

• 综 述 •

代谢组学在中药肾毒性研究中的应用进展

何天目¹, 张建永^{3*}, 李晓飞^{1,2*}

1. 遵义医科大学基础医学院, 贵州 遵义 563000

2. 遵义医科大学 贵州省普通高等学校特色药物肿瘤防治重点实验室, 贵州 遵义 563000

3. 遵义医科大学药学院, 贵州 遵义 563000

摘 要: 中药的肾毒性问题不容忽视, 需要进行有效监测与防治。目前, 生化及病理指标检测是最主要的研究手段, 但存在灵敏度差、有创伤等问题。近年来, 代谢组学因其系统性优势在中药肾毒性研究中展现出广阔的应用前景, 且已取得一系列成果。然而要实现研究成果的临床转化, 仍需要进行大样本临床研究的进一步证实。对目前代谢组学应用于中药肾毒性的药效学、生物标志物及毒理机制等方面的研究现状进行总结, 以期对中药肾毒性研究提供参考。

关键词: 代谢组学; 中药; 肾毒性; 生物标志物; 作用机制

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)16-3962-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.16.032

Application progress on metabolomics in nephrotoxicity of Chinese materia medica

HE Tian-mu¹, ZHANG Jian-yong³, LI Xiao-fei^{1,2}

1. Basic Medicine School, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

2. Guizhou Provincial College-based Key Lab for Tumor Prevention and Treatment with Distinctive Medicines, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

3. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

Abstract: The nephrotoxicity of Chinese materia medica (CMM) can't be ignored so that it needs effective monitor and prevention. Recently, the determination of biochemistry and pathology indexes is the most important means of research with low sensitivity and trauma. In recent years, metabolomics has shown broad prospects in CMM nephrotoxicity studies due to its systematic advantages, and also achieved remarkable success. However, large clinical sample studies are still needed to realize the clinical transformation of research results. Thus, the application of metabolomics in the toxicology, assessment biomarkers and mechanism of CMM nephrotoxicity are reviewed in this paper, in order to provide references for further research.

Key words: metabolomics; Chinese materia medica; nephrotoxicity; biomarker; mechanism

中药作为中医药的重要组成部分, 在治疗和预防疾病中发挥着重要作用。然而, 中药被发现可导致不同程度的不良反应, 如中药的肾毒性, 且已受到社会的广泛关注, 成为制约中药发展的重要因素^[1]。但中药肾毒性监测缺乏安全、灵敏、高效的技术体系, 亟需新兴技术的引入发展, 此外毒理机制研究也需要多学科交叉融合。代谢组学 (metabolomics) 是新近兴起组学技术的重要分支^[2], 其基于内源性代谢物的整体研究策略, 与中药“多组分、多靶点、整

体调节”的作用特点相吻合, 且在毒性标志物发现及毒性评价方面具有独到优势。近年来, 代谢组学已广泛应用于中药的药效学、作用机制、配伍规律及质量控制等研究领域, 为中药现代化研究提供了新的思路, 同时为探究中药肾毒性提供了新的策略^[3]。

1 代谢组学技术平台

目前, 代谢组学研究主要包括生物样品采集、代谢组学检测、数据处理及生物信息学分析 4 个方面 (图 1), 其采用的核心分析技术有核磁共振

收稿日期: 2019-04-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81760746); 国家自然科学基金青年基金项目 (81803838); 贵州省教育厅科技拔尖人才支持项目 (黔教合 KY 字 [2017] 078); 贵州省科技厅联合基金项目 (黔科合 LH [2015] 7032); 贵州省国内一流学科建设 (药学) (YLXKJS-YS-05)

