);盐酸多塞平注射液(doxepin hydrochloride, DH, 苏州弘森药业股份有限公司,国药准字H32024334,批号2019003,规格每支1 mL);神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)、P物质(substance P, SP)、生长抑素(somatostatin, SS)放射免疫试剂盒(武汉华美生物科技有限公司);甲醇(色谱级,德国Merck公司);甲酸(色谱级,天津科密欧化学试剂有限公司);亮氨酸脑啡肽(美国sigma公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

1.2 主要仪器

Waters Acquity™ UPLC液相色谱仪、Waters Synapt™ High Definition MS (HDMS/MS) System质谱仪、MassLynx V4.1工作站(美国Waters公司);Anthos2010型酶标仪(济南佳万生物技术有限公司);YP10001电子天平(上海精密科学仪器有限公司);HHS-21-4型电热恒温水浴箱(上海圣科仪器设备有限公司);SIGMA 1-15P型离心机(德国Sigma公司);大鼠跳台仪(北京医科院药研所);自制旷场

敞箱(100 cm×100 cm×40 cm,四周和底面全部涂黑木制箱,底部用白线划分为20 cm×20 cm的25个小方格)。

1.3 实验动物

清洁级SD雄性大鼠60只,体质量180~200 g,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号为SCXK(黑)2018-003,实验动物使用许可证号为SYXK(黑)2021-010,实验动物伦理委员会审查批准号为2020110201。将大鼠饲养于昼夜交替的光照条件下,自由进食饮水,实验前适应1周。

2 方法

2.1 供试品制备

2.1.1 体外成分分析样品的制备 精密量取1 mL CWJI,置于10 mL量瓶中,用去离子水定容至刻度摇匀即得,进样前用0.45 μm微孔滤膜过滤,供UPLC-MS分析使用。

2.1.2 给药剂量 大鼠ip给药体积为10 mL·kg⁻¹,按正常成人(70 kg体质量)与大鼠ip剂量系数换算,CWJI人用剂量7 mg·kg⁻¹的大鼠等效剂量为44.1 mg·kg⁻¹(以总黄酮量计),因此CWJI低、中、高剂量分别为44.1、88.2、132.3 mg·kg⁻¹。以DH为阳性药,剂量为4.5 mg·kg⁻¹。

2.2 CWJI化学成分数据采集

2.2.1 色谱条件 Acquity™ UPLC液相色谱仪,色谱柱ACQUITY UPLC™ HSS T₃柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, Waters Corp, Milford, USA);柱温45 °C;流动相A:0.1%甲酸水,流动相B:0.1%甲酸乙腈;体积流量0.5 mL·min⁻¹;进样量3 μL;梯度洗脱程序为:0~12 min, 95%~65% A; 12~24 min, 65%~0 A。

2.2.2 质谱条件:电喷雾离子源(ESI);锁定质量溶液采用美国Waters集团公司独家专利Lockspray校正系统进行在线质量校正,亮氨酸-脑啡肽([M+H]⁺=556.277 1, [M-H]⁻=554.261 5),锁定质量溶液质量浓度为200 pg·mL⁻¹;质量扫描范围:数据平均超过10个扫描,扫描范围m/z 50~900,以centriod模式进行数据采集;MassLynx V4.1工作站;正离子模式下毛细管电压2.5 kV;样品锥孔电压30 V;提取锥孔电压4.0 V;脱溶剂气温度300 °C;脱溶剂气体积流量600 L·h⁻¹;负离子模式下毛细管电压2.3 kV;样品锥孔电压30 V;提取锥孔电压3.5 V;脱溶剂气温度300 °C;脱溶剂气体积流量600 L·h⁻¹。

2.3 CWJI的抗抑郁作用

2.3.1 实验分组及设计 将雄性SD大鼠随机分为6组,分别为对照组、模型组、DH(阳性药, $4.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组和CWJI低、中、高剂量(44.1 、 88.2 、 $132.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,每组10只。除对照组外,其余各组大鼠均单笼饲养(孤养),应用CUMS和孤养的方式进行大鼠抑郁模型的复制^[36]。对照组大鼠自由饮水进食,不给予任何刺激,其余各组大鼠进行28 d的11种应激刺激,包括禁食24 h、禁水24 h、昼夜颠倒24 h、足底电击、夹尾3 min、悬尾3 min、高速水平振荡3 min、束缚固定3 h、 4°C 冰水游泳5 min、 45°C 热水游泳5 min、居住环境改变(潮湿垫料、鼠笼倾斜)等。以上刺激每天1种,随机进行。在造模的同时开始ip给药,考虑到大鼠后期体质量增长,为满足大鼠ip给药能耐受的最大体积,本实验给药次数设计为每天2次,每次间隔3 h。

2.3.2 行为学评价

(1)体质量 分别在实验的第7、14、21、28天称量动物的体质量。

(2)糖水偏好实验^[37-38] 实验前先对动物进行糖水适应性训练,即每笼同时放置2个水瓶,前24 h 2瓶均给予1%蔗糖水,随后的24 h给予1瓶1%蔗糖水和1瓶纯净水。在实验的第28天进行蔗糖水消耗实验,测量大鼠24 h的糖水饮用量。同时给予每只大鼠事先定量好的1瓶1%蔗糖水和1瓶纯净水,24 h后取瓶称量剩余量,记录每只大鼠消耗的糖水及纯净水的量,并计算糖水偏好率。

糖水偏好率 = $\frac{\text{糖水消耗量}}{\text{糖水消耗量} + \text{纯水消耗量}}$

(3)敞箱实验^[39] 动物在敞箱中由于对未知环境的好奇和恐惧,一开始主要集中在敞箱内的边缘地带活动,并不断向中央区域试探性地活动,直到感觉安全后则试图在敞箱的中心地带活动(包括活动、饮水或进食)。实验第28天结束后,将各组大鼠放入安静环境中的敞箱,观察每只大鼠3 min内的活动情况,记录大鼠水平运动(穿越格数,至少3爪跨入邻格为准)、垂直运动(直立次数,前肢离地至少1 cm)及粪便粒数。

