

# 基于代谢组学技术探究半夏白术天麻汤对正常高值血压痰湿壅盛证大鼠的干预机制

叶建桥<sup>1</sup>, 郭晓庆<sup>1</sup>, 李淑敏<sup>2</sup>, 蒋海强<sup>1,3,4</sup>, 齐冬梅<sup>2,3,4\*</sup>, 齐于辰<sup>5\*</sup>

(1. 山东中医药大学中医药创新研究院, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学实验中心, 山东 济南 250355;  
3. 山东省中医药基础研究重点实验室, 山东 济南 250355; 4. 山东中医药大学, 教育部中医药经典理论重点实验室, 山东 济南 250355; 5. 山东中医药大学健康学院, 山东 济南 250355)

**摘要:** 通过血清代谢组学分析半夏白术天麻汤 (Banxia Baizhu Tianma decoction, BBT) 干预正常高值血压 (prehypertension, PHT) 痰湿壅盛证大鼠血清生物源性物质的变化, 明确BBT的代谢调控途径。复制正常高值血压痰湿壅盛证大鼠模型, 采集大鼠的血压、行为学指标、血清生化指标, 评估BBT的调节血压和血脂的药效, 利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱联用 (UPLC-Q-orbitrap-MS) 代谢组学技术, 测定大鼠血清中内源性小分子物质变化, 寻找潜在的生物标志物。结果显示, BBT可以对其中9个代谢物进行调控, 主要包括花生四烯酸、胆酸、甘脱氧胆酸、*N*-腺苷酪氨酸、精氨酸、溶血磷脂酰乙醇胺 (20:0/0:0)、溶血磷脂 (P-18:0)、溶血磷脂 (18:0)、溶血磷脂 [22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)]。通过MetaboAnalyst进行代谢通路分析, 共有7条代谢通路与大鼠血压的改变密切相关, 其中花生四烯酸代谢通路最为关键。模型大鼠体内代谢差异物有向正常水平回调的趋势, 从代谢组学角度为BBT的作用机制提供了研究依据。本研究已获得山东中医药大学实验动物福利伦理审查委员会批准 (批准号: SDUTCM20211103001)。

**关键词:** 半夏白术天麻汤; 正常高值血压; 痰湿壅盛证大鼠; 代谢组学

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)07-1822-11

## Mechanism of Banxia Baizhu Tianma decoction to prevent the development of prehypertension and excessive phlegm-dampness syndrome in rats based on metabonomics technology

YE Jian-qiao<sup>1</sup>, GUO Xiao-qing<sup>1</sup>, LI Shu-min<sup>2</sup>, JIANG Hai-qiang<sup>1,3,4</sup>, QI Dong-mei<sup>2,3,4\*</sup>, QI Yu-chen<sup>5\*</sup>

(1. Institute of Innovation in Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. Experimental Center, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China;  
3. Shandong Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Basic Research, Jinan 250355, China;  
4. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Classical Theory, Ministry of Education, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 5. Faculty of Health, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China)

**Abstract:** The alterations of serum biological endogenous chemicals in rats with phlegm dampness accumulation syndrome of prehypertension (PHT) were interfered by Banxia Baizhu Tianma decoction (BBT), and the metabolic regulatory pathway of BBT was clarified using serum metabonomics analysis. To replicate the rat

收稿日期: 2022-11-15; 修回日期: 2023-03-12.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81974555).

\*通讯作者 Tel: 15805316081, E-mail: qidm119@163.com;

Tel: 13287011229, E-mail: qiyuchenbzy@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-1216

model of prehypertension phlegm dampness syndrome, blood pressure, behavioral markers, and serum biochemical markers of rats were collected. BBT's effectiveness in controlling blood pressure and blood lipids was assessed, and changes in endogenous small molecules in rat serum were determined using UPLC-Q-Orbitrap MS metabolic analysis. The results showed that BBT could regulate 9 metabolites, including arachidonic acid, cholic acid, glycodeoxycholic acid, *N*-adenosyltyrosine, arginine, lysophosphatidylethanolamine (20:0/0:00), lysophospholipid (P-18:0), lysophospholipid (18:0), lysophospholipid (22:5(7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)). MetaboAnalyst was used to analyze the metabolic pathway. There were 7 metabolic pathways closely related to the change of blood pressure in rats, among which arachidonic acid metabolic pathway was the most critical. The metabolism difference foreign body in the model rats tends to return to the normal level, which provides a research basis for the mechanism of BBT from the perspective of metabonomics. This study was approved by the Experimental Animal Welfare Ethics Review Committee of Shandong University of Traditional Chinese Medicine (approval number: SDUTCM20211103001).

**Key words:** Banxia Baizhu Tianma decoction; prehypertension; phlegm-dampness syndrome; metabonomics

中国约有 4.35 亿人口血压处于正常高值血压 (120~139/80~89 mmHg), 且半数将进展为临床高血压<sup>[1-3]</sup>。课题组前期研究表明, 正常高值血压人群可分为五类: 无症状组、痰湿壅盛证、阴虚阳亢证、肝火炽盛证和肾阳虚证, 其中痰湿壅盛证是 PHT 的主要临床证候, 临床表现有肥胖、呕吐痰涎、头重、口淡、舌体胖、脉象或沉、或细、或弱<sup>[4-6]</sup>。中医认为“肥人多痰湿”, 素日饮食不节, 恣食肥甘厚味或因脾虚致脾运化失常, 水湿停聚, 虚则生痰, 上蒙神窍, 清阳不升, 浊阴不降, 引发血压升高<sup>[7]</sup>。

半夏白术天麻汤源自《医学心悟》是临床治疗痰湿壅盛证高血压的主要方剂, 由半夏、白术、天麻、茯苓、橘红和甘草组成, 具有燥湿化痰、平肝熄风之功、主治风痰眩晕<sup>[8]</sup>。临床研究表明, BBT 可显著提高降压效果, 并能维持患者血压稳定<sup>[9]</sup>, 改善 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 和 IgM、IgG 等免疫指标的表达<sup>[10]</sup>, 血脂控制效果较好<sup>[11]</sup>, 患者眩晕、失眠、头重如裹等中医症状积分明显降低<sup>[12]</sup>。现代药理学研究表明, BBT 可调节血清 NO 浓度和内皮素-1 水平, 通过调节内分泌系统, 改善血管内皮功能而降低血压<sup>[13]</sup>。BBT 可调节肾素-血管紧张素系统各因子 mRNA 的表达, 从而降低动脉压<sup>[14]</sup>。姜月华等<sup>[15]</sup>发现 BBT 通过上调 miRNA-217, 促进内皮细胞增殖, 发挥内皮保护作用。姜玲宇等<sup>[16]</sup>通过蛋白组学技术发现 11 个与细胞形态、氧化应激及能量代谢等有关的差异蛋白可能是 BBT 降压作用靶点。

BBT 的降压机制研究比较全面, 但对于高血压前期的 PHT 阶段, 目前研究尚为不足, 仍需要新角度去研究。代谢组学技术 (metabolomics) 作为系统生物学新技术, 以生物体内代谢产物为研究对象, 从整体角度出发, 研究代谢物与机体生理病理变化之间的关系。课题组前期通过代谢组学发现脂质代谢通路可能是高血压发生发展的主要影响通路<sup>[17]</sup>。为进一步探究 PHT

阶段痰湿壅盛证的代谢机制, 本实验利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱联用 (UPLC-Q-orbitrap-MS) 分析给药前后 PHT 痰湿壅盛证大鼠血清代谢组变化, 探讨差异代谢通路, 明确 BBT 降低痰湿壅盛型正常高值血压的作用机制。利用代谢组学技术从新的角度理解 PHT, 诠释中医证候的内在机制和方证相关作用, 探究 BBT 降血压作用机制, 为其临床应用提供实验依据。

