

# 基于血浆代谢组学的附子脂溶性生物碱对佐剂性关节炎模型大鼠的毒性作用机制研究<sup>Δ</sup>

谢云飞<sup>1,2\*</sup>, 李芸霞<sup>1</sup>, 刘美辰<sup>1</sup>, 周忆梦<sup>1</sup>, 王彪<sup>1</sup>, 彭成<sup>1#</sup>(1.成都中医药大学药学院/中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 成都 611137; 2.四川省医学科学院/四川省人民医院核医学科, 成都 610072)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0078-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.17

**摘要** 目的:研究附子脂溶性生物碱对佐剂性关节炎(AIA)模型大鼠的毒性作用机制。方法:将40只大鼠随机分为空白组(超纯水)、模型组(超纯水)和附子脂溶性生物碱低、高剂量组(12.5、35 mg/kg),每组10只。除空白组外,其余各组大鼠均于右后足跖部位注射0.1 mL完全弗氏佐剂复制AIA模型。造模19 d后开始灌胃给药,每天1次。连续给药14 d后,采用超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱结合高分辨质谱技术分离并鉴定血浆中内源性代谢物,然后对数据进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘判别分析(PLS-DA),通过变量投影重要度值(VIP)>1和P值(<0.05)筛选血浆中的差异代谢物;并根据差异代谢物查阅京都基因与基因组百科全书数据库,推测附子脂溶性生物碱对AIA大鼠的毒性作用机制。结果:共鉴定出57个血浆代谢物,并确定了L-脯氨酸、6-羟基烟酸、腺苷等11个差异代谢物。AIA造模后可引起大鼠血浆中L-脯氨酸和尿苷酸含量显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),脱氧胞苷含量显著升高( $P<0.01$ )。低剂量附子脂溶性生物碱给药后可使模型大鼠血浆中腺苷和L-脯氨酸含量显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),血浆中脱氧胆酸含量显著升高( $P<0.05$ );而高剂量附子脂溶性生物碱给药后可使模型大鼠血浆中6-羟基烟酸、腺苷、肉碱、L-脯氨酸、N-甲酰氨基苯甲酸含量显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),血浆中脱氧胆酸、L-精氨酸、脱氧胞苷、L-赖氨酸含量显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结论:低剂量附子脂溶性生物碱对AIA模型大鼠的毒性较小;高剂量附子脂溶性生物碱对AIA模型大鼠的毒性作用可能与其引起胆汁分泌异常及赖氨酸生物合成及嘌呤、嘧啶、色氨酸、脯氨酸、精氨酸代谢紊乱有关。

**关键词** 附子;脂溶性生物碱;代谢组学;佐剂性关节炎;毒性机制;大鼠

## Study on Toxicity Mechanism of *Aconitum carmichaeli* Lipid-soluble Alkaloids to Adjuvant-induced Arthritis Model Rats Based on Plasma Metabolomics

XIE Yunfei<sup>1,2</sup>, LI Yunxia<sup>1</sup>, LIU Meichen<sup>1</sup>, ZHOU Yimeng<sup>1</sup>, WANG Biao<sup>1</sup>, PENG Cheng<sup>1</sup>(1.School of Pharmacy, Chengdu University of TCM/Key Lab Breeding Base of Systematic Research & Development and Utilization of Chinese Medicine Resources Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu 611137, China; 2.Dept. of Nuclear Medicine Sichuan Academy of Medical Sciences/Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the toxicity mechanism of lipid-soluble alkaloids of *Aconitum carmichaeli* to adjuvant-induced arthritis (AIA) model rats. METHODS: Totally 40 rats were randomly divided into blank group (ultrapure water), model group (ultrapure water) and *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids low-dose and high-dose groups (12.5, 35 mg/kg), with 10 rats in each group. Except for blank group, rats in other groups were given complete Freund's adjuvant 0.1 mL on the right hind paw to induce AIA model. 19 d after modeling, they were given relevant medicine intragastrically, once a day. After 14 d of administration, endogenous metabolites were separated and identified from plasma by UPLC-LTQ/Orbitrap MS. Then, the collected data were analyzed by principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). Variable importance projection (VIP) >1 and P value (<0.05) were used to screen differential metabolites in plasma. Retrieving the

