

• 药理与临床 •

藿香正气口服液干预湿困脾胃证大鼠的血清和粪便代谢组学研究

龚梦鹃^{1,2,3}, 李春苑^{1,2,3}, 巫圣乾^{1,2,3}, 周祥羽^{1,2,3}, 王淑美^{1,2,3}, 梁生旺^{1,2,3}, 邹忠杰^{1,2,3*}

1. 广东药科大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室, 广东 广州 510006

3. 广东高校中药质量工程技术研究中心, 广东 广州 510006

摘要: **目的** 从代谢通路角度阐明湿困脾胃证的本质及藿香正气口服液的干预作用。 **方法** 采用综合物理造模方法制备湿困脾胃证大鼠模型。测量体质量、体长、尾长、腹围指数等宏观体征指标和自主活动次数。利用核磁共振氢谱 (¹H-NMR) 技术建立大鼠血清和粪便的代谢物谱图, 分析藿香正气口服液给药后湿困脾胃证大鼠相关潜在生物标志物的变化。 **结果** 与对照组比较, 模型组大鼠体质量降低, 体长增长缓慢, 腹围指数增加, 自主活动次数减少; 血清和粪便代谢物组发生显著改变。藿香正气口服液能改善模型大鼠宏观体征和行为学指标。同时, 藿香正气口服液能对湿困脾胃证大鼠血清和粪便代谢紊乱产生有效的干预, 并分别使血清和粪便中与湿困脾胃证相关的 6 个和 8 个潜在生物标志物产生显著地回调。 **结论** 藿香正气口服液通过调节肠道菌群及逆转机体能量代谢和氨基酸代谢紊乱来干预大鼠湿困脾胃证。

关键词: 藿香正气口服液; 湿困脾胃证; 代谢组学; 核磁共振氢谱; 生物标志物; 肠道菌群

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)14-2889-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.14.014

Serum and fecal metabonomic studies on effect of Huoxiang Zhengqi Oral Liquid in rats with dampness obstructing spleen-stomach syndrome

GONG Meng-juan^{1,2,3}, LI Chun-yuan^{1,2,3}, WU Sheng-qian^{1,2,3}, ZHOU Xiang-yu^{1,2,3}, WANG Shu-mei^{1,2,3}, LIANG Sheng-wang^{1,2,3}, ZOU Zhong-jie^{1,2,3}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

3. Engineering & Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To classify the essence of dampness obstructing spleen-stomach syndrome (DOSS) in rats and the effect of Huoxiang Zhengqi Oral Liquid (HZOL) on DOSS. **Methods** Comprehensive physical methods were applied to establish the rat DOSS model. Body weight, body length, tail length, abdominal girth index, and locomotor activity were observed. Moreover, a proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) based metabonomic approach was developed to profile DOSS-related metabolic perturbations in rat serum and feces and to investigate the intervention effect of HZOL in rats. **Results** Compared with the healthy control group, rats with DOSS showed weight loss, slow growth of body length, increased abdominal girth index, and decreased locomotor activity along with metabolic perturbations in serum and feces. The disturbed metabolic state associated with DOSS in rat serum and feces could be restored by HZOL. Meanwhile, six and eight potential biomarkers related to DOSS in rat serum and feces, respectively, were reversed by administration of HZOL. **Conclusion** The current study demonstrated that HZOL exerted protective effect against DOSS in rats, which was probably mediated by amelioration of disturbance in energy and amino acid metabolism and gut microbiota.

Key words: Huoxiang Zhengqi Oral Liquid; dampness obstructing spleen-stomach; metabonomics; NMR; biomarkers; gut microbiota

收稿日期: 2017-02-17

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81603397, 81403075)

作者简介: 龚梦鹃 (1983—), 女, 江西九江人, 硕士, 副教授, 研究方向为中药药理。Tel: 18719379003 E-mail: gongmengjuan@139.com

