

四物汤调节自然衰老小鼠脂质代谢紊乱的代谢组学研究

王 燕¹, 王 静², 梁 华^{3*}

1. 宁夏医科大学 中医学院, 宁夏 银川 750004

2. 宁夏银川市第一人民医院 兴庆区新华街社区卫生服务中心, 宁夏 银川 750001

3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 基于代谢组学探究四物汤改善自然衰老小鼠脂代谢失调的机制。**方法** 采用自然增龄造模, 以 3 月龄小鼠作为对照组, 自然生长至 18 月龄为模型组, 将造模小鼠随机分为模型组和四物汤 ($4.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 对照组和模型组 ig 给予蒸馏水, 四物汤组 ig 给予四物汤药液, 每天固定时间给药 1 次, 连续给药 4 周。试剂盒法检测血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C) 水平; 油红 O 染色和苏木精-伊红 (HE) 染色观察肝脏病理变化; 采用非靶代谢组学对不同组别的血清样本进行检测, 以多元统计分析筛选各组之间的差异代谢物, 结合质谱信息和公共数据库检索对差异代谢物进行鉴定; 将筛选出的 12 个代谢标志物 ID 输入 MetaboAnalyst6.0 中进行代谢通路富集。**结果** 与对照组比较, 模型组血清中 TC、TG、LDL-C 水平均显著升高 ($P < 0.001$), HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 四物汤组能明显降低 TC、TG、LDL-C 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), HDL-C 呈升高趋势并趋于对照组。与对照组比较, 模型组肝脏出现明显炎症细胞簇和脂肪沉积, 四物汤干预后均明显减少。模型组和对照组小鼠有 31 种内源性物质发生了显著性变化 ($P < 0.05$), 经四物汤干预后没食子酸、溶血磷脂胆碱、植物鞘氨醇、牛磺去氧胆酸、肾上腺甾酮等 12 种代谢物水平显著回调 ($P < 0.05$), 最终富集到鞘脂代谢、甘油磷脂代谢和类固醇激素生物合成 3 条脂代谢通路。**结论** 四物汤对自然衰老脂代谢紊乱小鼠体内的差异代谢物有一定的回调作用, 其调节脂质代谢紊乱的作用机制主要与鞘脂代谢、甘油磷脂代谢和类固醇激素生物合成代谢通路有关。

关键词: 四物汤; 代谢组学; 衰老; 脂代谢; 鞘脂代谢; 甘油磷脂代谢; 类固醇激素生物合成

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)10-2755-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.004

Metabolomic study on regulation of lipid metabolism disorders in naturally aging mice by Siwu Decoction

WANG Yan¹, WANG Jing², LIANG Hua³

1. College of Traditional Chinese Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

2. Xingqing District Xinhua Street Community Health Service Center, Yinchuan First People's Hospital, Yinchuan 750001, China

3. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: **Objective** This experiment uses metabolomics technology to explore the mechanism by which Siwu Decoction improves lipid metabolism disorders in naturally aging mice. **Methods** A natural aging model was established, with 3-month-old mice as the control group and naturally aged to 18 months as the model group. The model mice were randomly divided into the model group and the Siwu Decoction ($4.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group. The control group and the model group were ig administered distilled water, while the Siwu Decoction group was ig administered Siwu Decoction solution once a day for four weeks. Serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels were detected by kits, liver pathological changes were observed by Oil Red O staining and hematoxylin-eosin (HE) staining, non-targeted metabolomics was used to detect serum samples from different groups, and multivariate statistical analysis was used to screen for differential metabolites between groups. The IDs of the 12 selected metabolic markers were input into MetaboAnalyst 6.0 for metabolic pathway enrichment.

收稿日期: 2025-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473563); 宁夏自然科学基金优秀项目 (2023AAC05041); 宁夏医科大学特殊人才启动项目 (XT2022017)

作者简介: 王 燕, 女, 博士, 副教授, 研究方向为衰老及代谢性疾病的方剂基础。E-mail: wangyan@nxmu.edu.cn

*通信作者: 梁 华, 女, 博士, 教授, 研究方向为方剂学理论及配伍规律。E-mail: 20211002@nxmu.edu.cn

Results Compared with control group, the levels of TC, TG, and LDL-C in the serum of model group were significantly increased ($P < 0.001$), and the level of HDL-C was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the Siwu Decoction could significantly reduce the levels of TC, TG, and LDL-C ($P < 0.05, 0.01$), and HDL-C showed an increasing trend and tended to be similar to the control group. Compared with the control group, the model group showed obvious inflammatory cell clusters and fat deposition in the liver, which were significantly reduced after Siwu Decoction intervention. There were 31 endogenous substances that changed significantly ($P < 0.05$) in the model group and the control group. After Siwu Decoction intervention, the levels of 12 metabolites such as gallic acid, lysophosphatidylcholine, sphingosine, taurodeoxycholic acid, and adrenosterone were significantly restored ($P < 0.05$), and were finally enriched in three lipid metabolism pathways: sphingolipid metabolism, glycerophospholipid metabolism, and steroid hormone biosynthesis. **Conclusion** Siwu Decoction has a certain regulatory effect on differential metabolites in naturally aging mice with lipid metabolism disorders. Its mechanism of regulating lipid metabolism disorders is mainly related to the metabolism pathways of sphingolipids, glycerophospholipids, and steroid hormone biosynthesis.

Key words: Siwu Decoction; metabolomics; aging; lipid metabolism; sphingolipid metabolism; glycerophospholipid metabolism; steroid hormone biosynthesis

衰老是一个不可避免的生命过程,其特征是疾病易感性增加、分子保真度丧失以及组织器官功能逐渐衰退^[1-3]。脂质是参与细胞和生物功能的关键大分子,通常以脂肪或油的形式存在,主要参与细胞膜组成、能量储存以及信号转导^[4]。脂质在维持体内平衡方面具有多重作用,有研究发现在衰老过程中,小鼠各器官中含有多不饱和脂肪酸的磷酸水平增加,而含单不饱和脂肪酸的其他磷脂水平则下降,衰老细胞会表现出脂质代谢失衡,脂质代谢酶发生变化使细胞中脂质种类和脂滴不断积累,进而加速衰老进程^[5-6]。中医认为“生、长、壮、老、已”是正常生物生命活动过程的不同阶段,在增龄进程中,机体的脏腑、经络、气血等物质发生变化,逐渐出现亏损不足,或者由于疾病导致这些物质在体内壅滞不通或损伤,引起机体机能的下降,最终导致衰老^[7]。正如《素问·阴阳应象大论》中曰“能知七损八益,则二者可调,不知用此,则早衰之节也^[8]”指出阴阳盛衰是决定寿命长短的关键。《寿世青编》中记载:“肝藏血,血和则体泽,血衰则枯槁,故养肝之要在乎戒念,是摄生之第一法也。”《素问·五藏生成》中曰:“故人卧血归于肝,肝受血而能视,足受血而能步,掌受血而能握,指受血而能摄。”“其不能终寿而死者,五脏皆不坚……薄脉少血,其肉不石,……血气虚,脉不通……故中寿而尽也。”“五脏坚固,血脉和调……营卫之行,不失其常……故能长久”^[9]均说明血足脉通是延年抗衰的基础。

《灵枢·卫气失常》中记载:“脂者,其血清,气滑少”,提示脂肪的沉积主要与气血不足相关,故“脂者,其身收小”^[10]。若气血生化不足,机体代谢能力下降,血虚多滞,经脉隧道,不能滑利通畅,