(4)血浆SS、SP、NPY水平测定 实验第28天结束后,各组大鼠ip戊巴比妥钠,腹主动脉取全血5 mL,注入加EDTA- Na_2 抑肽酶抗凝剂的采血管中混匀, 4°C 、 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15 min。取上清液2 mL,置于 -20°C 条件下保存,检测时采用放射免疫试剂盒测定各组大鼠血浆中的SS、SP、NPY水平。

2.4 数据分析

动物抗抑郁作用的研究结果采用SPSS 20.0软件,进行独立样本 t 检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 CWJI主要化学成分的分析表征

根据“2.1.1”项方法对CWJI进行制备,得到的样品溶液取 $3 \mu\text{L}$ 进样,选用优化的色谱和质谱条件对进样的样品溶液进行UPLC-MS分析,在正、负离子模式下进行质量范围为 m/z 50~1 000的全扫描,并获得相应的质谱图。提取图谱中的质谱峰的一级质谱,从而获得母离子或加荷离子的质谱信息(R_t 、 m/z),得到相应的化合物元素组成和可能的化合物结构,再通过多级碰撞能下的二级质谱MS/MS信息,结合相关的数据库[Chemspider(<http://www.chemspider.com>)、MassBank.JP(<http://www.massbank.jp>)]检索,以鉴定CWJI中主要化学成分的化学结构。CWJI样品的基峰色谱图(BPI)见图1。

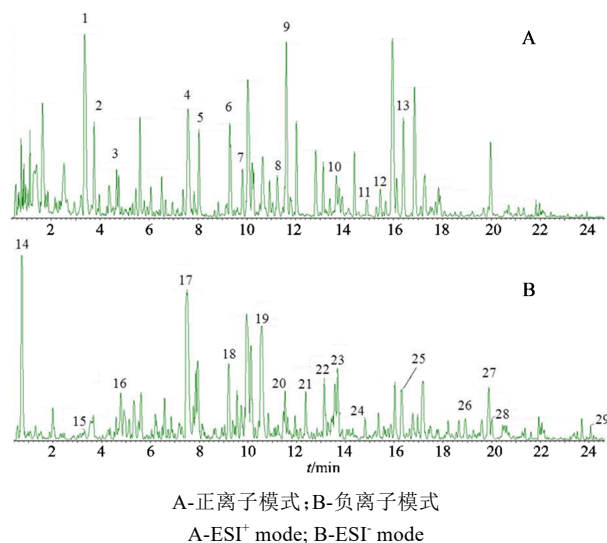


图1 CWJI在正负离子模式下测定的主要化学成分标识
Fig. 1 Identification diagram of main chemical components of CWJI determined in positive and negative ion mode

在CWJI中共鉴定了29个主要化学成分,分别为芝麻酚、香草醛、金合欢素、7-羟基香豆素、藜芦酸、丁香醛、没食子酸、刺五加苷D、异嗪皮啶、刺五加苷E、山柰酚、3,4-二咖啡酰奎宁酸、咖啡酸、奎宁酸、丁香素、原儿茶酸、绿原酸、阿魏酸、新绿原酸、3-阿魏酰奎宁酸、芥子酸、1,3-二咖啡酰奎宁酸、芥子醛葡萄糖苷、松脂醇二葡萄糖苷、芝麻素、壬二酸、棘皮苷B、1,4-二咖啡酰奎宁酸、没食子酸乙酯。具体结构信息见表1、2。

表1 在正离子模式下CWJI中主要化学成分信息

Table 1 Structure information of main chemical components in CWJI in ESI⁺ mode

编号	<i>t</i> /min	<i>m/z</i>	扫描模式	分子式	预测化合物	化学名称
1	3.41	136.062 6	ESI ⁺	C ₇ H ₆ O ₃	sesamol	芝麻酚
2	3.74	152.061 4	ESI ⁺	C ₈ H ₈ O ₃	vanillin	香草醛
3	4.65	283.140 1	ESI ⁺	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	acacetin	金合欢素
4	7.61	163.040 7	ESI ⁺	C ₉ H ₆ O ₃	7-hydroxycoumarin	7-羟基香豆素
5	8.08	177.054 6	ESI ⁺	C ₉ H ₁₀ O ₄	3,4-dimethoxybenzoic acid	藜芦酸
6	9.31	177.054 6	ESI ⁺	C ₉ H ₁₀ O ₄	syringaldehyde	丁香醛
7	9.79	169.113 4	ESI ⁺	C ₇ H ₆ O ₅	3,4,5-trihydroxybenzoic acid	没食子酸
8	11.27	742.014 7	ESI ⁺	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	eleutheroside D	刺五加苷D
9	11.60	223.064 3	ESI ⁺	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	isofraxidin	异嗟皮啉
10	13.69	741.266 4	ESI ⁺	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	eleutheroside E	刺五加苷E
11	14.90	285.070 5	ESI ⁺	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	kaempferol	山柰酚
12	15.45	515.240 0	ESI ⁺	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	3,4-dicaffeoylquinic acid	3,4-二咖啡酰奎宁酸
13	16.39	179.046 2	ESI ⁺	C ₉ H ₈ O ₄	caffeic acid	咖啡酸

