

基于尿液代谢组学分析肉豆蔻麸煨炮制前后对大鼠长期毒性的作用差异

王静¹, 陈悦², 袁子民^{1*}, 贾天柱¹

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁大连 116600; 2. 北京同仁堂科技发展有限公司, 北京 100079)

[摘要] 目的:研究肉豆蔻麸煨炮制前后对大鼠长期毒性作用机制的差异性,探讨肉豆蔻麸煨炮制的科学内涵。方法:采用尿液代谢组学法,大鼠随机分为正常组、肉豆蔻生品组(剂量 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和麸煨品组(剂量 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),灌胃给药12周后,采集各组大鼠24 h的尿样,通过偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)鉴别各组代谢物谱的差异,通过变量重要性投影(VIP)发现并鉴定潜在的生物标志物。结果:由PLS-DA得分可知,生品组与正常组完全分离,麸煨品组位于二者之间,接近于正常组。鉴定了17个与肉豆蔻毒性相关的生物标志物,与正常组比较,生品组中与肾毒性相关的肌酐含量显著降低,与肝毒性相关的尿中泛酸、肉毒碱 C2:0 和氨基酸代谢异常,麸煨品组对肌酐、泛酸、肉毒碱 C2:0 和氨基酸代谢均有向正常组显著回调的作用。结论:肉豆蔻生品长期应用有致肝、肾毒性,而麸煨炮制可降低该毒性。

[关键词] 肉豆蔻; 麸煨品; 肌酐; 长期毒性; 尿液代谢组学; 炮制减毒; 氨基酸

[中图分类号] R283;R943.1;R284;R945;R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0008-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040008

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171125.1452.014.html>

[网络出版时间] 2017-11-25 14:52

Differences Studied on Mechanism of Long-term Toxicity in Rats of Myristicae Semen After and Before Being Processed with Wheat Bran Based on Urinary Metabonomics

WANG Jing¹, CHEN Yue², YUAN Zi-min^{1*}, JIA Tian-zhu¹

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China;

2. Beijing Tongrentang Technologies Development Co. Ltd., Beijing 100079, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the differences on mechanism of long-term toxicity in rats treated with raw products and processed products with wheat bran of Myristicae Semen, and to explore the connotation about its processing technology with wheat bran. **Method:** A urinary metabonomics method was developed to study on long-term toxicity in rats of Myristicae Semen before and after being processing, rats were divided into three groups, including normal group, the raw products group and the processed products group with the dose of $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ for 12 weeks. Urinary samples of 24 hours after stopping the intragastric administration were collected. Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) was employed to process data from all the groups, variable importance in the projection (VIP) were adopted to analyze potential biomarkers. **Result:** Good separation was observed between the raw products group and the normal group, the processed products group lied between the two groups, and was close to the normal group. Seventeen potential biomarkers related with long-term toxicity were screened out. Compared with those in the normal group, creatinine in the urine associated with renal toxicity significantly decreased in the raw products group; pantothenic acid, carnitine C2:0 and amino acids in the urine associated with hepatotoxicity metabolized abnormally; these biomarkers in the processed products group were adjusted

[收稿日期] 20170912(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274084);辽宁省自然科学基金项目(201602511)

[第一作者] 王静,博士,副教授,从事中药质量分析及代谢组学研究,Tel:0411-85890149,E-mail:wjyuanmeng@163.com

[通信作者] *袁子民,博士,教授,从事中药药剂及炮制机理研究,Tel:0411-85890145,E-mail:yuanzmin@163.com

significantly to the normal group. **Conclusion:** When large amounts of the raw *Myristicae Semen* are taken for a long time, hepatic and renal toxicity will occur, but its toxic effects can decrease significantly after being processed with wheat bran.