## 材料与方法

**实验动物** 正常雄性 WKY 大鼠 (SPF 级), 体重为 80 ± 10 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [生产许可证号: SCXK (京) 2021-0006], 饲养于山东中医药大学动物实验中心 SPF 级实验室动物, 使用许可证号: SYXK (鲁) 20170022。饲养条件: 温度 22~24 °C, 湿度 45%~65%。本研究已获得山东中医药大学实验动物福利伦理审查委员会批准 (批准号: SDUTCM20211103001)。

**仪器及试剂** BP-2010A 型小鼠智能无创血压仪 (北京软隆生物技术有限公司); SuperMaze 动物行为分析系统、XR-XG201 型大鼠高架十字迷宫、XR-XZ301 型旷场实验系统 (上海欣软信息科技有限公司); 赛默飞 Ultimate3000-Q-Exactive 型高效液相-四级杆-傅里叶变换质谱仪 (静电轨道阱液质联用仪)、Heraeus Biofuge Primo R 型通用台式离心机、乙腈、甲醇、甲酸 (试剂批号: 203023、172010、186935, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); URIT-8026 型全自动生化分析仪、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 测定试剂盒 (试剂批号: 22010322 M1、22020441M1、2202029M1、22010519M1, 桂林优利

特医疗电子有限公司)。法半夏、麸炒白术、天麻、茯苓、化橘红、甘草(批号: 2111260052、2110200043、2201050012、2112220052、2203190032、2201050112, 亳州市沪谯药业有限公司)、大枣(批号: 20211107009, 通化市济参药业有限公司)均购于山东省中医院, 生姜(产地: 山东)购于山东济南银座购物广场(长清大学城店)。经山东中医药大学实验中心刘红燕教授鉴定, 法半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎的炮制加工品“法半夏”, 炒白术为菊科植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎的炮制加工品, 天麻为兰科植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎, 茯苓为多孔菌科真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 化橘红为芸香科植物化州柚 *Citrus grandis* 'Tomentosa' 或柚 *Citrus grandis* (L.) Osbeck 的未成熟或近成熟的干燥外层果皮, 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根和根茎, 大枣为鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实, 生姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。D12492 高脂饲料(美国 Research Diets 公司, 批号: 21111502), 由 60% kcal 脂肪、20% kcal 碳水化合物和 20% kcal 蛋白质组成<sup>[18]</sup>; 维持饲料(北京科澳协力饲料有限公司, 批号: 21113213)。

**药物制备方法** 按照处方比例(3:6:2:2:2:1:1:1)称取法半夏饮片、炒白术饮片、天麻饮片、茯苓饮片、化橘红饮片、甘草饮片、大枣饮片、生姜, 加入饮片量 10 倍的水浸泡 60 min, 煎煮两次, 一煎武火煮沸后文火继续煎煮 30 min, 滤布趁热过滤; 药渣加入饮片量 8 倍的水煮沸后煎煮 20 min, 趁热过滤, 合并滤液。滤液减压浓缩(60 °C)成相当于原生药材 1.0 g·mL<sup>-1</sup> 的药液, 冷却后用无菌瓶密封包装, 冷冻保存备用。

**BBT 提取物化学成分研究** 将 100 mg 的 BBT 水提物冻干粉充分溶于 100 mL 的 75% 甲醇溶液, 离心(12 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min), 0.22 μm 滤膜过滤后置于液相小瓶中。使用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析, HALO C18 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 2.7 μm), 柱温: 45 °C, 进样量: 5 μL; 流速: 0.3 mL·min<sup>-1</sup>。流动相由 0.05% 甲酸水溶液(A)和 0.05% 甲酸乙腈溶液(B)组成。洗脱梯度: 0~4 min, 2% B; 4~10 min, 2%~25% B; 10~18 min, 25%~100% B; 3 min 平衡。质谱条件: 毛细管温度 350 °C; 正离子模式和负离子模式毛细管电压: 3.5 kV 和 3.5 kV; 鞘气 45 arb; 辅助气 10 arb; 质量扫描范围 *m/z* 80~1 000; 全扫描分辨率 70 000; S-Lens 电压 50 V。

**分组及给药方法** 结合实验组前期工作<sup>[17,19]</sup>, 适应性喂养 1 周后, 将大鼠按体质量随机分为正常组(C,

*n* = 10)、模型组(M, *n* = 10)和半夏白术天麻汤组(BBT, *n* = 10)。M 组和 BBT 组大鼠给予高脂+高盐饮食, C 组大鼠给予正常维持饲料; 20 周后, BBT 灌胃 8 周。按人与动物等效剂量换算公式<sup>[20]</sup>, 大鼠灌胃剂量为 12.60 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。C 和 M 组给予等量的蒸馏水灌胃。

**血压数据测定** 采用套尾无创血压仪检测大鼠的血压, 将仪器初始敏感度设置为 4, 将大鼠专用鼠网罩住并置入保温桶中(温度调至 37 °C), 并用鼠袋包裹, 令大鼠尾部完全暴露, 将加压感应器套住大鼠尾部并置于尾根处, 待大鼠稳定 5~10 min 后, 开始血压测定, 血压图像波动平稳时记录数据, 重复测量 3 次取均值。

**行为学观察和处理** 给药前和取材前 1 周, 分别开展行为学观测。① 高架十字迷宫实验: 大鼠放置于中央开放区域(5 cm × 5 cm), 用视频跟踪系统记录大鼠 6 min 内进入开放臂与闭合臂(5 cm × 15 cm × 35 cm)的次数 OE(open arm entry)、CE(close arm entry) 和时间 OT(open arm time)、CT(close arm time), 并计算开放臂进入次数百分比 OE% [OE% = OE/(OE+OT)] 和开放臂停留时间百分比 OT% [OT% = OT/(OT+OE)]。② 旷场实验: 大鼠单独放入黑色内壁的旷场箱(100 cm × 100 cm × 40 cm)的中央区域中, 自由探索 6 min。用视频跟踪系统记录大鼠的运动距离、进入中央区域次数、站立次数等指标。收集实验所得运动坐标, 采用 MATLAB R2021b 软件(美国 MathWorks 公司)绘制大鼠运动轨迹图。

**血清采集与处理** 取材前, 大鼠 12 h 禁食不禁水, 以 1.5% 戊巴比妥钠 30 mg·kg<sup>-1</sup> 腹下注射麻醉, 腹主动脉取血静置 30 min, 离心(4 °C, 4 500 r·min<sup>-1</sup>, 15 min), 取上清液, 分装, -80 °C 冷冻备用。

**血脂水平测定** 血清 80 μL, 全自动生化分析仪测定血清 TG、TC、HDL-C 和 LDL-C 水平。

**血清代谢组学样品处理** 血清 200 μL, 加入 200 μL 乙腈, 涡旋 60 s, 离心(4 °C, 12 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min)。取 200 μL 上清液置于 2 mL EP 管中, 氮气吹干, 用初始流动相(水:乙腈, 95:5)复溶, 离心(4 °C, 12 000 r·min<sup>-1</sup>, 10 min), 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 置于液相小瓶中。所有血清样本取等量制成质量控制(quality control, QC)样本。

使用 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析, HALO C18 色谱柱, 柱温: 45 °C, 进样量: 5 μL; 流速: 0.3 mL·min<sup>-1</sup>。流动相由 0.05% 甲酸水溶液(A)和 0.05% 甲酸乙腈溶液(B)组成。洗脱梯度: 0~1 min, 2% B; 1~5 min, 2%~20% B; 5~7 min, 20%~45% B; 7~15 min, 45%~90% B; 15~17 min, 90% B; 3 min 平衡。

**数据分析** 质谱数据以 Compound Discoverer 3.3

软件(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)进行峰对齐、峰提取、归一化等预处理后,将数据导入 SIMCA-P 14.1(瑞典 Umetrics 公司)进行分析,并采用无监督的主成分分析(principal component analysis, PCA)及有监督的偏最小二乘判别分析(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA),筛选投影变量重要性 VIP > 1,  $P < 0.05$  的变量作为潜在差异代谢物。通过 HMDB 数据库(<http://www.hmdb.ca/>)、KEGG 数据库(<https://www.kegg.jp/>)和 MetaboAnalyst 5.0(<https://www.metaboanalyst.ca/>)平台确定内源性差异代谢物和代谢通路。

