

· 组学与生物信息学 ·

肉豆蔻-8 散对心肌缺血再灌注损伤预保护作用的 代谢组学分析

郭娜, 肖云峰, 张媛彦, 钱新宇, 王玉华*

(内蒙古医科大学药学院, 新药安全评价研究中心, 呼和浩特 010110)

[摘要] **目的:**研究心肌缺血再灌注损伤(MIRI)大鼠经肉豆蔻-8 散给药后尿液中内源性代谢物的变化,探讨 MIRI 的发病机制以及药物预保护作用机制。**方法:**大鼠随机分为假手术组(0.5%羧甲基纤维素钠溶液,10 mL·kg⁻¹),模型组(0.5%羧甲基纤维素钠溶液,10 mL·kg⁻¹)和肉豆蔻-8 散组(5.4 mg·kg⁻¹)。采用超高效液相色谱联用四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱(UPLC-Q-Exactive-MS)技术表征3组大鼠尿液代谢物,使用SIMCA 14.1软件进行多元统计分析,筛选潜在生物标志物。**结果:**经正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA),模型组与假手术组、肉豆蔻-8 散组明显分离,肉豆蔻-8 散组与假手术组部分区域重叠。共筛选出8个与MIRI相关的生物标志物,与氨基酸代谢、脂肪酸代谢相关。**结论:**肉豆蔻-8 散能有效调节与MIRI模型大鼠尿液代谢有关的氨基酸代谢和脂肪酸代谢失衡,通过多通路、多途径对MIRI起到预保护作用。

[关键词] 肉豆蔻-8 散; 心肌缺血再灌注损伤; 代谢组学; 尿液; 氨基酸代谢; 脂肪酸代谢

[中图分类号] R22;R289;R969.1;R284;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)16-0067-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20181609

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180523.1612.020.html>

[网络出版时间] 2018-05-24 13:36

Metabolomics of Roudoukou-8 San in Preprotecting Myocardial Ischemia Reperfusion Injury

GUO Na, XIAO Yun-feng, ZHANG Yuan-yan, QIAN Xin-yu, WANG Yu-hua*

(College of Pharmacy, Center for New Drug Safety Evaluation and Research,
Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the changes of endogenous metabolites in the urine of rats with myocardial ischemia reperfusion injury (MIRI) after administrating Roudoukou-8 San, in order to explore the pathogenesis of MIRI and the mechanism of drug pre-protection. **Method:** Rats were randomly divided into the sham-operated group [0.5% sodium carboxymethylcellulose (CMC-Na) solution, 10 mL·kg⁻¹], the model group (0.5% CMC-Na, 10 mL·kg⁻¹) and the Roudoukou-8 San group (5.4 mg·kg⁻¹). The urine metabolites of these three groups were characterized by UPLC-Q-Exactive-MS technique. Multivariate statistical analysis was performed by SIMCA 14.1 software to screen potential biomarkers. **Result:** After orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), the model group was significantly separated from the sham-operated group and the Roudoukou-8 San group, partial areas of the Roudoukou-8 San group overlapped with and the sham-operated group. Eight biomarkers related to MIRI were screened and they correlated with amino acid metabolism and fatty acid metabolism. **Conclusion:** Roudoukou-8 San can effectively regulate the imbalance of amino acid metabolism

[收稿日期] 20180127(003)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81360678);内蒙古自治区青年科技英才项目(NJYT-17-B29);内蒙古自治区卫生和计划生育委员会医疗卫生科研计划项目(201702059)

[第一作者] 郭娜,在读硕士,从事中蒙药材、方剂药效物质基础及其质量控制研究,E-mail:gonna1993@163.com

[通信作者] *王玉华,博士,教授,从事中蒙药材、方剂药效物质基础及其质量控制研究,Tel:0471-6653151,E-mail:yuhuwang59@163.com

and fatty acid metabolism related to urine metabolism in MIRI model rats and preliminarily protect MIRI through multiple pathways.