作者简介: 何天目, 男, 硕士, 从事医学昆虫资源开发与利用。E-mail: 263582857@qq.com

***通信作者** 张建永, 男, 博士, 副教授, 从事中药系统生物学研究。E-mail: zhangjianyong2006@126.com

李晓飞, 男, 博士, 教授, 从事医学昆虫资源开发与利用。E-mail: lixiaofei35@gmail.com

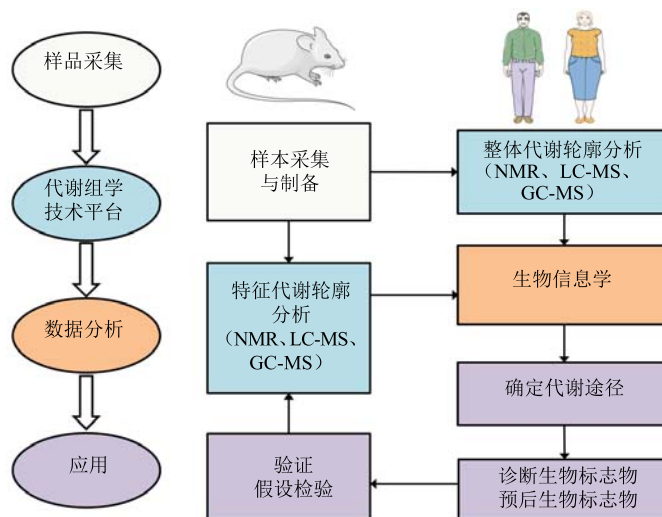


图 1 代谢组学研究流程

Fig. 1 Research process of metabolomics

(nuclear magnetic resonance, NMR)、气相色谱-质谱联用 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)、液相色谱-质谱联用 (liquid chromatography-mass spectrometer, LC-MS) 等^[4]。其中, LC-MS 因具有特异性强、灵敏度高和样品无需衍生化等优点而被广泛应用于代谢组学研究^[5]。

2 中药肾毒性影响因素及机制分析

近年来,临床上中药引起肾毒性的案例时有发生,其原因主要有以下几个方面(图 2): (1) 中药本身含有肾毒性成分,如中药含有马兜铃酸(aristolochic acid, AA)、重金属汞等^[6]; (2) 未正确使用中药,如长期服用重金属药物、中西药合用、滥用或误服药物等均可造成肾毒性^[7-8]; (3) 某些特殊人群,如儿童、老年人使用清开灵注射剂出现肾功能障碍^[9]。目前报道的肾毒性机制主要有诱导肾脏细胞凋亡^[10]、激活肾脏免疫炎症反应^[11]、引发溶血反应^[12]、导致氧化损伤^[13]及诱发肾缺血^[14]等,但对于中药引起肾毒性的过程及作用机制尚不明确,代谢组学将为深入研究中药肾毒性内源性代谢物影响及毒理机制方面提供参考。

3 代谢组学在中药肾毒性研究中的优势

目前肾毒性主要通过病理切片、生化指标等进行评价。然而,病理切片是一种损伤性的检测手段,不适合于肾毒性的早期监测^[15]。同时,血清肌酐(serum creatinine, Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)等生化指标在早期肾毒性监测中并不灵敏。代谢组学通过规范的样本采集方法、精准的检测分析技术,完善机器学习方法,可作

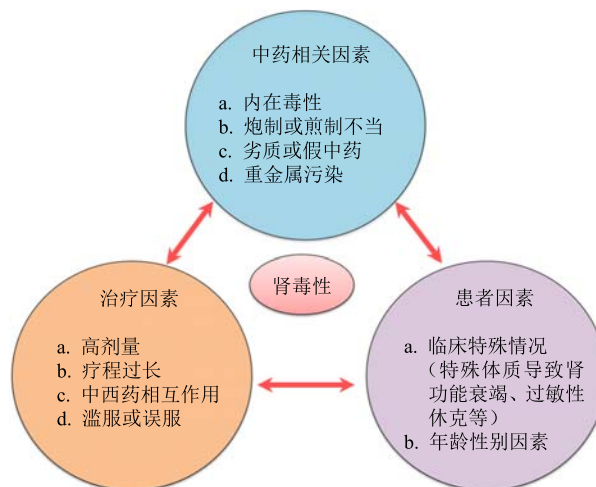


图 2 中药肾毒性的影响因素

Fig. 2 Influencing factors of nephrotoxicity of CMM

为研究中药肾毒性的有力手段,可更高效、更准确地发现毒性标志物,同时为阐释肾毒性的生物代谢机制提供参考^[16]。

4 代谢组学在中药肾毒性研究中的应用

目前,代谢组学已广泛应用于 AA 类、生物碱类、矿物类等中药肾毒性研究中,其通过检测给药前后动物血液、尿液、肾组织及肾细胞中的代谢轮廓变化评价毒效学,并筛选毒性生物标志物,从而阐释肾毒性的毒理机制。经文献检索发现,代谢组学主要通过检测血液和尿液中的代谢轮廓变化,在肾组织及肾细胞中的应用较少。为了更清晰地反映其代谢物的特点,本文总结了代谢组学涉及的中药肾毒性生物标志物,见表 1~3。