统计分析 GraphPad Prism 8.0.1 软件(美国 GraphPad Software 公司),结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结果

### 1 半夏白术天麻汤化学成分表征

运用所建立的液相色谱-高分辨质谱进行分析,初步鉴定了 78 个化合物(表 1),包括 38 个黄酮类化合物、17 个苯丙素类化合物、8 个萜类化合物、6 个氨基酸类化合物、1 个生物碱类化合物和 8 个其他类化合物。

**Table 1** Identification of chemical constituents in 70% methanol extract of Banxia Baizhu Tianma (BBT)

No.	$t_R$ /min	Formula	Theoretical $m/z$	Practical $m/z$	Ion	Product ion ( $m/z$ )	Identification
1	0.62	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	182.057 4	183.004 1	[M+H] <sup>+</sup>	123.007 1, 95.012 5	Syringaldehyde
2	0.65	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	176.042 8	174.955 3	[M-H] <sup>-</sup>	146.960 0, 118.964 9	Dencichine
3	0.76	C <sub>7</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	137.047 1	138.055 0	[M+H] <sup>+</sup>	110.060 5	Trigonelline
4	0.85	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	126.031 1	127.039 2	[M+H] <sup>+</sup>	108.044 8, 81.034 2, 69.034 3	5-Hydroxymethylfurfura
5	0.86	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	115.062 8	116.070 9	[M+H] <sup>+</sup>	70.065 9	L-Proline
6	1.11	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	192.026 5	191.018 9	[M-H] <sup>-</sup>	111.007 4, 85.027 9	Citric acid
7	1.83	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	342.115 7	341.109 1	[M-H] <sup>-</sup>	179.054 9, 89.022 9	Sucrose
8	2.68	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	147.052 6	146.023 6	[M-H] <sup>-</sup>	128.033 3, 128.033 3, 75.006 9	L-Glutamic acid
9	3.67	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	204.089 3	203.082 1	[M-H] <sup>-</sup>	142.065 1, 116.049 2	L-Tryptophan
10	4.42	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.094 5	353.087 8	[M-H] <sup>-</sup>	191.055 4, 179.034 2, 135.043 9	1-Caffeoylquinic acid
11	4.45	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.031 1	137.023 2	[M-H] <sup>-</sup>	108.020 1	3,4-Dihydroxybenzaldehyde
12	4.68	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	181.073 3	182.081 1	[M+H] <sup>+</sup>	165.054 7	L-Tyrosine
13	4.74	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	122.036 2	121.028 2	[M-H] <sup>-</sup>	91.017 6	4-Hydroxybenzaldehyde
14	4.90	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	178.026 1	177.018 2	[M-H] <sup>-</sup>	115.038 7, 85.064 2	Esculetine
15	5.41	C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>13</sub>	460.121 1	459.115 6	[M-H] <sup>-</sup>	111.007 3	Parishin E
16	5.52	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152.046 8	153.054 2	[M+H] <sup>+</sup>	93.033 0	4-Mthoxysalicylaldehyde
17	5.59	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>9</sub>	340.078 9	339.073 2	[M-H] <sup>-</sup>	177.018 5, 133.028 3	Esculin
18	6.39	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>	354.094 5	353.088 4	[M-H] <sup>-</sup>	191.055 4, 173.044 7, 135.043 9	Cryptochlorogenic acid
19	6.41	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	154.026 1	153.018 3	[M-H] <sup>-</sup>	109.028 1	Protocatechuic acid
20	6.87	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.041 7	179.034 1	[M-H] <sup>-</sup>	135.043 9, 107.048 9	Caffeic acid
21	7.04	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	256.073 0	257.080 6	[M+H] <sup>+</sup>	239.071 2, 211.074 4, 147.044 1, 137.023 4, 119.049 4	Isoliquiritigenin
22	7.20	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	176.046 8	177.054 3	[M+H] <sup>+</sup>	145.028 4, 117.033 8, 89.039 2	7-Methoxycoumarin
23	8.17	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	564.147 4	563.145 3	[M-H] <sup>-</sup>	353.068 2, 297.077 0	Isoschaftoside
24	8.27	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>19</sub>	740.215 8	741.223 7	[M+H] <sup>+</sup>	271.059 9	Apigenin-7-O-(2G-rhamnosyl) gentiobioside
25	8.38	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	448.100 0	447.094 3	[M-H] <sup>-</sup>	429.083 0, 285.040 4, 133.028 4	Isoorientin
26	8.55	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	448.100 0	447.096 2	[M-H] <sup>-</sup>	327.052 3	Orientin
27	8.79	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	256.073 0	255.066 3	[M-H] <sup>-</sup>	135.007 5, 119.048 8, 91.017 4	Liquiritigenin
28	8.91	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>	418.125 8	417.120 3	[M-H] <sup>-</sup>	255.066 4, 135.007 5, 119.048 9	Liquiritin
29	9.03	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	432.105 1	433.113 0	[M+H] <sup>+</sup>	415.100 4, 397.092 4, 271.060 0	Isovitexin
30	9.23	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>	594.157 9	593.154 7	[M-H] <sup>-</sup>	285.040 6	Kaempferol-3-O-rutinoside
31	9.24	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.031 1	137.023 2	[M-H] <sup>-</sup>	93.033 1	Salicylic acid
32	9.70	C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>14</sub>	580.178 7	579.172 4	[M-H] <sup>-</sup>	271.062 5, 151.002 5, 119.048 8, 107.012 4	Narigin
33	9.79	C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>14</sub>	578.163 0	579.170 8	[M+H] <sup>+</sup>	271.059 6, 153.018 1	Isorhoifolin
34	9.87	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	300.062 8	299.056 6	[M-H] <sup>-</sup>	284.032 4, 255.066 1, 255.066 1, 240.042 5	Tectorigenin
35	9.91	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	260.104 3	261.112 2	[M+H] <sup>+</sup>	189.054 7, 131.049 3	Isomeranzin
36	10.09	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	288.062 8	287.056 9	[M-H] <sup>-</sup>	151.002 7	Eriodictyol
37	10.32	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	146.036 2	147.044 2	[M+H] <sup>+</sup>	119.049 4, 91.054 8	Coumarin
38	10.33	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	164.046 8	163.039 0	[M-H] <sup>-</sup>	119.048 8, 93.032 8	p-Hydroxycinnamic acid