则脂积痰成,加速老化。最新研究亦表明,脂肪在介导与衰老相关的系统性变化和调节与衰老相关的疾病风险方面发挥了关键作用^[11]。四物汤最早载于《仙授理伤续断秘方》,由芍药、熟地黄、当归、川芎组成,《太平惠民和剂局方》中记载四物汤可“调益营卫,滋养气血”。《医方考》中提到四物汤方中“当归、芍药、地黄能养五脏之阴,川芎能调营中之气,使五脏和而血自生”,故现多以四物汤作为补血调血的基础方^[12-13]。在明代万全所著《养生四要》中,用柴胡四物汤、加味四物汤等四物汤加减方祛疾补肝肾抗衰^[14]。实验研究发现四物汤可促进细胞因子产生,恢复免疫低下的脾淋巴细胞产生白细胞介素(IL)-2的能力,能升高亚急性衰老模型雌性小鼠IL-2含量^[15-16]。基于代谢组学研究发现,四物汤可通过回调标志性差异物的相对含量来干预自然衰老小鼠氨基酸类、糖类和脂类代谢失衡,改善因增龄导致的代谢紊乱^[17-18]。充分提示四物汤可能通过调益营卫、滋养气血发挥脂脂抗衰作用。为进一步明确在脂类代谢中四物汤抗衰老的调节机制,本研究选用自然衰老的18月龄雌性(四物汤是妇科调养常用方基础方,故选用雌性小鼠)小鼠为模型,基于代谢组学探究其衰老进程中脂代谢状况及四物汤的干预机制。

1 材料

1.1 实验动物

30只雌性SPF级ICR小鼠,4~6周龄,体重(22±1)g,购自宁夏医科大学动物实验中心,动物生产许可证号SCXK(宁)2025-0001,饲养于宁夏医科大学动物实验中心。实验动物置于25℃、相对湿度为40%~70%条件下饲养,光照

周期为 12 h 明亮、12 h 黑暗, 自由采食、饮水适应 1 周。实验过程中对动物的处置严格遵守实验动物管理与使用委员会的伦理学标准进行 (伦理号 IACUC-NYLAC-2023-073)。

1.2 药材及四物汤药液的制备

熟地黄购自江西樟树国康中药饮片有限公司 (批号 230803); 当归和白芍购自重庆绿色源药业有限公司 (批号 23092203、23072301); 川芎购自四川麟源药业有限责任公司 (批号 231202), 饮片由宁夏医学科学研究所杨建宏教授鉴定, 分别为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 执行标准均依据《中国药典》2020 年版。称取熟地黄 12 g、当归 9 g、白芍 9 g、川芎 6 g, 分 2 次煎煮, 首次加入 10 倍量水, 浸泡 30 min, 武火煮沸, 文火煎煮 30 min 取滤液, 留药渣; 加入 8 倍量水至药渣中, 煮沸后文火煎煮 30 min 取滤液, 弃药渣。合并提取液减压浓缩药液质量浓度至 $0.36 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 备用。经高效液相色谱 (HPLC) 法检测, 四物汤药液中芍药苷的质量浓度为 $346.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 阿魏酸的质量浓度为 $33.63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.3 主要仪器

RM2135 石蜡切片机 (德国莱卡公司); BX43 型光学显微镜 (日本 OLYMPUS); MIR-153 型干燥箱、MDF-382E 型低温冰箱 (日本三洋公司); DSHZ-300 型恒温水浴箱 (江苏太仓医用仪器厂); LDZ-5-2 型离心机 (北京离心机厂); AE100 型电子天平 (瑞士 METTER 公司); JYC-21ES55C 型电磁炉 (九阳股份有限公司); UC90 成像系统 (日本 OLYMPUS 公司)。

1.4 主要试剂

苏木素染色液、伊红染液和油红 O 染色液均购于珠海贝索生物技术有限公司 (批号分别为 BA-4041、BA-4024、BA-4081); 二甲苯、无水乙醇、95%乙醇购买于天津市永大化学试剂有限公司; 分化液购买于上海碧云天生物技术有限公司 (批号 C0163M); 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 染色液购买于博士德生物公司 (批号 AR1177); 防淬灭封片剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司 (货号 ZLI-9556); 丙二醛 (MDA) ELISA 试剂盒 (批号 JL53632)、超氧化物歧化酶 (SOD) ELISA 试剂盒

(批号 JL12237)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) ELISA 试剂盒 (批号 JL49904)、总胆固醇 (TC) 含量试剂盒 (批号 JL-T1371)、三酰甘油 (TG) 含量试剂盒 (批号 JL-T0853)、小鼠低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL-C) ELISA 检测试剂盒 (批号 JL18892)、小鼠高密度脂蛋白-胆固醇 (HDL-C) ELISA 检测试剂盒 (批号 JL18893) 均购自江莱生物。色谱乙腈、色谱甲醇均购自美国赛默飞世尔公司。

2 方法

2.1 动物分组与模型

ICR 小鼠适应性喂养 1 周, 随机分为对照组 (10 只, 饲养至 37 d) 和造模组 (20 只, 饲养至 18 月龄), 对照组和造模组 (随机选取 10 只) 小鼠尾静脉取血, 血液样本静置 1.5 h, 4°C 、 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上层血清, 试剂盒法检测血清衰老相关指标 (SOD、MDA、GSH-Px), 用以评价衰老模型^[19]。

对照组和模型组饲养至相应月龄后, 将造模小鼠随机分为模型组和四物汤 ($4.68 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 剂量依据“人和动物按体表面积折算的等效剂量比率表”计算, 为临床等效剂量, 结合本课题组前期研究文献报道^[18]确定。)组, 每组 10 只。对照组和模型组 ig 给予蒸馏水, 四物汤组 ig 给予四物汤药液, 每天固定时间给药 1 次, 连续给药 4 周。

2.2 动物取材及血脂检测

给药结束后, 禁食不禁水 12 h, 次日取材。用异氟烷麻醉小鼠后, 腹主动脉取血, 血液样本静置 1.5 h, 4°C 、 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 后取上层血清, 采用 ELISA 检测试剂盒按照说明书分别检测 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的水平, 观察四物汤对自然衰老小鼠血脂的影响。

2.3 p16 蛋白免疫荧光染色

取材对照组和模型组小鼠皮下白色脂肪, 利用 4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋后切片。将切片放入 3%柠檬酸修复液高压修复, 待顶开气阀后修复 10 min。将高压锅放入自来水冷却至室温, 蒸馏水洗 5 min。加入 3%双氧水 20 min, 蒸馏水洗 5 min, 磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 浸泡 1 min。5%牛血清白蛋白 (BSA) 室温孵育 30 min, 甩去 BSA, 滴加一抗工作液 4°C 过夜。PBS 洗 3 次后, 滴加荧光二抗, 37°C 孵育 30 min。PBS 洗 3 次, 每次 5 min。滴加 DAPI 室温孵育 10 min。水溶性封片剂封片, 荧光显微镜观察脂肪组织中 p16 蛋白的染色情况。

2.4 苏木精-伊红 (HE) 染色

取材小鼠肝脏后, 利用 4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚 3 μm , 进行 HE 染色, 观察四物汤对自然衰老小鼠肝脏病理切片的影响。

2.5 油红 O 染色

将上述取材的肝脏部分组织冰冻后进行 OCT 包埋、切片, 向冰冻切片上加入油红 O 染色工作液覆盖组织, 室温避光染色 30 min, 去除染色液。加入 60%异丙醇快速分化 5 s, 纯水洗 3 次, 每次 5 min。加入苏木素染液对细胞核进行染色, 水洗, 返蓝再水洗。甘油明胶或水溶性封片剂封片, 在显微镜下观察细胞染色情况。

