

基于UPLC-Q-TOF-MS/MS结合生物信息学探讨柴胡疏肝散抗抑郁药效物质及作用机制

强发晶¹, 李慧敏², 李 钧², 盛洁静², 杨雪晶², 李泽浩², 汲晓玲², 曲中原², 邹 翔^{1*}

1. 哈尔滨商业大学 药物工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 哈尔滨商业大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘要: 目的 探究柴胡疏肝散治疗抑郁症的药效物质及作用机制并进行实验验证。方法 应用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 技术对柴胡疏肝散化学成分进行分析; 采用中药系统药理学数据库及分析平台 (TCMSP) 和 SwisTargetPrediction 数据库获取并筛选成分靶点; 运用 Limma 包和 hclust 函数对 GSE19738 基因芯片数据进行差异基因分析和加权基因共表达网络 (WGCNA) 分析, 获取抑郁症相关靶点, 并与成分靶点取交集。绘制成分-靶点网络图, 计算度值, 筛选药效物质。交集基因通过基因本体 (GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析, 随后进行最小绝对值收敛和选择算子 (LASSO) 回归分析和支持向量机 (SVM) 分析, 得到柴胡疏肝散治疗抑郁症的潜在靶标, 并进行 ROC 生存分析和分子对接验证以及基于斑马鱼抑郁模型的实验验证。结果 共从柴胡疏肝散水提物中鉴定 126 个成分, “成分-抑郁症” 交集靶点共 114 个, 度值 ≥ 11 (中位数) 的潜在药效物质 44 个, 排名前 5 的成分为柴胡皂苷 A、川陈皮素、异甘草素、洋川芎内酯 A 和柚皮苷查尔酮。获得 5 个关键基因 FOS、TNF、NF- κ B1、CXCR2 和 IDO1, 作为柴胡疏肝散抗抑郁的潜在靶标。分子对接结果显示, 5 个关键成分与 5 个潜在靶标均具有良好的结合能, 其中与 NF- κ B1 和 TNF 结合能最佳。通过体内实验研究, 在确定柴胡疏肝散抗抑郁有效的前提下, 柴胡疏肝散可显著降低斑马鱼抑郁模型体内促炎因子白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的表达水平 ($P < 0.001$)。在基因水平上, 柴胡疏肝散可显著降低斑马鱼抑郁模型 NF- κ B1、TNF- α 和 IL-6 mRNA 的表达水平 ($P < 0.05$)。结论 柴胡疏肝散可通过柴胡皂苷 A、川陈皮素等多种成分调控 TNF- α /NF- κ B 信号通路发挥抗抑郁作用。

关键词: 柴胡疏肝散; 抗抑郁; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 生物信息学; 药效物质; 分子机制

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 10-2241-20

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.10.005

Exploring pharmacodynamic substances and antidepressant mechanism of Buplehu Shugan Powder based on UPLC-Q-TOF-MS/MS combined with bioinformatics

QIANG Fajing¹, LI Huimin², LI Jun², SHENG Jiejing², YANG Xuejing², LI Zehao², JI Xiaoling², QU Zhongyuan², ZOU Xiang¹

1. Pharmaceutical Engineering Technology Research Center, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract: Objective To explore the pharmacodynamic substances and mechanism of Chaihu Shugan Powder (CHSGP) in the treatment of depression and to verify the experimental results. **Methods** The chemical constituents of CHSGP were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS/MS. Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database (TCMSP) and SwisTargetPrediction database were used to obtain and screen the component target. Differential gene analysis and weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) analysis were performed on GSE19738 gene chip data using Limma package and hclust function, and

收稿日期: 2024-04-16

基金项目: 黑龙江省重点研发计划指导类项目 (GZ20210110); 黑龙江省中医药管理局中医药经典普及化专项课题项目 (ZYW2022-063);

黑龙江省自然科学基金项目 (LH2022H001); 哈尔滨商业大学产业化项目支持计划 (XL0079)

第一作者: 强发晶, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及作用机制。E-mail: Qfj251557@163.com

*通信作者: 邹翔 (1978—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及作用机制研究。E-mail: zouxiang@hrbcu.edu.cn

depression related targets were obtained and intersected with component targets. The chemical composition-target network diagram was drawn, the degree value was calculated, and the pharmacodynamic substances were screened. The intersection genes were concentrated by GO and KEGG, followed by LASSO regression analysis and SVM analysis, to obtain the potential targets of CHSGP in the treatment of depression, and ROC survival analysis and molecular docking verification as well as experimental verification based on zebrafish depression model. **Results** A total of 126 chemical constituents were identified from CHSGP water extracts, 114 intersections of "chemical-depression" were identified, and 44 potential pharmacodynamic substances with a degree ≥ 11 (median) were identified. The top 5 components were saikosaponin A, nobiletin, 2',4,4'-trihydroxy-chalcone, ligustrolide A and naringin chalcone. Five key genes, FOS, TNF, NF- κ B1, CXCR2 and IDO1, were obtained as potential targets for CHSGP anti-depression. Molecular docking results showed that the five key components had good binding energy with five potential targets, and the binding energy with NF- κ B1 and TNF was the best. *In vivo* studies, under the premise of determining the efficacy of CHSGP as an antidepressant, CHSGP can significantly reduce the expression levels of pro-inflammatory factors IL-6 and TNF- α in zebrafish depression models ($P < 0.001$). At the gene level, CHSGP could significantly reduce the mRNA expression levels of NF- κ B1, TNF- α and IL-6 in zebrafish depression model ($P < 0.05$). **Conclusion** CHSGP can regulate the TNF- α /NF- κ B signaling pathway through a variety of components such as saikosaponin A and chenopin to play an antidepressant role.

Key words: Chaihu Shugan Powder; anti-depression; UPLC-Q-TOF-MS/MS; bioinformatics; pharmacodynamic substances; molecular mechanism

抑郁症是心境情感障碍综合征,以情感低沉、思维意识迟缓、生活兴趣降低等为主要表现^[1]。抑郁症的高复发性与难治性严重危害患者身心健康,使患者生活质量大大降低,家庭和社会负担加重。目前抑郁症已成为影响人类身心健康第二大类疾病^[2]。中医认为抑郁症属于“郁证”范畴,以心情抑郁、易怒易哭、胸部满闷、情绪不宁等为主要表现^[3]。柴胡疏肝散出自明代张介宾的《景岳全书》,具有疏肝解郁,行气止痛之效,是治疗肝郁气滞证的代表方之一,在临床上广泛用于抑郁症的治疗,且已取得显著疗效^[4]。如柴胡疏肝散加减联合经颅电刺激能够提高脑卒中后抑郁病人的认知能力,增加上肢运动能力,并且升高5-羟色胺(5-HT)水平^[5]。对乳腺癌伴随抑郁患者给予柴胡疏肝散加减或联合黛力新治疗,发现给予其加减方的配伍使用改善患者乳腺癌伴随抑郁的临床症状疗效更佳^[3]。柴胡疏肝散抗抑郁作用明确,但对于抗抑郁机制尚未完全阐明,相关研究亟待开展。

超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)具有速度快、灵敏度高、分辨率高等特点^[6],根据化合物质谱信息,结合相关数据库,能够对中药复方中的化学成分进行快速分析鉴定。生物信息学可多层次、多方面对疾病分子机制进行高效、直观地阐述,为中药复方机制研究提供大量的有效信息。本研究采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术联合生物信息学对柴胡疏肝散抗抑郁作用机制进行探究,并对预测的关键基因进行实验验证,旨在揭示柴胡疏肝散抗抑郁潜在分子机制,

为其临床治疗抑郁症提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

野生型AB系斑马鱼由国家斑马鱼资源中心提供,饲养于本实验室循环养殖系统中。环境温度控制在25~28℃,光照/黑暗时间为14 h/10 h。动物实验经哈尔滨商业大学实验动物伦理委员会批准(HSDYXY-2023040)。

1.2 中药

柴胡由大庆市林甸县大山中草药种植农民专业合作社种植基地提供,经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定为伞形科狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. 的干燥根,自行加工成饮片。复方中其余各味药购自哈尔滨市三棵树药材市场,经哈尔滨商业大学药学院曲中原教授鉴定白芍饮片基原为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,陈皮饮片基原为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 的干燥成熟果皮,香附饮片基原为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎,川芎饮片基原为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎,甘草(蜜炙)饮片基原为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根,枳壳饮片基原为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥未成熟果实。

1.3 药品与试剂

盐酸氟西汀(批号:J20030017)购自礼来苏州制药有限公司;利血平(批号:102569)购自Sigma公司;三卡因(批号:C1259391)购自天津阿尔法生物

科技有限公司;斑马鱼白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、5-HT ELISA 试剂盒(批号:202304、202303、202304)购自江苏酶免实业有限公司;乙腈(批号:34851)购自德国默克公司;0.9%氯化钠溶液(批号:2303030511)购自宝盈大药房;ABSscript III RT Master Mix for qPCR with gDNA Remover 试剂盒(批号:962229F22W16)和2 $\times$ Universal SYBR Green Fast qPCR Mix 试剂盒(批号:962203120W17)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.4 仪器

液相色谱-G6500系列四极杆飞行时间质谱联用仪(美国 Agilent 公司);iMark 型酶标仪(上海伯乐生命医药产品有限公司);BAS 万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];Applied Biosystems 实时荧光定量 PCR 仪器(赛默飞世尔科技公司);斑马鱼养殖系统(上海海圣生物实验设备有限公司);自动化斑马鱼行为分析系统(法国 ViewPoint 公司);移液器(赛默飞世尔科技公司);超低温冰箱(英国 NBS 公司)。

2 方法

2.1 柴胡疏肝散水提物化学成分分析

2.1.1 样品制备 按比例取南柴胡(2 g)、白芍(1.5 g)、陈皮(2 g)、香附(1.5 g)、川芎(1.5 g)、甘草(1 g)、枳壳(1.5 g)药材粉末,加入10倍的蒸馏水加热回流提取2次,每次1.5 h。合并2次滤液,浓缩,挥干溶剂成浸膏备用。取浸膏0.56 g(相当于原药材2.1 g)用甲醇复溶,定容至10 mL,使用0.22 μ m 微孔滤膜过滤于进样瓶中,待上机检测。

2.1.2 色谱条件 以 ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.8 μ m)为色谱柱,0.1%甲酸水(A)-乙腈(B)为流动相进行梯度洗脱(0~2 min,5%B $\rightarrow$ 95%B;2~12 min,10%B $\rightarrow$ 90%B;12~22 min,20%B $\rightarrow$ 80%B;22~27 min,40%B $\rightarrow$ 60%B;27~29 min,80%B $\rightarrow$ 20%B;29~31 min,100%B;31 min,5%B $\rightarrow$ 95%B);体积流量为0.2 mL $\cdot$ min $^{-1}$;柱温为35 $^{\circ}$ C;检测波长为269 nm;进样量为2 μ L。

2.1.3 质谱条件 采用电喷雾离子源进行正、负离子模式扫描,采集模式为自动 MS 2 ,扫描范围 m/z 50~3 000,使用固定碰撞能20 eV,雾化气温度为320 $^{\circ}$ C,雾化气流速8 L $\cdot$ min $^{-1}$,喷嘴电压1 000 V,毛细管电压为3 500 V。

2.1.4 样品检测与数据处理 取“2.1.1”项下供试品溶液,按“2.1.2”和“2.1.3”项下色谱与质谱条件进

样分析,将采集结果导入 Mass Hunter 软件,通过化合物质谱裂解规律、准分子离子峰以及碎片离子信息与采集结果信息比对,对数据进行分析,列出检测到的峰强度,以保留时间和产生的质量数据(m/z)对各峰进行标识,质量精确度 $<5\times 10^{-6}$ 。

2.2 基于生物信息学预测柴胡疏肝散抗抑郁作用机制

2.2.1 柴胡疏肝散水提物化学成分靶点获取 将分析得到的柴胡疏肝散水提物化学成分分别输入 TCMSP 和 SwissTargetPrediction 数据库检索以获得成分对应靶点,然后利用 Uniprot 数据库将靶点名称进行标准化。