Continued

No.	$t_R$ /min	Formula	Theoretical $m/z$	Practical $m/z$	Ion	Product ion ( $m/z$ )	Identification
39	10.76	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>13</sub>	550.168 1	549.163 4	[M-H] <sup>-</sup>	549.161 4, 135.007 5, 119.049 0	Liquiritigenin-7-O-β-D-apiofuranosyl-4'-O-β-D-glucopyranoside
40	10.82	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	248.140 7	249.148 1	[M+H] <sup>+</sup>	185.132 3	Parthenolide
41	10.95	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	286.083 6	285.077 3	[M-H] <sup>-</sup>	270.053 8, 150.031 1	Licochalcone B
42	11.13	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	316.057 8	317.065 4	[M+H] <sup>+</sup>	302.041 2, 274.047 1, 153.018 2	Isorhamnetin
43	11.21	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286.047 2	285.041 1	[M-H] <sup>-</sup>	133.028 2	Luteolin
44	11.46	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.067 9	285.075 7	[M+H] <sup>+</sup>	270.052 3	Glycitein
45	11.47	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.067 9	283.061 7	[M-H] <sup>-</sup>	268.038 3, 239.034 7, 211.040 2	Calycosin
46	11.62	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	302.078 5	301.036 0	[M-H] <sup>-</sup>	151.002 5	Hesperetin
47	12.18	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	254.057 4	253.050 7	[M-H] <sup>-</sup>	209.056 4	Daidzein
48	12.29	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	178.026 1	179.033 8	[M+H] <sup>+</sup>	133.028 4	5,7-Dihydroxychromone
49	12.30	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	272.067 9	271.061 6	[M-H] <sup>-</sup>	227.159 0, 151.002 5, 145.027 8	Naringenin chalcone
50	12.51	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	270.088 7	271.096 8	[M+H] <sup>+</sup>	153.018 3	Echinatin
51	12.59	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.052 3	271.060 0	[M+H] <sup>+</sup>	243.065 2, 153.018 2, 119.049 4	Genistein
52	12.79	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	192.062 8	191.055 3	[M-H] <sup>-</sup>	127.039 0, 85.028 0	Quinic acid
53	12.79	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270.052 3	269.046 1	[M-H] <sup>-</sup>	151.002 6	Apigenin
54	12.81	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>	486.334 0	487.341 8	[M+H] <sup>+</sup>	173.132 5	Quillaic acid
55	13.16	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub>	454.344 1	455.353 9	[M+H] <sup>+</sup>	95.086 4	Wilforlide A
56	13.17	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	300.062 8	299.057 0	[M-H] <sup>-</sup>	284.032 9, 255.029 4, 227.034 5	Hydroxygenkwanin
57	13.67	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	268.073 0	267.066 6	[M-H] <sup>-</sup>	267.066 6, 223.039 4	Formononetin
58	13.96	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>4</sub>	468.323 4	469.331 4	[M+H] <sup>+</sup>	451.320 1, 439.321 6	Glabrolide
59	14.11	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	314.078 5	313.072 4	[M-H] <sup>-</sup>	298.048 1, 283.024 8, 255.030 6	Pectolinarigenin
60	14.22	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	470.339 1	471.346 9	[M+H] <sup>+</sup>	453.336 5, 189.164 0	Glycyrrhetic acid
61	14.22	C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	162.031 1	161.023 6	[M-H] <sup>-</sup>	117.033 5, 89.022 9	7-Hydroxycoumarin
62	14.35	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>	368.125 4	367.119 0	[M-H] <sup>-</sup>	309.041 2, 269.042 3	Icaritin
63	14.46	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	248.140 7	249.148 6	[M+H] <sup>+</sup>	231.138 0, 203.143 1, 175.075 1, 119.085 9, 105.070 4	Attractylenolide III
64	14.94	C <sub>42</sub> H <sub>62</sub> O <sub>16</sub>	822.403 2	821.398 0	[M-H] <sup>-</sup>	351.057 2, 193.034 7	Diammonium glycyrrhizinate
65	15.15	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	322.120 0	321.113 9	[M-H] <sup>-</sup>	117.033 3	Licoflavone A
66	15.41	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.067 9	283.061 4	[M-H] <sup>-</sup>	283.061 4	Acacetin
67	15.63	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	284.067 9	285.075 5	[M+H] <sup>+</sup>	270.052 2	Wogonin
68	15.80	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	186.031 1	187.039 0	[M+H] <sup>+</sup>	131.049 3, 103.054 6	Isopsoralen
69	15.84	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230.130 1	231.137 9	[M+H] <sup>+</sup>	185.132 6, 157.101 2	Attractylodes I
70	15.87	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	270.088 7	269.082 2	[M-H] <sup>-</sup>	254.058 4, 225.055 3, 210.068 2	Medicarpin
71	15.93	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>	340.130 5	341.136 8	[M+H] <sup>+</sup>	341.136 8, 341.136 8	8-Prenylnaringenin
72	16.70	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	338.151 3	339.158 8	[M+H] <sup>+</sup>	121.028 7	Glycyrrhiza chalcone C
73	16.90	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	190.098 8	191.106 9	[M+H] <sup>+</sup>	119.049 1, 107.049 5	Ligustilide
74	17.02	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	278.224 0	279.231 7	[M+H] <sup>+</sup>	243.100 9	α-Linolenic acid
75	17.35	C <sub>20</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	336.099 2	335.092 8	[M-H] <sup>-</sup>	320.067 9, 291.103 4, 199.075 8	Photoglycyrrhizinone
76	17.61	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	194.057 4	191.055 3	[M-H] <sup>-</sup>	178.025 8	Ferulic acid
77	18.00	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	232.145 8	233.153 6	[M+H] <sup>+</sup>	215.143 3, 151.075 5, 131.085 7	Attractylodes II
78	19.88	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	117.078 4	118.086 6	[M+H] <sup>+</sup>	91.054 7, 72.081 5	L-Valine

## 2 一般指标观察

与C组相比,大鼠造模1周后,开始出现饮食量减少,见表2,暴躁;造模20周后,M组和BBT组出现皮毛污秽、懒动、纳呆、便溏、精神不佳、舌象白胖、抓取时口中分泌口水等情况;给药干预8周后,BBT组大鼠与M组比较,饮食量增加、便溏改善、活动度增加、抓取时口水分泌减少。

## 3 BBT对体重的影响

图1可见,和C组比较,干预前M、BBT组大鼠体重和C组有显著性差异。M组与BBT组体重之间无差异。在干预4周后,BBT组大鼠体重下降明显,与M

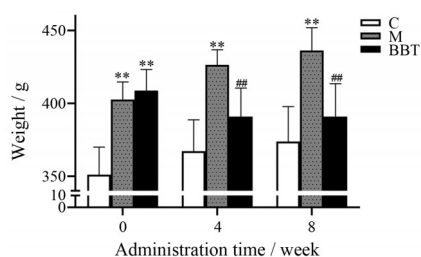
**Table 2** The diet of rats in 3 groups.  $n = 8, \bar{x} \pm s. *P < 0.05$  vs C group;  $^{\#}P < 0.05$  vs M group. C: Control; M: Model

Group	Before intervention /g	Intervention for 8 weeks/g
C	17.36 ± 0.03	15.91 ± 0.03
M	11.38 ± 0.19*	11.23 ± 0.41*
BBT	10.41 ± 0.65*	16.18 ± 1.53 <sup>#</sup>

组比较有显著性差异。干预8周后,C、M组大鼠体重持续稳定增加,而BBT组体重基本平稳,且和M组有显著性差异。

## 4 BBT对血压的干预影响

图2A中,20周喂养中,C组大鼠的收缩压维持在

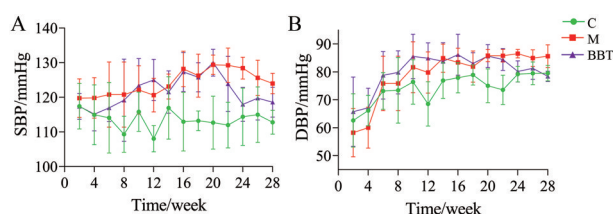


**Figure 1** The weight of rats in 3 groups.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . 0: Before the intervention; 4: Intervened for 4 weeks; 8: Intervention for 8 weeks, the rats were weighed. The rats in treatment group were administered with BBT while the rats in other two groups were treated with the same amount of sterilized saline solution. \*\* $P < 0.01$  vs C group; ### $P < 0.01$  vs M group

120 mmHg 之下; 而高脂高盐造模的 M 组和 BBT 组大鼠血压在稳步增加, 在第 10 周, 血压均值已经高于 120 mmHg, 且在之后的 10 周里都能正常维持在 120~140 mmHg 之间。第 20 周开始用 BBT 干预后, 干预组大鼠的收缩压开始下降, 而 M 组大鼠血压仍然维持在正常高值。图 2B 中, 喂养的 20 周里, C 组大鼠的血压小于 80 mmHg, M 组和 BBT 组在第 10 周后舒张压高于 80 mmHg, 且在之后的 10 周里都能正常维持在 80~90 mmHg 之间。第 20 周开始用 BBT 干预后, 干预组大鼠的舒张压开始下降, 而 M 组大鼠血压仍然维持在正常高值。表 3 可见, 干预前、模型组和半夏白术天麻汤组的大鼠收缩压和舒张压与正常组比较有显著性差异。第 20 周开始用 BBT 干预, 干预 4 周后, 大鼠血压下降显著, 干预 8 周后血压下降趋势不多, 但仍然与 M 组有显著差异。

## 5 BBT 对大鼠行为学影响

图 3 是药物干预前大鼠高架十字迷宫试验和旷场



**Figure 2** The systolic blood pressure and diastolic blood pressure of rats in 3 groups.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure

**Table 3** The systolic blood pressure and diastolic blood pressure of rats in 3 groups.  $n = 8$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs C group; # $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$  vs M group

Group	SBP/mmHg			DBP/mmHg		
	Before intervention	Intervention for 4 weeks	Intervention for 8 weeks	Before intervention	Intervention for 4 weeks	Intervention for 8 weeks
C	112.7 ± 7.6	114.4 ± 8.3	112.8 ± 3.5	75.1 ± 6.1	79.2 ± 4.2	79.6 ± 2.8
M	129.3 ± 2.8**	128.4 ± 3.2**	124.0 ± 2.9**	85.8 ± 2.2**	86.6 ± 1.5**	82.5 ± 1.1*
BBT	129.0 ± 3.9**	117.0 ± 4.9###	118.6 ± 4.3#	85.7 ± 4.1**	80.2 ± 3.8###	78.4 ± 1.8###

试验的各项指标数据图。图 3A~C 中分别展示了 C 组、M 组和 BBT 组中典型的大鼠在高架十字迷宫中的运动轨迹, 可以看到 C 组大鼠的运动总距离和开放臂的运动距离都比 M 和 BBT 组多。图 3D 表明 C 组大鼠与 M 组、BBT 组在十字迷宫中所运动的总距离上有显著差异。图 3E 是大鼠进入开放臂次数 (OE) 和封闭臂次数 (CE) 之和, C 组显著大于 M 组和 BBT 组。说明正常组大鼠在体力和探索欲上都明显好于模型组。但是在焦虑评分上, C 组与 M 组、BBT 组无差异, 如图 3F、G 所示。

图 3H~J 展示了 C 组、M 组和 BBT 组中的一只大鼠在给药前旷场试验的轨迹图, 可见 C 组大鼠在运动距离上多于 M 组和 BBT 组, 从图 3K 可知在旷场运动的总距离方面, C 组和 M 组、BBT 组有显著性差异。另外在进入中央区域的次数 (图 3L)、中央区的运动距离 (图 3M)、在中央区停留的时间 (图 3N) 和站立次数 (图 3O) 这几个反映大鼠探索欲的指标中, C 组和 M 组、BBT 组大鼠有显著性差异。

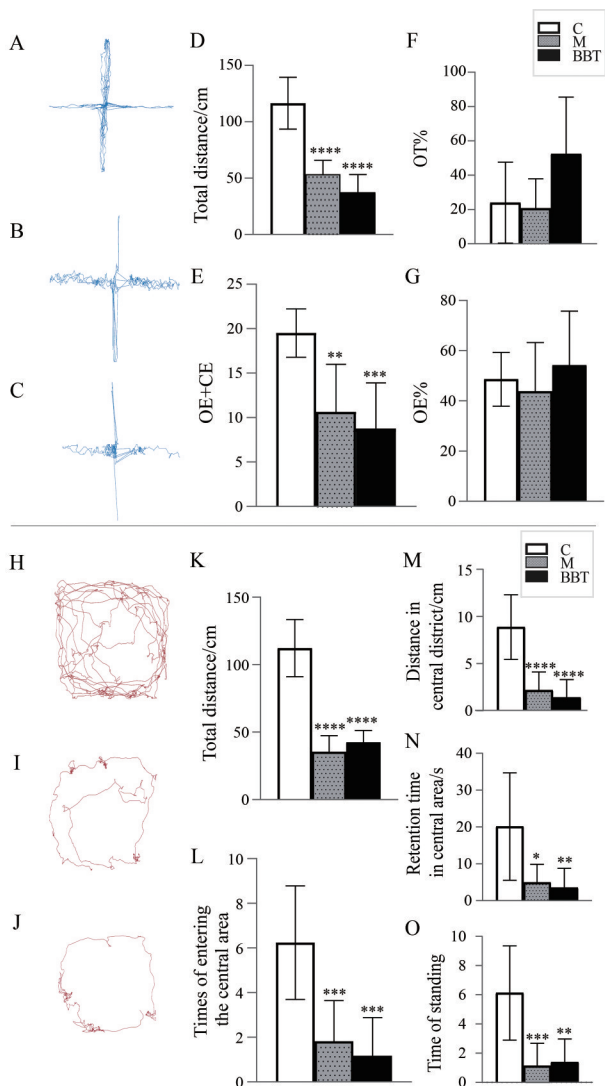
图 4 为给药 8 周后大鼠旷场试验的结果汇总, C 组大鼠 (图 4A) 活动度明显高于 M 组大鼠 (图 4B), 而 BBT 组大鼠的活动度较 M 组又有所回升 (图 4C), 线路越粗, 亮度越偏黄, 表明大鼠在该区域停留时间越长。从 D 也可见在运动的总距离方面, 经过药物干预后, BBT 组大鼠有显著性增加。在进入中央区域的次数 (图 4E)、中央区的运动距离 (图 4F) 方面, 给药组的大鼠表现相较于模型组都有所好转。但在中央区停留的时间 (图 4G) 上, 虽有所增加, 但是并未有显著性。图 4 整体可以看出, BBT 对于痰湿壅盛证大鼠活动度的干预有显著作用, 可以改善大鼠因痰湿证候所导致的慵懒的状态。

## 6 BBT 对血脂指标的影响

通过表 4 可知, C 组和 M 组在 TG、TC、LDL-C 有显著性差异, 给药后 BBT 组和 M 组对比, TG、TC、LDL-C 均有显著性降低, HDL-C 值显著性升高。

## 7 代谢组学分析

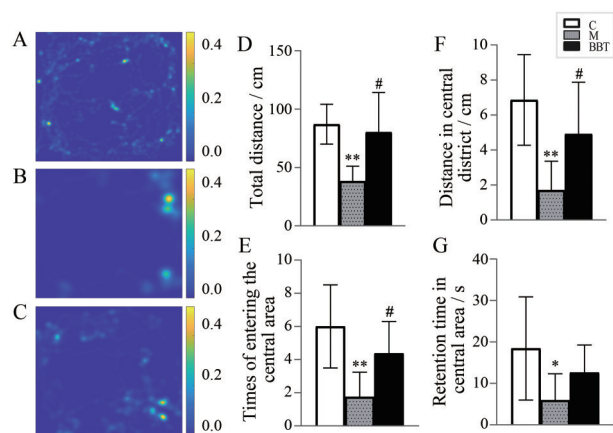
**7.1 血清代谢物轮廓分析** 通过血压、血脂四项和行为学指标的观察, 可见 BBT 的干预效果明显, 进一步进行代谢组学分析。C 组、M 组、BBT 组大鼠血清样本在正、负离子模式下的总离子流图, 如图 5 所示, 可知



**Figure 3** Results of elevated cross maze and open field test before intervention in 3 groups.  $n = 8, \bar{x} \pm s$ . A-C showed the track diagram of elevated cross maze of one rat in group C, M and BBT before administration; D is the total distance of the rat in the cross maze; E is the sum of the number of times the rat entered the open arm (OE) and the number of times the rat entered the closed arm (CE); F is the proportion of rats entering the open arm (OT%); G is the proportion of rats entering the open arm (OE%). H-J showed the track diagram of open field test of a rat in group C, M and BBT before administration; K is the total distance of the three groups of rats in the open field; L is the number of times the rat entered the central region; M is the movement distance of rats in the central area; N is the time the rat stayed in the central area; O is the number of times the rats stood in the test. A-C and H-J were drawn by Matlab. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$  vs C group

