

基于偏最小二乘回归分析的逍遥软胶囊中柴胡-白芍药对抗抑郁作用谱-效关系研究

常 星, 王 露, 程江雪, 张小飞, 郭东艳, 方 方, 李 瑾*

陕西中医药大学 秦药特色资源研究与开发国家重点实验室(培育)& 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046

摘 要: 目的 研究逍遥软胶囊中柴胡-白芍药对不同配伍比例 HPLC 指纹图谱与抗抑郁作用药效之间的相关性, 明确柴胡与白芍配伍发挥疏肝解郁作用的潜在物质基础。方法 采用慢性束缚小鼠模型, 以强迫游泳及悬尾不动时间为指标评价柴胡-白芍药对疏肝解郁的作用, 利用偏最小二乘回归分析法进行谱-效关联分析, 快速筛选出其药效贡献较大成分。结果 阳性药以及不同配伍比例柴胡-白芍药对均明显地缩短小鼠悬尾及强迫游泳不动时间, 具有抗抑郁作用, 其中以柴胡-白芍(2:1)的抗抑郁效果最为显著。通过偏最小二乘回归分析发现, 柴胡-白芍药对 14 个共有峰中 7 个特征峰与其抗抑郁作用显著相关且贡献较大。结论 通过谱效关系研究, 推测柴胡配伍白芍发挥疏肝解郁的药效物质基础, 可能为包括芍药内酯苷、芍药苷和柴胡皂苷 a 等在内的 7 个化合物, 为其质量标志物的确定及质量控制提供了依据。

关键词: 柴胡-白芍药对; 谱-效关系; 抗抑郁; 质量标志物; 逍遥软胶囊; 偏最小二乘回归分析; 芍药内酯苷; 芍药苷; 柴胡皂苷 a

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)08-2509-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.08.018

Study on spectrum-effect relationship of *Bupleuri Radix*-*Paeoniae Radix Alba* herb pair of Xiaoyao Soft Capsule for anti-depressant effect based on partial least squares-discriminant analysis

CHANG Xing, WANG Lu, CHENG Jiang-xue, ZHANG Xiao-fei, GUO Dong-yan, FANG Fang, LI Jin

State Key Laboratory of Research & Development of Characteristic Qin Medicine Resources (Cultivation), Shaanxi Key Laboratory of Chinese Medicine Fundamentals and New Drugs Research, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective To study the correlation between HPLC fingerprints of different compatibility proportions of *Bupleuri Radix* (BR)-*Paeoniae Radix Alba* (PRA) herb pair of Xiaoyao Soft Capsule (XSC) and anti-depressant effect, and provide experimental basis for clarifying the potential material basis of BR-PRA herb pair for soothing liver and relieving depression. **Methods** HPLC method was used to establish the fingerprint chromatography of different compatibility proportions of BR-PRA herb pair. Chronic restraint stress (CRS) was applied to establish stress depression model and the depressive behaviors of mice were observed by forced swimming test (FST) and tail suspension test (TST). Partial least squares-discriminant (PLSR) analysis was applied to analyze the correlation, so as to quickly screen out the ingredients with greater contribution to efficacy. **Results** The immobility time in FST and TST was decreased significantly in all treatment groups, and positive drug, Sinisan and different compatibility proportions of BR-PRA herb pair had anti-depressant effect. Among them, the ratio 2:1 of BR-PRA herb pair had the strongest anti-depressant effect. PLSR analysis showed that seven characteristic peaks from 14 shared peaks of BR-PRA herb pair were significantly correlated with the anti-depressant effect and had greater contribution to efficacy. **Conclusion** Through the spectrum-effect study, it is speculated that the effective components of BR-PRA herb pair for soothing liver-qi stagnation may be the seven compounds

收稿日期: 2022-09-20

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1706903); 陕西省中药基础与新药研究重点实验室基金(19JS019); 陕西省自然科学基金(2022JM-451); 陕西省高校科协青年人才托举计划项目(20160228); 陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-YL11)

作者简介: 常 星, 女, 讲师, 博士, 从事中药药效物质基础与作用机制研究。Tel: (029)38185175 E-mail: 2051047@sntcm.edu.cn

*通信作者: 李 瑾, 女, 博士, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: (029)38185165 E-mail: 2051014@sntcm.edu.cn

including alibiflorin, paeoniflorin, saikosaponin a, etc, which provide a basis for the determination of quality markers and quality control.

