

[药 理]

逍遥散对卵巢切除联合慢性应激大鼠的抗焦虑和抗抑郁作用

刘丽娜<sup>1,2</sup>, 严晶<sup>2\*</sup>, 徐祥涛<sup>1</sup>, 葛飞<sup>3</sup>, 史会连<sup>1</sup>, 陆玮婷<sup>1</sup>, 孙志广<sup>2</sup>

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏南京 210029; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏南京 210046; 3. 南京中医药大学附属海安中医院, 江苏海安 226600)

**摘要:** 目的 研究逍遥散对卵巢切除联合慢性应激大鼠的抗焦虑和抗抑郁作用。方法 大鼠随机分为卵巢切除组、卵巢切除/慢性应激组、逍遥散低剂量组 (3 g/kg)、逍遥散高剂量组 (9 g/kg)、 $\beta$ -雌二醇组 (20  $\mu$ g), 卵巢切除后1周、应激前1 h 给予相应药物, 连续5周。高架十字迷宫实验测定开放臂进入次数比、停留时间比, 蔗糖偏好率, 粪便 Bristol 分级; Western blot 法检测海马 ER $\beta$ 、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达。结果 逍遥散低剂量组显著提高开放臂进入次数比 ( $P < 0.05$ ), 逍遥散高剂量组显著提高开放臂进入次数比 ( $P < 0.01$ ) 和停留时间比 ( $P < 0.05$ ), 2 组均显著增加蔗糖偏好率 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。逍遥散高剂量组显著降低粪便 Bristol 分级 ( $P < 0.05$ ), 2 组均显著增加 ER $\beta$ 、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论 逍遥散有类雌激素特性, 可通过激活卵巢切除联合慢性应激大鼠的 ER $\beta$ -NR2B-CREB 通路来发挥抗焦虑和抗抑郁作用。

**关键词:** 逍遥散; 抗焦虑; 抗抑郁; 卵巢切除; 慢性应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)09-1897-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.001

Anti-anxiety and anti-depressant effects of Xiaoyao Powder on rats submitted to ovariectomy and chronic stress

LIU Li-na<sup>1,2</sup>, YAN Jing<sup>2\*</sup>, XU Xiang-tao<sup>1</sup>, GE Fei<sup>3</sup>, SHI Hui-lian<sup>1</sup>, LU Wei-ting<sup>1</sup>, SUN Zhi-guang<sup>2</sup>

(1. The Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. The First College of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 3. Hai'an Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Hai'an 226600, China)

**ABSTRACT: AIM** To study the anti-anxiety and anti-depressant effects of Xiaoyao Powder on rats submitted to ovariectomy and chronic stress. **METHODS** Rats were randomly divided into ovariectomy group, ovariectomy/chronic stress group, low dose Xiaoyao Powder group (3 g/kg), high dose Xiaoyao Powder group (9 g/kg) and  $\beta$ -estradiol group (20  $\mu$ g). One week after ovariectomy, corresponding five-week drug administration was applied at 1 h before the exposure to stress. The ratios of entering times and retention time in open arms, sucrose preference rate, Bristol stool form scale were determined in elevated plus-maze test. The expressions of ER $\beta$ , NR2B, p-NR2B, cAMP and p-CREB proteins in the hippocampus were detected by Western blot. **RESULTS** Significant increase in ratio of entering times was observed in both low dose Xiaoyao Powder group ( $P < 0.05$ ), and high dose Xiaoyao Powder group ( $P < 0.01$ ), so were the significant increase of sucrose preference rate ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) and the remarkable increase in the expressions of ER $\beta$ , NR2B, p-NR2B, cAMP and p-CREB proteins ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Significant increase of retention time ( $P < 0.05$ ) and markedly decreased Bristol stool form scale ( $P < 0.05$ ) were also observable in high dose Xiaoyao Powder group. **CONCLUSION** Xiaoyao Pow-

收稿日期: 2018-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81603578, 81503536, 81673795); 江苏省自然科学基金项目 (BK20140959, BK20151008)

作者简介: 刘丽娜, 女, 从事中西医结合消化病、情志病研究。Tel: (025) 86617141, E-mail: lina\_liu606@126.com

\* 通信作者: 严晶, 博士, 助理研究员, 从事中西医结合消化病、情志病研究。Tel: (025) 85811146, E-mail: yanjing@njucm.edu.cn

der, with estrogen-like properties, exerts anti-anxiety and anti-depressant behaviors in rats submitted to ovariectomy and chronic stress by activating ER $\beta$ -NR2B-CREB pathway.

