

夏枯草对果糖诱导的大鼠代谢综合征的影响及其代谢机制

汤杨黔南¹, 陈梓玉¹, 李利¹, 杨盾¹, 王枭冶², 谢明霞^{1,2*}

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208;

2. 湖南省脑科医院(湖南省第二人民医院), 长沙 410007)

[摘要] 目的: 代谢综合征是多种疾病的表现形式, 严重危害心脑血管系统。中药夏枯草能调节高脂小鼠脂代谢紊乱状态, 有效抑制肝损伤代谢紊乱, 针对夏枯草对代谢综合征的影响及代谢机制进行分析, 试图从天然产物中寻找潜在的安全药物。方法: 采用果糖诱导复制大鼠代谢综合征模型, 基于气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)的方法探讨夏枯草提取物对代谢综合征大鼠的作用及可能的代谢机制。结果: 夏枯草提取物可显著降低代谢综合征大鼠体质量, 降低血脂水平, 抗脂质过氧化损伤, 抑制血清肿瘤坏死因子(TNF)- α 炎症因子的释放, 保护肝脏维护其正常功能运行。多元统计分析结果显示, 代谢综合征大鼠血清中代谢物发生显著变化, 夏枯草处理可显著改善其变化。与正常组比较, 代谢综合征大鼠中发现11个差异代谢标志物; 与模型组比较, 夏枯草组中有8个显著差异代谢标志物, 其中, 磷酸盐、丙酮酸和琥珀酸为共有的标志物。通路分析显示, 夏枯草的调节作用主要与三羧酸循环、糖酵解和糖异生、丝氨酸/苏氨酸和甘氨酸代谢途径有关。结论: 夏枯草可作为治疗代谢综合征潜在的自然药物来源, 其可通过能量代谢和氨基酸代谢途径调节果糖诱导的代谢综合征的代谢紊乱。

[关键词] 夏枯草; 果糖诱导; 代谢综合征; 代谢组学; 气相色谱-质谱联用仪

[中图分类号] R284.2; R285; R289; R22; R2-031; R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)09-0125-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220416

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220209.1157.003.html>

[网络出版日期] 2022-02-09 14:13

Effect and Mechanism of *Prunellae Spica* on Metabolic Syndrome in Rats

TANG Yang-qian-nan¹, CHEN Zi-yu¹, LI Li¹, YANG Dun¹, WANG Xiao-ye², XIE Ming-xia^{1,2*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. Hunan Brain Hospital (The Second People's Hospital of Hunan Province), Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** Metabolic syndrome is the inherent phenotype of many diseases, which seriously endangers the cardio-cerebrovascular system. *Prunellae Spica* can regulate lipid metabolism disorder in high-fat mice and inhibit the metabolic disorder of liver injury. This study analyzed the effect of *Prunellae Spica* on metabolic syndrome and its mechanism, and it is of great significance to find potential safe drugs from natural products. **Method:** In this study, the metabolic syndrome model was induced by fructose. The metabolomics method based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to explore the effect and mechanism of *Prunellae Spica* on rats with metabolic syndrome. **Result:** Pharmacological results showed that *Prunellae Spica* significantly reduced the body weight, blood lipid level and lipid peroxidation level and inhibited the release of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in rats with metabolic syndrome. Thus, *Prunellae Spica* protected the liver and maintained its normal functions. Multivariate statistical analysis revealed that metabolites in the

[收稿日期] 2021-11-10

[基金项目] 中国博士后科学基金第69批面上资助项目(2021M690990); 湖南省自然科学基金科药联合项目(2021JJ80060); 湖南省卫生健康委员会项目(202107021634)

[第一作者] 汤杨黔南, 在读硕士, 从事中药药效物质基础及其质量标准化研究, Tel: 0731-88458230, E-mail: tangyangqiannan@163.com

[通信作者] * 谢明霞, 博士, 从事代谢综合征的物质基础及机制研究, Tel: 0731-88458230, E-mail: 13116766@qq.com

serum of rats with metabolic syndrome changed significantly, which was improved after *Prunellae Spica* treatment. Compared with the metabolites in normal group, 11 differential metabolic markers were found in rats with metabolic syndrome. Compared with model group, *Prunellae Spica* group had 8 significantly different metabolic markers, among which phosphate, pyruvic acid and succinic acid were common markers. Pathway analysis indicated that the regulatory effect of *Prunellae Spica* was mainly related to citrate cycle, glycolysis and gluconeogenesis, serine/threonine and glycine metabolic pathways. **Conclusion:** *Prunellae Spica* can be used as a potential natural source for the treatment of metabolic syndrome. It can regulate the metabolic disorder in metabolic syndrome via energy and amino acid metabolism.