Key words: *Bupleuri Radix-Paeoniae Radix Alba* herb pair; spectrum-effect relationship; anti-depressant; Xiaoyao Soft Capsule; quality markers; PLSR analysis; alibiflorin; paeoniflorin; saikosaponin a

开展药对研究能够阐明中药配伍规律及其作用机制^[1]。柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC.或狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd. 的干燥根,具有和解表里、疏肝升阳的功效。常用于治疗肝郁证。柴胡主要含有柴胡皂苷和挥发油类成分,另外还含有黄酮、脂肪酸、多糖、多元醇等成分^[2]。白芍是毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,具有养血柔肝、和中止痛的功效。主要化学成分是单萜、单萜苷及其内酯类化合物,其中芍药苷等单萜类物质是其主要活性的物质基础。

柴胡-白芍是疏肝解郁、调畅情志最为经典的经典配伍药对,如《审视瑶函》之柴胡参术汤,《伤寒论》中四逆散、大柴胡汤,《太平惠民和剂局方》之逍遥散,《景岳全书》之柴胡疏肝散。以柴胡的辛、苦和解郁泄热功效,中和并辅佐白芍的酸苦及敛阴止汗等功效,两者散收相合^[3],因其疏肝解郁、调和气血的功效,常用于抑郁症、胁痛的治疗^[4-5]。对治疗抑郁症的中药专利复方的用药规律进行分析,结果显示柴胡的使用频数处于第一,白芍处于第 3 位,常用的药对中柴胡-白芍药对居首位^[6]。

目前,对柴胡-白芍的研究多集中于研究单一药材化学成分,以及不同配伍比例对其化学成分^[7]的影响,对该药对产生疗效的物质基础及其质量控制研究明显滞后。且有学者报道,不同配伍比例柴胡-白芍药对中,以 2:1 配伍时可以发挥最佳的抗惊厥效果^[8],但是未见关于柴胡-白芍药对不同比例配伍水提物抗抑郁效果的研究。

谱-效关系研究是将指纹图谱与药效数据用特定的方式形成关系,通过研究它们之间的相关性,来阐明指纹图谱所表征的化学成分与药效的相互关系,确定药效物质基础,为质量标志物的确立提供了依据,使得用于中药质量控制的指纹图谱特征峰更具有针对性,更能反映中药与其药效基本一致的内在质量^[9-10]。偏最小二乘回归 (partial least squares regression, PLSR) 分析可综合多元回归分析、典型相关分析和主成分分析,通过这三者来简化数据、分析变量间的相关关系并建立回归模型,具有计算量小和预测精度高等优点,可用于样本数量少于自

变量数量的数据分析^[11]。

因此,本实验采用慢性束缚应激 (chronic restraint stress, CRS) 小鼠模型,通过比较柴胡-白芍药对不同比例配伍时小鼠体质量增量、强迫游泳 (forced swimming test, FST) 和悬尾 (tail suspension test, TST) 不动时间的影响,对柴胡-白芍药对不同配比水提物的抗抑郁作用效果进行了评价。进一步,基于 PLSR 分析构建谱效关系模型,以快速筛选其药效成分,阐明柴胡-白芍药对疏肝解郁作用的物质基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

UltiMate3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔上海仪器有限公司;KQ-250DE 型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;HH-2A 型电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司;BSA224S 型分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司;SHB-III 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;手工制作的悬尾实验箱 (长 25 cm、宽 23 cm、高 38 cm);游泳塑料桶,直径 35 cm,高 30 cm;微量移液器,北京大龙公司;秒表。

1.2 药材

柴胡饮片 (批号 20200327)、白芍饮片 (批号 20200403) 均购于绿竹大药房,经陕西中医药大学药学院胡本祥教授鉴定,柴胡为伞形科柴胡属植物柴胡 *B. chinense* DC. 的干燥根,白芍为毛茛科芍药属植物芍药 *P. lactiflora* Pall. 的干燥根。

1.3 药品与试剂

对照品柴胡皂苷 a (批号 PS000191,质量分数≥98%)、柴胡皂苷 d (批号 PS000194,质量分数≥98%)、芍药苷 (批号 PS000826,质量分数≥98%) 和芍药内酯苷 (批号 PS011455,质量分数≥95%) 购于成都普思生物科技股份有限公司。

乙腈,美国飞世尔科学世界公司;磷酸,天津市富宇精细化工有限公司;娃哈哈纯净水,成都娃哈哈昌盛饮料有限公司;羧甲基纤维素钠 (批号 200406)、甲醇,购于天津市科密欧化学试剂有限公司;盐酸氟西汀片 (批号 191224) 购于山东力诺制药有限公司。乙腈、磷酸和甲醇均为色谱纯,其他

试剂均为分析纯。

1.4 实验动物

70 只雄性 ICR 小鼠, 体质量为 18~22 g, 购于成都达硕实验动物有限公司, 合格证号: SCXK(川)2020-030。动物实验遵循陕西中医药大学实验动物管理和使用的规定, 符合 3R 原则。实验通过陕西中医药大学伦理委员会审查(批准号 SUCMDL20210402003)。

