

基于网络药理学和非靶向代谢组学探讨白术-苍术改善 ob/ob 小鼠肥胖的作用机制

李 静^{1,3}, 许宗颖^{1,3}, 徐进文^{1,3}, 骆欢欢^{1,2,3*}

¹广州中医药大学 中医证候全国重点实验室, 广州 510006;

²中医药广东省实验室, 横琴 519031; ³广州中医药大学中西医结合基础研究中心, 广州 510006

摘要: 基于网络药理学和非靶向代谢组学, 探讨白术-苍术 (Atractylodis Macrocephalae Rhizoma-Atractylodis Rhizoma, AM-AL) 药对改善肥胖的作用机制。采用 ob/ob 肥胖小鼠模型, Micro CT 分析皮下脂肪 (inguinal white adipose tissue, iWAT) 和附睾脂肪 (epididymal white adipose tissue, eWAT) 体积; Masson 染色法观察 eWAT 病理变化; ELISA 检测 eWAT 中白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6)、IL-17、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量。采用 Q-Orbitrap 高分辨液质联用技术对 AM-AL 入血成分进行定性分析。网络药理学技术筛选入血成分与疾病交集靶点。非靶向代谢组学技术筛选 eWAT 中差异代谢物及相关代谢通路后, 联合网络药理学, 构建“代谢物-反应-酶-基因”网络进行联合分析。动物实验结果表明, AM-AL-H 能降低小鼠体重和日均进食量; 降低 iWAT 和 eWAT 的体积; 改善炎症和氧化应激水平。Q-Orbitrap 鉴定 AM-AL 入血成分中有 49 个化合物。网络药理学结果显示, 丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT serine/threonine kinase 1, AKT1) 为核心靶点, 主要涉及代谢通路、脂质与动脉粥样硬化等。非靶向代谢组学显示, AM-AL 对药显著回调了 20 个差异代谢物, 整合分析结果显示, 甘油磷脂代谢可能是 AM-AL 入血成分发挥抗肥胖作用的关键通路。本实验初步阐明了 AM-AL 改善肥胖的作用机制, 为其临床应用及后续研究提供了科学依据。

关键词: 白术-苍术; 肥胖; Q-Orbitrap 高分辨液质联用; 网络药理学; 非靶向代谢组学

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1001-6880(2026)8-1777-13

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.8.016

CSTR: 32307.14.1001-6880.2026.8.016

Mechanism of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma-Atractylodis Rhizoma in improving obesity of ob/ob mice based on network pharmacology and untargeted metabolomics

LI Jing^{1,3}, XU Zong-ying^{1,3}, XU Jin-wen^{1,3}, LUO Huan-huan^{1,2,3*}

¹State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Syndrome, Guangzhou University of

Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; ²Chinese Medicine Guangdong Laboratory, Hengqin 519031, China;

³Research Centre of Basic Integrative Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: Based on network pharmacology and untargeted metabolomics, the mechanism of Atractylodis Macrocephalae Rhizoma-Atractylodis Rhizoma (AM-AL) herb pair improving obesity was explored. The ob/ob mice model of obesity was used. Micro CT was employed to analyze the volumes of inguinal white adipose tissue (iWAT) and epididymal white adipose tissue (eWAT). Masson staining was used to observe the pathological changes of eWAT. ELISA was performed to detect the levels of interleukin-6 (IL-6), IL-17, tumor necrosis factor- α (TNF- α), and malondialdehyde (MDA) in eWAT. Q-Orbitrap high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry was used to qualitatively analyze the absorbed components of AM-AL in serum. Network pharmacology technology was used to screen core targets between absorbed components and diseases. Untargeted metabolomics was used to screen differential metabolites of eWAT, and related metabolic pathways. Combined with network pharmacology, a "metabolite-reaction-enzyme-gene" network was constructed for joint analysis. The animal experiment

收稿日期: 2026-01-13

接受日期: 2026-04-28

基金项目: 国家自然科学基金 (82174244, 81774107); 院校共建重点项目 (GZYS2024U03)

* 通信作者 Tel: 86-20-39358012; E-mail: avenluo@zucm.edu.cn

results showed that the high-dose AM-AL group could reduce the body weight and daily food intake of mice; reduce the volume of iWAT and eWAT; and improve the levels of inflammation and oxidative stress. Q-Orbitrap identified 49 compounds in serum. Network pharmacology results showed that AKT serine/threonine kinase 1 (AKT1) was the core target, mainly involving metabolic pathways, lipids and atherosclerosis, and so on. Untargeted metabolomics showed that AM-AL significantly regulated 20 differential metabolites. The integrated analysis results indicated that glycerophospholipid metabolism might be the key pathway for the anti-obesity effect of AM-AL. This experiment initially clarified the mechanism of AM-AL in improving obesity, providing a scientific basis for its clinical application and subsequent research.

Key words: Atractylodis Macrocephalae Rhizoma-Atractylodis Rhizoma; obesity; Q-Orbitrap high-resolution liquid chromatography-mass spectrometry; network pharmacology; untargeted metabolomics

肥胖是由于脂肪细胞体积增大和数量增多而引起的一种慢性代谢性疾病。最新数据显示,中国是全球超重/肥胖成年人数最多的国家,达到4.02亿,预计到2050年,全球超重/肥胖人数达到38.0亿,超过当时成人总数的一半^[1]。肥胖不是单纯的个人体型问题,已经引起了国家的广泛关注。过多摄入高能量、高脂高糖、低膳食纤维,刺激神经中枢摄食神经元,引发进食过量、进食行为不规律等不良饮食习惯是导致肥胖的因素之一^[2]。过多的脂肪累积,会导致代谢性疾病的发生,尤其是内脏脂肪^[3]。目前获得国家药品监督管理局批准的减肥药物主要有奥利司他、利拉鲁肽、贝那鲁肽、司美格鲁肽及替尔泊肽,均有胃肠道反应等副作用^[2]。中医药治疗肥胖副作用小,具有一定的优势。肥胖症的临床治疗十分困难,寻找安全可长期口服的减肥药,具有重要意义。

白术健脾益气、燥湿利水、止汗、安胎,为健脾要药;苍术燥湿健脾,祛风散寒,明目,为运脾要药。已有研究证实,白术、苍术单味水煎液或有效成分单用,抑制脂肪酶活性,抑制脂质沉积,促进腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路的表达,改善肥胖效果显著^[4]。苍术醇提取物、苍术素、苍术酮等调节脂质代谢、脂质堆积^[5]。《丹溪心法》认为“凡肥白之人,沉困怠惰,是气虚,宜二术。”朱丹溪常用白术、苍术配伍治疗肥胖。蒙小文临床发现白术、苍术与佩兰、茯苓、陈皮等联合使用,可有效降低肥胖型糖尿病前期患者的血糖、血脂水平,并有减重作用^[6]。白术、苍术和二陈汤联合使用还能改善腹型肥胖糖尿病患者的炎症、氧化应激水平,减少内脏脂肪含量,改善糖脂代谢^[7,8]。然白术、苍术配伍治疗肥胖的药理研究未见报道。本研究对白术-苍术(Atractylodis Macrocephalae Rhizoma-Atractylodis Rhizoma, AM-AL)含药血清入血成分,进行网络药理

学分析,并结合非靶向代谢组学,探讨AM-AL改善肥胖的可能作用机制,为临床AM-AL治疗肥胖提供参考和依据,为新药开发及中医药现代化研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级C57BL/6雄性小鼠6只,ob/ob雄性小鼠24只,6~7周龄,体重 21 ± 2 g,购于常州卡文斯实验动物有限公司(许可证号SCXK(苏)2021~0013)。饲养于中山市中医院,自由饮水,12 h/12 h光照/黑暗交替。动物于实验前12 h,禁食不禁水。实验操作规程按动物研究委员会指南执行。实验草案获中山市中医院实验动物伦理委员会批准(AEWC-2023078)。

