

• 药理与临床 •

基于 $^1\text{H-NMR}$ 代谢组学的驴胶补血颗粒补血作用机制研究刘彩春¹, 刘欢^{1,2}, 谷陟欣³, 秦雪梅¹, 田俊生^{1*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 九芝堂股份有限公司, 湖南 长沙 410205

摘要: **目的** 采用 $^1\text{H-NMR}$ 代谢组学技术结合多元统计分析方法, 探讨乙酰苯肼诱导的溶血性贫血大鼠血清中内源性代谢产物的变化以及驴胶补血颗粒的干预作用。 **方法** 采用乙酰苯肼制备大鼠溶血性贫血模型, 造模 1 周后, 给药组 ig 驴胶补血颗粒水溶液 (8 g/kg), 对照组和模型组分别 ig 等量蒸馏水, 每天 1 次, 持续 2 周。采集大鼠血清进行 $^1\text{H-NMR}$ 检测, 利用代谢组学技术分析血清中内源性代谢产物的变化。 **结果** 与对照组比较, 模型组血清中脂质、乳酸以及丙酮水平升高, 丙氨酸、缬氨酸、肌酐、磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱、氧化三甲胺、甘氨酸以及精氨酸水平下降。给予驴胶补血颗粒后大鼠血清中上述 11 种内源性差异代谢产物均出现了不同程度的回调, 接近对照组水平。 **结论** 驴胶补血颗粒的作用机制主要涉及能量代谢、脂质代谢、肠菌代谢等代谢途径的调节。

关键词: 驴胶补血颗粒; 溶血性贫血; $^1\text{H-NMR}$; 代谢组学; 内源性代谢产物

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)07-1142-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.07.014

Mechanisms of tonifying blood with Lvjiao Buxue Granules studied by $^1\text{H-NMR}$ metabolomicsLIU Cai-chun¹, LIU Huan^{1,2}, GU Zhi-xin³, QIN Xue-mei¹, TIAN Jun-sheng¹

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

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Jiuzhitang Co., Ltd., Changsha 410205, China

Abstract: Objective To explore the change of endogenous metabolites in serum of rats with erythronoclastic anemia and the intervention of Lvjiao Buxue Granules by using $^1\text{H-NMR}$ metabolomics coupled with multivariate statistical analysis. **Methods** Acetylphenylhydrazine was used to establish the rat model of erythronoclastic anemia and after a week the rats except control and model groups were given to Lvjiao Buxue Granules (8 g/kg) separately once daily for two weeks. While the rats in the control and model groups were ig given equivalent distilled water respectively. The endogenous metabolites in serum from all of rats were analyzed by $^1\text{H-NMR}$ coupled with multivariate statistical analysis. **Results** Compared with the control group, the levels of lipids, lactic acid, and acetone in serum of rats in the model group increased while the levels of alanine, valine, creatinine, phosphocholine, glycerophosphocholine, oxidation of three methyl ammonium, glycine, and arginine were decreased. The levels of these endogenous metabolites with significant difference were reversed to normal by ig administration of Lvjiao Buxue Granules. **Conclusion** The mechanism of Lvjiao Buxue Granules on tonifying blood is involved in the pathway of energy metabolomic, lipid metabolism, and intestinal bacteria metabolism.

Key words: Lvjiao Buxue Granules; erythronoclastic anemia; $^1\text{H-NMR}$; metabolomics; endogenous metabolites

驴胶补血颗粒主要由阿胶、黄芪、当归以及白术等组成, 具有滋阴补血、健脾益气、调经活血的功效^[1], 广泛用于贫血、血小板减少、白细胞减少以及月经不调等疾病的治疗^[2]。现代研究结果表明

收稿日期: 2015-06-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81441096); 山西省科技创新重点团队 (2013131015)

作者简介: 刘彩春 (1988—), 女, 山西吕梁人, 硕士在读, 研究方向为中药药理。Tel: 15135143878 E-mail: liucaichun714@163.com

