Open Access
DOI:10.3724/zdxbyxb-2025-0323

中医药现代化

·专题报道·

茵陈蒿汤主成分治疗代谢相关脂肪性肝病的配伍剂量优化及作用机制实验研究

高艳艳，薛茹云，徐芳莹，陈　林，邱剑楠，窦晓兵

浙江中医药大学生命科学学院，浙江 杭州 310053

［摘　要］ **目的**：探讨茵陈蒿汤主效应组分栀子苷、绿原酸和大黄多糖改善代谢相关脂肪性肝病（MAFLD）的最佳剂量配比和作用机制。**方法**：将C57BL/6小鼠随机分为正常对照组、模型对照组、均匀设计1~6组、茵陈蒿汤组。除正常对照组外，其余各组采用西方饮食饲料建立MAFLD模型，均匀设计1~6组和茵陈蒿汤组在造模8周后通过灌胃给予相应药物。12周后处死所有小鼠，称取小鼠的体重和肝脏质量，苏木精-伊红染色观察肝组织病理学变化，检测血浆丙氨酸转氨酶（ALT）、天冬氨酸转氨酶（AST）水平，检测血浆及肝脏总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）水平，从而获得均匀设计最佳组；同时以血浆AST、TG和肝TC水平为筛选指标，通过回归方程获得最优剂量配比；并分别从功能指标和组织形态两个维度进行验证。通过葡萄糖和胰岛素耐量试验评估小鼠糖代谢稳态和胰岛素敏感性，过碘酸希夫染色观察糖原蓄积情况，定量逆转录聚合酶链反应检测糖脂代谢、胆汁酸代谢相关基因mRNA表达，蛋白质印迹法检测胆汁酸代谢相关蛋白质表达，试剂盒检测血浆总胆红素（TBIL）、直接胆红素（DBIL）和总胆汁酸（TBA）水平。**结果**：栀子苷、绿原酸、大黄多糖组合均能降低肝体比、减轻肝损伤、降低脂质蓄积，其中均匀设计6组（200 mg/kg栀子苷+160 mg/kg绿原酸+340 mg/kg大黄多糖）效果最优。回归分析亦显示均匀设计6组方案最优。验证实验表明，与单药干预比较，最佳配比干预小鼠体重以及血浆ALT、AST、TC水平均更低（均$P<0.05$），肝脏脂质蓄积面积减小更显著。机制探究实验表明，最佳配比显著提升小鼠的葡萄糖耐量和胰岛素敏感性（均$P<0.05$），减少肝糖原沉积，下调糖脂代谢相关基因*Gsk3*、*G6pc*、*Pck1*、*Fbp1*、*Fasn*、*Srebp-1c*、*Scd1*、*Slc27a2*、*Slc27a5*表达（均$P<0.05$）；降低血浆TBIL、DBIL、TBA水平（均$P<0.05$），逆转肝脏中胆盐输出泵（BSEP）、法尼酯X受体（FXR）和细胞色素P450家族7亚家族A成员1（CYP7A1）蛋白及胆汁酸代谢相关基因*Nr1h4*、*Cyp7a1*、

收稿日期（Received）：2025-04-30　修改返回日期（Revised）：2025-07-01　接受日期（Accepted）：2025-10-10　网络预发表日期（Online）：2025-11-18

基金项目（Funding）：国家自然科学基金（82374102，82505465）；浙江省自然科学基金（MS25H270057）；浙江省博士后择优资助（ZJ2024067）

第一作者（First author）：高艳艳，硕士研究生，主要从事中医药调节脂肪代谢的作用及分子机制研究；E-mail：1390600582@qq.com；ORCID：0009-0000-2290-9336

通信作者（Corresponding author）：窦晓兵，教授，博士生导师，主要从事中医药调节脂肪代谢的作用及分子机制研究；E-mail：xbdou77@163.com；ORCID：0000-0002-2465-3079. 邱剑楠，博士，主要从事代谢性肝病的分子机制及中医药防治研究；E-mail：qjntcm@163.com；ORCID：0009-0006-0099-5652

Cyp27a1、*Slc10a1*、*Slco1a1*异常表达（均$P<0.05$）。**结论**：栀子苷200 mg/kg、绿原酸160 mg/kg和大黄多糖340 mg/kg的配比对小鼠MAFLD的改善作用最优，可能通过协同调控糖脂代谢及胆汁酸代谢的关键节点实现。

［**关键词**］ 代谢相关脂肪性肝病；茵陈蒿汤；配伍；均匀实验设计；糖代谢；脂代谢；胆汁酸代谢；小鼠
［**中图分类号**］ R285 ［**文献标志码**］ A

Dosage optimization of major components of Yinchenhao decoction for metabolic associated fatty liver disease and its mechanism: an experimental study

GAO Yanyan, XUE Ruyun, XU Fangying, CHEN Lin, QIU Jiannan, DOU Xiaobing
(*School of Life Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China*)
Corresponding authors: DOU Xiaobing, E-mail: xbdou77@163.com, ORCID: 0000-0002-2465-3079; QIU Jiannan, E-mail: qjntcm@163.com, ORCID: 0009-0006-0099-5652

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the optimal dose ratio and mechanisms of the primary active components in Yinchenhao decoction (geniposide, chlorogenic acid, and rhubarb polysaccharides) for ameliorating metabolic associated fatty liver disease (MAFLD). **Methods**: C57BL/6 mice were randomly divided into the normal control group, model control group, uniform design groups 1–6, and Yinchenhao decoction group; except for the normal control group, mice in all other groups were fed Western diets to establish MAFLD models, and after eight weeks of modeling, mice in the uniform design groups 1–6 and Yinchenhao decoction group were given the corresponding drugs by gavage. At 12 weeks, all mice were sacrificed: their body weight and liver weight were measured, hematoxylin-eosin staining was used to observe the histopathological changes of liver tissues, the plasma levels of alanine transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) were measured, and the levels of total cholesterol (TC) and triglycerides (TG) in plasma and liver were measured. Based on these results, the optimal uniform design group was identified; subsequently, with plasma AST, plasma TG, and liver TC levels as screening indicators, the optimal dose ratio was obtained via a regression equation, which was further verified from functional indicators and tissue morphology. Meanwhile, glucose tolerance test and insulin tolerance test were conducted to evaluate glucose metabolic homeostasis and insulin sensitivity in mice, periodic acid-Schiff staining was used to observe glycogen accumulation, quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction was employed to detect the mRNA expression of genes related to glycolipid metabolism and bile acid metabolism, Western blotting was performed to measure the protein expression of molecules involved in bile acid metabolism, and commercial kits were used to determine the plasma levels of total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL), and total bile acid (TBA). **Results**: Combinations of geniposide, chlorogenic acid, and rhubarb polysaccharide all reduced the liver-to-body weight ratio, alleviated liver injury, and decreased lipid accumulation, among which the uniform design group 6 (200 mg/kg geniposide+160 mg/kg chlorogenic acid+340 mg/kg rhubarb polysac-

