

基于 UPLC-QTOF-MS 技术的藿香正气口服液治疗大鼠湿困脾胃证的血清代谢组学研究

冯美期, 李春苑, 邹忠杰, 王淑美, 梁生旺, 谢媛媛, 龚梦鹃(广东药科大学中药学院, 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室, 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用(UPLC-QTOF-MS)技术的血清代谢组学方法寻找与湿困脾胃证相关的潜在生物标志物, 探讨藿香正气口服液对湿困脾胃证的干预机制。方法 采用综合物理造模方法建立湿困脾胃证大鼠模型。观测大鼠体质量、体长、尾长、腹围指数与自主活动次数; 利用 UPLC-QTOF-MS 方法对大鼠血清进行代谢组分析, 结合正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA), 寻找藿香正气口服液治疗湿困脾胃证大鼠后相关潜在生物标志物的变化及其相关代谢通路。结果 与正常组比较, 模型组大鼠的体质量、体长、自主活动次数明显减少($P < 0.001$), 腹围指数明显升高($P < 0.001$); 正离子和负离子模式下分别鉴定了与湿困脾胃证相关的 15、10 个血清潜在生物标志物, 涉及磷脂代谢、氨基酸代谢、能量代谢等 9 条代谢通路。藿香正气口服液对湿困脾胃证模型大鼠的血清代谢表型能产生有效的干预, 并使 14 个潜在生物标志物产生显著回调($P < 0.05$)。结论 藿香正气口服液对大鼠湿困脾胃证的干预作用可能与调节磷脂代谢、氨基酸代谢、能量代谢等通路有关。

关键词: 藿香正气口服液; 湿困脾胃证; 代谢组学; 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱; 磷脂代谢; 氨基酸代谢; 能量代谢; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2021)11-1601-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.11.002

Studies on the Therapeutic Effects of *Huoxiang Zhengqi* Oral Liquid on Dampness Obstructing *Spleen-stomach* Syndrome in Rats Using UPLC-QTOF-MS-based Serum Metabonomics

FENG Meiqi, LI Chunyuan, ZOU Zhongjie, WANG Shumei, LIANG Shengwang, XIE Yuanyuan, GONG Mengjuan (School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Engineering and Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To identify the potential biomarkers related to the dampness obstructing *spleen-stomach* syndrome (DOSS) through a serum metabolomics method based on Ultra High Performance Liquid Tandem Chromatography Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry (UPLC-QTOF-MS), and illustrate the intervention mechanism of *Huoxiang Zhengqi* oral liquid (HZOL). **Methods** Comprehensive physical methods were applied to establish the rat DOSS model. Body mass, body length, tail length, abdominal girth index, and locomotor activity were observed. UPLC-QTOF-MS combined with orthogonal partial least squares - discriminant analysis (OPLS-DA) were used to analyze the metabonomics of rat serum and to identify potential biomarkers and related metabolic pathways in rats with DOSS after administration of HZOL. **Results** Compared with the healthy control group, rats

收稿日期: 2020-12-11

作者简介: 冯美期, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药药效与安全性评价。Email: 979459379@qq.com。通信作者: 龚梦鹃, 女, 副教授, 研究方向: 中药药效评价。Email: gongmengjuan@139.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81603397)。

with DOSS showed body mass loss ($P < 0.001$), slower growth of body length ($P < 0.001$), increased abdominal girth index ($P < 0.001$), and significantly decreased locomotor activity ($P < 0.001$). 15 and 10 potential biomarkers associated with DOSS in rat serum were identified under the positive ion and negative ion modes, respectively, which involved 9 metabolic pathways such as phospholipid metabolism, amino acid metabolism and energy metabolism. HZOL effectively intervened in the serum metabolic phenotype of the model rats, and significantly regulated 14 potential biomarkers ($P < 0.05$). **Conclusion** The mechanism of HZOL intervention on the DOSS in rats may relate to the regulation of phospholipid metabolism, amino acid metabolism, energy metabolism, and so on.

