甘遂醋炙减毒机制的主要途径及靶点预测Δ

杨晓旭*，贺志敏，李文兰#（哈尔滨商业大学药学院，哈尔滨 150001）

中图分类号 R917；R285　　**文献标志码** A　　**文章编号** 1001-0408（2023）04-0423-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.04.08

摘　要　目的 研究甘遂醋炙减毒机制的主要途径及靶点。**方法** 取24只SPF级SD大鼠，随机分为空白组、生甘遂组（850 mg/kg）、醋甘遂组（850 mg/kg），每组8只。空白组灌胃0.5%羧甲基纤维素钠溶液，生甘遂组、醋甘遂组给予相应的供试品药液，连续给药20 d，第20天收集大鼠12 h尿液。采用超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱高分辨质谱（UPLC-Q-Exactive-MS）技术分析尿液样本。经Compound Discoverer 3.0软件进行数据前处理，经BioCyc、HMDB等数据库进行代谢物结构鉴定，应用主成分分析（PCA）、正交偏最小二乘法-判别分析（OPLS-DA）等多种方法观察不同组别是否呈现各自聚类现象；基于MetaboAnalyst进行通路分析，对甘遂醋炙减毒机制潜在靶点进行预测。**结果** 鉴定出20个有显著性差异的内源性代谢物，其中有*N*-乙酰基-L-天冬氨酸、3-磷酸羟基丙酮酸等10个目标生物标志物为醋甘遂减毒机制作用靶点，参与的主要代谢通路包括精氨酸生物合成，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，半胱氨酸和蛋氨酸代谢及精氨酸和D-鸟氨酸代谢。对通路中所有相关代谢物的生物学意义进行分析推测，甘遂醋炙后可能通过降低*N*-乙酰基-L-天冬氨酸水平缓解神经毒性，通过升高L-高精氨酸水平对心脑血管系统存在保护作用等。**结论** 甘遂经醋炙后，可对机体的神经系统、心脑血管系统、免疫系统及能量代谢等方面的不利因素有明显改善，其发挥减毒机制的最集中相关的代谢通路为精氨酸生物合成。

关键词 甘遂；炮制减毒；代谢组学；目标生物标志物；代谢通路

Main ways and target prediction of detoxification mechanism of *Euphorbia kansui* after stir-frying with vinegar

YANG Xiaoxu，HE Zhimin，LI Wenlan（School of Pharmacy，Harbin University of Commerce，Harbin 150001，China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study main way and target of *Euphorbia kansui* after stir-frying with vinegar. **METHODS** Twenty-four SPF grade SD rats were randomly divided into blank group，*E. kansui* group（850 mg/kg）and vinegar stir-fried *E. kansui* group（850 mg/kg），with 8 rats in each group. Blank group was given 0.5% sodium carboxymethyl cellulose solution intragastrically，and *E. kansui* group and vinegar stir-fried *E. kansui* group were given relevant test sample for consecutive 20 d. The rats' urine of 12 hours was collected on the 20th day. The urine samples of rats in each group were determined by UPLC-Q-Exactive-MS. The data was pre-processed by Compound Discoverer 3.0 software，and the metabolite structure was identified by BioCyc，HMDB and other databases. Whether different groups presented their own clustering phenomenon was observed by principal component analysis（PCA）and orthogonal partial least squares-discriminant analysis（OPLS-DA），etc. Based on the pathway analysis of MetaboAnalyst，the potential targets of detoxification mechanism of *E. kansui* after stir-frying with vinegar were predicted. **RESULTS** Twenty significantly differential endogenous metabolites were identified，of which 10 target metabolites，such as *N*-acetyl-L-aspartate and 3-phosphonooxypyruvic acid，were targets of detoxification mechanism of *E. kansui* after stir-frying with vinegar. The main metabolic pathways included arginine biosynthesis，alanine，aspartic acid and glutamic acid metabolism，cysteine and methionine metabolism，and arginine and D-ornithine metabolism. The biological significance of all related metabolites in the pathways was analyzed and speculated；after stir-frying with vinegar，*E. kansui* may alleviate neurotoxicity by reducing the level of *N*-acetyl-L-aspartic acid；*E. kansui* had a protective effect on cardio-cerebrovascular system by increasing the level of L-high arginine. **CONCLUSIONS** After stir-frying with vinegar，*E. kansui* can significantly improve the adverse factors in terms of nervous system，cardio-cerebrovascular system，immune system and energy metabolism. The most concentrated metabolic pathway related to its detoxification mechanism is arginine biosynthesis.