2.6 代谢组学分析

2.6.1 样品处理 取各组 400 μL 血清样本, 加入 40 μL 盐酸, 涡旋 1 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 静置 15 min; 重复涡旋静置 4 次后, 加入 1.6 mL 乙腈, 涡旋 5 min, 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清 1 800 μL 氮气吹干燥; 加入 150 μL 80%甲醇复溶, 涡旋 5 min, 12 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取 120 μL 上清到进样瓶中上机检测。

2.6.2 色谱条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C_{18} (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 500 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样体积 5 μL ; 流动相 A 为 0.1%甲酸溶液, 流动相 B 为乙腈。液相色谱流动相条件为 0~11 min, 85%~25% A; 11~12 min, 25%~2% A; 12~14 min, 2% A; 14.0~14.1 min, 2%~85% A; 14.1~16.0 min, 85% A。

2.6.3 质谱条件 采用电喷雾离子化源 (ESI) 正、负离子模式扫描, 数据扫描范围为 m/z 50~1 250,

鞘气体积流量 45 Arb, 辅助气体流量 15 Arb, 毛细管温度 400 $^{\circ}\text{C}$, MS/MS 分辨率 17 500, 喷雾电压 4.0 kV (正) 或 -3.6 kV (负)。

2.7 数据分析及统计

将各样本处理后进行 UPLC-Q-TOF/MS 分析, 基于 MassLynx V4.1 工作站、Markerlynx 及 Progenesis QI 3.0.3 软件进行数据采集、色谱峰识别, 解卷积和峰对齐, 生成数据矩阵后, 采用 Progenesis QI 3.0.3 软件中 EZInfo 模块进行归一化和标准化处理, 结合 SIMIC14.1 进一步构建主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘方差-判别分析 (OPLS-DA) 多元统计分析。

数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计分析。数据正态分布且方差齐时, 采用单因素方差分析; 数据非正态分布时, 采用非参数检验。统计图采用 GraphPad Prism10.0 软件进行绘制。

3 结果

3.1 自然衰老小鼠血清衰老指标的检测

氧自由基是导致细胞和组织老化的重要因子, 氧化应激则是体内氧化与抗氧化作用失衡并且倾向于氧化的一种状态^[20]。MDA 含量能够反映机体内脂质过氧化程度, SOD 活性不仅是体现机体抗氧化潜在能力的重要参数, 能够反映机体脂质过氧化的速率和强度, 也能够间接反映组织过氧化损伤的程度, GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶^[21-22]。如图 1 所示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清样本中 SOD 和 GSH-Px 活性均明显降低 ($P<0.01$), MDA 水平明显升高 ($P<0.05$)。

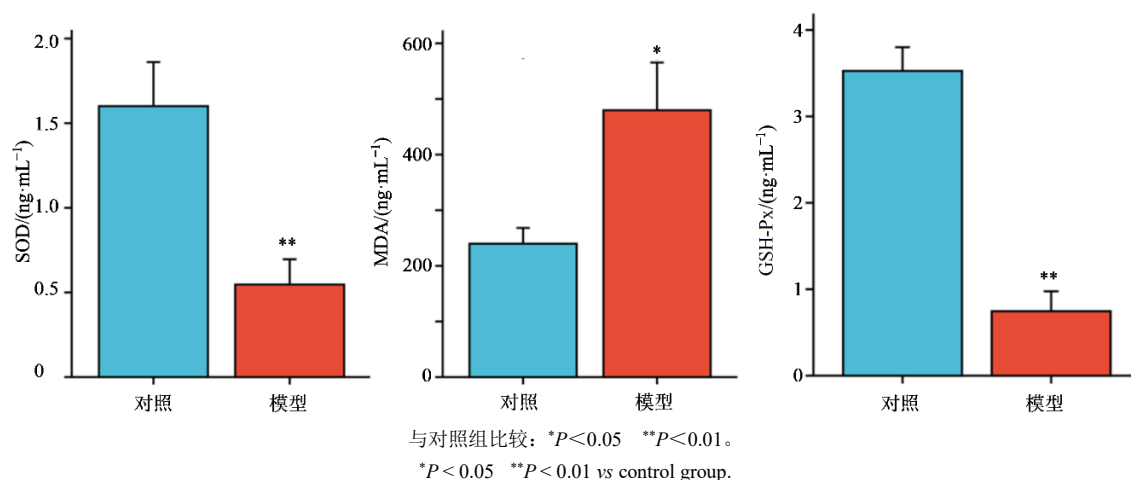


图 1 对照组与模型组血清样本 SOD、MDA、GSH-Px 表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 1 Expression of SOD, MDA, and GSH-Px in serum samples from control and model group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.2 免疫荧光法检测脂肪组织衰老表型 p16 蛋白表达

免疫荧光染色(图 2)显示, DAPI 染色细胞核呈蓝色, 蛋白标记呈红色。与对照组相比, 模型组 p16 荧光显色明显增强, 提示衰老小鼠脂肪组织中 p16 蛋白表达明显增加, p16 的过表达会导致细胞呈现出衰老的特征, 说明衰老模型成功建立。

3.3 四物汤对自然衰老小鼠血脂的影响

如图 3 所示, 与对照组比较, 模型组血清中 TC、TG、LDL-C 水平均显著升高 ($P<0.001$), HDL-C 水平显著降低 ($P<0.01$); 与模型组相比, 四物汤组能明显降低 TC、TG、LDL-C 水平 ($P<0.05$ 、

0.01), HDL-C 呈升高趋势并趋于对照组。结果表明四物汤具有调血脂的作用。

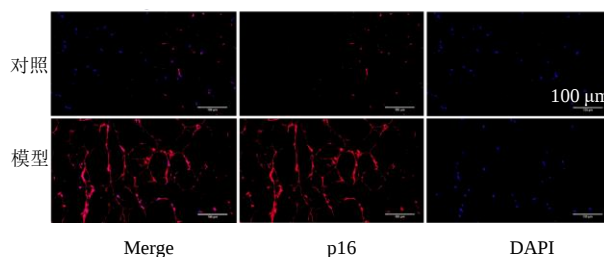
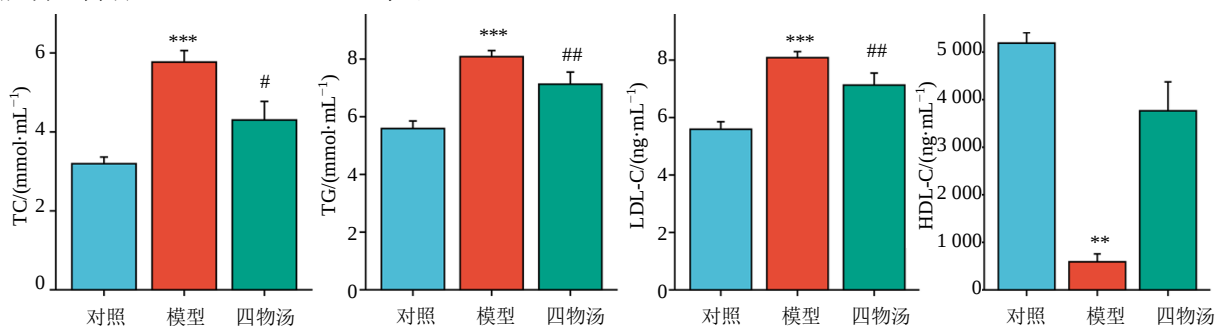


