

【 实验研究 】

基于肝脏代谢组学探讨白鲜碱药物性肝损伤机制

任育彤¹, 阮佳鑫², 刘苏杰¹, 王 晨¹, 王晓凡¹, 闫嘉鹤¹, 张 娜³, 于栋华⁴, 卢 芳⁴, 刘树民^{4*}

1. 黑龙江中医药大学 研究生院, 黑龙江 哈尔滨 150040

2. 哈尔滨医科大学附属第四医院, 黑龙江 哈尔滨 150001

3. 黑龙江中医药大学 药物安全评价中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

4. 黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘 要: **目的** 基于肝脏代谢组学探讨白鲜碱药物性肝损伤机制。**方法** 将 SPF 级 SD 雄性大鼠随机分为对照组、给药组 (10 mg·kg⁻¹, 相当于成人临床等效剂量的 6.17 倍, 连续给药 7 d) 及停药 (给药 7 d 后停药 7 d) 组, 计算各组大鼠肝脏指数, HE 染色法观察大鼠肝脏组织病理结构; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测血清白细胞介素 (IL)-1、IL-6、肿瘤坏死因子 (TNF)- α 炎症因子水平以及丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、白蛋白 (ALB) 水平; UPLC-Q-TOF-MS 非靶向代谢组学技术分析各组大鼠肝脏组织代谢谱差异, 通过多元统计分析筛选差异代谢标志物, 结合京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集解析核心代谢紊乱机制。**结果** 给药组大鼠出现明显肝细胞水肿、脂肪变性及炎症浸润; 停药 7 d 后, 发现停药组较给药组淋巴细胞浸润减少, 肝细胞水肿和肝细胞坏死情况减轻。与对照组相比, 给药组大鼠肝脏指数明显上升 ($P<0.001$); 停药组与给药组相比, 肝脏指数有回调趋势 ($P<0.001$)。与对照组相比, 给药组血清肝脏功能指标 IL-1、IL-6、TNF- α 、AST、ALT、ALP 显著上调 ($P<0.01$), ALB 显著下调 ($P<0.05$); 与给药组相比, 停药组以上指标都有所回调 ($P<0.05$ 、 0.01)。代谢组学分析筛选出给药组 30 个、停药组 35 个差异代谢标志物, 涵盖胆汁酸、磷脂、泛酸与辅酶 A、嘌呤、脂肪酸等多个代谢类别; 差异代谢物富集于泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢、初级胆汁酸合成及脂质代谢等通路。**结论** 白鲜碱致大鼠肝损伤具有可逆性, 其核心机制与泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢、初级胆汁酸合成及脂质代谢等通路的协同紊乱密切相关。

关键词: 白鲜碱; 肝损伤; 肝脏代谢组学; 代谢差异标志物; 非靶向代谢组学

中图分类号: R965

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)07-2277-17

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.07.003

Exploring mechanism of dictamnine-induced liver injury based on liver metabolomics

REN Yutong¹, RUAN Jiaxin², LIU Sujie¹, WANG Chen¹, WANG Xiaofan¹, YAN Jiahe¹, ZHANG Na³, YU Donghua⁴, LU Fang⁴, LIU Shumin⁴

1. Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

2. The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

3. Center for Drug Safety Evaluation, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

4. Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of dictamnine-induced liver injury based on hepatic metabolomics. **Methods** SPF-grade male SD rats were randomly divided into control, treatment (10 mg·kg⁻¹, equivalent to 6.17 times the adult clinical equivalent dose, administered continuously for 7 days), and withdrawal groups (treatment for 7 days followed by a 7-day drug-free period). Liver

收稿日期: 2026-02-04

基金项目: 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项 2022 年度项目 (2022YFC3502104-03); 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项 2022 年度项目 (2022YFC3502100)

作者简介: 任育彤, 硕士研究生, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: 493763057@qq.com

*通信作者: 刘树民, 教授, 博士生导师, 从事中药药性理论及药效物质基础研究。E-mail: keji-liu@163.com

indices were calculated for each group. Histopathological changes in liver tissues were observed using HE staining. Serum levels of inflammatory cytokines including interleukin-1 (IL-1), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), as well as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and albumin (ALB) were detected by ELISA. Non-targeted metabolomics analysis using UPLC-Q-TOF-MS was performed to identify differences in liver histopathology and metabolic profiles among groups. Differential metabolites were screened via multivariate statistical analysis, and core metabolic disturbances were analyzed through KEGG pathway enrichment. **Results** Rats in the treatment group exhibited obvious hepatocyte edema, fatty degeneration, and inflammatory infiltration. After a 7-day withdrawal intervention, the withdrawal group showed reduced lymphocytic infiltration, less hepatocyte edema, and decreased hepatocyte necrosis compared to the treatment group. Compared with the control group, the liver index significantly increased in the treatment group ($P < 0.001$); In contrast, the liver index in the withdrawal group showed a trend toward recovery compared to the treatment group ($P < 0.001$). Compared with the control group, serum liver function indicators including IL-1, IL-6, TNF- α , AST, ALT, and ALP were significantly upregulated ($P < 0.01$), while ALB was significantly downregulated ($P < 0.05$) in the treatment group; compared with the treatment group, these indicators showed partial recovery in the withdrawal group ($P < 0.05$ or 0.01). Metabolomics analysis identified 31 differential metabolites in the treatment group and 35 in the withdrawal group, covering multiple metabolic categories such as bile acids, phospholipids, pantothenic acid and coenzyme A, purines, and fatty acids. These differentially expressed metabolites were enriched in pathways related to pantothenic acid and coenzyme A biosynthesis, purine metabolism, primary bile acid synthesis, and lipid metabolism. **Conclusion** Dictamnine -induced liver injury in rats is reversible, and its core mechanism is closely associated with coordinated disturbances in pathways involving pantothenic acid and coenzyme A biosynthesis, purine metabolism, primary bile acid synthesis, and lipid metabolism.

Key words: dictamnine; liver injury; hepatic metabolomics; differential metabolic biomarkers; untargeted metabolomics

传统医学中白鲜皮因“清热燥湿”功效用于湿热黄疸等肝胆病症治疗，现代实验亦佐证其可调节肝细胞胆汁酸代谢相关基因表达，具备潜在肝胆调节作用^[1-2]。白鲜碱是中药白鲜皮的核心活性成分，属天然呋喃喹啉类生物碱，主要存在于芸香科植物中^[3]。现代研究证实其具有抗菌、抗炎等多重药理活性，可通过下调炎症信号通路抑制炎症因子释放，发挥抗炎作用^[4-5]。

肝脏作为药物代谢的核心器官，是药物性损伤的主要靶器官之一。中药药物性肝损伤（HILI）已成为临床肝损伤的重要病因，其机制复杂，多与药物成分直接毒性、代谢产物毒性、免疫介导损伤、氧化应激等多种因素相关^[6-7]。然而，关于白鲜碱肝毒性的研究尚不深入，现有研究多集中于病理形态学观察，发现白鲜碱可导致大鼠肝细胞水肿、脂肪变性、炎症浸润等损伤^[8]；少数研究探讨了其对肝功能生化指标的影响，证实白鲜碱可影响胆汁酸相关蛋白，进而影响脂肪代谢诱导肝损伤^[9]。但上述研究未能系统揭示白鲜碱致肝损伤的内在代谢调控机制，尤其缺乏对体内代谢网络紊乱特征及关键生物标志物的系统表征。

白鲜碱的生物效应与肝损伤的关联是近年研究热点。白鲜碱可诱导肝损伤，尤其对雌性个体毒性更显著，机制包括通过“肠道菌群-胆汁酸”轴导致菌群失调、胆汁酸稳态失衡，以及引发脂

代谢紊乱和氧化应激等；研究表明其可升高血清氨基转移酶水平，下调肝脏抗氧化酶活性，诱导肝细胞损伤^[10]。

HILI 是临床中药不良反应及新药研发失败的重要原因之一，其发病机制复杂、潜伏期长、早期诊断标志物匮乏，且缺乏特异性诊疗手段，已成为肝病研究与药物安全评价领域的重点与难点。传统肝功能指标虽在临床广泛应用，但普遍存在灵敏度有限、特异性不足等问题，难以实现肝损伤的早期预警、精准分型与预后评估^[11]。代谢组学作为系统生物学的关键技术，可动态、全面地捕捉生物体内小分子代谢物的整体变化，直观反映机体在病理刺激或药物干预下的实时代谢状态，为揭示疾病本质提供了全新视角^[12]。近年来，随着色谱-质谱联用等高通量分析技术的快速发展，代谢组学已被广泛应用于肝损伤机制研究、生物标志物筛选、毒性靶点鉴定及药物安全性评价等方面，在揭示能量代谢紊乱、氧化应激失衡、胆汁酸代谢异常及肠-肝轴调控异常等关键病理过程中展现出独特优势^[13]。因此，系统运用代谢组学技术探究肝损伤的代谢特征与分子机制，对于突破现有诊疗瓶颈、推动精准医学在药物性肝损伤中的应用、保障临床用药安全具有重要的理论意义与应用价值。

本研究采用非靶向代谢组学技术，系统分析白鲜碱给药组、停药恢复组及对照组大鼠肝脏组织的

代谢物谱差异,筛选关键差异代谢物,结合京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,揭示白鲜碱致肝损伤及停药恢复过程中的核心代谢通路紊乱特征。本研究旨在从代谢组学层面阐明白鲜碱药物性肝脏损伤的分子机制,为白鲜碱的临床安全应用、毒性预警标志物筛选及减毒增效研究提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 24 只,体质量(200±20)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2020-0001。实验前大鼠饲养于黑龙江中医药大学中医药研究院 SPF 级动物室[温度(22±2)℃、湿度(50±10)%、12h/12h 光暗周期]7d,以适应环境。本实验获得黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会批准(伦理审查批准号 2023122925)。

1.2 药物及主要试剂

白鲜碱(上海融禾医药科技发展有限公司,批号 TSW035,质量分数≥99%);戊巴比妥钠(天津市大茂化学试剂厂,批号 20190112);苏木素-伊红(HE)试剂(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号 G1076);甲醇(北京迪科马科技有限公司,批号 W-50102);白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司,批号分别为 JM-01453R1、JM-01597R1、JM-01587R1);丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、白蛋白(ALB)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 C010-2-1、C009-2-1、A059-2-2、A028-2-1)。

1.3 主要仪器

ACQUITY 型超高效液相色谱与四极杆-飞行时间质谱技术(UPLC-Q-TOF-MS)质谱仪(美国 Waters 公司);TGL16E 型高速冷冻离心机(长沙英泰仪器有限公司);KZ-III-FP 型低温研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);M200Pro 型酶标仪、907 型低温保存箱(美国赛默飞世尔科技有限公司);Nikon Eclipse E100 型正置光学显微镜(日本尼康公司);T100 Thermal Cycler 型 Real-time PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);Mettler-Toledo AG135 型电子天平(中国天马股份有限责任公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