Keywords: *Huoxiang Zhengqi* oral liquid; dampness obstructing *spleen-stomach* syndrome; metabonomics; UPLC-QTOF-MS; phospholipid metabolism; amino acid metabolism; energy metabolism; rats

湿困脾胃证是湿邪困阻脾胃, 阻遏气机所表现出的证候, 常以脘闷腹胀、大便溏泻、小便短涩、头重身困肢倦、纳差、口黏淡或甜腻等为临床表现^[1]。藿香正气口服液源自宋代《太平惠民和剂局方》中的藿香正气散, 其以二陈汤为基础, 加上疏解外感、调理胃肠的芳香化湿药组成, 被尊为“祛湿圣药”, 主治外感寒邪、脾虚湿滞、水湿内停、风痰内扰诸证^[2]。

代谢组学从整体层面上考察人体生化网络对所有扰动因素进行应答和变化的终端信息, 已成为揭示中医“证”的本质和评价经典方剂疗效的重要方法。本课题组前期采用基于核磁共振(¹H-NMR)技术的代谢组学方法对藿香正气口服液干预湿困脾胃证的机制进行研究^[3-4], 在血清、粪便与尿液中分别筛选得到 8 种、12 种和 5 种潜在生物标志物, 主要参与肠道菌群调节、能量代谢、氨基酸代谢等。基于核磁共振和液质联用技术的代谢组学研究可以提供互补的代谢产物信息, 2 种方法联合应用可扩大检测范围, 使实验结果更加可靠。为更全面表征与湿困脾胃证相关的代谢网络, 本研究拟采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UPLC-QTOF-MS)技术分析给药前后湿困脾胃证大鼠的血清代谢网络变化, 以阐明藿香正气口服液治疗湿困脾胃证的作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 18 只, SPF 级, 体质量 (180±20)g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司, 动物生产许可证号: SCXK(京)2016-0002。

1.2 药物及试剂 藿香正气口服液, 太极集团涪陵制药厂, 批号: 19030052; L-2-氯苯丙氨酸, 上海恒柏生物科技有限公司, 批号: 103616893; 甲醇(批

号: 67561)、乙腈(批号: 75058)、醋酸铵(批号: 631618)、氨水(批号: 1336216), 均购自德国 CNW Technologies 公司。

1.3 主要仪器 1290 型 UHPLC 超高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; Triple TOF 6600 型高分辨质谱仪, 美国 AB Sciex 公司; Heraeus Fresco17 型离心机, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; BSA124S-CW 型分析天平, 德国 Sartorius 公司; YLS-1B 型多功能大鼠自主活动记录仪, 山东省医学科学院设备站。

2 方法

2.1 分组、模型复制、给药及样品采集处理 按照本课题组前期研究建立的综合物理造模方法^[3-4], 将 18 只雄性 SD 大鼠置于光照(12 h)/黑暗(12 h)条件下饲养, 温度: 22 ℃, 相对湿度: 50%, 自由饮水摄食。适应性喂养 7 d 后, 按照体质量随机分组: 正常组、模型组和治疗组(藿香正气口服液组), 每组 6 只。模型组与治疗组大鼠置于自制造模箱中, 温度为 18~25 ℃, 相对湿度为 90%±5%, 每日 8:00~16:00 令大鼠站在 4 cm 深的水中, 模拟“久居湿地, 外湿过盛”环境; 并采取单日禁食, 并灌服 2 mL 4 ℃冰水, 双日饲料供应充足, 每只大鼠给予灌胃熟猪油 4 mL, 模拟“情志不遂, 饮食不节, 饥饱失常”状态, 共造模 20 d。造模第 11 天, 给予治疗组灌服藿香正气口服液(10 mL·kg⁻¹), 连续给药 10 d, 正常组和模型组给予灌胃等体积生理盐水。实验末日进行宏观体征和行为学观察。末次给药 12 h 后, 大鼠经腹腔注射异氟烷 3 mL·kg⁻¹麻醉, 经腹主动脉取血; 血液样品在室温下凝固 60 min 后, 在 4 ℃下以 4 000 r·min⁻¹离心(离心半径 8.6 cm)15 min, 分离血清, 置于-80 ℃保存, 备用。