图 2 脂肪组织衰老表型 p16 表达

Fig. 2 Expression of p16 in aging phenotypes of adipose tissue



与对照组比较: *** $P<0.001$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$ 。

*** $P<0.001$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group.

图 3 各组血清中 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 3 Levels of TC, TG, LDL-C, and HDL-C in serum of each group ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

3.4 四物汤对自然衰老小鼠肝脏的影响

HE 染色结果显示(图 4), 小鼠肝脏组织中, 对照组小鼠肝细胞排列整齐, 大小均一, 结构完整, 胞质丰富; 模型组小鼠肝细胞排列紊乱, 核质多裂解, 出现大量炎症细胞簇; 四物汤组肝细胞结构较为完整, 细胞间连接紧密, 炎症细胞减少。结果提示四物汤能有效减轻自然衰老小鼠肝脏组织的脂肪变性。

油红 O 染色结果显示(图 5), 对照组小鼠肝脏组织中油红 O 染色面积小, 肝细胞形态正常; 模型组小鼠肝细胞周围出现脂肪空泡, 且融合堆积, 细胞内被染成红色大脂滴, 且分布范围广; 四物汤

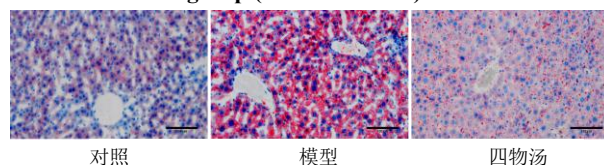


图 5 四物汤干预自然衰老小鼠肝脏的油红 O 染色结果 ($\times 200$)

Fig. 5 Oil red O staining results of Siwu Decoction intervention on liver of aging mice ($\times 200$)

组肝细胞结构较为完整, 油红 O 染色面积明显减小。结果提示四物汤能有效减轻自然衰老小鼠肝脏组织的脂肪沉积。

3.5 代谢组学分析结果

本实验质量控制样本(QC)选用雌鼠各个待测样品的混合液, 每针 QC 的组成和浓度均相同, 每隔 10 个待测样品, 进 1 组 QC, 以检验仪器稳定性。结果显示 QC 稳定并且在 PCA 图中有很好聚类, 证明仪器稳定性良好, 实验数据较可靠。故取各组小鼠血液样本, 进行正、负离子模式全扫描, 得到各组小鼠样本的质谱轮廓色谱图(图 6), 各样本代谢轮廓呈现差异。

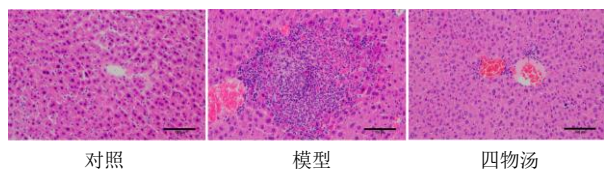


图 4 四物汤对自然衰老小鼠肝脏病理切片的影响 (HE 染色, $\times 200$)

Fig. 4 Effects of Siwu Decoction on pathological slices of liver in aging mice (HE stain, $\times 200$)

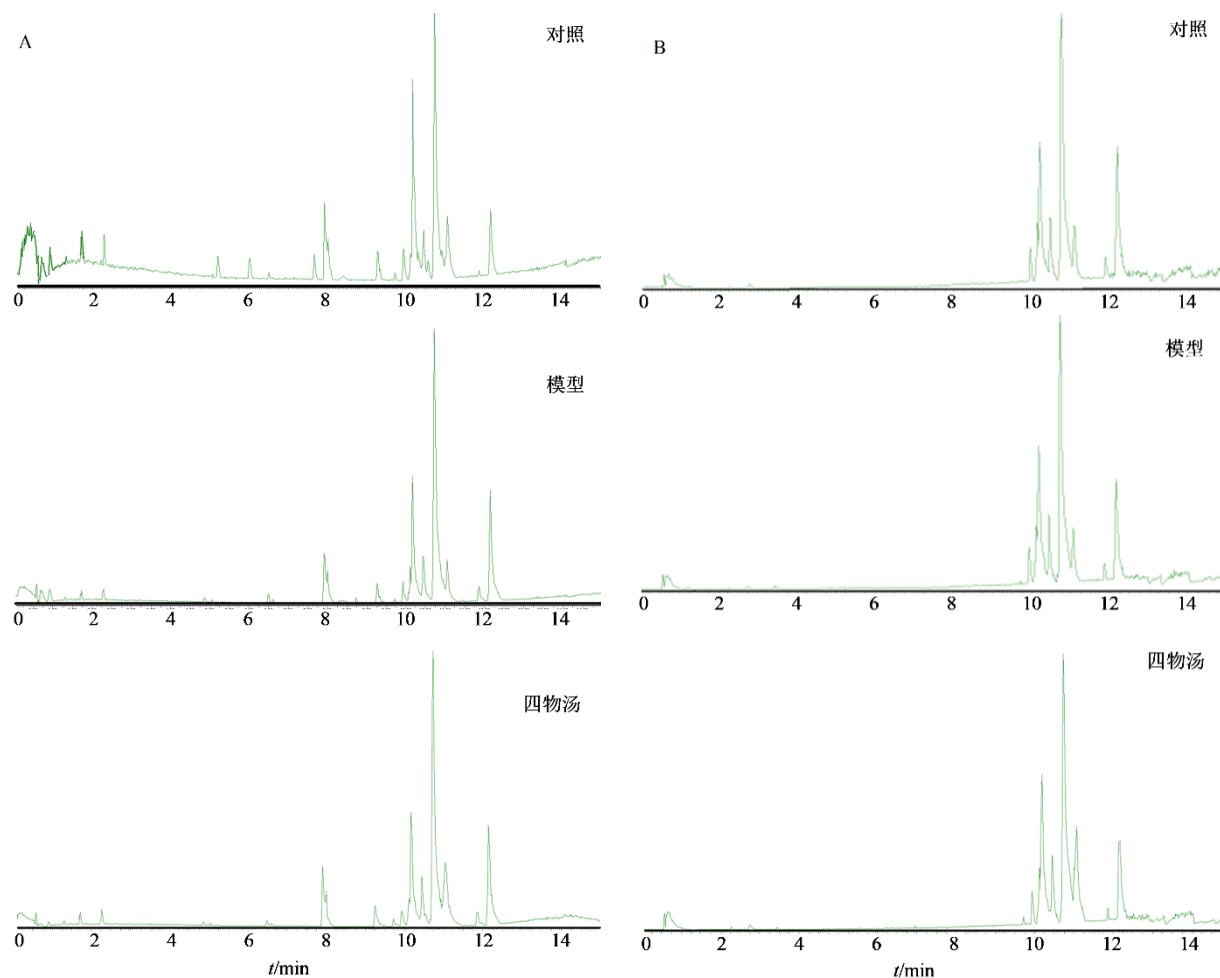


图 6 小鼠血液样本正 (A)、负 (B) 离子模式下 UPLC-QTOF/MS 提取离子流色谱图

Fig. 6 Extracted ion chromatograms of UPLC-QTOF/MS in positive (A) and negative (B) ion modes for mouse blood samples

对各组小鼠血液代谢轮廓数据进行 PCA 和 OPLS-DA, 来评价各组聚类情况, 其中 PCA 是一种无监督降维统计方法, 相似样本在无监督时彼此靠近, 而不同样本明显分离。OPLS-DA 作为有监督的机器学习方法, 可以很大限度地展示组间差异。PCA 结果 (图 7) 发现四物汤组、模型组和对照组

