

基于物质与能量代谢探讨玄参水提物治疗肾阴虚水肿大鼠的“滋阴、利水”功效内涵

徐晓敏, 卢芳*, 张莹, 蒋鑫, 刘树民

黑龙江中医药大学 中医药研究院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:目的 探索玄参水提物(SNAE)对肾阴虚水肿大鼠的治疗作用及对体内物质与能量代谢的影响。方法 将48只雄性SD大鼠随机分为对照组、阴虚组、阴虚恢复组、阴虚水肿模型组、SNAE(2.7 g·kg⁻¹)组和呋塞米(阳性药, 3.6 mg·kg⁻¹)组, 每组8只。除对照组ig 0.9%氯化钠溶液外, 其余各组均ig给予甲状腺素和利血平注射液混合物, 连续10 d, 制备大鼠肾阴虚模型; 于第11天ip给予阴虚水肿模型组、SNAE组和呋塞米组氨基核苷嘌呤霉素(PAN)溶液, 制备肾源性水肿模型, 阴虚恢复组和对照组ip给予0.9%氯化钠溶液; 于12 d起ig给药, 每天1次。于取材的前1天禁食、不禁水12 h, 阴虚组于第11天、其他组于第18天取材。取肾组织进行苏木素-伊红(HE)染色后光镜下观察、透射电镜下肾脏超微病理学观察; 全自动生化仪检测血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、总蛋白(TP)、血浆白蛋白(ALB)以及尿液中尿蛋白(UP)水平, 试剂盒法检测血清睾酮(T)、雌二醇(E₂)、三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)水平以及环磷酸腺苷(cAMP)/环磷酸鸟苷(cGMP); 应用UPLC-Q-TOF-MS技术对各组大鼠尿液进行分析, 通过多变量统计分析筛选潜在生物标志物, 结合人类代谢组学数据库(HMDB)和Metlin在线数据库鉴定重要生物标志物, 并将鉴定到的生物标志物导入京都基因与基因组百科全书数据库(KEGG)推测其可能的代谢通路。结果 病理学结果显示, 与对照组、阴虚组、阴虚恢复组相比, 阴虚水肿模型组肾脏病理损伤较明显; 与阴虚水肿组比较, SNAE、呋塞米对模型大鼠病理损伤程度有明显改善作用; 在药效学指标上, 与阴虚水肿模型组比较, SNAE能显著下调Scr、BUN、T₄水平(P<0.05), 显著上调T、E₂、cAMP/cGMP、TP、ALB水平(P<0.05、0.01); 代谢组学结果显示, SNAE可改善各阴虚组大鼠代谢轨迹的偏离。通过对大鼠尿液代谢产物变化的预测, 得到符合要求的生物标志物共14个, 包括柠檬酸、磷酸烯醇式丙酮酸、6-磷酸葡萄糖酸、尿酸、庚二酸、2-异丙基苹果酸等; 涉及15条相关代谢通路, 关键代谢途径主要富集于三羧酸(TCA)循环。结论 SNAE通过调节能量代谢相关通路发挥“滋阴、利水”等功效, 从而对肾阴虚水肿发挥治疗作用。

关键词: 玄参; 水提物; 物质与能量代谢; 肾阴虚肾源性水肿; 尿液代谢组学; 药效学; 三羧酸循环

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2023)10-2126-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.10.008

Discuss effect connotation of "nourishing Yin and improving water" of *Scrophularia ningpoensis* based on material and energy metabolism

XU Xiaomin, LU Fang, ZHANG Ying, JIANG Xin, LIU Shumin

Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective Exploring the therapeutic effect of *Scrophularia ningpoensis* aqueous extract (SNAE) on edema caused by kidney yin deficiency in rats and its impact on substance and energy metabolism in the body. **Methods** Forty-eight male SD rats were randomly divided into control group, Yin deficiency group, Yin deficiency recovery group, Yin deficiency edema group, SNAE (2.7 g·kg⁻¹) group and furosemide (positive, 3.6 mg·kg⁻¹) group, with eight rats in each group. Except control group, which was given 0.9% sodium chloride solution by ig, the other groups were ig given the mixture of thyroxine and rexepin injection intragastric for 10 consecutive days to replicate the model of kidney-yin deficiency in rats. On the 11th day, the edema group, furosemide group

收稿日期: 20223-02-07

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(2013CB531804); 黑龙江中医药大学优秀创新人才支持计划资助(15041180088)

第一作者: 徐晓敏, 女, 在读博士研究生, 研究方向为中药药性理论及药效物质基础。E-mail: 2381236162@qq.com

*通信作者: 卢芳, 女, 研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为中药药性理论及药效物质基础。E-mail: lufang_1004@163.com

and SNAE group were ip given puromycin aminonucleoside (PAN) solution to replicate the model of nephrogenic edema, and the Yin deficiency recovery group and the control group were given 0.9% sodium chloride solution via ip. Administer ig once a day starting from 12 days. On the day before sampling, fasting and uncontrollable hydration were performed for 12 hours. Administer ig once a day starting from 12 days. The Yin deficiency group was sampled on the 11th day, while the other groups were sampled on the 18th day. Taked kidney tissue for hematoxylin eosin (HE) staining and observed under light microscopy and transmission electron microscopy for renal ultrastructural pathology. The automatic biochemical analyzer detected serum creatinine (Scr), urea nitrogen (BUN), total protein (TP), plasma albumin (ALB), and urine protein (UP) levels. The kit method detected serum testosterone (T), estradiol (E₂), triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄) levels, as well as cyclic adenosine monophosphate (cAMP)/cyclic guanosine monophosphate (cGMP) levels. Applied UPLC-Q-TOF-MS technology to analyze the urine of rats in each group, screen potential biomarkers through multivariate statistical analysis, and combined with the human metabolomics database (HMDB) to search and literature identification of important biomarkers. Imported the identified biomarkers into the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes database (KEGG) to speculate their possible metabolic pathways. **Results** The pathological results showed that compared with the control group, Yin deficiency group, and Yin deficiency recovery group, the kidney pathological damage in the Yin deficiency edema model group was more significant. Compared with the Yin deficiency edema group, SNAE and furosemide had a significant improvement effect on the degree of pathological damage in model rats. In terms of pharmacodynamic indicators, compared with the Yin deficiency edema model group, SNAE significantly downregulated the levels of Scr, BUN, and T₄ ($P < 0.05$), and significantly upregulated the levels of T, E₂, cAMP/cGMP, TP, and ALB ($P < 0.05, 0.01$). Metabolomics results showed that SNAE can improve the deviation of metabolic trajectories in rats of various yin deficiency groups. By predicting changes in metabolic products in rat urine, a total of 14 biomarkers were obtained that meet the requirements, including citric acid, phosphoenolpyruvate, 6-phosphogluconic acid, uric acid, succinic acid, 2-isopropylmalic acid, etc. It involves 15 related metabolic pathways, with key metabolic pathways mainly enriched in the tricarboxylic acid (TCA) cycle. **Conclusion** SNAE exerts therapeutic effects on kidney yin deficiency and edema by regulating energy metabolism related pathways, such as nourishing yin and promoting diuresis.

Key words: *Radix scrophulariae*; aqueous extract; material energy metabolism; kidney-yin deficiency and nephrogenic edema; urine metabolomics; pharmacodynamics indicators; tricarboxylic acid cycle

中医理论认为肾阴虚水肿属于水肿症的范畴,其本在肾^[1-4]。中药玄参为玄参科玄参属植物玄参 *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. 的干燥根,味甘、苦、咸;性微寒,归肺、胃、肾经;具有清热凉血、滋阴降火、解毒散结的功效;用于热入营血、温毒发斑、热病伤阴、舌绛烦渴、津伤便秘^[5-8]。相关研究显示寒性药可以抑制中枢神经系统的兴奋性、减弱循环系统、降低机体产热量、抑制线粒体的能量代谢;黄丽萍等^[9-11]提出寒性中药抑制能量代谢,抑制 Na⁺-K⁺-ATP 酶的生成;戴璐^[12]通过观察寒性对实热证大鼠物质代谢、能量代谢及甲状腺轴功能的影响,发现寒凉中药抑制物质代谢、能量代谢及甲状腺轴功能。本课题组前期依托国家重点基础研究发展计划(973 计划),已验证玄参对肾阴虚肾源性水肿具有一定的治疗作用^[13-14]。本实验从物质与能量代谢角度,运用尿液代谢组学技术结合药效学与组织病理学,探讨其“滋阴、利水”的功效内涵;寻找潜在生物标志物,通过关键性靶点寻找相关代谢通路,从而进一步为玄参“滋阴、利水”功效的临床安全应用提供理论参考,也为今后新药研发与临床

