

基于代谢组学技术研究黄芩对小鼠代谢的影响

韩晓静^{1,2}, 范玛莉², 秦雪梅^{2*}, 李震宇^{2*}

(1. 山西药科职业学院, 太原 030031; 2. 山西大学 中医药现代研究中心, 太原 030006)

[摘要] 目的: 基于代谢组学技术研究黄芩对正常小鼠血清和肝脏内源性代谢产物的影响。方法: 采用基于核磁共振(¹H-NMR)代谢组学技术结合多元统计分析及单变量分析手段, 比较正常小鼠与黄芩干预小鼠的血清和肝脏内源性代谢物的变化。结果: 给予黄芩后小鼠机体内源性代谢物发生了明显变化。与空白组相比, 黄芩组小鼠血清中的10种代谢物含量发生变化, 如3-羟基丁酸、柠檬酸、胆碱等含量升高, α -葡萄糖和 β -葡萄糖含量下降; 肝脏中19种代谢物含量发生变化, 如谷氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、肝糖原、腺苷等含量升高, 黄嘌呤等含量降低, 这些内源性代谢物的改变涉及机体的糖代谢、脂肪代谢、氨基酸代谢等途径。结论: 黄芩对正常小鼠机体代谢的影响不仅与其寒性有关, 而且可能与其抗氧化、保肝、降糖等药理作用密切相关, 可为黄芩的药性和药理作用机制的深入研究提供参考。

[关键词] 黄芩; 代谢组学; ¹H-NMR; 多元统计分析; 脂肪代谢; 氨基酸代谢; 糖代谢

[中图分类号] R969.1; R945; R284.1; S131+.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)15-0085-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016150085

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160603.1149.044.html>

[网络出版时间] 2016-06-03 11:49

Effect of Scutellariae Radix on Metabolism in Mice by Metabolomics

HAN Xiao-jing^{1,2}, FAN Ma-li², QIN Xue-mei^{2*}, LI Zhen-yu^{2*}

(1. Shanxi Pharmaceutical College, Taiyuan 030031, China;

2. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of Scutellariae Radix on endogenous metabolites in the serum and liver of normal mice based on metabolomics. **Method:** ¹H-NMR based on metabolomics, coupled with multivariate and univariate statistical analysis, was used to compare differential endogenous metabolites in the serum and liver between the normal mice and those treated by Scutellariae Radix. **Result:** Endogenous metabolism of mice treated by Scutellariae Radix had significant changes. Compared with the blank group, contents of 10 kinds of metabolites in serum had changed, contents of 3-hydroxybutyric acid, citric acid and choline increased, levels of α -glucose and β -glucose decreased in mice serum of Scutellariae Radix group; 19 kinds of metabolites in the mice liver of Scutellariae Radix group also changed, levels of glutamic acid, isoleucine and leucine increased, levels of xanthine decreased. Changes of these metabolites in mice of Scutellariae Radix group involved in glycometabolism, lipid metabolism and amino acid metabolism. **Conclusion:** Impact of Scutellariae Radix on metabolism of mice is related with the cold property of Scutellariae Radix, its anti-oxidative, hepatoprotective and hypoglycemic effect and other pharmacological action. This study can provide a reference for the further research of property and pharmacological mechanism of Scutellariae Radix.

[收稿日期] 20150914(028)

[基金项目] 山西省科技创新重点团队(2013131015)

[第一作者] 韩晓静, 硕士, 讲师, 从事中药活性成分、药材质量标准研究, Tel:0351-2392535, E-mail: jitzhilian@126.com

[通讯作者] * 李震宇, 博士, 副教授, 从事中药代谢组学研究, Tel:0351-7018379, E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn;

* 秦雪梅, 教授, 从事中药质量标准及代谢组学研究, Tel:0351-7018379, E-mail: qinxm@sxu.edu.cn

[**Key words**] *Scutellariae Radix*; metabolomics; $^1\text{H-NMR}$; multivariate statistical analysis; fat metabolism; amino acid metabolism; glycometabolism

黄芩具有清热、泻火、解毒、止血、安胎等功效, 主治湿温、胸闷呕恶、湿热痞满、高热烦渴等^[1]。黄芩是常用大宗药材之一, 已被广泛应用于中医临床和中药工业, 国内外研究人员对其进行了大量研究, 尤其是化学成分和药理作用方面。黄芩的化学成分主要为黄酮类化合物, 包括黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷等^[2-3]。现代药理学研究表明黄芩具有保护神经元细胞、抑制醛糖还原酶活性、阻止钙离子通道及细胞凋亡等作用^[4-5]。此外, 有研究利用代谢组学技术研究黄芩对干酵母热证模型的影响, 分析其苦寒效应^[6]。