[Key words] *Myristicae Semen*; processed products with wheat bran; creatinine; long-term toxicity; urinary metabonomics; reducing toxicity by processing; amino acids

肉豆蔻主要含有挥发油、脂肪油、木脂素和苯丙素等化学成分,具有抗炎、止泻、抗氧化、抗肿瘤等药理作用,临床主要用于治疗脾胃虚寒、久泻不止、脘腹胀痛^[1-3]。目前,有报道称肉豆蔻含有肉豆蔻醚,该成分具有一定毒性,长期服用肉豆蔻容易致幻,造成眩晕、谵语、昏睡等^[4]。课题组前期研究发现,肉豆蔻的挥发油、提取挥发油后药渣醇提物的石油醚和乙酸乙酯部位均具有一定的毒性,目前,研究主要针对肉豆蔻生品及其炮制品的急性毒性进行分析,尚缺少长期毒性的相关实验研究。本课题组曾测定肉豆蔻生品、麸煨品中挥发性成分的含量,发现麸煨后毒性成分肉豆蔻醚含量降低,故推测炮制能够达到减毒增效的目的。本实验以肉豆蔻生品和麸煨品为研究对象,采用代谢组学方法分析该药材炮制前后大鼠尿液内源性代谢物的变化情况,对肉豆蔻炮制前后长期服用的毒性差异进行探索,以阐明肉豆蔻毒性作用的脏器部位及炮制减毒的作用机制,为阐明中药炮制机制的研究方法选择提供新思路。

1 材料

LQ-Orbitrap 型超高效液相-高性能串联质谱仪(美国 Thermo Fisher 公司,含 MassLynx V4.1 工作站),CENCO 型涡旋仪(荷兰 Breda 公司),Biofuge Stratos 型低温高速离心机(德国 Heracus 公司),FreeZone 型冷冻干燥机(美国 Labconco 公司),DS-1 型高速组织捣碎机(上海标本模型厂)。

肉豆蔻购于大连权健中药饮片有限公司(批号 140915),经辽宁中医药大学鉴定教研室李峰教授鉴定为肉豆蔻科植物肉豆蔻 *Myristica fragrans* 的成熟种仁;2-氨基丁酸,肌酐,脯氨酸,次黄嘌呤,黄嘌呤,色氨酸,*N*-乙酰-*L*-丙氨酸,四氢尿苷,脯氨酸甜菜碱,肉毒碱 C2:0,*N*6-乙酰基-*L*-赖氨酸,7-甲基鸟嘌呤,尼克酰胺,*N*6-甲基腺苷,泛酸,二甲基鸟嘌呤核苷,*N*-乙酰-*L*-蛋氨酸对照品(美国 Sigma-Aldrich 公司,纯度均 >98%)。麸煨肉豆蔻[自制,按 2015 年版《中国药典》(一部)肉豆蔻饮片项下的麸煨肉豆蔻的方法炮制],水为超纯水,甲醇、乙腈、甲酸为色谱级,其他试剂均为分析纯。

SPF 级雌性 Wistar 大鼠,体质量(200 ± 20) g,

由辽宁长生生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(辽)2010-0001,正常饲养 1 周后用于实验,主要脏器的病理学检查由辽宁中医药大学病理实验室完成。本文涉及的动物实验均遵循实验动物的伦理要求和动物福利法。

2 方法

2.1 供试品溶液的制备 取粉碎后的肉豆蔻粗粉适量,按 2015 年版《中国药典》四部(通则 2204)提取挥发油,得挥发油。蒸馏后的水煎液另器收集,药渣再加 8 倍量水煎煮 1 次,滤过后合并水煎液,真空浓缩成一定体积,得水提物。药渣分别加 10,8 倍量 90% 乙醇提取 2 次,每次 1.5 h,滤过后合并醇提液,减压回收乙醇至无醇味,浓缩至适量,得醇提物。取挥发油、水提物、醇提物及适量聚山梨酯-80(tween-80),加水配制成一定体积的混悬液,搅匀,得生品供试品溶液(相当于生药质量浓度 1 g·mL⁻¹)。同法制备麸煨肉豆蔻的供试品溶液。