KEYWORDS *Euphorbia kansui*；processing and detoxification；metabonomics；target biomarkers；metabolic pathway

甘遂是大戟科植物甘遂*Euphorbia kansui* T.N.Liou ex T.P.Wang的干燥块根，具有良好的泻水逐饮、消肿散结的功效[1]，同时也具有严重的毒副作用，在临床中多以炮制品入药，其毒性反应表现为肝脏氧化损伤，心脏毒性，肠道毒性，皮肤、口腔黏膜刺激[2]等。研究表明，甘遂

Δ **基金项目** 黑龙江省重点研发计划指导类项目（No. GZ20210092）

＊**第一作者** 讲师，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：africa5566@163.com

通信作者 教授，博士生导师，博士。研究方向：中药药效物质基础。E-mail：lwldzd@163.com

经醋炙后在保持利尿作用的同时可降低毒性[3]，然而其减毒机制不太明确。代谢组学技术目前在病理机制和毒理研究中应用越来越广泛，通过对生物样品中相对分子质量小于1 000的内源性代谢物进行系统的定性定量分析，探索代谢物与机体生理、病理变化的相关性，以评价生物体复杂体系相互作用，及内外因素刺激下的整体动态代谢反应[4]。本实验通过超高效液相色谱串联四极杆静电场轨道阱高分辨质谱（UPLC-Q-Exactive-MS）代谢组学技术，研究甘遂醋炙前后对生理状态大鼠尿液中内源性代谢物的影响，通过分析代谢物的不同表达及其生物学意义，找出醋炙后甘遂减毒的作用靶点及通路，为探讨其炮制减毒机制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有AS3120A型超声波清洗器（无锡江星清洗设备有限公司），FA2204B型电子天平（上海精科天美科学仪器有限公司），Q-Exactive型四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪、Ultimate 3000型超高效液相色谱系统[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

甘遂药材（产地河南，批号101179）购自河南江正中药材有限公司，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大戟科植物甘遂*E. kansui* T.N.Liou ex T.P.Wang的干燥块根；乙酸铵（批号BZ300102）、乙腈（批号011-0052）、甲醇（批号007-1623）均购自德国默克公司；水为蒸馏水。

1.3 实验动物

24只雄性SPF级SD大鼠，体质量为（200±20）g，购自长春市亿斯实验动物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（吉）2018-0007，实验动物福利与伦理审查编号为HSDYXY-2021003。大鼠饲养在温度为22 ℃，相对湿度为40%左右，8：00到20：00灯光照明的环境中，标准大鼠饲料喂养，自由饮水，在代谢笼中适应1周之后开始实验。

2 方法

2.1 供试品药液制备

取甘遂药材，按2020年版《中国药典》（四部）醋炙法（通则0213）[5]进行炮制。将甘遂生品和炮制品分别打粉过4号筛，以0.5%羧甲基纤维素钠（CMC-Na）溶液配制成质量浓度为85 mg/mL的药液[2,6]，作为供试品药液。

2.2 实验动物分组、给药及尿液样品采集

取24只大鼠，随机分为3组，每组8只，分别为空白组、生甘遂组、醋甘遂组。空白组大鼠灌胃0.5%CMC-Na溶液，生甘遂组、醋甘遂组大鼠给予相应的供试品药液（850 mg/kg，2020年版《中国药典》中记载甘遂临床生药最大用量的10倍剂量），给药体积均为10 mL/kg，连续给药20 d[7]。第20天收集大鼠12 h尿液，收集后立即离心（12 000 r/min，4 ℃）10 min，分离上清液于－80 ℃冻存，进行分析前室温解冻。

2.3 溶液的制备

2.3.1 供试品溶液 用移液枪准确吸取200 μL尿液，加入800 μL预冷的甲醇-乙腈-水溶液（4∶4∶2，*V*/*V*/*V*），涡旋混合，－20 ℃静置60 min，于4 ℃下14 000 r/min离心20 min，取上清液真空干燥；质谱分析时加入100 μL乙腈-水溶液（1∶1，*V*/*V*）复溶，涡旋，于4 ℃下14 000 r/min离心15 min，取上清液，即得。

2.3.2 质控样本溶液 取空白组、生甘遂组、醋甘遂组样品等量混合后，按“2.3.1”项下方法制备成质控样本溶液。

2.4 UPLC-Q-Exactive-MS分析条件

2.4.1 色谱条件 采用ACQUITY UPLC BEH C_{18}（100 mm×2.1 mm，1.7 μm）为色谱柱，以0.1%甲酸溶液（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～1 min，5%B；1～9 min，5%B→100%B；9～12 min，100%B；12～15 min，100%B→5%B）；柱温为40 ℃；流速为0.3 mL/min；进样体积为5 μL；样品盘温度为4 ℃。