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81630101、81573583);四川省青年科技创新研究团队专项计划项目(No.2017TD0001)

\* 博士研究生。研究方向:药动学与代谢组学。电话:028-87393445。E-mail:12403444@qq.com

# 通信作者:教授,博士生导师。研究方向:疾病动物模型与中药复方。电话:028-61800005。E-mail:pengchengsub@126.com

database of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes according to the differential metabolites, the toxic mechanism of *A. carmichaeli* liposoluble alkaloids to AIA rats were speculated. RESULTS: A total of 57 plasma metabolites were identified, and 11 differential metabolites such as L-proline, 6-hydroxynicotinic acid and adenosine were identified. After

inducing AIA model, the plasma contents of *L*-proline and uridylic acid were decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the content of deoxycytidine was increased significantly ( $P < 0.01$ ). Low dose of *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids could decrease the plasma contents of adenosine and *L*-proline in rats ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while the plasma contents of deoxycholic acid was increased significantly ( $P < 0.05$ ). High dose of *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids could decrease the plasma contents of 6-hydroxynicotinic acid, adenosine, carnitine, *L*-proline, *N*-formylaminobenzoic acid were decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), while the plasma contents of deoxycholic acid, *L*-arginine, deoxycytidine and *L*-lysine were increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). CONCLUSIONS: The toxicity of low-dose of *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids to AIA model rats is less; the toxicity of high-dose of *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids to AIA model rats may be related to abnormal bile secretion, lysine biosynthesis and metabolic disorders of purine, pyrimidine, tryptophan, proline and arginine.

**KEYWORDS** *Aconitum carmichaeli*; Lipid-soluble alkaloids; Metabolomics; Adjuvant-induced arthritis model; Toxic mechanism; Rat

附子为毛茛科植物乌头(*Aconitum carmichaeli* De-bx.)的子根加工品,味辛、甘,大热,有毒,具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛等功效<sup>[1]</sup>。附子因含有毒性生物碱而被列入有毒中药。附子的脂溶性生物碱是其重要生物活性成分,主要由单酯二萜类乌头碱(MDAs)和双酯二萜类乌头碱(DDAs)组成<sup>[2]</sup>。附子的镇痛、抗炎和强心作用与脂溶性生物碱存在密切相关<sup>[3]</sup>。但其安全剂量狭窄,过量服用可引起胃肠道、神经和心脏毒性<sup>[4]</sup>,严重中毒者甚至在几分钟内就会死亡<sup>[5]</sup>。尽管已有通过代谢组学技术揭示乌头类植物毒性的报道,如川乌、附子炮制品(黑顺片)及乌头类生物碱毒性机制的代谢组学研究<sup>[6-9]</sup>。但多数研究仅在正常动物体中进行,缺乏对特定疾病动物模型的研究。本研究基于超高效液相色谱-线性离子阱/静电场轨道阱结合高分辨质谱(UPLC-LTQ/Orbitrap MS)技术和模式识别方法,通过血浆代谢组学,研究不同剂量附子脂溶性生物碱引起的内源性代谢物的变化,以探讨其对佐剂性关节炎(AIA)模型大鼠的毒性机制,为附子用于治疗类风湿性关节炎所致的不良反应及毒性损害提供参考依据,保障其用药安全。

## 1 材料

### 1.1 仪器

ACQUITY 型 UPLC 仪(美国 Waters 公司);LTQ Orbitrap XL 型质谱仪(美国 Thermo 公司);KDC-2046 型低速冷冻离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);AL204 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

### 1.2 药品与试剂

附子黑顺片炮制品(四川江油中坝附子科技发展有限公司,批号:160901,经成都中医药大学药学教研室裴瑾教授鉴定为毛茛科植物乌头子根的黑顺片炮制品);甲醇(上海沃凯化学试剂有限公司,批号:20180201,色谱纯);乙腈(德国 Merck 公司,批号:SHBJ8804,色谱纯);甲酸(日本 TCI 公司,批号:N2S2C-0G,色谱纯);完全弗氏佐剂(美国 Sigma 公司,批号:SLBV6895);水为

