

沙棘黄酮调节大鼠血脂代谢的药效研究

宋忠兴^{1,2},唐志书^{2*},严邑萍³,刘妍如²,刘红波²,于金高²,杨莎²,张朝²

¹陕西兴盛德药业有限责任公司,铜川 727031;

²陕西中医药大学/陕西省中药资源产业化协同创新中心/陕西省创新药物研究中心,咸阳 712083;

³陕西中医药大学附属医院,咸阳 712000

摘要:本研究从沙棘果渣中提取沙棘黄酮,研究沙棘黄酮对大鼠高血脂的调节作用及其初步作用机理。采用含甲基硫氧嘧啶的高脂饲料饲喂大鼠,造高血脂模型,给予沙棘黄酮提取物后对大鼠脏器指数、肝组织病理切片、以及大鼠血脂四项等进行测量和观察;同时,通过液质联用法对尿液中氨基酸水平进行检测。结果表明,沙棘黄酮能够在一定程度上改善高血脂大鼠模型的脂代谢紊乱,显著降低模型鼠血液胆固醇水平($P > 0.05$),明显改善高血脂大鼠肝组织脂肪堆积及损伤程度,并改善氨基酸代谢紊乱。总之,沙棘黄酮对高血脂大鼠血脂代谢具有较好的调节作用。

关键词:沙棘黄酮;高血脂;肝脏损伤;药效;氨基酸代谢

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)Suppl-0115-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.S.020

Study on the pharmacodynamics of hippophae rhamnoides flavonoids on regulating hyperlipidemia in rats

SONG Zhong-xing¹, TANG Zhi-shu^{2*}, YAN Yi-ping³, LIU Yan-ru²,
LIU Hong-bo², YU Jin-gao², YANG Sha², ZHANG Zhao²

¹Shaanxi Xingshengde Pharmaceutical Co. Ltd., Tongchuan 727031, China;

²Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization

Shaanxi Innovative Center of Medicinal Research Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, Shaanxi, China;

³The Affiliated Hospital of Shaanxi TCM University, Xianyang 712000, China

Abstract: This study extracted seabuckthorn flavone from seabuckthorn fruit residue and studied the regulation and mechanism on hyperlipidemia rats. The hyperlipidemia rats were administrated with high fat diet, then the pathological changes of hepatic tissue after administration of seabuckthorn flavone for 30 days were observed, the content of four blood lipids and 17 small molecules in urine were measured. The regulation of TC with seabuckthorn flavonoids in hyperlipidemia rats is most obvious, TG, HDL, LDL had improved slightly, but TG, HDL, LDL had no significant difference statistically. The HE staining of liver tissue shows the oil accumulation in liver of hyperlipidemia rats with different dosage of seabuckthorn flavone was ameliorated significantly the 17 kinds of amino acid regulation. The seabuckthorn flavonoids can regulate the blood lipid of hyperlipidemia. and the tryptophan, phenylalanine, serine, leucine, arginine and other amino acids in the urine can also be regulated by changing the physical function.

Key words: seabuckthorn; flavone; hyperlipidemia; liver injury; pharmacodynamics

高血脂症是指脂肪代谢或者转运异常使血液中一种或多种脂质高于正常水平的代谢性疾病。当今

社会人们对脂类成分的摄入过多,体内脂代谢出现紊乱,导致肥胖、血脂异常等^[1],其中高血脂是对人体的损害较大的疾病之一。近些年研究发现,高血脂与高血压、冠心病、颈动脉粥样硬化、脂肪肝、心肌缺血、糖尿病和脑梗塞等密切相关^[2,3]。高血脂的治疗手段主要是长期口服他汀类药物,辅以饮食调

收稿日期:2019-02-18 接受日期:2019-04-22

基金项目:陕西省科技统筹创新工程计划(2015KTZDSF02-05-02);咸阳市科学技术研究计划(2016k02-110,2017k01-26)

