

盐补骨脂在补骨脂丸中炮制应用的科学性：代谢组学揭示成分差异介导肾功能改善机制

王 芳, 刘惠娟, 武喜红, 邹传宗, 何方振, 张 敏

甘肃医学院, 甘肃 平凉 744000

摘 要: **目的** 基于代谢组学揭示经典名方补骨脂丸(盐补骨脂-盐小茴香方, Y-BGZW)通过盐制补骨脂改善肾阳虚大鼠肾功能的化学-生物学机制。**方法** 将 50 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、生制-补骨脂丸(S-BGZW)组(生补骨脂-盐小茴香方, S-BGZW, 8 g·kg⁻¹)、Y-BGZW (8 g·kg⁻¹) 组及金匮肾气丸组(JKSQW, 3.5 g·kg⁻¹), 除对照组外, 采用氢化可的松诱导肾阳虚大鼠模型。通过脏器指数分析, ELISA 法检测大鼠血清血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-6(IL-6)、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)-促肾上腺皮质激素(CTH)-环磷酸腺苷(cAMP)[下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)]水平; 结合非靶向代谢组学筛选 Y-BGZW 与 S-BGZW 中差异代谢物, 并通过通路富集与关联分析阐明效应机制。**结果** 与模型组比较, Y-BGZW 显著逆转肾阳虚大鼠脾脏、胸腺萎缩及肾上腺的代偿性增生($P < 0.01$ 、0.001), 其效果优于 S-BGZW, 其中脾脏指数差异显著($P < 0.001$); Y-BGZW 显著上调血清 SCr、IL-2、CRH、CTH、cAMP 水平, 显著下调 BUN、IL-6 水平($P < 0.01$ 、0.001), BUN、CRH、cAMP 恢复度显著优于 S-BGZW ($P < 0.05$ 、0.001); 代谢组学筛选出 10 种盐制特征成分(牛蒡子素、羟苯环啉等), 通过甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路调节水盐平衡($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$), 协同改善肾功能: 牛蒡子素调控电解质转运、羟苯环啉增强膀胱储尿、菊苣素 7-(6-丙二酰葡萄糖苷)抑制肾脏氧化损伤、苯甲酰胺保护肾单位、亚麻酸乙酯经 CRH 通路抑制炎症提升 SCr 与 BUN 至正常水平等。**结论** 从成分-通路-效应 3 层面验证“盐制入肾”理论的科学内涵, 揭示 Y-BGZW 通过炮制工艺富集特征成分群, 经多靶点协同(水盐代谢-抗氧化-免疫调节)实现“温肾固精”功效。

关键词: 补骨脂丸; 盐制; 代谢组学; 成分差异; 肾阳虚; 牛蒡子素; 羟苯环啉; 甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2026)01-0108-11

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.01.010

Scientific rationale for processing application of salt-processed *Psoraleae Fructus* in Psoralea Pill: Metabolomics reveals mechanism of renal function improvement mediated by component differences

WANG Fang, LIU Huijuan, WU Xihong, ZOU Chuanzun, HE Fangzhen, ZHANG Min

Gansu Medical College, Pingliang 744000, China

Abstract: Objective To reveal the chemical-biological mechanism by which the classical formula Psoralea Pill (Salt-processed *Psoraleae Fructus*-Salt-processed *Foeniculi Fructus* formula, Y-BGZW) improves renal function in kidney-yang deficiency polyuria rats through salt-processing *Psoraleae Fructus*, based on metabolomics. **Methods** The hydrocortisone was used to induce a rat model of kidney yang deficiency, and the 50 SD rats were divided into the following groups: Control group, model group, crude Psoralea Pill group (S-BGZW, 8 g·kg⁻¹), Y-BGZW (8 g·kg⁻¹) and Jinkui Shenqi Wan group (JKSQW, 3.5 g·kg⁻¹). Organ indices were analyzed, and serum biochemical parameters including serum creatinine (SCr), blood urea nitrogen (BUN), IL-2, IL-6, and HPA axis markers (CRH, ACTH, cAMP) were quantified by ELISA. Untargeted metabolomics was employed to identify differential metabolites between Y-BGZW and S-BGZW, with subsequent pathway enrichment and correlation analyses to elucidate the underlying mechanisms. **Results** Compared with the model group, Y-BGZW significantly reversed splenic and thymic atrophy and compensatory adrenal hyperplasia in rats with kidney yang deficiency ($P < 0.01$, 0.001), and its effect was superior to S-BGZW, with a significant difference in spleen

收稿日期: 2025-08-28

基金项目: 甘肃省高等学校创新基金项目(2023B-263); 甘肃医学院 2023 年院(系)主任负责制项目(GY-2023FZZ04)