的安全应用提供科研依据。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 48 只,清洁级,体质量为(200±20)g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2015-0001。大鼠置于清洁实验室中,保持 12 h/12 h 明暗循环饲养,给予标准饲料和饮用水,控制室内温度为(22±1)°C,相对湿度 40%。大鼠适应环境 1 周,放入代谢笼中分笼饲养,继续适应 1 周后开始实验。实验获得黑龙江中医药大学伦理委员会批准,批准编号 DXLL2019081601。

1.2 实验药物

玄参饮片购自黑龙江省药材公司,批号 20120623012,经黑龙江中医药大学药学院中药资源与开发教研室主任王振月教授鉴定为正品饮片,符合《中国药典》2020 年版饮片性状规定,为玄参科玄参属植物玄参 *S. ningpoensis* Hemsl. 的干燥根。

玄参生药经粉碎成加入于 10 倍总药量的水中,加热回流 1.5 h,滤过后加入 8 倍总药量的水再次回

流,重复回流1.5 h,合并药液,浓缩,冻干,即得玄参水提物(*S. ningpoensis* aqueous extract, SNAE)。取玄参水提物冻干粉末,于水中超声溶解,配制成 $0.27\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混悬液。采用高效液相色谱法(HPLC)对哈巴昔和哈巴俄昔进行含量测定,质量分数总计不少于0.45%。

甲状腺片(每片40 mg,批号20160903),购自上海长城药业有限公司;氨基核苷嘌呤霉素(PAN, 500 mg,购自Sigma公司,批号20170240);利血平注射液(每支1 mg,广东邦民制药厂有限公司,批号20151008);呋塞米片(每片20 mg,批号20160932,购自上海朝晖药业有限公司)。

1.3 试剂及实验仪器

福尔马林、戊二醛(天津市百世化工有限公司);乙腈(色谱级,Fisher公司);屈臣氏蒸馏水;甲酸(色谱级,美国迪马公司)。

HT7700 透射电镜(HITACHI);R139 切片机、PH100 光镜设备[徕卡显微系统(上海)贸易有限公司];Cobas C311 全自动生化分析仪(ROCHE公司);KDC-160HR 高速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);超低温冰箱(德国赛默飞世尔科技有限公司);美国Waters Acquity™ UPLC液相色谱仪(四元梯度泵-在线真空脱气机-自动进样器-二极管阵列检测器-柱温箱);美国Xevo™ Q-Tof/MS 四极杆-飞行时间/质谱(电喷雾离子源-正、负离子扫描方法-Lockspray)。

2 方法

2.1 实验分组及处置方案

SD雄性大鼠48只,随机分为对照组、阴虚组、阴虚恢复组、阴虚水肿模型组、SNAE($2.7\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,剂量参照文献报道^[13-14]设置)组,呋塞米($3.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组,每组8只。各组大鼠置于代谢笼内饲养,对照组大鼠按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$ 给予0.9%氯化钠溶液;阴虚组按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$ 给予甲状腺素和利血平注射液混合溶液(用0.9%氯化钠溶液配制含甲状腺素片 $16\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、利血平注射液 $0.1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合溶液),连续10 d;阴虚恢复组按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$ 给予甲状腺素和利血平注射液混合溶液,连续10 d,于第11日按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ip}$ 0.9%氯化钠溶液;阴虚水肿模型组、SNAE组、呋塞米组按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ig}$ 给予甲状腺素和利血平注射液混合溶液,连续10 d,于第11日按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ ip}$ PAN溶液,于第12~17天按照 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 分别 ig 给予0.9%氯化钠溶液、SNAE、

呋塞米。各组均于取材的前1 d禁食不禁水12 h,阴虚组于第11天,其他组于第18天,取24 h尿液 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存,取肾、血处理后待测。

注射甲状腺素和利血平注射液混合溶液,致使大鼠甲状腺机能亢进,观察到肾阴虚大鼠的体质量减低、消瘦,同时出现多动、体毛枯疏、饮水量增加、大便干结症状,这与临床肾阴虚患者症状类似,表明造模成功;PAN具有肾毒性,它所致肾病综合征又称为肾源性水肿,注射后,大鼠出现尿量降低、水肿及蛋白尿等症状,说明模型制备成功^[15]。

2.2 肾组织病理学研究

2.2.1 苏木素-伊红(HE)染色法观察肾组织病理形态 取肾脏去血液后称质量,对肾脏组织用4%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE染色,采用光学显微镜进行病理组织学观察。

2.2.2 电子显微镜观察肾脏超微病理改变 取肾脏组织先后于3%戊二醛和1%四氧化锇中进行组织固定,梯度丙酮逐级脱水,在脱水剂和环氧树脂中浸透后,包埋以备切片。醋酸铀及枸橼酸铅双重染色,透射电镜下进行肾脏超微病理学观察。

2.3 血清肌酐(Ser)、尿素氮(BUN)水平的测定

各组实验动物均经腹主动脉采血存于真空采血管内,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温高速离心机中,以 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取血清 $0.5\ \mu\text{L}$,采用全自动生化仪检测。

2.4 血清睾酮(T)、雌二醇(E₂)、三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)水平测定

采用放免试剂盒检测各组大鼠血清T、E₂、T₃、T₄水平。

2.5 肾阴虚机体能量代谢情况指标的测定

按照ELISA试剂盒说明进行环磷酸腺苷(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)水平测定。

2.6 血清总蛋白(TP)、血浆白蛋白(ALB)以及尿蛋白(UP)水平测定

用全自动生化仪检测血清TP、ALB水平;尿液于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温离心机中 $13\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清 $0.5\ \mu\text{L}$,采用全自动尿液分析仪检测UP水平。

2.7 代谢组学尿液样品的处理

将冻存的尿液样品解冻至室温,取上清液 $600\ \mu\text{L}$ 加入1 mL蒸馏水稀释样品,涡旋1 min,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温离心机中 $10\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心10 min,上清液过 $0.22\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜,待UPLC-MS分析。

2.8 UPLC-MS的实验条件

色谱柱: Waters BEH C₁₈ 柱($50\text{ mm}\times 2.1\text{ mm}$,

1.7 μm); 体积流量 $0.4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$; 流动相: 0.1% 甲酸溶液(A)-0.1% 甲酸乙腈溶液(B); 梯度洗脱程序见表1。MS条件见表2。

表1 UPLC 梯度洗脱程序

Table 1 UPLC gradient elution procedure

t/min	体积流量/($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	A/%	B/%
0	0.4	98	2
8	0.4	60	40
10	0.4	2	98
12	0.4	98	2
15	0.4	98	2

表2 MS条件

Table 2 MS conditions

条件	ESI ⁺	ESI ⁻
分析仪	W Mode	W Mode
毛细管电压/V	1 300.0	1 500.0
采样锥电压/V	40.0	70.0
脱溶剂温度/ $^\circ\text{C}$	350.0	350.0
源温/ $^\circ\text{C}$	110.0	110.0
进样锥气体体积流量/($\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$)	20.0	20.0
脱溶剂气体体积流量/($\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$)	750.0	750.0
离子源电压/V	35.0	34.0
相对分子质量范围	100~1 500	100~1 500

2.9 大鼠尿液样本潜在标志物的代谢组学分析

应用UPLC-TOF-MS手段针对离子产生的质谱峰进行分析,通过QI与MarkerLynx XS软件可明确数据中代谢物的相对分子质量,并将所获数据在筛除外源性的干扰成分后进入EZinfo2.0软件处理分析,对大鼠尿液样本数据进行主成分分析(PCA),采用PCA Score图说明组间的离散程度,以此判断各组大鼠尿液样本本轨迹的相似度情况,以及是否呈现出聚类效应,然后采用监督偏最小二乘判别分析(PLS-DA)对样本进行分组,得到相应的评分图。为了避免PLS-DA模型的过度拟合,使用SIMCA-P软件(version 12.0, Umetrics, Umeå, Sweden)对数据进行了200个随机排列的交叉验证。结合离子变量(VIP)和S-plot图所选出潜在生物标志物的组间变化趋势,采用VIP>1作为投射筛选条件,找出重要性生物标志物。通过人类代谢组学数据库(HMDB)、Metlin在线数据库比对,对重要性生物标志物进行鉴定,并将鉴定到的生物标志物导入京都基因与基因组百科全书数据库(KEGG)推测其可能的代谢通路。

