

· 综述 ·

基于代谢组学的中药治疗化学性肝损伤研究进展

吴琳静, 余雪纯, 柯佳群, 邓思雨, 胡聪, 熊印华*, 汤喜兰

(江西科技师范大学药学院 江西省药物分子设计与评价重点实验室, 南昌 330013)

[摘要] 肝脏作为机体代谢和解毒的重要器官,病毒感染、药物滥用、过度饮酒等都会给肝脏带来负担导致肝脏损伤,肝脏疾病严重威胁着我国国民的生命健康,目前临床上大多数肝损伤主要通过药物治疗,深入研究保肝药物的作用机制对于临床肝病防治具有重要意义。近年来,随着我国医药事业的不断发展,将中药用于肝损伤的治疗研究逐渐增多,相比西药,中药具有不良反应小、整体调节等特点,在肝损伤的治疗中发挥着重要的作用,但其成分复杂、作用靶点多样,中药保肝的作用机制仍需进一步研究完善。代谢组学作为一门研究生物体系代谢途径的新兴学科,在中药保肝研究中表现出整体性和系统性,利用代谢组学能全面了解中药多靶点、多途径的保肝作用机制,并筛选保肝的生物标志物,为中药治疗肝损伤的研究提供了新的技术和方法。笔者对基于代谢组学的中药复方、单味中药及中药单体治疗四氯化碳,二甲基亚硝胺, α -萘异硫氰酸酯和遗传诱导的不同类型化学性肝损伤模型的研究进行了归纳和分析,总结了中药干预各类型肝损伤的生物标志物及相关代谢通路,旨在为中药治疗不同类型肝损伤的深入研究和临床应用提供参考。

[关键词] 代谢组学; 中药; 保肝; 化学性肝损伤; 生物标志物; 作用机制

[中图分类号] R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)12-0202-14

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20210716

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210402.1447.003.html>

[网络出版日期] 2021-4-2 16:12

Research Progress in Treatment of Chemical Liver Injury with Chinese Medicine Based on Metabolomics

WU Lin-jing, YU Xue-chun, KE Jia-qun, DENG Si-yu, HU Cong, XIONG Yin-hua*, TANG Xi-lan

(Jiangxi Provincial Key Laboratory of Drug Design and Evaluation, School of Pharmacy,

Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China)

[Abstract] Liver, as a critical organ of metabolism and detoxification, can be damaged by viral infection, drug abuse, and heavy drinking. Liver diseases pose a serious threat to people's health and life in China. At present, drug therapy has been primarily adopted clinically in the treatment of the liver injury. In-depth investigation of the mechanism of liver-protective drugs is of great significance to the prevention and treatment of clinical liver diseases. In recent years, with the development of the medical industry in China, an increasing number of studies have focused on the treatment of liver injury with Chinese medicine. Compared with western medicine, Chinese medicine is advantageous in few side effects and overall regulation, which plays a pivotal role in liver protection. However, its underlying mechanism in liver protection still needs to be further studied due to its complex compositions and diverse targets. Metabolomics, a new approach to studying the metabolic

[收稿日期] 20201207(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81660692);江西省药物分子设计与评价重点实验室项目(2017BCD40015);江西科技师范大学大学生创新训练计划项目(20201404117);江西省自然科学基金项目(20181BAB215041);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ170683, GJJ180606)

[第一作者] 吴琳静,在读硕士,从事代谢组学和中药保肝研究, E-mail: wulinjingyx@163.com

[通信作者] *熊印华,博士,副教授,硕士生导师,从事代谢组学和中药毒性研究, Tel: 0791-83802393, E-mail: xiongyhfriend@126.com

pathway of biological systems, provides integral and systematic views in the investigation of liver protection with Chinese medicine. By virtue of metabolomics, the mechanism of Chinese medicine in multi-target and multi-pathway liver protection can be analyzed comprehensively, and the corresponding biomarkers can also be screened out. The authors analyzed the studies of the treatment of chemical liver injury models induced by carbon tetrachloride (CCl_4), dimethylnitrosamine (DMN), α -naphthyl isothiocyanate (ANIT), and alcohol by Chinese medicinal compounds, single herbal medicines, and monomers of Chinese medicine based on metabolomics, and summarized the biomarkers and related metabolic pathways of Chinese medicine in the intervention of each type of liver injury, aiming at providing a reference for the further research and clinical application in the treatment of different types of liver injuries by Chinese medicine.

[Key words] metabolomics; Chinese medicine; liver protection; chemical liver injury; biomarker; mechanism of action

肝损伤对人类的生命健康造成了极大威胁,除一过性肝损伤可自行恢复外^[1],重度药源性肝损伤、肝炎和肝硬化等不可自行恢复的肝病易发展成重症,重症肝病治疗困难且病死率高,因此肝病的治疗重在临床上的早期防治^[2]。与西药治疗肝损伤相比^[3],中药的治疗显示出耐受性高、不良反应少和治疗成本低等特点,也有研究表明中药联合西药治疗肝损伤的效果更为显著且安全性高^[4-5]。中药具有多成分、多靶点、多通路的协同调控作用,较难阐明保肝作用机制,阻碍了中医药临床治疗肝病的发展,不利于国际社会对保肝中药的认可。代谢组学是研究中药保肝作用机制的有效方法,它能够全面反映机体肝损伤前后内源性代谢物轮廓和水平的变化,放大了上游基因、蛋白表达微小变化的差异代谢物可作为表征肝损伤发生、发展和恢复过程的生物标志物,深入分析生物标志物相关的代谢通路可以阐明保肝中药的作用机制,通过与其他学科协同分析代谢通路密切相关的信号通路、蛋白和基因等可获得各类型肝损伤的潜在治疗靶点。非靶向代谢组学可以全面且无偏向地反映生物体小分子代谢物状态,有助于筛选生物标志物和构建生物体内的肝损伤动态代谢网络;靶向代谢组学通常用于验证阶段,对非靶向提出的潜在生物标志物进行绝对定量,能更精确地筛选出生物标志物并建立稳定性、重复性、精密度等指标优良的实验方法,如脂质组学^[6]、氨基酸^[7]和胆汁酸^[8]代谢组学以已知各类物质整体轮廓变化轨迹来评价中药保肝作用并阐明中药对该类物质的调节机制,非靶向与靶向研究互为补充推动代谢组学的发展。

肝损伤按病因可分为化学性肝损伤,药源性肝损伤,酒精性肝损伤(ALD),非酒精性脂肪肝炎

(NAFLD),自身免疫性肝损伤和病毒性肝炎等;这些肝损伤因素引发的短期肝功能突发性异常称为急性肝损伤,长期慢性刺激导致慢性肝损伤^[9],典型的肝毒性化学物质造模稳定,且模型与临床上各类型肝损伤相似^[10],常用于肝损伤机制研究。笔者概述了近年来基于代谢组学的中药治疗化学性肝损伤的研究,通过分析中药干预各类型肝损伤的生物标志物及相关代谢通路,总结中药治疗各类型肝损伤的主要作用机制,旨在为中药的保肝药物的深入研究和临床应用提供理论依据。

1 代谢组学在中药治疗化学性肝损伤中的应用

1.1 中药治疗四氯化碳(CCl_4)诱导的急性肝损伤

CCl_4 是经典的肝损伤造模剂,可引起脂质过氧化使膜完整性丧失导致肝细胞坏死,并可激活肝星状细胞(HSCs)促进纤维细胞外基质蛋白的生成和沉积,一次给药 CCl_4 可制备肝细胞损伤型的急性肝损伤,而长期给药 CCl_4 则会引发肝纤维化型的慢性肝损伤^[11]。运用气相色谱-三重四极杆质谱法(GC-MS/MS)研究逍遥散^[12]给药后可使除草酸外的11个肝损伤标志物水平显著回调,提示逍遥散可通过调节脂肪酸代谢、促进氨基酸合成发挥保肝作用。运用高效液相色谱-三重四极杆质谱法(HPLC-MS/MS)研究发现水飞蓟宾^[13]主要调节谷胱甘肽代谢、色氨酸代谢及半胱氨酸和蛋氨酸代谢发挥保肝作用。基于超高效液相色谱-三重四极杆质谱法(UPLC-MS/MS)发现,四逆散^[14]能够使急性肝损伤大鼠血清中上调的苯丙氨酸、色氨酸和甘氨酸脱氧胆酸以及下调的溶血磷脂酰胆碱(LPC, 16:0),LPC(18:1)显著回调,其作用机制可能与调节氨基酸、胆汁酸、脂质代谢有关;研究表明白芍、赤芍与芍药总苷均能调节氧化应激从而减轻急性肝损伤;白芍和赤芍^[15]的肌苷、胆碱和鞘氨醇等8个保肝标志物

的相关代谢通路为嘌呤代谢、脂质代谢、胆汁酸代谢和半胱氨酸合成;芍药总苷^[16]主要通过调节氨基酸循环和谷胱甘肽代谢发挥保肝作用,而代谢通路富集分析显示嘌呤代谢和胆汁酸代谢影响值最低,对比两项研究结果推测芍药中还有其他保肝成分协同作用,体现了中药“多成分、多靶点和多层次”作用的特点。运用液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(HPLC-Q-TOF/MS)研究发现,茵陈蒿汤^[17]的保肝标志物[鸟氨酸,LPC(16:1),牛磺胆酸和马尿酸等]提示其不仅能调节氨基酸、甘油磷脂和胆汁酸代谢平衡,还能恢复肠道微生物群(丁酸盐代谢)紊乱;二至丸^[18-19]能够使CCl₄急性肝损伤大鼠体内紊乱的磷脂酰胆碱(PC,18:1/18:1),L-色氨酸和鞘氨醇等含量水平显著恢复,主要通过调节甘油磷脂代谢、鞘脂代谢、色氨酸代谢和甾体激素生物合成等7条通路对肝脏起到一定的保护作用。基于GC-MS/MS和HPLC-MS/MS研究发现叶下珠^[20]干预后除亚油酸、棕榈酸和溶血磷脂酰乙醇胺(LPE 16:0)外,