2.2.2 抑郁症相关靶点获取 运用 GEO 数据库,以“depression”为检索词,获取 GSE19738 数据集^[7],该数据集共包括132个样本,其中65个为抑郁患者样本,67个为正常样本。下载芯片矩阵信息和平台信息进行 ID 转换、缺失值处理及标准化处理等。采用 R 软件中 Limma 包筛选抑郁症疾病组与对照组的差异基因。抑郁差异基因的阈值设定为 $|\log_2FC|>0.585$, $P<0.05$ 。采用 pheatmap 包绘制差异基因的热图,ggplot2 包绘制火山图以展示差异基因的分布和表达量。同时,对 GSE19738 基因芯片进行加权基因共表达网络分析(WGCNA),该方法是一种能够发现具有较高生物学意义的共表达基因模块并探索基因网络与疾病之间关系的算法^[8-9]。首先选择表达矩阵中波动最大的前25%基因进行分析,提取其中对照组和实验组的信息,使用 good Samples Genes 函数检查并删除含有缺失值的样本或基因。hclust 函数对样品进行聚类并剔除不符合要求的样本再次进行聚类。随后计算邻接矩阵和基于邻接矩阵的 TOM(拓扑重叠度量)。并使用 cutree Dynamic 函数识别动态模块,计算模块特征基因与性状数据的相关性,绘制热图。最后输出每个模块的基因列表,得到 GSE19738 数据集的核心模块和基因^[10]。得到的差异基因和 WGCNA 聚类分析获得核心模块基因通过 Venny 2.1.0 在线平台获取交集并通过韦恩图可视化,得到抑郁症相关靶点。

2.2.3 “成分-抑郁症”交集靶点获取及网络构建 将获得的柴胡疏肝散化学成分靶点和 GSE19738 基因芯片分析得到的抑郁症相关基因采用 Venny 2.1.0 在线平台进行交集靶点获取,获得药物-疾病交集靶点,并通过韦恩图进行可视化。随后将化合物及交集靶点导入 Cytoscape 3.9.0 软件中,绘制“成分-靶点”网络图。

2.2.4 基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 “成分-抑郁症”交集靶点,导入DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)中,物种为“Homo sapiens”,校正靶基因名称为“official gene symbol”,进行GO与KEGG通路富集分析及网络构建,并且运用在线平台微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)对GO与KEGG富集结果进行可视化处理。

2.2.5 最小绝对值收敛和选择算子(LASSO)回归分析和支持向量机(SVM)分析 将“2.2.4”中通过功能富集分析得到的基因分别运用R软件中的glmnet包和e1071包进行LASSO回归分析和SVM分析^[11]。综合估计显著性值,进一步缩小候选基因的范围,随后将二者分析得到的基因进行交集,进一步获取关键基因。

2.2.6 受试者工作特征曲线(ROC)生存分析 采用R软件中glmnet包和pROC包对LASSO回归分析和SVM分析二者得到的交集基因进行ROC生存分析曲线,计算ROC曲线下面积(AUC),对分析得到的关键基因进行进一步验证。

2.2.7 分子对接验证 通过运用Cytoscape绘制化学成分-靶点网络图,并计算分析度值,按照度值对化合物进行排序,对度值排序靠前的化合物与LASSO回归分析和SVM分析得到的关键基因进行分子对接,进一步对关键基因进行验证。首先从PDB数据库(<https://www.rcsb.org>)中检索关键靶点蛋白信息,根据蛋白结构的分辨率、完整性、结合口袋的形状、大小和化学性质以及蛋白结构的共晶配体等相关信息,确定蛋白结构。利用PyMOL软件去除靶点蛋白的水分子和配体。然后利用PubChem数据库检索并下载该化学成分的二维结构图SDF文件,保存;导入Chem 3D 19.0软件中转化为3D结构,并保存为mol2格式;借助AutoDocktools 1.5.6,将靶点蛋白及其对应配体和小分子化合物均保存为pdbqt格式文件,并设置对接参数,随后进行化合物和关键靶点蛋白的分子对接,分子对接构象的结合能越低,则结合构象越稳定,反映受体分子与配体之间结合的可能性越大。通常认为,结合能 $<-17.77 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 提示配体与受体有一定的结合活性, $<-20.90 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 有较好的结合活性, $<-29.26 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ 有强烈的结合活性。结合能预测完成后运用PyMOL软件处理相应结果并进行可视化编辑。

2.3 体内实验验证

2.3.1 药物的制备 柴胡疏肝散药液的制备,称取“2.1.1”项下制备的浸膏1 g,用斑马鱼培养水复溶,制成质量浓度为 $1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液。盐酸氟西汀胶囊(阳性对照药),去除外层囊衣,采用蒸馏水超声溶解,制成 $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的药液,放置 4°C 冰箱备用。

2.3.2 最大耐受浓度测定 将90尾斑马鱼,每组10条,分别浸泡在150 mL质量浓度为400、800、1 600、3 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的柴胡疏肝散药液和质量浓度为1.0、1.5、2.0、4.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的氟西汀溶液中,同时设置对照组。药物作用24 h后,观察并记录斑马鱼的死亡情况,确定斑马鱼对各药物的最大耐受浓度。

2.3.3 斑马鱼抑郁模型建立、分组及给药 斑马鱼80尾,随机分为对照组、模型组、氟西汀组和柴胡疏肝散水煎液组,每组20尾。对照组用斑马鱼培养水正常饲养。模型组、氟西汀组和柴胡疏肝散组每天给予300 μg 的利血平构建抑郁模型。而后,模型组采用斑马鱼培养水正常饲养,氟西汀组和柴胡疏肝散组的浓度分别采用“2.3.2”项下测定所得的最大耐受浓度,共给药7 d。

2.3.4 斑马鱼行为学评价 各组斑马鱼给药结束后,运用斑马鱼行为学追踪系统检测其在6 min内的运动轨迹,红色代表大运动($>20 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$),绿色代表中运动($4\sim 20 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$),黑色代表小运动($<4 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$)。记录检测时间内斑马鱼的运动总距离,作为评价指标。

2.3.5 斑马鱼体内5-HT、IL-6、TNF- α 浓度检测 各组斑马鱼给药处理后,采用3%三卡因进行麻醉,按照斑马鱼组织质量和0.9%氯化钠溶液1:9的比例,充分研磨,离心,取上清液,对所得上清液进行BCA蛋白定量,并运用ELISA试剂盒检测5-HT、IL-6、TNF- α 的质量分数,具体检测步骤严格按照试剂盒说明书进行。

2.3.6 qRT-PCR检测关键基因表达水平 将各组斑马鱼加入一定量RNA提取液研磨,提取总RNA,反向转录成cDNA。使用2 $\times$ Universal SYBR Green Fast qPCR Mix试剂盒按说明书在冰上配制PCR反应液。将配制好的反应液于Step One Plus TM Real-Time PCR System进行Real Time PCR反应。扩增程序反应条件:95 $^\circ\text{C}$ 、30 s;95 $^\circ\text{C}$ 、5 s;60 $^\circ\text{C}$ 、30 s,以 β -actin为内参。PCR扩增反应结束后,根据反应后的Ct值,计算 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值作为样品中mRNA的相对表达量,每组设置3个复孔。相关基因引物序列见表1。

表 1 引物序列
Table 1 Primers sequence

基因	引物序列
<i>IL-6</i>	正向:5'-CCAAATATACCCATTCCTGAG-3' 反向:5'-TTCTTGAAGTCTTGACTAAG-3'
<i>TNF-α</i>	正向:5'-AAGATGTTGAAGGAGATGGT-3' 反向:5'-CAAGGTAAATGGTGCTGTAG-3'
<i>NF-κB1</i>	正向:5'-CGAGAAGAACCGCAAGTCCTACC-3' 反向:5'-ACCAGACTGTGAGCGTGAAGATG-3'
<i>β-actin</i>	正向:5'-CAAAGCCAACAGAGAGAAG-3' 反向:5'-CATCACCAGAGTCCATCA-3'

2.4 数据统计

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 8.3.0 软件对数据进行统计分析,多样本组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 LSD 多重比较分析,并对分析数据进行可视化处理。

3 结果

3.1 柴胡疏肝散水提物化学成分分析

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术所得正、负离子模式下的总离子流图如图 1 所示。通过一级和二级质谱信息分析,从柴胡疏肝散水提物中共鉴定出

126 个化学成分,具体成分信息见表 2。

3.2 柴胡疏肝散抗抑郁靶点预测结果

3.2.1 “成分-抑郁症”交集靶点获取及网络构建
通过检索 TCMSP 和 SwissTargetPrediction 数据库,共得到成分靶点 1 112 个。采用 limma 包对数据集 GSE19738 进行分析共得到抑郁症差异基因 1 870 个;采用 pheatmap 包绘制热图表示差异基因的表达情况,ggplot2 包绘制火山图,共获得上调基因 948 个,下调基因 922 个(图 2-A);在 WGCNA 分析中,通过模块基因与疾病的关联分析,共分为 3 个模块,其中基因模块(MEturquoise)共包含 2 268 个基因(图 2-B),且该模块相关系数=0.94, $P=9 \times 10^{-63}$,说明该模块的基因与抑郁症的发生相关性最为显著。因此,将 GSE19738 基因芯片分析得到的差异基因与 WGCNA 分析得到的 MEturquoise 模块基因取交集,得到抑郁症靶点共 1 373 个(图 2-C)。随后将其与柴胡疏肝散成分靶点取交集,得到“化学成分-抑郁症”交集靶点共 114 个(图 2-D)。114 个交集靶点反推其对应的化学成分共 77 个,随后绘制成分-靶点图,按照度值编辑形状大小,度值越大,则颜色越深,圆形越大(图 3)。其中选择度值 ≥ 11 (中位数)

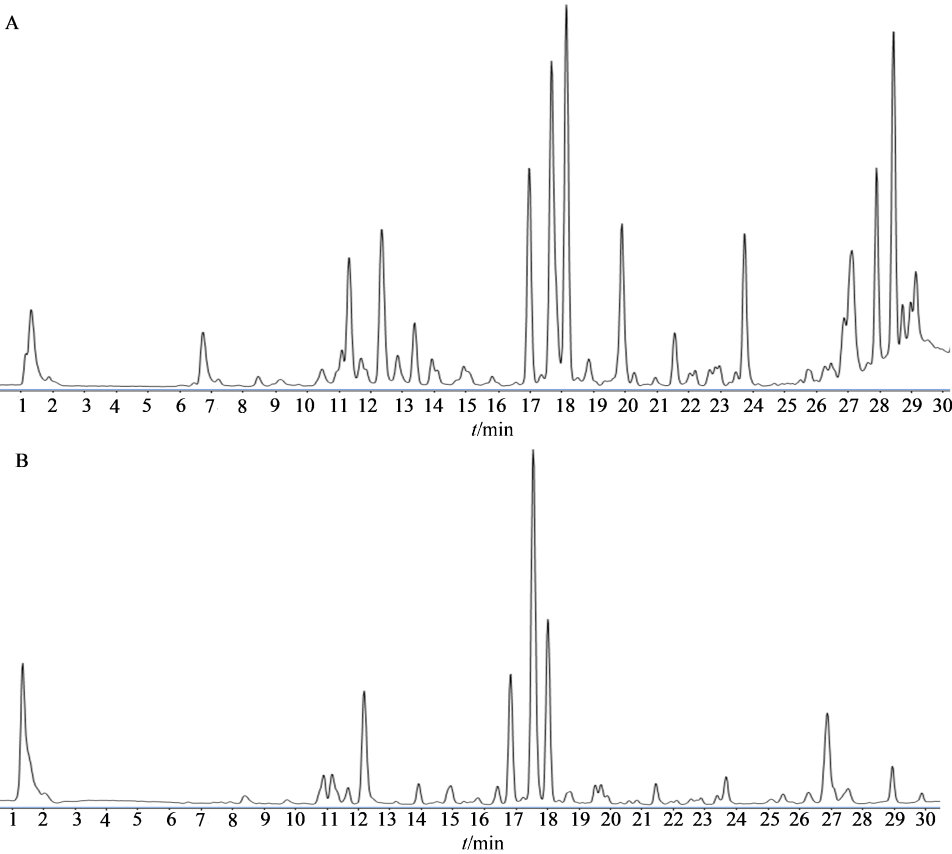


图 1 柴胡疏肝散水提取物正(A)、负(B)离子模式下的总离子流图
Fig. 1 Total ion flow diagram of extract of Chaihu Shugan Powder under positive (A) and negative (B) ion modes

表2 柴胡疏肝散水提物正、负离子模式下化学成分分析

Table 2 Chemical composition analysis of Chaihu Shugan Powder aqueous extract under positive and negative ion mode

