

基于 UHPLC-MS 研究黄芩汤对溃疡性结肠炎大鼠血清代谢谱的影响

王敦方¹, 王彦礼¹, 王怡薇², 杜丽坤³, 佟颖³, 陈曦³, 郭姗姗¹,
徐航宇¹, 马旭冉¹, 李涛⁴, 杨伟鹏^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 国家食品药品监督管理总局高级研修学院, 北京 100073;
3. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 4. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

摘要: 观察黄芩汤 (HQT) 对溃疡性结肠炎 (UC) 大鼠血清代谢谱的变化, 探讨其治疗 UC 可能的作用机制。运用复合法 (三硝基苯磺酸+乙醇) 制备细胞免疫反应 UC 大鼠模型, 将大鼠随机分为正常组、模型组、HQT 组。利用超高压液相色谱-质谱 (UHPLC-MS) 技术结合主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA), 对正常组、模型组、HQT 组三组之间的代谢谱进行分析, 通过变量重要性投影值 (VIP)>1 结合 $P<0.05$ 筛选血清中潜在的生物标志物。与正常组相比, 模型组大鼠血清中发现并鉴定出缬氨酸、色氨酸、乳酸、尿素等 16 个潜在生物标志物。与模型组相比, 给予 HQT 治疗 10 天后, 上述潜在生物标志物有向正常水平回调的趋势。代谢组学分析揭示 HQT 对 UC 大鼠具有一定的治疗作用, 其机制可能与调节氨基酸代谢、能量代谢和脂代谢等有关。

关键词: 黄芩汤; 代谢组学; 血清; 溃疡性结肠炎

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 08-1306-07

Effect of Huangqin Tang on serum metabolic profile in rats with ulcerative colitis based on UHPLC-MS

WANG Dun-fang¹, WANG Yan-li¹, WANG Yi-wei², DU Li-kun³, TONG Ying³, CHEN Xi³,
GUO Shan-shan¹, XU Hang-yu¹, MA Xu-ran¹, LI Tao³, YANG Wei-peng^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. China Food and Drug Administration Institute of Executive Development, Beijing 100073, China;
3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 4. The Experimental Research Center,
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: The study is aimed to test the effect of Huangqin Tang (HQT) on serum metabolic profile in rats with ulcerative colitis, and explore its possible action mechanism for ulcerative colitis (UC) rats. The model of UC rats with cell immunoreactivity was made using a compound method (trinitrobenzene sulfonic acid plus ethanol). Rats were randomly divided into the control group, the model group, and HQT group. Ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UHPLC-MS), principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were employed to analyze the metabolic profile among normal group, the model group, HQT group. Potential biomarkers were screened in the serum based on the variable importance projection (VIP) value >1 , $P<0.05$. As compared with the normal group, 16 potential biomarkers such as valine, tryptophan, lactic acid and urea were found and identified in the serum of model group rats. As compared with the model group, a part of the biomarkers were restored nearly to a normal state

收稿日期: 2017-02-18; 修回日期: 2017-04-28.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473592, 81273662).

*通讯作者 Tel: 86-10-64046469, E-mail: hrbywp@sina.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0079

after HQT administration for 10 days. Metabolomic analysis revealed that the HQT has a certain therapeutic effect in UC rats, and the mechanism may be related to regulation of lipid metabolism, amino acid metabolism and energy metabolism.

Key words: Huangqin Tang; metabolomics; serum; ulcerative colitis

溃疡性结肠炎 (UC) 是常见的炎症性肠病, 以腹痛腹泻、黏液脓血便持续或反复发作为主要症状^[1]。该病被认为是结肠癌的癌前病变, 被世界卫生组织列为难治病之一, 因此受到国内外医学界的普遍重视。目前普遍认为 UC 是由多种因素, 包括遗传基因、胃肠道菌群失调及炎症过度反应共同作用的结果^[2-4]。黄芩汤 (HQT, 由黄芩、芍药、炙甘草和大枣组成) 来源于汉代张仲景《伤寒论》, 为历代清热止痢、和中止痛的经典方剂, 本课题组对此复方长期研究, 发现其对 UC 大鼠模型肠黏膜炎症有较好的改善作用^[5,6]。