其余14种肝损伤标志物均显著回调,表明其保肝机理主要是调节氨基酸代谢、牛磺酸和次牛磺酸代谢,而对脂肪酸代谢和甘油磷脂代谢紊乱无明显作用。基于核磁共振氢谱(¹H-NMR)代谢组学分析发现,护肝片^[21]的保肝机制可能与调控脂质代谢、部分糖代谢和氨基酸代谢有关;柴胡^[22]主要通过调节能量代谢、脂质代谢、酮体代谢和谷胱甘肽代谢等6条通路治疗急性肝损伤,各炮制品中山西醋制柴胡组差异代谢物的回调数目和调节程度最佳,突显了代谢组学方法评价中药炮制方法的潜力;秦艽^[23]可以增强急性肝损伤大鼠体内的三羧酸循环和糖异生,抑制甜菜碱代谢、脂肪酸氧化和酮体代谢,恢复组氨酸代谢、苯丙氨酸和酪氨酸代谢紊乱等氨基酸代谢紊乱;岩黄连^[24]的主要保肝机制可能与丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢,脂质代谢和甘油磷脂代谢有关。以CCl₄诱导的急性肝损伤为模型研究中药保肝作用的肝损伤生物标志物、保肝生物标志物见表1。

表1 中药治疗CCl₄诱导的急性肝损伤

Table 1 Study on treatment of acute liver injury induced by CCl₄ with traditional Chinese medicine (TCM)

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
复方	逍遥散	大鼠血清	丙氨酸↑,甘氨酸↑,丝氨酸↑,苏氨酸↑,氨基丙二酸↑,苹果酸↑,天冬氨酸↑,谷氨酰胺↑,赖氨酸↑,肌醇↑,鸟氨酸↑,草酸↓	丙氨酸↓,甘氨酸↓,丝氨酸↓,苏氨酸↓,氨基丙二酸↓,苹果酸↓,天冬氨酸↓,谷氨酰胺↓,赖氨酸↓,肌醇↓,鸟氨酸↓	脂肪酸代谢,氨基酸代谢	[12]
	四逆散	大鼠血清	苯丙氨酸片段↑,色氨酸片段↑,甘氨酸鹅去氧胆酸↑,LPC(16:0)↓,LPC(18:1)↓	苯丙氨酸片段↓,色氨酸片段↓,甘氨酸鹅去氧胆酸↓,LPC(16:0)↑,LPC(18:1)↑	氨基酸代谢,胆汁酸生物合成,脂质代谢	[14]
	茵陈蒿汤	大鼠血浆	鸟氨酸↑,L-犬尿素↑,马尿酸↑,牛磺胆酸↑,3-羟丁酸↓,LPC(16:1)↓,LPC(20:3)↓,LPC(17:0)↓,LPC(20:1)↓	鸟氨酸↓,L-犬尿素↓,马尿酸↓,牛磺胆酸↓,3-羟丁酸↑,LPC(16:1)↑,LPC(20:3)↑,LPC(17:0)↑,LPC(20:1)↑	丁酸盐代谢,精氨酸和脯氨酸代谢,色氨酸代谢,牛磺酸和次牛磺酸代谢,初级胆汁酸生物合成,甘油磷脂代谢	[17]
	二至丸	大鼠血浆	PC(18:1/18:1)↑,PC(14:0/20:1)↑,PC(16:0/22:4)↑,PC(16:0/22:6)↑,磷脂酰丝氨酸(18:0/20:4)↑,磷脂酰肌醇(16:0/16:0)↑,甘油三酯(16:0/16:0/16:0)↑,甘油二酯(22:2/24:0/0:0)↑	PC(18:1/18:1)↓,PC(14:0/20:1)↓,PC(16:0/22:4)↓,PC(16:0/22:6)↓,磷脂酰丝氨酸(18:0/20:4)↓,磷脂酰肌醇(16:0/16:0)↓,甘油三酯(16:0/16:0/16:0)↓,甘油二酯(22:2/24:0/0:0)↓	甘油磷脂代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	[18]
	二至丸	大鼠血浆	四氢皮质酮↑,哌啶酸↑,L-色氨酸↓,鞘氨醇↓	四氢皮质酮↓,哌啶酸↓,L-色氨酸↑,鞘氨醇↑	赖氨酸降解,色氨酸代谢,鞘脂代谢,甾体激素生物合成,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,磷酸戊糖途径	[19]
		大鼠尿液	磷酸核糖焦磷酸↑,哌啶酸↑,L-2-氨基-3-氧代丁酸↑	磷酸核糖焦磷酸↓,哌啶酸↓,L-2-氨基-3-氧代丁酸↓		
	护肝片	大鼠血清	VLDL/LDL↑,异亮氨酸↑,亮氨酸↑,缬氨酸↑,3-羟基丁酸↑,N-乙酰糖蛋白↑,丙酮↑,乙酰乙酸↑,丙酮酸↑,胆碱↑,葡萄糖↓	异亮氨酸↓,亮氨酸↓,3-羟基丁酸↓,丙酮↓,乙酰乙酸↓,胆碱↓	部分糖代谢,脂质代谢,氨基酸代谢	[21]

续表1

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
		大鼠肝脏	异亮氨酸↑,亮氨酸↑,缬氨酸↑,3-羟基丁酸↑,丙氨酸↑,谷氨酸↑,丙酮酸↑,琥珀酸↑,谷胱甘肽↑,胆碱↑,磷酸胆碱↑,乳酸↑,腺苷↑,葡萄糖↓	3-羟丁酸↓,丙氨酸↓,谷氨酸↓,丙酮酸↓,琥珀酸↓,胆碱↓,乳酸↓,葡萄糖↑		
单味	白芍、赤芍	大鼠血清	肌苷↑,牛磺熊去氧胆酸↑,甘氨酸↑,胆酸↑,去氧胆酸↑,鞘氨醇↓,5-甲基四氢叶酸↓,胆碱↓	肌苷↓,牛磺熊去氧胆酸↓,甘氨酸↓,胆酸↓,去氧胆酸↓,鞘氨醇↑,5-甲基四氢叶酸↑,胆碱↑	嘌呤代谢,脂质代谢,胆汁酸生物合成,半胱氨酸合成	[15]
	叶下珠	大鼠肝脏	L-异亮氨酸↑,L-脯氨酸↑,L-半胱氨酸↑,鸟氨酸↑,L-苯丙氨酸↑,L-赖氨酸↑,L-色氨酸↑,L-亮氨酸↑,牛磺胆酸↑,天冬酰胺↑,L-酪氨酸↑,棕榈酸↑,LPE(16:0)↑,9,12-亚油酸↑,L-肉碱↓,吡喃葡萄糖↓,吡喃葡萄糖↓	L-异亮氨酸↓,L-脯氨酸↓,L-半胱氨酸↓,鸟氨酸↓,L-苯丙氨酸↓,L-赖氨酸↓,L-色氨酸↓,L-亮氨酸↓,牛磺胆酸↓,天冬酰胺↓,L-酪氨酸↓,L-肉碱↑,吡喃葡萄糖↑,吡喃葡萄糖↑	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成,牛磺酸和次牛磺酸代谢,肉碱代谢	[20]
	柴胡	小鼠肝脏	次黄嘌呤↑,延胡索酸↑,胆碱↑,缬氨酸↑,尿苷↓,苯丙氨酸↓,肌苷↓,磷酸乙醇胺↓,谷氨酰胺↓,谷胱甘肽二硫化物↓,氧化型谷胱甘肽↓,琥珀酸↓,乳酸↓,β-羟丁酸↓	次黄嘌呤↓,延胡索酸↓,胆碱↓,缬氨酸↓,尿苷↑,苯丙氨酸↑,肌苷↑,磷酸乙醇胺↑,谷氨酰胺↑,谷胱甘肽二硫化物↑,氧化型谷胱甘肽↑,琥珀酸↑,乳酸↑,β-羟丁酸↑	能量代谢,脂质代谢,酮体代谢,谷胱甘肽代谢,氨基酸代谢,核苷酸的合成	[22]
	秦艽	大鼠血清	异亮氨酸↑,亮氨酸↑,缬氨酸↑,3-羟基丁酸↑,乳酸↑,赖氨酸↑,丝氨酸↑,酪氨酸↑,甲酸↑,乙酸↑,丙酮↑,乙酰乙酸↑,谷氨酸↑,丙酮酸↑,谷氨酰胺↑,肌酸↑,琥珀酸↑,甜菜碱↑,柠檬酸↓,葡萄糖↓,组氨酸↓,苏氨酸↓,LDL/VLDL↓	异亮氨酸↓,亮氨酸↓,缬氨酸↓,3-羟基丁酸↓,乳酸↓,赖氨酸↓,丝氨酸↓,酪氨酸↓,甲酸↓,乙酸↓,丙酮↓,乙酰乙酸↓,谷氨酸↓,丙酮酸↓,谷氨酰胺↓,肌酸↓,琥珀酸↓,甜菜碱↓,柠檬酸↑,葡萄糖↑,组氨酸↑,苏氨酸↑,LDL/VLDL↑	甜菜碱代谢,LDL/VLDL的合成,糖酵解/糖异生,三羧酸循环,酮体的合成,氨基酸代谢,脂肪酸β氧化	[23]
	岩黄连	大鼠血清	异亮氨酸↑,乳酸↑,丙氨酸↑,谷氨酰胺↑,丙酮↑,琥珀酸↑,磷酸胆碱↑,D-葡萄糖↑,甘油↑	异亮氨酸↓,丙氨酸↓,谷氨酰胺↓,磷酸胆碱↓,甘油↓	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,甘油脂质代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解,甘油磷脂代谢	[24]
单体	水飞蓟宾	大鼠尿液	犬尿酸↑,丙酰肉碱↑,棕榈酰肉碱↑,尿苷↑,谷胱甘肽↑,4,8-二甲基壬酰肉碱↑,硬脂酰肉碱↑,L-半胱氨酸↓,腺苷↓,色氨酸↓	犬尿酸↓,丙酰肉碱↓,棕榈酰肉碱↓,尿苷↓,谷胱甘肽↓,4,8-二甲基壬酰肉碱↓,硬脂酰肉碱↓,L-半胱氨酸↑,腺苷↑,色氨酸↑	谷胱甘肽代谢,半胱氨酸和蛋氨酸代谢,色氨酸代谢,硫酸代谢,牛磺酸和次牛磺酸代谢	[13]
	芍药总苷	大鼠血清	丙氨酸↑,脯氨酸↑,谷氨酰胺↑,乙胺↑,3-oxaoc-4-en-11-imine↓,草酸↓,甘氨酸↓	丙氨酸↓,脯氨酸↓,谷氨酰胺↓,乙胺↓,3-Oxaoc-4-en-11-imine↑,草酸↑,甘氨酸↑	蛋白质生物合成,氨循环,谷胱甘肽代谢,丙氨酸代谢,葡萄糖-丙氨酸循环,尿素循环,含硒氨基酸代谢,谷氨酸代谢,丙酮酸代谢,吡啉代谢,嘌呤代谢,胆汁酸生物合成	[16]
		大鼠尿液	丙氨酸↑,脯氨酸↑,谷氨酰胺↑,醋酸盐↑,2-丙烯酸↑,p-羟基苯丙烯酸↑,3,4-二羟基苯丙酸↑,甘氨酸↓,苯乙酸↓	丙氨酸↓,脯氨酸↓,谷氨酰胺↓,醋酸盐↓,2-丙烯酸↓,p-羟基苯丙烯酸↓,3,4-二羟基苯丙酸↓,甘氨酸↑,苯乙酸↑		

