

应用基于 $[^1\text{H}]$ NMR 的代谢组学评价逍遥散的抗抑郁有效组分

芦林林^{1,2}, 周玉枝¹, 马致洁^{1,2}, 武 滨³, 秦雪梅¹

(山西大学 1. 中医药现代研究中心, 2. 化学化工学院, 山西 太原 030006; 3. 山西医药集团公司, 山西 太原 030012)

摘要: 目的 以基于 $[^1\text{H}]$ 核磁共振(NMR)的代谢组学技术对慢性温和不可预知应激模型(CUMS)及逍遥散 5 个不同极性组分干预后的大鼠血浆进行代谢组学研究, 分析干预后大鼠血浆中小分子代谢物的变化以确定逍遥散抗抑郁作用的有效组分。方法 42 只 SD 成年雄性健康大鼠, 分别 ig 给予石油醚萃取组分(XY-A)、30% 乙醇提取组分(XY-B)、60% 乙醇提取组分(XY-C)、95% 乙醇提取组分(XY-D)和药渣水提组分(XY-E), 每天 1 次, 连续 21 d, 每天 ig 给药 30 min 后用夹尾等刺激建立慢性温和不可预知应激模型, 每日 1 种, 持续 21 d。造模 21 d 后于大鼠麻醉后于股动脉取血, 用 NMR 波谱仪检测小分子代谢物代谢轮廓, 对所得到的图进行分段积分并归一化, 然后用 SIMCA-P 软件进行分析。结果 正常对照组与模型组沿第一主成分能够明显分开, 与其它组分相比, XY-A 组与模型组能够明显分开, 且离正常对照组最近。与正常对照组相比, 模型组亮氨酸/异亮氨酸、缬氨酸和 3-羟基丁酸等含量明显下降; 丙氨酸、胆碱、糖类明显上升。与模型组相比, XY-A 组亮氨酸、缬氨酸和 3-羟基丁酸等有不同程度的回调。结合载荷图, 发现 10 种引起正常对照组与模型组分开的差异代谢物。与模型组相比, 这些代谢物在 XY-A 组大部分有不同程度的回调。结论 经过基于 $[^1\text{H}]$ NMR 的代谢组学技术研究表明, 石油醚组分是逍遥散起抗抑郁作用的有效组分。

关键词: 核磁共振; 代谢组学; 逍遥散; 抗抑郁药

中图分类号: R964 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2012)02-0225-06

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2012.02.018

抑郁症是以显著而持久的情绪低落、活动能力减退、思维与认知功能迟缓为主要临床特征的情感性精神障碍^[1]。世界卫生组织预测到 2020 年抑郁障碍将成为发展中国家最严重的疾病。逍遥散方, 出自于宋代《太平惠民和剂局方》, 由柴胡、当归、白芍、白术、茯苓、生姜、薄荷和甘草共 8 味药组成, 具有疏肝解郁之功效。现代临床应用及实验研究均显示该方有确切的预防和治疗抑郁症的作用^[2], 但是此复方产生抗抑郁作用的有效组分并不确定。

代谢组学是研究机体代谢产物谱变化的一种新的系统方法, 可通过揭示新陈代谢动态进程中代谢产物的变化规律, 全面理解病理变化过程及机体内物质的代谢途径^[3]。它一般借助高通量、高灵敏度与高精度的现代分析技术, 分析细胞、组织和其它生物样本中内源性代谢物整体组成并通过其复杂

的、动态的变化来辨识和解析被研究对象的生理病理状态^[4]。目前, 基于 $[^1\text{H}]$ 核磁共振(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)的代谢组学技术已经成为一种强有力的工具, 被广泛的应用于基础生物学、分子病理学、临床诊断、生物医药和环境科学等各种不同的领域^[5]。

