

· 药物代谢 ·

## 运用代谢组学方法探讨淫羊藿水段组分对 代谢轮廓靶点的干预作用

郭艳霞, 杨晓旭, 王宇, 刘树民\*

(黑龙江中医药大学 药物安全性评价中心, 哈尔滨 150040)

**[摘要]** 目的:运用代谢组学方法分析淫羊藿水段组分对正常大鼠尿液中内源性物质代谢的影响,通过寻找相关代谢途径及潜在作用靶点来探究其标志物表达的差异是否会随着体液代谢的循环分布影响着机体的不同系统功能,从而产生潜在的干预作用。**方法:**SD大鼠分为空白组和淫羊藿水段组分给药组,每组10只,给药组每天按 $87.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 给予淫羊藿水段组分1次,空白组给予等量生理盐水,连续灌胃20d,于最后1次给药后用代谢笼收集大鼠12h尿液,经处理供UPLC-Q-TOF/MS分析,正离子扫描模式下电喷雾离子源(ESI),毛细管电压1.3kV,样本锥孔电压60V;负离子扫描模式下ESI,毛细管电压1.5kV,样本锥孔电压70V。**结果:**鉴定出10个潜在生物标志物,6条主要代谢通路,发现淫羊藿水段组分可通过 $N,N'$ -双(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺, $N$ -(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺的高表达起到对心脑血管疾病的保护作用,低表达的 $N$ -( $\omega$ )羟基-L-精氨酸和 $\beta$ -酪氨酸分别表现出不利于肿瘤和神经性疾病的预防。**结论:**淫羊藿水段组分对正常大鼠心脑血管疾病有显著的保护作用;对神经系统及肿瘤相关疾病存在着药效与毒性共存的特点。其作用机制与氧化胺代谢、酪氨酸代谢、鞘脂类代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等通路有关。

**[关键词]** 淫羊藿;水段组分;代谢组学;生物标志物;靶点干预;鞘磷脂

**[中图分类号]** R969.1;R285.5;R284.1;R945 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)14-0086-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017140086

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170427.1031.014.html>

**[网络出版时间]** 2017-04-27 10:31

### Investigation of Intervention of Epimedii Folium Water Extract on Metabolic Profiling Targets by Metabonomics

GUO Yan-xia, YANG Xiao-xu, WANG Yu, LIU Shu-min\*

(Center for Drug Safety Evaluation, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

**[Abstract]** **Objective:** Metabonomics was utilized to explore the effect of Epimedii Folium water extract (EWE) on the endogenous metabolism in the urine of normal rats, and to search for related metabolic pathways and potential targets to explore whether the differences of the biomarker's expression will affect the different functions of human systems along with the circular distribution of body fluids, and then produce the potential intervention. **Method:** Rats have been randomly divided into the blank and EWE groups (10 rats per group) and been gavaged the same amount of physiological saline and EWE ( $87.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) for 20 days, respectively. The urine was gathered on the 21<sup>th</sup> days for analysis by UPLC-Q-TOF/MS. **Result:** Ten potential biomarkers and six major metabolic pathways were identified, and it found that EWE could protect the cardiovascular and cerebrovascular systems via elevating the expression of  $N,N'$ -bis(3-aminopropyl)-1,4-butanediamine and  $N$ -

**[收稿日期]** 20170131(003)

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2013CB531804);黑龙江中医药大学科研基金项目(201419)

**[第一作者]** 郭艳霞,在读硕士,从事中药药效与毒理研究,Tel:15204664475,E-mail:15204664475@163.com

**[通讯作者]** \*刘树民,教授,博士生导师,从事中药性味理论研究、临床中药学研究,Tel:0451-82193278,E-mail:keji-liu@163.com

(3-aminopropyl)-1, 4-butane-diamine. However, the EWE manifested adverse prevention from tumorous and neurological diseases through reduced expression of *N*-( $\omega$ )-hydroxy-*L*-arginine and  $\beta$ -tyrosine. **Conclusion:** EWE has a significantly protective effect on the cardiovascular and cerebrovascular diseases of normal rats; however, the potency and toxicity may coexist for the tumorous and neurological diseases. Its mechanisms are related to the metabolic pathway of amine oxide, tyrosine, sphingolipid and so on.