2.2 宏观体征及行为学指标测量 观测指标包括：体长、尾长、腹围指数。检测方法：体长为鼻尖至尾根部长度，尾长为尾根至尾尖长度；腹围指数为腹围长度与体质量的比值，腹围长度为使大鼠处于自然直立状态下腹中部 1 周的长度。行为学实验在微光、微声的环境中进行，将大鼠放入自主活动仪中等待 1 min，使之适应，记录大鼠 3 min 内的自主活动次数^[4]。

2.3 血清样本前处理 取 100 μL 冻融后的血清，加入 300 μL 甲醇与 20 μL 内标(1 mg·mL⁻¹ L-2-氯苯丙氨酸)涡旋混匀，于 4 ℃ 冷冻离心(13 000 r·min⁻¹，离心半径 8.6 cm) 15 min，吸取 200 μL 上清液供 UPLC-QTOF-MS 检测分析。

2.4 UPLC-QTOF-MS 检测条件

2.4.1 色谱条件 色谱柱：Waters UPLC BEH Amide (1.7 μm, 2.1 mm×50 mm)；柱温：30 ℃；进样量：1 μL；流速：0.5 mL·min⁻¹。流动相 A 为 25 mmol·L⁻¹ 醋酸铵及 25 mmol·L⁻¹ 氨水的水溶液，流动相 B 为乙腈；梯度洗脱条件：0~0.5 min, A: 5%；0.5~7 min, A: 5%~35%；7~8 min, A: 35%~60%；8~9 min, A: 60%；9~9.1 min, A: 60%~5%；9.1~12 min, A: 5%。

2.4.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI)，正、负离子模式。雾化气压：60 Psi；辅助气压：60 Psi；气帘气压：35 Psi；离子源温度：650 ℃；去簇电压：60 V；正、负离子模式下喷雾电压分别为+5 000 V 和-4 000 V；MS1、MS2 扫描范围为 *m/z* 50~1 000。

为确保分析系统的稳定性，将正常组、模型组、治疗组大鼠血清各取 20 μL 混合配制成质控(Quality control, QC)样品，整个分析过程中 QC 样品的峰保留时间与峰面积重现性良好。

2.5 代谢组学数据处理 使用 ProteoWizard 软件将质谱原始数据转成 mzXML 格式，转换后的数据进一步通过 XCMS 在线平台(<https://xcmsonline.scripps.edu/>) 进行保留时间校正、峰识别、峰提取、峰积分和峰对齐等操作，minfrac 设为 0.5，cutoff 设为 0.6，其他参数均采用默认值。为校正质谱响应值，采用内标(L-2-氯苯丙氨酸)归一化。归一化后的数据导入 SIMCA-P12.0 软件(Umetrics AB, Umeå/Malmö, 瑞典)，进行正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)。

2.6 统计学处理方法 采用 SPSS 24.0 统计软件进行数据分析；计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示；多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)，两两比较采用 Tukey 检验；以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠宏观体征及行为学指标的影响 结果见表 1。与正常组比较，模型组大鼠的体质量、体长、自主活动次数均明显减少(*P* < 0.001)，腹围指数明显升高(*P* < 0.001)，但尾长未见明显差异(*P* > 0.05)。与模型组比较，治疗组大鼠的体质量、体长、自主活动次数均明显增加(*P* < 0.05, *P* < 0.01)，腹围指数明显降低(*P* < 0.05)。

表 1 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠体质量、体长、尾长、腹围指数与自主活动的影响($\bar{x} \pm s$, *n*=6)

Table 1 Effect of *Huoxiang Zhengqi* oral liquid on body mass, body length, tail length, abdominal girth index and locomotor activity of rats with dampness obstructing spleen-stomach syndrome($\bar{x} \pm s$, *n*=6)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	体质量/g	体长/cm	尾长/cm	腹围指数/(cm·kg ⁻¹)	自主活动次数/次
正常组	-	263.15 ± 7.05 ^{***}	21.76 ± 0.63 ^{***}	18.16 ± 0.51	60.08 ± 3.09 ^{***}	98.63 ± 4.35 ^{***}
模型组	-	188.61 ± 8.76	18.99 ± 0.35	17.93 ± 0.82	74.21 ± 4.88	80.36 ± 9.76
治疗组	10	210.23 ± 9.98 ^{**}	19.97 ± 0.21 ^{**}	17.79 ± 0.45	69.26 ± 3.98 [*]	89.48 ± 10.37 [*]

