



中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856, CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目：基于代谢组学研究真武汤改善化疗药顺铂体内毒性的机制
作者：于聪颖，邵婉君，袁孟琦，徐汝飞，韩方正，张加余，宿振国，杨爱琳
收稿日期：2025-10-13
网络首发日期：2026-07-14
引用格式：于聪颖，邵婉君，袁孟琦，徐汝飞，韩方正，张加余，宿振国，杨爱琳. 基于代谢组学研究真武汤改善化疗药顺铂体内毒性的机制[J/OL]. 中国比较医学杂志. <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260714.1346.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于代谢组学研究真武汤改善化疗药顺铂体内毒性的机制

于聪颖¹, 邵婉君², 袁孟琦², 徐汝飞², 韩方正², 张加余³, 宿振国⁴✉,
杨爱琳³✉

(1. 滨州医学院第二临床医学院, 山东 烟台 264003; 2. 滨州医学院药学院, 山东 烟台 264003; 3. 滨州医学院中医学院, 山东 烟台 264003; 4. 滨州医学院特殊教育与康复学院, 山东 烟台 264003)

*通信作者 宿振国 (1968—), 男, 教授, 研究方向: 临床肿瘤免疫标志物检测相关研究。E-mail: byszg68@163.com; 杨爱琳 (1991—), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药药理研究。E-mail: yangailin0418@163.com

摘要 目的 本研究旨在评价真武汤对小鼠顺铂毒性模型及 H22 荷瘤小鼠模型的治疗作用, 并结合代谢组学揭示其起效机制, 为临床应用提供依据。方法 构建小鼠顺铂毒性模型, 以体质量、悬尾试验、重要器官重量及血小板数量作为指标评价疗效; 构建 H22 荷瘤小鼠模型, 以肿瘤重量作为指标评价效果; 同时采用液相色谱-质谱 (LC-MS) 结合多元统计分析, 依据人类代谢组数据库 (HMDB) 筛选鉴定差异代谢物。结果 真武汤提取物可改善顺铂毒性小鼠的体质量下降 ($P < 0.0001$)、抑郁状态、器官重量减少 ($P < 0.05$) 及血小板数量异常 ($P < 0.05$), 且对 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长具有一定的抑制趋势。经血清代谢组学分析, 发现顺铂组中 2 种差异代谢物经真武汤水提物干预后下调, 另有 5 种神经醇提取物干预后下调。结论 真武汤提取物对小鼠顺铂毒性具有明显的缓解作用且对小鼠肿瘤的生长具有一定的抑制趋势, 其药效可能与干预 7-HDoHE、[(E)-8-(4-羟基-6-甲氧基-7-甲基-3-氧代-1H-2-苯并呋喃-5-基)-2,6-二甲基辛-6-烯酸]、N-乙酰肌肽等物质的含量有关, 为真武汤临床应用及联合顺铂肿瘤治疗的进一步研究提供理论参考。

关键词 真武汤; 烯酸; 代谢组学; 顺铂毒性; LC-MS; H22 荷瘤小鼠; N-乙酰肌肽

中图分类号 R285.5; R979.1; R-33

文献标志码 A

Metabolomic mechanism of Zhenwu Decoction in improving cisplatin toxicity *in vivo*

YU Congying¹, SHAO Wanjun², YUAN Mengqi², XU Rufe², HAN Fangzheng², ZHANG Jiayu³, SU Zhenguo⁴✉, YANG Ailin³✉

(1. The Second School of Clinical Medicine, Binzhou Medical University, Yantai 264003, China; 2. School of Pharmacy, Binzhou Medical University, Yantai 264003; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Binzhou Medical University, Yantai 264003; 4. School of Special Education and Rehabilitation, Binzhou Medical University, Yantai 264003)

Abstract Objective This study aimed to evaluate the therapeutic effects of Zhenwu Decoction on a cisplatin toxicity model and an H22 tumor-bearing mouse model, elucidating its mechanism of action through metabolomics to provide a foundation for its clinical application. Methods A cisplatin toxicity model was established in KM mice, utilizing body weight, tail suspension testing, organ weights, and platelet counts as indices for efficacy evaluation. Additionally, an H22 tumor-bearing mouse model was created, with tumor weight serving as the efficacy index. Liquid chromatography-mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis was employed to screen and identify differential metabolites based on the human metabolic database. Results The extract of Zhenwu Decoction significantly mitigated weight loss ($P < 0.0001$), depressive-like behavior, reduced organ weight ($P < 0.05$), and abnormal platelet counts ($P < 0.05$) in mice subjected to cisplatin-induced toxicity. Additionally, it had a certain inhibitory trend on tumor growth in H22 tumor-bearing mice. Serum metabolomics indicated that two differential metabolites were downregulated following extract of Zhenwu Decoction treatment in the cisplatin group, while five metabolites were downregulated after treatment with the alcohol extract.

收稿日期: 2025-10-13

基金项目: 国家自然科学基金 (82204693); 山东省高等学校“青创团队计划” (2024KJJ007); 国家中医药管理局科技司科技共建项目 (GZY-KJS-SD-2024-049)。

作者简介: 于聪颖 (2001—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中药药理研究。E-mail: hygcycy@163.com

网络首发时间: 2026-07-14 14:40:04 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260714.1346.002>

Conclusions The extract of Zhenwu Decoction significantly alleviated cisplatin toxicity in mice and showed a certain inhibitory trend on the growth of mouse tumors. Its efficacy may be associated with the modulation of substances such as 7-HDoHE, (E)-8-(4-hydroxy-6-methoxy-7-methyl-3-oxo-1h-2-benzofuran-5-yl)-2,6-dimethyloctano-6-enoic acid and N-acetylcarnosine. These findings provide a theoretical basis for further research into the clinical application of Zhenwu Decoction and its combination with cisplatin in cancer treatment.

Key words Zhenwu Decoction; olefinic acid; metabolomics; cisplatin toxicity; LC-MS; H22 tumor-bearing mice; N-acetylcarnosine

顺铂（cis-diaminodichloroplatinum, DDP）作为一种经典的含铂抗肿瘤药物，具有广谱、高效的抗癌特性，凭借其在肝癌、睾丸癌、卵巢癌、非小细胞肺癌、头颈部鳞癌等多种实体瘤治疗中所展现出的显著疗效，已被广泛纳入多种临床化疗方案之中^[1]。顺铂发挥药效主要依赖以下两条关键途径，一方面顺铂进入细胞后，与 DNA 双链交联形成铂-DNA 加合物，阻断 DNA 复制与转录^[2]；另一方面，顺铂通过诱导线粒体膜电位变化，促使活性氧释放，激活 caspase 级联反应，最终触发肿瘤细胞程序性凋亡^[3]。然而，尽管顺铂具有良好的治疗效果，但是其临床使用常伴随多种不可忽视的毒副作用，尤其是肾毒性、肝毒性、骨髓抑制及神经系统损伤等^[4]。这些毒副作用不仅成为限制剂量递增的主要障碍，也显著影响患者的生活质量，甚至可能迫使治疗中断，从而对总体疗效产生不利影响^[5]。当前，针对顺铂所致毒性反应的有效缓解手段仍显匮乏，因此，寻找有效的缓解策略已成为提升顺铂安全性和优化治疗体验的当务之急。