作者简介: 王 芳(1983—), 女, 硕士研究生, 副教授, 研究方向为中药炮制及制剂、药物新剂型、新技术。E-mail: 410843130@qq.com

index ($P < 0.001$); Y-BGZW significantly upregulated serum levels of SCr, IL-2, CRH, ACTH, and cAMP, and significantly downregulated levels of BUN and IL-6 ($P < 0.01, 0.001$). The recovery of BUN, CRH, and cAMP was significantly better than that of S-BGZW ($P < 0.05, 0.001$). Metabolomics screening identified ten characteristic components of salt-processed *Psoralea corylifolia* (e.g., arctigenin, hydroxyphenylcyclamide), which regulated water-salt balance ($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$) via the glycine/serine/threonine metabolic pathway and synergistically improved renal function: ① Arctigenin regulates electrolyte transport. ② Hydroxyphenylcyclamide enhances bladder urine storage. ③ cichoriin 7-(6-malonylglucoside) inhibits renal oxidative damage. ④ Benzamide protects nephrons, ethyl linolenate inhibits inflammation via the CRH pathway, and SCr/BUN levels are restored to normal. **Conclusion** This study validates the scientific foundation of the “salt-processing guiding to the kidney (Yanzhi Rushen)” theory from three dimensions—components, pathways, and effects, revealing that Y-BGZW enriches characteristic component clusters through its processing method. These components synergistically act on multiple targets (e.g., water-salt metabolism, antioxidant activity, and immune regulation) to achieve the traditional efficacy of “warming the kidney and consolidating essence (Wenshen Gujing)”.

Key words: Psoralea Pill; salt-processing; metabolomics; component differences; kidney-*yang* deficiency; arctigenin; hydroxyphenylcyclamide; glycine/serine/threonine metabolic pathway

中药炮制与方剂配伍是中医药理论体系的核心智慧，二者通过“制药”与“组方”协同调控，共同诠释“药有个性之特长，方有合群之妙用”的临证精髓^[1]。其中，通过加入液体辅料（如盐、酒、醋）炮制中药后，辅料能起到引药归经，协同增效等目的^[2]，如补骨脂生品能入脾经而温中止泻，盐制后主归肾经以温肾固精，谓之为“盐制入肾”；而方剂配伍则通过“君臣佐使”组合，实现多成分、多靶点的协同调控，在脾肾阳虚证（症见畏寒肢冷、夜尿频多、便溏泄泻等）的治疗中尤显“温阳固本、标本兼治”的优势。

补骨脂丸作为治疗脾肾阳虚证的经典名方，首载于宋代《魏氏家藏方》^[3]，其精妙之处在于以盐制补骨脂为君药，配伍盐小茴香形成“盐制-盐引”的增效体系。现代研究^[4]表明，该方通过调节水盐代谢、改善肾上腺等途径，显著缓解腰膝酸软、尿频遗尿等症状。然而，当前仍存在以下问题尚需进一步研究：①盐制补骨脂在复方中的化学转化规律及其与盐小茴香的协同机制尚不十分明确；②为实现经典名方的现代化发展，“盐制入肾”调控的生物学基础还缺乏代谢组学层面的系统解析^[5-6]。

鉴于此，本研究聚焦“炮制工艺-复方配伍”的协同效应机制，首次建立“化学转化-代谢调控-功效验证”三位一体的研究范式：通过非靶向代谢组学解析补骨脂盐制入方（补骨脂丸）的差异代谢物及关键通路，结合肾阳虚大鼠模型的脏器指数、血清标志物多维评价，以及代谢物-药效指标关联分析等，明确盐制-补骨脂丸（Y-BGZW）特征成分群在“温肾固精”中的多靶点协同网络。本研究不仅为“盐制入肾”理论提供化学-生物学证据链，更为经

典名方的辅料炮制与临床精准应用提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

JXDC-20 氮气吹扫仪，由上海净信实业发展有限公司提供；UPLC 液相色谱系统（Vanquish Horizon system）及质谱仪（Q-Exactive HF-X）均购自赛默飞世尔科技公司；高速多功能粉碎机（COSUAI），购自武义海纳电器有限公司；高速冷冻离心机（KH30R-II），购自河南信陵仪器设备有限公司；全自动酶标仪（SpectraMax Plus384），购自美谷分子仪器（上海）有限公司。

1.2 药物与主要试剂

氢化可的松注射液（规格 2 mL：10 mg，批号 H21052301），国药集团容生制药有限公司；金匱肾气丸（JKSQW，每粒 20 g、每瓶 100 粒，批号 JT210903），北京同仁堂公司；补骨脂（批号 BZ210715）、小茴香（批号 HX210708）由亳州市邓大伟药业供应，经甘肃医学院药剂学教研室鉴定分别为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实，伞形科植物茴香 *Foeniculum vulgare* Mill. 的干燥成熟果实。

大鼠白细胞介素（IL）-6 ELISA 试剂盒（批号 SEKH-0013）购自北京索莱宝公司；大鼠尿素氮（BUN）ELISA 试剂盒（批号 HB215-Ra）、血肌酐（SCr）ELISA 试剂盒（批号 HB1389-Ra）、大鼠 IL-2 ELISA 试剂盒（批号 HB961-Ra）均由上海恒远公司提供。促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）ELISA 试剂盒（批号 YZ-031808）、促肾上腺皮质激素（ACTH）ELISA 试剂盒（批号 YZ-010320）、环磷酸腺苷（cAMP）ELISA 试剂盒（批号 YZ-030113）

