

• 药理与临床 •

基于肝脏代谢组学的当归“活血解郁”作用机制研究

宫文霞^{1,2*}, 宋亚鹏^{1,2}, 王艳丽^{1,2}, 周玉枝^{1,2}, 秦雪梅^{1,2*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: 目的 研究当归 *Angelicae Sinensis Radix* “解郁”功效与“活血”功效的相关性及机制。方法 采用慢性不可预见性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 结合孤养复制大鼠抑郁模型, 以行为学指标及血流变指标评价当归对 CUMS 大鼠抑郁样症状及血液黏度的调节作用, 进行主成分分析和相关性分析量化抗抑郁指标和血流变指标间的相关性。应用 ¹H-NMR 代谢组学技术检测 CUMS 大鼠肝脏中内源性代谢物的变化, 指认相关差异代谢物并构建代谢通路。结果 造模 4 周后, 大鼠体质量、糖水偏爱率、旷场实验穿越格数、直立次数均显著降低 ($P < 0.01$), 高、中、低切变率下的全血黏度均显著升高 ($P < 0.01$)。给予当归干预后, 大鼠的行为学指标和血流变指标均有不同程度的改善。相关性分析结果显示, 行为学综合指标与血流变综合指标呈显著负相关。代谢组学结果显示, 在筛选得到的 19 个潜在生物标志物中, 当归能显著回调异亮氨酸、缬氨酸、乳酸、丙氨酸、柠檬酸等 8 种差异代谢物, 涉及缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸合成, 乙醛酸和二羧酸代谢及甘油酯代谢等 5 条代谢通路。结论 当归的“解郁”功效与其“活血”功效存在显著相关性, 其机制可能与调节氨基酸代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢等代谢途径有关。

关键词: 当归; 慢性不可预见性温和应激; 抑郁症; 肝脏代谢组学; 活血解郁; 阿魏酸; *E*-藁本内酯

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)19-6314-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.013

Mechanism of *Angelicae Sinensis Radix* on anti-depression and activating blood based on liver metabolomics

GONG Wen-xia^{1,2}, SONG Ya-peng^{1,2}, WANG Yan-li^{1,2}, ZHOU Yu-zhi^{1,2}, QIN Xue-mei^{1,2}

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

2. Shanxi Province Key Laboratory of Research and Utilization of Functional Substances in Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To study the correlation and mechanism between the efficacy of anti-depression and activating blood of Danggui (*Angelicae Sinensis Radix*). **Methods** The depression model of rats was established through chronic unpredictable mild stress (CUMS) procedure combined with solitary. The behavioral indexes and hemorheology indexes were used to evaluate the effect of *Angelicae Sinensis Radix* on depression-like symptoms and blood viscosity of CUMS rats. Principal component analysis and correlation analysis were carried out to evaluate the correlation between the behavioral indexes and hemorheology indexes. The changes in endogenous metabolites and metabolic pathways in liver of CUMS rats were detected by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H-NMR). **Results** After modeling for four weeks, body weight, sucrose preference rate, crossing grid number and standing times in open field test of rats were significantly decreased ($P < 0.01$), while the whole blood viscosity at low-, middle-, and high-shear rates were significantly increased ($P < 0.01$). After the intervention of *Angelicae Sinensis Radix*, the behavioral indexes and hemorheology indexes of rats had improvement in different degree. The results of correlation analysis showed that the comprehensive index of behavior was significantly negatively correlated with the comprehensive index of hemorheology. Metabolomics analysis

收稿日期: 2023-05-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82004502); 山西省重点研发项目 (202102130501010); 山西大学学科交叉建设项目 (226541010)

*通信作者: 秦雪梅, 女, 博士, 教授, 主要从事中药质量控制及新药研发方面的研究。Tel: (0351)7011501 E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

宫文霞 (1990—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为中药药效评价及物质基础研究。E-mail: gongwenxia@sxu.edu.cn

showed that among the 19 potential biomarkers screened, *Angelicae Sinensis Radix* could significantly call back eight differential metabolites such as isoleucine, valine, lactic acid, alanine, citric acid, etc. The metabolites were involved in five metabolic pathways including valine, leucine and isoleucine synthesis, glyoxylic acid and dicarboxylic acid metabolism, glycerolipid metabolism, etc.

Conclusion There is a significant correlation between the effect of anti-depression and activating blood of *Angelicae Sinensis Radix*. The mechanism may be related to the regulation of amino acid metabolism, carbohydrate metabolism and lipid metabolism.

Key words: *Angelia Sinensis Radix*; chronic unpredictable mild stress; depression; liver metabolomics; anti-depression and activating blood; ferulic acid; *E*-ligustilide

抑郁症是世界严重的公共健康问题，对人类的健康有极大的影响，给家庭和社会带来了沉重的负担，世界卫生组织预测 2030 年抑郁症将成为全球疾病负担的主要原因^[1]。目前上市的抗抑郁化学药存在起效慢、不良反应多等局限。因此，在中医理论指导下提出的抑郁症中医临床治疗方法，可以为临床抑郁症的诊治提供切实可行的路径。现代医学研究显示，冠心病、心肌梗死等心血管疾病是抑郁症发病率上升的危险因素。“活血解郁”方法常被应用于抑郁症的临床治疗^[2]，有云“血脉和利，精神乃居”。然而，现在研究对“活血”与“解郁”两者的相关性仍缺乏直接的证据，其内在机制尚不明确。因此，基于抑郁症临床表现及中医临床实践，提出“活血解郁”治疗策略并进一步探索其潜在机制对认识疾病病机并提高疗效具有重要意义。

当归是伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根，为传统活血要药，相关研究表明其具有促进血液循环、改善血瘀^[3]、调节凝血功能^[4]等药理学作用。现代研究表明，当归具有确切的抗抑郁作用，其机制与改善突触后膜电位、上调脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 信号通路等密切相关^[5]，其中有机酸类、苯酚类、多炔类等活性成分可能为当归抗抑郁药物质基础^[6]。然而，现有研究仅考察了当归对抑郁症的改善作用及机制，尚未关注当归对抑郁症引起的血瘀症状的作用，其抗抑郁作用与其传统活血功效的相关性仍有待进一步研究。

