

• 药理与临床 •

南柴胡和北柴胡组成的逍遥散抗抑郁作用的¹H-NMR代谢组学研究郭晓擎^{1,2}, 田俊生^{1*}, 史碧云^{1,2}, 邢 婕¹, 贾金萍¹, 张丽增¹, 秦雪梅¹

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 比较不同品种柴胡(南柴胡和北柴胡)组成的逍遥散的抗抑郁功效, 探寻其对大鼠内源性代谢产物变化规律的影响。**方法** 采用慢性温和不可预见应激程序对大鼠进行为期4周的抑郁造模, 在造模2周后分别ig给予由南柴胡或北柴胡组成的逍遥散(生药)46 g/kg水提取液、文拉法辛0.05 g/kg干预, 每天1次, 连续给药2周, 观测动物行为学症状。应用核磁共振(¹H-NMR)方法分析大鼠血清内源性代谢产物的变化规律。**结果** 2种逍遥散和文拉法辛对抑郁大鼠行为学指标均有显著影响, 与模型组比较差异显著($P < 0.05, 0.01$)。代谢组学研究结果显示, 2种逍遥散和文拉法辛干预后, 大鼠血清中异亮氨酸、氧化三甲胺、胆碱水平升高, 而乳酸、N-乙酰糖蛋白、肌酸、苏氨酸及 β -葡萄糖等水平降低, 与模型组比较差异显著($P < 0.05, 0.01$)。2个逍遥散组对抑郁大鼠行为学指标的影响组间比较未显示统计学差异。**结论** 不同品种柴胡组成的逍遥散均具有明显的抗抑郁作用, 但功效有所差别, 即南柴胡组成逍遥散的抗抑郁效果及起效时间略优于北柴胡。应用行为学与代谢组学相结合的方法评价逍遥散抗抑郁功效具有准确性好、灵敏度高等特点。

关键词: 逍遥散; 南柴胡; 北柴胡; 抗抑郁; 慢性温和不可预见应激; 代谢组学; 核磁共振

中图分类号: R285.5; R971.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)11-2209-08

¹H-NMR metabonomics on antidepressive effects of Xiaoyao Powder composed of *Bupleurum scorzonerifolium* or *Bupleurum chinense*

GUO Xiao-qing^{1,2}, TIAN Jun-sheng¹, SHI Bi-yun^{1,2}, XING Jie¹, JIA Jin-ping¹, ZHANG Li-zeng¹, QIN Xue-mei¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To compare the antidepressive effects of Xiaoyao Powder (XYP) composed of *Bupleurum scorzonerifolium* (Nan Chaihu) or *B. chinense* (Bei Chaihu) and to investigate their effects on the changes of endogenous metabolites in rats. **Methods** Chronic unpredictable mild stress (CUMS) procedure was conducted for four weeks and CUMS rat model was established. At the beginning of the week 3, Venlafaxine (0.05 g/kg), XYP (Nan) and XYP (Bei) (46 g/kg) were given to the CUMS rats, respectively once daily for two weeks. The ethology symptoms of rats were observed and ¹H-NMR method was carried out to analyze the changes of metabolites in serum of rats after drug administration. **Results** Both XYP (Nan and Bei) and Venlafaxine showed the significant influence on the behavioral indicators of CUMS rats compared with the model group ($P < 0.05, 0.01$). After drug administration, both XYP (Nan and Bei) and Venlafaxine could significantly increase the levels of isoleucine, trimethylamine oxide, and sinkaline, and decrease those of lactic acid, N-acetyl glycoprotein, creatine, threonine, and β -glucose compared with the model group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Chaihu from different sources has the significant antidepressive effect, while XYP (Nan) exerts slightly better efficacy and shorter onset time than XYP (Bei). However, there is no statistical difference. XYP has better accuracy and sensitivity on the antidepressive according to the combination of behavior and metabonomic methods.

Key words: Xiaoyao Powder (XYP); *Bupleurum scorzonerifolium* Willd.; *Bupleurum chinense* DC.; antidepressive; chronic unpredictable mild stress (CUMS); metabonomics; nuclear magnetic resonance (NMR)

收稿日期: 2012-03-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31070295, 81102833); 国家重大新药创制科技重大专项课题(2012ZX09103201-035); 国家国际科技合作计划项目(2011DFA32630)

作者简介: 郭晓擎(1986—), 男, 天津人, 硕士研究生, 研究方向为中药新药研究与开发。Tel: (0351)7011202 E-mail: xqguo1986@sina.com

