

# 柴胡-白芍单味、药对配方颗粒与传统汤剂 化学成分及抗抑郁对比研究

杨新雪,梁进京,董蕊\*

吉林农业大学中药材学院,长春 130118

**摘要:**运用高效液相色谱(HPLC)法比较柴胡-白芍单味、药对配方颗粒与传统汤剂的主要有效成分变化,建立利血平拮抗急性抑郁模型探讨药对合煎与单煎合并的抗抑郁作用差异。采用 COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-MS-II 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 °C;进样量 10 μL;采用双波长(210, 230 nm)检测。酶联免疫吸附剂实验及对相关组织进行 HE、Nissl 染色分析不同剂型对小鼠抑郁效果的影响。结果表明,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷的含量在柴胡-白芍单味配方颗粒混溶中低于柴胡-白芍药对配方颗粒与传统汤剂;柴胡-白芍单味配方颗粒混溶组、柴胡-白芍药对配方颗粒组和传统汤剂组均能使小鼠脑内 5-羟色胺、多巴胺水平明显提高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );血清中白细胞介素-6、白细胞介素-1β 及肿瘤坏死因子含量显著降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),抗炎因子白细胞介素-10 显著升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );肝组织中超氧化物歧化酶不同程度地升高,丙二醛显著降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。HPLC 检测方法重复性好,稳定可靠。通过抑制炎症和缓解氧化应激,柴胡-白芍药对配方颗粒与传统汤剂较柴胡-白芍单味配方颗粒混溶改善抑郁症状显著。

**关键词:**柴胡-白芍;配方颗粒;传统汤剂;主要成分;抗抑郁

中图分类号:R283.6

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)7-1182-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.7.010

## Comparative study on the chemical constituents and anti-depression of Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba single flavor, drug-pair formula granules and traditional decoction

YANG Xin-xue, LIANG Jin-jing, DONG Rui\*

College of Chinese Materia Medica, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

**Abstract:** This study aims to compare the changes in the major active constituents of Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba (BR-PR) single flavor, drug-pair formula granules and traditional decoction using high performance liquid chromatography (HPLC). The difference in antidepressant effects between the combined decoction and single decoction of drug pairs was investigated using a model of acute depression antagonised by reserpine. A COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-MS-II column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used; acetonitrile (A)-0.1% phosphoric acid solution (B) was used as the mobile phase; the volume flow rate was 1.0 mL/min; the column temperature was 30 °C; the injection volume was 10 μL; and the detection was carried out at dual wavelengths (210 and 230 nm). The effects of different dosage forms on depression in mice were analyzed by enzyme linked immunosorbent assay kit and HE and Nissl staining. The contents of saikosaponin a, saikosaponin d, paeoniflorin, paeoniflorin oxide in BR-PR single flavor formula granules mixed solution were lower than BR-PR drug-pair formula granules and traditional decoction. The levels of 5-hydroxytryptamine and dopamine ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) were significantly increased in the BR-PR single flavor formula granules mixed solution group, BR-PR drug-pair formula granules group, and traditional decoction group; The contents of interleukin-6, interleukin-1β and tumor necrosis factor-α in serum significantly decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the anti-inflammatory factor interleukin-10 was significantly increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); The superoxide dismutase was increased, while malondialdehyde significantly decreased in liver tissues ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). HPLC

收稿日期:2024-02-01

接受日期:2024-05-20

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-ZL-25)

\* 通信作者 E-mail: drjlau@126.com

method has good repeatability, stability and reliability. By inhibiting inflammation and relieving oxidative stress, BR-PR drug-pair formula granules and traditional decoction improved depressive symptoms significantly than BR-PR single flavor formula granules mixed solution.

**Key words:** Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba; formula granule; traditional decoction; main constituent; anti-depression

柴胡 *Bupleurum chinense* DC, 又称地熏、茈胡、山菜等, 初载于《本经》, 主要药用成分有皂苷、多糖、挥发油等。柴胡皂苷主要为三萜类皂苷, 是柴胡中重要的有效成分, 包括柴胡皂苷 a、d、b<sub>1</sub>、b<sub>2</sub>、c、f 等, 其中柴胡皂苷 a、d 的含量为《中国药典》中控制柴胡质量的主要检测指标之一。有研究表明柴胡皂苷 d、b<sub>2</sub> 可以减轻肝损伤和促进胆汁分泌<sup>[1-3]</sup>。白芍是毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根, 味苦, 归肝脾经, 最早载于《神农本草经》。白芍药材在我国中医临床上的应用较广泛, 具有敛阴固表, 平抑肝阳的功效<sup>[4]</sup>, 重要的活性成分有萜类、挥发油类、黄酮类等<sup>[5]</sup>。芍药苷是白芍中最先发现的蒽烷单萜苷, 其单萜类又简称为芍药总苷, 其中还包括芍药花苷、苯甲酰芍药苷、氧化芍药苷、芍药内酯苷等<sup>[6-8]</sup>。芍药总苷有多种功效, 包括抗炎镇痛<sup>[9-10]</sup>、保肝<sup>[11-14]</sup>、抗血栓<sup>[15]</sup>、抗抑郁<sup>[16]</sup>等。柴胡-白芍药对配伍如《和剂局方》中的逍遥散、《伤寒论》中的四逆散、《景岳全书》中的柴胡疏肝散等等是解表达邪、疏肝解郁而酸收的基础方。