2.2 动物分组、体重检测及尿液样本采集 30 只大鼠随机分为正常组、生品组、麸煨品组,每组 10 只。生品组、麸煨品组大鼠每天按高剂量 10 g·kg⁻¹(大约相当于人临床用量的 60 倍)分别灌胃给予肉豆蔻生品、麸煨品供试品溶液,正常组灌胃同体积含 0.8% tween-80 的水,连续 12 周。各组大鼠于给药 12 周后收集 24 h 尿液样品,置于 -80 °C 冰箱中保存,备用。收集尿液后第 2 天各组大鼠腹腔注射乌拉坦麻醉(乌拉坦用生理盐水溶解,质量浓度达 0.2 g·mL⁻¹,注射剂量 5 mL·kg⁻¹),处死大鼠,解剖,摘取肝脏和肾脏进行组织病理学检查。

2.3 尿液样品的处理 取尿样在冰上融化,涡旋混匀。取尿液 100 μL 于 1.5 mL 离心管中,加入甲醇 400 μL,涡旋 2 min,于 14 000 r·min⁻¹,4 °C 离心 10 min,取上清液 400 μL 冻干处理,加水-乙腈(95:5)400 μL 复溶后进样分析。

2.4 检测条件^[5] 色谱条件为 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(2.1 mm × 100 mm,1.8 μm),柱温 40 °C,进样室温度 4 °C,流动相 0.1% 甲酸水溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 1 min,95% A;1 ~ 18 min,95% ~ 50% A;18 ~ 18.5 min,

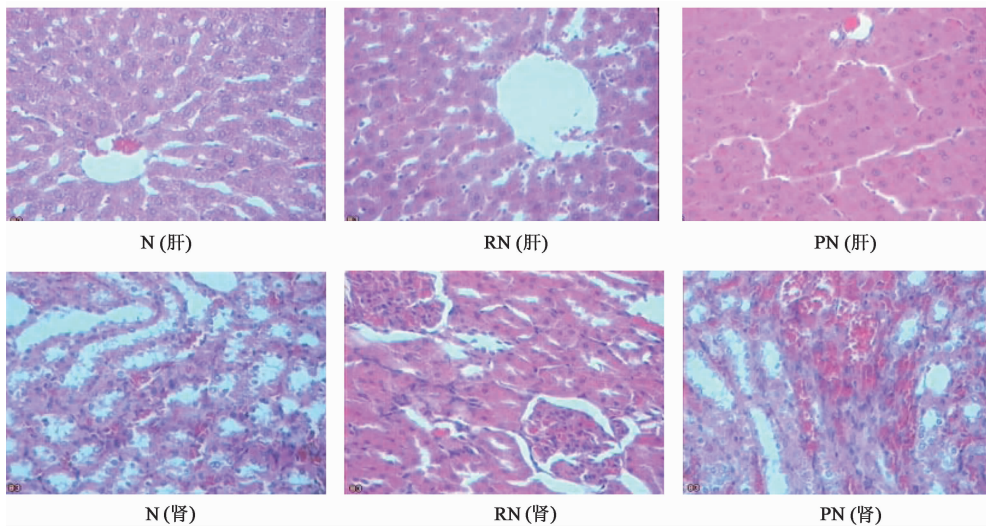
50% ~ 100% A; 18.5 ~ 22.5 min, 100% A; 22.5 ~ 23 min, 100% ~ 95% A; 23 ~ 26 min, 95% A), 流速 $0.35 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 $5 \mu\text{L}$ 。样品不经紫外检测器直接导入质谱系统检测, 质谱条件为电喷雾离子源 (ESI), 正离子扫描检测, 毛细管电压 40 V, 电喷雾电压 4.5 kV, 喷雾电流 $25 \mu\text{A}$, 毛细管温度设定 $325 \text{ }^\circ\text{C}$, 鞘气流速设定 $13.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 辅气流速设定 $2.4 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 扫描时间 0.3 s, 分辨率 3 万, 扫描方式为全扫描, 质量扫描范围 m/z 50 ~ 1 000。

