

柴胡疏肝散体外抗氧化活性成分与调控 抑郁症相关酶的关联性分析

吴金霞¹, 贾红梅², 于猛², 郑华³, 宋慧¹, 梁永红¹, 苏志恒^{1*}, 邹忠梅^{2*}

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021;

2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193;

3. 广西医科大学生命科学研究院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:研究柴胡疏肝散(CSGS)体外抗氧化活性能力,识别抗氧化活性成分并评价其对CSGS治疗抑郁症的调控能力。方法:将CSGS进行拆方研究,采用1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH)法测定各配伍方自由基清除能力,以半数抑制浓度(IC₅₀)(清除率为50%时的质量浓度)为评价指标;高效液相色谱法(HPLC)建立特征图谱,利用正交投影偏最小二乘法(orthogonal partial least squares, OPLS)研究特征峰与药效的相关性,根据变异权重系数(variable importance of projection, VIP)来辨识显著活性成分。运用SYBYL 2.0软件对CSGS中的抗氧化活性成分与CSGS治疗抑郁症所调控的相关酶进行分子对接研究,根据Total score值判断小分子与大分子的结合能力。结果:CSGS组方药材对抗氧化药效贡献的大小依次为枳壳>陈皮>川芎>柴胡>香附>白芍>甘草,鉴定出3个具有显著抗氧化活性的成分,分别为橙皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷。3个抗氧化活性成分与CSGS治疗抑郁症所调控的相关酶的分子对接打分结果均显示了良好的结合能力,其中橙皮苷与色氨酸酶(TPH),新橙皮苷与超氧化物歧化酶(SOD),芸香柚皮苷与色氨酸2,3-加二氧酶(TPHD)的结合能分别是9.088 7,8.734 0,9.271 8。结论:橙皮苷,新橙皮苷和芸香柚皮苷是CSGS体外抗氧化活性的主要有效成分且在CSGS治疗抑郁症中可能发挥了一定的调控作用。

[关键词] 柴胡疏肝散; DPPH自由基清除能力; 体外抗氧化活性; 分子对接

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)12-0074-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181217

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180328.1125.001.html>

[网络出版时间] 2018-03-28 13:38

Correlation Between Antioxidant Components of Chaihu Shugansan and Regulation on Depression-related Enzymes

WU Jin-xia¹, JIA Hong-mei², YU Meng², ZHENG Hua³, SONG Hui¹,

LIANG Yong-hong¹, SU Zhi-heng^{1*}, ZOU Zhong-mei^{2*}

(1. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;

3. Institute of Life Science, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To research the antioxidant activity of Chaihu Shugansan (CSGS) from different compatibility rules *in vitro*, further identify its antioxidant components and evaluate its regulation ability in the

[收稿日期] 20180121(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360638, 81503230, 81173512, 81673584)

[第一作者] 吴金霞,在读硕士,从事中药神经药理学研究,E-mail: 1262098472@qq.com

[通信作者] *苏志恒,博士,副教授,从事中药代谢组学研究,Tel: 0771-5327162,E-mail: suzhiheng1981@126.com;

*邹忠梅,博士,研究员,从事天然药物化学研究,Tel: 010-57833290,E-mail: zmzou@implad.ac.cn

treatment of CSGS in depression. **Method:** After CSGS was divided into eight compatibility groups, their free radical scavenging activity was determined respectively by 1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) method, with the mass concentration value at a clearance rate of 50% (IC_{50}) as an evaluation index. Orthogonal partial least squares (OPLS) method was used to investigate the correlation between the characteristic peaks and the efficacy of CSGS, and subsequently the significant active ingredients were identified by the variable importance of projection (VIP) based on the high performance liquid chromatography (HPLC) characteristic chromatograms. SYBYL 2.0 software was used for molecular docking studies of the antioxidant components in CSGS and regulation of CSGS treatment on depression-related enzymes. Finally, the binding capacity of small molecules and macromolecules was determined on the basis of total score value. **Result:** The results demonstrated that the contribution order of eight herbs for antioxidant activity was as follows: Aurantii Fructus > Citri Reticulatae Pericarpium > Chuanxiong Rhizoma > Bupleuri Radix > Cyperi Rhizoma > Paeoniae Radix Alba > Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. Besides, three ingredients including hesperidin, neohesperidin and narirutin were identified as the antioxidant activity components. Docking results of both antioxidant components in CSGS and the enzymes regulated by CSGS in the treatment of depression showed a good binding ability. Among them, the binding energy of hesperidin and tryptophanase (TPH), neohesperidin and superoxide dismutase (SOD), narirutin and tryptophan 2, 3-dioxygenase (TPHD) was 9.088 7, 8.734 0, 9.271 8, respectively. **Conclusion:** Hesperidin, neohesperidin and narirutin might be the main effective components of CSGS for the antioxidant activity *in vitro* and they play a regulatory role in the CSGS treatment of depression.