*通讯作者 田俊生 Tel: (0351)7011202 E-mail: jstian@sxu.edu.cn

抑郁症是一种发病率高、危害严重的精神障碍性疾病,具有发病过程缓慢、反复发作、致残率高等特点^[1]。目前对抑郁症的治疗主要以化学药物为主,如三环类抗抑郁药、单胺氧化酶抑制剂、选择性 5-羟色胺重摄取抑制剂等,但这些药物存在治疗谱窄、耐受性差、不良反应大、价格昂贵等问题^[2-4]。因此,从作用持久、不良反应较少的中药复方中发现、筛选和研制作用良好的抗抑郁药物,已成为当前国内外研究的热点^[5-7]。药理及临床研究均表明逍遥散有明确的抗抑郁作用,柴胡作为逍遥散中的君药,发挥着重要的作用^[8-10]。《中国药典》2010 年版收录的柴胡系伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. 的干燥根,前者习称“北柴胡”,后者习称“南柴胡”。由于两植物形态非常相似,在生产加工、临床应用上经常混淆且不加区别。由这两种柴胡组成的逍遥散的抗抑郁功效是否存在差异,在方剂使用时是否应该加以区别,对这方面研究的文献报道较少。

本实验采用慢性温和不可预知应激大鼠模型,从动物行为学和 ¹H-NMR 代谢组学两方面观察不同品种柴胡组成的逍遥散的抗抑郁作用及其对大鼠内源性代谢产物变化的影响,为建立不同品种药材在复方中功效的评价方法提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

逍遥散由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷、生姜等组成,所有药材均购自山西省华阳药业有限公司,经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定均为道地药材;盐酸文拉法辛胶囊(博乐欣,批号 090705),规格 25 mg/粒,成都大西南制药股份有限公司;D₂O,美国默克试剂公司。

1.2 动物

SD 成年雄性大鼠,SPF 级,体质量 180~200 g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2006-0008。动物自然昼夜节律光照,适应 1 周后进行实验。

1.3 仪器

大鼠旷场行为测试箱,自制;Centrifuge TDL—5 型离心机,上海安亭科学仪器厂;Bruker 600 MHz Avance III NMR 谱仪,德国布鲁克公司。

2 方法

2.1 逍遥散提取物制备

分别以南柴胡或北柴胡与其他药材按逍遥散处

方量配比(柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、炙甘草、薄荷、生姜按 6:6:6:6:6:3:2:2 比例)称取药材,加入适量水,浸泡 1 h,回流提取 2 次(第 1 次以 10 倍量水提取 2 h,第 2 次以 8 倍量水提取 1.5 h),合并提取液,浓缩,减压干燥得干浸膏,备用,使用时折算成生药量进行配制。

2.2 造模、分组与给药

大鼠适应性饲养 1 周期间,进行旷场实验和糖水偏爱训练(每个鼠笼中放置定量的 2 个水瓶,1 瓶纯水,1 瓶 1%糖水,1 h 后撤除)^[11],根据测定结果将大鼠随机分为 5 组,即对照组、模型组、南柴胡逍遥散(以下简称逍遥散(南),生药 46 g/kg^[12])组、北柴胡逍遥散(以下简称逍遥散(北),生药 46 g/kg)组、文拉法辛(0.05 g/kg)组,每组 12 只。除对照组外,其余各组大鼠依照 Willner 等^[13-15]的方法并加以改进造模,刺激因子包括禁食 24 h、禁水 24 h、4 °C 冰水游泳 5 min、50 °C 热应激 10 min、夹尾 2 min、电击足底 5 min、噪音刺激 3 h 等 7 种,每日 1 种,每种刺激随机实施 3~4 次,持续 28 d。造模 14 d 后各给药组 ig 给予相应药物的生理盐水溶液 10 mL/kg,每天 1 次,连续给药 14 d,模型组及对照组 ig 等量生理盐水。

2.3 抑郁症大鼠体质量及糖水偏爱测定

在实验第 0、7、14、21、28 天分别测定大鼠体质量,观察实验初始至实验第 7、14、21、28 天的体质量变化情况。造模程序开始前进行第 1 次糖水偏好训练测试^[11],造模开始后第 7、14、21、28 天再进行糖水消耗测试。所有测试均于大鼠禁水 24 h 后进行,以大鼠糖水偏爱率(糖水消耗量/总液体消耗量)作为评价指标。

2.4 抑郁症大鼠旷场实验

分别于实验前及实验第 14、28 天进行旷场实验,操作参照文献方法^[16-17]并稍作改进。将大鼠放入自制旷场实验箱的中心位置,适应 2 min 后观察,随后记录 4 min 内大鼠穿越格数和直立次数。

2.5 血样采集与处理

在第 28 天实验结束后,大鼠 ip 20%乌拉坦麻醉,股动脉取血,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液,转移至 EP 管中,于 -80 °C 冰箱保存,备用。

2.6 NMR 代谢组学数据采集

2.6.1 样品处理 血清样品在冰水中解冻,精密吸取 250 μL 置于 EP 管中,加入 350 μL D₂O,涡旋 30 s,于 4 °C、13 000 r/min 离心 20 min,取上清液 500 μL

转移至 5 mm 的核磁管中，待测。

2.6.2 NMR 检测条件 Bruker 600 MHz AVANCE III NMR 谱仪采集数据，采用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 脉冲序列，参数为自旋弛豫延迟为 320 ms、自由感应衰减为 64 K 数据点、谱宽为 8 000 Hz，扫描 64 次。