近年来, 代谢组学已广泛应用于中药成分及中药作用机制的研究, 以独特的视角解释生命现象, 为寻找疾病早期诊断的生物标志物提供了重要技术支持^[7-9]。使用超高液相色谱质谱联用 (UHPLC-MS) 进行代谢组学分析, 生物样品不需要衍生化, 并且能够检测众多的化合物, 已成为非靶标代谢产物分析的有效方法。UHPLC-MS 与 UC 结合的代谢组学研究相关报道较少, 因此本研究采用代谢组学 UHPLC-MS 技术, 寻找与 UC 相关的生物标志物, 并分析 HQT 对 UC 大鼠紊乱代谢物的影响, 揭示大鼠体内可能受影响的代谢途径, 以期进一步阐明 HQT 治疗 UC 的作用机制。

材料与方法

药品与仪器 黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi)、芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.)、炙甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) 和大枣 (*Ziziphus jujuba* Mill.) 均购自北京仟草药业有限公司, 经中国中医科学院中药研究所李先端研究员鉴定为合格药材。HQT 水提物按照文献^[10]方法提取得到。经指纹图谱相似度和多成分含量分析, 提取率约为 39.39%, 与对照图谱相似系数为 0.998, 主要含黄酮和萜类化合物, 其中主要活性成分质量分数黄芩苷为 10.41%、汉黄芩苷为 2.42%、千层纸素 A-苷为 0.82%, 符合课题组确定的质量要求^[10]。

2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS, 美国 Sigma 公司); DIONEX Ultimate 3000 超高效液相色谱仪; 仪器名

称: Thermo Q EXACTIVE; GL-20A 全自动冷冻高速离心机 (湖南仪器仪表总厂离心机厂); -80 °C 超低温冰箱 (Thermo Fisher Scientific, USA)。

动物 6~8 周龄、体重 180~200 g 的清洁级雄性 Wistar 大鼠, 北京军事医学科学院实验动物中心提供 (生产许可证号: SCXK 2012-0004)。动物饲养室保持 23±1.5 °C, 相对湿度 45%±15%。动物实验操作过程依照中国中医科学院动物实验伦理委员会的要求执行。

造模方法 采用 Morris 等^[11]报道的方法制备大鼠 UC 模型, 大鼠禁食 24 h 后一次性将 TNBS (100 mg·kg⁻¹) 和 50% 乙醇溶液 0.25 mL 用橡胶输液管缓慢注入距肛门约 8 cm 处的肠腔内, 捏紧肛门, 倒置几分钟。正常组注入相同体积的生理盐水, 术后常规饲养。

实验分组及样品采集 大鼠按体重随机分为正常组、模型组、HQT 组, 每组 10 只。造模 3 天后开始给药, HQT 按 20 g·kg⁻¹ 灌胃给药 (生药量/大鼠体重, 按照临床每天人用剂量 0.385 g·kg⁻¹ 进行大鼠给药剂量换算), 正常组和模型组灌胃等剂量的生理盐水, 每日 1 次, 连续 10 天。

血清样品采集与处理 末次给药后所有大鼠禁食不禁水 24 h, 第二天各组大鼠腹主动脉取血, 以 3 500 r·min⁻¹ 转速离心 15 min, 分离血清, 置超低温冰箱冷冻保存。分析前将血清样品于室温下解冻, 取 50 μL, 加入乙腈 450 μL, 涡流 30 s, 13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液直接进样分析。

色谱条件 Dionex Ultimate 3000 超高效液相色谱仪, 色谱柱: Thermo Synchronis C₁₈ (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 液相条件: A: 水 (含 0.1% 甲酸及 2 mmol·L⁻¹ 甲酸铵), B: 乙腈; 梯度洗脱: 0~1 min, 95%~95% A; 1~15 min, 95%~5% A; 15~16 min, 5%~5% A, 16~17 min, 5%~95% A; 17~18 min, 95%~95% A。时间 0~18 min, 进样量 5 μL, 流速 0.3 mL·min⁻¹。

质谱条件 电喷雾离子源 (ESI), 采用正负离子同时扫描模式, 电喷雾电压 2.8 kV; 鞘气流速为 35 arb; 辅助气流速为 10 arb; 毛细管温度 320 °C; 一级全扫

描 (Full scan) 分辨率: 70 000; 扫描范围: m/z 50~750; 二级数据依赖性扫描 (Full MS/dd-MS2): 分辨率: 17 500; Stepped NCE 值: 20、40、60 V。