[**Key words**] Chaihu Shugansan; DPPH free radical scavenging ability; antioxidant activity *in vitro*; molecular docking

柴胡疏肝散(CSGS)出自于张介宾《景岳全书·古方八阵·散阵》,由君药柴胡,臣药香附、川芎,佐药陈皮、枳壳、白芍,使药甘草 7 味药组成,具有疏肝解郁、理气止痛之功效,临床上常用于治疗肝气郁滞证,是疏肝解郁、理气止痛的经典方剂,在治疗抑郁症方面疗效确切,副作用小^[1-2]。课题组前期研究发现 CSGS 对慢性应激诱导的抑郁症大鼠具有良好的治疗作用,能显著性回调在抑郁症中产生紊乱的代谢产物^[3],此外,对由慢性应激引起的肝损伤具有保护作用^[4]。相关研究证实,肝气郁结可使机体产生氧化应激反应,机体清除自由基能力下降^[5],是导致抑郁症的主要原因,而 CSGS 的抗抑郁作用与其抗氧化作用有一定联系^[6],但其整体复方发挥抗抑郁作用的抗氧化活性成分及抗氧化活性大小与配伍规律是否有关尚不清楚。

配伍是中医药的特色和优势,配伍后的化学成分并不等于单味药化学成分的简单相加。CSGS 所含药材种类较多,配伍复杂,仅从全方的角度难以解释各组成药物在抗氧化效应中所发挥的作用,适当的拆方研究有助于复方配伍规律的科学内涵及物质基础的发现^[7],因此,使用拆方研究复方配伍对药效的影响是中药复方研究的一个重要内容。目前,关于 CSGS 的临床及药理学研究报道较多,最新药

理研究表明 CSGS 对机体氧化损伤的保护作用主要有抑制脂质过氧化、缓解氧化应激损伤、提高机体抗氧化酶活性及抗自由基损伤等^[8]。同时许多有关 CSGS 体外抗氧化活性的研究表明 CSGS 确有清除羟自由基,1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基等其他自由基的能力^[2,9]。但尚未见采用基于正交投影的偏最小二乘分析方法(orthogonal partial least squares, OPLS)从 CSGS 复方整体出发研究其体外的抗氧化活性及其配伍规律的研究报导。此外对于 CSGS 中抗氧化活性成分能否调控与抑郁症相关的酶也未见相关研究报导。

基于此,为了进一步阐明 CSGS 的抗氧化能力及其配伍规律,识别 CSGS 组方中具有抗氧化活性成分,进而研究 CSGS 组方中抗氧化活性成分与调控抑郁症相关酶的相互作用关系。本研究在 CSGS 不同配伍的高效液相色谱(HPLC)成分表征的基础上,运用 OPLS 寻找具有清除 DPPH 自由基的活性成分,结合计算机模拟技术研究 CSGS 中的抗氧化活性成分与 CSGS 治疗抑郁症所调控的相关酶的结合能力,用于阐明 CSGS 的配伍规律,揭示 CSGS 抗氧化活性的药效物质基础及其治疗抑郁症时调节相关酶的能力,为 CSGS 的现代应用及深入研究提供科学依据。

1 材料

1.1 试剂和药材 DPPH(梯希爱上海化成工业发展有限公司);乙腈为色谱纯,甲醇、乙醇、磷酸均为分析纯(成都科龙化学试剂有限公司);水(二次蒸馏水)为实验室自制。新橙皮苷、芸香柚皮苷对照品,橙皮苷对照品($\geq 98\%$,成都曼斯特生物科技有限公司,批号分别为 MUST-14060310, MUST-14030701, MUST-14010315)。柴胡、陈皮、白芍、香附、川芎、甘草(南宁生源中药饮片有限公司,批号分别为 150601, 150301, 150702, 150501, 150701, 150701);枳壳(南宁市景昌中药饮片有限公司,批号 20150202),所有药材均经过广西农业科学院莫长明副研究员进行鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》规范。