[ **Key words** ] Epimedii Folium; water extract; metabonomics; biomarkers; target intervention; sphingomyelin

代谢组学是从整体角度研究代谢物组的图谱,考察生物体系受刺激或扰动后代谢产物变化规律的一门新兴学科,代谢组学能测量生命系统的动态多参数代谢反应,是代谢分析监测和诊断新生物标志物的平台<sup>[1]</sup>,可反映出生物体的整体信息,主要研究机体代谢网络的终端产物,其内源性代谢产物表达水平的改变可用于表征药物的治疗作用,由于代谢产物的复杂性和多样性,应用高通量、高分辨、高灵敏度的现代仪器分析手段,定量定性研究生物体液中的内源性代谢产物,结合化学信息学技术分析手段,找寻其内在必然联系,从而揭示机体病理生理变化的进程。

淫羊藿是传统的补肾壮骨类中药材,其化学成分主要以黄酮类化合物为主,同时含有少量生物碱类、木质素类、酚酸类和多糖类化合物。现代药理研究表明淫羊藿具有改善心血管病系统功能、调节机体免疫、增强雄性生殖功能、抗肿瘤、降血脂和促进骨代谢的药理作用,其中对淫羊藿黄酮类化合物的药理研究较为广泛<sup>[2-5]</sup>。为了探究淫羊藿药效是否全部由黄酮类化合物发挥作用,考察非黄酮类物质(生物碱、木质素等成分)为主的淫羊藿水段组分对机体的影响,本实验运用代谢组学方法研究淫羊藿水段组分对生理状态大鼠尿液中内源性代谢物的影响,找寻产生潜在药理药效的作用靶点,分析代谢途径,揭示作用机制。

## 1 材料

2695 型高效液相色谱仪, ACQUITY™ 型超高液相色谱仪和 LCT Premier XE 型 Q-TOF 质谱仪(美国沃特世科技有限公司); PB1501-N 型电子分析天平(梅特勒托利多仪器有限公司), KDC-16HR 型高速低温离心机(科大创新股份有限公司)。

淫羊藿药材购自世一堂中药材有限公司,批号 130916,产地黑龙江,经黑龙江中医药大学中药资源学教研室王振月教授鉴定为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* 的干燥叶;淫羊藿水段组分提取物由黑龙江中医药大学中药毒理学实验室提供,

其制备方法及化学鉴定已在本课题组前期研究中描述,其主要化学成分为淫羊藿碱 A,木兰花碱,淫羊藿脂素等<sup>[6]</sup>;亮氨酸-脑啡肽(美国西格玛奥德里奇公司),水为屈臣氏蒸馏水,乙腈、甲酸为色谱级,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雄性 SD 大鼠,体重(220 ± 20) g,由黑龙江中医药大学药物安全评价中心提供,合格证号 SCXK(黑)2013-2014。保持饲养环境温度 22 ℃,相对湿度约 40%,12 h 光照,12 h 避光循环,饲喂标准饲料,自由饮水,在代谢笼中适应 1 周之后开始实验。动物实验符合黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会的要求。

## 2 方法与结果

**2.1 分组给药及样品采集** 将 20 只 SD 大鼠随机分为空白组和淫羊藿水段给药组,每组 10 只。淫羊藿水段给药组大鼠每天上午 9 点按 87.3 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃给予淫羊藿水段组分提取物(经折算相当于 2015 年版《中国药典》中记载的人体临床生药有效量 10 g)1 次,空白组给予等体积水,给药体积 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,连续 20 d,于最后 1 次给药后代谢笼收集大鼠 12 h 尿液,分别采集各组中每只大鼠的每份新鲜尿液,立即离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>,4 ℃,10 min,下同),分离上清液,转移至 -80 ℃ 冻存。进行分析前先室温解冻,加等体积水稀释后离心,取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,每份尿液单独进行 UPLC-Q-TOF/MS 分析。

### 2.2 UPLC-Q-TOF/MS 分析条件

**2.2.1 色谱条件** 采用 BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm),流速 0.4 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 2 μL,流动相 0.1% 甲酸乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 8 min, 2% ~ 40% A; 8 ~ 10 min, 40% ~ 98% A; 10 ~ 13 min, 98% ~ 100% A),柱温 40 ℃。

**2.2.2 质谱条件** 正离子扫描模式为电喷雾离子源(ESI),毛细管电压 1.3 kV,样本锥孔电压 60 V,离子源温度 110 ℃,脱溶剂气温度 350 ℃,脱溶剂气流量 750 L·h<sup>-1</sup>,锥孔气流量 20 L·h<sup>-1</sup>。负离子扫描