可区分。为了更明显地看出不同组别小鼠体内的代谢物差异和变化趋势, 对各组数据进行 OPLS-DA (图 8), $R^2_X=0.875$, $Q^2=0.658$, 说明该模型建模能力和预测能力较好, 在 OPLS-DA 的基础上进行 200 次置换检验, 进一步考察模型的可靠性, Q^2 回归线与纵轴的相交点小于零, 说明该模型验证有效。

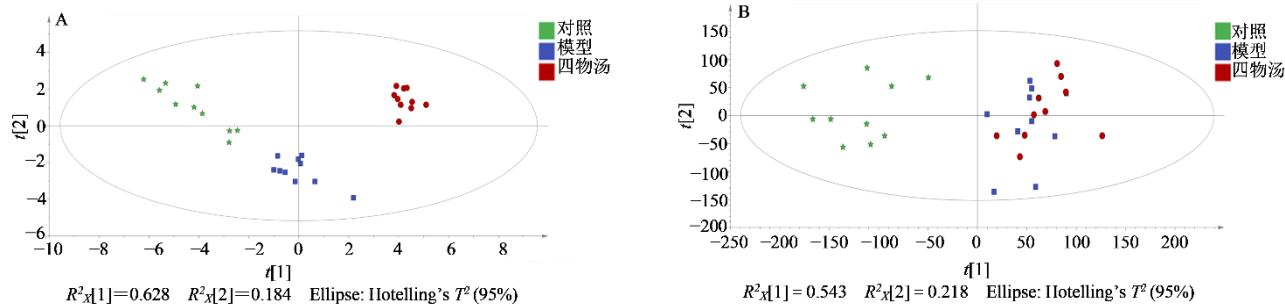


图 7 正 (A)、负 (B) 离子模式下不同组别小鼠血液代谢物的 PCA 得分图

Fig. 7 PCA scores of blood metabolites of mice in different groups under positive (A) and negative (B) ion modes

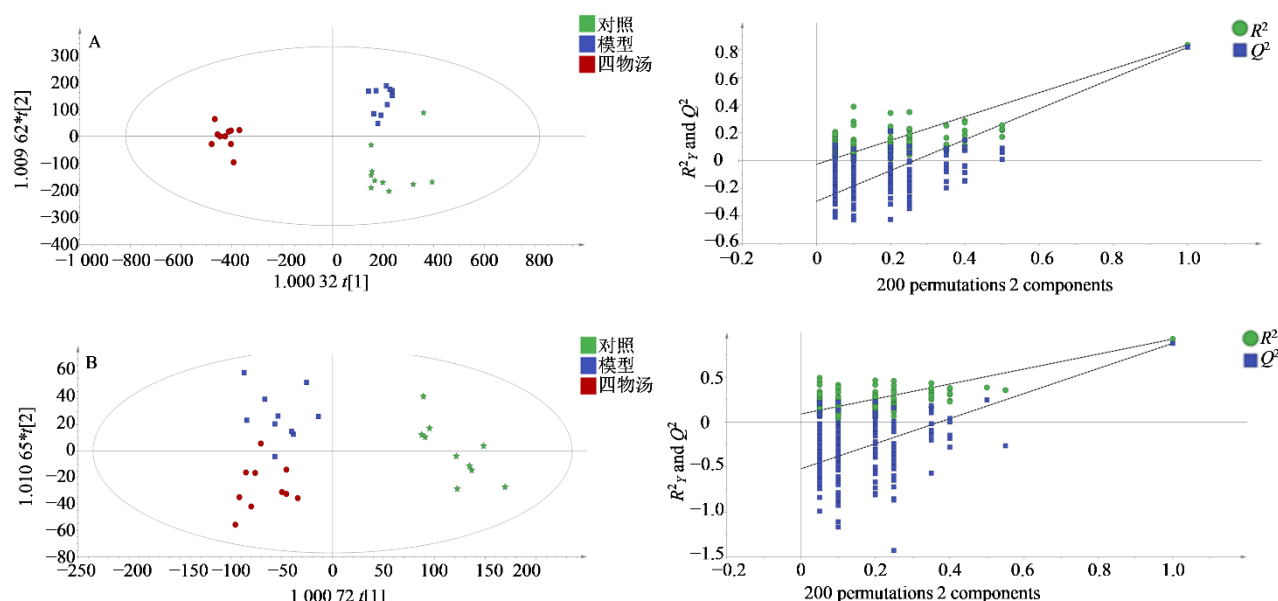


图 8 正 (A)、负 (B) 离子模式下不同组别小鼠血液代谢物的 OPLS-DA (左) 及置换检验 (右)

Fig. 8 OPLS-DA (left) and permutation test (right) of blood metabolites of mice in different groups under positive (A) and negative (B) ion modes

对所得代谢轮廓进行多变量数据分析, 以 VIP 值 >1 , $P < 0.05$ 为标准来筛选差异代谢物, 根据变量的保留时间和精确质荷比在 HMDB (<http://www.hmdb.ca>)、METLIN (<http://www.metlin.scripps.edu>)、KEGG (<http://www.Kegg.com>)^[23] 数据库中检索潜在生物标志物, 鉴定出 31 个潜在生物标志物, 见表 1。

由表 1 可知, 顺式玉米素、3-溴酪氨酸、*N*-甲基甲酰胺、氨基丙酮、没食子酸、*L*-色氨酸、溶血磷脂胆碱在模型组小鼠血清中的含量显著高于对照组小鼠 ($P < 0.05$); 而四物汤干预后这 7 个代谢差异物含量均显著下降 ($P < 0.05$)。与对照组小鼠相比, 甘草次酸、*N*-乙酰甘露糖胺、植物鞘氨醇、牛磺去氧胆酸、肾上腺甾酮在模型组小鼠血清中显著降低 ($P < 0.05$), 而四物汤干预后 5 个代谢差异物含量均显著升高 ($P < 0.05$)。说明四物汤主要通过调节这 12 种代谢物发挥其抗衰老作用。将这 12 个代谢物质进行热图分析, 见图 9。热图中的色阶变化显示表达量高低, 蓝色表示相对低表达, 红色代表相对高表达, 通过热图聚类分析可以直观看出化合物在各组的变化趋势, 结果提示上述的 12 个代谢标志物在各组小鼠血清样本中的表达均存在差异。

将上述筛选出的 12 个代谢标志物 ID 输入

MetaboAnalyst6.0 中进行代谢通路富集, 依据 P 值和拓扑分析中的通路影响值显示匹配到的所有结果, 图中气泡越大, 代表通路影响值越大; 气泡颜色越红, 代表 P 值越小。本实验中四物汤回调的与衰老相关的脂代谢通路主要有 3 条, 分别为鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism)、甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism) 和类固醇激素生物合成 (steroid hormone biosynthesis), 见图 10。

4 讨论

脂质对于维持膜完整性、提供能量来源以及作为信号分子控制细胞增殖、代谢、炎症和凋亡等生理过程至关重要。脂质稳态的破坏可以促进病理变化, 加速生物衰老和年龄相关疾病的发展。根据已有的研究证据, 在衰老进程中脂质代谢出现紊乱, 衰老细胞脂质代谢的变化与磷脂、脂肪酸和胆固醇代谢密切相关^[24-25]。

肝脏作为最大的实质性器官, 也是参与脂质代谢调节的中枢代谢器官, 在衰老进程中表现出进行性代谢紊乱。本实验采用代谢组学技术研究四物汤抗衰老的脂代谢紊乱机制, 发现与青年小鼠相比, 在老龄小鼠血液样本中, 血脂明显升高, 肝脏出现大量炎症细胞簇伴脂滴沉积, 给予四物汤干预后, 发现肝细胞结构较为完整, 细胞间连接紧密, 炎症细胞和脂滴减少, 表明四物汤能调节脂代谢紊乱发