数据处理与分析 采用 Trace Finder 软件自建数据库, 包含对代谢组学技术方法、UC 模型及其代谢标志物进行研究、总结归纳所得差异代谢物的录入。计算组内每个代谢物峰面积的 RSD 值, 剔除组内峰面积 RSD 值大于 30% 的数据。使用 SIMCA-P (version 11.5, Umetrics AB, Sweden) 软件对数据进行中心化和归一化处理, 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 进行无监督的数据分析, 观察各组数据的聚类并剔除离群样本。然后选用偏最小二乘判别分析法 (partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA) 进行有监督的数据分析。最后通过载荷图中变量重要性投影值 (variable importance projection, VIP) (>1) 及 $P < 0.05$, 筛选与 UC 相关的潜在生物标志物 (此研究中视模型组与正常组比较得出 $P < 0.05$ 的代谢物为候选差异代谢物)。所有数据采用 SPSS 19.0 软件中 one-way ANOVA 进行分析, 并用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

结果

1 HQT 对 UC 大鼠精神、活动状况及饮食量的影响

经 TNBS 造模给药的大鼠 3 天内先后出现不同程度的精神萎靡, 双目暗淡、嗜卧扎堆、竖毛、毛泽无光、体重减轻、进食饮水减少、大便溏或软粒状伴黏冻、个别出现脓血, 提示造模成功。HQT 给药 10 天后, 上述症状均得到不同程度的改善, 精神萎靡好转、体重增加、大便脓血消失。而模型组大鼠症状未出现显著改善。

2 大鼠血清指纹图谱的建立和多变量数据分析

采用 UHPLC-MS 进行血清样品的分离和数据采集, 图 1 为正常组大鼠血清样品中正、负离子模式下的总离子流色谱图 (TIC)。

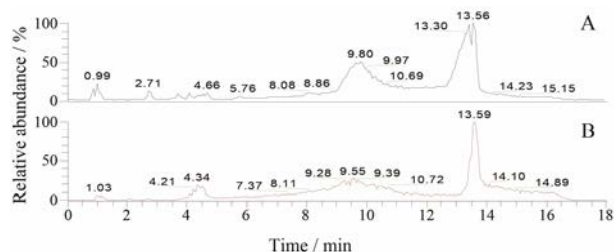


Figure 1 Representative total ion current chromatograms of serum sample of normal group in negative (A) and positive (B) modes

利用无监督的 PCA 对正常组、模型组之间的差异进行分析, 发现各组数据的聚类情况较好, 无可剔除的样本。为了获取更加理想的组间分离及增强对分类贡献大的变量的识别, 进一步进行了有监督的 PLS-DA 分析。如图 2A 所示, 模型组与正常组明显分开, 说明造模后大鼠血清内源性代谢物水平发生了变化。图 2B 中, 正常组、模型组与 HQT 组三组之间没有重叠, HQT 组较模型组渐渐接近于正常组, 表明给予 HQT 后 UC 大鼠血清部分内源性代谢模式发生改变, 从一定程度上说明 HQT 对调节 UC 大鼠的代谢异常有一定的作用; 在空白组 VS 模型组中, $R^2Y = 0.959$, $Q^2 = 0.747$, 可见该模型的稳定性、预测能力均较好。

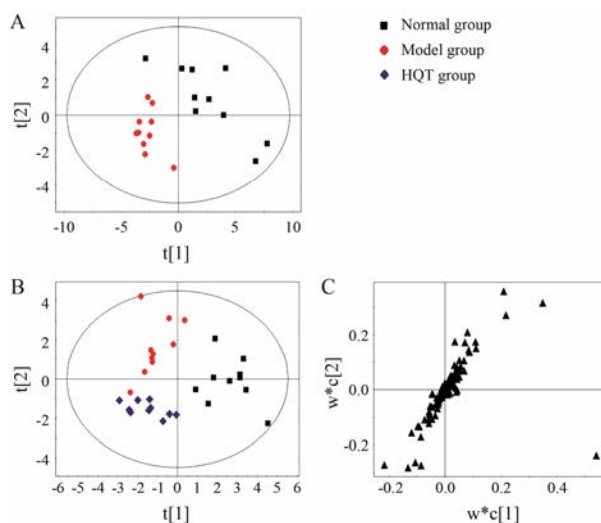


Figure 2 PCA score and loading plots. A and B: PLS-DA derived from spectra of serum from rats in normal group, model group and HQT group. The black point denotes normal group, the red point denotes model group, the blue point denotes HQT group. C: PCA loading plot on the serum metabolic profiling of control group and model group