2.5 数据处理 采用 Sieve 1.2 软件进行色谱峰识别及峰匹配, 得含有 m/z , 保留时间, 峰面积, 样品名称的 csv 格式文件, 在原始峰表中去除质控样本测定相对标准偏差 (RSD) > 30% 的变量, 依据 80% 规则去除零值, 处理原始峰表后, 将峰表归一化并引入 SIMCA-P 11.0 数据处理软件, 采用主成分分析

(PCA) 和偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA) 对各组大鼠尿液的代谢物组进行分析, 使用人类代谢物数据库 (HMDB) (<http://www.hmdb.ca/>), Metlin (<http://metlin.scripps.edu/>) 等生物学数据库进行生物标志物的初步鉴定, 并采用对照品进行最终鉴定。所有数据采用 SPSS 13.0 软件中 one-way ANOVA 进行分析, 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两两比较用 t 检验分析。

3 结果

3.1 肉豆蔻麸煨炮制前后肝、肾病理检查 病理检查结果见图 1。正常组肝、肾无病理学病变, 均正常; 生品组肝充血, 肾髓质、皮质均充血; 麸煨品组肝充血, 肾略有充血, 均比生品组轻微。结果表明肉豆蔻生品大剂量长期给药能造成肝、肾毒性, 麸煨炮制后, 肝肾毒性略微降低。



N. 正常组; RN. 生品组; PN. 煨品组 (图 2, 3, 5 同)

图 1 各组大鼠肝脏和肾脏的病理检查 (HE, $\times 100$)

Fig. 1 Photomicrographs of rat liver and kidney in all groups (HE, $\times 100$)

3.2 尿液代谢组学

3.2.1 大鼠尿样检测 采用正离子模式进行检测, 结果分离效果良好, 见图 2。结果发现各组尿样中物质的差异在 26 min 有效洗脱时间内获得良好的分离和响应效果。

3.2.2 肉豆蔻炮制前后大鼠尿样代谢变化 各组尿样的 PLS-DA 得分见图 3。结果发现各组基本分离开, 生品组与正常组完全分离, 并距离正常组最远; 麸煨品组位于正常组与生品组中间, 麸煨品组更接近于正常组, 表明肉豆蔻麸煨炮制后对大鼠的长期毒性明显低于生品。PLS-DA 模型评价指标的可解释性 $R^2 X$ (PLS-DA 模型计算所获得的隐变量反映自变量 X 的变异的百分比) = 0.895, 可预测性 Q^2

(叉验证后 PLS-DA 模型所获隐变量能够预测 X 和 Y 变异的累计百分比) = 0.897, 说明该模型稳定可信。

3.2.3 潜在生物标志物的鉴别及在各组间的变化情况 通过变量重要性投影 (VIP) ($\text{VIP} > 1$) 及内源性代谢物在正常组与生品组之间的 t 检验, 筛选与长期毒性相关的潜在生物标志物, 根据精确相对分子质量和串联质谱结果及 HMDB, Metlin 等代谢产物和质谱数据库信息匹配, 对潜在标志物进行初步鉴定, 再用对照品质谱进行验证, 共鉴定了 17 种化合物, 见表 1。17 种潜在生物标志物的提取离子流图见图 4。各组间潜在生物标志物相对峰面积 t 检验情况见图 5。结果与正常组比较, 生品组中除 N -