实验正式开始前,所有大鼠适应性饲养 7 d,以减少环境应激的影响,将 SD 大鼠按体质量分成 3 组,对照组 8 只、给药组 8 只、停药组 8 只。给药组和停药组的动物将白鲜碱通过 ig 给予,根据文献基础^[14],每只大鼠按照 10 mg·kg⁻¹ 的剂量给药(相当于成人临床等效剂量的 6.17 倍^[15]),每天 1 次,持续 7 d;停药组在给药 7 d 结束后 ig 等量 0.9%氯化钠溶液,持续 ig 7 d;对照组 ig 等量 0.9%氯化钠溶液。

2.2 生物样本采集及预处理

给药组给药第 7 天,对照组与给药组大鼠进行禁食不禁水处理,停药组大鼠在停药处理的第 7 天禁食不禁水。禁食不禁水隔日进行生物采集,采用 3%戊巴比妥钠(40 mg·kg⁻¹)ip 麻醉大鼠,经腹主动脉采集血液,于 4℃、3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min(离心半径 10 cm),取上清。分别取大鼠的肝脏组织,用 0.9%氯化钠溶液清洗、称质量,一部分用 4%多聚甲醛固定,其余部分液氮迅速冻结再保存于-80℃。所有样品分析前均置于-80℃环境中保存以备后续使用。

2.3 肝脏指数测定

吸干肝脏组织表面血液,称其质量,并计算出各组大鼠肝脏指数。

$$\text{肝脏指数} = \text{肝脏质量} / \text{体质量}$$

2.4 HE 染色法观察大鼠肝脏组织病理变化

取备用于固定在 4%多聚甲醛溶液的肝脏组织,依次经过修剪、脱水处理和石蜡包埋。随后将包埋好的组织切成厚度为 5 μ m 的切片,并进行 HE 染色,借助光学显微镜对各组大鼠肝脏组织的形态学特征进行仔细观察。

2.5 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测 IL-1、IL-6、TNF- α 炎症因子水平以及 AST、ALT、ALP、ALB 肝功能指标

给药第 7 天或停药第 7 天,麻醉大鼠,进行腹主动脉取血,将血液样本静置 30 min 后,4℃、3 500 r·min⁻¹ 离心 10~15 min,离心机半径为 10 cm,取上清液于-80℃冷藏,备用,采用 ELISA 按试剂盒说明书检测 IL-1、IL-6、TNF- α 炎症因子水平以及 AST、ALT、ALP、ALB 肝功能指标。

2.6 代谢组学检测及分析

2.6.1 生物样品的制备 精密称取各组大鼠肝脏

组织 100 mg, 加入 0.9%氯化钠溶液 900 μL , 研磨制成匀浆液, 13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取上清液 100 μL , 加入 3 倍量甲醇-乙腈溶液 (2:1), 涡旋混合后冰水中超声处理 10 min, 放入-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中 30 min 后取出室温解冻, 经 13 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min, 取上清液, 经 0.22 μm 滤膜滤过后进行代谢组学分析。

2.6.2 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为含 0.05%甲酸的乙腈溶液 (A) 和含 0.05%甲酸的水溶液 (B), 梯度洗脱 (0~8 min, 98% $\rightarrow$ 60% B; 8~10 min, 60% $\rightarrow$ 2% B; 10~13 min, 2% $\rightarrow$ 0 B; 13~14 min, 0 $\rightarrow$ 98% B; 14~17 min, 98% B), 体积流量 0.40 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 2 μL , 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 样品仓温度 5 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.6.3 质谱条件 采用电喷雾离子源 (ESI), 分别在正、负离子模式下检测, 脱溶剂气温度 500 $^{\circ}\text{C}$, 脱溶剂气体积流量 1 000 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, 锥孔反吹气流量 50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$, 离子源温度 120 $^{\circ}\text{C}$, 正离子毛细管喷雾电压 2 kV, 样品锥孔电压 60 V, 负离子毛细管喷雾电压 1.5 kV, 样品锥孔电压 70 V, 碰撞能 15~145 V, 质量扫描范围 m/z 100~1 500。

2.6.4 数据分析 利用 UPLC-Q-TOF-MS 处理得到的原始数据经过对齐后, 依次开展基线滤过与校准、峰提取与校准、峰匹配、降噪及数据归一化等一系列预处理操作。结合 Progenesis QI3.0 软件和 EZinfo 2.0 软件 (MarkerLynx 1.4 工作站软件) 进行代谢数据分析。采用无监督主成分分析 (PCA), 以及偏最小二乘法-判别分析 (PLS-DA), 以变量重要性投影 (VIP) 值 >1 且 $P<0.05$ 作为筛选标准, 寻找潜在的生物标志物, 结合人类代谢数据库 (HMDB, <https://hmdb.ca/>)、KEGG (<https://www.kegg.jp/>) 和 Metabo Analyst 6.0 (<http://www.MetaboAnalyst.ca/>) 等数据库对代谢通路进行富集分析, 并利用微生信 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 对结果进行可视化分析。根据这些关键代谢通路中所涉及的差异代谢物, 筛选出给药后影响的大鼠肝脏组织样本中的关键生物标志物, 并对其质谱峰面积 (相对含量) 进行统计分析及其潜在差异代谢物的相关性分析。

2.7 统计学分析

应用 Origin 2024 软件进行统计分析, 实验结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较符合正态分布且方差

齐, 使用单因素方差分析 (ANOVA)。

3 结果

3.1 白鲜碱对大鼠肝脏组织结构的影响

各组大鼠肝脏 HE 染色切片显示, 对照组大鼠肝脏组织结构清晰完整, 细胞形态正常, 排列有序。与对照组比较, 给药组的肝组织中广泛可见肝细胞轻度水样变性和泡状脂肪变性, 胞质疏松, 肝细胞水肿膨胀, 同时伴有轻度的淋巴细胞浸润, 少见坏死肝细胞; 停药 7 d 干预观察后, 发现停药组较给药组淋巴细胞浸润减少, 肝细胞水肿和肝细胞坏死情况减轻。结果表明, 停药 7 d 后, 白鲜碱所致肝损伤得到有效缓解。见图 1。

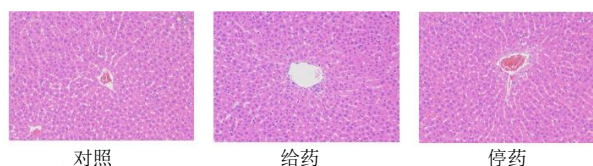


图 1 各组大鼠肝脏组织 HE 染色切片 ($\times 200$)

Fig. 1 HE stained sections of liver tissues from rats in each group ($\times 200$)

3.2 白鲜碱对大鼠肝脏指数的影响

与对照组相比, 给药组大鼠肝脏指数明显上升 ($P<0.001$); 停药组与给药组相比, 肝脏指数有回调趋势 ($P<0.001$), 呈现一定的损伤缓解作用。见表 1。

表 1 白鲜碱对各组大鼠肝脏质量和肝脏指数的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of dictamnine on liver weight and liver coefficient in each group of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	肝脏质量/g	肝脏指数/%
对照	—	6.31 $\pm$ 0.64	3.16 $\pm$ 0.09
给药	10	7.75 $\pm$ 1.00 ^{###}	3.87 $\pm$ 0.15 ^{###}
停药	10	6.44 $\pm$ 0.51 ^{**}	3.24 $\pm$ 0.12 ^{***}

与对照组比较: ^{###} $P<0.001$; 与给药组比较: ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ 。

^{###} $P<0.001$ vs control group; ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs administration group.

3.3 生化指标

与对照组相比, 给药组血清肝脏功能指标 IL-1、IL-6、TNF- α 、AST、ALT、ALP 显著上调 ($P<0.01$), ALB 显著下调 ($P<0.05$); 与给药组相比, 停药组以上指标均有所回调 ($P<0.05$ 、0.01)。结果见表 2。

表 2 不同组别大鼠血清生化指标 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Serum biochemical indicators of rats in different groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-1/(ng·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	TNF-α/(ng·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	ALP/(U·L ⁻¹)	ALB/(U·L ⁻¹)
对照	—	12.62±0.17	49.69±4.58	33.67±5.64	83.50±3.07	22.50±2.27	57.63±2.26	41.50±1.93
给药	10	73.76±7.28 ^{###}	152.97±12.47 ^{###}	170.60±14.46 ^{###}	96.35±8.75 ^{###}	26.13±1.73 ^{###}	63.48±4.09 ^{###}	35.83±4.92 [#]
停药	10	46.44±2.83 ^{**}	105.09±12.00 ^{**}	106.82±12.76 ^{**}	96.63±11.11	23.38±1.77 [*]	62.63±1.77	41.53±5.73 [*]

与对照组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$; 与给药组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ 。

[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs administration group.

3.4 代谢组学分析

通过对病理切片、脏器指数及血液生化指标的分析可以判断给药组和停药组大鼠的各项指标存在变化且体现的损伤较为显著, 给药组大鼠的各指标变化最为显著。因此基于代谢组学对给药组大鼠肝脏组织的代谢变化进行分析, 同时观察停药组大鼠的动态指标变化和差异代谢通路对比来进一步揭示白鲜碱的毒性作用机制。

3.4.1 代谢物检测与差异分析 图 2 展示了在正、负离子模式下各组的总离子色谱图。由图所知, 各

组样本中峰强度、峰形和相对丰度均有明显差异, 说明大鼠体内内源性代谢物在给药期和恢复期存在不同程度的改变。

在负离子模式下, 低保留时间段代表代谢物为泛酸及其衍生物(如泛酰巯基乙胺): 给药组在 3~7 min 下降, 提示辅酶 A 合成前体缺乏, 能量代谢紊乱; 停药组相较给药组有所恢复, 但水平未完全恢复到正常。中保留时间段代表代谢物为磷脂类代谢物(LysoPC 家族、鞘氨醇等): LysoPC 峰强度在给药组降低, 表明细胞膜结构成分和信号传导功能受损; 而