注:与正常组比较,模型组肝损伤生物标志物差异有统计学意义;与模型组比较,给药组为保肝生物标志物差异有统计学意义;↑.上调;↓.下调(表2~4同)。

1.2 中药治疗CCl₄诱导的肝纤维化 已有对逍遥散、下瘀血汤、疏肝健脾方、黄芩、大黄、岩黄连、鸢尾黄素治疗CCl₄致肝纤维化的研究进行了综述^[25],本文在此基础上进行补充。基于气相色谱-飞行时

间质谱法(GC-TOF/MS)的研究显示,苦杏仁苷^[26]能使肝纤维化大鼠体内下调的苯丙氨酸、苏氨酸和花生四烯酸等9个标志物显著回调,通过调节氨基酸和脂肪酸代谢达到抗肝纤维化作用;有学者使用疏

肝健脾方治疗肝纤维化大鼠,并利用代谢组学对治疗后大鼠的血清^[27]、尿液^[28]、肝脏^[29]进行了代谢组学分析,研究结果表明疏肝健脾方的保肝机制主要与调节能量、氨基酸、脂肪酸和糖代谢有关。采用¹H-NMR技术的研究表明岩黄连总生物碱^[30]和岩黄连^[31]均可使肝纤维化大鼠紊乱的能量代谢恢复至正常水平,岩黄连除此外还可调节脂质代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢及精氨酸和脯氨酸代谢,岩黄连总生物碱能够恢复肠道菌群代谢、牛磺酸和亚牛磺酸代谢紊乱,而不能使精氨酸和脯氨酸代谢相关的肝纤维化标志物(肌酐)回调,提示岩黄连中除总生物碱外可能还有其他保肝成分;在相同检测技术和实验样本的基础上岩黄连治疗急性肝损伤和肝纤维化的共同作用机制为调节脂质代谢、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢这3条途径也可能是岩黄连主要的保肝作用机制。

1.3 中药治疗二甲基亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化 DMN是一种能引起肝纤维化的肝毒剂,主要引起烷基化使细胞脱氧核糖核酸(DNA)受损、线粒体功能障碍,从而诱导肝细胞凋亡并激活HSCs^[32],长期给药可引起肝纤维化,且停用后不自发逆转,相比CCl₄,胆总管结扎等肝纤维化模型肝脏质量及

指数均显著减少^[33]。代谢组学研究表明中药可通过调节氨基酸代谢、视黄醇代谢等通路有效减轻DMN肝纤维化,加味四逆散^[34]能够使DMN诱导的肝纤维化大鼠体内苯丙氨酸和维甲酸酯等肝纤维化标志物含量水平显著回归,主要调节苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢和视黄醇代谢来防治肝损伤。研究显示扶正化痰方^[35]干预后肝纤维化大鼠血清中的LPC(20:4),LPE(22:1),缬氨酸和花生四烯酸等标志物均显著上调,分析保肝标志物的代谢通路及生理功能推测其主要通过抗脂质过氧化、调节氨基酸水平及修复肝细胞及其膜功能等发挥保肝作用。胆汁酸靶向代谢组学研究提示黄芪汤及其有效成分(黄芪皂苷和甘草酸)^[36]的抗肝纤维化作用与调节胆汁酸代谢有关,胆汁酸代谢通路中的酶、细胞因子等可能成为肝纤维化的治疗靶点。结合已有报道中总结的茵陈蒿汤、藏族药波棱瓜子和雄芍汤治疗DMN肝纤维化和中药抗CCl₄肝纤维化的研究发现^[25,37],目前尚未有非靶向的中药抗肝纤维化研究鉴定出胆汁酸类肝纤维化标志物,这可能是由于肝纤维化为慢性肝损伤,相比急性肝损伤机体内环境中胆汁酸整体含量水平较低,使得胆汁酸不易被筛选为生物标志物有关。归纳中药抗CCl₄与DMN致肝纤维化的标志物及代谢通路见表2。

表2 中药治疗慢性肝纤维化的研究

Table 2 Study on treatment of chronic hepatic fibrosis injury with TCM

类型	名称	样本	模型	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
复方	疏肝健脾方	大鼠血清	CCl ₄	异亮氨酸↑,L-苹果酸↑,D-赤型-鞘氨醇↑,丙二酸↑,3,6-脱水-D-半乳糖↑,α-酮戊二酸↑,鸟氨酸↑,马尿酸↑,四氢皮质酮↑,腐胺↓,葡萄糖↓,海藻糖↓	异亮氨酸↓,L-苹果酸↓,D-赤型-鞘氨醇↓,丙二酸↓,3,6-脱水-D-半乳糖↓,α-酮戊二酸↓,鸟氨酸↓,马尿酸↓,四氢皮质酮↓,腐胺↑,葡萄糖↑,海藻糖↑	能量代谢,氨基酸代谢,鞘脂代谢,细胞色素P450代谢,嘧啶代谢,脂肪酸代谢,葡萄糖代谢	[27]
		大鼠尿液	CCl ₄	2-羟基丁酸↑,异亮氨酸↑,β-丙氨酸↑,丙二酸↑,胞嘧啶↑,赖氨酸↑	2-羟基丁酸↓,异亮氨酸↓,β-丙氨酸↓,丙二酸↓,胞嘧啶↓,赖氨酸↓		[28]
		大鼠肝脏	CCl ₄	苹果酸↑,延胡索酸↑,谷氨酰胺↑,盐德草碱↑,N-乙酰基-4-氨基丁酸↑,葡萄糖酸↑,棕榈酸↓,二十碳烯酸↓	苹果酸↓,延胡索酸↓,谷氨酰胺↓,盐德草碱↓,N-乙酰基-4-氨基丁酸↓,葡萄糖酸↓,棕榈酸↑,二十碳烯酸↑		[29]
加味四逆散	大鼠血清	DMN	烯醇-苯丙酮酸↑,L-酪氨酸↑,L-棕榈酰肉碱↑,L-苯丙氨酸↑,睾酮↑,苯丙酮酸↑,肉碱↑,L-色氨酸↓,视黄基酯↓,吡啶丙烯酸↓,吡啶乙醛↓	烯醇-苯丙酮酸↓,L-酪氨酸↓,L-棕榈酰肉碱↓,L-苯丙氨酸↓,睾酮↓,苯丙酮酸↓,肉碱↓,L-色氨酸↑,视黄基酯↑,吡啶丙烯酸↑,吡啶乙醛↑	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成,苯丙氨酸代谢,色氨酸代谢,视黄醇代谢	[34]	
茵陈蒿汤	大鼠血清	DMN	LPC(18:2)↑,LPC(18:1)↑,LPC(20:4)↓,花生四烯酸↓,亚油酸↓,油酸↓,二十二碳六烯酸↓	LPC(18:2)↓,LPC(18:1)↓,花生四烯酸↑,亚油酸↑,油酸↑,二十二碳六烯酸↑	氧化应激,脂质过氧化	[37]	

续表2

类型	名称	样本	模型	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
扶正 化痰方	大鼠血清	DMN		LPC(20:4)↓, LPC(15:0)↓, LPC(20:1)↓, LPC(14:0)↓, LPC(16:1)↓, LPE(18:2)↓, LPE(20:2)↓, LPE(22:1)↓, LPE(22:2)↓, LPE(24:0)↓, LPE(20:4)↓, LPE(22:0)↓, 5-羟色胺↓, 缬氨酸↓, 花生四烯酸↓, 十七碳烯酸↓, N-乙酰基-丙氨酸↓, 赖氨酰-甘氨酸↓, 亮氨酰-苯丙氨酸↓	LPC(20:4)↑, LPC(15:0)↑, LPC(20:1)↑, LPC(14:0)↑, LPC(16:1)↑, LPE(18:2)↑, LPE(20:2)↑, LPE(22:1)↑, LPE(22:2)↑, LPE(24:0)↑, LPE(20:4)↑, LPE(22:0)↑, 5-羟色胺↑, 缬氨酸↑, 花生四烯酸↑, 十七碳烯酸↑, N-乙酰基-丙氨酸↑, 赖氨酰-甘氨酸↑, 亮氨酰-苯丙氨酸↑	甘油磷脂代谢, 氨基酸代谢, 脂肪酸代谢	[35]
黄芪汤	大鼠血清	DMN		胆酸↑, 去氧胆酸↑, 熊去氧胆酸↑, 鹅去氧胆酸↑, 猪去氧胆酸↑, 石胆酸↑, 牛磺胆酸↑, 牛磺去氧胆酸↑, 牛磺熊去氧胆酸↑, N-乙酰基-丙氨酸↑, 赖氨酰-甘氨酸↑, 亮氨酰-苯丙氨酸↑	去氧胆酸↓, 熊去氧胆酸↓, 猪去氧胆酸↓, 石胆酸↓, 牛磺胆酸↓, 牛磺去氧胆酸↓, 牛磺熊去氧胆酸↓, 牛磺鹅去氧胆酸↓, 牛磺猪去氧胆酸↓, 牛磺石胆酸↓, 甘氨去氧胆酸↓	胆汁酸代谢	[36]
单味	岩黄连	大鼠血清	CCl ₄	乳酸↑, 丙氨酸↑, 精氨酸↑, 乙氨酸↑, N-乙酰糖蛋白↑, 肌酸↑, 胆碱↑, 脂质↓, 亮氨酸↓, 异亮氨酸↓, O-乙酰糖蛋白↓, 葡萄糖↓	丙氨酸↓, 乙氨酸↓, 肌酸↓, 脂质↑, 亮氨酸↑, O-乙酰糖蛋白↑	缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 精氨酸和脯氨酸代谢, 丙酮酸代谢, 脂质代谢	[31]
单体	岩黄连总生物碱	大鼠尿液	CCl ₄	牛磺酸↑, 2-氧化戊二酸↓, 柠檬酸↓, 二甲胺↓, 苯乙酰甘氨酸↓, 肌酸酐↓, 马尿酸盐↓	牛磺酸↓, 2-氧化戊二酸↑, 柠檬酸↑, 马尿酸盐↑	三羧酸循环, 肠道菌群代谢, 牛磺酸和次牛磺酸代谢	[30]
	苦杏仁苷	小鼠血清	CCl ₄	异亮氨酸↓, 苏氨酸↓, β-丙氨酸↓, 己二酸↓, 3-羟基-3-甲基戊二酸↓, 5-羟基吡啶-3-酮酸盐↓, 苯丙氨酸↓, 吡啶乳酸↓, 花生四烯酸↓	异亮氨酸↑, 苏氨酸↑, β-丙氨酸↑, 己二酸↑, 3-羟基-3-甲基戊二酸↑, 5-羟基吡啶-3-酮酸盐↑, 苯丙氨酸↑, 吡啶乳酸↑, 花生四烯酸↑	苯丙氨酸代谢, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢, 丙氨酸代谢, 脂肪酸代谢	[26]

