

基于代谢组学研究肝复乐胶囊抑制 LX-2 细胞激活机制

柯 畅¹, 刘艳菊^{1,2}, 涂济源¹, 张方蕾¹, 高建龙³, 周仲实^{1*}

(1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065; 2. 湖北省中药炮制工程技术研究中心, 湖北 武汉 430065; 3. 湖北省肿瘤医院, 湖北 武汉 430074)

摘要: **目的** 研究肝复乐胶囊对转化生长因子- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 诱导的肝星状细胞 LX-2 激活的影响。**方法** LX-2 细胞分为对照组、模型组和肝复乐 125、250、500 $\mu\text{g/mL}$ 组。除对照组外, 其余各组 LX-2 细胞给予 5 ng/mL TGF- $\beta 1$ 刺激 24 h 建立肝纤维化模型。通过分子生物学手段 (RT-qPCR 及 Western blot 等) 检测细胞中 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、I 型胶原 (COL1A1) 表达。结合 GC-MS 法和代谢组学技术检测各组细胞代谢变化, 寻找与肝星状细胞激活相关差异代谢物, 进行通路富集, 预测可能代谢通路。**结果** 与模型组比较, 肝复乐各剂量组 LX-2 细胞 α -SMA、COL1A1 的 mRNA 及蛋白表达降低 ($P < 0.01$), 并呈剂量依赖性。代谢组学分析显示, 丙酸、丁酸、苯丙氨酸、L-苏氨酸、肌醇、D-半乳糖、甘油、油酸、D-甘油酯与肝星状细胞激活关系密切, 且在给药后回调, 并富集得到 4 条代谢途径。**结论** 肝复乐胶囊能够剂量依赖性地抑制 TGF- $\beta 1$ 对 LX-2 细胞的激活, 并缓解其代谢异常, 其机制可能是通过调节半乳糖代谢, 甘油酯代谢, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成, 苯丙氨酸代谢等途径实现的。

关键词: 肝复乐胶囊; 肝星状细胞 LX-2; TGF- $\beta 1$; GC-MS; 代谢组学

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)02-0672-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.02.054

肝纤维化是一种肝脏损伤病理进程, 常由饮酒、血吸虫、肝炎等致病因素引起。肝脏受损自我修复过程中, 细胞外基质增生与胶原沉积引发纤维化进展^[1]。肝纤维化伴随着多种肝脏疾病的发生, 严重的肝纤维化会发展为肝硬化, 甚至导致肝癌^[2]。而肝星状细胞 (HSCs) 激活后转化为成纤维细胞是肝纤维化发生发展的关键^[3]。肝星状细胞代谢紊乱与肝纤维化进展关系密切, 当肝脏受损时, 肝实质细胞与肝星状细胞会发生相互作用, 导致线粒体功能紊乱, 肝实质细胞脂质堆积^[4]。

肝复乐是潘敏求教授经多年临床观察与研究发明的国家级抗癌三类新药, 由党参、白术、鳖甲等 21 味中药组成, 具有健脾理气、化瘀软坚、清热解毒等功效。动物药理实验表明, 肝复乐除对原发性肝癌疗效卓著外, 对实验性肝纤维化大鼠也具有明显保护作用^[5]。但其发挥抗肝纤维化作用的机制尚未被阐明。基于此, 本研究构建人肝星状细胞 LX-2 体外纤维化模型^[6], 采用分子生物学方法检测肝星状细胞活化标志物, 分析肝复乐对肝星状细胞激活是否有抑制作用, 再以 GC-MS 法和代谢组学研究分析肝复乐对内源代谢物质的影响, 探讨其发挥抑制作用的可能代谢通路。

1 材料

1.1 细胞 人肝星状细胞 LX-2 (武汉普诺赛生命科技有

限公司, 货号 CL-0560)。

1.2 药物与试剂 肝复乐胶囊 (康普药业股份有限公司, 批号 20201128)。LX-2 细胞专用培养基 (武汉普诺赛生命科技有限公司, 批号 WH01112103SP); TGF- $\beta 1$ 蛋白 (上海近岸科技有限公司, 批号 0520611); 0.25% 胰酶消化液、MTT (北京索莱宝科技有限公司, 批号 20200930、20210112); SYBR green qPCR 混合染料、逆转录试剂盒 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司, 批号 7E452K0、1D352FE); 甲醇、吡啶、methoxyamine hydrochloride (色谱纯, 美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号 10765821435、STBK5658、BCCG1261); BSTFA (美国 Cerilliant 公司, 批号 FN05241802); GAPDH 小鼠单克隆抗体、 α -SMA 兔多克隆抗体、COL1A1 小鼠单克隆抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 10013030、00082687、71010160)。