模式为 ESI, 毛细管电压 1.5 kV, 样本锥孔电压 70 V, 离子源温度 110 °C, 脱溶剂气温度 350 °C, 脱溶剂气流量 750 L·h<sup>-1</sup>, 锥孔气流量 20 L·h<sup>-1</sup>。准确质量校正采用亮氨酸-脑啡肽 ([M + H]<sup>+</sup> = 556. 277 1, [M - H]<sup>-</sup> = 554. 261 5), 校正溶液的进样速度设置 100 μL·min<sup>-1</sup>, 校正频率 15 s, 采集范围 *m/z* 50 ~ 1 500。

**2.3 多元数据分析及潜在生物标志物鉴定** 运用 Progenesis QI 软件将每个代谢产物的离子强度相对于总离子数进行归一化, 生成一个数据矩阵, 得保留时间、质荷比及归一化后的峰面积。利用 EZinfo 2.0 软件对各组数据进行正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 进行有监督型主成分分析, 对时间点检测的多个数据矩阵进行处理, 根据得分图筛选特征性的代谢产物。得分图上每个点代表 1 个样品, 其位置由样品的代谢成分决定, 处于相同处理条件下的同组样本, 往往具有相似代谢成分, 在得分图 (scores plot) 上处于相近的位置, 呈聚类现象。根据 S-plot 分析图中各组间各离子点的量的变化趋势, 选择变量重要性投影值 (VIP) > 1, *P* ≤ 0.05 的离子作为潜在的特征性生物标志物, 通过人类代谢组数据库 (HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 等数据库及大量文献对生物标志物进行生物学意义的解释。

**2.4 代谢轮廓表征分析** 将空白组及淫羊藿水段给药组的尿液样本按 2.2 项下方法进行正、负离子模式全扫描, 获得了质谱轮廓总离子流图, 见图 1, 2, 结果发现各组的尿液代谢轮廓出现明显差异。

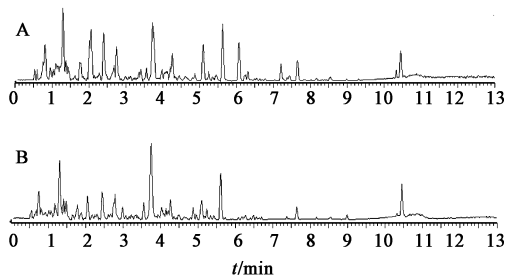


图 1 淫羊藿水段给药组 (A) 及空白组 (B) 在正离子模式下的 UPLC-Q-TOF/MS 总离子流

Fig. 1 TIC of Epimedium Folium water group (A) and blank group (B) in positive ion mode of UPLC-Q-TOF/MS

**2.5 多元数据分析** 主成分分析见图 3。结果显示 2 组代谢轨迹在各自组内相似度较好, 呈现各自聚类的现象, 彼此远离, 正离子图中相对位移较大。S-plot 和 coefficients vs. VIP 分析图中显示, 红色为选中的标志物, 即满足 VIP > 1 且 *P* < 0.05 的筛选

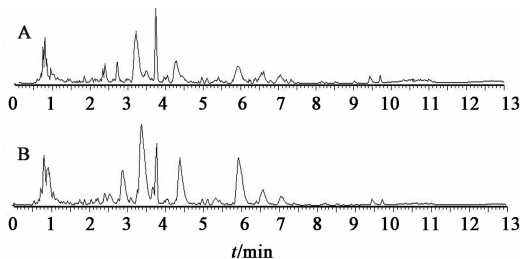


图 2 淫羊藿水段给药组 (A) 及空白组 (B) 在负离子模式下的 UPLC-Q-TOF/MS 总离子流

Fig. 2 TIC of Epimedium Folium water group (A) and blank group (B) in negative ion mode of UPLC-Q-TOF/MS