汤剂, 溶媒来源广, 无刺激性, 是我国传统用药最早的一种剂型, 但也有药效成分不易提取、耗时等弊端。中药配方颗粒, 一种新型的饮片应用形式, 避免了传统汤剂的某些不足, 同时, 因为是浓缩颗粒, 所以即使很小的剂量, 也能起到很好的疗效, 目前临床使用量大, 市场需求广阔。柴胡-白芍药对配方颗粒是由柴胡和白芍按照一定的比例经过一系列工序制成的新型中药制剂, 近年来对于配方颗粒的相关研究主要集中于复方或者单味药, 而对柴胡-白芍药对配方颗粒的研究暂无报道。本试验对柴胡-白芍单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒与传统汤剂中 4 种主要成分含量变化及抗抑郁效果进行研究, 探讨药对合煎与单煎合并的化学成分与药理药效区别, 以期中药药对配方颗粒在临床中合理应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

Waterse2695 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); KQ-700DB 型数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); 低速离心机 (中科中佳科学仪器有限公司); 全波长扫描式酶标仪 (德国 BMG

LABTECH 公司)。

### 1.2 试剂

甲醇和乙腈 (色谱纯, 北京迈瑞达科技有限公司); 氨水 (分析纯, 批号 20200911, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸 (色谱级, 上海阿拉丁试剂有限公司); 纯净水 (批号 20231005, 杭州娃哈哈饮料有限公司); 柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、氧化芍药苷 (纯度均 ≥ 98%, 批号分别为: AF21041007、AF22041901、AF21112354、AF21021504, 成都埃法生物科技有限公司); 小鼠 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺 (dopamine, DA)、白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 酶联免疫吸附剂实验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒 (批号: 202305); 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) ELISA 检测试剂盒 (批号: 202307); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) ELISA 检测试剂盒 (批号: 202306), 以上试剂盒均购自江苏晶美生物科技有限公司; 盐酸氟西汀分散片 (批号: 22542A, 礼来苏州制药有限公司); 利血平 (批号: M03IS208576, 上海源叶生物科技有限公司)。

### 1.3 动物与药材

清洁级 C57BL/6 小鼠, 雄性, 体质量 18 ~ 20 g, 购自辽宁长生生物技术股份有限公司 (动物使用许可证: SCXK (辽) 2020-0001), 操作符合动物实验 3R 原则和动物实验伦理要求 (经吉林农业大学动物实验中心审批, 批准编号: 2021551)。

北柴胡 (安国市安兴中药材饮片有限公司, 批号: 210902); 白芍 (安国市安兴中药材饮片有限公司, 批号: 220303), 经吉林农业大学杨世海教授鉴定为伞形科植物柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 的干燥根、毛茛科植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的干燥根。

本试验中柴胡配方颗粒、白芍配方颗粒、柴胡-白芍药对配方颗粒、传统汤剂均为相应的同一产地、同一批次药材自制。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 处方及溶液的制备

##### 1.4.1.1 处方配伍

根据课题组前期的药理药效成分筛选<sup>[17]</sup>, 确定

最佳配伍比例为柴胡:白芍 = 1:2。

#### 1.4.1.2 样品的制备

柴胡配方颗粒:取柴胡配方颗粒 20 g(相当于原药材 50 g),精密称定,热水搅拌至溶解,定容至 200 mL,备用。

白芍配方颗粒:精密称取白芍配方颗粒 33.33 g(相当于原药材 100 g),热水搅拌至溶解,定容至 200 mL,备用。

柴胡-白芍单味配方颗粒混溶:精密称取柴胡配方颗粒 20 g(相当于原药材 50 g),白芍配方颗粒 33.33 g(相当于原药材 100 g),混合,加入适量热水溶解,定容至 200 mL,备用。

柴胡-白芍药对配方颗粒:精密称取柴胡-白芍药对配方颗粒 30 g(相当于原药材 150 g),加适量热水溶解,定容至 200 mL,备用。

传统汤剂的制备:称取柴胡饮片 50 g,白芍饮片 100 g,浸泡约 45 min,提取工艺按照前期确定的正交试验方法,即加入 8 倍量的蒸馏水,提取 3 次,每次 60 min,合并滤液,适当浓缩,定容至 200 mL,备用。

#### 1.4.2 不同制剂中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷含量变化分析

##### 1.4.2.1 色谱条件

色谱柱: COSMOSIL 5C<sub>18</sub>-MS-II 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)为流动相,体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 °C;进样量 10 μL;检测双波长(λ):230 nm(0~28 min,芍药苷和氧化芍药苷)、210 nm(28~55 min,柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d),观测波长:210 nm;梯度洗脱(0~9 min, 12% A;9~17 min, 12%→21% A;17~28 min, 21%→36% A;28~46 min, 36%→62% A;46~55 min, 62%→12% A)。

##### 1.4.2.2 对照品溶液的制备

精密称取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷对照品适量,甲醇定容,得到对照品贮备液浓度:柴胡皂苷 a 0.38 mg/mL、柴胡皂苷 d 0.384 mg/mL、芍药苷 0.31 mg/mL、氧化芍药苷 0.23 mg/mL,储存备用。