真武汤原名玄武汤，出自《伤寒论 辨太阳病脉证并治》第 82 条：“太阳病，发汗，汗出不解，其人仍发热，心下悸，头眩，身瞤动，振振欲擗地者，真武汤主之”，是中医经典的温阳利水方，全方由附子、茯苓、白术、芍药、生姜组成^[6]。方中以附子为君药，性辛甘大热，能温肾助阳、化气行水，兼暖脾土，促水湿运化；茯苓为臣药，具有利水渗湿的作用，可使水湿得以顺畅地经小便排出，使体内水液代谢恢复平衡；白术亦为臣药，健脾燥湿，与附子、茯苓共奏温养脾阳、祛除脾湿、助脾运化之功效；生姜作为佐药，其辛温之性能够宣发肺气，促使水湿从表而解，同时增强附子温阳祛寒之功，与白术、茯苓共同消散水湿之邪；芍药亦为佐药，可防附子燥热伤阴，保方剂可久服缓治^[7]。目前文献已经报道真武汤具有抗炎^[8]、保护肾脏^[8]、抗肿瘤^[7]、抗氧化^[9]等功效，在治疗肾脏疾病^[10]、肺部疾病^[11]、肝脏疾病^[12]以及心力衰竭^[13]等方面均有一定效果，但在缓解顺铂毒性方面未见报道。因此，探索真武汤对顺铂毒性的缓解作用及机制，可为优化顺铂临床肿瘤治疗提供理论依据，具有重要的指导意义。本研究通过构建小鼠顺铂毒性模型和 H22 荷瘤小鼠模型，评价真武汤提取物缓解顺铂毒性和抑制肿瘤的效果；同时采用非靶向代谢组学对真武汤提取物干预前后顺铂毒性小鼠模型血清进行分析，筛选差异代谢物，以预测真武汤缓解顺铂毒性的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

68 只 SPF 级 6~8 周龄 KM 雄性小鼠，体质量（ 25 ± 5 ）g，购自济南朋悦实验动物繁育有限公司[SCXK（鲁）2022-0006]。实验小鼠均饲养于滨州医学院 SPF 动物房[SCXK（鲁）2021-0036]，实验动物饲养条件：室内温度 20~26℃，相对湿度 40%~50%，12 h/12 h 明暗循环。动物饲养于标准饲养盒中，每 3~4 只单盒饲养。小鼠饲料及饮用水为 SPF 级小鼠专用的生长繁育饲料及饮用水。本研究本实验涉及的动物实验经滨州医学院动物福利伦理委员会批准（IACUC 2024-2074），所有实验操作均遵守 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

茯苓、芍药、生姜、白术、附子（批号：20240507、20240824、20240608、20240701、20240322，北京同仁堂有限责任公司）；顺铂（批号：15663-27-1，美国 Sigma-Aldrich 公司）；0.9%氯化钠溶液（批号：D24072404A，四川科伦药业股份有限公司）；75%乙醇（批号：20240502，国药集团化学试剂有限公司，上海）；三溴乙醇（纯度≥99.97%，批号：M10080063，上

海迈瑞尔化学技术有限公司)；和叔戊醇(纯度 $\geq 99.5\%$ ，批号：C16738624，国药集团化学试剂有限公司)；色谱级乙腈、甲醇、甲酸(批号：JB150630、I1368207436、243922，美国 Fisher Scientific 公司)。FA 2204 万分之一天平购自日本岛津公司；VET 950 血常规分析仪购自澳大利亚 MASCOT 公司；ZenoTOF 7600 四极杆串联飞行时间质谱仪购自美国 AB SCIEX 公司；LC40D X3 超高效液相色谱仪购自日本岛津公司；Centrifuge 5430R 高速离心机购自德国艾本德公司；Merck Milli-Q Integral.5 纯水仪购自德国密理博公司；SCILOGEX RE100-Pro 旋转蒸发仪购自北京开源国创科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 药物制备

真武汤水提物/醇提物：将茯苓、芍药、生姜、白术、附子 5 味药分别粉碎至粗粉。每付茯苓、芍药、生姜各 10.5 g，白术 7 g，附子 3.5 g^[5]。首先，向容器中加入 80 mL 蒸馏水/75%乙醇溶液，使药材浸泡 30 min/1 h 以充分浸透。随后，进行 1 h 的加热回流操作，以便有效成分充分溶解。完成回流后，采用减压抽滤技术将液体与药渣分离，保留滤液。接下来，将药渣重新置于容器中，并加入 320 mL 蒸馏水/75%乙醇，重复上述加热回流和减压抽滤过程，再次收集滤液。将两次所得滤液合并，通过旋转蒸发仪去除多余的蒸馏水，浓缩滤液至浓稠膏状物。冷却，4℃冷藏备用。

1.3.2 小鼠造模

(1) 顺铂毒性小鼠模型：自给药第 1 天起，按 2 mg/kg 隔天小鼠腹腔注射 0.9%氯化钠溶液配制 0.2 mg/mL 顺铂溶液。

(2) H22 荷瘤小鼠模型：将 8×10^6 个小鼠 H22 肝癌细胞接种于每只 KM 小鼠右后背部，建立 H22 荷瘤小鼠模型。

1.3.3 给药方法

(1) 顺铂毒性小鼠模型：将小鼠随机分为空白组、顺铂组、水提联合组、醇提联合组。在适应性喂养 5 d 后，分别对空白组、顺铂组(顺铂给药，2 mg/kg)^[14]、水提联合组(2 mg/kg 顺铂+3.74 mg/g 真武汤水提物给药)、醇提联合组(2 mg/kg 顺铂+2.58 mg/g 真武汤醇提物给药)按照体质量剂量隔天给药，顺铂通过腹腔注射给药，真武汤醇提物与水提物通过灌胃方式给药，正常饲养 29 d。末次给药后，禁食不禁水 12 h，经阿佛丁麻醉后处死开腹。

(2) H22 荷瘤小鼠模型：将构建好的 H22 荷瘤小鼠模型随机分为空白组、顺铂组、水提物组、水提物联合顺铂组、醇提物组、醇提物联合顺铂组。在造模第 3 天分别对空白组(0.9%氯化钠溶液给药)、顺铂组(顺铂给药，2 mg/kg)^[14]、水提物组(真武汤水提物给药，3.74 mg/g)、水提物联合顺铂组(2 mg/kg 顺铂+3.74 mg/g 真武汤水提物给药)、醇提物组(真武汤醇提物给药，2.58 mg/g)、醇提物联合顺铂组(2 mg/kg 顺铂+2.58 mg/g 真武汤醇提物给药)按照体质量剂量隔天给药，顺铂通过腹腔注射给药，醇提物与水提物通过灌胃方式给药，正常饲养 17 d。末次给药后，禁食不禁饮 12 h，经阿佛丁麻醉后处死。

1.3.4 样本采集

采集各组顺铂毒性小鼠腹部主动脉血液 1 mL 于肝素抗凝管中，离心取上清液；另取 200 μ L 新鲜血液于新的肝素抗凝管中用于血小板计数检测，麻醉后颈部脱臼处死，摘取小鼠心、肝、脾、肾并剥离 H22 荷瘤小鼠移植瘤。将小鼠血清存放至 -80℃用于代谢组学测定，将小鼠全血存放至 4℃用于血小板计数检测并于 4 h 内送检。

