# 大蓟提取物改善高胆固醇血症模型小鼠的代谢组学研究Δ

高梦梦[1*]，陈桢琳[1]，郝雅坤[2]，郭　姣[1#]（1.广东药科大学中医药研究院/广东省代谢病中西医结合研究中心/糖脂代谢病教育部重点实验室/广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室，广州　510006；2.广东药科大学中药学院，广州　510006）

**中图分类号**　R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）13-1590-06
**DOI**　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.13.09

**摘　要　目的**　基于代谢组学技术探究大蓟提取物改善高胆固醇血症的作用机制。**方法**　以大孔树脂吸附法制备大蓟提取物，并利用液相色谱-质谱联用仪鉴定其主要成分。实验小鼠先随机分为对照组（$n$=6）和造模组（$n$=16），造模组小鼠采用饮食诱导建立高胆固醇血症模型，造模成功后，再将造模组小鼠分为模型组（$n$=8）及大蓟提取物组（$n$=8）。大蓟提取物组小鼠灌胃大蓟提取物400 mg/（kg·d）（以提取物计），其余2组小鼠灌胃等体积0.3%羧甲基纤维素钠溶液，持续6周。给药结束后，以血清总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）水平和肝脏组织病理变化评价大蓟提取物的干预效果，并通过代谢组学方法探讨大蓟提取物改善高胆固醇血症模型小鼠的相关机制。**结果**　从大蓟提取物中共鉴定出绿原酸、蒙花苷、柳穿鱼叶苷等12种成分。给药6周后，与对照组比较，模型组小鼠血清中TC水平显著升高、TG水平显著降低（$P$<0.05），肝脏组织出现大量脂滴，肝细胞排列紊乱，肝索结构被破坏。与模型组比较，大蓟提取物组小鼠血清中TC水平显著下降（$P$<0.05）；肝脏组织中的脂滴明显减少，肝细胞以中央静脉为中心呈放射状紧密排列，肝索排列整齐。代谢组学研究显示，大蓟提取物干预后，乙醇胺、富马酸、胆固醇等代谢产物水平发生显著回调；最终得到丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢、精氨酸生物合成、柠檬酸循环3条代谢通路。**结论**　大蓟提取物的成分主要是酚酸类和黄酮类，如绿原酸、蒙花苷、柳穿鱼叶苷等；大蓟提取物可能通过调节差异代谢物的含量及分布，以及调节丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢、精氨酸生物合成、柠檬酸循环3条主要的差异代谢通路，参与氧化还原反应、改善肝脏脂质蓄积、发挥抗炎作用，从而改善高胆固醇血症。

**关键词**　大蓟提取物；代谢组学；高胆固醇血症；代谢通路

## Metabolomics study on improvement effects of *Cirsium japonicum* extract on hypercholesterolemia model mice

GAO Mengmeng[1], CHEN Zhenlin[1], HAO Yakun[2], GUO Jiao[1] (1. Institute of Traditional Chinese Medicine/Guangdong Metabolic Diseases Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine/Key Laboratory of Glucolipid Metabolism Disease/Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Prevention and Treatment of Metabolic Diseases of Guangdong Province, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, 510006, China)

**ABSTRACT　OBJECTIVE** To explore the mechanism of *Cirsium japonicum* extract in improving hypercholesterolemia based on metabolomics technology. **METHODS** The extract of *C. japonicum* was prepared by macroporous resin adsorption, and its main components were identified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The experimental mice were randomly divided into control group ($n$=6) and modeling group ($n$=16). The hypercholesterolemia model was induced by diet in modeling group; after modeling, the rats of modeling group were divided into model group ($n$=8) and *C. japonicum* extract group ($n$=8). *C. japonicum* extract group was given *C. japonicum* extract 400 mg/(kg·d) by gavage (calculated by extract), and other 2 groups were given constant volume of 0.3% sodium carboxymethyl cellulose solution, for 6 weeks. After medication, the intervention effect of *C. japonicum* extract was evaluated by the levels of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and the histopathological changes of liver. The mechanism of *C. japonicum* extract in improving hypercholesterolemia model mice was investigated by metabolomics. **RESULTS** It was identified that *C. japonicum* extract contained 12 components, such as chlorogenic acid, linarin and pectolinarin. After 6 weeks of intervention, compared with control group, serum level of TC was increased significantly while the level of TG was decreased significantly in model group ($P$<0.05), while a

Δ **基金项目** 广东省基础与应用基础研究重大项目（No.2019B-030302005）

＊ **第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药效评价与应用。E-mail：17754074273@163.com