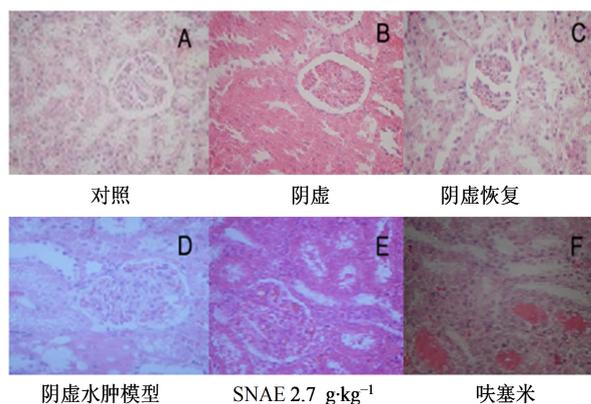
2.10 数据处理

各组实验数据均用SPSS 20.0统计软件做统计学处理,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,对数据进行单因素方差分析,组间比较用最小显著差异(LSD)进行检验。

3 结果

3.1 肾脏组织病理学研究

3.1.1 HE染色法观察肾脏组织病理形态 光镜结果如图1所示,对照组肾小球数量形态正常,肾组织形态正常;阴虚组及阴虚恢复组肾组织基本形态正常,肾小管略有扩张;阴虚水肿模型组有轻微的系膜增生,基底膜空泡变性,肾小管上皮细胞可见空泡变性和透明滴,可见间质水肿,部分肾小管内有蛋白沉积,部分肾小管上皮细胞变性,坏死部分肾小球肿胀囊腔变小;SNAE组有轻微的系膜增生,基底膜空泡变性,肾小管上皮细胞可见空泡变性和透明滴,可见间质水肿,部分肾小管内有蛋白沉积;呋塞米组肾小球内细胞数增多,肾小球肿胀,肾小管内蛋白增多,肾小管上皮细胞肿胀,可见间质水肿。两给药组病变程度较阴虚水肿模型组减轻。

图1 各组大鼠肾脏组织光镜切片图($\times 200$)Fig. 1 Photomicrographs of kidney tissue of rats in each group ($\times 200$)

3.1.2 电子显微镜观察肾脏超微病理改变 电镜结果如图2所示,对照组可见足细胞伸出的微绒毛整齐排列,基底膜厚度和结构正常。阴虚水肿模型组肾小球足细胞发生了广泛融合、消失,上皮细胞胞浆中出现空泡,上皮细胞与基底膜间有分离现象。各给药组可见肾小球足细胞融合状况有不同程度的改善,基底膜肿胀程度有所减轻,但仍然可见上皮细胞胞浆中的空泡等情况。结果表明SNAE与呋塞米对肾水肿状态有一定的改善作用。

3.2 SNAE对大鼠血清Scr、BUN水平的影响

临床上通常将Scr、BUN作为衡量肾脏功能的重要指标,肾脏功能发生异常时,2个指标会发生不

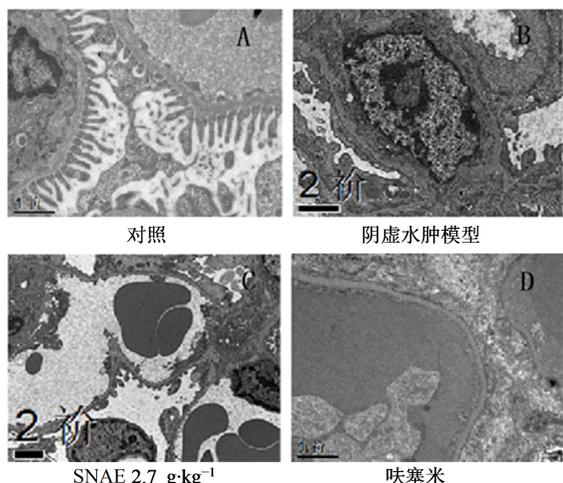


图2 肾组织电镜切片

Fig. 2 Electron microscopic sections of renal tissues

同程度的上调^[16]。结果如表3所示,阴虚组、阴虚恢复组血清Scr、BUN水平与对照组比较无显著性差异,表明肾阴虚证大鼠的肾脏功能并没有与正常大鼠有显著性的差异,即肾阴虚证不代表肾脏功能具有实质性的损伤,与中医肾阴虚证的概念相吻合。与对照组比较,阴虚水肿模型组的Scr、BUN水平均显著升高($P < 0.05, 0.01$),表明阴虚水肿模型组的大鼠肾功能发生了损伤性的改变;与阴虚水肿模型组比较,呋塞米和SNAE均可以使Scr、BUN水平显著回调($P < 0.05$),并且接近正常水平。

表3 SNAE对大鼠血清Scr、BUN水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 3 Effect of SNAE on serum Scr and BUN level in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Scr/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BUN/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	—	26.18±3.54	7.04±0.70
阴虚	—	24.64±1.39	6.38±0.64
阴虚恢复	—	25.28±2.04	7.02±0.86
阴虚水肿模型	—	37.31±4.85**	12.85±3.25*
SNAE	2.7	29.61±3.33#	7.63±0.63#
呋塞米	3.6×10^{-3}	28.64±2.99#	7.52±0.99#

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与阴虚水肿模型组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs nourishing Yin and improving water model group

3.3 SNAE对大鼠血清T、E₂、T₃、T₄指标的影响

本实验选择下丘脑-垂体-性腺、甲状腺及肾上腺轴功能指标T、E₂、T₃、T₄作为检测对象,用来说明机体“阴虚证”状态的指标^[17],结果见表4。阴虚组、阴虚恢复组T、E₂、T₃、T₄较对照组均具有显著性差异($P < 0.01$),表明阴虚证模型并没有自身恢复;与对照组比较,阴虚水肿模型组T显著下调($P < 0.05$),T₄显著上调($P < 0.01$);与阴虚水肿模型组比较,SNAE组T、T₄指标水平均显著回调($P < 0.05, 0.01$)。结果表明SNAE对阴虚水肿大鼠垂体-甲状腺轴调节功能的异常具有改善作用。

表4 SNAE对大鼠血清T、E₂、T₃、T₄水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effect of SNAE on serum T, E₂, T₃ and T₄ level in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	T/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	E ₂ /($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	T ₃ /($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	T ₄ /($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
对照	—	63.36±5.60	9.03±0.26	1.74±0.09	70.41±6.73
阴虚	—	20.04±2.63**	16.94±1.37**	4.54±0.28**	97.16±5.75**
阴虚恢复	—	34.89±4.29**	17.30±0.40**	2.23±0.07**	92.38±3.39**
阴虚水肿模型	—	35.02±3.68**	8.78±1.69	1.92±0.34	90.62±4.48**
SNAE	2.7	61.38±3.29##	10.85±1.53	2.06±0.21	68.48±4.81#
呋塞米	3.6×10^{-3}	24.79±2.31	14.50±2.74	1.26±0.13###	78.84±6.79

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与阴虚水肿模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs nourishing Yin and improving water model group

3.4 SNAE对肾阴虚机体能量代谢指标的影响

cAMP/cGMP变化是反映机体生物学功能的重要指标^[18]。如表5所示,与对照组比较,阴虚及阴虚恢复组、阴虚水肿模型组cAMP/cGMP显著下调($P < 0.05, 0.01$),表明机体系统功能可能都受到了一定的影响,代谢水平升高;与阴虚水肿模型组比较,呋塞米和SNAE能显著

回调cAMP/cGMP水平($P < 0.05$),表明玄参具有一定调节机体能量代谢水平的作用,降低代谢水平。

3.5 SNAE对血清TP和血浆ALB、UP水平的影响

肾病性水肿发病机制的中心环节是低蛋白血症及因而引起的血浆胶体渗透压下降,其是造成组织间液积聚的原发因素。低蛋白血症的原因是血

表5 SNAE对大鼠血清cAMP/cGMP水平的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	cAMP/cGMP
对照	—	0.52±0.04
阴虚	—	0.38±0.07*
阴虚恢复	—	0.18±0.16**
阴虚水肿模型	—	0.26±0.06**
SNAE	2.7	0.44±0.12#
呋塞米	3.6×10 ⁻³	0.51±0.12#

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与阴虚水肿模型组比较: # $P<0.05$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ vs nourishing Yin and improving water model group