*通信作者 Tel:86-29-38185060; E-mail:tzs6565@163.com

节、加强锻炼等,但长期服用西药对机体的损伤较大^[4]。而中药在缓解高血脂症状方面显示出副作用小、疗效确切等优点^[5]。

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)为胡颓子科植物,其生命力强,广泛分布于我国华北、西北、西南等,具有防风固沙、防止水土流失等作用,我国沙棘资源丰富,被誉为“沙棘王国”。沙棘不仅能改善生态环境,而且具有丰富的营养物质。沙棘的根、茎、叶、花、果,含有多种维生素类,有“维C之王”的美称,除维生素,沙棘果中还有黄酮、三萜、甾体、蛋白质、油脂、有机酸和糖类等,为药食同源性物质^[6]。沙棘果提取过果汁和油脂等成分剩余的废弃物中仍含有丰富的黄酮,从沙棘果渣中提取沙棘黄酮,对于沙棘资源的充分利用和变废为宝具有积极的作用。

基因与蛋白质是调控机体生命活动的主要物质,但细胞间的信息传递主要依靠代谢产物,因此代谢产物在很大程度上能直接反映外界对于机体的作用。代谢组学是利用质谱或者核磁共振技术考察生物体系内源性小分子代谢物的变化,用于疾病的预防与诊断、药物的研发、食品安全评价等方面^[7,8]。本研究通过液质联用法靶向测定尿样中小分子的变化,推测沙棘黄酮对高血脂大鼠的降血脂作用机制,为将沙棘黄酮开发成治疗高血脂疾病的药物提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 动物来源

雄性SD大鼠120只,体重180~220 g,购于第四军医大学,动物质量合格证:SCXK(陕)2012-0005。

1.2 试剂

标准氨基酸化合物:苯丙氨酸、天门冬氨酸、丝氨酸、组氨酸、谷氨酸、亮氨酸、精氨酸、色氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、甲基组氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、 β -丙氨酸和苯乙酰甘氨酸含量均大于98%,乙腈(色谱级,Fisher公司),甲酸(色谱级Fluka公司),高密度脂蛋白(HDL-C)测定试剂盒、低密度脂蛋白(LDL-C)测定试剂盒、甘油三酯(TG)测定试剂盒、总胆固醇(TC)测定试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),生理盐水(辰欣药业股份有限公司),胆固醇(源叶生物),猪胆酸钠(源叶生物),甲基硫氧嘧啶(源叶生物),猪油、鸡蛋、香油购于华润万家超市。

1.3 仪器

高效液相色谱串联质谱仪(美国Agilent公司,美国AB Sciex公司),Sartorius CPA225D十万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司),电子天平(奥豪斯仪器(常州)有限公司),恒温水浴锅(北京科伟永兴仪器有限公司),全波长酶标仪(赛默飞科技),高速离心机(赛默飞科技),BX53 Olympus电子显微镜(奥林巴斯),数控超声波清洁剂(昆山市超生仪器有限公司),mindray BS-330E全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),大鼠不锈钢代谢笼。

1.4 沙棘黄酮的提取

沙棘果渣由实验室自制,保存于陕西省中药资源产业化协同创新中心样品室。将沙棘果渣与70%乙醇按料液比1:8加热回流提取2次,每次1 h,提取液合并,回收乙醇,浓缩液用石油醚脱脂。取下层用乙醇溶解,稀释后上D-101大孔树脂柱吸附2 h,用水洗至洗出液澄清,用80%乙醇进行洗脱,合并收集洗脱液,回收乙醇后水浴蒸干,得到沙棘总黄酮提取物。亚硝酸钠法测总黄酮的含量为51.7%。

1.5 大鼠的建模及分组

36只SD大鼠饲养一周后,按体重随机分出空白组(Normal)6只,基础饲料喂养,其余30只以含甲基硫氧嘧啶的高脂饲料^[9](基础饲料77.3%,甲基硫氧嘧啶0.2%、胆固醇2%、猪油14%、猪胆酸钠0.5%、鸡蛋黄粉5%、香油1%)喂养。四周后,测定高脂饲料组大鼠血液中血脂四项值,按血液中脂质的含量和体重将30只高脂饲料饲养大鼠划分不同等级,每个等级再随机分配至五个组:模型组(Model),辛伐他汀组(Simvastatin,1 mg·kg⁻¹)、沙棘黄酮低剂量组(SJHT-low,50 mg·kg⁻¹)、沙棘黄酮中剂量组(SJHT-middle,100 mg·kg⁻¹)、沙棘黄酮高剂量组(SJHT-high,150 mg·kg⁻¹)。造模4周后开始灌胃给药,持续4周。上述动物均饲养在25±2℃标准动物房(批准号SYXK(陕)2017-003),每天光照12 h,自由饮水取食,每周固定时间测量大鼠体重和血脂四项。