charide) exhibited the optimal efficacy. Meanwhile, regression analysis indicated that the dosage ratio of uniform design group 6 was the optimal one for MAFLD intervention. Validation experiments showed that, compared with single-drug intervention, the optimal dosage ratio resulted in significantly lower body weight, as well as lower plasma levels of ALT, AST and TC in mice (all $P<0.05$), along with a more pronounced reduction in the area of hepatic lipid accumulation. Mechanistic investigation experiments demonstrated that intervention with the optimal dosage ratio significantly improved glucose tolerance and insulin sensitivity in mice (all $P<0.05$), reduced hepatic glycogen accumulation, and downregulated the mRNA expression of glycolipid metabolism-related genes such as *Gsk3*, *G6pc*, *Pck1*, *Fbp1*, *Fasn*, *Srebp-1c*, *Scd1*, *Slc27a2*, and *Slc27a5* (all $P<0.05$); it also decreased plasma levels of TBIL, DBIL, and TBA (all $P<0.05$), restored the dysregulated protein expression of bile salt export pump (BSEP), farnesoid X receptor (FXR), and cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1 (CYP7A1) in the liver (all $P<0.05$), and reversed the abnormal mRNA expression of bile acid metabolism-related genes including *Nr1h4*, *Cyp7a1*, *Cyp27a1*, *Slc10a1*, and *Slco1a1* (all $P<0.05$). **Conclusion**: The combination of geniposide (200 mg/kg), chlorogenic acid (160 mg/kg), and rhubarb polysaccharide (340 mg/kg) exerts the optimal ameliorative effect on MAFLD in mice. This superior efficacy is presumably achieved by synergistically regulating the key nodes of glucose, lipid and bile acid metabolism.

[**Key words**] Metabolic associated fatty liver disease; Yinchenhao decoction; Synergy; Uniform experimental design; Glucose metabolism; Lipid metabolism; Bile acid metabolism; Mice

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(3): 210-221.]

[**缩略语**] 代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease,MAFLD);天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase,AST);丙氨酸转氨酶(alanine transaminase,ALT);甘油三酯(triglyceride,TG);总胆固醇(total cholesterol,TC);总胆红素(total bilirubin,TBIL);直接胆红素(direct bilirubin,DBIL);总胆汁酸(total bile acid,TBA);苏木精–伊红染色(hematoxylin and eosin staining,HE染色);二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay,BCA);增强化学发光(enhanced chemiluminescence,ECL);聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR);定量PCR(quantitative PCR,qPCR);法尼酯X受体(farnesoid X receptor,FXR);细胞色素P450家族7亚家族A成员1(cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1,CYP7A1);胆盐输出泵(bile salt export pump,BSEP);定量逆转录PCR(quantitative reverse transcription PCR,qRT-PCR);互补DNA(complementary DNA,cDNA);十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate,SDS);含吐温-20的Tris缓冲液(Tris buffered saline with Tween-20,TBST);核受体亚家族1 H组成员4(nuclear receptor subfamily 1 group H member 4,NR1H4);细胞色素P450家族27亚家族A成员1(cytochrome P450 family 27 subfamily A member 1,CYP27A1);溶质载体超家族10成员1(solute carrier superfamily 10 member 1,SLC10A1);溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员1A1(solute carrier organic anion transporter family member 1a1,SLCO1A1)

MAFLD是一种与代谢综合征相关的慢性肝病，其发展与胰岛素抵抗、肥胖、肠道菌群失调、血脂异常、2型糖尿病、心血管疾病等密切相关[1-2]。MAFLD因其高发病率已成为肝硬化和肝癌的重要诱因之一，造成了巨大的社会负担和公共卫生挑战[3]。目前，MAFLD治疗尚无特效药，其主要治疗策略仍是对饮食和生活方式进行干预[4]。传统中药通过多种途径对代谢信号进行调控，成为治疗MAFLD的重要手段[5-6]。源自《伤寒论》的经典方剂茵陈蒿汤针对湿热郁结中焦的病机特点，通过清热利湿实现代谢调节，广泛应用于肝胆疾病治疗，并取得显著疗效[7]。研究显示，茵陈蒿汤可减轻MAFLD合并糖尿病小鼠的炎症反应[8]；也可通过降低拟杆菌丰度、棕榈油酸浓度改善MAFLD代谢紊乱[9]；还可促进胆汁排泄，减少肝内淤积，延缓MAFLD进展[10-11]。

复方优化是通过精准筛选复方中的有效成分，探究成分间科学组合方式，实现有效成分精确量化，可作为提升中药疗效和明确机制的核心策略[12]。前期研究已报道绿原酸、栀子苷、大黄多糖为茵陈蒿汤改善MAFLD的主要成分[13]。然而，原方主要成分间的内在配伍剂量及作用研究较少。本实验采用均匀设计法筛选出绿原酸、栀子苷、大黄多糖的最佳剂量组合，为推进茵陈蒿汤现代化临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

8周龄雄性C57BL/6小鼠购于上海斯莱克实验动物有限责任公司[许可证号SYXK（浙）2021-0012]。实验动物饲养于浙江中医药大学实验动物中心无特定病原体级饲养室。

1.2 药物、试剂及仪器

西方饮食模型饲料（TP26300）为中国南通特洛菲饲料科技有限公司产品；茵陈蒿汤由茵陈蒿36 g、栀子24 g、大黄12 g组成，购自浙江中医药大学杭州滨江中医门诊部中药房，煎煮后生药量为0.6 g/mL。栀子苷（TTL3321）、绿原酸（TBB001）和大黄多糖（TDT001）为中国上海融禾医药科技发展有限公司产品；奥贝胆酸（YS184565）、过碘酸希夫染色试剂盒（G1280）为中国北京索莱宝科技有限公司产品；AST测定试剂盒（C010-2-1）、ALT测定试剂盒（C009-2-1）、TG测定试剂盒（A110-1-1）、TC测定试剂盒（A111-1-1）、TBIL测定试剂盒（BC5180）、DBIL测定试剂盒（AM1000109）、TBA测定试剂盒（ADS-W-D014）为中国南京建成科技有限公司产品；HE染色试剂盒（C0105S）、改良油红O染色试剂盒（C0185M）、BCA蛋白浓度测定试剂盒（P0009）为中国上海碧云天生物技术有限公司产品；电泳缓冲液（G2018）、转膜缓冲液（G2017）为中国武汉赛维尔有限公司产品；双色预染蛋白分子量标准（15 000~150 000，WJ103L）为中国上海雅酶生物医药科技有限公司产品；蛋白酶抑制剂混合物（CW2200S）、蛋白磷酸酶抑制剂混合物（CW2383）为中国北京康为世纪生物科技有限公司产品；RNA快速提取试剂盒（RC112-01）、ECL化学发光检测试剂盒（E412-02）为中国南京诺唯赞生物科技有限公司产品；逆转录试剂盒（MR05101M）、通用型SYBR Green qPCR预混液（MQ10701S）、384孔荧光定量PCR板（MQ50601S）为中国莫纳生物科技有限公司产品；qPCR引物为中国擎科生物科技股份有限公司产品；FXR抗体（sc25309）、CYP7A1抗体（sc518007）、BSEP抗体（sc74500）为美国Santa Cruz Biotechnology公司产品。

石蜡切片机（HM-340E）为德国ThermoFisher Scientific公司产品；冰冻切片机（NX50）为美国Epredia公司产品；酶标仪（Spectra Max）为美国Molecular Devices公司产品；全自动生化仪（TBA-40F）为日本Toshiba公司产品；荧光定量PCR仪（7500）为美国Applied Biosystems公司产品。