1.2 试剂及仪器

白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-17、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)ELISA试剂盒(批号:E-EL-H6156, E-EL-H0109, E-EL-R0566c, E-EL-0060c, 武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);二甲双胍片(批号:H20023370, 默克制药江苏有限公司);甲醇、甲酸、乙腈(色谱纯,美国Fisher公司);水(杭州娃哈哈集团有限公司);Masson染色试剂盒(批号G1003, 武汉赛维尔生物科技有限公司);异氟烷(批号2024060701, 深圳瑞沃德生命科技有限公司);生理盐水(20230201, 武汉赛维尔生物科技有限公司)。

EnVision多功能酶标仪(美国珀金埃尔默公司);Waters ACQUITY UPLC I-Class plus/Thermo QE plus液相色谱-质谱联用仪(美国Waters公司);Ulti-Mate 3 000 RS色谱仪(中国赛默飞世尔科技有限公司);ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m)液相色谱柱(美国Waters公司);Q Exactive高分辨质谱仪(中国赛默飞世尔科技有限公司);Quantum gx2 Micro CT(美国珀金埃尔默公司)。

1.3 方法

1.3.1 药品制备

白术(批号:240101,广东吉明丰中药饮片有限公司);苍术(批号:231001,广东时珍制药有限公司)。AM-AL 水煎液根据《中华人民共和国药典》2020 年版制备:白术 12 g,苍术 9 g,加 10 倍水,煎煮 3 h,煎煮 2 次,浓缩,定容到 1 g/mL。二甲双胍片(0.5g/片),生理盐水溶解,定容到 0.1 mg/mL。

1.3.2 分组与给药

C57BL/6 小鼠和 ob/ob 小鼠适应性喂养 7 d 后,将 C57BL/6 小鼠设为空白组(control, Con),ob/ob 小鼠随机分为模型组(model, Mod)、二甲双胍(metformin, Met; 70 mg/kg)组,AM-AL 低剂量组(low-dose AM-AL, AM-AL-L; 6 g/kg),AM-AL 高剂量组(high-dose AM-AL, AM-AL-H; 12 g/kg),每组 6 只。根据《药理实验方法学》,小鼠给药剂量为人体等效剂量的 9.1 倍^[9]。AM-L 和 AM-H 组给药剂量分别为临床等效剂量的 2 倍和 4 倍量^[10],Con 组和 Mod 组灌胃等体积生理盐水。2 次/日灌胃,持续 10 周。

1.3.3 标本采集

实验结束后,禁食 12 h 后进行取材,实验动物称重后使用异氟烷麻醉,采集腹主动脉血,3 000 r/min 离心 15 min 收集上清。颈椎脱臼处死小鼠后,切除皮下脂肪(inguinal white adipose tissue, iWAT)、附睾脂肪(epididymal white adipose tissue, eWAT);部分-80℃下保存,部分使用 4% 多聚甲醛固定。

1.3.4 Micro-CT 检测脂肪体积

实验末,禁食 24 h 后,对待测小鼠进行异氟烷气体麻醉,移入 Micro CT 中,设备参数:90 kV、88 μ A、15 min。将 iWAT、eWAT 分别标记为绿色、黄色,骨骼标记为白色,边界强化值设定为 200。

1.3.5 指标检测

每周称量记录小鼠体质量及进食量。使用 4% 多聚甲醛对小鼠的 eWAT 进行固定,并进行 Masson 染色,于 200 $\times$ 光学显微镜下观察各组小鼠组织病理形态学变化。ELISA 检测 eWAT 炎症 IL-6、TNF- α 、IL-17 和氧化应激指标 MAD。

1.4 Q-Orbitrap 高分辨液质联用技术对血清成分进

1.4.1 质谱条件

电喷雾电离源(ESI);扫描:正负离子切换;扫描范围:100.0~1 500.0 m/z;检测方式:Full mass/dd-MS²,full mass 分辨率为 70 000,dd-MS² 分辨率

为 17 500;电喷雾电压:3.2 kV;毛细管温度:300℃;碰撞能梯度为 30、40、60 eV;数据采集时间:30.0 min。

1.4.2 色谱条件

色谱柱:AQ-C₁₈(150 mm $\times$ 2.1 mm 1.8 μ m);流动相:水相(A)为 0.1% 甲酸-水溶液,有机相(B)为甲醇;柱温箱温度:35℃;色谱梯度:1~5 min,2% B $\rightarrow$ 20% B;5~10 min,2% B $\rightarrow$ 50% B;10~15 min,50% B $\rightarrow$ 80% B;15~20 min,80% B $\rightarrow$ 95% B;20~27 min,95% B;27~28 min,95% B $\rightarrow$ 2% B;28~30 min,2% B。

1.4.3 数据分析

高分辨液质采集的数据通过 CD 3.3 (Compound Discoverer 3.3) Thermo Fisher 完成数据初步整理后进行数据库 mzVault-TCM(中药库)检索比对。

1.5 网络药理学分析

1.6.1 入血成分和肥胖相关疾病靶点筛选

将 AM-AL 入血成分预测活性后,导入 SwissTargetPrediction 数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>),搜索潜在作用靶点。然后在 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)数据库通过“Obesity”关键词搜索对应基因,以识别与肥胖相关的靶点。

1.6.2 蛋白互作网络分析

将入血成分靶点与肥胖疾病相关靶点导入 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es>)取交集后,将交集靶点提交至 STRING 数据库(<https://string-db.org>),选择物种为 Homo sapiens。蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络结果导入 Cytoscape 3.10.2 软件,筛选出 AM-AL 治疗肥胖的关键靶点。

1.6.3 GO 功能和 KEGG 富集分析

将交集靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>)进行 GO 和 KEGG 富集分析,

获取交集靶点的生物学信息,并分析 AM-AL 治疗肥胖的潜在作用机制。

1.6.4 “活性成分-靶点-通路-疾病”网络构建

将化合物、关键靶点以及富集通路、疾病关系导入 Cytoscape 3.10.2 软件,构建“化合物-靶点-通路”网络。

1.6 非靶向代谢组学分析

1.6.1 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm $\times$

2.1 mm,1.8 μm);柱温:45℃;流动相:A相为水(含0.1%甲酸),B相为乙腈;进样体积:3 μL。洗脱梯度:0~2 min,5% B;2~4 min,5% B→30% B;4~8 min,30% B→50% B;8~10 min,50% B→80% B;10~14 min,80% B→100% B;14~15 min,100% B;15~15.1 min,100% B→5% B;15.1~16 min,5% B。

1.6.2 质谱条件

喷雾电压:正离子3 800 V,负离子3 200 V;毛细管温度:320℃;辅助气加热器温度:350℃;鞘气流量:35 Arb;辅助气流量:8 Arb;S镜射频水平:50;质量范围:70~1 050 *m/z*;全扫描分辨率:70 000;MS/MS分辨率:17 500。

1.6.3 数据分析

数据经 Progenesis QI v3.0(Waters 公司,美国)软件进行预处理,采用无监督的主成分分析(principal components analysis,PCA)来观察各组间的总体分布和整个分析过程的稳定性,然后用正交偏最小二乘法分析(orthogonal partial least squares discrimi-

nant analysis,OPLS-DA)来区分各组间代谢轮廓的总体差异,找到组间的差异代谢物。以 $P<0.05$ 、倍数变化(fold change,FC)≥1.2或FC≤1/1.2为筛选标准。

1.7 统计学分析

实验数据以平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 GraphPad Prism 8.0 软件对数据进行统计学分析,组间差异采用单因素方差(One-way ANOVA)分析, $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AM-AL 对 ob/ob 小鼠体质量、日均进食量的影响