[Key words] Roudoukou-8 San; myocardial ischemia reperfusion injury; metabolomics; urine; amino acid metabolism; fatty acid metabolism

近年来,冠心病的发病率和死亡率逐年升高。目前,该疾病的主要治疗手段是对心肌缺血区再灌注。但该治疗手段在恢复心肌供血及供氧的同时,也使心肌超微结构及功能发生了新的损伤,甚至出现不可逆的心肌缺血再灌注损伤(MIRI)^[1-2]。肉豆蔻-8散由肉豆蔻、沉香、丁香、广枣、木香、旋覆花、阿魏和牦牛心组成,临床用于治疗“赫依”病、心供血不足、心区疼痛、风湿性心脏病等^[3]。该方收载于《普济方集》^[4],原书名为《金色柯子花蕾》。目前对于肉豆蔻-8散的研究主要包括有效成分的分析及药效学的研究^[5-8]。有学者发现该方剂具有较好的抗心肌缺血和抗急性心肌梗死作用^[7],并且已有基于代谢组学分析其抗急性心肌梗死的报道^[8],但关于该方剂对MIRI的预防作用及机制尚未完全阐明。本实验拟采用UPLC-Q-Exactive-MS技术,在肉豆蔻-8散给药干预的情况下,从代谢产物的整体水平探究MIRI模型大鼠尿液中内源性代谢物的变化,为进一步阐明MIRI的发病机制及肉豆蔻-8散的药理作用提供实验依据。

1 材料

UltiMate 3000 型超高效液相色谱仪和 Q-Exactive 型高分辨质谱仪(赛默飞世尔科技有限公司),3H16R1 型高速冷冻离心机(长沙湘智离心机仪器有限公司),Vortex-Genie 2 型旋涡混合器(美国 Scientific Industries 公司),BFSS19981 型大鼠代谢笼(南京乐诊生物技术有限公司),BL-420S 型生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司),V-100 型小动物呼吸机(上海玉研科学仪器有限公司),Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。肉豆蔻-8散(自制,批号 20170405),羧甲基纤维素钠(CMC-Na)和水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 20150210,20151217),水为超纯水,乙腈、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

清洁级雄性 Wistar 大鼠 30 只,体质量(210 ± 20) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2015-0001;实验动物饲养于内蒙古医科大学实验动物中心清洁级动物实验室,并按照实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀,适应性饲养 7 d 后开始实验。

2 方法与结果

2.1 分组及给药 30 只大鼠按照随机数字表法分为假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组,每组 10 只。肉豆蔻-8 散用 0.5% CMC-Na 溶液配成所需浓度。假手术组、模型组均灌胃给予 0.5% CMC-Na 溶液,肉豆蔻-8 散组按剂量 5.4 mg·kg⁻¹ 给予肉豆蔻-8 散混悬液,3 组灌胃体积均为 10 mL·kg⁻¹。各组大鼠每天灌胃 1 次,连续灌胃 15 d,并于末次给药 1 h 后开始建模。

2.2 MIRI 模型的建立 大鼠以 10% 水合氯醛(剂量 3 mL·kg⁻¹)腹腔注射麻醉,取仰卧位,四肢皮下连接心电图电极,记录正常标准 II 导联心电图。待心电图稳定后进行气管插管,连接小动物呼吸机,呼吸频率设定 60 次/min,潮气量 7~8 mL,呼吸比 1:2。大鼠呼吸稳定后用碘伏棉消毒,左前胸备皮,切开皮肤,逐层钝性分离肌肉。用乳突撑开器于第 3,4 肋骨间撑开进胸,暴露心脏。用 7-0 带线缝合针经左冠状动脉左前降支下浅层心肌穿线,在左前降支表面置硅胶管连同缝合线一起结扎,30 min 后剪去结扎线,连同硅胶管一同取出,恢复再灌注。逐层缝合关胸,记录心电图^[9-10]。假手术组只在相应部位穿线不结扎。