表 1 尿液中的肾毒性生物标志物
Table 1 Biomarkers of nephrotoxicity in urine

名称	分析策略	检测技术	变化	来源	文献
柠檬酸	非靶向	NMR	↓	关木通	17
			↓	广防己	18
			↓	天南星	19
			↓	苦参碱	20
			↑	雄黄	21
			↓	朱砂	22
			↓	大黄素	23
			↓	粉防己	24
			↓	雷公藤多苷片	25
			↓	蓖麻素	26
葡萄糖	非靶向	LC-MS	↓	牵牛子	27
		GC-MS	↓	雷公藤甲素	28
		NMR	↑	大黄素	23
			↑	雷公藤多苷片	25
马尿酸	非靶向	GC-MS	↓	雷公藤甲素	28
			↓	雷公藤甲素	28
		NMR	↑ → ↓	广防己	18
			↓	天南星	19
苯乙尿酸	非靶向	NMR	↓	雄黄	21
			↑	朱砂	22
		LC-MS	↑ → ↓	泽泻	29
			↓	雄黄	21
丙氨酸	非靶向	NMR	↑	朱砂	22
			↑	关木通	17
			↑	天南星	19
肌酐	非靶向	NMR	↑	蓖麻素	26
			↓	关木通	17
		NMR	↑ → ↓	广防己	18
			↑	朱砂	22
2-酮戊二酸	非靶向	NMR	↑	大黄素	23
			↑	牵牛子	27
			↑ → ↓	泽泻	29
			↓	关木通	17
			↓	广防己	18
		GC-MS	↓	苦参碱	20
			↑	雄黄	21
			↓	朱砂	22
			↓	天南星	19
			↓	大黄素	23
			↑	粉防己	24
			↓	雷公藤多苷片	25
			↓	蓖麻素	26
			↓	雷公藤甲素	28

续表 1

名称	分析策略	检测技术	变化	来源	文献
牛磺酸	非靶向	NMR	↑	广防己	18
			↑	雄黄	21
			↑	朱砂	22
			↓	关木通	17
			↑	苦参碱	20
			↓	大黄素	23
琥珀酸	非靶向	NMR	↑	雷公藤多苷片	25
			↓	广防己	18
			↑	雄黄	21
			↓	朱砂	22
氧化三甲胺	非靶向	NMR	↓	粉防己	24
			↓	关木通	17
			↑	苦参碱	20
			↓	朱砂	22
			↑	大黄素	23
			↑	广防己	24
醋酸乙酯	非靶向	NMR	↑	粉防己	24
			↑	雷公藤多苷片	25
			↑	天南星	19
			↑	雄黄	21
二甲基甘氨酸	非靶向	NMR	↑	朱砂	22
			↓	雄黄	21
甘氨酸	非靶向	NMR	↓	朱砂	22
			↑	天南星	19
醋酸	非靶向	LC-MS	↓	大黄素	23
			↑	泽泻	30
			↑	关木通	17
丙酮酸	非靶向	NMR	↑	朱砂	22
			↓	雄黄	21
左旋肉碱		LC-MS	↓	草乌	31
谷氨酸		GC-MS	↑	草乌	31
苏氨酸		GC-MS	↑	雷公藤甲素	28
甜菜碱		NMR	↑	雷公藤甲素	28
胆酸		NMR	↓	关木通	17
			↑	泽泻	29

4.1 AA 类中药

AA 是中药中发现的肾毒性成分之一，临床上常引起马兜铃酸肾病。近年来，AA 类中药如关木通、广防己、马兜铃、青木香、天仙藤、木防己、细辛、寻骨风、威灵仙等引起肾毒性的案例时有发生，其中采用代谢组学开展 AA 类中药肾毒性研究的目前主要集中在关木通、广防己上，其他有待进