2.6.3 NMR 图谱处理 采用 MestReNova 核磁图谱专业处理软件对所有 ¹H-NMR 图谱进行傅里叶转换并进行相位、基线调整。在 CPMG 图谱中，以肌苷酸 (δ 3.04) 为标准对图谱进行化学位移的校正；以 δ 0.04 为单位，对 δ 0.4~5.2 区域的图谱进行等宽度分割；对图谱进行分段积分，将所产生的所有积分数据归一化，均以 Excel 文件格式保存。

2.7 统计学处理

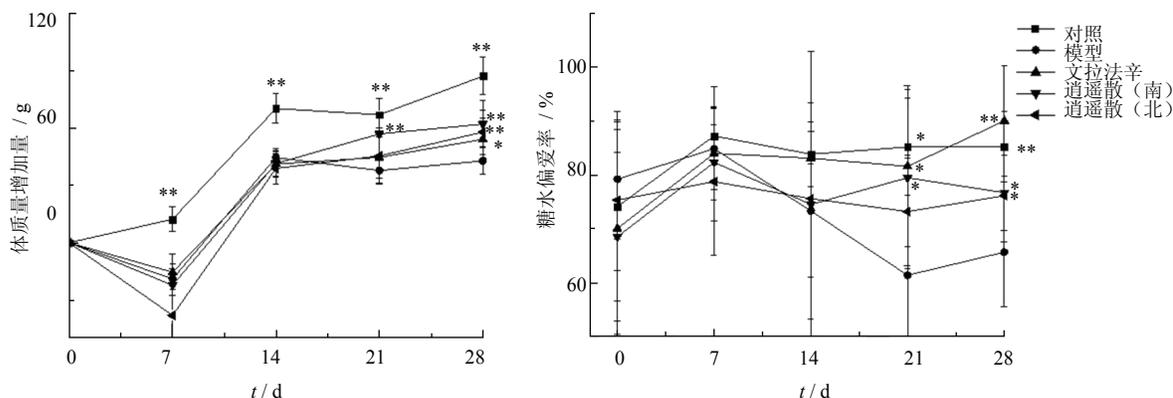
数据采用 SPSS 17.0 软件处理，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，

采用单因素方差分析及 *t* 检验对行为学观测指标进行统计和比较。采用 SIMCA-P 11.0 软件将 NMR 采集处理的（血清）积分数据进行中心化和规格化后进行偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)。

3 结果

3.1 对抑郁症大鼠体质量和糖水消耗以及旷场行为的影响

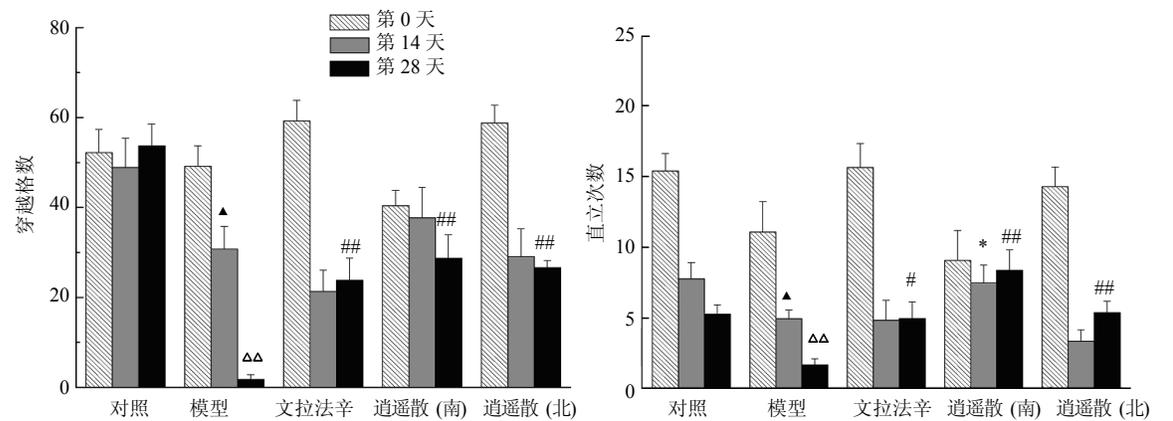
造模第 28 天后，与对照组比较，模型组大鼠体质量、糖水偏爱率、穿越格数和直立次数等指标均有明显改变 ($P < 0.05$ 、 0.01)，表明抑郁症模型复制成功。与模型组比较，在连续给药 2 周后，文拉法辛组、逍遥散（南）组与逍遥散（北）组大鼠体质量、糖水消耗量显著增加，旷场行为显著增强 ($P < 0.05$ 、 0.01)，且 2 个逍遥散组在行为学指标方面未显示统计学差异 ($P > 0.05$)。结果见图 1 和 2。



与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图 1 逍遥散对抑郁症模型大鼠体质量增加量与糖水偏爱的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effects of XYP on increased amount of body weight and sucrose preference in rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)



