

基于“物质-功效”关联性研究醋南柴胡抗抑郁药效物质

李泽浩¹, 吴双¹, 刘琳¹, 王冬雪¹, 杨雪晶¹, 盛洁静¹, 邹翔^{2*}, 曲中原^{1*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 哈尔滨商业大学 药物工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076

摘要: 目的 研究醋南柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* 抗抑郁潜在的药效物质。方法 采用超高效液相色谱-飞行时间质谱联用 (UPLC-Q-TOF-MS) 技术, 对南柴胡醋炙前后化学成分变化进行全景分析及主成分分析 (principal component analysis, PCA), 找出差异成分; 建立慢性温和不可预测性应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 抑郁大鼠模型, 以行为学数据及脑中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、去甲肾上腺素 (noradrenaline, NE) 及多巴胺 (dopamine, DA) 含量为评价指标, 对醋炙前后的抗抑郁作用进行比较研究; 进一步通过网络药理学预测抗抑郁机制及其相关药效物质; 建立斑马鱼抑郁模型, 检测给药各组斑马鱼行为学数据及 5-HT 水平, 对相关通路进行实验验证。结果 醋南柴胡鉴定出 38 个成分, 其中与生品共有 37 个。醋炙后 13 个成分含量发生变化, 柴胡皂苷 b₁ (saikosaponin b₁, SSb₁)、柴胡皂苷 b₂ (saikosaponin b₂, SSb₂)、秦皮素和矮牵牛素含量升高, 柴胡皂苷 a (saikosaponin a, SSa)、柴胡皂苷 c (saikosaponin c, SSc)、柴胡皂苷 d (saikosaponin d, SSd)、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷、异绿原酸 A/B/C、柴胡皂苷 k (saikosaponin k, SSk)、柴胡皂苷 p (saikosaponin p, SSp)、异鼠李素和水仙苷含量降低。醋炙产生了柴胡次皂苷 prosaikogenin A/D/G/F。与模型组相比, 醋南柴胡组和南柴胡组大鼠体质量、糖水偏好度、旷场实验得分显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01), 脑内 5-HT、NE、DA 含量显著上升 ($P < 0.05$ 、 0.01), 醋南柴胡组优于南柴胡组。网络药理学预测 IL-17 信号通路是抗抑郁关键通路, 相关药效物质为 SSa、SSd、SSb₁、SSb₂。醋南柴胡及单体皂苷均可提升斑马鱼抑郁模型的运动距离和运动次数, 升高体内 5-HT 含量 ($P < 0.05$ 、 0.01); 逆转录聚合酶链式反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 结果显示均可通过下调白介素-17 (interleukin-17, *IL-17*)、肾素血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, *RAS*)、蛋白激酶 (raf protein kinase, *RAF*)、促分裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, *MEK*)、细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, *ERK*)、*IL-6*、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor, *TNF-α*) mRNA 表达水平, 调控 IL-17 信号通路发挥抗抑郁作用。结论 SSa、SSd、SSb₁、SSb₂ 为醋南柴胡抗抑郁关键药效物质, 为阐明南柴胡醋炙增效机制提供了实验依据。

关键词: 南柴胡; 醋南柴胡; 抗抑郁作用; 药效物质; 柴胡皂苷 b₁; 柴胡皂苷 b₂; 秦皮素; 矮牵牛素; 水仙苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)24-8353-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.005

Antidepressant pharmacodynamic substances of vinegar-baked *Bupleurum scorzonerifolium* based on correlation between substance and efficacy

LI Zehao¹, WU Shuang¹, LIU Lin¹, WANG Dongxue¹, YANG Xuejing¹, SHENG Jiejing¹, ZOU Xiang², QU Zhongyuan¹

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

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

Abstract: Objective To study the potential antidepressant pharmacodynamic substances of vinegar-baked *Bupleurum scorzonerifolium*. **Methods** UPLC-Q-TOF-MS/MS technique was used to qualitatively analyze the chemical constituent change of *B. scorzonerifolium* (BS) before and after stir-baking with vinegar, principal component analysis (PCA) was performed to find out

收稿日期: 2024-05-06

基金项目: 黑龙江省自然科学基金联合基金培育项目 (PL2024H196)

作者简介: 李泽浩, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制研究。E-mail: lizhao12312@163.com

*通信作者: 邹翔 (1978—), 男, 博士, 博士后, 研究员, 博士生导师, 从事中药抗肿瘤药效物质基础及作用机制研究。

E-mail: zouxian@hrbcu.edu.cn

曲中原 (1980—), 女, 博士, 博士后, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质基础及中药炮制研究。E-mail: qiuqiuqu@163.com

differential components. After establishing rat model of chronic mild and unpredictable stress (CUMS), the behavioral data and the contents of 5-hydroxytryptamine (5-HT), noradrenaline (NE), dopamine (DA) in the brain of depressed rats would be the evaluation indexes in order to comparatively study the antidepressant effects among raw and vinegar-baked products; furthermore, the antidepressant mechanism and their associated pharmacodynamic substances were predicted through network pharmacology; establishing a zebrafish depression model to detect the behavioral data and the level of 5-HT in zebrafish, then relevant pathways were verified experimentally. **Results** There were 38 components of vinegar-baked *B. scorzonerifolium* (VBS) were identified, 37 of which were common components with raw products. The contents of 13 components changed after vinegar processing, four compounds content increased, including saikosaponin b₁ (SSb₁), SSb₂, fraxetin and petunia, and the contents of saikosaponin a (SSa), saikosaponin c (SSc), saikosaponin d (SSd), isorhanin 3-*O*- β -*D*-glucoside, isochlorogenic acid A/B/C, saikosaponin k (SSk), saikosaponin p (SSp), isorhamnetin and narcissus were decreased. In addition, vinegar-producing emerged prosaikogenin A/D/G/F. Compared with model group, the body weight, sugar-water preference, open field test score and intracerebral 5-HT, NE and DA contents of rats in BS and VBS significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), VBS group was superior to the BS group. Network pharmacology predicted that IL-17 signaling pathway was the key pathway to antidepressant and SSa, SSd, SSb₁, and SSb₂ were potential antidepressant pharmacodynamic substances. VBS and saikosaponins could improve the distance and rate of the depressed zebrafish and increase 5-HT contents ($P < 0.05, 0.01$); the result of RT-PCR showed that they exerted antidepressant effects by downregulating expression of *IL-17*, *RAS*, *RAF*, *MEK*, *ERK*, *IL-6*, and *TNF- α* mRNA, then affecting the IL-17 signaling pathway. **Conclusion** SSa, SSd, SSb₁, and SSb₂ were the essential antidepressant pharmacodynamic substances of VBS. This study provided the experimental basis for elucidating the synergistic mechanism of BS after stir-baking with vinegar.

Key words: *Bupleurum scorzonerifolium* Wild.; vinegar-baked *Bupleurum scorzonerifolium*; antidepressant effect; pharmacodynamic substance; saikosaponin b₁; saikosaponin b₂; fraxetin; petunia; narcissus

当今世界抑郁症发病率逐年增加^[1-2]。我国抑郁症患者达 9 500 万人，且发病群体呈年轻化趋势^[3]。加大高效低毒抗抑郁药物研究力度已刻不容缓。中医将抑郁症归为“郁证”。张仲景在《伤寒论·辨少阴病脉证并治》篇有四逆散一方，为疏肝解郁、调畅气机的基础方^[4]，后世的疏肝诸方如逍遥散、柴胡疏肝散等都是由它加减而成，临床上用于治疗抑郁症疗效显著^[5-8]。柴胡作为上述方剂中的君药，起到了关键作用。柴胡有 2 个法定基原^[9]，其中南柴胡（狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Wild. 的根）功效与北柴胡（柴胡 *B. chinense* DC. 的根）相比，偏于疏肝解郁，在抗抑郁治疗方面更具优势^[10-11]。

柴胡醋炙始载于明代《医学纲目》^[12]。根据醋炙引药入肝经，协同柴胡疏肝解郁，中医临床常选择柴胡醋炙品入药^[13]。南柴胡的主要活性成分为皂苷类、黄酮类及挥发油类等，醋炙过程中温度、辅料等因素对化学成分产生怎样的影响，从而实现增效的目的尚未可知。本研究基于“物质-功效”关联性，采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对南柴胡醋炙前后的化学成分进行分析鉴定，阐明醋炙前后化学成分种类及含量差异；建立大鼠慢性温和不可预测性应激（chronic unpredictable mild stress, CUMS）抑郁模型，探究醋炙对南柴胡抗抑郁作用的影响；进一步采用网络药理学分析抗抑郁机制及其相关