一步研究。

4.1.1 关木通 有研究^[17,39]采用 NMR 和 GC-TOF/MS 发现大鼠 ig 关木通后，尿液和血浆中代谢轮廓发生显著变化，其中尿液中醋酸含量上升、氧化三甲胺含量下降，血浆中丝氨酸、羟脯氨酸、色氨酸含量发生变化，且与关木通剂量呈一定量毒关系。进一步生物功能分析发现，经肾小管重吸收的

表 2 血液中的肾毒性生物标志物

Table 2 Biomarkers of nephrotoxicity in blood

名称	分析策略	检测技术	变化	来源	文献
LPC (16:1)	靶向	LC-MS	↑	广防己	32
LPC (18:4)			↑	广防己	32
3-羟基吡啶硫酸			↑	马钱子	33
吡啶乙酸			↑	马钱子	33
胍基丁二酸	靶向	LC-MS	↑	马钱子	33
尿酸			↑	马钱子	33
胍乙酸			↑	马钱子	33
胸苷			↑	广防己	32
肌酐	非靶向	LC-MS	↑	马钱子	33
溶血卵磷脂			↑	雷公藤	34
			↑	补骨脂	35
磷脂酰胆碱			↑	附子	36
	非靶向	LC-MS	↑	雷公藤	34
亮氨酸			↓	雄黄	21
			↑	蓖麻素	26
			↑	雷公藤	34
LPC	非靶向	LC-MS/GC-MS	↑	雄黄	21
溶血脑磷脂			↑	雄黄	21
甘油二酯			↓	雷公藤	34
尿酸			↑	补骨脂	34
赖氨酸	非靶向	LC-MS	↓	雷公藤	34
甘氨酸			↑	雄黄	21
色氨酸			↓	雄黄	21
黄嘌呤			↓	雄黄	21
肌酐	非靶向	NMR	↓	大黄素	23
			↓	广防己	24
丙氨酸			↓	天南星	19
			↓	大黄素	23
	非靶向	NMR	↑	广防己	24
			↑	蓖麻素	26
			↓	补骨脂	35
酪氨酸			↓	大黄素	23
肌氨酸	非靶向	LC-MS	↑	大黄素	23
异丁酸			↑	大黄素	23
乳酸			↓	大黄素	23
甜菜碱			↓	附子	36
二甲基甘氨酸	非靶向	LC-MS	↑	雷公藤	34
左旋肉碱			↑	补骨脂	35
原卟啉 IX			↑	草乌	31
3-羟基丁氨酸			↑	大黄素	23
	非靶向	NMR	↑	广防己	24
			↓	粉防己	24

表 3 肾组织中的肾毒性生物标志物

Table 3 Biomarkers of nephrotoxicity in kidney tissue

名称	分析策略	检测技术	变化	来源	文献
溶血卵磷脂	非靶向	LC-MS/	↑	雄黄	37
甘氨酸		GC-MS	↑		
溶血脑磷脂			↑		
色氨酸			↓		
黄嘌呤			↓		
亮氨酸			↓		
苯丙氨酸			↓		
醋酸	非靶向	NMR	↑	大黄素	23
甘氨酸			↑		
血酮			↑		
肌酐			↑		
乳酸			↓		
胆碱			↓		
棕榈酰肉碱	非靶向	LC-MS	↑	AA	38
磷脂酰胆碱			↓		
硬脂酰肉碱			↓		

物质（甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸）含量升高，三羧酸循环底物（柠檬酸、乌头酸、琥珀酸）含量下降，提示关木通可能通过损伤大鼠肾近曲小管及干扰能量代谢导致肾毒性。

4.1.2 广防己 有研究^[18]采用 NMR 研究大鼠 ig 广防己后，发现给药 2 周时尿液中马尿酸、牛磺酸含量升高，柠檬酸含量下降，反映了广防己的早期肾毒性；给药 4 周时氧化三甲胺、肌酐含量上升，柠檬酸、琥珀酸含量下降，且与广防己存在量毒关系，提示这些代谢物可能是加剧毒性反应的关键代谢物；停药 2 周后一些代谢物含量出现回调，如马尿酸含量上升，肌酐含量下降。也有研究^[32]采用 UPLC-Q-TOF-MS 分析了广防己 ig 大鼠 7 d 后，其血清中胸苷、溶血磷脂酰胆碱 LPC（16：1）、LPC（18：4）、LPC（20：5）和 LPC（22：5）含量均显著增加，以上代谢物可用于快速发现广防己的早期肾毒性。