与对照组 14 d 比较: ▲ $P < 0.05$; 与对照组 28 d 比较: △△ $P < 0.01$; 与模型组 14 d 比较: * $P < 0.05$; 与模型组 28 d 比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
▲ $P < 0.05$ vs control group for 14 d; △△ $P < 0.01$ vs control group for 28 d; * $P < 0.05$ vs model group for 14 d; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group for 28 d

图 2 逍遥散对抑郁症模型大鼠在旷场实验中穿越格数和直立次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effects of XYP on crossings and rears in open field test in rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

3.2 NMR 代谢组学数据分析

结合每个代谢物的化学位移、裂峰情况及偶合常数等信息, 参照文献报道^[18-20]得到大鼠血清 δ 0.4~5.2 的 ¹H-NMR 代谢物图谱 (图 3), 并从中指认了 15 种化合物, 其化学位移指认结果见表 1。

采用 PLS-DA 方法对所有血清样本 ¹H-NMR 代谢轮廓进行分析, 结果见图 4。可见, 对照组与模

型组沿 t_1 轴分开, 表明抑郁症模型复制成功。给药 14 d 后, 逍遥散 (南)、逍遥散 (北) 组及文拉法辛组均能够与模型组明显分开, 且逍遥散 (南) 组与对照组及文拉法辛组更为接近, 表明由南柴胡组成的逍遥散对抑郁模型大鼠代谢产物回调作用更加显著, 其抗抑郁功效较好且与文拉法辛的作用相当。

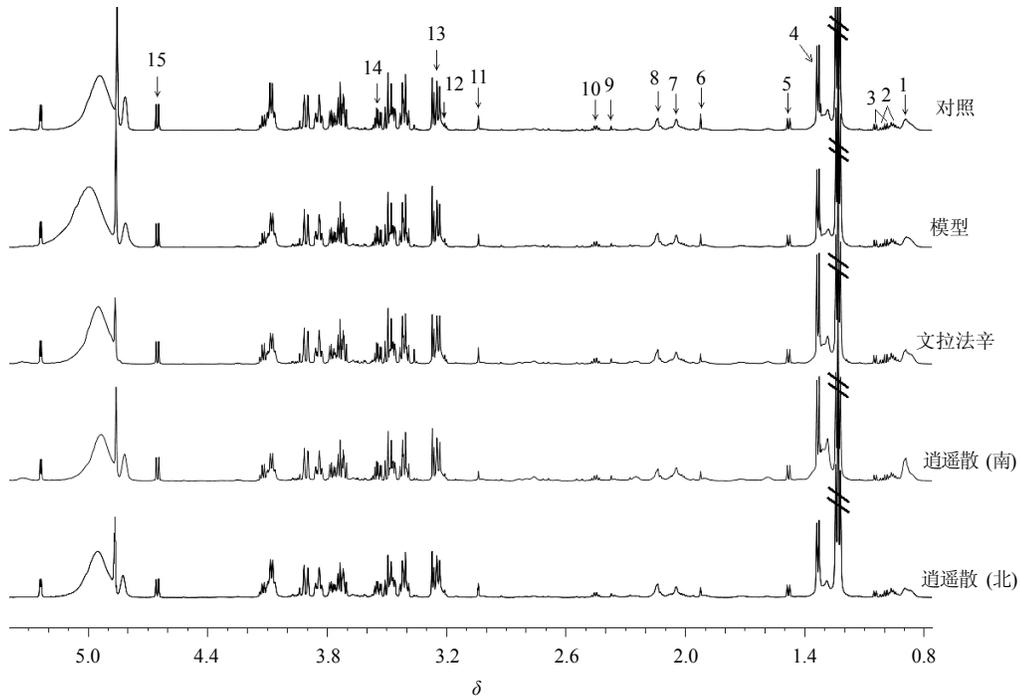


图 3 各组大鼠血清 CPMG ¹H-NMR 图谱

Fig. 3 ¹H-NMR spectra of CPMG in serum of rats in each group

表 1 大鼠血清 ¹H-NMR 图谱中主要代谢物峰归属

Table 1 Peak attribution in ¹H-NMR spectra for main metabolites in serum of rats

编号	代谢物	δ	编号	代谢物	δ	编号	代谢物	δ
1	脂类	0.85	6	醋酸	1.92	11	肌酸	3.04
2	异亮氨酸	0.97/1.02	7	N-乙酰糖蛋白	2.04	12	胆碱	3.20
3	3-羟基丁酸	0.98/1.05	8	乙酰乙酸	2.14	13	氧化三甲胺	3.24
4	乳酸	1.34	9	丙酮酸	2.38	14	苏氨酸	3.58
5	丙氨酸	1.44	10	谷氨酰胺	2.45	15	葡萄糖	4.62