1.3.5 观察指标

(1) 日常指标检测：从开始给药第 1 天起，每天对小鼠体质量日常指标进行检测(单位：g)。

(2) 悬尾实验：在第 14 天给药 1 h 后，将小鼠尾尖用胶带固定在挂钩上，头朝下距地面约 25 cm，悬挂 6 min，记录后 5 min 内小鼠挣扎的时间(单位：s)。

(3) 器官重量测定：在完成给药方案后，对所有小鼠进行阿佛丁麻醉后处死，迅速剥离肝脏、两侧肾脏、心脏及脾脏器官，同时使用 0.9%氯化钠溶液洗去表面的血渍后用滤纸吸干器官表面多余水

分, 进行器官重量的测定(单位: mg)。

(4) 血小板计数检测: 完成采血后, 将全血血液 4 ℃ 保存, 并于 4 h 内送检。检测各组血液中血小板数量。

(5) H22 荷瘤小鼠肿瘤重量测定: 在完成对 H22 荷瘤小鼠的给药方案后, 对所有小鼠进行阿弗丁麻醉后处死, 并迅速剥离移植瘤, 同时使用 0.9% 氯化钠溶液清洗并用滤纸吸干表面多余水分, 进行肿瘤重量称量(单位: mg)。

1.3.6 代谢组学分析

(1) 血清样品准备: 从 -80 ℃ 冰箱取出血浆样本, 4 ℃ 解冻后, 量取 80 μ L, 加入预冷的甲醇-乙腈(1:1) 240 μ L 沉淀蛋白, 涡旋混匀之后, 0 ℃ 下超声 10 min。然后 4 ℃, 14 000 r/min 离心 15 min, 取上清置于 1.5 mL HPLC 进样瓶中, 用于检测。

(2) 液相色谱-质谱(liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS) 分析

色谱条件: 采用 HSS T3 色谱柱(2.1 $\times$ 100 mm, 粒径 1.8 μ m, Waters) 色谱柱进行分离, 柱温为 40 ℃, 流速 0.3 mL/min, 样品室温度设置 4 ℃, 样品进样量为 8 μ L; 正离子模式流动相为含 0.1% 甲酸的水溶液(A) 和含 0.1% 甲酸的乙腈(B); 负离子模式流动相为水溶液(A) 和乙腈(B)。梯度洗脱程序(0~1.5 min, 5% B; 1.5~16.5 min, 5%~99% B; 16.5~20 min, 99%~5% B)。

质谱条件: 采用 SCIEX ZenoTOF 系列高分辨质谱仪, 配备 TurboIonSpray 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 分别在正离子与负离子模式下对血清代谢物进行非靶向信息依赖采集(information dependent acquisition, IDA) 分析, 同时启用 Zeno 富集阱, 以增强二级离子检测灵敏度。

ESI 采用正、负离子扫描模式, 干燥气体流速 8 L/min, 干燥气体温度 480 ℃。正离子模式下, 喷雾电压为 5 500 V, 雾化器压力 310.3 kPa; 负离子模式下, 喷雾电压为 4500 V, 雾化器压力 241.3 kPa。一级质谱扫描范围(m/z): 50~1 000, 二级质谱扫描范围(m/z): 25~1 000。

(3) 数据处理

采用 MS Dial 4.9 软件对数据进行峰提取、峰对齐和搜库鉴定(数据库采用人类代谢组数据库(human metabolome database, HMDB)、MoNA 代谢物谱图库)等处理。进一步对搜库鉴定的数据进而得到每个代谢物的变量投影重要性(variable importance in projection, VIP) 值, 相关性分析 Pearson 相关系数使用 R 语言进行, R 语言 corplot 软件包绘制相关性图。差异代谢物筛选的默认标准为 $P < 0.05$, $VIP > 1$, $FC > 1.2$ 或 $FC < 0.83$ 。采用 GraphPad Prism 9.5 软件对生物标志物含量进行统计学分析。多组数据间比较采用单因素方差分析, 两组数据间比较采用 t 检验, 所有数据均以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

1.4 统计学方法

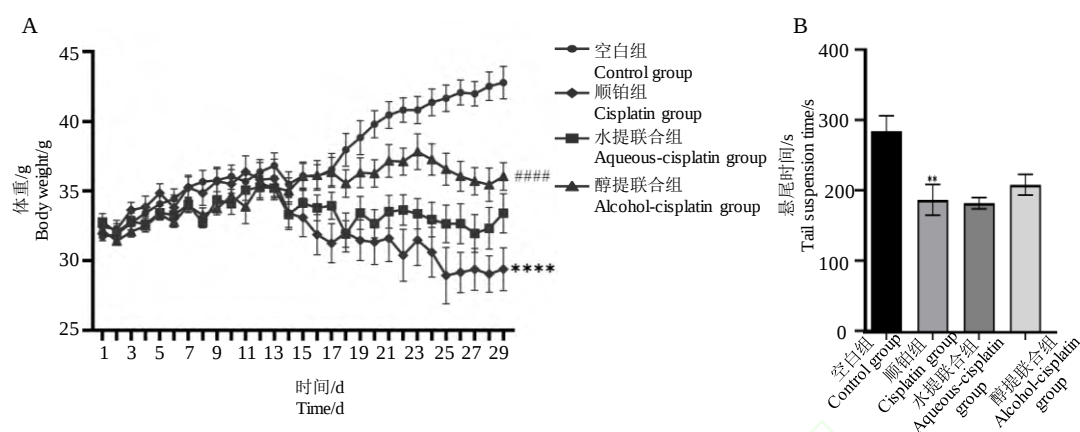
所有实验数据以平均数 $\pm$ 标准误差($\bar{x} \pm \bar{s}$) 表示, 用 GraphPad Prism 9.5 软件进行数据统计和作图, 多组数据间比较采用单因素方差分析, 两组数据间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 顺铂毒性小鼠模型各组小鼠体质量指标变化及行为学情况

由图 1A 可知, 水提联合组、醇提联合组、顺铂组体质量较正常组相比均有一定下降趋势, 但与空白组相比, 顺铂组体质量下降最明显($P < 0.000 1$); 与顺铂组相比, 真武汤水提物和醇提物($P < 0.000 1$) 干预后, 在一定程度上缓解小鼠体质量下降的情况。

悬尾实验反映小鼠的精神状态, 挣扎时间越短, 小鼠抑郁焦虑样精神状态越明显^[15]。由图 1B 可知, 在悬尾实验中, 顺铂组($P < 0.01$) 小鼠挣扎时间比空白组减少, 真武汤醇提物干预后, 在一定程度上缓解了小鼠的焦虑样精神状态, 但无统计学意义。



注：A：各组小鼠体质量曲线；B：各组小鼠悬尾时间。与空白组相比，** $P<0.01$ ，**** $P<0.0001$ ；与顺铂组相比，**** $P<0.0001$ 。