条件, 表示变量高于聚类的平均水平, 从图 3 中可直观看出选取的标志物点差异较大。

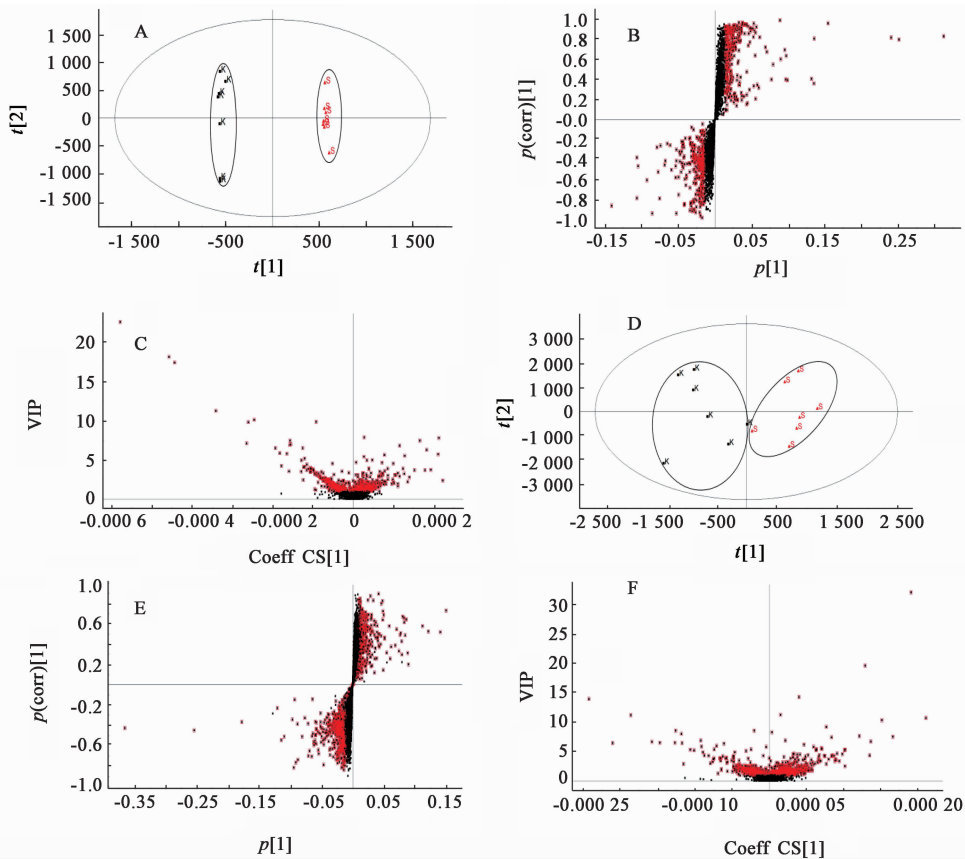
**2.6 生物标志物的鉴定** 通过 Progenesis QI 软件和 HMDB 数据库鉴定了 10 个潜在生物标志物, 其中给药后上调的标志物有 5 个, 下调的标志物有 5 个, 见表 1。这些生物标志物分别归属于氧化胺代谢, 鞘脂类代谢, 谷氨酸、天冬氨酸和天冬氨酸的代谢, 腺苷酸环化酶代谢, 酪氨酸代谢, 精氨酸、脯氨酸代谢的通路。

**2.7 代谢标志物的生物信息分析** 将表 1 中鉴定得到的生物标志物输入 HMDB 数据库, 得到细胞位置和生物学功能的注释, 见图 4。结果发现这些潜在生物标志物主要分布在细胞膜、细胞质和细胞外基质, 生物功能主要与脯氨酸和精氨酸代谢、营养/废物、渗透物/辅酶因子、蛋白质合成/氨基酸合成、丙氨酸和天冬氨酸的代谢、传到信号/能量储存成分相关, 这些信息指示了可能参与的机体主要生命活动, 提示了药物作用的可能机制。

### 3 讨论

**3.1 氧化胺代谢** *N,N'*-双(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺又称精胺, 是含有 2 个氨基和 2 个亚氨基的多胺类物质, 在生物体内由丁二胺和 *S*-腺苷蛋氨酸经多种酶催化后生成, 在细胞的增殖与分化、凋亡<sup>[7]</sup> 及基因转录和翻译<sup>[8]</sup> 中发挥重要作用。有研究表明精胺可能对大鼠心肌缺血/再灌注损伤 (MIRI) 具有保护作用<sup>[9]</sup>, 其通过清除自由基、稳定核苷酸<sup>[10]</sup>, 预防脑的缺血性损伤。精胺还能降低 MIRI 的脂质过氧化水平, 减少心肌细胞坏死, 进而对抗再灌注引起的心功能下降, 下调 Fas 蛋白表达、上调 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 蛋白表达来对抗再灌注诱导的心肌细胞凋亡。此外, 精胺还能兴奋全身中枢神经系统 (SCN)<sup>[11]</sup>。高表达的精胺可能对 MIRI 具有保护作用, 改善氧化胺聚胺类代谢, 并与 SCN 疾病相关。