代谢组学是研究机体代谢产物变化的一种系统生物学方法, 可通过揭示新陈代谢动态进程中代谢产物的变化规律, 全面理解生物体在生理、病理及药物等作用下的各种代谢变化^[7-8]。黄芩化学成分复杂, 药理作用多样, 其作用于机体后, 对机体整体代谢的影响及其与药理作用的关系尚不清楚。目前对黄芩的研究大多采用疾病动物模型, 尚无黄芩对正常机体代谢影响研究的相关报道。本实验拟采用基于 $^1\text{H-NMR}$ 的代谢组学技术结合模式识别分析方法对黄芩干预正常小鼠后的血清和肝脏进行分析, 以阐明黄芩对机体内源性物质代谢的影响。

1 材料

600-MHz Avance III 型核磁共振谱仪(德国布鲁克公司), TGL-16 型高速台式冷冻离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司), SPT-24 型氮空吹扫浓缩仪(北京斯珀特科技有限公司), UP-250 型电子超声组织匀浆器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

黄芩购自山西省太原市同仁堂药店, 经山西大学中医药现代研究中心秦雪梅教授鉴定为唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* 的干燥根, 标本保存在山西大学中医药现代研究中心; 根据文献^[6]的提取方法, 取黄芩饮片 10 g, 分别加 10, 8 倍量水回流提取 2 h, 合并 2 次水煎液, 减压浓缩至 40 mL, 得 $0.25\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水煎液。水为蒸馏水或重水, 乙腈为色谱纯, 三甲基硅烷丙酸钠盐(TSP, 英国 Cambridge 同位素实验室)。

SPF 级雄性 ICR 小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 合格证号 SCXK(京)2011-0012, 动物饲养室保持温度 $(23 \pm 1.5)^\circ\text{C}$, 相对湿度 $(45 \pm 15)\%$, 动物自然昼夜节律

光照, 适应 1 周后进行实验。

2 方法与结果

2.1 动物实验 动物适应 1 周后, 取 16 只小鼠称重, 随机分为 2 组, 包括空白组和黄芩组(给药量 $2.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。黄芩组连续灌胃给药 7 d, 空白组给予等量水。第 7 天给药后 1 h 眼球取血, 离心 (4°C , $13\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 下同) 15 min, 取上清液至离心管中, 于 -80°C 冰箱保存, 备用。解剖取小鼠肝脏, 用生理盐水稍加冲洗后吸干脏器表面水分, 移至冻存管中, 放入液氮中速冻, 置于 -80°C 冰箱保存, 备用。

2.2 血清、肝脏核磁备样及测定条件

2.2.1 血清核磁备样 将血清样品在冰水中解冻, 精密吸取 $250\ \mu\text{L}$ 置于离心管中, 加水 $350\ \mu\text{L}$, 涡旋 30 s, 离心 20 min, 取上清液 $500\ \mu\text{L}$, 转移至 5 mm 核磁管中待测。

2.2.2 肝脏核磁备样 取解冻后的肝脏样本 200 mg 置于 2 mL 离心管中, 加入乙腈 0.5 mL 和水 0.5 mL, 匀浆 5 min, 取上清液置于 1.5 mm 离心管中, 氮气吹干, 加入 pH 7.4 磷酸盐缓冲液 $750\ \mu\text{L}$ (含 0.015% TSP 作为化学位移参照), 离心 20 min 后取上清液 $600\ \mu\text{L}$ 并转移至 5 mm 核磁管中待测。

2.2.3 核磁测定条件 测定频率 600.13 MHz, 扫描数 64 次, 谱宽 12 345.679 Hz, 傅里叶变换 0.188 Hz, 脉冲间隔 D1 为 1 s, 延迟时间 5.0 s。血清样品采用 Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) 脉冲序列, 以衰减蛋白质和脂蛋白的宽峰; 肝脏样品采用 noesyppr1d 序列压制残余水信号。

2.3 $^1\text{H-NMR}$ 图谱处理 核磁图谱采用 MestReNova 8.0.1 处理。所有谱图进行手动相位、基线调整。血清图谱中, 以肌酐的化学位移 (δ) 3.04 为标准进行化学位移校正, 以 δ 0.01 对 δ 0.86 ~ 8.50 进行分段积分, 其中 δ 4.67 ~ 5.21 (残余水峰) 不进行积分, 并将积分数据进行归一化, 导入 Excel 中; 肝脏图谱以 TSP 的 δ 0 为标准进行定标, δ 0.01 对 δ 0.65 ~ 8.90 进行分段积分, 其中 δ 4.68 ~ 5.18 (残余水峰) 不进行积分; 血清的积分数据进行归一化, 肝脏的积分数据以样本的质量进行归一化, 导入 Excel 中进行下一步多元统计分析。