图1 体质量曲线及悬尾实验

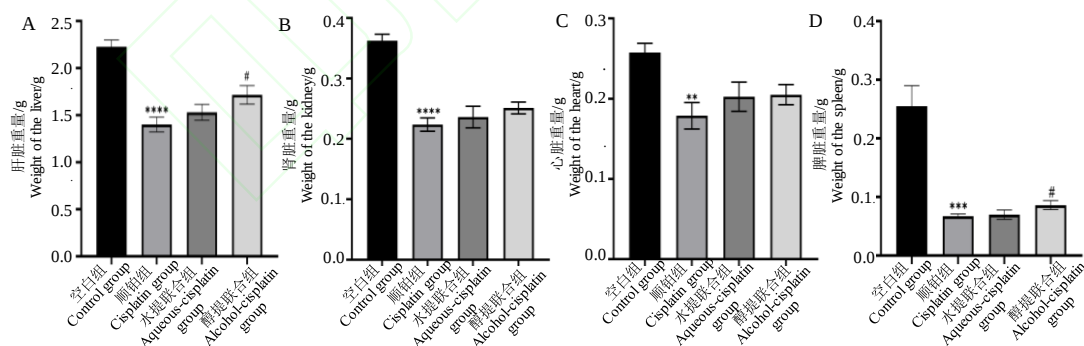
Note. A, Weight curve of mice in each group. B, Tail suspension time of mice in each group. Compared with control group, ** $P<0.01$, **** $P<0.0001$. Compared with cisplatin group, **** $P<0.0001$.

Figure 1 Body weight curve and tail suspension experiment

2.2 顺铂毒性小鼠模型各组小鼠脏器重量变化

如图 2A 所示，顺铂组小鼠肝脏质量较空白组明显减少 ($P<0.0001$)，反映出顺铂造成的肝毒性，真武汤醇提物干预后小鼠肝脏质量较顺铂组有所增加 ($P<0.05$)，表明真武汤能够一定程度缓解顺铂导致的肝毒性。如图 2B 显示，顺铂组小鼠肾脏质量显著低于空白组 ($P<0.0001$)，反映出顺铂的肾脏毒性，真武汤水提物与醇提物干预后肾脏质量有增加的趋势，但无统计学意义。

各组心脏质量如图 2C 所示，顺铂组小鼠心脏质量低于空白组 ($P<0.01$)，反映顺铂的心脏毒性，真武汤水提物与醇提物干预后小鼠心脏质量有增加趋势，但无统计学意义。各组小鼠脾脏质量变化如图 2D 所示，顺铂组小鼠脾脏质量显著低于空白组 ($P<0.001$)，反映出顺铂导致的脾损伤，真武汤醇提物干预后小鼠脾脏质量较顺铂组有一定程度的增加 ($P<0.05$)，表明真武汤对小鼠脾损伤具有一定的缓解作用。



注：A：各组小鼠肝脏质量；B：各组小鼠肾脏质量；C：各组小鼠心脏质量；D：各组小鼠脾脏质量。与空白组相比，** $P<0.01$ ，*** $P<0.001$ ，**** $P<0.0001$ ；与顺铂组相比，* $P<0.05$ 。

图2 各组小鼠器官质量

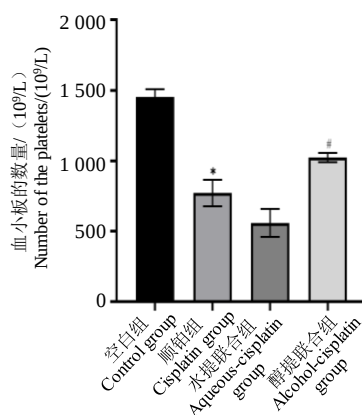
Note. A, Liver weight of mice in each group. B, Kidney weight of mice in each group. C, Heart weight of mice in each group. D, Spleen weight of mice in each group. Compared with control group, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$. Compared with cisplatin group, * $P<0.05$.

Figure 2 Organ mass of mice in each group

2.3 顺铂毒性小鼠模型各组小鼠血小板检测结果

各组小鼠血小板检测结果如图 3 所示，与空白组对比，顺铂组小鼠血液中血小板数量与空白组相

比显著减少 ($P<0.05$)，在真武汤醇提物干预后，小鼠血液中血小板数量显著增加 ($P<0.05$)，表明真武汤能够在一定程度改善顺铂的血液毒性。



注：与空白组相比，* $P<0.05$ ；与顺铂组相比，# $P<0.05$ 。

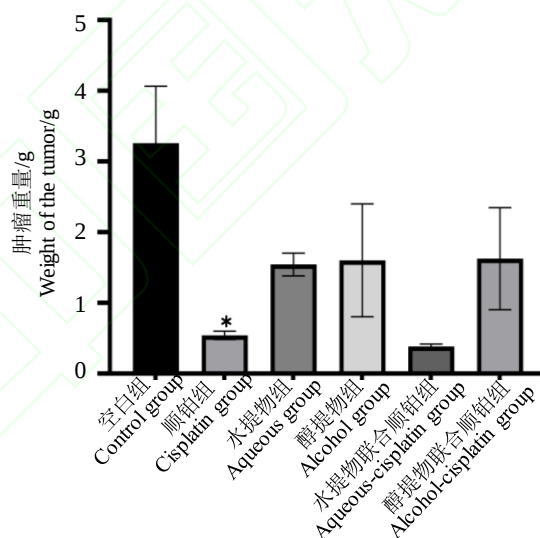
图3 各组小鼠血小板数量检测结果

Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with cisplatin group, # $P<0.05$.