2.3 尿液采集及处理 各组大鼠再灌注 24 h 后收集 12 h 尿液,置 -80 °C 冰箱中冻存待测。测定时 4 °C 解冻,涡旋 1 min,精密吸取待测尿液 300 μL 置于离心管中,精密加入乙腈 1.2 mL,涡旋 1 min 后于 4 °C 静置 10 min,于 4 °C,12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.4 基于 UPLC-Q-Exactive-MS 的分析

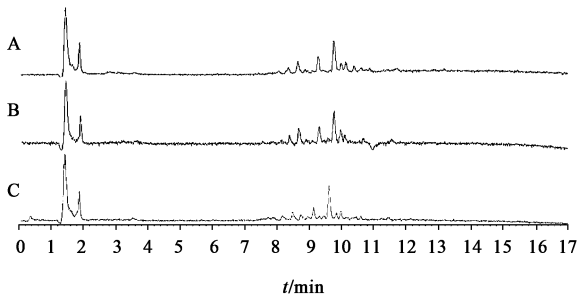
2.4.1 色谱条件 采用 Hypersil GOLD C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.9 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~2 min,2% A;2~3 min,2%~20% A;3~11 min,20%~70% A;11~12 min,70%~95% A;12~17 min,100% A;17~27 min,2% A),流速 0.2 mL·min⁻¹,柱温 40 °C,进样量 1 μL。

2.4.2 质谱条件 离子源喷射电压 4 kV,毛细管温度 350 °C,离子传输管温度 100 °C,鞘气流速 5.2 L·min⁻¹,辅助气流速 0.6 L·min⁻¹,扫描模式一

级全扫描,扫描范围 m/z 50 ~ 750,采用正离子扫描模式。

2.4.3 数据处理及统计分析 通过 XCMS 软件对总离子流图 (TIC) 进行峰提取、峰对齐及峰匹配。所得数据经归一化后导入 SIMCA 14.1 软件进行多元统计分析,采用正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 对获得的多维复杂数据进行降维处理分析。

2.5 尿液样品的正离子模式 TIC 比较 采用 UPLC-Q-Exactive-MS 对处理后的各组尿液样品进行分离和数据采集,得正离子模式下假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组的 TIC,见图 1。结果发现在 7 ~ 12 min 可见 1 组分子离子峰。3 组的 TIC 各有特征,存在一定差异,同一分子离子峰的相对丰度在不同组别中有所不同。这表明对大鼠的不同干扰使其尿液中的内源性代谢物发生了相应的改变。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 肉豆蔻-8 散组

图 1 不同组别大鼠尿液正离子模式的 TIC

Fig. 1 TIC of urine samples from three groups analyzed in positive ion mode

2.6 MIRI 模型心电图评价 当心脏发生缺血时,心电图通常有特异性的改变,体现在 S-T 段的幅值与形态变化, T 波的幅值与形态变化,心率及其变异性的变化等^[11]。通过手术过程观察心电图 S-T 段是否显著抬高来评价模型建立成功与否,见图 2。结果发现大鼠心肌经缺血再灌注后 T 波和 S-T 段明显抬高,显示大鼠心肌发生缺血损伤,表明 MIRI 模型建立成功。

2.7 MIRI 生物标志物的筛选及鉴定 应用 SIMCA 14.1 软件对假手术组和模型组的代谢组数据建立 OPLS-DA 模型。将待测数据进行强制性分组分析并进行置换检验,用以观察两组数据的分布离散趋势、寻找对分类贡献大的变量,见图 3。

由图 3(A) 可知,假手术组和模型组的点各自分布集中、个体差异小、无异常点、数据可靠。OPLS-DA 模型的 $Q^2 = 0.815$, $R^2X = 0.516$, $R^2Y = 0.925$, 其中 Q^2 表示模型的预测能力, R^2 表示模型