2.4.2 质谱条件 分别采用电喷雾离子源（electron spray ionization，ESI）下正、负离子模式进行检测。ESI条件如下：喷雾气为60 arb，辅助加热气为60 arb，气帘气为30 arb，离子源温度为320 ℃，喷雾电压为±3 500 V（正、负两种模式）；质量扫描范围为80～1 200 Da；子离子分辨率为17 500；一级质谱扫描频率为0.20 spectra/s，子离子扫描频率为0.05 spectra/s；二级质谱采用信息依赖性获取（information-dependent acquisition，IDA）获得，并且采用high sensitivity模式，锥孔电压为±60 V（正、负两种模式），碰撞能量为（35±15）eV，IDA设置为排除4 Da以内的同位素，每个周期监测6个候选离子。

2.5 样品分析

质控样本用于测定仪器状态及平衡色谱-质谱系统，评价整个实验过程中系统稳定性。为避免仪器检测信号波动而造成的影响，采用随机顺序进行样本的连续分析，在样本队列每组样品后插入质控样本，从而监测和评价系统的稳定性及实验数据的可靠性。按照“2.4”项下分析条件进行正、负离子交替模式全扫描。

2.6 数据处理

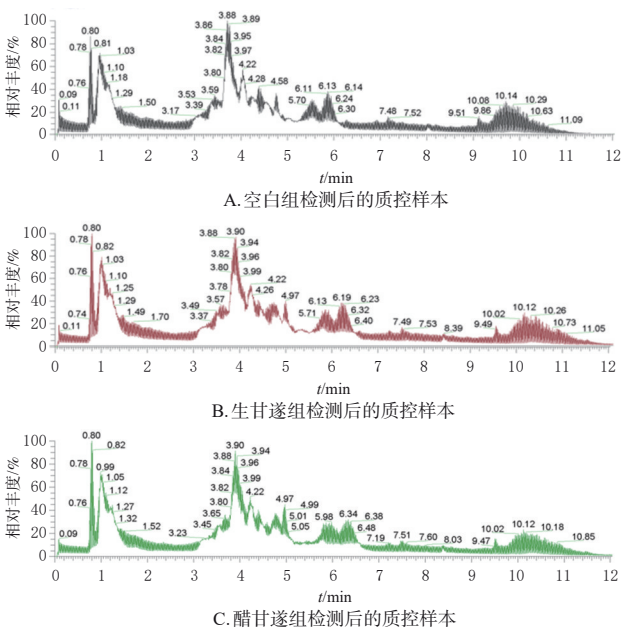
将质谱采集得到的原始数据经过Compound Discoverer 3.0软件进行峰提取、峰对齐、峰校正、标准化等数据前处理。输出由样本名称、谱峰信息（包括保留时间和分子量）及峰面积组成的三维数据矩阵。代谢物结构鉴定采用精确质量数匹配小于25 ppm和二级谱图匹配的方式，检索实验室自建数据库以及BioCyc、HMDB、METLIN、HFMDB、LIPID MAPS等数据库。应用SIMCA-P 14.1软件进行模式识别（Umetrics、Umea、Sweden 3种模式），数据经Pareto-scaling预处理后，进行多维统计分析，包括无监督的主成分分析（principle components analysis，PCA）和有监督的正交偏最小二乘法-判

别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA），从而在同一判别标准下观察不同组别是否呈现各自聚类现象。通过MetaboAnalyst（https://www.metaboanalyst.ca/）对所得差异代谢物进行显著富集通路分析，对甘遂炮制减毒机制潜在靶点进行预测。

3 结果

3.1 系统稳定性评价结果

将3组供试品溶液检测后的质控样本总离子流图（图1）进行比较，结果表明，各色谱峰的响应强度和保留时间基本重叠，说明在整个实验过程中仪器误差引起的变异较小，检测环境相对较稳定。