目前, 逍遥散复方抗抑郁作用研究较多^[2,6-7], 但是对于逍遥散抗抑郁有效组分的研究还未见报道。本课题组前期通过小鼠悬尾及强迫游泳实验及大鼠慢性温和不可预知应激(chronic unpredictable mild stress, CUMS)模型行为学得出石油醚组分是逍遥散抗抑郁作用有效组分^[8]。本研究建立大鼠 CUMS 模型, 采用基于 NMR 的代谢组学系统生物学方法对大鼠血液代谢物的变化进行测定分析, 通过评价 5 个不同极性组分的抗抑郁作用以确定逍遥散抗抑郁作用的有效组分, 为进一步阐明逍遥散抗抑郁作用的药效物质基础提供重要的基础信息。

1 材料与方法

1.1 药材及提取鉴定

逍遥散复方药材(柴胡、当归、白芍、白术、茯

基金项目: 国家自然科学基金(30901960); 国家自然科学基金(30772759)

作者简介: 芦林林(1985-), 女, 硕士研究生, 主要从事代谢组学研究; 秦雪梅(1964-), 女, 教授, 博士, 主要从事中药质量标准及代谢组学研究。

通讯作者: 秦雪梅, E-mail: qinxm@sxu.edu.cn, Tel: (0351)7011202

苓、生姜、薄荷、甘草)均购自山西省华阳药业。

称取按比例混合的逍遥散复方药材(柴胡:当归:白芍:白术:茯苓:生姜:薄荷:甘草 = 6:6:6:6:2:2:3)大约 3 kg,加无水乙醇 20 L 加热回流提取 2 次(每次 2 h),合并提取液,过滤,滤液浓缩至浸膏,得醇提物;醇提物溶解于 1 L 水中,加等体积石油醚萃取,得石油醚组分(XY-A)15.65 g;水组分过 D101 大孔吸附树脂柱,依次用 30%, 60% 和 95% 乙醇洗脱,得 30%, 60% 和 95% 乙醇组分 XY-B (60 g), XY-C (11.74 g) 和 XY-D (15 g)。将复方乙醇提取后的药渣加水 24 L 回流提取 2 次(每次 2 h),合并提取液,过滤,滤液浓缩至浸膏,置真空干燥箱中烘干,得组分 XY-E (160 g)。各组分的提取、分离流程图如图 1 所示。

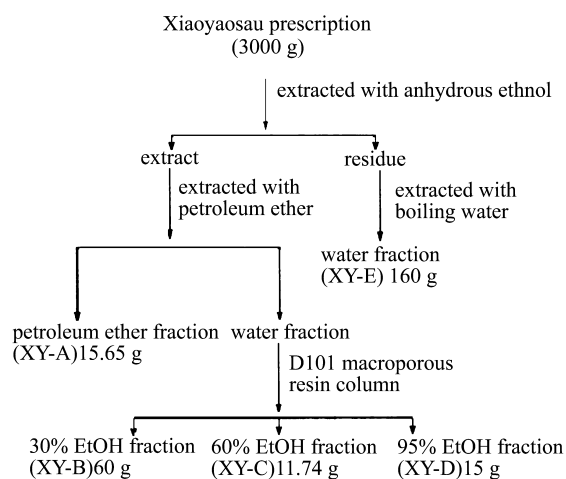


Fig. 1 Flow diagram of fractionation of the Xiaoyaosan prescription.

1.2 试剂与仪器

D₂O 购自美国默克试剂公司, Varian NMR System 600MHz 超导 NMR 谱仪为美国瓦立安公司产品。

1.3 动物

SD 成年雄性健康大鼠, 体质量 180 ~ 200 g, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号: SCXK-(军)2007-004。动物先适应性饲养 1 周, 保证自由摄食饮水, 光照 12 h/黑暗 12 h, 室温 22 ~ 24℃, 相对湿度 35% ~ 55%。

1.4 动物分组与给药

药物均溶于 0.5% 吐温 80 (W/V) 1% CMC-Na 溶液中。适应 1 周后, 将大鼠随机分为正常对照组; 模型组; XY-A 0.24 g·kg⁻¹ 组; XY-B 0.92 g·kg⁻¹ 组; XY-C 0.18 g·kg⁻¹ 组; XY-D 0.23 g·kg⁻¹ 和 XY-E 2.44 g·kg⁻¹, 每组 6 只。