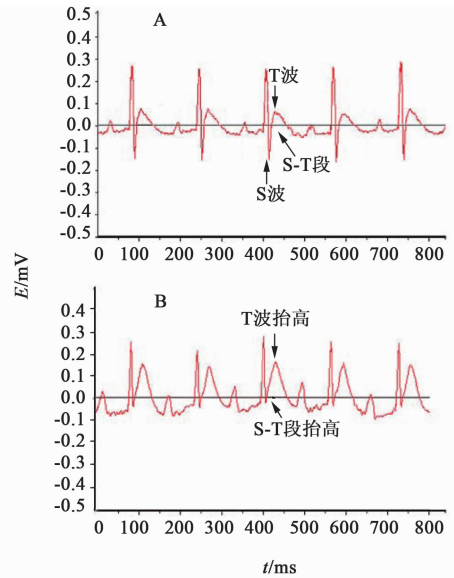


图 2 MIRI 模型建立前 (A) 和建立后 (B) 的大鼠心电图

Fig. 2 Electrocardiograms before (A) and after (B) MIRI modeling in rats

的解释能力,即 51.6% 的变量被作为用来建立分析模型的主要成分,92.5% 的样本符合模型的判别,而模型的预测能力为 81.5%,说明该模型质量良好。两组样本点分别在不同的区域聚合且呈明显分离趋势,说明大鼠经 MIRI 后尿液中代谢成分发生了明显变化,表明该方法可用于肉豆蔻 8-散对 MIRI 模型大鼠预保护作用尿液代谢组学分析。由图 3(B) 可知,距 Y 轴最远端的蓝色点和绿色点分别表示本 OPLS-DA 模型的 R^2 和 Q^2 ,其余部分表示经 200 次随机排列实验得到的 R^2 和 Q^2 。通过置换检验,排列试验的左端任何一次随机排列产生的 R^2 和 Q^2 均小于右侧,表明原始模型的预测能力大于任何一次随机排列的预测能力,说明该 OPLS-DA 模型具有良好的预测能力。在图 3(C) 中,每个三角形代表 1 个代谢物。通常较大的协方差和相关度的变量对分类贡献较大,即距原点越远,对组间的分类贡献越大。图中分别平行于横、纵坐标轴的 2 条直线相交于原点。三角形距离原点越远,表示与主成分的差异越大,对组间的分类贡献越大。根据 S-plot 图中离子的变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 值可知离子对分类贡献的大小, VIP 值越大,变量对模型越重要。

选择 VIP 值 > 1 的离子进行 t 检验,筛选出两组间相对含量存在显著性差异的变量,以 VIP 值 > 1 和 $P < 0.05$ 作为标准选取具有显著性差异的潜在生物标志物。通过生物标志物的一级质谱信息确定

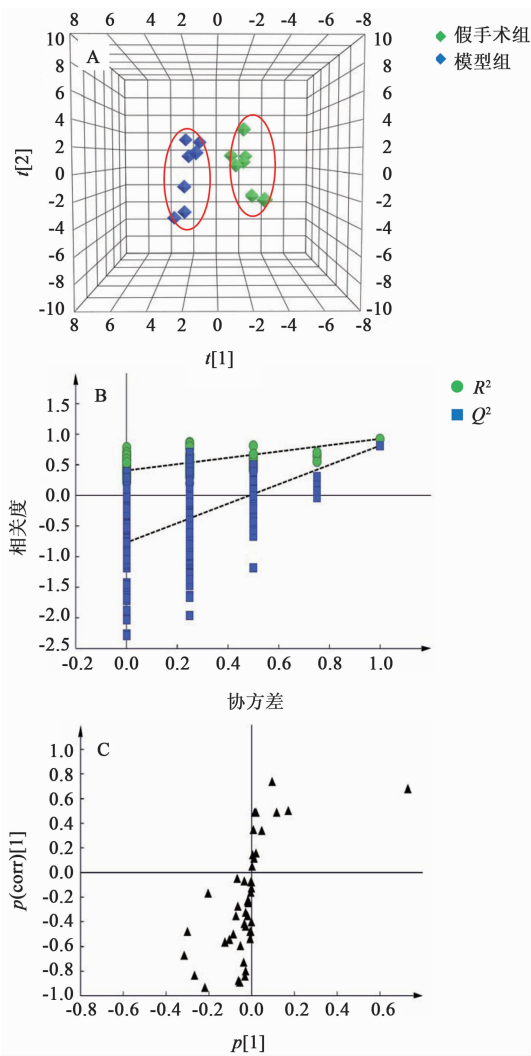


图 3 假手术组和模型组大鼠尿液样本的 OPLS-DA 得分 (A), 置换检验 (B) 和 S-plot (C)
Fig. 3 OPLS-DA score (A), permutation test (B) and S-plot (C) of urine samples of rats from sham-operated group and model group