[Keywords] *Prunellae Spica*; fructose-induced; metabolic syndrome; metabolomics; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

代谢综合征是多种代谢成分异常聚集的病理状态,是一组复杂的代谢紊乱症候群,是导致多种心脑血管疾病的诱导因素^[1]。代谢综合征在全球患病率持续上升,是动脉粥样硬化性心血管疾病的多重危险因素^[2]。据文献报道,长期不良饮食习惯、缺乏运动的生活方式和腹型肥胖是除家族遗传因素外引发代谢综合征的主要原因^[3-4];胰岛素抵抗、内脏肥胖、动脉粥样硬化性血脂异常、内皮功能障碍、遗传易感性、血压升高、高凝状态和慢性应激是构成代谢综合征的几个因素^[5]。当代生活方式的改变导致的发病率急剧上升以及异质性增加都给疾病的防治带来前所未有的挑战,而现代生活方式改变疗法(饮食和运动相结合的行为疗法)是代谢综合征的主要治疗措施,但在风险因素未降低时,需考虑药物治疗^[6]。此外,代谢综合征人群中发生严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)感染的风险以及病毒对宿主代谢参数的影响^[7],因此,积极开展代谢综合征的预防和治疗有十分重要的意义。

夏枯草为唇形科植物夏枯草的干燥果穗,具有清肝泻火,明目,散结消肿等功效^[8]。药理学研究表明,夏枯草含有丰富的萜类、甾醇类、黄酮类等成分^[9],具有降血糖、降血压、抗肿瘤、抗炎、抗氧化等药理作用^[10],对目赤肿痛、目珠夜痛、头痛眩晕、瘰疬、瘦瘤、乳腺癌、高血压、高血脂、急性黄疸型传染性肝炎等多种疾病均有良好的临床治疗效果^[11-12]。夏枯草能有效地降低高脂小鼠的血脂水平,能较好调节高脂小鼠脂代谢紊乱状态^[13];夏枯草能有效地抑制乙醇诱导的肝损伤代谢紊乱,主要机制为通过调节苯基丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成通路来调节酒精诱导的肝损伤的代谢紊乱^[14]。以上结果提示夏枯草能通过多种途径调节肝脏心脏代谢和脂质的紊乱,因此,夏枯草可能是治疗代谢综合征有效候选药物。本研究夏枯草给药前后对代谢综

合征的代谢变化影响,筛选可能的差异标志物及其相关代谢通路,从代谢角度初步探讨夏枯草治疗代谢综合征的代谢机制,以期对中药有效防治代谢综合征提供参考。

1 材料

肿瘤坏死因子(TNF)- α 测定试剂盒(杭州联科生物科技有限公司,批号70-EK282HS-96),洛伐他汀(齐鲁制药有限公司,批号6B0021D17),异氟烷(瑞沃德生命科技有限公司),水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司),甲氧胺、*N,O*-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)、2-异丙基苹果酸、吡啶(美国Sigma公司,批号分别为BCBP2843V、BCBR2690V、MKBZ2967V、STBF7305V),苏木素-伊红染液(武汉谷歌生物科技有限公司,批号G1005)。

雄性SD大鼠40只,SPF级6~8周龄,体质量180~200 g,湖南斯莱克景达动物有限公司提供,合格证号SCXK(湘)2016-0002。实验动物饲养于湖南中医药大学实验动物中心,实验程序由湖南中医药大学实验动物伦理委员会标准批准(编号LL2019110701)。

TGL-20MB型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司),Microfuge 20R型高速冷冻离心机(美国贝克曼公司),BPZ11D型电子分析天平(Sartorius公司),BioTek型多功能酶标仪(5L \times 800,美国BioTek公司),Vortex QL-901型涡旋振荡器(德国维根实验通用设备公司),QP2010型气相色谱-质谱联用(GC-MS)仪(日本岛津公司)。

夏枯草饮片购于湖南省长沙市高桥药材市场,经湖南中医药大学药学院中药教研室刘塔斯教授鉴定为唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* 的干燥果穗。

2 方法

2.1 药物与制备 称取夏枯草药材200 g,分别以

10倍量、8倍量、8倍量体积蒸馏水在加热套中重复提取3次,每次提取时间为1 h,合并提取液,减压浓缩获得生药 $1.0\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$;再改变溶液乙醇体积分数至80%,静置,取上清液,减压浓缩至 $1.0\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,放置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。

2.2 动物模型 动物适应性喂养1周,在标准受控的环境中(温度 $23\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度 $40\%\sim 60\%$,光/暗周期12 h,自由进食进水)。将大鼠随机分成4组,按照以下分组给药,依次是正常组、模型组、洛伐他汀组和夏枯草组,每组10只。正常组给予定量的蒸馏水,模型组给予相同体积的20%果糖水^[15],同时灌胃生理盐水2 mL,洛伐他汀组给予相同体积的20%果糖水,同时灌胃洛伐他汀($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),夏枯草组给予相同体积的20%果糖水,同时灌胃夏枯草提取物($8.7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),连续给药42 d。