*通信作者 田俊生 (1980—), 男, 内蒙古人, 博士, 副教授, 研究方向为中药药理与新药研发。

Tel: (0351)7019297 Fax: (0351)7018379 E-mail: jstian@sxu.edu.cn

驴胶补血颗粒可以改善骨髓造血功能,但其作用机制尚不十分清楚。

溶血性贫血是由于红细胞存活周期缩短,破坏过多过快,骨髓造血代偿能力不足时发生的一种常见的贫血类型^[3]。由乙酰苯肼诱导的溶血性贫血模型比较成熟且具有代表性,目前已应用于四逆汤^[4]、当归-川芎药对^[5]以及复方阿胶浆^[6]等中药复方的补血作用的研究中,但在驴胶补血颗粒的补血作用机制研究方面报道较少。

代谢组学是系统生物学的重要组成部分,能够及时、灵敏、真实地表征在各种外界因素刺激以及病理状态下生物体功能的整体应答与调节^[7-8]。这与中药治疗的整体动态性原则相一致,在中药方剂多组分、多靶点整体药效评价以及作用机制研究中具有明显优势^[9]。其中,¹H-NMR 代谢组学是最常用的方法之一,具有分析速度快、选择性好、样品无破坏性、无偏向性等优点^[10]。本课题组前期已将其应用于补中益气汤^[11-12]、逍遥散^[13]、京尼平^[14-15]等药物的治疗效果评价及作用机制研究中。本研究采用¹H-NMR 代谢组学方法从大鼠血清中代谢产物的变化及其规律方面探讨驴胶补血颗粒的补血作用机制,为该药的合理使用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品、试剂及仪器

乙酰苯肼(上海生工生物工程股份有限公司,规格 25 g/瓶,批号 RS1014S4011Z); D₂O(美国默克试剂公司); 驴胶补血颗粒(九芝堂股份有限公司,批号 201311023); Bruker 600 MHz Advance III NMR 谱仪(德国布鲁克公司); HEMAVET950 动物血液分析仪(美国 Drew 公司)。

1.2 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2014-0001。

1.3 模型复制、分组及给药

大鼠在室温(24±1)℃、湿度(60±5)%及昼夜自然节律光照环境下适应 1 周,随机分为对照组、模型组、给药组,每组 12 只。除对照组外,所有大鼠分 3 次 sc 2%的乙酰苯肼氯化钠注射液,时间和剂量分别为第 1 天 100 mg/kg、第 4 天 50 mg/kg 和第 7 天 50 mg/kg。造模第 7 天后,给药组开始 ig 给予驴胶补血颗粒(蒸馏水配制,8 g/kg,依据临床人用剂量,按照体表面积换算成大鼠给药剂量),对照组和

模型组分别 ig 等量蒸馏水,每天 1 次,连续 2 周。

1.4 样本收集

所有大鼠于末次给药 1 h 后眼眶取血,用于血液学常规指标测定。末次给药 2 h 后麻醉大鼠,股动脉取血,常温下静置 30 min 后,以 4℃、3 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,得血清,置于-80℃冰箱保存。

1.5 血液学常规指标测定

所有大鼠于末次给药 1 h 后眼眶取血,置肝素抗凝管中,迅速旋摇,以防凝血。并用血液分析仪进行红细胞总数(RBC)、红细胞分布宽度(RDW)、红细胞压积(HCT)、平均红细胞体积(MCV)、白细胞总数(WBC)、血红蛋白(HGB)、血小板数量(PLT)和血小板体积(MPV)等血液学常规指标测定。

1.6 血清样本¹H-NMR 检测

参考文献方法^[16],取 450 μL 血清和 350 μL D₂O,充分振荡均匀后在 4℃下,以 13 000 r/min 离心 20 min,取 550 μL 上清液加入 5 mm 核磁共振管中待测。采用 CPMG(Carr-Purcell-Meiboom-Gill)脉冲序列,弛豫时间为 320 ms,谱宽为 12.019 kHz,扫描次数为 64 次。其他参数设置如下:PW=30℃(12.7 μs),RD=1.0 s, Fid 转换 LB=0.3 Hz。

1.7 ¹H-NMR 谱图预处理与数据分析

核磁谱图采用 MestReNova(version 8.0.1, Mestrelab Research, Santiago de Compostella, Spain)处理。参照文献方法^[16],以肌酐甲基峰的化学位移(δ 3.04)为标准对谱图进行校正,并进行相位、基线调整后,去除水峰(δ 4.5~5.2)干扰,对化学位移区间 δ 0.7~8.0 按照 δ 0.01 步长进行分段积分,将所得积分值进行归一化处理导入软件 SIMCA-P 13.0(Umetric, Sweden)中,采用帕莱托换算(Pareto Scaling)进行预处理后用主成分分析(PCA)进行初步分析,再用偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)^[17-18]。最后为了消除相关因素对分组的影响,消除组内差异、强化组间差异,采用正交信号校正(Orthogonal signal correction, OSC)处理,运用正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)得到得分散点图(Scores plot)和相应的 S-plot,并找出内源性差异代谢产物^[10]。

