

## • 药理与临床 •

## 基于“异类相制”理论探讨淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导肾阴虚大鼠肝损伤的影响及作用机制

李宇辉<sup>1,2,3</sup>, 张明亮<sup>2,3#</sup>, 陈小菲<sup>2,3</sup>, 孟高全<sup>3</sup>, 李明格<sup>3</sup>, 张辉<sup>2</sup>, 吴娅丽<sup>2</sup>, 杨柳青<sup>2</sup>, 肖小河<sup>1,4\*</sup>, 唐进法<sup>2,3\*</sup>

1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450000

3. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046

4. 中国人民解放军总医院 第五医学中心, 北京 100039

**摘要:** 目的 基于“异类相制”理论, 探究淫羊藿 *Epimedii Folium* 和女贞子 *Ligustri Lucidi Fructus* 对补骨脂 *Psoraleae Fructus* 诱导肾阴虚模型大鼠肝损伤的影响及作用机制。方法 以补骨脂诱导的肾阴虚模型大鼠肝损伤为参照, 分别给予淫羊藿和女贞子进行干预, 通过体质量、肛温、粪便含水量及血清环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP) /环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 比值评估肾阴虚指标变化情况; 通过血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性及肝组织苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色评估肝脏功能变化; 结合代谢组学、关联分析、ROC 分析及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析解析潜在机制。结果 淫羊藿可显著降低模型大鼠体质量和粪便含水量 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 显著升高肛温、cAMP/cGMP 比值、ALT 及 AST 活性 ( $P < 0.05$ 、 $0.001$ ), 并加重肝脏炎性细胞浸润, 加剧肝损伤; 女贞子则可显著逆转上述变化。代谢组学鉴定出 17 个淫羊藿和女贞子差异调控的共同代谢物, 关联分析及 ROC 分析进一步发现神经酰胺、牛磺胆酸等 6 个诊断效能良好的差异代谢物, 主要涉及亚油酸代谢、鞘脂代谢等 8 条通路。此外, 淫羊藿可显著升高模型大鼠血清中炎性因子白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 水平 ( $P < 0.05$ ), 并降低抗炎因子 IL-10 水平; 女贞子则逆转上述变化。结论 淫羊藿和女贞子可能通过差异调控肝脏亚油酸代谢等影响炎性细胞因子水平, 从而导致补骨脂诱导的肾阴虚模型大鼠肝脏出现毒/效作用差异。为中医“异类相制”理论提供实验依据, 并为补骨脂减毒增效研究提供借鉴。

**关键词:** 异类相制; 补骨脂; 肝损伤; 淫羊藿; 女贞子; 代谢组学; 神经酰胺; 牛磺胆酸; 磷脂酰肌醇; 7-脱氢胆固醇;  $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷; 亚油酸

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)01-0126-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.013

## Effect and mechanism of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* on *Psoraleae Fructus*-induced liver injury based on theory of “heterogeneous medicinals mutual restriction”

LI Yuhui<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Mingliang<sup>2,3</sup>, CHEN Xiaofei<sup>2,3</sup>, MENG Gaoquan<sup>3</sup>, LI Mingge<sup>3</sup>, ZHANG Hui<sup>2</sup>, WU Yali<sup>2</sup>, YANG Liuqing<sup>2</sup>, XIAO Xiaohu<sup>1,4</sup>, TANG Jinfa<sup>2,3</sup>

1. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

收稿日期: 2025-10-09

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (82173993, 82574685); 中原科技创新领军人才项目 (254000510038); 河南省高校科技创新团队 (23IRTSTHN026); 河南省医学科技攻关计划项目 (SBGJ202403040); 河南省卫生健康委员会国家中医药传承创新中心联合共建科研专项 (2024ZXZX1179)

作者简介: 李宇辉, 博士研究生, 主要从事中药安全用药研究。E-mail: liyuhui@hactcm.edu.cn

#共同第一作者: 张明亮, 副主任药师, 硕士生导师, 主要从事中药合理用药研究。E-mail: mlzhangedu@126.com

\*通信作者: 肖小河, 研究员, 博士生导师, 主要从事临床中药学与安全用药研究。E-mail: pharmacy302xxh@126.com

唐进法, 主任药师, 博士生导师, 主要从事中药质量评价与合理用药研究。E-mail: a0519@163.com

2. First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China
3. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
4. Military Institute of Chinese Materia, Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100039, China

**Abstract: Objective** To explore the effect and mechanism of Yinyanghuo (*Epimedii Folium*) and Nüzhensi (*Ligustri Lucidi Fructus*) on Buguzhi (*Psoraleae Fructus*)-induced liver injury in a rat model of kidney-yin deficiency based on the theory of “heterogeneous medicinals mutual restriction”. **Methods** The liver injury rats with kidney-yin deficiency model induced by *Psoraleae Fructus* was taken as a reference, *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* were respectively given for intervention, the changes in indicators of kidney-yin deficiency were evaluated by through body weight, anal temperature, fecal water content and cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/cyclic guanosine monophosphate (cGMP) ratio in serum. The changes in liver function were evaluated by measuring the activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in serum, as well as by staining liver tissue with hematoxylin eosin (HE). Metabolomics, association analysis, ROC analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were combined to elucidate potential mechanisms. **Results** *Epimedii Folium* significantly decreased body weight and fecal water content in model rats ( $P < 0.05, 0.01$ ), significantly increased anal temperature, cAMP/cGMP ratio and activities of ALT, AST ( $P < 0.05, 0.001$ ), aggravated the infiltration of inflammatory cells in liver and exacerbated liver damage. *Ligustri Lucidi Fructus* significantly reversed the above changes. Metabolomics identified 17 common metabolites that were differentially regulated between *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus*. Association analysis and ROC analysis further revealed six differential metabolites with good diagnostic efficacy, including ceramide and taurocholic acid, mainly involving eight pathways such as linoleic acid metabolism and sphingolipid metabolism. In addition, *Epimedii Folium* could significantly increase the levels of inflammatory factors such as interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-6, tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in serum of model rats ( $P < 0.05$ ), and decrease anti-inflammatory factor IL-10 level. *Ligustri Lucidi Fructus* reversed the above changes. **Conclusion** *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* may affect the levels of inflammatory cytokines by differentially regulating liver linoleic acid metabolism, leading to differences in toxicity/efficacy in liver of rats with kidney-yin deficiency induced by *Psoraleae Fructus*. This study provides experimental basis for the theory of “heterogeneous medicinals mutual restriction” in traditional Chinese medicine, and provides reference for the research on reducing toxicity and increasing efficiency of *Psoraleae Fructus*.