的药效物质，并进行实验验证，从而阐明醋南柴胡抗抑郁药效物质及潜在的质量标志物（quality marker, Q-Marker），为饮片质量评价研究提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Exion LCTMAD 型超高效液相色谱、AB Sciex Triple™-TOF5600+ 型质谱仪，美国 AB Sciex 公司；BSA 型万分之一电子天平，北京赛多利斯科学仪器有限公司；Z-A-D5 型斑马鱼养殖系统，上海海圣生物实验设备有限公司；斑马鱼行为分析系统，法国 View Point 公司；Applied Biosystems 实时荧光定量 PCR 仪器，赛默飞世尔科技公司；iMark 型酶标仪，上海伯乐生命医药产品有限公司；MDF-193 超低温冰箱，英国 NBS 公司。

1.2 材料与试药

南柴胡药材购自大庆市林甸县大山农村合作社，经黑龙江省哈尔滨商业大学曲中原教授鉴定为伞形科植物狭叶柴胡 *B. scorzonerifolium* Willd. 的干燥根；陈醋（山西水塔醋业股份有限公司）；柴胡皂苷 a（saikosaponin a, SSa, 批号 110777-201711，质量分数 $\geq 98\%$ ）、柴胡皂苷 d（saikosaponin d, SSd, 批号 110778-201711，质量分数 $\geq 98\%$ ）购自中国食品药品检定研究院，柴胡皂苷 b₁（saikosaponin b₁,

SSb₁, 批号 P09M10F82675, 质量分数≥98%)、柴胡皂苷 f (saikosaponin f, SSf, 批号 P14N7F24838, 质量分数≥98%) 购自上海源叶生物科技有限公司, 柴胡皂苷 b₂ (saikosaponin b₂, SSb₂, 批号 AB213S, 质量分数≥98%)、柴胡皂苷 c (saikosaponin c, SSc, 批号 AB214S, 质量分数≥98%) 购自天津一方科技有限公司; 乙腈、甲酸、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 盐酸氟西汀胶囊 (批号 J20030017) 购自礼来苏州制药有限公司。

1.3 动物

健康雄性 SD 大鼠 (长春市亿斯实验动物技术有限公司), 许可证号 SCXK (吉)-2018-0007, 体重 (200±20) g。野生型 AB 斑马鱼由山东科学院生物研究所提供, 饲养于斑马鱼养殖系统中, 环境温度为 25~28 °C, 水质 pH 7.0~8.0。动物实验经哈尔滨商业大学药学院实验动物伦理委员会批准, 伦理号分别为 HSDYXY2019018、HSDYXY2020054。

2 方法

2.1 南柴胡、醋南柴胡饮片的制备

2.1.1 南柴胡 (*B. scorzonifolium*, BS) 取原药材, 除杂, 干燥, 切成 2~4 mm 小段。

2.1.2 醋南柴胡 (vinegar-baked *B. scorzonifolium*, VBS) 取南柴胡饮片适量, 按照陈醋-饮片 1:5 的质量比加入陈醋, 拌匀, 4 °C 焖润, 至辅料被完全吸尽, 置于炒锅中, 文火炒干, 取出放冷备用^[14-16]。

2.2 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析醋炙前后成分变化

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 SSa、SSb₁、SSb₂、SSc、SSd、SSf 对照品, 加甲醇溶解, 分别配制成对照品储备液 (1.0 mg/mL)。精密量取各对照品储备液适量, 稀释成质量浓度为 0.01 mg/mL 的对照品溶液, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别取南柴胡和醋南柴胡粉末 (过四号筛) 2 g, 置于圆底烧瓶中, 用 20 mL 95% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h。浓缩至无醇味, 用甲醇溶解定容至 25 mL。上清液用有机系 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为 Acquity UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以乙腈 (A) -0.1% 甲酸水 (B) 为流动相, 梯度洗脱: 0~2 min, 5%~20% A; 2~8 min, 20%~60% A; 8~22 min, 60%~100% A; 22~25 min, 100%~5% A。体积流量 0.3 mL/min, 柱温 35 °C, 进样量 5 μL。

2.2.4 质谱条件 离子源: 电喷雾离子源 (ESI); 离子源电压: 5 500 V (正)、4 500 V (负); 裂解电压: 80 V (正)、-80 V (负); 碰撞能量 40 eV (正)、-40 eV (负); 碰撞能量扩展: 15 eV; 离子源温度: 550 °C; 雾化气: 氮气; 辅助气: 氮气; Gas1 压力: 379.21 kPa; Gas2 压力: 379.21 kPa; 气帘气压力: 241.32 kPa; 母离子与子离子扫描范围 m/z 80~1 500。

2.2.5 化学成分数据库的建立 根据 TCMSp、Chemspider、Pubchem 数据库, 结合南柴胡相关文献报导, 建立化学成分数据库, 包括分子式、相对分子质量、CAS 号、结构类型等化合物信息。

2.2.6 数据分析 在 MasterView 软件中导入南柴胡化学成分数据。通过 Peakview 2.0 软件比较各分子所测定的精确质量数与理论值间的误差, 对于有对照品或有对照品谱图的化合物, 进一步比对二级质谱信息进行结构鉴定。对于无法获得对照品和对照品谱图的化合物, 首先根据化合物结构特征结合 Chemspider 数据库及文献找出化合物裂解规律, 与二级质谱图进行对照确定各化合物结构。再运用 Markerview 软件对南柴胡、醋南柴胡进行主成分分析 (principal component analysis, PCA), 寻找差异化合物。

2.3 南柴胡醋炙前后抗抑郁药效比较研究

2.3.1 供试品溶液制备

(1) 南柴胡和醋南柴胡供试品溶液制备: 制备方法同“2.2.2”项下方法, 待提取液浓缩至无醇味, 用蒸馏水溶解制成质量浓度为 0.5 g/mL 的溶液。放置 4 °C 冰箱备用。

(2) 阳性药 (盐酸氟西汀) 水溶液的制备: 取盐酸氟西汀胶囊, 去除囊衣, 适当温度蒸馏水, 超声溶解, 制成药液质量浓度为 0.5 mg/mL 的 ig 液, 放置 4 °C 冰箱备用。

2.3.2 分组、造模与给药 取雄性 SD 大鼠 40 只, 适应性饲养 7 d, 根据随机表将大鼠分为对照组、模型组、阳性对照组、南柴胡组和醋南柴胡组, 每组 8 只。根据柴胡治疗抑郁症的临床用量 (15 g/d), 折合大鼠给药剂量为 1.32 g/kg, 盐酸氟西汀给药剂量为 1.76 mg/kg。对照组和模型组按照 1 mL/100 g 大鼠体质量给予适量生理盐水。对照组分 2 笼群居饲养, 每笼 4 只, 正常饲养, 不接受任何刺激, 其余各组采用 CUMS 结合孤养法制备模型。刺激方法有空瓶刺激 (禁水 24 h, 给空瓶)、禁食 (24 h)、夹尾 (每次 1 min, 距尾根 1 cm 处, 以出现第 1 声

哀叫开始计时, 2 次/d)、鼠笼倾斜 (45°, 24 h)、高温刺激 (50 °C, 10 min)、潮湿垫料 (每 100 克垫料加水 200 mL, 24 h)、束缚 (每次 3 h, 2 次/d)、震荡鼠笼 (每次 5 min, 2 次/d)、禁水 (24 h)、超声刺激 (超声噪音刺激, 2 次/d, 每次持续 3 h) 共 10 种方法, 每天随机安排 1 种以上刺激方法, 刺激 28 d, 不连续采用同种刺激方法。造模 28 d 后, 各给药组按相应组别 ig 给药, 连续 21 d, 治疗结束后进行行为学及生理生化指标测定。

2.3.3 体质量变化及行为学数据测定

(1) 体质量变化: 观察大鼠的状态并测量各组大鼠第 49 天的体质量。

(2) 糖水偏爱度实验: 首先, 给予对大鼠进行 1 天双瓶训练, 一瓶是 1%蔗糖水, 另一瓶是蒸馏水。再禁食禁水 1 d, 然后给予 1%蔗糖水和蒸馏水各 200 mL, 24 h 之后分别记录蒸馏水和蔗糖水消耗量, 并计算糖水偏爱度。

糖水偏爱度 = 蔗糖水消耗量 / (蔗糖水 + 蒸馏水总量)

(3) 旷场实验: 将大鼠放置在自制敞箱 (高 44 cm, 长宽均为 120 cm, 底部分成 24 cm × 24 cm 格) 的中心位置, 适应 2 min, 人工记录 5 min 内大鼠自主活动次数并记分 (水平运动: 三爪格内皆进入记为 1 分, 垂直运动: 两前爪腾空或攀附箱壁记为 1 分)。每次实验完成将大鼠取出后, 用 95%酒精将敞箱的箱底及四壁清理干净。