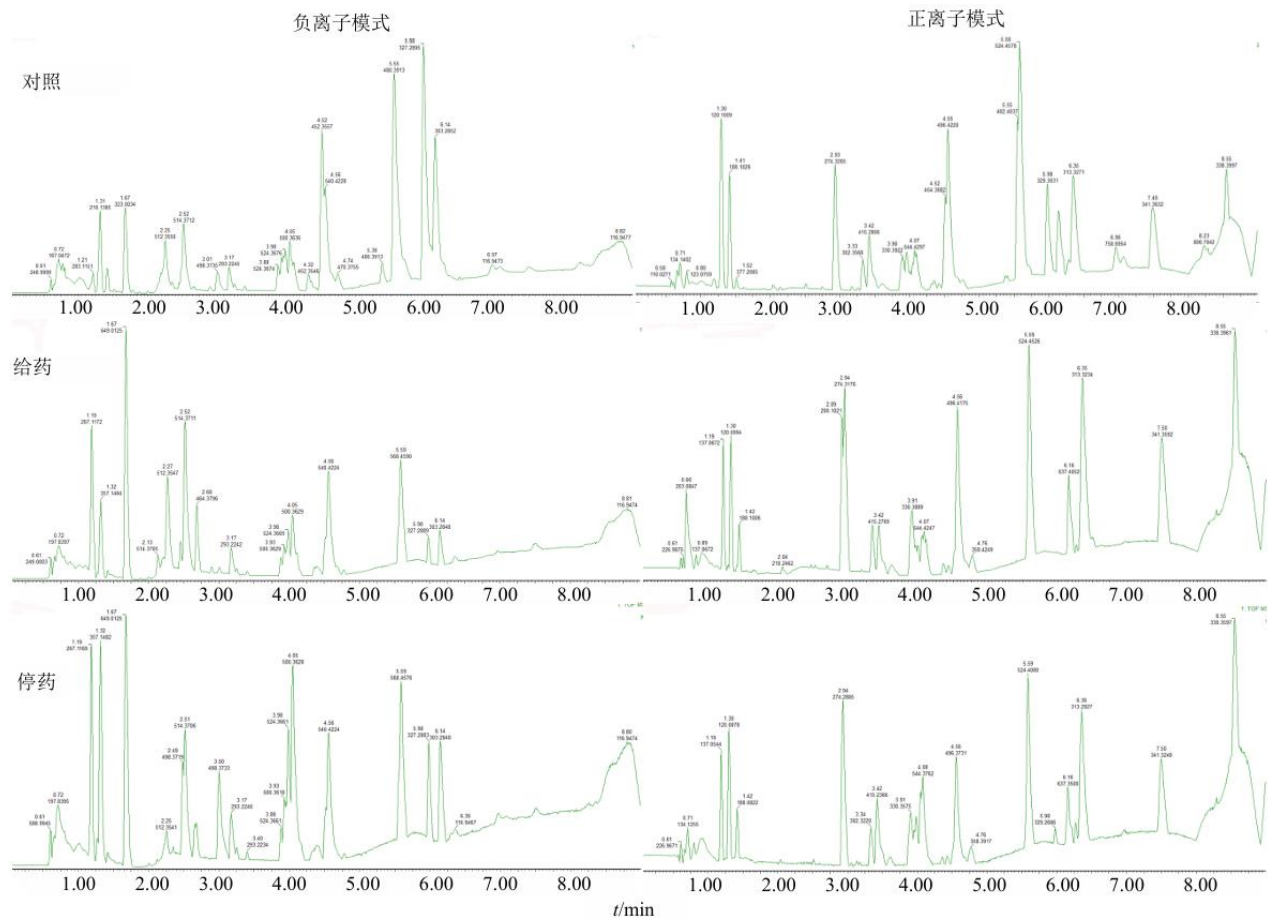


图 2 各组正、负离子模式下总离子色谱图

Fig. 2 Total ion chromatograms of positive and negative ions in each group

停药组某些 LysoPC 呈现代偿性上调,提示细胞膜修复作用部分启动。高保留时间段的代表代谢物为胆汁酸类(甘氨酸胆酸、牛磺胆酸等):给药组甘氨酸胆酸峰显著上升,指示初级胆汁酸合成增加,可能通过胆汁酸核受体(FXR)调控信号通路被抑制;停药组部分胆汁酸水平有所下降,但仍未完全恢复到基础水平,提示胆汁酸循环紊乱持续。

在正离子模式下,低保留时间段代表代谢物是泛酸衍生物(如泛酰巯基乙胺):在给药组显著升高,反映机体对能量代谢紊乱的代偿性反应;停药组强度有所下降,表明代谢恢复正在进行。中保留时间段代表代谢物是嘌呤类代谢物(如次黄嘌呤、肌苷、尿酸)以及色氨酸等氨基酸代谢物:给药组

次黄嘌呤、肌苷峰升高,提示 ATP 消耗增加和嘌呤代谢紊乱,尿酸峰下降反映抗氧化能力减弱;停药组的代谢产物部分恢复,但 ATP 消耗指标仍未调整到正常状态。高保留时间段代表代谢物是次级胆汁酸(如牛磺鹅脱氧胆酸):给药组变化不一,部分次级胆汁酸呈升降混合趋势,提示白鲜碱可能干扰肝肠胆汁酸循环;停药组次级胆汁酸仍存在异常波动,表示其恢复过程较为缓慢。

3.4.2 代谢多元分析 分别采集给药组和停药组在正、负离子情况下的实验大鼠的肝脏代谢组学信息,对所采集的信息运用 Progenesis QI 处理。通过对 PCA 无监督得分图以及 OPLS-DA 得分图进行分析(图 3、4),结果显示给药组和对照组之间明显

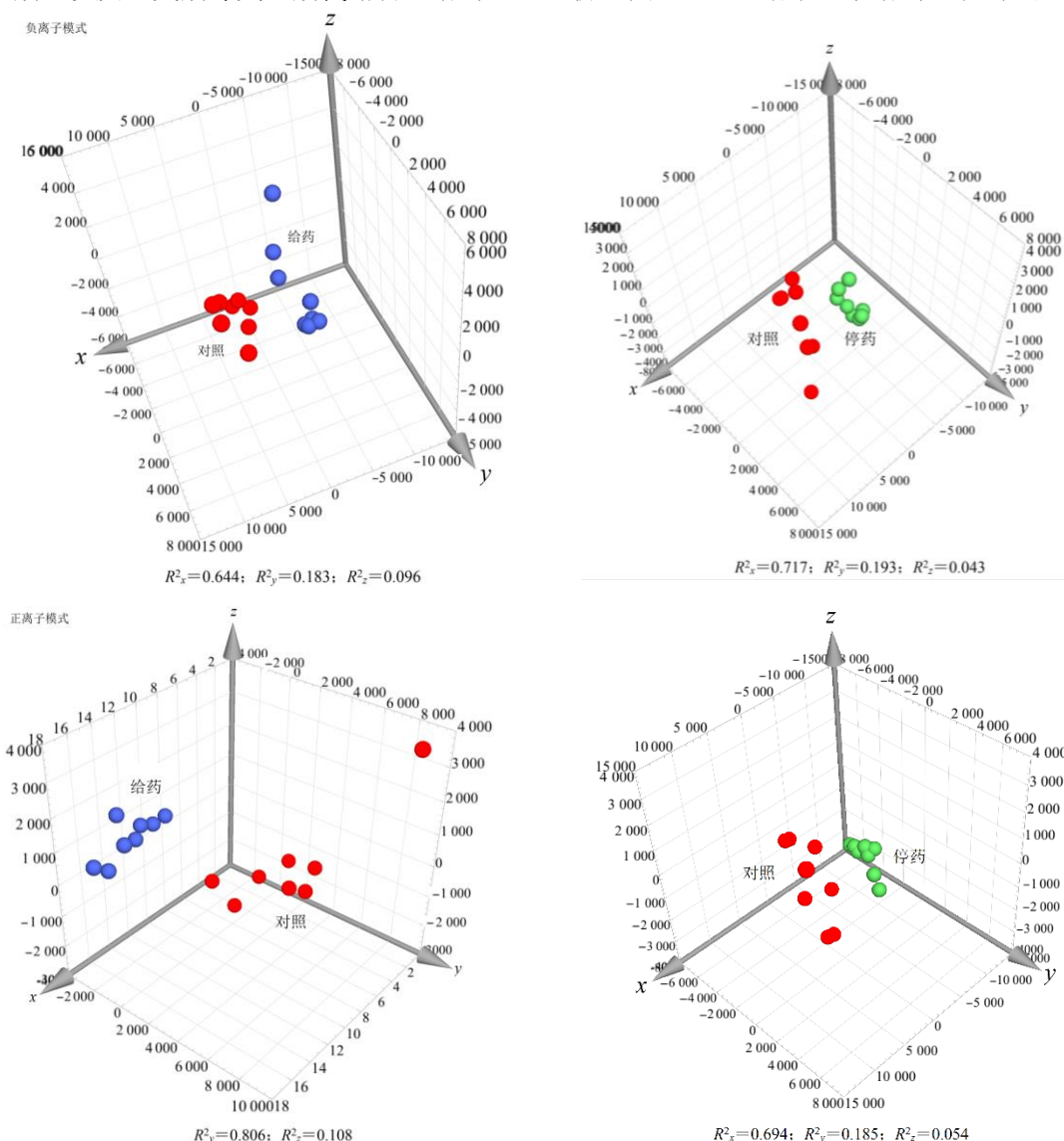


图 3 大鼠肝脏正、负离子模式下 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score graphs in positive and negative ion modes of rat liver

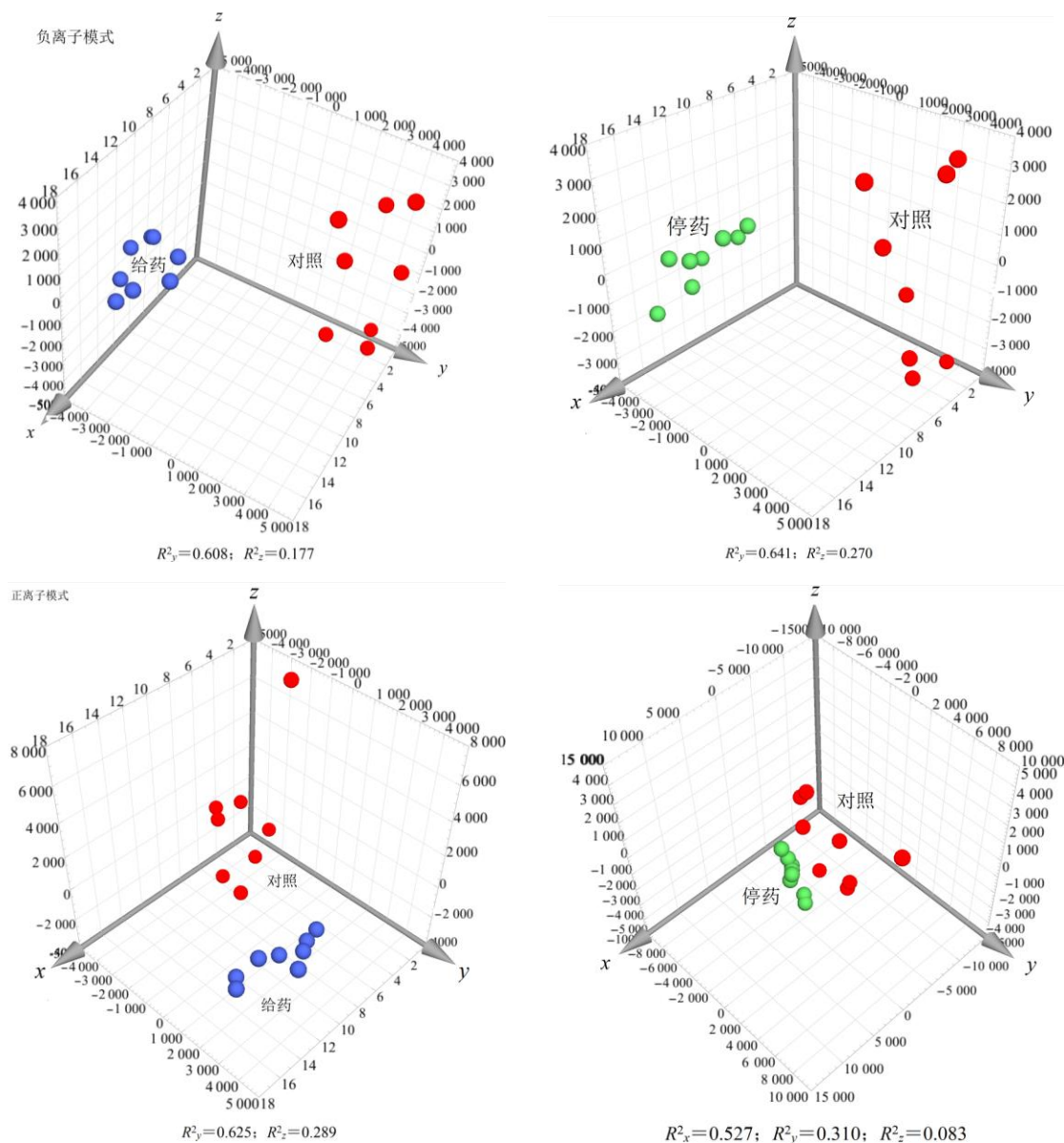


图 4 大鼠肝脏正、负离子模式下 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plots in positive and negative ion modes of rat liver