1.3 动物分组及干预

1.3.1 均匀设计实验 栀子苷改善小鼠MAFLD的有效剂量范围为10~200 mg/kg[14-15]，绿原酸对小鼠肝损伤发挥保护作用的有效剂量范围为10~200 mg/kg[16-17]，大黄多糖调节小鼠血脂的有效剂量范围为100~540 mg/kg[18]，按照三因素六水平均匀设计表进行复方组合。小鼠在适应性喂养1周后随机分为九组：正常对照组、模型对照组、均匀设计1~6组和茵陈蒿汤组，每组8只。正常对照组采用标准食物饮食，其余各组采用西方饮食饲料诱导MAFLD模型。造模8周后，于第9周起各组分别给予相应药物灌胃，每天一次，连续4周（表1）。所有动物在第12周末处死。

在MAFLD病理进程中，血浆TG和肝组织TC水平升高是脂质代谢紊乱的核心标志，两者通过

表1 均匀设计实验分组及给药方案
Table 1 Uniform experimental grouping and administration

组 别	给药方案
正常对照组	蒸馏水
模型对照组	蒸馏水
均匀设计1组	10 mg/kg栀子苷+40 mg/kg绿原酸+240 mg/kg大黄多糖
均匀设计2组	40 mg/kg栀子苷+120 mg/kg绿原酸+540 mg/kg大黄多糖
均匀设计3组	80 mg/kg栀子苷+200 mg/kg绿原酸+140 mg/kg大黄多糖
均匀设计4组	120 mg/kg栀子苷+10 mg/kg绿原酸+440 mg/kg大黄多糖
均匀设计5组	160 mg/kg栀子苷+80 mg/kg绿原酸+100 mg/kg大黄多糖
均匀设计6组	200 mg/kg栀子苷+160 mg/kg绿原酸+340 mg/kg大黄多糖
茵陈蒿汤组	0.6 g/mL茵陈蒿汤

诱导肝细胞脂肪变性和脂毒性损伤介导AST释放入血,导致血浆AST水平显著升高[19-20]。因此以血浆AST、TG及肝组织TC水平为筛选指标,对均匀设计所得各组数据进行逐步回归分析,筛选出最优剂量配比。

1.3.2 最优剂量配比验证实验 小鼠在适应性喂养1周后,随机分为七组:正常对照组、模型对照组、最优配比组、栀子苷组、绿原酸组、大黄多糖组和奥贝胆酸组(30 mg/kg,阳性对照),每组8只,其中栀子苷组、绿原酸组、大黄多糖组的给药剂量同最优配比组,给药时间和方式同均匀设计实验。

1.3.3 最优剂量配比作用机制实验 小鼠在适应性喂养1周后,按体重随机分为四组:正常对照组、模型对照组、最优配比组和奥贝胆酸组(30 mg/kg,阳性对照),每组8只。给药时间和方式同均匀设计实验。

1.4 葡萄糖耐量试验和胰岛素耐量试验检测模型鼠葡萄糖代谢能力和胰岛素敏感性

小鼠在饲养10周后进行葡萄糖耐量试验:小鼠禁食16 h后,用血糖仪检测尾静脉血中的空腹血糖水平,随后腹腔注射1.2 g/kg葡萄糖溶液,并分别于30、60、120 min经尾静脉取血检测血糖水平。小鼠在饲养11周后进行胰岛素耐量试验:小鼠禁食4 h后同上操作测定空腹血糖水平,再注射0.75 U/kg胰岛素,并分别于30、60、120 min检测血糖水平。采用梯形法计算血糖曲线下面积。根据0、30、60、120 min四个时间点,将曲线划分为0~30、30~60、60~120 min三个区段,各区段面积以相邻时间点血糖均值乘时间间隔(0.5、0.5、1.0 h)计算,各区段面积之和即为血糖曲线下面积。

1.5 血浆和肝组织标本采集和处理

12周后处死所有小鼠,记录小鼠体重,采集全血和肝脏。全血静置30 min后,800×*g*室温离心15 min,收集血浆检测生化指标。称取肝脏质量,于肝大叶切取两块约1 cm^3的肝组织,用4%多聚甲醛固定,其余肝脏标本保存于−80 ℃备用。计算肝体比,即肝脏质量与体重的比值乘以100%。

1.6 生化指标检测

采用自动生化分析仪测定血浆中ALT、AST、TC、TG的浓度。按照检测试剂盒说明书测定血浆TBIL、DBIL、TBA水平。称取20 mg肝脏标本,加入3颗钢珠和180 μL无水乙醇,经机械匀浆10 min后,15 000×*g*离心15 min,收集上清液,使用酶标仪测定吸光度,计算肝组织TC和TG的浓度。

1.7 HE染色、过碘酸希夫染色、油红O染色分别观察组织病理损伤、糖原沉积、脂质沉积情况

固定于多聚甲醛溶液的肝组织经脱水、石蜡包埋后,用石蜡切片机切成4 μm厚切片,黏附于载玻片并放入烘箱。HE染色观察肝组织病理损伤情况。另外,按过碘酸希夫染色试剂盒说明书操作染色,观察肝组织中糖原及其他多糖物质沉积情况。

使用冰切机将OCT包埋后的肝组织切成8 μm厚的切片,按油红O染色试剂盒说明书操作染色,观察肝组织脂质沉积情况。图像由数字病理切片扫描系统采集。

1.8 qRT-PCR法检测肝组织糖、脂肪酸、胆汁酸代谢相关基因表达

取20 mg肝组织置于1.5 mL EP管中,并加入3颗钢珠和350 μL裂解缓冲液,用研磨仪研磨10 min,按照RNA提取试剂盒说明书提取RNA,使用紫外分光光度计测量标本中RNA的浓度和纯度,按逆转录试剂盒说明书构建反应体系,将RNA转录成cDNA。随后,依照ChamQ Blue Universal SYBR qPCR Master Mix说明书,在384孔板中依次加入稀释后的cDNA、荧光qPCR染料和上下游引物(附表1)。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量。

1.9 蛋白质印迹法检测肝组织胆汁酸代谢相关蛋白表达

取20 mg肝组织加入3颗钢珠以及含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的600 μL放射免疫沉淀裂解液，充分研磨后，于4 ℃、15 000×*g* 离心15 min，取上清液并补加400 μL放射免疫沉淀裂解液，BCA法测定蛋白质浓度，按1 μg/μL蛋白质浓度配制20 μL上样缓冲液，混匀离心后加热变性；随后进行SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳（120 V，75 min）和转膜（270 mA，135 min），快速无蛋白封闭液封闭后，与一抗在4 ℃孵育过夜，用TBST洗膜后，与二抗常温孵育1 h，再次用TBST洗膜，通过ECL法进行显影和成像。以β-肌动蛋白为内参，采用ImageJ软件对条带灰度值进行分析。

1.10 统计学方法

采用GraphPad Prism 8软件进行统计分析。符合正态分布的计量数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）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。采用SPSS 22.0对均匀设计各组血浆AST、TG和肝TC水平进行逐步回归分析。*P*<0.05为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 栀子苷、绿原酸、大黄多糖组合降低肝体比

与正常对照组比较，模型对照组体重、肝脏质量及肝体比均增加（均*P*<0.01）；与模型对照组比较，均匀设计各组和茵陈蒿汤组上述指标均降低（均*P*<0.01）；其中均匀设计4组和6组肝脏质量低于均匀设计3组（均*P*<0.05）。见表2。结果提示，栀子苷、绿原酸、大黄多糖不同比例组合均能降低小鼠体重、肝脏质量及肝体比。

表2 各组体重、肝脏质量及肝体比

Table 2 The body mass, liver weight, and liver-to-body mass ratio in each group

（$\bar{x}\pm s$，*n*=8）

组 别	体重（g）	肝脏质量（g）	肝体比（%）
正常对照组	30.38±2.95**	0.97±0.21**	3.20±0.97**
模型对照组	40.68±3.47	1.89±0.50	4.67±1.23
均匀设计1组	34.00±2.41**	1.04±0.17**	3.09±0.56**
均匀设计2组	34.29±2.05**	1.07±0.23**	3.13±0.63**
均匀设计3组	35.10±2.40**	1.21±0.15**	3.38±0.45**
均匀设计4组	34.55±1.93**	1.05±0.08**#	3.04±0.24**
均匀设计5组	34.75±2.68**	1.08±0.14**	3.12±0.46**
均匀设计6组	33.13±1.90**	1.00±0.09**#	3.07±0.41**
茵陈蒿汤组	34.20±2.62**	1.05±0.12**	3.07±0.42**

与模型对照组比较，**P<0.01；与均匀设计3组比较，#P<0.05.