实验室自制超纯水(Milli-Q 级别)。

### 1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠 40 只,♀,体质量 180~220 g,购自四川省中医科学院实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(川)2013-19。给予标准饮食和清洁用水,在平均温度为(20±2)℃、相对湿度为(55±5)%条件下适应性喂养 1 周。

## 2 方法与结果

### 2.1 附子脂溶性生物碱的制备

取附子黑顺片炮制品 5 kg 并粉碎,用二氯甲烷浸润后转入 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中浸润 30 min。然后将药材转入水浴锅中,用二氯甲烷加热回流提取 2 次,第 1 次 8 倍量体积提取 2 h,第 2 次 6 倍量体积提取 1 h,水浴温度均为 65℃。合并 2 次提取液,回收溶剂并浓缩至体积为 2.5 L。将药液转入分液漏斗中,用 0.05 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 等体积萃取 2 次,合并萃取所得酸水液,加氨水调溶液 pH 至 9~10,再用二氯甲烷等体积萃取 3 次,合并萃取液并回收二氯甲烷,得附子脂溶性生物碱约 12.5 g。临用前用纯水配制成相应的浓度。

### 2.2 分组、造模与给药

将 40 只大鼠随机分为 4 组,分别为空白组、模型组和附子脂溶性生物碱低、高剂量组,每组 10 只。模型组和附子脂溶性生物碱低、高剂量组大鼠在右后足垫部位注射 0.1 mL 完全弗氏佐剂复制 AIA 模型<sup>[10]</sup>,空白组大鼠在相同部位注射 0.1 mL 生理盐水。大鼠造模 19 d 后开始给药,灌胃体积均为 2 mL/100 g。经预实验,AIA 模型大鼠对附子脂溶性生物碱的最大耐受剂量为 35 mg/kg,故将此作为高剂量组的给药剂量,而低剂量组则选择最大耐受量的约 1/3 作为给药剂量,即 12.5 mg/kg,空白组和模型组大鼠给予相应体积超纯水作为对照。每天 1 次,持续给药 14 d。

### 2.3 血浆样本收集及处理

末次给药后 2 h,所有大鼠均腹腔注射 10% 水合氯

醛(0.3 mL/100 g)麻醉,用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管从腹主动脉采集血液样品,并迅速转入低温离心机中,设置1 600×g离心力和4 ℃离心温度,离心15 min。然后将上清液的血浆样本转移至无菌冻存管中,液氮速冻并在-80 ℃低温冰箱中保存。

## 2.4 LC-MS分析系统条件

色谱条件:色谱柱为ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);柱温为40 ℃;溶剂A为含0.1%甲酸的水,溶剂B为含0.1%甲酸的乙腈,梯度洗脱(0~1 min, 2%B; 1~9.5 min, 2%→50%B; 9.5~14 min, 50%→98%B; 14~15 min, 98%B; 15~15.5 min, 98%→2%B; 15.5~17 min, 2%B);流速为0.25 mL/min;自动进样器温度为4 ℃;进样量为5 μL。

质谱条件:质谱仪采用正(+)、负(-)离子电离模式,正离子喷雾电压为4.8 kV,负离子喷雾电压为4.5 kV,鞘气流速为45 arb,辅助气流速15 arb;毛细管温度为325 ℃;正、负离子模式下的毛细管电压为35 V/-15 V,管透镜电压为50 V/-50 V;以分辨率60 000进行全扫描,扫描范围89~1 000,采用诱导碰撞解离(CID)进行二级裂解,碰撞电压为30 eV,同时采用动态排除(重复计数为2)去除无必要的MS/MS信息,动态排除时间设置为15 s。

## 2.5 血浆代谢物的轮廓分析及鉴别

将血浆样本在4 ℃下融化,然后取200 μL于含有800 μL甲醇的1.5 mL离心管中,振荡60 s,混匀,在4 ℃条件下以12 000 r/min离心10 min,取上清液转移至另一1.5 mL离心管中,真空浓缩干燥后,用300 μL的80%甲醇复溶,取上清液用0.22 μm微孔滤膜过滤,即得待测样品。将待测样品按“2.4”项下条件进样测定,可见各组的代谢图谱均存在一定程度的差异。根据质谱中化合物的精确分子量和碎片离子信息,与常用的代谢物数据库HMDB、Metlin、Massbank等在线比对后共检测出了4 769个前体分子,并鉴定出了57个血浆代谢物。总离子流图(TIC图)见图1。