**KEY WORDS:** Xiaoyao Powder; anti-anxiety; anti-depressant; ovariectomy; chronic stress

女性围绝经期或产后常因雌激素水平波动明显,罹患抑郁症或焦虑症的风险明显增加<sup>[1-2]</sup>,目前使用的雌激素替代疗法可降低患者抑郁症状<sup>[3]</sup>,但同时又增加了恶性肿瘤的发生风险<sup>[4-5]</sup>,并且联合抗抑郁药时多数患者不能耐受<sup>[6]</sup>。因此,临床需要安全有效,并针对女性特殊人群改善情志的药物。

中医认为,肝郁脾虚证是更年期情志障碍的主要证候,涉及肝、脾、肾三脏,肝主疏泄,肝气郁结则肝乘脾土,脾土受伐是本病的基本病机,而“女子以肝为先天”,容易出现情志病,与肝的关系密切,治疗时以调肝健脾为主。疏肝健脾、养血调经的传统经方逍遥散可区域选择性、时相性、双向性地调节中枢功能,对心理社会因素所致的应激性机体功能失调具有较好的调节作用,且与“以疏为补”的理论相吻合<sup>[7]</sup>,对女性有独特治疗优势<sup>[8]</sup>。本实验以雌性大鼠双侧卵巢切除为对照,再联合慢性应激<sup>[9]</sup>为更年期焦虑抑郁症模型,研究逍遥散疗效及其机制。

## 1 材料

1.1 动物 成年雌性 Sprague-Dawley 大鼠,体质量 180~220 g,清洁级,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号 SCXK(苏)2016-0002。室温控制在(22±2)℃,自由饮食饮水,实验开始前适应 7 d。

1.2 试药 逍遥散组成为柴胡 30 g、当归 30 g、白芍 30 g、白术 30 g、茯苓 30 g、炙甘草 15 g、生姜 10 g、薄荷 10 g,上述中药饮片均购自南京中医药大学附属医院。 $\beta$ -雌二醇(E2,美国 Sigma 公司,批号 E2758);雌激素受体  $\beta$ (ER $\beta$ )抗体(Proteintech 公司,批号 14007-1-AP);*N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体亚基 2B(NR2B)抗体、p-NR2B(phospho Ser 1303)抗体、环磷酸腺苷(cAMP)抗体(英国 Abcam 公司,批号 ab65783、ab81271、ab76238);环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(CREB)(phospho Ser 133)抗体(美国 CST 公司,批号 9198);生物素二抗(Bioworld 公司,批号 00001-2)。

1.3 仪器 高架十字迷宫(美国 CleverSys 公司,型号 chronic stressI-MZ-EP)。

## 2 方法

2.1 浸膏制备 逍遥散严格按照工艺流程制成干浸膏备用,使用时根据需要用水溶解配制。各药材加 10 倍量水浸泡 1 h 后,加热煮沸 1 h,过滤,再加水煮沸 40 min,80℃恒温水浴中浓缩成含生药量 1 g/mL,于 4℃冰箱中保存备用。