Figure 3 Results of platelet count in mice of each group

2.4 H22 荷瘤小鼠肿瘤重量情况

H22 荷瘤小鼠肿瘤重量如图 4 所示，经过 17 d 干预后，给药组小鼠肿瘤重量小于空白组，真武汤水提物和顺铂联合给药后，小鼠肿瘤较单顺铂组给药更小。



注：与空白组相比，* $P<0.05$ 。

图4 各组 H22 荷瘤小鼠肿瘤重量

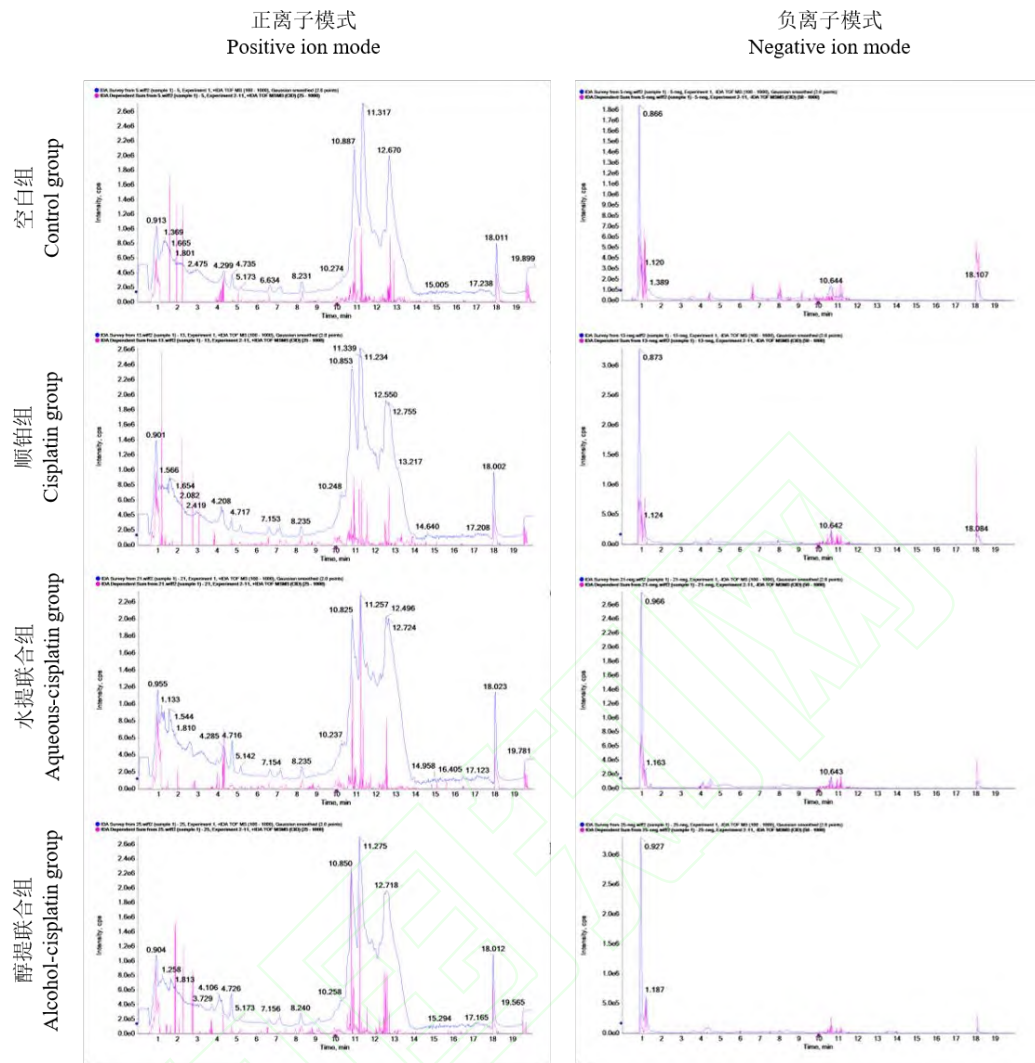
Note. Compared with control group, * $P<0.05$

Figure 4 Tumor weight of H22 mice in each group

2.5 代谢组学分析结果

2.5.1 血清样本代谢轮廓

通过 UPLC/Q-TOF-MS 分析技术对真武汤干预前后的顺铂毒性小鼠模型血浆样本进行分析，获取总离子流 (total ion current, TIC) 色谱图，如图 5 所示。



注：蓝色为色谱图，红色为 TIC 图。

图 5 各组顺铂毒性小鼠血浆样本 LC-MS 结果图
Note. Chromatograms in blue and TIC in red.

Figure 5 LC-MS results of cisplatin toxicity mouse plasma samples in each group

2.5.2 多元变量分析

主成分分析 (principal component analysis, PCA) 图可观察各组样本的聚集、离散程度, 通过图 6 可见各组样本聚集性良好。图 7 中的偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 模型得分图可见, 各比较组分离程度较大, 表示顺铂毒性小鼠造模成功, 真武汤干预前后小鼠体内代谢差异显著。

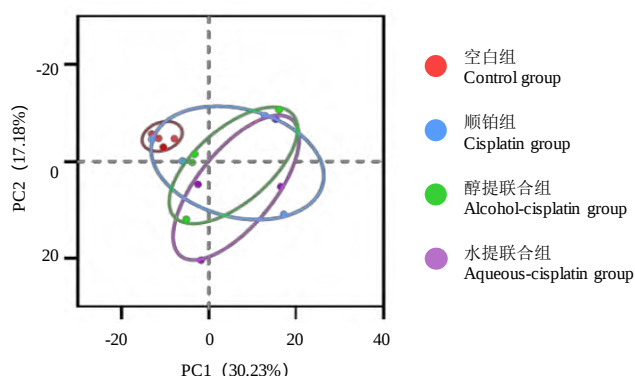


图 6 PCA 图
Figure 6 PCA diagram

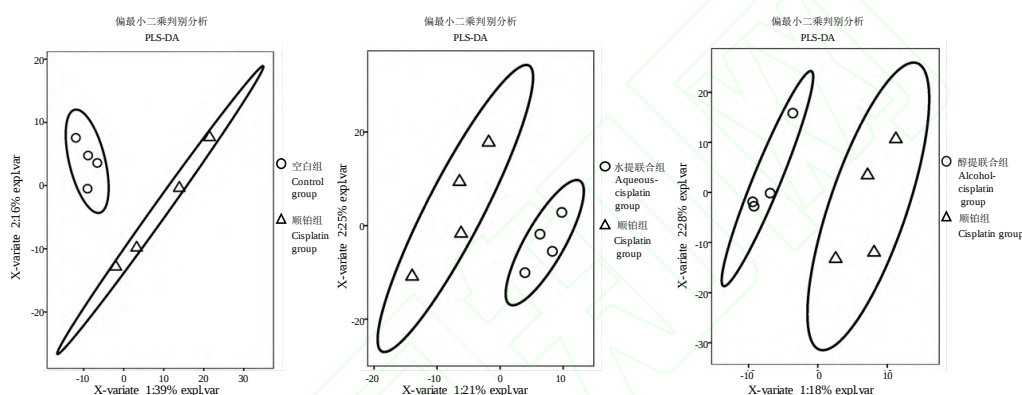


图 7 PLS-DA 模型得分图。
Figure 7 PLS-DA model score plot

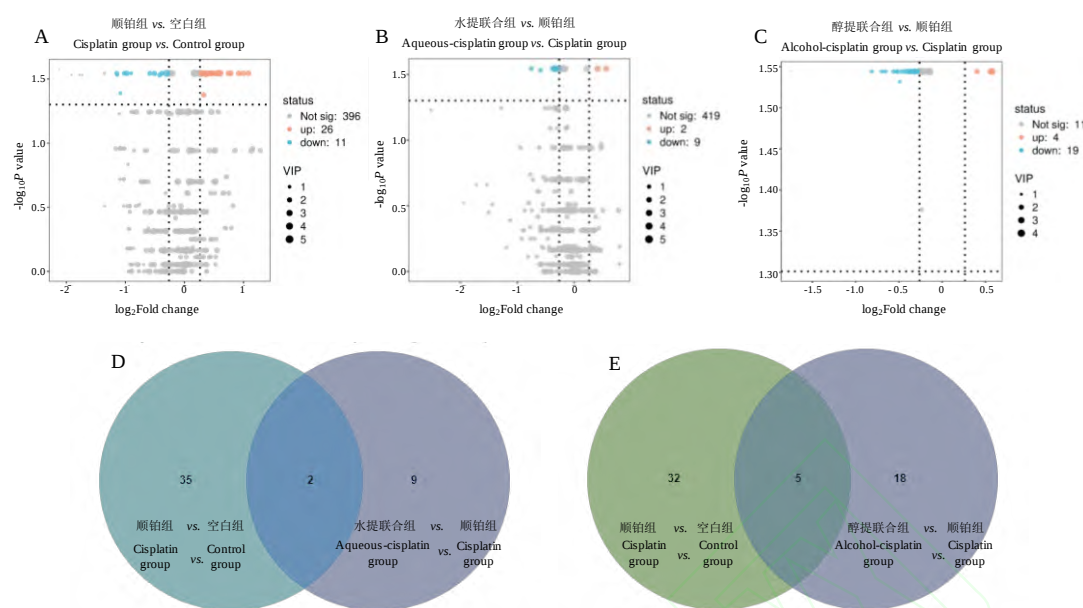
2.5.3 差异代谢物筛选与鉴定

以 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 、 $FC > 1.2$ 或 $FC < 0.83$ 为筛选原则，通过 HMDB 在线数据库鉴定，如图 8A~8C 所示，与空白组对比，顺铂组共鉴定出 37 种差异代谢物，其中 26 种代谢物在顺铂组中上调，11 种代谢物下调；与顺铂组对比，水提联合组共鉴定出 11 种差异代谢物，其中 2 种代谢物在水提联合组中上调，9 种代谢物下调；醇提联合组共鉴定出 23 种差异代谢物，其中 4 种代谢物在醇提联合组中上调，19 种代谢物下调。