浆蛋白(主要是ALB)大量随尿液丢失即UP升高。故以检测血浆ALB、血清TP以及UP的含量作为评价机体的水肿状况的重要指标^[19-20]。结果如表6所示,与对照组比较,阴虚水肿模型组的血清TP和血浆ALB水平均显著下降($P<0.05$ 、 0.01),UP水平显著上升($P<0.01$),表明机体呈现了水肿的状态;与阴虚水肿模型组比较,呋塞米和SNAE对血清TP和血浆ALB水平均有显著回调作用($P<0.05$ 、 0.01);但是对UP的回调情况均并不明显。结果表明,两种药物均能够缓解水肿的症状,SNAE的利尿作用不及高效利尿剂呋塞米。

表6 玄参对大鼠血清ALB、TP、UP水平的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)Table 6 Effects of SNAE on serum ALB, TP and UP level of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ALB/(g·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	UP/(mg·L ⁻¹)
对照	—	37.28±1.59	51.31±1.81	486.7±112.4
阴虚	—	38.67±1.40	53.41±2.08	498.9±110.5
阴虚恢复	—	38.11±0.94	55.38±2.01	487.5±109.6
阴虚水肿模型	—	24.29±3.11**	41.27±5.87*	550.0±102.5**
SNAE	2.7	35.42±2.99#	49.63±4.98#	514.2±106.4
呋塞米	3.6×10 ⁻³	38.13±2.46##	50.98±4.51#	542.8±111.2

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与阴虚水肿模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs nourishing Yin and improving water model group

3.6 大鼠尿液代谢数据的分析

应用MarkerLynx XS对大鼠尿液样品的离子峰进行识别与匹配,得到各组的总离子流色谱图(TIC),见图3。通过观察可说明各组数据代谢产物分离,轮廓清晰;对PLS-DA得分图模型进行200次随机置换检验,负离子模式下, $R^2_x=0.593$, $R^2_y=0.733$, $Q^2=0.533$;正离子模式下 $R^2_x=0.499$, $R^2_y=0.881$, $Q^2=0.778$,任何1次随机排列产生的 R^2 、 Q^2 均小于模型的 R^2 、 Q^2 ,表明建立的模型可靠,未发生过拟合,见图4。

应用Pareto模式的PCA对UPLC-TOF-MS产生的数据进行分析,以此表现大鼠尿液样本代谢轮廓的状态。与对照组相比,阴虚组偏离对照组,分类趋势明显,阴虚恢复组略有回调,变化不明显;在加入PAN后,阴虚水肿模型组代谢轮廓明显与“阴虚恢复”组相区别,并且偏离对照组最远,这种代谢轮廓的变化趋势与肾阴虚证结合肾源性水肿病的复杂模型的建立过程相吻合,从代谢组学角度佐证了本次实验模型制备成功。在模型建立成功基础上,

SNAE组与呋塞米组尿液的代谢轮廓呈现明显地回归对照组的趋势。结果见图5。

采用两组区分性OPLS-DA分析方法对对照组与造模后第18天阴虚水肿模型组的代谢数据进行分析。观察S-plot图(图6-A)可知,大多数代谢产物离子在原点周围聚集,偏离原点的离子占少数,说明两组间存在差异;执行VIP>1的筛选条件,可得到VIP-plot图(图6-B)并预选出潜在生物标志物。

3.7 大鼠尿液数据的潜在生物标志物

通过对大鼠尿液代谢产物变化的预测,寻找符合VIP>1的代谢产物,初步鉴定了符合要求的生物标志物共14个,其中负离子共7个,见表7。正离子7个,见表8。与对照组比较,所有阴虚水肿模型中的生物标志物的含量均具有显著性差异($P<0.05$ 、 0.01),玄参对所有生物标志物具有显著性的回调作用($P<0.05$ 、 0.01)。通过对照组-模型组-SNAE组3组之间的对照,通过剔除外源性成分的影响可以看到SNAE对该模型的离子含量表达的一定回调趋势,同时也象征着玄参对肾阴虚证下肾源性水肿模

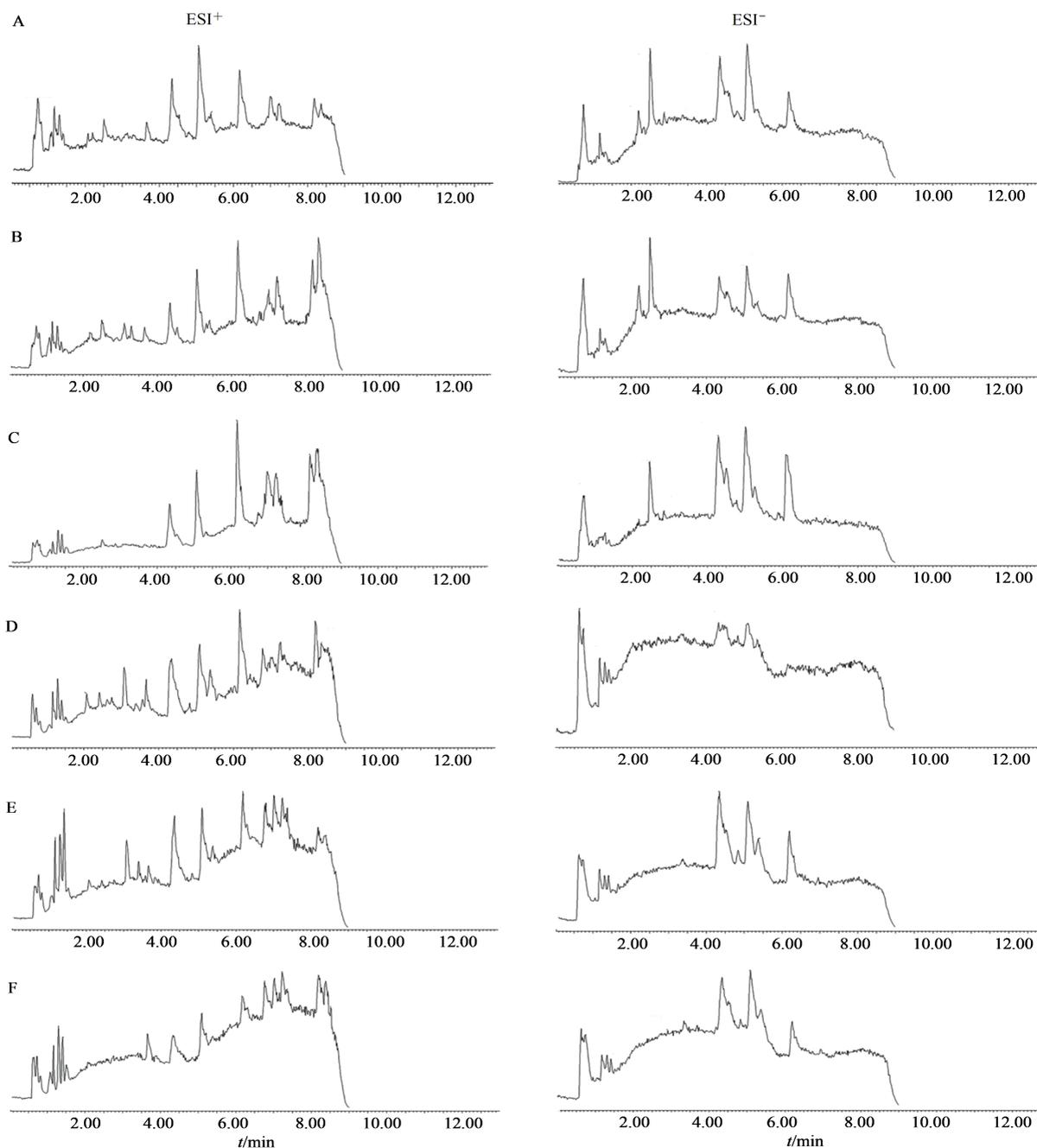


图3 对照(A)、阴虚(B)、阴虚恢复(C)、阴虚水肿模型(D)、SNAE(E)、呋塞米(F)组大鼠尿液样本正、负离子模式色谱图
 Fig. 3 Positive and negative ion pattern chromatograms of urine samples from rats in control (A), Yin deficiency (B), Yin deficiency recovery (C), Yin deficiency edema (D), SNAE (E) and furoxamil (F) group

型的治疗作用。

3.8 尿液中潜在生物标志物的通路分析

通过通路分析来寻找相关的代谢途径,潜在代谢通路的临界值应大于0.10,结果显示出共作用于15个代谢通路。关键代谢途径主要富集于三羧酸(TCA)循环。在玄参给药干预后,代谢通路紊乱的现象明显改善,代谢产物的含量出现回调趋势,在代谢通路的水平上,显示出玄参对肾阴虚肾源性水肿大鼠的尿液代谢有明显的改善作用。结果