＃ **通信作者** 教授，博士生导师，博士。研究方向：中西医结合防治糖脂代谢病。E-mail：gyguoyz@163.com

large number of lipid droplets, disorderly arrangement of liver cells and the damaged structure of liver cord were observed in liver tissue. Compared with model group, the serum level of TC was decreased significantly in *C. japonicum* extract group ($P<0.05$); the lipid droplets in liver tissue were significantly reduced, with liver cells arranged radially and tightly centered around the central vein, and liver cords arranged neatly. The metabolomics study showed that after the intervention of *C. japonicum* extract, the levels of metabolites were significantly adjusted back, such as ethanolamine, fumaric acid and cholesterol; finally, three metabolism pathways, such as alanine-aspartate-glutamic acid metabolism, arginine biosynthesis, citric acid cycle, were obtained. **CONCLUSIONS** The main components of *C. japonicum* extract are phenolic acids and flavonoids, such as chlorogenic acid, linarin, pectolinarin. *C. japonicum* extract can improve hypercholesterolemia by regulating the contents and distribution of differential metabolites, adjusting alanine-aspartate-glutamic acid metabolism, arginine biosynthesis and citric acid cycle, participating in oxidation-reduction reaction, improving liver lipid accumulation, and playing anti-inflammatory role.
**KEYWORDS** *Cirsium japonicum* extract; metabolomics; hypercholesterolemia; metabolism pathway

随着经济的不断发展和人民生活水平的日益提高，高胆固醇血症的发病率不断攀升。高胆固醇血症作为心血管疾病发生和死亡的重要风险因素，对其防治尤为重要[1]。高胆固醇血症是多种原因导致的脂代谢异常，表现为血清胆固醇水平升高，临床常用的治疗药物有靶向降低血清胆固醇的他汀类、胆固醇吸收抑制剂、普罗布考等化学药，但是不良反应较多[1]。有研究显示，中药脂必泰和复方贞术调脂胶囊（Fufang zhenzhu tiaozhi capsules，FTZ）对降低血清胆固醇具有很好的疗效，且不良反应少[2-3]。中药本身由于毒性小，降脂效果显著，易于长期服用等特点，被广泛用于高胆固醇血症的治疗和预防[4]，可见开发防治高胆固醇血症的中药具有重要价值。

大蓟为FTZ的组方药材之一，是菊科植物蓟 *Cirsium japonicum* Fisch. ex DC.的干燥地上部分，具有凉血止血、散瘀解毒消痈的功效[5]。现代药理学研究表明，大蓟具有降低实验动物血脂、保护肝脏的作用[6]。化学成分是中药发挥药效作用的物质基础，研究表明，酚酸类、黄酮类等成分具有较好的降脂、保肝作用[7-8]。本研究采用大孔树脂吸附法对大蓟成分进行富集，通过液相色谱-质谱联用仪分析大蓟提取物的化学成分，然后通过代谢组学方法探讨大蓟提取物改善高胆固醇血症模型小鼠的相关机制，以期为大蓟防治高胆固醇血症提供实验证据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

7890B-5977B型气相色谱-质谱联用仪、6545 Q-TOF LC-MS型液相色谱-质谱联用仪购自美国Agilent公司；Spectrum Max i3x型多功能酶标仪购自美谷分子仪器（上海）有限公司；5804R型低温高速离心机购自德国Eppendorf公司；DP74型显微镜购自日本Olympus公司。

### 1.2 主要药品与试剂

大蓟饮片（批号201027）购自安徽广和中药股份有限公司，经广东药科大学药用植物与生药学系李钟教授鉴定为菊科植物蓟 *C. japonicum* Fisch. ex DC.的干燥地上部分。D101大孔吸附树脂（批号20200417）购自英德市东鸿化工科技有限公司；乙腈（质谱级，批号C14082391）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；总胆固醇（total cholesterol，TC）和甘油三酯（triglyceride，TG）检测试剂盒（批号均为20211119）购自南京建成生物工程研究所；甲醇（色谱纯，批号WXBD5859V）购自美国Sigma公司；十九烷酸（批号FCVRF-FH）购自东京化成工业株式会社；*O*-甲基羟胺盐酸盐（批号G2116130）、甲氧胺吡啶（批号LD80U120）、*N*，*O*-双（三甲基硅烷基）三氟乙酰胺（BSTFA，批号2028061）购自北京百灵威科技有限公司；高脂饲料（批号TP26304，含0.2%胆固醇）购自南通特洛菲饲料科技有限公司；果葡糖浆（批号F55）购自广东双桥股份有限公司。