A.空白组检测后的质控样本

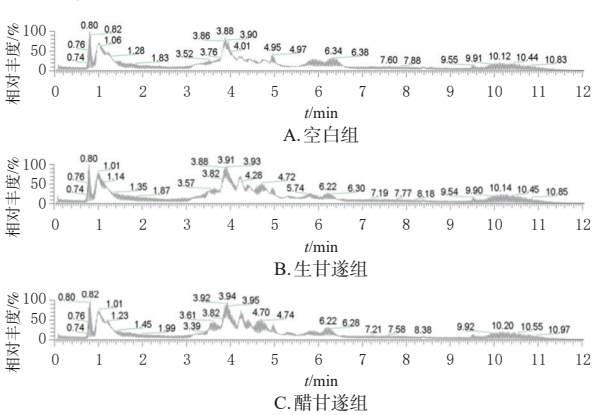
B.生甘遂组检测后的质控样本

C.醋甘遂组检测后的质控样本

图1 3组供试品溶液检测后质控样本的总离子流图

3.2 甘遂醋炙前后对生理状态大鼠尿液代谢轮廓表征的影响

如图2所示，生甘遂组、醋甘遂组和空白组大鼠尿液代谢轮廓有一定差异。



A.空白组

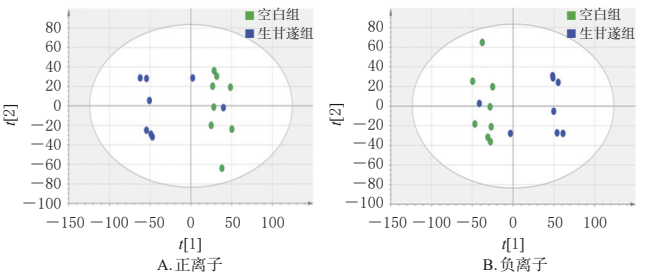
B.生甘遂组

C.醋甘遂组

图2 3组大鼠尿液的总离子流图

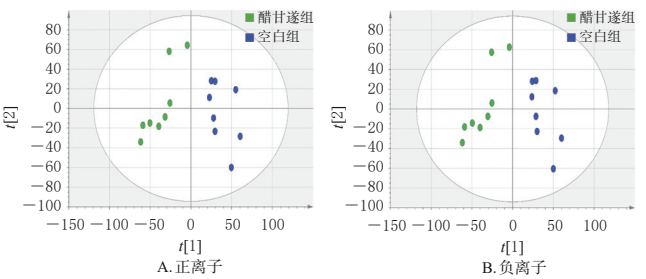
3.3 总体样本的PCA

各组大鼠尿液代谢物离子峰进行数据降维和质谱矩阵信息提取后得到6 364个正离子峰和6 278个负离子峰。将所有实验样本和质控样本提取得到的峰，经Pareto-scaling后进行无监督的PCA，观察聚类分组情况，结果发现生甘遂组、醋甘遂组分别与空白组区分明显，结果见图3、图4。



A.正离子 B.负离子

图3 生甘遂组与空白组对比的正、负离子模式PCA得分图

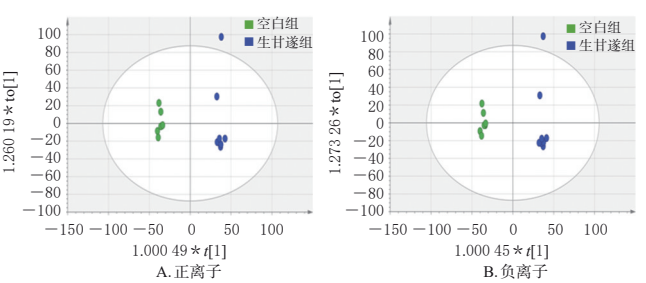


A.正离子 B.负离子

图4 醋甘遂组与空白组对比的正、负离子模式PCA得分图

3.4 总体样本的OPLS-DA

运用OPLS-DA建立代谢物表达量与样品类别之间的关系模型，来实现对样品类别的预测。同时通过计算变量投影重要性（variable importance in projection，VIP）值来衡量各代谢物的表达模式对各组样本分类判别的影响强度和解释能力，从而辅助标志代谢物的筛选（以VIP值＞1作为筛选标准）。如图5、图6所示，可见OPLS-DA能区分生甘遂组、醋甘遂组与空白组样本，正、负离子模式数据建立的OPLS-DA未发生过度拟合。



A.正离子 B.负离子

图5 生甘遂与空白组对比的正、负离子模式OPLS-DA得分图

3.5 生甘遂与空白组尿液中显著性差异代谢物的筛选

以$P<0.05$，VIP值＞1为筛选标准，筛选出组间差异物1 042个，其中与空白组相比，生甘遂组表达量上调的差异物553个，下调的差异物489个。经HMDB数据库比对进一步筛选出与人类代谢密切相关的内源性代谢物20个，以此作为显著性差异代谢物，其中上调的代谢物12个，下调的代谢物8个。结果见表1。