与 Con 组比较,Mod 组小鼠体质量、日均进食量显著升高($P<0.001$)。与 Mod 组比较,AM-AL-H 组和 Met 组小鼠体质量降低($P<0.05$),分别下降 13.35%、7.50%,AM-AL-H 组小鼠食量下降($P<0.05$)(见图1)。表明 AM-AL 具有减轻体重,降低食欲的作用。

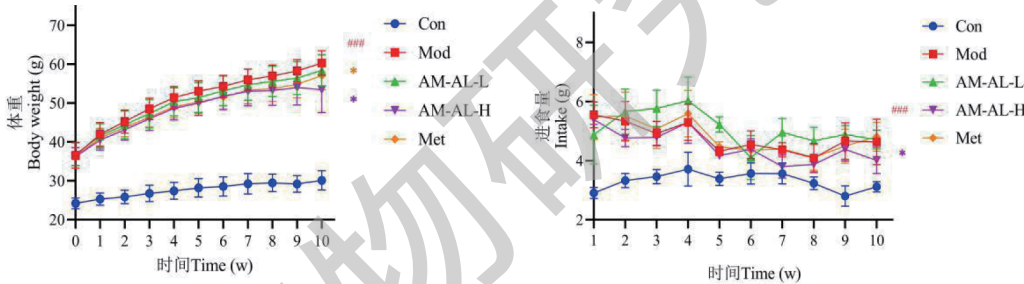


图1 AM-AL 对 ob/ob 小鼠体质量(A)及日均进食量(B)的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)

Fig.1 Effects of AM-AL on body weight (A) and daily food intake (B) in ob/ob mice($\bar{x}\pm s,n=6$)

注:与 Con 组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$;与 Mod 组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$,下同。Note:Compared with Con group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$;Compared with Mod group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$,the same blow.

2.2 AM-AL 对 ob/ob 小鼠脂肪体积的影响

与 Con 组比较,Mod 组小鼠 iWAT 和 eWAT 体积显著升高($P<0.001,P<0.001$)。与 Mod 组比较,AM-AL-H 组和 Met 组小鼠脂肪体积降低($P<0.05$)(见图2)。表明 AM-AL 具有降低脂肪体积的作用。

2.3 AM-AL 对 ob/ob 小鼠 eWAT 组织病理变化的影响

与 Con 组比较,Mod 组小鼠 eWAT 中的细胞体积偏大、直径增加,且大小不均,单位面积细胞数量明显减少,未见束状胶原纤维。与 Mod 组比较,各给药组小鼠的脂肪细胞体积明显缩小,细胞直径明显缩短,单位面积细胞数量明显增多,排列更加致密,形态更趋均匀(见图3)。结果表明,AM-AL 能

改善 ob/ob 小鼠 eWAT 病理损伤。

2.4 AM-AL 对 eWAT 组织中炎症 IL-6、TNF-α、IL-17 和氧化应激 MAD 的影响

与 Con 组比较,Mod 组小鼠 IL-6、TNF-α、IL-17 水平升高($P<0.001,P<0.01,P<0.05$),与 Mod 组比较,AM-AL-H 组能降低 IL-6、TNF-α、IL-17、MAD 水平($P<0.05,P<0.01$);Met 组能降低 TNF-α、IL-17 水平($P<0.01,P<0.05$)(见图4)。结果表明 AM-AL 具有改善炎症,抗氧化的作用。

2.5 AM-AL 入血成分分析

Mod 组和 AM-AL-H 组小鼠血清样本的化学成分鉴定总离子流图(见图5、6)。Mod 组小鼠血清在 mzCloud 数据库中共匹配到457个化合物,去除重

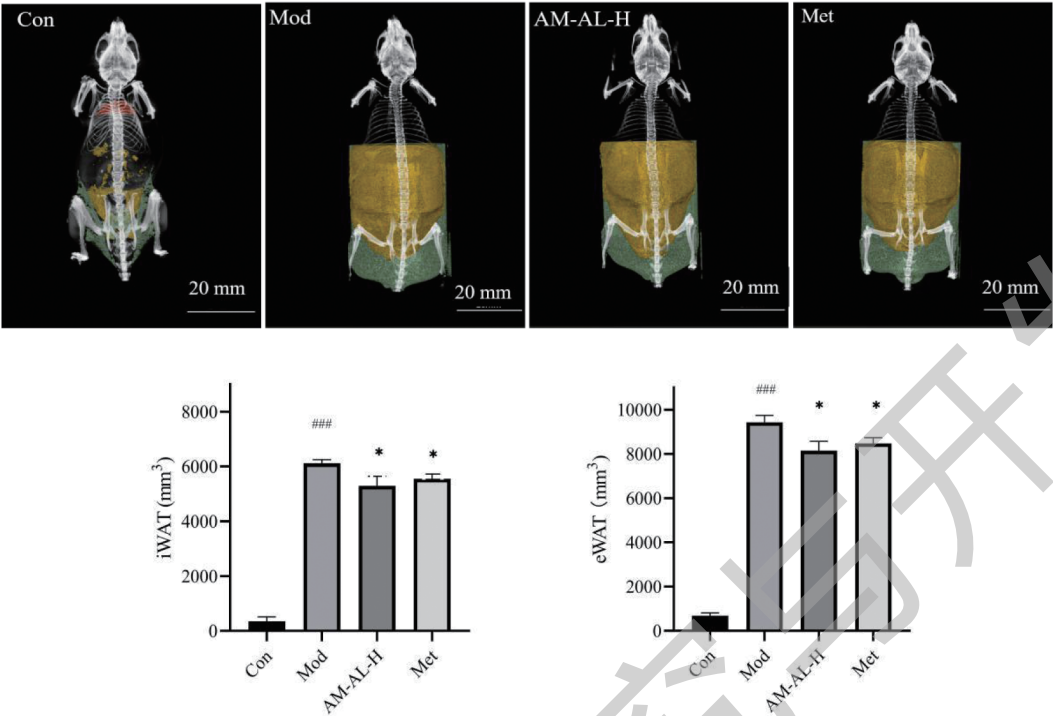


图 2 AM-AL 对 ob/ob 小鼠脂肪体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of AM-AL on adipose tissue volume in ob/ob mice($\bar{x} \pm s, n = 3$)

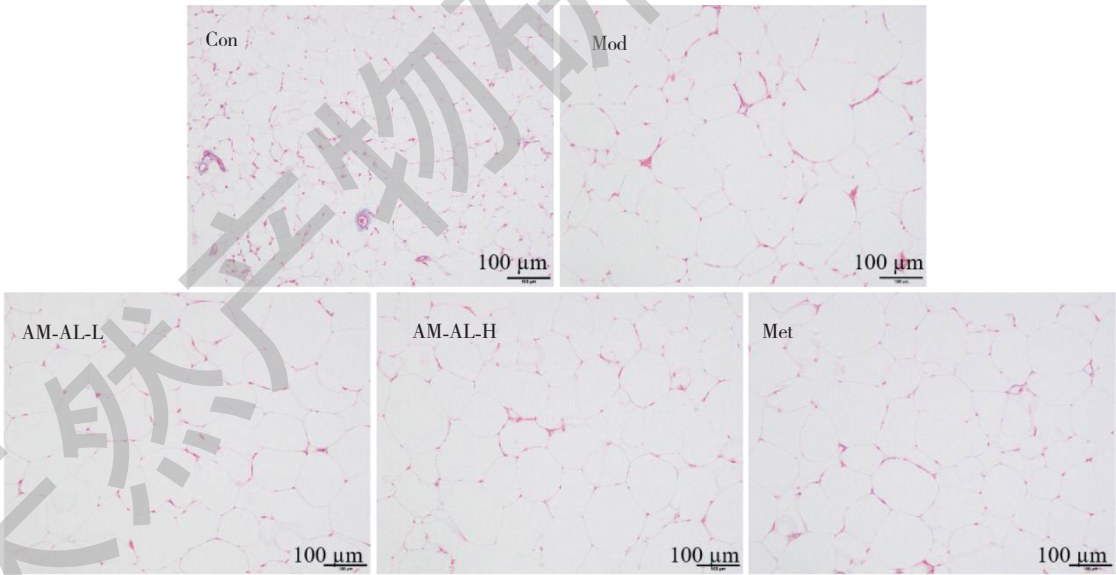


图 3 AM-AL 对 ob/ob 小鼠 eWAT 组织病理变化的影响 (Masson 染色)