分开聚为 2 类,说明大鼠的肝脏代谢发生了明显的改变,使大鼠体内稳态改变。停药组与对照组的比较结果显示,两者样本点亦可区分,但相较于给药组,停药组样本点的分布更趋近于对照组。这表明停药干预有助于逆转白鲜碱诱导的肝脏损伤,改善机体的代谢稳态紊乱。

为了验证以上得分图的可信度以及预测可靠性,进行置换检验,结果显示给药组的 2 种模式下,原始模型的 R^2 与 Q^2 值均显著高于置换后(横坐标 <1.0)的所有点,且 Q^2 截距远小于 0,表明模型无过拟合风险,预测能力真实可靠。停药组的原始模型的 R^2 与 Q^2 值显著高于置换后分布,且 Q^2 截距 <-0.5 ,

进一步证明模型对组间代谢差异的区分能力源于真实生物学差异,而非随机拟合或过拟合,具有很好的可信度,能够准确地描述数据的趋势。如图 5。同时为了筛选 3 组之间潜在的差异生物标志物,通过所建 OPLS-DA 模型寻找内源性物质的差异,并绘制了正、负模式下的 S-Plot 图。如图 6。

3.4.3 代谢差异物的筛选 利用 OPLS-DA 模型以 $VIP>1$ 且 $P<0.05$ 为标准筛选了对照组与给药组和停药组的差异代谢物。在给药组中筛选出 30 个代谢差异标志物,分布在正离子模式 18 个和负离子模式 12 个,其中有 40%上调,60%下调,显示药物干预对肝脏代谢网络产生了广泛影响。停药组中

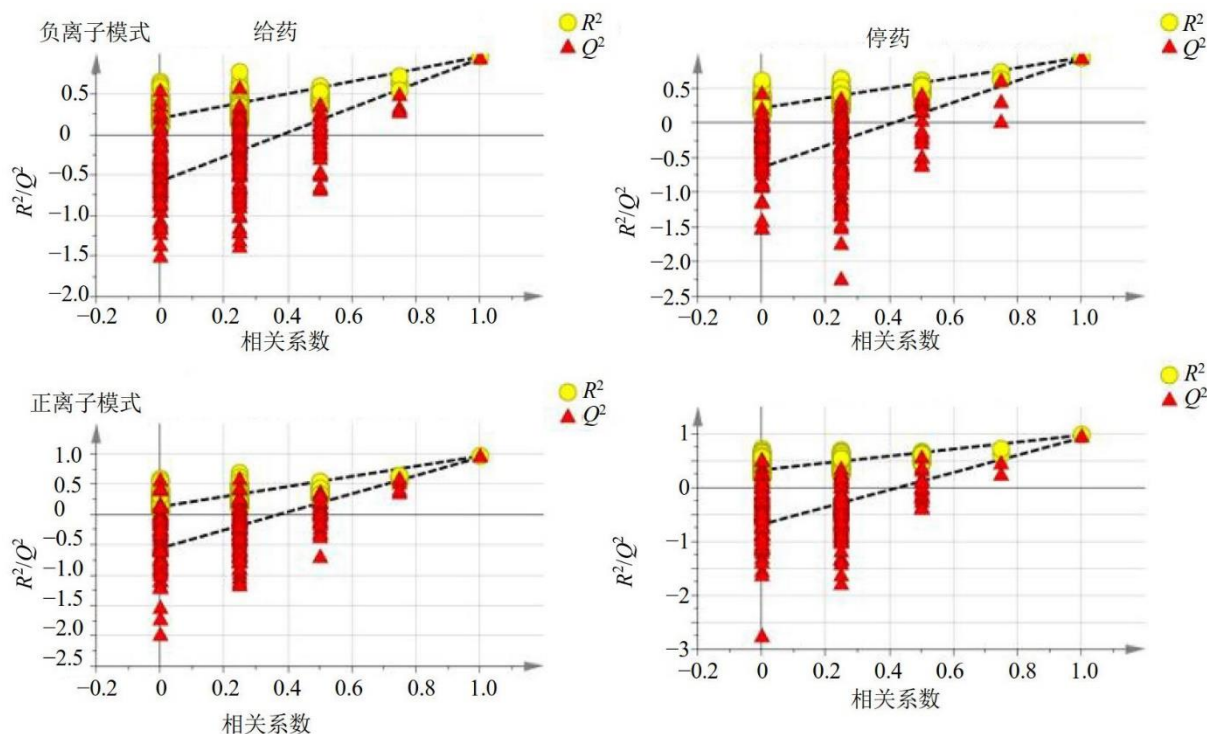


图 5 正、负离子模式下大鼠肝脏置换检验图

Fig. 5 Liver replacement test results of each group of rats under positive and negative ion conditions

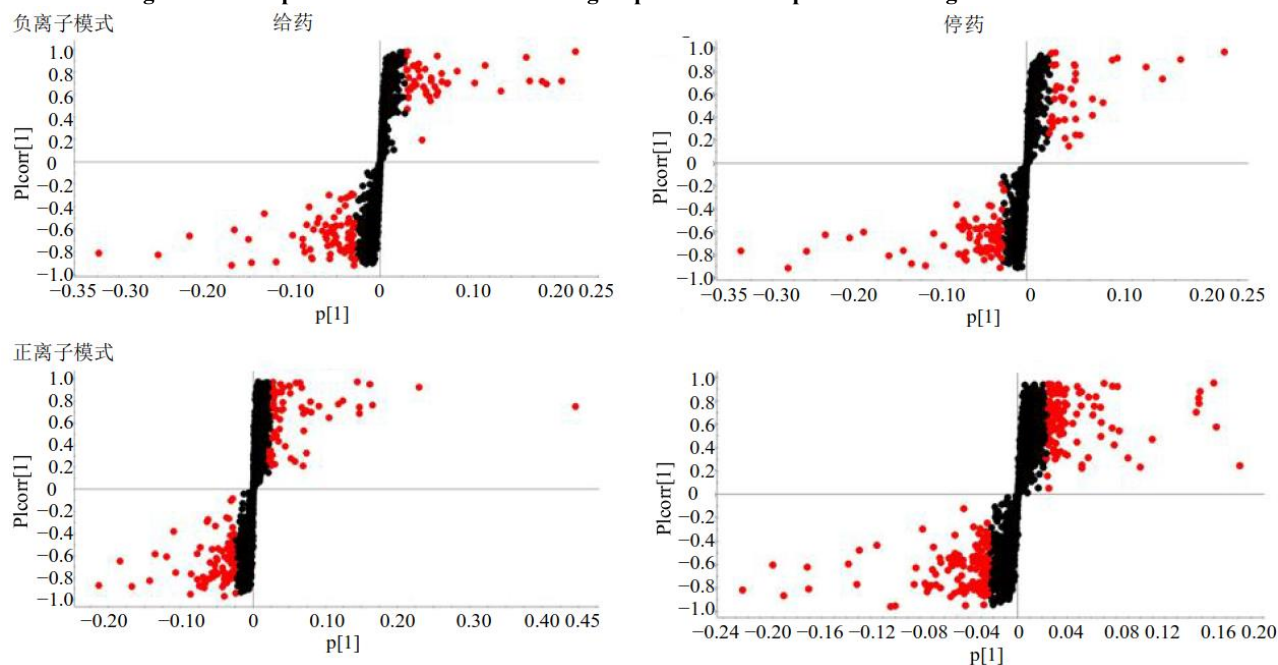


图 6 正、负离子模式下大鼠肝脏代谢物 S-Plot 分析图

Fig. 6 S-Plot analysis diagrams of liver metabolites in each group of rats under positive and negative ion modes

鉴定出 35 个差异标志物, 正离子模式 25 个、负离子模式 10 个, 其中上调占 34.3%, 下调占比 65.7%, 下调占比显著高于给药组。这些差异代谢主要存在于胆汁酸、磷脂、维生素与辅酶、嘌呤、脂肪酸等代谢通路中。相关差异代谢物聚类热图见图 7。同时对表 3、4 筛选出的代谢差异物进行整理, 得到差

异代谢的 Venn 图 (图 8)。

3.4.4 代谢通路分析 将大鼠肝脏中筛选出来的代谢差异物信息导入 MetPA 数据 (<http://www.metaboanalyst.ca/>) 中的 Pathway Analysis 模块进行通路富集分析, 将代谢通路的 Impact value 阈值设定为 0.10 (或者 impact value > 0.1), 进行筛选, 其

