

· 综 述 ·

代谢组学在天然产物毒性评价和毒理学研究中的应用进展

陈 宵, 孙承业*

中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050

摘 要: 为了尽可能避免毒性效应并安全使用天然产物, 更全面的毒性认知已成为迫切需要。通常认为小分子代谢产物可以代表生物体的生理或病理状态, 因此, 基于代谢组学的毒理学研究既可以用于评价毒性, 也可以鉴定天然产物的毒理学生物标志物, 有助于指导临床用药并减少药物不良反应。近几十年来, 代谢组学在中药单体成分、提取物和复方制剂诱导的肾毒性、肝毒性、心脏毒性和中枢神经系统的毒性评价中应用广泛。综述常用的代谢组学技术, 包括样品制备、样品检测、数据处理和分析方法, 以及基于代谢组学的天然产物毒理学研究等方面的进展, 并对该研究的潜在问题进行探讨并对今后的发展方向进行展望。

关键词: 代谢组学; 天然产物; 毒性; 生物标志物; 急性中毒

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2019)05 - 1244 - 14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.05.032

Application progress on metabolomics in toxicity assessment and toxicologic studies of natural products

CHEN Xiao, SUN Cheng-ye

National Institute of Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China

Abstract: To avoid toxic effects as much as possible and to safely use natural products, a more comprehensive understanding of toxicity is urgently needed. We generally believe that small molecule metabolites can represent the physiological or pathological state of an organism, so metabolomics-based toxicology studies can be used to assess toxicity as well as to identify toxicological biomarkers of natural products, which helps to guide clinical medications and reduce adverse drug reactions. In recent decades, dozens of metabolomics studies have been conducted in the evaluation of nephrotoxicity, hepatotoxicity, cardiotoxicity, and toxicity of the central nervous system induced by monomer compounds, extracts, and combination preparations. This article reviews the commonly used metabolomics techniques, including sample preparation, sample testing, data processing and analysis, as well as toxicology studies of natural products based on metabolomics. Finally, the potential problems and further prospects of this kind of research are discussed.

Key words: metabolomics; natural products; toxicity; biomarkers; acute poisoning

天然产物从广义上讲包括生命产生的任何物质, 通常含有有毒成分和活性成分。近年来, 不断有因摄入含有有毒成分的天然物质而引起的中毒事件发生, 且发生率逐年增高, 诸如河豚中毒、毒蘑菇中毒、豆角中毒以及贝、螺类中毒等, 中毒患者的结局指标包括严重的身体损伤甚至死亡。但由于天然产物含有的生物活性物质一直是许多药物的来源, 特别是有超过 50% 的抗癌药物也来自天然产物,

所以天然产物在疾病预防和治疗方面有着悠久的历史, 而且在保健和慢性疾病治疗方面越来越受到重视^[1]。天然产物对抵抗疾病的攻击极为重要, 即使随着时代的进步科学技术有了很大进展, 一些天然产物仍是药物和前体药物的必要组成部分, 直接或间接地治疗疾病。但是, 在不清楚有毒成分及其浓度和作用机制的前提下, 天然产物的使用必须谨慎, 需要进行可行且有效的探索。

收稿日期: 2018-11-16

基金项目: 科技部科技基础性工作专项项目 (2015FY111400)

作者简介: 陈 宵, 女, 在读博士生, 研究方向为药物及化学品毒理学研究。E-mail: chenxiao@niohp.chinacdc.cn

*通信作者 孙承业, 男, 研究员, 博士生导师, 从事中毒控制工作。E-mail: suncy@niohp.chinacdc.cn

近年来出现的代谢组学技术成为了研究天然产物,尤其是中药毒性成分的很好工具。代谢组学最早由 Nicholson 教授于 1999 年提出^[2],旨在对特定生物体或生物样品中的小分子代谢物进行系统的定性和定量分析,并描述外源物质干扰前后内源性代谢物的变化规律。它可以定量测量大量在生物系统中具有重要作用的低分子内源代谢物,包括氨基酸、肽、脂质、核酸、有机酸、维生素、硫醇和碳水化合物等,是系统生物学研究的重要组成部分^[3]。代谢产物是细胞调控过程的最终产物,可被视为生物系统控制遗传或环境变化的最终反应^[4],深入了解复杂疾病生物化学途径中的整体变化可以为疾病的发病机制提供有价值的证据,并且代谢组学还有可能通过探究疾病的早期生物化学变化从而寻找到预测性的生物标志物^[5]。另一方面,代谢组学采用的“自上而下”的策略来考虑整体情况下由干预引起的完整生物体的功能和代谢变化,是最适合中药多靶点、多系统作用特点的整体研究。

1 代谢组学技术

生命科学的主要特征就是对于技术平台的依赖,代谢组学工作的开展同样离不开技术平台的支撑,尤其是高通量和大规模的分析技术,2 种最常用的方法是质谱(MS)和核磁共振(NMR)波谱。两大技术多方法在代谢物鉴定和含量测定方面提供了互为补充的信息,如质子核磁共振(¹H-NMR)法、气相色谱-质谱(GC-MS)法、毛细管电泳(CE)-MS 法、高效液相色谱(HPLC)-MS 法、超高效液相色谱(UPLC)-MS 法和液相色谱(LC)-固相萃取(SPE)-NMR 等技术。不同的代谢组学方法已被应用于不同的中药研究中^[6]。

MS 是代谢组学中最常用的分析工具之一,具有高灵敏度(通常是 pg 级)和高数据采集速度等特点,能检测超过 1 000 种内源性代谢物的特征。近年来基于 MS 方法的代谢组学研究大幅增加^[7-8],其先进的软件结合丰富的数据库使得准确测定及鉴定代谢物成为可能。由于生物样品基质的复杂性,在进行 MS 分析之前,特别是对代谢物进行定量时,通常需要先分离目标代谢物。因此,MS 与色谱连用的分析平台应用广泛。常用的分离技术包括 LC、GC 和 CE^[9]。常见的 MS 技术包括四级杆、三重四级杆、离子阱、飞行时间(TOF)和 OrbitrapTM。目前 LC-MS 在代谢组学中应用最为广泛^[10],其可直接检测生物样品代谢产物而不需要化学改性,多

用于难以衍生化、不稳定及不易挥发且相对分子质量较大的样品。最新的 LC-MS 技术已经能够对大鼠血清中超过 200 种代谢物进行绝对定量^[11],以及对体液、细胞和组织中超过 300 种代谢物进行相对定量^[12]。其缺点是分离效率不高、分析时间相对较长,没有统一的用于比对的数据库等。代谢组学应用中另一种比较稳定的方法是 GC-MS,具有高分辨率及电子电离检测的高灵敏度等特点^[13],特别是对小分子代谢物,该方法是首选分析方法;易挥发、低相对分子质量代谢产物可直接分析,非挥发、极性代谢物需要在分析之前进行化学衍生化^[14]。微量样本是研究中经常遇到的瓶颈,CE-MS 所需样本少,并且分离样本速度和效率优于 LC-MS 和 GC-MS,如 Sato 等^[15]选择了 CE-MS 进行了水稻叶的代谢物检测,成功检测出 88 种代谢物。但 CE-MS 同样存在缺点,灵敏度和稳定性这两方面目前与 LC-MS 和 GC-MS 相比还有一段差距,而且如果做复杂体系如生物样品的组学分析,不容易定量,另外 CE-MS 在数据处理方面也存在一些问题。

NMR 是代谢组学领域提供信息最丰富的技术之一。与 MS 不同,NMR 允许以相同的测量方法对已知或者未知的代谢物结构验证及鉴别。NMR 法非常适合研究代谢物中的复杂组分,由于 NMR 的谱峰与样品中每种成分的氢原子都是对应的,即样品中各成分的每个氢原子在光谱中都有其相关的峰,这样样品中各组分的相对含量都可以通过光谱中信号的相对强度反映出来。其主要特点是:(1)基本无偏倚性,不同于 MS 技术存在的离子化程度以及基质的干扰等问题,NMR 对样品中所有物质检测的灵敏度相同;(2)无损性,样品检测前不需要复杂的前处理,不破坏样品的内部结构,因而便于原位和活体的动态检测;(3)可以设计多种编辑手段,实验方法比较灵活。然而,由于 NMR 方法的检测灵敏度较低,难以同时测定生物系统中共存性差异较大的代谢物,应用受限,其所需的硬件投资也较大,成本较高。

为了充分利用各种技术的优势,研究者将 NMR 和 MS 技术联合应用于代谢组学研究,形成了 statistical total correlation spectroscopy (STOCSY) 的概念,不仅用于疾病相关代谢通路和毒理学研究,也为系统生物学中转录组、蛋白质组与代谢组的整合提供了重要机会。例如,Lenz 等^[16]将 ¹H-NMR 和 LC-MS 技术联合应用,研究了庆大霉素的肾毒