本研究采用慢性不可预见性温和应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 抑郁大鼠模型，通过行为学指标与血流变指标考察当归“活血解郁”的药效，结合相关性分析明确当归解郁与活血功效的相关性；并基于 ¹H-NMR 代谢组学技术对肝脏样本进行分析，筛选潜在生物标志物、富集代谢通路，分析当归对 CUMS 大鼠生物标志物的调节作用及“活血解郁”潜在机制，为拓展当归药效理论、理解“郁证”中医古方配伍用药规律提供理论依据，并为

抑郁症的临床治疗提供新策略。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 72 只，体质量 180~220 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证号 SCXK (京) 2016-0011。动物于 12 h 明暗交替光照 (6:00 时开灯，18:00 时关灯)、温度 (25±2) °C、相对湿度 (50±20) % 的环境下饲养，每 2 天定期更换水和垫料，自由摄食饮水，每笼 4~5 只。动物实验通过山西大学伦理委员会批准 (伦理审批号 SXULL2020024)。

1.2 药材

当归 (产地为甘肃，批号 1610583111) 经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定为伞形科植物当归 *A. sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根。

1.3 药品与试剂

盐酸文拉法辛胶囊 (规格 25 mg/粒，批号 130101) 购自成都康弘药业集团股份有限公司；色谱级甲醇购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；含 EDTA 和肝素钠的真空抽血管购自江苏康捷医疗器械有限公司。

1.4 仪器

大鼠代谢笼 (苏州实验动物笼具厂)；大鼠旷场测试箱 (长 100 cm、宽 100 cm、高 80 cm，黑色，25 格，实验室自制)；FC-I 型全自动血流变分析仪 (山西亚森实业有限公司)；B600 型离心机 (长沙湘智离心机仪器有限公司)；Bruker AVANCE III 600 MHz 型核磁共振波谱仪 (瑞士 Bruker 公司)；RV10 digital 旋转蒸发仪 (德国艾卡集团)；Scientz-1LS 型冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 当归提取物的制备

称取一定量的当归饮片，加入 8 倍量的 75% 乙醇，回流提取 2 次，每次 2 h，合并提取液进行减压浓缩，冷冻干燥备用 (出膏率为 48.01%)。采用超高效液相色谱-质谱联用 (UPLC-Triple-TOF/MS) 技

术对当归提取物中的化学成分进行分析^[7],并进一步运用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法对其主要化学成分阿魏酸及 *E*-藜本内酯进行含量测定,结果显示当归提取物中阿魏酸及 *E*-藜本内酯的平均质量分数分别为 0.03%、1.56%。

2.2 分组与给药

为消除个体差异,根据糖水偏爱实验、旷场实验和体质量测定的数据将大鼠随机分为对照组、模型组、文拉法辛(35 mg/kg)组、当归高剂量组(生药 15.0 g/kg、干浸膏 1.00 g/mL)和当归低剂量组(生药 7.5 g/kg、干浸膏 0.72 g/mL)。大鼠造模同时给药,各给药组 ig 相应药物(10 mL/kg),对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水,1次/d,连续 28 d。

2.3 CUMS 大鼠模型的制备

参照本课题组前期方法^[8],大鼠适应性饲养 7 d 后,进行 CUMS 造模。除对照组外,其余各组大鼠均孤养,并于每日 9:00—11:00 时随机给予应急刺激:禁食(24 h)、禁水(24 h)、束缚、超声(60 dB)、足底电击(36 V、10 s)、45 °C 热刺激(10 min)、夹尾(2 min)、4 °C 冰水浴(5 min)、昼夜颠倒(12 h/12 h)。以上刺激方式随机排列,且每种刺激不连续出现。

2.4 行为学实验

2.4.1 体质量测定 分别于第 0、7、14、21、28 天分别称定大鼠体质量。

2.4.2 糖水偏爱实验 分别于第 0、21、28 天进行糖水偏爱实验。大鼠给予 2 瓶 1%蔗糖溶液 24 h,然后将其中 1 瓶蔗糖溶液替换为自来水继续训练 24 h。大鼠禁食禁水 12 h,分别给予大鼠 1 瓶蔗糖溶液和 1 瓶自来水进行糖水偏爱基线测定,计算糖水偏爱率。

糖水偏爱率 = 蔗糖溶液消耗量/总饮水消耗量

2.4.3 旷场实验 分别于第 0、7、14、21、28 天进行旷场实验,评估大鼠的活动状况和抑郁样行为。将每只大鼠置于自制大鼠开场实验箱的中央格,观察 5 min,记录后 4 min 内大鼠的直立次数和穿越格数。

2.5 血流变分析

大鼠禁食 12 h 后,ip 水合氯醛麻醉,采用含肝素钠的真空抽血管于腹主动脉取血 2 mL,采用全自动血流变仪测定全血黏度。

2.6 当归抗抑郁作用和调节血液流变学功能相关性分析

运用 SPSS 软件,对大鼠体质量(X_1)、糖水偏

爱率(X_2)、直立次数(X_3)、穿越格数(X_4) 4 个行为学指标进行主成分分析,并计算各组大鼠的情志指数(Y_1);对高、中、低切变率下的全血黏度(X_5 、 X_6 、 X_7)进行主成分分析,并计算各组大鼠血液系统综合指标(Y_2)。