*通信作者 邹忠杰 (1980—), 男, 山东莱芜人, 博士, 教授, 研究方向为中药药效物质基础及代谢组学。

Tel: 13533709258 E-mail: zouzhongjie@139.com

湿困脾胃证又称湿阻中焦证,是指湿邪困阻脾胃,阻遏气机所表现出的一组证候^[1]。临床表现为头重身困、脘闷腹胀、小便短涩、舌苔白厚而腻、脉濡缓等。藿香正气口服液来源于千年古方宋代《太平惠民和剂局方》的处方藿香正气散,由苍术、陈皮、厚朴(姜制)、白芷、茯苓、大腹皮、生半夏、甘草浸膏、广藿香油和紫苏叶油组成,具有解表化湿、理气和中等作用,主治外感风寒、内伤湿滞诸证。研究表明其能改善湿困脾胃证大鼠的免疫功能^[2]、调节水液代谢^[3]、保护肠黏膜屏障^[4]及增强机体抗氧化应激能力^[5]。

代谢组学是对生物系统因病理生理或基因改变等刺激所致动态多参数代谢应答的定量测定^[6]。代谢组学所反映的人体生化网络对所有扰动因素进行应答和变化的终端信息,与中医“证”的内涵比较接近,已成为揭示证本质的重要方法。本研究首次采用核磁共振技术(NMR)建立大鼠血清和粪便代谢指纹谱,鉴定与湿困脾胃证相关的潜在代谢标志物及代谢通路,探讨藿香正气口服液治疗湿困脾胃证的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

雄性SD大鼠,SPF级,体质量180~200 g,购自广州中医药大学实验动物中心,合格证号SCXK(粤)2013-0034。

1.2 仪器

Bruker AVANCE III 500 MHz全数字化超导核磁共振谱仪(瑞士Bruker公司);YLS-1B多功能大鼠自主活动记录仪(山东省医学科学院设备站)。

1.3 药品与试剂

藿香正气口服液(太极集团重庆涪陵制药厂有限公司,批号16030052);氘水(D₂O,美国Sigma公司,批号MKBP6567V);异氟烷(河北一品制药有限公司,批号20160815);3-(三甲基甲硅烷基)丙酸-2,2,3,3-*d*4钠盐(TSP-*d*4,美国Sigma公司,批号269913)。

2 方法

2.1 动物实验及样本收集

参考文献方法^[7],将18只雄性SD大鼠置于12 h光照和12 h黑暗环境(温度22℃,相对湿度50%)下自由饮食。适应3 d后按体质量随机分为对照组、模型组和藿香正气口服液给药组(简称给药组)。将模型组和给药组大鼠置于自制造模箱内,控制温度为18~25℃,湿度(90±5)%,模拟“久居湿

地,外湿过甚”环境,每日8:00~16:00时令大鼠站在4 cm深的水中;单日禁食,ig 4℃冰水(2 mL/只),双日供应充足饲料,ig 熟猪油(4 mL/只),模拟“情志不遂,饮食不节,饥饱失常”状态,共造模20 d。造模第11天,给药组开始ig给予藿香正气口服液(10 mL/kg,根据人临床等效剂量换算),连续给药10 d,对照组和模型组ig等体积生理盐水。实验最后1 d进行宏观体征和行为学观察。末次给药24 h后收集2 h内粪便,收集的粪便置于-80℃冰箱中保存备用。收集完粪便后,大鼠ip异氟烷3 mL/kg^[8]麻醉,经腹主动脉取血,收集的血液样品经凝固(室温,60 min)后离心(4 000 r/min,15 min,4℃)得到血清,-80℃冰箱中保存备用。

2.2 宏观体征和行为学指标测量

大体观察指标包括:体长、尾长、腹围指数。具体的测量方法:体长为鼻尖至尾根部长度,尾长为尾根至尾尖长度;腹围指数为腹围长度与体质量的比值,腹围长度为使大鼠处于自然直立状态下腹中部一周的长度。行为学实验在微光、微声的环境中,将大鼠放入自主活动桶中,盖上桶盖,使之适应1 min,记录大鼠3 min内的自主活动次数。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据处理采用SPSS 20.0统计软件,组间比较采用单因素方差分析,两两数据比较用Tukey检验。