## 2.6 主成分分析(PCA)

作为非监督的多元分析方法,PCA可直观了解图中每个样本的空间分布,掌握各组大鼠体内代谢物的整体变化趋势。应用SIMCA-P 13.0软件(瑞典Umetrics公司)对正、负离子模式下4个血浆样品的所有变量进行PCA分析,进一步确定代谢物的差异性。结果,4个血浆样品中代谢物呈现明显的分离趋势,构建的PCA模型参数为正离子模式: $R^2X=0.41$ 、负离子模式: $R^2X=0.49$ ( $R^2X$ :对X轴的解释度)。PCA评分图见图2。

## 2.7 差异代谢物的确定及毒性相关通路分析

作为有监督的多元分析方法,偏最小二乘判别分析

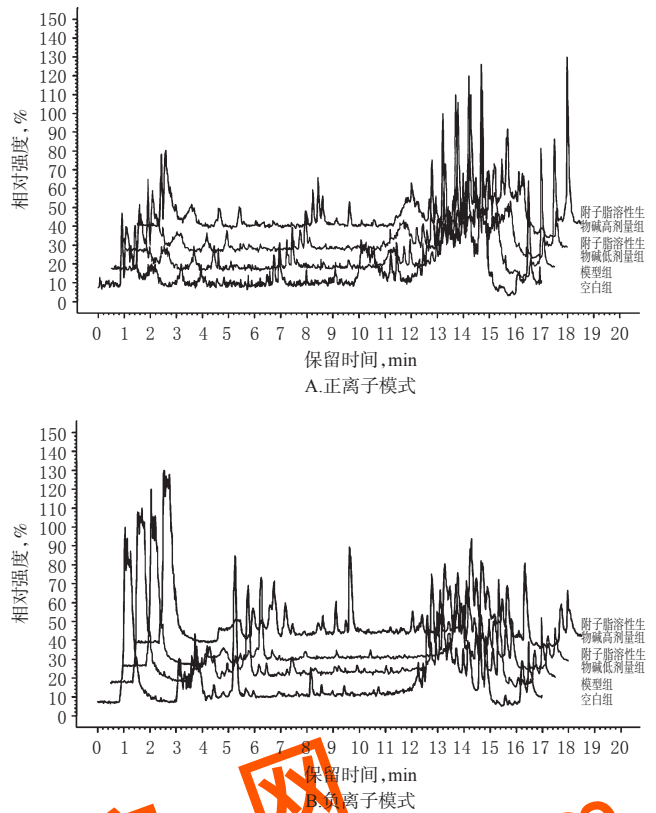


图1 4组大鼠血浆样品的TIC图  
Fig 1 TIC chromatograms of rat plasma samples in 4 groups

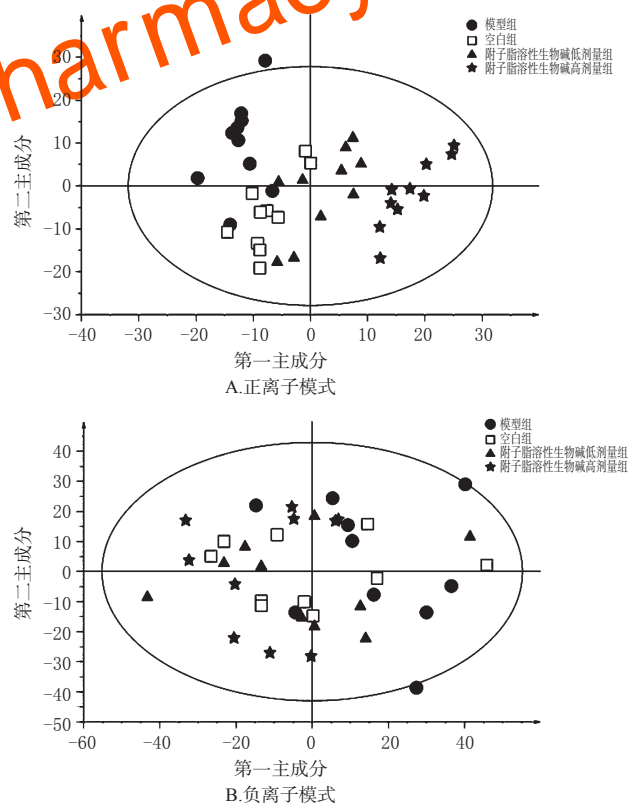


图2 4组大鼠血浆代谢物的PCA评分图  
Fig 2 PCA score plot of rat plasma metabolites in 4 groups

(PLS-DA)能进一步区分分析组的差异,并通过变量投影重要度值(VIP)确认潜在的生物标志物。应用SIM-CA-P 13.0软件对实验数据进行PLS-DA分析,建立代谢物表达量与样品类别之间的关系模型。该模型投影中VIP>1的变量,被认为是潜在代谢生物标志物;再进一步应用SPSS 21.0软件(美国IBM公司)对筛选出的潜在代谢生物标志物进行单因素方差分析和t检验,以P<0.05为条件得出差异代谢物。

结果,各组间的代谢物可见很大程度的分离。构建的PLS-DA模型参数为正离子模式: $R^2X=0.364$ , $R^2Y=0.956$ , $Q^2=0.828$ ;负离子模式: $R^2X=0.552$ , $R^2Y=0.986$ , $Q^2=0.791$ ( $R^2Y$ :对Y轴的解释度, $Q^2$ :模型的预测度)。