2.7 肝脏代谢组学分析

2.7.1 肝脏 ¹H-NMR 样本制备 称取各组大鼠肝组织 200 mg 于 5 mL EP 管中,加入 500 μL 预冷的甲醇和 500 μL 蒸馏水,匀浆 1 min,超声提取 5 min,4 °C、13 000 r/min 离心 15 min,取上清液 900 μL 于 2 mL EP 管中。沉淀采用同样的方法再提取 1 次,取上清液 900 μL。合并 2 次上清液,取 1 mL 上清液置于 EP 管中冷冻干燥用于 NMR 分析,将干燥物溶解在 600 μL 含 0.01%三甲基硅基丙酸钠(sodium trimethylsilylpropionate, TSP)的磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L Na₂HPO₄、0.2 mol/L NaH₂PO₄, pH 7.4)中,4 °C、13 000 r/min 离心 10 min,取上清 550 μL 转移至 5 mm 的核磁管中用于 NMR 检测。

2.7.2 NMR 检测 样品在 25 °C 下于 600 MHz NMR 仪测定,测定频率为 600.13 MHz,扫描次数为 64,谱宽 12 345.679 Hz,脉冲时间 14 μs,采样时间 2.654 s,延迟时间 1.0 s,采样间隔 40.5 μs,采用 noesygppr1d 序列压制水峰,内标为 TSP。

2.7.3 NMR 数据处理 所有 NMR 图谱分析使用 MestReNova 软件进行数据处理与采集。图谱经手动相位和基线校正后,以 TSP 化学位移(δ) 0.00 进行定标,以 1×10^{-8} 的积分对 δ 为 0.00~9.00 的区段进行积分,并剔除 δ 为 4.50~5.00 的残余水峰信号。

2.7.4 多元统计分析 将获得的数据导入 Simca-P 13.0 软件进行分析。采用偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discrimination analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)探究对照组和模型组代谢轮廓的变化,结合 S-plot 图中的 VIP>1 和 *t* 检验($P<0.05$)寻找差异代谢物。采用 R^2 和 Q^2 值描述数据模型的可靠性。NMR 寻找到的差异代谢物通过分子结构和化学位移进行鉴定。将鉴定的差异代谢物导入 MetaboAnalyst 3.0 进行通路富集分析。

2.7.5 代谢物的回调程度 为了量化各组对潜在生物标志物的回调情况,以效能指数(effectiveness index, EI)来描述各组差异代谢物的回调程度^[9]。

$$EI = \sum_{i=1}^n \left| \frac{X_i - M_i}{M_i - C_i} \right|$$

C_i 表示对照组中潜在生物标志物含量的平均值; M_i 表示模型组中潜在生物标志物含量的平均值; X_i 表示给药组调节的潜在生物标志物含量的平均值; EI 的值越高, 表明给药组对代谢物的回调程度越大

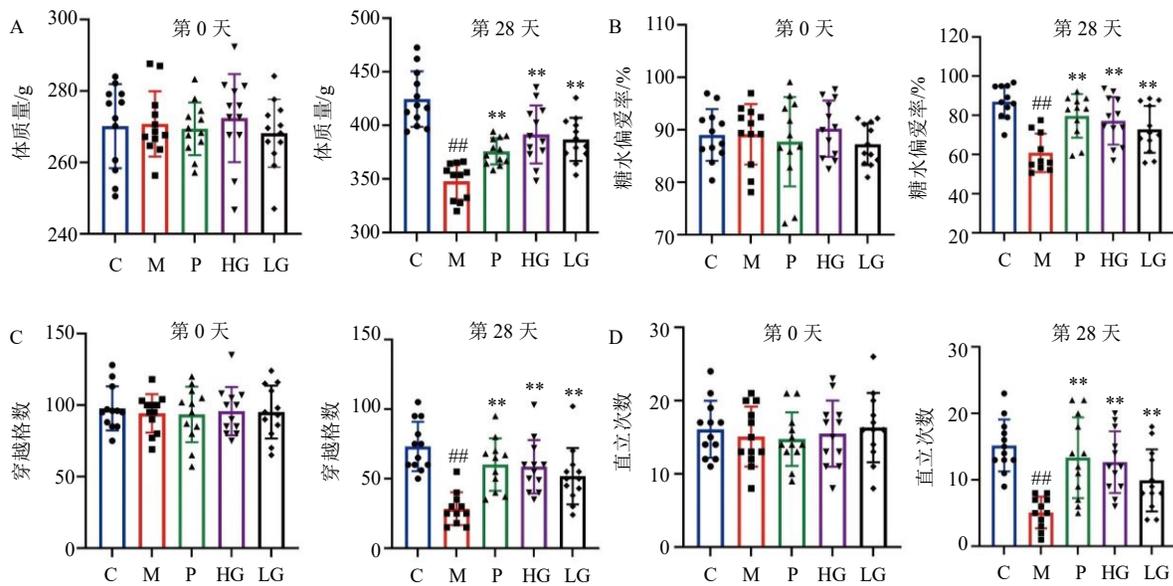
2.8 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 当归对抑郁大鼠行为学的影响

如图 1 所示, 造模前各组大鼠体质量、糖水偏



C-对照组 M-模型组 P-文拉法辛组 HG-当归高剂量组 LG-当归低剂量组 与对照组比较: ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 图2、6同

C-control group M-model group P-venlafaxine group HG-Angelia Sinensis Radix high-dose group LG-Angelia Sinensis Radix low-dose group ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as figs. 2, 6

图 1 当归对抑郁大鼠体质量 (A)、糖水偏爱率 (B)、旷场实验穿越格数 (C) 和直立次数 (D) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 1 Effect of *Angelia Sinensis Radix* on body weight (A), preference rate of sugar water (B), crossing grid number (C) and standing times (D) in open field experiment of depressed rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

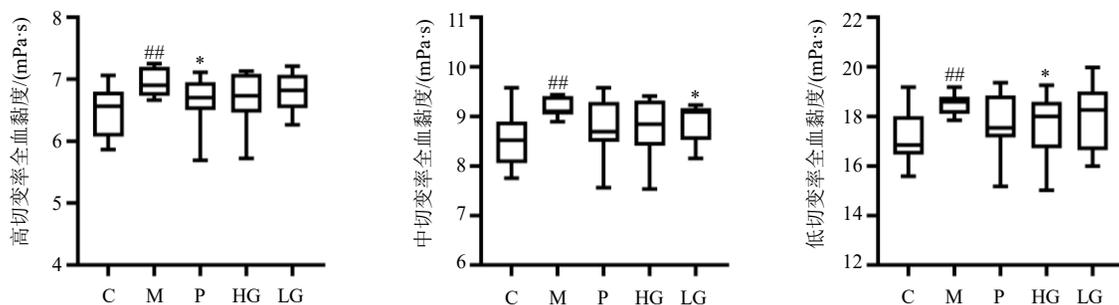


图 2 当归对抑郁大鼠全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Fig. 2 Effect of *Angelia Sinensis Radix* on whole blood viscosity of depressed rats ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