4.1.3 AA 有研究^[40]采用 GC-MS 发现大鼠 ig AA 6 d 后，尿液中代谢轮廓发生显著变化，其中甲基琥珀酸、柠檬酸、肌酐和 3-羟基苯乙酸量与 AA 呈明显的量毒关系，被定义为“早期代谢生物标志物”。此外发现烟酰胺、尿酸和葡萄糖含量与作用时间和剂量有关，被定义为“晚期代谢生物标志物”。也有研究^[41]采用 UPLC-Q-TOF-MS 发现，大鼠 ig AA 12

周后，尿液中三羧酸循环底物（柠檬酸）含量下降，肠道菌群调节物（马尿酸）等含量上升，提示 AA 可能通过干扰肠道微生物代谢和胆汁酸生物合成引起肾毒性。进一步研究^[38]发现大鼠 ig AA 24 周后，肾组织中代谢轮廓发生了明显变化，在第 4 周时 PC（18：3）、PC（18：3/22：6）及硬脂酰肉碱含量下降，DG（15：0/20：5/0：0）、DG（15：0/0：0/15：0）及棕榈酰肉碱含量上升，提示以上代谢物可为探究肾毒性机制提供参考；在第 24 周时 PC（18：2/16：0）、十二烷酰肉碱、脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、3-氧代辛酸甘油酯、葡萄糖基鞘氨醇及油酰肉碱含量发生显著变化，通路富集分析结果提示 AA 可能通过干扰磷脂代谢、脂肪酸代谢及甘油酯代谢引起肾毒性，且上述代谢物可结合病理进行深入机制分析。也有研究^[42]采用 UPLC-MS 细胞代谢组学技术发现 AA 作用人肾小管细胞 24 h 后代谢轮廓发生显著变化，其中维生素代谢底物（泛酸）含量显著下降，脂质代谢底物（胆固醇）及油酸酰胺含量上升，提示 AA 可能通过维生素代谢、脂质代谢及蛋白质降解途径造成肾毒性。

4.2 生物碱类中药

生物碱是含氮的有机化合物，有显著的生理活性，是中药重要的有效成分，目前含有生物碱的中药主要有附子、草乌、雷公藤、马钱子、天南星、苦参等，具有潜在的肾毒性。

有研究^[36]采用 LC-MS 发现大鼠 ig 附子 15 d 后，血清中代谢轮廓发生显著变化，其中甜菜碱含量显著下降，磷脂酰胆碱含量显著上升，可作为附子的肾毒性生物标志物。有研究^[34]采用 UFLC-MS 技术发现，大鼠 ig 雷公藤 14 d 后，血清中高半胱氨酸的代谢产物（二甲基甘氨酸）含量升高，脂质代谢底物（甘油二酯）含量降低，提示其肾毒性机制可能与氨基酸代谢及脂质代谢相关。有研究^[33,43]采用 LC-MS 发现大鼠 ig 马钱子 52 d 后，血清中代谢物肌酐、尿酸含量上升，提示以上代谢物可作为马钱子的肾毒性生物标志物。有研究^[31]采用 UPLC-Q-TOF-MS 研究大鼠 ig 草乌 14 d 后的肾毒性，发现血清中代谢物原卟啉 IX 含量显著上升，肾近曲小管损伤后可降低将其转化为血红素铁螯合酶的活性，使其含量升高。有研究^[19]经 NMR 分析大鼠 ig 天南星 30 d 后的肾毒性，其血清和尿液中三羧酸循环底物（柠檬酸、2-酮戊二酸）、肠道菌群相关代谢物（马尿酸）含量下降，提示天南星可能通过干扰能量代

谢及肠道菌群环境等引起肾毒性。有研究^[20]采用 NMR 研究了大鼠 ig 苦参活性成分苦参碱 3 d 后的肾毒性,尿液中三羧酸循环代谢物(柠檬酸、2-酮戊二酸)、肠道菌群调节物(马尿酸)、磷酸胆碱及胆固醇含量降低,提示苦参碱可能通过影响肠道微生物菌群及能量代谢等造成肾毒性。