2.4 统计学分析 将上述处理的积分数据导入 Simca-P 13.0 软件中进行多元统计分析(主成分分析和正交偏最小二乘判别分析), 找出样品间差异代谢

产物,在 SPSS 16.0 软件中对差异成分进行 t -检验。

2.5 血清与肝脏的核磁共振图谱分析 结合每个代谢物的耦合常数、裂峰情况和 δ ,并参照对照品和

文献数据^[9-10],从小鼠血清核磁图谱中指认了 32 种化合物,肝脏核磁图谱中指认出了 44 种化合物,包括氨基酸、有机酸,见图 1 和表 1。

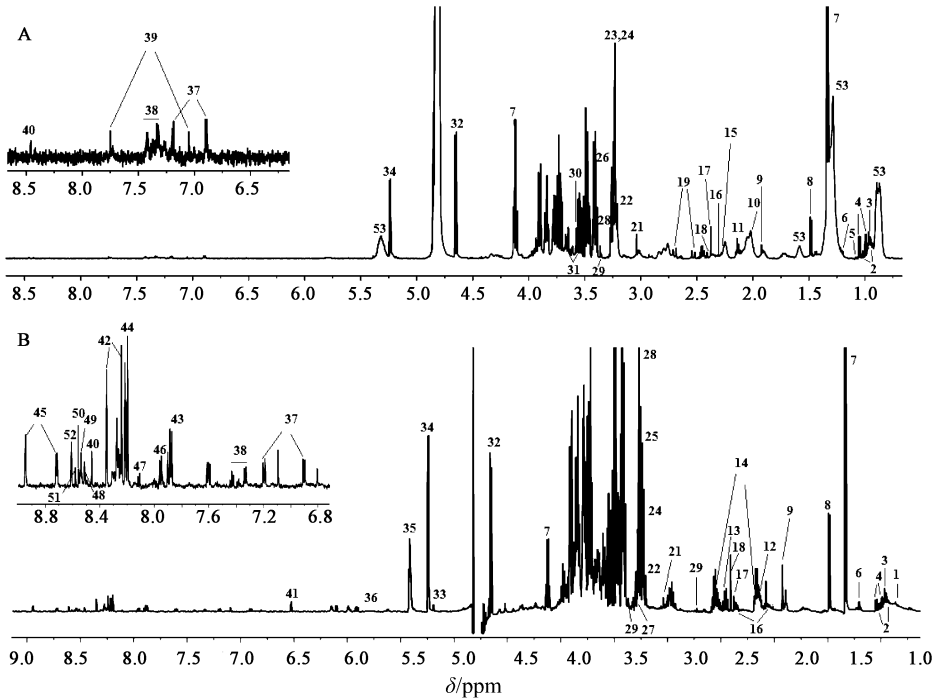


图 1 小鼠给予黄芩后血清(A)与肝脏(B)的¹H-NMR

Fig. 1 Typical ¹H-NMR spectra of mice serum (A) and liver (B) after administration of Scutellariae Radix

2.6 主成分分析(PCA) 见图 2。由图 2A($t[1]:64.3\%$, $t[2]:17.4\%$)可知,主成分 $t[2]$ 能将空白组与黄芩组明显分开,说明给药后黄芩对机体的血液和肝脏内源性代谢物的组成有明显影响;由图 2B($t[1]:33.3\%$, $t[2]:23.6\%$)可知,空白组和黄芩组样本部分重合,但仍有一定分离趋势。

2.7 空白组与黄芩组的差异分析 由于 PCA 不能忽略与研究目的无关的组内误差和随机误差,故采用有监督的正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-

DA)确定黄芩给药后引起的内源性代谢物差异。OPLS-DA 可忽略组内误差,消除与研究目的无关的随机误差,把握数据的整体特征与变化规律,使空白组与黄芩组的分离程度达到最大,便于确定 2 组的差异代谢物。由于 OPLS-DA 必须以 PLS-DA 模型通过模型验证为基础,排列试验结果显示该模型有效可靠,可进行下一步差异物的寻找。OPLS-DA 得分散点图见图 3A,通过 S-plot 图(图 3B)和变量重要性投影(VIP)值(>1)相结合分析确定,给予黄芩