爱率、旷场实验得分均无显著性差异。造模 28 d 后, 与对照组比较, 模型组大鼠的行为学指标均发生显著变化, 表明抑郁模型制备成功 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠的体质量、糖水偏爱率、旷场实验穿越格数及直立次数均显著升高 ($P < 0.01$)。

3.2 当归对抑郁大鼠全血黏度的影响

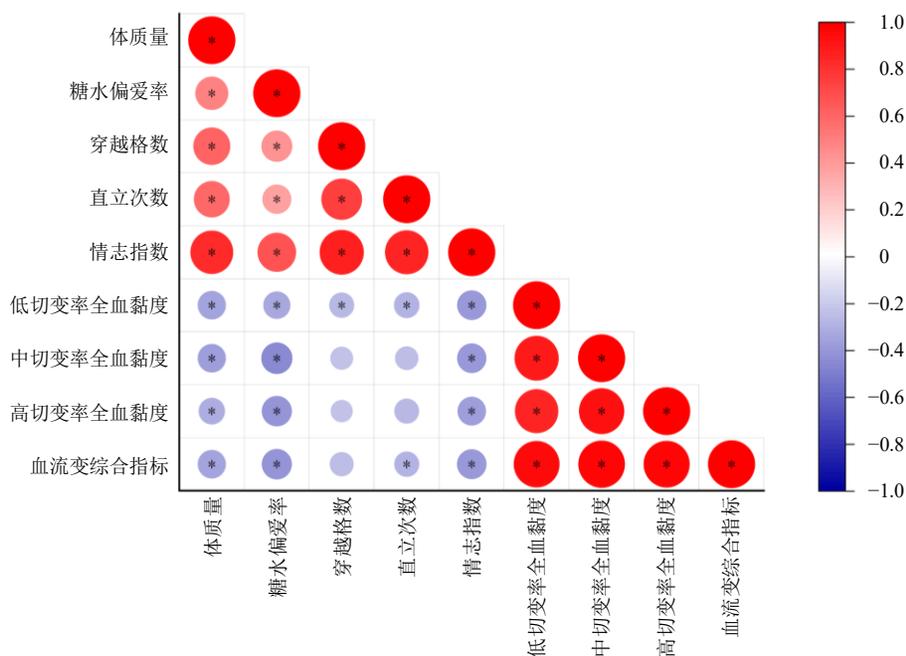
如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠高、中、低切变率下的全血黏度均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 文拉法辛组大鼠高切变率下的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$), 当归低剂量组中切变率下的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$), 当归高剂量组低切变率下的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$)。

3.3 当归“解郁”与“活血”功效的相关性分析

3.3.1 主成分分析 运用 SPSS 软件, 对大鼠体质量 (X_1)、糖水偏爱率 (X_2)、直立次数 (X_3)、穿越格数 (X_4) 4 个行为学指标进行主成分分析, 第 1 主成分的保留特征值为 2.643 (>1), 累积贡献率达 66.082%, 能够代表大鼠行为学指标的综合水平, 由此计算情志指数 (Y_1) = $0.512 X_1 + 0.415 X_2 + 0.524 X_3 + 0.540 X_4$ 。采用同样的方法对高、中、低切变率下的全血黏度 3 个血流变指标 (X_5 、 X_6 、 X_7) 进行主成分分析, 第 1 主成分保留特征值为 2.961 (>1), 累积贡献率为 98.734%, 能够代表大鼠血液

流变学的综合水平, 由此计算血液系统综合指标 (Y_2) = $0.568 X_5 + 0.578 X_6 + 0.585 X_7$ 。

3.3.2 相关性分析 将计算得到的情志指数与血流变综合指标进行相关性分析, 找出与情志指数密切相关的全血黏度指标。如图 3 所示, 大鼠情志指数与高、中、低切变率下的全血黏度均有一定的相关性 ($|r| > 0.35$ 、 $P < 0.05$)。血流变综合指标与大鼠体质量、糖水偏爱率有一定相关性 ($|r| > 0.35$ 、 $P < 0.05$), 而与穿越格数、直立次数无相关性 ($|r| < 0.3$)。大鼠的情志指数与血液系统综合指标的相关系数呈负相关 ($r = -0.393$ 、 $P < 0.05$)。



红色和蓝色分别代表显著的正相关和负相关, 颜色越深代表相关性越强, * $P < 0.05$

red and blue respectively represent significant positive correlation and negative correlation, the darker the color, the stronger the correlation, * $P < 0.05$

图 3 情志指数各指标与血流变综合指标的 Pearson 相关性

Fig. 3 Pearson correlation between each index of emotional index and comprehensive index of hemorheology

3.4 生物标志物的鉴定

采用主成分分析和 PLS-DA 方法对对照组与模型组大鼠肝脏样本获得的数据进行降维处理, 如图 4-A、B 所示, 对照组与模型组能明显分开, 说明抑郁模型复制成功。采用监督的 OPLS-DA 模型, 结合 S-plot 载荷图 ($VIP > 1$) 寻找差异代谢物, 再经 t 检验 ($P < 0.05$) 进一步筛选 (图 4-C、D), 最终鉴定了与抑郁症相关的 19 个差异代谢物 (图 5 和表 1)。与对照组比较, 模型组肝脏组织中异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、谷氨酸、胆碱、氧化三甲胺、甘油、糖原、延胡索酸含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 乳酸、丙氨酸、乙酸、蛋氨酸、谷氨酰胺、