为了找出变化显著的生物标志物, 模型组与对照组、模型组与各给药组进行 PLS-DA 分析, 得到代谢物载荷图 (图 5)。依据图中离原点最远的点对分组贡献最大的原则, 同时采用 SPSS 软件对位于图中边缘位置代谢物的峰面积进行独立样本 t 检验, 得到峰面积具有显著差异的潜在生物标志物, 结果见图 6。模型组大鼠血清中异亮氨酸、苏氨酸、乳酸、N-乙酰糖蛋白、肌酸、氧化三甲胺、胆碱、

β -葡萄糖等 8 种小分子代谢产物与对照组比较均具有显著差异 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明这 8 种内源性代谢产物与抑郁症发病关系较为密切, 可能是抑郁症潜在的生物标志物。在药物干预后, 文拉法辛组、逍遥散 (南)、逍遥散 (北) 组中这 8 种代谢产物与模型组比较均具有显著差异 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明药物干预对抑郁症潜在生物标志物的调节作用趋势具有一致性。

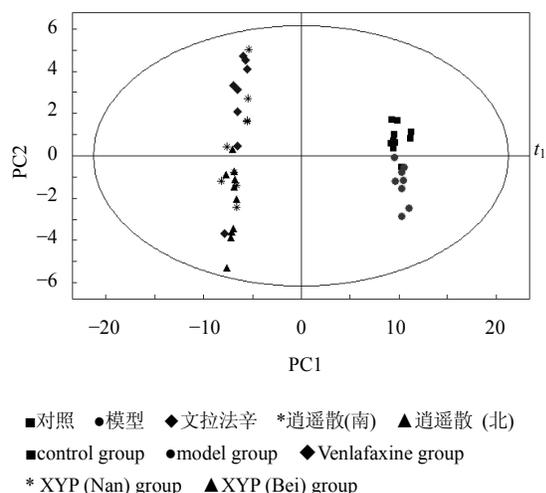
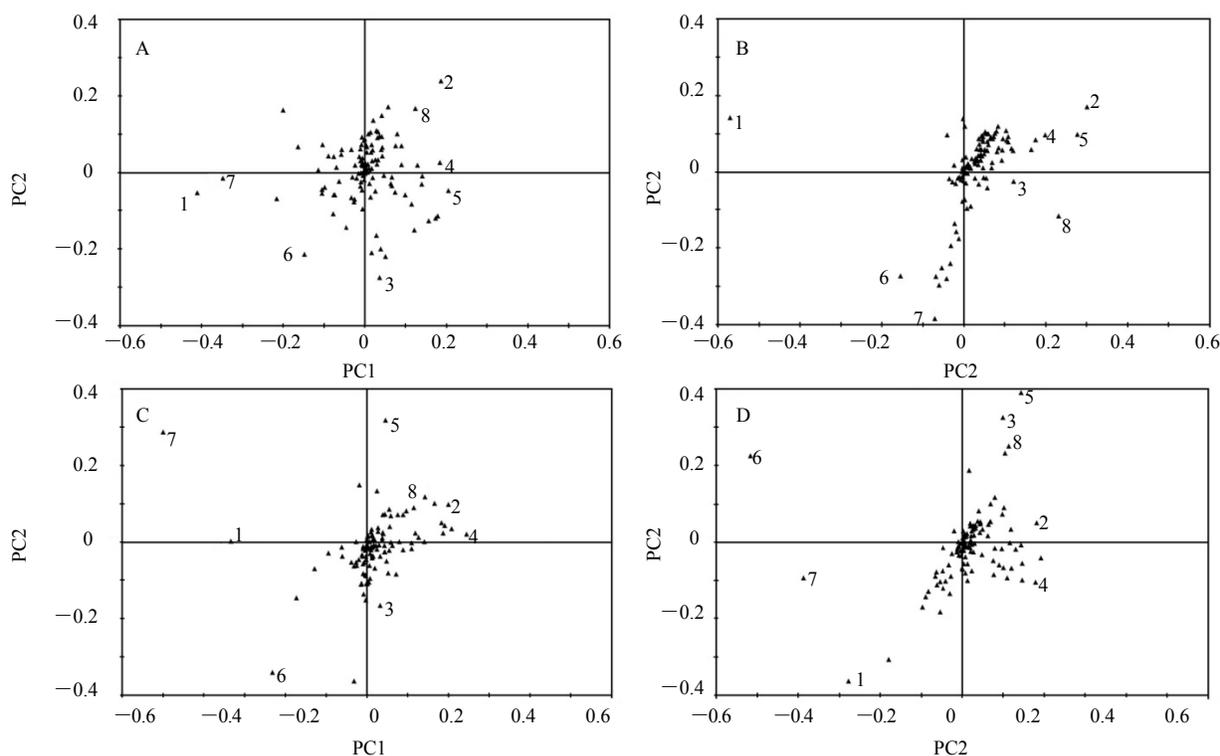


图 4 大鼠血清 ¹H-NMR 谱 XYP PLS-DA 分析散点图
Fig. 4 PLS-DA scores plots in ¹H-NMR spectra in serum of rats