见图7。

4 讨论

在本实验中,病理学以及药效学指标共同说明模型大鼠肾阴虚水肿模型成功。同时,利用代谢组学技术鉴定了十八碳烯酸、磷酸烯醇式丙酮酸、D-核酮糖、6-磷酸葡萄糖酸、甘氨酸以及庚二酸等与肾阴虚证相关的生物标志物,通过直接或间接参与调节相关能量代谢以及氨基酸代谢通路;另外鉴定脱氧尿苷、尿酸、油酸等生物标志物与肾功能直接相

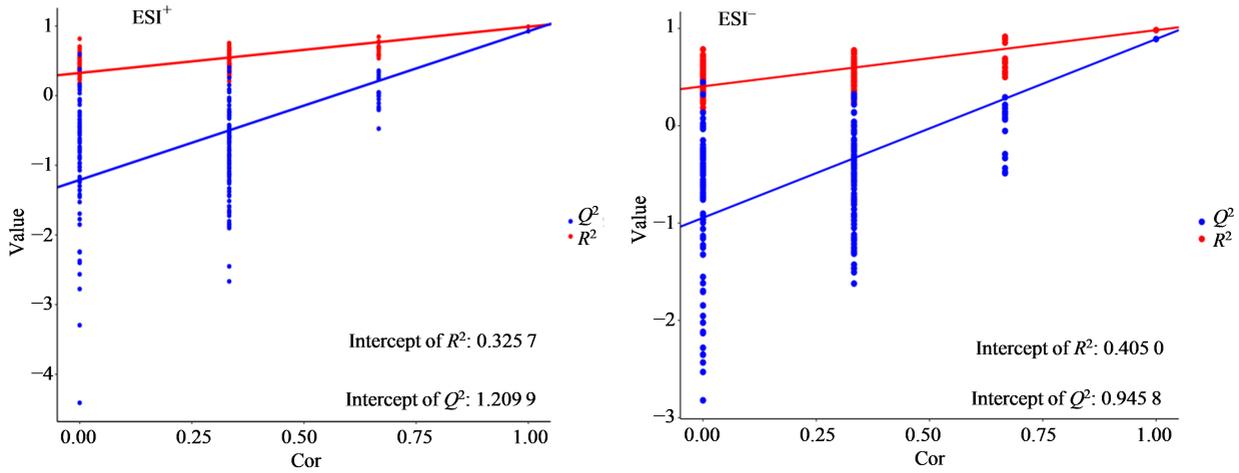
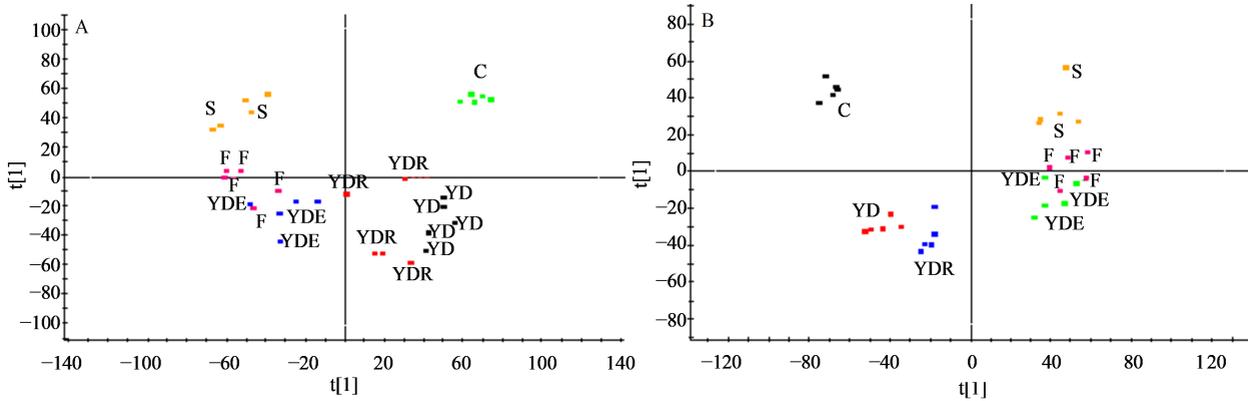


图4 质控(R^2 和 Q^2 代表拟合优度系数)

Fig. 4 Quality control (R^2 and Q^2 represent goodness of fit coefficients)



C-对照组; YD-阴虚组; YDR-阴虚恢复组; YDE-阴虚水肿模型组; S-SNAE组; F-呋塞米组

C-control group; YD-yin deficiency group; YDR-yin deficiency recovery group; YDE-yin deficiency edema model group; S-SNAE group; F-furoxamil group

图5 各组尿液样品的负(A)、正(B)离子模式下PCA得分图

Fig. 5 Plot of PCA score for each group of urine samples in negative (A) and positive (B) ion mode

关;而2-oxoarginine和柠檬酸既与肾阴虚证有关又与肾功能相关,可以用来推测该病证结合模型在体内的生物变化过程。SNAE对脱氧尿苷、4-肌基丁酸、油酸、磷酸烯醇式丙酮酸以及柠檬酸有显著性回调作用,佐证SNAE既可以改善机体肾阴虚证状态,又可以改善机体肾源性水肿的状态。并且玄参发挥“滋阴”作用可能是通过调整机体物质代谢、免疫系统及神经系统功能发挥作用的;而其治疗肾源性水肿可能是通过促进肾脏排泄及保护肾脏功能来实现的,以下将阐述上述代谢物所涉及的代谢通路。

4.1 能量代谢

TCA循环和糖酵解是能量代谢的2个重要代谢途径,且TCA循环是在好氧生物活细胞中普遍存在的代谢过程,在人类生命活动中发挥着不可替代的

作用,是人类活动的基础之一^[21]。糖酵解是所有生物体在葡萄糖分解代谢时必须通过的阶段。两者都是好氧生物能量合成和细胞代谢中心生化途径的重要环节^[22]。细胞内能量通过腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)转移,ATP的产生与细胞的能量代谢有关,特别是在TCA循环和糖酵解中^[23-24]。

TCA循环功能异常与多种病理过程相关^[25]。柠檬酸是TCA循环中重要的中间产物,柠檬酸的升高与机体较高的能量代谢水平密不可分^[26]。柠檬酸在TCA循环中被首先释放,在炎症和腺轴功能障碍的情况下,柠檬酸水平下调。柠檬酸可以阻止蛋白尿和肾病的发生^[27],实验结果显示,尿中柠檬酸的含量异常,表明机体处于肾功能异常的状态;玄参干预后,柠檬酸水平回调,TCA循环代谢水平趋于正常;磷酸烯醇式丙酮酸是糖酵解(糖异生)过程