2.2 模型建立 卵巢切除术:大鼠麻醉后在躯干下 1/3、离开脊柱两侧各 1~2 cm 作纵形切口,长约 1 cm,镊子拉出脂肪团,可找到一团细线状不规则、呈肉色的组织,即为卵巢,下接粗大管状组织,即为子宫角,结扎,剪去卵巢及多余线,缝合切口,腹腔注射青霉素,每天 1 次。选取术后 1 周的大鼠进行慢性避水应激实验,方法为选择 25 cm×25 cm×45 cm 水箱,中间竖立 8 cm×8 cm×10 cm 柱子,箱内注入温度与室温相同的水,水面离柱子最高点为 1 cm,每天上午固定时间将大鼠置于柱子上应激 3 h(9:00-12:00),连续 3 周;单纯卵巢切除组不给予应激。

2.3 分组及给药 50 只术后大鼠随机分为卵巢切除组(卵巢切除 4 周)、卵巢切除/慢性应激组(卵巢切除 4 周联合慢性应激 3 周)、逍遥散低剂量组、逍遥散高剂量组、 $\beta$ -雌二醇组,每组 10 只。其中,逍遥散组在卵巢切除后 1 周开始灌胃给药,低剂量组 3 g/kg,高剂量组 9 g/kg,每天 1 次; $\beta$ -雌二醇组为阳性对照,皮下注射给药,每天 20  $\mu$ g;卵巢切除组、卵巢切除/慢性应激组灌胃给予等量生理盐水。各组给药均在卵巢切除后 1 周、应激前 1 h 进行,每天 1 次,连续 3 周。

2.4 高架十字迷宫实验 干预结束后第 2 天进行,高架十字迷宫距地面高度 60 cm,由 2 条相对的开放臂(40 cm×14 cm)、2 条相对的封闭臂(40 cm×14 cm×28 cm)、1 个联结 4 条臂的中央平台(14 cm×14 cm)组成,呈十字形,参照文献[10],各组大鼠均提前 1 h 进入测试室。测试前,将待测大鼠放入 1 个鼠笼内,自由探究 5 min 后置于中央平台处,使其头部正对其中 1 个开放臂,释放后记录 5 min 内进入开放臂次数(OE)、进入开放臂时间(OT)、进入封闭臂次数(CE)、进入封闭臂时间(CT),计算开放臂和封闭臂总进入次数(进臂总次数)、开放臂进入次数比{[OE/(OE +

CE)  $\times 100\%$  }、开放臂停留时间比  $\{ [OT / (OT + CT)] \times 100\%$  }，采用动物行为分析软件（版本 1.00，美国 CleverSys 公司）分析。

**2.5 蔗糖偏好实验** 干预结束后第 3 天进行，每个鼠笼同时放置 2 个装有 1% 蔗糖水的饮水瓶，训练大鼠适应 24 h。禁食禁水 8 h 后，每只大鼠给予纯水、含 1% 蔗糖水各 1 瓶，外观、容量一致。24 h 后，测量剩余液体体积，计算总液体消耗、糖水消耗、蔗糖偏好率  $[(糖水消耗 / 总液体消耗) \times 100\%]$ 。

**2.6 粪便 Bristol 分级** 干预结束后当天，代谢笼收集晚上 20:00 到次日早上 8:00 的大鼠粪便，判断其形态，应用粪便 Bristol 分级标准<sup>[11]</sup>：1 型，分离的硬团，计为 1 分；2 型，团块状，计为 1 分；3 型，干裂的香肠状，计为 1 分；4 型，柔软的香肠状，计为 2 分；5 型，柔软的团块，计为 2 分；6 型，泥浆状，计为 3 分；7 型，水样，计为 3 分。

**2.7 海马 ER $\beta$ 、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达检测** 采用 Western blot 法。提取大鼠海马等量蛋白，电泳转移至 PVDF 膜，室温下奶粉封闭 2 h，加入一抗（1:2 000）后 4  $^{\circ}\text{C}$  下孵育过夜，再加入二抗（1:1 000）室温下孵育 2 h，暗室中通过化学发光法显影，GAPDH 作为内标对条带进行扫描，蛋白光密度通过 Image-Pro-Plus 6.0 软件进行测定。