均购自智一生物有限公司。

1.3 实验动物

健康清洁级 SD 雄性大鼠 50 只, 体重 220~250 g, 6 周龄, 购自中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SYXK(甘) 2021-0012。实验操作经兰州大学动物实验伦理委员会批准(伦理批号 2021-LZU-045)。

2 方法

2.1 药液的制备

分别取净补骨脂和小茴香药材各 100 g, 按《中国药典》2020 年版要求进行盐制, 放凉备用^[7]。Y-BGZW: 取盐补骨脂 12 g、盐小茴香 12 g, 捣碎, 用回流操作法提取 2 次, 合并滤液, 抽滤后减压浓缩至生药质量浓度为 0.8 g·mL⁻¹, 备用; 生制-补骨脂丸(S-BGZW): 取生补骨脂与盐小茴香各 12 g, 相同方法制备质量浓度为 0.8 g·mL⁻¹的药液备用^[8]; 经甘肃医学院药剂学教研室检测 S-BGZW 与 Y-BGZW 中, 补骨脂素和异补骨脂素总质量分数 ≥ 0.7%, 符合《中国药典》2020 年版项下要求。阳性药物: 临用前将 JKSQW 精密称定并粉碎, 粉末中加蒸馏水, 制成质量浓度为 0.35 g·mL⁻¹的混悬液, 备用^[8]。

2.2 动物建模及分组

取雄性 SD 大鼠 50 只适应性喂养 3 d 后, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为对照组、模型组、S-BGZW 组、Y-BGZW 组及 JKSQW 组。除对照组外, 其余各组按 25 mg·kg⁻¹ sc 氢化可的松, 每天 1 次, 连续注射 9 d, 当发现模型组大鼠表现出毛发无光泽且较为凌乱、小便清长、畏寒肢冷、蜷缩扎堆、精神萎靡、拱背等症状时, 肾虚大鼠造模成功^[9]。从第 10 天开始, S-BGZW 与 Y-BGZW 组按生药剂量 8 g·kg⁻¹ ig 给药^[5-6, 8], JKSQW 组按 3.5 g·kg⁻¹ ig JKSQW 混悬液, 对照组和模型组给予同等体积 0.9% 氯化钠溶液, 观察大鼠一般行为, 连续 ig 9 d 后, 股动脉取血, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 用异氟烷吸入麻醉并摘取脏器, 进行后续实验^[9]。

2.3 非靶向代谢组学分析

精确移取 100 μL 样品至 1.5 mL 离心管中, 加入 300 μL 含内标的甲醇-乙腈(1:1)提取液, 涡旋混匀 30 s。随后, 将样品于 5 °C、40 kHz 条件下超声提取 30 min, 之后静置于 -20 °C 冷冻 30 min。接着, 在 4 °C、13 000×g 条件下离心 15 min, 移取上清液并用氮气吹干。向干燥后的样品中加入 100 μL

乙腈-水(1:1)复溶液, 涡旋混匀 30 s, 并再次于 5 °C、40 kHz 下超声 5 min。然后, 在 4 °C、13 000×g 条件下离心 10 min, 移取上清液至带内插管的进样小瓶中, 以备上机分析。此外, 需从每个样本的上清液中分别移取 20 μL 混合, 单独制备成质控样本。

色谱条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, Waters, Milford, USA); 流动相 A 为 5% 乙腈(含 0.1% 甲酸), 流动相 B 为 47.5% 乙腈+47.5% 异丙醇(含 0.1% 甲酸), 进样量为 3 μL, 柱温为 40 °C。

质谱条件: 样品经电喷雾电离(ESI), 正/负离子扫描模式, 质量范围 70~1 050 m/z, 数据依赖性采集(DDA)。一级分辨率 60 000, 二级分辨率 7 500; 喷雾电压 ±3 500 V, 碰撞能循环 60 V-40 V-20 V; 离子传输管 325 °C, 辅助气温度 425 °C。

代谢组学研究主要依托于以下主流公共数据库: Human Metabolome Database(HMDB)和 Metlin Metabolomics Database。差异代谢物分析: 原始数据采用缺失值填补、归一化、QC 样本 RSD 评估。对预处理后的矩阵文件进行差异分析, 主要有主成分分析(PCA)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA)建模。差异代谢物的选择基于 OPLS-DA 模型中变量投影重要性(VIP) > 1 且 t 检验 P < 0.05 的标准筛选。将鉴定出的差异代谢物通过京都基因与基因组百科全书(KEGG)代谢通路富集分析。

2.4 肾功能改善分析

按检测试剂盒说明书操作, 通过酶标仪测量血清 SCr、BUN、IL-2、IL-6、CRH、ACTH、cAMP 吸光度值, 计算含量并进行统计学分析。计算脾、肾、胸腺、肾上腺等指数并进行统计学分析。

脏器指数 = 脏器质量/体质量

2.5 数据分析

实验数据处理采用 Progenesis QI v3.0 软件(Waters Corporation, Milford, USA)完成。其余数据统计分析均采用 GraphPad Prism 9.5.0 软件平台, 统计学显著性判定标准设定为 P < 0.05。