2.3.4 脑组织中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、去甲肾上腺素 (noradrenaline, NE) 及多巴胺 (dopamine, DA) 含量的测定 行为学测试完成后, 用 3%戊巴比妥钠麻醉, 迅速分离脑组织, 称定质量。按照脑组织与生理盐水 1:4 比例加入低温生理盐水, 在 4 °C 环境下使用匀浆器匀浆, 4 °C 13 000 r/min 离心 10 min, 并将上清液放置 -80 °C 冰箱保存。按照 ELISA 试剂盒说明书方法测定大鼠脑组织中 5-HT、NE 和 DA 的含量。

2.4 基于网络药理学预测醋南柴胡抗抑郁机制及相关药效物质

通过 TCMSp (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库收集醋南柴胡共有成分相关靶点信息, 进一步通过 PharmMapper (<https://lilab-ecust.cn/pharmmapper/submitfile.html>) 数据库, 以 $Z\text{-score} > 0.8$ 预测共有成分相关靶点。将收集和预测的靶点进行汇总, 从而得到每个成分的相关靶基因。以 “depression”

“MDD” 为关键词在 Genecard 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、dignet 数据库 (<https://www.omim.org/>) 及 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 进行检索, 合并 3 个数据库收集到的靶点信息并进行去重, 获得抑郁症相关靶点。使用 Uniprot 数据库将蛋白名称转为规范的靶点名。将疾病靶点和成分靶点导入 JVenn (<https://jvenn.toulouse.inra.fr/app/example.html>) 中获得 “成分-疾病” 的交集靶点。将交集靶点导入 STRING (<https://string-db.org/>) 数据库, 以置信度 > 0.4 构建蛋白质-蛋白质互作 (protein-protein interaction networks, PPI) 网络, 并导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行分析, 以大于 degree 值中位数的 2 倍为条件筛选出核心靶点。将核心靶点基因导入 DAVID 6.8 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>) 进行基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 分析, 并通过 Cytoscape 3.7.0 软件对富集结果进行可视化。最终利用 Cytoscape 3.7.0 软件构建 “活性成分-靶点-通路” 关联网络。

2.5 抗抑郁药效物质及信号通路实验验证

2.5.1 确定药物的最大耐受浓度 (maximal tolerable dose, MTC) 随机选取 300 尾体型相近且健康的成年斑马鱼置小型养殖水槽中, 分为对照组、南柴胡组、醋南柴胡组、SSa 组、SSd 组、SSb₁ 组、SSb₂ 组及盐酸氟西汀组, 根据前期实验结果每组设置 5 个质量浓度^[17]。南柴胡、醋南柴胡组质量浓度设置为 100、200、400、800、1 600 μg/mL; SSa、SSd、SSb₁ 和 SSb₂ 组浓度设置为 4、6、8、10、12 μmol/L。24 h 后, 统计鱼的死亡数量, 确定各药物的 MTC。

2.5.2 醋南柴胡、南柴胡及各单体抗抑郁作用研究 随机选取野生型斑马鱼, 分为对照组、模型组、南柴胡组、醋南柴胡组、SSa 组、SSd 组、SSb₁ 组、SSb₂ 组及盐酸氟西汀组, 每组各 10 尾。空白组正常饲养, 模型组为以利血平 300 μg/d 剂量给予斑马鱼, 连续 7 d。造模后置于 MTC 的各组药液中浸泡给药 2 h, 连续 7 d。给药结束后运用斑马鱼行为学追踪系统检测其在黑暗环境下 6 min 内的运动轨迹, 红色代表大运动 (> 20 mm/s), 绿色代表中运动 (4~20 mm/s), 黑色代表小运动 (< 4 mm/s)。定量分析斑马鱼的运动时间和运动次数^[18]。

2.5.3 斑马鱼体内 5-HT 含量检测 每组斑马鱼在放入 3%丁卡因中进行完全麻醉, 用无菌手术剪刀切割组织, 然后加 9 倍量生理盐水进行研磨, 4 °C

12 000 r/min 离心 10 min, 并将上清液放置-80 °C 冰箱保存。按照 ELISA 试剂盒说明书方法测定鱼体内中 5-HT 的含量。

2.5.4 RT-PCR 检测白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 信号通路相关基因表达水平 在美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库中搜索基因全序列, 使用 Primer Premier 引物设计软件设计并筛选各基因特异性引物。所有引物均交由上海生工生物工程技术有限公司设计合成, 见表 1。通过将对照组、模型组、南柴胡组、醋南柴胡组、SSa 组、SSd 组、SSb₁ 组及 SSb₂ 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 TB Green™ Premix Ex Taq™ 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 StepOnePlus™ Real-Time 为样品中 mRNA 的相对表达量, 每组设置 3 个复孔。

2.6 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS Statistics 24.0 和 GraphPad Prism 9 软件对实验数据进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 南柴胡、醋南柴胡化学成分表征

南柴胡和醋南柴胡供试品在正、负离子模式下基峰离子色谱图 (BPC) 如图 1 所示。结合化合物的保留时间、母离子和特征碎片离子等信息, 共鉴定出 38 个化合物, 其中南柴胡和醋南柴胡中的共

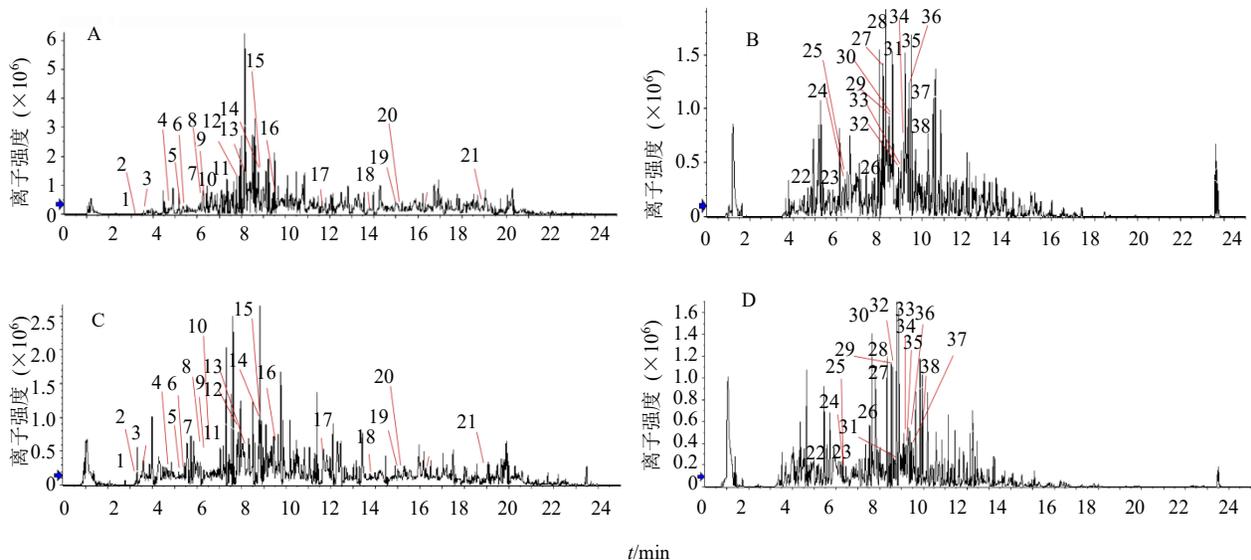
表 1 IL-17 信号通路关键靶点引物序列

Table 1 Primer sequences of key targets of IL-17 signaling pathway

引物	序列 (5'-3')	长度/bp
IL-17	上游 AGGAAGGACCGTTCAGACTCAAG	131
	下游 TCTTCTGGTGTGTGCTGTCATC	
RAS	上游 AGAGGTTTCGCACAATCACATCC	129
	下游 TGGCGTAGCGGTCAATCTCC	
RAF	上游 AGTCACCAACCCAACACCAGAG	145
	下游 GCCTTCACACCACTGCGTTAC	
MEK	上游 TATTCCTCCACCTGACGCCAAG	84
	下游 GTGCTGTGTGTTTCTGCCTCTC	
ERK	上游 GGAGAAGGAGCAGCGAGGTC	130
	下游 AGCGGTGAACAGGTACAGGTC	
IL-6	上游 TCTGCTACACTGGCTACACTCTTC	107
	下游 TCCACATCTGAACCTCGTCTCC	
TNF-α	上游 TGTGCGTTGAAGATGTTGAAGGAG	125
	下游 TAGAGACTGGCAGACGGAATTGG	

RAS-肾素血管紧张素系统; RAF-蛋白激酶; MEK-促分裂原活化蛋白激酶激酶; ERK-细胞外信号调节激酶; TNF-α-肿瘤坏死因子-α。
RAS-renin-angiotensin system; RAF-raf protein kinase; MEK-mitogen-activated protein kinase kinase; ERK-extracellular signal-regulated kinase; TNF-α-tumor necrosis factor-α.

