桑黄酮对靶标毛螺细菌的抑制作用与脂质代谢通路调控

钟馨怡[1]，李倩[2*]，邢东旭[2]，刘凡[2]，詹若挺[1]，邹宇晓[2*]

（1.广州中医药大学中药学院，广东广州 510006）（2.广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所，农业农村部功能食品重点实验室，广东省农产品加工重点实验室，广东广州 510610）

摘要：为了阐明桑黄酮（Mulberrin，Mul）在口-胃-肠中的消化特性，及其对毛螺细菌（*Lachnospira bacterium*）的抑制作用和代谢调控机制。采用体外模拟消化模型结合高效液相色谱技术，定量分析桑黄酮在胃肠环境中含量及消化率；设置 5 个质量浓度梯度的桑黄酮对毛螺细菌进行处理，评估其剂量依赖效应；并于三个时间点采集经毛螺细菌生物转化桑黄酮后的代谢产物，利用非靶向代谢组学技术进行系统分析。桑黄酮在模拟胃环境中消化 2 h 后，其消化率为 71.50%；在模拟肠环境中消化 2 h 后则完全降解（100%）；桑黄酮对毛螺细菌的抑制作用呈现显著剂量依赖性，最高质量浓度（1 000 μg·mL^{-1}）处理下其抑制率达 89.35%。非靶向代谢组学分析表明，桑黄酮处理组与空白对照组（BC）间代谢谱存在显著差异，毛螺细菌可动态转化桑黄酮生成去甲氧基柔黄素 B、桑黄酮 K 及桑醇等特征性代谢产物。桑黄酮在口-胃-肠系统中表现出梯度消化特征；其对毛螺细菌的抑制效果与浓度呈显著正相关；桑黄酮通过调控毛螺细菌丰度，诱导产生特征性代谢物，并显著调控亚油酸代谢（P<0.000 1）、花生四烯酸代谢（P<0.05）及咖啡因代谢通路（P<0.05），进而调节脂质代谢稳态。该研究为开发基于黄酮类化合物的菌群靶向抗肥胖策略提供了理论基础。

关键词：肥胖；桑黄酮；毛螺细菌；体外模拟消化；非靶向代谢组学

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.8.0772

Mulberrin Inhibits *Lachnospira bacterium and M*odulates Lipid Metabolism via Signature Metabolites

ZHONG Xinyi[1], LI Qian[2]*, XING Dongxu[2], LIU Fan[2], ZHAN Ruoting[1], ZOU Yuxiao[2]*

(1.School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

(2.Sericultural & Agri-food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agricultural and Rural Affairs/Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: The digestive characteristics of mulberrin (Mul) in the oral-gastrointestinal tract and its inhibitory effects on *Lachnospira bacterium* along with associated metabolic regulation mechanisms were elucidated in the present study. *In vitro* simulated digestion models coupled with high-performance liquid chromatography (HPLC) were employed to quantitatively analyze the dynamic changes and digestive rates of Mul in gastrointestinal environments. Five mass concentration gradients of Mul were administered to *Lachnospira bacterium* to assess dose-dependent effects. Metabolites derived from *Lachnospira bacterium* biotransformation of Mul were collected at three timepoints and systematically analyzed using untargeted metabolomics. After 2 h in simulated gastric conditions, 71.50% of Mul was digested, while complete degradation (100%) was observed following 2 h in simulated intestinal environments; A significant dose-dependent inhibitory effect on *Lachnospira bacterium* was demonstrated, with an inhibition rate of 89.35% at the highest concentration (1 000 μg mL^{-1}); Untargeted metabolomic analysis indicated distinct metabolic profiles between Mul-treated and blank control (BC) groups, wherein *Lachnospira bacterium* dynamically converted Mul into characteristic metabolites including parvisoflavone B, kuwanon K, and morusinol. It was concluded that Mul exhibiteds gradient digestion in the oral-gastrointestinal system; its inhibitory efficacy correlateds positively with concentration; Mul modulateds

收稿日期：2025-06-03；修回日期：2025-08-05；接受日期：2025-08-13

基金项目：广东省自然科学基金面上项目（2024A1515011122）；国家重点研发计划项目课题（2023YFD1600904）；国家蚕桑产业技术体系建设专项（CARS-18-ZJ0503）

作者简介：钟馨怡（2001-），女，硕士研究生，研究方向：中药资源，E-mail：ZXY18905092531@outlook.com

通讯作者：邹宇晓（1973-），女，博士，研究员，研究方向：药食两用特色农产品资源开发，E-mail：yuxiaozou@163.com；共同通讯作者：李倩（1989-），女，博士，副研究员，研究方向：食品科学、蚕桑与药食资源加工利用，E-mail：liqian.hubei@163.com

lipid metabolic homeostasis by regulating *Lachnospira bacterium* abundance, inducing characteristic metabolite production, and significantly altering linoleic acid metabolism (P<0.000 1), arachidonic acid metabolism (P<0.05), and caffeine metabolism pathways (P<0.05). This investigation provideds key mechanistic insights for developing flavonoid-based microbiota-targeted anti-obesity strategies.

Keywords: Obesity; Mulberrin; *Lachnospira bacterium*; *In vitro* digestive simulation; Non-targeted metabolomics

根据《柳叶刀》最新数据报告显示[1]，中国肥胖人群已突破 4 亿，肥胖相关代谢性疾病的发病率持续攀升构成重大公共卫生挑战。肥胖是一种可由遗传因素或非遗传因素[2,3]引起，受多种因素影响、由多种基因调控的慢性代谢疾病。传统理论强调肥胖源于能量失衡[4]，指摄入量远远超过输出量，从而导致了体内脂肪逐渐累积而引起肥胖问题。而近年来试验研究发现，肥胖的发生与肠道菌群的失衡密切相关，紊乱的肠道菌群及其代谢产物能通过不同机制促进肥胖的发生[5-7]。

随着对肠道菌群认识的不断深入，人们发现肠道菌群在肥胖、II型糖尿病等代谢疾病中扮演着特殊角色。研究发现，在门水平上，肥胖人群的肠道菌群中厚壁菌门（Firmicutes）丰度呈升高趋势，而拟杆菌门（Bacteroidetes）丰度则相应降低[5]。进一步实验表明，厚壁菌门中毛螺菌科等细菌能促进肥胖和II型糖尿病的发生发展[8,9]。毛螺细菌（*Lachnospira bacterium*）是厚壁菌门中毛螺菌科家族的重要成员[10]（毛螺菌科占人体肠道菌群相对丰度的3%~11%），鉴于肠道菌群是肥胖预防与治疗过程中的可控因素，其调控作用自然备受学界关注，通过调控肠道菌群可调整脂质代谢，进而控制肥胖。在前期研究中发现，高脂饮食显著增加了大鼠肠道中毛螺菌科丰度，通过桑叶多酚与纤维的协同作用能够通过减少脂质的合成和激活短链脂肪酸代谢，促进能量消耗，从而显著减低毛螺菌科的丰度[11]。深入研究发现，桑叶多酚和纤维混协同通过抑制肠道毛螺细菌丰度，下调 PPAR-γ 和 FAS 等通路来抑制脂肪生成[12]。因此桑黄酮作为多酚类化合物，对毛螺细菌的抑制作用是纠正肥胖相关肠道菌群失调（表现为厚壁菌门/拟杆菌门比例升高）的关键切入点。