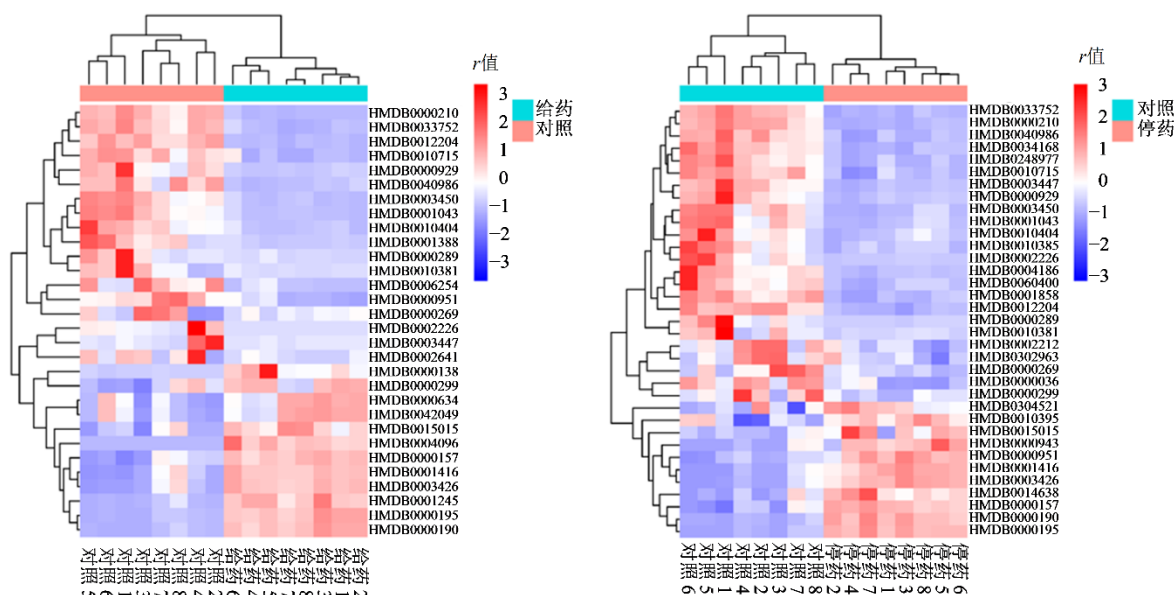


图 7 差异代谢物聚类热图

Fig. 7 Heatmap of clustered differential metabolites

表 3 给药组大鼠肝脏中差异代谢标志物

Table 3 Metabolic differential markers in livers of rats in treatment group

序号	tr/min	m/z	英文名称	中文名称	分子式	HMDB 编号	模式	趋势
1	2.680 8	466.316 4	glycocholic acid	甘氨酸	C ₂₆ H ₄₃ NO ₆	0000138	pos	↑
2	5.559 3	482.324 5	lysoPC(15 : 0/0 : 0)	溶血磷脂酰胆碱(15 : 0/0 : 0)	C ₂₃ H ₄₈ NO ₇ P	0010381	pos	↓
3	1.312 9	220.118 6	pantothenic acid	泛酸	C ₉ H ₁₇ NO ₅	0000210	pos	↓
4	7.218 5	284.295 8	sphinganine	神经鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	0000269	pos	↓
6	1.189 6	137.045 8	hypoxanthine	次黄嘌呤	C ₅ H ₄ N ₄ O	0000157	pos	↑
7	1.320 2	261.128 0	pantetheine	泛硫乙胺	C ₁₁ H ₂₂ N ₂ O ₄ S	0003426	pos	↑
8	1.950 1	188.071 7	5-methoxyindoleacetate	5-甲氧基吲哚乙酸	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	0004096	pos	↑
9	8.589 5	184.074 6	tryptophol	色胺醇	C ₁₀ H ₁₁ NO	0003447	pos	↑
10	1.320 2	359.104 3	pantetheine 4'-phosphate	泛硫乙胺-4'-磷酸	C ₁₁ H ₂₃ N ₂ O ₇ PS	0001416	pos	↑
11	1.320 2	242.100 9	zeatin	玉米素	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O	0012204	pos	↓
12	1.189 6	269.089 0	inosine	肌苷	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₅	0000195	pos	↑
13	1.298 4	166.086 6	p-coumaraldehyde	对香豆醛	C ₉ H ₈ O ₂	0040986	pos	↓
14	1.124 6	136.075 4	2-phenylacetamide	2-苯乙酰胺	C ₈ H ₉ NO	0010715	pos	↓
15	5.762 7	279.233 2	alpha-linolenic acid	α-亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	0001388	pos	↓
16	1.312 9	184.097 9	3-(2-hydroxyphenyl)propanoic acid	3-2-羟丙酸	C ₉ H ₁₀ O ₃	0033752	pos	↓
17	3.240 8	299.201 8	4-hydroxyretinoic acid	4-羟基视黄酸	C ₂₀ H ₂₈ O ₃	0006254	pos	↓
18	1.663 7	931.586 7	sirolimus	西罗莫司	C ₅₁ H ₇₉ NO ₁₃	0015015	pos	↑
19	6.141 2	305.248 5	(-)-trans-carveol	(-)-反式香芹醇	C ₁₀ H ₁₆ O	0003450	pos	↓
20	1.675 7	322.949 1	trichloroethanol glucuronide	三氯乙醇葡萄糖苷	C ₈ H ₁₁ Cl ₃ O ₇	0042049	neg	↑
21	4.011 2	612.330 1	lysoPC(22 : 6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0:0)	溶血磷脂酰胆碱 [22 : 6 (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z) /0 : 0]	C ₃₀ H ₅₀ NO ₇ P	0010404	neg	↓
22	0.722 5	386.015 2	dCDP	—	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₁₀ P ₂	0001245	neg	↑
23	0.715 4	167.019 1	uric acid	尿酸	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	000289	neg	↓
24	3.005 5	498.289 0	taurochenodesoxycholic acid	托鲁肯科索西洛酸	C ₂₆ H ₄₅ NO ₆ S	0000951	neg	↓
25	1.206 4	283.067 4	xanthosine	黄嘌呤	C ₁₀ H ₁₂ N ₄ O ₆	0000299	neg	↑
26	1.719 6	209.043 7	2-hydroxycinnamic acid	2-羟基肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₃	0002641	neg	↓
27	1.419 0	203.080 8	L-tryptophan	L-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	0000929	neg	↓
28	6.142 4	303.233 6	arachidonic acid	花生四烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	0001043	neg	↓
29	1.184 4	135.029 0	lactic acid	乳酸	C ₃ H ₆ O ₃	0000190	neg	↑
30	6.847 1	331.264 1	adrenic acid	肾上腺酸	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	0002226	neg	↓
31	1.675 7	175.022 7	citraconic acid	柠檬酸	C ₅ H ₆ O ₄	0000634	neg	↑

趋势是指给药组与对照组比较的变化趋势：↑-上升；↓-下降；pos-正离子模式；neg-负离子模式。

Trend refers to change pattern observed when comparing treatment group with control group; ↑-rise; ↓-descend; pos- positive ion mode; neg-negative ion mode.

表 4 停药组大鼠肝脏中差异代谢标志物
Table 4 Differential metabolic markers in liver of rats in withdrawal group

序号	t_R/min	m/z	英文名称	中文名称	分子式	HMDB 编号	模式	趋势
1	3.921 7	374.363 4	22-hydroxydocosanoic acid	22-羟基二十二烷酸	$\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_3$	0302963	pos	↓
2	1.298 4	77.0385 0	benzene oxide	苯氧基	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$	0248977	pos	↓
3	5.559 3	482.324 5	lysoPC (15 : 0/0 : 0)	溶血磷脂酰胆碱 (15 : 0/0 : 0)	$\text{C}_{23}\text{H}_{48}\text{NO}_7\text{P}$	0010381	pos	↓
4	1.312 9	220.118 6	pantothenic acid	泛酸	$\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_5$	0000210	pos	↓
5	7.218 5	284.295 8	sphinganine	辛安碱	$\text{C}_{18}\text{H}_{39}\text{NO}_2$	0000269	pos	↓
6	4.073 7	544.340 0	lysoPC [20 : 4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0 : 0]	溶血磷脂酰胆碱 [20 : 4 (5Z, 8Z,11Z,14Z) /0:0]	$\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{NO}_7\text{P}$	0010395	pos	↑
7	1.175 0	91.054 6	<i>p</i> -cresol	对苯二酚	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$	0001858	pos	↓
8	0.903 6	137.045 8	hypoxanthine	次黄嘌呤	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$	0000157	pos	↑
9	1.420 5	144.080 9	tryptophol	色氨酸醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}$	0003447	pos	↓
10	1.298 4	93.069 9	toluene	甲苯	C_7H_8	0034168	pos	↓
11	3.907 2	330.337 5	arachidic acid	花生酸	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_2$	0002212	pos	↓
12	1.320 2	261.128 0	pantetheine	酰巯基乙胺	$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$	0003426	pos	↑
13	1.305 7	192.066 4	5-phenyl-1,3-oxazinane-2,4-dione	5-苯基-1,3-噁嗪烷-2,4-二酮	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_3$	0060400	pos	↓
14	1.320 2	359.104 3	pantetheine 4'-phosphate	酰巯基乙胺 4'-磷酸、肾上腺酸	$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_7\text{PS}$	0001416	pos	↑
15	1.320 2	242.100 9	zeatin	玉米素	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}$	0012204	pos	↓
16	1.305 7	146.060 8	3-methyldioxyindole	3-甲基二氧吲哚	$\text{C}_9\text{H}_9\text{NO}_2$	0004186	pos	↓
17	1.189 6	269.089 0	inosine	肌苷	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$	0000195	pos	↑
18	1.298 4	166.086 6	<i>p</i> -coumaraldehyde	对香豆醛	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$	0040986	pos	↓
19	0.788 4	159.027 9	threonic acid	硫代酸	$\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_5$	0000943	pos	↑
20	1.182 3	268.104 6	zidovudine	齐多夫定	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$	0014638	pos	↑
21	1.499 4	122.096 5	tropinone	鞣酮	$\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}$	0304521	pos	↑
22	1.124 6	136.075 4	2-phenylacetamide	2-苯基丙酰胺	$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$	0010715	pos	↓
23	1.312 9	184.097 9	3-(2-hydroxyphenyl)propanoic acid	3-(2-羟基苯基)丙酸	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$	0033752	pos	↓
24	1.663 7	931.586 7	sirolimus	西罗莫司	$\text{C}_{51}\text{H}_{79}\text{NO}_{13}$	0015015	pos	↑
25	6.141 2	305.248 5	(-)-trans-carveol	(-)-反式香芹醇	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$	0003450	pos	↓
26	3.908 7	612.329 8	lysoPC [22 : 6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0 : 0]	溶血磷脂酰胆碱 [22 : 6 (4Z, 7Z,10Z,13Z,16Z,19Z) /0 : 0]	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{NO}_7\text{P}$	0010404	neg	↓
27	4.594 0	566.344 6	lysoPC [18 : 1(11Z)/0 : 0]	溶血磷脂酰胆碱 [18 : 1(11Z)/0 : 0]	$\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{NO}_7\text{P}$	0010385	neg	↓
28	0.715 4	167.019 1	uric acid	尿酸	$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	0000289	neg	↓
29	1.206 4	283.067 4	xanthosine	黄嘌呤	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_6$	0000299	neg	↓
30	2.663 4	498.288 1	taurochenodesoxycholic acid	托鲁肯科索西洛酸	$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_6\text{S}$	0000951	neg	↑
31	2.517 9	514.284 4	taurocholic acid (初胆)	坦诺可酸	$\text{C}_{26}\text{H}_{45}\text{NO}_7\text{S}$	0000036	neg	↓
32	1.184 4	267.072 3	inosine	肌苷	$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$	0000195	neg	↑
33	1.419 0	203.080 8	<i>L</i> -tryptophan	<i>L</i> -色氨酸	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	0000929	neg	↓
34	6.142 4	303.233 6	arachidonic acid	花生四烯酸	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$	0001043	neg	↓
35	1.184 4	135.029 0	<i>L</i> -lactic acid	<i>L</i> -乳酸	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$	0000190	neg	↑

趋势是指停药组与对照组比较的变化趋势；↑-上升；↓-下降；pos-正离子模式；neg-负离子模式。

Trend refers to changing pattern when comparing treatment group with control group; ↑-rise; ↓-descend; pos- positive ion mode; neg-negative ion mode.