3 结果

3.1 补骨脂盐制的代谢组学特征

3.1.1 代谢物检测与差异分析 图 1 展示了正、负离子模式下, 质控样品的总离子流色谱图, 该检测条件下, 峰形良好, 分布相对均匀。非靶向代谢组学共检测到 12 949 个离子峰(阳离子 7 303, 阴离

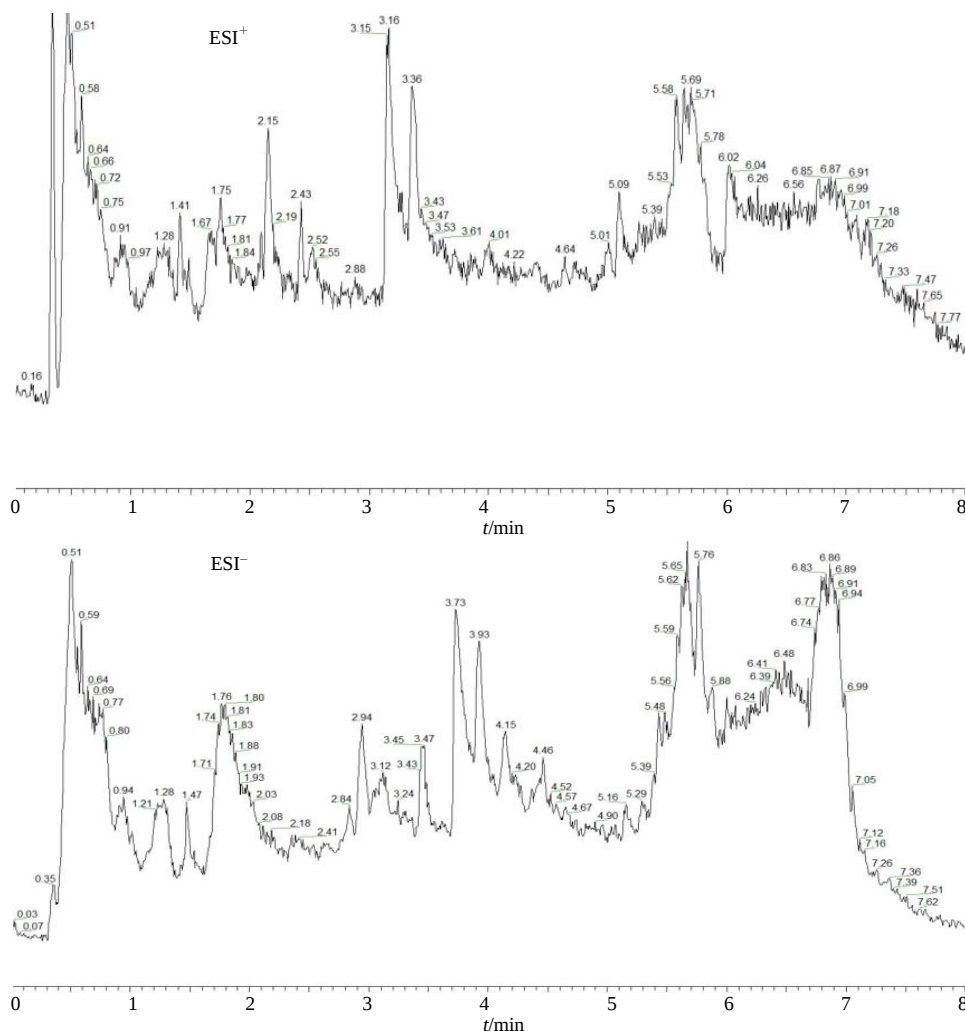


图 1 质控样本的总离子流图

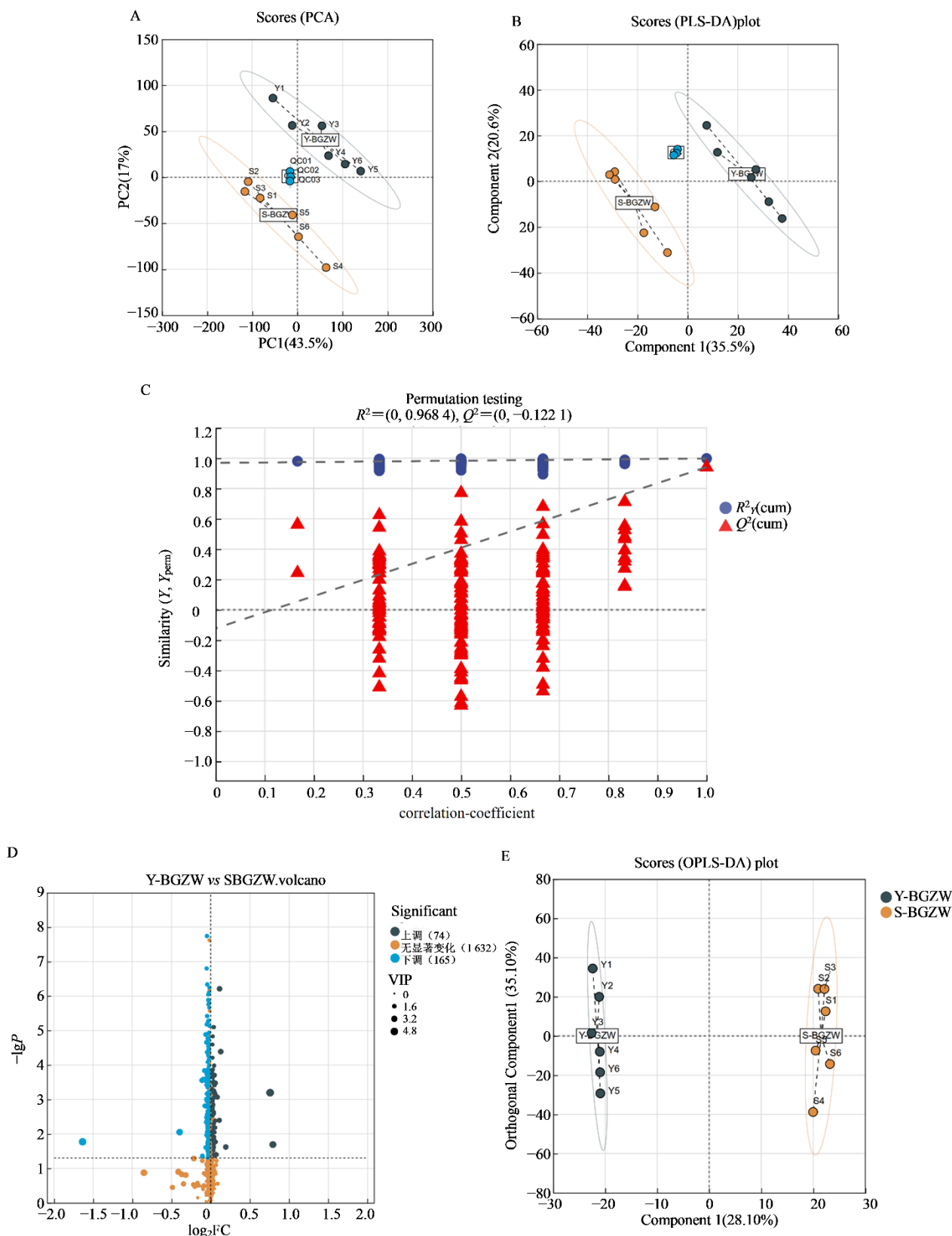
Fig. 1 Total ion chromatogram of quality control sample

子 5 646), 鉴定出 1 871 (阳离子 1 073, 阴离子 798) 种代谢物。PCA 结果显示, Y-BGZW 与 S-BGZW 组间显著分离 ($PC1=43.50\%$, $PC2=17.00\%$), OPLS-DA 火山图与得分图中, 从颜色差异和椭圆区域展示样品组间明显差异。PLS-DA 置换检验验证 ($R^2=0.968$, $Q^2=-0.122$) 数据可靠, 可将 VIP 值作为差异代谢物的筛选条件。详见图 2。

3.1.2 差异代谢物的筛选及鉴定 基于 $VIP \geq 1.95$ 筛选标准, 鉴定出 10 个关键生物标志物, 其保留时间及统计学信息见表 2。其丰度差异通过箱线图可视化验证 (图 3), Y-BGZW 中牛蒡子素、羟苯环嘧等 6 种成分显著富集 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 而其余苏氨酸-酪氨酸-赖氨酸、亚麻酸乙酯等 4 种成分显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。提示其可作为盐制诱导的代谢特征性指标。