桑叶是 2002 年首批进入“即是食品又是药品”名录的原料之一。桑黄酮（Mulberrin，Mul），又称黄酮素，是桑叶和桑枝的重要活性成分，为黄色结晶粉末，具有一定苦味，已被报道具有多种生物活性。桑黄酮是一种有效的抗氧化剂，能中和自由基并保护细胞免受氧化损伤[13]，清除消化过程中产生的活性氧，同时减轻肠上皮细胞氧化损伤[14]。此外，桑黄酮还具有抗菌[15]、抗病毒[16]和抗炎[17]等多种生理活性。

桑黄酮还可与桑黄多糖协同作用优化肠道菌群结构，通过富集产 SCFA 的菌群，为有益菌提供良好的生存环境，促进有益菌的生殖；与有害菌争夺肠道中营养物质，抑制有害菌的生长；并且促进肠道菌群产生有益的代谢产物，维护肠道菌群的健康[18]。作为一种多酚类化合物，桑黄酮在消化过程中的特性值得深入研究。现有研究发现，在胃酸环境下，类似茶多酚的多酚类化合物易降解失活，导致其生物利用度大打折扣；而在小肠中，胰蛋白酶及肠液蛋白酶会对其进行分解，进一步限制了完整分子的生物利用度，最终导致生物利用率低的现象[19]。

桑黄酮在消化调节方面的潜在作用及肠道微生物群落在肥胖疾病发展中的起关键作用，因此探究桑黄酮对与肥胖相关的毛螺细菌生长的影响具有重要意义。目前，桑黄酮对胃肠的保护及菌群调控作用已得到初步的验证，但其具体的分子靶点和通路仍需要结合靶向代谢组学进一步探索。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

桑黄酮（Mulberrin，Mul），武汉天植生物技术有限公司；毛螺细菌（编号：BNCC354474，来源于人体肠道），商城北纳创联生物科技有限公司；人工唾液（pH 值 6.8）、人工胃液（pH 值 1.5）、人工肠液（pH 值 6.8），上海维琨生物科技有限公司；改良 PYG 液体培养基，商城北纳创联生物科技有限公司；哥伦比亚血琼脂即用型平板，商城北纳创联生物科技有限公司。

BHI 培养基：向 1 000 mL 锥形瓶中加入牛脑浸粉 2 g、牛心浸粉 2 g、蛋白胨 2.5 g、酪蛋白胨 8 g、氯化钠 2.5 g、葡萄糖 1 g、磷酸二氢纳 1.25 g 和琼脂 6.75 g，加入 500 mL 超纯水，121 ℃灭菌 30 min 后，冷却后备用。

1.2 仪器与设备

LC1200 高效液相色谱仪，美国安捷伦公司；S-3400N 扫描电镜，日立分析仪器有限公司；5702R 高速离心机，

美国 eppendorf 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 体外模拟消化及高效液相色谱分析

体外模拟消化实验参考静态体外消化模型[20]的方法并结合实际情况进行调整。制备 1 mL 质量浓度为 1 mg mL^{-1} 的桑黄酮溶液与等体积、含 75 U mL^{-1} 唾液淀粉酶的人工唾液混匀，37 ℃消化 2 min；取上述口腔消化液 1 mL，加入 1 mL 含 2 000 U mL^{-1} 胃蛋白酶的模拟胃液，37 ℃消化 2 h；再取胃消化液 1 mL，与 1 mL 含 100 U mL^{-1} 胰蛋白酶及 200 mg mL^{-1} 胆汁盐的小肠液混合，37 ℃消化 2 h。

高效液相色谱分析条件：ZORBAX SB-C18 色谱柱（4.6×250 mm，5 μm）；柱温：40 ℃；进样量 20 μL；检测波长 210 nm；流动相（体积分数）：A 为 0.1%甲酸水溶液，B 为乙腈，C 为甲醇，D 为超纯水。洗脱程序 0：0%，35：65%，60：40%，85：15%和 100；0%等度洗脱 10 min；流量 1 mL min^{-1}。

1.3.2 桑黄酮对毛螺细菌的作用及毛螺细菌的形态观察

使用灭菌后的生理盐水对添加桑黄酮的毛螺细菌样品进行梯度稀释，将各稀释梯度的菌悬液涂布于 BHI 固体平板中，放置在厌氧罐中于 37 ℃培养箱培养 72 h，对各平板中菌落进行计数。

形态学观察：将菌体用 2.5%的戊二醛溶液固定，用 PBS 缓冲溶液清洗 3 次，再用不同浓度的乙醇梯度脱水，采用扫描电子显微镜观察菌体的微观形态。

1.3.3 菌株的生长曲线测定

将加入 1 mg mL^{-1} 桑黄酮培养的毛螺细菌进行涂板，在 37 ℃、厌氧条件下 72 h 培养，进行平板计数。以未加入桑黄酮溶液的毛螺细菌为空白对照组，每组设置三个平行[21]。

1.3.4 毛螺细菌代谢产物测定

将复苏后的毛螺细菌分组处理（液体培养基中仅添加毛螺细菌为 BC 组，添加桑黄酮培养毛螺细菌处理为 Mul 组），收集不同代谢时间（0、12、24 h）中上层悬液，4 ℃、8 000 r min^{-1} 离心 5 min。取上清液冷冻干燥。根据不同情况可分为以下组别，对照组（BC_0 h、BC_12 h、BC_24 h）和实验组（Mul_0 h、Mul_12 h、Mul_24 h）。

取 50 mg 固体样本于 2 mL 离心管中，加入一颗直径 6 mm 的研磨珠。400 μL 提取液（甲醇:水=4:1，*V*/*V*）含 0.02 mg mL^{-1} 的内标（L-2-氯苯丙氨酸）进行代谢产物提取。样本溶液于冷冻组织研磨仪研磨 6 min（-10 ℃，50 Hz），后低温超声提取 30 min（5 ℃，40 kHz）。将样品静置于-20 ℃，30 min，离心 15 min（4 ℃，13 000 *g*），移取上清液至带内插管的进样小瓶中上机分析[22]。

1.3.5 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 2019 软件对数据进行统计处理，Origin 2021 软件进行图形绘制[23]，使用美吉生物云平台进行代谢组学数据分析。所有实验结果均以三次重复测量的平均值±标准偏差表示。结果用 Graph pad Prism 9 软件进行分析。处理间的统计显著性（$P<0.05$）采用单因素方差分析进行分析，然后进行邓肯多重范围检验。