2.3 血清样本预处理

参照本课题组已建立的方法^[9],室温解冻后,取血清400 μL加至5 mm NMR测试管中,加入50 μL磷酸缓冲液(0.2 mol/L Na₂HPO₄-0.2 mol/L NaH₂PO₄, pH 7.4)和50 μL D₂O(用于锁场),振荡混匀,待测。

2.4 粪便提取及预处理

参考文献方法^[10],100 mg粪便加入800 μL磷酸缓冲液(0.2 mol/L Na₂HPO₄-0.2 mol/L NaH₂PO₄, pH 7.4)和200 μL D₂O(含有0.05% TSP-*d*4)匀浆,匀浆液室温超声提取30 min后离心(12 000 r/min,10 min,4℃),取上清液550 μL加至5 mm NMR测试管中,待测。

2.5 ¹H-NMR分析

实验温度为25℃,血清样本采用Carr-Purcell-Meibom-Gill(CPMG)脉冲序列抑制血清中蛋白质及脂蛋白较宽的共振信号,总的回波时间2π=100 ms,弛豫延迟时间4 s,采样时间3.28 s。粪便样本采用预饱和的¹D NOESY脉冲序列压制水峰,弛豫延迟时间2 s,采样时间1.64 s。血清和粪便

样本谱宽 10 kHz, 采样点数 64 k, 采集次数 128 次。

2.6 $^1\text{H-NMR}$ 图谱处理及多变量数据分析

采用线宽为 0.3 Hz 的指数窗函数进行傅里叶变换。采用软件 MestReNova 6.1 (西班牙 Mestrelab Research 公司) 对所获谱图进行手动相位和基线校正后, 对血清和粪便样本, 分别参照乳酸的甲基共振双重峰 (δ 1.33) 和 TSP (δ 0.0) 对 $^1\text{H-NMR}$ 谱的化学位移进行定标。在 δ 0.5~9.5 区域按 δ 0.01 等间隔分段积分, 对于血清和粪便样本, 分别将区域 δ 4.68~5.22 和 δ 4.70~5.15 设为 0 积分段。然后将图谱积分值输出到 Excel 2010 (Microsoft Inc, Bellevue, WA) 中, 对各分段积分值进行归一化处理。归一化所得数据乘以 10 000 后导入 SIMCA-P12.0 (Umetrics AB, Umea, 瑞典), 经 Pareto 标度化预处理后, 进行正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)。

表 1 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠体质量、体长、尾长、腹围指数和自主活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effect of HZOL on body weight, body length, tail length, abdominal girth index and locomotor activity of rats with DOSS ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(mL·kg ⁻¹)	体质量/g	体长/cm	尾长/cm	腹围指数/(cm·kg ⁻¹)	自主活动次数
对照	—	276.25 ± 6.64***	22.38 ± 0.44***	18.56 ± 0.49	58.38 ± 2.07***	87.60 ± 9.45**
模型	—	196.63 ± 10.09	19.50 ± 0.76	17.87 ± 0.79	73.09 ± 4.65	72.10 ± 10.62
给药	10	208.63 ± 4.03**	20.50 ± 0.53**	17.25 ± 0.27	67.68 ± 4.85*	78.80 ± 10.02*

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as below

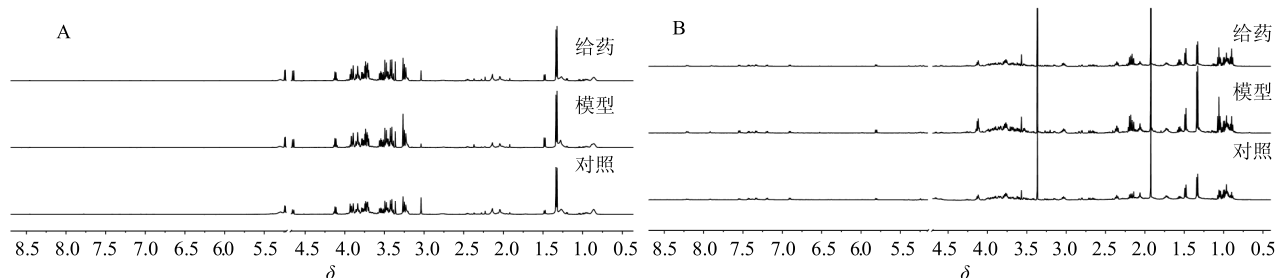


图 1 大鼠血清 (A) 和粪便 (B) $^1\text{H-NMR}$ 图

Fig. 1 $^1\text{H-NMR}$ spectra of rat serum (A) and feces (B)