注：与模型组比较，**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001

3.2 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠血清代谢表型的干预作用 大鼠血清在正、负离子扫描模式下的总离子流图见图 1，OPLS-DA 得分图见图 2。如图 2-A、图 2-B 所示，正常组和模型组的血清样本点可完全区分开，说明湿困脾胃证大鼠血清代谢组出现了明显改变。OPLS-DA 模型的主要参数(7 倍交叉验证法)为：*R*²_v=0.994，*Q*²=0.729(正离子模式)和 *R*²_v=0.999，*Q*²=0.726(负离子模式)，结果表明该模型

稳定性与预测能力较好。如图 2-C、图 2-D 所示，治疗组与模型组代谢轮廓明显分开且有靠近正常组的趋势，说明藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠血清代谢紊乱具有调节作用。

3.3 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠相关血清潜在生物标志物的影响 采用 OPLS-DA 模型(见图 2-A、图 2-B)变量投影重要度(VIP) > 1 以及 *t* 检验 *P* < 0.05 筛选差异代谢物。根据精确分子量和串联质谱

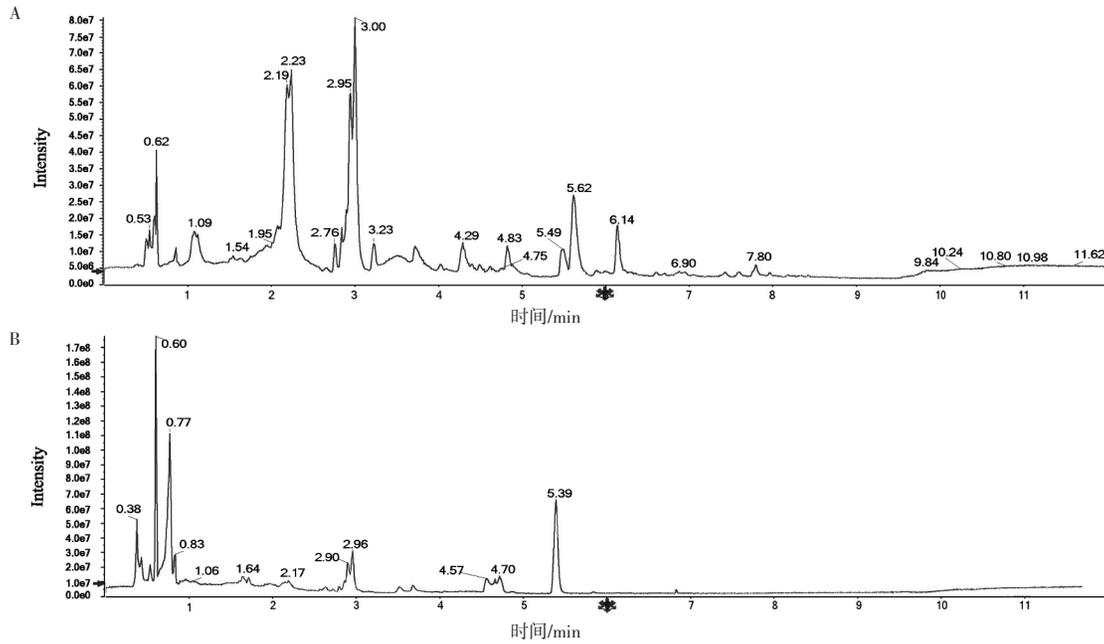
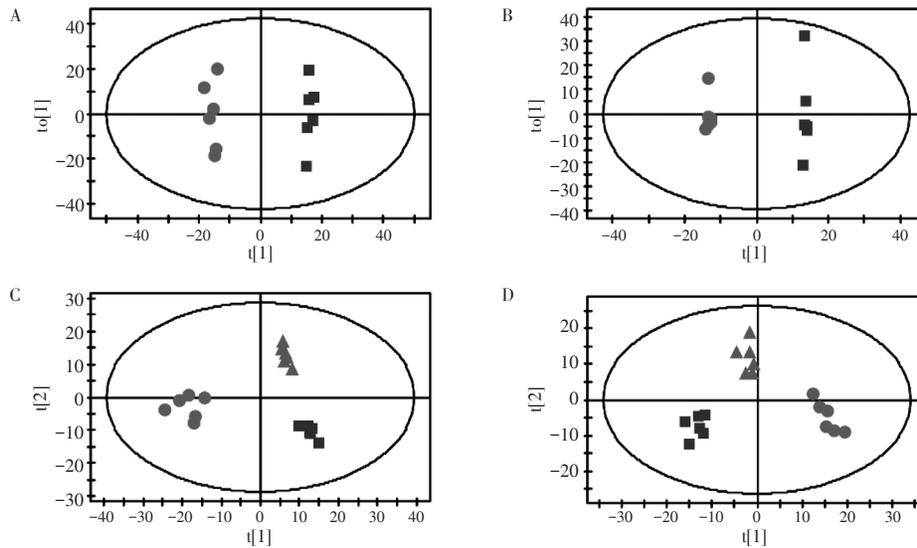