2 方法与结果

2.1 抗抑郁药效评价

2.1.1 药材提取物制备 柴胡-白芍药对分别取按 1:1、1:2、2:1 的比例混合好的药材各 24 g, 分 2 次煎煮, 首次煎煮前浸泡 30 min, 用所需饮片总用量的 10 倍水进行首次煎煮, 第 2 次煎煮用所需饮片总用量的 8 倍的水进行煎煮, 每次应在大火煮沸后, 再调至适宜温度煎煮 30 min, 将 2 次的滤液合并, 并置于水浴锅上进行蒸干, 蒸至干膏后研碎备用。计算得柴胡-白芍(1:1)提取率为 12.29%, 柴胡-白芍(1:2)提取率为 13.57%, 柴胡-白芍(2:1)提取率为 13.04%。

2.1.2 动物分组及给药 将小鼠随机分成 7 组, 即对照组(给予羧甲基纤维素钠溶液)、模型组(给予羧甲基纤维素钠溶液)、阳性化学药组(给予盐酸氟西汀片)、阳性中药组(给予四逆散复方)、柴胡-白芍(1:1)组、柴胡-白芍(1:2)组、柴胡-白芍(2:1)组, 每组 10 只, 共 70 只。

实验正式开始前, 小鼠先进行适应性喂养 7 d, 每组小鼠给予正常昼夜节律光照, 自由饮水和摄食。除对照组外, 各组均采用慢性束缚制备抑郁症模型, 持续 14 d。

从正式实验第 1 天起, 每天称量并记录每只小鼠体质量, 并根据小鼠体质量情况给药, 根据人临床日服用剂量折算, 药对组的给药剂量为 1.82 g/kg, 阳性中药组的给药剂量为 3.6 g/kg, 用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液分别将由不同药对及复方提取所得的提取物分散成均匀体系, 以制备成混悬液, 配制成分含生药量分别为 0.1 g/mL 的药液; 对照组和模型组分别给予剂量相等的 0.5%羧甲基纤维素钠溶液; 阳性化学药组给予用生理盐水将盐酸氟西汀片溶解配制所得质量浓度为 0.1 g/mL 的药液, 根据人临床日服用剂量折算, 给药剂量为 3.03 mg/kg。每组小鼠连续 ig 给药 14 d, 每天 1 次。

2.1.3 小鼠慢性束缚应激抑郁模型的复制 采用国

际公认的慢性束缚应激方法模拟抑郁症模型。每天 ig 给药 30 min 后, 用 50 mL EP 管(管壁均匀分布直径为 6 mm 的透气孔)对模型组、阳性化学药组、阳性中药组及各配比药对组小鼠束缚 6 h, 使小鼠四肢不能自由活动, 连续束缚 14 d, 束缚期间, 禁食禁水。束缚结束后, 将小鼠放回对应鼠笼中正常饲养, 自由摄食、饮水; 对照组不束缚。

2.1.4 悬尾实验 实验采用笪晓丽等^[12]所设计方法, 并进行优化: 手工所制的悬尾实验箱, 长 25 cm、宽 23 cm、高 38 cm, 顶部无盖, 四周及底部封闭, 顶部中心正上方固定 1 个鼠夹, 在小鼠尾巴距尾尖 2 cm 处用胶布缠住并固定于鼠夹上, 让小鼠倒悬且不易掉落, 小鼠头部离箱底约 10 cm, 计时 6 min, 观察并记录 2 min 后小鼠静止不动、不挣扎的累积不动时间。该实验在动物实验开始后第 14 天束缚结束后开始检测。

2.1.5 强迫游泳实验 将小鼠放入直径 30 cm, 水深 16 cm 的透明塑料桶中, 水温保持在 25 ℃左右, 小鼠开始游泳 2 min 后, 持续观察 4 min, 累积 4 min 内小鼠的不动时间, 即小鼠在水中不挣扎、头部露出水面呈漂浮状态或四肢有微小拨动的累积时长^[11]。该实验在动物实验开始后第 14 天束缚结束后开始检测。

2.1.6 统计学分析 使用 SPSS 20.0 软件, 数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较时采用单因素方差分析的方法, 若 $P < 0.05$ 则认为有统计学意义。

2.1.7 实验结果 结果表明与对照组相比, 模型组小鼠悬尾及强迫游泳不动时间显著延长($P < 0.001$); 与模型组比较, 阳性化学药盐酸氟西汀、阳性中药四逆散以及不同配伍比例柴胡-白芍药对均可以明显地缩短小鼠悬尾及强迫游泳不动时间, 其中阳性化学药组和柴胡-白芍(2:1)组均具有极显著性差异($P < 0.001$), 表明柴胡-白芍(2:1)对悬尾及强迫游泳不动时间的影响最大, 与阳性药盐酸氟西汀的作用程度类似(表 1), 其抗抑郁效果最为显著。