3.3 湿困脾胃证模型大鼠机体代谢表型的变化

本实验采用 OPLS-DA 研究对照组和模型组大鼠的代谢物谱差异, 结果见图 2。对照组和模型组的血清和粪便样本点在 PC1 维可以完全区分开, 说明湿困脾胃证大鼠机体生理及物质代谢状况已经发生了明显的改变。为了验证 OPLS-DA 模型的可靠性, 采用 7 倍交叉验证法对其进行验证, 得到了 OPLS-DA 模型的主要参数, 血清: $R^2_X(\text{cum}) = 0.75$, $R^2_Y(\text{cum}) = 0.97$, $Q^2(\text{cum}) = 0.83$; 粪便: $R^2_X(\text{cum}) = 0.70$, $R^2_Y(\text{cum}) = 0.92$, $Q^2(\text{cum}) = 0.81$ 。从上述参数

3 结果

3.1 对湿困脾胃证大鼠宏观体征和行为学指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠体质量明显下降 ($P < 0.001$), 经藿香正气口服液治疗后大鼠体质量明显增加 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 模型组大鼠体长增长缓慢 ($P < 0.001$), 经藿香正气口服液治疗后体长有明显增长 ($P < 0.01$), 但尾长未见明显差异。造模后大鼠腹围指数升高 ($P < 0.001$), 自主活动次数明显减少 ($P < 0.01$), 经藿香正气口服液治疗后均有明显改善 ($P < 0.05$)。结果见表 1。

3.2 大鼠血清和粪便的 $^1\text{H-NMR}$ 代谢物谱分析

大鼠血清和粪便的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图见图 1。代谢物谱峰的归属主要依据化学位移值、峰的裂分情况、偶合常数及参考文献报道^[11-12]。

可以看出本研究建立的模型具有较高的可靠性。

3.4 与湿困脾胃证相关的潜在生物标志物鉴定

本研究使用 OPLS-DA 模型中变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 参数评价潜在的生物标志物。选取 VIP > 1 的差异变量, 再用 t 检验对筛选到的差异变量在对照组和模型组间进行验证, 只有 $P < 0.05$ 的差异变量才被认为是潜在的生物标志物。按照上述原则, 最终在血清和粪便中分别筛选得到 8 种和 12 种具有显著差异的化合物, 见表 2 和 3。

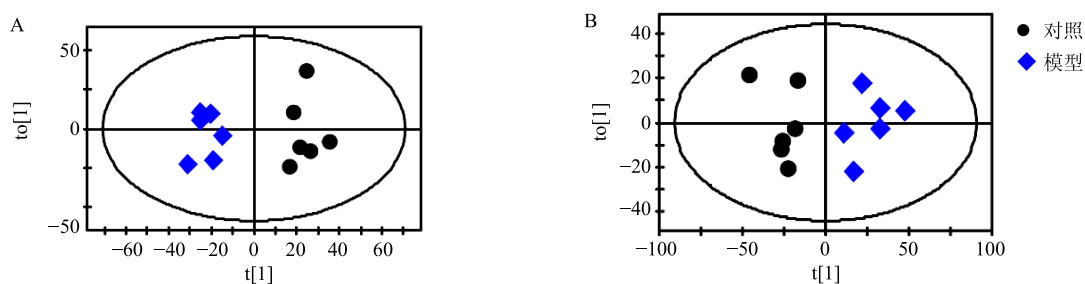


图 2 对照组和模型组大鼠血清 (A) 和粪便 (B) OPLS-DA 得分图

Fig. 2 OPLS-DA score plots derived from ^1H -NMR spectra of rat serum (A) and feces (B) in control and model groups表 2 大鼠血清中与湿困脾胃证相关的潜在生物标志物 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 2 Potential biomarkers related to DOSS in rat serum ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