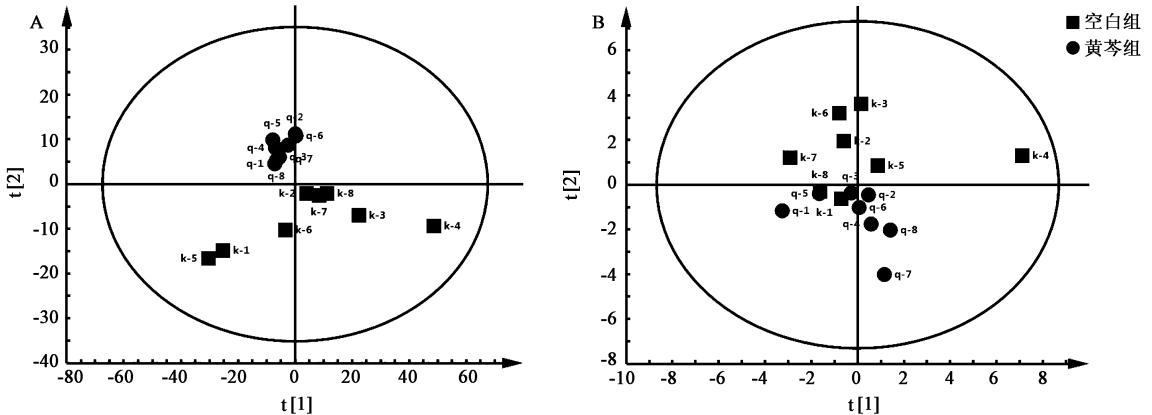


图 2 小鼠给予黄芩后小鼠血清(A)和肝脏(B)的 3D 得分散点

Fig. 2 3D-score plots of PCA analysis for mice serum (A) and liver (B) after administration of Scutellariae Radix

表 1 小鼠给予黄芩后血清与肝脏中主要化合物的¹H-NMR 数据归属

Table 1 ¹H-NMR assignments of major metabolites in mice serum and liver after administration of Scutellariae Radix

No.	代谢物	δ/ppm	样本	No.	代谢物	δ/ppm	样本
1	胆汁酸	0.74(s)	L	28	甜菜碱	3.27(s), 3.91(s)	S, L
2	异亮氨酸	0.94(t), 1.02(d)	S, L	29	鲨肌醇	3.36(s)	S, L
3	亮氨酸	0.96(d), 0.97(d)	S, L	30	甘氨酸	3.56(s)	S, L
4	缬氨酸	0.99(d), 1.05(d), 2.27(m)	S, L	31	甘油	3.56(dd), 3.66(dd)	S
5	异丁酸	1.08(d)	S	32	β-葡萄糖	4.65(d)	S, L
6	3-羟基丁酸	1.20(d)	S, L	33	α-甘露糖	5.19(d), 3.94(m)	L
7	乳酸	1.33(d), 4.12(q)	S, L	34	α-葡萄糖	5.24(d)	S, L
8	丙氨酸	1.48(d)	S, L	35	肝糖原	5.41(m)	L
9	乙酸	1.92(s)	S, L	36	尿嘧啶	5.81(d), 7.55(d)	L
10	N-乙酰化糖蛋白	2.02(s)	S	37	酪氨酸	6.90(d), 7.19(d)	S, L
11	O-乙酰化糖蛋白	2.14(s)	S	38	苯丙氨酸	7.32(m), 7.42(m)	S, L
12	蛋氨酸	2.14(s), 2.64(m), 3.85(m)	L	39	组氨酸	7.04(s), 7.75(s)	S
13	谷氨酰胺	2.15(m), 2.44(m), 3.77(m)	S, L	40	甲酸	8.44(s)	S, L
14	谷胱甘肽	2.17(m), 2.54(m), 2.95(m), 3.25(m), 2.98(m)	L	41	富马酸	6.53(s)	L
15	乙酰乙酸盐	2.28(s)	S	42	腺苷	6.10(d), 8.24(s), 8.35(s)	L
16	谷氨酸	2.06(m), 2.35(m)	S, L	43	黄嘌呤	7.88(s)	L
17	丙酸	2.37(s)	S, L	44	次黄嘌呤	8.20(s), 8.22(s)	L
18	琥珀酸	2.41(s)	S, L	45	烟酰胺	7.60(dd), 8.26(d), 8.72(d), 8.94(d)	L
19	柠檬酸	2.53(d), 2.70(d)	S	46	尿苷一磷酸	7.96(d), 5.96(d), 5.97(d)	L
20	二甲胺	2.72(s)	L	47	尿苷二磷酸	8.11(d), 5.99(d)	L
21	肌酐	3.04(s), 3.94(s)	S, L	48	三磷酸肌苷	8.51(d)	L
22	胆碱	3.21(s), 3.51(m), 4.05(m)	S, L	49	二磷酸腺苷	8.54(s)	L
23	甘油磷酸胆碱	3.22(s), 3.63(m), 4.30(m)	S, L	50	三磷酸腺苷	8.56(s)	L
24	磷酸胆碱	3.22(s), 3.61(m), 4.21(m)	S, L	51	肌酐一磷酸	8.58(s)	L
25	磷酸乙醇胺	3.23(t), 3.99(m)	L	52	一磷酸腺苷	8.61(s)	L
26	氧化三甲胺	3.26(s)	S	53	脂质	0.87(m), 1.28(m), 1.58(m), 2.03(m), 2.23(m), 5.30(m)	S
27	牛磺酸	3.27(t)	L				