性以及大鼠尿中内源代谢物的变化。结果发现了大鼠尿中葡萄糖增加、三甲胺氮氧化物 (TMAO) 减少等变化。

近年来,清华大学林金明教授团队开发了一种微流控芯片与 MS 的联用技术^[17],可以对细胞分泌物进行检测分析,以期得到细胞生命活动中扮演重要角色的物质的结构和含量信息。通过将基于芯片的 SPE 与在线电喷雾电离四极杆质谱仪 (ESI-Q-TOF-MS) 相结合,形成了一种表征药物代谢物的新代谢组学方法。其关键创新点在于将集成的微流体装置由用于细胞培养的圆形腔室和具有收缩末端的直通微通道组成,以包装固相材料,用于在质量分析之前进行样品净化和浓缩。利用此项技术,其研究了人肺上皮 A549 细胞中维生素 E 的代谢。通过在线 ESI-Q-TOF-MS 成功检测到代谢物,实验灵敏度高,并且分析时间较短。

2 代谢组学数据分析技术

代谢组学的研究策略可以分为 2 种:一种是靶向代谢组学(代谢靶标分析),另一种是非靶向代谢组学(代谢物轮廓分析)^[18]。前者主要用于分析特定子集的化合物,分析已知生物化学路径或者特定种类的分子,产生的数据较为简单;而后者可以用高通量的分析手段在生物系统中进行全方位的代谢物监测,获得生物体的代谢轮廓,还可以通过比较不同实验组间的差异,寻找用于预测的生物标志物,所以后者产生的数据比较庞大复杂,代谢组数据的分析处理更为重要^[19]。

在代谢组学应用中,数据处理一般包括信息提取、数据预处理、模式识别、模型验证以及代谢物筛选及鉴定等步骤^[20-21]:(1)高通量的仪器分析得到的原始数据首先需要利用仪器分析软件或自定义程序进行信息提取,如 MS 及其联用技术多采用峰的积分结果作为变量提取,而 NMR 等波谱技术多采用等间距的切片或切块对谱图进行拆分,对区间内信号积分作为变量进行提取。(2)对得到的三维数据集进行预处理,一般包括数据的归一化及数据转化、中心化、标准化等步骤,是后续单维和多维统计分析、生物标志物筛选的重要前提^[19]。(3)化学计量学的方法处理主要包括两大类:非监督性和监督性方法。最常见的非监督性方法为主成分分析法 (PCA),最常见的监督性方法为偏最小二乘法 (PLS) 和正交偏最小二乘法 (OPLS)。采用无监督的模式识别方法可以初步分析各组样本间的总体分

布状况(如有无聚类、有无时间偏移趋势等)、自然聚集状态以及是否存在特异样本等;而采用监督性分析方法更倾向于提取利于样本分类的变量信息,也在很大程度上降低了系统噪声的干扰,提高了分类效能,更多用于构建预测模型和寻找代谢标志物。用于代谢组学分析的常用软件有 Shimadzu Class-VP (用于 PCA)、SIMCA-P (用于 PCA 和 PLS-DA) 和 Micromass MarkertLynx (用于峰检测和峰对齐)。(4)代谢物的鉴定被认为是非靶标代谢组学的一大挑战。目前对 NMR 分析平台的物质鉴定通常利用一些商业化和实验室内部的软件可实现自动化,如 Chenomx Eslipse 和 Bruker Amix,然而与昂贵的分析软件相比,免费的在线数据库 HMDB 更受欢迎。而基于 MS 分析平台的鉴定目前缺乏统一标准,除了 GC-MS 平台已建立良好的标准图谱库可利用软件免费查询比对,其他平台一般多依靠分析人员的专业素质以及实验室积累的数据库,可以通过一些网上软件和数据库辅助鉴定。(5)代谢物的途径分析,这对于解释代谢物之间的相互作用和阐明可能的毒性机制是必要的,其中强大的网络工具 MetaboAnalyst 提供了大量的分析方法,包括数据处理、归一化、多元统计分析、生物标记和通路分析。MetaboAnalyst 允许用户在线处理数据并接受由 NMR、LC-MS 或 GC-MS 产生的几种数据输入类型,这使得它在代谢组学中较为普及。常用的代谢物鉴定及途径分析数据库见表 1^[22]。

3 基于代谢组学的天然产物毒性评估和生物标志物鉴定

3.1 肾毒性

天然产物通常用于预防或治疗各种疾病。然而关于其作用机制和潜在毒性的现有数据则十分有限。肾毒性是天然产物最常见的毒副作用,包括电解质异常、蛋白尿、急性肾损伤、慢性肾病乃至死亡。然而,目前与这些天然产物相关的肾损伤和功能障碍的潜在机制仍不完全清楚。使用新型代谢组学分析方法进行全代谢谱分析在毒理学领域已越来越多地引起关注,因为其可以同时快速和可重复地测定直接反映测试样品中生物事件的内源性代谢物水平。

3.1.1 马兜铃酸 马兜铃酸为硝基菲类有机酸,存在于马兜铃科 (Aristolochiaceae) 马兜铃属 *Aristolochia* L. 及细辛属 *Asarum* L. 等植物中,这些植物经炮制解毒后作为原生药材入药^[23]。马兜铃

表 1 代谢组学相关数据库及在线工具

Table 1 Metabolomics-related databases and online tools

数据库名称	网址	简介
代谢组学鉴定相关数据库		
HMDB	http://www.hmdb.ca/	人类代谢组学数据库, 收录超过 7 900 个人体代谢组, 包含代谢物的化学、分子生物/生物化学及临床信息
METLIN	http://www.metlin.scripps.edu/	收录超过 42 000 个代谢物及其结构信息, 支持 MS 数据搜索
BMRB	http://www.hmrw.wisc.edu	生物核磁共振数据银行, 关注代谢物的 NMR 研究结果, 可通过 PubChem 检索并与科学论文关联
MassBank	http://www.massbank.jp	质谱银行, 是收录代谢物高分辨率 MS 图谱的数据库, 提供多种查询标准 MS 图的方法, 具有非常详尽的 MS 数据, 此外该网站还提供线上和线下的谱图/结构搜索功能
KNAPSAcK	http://www.Kanaya.naist.jp/KNAPSAcK	关注特定代谢物出处和 MS 图, 可根据代谢物名称和物种搜索
PubChem	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/	有机小分子活性数据库, 包含第 5 信息、化合物结构信息和生物活性信息 3 个子数据库
代谢组学途径分析相关数据库		
MetaboAnalyst	http://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/faces/Home.jsp	在线高通量代谢组学数据处理、分析及解释的工具, 应用广泛
KEGG	http://www.genome.jp/kegg/ligand.html	免费的数据库资源, 收录了已知各种生物的所有代谢物的代谢途径, 用于了解生物系统的高级功能和应用, 特别是高通量实验技术生成的大规模分子数据集
Reactome	http://www.reactome.org	免费的生物通路在线数据库, 可用于浏览路径并将数据提交给数据分析工具
Biocarta	http://www.biocarta.com	提供代谢物相互作用、富集分析和途径分析的开放数据库
Biological Networks	http://www.biologicalnetworks.net	用于代谢途径分析, 查询和可视化代谢途径和蛋白质相互作用网络的软件

酸是一种疑似肾脏毒性物质, 可引起常见且快速进展的间质性肾病, 称为“马兜铃酸肾病”, 最终可导致终末期肾病^[24]。早期的研究主要通过¹H-NMR 和模式识别为基础的代谢组学方法研究马兜铃酸的亚急性毒性, 研究结果发现马兜铃酸主要引起肾近端小管和乳头状病变, 并有轻微的肝脏损害^[25]。也有研究运用 LC-MS 平台发现不同马兜铃酸源处理的大鼠生化变化和组学与对照组有显著差异, 其同型半胱氨酸形成和叶酸循环显著加速, 而包括花生四烯酸生物合成在内的其他代谢途径则被抑制^[26]。而后又陆续有不同分析平台包括 GC-MS、LC-MS、UPLC-QTOF-MS 等^[27-30], 使用代谢组学方法研究了马兜铃酸肾病的发病机制。这些研究表明, 马兜铃酸的肾毒性可表现为包括三羧酸循环、肠道微生物代谢、氨基酸代谢、嘌呤代谢和胆汁酸生物合成等的系统性代谢网络紊乱, 降解

的花生四烯酸可能是引起急性肾衰竭的主要原因之一。磷脂酶 A2 可以将磷脂水解成磷脂酰肌醇和卵磷脂, 在此过程中, 产生的花生四烯酸在前列腺素的合成中是重要的。而马兜铃酸可以极大地抑制磷脂酶 A2 并导致花生四烯酸水平的下调, 从而降低前列腺素水平, 后者的下调会引起肾血管舒张, 调节肾循环, 并影响肾钠排泄和水的重吸收, 最终导致肾脏损害。