2 结果与分析

2.1 大鼠体质量变化

与对照组比较,模型组和给药组给药前大鼠体质

量显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 给药组给药后大鼠体质量有所增加, 但差异不显著, 结果见表 1。

2.2 血液学常规指标比较

与对照组比较, 模型组大鼠 RBC、HGB、WBC 降低 ($P < 0.05$), MCV、RDW、HCT 均升高 ($P < 0.05$), 而 PLT 和 MPV 显著下降 ($P < 0.01$), 表明乙酰苯肼诱导的溶血性贫血模型复制成功。与模型组比较, 给药组大鼠 RBC、HGB、PLT、MPV 升高 ($P < 0.01$), WBC、MCV、RDW、HCT 均降低 ($P < 0.05、0.01$), 表明驴胶补血颗粒可以增加红细胞数量, 增强溶血性贫血大鼠的造血功能以及血小板功能, 结果见表 2。

2.3 血清 $^1\text{H-NMR}$ 谱图

对照组大鼠血清 $^1\text{H-NMR}$ 典型谱图如图 1 所示, 通过化学位移、偶合常数、峰型等核磁数据分析,

参照文献报道^[10,16]并结合 Chenomx NMR suite (Chenomx Inc., Edmonton, AB, Canada) 软件分析, 共指出 38 种内源性代谢产物, 包括氨基酸、脂质以及有机酸等。代谢产物化学信号归属如表 3 所示, 其中谱图中 δ 1.24 处的三重峰为实验中麻醉剂乌拉坦的信号, 在指认和统计分析时均予以排除。

表 1 各组大鼠体质量 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Body weight of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | 体质量/g | | |
|----|-----------------|----------------|--------|
| | 给药前 | 给药后 | 差值 |
| 对照 | 265.08 ± 14.53 | 362.78 ± 23.75 | 97.07 |
| 模型 | 212.37 ± 10.80* | 306.81 ± 25.25 | 93.90 |
| 给药 | 210.82 ± 6.16* | 313.87 ± 14.15 | 103.05 |

与对照组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

表 2 各组大鼠血液学常规指标比较 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Comparison on routine blood index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 组别 | RBC/ $(\times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1})$ | MCV/fL | HCT/% | HGB/% | RDW/% | WBC/ $(\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1})$ | PLT/ $(\times 10^{11} \cdot \text{L}^{-1})$ | MPV/L |
|----|---|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|--|---|----------------------------|
| 对照 | 9.15 ± 0.38 | 90.02 ± 3.92 | 82.27 ± 3.08 | 180.75 ± 4.74 | 16.47 ± 1.06 | 11.91 ± 2.42 | 10.07 ± 1.51 | 6.49 ± 0.64 |
| 模型 | 7.40 ± 0.32* | 120.46 ± 6.36* | 88.92 ± 2.87** | 156.74 ± 10.64** | 23.49 ± 2.26** | 10.31 ± 1.69* | 6.48 ± 2.19** | 5.92 ± 0.36** |
| 给药 | 8.04 ± 0.43 $\Delta\Delta$ | 108.20 ± 4.73 $\Delta\Delta$ | 86.85 ± 3.03 $\Delta\Delta$ | 179.50 ± 7.17 $\Delta\Delta$ | 21.62 ± 2.11 $\Delta\Delta$ | 8.61 ± 2.22 Δ | 8.16 ± 2.23 $\Delta\Delta$ | 6.46 ± 0.55 $\Delta\Delta$ |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group, same as below