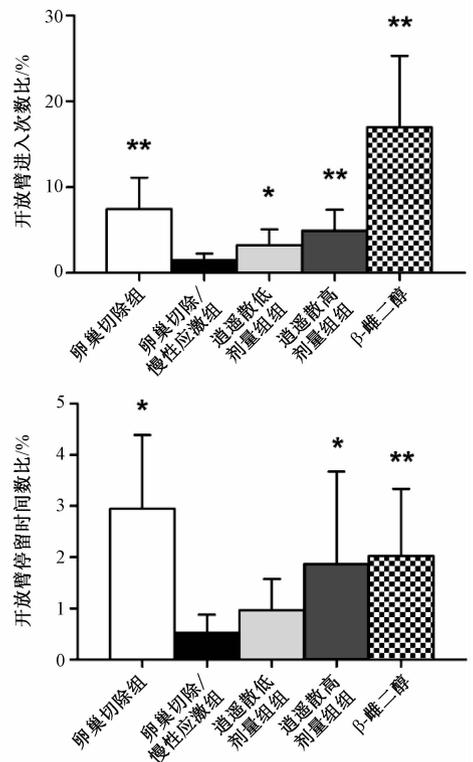
**2.8 统计学分析** 通过 GraphPad Prism 5 软件进行处理，数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示，单因素方差分析进行正态分布、组间方差齐性检验，组间比较采用非配对  $t$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 高架十字迷宫实验测定** 与卵巢切除组比较，卵巢切除/慢性应激组大鼠开放臂进入次数比 ( $P < 0.01$ )、开放臂停留时间比均显著下降 ( $P < 0.05$ )；逍遥散高剂量组的时间比和次数比均显著提高 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，低剂量组开放臂进入次数比显著提高 ( $P < 0.05$ )； $\beta$ -雌二醇组两者水平均显著提高 ( $P < 0.01$ )。见图 1。

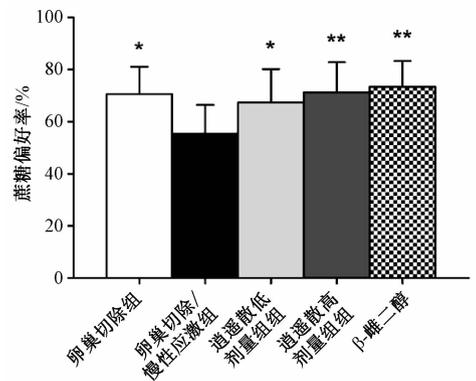
**3.2 蔗糖偏好率** 与卵巢切除组比较，卵巢切除/慢性应激组大鼠蔗糖偏好率明显降低 ( $P < 0.05$ )，逍遥散组可显著提高卵巢切除/慢性应激组大鼠的蔗糖偏好率 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )， $\beta$ -雌二醇组亦然 ( $P < 0.01$ )。见图 2。

**3.3 逍遥散对粪便 Bristol 分级的影响** 卵巢切除组大鼠粪便多为成型软便、团块样或香肠状；卵巢



注：与卵巢切除/慢性应激组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

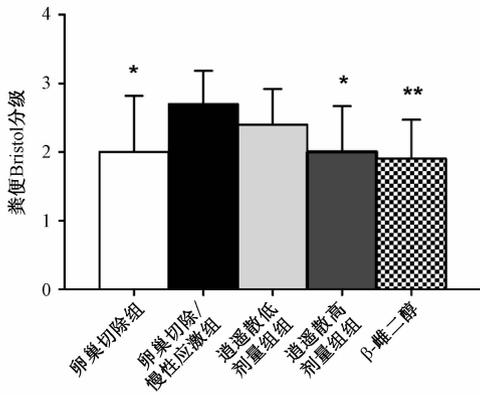
图 1 逍遥散对开放臂进入次数比、停留时间比的影响  
Fig. 1 Effects of Xiaoyao Powder on ratios of entering times and retention time in open arms



注：与卵巢切除/慢性应激组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图 2 逍遥散对蔗糖偏好率的影响  
Fig. 2 Effect of Xiaoyao Powder on sucrose preference rate