2 结果与分析

2.1 桑黄酮的体外消化特性

通过对桑黄酮的 HPLC 色谱图（图 1）进行观察发现，桑黄酮在模拟消化系统中的生物利用度呈显著的阶段性差异。与标品相比较，桑黄酮在口腔中的含量略有减少，为 3.5 mg；然而，经过胃部消化后，其含量急剧下降至 1 mg。消化动力学分析表明，在口腔中，桑黄酮的消化率为 27.50%；经过 2 h 胃消化，桑黄酮的消化率为 71.50%，这充分说明了桑黄酮在胃酸环境中极易发生降解失活，从而导致其生物利用度相对较低。尽管有 29.61%的桑黄酮能够到达肠道，但小肠中的胰蛋白酶和肠液中的蛋白酶会对其进行分解，因此通过 2 h 模拟肠道消化后，桑黄酮最终被消化完全。分析可知，在胃消化阶段，桑黄酮可能因为胃蛋白酶介导的构象改变而加速降解，这一机制或许是其快速分解的关键因素[24]。而在肠道环境中，桑黄酮的代谢产物能够与肠道菌群相互作用，进而调节肠道菌群的结构，间接改善代谢紊乱[25]。

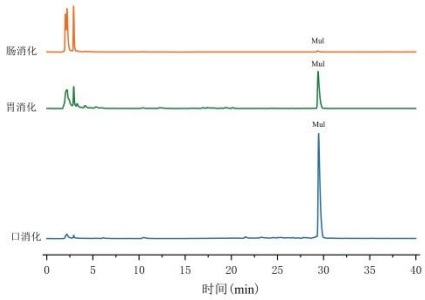


图 1 桑黄酮经过体外模拟消化后的 HPLC 图

Fig.1 The change of Mul content during oral, gastric and intestinal digestion process

2.2 桑黄酮对毛螺细菌的作用及毛螺细菌形态观察

将毛螺细菌接种于 BHI 固体平板并培养 72 h 后，观察到菌落正反面均呈白色，菌落表面湿润、圆形且中部突起，不易挑取（图 2A）。图 2A 左侧展示了加入 1 000 μg mL^{-1} 的桑黄酮溶液后毛螺细菌生长情况，右侧为毛螺细菌自然生长情况。通过比较可知，高浓度的桑黄酮对毛螺细菌生长具有显著的抑制作用，且平板中菌落形态观察到明显变化。进一步通过扫描电镜观察毛螺细菌形态结构，结果显示，毛螺细菌通常呈直的或略微弯曲的棒状菌丝体，中部存在有横隔，且菌丝体间存在一定程度的粘连现象（图 2B）。而在桑黄酮作用下的毛螺细菌多呈圆胖形状，中间有破损凹陷，横隔消失（图 2C）。通过扫描电镜观察下可明确，在桑黄酮处理后的毛螺细菌形态上发生了显著变化，菌丝体间粘连消失。由此得出，桑黄酮可能通过破坏毛螺细菌的细胞结构，使其出现破损干瘪，导致细胞内容物的流失，无法保证充足的营养物质菌群生长，最终达到抑制效果[26]。

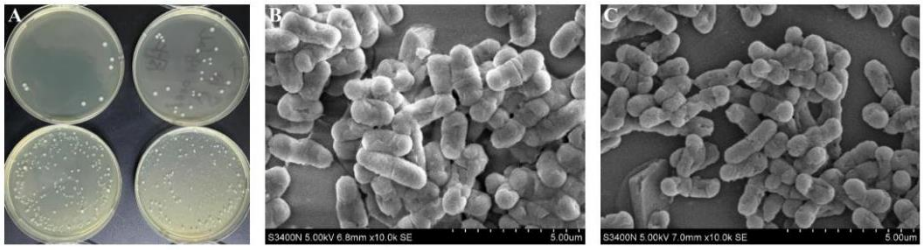


图 2 毛螺细菌形态观察

Fig.2 Observation of the morphology of *Lachnospira*.

注：A 为培养基菌落形态 B、C 为扫描电镜图。

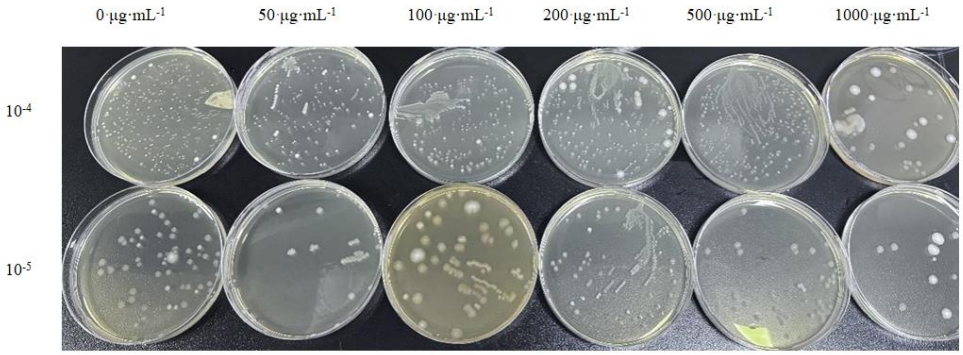


图 3 不同浓度桑黄酮处理下毛螺细菌 BHI 涂板

Fig.3 Plating of *Lachnospira* on BHI agar under different concentrations of Mul treatment

将毛螺细菌分别接种于含有 0、50、100、200、500、1 000 μg mL^{-1} 桑黄酮的液体培养基中，在 37 ℃条件下振荡培养 72 h 后，取适量菌液涂布于 BHI 固体培养基平板，对平板中毛螺菌菌落进行计数（图 3）发现，随着桑黄酮浓度升高，毛螺细菌菌落数量呈明显下降趋势。这一现象充分表明，桑黄酮对毛螺细菌具有显著抑制作用，

且随着浓度升高抑制作用更显著。通过计算可得出 50、100、200、500、1 000 μg mL^{-1} 作用下抑制率分别为：26.41%、47.80%、63.30%、80.24%和 89.35%（图 4）。根据观察可知，桑黄酮浓度与毛螺细菌的生长抑制率呈正相关。

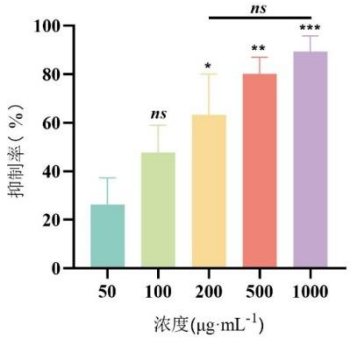


图 4 不同浓度桑黄酮对毛螺细菌抑制率

Fig.4 Inhibition rate of *Lachnospira* under different concentrations of Mul treatment.