1.3 仪器 免疫印迹电泳系统 (上海天能生命科学有限公司); qTOWER3 G 荧光定量 PCR 仪 (德国 Analytik Jena AG 公司); 225SM-DR 十万分之一分析天平 (瑞士 Precisa 公司); 多功能酶标仪 (美国 Agilent 公司); 1730R 微量高速冷冻离心机 [基因科技 (上海) 股份有限公司]; SW-CJ-2FD 洁净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); CKX53 倒置光学显微镜 (日本奥林巴斯公司); CO₂ 恒温培养箱 (美国赛默飞公司)。

收稿日期: 2023-01-20

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划青年人才项目 (Q20202006)

作者简介: 柯 畅 (1997—), 男, 博士生, 从事中药饮片炮制工艺、质量控制及原理研究。Tel: 15271702360, E-mail: kczzz@foxmail.com

* 通信作者: 周仲实 (1989—), 男, 博士, 讲师, 从事中药药理研究。Tel: 15871745189, E-mail: 3161@hbtcn.edu.cn

2 方法

2.1 肝复乐溶液制备 取肝复乐内容物 10 g，用 90 mL 80%乙醇回流提取，过滤，滤渣再次回流提取，合并 2 次滤液，冻干，得到冻干粉 3.47 g，PBS 定容至 10 mL，按原胶囊质量记，得到 1 g/mL 混悬液。用含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基稀释至 10 mg/mL，37 ℃ 超声溶解 30 min，0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌除杂，得到 10 mg/mL 母液。

2.2 细胞培养 LX-2 细胞使用专用培养基培养，每瓶 DMEM 高糖培养基中含有 10% 胎牛血清、1% 青链霉素。待细胞生长传代至第三代时，取部分细胞加入细胞冻存液进行冷冻保存。LX-2 细胞接种于 96 孔板中，细胞密度为 2×10³/孔，过夜贴壁后，弃上清，加入含 0、125、250、500、1 000、2 000 μg/mL 肝复乐的培养基培养 24 h，MTT 法检测细胞活力。取细胞接种于 60 mm 中皿或 6 孔板中，培养 24 h，模型组 LX-2 细胞给予 5 ng/mL TGF-β1，肝复乐 125、250、500 μg/mL 组在给予 5 ng/mL TGF-β1 和相应剂量肝复乐共同孵育 24 h 后，中皿细胞用 RIPA 法提取蛋白进行免疫印记检测。6 孔板细胞用 TRIzol 法提取 RNA 进行实时荧光定量 PCR 检测。对照组、模型组、肝复乐组（500 μg/mL）细胞使用 6 孔板培养，进行后续代谢组学研究。

2.3 MTT 法检测 LX-2 细胞活力 设置肝复乐给药质量浓度为 0、125、250、500、1 000、2 000 μg/mL，以未给药细胞活力为 100%，MTT 法检测各给药组对人肝星状细胞 LX-2 的增殖毒性，每组重复 6 次。

2.4 Western blot 法检测细胞 α-SMA、COL1A1 蛋白表达 收集中皿培养细胞，RIPA 裂解液裂解细胞后提取蛋白，并进行蛋白浓度检测，加入 loading buffer 后金属浴煮沸，于 -80 ℃ 冰箱保存备用。蛋白样本进行 SDS-PAGE 电泳，转膜，封闭，加入 GAPDH（1：20 000）、α-SMA（1：1 000）、COL1A1（1：5 000）一抗 4 ℃ 下孵育 12 h，加入 HRP 标记二抗（1：5 000）孵育 1 h，ECL 显影后用 Image J 软件统计条带灰度值，计算相对表达。

2.5 RT-qPCR 法检测细胞 α-SMA、COL1A1、COL4A2、MMP9、TIMP1 mRNA 表达 收集各组细胞，TRIzol 法提取总 RNA，检测 RNA 浓度，使用试剂盒将所得 RNA 逆转录为 cDNA，加入基于 SYBR Green 染料的扩增试剂盒及引物进行多聚酶链式反应。反应条件为 95 ℃ 1 min，95 ℃ 20 min，60 ℃ 45 s，共 40 次循环，95 ℃ 1 min，通过 2^{-ΔΔCT} 法处理数据。引物序列见表 1。

2.6 GC-MS 样品前处理 参考文献 [7] 报道，收集各组细胞，用 37 ℃ 预热的 0.9% 生理盐水冲洗，加入 4 ℃ 预冷的纯水冲洗，将细胞转移至冰上，加入 -80 ℃ 预冷甲醇 250 μL 淬灭，刮刀刮取细胞于 EP 管中，再加入 -80 ℃ 预冷甲醇 250 μL 冲洗 6 孔板，合并溶液。样本保存于 -80 ℃。EP 管反复冻融 3 次以裂解细胞（液氮冷冻 10 min，室温解冻 5 min）。4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 10 min，吸取上清 400 μL 至新的 EP 管，氮吹仪吹干。提前配制好 20 mg/mL