除正常对照组外, 其余各组均单笼饲养并实施造模程序, 造模时间为 21 d。造模开始后同时 ig 给

药, 模型组及正常对照组给予等体积溶剂, 每天 1 次, 连续 3 周。

XY-A — XY-E 组分的剂量根据本课题组前期研究^[7]得到的逍遥散有效剂量和提取物出膏率计算得到有效剂量[46 g(生药材)·kg⁻¹, 出膏率: XY-A 为 0.52%, XY-B 为 2.0%, XY-C 为 0.39%, XY-D 为 0.5%, XY-E 为 5.32%]。

1.5 慢性温和不可预知应激模型的建立

除正常对照组外, 其余组均在每天 ig 给予药物 30 min 后随机给予应激刺激, 每日 1 种, 持续 21 d。参照文献[9]方法并加以改进, 刺激因素包括夹尾 1 min、禁水(24 h)、电击足底、陌生物品(如塑料杯、木勺、碎布片等)、禁食 24 h、4℃ 冰水游泳 5 min、潮湿垫料和倾斜 45°、束缚应激 4 h、45℃ 热应激 5 min 和噪音刺激(60 Hz, 1 h)等。

1.6 血浆样品采集

实验第 22 天大鼠股动脉取血, 置于肝素钠抗凝管中, 摇匀。4℃ 3400 × g 离心 5 min 取上清液, 4℃ 再次 13600 × g 离心 5 min, 取上清液, 保存于 -80℃ 冰箱, 待分析。

1.7 [¹H] 核磁共振代谢组学分析

1.7.1 血浆样品预处理

冰水混合溶液解冻血浆样品, 取血浆 250 μl 于抗凝管中, 加入 350 μl D₂O(锁场作用), 4℃ 时 14 500 × g 离心 20 min, 取上清液 500 μl 于内径 5 mm 的核磁管中。

1.7.2 [¹H] 核磁共振波谱

不同的核磁序列可对血浆中不同代谢物进行测定; NOESY 序列压制水峰的同时可检测血浆中全部代谢物; Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 序列可以压制水峰和大分子物质的信号, 从而检测血浆中的小分子代谢物; 扩散编辑序列(LED-BPP 序列)则可以去掉小分子代谢物, 测定血浆大分子代谢物。本实验采用 CPMG 序列对血浆中小分子代谢物进行分析测定, 具体参数设置如下: CPMG 脉冲序列: 自旋弛豫延迟为 320 ms, 自由感应衰减为 64 K 数据点, 谱宽为 8000 Hz, 扫描次数: 64 次。

1.8 多元统计分析

1.8.1 [¹H] NMR 数据处理

采用 MestReNova 核磁图谱专业处理软件对所有 NMR 图谱进行傅立叶转换并进行相位、基线调整。在 CPMG 图谱中, 以肌酸的化学位移(δ)3.04 为标准对图谱进行化学位移的校正。以 0.01 ppm 为单位, 对 δ 0.5 ~ 4.5 区域的图谱进行等宽度分割; 然后对所得图谱进行分段积分, 即得到与化学位移值段相对

应的积分值。采用归一化法,将数据归一化处理,使数据集中在 0~1 范围内,用于多变量统计分析。

1.8.2 统计学分析

应用 SIMCA-P11.0 软件将积分数据进行中心化和规格化后,进行模式识别分析。模式识别包括非监督模式识别和有监督模式识别。有监督模式识别分析即在样品分类的基础上进行模式识别,使各类样品间达到最大的分离,并利用建立的模型对未知的样本进行预测。应用于该领域的主要有偏最小二乘法-显著性分析 (PLS-discriminant analysis, PLS-DA), 正交偏最小二乘法-显著性分析 (orthogonal partial least squares-linear discrimination analysis, OPLS-DA) 等^[10]。本实验采用的是 PLS-DA 模式识别分析,在 PLS-DA 分析前,采用信号校正的方法 (orthogonal signal correction, OSC) 以移除不相关因素变化的影响。