1-异亮氨酸 2-苏氨酸 3-乳酸 4-N-乙酰糖蛋白 5-肌酸 6-胆碱 7-氧化三甲胺 8-β-葡萄糖
1-Ile 2-valine 3-lactate 4-NAc 5-creatinine 6-choline 7-TMAO 8-β-glucose

图 5 模型组与对照组 (A)、模型组与文拉法辛组 (B)、模型组与逍遥散 (南) 组 (C)、模型组与逍遥散 (北) 组 (D) 大鼠血清 ¹H-NMR 谱 PLS-DA 分析载荷图

Fig. 5 PLS-DA loading plots in ¹H-NMR spectra of model vs control (A), model vs Venlafaxine (B), model vs XYP (Nan) (C), and model vs XYP (Bei) (D) groups in serum of rats

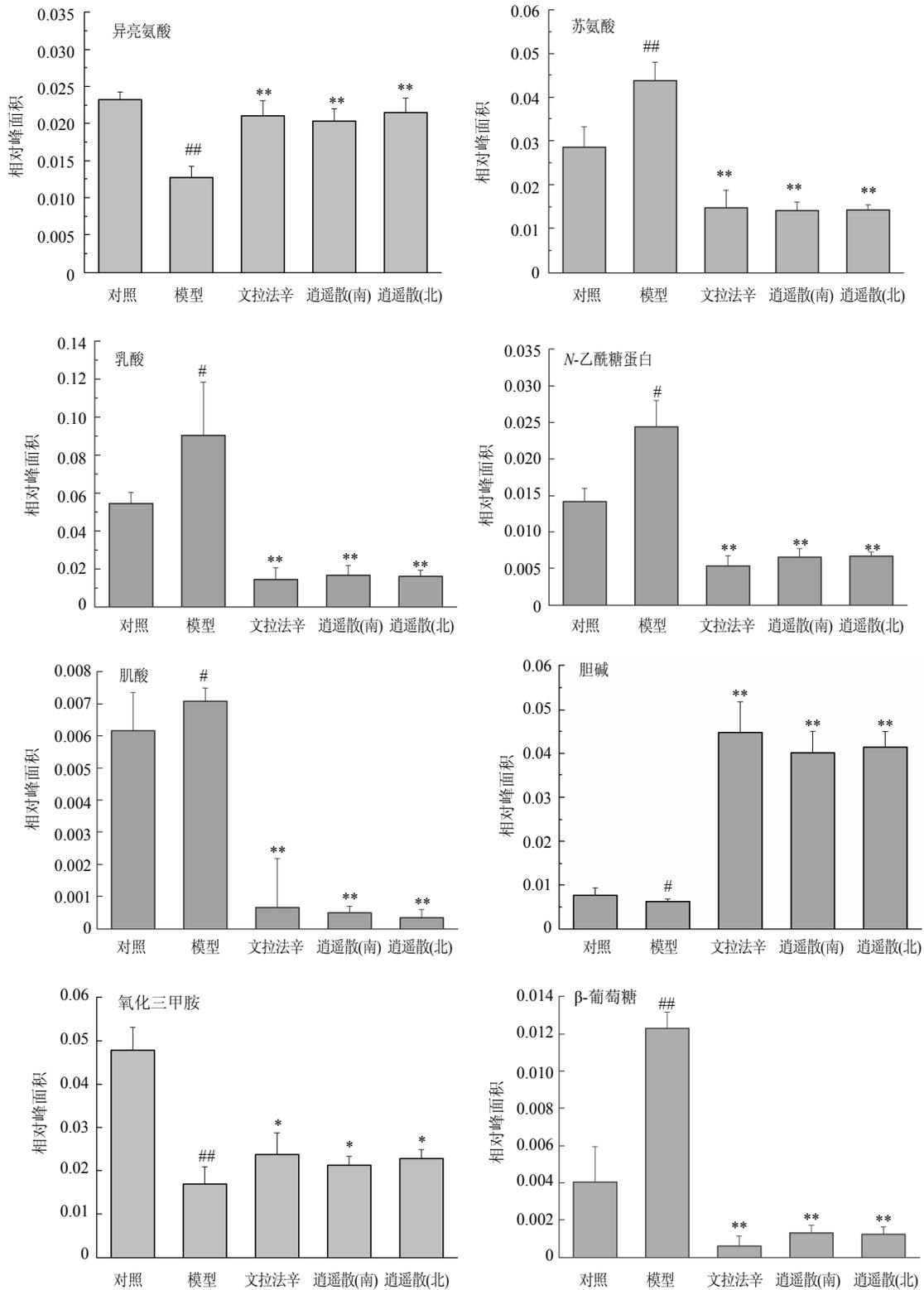
造模过程对动物影响较大的缘故；造模 14 d 后，大鼠体质量开始增加；造模 21、28 d 后，逍遥散 (南) 组大鼠体质量增加量稍高于文拉法辛组和逍遥散 (北) 组，提示南柴胡组成的逍遥散起效时间可能较