有成分 37 个。南柴胡醋炙后有 1 个新化合物产生, 通过质谱数据推测为柴胡次皂苷, 但由于存在同分异构体, 具体结构仅通过质谱尚不能确定, 暂记录为柴胡次皂苷 A/G/D/F。化合物信息见表 2。



A-南柴胡 (正离子); B-南柴胡 (负离子); C-醋南柴胡 (正离子); D-醋南柴胡 (负离子)。
A-BS in positive ion mode; B-BS in negative ion mode; C-VBS in positive ion mode; D-VBS in negative ion mode.

图 1 南柴胡和醋南柴胡供试品正、负离子模式下 BPC 图

Fig. 1 BPC diagrams of BS and VBS in positive and negative ion modes

表 2 正、负离子模式下南柴胡、醋南柴胡化合物

Table 2 Chemical compounds of BS and VBS in positive and negative ion modes

编号	离子模式	化合物名称	tr/min	测定值 (m/z)	理论值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	二级碎片 (m/z)	备注	化合物类型
1	+	6-O-香草酰基筋骨草醇	2.8	499.182 4	499.181 0	-2.80	C ₂₃ H ₃₀ O ₁₂	337.183 6	共有	苷类
2	+	苯乙醛	3.2	121.064 1	121.064 8	5.76	C ₈ H ₈ O	91.053 6	共有	芳香醛
3	+	香草酸	3.6	169.048 5	169.049 5	4.16	C ₈ H ₈ O ₄	151.037 2	共有	酚类
4	+	秦皮素	4.7	209.043 9	209.044 5	2.64	C ₁₀ H ₈ O ₅	194.021 7, 166.025 4, 138.033 1	共有	香豆素
5	+	芦丁	5.3	611.160 5	611.160 7	0.26	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	465.029 6	共有	苷类
6	+	3,4-二乙氧基苯乙酸 [#]	5.5	225.111 5	225.112 1	2.84	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	169.527 4	共有	芳香族
7	+	东莨菪内酯	5.6	193.048 9	193.049 5	3.31	C ₁₀ H ₈ O ₄	137.058 3	共有	香豆素
8	+	异鼠李素	6.1	317.065 0	317.065 6	1.83	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	302.042 3, 274.047 3	共有	黄酮
9	+	矮牵牛素	6.3	318.068 7	318.073 4	-3.69	C ₁₆ H ₁₃ O ₇	171.115 3	共有	黄酮
10	+	柴胡次皂苷 A/D/G/F	6.5	619.420 4	619.420 5	0.07	C ₃₆ H ₅₈ O ₈	455.353 3, 437.347 9	醋南柴胡	苷类
11	+	甘草次酸	7.3	471.346 4	471.346 9	1.03	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	453.337 1, 435.326 0, 417.341 0	共有	三萜
12	+	乙酸桃金娘烯酯 [#]	7.8	195.137 9	195.138 0	0.29	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	135.118 7, 115.070 6	共有	单萜
13	+	旱莲苷 A [#]	8.1	635.415 3	635.415 4	0.09	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	489.355 9, 471.346 5, 453.346 5, 417.311 5	共有	苷类
14	+	滨蒿内酯	8.7	207.064 2	207.065 2	4.78	C ₁₁ H ₁₀ O ₄	192.044 2, 164.046 8	共有	香豆素
16	+	萜澄茄素	9.6	357.132 5	357.133 3	2.15	C ₂₀ H ₂₀ O ₆	339.122 4	共有	木脂素
17	+	圆柚酮	11.6	219.173 8	219.174 3	2.48	C ₁₅ H ₂₂ O	203.140 7, 128.059 7	共有	倍半萜
18	+	缬草素	13.7	235.167 9	235.169 3	3.79	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	179.104 9, 163.075 9	共有	倍半萜
19	+	DIBP	15.0	279.158 2	279.159 1	3.18	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	149.022 6, 121.026 0	共有	酯类
20	+	香草醛	15.1	153.053 2	153.054 6	1.34	C ₈ H ₈ O ₃	125.059 7, 110.036 4, 93.033 7	共有	芳香醛
21	+	法尼基丙酮	18.8	263.236 7	264.244 8	0.92	C ₁₈ H ₃₁ O	175.150 0	共有	酮类
22	-	绿原酸	4.8	353.089 6	353.087 8	-0.07	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	191.055 3	共有	苯丙素
23	-	水仙苷	6.1	623.167 4	623.161 8	0.37	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆	315.051 1, 300.028 3, 271.025 8	共有	苷类
24	-	异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷	6.4	477.106 2	477.103 8	-4.92	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	315.051 8, 285.040 9	共有	苷类
25	-	异绿原酸 A/B/C	6.4	515.122 2	515.119 5	-3.23	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	353.088 9, 191.056 1	共有	有机酸
26	-	SSc [*]	7.6	925.521 8	925.516 6	-3.59	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	779.465 2, 617.410 2	共有	苷类
27	-	SSf [#]	8.3	927.532 8	927.532 3	-0.57	C ₄₈ H ₈₀ O ₁₇	765.455 1, 619.410 7	共有	苷类
28	-	malony-SSf	8.4	1 013.545 2	1 013.532 7	0.35	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₀	925.525 4, 617.410 7	共有	苷类
29	-	SSb ₂ [#]	8.5	779.458 7	779.458 7	0.02	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	617.454 1	共有	苷类
30	-	SSk	8.5	911.511 2	911.500 9	2.41	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	779.464 3, 617.408 9	共有	苷类
31	-	SSa [#]	8.6	779.466 1	779.458 7	0.92	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	617.415 6	共有	苷类
32	-	SSb ₁ [#]	8.9	779.462 2	779.458 7	-4.66	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	617.415 4	共有	苷类
33	-	SSs [#]	8.9	941.523 8	941.511 5	1.10	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	779.469 6, 617.413 2	共有	苷类
34	-	SSp	9.1	957.518 3	957.506 5	3.50	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	779.464 9, 617.409 0	共有	苷类
35	-	SSe [#]	9.2	763.470 7	763.463 8	4.90	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₂	601.407 3	共有	苷类
36	-	malonyl-SSd	9.4	865.469 1	865.459 1	3.90	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₆	779.467 1, 617.410 4	共有	苷类
37	-	acetyl-SSd	9.5	821.479 1	821.469 3	4.30	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₄	779.464 4, 617.408 1	共有	苷类
38	-	SSd [#]	9.8	779.461 6	779.458 7	-3.70	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	617.416 4	共有	苷类

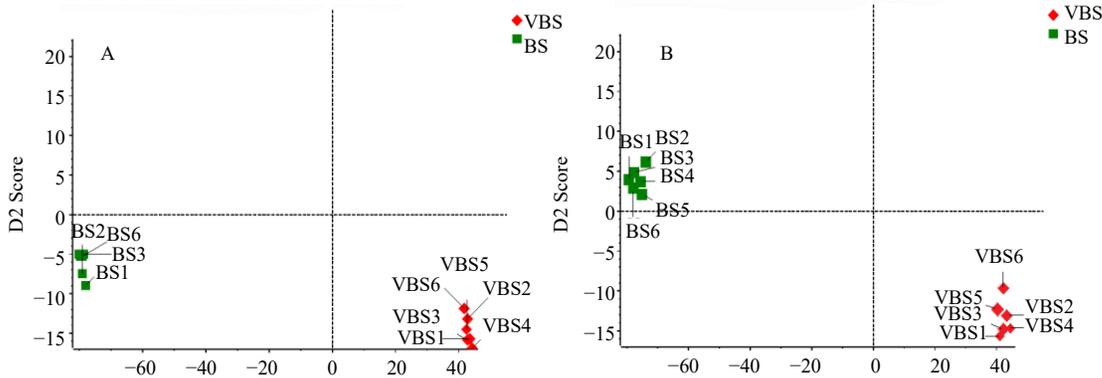
+/-分别表示正、负离子模式；*对照品比对的化合物；#网络药理学分析中大于 degree 值中位值 2 倍的成分。

+/- represent positive and negative ion modes respectively; *compounds compared reference substances; #components whose degree is two times higher than those with median degree in network pharmacology analysis.

3.2 南柴胡醋炙后化学成分变化

为了揭示南柴胡醋炙后共有成分的含量变化情况,采用 Markerview 软件将南柴胡生品及醋炙品的质谱数据导出,以质核比、保留时间、峰面积为数据,进行 PCA 分析,得到 PCA 散点得分图。由图 2 可知,生品和醋品分别聚集,具有明显的区分,

组内均一性良好。对 $t \geq 1, P \leq 0.05$ 区间的化合物进行差异分析,共鉴定出 13 个存在明显差异的化合物。醋炙后含量降低的成分有 SSa、SSc、SSd、异鼠李素-3-O- β -D-葡萄糖苷、异绿原酸 A/B/C、SSk、SSp、异鼠李素和水仙苷;含量升高的成分有 SSb₁、SSb₂、秦皮素和矮牵牛素,含量变化趋势见图 3、4。



A-正离子模式; B-负离子模式; BS1~BS6-南柴胡样品; VBS1~VBS6-醋南柴胡样品; 图 3、4 同。
A-positive ion mode; B-negative ion mode; BS1—BS6-BS samples, VBS1—VBS6-VBS samples; same as Fig. 3, 4.