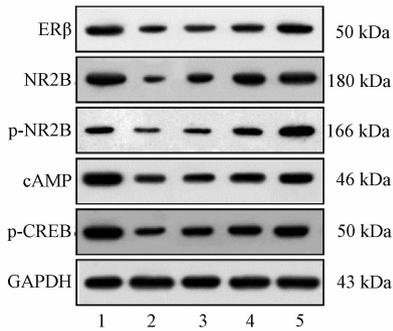
切除/慢性应激组大鼠粪便多为不成形的稀薄便，个别出现水样便。与卵巢切除组比较，卵巢切除/慢性应激组粪便 Bristol 分级显著增加 ( $P < 0.05$ )；逍遥散高剂量组的 Bristol 分级显著降低 ( $P < 0.05$ )，大鼠粪便多为成型软便；逍遥散低剂量组则无显著变化 ( $P > 0.05$ )，大鼠粪便状态改善不明显； $\beta$ -雌二醇组显著降低 ( $P < 0.01$ )，大鼠粪便以成型软便或硬便为主。见图 3。



注：与卵巢切除/慢性应激组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图3 逍遥散对粪便 Bristol 分级的影响

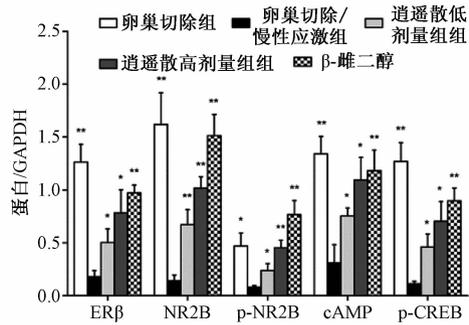
Fig. 3 Effect of Xiaoyao Powder on Bristol stool form scale



注：1~5 分别为卵巢切除组、卵巢切除/慢性应激组、逍遥散低剂量组、逍遥散高剂量组、β-雌二醇组  
与卵巢切除组比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$

图4 逍遥散对 ERβ-NR2B-CREB 通路蛋白表达的影响

Fig. 4 Effects of Xiaoyao Powder on protein expressions in ERβ-NR2B-CREB pathway



3.4 逍遥散对海马 ERβ-NR2B 通路蛋白表达的影响 与卵巢切除组比较，卵巢切除/慢性应激组 ERβ、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达均显著下降 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )；逍遥散组可显著提高 ERβ、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CRE 蛋白表达 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )，并呈剂量依赖性；β-雌二醇组可显著提高 ERβ、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达 ( $P < 0.01$ )。见图4。

#### 4 讨论

本实验发现，相对于单纯卵巢切除大鼠，卵巢去势联合慢性应激可缩短大鼠在高架十字迷宫实验中的开放臂进入次数比、开放臂停留时间比，并降低蔗糖偏好率，增加粪便 Bristol 分级。临床研

究<sup>[12]</sup>、基础研究<sup>[9]</sup>均证实，女性长时间剥夺卵巢激素时可诱导焦虑状态，而且在慢性不可预知等压力的作用下诱发抑郁样行为。慢性应激诱发的抑郁或焦虑等情志障碍与下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴反馈抑制受损，进而活性亢进有关<sup>[13]</sup>，本实验在雌性大鼠去势基础上给予慢性应激后，出现了焦虑、抑郁症状，符合内外因夹杂致肝气郁结、情志障碍的中医理论，并且大鼠出现粪便性状异常，以稀水样便为主，类似于临床情志障碍患者的肠功能紊乱，符合“见肝之病，知肝传脾”的中医理论。同时，持续应激还可造成神经元 NMDAR 亚基损伤或合成障碍<sup>[14]</sup>，后者可能导致谷氨酸 (Glu) 传递受损，损伤神经元。Yokomaku 等<sup>[15]</sup>发现，β-雌二醇 (E2) 对 Glu 传递有促进作用，其缺乏将加重持续应激导致的情绪异常。

雌激素对情绪的影响机制与海马 N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDARs) 有关，后者由 NR1、