3 潜在生物标志物的鉴定

PLS-DA 分析后, 通过 PCA 载荷图 (图 2C) 结合 $VIP > 1$ 及 $P < 0.05$ 的筛选条件筛选出潜在的生物标志物。潜在的生物标志物根据质荷比在 Metlin、HMDB 及 KEGG 数据库中进行检索和确认, 并与文献进行比较, 共鉴定出 16 个潜在的生物标志物, 其质谱数据信息见表 1。然后使用 SPSS19.0 软件将 16 种潜在生物标志物的相对峰面积归一化处理并进行单因素方差分析, 研究 HQT 的治疗作用。16 种潜在分子标志物见表 1。

与正常组相比, 缬氨酸、异亮氨酸、色氨酸、花生四烯酸、尿素、胞嘧啶在模型组中明显降低, γ -氨

Table 1 Potential biomarkers of ulcerative colitis (UC) rats. ↑ and ↓ represent higher and lower level in model rats in comparison with control group, separately

t_R /min	Metabolite	KEGG ID	Actual mass	Formula	VIP	Trend	Metabolic pathway
0.967 3	Valine	C00183	117.146 3	C ₅ H ₁₁ NO ₂	5.679	↓	Valine biosynthesis
1.032 4	Urea	C00086	60.032 4	CH ₄ N ₂ O	4.097	↓	Purine and pyrimidine metabolism
1.399 8	Cytosine	C00380	111.043 3	C ₄ H ₅ N ₃ O	2.655	↓	Pyrimidine metabolism
9.279 9	β -Hydroxybutyric acid	C01089	104.047 3	C ₄ H ₈ O ₃	2.363	↑	Butanoate metabolism
9.225 8	Arachidonic acid	C00219	304.240 2	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	2.056	↓	Biosynthesis of unsaturated fatty acids
14.071 2	Benzoic acid	C00180	122.036 8	C ₇ H ₆ O ₂	1.839	↑	Phenylalanine metabolism
0.936 0	Lactic acid	C00186	90.031 7	C ₃ H ₆ O ₃	1.733	↑	Glycolysis/Gluconeogenesis
13.742 9	Acetic acid	C00033	60.052	C ₂ H ₄ O ₂	1.471	↑	Taurine and hypotaurine metabolism
1.557 8	Isoleucine	C00407	131.094 6	C ₆ H ₁₃ NO ₂	1.336	↓	Isoleucine biosynthesis
13.352 7	γ -Aminobutyric acid	C00334	103.063 3	C ₄ H ₉ NO ₂	1.208	↑	Butanoate metabolism
1.419 2	Choline	C00114	104.170 8	C ₅ H ₁₄ NO	1.188	↑	Glycerophospholipid metabolism
9.520 8	Stearic acid	C01530	284.271 5	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.181	↑	Biosynthesis of unsaturated fatty acids
16.432 6	Trimethylamine	C00565	59.073 5	C ₃ H ₉ N	1.144	↓	Methane metabolism
4.014 3	Tryptophan	C00078	204.225 2	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	1.091	↓	Tryptophan metabolism
1.028 6	Creatine	C00300	131.133 2	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	1.085	↑	Arginine and proline metabolism
13.662 3	Palmitic acid	C00249	256.240 2	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	1.012	↑	Fatty acid metabolism

基丁酸、乳酸、肌酸、硬脂酸、棕榈酸、苯甲酸、胆碱在模型组明显升高。经 HQT 干预后, 上述 13 个差异代谢物都有向正常水平靠近的趋势, 说明 HQT 对上述代谢物具有调节作用, 见表 2。而 β -羟基丁酸、乙酸、三甲胺在给予 HQT 干预后, 并无回调趋势。利用 R 语言制图, 本研究以热图的形式展现了与正常组相比, 模型组中潜在分子标志物变化趋势之间的相关性。相关性值越接近 1 表明两个分子物之间变化趋势越接近, 反之, 相关性小于零, 表明两个分子标志物之间变化趋势相反。图中氨基酸在模型组中整体表达降低, 两两之间变化趋势接近。脂肪酸中除花