2.3 血脂水平和肝功能指标的测定 于实验结束前一天,所有大鼠禁食不禁水16 h。观察并记录大鼠体质量以后;用水合氯醛麻醉,采集腹主动脉血样,室温静置沉降1 h,待血液凝固后于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心10 min,离心半径6.20 cm,离心后取上层清液(即血清),置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱内保存,备用。利用全自动血液生化分析仪进行血清中的血脂水平指标[总胆固醇(TC)、甘油三酸酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]和肝功能指标[天冬氨酸氨基转氨酶(AST),丙氨酸氨基转氨酶(ALT),碱性磷酸酶(ALP)]的测定。

待血样采集完毕,取出大鼠肝脏,用生理盐水冲洗2~3次,称质量,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱内备用;计算分析大鼠的肝脏指数($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)=肝脏质量(mg)/体质量(g)

2.4 炎性细胞因子和氧化应激指标的测定 采集血样室温静置30 min,待血液凝固后于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ $1\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,离心10 min,离心半径6.20 cm,离心后取上清液。按照联科公司生产的酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒,检测血清TNF- α ;按照试剂盒说明使用多功能酶标仪分别测定超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)和丙二醛(MDA)的含量。

2.5 代谢物的提取 解冻后的血清样本 $100\text{ }\mu\text{L}$ ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$),加入内标2-异丙基苹果酸($1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $50\text{ }\mu\text{L}$,涡旋仪涡旋混合;加入甲醇 $450\text{ }\mu\text{L}$ 除蛋白试剂,涡旋混合后,静置时间8 min,放入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心机,以 $13\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,离心半径8.98 cm,取上

清液,氮气吹干。向干燥残渣中加入甲氧胺-吡啶($20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) $50\text{ }\mu\text{L}$, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下反应1 h;再加入BSTFA $100\text{ }\mu\text{L}$,混匀30 s, $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下反应1 h;室温静置2 h,以 $13\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心8 min,离心半径8.98 cm,取上清液 $100\text{ }\mu\text{L}$ 转移至 $250\text{ }\mu\text{L}$ 内插管,装入进样瓶,用于GC-MS分析检测。质量控制样品(QC),4组大鼠血清样本处理后所获得的样品 $10\text{ }\mu\text{L}$ 混合而成,以评价代谢组学方法的稳定性与重复性。

2.6 GC-MS条件

2.6.1 气相色谱条件 DB-5MS石英毛细管柱($0.25\text{ mm}\times 30\text{ m}, 0.25\text{ }\mu\text{m}$);进样口温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$;载气为氦气(纯度99.999%),流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;采用程序升温,初始温度 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持4 min,以 $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $110\text{ }^{\circ}\text{C}$,以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $190\text{ }^{\circ}\text{C}$,以 $6\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $226\text{ }^{\circ}\text{C}$,再以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度升温至 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$,并保持5 min;分流比10:1;进样量 $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.6.2 质谱条件 电离方式为电子轰击离子源(EI);电子能量70 eV;离子源温度 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟时间6.5 min;质量数检测范围 $35\sim 550\text{ m/z}$ 。为保证整个分析系统的稳定性,在本实验中使用QC样品进行方法验证。在样品的检测过程中,需要在5个样品检测后运行1次QC样品平衡系统。

2.6.3 数据分析与处理 将样品的GC-MS数据导入AMDIS软件进行去卷积、峰识别、峰对齐、峰匹配和峰强度校正等操作,获得均一的可鉴定的代谢物。通过美国国家标准技术研究院(NIST)数据库进行代谢物和内标物的鉴定、注释。选择与数据库相似度 $>80\%$ 的代谢物,同时满足代谢物在QC中低于30%RSD。通过内标的归一化处理,将所得的数据矩阵导入SMICA-15.0统计软件进行主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)以及正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。根据VIP值和P值及差异倍数(FC)筛选差异代谢物,再利用MetaboAnalyst及京都基因与基因组百科全书(KEGG)等生物学数据库进行生物标志物的通路富集分析。

2.7 统计学分析 采用SPSS 21.0统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示;多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 夏枯草对大鼠体质量肝脏指数的影响 与正常组相比模型组大鼠体质量显著升高($P<0.01$),与

模型组比较夏枯草组大鼠体质量明显下降 ($P<0.05$), 与药物洛伐他汀的作用效果相近。同时, 夏枯草对果糖诱导的大鼠的肝脏指数并未显

著影响, 说明夏枯草可以有效降低代谢综合征情况下的大鼠体质量, 且不引起肝脏指数的变化。见表1。

表1 夏枯草提取物对大鼠体质量、血脂水平及肝脏指数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of *Prunellae Spica* on weight, blood lipid level and liver index in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量/g	肝脏指数/0.1 kg·g ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹	LDL-C/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹
正常组		386.9±32.90	0.020±0.00	1.61±0.23	0.21±0.04	0.45±0.075	1.07±0.17
模型组		551.2±36.63 ²⁾	0.020±0.00	2.15±0.31 ²⁾	0.57±0.10 ²⁾	0.74±0.09 ²⁾	0.96±0.13
夏枯草组	8.7	518.7±22.91 ³⁾	0.030±0.00	1.84±0.125 ³⁾	0.45±0.097 ³⁾	0.60±0.073 ⁴⁾	0.98±0.08
洛伐他汀组	0.05	503.0±31.11 ³⁾	0.023±0.00	1.49±0.12 ⁴⁾	0.29±0.06 ⁴⁾	0.47±0.08 ⁴⁾	0.97±0.15