**Key words:** heterogeneous medicinals mutual restriction; *Psoraleae Fructus*; liver injury; *Epimedii Folium*; *Ligustri Lucidi Fructus*; metabolomics; ceramide; taurocholic acid; phosphatidylinositol; 7-dehydrocholesterol;  $\beta$ -D-glucuronoside; linoleic acid

补骨脂 *Psoraleae Fructus* 为临床常用补益中药, 近 10 余年来, 其肝毒性问题被频繁报道, 引发社会各界的广泛关注<sup>[1-2]</sup>。包括本课题组在内的多项研究<sup>[3-5]</sup>证实, 肾阴虚(阴虚火旺)是补骨脂诱发肝损伤的易感因素之一。在中医辨证论治体系下, 配伍减毒是控制中药毒性的核心策略, 然而, 针对肾阴虚体质下如何实现补骨脂的配伍减毒, 仍有待深入研究。

中医“异类相制”理论认为, 功效或性味相异的药物配伍, 可实现“制毒存效”<sup>[6]</sup>。补骨脂性温燥烈, 若与同属温热药性的中药联用, 可能会加剧其肝损伤风险, 而与具有滋阴功效的中药联用, 则可能会缓解其毒性。基于此, 本研究选用强效补阳药淫羊藿 *Epimedii Folium* 和滋阴良药女贞子 *Ligustri Lucidi Fructus* 作为对比, 利用二者药性相反的特点, 探讨其对补骨脂肝毒性的影响及潜在机制。本研究通过构建补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型, 评估淫羊藿和女贞子对其肝功能的影响, 并运用代谢组学技术解析其潜在作用机制, 旨在为补骨

脂的临床安全合理使用提供实验依据和理论支持。

## 1 材料

### 1.1 动物

24 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 180~200 g, 购自浙江维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号 SCXK(浙)2020-0002。动物按昼夜节律自然照明, 于独立送回风净化笼饲养, 环境温度 20~25 °C, 相对湿度 50%~60%, 自由进食饮水。动物实验经河南中医药大学第一附属医院伦理委员会批准(批准号 YFYDW2020017)。

### 1.2 药材

补骨脂(批号 2307032)、女贞子(批号 2305183)购自安徽普仁中药饮片有限公司, 淫羊藿(批 230072301)为炙品, 购自亳州市先锋中药饮片有限公司, 以上药材经河南中医药大学第一附属医院唐进法主任药师鉴定分别为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实、木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的干燥成熟果实、小檗科植物

淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim. 的干燥叶。

### 1.3 药品与试剂

左旋甲状腺素(批号 K2210152)购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 利血平(批号 C16044836)购自上海麦克林生化科技有限公司; 乙腈(批号 JA143330)、甲醇(批号 I1338907416)购自 Merck KGaA 公司; 甲酸(批号 8270792)购自 DiKMA 公司; 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP) ELISA 试剂盒(批号 WO12T8L63774)、环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, cGMP) ELISA 试剂盒(批号 WO1102Z00491)、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) ELISA 试剂盒(批号 WZ0828020664)、IL-6 ELISA 试剂盒(批号 WZ06VOL88314)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒(批号 WZ09B8823016)、IL-10 ELISA 试剂盒(批号 WZ0540RN5648)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒(批号 20240122)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒(批号 20240123)购自南京建成生物科技有限公司。

### 1.4 仪器

XS205 型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多集团); Neofuge 1600R 型台式低温高速离心机(上海力申科学仪器有限公司); Synergy H1 型全自动酶标仪(美国 BioTek 公司); Waters Acquity<sup>TM</sup> I-Class UPLC 系统, Xevo G2-XS Q/TOF 质谱仪, 配有 Lock-spray 接口、电子喷雾离子源(electron spray ion, ESI)和 Masslynx 4.1 质谱工作站(美国 Waters 公司); CV200 型真空离心浓缩仪(北京吉艾姆科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 给药溶液的制备

补骨脂、淫羊藿及女贞子药材打粉, 过 80 目筛, 以 0.5% 羧甲基纤维素钠(sodium carboxymethyl cellulose, CMC-Na)溶液配制成所需浓度的混悬液, 给药前充分振荡均匀。补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素总质量分数为 1.5%; 淫羊藿中宝藿苷 I 质量分数为 0.24%, 朝藿定 A、含朝藿定 B、朝藿定 C 和淫羊藿苷总质量分数为 2.2%; 女贞子中特女贞苷质量分数为 2.3%, 均符合《中国药典》2025 年版规定。课题组前期研究表明, 临床等效剂量(0.9 g/kg)的补骨脂可引起肾阴虚模型大鼠肝功能生化指标显著改变<sup>[7]</sup>, 且无明显的剂量相关性, 故本研究中

补骨脂的给药剂量设定为 0.9 g/kg。《中国药典》2025 年版相关复方制剂中淫羊藿、女贞子与补骨脂的用药量相近, 故本研究中淫羊藿和女贞子的给药剂量均设定为 0.9 g/kg。

### 2.2 分组与给药

SD 大鼠随机分为对照组、模型组、淫羊藿组和女贞子组, 每组 6 只。模型组大鼠 ig 补骨脂混悬液(0.9 g/kg), 淫羊藿组在模型组的基础上 ig 淫羊藿混悬液(0.9 g/kg), 女贞子组在模型组的基础上 ig 女贞子混悬液(0.9 g/kg), 对照组 ig 等体积的 CMC-Na 溶液(10 mL/kg), 1 次/d, 连续给药 21 d。

### 2.3 肾阴虚模型的复制

从第 15 天开始, 模型组、淫羊藿组和女贞子组大鼠连续 7 d ig 左旋甲状腺素(160 mg/kg)联合利血平(1 mg/kg)混悬液复制肾阴虚模型<sup>[8]</sup>。造模成功的判定依据<sup>[9]</sup>: 大鼠肛温升高、多饮多尿、大便干结、暴躁易怒、拱背难抓取, 血清中 cAMP 水平升高、cGMP 水平降低及 cAMP/cGMP 值升高。

### 2.4 体质量、肛温、粪便含水量及肝脏指数的测定

造模过程中观察并记录各组大鼠的毛发色泽、行为状态、饮食、大便等外观方面的变化, 实验结束前测量并记录各组大鼠体质量、肛温与粪便含水量, 取材时称量各组大鼠肝脏质量并计算肝脏指数。

肝脏指数=肝脏质量/体质量

### 2.5 血清中 cAMP、cGMP、AST、ALT、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 和 IL-10 水平的检测

末次给药后, 大鼠禁食不禁水过夜, ip 2% 戊巴比妥钠麻醉, 采用腹主动脉采血, 3 500 r/min 离心 10 min 后收集血清, 于-80 °C 冰箱保存。根据试剂盒说明书测定血清中 cAMP、cGMP、AST、ALT、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 水平。

### 2.6 肝组织苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色

用预冷的生理盐水清洗肝组织, 取部分肝大叶置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 随后进行常规脱水、石蜡包埋并切片。按照试剂盒说明书进行 HE 染色, 并对染色切片进行肝脏炎症活动度评分。剩余肝组织经液氮速冻后置于-80 °C 保存备用。

### 2.7 肝脏代谢组学分析

**2.7.1 样本处理** 称取 50 mg 肝组织, 按照质量体积比 1:10 加入预冷的甲醇, 在预冷组织研磨机中研磨(60 Hz, 10 s) 10 次, 4 °C、14 000 r/min 离心 10 min, 取 200  $\mu$ L 上清液上机检测。所有样品均

取 20  $\mu$ L 混合为质控 (quality control, QC) 样品。

**2.7.2 色谱条件** Acquity UPLC® HSS T3 C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu$ m); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) -0.1% 甲酸乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~9 min, 5%~70% B; 9~16 min, 70%~100% B; 16~17 min, 100% B; 17~17.5 min, 100%~5% B; 17.5~20 min, 5% B。柱温 40 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 2  $\mu$ L。

**2.7.3 质谱条件** ESI 离子源, 以 MSE Continuum 模式进行数据采集, 以亮氨酸脑啡肽 (ESI<sup>-</sup> *m/z* 554.261 5, ESI<sup>+</sup> *m/z* 556.277 1) 作为锁定质量溶液对检测样品相对分子质量进行实时校正。毛细管电压 ESI<sup>-</sup> 1.8 kV、ESI<sup>+</sup> 2.5 kV; 离子源温度 100 °C; 脱溶剂气温度 450 °C; 锥孔电压 40 V; 锥孔气体积流量 50 L/h; 脱溶剂体积流量 800 L/h; 碰撞能量 10~45 V; 间隔扫描时间 0.2 s; 质量扫描范围 *m/z* 50~1 200。

