

• 药理与临床 •

基于 UPLC/QTOF-MS 技术的丹蛭降糖胶囊在 2 型糖尿病大鼠体内尿液代谢组学研究

高家荣¹, 庄星星², 魏良兵¹, 韩燕全¹, 杨晓旭²

1. 安徽中医药大学第一附属医院, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

2. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230038

摘要: 目的 观察丹蛭降糖胶囊干预后, 2 型糖尿病大鼠尿液内源性代谢物的变化, 从代谢组学角度探究其防治 2 型糖尿病的作用机制。方法 SD 大鼠随机分成对照组、模型组和丹蛭降糖胶囊组, 造模大鼠以高脂饲料喂养 4 周后, ip 小剂量链脲佐菌素 (STZ 35 mg/kg) 复制 2 型糖尿病模型。造模成功后, 丹蛭降糖胶囊组 ig 丹蛭降糖胶囊 (1.26 g/kg) 4 周, 每周监测血糖。治疗结束, 收集大鼠尿液, 处死大鼠, 腹主动脉取血测血浆胰岛素 (INS) 和糖化血红蛋白 (GHb) 水平。采用 UPLC/QTOF-MS 技术结合主成分分析 (PCA) 方法分析其尿液代谢谱变化, 鉴定差异化合物, 分析相关代谢通路。结果 血糖监测和 INS、GHb 检测结果表明, 丹蛭降糖胶囊可以降低血糖, 升高血浆中 INS 水平。在正、负离子模式下分别筛选出 7 个和 6 个差异性标志物。差异性标志物分别与糖代谢、酪氨酸代谢、色氨酸代谢和氧化应激反应等有关。结论 丹蛭降糖胶囊可以降低 2 型糖尿病大鼠血糖, 修复胰岛细胞, 其作用机制可能与调节能量代谢、酪氨酸代谢、色氨酸代谢和氧化应激状态相关。

关键词: 丹蛭降糖胶囊; 2 型糖尿病; 代谢组学; UPLC/QTOF-MS 技术; 能量代谢**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)14-2096-08**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.14.014

Urine metabonomic study on Danzhi Jiangtang Capsule in treatment of type 2 diabetic rats based on UPLC/QTOF-MS

GAO Jia-rong¹, ZHUANG Xing-xing², WEI Liang-bing¹, HAN Yan-quan¹, YANG Xiao-xu²

1. First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, State Administration of Chinese Medicine Preparation Three Laboratories, Hefei 230031, China

2. College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038 China

Abstract: Objective To observe the metabolic profile changes caused by Danzhi Jiangtang Capsule (DJC) in treatment of type 2 diabetic rats and to study the possible metabolism. **Methods** All the SD rats involved in the experiment were randomly divided into normal control, model, and DJC groups. The rats in the model and DJC groups were fed on high-fat diet for 4 weeks after ip injection with a small dose of streptozotocin to copy type 2 diabetic rat model. After the modeling, the rats in the DJC group were ig administered with DJC (1.26 g/kg) for 4 weeks, and the blood glucose was monitored weekly. After the treatment, urine of rats was collected, then all the rats were sacrificed, abdominal aortic blood was taken to detect the levels of insulin (INS) and glycated hemoglobin (GHb) in plasma. Using UPLC/QTOF-MS with principal component analysis (PCA) to analyze the metabolic profile changes, the metabolites were identified by databases, and metabolism pathways were analyzed. **Results** Blood glucose monitoring and INS, GHb testing results showed that DJC could lower blood sugar and elevate plasma INS level. In the positive and negative ion modes, we screened seven and six variability markers respectively. The variability markers were related to glucose metabolism, tyrosine metabolism, tryptophan metabolism, and oxidative stress-related reactions. **Conclusion** DJC can lower blood sugar, repair islet cells to cure the type 2 diabetes, and the possible mechanism may relate to the regulation of energy metabolism, tyrosine metabolism, tryptophan metabolism, and oxidative stress.

Key words: Danzhi Jiangtang Capsule; type 2 diabetes; metabolomics; UPLC/QTOF-MS; energy metabolism

收稿日期: 2014-11-28

基金项目: 国家中医临床研究基地业务建设科研专项课题 (JDZX2012003); 科技部重大新药创制项目 (2010ZX09102-209)

作者简介: 高家荣 (1964—), 男, 主任药师, 硕士生导师, 主要从事中药制剂工艺和新药研发。Tel: (0551)62838556 E-mail: zyfygjr2006@163.com

代谢组学是一门将生物体视为整体,研究在疾病或药物影响下,内源性代谢物种类和数量变化的组学技术。这种将生物体视为整体的研究方法与中国医学的整体观点在本质上是-致的,因此近年来代谢组学在中医药的研究中得到广泛应用^[1]。