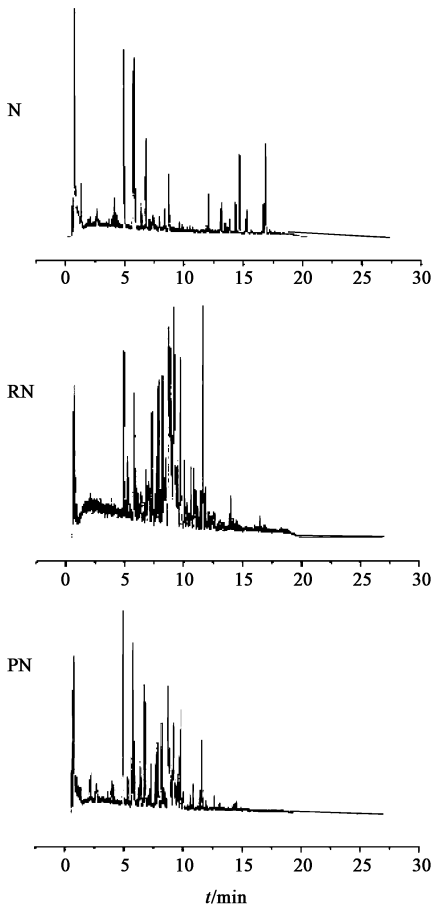


图 2 各组尿样正离子模式基峰离子
Fig. 2 Typical urinary base ion chromatograms in positive ion mode of different groups

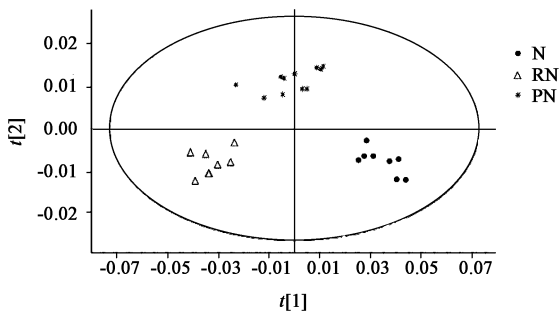


图 3 各组大鼠尿样的 PLS-DA 得分
Fig. 3 PLS-DA score plots of urine samples of rats in all groups

乙酰-L-丙氨酸、四氢尿苷、次黄嘌呤、黄嘌呤外,其他潜在生物标志物均显著性降低;与生品组比较,麸煨品组中 2-氨基丁酸、N-乙酰-L-丙氨酸、尼克酰胺、肉毒碱 C2:0、N6-乙酰基-L-赖氨酸、脯氨酸、次黄嘌呤、黄嘌呤、泛酸、色氨酸、N-乙酰-L-蛋氨酸均显著性升高。

4 讨论

本研究中的尿液代谢组学结果表明,肉豆蔻生品和麸煨品对大鼠长期毒性的作用机制有显著不

表 1 大鼠尿样中与长期毒性相关的潜在生物标志物

Table 1 Potential biomarkers related long-term toxicity in urine samples of rats

t_R/min	潜在生物标志物	m/z	VIP
0.72	2-氨基丁酸	104.070 5	1.30
0.72	N-乙酰-L-丙氨酸	132.076 5	3.86
0.72	四氢尿苷	249.107 1	1.06
0.72	肌酐	114.065 9	8.36
0.76	脯氨酸甜菜碱	144.101 7	1.26
0.83	肉毒碱 C2:0	204.122 7	1.06
0.84	N6-乙酰基-L-赖氨酸	189.086 9	1.21
0.89	7-甲基鸟嘌呤	166.072 1	1.23
0.94	尼克酰胺	123.055 2	1.42
1.12	脯氨酸	116.070 5	1.02
1.53	次黄嘌呤	137.045 6	1.10
1.56	黄嘌呤	153.040 5	1.18
2.04	N6-甲基腺苷	282.119 4	1.11
2.66	泛酸	220.117 4	1.81
2.85	二甲基鸟嘌呤核苷	312.129 7	1.10
3.57	色氨酸	205.096 6	1.00
4.79	N-乙酰-L-蛋氨酸	192.104 8	1.10

同。肌酐是肌酸的代谢产物,含量基本恒定,大部分从肾小球滤过,不被肾小管吸收,其变化主要反映肾小球的滤过功能。生品组尿样中肌酐含量较正常组显著降低,而且本课题组曾对生品组血液肌酐含量进行测定,发现生品组血液中肌酐含量较正常组显著升高,表明大鼠长期灌胃肉豆蔻生品能引起肾损伤。肉豆蔻麸煨炮制后,尿样中肌酐含量与正常组无显著差异,表明肉豆蔻麸煨炮制后能减低肾脏毒性。