代谢组学也可以用于各阶段内源性生物标志物的评估。Hu 等^[31]应用基于 GC-MS 的代谢组学, 在不同剂量 (10、20、40 mg/kg) 和时间点 (2、4、6 h) 进行了经马兜铃酸处理的大鼠中尿代谢产物分析, 发现了可用于鉴别马兜铃酸肾毒性的早期代谢生物标志物甲基琥珀酸、柠檬酸、肌酸酐和 3-羟基苯基乙酸以及晚期代谢生物标志物烟酰胺、尿酸、乙醇酸和葡萄糖酸。Liu 等^[32]用 LC-MS 分析了马兜铃

酸急性中毒肾脏细胞内代谢时程的变化,并以此分析出 11 种潜在的生物标志物及其可能参与的代谢途径。近几年,在对马兜铃酸所致肾病机制探索方面,代谢组学技术也应用广泛。国内学者分析揭示了马兜铃酸诱导的肾病中激活的氧化还原信号传导和脂质代谢功能障碍之间的关系,包括脂质代谢异常与氧化应激,炎症、纤维化与核因子 2 相关因子(Nrf2)功能障碍之间的关联等^[33-34]。Michl 等^[35]还通过基于 LC-MS 的代谢组学研究,比较了源自马兜铃科不同物种、不同植物部位以及通过不同提取技术获得的次级代谢物提取物,评估了这些提取物在人肾小管上皮细胞中的毒性,并研究了植物代谢特征与其体外毒性的关系,表明代谢组学可以用于评估药用植物毒性,同时阐明药用植物的生物活性机制。

3.1.2 其他天然产物 蓖麻属 *Ricinus* L. 一年生或多年生草本植物具有消肿拔毒、泻下通滞的作用。蓖麻籽的毒性是由蓖麻毒素即蓖麻蛋白引起的,蓖麻毒素是蓖麻种子含有的毒性外源凝集素。长期的蓖麻毒素摄取会对能量代谢、氮代谢、氨基酸代谢和犬尿氨酸代谢途径产生干扰,诱发氧化应激。Guo 等^[36]的研究很好地解释了蓖麻毒素的肾毒性和肺毒性,并为这些毒性的诊断提供了几种潜在的生物标志物。

牵牛 *Pharbitis nil* (Linn.) Choisy 为旋花科(Convolvulaceae)牵牛属 *Pharbitis* Choisy 一年生缠绕草本植物,其种子可药用,多用于治疗水肿、腹水、单纯性肥胖和肺部发热,但长期摄入也可引起进行性肾脏损伤。Ma 等^[37]先利用 LC-MS 考察了牵牛子提取物处理大鼠的血浆和肾组织提取物的代谢谱,发现其溶血磷脂酰胆碱形成和鞘脂循环加速,血清中苯丙氨酸水平降低;而其另一项研究将血液生化指标、组织病理学和代谢组学方法相结合,验证了牵牛子乙醇提取物的肾毒性,氨基酸、柠檬酸、肌酸酐、胆酸和 5-甲基四氢叶酸在大鼠尿液中的水平有显著差异,并根据已鉴定的生物标志物初步阐明毒性刺激引起的病态波动与代谢失衡之间的关系^[38]。

泽泻 *Alisma orientale* (Sam.) Juzep. 为多年生水生或沼生草本,全株有毒,地下块茎毒性较大。但由于其良好的药理活性,广泛用于利尿、抗肾石、调血脂、抗动脉粥样硬化、抗糖尿病和抗炎等药物的组方。Yu 等^[39]基于 UPLC-MS 的代谢组学方法发现了泽泻处理大鼠尿中可用于鉴别及诊断泽泻中毒

的 13 种代谢生物标志物。

马钱子为马钱 *Strychnos nux-vomica* L. 的干燥成熟种子,在临床上有着悠久的历史,具有抗肿瘤、镇痛和抗炎作用^[40]。但马钱子极毒,临床病例报告马钱子可引起肾衰竭。有研究基于亲水作用色谱(HILIC)-ESI-MS-MS 技术发现其含有的土的宁和马钱子碱是主要的致毒物质,其肾毒性可能是通过在肾脏中有毒物质的累积而干扰体内酪氨酸代谢引起的^[41]。Gu 等^[42]基于 LC-MS 的代谢组学研究了马钱子的肾毒性生物标志物以及甘草提取物对马钱子致肾衰竭的保护作用,发现肌基琥珀酸、肌基乙酸、3-吡啶基硫酸盐和吡啶-3-乙酸(仅在尿液中)比常规肾功能生物标志物更敏感,可用于评估甘草提取物对马钱子所致肾衰竭的治疗作用。

此外,代谢组学对天南星(天南星科植物 *Arisaema consanguineum* Schott, 多用于治疗惊厥、炎症和癌症)和京大戟(大戟科大戟属植物 *Euphorbia pekinensis* Rupr., 具有抗病毒和抗炎作用)等草本植物的肾脏毒性研究也具有良好的辅助作用^[43-44]。

3.2 肝毒性

天然产物包括其所制成的食品添加剂或者草药或草药补充剂所引起的肝毒性也是近几年普遍关注的问题。

雷公藤 *Tripterygium wilfordii* Hook. f. 为卫矛科植物根的木质部。其含有的雷公藤内酯是主要的活性成分,具有多种药理作用,包括用于治疗类风湿性关节炎、肾炎、强直性脊柱炎、皮肤病、免疫性疾病及抗肿瘤等^[45-46]。然而,雷公藤在临床使用中表现出了严重的毒副作用,如肝肾毒性、男性不育症、白细胞减少症和月经失调等,尤以肝损伤最为严重^[47-49]。Chen 等^[50]利用 GC-MS 和 LC-MS 联合评估了雷公藤的一般毒性,结合病理观察发现了其对肝脏、肾脏和睾丸的损伤作用,毒性机制涉及能量代谢紊乱、氨基酸和胆碱代谢途径升高以及肠道菌群结构改变等。Aa 等^[51]利用 GC-Q-TOF-MS 的代谢组学方法评估了雷公藤的肝脏毒性,发现游离脂肪酸引起的 β -氧化功能障碍和线粒体损伤是其引起肝毒性的主要原因,并且发现了具有剂量和时间依赖性的毒性标志物,认为代谢组学方法比常规毒性评估更敏感。Ma 等^[52]基于 GC-MS 还对雷公藤内酯诱导的睾丸毒性进行了全面的代谢组学分析,发现睾丸内脂质和能量代谢异常可下调雷公藤内酯介导的过氧化物酶体增殖

物激活受体从而引起精子功能障碍。

苍耳子 *Xanthii Fructus* 常用于治疗鼻窦炎、头痛、风湿和皮肤瘙痒。然而，苍耳子的不适当使用会引起不同程度的器官损伤，特别是肝脏损伤。研究表明，用苍耳子治疗 4 周后，患者血清丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶和碱性磷酸酶的活性显著增加。基于 $^1\text{H-NMR}$ 的代谢组学研究表明，苍耳子主要的肝毒性成分为苍术苷、羧基皂苷和 40-脱硫酸甲酯，其肝毒性作用机制涉及线粒体功能障碍，脂肪酸代谢和一些氨基酸代谢障碍^[53]。尿代谢组学显示，苍耳子治疗大鼠的代谢特征以剂量依赖性方式受到干扰，10 种代谢物可被鉴定为潜在毒性生物标志物^[54]。

砒霜 (As_2O_3) 很早前就在中西方被广泛应用，自 20 世纪 70 年代以来有研究者用砒霜治疗急性早幼粒细胞白血病并取得显著疗效^[55]，而后被 FDA 批准用于治疗复发性急性早幼粒细胞白血病。但最近的研究发现在脂肪肝疾病的饮食模型中砒霜可增加炎症和肝损伤的风险^[56]。也有学者研究了砒暴露对肠道微生物组成和代谢特征的影响，结果表明在多种生物基质中有许多与肠道微生物相关的代谢物受到攻击^[57]。基于 GC-MS 的一项代谢组学研究表明，当砒暴露与高脂饮食联合使用时，短链和中链脂肪酸代谢产物以及抗炎氨基酸甘氨酸都会减少^[58]。García-Sevillano 等^[59-60]的研究发现砒霜的毒性作用与能量代谢、氨基酸代谢、胆碱代谢和膜磷脂降解（细胞凋亡）以及蛋氨酸循环等重要的代谢途径有关。

也有一些天然产物的代谢组学毒性研究虽然还处于起步阶段，但近年来也有了长足的进展。黄药子具有抗肿瘤、抗菌、抗真菌、抗炎等多种生物活性。有研究利用 MS 的正交投影 (MS-MS) 方法，发现黄药子处理的大鼠外源性代谢物信号增加，表现出累积效应，且低相对分子质量的外源代谢产物减少但高相对分子质量的外源代谢产物增加，提示黄药子的摄入会使机体的代谢方式发生变化，可以用来评价黄药子的肝毒性^[61]。也有研究利用 NMR 技术研究了黄药子诱发的肝毒性与尿代谢紊乱的相关性，将代谢组学分析与组织病理学/生物化学相关联，认为黄药子治疗后尿液中的代谢发生了变化，并从中发现了其肝毒性的生物标志物。此外，该研究还涉及了与肝线粒体氧化损伤相关的机制研究^[62-63]。