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
GAPDH	正向 GACAGTCAGCCGCATCTTCT
	反向 GCGCCCAATACGACCAAAATC
α-SMA	正向 CCTATCCCCGGGACTAAGAC
	反向 CCATCACCCCCCTGATGTCTG
COL1A1	正向 AAGCTGGAAAACCTGGTCTGT
	反向 AGCACCATCATTTCCACGAG
COL4A2	正向 GGACAGACGAGACAACAGCA
	反向 GAGCTGGCATAACATTGGCG
MMP9	正向 TCTATGGTCCTCGCCCTGAA
	反向 CATCGTCCACCGACTCAAA
TIMP1	正向 TCATTGCTTGTGGACGGACC
	反向 GGACACTGTGCAGGCTTCAG

甲氧基-吡啶，向干燥后的 EP 管中加入 80 μL，混匀，37 ℃ 烘箱孵育 2 h，加入 80 μL BSTFA，混匀，80 ℃ 水浴加热 1 h。室温静置 5 min 后，涡旋混匀，4 ℃ 下 12 000 r/min 离心 10 min，取 100 μL 上清，于内衬管中准备进样。

2.7 GC-MS 分析条件 参考文献 [8] 报道，DB-5MS 毛细管柱（30 mm×0.25 mm×0.25 μm）；程序升温（起始温度 80 ℃，保持 3 min，以 5 ℃/min 升温至 280 ℃，保持 5 min）；进样量 1.0 μL；进口温度 280 ℃；分流进样，分流比 10：1；载气高纯氦气，体积流量 1.0 mL/min；离子源温度 200 ℃；接口温度 280 ℃；碰撞能量 70 eV；全扫描模式；扫描范围 *m/z* 50~650；溶剂切除时间 5 min。

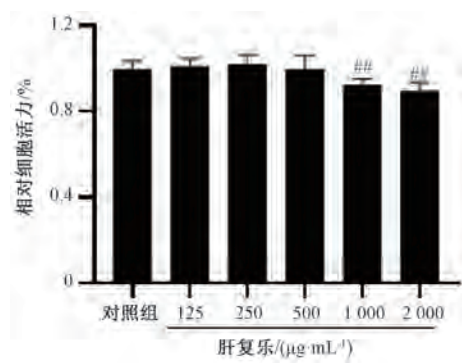
2.8 数据处理与分析 参考文献 [9] 报道，通过 Proteowizard、指纹图谱相似性评价软件（2004）对所有样本谱图进行共有峰提取^[10]。SIMCA 14.1 软件对所有峰进行归一化处理后进行多变量分析 [主成分分析（PCA）和正交-偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）]。统计多变量分析模型 VIP>1 的样本为差异代谢物，对各组差异代谢物进行单因素方差分析，确定潜在生物标志物（VIP>1 且 *P*<0.05）。根据潜在生物标志物保留时间、质荷比、二级裂解质谱图等数据，检索 GC-MS 数据库、HMDB 数据库后对生物标志物进行鉴定。通过 MetaboAnalyst 5.0（<https://www.metaboanalyst.ca>）网站对生物标志物进行通路富集。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 23.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

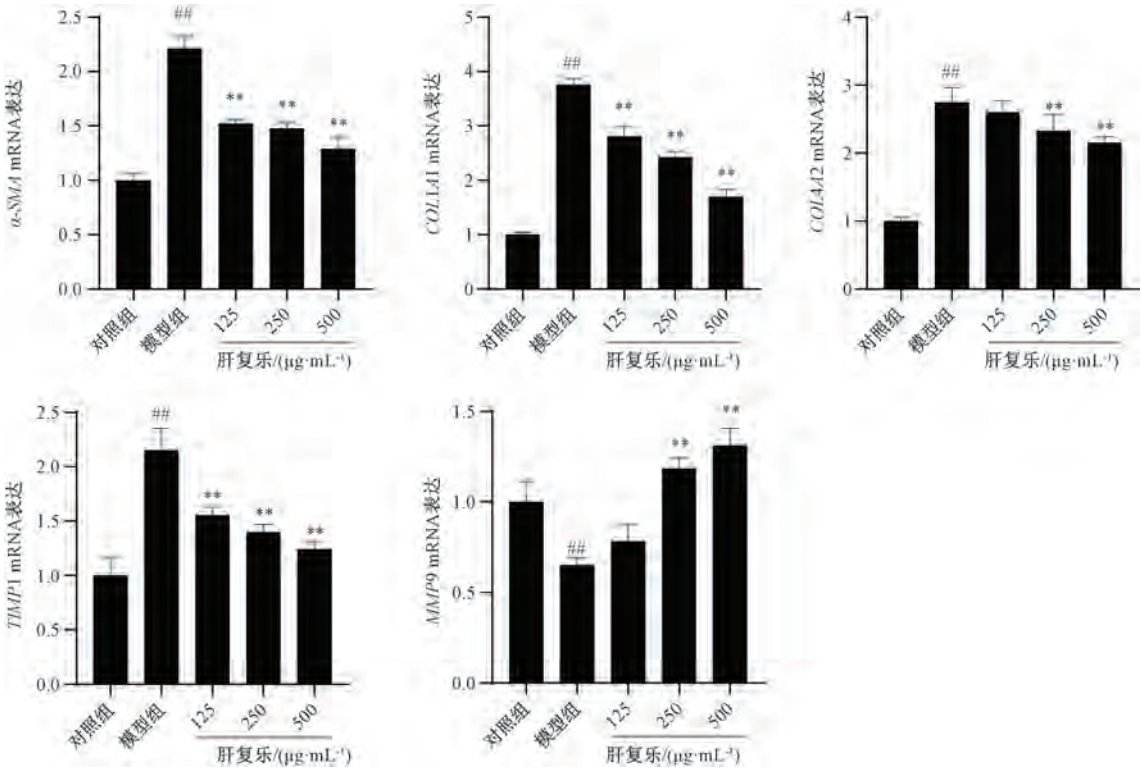
3.1 肝复乐对 LX-2 细胞活力的影响 如图 1 所示，500 μg/mL 剂量以下肝复乐对 LX-2 细胞活力无明显影响（*P*>0.05），1 000、2 000 μg/mL 肝复乐抑制人肝星状细胞 LX-2 活性（*P*<0.01）。因此选择 125、250、500 μg/mL 进行后续实验。