1.2 仪器 LC-20A 型高效液相色谱仪, LC-20A PDA 型检测器(日本岛津公司);R-1001N 型旋转蒸发仪(郑州长城科工贸有限公司);XS205DU 型 1/10 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);SG8200HPT 型超声清洗器(上海冠特超声仪器公司);GR-202 型分析天平,UVmini-1240 型紫外-可见分光光度计(日本 AND 公司)。

2 方法和结果

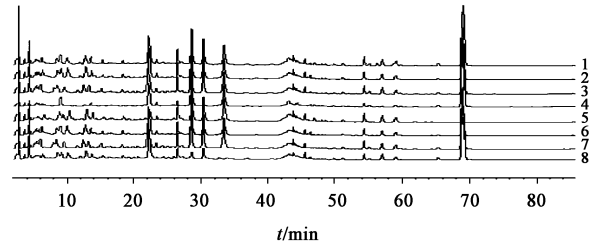
2.1 CSGS 全方及缺味样品的制备 称取全方及缺味组的药材,其中柴胡、陈皮各 6 g,川芎、香附、枳壳、白芍各 4.5 g,炙甘草 1.5 g,加入 10 倍量 80% 乙醇,回流提取 2 次,每次 90 min,合并滤液,减压浓缩,转移至 50.0 mL 棕色瓶中并用 80% 乙醇定容,得储备液,4 °C 储存备用。量取储备液 2 mL 于 50 mL 的量瓶中,用无水乙醇定容,超声 20 min,过滤,取滤液 2 mL,经 0.22 μm 滤膜滤过,得供试品溶液。同法制备 CSGS 缺味复方供试品。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取橙皮苷,新橙皮苷,芸香柚皮苷对照品各 2.5 mg,配成质量浓度为 0.50 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的橙皮苷,新橙皮苷,芸香柚皮苷的对照品溶液。

2.3 CSGS 的 HPLC 指纹图谱表征

2.3.1 色谱条件 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相 0.05% 磷酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0 ~ 20 min, 10% ~ 20% B; 20 ~ 35 min, 20% B; 35 ~ 38 min, 20% ~ 35% B; 38 ~ 45 min, 35% ~ 45% B; 45 ~ 75 min, 45% ~ 55% B; 75 ~ 85 min, 55% ~ 75% B; 85 ~ 95 min, 75% ~ 85% B),检测波长 323 nm;流速 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温 30 °C;进样量 10 μL 。

2.3.2 不同配伍组的 CSGS 指纹图谱采集 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2004 年版)对不同配伍组的 CSGS 的 HPLC 指纹图谱的各峰保留时间进行校正并进行数据匹配,得 CSGS 全方及拆方的指纹图谱(图 1)。从图 1 可见不同配伍组的 CSGS 的色谱图存在差异,其中缺陈皮和枳壳组的色谱图与全方的色谱图差异较明显。



1. 全方; 2. 缺白芍; 3. 缺柴胡; 4. 缺陈皮; 5. 缺川芎; 6. 缺甘草; 7. 缺香附; 8. 缺枳壳

图 1 CSGS 全方及缺味组的 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of CSGS and its compatibility

2.4 DPPH 自由基清除率的测定

2.4.1 DPPH 储备液的配置 称取 DPPH 5.0 mg,用无水乙醇溶解并定容至 100 mL,摇匀,超声 10 min,得质量浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 储备液,置 -20 °C 中保存备用。