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* Linn. 的干燥成熟果实，中医多用于肾虚、冷泻、

遗精、小便频数、腰膝冷痛等，也可外用于皮肤病、白癜风等^[64]。但近年来对于其肝毒性的报道也很多，胡超等^[65-66]采用 UPLC-Q-TOF-MS 的代谢组学技术，研究补骨脂醇提物对大鼠内源性代谢产物的影响，从分子层面阐释了补骨脂的药效和毒性机制。通过对筛选出的 10 种内源性物质进行代谢通路分析，并与传统药理学检测结果及病理组织结果对比，认为其毒性可能与影响体内磷脂代谢、氨基酸代谢、嘌呤代谢以及抗氧化系统有关。

3.3 心脏毒性和中枢神经系统毒性

对心脏和中枢神经系统有严重损伤作用的天然产物的代表是乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx.。乌头为毛茛科植物，多年生草本植物。其主根入药，为川乌，侧根入药称附子。乌头可用于缓解关节疼痛和治疗风湿性疾病。然而，乌头治疗剂量的范围非常窄，导致其使用的风险很高。目前，乌头粗制品和加工制剂的代谢组学特征差异仍然不清楚，缺乏敏感和可靠的生物标志物。Wang 等^[67]应用 UPLC-Q-TOF-HDMS 结合模式识别分析了附子及其加工产品处理大鼠血浆中综合代谢特征和生物标志物的变化，结果表明附子可能导致严重的心脏毒性，并且表现出明显的时间和剂量依赖性，涉及鞘脂代谢、甘油磷脂代谢、氨酰-tRNA 生物合成和色氨酸代谢等途径。Cai 等^[68]用 3 种不同方法提取乌头并处理小鼠后，发现 14 种脂质代谢物为潜在的生物标志物，主要涉及磷脂代谢、鞘脂代谢、饱和脂肪酸氧化和不饱和脂肪酸过氧化。乌头的毒性主要是由二萜类生物碱乌头碱、新乌头碱和次乌头碱引起，Sun 等^[69]利用 $^1\text{H-NMR}$ 和 GC-TOF-MS 对乌头碱、新乌头碱和次乌头碱引起的 Wistar 大鼠的尿代谢变化进行了研究，结果显示乌头碱组代谢谱比新乌头碱组和次乌头碱组有更大的波动，说明这些生物碱所致急性毒性的机制可能并不相同。Dong 等^[70]通过 UPLC-Q-TOF-HDMS 进行尿代谢组学分析，并使用模式识别方法系统地分析代谢物的 MS 信号，确定了 17 种与川乌毒性相关的生物标志物，认为这些标志物与戊糖和葡萄糖醛酸相互转化，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等有关，并且发现 3 种药物（甘草、白芍和干姜）可以有效地降低川乌的毒性，说明代谢组学对于评估天然产物的毒性和寻找解毒方法具有极其重要的意义。

3.4 其他毒性和多脏器毒性

元胡（延胡索）主要引起细胞毒性和内脏刺激

性^[71]。采用 UPLC-MS 进行代谢组学研究发现, 14 种与氨基酸代谢、脂质代谢、碳水化合物代谢和肠道微生物相关的内源性代谢物在元胡处理大鼠尿液中发生显著变化。

甘遂 *Euphorbia kansui* T. N. Liou ex T. P. Wang 为大戟科大戟属的植物, 为中国的特有植物。其干燥根广泛用于治疗水肿、腹水和哮喘。但由于甘遂具有严重的毒副作用, 包括导致炎症和皮肤刺激, 其在临床应用中受到限制。有研究表明其可抑制三羧酸循环, 增加无氧酵解并促使氨基酸代谢紊乱^[72]。Tang 等^[73]研究认为甘遂诱导的内源性代谢产物的变化与糖酵解以及氨基酸和脂质代谢紊乱相关, 并且与其生化及病理变化相一致。

半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 属于天南星科药用植物, 具有燥湿化痰、降逆止呕、生用消痞肿的作用, 但也可引起舌麻木、肿胀、流涎、言语不清、炎症反应和肝损伤等毒副作用^[74]。凝集

素是半夏主要的毒性蛋白质。雄性大鼠按 6 g/(kg·d) 处理, 可观察到血清磷脂、氨基酸、左旋肉碱和左旋乙酰肉碱的含量变化, 表明半夏促使大鼠血液中磷脂代谢、氨基酸代谢和肉毒碱代谢紊乱^[75]; 在尿代谢组学研究中发现了 10 个生物标志物, 表明色氨酸、苯基-乙酰甘氨酸和泛酸代谢也发生了紊乱^[76]。

黄连 *Coptidis Rhizoma* 为常用清热解毒药。4 种黄连生物碱中小檗碱的毒性最大。黄连在正常剂量下是相对安全的, 但是大剂量时会产生毒性, 腹泻是常见的毒副作用, 已鉴定的生物标志物有乙酸、丙氨酸、甘氨酸和谷氨酸, 表明其可能破坏肠道微生物群的平衡, 导致腹泻^[77]。

此外, 代谢组学也为研究天然产物及其复方药物的毒理学研究提供了一个很好的平台, 如对雄黄、朱砂、补肺阿胶汤、牛黄解毒片及朱砂安神丸等药物的表征^[78-81]。其他相关研究情况见表 2~4。

表 2 单体成分诱导毒性的研究情况

Table 2 Study on induced toxicity of monomer components

单体成分	毒性	分析方法	样本类型	生物标志物	相关代谢路径	可能毒性机制
马兜铃酸 ^[82-84]	肾毒性	LC-MS	大鼠尿样	L-亮氨酸、肌酸、肌酸酐、D-丝氨酸、高半胱氨酸、L-天冬氨酸、腺苷、5-甲基-四氢叶酸、L-精氨酸、戊酸、辛酸、花生四烯酸、甲硫氨酸、氨基甲酰磷酸、马尿酸、精胺、苯乙酰甘氨酸、5-L-氟丁酰牛磺酸、胆酸、3-甲基二氧吡啶、柠檬酸、吡啶-3-羧酸、天冬氨酸、尿苷、牛磺酸、2,4-二羟基苯甲酸、4-羟基壬烯醛、富马酸盐、葡萄糖、对甲酚硫酸盐、尿酸、尿嘧啶、尿囊素、硫酸吡啶酚、对甲酚葡萄糖醛酸、犬尿酸、2-庚酮、乌头酸盐、乳糖、丝氨酸、柠檬酸	同型半胱氨酸形成、叶酸循环、花生四烯酸生物合成、三羧酸循环、肠道微生物代谢、氨基酸代谢、嘌呤代谢、胆汁酸生物合成、脂肪酸生成和能量代谢	通过非特异性阻断环氧合酶从花生四烯酸中抑制类花生四烯酸合成, 导致体积收缩状态下的血管收缩和可逆的轻度肾损伤
			大鼠肾组织	15 种磷脂酰胆碱、7 种溶血磷脂酰胆碱、6 种三酰甘油、4 种溶血磷脂酰乙醇胺、3 种磷脂酰乙醇胺、1 种神经酰胺	脂肪酸代谢、磷脂代谢和甘油酯代谢	
			大鼠肾血浆	胆汁酸、溶血磷脂酰胆碱 (LPC) (20:5)、LPC (20:4)、LPC (20:4) 和花生四烯酸	脂肪酸代谢与能量代谢	
				GC-MS	大鼠尿样	柠檬酸、乌头酸、异柠檬酸、琥珀酸、间羟基苯丙酸、对甲酚、对羟基苯乙酸酯、胱氨酸和半胱氨酸
		¹ H-NMR	大鼠尿样	缬氨酸、乙醇、乳酸、乙酸、琥珀酸、2-氧戊二酸、柠檬酸、肌酐、三甲胺诺酮 (TMAO)、甘氨酸、尿囊素、苯丙氨酸、亮氨酸、琥珀酸盐、 α -氧戊二酸、谷氨酰胺、硫酸、肌酸、胆碱、牛磺酸、葡萄糖和马尿酸盐	酮体代谢、氨基酸代谢、脂肪酸代谢、三羧酸循环和能量代谢	
蓖麻毒素 ^[85]	肾毒性和肺毒性	¹ H-NMR	大鼠尿样	亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸、乙醇、乳酸、丙氨酸、乙酸酯、琥珀酸、2-氧戊二酸、柠檬酸、二甲胺、三甲胺、二甲基甘氨酸、肌酸、肌酐、胆碱、磷胆碱、牛磺酸、甜菜碱、甘氨酸、尿素、尿囊素、炔酸、酪氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、海尿酸、甘氨酸和甲酸	能量代谢、氧化应激、氮代谢、氨基酸代谢和基诺宁代谢	将能量代谢从需氧状态转变为厌氧状态, 导致膜损伤, 引起细胞和细胞器破裂