*N*-(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺的通用名是亚精胺,



A. 正离子 scores plot; B. 正离子 S-plot 分析; C. 正离子 VIP 分析; D. 负离子 scores plot; E. 负离子 S-plot 分析; F. 负离子 VIP 分析

图 3 淫羊藿水段给药组(S)与空白组(K)的 OPLS-DA 分析

Fig. 3 OPLS-DA analysis of Epimedii Folium water group (S) and blank group (K)

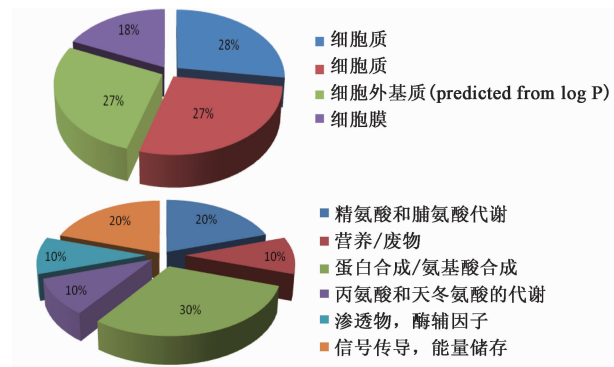
表 1 淫羊藿水段给药组与空白组的潜在生物标志物信息

Table 1 Potential biomarker informations of Epimedii Folium water group and blank group

No.	编号	化合物		相对分子质量/Da	$t_R$ /min	$m/z$	VIP	趋势 (倍数)
		英文名	中文名					
1	01256	<i>N, N'</i> -bis (3-aminopropyl)-1, 4-butanediamine	<i>N, N'</i> -双(3-氨基丙基)-1,4-丁二胺	202.340 2	10.72	486.455 6	1.651	↑(1.31)
2	01257	<i>N</i> -(3-aminopropyl)-1, 4-butane-diamine	<i>N</i> -(3-氨基丙基)-1, 4-丁二胺	145.245 9	10.04	354.311 7	2.221	↑(1.60)
3	13469	sphingomyelin	鞘磷脂	829.224 3	11.07	282.277 4	1.118	↓(2.98)
4	04610	4- <i>D</i> -hydroxysphinganine	4- <i>D</i> -羟基鞘氨醇	317.507 2	10.68	881.666 2	2.108	↑(3.11)
5	00068	4-[(1 <i>R</i> )-1-hydroxy-2-(methylamino)ethyl]-1,2-benzenediol	4-[1 <i>R</i> -羟基-2-乙基]1,2-苯二酚	183.204 4	2.75	228.089 2	7.608	↓(1.33)
6	02142	orthophosphoric acid	正磷酸	97.995 2	0.60	142.974 6	3.587	↓(1.82)
7	00201	<i>O</i> -acetyl- <i>L</i> -carnitine	<i>O</i> -乙酰基- <i>L</i> -肉碱	203.235 6	4.29	184.097 5	4.252	↑(26.90)
8	04224	<i>N</i> ( $\omega$ )-hydroxy- <i>L</i> -arginine	<i>N</i> ( $\omega$ )-羟基- <i>L</i> -精氨酸	190.200 4	5.74	225.074 9	1.944	↓(1.49)
9	03831	$\beta$ -tyrosine	$\beta$ -酪氨酸	181.188 5	3.00	162.054 8	1.523	↓(1.76)
10	29438	phosphoarginine	磷酸精氨酸	254.180 9	5.19	235.059 7	1.065	↑(2.29)

是生物体内一种重要的多胺类物质,延缓多种与年龄相关的疾病,包括动脉衰老<sup>[12]</sup>、结肠癌<sup>[13]</sup>和神经

变性<sup>[14-15]</sup>。研究表明亚精胺的过量或不足都有可能导致细胞周期阻滞和细胞凋亡<sup>[16-17]</sup>,还可抑制动



A. 潜在标志物细胞位置; B. 潜在标志物生物功能

图 4 淫羊藿水段组分对生理状态大鼠干预的潜在生物标志物分类  
Fig. 4 Classification of potential biomarkers of Epimedii Folium water group in rats with physiological state intervention

脉粥样硬化斑块中坏死核的形成<sup>[18]</sup>,因为斑块形成与高水平的活性氧(ROS)介导的氧化损伤及坏死性细胞的产生相关<sup>[19]</sup>,所以通过亚精胺清除 ROS 可能有助于解决动脉粥样硬化斑块中的氧化损伤。亚精胺作为一种抗氧化剂,其在淫羊藿水段组分尿液中表达的升高可能会预防动脉粥样硬化的产生,进而对心脑血管疾病起到保护作用。