2.4.2 样品溶液清除 DPPH 自由基能力的测定 量取供试品溶液 2 mL,用无水乙醇定容至 100 mL 后分别量取 2, 4, 6, 8, 10 mL 溶液至 10 mL 的量瓶中,用无水乙醇定容。分别量取不同浓度样品溶液 5 mL 和 DPPH 溶液 2 mL 于 10 mL 试管中避光反应 30 min。以无水乙醇为空白对照,在波长 517 nm 处测定反应溶液的吸光度 A_2 ; 上述样品溶液 5 mL 定容至 10 mL 后的吸光度 A_0 ; DPPH 溶液 2 mL 定容至 10 mL 后的吸光度 A_1 ; 根据公式:清除率 = $[1 - (A_2 - A_0)/A_1] \times 100$,计算样品的清除率^[10-11]。各样品溶液清除率结果(表 1),清除率相同时不同配伍组的 CSGS 对应不同的浓度,其中缺枳壳组浓度最大,全方组浓度最小,表明 CSGS 的 8 种不同配伍组方清除 DPPH 自由基的能力是不同的。与全方比较,在拆方中缺枳壳组的自由基清除能力最弱,则表明在全方中枳壳清除自由基的能力最强,以此类推 CSGS 全方中各药材对清除 DPPH 自由基的贡献大小依次为枳壳 > 陈皮 > 川芎 > 柴胡 > 香附 > 白芍 > 甘草。

2.5 组效关系分析 将使用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”对 CSGS 的 HPLC 指纹图谱处理

表 1 各样品溶液清除 DPPH 自由基的 IC₅₀

Table 1 IC₅₀ value of samples scavenging DPPH radical

配伍组	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹	配伍组	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹
全方	6.58	缺柴胡	7.43
缺甘草	6.76	缺川芎	8.84
缺白芍	7.00	缺陈皮	11.36
缺香附	7.25	缺枳壳	12.23

所得数据作为自变量 X ; CSGS 全方及缺味组清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 作为因变量 Y 。将 X 和 Y 导入 SIMCA-P 11.5 软件, 采用 OPLS 分析, 提取前两个主成分, 模型参数 $R^2X=0.996, Q^2Y=0.877$, 表明该模型具有较好的解释能力和预测能力。根据 VIP 值的大小, 选取了 VIP 值 > 1.5 的变量, 锁定了 14 个对 DPPH 自由基清除能力贡献较大的色谱峰 (表 2)。

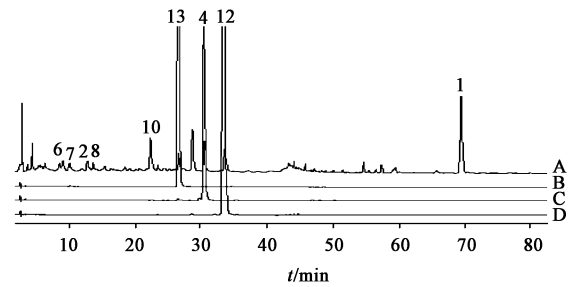
2.6 抗氧化活性成分的鉴定 对照品溶液按 2.3.1 项色谱条件进样后, 将全方色谱图与对照品色谱图对比 (图 2)。经比较对照品和 CSGS 全方的紫外光谱图 (图 3), 在贡献较大的 14 个色谱峰中可鉴定出 3 个成分, 分别为橙皮苷 (4), 新橙皮苷

表 2 14 个药效活性成分群的 VIP 值

Table 2 VIP value of 14 active components

No.	VIP	保留时间/min	No.	VIP	保留时间/min
1	7.206	69.015	8	1.810	10.146
2	2.764	12.775	9	1.788	13.635
3	2.536	8.534	10	1.749	22.173
4	2.260	30.359	11	1.620	14.107
5	2.254	43.003	12	1.615	33.635
6	1.895	9.092	13	1.564	25.922
7	1.858	10.023	14	1.563	6.408