泛酸又称为遍多酸,是一种维生素,主要参与辅酶 A 的合成,辅酶 A 是酰基转移酶的辅酶构成之一,广泛参与三羧酸循环、脂肪酸的 β -氧化及肝的生物转化作用等。Waters 等^[6]研究发现药物产生肝毒性时,脂肪酸的 β -氧化增强,对辅酶 A 的需要增多,泛酸含量降低。本研究发现生品组中泛酸含量较正常组显著降低,麸煨品组较生品组显著升高。肉毒碱 C2:0 作为载体,主要参与脂肪酸氧化中脂酰辅酶 A 的转运,该反应在肝脏的线粒体中进行,焦莉莉等^[7]对肝炎、肝硬化患者血液中肉毒碱含量进行检测,发现急性病毒性肝炎和慢性病毒性肝炎患者血浆中肉毒碱含量降低。本研究发现生品组中肉毒碱 C2:0 较正常组降低,麸煨品组较生品组显著升高。

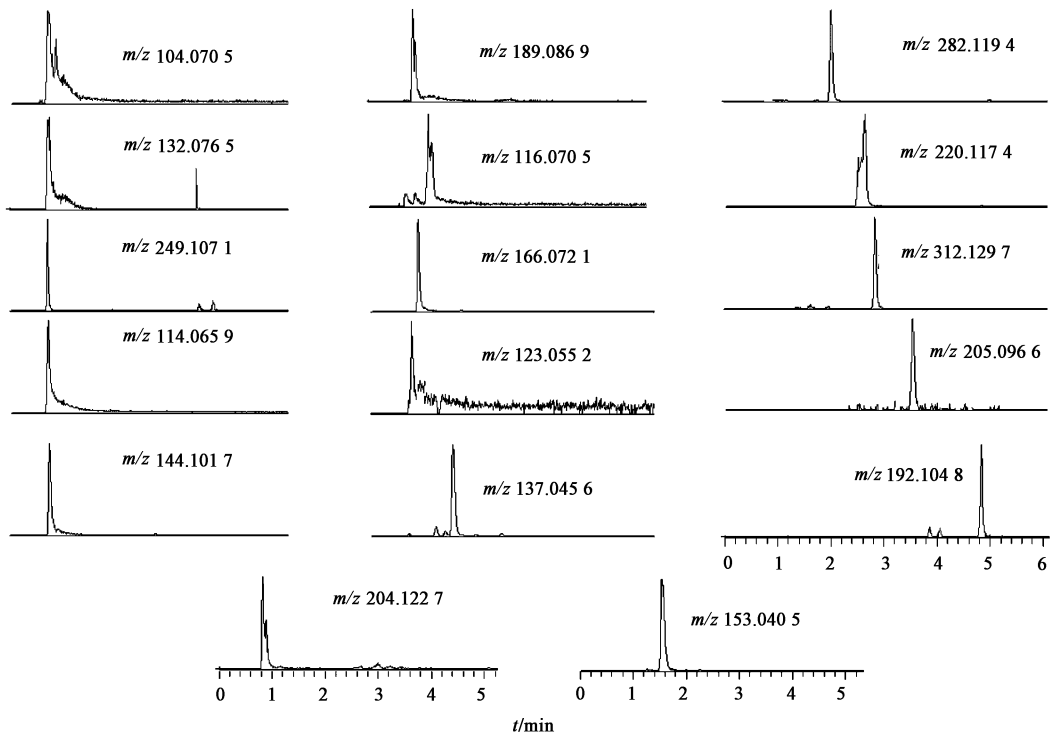
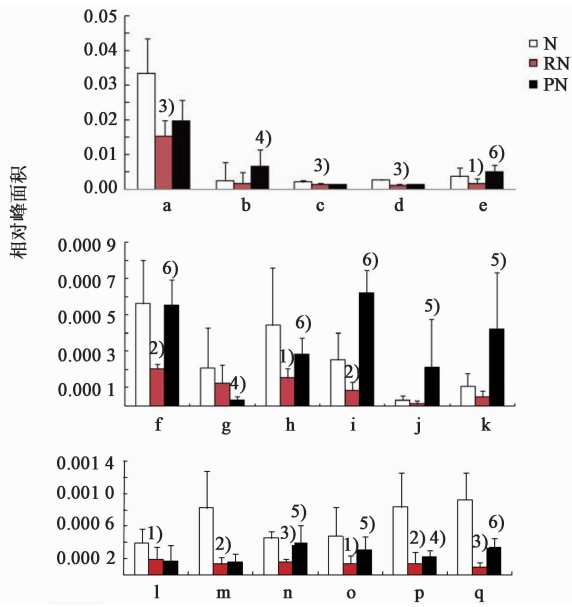