图 2 南柴胡生品和醋炙品的 PCA 散点得分图

Fig. 2 PCA scores plot of BS and VBS

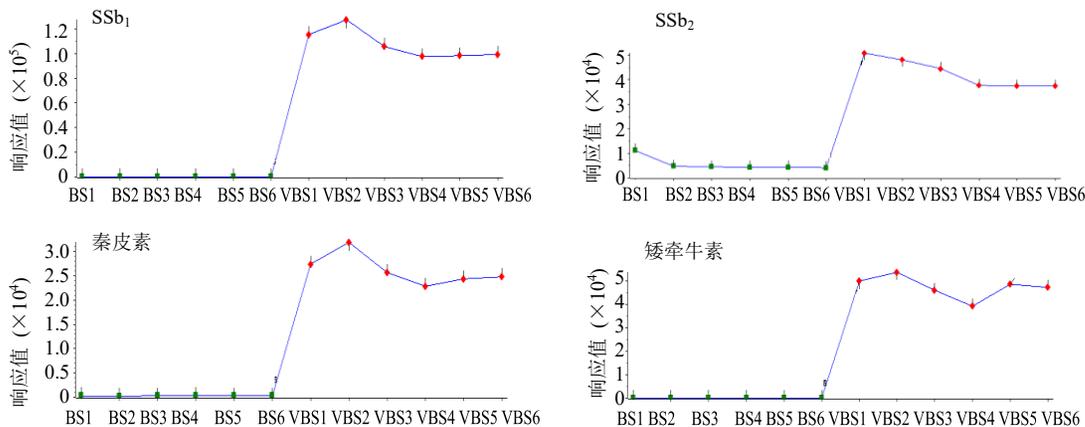


图 3 南柴胡醋炙后含量增加的 4 种化学成分 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Four chemical components whose contents increase after vinegar-frying of BS ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.3 醋南柴胡抗抑郁药效学结果

3.3.1 行为学测定结果 与对照组相比,模型组大鼠出现皮毛无光泽、进食量和饮水量减少、消瘦、精神倦怠、蜷卧懒动,自主活动减少等症状,体质量显著低于对照组 ($P < 0.05$),糖水偏爱度和旷场活动得分显著降低 ($P < 0.01$);醋南柴胡组、南柴胡组与阳性对照组大鼠进食量和饮水量有所增加,皮毛颜色较为光亮,活动频繁,精神状态得到改善,体质量显著高于模型组 ($P < 0.05$),糖水偏爱度和旷场活动得分显著高于模型组 ($P < 0.05, 0.01$),见图 5。醋南

柴胡组抗抑郁作用略优于南柴胡组。

3.3.2 大鼠脑组织中 5-HT、NE、DA 含量测定结果 与对照组比较,模型组大鼠脑组织中 5-HT、NE、DA 含量均显著降低 ($P < 0.01$)。经南柴胡的生品、醋炙品及盐酸氟西汀治疗后,3 项指标显著上升 ($P < 0.05, 0.01$)。醋南柴胡组大鼠脑中各神经递质的升高幅度略优于南柴胡组(图 6)。

3.4 醋南柴胡的抗抑郁作用靶点、网络及通路预测

3.4.1 活性成分靶点预测及筛选疾病靶点 采用 Phammapper 数据库和 TCMSP 数据库针对 37 种化合

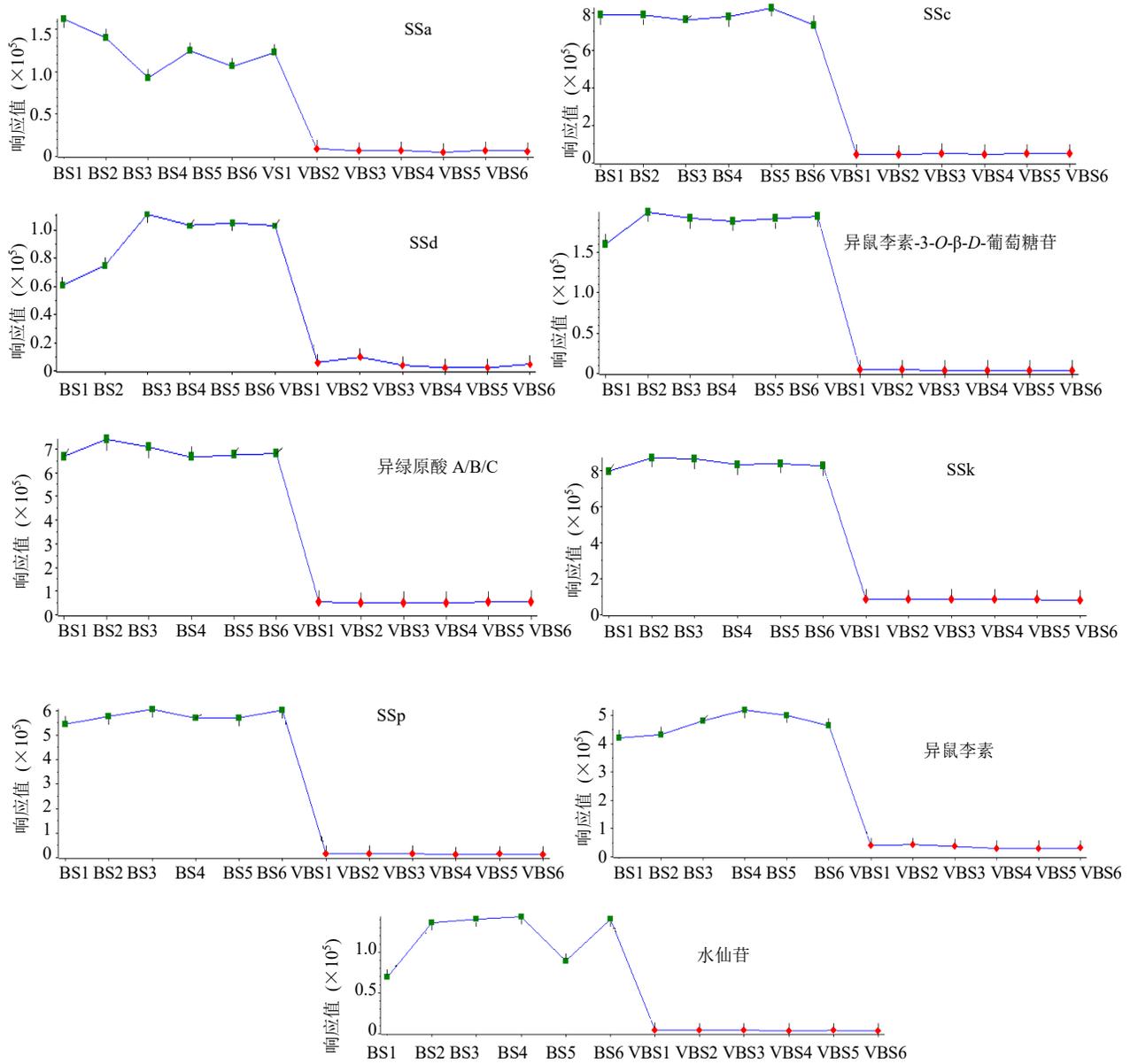
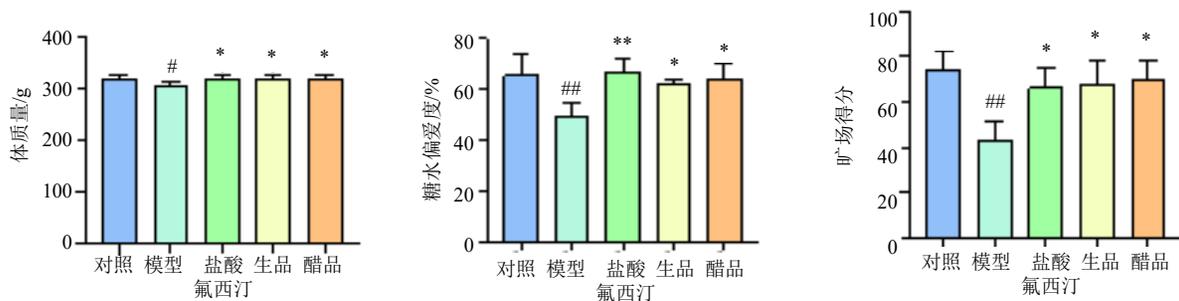


图 4 南柴胡醋炙后含量减少的 9 种化学成分 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Nine chemical components whose contents decrease after vinegar-frying of BS ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 下同。
$P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below.