序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
1	精氨酸	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$	1.180	173.104 8	173.104 4	-2.31	$[\text{M}-\text{H}]^-$	131.083 0	甘草; 陈皮 ^[12]
2	蔗糖 ^{##}	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	1.447	387.115 3	387.114 4	-2.29	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	341.109 7、179.056 3	白芍 ^[13]
3	腺苷	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$	1.928	268.104 6	268.104 0	-2.12	$[\text{M}+\text{H}]^+$	136.062 2、73.028 3	陈皮 ^[14] ; 枳壳 ^[15] ; 川芎 ^[16] ; 柴胡 ^[17]
4	焦谷氨酸 ^{##}	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	1.980	128.035 8	128.035 3	-3.78	$[\text{M}-\text{H}]^-$	84.912 9、60.649 8	川芎 ^[18]
5	甘草醇	$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_6$	6.016	367.117 9	367.117 5	-0.78	$[\text{M}+\text{H}]^+$	311.083 2、283.109 1	甘草 ^[19]
6	新绿原酸 ^{##}	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	6.287	353.088 3	353.087 8	-1.40	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.056 8、179.035 4、161.024 3	柴胡 ^[20]
7	色氨酸 ^{##}	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	6.525	205.097 9	205.097 2	-3.64	$[\text{M}+\text{H}]^+$	146.060 9、118.065 2、115.055 1	陈皮 ^[21]
8	氧化芍药苷 ^{##}	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$	7.622	497.166 6	497.165 4	-2.51	$[\text{M}+\text{H}]^+$	335.008 7、465.139 0、8.206 495.150 7 496.1508	白芍 ^[13, 19]
9	芍药苷亚硫酸酯 ^{##}	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{13}\text{S}$	7.705	543.117 6	543.117 8	0.34	$[\text{M}-\text{H}]^-$	333.096 8、137.024 3	白芍 ^[19]
10	对羟基苯丙酸 ^{##}	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	7.713	165.056	165.055 7	-1.71	$[\text{M}-\text{H}]^-$	119.050 9	甘草 ^[19]
11	枸橼酸	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	8.371	191.019 5	191.019	1.18	$[\text{M}-\text{H}]^-$	129.137 9、111.045 0	柴胡 ^[20]
12	绿原酸 ^{##}	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	8.394/	353.088 0/	353.088 0/	-1.40/	$[\text{M}-\text{H}]^-/$	191.056 5、179.036 1、	柴胡 ^[20, 17]
			8.679	355.103 0	355.102 0	-1.52	$[\text{M}+\text{H}]^+$	173.045 1、163.038 7	
13	隐绿原酸 ^{##}	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	8.887	353.088 0	353.088 0	-1.40	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.056 8、179.035 4、173.045 6	柴胡 ^[20]
14	芦丁 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	9.608	609.146 9	609.146 1	-1.30	$[\text{M}-\text{H}]^-$	271.061 0、301.071 8	柴胡 ^[20]
15	芦采宁-2	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	9.775	611.161 1	611.160 7	-0.72	$[\text{M}+\text{H}]^+$	425.083 4、395.078 9、353.065 0	陈皮 ^[22]
16	Angustone A	$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{O}_6$	10.439	421.164 0	421.165 7	3.95	$[\text{M}-\text{H}]^-$	322.264 6	甘草 ^[18]
17	维采宁-2	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	10.963	593.151 9/	593.151 9/	-1.19/	$[\text{M}-\text{H}]^-/$	575.140 0、503.119 7、	甘草; 陈皮 ^[12, 19]
			11.122	595.167 2	595.165 7	-2.44	$[\text{M}+\text{H}]^+$	383.077 8	
								577.156 0、433.099 1	
18	芍药内酯苷	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	11.174	525.162 2/	525.161 4/	-1.59/	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	479.156 0、357.120 2/	白芍 ^[13, 19]
			18.439	481.171 4	481.170 4	-2.00	$[\text{M}+\text{H}]^+$	319.118 7、301.108 5、	
								197.081 7	
19	6,8-di-glucopyranocycldiosmetin	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	11.59	623.162 0	623.161 8	-0.39	$[\text{M}-\text{H}]^-$	503.118 6	枳壳 ^[23]
20	水仙苷 ^{##}	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$	11.828	625.178 0/	625.176 3/	-2.70/	$[\text{M}+\text{H}]^-/$	626.180 4、627.272 4、	甘草 ^[24] ; 柴胡 ^[20, 25]
			12.052	623.162 0	623.161 8	-0.39	$[\text{M}-\text{H}]^-$	317.06 11/383.077 3	
21	阿魏酰基-奎宁酸	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$	11.997	367.104 0	367.103 5	-1.48	$[\text{M}-\text{H}]^-$	193.051 4、191.056 3、	柴胡 ^[20]
								173.045 8	
22	芍药苷 ^{##}	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	12.208	525.162 2	525.161 4	-1.59	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	479.155 8、449.146 1	白芍 ^[13]
23	异槲皮苷 ^{##}	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	13.948	463.088 7	463.088 2	-1.08	$[\text{M}-\text{H}]^-$	427.161 6	柴胡 ^[20]

表2 (续)

序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
24	salipurposide	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	14.159	433.114 6	433.114 0	-1.34	$[\text{M}-\text{H}]^-$	271.061 6	白芍 ^[23]
25	圣草枸杞苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	14.535	595.167 2	595.166 8	-0.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	287.056 2、151.003 4	陈皮;枳壳 ^[19]
26	夏佛托苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$	14.585	565.155 5	565.155 2	-0.56	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.113 5、415.105 3	甘草 ^[19]
27	异甘草素 ^{##}	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	14.648	257.081 6	257.080 8	-2.97	$[\text{M}+\text{H}]^+$	147.045 1、137.023 9	甘草 ^[19]
28	新北美圣草苷 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	14.694	597.182 2	597.181 4	-1.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	451.128 8、289.071 4	枳壳 ^[15]
29	野漆树苷或同分异构体 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	14.788	579.172 4	579.170 8	-2.71	$[\text{M}+\text{H}]^+$	433.113 3、271.058 4	陈皮 ^[22]
30	新异甘草苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	14.982	417.119 6	417.119 1	-1.18	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.066 7、135.008 9、119.050 3	甘草 ^[18]
31	ichangin-4- <i>O</i> - β - <i>D</i> -glucopyranoside	$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_{14}$	15.005	649.250 5	649.250 2	-0.49	$[\text{M}-\text{H}]^-$	605.259 9、443.208 2	枳壳 ^[23]
32	佛莱心苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	15.047	579.172 4	579.170 8	-2.71	$[\text{M}+\text{H}]^+$	525.141 5、507.131 5、441.117 9	甘草 ^[24]
33	甘草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	15.110	257.081 6	257.080 8	-2.97	$[\text{M}+\text{H}]^+$	239.070 0、137.023 6	甘草 ^[19]
34	枸橼苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	15.202	593.187 9	593.187 6	-0.54	$[\text{M}-\text{H}]^-$	285.041 4	陈皮;枳壳 ^[19]
35	忍冬苷 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	15.360	595.167 2	595.165 7	-2.44	$[\text{M}+\text{H}]^+$	463.125 4、449.108 7、343.079 6	陈皮 ^[21]
36	新圣草枸杞苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	15.404	595.167 2	595.166 8	-0.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	287.057 2、151.004 2、135.046 5	陈皮;枳壳 ^[19]
37	圣草次苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	15.540	597.182 2	597.181 4	-1.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	451.119 2、289.070 9	枳壳 ^[15]
38	柚皮素-7- <i>O</i> -槐糖	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	15.601	595.167 2	595.166 8	-0.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	287.053 6、151.004 5	枳壳 ^[14]
39	山柰酚-3- <i>O</i> -葡萄糖苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	15.666	449.109 1	449.107 8	-2.81	$[\text{M}+\text{H}]^+$	135.044 6	白芍 ^[19]
40	phloretin-3',5-di- <i>C</i> -glucoside	$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	15.766	597.183 0	597.182 5	-0.85	$[\text{M}-\text{H}]^-$	477.140 8、417.118 8、387.109 3	陈皮 ^[22]
41	没食子酰芍药苷或同分异构体	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	15.781	631.166 6	631.166 8	0.39	$[\text{M}-\text{H}]^-$	613.156 0、491.119 0、399.093 7	白芍 ^[13]
42	洋川芎内酯 J/N	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$	16.465	227.128 4	227.127 8	-2.71	$[\text{M}+\text{H}]^+$	153.055 5	川芎 ^[18]
43	芸香柚皮苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	16.982	581.187 9/19.486	581.186 5/579.171 9	-2.44/-1.16	$[\text{M}+\text{H}]^+/\text{[M}-\text{H}]^-$	435.130 0、273.077 0、153.018 4/271.061 2、151.003 9	枳壳;陈皮 ^[15,19]
44	6,8-二- <i>C</i> -吡喃葡萄糖基芹菜素	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$	17.155	595.167 2	595.165 7	-2.44	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.109 5	枳壳 ^[15]
45	二咖啡酰基奎宁酸 ^{##}	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	17.238	515.120 7	515.119 5	-2.33	$[\text{M}-\text{H}]^-$	353.088 1、191.056 6、179.034 9	柴胡 ^[20]
46	异佛莱心苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	17.303	579.172 4	579.170 8	-2.71	$[\text{M}+\text{H}]^+$	273.076 5	甘草 ^[18]
47	柚皮苷 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$	17.567	579.172 6/17.742	579.171 9/581.187 9	-1.16/-2.44	$[\text{M}-\text{H}]^-/\text{[M}+\text{H}]^+$	459.116 4、271.062 0/435.129 8、273.076 9、153.018 8	陈皮 ^[14] ;枳壳 ^[15,23]

表2 (续)

序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
48	柚皮素 ^{##}	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	17.719 23.928	273.076 9/ 271.061 8	273.075 7/ 271.061 2	-4.21/ -2.22	$[\text{M}+\text{H}]^+/[\text{M}-\text{H}]^-$	153.018 7、147.044 5/ 151.003 8、119.050 6、 107.014 0	甘草;白芍; 陈皮 ^[19,24,26]
49	异佛莱心苷	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	17.723	577.156 6	577.1563	-0.56	$[\text{M}-\text{H}]^-$	269.046 0	甘草 ^[12]
50	Isosalipurposide	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	17.817	433.114 6	433.114 0	-1.34	$[\text{M}-\text{H}]^-$	313.071 5、271.062 1	白芍 ^[23]
51	异野漆树苷 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	17.859	579.172 4	579.170 8	-2.71	$[\text{M}+\text{H}]^+$	271.061 1	枳壳 ^[15]
52	樱桃苷同分异构体	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	17.930	435.129 6	435.128 6	-2.36	$[\text{M}+\text{H}]^+$	273.076 4、153.018 7、 147.044 1	陈皮 ^[14]
53	柚皮苷查耳酮或同分异构体 ^{##}	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$	17.969	273.076 9	273.075 7	-4.21	$[\text{M}+\text{H}]^+$	153.018 7	陈皮 ^[14]
54	新橙皮苷 ^{##}	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	18.076 18.776	609.182 8/ 611.198 5	609.182 5/ 611.197 0	-0.50/ -2.38	$[\text{M}-\text{H}]^-/[\text{M}+\text{H}]^+$	301.072 6、286.048 9、 242.058 6/ 465.140 1、303.087 3、 135.044 1	陈皮 ^[26] ;枳壳 ^[15]
55	异樱花苷或同分异构体	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	18.220	449.145 6	449.144 2	-3.06	$[\text{M}+\text{H}]^+$	413.123 8、395.113 4、 369.097 3	陈皮 ^[14] ;枳壳 ^[15]
56	橙皮苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$	18.329 18.64	611.198 5/ 609.182 8	611.197 0/ 609.182 5	-2.38/ -0.50	$[\text{M}+\text{H}]^+/[\text{M}-\text{H}]^-$	465.144 5、303.087 4/ 302.074 4、301.071 8	陈皮 ^[12, 26] ; 枳壳 ^[19]
57	高圣草酚	$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$	18.784	303.086 7	303.086 3	-1.27	$[\text{M}+\text{H}]^+$	177.055 7、153.018 4	陈皮 ^[14]
58	异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$	18.883	477.104 4	477.104 4	-1.15	$[\text{M}-\text{H}]^-$	314.043 4、151.003 4	柴胡 ^[17]
59	4-羟基-3-丁基苯酚	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_3$	19.003	207.102 1	207.102 1	-2.56	$[\text{M}+\text{H}]^+$	189.089 5、161.095 6	川芎 ^[27]
60	芹糖甘草苷	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$	19.275	549.161 7	549.161 4	-0.61	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.067 3、135.008 0	甘草 ^[12]
61	瑟丹酸	$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3$	19.285	211.133 4	211.132 9	-2.51	$[\text{M}+\text{H}]^+$	147.115 9	川芎 ^[16]
62	柚皮黄素 ^{##}	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	19.411	419.134 4	419.133 7	-1.77	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.093 2	枳壳 ^[15]
63	金丝桃苷 ^{##}	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	19.536	465.104 1	465.102 8	-2.90	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.121 5	白芍 ^[19]
64	诺米林葡萄糖苷	$\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{15}$	19.549	693.276 6	693.276 4	-0.30	$[\text{M}-\text{H}]^-$	565.261 1、161.045 5、 119.035 0	陈皮 ^[21]
65	诺米林 ^{##}	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9$	19.676	515.228 3	515.227 6	-1.44	$[\text{M}+\text{H}]^+$	469.222 1、411.217 4、 161.060 3	枳壳 ^[15]
66	Melitidin	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	19.714	723.214 7	723.214 2	-0.71	$[\text{M}-\text{H}]^-$	607.501 8、579.171 5	枳壳 ^[14]
67	Nomilinic acid glycoside	$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_{16}$	19.745	711.287 6	711.287 0	-0.90	$[\text{M}-\text{H}]^-$	651.266 4、607.276 4	陈皮 ^[22]
68	甘草苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	19.800	417.119 6	417.119 1	-1.18	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.067 0、135.009 0	甘草 ^[12]
69	芒柄花苷 ^{##}	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$	19.802	431.135 1	431.133 7	-3.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	269.081 7、254.057 3	甘草 ^[12]
70	诺米林酸	$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$	19.849	533.239 3	533.238 1	-2.21	$[\text{M}+\text{H}]^+$	369.205 3、161.059 2	枳壳 ^[15]
71	白果黄素 ^{##}	$\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$	19.979	551.097 3	551.098 4	1.94	$[\text{M}-\text{H}]^-$	179.057 3	香附 ^[30]
72	橙皮内酯 ^{##}	$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4$	20.006	261.112 9	261.112 1	-2.93	$[\text{M}+\text{H}]^+$	243.102 0、189.055 1、 131.049 2	陈皮 ^[14] ;枳壳 ^[15]
73	异甘草苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$	20.230	417.119 6	417.119 1	-1.18	$[\text{M}-\text{H}]^-$	255.066 9、135.008 5、 119.050 2	甘草 ^[12]
74	异野漆树苷 ^{##}	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	20.341	577.156 6	577.156 3	-0.56	$[\text{M}-\text{H}]^-$	271.062 9	枳壳 ^[14]
75	新香叶木苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	20.426	607.166 1	607.166 8	1.23	$[\text{M}-\text{H}]^-$	301.073 4	枳壳 ^[14]