各组轮廓大致相似,但代谢物含量有差异。

**7.2 血清样本的PCA和PLS-DA分析** 对各组样本进行PCA分析,如图6A、B所示,PCA结果显示QC样本聚集度高,说明实验建立的方法重复性和稳定性较



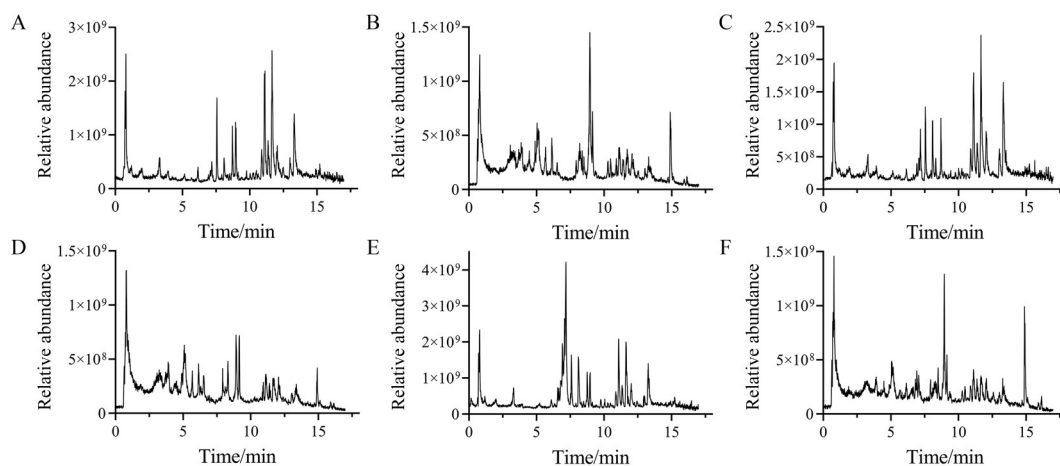
**Figure 4** Open field test results of rats after 8 weeks of intervention in 3 groups.  $n = 8, \bar{x} \pm s$ . A-C showed the track heat map of open field test before and after administration of a rat in group C, M and BBT. The thicker the heat map line, the brighter the color, indicating the longer the dwell time; D is the total distance of the three groups of rats in the open field; E is the number of rats entering the central region; F is the movement distance of rats in the central area; G is the time for rats to stay in the central area. A-C were drawn by Matlab. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs C group; # $P < 0.05$  vs M group

**Table 4** Expression levels of serum lipid indexes of rat in each group after BBT intervention.  $n = 8, \bar{x} \pm s$ . TG: Triglyceride; TC: Total Cholesterol; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs C group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs M group

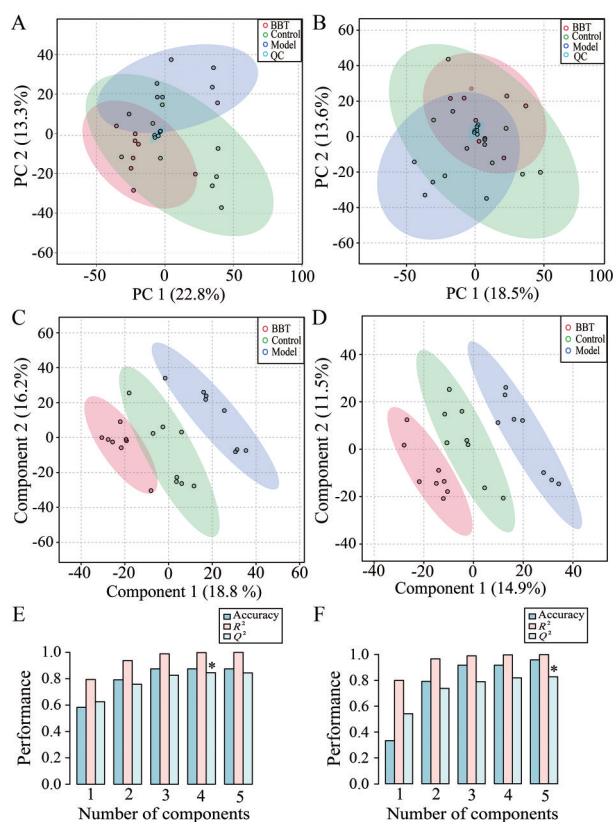
Group	TG /mmol·L <sup>-1</sup>	TC /mmol·L <sup>-1</sup>	HDL-C /mmol·L <sup>-1</sup>	LDL-C /mmol·L <sup>-1</sup>
C	0.34 ± 0.06	3.19 ± 0.27	2.21 ± 0.20	0.79 ± 0.08
M	1.13 ± 0.27**	3.61 ± 0.35*	1.72 ± 0.09	0.98 ± 0.16*
BBT	0.38 ± 0.04##	3.00 ± 0.27###	1.89 ± 0.17#	0.64 ± 0.06***

好,在正、负离子模式下,各组间有聚集分离趋势。为了进一步突出组间差异,需采用PLS-DA分析。去除QC样本后,对C组、M组及BBT组进行PLS-DA分析,结果如图6C、D所示,C组与M组、M组与BBT组之间分离效果较好,组内样本在一定范围内聚集良好,说明C组与M组、M组与BBT组之间存在着明显的差异代谢物。BBT组的样品点逐渐接近C组的样品点,说明BBT影响了PHT痰湿壅盛证大鼠血清代谢,并使之趋向于正常大鼠。经10-fold循环交叉验证(10-fold cross validation)得到的模型评价参数( $R^2$ ,  $Q^2$ )交叉验证列于表5,本实验正、负离子模式数据建立的PLS-DA模型 $R^2$ 和 $Q^2$ 值均较大( $R^2$ 、 $Q^2$ 均大于0.7),说明模型稳定可靠<sup>[21]</sup>。

**7.3 差异代谢物筛选** BBT干预PHT痰湿壅盛证大



**Figure 5** Total ion current diagram of positive ion mode or negative ion mode of 3 groups of serum samples. A: C group (+); B: C group (-); C: M group (+); D: M group (-); E: BBT group (+); F: BBT group (-)



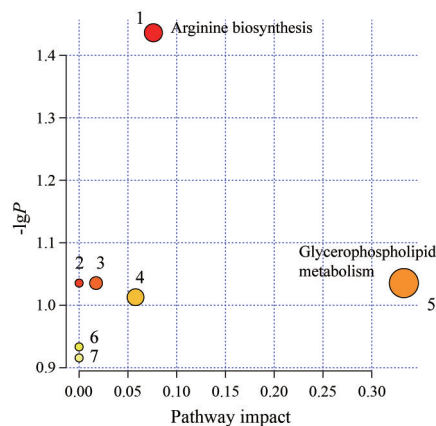
**Figure 6** Principal component analysis (PCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) of 3 groups generated by MetaboAnalyst software.  $n = 8$ . A: PCA (+); B: PCA (-); C: PLS-DA (+); D: PLS-DA (-); E: The results of 10-fold cross validation (+); F: The results of 10-fold cross validation (-)

**Table 5** PLS-DA modeling analysis.  $R^2$  is the model interpretation rate;  $Q^2$  is the model prediction ability

Mode	Principal component	$R^2$	$Q^2$
+	5	0.99	0.84
-	5	0.99	0.82

鼠的主要差异代谢物结果如表6所示,进一步筛选各组间内源性差异代谢物,通过一、二级质谱信息,并结合HMDB、KEGG数据库查询和相关文献报道进行鉴定,最终在正、负离子模式下共筛选出9个血清差异代谢物,分别是:花生四烯酸(arachidonic acid, AA)、胆酸、甘脱氧胆酸、*N*-腺苷酪氨酸、精氨酸、溶血磷脂酰乙醇胺(20:0/0:0)、溶血磷脂(P-18:0)、溶血磷脂(18:0)、溶血磷脂[22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)]。

**7.4 代谢通路分析** 造模和用药干预后,大鼠血压的上升和回调,所涉及到的代谢通路有7条:精氨酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成、甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、初级胆汁酸生物合成和氨酰tRNA生物合成,如图7所示。



**Figure 7** Metabolic pathway analysis of the altered metabolic network generated by MetaboAnalyst software. 1: Arginine biosynthesis; 2: Biosynthesis of unsaturated fatty acids; 3: Glycerophospholipid metabolism; 4: Arginine and proline metabolism; 5: Arachidonic acid metabolism; 6: Primary bile acid biosynthesis; 7: Aminoacyl-tRNA biosynthesis