表 1 各组小鼠血清中差异代谢物信息

Table 1 Differential metabolite information in serum of mice in each group

编号	化合物ID	分子式	化合物名称	<i>t_R</i> /min	VIP	<i>m/z</i>	趋势
1	HMDB04119	C ₄ H ₈ NO ₂ Se	硒代同型半胱氨酸 (selenohomocysteine)	0.056 7	4.949 3	181.955 7	↑*↑#
2	HMDB01321	C ₄ H ₉ O ₇ P	<i>D</i> -赤藓糖-4-磷酸(<i>D</i> -erythrose-4-phosphate)	0.201 1	7.248 3	182.986 3	↑*↑#
3	HMDB03484	C ₄ H ₁₀ NO ₆ P	<i>O</i> -磷酸高丝氨酸(<i>O</i> -phosphohomoserine)	0.201 1	1.709 1	222.018 2	↓*↓#
4	HMDB00062	C ₇ H ₁₅ NO ₃	左旋肉碱(carnitine)	0.628 4	1.089 5	162.113 7	↑*↑#
5	HMDB12204	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O	顺式玉米素(<i>cis</i> -zeatin)	1.853 5	1.198 5	219.111 1	↑*↓#
6	HMDB00220	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	棕榈酸(palmitic acid)	7.921 9	2.970 8	274.269 5	↑*↑#
7	HMDB00827	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	硬脂酸(stearic acid)	9.262 5	2.247 2	302.305 2	↑*↑#
8	HMDB00099	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₄ S	<i>L</i> -胱硫醚(cystathionine)	10.443 4	1.113 1	240.101 1	↑*↑#
9	HMDB02212	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	花生酸(arachidic acid)	10.543 9	2.069 3	330.337 7	↑*↑#
10	HMDB00086	C ₈ H ₂₀ NO ₆ P	甘油磷胆碱(glycero phosphocholine)	10.721 5	1.782 6	240.101 3	↑*↑#
11	HMDB11628	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	甘草次酸(glycyrrhetic acid)	10.736 0	1.371 4	470.326 0	↓*↑#
12	HMDB05874	C ₉ H ₁₀ BrNO ₃	3-溴酪氨酸(3-bromotyrosine)	11.663 3	1.375 4	281.961 3	↑*↓#
13	HMDB03349	C ₅ H ₆ N ₂ O ₄	<i>L</i> -二氢乳清酸(<i>L</i> -dihydroorotic acid)	11.812 2	7.045 4	181.015 7	↑*↑#
14	HMDB01129	C ₈ H ₁₅ NO ₆	<i>N</i> -乙酰甘露糖胺(<i>N</i> -acetylmannosamine)	12.576 9	3.092 3	443.219 8	↓*↑#
15	HMDB11150	C ₁₀ H ₂₃ N ₃ O ₂	脱氧羟乙基哌嗪乙磺酸(deoxyhypusine)	12.846 0	3.361 4	452.423 2	↓*↓#
16	HMDB01388	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	α-亚麻酸(α-linolenic acid)	13.033 5	1.142 8	296.261 1	↓*↓#
17	HMDB05065	C ₂₅ H ₄₇ NO ₄	油酰肉碱(oleoylcarnitine)	13.773 7	2.236 1	426.374 0	↓*↓#
18	HMDB13806	C ₁₂ H ₁₈	间伞花烃(m-cymene)	14.230 1	1.148 7	325.318 0	↓*↓#
19	HMDB04610	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	植物鞘氨醇(phytosphingosine)	14.230 1	1.264 2	340.286 5	↓*↑#
20	HMDB01122	C ₂ H ₅ NO	<i>N</i> -甲基甲酰胺(<i>N</i> -methylformamide)	14.951 1	6.958 6	136.112 6	*↑#↓
21	HMDB02134	C ₃ H ₇ NO	氨基丙酮(aminoacetone)	14.951 1	4.669 8	164.144 2	↑*↓#
22	HMDB05807	C ₇ H ₆ O ₅	没食子酸(gallic acid)	0.639 0	1.657 2	215.032 1	↑*↓#
23	HMDB00929	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	<i>L</i> -色氨酸(<i>L</i> -tryptophan)	2.277 7	1.648 2	204.089 1	↑*↓#
24	HMDB00682	C ₈ H ₇ NO ₄ S	硫酸吲哚酚(indoxylsulfate)	2.762 1	2.248 8	213.008 9	↑*↑#
25	HMDB00896	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	牛磺去氧胆酸(taurodeoxycholic acid)	10.143 5	1.138 3	1 043.612	↓*↑#
							2
26	HMDB02486	C ₂₆ H ₄₅ NO ₉ S ₂	牛磺脱氧胆酸-3-硫酸盐 (taurochenodeoxycholate-3-sulfate)	11.010 9	1.218 2	578.242 4	↑*↑#
27	HMDB00145	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	雌激素(estrone)	12.143 4	1.821 0	585.352 6	↑*↑#
28	HMDB06772	C ₁₉ H ₂₄ O ₃	肾上腺甾酮(adrenosterone)	12.248 6	1.799 3	599.320 8	↓*↑#
29	HMDB00138	C ₂₆ H ₄₃ NO ₆	甘胆酸(glycocholic acid)	12.499 8	1.152 8	464.314 9	↑*↑#
30	HMDB02183	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid)	12.941 2	1.119 9	328.240 2	↑*↑#
31	HMDB10381	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	溶血磷脂胆碱(15:0)[lysoPC(15:0)]	10.731 4	3.162 1	480.309 6	↑*↓#

与对照组比较: **P*<0.05; 与模型组比较: #*P*<0.05; ↑-上升, ↓-下降。

**P*<0.05 vs control group; #*P*<0.05 vs model group; ↑-rising, ↓-falling.

挥抗衰老作用。在此基础上,本实验进一步研究了老龄小鼠血浆代谢物的变化情况,结果发现模型组与对照组相比有 31 个代谢物发生了明显的变化,给予四物汤后其中 12 个代谢物表达回调,分别为顺式玉米素、3-溴酪氨酸、*N*-甲基甲酰胺、氨基丙酮、没食子酸、*L*-色氨酸、溶血磷脂胆碱、甘草次酸、*N*-乙酰甘露糖胺、植物鞘氨醇、牛磺去氧胆酸、肾上腺甾酮。提示四物汤可能通过调节这 12 个代

谢物质来改善衰老,通过代谢通路富集分析,发现主要与鞘脂代谢、甘油磷脂代谢和类固醇激素生物合成通路相关。

磷脂代谢主要包括甘油磷脂和鞘磷脂,甘油磷脂包括心磷脂(CA)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰甘油(PG)、磷脂酰胆碱(PC)和溶血磷脂(LPL)。以往的研究显示,在老年机体,血浆溶血磷脂胆碱(18:2)的

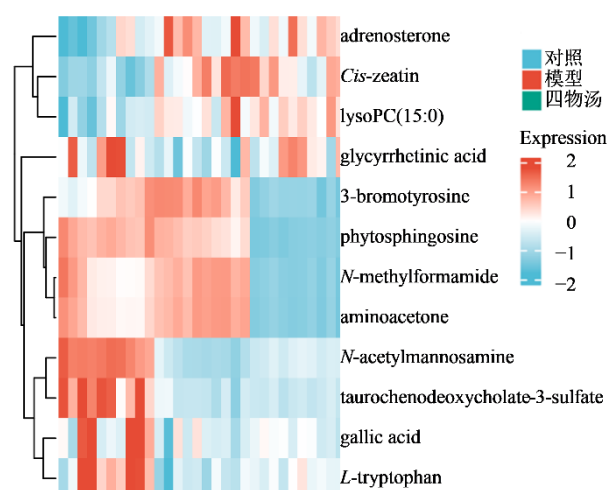


图 9 不同组别小鼠血液中差异生物标志物的热图分析

Fig. 9 Heatmap analysis of differential biomarkers in blood of mice from different groups