从已鉴定的57个化合物中筛选出了25个与附子脂溶性生物碱毒性相关的潜在生物标志物,并确定了其中6-羟基烟酸、腺苷、脱氧胆酸等11个差异代谢物。与空白组比较,模型组大鼠血浆中6-羟基烟酸、脱氧胆酸、甘氨酸、脱氧胆酸、L-精氨酸、脱氧胞苷和L-赖氨酸含量升高,尿苷酸、N-乙酰氨基苯甲酸、L-脯氨酸、肉碱和腺苷含量降低,其中L-脯氨酸、脱氧胞苷、尿苷酸差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。与模型组比较,附子脂溶性生物碱低剂量组大鼠血浆中除脱氧胆酸含量升高外,其余10个化合物含量均降低,其中腺苷、脱氧胆酸和L-脯氨酸含量差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );附子脂溶性生物碱高剂量组大鼠血浆中5个化合物(脱氧胆酸、甘氨酸、脱氧胆酸、L-精氨酸、脱氧胞苷和L-赖氨酸)含量升高,其余6个化合物含量降低,且除甘氨酸、脱氧胆酸和尿苷酸外的其余9个化合物含量差异均有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。差异代谢物通过查阅京都基因与基因组百科全书(KEGG)等在线数据库,确认其主要涉及脂肪、胆汁酸、氨基酸、能量和嘧啶代谢。PLS-DA评分图见图3,潜在生物标志物鉴定结果见表1,毒性机制关联图见图4。

### 3 讨论

代谢组学可对机体内源性代谢物及其变化进行快速识别和定量分析,探索代谢物变化与生理病理变化的直接关系<sup>[11]</sup>。本研究基于UPLC-LTQ/Orbitrap MS的代谢组分析技术,研究了不同剂量的附子脂溶性生物碱给药后AIA模型大鼠血浆中内源性代谢物的变化,以揭示附子脂溶性生物碱在AIA模型大鼠用药过程中所产生的相关毒性作用机制。并且通过对实验数据的多元统计分析,共筛选出了11种与附子脂溶性生物碱毒性相关的差异代谢物,并分析了可能的毒性作用机制。