4 讨论

柴胡的主要功效为解表退热、疏肝解郁、升举阳气，以其为主药的经典名方有 10 余首，如小柴胡汤、大柴胡汤、逍遥散、柴胡疏肝散等，广泛用于内科、妇科、儿科及五官科疾病的治疗^[21]。有些人认为南柴胡在发热疾病的疗效上优于北柴胡，而北柴胡在治疗肝病方面又优于南柴胡，但对柴胡品种的选择受到南柴胡药材稀缺这一状况的限制。因此系统、全面地评价不同品种柴胡在传统中药复方中药理活性的差异，对于提高柴胡方剂的临床疗效及准确用药具有重要意义。

在抗抑郁药物研究中，体质量、糖水消耗率及旷场行为等指标是主要的疗效评判指标。本实验结果表明，造模 7 d 后大鼠体质量有所下降，可能是

快。相对于体质量变化，大鼠对糖水偏爱的变化较慢，至造模第 21 天，对照组与模型组比较才有显著差异，造模第 21 和 28 天，文拉法辛组大鼠对糖水偏爱率的回调优于 2 个逍遥散组。该结果表明，逍



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group

图 6 大鼠血清 $^1\text{H-NMR}$ 谱 PLS-DA 分析载荷图中潜在生物标志物相对峰面积

Fig. 6 PLS-DA loading plots in $^1\text{H-NMR}$ spectra of relative peak areas of potential bio-markers in serum of rats

逍遥散在增加大鼠食欲、体质量方面优于文拉法辛，而在改善大鼠兴趣缺失或抑郁情绪方面不及文拉法辛；南北柴胡组成的逍遥散抗抑郁作用均明显，但南柴胡组成的逍遥散的起效时间比北柴胡组成逍遥散稍快，但不具有统计学差异。

代谢组学是一项新近发展起来的系统生物学技术^[22]，是发现与疾病相关的潜在生物标志物和药物作用机制的重要手段之一，在认识疾病和药物研发领域中发挥重要作用。代谢组学技术的多元统计分析（PCA、PLS-DA、OPLS-DA等）指标灵敏性较传统方法明显提高^[23]，许多动物行为学、形态学，甚至有限的生化指标不能显示差异时，通过代谢组学方法不仅可以有效地分类，而且可寻找到与分类有关的一组特征性标志物。特征性生物标志物是一类参与机体代谢而发挥重要生理活性的小分子化合物，抑郁症的发生也与某些特征性生物标志物有关。

有报道称异亮氨酸可诱导实验动物离体海马细胞中的BDNF（海马细胞增殖、分化的重要神经营养因子，是抗抑郁药发挥作用的重要靶标之一）表达，并且可激活BDNF调控的信号转导通路，对强迫游泳引起的不动时间延长具抑制作用^[24-25]。本实验结果表明，模型组大鼠血清中异亮氨酸的量比对照组显著降低，而逍遥散干预后可有效提高异亮氨酸的量，从而发挥抗抑郁作用。

乳酸是脑组织中过量的丙酮酸在乳酸脱氢酶的作用下生成的酸性化合物，可引起乳酸性酸中毒，加剧细胞毒性脑水肿，对神经细胞具有直接的损伤作用^[26]。在本实验中，模型组大鼠脑组织中乳酸的量显著升高，而逍遥散干预后有一定程度的降低。

氧化三甲胺是一种由小肠微生物群落代谢转化而成的生物标志物。将大鼠从无菌环境转移至普通清洁级环境后，其尿液中氧化三甲胺的量逐渐增加，并且可以建立稳定的小肠微生物体系^[27-29]。推测本实验中模型大鼠血清中氧化三甲胺量的改变可能与重度抑郁症引起的肠道易激综合征有关。

综上所述，逍遥散通过调节大鼠内源性代谢产物的变化而保护脑组织、修复神经元细胞功能、维持体内正常生理代谢水平，从而发挥抗抑郁作用，异亮氨酸、苏氨酸、乳酸、氧化三甲胺等代谢产物也有望成为抑郁症诊断及治疗的生物标志物。但在本实验中，逍遥散给药14d后大鼠血清中代谢产物（除异亮氨酸外）均比对照组显著升高或降低，提示