注：图中*表示 $P<0.05$，**表示 $P<0.01$，***表示 $P<0.001$，ns 表示无显著差异。

2.3 毛螺细菌的生长

通过测定不同条件下毛螺细菌的生长曲线（图 5）发现，空白组毛螺细菌在平板培养 1~4 d 处于生长平台期，4 d 后进入显著增殖阶段，该现象与其厌氧特性导致的较长生长周期相符。在 1 000 μg·mL^{-1} 桑黄酮处理条件下，毛螺细菌与空白组相比生长速率显著降低且菌数少，第 7 天时桑黄酮对毛螺细菌的抑制率达 91.32%。

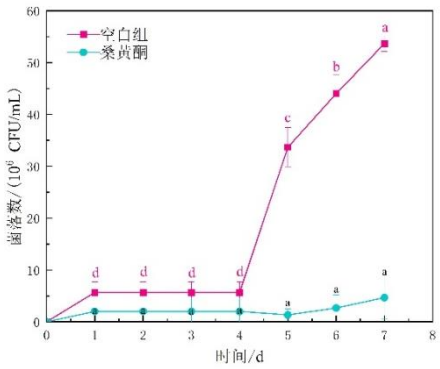


图 5 不同条件作用下毛螺细菌生长曲线

Fig.5 Growth curves of *Lachnospira* under different conditions of hyperoside treatment

注：图中不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平上差异具有统计意义。

2.4 毛螺细菌代谢产物非靶向代谢组学

2.4.1 不同处理组间毛螺细菌代谢产物相关性分析

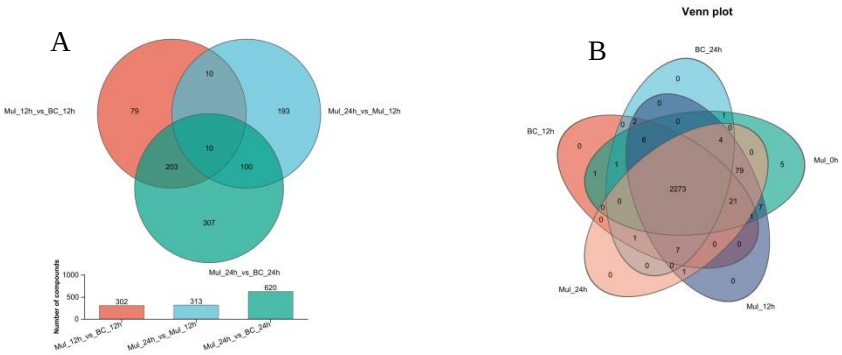


图 6 桑黄酮作用下毛螺细菌不同时间段代谢产物韦恩图

Fig.6 Venn diagram of the metabolic products of *Lachnospira* under Mul treatment at different time points

通过韦恩图分析（图 6A）可知，将实验组与对照组相比较后，共鉴定出 1 235 种代谢物。其中，三个对比组共有的代谢产物为 10 种，Mul_12 h_vs_BC_12 h 和 Mul_24 h_vs_Mul_12 h 的共有代谢产物为 10 种；Mul_12 h_vs_BC_12 h、Mul_24 h_vs_Mul_12 h、Mul_24 h_vs_BC_24 h 特有的为 302、313、620 种代谢物，这些代谢物不与其它组别共享（其中，Mul 代表实验组，BC 代表对照组）。进一步对 Mul 组和 BC 组不同时间段的代谢产物进行分析比较（图 6B），发现共有代谢产物为 2 273 种。其中桑黄酮组在 0 h 独有的代谢产物为 5 种；加入桑黄酮的毛螺细菌在代谢 24 h 中存在 79 种未发生变化的共同代谢产物，而这些成分在 BC 组中并未出现，推测可能是加入桑黄酮后诱导产生的代谢产物。

根据（图 7）所示，主成分分析图（PCA）中，PC1 坐标和 PC2 坐标的贡献率分别为 54.9%和 17.6%，且相同组别中的样本存在 95%的置信区间内具有良好的聚集性。对不同组别代谢产物进行比较可以发现，BC 组与 Mul 组的代谢产物存在明显的差异，而 BC 组内不同时间段的代谢产物相似性较高。在 Mul 组别中，0 h 与 12 h、24 h 代谢产物存在明显差异，而 12 h 和 24 h 间代谢产物相似性较大。

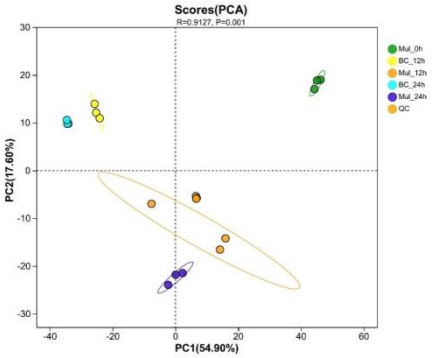


图 7 桑黄酮作用下毛螺细菌不同时间段代谢产物

Fig.7 Principal component analysis (PCA) plot of the metabolic products of *Lachnospira* under Mul treatment at different time points.

通过观察（图 8）可知，相同组别平行组间存在较高的相关性。对 Mul 组中不同时间段相关性进行分析发现，随着时间的推移，相关性逐渐减小，甚至接近负相关。相比之下，BC 组的相关性变化不显著，不同时间段中的代谢物仍呈现明显的相关性。进一步对比同一时间下不同处理的组别发现，BC 组和 Mul 组之间存在明显的相关性，且 24 h 下的相关性略高于 12 h。

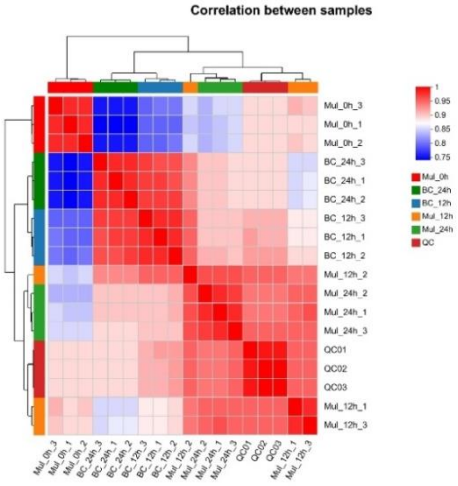


图 8 桑黄酮作用下不同时间段相关性热图

Fig.8 Heatmap of sample correlation of *Lachnospira* at different time points under Mul treatment

2.4.2 不同处理组间毛螺细菌化合物代谢组学分析

在培养不同时间点培养 6 组毛螺细菌中共鉴定出 1 863 种代谢物，其中与脂质代谢相关的 KEGG 化合物（图 9B）包括脂肪酸类化合物（2 种）、二十烷类化合物（7 种）、类固醇类化合物（4 种）。脂肪酸是脂质代谢的基础物质，主要分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸。饱和脂肪酸容易在体内储存为脂肪，从而增加肥胖风险；而不饱和脂肪酸可以通过促进脂肪氧化来对抗肥胖[27]。二十烷化合物是由脂肪酸代谢所产生，它在肥胖炎症中起重要作用，