3.2 肝复乐对 LX-2 细胞 α-SMA、COL1A1、COL4A2、TIMP1、MMP9 mRNA 表达的影响 如图 2 所示，与对照组比较，模型组 LX-2 细胞 α-SMA、COL1A1、COL4A2、TIMP1 mRNA 表达升高（*P*<0.01），MMP9 mRNA 表达降



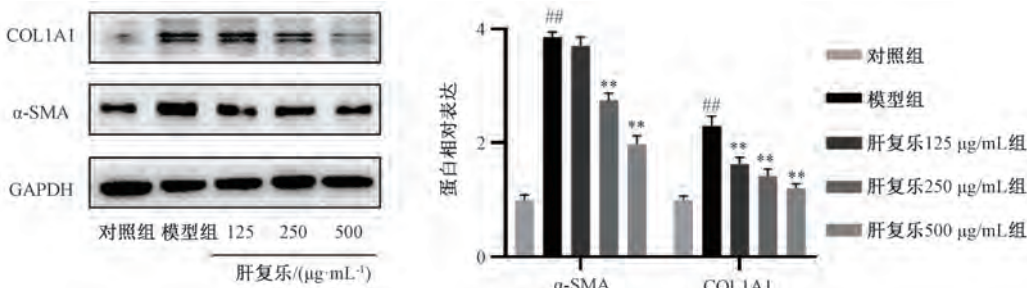
注：与对照组比较，##*P*<0.01。

图1 肝复乐对 LX-2 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)



注：与对照组比较，##*P*<0.01；与模型组比较，***P*<0.01。

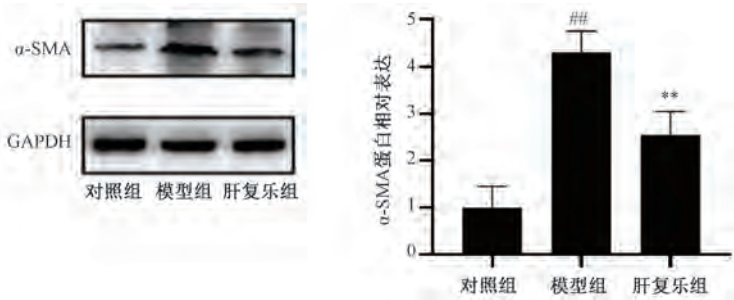
图2 肝复乐对 LX-2 细胞 α-SMA、COL1A1、COL4A2、TIMP1、MMP9 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)



注：与对照组比较，##*P*<0.01；与模型组比较，***P*<0.01。

图3 肝复乐对 LX-2 细胞 α-SMA、COL1A1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

肝复乐组细胞用 TGF-β1 刺激 12 h 后加入含 500 μg/mL 肝复乐的完全培养基培养 12 h。在肝复乐与 TGF-β1 未同时存在时，肝复乐依旧能抑制肝星状细胞活化标志 α-SMA 表达。



注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 4 肝复乐与 TGF- β 1 未同时存在时对 α -SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 GC-MS 分析结果 对照组、模型组和肝复乐组 (500 $\mu\text{g/mL}$) 细胞衍生化后 TIC 色谱图见图 5，每组 8 个样本。