1.4 中药治疗α-萘异硫氰酸酯(ANIT)致胆汁淤积型肝损伤 胆汁淤积型肝损伤是急性肝损伤中的常见类型, ANIT诱导的肝损伤与人类肝内胆汁淤积病变相似, 主要损害肝胆管上皮细胞, 导致胆管堵塞从而诱发胆汁淤积, 并伴有肝实质细胞损伤^[38]。运用GC-MS/MS的研究结果显示缬氨酸、琥珀酸和亚油酸等ANIT胆汁淤积标志物在茵陈五苓散^[39]治疗后显著回调, 其治疗肝损伤的作用机制主要是通过调节脂肪酸代谢、三羧酸循环及氨基酸代谢来干预氧化应激和能量补给。基于超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法(UPLC-Q-TOF/MS)的研究表明, 茵陈蒿汤^[40]能够使ANIT胆汁淤积小鼠体内紊乱的乙酰肉碱, LPC(16:1)和LPC(14:0)等标志物显著回调, 提示茵陈蒿汤能够调节甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢和甾体激素合成等治疗湿热黄疸证; 茵陈^[41]可通过调节嘧啶代谢、初级胆汁酸合成、丙酸盐代谢发挥良好的抗胆汁淤积作用;

芍药苷^[42]调节胆汁淤积的途径共14条, 主要通路为初级胆汁酸合成和甘油磷脂代谢。通过超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱法(UPLC-Q-Orbitrap/MS)研究发现大黄硝石汤^[43]的抗胆汁淤积作用主要通过调节初级胆汁酸合成、精氨酸和脯氨酸代谢及花生四烯酸代谢来实现。代谢组学研究显示龙苦胆苷^[44]主要干预胆汁酸、脂肪酸和甘油磷脂代谢, 结合蛋白质组学发现龙苦胆苷通过改变法尼醇X受体、胆固醇7α-羟化酶等代谢通路中的蛋白表达有效减轻大鼠的肝损伤程度。以上非靶向研究筛选的标志物提示胆汁酸代谢是胆汁淤积的重要通路, 而茵陈术附汤^[45]和消炎利胆片^[46]的非靶向和胆汁酸靶向代谢组学结合研究进一步验证了胆汁酸代谢通路对治疗胆汁淤积性肝损伤的重要性, 表明抗胆汁淤积中药可能通过调控胆汁酸转运体和代谢相关蛋白恢复胆汁酸代谢紊乱防治胆汁淤积性肝损伤。见表3。

表3 中药治疗胆汁淤积型肝损伤的研究

Table 3 Study on treatment of cholestatic liver injury with TCM

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
复方	茵陈五苓散	大鼠血清	丝氨酸↑, L-苏氨酸↑, 甘油酸↑, L-苹果酸↑, 花生四烯酸↑, 胆固醇↑, L-缬氨酸↓, 甘氨酸↓, 琥珀酸↓, 柠檬酸↓, 亚油酸↓, 棕榈酸↓, 肌醇↓, 硬脂酸↓	丝氨酸↓, L-苏氨酸↓, 甘油酸↓, L-苹果酸↓, 花生四烯酸↓, 胆固醇↓, L-缬氨酸↑, 甘氨酸↑, 琥珀酸↑, 柠檬酸↑, 亚油酸↑, 棕榈酸↑, 肌醇↑, 硬脂酸↑	亚油酸和花生四烯酸代谢, 氨基酸代谢, 三羧酸循环	[39]
	大黄硝石汤	小鼠血浆	肌酸↑, 牛磺胆酸↑, 甘胆酸↑, 胆酸↑, 牛磺鹅去氧胆酸↑, 甘氨酸鹅去氧胆酸↑, 甘氨酸去氧胆酸↑, 牛磺去氧胆酸↑, 白三烯D ₄ ↑, 胞嘧啶↑, 15(S)-HETE↓, 精氨酸↓, 鞘氨醇↓, 吡啶乙醛↓	肌酸↓, 牛磺胆酸↓, 甘胆酸↓, 牛磺鹅去氧胆酸↓, 甘氨酸鹅去氧胆酸↓, 甘氨酸去氧胆酸↓, 牛磺去氧胆酸↓, 白三烯D ₄ ↓, 鞘氨醇↑, 吡啶乙醛↑, 15(S)-HETE↑, 精氨酸↑	初级胆汁酸生物合成, 精氨酸和脯氨酸代谢, 花生四烯酸代谢, 蛋白质生物合成, 尿素循环, 甘氨酸, 丝氨酸和苏氨酸代谢, 色氨酸代谢	[43]
	茵陈术附汤	小鼠血清	牛磺酸-β-鼠胆酸↑, 硫代石胆酰甘氨酸↑, 牛磺胆酸↑, 甘胆酸↑, 胆酸↑, 葡萄糖醛胆红素↑, 亚油酸↑, LPC(18:1)↑, LPC(18:2)↑, LPC(22:6)↑, LPE(0:0/16:0)↑, L-棕榈酰肉碱↑, 油酰肉碱↑, 8,9-表氧二十碳三烯酸↓	牛磺-β-鼠胆酸↓, 硫代石胆酰甘氨酸↓, 牛磺胆酸↓, 甘胆酸↓, 胆酸↓, 葡萄糖醛胆红素↓, 亚油酸↓, LPC(18:1)↓, LPC(18:2)↓, LPC(22:6)↓, LPE(0:0/16:0)↓, 8,9-表氧二十碳三烯酸↑, 油酰肉碱↓, L-棕榈酰肉碱↓	初级胆汁酸生物合成, 亚油酸代谢, 牛磺酸和次牛磺酸代谢, 戊糖和葡萄糖醛酸转化, 淀粉和蔗糖代谢, 甘油磷脂代谢, 脂肪酸代谢, 不饱和脂肪酸生物合成	[45]
	消炎利胆片	大鼠血清	牛磺熊去氧胆酸↑, 牛磺猪胆酸↑, 牛磺胆酸↑, 甘氨酸猪胆酸↑, 牛磺鹅去氧胆酸↑, 甘胆酸↑, 牛磺去氧胆酸↑, 甘氨酸去氧胆酸↑, 甘氨酸去氧胆酸-3-硫酸盐↑, 7-硫代胆酸↑, 牛磺鹅去氧胆酸-3-硫酸盐↑, 4-羟基维甲酸葡萄糖苷酸↑, 11b-羟孕酮↑, 4-氧代视黄醇↑, 4-氧代-顺式视黄酰基-β-葡萄糖苷酸↑, 9,13-顺式视黄酰基-β-葡萄糖苷酸↑, 5-HETE↑, 溶血磷脂酸(18:2)↑, D-苯乳酸↑, LPE(18:3)↑, 视黄醇b-葡萄糖醛酸↑, 吡啶乳酸↑, 二十碳五烯酸↑, LPE(22:6)↑, LPE(20:4)↑, LPE(18:2)↑, 精氨酸↓, 皮甾酮↓, 二十四碳六烯酸↓, 4-羟基全反式维甲酸酯↓, 视黄醇↓, 视黄基酯↓, 1-花生四烯酸-2-羟基-sn-甘油-3-磷酸盐↓, 孕烯醇酮↓	牛磺熊去氧胆酸↓, 牛磺猪胆酸↓, 牛磺胆酸↓, 牛磺鹅去氧胆酸↓, 甘胆酸↓, 甘氨酸去氧胆酸-3-硫酸盐↓, 7-硫代胆酸↓, 维甲酸↓, 视黄醇b-葡萄糖醛酸↓, 4-氧代-顺式视黄酰基-β-葡萄糖苷酸↓, 9,13-顺式视黄酰基-β-葡萄糖苷酸↓, 4-羟基维甲酸葡萄糖苷酸↓, 6-脱氢固醇葡萄糖醛酸↓, 二十碳五烯酸↓, 5-HETE↓, 二十四碳六烯酸↑, 4-氧代视黄醇↓, 11b-羟孕酮↓, 1-花生四烯酸-2-羟基-sn-甘油-3-磷酸盐↑, 皮甾酮↑, 4-羟基全反式维甲酸酯↑	戊糖和葡萄糖醛酸转化, 视黄醇代谢, 初级胆汁酸生物合成, 甾体激素生物合成, 淀粉和蔗糖代谢, 牛磺酸和次牛磺酸代谢, 花生四烯酸代谢	[46]
	茵陈蒿汤	小鼠血清	5-雄甾烯-3b,16b,17a-三醇↑, N(6)-辛酰赖氨酸↑, 鞘磷脂(18:0/16:1)↑, 磷脂酰肌醇(16:0/22:4)↑, 甘油磷脂胆碱↑, 雄甾烯二酮↑, 磷脂酰肌醇(16:2/22:3)↑, 磷脂酰肌醇(18:0/22:6)↑, L-乙酰肉碱↑, LPE(18:2)↑, 前列腺素E ₂ ↑, 白三烯A ₄ ↑, LPC(14:0)↓, LPC(16:0)↓, LPC(16:1)↓, PC(18:0/24:0)↓, LPC(20:0)↓, PC(14:0/20:2)↓, 油酰胺↓, 色氨酸-脯氨酸↓, PC(14:0/20:3)↓, PE(16:0/18:1)↓	磷脂酰肌醇(16:0/22:4)↓, 磷脂酰肌醇(16:2/22:3)↓, LPE(18:2)↓, LPC(16:0)↑, LPC(16:1)↑, LPC(20:0)↑, LPC(14:0)↑, L-乙酰肉碱↓, 白三烯A ₄ ↓	甘油磷脂代谢, 花生四烯酸代谢, 甾体激素生物合成, 鞘磷脂代谢, 糖基磷脂酰肌醇(GPI)-锚定生物合成, 亚油酸代谢, 醚脂代谢, α-亚麻酸代谢	[40]
单味	茵陈	大鼠尿液	甘胆酸↑, 2-羟基丁酸↑, 脱氧胞苷↑, C ₂₅ H ₃₇ N ₃ O ₂ ↓, C ₁₈ H ₁₉ O ₆ Na↓	甘胆酸↓, 2-羟基丁酸↓, 脱氧胞苷↓, C ₂₅ H ₃₇ N ₃ O ₂ ↓, C ₁₈ H ₁₉ O ₆ Na↑	嘧啶代谢, 初级胆汁酸生物合成, 丙酸盐代谢	[41]
单体	龙胆苦苷	大鼠血清, 尿液, 肝脏	牛磺胆酸↑, 胆酸↑, 牛磺去氧胆酸↑, 磷脂酰甘油(17:0/0:0)↑, 磷脂酸(10:0/10:0)↑	牛磺胆酸↓, 胆酸↓, 牛磺去氧胆酸↓, 磷脂酰甘油(17:0/0:0)↓, 磷脂酸(10:0/10:0)↓	胆汁酸代谢, 甘油磷脂代谢, 脂肪酸代谢	[44]