丹蛭降糖胶囊为安徽中医药大学第一附属医院内分泌科的经验方,由牡丹皮、太子参、水蛭、菟丝子、泽泻和生地黄6味中药组成。前期的药理实验研究表明丹蛭降糖胶囊有调节脂代谢紊乱、改善血液流变性、改善微循环、抗炎和调节体内氧化应激状态的作用,能有效保护血管内皮功能,在防治糖尿病及其血管病变方面有显著的疗效^[2-4]。本研究通过观察丹蛭降糖胶囊干预后,2型糖尿病大鼠尿液内源性代谢物变化,从代谢组学的角度探讨其防治2型糖尿病的可能物质基础。

1 材料

1.1 试药与试剂

丹蛭降糖胶囊(由太子参18g、生地黄15g、牡丹皮12g、菟丝子12g、泽泻9g、水蛭9g组成,内容物相当于生药9.25g/g,丹皮酚和芍药苷的量分别不低于6.67mg/g和0.44mg/g,批号20131226,规格每粒0.4g,由安徽中医药大学第一附属医院制剂中心提供);链脲佐菌素(STZ,美国Sigma公司,批号20140305);糖化血红蛋白(GHb)测定试剂盒(南京建成科技有限公司,批号A056);大鼠胰岛素(INS)试剂盒(南京建成科技有限公司,批号E-30618);大鼠高脂饲料(67%基础饲料、20%蔗糖、10%熟猪油、2%胆固醇和1%胆酸,江苏省协同医药生物工程有限公司生产提供,批号20140503)。

1.2 仪器

Waters ACQUITY UPLC/Xevo G2 Q-TOF MS(美国Waters公司);血糖检测仪(德国罗氏公司);FA1004型电子天平(上海精科天平厂);JW3021HR型离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司)。

1.3 动物

SPF级雄性SD大鼠30只,体质量(200±20)g,由苏州市工业园区爱尔麦特科技有限公司提供,许可证号SCXK(苏)2009-0001。自由取食、饮水,每天给予12h的光照,饲养环境的温度维持在20℃左右,相对湿度40%左右。所有大鼠适应性饲养1周后,进行实验操作。该动物实验经安徽医科大学实验动物中心动物伦理委员会审核,符合《实验动

物管理条例》,在安徽中医药大学第一附属医院国家中医药管理局中药制剂三级实验室内完成。

2 方法

2.1 动物分组与给药

将30只雄性SD大鼠,随机分成对照组、模型组和丹蛭降糖胶囊组,每组10只。模型组和丹蛭降糖胶囊组大鼠给予高脂饲料喂养4周后,禁食不禁水12h,一次性ip 35mg/kg STZ(0.1mmol/L柠檬酸缓冲液溶解,pH4.2),复制2型糖尿病大鼠模型。ip STZ 3d后,以随机血糖≥16.7mmol/L为标准,筛选2型糖尿病模型大鼠^[5]。血糖不符合要求的大鼠,予以剔除。对照组大鼠以基础饲料喂养4周,禁食不禁水12h,一次性ip等体积的0.1mmol/L柠檬酸缓冲液。造模成功后,开始给药,丹蛭降糖胶囊给药剂量为1.26g/kg^[6],ig给药,每天1次,给药体积为10mL/kg。对照组和模型组大鼠每天ig等量的蒸馏水,连续给药4周。

2.2 血糖监测

每周采用尾静脉取血的方式,以血糖检测仪测量各组大鼠的随机血糖。

2.3 样本采集和预处理

给药4周后,将大鼠置于代谢笼中收集尿液,尿液中加1.0%叠氮化钠(NaN₃),收集尿液期间禁食,自由饮水。收集尿液2.0mL即可,12000r/min离心5min,取上清液,待测。

2.4 血浆GHb和INS检测

收集尿液后,大鼠ip 3.5%水合氯醛麻醉,腹主动脉取血5.0mL。用双抗体夹心法测定血浆中INS和GHb水平。操作按试剂盒说明进行。

2.5 尿液分析的色谱和质谱条件^[7-8]

2.5.1 色谱条件 色谱柱为Waters HSS T3(100mm×2.1mm,1.7μm);流动相为水(A)和0.1%甲酸乙腈(B),梯度洗脱程序:0~1min,0%B;1~3min,0~15%B;3~6min,15%~50%B;6~9min,50%~95%B;9~10min,95%B;柱温50℃;体积流量0.3mL/min;进样量10μL。

2.5.2 质谱条件 电喷雾离子化源(ESI),采用负离子检测模式的ESI电离方式,扫描范围m/z 100~1000,毛细管电压为3.0kV(ESI⁺)、2.5kV(ESI⁻),采样锥电压为20V,提取锥电压4.0V,源温度为120℃,脱溶剂气为N₂,去溶剂化温度为350℃,脱溶剂气体积流量为800L/h,锥孔气体积流量为50L/h。