2 结果

2.1 ¹H NMR 图谱的指认

图 2 中所示,正常对照组、模型组及 XY-A~XY-E 组大鼠血浆中小分子代谢物的 CPMG 谱。经参考文献[11-14]方法,共指认了其中的 14 种代谢物。其中,1.2 ppm 处的三重峰与 4.1 ppm 处的多重峰来自于麻醉剂乌拉坦,在进行数据统计分析时排除后再进行归一化处理。

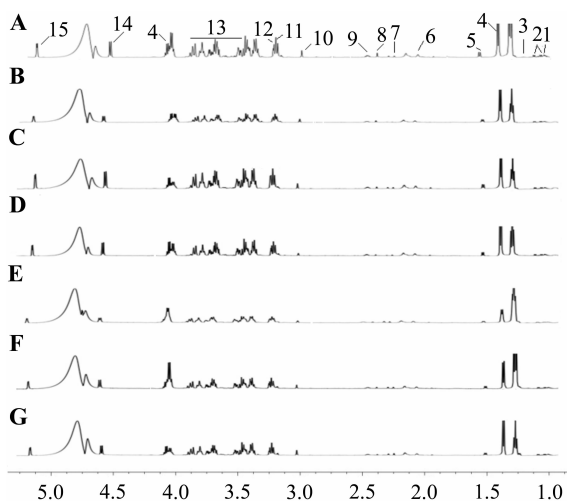


Fig. 2 Typical Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) spectra in plasmas of rats. A: control; B: model; C: XY-A; D: XY-B; E: XY-C; F: XY-D; G: XY-E. Peak 1: Leucine/Isoleucine; peak 2: Valine; peak 3: β -HB; peak 4: Lactate; peak 5: alanine; peak 6: N-acetyl glycoprotein; peak 7: acetoacetic acid; peak 8: pyruvate; peak 9: glutamic acid; peak 10: creatine; peak 11: choline; peak 12: Trimethylamine N-oxide (TMAO); peak 13: glucose; peak 14: β -glucose; peak 15: α -glucose.

2.2 代谢组学 OSC-PLS 模式分析逍遥散不同组分对代谢谱图的影响

为了从 [¹H] NMR 复杂的数据中观察到微小的、重要的变化,进一步确定逍遥散不同组分的抗抑郁作用,采用了 OSC-PLS 模式识别方法对小分子代谢物所得的数据进行了分析。

由图 3A~E 可见,正常对照组和模型组能够分开,说明造模可以对动物的代谢谱产生影响。图 3A 表明 XY-A 组分组沿第一主成分与模型组明显分开,与正常对照组非常接近。而图 3B~E 虽然显示模型组与正常对照组能够分开,但其余各组分均与模型组非常接近,离正常对照组较远,说明这 4 个组分组小分子代谢轮廓与模型组没有差异。说明 XY-A 组分组使血浆中生物标志物发生了一定的改变,与模型组代谢物代谢轮廓有较大的不同。