代谢产物	δ_{H}	VIP	归一化后峰面积		
			对照组	模型组	给药组
VLDL/LDL	0.88 (m)	3.7	38.59 $\pm$ 17.56*	62.09 $\pm$ 13.30	43.03 $\pm$ 8.05*
	1.28 (m)	6.3	76.93 $\pm$ 41.65*	139.49 $\pm$ 25.74	95.70 $\pm$ 8.57*
异亮氨酸	0.94 (t, $J = 7.5$ Hz)	1.7	18.78 $\pm$ 3.11*	14.22 $\pm$ 1.01	17.16 $\pm$ 1.65*
3-羟基丁酸	1.20 (d, $J = 6.5$ Hz)	2.9	25.71 $\pm$ 2.41*	15.85 $\pm$ 2.49	15.71 $\pm$ 1.38
丙氨酸	1.48 (d, $J = 7.0$ Hz)	3.7	52.51 $\pm$ 15.72*	74.57 $\pm$ 7.88	58.79 $\pm$ 7.22*
N-乙酰糖蛋白	2.04 (s)	3.6	78.93 $\pm$ 6.85*	61.87 $\pm$ 6.39	65.72 $\pm$ 4.21
谷氨酰胺	2.45 (m)	1.6	17.47 $\pm$ 2.89*	13.31 $\pm$ 1.72	16.71 $\pm$ 2.05*
肌酸/磷酸肌酸	3.04 (s)	7.1	96.48 $\pm$ 30.49*	31.04 $\pm$ 5.21	65.91 $\pm$ 9.07*
	3.93 (s)	6.2	79.54 $\pm$ 23.50*	30.24 $\pm$ 5.16	56.44 $\pm$ 6.39*
氧化三甲胺	3.27 (s)	5.9	201.24 $\pm$ 32.05*	260.51 $\pm$ 41.26	214.51 $\pm$ 15.21*

表 3 大鼠粪便中与湿困脾胃证相关的潜在生物标志物 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Potential biomarkers related to DOSS in rat feces ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

代谢产物	δ_{H}	VIP	归一化后峰面积		
			对照组	模型组	给药组
亮氨酸	0.97 (t, $J = 5.5$ Hz)	2.2	82.98 $\pm$ 14.54*	67.36 $\pm$ 7.86	82.58 $\pm$ 10.10*
缬氨酸	0.99 (d, $J = 7.0$ Hz)	2.4	75.90 $\pm$ 12.28*	59.79 $\pm$ 6.06	71.65 $\pm$ 5.91*
异亮氨酸	1.01 (d, $J = 7.5$ Hz)	1.5	26.65 $\pm$ 4.99*	19.84 $\pm$ 3.63	24.99 $\pm$ 2.27*
丙酸	1.06 (t, $J = 7.5$ Hz)	2.3	47.08 $\pm$ 13.42*	62.47 $\pm$ 4.57	49.14 $\pm$ 7.47*
乳酸	1.33 (d, $J = 7.0$ Hz)	5.8	151.14 $\pm$ 21.62*	252.78 $\pm$ 96.97	207.09 $\pm$ 62.79
	4.12 (q, $J = 7.0$ Hz)	3.9	63.59 $\pm$ 2.93*	98.89 $\pm$ 18.25	84.13 $\pm$ 15.72
乙酸	1.92 (s)	6.1	589.33 $\pm$ 132.06*	1 141.90 $\pm$ 214.80	848.78 $\pm$ 95.92*
N-乙酰葡萄糖胺	2.06 (s)	2.1	86.45 $\pm$ 12.11*	73.11 $\pm$ 7.85	85.31 $\pm$ 6.36*
β -葡萄糖	4.65 (d, $J = 8.0$ Hz)	2.5	18.05 $\pm$ 7.48*	3.87 $\pm$ 3.46	4.19 $\pm$ 3.77
α -葡萄糖	5.24 (d, $J = 4.5$ Hz)	2.3	22.89 $\pm$ 11.01*	8.46 $\pm$ 4.88	11.04 $\pm$ 8.34
尿嘧啶	5.81 (d, $J = 8.0$ Hz)	1.2	11.21 $\pm$ 1.91*	14.82 $\pm$ 1.91	12.31 $\pm$ 1.28*
	7.55 (d, $J = 7.5$ Hz)	1.1	10.93 $\pm$ 2.37*	14.35 $\pm$ 1.48	11.83 $\pm$ 1.11*
酪氨酸	6.90 (d, $J = 8.5$ Hz)	1.1	14.12 $\pm$ 2.06*	10.79 $\pm$ 1.42	9.74 $\pm$ 1.42
	7.20 (d, $J = 8.0$ Hz)	1.1	13.05 $\pm$ 2.22*	10.21 $\pm$ 1.34	9.31 $\pm$ 1.26
苯丙氨酸	7.34 (m)	1.1	13.17 $\pm$ 1.72*	10.17 $\pm$ 1.46	12.36 $\pm$ 1.74*
	7.43 (m)	1.1	13.17 $\pm$ 1.66*	10.40 $\pm$ 1.31	12.56 $\pm$ 1.76*