注: 与正常组比较¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组比较³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ (表2和表3同)

3.2 夏枯草对血脂水平的影响 血清中TG、TC及LDL-C含量是判定脂代谢紊乱的重要指标之一。与正常组相比, 模型组的TG、TC和LDL-C水平显著升高 ($P<0.01$), 说明模型组血脂水平紊乱; 夏枯草处理后, 夏枯草组降低了模型组大鼠TG、TC和LDL-C水平 ($P<0.05, P<0.01$), 说明夏枯草具有显著降低血脂水平, 调节血脂紊乱的作用。与模型组比较夏枯草组和洛伐他汀组对HDL-C差异均无统计

学意义。见表1。

3.3 夏枯草对氧化应激指标以及炎症因子活力的影响 与正常组比较, 在果糖的诱导下的模型组大鼠肝脏中GSH和SOD明显下降 ($P<0.05$), 而MDA明显升高 ($P<0.05$), 提示代谢综合征大鼠肝脏内存在明显的氧化损伤及脂质过氧化。与模型组比较, 夏枯草组大鼠肝脏GSH和SOD水平明显升高 ($P<0.05$), 而MDA水平明显降低 ($P<0.05$)。见表2。

表2 夏枯草提取物对大鼠氧化应激指标和炎症因子的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of *Prunellae Spica* on oxidative stress index and inflammatory factor in rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	GSH/mmol·g ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹	MDA/mmol·g ⁻¹	TNF- α /nmol·L ⁻¹
正常组		1 482.48±157.67	280.64±14.60	1.07±0.05	155.56±11.08
模型组		1 119.84±101.44 ²⁾	239.86±34.09 ²⁾	1.37±0.26 ¹⁾	219.98±15.16 ²⁾
夏枯草组	8.7	1 371.45±162.98 ⁴⁾	277.11±19.99 ³⁾	1.11±0.11 ³⁾	197.40±18.20 ³⁾
洛伐他汀组	0.05	1 445.13±99.15 ⁴⁾	281.42±25.32 ⁴⁾	1.10±0.09	166.65±13.80 ⁴⁾

与氧化应激指标相对应, 模型组大鼠相较于正常组, 血清TNF- α 炎症因子含量显著增加 ($P<0.01$), 表明代谢综合征使机体存在免疫相关的损伤, 处于炎症的紊乱状态。然而, 经夏枯草处理后, 血清TNF- α 炎症因子的释放得到明显抑制 ($P<0.05$), 见表2。

3.4 夏枯草对肝功能指标的影响 与正常组相比, 模型组AST、ALT和ALP均出现不同程度的升高 ($P<0.05$), 说明高果糖诱导的代谢综合征可显著引起肝功能损伤。经过夏枯草处理后, 发现AST和ALT在肝脏中含量显著减少 ($P<0.01$), 说明夏枯草提取物对代谢综合征引起的肝功能损伤具有显著保护作用, 见表3。夏枯草处理对ALP差异无统计学意义。

表3 夏枯草提取物对肝功能指标的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of *Prunellae Spica* on liver function index ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ALT	AST	ALP
正常组		21.17±3.27	93.72±9.32	80.92±8.02
模型组		27.62±4.90 ¹⁾	118.8±18.68 ²⁾	94.58±12.31 ¹⁾
夏枯草组	8.7	24.42±3.18 ⁴⁾	96.32±4.96 ⁴⁾	93.72±9.39
洛伐他汀组	0.05	19.07±4.60 ⁴⁾	93.1±10.69 ⁴⁾	79.76±7.16 ³⁾

代谢物, 包括糖类、氨基酸、有机酸及脂肪酸等物质。为进一步筛选可能生物标志物及其相关通路, 采用多元统计分析方法, 建立数学模型。

采用无监督模式的PCA方法, 对大鼠血清代谢物进行全局分析, 所有QC样品较接近且均较好的聚集在原点附近, 表明本实验的方法具有较好的稳定性且仪器具有较好的精密度。模型组与正常组分别分布在左侧和右侧位置, 说明代谢综合征模型