通过调节特定代谢途径可减少肥胖[28]。类固醇作为一种脂溶性激素，其水平升高与肥胖抵抗相关，但具体调控机制有待进一步研究[29]。

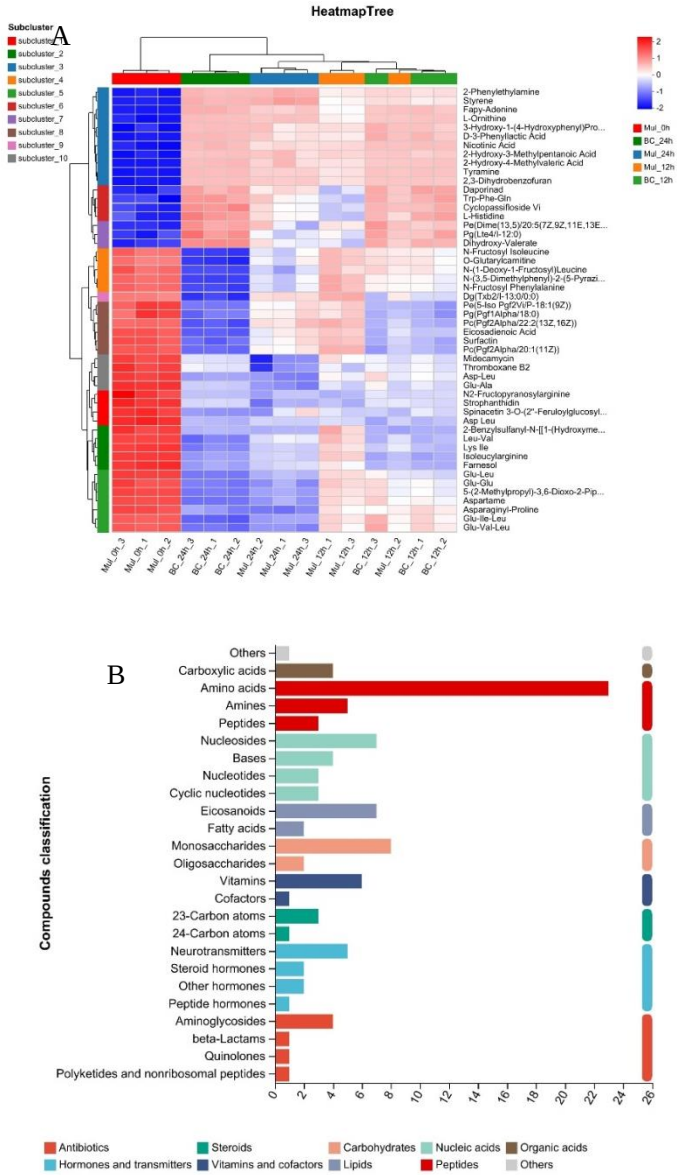


图 9 不同处理组间毛螺细菌化合物代谢组学分析

Fig.9 Metabolomics analysis of *Lachnospira* compounds among different treatment groups

注：图 A 为不同样本代谢物聚类热图，图 B 为 KEGG 聚合物分类图。

表 1 Mul_12 h_vs_BC_12 h 中差异代谢物

Table 1 Changes in differential metabolites of Mul_12 h_vs_BC_12 h

序号	名称	变化情况	VIP
1	去甲基柔红霉素	上调	6.268 3
2	(2R)-3-环戊基-2-(4-甲磺酰基苯基)-N-(2-噻唑基)丙酰胺	上调	6.245
3	去甲氧基柔黄素 B	上调	6.063 6
4	桑黄酮 K	上调	6.029 7
5	N-乙酰血清素葡萄糖醛酸苷	上调	6.008 8
6	环状 N-乙酰血清素葡萄糖醛酸苷	上调	5.760 2
7	(E)-4-(3-羟基苯基)-2-甲基丁-3-烯酸	上调	5.717
8	拉塞平	上调	5.629 5

9	阿托宁 C	上调	5.464 7
10	龙须藤酸	上调	5.446 7
11	环波罗蜜素	上调	5.389 5
12	索诺利西布	上调	5.307
13	甘草异黄酮 B	上调	5.187 4
14	阿尔巴宁 G	上调	5.117 3
15	埃卡瓦亭 M	上调	5.080 1
16	4,4'-亚甲基二苯酚	上调	5.057 6
17	肉桂菇醇 E	上调	5.051 7
18	阿托宁 V	上调	5.005 8
19	黄曲霉毒素 G1	上调	4.974 1
20	基辅酮水合物	上调	4.973 8
21	桑醇	上调	4.941 9
22	阿尔巴宁 B	上调	4.938 7
23	塞内加尔桉素 J	上调	4.933
24	11-酮氟前列醇	上调	4.926 3
25	蒿素	上调	4.848 1
26	褪黑素葡萄糖醛酸苷	上调	4.813 1
27	大豆醇	上调	4.795
28	前酪氨酸	上调	4.699 8
29	阿尔巴宁 C	上调	4.685 8
30	Kb 2	上调	4.579 9

表 2 Mul_24 h_vs_BC_24 h 中差异代谢物

Table 2 Changes in differential metabolites of Mul_24 h_vs_BC_24 h

序号	名称	变化情况	VIP
1	(2R)-3-环戊基-2-(4-甲磺酰基苯基)-N-(2-噻唑基)丙酰胺	上调	5.707 5
2	去甲基柔红霉素	上调	5.666 3
3	去甲氧基柔黄素 B	上调	5.494 2
4	香豆素	上调	5.463 3
5	桑黄酮 K	上调	5.462 2
6	N-乙酰血清素葡萄糖醛酸苷	上调	5.446 8
7	环状 N-乙酰血清素葡萄糖醛酸苷	上调	5.269 6
8	基辅 itone 水合物	上调	5.157 3
9	拉塞平	上调	5.144 2
10	龙须藤酸	上调	5.073 2
11	阿托宁 C	上调	4.971 7
12	索诺利西布	上调	4.939 1
13	甘草异黄酮 B	上调	4.879 9
14	阿尔巴宁 B	上调	4.702 8
15	黄曲霉毒素 G1	上调	4.682 8
16	阿尔巴宁 G	上调	4.627 5
17	肉桂菇醇 E	上调	4.619 9
18	桑醇	上调	4.603 2
19	塞内加尔桉素 J	上调	4.525 2
20	11-酮氟前列醇	上调	4.523 7