2.2 栀子苷、绿原酸、大黄多糖组合减轻肝损伤

与正常对照组比较，模型对照组血浆ALT、AST水平均升高（均*P*<0.01）；与模型对照组比较，均匀设计各组和茵陈蒿汤组上述指标均降低（均*P*<0.01）；均匀设计3组和6组ALT水平较茵陈蒿汤组均降低（均*P*<0.05），AST水平较均匀设计4组均降低（均*P*<0.05）。见表3。与正常对照组比较，模型对照组肝细胞发生明显的脂肪变性，出现大小不一的脂滴空泡，且肝小叶结构紊乱；与模型对照组比较，均匀设计各组和茵陈蒿汤组肝组织损伤均在不同程度减轻，其中均匀设计6组和茵陈蒿汤组减轻最明显。见图1。结果提示，栀子苷、绿原酸、大黄多糖不同比例组合能不同程度地减轻肝损伤，其中均匀设计6组配比效果最优，且有优于茵陈蒿汤的趋势。

表3 各组肝功能指标检测结果比较

Table 3 Comparison of ALT and AST levels among groups

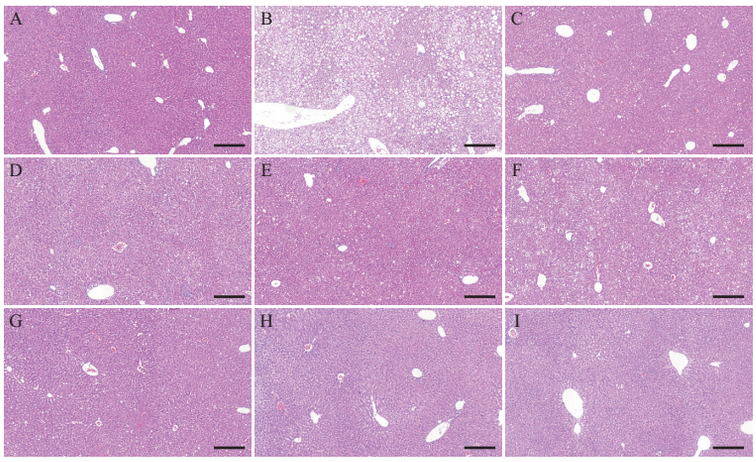
（U/L，$\bar{x}\pm s$，*n*=8）

组 别	ALT	AST
正常对照组	25.58±7.53**	38.30±6.24**
模型对照组	91.90±13.04	107.13±20.92
均匀设计1组	19.70±8.16**	40.29±4.52**
均匀设计2组	19.41±3.53**	44.71±8.42**
均匀设计3组	15.88±3.57**#	37.93±8.13**△
均匀设计4组	19.21±3.42**	46.83±8.37**
均匀设计5组	22.95±11.28**	41.03±12.19**
均匀设计6组	16.03±1.20**#	35.77±3.50**△
茵陈蒿汤组	28.25±4.37**	37.40±4.65**

与模型对照组比较，**P<0.01；与茵陈蒿汤组比较，#P<0.05；与均匀设计4组比较，△P<0.05. ALT：丙氨酸转氨酶；AST：天冬氨酸转氨酶.

2.3 栀子苷、绿原酸、大黄多糖组合降低脂质蓄积

与正常对照组比较，模型对照组血浆及肝脏TC、TG水平均升高（均*P*<0.01）；与模型对照组比较，均匀设计各组和茵陈蒿汤组血浆TC、TG水平均降低（均*P*<0.01）；肝脏TC水平除均匀设计3组和5组外，其余均匀设计各组和茵陈蒿汤组较模型对照组均降低（均*P*<0.05）；肝脏TG水平除均匀设计2组和5组外，其余均匀设计各组和茵陈蒿汤组较模型对照组均降低（均*P*<0.01）；且与其他均匀



A:正常对照组;B:模型对照组;C:均匀设计1组;D:均匀设计2组;E:均匀设计3组;F:均匀设计4组;G:均匀设计5组;H:均匀设计6组;I:茵陈蒿汤组. 与正常对照组比较,模型对照组肝细胞内可见大小不一的脂肪空泡,部分细胞核被挤压至细胞边缘,同时肝窦内可见少量炎症细胞浸润;与模型对照组比较,均匀设计各组和茵陈蒿汤组肝组织损伤均有不同程度减轻,其中均匀设计6组和茵陈蒿汤组减轻最明显. 标尺=250 μm.

图1 各组肝组织病理学改变(苏木精–伊红染色)

Figure 1 Histopathological results of liver tissues in each group (hematoxylin and eosin staining)

设计组比较,均匀设计6组肝脏TC水平下降最明显(P<0.01)。见表4。与正常对照组比较,模型对照组肝脏油红O染色阳性区域明显扩大;与模型对照组比较,均匀设计各组和茵陈蒿汤组肝脏油红O染色阳性区域减小,尤以均匀设计1组、6组及茵陈蒿汤组减小最为显著。见图2。结果提示,栀子苷、绿原酸、大黄多糖不同比例组合能降低脂质水平、减少肝内脂滴,其中均匀设计6组降脂效果最优,与茵陈蒿汤相当。

表4 各组血浆和肝组织TC、TG检测结果比较

Table 4 Comparison of TC and TG levels in plasma and liver tissues among groups

($\bar{x}\pm s$, n=8)

组　别	血浆TC (mmol/L)	血浆TG (mmol/L)	肝TC (mmol/mg)	肝TG (mmol/mg)
正常对照组	2.03±4.00**	0.64±0.06**	0.95±0.47**	4.45±3.85**
模型对照组	4.40±0.78	0.90±0.08	8.66±1.41	14.50±2.30
均匀设计1组	1.96±0.30$^{**\triangle}$	0.56±0.05$^{**\triangle\#\#}$	4.11±0.62$^{**\blacktriangle\blacktriangle}$	6.88±2.74**
均匀设计2组	2.13±0.17$^{**\triangle}$	0.55±0.04$^{**\triangle\#\#}$	4.71±0.71$^{**\blacktriangle\blacktriangle}$	12.56±2.84$^{\blacktriangle\blacktriangle}$
均匀设计3组	1.95±0.39$^{**\triangle}$	0.55±0.06$^{**\triangle\#\#}$	7.62±0.71$^{\blacktriangle\blacktriangle}$	7.87±2.77**
均匀设计4组	2.47±0.35**	0.64±0.09$^{**\#\#}$	6.64±0.57$^{*\blacktriangle\blacktriangle}$	9.83±2.25**
均匀设计5组	2.13±0.38$^{**\triangle}$	0.52±0.04$^{**\blacktriangle\#}$	7.56±0.54$^{\blacktriangle\blacktriangle}$	13.05±4.59$^{\blacktriangle}$
均匀设计6组	2.06±0.13$^{**\triangle}$	0.43±0.02$^{**\triangle}$	2.08±0.64**	5.13±3.74**
茵陈蒿汤组	1.88±0.38$^{**\triangle}$	0.45±0.05$^{**\triangle}$	4.27±0.91$^{**\blacktriangle\blacktriangle}$	5.51±3.24**