柠檬酸、甘氨酸、葡萄糖、酪氨酸含量均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。

3.5 当归对抑郁大鼠肝组织中差异代谢物的调节作用

如图 6 所示, 与模型组比较, 给予当归干预后, 各差异代谢物均有所回调。其中, 当归低、高剂量组异亮氨酸含量、谷氨酰胺显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 乳酸、丙氨酸、柠檬酸含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 当归低剂量组胆碱、糖原含量显著升高 ($P < 0.01$); 当归高剂量组缬氨酸、甘油、甘氨酸含量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 当归对甘氨酸和谷氨酰胺的干预与模型组相似。

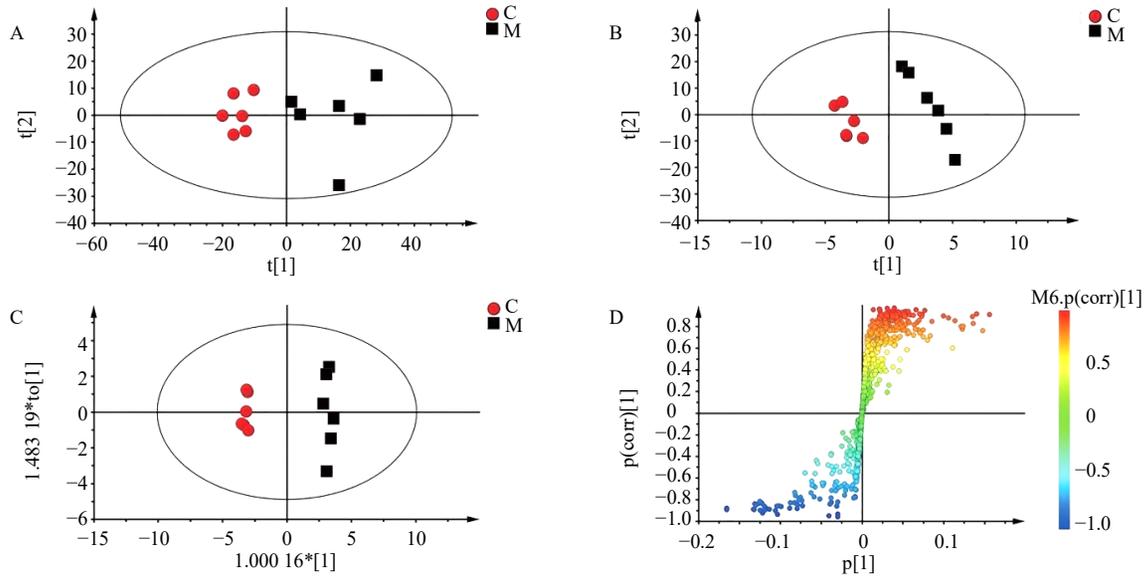


图4 对照组和模型组肝组织样本的主成分分析散点图 (A)、PLS-DA 模型验证图 (B)、OPLS-DA 散点图 (C) 和 S-plot 图 (D)
 Fig. 4 Scatter plot of principal component analysis (A), PLS-DA model verification plot (B), OPLS-DA scatter plot (C) and S-plot plot (D) of liver tissue samples in control group and model group

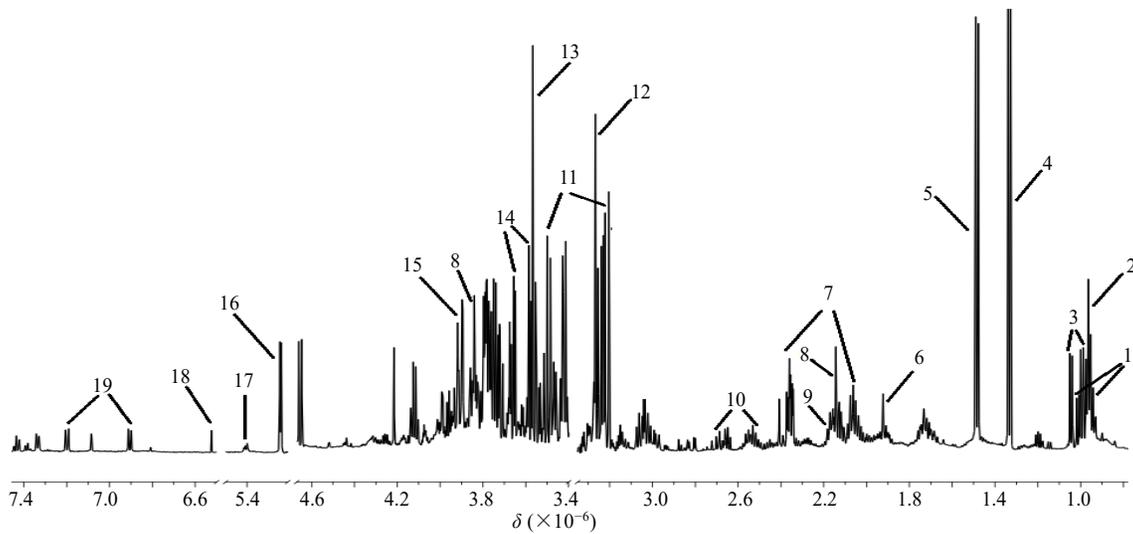


图5 肝脏差异代谢物的 NMR 图

Fig. 5 NMR diagram of differential metabolites in liver sample

表1 对照组和模型组肝脏的差异代谢物

Table 1 Differential metabolites in liver of control group and model group

峰号	代谢物	VIP	差异倍数	趋势	HMDB ID	峰号	代谢物	VIP	差异倍数	趋势	HMDB ID
1	异亮氨酸	2.08	0.66	↓**	00172	11	胆碱	3.67	0.64	↓**	00097
2	亮氨酸	3.47	0.69	↓***	00687	12	氧化三甲胺	3.08	0.77	↓**	00925
3	缬氨酸	2.26	0.68	↓**	00883	13	甘氨酸	3.93	1.37	↑***	00123
4	乳酸	4.24	1.37	↑**	00190	14	甘油	2.30	0.73	↓**	00131
5	丙氨酸	3.60	1.49	↑**	00161	15	β-葡萄糖	3.88	1.29	↑**	00122
6	醋酸	1.26	1.26	↑*	00042	16	α-葡萄糖	4.48	1.60	↑***	00122
7	谷氨酸	2.30	0.58	↓*	00148	17	糖原	2.12	0.16	↓**	00757
8	甲硫氨酸	4.01	1.38	↑***	00696	18	延胡索酸	1.47	0.45	↓**	00134
9	谷氨酰胺	3.03	1.13	↑***	00641	19	酪氨酸	1.23	1.55	↑***	00158
10	柠檬酸	1.35	1.74	↑***	00094						