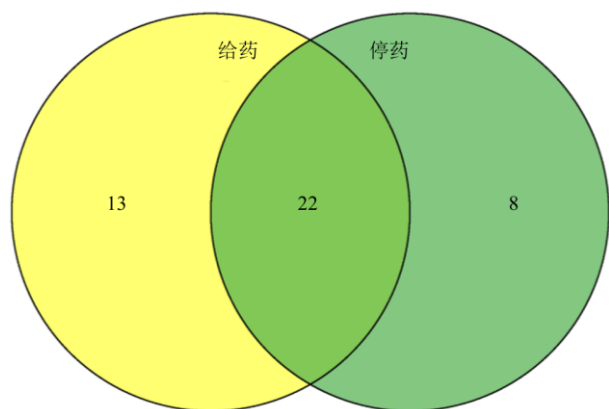
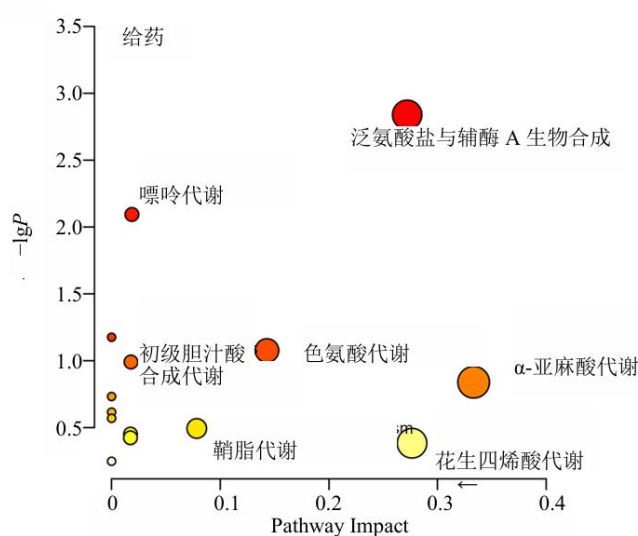


图 8 给药组和停药组差异代谢物 Venn 图

Fig. 8 Venn diagram of differential metabolites between the administration group and the withdrawal group



代谢通路结果作为白鲜碱对大鼠肝损伤的关键通路。见图 9。

结果显示, 给药组中差异代谢物所涉及的代谢通路有泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢、初级胆汁酸合成代谢、色氨酸代谢、 α -亚麻酸代谢、鞘脂代谢以及花生四烯酸代谢。停药组中差异代谢物所涉及的代谢通路有泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢、初级胆汁酸合成代谢、鞘脂代谢、色氨酸代谢以及花生四烯酸代谢。从上述富集到的肝脏组织中给药组和停药组之间的差异代谢通路可以发现, 白鲜碱造成的肝脏损伤对很多代谢都有影响, 其中影响最大的是脂质代谢。

3.4.5 相关性分析 为进一步探究白鲜碱的作用

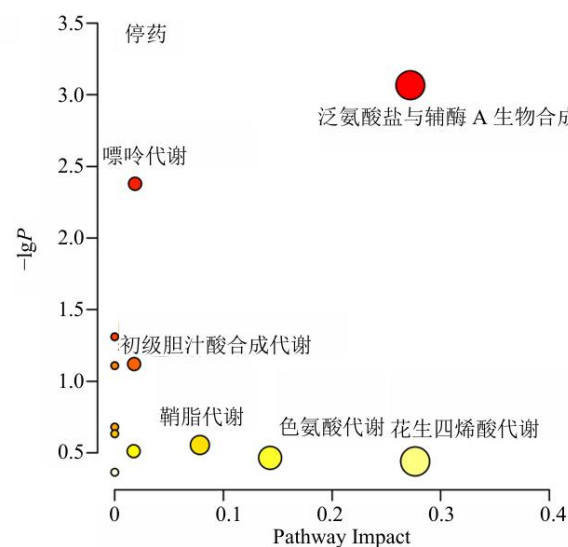


图 9 白鲜碱对大鼠肝脏差异代谢物的代谢通路影响

Fig. 9 Effects of dictamnine on metabolic pathways of differential metabolites in rat liver

机制, 对给药组和停药组的显著性差异代谢标志物与炎症因子 (IL-1、IL-6、TNF- α) 进行了 Spearman 相关性分析, 结果如图 10 所示。在给药状态下, IL-1 与 2-羟基肉桂酸、溶血磷脂酰胆碱(22:6(4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z)/0:0)甘油磷脂类代谢物呈现强相关 ($P < 0.05$), 表示给药时 IL-1 与这类脂代谢物的关联更紧密; TNF- α 与溶血磷脂酰胆碱 (22:6 (4Z, 7Z, 10Z, 13Z, 16Z, 19Z) /0:0) 代谢物的配对分析中, 仅出现少量具有统计学显著性的关联 ($P < 0.05$), 整体关联强度低于 IL-1 与上述代谢物的关联水平; 而 IL-6 仅与 α -亚麻酸的关联较为显著, 其余多数配对未检测到统计学显著关联, 提示在给药状态下, IL-6 与这些代谢物之间的关联性不明显。

在停药状态下, IL-1 的关联对象发生替换, 较原给药组中与甘油磷脂的关联减弱, 转而与酰巯基乙胺 4'-磷酸、肾上腺酸等代谢物形成显著关联; TNF- α 的显著关联减弱, 仅与玉米黄质代谢物出现了新的显著关联, 提示停药后 TNF- α 与部分代谢物呈现非显著性关联; IL-6 与所得代谢物无显著关联, IL-6 与图中代谢物的关联强度普遍较低且无显著性。基于此相关性分析结果可推断, 白鲜碱诱导的肝损伤与甘油磷脂及磷酸酯类代谢物的变化密切相关, 进而扰乱了脂质代谢通路, 这与前述代谢通路分析结论相互印证。

4 讨论

白鲜皮作为临床常用中药材, 历代本草典籍多

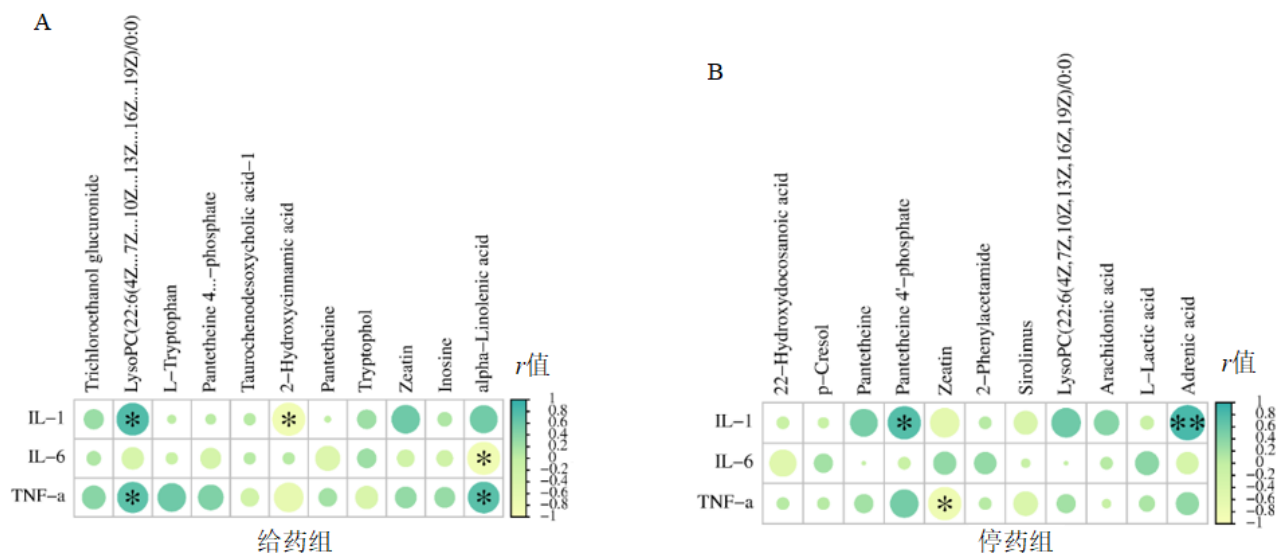


图 10 各组差异代谢物与炎症因子的 Spearman 相关性分析

Fig. 10 Spearman correlation analysis between differential metabolites and inflammatory factors in each group

记载其“无毒”。然而，近年来的临床应用与安全性评价显示，其潜在的不良反逐渐受到关注，其中以药物性肝损伤最为典型，已成为制约其合理应用的关键问题。现有研究表明，该不良反的发生可能与其主要成分白鲜碱的毒性作用有关。

本研究通过采用非靶向代谢组学的方法结合病理形态学、脏器指数系统探讨了白鲜碱对大鼠的肝脏损伤的病理特征及代谢调控机制，同时揭示了停药后的代谢恢复规律，为白鲜碱的毒性预警与安全应用提供了实验依据。研究结果显示，白鲜碱给药组大鼠出现明显肝细胞水肿、脂肪变性及炎症浸润，肝脏指数显著升高，且肝脏组织代谢谱发生显著紊乱，而停药后上述损伤特征均得到不同程度缓解，提示白鲜碱致肝损伤具有一定的可逆性，这与涂灿等^[16]报道的白鲜碱短期毒性可逆性特征一致。代谢组学可通过捕捉内源性代谢物的动态变化，反映机体在药物干预下的代谢稳态失衡状态^[17-18]，本研究共筛选出给药组 30 个、停药组 35 个差异代谢标志物，涵盖胆汁酸、磷脂、泛酸与辅酶 A、嘌呤、脂肪酸、色氨酸等多个代谢类别，其中给药组上调与下调标志物比例 4 : 6，而停药组下调标志物占比增加至 68.6%，提示白鲜碱致肝损伤的代谢紊乱具有广泛性，且停药后机体通过下调部分异常代谢物水平恢复代谢稳态。相关差异代谢物对大鼠的代谢机制见图 11。同时通过对比给药组与停药组的代谢特征，进一步明确了白鲜碱致肝损伤后代谢恢复规律与内在修复机制。停药 7 d 后，大鼠肝脏病理损伤

与代谢紊乱均呈现出明显的缓解趋势，提示白鲜碱诱导的肝损伤具有显著可逆性，且代谢恢复呈现核心通路优先恢复、脂质代谢滞后修复的阶段特征。

泛酸（维生素 B5）是辅酶 A 合成的关键前体，其代谢异常直接影响能量代谢与物质合成过程^[19-20]，本研究中，泛酸在给药组与停药组均显著下调，而其活化产物泛硫乙胺（pantetheine）、泛硫乙胺-4'-磷酸在 2 组中均显著上调。泛酸水平下降提示辅酶 A 合成原料不足，可能导致三羧酸循环、脂肪酸 β-氧化等能量代谢过程受阻^[21]，而泛硫乙胺及其磷酸化产物的上调是机体的代偿性调节，通过增加辅酶 A 合成的中间产物含量，维持辅酶 A 池稳态，缓解能量代谢应激^[22]，上述代谢特征提示，白鲜碱可能通过干扰泛酸的吸收或代谢过程，影响辅酶 A 的生物合成，从而可能诱发肝细胞能量代谢障碍。

嘌呤代谢产物参与能量供应与氧化还原调节，其代谢紊乱是肝细胞损伤的敏感指标^[23]，本研究中，次黄嘌呤（hypoxanthine）、肌昔（inosine）在给药组与停药组均显著上调，尿酸（uric acid）在两组中均显著下调。次黄嘌呤与肌昔是嘌呤分解代谢的中间产物，其水平升高提示肝细胞三磷酸腺苷（ATP）消耗增加，能量代谢障碍，机体通过增强嘌呤补救合成途径维持能量供应^[24]，尿酸作为嘌呤代谢的终产物，同时具有抗氧化功能，其水平下降提示机体抗氧化防御能力减弱，氧化应激水平升高^[25-26]，氧化应激可通过诱导活性氧（ROS）积累，损伤肝细胞 DNA 与蛋白质，加重肝损伤，这与本研究中肝