注: S 表示血清, L 表示肝脏, s 表示单峰, t 表示三重峰, d 表示双峰, m 表示多重峰, dd 表示双二重峰, q 表示四重峰(表 2 同)。

后的小鼠血清中 3-羟基丁酸、脂质、乳酸、乙酸、柠檬酸、甘油磷酸胆碱、胆碱、鲨肌醇的含量上升, 而 α-葡萄糖和 β-葡萄糖的含量下降。采用相同方法对空白组与给药组的肝脏提取物进行分析, 见图 3C 与图 3D, 结果显示与空白组相比, 黄芩组中亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酸、胆碱、肝糖原、富马酸、酪氨酸、苯丙氨酸、腺苷的含量升高, 而乳酸、乙酸、谷胱甘肽、琥珀酸、甘油磷酸胆碱、甜菜碱、牛磺酸、黄嘌呤含量降低。

对上述差异成分采用 SPSS 16.0 软件进行 t-检验分析, 见表 2, 差异成分的变化结果与多元统计分

析基本一致。将表 2 中标志物导入 MetPA 数据库, 分析代谢通路, 见图 4。图中横坐标表征由拓扑分析计算所得的代谢通路的重要性值, 纵坐标 -lgP 表示代谢通路富集分析的显著性水平, P 表示显著性差异。代谢通路影响值的临界值设置为 0.10, 大于临界值且 P < 0.05 将会被选择作为潜在的靶标路径。结果显示黄芩对正常小鼠机体的影响主要与苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成, 能量循环, 苯丙氨酸代谢, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成 4 条通路有关。

2.8 代谢途径分析 糖是机体重要的能量来源物

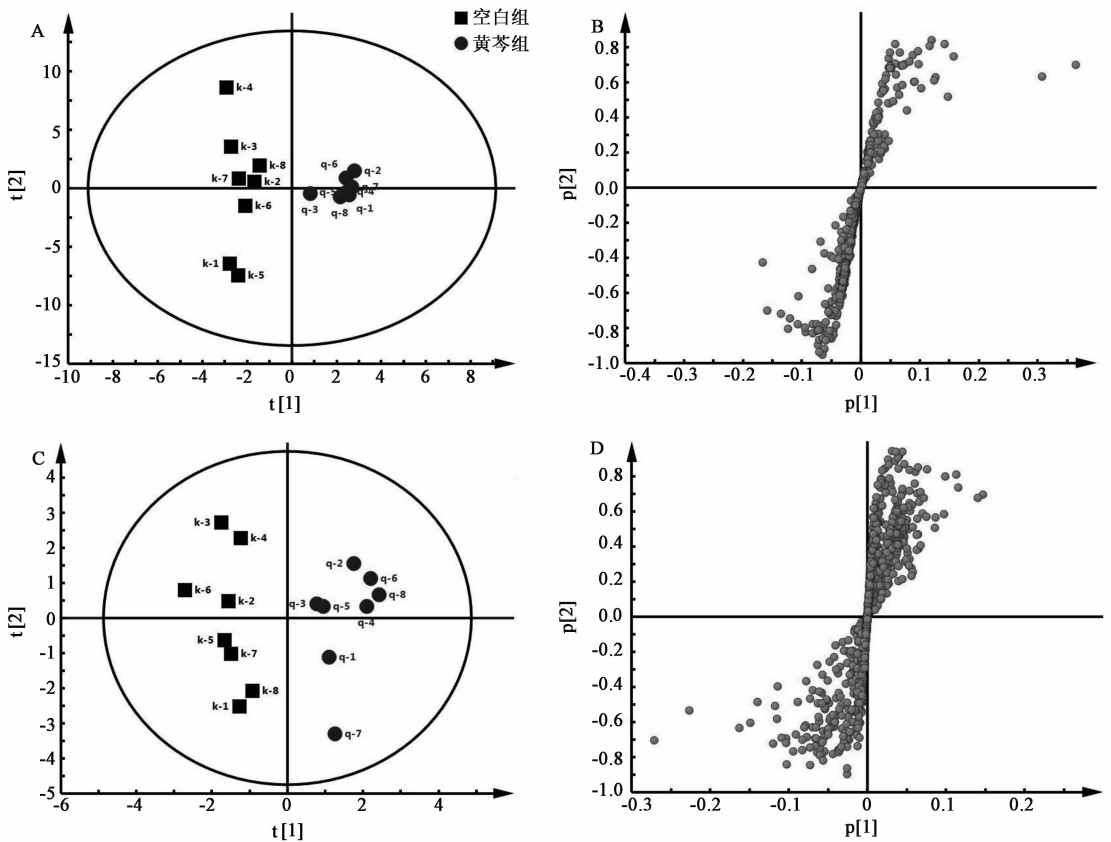


图 3 小鼠血清(A,B)和肝脏(C,D)的 OPLS-DA 得分(A,C)和 S-Plot(B,D)
Fig. 3 OPLS-DA score(A,C) and S-Plot(B,D) of mice serum(A,B) and liver(C,D)