1.6 尿样采集与处理

大鼠给药结束后,以10 mL无菌离心管加0.5 mL 0.1%叠氮钠低温收集24 h尿液。尿液混合均匀后,500 rpm离心5 min,取上清液,-80℃保存,检测前解冻混匀后过0.22 μm滤膜,取滤液进行测定。

1.7 血样的采集及肝组织的 HE 染色

给药期间用眼后静脉丛采血,给药结束后将大鼠麻醉,腹腔静脉取血;血液用全自动生化分析仪测定血脂四项。肝组织常规洗涤后用 4% 多聚甲醛固定、脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下观察肝细胞病理变化。

1.8 氨基酸标准品溶液制备

分别取 17 种氨基酸标准品适量,加溶剂(甲醇:水=1:1),超声溶解制成 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的母液,滤过,用时稀释至所需浓度。

1.9 液质联用测定条件

液相条件:Aglient TC-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5.0 μm) 色谱柱,柱温 35 °C,进样量 5 μL,流速 0.8 mL/min,以流动相 A(0.1% 甲酸水)-B(乙腈)梯度洗脱,洗脱程序:0 ~ 12 min,0.5% ~ 55% B,12 ~ 15 min,55 ~ 99.5% B,15 ~ 20 min,99.5% B,20 ~ 21 min,99.5% ~ 0.5% B,21 ~ 25 min,0.5% B。

表 1 大鼠体重变化(单位:g, $\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 The change of rats weigh (Unit:g, $\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	第一周 1 st week	第三周 3 th week	第五周 5 th week	第七周 7 th week	第九周 9 th week
空白 Normal	211.2 ± 20.9	290.9 ± 48.2	371.6 ± 49.4	416.4 ± 49.7	405.2 ± 51.1
模型 Model	206.8 ± 16.7	255.1 ± 19.3 [#]	241.2 ± 15.6 ^{##}	236.0 ± 16.0 ^{##}	195.8 ± 20.0 ^{##}
辛伐他汀 Simvastatin	205.7 ± 19.4	263.2 ± 27.6	251.8 ± 25.7	249.4 ± 23.4	208.0 ± 15.5
沙棘黄酮低剂量 SJHT-low	208.5 ± 20.5	287.7 ± 37.3	257.8 ± 29.2	247.9 ± 28.7	224.0 ± 25.4
沙棘黄酮中剂量 SJHT-middle	213.1 ± 15.5	277.5 ± 32.8	264.5 ± 26.8	258.4 ± 28.11	239.7 ± 34.3
沙棘黄酮高剂量 SJHT-high	205.0 ± 17.6	267.4 ± 27.2	259.6 ± 22.0	258.2 ± 23.1	240.3 ± 20.5 [*]

注:与空白组比较[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$ 。

Note:Compared with Normal group,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group,^{*} $P < 0.05$ 。

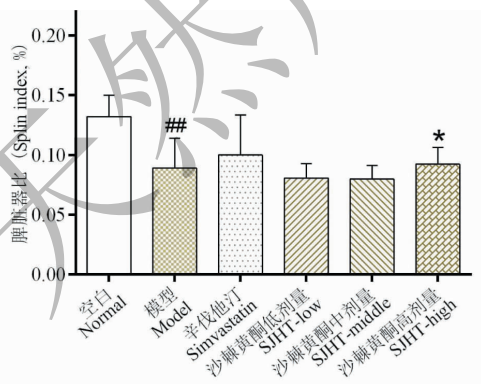


图 1 各给药组大鼠脾脏器指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Splein index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:与空白组比较^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$ 。

Note:Compared with Normal group,^{##} $P < 0.01$;
compared with Model group,^{*} $P < 0.05$ 。

质谱条件:AB SCIEX 4500 三重四级杆质谱仪,采用负离子化 Full-scan 模式,干燥气温度 350 °C,干燥气流速 10 L/min,雾化气压力 50 psi,毛细管电压 3 500 V,扫描范围 m/z 50 ~ 1 000,扫描时间 21 min,采集速度 2 Hz^[10]。