NR2A ~ D、NR3A ~ B3 种不同的亚基构成，其中 NR2B 亚基主要分布于海马和皮质，对脑功能影响最大。海马是情绪调节中的关键部位<sup>[16]</sup>，多项研究表明，卵巢切除大鼠给予生理浓度 E2 持续干预或雌性大鼠发情前期 (高 E2 水平)，NMDA 介导的海马 CA1 神经元的突触传递明显易化，而且神经电位长时程增强 (LTP) 效应达到峰值<sup>[17-19]</sup>。海马内 E2 对突触有可塑性作用，依赖于 NMDARs 介导受体激活，而后者参与兴奋性突触的形成与突触传递，并在抗焦虑和抑郁中发挥重要作用。一方面，E2 增加突触组件中 NMDARs 数量，尤其是 NR2B 亚基数量；另一方面，又诱导 NMDARs 功能修饰，如 NR2B 磷酸化，增加了通道开放的可能性<sup>[20]</sup>。同时，海马内 E2 还通过调节 NR2B 和 cAMP 反应元件结合蛋白 (CREB) 的磷酸化 (p-CREB) 来调节突触的可塑性<sup>[21]</sup>，而 p-CREB 通过 E2 来激活受体 ERβ 发生<sup>[22]</sup>，但小鼠 ERβ 基因敲

除后 E2 则不能发挥抗抑郁作用<sup>[23]</sup>。因此, ER $\beta$  在去势大鼠海马形成、神经通道调节、神经保护方面都有重要价值<sup>[24]</sup>。

本实验发现, 与卵巢切除组比较, 卵巢切除/慢性应激组大鼠海马 ER $\beta$ 、NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达均明显下降, 反映了 E2 缺失联合持续应激的模型恶化了兴奋性突触的传递效应。雌激素持续作用可改善去势大鼠持续应激后的焦虑和抑郁行为, 海马内 ER $\beta$ -NR2B-CREB 通路蛋白水平显著增加, 而且粪便状态恢复, 体现了雌激素从中枢到外周的逆转效应。同时, 一定剂量逍遥散可改善模型大鼠的情志障碍和粪便状态, 既体现方中疏肝组分柔肝养血、调和情志的效应, 又佐证健脾组分健脾化湿、调畅气机的功效。逍遥散与 E2 有相似的机制, 均可提高模型大鼠海马下降的 ER $\beta$  水平, 增加 NR2B、p-NR2B、cAMP、p-CREB 蛋白表达, 并呈剂量依赖性, 其机制一方面与逍遥散中有效成分柴胡皂苷类的神经保护作用有关, 其中柴胡皂苷 D 可通过雌激素受体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) 或 ER $\beta$  产生类雌激素样作用<sup>[25]</sup>; 另一方面, 网络药理学已筛选出 25 个逍遥散抗抑郁作用的预测靶点, 以及 72 条富集通路, 其中有 ER 参与的促性腺激素释放激素 (GnRH) 通路和 NMDAR 参与的 LTP 通路<sup>[26]</sup>。由此可知, 逍遥散是基于 ER $\beta$ -NR2B-CREB 通路而发挥抗焦虑抑郁作用的, 但该方为复方制剂, 其具体是何种成分作用于何种环节还需深入研究。

综上所述, 本实验首次将逍遥散应用于卵巢切除/慢性应激模型大鼠, 后者可模拟更年期应激后焦虑抑郁状态, 而逍遥散长期作用后可剂量依赖性地改善模型大鼠情绪状态, 其机制可能与该方类雌激素样作用, 并通过 ER $\beta$ -NR2B-CREB 通路起效有关。