2.6 数据处理

采用 SPSS 17.0 软件对计数资料数据进行数理统计分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

采用 Markerlynx 软件对质谱得到的原始数据进行去噪音、峰提取、峰排列、对齐、合并、缝隙填补和数据导出等处理。以 m/z 、保留时间、峰面积保存到 Excel 文件。将 Excel 文件导入 SIMCA-P 软件进行主成分分析,得到 PCA 得分图和 PCA 载荷图。

3 结果

3.1 血糖监测结果

给予 STZ 1 周后,与对照组大鼠相比模型组大鼠血糖明显升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,给药 3 周后丹蛭降糖胶囊组大鼠血糖显著降低 ($P <$

0.05);给药 4 周后丹蛭降糖胶囊组大鼠血糖较模型组显著下降 ($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 血浆 GHb 和 INS 测定结果

与对照组比较,模型组大鼠血浆 GHb 水平显著升高 ($P < 0.01$),INS 水平显著降低 ($P < 0.01$),说明模型大鼠体内胰岛细胞功能受损,血糖明显升高,模型成功。丹蛭降糖胶囊治疗 4 周后,大鼠血浆 GHb 水平显著降低 ($P < 0.01$),INS 水平升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 大鼠尿液代谢组学分析

所有采集的尿液样本经预处理后,用 UPLC/QTOF-MS 进行分离和原始数据的采集,数据采集采用 Masslynx4.1 数据管理软件。样本用正负 2 种离子模式进行扫描,得到总离子流图,图 1 和 2 分别为正、负离子模式下的总离子流图。对照

表 1 各组大鼠随机血糖变化 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Random blood sugar of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	随机血糖/(mmol·L ⁻¹)				
		给药前	给药后 1 周	给药后 2 周	给药后 3 周	给药后 4 周
对照	—	6.63 ± 0.46	6.58 ± 0.87	6.52 ± 0.49	6.63 ± 0.42	6.49 ± 0.36
模型	—	21.67 ± 7.32 ^{##}	22.92 ± 6.47 ^{##}	23.68 ± 8.20 ^{##}	21.13 ± 5.07 ^{##}	23.36 ± 7.27 ^{##}
丹蛭降糖胶囊	1.26	20.11 ± 4.46	18.92 ± 5.29	17.20 ± 3.94	16.66 ± 0.93 [*]	11.21 ± 4.34 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表 2 各组大鼠血浆 GHb 和 INS 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison on GHb and INS levels in plasma of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	GHb/(mg·L ⁻¹)	INS/(mU·L ⁻¹)
对照	—	44.25 ± 6.08	8.54 ± 0.11
模型	—	78.50 ± 8.88 ^{##}	7.08 ± 0.80 ^{##}
丹蛭降糖胶囊	1.26	50.33 ± 13.44 ^{**}	7.85 ± 1.22 [*]

组大鼠的正离子模式下总离子流图在峰的数量和峰面积方面与模型组大鼠不同。丹蛭降糖胶囊干预后,总离子流图和模型组存在明显差异,与对照组更加接近。对照组、模型组和丹蛭降糖胶囊组的负离子模式下总离子流图在 3~7 min 期间的峰形和峰数量方面存在一定差异,说明 3 组尿液中的内源性代谢物存在显著差异。

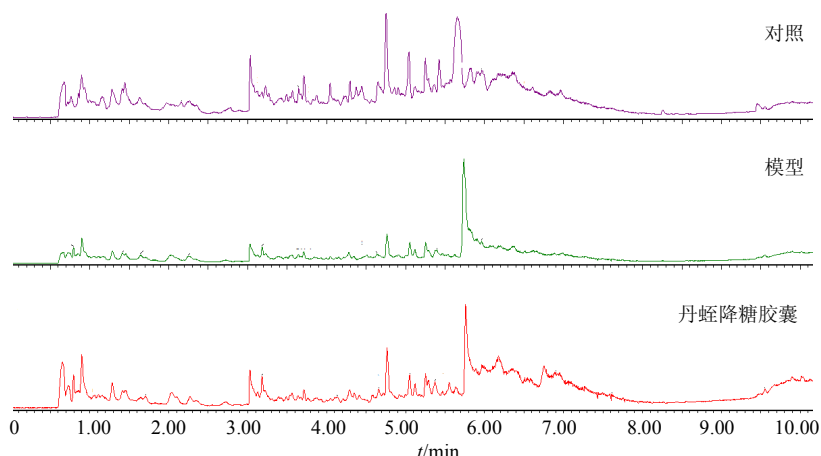


图 1 大鼠尿液样本正离子模式下总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of rat urine in positive ion mode