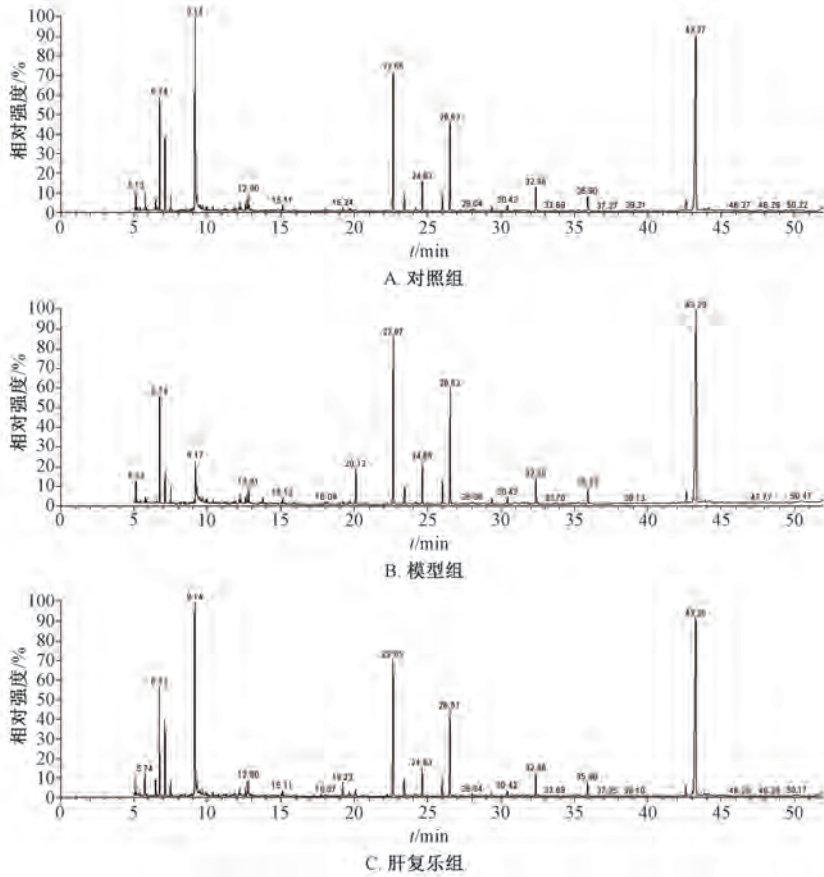


图 5 代谢组学样本 TIC 色谱图

3.5 PCA、OPLS-DA 分析 PCA 评分见图 6A，由此可知，对照组样本与模型组样本之间分离明显，肝复乐组样本介于对照组与模型组之间，表明肝复乐组有向对照组转变的趋势。PCA 分析模型 R^2X 为 0.783，表示该模型拟合度较好； Q^2 为 0.429，表示该模型预测能力一般。因此进一步使用 OPLS-DA 分析，见图 6B，由此可知，模型组代谢物与对照组相比具有显著差别，而肝复乐组能明显回调 LX-2 细胞代谢紊乱。OPLS-DA 模型 R^2X 为 0.664， R^2Y 为 0.908， Q^2 为 0.841；对 OPLS-DA 模型进行 200 次置换检验，结果见图 6C， R^2Y 轴截距为 0.336， Q^2Y 轴截距为 -0.426，表明该模型质量良好，预测准确，且没有过拟合现象。根据以

上分析结果，以 $VIP>1$ 筛选 OPLS-DA 模型中的化合物为潜在差异代谢物。

3.6 肝复乐对 LX-2 细胞激活后代谢产物的影响 基于 OPLS-DA 模型筛选的潜在差异代谢物，进一步使用单因素方差分析 ($P<0.05$) 进行筛选。对于 TGF- β 1 造成的 LX-2 细胞代谢异常，肝复乐对其中 9 种代谢物有回调效果，分别为丙酸、丁酸、苯丙氨酸、L-苏氨酸、D-半乳糖、肌醇、甘油、油酸、D-甘油酯。其中，丙酸、丁酸、苯丙氨酸、L-苏氨酸、肌醇在造模后含量降低，D-半乳糖、甘油、油酸、D-甘油酯在造模后含量升高。统计对照组、模型组和肝复乐组中上述 9 种不同差异代谢物的峰面积，每个差异