#### 3.1 胆汁酸代谢异常

在长链脂肪酸的线粒体穿梭中,肉碱作为重要的中间体,全程参与脂肪酸的转运<sup>[12]</sup>。在本研究中,附子脂

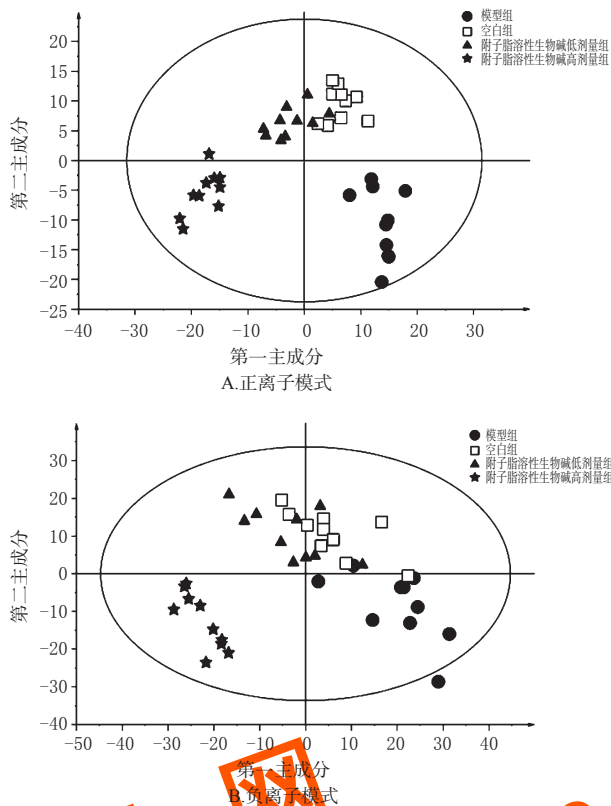


图3 4组大鼠血浆代谢物的PLS-DA评分图

Fig 3 PLS-DA score plot of rat plasma metabolites in 4 groups

表1 与附子脂溶性生物碱对AIA模型大鼠毒性相关的11个潜在生物标志物信息

Tab 1 Information of 11 potential biomarkers related to the toxicity of *A. carmichaeli* lipid-soluble alkaloids to AIA model rats

序号	代谢物鉴定	质核比	离子模式	保留时间, min	分子式	模型组 vs. 空白组	附子脂溶性生物碱低剂量组 vs. 模型组	附子脂溶性生物碱高剂量组 vs. 模型组
1	6-羟基烟酸	138.02	-	6.81	C <sub>8</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	↑	↓	↓*
2	腺苷	265.95	-	9.60	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	↓	↓*	↓*
3	脱氧胆酸	391.28	-	12.10	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>4</sub>	↑	↑*	↑**
4	肉碱	162.12	+	1.13	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>	↓	↓	↓**
5	甘氨酸脱氧胆酸	450.32	+	9.40	C <sub>28</sub> H <sub>45</sub> NO <sub>3</sub>	↑	↓	↑
6	L-精氨酸	175.12	+	1.14	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	↑	↓	↑*
7	L-脯氨酸	116.07	+	1.15	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>	↓**	↓**	↓**
8	N-乙酰氨基苯甲酸	166.05	+	2.83	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	↓	↓	↓*
9	脱氧胞苷	228.10	+	1.16	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	↑**	↓	↑*
10	尿苷酸	324.22	+	0.78	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub> P	↓*	↓	↓
11	L-赖氨酸	147.11	+	0.98	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	↑	↓	↑*

注:“↑”表示含量升高;“↓”表示含量降低;“\*”表示P<0.05;“\*\*”表示P<0.01

Note: “↑” means the content is up-regulated, “↓” means the content is down-regulated; “\*” means P<0.05; “\*\*” means P<0.01