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group

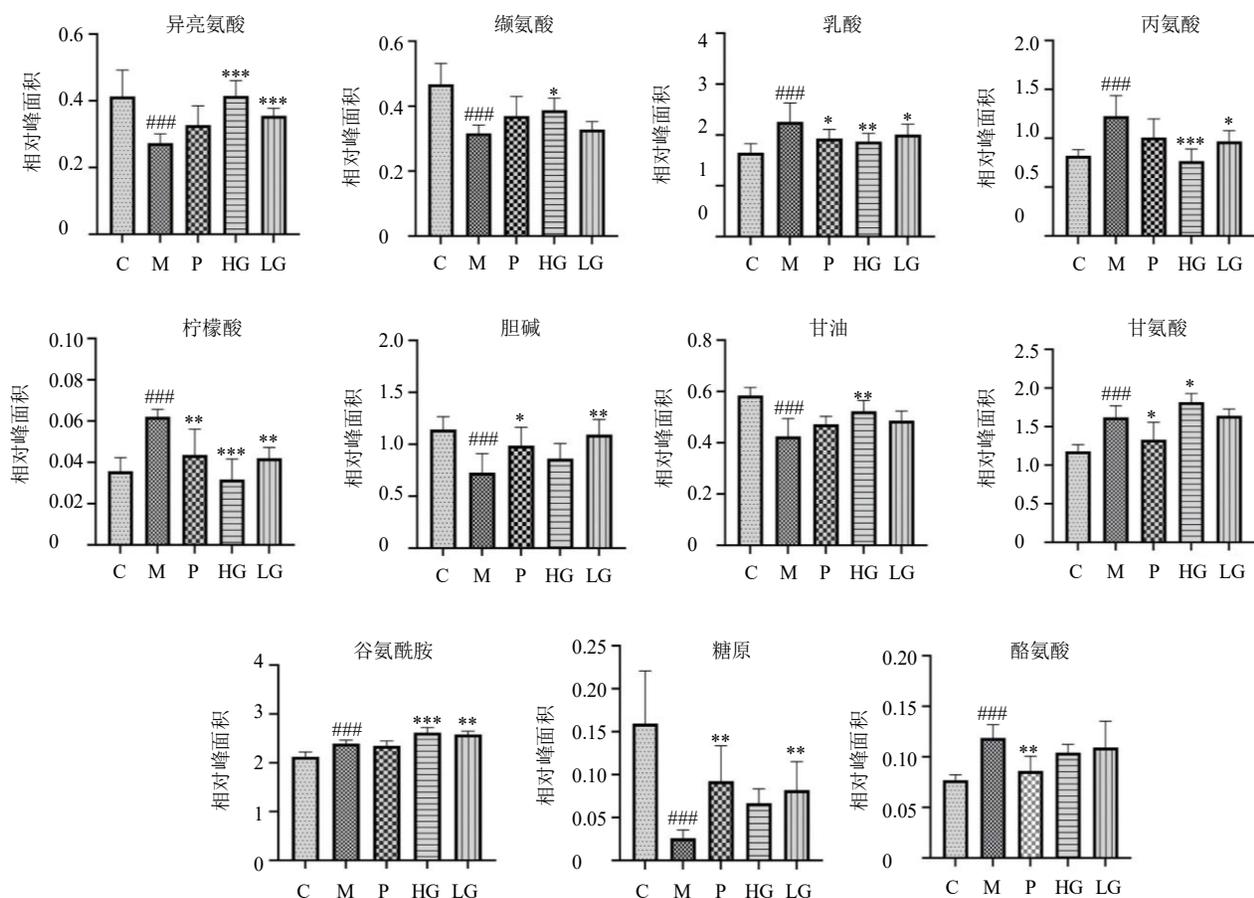


图 6 各组大鼠肝组织中差异代谢物含量变化

Fig. 6 Changes of different metabolites in liver tissue of rats in each group

3.6 代谢物的回调程度

通过计算 EI 来描述各给药组对差异代谢物的回调程度, 结果发现, 各给药组在调节 CUMS 改变的潜在生物标志物方面存在差异。当归低剂量组、当归高剂量组、文拉法辛组对代谢物的功效指数之和 (EI) 分别为 513.38、733.00、547.77 (表 2), 表明当归高剂量组能够最大限度将代谢物的异常水平回调至正常水平。

3.7 代谢通路分析

如图 7 所示, 采用 NMR 代谢组学技术寻找与抑郁相关的差异代谢物有 19 个, 涉及 8 条代谢途径 (pathway impact>0.1), 分别为 D-谷氨酰胺和 D-谷氨酸代谢, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸合成, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 乙醛酸和二羧酸代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 甘油脂代谢和酪氨酸代谢。当归对其中 5 条代谢途径都有明显的回调作用, 文拉法辛对其中的 4 条代谢途径有回调作用。

表 2 各组大鼠肝脏代谢物的积分比较

Table 2 Comparison of integral levels of metabolites in livers of rats in each group