牛蒡子素能通过下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA)

轴-糖皮质激素信号轴调控肾脏水通道蛋白表达, 改善水液代谢紊乱^[10-11]; 羟苯环嘧则通过调节胆碱能系统维持膀胱储尿功能, 菊苣素 7-(6-丙二酰葡萄糖苷) 成分通过清除活性氧 (ROS) 减轻肾脏氧化损伤, 二者协同调控氧化应激, 保护泌尿系统稳态^[12-13]; 2- β -D-呋喃核糖基噻唑-4-甲酰胺通过促进腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 生成增强细胞能量供应; 4-2-苯甲酰胺可能经 5-羟色胺 (5-HT) 受体调节促甲状腺激素 (TSH) /促性腺激素释放激素 (GnRH) 释放, 并通过 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) /过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α) 通路促进线粒体生物发生^[14-15], 调节神经内分泌, 与 2- β -D-呋喃核糖基噻唑-4-甲酰胺共同改善线粒体功能障碍, 重塑能量代谢, 为“肾主水”理论提供物质基础^[16-17]。以上通过多靶点协同作用调控肾阳虚病理进程, 阐释“盐制增效”的



A-PCA; B-PLS-DA; C-PLS-DA 置换检验; D-PLS-DA 火山图; E-OPLS-DA 得分图。

A-PCA; B-PLS-DA; C-PLS-DA substitution test; D-PLS-DA volcano map; E-OPLS-DA score plot.