1.10 数据处理分析

采用 SPSS19.0 软件对各组数据进行分析,组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 大鼠体重与脏器指数的变化

在造模和给药期间大鼠体重变化见表 1,由结果可知,从 3 至 9 周各组大鼠体重均呈下降趋势,其中模型组下降幅度最大,模型组与空白组相比,大鼠的体重在第 3 周后显著降低。辛伐他汀以及沙棘黄酮各组下降幅度均有所减少,其中沙棘黄酮高剂量组第九周体重显著高于模型组,说明沙棘黄酮高剂量组能够减缓造模药物对机体的损害程度。

大鼠处死后,取心、肝、脾、肺、肾器官称重,计算脏器指数,发现脾脏指数受到显著影响,模型组脾脏指数显著降低,而沙棘黄酮高剂量组能够显著提高脾脏指数。大鼠脾脏器指数如图 1 所示。

2.2 血脂四项含量测定结果

给药后大鼠血脂主要指标变化见图 2,可见造模后大鼠血液中 TG 含量显著降低($P < 0.01$),而 TC、LDL-c、HDL-c 显著升高($P < 0.01$),说明模型大鼠发生了脂代谢紊乱。给药 4 周后,与模型组比较,辛伐他汀显著降低 TC 水平,而对其他指标无明显影响。与模型组相比较,沙棘黄酮中、高剂量组显著升高 TG 水平,高剂量组显著降低 TC 水平。另外沙棘黄酮各剂量均在模型基础上进一步升高 HDL-c 水平,而对 LDL-c 水平无显著影响。以上说明,沙棘

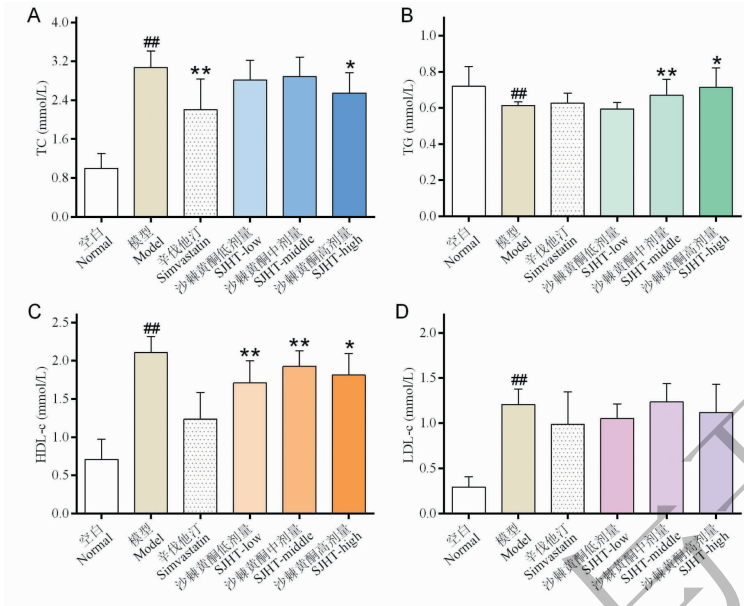


图2 沙棘黄酮对大鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of Sea Buckthorn fruit oil on blood lipid in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

注:A-D,各处理组大鼠血脂四项值;TG,总甘油三酯;TC,总胆固醇;HDL-c,高密度脂蛋白;LDL-c,低密度脂蛋白。与空白组比较[#] $P < 0.05$,
^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{*} $P < 0.05$,与模型组比较^{**} $P < 0.01$ 。

Note:A-D,TC,TG,HDL-c and LDL-c value of rats in each group. TG,total triglycerides;TC,total cholesterol;HDL-c,high-density lipoprotein;LDL-c,
low-density lipoprotein. Compared with Normal group, [#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;compared with Model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