续表3

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
	芍药苷	大鼠血清	甘氨酸鹅脱氧胆酸↑, 甘胆酸↑, 牛磺胆酸↑, 牛磺鹅去氧胆酸↑, 肌酸↑, 肌苷↑, Lyso PAF↑, 15(S)-HPETE↓, 磷脂乙醇胺↓, 磷酸胆碱↓, 乳糖神经酰胺↓	甘氨酸鹅脱氧胆酸↓, 甘胆酸↓, 牛磺胆酸↓, 牛磺鹅去氧胆酸↓, 肌酸↓, 肌苷↓, Lyso PAF↓, 15(S)-HPETE↑, 皮甾酮↑, L-精氨酸↑, 磷脂乙醇胺↑, 磷酸胆碱↑, 乳糖神经酰胺↑	初级胆汁酸合成, 甘油磷脂代谢, 花生四烯酸代谢, 亚油酸代谢, 精氨酸和脯氨酸代谢, 牛磺酸和次牛磺酸代谢, 亚麻酸和次牛磺酸代谢, (GPI)-锚定蛋白生物合成, 鞘脂类代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 氨酰-tRNA合成, 嘌呤代谢, 甾体激素生物合成	[42]

1.5 中药治疗乙醇或酒精诱导的ALD ALD是由大量、长期饮酒引起的肝损伤病变,初期表现为脂肪肝,进一步发展为肝炎、肝纤维化及肝硬化,乙醇或酒诱发肝脂肪变性和轻微炎症,制备的肝损伤模型与临床酒精性肝损伤的早期病变相似^[47]。茵陈蒿汤与3种主要单体成分(6,7-二甲氧基香豆素、栀子苷、大黄酸)的配伍组合^[48],6,7-二甲氧基香豆素^[49]和栀子苷^[50]治疗ALD的研究中重合的通路为缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢,提示这两种代谢通路可能是茵陈蒿汤治疗ALD的主要机制,并可能为筛选抗ALD药物提供依据,此外茵陈蒿汤与3种主要单体成分还可干预牛磺酸和亚牛磺酸代谢以及丙酮酸代谢等,6,7-二甲氧基香豆素影响泛醌及其他萜醌类生物合成等,栀子苷可调节嘌呤和嘧啶代谢等。二至丸^[51]和丹参素^[52]除干预维生素代谢(泛酸和辅酶A合成、烟酰胺代谢),胆汁酸代谢外,还能通过调节缬氨酸、苯丙氨酸等氨基酸水平来减轻ALD,验证了缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢作为ALD治疗靶点筛选依据的可行性。但并不是所有治疗ALD的中药都能纠正这2条代谢通路的紊乱状态,如霍山石斛多糖^[53]主要调节甘油磷脂代谢、胆汁酸代谢、脂肪酸代谢和氨基酸代谢来减轻ALD引起的早期脂肪变性和炎症,其中治疗组并未使模型组一些紊乱的氨基酸(缬氨酸、苯丙氨酸等)回调,提示霍山石斛多糖的保肝机制与这两条通路无关。中药治疗ALD的作用机制也可能与氨基酸代谢无关,如三七总皂苷^[54-55]可使ALD小鼠尿液中除乙酰甘氨酸外的所有肝损伤标志物显著回调,使ALD小鼠血浆中除亚油酸外的11种肝损伤标志物显著回调,其主要干预甘油磷脂代谢、胆汁酸代谢和脂肪酸代谢来治疗ALD。ALD的肝损伤及保肝的生物标志物见表4。

2 讨论

中药治疗CCl₄急性肝损伤和CCl₄肝纤维化最主要的作用机制为调节氨基酸代谢,其次是干预能量代谢、脂肪酸代谢、肠道菌群代谢和脂质代谢;CCl₄急性肝损伤模型中谷胱甘肽代谢、酮体代谢、胆汁酸代谢和甘油磷脂代谢相关生物标志物(谷胱甘肽、谷氨酰胺、羟基丁酸、胆汁酸、磷酸胆碱、溶血磷脂等)比重更大,CCl₄肝纤维化模型中糖代谢、牛磺酸和次牛磺酸代谢、视黄醇代谢相关生物标志物(葡萄糖、牛磺酸和视黄酯等)较多,如岩黄连和逍遥散治疗CCl₄急性肝损伤的标志物分别有谷氨酰胺、磷酸胆碱^[12,24],而抗CCl₄肝纤维化的保肝标志物中分别有乙酸、葡萄糖^[31,56],这可能是因为急性肝损伤模型肝细胞短期内大量损伤破裂,使得甘油磷脂类、胆汁酸类等细胞毒性成分短期内急剧紊乱,而肝纤维化阶段氧化应激程度较急性肝损伤轻,肝细胞破损已处于相对平稳的状态,基础物质代谢紊乱表现更为严重。CCl₄和DMN诱导的肝纤维化均引起糖代谢、脂肪酸代谢、氨基酸代谢和视黄醇代谢紊乱^[34,57],而视黄醇代谢紊乱与HSCs活化相关^[58],提示视黄醇代谢可能是特异性较强的肝纤维化相关通路。茵陈蒿汤是DMN肝硬化的有效方剂,而对CCl₄肝硬化无效^[33],CCl₄与DMN诱导的肝硬化基因不同且所诱导的细胞坏死分别为有溶酶体激活和无溶酶体激活的^[59],而肠道菌群可以通过影响溶酶体依赖性降解途径直接影响肝脏^[60],以上研究表明2种模型的肝纤维化机制有所区别,代谢组学研究结果也验证了这一结论:中药治疗DMN肝纤维化的生物标志物中溶血磷脂类物质和不饱和脂肪酸类物质更多,抗CCl₄肝纤维化的生物标志物中肠道菌群代谢相关物质更多。