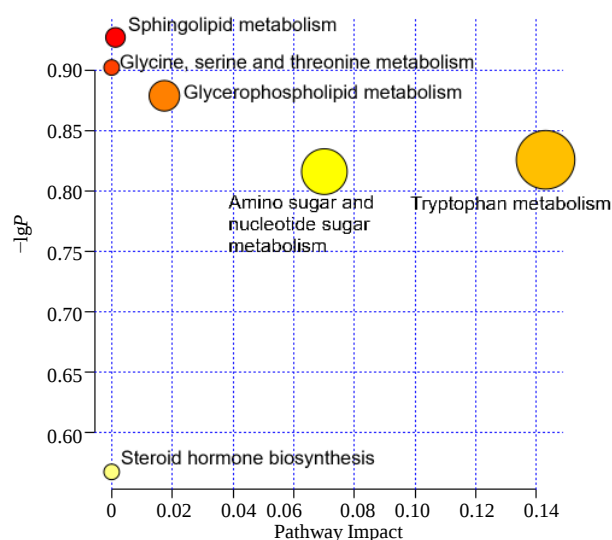


图 10 代谢通路气泡图

Fig. 10 Metabolic pathway analysis of metabolites

浓度下降,而 Johnson 等^[26]发现老年健康受试者的血浆样本中鞘磷脂和 PC 的血浆水平平均高于年轻受试者。提示特定鞘脂或磷脂代谢表达与年龄增长的关系各不相同。本实验研究发现,在自然衰老小鼠血清样本中,溶血磷脂胆碱(15:0)显著升高,四物汤干预后表达下降。

鞘脂作为细胞膜和亚细胞膜的成分,可以由一系列酶合成,也可根据环境的变化从鞘磷脂和神经酰胺降解为更小的鞘脂,其代谢包括神经酰胺(Cers)、鞘糖脂(GSL)和鞘磷脂,其中鞘磷脂即鞘氨醇磷脂,由鞘氨醇、脂肪酸和磷酸胆碱组成,其代谢主要包括 Cers、鞘氨醇-1-磷酸(S1P)、鞘氨醇

(Sph)^[27]。鞘磷脂酶(SMase)可以催化鞘磷脂生成 Cers 和磷酸胆碱,而 N-酰基鞘氨醇酰胺水解酶 1(ASAH1)能将 Cers 水解产生 Sph,然后代谢为 S1P。Cers 是作为所有复杂神经鞘脂类前体的生物活性脂质分子,除了作为细胞和线粒体膜的结构成分外,Cers 在细胞代谢中作为关键介质发挥着重要作用。在人体血浆样本中,Cers 水平升高与胰岛素抵抗和心血管及代谢健康受损有关,其机制与激活肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和核因子 κ B(NF- κ B)通路,引发炎症级联反应等相关^[28-29]。其中 S1P 能促进细胞存活和增殖,而 Cers 抑制细胞生长并促进细胞衰老。Sph 也可经鞘氨醇羟化酶生成植物鞘氨醇(PHS),PHS 可进一步参与鞘脂合成,与脂肪酸结合形成植物神经酰胺(PHC)。衰老可导致皮肤中 PHS 及 PHC 减少,使皮肤屏障功能受损而加速皱纹和干燥^[30]。PHS 通过 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径可抑制炎症因子和促炎细胞因子分泌,发挥抗炎作用^[31]。衰老时 Sph 更倾向于生成 Cers,而非 PHS,使得 Cers/S1P 比例升高,进而促进氧化损伤和炎症反应。本实验中 PHS 在衰老组表达降低,四物汤干预后升高,说明四物汤能通过回调 PHS 发挥抗衰老作用。

胆固醇主要来源于血浆中的 LDL-C 或 HDL-C,是合成肾上腺皮质激素的前体或原料,也是胆汁酸和维生素 D 的前体以及生物膜的重要成分^[32]。本实验结果显示,衰老进程中 TC、TG 和 LDL-C 均升高,而 HDL-C 降低,四物汤能降低衰老小鼠血清中 TC、TG 和 LDL-C 含量,增加 HDL-C 含量。在类固醇激素生物合成途径中,胆固醇经胆固醇侧链裂解酶(CYP11A)转化生成 20 α -羟基胆固醇,在 CYP17A 作用下生成 17 α , 20 α -二羟基胆固醇,在 CYP11A 作用下生成 17 α -羟基孕烯醇酮。17 α -羟基孕烯醇酮能在 CYP17A(17, 20 裂解酶)作用下生成脱氢表雄酮(DHEA),也可在 3 β -HSD 作用下生成 17 α -羟孕酮^[33]。有学者观察到人群队列中醛固酮和硫酸脱氢表雄酮(DHEA-S)水平随增龄降低,DHEA-S 下降水平最显著,随着 DHEA-S 水平的下降,心血管疾病发病率上升,且 DHEA 与年龄相关的衰减会损害神经功能和完整性^[34-35]。17 α -羟孕酮在羟基类固醇脱氢酶(17 β -HSD)作用下,进一步转化为雄烯二酮和睾酮。DHEA 也可以在 CYP11B1 作用下生成 11 β -羟基雄-4-烯-3, 17-二酮,然后经 11 β 1-HSD 转化生成肾上腺甾酮^[36-37]。本实验发现

肾上腺甾酮在增龄过程中增高,四物汤干预后其表达回调,说明四物汤抗衰老机制与调节类固醇激素生物合成途径相关。

《删补名医方论》中曰四物汤方“当归甘温而血,川芎辛温活血,芍药酸寒敛血,地黄甘平补血。四物具生长收藏之用,故能使营气安行经隧也。”《目经大成》中提到“血荣气自华,血行疾弗作……合主四物味厚之品以养肝,肝气和而血自归经。”方中四药配伍,“补血而不滞血,行血而不破血,动静结合,温而不燥”。现代药理研究发现四物汤各药及其有效成分均具有较好的调脂功能^[38]。本研究结果显示四物汤能明显降低衰老小鼠血脂水平,改善老龄小鼠肝脏炎症浸润和脂肪沉积,代谢组学研究发现四物汤明显调节衰老小鼠内源性代谢物质,干预脂代谢途径中鞘脂代谢、甘油磷脂代谢和类固醇激素生物合成,进一步说明四物汤可以通过“调益营卫,滋养气血”发挥调脂抗衰老的作用。本研究基于非靶标代谢组整体观察所有代谢物中脂类代谢情况,为获取脂质代谢物的组成和含量变化,后期需结合靶向脂质组学技术定量分析脂质绝对含量变化,来阐明脂代谢在四物汤抗衰老机制中重要作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] López-Otín C, Galluzzi L, Freije J M P, et al. Metabolic control of longevity [J]. *Cell*, 2016, 166(4): 802-821.
- [2] Campisi J, Kapahi P, Lithgow G J, et al. From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy ageing [J]. *Nature*, 2019, 571(7764): 183-192.
- [3] Wu W Z, Mi Y, Meng Q Q, et al. Natural polyphenols as novel interventions for aging and age-related diseases: Exploring efficacy, mechanisms of action and implications for future research [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(2): 279-291.
- [4] Zeng Q, Gong Y Z, Zhu N, et al. Lipids and lipid metabolism in cellular senescence: Emerging targets for age-related diseases [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 97: 102294.
- [5] Tsugawa H, Ishihara T, Ogasa K, et al. A lipidome landscape of aging in mice [J]. *Nat Aging*, 2024, 4(5): 709-726.
- [6] Rubio-Tomás T, Tavernarakis N. Lipid metabolism and ageing in *Caenorhabditis elegans*: A complex interplay [J]. *Biogerontology*, 2022, 23(5): 541-557.
- [7] 俞若熙. 基于中医体质学探讨“个体化抗衰老”的思

路和方法 [J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(11): 5353-5355.