3.5 藿香正气口服液对湿困脾胃证大鼠血清和粪便代谢紊乱的干预作用

藿香正气口服液给药组样本点与模型组样本点可以完全分离, 且与对照组样本点接近 (图 3),

表明藿香正气口服液能有效干预大鼠湿困脾胃证。同时, 如表 2 和 3 所示, 藿香正气口服液能分别使湿困脾胃证大鼠血清和粪便中 6 种和 8 种潜在生物标志物显著性回调。从上述结果可以看出藿香正气

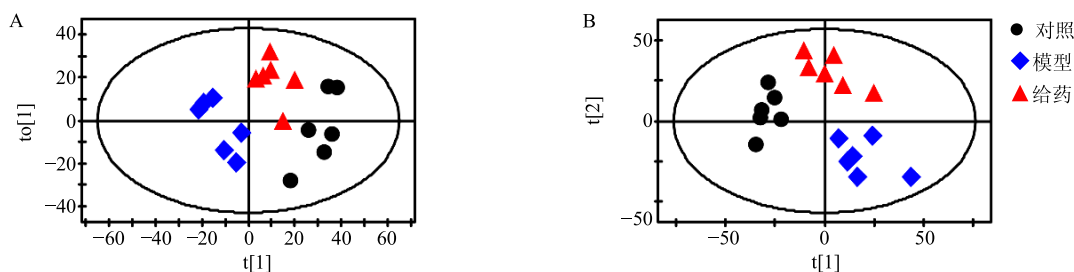


图 3 对照组、模型组和给药组大鼠血清 (A) 和粪便 (B) OPLS-DA 得分图

Fig. 3 OPLS-DA score plots derived from ^1H -NMR spectra of rat serum (A) and feces (B) of rats in control, model, and drug treatment groups

口服液能对湿困脾胃证大鼠血清和粪便代谢紊乱产生有效的干预作用。

4 讨论

湿困脾胃证是最常见的中医证型之一，凡气候比较潮湿的地区，湿病的发病率较高，故外湿入侵与湿邪内生，导致湿困脾胃证的发生日益普遍。此证常见于功能性消化不良、慢性胃肠炎、消化性溃疡、胃肠功能紊乱、慢性肝炎、神经官能症等慢性疾病。现代医学初步揭示该证与机体水液代谢、病原微生物、免疫功能、能量代谢以及胃肠功能等有关^[13]。

模型大鼠体重减轻、体长生长缓慢提示湿困脾胃大鼠胃肠吸收功能障碍进而影响生长情况；腹围指数增加，提示脾胃功能异常；自主活动次数减少，提示模型大鼠能量不足。经藿香正气口服液治疗后大鼠上述体征得到较好的改善。

代谢组学可以从代谢终端产物的角度整体性和系统性地阐释中医证的实质^[14]及中药复方的药效与作用机制^[15-17]。本研究在血清和粪便中分别筛选得到 8 种和 12 种与湿困脾胃证相关的潜在生物标志物，主要涉及能量代谢、氨基酸代谢及肠道菌群代谢（图 4）。