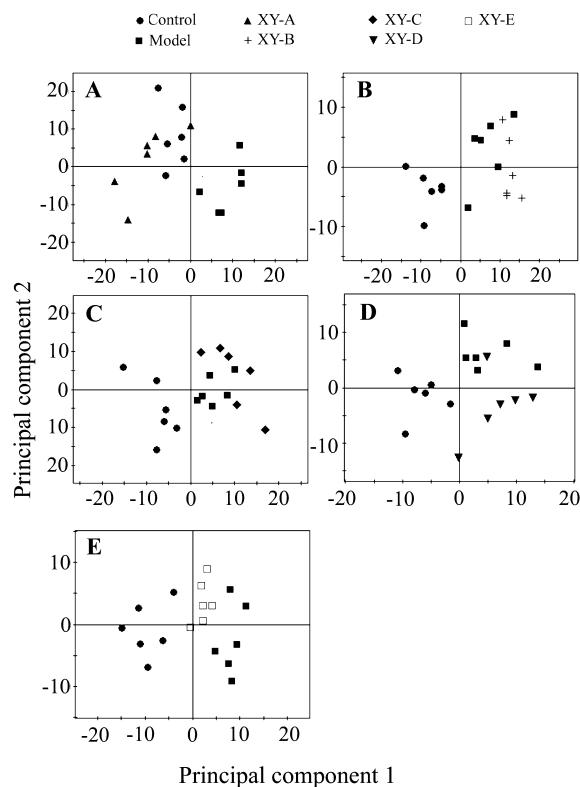


Fig. 3 Effect of different fractions on small metabolites in plasmas of rats by OSC-PLS score plots analysis. A: XY-A group; B: XY-B group; C: XY-C group; D: XY-D group; E: XY-E group. *n* = 6.

2.3 代谢组学 PLS-DA 模式分析 CUMS 模型对大鼠产生的可能差异代谢物

如图 4A 所示,正常对照组与模型组能够明显分开,说明造模可以对动物的代谢谱产生影响,而导致这种空间位置不同的原因则反映在相对应的 Loading 图(图 4B)中。离原点较远的那些点对模型

组和正常对照组的分离具有较大的贡献。根据 VIP 统计学的准则,当这些变量的 VIP > 1 时,并结合独立样本 *t* 检验方法, $P < 0.05$ 可以被认为是潜在的生物标志物。采用上述方法,结果显示,与正常对照组大鼠相比, CUMS 模型能引起大鼠血浆中乳酸 ($\delta 1.33 \sim 1.35$, $\delta 4.11 \sim 4.14$)、丙酮酸 ($\delta 2.38$)、氧化三甲胺 ($\delta 3.27$)、肌酸 ($\delta 3.05$)、3-羟基丁酸 ($\delta 1.13$)、缬氨酸 ($\delta 0.99$) 和亮氨酸/异亮氨酸 ($\delta 0.93$) 等含量的降低,而糖类 ($\delta 3.40 - 4.00$)、胆碱 ($\delta 3.23$)、丙氨酸 ($\delta 1.47$) 等含量上升。

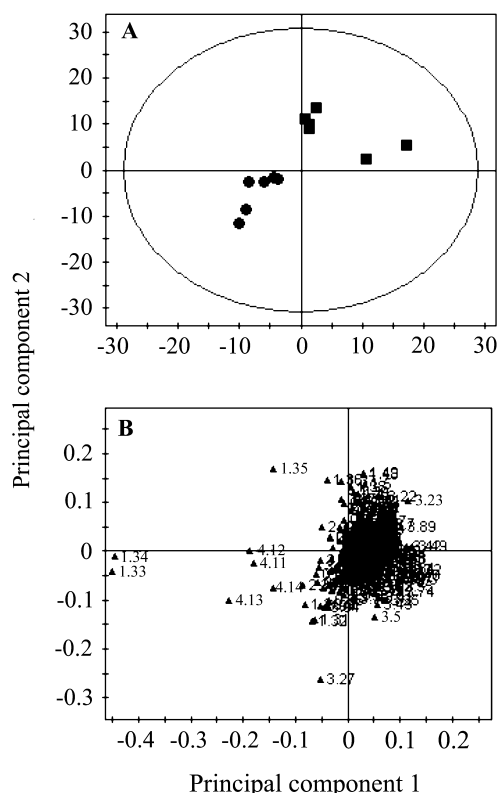


Fig. 4 Score plot (A) and loading plot (B) in normal control and model groups by PLS-DA analysis. A: ● normal; ■ model.

2.4 XY-A 组分对部分差异性代谢物的调节作用

如图 5A 所示, XY-A 组与模型组能够明显分开, 说明 XY-A 组与模型组代谢轮廓是不同的。从对应的 Loading 图(图 5B)中, 可以得到, 服用 XY-A 组分后可使大鼠血浆中丙酮酸 ($\delta 2.38$)、氧化三甲胺 ($\delta 3.27$)、肌酸 ($\delta 3.04$)、3-羟基丁酸 ($\delta 1.13$) 和亮氨酸/异亮氨酸 ($\delta 0.93$) 等含量的升高, 而糖类 ($\delta 3.40 \sim 4.00$)、胆碱 ($\delta 3.23$) 和丙氨酸 ($\delta 1.47$) 等含量降低。