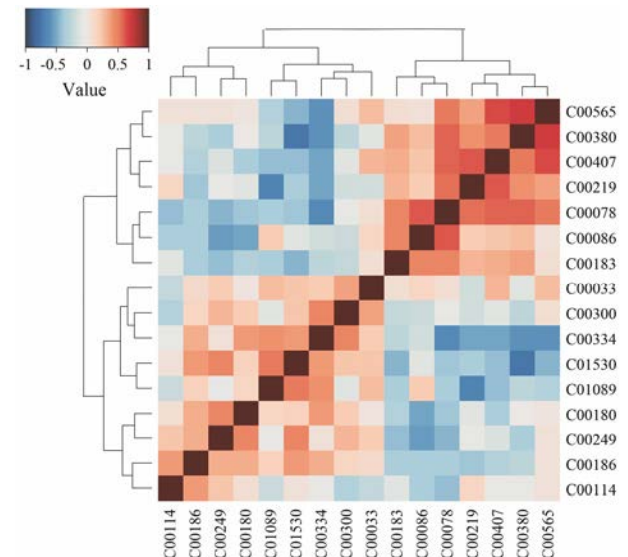
生四烯酸外在模型组中以升高的变化趋势呈簇状相关性接近, 见图 3。

4 潜在生物标志物的代谢通路分析

利用 Metabo Analyst 网站对 16 个代谢产物进行代谢通路的富集分析, 选择 KEGG 作为数据库, 代谢通路影响值的临界设置为 0.10, 高于这个值, 认为是潜在的靶标路径, 共得到 4 条 UC 相关的潜在代谢靶标路径。它们分别为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸的生物合成; 花生四烯酸代谢; 色氨酸代谢; 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 见图 4。表明在 UC 发病过程中, 上述 4 个靶标路径受到了较大干扰。

Table 2 Relative peak areas of potential biomarkers in UHPLC-MS spectra of serum. $n=10$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group

Biomarker	Relative peak area		
	Normal group	Model group	HQT group
Valine	52.21 \pm 7.51	44.65 \pm 2.43**	45.06 \pm 18.76
Urea	14.45 \pm 3.53	11.32 \pm 0.91*	11.86 \pm 0.58
Cytosine	3.68 \pm 0.60	2.64 \pm 0.74**	3.25 \pm 0.37#
Arachidonic acid	4.49 \pm 0.91	3.51 \pm 0.75*	4.03 \pm 0.45
Benzoic acid	2.30 \pm 0.34	3.08 \pm 0.83*	1.85 \pm 0.47##
Lactic acid	3.27 \pm 0.42	4.85 \pm 1.15**	3.69 \pm 0.70#
Isoleucine	1.60 \pm 0.37	1.07 \pm 0.31**	1.09 \pm 0.30
γ -Aminobutyric acid	1.37 \pm 0.10	1.54 \pm 0.11**	1.44 \pm 0.06#
Choline	1.90 \pm 0.47	2.44 \pm 0.66*	1.98 \pm 0.38#
Stearic acid	4.22 \pm 0.17	4.45 \pm 0.06**	4.43 \pm 0.09
Tryptophan	0.46 \pm 0.01	0.27 \pm 0.07**	0.28 \pm 0.06
Creatine	6.52 \pm 0.42	7.68 \pm 2.06*	3.81 \pm 0.56##
Palmitic acid	1.70 \pm 0.20	1.91 \pm 0.22*	1.72 \pm 0.08#

**Figure 3** The correlation analysis of change trend of potential molecular markers in the model compared to normal group

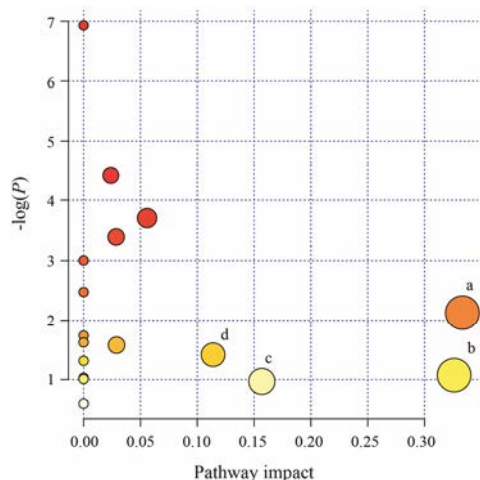


Figure 4 Summary of pathway analysis. a: Valine, leucine and isoleucine biosynthesis; b: Arachidonic acid metabolism; c: Tryptophan metabolism; d: Alanine, aspartate and glutamate metabolism