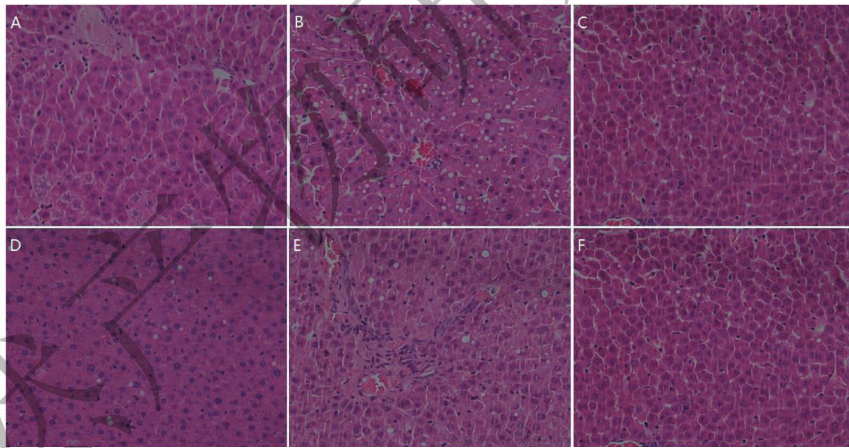


图3 不同给药组大鼠肝组织病理切片(光学显微镜×400)

Fig.3 The different group histopathological slices of liver tissue (light microscope×400)

注:A 空白,B 模型,C 辛伐他汀,D-F 依次为沙棘黄酮低、中、高剂量组。

Note: A, Normal; B Model; C Simvastatin; D-F SJHT-low, middle, high dose group.

黄酮能够一定程度上改善高血脂大鼠的血脂代谢紊乱程度,主要影响 TC、TG 和 HDL-c 的水平。

2.3 大鼠肝组织病理切片的观察

给药结束后解剖大鼠,取出肝脏进行组织病理分析。从外观上看:空白组大鼠肝呈红褐色,模型组大鼠肝呈红黄色,部分肝组织中有星状斑点,说明模型组大鼠肝脏有一定程度损伤。从肝组织 HE 染色

切片进行观察:空白组大鼠肝细胞呈棱角状,细胞间隙均匀,细胞质中没有脂滴;模型组大鼠的肝细胞增大,肝细胞形状不规则,边缘模糊,肝细胞中有脂滴形成,脂滴挤压细胞核偏向细胞一侧。各剂量沙棘黄酮组虽然肝脏外观上无显著改善,但切片中肝细胞形态规则,边缘清楚,剂量从低到高,细胞体积逐渐缩小,细胞间脂滴逐渐变少,细胞间隙逐渐增大,

说明沙棘黄酮能够减少肝脏脂质堆积。

2.4 沙棘黄酮对高血脂大鼠的小分子代谢的影响

对大鼠的尿样中苯丙氨酸、天门冬氨酸、丝氨酸、组氨酸、谷氨酸、亮氨酸、精氨酸、色氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、半胱氨酸、甲基组氨酸、鸟氨酸、天冬氨酸、 β -丙氨酸和苯乙酰甘氨酸等氨基酸含量进行测定。结果显示造模后,大鼠尿液中色氨酸、苯

丙氨酸、亮氨酸、苏氨酸、组氨酸、半胱氨酸、丙氨酸、 β -丙氨酸等含量异常降低,提示这些氨基酸代谢异常与高血脂病变有关。而沙棘黄酮各剂量组均不同程度恢复色氨酸水平,其中中剂量组与模型组比较有显著性差异。除半胱氨酸和 β -丙氨酸外,沙棘黄酮中、高剂量均不同程度上调大鼠尿液各氨基酸水平。大鼠尿液氨基酸变化趋势如表2所示。

表2 沙棘黄酮对大鼠氨基酸的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Changes of rats urine amino acid in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别 Groups	色氨酸 Tryptophan	苯丙氨酸 Phenylalanine	亮氨酸 Leucine	苏氨酸 Threonine	组氨酸 Histidine	半胱氨酸 Cysteine	丙氨酸 Alanine	β -丙氨酸 β -Alanine
模型 vs 空白 Model vs. Normal	↓##	↓##	↓##	↓##	↓##	↓##	↓##	↓##
辛伐他汀 vs 模型 Simvastatin vs. Model	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↑	↓
沙棘黄酮低 vs 模型 SJHT-low vs. Model	↑	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓**
沙棘黄酮中 vs 模型 SJHT-middle vs. Model	↑*	↑	↑	↑	↑	↓*	↑	↓**
沙棘黄酮高 vs 模型 SJHT-high vs. Model	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↓**