模型组及 XY-A 组分组的潜在生物标志物及变化情况如表 1 所示。

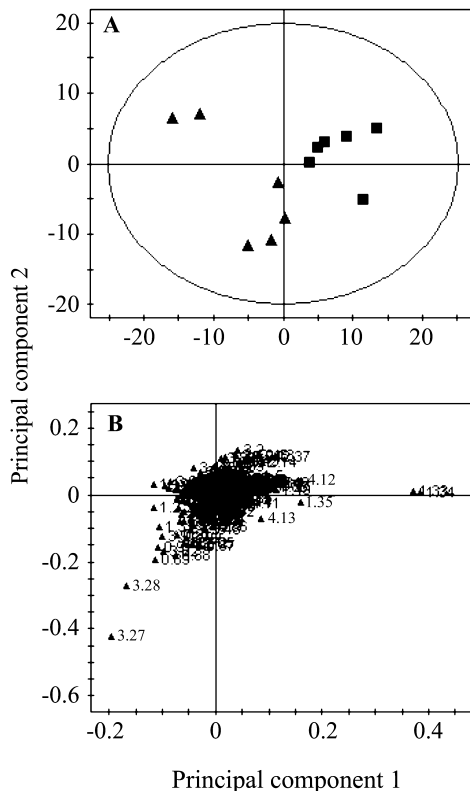


Fig. 5 Score plot (A) and loading plot (B) in XY-A and MS groups by PLS-DA analysis. A: ▲ XY-A group; ■ model group. $n = 6$.

Tab. 1 Possible potential biomarkers in model and XY-A groups

δ	potential biomarkers	Alteration	
		in model group	in XY-A group
0.93	Leucine/Isoleucine	↓	↑
0.99	Valine	↓	↓
1.13	β -HB	↓	↑
1.33 - 1.35, 4.11 -	Lactate	↓	↓
4.14	alanine	↑	↓
2.38	pyruvate	↓	↑
3.04	creatine	↓	↑
3.23	choline	↑	↓
3.27	TMAO	↓	↑
3.40 - 4.00	glucose	↑	↓

Alteration in model group, compared with normal control group; and alteration in XY-A group, compared with model group.

3 讨论

CUMS 模型是综合了慢性应激和孤养两种经典模型相结合的建模方法, 制作慢性轻度不可预见性的应激抑郁模型, 其理论依据与人类抑郁症中慢性、低水平的应激源导致抑郁症的发生并加速抑郁症发展的机理更接近。

采用 NMR 的代谢组学方法,发现给药 21 d 后,与其他组大鼠相比,XY-A 组与正常对照组最为接近,说明 XY-A 组可以使血浆中的生物标志物发生一定的改变,与模型组代谢轮廓不同,结合前期行为学结果^[8],表明与其他组大鼠相比,XY-A 组有明显的抗抑郁作用。有报道,越鞠丸的石油醚组分^[15]以及半夏厚朴汤的亲脂性组分^[16]都有明显的抗抑郁作用,这与研究结果是一致的。说明在这些抗抑郁复方中,低极性成分发挥着重要的作用。

本文研究还表明:CUMS 大鼠部分代谢物的改变引起了机体内部分代谢途径的改变。如氧化三甲胺在 CUMS 大鼠血浆中是降低的,但是有报道^[17]显示当给予基因自由大鼠一个正常的环境后,大鼠体内会建立一个相对稳定的肠道菌群落,大鼠尿液中 TMAO 的含量会增加,说明本实验中各种刺激的干扰,影响了大鼠肠道的菌群。

亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸等支链氨基酸在 CUMS 模型组大鼠血浆中均显示降低的趋势。有研究^[18]表明支链氨基酸与神经递质 5-羟色胺(5-HT)的含量有着密切的关系。5-HT 的含量和中枢疲劳有关^[19],而血浆中支链氨基酸含量的降低可能表明大脑 5-HT 的释放发生了紊乱。