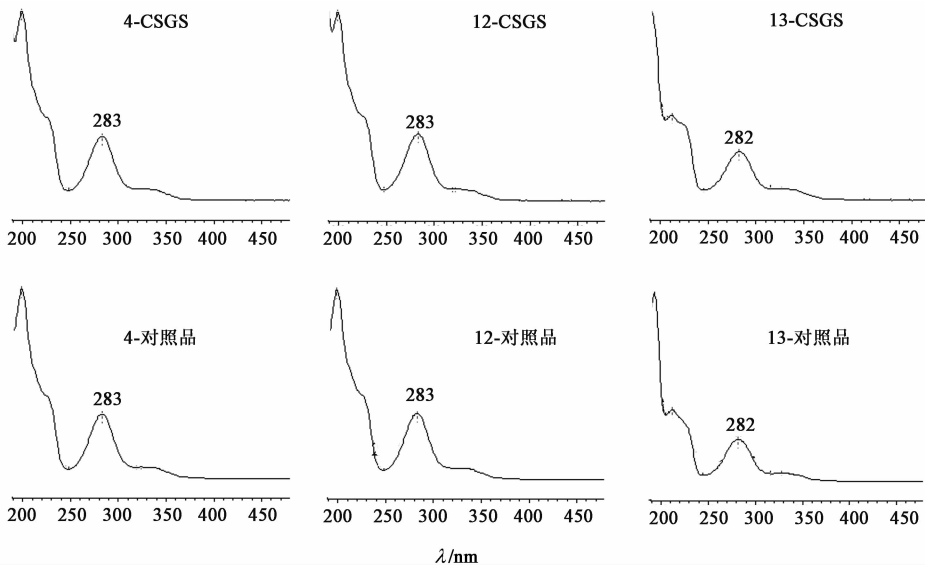
(12) 和芸香柚皮苷 (13)。



A. 全方; B. 芸香柚皮苷; C. 橙皮苷; D. 新橙皮苷

图 2 CSGS 全方和对照品溶液的 HPLC 色谱

Fig. 2 HPLC of CSGS and reference standards



4. 橙皮苷; 12. 新橙皮苷; 13. 芸香柚皮苷

图 3 CSGS 全方和对照品溶液在相同保留时间下的紫外光谱

Fig. 3 UV spectrum of CSGS and reference standard

2.7 CSGS 方中抗氧化活性成分与 CSGS 抗抑郁的相关靶点蛋白酶的分子对接

2.7.1 小分子准备 从 TCMSp 数据库 (<http://sm.nwsuaf.edu.cn/lsp/tcmsp.php>) 下载本研究所识别的具有抗氧化活性物质的三维结构, 导入对接软

件 SYBYL 2.0 中, 进行加 H 等其他修饰后保存, 作为分子对接的候选小分子。

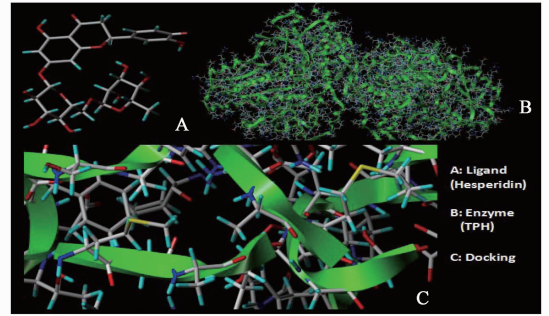
2.7.2 大分子准备 经前期研究发现^[3], CSGS 能显著性回调大鼠机体内因抑郁症引起紊乱的代谢产物, 而调控这些代谢产物的潜在靶酶共 6 个, 分别是

芳香族氨基酸脱羧酶 (aromatic L-amino acid decarboxylase, AADC), 色氨酸酶 (tryptophanase, TPH), 色氨酸 2, 3-加二氧酶 (tryptophan 2, 3-dioxygenase, TPHD), I 型泛酸酯激酶 (type I pantothenate kinase, PTK-1), 脯氨酸亚氨基肽酶 (proline iminopeptidase, PIP), uridine diphosphate-glucuronosyltransferases (UGTS)。王林林^[12]研究发现, CSGS 醇提物抗抑郁的作用机制可能与其调节机体内的超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢酶 (catalase, CAT) 有关。通过 PDB 数据库获取这 8 个酶的三维晶体结构 (表 3)。将其导入 SYBYL 2.0 软件进行去结晶水, 加氢加点电荷等修饰后保存, 作为候选大分子。

表 3 CSGS 治疗抑郁症调控相关代谢通路的 8 个靶蛋白
Table 3 Target proteins for docking experiment

蛋白质名称	蛋白缩写词	PBD 编号	相应配体
aromatic L-amino acid decarboxylase	AADC	3RBL	CL
tryptophanase	TPH	4W4H	LLP
tryptophan 2,3-dioxygenase	TPHD	5TI9	HEM, NFK, OXY, PO4, TRP
type I pantothenate kinase	PTK-1	4NE2	ADP, SH2, MG
proline iminopeptidase	PIP	1X2B	STX
uridine diphosphate-glucuronosyltransferases	UGTS	2O6L	MSE
superoxide dismutase	SOD	1AR4	MN
catalase	CAT	5GKN	NDP, HEM