质,主要以葡萄糖和糖原的形式存在。葡萄糖是糖在血液中的运输形式,在机体糖代谢中占据主要地位,其通过有氧作用并经过三羧酸循环为机体提供能量,或者通过无氧呼吸生成乳酸,乳酸是机体内糖酵解供能体系的最终产物,其含量可反应机体对氧的利用率。肝糖原是肝脏中重要储能物质,是血糖的重要来源。 α -葡萄糖和 β -葡萄糖可在肝脏中合成糖原,糖原也可分解成葡萄糖,从而调节血糖浓度。研究结果显示给药后小鼠血清中 α -葡萄糖和 β -葡萄糖含量降低,肝脏中乳酸含量降低,糖原含量升高,说明黄芩对机体能量代谢具有抑制作用,这可能与黄芩的寒性有关,也与文献报道黄芩具有降血糖作用一致^[11]。

肝脏是氨基酸代谢的主要器官,氨基酸通过脱氨作用、转氨作用等分解成 α -酮酸、胺类及二氧化碳,而 α -酮酸可以转变成糖类、脂类或再合成某些非必需氨基酸,也可以经过三羧酸循环氧化成二氧化碳和水,并放出能量。有研究表明黄芩中的主要成分——黄芩素、黄芩苷均能显著降低 CCl_4 损伤大鼠血清丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶的含量,减轻肝细胞变性坏死,具有一定的保肝作用^[12]。给予黄

芩的小鼠肝脏中亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、丙氨酸、谷氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸的含量升高,可能与黄芩的保肝作用有关。

谷胱甘肽是体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂,有还原型(GSH)和氧化型(GSSG)2种形式,谷胱甘肽还原酶催化两型间的互变。黄嘌呤是次黄嘌呤被黄嘌呤氧化酶氧化的产物之一,机体内90%次黄嘌呤通过补救途径再利用形成次黄嘌呤核苷酸^[13],而这些物质含量的变化也引起了肝脏机体的变化^[14]。报道黄芩中黄芩黄素、黄芩苷、汉黄芩黄素可直接清除自由基,有抑制黄嘌呤氧化酶的能力^[15]。研究中小鼠肝脏中GSSG含量降低,可能是GSSG在谷胱甘肽还原酶作用下,还原成GSH,GSH可促进体内自由基的清除,增强机体抗氧化能力;此外,黄嘌呤的降低说明黄嘌呤氧化酶受到了一定程度的抑制;这些变化均与文献报道黄芩具有抗氧化作用相关。

脂类物质是机体第二大能量提供物质,脂类物质分解为脂肪酸和甘油,通过氧化反应最终为机体提供能量。胆碱是脂质代谢的重要产物之一,进一步的代谢涉及到不同的通路。胆碱被氧化为甜菜

表 2 空白组与黄芩组小鼠血清与肝脏代谢差异物积分面积单变量分析

Table 2 Integrated area univariate analysis of metabolites in mice serum and liver of control group and Scutellariae Radix group