注:与空白组比较## $P < 0.01$;与模型组比较* $P < 0.05$ 。

Note: Compared with Normal group, ## $P < 0.01$; compared with Model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

根据尿液氨基酸含量的变化,在空白组和模型组间进行PCA分析,结果见图4。从样本代谢轮廓看,空白组与模型组能够显著区分,说明造模显著改变了大鼠氨基酸代谢状态。模型与各给药组之间虽未明显分开,但辛伐他汀与沙棘黄酮各组均有逐渐向空白组靠拢的趋势,其中沙棘黄酮组随着剂量增加,样品点与空白组逐渐靠近。说明沙棘黄酮能够不同程度改善高血脂大鼠氨基酸代谢紊乱状态,从而改善高血脂症状。

3 讨论

目前的研究表明,沙棘具有降血压、降血糖、降血脂、创伤、保护肝脏等药理学作用^[11,12]。沙棘总黄酮是沙棘发挥药理活性的物质之一,现代研究发现沙棘黄酮有抑制血小板聚合、清除活性氧、保护血管内皮功能、降压、降血脂等作用^[13,14]。本研究聚焦于沙棘总黄酮,揭示其抗高血脂的药理作用及其初步机制。数据表明沙棘总黄酮具有明确的降血脂作用,显著改善血液胆固醇水平,缓解脂质代谢紊乱,并且一定程度上缓解肝脏损伤。另外,研究还初步揭示了沙棘总黄酮抗高血脂作用可能与改善氨基酸代谢有关。

本研究中,模型组大鼠体重、脾脏指数与空白组相比均有降低,可能是甲基硫氧嘧啶导致肠胃不适

所致。中医上脾与胃相表里,主运化水谷,通过统摄血液将精微物质运输于全身。沙棘归脾经,有健脾消食的作用,用于脾虚少食、食积腹痛等症^[9],沙棘黄酮组大鼠的体重增加,可能与其对脾胃功能的改善相关。另外,沙棘黄酮高剂量组与模型组相比显著提高脾脏器指数,也与其归脾经相佐证。脾脏是机体最大的免疫器官,含有大量的淋巴细胞和巨噬细胞,有造血、清除衰老血细胞的功能,是机体细胞免疫和体液免疫的中心,提示沙棘黄酮可能有提高大鼠免疫力的作用。

模型组大鼠毛色发暗,精神状态差,原因可能是甲基硫氧嘧啶抑制甲状腺分泌,使脂肪的分解减弱,脂肪分解产生的游离脂肪酸(FFA)减少,进而导致肝细胞摄取的FFA减少,肝细胞合成TG的量下降,使得TG低于正常大鼠水平,因此实验测得造模组大鼠血液中TG水平降低,沙棘黄酮中、高剂量组能够一定程度上恢复TG水平,表现出一定的治疗作用。HDL-c是血清蛋白之一,能够运载周围组织中的TC,使其转化为胆汁酸或直接通过胆汁从肠道排出,是一种抗动脉粥样硬化的血浆脂蛋白。模型大鼠经过沙棘黄酮处理后,血浆中的HDL-c含量显著升高,说明沙棘黄酮可能通过促进胆汁胆固醇排泄起到抗动脉粥样硬化的作用。