Fig. 3 Effects of AM-AL on pathological changes in eWAT of ob/ob mice (Masson staining)

复化合物后确定 72 个化合物;AM-AL-H 组小鼠血清在 mzCloud 数据库中共匹配到 435 个化合物,去除重复化合物后确定 65 个化合物。对比 Mod 组和 AM-AL-H 组小鼠血清的化学成分,发现 49 个差异

化合物,为中药入血成分。根据 mzCloud 数据库匹配度分值排名前 10 的包括:L-色氨酸、左旋肉碱、L-亮氨酸、烟酰胺、柠檬酸、对羟基肉桂酸、6-姜酚、L-脯氨酸、L-缬氨酸、L-苯丙氨酸。

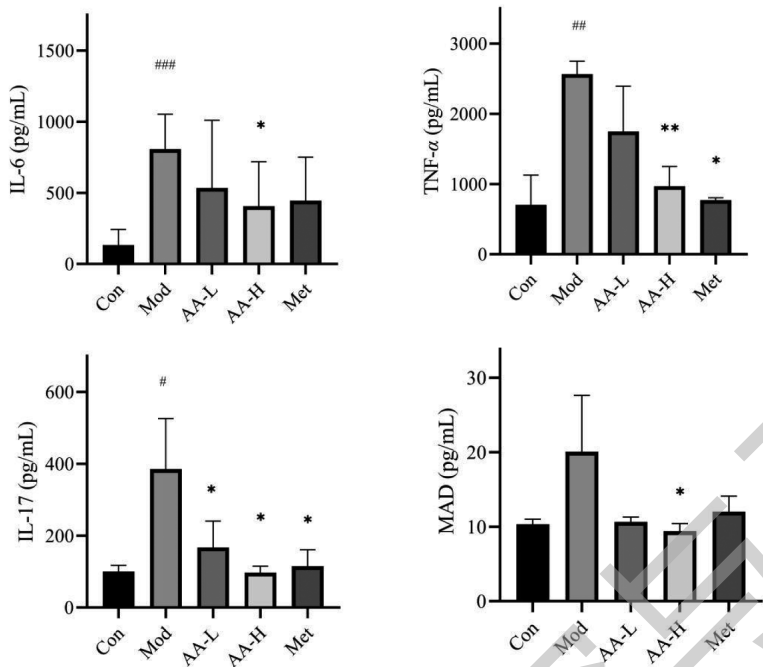


图4 AM-AL对eWAT组织中炎症IL-6、TNF-α、IL-17和氧化应激MAD的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effects on inflammation (IL-6, TNF-α, IL-17) and oxidative stress (MDA) in eWAT($\bar{x} \pm s, n = 6$)

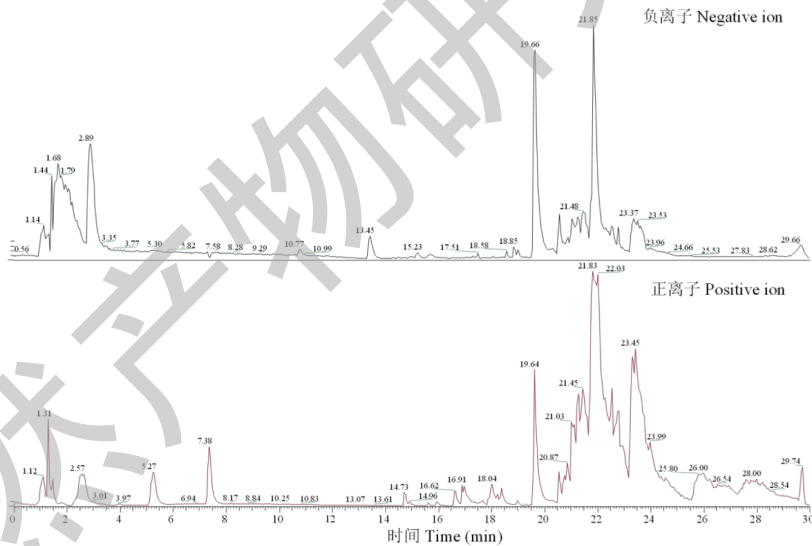


图5 Mod组血清总离子流色谱图

Fig. 5 Serum total ion chromatograms of Mod group

2.6 网络药理学结果

对活性预测后的34个AM-AL入血成分,进行靶点检索,获得598个作用靶点,1615个肥胖疾病靶点。通过韦恩分析,疾病-入血成分靶点取交集,共获得172个关键靶点(见图7A)。AKT1、连环蛋白β1(catenin beta 1, CTNNB1)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、肿瘤蛋白p53(tumor

protein p53, TP53)、雌激素受体1(estrogen receptor 1, ESR1)、信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、类固醇受体辅激活因子(steroid receptor coactivator, SRC)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)等为核心靶点(见图7B)。这些靶点可能是AM-AL治疗肥胖的潜在靶点。GO分析共识别出