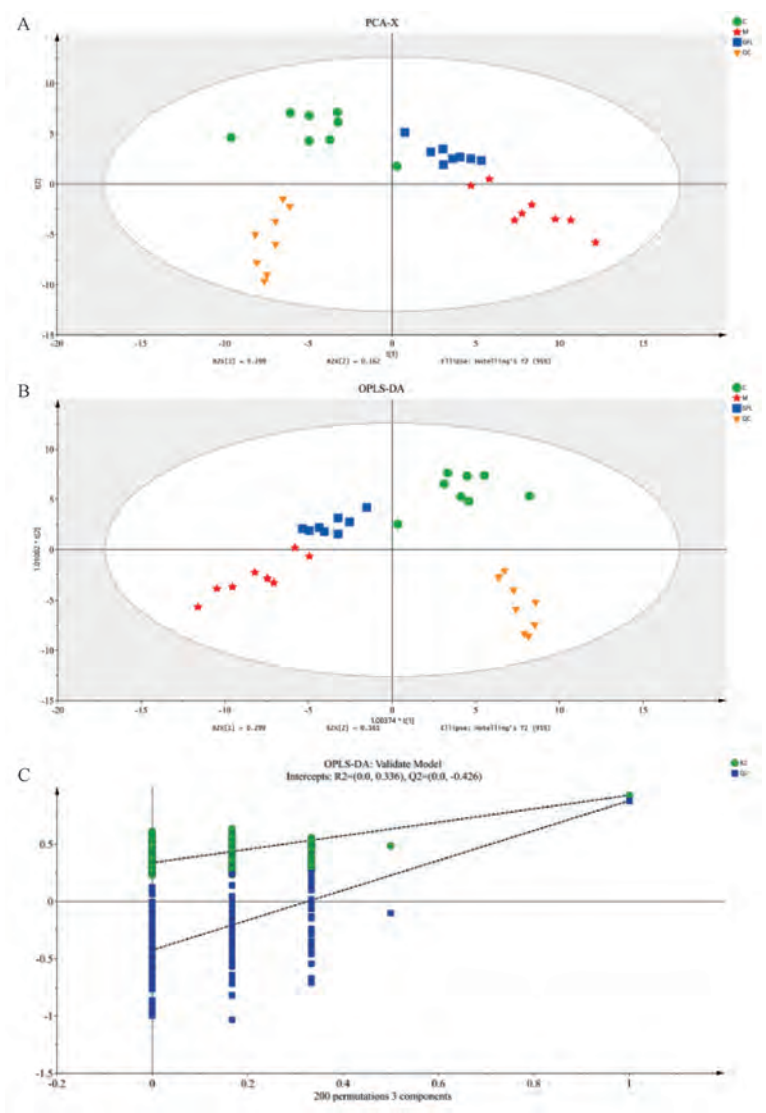


图 6 PCA、OPLS-DA 分析

代谢物的相对浓度的比较结果见图 7，提示这 9 种代谢物为肝复乐调节 LX-2 代谢异常的潜在生物标志物。

3.7 肝复乐对 LX-2 细胞激活后代谢通路的影响 使用 MetaboAnalyst 6.0 对以上生物标志物进行分析，并构建 LX-2 的代谢通路富集图。如图 8 所示，其中 4 条途径符合 Pathway impact>0 且 $-\log(P) > 1$ 条件，分别为半乳糖代谢，半乳糖代谢，甘油酯代谢，苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成，苯丙氨酸代谢。

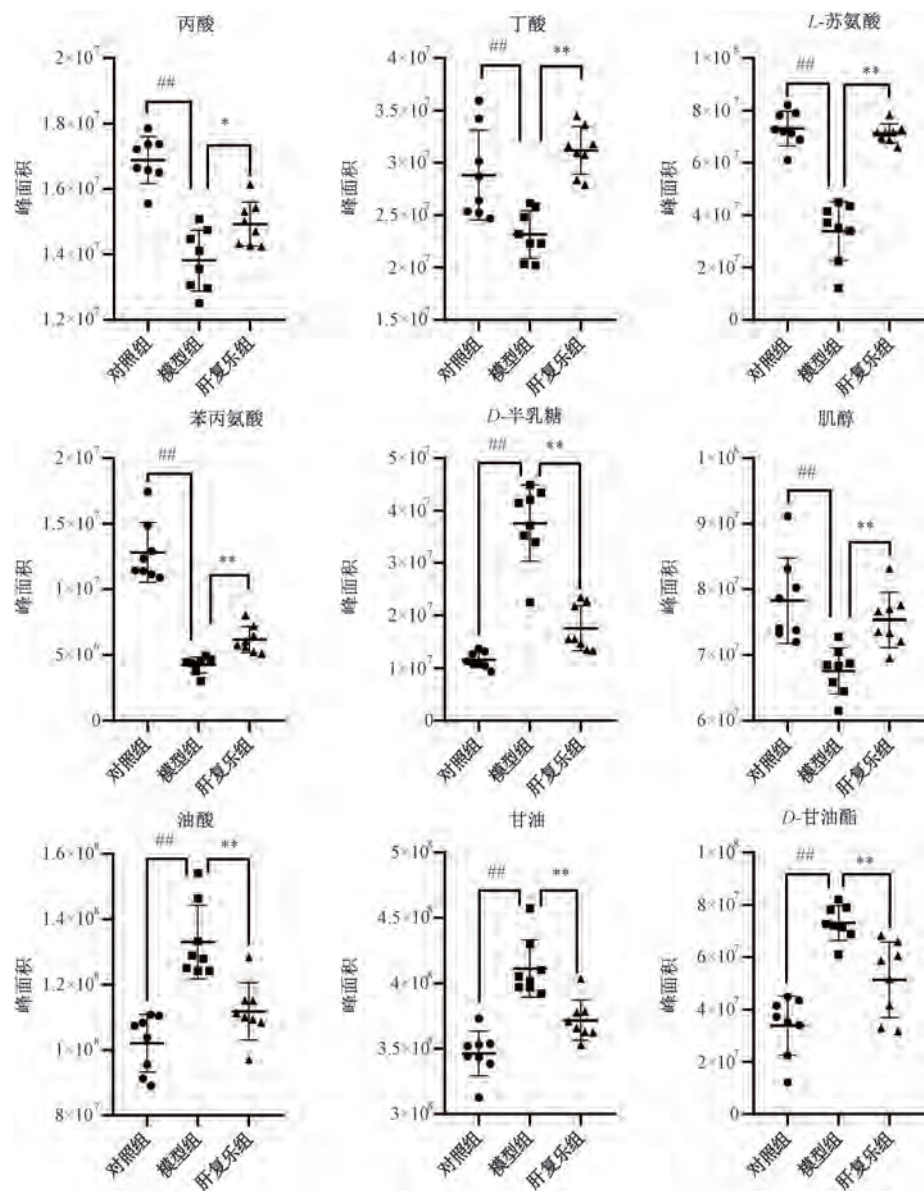
3.8 肝复乐主要作用代谢通路分析 建立生物标志物与代谢通路代谢示意（图 9），这可能是肝复乐抑制肝星状细胞激活可能机制。