代谢物	位移/ppm	空白组 $\bar{x} \pm s$	黄芩组 $\bar{x} \pm s$	趋势	样本
脂质	0.87	1.054 2 ± 0.053 2	1.255 0 ± 0.066 6	↑ ¹⁾	S
3-羟基丁酸	1.20	0.205 1 ± 0.031 3	0.359 1 ± 0.048 2	↑ ¹⁾	S
乳酸	1.33	4.699 1 ± 0.481 8	6.334 1 ± 0.325 4	↑ ¹⁾	S
乙酸	1.92	0.151 8 ± 0.010 5	0.222 3 ± 0.019 7	↑ ²⁾	S
柠檬酸	2.70	0.114 0 ± 0.007 8	0.147 8 ± 0.006 5	↑ ²⁾	S
脂质	2.76	0.169 0 ± 0.004 4	0.206 9 ± 0.006 6	↑ ²⁾	S
胆碱	3.21	0.500 8 ± 0.025 4	0.685 5 ± 0.033 1	↑ ²⁾	S
甘油磷酸胆碱	3.22	1.890 8 ± 0.179 8	2.350 7 ± 0.117 9	↑	S
鲨肌醇	3.36	0.248 1 ± 0.011 2	0.307 9 ± 0.008 2	↑ ²⁾	S
α-葡萄糖	4.65	0.256 9 ± 0.039 2	0.033 4 ± 0.011 3	↓ ²⁾	S
β-葡萄糖	5.24	0.161 8 ± 0.016 3	0.090 8 ± 0.002 8	↓ ²⁾	S
亮氨酸	0.97	0.167 5 ± 0.010 9	0.203 7 ± 0.012 3	↑ ¹⁾	L
异亮氨酸	1.02	0.058 8 ± 0.004 4	0.073 9 ± 0.005 3	↑ ¹⁾	L
缬氨酸	1.05	0.061 1 ± 0.006 5	0.094 4 ± 0.010 0	↑ ¹⁾	L
乳酸	1.33	1.772 1 ± 0.093 9	1.607 3 ± 0.065 9	↓	L
丙氨酸	1.48	0.270 6 ± 0.014 7	0.345 8 ± 0.014 7	↑ ²⁾	L
乙酸	1.92	0.174 5 ± 0.011 4	0.146 9 ± 0.004 8	↓	L
谷胱甘肽	2.17	0.424 7 ± 0.027 2	0.322 4 ± 0.013 0	↓ ²⁾	L
谷氨酸	2.35	0.075 2 ± 0.009 3	0.098 6 ± 0.004 0	↑ ¹⁾	L
琥珀酸	2.41	0.169 9 ± 0.019 3	0.122 9 ± 0.012 1	↓	L
胆碱	3.21	0.410 9 ± 0.052 6	0.452 7 ± 0.029 7	↑	L
甘油磷酸胆碱	3.22	1.428 4 ± 0.127 9	0.951 5 ± 0.124 9	↓ ¹⁾	L
甜菜碱	3.27	2.539 5 ± 0.180 7	2.026 1 ± 0.139 6	↓ ¹⁾	L
牛磺酸	3.27	1.006 5 ± 0.054 8	0.769 8 ± 0.051 7	↓ ²⁾	L
肝糖原	5.41	0.268 2 ± 0.024 3	0.351 2 ± 0.017 5	↑ ²⁾	L
富马酸	6.53	0.034 6 ± 0.003 3	0.048 4 ± 0.002 0	↑ ²⁾	L
酪氨酸	7.19	0.015 8 ± 0.001 0	0.023 3 ± 0.000 7	↑ ¹⁾	L
苯丙氨酸	7.32	0.021 3 ± 0.001 5	0.031 2 ± 0.001 1	↑ ²⁾	L
黄嘌呤	7.88	0.050 1 ± 0.005 9	0.033 0 ± 0.002 0	↓ ¹⁾	L
腺苷	8.35	0.026 8 ± 0.005 2	0.045 6 ± 0.004 1	↑ ¹⁾	L

注:与空白组相比,¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01。

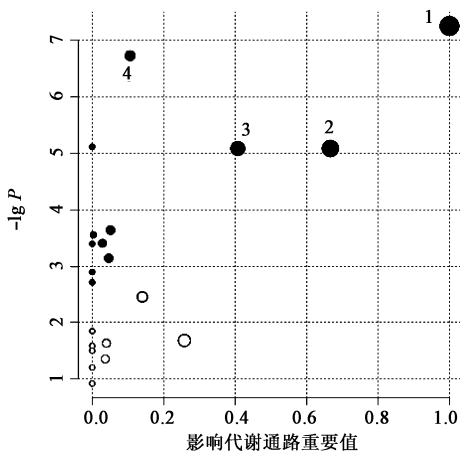
碱,甜菜碱是一种机体必需的渗透压调节化合物,也是甲基蛋氨酸、半胱氨酸调节中的一个重要辅助因子^[16-17]。研究表明甜菜碱还可增加氮贮留促进脂肪动员和脂肪酸氧化^[18]。另外胆碱还可被磷酸化生成磷脂酰胆碱(PC)^[11]。PC由胆碱和磷脂酸合成,具有控制肝脂类代谢、防止脂肪肝形成的作用,参与细胞和蛋白质信号传导,也是细胞膜的主要组成成分,是重要的生理活性物质。给予黄芩后小鼠血清中脂质、胆碱含量升高,肝脏中胆碱含量上升、甘油磷酸胆碱、甜菜碱含量下降,说明黄芩对脂质代谢、胆碱代谢也有一定影响。

3 讨论

本文采用基于核磁共振的代谢组学技术对黄芩干预后的正常小鼠血清和肝脏进行了分析,结果显

示给予黄芩后的小鼠血清和肝脏内源性代谢物组成发生明显变化,代谢途径分析显示这些变化涉及机体的糖代谢、脂肪代谢、氨基酸代谢等途径。黄芩是中医临床常用中药材,味苦,性寒,具有清热、泻火、解毒、止血、安胎等功效,多样的功效与其含有多种结构类型的化学成分密切相关。这些代谢途径的改变不仅从药性的角度说明了黄芩的寒性特征,而且可能与黄芩的抗氧化、保肝、降糖等作用密切相关。