表2 在负离子模式下CWJI中主要化学成分信息

Table 2 Structure information of main chemical components in CWJI in ESI⁻ mode

编号	<i>t</i> /min	<i>m/z</i>	扫描模式	分子式	预测化合物	化学名称
14	0.57	191.081 3	ESI ⁻	C ₇ H ₁₂ O ₆	quinic acid	奎宁酸
15	3.36	371.114 1	ESI ⁻	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	syringin	丁香素
16	4.75	153.046 0	ESI ⁻	C ₇ H ₆ O ₄	3,4-dihydroxybenzoic acid	原儿茶酸
17	7.53	353.104 9	ESI ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	chlorogenic acid	绿原酸
18	9.22	194.057 0	ESI ⁻	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	ferulic acid	阿魏酸
19	10.61	353.104 9	ESI ⁻	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	neochlorogenic acid	新绿原酸
20	11.54	368.022 6	ESI ⁻	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	3-feruloylquinic acid	3-阿魏酰奎宁酸
21	12.36	387.177 2	ESI ⁻	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	1- <i>O</i> -sinapoyl-β- <i>D</i> -glucose	芥子酸
22	13.17	515.120 0	ESI ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,3-dicaffeoylquinic acid	1,3-二咖啡酰奎宁酸
23	13.68	367.118 0	ESI ⁻	C ₁₇ H ₂₂ O ₉	sinapaldehyde glucoside	芥子醛葡萄糖苷
24	14.79	681.221 7	ESI ⁻	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	pinoresinol diglucoside	松脂醇二葡萄糖苷
25	16.32	354.117 6	ESI ⁻	C ₂₀ H ₁₈ O ₆	sesamin	芝麻素
26	18.85	187.121 5	ESI ⁻	C ₉ H ₁₆ O ₄	azelaic acid	壬二酸
27	19.90	579.210 9	ESI ⁻	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	acanthoside B	棘皮苷B
28	20.01	517.194 9	ESI ⁻	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	1,4-dicaffeoylquinic acid	1,4-二咖啡酰奎宁酸
29	24.08	203.153 4	ESI ⁻	C ₉ H ₁₀ O ₅	ethyl gallate	没食子酸乙酯

3.2 CWJI的抗抑郁作用

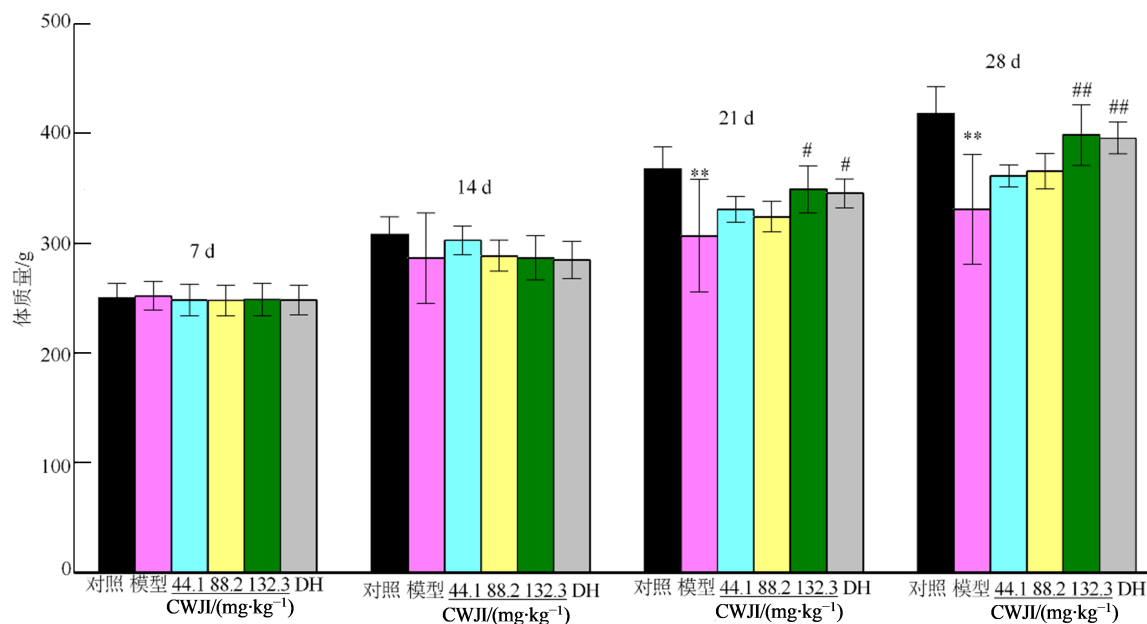
3.2.1 各组大鼠体质量的增长变化 在实验第21、28天,与对照组比较,模型组大鼠体质量显著下降($P<0.01$);与模型组比较,CWJI高剂量组与DH组的大鼠体质量均显著升高($P<0.05$ 、 0.01)。结果见图2。

3.2.2 各组大鼠糖水偏好实验 与对照组比较,模型组大鼠的糖水偏好率显著降低($P<0.01$);与模型组比较,CWJI低、中、高剂量组及DH组大鼠的糖水

偏好率显著增加($P<0.05$ 、 0.01)。结果见图3。

3.2.3 各组大鼠敞箱实验评价 与对照组比较,模型组大鼠的水平穿越格数和直立次数均显著减少,大鼠的粪便粒数显著增加($P<0.01$);与模型组比较,CWJI低、中、高剂量组及DH组大鼠的水平穿越格数均显著增加($P<0.01$);CWJI中、高剂量组及DH组大鼠的直立次数均显著增多($P<0.01$),粪便粒数均显著减少($P<0.05$ 、 0.01)。结果见图4。

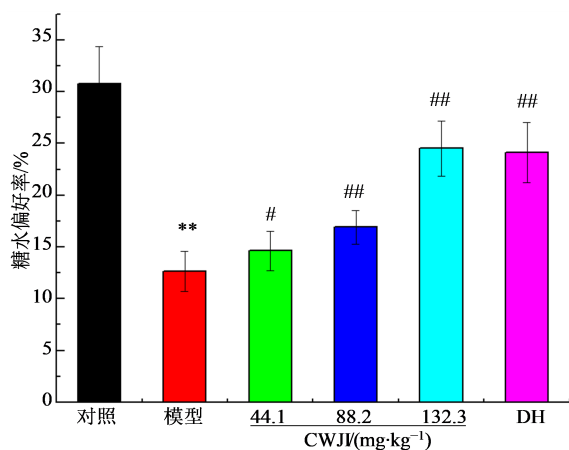
3.2.4 各组大鼠血浆SS、SP、NPY水平检测结果



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

图2 CWJI对抑郁模型大鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effect of CWJI on weight of depressed model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)