有过度回调现象，出现过度回调的原因有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王 璜, 陈生弟. 抑郁症治疗进展 [J]. 世界临床药物, 2005, 26(3): 164-167.
- [2] 易正辉, 方贻儒, 王祖承. 抑郁症分子生物学及神经影像学研究进展 [J]. 中国新药与临床杂志, 2005, 24(8): 610-614.
- [3] 王 燕. 抗抑郁药的研究进展与应用评价 [J]. 中国医院用药评价分析, 2005, 5(2): 81-84.
- [4] 张建忠. 国外抗抑郁药的进展及国产化现状 [J]. 上海医药, 2003, 249(6): 270-273.
- [5] 袁 粤, 林凌云. 植物提取物抗抑郁作用研究进展 [J]. 医学综述, 2008, 14(7): 1102-1104.
- [6] 冯 晶, 肖 咏. 抑郁症的中医药治疗概况 [J]. 光明中医, 2008, 23(7): 1407-1408.
- [7] 郭蓉娟, 欧阳帅领, 崔丽凤. 抑郁症中医药研究现状 [J]. 环球中医药, 2009, 2(1): 19-26.
- [8] 高萧枫, 秦雪梅, 王军民. 逍遥散和柴胡对慢性束缚应激肝郁模型大鼠脑内单胺类神经递质的影响 [J]. 中药药理与临床, 2005, 21(2): 6-7.
- [9] 张美增, 张秋英, 崔广宝. 逍遥散治疗抑郁性神经症临床研究 [J]. 山东中医药大学学报, 1998, 22(1): 34-37.
- [10] 李朝霞, 瞿 融. 柴胡类方治疗抑郁症的方药探讨 [J]. 内蒙古中医药, 2008, 6: 46-47.
- [11] Stathis B, Katerina A, Spyros D, *et al.* Behavioral and neuro chemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains [J]. *Behav Brain Res*, 2005, 161(1): 45-49.
- [12] 崔 杰, 郑兴宇, 高晓霞, 等. 逍遥散抗抑郁作用最佳剂量筛选 [J]. 中华实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 194-198.
- [13] Willner P, Benton D, Brown E, *et al.* Depression increases craving for sweet rewards in animal and human models of depression and craving [J]. *Psychopharmacology*, 1998, 136(3): 272-283.
- [14] Luo D D, An S C, Zhang X. Involvement of hippocampal serotonin and neuropeptide Y in depression induced by chronic unpredicted mild stress [J]. *Brain Res Bull*, 2008, 77(1): 8-12.
- [15] Wu L M, Han H, Wang Q N, *et al.* Mifepristone repairs region dependent alteration of synapsin in hippocampus in rat model of depression [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(12): 2500-2510.
- [16] Wang X Y, Zhao T, Qiu Y P, *et al.* Metabonomics approach to understanding acute and chronic stress in rat models [J]. *Proteome Res*, 2009, 8(5): 2511-2520.

- [17] Lamprea M R, Cardenas F P, Setem J, *et al.* Thigmotactic responses in an open-field [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2008, 41(2): 135-140.
- [18] Tang H, Wang Y, Nicholson J K, *et al.* Use of relaxation edited one dimensional and two dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy to improve detection of small metabolites in blood plasma [J]. *Anal Biochem*, 2004, 325(2): 260-272.
- [19] Wu Q F, Zhang Q, Sun B, *et al.* ^1H -NMR-based metabonomic study on the metabolic changes in the plasma of patients with functional dyspepsia and the effect of acupuncture [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 51(3): 698-704.
- [20] Lenz E M, Bright J, Wilson I D, *et al.* A ^1H -NMR-based metabonomic study of urine and plasma samples obtained from healthy human subjects [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 33(5): 1103-1115.
- [21] 潘胜利. 中国药用柴胡原色图志 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2002.
- [22] Liu P, Liu S L, Tian D Z, *et al.* The applications and obstacles of metabonomics in traditional Chinese medicine [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2012, 1155(10): 1-4.
- [23] Par J, Hans S, Thomas M, *et al.* A strategy for modeling dynamic responses in metabolic samples characterized by GC/MS [J]. *Metabolomics*, 2006, 2(3): 135-143.
- [24] Yoko F H, Atsumi N, Takeshi I, *et al.* The hydrophobic dipeptide leu-lie inhibits immobility induced by repeated forced swimming via the induction of BDNF [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 220: 271-280.
- [25] Shimomura Y, Harris R A. Metabolism and physiological function of branched-chain amino acids: discussion of session [J]. *J Nutr*, 2006, 136(Suppl 1): 232S-233S.
- [26] 陈曦, 杨永霞, 王淑美, 等. 基于 NMR 代谢组学研究脑脉通复方提取物对大鼠脑缺血再灌注模型的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(1): 97-102.
- [27] Huang Y Y, Chen W J, Li Y X, *et al.* Effects of antidepressant treatment on *N*-acetyl aspartate and choline levels in the hippocampus and thalami of post-stroke depression patients: A study using H-1 magnetic resonance spectroscopy [J]. *Psychiatry Res*, 2010, 182: 48-52.
- [28] Gabbay V, Hess D A, Liu S, *et al.* Lateralized caudate metabolite abnormalities in adolescent major depressive disorder: A proton MR spectroscopy study [J]. *Am J Psychiatry*, 2007, 164(12): 1881-1889.
- [29] Kaufman M J, Henry M E, Hennen J, *et al.* Selective serotonin reuptake inhibitor discontinuation syndrome is associated with a rostra anterior cingulate choline metabolite decrease: A proton magnetic resonance spectroscopic imaging study [J]. *Biol Psychiatry*, 2003, 54(5): 534-539.