图 2 不同补骨脂丸提取样品代谢物表达谱

Fig. 2 Metabolic profiling of BGZW in different processed products

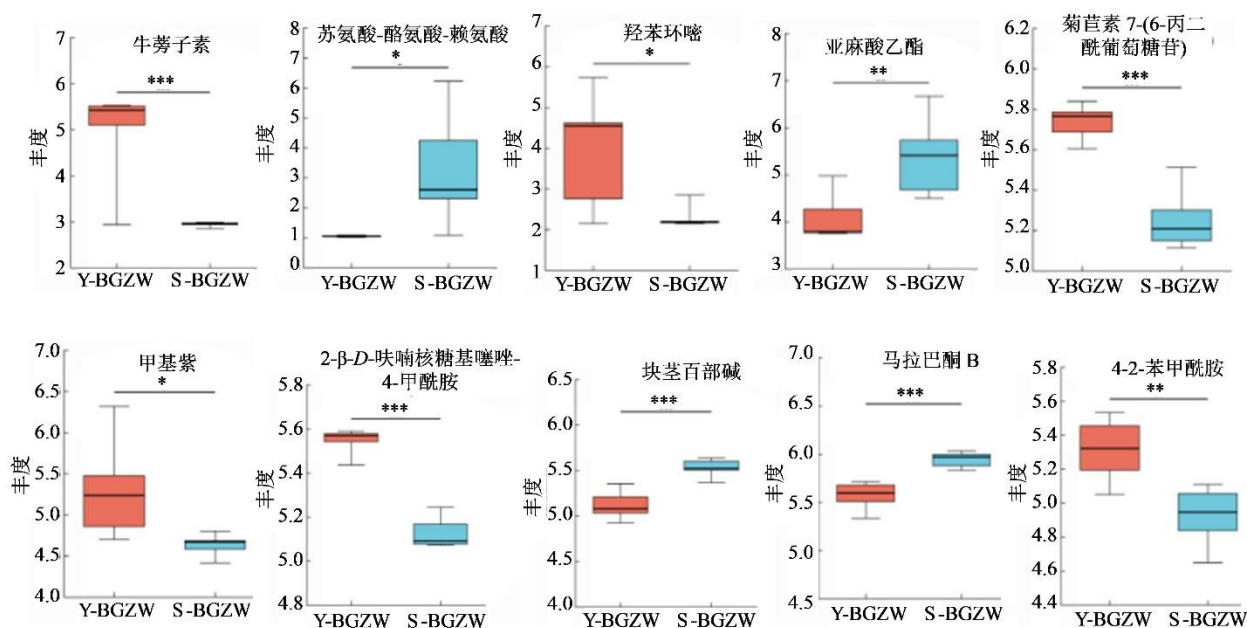
表 2 补骨脂丸样品中显著表达的代谢物

Table 2 Significantly expressed metabolites in BGZW

代谢物	<i>P</i> 值	VIP	log ₂ FC	<i>t_R</i> / min	分子式	<i>m/z</i>	FC (Y-BGZW vs S-BGZW)
牛蒡子素 (arctiopicrin)	6.350×10^{-4}	4.79	0.758	3.33	C ₁₉ H ₂₆ O ₆	392.21	1.69
苏氨酸-酪氨酸-赖氨酸 (Thr-Tyr-Lys)	1.688×10^{-2}	4.40	-1.635	2.52	C ₁₉ H ₃₀ N ₄ O ₆	428.25	0.32
羟苯环嘧 (oxyphencylimine)	2.037×10^{-2}	3.82	0.794	5.48	C ₂₀ H ₂₈ N ₂ O ₃	344.21	1.73
亚麻酸乙酯 (ethyl linolenate)	8.861×10^{-3}	3.46	-0.397	5.84	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	307.26	0.76
菊苣素 7- (6-丙二酰葡萄糖苷) [cicerin 7- (6-malonylglucoside)]	4.100×10^{-5}	2.45	0.128	0.47	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₅	599.10	1.09
甲基紫 (methyl violet)	2.392×10^{-2}	2.35	0.193	5.51	C ₂₄ H ₂₇ N ₃	358.23	1.14
2-β- <i>D</i> -呋喃核糖基噻唑-4-甲酰胺 (2-β- <i>D</i> -ribofuranosyl thiazole-4-carboxamide)	6.160×10^{-7}	2.34	0.113	0.44	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₆ S	241.03	1.08
块茎百部碱 (tuberostemonine)	2.792×10^{-4}	2.18	-0.112	5.48	C ₂₂ H ₃₃ NO ₄	376.25	0.93
马拉巴酮 B (malabaricone B)	2.596×10^{-4}	2.07	-0.093	5.41	C ₂₁ H ₂₆ O ₄	360.22	0.94
4-2-苯甲酰胺 (4-2-benzamide)	4.017×10^{-3}	1.98	0.109	7.13	C ₂₃ H ₂₇ F ₃ N ₄ O ₃	429.19	1.08

FC 值 > 1, 说明含量升高; FC 值 < 1, 说明含量降低。

FC value > 1 indicates an increase in content; FC value < 1 indicates a decrease in content.