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

图3 CWJI对抑郁模型大鼠糖水偏好的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of CWJI on sugar water preference in depressed model rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

与对照组比较,模型组大鼠血浆中的NPY、SS水平均显著降低($P < 0.01$),SP水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,CWJI低、中、高剂量组和DH组大鼠血浆中的NPY水平均显著升高,SP水平均显著降低($P < 0.05, 0.01$);与模型组比较,CWJI中、高剂量组和DH组的SS水平均显著升高($P < 0.05, 0.01$)。结果见图5。

4 讨论

本课题组一直致力于刺五加不同用药部位及

不同制剂的药效评价及药效物质基础研究,在刺五加叶提取物中共分离鉴定出131种化合物;在口服给药后含药血清中共表征21个化合物,其中12个原型和9个代谢物^[40]。在刺五加茎枝中分离鉴定出115个体外成分和41个入血成分,其中54个化合物为首次报道^[41]。从刺五加果中分离鉴定出104种化合物,7种化合物为首次发现,并表征了24个血中移行成分^[42]。从以上研究结果得到刺五加的体内作用物质分别属于木脂素类、黄酮类、三萜皂苷类及酚酸类等,均有一定抗氧化、抗过敏、抗炎等调节免疫的作用,本研究期望从CWJI中找到与抑郁症的关联物质基础。本研究利用优化后的UPLC-MS色谱质谱分析方法,对CWJI中主要化学成分进行鉴定与表征,共获得并鉴定了29个化学成分的结构,包括刺五加苷D、异嗪皮啶、刺五加苷E、咖啡酸、原儿茶酸、绿原酸、阿魏酸、芥子醛葡萄糖苷、松脂醇二葡萄糖苷等。其中,化合物以苷类和黄酮类为主,其是抗应激反应、抗疲劳反应以及抗氧化反应等的主要活性成分^[43-44]。

慢性应激是抑郁、情绪低落等情感障碍发展和加速的关键因素,其可能在抑郁症的病因学中发挥重要的作用^[45-47]。孤养结合CUMS被认为是制备抑郁症动物模型的一种有效方法,因为其非常接近临床抑郁症的行为和生理症状,而这些症状可以通过抗抑郁药物进行逆转^[48],能够更直观地评价药物的

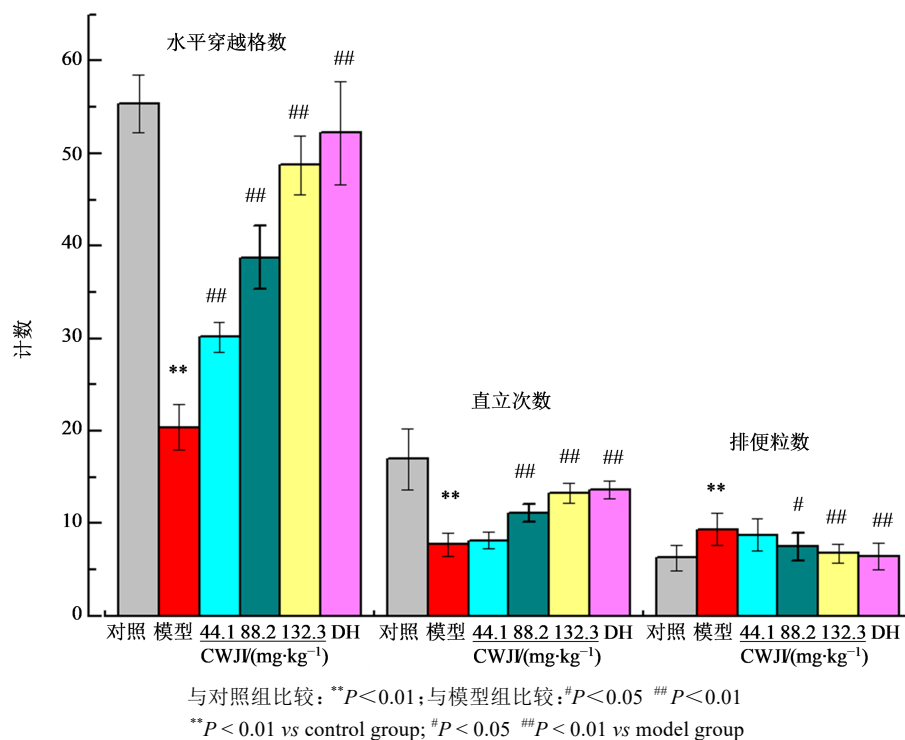


图4 CWJI对抑郁模型大鼠敞箱实验水平穿越格数、直立次数及排便粒数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 ASEP on crossing, rearing and feces in open box experiment of depressed rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