2.2 色谱条件

采用 Hypersil ODS 液相色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液; 梯度洗脱程序: 0~12 min, 15%乙腈; 12~20 min, 15%~36%乙腈; 20~30 min, 36%~51%乙腈; 30~35 min, 51%~60%乙腈; 35~40 min, 60%~15%乙腈; 检测波长为 210 nm; 体积流量为 1.0 mL/min;

表 1 不同配伍比例柴胡-白芍药对对 TST 和 FST 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of different compatibility proportions of BR-PRA herb pair on TST and FST ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	TST/s	FST/s
对照	67.44 ± 13.58	59.55 ± 10.09
模型	106.19 ± 14.11 ^{ΔΔΔ}	102.83 ± 13.62 ^{ΔΔΔ}
阳性化学药	70.46 ± 12.70 ^{***}	67.34 ± 10.61 ^{***}
阳性中药	80.64 ± 9.87 ^{**}	75.59 ± 13.41 ^{**}
柴胡-白芍 (1:1)	84.53 ± 11.71 ^{**}	82.72 ± 14.50 ^{**}
柴胡-白芍 (1:2)	85.10 ± 12.62 ^{**}	90.44 ± 8.82 [*]
柴胡-白芍 (2:1)	73.63 ± 4.94 ^{***}	70.38 ± 6.18 ^{***}

与对照组比较: ^{ΔΔΔ} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

^{ΔΔΔ} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

柱温 30 °C; 进样量为 10 μL。

2.3 溶液的制备

2.3.1 混合对照品溶液 分别精密称取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、芍药内酯苷对照品各适量, 用甲醇配制成质量浓度分别为 0.527、0.526、0.797、1.033 mg/mL 的单一对照品溶液。再依次精密吸取单一对照品溶液 2.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇对其定容, 制成混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 分别取柴胡-白芍不同配伍比例生药量 200 mg, 用适量甲醇定容至 10 mL, 摇匀, 即得供试品溶液。

所有样品进样前均过 0.22 μm 有机微孔滤膜。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取柴胡-白芍 (2:1) 药对供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件, 将同一份供试品溶液连续进样 6 次, 记录色谱图。对照品峰面积的相对保留时间 RSD 均小于 0.18%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.3%, 表明该方法精密度良好。

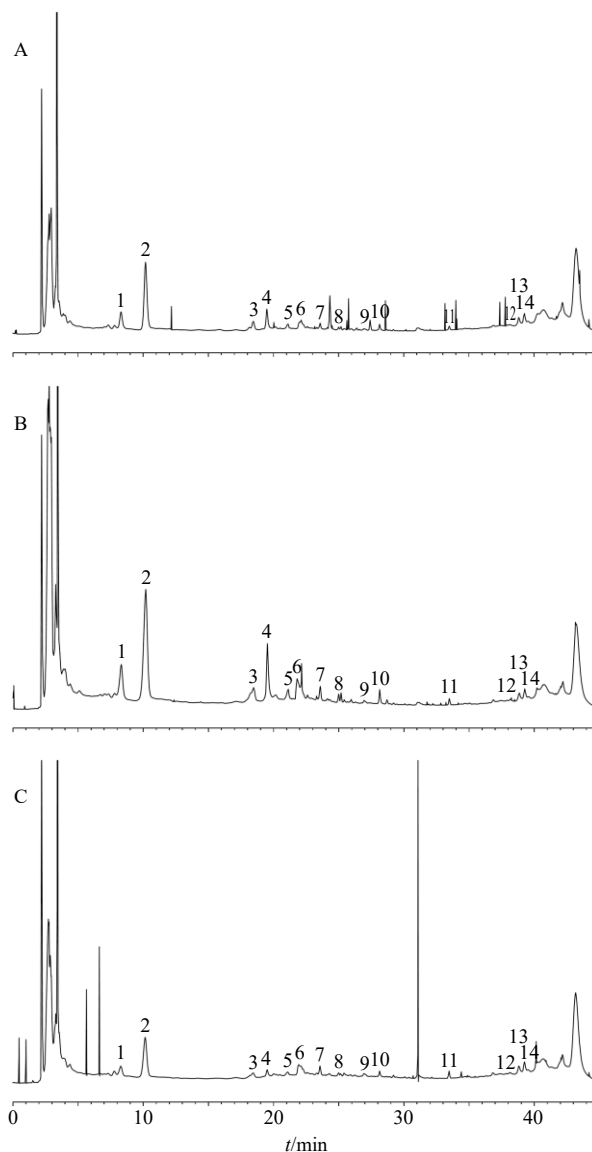
2.4.2 重复性试验 按照“2.3.2”项方法, 平行制备 6 份柴胡-白芍 (2:1) 药对供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件进样, 记录色谱图。各对照品相对保留时间的 RSD 均小于 0.33%, 相对峰面积的 RSD 均小于 2.3%, 表明该方法重复性良好。