表 1 大鼠心肌缺血再灌注损伤的潜在生物标志物

Table 1 Potential biomarkers of myocardial ischemia reperfusion injury in rats

No.	<i>m/z</i>	<i>t_R</i> /min	代谢物	分子式	VIP 值	<i>P</i>	趋势
1	131.068 9	1.49	肌酸	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	4.883 20	0	↑
2	117.078 4	1.43	缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	2.110 99	0.012	↓
3	179.057 7	9.28	马尿酸	C ₉ H ₉ NO ₃	2.010 44	0.026	↓
4	219.110 1	7.77	泛酸	C ₉ H ₁₇ NO ₅	1.788 84	0.001	↓
5	131.094 1	1.51	异亮氨酸	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.459 20	0.021	↓
6	193.073 3	9.77	苯乙酰甘氨酸	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	1.355 78	0	↑
7	113.078 4	1.43	肌酐	C ₄ H ₇ N ₃ O	1.308 11	0	↑
8	161.104 6	1.41	左旋肉碱	C ₇ H ₁₅ NO ₃	1.141 64	0.005	↑

左旋肉碱的含量均显著下调 ($P < 0.05, P < 0.01$)。说明尿液中与 MIRI 发病机制相关的部分生物标志物在肉豆蔻-8 散的作用下趋于正常,体内相关的代谢紊乱得到了调整。

相对分子量,利用二级质谱信息获得代谢物的结构信息。查阅 METLIN 和人类代谢组数据库 (HMDB) 等在线数据库或相关文献,对比代谢物的一级、二级质谱信息,最后共得到 8 个生物标志物,见表 1。

2.8 肉豆蔻-8 散对 MIRI 模型大鼠预保护作用的代谢组学分析 采用代谢组学方法对大鼠尿液中的小分子代谢产物进行测定,从整体水平考察肉豆蔻-8 散对 MIRI 的预保护作用。应用 SIMCA 14.1 软件建立假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组的 OPLS-DA 模型,并观察 3 组数据的分布离散趋势,OPLS-DA 得分见图 4。结果显示假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组的点各自分布集中,个体差异小、无异常点。尽管肉豆蔻-8 散组未与假手术组整体状态相交,但有向假手术组恢复的趋势,说明肉豆蔻-8 散对 MIRI 模型大鼠有预保护作用。为进一步分析肉豆蔻-8 散对 MIRI 模型大鼠的作用机制,对得到的潜在生物标志物在肉豆蔻-8 散组的含量情况进行研究。以归一化后的峰面积为指标,通过对表 1 中列出的 8 个潜在生物标志物进行独立样本 *t* 检验,比较模型组与肉豆蔻-8 散组的 MIRI 潜在生物标志物含量是否具有显著性差异,保留 $P < 0.05$ 的代谢物,见图 5。

由图 5 可知,肉豆蔻-8 散可使 MIRI 模型大鼠的部分潜在生物标志物发生逆转,对其中的 7 个代谢物有显著的调节作用,使其含量趋于正常,但对苯乙酰甘氨酸的调节作用不明显。与模型组比较,肉豆蔻-8 散组中缬氨酸、泛酸、异亮氨酸和马尿酸的含量均显著上调 ($P < 0.05, P < 0.01$);肌酸、肌酐和

2.9 代谢通路分析 将与肉豆蔻-8 散作用相关的 7 个潜在生物标志物输入代谢组学途径分析 (MetPA) 数据库中,分析构建代谢通路,通过通路拓扑分析计算其影响值 (impact),选择 impact > 0.05