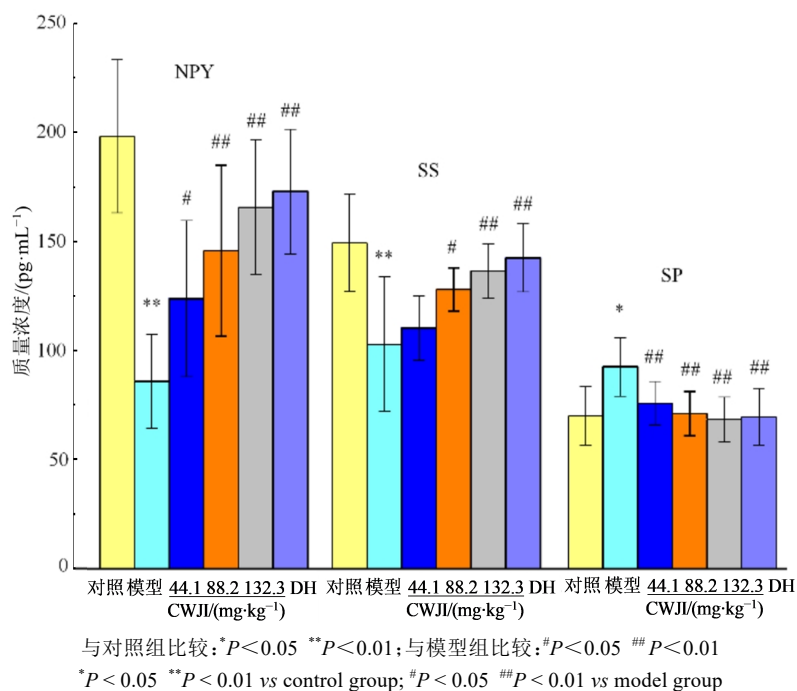


图5 CWJI对抑郁模型大鼠血浆中NPY、SS及SP的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 5 CWJI on NPY, SS and SP in plasma of depressed rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

抗抑郁作用,因此CUMS模型是一种公认的模拟临床抑郁症的模型。本研究证明CUMS通过诱导行为学指标的改变而导致抑郁特征的出现,包括体质量、蔗糖偏好等。28 d的慢性应激后模型组大鼠食欲下降所致的体质量增长缓慢、糖水偏好降低、活

动次数减少而静止时间延长等行为学改变,均反映出萎靡不振、情绪低落和兴趣丧失等抑郁样表现,这与临床上的抑郁症患者运动减少、对任何事物兴趣降低、主动意志减退、探索性行为减少等症状极为相似,说明本实验设计的CUMS模型是比较理想

的抑郁模型。

神经肽遍布于整个中枢与外周系统,SS、SP、NPY 3种神经肽被公认为抑郁症的状态标志物,3者在中枢神经系统中的含量平衡对抑郁症的生理机制有着重要作用^[49]。NPY是脑内参与应激反应的神经多肽,能够抑制神经元过度兴奋,具有内源性抗抑郁及镇静催眠作用,有研究表明当NPY分泌被阻断时,会有遗忘现象的产生^[50]。SS是神经系统内较为广泛存在的神经递质之一,能够活化海马部位的突触功能,刺激多巴胺的释放,影响人体记忆,抑郁的程度越严重,SS的水平越低^[51]。SP是人类发现最早的兴奋性神经递质,能够调节人体的情感和认知,SP神经传递的自主活动越高,其致抑郁、致焦虑的作用就越强^[52]。在CUMS模型基础上,本实验以CWJI为给药组,对抑郁大鼠进行给药后的行为学评价,并通过CWJI干预前后SS、SP、NPY在大鼠血浆中的水平变化,探讨其对慢性应激所致抑郁症模型大鼠的抗抑郁作用。实验研究证明,CWJI连续给药后能明显缓解抑郁模型大鼠食欲不振,体质量下降等症状,提升大鼠对糖水的快感需求,增加大鼠水平运动和垂直活动的次数,缩短大鼠静止不动的时间;大鼠血浆中SS、NPY水平的升高及SP水平的降低表明CWJI能够通过调节SS、SP及NPY起到恢复脑内神经肽功能的作用。以上药效学实验结果显示出CWJI具有一定的抗抑郁作用,为临床用药提供了必要的药理学基础。

从中医理论与中医临床实践入手,在中医药领域寻找治疗抑郁症方法已成为当前抑郁症防治研究中的一重要策略,寻找有效治疗抑郁症的中药及复方亦成为世界关注的热点问题。但抑郁症的发病机制复杂繁多,中药及复方治疗抑郁症的作用机制随之变得更多样性,亦更具探索性和创新性^[53]。CWJI抗抑郁的潜在作用已初步确定,但其已知抗抑郁作用的药效物质基础还尚未清楚,包括CWJI治疗抑郁症的有效性(即效应特点、效应机制及效应物质基础)尚未完全阐明。本研究下一步将结合以上研究得到的CWJI化学物质基础和抗抑郁药理作用基础,利用整合代谢组学与血清药物化学的方证代谢组学技术^[54-60],更加深入地对CWJI此类研究进行拓展,以期获得CWJI治疗抑郁症先导化合物的发现及新药创制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [2] 李梦嶙,黄世敬.补益药及其复方制剂抗抑郁作用研究进展[J].中医学报,2017,32(5):818-823.
Li M D, Huang S J. Research progress in antidepressant effects of TCM tonic drugs and related compound preparations [J]. Acta Chin Med, 2017, 32(5): 818-823.
- [3] 张珊,郝春华,葛一蒙,等.刺五加注射液改善阿霉素诱导大鼠心脏收缩功能下降的作用研究[J].中草药,2018,49(17):4071-4077.
Zhang S, Hao C H, Ge Y M, et al. Effect of Ciwujia Injection on decrease of cardiac contractile function induced by doxorubicin hydrochloride [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2018, 49(17): 4071-4077.
- [4] Zhang X Q, Lai Y C, Wang L, et al. Phenylpropanoid constituents from *Acanthopanax senticosus* [J]. Biochem Syst Ecol, 2011, 39(4/5/6): 861-863.
- [5] 李志峰,杨金火,张武岗,等.刺五加的化学成分研究[J].中草药,2011,42(5):852-855.
Li Z F, Yang J H, Zhang W G, et al. Chemical constituents from *Acanthopanax senticosus* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2011, 42(5): 852-855.
- [6] Li Z F, Wu Z H, Chen G, et al. Two new compounds from *Acanthopanax senticosus* Harms [J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11(8): 716-719.
- [7] 陈貌连,宋凤瑞,郭明全,等.刺五加叶中黄酮类化合物的结构鉴定[J].高等学校化学学报,2002,23(5):805-808.
Chen M L, Song F R, Guo M Q, et al. Identification of the flavonoid constituents from leaves of *Acanthopanax senticosus* Harms [J]. Chem Res Chin Univ, 2002, 23(5): 805-808.
- [8] Li F, Li W, Fu H W, et al. Pancreatic lipase-inhibiting triterpenoid saponins from fruits of *Acanthopanax senticosus* [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2007, 55(7): 1087-1089.
- [9] Guo M Q, Song F R, Liu Z Q, et al. Characterization of triterpenoid saponin mixture in crude extracts from leaves of *Acanthopanax senticosus* Harms by saponin structural correlation and mass spectrometry [J]. Anal Chimica Acta, 2006, 557(1/2): 198-203.
- [10] Hu F D, Feng S L, Zhao J X, et al. Determination of Eleutheroside B and E in *Acanthopanax* preparations by high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction [J]. J Chin Pharmaceu Sci, 2005, 14(1):