2.4.3 稳定性试验 取同一份柴胡-白芍 (2:1) 药对供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样分析, 记录色谱图。各对照品相对保留时间的 RSD 均小于 0.24%, 相对峰面积的 RSD 均小于 2.8%, 表明该方法稳定性良好。

2.5 HPLC 指纹图谱的建立

取不同配伍比例柴胡-白芍药对样品各 3 批, 各批次做 3 个平行样, 按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2”项下色谱条件依次测定, 得各样品的色谱图 (图 1)。通过中药指纹图谱相似度计算软件 (2012A 版) 分析, 共标定了 14 个共有特征峰, 按出峰时间依次将各峰编号为 1~14。

取“2.3.1”项下对照品溶液, 在“2.2”项色谱条件测定, 与指纹图谱对比, 确认 1 号峰为芍药内



1-芍药内酯苷 2-芍药苷 11-柴胡皂苷 a 12-柴胡皂苷 d, 图 2 同
1-albiflorin 2-paeoniflorin 11-saikosaponin a 12-saikosaponin d, same as fig. 2

图 1 柴胡-白芍 1:1 (A)、1:2 (B)、2:1 (C) 药对的 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of Bupleuri Radix-Paeoniae Alba Raidx herb pair 1:1 (A), 1:2 (B), 2:1 (C)

酯苷, 2 号峰为芍药苷, 11 号峰为柴胡皂苷 a, 12 号峰为柴胡皂苷 d, 混合对照品和供试品溶液色谱图见图 2。

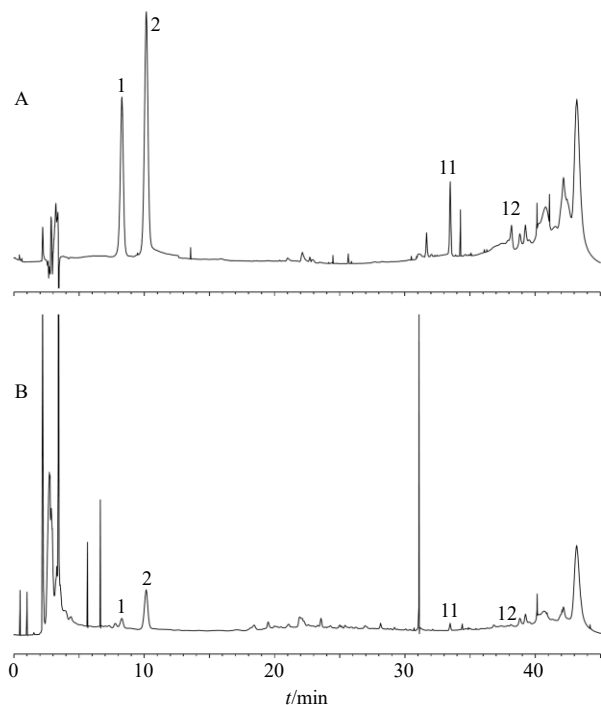


图 2 混合对照品溶液 (A) 及柴胡-白芍 2:1 药对供试品溶液 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC fingerprints of mixed reference substances (A) and *Bupleuri Radix-Paeoniae Alba* herb pair 2:1 test solution (B)

2.6 PLSR 分析

利用 SPSS 20.0 软件对数据进行 Z-score 标准化处理, 将柴胡-白芍指纹图谱共有峰的峰面积作为自变量, 分别将柴胡-白芍水提物对慢性束缚小鼠的悬尾及强迫游泳不动时间作为因变量, 将数据导入 SIMCA-P14.0 软件对其进行 PLSR 分析, 计算得到特征峰的峰面积与不动时间的标准化回归系数 (R^2) 和变量投影重要性 (variable importance in projection, VIP) 值。

2.6.1 PLSR 方程的建立 以柴胡-白芍指纹图谱 14 个共有峰的峰面积为自变量 (X), 柴胡-白芍水提物对 CRS 小鼠的悬尾不动时间作为因变量 (Y), 采用 SIMCA-P14 软件对其进行 PLSR 分析, 得最小二乘回归方程为 $Y=0.106\ 3\ X_1+0.118\ 4\ X_2+0.094\ 3\ X_3+0.109\ 6\ X_4+0.090\ 7\ X_5+0.055\ 1\ X_6+0.033\ 0\ X_7+0.048\ 7\ X_8-0.078\ 5\ X_9+0.111\ 5\ X_{10}-0.127\ 7\ X_{11}-0.084\ 6\ X_{12}-0.036\ 9\ X_{13}-0.010\ 2\ X_{14}$ 。