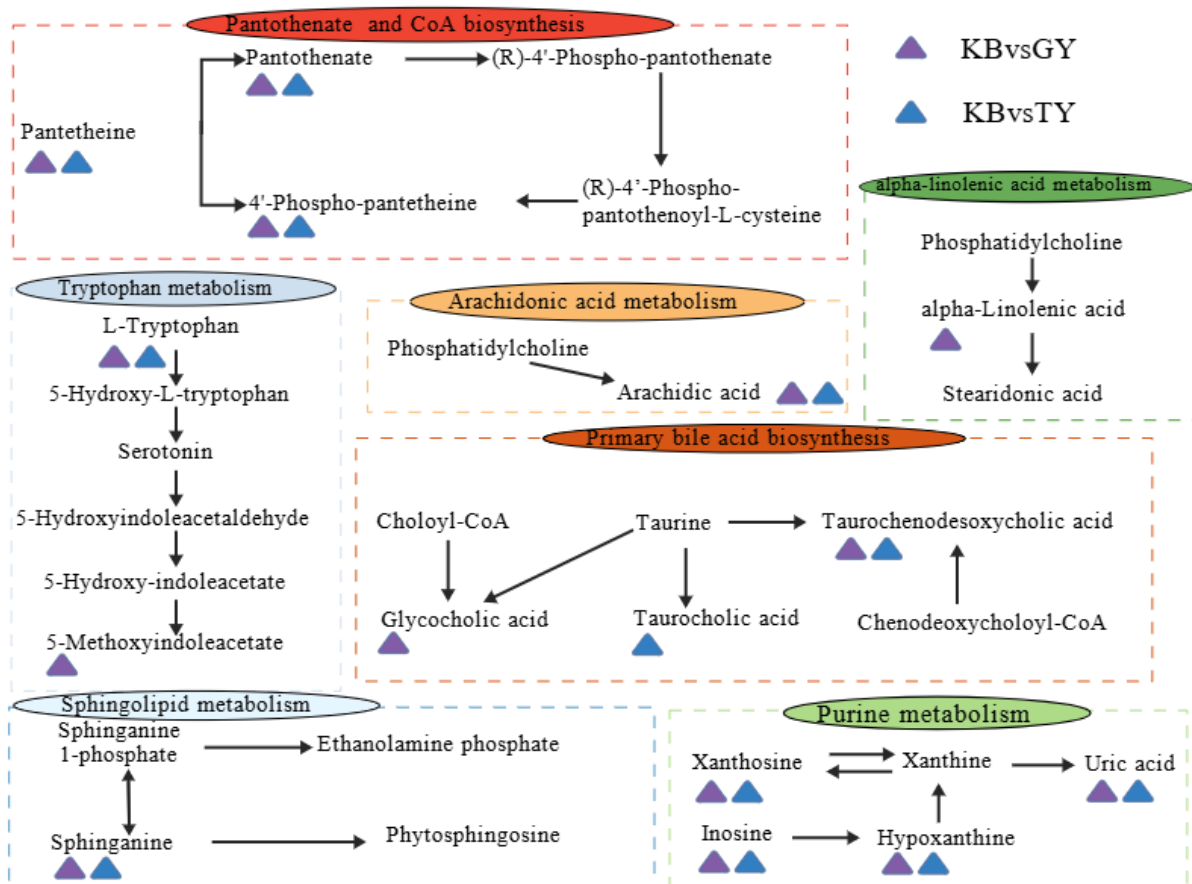


图 11 白鲜碱对大鼠体内代谢影响的机制示意图

Fig. 11 Schematic diagram of mechanism of effect of dictamnine on metabolism in rats

细胞变性的病理特征相符^[27]，此外，黄嘌呤（xanthosine）在给药组上调、停药组下调，进一步证实白鲜碱致嘌呤代谢紊乱具有可逆性，停药后机体可通过调节嘌呤代谢恢复氧化还原稳态。

胆汁酸代谢稳态与肝脏功能密切相关，其合成、分泌及肝肠循环异常是药物性肝损伤的典型表现^[28]，本研究给药组中，甘氨酸胆酸（glycocholic acid）显著上调，托鲁肯科索西洛酸（taurochenodesoxycholic acid）呈混合升降趋势；停药组中，坦诺可酸（taurocholic acid）下调，托鲁肯科索西洛酸仍存在异常波动。甘氨酸胆酸是初级胆汁酸的主要成分，其水平升高提示肝脏胆汁酸合成增强，可能与法尼醇 X 受体（FXR）信号通路激活相关^[29]，FXR 作为胆汁酸核受体，可通过调控胆固醇 7 α -羟化酶（CYP7A1）表达调节胆汁酸合成，而白鲜碱可能通过抑制 FXR 活性，解除其对 CYP7A1 的负向调控，导致胆汁酸过度合成^[30]，过度积累的胆汁酸可通过诱导肝细胞凋亡、激活炎症信号通路加重肝损伤，

这与本研究中肝细胞炎症浸润的病理特征相符^[31]，此外，托鲁肯科索西洛酸的混合趋势提示白鲜碱可能干扰次级胆汁酸的肝肠循环过程，进一步破坏胆汁酸池稳态，这一结论与 Li 等^[32]报道的中药肝损伤伴随胆汁酸代谢紊乱的研究结果一致。

磷脂是构成肝细胞细胞膜的核心成分，其代谢异常直接影响细胞膜流动性与信号转导功能^[33]，本研究中，给药组与停药组均出现溶血磷脂酰胆碱（lysoPC）家族成员的异常表达，其中 lysoPC(15:0/0:0)、lysoPC(22:6/0:0)在两组中均显著下调，lysoPC(20:4/0:0)在停药组呈上调趋势。lysoPC 主要由磷脂酰胆碱经磷脂酶 A2 水解生成，其水平下降提示磷脂酶 A2 活性受抑或磷脂合成障碍^[34]，LysoPC(22:6/0:0)富含多不饱和脂肪酸，其减少可导致肝细胞线粒体膜稳定性下降，影响线粒体呼吸链功能，进而诱发氧化应激与能量代谢障碍^[35]，而停药组 lysoPC(20:4/0:0)的上调可能是机体的代偿性反应，通过增加多不饱和脂肪酸型 lysoPC 含

量,修复受损的细胞膜结构,这与停药后肝损伤缓解的病理特征相符^[36],此外,鞘氨醇(sphinganine)在两组中均显著下调,鞘氨醇是鞘脂代谢的关键中间物,其减少可影响细胞凋亡与分化过程,进一步加重肝损伤^[37],这一结果与 Jia 等^[38]发现的鞘脂代谢紊乱参与中药肝毒性的研究结论一致。

脂肪酸代谢异常与肝细胞脂肪变性及炎症反应密切相关^[39],本研究中, α -亚麻酸、花生四烯酸、肾上腺酸在给药组与停药组均显著下调。 α -亚麻酸是 ω -3 多不饱和脂肪酸的重要前体,其减少可导致抗炎因子如白三烯 B5 合成不足,加重肝脏炎症反应^[40],花生四烯酸是 ω -6 多不饱和脂肪酸,其水平下降可影响前列腺素、血栓素等炎症介质的合成,进一步干扰炎症调控网络,而肾上腺酸作为花生四烯酸的代谢产物,其减少可导致肝细胞膜流动性下降,影响物质转运功能^[41],停药组上述脂肪酸仍维持低水平,提示脂肪酸代谢紊乱的恢复滞后于病理损伤缓解,这可能与脂肪酸合成酶活性恢复缓慢相关,需进一步延长观察周期验证。

肝损伤恢复在能量代谢层面,停药后泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢通路率先出现回调趋势:泛硫乙胺及其磷酸化产物的代偿性升高幅度有所回落,机体从应激状态下的强烈代偿逐步转向稳态调节^[42];次黄嘌呤、肌苷升高程度降低,尿酸水平出现回升趋势,提示 ATP 过度消耗得到缓解,肝细胞抗氧化能力逐步恢复,氧化应激水平下降。这一过程与肝细胞能量代谢功能修复、线粒体呼吸链功能改善密切相关,是肝脏代谢稳态重建的早期核心事件^[43]。在脂质与细胞膜代谢层面,恢复进程相对滞后:停药后 LysoPC (20:4/0:0)等部分溶血磷脂酰胆碱出现代偿性上调,提示肝细胞启动细胞膜结构修复,通过补充膜磷脂成分恢复细胞膜完整性与流动性^[44];但 α -亚麻酸、花生四烯酸等多不饱和脂肪酸仍处于低水平,甘氨酸、托鲁肯科索西洛酸等胆汁酸代谢物未完全恢复至正常水平,表明脂质代谢、胆汁酸代谢紊乱的恢复慢于病理形态学改善,其原因可能与细胞膜重构周期较长、FXR 等核受体信号通路及胆汁酸转运体功能恢复缓慢有关^[32]。从调控机制来看,停药后代谢恢复依赖于炎症代谢轴的协同调控:随着 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎症因子水平显著降低,炎症信号对代谢通路的抑制作用减弱,使得能量代谢、磷脂代谢、胆汁酸代谢得以逐步修复;同时,机体通过代偿性合成关键中间代谢

物、重启嘌呤补救合成途径、重新激活辅酶 A 合成通路等方式,主动纠正代谢失衡,推动肝脏从损伤状态向正常生理状态过渡^[45]。上述结果表明,白鲜碱所致肝损伤的代谢紊乱并非永久性改变,在停药干预后可通过内源性代谢重编程实现多通路、分层次的有序恢复,为临床安全用药、中毒后停药干预及预后评估提供了重要实验依据。

结合本研究代谢通路变化及现有文献分析,白鲜碱致肝损伤的核心机制为代谢紊乱氧化应激炎症反应多级联放大效应:白鲜碱通过干扰泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢引发线粒体能量代谢障碍及氧化应激失衡,造成 ATP 不足、ROS 蓄积并启动肝细胞早期损伤^[46-47],同时通过抑制 FXR 通路导致初级胆汁酸过量合成与淤积,进一步诱发肝细胞凋亡与炎症浸润^[30, 48],还可通过破坏甘油磷脂、鞘脂及多不饱和脂肪酸代谢造成细胞膜与线粒体膜结构损伤,使抗炎能力下降^[49],上述异常通路在 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎症因子介导下形成炎症代谢轴恶性循环,共同导致肝细胞水肿、脂肪变性及炎症损伤;停药后能量与氧化应激相关通路优先恢复,而脂质及胆汁酸代谢恢复相对滞后,提示白鲜碱所致肝损伤具有显著可逆性,且恢复过程呈时序性特征^[16],该结果与氧化应激、线粒体损伤、胆汁酸代谢紊乱及膜脂失衡等肝损伤共性机制高度吻合。