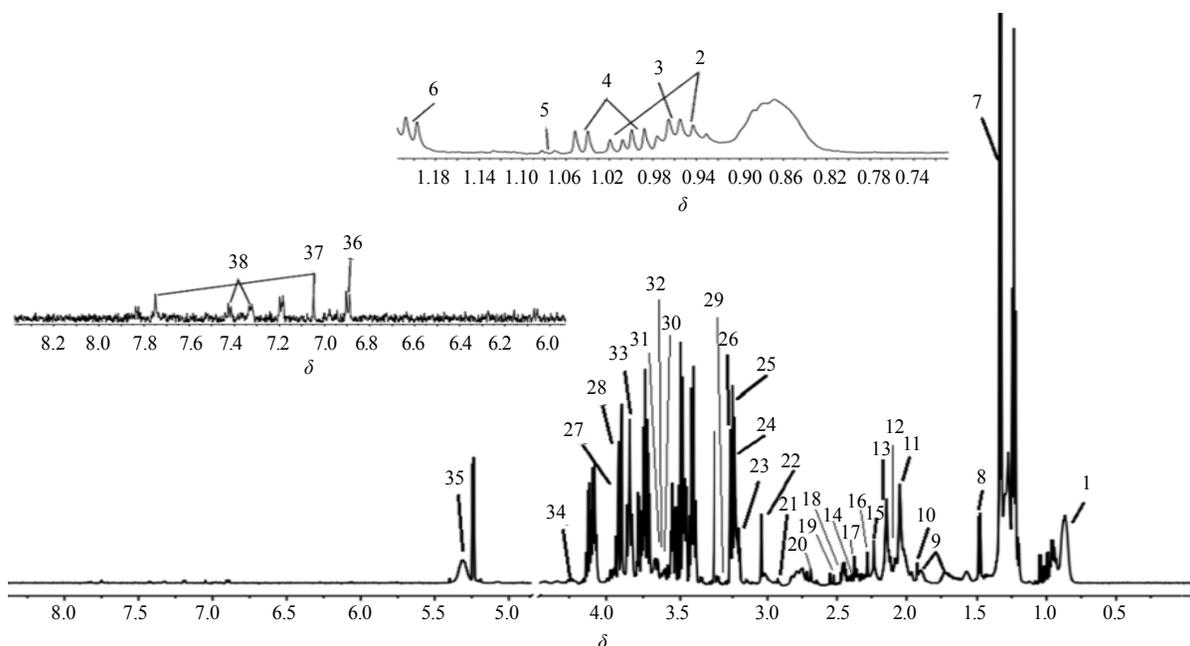


图 1 对照组大鼠血清样本 $^1\text{H-NMR}$ 图谱

Fig. 1 Typical $^1\text{H-NMR}$ spectrum of serum in rats in control group

表 3 大鼠血清样本 ¹H-NMR 数据归属
Table 3 ¹H-NMR assignments of major metabolites in serum of rats