对于回归模型的预测, 通常用拟合指数 (R^2)

与模型的预测指数 (Q^2) 来判断模型拟合的优劣程度。对因变量的拟合指数 (R^2_Y) 值为 0.955, 大于 0.8, 表明自变量 (共有峰) 的变化能够解释 95.5% 因变量的发生, 说明模型对因变量的拟合能力良好; 模型的预测指数 Q^2 (交叉验证相关系数的平方), 表示模型的预测能力。该值越大, 模型的预测能力越强。 Q^2 值为 0.910, 接近 1, 表明模型的预测能力良好^[13-14] (表 2)。

表 2 基于 PLSR 分析的数学模型构建

Table 2 Establishment of mathematical model based on PLSR analysis

模型	主成分	R^2_Y	Q^2
悬尾不动时间	2	0.955	0.910
强迫游泳不动时间	2	0.958	0.915

同样, 将强迫游泳不动时间作为因变量 (Y), 建立 PLSR 方程为 $Y=0.106\ 9\ X_1+0.118\ 3\ X_2+0.095\ 3\ X_3+0.109\ 9\ X_4+0.091\ 9\ X_5+0.058\ 5\ X_6+0.037\ 0\ X_7+0.052\ 3\ X_8-0.073\ 2\ X_9+0.111\ 8\ X_{10}-0.120\ 9\ X_{11}-0.082\ 0\ X_{12}-0.034\ 3\ X_{13}-0.011\ 0\ X_{14}$ 。

对因变量的拟合指数 R^2_Y 为 0.958, 大于 0.8, 表明该模型拟合度较好; 模型的预测指数 Q^2 值为 0.915, 表明模型的预测能力良好 (表 2)。

2.6.2 VIP 及相关分析^[15] VIP 是评价自变量对因变量的解释能力强弱的关键指标之一, 若该自变量对因变量的解释能力越强, VIP 值就越大。通常认为 $VIP \geq 1$ 时, 自变量在解释因变量时具有显著重要性。由图 3-A1 可知, 11、2、10、4、1、3 和 5 号峰的 VIP 值均 >1 , 且误差线不过原点, 排序为 $11 > 2 > 10 > 4 > 1 > 3 > 5$ 。标准化回归系数的正负代表各成分对抗抑郁作用的正相关或负相关, 其绝对值越大, 表明该成分对抗抑郁作用的药效贡献越大。按照回归系数绝对值大小排序, 可知各成分对悬尾不动时间的影响由大到小依次为 $11 > 2 > 10 > 4 > 1 > 14 > 3 > 5$ (图 3-B1)。

同理, 由图 3-A2 和 3-B2 可见, 其中峰 11、2、10、4、1、3、5 的 VIP 值依次减小, 但均大于 1, 且其回归系数的绝对值也较大, 表明这些成分对强迫游泳不动时间有明显的贡献作用。

综上所述, 峰 1 (芍药内酯苷)、2 (芍药苷)、3、4、5、10、11 (柴胡皂苷 a) 是反映其药效的重要特征峰, 对抗抑郁药效的发挥贡献较大, 可能为柴胡-白芍药对抗抑郁作用的潜在药效成分群。