##### 1.4.2.3 供试品溶液的制备

精密吸取柴胡-白芍单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒及传统汤剂样品溶液 10 mL,5% 浓氨甲醇溶液定容至 25 mL 容量瓶中,密塞,称重,30 °C(360 W,40 kHz)超声处理 45 min,冷却至室温,补重,摇匀,经微孔滤膜(0.22 μm)过滤,即得。

##### 1.4.2.4 系统适应性试验

分别精密吸取混合对照品溶液、样品供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪,按照“1.4.2.1”项下方法进行检测,记录色谱图。

##### 1.4.2.5 方法学考察

线性关系考察:精密吸取对照品溶液 0.1、0.3、0.5、1.0、2.0 mL 于 5 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度,按“1.4.2.1”项下的色谱条件检测,横坐标为进样量(X),纵坐标为色谱峰面积(Y)做线性回归方程。

精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 10 μL,按照“1.4.2.1”项下的色谱条件连续进样 6 次测定,记录柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷峰面积的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)值。

稳定性试验:精密吸取同一份供试品溶液(传统汤剂),室温放置,分别于 0、4、8、16、20、24 h 按照“1.4.2.1”色谱条件进行检测,测得柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷的峰面积 RSD 值。

重复性试验:精密吸取同一份供试品溶液(传统汤剂),按照“1.4.2.3”项下方法平行制备 6 份,“1.4.2.1”项下色谱条件进行检测,测得柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷的含量的 RSD 值。

加样回收率试验:精密吸取已知含量的供试品溶液 6 份,分别精密加入一定含量的混合对照品溶液,按照“1.4.2.1”项下色谱条件进行检测,记录并计算。

##### 1.4.2.6 含量测定

取柴胡-白芍药对配方颗粒、柴胡-白芍单味配方颗粒混溶、传统汤剂适量,分别按照“1.4.2.3”项下制备供试品溶液各 3 份,进样检测,计算柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和的含量。

#### 1.4.3 不同制剂的抗抑郁作用研究

##### 1.4.3.1 药物配置

按照比例精密称取柴胡、白芍饮片适量(颗粒剂以饮片量计),制备方法同“1.4.1.2”项下,得不同剂型下不同浓度的浓缩液 0.54 g/mL(高剂量)、0.27 g/mL(中剂量)、0.135 g/mL(低剂量)。

##### 1.4.3.2 抑郁模型的建立及分组给药

将小鼠随机分组,每组 8 只:柴胡-白芍单味配方颗粒混溶高(H-H)、中(H-M)、低(H-L)剂量组;柴胡-白芍药对配方颗粒高(P-H)、中(P-M)、低(P-L)剂量组;传统汤剂高(T-H)、中(T-M)、低(T-L)剂量组;空白对照组(control, Con, 0.2 mL/10 g BW)、

模型对照组(model, Mod, 0.2 mL/10 g BW)、盐酸氟西汀组(fluxetine, Flu, 20 mg/kg BW),高、中、低剂量组给药剂量分别为5.40、2.70、1.35 g/kg,每天给药一次,每10 g体重灌胃0.2 mL,Con组和Mod组均灌胃同体积的生理盐水,连续给药两周,最后一次灌胃的1 h后给予H-H、H-M、H-L、P-H、P-M、P-L、T-H、T-M、T-L、Mod、Flu组一次性注射利血平溶液(4 mg/kg BW),Con组同一时间注射等量的生理盐水。在利血平拮抗试验结束24 h后,进行眼球取血和解剖。

#### 1.4.3.3 小鼠脑内5-HT、DA含量检测

根据ELISA说明书检测小鼠脑内5-HT、DA的含量,计算并绘图。

#### 1.4.3.4 小鼠血清中IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 含量检测

根据ELISA说明书检测小鼠血清中的炎症因子(IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )的含量,计算并绘图。

#### 1.4.3.5 小鼠肝组织中SOD及MDA含量检测

根据ELISA说明书检测小鼠肝组织中的SOD

和MDA含量,计算并绘图。

#### 1.4.3.6 HE染色

取肝脏组织右叶,固定,石蜡包埋,切片,脱蜡,染色,观察肝细胞受损情况。

#### 1.4.3.7 Nissl染色

取海马组织脱水,打蜡,石蜡包埋,海马体冠状切片,厚度约5  $\mu$ m,观察海马CA1区神经元的形态变化。

#### 1.4.4 数据处理

采用Microsoft Excel 2010软件进行数据统计及绘制表格,使用Graphpad prism 8.0软件绘制图表分析结果均以平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,实验数据采用One-way ANOVA分析, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 系统适应性考察