序号	代谢物	回调率/%		
		当归低剂量组	当归高剂量组	文拉法辛组
1	异亮氨酸	58.36	100.91	38.45
2	缬氨酸	7.55	44.90	35.11
3	乳酸	40.98	63.93	54.10
4	丙氨酸	63.82	113.64	54.08
5	柠檬酸	76.03	121.17	69.79
6	胆碱	88.03	32.57	62.42
7	甘油	38.64	61.47	29.78
8	甘氨酸	4.61	44.94	65.80
9	谷氨酰胺	69.60	83.19	16.87
10	糖原	41.95	30.57	49.72
11	酪氨酸	23.81	35.71	71.43
功效指数之和		513.38	733.00	547.77

4 讨论

本研究采用 CUMS 抑郁模型探讨了当归对抑郁大鼠行为学指标与血流变学指标的调节作用以及两者之间的相关性。全血黏度异常增加可引起血液循环及微循环障碍、血液流动性减慢、血管阻滞不

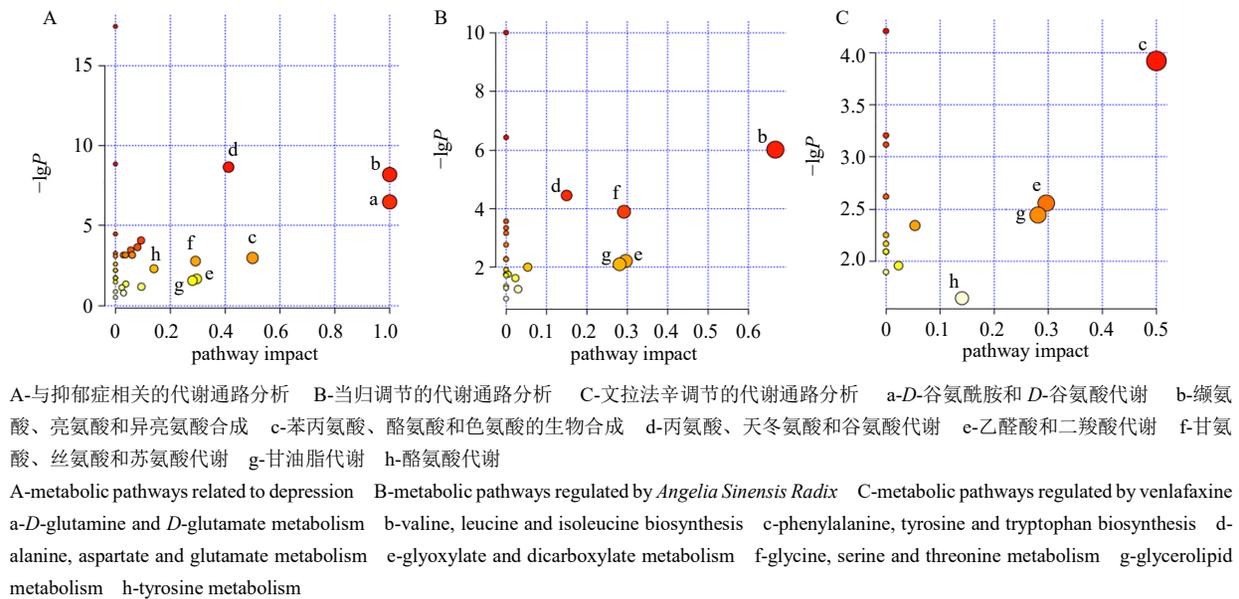


图7 MetPA 代谢通路分析
Fig. 7 MetPA metabolic pathway analysis

通等^[10]。本研究结果显示，CUMS 模型大鼠全血黏度显著升高，说明大鼠出现血瘀症状；给药干预后，大鼠全血黏度指标均有不同程度的改善。进一步相关性分析结果表明，当归抗抑郁作用与调节血流变作用具有明显的相关性。中医理论认为，肝能调畅情志^[11]，抑郁症早期主要与肝气瘀滞有关。本研究以代谢组学技术为研究策略，从肝脏的代谢层面探讨了当归“活血解郁”潜在机制，结果表明其机制可能涉及氨基酸代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢等代谢途径。

缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸都是人体重要的支链氨基酸，其合成与代谢只存在于植物和部分微生物中。支链氨基酸是一种必需氨基酸，人体无法合成，必须通过外界食物获取^[12]。支链氨基酸与神经递质 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 合成密切相关，其与 5-HT 的前体物质存在竞争性抑制作用^[13-14]，而以神经递质紊乱为基础的单胺假说是抑郁症经典发病机制。另有大量研究证实，除了传统的危险因素外，外周血中支链氨基酸是冠心病、心力衰竭、动脉粥样硬化、高血压等多种心血管疾病的新危险因素和潜在生物标志物^[15]。结合本研究结果推测，当归可能是通过调节氨基酸代谢发挥“活血解郁”功效。

谷氨酸是最丰富的氨基酸之一，除了在蛋白质结构中的作用外，其在营养、代谢和信号传导中起着关键作用^[16]。谷氨酸是兴奋性神经递质，其前体

谷氨酰胺与谷氨酸的循环对谷氨酸的平衡及神经递质谷氨酸的产生和循环非常重要^[17]。研究发现，前扣带皮层的谷氨酸能功能障碍可能与双相情感障碍的病理生理学有关，且成人双相情感障碍患者和双相抑郁症患者中最为明显^[18]。甘氨酸在模型组大鼠肝脏中含量上升，甘氨酸过量积累与抑郁症的病理生理相关。

脂质代谢紊乱与抑郁症的发生密切相关。相关研究表明，脂质及其代谢物在中枢神经系统中具有广泛的功能，作为蛋白质的配体和底物，脂质改变膜的几何性质并控制蛋白质运输，并提供介导细胞之间通信的信使分子^[19]。本研究中当归和文拉法辛均使抑郁大鼠的甘油含量回调，其中当归高剂量组接近正常水平。通过调节脂代谢紊乱，可能对抑郁症的治疗和预防具有一定的潜在价值。