进一步对水提联合组与顺铂组对比的差异代谢物筛选后得到的 11 种差异代谢物进行整理，其中有 2 种差异代谢物在顺铂组与空白组对比中存在重叠（如图 8D）；对醇提联合组与顺铂组对比筛选得到的 23 种差异代谢物进行整理，其中有 5 种差异代谢物在顺铂组与空白组对比中存在重叠（如图 8E）；以上结果表明真武汤醇提物与水提物具有改善顺铂所致小鼠代谢异常的潜力。

在醇提联合组与顺铂组的对比和顺铂组与空白组的对比所共有的 5 种差异代谢物中，内源性物质包括(E)-8-(4-羟基-6-甲氧基-7-甲基-3-氧代-1H-2-苯并呋喃-5-基)-2,6-二甲基辛-6-烯酸（(E)-8-(4-hydroxy-6-methoxy-7-methyl-3-oxo-1H-2-benzofuran-5-yl)-2,6-dimethyloct-6-enoic acid）、N-乙酰基-L-肌肽（N-Acetyl-carnosine）、7-羟基二十二碳六烯酸（7-HDoHE）和 1,5,5-三甲基咪唑烷-2,4-二酮（1,5,5-Trimethylimidazolidine-2,4-dione）均在顺铂组中含量增加，真武汤醇提物干预后这些物质含量减少。

在水提联合组与顺铂组的对比和顺铂组与空白组的对比所共有的 2 种差异代谢物中，内源性物质(E)-8-(4-羟基-6-甲氧基-7-甲基-3-氧代-1H-2-苯并呋喃-5-基)-2,6-二甲基辛-6-烯酸的含量在顺铂组中增加，而真武汤水提物干预后该物质含量显著减少。



注：A：顺铂组与空白组对比差异代谢物火山图；B：水提联合组与顺铂组比较差异代谢物火山图；C：醇提联合组与顺铂组比较差异代谢物火山图；D：水提联合组与顺铂组和顺铂组与空白组对比所共有的差异代谢物；E：醇提物联合组与顺铂组和顺铂组与空白组对比所共有的差异代谢物。

图 8 各种差异代谢物火山图及差异代谢物鉴定

Note. A, Volcano plot of differential metabolites between the cisplatin group and the control group. B, Volcano plot of differential metabolites between the aqueous-cisplatin group and the cisplatin group. C, Volcano plot of differential metabolites between the alcohol-cisplatin group and the cisplatin group. D, Common differential metabolites between water extract combination group and cisplatin group and cisplatin group and control group. E, Common differential metabolites between alcohol extract combination group and cisplatin group and cisplatin group and control group.

Figure 8 Volcanic map of metabolites in different groups and identification of differential metabolites

3 讨论

全球恶性肿瘤的发病率居高不下，其临床治疗手段仍然以手术、放化疗为主^[16]。顺铂作为一线化疗药物已广泛应用于临床，但由于其非靶向性和蓄积性，在治疗的同时会对患者产生较大的毒副作用，如肾毒性、胃肠道毒性、耳毒性、神经毒性等，其中肾毒性是顺铂最严重的剂量限制性毒性之一^[17]。然而，当前西医角度尚没有能够长期应用于临床的有效缓解顺铂毒副作用的药物。

中医药作为我国的传统文化瑰宝，合理应用可扶正祛邪，恢复脏腑经络功能，这为减轻顺铂毒性反应提供新思路^[18]。经典名方真武汤源自《伤寒论》，由附子、茯苓、白术、生姜、芍药五味药材组成，具有温化的作用^[19]。方中附子大辛大热，温肾助阳以化气行水；茯苓、白术健脾利水渗湿；生姜宣散水气，助附子温阳；芍药敛阴和营，制附子之刚燥，五药相协，共奏温阳利水，阴阳调和之效^[20]。现有研究表明，真武汤能够通过 TLR4/NF- κ B 通路抑制 M1 巨噬细胞极化，进而抑制心肌纤维化^[21]，发挥心脏保护的作用；除此之外，研究发现真武汤能够通过 Sirtuin3 通路保护线粒体功能，降低氧化应激进一步改善阿霉素导致的心脏毒性^[22]；除此之外，目前已有研究显示真武汤可以通过 PI3K/AKT/mTOR 和 AMPK 通路发挥肾脏保护功能^[23]。真武汤通过多靶点、多途径在疾病治疗中发挥作用。然而，目前关于真武汤缓解顺铂毒性的相关研究尚未有报道。为了探究真武汤缓解顺铂毒性的药效，本研究以腹腔注射顺铂诱导顺铂毒性小鼠模型，观察真武汤干预前后小鼠体质量变化、行为学变化、器官重量改变以及血小板数量变化，结果显示真武汤能够明显得改善顺铂导致的小鼠体质量下降，同时缓解抑郁样精神状态、器官重量与血小板数量的下降，这说明真武汤对顺铂毒性小鼠模型具有一定的改善作用。通过构建 H22 荷瘤小鼠模型，以真武汤提取物与顺铂联合给药前后肿瘤重量为评价指标发现真武汤提取物联合顺铂给药后，仍然具有抑制小鼠肿瘤的生长的趋势。中药复方由于其复杂性，通常具有多组分、多靶点的特点，其对机体的调控往往不是单一通路，其可影响多种代谢