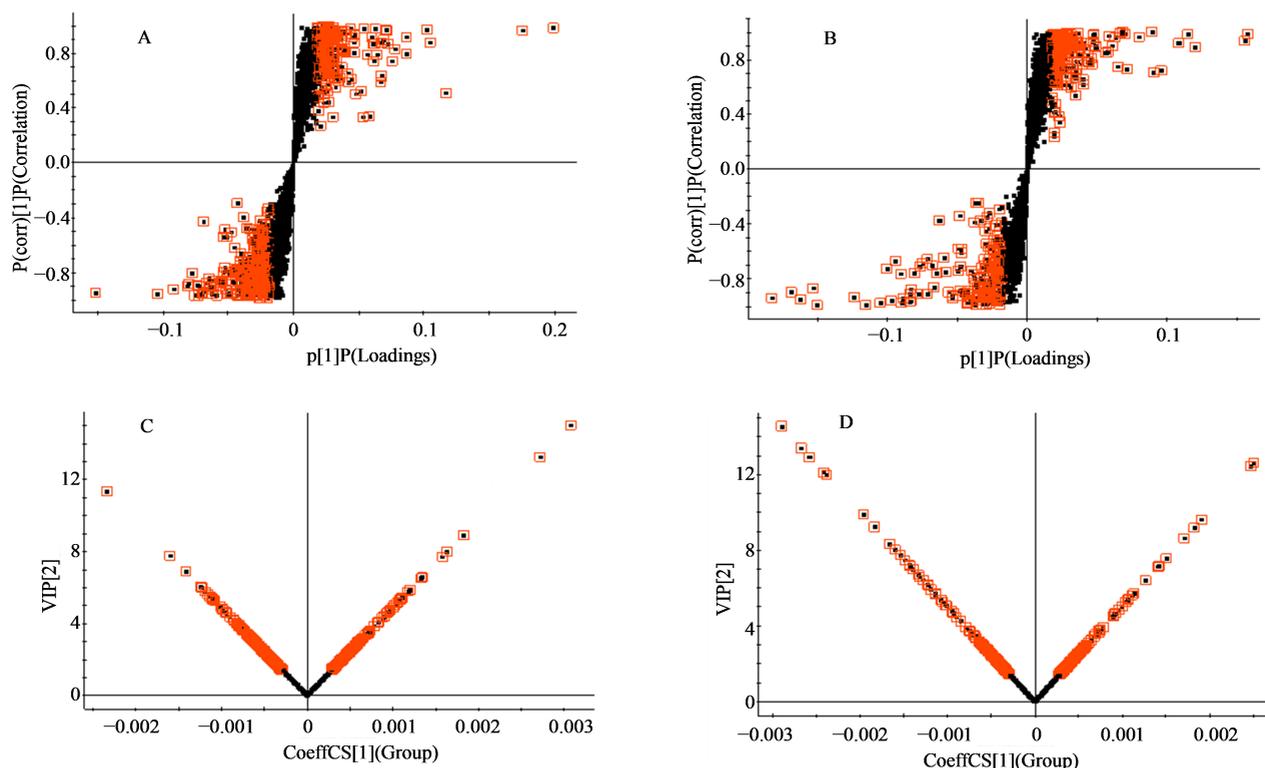


图6 负(A)、正(B)离子S-plot图和负(C)、正(D)离子VIP图

Fig. 6 Negative (A) and positive (B) ion mode S-plot and negative (C) and positive (D) ion mode VIP plot

表7 负离子模式下鉴定的生物标志物

Table 7 Biomarkers identified in negative ion mode

序号	VIP	t_R /min	m/z	实际相对分子质量	代谢物	MS/MS	离子碎片	模型组 vs 对照组	SNAE组 vs 模型组
1	8.92	0.57	191.014 6	192.123	柠檬酸 ($C_6H_8O_7$)	129、111、 87、56	$-O_4$ 、 $-CH_6O_4$ 、 $-C_3H_6O_4$ 、 $-C_4H_8O_5$	↓**	↑*
2	5.76	6.11	269.040 6	270.292	十八碳烯酸 ($C_{18}H_{38}O$)	253、241、223、 197、183、169、 141、127、 87、59	$-H_2O$ 、 $-C_2H_6$ 、 $-C_2H_8O$ 、 $-C_5H_{14}$ 、 $-C_5H_{12}O$ 、 $-C_6H_{14}O$ 、 $-C_9H_{22}$ 、 $-C_{10}H_{24}$ 、 $-C_{13}H_{28}$ 、 $-C_{15}H_{32}$	↑**	↓**
3	4.76	2.43	159.064 5	160.073	庚二酸 ($C_7H_{12}O_4$)	115、96、56	$-CH_2O_2$ 、 $-CH_4O_3$ 、 $-C_4H_9O_3$	↑**	↓**
4	2.36	1.39	281.099 0	282.255	油酸 ($C_{18}H_{34}O_4$)	195、183、164、 153、135、115、 83、71、58	$-C_6H_{16}$ 、 $-C_7H_{16}$ 、 $-C_7H_{19}O$ 、 $-C_7H_{14}O_2$ 、 $-C_8H_{20}O_2$ 、 $-C_{12}H_{24}$ 、 $-C_{12}H_{24}O_2$ 、 $-C_{13}H_{24}O_2$ 、 $-C_{16}H_{33}$	↓**	↑**
5	2.21	0.69	175.024 5	176.167	2-异丙基苹果 酸($C_7H_{12}O_5$)	129、114、100、 86、70	$-O_3$ 、 $-C_2H_6O_2$ 、 $-C_2H_4O_3$ 、 $-C_3H_6O_3$ 、 $-C_4H_8O_3$	↑**	↓**
6	1.69	1.58	275.112 7	276.132	6-磷酸葡萄糖酸 ($C_6H_{13}O_{10}P$)	193、177、165、 136、98	$-PO_3H_5$ 、 $-PO_4H_5$ 、 $-CH_5O_4P$ 、 $-C_2H_6O_5P$ 、 $-C_2H_{11}O_7P$	↑**	↓**
7	1.46	4.77	187.006 1	188.224	甘氨酸 ($C_8H_{16}N_2O_3$)	58	$-NH_3$	↑*	↓*

↑ 为上调, ↓ 为下调; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

↑ indicates up, ↓ indicates down; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

中重要的中间产物,能够影响机体的能量代谢产生能量和丙酮酸^[28]。磷酸烯醇式丙酮酸在模型组中

含量下降,也正表明了机体大量的消耗能量,SNAE干预后同样显现出回调趋势。

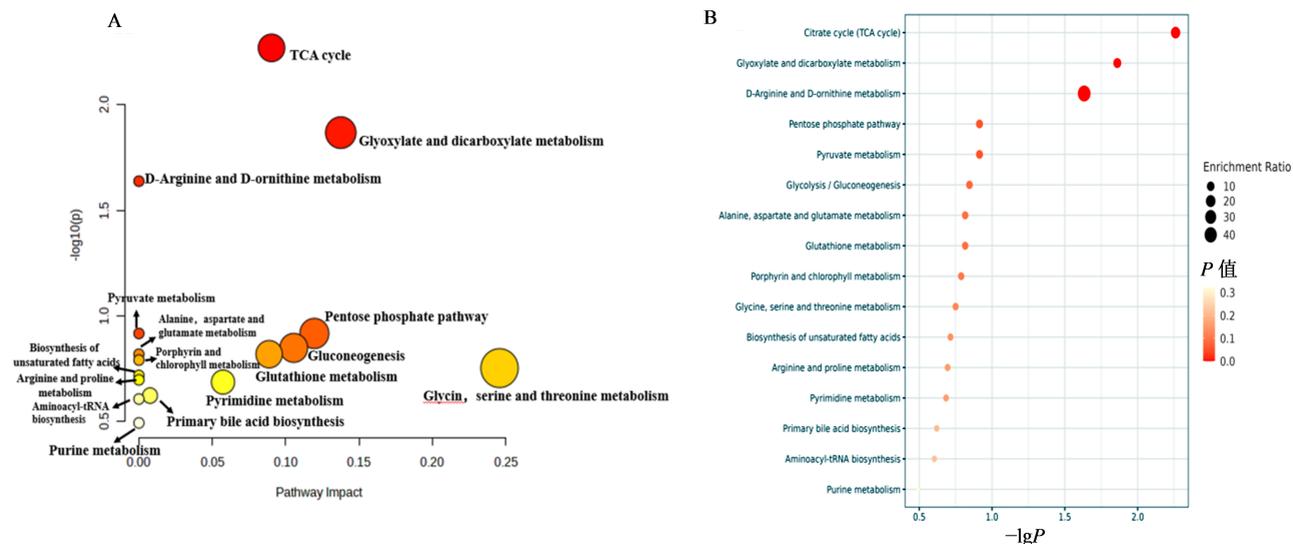
表8 正离子模式下鉴定的生物标志物

Table 8 Biomarkers identified in positive ion mode

序号	VIP	t_R /min	m/z	实际相对分子质量	代谢物	MS/MS	离子碎片	模型组 vs 对照组	SNAE组 vs 模型组
1	9.20	0.94	229.154	228.202	脱氧尿昔 ($C_9H_{12}N_2O_5$)	212、193、188、 175	-OH、-2H ₂ O、-CNO、 -C ₃ H ₂ O	↓**	↑**
2	3.42	0.82	174.123	173.169	2-oxoarginine ($C_6H_{11}N_3O_3$)	156、143、128、 114、69	-H ₂ O、-NOH、-CH ₂ O ₂ 、 -CH ₅ N ₃ 、-C ₄ H ₈ O ₃	↓**	↑**
3	1.63	0.32	169.044	168.110	尿酸($C_5H_4N_4O_3$)	151、128、109	-H ₂ O、-CNO、-CH ₃ N ₂ O	↓*	↑*
4	1.61	0.32	151.033	150.129	D-核酮糖 ($C_5H_{10}O_5$)	134、114、105、79	-OH、-H ₂ O、-CH ₂ O ₂ 、 -4H ₂ O	↓*	↑*
5	1.56	0.34	146.164	145.159	4-胍基丁酸 ($C_5H_{11}N_3O_2$)	129、110、87、69	-OH、-NOH ₅ 、-CH ₃ N ₃ 、 -CH ₇ N ₃ O	↓*	↑*
6	1.27	1.11	169.132	168.042	磷酸烯醇式丙酮酸($C_3H_5O_6P$)	151、125、107、73	-H ₂ O、-CO ₂ 、-CH ₂ O ₃ 、 -PO ₄ H	↓**	↑*
7	1.17	1.18	283.099	282.461	油酸 ($C_{18}H_{34}O_2$)	239、213、195、 179、127、112、70	-CO ₂ 、-C ₅ H ₁₀ 、-C ₆ H ₁₆ 、 -C ₅ H ₁₂ O ₂ 、-C ₁₁ H ₂₄ 、 -C ₁₀ H ₁₉ O ₂ 、-C ₁₃ H ₂₅ O ₂	↓**	↑**