| 编号 | 代谢物 | 部分基团 | δ_H |
|----|-----------------|---|--|
| 1 | 脂质 | CH ₃ , CH ₃ (CH) _n , CH ₃ CH ₂ CH ₂ | 0.89 (m), 1.28 (m), 2.78 (m) |
| 2 | 异亮氨酸 | δ CH ₃ , γ CH ₃ , γ' CH ₂ | 0.94 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz) |
| 3 | 亮氨酸 | δ CH ₃ , δ' CH ₃ | 0.96 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz) |
| 4 | 缬氨酸 | α CH, β CH, γ CH ₃ | 0.99 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz), 1.04 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz), 2.26 (m) |
| 5 | 异丁酸 | CH ₃ | 1.07 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz) |
| 6 | β -羟基丁酸 | γ CH ₃ | 1.20 (d, <i>J</i> = 6.6 Hz) |
| 7 | 乳酸 | α CH, β CH ₃ | 1.33 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz), 4.12 (q, <i>J</i> = 8.3 Hz) |
| 8 | 丙氨酸 | α CH | 1.48 (d, <i>J</i> = 8.6 Hz) |
| 9 | 赖氨酸 | δ CH ₂ , β CH | 1.72 (m), 1.90 (m) |
| 10 | 醋酸 | CH ₃ | 1.92 (s) |
| 11 | <i>N</i> -乙酰糖蛋白 | CH ₃ | 2.04 (s) |
| 12 | 谷氨酸 | α CH, β CH ₂ , γ CH ₂ | 2.08 (m), 2.35 (m), 3.75 (m) |
| 13 | <i>O</i> -乙酰糖蛋白 | CH ₃ | 2.14 (s) |
| 14 | 谷氨酰胺 | α CH, β CH ₂ , γ CH ₂ | 2.14 (m), 2.45 (m), 3.77 (m) |
| 15 | 丙酮 | CH ₃ | 2.23 (s) |
| 16 | 乙酰乙酸 | CH ₃ | 2.28 (s) |
| 17 | 丙酮酸 | CH ₃ | 2.37 (s) |
| 18 | 琥珀酸 | CH ₂ | 2.41 (s) |
| 19 | 柠檬酸 | CH ₂ (1/2), CH ₂ (1/2) | 2.54 (d, <i>J</i> = 18.2 Hz), 2.70 (d, <i>J</i> = 18.2 Hz) |
| 20 | 蛋氨酸 | CH ₃ | 2.65 (t, <i>J</i> = 9.0 Hz) |
| 21 | 三甲胺 | CH ₃ | 2.92 (s) |
| 22 | 肌酐 | CH ₃ , CH ₂ | 3.04 (s), 3.93 (s) |
| 23 | 胆碱 | <i>N</i> (CH ₃) ₃ <i>N</i> -CH ₂ | 3.19 (s) |
| 24 | 磷酸胆碱 | <i>N</i> (CH ₃) ₃ | 3.20 (s) |
| 25 | 甘氨酸胆碱 | <i>N</i> (CH ₃) ₃ | 3.21 (s) |
| 26 | 氧化三甲胺 | CH ₃ | 3.27 (s) |
| 27 | 甜菜碱 | CH ₃ , CH ₃ | 3.26 (s), 3.91 (s) |
| 28 | 精氨酸 | δ CH ₃ | 3.25 (t, <i>J</i> = 8.4 Hz), 3.78 (t, <i>J</i> = 7.2 Hz) |
| 29 | 鲨肌醇 | CH | 3.35 (s) |
| 30 | 甘氨酸 | CH ₂ | 3.56 (s) |
| 31 | 苏氨酸 | α -CH | 3.60 (d, <i>J</i> = 7.2 Hz), 4.24 (m) |
| 32 | 肌醇 | 4,6-CH | 3.63 (s) |
| 33 | 二甲胺 | CH ₃ | 3.74 (s) |
| 34 | 三酰甘油 | (CH ₂) _n | 4.06 (m), 4.24 (m), 5.20 (m) |
| 35 | α -葡萄糖 | 1-CH | 5.23 (d, <i>J</i> = 4.2 Hz) |
| 36 | 酪氨酸 | 3 or 5-CH, 2 or 6-CH | 6.89 (m), 7.18 (m) |
| 37 | 组氨酸 | 2-CH, 4-CH | 7.05 (s), 7.75 (s) |
| 38 | 苯丙氨酸 | 2 or 6-CH, 3 or 5-CH | 7.32 (m), 7.42 (m) |

2.4 多元统计分析

为了进一步分析各组间代谢产物的微小差异,对所得的复杂数据通过降维处理后进行多元统计分析。采用 PLS-DA 对所有血清样本数据矩阵进行统计分析,结果见图 2。模型组与对照组明显分开,表明模型复制成功。给药组与模型组明显分开并与对照组接近,表明驴胶补血颗粒对大鼠溶血性贫血有明显改善作用,与血液学常规指标测定结果一致。

为了能最大程度确定造模前后大鼠血清中内

源性代谢产物发生的变化以及驴胶补血颗粒的干预作用,分别采用 OPLS-DA 分析对模型组与对照组、模型组与给药组进行单独分析,得到 OPLS-DA 得分图和 S-plot 图,见图 3。在 S-plot 中,“S”曲线上离原点越远的点 VIP 值越大,对分组贡献也越大。在本实验中筛选出 VIP > 1 的内源性代谢产物后,对这些代谢物所属的相对峰面积进行独立样本 *t* 检验,从而得到峰面积具有显著性差异的内源性代谢产物,结果见图 4。