3.5 多元统计分析 不同组别的大鼠血清的GC-MS图谱见图1, 基于谱图及数据库, 最终鉴定38个

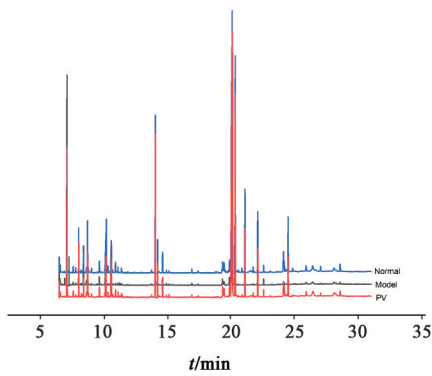
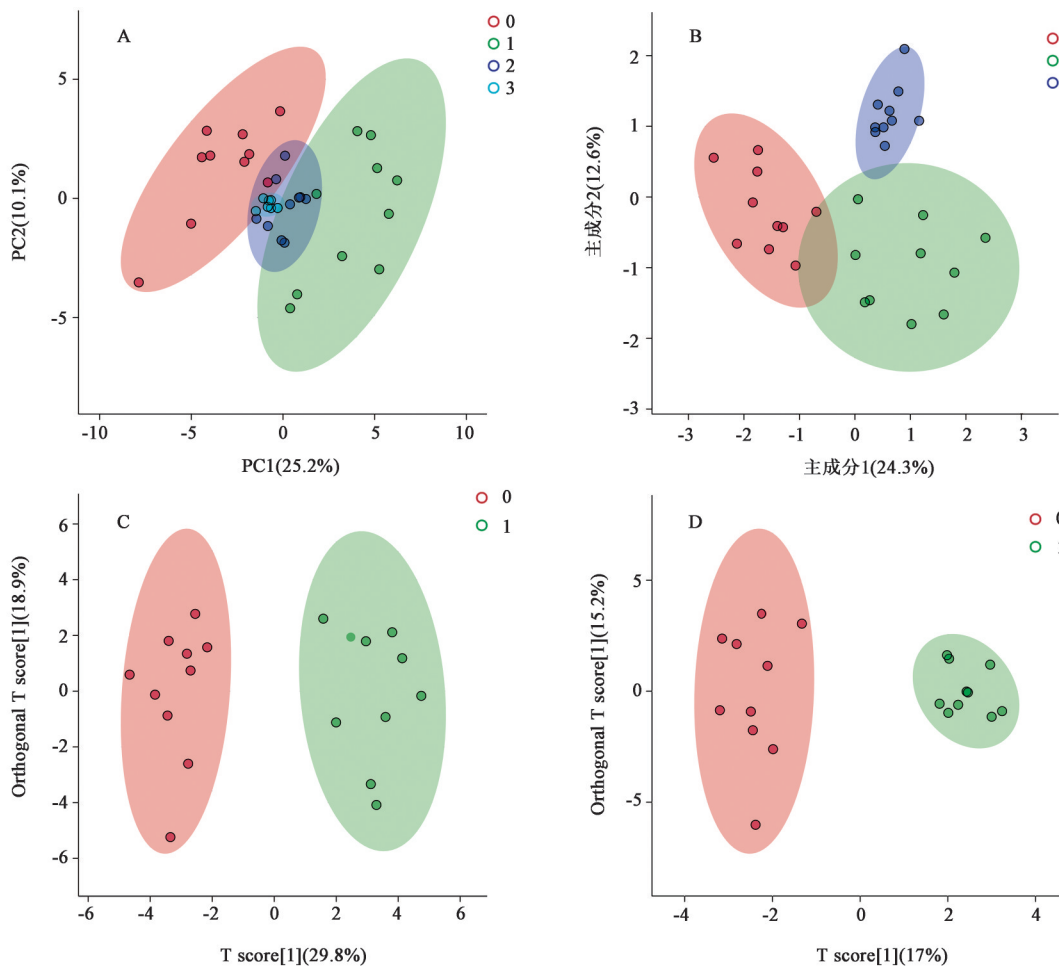


图1 不同处理组大鼠血清的GC-MS总离子流
Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of different treatment of rat serum

大鼠与正常大鼠比较,代谢物存在显著差异;夏枯草组则分布在模型组和正常组之间。去除QC样品应用PLS-DA建模可得,模型组和正常组具有与PCA类似的趋势,且夏枯草组均在两者之间,由此说明,经过夏枯草处理后,模型组的大鼠血清代谢物水平显著改善。见图2。

为进一步筛选夏枯草对代谢综合征影响的差异代谢物,通过OPLS-DA分别建立模型组和正常组之间以及模型组和夏枯草组之间的统计模型。模型组和正常组之间的模型,其解释能力参数 $R^2Y=0.94$,预测能力参数 $Q^2Y=0.84$ 。同理,模型组和夏枯草组,其模型解释能力参数 $R^2Y=0.81$,预测能力参数 $Q^2Y=0.96$,说明以上两个模型具有较好区分能力和预测能力。置换检验表明,两个模型 $P<0.01$ (0/100),提示均无过拟合现象,可用于标志物的筛选。见图2。