图 5 大鼠行为学测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Results of behavioral data about rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

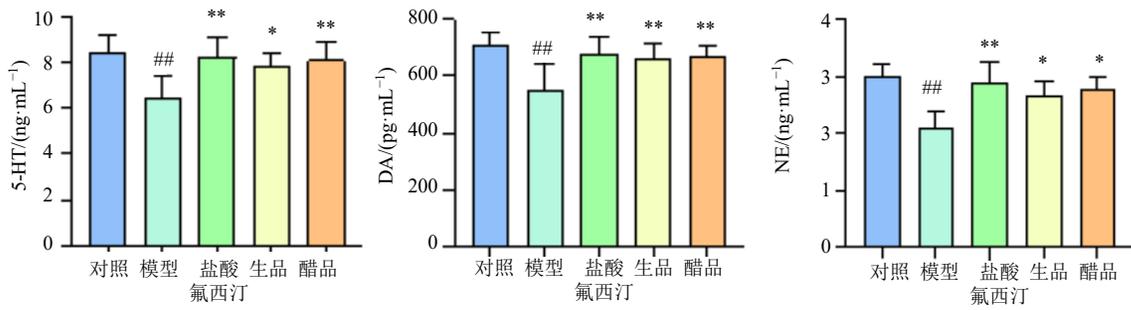


图 6 大鼠脑组织中 5-HT、NE、DA 含量的测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Detection result of 5-HT, NE and DA contents in rat brain tissues ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

物最终筛选出 194 个成分靶点。合并 GeneCards 数据库、dignet 数据库和 OMIM 数据库的筛选结果后删除重复值，共得到 16 097 个疾病相关靶点。将 194 个成分靶点与 16 097 个疾病靶点导入 JVenn 获得 174 个交集靶点。构建 PPI 互作关系，保存 TSV 文件并导入 Cytoscape 3.7.0 软件，根据大于 2 倍 degree 值的条件最终筛选出 23 个核心靶点，包括白蛋白 (albumin, ALB)、RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (RAC- α serine/threonine-protein kinase, AKT1)、人膜联蛋白 A5 (annexin A5, ANXA5)、雄激素受体 (androgen receptor, AR) 和半胱天冬蛋白酶-3 (caspase-3, CASP3) 等。

3.4.2 KEGG 富集分析及“活性成分-靶点-通路”网络的构建 23 个核心靶点共富集到 114 个 KEGG 信号通路。利用 Cytoscape 3.7.0 对前 20 条进行可视化分析，结果见图 7。分析发现 37 个共有成分可能通过内分泌抵抗通路 (endocrine resistance)、催乳素信号通路 (prolactin signaling pathway)、癌症相关信号通路 (pathways in cancer)、雌激素信号通路 (estrogen signaling pathway) 和 IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway) 等发挥抗抑郁功效，其中有 10 个成分的 degree 值大于 2 倍中位值，见表 2，作为南柴胡和醋南柴胡抗抑郁潜在药效物质。对抑郁相关的 IL-17 信号通路进行关注，并进行实验验证。“活性成分-靶点-通路”网络图见图 8，通过对 IL-17 信号通路反向溯源分析，确定相关成分为 SSa、SSd、SSb₁、SSb₂，可作为发挥抗抑郁作用的关键药效物质 (图 9)。

3.5 MTC 的确定

当 SSa、SSd、SSb₁、SSb₂ 浓度 $\leq 6 \mu\text{mol/L}$ 时，没有斑马鱼死亡，而在浓度 $> 6 \mu\text{mol/L}$ 的组别中斑马鱼表现出剂量相关性的死亡。此外，当南柴胡和醋南柴胡 95%乙醇提取物质量浓度 $\leq 400 \mu\text{g/mL}$ ，4 种柴胡皂苷浓度 $\leq 6 \mu\text{mol/L}$ 时斑马鱼没有死亡，当浓度升

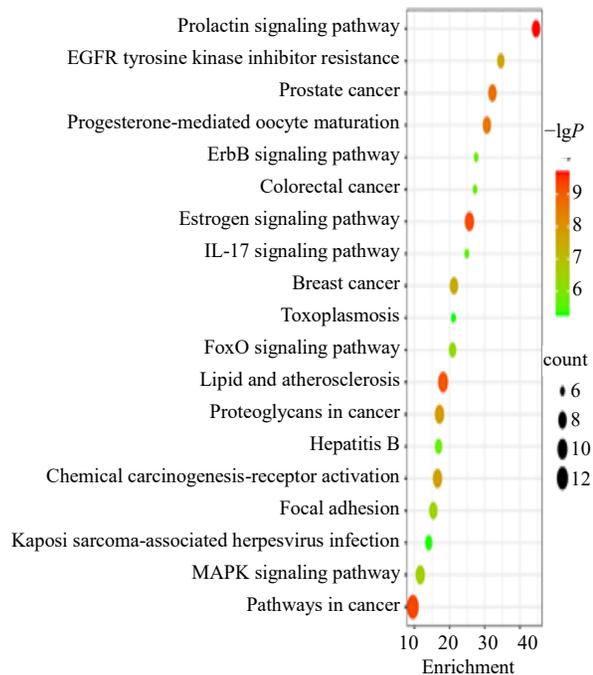


图 7 KEGG 通路分析

Fig. 7 KEGG pathway analysis

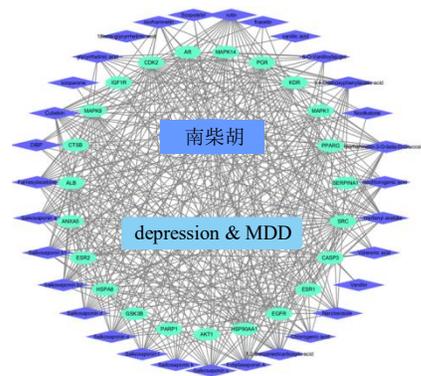


图 8 “活性成分-靶点-通路”网络图

Fig. 8 “Component-core target-signaling pathway” network diagram

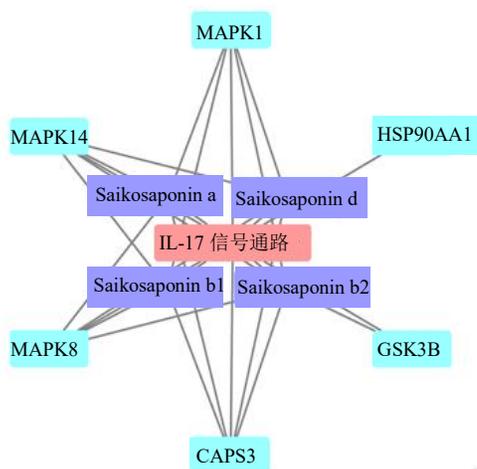
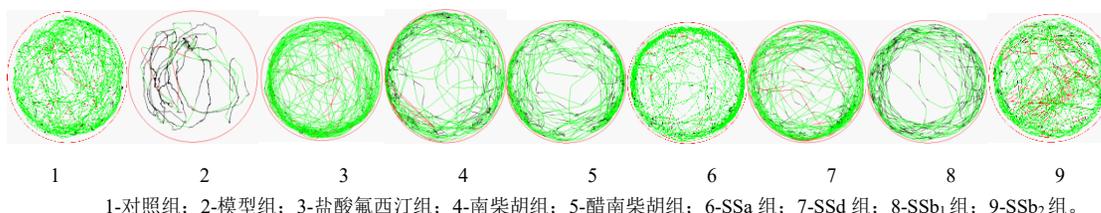


图 9 “活性成分-核心靶点-IL-17 信号通路”网络图
Fig. 9 Network diagram of “active ingredient-core target-IL-17 signaling pathway”

高时出现不同程度的死亡。故确定斑马鱼对南柴胡与醋南柴胡的 MTC 为 400 μg/mL, 对 4 种柴胡皂苷



1-对照组; 2-模型组; 3-盐酸氟西汀组; 4-南柴胡组; 5-醋南柴胡组; 6-SSa 组; 7-SSd 组; 8-SSb₁ 组; 9-SSb₂ 组。
1-control group; 2-model group; 3-fluoxetine hydrochloride group; 4-BS group; 5-VBS group; 6-SSa group; 7-SSd group; 8-SSb₁ group; 9-SSb₂ group.