与模型对照组比较,$^{*}P$<0.05,$^{**}P$<0.01;与茵陈蒿汤组比较,$^{\#}P$<0.05,$^{\#\#}P$<0.01;与均匀设计4组比较,$^{\triangle}P$<0.05;与均匀设计6组比较,$^{\blacktriangle}P$<0.05,$^{\blacktriangle\blacktriangle}P$<0.01. TC:总胆固醇;TG:甘油三酯.

2.4 均匀设计实验筛选结果

以血浆AST水平为筛选指标构建回归方程为Y=44.316−2.863×栀子苷×绿原酸,以血浆TG水平为筛选指标构建回归方程为Y=0.601−0.051×栀子苷×绿原酸,以肝TC水平为筛选指标构建回归方程为Y=7.868−0.004×栀子苷×大黄多糖−0.004×绿原酸×大黄多糖,结果均提示均匀设计6组为最优剂量配比。

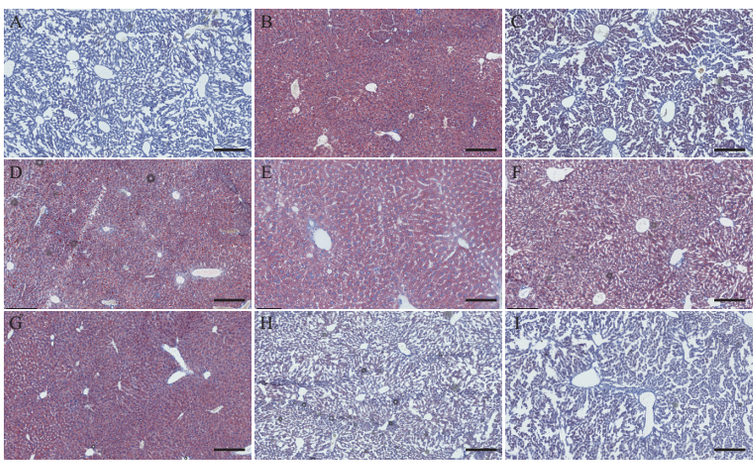
2.5 最优剂量配比验证结果

与模型对照组比较,各用药组体重、肝脏质量及肝体比均降低(均P<0.01);其中最优配比组体重低于栀子苷组、绿原酸组和大黄多糖组(均P<0.05)。见附表2。

与模型对照组比较,各用药组血浆ALT、AST水平均降低(均P<0.01);其中最优配比组ALT、AST水平低于栀子苷组、绿原酸组和大黄多糖组(均P<0.01)。见附表2。HE染色结果显示,与模型对照组比较,各用药组肝组织损伤均有不同程度减轻,其中最优配比组和奥贝胆酸组减轻最为明显,见附图1。

与模型对照组比较,各用药组血浆TC、TG水平均降低(均P<0.01);最优配比组血浆TC水平较栀子苷组、绿原酸组和大黄多糖组降低(均P<0.01),血浆TG水平较栀子苷组和大黄多糖组降低(均P<0.01)。见附表2。油红O染色结果显示,与模型对照组比较,各用药组肝脏脂质蓄积面积明显减小,其中最优配比组和奥贝胆酸组减小最为明显,见附图2。

上述结果从功能指标和组织形态两个维度验证了最优配比组通过减重、减轻肝损伤、缓解肝脏脂质蓄积改善MAFLD,



A：正常对照组；B：模型对照组；C：均匀设计1组；D：均匀设计2组；E：均匀设计3组；F：均匀设计4组；G：均匀设计5组；H：均匀设计6组；I：茵陈蒿汤组. 与正常对照组比较，模型对照组肝组织中可见大量红色脂滴沉积；与模型对照组比较，均匀设计各组及茵陈蒿汤组肝组织内阳性染色面积均明显缩小，其中以均匀设计1、6组及茵陈蒿汤组改善最为显著. 标尺=250 μm.

图2 各组肝组织中脂质沉积显微镜下所见（油红O染色）

Figure 2 Microscopic observation of lipid deposition in liver tissues in each group (oil red O staining)

且该效果优于单组分治疗组。

2.6 最优剂量配比改善模型鼠血糖稳态和肝糖原蓄积

与正常对照组比较，模型对照组葡萄糖耐量曲线下面积和胰岛素耐量曲线下面积均升高（均P<0.01）；与模型对照组比较，最优配比组上述指标均降低（均P<0.05）。见图3和表5。过碘酸希夫染色结果显示，与正常对照组比较，模型对照组肝细胞胞质内出现明显糖原沉积；与模型对照组比较，最优配比组和奥贝胆酸组肝糖原沉积程度减轻。见图4。结果表明，最优剂量配比能明显提高小鼠葡萄糖耐量及胰岛素敏感性，同时有效改善肝糖原沉积。

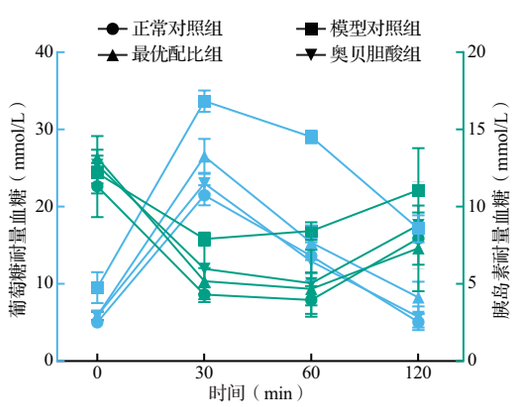


图3 各组葡萄糖耐量和胰岛素耐量检测结果比较（n=8）

Figure 3 Comparison of glucose tolerance and insulin tolerance test results among groups (n=8)

2.7 最优剂量配比下调模型鼠糖脂代谢相关基因表达

与正常对照组比较，模型对照组糖脂代谢相关基因的表达均上调（均P<0.01）；与模型对照组比较，最优配比组和奥贝胆酸组上述基因表达均下调（均P<0.05）。见表6。结果提示，最优剂量配比能逆转糖脂代谢相关基因过度表达，通过调控糖脂代谢平衡进而改善MAFLD。

2.8 最优剂量配比调节模型鼠胆汁酸代谢外周血指标及相关基因和蛋白质表达

与正常对照组比较，模型对照组血浆TBIL、DBIL、TBA水平均升高（均P<0.05）；与模型对照组比较，最优配比组和奥贝胆酸组上述指标均降低（均P<0.05）。见表7。

与正常对照组比较，模型对照组*Nr1h4* mRNA表达减少，*Cyp7a1*、*Cyp27a1*、*Slc10a1*、*Slco1a1* mRNA表达均增加（均P<0.01）；与模型对照组比较，最优配比组和奥贝胆酸组上述基因表达有所改善（均P<0.01）。见表8。