3.6 差异代谢物筛选 通过模型的诊断确认模型可用于差异代谢物的筛选后,基于 $VIP>1$ 、 $P<0.05$ 及 $FC>2$ 筛选标志物,火山图及VIP图见图3。符合要求的标志物分别为磷酸盐(phosphate)、琥珀酸(succinic acid)、葡萄糖(glucose)、尿素(urea)、苏氨酸(threonine)、丝氨酸(serine)、丙酮酸(pyruvic acid)、十二烷(dodecane)。模型组和夏枯草组之间符合要求的标志物分别为阿洛糖(allose)、磷酸盐

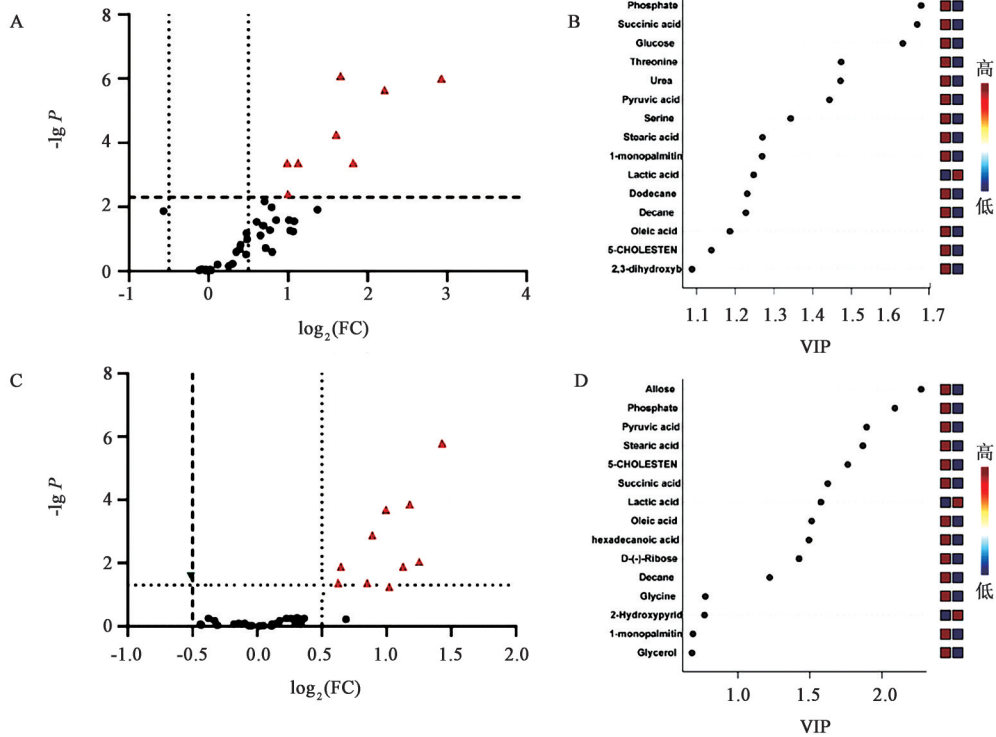


注:A. PCA分析结果;B. PLS-DA分析结果;C. 模型组和正常组的OPLS-DA;D. 模型组和夏枯草组OPLS-DA

图2 基于血清样品GC-MS的多元统计分析
Fig. 2 Multivariate statistical analysis from serum samples by GC-MS

(phosphate)、丙酮酸(pyruvic acid)、硬脂酸(stearic acid)、油酸(oleic acid)、5-胆甾醇(5-cholesten)、棕榈酸(hexadecanoic acid)、D-核糖(D-ribose)、癸烷(decane)、琥珀酸(succinic acid)

及乳酸(lactic acid)。其中磷酸盐(phosphate)、丙酮酸(pyruvic acid)及琥珀酸(succinic acid)为共有标志物,3个代谢物在模型中均升高,夏枯草处理后显著下降。