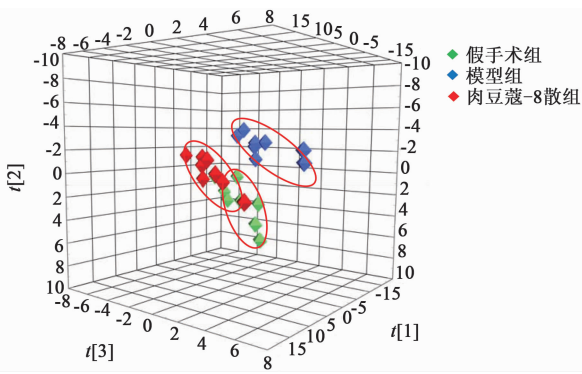


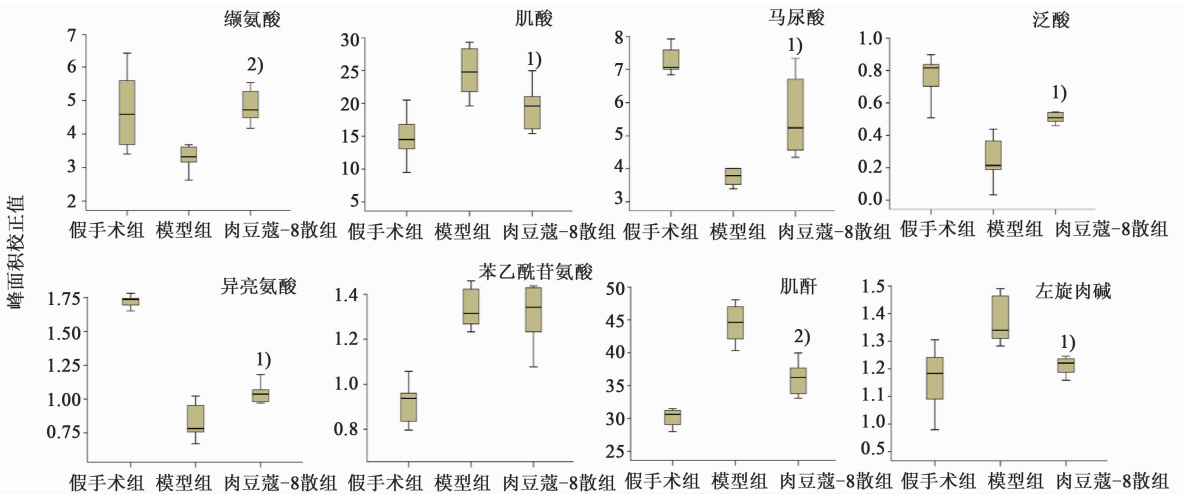
图 4 假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组大鼠尿液样本的 OPLS-DA 得分

Fig. 4 OPLS-DA score of urine samples of rats from sham-operated group, model group and Roudoukou-8 San group

的通路作为潜在相关代谢通路。见图 6。结果发现 A ~ G 的 impact 分别为 0.286, 0.154, 0.039, 0.042, 0, 0, 0.020; 说明 MIRI 模型大鼠尿液代谢紊乱主要与缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成以及泛酸和辅酶 A 的生物合成 2 条代谢通路相关。其中缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成与缬氨酸、异亮氨酸有关, 泛酸和辅酶 A 生物合成与泛酸、缬氨酸有关。

3 讨论

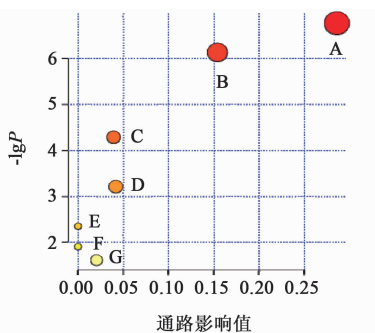
3.1 肉豆蔻-8 散对 MIRI 发挥预保护作用的潜在生物标志物 在代谢组学研究中, 本实验筛选到 8 个大鼠 MIRI 潜在生物标志物, 分别为肌酸、肌酐、缬氨酸、马尿酸、泛酸、异亮氨酸、苯乙酰甘氨酸和