此色谱条件下,4种成分的色谱峰与相邻组分峰的分离度均大于1.5(见图1~4)。

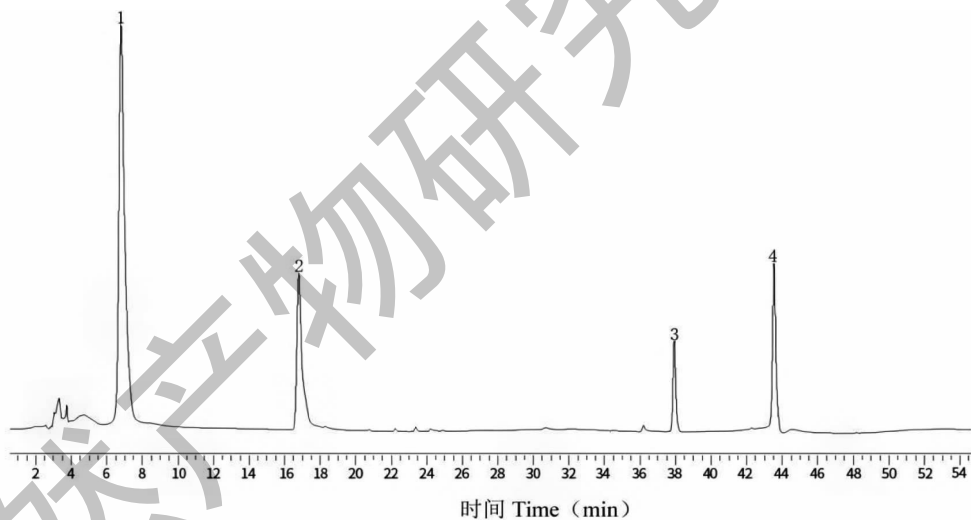


图1 混合对照品溶液的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of mixed control solution

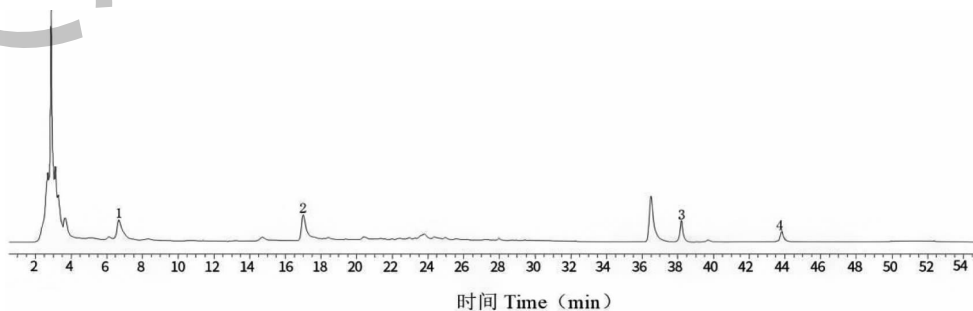


图2 柴胡-白芍单味配方颗粒混溶的HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of BR-PR single flavor formula granules mixed solution

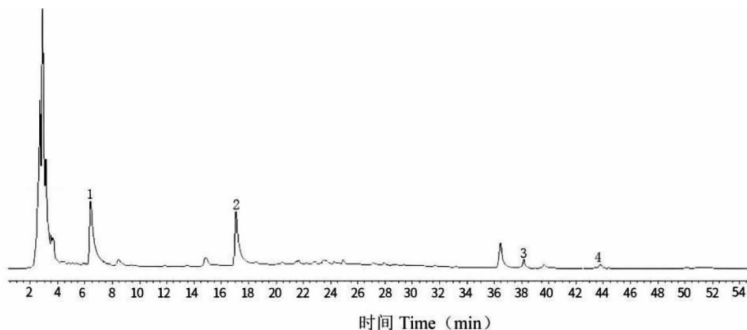


图3 柴胡-白芍药对配方颗粒的 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of BR-PR formula granule

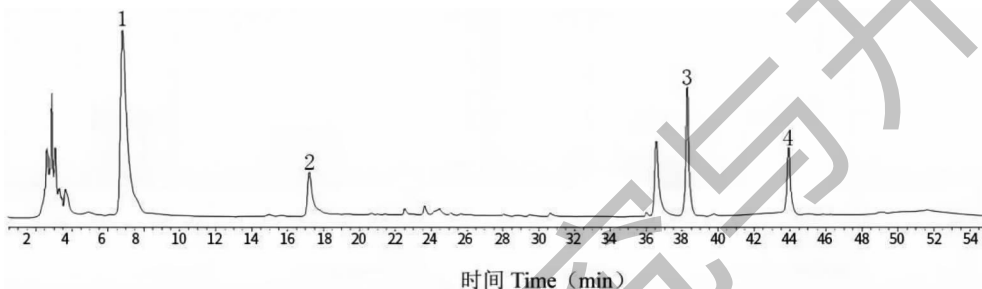


图4 柴胡-白芍传统汤剂的 HPLC 色谱图

Fig. 4 HPLC chromatogram of BR-PR traditional decoction

## 2.2 方法学考察

线性试验:线性回归结果见表1,各成分在相应的浓度范围内线性关系良好。

精密度结果显示:柴胡皂苷 a 的峰面积 RSD 值 1.2%、氧化芍药苷的峰面积 RSD 值 1.4%、柴胡皂苷 d 的峰面积 RSD 值 0.98%、芍药苷的峰面积 RSD 值 1.7%,均小于 2.0%,表明精密度良好。

稳定性结果显示:柴胡皂苷 a 的峰面积 RSD 值 0.96%、氧化芍药苷的峰面积 RSD 值 1.4%、柴胡皂苷 d 的峰面积 RSD 值 1.2%、芍药苷的峰面积 RSD 值 1.5%,均小于 2.0%,表明在 24 h 内,供试品溶

液稳定性良好。

重复性结果显示:柴胡皂苷 a 含量的峰面积 RSD 值 1.3%、柴胡皂苷 d 含量的峰面积 RSD 值 1.1%、芍药苷含量的峰面积 RSD 值 0.84%、氧化芍药苷的含量的 RSD 值 1.2%,均小于 2.0%,表明本试验重复性良好。