物发挥作用^[24]。而非靶向代谢组学能够捕捉药物干预后机体小分子代谢物的动态变化,直接反映药物对代谢网络的影响,精准关联药效与代谢通路的扰动^[25]。本研究基于代谢组学探究真武汤改善顺铂毒性的作用机制,首先,通过 PCA 和 PLS-DA 发现,各组样本聚集性良好,所得数据结果可靠。通过与空白组相比,顺铂组鉴定出 37 种差异代谢物,其中 26 种代谢物在顺铂组中上调,11 种代谢物下调;通过与顺铂组相比,水提物联合组共鉴定出 11 种差异代谢物,其中 2 种代谢物在水提物联合组中上调,9 种代谢物下调;通过与顺铂组相比,醇提物联合组鉴定出 23 种差异代谢物,其中 4 种代谢物在醇提物联合组中上调,19 种代谢物下调。进一步整理差异代谢物发现,有 5 种差异代谢物在顺铂作用下上调而真武汤醇提物干预后下调;有 2 种差异代谢物在顺铂作用下上调而真武汤水提物干预后下调。7-HDoHE 是人体中 ω -3 多不饱和脂肪酸的氧化代谢产物,正常生理状态下,其含量维持在较低水平^[26]。已有研究表明,7-HDoHE 是一种促炎脂质物质,常作为炎症介质监测炎症程度的指标之一,其含量随着 IL-6 和 IL-1 β 含量的增加而增加^[27],研究证实 7-HDoHE 在 LPS 处理过的 RAW267.4 细胞中表达含量增加,并且其在非酒精性肝损伤患者的血浆中含量明显增加^[28];在一项生理变化的相关研究中报道,7-HDoHE 在体弱者中含量增加,其含量与机体对各种疾病的易感性成正相关^[29];除此之外,研究发现 7-HDoHE 是乳腺癌患者血浆中表达上调最多的氧脂素之一^[30]。(E)-8-(4-羟基-6-甲氧基-7-甲基-3-氧代-1H-2-苯并呋喃-5-基)-2,6-二甲基辛-6-烯酸属于烯酸类,在现有的研究中显示,烯酸可以通过脂氧合酶生成保护素 DX,进而影响血小板的聚集,随着其含量增加会进一步抑制血小板的聚集,造成凝血功能障碍^[31],除此之外,烯酸作为前列环素的前体,其含量增加会加快前列环素的合成,从而抑制血小板活化而影响血小板正常功能的发挥^[32,33]。此外,已有文献发现将烯酸注射至大鼠组织内能够迅速引起严重的水肿反应^[34],其在代谢过程中产生的脂氧合酶代谢产物和环氧化酶产物均与急慢性炎症相关^[35]。另外,烯酸还能够抑制细胞毒性 T 淋巴细胞和 T 细胞依赖性抗体的产生,进而影响机体免疫功能的正常发挥^[36]。谷氨酸作为机体正常蛋白质合成的原料之一,在正常生命活动中必不可少,然而,烯酸的增加能够抑制谷氨酸的吸收,从而影响机体正常生命活动^[37]。物质 N-Acetyl-carnosine 属于肌肽类,研究表明,肌肽由 β -丙氨酸和组氨酸组成的二肽,其主要存在于人体肌肉、大脑等组织中,在正常生理状态下,机体可精准调控其含量,发挥重要生理功能^[38]。然而,当因内源性代谢异常致使肌肽含量异常升高时,将给机体带来诸多风险。当机体内肌肽含量增加时,最常见的不良反应为水肿^[39],同时,也会对机体肾功能造成损害。有文献报道,肌肽含量增加能够引发间质性肾炎,其在经肾脏排泄过程中会转变成甲胺和甲醛,对肾脏造成伤害^[40]。在本研究代谢组学结果中,上述 3 种物质的含量均在顺铂作用下增加,而真武汤提取物干预后含量均减少。因此推测真武汤可能通过减少促炎脂质的含量以及调节淋巴细胞活性改善机体免疫状态,通过调节肌肽含量而发挥小鼠肾脏保护作用,通过调节脂氧合酶活性及烯酸代谢物数量,改善血小板异常对机体造成的影响。

综上所述,本研究发现,真武汤提取物对顺铂毒性造成的小鼠体质量下降、抑郁样精神状态、小鼠器官重量减轻以及血小板计数异常等情况具有较好的改善和缓解效果,且醇提物效果更佳;同时,对于 H22 荷瘤小鼠真武汤水提物与顺铂联合给药后,小鼠肿瘤较单顺铂组给药更小。基于 LC-MS 分析技术,对真武汤干预前后顺铂毒性小鼠模型的血清进行代谢组学分析,通过进一步筛选差异代谢物而阐释相关的可能作用机制。这些发现不仅加深了对真武汤的认识,而且为该方剂在顺铂临床治疗肿瘤过程中的进一步使用提供新思路。但本研究存在一定的局限性,将在后续研究中完善相关细胞实验和动物实验,进行进一步靶向验证和功能验证,明确真武汤缓解顺铂毒性的通路机制;同时通过检测目标代谢物所在通路的关键酶活性及基因表达水平等深化机制研究,探究真武汤是否通过调控通路关键节点间接影响目标代谢物含量。

参考文献:

- [1] Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug [J]. *Bioorg Chem*, 2019, 88: 102925.
- [2] Xia Q, Zhong R, Zheng J, et al. PRMT5-mediated methylation of METTL3 promotes cisplatin resistance in ovarian cancer by facilitating DNA repair mechanisms [J]. *Cell Rep*, 2025, 44(4): 115484.
- [3] Makled M N, Makled N N, Abdel-Rahman A M, et al. Inhibition of p75NTR/p53 axis by ambrisentan suppresses apoptosis and oxidative stress-mediated renal damage in a cisplatin AKI model [J]. *Chem Biol Interact*, 2025, 408: 111408.