图 10 各组斑马鱼运动轨迹图

Fig. 10 Movement trajectories of zebrafish in different groups

表 3 药物处理对斑马鱼抑郁模型运动时间和运动次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of drug treatment on movement time and movement frequency of zebra fish in depressed model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	运动距离/cm	运动次数
对照	926.70 ± 36.84	884.33 ± 41.43
模型	342.12 ± 31.47 ^{###}	235.75 ± 74.05 ^{###}
南柴胡	973.80 ± 103.46 ^{**}	731.00 ± 93.11 [*]
醋南柴胡	1 397.75 ± 115.86 ^{**}	749.75 ± 22.33 ^{**}
SSa	1 389.97 ± 70.76 ^{**}	820.50 ± 106.98 ^{**}
SSd	987.30 ± 79.49 ^{**}	900.00 ± 81.66 ^{**}
SSb ₁	1 150.35 ± 96.93 ^{**}	909.50 ± 82.77 ^{**}
SSb ₂	1 447.57 ± 83.02 ^{**}	736.00 ± 78.00 ^{**}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 下同。

[#] $P < 0.05$ ^{###} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

的 MTC 为 6 μmol/L; 由前期实验结果确定盐酸氟西汀组给药浓度为 4 μmol/L。

3.6 斑马鱼行为学测试结果

从运动行为来看, 对照组以大运动为主, 模型组各运动均少于空白对照组; 各给药组的斑马鱼运动轨迹以中运动为主 (图 10)。在观察的时间内, 模型组斑马鱼运动次数和运动距离小于对照组 ($P < 0.01$), 表明模型建立成功。与模型组相比, 待测各药物组运动次数显著增加 ($P < 0.01, 0.05$), 运动距离显著增加 ($P < 0.01$), 见表 3。表明醋南柴胡、南柴胡、4 种柴胡皂苷及盐酸氟西汀均可显著改善抑郁行为。

3.7 醋南柴胡及单体柴胡皂苷对斑马鱼抑郁模型 5-HT 的影响

ELISA 结果见图 11。与对照组比较, 模型组斑马鱼 5-HT 水平显著降低 ($P < 0.01$)。经治疗后各给药组均可提高斑马鱼 5-HT 水平 ($P < 0.05, 0.01$), 这表明它们表现出显著的抗抑郁作用。

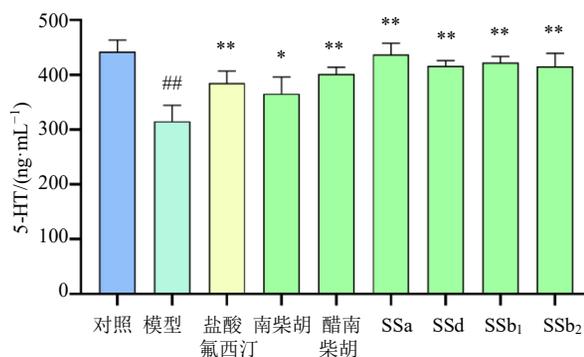


图 11 斑马鱼中 5-HT 含量的测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 11 Detection result of 5-HT contents in zebra fish ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.8 RT-PCR 检测 IL-17 信号通路相关基因表达水平

结果如图 12 所示。与对照组相比, 模型组 IL-17、RAS、RAF、MEK、ERK、IL-6、TNF-α mRNA 表达明显增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 盐酸氟西汀组、南柴胡组、醋南柴胡组及各柴胡皂苷组斑

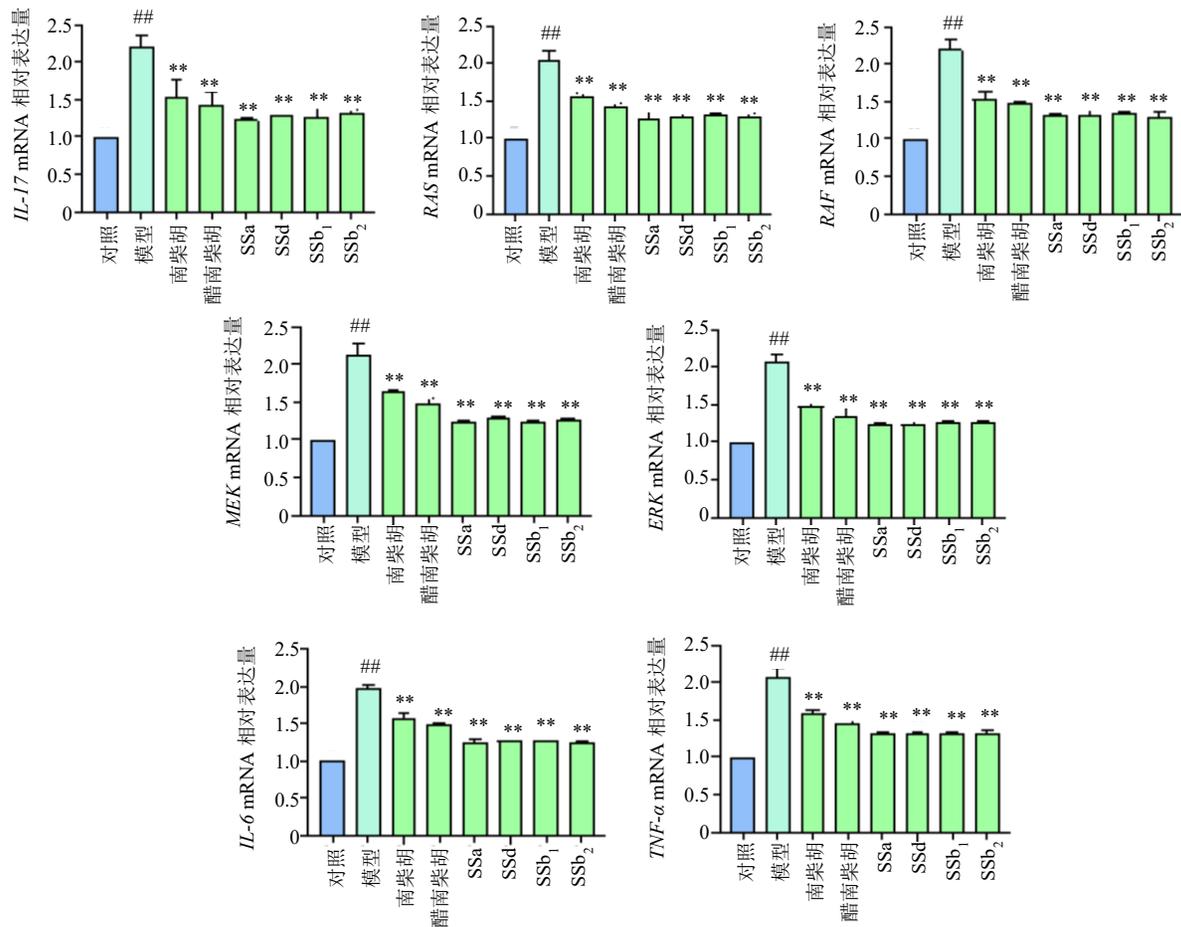


图 12 醋南柴胡及柴胡皂苷单体对斑马鱼抑郁模型 IL-17 信号通路相关基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 12 Effect of VBS and saikosaponins on genes expression of IL-17 signaling pathway in depressed zebra fish model ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

马鱼 IL-17、RAS、RAF、MEK、ERK、IL-6、TNF- α mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01$)。

4 讨论

柴胡为《神农本草经》的“上品”，应用已有千年历史^[19]。《雷公炮炙论》柴胡项下描述“茎长软、皮赤、黄髭须”者为《中国药典》2020 年版收载的南柴胡^[20]。《新修本草》记载：此草，根紫色。今太常（太医）常用茈胡是也。南柴胡应用一直延续至今，疗效被认可。课题组前期研究了南柴胡抗抑郁的作用^[21]，本研究在此基础上从“物质-功效”关联性角度阐明醋炙前后化学成分变化，探讨南柴胡醋炙内涵，筛选醋南柴胡抗抑郁质量标志物，推进醋南柴胡饮片质量标准的提升。

本研究采用“CUMS+孤养”建立抑郁大鼠模型，通过相关行为学数据以及脑内 5-HT、NE、DA 含量变化比较醋炙前后抗抑郁作用的变化，结果显示醋炙增强了南柴胡疏肝解郁作用。醋炙如何增

效，本课题组从药效物质变化角度去探究。运用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析鉴定，炮炙前鉴定出 38 种化学成分，醋炙后有柴胡皂苷转化产物柴胡次皂苷 prosaikogenin A/D/G/F，并未有其他新成分产生。结合上述成分变化分析，南柴胡经醋炙后抗抑郁作用增强，可能与柴胡次皂苷 Prosaikogenin A/D/G/F 的生成，以及 SSb₁、SSb₂、秦皮素和矮牵牛素 4 种化合物含量升高有关。SSb₁、SSb₂ 具有抗抑郁作用，SSb₂ 可通过抑制铁凋亡介导的神经炎症和内质网应激改善抑郁症诱导的小胶质细胞活化^[22]。但柴胡次皂苷 prosaikogenin A/D/G/F、秦皮素和矮牵牛素抗抑郁作用尚无报道，需要验证。此外，SSa、SSd 也与抗抑郁作用相关。SSa 可改善脑卒中后抑郁、围绝经期抑郁^[23]，SSd 通过抑制脂多糖诱导的小胶质细胞活化和神经炎症，有效改善脂多糖诱导的炎症相关抑郁样行为^[24]。SSa、SSd 含量下降是由于发生了结构转化。在醋与高温的条件