本研究以当归为研究对象，使用文拉法辛作为阳性对照药物。药效层面，当归和文拉法辛均能够显著调节 CUMS 大鼠的行为学指标，发挥“解郁”作用，当归能明显改善大鼠低、中切变率下的全血黏度，文拉法辛能改善大鼠高切变率下的全血黏度，二者均能发挥“活血”作用。机制层面，当归能回调部分差异代谢物的含量，说明当归可以改善 CUMS 引起的代谢产物变化，调节机体稳态。文拉法辛和当归在差异代谢物的调节作用上有相同趋势，相比之下，中药在治疗抑郁症方面具有独特的优势：从调节代谢物的数量上来看，当归多于文拉

法辛,体现了中药多成分多靶点的特性;从调节代谢物的程度上来看,当归的回调作用也强于文拉法辛。总之,当归抗抑郁作用优于化学药,可以通过调节体内代谢物的作用,达到抗抑郁的作用,而且不良反应较小。

现代药理学研究表明,当归能改善 CUMS 诱导的大鼠认知障碍,其作用可能通过改善突触后膜电位、减轻突触和神经元结构的异常改变以及增加 BDNF 有关^[20]。当归有确切的抗抑郁作用,但仅限于传统的抗抑郁指标,未结合其传统功效关注抑郁症引起的血瘀症。研究发现,活血通脉中药可降低全血黏度、改善血流情况,改善抑郁动物模型大脑内神经损伤进而缓解抑郁^[21]。本研究中当归可降低 CUMS 大鼠的全血黏度,与文献报道一致。综上,当归不仅能改善 CUMS 大鼠的抑郁样行为,还能逆转 CUMS 大鼠诱导的血液黏度升高,增加血液流动性。其“解郁”与“活血”功效密切相关,机制可能涉及氨基酸代谢、碳水化合物代谢、脂质代谢等代谢途径。本研究结果为全面、深入揭示当归抗抑郁的作用机制提供了新的视角。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Herrman H, Kieling C, McGorry P, et al. Reducing the global burden of depression: A Lancet-World Psychiatric Association Commission [J]. *Lancet*, 2019, 393(10189): e42-e43.
- [2] 唐增, 桂兵, 周宜. 周宜从血瘀治疗抑郁症的临床经验总结 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2018, 24(8): 1165-1167.
- [3] Yuan Z W, Zhong L J, Hua Y L, et al. Metabolomics study on promoting blood circulation and ameliorating blood stasis: Investigating the mechanism of *Angelica sinensis* and its processed products [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33(4): e4457.
- [4] Chen T T, Zou L, Wang D, et al. Metabolomics study of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels on the abnormal uterine bleeding rats by ultra-performance liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry analysis [J]. *Food Sci Nutr*, 2021, 9(12): 6596-6609.
- [5] Shen J, Zhang J J, Deng M, et al. The antidepressant effect of *Angelica sinensis* extracts on chronic unpredictable mild stress-induced depression is mediated via the upregulation of the BDNF signaling pathway in rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016, 2016: 7434692.
- [6] 宫文霞, 周玉枝, 李肖, 等. 当归抗抑郁化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(21): 3905-3911.
- [7] Gong W X, Xu S H, Song Y P, et al. Hepatic metabolomics combined with network pharmacology to reveal the correlation between the anti-depression effect and nourishing blood effect of *Angelicae Sinensis Radix* [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(3): 197-213.
- [8] Gong W X, Zhu S W, Chen C C, et al. The anti-depression effect of *Angelicae Sinensis Radix* is related to the pharmacological activity of modulating the hematological anomalies [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 192.
- [9] Liu X J, Lv M, Wang Y Z, et al. Deciphering the compatibility rules of traditional Chinese medicine prescriptions based on NMR metabolomics: A case study of Xiaoyaosan [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 254: 112726.
- [10] 李艳彦, 谢鸣, 王洪海, 等. 肝郁脾虚证模型大鼠血流变及 TXB₂、PGF_{1a} 的变化 [J]. *现代生物医学进展*, 2007, 7(1): 15-18.
- [11] 于峥, 张婉瑜, 邢晓彤. 肝之藏血与疏泄 [J]. *现代中医学*, 2010, 30(4): 59-61.
- [12] Neinst M, Murashige D, Arany Z. Branched chain amino acids [J]. *Annu Rev Physiol*, 2019, 81: 139-164.
- [13] Carfagno D G, Hendrix J C 3rd. Overtraining syndrome in the athlete: Current clinical practice [J]. *Curr Sports Med Rep*, 2014, 13(1): 45-51.
- [14] 夏小涛, 孙宁, 刘彩春, 等. 基于 ¹H-NMR 代谢组学的抑郁症生物标志物发现及帕罗西汀干预作用 [J]. *药理学学报*, 2016, 51(4): 595-599.
- [15] Ruiz-Canela M, Toledo E, Clish C B, et al. Plasma branched-chain amino acids and incident cardiovascular disease in the PREDIMED trial [J]. *Clin Chem*, 2016, 62(4): 582-592.
- [16] Brosnan J T, Brosnan M E. Glutamate: A truly functional amino acid [J]. *Amino Acids*, 2013, 45(3): 413-418.
- [17] 李金兵, 李翼鹏, 田俊生, 等. 基于慢性温和不可预知应激模型内源性代谢物变化探讨抑郁症病理机制 [J]. *中草药*, 2013, 44(1): 108-115.
- [18] Ino H, Honda S, Yamada K, et al. Glutamatergic neurometabolite levels in bipolar disorder: A systematic review and Meta-analysis of proton magnetic resonance spectroscopy studies [J]. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*, 2023, 8(2): 140-150.
- [19] Adibhatla R M, Hatcher J F. Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2010, 12(1): 125-169.
- [20] Deng M, Sun H M, Shen J, et al. *Radix Angelica Sinensis* promotes synaptic plasticity during cognitive recovery in chronically stressed rats [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2015, 12(3): 232-239.
- [21] 唐增. 基于《内经》“脉舍神”理论研究活血通脉法治疗抑郁症的作用机制 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.

[责任编辑 李亚楠]