P*<0.05 *P*<0.01 ****P*<0.001。

图 3 补骨脂丸样品中 10 种特征化合物的差异显著性比较

Fig. 3 Comparison of significant difference of 10 characteristic compounds in BGZWs from different processed products

科学内涵, 并为肾虚证形成“神经-内分泌-代谢”网络链。

3.1.3 特征化合物的差异性及代谢通路富集分析
结合 Top 50 (VIP>1) 和 *P*<0.05 双重筛选标准, 将鉴定出的差异代谢物通过 KEGG 代谢通路富集,

主要富集了 15 条代谢通路 (图 4)。以 Impact>0.1 且 *P*<0.05 为标准, 其中甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路 (glycine, serine and threonine metabolism) 具最显著调控特征, 该通路中主要富集物为 *L*-丝氨酸和 *L*-苏氨酸。

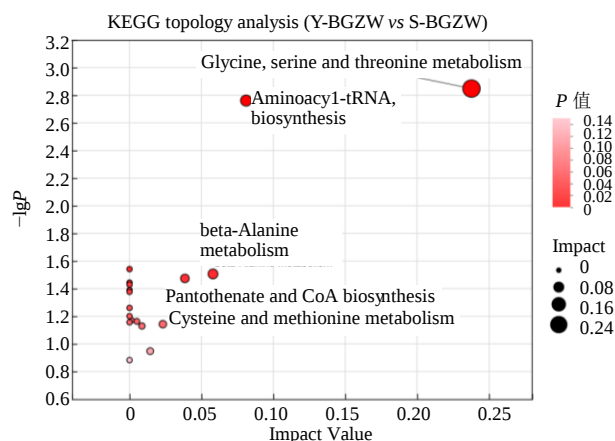


图 4 KEGG 拓扑学分析气泡图

Fig. 4 Bubble plot of KEGG topology analysis

有研究显示, *L*-丝氨酸可通过三重机制改善肾阳虚病理^[18]: ①经甘氨酸转化调控肾脏离子通道活性, 调节 Na^+ , K^+ -ATP 酶活性, 纠正电解质紊乱^[16-17, 19]; ②促进谷胱甘肽 (GSH) 合成, 缓解氧化应激导致的肾组织损伤^[20]; ③通过一碳代谢影响 DNA 甲基化调控, 为肾阳虚的分子机制研究提供新思路^[21]。*L*-苏氨酸则通过代谢互作 (与三羧酸循环偶联) 和功能调控 (经 α -酮丁酸激活 Nrf2 通路) 发挥抗氧化及免疫调节作用^[22-23]。二者协同维持肾脏氧化还原稳态, 解释了盐制“引药下行、增效减毒”科学内涵。

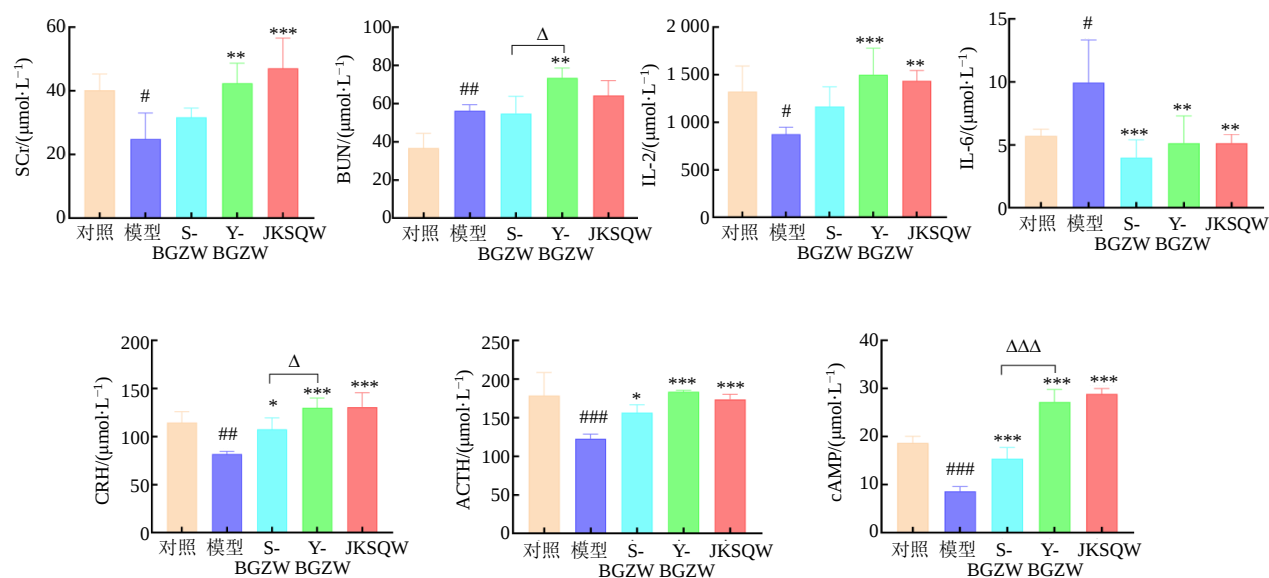
3.2 补骨脂盐制对肾阳虚大鼠肾功能作用

3.2.1 大鼠体征情况 造模前后, 对比观察肾阳虚大鼠行为学特定的症状, 包括活动迟缓、反应迟钝、畏寒蜷卧、弓背、尿量增多、便稀松软、脱毛等初步判断造模是否成功^[24]。除对照组外, 造模 9 d 后, 大鼠均表现出明显的肾阳虚行为症状, 第 10 天开始给药后, 上述部分症状均有好转。