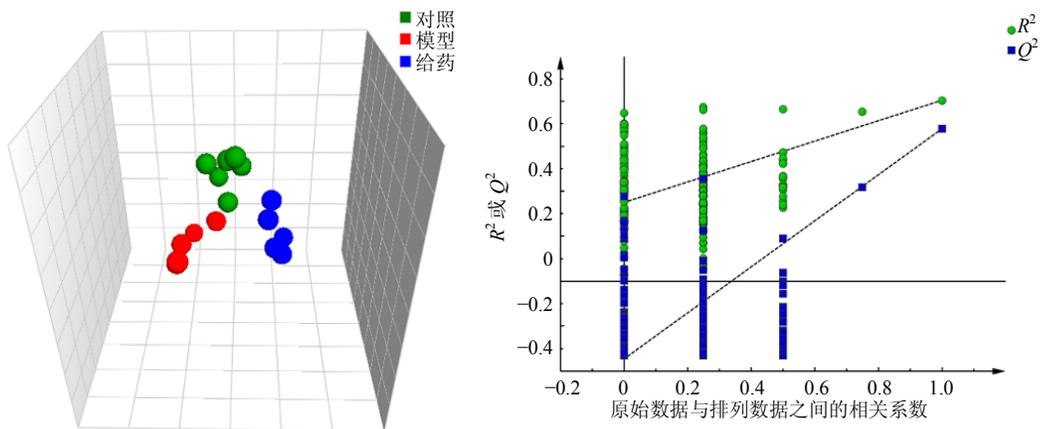


图 2 大鼠血清样本 ¹H-NMR 谱图 PLS-DA 散点图 (A) 和相应的模型验证图 (B)

Fig. 2 PLS-DA scores plot (A) and corresponding validation plot (B) derived from ¹H-NMR spectra of serum from all rats

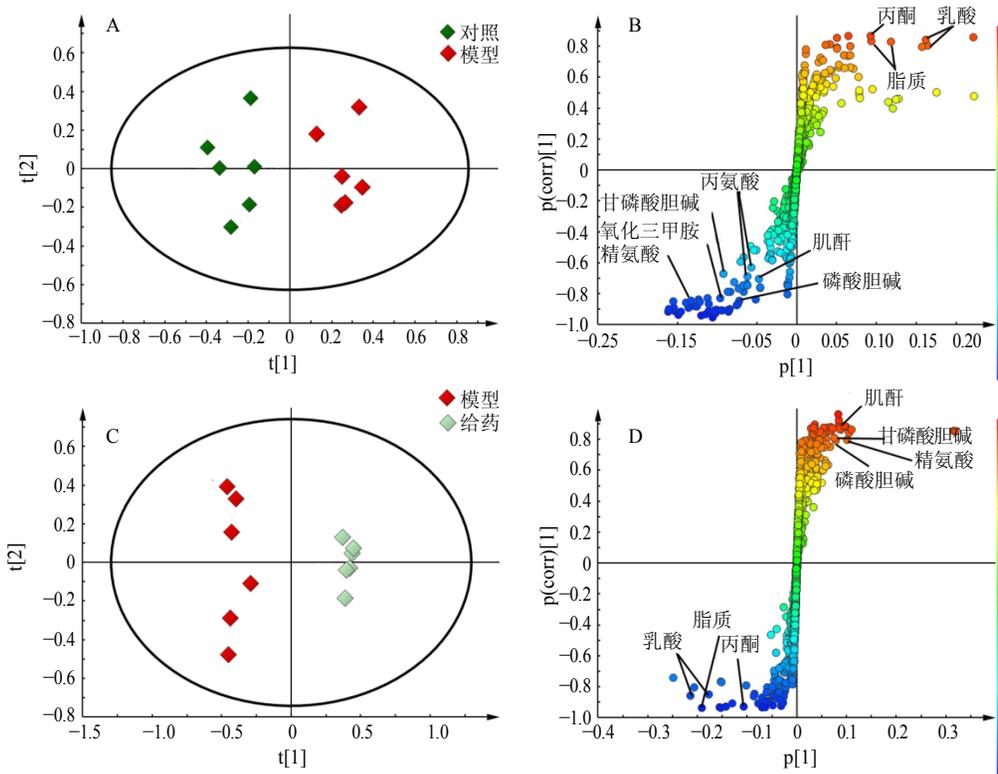


图 3 对照组与模型组大鼠血清样本 ¹H-NMR 谱图 OPLS-DA 散点图 (A) 和相对应的 S-plot 图 (B) 以及模型组与给药组大鼠血清样本 ¹H-NMR 谱图 OPLS-DA 散点图 (C) 和相对应的 S-plot 图 (D)

Fig. 3 OPLS-DA scores plot (A) and corresponding S-plot (B) of rats in both control and model groups; OPLS-DA scores plot (C), and corresponding S-plot (D) of rats in Lvjiao Buxue Granules and model groups derived from ¹H-NMR spectra of serum