- 51-55.
- [11] 黄 婧, 邵 青, 项彦华, 等. 高效液相质谱联用技术鉴定刺五加注射液中苯丙素类化学成分 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(13): 2513-2520.
Huang J, Shao Q, Xiang Y H, et al. Identification of phenylpropanoids in Ciwujia injection by HPLC-MS [J]. China J Chin Mater Med, 2014, 39(13): 2513-2520.
- [12] 隆 颖, 栗建明, 莫结丽, 等. HPLC法测定刺五加注射液中紫丁香苷和异秦皮啶的含量 [J]. 中国药品标准, 2011, 12(6): 410-412.
Long Y, Li J M, Mo J L, et al. Determination of syringin and isofraxidin in Ciwujia Injection by RP-HPLC [J]. Drug Stand China, 2011, 12(6): 410-412.
- [13] 孙国祥, 于秀明, 王佳庆. 刺五加注射液HPLC数字化指纹图谱研究 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(3): 356-362.
Sun G X, Yu X M, Wang J Q. Study on the digitized HPLC fingerprints of Ciwujia injection [J]. Chin J Pharm Anal, 2009, 29(3): 356-362.
- [14] 刘建娣, 梁琼麟, 罗国安, 等. 刺五加注射液指纹图谱的建立及其在质量控制中的应用 [J]. 中成药, 2006, 28(1): 3-5.
Liu J D, Liang Q L, Luo G A, et al. Fingerprint of Ciwujia Injection and its application in quality control [J]. Chin Tradit Pat Med, 2006, 28(1): 3-5.
- [15] 于风平, 连传宝. 超快速液相色谱法测定刺五加注射液中紫丁香苷和绿原酸的含量 [J]. 中国药师, 2010, 13(12): 1769-1770.
Yu F P, Lian C B. Determination of syringin and chlorogenic acid in Ciwujia injection by UFLC [J]. China Pharm, 2010, 13(12): 1769-1770.
- [16] 焦正花, 顾秀琰, 杨小源, 等. RP-HPLC法测定刺五加注射液中紫丁香苷、紫丁香树脂苷的含量 [J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(8): 50-51.
Jiao Z H, Gu X Y, Yang X Y, et al. Determination of syringin and syringaresinol in Ciwujia injection by RP-HPLC [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2007, 14(8): 50-51.
- [17] 金佩芬. 高效液相色谱法测定刺五加注射液中异秦皮啶含量 [J]. 中国药业, 2009, 18(3): 9.
Jin P F. Determination of isofraxidin in Ciwujia injection by HPLC [J]. China Pharm, 2009, 18(3): 9.
- [18] Hasin D S, Sarvet A L, Meyers J L, et al. Epidemiology of adult DSM-5 major depressive disorder and its specifiers in the United States [J]. JAMA Psychiatry, 2018, 75(4): 336-346.
- [19] Huang Y Q, Wang Y, Wang H, et al. Prevalence of mental disorders in China: A cross-sectional epidemiological study [J]. Lancet Psychiatry, 2019, 6(3): 211-224.
- [20] Smith K. Mental health: A world of depression [J]. Nature, 2014, 515(7526): 181.
- [21] Murrough J W, Perez A M, Pillemer S, et al. Rapid and longer-term antidepressant effects of repeated ketamine infusions in treatment-resistant major depression [J]. Biol Psychiatry, 2013, 74(4): 250-256.
- [22] Fathinezhad Z, Sewell R D E, Lorigooini Z, et al. Depression and treatment with effective herbs [J]. Curr Pharm Des, 2019, 25(6): 738-745.
- [23] 邹 锦, 杨学琴, 张小勇, 等. «伤寒论»从脏腑阳虚论治抑郁症思想初探 [J]. 中医药导报, 2017, 23(10): 52-54.
Zou J, Yang X Q, Zhang X Y, et al. Study on treatment of the depression from the deficiency of Yang qi based on Shang Han Lun [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 23(10): 52-54.
- [24] 金 林, 辛绍娥. 抑郁症的中医病机理论相关研究 [J]. 双足与保健, 2017, 26(16): 180-181.
Jin L, Xin S E. Study on TCM pathogenesis theory of depression [J]. Biped Health, 2017, 26(16): 180-181.
- [25] 姜晓梅, 金永新, 向 蓉, 等. 抑郁症的中医药治疗研究现状 [J]. 甘肃医药, 2017, 36(9): 728-730.
Jiang X M, Jin Y X, Xiang R, et al. Research status of traditional Chinese medicine treatment of depression [J]. Gansu Med J, 2017, 36(9): 728-730.
- [26] 蒋 琦. 刺五加水提物抗抑郁作用及其机理研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2010.
Jiang Q. Studies on anti-depressant effects of aqueous extract of *Acanthopanax senticosus* and its mechanism of action [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2010.
- [27] 张 越, 秦浩志, 王 婷, 等. 刺五加注射液对脑缺氧大鼠学习记忆能力和海马组织中纤维状肌动蛋白的影响 [J]. 中华诊断学电子杂志, 2018, 6(4): 272-276.
Zhang Y, Qin H Z, Wang T, et al. Effects of *Acanthopanax senticosus* injection on the learning and memory ability and the expression of f-actin in *Hippocampus* of brain hypoxia rats [J]. Chin J Diagn Electron Ed, 2018, 6(4): 272-276.
- [28] 袁晓勇, 赵 阳. 刺五加注射液对抑郁大鼠学习记忆能力的影响及其作用机制 [J]. 新乡医学院学报, 2017, 34(6): 469-473, 477.
Yuan X Y, Zhao Y. Effect of *Acanthopanax senticosus* injection on the learning and memory of depression rats and its mechanism [J]. J Xinxiang Med Univ, 2017, 34(6): 469-473, 477.
- [29] 徐雪娇, 李天英, 范文栋, 等. 中药复方治疗抑郁症的研究概况 [J]. 医学综述, 2021, 27(18): 3687-3693.
Xu X J, Li T Y, Fan W D, et al. Research survey of traditional Chinese medicine compound therapy for