Yu R X. Thoughts and methods of ‘individualized delaying aging’ on the traditional Chinese medicine constitution theory [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2020, 35(11): 5353-5355.

- [8] 张伟. 五脏为本的中医衰老学说研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.

Zhang W. Research on the traditional Chinese medicine theory of aging based on the five zang-organs [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2015.

- [9] 汪可萱. 明清江医学老年养生学术思想研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.

Wang K X. Research on the academic thought of health care for the elderly in the Ming and Qing Dynasties [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2023.

- [10] 张娴, 艾梓黎, 王海燕, 等. 四物汤调脂减肥的理论依据与价值分析 [J]. *江西中医药*, 2022, 53(11): 8-10.

Zhang X, Ai Z L, Wang H Y, et al. Theoretical basis and value analysis of Siwu Decoction for regulating fat and reducing weight [J]. *Jiangxi J Tradit Chin Med*, 2022, 53(11): 8-10.

- [11] Nguyen T T, Corvera S. Adipose tissue as a linchpin of organismal ageing [J]. *Nat Metab*, 2024, 6(5): 793-807.

- [12] (宋)太平惠民和剂局编. 刘景源点校. 太平惠民和剂局方 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 310.

Compiled by the Taiping Huimin Heji Bureau (Song Dynasty). Collected and corrected by Liu Jingyuan. *Recipes from the Taiping Huimin Heji Bureau* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1985: 310.

- [13] 李冀, 左铮云. 方剂学 [M]. 第 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021.

Li J, Zuo Z Y. *Science of Prescription Formulas* [M]. 5th Edition. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2021.

- [14] (明)万全著. 范崇峰校注. 养生四要 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016.

Wan Q (Ming Dynasty). Compiled by Fan C F. *Four Essentials for Health Preservation* [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2016.

- [15] 梁华, 孙燕佩, 朱明雪. 四君子汤、四物汤对亚急性衰老模型雌性小鼠 IL-2 影响的实验研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2013, 40(2): 193-194.

Liang H, Sun Y P, Zhu M X. Experimental study on effect of Sijunzi Decoction and Siwu Decoction on IL-2 of subacute aging model mice [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2013, 40(2): 193-194.

- [16] 马川, 吴彦欣, 李敏敏, 等. 经典名方桃红四物汤抗血栓药效作用及其机制研究 [J]. 中草药, 2024, 55(23): 8035-8045.
- Ma C, Wu Y X, Li M M, et al. Antithrombotic effect and mechanism of classic famous prescription Taohongng Siwu Decoction [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(23): 8035-8045.
- [17] 西旺, 闫起, 王燕, 等. 基于中医方证代谢组学分析四物汤对自然衰老小鼠的干预作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12): 9-14.
- Xi W, Yan Q, Wang Y, et al. Analysis of effect of Siwu Tang on natural aging mice based on chinmedomics [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(12): 9-14.
- [18] 王燕. 四物汤对 16 月龄小鼠干预作用的代谢组学研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- Wang Y. Metabolomic study on the intervention effect of Siwu Decoction on 16-month-old mice [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2018.
- [19] 李雪婵, 韩乐, 王雪文, 等. 啮齿类动物衰老模型研究新进展 [J]. 中国实验动物报, 2023, 31(12): 1605-1609.
- Li X C, Han L, Wang X W, et al. New progress in rodent aging model research [J]. Chin J Lab Anim Sci, 2023, 31(12): 1605-1609.
- [20] Fan J, Feng H B, Yu Y, et al. Antioxidant activities of the polysaccharides of *Chuanminshen violaceum* [J]. Carbohydr Polym, 2017, 157: 629-636.
- [21] Yusuf A O, Danborn B, Bauchi Z M, et al. Aging impaired locomotor and biochemical activities in *Drosophila melanogaster* Oregon R (fruit fly) model [J]. Exp Gerontol, 2024, 197: 112593.
- [22] Zhong R X, Shen L, Fan Y L, et al. Anti-aging mechanism and effect of treatment with raw and wine-steamed *Polygonatum sibiricum* on D-galactose-induced aging in mice by inhibiting oxidative stress and modulating gut microbiota [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1335786.
- [23] Kanehisa M, Goto S. KEGG Kyoto encyclopedia of genes and genomes [J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28(1): 27-30.
- [24] Tighanimine K. Lipid remodeling in context of cellular senescence [J]. Biochimie, 2024, 227(Pt B): 47-52.
- [25] Ademowo O S, Dias H I, Burton D A, et al. Lipid (per) oxidation in mitochondria: An emerging target in the ageing process? [J]. Biogerontology, 2017, 18(6): 859-879.
- [26] Johnson A A, Stolz A. The role of lipid metabolism in aging, lifespan regulation, and age-related disease [J]. Aging Cell, 2019, 18(6): e13048.
- [27] Hannun Y A, Obeid L M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(3): 175-191.
- [28] Shalaby Y M, Al Aidaros A, Valappil A, et al. Role of ceramides in the molecular pathogenesis and potential therapeutic strategies of cardiometabolic diseases: What we know so far [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 9: 816301.
- [29] Gaggini M, Pingitore A, Vassalle C. Plasma ceramides pathophysiology, measurements, challenges, and opportunities [J]. Metabolites, 2021, 11(11): 719.
- [30] Ma X L, Lu L L, Zhao Z, et al. Lipidomics profiling of skin surface lipids in senile pruritus [J]. Lipids Health Dis, 2020, 19(1): 171.
- [31] Sung M, Lim S, Park S, et al. Anti-inflammatory effects of phytosphingosine-regulated cytokines and NF- κ B and MAPK mechanism [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2024, 70(9): 22-30.
- [32] Miller W L. Molecular biology of steroid hormone synthesis [J]. Endocr Rev, 1988, 9(3): 295-318.
- [33] Swart A C, Storbeck K H. 11 β -Hydroxyandrostenedione: Downstream metabolism by 11 β HSD, 17 β HSD and SRD5A produces novel substrates in familiar pathways [J]. Mol Cell Endocrinol, 2015, 408: 114-123.
- [34] Compromised biogenesis of DHEA-S is implicated in primate adrenal aging [J]. Nat Aging, 2024, 4(3): 291-292.
- [35] Rutkowski K, Sowa P, Rutkowska-Talipska J, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA): Hypes and hopes [J]. Drugs, 2014, 74(11): 1195-1207.
- [36] Bradlow H L, Fukushima D K, Kozuma K, et al. Metabolism of adrenosterone [J]. Steroids, 1967, 10(3): 233-244.
- [37] Savard K, Burstein S, Rosenkrantz H, et al. The metabolism of adrenosterone *in vivo* [J]. J Biol Chem, 1953, 202(2): 717-725.
- [38] 艾梓黎. 基于减重降脂探析“一味丹参, 功同四物”的分子机制 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
- Ai Z L. Exploring the molecular mechanism behind the saying "the efficacy of a single *Salvia miltiorrhiza* is equivalent to that of four substances" based on weight loss and lipid reduction [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2023.