与CCl₄急性肝损伤相比,抗ANIT急性胆汁淤积的生物标志物中胆汁酸、脂肪酸和类固醇类物质相对较多,而氨基酸占比较少,抗胆汁淤积中药主

表4 中药治疗CCl₄诱导的急性肝损伤的研究

Table 4 Study on treatment of ALD injury with TCM

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
复方	茵陈蒿汤	大鼠尿液	<i>L</i> -蛋氨酸↑, <i>N</i> -甲基-2-吡啶酮-5-甲酰胺↑, <i>N</i> -乙酰草铵膦↑, <i>N</i> 1-(α - <i>D</i> -核糖基)-5,6-二甲基苯并咪唑↑, 吡啶-3-乙酰基-肌醇↑, 2-羟基乙磺酸↑, 3,4-二羟基苯乙二醇 <i>O</i> -硫酸盐↑, 2-异丙基苹果酸↑, 3-羟基吡啶-2-一硫酸盐↑, 2-甲基马尿酸↑, 对甲酚葡萄糖醛酸↑, 吡啶-3-乙酰基-肌醇↑, 3-羟基十二烷二酸↑, <i>N</i> -(乙酰氧基)苯胺↓, 3-吡啶羧酸葡萄糖醛酸↓, 5-羟基-6-甲氧吡啶葡萄糖醛酸↓, 1- <i>O</i> -没食子酸- β - <i>D</i> -葡萄糖↓, 马尿酸↓, 5-羟基-6-甲氧吡啶葡萄糖醛酸↓, 亚油酸↓, 2-苯乙醇葡萄糖醛酸↓	2-羟基乙磺酸↓, 马尿酸↑, 辛酸↑	牛磺酸和次牛磺酸代谢, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢, 丙酮酸代谢, 苯丙氨酸代谢	[48]
二至丸		大鼠尿液	氢化肉桂酸↑, 尿苷↑, 2-羟基乙磺酸↑, 胆酸↑, 齐拉西酮↑, 癸二酸↓, 黄尿酸↓, 哌啶酸↓, <i>L</i> -天冬氨酸-4-磷酸盐↓, 辛二酸↓, 泛酸↓	氢化肉桂酸↓, 尿苷↓, 2-羟基乙磺酸↓, 胆酸↓, 齐拉西酮↓, 癸二酸↑, 黄尿酸↑, 哌啶酸↑, <i>L</i> -天冬氨酸-4-磷酸盐↑, 辛二酸↑, 泛酸↑	泛酸和辅酶A生物合成, 赖氨酸降解, 嘧啶代谢, 初级胆汁酸生物合成	[51]
		大鼠胆汁	牛磺胆酸↑, 甘氨酸去氧胆酸↑, 牛磺石胆酸↓, LPC(14:0)↓, LPC(16:0)↓, LPC(16:1)↓, LPC(15:0)↓, LPE(15:0)↓, <i>L</i> -异亮氨酸↓, <i>L</i> -苯丙氨酸↓	牛磺胆酸↓, 甘氨酸去氧胆酸↓, 牛磺石胆酸↓, LPC(14:0)↑, LPC(16:0)↑, LPC(16:1)↑, LPC(15:0)↑, LPE(15:0)↑, <i>L</i> -异亮氨酸↑, <i>L</i> -苯丙氨酸↑	苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢, 牛磺酸和次牛磺酸代谢, 苯丙氨酸代谢, 氨基酸 tRNA 生物合成, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢, 初级胆汁酸生物合成, 甘油磷脂代谢	
单体	6,7-二甲氧基香豆素	小鼠原代肝细胞	胞内: 吡啶↑, 4-羟基苯甲醛↑, <i>L</i> -亮氨酸↑, 2-苯乙酰胺↑, 苯丙酮酸↑, 哇哪啶酸↑, 5-羟乙醛↑, <i>L</i> -酪氨酸↑, 吡啶乙酸↑, <i>S</i> -(2-甲丁酰基)-二氢硫辛酰胺↑, LPC(14:1)↑, 乳醛↑, <i>L</i> -乳酸↑, 琥珀酸↑, 二氢胸腺嘧啶↑, 6-羟基己酸↑, <i>N</i> -琥珀酰- <i>L</i> , <i>L</i> -2,6-二氨基庚二酸↑, 二十碳二烯酸↑, 1-苯乙胺↓; 胞外: 精氨酸-天冬酰胺↑, 棕榈酰胺↑, 十八烷↑, 琥珀酸↑, 烯醇-苯丙酮酸↓, 2- <i>O</i> -对香豆基柠檬酸↓, 二十碳二烯酸↓, 油酸酰胺↑, 4-羟基丙酮酸↓, <i>L</i> -苯丙氨酸↓, <i>L</i> -谷氨酰胺↓, <i>L</i> -异亮氨酸↓	胞内: 4-羟基苯甲醛↓, <i>L</i> -亮氨酸↓, 2-苯乙酰胺↓, 吡啶↓, 苯丙酮酸↓, 5-羟乙醛↓, 哇哪啶酸↓, <i>L</i> -酪氨酸↓, 吡啶乙酸↓, <i>S</i> -(2-甲丁酰基)-二氢硫辛酰胺↓, 6-羟基己酸↓, 乳醛↓, LPC(14:1)↓, <i>L</i> -乳酸↓, 琥珀酸↓, 二十碳二烯酸↓, 二氢胸腺嘧啶↓, <i>N</i> -琥珀酰- <i>L</i> , <i>L</i> -2,6-二氨基庚二酸↓, 1-苯乙胺↑; 胞外: 精氨酸-天冬酰胺↓, 棕榈酰胺↓, 十八烷↓, 烯醇-苯丙酮酸↑, 二十碳二烯酸↑, 油酸酰胺↑, 4-羟基丙酮酸↑, <i>L</i> -苯丙氨酸↑, <i>L</i> -谷氨酰胺↑, <i>L</i> -异亮氨酸↑	苯丙氨酸代谢, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成, 酪氨酸代谢, 泛醌和其他萜类生物合成, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢	[49]
	栀子苷	小鼠尿液	<i>N</i> -羟基精氨酸↑, 甲基乙二醛↑, 氧化型谷胱甘肽↑, 甜菜碱↑, 3-甲氧基-4-羟基苯乙醇醛↑, 1-吡咯啉-2-羧酸↑, 脱氧腺苷单磷酸↑, 5-羟基吡啶乙醛↑, 尿苷二磷酸↑, 焦谷氨酸↑, 龙胆酸↑, <i>S</i> -腺苷甲硫酸铵↓, <i>D</i> -葡萄糖胺-6-磷酸盐↓, <i>L</i> -丙氨酸↓	<i>N</i> -羟基精氨酸↓, 甲基乙二醛↓, 氧化型谷胱甘肽↓, 甜菜碱↓, 3-甲氧基-4-羟基苯乙醇醛↓, 1-吡咯啉-2-羧酸↓, 脱氧腺苷单磷酸↓, 5-羟基吡啶乙醛↓, 尿苷二磷酸↓, 焦谷氨酸↓, 龙胆酸↓, <i>L</i> -丙氨酸↑	苯丙氨酸代谢, 酪氨酸代谢, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解, 淀粉和蔗糖代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 谷胱甘肽代谢, 精氨酸和脯氨酸代谢, 嘌呤代谢, 嘧啶代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 色氨酸代谢, 赖氨酸降解, 组氨酸代谢	[50]
	丹参素	大鼠血浆	乳酸↑, 甘油↑, 乙酰乙酸↑, 丙酮↑, 乙胺↑, 肌酸↑, 肌苷↑, 甜菜碱↓, 甘氨酸↓	乳酸↓, 甘油↓, 乙酰乙酸↓, 丙酮↓, 乙胺↓, 肌酸↓, 肌苷↓, 甜菜碱↑, 甘氨酸↑	糖脂代谢, 肌酸代谢, 脂肪酸氧化, 烟酰胺代谢, 三羧酸循环, 苯甲酸代谢, 胆碱代谢, 苯丙氨酸代谢, 甘氨酸代谢	[52]

续表4

类型	名称	样本	肝损伤生物标志物	保肝生物标志物	可能保肝作用机制	参考文献
	大鼠	尿液	3-羟基丁酸↑, 乙酸↑, 肌酸↑, 肌酸酐↑, 甘油↑, <i>N</i> -甲基烟酰胺↑, 柠檬酸↓, 琥珀酸↓, 三甲胺氧化物↓, 牛磺酸↓, 甜菜碱↓, 苯丙氨酸↓, 马尿酸↓	3-羟基丁酸↓, 乙酸↓, 肌酸↓, 肌酸酐↓, 甘油↓, <i>N</i> -甲基烟酰胺↓, 柠檬酸↑, 琥珀酸↑, 三甲胺氧化物↑, 牛磺酸↑, 甜菜碱↑, 苯丙氨酸↑, 马尿酸↑		
	大鼠	肝脏	3-羟基丁酸↑, 乳酸↑, 丙氨酸↑, 酪氨酸↑, 乙酸↑, 甘氨酸↓, 缬氨酸↓, 亮氨酸↓, 异亮氨酸↓, 琥珀酸↓, 牛磺酸↓, 胆碱↓, 甜菜碱↓, 三甲胺氧化物↓	3-羟基丁酸↓, 乳酸↓, 丙氨酸↓, 酪氨酸↓, 乙酸↓, 甘氨酸↑, 缬氨酸↑, 亮氨酸↑, 异亮氨酸↑, 琥珀酸↑, 牛磺酸↑, 胆碱↑, 甜菜碱↑, 三甲胺氧化物↑		
霍山石斛多糖	小鼠	肝脏	泛酸↑, 磷酰胆碱↑, PC(13:0)↓, PC(16:0)↓, PC(14:0)↓, PC(19:0)↓, LPE(18:2)↓, 亚油酸乙醇酰胺↓, 17-苯三硝基 PGE2 乙醇酰胺↓, 20-乙基 PGF2α↓, 乙酰磷酸盐↓	磷酰胆碱↓, LPC(20:3)↓, 乙酰磷酸盐↑	甘油磷脂代谢, β-丙氨酸代谢, 泛酸和辅酶 A 生物合成, 磷脂代谢	[53]
	小鼠	血清	PC(30:2)↑, PC(20:4)↑, PC(20:2)↑, PC(19:1)↑, PC(18:0)↑, PC(36:3)↑, PC(34:2)↑, PC(36:5)↑, PC(40:6)↑, LPC(20:3)↑, 磷酰胆碱↑, <i>L</i> -亮氨酸↑, <i>L</i> -苯丙氨酸↑, <i>L</i> -脯氨酸↑, <i>L</i> -酪氨酸↑, <i>L</i> -色氨酸↑, <i>L</i> -缬氨酸↑, 肉碱↑, 苯甲酰胺↑, <i>D</i> -甘露醇↑, <i>D</i> -葡萄糖苷↑, 吲哚丙烯酸↑, 异喹啉- <i>N</i> -氧化物↑, PGA1 甲酯↑, LTB4-D4↑, 20-乙基 PGE2↑, 20-乙基 PGF2α↑, 鞘氨醇-1-磷酸盐↑, 鞘氨醇磷酸盐↑, PC(40:4)↓, PC(13:0)↓, PC(20:0)↓, 鞘氨醇半乳糖苷↓, 肌苷 5'-四磷酸↓, 3-羧基硬脂酸↓	PC(36:3)↓, <i>L</i> -脯氨酸↓, 肉碱↓, 4-硝基喹啉-1-氧化物↓, 乙酰肉碱↓, 焦谷氨酸↓, 2-甲基马尿酸↓, 亚油醇肉碱↓, <i>N</i> -油酰- <i>L</i> -丝氨酸↓, <i>N</i> -硬脂酰酪氨酸↓, 25-羟基维生素 D ₃ ↓, 牛磺胆酸↓, 棕榈酰- <i>L</i> -肉碱↓, 异油醇肉碱↓, PC(15:0)↑, <i>S</i> -(1,2-二氯乙烯基)谷胱甘肽↑	氨基酸代谢, 脂肪酸代谢, 糖类代谢, 鞘脂代谢, 甘油磷脂代谢, 淀粉和蔗糖代谢, 嘌呤代谢, 谷胱甘肽代谢, 甾体激素生物合成, 牛磺酸和次牛磺酸代谢, 磷脂代谢	
三七皂苷	小鼠	尿液	<i>L</i> -3-氨基-异丁酸酯↑, 次黄嘌呤↑, 6-乳腺四氢嘌呤↑, 2,3-二甲基-3-羟戊二酸↑, 同型半胱氨酸亚磺酸↑, 2-羟基乙磺酸↑, 2-异丙基苹果酸↑, 8-氯黄嘌呤↑, 甲基丙二酸↑, 5-氨基咪唑-4-甲酰胺↓, 苯乙酰甘氨酸↓, 黄尿酸↓, 己酰甘氨酸↓, 硫酸吲哚酚↓	<i>L</i> -3-氨基-异丁酸酯↓, 2,3-二甲基-3-羟戊二酸↓, 6-乳腺四氢嘌呤↓, 次黄嘌呤↓, 2-异丙基苹果酸↓, 2-羟基乙磺酸↓, 甲基丙二酸↓, 8-氯黄嘌呤↓, 5-氨基咪唑-4-甲酰胺↑, 黄尿酸↑	甘油磷脂代谢, 脂肪酸代谢	[54]
	小鼠	血浆	戊二酰肉碱↑, 二十二碳四烯酸↑, LPC(18:2)↑, LPC(18:0)↑, LPC(<i>P</i> -18:0)↑, LPC(17:0)↑, 乙基葡萄糖苷酸↑, LPE(18:0)↑, 亚油酸↑, 二十二碳六烯酸↑, adhumulinic acid↑, LPC(20:5)↓	戊二酰肉碱↓, 二十二碳四烯酸↓, LPC(18:2)↓, LPC(18:0)↓, LPC(<i>P</i> -18:0)↓, LPC(17:0)↓, 乙基葡萄糖苷酸↓, LPE(18:0)↓, 二十二碳六烯酸↓, adhumulinic acid↓, LPC(20:5)↑		[55]