**2.7.4 数据提取与多元统计分析** 质谱原始数据用 MassLynx 软件 (v4.1) 采集, 并导入 Progenesis QI 软件 (v2.4) 中进行色谱峰对齐、峰提取及归一

化等处理。使用 SIMCA-P 14.1 软件提取的数据进行监督的正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal-partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。运用变量重要性投影 (variable importance in the projection, VIP) 来预测各个数据对模型的贡献值, 满足 VIP > 1 且 *P* < 0.05 的化合物被认为是差异代谢物。差异代谢物输入京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 数据库 (<https://www.genome.jp/kegg/>) 和 HMDB 数据库 (<https://hmdb.ca>) 进行鉴定, 并将差异代谢物导入 Metaboanalyst 6.0 在线数据库 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 进行代谢通路分析。

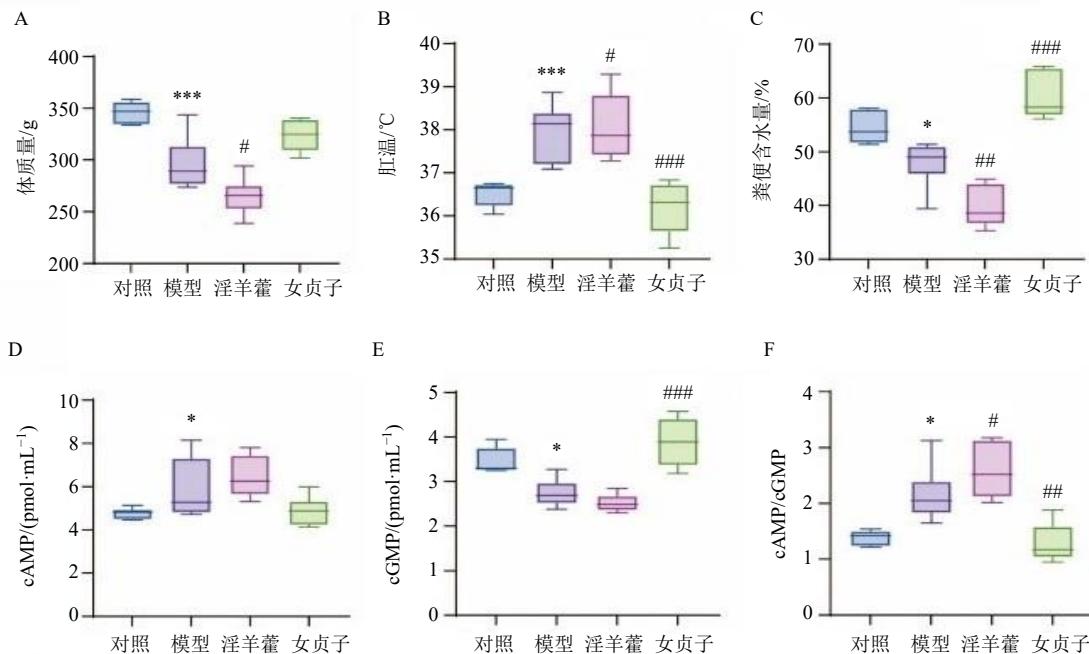
## 2.8 统计学分析

采用 GraphPad Prism 10.2.2 软件进行统计分析, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

## 3 结果

### 3.1 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型阴虚指标的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠体质



A-体质量; B-肛温; C-粪便含水量; D-血清中 cAMP 水平; E-血清中 cGMP 水平; F-cAMP/cGMP 值; 与对照组比较: \**P* < 0.05 \*\**P* < 0.01

\*\*\**P* < 0.001; 与模型组比较: #*P* < 0.05 ##*P* < 0.01 ###*P* < 0.001, 图 2、7、8 同。

A-body weight; B-anal temperature; C-fecal water content; D-cAMP level in serum.; E-cGMP level in serum; F-cAMP/cGMP value; \**P* < 0.05 \*\**P* < 0.01

\*\*\**P* < 0.001 vs control group; #*P* < 0.05 ##*P* < 0.01 ###*P* < 0.001 vs model group, same as Figs. 2, 7, 8.

图 1 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型阴虚指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 6)

Fig. 1 Effects of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* on yin-deficiency-related indicators in liver injury model rats with kidney-yin deficiency induced by *Psoraleae Fructus* ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 6)

量、粪便含水量及血清中 cGMP 水平均显著下降 ( $P<0.05$ 、 $0.001$ )，肛温、血清中 cAMP 水平及 cAMP/cGMP 值显著升高 ( $P<0.05$ 、 $0.001$ )；与模型组比较，淫羊藿组大鼠体质量、粪便含水量显著下降 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ )，肛温、cAMP/cGMP 值显著升高 ( $P<0.05$ )；女贞子组粪便含水量及血清中 cGMP 水平显著升高 ( $P<0.001$ )，肛温、cAMP/cGMP 值显著降低 ( $P<0.01$ 、 $0.001$ )。表明淫羊藿可加重模型大鼠肾阴虚症状，而女贞子可缓解模型大鼠肾阴虚症状。

### 3.2 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型肝功能相关指标的影响

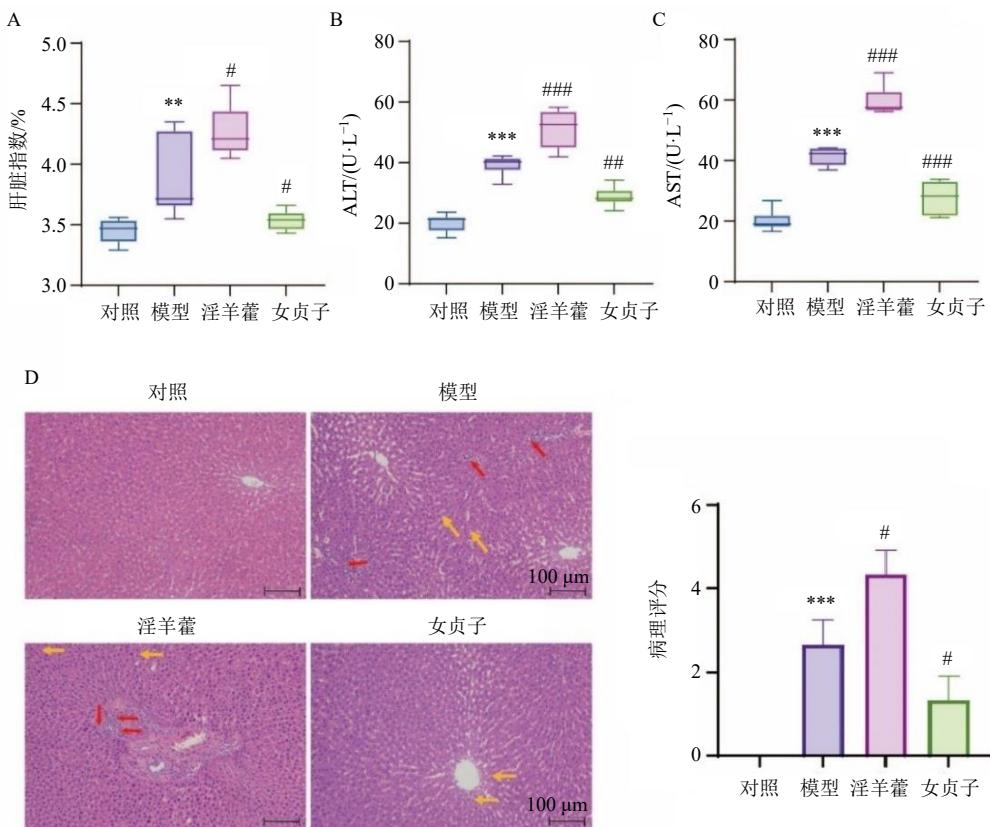
如图 2-A~C 所示，与对照组比较，模型组大鼠肝脏指数及血清中 ALT、AST 活性显著升高 ( $P<0.01$ 、 $0.001$ )，提示补骨脂可致肾阴虚模型大鼠肝损伤；与模型组比较，淫羊藿组大鼠肝脏指数及血清