图 4 潜在生物标志物的提取离子流

Fig. 4 Extracted ion flow chromatograms of potential biomarkers



a. 肌酐; b. *N*-乙酰-*L*-丙氨酸; c. 脯氨酸甜菜碱; d. 7-甲基鸟嘌呤; e. 泛酸; f. 2-氨基丁酸; g. 四氢尿苷; h. 肉毒碱 C2:0; i. 尼克酰胺; j. 次黄嘌呤; k. 黄嘌呤; l. *N*6-甲基腺苷; m. 二甲基鸟嘌呤核苷; n. 脯氨酸; o. 色氨酸; p. *N*-乙酰-*L*-蛋氨酸; q. *N*6-乙酰基-*L*-赖氨酸; 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$; 与生品组比较 ⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$, ⁶⁾ $P < 0.001$

图 5 各组间潜在生物标志物的相对峰面积比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Comparison of relative peak areas of potential biomarkers among all groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

氨基酸代谢的主要器官是肝脏,当肝脏发生损伤时,会使氨基酸失衡,例如慢性肝损伤时,血浆中支链氨基酸的浓度降低,支链氨基酸包括亮氨酸、缬氨酸、异亮氨酸^[8]。本研究发现与正常组比较,生品组中脯氨酸,色氨酸,*N*-乙酰-*L*-蛋氨酸,*N*6-乙酰基-*L*-赖氨酸均显著降低;与生品组比较,麸煨品组中脯氨酸,色氨酸,*N*-乙酰-*L*-蛋氨酸,*N*6-乙酰基-*L*-赖氨酸,*N*-乙酰-*L*-丙氨酸均显著升高。本研究还发现生品组中乙酰化氨基酸含量降低,原因可能是原型氨基酸含量低,也可能是肝脏损伤导致氨基酸乙酰化降低,麸煨品对氨基酸乙酰化异常具有一定的调节作用。

以上研究结果表明,肉豆蔻生品组长期给药会导致机体出现泛酸、肉毒碱 C2:0 和氨基酸代谢异常,引起肝损伤,具有一定的肝毒性;麸煨炮制后这些代谢异常得到了一定的调整,由此降低了肝损伤和肝毒性,起到一定的肝脏保护作用。

尼克酰胺主要参与尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+ , 辅酶 I) 和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADP^+ , 辅酶 II) 的生物合成, NAD^+ 和 NADP^+ 是体内不需氧脱氢酶的辅酶,参与线粒体的氧化呼吸链, NAD^+ 和 NADP^+ 能接受 1 个氢质子和 2 个电子,分别生成尼克酰胺腺嘌呤二核苷 (NADH , 还原型辅