图 1 正离子(A)、负离子(B)模式下大鼠血清的 UPLC-QTOF-MS 总离子流图
Figure 1 Total ion flow diagrams of rat serum under positive (A) and negative (B) ion modes



注：●表示正常组；■表示模型组；▲表示治疗组

图 2 正离子(A、C)、负离子(B、D)模式下大鼠血清 OPLS-DA 得分图

Figure 2 OPLS-DA scores plots of rat serum under positive ion(A, C)and negative ion modes(B, D)

结果，与 HMDB、METLIN 等质谱数据库进行质谱信息匹配，在正离子、负离子模式下分别鉴定了 15、10 个潜在生物标志物，见表 2 及图 3-A、图 3-B。藿香正气口服液能使 14 个潜在生物标志物显著回调，与模型组比较，治疗组大鼠血清中溶血磷脂酰胆碱(14:0)、溶血磷脂酰乙醇胺(20:3)、烟酰胺、溶血磷脂酰乙醇胺(16:0)、磷脂酰丝氨酸(18:0/18:1)明显上调($P < 0.05$)；组胺、 γ -谷氨酰丙氨酸、5-甲基硫代腺苷、谷胱甘肽、鹅脱氧胆酸、硬脂酰肉毒碱、丙酮酸、半胱氨酸-S-硫酸盐、牛磺胆

酸明显下调($P < 0.05$)。利用 MetaboAnalyst 4.0 进行代谢通路分析，共涉及 9 条代谢通路(影响值 > 0.1)，具体见图 3-C。结果表明，藿香正气口服液可能通过磷脂代谢、氨基酸代谢、能量代谢等 9 条代谢通路对湿困脾胃证大鼠产生干预作用。

4 讨论

湿困脾胃证又称湿阻中焦证，常见于广东岭南地区，湿邪入侵阻滞脾胃运化功能，引起胃肠功能失调。湿困脾胃证主要表现为水液代谢障碍、胃肠动

表 2 湿困脾胃证大鼠的血清潜在生物标志物
Table 2 Potential biomarkers associated with dampness obstructing spleen-stomach syndrome in rats' serum