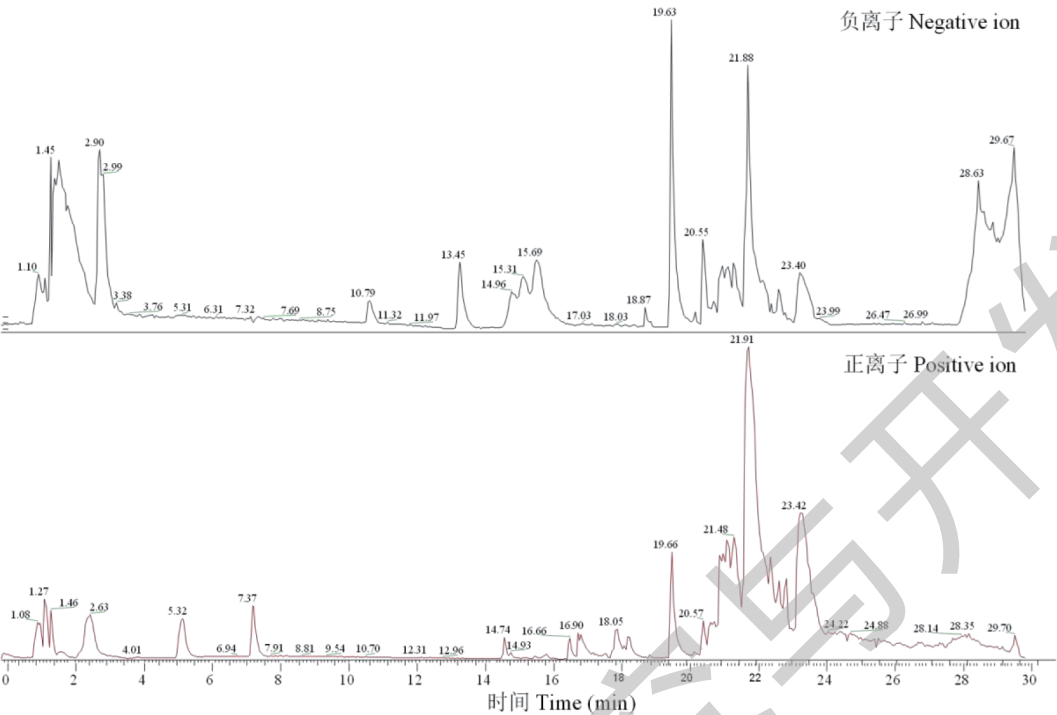


图 6 AM-AL-H 组血清总离子流色谱图
Fig.6 Serum total ion chromatograms of AM-AL-H group

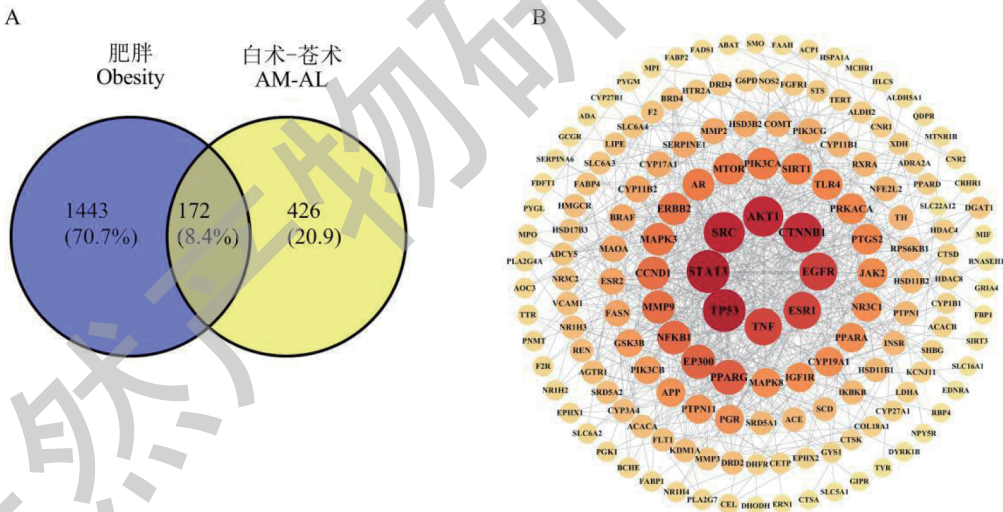


图 7 药物-疾病共同靶点韦恩图 (A) 及 AM-AL 改善肥胖潜在靶点 PPI 网络 (B)

Fig. 7 Venn diagram of drug-disease common targets (A) and PPI network of potential targets of AM-AL improving obesity (B)

595 个生物学过程 (biological process, BP)、80 个细胞组分 (cellular component, CC)、10 个分子功能 (molecular function, MF), 筛选前 10 条进行富集分析与可视化 (见图 8)。KEGG 通路富集分析获得 127 条信号通路, 其主要涉及代谢通路、脂质与动脉粥样硬化等, 筛选前 20 条高富集通路展示 (见图 9)。利用 Cytoscape 3. 10. 2 软件, 构建了“活性成

分-靶点-通路-疾病”网络图 (见图 10)。其中脂质与代谢通路、动脉粥样硬化等信号通路的连接较为密集, 可能与 AM-AL 改善肥胖密切相关。实验结果表明该药对通过“多成分-多靶点-多途径”改善肥胖。

2.7 非靶向代谢组学结果

2.7.1 多元统计分析

PCA 结果显示, Con 组与 Mod 组、AM-AL-H 组

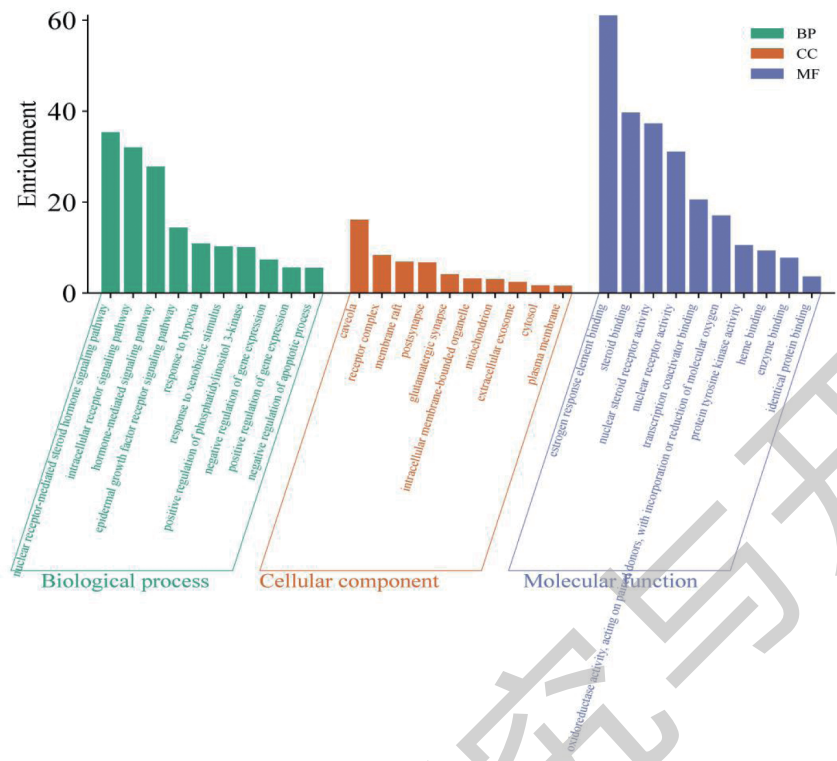


图 8 AM-AL 改善肥胖相关靶点 GO 富集分析

Fig. 8 GO enrichment analysis of AM-AL improving obesity-related targets

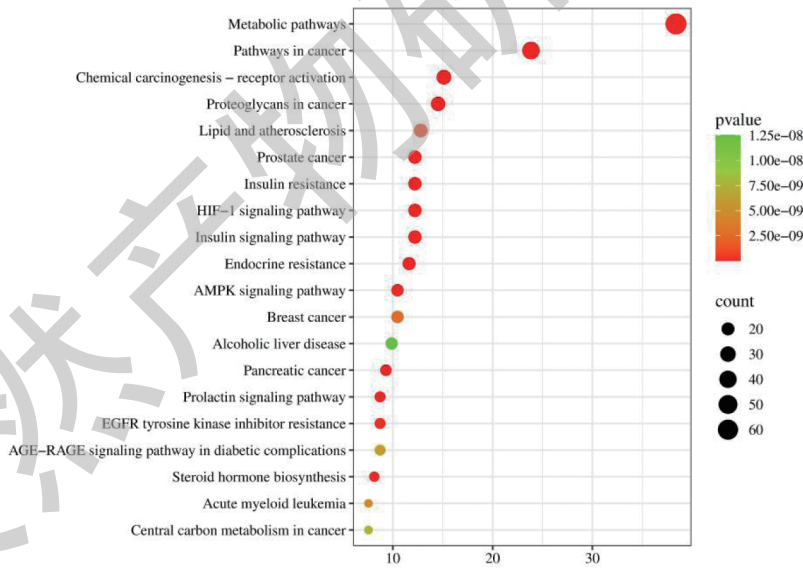


图 9 AM-AL 改善肥胖相关靶点 KEGG 通路富集分析

Fig. 9 KEGG pathway enrichment analysis of AM-AL improving obesity-related targets

样本,在得分图上的位置相对较远,呈现明显的分离趋势,说明各组代谢物发生了变化(见图 11)。本实验采用监督性的 OPLS-DA 方法,Con 组与 Mod 组、Mod 组与 AM-AL-H 组的代谢轮廓进行模式判别分析,以探究两组样本间的特异性差异,两组间存在明