与正常对照组比较，模型对照组BSEP和FXR蛋白表达水平均降低（均P<0.05），CYP7A1蛋白表达水平升高（P<0.01）；与模型对照组比较，最优配比组和奥贝胆酸组上述蛋白表达均有所改善（均P<0.05）。见图5和表9。

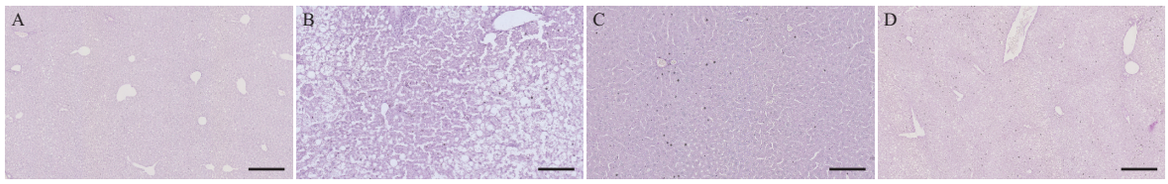
表5 各组葡萄糖耐量和胰岛素耐量曲线下面积（AUC）比较

Table 5 Comparison of glucose tolerance and insulin tolerance area under the curve (AUC) results among groups

（mmol·L^{-1}·h^{-1}，$\bar{x}\pm s$，n=8）

组　别	葡萄糖耐量AUC	胰岛素耐量AUC
正常对照组	24.71±2.31**	11.92±1.07**
模型对照组	49.57±0.93	18.85±1.56
最优配比组	30.35±3.02**	13.03±1.79*
奥贝胆酸组	25.51±1.47**	14.35±3.80*

与模型对照组比较，*P<0.05，**P<0.01.



A:正常对照组;B:模型对照组;C:最优配比组;D:奥贝胆酸组. 与正常对照组比较,模型对照组肝细胞胞质内可见明显糖原沉积;与模型对照组比较,最优配比组和奥贝胆酸组糖原沉积程度明显减轻. 标尺=250 μm.

图4 各组肝组织糖原沉积显微镜下所见(过碘酸希夫染色)

Figure 4 Microscopic observation of hepatic glycogen deposition in each group (periodic acid-Schiff staining)

表6 各组糖脂代谢相关基因检测结果比较

Table 6 Comparison of glucose and lipid metabolism-related gene expression among groups

($\bar{x}\pm s$, n=8)

组 别	*Gsk3*	*G6pc*	*Pck1*	*Fbp1*	*Fasn*	*Srebp-1c*	*Scd1*	*Slc27a2*	*Slc27a5*
正常对照组	1.2±0.7**	1.0±0.2**	1.05±0.07**	1.0±0.3**	1.1±0.4**	1.2±0.8**	1.0±0.9**	1.1±0.4**	0.97±0.42**
模型对照组	4.4±1.6	9.6±4.5	2.21±1.03	11.6±3.3	13.0±3.7	6.2±2.5	6.4±2.1	6.0±1.7	3.54±1.18
最优配比组	1.3±0.4**	5.4±2.5*	1.22±0.26*	4.1±2.9**	5.9±1.3**	4.1± 0.8*	2.5±1.0**	3.7±0.8**	0.96±0.27**
奥贝胆酸组	1.6±0.4**	5.5±1.9*	1.09±0.15*	3.8±2.3**	5.7±2.3**	2.7±1.0*	1.5±0.4**	4.1±0.6*	1.29±1.24**

与模型对照组比较,*P<0.05,**P<0.01. GSK:糖原合成酶激酶;G6PC:葡萄糖-6-磷酸酶催化亚基;PCK:磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶;FBP:果糖-1,6-二磷酸酶;FASN:脂肪酸合成酶;SREBP:固醇调节元件结合蛋白;SCD:硬脂酰辅酶A去饱和酶;SLC:溶质载体.

表7 各组血浆胆红素-胆汁酸代谢相关指标检测结果比较

Table 7 Comparison of levels of plasma bilirubin-bile acid metabolism-related indicators among groups

(μmol/L, $\bar{x}\pm s$, n=8)

组 别	TBIL	DBIL	TBA
正常对照组	4.37±1.46*	2.15±0.26**	3.91±0.85**
模型对照组	7.10±1.65	3.32±0.46	7.27±2.77
最优配比组	4.88±0.66*	1.82±0.62**	4.25±0.64*
奥贝胆酸组	4.30±1.10**	1.63±0.42**	2.46±1.13**

与模型对照组比较,*P<0.05,**P<0.01. TBIL:总胆红素;DBIL:直接胆红素;TBA:总胆汁酸.

表8 各组胆汁酸代谢相关基因检测结果比较

Table 8 Comparison of bile acid metabolism-related gene expression among groups

($\bar{x}\pm s$, n=8)

组 别	*Nr1h4*	*Cyp7a1*	*Cyp27a1*	*Slc10a1*	*Slco1a1*
正常对照组	1.16±0.21**	1.07±0.55**	1.03±0.28**	0.91±0.52**	1.04±0.54**
模型对照组	0.07±0.02	11.12±1.63	3.99±1.04	8.09±2.27	9.87±7.62
最优配比组	0.84±0.11**	5.43±0.92**	1.52±0.62**	0.45±0.45**	0.54±0.38**
奥贝胆酸组	1.19±0.24**	4.41±1.64**	1.60±1.22**	0.94±0.44**	1.07±0.41**

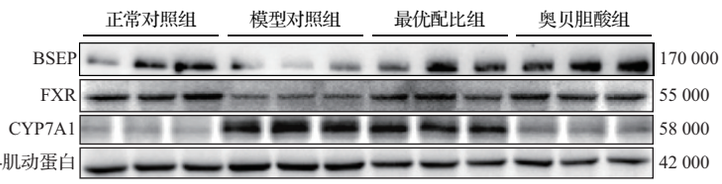
与模型对照组比较,**P<0.01. NR1H4:核受体亚家族1 H组成员4;CYP7A1:细胞色素P450家族7亚家族A成员1;CYP27A1:细胞色素P450家族27亚家族A成员1;SLC10A1:溶质载体超家族10成员1;SLCO1A1:溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员1A1.

上述结果提示,最优剂量配比可通过改善胆汁酸代谢相关的血浆指标异常变化、调控胆汁酸代谢相关基因和蛋白质异常表达,进而纠正肝胆代谢紊乱,最终发挥改善MAFLD的作用,效果与奥贝胆酸相当。

3 讨 论

MAFLD的致病机制错综复杂,糖、脂与胆汁酸代谢异常均能推动其发生发展[21]。现代医学研究证实,茵陈蒿汤在减轻肝脏炎症、脂质蓄积和抗肝纤维化方面具有良好效果[22]。但中药复方成分复杂、性质不稳定,阻碍了其临床推广[23]。现代分析技术的应用推动了中药复方活性成分的精准鉴定,通过系统性优化配伍比例可实现疗效和稳定性协同提升[24]。均匀设计法是多因素、多水平试验的高效设计方法,操作性和预测性俱佳。该方法在中药复方制剂研究中应用广泛,尤其适用于有效成分最佳剂量配比筛选,对提升中药疗效和推动临床应用意义重大[25]。

研究表明,栀子苷可缓解氧化损伤、减轻肝脏炎症[26],调节肠道微生物组成,激活FXR信号转导,有效改善肝损伤[27]。绿原酸可加速脂肪酸氧化,减轻肝脂肪变性[28],同时通过改善线粒体稳态、



BSEP：胆盐输出泵；FXR：法尼酯X受体；CYP7A1：细胞色素P450家族7亚家族A成员1.