续表 2

单体成分	毒性	分析方法	样本类型	生物标志物	相关代谢路径	可能毒性机制
			大鼠血清	亮氨酸、异亮氨酸、缬草碱、3-羟基丁酸、乳酸、丙氨酸、精氨酸、正乙酰糖蛋白、卵乙酰糖基蛋白、谷氨酸、谷氨酰胺、乙酰乙酸、丙酮酸、柠檬酸、半胱氨酸、肌酸、肌酐、胆碱、牛磺酸、甜菜碱、甘油酰胆碱、甘氨酸、葡萄糖、酪氨酸、三尖杉酯和甲酸		
雷公藤内酯 ^[86]	肝毒性与男性不孕	GC-MS	小鼠血清及睾丸组织	肌苷、腺苷、油酸、硬脂酸、十八碳二烯酸、吡啶-3-羧酸、花生四烯酸、棕榈酸、棕榈酸、七酸、二十碳五烯酸、尿酸、葡萄糖、丙酮酸、柠檬酸、丁二酸、3-羟基丁酸、富马酸	嘌呤代谢、能量代谢、线粒体β-氧化长链饱和脂肪酸、脂肪酸氧化、糖酵解、柠檬酸循环、丙酮酸盐代谢、柠檬酸循环和酮体代谢	左旋卡尼汀及其衍生物降低睾丸组织中蛋白质表达及1-肉碱及其衍生物浓度异常
茺花酯戊 ^[87]	细胞毒性和刺激性	LC-MS	大鼠尿样	同型半胱氨酸、吡啶-3-羧酸、色氨酸脯氨酸、3-甲基二氧吡啶、5-谷氨酰牛磺酸、2-氧精氨酸、高瓜氨酸、花生四烯酸乙酯、C ₁₆ 鞘氨酸、马尿酸、葡萄糖醛酸、1-磷酸、苯基乙酰甘氨酸、对甲酚和丙氨酸-1-苯丙氨酸	氨基酸代谢、脂类代谢、碳水化合物代谢和脂肪酸代谢	

表 3 中药提取物诱导毒性研究情况

Table 3 Study on induced toxicity of Chinese materia medica extracts

中药提取物	毒性	来源	分析方法	样本类型	生物标志物	相关代谢路径	可能毒性机制
关木通 ^[88-89]	中毒性肾损害	马兜铃干燥藤茎	¹ H-NMR	大鼠尿样	TMAO、牛磺酸、肌酐、柠檬酸、甜菜碱、乙酸和丙氨酸	能量代谢、三羧酸循环、氨基酸代谢和糖酵解	与马兜铃酸相同的毒性机制
广防己 ^[90-91]	中毒性肾损害	马兜铃干燥根	¹ H-NMR	大鼠尿样	柠檬酸、2-氧戊二酸、丁二酸、牛磺酸、马尿酸、葡萄糖、N-乙酰糖蛋白、醋酸、TMAO、肌酸和肌酐	不饱和脂肪酸代谢、能量代谢、氨基酸代谢、三羧酸循环和糖酵解	与马兜铃酸相同的毒性机制
				大鼠血清	葡萄糖、3-羟基丁酸、低密度脂蛋白 (LDL) / 极低密度脂蛋白 (VLDL)、乙酰乙酸、丙酮、肌酐-N-乙酰基-L-半胱氨酸、丙氨酸		
雄黄 ^[92]	中毒性肾损害	矿石晶体(超过 90% 为 As ₄ S ₄)	LC-MS	大鼠尿样	1-甲基腺苷、3-甲基尿苷、共比例吡啶、肌酸、马尿酸、肌苷、苦参碱、蛋氨酸、正乙酰-1-蛋氨酸、纹股蓝、色氨酸、丝氨酸、柠檬酸、十碳二酸、D-葡萄糖醛酸-1-磷酸、葡萄糖酸、乳酸二聚体、甘露醇、4-乙酰胞苷、泛酸、苯基葡萄糖醛酸、牛磺酸、黄原酸和 α-酮戊二酸	腺嘌呤代谢、RNA 生物合成、吡啶代谢、甘氨酸和丝氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、嘌呤代谢、色氨酸代谢、蛋氨酸代谢、烟酸代谢、丙氨酸代谢、柠檬酸循环、脂肪酸氧化、葡萄糖醛酸氧化、葡萄糖氧化、丙酮酸代谢、脂肪醇代谢、转移 RNA 降解、泛酸代谢、辅酶 a 生物合成和胆汁酸生物合成	
朱砂 ^[93]	肝毒性	超过 96% 的硫化汞 (HgS)	¹ H-NMR	大鼠尿样	柠檬酸、琥珀酸、2-氧戊二酸、三甲基-N-氧化物, 二甲基胺, 二甲基甘氨酸、肌酸、牛磺酸、苯乙酰甘氨酸、海狗酸、甲酸甲酯、乙酸酯、乙酰乙酸酯	能量代谢、氧化应激与氨基酸代谢	汞中毒: 与蛋白质巯基形成稳定复合物并引起酶功能改变
				大鼠血清	亮氨酸、异亮氨酸、缬草碱、丙氨酸、3-羟基丁酸、乙酰乙酸、乙酸酯、乳酸、丙酮酸、谷氨酰胺、肌酸、胆碱、磷胆碱、三甲基-N-氧化物、α-葡萄糖和 LDL/VLDL		

续表 3

中药提取物	毒性	来源	分析方法	样本类型	生物标志物	相关代谢路径	可能毒性机制
砒霜 ^[94]	肝毒性	As ₂ O ₃	¹ H-NMR	人尿	1-甲基组氨酸、苯丙氨酸、脂质（主要是 LDL） LDL/VLDL、脂质（主要是 VLDL）LDL/VLDL、 苯丙氨酸、酪氨酸、谷氨酸和不饱和脂肪酸	氨基酸代谢、脂肪酸代谢与脂质 代谢	砷中毒
乌头母 根 ^[95-96]	心脏毒性和 中枢神经 系统毒性	乌头母根	LC-MS	大鼠尿样	5-羟基-6-甲氧基吗啡葡萄糖醛酸酯、4, 6-二羟基喹 啉、5-L-谷氨酰牛磺酸、7-去氢孕烯醇酮、甘油、 葡萄糖醛酸、3-甲基二氧吗啡、苯基丙二酰-L-羟脯 氨酸、丁烯基琥珀酸、GDP-L-岩藻糖、4-(2-氨基-3- 羟基苯基)-2,4-二氧丁酸、N-乙酰基-9-O-乙酰神经 氨酸、棕榈酰葡萄糖醛酸、3-吡啶羧酸、3-氧十 六烷酸、2-苯乙醇葡萄糖醛酸酯酸性 1-磷酸（16： 0）、LPC（20：4）、LPC（18：0）、LPC（18：2）、 LPC（18：1）、LPC（22：5）、色氨酸与植物鞘苷	戊糖和葡萄糖相互转换、丙氨 酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、 淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核 苷酸代谢、嘌呤代谢、色氨 酸代谢、牛磺酸和次牛磺酸代 谢、果糖和甘露糖代谢、脂肪 酸代谢	刺激迷走神经系统， 导致房室传导阻滞 和症状性心动过 缓，并通过干扰钠 通道引起心律失常
蟾酥 ^[97]	心脏毒性和 中枢神经 系统毒性	中华蟾蜍耳 廓和皮肤 腺的干燥 分泌物	¹ H-NMR	大鼠血清 大鼠心肌 提取物 大鼠肝提 取物	3-羟丁酸、丙氨酸、肌酸、乳酸、亮氨酸/异亮氨酸、 精氨酸、丙酮、正乙酰糖蛋白、谷氨酸、LDL/VLDL、 柠檬酸、谷氨酰胺、戊氨酸、甘油、牛磺酸、甜菜 碱和葡萄糖 富马酸、赖氨酸、肌酸、甲醇、牛磺酸、戊氨酸、谷氨 酸、酪氨酸、肌苷、琥珀酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、 丙氨酸、亮氨酸/异亮氨酸、苯丙氨酸、次黄嘌呤、谷 胱甘肽、3-羟基丁鼠、谷氨酰胺、乳酸、甘油、尼西 酰胺、胆碱、环磷酸腺苷（cAMP）、甜菜碱和葡萄糖 甘油、谷胱甘肽、谷氨酰胺、葡萄糖、甜菜碱、肌酸、 烟酰胺、牛磺酸、次黄嘌呤、谷氨酸、酪氨酸、乳 酸、肌苷、赖氨酸、戊氨酸、甘氨酸、亮氨酸/异 亮氨酸、黄嘌呤、丙氨酸、琥珀酸盐、甲醇、尿苷、 3-羟基丁酸和胆碱	氧化应激、线粒体功能障碍、能 量代谢、鞘脂代谢、饱和脂肪 酸氧化和不饱和脂肪酸过氧化	
半夏三叶 草 ^[98]	肝肾病变,舌 头麻木、肿 胀、流涎、 言语不清、 炎症反应 和肝损伤	半夏的干 燥根	LC-MS	大鼠血清 大鼠尿样	左旋肉碱、L-乙酰肉碱、色氨酸、LPC（18：2）、LPC （34：2）、LPC（36：5）、LPC（36：4） 苯乙酰甘氨酸、脱氧胞苷、苯乙醛、十三酰甘氨酸、 犬尿嘧啶酸、黄尿酸、泛酸、大豆苷元、肌酐和辛 酰基葡萄糖苷酸	磷脂代谢/氨基酸代谢和肉碱 代谢 色氨酸代谢、苯乙酰甘氨酸代谢 和泛酸代谢	
黄连 ^[99]	腹泻	干黄连的根	¹ H-NMR 和 GC- MS	大鼠血清 大鼠尿液	丙氨酸、L-脯氨酸、甘氨酸、异喹啉、丝氨酸、谷氨 酸、L-鸟氨酸和 D-葡萄糖 2-酮异戊酸、乳酸、丙氨酸、乙酸、N-乙酰糖蛋白、 谷氨酸、三甲胺、肌酸、苯乙酰胺、马尿酸盐、胡 芦巴碱和甲酸盐	能量代谢、氨基酸代谢、脂质代 谢和脂肪酸代谢	正常肠道微生物群的 干扰