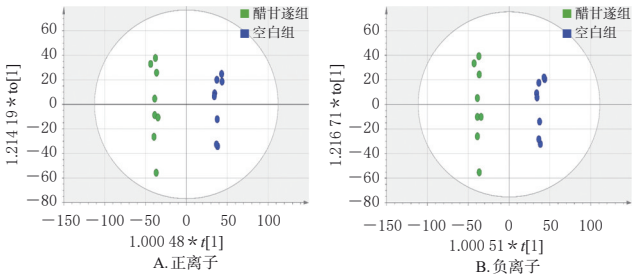


图6　醋甘遂组与空白组对比的正、负离子模式OPLS-DA得分图

表1　生甘遂组与空白组尿液中显著性差异代谢物信息

序号	HMDB号	中文名称	分子量	最大响应值	保留时间/min	*P*值	VIP值	趋势
1	00756	己酰基肉碱	260.349 8	20 206 891.91	4.319	0.000 42	1.664 26	↑3.73
2	00409	(5*R*)-5-羟基己酸	132.157 7	13 852 131.72	4.113	0.002 24	1.488 44	↑3.53
3	00079	二氢胸腺嘧啶	128.131 0	998 803 661.01	6.418	0.017 43	1.201 90	↑1.64
4	00812	*N*-乙酰基-L-天冬氨酸	175.139 4	14 770 844.97	1.045	0.001 88	1.494 46	↑1.65
5	01024	3-磷酸羟基丙酮酸	184.041 4	176 371 856.03	0.982	0.002 11	1.520 60	↓1.32
6	04362	4-羟基壬醛	156.222 1	16 873 528.28	5.431	0.000 49	1.611 78	↑1.70
7	00052	精氨酸琥珀酸	290.273 1	64 713 623.90	3.951	0.007 00	1.382 99	↓3.11
8	04667	13-羟基十八碳二烯酸	296.444 9	40 794 070.87	7.529	0.007 77	1.364 71	↑2.31
9	00752	3-甲基戊二酸	146.141 2	49 418 942.08	3.708	0.037 26	1.105 81	↓1.42
10	00696	L-蛋氨酸	149.211 0	211 062 223.21	1.151	0.008 09	1.357 67	↓1.39
11	01867	4-氨基马尿酸	194.187 3	39 935 607.76	1.393	0.040 82	1.094 41	↓1.31
12	00394	3-羟基十四烷二酸	274.353 2	444 904 553.85	5.214	0.017 94	1.161 87	↑2.02
13	00623	十二烷二酸	230.300 7	52 883 337.94	5.336	0.004 23	1.643 70	↑1.71
14	05923	*N*4-乙酰基胞苷	285.253 3	21 346 827.38	1.886	0.000 29	1.137 69	↑1.30
15	00912	琥珀酰腺苷	383.313 5	58 614 931.42	2.511	0.027 45	1.037 12	↓1.47
16	13286	*N*-十一烷酰甘氨酸	243.342 5	43 793 055.18	5.991	0.001 02	1.348 51	↑1.53
17	04225	2-氧精氨酸	173.169 8	650 685 913.36	1.120	0.024 74	1.201 41	↑1.91
18	13609	D-色氨酸	204.225 2	82 808 500.27	3.840	0.007 31	1.347 88	↑2.96
19	00670	L-高精氨酸	188.227 5	123 314 744.89	1.037	0.019 09	1.229 87	↓1.27
20	05049	10-硝基亚油酸	325.443 0	23 551 380.74	5.404	0.004 09	1.434 81	↓3.12

↑:代谢物表达量上调倍数;↓:代谢物表达量下调倍数

3.6　醋甘遂对生理状态大鼠尿液中目标生物标志物的调节作用

以生甘遂组与空白组比对的具有生物学意义的显著性差异代谢物作为基准,与醋甘遂组中具有显著性差异的代谢物进行比对,发现有10个代谢物出现显著变化,以此为目标生物标志物,其中上调标志物3个,下调标志物7个。结果见表2。

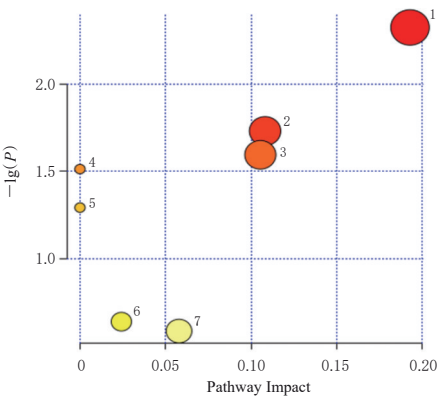
表2　醋甘遂对生理状态大鼠尿液中目标生物标志物的调节作用

序号	HMDB号	中文名称	*P*值	VIP值	趋势
1	00812	*N*-乙酰基-L-天冬氨酸	0.024 84	1.816 12	↓1.37
2	01024	3-磷酸羟基丙酮酸	0.001 53	2.460 60	↓2.35
3	00052	精氨酸琥珀酸	0.026 78	1.357 08	↑1.78
4	00696	L-蛋氨酸	0.010 54	1.670 52	↓1.57
5	00394	3-羟基十四烷二酸	0.035 93	1.113 54	↓1.06
6	00623	十二烷二酸	0.005 08	1.421 96	↓2.03
7	13286	*N*-十一烷酰甘氨酸	0.040 51	1.408 21	↓1.36
8	00670	L-高精氨酸	0.000 14	2.284 63	↑3.05
9	04225	2-氧精氨酸	0.010 17	1.203 11	↓1.09
10	05049	10-硝基亚油酸	0.004 67	2.049 00	↑1.77