图5 各组胆汁酸代谢相关蛋白电泳图

Figure 5 Electrophoretograms of bile acid metabolism-related proteins in each group

表9 各组胆汁酸代谢相关蛋白质检测结果比较

Table 9 Comparison of assay results for bile acid metabolism-related proteins among groups

（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组　别	BSEP	FXR	CYP7A1
正常对照组	1.00±0.50*	1.02±0.23*	1.09±0.14**
模型对照组	0.11±0.12	0.43±0.14	3.04±0.22
最优配比组	1.08±0.39*	1.30±0.15**	2.37±0.28*
奥贝胆酸组	1.54±0.35**	0.99±0.10*	1.22±0.17**

与模型对照组比较，*P<0.05，**P<0.01. BSEP：胆盐输出泵；FXR：法尼酯X受体；CYP7A1：细胞色素P450家族7亚家族A成员1.

抑制肝星状细胞活化阻碍肝纤维化进程[29]。此外，大黄多糖具有降低血糖、保护肝脏的药理活性[30]。本文资料采用三因素六水平均匀设计法筛选出栀子苷、绿原酸和大黄多糖效应剂量配比，结果表明，与模型对照组比较，不同配伍均在不同程度展现出抗肝细胞损伤和脂质蓄积的作用。在均匀设计各组中，均匀设计6组的给药方案（200 mg/kg栀子苷+160 mg/kg绿原酸+340 mg/kg大黄多糖）能有效改善肝损伤状况，明显缓解游离脂肪酸在肝脏的蓄积。结果表明，通过逐步回归分析筛选出的最佳剂量配比与均匀设计实验结果显示的最佳干预组合完全一致，体现了均匀设计在多组分优化中的独特优势。进一步的验证实验结果亦表明，该剂量配比为针对MAFLD的最优干预配比方案。

在MAFLD病理生理进程中，以胰岛素抵抗为核心表型的糖代谢紊乱通过促进脂肪酸合成间接加重肝脏脂肪沉积，是疾病发生的起始驱动因素；脂肪酸代谢失衡直接导致肝脏脂质沉积并触发脂毒性效应[31]；胆汁酸代谢紊乱则发挥病理放大效应，通过干扰核受体（如FXR）介导的代谢信号调控及破坏肠–肝轴稳态，同步加重糖脂代谢紊乱和肝脏炎症反应[32]，共同推动MAFLD进展。而联合用药会表现出多靶点、多通路的作用特点，从而发挥配伍增效作用[24]。本文资料显示，200 mg/kg栀子苷+160 mg/kg绿原酸+340 mg/kg大黄多糖配比可通过调控糖脂和胆汁酸代谢相关基因及蛋白质表达，调节血浆中代谢标志物TBIL、DBIL及TBA水平，协同调控糖脂代谢及胆汁酸代谢网络的关键节点，实现疗效优化。

综上所述，茵陈蒿汤改善MAFLD的最佳配比为栀子苷200 mg/kg、绿原酸160 mg/kg和大黄多糖340 mg/kg，其作用机制与调节糖脂及胆汁酸代谢平衡有关。然而，由于MAFLD发病机制复杂，这一基于均匀设计法获得的最佳配比对MAFLD其他靶器官的影响及机制，如调节脂肪分解、改善肠道通透性以及影响菌群变化等，仍有待进一步研究。

本文附加文件见电子版。

志谢 本研究得到国家自然科学基金（82374102，82505465）、浙江省自然科学基金（MS25H270057）和浙江省博士后择优资助（ZJ2024067）支持

Acknowledgements This study was supported by National Natural Science Foundation of China (82374102, 82505465), Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (MS25H270057), and Zhejiang Provincial Postdoctoral Research Project (ZJ2024067)

作者贡献 高艳艳、薛茹云、徐芳莹、陈林、邱剑楠和窦晓兵参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释，起草研究论文或修改重要智力性内容. 所有作者均已阅读并认可最终稿件，并对数据的完整性和安全性负责. 具体见电子版

Author Contributions GAO Yanyan, XUE Ruyun, XU Fangying, CHEN Lin, QIU Jiannan and DOU Xiaobing participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者(E-mail:xbdou77@163.com)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at xbdou77@163.com

医学伦理 本研究遵循国家和浙江中医药大学有关实验动物管理和使用的规定,通过浙江中医药大学动物实验伦理委员会审查(IACUC-20210830-09)

Ethical Approval All applicable national guidelines and Zhejiang Chinese Medical University regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Ethics Committee of Zhejiang Chinese Medical University (IACUC-20210830-09)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献(References)

[1] STEINBERG G R, VALVANO C M, DE NARDO W, et al. Integrative metabolism in MASLD and MASH: pathophysiology and emerging mechanisms[J]. **J Hepatol**, 2025, 83(2): 584-595.

[2] TARGHER G, BYRNE C D, TILG H. MASLD: a systemic metabolic disorder with cardiovascular and malignant complications[J]. **Gut**, 2024, 73(4): 691-702.

[3] HAGSTRÖM H, SHANG Y, HEGMAR H, et al. Natural history and progression of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease[J]. **Lancet Gastroenterol Hepatol**, 2024, 9(10): 944-956.

[4] 庄颖洁, 刘文徽, 刘正一, 等. 代谢相关脂肪性肝病的流行病学现状及诊治研究进展[J]. **解放军医学杂志**, 2023, 48(12): 1457-1466.
ZHUANG Yingjie, LIU Wenhui, LIU Zhengyi, et al. Research advances in epidemiological situation and diagnosis and treatment of metabolism-associated fatty liver disease[J]. **Medical Journal of Chinese People's Liberation Army**, 2023, 48(12): 1457-1466. (in Chinese)

[5] 李海岚, 朱紫含, 李 月, 等. 中药活性成分调节脂质代谢改善代谢功能障碍相关脂肪性肝病的研究进展[J]. **中国药科大学学报**, 2025, 56(4): 507-514.
LI Hailan, ZHU Zihan, LI Yue, et al. Research progress on active ingredients of traditional Chinese medicine improving metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease *via* regulating lipid metabolism[J]. **Journal of China Pharmaceutical University**, 2025, 56(4): 507-514. (in Chinese)

[6] LI H. Advances in anti hepatic fibrotic therapy with Traditional Chinese Medicine herbal formula[J]. **J Ethnopharmacol**, 2020, 251: 112442.

[7] 吴思琪, 郎 燕, 李 嫚, 等. 茵陈蒿汤典籍考[J]. **河南中医**, 2025, 45(3): 348-355.
WU Siqi, LANG Yan, LI Man, et al. Study on the historical records of virgate wormwood decoction[J]. **Henan Traditional Chinese Medicine**, 2025, 45(3): 348-355. (in Chinese)

[8] 谭 艳, 周 聪, 黄 柔, 等. 从仲景"清利化瘀法"论治茵陈蒿汤在糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病的应用[J]. **时珍国医国药**, 2021, 32(12): 2972-2975.
TAN Yan, ZHOU Cong, HUANG Rou, et al. Application of Yinchenhao Decoction in the treatment of diabetes mellitus complicated with non-alcoholic fatty liver disease based on Zhongjing's "method of clearing heat, removing dampness and resolving stasis"[J]. **Journal of Li-shizhen Traditional Chinese Medicine**, 2021, 32(12): 2972-2975. (in Chinese)

[9] 邱剑楠. 基于肠道菌群多样性、代谢组学探讨茵陈蒿汤及其组分调控代谢相关脂肪性肝病效应机制研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.
QIU Jiannan. Effect mechanism of Yinchenhao Decoction and its components in regulating MAFLD based on diversity of gut microbiota and metabolomics[D]. Shanghai: Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 2020. (in Chinese)

[10] LUO S, HUANG M, LU X, et al. Optimized therapeutic potential of Yinchenhao decoction for cholestatic hepatitis by combined network meta-analysis and network pharmacology[J]. **Phytomedicine**, 2024, 129: 155573.