显的分离(见图 12A、12B)。Con 组与 Mod 组的 OPLS-DA 模型 $R^2X = 0.651$, $R^2Y = 0.997$, $Q^2 = 0.932$;Mod 组与 AM-AL-H 组的模型 $R^2X = 0.68$, $R^2Y = 0.998$, $Q^2 = 0.487$,显示模型具有较好的适配性和预测性。 R^2Y 和 Q^2Y 直线的斜率越接近水平

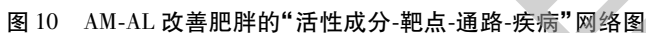


Fig. 10 "Active component-target-pathway-disease" network diagram of AM-AL improving obesity

在稳定性和预测能力方面表现良好,可用于 Con 组与 Mon 组、AM-AL-H 组与 Mod 组小鼠差异代谢物的筛选。

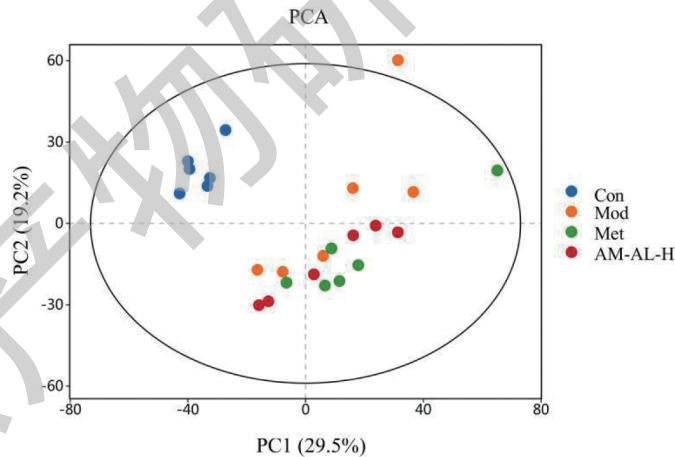


图 11 各组小鼠 PCA 图

Fig. 11 PCA plot in each group of mice

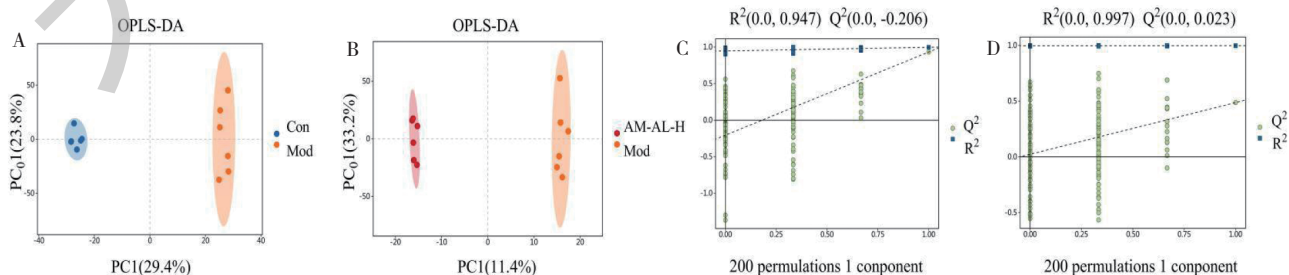


图 12 各组小鼠 OPLS-DA 图与置换检验

Fig. 12 OPLS-DA plots and permutation tests in each group of mice

2.7.2 差异代谢物的筛选和鉴定

在差异代谢物,其中上调 8 个,下调 12 个。主要包括甘油磷脂类、脂肪酰基类、羧酸及其衍生物类(见表 1)。

对 Con 组与 Mod 组,Mod 组与 AM-AL-H 组小鼠 eWAT 代谢轮廓数据进行分析,共筛选出 20 个潜

表 1 ob/ob 小鼠 eWAT 中差异代谢物
Table 1 Differential metabolites of eWAT in ob/ob mice

序号 No.	m/z	保留时间 Retention time (min)	代谢物 Metabolite	HMDB ID	t 检验 t-test	A	B
1	826.666 8	12.49	磷脂酰胆碱 (O-16:0/22:0) PC (O-16:0/22:0)	HMDB0013408	0.000	↓	↑
2	788.552 5	12.15	磷脂酰胆碱 (O-16:1/20:4) PC (O-16:1/20:4)	HMDB0013415	0.000	↓	↓
3	356.352 2	10.70	二十二碳烯酸 Docosenic acid	HMDB0302285	0.000	↑	↑
4	746.513 6	11.34	磷脂酰乙醇胺 (20:4-OH/P-18:1) PE (20:4-OH/P-18:1)	HMDB0285383	0.001	↓	↓
5	296.146 3	10.77	(4E)-3-羟基己-4-烯酰肉 (4E)- 3-Hydroxyhex-4-enoylcarnitine	HMDB0241670	0.001	↑	↓
6	778.535 1	12.49	磷脂酰胆碱 (14:1/22:5) PC (14:1/22:5)	HMDB0007923	0.002	↓	↓
7	792.552 1	12.49	二甲基磷脂酰乙醇胺 (18:1/20:5) PE-NMe2 (18:1/20:5)	HMDB0114028	0.003	↓	↑
8	832.513 2	11.18	磷脂酰丝氨酸 (20:3-O (14R,15S)/20:2) PS (20:3-O (14R,15S)/20:2)	HMDB0282250	0.004	↓	↓
9	658.501 7	13.56	神经酰胺 (d18:1/PGD1) Cer (d18:1/PGD1)	HMDB0290040	0.006	↑	↓
10	766.536 8	12.78	磷脂酰乙醇胺 (P-18:1/20:4-OH (15S)) PE (P-18:1/20:4-OH (15S))	HMDB0285394	0.006	↓	↓
11	646.277 8	11.93	白三烯 Leukotriene C5	HMDB0012993	0.006	↑	↓
12	806.567 2	13.39	磷脂酰胆碱 (20:5-OH/P-18:1) PC (20:5-OH/P-18:1)	HMDB0289696	0.013	↓	↑
13	782.497 3	10.88	磷脂酰乙醇 (P-16:0/20:4 + = O) PE (P-16:0/20:4 + = O)	HMDB0285216	0.014	↓	↑
14	351.056 2	1.65	L-抗坏血酸 L-Ascorbic acid	HMDB0000044	0.018	↑	↓
15	800.580 1	12.13	磷脂酰乙醇 (P-18:1/20:1) PE (P-18:1/20:1)	HMDB0011447	0.021	↑	↓
16	160.061 5	0.74	氨基己二酸 Amino adipic acid	HMDB0000510	0.024	↑	↓
17	302.305 3	9.75	硬脂酸 Stearic acid	HMDB0000827	0.029	↓	↑
18	283.068 6	1.65	黄苷 Xanthosine	HMDB0000299	0.036	↑	↓
19	768.552 3	12.78	磷脂酰乙醇 (20:0/16:1) PE (20:0/16:1)	HMDB0009221	0.036	↓	↑
20	780.551 2	12.49	磷脂酰胆碱 (20:5-OH/P-16:0) PC (20:5-OH/P-16:0)	HMDB0289492	0.040	↓	↑

注:A. Con 组 vs Mod 组,B. Mod 组 vs AM-AL-H 组;"↑"表示上调,"↓"表示下调。
Note:A. Con group vs Mod group,B. Mod group vs AM-AL-H group;"↑" indicates an increase,"↓" indicates a decrease.