加样回收率:柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、氧化芍药苷平均加样回收率分别为 98.65%、98.35%、99.16%、99.21% ( $n=6$ ),RSD 值分别为 0.43%、0.57%、0.16%、0.25%。

表1 各成分线性关系

Table 1 Linear relationships of various constituents

成分 Constituent	回归方程 Regression equation	$R^2$	线性范围 Linear range( $\mu\text{g/mL}$ )
柴胡皂苷 a Saikosaponin a	$Y = 67\ 673 X + 7\ 441.5$	0.999 8	7.6 ~ 152
柴胡皂苷 d Saikosaponin d	$Y = 152\ 811 X + 13\ 417$	0.999 8	7.68 ~ 153.6
芍药苷 Paeoniflorin	$Y = 431\ 416 X + 33\ 019$	0.999 6	6.2 ~ 124
氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide	$Y = 203\ 192 X + 9\ 301.4$	0.999 5	4.6 ~ 92

## 2.3 成分含量

如表2所示,柴胡-白芍单味配方颗粒混溶较柴

胡-白芍药对配方颗粒中的柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的含量相差不大,芍药苷和氧化芍药苷含量略低;与

传统汤剂相比较,柴胡-白芍单味配方颗粒混溶和柴胡-白芍药对配方颗粒中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍

药苷和氧化芍药苷的含量均有不同程度的下降。

表 2 各制剂中 4 种成分的含量( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Content of four components in each preparation( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品 Sample	含量 Content(mg/g)			
	柴胡皂苷 a Saikosaponin a	柴胡皂苷 d Saikosaponin d	芍药苷 Paeoniflorin	氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide
柴胡-白芍单味配方颗粒混溶 BR-PR single flavor formula granules mixed solution	1.656 8 ± 0.006 1	1.538 6 ± 0.009 2	2.550 3 ± 0.222 1	2.060 9 ± 0.033 7
柴胡-白芍药对配方颗粒 BR-PR formula granules	1.788 9 ± 0.008 1	1.680 0 ± 0.088 5	3.180 0 ± 0.183 0	2.674 5 ± 0.031 4
传统汤剂 Traditional decoction	2.550 3 ± 0.222 1	2.181 7 ± 0.158 9	4.105 0 ± 0.297 6	3.291 5 ± 0.012 2

### 2.4 不同剂型对小鼠脑内 5-HT、DA 的影响

如图 5 所示,与 Con 组相比,Mod 组小鼠中的 5-HT、DA 含量均有明显的降低( $P < 0.01$ ),可见,利

血平诱导的急性抑郁模型建立成功。与 Mod 组相比,Flu 组和各给药组均可增加小鼠脑内 5-HT、DA 含量( $P < 0.01, P < 0.05$ )。

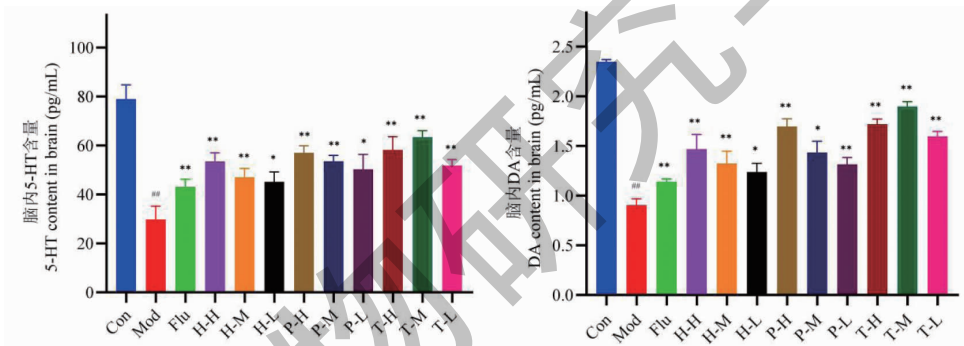


图 5 不同剂型对抑郁症小鼠脑内 5-HT、DA 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 5 Effects of different dosage forms on 5-HT and DA in brain of depressed mice( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

注:与 Con 相比, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ;与 Mod 相比, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ;下同, Note: Compared with Con, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ; Compared with Mod, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , the same below.

### 2.5 不同剂型对小鼠血清中 IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 的影响

如图 6 所示,与 Con 组相较,Mod 组小鼠血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的含量显著升高( $P < 0.01$ ),抗炎因子 IL-10 的含量明显降低( $P < 0.01$ ),说明利血平诱导抑郁小鼠出现了免疫炎症反应。相较于 Mod 组,Flu 和各给药组均能降低 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的表达水平( $P < 0.05, P < 0.01$ ),Flu、T-H 和 P-H 组 IL-10 含量明显升高( $P < 0.01$ )。

### 2.6 不同剂型对小鼠肝脏中 SOD 和 MDA 含量的影响

如图 7 所示,与 Con 组相比较,Mod 组表现为 SOD 活性明显下降,MDA 含量明显升高( $P <$

0.01);与 Mod 组比较,除 H-L 组对 SOD 酶活性改善不明显,其他各给药组 SOD 显著升高,MDA 水平明显下降( $P < 0.05, P < 0.01$ )。