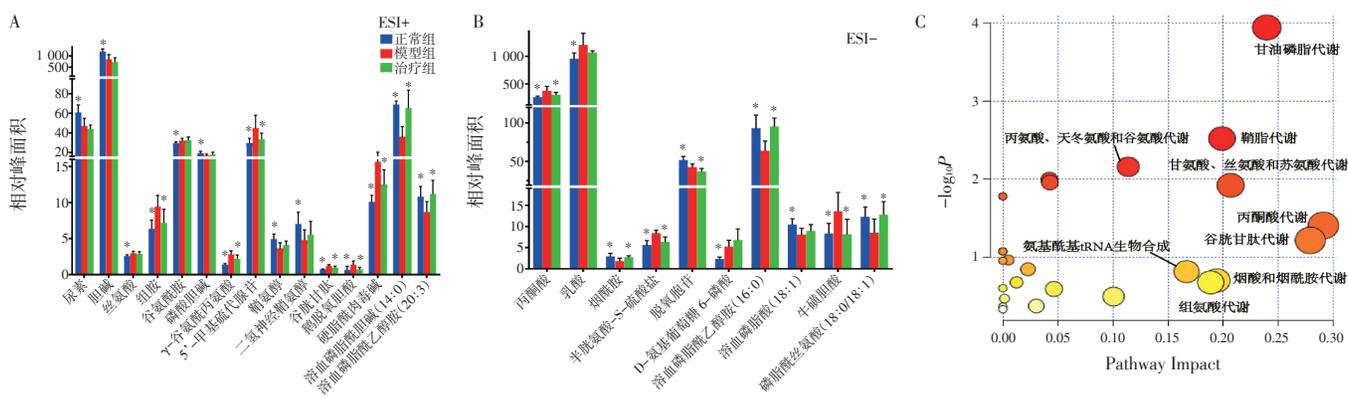
模式	代谢物	分子式	保留时间/min	m/z 值	离子	
ESI+	尿素	CH ₄ N ₂ O	101.86	61.039 7	[M+H] ⁺	
	胆碱	C ₅ H ₁₄ NO	258.09	104.106 9	-	
	丝氨酸	C ₃ H ₇ NO ₃	357.86	106.049 1	[M+H] ⁺	
	组胺	C ₅ H ₉ N ₃	363.79	112.086 2	[M+H] ⁺	
	谷氨酰胺	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	354.84	169.058 1	[M+Na] ⁺	
	磷酸胆碱	C ₅ H ₁₅ NO ₄ P	172.33	184.072 8	[M+H] ⁺	
	γ-谷氨酰丙氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₃	388.42	219.097 2	[M+H] ⁺	
	5'-甲基硫代腺苷	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₅ S	99.49	298.096 8	[M+H] ⁺	
	鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₇ NO ₂	36.76	300.289 3	[M+H] ⁺	
	二氢神经鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	123.29	302.304 7	[M+H] ⁺	
	谷胱甘肽	C ₁₀ H ₁₇ N ₃ O ₆ S	392.82	308.091 0	[M+H] ⁺	
	鹅脱氧胆酸	C ₂₃ H ₄₀ O ₄	148.70	410.325 7	[M+NH ₄] ⁺	
	硬脂酰肉毒碱	C ₂₅ H ₅₀ NO ₄	157.62	428.373 0	[M+H] ⁺	
	溶血磷脂酰胆碱(14:0)	C ₂₃ H ₄₀ NO ₄ P	184.39	468.308 9	[M+H] ⁺	
	溶血磷脂酰乙醇胺(20:3)	C ₂₈ H ₅₀ NO ₄ P	182.29	504.305 5	[M+H] ⁺	
	ESI-	丙酮酸	C ₃ H ₄ O ₃	126.31	87.007 4	[M-H] ⁻
		乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	211.70	89.023 3	[M-H] ⁻
		烟酰胺	C ₆ H ₆ N ₂ O	25.93	181.058 2	[M+CH ₃ COO] ⁻
		半胱氨酸-S-硫酸盐	C ₃ H ₇ NO ₃ S ₂	285.20	199.967 0	[M-H] ⁻
脱氧胞苷		C ₉ H ₁₃ N ₃ O ₄	190.72	226.081 8	[M-H] ⁻	
D-氨基葡萄糖 6-磷酸		C ₆ H ₁₄ NO ₃ P	25.84	275.070 2	[M+NH ₄ -2H] ⁻	
溶血磷脂酰乙醇胺(16:0)		C ₂₁ H ₄₀ NO ₄ P	182.73	452.277 3	[M-H] ⁻	
溶血磷脂酸(18:1)		C ₂₁ H ₄₀ O ₄ P	227.73	457.233 7	[M+Na-2H] ⁻	
牛磺胆酸		C ₂₆ H ₄₆ NO ₃ S	182.80	514.282 8	[M-H] ⁻	
磷脂酰丝氨酸(18:0/18:1)		C ₄₂ H ₈₀ NO ₁₀ P	132.65	788.544 8	[M-H] ⁻	