表2 (续)

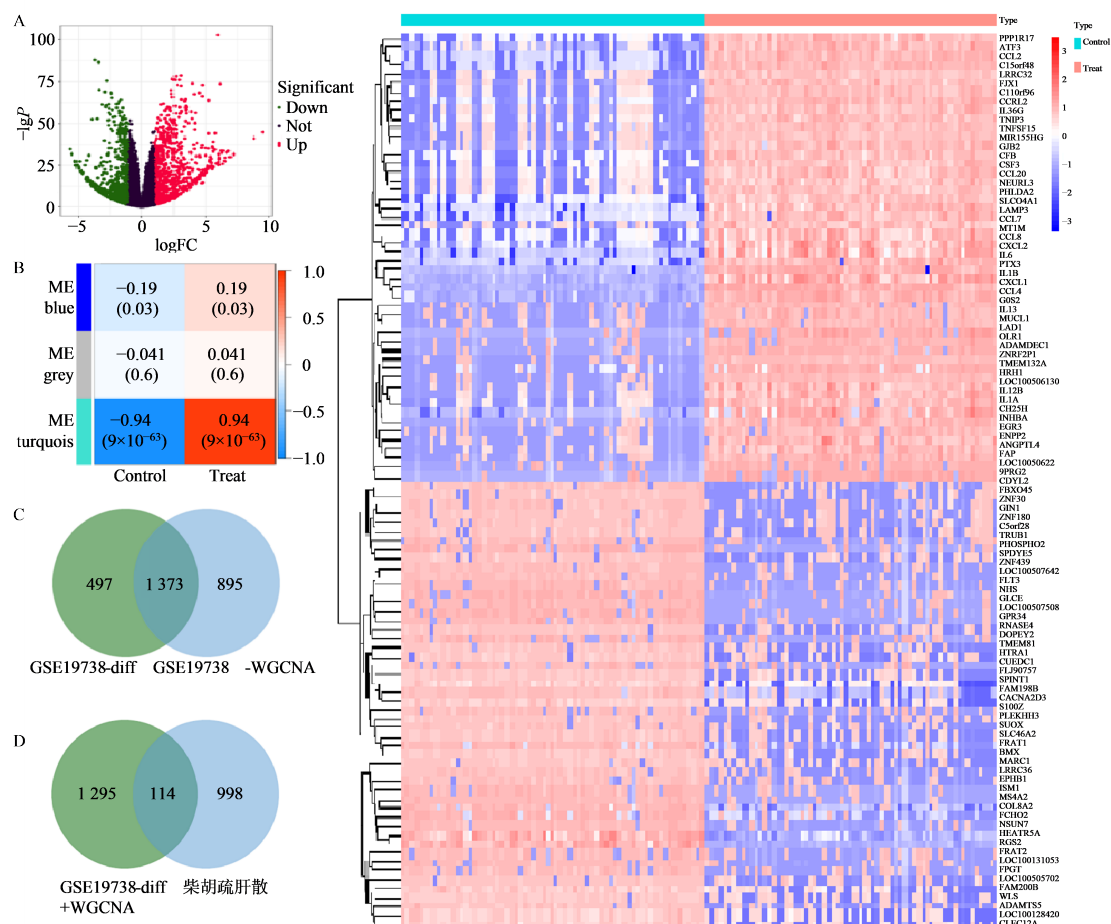
序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
76	甘草苷 B	$\text{C}_{35}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$	20.522	697.209 7	697.212 7	4.30	$[\text{M}+\text{H}]^+$	279.087 0、261.077 0	甘草 ^[18]
77	香叶木苷 ^{##}	$\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$	20.539	609.181 6	609.181 4	-0.33	$[\text{M}+\text{H}]^+$	303.086 2	陈皮 ^[12] ；枳壳 ^[19]
78	monohydroxy pentamethoxyflavonol-3- <i>O</i> -(5- α -glucosyl-HMG)- β -glucoside	$\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{O}_{23}$	20.687	873.265 5	873.265 9	0.47	$[\text{M}+\text{H}]^+$	405.119 1、390.089 4	陈皮 ^[21]
79	黄柏酮 ^{##}	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_7$	20.742	455.207 4	455.206 4	-2.13	$[\text{M}+\text{H}]^+$	409.200 6、315.139 0、161.059 5	陈皮 ^[22]
80	limocitrin-3- <i>O</i> -HMG- β -glucoside	$\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_{17}$	20.992	653.172 1	653.171 2	-1.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	347.076 8、127.039 6	陈皮 ^[22]
81	异甘草素 ^{##}	$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_4$	21.053	255.066 9	255.066 3	-2.42	$[\text{M}-\text{H}]^-$	135.086 0	甘草 ^[19]
82	牡丹皮苷 J	$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	21.452	629.184 6	629.187 6	4.74	$[\text{M}-\text{H}]^-$	121.029 5	白芍 ^[13]
83	香风草苷	$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	21.596	595.203 8	595.202 1	-2.80	$[\text{M}+\text{H}]^+$	449.143 7、287.092 4	陈皮 ^[12] ；枳壳 ^[15]
84	pentamethoxyflavone-3- <i>O</i> -HMG- β -glucoside	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$	22.066	695.218 7	695.218 2	-0.75	$[\text{M}+\text{H}]^+$	389.123 9、359.077 7	陈皮 ^[21]
85	nomilinic acid 17- <i>O</i> - β -D-glucopyranoside	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	22.110	709.198 7	709.198 5	-0.23	$[\text{M}-\text{H}]^-$	607.167 0	柴胡 ^[29]
86	甘草皂苷 J ₂	$\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{16}$	22.158	823.412 0	823.412 2	0.19	$[\text{M}-\text{H}]^-$	351.055 4、709.225 4	甘草 ^[12]
87	monohydroxy pentamethoxyflavonol-3- <i>O</i> -HMG- β -glucoside	$\text{C}_{32}\text{H}_{38}\text{O}_{18}$	22.246	711.213 5	711.213 1	-0.58	$[\text{M}+\text{H}]^+$	405.119 0、375.072 5	陈皮 ^[21]
88	7,4-dihydroxy-5,6,8,3-tetramethoxyflavonol-3- <i>O</i> -HMG- β -glucoside	$\text{C}_{31}\text{H}_{36}\text{O}_{18}$	22.473	697.199 7	697.197 4	-3.24	$[\text{M}+\text{H}]^+$	391.103 2	陈皮 ^[21]
89	柑橘素 III ^{##}	$\text{C}_{36}\text{H}_{53}\text{N}_7\text{O}_9$	22.841	728.398 8	728.397 8	-1.44	$[\text{M}+\text{H}]^+$	615.314 8、474.235 4、377.181 4	陈皮 ^[14]
90	苯甲酰芍药苷	$\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$	23.395	629.187 9	629.187 6	-0.51	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	583.180 0、553.171 4、431.135 2	白芍 ^[13]
91	甘草皂苷 A3	$\text{C}_{48}\text{H}_{72}\text{O}_{21}$	23.552	983.448 4/23.624	983.449 3/985.463 9	0.95/-0.93	$[\text{M}-\text{H}]^-/[\text{M}+\text{H}]^+$	821.395 5/985.465 2、986.466 1、987.467 2	甘草 ^[12, 24]
92	natsudaidin	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	23.781	725.230 6	725.228 7	-2.56	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.135 0	陈皮 ^[12]
93	mudanpissid B	$\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$	23.850	629.187 9	629.187 6	4.74	$[\text{M}-\text{H}]^-$	583.179 2、121.029 7	白芍 ^[23]

表2 (续)