### 1.3 实验动物

本研究所用动物为SPF级雄性6周龄C57BL/6J小鼠，共22只，体质量18～20 g，由广东省医学实验动物中心提供，动物生产许可证号为SCXK（粤）2018-0002。小鼠饲养于广东药科大学实验动物中心，动物使用许可证号为SYXK（粤）2017-0125。饲养环境温度为20～25 ℃、相对湿度为40%～70%、12 h/12 h间断照明，并定期对鼠笼和垫料进行更换。饲养期间小鼠自由进食、饮水。本研究方案经广东动物实验伦理委员会批准后实施，伦理编号为gdpulacspf2017459。

## 2 方法

### 2.1 大蓟提取物的制备

参考文献[7]方法制备大蓟提取物。取大蓟饮片1 kg，加水20 L，煎煮2 h后趁热过滤；重复煎煮1次，合并2次滤液并浓缩。用预处理好的D101型大孔吸附树脂室温静置吸附大蓟水提液24 h，用2倍量纯水室温洗脱，再用2倍量95%乙醇室温静置解离吸附2 h，收集95%乙醇解离吸附液。再重复2次，合并95%乙醇解离吸附液，浓缩，冻干，即得大蓟提取物，得率为3.28%。

### 2.2 大蓟提取物的成分分析

本研究在文献[8]的基础上稍作修改后进行大蓟提取物的成分分析。称取5 mg大蓟提取物，用50%甲醇定容至25 mL，过0.22 μm微孔滤膜，收集滤液，即得大蓟提取物样品溶液。采用液相色谱-质谱联用仪进行成

分分析。色谱条件：采用Agilent ZORBAX RRHDSB-$C_{18}$（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）色谱柱，以0.05%甲酸溶液（A）-乙腈（B）为流动相进行梯度洗脱（0～4 min，95%A→90%A；4～10 min，90%A→88%A；10～11 min，88%A；11～16 min，88%A→75%A；16～30 min，75%A→5%A；30～33 min，5%A→95%A）；流速为0.3 mL/min；柱温为30 ℃，进样量为1 μL。质谱条件：采用Dual AJS电喷雾离子源（ESI），在正、负离子模式下检测；干燥气温度为320 ℃，流速为8 mL/min；雾化器压力为35 psi；鞘气温度为350 ℃，流速为11 mL/min；毛细管电压为4 000 V；喷嘴电压为1 000 V；碰撞能量为10 eV；扫描范围为质荷比（*m/z*）50～1 200；离子源温度为150 ℃。

### 2.3 分组、造模与给药

将22只小鼠适应性喂养1周后，按照体质量分为对照组（$n$=6）、造模组（$n$=16）。对照组小鼠给予普通饲料，自由饮水（纯水）；造模组小鼠给予高脂饲料，自由饮水（浓度为12.5%的果葡糖浆），建立小鼠高胆固醇血症模型[9]。造模10周后，眼眶取血，制备血清，测定血清中TC水平，若对照组和造模组小鼠血清中TC水平差异有统计学意义（$P$<0.05），表示造模成功[9]。造模成功后，造模组小鼠根据血清TC水平、体质量均衡随机分组，进一步分成模型组（$n$=8）和大蓟提取物组（$n$=8）。大蓟提取物组小鼠灌胃400 mg/（kg·d）大蓟提取物（给药剂量参考文献[10]，并结合课题组前期相关研究设定，以提取物计），对照组和模型组小鼠同时给予等体积0.3%羧甲基纤维素钠溶液。所有小鼠每日上午同一时间灌胃给药1次，连续给药6周。

### 2.4 样本采集与处理

末次给药后，小鼠禁食12 h，采用乙醚麻醉小鼠后眼眶取血。血液在室温静置2 h后，以3 500 r/min离心10 min，取上清液，于－80 ℃冰箱中保存。将小鼠处死，快速分离肝脏组织，取小块肝左外叶置于包埋盒中，在4%多聚甲醛中固定24～48 h用于后续实验。

### 2.5 血清生化指标测定及肝脏组织病理分析

取“2.4”项下血清，按照对应试剂盒方法测定血清中TC、TG水平。取“2.4”项下肝脏组织，常规制备石蜡切片（厚度4 μm）后进行苏木素-伊红染色，中性树胶封片，最后在显微镜下观察小鼠肝脏组织病理变化。

### 2.6 血清代谢组学研究

#### 2.6.1 血清样本前处理

血清代谢组学研究的样本前处理方法参考文献[11]。取小鼠血清20 μL，精密加入质量浓度为1 mg/mL的十九烷酸甲醇溶液10 μL，再加入水-甲醇-氯仿溶液（2∶5∶2，*V*/*V*/*V*）250 μL，涡旋混匀后在4 ℃下孵育20 min，然后再在室温下以14 000 r/min离心15 min，取上清液200 μL，置于玻璃微量反应瓶中，室温下氮气吹干。加入15 mg/mL的甲氧胺吡啶溶液80 μL，37 ℃孵育90 min。加入BSTFA 80 μL，70 ℃下孵育60 min，冷却至室温后，即可进样。