溶性生物碱高剂量组大鼠血浆中肉碱含量较空白组和模型组均明显降低,这提示附子脂溶性生物碱的毒性剂量(高剂量)破坏了肉碱的平衡,可能导致脂肪酸代谢的



- ical, and accurate analytical method for simultaneous determination of six alkaloid markers in *Aconiti Lateralis Radix Praeparata* from different manufacturing sources and processing ways[J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(4): 301-309.
- [ 3 ] BELLO-RAMIREZ AM, BUENDIA-OROZCO J, NAVA-OCAMPO AA. A QSAR analysis to explain the analgesic properties of *Aconitum* alkaloids[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2003, 17(5):575-580.
- [ 4 ] WU JJ, GUO ZZ, ZHU YF, et al. A systematic review of pharmacokinetic studies on herbal drug Fuzi: Implications for Fuzi as personalized medicine[J]. *Phytomedicine*, 2018. DOI:10.1016/j.phymed.2018.03.001.
- [ 5 ] CHAN TY. *Aconitum* alkaloid poisoning related to the culinary uses of aconite roots[J]. *Toxins*, 2014, 6(9):2605-2611.
- [ 6 ] DONH H, ZHANG AH, 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.
- [ 7 ] DONG H, YAN GL, HAN Y, et al. UPLC-Q-TOF/MS-based metabolomic studies on the toxicity mechanisms of traditional Chinese medicine Chuanwu and the detoxification mechanisms of Gancao, Baishao, and Ganjiang[J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13(9):687-698.
- [ 8 ] LI L, SUN B, ZHANG Q, et al. Metabonomic study on the toxicity of Hei-Shun-Pian, the processed lateral root of *Aconitum carmichaelii* Debx. (Ranunculaceae) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 116(3):561-568.
- [ 9 ] SUN B, LI L, WU SM, 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.
- [10] 莫海珊,周毅生,黄叶东,等.龙须藤总黄酮对佐剂关节炎大鼠的治疗作用及机制[J]. *中成药*, 2017, 39(3):593-596.
- [11] 卢大胜,薛黎明,冯超,等.代谢组学在毒理学研究中的应用[J]. *环境与职业医学*, 2018, 35(9):855-860.
- [12] GAO S, CASALS N, KEUNG W, et al. Differential effects of central ghrelin on fatty acid metabolism in hypothalamic ventral medial and arcuate nuclei[J]. *Physiol Behav*, 2013, 118(4):165-170.
- [13] PALMEIRA CM, ROLO AP. Mitochondrially-mediated toxicity of bile acids[J]. *Toxicology*, 2004, 203(1/2/3):1-15.
- [14] IJARE OB, BEZABEH T, ALBIIN N, et al. Absence of glycochenodeoxycholic acid (GCDCA) in human bile is an indication of cholestasis: a <sup>1</sup>H-MRS study[J]. *NMR Biomed*, 2009, 22(5):471-479.
- [15] WANG A, YU D, GONG Y, et al. Glycochenodeoxycholic acid does not increase transforming growth factor-beta expression in bile duct epithelial cells or collagen synthesis in myofibroblasts[J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2017, 7(4):316-320.
- [16] JI H Y, LIU Y, HE F, et al. LC-MS based urinary metabolomics study of the intervention effect of aloe-emodin on hyperlipidemia rats[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018. DOI: 10.1016/j.jpba.2018.04.015.
- [17] HIRSCHBERG R, ENSIGN JC. Oxidation of nicotinic acid by a *Bacillus* species: regulation of nicotinic acid and 6-hydroxynicotinic acid hydroxylases[J]. *J Bacteriol*, 1972, 112(1):392-397.
- [18] CYNOBER L. Can arginine and ornithine support gut functions?[J]. *Gut*, 1994, 35(1 Suppl):S42-S45.
- [19] SCHWARTZ F, TAINA A, BENEDICT Y, et al. Augmented arginine uptake, through modulation of cationic amino acid transporter-1, increases GFR in diabetic rats[J]. *Kidney Int*, 2004, 65(4):1311-1319.
- [20] LUIKING YC, DEUTZ NE. Biomarkers of arginine and lysine excess[J]. *J Nutr*, 2007, 137(6 Suppl 2):1662S-1668S.
- [21] PORKKA-HEISKANEN T, KALINCHUK AV. Adenosine, energy metabolism and sleep homeostasis[J]. *Sleep Med Rev*, 2011, 15(2):123-135.
- [22] TREMBLAY S, DOUKI T, CADET J, et al. 2'-Deoxycytidine glycols, a missing link in the free radical-mediated oxidation of DNA[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(30):20833-20838.

(收稿日期:2018-08-23 修回日期:2018-11-11)

(编辑:林 静)

《中国药房》杂志——中国科技论文统计源期刊, 欢迎投稿、订阅