#### 参考文献:

[ 1 ] Schmidt P J, Rubinow D R. Sex hormones and mood in the perimenopause[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1179(1): 70-85.  
[ 2 ] Freeman E W. Associations of depression with the transition to menopause[J]. *Menopause*, 2010, 17(4): 823-827.  
[ 3 ] Ahokas A, Aito M. Role of estradiol in puerperal psychosis [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1999, 147(1): 108-110.  
[ 4 ] Beral V, Bull D, Green J, et al. Ovarian cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study[J]. *Lancet*, 2007, 369(9574): 1703-1710.  
[ 5 ] Wolf A A, Frye C A. Effects of two estradiol regimens on anxiety and depressive behaviors and trophic effects in peripheral tis-

sues in a rodent model [J]. *Gen Med*, 2009, 6(1): 300-311.  
[ 6 ] Nelson H D, Humphrey L L, Nygren P, et al. Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review [J]. *JAMA*, 2002, 288(7): 872-881.  
[ 7 ] 刘玥芸. 肝郁脾虚证模型大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴的变化及逍遥散的调整作用[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.  
[ 8 ] 李晶晶, 李俊俐, 陈家旭, 等. 逍遥散妇科临床研究分析 [J]. *中华中医药杂志*, 2010, 25(4): 616-618  
[ 9 ] Lagunas N, Calmarza-Font I, Diz-Chaves Y, et al. Long-term ovariectomy enhances anxiety and depressive-like behaviors in mice submitted to chronic unpredictable stress[J]. *Horm Behav*, 2010, 58(5): 786-791.  
[10] Pellow S, Chopin P, File S E, et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat [J]. *J Neurosci Methods*, 1985, 14(3): 149-167.  
[11] Chumpitazi B P, Self M M, Czyzewski D I, et al. Bristol Stool Form Scale reliability and agreement decreases when determining Rome III stool form designations[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2016, 28(3): 443-448.  
[12] Zender R, Olshansky E. Women's mental health; depression and anxiety [J]. *Nurs Clin North Am*, 2009, 44(3): 355-364.  
[13] Sachar E J, Hellman L, Roffwarg H P, et al. Disrupted 24-hour patterns of cortisol secretion in psychotic depression[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 1973, 28(1): 19-24.  
[14] Yuen E Y, Wei J, Liu W, et al. Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex[J]. *Neuron*, 2012, 73(5): 962-977.  
[15] Yokomaku D, Numakawa T, Numakawa Y, et al. Estrogen enhances depolarization-induced glutamate release through activation of phosphatidylinositol 3-kinase and mitogen-activated protein kinase in cultured hippocampal neurons[J]. *Mol Endocrinol*, 2003, 17(5): 831-844.  
[16] Tambini A, Rimmele U, Phelps E A, et al. Emotional brain states carry over and enhance future memory formation[J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20(2): 271-278.  
[17] Wong M, Moss R L. Long-term and short-term electrophysiological effects of estrogen on the synaptic properties of hippocampal CA1 neurons[J]. *J Neurosci*, 1992, 12(8): 3217-3225.  
[18] Warren S G, Humphreys A G, Juraska J M, et al. LTP varies across the estrous cycle: enhanced synaptic plasticity in proestrus rats[J]. *Brain Res*, 1995, 703(1-2): 26-30.  
[19] Oberlander J G, Woolley C S. 17 $\beta$ -Estradiol acutely potentiates glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus through distinct mechanisms in males and females [J]. *J Neurosci*, 2016, 36(9): 2677-2690.  
[20] Foy M R, Baudry M, Diaz B R, et al. Estrogen and hippocampal plasticity in rodent models[J]. *J Alzheimers Dis*, 2008, 15