#### 2.6.2 气相色谱-质谱分析条件

采用气相色谱-质谱联用仪对经前处理的血清样本进行数据采集，血清代谢组学气相色谱-质谱分析条件见参考文献[11]。

#### 2.6.3 数据处理与分析

采用Agilent Masshunter Qualititative Analysis B.07.00和NIST 14.0化学数据库对采集所得的质谱数据进行定性分析，再将定性数据结果导入SIMCA-P 14.1软件进行主成分分析（principal component analysis，PCA）、正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA）和置换检验分析。根据变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）＞1且$P$<0.05筛选差异化合物[12]，然后结合人类代谢组数据库（HMDB，https://hmdb.ca）确证差异代谢物，并将差异代谢物导入HMDB数据库进行化学分类及所处细胞位置分类。利用MetaboAnalyst 5.0数据库对已鉴定的差异代谢物进行通路富集分析，以$P$<0.05作为筛选条件得到相关的信号通路。

### 2.7 统计学、作图与制表方法

采用SPSS 20.0、Graphpad Prism 8.0软件进行数据统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-$t$检验。检验水准$\alpha$=0.05。使用Graphpad Prism 8.0、Adobe Illustrator 2022软件作图，使用Excel 2019软件制表。

## 3 结果

### 3.1 大蓟提取物的成分分析结果

本研究共鉴定出大蓟提取物的12种成分（见表1）。由结果可知，大蓟提取物中主要是酚酸类和黄酮类成分，如绿原酸、蒙花苷和柳穿鱼叶苷等。

**表1 大蓟提取物成分鉴定结果**

| 序号 | 保留时间/min | 分子量 | 准分子离子峰（*m/z*） | 主要碎片离子（*m/z*） | 鉴定化合物 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.073 | 154 | 153.046 8[M-H]$^-$ | 137.017 9、109.024 5 | 原儿茶酸[13] |
| 2 | 3.526 | 354 | 353.074 1[M-H]$^-$ | 191.047 2、179.026 7、135.038 8 | 绿原酸[14] |
| 3 | 3.532 | 354 | 353.077 1[M-H]$^-$ | 191.047 0 | 新绿原酸[14] |
| 4 | 3.559 | 354 | 353.076 0[M-H]$^-$ | 191.047 5、179.026 5、173.037 5、161.016 9、135.038 8 | 隐绿原酸[15] |
| 5 | 6.003 | 286 | 287.175 5[M+H]$^+$ | 259.139 9、230.115 6 | 木犀草素[16] |
| 6 | 12.359 | 593 | 593.185 2[M+H]$^+$ | 447.126 9、285.074 2 | 蒙花苷[16] |
| 7 | 12.878 | 623 | 623.201 0[M+H]$^+$ | 477.138 1、315.086 1 | 柳穿鱼叶苷[16] |
| 8 | 14.612 | 314 | 315.087 0[M+H]$^+$ | 300.061 4、285.074 2 | 柳穿鱼黄素[16] |
| 9 | 16.346 | 270 | 271.058 3[M+H]$^+$ | 235.166 5、211.131 3 | 芹菜素[17] |
| 10 | 17.288 | 300 | 301.068 6[M+H]$^+$ | 286.045 4、258.050 2 | 香叶木素[16] |
| 11 | 18.428 | 180 | 181.120 8[M+H]$^+$ | 163.110 3、135.115 5、107.084 1、91.053 0 | 咖啡酸[15] |
| 12 | 19.496 | 284 | 285.074 2[M+H]$^+$ | 270.050 6、242.055 9 | 金合欢素[16] |

### 3.2 血清生化指标检测及肝脏组织病理学变化结果

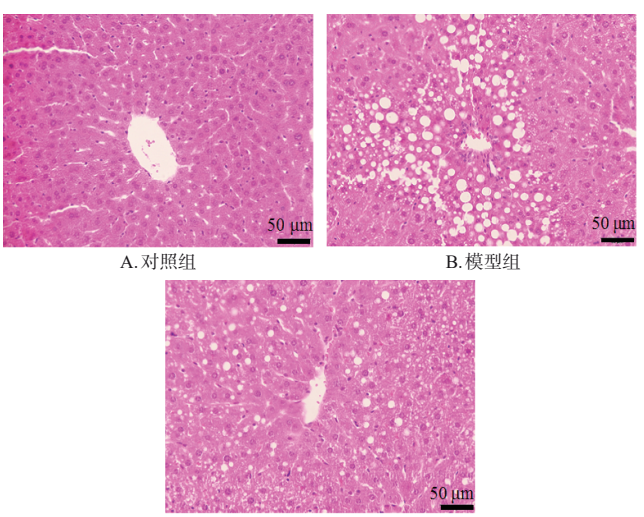
与对照组比较，模型组小鼠血清中TC水平显著升高、TG水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，大蓟提取物组小鼠血清中TC水平显著下降（$P<0.05$）。结果见表2。