力障碍、肠黏膜屏障破坏、活性反应失衡等^[5]。本研究采用综合物理造模方法，诱导湿困脾胃证大鼠模型。与正常组比较，模型组大鼠体质量减轻、体长缩短，腹围指数增加，提示湿困脾胃证大鼠出现脾

胃运化与胃肠消化功能障碍；自主活动次数减少，提示模型组大鼠能量不足。经藿香正气口服液治疗后，湿困脾胃证大鼠的宏观体征与行为学指标得到明显改善。

本研究运用基于 UPLC-QTOF-MS 技术的血清代谢组学方法探讨藿香正气口服液干预湿困脾胃证大鼠的作用机制。在前期 ¹H-NMR 研究^[3-4]的基础上新增了 25 种潜在生物标志物，其中谷氨酰胺和乳酸为 2 种检测技术共同检测得到的标志物，其余标志物为通过单一方法检测得到。2 种代谢组学方法分析结果均涉及氨基酸代谢及能量代谢途径，而 UPLC-QTOF-MS 分析结果新增了磷脂代谢途径。¹H-NMR 技术可通过检测氧化三甲胺的水平反映肠道菌群的状态。因此，2 种技术联用具有信息互补性，可扩大检测范围，分析结果可以相互佐证，建立更全面的代谢网络。

4.1 磷脂代谢 溶血磷脂酰乙醇胺(LysoPE)对于调节上皮完整性和生理稳态至关重要，LysoPE 减少会引起肠道屏障受损^[6]。溶血磷脂酰胆碱(LysoPC)是一种氧化低密度脂蛋白成分，LysoPC 对肠屏障具有破坏作用，并具有促炎特性^[7]。磷脂酰丝氨酸(PS)为磷脂家族成员之一，具有调控细胞膜关键蛋白功能状态的作用；丝氨酸及其代谢产物对于细胞增殖是必不可少的物质，具有修复肠道屏障的作用，参与磷脂代谢，合成磷脂酰丝氨酸。鞘氨醇属于鞘脂类，二氢神经鞘氨醇是鞘氨醇的衍生物，也是生产神经酰胺的中间体^[8]，鞘氨醇及其代谢物参与细胞增殖、分化、凋亡。本研究中，与正常组比较，模型组大鼠的上述磷脂水平均显著下降，反映湿困脾胃证会导致甘油磷脂代谢与鞘氨醇代谢紊乱。药物干预后，溶血磷脂酰胆碱(14:0)、溶血磷脂酰乙醇胺(20:3)、



注：与模型组比较，*P < 0.05

图 3 湿困脾胃证大鼠的血清潜在生物标志物及其代谢通路

Figure 3 Potential biomarkers and metabolic pathways related to dampness obstructing spleen-stomach syndrome in rat serum

磷脂酰丝氨酸(18:0/18:1)显著回调,说明藿香正气口服液可能通过调节甘油磷脂代谢途径干预湿困脾胃证。

4.2 氨基酸代谢 氨基酸对维持肠道健康与预防肠道疾病具有重要作用。谷胱甘肽由甘氨酸、L-谷氨酸、L-半胱氨酸组成,是细胞中的抗氧化剂,具有保护细胞免受氧化损伤的作用^[9-10]。模型组大鼠的谷胱甘肽升高可能与拮抗氧化应激反应有关。其中, γ -谷氨酰环转移酶参与谷胱甘肽的分解,在防止细胞氧化损伤的过程中起重要作用^[11]。药物干预后,谷胱甘肽、 γ -谷氨酰丙氨酸含量下降,表明藿香正气口服液可能通过减少氧化应激调节谷胱甘肽代谢,保护细胞氧化损伤而发挥治疗作用。组氨酸为机体必需的氨基酸,在组氨酸脱羧酶的作用下代谢为组胺。组胺是一种炎性介质,在胃肠道中含量丰富。研究^[12]表明,组胺能促进白细胞介素(IL)8促炎因子的释放,改变肠道局部防御功能。本研究中,与正常组比较,模型组大鼠的组胺水平明显上升,给予藿香正气口服液后组胺水平明显下降,说明藿香正气口服液可能通过减少促炎因子释放来减轻肠道炎症。