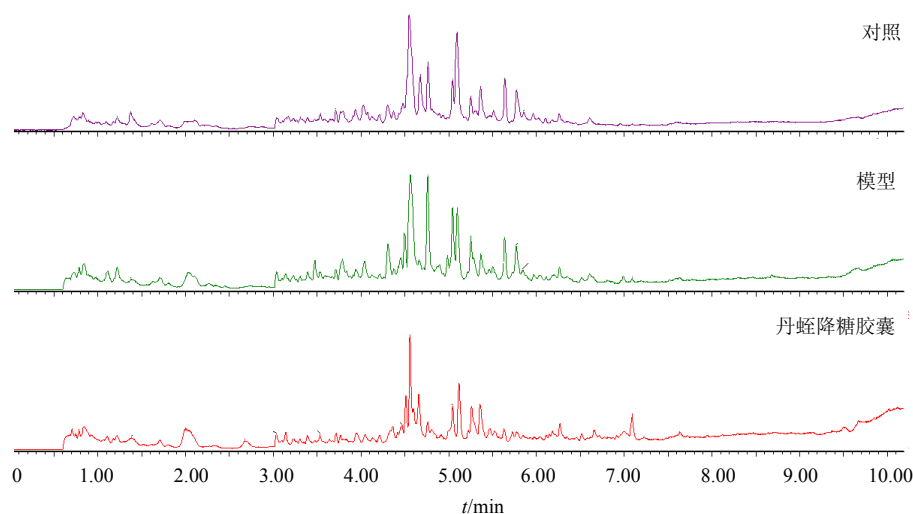


图 2 大鼠尿液样本负离子模式下总离子流图

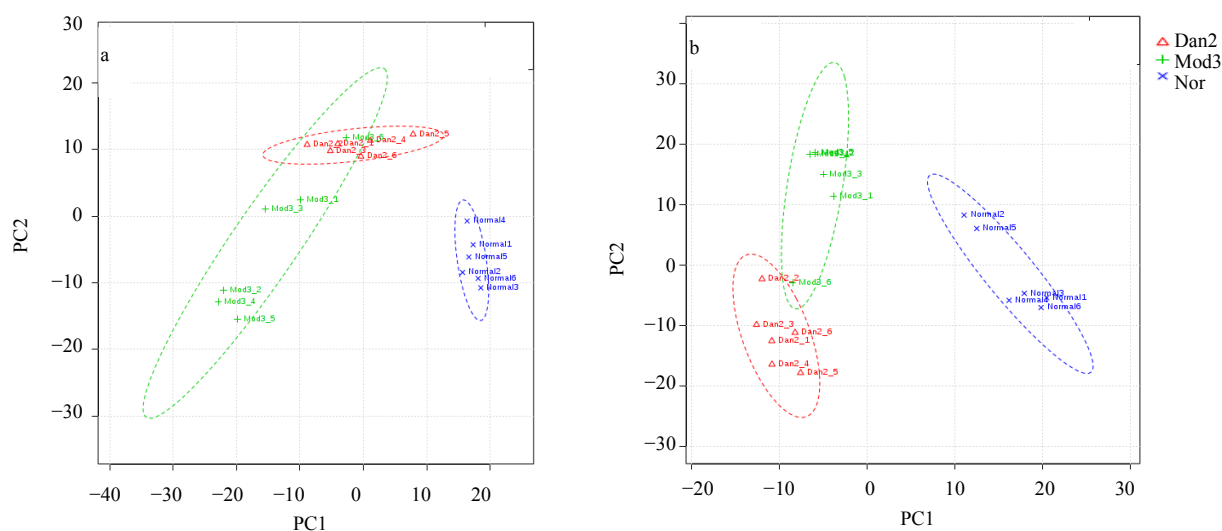
Fig. 2 Total ion chromatogram of rat urine in negative ion mode

为了考察丹蛭降糖胶囊对 2 型糖尿病模型大鼠体内内源性代谢物的影响, 将对照组、模型组和丹蛭降糖胶囊组尿样的质谱数据用 SIMCA-P 软件进行 PCA 分析, 得到 PCA 得分图和载荷图。正离子模式下得到的 PCA 得分图显示模型组集中区域 X 轴远离对照组, 丹蛭降糖胶囊组在 X 轴方向靠近对照组, 见图 3-a。负离子模式下, 模型组向对照组的左上方偏移, 丹蛭降糖胶囊组治疗 4 周后, 给药组向左下偏移, Y 轴方向靠近对照组, 见图 3-b。说明丹蛭降