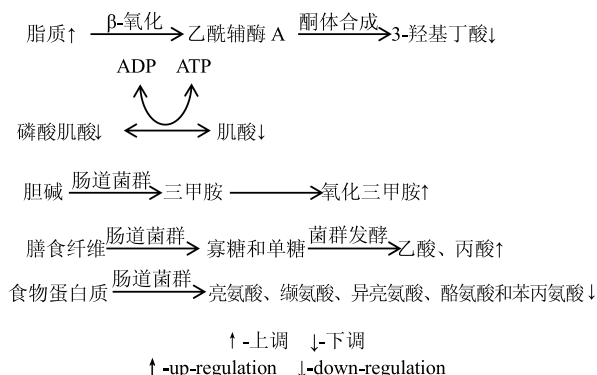


图 4 与湿困脾胃证相关的代谢通路图

Fig. 4 Metabolic pathway associated with DOSS

3-羟基丁酸是脂肪酸在肝内 β 氧化后正常的代谢中间产物，是肝脏输出能源的一种形式。模型组大鼠血清 LDL/VLDL 水平升高、3-羟基丁酸水平降低，这说明机体脂质代谢紊乱。肌酸激酶催化肌酸形成磷酸肌酸，磷酸肌酸含有高能键，具有储能作用能补偿机体 ATP 的浓度，模型组大鼠血清肌酸/磷酸肌酸被大量消耗，这表明湿困脾胃状态下机体能量供给方式的改变。湿困脾胃证导致的氨基酸代谢的紊乱体现在血清异亮氨酸和谷氨酰胺水平的下降及丙氨酸水平的升高。异亮氨酸是人体必需氨基酸，其属于支链氨基酸，可以促进蛋白质合成代谢，加速肌肉合成，同时，还可以抑制色氨酸进入大脑产生 5-羟色胺，从而减轻中枢疲劳^[18]，其水平的下降与湿困脾胃证机体体征相符合。丙氨酸-葡萄糖循环的主要作用是把肌肉中机体正常的代谢产物但具有毒性的氨以无毒的丙氨酸形式运输到肝脏，用以合成尿素排出体外，丙氨酸的量增加说明丙氨酸-葡萄糖循环可能受到扰动，湿困脾胃状态下机体氨转运功能受阻。谷氨酰胺具有提供氮源促使肌细胞内蛋白质合成、免疫调节、作为肠道黏膜细胞代谢必需的营养物质维持肠道屏障的结构及功能等多方面的作用^[19]。与前期报道一致^[20]，谷氨酰胺水平下降可能预示湿困脾胃导致肠黏膜屏障损伤。

湿困脾胃状态下，肠道菌群结构与代谢功能的变化主要表现为血清氧化三甲胺水平的升高及粪便代谢组的变化。胆碱在肠道菌群的作用下生成三甲胺，进而被代谢成二甲胺和氧化三甲胺。粪便代谢物被认为肠道菌群和宿主共代谢的产物，它不仅反映肠道菌群的状态，而且在共栖菌与宿主之间起着桥梁作用。结肠内厌氧菌如双歧杆菌、乳杆菌、类杆菌等可以发酵宿主自身不能消化的膳食纤维生成短链脂肪酸如乙酸、丙酸和丁酸。短链脂肪

酸在结肠腔内不仅可作为肠黏膜细胞的主要能量来源,还可以减少促炎因子的生成,降低结肠炎症的发生,同时,还能对肿瘤细胞的增殖起到抑制作用,并诱导肿瘤细胞的分化和凋亡,降低癌变的几率^[21]。模型组粪便乙酸和丙酸水平升高可能是由于肠道菌群对湿困脾胃导致的肠黏膜屏障损伤和炎症反应的反馈性调节。模型组大鼠粪便中亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸水平降低说明湿困脾胃状态下肠道菌群分解食物中蛋白质的能力减弱^[21]。

藿香正气口服液能显著性地回调大鼠血清和粪便中与湿困脾胃证相关的6种和8种潜在生物标志物,这说明藿香正气口服液可以有效地逆转模型组大鼠机体能量代谢和氨基酸代谢紊乱,同时可以调节肠道菌群。