↑:代谢物表达量上调倍数;↓:代谢物表达量下调倍数

3.7　目标生物标志物的MetaboAnalyst代谢通路分析

将表2中10个目标生物标志物作为醋甘遂对正常生理状态大鼠尿液代谢发挥主要调节作用的靶点,进行MetaboAnalyst显著富集通路分析(图7),如图显示参与的主要代谢通路分别为精氨酸生物合成,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,半胱氨酸和蛋氨酸代谢,精氨酸和D-鸟氨酸代谢。结果见表3。



1:精氨酸生物合成;2:丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢;3:半胱氨酸和蛋氨酸代谢;4:精氨酸和D-鸟氨酸代谢;5:氨酰-tRNA生物合成;6:甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢;7:精氨酸和脯氨酸代谢

图7　目标生物标志物的代谢通路富集图

表3　目标生物标志物的主要代谢通路分析

序号	通路名称	通路中化合物总数	精确匹配数	*P*值	错误发现率/%	通路影响值
1	精氨酸生物合成	14	2	0.004 751	39.91	0.192 89
2	丙氨酸,天冬氨酸和谷氨酸代谢	28	2	0.018 578	64.34	0.108 17
3	半胱氨酸和蛋氨酸代谢	33	2	0.025 397	64.34	0.105 41
4	精氨酸和D-鸟氨酸代谢	4	1	0.030 639	64.34	0
5	氨酰-tRNA生物合成	48	2	0.050 866	85.45	0
6	甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢	33	1	0.228 310	100	0.024 20
7	精氨酸和脯氨酸代谢	38	1	0.258 390	100	0.057 86

4　讨论

N-乙酰基-L-天冬氨酸是天冬氨酸的衍生物,可充当神经渗透压剂参与大脑液体平衡,在氨基产生能量方面发挥潜在作用。研究发现,长期高水平的*N*-乙酰基-L-天冬氨酸与脑白质海绵状变性综合征有关,并发有机酸血症[8]。由本研究结果可知,*N*-乙酰基-L-天冬氨酸在生甘遂组中代谢水平是空白组的1.65倍,经过醋炙后趋势显著回调。

L-高精氨酸可增加一氧化氮的利用率,从而增强机体内皮功能,发挥与心血管健康相关的积极作用,是一种具有多种生物学功能的强效血管扩张剂[9]。临床数据表明,L-高精氨酸能减少缺血和再灌注损伤造成的损害[10],血清中L-高精氨酸浓度是心血管疾病死亡率的重要预测指标[11]。此外,研究还发现L-高精氨酸与肝硬化和遗传疾病高精氨酸血症有关,在1型糖尿病患者血清中L-高精氨酸水平较低[12]。由本研究结果可知,L-高精氨酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组降低了1.27倍,经醋炙后其代谢水平显著升高,表明甘遂经醋

炙后可能降低诱发心脑血管疾病的潜在风险。

精氨酸琥珀酸可在柠檬酸循环中通过精氨酸琥珀酸酯（argininosuccinate，ASA）裂解酶代谢，ASA裂解酶缺乏表现为高氨血症的倾向，影响ASA通过肾脏排泄速率，且在肝细胞中蓄积而引起一定程度的毒性[13]。由本研究结果可知，精氨酸琥珀酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组降低了3.11倍，经醋炙后其代谢水平趋势显著回调。

L-蛋氨酸是半胱氨酸的代谢前体。急性剂量的蛋氨酸可导致血浆中同型半胱氨酸急剧增加，可作为心血管疾病易感性的指标。对成年人的长期研究表明，当蛋氨酸含量足够高时，可引起动脉粥样硬化和球蛋白水解作用，导致动脉粥样硬化斑块形成和心血管疾病[14]。由本研究结果可知，L-蛋氨酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组降低了1.39倍，经醋炙后其代谢水平趋势进一步降低。

3-磷酸羟基丙酮酸也被称为磷酸羟基丙酮酸，参与多种酶促反应。由本研究结果可知，3-磷酸羟基丙酮酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组降低了1.32倍，经醋炙后其代谢水平趋势进一步降低。

实验分析还发现，甘遂经醋炙后其主要作用途径还与3-羟基十四烷二酸、十二烷二酸、*N*-十一烷酰甘氨酸、10-硝基亚油酸（10-nitrolinoleic acid，LNO2）代谢趋势改变有关。

其中，3-羟基十四烷二酸是一种不常见的3-羟基二羧酸的人代谢产物，在3-羟基二羧酸尿症患者的尿液中检测到高水平的3-羟基十四烷二酸，这是由于泛酸缺乏导致与酒石酸相关的急性中毒，或在应激感染期间，脂肪酸不完全氧化减弱CoA反应而导致的[15]。由本研究结果可知，3-羟基十四烷二酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组升高了2.02倍，经醋炙后其代谢水平趋势显著降低。