**表2 各组小鼠给药6周后血清TC、TG水平比较（$\bar{x}\pm s$，mmoL/L）**

| 组别 | $n$ | TC | TG |
|---|---|---|---|
| 对照组 | 6 | 3.37±0.23 | 1.18±0.37 |
| 模型组 | 8 | 4.68±0.69[a] | 0.69±0.19[a] |
| 大蓟提取物组 | 8 | 3.91±0.39[b] | 0.79±0.08 |

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$。

对照组小鼠肝脏组织肝小叶结构正常，肝细胞以中央静脉为核心呈放射状排列，大小均一，肝索排列整齐；模型组小鼠肝脏组织出现大量脂滴，中央静脉周围的肝细胞脂肪变性，肝细胞内充满小而密集的脂泡，有的融合成更大的脂滴，可见少许炎症细胞浸润，细胞间界限模糊，肝窦变窄；大蓟提取物组小鼠肝脏组织脂泡明显减少，肝细胞以中央静脉为中心呈放射状紧密排列，肝索排列整齐。结果见图1。




A. 对照组　B. 模型组

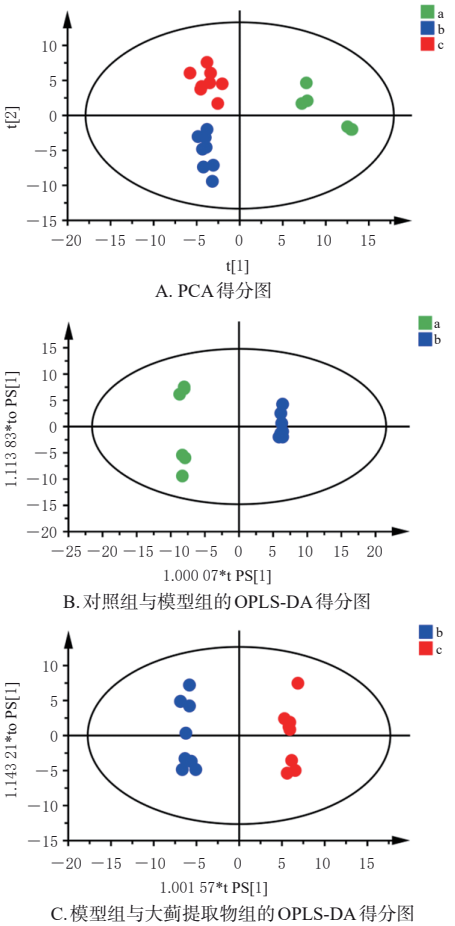
C. 大蓟提取物组

**图1 各组小鼠肝脏组织病理形态观察显微图（HE染色）**

### 3.3 血清代谢组学研究结果

#### 3.3.1 各组样本的多元统计分析结果

PCA结果显示，3组样本的代谢表型具有明显的区分，说明3组小鼠的血清代谢存在明显差异（图2A）。OPLS-DA结果显示，对照组和模型组代谢轮廓区分明显，模型组与大蓟提取物组的代谢轮廓分离更加明显（图2B、图2C）。其中对照组和模型组的$R^2X$（表示所建模型对$X$轴的解释率）、$R^2Y$（表示所建模型对$Y$轴的解释率）、$Q^2$（表示模型的预测能力）值分别为0.473、0.999、0.943；模型组和大蓟提取物组的$R^2X$、$R^2Y$、$Q^2$值分别为0.291、0.993、0.861。经过200次迭代的置换检验，结果显示，所有左侧蓝色$Q^2$值均低于最右的原始点，$Q^2$纵坐标截距小于0，表明模型未产生过拟合，模型可靠。