模型组与对照组 OPLS-DA 分析结果 (图 3-A) 表明, 对照组与模型组明显分开, 建模成功。由图 3-C 可知, 给药组与模型组明显分开, 表明驴胶补血颗粒可以明显回调贫血模型大鼠血清中内源性物质, 补血作用效果明显。由图 4 可知, 与对照组

比较, 模型组大鼠血清中脂蛋白、乳酸、丙酮水平升高, 而丙氨酸、缬氨酸、肌酐、磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱、氧化三甲基胺、甘氨酸以及精氨酸水平下降。给药组大鼠血清中这 11 种内源性差异代谢产物均得到了不同程度的回调, 接近对照组水平。

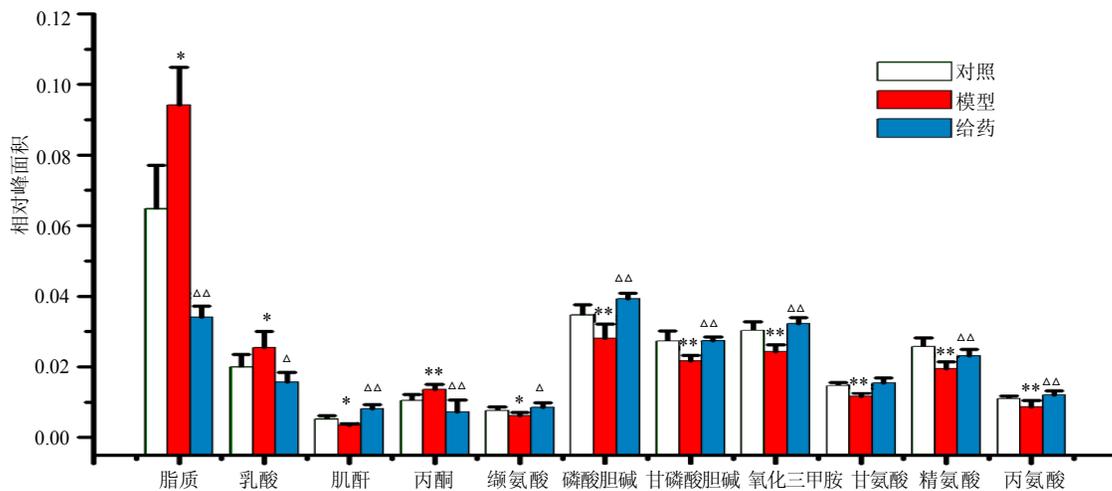


图 4 大鼠血清中差异代谢产物相对峰面积

Fig. 4 Relative peak areas of endogenous metabolites with difference in serum of rats

3 讨论

中药复方成分复杂，多种成分之间还有协同和拮抗作用，传统的药理实验方法只能在一定程度上揭示中药的药理作用机制^[19]，而代谢组学将机体看作一个整体，研究药物引起的内源性代谢产物变化及内在变化规律，为中药复方作用机制的研究提供了有力的技术支持。本研究结果显示驴胶补血颗粒能较好地调节乙酰苯肼诱导的溶血性贫血血清差异代谢产物的水平而发挥补血作用，为驴胶补血颗粒的补血作用机制研究提供充分的理论依据。

与对照组比较，模型组大鼠血清中乳酸和丙酮水平升高，肌酐和丙氨酸水平下降，说明溶血性贫血可以引起机体能量代谢下降，这与临床溶血性贫血患者疲乏无力的症状相吻合。而驴胶补血颗粒使得大鼠血清中乳酸、肌酐以及丙酮水平出现回调现象并趋于正常水平，表明驴胶补血颗粒对大鼠溶血性贫血的改善作用与调节能量代谢有关。

模型组大鼠血清中脂质水平下降表现为能量代谢水平低下或脂肪存储不足。而给药组大鼠血清中均出现了显著回调，表明驴胶补血颗粒对大鼠溶血性贫血的改善作用与脂质代谢有关。

模型组大鼠血清中氧化三甲胺水平明显低于对照组，表明溶血性贫血可以导致大鼠肠道菌群代谢紊乱，而给药组大鼠血清中氧化三甲胺趋于对照组水平，说明驴胶补血颗粒的补血机制与肠道菌群代谢有关。