↑为上调, ↓为下调; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

↑ indicates up, ↓ indicates down; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$



A-通路分析; B-富集分析

A-pathway analysis; B- enrichment analysis

图7 SNAE调节代谢通路的分析图

Fig. 7 Analytical plots of metabolic pathways regulated by SNAE

戊糖磷酸途径(PPP)是糖酵解的分支,该途径用以支持细胞的生长和繁殖,也可以生成NADPH,通过中和活性氧中间体(ROIs)来防御氧化应激^[29]。6-磷酸葡萄糖酸是戊糖磷酸途径的代谢产物^[30],可以通过6-磷酸葡萄糖内酯酶发生转化并且参与到能量代谢当中,尤其是肾上腺皮质等部位。在本实验中,模型组中该化合物含量显著上调,意味着大

鼠的能量代谢紊乱,这与临床肾病报道相吻合;同时玄参给药后,6-磷酸葡萄糖酸含量有所回调,戊糖磷酸代谢途径紊乱现象有所改善。

嘌呤在体内主要以嘌呤核苷酸形式存在,在能量供应、代谢调节以及组成辅酶等方面起非常重要的作用。尿酸是嘌呤的最终代谢产物^[31-32],它是由肾脏和肠道分泌的;并且尿酸在慢性肾病的发生和

发展中起着重要的作用。如果尿酸急剧升高表明代谢功能障碍^[33],模型组中尿酸含量降低,可以促进低密度脂蛋白胆固醇的氧化,导致脂质过氧化,由此导致肾损伤。经玄参干预后发现,上述代谢物均具有明显回调作用。

4.2 氨基酸代谢

作为人体重要组成部分,氨基酸在很多物质的代谢途径中都起到了非常重要的作用;作为能量代谢的基础物质,氨基酸既是蛋白质的组成成分,还是在多种生命活动中具有调节作用的活性物质。

赖氨酸是具有调节蛋白质的吸收、利用、营养均衡、提高神经系统功能、免疫系统功能、防止骨质疏松等功能的重要物质,庚二酸可以代谢成赖氨酸^[34]。庚二酸紊乱代谢会导致氨基酸代谢受阻,进而影响机体的物质合成和能量代谢,模型组中庚二酸含量显著上调,表明模型组大鼠代谢紊乱, SNAE干预后庚二酸含量显著回调,代谢紊乱现象有所缓解。

白氨酸具有修复肌肉、控制血糖和提供能量等作用,2-异丙基苹果酸是丙酮酸盐的中间代谢产物,参与了白氨酸的生物合成,它可以促进生长激素的释放,促使内脏脂肪的消耗^[35]。在本实验的模型组中2-异丙基苹果酸含量升高,表明模型组大鼠能量代谢水平异常,这与临床肾阴虚证的表现相符, SNAE干预后其含量显著回调。综上所述, SNAE通过调节庚二酸、2-异丙基苹果酸等相关代谢物水平从而调节机体氨基酸代谢紊乱现象,从而恢复机体代谢平衡。

5 结论

本研究从中医学角度建立了肾阴虚证结合肾源性水肿的病证结合的病理模型,来研究中药 SNAE的“滋阴、利水”功效。本研究通过观察反映肾阴虚证状态生化指标 T、E₂、T₃、T₄的变化,来阐释玄参的“滋阴”功效;通过 cAMP/cGMP 反映肾阴虚机体能量代谢情况;通过 Scr、BUN 指标反映肾损伤程度变化;通过 ALB、UP、TP 指标反映机体水肿状态;本研究结果显示,玄参可通过回调 T、E₂、T₃、T₄、Scr、BUN、ALB、UP、TP 水平,改善大鼠肾阴虚水肿症状,同时,玄参可通过调节物质与能量代谢从而达到“滋阴、利水”的功效。综上所述,玄参的“滋阴”和“利水”功效之间是相互协同的作用,滋阴作用可以理解为滋养作用,同时也“壮肾水”,且通过实验研究阐释了玄参“滋阴、利水”的科学内涵。另外,玄参的滋阴作用体现了其“微寒”的药性特点,

佐证了中药玄参发挥“利水”功效的中医学原理。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 牛艳, 吴广操, 郭月婷, 等. 桑白皮水煎总提取物及拆分组分对肾阴虚水肿模型大鼠的影响 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1): 145-150.
Niu Y, Wu G C, Guo Y T, et al. Effects of *Mori Cortex* total extract and chemical components on rats with kidney Yin deficiency edema [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*, 2019, 37(1): 145-150.
- [2] 魏素珍, 郑访江. 肾性水肿中医及中西医结合治疗进展 [J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(5): 418-419.
Wei S Z, Zheng F J. Progress in the treatment of renal edema by traditional Chinese medicine and the combination of Chinese and Western medicine [J]. *J Pract Tradit Chin Med*, 2013, 29(5): 418-419.
- [3] 胡艳琦, 张慧, 胡瑞, 等. 中医药治肾性水肿文献研究 [J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(6): 132-136.
Hu Y Q, Zhang H, Hu R, et al. Literature study on the treatment of renal edema by traditional Chinese medicine [J]. *J Shaanxi Univ Chin Med*, 2021, 44(6): 132-136.
- [4] 张旭, 王亚男, 谭成, 等. 茯苓水煎液对肾阴虚水肿大鼠的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2436-2438.
Zhang X, Wang Y N, Tan C, et al. Effects of Fuling water decoction on kidney-Yin deficiency edema in rats [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2019, 46(11): 2436-2438.
- [5] 赵洪伟, 张宁, 李自辉, 等. 解析玄参利水功效的古存今失 [J]. 中医药信息, 2018, 35(2): 24-27.
Zhao H W, Zhang N, Li Z H, et al. Analyzing the ancient and present losses of the water-expelling effects of *Radix et Rhizoma Ginseng* [J]. *Inform Tradit Chin Med*, 2018, 35(2): 24-27.
- [6] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [7] 张勇纯, 刘彦玲, 王铭爽, 等. 基于内在成分含量差异辨别玄参药材品质优劣可行性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 544-556.
Zhang Y C, Liu Y L, Wang M S, et al. Feasibility study on quality of *Scrophulariae Radix* based on chemical component quantitative difference analysis [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(2): 544-556.
- [8] 戴瑶瑶, 闫滨滨, 颜雨豪, 等. 玄参中环烯醚萜类化合物的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(9): 2993-3003.
Dai Y Y, Yan B B, Yan Y H, et al. Research advances on iridoids of *Scrophularia ningpoensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(9): 2993-3003.