[11] 朱正望, 杨 洋, 赵静涵, 等. 茵陈蒿汤通过FXR抑制TLR4/MyD88/NF-κB通路改善胆汁淤积性肝损伤的机制[J]. **中国实验方剂学杂志**, 2026, 32(1): 47-54.
ZHU Zhengwang, YANG Yang, ZHAO Jinghan, et al. Mechanism study of Yinchenhao Tang in improving cholestatic liver injury by inhibiting TLR4/MyD88/NF-κB pathway through FXR[J]. **China Industrial Economics**, 2026, 32(1): 47-54. (in Chinese)

[12] 王玉珊, 林德贵, 林珈好. 中药组方优化试验设计方法概述[J]. **畜牧兽医学报**, 2021, 52(3): 565-575.
WANG Yushan, LIN Degui, LIN Jiahao. Summary of experimental design methods for optimization of complex prescription of Chinese medicine[J]. **Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica**, 2021, 52(3): 565-575. (in Chinese)

[13] 邱剑楠, 戚 莉, 杜 曾, 等. 茵陈蒿汤调控脂肪代谢改善代谢相关脂肪性肝病的效应组分及其机制[J]. **中华中医药杂志**, 2021, 36(5): 2894-2900.
QIU Jiannan, QI Li, DU Zeng, et al. Mechanism and components of Yinchenhao Decoction in improving metabolic associated fatty liver disease by regulating fat metabolism[J]. **China Journal of Traditional**

Chinese Medicine and Pharmacy, 2021, 36(5): 2894-2900. (in Chinese)

[14] ZHANG Z, LI Y, SHEN P, et al. Administration of geniposide ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice via inhibition of inflammation and mucosal damage[J]. **Int Immunopharmacol**, 2017, 49: 168-177.

[15] GAO S, FENG Q. The beneficial effects of geniposide on glucose and lipid metabolism: a review[J]. **Drug Des Devel Ther**, 2022, 16: 3365-3383.

[16] ZAMANI-GARMSIRI F, GHASEMPOUR G, ALIABADI M, et al. Combination of metformin and chlorogenic acid attenuates hepatic steatosis and inflammation in high-fat diet fed mice[J]. **IUBMB Life**, 2021, 73(1): 252-263.

[17] PARK S H, BAEK S I, YUN J, et al. IRAK4 as a molecular target in the amelioration of innate immunity-related endotoxic shock and acute liver injury by chlorogenic acid[J]. **J Immunol**, 2015, 194(3): 1122-1130.

[18] QIU J, XU F, WEI H, et al. Metabolic restoration: rhubarb polysaccharides as a shield against non-alcoholic fatty liver disease[J]. **Int J Biol Macromol**, 2025, 305(Pt 2): 141151.

[19] DO A, ZAHRAWI F, MEHAL W Z. Therapeutic landscape of metabolic dysfunction-associated steatohepatitis (MASH)[J]. **Nat Rev Drug Discov**, 2025, 24(3): 171-189.

[20] STEFAN N, YKI-JÄRVINEN H, NEUSCHWANDER-TETRI B A. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: heterogeneous pathomechanisms and effectiveness of metabolism-based treatment[J]. **Lancet Diabetes Endocrinol**, 2025, 13(2): 134-148.

[21] BYRNE C D, ARMANDI A, PELLEGRINELLI V, et al. Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease: a condition of heterogeneous metabolic risk factors, mechanisms and comorbidities requiring holistic treatment[J]. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, 2025, 22(5): 314-328.

[22] YI Y X, DING Y, ZHANG Y, et al. Yinchenhao decoction ameliorates alpha-naphthylisothiocyanate induced intrahepatic cholestasis in rats by regulating phase Ⅱ metabolic enzymes and transporters[J]. **Front Pharmacol**, 2018, 9: 510.

[23] 姚树坤, 刘　婧, 周天惠. 代谢相关脂肪性肝病的发病机制与中医病机[J]. **临床肝胆病杂志**, 2024, 40(10): 1954-1958.
YAO Shukun, LIU Jing, ZHOU Tianhui. Research advances in the pathogenesis of metabolic associated fatty liver disease[J]. **Journal of Clinical Hepatology**, 2024, 40(10): 1954-1958. (in Chinese)

[24] 郭诗韵, 邓志灏, 李　艳, 等. 中药复方配伍科学内涵阐释研究的理论概述[J]. **中国实验方剂学杂志**, 2024, 30(23): 338-344.
GUO Shiyun, DENG Zhihao, LI Yan, et al. A review of theoretical research on interpretation of scientific connotation of compatibility of traditional Chinese medicine compounds[J]. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**, 2024, 30(23): 338-344. (in Chinese)

[25] 王志昊, 周文静, 费程浩, 等. 中药复方及组分配伍优化策略与实践[J]. **中国实验方剂学杂志**, 2025, 31(1): 299-310.
WANG Zhihao, ZHOU Wenjing, FEI Chenghao, et al. Optimization strategy and practice of traditional Chinese medicine compound and its component compatibility [J]. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**, 2025, 31(1): 299-310. (in Chinese)

[26] QIU J, LIN C, REN G, et al. Geniposide dosage and administration time: balancing therapeutic benefits and adverse reactions in liver disease treatment[J]. **Phytomedicine**, 2024, 132: 155799.

[27] LI H, XI Y, XIN X, et al. Geniposide plus chlorogenic acid reverses non-alcoholic steatohepatitis via regulation of gut microbiota and bile acid signaling in a mouse model *in vivo*[J]. **Front Pharmacol**, 2023, 14: 1148737.

[28] DING H, GE K, FAN C, et al. Chlorogenic acid attenuates hepatic steatosis by suppressing ZFP30[J]. **J Agric Food Chem**, 2024, 72(1): 245-258.

[29] MIAO H, OUYANG H, GUO Q, et al. Chlorogenic acid alleviated liver fibrosis in methionine and choline deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in mice and its mechanism[J]. **J Nutr Biochem**, 2022, 106: 109020.

[30] CAO Y J, PU Z J, TANG Y P, et al. Advances in bioactive constituents, pharmacology and clinical applications of rhubarb[J]. **Chin Med**, 2017, 12: 36.

[31] CHEN Q, HU P, HOU X, et al. Association between triglyceride-glucose related indices and mortality among individuals with non-alcoholic fatty liver disease or metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease [J]. **Cardiovasc Diabetol**, 2024, 23(1): 232.

[32] FUCHS C D, SIMBRUNNER B, BAUMGARTNER M, et al. Bile acid metabolism and signalling in liver disease [J]. **J Hepatol**, 2025, 82(1): 134-153.

［本文编辑　余　方　刘丽娜］