序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
94	melitidin	$\text{C}_{33}\text{H}_{40}\text{O}_{18}$	24.690	725.230 6	725.228 7	-2.56	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.134 4、389.086 1	枳壳 ^[15]
95	甘草皂苷 G2	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	24.993	837.391 4	837.391 4	0.03	$[\text{M}-\text{H}]^-$	351.058 0、193.034 5	甘草 ^[29]
96	光甘草内酯	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_4$	25.137	469.332 2	469.331 2	-2.05	$[\text{M}+\text{H}]^-$	451.320 6	甘草 ^[12]
97	柑橘苷 I	$\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{N}_7\text{O}_9$	25.285	704.398 2	704.397 8	-0.63	$[\text{M}+\text{H}]^-$	573.304 4	陈皮 ^[14]
98	柴胡皂苷 C	$\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{17}$	25.380	971.521 7/	971.522 1/	0.42/	$[\text{M}+$	925.516 9、779.451 7、	柴胡 ^[20, 29]
				26.067	961.493 9	961.493 3	-0.62	$\text{HCOO}]^-/$	
							$[\text{M}+\text{Cl}]^-$	763.458 9/	
99	Pinellic acid	$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$	25.557	329.234 1	329.233 3	-2.28	$[\text{M}-\text{H}]^-$	925.508 5、779.451 6	香附 ^[28]
								183.139 7	
100	甘草查尔酮 D	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_5$	25.803	355.152 1	355.154 0	5.35	$[\text{M}+\text{H}]^+$	193.122 3	甘草 ^[12]
101	异甜橙黄酮 ^{##}	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	25.849	373.129 5	373.128 2	-3.54	$[\text{M}+\text{H}]^+$	357.098 2、343.081 8、	陈皮 ^[14]
								329.098 3	
102	Isocorymbolone	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$	26.139	237.185 4	237.184 9	-2.08	$[\text{M}+\text{H}]^+$	219.176 8、201.163 8	香附 ^[19]
103	艾黄素或同分异构体	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$	26.241	389.123 8	389.123 1	-1.81	$[\text{M}+\text{H}]^+$	374.103 8、359.076 6、	陈皮 ^[14]
								341.063 1	
104	异柠檬尼酸	$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_9$	26.263	487.197 4	487.197 4	-0.09	$[\text{M}-\text{H}]^-$	427.176 3、383.186 3、	陈皮 ^[21]
								297.113 2	
105	甘草皂苷 G2 或异构体	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	26.264	839.407 1	839.406 0	-1.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	663.373 8、487.342 6、	甘草 ^[12]
								469.332 0	
108	缬草素	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$	26.304	235.170 0	235.169 3	-3.16	$[\text{M}+\text{H}]^+$	149.098 6、121.099 5	柴胡 ^[32]
106	羟基甘草酸	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$	26.429	839.407 1	839.406 0	-1.34	$[\text{M}+\text{H}]^+$	663.375 1、487.342	甘草 ^[31]
								7、469.332 0	
107	5,7,8,3',4',5-hexamethoxyflavone	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	26.601	403.139 8	403.138 7	-2.62	$[\text{M}+\text{H}]^+$	374.096 5、373.092 5	陈皮 ^[22]
108	枞酸乙酯 ^{##}	$\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_2$	26.796	329.247 1	329.248 6	4.57	$[\text{M}-\text{H}]^-$	211.133 9、171.103 0	陈皮 ^[22]
109	Melliferone	$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_3$	26.837	453.337 3	453.336 3	-2.16	$[\text{M}+\text{H}]^+$	435.326 7、407.332 0	甘草 ^[12]
110	甘草酸	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	26.899	823.413 2/	823.411 1/	-2.60/	$[\text{M}+\text{H}]^+/-$	647.379 5、471.347 6、	甘草 ^[12, 32]
				26.998	821.397 0	821.396 5	-0.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	453.337 4/
								351.056 8、113.024 6	
111	甜橙黄酮 ^{##}	$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$	27.017	373.129 5	373.128 2	-3.54	$[\text{M}+\text{H}]^+$	357.096 9、343.082 0、	枳壳 ^[14] ；陈
								329.082 0	皮 ^[19]
112	柴胡皂苷 D ^{##}	$\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{13}$	27.132	815.435 6	815.435 4	-0.25	$[\text{M}+\text{Cl}]^-$	779.458 8、617.402 9	柴胡 ^[19]
113	柴胡皂苷 A ^{##}	$\text{C}_{42}\text{H}_{68}\text{O}_{13}$	27.132	825.464 0	825.464 2	0.24	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	779.458 8、617.407 0、	柴胡 ^[20]
								145.049 5	
114	甘草皂苷 B2	$\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{15}$	27.234	807.417 1	807.417 2	0.18	$[\text{M}-\text{H}]^-$	808.419 2、351.057 3	甘草 ^[12]
115	甘草皂苷 H2 ^{##}	$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$	27.320	821.397 0	821.396 5	-0.60	$[\text{M}-\text{H}]^-$	779.461 9	甘草 ^[33]
116	柠檬苦素 ^{##}	$\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$	27.353	471.202 6	471.201 3	-2.66	$[\text{M}+\text{H}]^+$	453.190 9、425.097 1、	枳壳 ^[15]
								367.190 2	
117	4"-乙酰化柴胡皂苷 b2	$\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{14}$	27.673	857.446 0	857.446 0	-0.05	$[\text{M}+\text{Cl}]^-$	821.468 9、779.457 1	柴胡 ^[17]
118	2"-O-乙酰基柴胡皂苷 A	$\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{14}$	27.719	867.474 5	867.474 8	0.30	$[\text{M}+\text{HCOO}]^-$	821.469 4、779.458 1、	柴胡 ^[20]
								761.458 1	
119	川陈皮素 ^{##}	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$	27.737	403.139 8	403.138 7	-2.62	$[\text{M}+\text{H}]^+$	388.116 0、373.092 6、	枳壳；陈
								358.069 0	皮 ^[19]

表2 (续)

序号	化学名称	分子式	t_R/min	m/z		误差	离子模式	碎片离子	中药归属
				实测值	理论值				
120	2"-O-乙酰基柴胡皂苷 D	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	28.221	867.474 5	867.4748	0.30	[M+] HCOO] ⁻	821.468 7, 779.454 9, 761.445 5	柴胡 ^[20]
121	6"-O-乙酰基柴胡皂苷 D	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	28.237	857.446 0	857.446 0	-0.05	[M+Cl] ⁻	821.467 8, 617.407 9	柴胡 ^[20]
122	3,5,6,7,8,3',4'-七甲基黄酮	C ₂₂ H ₂₄ O ₉	28.489	433.150 4	433.149 3	-2.52	[M+H] ⁺	418.126 8, 403.103 6, 385.093 0	枳壳; 陈皮 ^[19]
123	洋川芎内酯 A ^{##}	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	28.685	193.123 0	193.122 3	-3.59	[M+H] ⁺	147.116 9	川芎 ^[16]
124	橘皮素 ^{##}	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	28.732	373.129 5	373.128 2	-3.54	[M+H] ⁺	358.105 8, 343.082 0, 325.071 0	陈皮 ^[14]
125	光甘草酮	C ₂₀ H ₁₆ O ₅	29.022	337.107 5	337.107 1	-1.33	[M+H] ⁺	149.096 1	甘草 ^[18]
126	13-羟基-9,11-十八二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	30.744	295.228 1	295.227 9	-0.78	[M-H] ⁻	277.217 2, 195.138 0	柴胡 ^[17]



A-GSE19738数据集差异基因分析结果;B-GSE19738数据集WGCNA分析结果;C-GSE19738数据集差异基因和WGCNA分析基因交集结果;
D-柴胡疏肝散成分靶点和GSE19738数据集分析抑郁相关基因交集结果。

A-Results of differential gene analysis for GSE19738 dataset;B-Results of WGCNA analysis of GSE19738 dataset;C-Intersection results of differential genes in GSE19738 dataset and genes analyzed by WGCNA;D-Intersection results of depression-related genes analyzed by Chaihu

Shugan Powder component targets and GSE19738 dataset.

图2 柴胡疏肝散抗抑郁作用靶点筛选

Fig. 2 Screening of anti-depressant targets of Chaihu Shugan Powder

的化学成分确定为潜在药效物质,共44个,在表2中用“##”标注,其中排名前5的核心成分依次为异甘草素、柴胡皂苷A、川陈皮素、洋川芎内酯A、柚皮苷查耳酮。

3.2.2 GO和KEGG富集分析结果 对“3.2.1”项下分析得到的“成分-抑郁症”交集靶点进行富集分析,结果显示,交集靶点主要富集在炎症相关通路,如GO分析得到的 inflammatory response、positive regulation of MAPK cascade; KEGG富集得到的 MAPK signaling pathway、TNF signaling pathway、IL-17 signaling pathway等信号通路;并对GO富集分析结果中count>10的通路进行可视化(图4),对

KEGG富集分析结果中count>5的通路进行可视化(图5)。随后选取GO功能分析富集 inflammatory response 通路的22个基因(*CCR1*、*AOC3*、*CSF1R*、*IGFBP4*、*SPHK1*、*F2R*、*STAT3*、*FOS*、*PTGS2*、*TNF*、*NF- κ B1*、*P2RX7*、*IL6*、*FUT7*、*ADORA2A*、*IL1B*、*CXCR2*、*C3AR1*、*CCR5*、*MGLL*、*IDO1*、*CCR2*)进行进一步分析。

3.2.3 LASSO回归分析和SVM分析筛选关键基因 选取GO功能分析富集在“inflammatory response”通路的22个基因分别进行LASSO回归分析和SVM分析。LASSO回归分析结果显示,有6个基因被鉴定为抑郁相关的特征基因(图6-A),分