4.3 矿物类中药

矿物类中药包含雄黄、朱砂、石膏、硫黄等,具有燥湿祛痰、解毒等功效,其中雄黄、朱砂等也被发现具有潜在的肾毒性。

有研究^[21]采用 NMR 技术研究大鼠 ig 雄黄 21 d 后肾毒性,血清及尿液中代谢轮廓发生变化,其中三羧酸循环底物(柠檬酸、2-酮戊二酸)、氨基酸代谢(牛磺酸)等含量增加,以上结果提示雄黄肾毒性机制可能与能量代谢、氨基酸代谢等有关。有研究^[37]进一步联合 LC-MS 和 GC-MS 技术,研究了大鼠 ig 纳米雄黄 28 d 后,肾脏组织中代谢物的变化,其中肾小管重吸收物质(色氨酸、亮氨酸等)含量明显降低,提示雄黄可能损伤了肾近曲小管;尿素循环中的底物(尿素、脯氨酸)含量改变,表明雄黄肾毒性机制可能与尿素循环相关。有研究^[22]采用 NMR 技术发现,大鼠 ig 朱砂 7 d 后尿液和血浆中代谢产物发生显著变化,尿液中三羧酸循环底物(柠檬酸、琥珀酸、2-酮戊二酸)等显著减少,表明朱砂对大鼠能量代谢功能造成紊乱;血浆中丙氨酸及氧化三甲胺含量增加,胆碱和乳酸乙酯等含量减少,且呈一定量毒关系,提示以上代谢物可作为朱砂肾毒性的生物标志物。

4.4 其他类中药

牵牛子、补骨脂、银杏、泽泻等中药也具有潜在的肾毒性。有研究^[27]采用 UPLC-MS 技术发现大鼠 ig 牵牛子 14 d 后,尿液中三羧酸循环底物(柠檬酸)含量减少,胆汁酸循环底物(胆酸)含量升高,蛋氨酸循环底物(蛋氨酸)等含量增加,且各类氨基酸水平均发生不同程度变化,进一步表明其可能通过干扰氨基酸代谢、能量代谢等通路引起肾毒性。有研究^[35]采用 UPLC-Q-TOF-MS 研究大鼠 ig 补骨脂 7 d 后,发现血浆中氨基酸代谢底物(丙氨酸、酪氨酸)等含量下降,能量代谢物(溶血卵磷脂、左旋肉碱)、磷脂代谢物(尿酸)含量升高,提示补骨脂可能通过能量代谢、磷脂代谢及氨基酸代谢引起肾毒性。有研究^[30]采用 UPLC-HD-MS 技术研究发现大鼠 ig 银杏叶中的活性成分银杏酸 7 d

后,血浆中 LPC (18:1)、(16:1)、(20:5) 等含量显著下降, LPC (18:0)、溶血磷脂酰乙醇胺 (18:0) 等含量升高,提示银杏酸可能通过干扰磷脂代谢及胆汁酸合成等引起肾毒性。有研究^[29]采用 LC-MS 代谢组学方法研究大鼠 ig 泽泻 180 d 后肾毒性,发现尿液中马尿酸、肌酐、胆酸等 13 种代谢物含量分别在给药 60、120、180 d 时发生显著变化,且大鼠在给药 180 d 时才出现严重肾组织损伤,提示 LC-MS 可能是监测泽泻慢性肾毒性的有效技术。

5 结语

肾毒性是中药研究开发和临床应用中不容忽视的环节,因此开展中药肾毒性的研究至关重要。目前代谢组学已广泛应用于中药的肾毒性研究,且取得了一定进展。通过代谢组学分析发现,中药可能通过干扰能量代谢、脂质代谢、磷脂代谢、氨基酸代谢、维生素代谢及肠道微生物菌群等代谢途径引起肾毒性,其代谢轮廓可发生显著变化,结合生化检测可进一步评价毒效学;发现的生物标志物的量毒关系,可用于监测肾毒性不同阶段;生物标志物的代谢途径可结合分子生物学技术等用于毒理机制分析,因此,基于 NMR、LC-GC-MS 等技术的代谢组学是监测中药肾毒性、评价毒效学及阐释毒理机制的有力工具。