**3.2 鞘脂类代谢** 鞘磷脂(SM)是一种动物细胞膜脂质,特别存在于膜髓鞘周围的一些神经细胞轴突物质,以软脂酸及丝氨酸为原料先合成鞘氨醇后,再与脂酰辅酶 A (CoA) 和磷酸胆碱合成,其代谢产物有神经酰胺、鞘氨醇和 1-磷酸鞘氨醇,都是具有生物活性的信号分子。研究表明 SM 是心血管疾病的危险因子<sup>[20]</sup>,其合成受到抑制时能明显抑制动脉粥样硬化的形成,且病变中鞘磷脂的水平常高于正常动脉组织<sup>[21]</sup>,导致动脉粥样硬化的脂蛋白,如极低密度脂蛋白(VLDL)和低密度脂蛋白(LDL),都富含鞘磷脂并在内皮下沉积和聚集<sup>[22-23]</sup>。此外,鞘磷脂使巨噬细胞膜内胆固醇积聚形成泡沫细胞和炎症<sup>[24]</sup>,进一步增加与炎症反应相关的一系列病理过程。SM 的低表达可能会减缓动脉粥样硬化和炎症反应,进而对心脑血管疾病存在保护作用。

4-D-羟基鞘氨醇结构与鞘氨醇类似,具有 C-4 位的羟基鞘氨醇长链基,参与多种细胞过程,包括细胞间相互作用,细胞的增殖、分化、凋亡等。鞘氨醇可诱导人 T 细胞淋巴瘤<sup>[25]</sup>和非小细胞肺癌细胞的凋亡,并诱导细胞凋亡蛋白酶依赖的细胞色素 C 从线粒体释放。在蛋白酶抑制剂的存下,鞘氨醇诱导细胞凋亡的作用几乎完全被抑制,这表明植物鞘氨醇诱导的细胞凋亡在很大程度上依赖于细胞凋亡蛋白酶活性。高表达的植物鞘氨醇可能会促进肿瘤细

胞的凋亡,并增强磷脂类代谢的活性来保护机体。

**3.3 精氨酸和脯氨酸代谢** *N*-( $\omega$ )-羟基-L-精氨酸是精氨酸一氧化氮途径的产物,其中间的过程是在还原型辅酶 II (NADPH) 存在下催化 L-精氨酸氧化结合血红蛋白形成一氧化氮和瓜氨酸。*N*-( $\omega$ )-羟基-L-精氨酸可将 L-精氨酸水解成 L-鸟氨酸和尿素的双核  $Mn^{2+}$  金属酶,还可通过抑制精氨酸酶来干扰细胞的增殖和生长。有研究表明 *N*-( $\omega$ )-羟基-L-精氨酸能抑制精氨酸酶表达人类乳腺癌 MDA-MB-468 细胞的增殖并诱导凋亡,将这些细胞停滞在 S 期,增加 p21 基因的表达,并降低精胺含量<sup>[26-27]</sup>。其表达下调可能会减缓精氨酸和脯氨酸代谢,增加乳腺癌诱发的可能。

磷酸精氨酸(PA)属于  $\alpha$ -氨基酸和衍生物家族,是一种广泛存在于无脊椎动物肌肉中的高能磷酸化合物,因为其与高等动物的磷酸肌酸一样具有高能的磷酸酐键,在生物体内起着能量储藏和传递体的重要作用。当机体需要补充三磷酸腺苷(ATP)时,PA 能将磷酸盐转移给二磷酸腺苷(ADP)<sup>[28]</sup>而保持稳定的 ATP 浓度,充当 ATP 的储存库,当生物体受到应激时,ATP 迅速被消耗而 ADP 又不能有效地转化成为 ATP 时,PA 可放弃 PA 磷酸盐去维持 ATP 的稳态<sup>[29-30]</sup>。淫羊藿水段组分可显著升高生物体 PA 水平,对精氨酸和脯氨酸的代谢有促进作用并向机体提供能量。

**3.4 酪氨酸代谢途径** 4-[1R-羟基-2-乙基]1,2-苯二酚的生物合成主要是在髓质铬细胞中,由去甲肾上腺素甲基化形成。主要用于哮喘和心脏衰竭,通过刺激  $\alpha$  和  $\beta$  肾上腺素能受体系统,引起系统性血管收缩和胃肠道松弛,刺激心脏,并扩张支气管和脑血管。 $\beta$ -酪氨酸属于非蛋白氨基酸,以游离或小肽的形式存在于生物的各种细胞或组织中,可作为合成其他含氮物质的前身,对生物物种具有保护作用。在中枢神经系统主要作为抑制性神经递质,抑制神经的过度性兴奋,当缺乏时,可导致癫痫的发生。 $\beta$ -酪氨酸的低表达,可能会引起癫痫的发生,同时不利于对中枢神经系统的保护作用。