5 代谢通路网络

利用 Metabo Analyst 的通路富集结果与 KEGG 数据库中相关信息的查阅, 对 16 种潜在生物标志物进行了归纳总结, 构建了 UC 大鼠差异代谢物的体内代谢通路网络图 (图 5), 以便更加清晰直观地了解 UC 大鼠的体内代谢路径。图 5 显示, UC 模型大鼠主要与脂代谢、氨基酸代谢和能量代谢等相关通路有关, 将几条主要代谢发生紊乱的通路串联起来, 可见 UC 是一种涉及多个代谢紊乱的疾病。经 HQT 治疗后部分代谢物出现回调趋势, 代谢通路的紊乱相应得到有效调节。

讨论

本研究借助 UHPLC-MS 高灵敏检测平台试图从代谢的角度阐明这一复杂的病理生理过程。对这些差异代谢物的监测有利于进一步理解 HQT 对 UC 的作

用机制。以下围绕部分潜在分子标志物的生物学意义展开讨论。

氨基酸在肠道炎症性疾病中起着重要的生物学作用^[12]。异亮氨酸、缬氨酸通过转化成为葡萄糖后氧化分解, 为机体提供必要能量, 参与修复组织、调节血糖、提升体能等。这些氨基酸的含量在模型组中降低, 提示 UC 存在能量代谢障碍。说明氨基酸在 UC 的发生发展中具有重要的作用。色氨酸为 5-羟色胺 (5-HT) 的前体, 是一种在肠道中广泛表达的代谢物和递质^[13]。5-HT 信号系统异常可导致胃肠道动力及分泌功能异常, 与胃肠道功能性疾病密切相关^[14]。模型组中低表达的差异性代谢物色氨酸及候选差异代谢物 5-HT, 可能是导致 UC 大鼠腹泻及精神萎靡的相关因素。而 HQT 干预后的 UC 大鼠色氨酸、5-HT 均有不同程度的回调。

γ -氨基丁酸 (简称 GABA) 是胃肠神经系统中重要的抑制性神经递质^[15]。GABA 主要受中枢神经系统的控制, 它参与消化吸收、胃肠道运动等生理活动, 并调节中枢神经系统, 促进大脑皮质功能及自主神经功能的恢复, 增强胃肠蠕动^[16]。模型组中 GABA 含量显著性升高, 说明胃肠神经系统存在异常, 这也可能是模型组 UC 大鼠出现胃肠功能紊乱的主要因素。HQT 组 GABA 含量下降, 分析 HQT 可能通过对 GABA 的调节, 降低大鼠胃肠道敏感性, 从而改善腹泻状况。

在本研究中, 许多差异代谢物与能量代谢密切相关。乳酸、肌酸在模型组的水平显著升高。正常情况下, 肠屏障能阻止肠道内细菌及其分解产物经肠壁扩散至机体内^[17], 当结肠黏膜受损致肠黏膜通透性增加时, 肠道中的大量乳酸通过受损的结肠黏膜进入血中, 使血中乳酸水平升高。因此血清中的乳酸浓度可反映肠黏膜通透性变化, 具体表现为肠黏膜

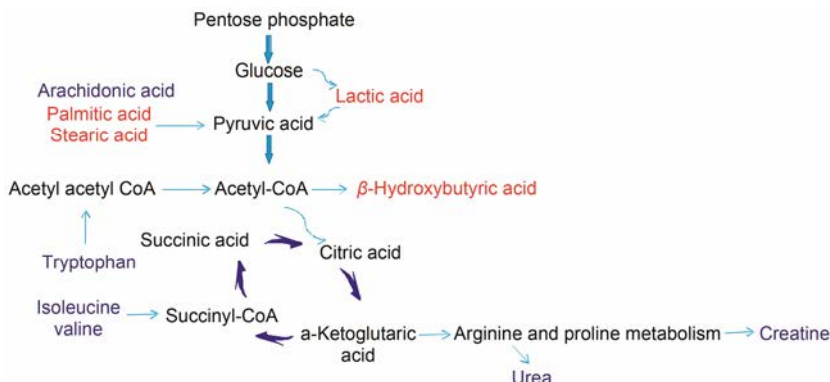


Figure 5 The metabolic network of serum endogenous metabolites. The red color represents up-regulated, and the blue color represents down-regulated in the normal group compared to the model group