2.7.3 代谢通路分析

将筛选出的 20 种差异代谢物输入 MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>)数据库,以 impact >0.1 为条件,最终筛选出2条相关代谢通路,甘油磷脂代谢和赖氨酸降解(见图 13)。甘油磷脂代谢是富集率最高的代谢通路,表明 AM-AL 主要通过调节甘油磷脂代谢发挥减肥作用。

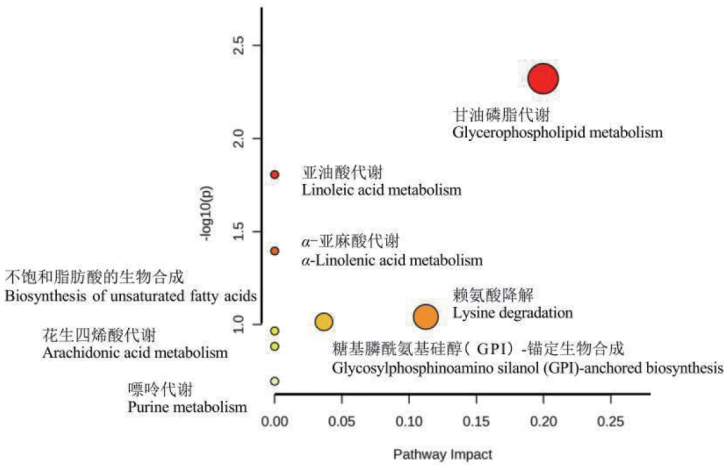


图 13 ob/ob 小鼠代谢通路富集分析

Fig. 13 Enrichment analysis of metabolic pathways in ob/ob mice

2.7.4 代谢组学与网络药理学整合分析

将代谢组学筛选得到的差异代谢物与网络药理学筛选得到的 AM-AL 治疗肥胖的交集靶点,导入 Cytoscape 3. 10. 2 软件中的 Metascape 插件,构建“代谢物-反应-酶-基因”网络,得到相同代谢通路为

甘油磷脂代谢通路(见图 14)。化合物用红色六边形表示(深红色表示代谢组学筛选出的 AM-AL 回调差异代谢物),橙色菱形代表反应,绿色矩形代表酶,蓝色圆形代表基因(深蓝色代表入血成分潜在靶点和疾病靶点的交集靶点)。

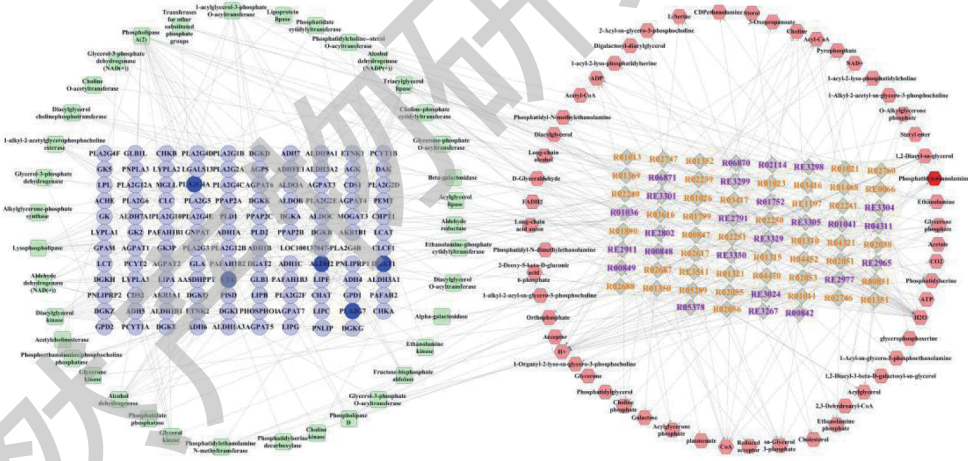


图 14 AM-AL 改善肥胖的“代谢物-反应-酶-基因”网络图

Fig. 14 "Metabolite-reaction-enzyme-gene" network diagram of AM-AL improving obesity

3 讨论与结论

“肥人多湿”,中医认为,肥胖的基本病机是脾虚湿盛,脾气虚则运化转输无力,水谷精微失于输布,化为膏脂和水湿,留滞体内而致肥胖。肥胖状态时,内脏脂肪细胞体积肥大、数量增加,易导致缺氧和细胞应激,触发巨噬细胞浸润,IL-6、TNF-α、瘦素等促炎因子水平增加,诱发炎症和氧化应激^[11]。中医的脾虚痰湿与炎症和氧化应激存在高度的相关性,氧化应激所产生的大量自由基吸附于细胞壁上

可作为痰湿形成的物质基础,参与脂肪生成和 IR 等多种代谢^[12]。已有研究证明,炎症相关因子如降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、γ 干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、IL-6 等,氧化应激相关指标如 MDA、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等,在脾虚湿盛状态下,均与正常动物存在差异性^[13,14]。肥胖被公认为是一种慢性低度炎症状态,受多种炎症细胞因子的调控。动物实验发现,脾虚湿盛型单纯性肥胖大鼠,炎

症反应被诱发,炎症相关细胞因子 TNF- α 、IL-6、CRP 水平显著上升,机体免疫功能受损,使用固本化湿降脂汤干预治疗后,炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6、CRP 各项指标均得到显著改善^[15]。SOD、MDA 是氧化应激反应的重要标志,氧自由基增加,会导致 MDA 分泌增加,SOD 通过清除氧自由基,减少脂质过氧化物,改善炎症反应。而脾虚湿盛状态下,机体抗氧化能力降低。临床试验发现,脾虚湿盛型肥胖患儿,氧化应激受损,氧化应激反应引起生物膜脂质过氧化产物 MDA 大量释放,抗氧化酶 SOD 水平下降。给予防己黄芪汤后,氧化应激损伤减轻,肥胖改善^[16]。白术和苍术是抗炎、抗氧化应激常用的健脾祛湿药^[17,18]。本研究证明了 AM-AL 可以通过减少脂肪含量,减轻炎症反应,改善氧化,可能是 AM-AL 发挥健脾祛湿治肥作用的主要原因。

AM-AL 的入血成分主要有 L-色氨酸、左旋肉碱、L-亮氨酸、烟酰胺、柠檬酸、对羟基肉桂酸、6-姜酚、L-脯氨酸、L-缬氨酸、L-苯丙氨酸等 49 种成分。通过网络药理学构建了 AM-AL 入血成分“活性成分-靶点-通路-疾病”网络,筛选出相关靶点 AKT1、CTNNB1、TNF、TP53、ESR1、STAT3、SRC、EGFR 等。KEGG 通路显示交集靶点参与了代谢通路、脂质与动脉粥样硬化等信号通路。非靶向代谢组学分析,有 20 个显著差异代谢物经 AM-AL 治疗后明显改善,是 AM-AL 治疗肥胖的潜在生物标志物,对差异代谢物进行了代谢通路富集,通路涉及甘油磷脂代谢、赖氨酸降解等。

肥胖的发生发展与脂质代谢紊乱密切相关,甘油磷脂代谢构成生物膜(细胞膜、细胞器膜)的主要成分,是脂质代谢的核心途径之一,在维持新陈代谢及基础代谢方面发挥着重要作用,如降低血清胆固醇、改善血液循环、成为心血管疾病的生物标志物,还能改善脂肪沉积、改善肥胖^[19]。已有动物实验表明,甘油磷脂代谢紊乱会产生过量甘油三酯(triglyceride, TG)和磷脂酰胆碱(phosphatidyl choline, PC)等差异代谢物,触发内质网应激引起肥胖、胰岛素抵抗和脂代谢紊乱等病理改变^[20]。PC 中含有高浓度的饱和脂肪酸以及油酸,能诱导棕色脂肪细胞形成^[21]。磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)是脂质转运、脂肪细胞功能调控的关键结构分子,其代谢稳态的破坏会加剧肝内脂质沉积、脂肪细胞异常分化及胰岛素抵抗^[22]。PC 和 PE 现已成为肥胖疾病的潜在生物标志物^[23]。本研究发现,经 AM-AL 干预后,差异代谢物 PC(O-16:0/22:0)、PC