本研究通过 SD 大鼠给药与停药恢复实验,系统阐明白鲜碱可导致大鼠肝损伤,且该损伤在停药后得以缓解,表明其具有可逆性。其核心机制与泛酸与辅酶 A 生物合成、嘌呤代谢、初级胆汁酸合成及脂质代谢等通路的协同紊乱相关。研究结果从代谢组学层面阐明白鲜碱药物性肝损伤的分子机制,为其临床安全应用、毒性预警标志物筛选及减毒增效研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张萌萌,孙慧娟,高蕊,等.基于血清代谢组学的白鲜皮治疗银屑病作用机制研究[J].药物评价研究,2025,48(5):1073-1090.
Zhang M M, Sun H J, Gao R, et al. Research on mechanisms of therapeutic effects of *Dictamnus dasycarpus* on psoriasis based on serum metabolomics [J]. Drug Eval Res, 2025, 48(5): 1073-1090.
- [2] 孙慧娟,王宇,卢芳,等.白鲜皮保肝与肝损伤作用研

- 究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(19): 229-235.
- Sun H J, Wang Y, Lu F, et al. Hepatoprotective and hepatotoxic effect of *Dictamnii cortex*: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(19): 229-235.
- [3] Wang P, Sun J B, Xu J Y, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution and excretion study of dictamnine, a major bioactive component from the root bark of *Dictamnus dasycarpus* Turcz. (Rutaceae) [J]. J Chromatogr B, 2013, 942: 1-8.
- [4] 梁晓英, 郭娜, 王丽莎, 等. 白鲜碱体外抗白色念珠菌活性研究 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(16): 21-24.
- Liang X Y, Guo N, Wang L S, et al. Study on *in vitro* antifungal activity of dictamnine against *Candida albicans* [J]. Chin Agric Sci Bull, 2009, 25(16): 21-24.
- [5] 刘登宇, 高璐, 吴建美, 等. 基于高通量测序技术探究白鲜碱对红色毛癣菌体外抑菌作用 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(12): 2563-2570.
- Liu D Y, Gao L, Wu J M, et al. *In vitro* antibacterial activity of dictamnine against *Trichophyton rubrum* based on high-throughput sequencing [J]. Drug Eval Res, 2021, 44(12): 2563-2570.
- [6] Villanueva-Paz M, Morán L, López-Alcántara N, et al. Oxidative stress in drug-induced liver injury (DILI): From mechanisms to biomarkers for use in clinical practice [J]. Antioxidants, 2021, 10(3): 390.
- [7] McGill M R, Sharpe M R, Williams C D, et al. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation [J]. J Clin Invest, 2012, 122(4): 1574-1583.
- [8] Wu X X, Wu L M, Fan J J, et al. Cortex Dictamni extract induces apoptosis of activated hepatic stellate cells via STAT1 and attenuates liver fibrosis in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 135(1): 173-178.
- [9] 于子惠, 徐子瑛, 李龙朝, 等. 基于转录组和 DNA 甲基化组的白鲜碱致小鼠肝损伤的性别差异研究 [J]. 解放军医学院学报, 2024, 45(8): 861-867.
- Yu Z H, Xu Z Y, Li L Z, et al. Gender differences in dictamnine-induced liver injury in mice based on transcriptome and DNA methylation [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2024, 45(8): 861-867.
- [10] Li Z Q, Wang L L, Zhou J, et al. Integration of transcriptomics and metabolomics profiling reveals the metabolic pathways affected in dictamnine-induced hepatotoxicity in mice [J]. J Proteom, 2020, 213: 103603.
- [11] 李悦. 中草药相关肝损伤临床特征分析及预警初探 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- Li Y. Analysis of clinical characteristics of liver damage related to chinese herbal medicine and preliminary exploration of early warning methods [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2022.
- [12] 周秋香, 余晓斌, 涂国全, 等. 代谢组学研究进展及其应用 [J]. 生物技术通报, 2013, 29(1): 49-55.
- Zhou Q X, Yu X B, Tu G Q, et al. Advances in metabonomics and its applications [J]. Biotechnol Bull, 2013, 29(1): 49-55.
- [13] Liu P P, Wu J, Yu X Y, et al. Metabolomics and network analyses reveal phenylalanine and tyrosine as signatures of anthracycline-induced hepatotoxicity [J]. Pharmaceuticals, 2023, 16(6): 797.
- [14] Tu C, Xu Z Y, Tian L C, et al. Multi-omics integration to reveal the mechanism of hepatotoxicity induced by dictamnine [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 700120.
- [15] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- Huang J H, Huang X H, Chen Z Y, et al. Dose conversion among different animals and healthy volunteers in pharmacological study [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [16] 涂灿, 郭兆娟, 蒋冰倩, 等. 基于非靶向代谢组学的白鲜碱致肝损伤性别差异研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(12): 3317-3326.
- Tu C, Guo Z J, Jiang B Q, et al. Difference in liver injury induced by dictamnine between males and females: Based on untargeted metabolomics [J]. China J Chin Mater Med, 2023, 48(12): 3317-3326.
- [17] Pang H H, Hu Z P. Metabolomics in drug research and development: The recent advances in technologies and applications [J]. Acta Pharm Sin B, 2023, 13(8): 3238-3251.
- [18] Stolaki E V, Psatha K, Aivaliotis M. Metabolomics and pharmacometabolomics: Advancing precision medicine in drug discovery and development [J]. Metabolites, 2025, 15(11): 750.
- [19] Tang J, Wu Y B, Zhang B, et al. Integrated liver proteomics and metabolomics identify metabolic pathways affected by pantothenic acid deficiency in Pekin ducks [J]. Anim Nutr,

- 2022, 11: 1-14.
- [20] 张振坤, 杨艳玲, 李东晓. 泛酸代谢与泛酸缺乏症 [J]. 中国实用儿科杂志, 2024, 39(10): 741-747.
Zhang Z K, Yang Y L, Li D X. Pantothenic acid metabolism and pantothenic acid deficiency [J]. Chin J Pract Pediatr, 2024, 39(10): 741-747.
- [21] Shimizu S. Pantothenic acid [J]. Nihon Rinsho, 1999, 57(10): 2218-22.
- [22] Matye D, Gunewardena S, Chen J L, et al. TFE8 regulates sulfur amino acid and coenzyme A metabolism to support hepatic metabolic adaptation and redox homeostasis [J]. Nat Commun, 2022, 13: 5696.
- [23] Quijano C, Trujillo M, Castro L, et al. Interplay between oxidant species and energy metabolism [J]. Redox Biol, 2016, 8: 28-42.
- [24] Johnson T A, Jinnah H A, Kamatani N. Shortage of cellular ATP as a cause of diseases and strategies to enhance ATP [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 98.
- [25] Ames B N, Cathcart R, Schwiers E, et al. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: A hypothesis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1981, 78(11): 6858-6862.
- [26] Sautin Y Y, Johnson R J. Uric acid: The oxidant-antioxidant paradox [J]. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids, 2008, 27(6/7): 608-619.
- [27] Cichoż-Lach H. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(25): 8082.
- [28] Messina A, Duclos-Vallée J C. Molecular mechanisms of hepatotoxicity [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 3791.
- [29] Chiang J Y L, Ferrell J M. Bile acid metabolism in liver pathobiology [J]. Gene Expr, 2018, 18(2): 71-87.
- [30] 刘苏杰, 阮佳鑫, 王晨, 等. 基于“肠道菌群-胆汁酸”轴探讨白鲜碱介导肝损伤的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(19): 211-218.
Liu S J, Ruan J X, Wang C, et al. Dictamnine induces liver injury via gut microbiota-bile acid axis [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(19): 211-218.
- [31] Allen K, Jaeschke H, Copple B L. Bile acids induce inflammatory genes in hepatocytes a novel mechanism of inflammation during obstructive cholestasis [J]. Am J Pathol, 2011, 178(1): 175-186.
- [32] Li M, Cai S Y, Boyer J L. Mechanisms of bile acid mediated inflammation in the liver [J]. Mol Aspects Med, 2017, 56: 45-53.
- [33] Casares D, Escribá P V, Rosselló C A. Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9): 2167.
- [34] Liu P P, Zhu W, Chen C, et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases [J]. Life Sci, 2020, 247: 117443.
- [35] Herbst E A F, Paglialunga S, Gerling C, et al. Omega-3 supplementation alters mitochondrial membrane composition and respiration kinetics in human skeletal muscle [J]. J Physiol, 2014, 592(6): 1341-1352.
- [36] Inagaki N F, Nakanishi H, Ohto T, et al. LPCAT3/LPLAT12 deficiency in the liver ameliorates acetaminophen-induced acute liver injury [J]. FASEB J, 2024, 38(1): e23328.
- [37] Tsugane K, Tamiya-Koizumi K, Nagino M, et al. A possible role of nuclear ceramide and sphingosine in hepatocyte apoptosis in rat liver [J]. J Hepatol, 1999, 31(1): 8-17.
- [38] Jia Z X, Liu L R, Liu J, et al. Assessing potential liver injury induced by *Polygonum multiflorum* using potential biomarkers via targeted sphingolipidomics [J]. Pharm Biol, 2022, 60(1): 1578-1590.
- [39] Ma J Y, Ma Y N, Wan X, et al. Metabolic and genetic mechanisms of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: An integrative perspective from molecular pathways to clinical challenges [J]. Front Endocrinol, 2025, 16: 1639064.
- [40] Spooner M H, Jump D B. Omega-3 fatty acids and nonalcoholic fatty liver disease in adults and children: Where do we stand ? [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2019, 22(2): 103-110.
- [41] Le H D, Meisel J A, de Meijer V E, et al. The essentiality of arachidonic acid and docosahexaenoic acid [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids, 2009, 81(2/3): 165-170.
- [42] Thurston J H, Hauhart R E. Amelioration of adverse effects of valproic acid on ketogenesis and liver coenzyme a metabolism by cotreatment with pantothenate and carnitine in developing mice: Possible clinical significance [J]. Pediatr Res, 1992, 31(4): 419.
- [43] Lorenzi M, De Martino A, Carlucci F, et al. Nitrogen metabolism during liver regeneration [J]. Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj, 1993, 1157(1): 9-14.

- [44] Sánchez-Solís C N, Hernández-Fragoso H, Aburto-Luna V, et al. Kidney adaptations prevent loss of trace elements in wistar rats with early metabolic syndrome [J]. Biol Trace Elem Res, 2021, 199(5): 1941-1953.
- [45] 张钰明, 夏士程, 张淋淋, 等. 金银花提取物对小鼠阿霉素肝脏损伤的保护作用 [J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(8): 1571-1581.
- Zhang Y M, Xia S C, Zhang L L, et al. Protective effect of *Lonicerae japonicae flos* extract against doxorubicin-induced liver injury in mice [J]. J South Med Univ, 2024, 44(8): 1571-1581.
- [46] Matye D, Gunewardena S, Chen J L, et al. TFEB regulates sulfur amino acid and coenzyme A metabolism to support hepatic metabolic adaptation and redox homeostasis [J]. Nat Commun, 2022, 13: 5696.
- [47] Johnson T A, Jinnah H A, Kamatani N. Shortage of cellular ATP as a cause of diseases and strategies to enhance ATP [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 98.
- [48] Chiang J Y L, Ferrell J M. Bile acid metabolism in liver pathobiology [J]. Gene Expr, 2018, 18(2): 71-87.
- [49] Casares D, Escribá P V, Rosselló C A. Membrane lipid composition: Effect on membrane and organelle structure, function and compartmentalization and therapeutic avenues [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9): 2167.

[责任编辑 兰新新]