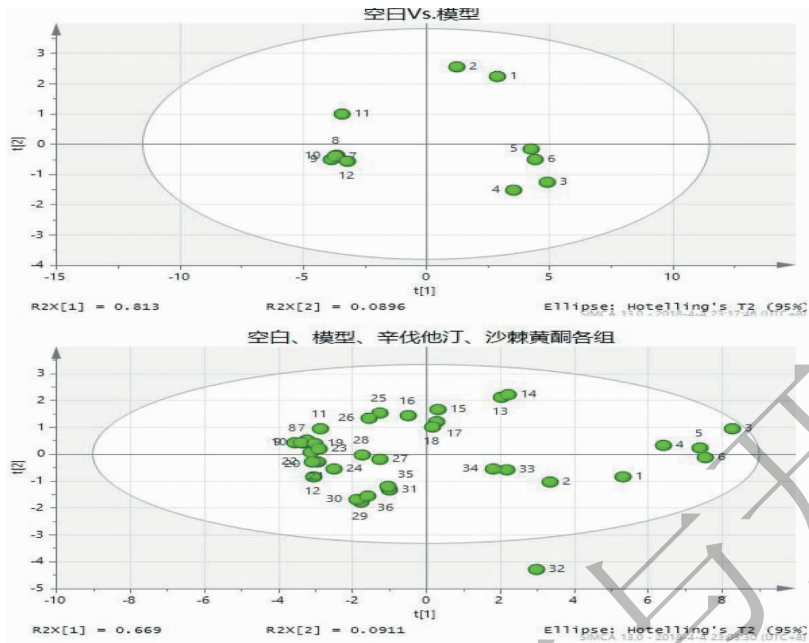


图4 大鼠尿液17种氨基酸PLS相关性分析

Fig. 4 The relation of 17 types different amino acid PLS analysis

注:1-6为空白,7-12为模型;13-18为辛伐他汀;19-24为沙棘黄酮低剂量组;25-30为沙棘黄酮中剂量组;31-36为沙棘黄酮高剂量组。

Note: 1-6, Normal; 7-12, Model; 13-18, Simvastatin; 19-24, SJHT-low group; 25-30, SJHT-middle group; 31-36, SJHT-high group.

综上所述,沙棘黄酮不仅可调节高血脂大鼠血脂水平,还可以保护肝脏,恢复胃肠功能,改善大鼠的身体机能,初步体现了中药多组分、多靶点的特点。沙棘在我国资源丰富,无明显毒副作用,为药食同源的品种,鉴于以上特点,结合本文研究结果,初步显示出沙棘黄酮在治疗高血脂及相关的肝脏损害方面有着广泛的应用前景。

参考文献

- Li Y, Chen X, Xue J, et al. Flavonoids from *Coreopsis tinctoria* adjust lipid metabolism in hyperlipidemia animals by down-regulating adipose differentiation-related protein [J]. *Lipids Health Dis* (脂质健康与疾病), 2014, 13: 193.
- Del Ben M, Polimeni L, Baratta F, et al. Modern approach to the clinical management of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *World J Gastroenterol* (世界胃肠道杂志), 2014, 20: 8341-8350.
- Suchal K, Bhatia J, Malik S, et al. Seabuckthorn pulp oil protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through activation of Akt/eNOS [J]. *Front Pharmacol* (药理学前沿), 2016, 7: 155.
- Scarisbrick JJ, Morris S, Azurdia R, et al. U. K. consensus statement on safe clinical prescribing of bexarotene for patients with cutaneous T-cell lymphoma [J]. *Br J Dermatol* (英国皮肤病学杂志), 2013, 168: 192-200.

- Kma L. Plant extracts and plant-derived compounds: promising players in a countermeasure strategy against radiological exposure [J]. *Asian Pac J Cancer Prev* (亚洲太平洋癌症预防杂志), 2014, 15: 2405-2425.
- Tiitinen KM, Yang B, Haraldsson GG, et al. Fast analysis of sugars, fruit acids, and vitamin C in sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) varieties [J]. *Agric Food Chem* (农业食品化学), 2006, 54: 2508-2513.
- Armitage EG, Ciborowski M. Applications of metabolomics in cancer studies [J]. *Adv Exp Med Biol* (高级实验医学与生物), 2017, 965: 209-234.
- Li S, Todor A, Luo R. Blood transcriptomics and metabolomics for personalized medicine [J]. *Comput Struct Biotechnol J* (计算与结构生物技术杂志), 2016, 14: 1-7.
- Wang Q, Guan XQ. Improvement of induction method of non-alcoholic fatty liver model in rats [J]. *World Chin J Digestol* (世界华人消化杂志), 2007, 11: 1219-1224.
- Liu YR. ¹H NMR and HPLC-MS/MS based global and targeted metabolomic methodologies for menopausal syndromes research and application to *Hypericum perforatum* L. treatment evaluation [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University (沈阳药科大学), 2014.
- Yuan H, Shi F, Meng L, et al. Effect of sea buckthorn protein on the intestinal microbial community in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Int J Biol Macromol* (国际生物大分子杂志), 2018, 107: 1168-1174.