然而,代谢组学应用于中药肾毒性研究也存在一些亟需解决的问题:(1)目前多为非靶向代谢组学,需要进行差异代谢物分析并通过靶向代谢组学确认。(2)代谢物的影响因素较多,如何更好地遴选到与毒性密切关联的代谢物至关重要。(3)动物实验成本相对较高,体外细胞培养体系在中药肾毒性机制研究中具有独特优势,但代谢组学在细胞肾毒性中的应用尚不广泛。最近有侧柏^[44]、益母草^[45-46]等中药的肾毒性研究报道,但其应用代谢组学策略的研究尚不清楚,有待深入探索。(4)毒性生物标志物及代谢通路的发现应结合分子生物学技术进行整合和验证分析,进而全面揭示毒性机制,为代谢组学研究提供新的策略,进一步为中药临床合理应用及肾毒性防治提供依据。

参考文献

- [1] 冯雪,方赛男,高雨鑫,等. 中药肾毒性国内外研究现状 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 417-424.
- [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] Wang M, Chen L, Liu D, *et al.* Metabolomics highlights pharmacological bioactivity and biochemical mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chemico-Biol Interact*, 2017, 273: 133-141.
- [4] Beger R D, Sun J, Schnackenberg L K. Metabolomics approaches for discovering biomarkers of drug-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 243(2): 154-166.
- [5] Chen D Q, Chen H, Chen L, *et al.* Metabolomic application in toxicity evaluation and toxicological biomarker identification of natural product [J]. *Chemico-Biol Interact*, 2016, 252: 114-130.
- [6] Yang B, Xie Y, Guo M, *et al.* Nephrotoxicity and Chinese herbal medicine [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2018, 13(10): 1605-1611.
- [7] 王京丽, 周超凡. 中草药及其制剂的肾毒性概述 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2016, 22(3): 437-439.
- [8] 张倩倩, 王爱平, 靳洪涛. 中药肾毒性的研究进展 [J]. 解放军药学报, 2013, 29(6): 558-561.
- [9] 刘福梅, 王连心, 谢雁鸣. 基于文献报道的 1998—2015 年间 24 例疑似清开灵注射液死亡不良事件病例分析 [J]. 中南药学, 2017, 15(7): 134-138.
- [10] 张 良, 杨召聪, 顾亚琴, 等. 马兜铃酸 I 激活大鼠肾脏 p38MAPK 通路并导致肾细胞凋亡的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(5): 576-581.
- [11] Pozdzik A A, Salmon I J, Husson C P, *et al.* Patterns of interstitial inflammation during the evolution of renal injury in experimental aristolochic acid nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(8): 2480-2491.
- [12] 鲍思蔚, 刘皋林. 中草药肾毒性概述 [J]. 时珍国医国药, 2001, 12(2): 159-160.
- [13] 郭 晓, 王 萌, 朱 彦, 等. 中药肾毒性机制研究现状及评价方法研究进展 [J]. 中草药, 2015, 46(23): 3581-3591.
- [14] Lu X, Xiong Z, Li J, *et al.* Metabonomic study on 'Kidney-Yang Deficiency syndrome' and intervention effects of *Rhizoma Drynariae* extracts in rats using ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2011, 83(3): 700-708.
- [15] 夏天一, 张 凤, 陈万生. 代谢组学在肾毒性药物评价中的应用 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2018, 27(1): 69-73.
- [16] Duan L, Guo L, Wang L, *et al.* Application of metabolomics in toxicity evaluation of traditional Chinese medicines [J]. *Chin Med*, 2018, 13(1): 1-14.
- [17] 丁一冰, 樊夏雷, 黄 青. 关木通等含马兜铃酸中药材及中成药毒理机制的代谢组学研究 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(10): 1751-1756.
- [18] 梁 琦. 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.
- [19] Dong G, Wang J, Guo P, *et al.* Toxicity assessment of *Arisaematis Rhizoma* in rats by a ¹H-NMR-based metabolomics approach [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(2): 407-417.
- [20] Li Z H, Zheng L, Shi J, *et al.* Toxic markers of matrine determined using ¹H-NMR based metabolomics in cultured cells *in vitro* and rats *in vivo* [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2015, doi: 10.1155/2015/598412.
- [21] Wei L, Liao P Q, Wu H F, *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.
- [22] 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.
- [23] 雷荣辉, 王青秀, 颜贤忠, 等. 利用 ¹H-NMR 技术研究大黄素染毒后大鼠内源性代谢物的改变 [J]. 药物评价研究, 2015, 38(1): 29-35.
- [24] 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): 2882-2888.
- [25] 苏梦翔, 高 旋, 宋 敏, 等. 基于核磁共振代谢组学方法研究雷公藤多苷片对大鼠代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(11): 1449-1453.
- [26] 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.
- [27] Chao M, Kaishun B, Ming Z, *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.
- [28] 邵 凤, 刘林生, 阿基业. GC/TOF-MS 代谢组学技术研究雷公藤甲素在大鼠体内的急性毒性 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(6): 703-709.
- [29] Yu Y, Ma C, Bi K S *et al.* A metabonomic analysis of urine from rats treated with *Rhizoma Alismatis* using ultra-performance liquid chromatography/mass spectrometry [J]. *Rapid Commun Mass Spectr*, 2011, 25(18): 2633-2640.
- [30] Qian Y, Peng Y, Shang E, *et al.* Metabolic profiling of the hepatotoxicity and nephrotoxicity of ginkgolic acids in