糖胶囊干预后, 大鼠体内部分代谢途径开始趋于正常。为了寻找相关的标志物, 实验得到相应的载荷图 (图 4), 距离中心区域越远代谢物就是组间分离贡献越大的代谢物。图 4 可见多个远离中心区域的代谢物, 这些代谢物都是潜在的差异性标志物。

3.4 潜在标志物鉴定

实验将变量重要性投影值 (VIP) 前 15 位 (均大于 1) 以及 $P < 0.05$ 的代谢物视为差异性代谢物。通过一级质谱确定差异性代谢物的相对分子质量,



Dan2-丹蛭降糖胶囊 Mod3-模型 Nor-对照, 图 4 同
Dan2-Danzhi Jiangtang Capsule Mod3-model Nor-control, Fig. 4 is same

图 3 正离子模式 (a) 和负离子模式 (b) 下的 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score plot in positive ion mode (a) and negative mode (b)

根据二级质谱信息获得其结构信息。查阅相应数据库结合质谱信息对差异性代谢物进行鉴定识别。在正离子模式下筛选出 7 个差异性标志物, 负离子模式下筛选出 6 个差异性标志物。见表 3 和 4。

4 代谢通路分析

实验将正负离子模式下得到的潜在标志物逐一导入 Human Metabolome Database 和 Kegg Compound Database 数据库中, 对各标志物可能的

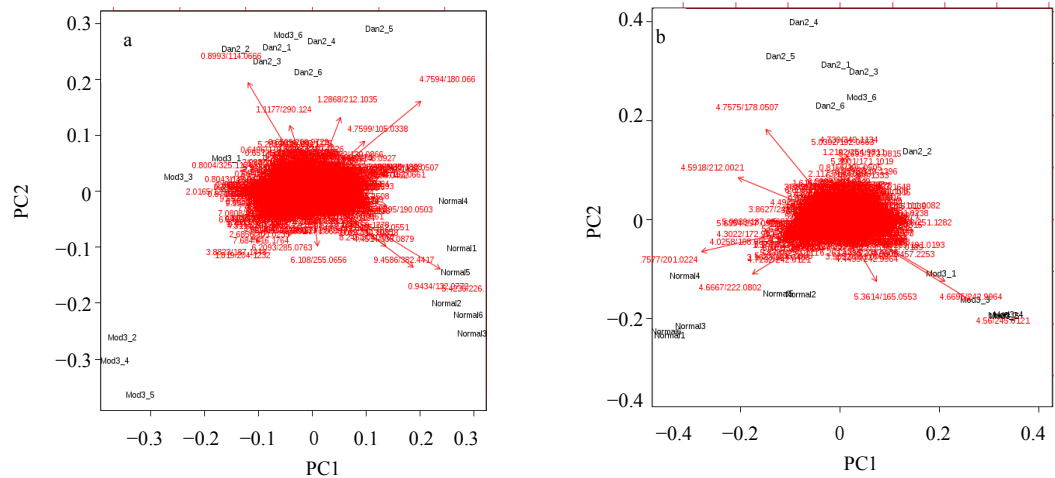


图 4 正离子模式 (a) 和负离子模式 (b) 下的 PCA 载荷图
Fig. 4 PCA loading plot in positive ion mode (a) and negative ion mode (b)

表 3 正离子模式下差异性标志物鉴定结果
Table 3 Identification of differences markers in positive ion mode

化合物名称	化学式	m/z	VIP 值	变化趋势	
				模型组	丹蛭降糖胶囊组
肌酸	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	132.077 2	1.943 4	↓ ^{##}	↑ [*]
肌酐	C ₄ H ₇ N ₃ O	114.066 6	1.899 3	↓ ^{##}	↑ [*]
吡啶-3-羧酸	C ₆ H ₅ NO ₂	162.055 1	4.515 0	↓ ^{##}	↑ [*]
犬尿喹啉酸	C ₁₀ H ₇ NO ₃	190.050 3	4.295 0	↓ ^{##}	↑ [*]
尿酸	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	169.036 5	2.098 7	↑ ^{##}	↓ ^{**}
5-羟基-6-甲氧基吡啶葡萄糖醛酸	C ₁₅ H ₁₇ NO ₈	340.103 5	3.492 3	↑ ^{##}	↓ [*]
3-吡啶甲酸葡萄糖醛酸	C ₁₅ H ₁₅ NO ₈	338.087 9	3.368 3	↑ ^{##}	↓ [*]

“↓”表示下降, “↑”表示升高, 与对照组比较: ^{##}P<0.01; 与模型组比较: ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01, 表 4 同
“↓” decrease, “↑” increase, ^{##}P<0.01 vs control group; ^{*}P<0.05 ^{**}P<0.01 vs model group, Table 4 is same