### 2.7 HE 染色结果

如图 8 所示,Con 组的肝细胞形态完整,Mod 组细胞结构发生了改变,Flu 组形态基本恢复正常;虽 P-M 组肝脏形态发生了改变,H-H 组内浸润了炎症因子,但二者都有较清晰的细胞边缘;T-H、T-M、T-L、P-H 组能有效地缓解利血平所致的急性抑郁症。

### 2.8 Nissl 染色结果

如图 9 所示,Mod 组小鼠神经元细胞排列松散,较紊乱;Flu 和各制剂组给药后,细胞基本恢复到正常形态,排列相对整齐;证明柴胡-白芍药对可显著

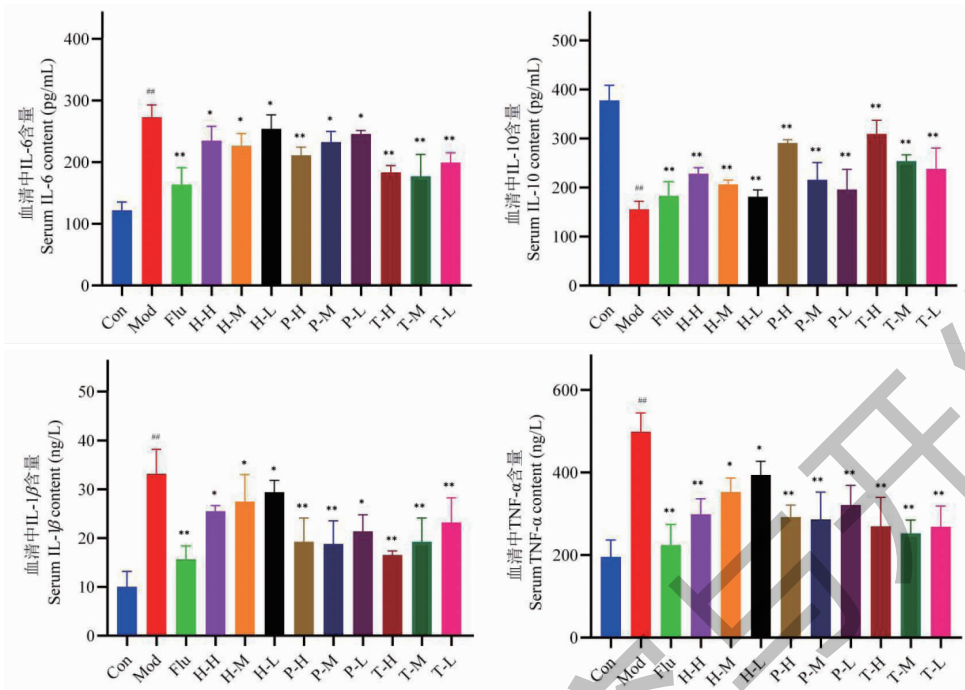


图6 不同剂型对抑郁症小鼠血清中 IL-6、IL-10、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 6 Effects of different dosage forms on IL-6, IL-10, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in serum of depressed mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

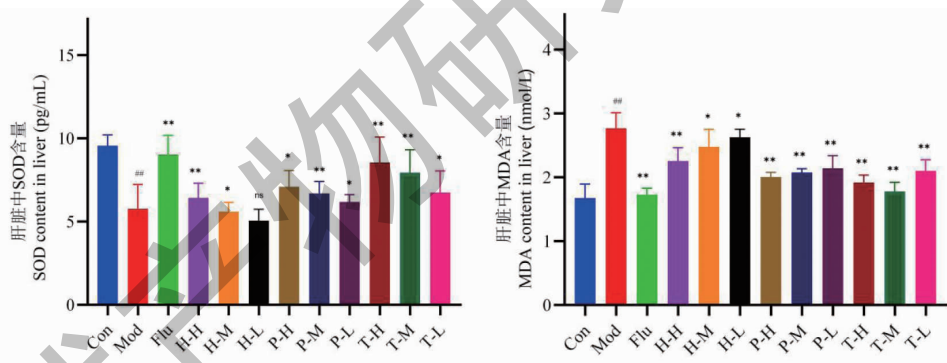


图7 不同剂型对抑郁症小鼠肝脏中 SOD、MDA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Fig. 7 Effects of different dosage forms on SOD and MDA in liver of depressed mice ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

改善抑郁小鼠的神经元损伤。

### 3 讨论与结论

本研究采用 HPLC 法同时测定柴胡-白芍药对中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷 4 种指标性成分含量的方法,考察了柴胡-白芍药单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒及传统汤剂间有效成分含量的差异。柴胡皂苷 a 可以通过增加抑郁模型大鼠脑内单胺类神经递质含量,激活 p-CREB/BDNF 通路,并抑制海马神经元凋亡发挥抗抑郁作用<sup>[18]</sup>。张云<sup>[19]</sup>等对脂多糖诱导的抑郁大鼠给予柴胡皂苷 d,发现柴胡皂苷 d 不仅可以改善大

鼠的抑郁行为,还可以逆转海马组织中炎症因子异常表达。研究发现<sup>[20]</sup>,芍药总苷可以发挥抗抑郁作用,是通过调节海马组织中的谷氨酸及其受体表达。本试验结果显示,在柴胡-白芍药单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒与传统汤剂中均能检测出以上成分,柴胡-白芍药单味配方颗粒混溶中的皂苷含量较低,不同制剂中芍药苷和氧化芍药苷含量略高于柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d,分析可能因为芍药苷和氧化芍药苷为水溶性成分,易于从水中提取,所以二者含量略高<sup>[21]</sup>;柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的结构中含有不稳定结构即氧醚环,受热易分解开裂,分别