### 讨论

根据临床表现, 中医常将正常高值血压分为两类, 一类“逸病”范畴, 仅仅血压略有升高而无临床症状; 另一类属于“头痛”“眩晕”的范畴<sup>[22]</sup>。正常高值血压在中医上的分型有肝阳上亢、肝郁气滞、痰浊中阻、肝肾亏虚证<sup>[23]</sup>。通过患者脉象特点和临床表现, 将正常高值血压分为脾虚湿盛证、肝肾阴亏证、肾阴阳两虚证、肝郁气滞证<sup>[24]</sup>。作为高血压前期最主要的证型之一, 真实临床上痰湿壅盛证更偏于“逸病”。患者因饮食不节、劳逸失常而导致的脾虚而生痰致使血压升高<sup>[25]</sup>。

本研究根据临床经验, 采用高脂+高盐方法制备PHT痰湿壅盛证模型, 使大鼠长期的饮食不节, 从而引发痰湿壅盛型的血压升高。前期课题组实验发现WKY大鼠经过造模8周后, 血压开始符合PHT, 10~12周趋于稳定<sup>[19]</sup>。为进一步观察模型大鼠的生理、病理形态的改变。采取加长喂养时间, 另外增加行为学测试, 来验证模型成立的可信度。模型组大鼠的体重增加明显, 在给药之后, 随着证候的改善, 大鼠体重迅速下降。说明BBT对于大鼠体重的干预效果显著, 同时也可以观察到大鼠的收缩压和舒张压也在逐步下降。有学者统计<sup>[26-28]</sup>, 人体血压上升与肥胖密切相关。结果可以看到, BBT可以显著改善大鼠的血脂四项指标数据, 与学者研究中医药对于预防和治疗高脂血症的研究结果一致<sup>[29]</sup>。

另外, 行为学指标与临床表现相一致, 动物行为学数据表明动物<sup>[30-32]</sup>痰湿壅盛证模型动物懒动倦乏。采用旷场实验和高架十字迷宫实验检测模型动物的运动情况与临床上痰湿壅盛所致的胖人懒动的表现相一致。图3、4可见, 模型组在长期高脂高盐的喂养下, 造模20周的模型组大鼠和正常组大鼠比较, 自主活动度下降、便溏等脾虚痰湿等症状, 用BBT干预后, 大鼠体重下降, 血脂自主活动度上升。本文以方测证, 比较大鼠造模以及用药前后指标改变, 反证“痰湿壅盛证”模型建立, 以行为学实验量化动物的懒动情况<sup>[33]</sup>。

BBT的化学成分鉴定中, 发现多种化合物, 其中

黄酮类化合物是BBT中最主要的成分。有研究表明<sup>[34]</sup>, 黄酮类成分是广泛存在于中药的一类多酚类化合物, 具有调节糖脂代谢、抗炎等作用。另外, 有研究表明中药营养物质利用和心血管疾病密切相关<sup>[35]</sup>, 利用好中药可以间接改善血压状况, 通过本实验可以为临床提供实验基础。

本研究进一步用代谢组学研究表明, PHT痰湿壅盛证大鼠血清内9个内源性代谢物发生了波动, 半夏白术天麻汤可使代谢物发生回调, 分别是: 花生四烯酸、胆酸、甘脱氧胆酸、*N*-腺苷酪氨酸、精氨酸、溶血磷脂酰乙醇胺(20:0/0:0)、溶血磷脂(P-18:0)、溶血磷脂(18:0)、溶血磷脂[22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)]。所涉及到的代谢通路有7条: 精氨酸生物合成、不饱和脂肪酸的生物合成、甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、初级胆汁酸生物合成和氨酰tRNA生物合成。

课题组之前发现钩藤调节高血压与AA的调节通路密切相关<sup>[36]</sup>。AA是人体内含量丰富的一种不饱和脂肪酸, 其代谢产物参与调节多种病理生理过程。AA经细胞色素P450(cytochrome P450, CYP)途径代谢, 且其CYP $\omega$ -羟化酶代谢产物20-羟基二十碳四烯酸(20-hydroxyeicosatetraenoic acid, 20-HETE)会影响心脑血管疾病的发展<sup>[37]</sup>。P450酶代谢途径产生的环氧二十碳三烯酸(epoxyeicosatrienoic acids, EETs)主要体现为舒张血管和抑制血管炎症<sup>[38]</sup>。在本研究中模型组和用药组的大鼠血压调整, 可能与AA释放具有血压调节作用的代谢物相关。

胆汁酸是胆酸的主要组成部分, 参与体内脂类物质的代谢, 具有重要的生理功能。胆汁酸通过肝脏由胆固醇转化而来, 主要存在于肠肝循环系统中发挥功能。有学者通过网络分析和生物学验证结果表明, 高血压前期的发生与胆汁酸和芳香族氨基酸代谢异常引起的血管炎症有关; 胆汁酸代谢通过调节血管炎症反应在高血压前期的发生发展中起重要作用<sup>[39]</sup>。在本研究中胆酸代谢和血压呈负相关趋势, 说明BBT对于血

**Table 6** Differential metabolites in serum in 3 groups. RT: Retention time. ↑ Means that the relative peak area is raised; ↓ Means that the relative peak area of group is lowered. \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01; #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01

Formula	Metabolite	<i>t<sub>R</sub></i> /min	<i>m/z</i>	M vs C		BBT vs M	
				VIP	Trend	VIP	Trend
C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Arachidonic acid	14.91	305.247 6	1.53	↑*	2.6	↓##
C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>	Cholic acid	8.98	407.280 7	9.89	↓*	1.5	↑#
C <sub>26</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>5</sub>	Glycodeoxycholic acid	8.31	450.322 7	1.21	↑**	2.92	↓#
C <sub>29</sub> H <sub>41</sub> NO <sub>4</sub>	<i>N</i> -Arachidonoyl tyrosine	8.98	468.311 6	2.42	↓**	0.11	↑#
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Arginine	0.80	175.119 2	1.57	↑*	0.65	↓#
C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P	LysoPE(20:0/0:0)	10.27	510.356 1	2.58	↓**	2.26	↑##
C <sub>26</sub> H <sub>54</sub> NO <sub>6</sub> P	LysoPC(P-18:0)	11.00	508.377	2.39	↑**	0.82	↓##
C <sub>26</sub> H <sub>56</sub> NO <sub>6</sub> P	LysoPC(18:0)	12.40	510.392 7	2.53	↑**	1.48	↓##
C <sub>30</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P	LysoPC(22:5(7Z,10Z,13Z,16Z,19Z))	11.40	570.356 1	2.33	↑**	0.6	↓##

压的调节可能和胆酸相关代谢有关。

综上所述, 本文通过代谢组学技术探究半夏白术天麻汤对于正常高值血压痰湿壅盛证大鼠的干预可能通过花生四烯酸代谢通路和胆汁生物合成通路来释放相关代谢物, 从而调节血压。为阐明高血压的发生发展机制做出新的探索, 以期为延缓高血压的发生发展提供可靠的实验依据。