中 ALT、AST 活性进一步显著升高 ( $P<0.05$ 、 $0.001$ )，而女贞子组大鼠肝脏指数及血清中 ALT、AST 活性显著降低 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ )。

HE 染色结果 (图 2-D) 显示，对照组大鼠肝脏组织细胞形态结构正常；模型组少见肝细胞空泡变性，中央静脉及汇管区周围少见淋巴细胞散在浸润；淫羊藿组少见肝细胞空泡变性，中央静脉及汇管区周围较多淋巴细胞、粒细胞灶性浸润；女贞子组少见肝细胞空泡变性，未见明显炎性细胞浸润。上述结果表明，淫羊藿可加剧补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤，而女贞子可减轻补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤。

### 3.3 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型肝脏代谢轮廓的影响

如图 3 所示，OPLS-DA 结果显示，在正、负离子模式下，淫羊藿组与模型组、女贞子组与模型组

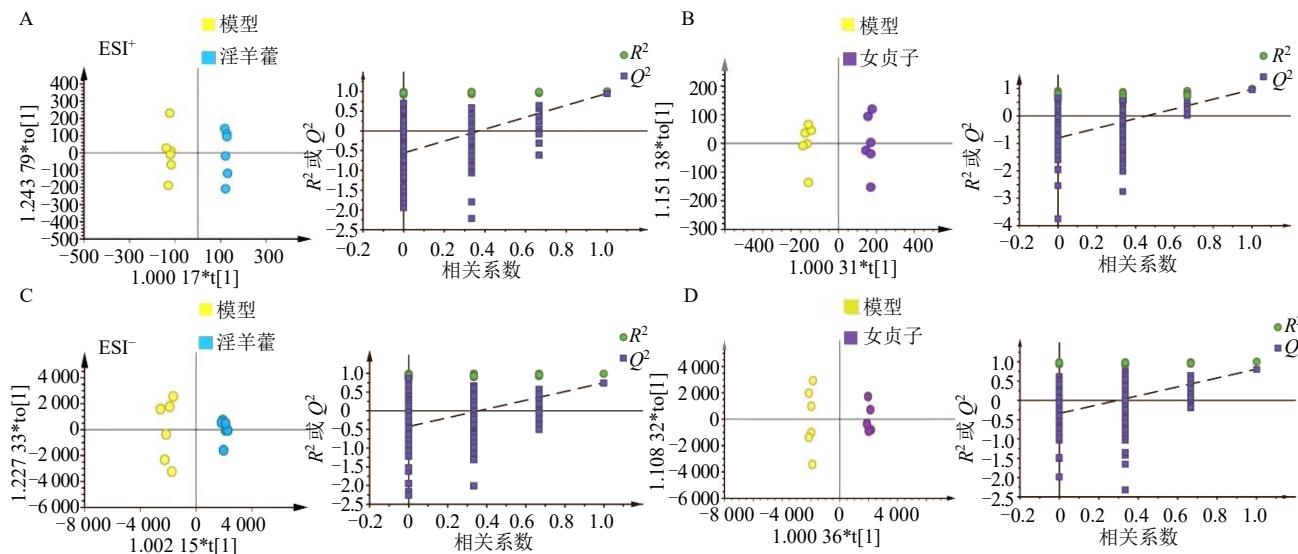


A-肝脏指数 ( $n=6$ )；B、C-血清中 ALT、AST 活性 ( $n=6$ )；D-肝组织 HE 染色 ( $\times 200$ )，橙色箭头表示肝细胞空泡变性，红色箭头表示淋巴细胞、粒细胞灶性浸润。

A-liver index; B, C-activities of ALT and AST in serum; D-liver HE staining ( $\times 200$ ), orange arrows indicate hepatocellular vacuolar degeneration, red arrows indicate focal infiltration of lymphocytes and granulocytes.

图 2 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型肝功能相关指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 2 Effects of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* on liver function-related indicators in liver injury model rats with kidney-yin deficiency induced by *Psoraleae Fructus* ( $\bar{x} \pm s$ )



A、C-模型组 vs 淫羊藿组在正、负离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验结果；B、D-模型组 vs 女贞子组在正、负离子模式下的 OPLS-DA 得分图及置换检验结果。

A, C-OPLS-DA score plots and permutation test results of model group vs *Epimedii Folium* group in positive and negative ion modes; B, D-OPLS-DA score plots and permutation test results of model group vs *Ligustri Lucidi Fructus* group in positive and negative ion modes.

图3 各组肝脏代谢的 OPLS-DA 与置换检验分析

Fig. 3 OPLS-DA plot and permutation test analysis of liver metabolism in each group

之间的样本均能被较好地区分开 ( $R^2_y > 0.90$ ,  $Q^2 > 0.60$ )。置换检验显示, 所有模型的  $Q^2$  回归线在纵坐标上的截距均小于 0, 提示上述 OPLS-DA 模型均不存在过度拟合。以  $VIP > 1$  且  $P < 0.05$  为筛选条件, 通过检索匹配 HMDB、KEGG 在线数据库, 共鉴定出 17 个淫羊藿与女贞子共同调控补骨脂诱

导的肾阴虚大鼠肝损伤模型肝脏代谢的差异代谢物, 见表 1。差异代谢物热图见图 4。

### 3.4 差异代谢物与血清 ALT、AST 水平关联分析

将上述 17 个差异代谢物与血清 ALT、AST 活性进行关联分析, 结果见图 5, 磷脂酰肌醇、亚油酸、7-脱氢胆固醇、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷、酵母氨酸、

表1 淫羊藿和女贞子共同调控模型大鼠肝脏代谢的差异代谢物

Table 1 Differential metabolites regulated by *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* in liver metabolism of model rats

编号	离子模式	$m/z$	$t_R$ /min	KEGG ID	代谢物	淫羊藿组 vs 模型组	女贞子组 vs 模型组
1	负离子	582.510 3	15.219 5	C00195	神经酰胺	↑##	↓
2	负离子	738.507 2	10.729 7	C00242	鸟嘌呤	↑##	↑##
3	负离子	275.124 1	0.811 6	C00350	磷脂酰乙醇胺	↑###	↓
4	负离子	883.534 1	13.284 1	C00449	酵母氨酸	↓ <sup>#</sup>	↑##
5	负离子	496.273 9	5.813 8	C00500	胆绿素	↑##	↑##
6	负离子	498.289 5	7.172 6	C00626	磷脂酰肌醇	↓##	↑##
7	负离子	447.202 9	7.009 0	C01164	7-脱氢胆固醇	↓ <sup>#</sup>	↑ <sup>#</sup>
8	负离子	313.274 3	9.255 1	C01595	亚油酸	↓ <sup>#</sup>	↑ <sup>#</sup>
9	负离子	496.273 8	6.382 4	C01838	硬脂醛	↓##	↑##
10	负离子	329.247 6	13.611 2	C03033	$\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷	↓ <sup>#</sup>	↑##
11	负离子	288.119 6	1.310 4	C05122	牛磺胆酸	↑ <sup>#</sup>	↓ <sup>#</sup>
12	正离子	184.072 1	0.817 2	C05463	牛磺脱氧胆酸	↑##	↑ <sup>#</sup>
13	正离子	583.257 7	7.895 2	C11132	2-甲氧基雌酮-3-葡萄糖醛酸苷	↑##	↑##
14	正离子	385.343 6	8.866 8	C13828	二十二碳六烯酰乙醇酰胺	↓ <sup>#</sup>	↓ <sup>#</sup>
15	正离子	286.311 0	11.212 7	C15516	牛磺熊去氧胆酸	↓ <sup>#</sup>	↑##
16	正离子	676.402 2	10.219 6	C16513	二十二碳五烯酸 (22n-3)	↑ <sup>#</sup>	↑ <sup>#</sup>
17	正离子	299.295 5	10.691 1	C21016	视晶酸	↑##	↑##

↑表示升高, ↓表示降低; 与模型组比较:  $^*P < 0.05$   $^{##}P < 0.01$   $^{###}P < 0.001$ 。

↑ indicates an increase, ↓ indicates a decrease;  $^*P < 0.05$   $^{##}P < 0.01$   $^{###}P < 0.001$  vs model group.