**3.5 谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺代谢** O-乙酰基-L-肉碱(ALC)是左旋肉碱的酯化物,有助于脂肪酸进入粒线体产生能量体 ATP,改善脑能量代谢<sup>[31]</sup>,还拥有神经保护,神经调节和神经营养等性质,用于多种神经和精神疾病的治疗,ALC 通过减少 ROS 产生,减轻氮胺酮诱导的神经损伤<sup>[32]</sup>和缺氧导致的大脑海马细胞损伤<sup>[33]</sup>。ALC 的上调,表明

了其对神经系统具有保护作用,还能促进能量代谢。

与传统的组织病理切片、药效学研究等方法比较,代谢组学可以探寻药效潜在靶点和中药弱毒性作用,是从已发生的生物学事件角度来探讨药物影响机体变化的一种科学手段,诠释着代谢物的组成、结构、功能分布、动态趋势变化等问题<sup>[34]</sup>。本文运用代谢组学方法快速、准确地发现淫羊藿水段组分代谢产物的动态变化规律,从多角度对多靶点综合性药效或毒性反应进行了全面评价。研究结果发现淫羊藿水段组分对正常大鼠心脑血管疾病有显著的保护作用,对神经系统及肿瘤相关疾病存在着药效与毒性共存的特点,这可能与鞘磷脂、*O*-乙酰基-*L*-肉碱及 *N*-( $\omega$ )-羟基-1-精氨酸等潜在标志物的表达水平及氧化胺代谢、鞘脂类代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等通路相关,全面深入地了解药物的作用靶点,对保证临床用药安全性至关重要。

[参考文献]

[1] CUI J J, LIU Y T, HU Y H, et al. NMR-based metabolomics and correlation analysis reveal potential biomarkers associated with chronic atrophic gastritis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2017. doi: 10.1016/j.jpba.2016.09.044.

[2] Kim D R, Lee J E, Shim K J, et al. Effects of Herbal Epimedium on the improvement of bone metabolic disorder through the induction of osteogenic differentiation from bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Mol Med Rep, 2017, 15(1): 125-130.

[3] 胡彦武, 刘凯, 闫梦彤. 淫羊藿苷对大鼠糖尿病心肌缺血再灌注损伤模型的治疗作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4234-4239.

[4] ZHAI M, HE L, JU X, et al. Icariin acts as a potential agent for preventing cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(2): 589-597.

[5] SUN Y, SUN X H, FAN W J, et al. Icariin induces S-phase arrest and apoptosis in medulloblastoma cells[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2016, 62(4): 123-129.

[6] 薛迪, 杨晓旭, 王宇, 等. 基于性激素样作用的淫羊藿有效组分筛选研究[J]. 中医药信息, 2015, 32(5): 13-17.

[7] Minois N, Carmonagutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease[J]. Aging, 2011, 3(8): 716-732.

[8] Pegg A E. The function of spermine[J]. IUBMB Life, 2014, 66(1): 8-18.

[9] 魏臻, 彭雪, 李光伟, 等. 钙感受体和多胺代谢紊乱在缺氧性肺动脉高压中的作用及其相关机制[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(8): 1524-1525.

[10] Rottenberg H, Marbach M. Regulation of  $Ca^{2+}$  transport

in brain mitochondria. II. The mechanism of the adenine nucleotides enhancement of  $Ca^{2+}$  uptake and retention [J]. Biochim Biophys Acta, 1990, 1016(1): 87-98.

[11] Bailey D, Kirby B P, Atkinson J, et al. Hydroxycinnamic acid amide derivatives of polyamines reverse spermine-induced CNS excitation[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2015, 133: 57-64.

[12] LaRocca T J, Gioscia-Ryan R A, Seals D R, et al. The autophagy enhancer spermidine reverses arterial aging [J]. Mech Ageing Dev, 2013, 134(7/8): 314-320.

[13] Soda K, Kano Y, Chiba F, et al. Increased polyamine intake inhibits age-associated alteration in global DNA methylation and 1, 2-dimethylhydrazine-induced tumorigenesis[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64357.