要调节胆汁酸代谢、脂肪酸代谢、亚油酸代谢、花生四烯酸代谢、甾体激素合成和甘油磷脂代谢,其次调节氨基酸代谢、戊糖和葡萄糖醛酸转化及淀粉和蔗糖代谢等途径发挥保肝作用。ALD与CCl₄急性肝损伤的治疗机制相似,均可通过调节三羧酸循环、谷胱甘肽、氨基酸、脂肪酸、甘油磷脂、胆汁酸和肠道菌群代谢,抑制氧化应激,减轻脂质过氧化从而保护肝脏,有研究发现,精氨酸酶1和α-谷胱甘肽-S-转移酶等可作为灵敏性更高的ALD^[61]和CCl₄^[62]急性肝损伤的生物标志物,这些物质与氨基酸代谢、氧化应激有着密切联系,印证了代谢组学

的研究结果。缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢以及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢是中药治疗ALD主要调节的两条氨基酸代谢通路,此外ALD特异性较强的保肝作用机制为干预维生素代谢(泛酸和辅酶A合成、泛醌和其他萜类醌生物合成、烟酰胺代谢),如二至丸主要通过调节以上两条氨基酸代谢途径、泛酸和辅酶A合成、赖氨酸降解和胆汁酸代谢治疗ALD^[51],而在CCl₄急性肝损伤中主要干预甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、赖氨酸降解和甘油磷脂代谢^[18-19]。

茵陈蒿汤是当前运用代谢组学研究最多的中

药复方之一,茵陈蒿汤在CCl₄急性肝损伤模型中主要调节精氨酸和脯氨酸代谢、色氨酸代谢、甘油磷脂代谢和胆汁酸代谢等^[17];在DMN慢性肝纤维化模型中主要恢复甘油磷脂代谢和脂肪酸代谢紊乱^[63];在ANIT急性胆汁淤积模型中主要干预甘油磷脂代谢、花生四烯酸代谢、甾体激素生物合成、鞘脂代谢和亚油酸代谢等^[40];在ALD模型中主要平衡苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢,牛磺酸和亚牛磺酸代谢以及丙酮酸代谢紊乱^[48],与上述的各类型肝损伤主要特点基本一致,体现出各类型肝损伤的发病机制及治疗靶点既相交又独立且各有侧重。茵陈蒿汤^[40,48]与茵陈^[41]主要单体成分(6,7-二甲氧基香豆素^[49]、栀子苷^[50])的研究结果表明中药复方配伍前后的主要作用机制不同,复方干预的通路更广泛,且主要干预途径对于减轻胆汁淤积和ALD更为关键,与茵陈蒿汤及多成分给药较单一成分效果更好的研究结果相合^[64],体现了中医药疗效是建立在各种成分联合作用基础上的,反映了中药尤其是中药复方的“多成分、多靶点和多层次”的整体调节特征。

机体受到药物、环境刺激后上游的肝损伤相关基因改变,下一级的转录因子、蛋白表达也随之变化,因个体间存在差异,信号通路、酶和细胞因子等被影响程度深浅不一,相关代谢通路受调控的程度也有所不同,这些机体内的代谢过程又互相作用形成复杂的网络通路,多条代谢通路可能调控同一代谢物,导致多项研究即使选用相同的模型、检测技术和生物样本,鉴定的肝损伤生物标志物的种类、含量水平或波动趋势也可能不相同,但从中药干预后大部分肝损伤生物标志物均显著回调来看,这些生物标志物相关的代谢通路才是研究中药保肝作用机制的关键,提示应加大实验样本量进行研究,并将各项相同研究所得生物标志物整合分析,从而减小个体差异得到较为稳定的差异代谢物作为生物标志物。

3 总结与展望

非靶向代谢组学筛选出的较有价值的保肝标志物相关代谢通路共21条,其中影响最高的是氨基酸代谢(苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸代谢,精氨酸和脯氨酸代谢,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢以及赖氨酸降解),其次是能量代谢、糖代谢、脂肪酸代谢、甘油磷脂代谢、胆碱代谢、胆汁酸代谢、类固醇激素合成、肠道菌群代谢和维生素代

谢(视黄醇代谢、泛酸和辅酶A合成、泛醌和其他萜类醌生物合成、烟酰胺代谢),相对影响较低的是鞘脂代谢、嘧啶代谢、嘌呤代谢,或可以此为切入点进一步研发、利用保肝中药。

目前代谢组学研究中中药保肝机制还存在一些不足之处亟待完善:①茵陈蒿汤^[65]、疏肝健脾汤^[66]、岩黄连^[67]和水飞蓟宾^[68]等中药复方、单味中药和中药单体在临床上成功用于治疗各类型肝病,说明实验室研究具有一定可信度,基于代谢组学以肝毒性化学物质造模筛选保肝中药并研究作用机制是可行的,但遗憾的是目前尚未有临床上的中药保肝代谢组学研究,动物或细胞实验所得的标志物和代谢通路未能进一步验证。②如何对非靶向代谢组学提出的潜在生物标志物进行整合,得到特异性强、重复性高的生物标志物,除基于非靶向结果进一步展开靶向研究外,拟靶向代谢组学^[69]和稳定同位素示踪的定性代谢流技术^[70]也可能成为突破点,拟靶向代谢组学是一种覆盖度广、灵敏度高、量化能力强的半定量代谢组学方法,兼具非靶向和靶向代谢组学的优点,有可能解决由分析方法引起的非靶向研究中覆盖度窄、重复性差等问题;利用稳定同位素追踪特定代谢通路中相关标记代谢物变化轨迹并量化代谢通量,除能够获得稳定的生物标志物外,还能精确表征差异代谢物在不同生物条件下参与的特定通路变化,为明确各类型肝损伤具体的致病机制及治疗机制提供一定的技术支持。③多学科研究中药保肝机制的思路和方法还需进一步完善,研究中药复杂物质基础的药物代谢动力学、预测作用机制的网络药理学、分析下游代谢物的代谢组学以及解析上游基因蛋白的基因组学、转录组学和蛋白质组学如何结合,才能最大程度上利用代谢组学的高通量数据结果得到更完善的“中药-成分-靶点-肝脏疾病”体内网络作用机制,从而明晰中药保肝“多成分、多靶点、多途径”的作用机制,为指导中医中药临床保肝治疗做出一定贡献。

[参考文献]

- [1] 郎朝,陈大志,贺强,等.肝移植术后一过性肝内胆汁淤积症的临床特征和诊治体会[J].中华普通外科杂志,2006,21(11):785-787.
- [2] 胡琴,刘维,邵宏.药物性肝损伤的药物治疗研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2016,21(2):231-236.
- [3] 冯滔,叶胜兰.临床用药不良反应实例分析[J].中国食品药品监管,2008(6):63-64.

- [4] 聂红明,王灵台. 安络化纤丸抗肝纤维化的研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志, 2016, 26(3): 185-187.
- [5] BEYOĞLU D, IDLE J R. Metabolomic insights into the mode of action of natural products in the treatment of liver disease[J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 180: 114171.
- [6] WANG J J, DING L F, ZHOU J, et al. Target lipidomics approach to reveal the resolution of inflammation induced by Chinese medicine combination in Liu-Shen-Wan against realgar overexposure to rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 249: 112171.
- [7] SANO A, KAKAZU E, MOROSAWA T, et al. The profiling of plasma free amino acids and the relationship between serum albumin and plasma-branched chain amino acids in chronic liver disease: a single-center retrospective study[J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(8): 978-988.
- [8] CAI F F, WU R, SONG Y N, et al. Yinchenhao decoction alleviates liver fibrosis by regulating bile acid metabolism and TGF- β /Smad/ERK signalling pathway[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 15367.
- [9] EZHILARASAN D. Oxidative stress is bane in chronic liver diseases: clinical and experimental perspective[J]. *Arab J Gastroenterol*, 2018, 19(2): 56-64.
- [10] 乔靖怡,白明,苗明三. 基于肝病临床病症特点的动物模型分析[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 582-587.
- [11] LI X K, WANG L, CHEN C. Effects of exogenous thymosin β_4 on carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 5872.
- [12] 耿放,张宁,方衡,等. 逍遥散对急性肝损伤大鼠模型保护作用的代谢组学研究[J]. 中药材, 2014, 37(2): 275-279.
- [13] LIANG Q, WANG C, LI B B, et al. Metabolic fingerprinting to understand therapeutic effects and mechanisms of silybin on acute liver damage in rat[J]. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11(43): 586-593.
- [14] WEN J, YANG L N, QIN F, et al. An integrative UHPLC-MS/MS untargeted metabolomics combined with quantitative analysis of the therapeutic mechanism of Si-Ni-San[J]. *Anal Biochem*, 2019, 567: 128-135.
- [15] WANG R, XIONG A Z, TENG Z Q, et al. Radix Paeoniae Rubra and Radix Paeoniae Alba attenuate CCl_4 -induced acute liver injury: an ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS) based metabolomic approach for the pharmacodynamic study of traditional Chinese medicines (TCMs)[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(11): 14634-14647.
- [16] LI H J, CAO W L, LU M X, et al. Urinary and serum metabolomics analyses uncover that total glucosides of Paeony protect liver against acute injury potentially via reprogramming of multiple metabolic pathways[J]. *Evid Based Complementary Alternat Med*, 2017, 2017: 9038260.
- [17] LIU F, SUN Z L, HU P, et al. Determining the protective effects of Yin-Chen-Hao Tang against acute liver injury induced by carbon tetrachloride using 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 174: 567-577.
- [18] 姚卫峰,蒋叶娟,蔡秀江,等. 二至丸对四氯化碳致大鼠急性肝损伤血浆代谢组学研究[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(10): 808-813.
- [19] YAO W F, GU H W, ZHU J J, et al. Integrated plasma and urine metabolomics coupled with HPLC/QTOF-MS and chemometric analysis on potential biomarkers in liver injury and hepatoprotective effects of Er-Zhi-Wan[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(28): 7367-7378.
- [20] GUO Q, ZHANG Q Q, CHEN J Q, et al. Liver metabolomics study reveals protective function of *Phyllanthus Urinaria* against CCl_4 -induced liver injury[J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(7): 525-533.
- [21] 龚梦鹃,巫圣乾,岳贺,等. 基于血清和肝代谢组学研究护肝片的保肝作用[J]. 中国药房, 2017, 28(34): 4776-4780.
- [22] XING J, SUN H M, JIA J P, et al. Integrative hepatoprotective efficacy comparison of raw and vinegar-baked *Radix Bupleuri* using nuclear magnetic resonance-based metabolomics[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 138: 215-222.
- [23] LI Z Y, LI Y, LU L P, et al. $^1\text{H-NMR}$ based serum metabolomics study to investigate hepatoprotective effect of Qin-jiao on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats [J]. *Evid Based Complementary Alternat Med*, 2017, 2017: 6091589.
- [24] LIANG Y H, TANG C L, LU S Y, et al. Serum metabolomics study of the hepatoprotective effect of *Corydalis saxicola Bunting* on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats by $^1\text{H-NMR}$ analysis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 129: 70-79.
- [25] 章波,檀燕君,黄秋洁,等. 代谢组学在中药抗肝纤维化中的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35