表 4 中药复方诱导毒性研究情况

Table 4 Study on induced toxicity of compound prescription

中药复方	毒性	分析方法	样本类型	生物标志物	相关代谢路径	可能毒性机制
补肺阿胶汤 ^[100]	肾毒性	HPLC 和 ¹ H-NMR	小鼠尿样	肌酸、甘氨酸、肌酐、TMAO、缬氨酸、马尿酸盐、二甲胺 (DMG)、柠檬酸盐、乳酸、丙氨酸、葡萄糖、富马酸盐和甲酸盐	能量代谢与氨基酸代谢	马兜铃酸的毒性机制
牛黄解毒片 ^[101]	肾毒性	¹ H-NMR	大鼠尿样	亮氨酸、异亮氨酸、3-羟基丁酸酯、乳酸、丙氨酸、乙酸酯、丙酮酸、2-氧葡萄糖酸盐、柠檬酸盐、肌酸、胆碱、牛磺酸、三甲胺-N-氧化物、甜菜碱、肌酸、苯丙氨酸、马尿酸和亮氨酸/异亮氨酸	能量代谢、氨基酸代谢、脂质代谢与脂肪酸代谢	雄黄同样的毒性机制
			大鼠血清	肌酸、胆碱、三甲胺-N-氧化物、亮氨酸/异亮氨酸、缬氨酸、乳酸盐、丙氨酸、乙酸盐、丙酮酸盐和 2-氧代戊二酸盐		

4 结语

天然产物目前并没有被临床及主流医药市场普遍接受，原因之一是其药理理论与现代医学并不相同且作用机制也模糊不清，还有一个重要原因是其药理活性与毒性并存，有些毒性甚至大于其药理作用。动物实验以及体外细胞实验方法在毒理学研究中虽然很常见，但方法单一，观察指标局限，而代谢组学可以将实验剂量降低至接近人类日常暴露水平，进一步提高种属间外推的准确性，有助于阐明化合物在药效和毒性方面的种属特异性反应。代谢组学可用于分析人体黑箱中产生的代谢物的变化，并分析和判断疾病相关组分的共性，这有助于更好地了解疾病过程中体内物质代谢途径的变化以及代谢条件的波动。而且代谢组学可以更准确、更全面地反映机体生理状态的整体和动态变化，这一点是以往任何一种生物化学检测方法都做不到的。系统生物学方法中的代谢组学是适合多组分理论整体概念的一种最佳选择，其特点是全局生物学和功能状态的终点放大。利用代谢组学技术对药物进行毒理学研究可快速、有效地分析其多种代谢途径，帮助定位靶组织并确定副作用的程度，找出相应的生物标志物，大大缩短药物毒性研究的周期。当然，代谢组学方法也存在一些问题，如代谢组学的结果很难与其他实验结果建立直接联系。而且，目前的方法远远不能满足检测细胞、组织或器官中全部代谢物的代谢组学的最终目标，仍需要开发有前景的分析方法来处理天然产物的毒理学研究中的问题。

另一些只含有有毒成分的天然产物，毒性更大，

如河豚、毒蘑菇、豆角、贝、螺类等，也经常由于误服或者摄入量过大而发生急性中毒事件，但对于这些物质的毒性作用机制的研究更加模糊。目前，代谢组学在天然产物毒理学上应用广泛^[102]，而在天然毒性物质急性中毒方面尚处于初级阶段，且随着越来越多的临床医生将重点放在代谢组学上，毒理代谢组学数据库的整合在未来可以逐步完善，收集中毒后的差异代谢物，并研究不同时间段不同毒物剂量的代谢特征。同时，可以分析和改进实验方法，提高灵敏度，开发数据分析方法和整合不同实验方法获得的数据，逐渐将代谢组学的应用发展到临床实践，如天然物质急性中毒的诊断、预测和预后。

参考文献

- [1] Lv Y, Liu X, Yan S, *et al.* Metabolomic study of myocardial ischemia and intervention effects of Compound Danshen Tablets in rats using ultra-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(1): 129-135.
- [2] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [3] Aa J, Wang G, Hao H, *et al.* Differential regulations of blood pressure and perturbed metabolism by total ginsenosides and conventional antihypertensive agents in spontaneously hypertensive rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(8): 930-937.
- [4] Town C. *Functional Genomics* [M]. Dordrecht: Springer

- Netherlands, 2002.
- [5] Robertson D G. Metabonomics in toxicology: A review [J]. *Toxicol Sci*, 2005, 85(2): 809-822.
- [6] Weckwerth W, Kahl G. *The Handbook of Plant Metabolomics* [M]. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013.
- [7] Gowda G N, Zhang S, Gu H, *et al.* Metabolomics-based methods for early disease diagnostics [J]. *Exp Rev Mol Diagn*, 2008, 8(5): 617-633.
- [8] Koek M M, Jellema R H, van der Greef J, *et al.* Quantitative metabolomics based on gas chromatography mass spectrometry: Status and perspectives [J]. *Metabolomics*, 2011, 7(3): 307-328.
- [9] Skoog D A, Holler F J, Crouch S R. *Principles of Instrumental Analysis* [M]. Boston: Cengage Learning, 2017.
- [10] Wilson I D, Plumb R, Granger J, *et al.* HPLC-MS-based methods for the study of metabonomics [J]. *J Chromatogr B*, 2005, 817(1): 67-76.
- [11] Wei R, Li G, Seymour A B. High-throughput and multiplexed LC/MS/MS method for targeted metabolomics [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(13): 5527-5533.
- [12] Yuan M, Breitkopf S B, Yang X, *et al.* A positive/negative ion-switching, targeted mass spectrometry-based metabolomics platform for bodily fluids, cells, and fresh and fixed tissue [J]. *Nature Protocols*, 2012, 7(5): 872.
- [13] Villas-Bôas S G, Delicado D G, Akesson M, *et al.* Simultaneous analysis of amino and nonamino organic acids as methyl chloroformate derivatives using gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 2003, 322(1): 134-138.
- [14] Kitson F G, Larsen B S, McEwen C N. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide* [M]. Salt Lake: Academic Press, 1996.
- [15] Sato S, Soga T, Nishioka T, *et al.* Simultaneous determination of the main metabolites in rice leaves using capillary electrophoresis mass spectrometry and capillary electrophoresis diode array detection [J]. *Plant J*, 2004, 40(1): 151-163.
- [16] Lenz E M, Bright J, Knight R, *et al.* Metabonomics with 1H-NMR spectroscopy and liquid chromatography-mass spectrometry applied to the investigation of metabolic changes caused by gentamicin-induced nephrotoxicity in the rat [J]. *Biomarkers*, 2005, 10(2/3): 173-187.
- [17] Gao D, Wei H, Guo G, *et al.* Microfluidic cell culture and metabolism detection with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometer [J]. *Anal Chem*, 2010, 82(13): 5679-5685.
- [18] Nielsen J, Jewett M C. *Metabolomics: A Powerful Tool in Systems Biology* [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- [19] van den Berg R A, Hoefsloot H C, Westerhuis J A, *et al.* Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data [J]. *BMC Genom*, 2006, 7(1): 142.
- [20] Lindon J C, Nicholson J K, Holmes E, *et al.* Summary recommendations for standardization and reporting of metabolic analyses [J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(7): 833.
- [21] Broadhurst D I, Kell D B. Statistical strategies for avoiding false discoveries in metabolomics and related experiments [J]. *Metabolomics*, 2006, 2(4): 171-196.
- [22] 杜智, 刘树业, 刘运德. 临床代谢组学 [M]. 天津: 天津科技翻译出版有限公司, 2013.
- [23] Tsai D M, Kang J J, Lee S S, *et al.* Metabolomic analysis of complex chinese remedies: Examples of induced nephrotoxicity in the mouse from a series of remedies containing aristolochic acid [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2013, 2013: 263757.
- [24] Makowski G S. *Advances in Clinical Chemistry* [M]. Amsterdam: Elsevier, 2014.
- [25] Zhang X, Wu H, Liao P, *et al.* NMR-based metabonomic study on the subacute toxicity of aristolochic acid in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, 44(7): 1006-1014.
- [26] Chen M, Su M, Zhao L, *et al.* Metabonomic study of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rats [J]. *J Proteome Res*, 2006, 5(4): 995-1002.
- [27] Zhao Y Y, Tang D D, Chen H, *et al.* Urinary metabolomics and biomarkers of aristolochic acid nephrotoxicity by UPLC-QTOF/MS [J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(6): 685-700.
- [28] Chan W, Cai Z. Aristolochic acid induced changes in the metabolic profile of rat urine [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46(4): 757-762.
- [29] Ni Y, Su M, Qiu Y, *et al.* Metabolic profiling using combined GC-MS and LC-MS provides a systems understanding of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rat [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(4): 707-711.
- [30] Chen M, Su M, Zhao L, *et al.* Metabonomic study of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rats [J]. *J Proteome Res*, 2006, 5(4): 995-1002.
- [31] Hu X, Shen J, Pu X, *et al.* Urinary time-or dose-dependent metabolic biomarkers of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rats [J]. *Toxicol Sci*, 2017, 156(1): 123-132.
- [32] Liu X, Liu Y, Cheng M, *et al.* Acute nephrotoxicity of aristolochic acid *in vitro*: Metabolomics study for intracellular metabolic time-course changes [J]. *Biomarkers*, 2016, 21(3): 233-242.
- [33] Zhao Y, Wang H, Cheng X, *et al.* Metabolomics analysis reveals the association between lipid abnormalities and oxidative stress, inflammation, fibrosis, and Nrf2 dysfunction in aristolochic acid-induced nephropathy [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12936.
- [34] Chen H, Cao G, Chen D, *et al.* Metabolomics insights into