十二烷二酸是脂质和碳水化合物代谢途径中出现的物质。尿液中十二烷二酸水平的升高是肝肉碱棕榈酰转移酶Ⅰ缺乏的标志，尿液中十二烷二酸水平升高表现为低酮症性二羧酸尿症，这是由于十二烷二羧酸主要在肝脏中经过氧化物酶体氧化，对线粒体脂肪酸氧化形成负调控，导致脂肪酸分解代谢下调而造成的肝脏脂肪积累，出现明显的脂肪变性[16]。由本研究结果可知，十二烷二酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组升高了1.71倍，经醋炙后其代谢水平显著降低。

N-十一烷酰甘氨酸在各种脂肪酸氧化异常患者的尿液和血液中含量升高[17]。由本研究结果可知，*N*-十一烷酰甘氨酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组升高了1.53倍，经醋炙后其代谢水平显著降低。

2-氧精氨酸在精氨酸血症患者中水平升高。2-氧精氨酸的积累可能在精氨酸血症中引起中枢神经系统损害[17]。此外，高水平的2-氧精氨酸可能与丙烯酰胺神经毒性有关，2-氧精氨酸可作为丙烯酰胺存在的敏感生物标志物，为毒性机制研究提供科学依据[18]。由本研究结果可知，2-氧精氨酸在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组升高了1.91倍，经醋炙后其代谢水平显著降低。

在发生氧化炎症反应时，LNO2能诱导血红素加氧酶-1的表达，表现出多重抗炎细胞信号传导特性[19]。LNO2可预防肿瘤坏死因子α刺激的人脐静脉内皮细胞炎症和动脉粥样硬化反应，可抑制肿瘤坏死因子α刺激白细胞介素6、白细胞介素8、白介素12 p40、γ干扰素、单核细胞趋化蛋白-1和干扰素诱导蛋白-10细胞因子的释放[20]。由本研究结果可知，LNO2在生甘遂组大鼠尿液中代谢水平较空白组降低了3.12倍，经醋炙后其代谢水平显著升高。

综上所述，甘遂经过醋炙后，可发挥多靶点、多趋势、多途径的减毒作用，其作用机制主要通过降低*N*-乙酰基-L-天冬氨酸水平缓解神经毒性，通过升高L-高精氨酸水平对心脑血管系统发挥保护作用，通过升高LNO2、降低*N*-十一烷酰甘氨酸的水平，对炎性反应的激活有抑制作用等。生甘遂对正常生理状态大鼠尿液代谢中生物标志物存在明显的干预作用，经醋炙后其对机体神经系统、心脑血管系统、免疫系统及能量代谢等方面的不利因素有明显改善，其发挥减毒机制的最集中相关代谢通路为精氨酸生物合成。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[S].2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：89.

[2] JIANG D J，KANG A，YAO W F，et al. *Euphorbia kansui* fry-baked with vinegar modulates gut microbiota and reduces intestinal toxicity in rats[J]. J Ethnopharmacol，2018，226：26-35.

[3] ZHANG Q，LI Z L，ZHANG Y，et al. Effect of the vinegar-process on chemical compositions and biological activities of *Euphorbia kansui*：a review[J]. J Ethnopharmacol，2020，252：112557.

[4] GIKA H G，THEODORIDIS G A，PLUMB R S，et al. Current practice of liquid chromatography-mass spectrometry in metabolomics and metabonomics[J]. J Pharm Biomed Anal，2014，87：12-25.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：四部[S]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：31.

[6] 郭思嘉，姜东京，张丽. 醋甘遂成分群B，C对正常大鼠粪便代谢组学的研究[J]. 中国中药杂志，2020，45(6)：1452-1459.

[7] TANG B W，DING J J，WU F H，et al. ^{1}H NMR-based metabonomics study of the urinary biochemical changes in Kansui treated rat[J]. J Ethnopharmacol，2012，141(1)：134-142.

[8] SOHN J，BANNERMAN P，GUO F Z，et al. Suppressing N-acetyl-L-aspartate synthesis prevents loss of neurons in a murine model of canavan leukodystrophy[J]. J