2.7.3 分子对接 Surflex-Dock 对接模块中 Total score 函数为输出构象的总打分函数, 打分高于 6.000 的输出构象被判定为好的输出构象^[13], 其综合考虑了极性作用、疏水作用、焓和溶剂化等因素, 该值越大, 对接复合物越稳定, 说明小分子化合物与大分子蛋白质的结合作用越好^[14]。CSGS 中的抗氧化活性物质可能为橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷, 将其三维结构导入对接软件, 经过修饰后的蛋白 (受体) 与修饰后的抗氧化活性成分 (配体) 进行 Surflex-Dock 对接 (图 4), 结果显示配体和受体的结合方式主要是分子间氢键的相互作用。分子对接打分结果见表 4, 结果表明 CSGS 中的抗氧化活性成分橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷与 CSGS 治疗抑郁症所调控的代谢酶的结合能力较好。



C 中黄色键表示分子间氢键
图 4 橙皮苷 (配体) 与 TPH (受体) 的结合结构
Fig.4 Binding mode of hesperidin and TPH

表 4 CSGS 中抗氧化活性成分与 CSGS 复方治疗抑郁症所调控的酶的分子对接得分
Table 4 Total score of antioxidant components binding enzymes in CSGS treatment

配体	酶	对接总分	碰撞能	极性
hesperidin MOL007930	AADC	7.128 5	-5.323 4	5.917 1
	CAT	3.706 9	-9.835 2	2.598 2
	PIP	5.676 8	-3.040 2	6.384 4
	PTK-1	6.203 0	-2.659 4	4.601 5
	SOD	5.606 6	-2.623 7	5.314 4
	TPH	9.088 7	-6.324 1	5.002 4
	TPHD	8.552 6	-2.069 9	5.777 2
	UGTS	4.734 9	-1.700 4	0.549 1
narinutin MOL013336	AADC	7.531 4	-4.864 5	3.176 6
	CAT	3.522 0	-9.381 8	2.878 7
	PIP	5.806 4	-2.101 4	6.365 4
	PTK-1	6.082 6	-1.460 8	1.931 1
	SOD	4.911 3	-2.336 9	3.568 1
	TPH	2.968 0	-5.489 1	2.697 7
	TPHD	9.271 8	-4.436 4	8.517 5
	UGTS	6.648 3	-3.339 5	3.681 6
neohesperidin MOL013383	AADC	4.735 4	-7.408 4	3.783 6
	CAT	-12.980 7	-26.255 1	3.874 2
	PIP	5.840 3	-2.002 8	2.523 0
	PTK-1	6.053 4	-1.619 1	2.217 1
	SOD	8.734 0	-2.466 9	8.937 4
	TPH	4.156 0	-6.924 9	3.472 2
	TPHD	8.457 7	-3.174 2	3.770 4
	UGTS	4.447 7	-4.689 7	2.726 2

3 讨论

抑郁症是一种常见的心境障碍,以显著而持久的心境低落为主要临床特征,严重者可出现自杀念头和行为^[7]。根据 WHO 最新统计显示全球恶劣心境和抑郁症者患病率高达 12.8%,并预测到 2020 年抑郁症将成为全球第二大医疗疾患^[15]。抑郁症的发病机制尚不明确、主要有遗传因素、生物化学因素、神经可塑性假说、社会因素等^[16]。大量研究发现,抑郁症患者存在神经细胞凋亡,神经退行性和神经元可塑性改变^[17],而氧化应激可破坏细胞膜、蛋白质分子,降解细胞骨架,引起 DNA 中碱基点突变或使 DNA 断裂^[18],神经细胞凋亡,神经退行性及神经元可塑性改变^[19],表明氧化应激是造成抑郁症的主要原因之一。已有临床和体内外研究报导表明,外周内源性抗氧化物质功能减退在抑郁症病发中起重要的作用,抗氧化物质有改善抑郁症状的可能性^[20];CSGS 用于治疗抑郁症有较好的疗效^[3,21],其抗抑郁的作用与抗氧化的功效密切相关^[11,22]。由此可见,抗氧化物质在治疗抑郁症过程中可能发挥重要的作用。