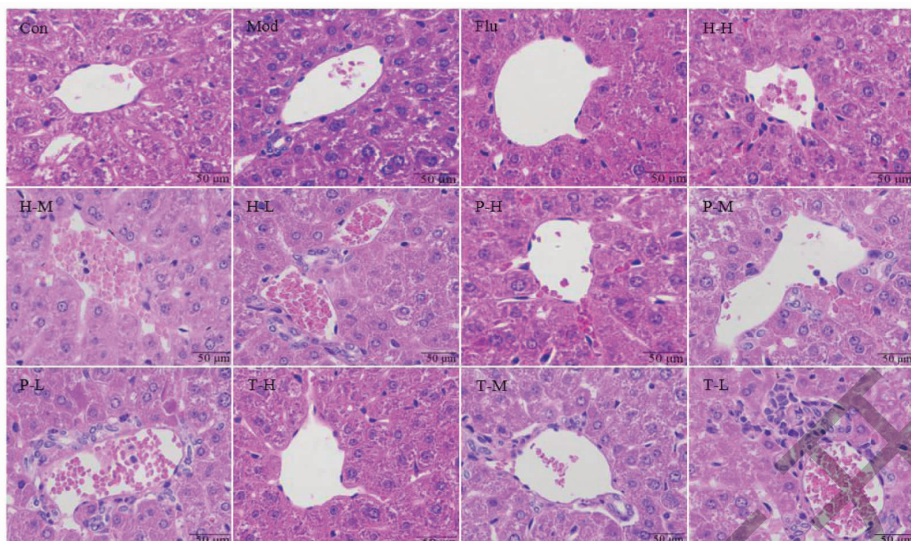


图 8 抑郁症小鼠肝组织 HE 染色结果(400 ×)

Fig. 8 HE staining results of liver tissue in depressed mice (400 ×)

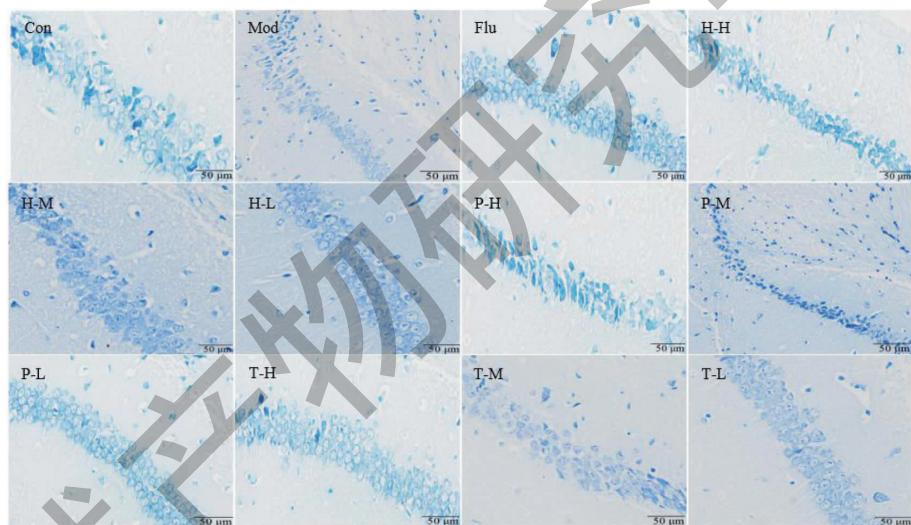


图 9 抑郁症小鼠海马 CA1 区 Nissl 染色结果(400 ×)

Fig. 9 Nissl staining results of hippocampus CA1 region in depressed mice (400 ×)

生成次生皂苷  $b_1$  和  $b_2$ <sup>[22]</sup>。同时,同一批次柴胡-白芍单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒及传统汤剂之间含量也发生了变化,考虑到汤剂受煎煮时间、加水量、火候控制且配方颗粒在湿法制粒过程中受到人为及机器等等一系列因素的影响导致有效成分溶出存在差异。

5-HT、DA 均是抑郁症单胺类神经递质机制中重要组成部分,它们浓度的降低是抑郁症发病的经典学说之一,因而可以通过增加脑内单胺类神经递质的含量达到治疗目的。TNF- $\alpha$  是肝脏中重要的炎症因子,IL-6 是参与机体免疫应答的炎症因子,IL-

1 $\beta$  也可预示着炎症的发生,抑郁症患者改善症状的同时,血清炎症因子的表达水平也随之下降。抑郁症的发生,氧化应激也是关键,抑郁症患者血浆中 MDA 水平显著升高,SOD 水平显著降低<sup>[23]</sup>,这也与本研究结果一致。本研究结果表明,柴胡-白芍单味配方颗粒混溶、柴胡-白芍药对配方颗粒及传统汤剂均可显著提高小鼠脑内 5-HT、DA 含量( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),这也可能是柴胡与白芍配伍抗抑郁的作用机制之一;各给药组均可使血清中促炎因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),抗炎因子 IL-10 水平升高( $P < 0.01$ );肝组织中 MDA 含