A. PCA得分图

B. 对照组与模型组的OPLS-DA得分图

C. 模型组与大蓟提取物组的OPLS-DA得分图

注：a、b、c分别代表对照组、模型组和大蓟提取物组。

**图2 各组小鼠血清多元统计分析图**

#### 3.3.2 差异代谢物的指认结果

PCA、OPLS-DA多元统计分析结果显示，模型组和大蓟提取物组之间筛选出15个差异代谢物，结果见表3。其中，与模型组比较，大蓟提取物组正丁胺、2,3-二羟基丁酸、5,8,11-二十碳三烯酸、焦谷氨酸、赤藓糖酸、胆固醇相对含量显著降低（$P<0.05$），且回调至与对照组一致的水平；乙醇胺、富马酸、柠檬酸、脱氢松香酸、硬脂酸相对含量显著升高（$P<0.05$），且回调至与对照组一致的水平；而L-丙氨酸、尿素、2,3,4,5-四羟基己醛、D-葡萄糖虽相对含量显著升高/降低（$P<0.05$），但均未回调至与对照组一致的水平。

#### 3.3.3 模型组和大蓟提取物组差异代谢物的分类

采用HMDB数据库对模型组和大蓟提取物组小鼠差异代谢物进行归类后发现，33%的差异代谢物属于有机酸及其衍生物类，其中脂类和脂质类似物、有机氧化合物占比均为27%，有机氮化合物占比为13%。这些差异代谢物分布在细胞质（27%）、细胞外液（22%）、线粒体（11%）、膜结构（8%）、溶酶体（8%）、高尔基体（5%）、内质网（5%）、过氧化氢酶体（3%）及其他部位。

表3　大蓟提取物组与模型组小鼠血清差异代谢物

| 序号 | 保留时间/min | 化合物中文名称 | 化合物英文名称 | VIP值 | *P* | 趋势 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 13.982 | L-丙氨酸 | L-alanine | 1.896 4 | 0.000 2 | ↑ |
| 2 | 14.595 | 乙醇胺 | ethanolamine | 1.474 2 | 0.007 3 | ↑ |
| 3 | 16.178 | 正丁胺 | *n*-butylamine | 1.750 0 | 0.000 6 | ↓ |
| 4 | 16.541 | 尿素 | urea | 1.314 4 | 0.024 6 | ↑ |
| 5 | 18.430 | 富马酸 | fumaric acid | 1.366 3 | 0.027 1 | ↑ |
| 6 | 18.555 | 2,3-二羟基丁酸 | 2,3-dihydroxybutanoic acid | 1.384 4 | 0.008 5 | ↓ |
| 7 | 20.851 | 5,8,11-二十碳三烯酸 | 5,8,11-eicosatriynoic acid | 1.190 6 | 0.033 2 | ↓ |
| 8 | 21.870 | 焦谷氨酸 | pyroglutamic acid | 1.601 8 | 0.002 0 | ↓ |
| 9 | 23.259 | 赤藓糖酸 | erythronic acid | 1.180 1 | 0.044 0 | ↓ |
| 10 | 26.643 | 2,3,4,5-四羟基己醛 | 2,3,4,5-tetrahydroxyhexanal | 1.478 8 | 0.009 7 | ↑ |
| 11 | 27.388 | 柠檬酸 | citric acid | 1.299 0 | 0.033 4 | ↑ |
| 12 | 29.740 | 脱氢松香酸 | dehydroabietic acid | 1.816 5 | 0.000 3 | ↑ |
| 13 | 32.104 | D-葡萄糖 | D-glucose | 1.341 8 | 0.021 0 | ↓ |
| 14 | 35.100 | 硬脂酸 | stearic acid | 1.919 9 | 0.000 1 | ↑ |
| 15 | 41.299 | 胆固醇 | cholesterol | 1.648 9 | 0.001 9 | ↓ |

↑：与模型组比较，大蓟提取物组差异代谢物相对含量显著升高；↓：与模型组比较，大蓟提取物组差异代谢物相对含量显著降低。

### 3.3.4　代谢通路富集分析结果

通路富集分析结果显示，模型组和大蓟提取物组有16条代谢通路，最主要的3条代谢通路分别为丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢（$P$=0.000 4）、精氨酸生物合成（$P$=0.002 6）、柠檬酸循环（$P$=0.005 4）。结果见图3。