能量不足或者疲劳是抑郁症患者的典型特征之一。肌酸-磷酸肌酸系统是细胞能量转换的关键,肌酸含量的降低及三羧酸循环中间产物 3-羟基丁酸的下降,表明 CUMS 影响了机体的能量代谢^[20]。

胆碱在神经传递中发挥着重要的作用。抑郁大鼠血浆中胆碱浓度的增加表明 CUMS 引起了大鼠血浆中与脂蛋白、磷脂等相关的代谢功能发生了障碍,这与文献的报道是一致的^[21]。

本研究表明 XY-A 组分对于这些代谢物的改变起到了一定的作用,进一步确定了 XY-A 组分是逍遥散中有效的抗抑郁组分。但是,因为逍遥散中的成分是非常复杂的,所以还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Tong XX, Tong ET. The history and development of antidepressants[J]. *Herald of Medicine* (医药导报), 2009, **28**(2):135-139.
- [2] Cui J, Zheng XY, Gao XX, Qin XM. Optimal dose for anti-depression effect of Xiaoyaosan[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2010, **16**(13):194-198.
- [3] Nicholson JK, Lindon JC. Systems biology: Metabonomics[J]. *Nature*, 2008, **455**(7216):1054-1056.
- [4] Jia W, Liu P, Jiang J, Chen MJ, Zhao LP, Zhou MM, *et al.* Application of metabonomics in complicated theory system research of traditional Chinese medicine[J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2006, **31**(8):621-624.
- [5] Feng Y, Zhang X, Liu ML. Dynamic changes of regional metabolic profiles in chick embryo brain during development studied by an NMR-based metabonomic approach[J]. *Chin J Magn Reson* (波谱学杂志), 2009, **26**(1):27-36.
- [6] Xiong JY, Zeng N, Zhang CY, Yang J, Liu XS. Studies on the anti-depression effect of Xiaoyao Powder in mice[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2007, **23**(1):3-5.
- [7] Dai Y, Li Z, Xue L, Dou C, Zhou Y, Zhang L, *et al.* Metabolomics study on the anti-depression effect of Xiaoyaosan on rat model of chronic unpredictable mild stress[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, **128**(2):482-489.
- [8] Zhou Y, Lu L, Li Z, Gao X, Tian J, Zhang L, *et al.* Antidepressant-like effects of the fractions of Xiaoyaosan on rat model of chronic unpredictable mild stress[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, **137**(1):236-244.
- [9] Harro J, Häidkind R, Harro M, Modiri AR, Gillberg PG, Pähkla R, *et al.* Chronic mild unpredictable stress after noradrenergic denervation: attenuation of behavioural and biochemical effects of DSP-4 treatment[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1999, **10**(1):5-16.
- [10] Wang Y, Tang H, Nicholson JK, Hylands PJ, Sampson J, Whitcombe I, *et al.* Metabolomic strategy for the classification and quality control of phytochemistry: a case study of chamomile flower (*Matricaria recutita* L.) [J]. *Planta Med*, 2004, **70**(3):250-255.
- [11] Li L, Sun B, Zhang Q, Fang J, Ma K, Li Y, *et al.* Metabonomic study on the toxicity of Hei-Shun-Pian, the processed lateral root of *Aconitum carmichaelii* Debx. (*Ranunculaceae*) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, **116**(3):561-568.
- [12] Sun B, Li L, Wu S, Zhang Q, Li H, Chen H, *et al.* Metabolomic analysis of biofluids from rats treated with *Aconitum* alkaloids using nuclear magnetic resonance and gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry[J]. *Anal Biochem*, 2009, **395**(2):125-133.
- [13] Wu Q, Zhang Q, Sun B, Yan X, Tang Y, Qiao X, *et al.* ¹H NMR-based metabonomic study on the metabolic changes in the plasma of patients with functional dyspepsia and the effect of acupuncture[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, **51**(3):698-704.
- [14] Marianne CW, Lorraine B, J Paul G Malthouse, Helen MR, Michael JG. Effect of acute dietary standardization on the urinary, plasma, and salivary metabolomic profiles of healthy humans[J]. *Am J Clin Nutr*, 2006, **84**:531-539.