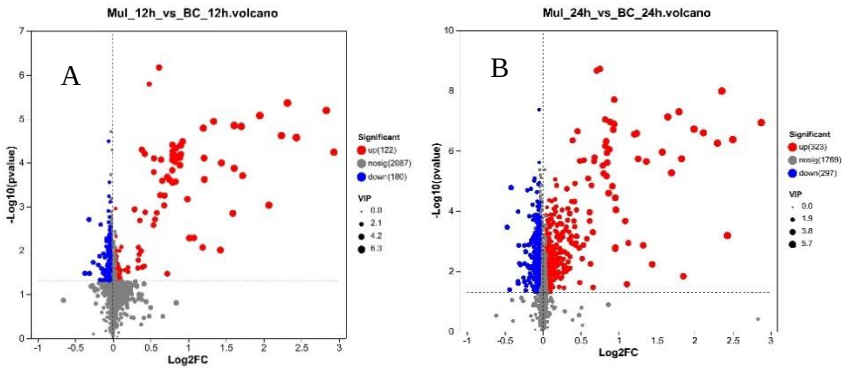
21	蒿素	上调	4.445 7
22	(E)-4-(3-羟基苯基)-2-甲基丁-3-烯酸	上调	4.406 9
23	大豆醇	上调	4.390 8
24	4,4'-亚甲基二苯酚	上调	4.357 4
25	阿托宁 V	上调	4.351 6
26	阿尔巴宁 C	上调	4.341 5
27	7-(4,5-二羟基-6-甲基氧杂环己烷-2-基)-5,6-二羟基-2-苯基色烯-4-酮	上调	4.335 4
28	前酪氨酸	上调	4.330 8
29	3-甲酰利福霉素	上调	4.329 9
30	褪黑素葡萄糖醛酸苷	上调	4.318 9

通过观察整体聚类热图(图 9A)，可直观地根据颜色变化了解各种代谢物在不同组别中的上调或下调的情况。结果显示，羟基短链脂肪酸在 Mul 组中随着代谢时间的变化，从不表达逐渐转为表达，短链脂肪酸可作为能量来源，促进能量消耗，从而控制体重。长链多不饱和脂肪酸——二十碳二烯酸在 Mul 组中显著表达，且其表达水平与代谢时间呈负相关，因此可以通过对长链脂肪酸的抑制来减少由于脂肪储存发生的肥胖。类异戊二烯醇作为一种胆固醇合成的中间代谢物，与固醇类脂质代谢密切相关。在经过 Mul 处理组的组别中，该产物表达显著降低。以上分析表明，Mul 组与 BC 组的代谢产物存在显著差异，其中脂质代谢相关产物随着处理条件不同发生动态变化。

对差异代谢物进一步分析表明，与桑黄酮密切相关的代谢产物有去甲氧基柔黄素 B、桑黄酮 K、环波罗蜜素、甘草异黄酮 B、桑醇。去甲氧基柔黄素 B（VIP 值=6.063 6）作为一种具有代谢调节潜力的黄酮类化合物，其作用机制或与抑制脂质过氧化过程相关，这种抗氧化应激保护效应可能通过维持细胞氧化还原平衡，间接影响脂质代谢通路[30]。桑黄酮 K（VIP 值=6.029 7）则可以通过抑制胆固醇合成的关键酶，调节胆固醇的代谢，从而影响整体脂质代谢[31]。环波罗蜜素、甘草异黄酮 B 和桑醇均可以通过调节脂质代谢中的相关酶活性来影响脂质代谢[32,33]。（表 2）中代谢产物与（表 1）相似，但 VIP 值相对略较低，这可能是由于代谢产物经过了 12 h 的代谢阶段后发生了改变[34]，因此在相同组别中，同意代谢产物在不同阶段的表达水平会发生改变。此外，还发现（表 2）中存在香豆素（VIP 值=5.463 3）的表达水平上调，包括抗凝血[35]和抗菌[36]作用。

2.4.3 不同处理组间毛螺细菌差异代谢物分析

差异代谢物筛选通过比较不同处理条件下组别的火山图可以观察到差异代谢物的整体分布情况（图 10），本研究以 $P<0.05$ 和 OPLS-DA 的 VIP>1 来默认筛选差异代谢物（在本文章中，vs 左边是实验组，vs 右边是对照组，上调代表实验组相比对照组呈高表达，下调指实验组比对照组呈低表达）在 Mul_12h_vs_BC_12h（图 10A）中基因上调 122 种且差异倍数明显，下调 180 种；Mul_24 h_vs_BC_24 h 中（图 10B）基因上调 323 种并差异明显，下调 297 种；Mul_12 h_vs_Mul_0 h（图 10C）基因上调 162 种，下调 466 种且差异明显；Mul_24 h_vs_Mul_12 h（图 10D）基因上调 24 种，下调 289 种。根据以上结果可知加入 Mul 的毛螺细菌在不同时间下代谢产物出现了一定程度的改变且差异性大；比较不同处理组别中发现 12 h 中 Mul 组表达量低于对照组而 24 h 中表达量高于对照组，表明桑黄酮能够对毛螺细菌中的代谢物产生显著影响。



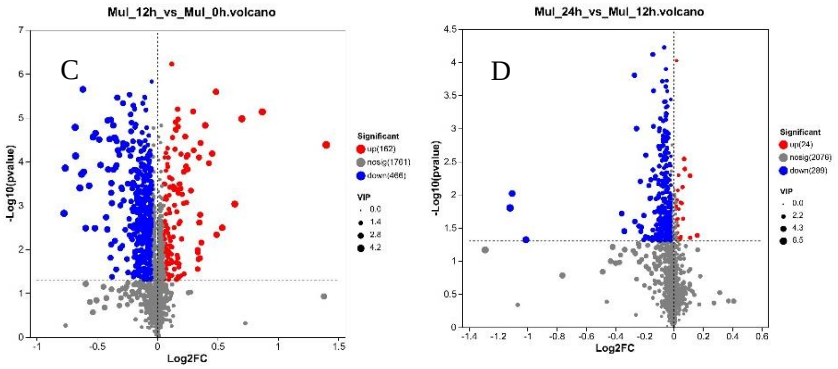


图 10 不同组对照组间差异代谢物火山图

Fig.10 Volcano plot of differential metabolites between different groups and controls

注：A 为 Mul_12 h_vs_BC_12 h，B 为 Mul_24 h_vs_BC_24 h，C 为 Mul_12 h_vs_Mul_0 h，D 为 Mul_24 h_vs_Mul_12 h。