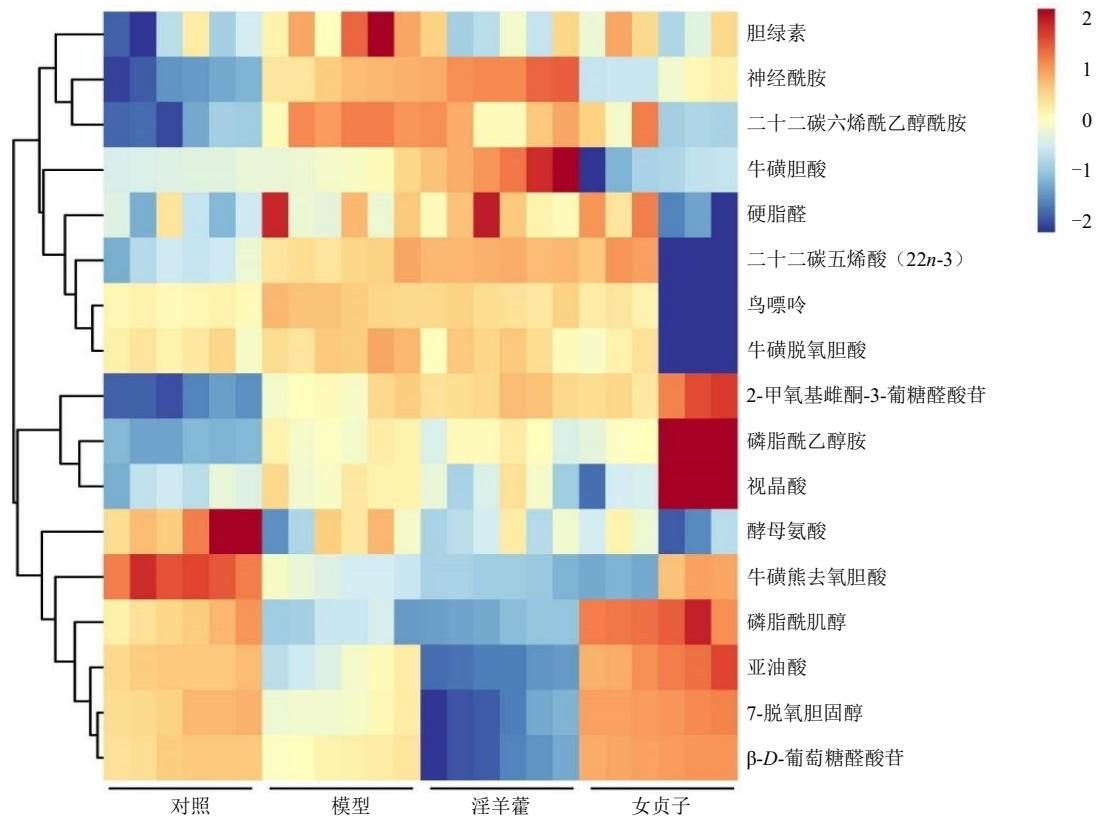
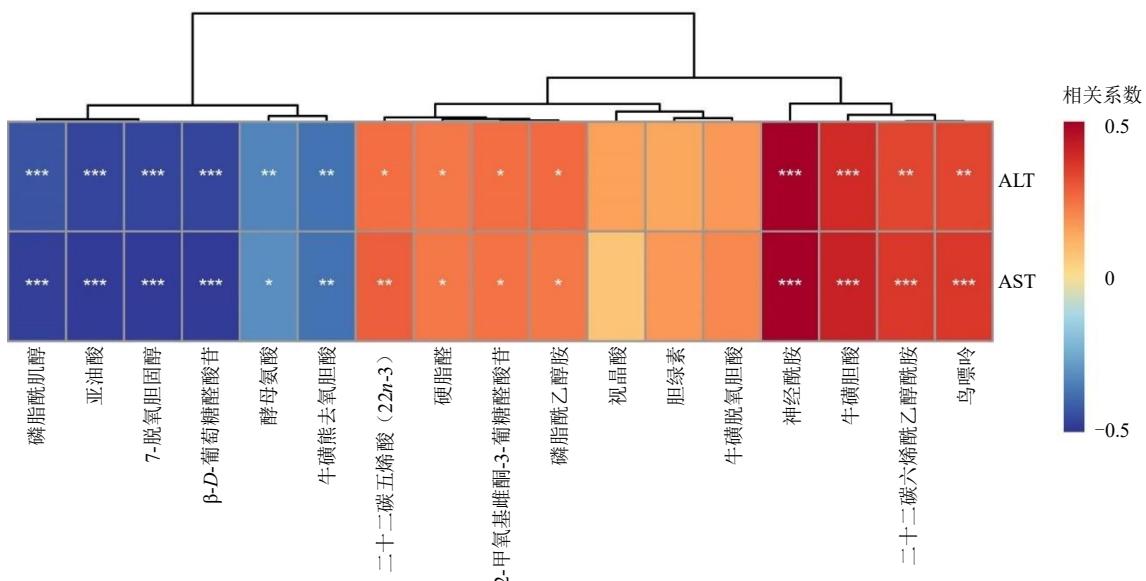


图4 淫羊藿和女贞子共同调控模型大鼠肝脏代谢的差异代谢物热图

Fig. 4 Heatmap of differential metabolites regulated by *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* in liver metabolism of model rats

蓝色表示负相关，红色表示正相关，颜色越深表明相关性越强；\*表示代谢物与血清 ALT、AST 活性的相关性， $*P < 0.05$     $**P < 0.01$     $***P < 0.001$ 。

Color depth represents correlation strength, red color represents positive correlation, blue color represents negative correlation; \* indicates significance of correlation with activities of ALT and AST in serum,  $*P < 0.05$     $**P < 0.01$     $***P < 0.001$ .