表 4 负离子模式下差异性标志物鉴定结果
Table 4 Identification of variability markers in negative ion mode

化合物名称	化学式	m/z	VIP 值	变化趋势	
				模型组	丹蛭降糖胶囊组
硫代糖	C ₇ H ₈ O ₂ S	201.022 4	5.757 7	↑ ^{##}	↓ [*]
N-乙酰基-L-酪氨酸	C ₁₁ H ₁₃ NO ₄	222.080 2	4.666 7	↓ ^{##}	↑ ^{**}
硫酸雌酮	C ₁₈ H ₂₂ O ₅ S	349.113 4	4.739 0	↑ ^{##}	↓ [*]
抗坏血酸-2-硫酸	C ₆ H ₆ K ₂ O ₉ S	254.981 1	1.219 2	↑ ^{##}	↓ [*]
2-苯乙醇葡萄糖醛酸	C ₁₄ H ₁₈ O ₇	297.097 2	5.203 8	↑ ^{##}	↓ [*]
硫酸邻苯二酚	C ₆ H ₆ O ₅ S	188.985 9	4.025 8	↑ ^{##}	↓ [*]

代谢通路进行分析。

4.1 能量代谢

肌酸和肌酐是肌肉中磷酸肌酸的分解产物,肌酸是体内能量储存、利用的重要物质,随尿排出。正常生理条件下,在相关活性酶的催化作用下肌酸在肝脏可以用于合成精氨酸、甘氨酸和甲硫氨酸^[9-10]。

本研究中发现在2型糖尿病模型大鼠的尿液中肌酸和肌酐的量与正常大鼠相比明显降低。提示大鼠体内ATP储存降低,能量代谢发生紊乱。模型大鼠在药物治疗4周后,两者的量有明显上升($P<0.05$),表明具有益气、养阴功效的丹蛭降糖胶囊可以改善2型糖尿病大鼠体内的能量代谢。

4.2 氧化应激状态

葡萄糖醛酸为葡萄糖衍生的糖醛酸,是葡萄糖的第6个碳原子上的羟基被氧化为羧基而成。在体内,极易与酚类、甾醇和芳香羧酸结合形成葡萄糖醛酸酯。5-羟基-6-甲氧基吲哚葡萄糖醛酸和3-吲哚甲酸葡萄糖醛酸就是葡萄糖醛酸与5-羟基-6-甲氧基吲哚酸和吲哚-3-羧酸在体内结合而成。由于糖尿病引起的高血糖和氧化应激状态的亢进,使得体内不能正常代谢的葡萄糖被氧化,继而产生葡萄糖醛酸^[11]。本实验发现模型组大鼠尿液中5-羟基-6-甲氧基吲哚葡萄糖醛酸和3-吲哚甲酸葡萄糖醛酸的量显著高于正常大鼠($P<0.01$),表明2型糖尿病大鼠体内血糖升高以及氧化应激状态亢进,该结论与文献报道相符。丹蛭降糖胶囊干预4周后,给药组大鼠尿液中5-羟基-6-甲氧基吲哚葡萄糖醛酸和3-吲哚甲酸葡萄糖醛酸的量降低($P<0.05$),结合血糖监测的结果,可以推断丹蛭降糖胶囊可以降低2型糖尿病模型大鼠的血糖,下调氧化应激状态。

尿酸是杂环嘌呤的衍生物,是嘌呤代谢的最终氧化产物。尿酸升高在2型糖尿病患者中很常见,临床研究发现尿酸升高与肥胖、胰岛素抵抗和血脂异常等因素密切相关^[12]。高尿酸可以诱导脂肪细胞的炎症和氧化反应,还可以引起内皮细胞功能紊乱。高尿酸是2型糖尿病并发症发生的重要诱因。实验发现模型大鼠尿液中尿酸的量升高明显($P<0.01$),丹蛭降糖胶囊治疗后大鼠尿液中尿酸的量较模型组有所降低($P<0.01$)。由于引起尿酸的病理原因复杂众多,因此结合前期的丹蛭降糖胶囊实验研究,推测丹蛭降糖胶囊可能是通过改善脂代谢和胰岛素抵抗来降低尿液中尿酸的量。

抗坏血酸-2-硫酸是L-抗坏血酸的硫酸化代谢

产物,L-抗坏血酸是机体氧化应激过程中重要的抗氧化剂^[13]。2型糖尿病长期的高血糖会促使线粒体产生大量的超氧负离子,使得2型糖尿病伴有高水平的氧化应激状态。机体代偿性的产生抗氧化反应,因此模型大鼠尿液中抗坏血酸-2-硫酸升高($P<0.01$)。前期的药理研究表明丹蛭降糖胶囊可以下调糖尿病早期的氧化应激状态,因此糖尿病大鼠经药物治疗后,尿液中抗坏血酸-2-硫酸的量下降($P<0.05$)。