[14] Velloso N A, Dalmolin G D, Gomes G M, et al. Spermine improves recognition memory deficit in a rodent model of Huntington's disease[J]. Neurobiol Learn Mem, 2009, 92(4): 574-580.

[15] Buttner S, Broeskamp F, Sommer C, et al. Spermidine protects against  $\alpha$ -synuclein neurotoxicity [J]. Cell Cycle, 2014, 13(24): 3903-3908.

[16] Stefanelli C, Bonavita F, Pignatti C, et al. Spermine triggers the activation of Caspase-3 in a cell-free model of apoptosis[J]. FEBS Lett, 1999, 451(2): 95-98.

[17] Zahedi K, Bissler J J, WANG Z, et al. Spermidine/spermine N1-acetyltransferase overexpression in kidney epithelial cells disrupts polyamine homeostasis, leads to DNA damage, and causes  $G_2$  arrest[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292(3): C1204-C1215.

[18] Michiels C F, Kurdi A, Timmermans J P, et al. Spermidine reduces lipid accumulation and necrotic core formation in atherosclerotic plaques via induction of autophagy[J]. Atherosclerosis, 2016, 251: 319-327.

[19] Martinet W, Schrijvers D M, De Meyer G R. Necrotic cell death in atherosclerosis [J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(5): 749-760.

[20] Schlitt A, Blankenberg S, YAN D, et al. Further evaluation of plasma sphingomyelin levels as a risk factor for coronary artery disease [J]. Nutr Metab (Lond), 2006, 3(1): 1-8.

[21] Zilversmit D B, Mccandless E L, Jordan P H, et al. The synthesis of phospholipids in human atherosclerotic lesions [J]. Circulation, 1961, 23(3): 370-375.

[22] Williams K J, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995, 15(5): 551-561.

[23] Williams K J, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced [J]. Curr Opin

- Lipidol, 1998, 9(5):471-474.
- [24] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s [J]. Nature, 1993, 362(6423):801-809.
- [25] Nagahara Y, Shinomiya T, Kuroda S, et al. Phytosphingosine induced mitochondria-involved apoptosis [J]. Cancer Sci, 2005, 96(2):83-92.
- [26] Singh R, Pervin S, Karimi A, et al. Arginase activity in human breast cancer cell lines; *N*(omega)-hydroxy-*L*-arginine selectively inhibits cell proliferation and induces apoptosis in MDA-MB-468 cells [J]. Cancer Res, 2000, 60(12):3305-3312.
- [27] Singh R, Pervin S, WU G, et al. Activation of caspase-3 activity and apoptosis in MDA-MB-468 cells by *N*(omega)-hydroxy-*L*-arginine, an inhibitor of arginase, is not solely dependent on reduction in intracellular polyamines [J]. Carcinogenesis, 2001, 22(11):1863-1869.
- [28] Pereira C A, Alonso G D, Ivaldi S, et al. Arginine kinase overexpression improves *Trypanosoma cruzi* survival capability [J]. FEBS Lett, 2003, 554(1/2):201-205.
- [29] Martello L B, Tjeerdema R S, Smith W S, et al. Influence of salinity on the actions of pentachlorophenol in haliotis as measured by *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy [J]. Aquat Toxicol, 1998, 41(3):229-250.
- [30] Viant M R, Walton J H, TenBrook P L, et al. Sublethal actions of copper in abalone (*Haliotis rufescens*) as characterized by *in vivo* <sup>31</sup>P-NMR [J]. Aquat Toxicol, 2002, 57(3):139-151.
- [31] Ferrari F, Gorini A, Villa R F. Functional proteomics of synaptic plasma membrane ATP-ases of rat hippocampus; effect of l-acetylcarnitine and relationships with Dementia and Depression pathophysiology [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 756:67-74.
- [32] LIU F, Patterson T A, Sadovova N, et al. Ketamine-induced neuro-nal damage and altered *N*-methyl-*D*-aspartate receptor function in rat primary forebrain culture [J]. Toxicol Sci, 2013, 131(2):548-557.
- [33] Barhwal K, Hota S K, Prasa D, et al. Hypoxia-induced deactivation of NGF-mediated ERK1/2 signaling in hippocampal cells: neuroprotection by acetyl-*L*-carnitine [J]. J Neurosci Res, 2008, 86(12):2705-2721.
- [34] 郭慧, 崔扬, 王秋红, 等. 基于代谢组学技术的中药复方研究近况 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1):213-219.

[责任编辑 刘德文]