量显著下降 ( $P < 0.01$ ), SOD 活性显著上升 ( $P < 0.01$ ), 且柴胡-白芍药对配方颗粒和传统汤剂组效果优于柴胡-白芍单味配方颗粒混溶组, 推断可能因为柴胡-白芍药对配方颗粒和传统汤剂中有效成分含量高于柴胡-白芍单味配方颗粒混溶。

本研究探讨了柴胡-白芍药对合煎与单煎合并中主要成分含量的变化及对抗抑郁的作用效果, 这也将为中药新剂型的开发、筛选治疗抑郁症的新药及柴胡配伍白芍更深层次的资源开发奠定理论基础。

## 参考文献

- Chen L. Studies on the mechanisms for hepatotoxicity of Saikosaponin D in L02 cells[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine(南京中医药大学), 2014.
- Cui Z, Shen GH. Protective effect of saikosaponin B2 on HepG2 cells damaged by carbon tetrachloride[J]. Guid Chin Med(中国医药指南), 2014, 12: 82-83.
- You M, Li RF, Gao ZH, et al. Effects of Saikosaponin b2 on inflammation and energy metabolism in mice with acute liver injury induced by LPS/GaIN[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44: 2966-2971.
- Wang LN, Wang W, Xu C, et al. Comparative study on anti-inflammatory effects of *Bupleurum vinegar* before and after preparation[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2013, 35: 1079-1081.
- Li SL, Li G, Liang YX, et al. Research progress on the history, chemical composition and pharmacological action of paeony processing[J]. Med Diet Health(医学食疗与健康), 2020, 18: 193-194.
- Zhang TT, Ju Z, Ji YS, et al. Research progress on chemical constituents and analytical methods of Radix Paeoniae Alba[J]. Guangzhou Chem Ind(广州化工), 2020, 48: 20-21.
- Shibata S, Aimi N, Watanabe M. Paeoniflorin, a monoterpene glucoside of Chinese paeony root[J]. Tetrahed Lett, 1964, 5: 1991-1995.
- Cui H, Zhu JQ, Feng QF, et al. Research progress on chemical constituents and biological activities of Paeoniae Radix Alba[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2017, 29: 1-5.
- Kim S H, Lee M K, Lee K Y, et al. Chemical constituents isolated from *Paeonia lactiflora* roots and their neuroprotective activity against oxidative stress *in vitro*[J]. J Enzym Inhibit Med Chem, 2009, 24: 1138-1140.
- Wu L, Wang LL, Fei WT, et al. Analgesic effect of paeoniflorin and albiflorin on acetic acid induced writhing mice and the expression of  $\beta$ -EP and PGE2[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2018, 33: 915-918.
- Wang HC, Zhang W, Li TJ, et al. Comparison of paeoniflorin content in different processed products of Radix Paeoniae Alba and its analgesic effect[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2018, 39: 672-674.
- Huang Z, Wei Y, Wang Z, et al. Effects of total glucosides paeony on TLR4 and JNK protein expression in inflammatory pathway of NAFLD rats[J]. J Hunan Nor University: Med Sci(湖南师范大学学报:医学版), 2018, 15: 23-27.
- Gao SL, Hu ZT, Dong LY, et al. Clinical efficacy and mechanism of total glucosides from white paeony for radioactive liver damage[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42: 1390-1394.
- Liu F. Study on the protective effect of *Dicliptera chinensis* polysaccharide on rats liver induced by alcohol[J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2015, 31: 100-102.
- Duan WJ, Li Y, Yang GH, et al. Effect of Radix Paeoniae Alba on angiogenesis and antithrombosis in zebrafish[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2018, 29: 834-837.
- He N, Hou Y, Bai H, et al. Study on the anti-depression and anti-inflammation of Radix Paeoniae Alba extract[J]. Wor J Integr Tradit West Med(世界中西医结合杂志), 2018, 13: 348-352.
- Li Y. Changes of effective components of *Bupleurum vinegar* and paeony before and after moxibustion and differences in antidepressant effects[D]. Changchun: Jilin Agricultural University(吉林农业大学), 2022.
- Ren L, Shao YT, Qin SH, et al. Study on target identification and effect of saponin A on depressive disorder[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2024, 36: 44-51.
- Zhang Y, Gao B, Xu HJ. Saikosaponin D regulates neuroinflammation and exerts antidepressant effect through PI3K/AKT/FoxO1 pathway[J]. Pract Pharm Clin Remed(实用药物与临床), 2021, 24: 395-399.
- Li W, Wang JX, Ge Y, et al. Effects of paeoniflorin on expression of Glu and different glutamate receptors in hippocampus of rats with syndrome of stagnation of liver qi and blood deficiency[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2016, 31: 1241-1244.
- Yuan TT, Wang L, Tang YN, et al. Research progress of paeoniflorin's hepatoprotective pharmacological action and new dosage forms[J]. J Pharm Res(药学研究), 2022, 41: 808-814.
- Li J, Jiang H, Zhang YP, et al. Differences study of dissolving behavior and structure transformation of saikosaponin a and d in the decoction of Radix Bupleuri[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2014, 49: 1692-1696.
- Lu XM, Qi C, Zheng J, et al. Antidepressant effect of sunflower seed protein on chronic unpredictable mild stress induced depressive mice[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 1205-1212.