综上所述，驴胶补血颗粒通过调节能量代谢（乳酸、肌酐、丙酮）、脂质代谢和肠道菌群代谢（氧

化三甲胺、磷酸胆碱、甘油磷酸胆碱）以及其他代谢途径（缬氨酸等）来发挥补血作用。

在中医理论中，“气为血帅，血为气母，气重于血”。驴胶补血颗粒中的阿胶和熟地黄主要用于补血，党参、黄芪和白术主要用于补气，当归补血以润肠通便。现代医学认为能量代谢与气虚和血虚密切相关。因此驴胶补血颗粒补血作用机制的不同与其成分的配伍有关，其谱效关系有待进一步研究。

此外，本研究结果表明驴胶补血颗粒在病理条件下能够引起血液学指标的变化及内源性代谢物的回调，但在生理条件下是否也会引起类似的血液学指标和内源性代谢物的变化有待进一步探讨，在后续研究中将设置正常大鼠给药组，从而探讨中药复方对机体稳态的影响以及预防疾病的作用。

参考文献

- [1] 谷陟欣, 张妮瑜, 梁逸曾, 等. 驴胶补血颗粒 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 80-82.
- [2] 林洁, 张敏, 陈锦黎, 等. 新驴胶补血颗粒治疗气血两虚型月经过少的多中心, 随机对照, 临床等效性研究 [J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(12): 52-55.
- [3] 张玉荣. 溶血性贫血的临床研究 [J]. 亚太传统医药, 2008, 4(5): 65-67.
- [4] 龚文君, 沃兴德. 四物汤对乙酰苯肼致溶血性贫血模型大鼠的治疗作用 [J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(9): 640-641.
- [5] 李伟霞, 唐于平, 郭建明, 等. 当归-川芎药对及其组成药味对 3 种血虚模型补血作用的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(13): 1808-1814.

- [6] 杜先婕, 宋林奇, 谢人明, 等. 复方阿胶浆对乙酰苯肼所致小鼠溶血性贫血模型的实验研究 [J]. 中成药, 2009, 31(5): 790-793.
- [7] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. "Metabonomics": understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [8] Nicholson J K, Lindon J C. Systemsbiology: metabonomics [J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [9] 黄晓晨, 宿树兰, 郭建明, 等. 代谢组学在中医药若干科学问题研究中的应用与思考 [J]. 中草药, 2014, 45(2): 147-153.
- [10] Li Z Y, He P, Sun H F, *et al.* ^1H NMR based metabolomic study of the antifatigue effect of *Astragali Radix* [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(11): 3022-3030.
- [11] 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.
- [12] Zheng X F, Tian J S, Liu P, *et al.* Analysis of the restorative effect of Bu-zhong-yi-qi-tang in the spleen-qi deficiency rat model using ^1H NMR-based metabonomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 151: 912-920.
- [13] Tian J S, Peng G J, Gao X X, *et al.* Dynamic analysis of the endogenous metabolites in depressed patients treated with TCM formula Xiaoyaosan using urinary ^1H NMR-based metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 158: 1-10.
- [14] 彭国苙, 史碧云, 田俊生, 等. 京尼平抗抑郁作用的 ^1H NMR 代谢组学机制研究 [J]. 药学学报, 2014, 49(2): 209-216.
- [15] Tian J S, Shi B Y, Xiang H, *et al.* ^1H -NMR-based metabonomic studies on the anti-depressant effect of Genipin in the chronic unpredictable mild stress rat model [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75721.
- [16] Shi B Y, Tian J S, Xiang H, *et al.* A ^1H -NMR plasma metabonomic study of acute and chronic stress models of depression in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2013, 241: 86-91.
- [17] Liu C C, Wu Y F, Feng G M, *et al.* Plasma-metabolite-biomarkers for the therapeutic response in depressed patients by the traditional Chinese medicine formula Xiaoyaosan: A ^1H NMR-based metabolomics approach [J]. *J Affect Disord*, 2015, 185: 156-163.
- [18] 田俊生, 那丽丹, 向欢, 等. 基于核磁代谢组学的驴皮与其伪品的鉴别研究 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 255-261.
- [19] 赵珊, 王鹏程, 冯健, 等. 代谢组学技术及其在中医药研究中的应用 [J]. 中草药, 2015, 46(5): 756-765.