4 讨论

肝纤维化是指各种慢性肝病进展中肝内纤维生成与降解失衡，致使过多胶原在肝内沉积，诱因包括饮酒、非酒精性脂肪性肝、病毒性肝炎、胆汁淤积性肝病等^[11]。肝星状细胞在肝纤维化中起核心作用，在多种肝损伤刺激下，由静息状态激活，促进肝纤维化形成^[12]。本研究采用 TGF-

β1 诱导肝星状细胞系 LX-2 细胞，激活标志物 α-SMA mRNA 和蛋白表达，并促进胶原及关键酶 COL1A1、COL4A2、TIMP1 mRNA 表达，而降低 MMP9 mRNA 表达，表明 LX-2 细胞纤维化模型成功^[13]。α-SMA 同时也是 ECM 发生的标志物，在各种损伤刺激下，肝星状细胞过度激活会导致 ECM 大量沉积，最终导致肝组织结构破坏和功能障碍，导致肝纤维化发生^[14]。而肝复乐给药后能够明显阻止 TGF-β1 诱导的 LX-2 细胞的活化。

肝复乐包含党参、白术、鳖甲、沉香等 21 味中药，具有清热解毒、健脾理气、活血化瘀等多方面作用^[15]。为进一步研究肝复乐对肝星状细胞代谢调控作用。本研究采用 GC-MS 进行代谢组学分析，筛选得到丙酸、丁酸、苯丙氨酸、L-苏氨酸、D-半乳糖、肌醇、甘油、油酸、D-甘油酯 9 个潜在生物标志物，主要涉及半乳糖代谢、甘油酯代谢、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成、苯丙氨酸代谢 4 条代谢通路。半乳糖代谢异常可能影响正常渗透压，导致细胞肿胀、功能障碍、代谢紊乱^[16]，并通过氧化反应生成



注：与对照组比较，## $P<0.01$ ；与模型组比较，** $P<0.01$ 。

图 7 肝复乐对代谢物相对峰面积的影响

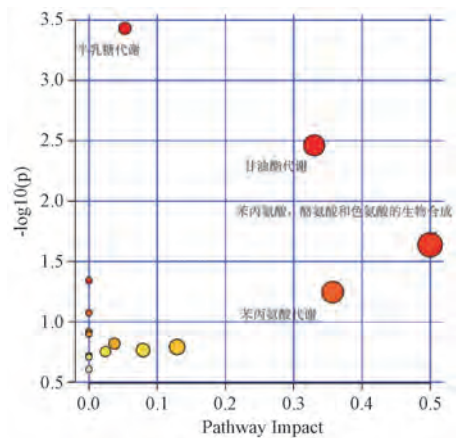


图 8 MetaboAnalyst 分析的主要通路图

醛糖和过氧化氢，并生成氧自由基，导致细胞氧化损伤^[17]。与模型组比较，肝复乐组 *D*-半乳糖含量降低，肌醇含量升高，起到保护细胞的作用。苯丙氨酸与能量代谢关系密切，可以转化为延胡索酸，异亮氨酸进一步可以转化为琥珀酰辅酶，从而参与三羧酸循环^[18]。本研究发现，苏氨酸、苯丙氨酸在模型组中含量均降低，给药后得到明显回调，表明肝复乐能有效干预 TGF-β1 导致的 LX-2 细胞氨基酸代谢紊乱，提高细胞对氨基酸的摄入和利用。脂质代谢紊乱与肝星状细胞激活密切相关，异常增加的脂质通过影响脂质代谢平衡和增强脂质过氧化反应促进肝纤维化发生^[19]。与模型组比较，肝复乐给药可以有效降低甘油、油酸、*D*-甘油酯含量。