4.3 氨基酸代谢

吲哚-3-羧酸和犬尿喹啉酸是色氨酸2种不同代谢途径的代谢产物。实验发现2型糖尿病模型大鼠的尿液色氨酸的代谢产物显著降低,表明大鼠体内的色氨酸代谢发生紊乱。色氨酸是人体和哺乳动物体内必须的芳香族类氨基酸,正常生理情况下,色氨酸不仅可以作为氨基酸底物参与机体组织细胞各种蛋白的合成,还可以对蛋白质的合成过程进行调节。色氨酸代谢失调与糖尿病和神经错乱有关^[14]。实验发现在2型糖尿病模型大鼠的尿液中,吲哚-3-羧酸和犬尿喹啉酸较正常大鼠均明显下降($P<0.01$),表明模型大鼠体内色氨酸代谢紊乱。药物治疗4周后,大鼠尿液中吲哚-3-羧酸和犬尿喹啉酸有了一定的上升($P<0.05$),表明丹蛭降糖胶囊可以改善色氨酸的代谢。

N-乙酰基-L-酪氨酸是L-酪氨酸的乙酰化产物。酪氨酸由苯丙氨酸转化而来,是人体半必需的氨基酸。酪氨酸在促进能量代谢、清除自由基、延缓疲劳等方面均有积极作用^[15]。酪氨酸代谢紊乱与肝肾功能受损有关。实验研究发现模型组尿液中N-乙酰基-L-酪氨酸较正常大鼠显著降低,说明糖尿病发展过程中,肝肾功能受损导致酪氨酸代谢发生的异常。丹蛭降糖胶囊治疗后,给药组大鼠尿液中N-乙酰基-L-酪氨酸的量明显上升($P<0.01$),表明丹蛭降糖胶囊在降低血糖,修复胰岛细胞的同时还可以对肝肾功能有一定的保护作用。

4.4 其他途径

负离子模式下检测到2个含有苯环的化合物硫酸邻苯二酚和2-苯乙醇葡萄糖醛酸。生物体内含有苯环结构的化合物大多数是由肠道内菌群代谢产生,其母体主要来源于食物。与正常大鼠相比2型糖尿病大鼠尿液中的苯环类化合物异常,说明模型大鼠体内的肠道菌群代谢发生紊乱^[16]。丹蛭降糖胶囊可以改善胃肠菌群代谢。

硫酸雌酮是雄性哺乳动物体内最主要的循环雌激素。实验发现糖尿病模型大鼠尿液中的硫酸雌酮明显高于正常大鼠,说明模型大鼠体内雌激素的代谢发生紊乱。但是硫酸雌酮与糖尿病的关系,目前尚无文献报道,需要进一步研究^[17]。

硫代糠是五元芳香环的呋喃类化合物,该物质在模型组和正常组尿液中的量存在明显的差异($P < 0.01$)。硫代糠与2型糖尿病发病的关系目前尚无研究报道。查阅相关文献资料,推测该物质的存在可能与高脂饲料喂养有关。

然而以上代谢途径并不是独立存在的,例如5-羟基-6-甲氧基吡啶葡萄糖醛酸和3-吡啶甲酸葡萄糖醛酸2个潜在标志物的存在与氧化应激状态的亢进与高血糖都相关,表明两者与能量代谢的紊乱密切相关。*N*-乙酰基-*L*-酪氨酸是酪氨酸的代谢产物,在人体内,酪氨酸在促进能量代谢和清除氧化自由基方面有着重要的作用。因此能量代谢、氨基酸代谢和氧化应激状态之间相互影响、相互平衡。丹蛭降糖胶囊通过调节上述代谢途径来治疗2型糖尿病,体现了中药复方制剂多靶点、多途径、多层次的作用特点。

5 讨论

代谢组学将内源性代谢物的代谢信息和疾病病理生理过程关联起来,了解疾病发展和防治的完整代谢过程。近些年来,代谢组学在中医药治疗2型糖尿病及其并发症的研究中起到了重要作用。应用代谢组学方法研究2型糖尿病大鼠的尿液代谢谱的变化,可以一次性获取完整的代谢物信息,从而可以从物质循环方面认识2型糖尿病的发病和防治机制。

通过实验结果的分析,发现2型糖尿病的发病涉及到能量代谢、氨基酸代谢以及内分泌激素等多个内循环的紊乱,还包括肝肾功能的损伤,体内氧化应激状态的亢进。表明2型糖尿病作为全身的代谢紊乱疾病,其病理过程复杂。在相关的研究之中,需要在众多复杂的病机之中把握关键病机,在对症治疗同时,亦需要标本兼治。