中药材的药性是其含有的所有化学成分组合对机体宏观作用的整体体现,单一成分或单一靶点均难以阐明药性的科学内涵,代谢组学技术可从机体代谢的角度灵敏地反映药材中所有成分对机体代谢的综合影响,在中药药性科学内涵研究上具有重要意义。中药材含有多种化学成分,不同的成分作用于机



1. 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成; 2. 能量循环; 3. 苯丙氨酸代谢; 4. 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸生物合成

图 4 黄芩对正常小鼠机体影响的 MetPA 通路分析
Fig. 4 MetPA pathway analysis for effect of Scutellariae Radix on body of normal mice

体不同的靶点或代谢途径,因此其功效往往也是多样的。不同功效所对应的不同成分作用于机体后又存在着协同或拮抗作用,代谢组学可反映药材对机体的宏观影响,通过与药材化学分离相结合有助于阐明药材作用于机体后不同成分之间的相互作用。

基于核磁共振的代谢组学技术重复性好、分析时间短、备样简单、可获得几乎全部含氢化合物的信息,因此在代谢组学分析中广泛使用。但中药材对机体的代谢影响是非常复杂的,体现在药材化学成分和机体内源性代谢物的复杂性,单一的核磁共振分析难以检测到机体所有的内源性代谢产物,也难以完整反映药材对机体的整体影响,故后续工作将进一步采用液质联用和气质联用等其他分析手段,通过多种分析方法的集成联用鉴定表征更多的内源性代谢物,全面阐释黄芩对机体的代谢影响。

[参考文献]

[1] 王立娟,赵园园,张玉荣. 中药黄芩的研究概况[J]. 中国科技信息, 2009(15): 226, 228.
[2] 刘英学. 黄芩的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
[3] 徐丹洋,陈佩东,张丽,等. 黄芩的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 78-80.
[4] 宋旦哥,孟庆刚. 黄芩药理作用研究述评[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(8): 1619-1622.

[5] 史雪靖. 黄芩药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2010, 27(4): 128-130.
[6] 汪娜,柳长凤,刘树民,等. 基于代谢组学研究黄芩对干酵母热证模型的影响及苦寒性效关系[J]. 中草药, 2013, 44(18): 2556-2562.
[7] Beckonert O, Coen M, Keun H C, et al. High-resolution magic-angle-spinning NMR spectroscopy for metabolic profiling of intact tissues[J]. Nat Protoc, 2010, 5(6): 1019-1032.
[8] 吴昱铮,王广基,郝海平. 中药代谢组学研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(2): 129-135.
[9] Shi X, Xiao C, Wang Y, et al. Gallic acid intake induces alterations to systems metabolism in rats[J]. J Proteome Res, 2012, 12(2): 991-1006.
[10] Diao C F, Zhao L C, Guan M M, et al. Systemic and characteristic metabolites in the serum of streptozotocin-induced diabetic rats at different stages as revealed by a ¹H-NMR based metabolomic approach [J]. Mol BioSyst, 2014, 10(3): 686-693.
[11] 刘长山. 黄芩苷对糖尿病患者红细胞醛糖还原酶活性及周围神经传导速度的影响[J]. 中国神经科学杂志, 2002, 18(2): 555-557.
[12] 卢春风,王丽敏,陈廷玉. 黄芩素和黄芩苷对四氯化碳所致肝脏损伤大鼠转氨酶的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2003, 26(4): 50-51.
[13] 陈磊,向欢,邢婕,等. 补中益气汤干预脾虚证模型大鼠脾脏¹H-NMR代谢组学机制研究[J]. 药学学报, 2014, 49(9): 1320-1325.
[14] 张友文,张丹,孙华. 次黄嘌呤脱氢酶的基本功能及作为药物靶点的应用[J]. 药学学报, 2014, 49(3): 285-292.
[15] 刘玉萍,曹晖,小松かつ子,等. 黄芩清除自由基活性与黄芩苷含量的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(8): 575-619.
[16] Kim H J, Kim J H, Noh S, et al. Metabolomic analysis of livers and serum from high-fat diet induced obese mice [J]. J Proteome Res, 2011, 10(2): 722-731.
[17] Lever M, Slow S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism [J]. Clin Biochem, 2010, 43(9): 732-744.
[18] Chao J, Huo T I, Cheng H Y, et al. Gallic acid ameliorated impaired glucose and lipid homeostasis in high fat diet-induced NAFLD mice [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e96969.

[责任编辑 刘德文]