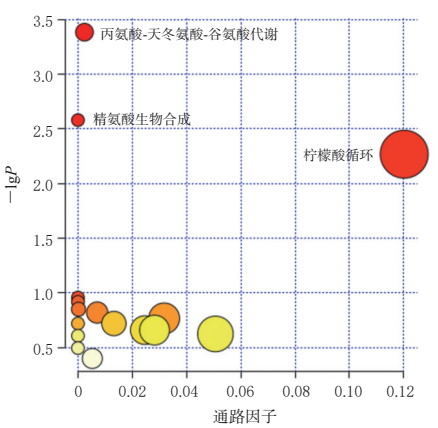



**图3　模型组和大蓟提取物组差异代谢物的代谢通路富集分析图**

## 4　讨论

本研究结果表明，在灌胃大蓟提取物6周之后，大蓟提取物组小鼠血清中TC水平较模型组显著降低，表明大蓟提取物具有较好的降低血清胆固醇的效果。3组小鼠血清中TG水平均处于正常水平，但模型组小鼠血清中TG水平较对照组显著降低，这与鲍和等[18]的研究结论一致。高脂饲料中的胆固醇含量与血清TC水平呈正相关，但与血清TG水平呈负相关，这可能是因为小鼠大量摄入含有胆固醇的高脂饲料，抑制了血清TG的合成[18]。

代谢组学在中医药许多方面展示出了其广阔的应用前景，是系统生物学研究不可缺少的重要部分。本研究采用代谢组学方法对高胆固醇血症小鼠的血清进行代谢组学研究，结果显示，模型组和大蓟提取物组之间的差异代谢物中，富马酸、柠檬酸、胆固醇等差异代谢物的含量及分布被调节。通过代谢通路富集分析可知，主要代谢通路有3条，分别为丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢、精氨酸生物合成、柠檬酸循环。丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢和精氨酸生物合成均属于氨基酸代谢通路，而氨基酸代谢的平衡对于高脂血症的防治具有重要意义。柠檬酸循环是碳水化合物、脂肪和氨基酸的最终共同氧化途径，其是对身体进行能量供应最重要的代谢途径[19]。其中柠檬酸和富马酸被富集到这3条代谢通路上，经过大蓟提取物的干预，两者的相对含量在大蓟提取物组中得以调节。柠檬酸对重金属诱导的氧化应激具有保护作用[20]，大蓟也具有较好的抗氧化作用[11]，表明大蓟提取物有可能是通过改善氧化应激来改善高胆固醇血症的。富马酸除具有抑制炎症的作用外[21]，还具有保护镉诱导的肝毒性大鼠的作用，有助于重建肝功能[22]。本研究中大蓟提取物组小鼠肝脏组织的脂质蓄积有较为明显的改善，表明大蓟提取物可能是通过改善肝脏的一些功能从而达到改善高胆固醇血症的目的。此外，差异代谢物胆固醇的含量在大蓟提取物组中显著降低，这与前文中大蓟提取物组血清TC水平较模型组降低的结果是一致的。乙醇胺在胃肠道内含量丰富，在宿主-微生物和病原体的相互作用中具有更为复杂的作用[23]，这提示大蓟提取物改善高胆固醇血症可能涉及肠道菌群的变化。2,3-二羟基丁酸是一种次级代谢产物，可能是高胆固醇血症的标志物[24]。5,8,11-二十碳三烯酸是一种长链脂肪酸类有机化合物，被广泛用作脂氧合酶抑制剂，脂氧合酶能催化内源性化学物如花生四烯酸的反应并伴有活性氧的产生，而活性氧的产生与高胆固醇血症的发生联系紧密[25]。焦谷氨酸对肝脏具有保护作用，其可以刺激大鼠原代肝细胞的DNA合成[26]。可见，大蓟提取物通过调节以上差异代谢物共同发挥作用，从而改善高胆固醇血症的生化指标及肝脏的脂质蓄积情况。

综上所述，大蓟提取物的成分主要是酚酸类和黄酮类，如绿原酸、蒙花苷、柳穿鱼叶苷等12种；大蓟提取物可能通过调节差异代谢物的含量及分布，以及调节丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢、精氨酸生物合成、柠檬酸循环3条主要的差异代谢通路，参与氧化还原反应、改善肝脏脂质蓄积、发挥抗炎作用，从而改善高胆固醇血症。但是，仍需设计严密的体内外实验进一步验证其机制，从而为大蓟资源的开发提供更加详实的参考。

## 参考文献

[1] 诸骏仁，高润霖，赵水平，等. 中国成人血脂异常防治指南：2016年修订版[J]. 中华心血管病杂志，2016，44(10)：833-853.