Neurosci, 2017, 37(2): 413-421.
[9] HANUSCH B, SINNINGEN K, BRINKMANN F, et al. Characterization of the L-arginine/nitric oxide pathway and oxidative stress in pediatric patients with atopic diseases[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4): 2136.
[10] FINOTTI M, BARAHONA M, MAINA R M, et al. L-arginine prevents ischemic injury in explanted rat intestinal regions in an *ex vivo* perfusion model[J]. Transplant Rep, 2022, 7(2): 100096.
[11] PORRO B, ELIGINI S, CONTE E, et al. An optimized MRM-based workflow of the L-arginine/nitric oxide pathway metabolites revealed disease- and sex-related differences in the cardiovascular field[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1136.
[12] 张进, 韦丽, 张建军. 1型糖尿病患者血清L-高精氨酸和不对称性二甲基精氨酸水平变化及其与心血管疾病的关系研究[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2015, 23(9): 18-21.
[13] BIGOT A, TCHAN M C, THOREAU B, et al. Liver involvement in urea cycle disorders: a review of the literature[J]. J Inherit Metab Dis, 2017, 40(6): 757-769.
[14] ESSE R, BARROSO M, TAVARES DE ALMEIDA I, et al. The contribution of homocysteine metabolism disruption to endothelial dysfunction: state-of-the-art[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(4): 867.
[15] DURAN M, WANDERS R J, DE JAGER J P, et al. 3-Hydroxydicarboxylic aciduria due to long-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency associated with sudden neonatal death: protective effect of medium-chain triglyceride treatment[J]. Eur J Pediatr, 1991, 150(3): 190-195.
[16] 商琳. 二羧酸对大鼠肝脏脂肪酸代谢的影响及机制[D]. 湘潭: 湖南科技大学, 2020.
[17] PALANDRI A, BONNET L V, FARIAS M G, et al. Ablation of arginyl-tRNA-protein transferase in oligodendrocytes impairs central nervous system myelination[J]. Glia, 2022, 70(2): 303-320.
[18] WANG S Y, WANG Y, JIN X W, et al. A urinary metabolomics study of rats after the exposure to acrylamide by ultra performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. Mol Biosyst, 2015, 11(4): 1146-1155.
[19] WRIGHT M M, SCHOPFER F J, BAKER P R, et al. Fatty acid transduction of nitric oxide signaling: nitrolinoleic acid potently activates endothelial heme oxygenase 1 expression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103(11): 4299-4304.
[20] HWANG J, LEE K E, LIM J Y, et al. Nitrated fatty acids prevent TNFα -stimulated inflammatory and atherogenic responses in endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 387(4): 633-640.

（收稿日期：2022-08-24　修回日期：2023-01-02）
（编辑：曾海蓉）

（上接第422页）

参考文献

[1] CUI Z H, QIN S S, ZANG E H, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) kudo: a review[J]. RSC Adv, 2020, 10(19): 11463-11474.
[2] 刘星雨, 周敏, 孙体健. 天然黄酮类化合物的药理活性及分离提取[J]. 中国药物与临床, 2014, 14(5): 621-624.
[3] 潘正, 向浏欣, 刘圣蓉, 等. 独一味化学成分的研究[J]. 中成药, 2018, 40(3): 629-632.
[4] 郑亚男, 杜文杰, 尹雪霏, 等. 独一味不同有效部位抗炎镇痛作用比较[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(2): 282-284.
[5] JIANG Y B, ZHONG M, LONG F, et al. Network pharmacology-based prediction of active ingredients and mechanisms of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) kudo against rheumatoid arthritis[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1435.
[6] HOU Y N, WU J C, HUANG Q, et al. Luteolin inhibits proliferation and affects the function of stimulated rat synovial fibroblasts[J]. Cell Biol Int, 2009, 33(2): 135-147.
[7] 张燕飞, 陈瑞鑫, 袁茂华, 等. 藏药独一味抗类风湿关节炎的作用及其药效物质基础研究[J]. 中国药房, 2021, 32(5): 578-583.
[8] 张泉龙, 邱建国, 李茂星, 等. 独一味环烯醚萜苷外用止血作用研究[J]. 医药导报, 2011, 30(7): 877-879.
[9] 桑育黎, 郝延军, 陈沉, 等. 独一味镇痛止血有效部位的研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(5): 1126-1127.
[10] 邱建国, 张泉龙, 李茂星, 等. 独一味不同提取物中总环烯醚萜苷、总黄酮和总苯乙醇苷的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(23): 119-124.
[11] 匡海学. 中药化学[M]. 3版. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 135.
[12] 李军茂, 何明珍, 冯育林, 等. 木犀草素及木犀草苷在大鼠体内的代谢研究[J]. 中药新药与临床药理, 2017, 28(1): 61-68.
[13] 龚伟伟, 罗光明, 秦倩, 等. 茶芎HPLC指纹图谱的建立及差异性成分的含量测定[J]. 中国药房, 2022, 33(16): 1968-1973.
[14] 王永, 王世华, 安军永, 等. 大孔树脂分离纯化独一味总黄酮的工艺研究[J]. 中国药业, 2012, 21(5): 25-27.
[15] 冯爱博, 杨光, 贺亮, 等. 聚酰胺树脂纯化竹壳类黄酮工艺的研究[J]. 工业微生物, 2019, 49(3): 27-32.
[16] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第65(2)卷[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 480.

（收稿日期：2022-07-14　修回日期：2022-12-23）
（编辑：曾海蓉）