与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$

图 5 假手术组、模型组和肉豆蔻-8 散组大鼠尿液中 8 个生物标志物的含量变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Changes in content of 8 biomarkers in urine of rats from sham-operated group, model group and Roudoukou-8 San group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)



A. 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成; B. 泛酸和辅酶 A 的生物合成; C. 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解; D. 氨酰-tRNA 的生物合成; E. 赖氨酸的降解; F. 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢; G. 精氨酸和脯氨酸的代谢

图 6 肉豆蔻-8 散对 MIRI 模型大鼠预保护作用的相关代谢通路
Fig. 6 Relevant metabolic pathways of Roudoukou-8 San on pre-protection in rats with MIRI

标志物有明显回调作用。这 7 个生物标志物的潜在相关代谢通路主要有 2 条, 为 MIRI 大鼠体内代谢和循环状态的变化及可能的作用机制研究提供指导和技术支撑, 并阐明了肉豆蔻-8 散可通过多通路、多途径对 MIRI 起到预保护作用。

3.2 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成代谢通路 缬氨酸和异亮氨酸是参与缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成的重要成分。这条代谢通路主要与氨酰 tRNA 有关, 而氨酰 tRNA 具有将氨基酸运转到核糖体合成蛋白质的功能^[12]。在本实验中, 与假手术组相比, 模型组大鼠尿液中的缬氨酸和异亮氨酸含量显著降低, 说明缬氨酸和异亮氨酸的异常影响了氨酰 tRNA 的生物合成, 进而影响相关氨基酸的转运与蛋白质的合成。而经肉豆蔻-8 散干预后, 可有效提高大鼠尿液中缬氨酸和异亮氨酸的含量,

左旋肉碱。肉豆蔻-8 散对其中 7 个 MIRI 潜在生物

从而发挥对抗 MIRI 的作用。

3.3 泛酸和辅酶 A 的生物合成代谢通路 泛酸和缬氨酸是与辅酶 A 的合成密切相关的代谢物,且辅酶 A 是体内 70 多种酶反应通路的辅助因子,涉及糖类的分解、脂肪酸的氧化、氨基酸的分解、丙酮酸的降解和激发三羧酸循环多个代谢过程^[13]。本实验结果表明当发生 MIRI 时,泛酸和缬氨酸的含量显著下降,从而引起机体内辅酶 A 合成减少,导致相关的多个代谢通路异常,引发相关疾病。而给予肉豆蔻-8 散的大鼠尿液中泛酸和缬氨酸含量明显回调,辅酶 A 相继合成增加,提示肉豆蔻-8 散可调整 MIRI 所致内源性代谢物的改变。

3.4 肉豆蔻-8 散对其他潜在生物标志物的作用分析

3.4.1 肌酸和肌酐 肌酸是一种氨基酸衍生物,能够辅助为肌肉和神经细胞提供能量,而肌酐则是肌酸的代谢产物。肌酸在骨骼肌和心肌中含量丰富,在肌酸激酶的作用下与三磷酸腺苷(ATP)结合形成磷酸肌酸,后者是体内能量储存、利用的物质基础^[14]。与假手术组相比,模型组大鼠尿液中肌酸的含量显著增加,推测可能是由于 MIRI 后肌酸激酶含量下降,导致肌酸不能与 ATP 结合,造成大量肌酸堆积。但是体内的肌酸仍处于较高水平,代谢后生成肌酐,故模型组大鼠尿液中的肌酐含量高于假手术组。而提前给予肉豆蔻-8 散的大鼠,尿液中的肌酸和肌酐较模型组明显降至较为正常的水平,表明肉豆蔻-8 散可能通过调节机体能量代谢发挥抗 MIRI 的作用。