- depression [J]. Med Recapitul, 2021, 27(18): 3687-3693.
- [30] 潘菊华, 李多娇, 王彦云. 刺五加抗抑郁作用探析 [J]. 中医学报, 2016, 31(1): 83-86.
- Pan J H, Li D J, Wang Y Y. Mechanism analysis of the anti-depression effect of Ciwujia (*Acanthopanax*) [J]. Acta Chin Med, 2016, 31(1): 83-86.
- [31] 张锦红, 邱劲松, 吴妍, 等. 刺五加注射液联合氟西汀治疗老年性痴呆伴发抑郁症的临床疗效 [J]. 云南中医学院学报, 2017, 40(6): 62-65.
- Zhang J H, Qiu J S, Wu Y, et al. Clinical efficacy of Ciwujia injection combined with fluoxetine in the treatment of senile dementia with depression [J]. J Yunnan Univ Tradit Chin Med, 2017, 40(6): 62-65.
- [32] 张浩怡, 张鹤鸣. 中药治疗抑郁症的研究进展 [J]. 中国当代医药, 2020, 27(18): 25-29.
- Zhang H Y, Zhang H M. Research progress of Chinese medicine treating depression [J]. China Mod Med, 2020, 27(18): 25-29.
- [33] 王沛莲. 刺五加注射液联合帕罗西汀治疗妇女更年期抑郁症的研究 [J]. 山东医学高等专科学校学报, 2013, 35(3): 236-238.
- Wang P L. Study of Ciwujia Injection combined with paroxetine in the treatment of menopausal depression [J]. J Shandong Med Coll, 2013, 35(3): 236-238.
- [34] 刘宏. 刺五加注射液治疗脑卒中后抑郁及神经功能缺损的疗效观察 [J]. 海南医学, 2008, 19(1): 56, 53.
- Liu H. Effect of Ciwujia Injection on post-stroke depression and neurological deficit [J]. Hainan Med J, 2008, 19(1): 56, 53.
- [35] 蒋宜君, 程玲, 刘岨, 等. 基于真实世界刺五加注射液治疗 1093 例情志异常患者的临床应用特征及用药分析 [J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 658-661.
- Jiang Y J, Cheng L, Liu H, et al. Clinical application and medication analysis of *Acanthopanax* Injection in treating 1 093 patients with abnormal emotion based on the real world [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2021, 32(3): 658-661.
- [36] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 807-813.
- Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Pharmacological Experiment Methodology* [M] Beijing: People's Health Publishing House, 2001: 807-813
- [37] Song J, Kim Y K. Animal models for the study of depressive disorder [J]. CNS Neurosci Ther, 2021, 27(6): 633-642.
- [38] 田旭升, 于海洋, 严妍, 等. 酸枣仁汤对抑郁症模型大鼠海马和皮层脑源性神经营养因子及酪氨酸激酶 B 基因表达的影响 [J]. 国际中医中药杂志, 2014, 36(7): 633-636.
- Tian X S, Yu H Y, Yan Y, et al. The effects of Suanzaoren Decoction on *Hippocampus*, cortex BDNF and TrkB geneexpression in depression rats [J]. Int J Tradit Chin Med, 2014, 36(7): 633-636.
- [39] 张大文, 熊华秀, 王家芳. 褪黑素对慢性不可预知温和刺激大鼠抑郁样行为的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(17): 2675-2678.
- Zhang D W, Xiong H X, Wang J F. Effects of melatonin on depression-like behavior in rats with chronic unpredictable mild stimulation [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020, 36(17): 2675-2678.
- [40] Zhang Y Z, Zhang A H, Zhang Y, et al. Application of ultra-performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry for the rapid analysis of constituents and metabolites from the extracts of *Acanthopanax senticosus* harms leaf [J]. Pharmacogn Mag, 2016, 12(46): 145-152.
- [41] Sun H, Liu J H, Zhang A H, et al. Characterization of the multiple components of *Acanthopanax Senticosus* stem by ultra high performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2016, 39(3): 496-502.
- [42] Han Y, Zhang A H, Sun H, et al. High-throughput ultra high performance liquid chromatography combined with mass spectrometry approach for the rapid analysis and characterization of multiple constituents of the fruit of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms [J]. J Sep Sci, 2017, 40(10): 2178-2187.
- [43] 周蕾, 王梦楠, 朱霄, 等. 刺五加对中枢神经系统的活性成分、药理作用及临床应用 [J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(8): 961-964.
- Zhou L, Wang M N, Zhu X, et al. Active ingredients, pharmacological actions, and clinical applications of *Acanthopanax senticosus* in the central nervous system [J]. J Hunan Univ Chin Med, 2018, 38(8): 961-964.
- [44] 朱雁飞, 石学魁, 于英君. 刺五加总黄酮对原代培养大鼠神经细胞损伤模型的保护作用 [J]. 牡丹江医学院学报, 2012, 33(2): 3-5.
- Zhu Y F, Shi X K, Yu Y J. Protective effect of total flavones of *Acanthpanacis senticosi* on ischemia injury in cultured primary cortex neurons [J]. J Mudanjiang Med Univ, 2012, 33(2): 3-5.
- [45] Lee A L, Ogle W O, Sapolsky R M. Stress and depression: Possible links to neuron death in the *Hippocampus* [J]. Bipolar Disord, 2002, 4(2): 117-128.
- [46] Ye Y Y, Wang G H, Wang H L, et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) infusion restored astrocytic plasticity in the *Hippocampus* of a rat model of depression [J]. Neurosci Lett, 2011, 503(1): 15-19.