- [4] Tang C, Livingston M J, Safirstein R, et al. Cisplatin nephrotoxicity: new insights and therapeutic implications [J]. Nat Rev Nephrol, 2023, 19(1): 53-72.
- [5] 邓健浩, 张青霞. 顺铂过量致毒性反应的临床救治的文献分析 [J]. 中国药学杂志, 2022, 57(14): 1209-1213.
Deng J H, Zhang Q X. Literature case analysis on toxicities and management of cisplatin overdose [J]. Chin Pharm J, 2022, 57(14): 1209-1213.
- [6] 吴子政, 陈杏, 孟骊冲, 等. 基于扶阳理论探讨慢性心力衰竭心阳虚证线粒体能量代谢分期特点及方药干预 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(5): 129-138.
Wu Z Z, Chen X, Meng L C, et al. Staged characteristics of mitochondrial energy metabolism in chronic heart failure with heart-Yang deficiency syndrome and prescription intervention from theory of reinforcing Yang [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2026, 32(5): 129-138.
- [7] 魏如薇, 周亚娜, 罗保平, 等. 真武汤治疗肝癌腹水的研究进展 [J]. 江西中医药, 2025, 56(6): 69-72.
Wei R W, Zhou Y N, Luo B P, et al. Research progress on the treatment of liver cancer ascites with Zhenwu decoction [J]. Jiangxi J Tradit Chin Med, 2025, 56(6): 69-72.
- [8] Liang C L, Wei Y Y, Chen Y, et al. Zhen-Wu-Tang ameliorates lupus nephritis by diminishing renal tissue-resident memory CD8⁺ T cells via suppressing IL-15/STAT3 pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 174: 116597.
- [9] Jia L, Lai D T, Jia L N, et al. Therapeutic effects of Zhenwu Decoction on post-ICH cerebral edema via AQP4 and AVPR1 modulation [J]. Tradit Med Res, 2025, 10(12): 75.
- [10] 王莉, 沈亚, 龚伟. 加味真武汤辅助慢性肾小球肾炎的临床效果及对肾功能的影响 [J]. 临床合理用药, 2025, 18(15): 108-111.
Wang L, Shen Y, Gong W. Clinical effect of Jiawei Zhenwu decoction in adjuvant treatment of chronic glomerulonephritis and its influence on renal function [J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2025, 18(15): 108-111.
- [11] 姜婷婷, 邱国辉, 曹乃芹. 真武汤合苏子降气汤加减对慢阻肺患者急性加重期动脉血气指标的影响 [J]. 内蒙古中医药, 2025, 44(4): 14-16.
Jiang T T, Qiu G H, Cao N Q. Effect of Zhenwu decoction combined with Suzi Jiangqi decoction on arterial blood gas indexes of patients with chronic obstructive pulmonary disease in acute exacerbation stage [J]. Inn Mong J Tradit Chin Med, 2025, 44(4): 14-16.
- [12] 宋春燕, 于光华, 宋雪, 等. 真武汤联合离照散药灸治疗肝癌癌性腹水的疗效及其对血清 GP73、CEA 水平的影响 [J]. 检验医学与临床, 2025, 22(12): 1680-1685.
Song C Y, Yu G H, Song X, et al. Effect of Zhenwu decoction combined with Lizhao powder in the medicated moxibustion of liver cancer ascites and its influence on serum GP73 and CEA levels [J]. Lab Med Clin, 2025, 22(12): 1680-1685.
- [13] 李佳蓉, 张丽. 真武汤加减联合硝酸甘油注射液对肺心病、急性左心衰竭患者效果 [J]. 中外医学研究, 2025, 23(6): 115-118.
Li J R, Zhang L. The effect of modified Zhenwu decoction combined with nitroglycerin injection on blood gas indicators and lung function in patients with pulmonary heart disease and acute left heart failure [J]. Chin Foreign Med Res, 2025, 23(6): 115-118.
- [14] Wang Y H, Shi M, Niu H M, et al. Substituting one *Paris* for another? *in vitro* cytotoxic and *in vivo* antitumor activities of *Paris forrestii*, a substitute of *Paris polyphylla* var. *Yunnanensis* [J]. J Ethnopharmacol, 2018, 218: 45-50.
- [15] Cryan J F, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharmacological and genetic studies in mice [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2005, 29(4/5): 571-625.
- [16] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.
- [17] 徐焯. 基于网络药理学研究知柏地黄丸对顺铂急性肾损伤的作用机制 [D]. 天津: 天津科技大学, 2022: 3.
Xu Y. Study on the mechanism of Zhibai Dihuang Pill on cisplatin-induced acute kidney injury based on network pharmacology [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2022: 3.
- [18] 周仪. 加味济川煎联合热熨法治疗功能性便秘阳虚证临床研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2023: 28.
Zhou Y. Clinical study of Modified Jichuan Jian combined with hot ironing in the treatment of functional constipation with Yang deficiency syndrome [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2023: 28.
- [19] 刘伟, 陈学彬, 雷根平. 中药调控扩张型心肌病心室重构的研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2025, 23(15): 2324-2328.
Liu W, Chen X B, Lei G P. Research progress on the regulation of ventricular remodeling in dilated cardiomyopathy by traditional Chinese medicine [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2025, 23(15): 2324-2328.
- [20] 许亮, 陈杜, 罗亦斌, 等. 真武汤加味治疗心肾阳虚型慢性心力衰竭疗效及对氧化应激反应、血管内皮功能的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2025, 34(8): 1091-1095.
Xu L, Chen D, Luo Y B, et al. Effect of Zhenwu decoction on chronic heart failure with heart-kidney Yang deficiency and its influence on oxidative stress reaction and vascular endothelial function [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2025, 34(8): 1091-1095.
- [21] Fang R, Zhou R, Ju D, et al. Zhen-wu-Tang protects against myocardial fibrosis by inhibiting M1 macrophage polarization via the TLR4/NF- κ B pathway [J]. Phytomedicine, 2024, 130: 155719.
- [22] Zhang J, Li W, Xue S, et al. Qishen granule attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by protecting mitochondrial function and reducing oxidative stress through regulation of Sirtuin3 [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319: 117134.
- [23] Liu B, Cao Y, Wang D, et al. Zhen-wu-Tang induced mitophagy to protect mitochondrial function in chronic glomerulonephritis via PI3K/AKT/mTOR and AMPK pathways [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 777670.
- [24] Xu H, Li S, Liu J, et al. Bioactive compounds from Huashi Baidu decoction possess both antiviral and anti-inflammatory effects against COVID-19 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023, 120(18): e2301775120.
- [25] Tokarz J, Haid M, Cecil A, et al. Endocrinology meets metabolomics: achievements, pitfalls, and challenges [J]. Trends Endocrinol Metab, 2017, 28(10): 705-721.
- [26] Sepulveda M, Montecino-Garrido H, Wehinger S, et al. Role of oxylipins as a plasma biomarker of frail older people in women [J]. Free Radic Biol Med, 2023, 208: S60-S61.
- [27] Setty B Y, Maddipati K R, Keith S W, et al. Plasma oxylipins in children with sickle cell disease: Associations with biomarkers of inflammation and endothelial activation [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids, 2025, 205: 102670.
- [28] Li Q, Rempel J D, Ball T B, et al. Plasma oxylipins levels in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Dig Dis Sci, 2020, 65(12): 3605-3613.

- [29] Sepúlveda M, Palomo I, Montecino-Garrido H, et al. Physiological changes associated with aging: Identification of novel biomarkers for frailty syndrome in women [J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 223: 160-171.
- [30] Chocholoušková M, Jirásko R, VRÁNA D, et al. Reversed phase UHPLC/ESI-MS determination of oxylipins in human plasma: a case study of female breast cancer [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 411(6): 1239-1251.
- [31] Chen P, Fenet B, Michaud S, et al. Full characterization of PDX, a neuroprotectin/protectin D1 isomer, which inhibits blood platelet aggregation [J]. *FEBS Lett*, 2009, 583(21): 3478-3484.
- [32] Serebriannikov N V, Sarycheva I K, Evstigneeva R P, et al. Production of *Tetra-cis*-eicosa-5, 8, 11, 14-enoic (arachidonic) acid, the chief precursor of prostaglandins [J]. *Farmatsiia*, 1976, 25(5): 29-31.
- [33] Adili R, Voigt E M, Bormann J L, et al. *In vivo* modeling of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid-mediated inhibition of both platelet function and accumulation in arterial thrombi [J]. *Platelets*, 2019, 30(2): 271-279.
- [34] Ren X, Zhang M, Chen L, et al. The anti-inflammatory effects of Yunnan Baiyao are involved in regulation of the phospholipase A2/arachidonic acid metabolites pathways in acute inflammation rat model [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(4): 4045-4053.
- [35] Davidson E M, Rae S A, Smith M J. Leukotriene B₄, a mediator of inflammation present in synovial fluid in rheumatoid arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 1983, 42(6): 677-679.
- [36] Fujita T, Inoue K, Yamamoto S, et al. Fungal metabolites. Part 11. A potent immunosuppressive activity found in *Isaria sinclairii* metabolite [J]. *J Antibiot*, 1994, 47(2): 208-215.
- [37] Volterra A, Trotti D, Racagni G. Glutamate uptake is inhibited by arachidonic acid and oxygen radicals via two distinct and additive mechanisms [J]. *Mol Pharmacol*, 1994, 46(5): 986-992.
- [38] Boldyrev A A, Aldini G, Derave W. Physiology and pathophysiology of carnosine [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(4): 1803-1845.
- [39] Holeček M. Side effects of amino acid supplements [J]. *Physiol Res*, 2022: 29-45.
- [40] Huang P, Liu Y, Li Y, et al. Metabolomics- and proteomics-based multi-omics integration reveals early metabolite alterations in sepsis-associated acute kidney injury [J]. *BMC Med*, 2025, 23(1): 79.