酶 I) 和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH, 还原型辅酶 II), 当线粒体细胞受损时, 呼吸链传递过程中, 漏出的电子能够直接传递给氧, 形成活性氧簇(ROS), 使机体处于氧化应激状态^[9-10]。本研究发现与正常组比较, 生品组中尼克酰胺含量显著降低, 表明肉豆蔻生品高剂量长期给药能引起机体氧化应激状态, 对机体造成损伤。与生品组比较, 麸煨品组尼克酰胺含量显著升高, 表明肉豆蔻麸煨炮制后能改变机体氧化应激状态, 消除氧自由基的作用增强, 能够恢复机体的氧化还原平衡, 这可能是麸煨后肝、肾毒性降低的主要原因。除此之外, 生品组中 7-甲基鸟嘌呤, N6-甲基腺苷和 N2-甲基次黄嘌呤核苷较正常组显著降低; 麸煨品组中黄嘌呤、次黄嘌呤较生品组显著升高, 表明肉豆蔻生品长期给药能引起核酸代谢异常, 麸煨后对核酸代谢异常有一定的回调作用。

本文对给予肉豆蔻生品、麸煨品大鼠的肝脏、肾脏进行病理检查, 结果表明生品长期连续给药具有肝、肾毒性, 麸煨炮制后对肝、肾的毒性降低; 采用尿液代谢组学方法检测肉豆蔻炮制前后内源性代谢物的变化, 结果发现与正常组比较, 肉豆蔻生品中尿液肌酐含量异常降低, 表明生品有一定肾毒性; 通过泛酸、肉毒碱 C2:0 和氨基酸代谢异常, 表明生品具有肝毒性; 肉豆蔻麸煨炮制后, 对上述潜在生物标志物均具有向正常组的回调作用, 表明肉豆蔻麸煨炮制能降低长期毒性, 且二者的长期毒性作用机制具有显著差别。本研究表明代谢组学能应用于中药炮制前后毒性作用机制的研究及中药炮制科学内涵的探讨。但本文只是对尿液样本进行检测, 尚缺乏血样、组织样本的代谢组学分析和生品中致长期毒性的化学成分确定等一系列工作, 这将在后续研究中陆续完成。

[参考文献]

- [1] 贾天柱, 李洁, 周梁. 肉豆蔻不同炮制品止泻作用及急性毒性比较[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 216-218.
- [2] Lee J Y, Park W. Anti-inflammatory effect of myristicin on RAW 264.7 macrophages stimulated with polyinosinic-polycytidylic acid[J]. *Molecules*, 2011, 16(8): 7132-7142.
- [3] LI F, YANG X W, Krausz K W, et al. Modulation of colon cancer by nutmeg[J]. *J Proteome Res*, 2015, 14(4): 1937-1946.
- [4] Ehrenpreis J E, DesLauriers C, Lank P, et al. Nutmeg poisonings: a retrospective review of 10 years experience from the Illinois Poison Center, 2001-2011[J]. *J Med Toxicol*, 2014, 10(2): 148-151.
- [5] 胡娜, 刘欢, 袁子民, 等. 肉豆蔻制霜新工艺优选及质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21): 10-12.
- [6] Waters N J, Waterfield C J, Farrant R D, et al. Metabonomic deconvolution of embedded toxicity: application to thioacetamide hepato- and nephrotoxicity[J]. *Chem Res Toxicol*, 2005, 18(4): 639-654.
- [7] 焦莉莉, 杨文双, 蔺小红, 等. 健康成人与肝脏疾病患者血浆肉毒碱的检测[J]. 检验医学, 2007, 22(5): 528-530.
- [8] 冯小平, 蒋滢. 急性肝损伤时氨基酸代谢变化的研究现状[J]. 氨基酸和生物资源, 1993(1): 26-29.
- [9] YANG S, CAO C, CHEN S, et al. Serum metabolomics analysis of quercetin against acrylamide-induced toxicity in rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(48): 9237-9245.
- [10] CHEN M J, NI Y, DUAN H Q, et al. Mass spectrometry-based metabolic profiling of rat urine associated with general toxicity induced by the multiglycoside of *Tripterygium wilfordii* Hook. f. [J]. *Chem Res Toxicol*, 2008, 21(2): 288-294.

[责任编辑 刘德文]