4.3 能量代谢 烟酰胺为维生素B₃,由肠道菌群合成,在体内合成并转化为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺),参与能量代谢过程,具有维持肠道健康,减轻肠道炎症的作用^[13]。本研究中,与正常组比较,模型组大鼠的烟酰胺水平明显下降,药物干预后回调,说明藿香正气口服液可能通过调节烟酰胺代谢和减轻肠道炎症干预湿困脾胃证。葡萄糖在糖酵解相关酶代谢下转化为丙酮酸,在无氧条件下,丙酮酸转化为乳酸;血液中乳酸水平可反映出肠道黏膜损伤程度与通透性^[14]。本研究中,与正常组比较,模型组大鼠的乳酸与丙酮酸水平明显上升,说明丙酮酸代谢紊乱;给予藿香正气口服液后,模型组大鼠的丙酮酸水平显著回调,说明藿香正气口服液可能通过调节能量代谢干预湿困脾胃证。

综上所述,本研究通过基于UPLC-QTOF-MS技术的血清代谢组学方法探讨了藿香正气口服液干预湿困脾胃证大鼠的作用机制,可能涉及磷脂代谢、

氨基酸代谢、能量代谢等途径,可为进一步深入探讨藿香正气口服液的作用机制提供参考。

参考文献:

- [1] 黄伟震,潘红飞.平胃散治疗湿困脾胃证作用机制现代实验研究进展[J].医学综述,2015,21(4):703-705.
- [2] 周岁锋,陈华琼,缪英年.《太平惠民和剂局方》藿香正气散解析[J].中国民间疗法,2020,28(13):9-11.
- [3] 李春苑,周祥羽,巫圣乾,等.藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠尿液代谢组学的影响[J].中药新药与临床药理,2017,28(4):499-503.
- [4] 龚梦鹃,李春苑,巫圣乾,等.藿香正气口服液干预湿困脾胃证大鼠的血清和粪便代谢组学研究[J].中草药,2017,48(14):2889-2894.
- [5] 汪滢,孙宏文.湿阻中焦证现代机制研究[J].长春中医药大学学报,2015,31(2):297-300.
- [6] ZOU D, PEI J, LAN J, et al. A SNP of bacterial blc disturbs gut lysophospholipid homeostasis and induces inflammation through epithelial barrier disruption[J]. EBioMedicine, 2020, 52: e102652.
- [7] ZHANG X, CHOI F, ZHOU Y, et al. Metabolite profiling of plasma and urine from rats with TNBS-induced acute colitis using UPLC-ESI-QTOF-MS-based metabonomics—a pilot study[J]. FEBS J, 2012, 279(13): 2322-2338.
- [8] BROGDEN G, HUSEIN D M, STEINBERG P, et al. Isolation and quantification of sphingosine and sphinganine from rat serum revealed gender differences[J]. Biomolecules, 2019, 9(9): 459-465.
- [9] FORMAN H J, ZHANG H, RINNA A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis[J]. Mol Aspects Med, 2009, 30(1): 1-12.
- [10] SIES H. Glutathione and its role in cellular functions[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 27(9): 916-921.
- [11] 段小海,宋焱龙,胡炜. γ 谷氨酰环化转移酶对斑马鱼早期发育的影响[J].水生生物学报,2015,39(2):281-286.
- [12] DUAN L, CHEN X, ALEXANDER J W. Regulatory effect of histamine on the barrier function of intestinal mucosal[J]. J Gastrointest Surg, 2010, 14(7): 1180-1185.
- [13] QI Y, LOHMAN J, BRATLIE K M, et al. Vitamin C and B3 as new biomaterials to alter intestinal stem cells[J]. J Biomed Mater Res A, 2019, 107(9): 1886-1897.
- [14] 荆扬,石永强,张家琦,等.外源性维生素D对炎症性肠病患者肠道黏膜屏障和炎症因子水平的影响[J].胃肠病学,2019,24(8):493-496.

(编辑:邹元平)