- [9] 黄丽萍, 周蓉, 蒙晓芳, 等. 寒性中药黄芩对大鼠能量代谢的影响 [J]. 中药材, 2010, 33(4): 575-577.
Huang L P, Zhou R, Meng X F, et al. Effects of the cold herb *Scutellaria baicalensis* on energy metabolism in rats [J]. J Chin Med Mat, 2010, 33(4): 575-577.
- [10] 黄丽萍, 彭淑红, 蒙晓芳, 等. 6种寒性中药对大鼠肝脏能量代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(24): 3255-3258.
Huang L P, Peng S H, Meng X F, et al. Study of hepatic energy metabolism on rats by six cold property traditional Chinese medicines [J]. China J Chin Mat Med, 2009, 34(24): 3255-3258.
- [11] 张亚男, 陈平平, 王洪玉, 等. 黄芩拆分组对正常大鼠物质代谢、能量代谢、内分泌系统及植物神经系统的影响 [J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(2): 137-140.
Zhang Y N, Chen P P, Wang H Y, et al. Effects of *Scutellaria baicalensis* split fractions on material metabolism, energy metabolism, endocrine system and plant nervous system of normal rats [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med, 2018, 37(2): 137-140.
- [12] 戴璐. 寒性中药对实热证疗效的表述及大黄、黄连对实热证大鼠效应的实验研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2011.
Dai L. Expression of therapeutic effect of cold Chinese medicine on excess heat syndrome and experimental study on the effect of rhubarb and *Coptis chinensis* on excess heat syndrome rats [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2011.
- [13] 张宁, 李自辉, 赵洪伟, 等. 基于尿液代谢组学研究玄参对阴虚火旺甲亢大鼠的滋阴降火作用机制 [J]. 药理学学报, 2018, 53(11): 1843-1851.
Zhang N, Li Z H, Zhao H W, et al. Study on *Radix Scrophulariae* for the treatment of hyperthyroidism rat model of Yin deficiency based on urine metabolomics [J]. Acta Pharm Sin, 2018, 53(11): 1843-1851.
- [14] 张宁, 李自辉, 赵洪伟, 等. 基于 iTRAQ 技术的玄参对阴虚火旺甲状腺功能亢进大鼠蛋白质组学研究 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(7): 4207-4211.
Zhang N, Li Z H, Zhao H W, et al. Study of proteomics on *Radix Scrophulariae* for the treatment of hyperthyroidism rat model of Yin deficiency with effulgent fire based on iTRAQ [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 36(7): 4207-4211.
- [15] 张旭, 王亚男, 谭成, 等. 茯苓水煎液对肾阴虚水肿大鼠的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(11): 2436-2438.
Zhang X, Wang Y N, Tan C, et al. Effects of Fuling water decoction on kidney-Yin deficiency edema in rats [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(11): 2436-2438.
- [16] 邵坤秒. 血尿素氮半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 及肌酐的检测对急性肾小球肾炎早期肾损伤的评估价值 [J]. 中国药物与临床, 2019, 19(23): 4130-4132.
Shao K M. The value of blood urea nitrogen cysteine protease inhibitor C and blood creatinine tests in the assessment of early kidney injury in acute glomerulonephritis [J]. Chin Remed Clin, 2019, 19(23): 4130-4132.
- [17] 白宛鑫, 赵良友, 张娜, 等. 生淫羊藿与炙淫羊藿对肾阳虚证水肿模型大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(5): 85-91.
Bai W X, Zhao L Y, Zhang N, et al. Effect of crude epimediumii folium and processed epimediumii folium on kidney Yang deficiency edema model rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(5): 85-91.
- [18] 胡星遥. 肝肾阴虚证型的代谢组学研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2015.
Hu X Y. Metabonomics study on syndrome type of Yin deficiency of liver and kidney [D]. Nanchang: Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2015.
- [19] 熊金燕. 探讨与分析血液透析超滤缓解重度肾性水肿患者的心理健康及临床效果 [J]. 智慧健康, 2020, 6(34): 49-51.
Xiong J Y. Exploring and analyzing the mental health and clinical effects of hemodialysis ultrafiltration to alleviate severe nephropathic edema in patients with severe nephropathic edema [J]. Smart Healthcare, 2020, 6(34): 49-51.
- [20] 王铁锁, 张莹涛. 防己黄芪汤加减治疗对肾病综合征顽固性水肿患者治疗效果及凝血指标的影响 [J]. 血栓与止血学, 2022, 28(6): 927-928, 931.
Wang T S, Zhang Y T. Effect of modified Fangji Huangqi Decoction on therapeutic effect and coagulation indexes in patients with refractory edema of nephrotic syndrome [J]. Chin J Thromb Hemostasis, 2022, 28(6): 927-928, 931.
- [21] 田刚, 李超, 翟园园, 等. 基于血清靶向代谢组学研究蒲地蓝消炎口服液对脂多糖诱导的急性肺炎小鼠能量代谢的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2021, 37(1): 120-125.
Tian G, Li C, Zhai Y Y, et al. Serum-targeted metabolomics-based study on the effect of buspirone anti-inflammatory oral solution on energy metabolism in mice with lipopolysaccharide-induced acute pneumonitis [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2021, 37(1): 120-125.
- [22] Tavsan Z, Kayali H A. The variations of glycolysis and TCA cycle intermediate levels grown in iron and copper mediums of *Trichoderma harzianum* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2015, 176(1): 76-85.
- [23] Shimoda Y, Han J, Kawada K, et al. Metabolomics analysis of *Cistus monspeliensis* leaf extract on energy

- metabolism activation in human intestinal cells [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 428514.
- [24] Anderson N M, Mucka P, Kern J G, et al. The emerging role and targetability of the TCA cycle in cancer metabolism [J]. *Protein Cell*, 2018, 9(2): 216-237.
- [25] 吕雅鑫, 陈龙, 蒋义鑫, 等. 淫羊藿苷抑制非小细胞肺癌生长的代谢组学研究 [J]. *上海中医药杂志*, 2021, 55(6): 84-90.
- Lv Y X, Chen L, Jiang Y X, et al. Metabolomics study on the inhibition of non-small cell lung cancer growth by Icaritin glycosides [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*, 2021, 55(6): 84-90.
- [26] 刘娟. 重性抑郁障碍患者及其遗传高危人群三羧酸循环中间代谢物水平改变的研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- Liu J. Study on the changes of intermediate metabolites in tricarboxylic acid cycle in patients with major depressive disorder and their genetic high-risk population [D]. Shenyang: China Medical University, 2021.
- [27] 杨少华, 代晓燕, 周秋根. 进展性肾病大鼠模型肾皮质能量代谢的变化及其机制 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2019, 35(5): 373-380.
- Yang S H, Dai X Y, Zhou Q G. Energy metabolism changes of renal cortex in a rat model of progressive kidney disease and its mechanisms [J]. *Chin J Nephrol*, 2019, 35(5): 373-380.
- [28] 梁川, 王洁茹, 诸葛斌, 等. 基于回补途径的TCA循环改造对克雷伯氏菌生长和甘油代谢的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(4): 972-976.
- Liang C, Wang J R, Zhuge B, et al. TCA cycle modification based on the anaplerotic reaction and its effects on growth and glycerol metabolism in *Klebsiella pneumonia* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2019, 25(4): 972-976.
- [29] 张妙婷. 基于色谱-质谱联用技术结合代谢组学探究金银花和山银花的药效物质基础 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2021.
- Zhang M T. Based on GC-MS combined with metabolomics, the pharmacological substance basis of *Flos Lonicerae* and *Flos Lonicerae* was explored. [D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2021.
- [30] 赵西西, 贺竹梅. 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶基因对黄曲霉毒素生物合成调节作用的初步研究 [A]// 遗传多样性: 前沿与挑战——中国的遗传学研究(2013-2015)——2015中国遗传学会大会论文摘要汇编 [C]. 昆明: 中国遗传学会, 2015.
- Zhao X X, He Z M. Preliminary studies on the regulation of aflatoxin biosynthesis by the 6-phosphogluconate dehydrogenase gene [A]// Genetic Diversity: Frontiers and Challenges - Genetic Research in China (2013-2015) - A Compilation of Abstracts from the Congress of the Genetics Society of China 2015 [C]. Kunming: Chinese Genetic Society, 2021.
- [31] 杨丽军. 糖肾康(浓缩)丸对糖尿病肾病大鼠的药效学及代谢组学研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2018.
- Yang L J. Pharmacodynamics and metabolomics of Tangshenkang (concentrated) pill on diabetic nephropathy rats [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine, 2018.
- [32] 卢纹凯. 降尿酸药物且用且谨慎 [J]. *江苏卫生保健(今日保健)*, 2015(8): 35.
- Lu W K. Use caution with uric acid-lowering drugs [J]. *Jiangsu Health Care (Health Care Today)*, 2015(8): 35.
- [33] 贺松敏. 糖化血红蛋白和肾功能生化指标(尿素、肌酐、尿酸和胱抑素C)联合应用在糖尿病微血管疾病中的诊断价值 [J]. *中国保健营养*, 2020, 30(28): 73.
- He S M. Diagnostic value of the combination of glycosylated hemoglobin and biochemical indices of renal function (urea, creatinine, uric acid and cystatin C) in diabetic microvascular disease [J]. *China Health Care Nutrition*, 2020, 30(28): 73.
- [34] 黄元新, 鲁力. 赖氨酸对机体健康促进作用的研究进展 [J]. *广西医学*, 2008, 30(7): 1031-1033.
- Huang Y X, Lu L. Research progress on the promotion of lysine to human health [J]. *Guangxi Med J*, 2008, 30(7): 1031-1033.
- [35] 崔珏, 范存颖. 牛蒡根中蛋白酪氨酸磷酸酶1B抑制剂筛选及降血糖活性评价 [J]. *食品科技*, 2018, 43(3): 217-222.
- Cui J, Fan C Y. Screening on inhibitor of protein tyrosine phosphatase-1B and evaluation of hypoglycemic activity in *Arctium lappa* L. root [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(3): 217-222.

[责任编辑 兰新新]