- (4): 589-603.
- [21] Raval A P, Sick J T, Gonzalez G J, *et al.* Chronic nicotine exposure inhibits estrogen-mediated synaptic functions in hippocampus of female rats [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 517 (1): 41-46.
- [22] Raval A P, Dave K R, Saul I, *et al.* Synergistic inhibitory effect of nicotine plus oral contraceptive on mitochondrial complex-IV is mediated by estrogen receptor- $\beta$  in female rats [J]. *J Neurochem*, 2012, 121 (1): 157-167.
- [23] Rocha B A, Fleischer R, Schaeffer J M, *et al.* 17 Beta-estradiol-induced antidepressant-like effect in the forced swim test is absent in estrogen receptor-beta knockout (BERKO) mice [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2005, 179 (3): 637-643.
- [24] Sárvári M, Kalló I, Hrabovszky E, *et al.* Long-term estrogen receptor beta agonist treatment modifies the hippocampal transcriptome in middle-aged ovariectomized rats [J]. *Front Cell Neurosci*, 2016, 10: 149.
- [25] Wang P, Ren J, Tang J, *et al.* Estrogen-like activities of saikosaponin-d *in vitro*: a pilot study [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 626 (2-3): 159-165.
- [26] 高耀, 高丽, 高晓霞, 等. 基于网络药理学的逍遥散抗抑郁活性成分作用靶点研究 [J]. *药科学报*, 2015, 50 (12): 1589-1595.

## 人体肠道菌群对人参皂苷 R<sub>g3</sub>、白头翁皂苷 D 代谢转化的影响

严桐, 易婷, 郑婷婷

(常州市第三人民医院, 江苏常州 213001)

**摘要:** 目的 考察人体肠道菌群对人参皂苷 R<sub>g3</sub>、白头翁皂苷 D 代谢转化的影响。方法 分别采集肝癌患者与健康人体的新鲜粪便, 经处理后分别与人参皂苷 R<sub>g3</sub>、白头翁皂苷 D 进行厌氧共孵育, UPLC-Q-TOF/MS 法鉴定其肠菌孵育后的代谢产物差异, UPLC-QQQ-MS 法检测原型及其代谢产物含量随孵育时间的变化。结果 肝癌患者与健康人体肠道菌群的人参皂苷 R<sub>g3</sub> 孵育液中均鉴定出了人参皂苷 Rh<sub>2</sub> (脱糖基产物)、原人参二醇; 肝癌患者肠道菌群的白头翁皂苷 D 孵育液中鉴定出了白头翁皂苷 D 脱鼠李糖产物、白头翁皂苷 D 脱葡萄糖产物、白头翁皂苷 D 羟基化产物、常春藤皂苷元, 但健康人体肠道菌群的白头翁皂苷 D 孵育液中鉴定出了白头翁皂苷 D 脱鼠李糖产物、白头翁皂苷 D 脱葡萄糖产物、白头翁皂苷 D 脱鼠李糖和葡萄糖产物、白头翁皂苷 D 甲基化产物、常春藤皂苷元。人参皂苷 R<sub>g3</sub>、白头翁皂苷 D 在肝癌患者肠道菌群中的代谢速率显著低于健康人体, 人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 和常春藤皂苷元在肝癌患者肠道菌群中的生成速率显著低于健康人体。结论 在肝癌状态下, 人体肠道菌群变化对人参皂苷 R<sub>g3</sub>、白头翁皂苷 D 代谢转化有显著影响。

**关键词:** 人体肠道菌群; 人参皂苷 R<sub>g3</sub>; 白头翁皂苷 D; 肝癌; UPLC-Q-TOF/MS; UPLC-QQQ-MS

中图分类号: R966

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)09-1902-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.09.002

## Effects of human intestinal flora on the metabolic transformations of ginsenoside R<sub>g3</sub> and pulsatilla saponin D

YAN Tong, YI Ting, ZHENG Ting-ting

(The Third People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213001, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the effects of human intestinal flora on the metabolic transformations of ginsenoside R<sub>g3</sub> and pulsatilla saponin D. **METHODS** The fresh feces collected from liver cancer patients and healthy human were incubated with intestinal bacteria and ginsenoside R<sub>g3</sub> and pulsatilla saponin D, respectively, under anaerobic condition. The metabolites differences were identified by UPLC-Q-TOF-MS, and the quantitative changes of ginsenoside R<sub>g3</sub>, pulsatilla saponin D and their metabolites with incubation time were detected by UPLC-QQQ-

收稿日期: 2017-12-02

作者简介: 严桐 (1970—), 男, 主任中医师, 从事肝病临床研究。Tel: 13815011235, E-mail: czszfgp@163.com