[2] XU D Y, SHU J, HUANG Q Y, et al. Evaluation of the lipid lowering ability, anti-inflammatory effects and clinical safety of intensive therapy with Zhibitai, a Chinese traditional medicine[J]. Atherosclerosis, 2010, 211(1): 237-241.
[3] GUO J, BEI W J, HU Y M, et al. A new TCM formula FTZ lowers serum cholesterol by regulating HMG-CoA reductase and CYP7A1 in hyperlipidemic rats[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(2): 299-307.
[4] 田时秋,李依林,裴海鸾,等. 高脂血症发病机制及药物治疗[J]. 生命的化学,2022,42(12):2237-2247.
[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:26.
[6] CHE D N, SHIN J Y, KANG H J, et al. Ameliorative effects of *Cirsium japonicum* extract and main component cirsimaritin in mice model of high-fat diet-induced metabolic dysfunction-associated fatty liver disease[J]. Food Sci Nutr, 2021, 9(11): 6060-6068.
[7] 马勤. 大蓟化学成分及其黄酮类化合物的生物活性研究[D]. 广州:华南理工大学,2019.
[8] SUN Q, CHANG L, REN Y, et al. Simultaneous analysis of 11 main active components in *Cirsium setosum* based on HPLC-ESI-MS/MS and combined with statistical methods [J]. J Sep Sci, 2012, 35(21): 2897-2907.
[9] LI K P, YUAN M, HE Z R, et al. Omics insights into metabolic stress and resilience of rats in response to short-term fructose overfeeding[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(23): e1900773.
[10] 王振平,毕佳,陈忠科. 大蓟水煎剂治疗小鼠高血压的研究[J]. 山东大学学报(理学版),2011,46(7):7-10.
[11] YE Y, CHEN Z, WU Y, et al. Purification process and *in vitro* and *in vivo* bioactivity evaluation of pectolinarin and linarin from *Cirsium japonicum*[J]. Molecules, 2022, 27(24): 8695-8707.
[12] 王泽琨,刘沈林,于小聪,等. 基于血清代谢组学探讨复方枣仁颗粒改善失眠的机制[J]. 中国药房,2023,34(9):1093-1098.
[13] 武宇佳,万浩芳,李畅,等. 基于HPLC-Q-exactive液质联用技术与HPLC的通脉降糖胶囊成分分析及指纹图谱研究[J]. 中草药,2022,53(21):6686-6697.
[14] 陈玮玲,钟培培,王远兴. 青钱柳叶活性成分的抗氧化活性及UPLC-QTOF-MS/MS分析[J]. 食品科学,2017,38(8):122-128.
[15] 兰晓燕,朱龙波,黄显章,等. 艾叶中主要化学成分的鉴定及其含量测定研究[J]. 中草药,2021,52(24):7630-7637.
[16] 孙倩. 基于液质联用技术的大小蓟多组分分析与黄酮类成分的药物代谢动力学研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2013.
[17] 丁健桦,王兴祥,张慧,等. 芹菜素的电喷雾萃取电离串联质谱[J]. 高等学校化学学报,2011,32(8):1714-1719.
[18] 鲍和,张昌龙,苏娅萍,等. 高脂饮食诱导建立小鼠高脂血症模型[J]. 西北药学杂志,2019,34(1):47-51.
[19] AKRAM M. Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 68(3): 475-478.
[20] SONG S, HAN Y, ZHANG Y, et al. Protective role of citric acid against oxidative stress induced by heavy metals in *Caenorhabditis elegans*[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2019, 26(36): 36820-36831.
[21] ROH K B, JUNG E, PARK D, et al. Fumaric acid attenuates the eotaxin-1 expression in TNF-alpha-stimulated fibroblasts by suppressing p38 MAPK-dependent NF-κB signaling [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 58: 423-431.
[22] KAUR G, SHIVANANDAPPA T B, KUMAR M, et al. Fumaric acid protect the cadmium-induced hepatotoxicity in rats: owing to its antioxidant, anti-inflammatory action and aid in recast the liver function[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2020, 393(10): 1911-1920.
[23] ROWLEY C A, ANDERSON C J, KENDALL M M. Ethanolamine influences human commensal *Escherichia coli* growth, gene expression, and competition with enterohemorrhagic *E. coli* O157: H7[J]. mBio, 2018, 9(5): e01429-e01418.
[24] ZENG M, LIANG Y, LI H, et al. Plasma metabolic fingerprinting of childhood obesity by GC/MS in conjunction with multivariate statistical analysis[J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 52(2): 265-272.
[25] KALVEGREN H, BYLIN H, LEANDERSON P, et al. *Chlamydia pneumoniae* induces nitric oxide synthase and lipoxygenase-dependent production of reactive oxygen species in platelets. Effects on oxidation of low density lipoproteins[J]. Thromb Haemost, 2005, 94(2): 327-335.
[26] INOUE S, OKITA Y, DE TOLEDO A, et al. Pyroglutamic acid stimulates DNA synthesis in rat primary hepatocytes through the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2015, 79(5): 795-798.

(收稿日期:2023-02-10 修回日期:2023-05-09)
(编辑:舒安琴)