- [47] 王 钦, 蔡萧君, 吴圆圆, 等. 五味子乙素对慢性应激抑郁大鼠海马BDNF/TrkB/CREB通路的影响[J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 895-901.
- Wang Q, Cai X J, Wu Y Y, et al. Effects of schisandrin B on hippocampal BDNF/TrkB/CREB pathway in rats with chronic stress depression [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 895-901.
- [48] Su G Y, Yang J Y, Wang F, et al. Antidepressant-like effects of Xiaochaihutang in a rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 152(1): 217-226.
- [49] 吴沛然, 汤久慧, 张丽萍, 等. 加味温胆汤对抑郁模型大鼠海马SS、SP、NPY、CRH含量的影响[J]. 中华针灸电子杂志, 2015, 4(6): 259-262.
- Wu P R, Tang J H, Zhang L P, et al. Research of Jia Wei Wen Dan Tang regulating hypothalamic neuropeptides levels of SS, SP, NPY and CRH in depression model rats [J]. Chin J Acupunct Moxibustion Electron Ed, 2015, 4(6): 259-262.
- [50] 王 顺, 高松妍, 李 元, 等. 调神畅情针法对帕金森病抑郁模型大鼠血清及脑组织Ghrelin、NPY含量的影响[J]. 中国中医药科技, 2020, 27(5): 676-677, 741.
- Wang S, Gao S Y, Li Y, et al. Effects of Tiaoshenchangqing acupuncture on the levels of Ghrelin and NPY in serum and brain tissue of depression model rats with Parkinson's disease [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol, 2020, 27(5): 676-677, 741.
- [51] 于 林, 吴升伟, 禚正正, 等. 加味逍遥散对胃肠功能失调的抑郁大鼠脑肠肽SS、GAS表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(6): 1290-1292.
- Yu L, Wu S W, Xuan Z Z, et al. Effect of Jiawei Xiaoyao Powder on the expression of brain gut peptide SS and GAS in depressed rats with gastrointestinal dysfunction [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2017, 28(6): 1290-1292.
- [52] 于建军. 电针法对抑郁模型大鼠海马SP、NPY含量的影响[J]. 针灸临床杂志, 2020, 36(3): 65-68.
- Yu J J. Effect of electro-acupuncture on SP and NPY in Hippocampus of depression rats [J]. J Clin Acupunct Moxibustion, 2020, 36(3): 65-68.
- [53] Gu X Y, Gao X Y, Cheng J Y, et al. Emerging application of metabolomics on Chinese herbal medicine for depressive disorder [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111866.
- [54] Ren J L, Zhang A H, Kong L, et al. Analytical strategies for the discovery and validation of quality-markers of traditional Chinese medicine [J]. Phytomedicine, 2020, 67: 153165.
- [55] Xiong H, Zhang A H, Zhao Q Q, et al. Discovery of quality-marker ingredients of *Panax quinquefolius* driven by high-throughput chinmedomics approach [J]. Phytomedicine, 2020, 74: 152928.
- [56] Fang H, Zhang A H, Zhou X H, et al. High-throughput metabolomics reveals the perturbed metabolic pathways and biomarkers of Yang Huang syndrome as potential targets for evaluating the therapeutic effects and mechanism of geniposide [J]. Front Med, 2020, 14(5): 651-663.
- [57] Zhang A H, Ma Z M, Kong L, et al. High-throughput lipidomics analysis to discover lipid biomarkers and profiles as potential targets for evaluating efficacy of Kai-Xin-San against APP/PS₁ transgenic mice based on UPLC-Q/TOF-MS [J]. Biomed Chromatogr, 2020, 34(2): e4724.
- [58] Liu S B, Lu S W, Sun H, et al. Deciphering the Q-markers of nourishing kidney-Yin of *Cortex Phellodendri amurense* from ZhibaiDihuang Pill based on Chinmedomics strategy [J]. Phytomedicine, 2021, 91: 153690.
- [59] 王喜军, 张爱华, 孙 晖, 等. 基于中医方证代谢组学的中医证候精准诊断及方剂疗效精准评价[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2017, 19(1): 30-34.
- Wang X J, Zhang A H, Sun H, et al. Precision diagnosis of Chinese medicine syndrome and evaluation of prescription efficacy based on chinmedomics [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2017, 19(1): 30-34.
- [60] 祁永华, 孙 晖, 王喜军. 重度抑郁症的代谢组学生物标志物研究进展[J]. 中国医药导报, 2020, 17(12): 49-52.
- Qi Y H, Sun H, Wang X J. Research progress on metabonomics biomarkers of major depressive disorder [J]. China Med Her, 2020, 17(12): 49-52.

[责任编辑 兰新新]