综上所述，肝复乐可抑制 TGF-β1 诱导的肝星状细胞活化和纤维化，其机制可能与调节半乳糖代谢、甘油酯代谢、

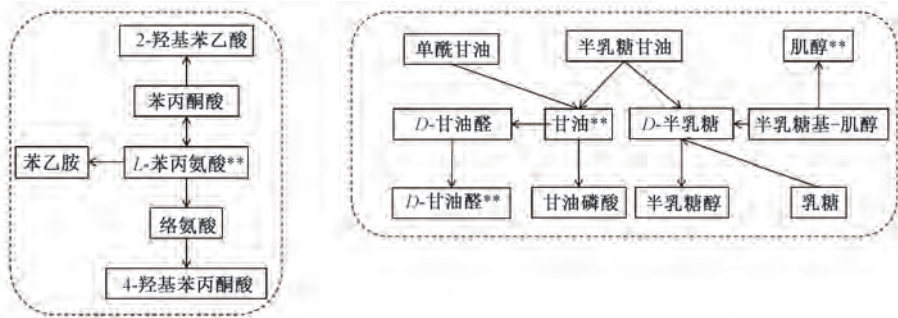


图 9 肝复乐通过多重代谢途径抑制 LX-2 激活路径

苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成、苯丙氨酸代谢多条代谢通路有关。本研究进一步阐明了肝复乐胶囊在肝纤维化中的保护作用，为其在预防或逆转肝纤维化应用中奠定坚实基础。

参考文献：

[1] 王 娟, 杨晶晶, 周仁鹏, 等. 肝纤维化小鼠模型研究现状 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(2): 105-110.

[2] An L, Lin Y F, Li L Y, *et al.* Integrating network pharmacology and experimental validation to investigate the effects and mechanism of *Astragalus* flavonoids against hepatic fibrosis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 618262.

[3] Wu X Y, Dong W H, Zhang T Y, *et al.* Epiregulin (EREG) and myocardin related transcription factor A (MRTF-A) form a feedforward loop to drive hepatic stellate cell activation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 591246.

[4] Bourebaba N, Marycz K. Hepatic stellate cells role in the course of metabolic disorders development—A molecular overview [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105739.

[5] 陈立峰, 徐琳本, 陈莉萍, 等. 肝复乐对实验性肝硬化大鼠模型的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2000, 16(6): 31-33.

[6] 杨淑娟, 何英利, 马晓华, 等. 碧萝芷通过下调 ERK 磷酸化及自噬水平抑制 TGF-β1 诱导的肝星状细胞活化 [J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(12): 2261-2265.

[7] 徐 佳, 刘其南, 翟园园, 等. 二至丸抗大鼠肾细胞衰老的 GC-MS 代谢组学研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2019, 35(4): 458-464.

[8] Qu L H, Xu Y Y, Cao G S, *et al.* Effects of atractylodes oil on inflammatory response and serum metabolites in adjuvant arthritis rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110130.

[9] Qu L H, Shi K, Xu J, *et al.* Atractylenolide-1 targets SPHK1 and B4GALT2 to regulate intestinal metabolism and flora composition to improve inflammation in mice with colitis [J]. *Phytomedicine*, 2022, 98: 153945.

[10] 郭耀光, 孙光伟, 杨 玲, 等. 基于 GC-MS 的针刺治疗类风湿性关节炎的代谢组学研究 [J]. 针刺研究, 2021, 46(2): 145-151.

[11] Aydın M M, Akçalı K C. Liver fibrosis [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2018, 29(1): 14-21.

[12] Kisseleva T, Brenner D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 151-166.

[13] 吕 莹, 郝尧坤, 张照兰. 基于 Smad 通路研究软肝丸对 TGF-β1 诱导的肝星状细胞的影响 [J]. 河南中医, 2021, 41(7): 1028-1033.

[14] 任婷玉, 聂赫中容, 肖利佳, 等. 过表达 HBx 的肝细胞对肝星状细胞增殖和活化的影响及其机制 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(7): 1561-1566.

[15] 潘 宇, 徐 菲, 龚 辉, 等. 基于网络药理学探讨肝复乐防治原发性肝癌的作用机制 [J]. 中成药, 2020, 42(12): 3172-3179.

[16] 薛子钰, 华永丽, 李锦霞, 等. 当归不同炮制品挥发油给药大鼠的尿液代谢组学研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(5): 928-939.

[17] 庞溢媛, 周玉枝, 宋 佳, 等. 基于 ¹H-NMR 血清和肝脏代谢组学的黄芩叶抗衰老作用研究 [J]. 药学报, 2020, 55(1): 74-82.

[18] 马新雨, 王志鹏, 田 杰, 等. 以三种非极性氨基酸为例探讨氨基酸合成代谢的化学原理 [J]. 大学化学, 2019, 34(3): 23-31.

[19] 刘佳萱, 李彬彬, 张利芬, 等. 脂质代谢和肝纤维化关系的研究进展 [J]. 第二军医大学学报, 2018, 39(5): 531-534.