(20:5-OH/P-16:0)、PC(20:5-OH/P-18:1)、PE(P-16:0/20:4 + = O)、PE(20:0/16:1)水平上升,PC(O-16:1/20:4)、PE(20:4-OH/P-18:1)、PC(14:1/22:5)、PE(P-18:1/20:4-OH(15S))、PE(P-18:1/20:1)水平下降,说明 AM-AL 通过甘油磷脂中的 PC、PE,发挥减脂减肥的作用。

综上,动物实验表明 AM-AL 对药可降低 ob/ob 小鼠体重及脂肪体积,减轻炎症反应,改善氧化应激。对 AM-AL 的入血成分进行网络药理学分析,并结合非靶向代谢组学技术初步阐明了 AM-AL 治疗肥胖的机制与靶点,可能是通过调控甘油磷脂代谢。需对甘油磷脂代谢通路涉及的具体环节进一步研究。该实验为临床运用中药治疗肥胖提供了重要的依据,对肥胖相关新药研发具有重要的应用价值。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库(<https://doi.org/10.57760/sciencedb.30728>)中访问获取。

参考文献

- 1 GBD 2021 Adult BMI Collaborators. Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990-2021, with forecasts to 2050: a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. Lancet, 2025, 405: 813-838.
- 2 National Clinical Practice Guideline on Obesity Management Editorial Committee. National clinical practice guideline on obesity management(2024 Edition) [J]. Chin Circ J(中国循环杂志), 2025, 40: 6-30.
- 3 Bao YL, Liu CY, Che H, et al. *Stevia rebaudiana* root polysaccharides alleviate obesity-related inflammation by regulating the PI3K/AKT/NF- κ B pathway [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2025, 37: 1004-1011.
- 4 Park YJ, Seo MG, Cominguez DC, et al. *Atractylodes chinensis* water extract ameliorates obesity via promotion of the SIRT1/AMPK expression in high-fat diet-induced obese mice [J]. Nutrients, 2021, 13: 2992.
- 5 Yang P, Li XX, Song W, et al. Research progress on pharmacological action and mechanism of Cangzhu (*Atractylodes Rhizoma*) [J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2025, 43: 114-120.
- 6 M XW. Evaluation of the clinical effect of the formula for strengthening the spleen, dispelling dampness, resolving phlegm and lowering turbidity in the adjuvant treatment of obese pre-diabetes [J]. New World Diabetes(糖尿病新世界), 2022, 25: 103-106.
- 7 Li Q, Liu T. Effect of Erzhu Erchen decoction in the adjuvant

- treatment of obese type 2 diabetes mellitus (spleen deficiency and phlegm dampness syndrome) and its influences on oxidative stress indexes and insulin resistance[J]. Clin Med Res Pract(临床医学研究与实践),2024,9:159-162.
- 8 Zheng XJ. Clinical Efficacy of Erzhu Erchen Decoction Combined with Baduanjin exercise in the treatment of type 2 diabetes mellitus patients with abdominal obesity and its effect on interleukin 6[J]. J Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报),2022,39:249-255.
- 9 Xu SY, Bian RL, Chen X. Pharmacological Experimental Methodology: Third Edition (药理学实验方法:第三版)[M]. People's Medical Publishing House,2006.
- 10 Jiang M, Ye Y, Zhang QY, et al. Mechanism of Zhibai Dihuang decoction in treating postmenopausal osteoporosis[J]. Acta Pharm Sin(药学报),2023,58:3040-3048.
- 11 Newman NK, Zhang Y, Padiapu J, et al. Reducing gut microbiome-driven adipose tissue inflammation alleviates metabolic syndrome[J]. Microbiome,2023,11:208.
- 12 Li YM, Xu P, Wang XW, et al. Pathogenic mechanisms of spleen deficiency-phlegm dampness in obesity and traditional Chinese medicine prevention and treatment strategies: from the perspective of immune inflammation[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志),2026,67:31-37.
- 13 Xiong YL, Zhong YW, Chen YQ, et al. Anti-inflammatory and antioxidant mechanism of Shenling Baizhu granules on experimental ulcerative colitis rats with dampness stagnancy due to spleen deficiency[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理),2021,32:149-157.
- 14 Liu CX, Guo F, Li B, et al. Effects of Jianpi Jiedu Decoction on interleukin-17 in mice with psoriasis vulgaris of spleen deficiency and dampness excess type and its related inflammation factors[J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志),2022,37:4680-4683.
- 15 Zhang Q, Zhu XX, Sun YB, et al. Effect of Guben Huashi Jiangzhi Decoction on inflammatory cytokines in simple obesity rats with spleen deficiency and dampness resistance by regulating STING-IRF3 pathway[J]. J Guangdong Pharm Univ(广东药科大学学报),2023,39:86-93.
- 16 Wu W, Ding XY, Luo WH, et al. Clinical observation study on the treatment of simple obese children with spleen deficiency and dampness obstruction type by adding and subtracting Fangji Huangqi Tang[J/OL]. Liaoning J Tradit Chin Med(辽宁中医杂志):1-6[2026-03-11]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1128.R.20251027.1009.029>.
- 17 Zheng QL, Guo YY, Zhao ZD, et al. Effect of Yincheng Wuling San in alleviating acetaminophen-induced liver damage in mice based on lipidomics[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报),2026,42:181-190.
- 18 You MG, Wang HM, Tang YJ, et al. Effect and mechanism of atractyloin LPS-induced acute lung injury in mice[J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报),2025,56:758-765.
- 19 Cai F, Ren FD, Zhang YM, et al. Screening of lipid metabolism biomarkers in patients with coronary heart disease via ultra-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci,2021,1169:122603.
- 20 Chen SS, Zong G, Wu QQ, et al. Associations of plasma glycerophospholipid profile with modifiable lifestyles and incident diabetes in middle-aged and older Chinese[J]. Diabetologia,2022,65:315-328.
- 21 Li X. Multi-omics joint analysis of milk components and interaction networks in Bovinae Subfamil[D]. J Shenyang Agric Univ(沈阳农业大学),2025.
- 22 Jacobs RL, Zhao Y, Koonen DP, et al. Impaired de novo choline synthesis explains why phosphatidylethanolamine *N*-methyltransferase-deficient mice are protected from diet-induced obesity[J]. J Biol Chem,2010,285:22403-22413.
- 23 Bellot PENR, Moia MN, Reis BZ, et al. Are phosphatidylcholine and lysophosphatidylcholine body levels potentially reliable biomarkers in obesity? a review of human studies[J]. Mol Nutr Food Res,2023,67:e2200568.
- (上接第 1697 页)
- 21 Yu XH, Li PP, Hua Y. Chemical constituents of *Polygala sibirica* L. var. *megalopha* Fr. [J]. Chem Ind Forest Prod(林产化学与工业). 2017,37:149-154.
- 22 Liu HY, He HP, Yang XW, et al. Chemical constituents of the flowers of *Helichrysum bracteatum* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2007,19:423-426.
- 23 Chundattu SJ, Agrawal VK, Ganesh N. Phytochemical investigation of *Calotropis procera* [J]. Arab J Chem,2016,9:S230-S234.
- 24 Kassim NK, Rahmani M, Ismail A, et al. Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae) [J]. Food Chemistry,2013,139:87-92.
- 25 Catalano S, Cioni PL, Menichini A, et al. Kauranoid diterpenes in *Gynoxys oleifolia* [J]. Planta Med,1993,59:278-279.
- 26 Xue TT, Tang ZS, Duan JA, et al. Chemical constituents from arial part of *Althaea officinalis* and their inhibition activities *in vitro* toward α -glucosidase and 5-lipoxygenase [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2023,54:3060-3070.