图5 差异代谢物与血清 ALT、AST 活性的相关性热图

Fig. 5 Heatmap of correlation analysis between shared differential metabolites and activities of ALT and AST in serum

牛磺熊脱氧胆酸与 ALT、AST 活性呈负相关；二十二碳五烯酸 (22n-3)、十八烷醛、2-甲氧基雌酮-3-葡萄糖苷酸、磷脂酰乙醇胺、神经酰胺、牛磺胆酸、二十二碳六烯酰乙醇酰胺、鸟嘌呤与 ALT、AST 活性呈正相关。

### 3.5 差异代谢物受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析

为进一步评估上述差异代谢物在区分淫羊藿和女贞子对模型大鼠肝损伤毒/效作用差异的敏感

性与特异性，采用迈维在线运工具 (<https://cloud.metware.cn/#/tools/tool-list>) 对差异代谢物进行 ROC 曲线分析。如图 6 所示，神经酰胺、牛磺胆酸、磷脂酰肌醇、7-脱氢胆固醇、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷与亚油酸在淫羊藿组与女贞子组中均具有较好的区分性，其 ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC) 均  $\geq 0.90$ 。提示上述 6 个差异代谢物可作为淫羊藿和女贞子干预补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型产生毒/效作用差异的潜在生物标志物。

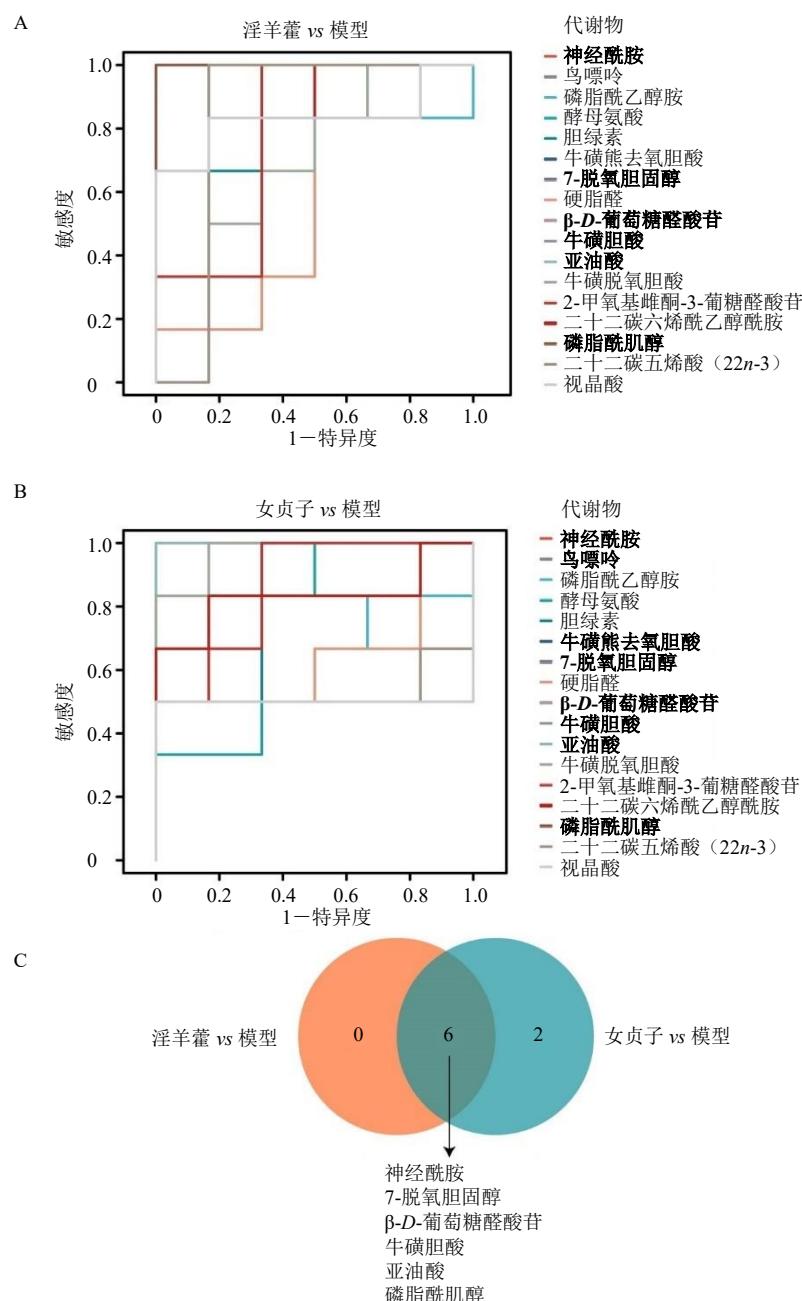


图 6 差异代谢物 ROC 曲线分析 (A、B) 与 Venn 分析 (C)

Fig. 6 ROC curve analysis (A, B) and Venn analysis (C) of differential metabolites

### 3.6 差异代谢物 KEGG 通路富集分析

针对上述 6 个具有良好区分性的差异代谢物, 进一步进行表达量相对丰度分析和 KEGG 通路富集分析。如图 7-A 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠肝脏神经酰胺含量显著升高 ( $P<0.001$ ), 磷脂酰肌醇、7-脱氢胆固醇、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷和亚油酸含量显著降低 ( $P<0.001$ ); 与模型组比较, 淫羊藿组神经酰胺、牛磺胆酸含量显著升高 ( $P<0.01$ 、 $0.001$ ), 7-脱氢胆固醇、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷和亚油酸含量显著降低 ( $P<0.001$ ); 女贞子组神经酰胺含量

显著降低 ( $P<0.001$ ), 磷脂酰肌醇、7-脱氢胆固醇、 $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷和亚油酸含量显著升高 ( $P<0.001$ )。如图 7-B 所示, 这些代谢物主要富集于亚油酸代谢 (linoleic acid metabolism)、牛磺酸和次牛磺酸代谢 (taurine and hypotaurine metabolism)、抗坏血酸和醛糖酸代谢 (ascorbate and aldarate metabolism) 等 8 条代谢通路。表明淫羊藿和女贞子可能通过调节亚油酸等代谢通路影响补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型肝脏代谢, 从而产生肝损伤/肝保护作用。

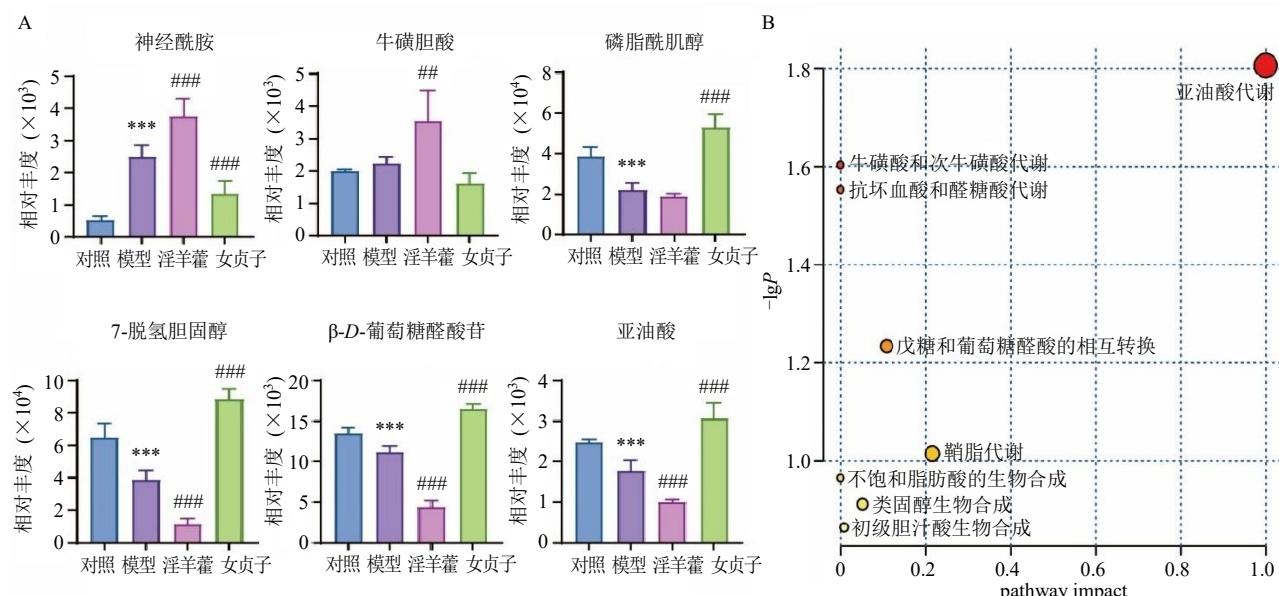


图 7 差异代谢物的相对丰度统计分析 (A) 与 KEGG 通路富集分析 (B)