3.4.2 马尿酸 马尿酸主要由苯甲酸和甘氨酸在肝药酶细胞色素 P450 催化下产生,其异常变化与胃肠微生物菌群失调以及心血管氧化损伤有着密切关系^[15-16]。在本实验中,MIRI 后大鼠尿液中马尿酸含量显著降低,而在肉豆蔻-8 散组中发生了逆转,说明肉豆蔻-8 散可能具有对菌群失调的平衡作用以及对心血管氧化损伤的修复能力。

3.4.3 左旋肉碱 左旋肉碱是脂肪酸 β -氧化中必需的辅助因子,在能量代谢中具有促进有氧代谢、清除代谢毒性物质的重要作用,对于耗能高的组织(如心肌、骨骼肌等)尤为重要^[17]。在本实验中,左旋肉碱在模型组大鼠尿液中的含量较假手术组显著升高,可能是由于心肌缺血期间供氧减少后导致左旋肉碱释放,促使心肌细胞中的脂肪酸 β -氧化加强^[18]。而给予肉豆蔻-8 散预保护的大鼠尿液中左旋肉碱有明显回落,表明该药物可能具有改善 MIRI

所致脂肪酸代谢异常的作用。

[参考文献]

- [1] 李俊平,郭丽丽,陈中,等.丹萎片对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(1):95-100.
- [2] 刘晓丹,潘涛.红景天苷对心肌缺血-再灌注大鼠心肌梗死面积及细胞凋亡的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2016,14(23):2751-2754.
- [3] 内蒙古自治区食品药品监督管理局.内蒙古蒙药制剂规范[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2014:196.
- [4] 阿克旺·罗布桑·丹必扎拉申.普济方集[M].蒙文版.赤峰:内蒙古科学技术出版社,1986.
- [5] 高文军,于牡丹,肖云峰,等.八味沉香散的药物代谢动力学分析[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(20):82-85.
- [6] 郝美玲,籍学伟,王玉华.GC测定八味沉香胶囊中丁香酚含量[J].中成药,2010,32(1):166-168.
- [7] 肖云峰,李文妍,王玉华.肉豆蔻八味胶囊对实验动物心脏的保护作用[J].中成药,2016,38(4):898-902.
- [8] 于牡丹.蒙药八味沉香散对AMI模型大鼠和正常大鼠血浆代谢组学研究[D].呼和浩特:内蒙古医科大学,2017.
- [9] 张盈颖,郭浩,王阶,等.参萎双心丸对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(6):94-98.
- [10] 李言明,刘晶,张成成,等.一种改良的SD大鼠心肌缺血再灌注模型的建立[J].医学研究生学报,2017,30(4):413-417.
- [11] 李延军,宏峰,严洪,等.心肌缺血心电图ST段与T波及心率之间的关联性分析[J].航天医学与医学工程,2010,23(5):340-344.
- [12] 伍新诚,郑景辉,马晓聪,等.基于文献计量学心肌梗死模型大鼠血清代谢组学的特点[J].中国组织工程研究,2017,21(4):633-640.
- [13] 栾贻宏,路宁,王基伟,等.辅酶A的生化功能和应用[J].中国生化药物杂志,2003,24(3):159-161.
- [14] 莫喜明,唐爱国.血清肌酸的测定及临床意义[J].实用预防医学,2005,12(6):1522-1523.
- [15] 苏君梅,葛卫红,许广艳,等.2型糖尿病患者尿液的代谢组学研究[J].浙江医学,2015,37(4):278-282.
- [16] 芦勤玮,佟玲,李东翔,等.复方丹参滴丸抗急性心肌梗死代谢组学研究[J].分析化学,2017,45(6):791-798.
- [17] Marcovina S M, Sirtori C, Peracino A, et al. Translating the basic knowledge of mitochondrial functions to metabolic therapy: role of L-carnitine [J]. Transl Res, 2013,161(2):73-84.
- [18] Najafi M, Garjani A. Short term administration of L-carnitine can be detrimental to the ischemic heart [J]. Adv Pharm Bull, 2013,4(1):1-3.

[责任编辑 刘德文]