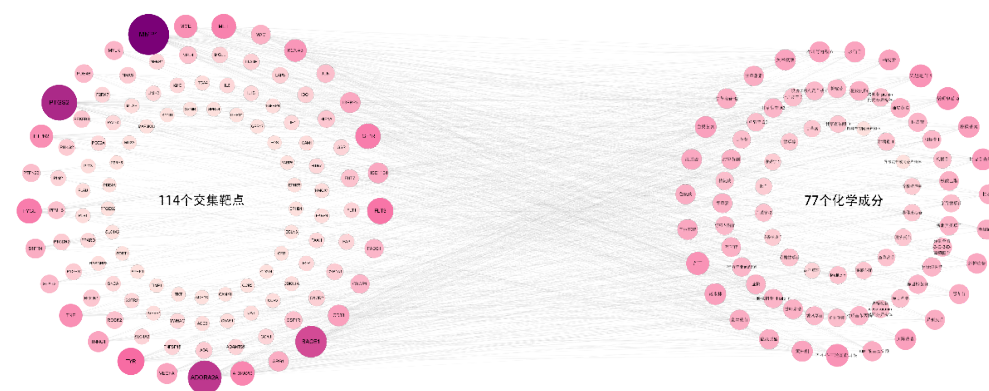


图3 成分-靶点网络图

Fig. 3 Component-target network diagram

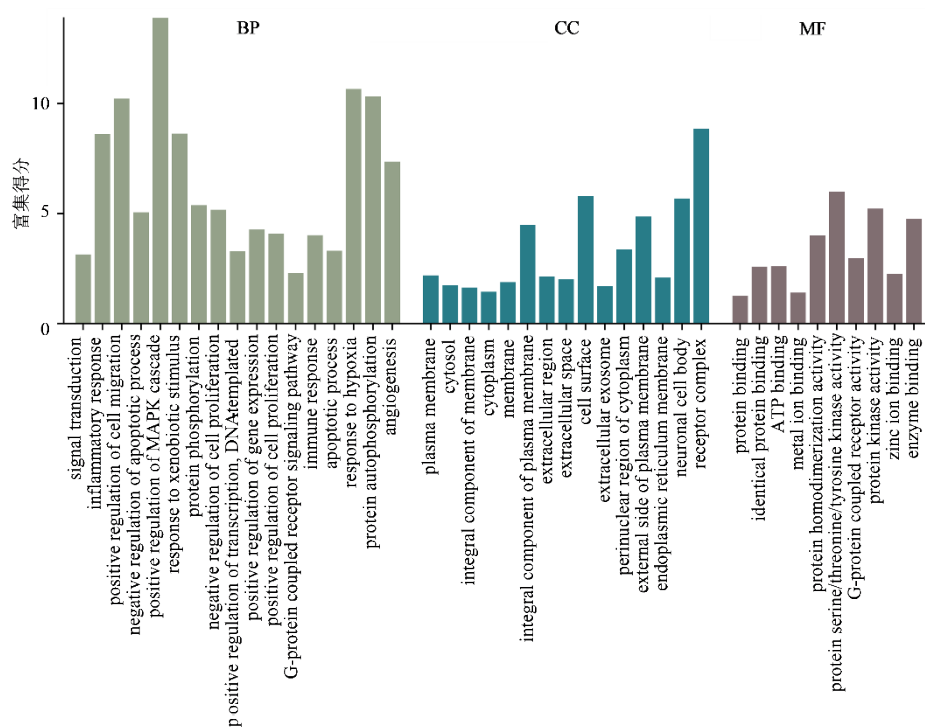


图4 KEGG富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis

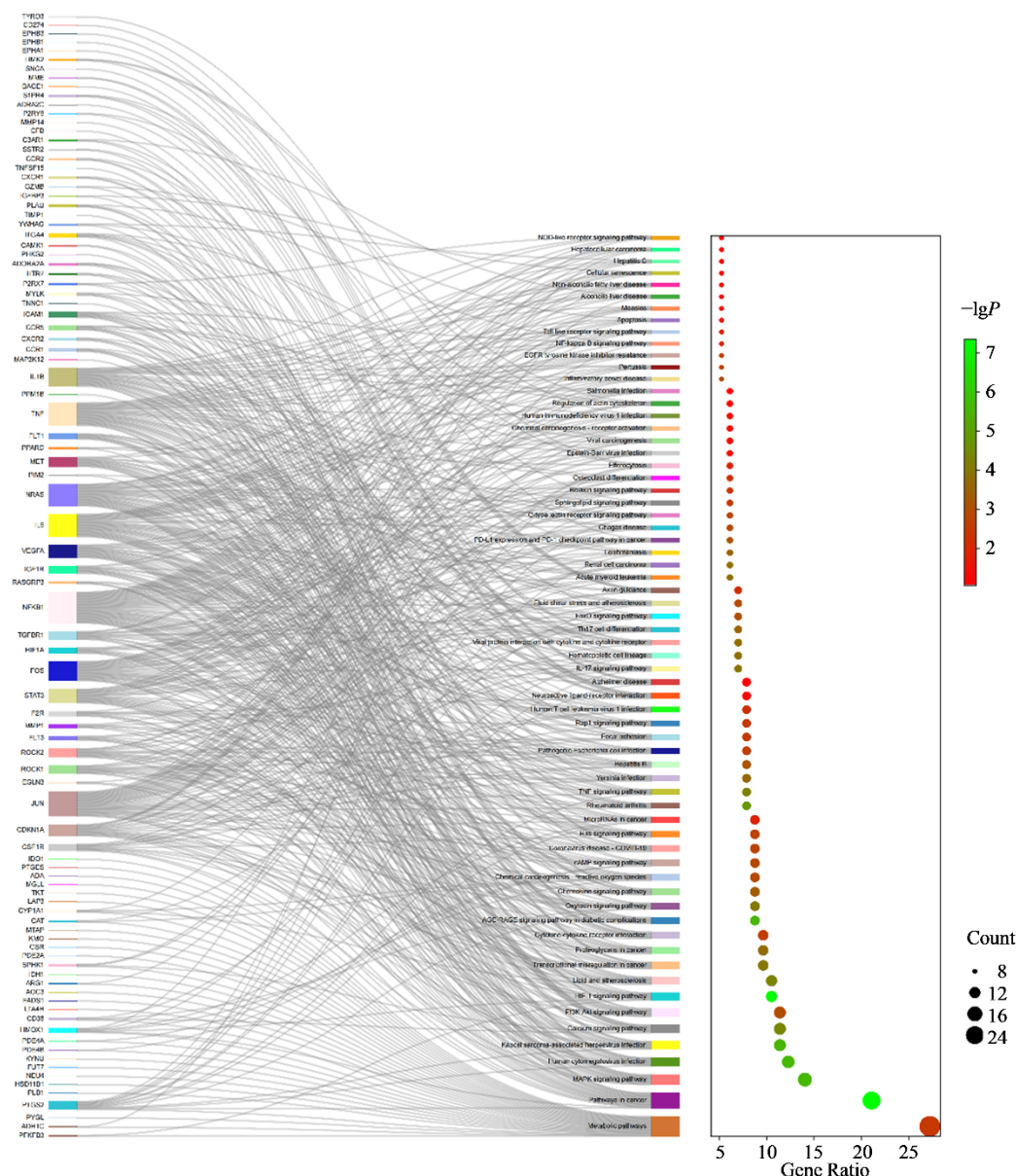


图5 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis

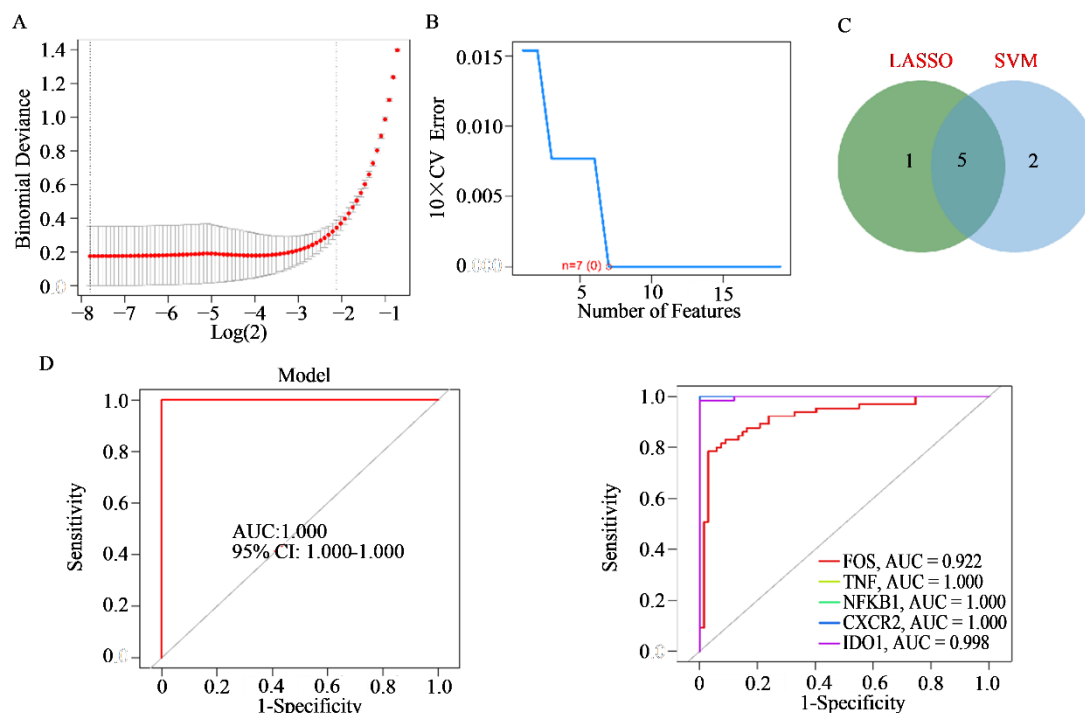
别是 *FOS*、*TNF*、*NF-κB1*、*IL1B*、*CXCR2* 和 *IDO1*。SVM 分析结果显示,有 7 个基因被鉴定为抑郁相关的特征基因(图 6-B),分别是 *NF-κB1*、*CXCR2*、*TNF*、*P2RX7*、*IDO1*、*FOS* 和 *IL6*。进一步将两种分析方法得到的特征基因取交集得到 5 个关键基因,分别为 *FOS*、*TNF*、*NF-κB1*、*CXCR2* 和 *IDO1*(图 6-C),并将 5 个关键基因作为后续研究的柴胡疏肝散抗抑郁的关键靶点。

3.2.4 ROC 生存分析验证结果 进一步评估筛选获得的 5 个关键基因在抑郁症诊断中的特异性。ROC 曲线分析结果显示, *FOS*、*TNF*、*NF-κB1*、*CXCR2* 和 *IDO1* 均可作为抑郁诊断的生物标志物(图 6-D)。

3.2.5 分子对接验证结果 将度值排名前 5 的化合物与 5 个关键基因 *IDO1*、*NF-κB1*、*TNF*、*CXCR2* 和 *FOS* 进行结合能预测;对接结果显示,5 个核心成分与关键基因均具有良好的结合活性结合能 ($\leq -20.9 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$),其中与 *NF-κB1* 和 *TNF* 2 个基因的结合能力最佳,见图 7。

3.3 体内实验验证结果

3.3.1 斑马鱼对柴胡疏肝散和氟西汀的最大耐受浓度测定 测定结果显示,柴胡疏肝散在 $1\ 600$ 、 $3\ 200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度下均有不同程度的死亡,死亡率分别为 65% 和 100%;在 400 、 $800 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度下无死亡。氟西汀在 2 、 $4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度下,斑马鱼均有不同程度的死亡,死亡率分别为 50% 和



A-LASSO 回归分析; B-SVM 分析; C-LASSO 回归分析和 SVM 分析交集; D-ROC 分析结果。
A-LASSO regression analysis; B-SVM analysis; C-LASSO regression analysis and SVM analysis intersection; D-ROC analysis result.

图 6 抑郁症相关特征基因筛选及有效性诊断

Fig. 6 Gene screening and effective diagnosis of depression related characteristics

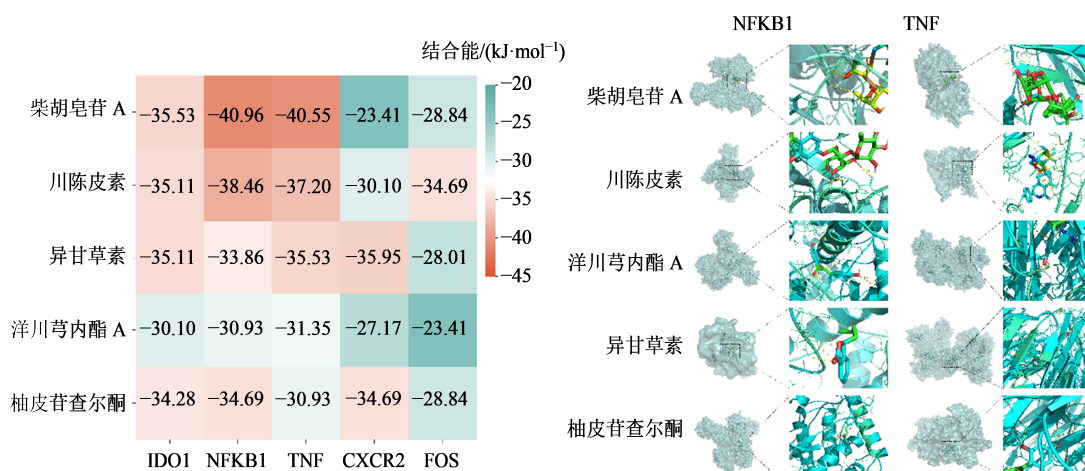


图 7 5 个关键成分与潜在靶标分子对接热图和示意图

Fig. 7 Heatmaps and diagrams of docking of five key components with potential target molecules

100%; 在 1.0、1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 质量浓度下无死亡。因此,斑马鱼对柴胡疏肝散和氟西汀的最大耐受浓度分别为 800.0、1.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3.3.2 柴胡疏肝散抗抑郁药效评价 斑马鱼抑郁模型的运动总距离与对照组相比显著减少,而柴胡疏肝散治疗可显著增加模型斑马鱼的运动总距离 ($P < 0.001$)。ELISA 测定结果表明,模型组 5-HT 水平较正常斑马鱼显著降低 ($P < 0.001$),同时 IL-6 和 TNF- α 的水平显著升高 ($P < 0.001$),柴胡疏肝散

治疗后可使模型斑马鱼体内 5-HT 显著回调 ($P < 0.001$),同时显著降低 IL-6 和 TNF- α 的异常升高 ($P < 0.001$) (图 8)。

3.3.3 关键基因验证结果 qRT-PCR 结果显示 (图 9),与对照组相比,抑郁模型斑马鱼体内 NF- κB 、TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01, 0.001$),而柴胡疏肝散治疗可显著降低模型斑马鱼体内 3 者 mRNA 表达水平 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。