Fig. 7 Statistical analysis of relative abundance (A) and KEGG pathway enrichment analysis (B) of differential metabolites

### 3.7 淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型血清中细胞因子水平的影响

对 6 个特异性较好的代谢物及其相关代谢通路构建代谢网络, 见图 8-A。研究表明, 亚油酸代谢、鞘脂代谢等可影响细胞因子 (如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ ) 水平, 进而调控肝脏功能<sup>[10]</sup>。因此, 本研究检测了血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IL-10 水平, 以评估淫羊藿和女贞子对补骨脂诱导的肾阴虚大鼠肝损伤模型炎症反应的影响。结果如图 8-B 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  及 IL-10 水平显著升高 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ 、 $0.001$ ); 与模型组比较, 淫羊藿组大鼠血清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平显著升高 ( $P<0.05$ ), IL-10 水平有下降趋势但无显著性差异; 女贞子组大鼠血清中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平显著降低 ( $P<0.05$ 、 $0.01$ ), IL-10 水平显著升高 ( $P<0.01$ )。

### 4 讨论

“异类相制”理论是对传统中药七情及君臣佐使配伍原则的深化发展, 涵盖性味相制、异效相制、扶正制毒等减毒机制, 以及药物间相反相成的交互关系<sup>[6]</sup>。本研究以温热药补骨脂诱导的肾阴虚模型大鼠肝损伤为参照, 以同为温热药性的淫羊藿为对比, 以药性相反、功效偏于滋阴清热的女贞子探讨其减毒作用。血清 ALT、AST 活性及肝组织 HE 染色结果显示, 淫羊藿可显著加剧补骨脂诱导的肾阴虚模型大鼠肝损伤, 而女贞子则明显减轻肝损伤。两药在配伍中的作用趋势体现了阴阳互制、药性互补关系, 与周学平“异类相制”中“性味相制、异效相制”的配伍理念相符<sup>[11]</sup>。

为解析潜在机制, 本研究采用代谢组学技术共鉴定出 17 个由淫羊藿和女贞子共同调控补骨脂诱导的肝损伤模型大鼠肝脏功能的差异代谢物; 结合

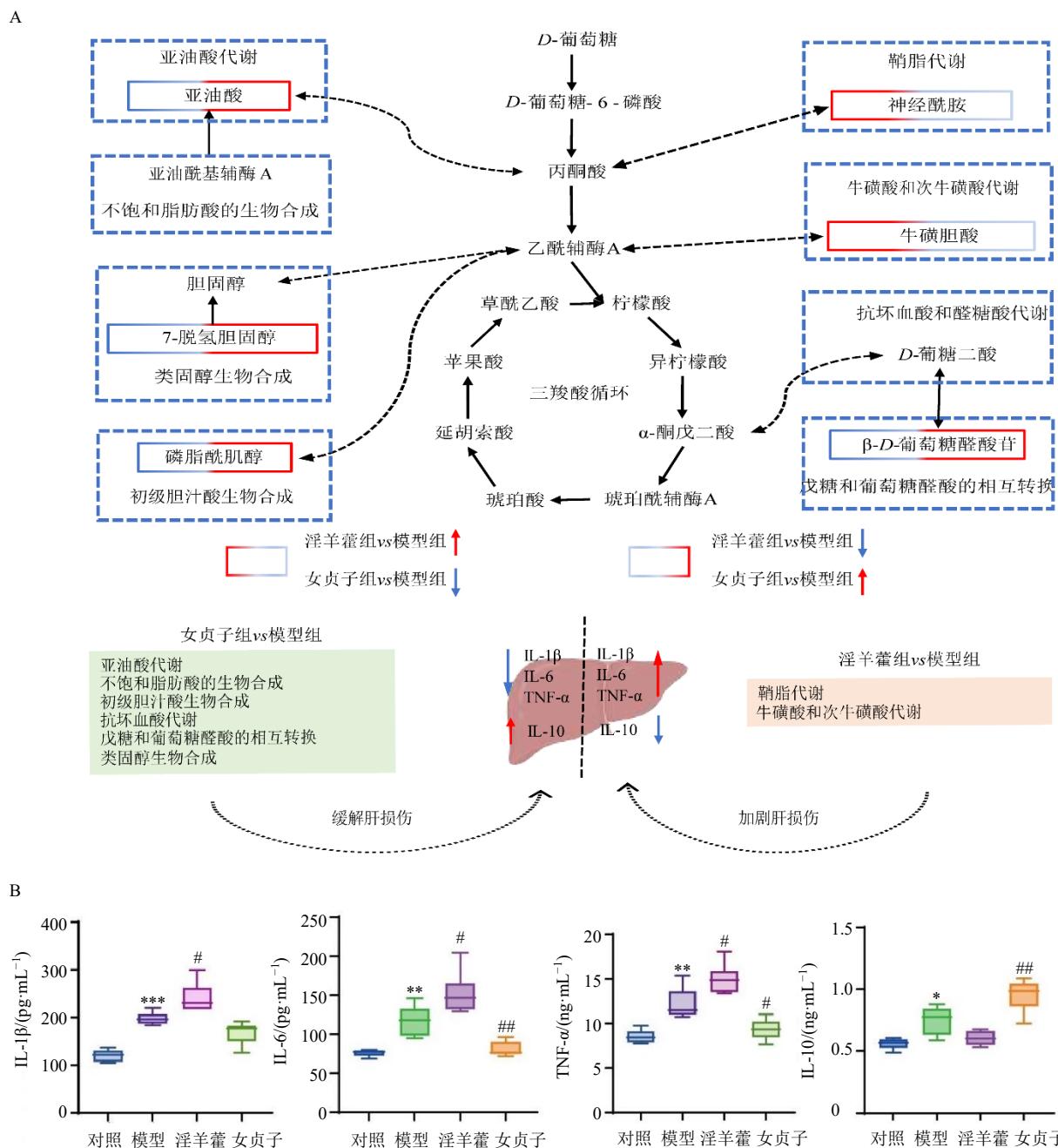


图8 代谢物-代谢通路网络分析 (A) 及淫羊藿和女贞子对模型大鼠血清中细胞因子水平的影响 (B) ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Fig. 8 Metabolite-pathway network analysis (A) and effects of *Epimedii Folium* and *Ligustri Lucidi Fructus* on levels of cytokines in serum of liver injury model rats with kidney-yin deficiency induced by *Psoraleae Fructus* (B) ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

差异代谢物与 ALT、AST 关联分析及 ROC 曲线评估, 筛选出神经酰胺、牛磺胆酸、磷脂酰肌醇等 6 个具有较好敏感性与特异性的关键差异代谢。研究表明, 神经酰胺水平升高可促进炎症因子分泌、诱导线粒体功能障碍及氧化应激, 从而加剧肝脏损伤<sup>[12-14]</sup>; 牛磺胆酸在病理浓度下可诱导肝细胞释放促炎因子并促进中性粒细胞趋化, 进而放大肝组织炎症反应。二者作为鞘脂代谢和牛磺酸/次牛磺酸

代谢通路的关键代谢物, 均可能通过激活炎症相关信号途径促进炎症反应<sup>[15]</sup>。在本研究中, 淫羊藿干预可显著升高神经酰胺和牛磺胆酸水平, 提示其可能通过促进上述代谢物积累激活炎症反应, 加重肝损伤; 而女贞子呈现相反趋势, 提示其可能通过抑制炎症反应发挥肝保护作用。