- (22):2918-2922.
- [26] ZHANG Y, ZHANG M, LI H, et al. Serum metabolomics study of the hepatoprotective effect of amarogentin on CCl₄-induced liver fibrosis in mice by GC-TOF-MS analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 149:120-127.
- [27] JIANG H, QIN X J, LI W P, et al. Effects of Shu Gan Jian Pi formula on rats with carbon tetrachloride-induced liver fibrosis using serum metabolomics based on gas chromatography-time of flight mass spectrometry [J]. Mol Med Report, 2017, 16(4):3901-3909.
- [28] 姜辉, 吴芙蓉, 高家荣, 等. 疏肝健脾方对CCl₄诱导的肝纤维化大鼠尿液代谢组学的影响 [J]. 中成药, 2014, 36(12):2457-2462.
- [29] 高家荣, 陈金锋, 姜辉, 等. 疏肝健脾方对四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠肝脏代谢组学的影响 [J]. 中医杂志, 2015, 56(11):961-966.
- [30] WU F, ZHENG H, YANG Z T, et al. Urinary metabolomics study of the hepatoprotective effects of total alkaloids from *Corydalis saxicola Bunting* on carbon tetrachloride-induced chronic hepatotoxicity in rats using ¹H-NMR analysis [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 140:199-209.
- [31] LIU X W, TANG C L, ZHENG H, et al. Investigation of the hepatoprotective effect of *Corydalis saxicola Bunting* on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats by ¹H-NMR-based metabolomics and network pharmacology approaches [J]. J Pharm Biomed Anal, 2018, 159:252-261.
- [32] LIU X J, DAI R J, KE M, et al. Differential proteomic analysis of dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver fibrosis [J]. Proteomics, 2017, 17(22):1700267.
- [33] 孙明瑜, 王磊, 慕永平, 等. 茵陈蒿汤对二甲基亚硝胺与四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠模型凋亡相关基因影响的比较研究 [J]. 中西医结合学报, 2011, 9(4):423-434.
- [34] LIU C G, WANG X L, DU X W, et al. Metabolomic profiling for identification of potential biomarkers in the protective effects of modified Sinisan against liver injury in dimethylnitrosamine treated rats [J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(11):1700-1707.
- [35] 仰贤莉, 李光伟, 康璐, 等. 扶正化痰方抗大鼠肝纤维化疗效的代谢组学研究 [J]. 中成药, 2016, 38(11):2342-2346.
- [36] SONG Y N, ZHANG G B, LU Y Y, et al. Huangqi decoction alleviates dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis: An analysis of bile acids metabolic mechanism [J]. J Ethnopharmacol, 2016, 189:148-156.
- [37] ZHANG H Y, WANG X N, HU P, et al. Serum metabolomic characterization of liver fibrosis in rats and anti-fibrotic effects of Yin-Chen-Hao-Tang [J]. Molecules, 2016, 21(1):126.
- [38] 陶艳艳, 陈高峰, 刘成海. 常用急性肝损伤动物模型评价及其在中药药理研究中的应用 [J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(11):12-19+11.
- [39] 蔡小蓉, 杨建云, 肖炳坤, 等. 茵陈五苓散对α-萘异硫氰酸酯致大鼠黄疸型肝损伤的血清代谢组学研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7):848-851.
- [40] SUN H, YANG L, LI M X, et al. UPLC-G2Si-HDMS untargeted metabolomics for identification of metabolic targets of Yin-Chen-Hao-Tang used as a therapeutic agent of dampness-heat jaundice syndrome [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018, 1081:45-54.
- [41] SUN H, ZHANG A H, ZOU D X, et al. Metabolomics coupled with pattern recognition and pathway analysis on potential biomarkers in liver injury and hepatoprotective effects of YinChenHao [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2014, 173(4):857-869.
- [42] CHEN Z, ZHU Y, ZHAO Y L, et al. Serum metabolomic profiling in a rat model reveals protective function of paeoniflorin against ANIT induced cholestasis [J]. Phytother Res, 2016, 30(4):654-662.
- [43] ZHU G X, FENG F. UPLC-MS-based metabolomic analysis of intervention effects of Da-Huang-Xiao-Shi decoction on ANIT-induced cholestasis [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 238:111860
- [44] HAN H, XU L L, XIONG K, et al. Exploration of hepatoprotective effect of gentiopicoside on alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestatic liver injury in rats by comprehensive proteomic and metabolomic signatures [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(4):1304-1319.
- [45] WANG G F, LI Y Y, SHI R, et al. Yinchenzhufu decoction protects against alpha-naphthylisothiocyanate-induced acute cholestatic liver injury in mice by ameliorating disordered bile acid homeostasis and inhibiting inflammatory responses [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 254:112672.
- [46] ZHANG R J, HUANG T, ZHANG Q Y, et al. Xiaoyan lidan formula ameliorates α-naphthylisothiocyanate-induced intrahepatic cholestatic liver injury in rats as revealed by non-targeted and targeted metabolomics [J]. J Pharm Biomed Anal, 2020, 179:112966.
- [47] WANG M, MA L J, YANG Y, et al. n-3

- Polyunsaturated fatty acids for the management of alcoholic liver disease: a critical review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59: S116-S129.
- [48] 闫广利,周小航,孙晖,等. 基于代谢组学的茵陈蒿汤及组分配伍对大鼠酒精性肝损伤的保护作用研究[J]. *世界科学技术—中医药现代化*, 2016, 18(10): 1749-1756.
- [49] 张爱华. 基于细胞代谢组学的茵陈蒿汤主要血中移行成分6,7-二甲氧基香豆素对酒精诱导原代肝细胞损伤的保护作用[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2015.
- [50] ZHANG T L, ZHANG A H, QIU S, et al. High-throughput metabolomics approach reveals new mechanistic insights for drug response of phenotypes of geniposide towards alcohol-induced liver injury by using liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 13(1): 73-82.
- [51] 何睦. 二至丸对酒精性肝损伤的保护作用及代谢组学研究[D]. 南京:南京中医药大学, 2013.
- [52] 韩智慧. 丹参素改善急性酒精性肝损伤的代谢组学研究[D]. 广州:广东药科大学, 2016.
- [53] WANG X Y, LUO J P, CHEN R, et al. *Dendrobium huoshanense* polysaccharide prevents ethanol-induced liver injury in mice by metabolomic analysis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2015, 78: 354-362.
- [54] LIU F, BAI X, DING R B, et al. UPLC/Q-TOFMS-based metabolomics studies on the protective effect of *Panax notoginseng* saponins on alcoholic liver injury [J]. *Am J Chin Med*, 2015, 43(4): 695-714.
- [55] LIU F, WANG M, WANG Y, et al. Metabonomics study on the hepatoprotective effect of *Panax Notoginseng* leaf saponins using UPLC/Q-TOF-MS analysis [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(3): 559-575.
- [56] 张宁,方衡,王雪,等. 逍遥散对实验性肝纤维化大鼠模型干预作用的代谢组学研究[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(4): 588-594.
- [57] 涂灿,何琴,周元园,等. 基于代谢组学的大黄对正常和肝纤维化大鼠双向作用对比研究[J]. *药学报*, 2018, 53(7): 1139-1147.
- [58] 易苏红. 力学因素对活化肝星状细胞类视黄醇代谢的影响[D]. 上海:第二军医大学, 2013.
- [59] YASUDA M, OKABE T, ITOH J, et al. Differentiation of necrotic cell death with or without lysosomal activation: application of acute liver injury models induced by carbon tetrachloride (CCl₄) and dimethylnitrosamine (DMN) [J]. *J Histochem Cytochem*, 2000, 48(10): 1331-1339.
- [60] 缪志敏,赖泳. 肠道菌群在药源性肝损伤中的作用及其保肝机制的研究进展[J]. *沈阳药科大学学报*, 2020, 37(9): 847-851.
- [61] 朱平生,焦炎杰,付双楠,等. 酒精致大鼠肝损伤早期血清生物标志物水平的变化规律[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(2): 129-133.
- [62] 朱平生,孟玉,付双楠,等. CCl₄致大鼠肝损伤24 h生物标志物水平的变化规律[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(2): 124-128.
- [63] ZHANG HY, WANG X N, HU P, et al. Serum metabolomic characterization of liver fibrosis in rats and anti-fibrotic effects of Yin-Chen-Hao-Tang [J]. *Molecules*, 2016, 21(1): E126.
- [64] WANG X J, ZHANG A H, WANG P, et al. Metabolomics coupled with proteomics advancing drug discovery toward more agile development of targeted combination therapies [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12(5): 1226-1238.
- [65] LI J Y, CAO H Y, SUN L, et al. Therapeutic mechanism of Yin-Chen-Hao decoction in hepatic diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(7): 1125-1138.
- [66] CHI X L, XIAO H M, XIE Y B, et al. Protocol of a prospective study for the combination treatment of Shu-Gan-jian-Pi decoction and steroid standard therapy in autoimmune hepatitis patients [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1): 505.
- [67] 黄文琪,宋闽宁,闵峰,等. 岩黄连治疗黄疸型肝炎的临床研究[J]. *现代医药卫生*, 2005, 21(4): 389.
- [68] FALASCA K, UCCIFERRI C, MANCINO P, et al. Treatment with silybin-vitamin E-phospholipid complex in patients with hepatitis C infection [J]. *J Med Virol*, 2008, 80(11): 1900-1906.
- [69] ZHENG F J, ZHAO X J, ZENG Z D, et al. Development of a plasma pseudotargeted metabolomics method based on ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(8): 2519-2537.
- [70] SHIH L M, TANG H Y, LYNN K S, et al. Stable isotope-labeled lipidomics to unravel the heterogeneous development lipotoxicity [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2862.

[责任编辑 顾雪竹]