本研究的 CSGS 全方及缺味组方的抗氧化活性实验中,枳壳、陈皮组的抗氧化能力最弱,表明枳壳和陈皮是 CSGS 复方中具有抗氧化作用的主要药材。黄酮类化合物是枳壳和陈皮的主要成分之一,其中又以橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷和柚皮苷含量最多^[23]。在组效关系研究中,利用 OPLS 分析方法在贡献较大的 14 个色谱峰中鉴定出了 3 个成分,分别为橙皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷,表明橙皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷均具有不同程度的抗氧化作用。分子对接结果显示,橙皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷与调控抑郁症的相关酶 AADC, PTK-I, TPHD 等的结合能均良好,表明橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷可能是通过调节多靶点产生药效作用的。研究表明抑郁症患者血清中的多巴胺(DA), 5-羟色胺(5-HT), SOD 和 CAT 的含量较正常人明显降低^[24-25];SOD 能清除体内氧阴离子自由基、抑制生物膜发生脂质过氧化^[26];CAT 能将线粒体产生的 H₂O₂ 最终转化成 H₂O^[27]。抗氧化活性物质橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷可能通过调控机体内 AADC, PTK-I, SOD, CAT 等相关酶调节 5-HT, DA, SOD 和 CAT 的含量从而减轻抑郁症症状及维持机体氧化-抗氧化系统的平衡。因此,抗氧化活性物质橙皮苷、新橙皮苷和芸香柚皮苷很可能是 CSGS 改善抑郁症症状的主要活性物质。

中药化学成分复杂,其药效的发挥往往是多途径、多靶点及多组分之间的协同作用^[28],而目前从天然药物及中药中筛选药效成分主要采用活性追踪分离法,但该方法存在工作量较大、效率较低等缺陷^[29]。OPLS 分析是一种改进的偏最小二乘法分析方法,其利用交叉有效性和特征值标准确定正交成分的个数,能有效防止过度拟合的情况发生,利用 OPLS 方法移除化学成分中与药效不相关的变量,使差异变量集中在第一个主成分,让模型变得简单和易于解释^[30]。本研究发现 CSGS 对 DPPH 自由基清除能力与文献报道的橙皮苷具有显著的体内外抗氧化效应^[31],新橙皮苷能够增强维生素 C 作用,抗羟自由基氧化作用^[32]等结果一致。由此表明,运用 OPLS 分析方法研究和识别 CSGS 复方中具有抗氧化活性的成分是可行的,为深入研究 CSGS 组方中体内抗氧化的活性成分或研究其他中药方剂的相关药效物质提供重要的科学理论依据。

[参考文献]

- [1] 李书启,苏志恒,彭静波,等. 中药复方柴胡疏肝散体内外抗氧化活性及其与抗抑郁作用的潜在关系[J]. 中国天然药物,2010,8(5):353-361.
- [2] 李书启. 柴胡疏肝散抗氧化活性及其活性成分柚皮苷药代动力学的研究[D]. 北京:北京化工大学,2010.
- [3] SU Z H, LI S Q, ZOU G A, et al. Urinary metabonomics study of anti-depressive effect of Chaihu-Shu-Gan-San on an experimental model of depression induced by chronic variable stress in rats[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(3):533-539.
- [4] JIA H M, YU M, MA L Y, et al. Chaihu-Shu-Gan-San regulates phospholipids and bile acid metabolism against hepatic injury induced by chronic unpredictable stress in rat[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1064:14-21.
- [5] 李晓杰,苑婕,陈超. 多目标优化方法在中药组效关系研究中的应用[J]. 广东药学院学报, 2014, 30(3):389-391.
- [6] 谢伟彬. 柴胡疏肝散及拆方和活性成分阿魏酸对抑郁模型大鼠的生物方剂分析药理研究[D]. 长沙:中南大学,2014.
- [7] 李镇,容悦莹,王淑美,等. 中药组方配伍的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(7):223-226.
- [8] 张喆,赵静洁,王永志,等. 柴胡疏肝散药理作用及机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(9):128-131.