- activated redox signaling and lipid metabolism dysfunction in chronic kidney disease progression [J]. *Redox Bioly*, 2016, 10: 168-178.
- [35] Michl J, Bello O, Kite G C, *et al.* Medicinally used asarum species: High-Resolution LC-MS analysis of aristolochic acid analogs and *in vitro* toxicity screening in HK-2 cells [J]. *Frontiers Pharmacol*, 2017, 8: 215.
- [36] Guo P, Wang J, Dong G, *et al.* NMR-based metabolomics approach to study the chronic toxicity of crude ricin from castor bean kernels on rats [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(9): 2426-2440.
- [37] Ma C, Bi K, Su D, *et al.* Serum and kidney metabolic changes of rat nephrotoxicity induced by morning glory seed [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(10): 2988-2993.
- [38] Ma C, Bi K, Zhang M, *et al.* Metabonomic study of biochemical changes in the urine of morning glory seed treated rat [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 53(3): 559-566.
- [39] Yu Y, Ma C, Bi K, *et al.* A metabonomic analysis of urine from rats treated with rhizoma alismatis using ultra-performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2011, 25(18): 2633-2640.
- [40] Gu L, Wang X, Liu Z, *et al.* A study of *Semen Strychni*-induced renal injury and herb-herb interaction of *Radix Glycyrrhizae* extract and/or *Rhizoma Ligustici* extract on the comparative toxicokinetics of strychnine and brucine in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 68: 226-233.
- [41] Gu L, Hou P, Zhang R, *et al.* An analytical strategy to investigate semen strychni nephrotoxicity based on simultaneous HILIC-ESI-MS/MS detection of semen strychni alkaloids, tyrosine and tyramine in HEK 293t cell lysates [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1033: 157-165.
- [42] Gu L, Wang X, Zhang Y, *et al.* Determination of 12 potential nephrotoxicity biomarkers in rat serum and urine by liquid chromatography with mass spectrometry and its application to renal failure induced by *Semen Strychni* [J]. *J Sep Sci*, 2014, 37(9/10): 1058-1066.
- [43] Dong G, Wang J, Guo P, *et al.* Toxicity assessment of *Arisaematis Rhizoma* in rats by a (1) H NMR-based metabolomics approach [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(2): 407-417.
- [44] Hou P Y, Bi K S, Geng L L, *et al.* Toxic effects of *Euphorbia pekinensis* Rupr. and development of a validated UPLC/MS/MS method for profiling of urine metabolic changes [J]. *Anal Methods*, 2013, 5(4): 953-960.
- [45] Canter P H, Lee H S, Ernst E. A systematic review of randomised clinical trials of *Tripterygium wilfordii* for rheumatoid arthritis [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13(5): 371-377.
- [46] Bao J, Dai S. A Chinese herb *Tripterygium wilfordii* Hook f. in the treatment of rheumatoid arthritis: Mechanism, efficacy, and safety [J]. *Rheumatol Int*, 2011, 31(9): 1123-1129.
- [47] Xue M, Jiang Z, Wu T, *et al.* Anti-inflammatory effects and hepatotoxicity of *Tripterygium*-loaded solid lipid nanoparticles on adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(11): 998-1006.
- [48] Xue M, Zhao Y, Li X, *et al.* Comparison of toxicokinetic and tissue distribution of triptolide-loaded solid lipid nanoparticles vs free triptolide in rats [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47(4): 713-717.
- [49] Zhou J, Xi C, Wang W, *et al.* Autophagy plays an important role in triptolide-induced apoptosis in cardiomyocytes [J]. *Toxicol Lett*, 2015, 236(3): 168-183.
- [50] Chen M, Ni Y, Duan H, *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.
- [51] Aa J, Shao F, Wang G, *et al.* Gas chromatography time-of-flight mass spectrometry based metabolomic approach to evaluating toxicity of triptolide [J]. *Metabolomics*, 2011, 7(2): 217-225.
- [52] Ma B, Qi H, Li J, *et al.* Triptolide disrupts fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) levels in male mice testes followed by testicular injury: A GC-MS based metabolomics study [J]. *Toxicology*, 2015, 336: 84-95.
- [53] Xue L, Zhang Q, Han P, *et al.* Hepatotoxic constituents and toxicological mechanism of *Xanthium strumarium* L. fruits [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 152(2): 272-282.
- [54] Lu F, Cao M, Wu B, *et al.* Urinary metabonomics study on toxicity biomarker discovery in rats treated with *Xanthii Fructus* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(1): 311-320.
- [55] Zhang T D. Treatment of acute granulocytic leukemia with “Ai ling No. 1”——Clinical analysis and experimental research [J]. *Chin J Modern Dev Tradit Med*, 1984, 4(1): 19.
- [56] Tilg H, Moschen A R. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: The multiple parallel hits hypothesis [J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1836-1846.
- [57] Lu K, Abo R P, Schlieper K A, *et al.* Arsenic exposure perturbs the gut microbiome and its metabolic profile in mice: an integrated metagenomics and metabolomics analysis [J]. *Environm Health Perspect*, 2014, 122(3): 284.
- [58] Shi X, Wei X, Koo I, *et al.* Metabolomic analysis of the effects of chronic arsenic exposure in a mouse model of diet-induced fatty liver disease [J]. *J Proteome Res*, 2013, 13(2): 547-554.