2.4.4 差异代谢通路分析

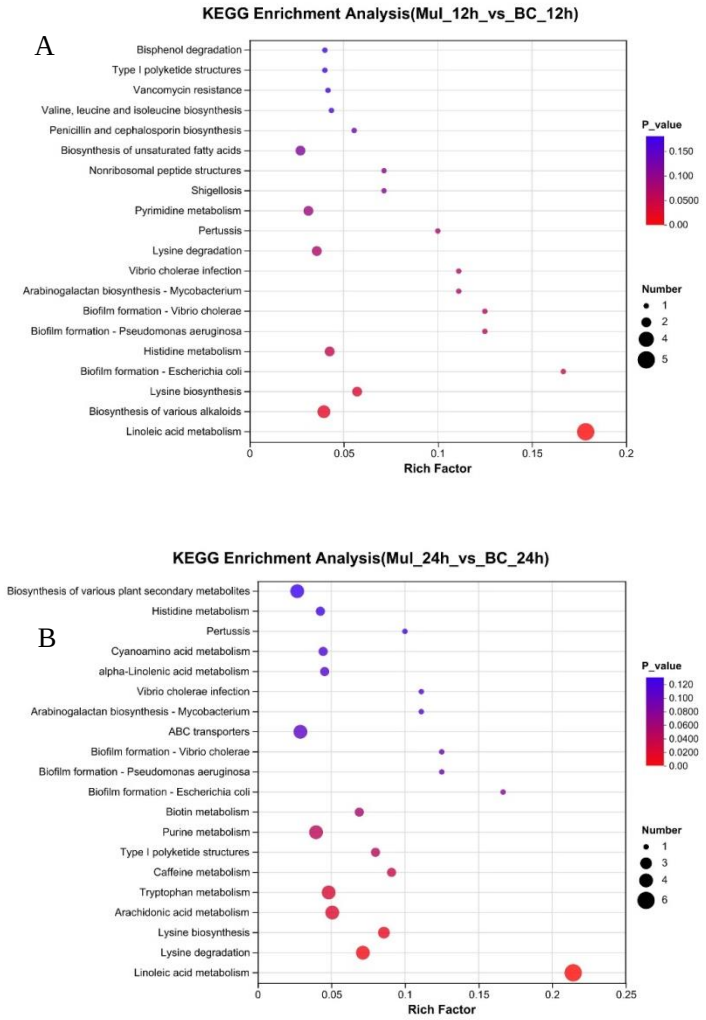


图 11 KEGG 富集气泡图

Fig.11 KEGG pathway enrichment bubble plot

对不同组别中差异代谢物与 KEGG 的数据库进行匹配，获得代谢物参与的通路信息，并绘制 KEGG 通路气泡图（图 11）。在 Mul_12 h_vs_BC_12 h 中，主要富集的通路是亚油酸代谢、多种生物碱合成、赖氨酸生物合成、组氨酸代谢、不饱和脂肪酸的生物合成等。亚油酸作为一种多不饱和脂肪酸的核心前体，代谢路径与同样富集的

不饱和脂肪酸生物合成通路存在显著交叉。在高脂小鼠模型中，亚油酸可用于激活 PPAR-γ，显著上调脂蛋白脂肪酶（LPL）的表达，促进甘油三酯（TG）水解为游离脂肪酸，从而达到降血脂的作用[37]。已有研究表明，摄入不饱和脂肪酸可以通过促进脂肪氧化和减少脂肪来对抗肥胖[38]，因此富集的不饱和脂肪酸的生物合成途径能在脂质代谢中起到重要作用。在富集的多种生物碱的合成（DNJ、小檗碱、长春花生物碱）中，结合已有研究发现 DNJ 能通过抑制 α-葡萄糖苷酶，减少餐后血糖峰值，间接降低肝脏 SREBP-1c 介导的脂肪酸合成[39]。

在 Mul_24 h_vs_BC_24 h 中主要富集的代谢通路为亚油酸代谢、赖氨酸降解、赖氨酸生物合成、花生四烯酸代谢、色氨酸代谢、组氨酸代谢、咖啡因代谢、嘌呤代谢、生物素代谢等。已有实验研究表明，在高脂饮食诱导的肥胖小鼠模型中，补充花生四烯酸可以减轻脂肪细胞炎症[40]，而肥胖作为一种慢性炎症状态，激活该途径能够起到一定程度的缓解。此外，咖啡因代谢中的产物（如茶碱和可可碱）能够通过促进脂肪分解和增加能量的消耗，对肥胖起到积极作用[41]。与本研究中被富集激活的嘌呤代谢一致，现有研究发现大部分如嘌呤代谢、类固醇生物合成会在高脂代谢组中被激活[42]，在脂质代谢紊乱中同样发现了脂肪酸水平与嘌呤代谢具有显著的相关性[43]。

综上所述，加入桑黄酮的处理组中存在丰富的代谢活动，其中部分代谢通路与上文中的差异代谢物（桑黄酮 K、大豆醇）的结果部分照应，这进一步证实了主要代谢通路的准确性。这些发现表明，桑黄酮能够通过调控肠道菌群毛螺细菌中的多种代谢途径来发挥其生物学效应。

3 结论

该研究通过构建体外模拟消化模型证实，桑黄酮在胃肠系统中呈现梯度消化特性，在胃阶段消化率达到71%，作为靶向肠道部位的活性成分，其生物利用度相对有限。毛螺细菌作为肥胖相关核心菌属，其生长受桑黄酮浓度依赖性抑制，在 1 000 μg mL^{-1} 处理下抑制率达 89.35%；扫描电镜进一步揭示桑黄酮通过破坏菌体结构完整性导致内容物外泄，无法给自身提供足够的营养物质，从而发挥抑菌效应。非靶向代谢组学分析表明，毛螺细菌将桑黄酮生物转化代谢为去甲氧基柔黄素 B、桑黄酮 K、环波罗蜜素、甘草异黄酮、桑醇等多种特征代谢产物。上述差异代谢产物可激活脂质代谢相关通路，如亚油酸代谢、花生四烯酸代谢，进而调节代谢稳态。该研究首次系统阐明桑黄酮通过靶向抑制毛螺细菌丰度和调控差异代谢物干预脂质代谢，为开发基于菌群-代谢轴调控的精准抗肥胖策略提供了新范式。

参考文献

[1] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-Risc). Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults [J]. Lancet. 2024, 403(10431): 1027-1050.

[2] WU Y, DUAN H, TIAN X, et al. Genetics of obesity traits: a bivariate genome-wide association analysis [J]. Front Genet. 2018, 9: 179.

[3] 邵安伟,王军利,张松奎.青少年儿童超重与肥胖的流行、成因及其风险[J].体育学研究,2019,2(5):87-94.

[4] MAGKOS F. Metabolically healthy obesity: what's in a name? [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2019, 110(3): 533-539.

[5] GOMES AC, HOFFMANN C, MOTA JF. The human gut microbiota: metabolism and perspective in obesity [J]. Gut Microbes. 2018, 9(4): 308-325.

[6] ARON-WISNEWSKY J, VIGLIOTTI C, WITJES J, et al. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2020, 17(5): 279-297.

[7] 王丽,张之豪,李燕春.代谢综合征与肠道菌群关系及有氧运动干预效果机制[J].中国生物化学与分子生物学报,2024,40(11):1504-1512.

[8] PALMAS V, PISANU S, MADAU V, et al. Gut microbiota markers associated with obesity and overweight in Italian adults [J]. Scientific Reports. 2021, 11(1): 5532.

[9] QIN J, LI Y, CAI Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes [J]. Nature. 2012, 490(7418): 55-60.

[10] 朱雅琴,李松,江岩,等.干酪乳酪杆菌对便秘小鼠胃肠调节肽水平及肠道菌群的影响[J].食品工业科技,2025,46(21):416-424.