受损。肌酸是体内能量储存、利用的重要化合物, 模型组大鼠血清中乳酸、肌酸含量的升高提示模型组大鼠体内能量代谢的紊乱。HQT 干预后, 乳酸及肌酸含量显著下降, 暗示大鼠受损的 UC 黏膜出现修复迹象, 紊乱的能量代谢得到调节。

大量的脂类及其衍生代谢物在本次研究中被检测并鉴定, 包括硬脂酸、棕榈酸、花生四烯酸、 β -羟丁酸及胆碱。研究^[18]发现, 脂肪酸与炎症发病密切相关。造模后, 观察到硬脂酸、棕榈酸大量堆积, 分析可能是细胞生物膜持续被破坏, 无法及时修复或转运所致, 为此部分脂肪酸的堆积加重了炎症反应。HQT 干预后, 棕榈酸含量显著下调。 β -羟丁酸又称为酮体, 是脂肪酸在肝细胞线粒体中进行 β -氧化所生成的特殊中间产物, 酮体分子在肝细胞生成后进入血液循环。机体正常情况下利用葡萄糖的氧化供能获得能量, 血液中酮体含量极少。而在模型组中, β -羟丁酸含量显著高于正常组, 分析为在 UC 病理情况下, 大鼠糖代谢受阻、脂肪动员增强, 从而脂肪酸 β -氧化的产物—酮体的生成增加。

胆碱代谢与脂类代谢关系密切, 胆碱也是细胞膜和磷脂脂蛋白的重要组成成分, 对细胞膜的完整性及脂类代谢发挥着重要作用^[19, 20], 同时, 胆碱也参与脂肪代谢的平衡调控, 其含量升高也是脂代谢紊乱的证据。三甲胺是由胆碱和肉碱在肠道细菌酶作用下的降解产物, 肠道菌群代谢的改变与炎症相关的疾病有关^[21, 22]。模型组中三甲胺含量降低, 表明肠道菌群代谢可能发生紊乱。尿素是蛋白质代谢的主要最终产物, 在大鼠结肠炎发病后尿素水平的降低可认为是炎症状态下蛋白质的代谢受到了干扰, 考虑为病理状态下蛋白分解变缓所致。

综上所述, 响应 UC 扰动导致了大鼠机体内一系列代谢途径的激活与紊乱。而 HQT 干预后的 UC 大鼠, 其紊乱的代谢通路得到有效调节, 表明 HQT 对 UC 具有治疗作用, 其机制可能与 HQT 调节大鼠体内紊乱的氨基酸代谢、能量代谢及脂代谢等有关。

References

- [1] Wang B, Zhu XD, Duan YQ, et al. Effect of paeoniflorin on colon tissue pathological morphology and the balance of anti-inflammatory and proinflammatory factors in rats with ulcerative colitis [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig* (中国中西医结合消化杂志), 2013, 21: 1-4.
- [2] Hammer HF. Gut microbiota and inflammatory bowel disease [J]. *Dig Dis*, 2011, 29: 550-553.
- [3] Cooney R, Jewell D. The genetic basis of inflammatory bowel disease [J]. *Dig Dis*, 2009, 27: 428-442.
- [4] Leone V, Chang EB, Devkota S. Diet, microbes, and host genetics: the perfect storm in inflammatory bowel diseases [J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48: 315-321.
- [5] Wang DF, Wang YL, Wang YW, et al. Effect of Huangqin Tang on the function of regulatory TLR4/MyD88 signal pathway in rats with ulcerative colitis [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2016, 51: 1558-1563.
- [6] Wang YW, Zhang HH, Wang YL, et al. Effect of Huangqin Tang on the regulatory NF- κ B p65 signal pathway in rats with ulcerative colitis [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2015, 50: 21-27.
- [7] Wang J, Chen Y, Yuan ZM. Differences in effective mechanisms of *Coptidis Rhizoma* and bile processed *Coptidis Rhizoma* on heat syndrome based on urinary metabolomics [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2016, 41: 2638-2645.
- [8] Zhong LJ, Zhang WQ, Ji P, et al. Metabolomic evaluation for anti-inflammatory effect of volatile oils from different preparations of *Angelicae Sinensis Radix* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2016, 41: 2061-2069.
- [9] Xue ZY, HuaYL, Li JX, et al. Effect of different processed volatile oils from *Angelica sinensis* on urinary metabolomics rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2016, 41: 928-939.
- [10] Li T, Zhuang S, Wang Y, et al. Flavonoid profiling of a traditional Chinese medicine formula of Huangqin Tang using high performance liquid chromatography [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6: 148-157.
- [11] Morris GP, Beck PL, Herridge MS, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96: 795-803.
- [12] Wang WW, Qiao SY, Li DF. Amino acids and gut function [J]. *Amino Acids*, 2009, 37: 105-110.
- [13] Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2009, 21: 1239-1249.
- [14] Ding JH, Fu CG, Zhao RH. The research status of serotonin in the gastrointestinal tract functional disease [J]. *World Chin J Digestol* (世界华人消化杂志), 2005, 13: 2405-2408.
- [15] Yang SY, Lu Z, et al. Research progress on microbial glutamate decarboxylase [J]. *Food Sci* (食品科学), 2005, 26: 528-533.
- [16] Zhang K, Ren L, Li D, et al. Influence of metabolomics