**作者贡献:** 叶建桥负责实验操作、数据处理和文章撰写; 蒋海强负责指导代谢组学实验、文章设计及修改; 齐冬梅、齐于辰负责整体设计及文章修改; 李淑敏协助指导实验和数据处理; 郭晓庆协助完成动物实验。

**利益冲突:** 本文无利益冲突。

## References

- [1] Unger T, Borghi C, Charchar F, et al. 2020 International society of hypertension global hypertension practice guidelines [J]. *Hypertension*, 2020, 75: 1334-1357.
- [2] Wang Z, Chen Z, Zhang L, et al. Status of hypertension in China: results from the China hypertension survey, 2012-2015 [J]. *Circulation*, 2018, 137: 2344-2356.
- [3] Writing Group of 2018 Chinese Guidelines for the Management of Hypertension, Chinese Hypertension League, et al. 2018 Chinese guidelines for the management of hypertension [J]. *Chin J Cardiovasc Med (中国心血管杂志)*, 2019, 24: 24-56.
- [4] Zhang L, Jiang F, Du F, et al. Test of validity, reliability and responsiveness of the diagnostic value of normal high blood pressure and phlegm dampness syndrome [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药)*, 2019, 30: 1022-1024.
- [5] Zhu YS, Wang Y, Li YL, et al. Screening of items in the diagnostic scale for the syndrome of yin deficiency and yang hyperactivity of normal high blood pressure [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药)*, 2018, 29: 1777-1779.
- [6] Zhang SJ, Qi DM, Li YL, et al. Research on Chinese medicine syndrome in high-normal blood pressure population based on factor analysis and clustering analysis [J]. *J Tradit Chin Med (中医杂志)*, 2016, 57: 1759-1763.
- [7] Shang QQ, Wang L, Wang YQ, et al. Research progress on etiology, pathogenesis and syndrome of primary hypertension in TCM [J]. *Hebei J Tradit Chin Med (河北中医)*, 2017, 39: 138-142.
- [8] Li F. *Prescription Science (方剂学)* [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2011: 1794.
- [9] Jiang X, Li GL. Clinical observation on Banxia Baizhu Tianma Decoction and Wendan Decoction in the treatment of excessive phlegm-dampness syndrome of essential hypertension [J]. *Guangming J Chin Med (光明中医)*, 2021, 36: 2565-2567.
- [10] Wu Y. Banxia Baizhu Tianma Decoction in the treatment of obese hypertension with excess phlegm and dampness and its effect on the immune function of patients [J]. *Harbin Pharm (哈尔滨医药)*, 2020, 40: 482-483.
- [11] Li Y, Cai YJ, Wang JB, et al. Clinical study on the treatment of primary hypertension of phlegm dampness stagnation syndrome with Banxia Baizhu Tianma Decoction and drug separated moxibustion [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med (陕西中医)*, 2021, 42: 1385-1388.
- [12] Zou ZN, Guo TF, Zuo XH. Effect of Banxia Baizhu Tianma Decoction and Wendan Decoction on blood pressure control and TCM syndrome score in patients with primary hypertension of phlegm dampness stagnation syndrome [J]. *Heilongjiang Med J (黑龙江医学)*, 2021, 45: 288-289.
- [13] Zhang YX, Yang YM, Zhou YH, et al. Effect of Banxia Baizhu Tianma Decoction on the content of serum ET-1 and NO in hypertensive rats with phlegm dampness accumulation [J]. *Nei Mongol J Tradit Chin Med (内蒙古中医药)*, 2018, 37: 99-101.
- [14] Wu S, Jiang YH, Yang CH, et al. Effect of Banxia Baizhu Tianma Tang on myocardium MAPK pathway of spontaneous hypertensive rats with syndrome of excessive accumulation of phlegm-dampness [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2016, 22: 159-165.
- [15] Jiang YH, Zhang P, Li ZY, et al. Exploration of Banxia Baizhu Tianma Decoction on endothelial protective effects based on microRNA [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志)*, 2021, 36: 1995-1999.
- [16] Jiang LY, Jiang YH, Yang CH, et al. Effect of Banxia Baizhu Tianma Tang on proteomics in hypothalamus of hypertension model rats with phlegm-dampness excessive accumulation type [J]. *J Tradit Chin Med (中医杂志)*, 2017, 58: 1139-1144.
- [17] Li SM, Jiang HQ, Qi DM, et al. Screening of differential metabolites related to elevated blood pressure according to metabolomics technology [J]. *Chin J Comp Med (中国比较医学杂志)*, 2022, 32: 23-30.
- [18] Guoqing T, Chengxin M, Liangkui L, et al. PTPN1 promotes the thermogenesis of brown adipose tissue under acute cold exposure [J]. *Sci China Life Sci*, 2022, 65: 2287-2300.
- [19] Guo XQ, Li SM, Yu H, et al. Mechanism of Sanzi Yangqin decoction to prevent the development of prehypertension and excessive phlegm-dampness syndrome in rats based on hypothalamic metabolomics [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 2022, 57: 3387-3395.
- [20] Li YJ, Wei W, Wu XM. *Pharmacological Experimental Methodology (药理实验方法学)* [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2010: 71.
- [21] Szymanska E, Saccenti E, Smilde A K, et al. Double-check: validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies [J]. *Metabolomics*, 2012, 8: 3-16.
- [22] Zhang S, Duan JL, Wang QQ, et al. Research progress of traditional Chinese medicine on prevention and treatment of normal high blood pressure [J]. *China Med Her (中国医药导报)*, 2022, 19: 42-45.

- [23] Li YY, Hu LL, Wang YQ, et al. Research progress in traditional Chinese medicine syndromes characteristics of normal high blood pressure [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志)*, 2019, 34: 4747-4749.
- [24] Yu Y, Li D, Ma K, et al. Analysis of syndrome classification and related pulse characteristics of "normal high blood pressure" [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med (山东中医药大学学报)*, 2021, 45: 438-443.
- [25] The National Essential Public Health Service Program Office for Management of Hypertension in Primary Health Care, National Center for Cardiovascular Diseases, National Committee on Hypertension Management in Primary Health Care. National clinical practice guidelines on the management of hypertension in primary health care in China (2020) [J]. *Chin J Front Med Sci (中国医学前沿杂志 电子版)*, 2021, 13: 26-37.
- [26] Wang YD, Liu ZL, Liu PZ, et al. Research of 600 cases' hypertensive patients with risk factors related to TCM symptom [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med (辽宁中医杂志)*, 2010, 37: 584-586.
- [27] Chen R, Cao XX. Study on correlation between TCM syndrome types and risk factors in patients with hypertension [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊)*, 2011, 29: 1433-1435.
- [28] Wang XD. Correlation research of hypertension TCM syndrome type and cardiovascular risk factors [J]. *Clin J Chin Med (中医临床研究)*, 2014, 6: 6-8.
- [29] Wang MQ, Hu BY, Wang RJ, et al. Research on the lipid-lowering effect of traditional Chinese medicine using lipidomics technology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 61-69.
- [30] Zhang Y, Yang M, Liu XJ, et al. Establishment of rat models of chronic insomnia duo to phlegm-dampness internal obstruction and therapeutic mechanism of Banxia Shumi decoction based on HPA axis and inflammatory factors [J]. *Shandong Med J (山东医药)*, 2022, 62: 44-47.
- [31] Lin CL, Li SH, Lin P, et al. Based on Sonic Hedgehog signal pathway, explore the syndrome basis of spleen deficiency and phlegm dampness syndrome in rats with precancerous lesions of atrophic gastritis [J]. *Technol Manag (科学咨询(科技·管理))*, 2021: 100-103.
- [32] Shi XY, Zhu MM, Jie LG, et al. Effect of compound tufuling granules on physical and chemical indexes and protein levels in hyperuricemia rats with syndrome of phlegm-dampness [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2016, 22: 100-105.
- [33] Zhong SJ, Li J, Li L, et al. Review on Application of "Syndrome Differentiation through Formula Effect Assessment" in TCM Syndrome Model Research [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊)*, 2021, 39: 48-50.
- [34] Yu H, Zheng RF, Su WL, et al. Metabolism characteristics and pharmacological insights of flavonoids based on the intestinal bacteria [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2021, 56: 1757-1768.
- [35] Zhang BY, Liu AL. Energy metabolism disorder and diseases: from effects to potential targets [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 1372-1381.
- [36] Zhang SM, Qi DM, Cao YM, et al. Lipidomics study on intervention by Uncaria on hepatic metabolic disorder in spontaneously hypertensive rats [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 1636-1644.
- [37] Wei YD, Xu MJ, Ji H.  $\omega$ -hydroxylation of arachidonic acid and cardio-cerebrovascular diseases [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther (中国临床药理学与治疗学)*, 2016, 21: 826-833.
- [38] Lai JS, Chen C. The roles of cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in the regulation of vascular function [J]. *Acta Physiol Sin (生理学报)*, 2021, 73: 631-645.
- [39] Qi Y, Zou LZ, Han XY, et al. Underlying mechanisms of bile acids in progression of hypertension based on metabolomics and network analysis [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2022, 28: 178-186.