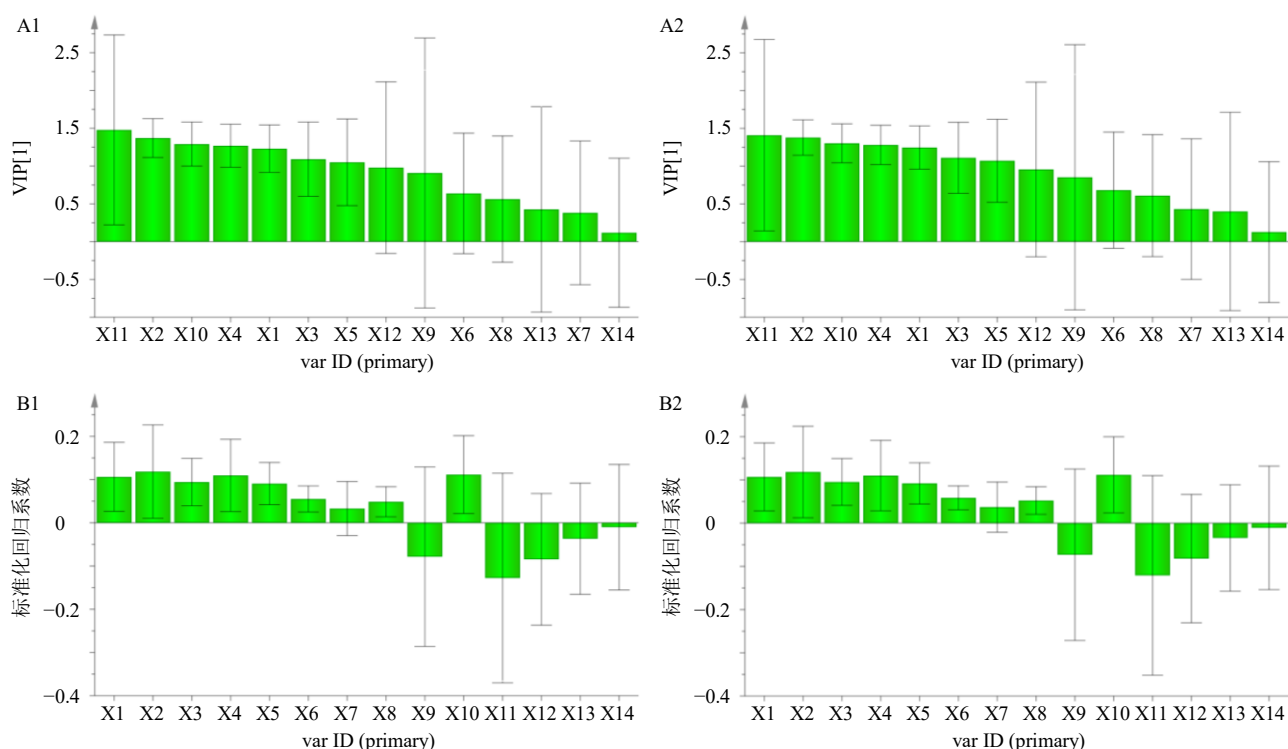


图3 柴胡-白芍药对共有峰与对悬尾 (1) 及强迫游泳 (2) 不动时间 PLSR 分析的 VIP 图 (A) 和标准化回归系数图 (B)
Fig. 3 VIP plot (A) and coefficient plot (B) of PLSR analysis from *Bupleuri Radix-Paeoniae Alba Radix* herb pair on immobile time of TST (1) and FST (2)

3 讨论

逍遥软胶囊是由柴胡、当归、白术、白芍、茯苓、甘草、薄荷等中药组成的复方制剂,该方源自宋代《太平惠民和剂局方》,是疏肝解郁、调理肝脾的常用方。临床用于多种抑郁性精神障碍,且疗效显著。但该方在制备中成药时多采用药材原粉入药,服用量大,质量难以控制。软胶囊制剂具有外形美观、稳定、生物利用度高、不含糖、携带更方便等优点,是中药制剂研究的主要发展方向之一。采用更合理的现代剂型——软胶囊对逍遥散制剂进行二次开发,提高疗效和质量标准,能产生较好的社会效益与经济效益。柴胡-白芍药对作为疏肝解郁经典方剂逍遥散中的核心药对。两药合用一散一收,敛阴合阳,使柴胡升散而无耗血伤阴之弊,白芍敛阴而无凝血之虞。柴胡与白芍的配伍符合“肝体阴而用阳”的特性,因此临床用于治疗肝密切相关的抑郁症具有很好的效果^[16]。

抑郁症是社会现阶段一种对人类身体健康危害极大的精神类疾病。抑郁模型动物表现出抑郁和认知功能障碍等行为学变化,可以很好地模拟人类抑郁症状。CRS 模型可模拟抑郁症的核心症状即兴趣缺失,具有可操作性强、重复性好的特点^[17]。本实

验在慢性束缚小鼠模型的基础上,比较不同配比柴胡-白芍药对抗抑郁作用的大小,发现不同比例配伍(1:2、1:1 和 2:1)的药对均具有抗抑郁作用。其中,以柴胡-白芍(2:1)比例配伍的抗抑郁效果最佳,与阳性药盐酸氟西汀作用程度类似。与文献报道的不同配比柴胡-白芍药对发挥最佳的抗惊厥效果一致,当配比为 2:1 时效果最佳^[8]。

为了进一步探讨柴胡-白芍药对指纹图谱与抗抑郁作用之间的关系,本实验采用 PLSR 分析研究其谱效关系,可较大程度反映成分对药效的贡献作用。研究结果表明,14 个共有峰中 7 种成分对抗抑郁作用的贡献较大(VIP>1),且相关程度较高,说明柴胡-白芍药对的抗抑郁作用可能是多种成分共同作用的结果,峰 1(芍药内酯苷)、2(芍药苷)、3、4、5、10、11(柴胡皂苷 a)是反映其药效的重要特征峰,可能为潜在质量标志物。本实验首次将柴胡-白芍药对的指纹图谱与抗抑郁作用相关联,进一步将化学信息的“谱”与药效活性的“效”关联分析,对后续其质量标志物的筛选、质量评价与控制以及质量标准化的建立提供参考。