- [9] 任鹏,王林林,许飞虹,等. 柴胡疏肝散醇提物的抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(10):161-164.
- [10] 黄海兰,徐波,段春生. 金钱草清除自由基活性及其成分研究[J]. 食品科学,2006,27(10):183-188.
- [11] 韦献雅,殷丽琴,钟成,等. DPPH法评价抗氧化活性研究进展[J]. 食品科学,2014,35(9):317-322.
- [12] 王林林. 柴胡疏肝散醇提物对抑郁模型小鼠的行为学影响及抗抑郁作用机理的研究[D]. 张家口:北方学院,2013.
- [13] 刘永澜,李月婷,史博智,等. 基于 TopomerCoMFA 和 Surfex-dock 的 GSK-3 β 抑制剂的 3D-QSAR 与作用模式研究[J]. 中国科学:化学,2013,43(2):198-208.
- [14] 林桂源,姚华聪,郑细娜,等. 基于分子对接技术的常用降糖中药有效成分虚拟筛选[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(15):202-206.
- [15] 王睿,黄树明. 抑郁症发病机制研究进展[J]. 医学研究生学报,2014,27(12):1332-1336.
- [16] 黄庆军,许崇涛. 抑郁症是一种炎症性疾病吗?—介绍抑郁症的神经炎症反应假说[J]. 转化医学研究:电子版,2014,4(4):88-94.
- [17] 彭红军,李凌江,贺达仁. 从神经可塑性的视角看压力与疾病的关系[J]. 医学与哲学,2010,31(8):62-63.
- [18] 黄志辉,刘浩. 运动、氧化应激与红细胞膜流动性[J]. 河北师范大学学报:自然科学版,2003,27(1):106-108.
- [19] 何海然,薛占霞. 抑郁症相关发病机制的研究进展[J]. 神经药理学报,2016,6(2):20-25.
- [20] 程时,丁海勤. 谷胱甘肽及其抗氧化作用今日谈[J]. 生理科学进展,2002,33(1):85-90.
- [21] 孟宪波. 柴胡舒肝散抗抑郁作用分析与疗效调查[J]. 临床合理用药杂志,2011,4(10A):58.
- [22] JIA H, SU Z, LONG W, et al. Metabonomics combined with UPLC-MS chemical profile for discovery of antidepressant ingredients of a traditional Chinese medicines formula, Chaihu-Shu-Gan-San [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, doi:10.1155/2013/487158.
- [23] 朱露,雷鹏,黄琪,等. 反相高效液相色谱法测定枳实中芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量[J]. 中南药学,2013,11(12):934-937.
- [24] 宋巧娟,奚耕思,贾艺舒,等. 多巴脱羧酶及其与神经类疾病的关联性研究进展[J]. 现代生物医学进展,2017,17(8):1595-1600.
- [25] 张心华,徐璐,陶尚敏,等. 抑郁症及焦虑症病人血浆 SOD 活性和 MDA 含量的变化[J]. 康复与疗养杂志,1997,12(4):157-158.
- [26] 杨利娟,李昱颀,曹瑾,等. 氧化应激参与针刺调节抑郁症的机理研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2016,18(8):1334-1341.
- [27] 李娜,周岐新. 抑郁症发生与氧化应激关系研究进展[J]. 世界科技研究与发展,2011,33(5):904-907.
- [28] Ohno A, Oka K, Sakuma C, et al. Characterization of tea cultivated at four different altitudes using 1H NMR analysis coupled with multivariate statistics[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(10):5181-5187.
- [29] 蒋建兰,丁洪涛,苏鑫,等. 基于组效关系的姜黄挥发油抗肿瘤活性成分辨识研究[J]. 分析化学,2012,40(10):1488-1493.
- [30] 孙凤林,郝志峰. OPLS 在非线性偏最小二乘回归模型的应用[J]. 计算机工程与设计,2010,31(12):2826-2829.
- [31] 刘英,王之盛,周安国,等. 橙皮苷和绿原酸的体内外抗氧化效应研究[J]. 食品科学,2009,30(23):196-199.
- [32] 李玉山. 橙皮苷研究新进展[J]. 科技导报,2009,27(22):108-115.

[责任编辑 周冰冰]