[11] LI Q, LIU F, LIU J, et al. Mulberry Leaf Polyphenols and Fiber Induce Synergistic Antiobesity and Display a Modulation Effect on Gut Microbiota and Metabolites [J]. Nutrients. 2019, 11(5): 1017.

[12] LIAO S, LONG X, ZOU Y, et al. Mulberry leaf phenolics and fiber exert anti-obesity through the gut microbiota-host metabolism pathway [J]. Food Science. 2021, 86(4): 1432-1447.

[13] ROWIN J, XIA Y, JUNG B, et al. Gut inflammation and dysbiosis in human motor neuron disease [J]. Physiological Reports, 2017, 5(18): e13443.

[14] 张森品.桑叶总黄酮抗疲劳、抗抑郁药理作用及机制研究[D].北京:北京中医药大学,2020.

[15] 程玉鹏,李欣虹,刘思佳,等.桑黄的药理作用研究进展[J].广东药科大学学报,2022,38(1):137-142.

[16] 李小群,梁贵秋,刘开莉,等.桑黄活性成分的提取方法及应用研究进展[J].广西蚕业,2022,59(1):41-50

[17] 刘迪迪,陆莉,杨燕青,等.桑黄酮抑制 NLRP3 炎症小体活化并缓解感染性休克的作用研究[J].蚌埠医学院学报,2023,48(1):72-76.

[18] LI H, SONG J, LIU C, et al. Corn starch/*β*-Cyclodextrin composite nanoparticles for encapsulation of tea polyphenol and development of oral targeted delivery systems with pH-responsive properties [J]. Food Hydrocolloids, 2024,151: 109823.

[19] KO W, LIU Z, KIM K, et al. Kuwanon T and Sanggenon a isolated from Morus alba exert anti-inflammatory effects by regulating NF-κB and HO-1/Nrf2 signaling pathways in BV2 and RAW264.7 Cells [J]. Molecules. 2021, 26(24): 7642.

[20] BRODKORB A, EGGER L, ALMINGER M, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion [J]. Nature Protocols , 2019, 14 (4): 991-1014.

[21] LI E, LI S, LIU F, et al. Analysis of akkermansia muciniphila in Mulberry galacto-Oligosaccharide medium via comparative transcriptomics [J]. Foods. 2023, 12(3): 440.

[22] REN Y, YU G, SHI C, et al. Majorbio Cloud: A one-stop, comprehensive bioinformatic platform for multiomics analyses [J]. Imeta. 2022, 1(2): e12.

[23] 郭佳,唐雅丽,雷腊梅,等.Origin 软件在“微生物学”实验教学中的应用——以细菌生长曲线的测定实验为例[J].教育教学论坛,2024,11:21-24.

[24] 胡佳音.桑黄酮对 CYP450 酶和 UGT 酶的影响及种属代谢差异[D].锦州:锦州医科大学,2022.

[25] HU H, YAO Y, LIU F, et al. Integrated microbiome and metabolomics revealed the protective effect of baicalin on alveolar bone inflammatory resorption in aging [J]. Phytomedicine. 2024, 124: 155233.

[26] 代博仁,申光辉,刘海娜,等.大蒜有机硫化物对解淀粉芽孢杆菌的抑菌作用及机理[J].华南农业大学学报,2020,41(4):95-103.

[27] WRZOSEK M, ZAWADZKA Z, SAWICKA A, et al. Impact of fatty acids on obesity-associated diseases and radical weight reduction [J]. Obesity Surgery. 2022, 32(2): 428-440.

[28] HARDWICK JP, ECKMAN K, LEE YK, et al. Eicosanoids in metabolic syndrome [J]. Advances in Pharmacology, 2013, 66: 157-266.

[29] AKALESTOU E, GENSER L, RUTTER GA. Glucocorticoid metabolism in obesity and following weight loss [J]. Front Endocrinol (Lausanne). 2020, 11: 59.

[30] WU X, HU S, JIA N, et al. Accurate network pharmacology and novel ingredients formula of herbal targeting estrogen signaling for psoriasis intervention [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 329: 118099.

[31] 付婷伟,周紫微,邵颖,等.桑黄总黄酮的提取、组分分析及其生物活性评价[J].食品工业科技,2024,45(7):191-200.

[32] 陈竞苗,秦虹,郑温雅.甘草黄酮调节糖脂代谢作用的研究进展[J].中草药,2024,55(23):8301-8310.

[33] ZHANG M, GUO C, LI Z, et al. Mulberry Twig Alkaloids improved the progression of metabolic-associated fatty liver disease in high-fat diet-induced obese mice by regulating the PGC1α/PPARα and KEAP1/NRF2 pathways [J]. Pharmaceuticals (Basel), 2024, 17(10): 1287.

[34] 余梦琦,袁宇欣,陈璐,等.基于 UPLC-QE-MS 对关中奶山羊泌乳盛期和泌乳末期生乳差异的分析[J].食品科学,2024,45(10):10186-10193.

[35] 赵秀娟,杨恒俐,吴金叶,等.三类基于香豆素母核衍生物的合成及其抗炎活性[J].中国药科大学学报,2025,56(1):40-48.

[36] 闫毅,张乐乐,张紫鑫,等.基于 UHPLC-Q-Orbitrap MS 的补骨脂化学成分表征研究[J].中南药学,2025,23(2):291-297.

[37] 马宏峰.亚油酸对高脂小鼠脂质代谢的影响及其机制研究[D].合肥:合肥工业大学,2007.

[38] YANG X, HUANG L, ZHANG Y, et al. Untargeted metabolomics and mendelian randomization analysis identify alpha-linolenic acid and linoleic acid as novel biomarkers of perioperative neurocognitive dysfunction [J]. Clinical Nutrition, 2024, 43(9): 2198-2210.

[39] QUESADA-VÁZQUEZ S, CASTELLS-NOBAU A, LATORRE J, et al. Potential therapeutic implications of histidine catabolism by the gut microbiota in NAFLD patients with morbid obesity [J]. Cell Rep Med. 2023, 4(12): 101341.

[40] ROY S, RIPON MAR, BEGUM R, et al. Arachidonic acid supplementation attenuates adipocyte inflammation but not adiposity in high fat diet induced obese mice [J]. Biochem Biophys Res Commun. 2022, 608: 90-95.

[41] 吴文亮,童彤,胡瑶,等.可可茶及其优势化学成分的健康功效研究进展[J].茶叶科学,2021,41(5):593-607.

[42] LIU X, REN B, FANG Y, et al. Comprehensive analysis of bulk and single-cell transcriptomic data reveals a novel signature associated with endoplasmic reticulum stress, lipid metabolism, and liver metastasis in pancreatic cancer [J]. Journal Of Translational Medicine. 2024, 22(1): 393.

[43] LIANG N, YUAN X, ZHANG L, et al. Fatty acid oxidation-induced HIF-1α activation facilitates hepatic urate synthesis through upregulating NT5C2 and XDH [J]. Life Metabolism. 2024, 3(5): loae018.