本研究利用基于NMR的代谢组学方法从整体代谢表型和相关代谢标志物的角度阐释了湿困脾胃证的本质及藿香正气口服液的药效,为藿香正气口服液的临床应用提供了一定的理论基础且为经典方剂的药效评价提供参考。

参考文献

- [1] 张丰华, 黄秀深, 周艳霞, 等. 平胃散对湿困脾胃证肠黏膜及离子泵损伤修复作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(17): 129-136.
- [2] 刘 瑶, 刘 伟. 藿香正气散对湿困脾胃型亚健康动物免疫及代谢功能的影响 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1190-1192.
- [3] 薛晓倩, 黄学宽, 高 宁, 等. 藿香正气液对湿阻证大鼠结肠黏膜水通道蛋白4表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 165-169.
- [4] 薛晓倩, 黄学宽, 高 宁, 等. 藿香正气液对湿阻证大鼠回肠黏膜 ZO-1 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 224-227.
- [5] 薛晓倩, 黄学宽, 高 宁, 等. 藿香正气液对湿阻证大鼠抗氧化作用及对胃黏膜 EGFR 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 230-234.
- [6] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. "Metabonomics": Undersanding the metabolic responses of living system to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [7] 张丰华, 黄秀深, 刘 伟, 等. 湿困脾胃证动物模型的实验研究——宏观体征研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(2): 37-38.
- [8] 宋 乐, 朱正华, 张西京, 等. 大鼠腹腔内注射异氟醚麻醉效应的初步研究 [J]. 临床麻醉学杂志, 2007, 23(8): 661-663.
- [9] Gong M J, Han B, Wang S M, *et al.* Icariin reverses corticosterone-induced depression-like behavior, decrease in hippocampal brain-derived neurotrophic factor (bdnf) and metabolic network disturbances revealed by NMR-based metabolomics in rats [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 123: 63-73.
- [10] Martin F P, Sprenger N, Yap I K, *et al.* Panorganismal gut microbiome-host metabolic crosstalk [J]. *J Proteome Res*, 2009, 8(4): 2090-2105.
- [11] Wei L, Liao P, Wu H, *et al.* Metabolic profiling studies on the toxicological effects of realgar in rats by ¹H NMR spectroscopy [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 234(3): 314-325.
- [12] Wu J, An Y, Yao J, *et al.* An optimised sample preparation method for NMR-based faecal metabolomic analysis [J]. *Analyst*, 2010, 135(5): 1023-1030.
- [13] 罗玉熙. 平胃散治疗湿困脾胃证大鼠的作用机制初探 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2007.
- [14] Sun S, Dai J, Fang J, *et al.* Differences of excess and deficiency Zheng in patients with chronic hepatitis B by urinary metabolomics [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 738245.
- [15] Shui S, Cai X, Huang R, *et al.* The investigation of anti-inflammatory activity of Yi Guanjian decoction by serum metabolomics approach [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 133: 41-48.
- [16] 刘阿娜, 崔 宁, 赵文晓, 等. 黄芪皂苷干预脾虚水湿不化证大鼠的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2016, 47(24): 4401-4407.
- [17] 陈佳佳, 李爱平, 张晓琴, 等. 基于核磁共振代谢组学的成分数据分析在中药评价中的应用 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3522-3526.
- [18] 史仍飞, 袁海平. 支链氨基酸代谢与运动 [J]. 上海体育学院学报, 2003, 27(5): 65-67.
- [19] Ardawi M S, Newsholme E A. Fuel utilization in colonocytes of the rat [J]. *Biochem J*, 1985, 231(3): 713-719.
- [20] 陈继兰, 黄秀深, 曾跃琴, 等. 平胃散调控湿困脾胃证大鼠肠道能量代谢的实验研究 [J]. 山西中医学院学报, 2012, 13(3): 27-29.
- [21] Zhao Y, Wu J, Li J V, *et al.* Gut microbiota composition modifies fecal metabolic profiles in mice [J]. *J Proteome Res*, 2013, 12(6): 2987-2999.