此外, 磷脂酰肌醇通过抑制核因子- $\kappa$ B 通路的激活, 促进巨噬细胞向抗炎的 M2 型极化, 减少炎

症细胞因子的产生，提高组织的抗炎能力<sup>[16-17]</sup>；7-脱氢胆固醇具有清除过氧自由基、维持膜稳定性并抑制铁死亡的作用<sup>[18]</sup>； $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷在正常条件下参与葡萄糖醛酸化逆反应，促进解毒与激素循环，其活性升高可导致毒素再吸收及氧化应激加剧，从而加速肝功能衰退<sup>[19]</sup>；亚油酸可通过影响炎症介质的合成与平衡，参与药物性肝损伤的发生发展<sup>[20-21]</sup>。这些差异代谢物作为亚油酸代谢、戊糖和葡萄糖醛酸的相互转换及不饱和脂肪酸生物合成等通路的重要节点，其适度激活可抑制促炎因子释放，从而减轻炎症反应<sup>[22-23]</sup>。在本研究中，淫羊藿干预可降低上述代谢物水平，提示其可能通过抑制抗炎代谢途径而加剧肝损伤；相反，女贞子干预呈现出相反的调控趋势，可通过增强抗炎代谢途径而减轻肝损伤。

IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 和IL-10水平常作为反映肝损伤炎症反应的重要指标<sup>[24-25]</sup>。在本研究中，淫羊藿可显著上调肝损伤模型大鼠血清IL-1 $\beta$ 、IL-6及TNF- $\alpha$ 水平，并降低抗炎因子IL-10水平；而女贞子则呈相反趋势。这些细胞因子的变化水平与代谢组学分析中鉴定出的差异代谢物变化趋势具有较高的一致性，进一步表明淫羊藿可能通过激活促炎或抑制抗炎代谢途径加剧肝损伤，而女贞子则通过抑制促炎或增强抗炎代谢途径减轻肝损伤。

综上，淫羊藿和女贞子可通过调控亚油酸代谢、鞘脂代谢等代谢途径影响炎性细胞因子水平，从而在补骨脂诱导的肝损伤模型中表现出毒/效作用差异。本研究在“异类相制”理论指导下，从代谢组学层面揭示了补骨脂配伍减毒的潜在物质基础与作用机制，为其在肾阴虚背景下的安全用药及合理配伍提供了科学依据和实验参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Ge F L, Niu M, Han Z X, et al. Landscape of hepatobiliary adverse drug reactions related to preparations containing *Psoraleae Fructus* and its application in pharmacovigilance [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27(11): 832-837.
- [2] 张潇予, 王丹妮, 柴欣, 等. 补骨脂的质量特征解析及其在减毒工艺中的应用 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2784-2791.
- [3] Zhang M L, Zhao X, Li W X, et al. Yin/Yang associated differential responses to *Psoralea corylifolia* Linn. in rat models: An integrated metabolomics and transcriptomics study [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 102.
- [4] 吴晓燕, 赫俊杰, 阎星旭, 等. 基于“有故无殒”的补骨脂对不同肾虚证模型大鼠肝脏功能的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 434-441.
- [5] 裴天仙, 李福珍, 陈梦颖, 等. 补骨脂素对正常大鼠和阴虚大鼠肝脏毒性差异研究及机制初探 [J]. 中国药理学通报, 2025, 41(5): 843-850.
- [6] 周学平, 冯哲, 俞志超, 等. “异类相制”理论及其指导下的有毒中药应用策略 [J]. 中医杂志, 2024, 65(5): 449-454.
- [7] 张明亮, 赵旭, 李伟霞, 等. 补骨脂“大燥伤肝”的客观性及生物学机制研究 [J]. 药学学报, 2023, 58(4): 1014-1023.
- [8] 张明亮. 基于病证毒理学的补骨脂毒-效转化与精准用药策略研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- [9] 王赛, 白明, 苗明三. 阴虚证动物模型诊断指标及分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 132-137.
- [10] de Gaetano M, Alghamdi K, Marcone S, et al. Conjugated linoleic acid induces an atheroprotective macrophage M $\Phi$ 2 phenotype and limits foam cell formation [J]. *J Inflamm*, 2015, 12: 15.
- [11] 周学平, 周玲玲, 朱华旭, 等. 从物质-代谢-毒性关联视角多维度解析雷公藤复方配伍“异类相制”减轻肝损伤机制 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6): 795-798.
- [12] Summers S A, Chaurasia B, Holland W L. Metabolic messengers: Ceramides [J]. *Nat Metab*, 2019, 1(11): 1051-1058.
- [13] Liu Z M, Zhang Z F, Huang M, et al. Taurocholic acid is an active promoting factor, not just a biomarker of progression of liver cirrhosis: Evidence from a human metabolomic study and *in vitro* experiments [J]. *BMC Gastroenterol*, 2018, 18(1): 112.
- [14] 乐英彪, 王昆华, 邹雷. 牛磺胆酸促进肝硬化发展的机制 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(11): 2658-2662.
- [15] Gomez-Larrauri A, Larrea-Sebal A, Martín C, et al. The critical roles of bioactive sphingolipids in inflammation [J]. *J Biol Chem*, 2025, 301(8): 110475.
- [16] Chen X, Cai X D, Le R R, et al. Isoliquiritigenin protects against sepsis-induced lung and liver injury by reducing inflammatory responses [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(2): 245-252.
- [17] Zhou S, Gu J, Liu R, et al. Spermine alleviates acute liver injury by inhibiting liver-resident macrophage pro-inflammatory response through ATG5-dependent autophagy [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 948.
- [18] Freitas F P, Alborzinia H, Dos Santos A F, et al. 7-Dehydrocholesterol is an endogenous suppressor of ferroptosis [J]. *Nature*, 2024, 626(7998): 401-410.

- [19] Shi Q, Haenen G R, Maas L, et al. Inflammation-associated extracellular  $\beta$ -glucuronidase alters cellular responses to the chemical carcinogen benzo[a]pyrene [J]. *Arch Toxicol*, 2016, 90(9): 2261-2273.
- [20] Zhang Q, Jiang Y, Qin Y, et al. Linoleic acid alleviates lipopolysaccharide induced acute liver injury via activation of Nrf2 [J]. *Physiol Res*, 2024, 73(3): 381-391.
- [21] Warner D R, Liu H L, Miller M E, et al. Dietary linoleic acid and its oxidized metabolites exacerbate liver injury caused by ethanol via induction of hepatic proinflammatory response in mice [J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(10): 2232-2245.
- [22] Kikut J, Komorniak N, Ziętek M, et al. Inflammation with the participation of arachidonic (AA) and linoleic acid (LA) derivatives (HETEs and HODEs) is necessary in the course of a normal reproductive cycle and pregnancy [J]. *J Reprod Immunol*, 2020, 141: 103177.
- [23] Liu Z X, Li Z Z, Guo Y Y, et al. The protective effects of *Propolis* against lipopolysaccharide-induced acute liver injury by modulating serum metabolites and gut flora [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 16959.
- [24] Zhu Y R, Yang Y Q, Ruan D D, et al. Paeoniflorin attenuates APAP-induced liver injury via intervening the crosstalk between hepatocyte pyroptosis and NETs [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(4): 1493.
- [25] 王中一, 张治杰, 姚亚乐, 等. 连翘叶乙醇提取物对 APAP 诱导肝损伤小鼠氧化应激及炎症因子的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2024, 59(4): 1-8.

[责任编辑 李亚楠]