中药复方是中医治疗疾病的主要手段,也是体现中医特色之处。根据辨证论治的中医理论,中医会依据患者和疾病的不同状态选择不同的药材组方来治疗疾病。中医对糖尿病的研究由来已久,根据糖尿病主要的临床症状,糖尿病在中医中被称为“消渴证”。糖尿病在中医理论的主要发病机制在于

气阴两虚,伴随着病情的发展,出现诸如阳虚、血瘀和痰湿等并发症。因此,中药复方治疗糖尿病时主要以“益气养阴”为主,然后根据不同的并发症,辅以活血、健脾等治法。相比较于单纯化学药物,中药复方的优势在于控制血糖的同时,对多代谢途径的调节作用^[18]。

综上所述,根据“益气、养阴、活血”治则组方而成的丹蛭降糖胶囊可以降低2型糖尿病大鼠的血糖,修复胰岛细胞,可能的作用机制在于改善糖代谢紊乱和氨基酸代谢紊乱,调节雌激素分泌,降低大鼠体内氧化应激状态,修复受损的肝肾功能。

参考文献

- [1] 庄星星,高家荣,杨晓旭,等.代谢组学在糖尿病中医药研究中应用现状[J].中国中医药信息杂志,2014,21(4):126-129.
- [2] Fang Z H, Liu Y, Bao T T, *et al.* Effect of Danzhi Jiangtang capsule on monocyte chemoattractant protein-1 mRNA expression in newly diagnosed diabetes subclinical vascular lesions [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(19): 2963-2968.
- [3] 方朝晖,徐先祥,夏伦祝,等.丹蛭降糖胶囊对糖尿病大鼠血脂、血流变和抗氧化功能的影响[J].安徽卫生职业技术学院学报,2010,9(4):73-75.
- [4] 李中南,张培培,陈光亮,等.丹蛭降糖胶囊对糖尿病模型大鼠VEGF及血小板参数的影响[J].浙江中医药大学学报,2014,38(1):64-67.
- [5] 谷金宁,牛俊,皮子凤,等.尿液代谢组学方法研究人参总皂苷治疗糖尿病心肌病大鼠作用机制[J].分析化学,2013,41(3):371-376.
- [6] 徐先祥,汪宁卿,夏伦祝,等.丹蛭降糖胶囊对实验性糖尿病大鼠降糖作用[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):288-290.
- [7] Yu Z R, Ning Y, Yu H, *et al.* A HPLC-Q-TOF-MS-based urinary metabolomic approach to identification of potential biomarkers of metabolic syndrome [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol: Med Sci*, 2014, 34(2): 276-283.
- [8] 刘双梅,李桂林,汤晓丽,等.甲基莲心碱对2型糖尿病模型大鼠作用的代谢组学研究[J].中国药理学通报,2012,28(4):490-495.
- [9] 樊龙中,王昱,崔桂林,等.尿液氨基酸代谢物和血清特异生长因子联检癌症临床应用[J].实用全科医学,2005,3(5):462-463.
- [10] 蒋滢,黄美英,何志达,等.肾脏疾病患者体液氨基酸模式[J].氨基酸和生物资源,2000,22(1):38-41.
- [11] 梁起栋,何明珍,欧阳辉,等.超高效液相色谱-质谱

- 联用法分析 α -常春藤皂苷在大鼠体内的代谢产物 [J]. 中草药, 2014, 45(13): 1883-1888.
- [12] 吕耀中, 胡庆华, 王 星, 等. 二妙丸水提取物对高尿酸血症小鼠尿酸失衡及其相关基因和蛋白水平的影响 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 418-423.
- [13] 王 静, 袁子民, 孔宏伟, 等. 基于气相色谱-质谱联用的代谢组学用于黄连治疗 II 型糖尿病的机理探索 [J]. 色谱, 2012, 30(1): 8-13.
- [14] Wang T J, Larson M G, Vasan R S, *et al.* Metabolite profiles and the risk of developing diabetes [J]. *Nat Med*, 2011, 17(4): 448-453.
- [15] Catalano K J, Maddux B A, Szary J, *et al.* Insulin resistance induced by hyperinsulinemia coincides with a persistent alteration at the insulin receptor tyrosine kinase domain [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): 1-11.
- [16] 陈秀琴, 黄小洁, 石达友, 等. 中药与肠道菌群相互作用的研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 1031-1036.
- [17] 程泽能, 周宏濒. 雌激素的代谢机制及其与疾病的相关性 [J]. 中国临床药理学杂志, 2000, 16(4): 305-308.
- [18] Zhang T T, Jiang J G. Active ingredients of traditional Chinese medicine in the treatment of diabetes and diabetic complications [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2012, 21(11): 1625-1642.