- rats using ultra-performance liquid chromatogram phyhigh-definition mass spectrometry [J]. *Chemico-Biol Interact*, 2017, 273: 11-17.
- [31] Sui Z, Li Q, Zhu L, *et al*. An integrative investigation of the toxicity of *Aconiti Kusnezoffii Radix* and the attenuation effect of its processed drug using a UHPLC-Q-TOF based rat serum and urine metabolomics strategy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2017, 145: 240-247.
- [32] 郭雪君, 谷彩云, 许妍妍, 等. 肾毒性小分子代谢标志物在5种中药毒性评价的适用性研究 [J]. *药物评价研究*, 2017, 40(4): 472-478.
- [33] 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 Separ Sci*, 2014, 37(9/10): 1058-1066.
- [34] 常立娟, 李佐静, 李清, 等. 雷公藤致大鼠肾毒性血清代谢组学分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(24): 89-94.
- [35] Xu Y Y, Zhao Y W, Xie J, *et al*. The evaluation of toxicity induced by psoraleae fructus in rats using untargeted metabolomic method based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. *Evid-Based Compl Alternat Med*, 2017, doi: 10.1155/2017/6207183.
- [36] Tan Y, Ko J, Liu X, *et al*. Serum metabolomics reveals betaine and phosphatidylcholine as potential biomarkers for the toxic responses of processed *Aconitum carmichaelii* Debx [J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(9): 2305-2316.
- [37] 余霞霞, 李少元, 华云飞, 等. 纳米雄黄肾毒性的代谢组学研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2017, 48(3): 328-333.
- [38] Zhao Y Y, Wang H L, Cheng X L, *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, doi: 10.1038/srep12936.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] Zhao Y Y, Tang D D, Chen H, *et al*. Urinary metabolomics and biomarkers of aristolochic acid nephrotoxicity by UPLC-QTOF/HDMS [J]. *Bioanalysis*, 2015, 7(6): 685-700.
- [42] 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): 1-10.
- [43] Luo H, Gu C, Liu C, *et al*. Plasma metabolic profiling analysis of *Strychnos nuxvomica* Linn. and *Tripterygium wilfordii* Hook. F-induced renal toxicity using metabolomics coupled with UPLC/Q-TOF-MS [J]. *Toxicol Res*, 2018, 7(6): 1153-1163.
- [44] 孙晨, 奇锦峰, 余文浩, 等. 10种肾毒性中药对小鼠肾脏有机阴离子转运体的影响 [J]. *中国药房*, 2015, 26(19): 2673-2676.
- [45] 宋哲平, 姚广涛, 饶潇潇. 长期给予不同剂量益母草水煎液对大鼠肾脏的毒性作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(4): 1038-1040.
- [46] 孙蓉, 冯群, 赵庆华, 等. 益母草毒性研究进展 [J]. *中国药物警戒*, 2014, 11(2): 70-73.