下, SSa 结构中 13、28 位之间的氧醚环不稳定, 易开裂生成羟基柴胡皂苷 a, 而后向 SSb₁ 转变; SSd 易形成异环共轭二烯结构, 即 SSb₂。虽然含量降低, 但仍然可以作为抗抑郁药效物质。从含量变化幅度看, SSa、SSd 降低的量大于 SSb₁、SSb₂ 升高的量^[25], 推测可能存在其他降解途径, 这一点仍需进一步探究。

为进一步阐明药效物质, 采用网络药理学方法考察 38 种化合物与抗抑郁机制的内在联系, 预测相关通路, 并予以验证。核心靶点富集的前 20 条通路中, IL-17 信号通路及抑郁症的发生、发展关联度较高^[26]。IL-17 是 Th17 细胞分泌产生的诱导炎症反应的早期启动因子。IL-17A 是 IL-17 家族的重要成员之一^[27]。临床数据显示, 抑郁症患者血清 IL-17A 高于对照组, 经治疗后 IL-17A 水平降低, 抑郁状态好转, 故推测 IL-17A 水平与抑郁症之间存在联系^[28]。有研究表明 IL-17A 诱导星形胶质细胞和小胶质细胞激活^[29], 通过 MAPK 信号通路引起促炎因子 IL-6、IL-1 β 指标升高, 进而使小鼠产生抑郁样症状^[30]。故寻找能够调控 IL-17 信号通路改善抑郁症状的单味药或成分是本研究的关注点。通过反向溯源药效物质发现 SSa、SSc、SSb₁、SSb₂ 各自对应的靶基因和 IL-17 信号通路相关基因重合度较高。为此, 采用 RT-PCR 方法考察了醋南柴胡及 4 个单体皂苷成分对抑郁状态下的斑马鱼模型中 *IL-17A* 基因和下游 MAPK 信号通路的 4 个关键基因 *RAS*、*RAF*、*MEK* 和 *ERK* 以及炎症因子相关基因 *IL-6* 和 *TNF- α* 表达情况的影响, 结果表明, 醋南柴胡及 4 个单体皂苷能抑制 *IL-17A* 基因表达, 进而影响 MAPK 通路, 减少 IL-6 和 *TNF- α* 炎症因子的生成, 从而调控抑郁的发生和发展 (图 13)。

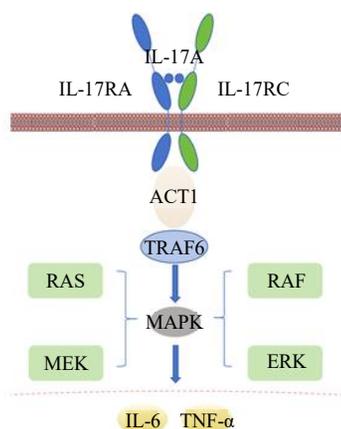


图 13 IL-17 通路示意图

Fig. 13 Schematic diagram about IL-17 signaling pathway

综上, 本研究以“物质-功效”关联性为出发点, 阐明了醋南柴胡抗抑郁药效物质为 SSa、SSc、SSb₁、SSb₂, 可能是通过抑制 IL-17 信号通路激活, 进而抑制下游 MAPK 通路激活而发挥抗抑郁作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Yang L, Deng Y T, Leng Y, *et al.* Depression, depression treatments, and risk of incident dementia: A prospective cohort study of 354, 313 participants [J]. *Biol Psychiatry*, 2023, 93(9): 802-809.
- [2] 杨丽. 1990—2019 年中国居民抑郁症发病趋势及年龄-时期-队列分析 [J]. *现代预防医学*, 2023, 50(14): 2509-2513.
- [3] 李梦瑶, 高枫, 郑帆帆, 等. 应用基因修饰动物模型研究抑郁症进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2023, 31(12): 1610-1616.
- [4] 关韧, 曲芳. 四逆散治疗肝气郁结型青少年抑郁症的疗效观察及对血清 IL-1 β 、TGF- β 1、IL-6 水平的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(5): 1138-1140.
- [5] 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.
- [6] 王伟. 疏肝解郁安神汤对产后抑郁症(肝气郁结证)失眠患者负面情绪及血清指标变化的影响 [J]. *基层中医药*, 2023, 2(4): 44-49.
- [7] Hu M, Zhang X W, Zhang X Y, *et al.* Modified Xiaoyao powder for postpartum depression: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Trad Chin Med Sci*, 2024, 11(1): 120-130.
- [8] 周悦, 杨志宏, 周开俊, 等. 柴胡单体、药对及其方剂配伍治疗抑郁症研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(2): 151-159.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 293.
- [10] 周怡驰, 晏军, 李玲, 等. 基于肝气虚证与网络药理学探讨黄芪-柴胡干预肝炎的作用机制 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(4): 441-446.
- [11] 郭晓擎, 田俊生, 史碧云, 等. 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 [J]. *中草药*, 2012, 43(11): 2209-2216.
- [12] 郑长辉, 马丽娜, 何婷, 等. 基于“通权达变”思想探究柴胡不同炮制方法 [J]. *中国药物警戒*, 2024, 21(08): 955-960.
- [13] 李晓宇. 柴胡醋制前后抗抑郁作用物质基础和药效作用机制的研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2020.
- [14] 龚千锋. 中药炮制学 [M]. 3 版. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 282.
- [15] 陈新梅, 徐溢明. 中药醋制研究概况 [J]. *化工时刊*,

- 2016, 30(7): 32-34.
- [16] 蔡宝昌, 龚千锋. 中药炮制学专论 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 387.
- [17] Wu S, Li H M, Bing Y F, *et al.* *Bupleurum scorzonerifolium*: Systematic research through pharmacodynamics and serum pharmacochimistry on screening antidepressant Q-markers for quality control [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 225: 115202.
- [18] 曲中原, 王淇漩, 周游, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和网络药理学方法探讨短梗五加改善失眠的潜在药效成分及作用机制 [J]. 中国医院药学杂志, 2022, 42(24): 2629-2637.
- [19] 张诗晗, 李良松. 陈修园《神农本草经读》训诂特点 [J]. 河南中医, 2019, 39(7): 1005-1008.
- [20] 薛亚, 朱为康, 朱海青, 等. 《伤寒论》中柴胡的本草应用考证 [J]. 上海中医药杂志, 2022, 56(4): 42-45.
- [21] Qu Z Y, Zheng Y, Wu S, *et al.* Two omics methods expose anti-depression mechanism of raw and vinegar-baked *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. [J]. *Chem Biod*, 2024, 21(4): e202301733.
- [22] Wang X M, Li S S, Yu J Y, *et al.* Saikosaponin B₂ ameliorates depression-induced microglia activation by inhibiting ferroptosis-mediated neuroinflammation and ER stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 316: 116729.
- [23] Chen X Q, Chen S J, Liang W N, *et al.* Saikosaponin A attenuates perimenopausal depression-like symptoms by chronic unpredictable mild stress [J]. *Neurosci Lett*, 2018, 662: 283-289.
- [24] Su J, Pan Y W, Wang S Q, *et al.* Saikosaponin-d attenuated lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors via inhibiting microglia activation and neuroinflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80: 106181.
- [25] 姜华, 李军, 石任兵, 等. 炮制对柴胡药材中 4 种柴胡皂苷的影响 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(21): 1618-1621.
- [26] Liu C, Yan L, Qian Y, *et al.* The extract of *Acanthopanax Cortex* relieves the depression-like behavior and modulates IL-17 signaling in chronic mild stress-induced depressive mice [J]. *Dose response*, 2023, 21(1): 15593258221148817.
- [27] Amatya N, Garg A V, Gaffen S L. IL-17 signaling: The Yin and the Yang [J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(5): 310-322.
- [28] 黄攀登, 董利平, 傅银银, 等. 百乐眠联合曲唑酮对老年失眠伴焦虑抑郁患者的效果及对血清 5-HT、IL-1 β 、IL-17 水平的影响 [J]. 国际精神病学杂志, 2023, 50(6): 1342-1346.
- [29] Zimmermann J, Krauthausen M, Hofer M J, *et al.* CNS-targeted production of IL-17A induces glial activation, microvascular pathology and enhances the neuroinflammatory response to systemic endotoxemia [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57307.
- [30] Nadeem A, Ahmad S F, Al-Harbi N O, *et al.* IL-17A causes depression-like symptoms via NF κ B and p38MAPK signaling pathways in mice: Implications for psoriasis associated depression [J]. *Cytokine*, 2017, 97: 14-24.

[责任编辑 王文倩]