- [59] Garcia-Sevillano M A, Garcia-Barrera T, Navarro F, *et al.* Analysis of the biological response of mouse liver (mus musculus) exposed to As₂O₃ based on integrated-omics approaches [J]. *Metallomics*, 2013, 5(12): 1644-1655.
- [60] García-Sevillano M A, Contreras-Acuna M, García-Barrera T, *et al.* Metabolomic study in plasma, liver and kidney of mice exposed to inorganic arsenic based on mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(5): 1455-1469.
- [61] Feng J, Hao G, Min C, *et al.* Metabonomics of liver toxicity from traditional Chinese medicine Huang-Yao-Zi studied by mass spectrum-based orthogonal projection method [J]. *Chemom Intellig Lab Syst*, 2014, 135: 201-207.
- [62] Liu Y, Huang R, Liu L, *et al.* Metabonomics study of urine from Sprague-Dawley rats exposed to Huang-yao-zi using 1H NMR spectroscopy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(1): 136-141.
- [63] Feng J, Hao G, Min C, *et al.* Metabonomics of liver toxicity from traditional Chinese medicine Huang-Yao-Zi studied by mass spectrum-based orthogonal projection method [J]. *Chemom Intellig Lab Syst*, 2014, 135: 201-207.
- [64] 邱蓉丽, 李 磷, 乐 巍. 补骨脂的化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中药材*, 2010, 33(10): 1656-1659.
- [65] 胡 超. 基于代谢组学的补骨脂安全性评价及补骨脂酚的体内代谢研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2016.
- [66] 胡 超, 汤响林, 李 杰, 等. 补骨脂醇提物对大鼠尿内源性代谢产物的影响 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2015, 29(6): 931-938.
- [67] Wang X, Wang H, Zhang A, *et al.* Metabolomics study on the toxicity of aconite root and its processed products using ultraperformance liquid-chromatography/electrospray-ionization synapt high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and ingenuity pathways analysis [J]. *J Proteome Res*, 2012, 11(2): 1284-1301.
- [68] Cai Y, Gao Y, Tan G, *et al.* Myocardial lipidomics profiling delineate the toxicity of traditional Chinese medicine *Aconiti Lateralis Radix* praeparata [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(2): 349-356.
- [69] Sun B, Li L, Wu S, *et al.* Metabolomic analysis of biofluids from rats treated with *Aconitum* alkaloids using nuclear magnetic resonance and gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 2009, 395(2): 125-133.
- [70] Dong H, Zhang A, Sun H, *et al.* Ingenuity pathways analysis of urine metabolomics phenotypes toxicity of Chuanwu in Wistar rats by UPLC-Q-TOF-HDMS coupled with pattern recognition methods [J]. *Mol Biosyst*, 2012, 8(4): 1206-1221.
- [71] Zhan Z, Fan C, Ding J, *et al.* Novel diterpenoids with potent inhibitory activity against endothelium cell HMEC and cytotoxic activities from a well-known TCM plant *Daphne genkwa* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13(3): 645-655.
- [72] Tang B, Ding J, Wu F, *et al.* ¹H-NMR-based metabolomics study of the urinary biochemical changes in Kansui treated rat [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1): 134-142.
- [73] Tang B, Ding J, Yang Y, *et al.* Systems biochemical responses of rats to Kansui and vinegar-processed Kansui exposure by integrated metabolomics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(2): 511-520.
- [74] Ji X, Huang B, Wang G, *et al.* The ethnobotanical, phytochemical and pharmacological profile of the genus *Pinellia* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 93: 1-17.
- [75] Zhang Z, Zhao Y, Cheng X, *et al.* General toxicity of *Pinellia ternata* (Thunb.) Berit. in rat: A metabolomic method for profiling of serum metabolic changes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(1): 303-310.
- [76] Zhang Z, Zhao Y, Cheng X, *et al.* Metabonomic study of biochemical changes in the rat urine induced by *Pinellia ternata* (Thunb.) Berit. [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, 85: 186-193.
- [77] Zhou Y, Liao Q, Lin M, *et al.* Combination of (1)H NMR-and GC-MS-based metabolomics to study on the toxicity of *Coptidis Rhizome* in rats [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88281.
- [78] Wei L, Liao P, Wu H, *et al.* Metabolic profiling studies on the toxicological effects of realgar in rats by ¹H-NMR spectroscopy [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 234(3): 314-325.
- [79] Fan G, Zhou L, Lai X R, *et al.* Discussion on the investigation idea of quality control of Chinese materia medica based on metabolomics technology [J]. *World Sci Technol*, 2010, 12(6): 870-875.
- [80] Xu W, Wang H, Chen G, *et al.* A metabolic profiling analysis of the acute toxicological effects of the realgar (As₂S₂) combined with other herbs in Niu Huang Jiedu Tablet using 1H NMR spectroscopy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 771-781.
- [81] Wang H, Bai J, Chen G, *et al.* A metabolic profiling analysis of the acute hepatotoxicity and nephrotoxicity of Zhusha Anshen Wan compared with cinnabar in rats using ¹H NMR spectroscopy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(2): 572-580.
- [82] Ni Y, Su M, Qiu Y, *et al.* Metabolic profiling using combined GC-MS and LC-MS provides a systems understanding of aristolochic acid-induced nephrotoxicity in rat [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(4): 707-711.
- [83] Chan W, Lee K C, Liu N, *et al.* Liquid chromatography/mass spectrometry for metabonomics investigation of the biochemical effects induced by

- aristolochic acid in rats: the use of information-dependent acquisition for biomarker identification [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, 22(6): 873-880.
- [84] Zhao Y, Tang D, Chen H, *et al.* Urinary metabolomics and biomarkers of aristolochic acid nephrotoxicity by UPLC-QTOF/HDMS [J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(6): 685-700.
- [85] Guo P, Wang J, Dong G, *et al.* NMR-based metabolomics approach to study the chronic toxicity of crude ricin from castor bean kernels on rats [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(9): 2426-2440.
- [86] Ma B, Qi H, Li J, *et al.* Triptolide disrupts fatty acids and peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) levels in male mice testes followed by testicular injury: A GC-MS based metabolomics study [J]. *Toxicology*, 2015, 336: 84-95.
- [87] Chen Y, Duan J, Guo J, *et al.* Yuanhuapine-induced intestinal and hepatotoxicity were correlated with disturbance of amino acids, lipids, carbohydrate metabolism and gut microflora function: A rat urine metabolomic study [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1026: 183-192.
- [88] 赵剑宇, 颜贤忠, 彭双清. 利用代谢组学技术研究中药关木通的肾毒性作用 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2007, 9(5): 54-59.
- [89] 赵剑宇, 颜贤忠, 彭双清. 关木通肾毒性的代谢组学研究 [J]. 中草药, 2006, 37(5): 725-730.
- [90] 梁琦, 倪诚, 颜贤忠, 等. 广防己、粉防己的肝肾毒性及代谢组学比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(21): 2882-2887.
- [91] 梁琦, 倪诚, 谢鸣, 等. 广防己的肾毒性及代谢组学研究 [J]. 中西医结合学报, 2009, 7(8): 746-752.
- [92] Huang Y, Tian Y, Li G, *et al.* Discovery of safety biomarkers for realgar in rat urine using UFLC-IT-TOF/MS and ¹H-NMR based metabolomics [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2013, 405(14): 4811-4822.
- [93] Wei L, Liao P, Wu H, *et al.* Toxicological effects of cinnabar in rats by NMR-based metabolic profiling of urine and serum [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 227(3): 417-429.
- [94] Shi X, Wei X, Koo I, *et al.* Metabolomic analysis of the effects of chronic arsenic exposure in a mouse model of diet-induced fatty liver disease [J]. *J Proteome Res*, 2013, 13(2): 547-554.
- [95] Dong H, Zhang A, Sun H, *et al.* Ingenuity pathways analysis of urine metabolomics phenotypes toxicity of Chuanwu in Wistar rats by UPLC-Q-TOF-HDMS coupled with pattern recognition methods [J]. *Mol Biosyst*, 2012, 8(4): 1206-1221.
- [96] Wang X, Wang H, Zhang A, *et al.* Metabolomics study on the toxicity of aconite root and its processed products using ultraperformance liquid-chromatography/electrospray-ionization synapt high-definition mass spectrometry coupled with pattern recognition approach and ingenuity pathways analysis [J]. *J Proteome Res*, 2011, 11(2): 1284-1301.
- [97] Dong G, Wei D, Wang J, *et al.* Study of the cardiotoxicity of Venenum Bufonis in rats using an ¹H NMR-based metabolomics approach [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e119515.
- [98] Zhang Z, Zhao Y, Cheng X, *et al.* General toxicity of *Pinellia ternata* (Thunb.) Berit. in rat: A metabolomic method for profiling of serum metabolic changes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(1): 303-310.
- [99] Zhou Y, Liao Q, Lin M, *et al.* Combination of ¹H-NMR- and GC-MS-based metabolomics to study on the toxicity of *Coptidis Rhizome* in rats [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88281.
- [100] Tsai D, Kang J, Lee S, *et al.* Metabolomic analysis of complex Chinese remedies: Examples of induced nephrotoxicity in the mouse from a series of remedies containing aristolochic acid [J]. *Evidence-Based Compl Alternat Med*, 2013, 2013: 263757.
- [101] Xu W, Wang H, Chen G, *et al.* ¹H-NMR-based metabolomics study on the toxicity alleviation effect of other traditional Chinese medicines in Niu Huang Jiedu tablet to realgar (As₂S₂) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(1): 88-98.
- [102] Zhang P J, Li Y M, Zhang Y N, *et al.* Application and prospect of toxicity quality markers of traditional Chinese medicine based on metabolomics [J]. *Chin Herb Med*, 2018, 10(2): 108-115.