注:A、B. 正常组;C、D. 夏枯草组

图3 模型组和正常组之间的差异标志物的火山图及VIP图筛选

Fig. 3 Screening of differential markers volcano plot and VIP diagram

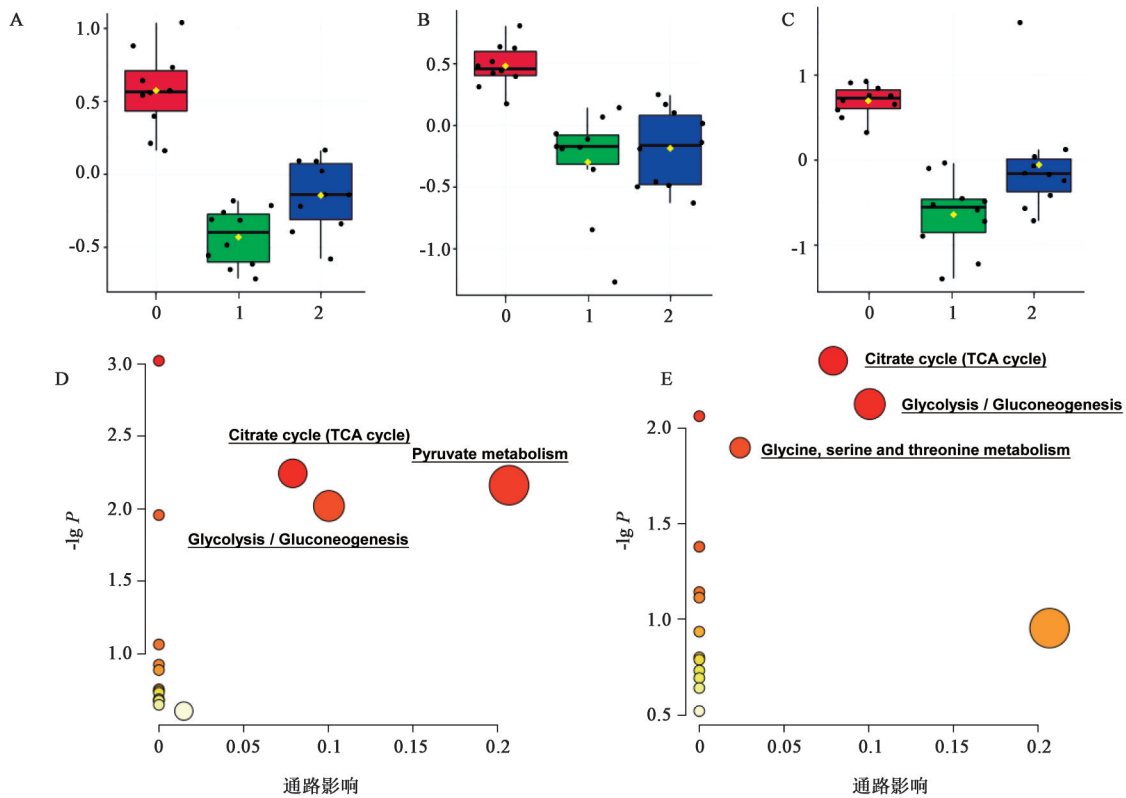
3.7 代谢通路分析 通过Metabo Analyst在线数据库对差异标志物进行代谢通路分析,以期进一步解释夏枯草影响代谢综合征的可能代谢机制。模型组和正常组的通路分析显示共15条不同代谢通路受到影响,其中,三羧酸循环、丙酮酸代谢及糖酵解和糖异生等途径影响最大($P < 0.05$)。而夏枯草处理后,共12条不同代谢通路受到影响,其中,影响最大的是三羧酸循环、糖酵解和糖异生及丝氨酸/苏氨酸和甘氨酸代谢等3个代谢通路。见图4。

4 讨论

代谢综合征,是多种代谢成分异常聚集的病理状态,是一组复杂的代谢紊乱症候群,目前代谢综合征在全球患病率持续上升,积极开展代谢综合征的预防和治疗是有十分重要的意义。夏枯草能通过多种途径调节肝脏、心脏代谢和脂质的紊乱^[11-14]。肝是生物体代谢的主要场所,肝功能直接影响代谢的过程和途径,肝脏中氧化应激与体内微环境(尤其代谢环境)的改变具有显著的关联性,氧化应激

常伴随炎症共同发生。本研究结果显示,果糖诱导的代谢综合征大鼠出现显著体质量上升,血脂升高,肝功能损伤,脂质过氧化损伤,炎症紊乱状态。夏枯草处理后,在不影响肝脏指数变化的条件下,显著的降低大鼠的体质量,同时降低大鼠的血脂,抗脂质过氧化损伤,说明夏枯草可有效缓解由代谢综合征引起的大鼠肝脏脂质过氧化及氧化损伤;抑制TNF- α 炎症因子的释放,保护肝脏维护其正常功能运行,说明夏枯草提取物可显著改善代谢综合征诱导的炎症现象;故夏枯草对果糖诱导的代谢综合征具有显著改善作用。从中医角度来讲,夏枯草苦寒如肝经,善泻肝火。因此,可有效作用于肝相关的代谢疾病。其次,据文献报道,夏枯草具有较好调节脂质代谢,脂肪酸代谢等作用^[16],这可能也是夏枯草影响代谢综合征的重要原因。

能量代谢相关的调控分子紊乱是代谢综合征的重要病理基础之一,识别特定的代谢物是评估代谢综合征的关键^[17]。NORDSTRÖM等^[18]首次建立



注:A. 磷酸盐;B. 丙酮酸;C. 琥珀酸;D. 正常组;E. 夏枯草组
图4 共有差异代谢物相对含量及差异代谢物的通路分析

Fig. 4 Relative content of common differential metabolites and pathway analysis of differential metabolites