- of liver depression functional dyspepsia rats on electric acupuncture [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med* (辽宁中医药大学学报), 2016,18: 110-114.
- [17] Yuan YZ, Tang YM. Paying attention to studying on gut barrier function [J]. *Chin J Dig* (中华消化杂志), 2006, 26: 577-578.
- [18] Wei YF. Protective Effect of Huang-Lian-Jie-Du-Tang Against CLP-induced Polymicrobial Sepsis and Its Influence on Metabolome Profile in Rats (黄连解毒汤对 CLP 诱导的脓毒症大鼠的保护作用及其代谢组学研究) [D]. Shanghai: The Second Military Medical University, 2014.
- [19] Ye HQ, Gan L, Yang XL, et al. Membrane-associated cytotoxicity induced by realgar in promyelocytic leukemia HL-60 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 103: 366-371.
- [20] Zeisel SH, Blusztajn JK. Choline and human nutrition [J]. *Ann Rev Nutr*, 1994, 14: 269-296.
- [21] Wang WZ, Tian FS. Review the connection between trimethylamine oxide and atherosclerosis [J]. *Tianjin Med J* (天津医药), 2015, 43: 443-445.
- [22] Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Correction: through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians [J]. *PLoS One*, 2010, 5: e10667.

正大天晴药业集团股份有限公司为国内肝健康药物研发和生产基地之一，是国家重点高新技术企业、国家火炬计划连云港新医药产业基地重点骨干企业、“国内最佳研发生产线”十佳工业企业（第2名）、江苏省创新型企业。企业效益连续多年增长 30% 以上并连续多年位居全国医药行业百强之列，且逐年上升，工信部发布的 2012 年度中国制药工业百强榜中，正大天晴排名第 28 位。

公司现有员工 2750 人，拥有 5 个全资子公司、6 个控股子公司，在连云港、南京、盐城和淮安分别建有研发和生产基地。正大天晴药业产品治疗涉及肝病、肿瘤、糖尿病、呼吸、心脑血管、感染等多个疾病领域，在肝病药物研发领域具备突出优势，2013 年肝病药物产品在国内医院市场占有率已达到 19% (IMS)。

正大天晴一贯重视研发创新工作，始终把技术创新视为企业生命的源泉，经过 40 多年的发展和探索，逐步形成了完善的创新体系。目前拥有研发人员 500 余名，高级工程师 23 名，博士 17 名，硕士 200 余名，博士、硕士及具有高级技术职称的人员占 40% 以上，逐渐形成了以国家“千人计划”等高端人才组成的海归团队、博士项目创新团队、高工经验技术团队和专家学术支持团队几大人才梯队，承担着正大天晴药业的新药研发、工艺改造等一系列重要的科研任务。公司先后成功地研制了具有自主知识产权的肝病治疗药物，并成功完成了数十个科研成果的产业化。

“十五”以来，公司先后承担了国家、省重点科技项目 30 多个，通过这些重点项目的实施及产业化，加大了企业与科研院所之间学术交流、产品研究、技术支持、成果转让等方面的合作力度，使得企业创新能力及科技管理水平得到了明显提高，为公司的快速发展提供了有力的支持。