其中,已有文献报道,芍药内酯苷、芍药苷和柴胡皂苷 a 均具有抗抑郁作用。芍药苷的抗抑郁效

果可能是通过提高五羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素、脑源性神经营养因子等水平,抑制细胞凋亡、保护神经细胞、抗氧化、调节下丘脑-垂体-肾上腺素轴和促进免疫细胞增殖等方面来实现的^[18]。芍药内酯苷可以恢复由慢性温和和不可预知性应激诱导的代谢紊乱,通过调节酪氨酸、色氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸和花生四烯酸代谢通路,以及肠道菌群来发挥抗抑郁作用,作为一种潜在的快速抗抑郁候选药物^[19]。柴胡中的柴胡皂苷 a 能通过调节炎症因子及相关通路,增强神经营养因子表达,改善神经递质水平及神经元细胞凋亡,下调下丘脑-垂体-肾上腺素轴功能发挥抗抑郁作用^[20]。

其余 4 个潜在药效成分需要进一步通过对照品对比或者结合质谱进行鉴定,并通过药效学实验验证,才能探究本实验确定的潜在质量标志物与柴胡-白芍药对的功效,如治疗抑郁症等的内在关联性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 庞婷,麦蓝尹,陈勇,等.中药药对配伍的化学成分变化研究进展[J].中药材,2015,38(11):2429-2434.
- [2] 李艳凤,刘雅舒,李艳生.柴胡的化学成分与药理作用研究进展[J].西北药学杂志,2022,37(5):186-192.
- [3] 朱十伟,高晓霞,田俊生,等.中药抗抑郁药对研究进展[J].药学报,2019,54(2):235-244.
- [4] 林薇,赵荷,郝怡雯,等.基于 Copula 函数研究柴胡-白芍药对在治疗“肝郁血虚”方剂中的剂量相关性[J].中草药,2021,52(13):4007-4013.
- [5] 雒明池,梁如,高树明,等.基于 cAMP-CREB-BDNF 通路探讨柴胡-白芍药对抗抑郁作用机制[J].中草药,2018,49(17):4093-4098.
- [6] 施学丽,陈贵海,赵晓芳,等.基于数据挖掘技术的中药专利复方治疗抑郁症用药规律分析[J].时珍国医国药,2013,24(11):2822-2824.
- [7] 朱永智,陈鸿英,张桂贤,等.白芍与柴胡不同比例配伍白芍总苷及苯甲酸水煎出量的比较[J].天津中医药,2011,28(1):78-79.
- [8] 谢炜,郑跃辉,陈伟军,等.柴胡-白芍不同比例配伍应用的抗惊厥作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(18):184-188.
- [9] 卫强,刘克敏.中药谱效关系的研究进展[J].中药新药与临床药理,2019,30(5):634-638.
- [10] 黄广伟,陈淮臣,刘渝,等.基于灰色关联度和偏最小二乘回归分析的芩苏胶囊抑菌谱效关系研究[J].药物评价研究,2022,45(6):1060-1069.
- [11] 汪盛华,闫明,徐芳芳,等.基于物料粉体学性质对 5 种制剂品种颗粒溶化性的相关性研究[J].中草药,2022,53(22):7082-7090.
- [12] 笪晓丽,李晓娟,邱文琪,等.抑郁症动物模型及中医药复方防治进展[J].中国中医基础医学杂志,2020,26(10):1582-1586.
- [13] 张浩杰,李焕茹,冯志毅,等.女贞子与酒女贞子 HPLC 指纹图谱对比研究[J].中国中药杂志,2020,45(16):3871-3876.
- [14] 卞振华,胡敏敏,袁晓航,等.基于偏最小二乘回归法分析五味子抑菌活性部位谱效关系[J].中成药,2019,41(11):2788-2791.
- [15] 杜伟锋,孙海英,洪浩,等.基于谱效关系的醋延胡索炮制前后特征成分研究[J].中草药,2021,52(20):6178-6187.
- [16] 王洪雪,王杰琼,高杰,等.中医常见抗抑郁药对的研究进展[J].中华中医药学刊,2021,39(2):17-19.
- [17] 王文聪,赵雅蔚,何侃.抑郁动物模型研究进展[J].中国比较医学杂志,2019,29(7):125-130.
- [18] 夏小雯,孙亚,宋春红,等.芍药苷抗抑郁的相关研究进展[J].世界科学技术—中医药现代化,2019,21(5):912-917.
- [19] 付苏凝.基于靶向代谢组学研究方法探究芍药内酯苷通过调节肠道菌群抗抑郁的机制[D].天津:天津中医药大学,2020.
- [20] 刘敏,孙亚南,于春月,等.柴胡皂苷 a 抗抑郁作用机制的研究进展[J].现代药物与临床,2019,34(3):867-871.

[责任编辑 郑礼胜]