了人类代谢组整体代谢产物图谱分析策略。通过对115名中年荷兰人进行了代谢组学和脂质组学的描述,发现戊酰肉碱、丙酮酸、乳酸、丙氨酸和双甘酯与代谢综合征评分成正相关,这些分子主要与葡萄糖、氨基酸和脂质的代谢交织在一起。相对应的,与文献报道一致,本研究的标志物中,丙酮酸和氨基酸在代谢综合征大鼠中均升高。代谢通路分析表明,三羧酸循环及糖酵解和糖异生等途径是主要改变的代谢途径,提示能量代谢在代谢综合征发病和夏枯草的疗效中起到重要作用。同时,夏枯草可显著影响丝氨酸/苏氨酸和甘氨酸代谢。其中甘氨酸代谢是丝氨酸/苏氨酸和甘氨酸生成的重要途径,增加甘氨酸可显著抑制相关代谢紊乱^[19],且甘氨酸作为组成GSH的重要大分子,在机体抗氧化功能方面也起到了重要作用。因此,以上结果表明,夏枯草可作为治疗代谢综合征潜在的天然药物来源,其可通过能量代谢和氨基酸代谢途径调节果糖诱导的代谢综合征的代谢紊乱。

代谢综合征病因病机复杂,深入进一步的验证研究,以期发现中药干预代谢综合征新的途径与潜在靶标,对中药有效防治代谢综合征具有重要战略

意义。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] ECKEL R H, GRUNDY S M, ZIMMET P Z. The metabolic syndrome [J]. The Lancet, 2005, 365 (9468):1415-1428.
[2] SAMSON S L, GARBER A J. Metabolic syndrome [J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2014, 43(1): 1-23.
[3] DESPRÉS J P, LEMIEUX I. Abdominal obesity and metabolic syndrome [J]. Nature, 2006, 444 (7121): 881-887.
[4] CORNIER M A, DABELEA D, HERNANDEZ T L, et al. The metabolic syndrome [J]. Endocr Rev, 2008, 29 (7):777-822.
[5] HUANG P L. A comprehensive definition for metabolic syndrome [J]. Dis Model Mech, 2009, 2(5/6):231-237.
[6] KAUR J. A comprehensive review on metabolic syndrome [J]. Cardiol Res Pract, 2014, 2014:943162.
[7] YANAI H. Metabolic Syndrome and COVID-19 [J]. Cardiol Res, 2020, 11(6): 360-365.

- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:292.
- [9] YUE L, SHAOJIANG S, SUIXU X. Advances in the study on the chemical constituents and biological activities of *Prunella vulgaris* L [J]. J Shenyang Pharmaceut Univer,2003,20(1):55-59.
- [10] WANG S J, WANG X H, DAI Y Y, et al. *Prunella vulgaris*: A comprehensive review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications [J]. Curr Pharm Des, 2019, 25 (3) : 359-369.
- [11] 刘亚敏,栗俞程,李寒冰,等. 夏枯草水提物抗抑郁作用研究[J]. 中药新药与临床药理,2017,28(4):440-444.
- [12] 夏伯候,刘菊妍,李春,等. 夏枯草水提液及水提醇沉上清液降血压药效评价[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(2):113-116.
- [13] ZHANG Z, ZHOU Y, LIN Y, et al. GC-MS-based metabolomics research on the anti-hyperlipidaemic activity of *Prunella vulgaris* L. polysaccharides[J]. Int J Biologic Macromol,2020,159:461-473.
- [14] 邓静,李利,林丽美,等. 基于代谢组学探讨夏枯草治疗酒精诱导的氧化应激大鼠模型的代谢机制[J]. 中国中药杂志,2021,46(7):1813-1821.
- [15] ROCHETTE L, LORIN J, ZELLER M, et al. Nitric oxide synthase inhibition and oxidative stress in cardiovascular diseases: Possible therapeutic targets? [J]. Pharmacol Ther,2013,140(3):239-257.
- [16] LI L, LIN L M, DENG J, et al. The therapeutic effects of *Prunella vulgaris* against fluoride-induced oxidative damage by using the metabolomics method [J]. Environ Toxicol,2021,36(9):1802-1816.
- [17] KAO T W, HUANG C C. Recent progress in metabolic syndrome research and therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2021,22(13):6862-6877.
- [18] NORDSTRÖM A, O'MAILLE G, MAILLE G, et al. Nonlinear data alignment for UPLC-MS and HPLC-MS based metabolomics: Quantitative analysis of endogenous and exogenous metabolites in human serum[J]. Anal Chem,2006,78(10):3289-3295.
- [19] ALVES A, BASSOT A, BULTEAU A L, et al. Glycine metabolism and its alterations in obesity and metabolic diseases[J]. Nutrients, 2019, 11(6): 1356-1384.

[责任编辑 顾雪竹]