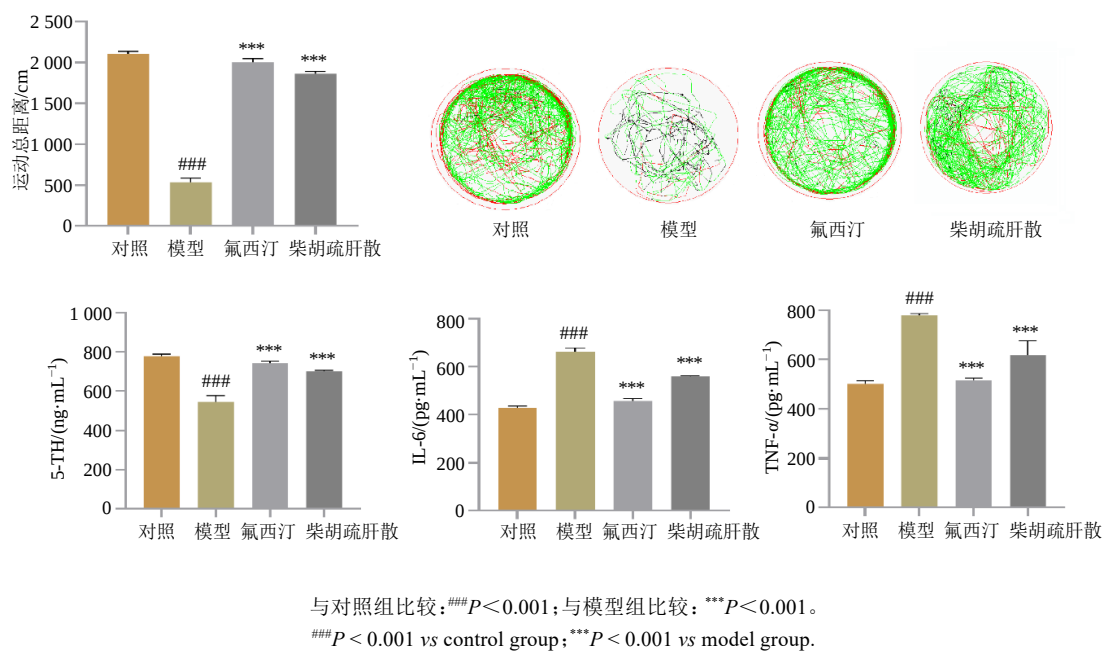


图8 柴胡疏肝散抗抑郁药效评价结果

Fig. 8 Results of anti-depressive efficacy evaluation of Chaihu Shugan Powder

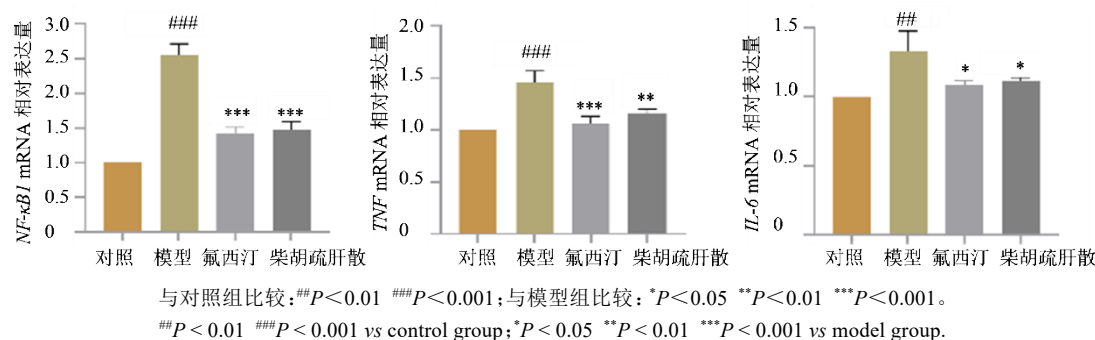


图9 qRT-PCR法测定NF-κB1、TNF和IL-6 mRNA表达水平

Fig. 9 mRNA expression levels of TNF, NFκB1 and IL-6 determined by qRT-PCR

4 讨论

柴胡疏肝散具有疏肝解郁之功,临床常以该方、加减方或与其他药物联合用于治疗各种类型抑郁,如老年性抑郁、卒中后抑郁、产后抑郁、肿瘤伴发抑郁等^[34-37]。有研究运用Meta分析对柴胡疏肝散治疗抑郁症疗效进行评价,发现其治疗抑郁症的效果优于西药,且具有较好的安全性^[38],但发挥抗抑郁作用的药效物质基础及作用机制尚不清楚。因此本研究采用“化学成分-疾病靶点-实验验证”策略对柴胡疏肝散药效物质基础及其抗抑郁作用机制进行探究。本研究首先运用UPLC-Q-TOF-MS/MS对柴胡疏肝散的化学成分进行分析,色谱和质谱条件的选择主要根据课题组前期对柴胡疏肝散复方中南柴胡的研究以及通过查阅文献对柴胡疏肝散的主要化学成分检测情况确定^[39-42],结果共鉴定出126种化学成分。进一步将成分靶点和抑郁症

靶点取交集后得到的114个交集靶点。通过靶点对应成分反向溯源分析,获得77个化学成分,按照度值 ≥ 11 (中位数)筛选出44个潜在抗抑郁药效物质,前5个关键成分为柴胡皂苷A、川陈皮素、2',4,4'-三羟基查耳酮、洋川芎内酯A、柚皮苷查尔酮,其中前4个成分均具有抗抑郁作用^[43-46],柚皮苷查尔酮抗抑郁作用有待进一步验证。

基于LASSO与SVM两种机器学习算法,对114个柴胡疏肝散抗抑郁相关靶点进一步筛选,识别出5个关键基因,即FOS、TNF、NF-κB1、CXCR2和IDO1,并且ROC生存曲线分析结果也表明,这5个基因均可作为抑郁症诊断的潜在分子标志物。分子对接结果显示5个关键成分与5个潜在靶点均有良好的结合活性,与TNF和NF-κB1的结合活性最强。已有研究表明,5个关键基因均与炎症信号通路相关。NF-κB1(NFκB p50)通常和NF-κB p65结

合形成同源/异源二聚体NF- κ B蛋白存在于细胞质中,且NF- κ B在细胞中与I κ B结合,以非活性状态存在,当在接受TNF- α 的刺激后,I κ B(尤其是I κ B α)会被降解,活化NF- κ B^[47-49]。同时,在接受TNF- α 刺激后,激活的MEKK1能够和TRAF2结合,激活JNK信号及其下游的FOS^[50]。且JNK信号通路还能够作用其下游底物NF- κ B,调控促炎基因的转录^[51-52]。NF- κ B的激活,能够导致下游的炎症因子和趋化因子的释放,当炎症因子释放增加时,会活化小鼠海马区小胶质细胞并激活IDO 1,使其表达增加^[53]。临床研究表明,袁俊端等^[54]对不同程度抑郁患者血清中IL-6和TNF- α 的水平进行检测,发现不同程度抑郁患者的血清中IL-6和TNF- α 的水平显著升高,并且随着抑郁程度的加重,IL-6和TNF- α 的水平也依次升高。D'Acunto对未成年抑郁症患者血清中的炎症因子TNF- α 的水平进行检测,发现抑郁患者的血清中具有较高的表达水平^[55]。Devora^[56]也发现抑郁障碍患者的炎症细胞因子异常改变不仅在外周循环,在中枢神经系统也能检测到。说明外周血炎症细胞因子能够通过血脑屏障或通过血脑屏障转运蛋白进入中枢来产生影响。并且当大脑在应激状态或受到损伤时,脑内的小胶质细胞会转变为活跃表型,分泌较多的促炎细胞因子、趋化因子等,导致神经炎症,从而引发抑郁^[57]。

为了验证柴胡疏肝散是否通过改善斑马鱼抑郁模型体内炎症因子的水平发挥抗抑郁作用,本研究基于斑马鱼抑郁模型,在初步确定柴胡疏肝散抗抑郁作用的基础上,首先通过ELISA试剂盒对TNF- α 和IL-6的蛋白表达水平进行检测,结果显示柴胡疏肝散能显著改善两个炎症因子的异常表达;在基因水平对TNF- α 、NF- κ B1及下游的炎症因子IL-6的mRNA表达水平进行检测,结果表明,柴胡疏肝散能显著改善斑马鱼抑郁模型体内TNF- α 、NF- κ B1和IL-6的mRNA水平的异常升高。研究结果与文献报道一致,说明柴胡疏肝散可能通过TNF- α /NF- κ B信号通路改善利血平诱导的斑马鱼抑郁模型的炎症反应,进而起到抗抑郁的作用。

本研究应用UPLC-Q-TOF-MS/MS联合生物信息学技术,初步阐明了柴胡疏肝散抗抑郁的关键活性成分、潜在作用靶点及通路,为指导柴胡疏肝散在抑郁症方面的应用提供了实验依据。但对柴胡疏肝散抗抑郁药效物质的分析还有待深入,对于关键药效物质的抗抑郁作用尚需验证,其潜在分子机制还有待更为深入系统的研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张慧. 浅论《内经》与抑郁症的病因 [J]. 四川中医, 2007, 25(10): 37-38.
Zhang H. On neijing and the etiology of depression [J]. J Sichuan Tradit Chin Med, 2007, 25(10): 37-38.
- [2] 马柯, 张洪秀, 董振飞, 等. 百合地黄汤治疗抑郁症的研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(4): 874-878.
Ma K, Zhang H X, Dong Z F, et al. Research progress of Baihe Dihuang decoction in the treatment of depression [J]. Chin Tradit Pat Med, 2019, 41(4): 874-878.
- [3] 张鸿. 柴胡疏肝散加减联合黛力新治疗乳腺癌相关性抑郁的临床观察 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2022.
Zhang H. Clinical observation of Chaihu Shugan powder combined with Deanxit in the treatment of breast cancer-related depression [D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2022.
- [4] 高雪松, 赵静洁. 柴胡疏肝散治疗抑郁症研究进展 [J]. 河南中医, 2022, 42(4): 629-633.
Gao X S, Zhao J J. Research progress of Bupleurum liver-soothing powder in the treatment of depression [J]. Henan Tradit Chin Med, 2022, 42(4): 629-633.
- [5] Khan H, Ali J. UHPLC/Q-TOF-MS technique: Introduction and applications [J]. Lett Org Chem, 2015, 12(6): 371-378.
- [6] 李倩, 刘秀红. 柴胡疏肝散加减联合经颅电刺激对脑卒中后抑郁病人5-HT、BDNF水平的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(10): 1755-1759.
Li Q, Liu X H. Effect of modified Bupleurum liver-coursing powder combined with transcranial electrical stimulation on the levels of 5-HT and BDNF in patients with post-stroke depression [J]. Chin J Integr Med Cardio Cerebrovasc Dis, 2022, 20(10): 1755-1759.
- [7] Spijker S, van Zanten J S, Jong S D, et al. Stimulated gene expression profiles as a blood marker of major depressive disorder [J]. Biol Psychiatry, 2010, 68(2): 179-186.
- [8] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis [J]. BMC Bioinformatics, 2008, 9: 559.
- [9] Langfelder P, Horvath S. Fast R functions for robust correlations and hierarchical clustering [J]. J Stat Softw, 2012, 46(11): i11.
- [10] 王金, 孟祥文, 陈丝梦, 等. 基于WGCNA联合网络药理学探究防己地黄汤治疗类风湿关节炎的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(4): 776-787.
Wang J, Meng X W, Chen S M, et al. Mechanism of action of Fangji Dihuang Decoction in treatment of

- rheumatoid arthritis based on WGCNA combined with network pharmacology [J]. *Drugs Clin*, 2023, 38(4): 776-787.
- [11] Liu Z H, Li H, Pan S Y. Discovery and validation of key biomarkers based on immune infiltrates in Alzheimer's disease [J]. *Front Genet*, 2021, 12: 658323.
- [12] 姜奇瑶, 刘臣臣, 陈惠玲, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 UPLC 的六君子汤化学成分定性定量分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(6): 169-178.
- Jiang Q Y, Liu C C, Chen H L, et al. Qualitative and quantitative analysis of chemical constituents in Liu junzitang by UPLC-Q-TOF-MS/MS and UPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2024, 30(6): 169-178.
- [13] 孙立夫. 赤芍、白芍的化学成分及药理学研究的比较分析 [J]. *园艺与种苗*, 2024, 44(3): 11-13, 83.
- Sun L F. Comparative analysis of chemical constituents and pharmacology of *Paeoniae Radix Rubra* and *Paeoniae Radix Alba* [J]. *Hortic Seed*, 2024, 44(3): 11-13, 83.
- [14] 张建伟, 刘伟, 沈沁, 等. 基于 UPLC-Q-Orbitrap-MS 的鹿角方化学成分及组织分布分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(8): 148-156.
- Zhang J W, Liu W, Shen Q, et al. Analysis of chemical components and tissue distribution of Lujiao formula based on UPLC-Q-orbitrap-MS [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2024, 30(8): 148-156.
- [15] 陈欢, 高萌, 罗小泉, 等. 不同产地枳壳药材中 12 种有效成分的主成分分析和判别分析 [J]. *中草药*, 2019, 50(14): 3433-3437.
- Chen H, Gao M, Luo X Q, et al. Principal component analysis and discriminant analysis of 12 effective chemical constituents in *Aurantii Fructus* from different areas [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2019, 50(14): 3433-3437.
- [16] 柳雨影, 陈健, 胡浩彬, 等. 指纹图谱结合化学模式识别对川芎药材多成分含量测定研究 [J]. *药物分析杂志*, 2021, 41(4): 685-693.
- Liu Y Y, Chen J, Hu H B, et al. Determination of multicomponent content of *Ligusticum chuanxiong* by fingerprinting combined with chemical pattern recognition [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2021, 41(4): 685-693.
- [17] 刘月程, 田振华. 超高效液相色谱-四级杆静电场轨道阱质谱法快速鉴定柴胡化学成分 [J]. *化学分析计量*, 2022, 31(8): 5-12.
- Liu Y C, Tian Z H. Rapid identification of chemical constituents in *Bupleuri Radix* by UPLC-quadrupole/exactive orbitrap mass spectrometry [J]. *Chem Anal Meterage*, 2022, 31(8): 5-12.
- [18] 刘建庭, 仇瑜, 卜睿臻, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 的痹祺胶囊化学物质组及入血成分的研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(18): 5496-5513.
- Liu J T, Zhang Y, Bu R Z, et al. Identification of chemical components and blood components of Biqi Capsules by UPLC-Q/TOF-MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2021, 52(18): 5496-5513.
- [19] 陈会朋, 王银, 余惠旻, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术分析加味左金丸化学成分及指纹图谱研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(14): 4442-4454.
- Chen H P, Wang Y, Yu H M, et al. Chemical components and chromatographic fingerprints of Jiawei Zuojin Pill based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(14): 4442-4454.
- [20] 于静波, 韩越, 周梓洋, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 及 CORT 诱导的低分化 PC12 抑郁细胞模型的柴胡抗抑郁活性成分研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2023, 25(6): 2012-2024.
- Yu J B, Han Y, Zhou Z Y, et al. Study on anti-depression active ingredients of *Bupleuri Radix* based on UPLC-Q-TOF/MS integrated with CORT-induced poorly differentiated PC12 depression cell model [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2023, 25(6): 2012-2024.
- [21] 李哲. 基于中药血清药物化学和网络药理学的陈皮质量标志物研究 [D]. 承德: 承德医学院, 2023.
- Li Z. Study on quality markers of dried tangerine peel based on serum pharmacology and network pharmacology of traditional Chinese medicine [D]. Chengde: Chengde Medical College, 2023.
- [22] 吴建雄, 杨嵩虹, 郭怡敬, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 的陈皮醋制前后成分分析 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(9): 4321-4327.
- Wu J X, Yang S H, Guo Y J, et al. Composition analysis of raw and vinegar-processed products of *Citri Reticulatae Pericarpium* based on UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(9): 4321-4327.
- [23] 吴明. 柴胡疏肝散方中白芍和枳壳提取物作用机理的研究 [D]. 武汉: 湖北工业大学, 2015.
- Wu M. Study on the mechanism of extracts from *Radix Paeoniae Alba* and *Fructus Aurantii* in Chaihu Shugan Powder [D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2015.
- [24] 谢明霞, 朱正清, 陈思, 等. 不同产地甘草中核苷和碱基类成分分析与评价 [J]. *天然产物研究与开发*, 2024, 36(1): 78-85.
- Xie M X, Zhu Z Q, Chen S, et al. Analysis and evaluation of nucleoside and nucleobase composition in licorice