- [15] Wei XH, Cheng XM, Shen JS, Wang ZT. Antidepressant effect of Yueju-Wan ethanol extract and its fractions in mice models of despair [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, **117**(2):339-344.
- [16] Luo L, Nong WJ, Kong LD, Jiang QG, Tan RX. Antidepressant effects of Banxia Houpu decoction, a traditional Chinese medicinal empirical formula [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, **73**(1-2):277-281.
- [17] Nicholls AW, Mortishire-Smith RJ, Nicholson JK. NMR spectroscopic-based metabonomic studies of urinary metabolite variation in acclimatizing germ-free rats [J]. *Chem Res Toxicol*, 2003, **16**(11):1395-1404.
- [18] Ni Y, Su M, Lin J, Wang X, Qiu Y, Zhao A, et al. Metabolic profiling reveals disorder of amino acid metabolism in four brain regions from a rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. *FEBS Lett*, 2008, **582**(17):2627-2636.
- [19] Blomstrand E. A role for branched-chain amino acids in reducing central fatigue [J]. *J Nutr*, 2006, **136**(2):544S-547S.
- [20] Zheng S, Yu M, Lu X, Huo T, Ge L, Yang J, et al. Urinary metabonomic study on biochemical changes in chronic unpredictable mild stress model of depression [J]. *Clin Chim Acta*, 2010, **411**(3-4):204-209.
- [21] Huang Y, Chen W, Li Y, Wu X, Shi X, Geng D. Effects of antidepressant treatment on N-acetyl aspartate and choline levels in the hippocampus and thalami of post-stroke depression patients: a study using (1)H magnetic resonance spectroscopy [J]. *Psychiatry Res*, 2010, **182**(1):48-52.

Antidepressant-like active fraction of Xiaoyaosan by metabonomics based [¹H] NMR spectroscopy

LU Lin-lin^{1,2}, ZHOU Yu-zhi¹, MA Zhi-jie^{1,2}, WU Bin³, QIN Xue-mei¹

(1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3. Shanxi Medicine Group Co. Ltd., Taiyuan 030012, China)

Abstract: OBJECTIVE To identify the active fraction of Xiaoyaosan in producing antidepressant effect by applying [¹H] NMR spectroscopy based metabonomic approach. **METHODS** Forty-two SD rats were given petroleum ether fraction (XY-A), 30% ethanol fraction (XY-B), 60% ethanol fraction (XY-C), 95% ethanol fraction (XY-D) or water fraction (XY-E), once daily, for 21 d. At 30 min after every administration, rats were simulated by kinds of factors, for 21 d, to set up chronic unpredictable mild stress model. Rats were anesthetized and blood samples were collected from the femoral artery after 21 d. The small molecular metabolic profiles were investigated using [¹H] nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). [¹H] NMR spectra were integrated in segments of 0.01, normalized and then analyzed using SIMCA-P software. **RESULTS** The metabonomic results indicated that a clear separation of the model group and control group, while XY-A group was much closer to the control group than other fractions in the score plot. Compared with control group, leucine/isoleucine, valine, β-HB decreased, alanine, choline, glucose increased in model group. Compared with model group, XY-A regulated the leucine/isoleucine, valine and β-HB. Ten endogenous metabolites contributing to the separation of the model group and control group were detected, while XY-A group regulated the most perturbed metabolites showing a tendency of recovering to control group more or less. **CONCLUSION** Petroleum ether fraction is the most effective fraction for antidepressant.

Key words: nuclear magnetic resonance; metabonomics; Xiaoyao powders; antidepressive agents

Foundation item: The project supported by National Natural Science Foundation of China (30901960); and National Natural Science Foundation of China (30772759)

Correspondence author: Qin Xue-mei, E-mail: qinxm@sxu.edu.cn, Tel: (0351) 7011202

(收稿日期: 2011-08-25 接受日期: 2012-02-27)

(本文编辑: 付良青)