- from different regions [J]. Nat Prod Res Dev, 2024, 36 (1): 78-85.
- [25] 高兴笑, 郝敏, 李富艳, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS和网络药理学的柴胡醋制前后抗抑郁质量标志物分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(3): 124-132.
- Gao X X, Hao M, Li F Y, et al. Analysis of antidepressant quality markers of *Bupleuri Radix* before and after vinegar-processing based on UPLC-Q-TOF-MS and network pharmacology [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2024, 30(3): 124-132.
- [26] 杨放晴, 何丽英, 杨丹, 等. 不同陈化时间广陈皮中黄酮类成分的UPLC-Q-Orbitrap HRMS分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(12): 125-132.
- YAGN F Q, HE L Y, YANG Dan, et al. Analysis and identification of flavonoids in *Citri Reticulatae Pericarpium* with different aging time by UPLC-Q-orbitrap HRMS [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2021, 27(12): 125-132.
- [27] 张艳, 曹唯仪, 张艳虹, 等. 基于UPLC-Q-TOF-MS^E技术分析栀子-川芎药对化学成分及入血成分 [J]. 中药材, 2022, 45(7): 1638-1643.
- Zhang Y, Cao W Y, Zhang Y H, et al. Based on UPLC-Q-TOF-MS^E technology, the chemical components and blood components of *Gardenia-Ligusticum chuanxiong* were analyzed [J]. J Chin Med Mater, 2022, 45(7): 1638-1643.
- [28] 曹阳, 戴国梁, 王一清, 等. 基于UHPLC-Q-TOF-MS/MS和HPLC的苍术-香附醇提液主要化学成分分析 [J/OL]. 中国药学杂志, 2023, 58(10): 1-14.
- Cao Y, Dai G L, Wang Y, et al. Analysis and evaluation on atracylodes-cyperus alcohol extract by UPLC-Q-TOF-MS/MS and HPLC [J/OL]. Chin Pharm J, 2023, 58(10): 1-14.
- [29] 詹斯文, 关小羽, 黄丽华, 等. 基于PLC-Q-TOF-MS技术的活血消癭片化学成分分析 [J]. 武汉理工大学学报, 2023, 45(3): 1-11.
- Zhan S W, Guan X Y, Huang L H, et al. Study of chemical constituents of Huoxue Xiaoying Tablets by UPLC-Q-TOF-MS [J]. J Wuhan Univ Technol, 2023, 45 (3): 1-11.
- [30] 王凤霞, 钱琪, 李葆林, 等. 香附化学成分和药理作用研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5225-5234.
- Wang F X, Qian Q, Li B L, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Cyperi Rhizoma* and predictive analysis on its quality marker (Q-Marker) [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53 (16): 5225-5234.
- [31] 吴双. 南柴胡及醋南柴胡抗抑郁药效物质基础研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2021.
- Wu S. Study on the material basis of antidepressant effects of *Bupleurum chinense* DC and *Bupleurum chinense* DC [D]. Harbin: Harbin University of Commerce, 2021.
- [32] 韩雨秀, 张静, 罗竣瑜, 等. 基于UPLC-Q-Exactive/MS技术整合网络药理学探讨柴胡桂枝汤治疗流感继发细菌性肺炎的作用机制 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(6): 2111-2121.
- Han Y X, Zhang J, Luo J Y, et al. Integrating network pharmacology based on UPLC-Q-exactive/MS technology to explore the mechanism of Chaihu Guizhi Decoction in the treatment of secondary bacterial pneumonia caused by influenza [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2023, 25(6): 2111-2121.
- [33] 李葆林, 麻景梅, 田宇柔, 等. 甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(8): 2438-2448.
- Li B L, Ma J M, Tian Y R, et al. Research progress on newly discovered chemical constituents and pharmacological effects of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(8): 2438-2448.
- [34] 刘倩颖. 疏肝解郁汤治疗肝气郁结型老年抑郁症临床研究 [J]. 内蒙古中医药, 2023, 42(11): 14-15.
- Liu Q Y. Clinical study on Shugan Jieyu decoction in the treatment of senile depression with stagnation of liver-qi [J]. Inn Mong J Tradit Chin Med, 2023, 42(11): 14-15.
- [35] 徐涛, 叶声, 李雅君. 柴胡疏肝散加减联合氟哌噻吨美利曲辛片治疗卒中后抑郁的临床疗效 [J]. 临床合理用药, 2023, 16(30): 15-18.
- Xu T, Ye S, Li Y J. Clinical effect of modified Chaihu Shugan powder combined with flupentixol and meriquxin tablets in the treatment of post-stroke depression [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2023, 16(30): 15-18.
- [36] 蔡文颖, 包红霞. 柴胡疏肝散加减治疗肝气郁结型产后抑郁临床研究 [J]. 河南中医, 2023, 43(8): 1208-1212.
- Cai W Y, Bao H X. Clinical study on modified *Bupleurum* liver-soothing powder in treating postpartum depression with liver qi stagnation syndrome [J]. Henan Tradit Chin Med, 2023, 43(8): 1208-1212.
- [37] 吕秋波. 柴胡疏肝散合归脾汤治疗肿瘤化疗相关抑郁临床研究 [D]. 承德: 承德医学院, 2017.
- Lü Q B. Clinical study on Chaihu Shugan powder combined with Guipi decoction in the treatment of depression related to tumor chemotherapy [D]. Chengde: Chengde Medical College, 2017.
- [38] Wang Y, Fan R, Huang X. Meta-analysis of the clinical

- effectiveness of traditional Chinese medicine formula Chaihu-Shugan-San in depression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(2): 571-577.
- [39] Wu S, Li H M, Bing Y F, et al. *Bupleurum scorzonnerifolium*: Systematic research through pharmacodynamics and serum pharmacchemistry on screening antidepressant Q-markers for quality control [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 225: 115202.
- [40] 陈颖. 不同等级/处方的柴胡疏肝散抗抑郁促动力舒血管的可重复显效范围 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.
- Chen Y. Repeatable effective range of Chaihu Shugan powder with different grades/treatments in treating depression, promoting power and relaxing blood vessels [D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.
- [41] 韩雪梅, 朱英, 秦琰杰, 等. HPLC-MS/MS法同时测定柴胡疏肝散水提物中12种主要成分的含量 [J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41(21): 2164-2168, 2207.
- Han X M, Zhu Y, Qin Y J, et al. Simultaneous determination of 12 main components in Chaihu Shugan San by HPLC-MS/MS [J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2021, 41(21): 2164-2168, 2207.
- [42] 王常麟, 高冬梅, 高明周, 等. 柴胡疏肝散化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(11): 124-131, 271.
- Wang C L, Gao D M, Gao M Z, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Chaihu Shugan Powder (柴胡疏肝散) and predictive analysis of its quality markers [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2022, 40(11): 124-131, 271.
- [43] 曹珊珊, 史磊磊, 张雨涵, 等. 滋水清肝饮对慢性束缚应激抑郁小鼠皮层ERK/CREB/BDNF通路及肠道菌群的影响 [J]. *中草药*, 2024, 55(2): 489-498.
- Cao S S, Shi L L, Zhang Y H, et al. Effect of Zishui Qinggan Yin on ERK/CREB/BDNF pathway and gut microbiota in chronic restraint stress depression mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(2): 489-498.
- [44] Li Y J, Song W, Tong Y, et al. Isoliquiritin ameliorates depression by suppressing NLRP3-mediated pyroptosis via miRNA-27a/SYK/NF- κ B axis [J]. *J Neuroinflamm*, 2021, 18(1). DOI:10.1186/s12974-020-02040-8.
- [45] 肖哲. 川陈皮素与阿魏酸通过抗炎与氧化应激及调控胃饥饿素发挥类似枳壳当归的抗抑郁促动力作用 [D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- Xiao Z. Pericarpine and ferulic acid play an antidepressant and prokinetic role similar to that of *Fructus Aurantii Angelica* through anti-inflammatory and oxidative stress and regulation of ghrelin [D]. Xiamen: Xiamen University, 2017.
- [46] 张丽娟, 刘继勇, 姚翀, 等. 洋川芎内酯类化合物药理作用研究进展 [J]. *中国药理学杂志*, 2015, 50(13): 1081-1084.
- Zhang L J, Liu J Y, Yao C, et al. Research progress in pharmacological activities of senkyunolides [J]. *Chin Pharm J*, 2015, 50(13): 1081-1084.
- [47] Ganchi P A, Sun S C, Greene W C, et al. I κ B/MAD-3 masks the nuclear localization signal of NF- κ B p65 and requires the transactivation domain to inhibit NF- κ B p65 DNA binding [J]. *Mol Biol Cell*, 1992, 3(12): 1339-1352.
- [48] Brown K, Park S, Kanno T, et al. Mutual regulation of the transcriptional activator NF- κ B and its inhibitor, I κ B- α [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(6): 2532-2536.
- [49] Siebenlist U, Franzoso G, Brown K. Structure, regulation and function of NF- κ B [J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1994, 10: 405-455.
- [50] 阿曼古丽·莫明. TNF- α 经JNK信号通路调控MUC₂的表达在肠屏障功能障碍中的分子机制研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2023.
- Amanguli M. Molecular mechanism of TNF- α regulating MUC₂ expression through JNK signaling pathway in intestinal barrier dysfunction [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2023.
- [51] 姜磊, 路延超, 张家恺, 等. 白藜芦醇通过ROS-JNK通路抑制晚期糖基化终末产物诱导PC12细胞凋亡 [J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(8): 1104-1109.
- Jiang L, Lu Y C, Zhang J K, et al. Resveratrol inhibits advanced glycation end products induced PC12 cell apoptosis through ROS-JNK pathway [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2021, 37(8): 1104-1109.
- [52] He Y, Lu X L, Chen T, et al. Resveratrol protects against myocardial ischemic injury via the inhibition of NF- κ B-dependent inflammation and the enhancement of antioxidant defenses [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(3): 29.
- [53] 朱靓婷, 桂西, 李琦, 等. 整合网络药理学与非靶向血清代谢组学探讨四逆散治疗抑郁症的作用机制 [J/OL]. *中国医院药学杂志*, 2024, 44(12): 1391-1404.
- Zhu L T, Gui X, Li Q, et al. Integrating network pharmacology with non-targeted serum metabolomics for elucidating the acting mechanism of Sini San for depression [J/OL]. *Chin J Hosp Pharm*, 2024, 44(12): 1391-1404.
- [54] 袁俊端, 包玲, 刘恋, 等. 抑郁症患者血清炎症因子、糖脂代谢指标、miR-155及BDNF表达水平与其认知功能的相关性 [J]. *广西医学*, 2024, 46(2): 248-254.
- Yuan J D, Bao L, Liu L, et al. Correlation of serum inflammatory factors, glucose and lipid metabolism

- indices, miR-155 and BDNF expressions with cognitive function in patients with depression [J]. *Guangxi Med J*, 2024, 46(2): 248-254.
- [55] D'Acunto G, Nageye F, Zhang J H, et al. Inflammatory cytokines in children and adolescents with depressive disorders: A systematic review and Meta-analysis [J]. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 2019, 29(5): 362-369.
- [56] Devorak J, Torres-Platas S G, Davoli M A, et al. Cellular and molecular inflammatory profile of the choroid plexus in depression and suicide [J]. *Front Psychiatry*, 2015, 6: 138.
- [57] Kim Y K, Na K S, Myint A M, et al. The role of pro-inflammatory cytokines in neuroinflammation, neurogenesis and the neuroendocrine system in major depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2016, 64: 277-284.

[责任编辑 齐静雯]