3.2.2 大鼠血清生化指标含量 实验结果提示 (图 5), 肾阳虚模型大鼠呈现典型病理改变: ①肾功能障碍 (SCr 下降、BUN 上升, $P < 0.05$ 、 0.01); ②免疫失衡 (IL-2 下降、IL-6 上升, $P < 0.05$); ③HPA 轴抑制 (CRH 下降、ACTH 下降、cAMP 下降, $P < 0.01$ 、 0.001)。Y-BGZW 可特异性逆转上述异常: BUN、CRH、cAMP 恢复度显著优于 S-BGZW ($P < 0.05$ 、 0.001), SCr、IL-2 调节效果与 JKSQW 相当。

通过“肾功能-免疫-神经内分泌”三维评价体系, 证实 Y-BGZW 通过三重机制发挥肾保护作用: ①激活 CRH-ACTH-cAMP 轴, 重塑水盐代谢, 证实“肾主水液”理论^[25]; ②纠正 IL-2/IL-6 失衡, 同步改善免疫抑制与炎症^[26]; ③特异性改善 SCr/BUN 水平, 调控肾素-血管紧张素系统 (RAS) 维持肾小球滤过功能^[27]。

3.2.3 大鼠脏器指数 实验数据揭示肾阳虚大鼠特征性器官重塑: ①免疫器官萎缩: 脾脏及胸腺指



与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与 S-BGZW 组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ # $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.001$ vs S-BGZW group.

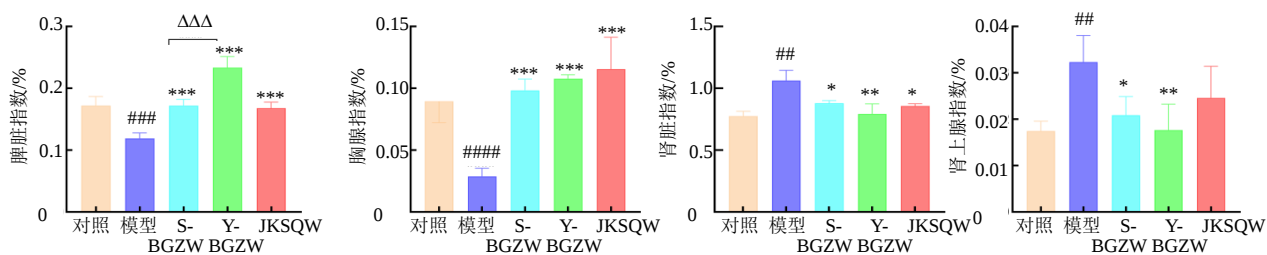
图 5 大鼠血清 SCr、BUN、IL-2、IL-6、CRH、ACTH、cAMP 含量

Fig. 5 Serum levels of SCr, BUN, IL-2, IL-6, CRH, ACTH, and cAMP in rats

数较对照组显著下降 ($P < 0.01$ 、 0.001)；②代谢器官代偿性改变：肾脏与肾上腺指数升高 ($P < 0.01$)，可能出现肾脏水肿/纤维化与肾上腺皮质功能亢进。经 Y-BGZW 干预后，免疫器官萎缩显著逆转（脾脏指数和胸腺指数上升， $P < 0.001$ ），代谢器官指数恢复至生理水平（肾脏指数和肾上腺指数下降， $P < 0.01$ ），其效果优于 S-BGZW，其中脾脏指数差异显著 ($P < 0.001$)（图 6）。

脾脏和胸腺作为核心免疫器官，通过淋巴细胞

发育、抗体产生及免疫调节维持机体防御。本研究阐明 Y-BGZW 可能通过 HPA 轴（下丘脑-垂体-肾上腺轴）双向调节实现器官保护^[28]：①上调脾脏/胸腺指数反映其可能通过 IL-2/促甲状腺激素（TSH）信号轴激活淋巴细胞增殖，印证中医“肾为先天之本”的免疫调控理论；②下调肾脏/肾上腺指数提示其可能通过 CRH-ACTH 负反馈调节缓解肾上腺皮质代偿性肥大，同时抑制转化生长因子- β （TGF- β ）/Sma 和 Mad 相关蛋白（Smad）通路改善肾纤维化。



与对照组比较：### $P < 0.01$ #### $P < 0.001$ ；与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ ；与 S-BGZW 组比较： $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 。
$P < 0.01$ #### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs S-BGZW group.

图 6 大鼠脏器指数

Fig. 6 Indices of organ in rat

3.3 相关性分析

将“3.1.2”项筛选的 10 个特征代谢物，与“3.2.2”项的大鼠血清中指标含量做关联分析。IL-6 含量与 10 种代谢物均无显著性关联，IL-2 仅与牛蒡子素、

2- β -D-呋喃核糖基噻唑-4-甲酰胺显著正关联 ($P < 0.05$)，ACTH、cAMP 与羟苯环啉和甲基紫关联无统计学意义。其余代谢物与指标关联均显著 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)（图 7）。

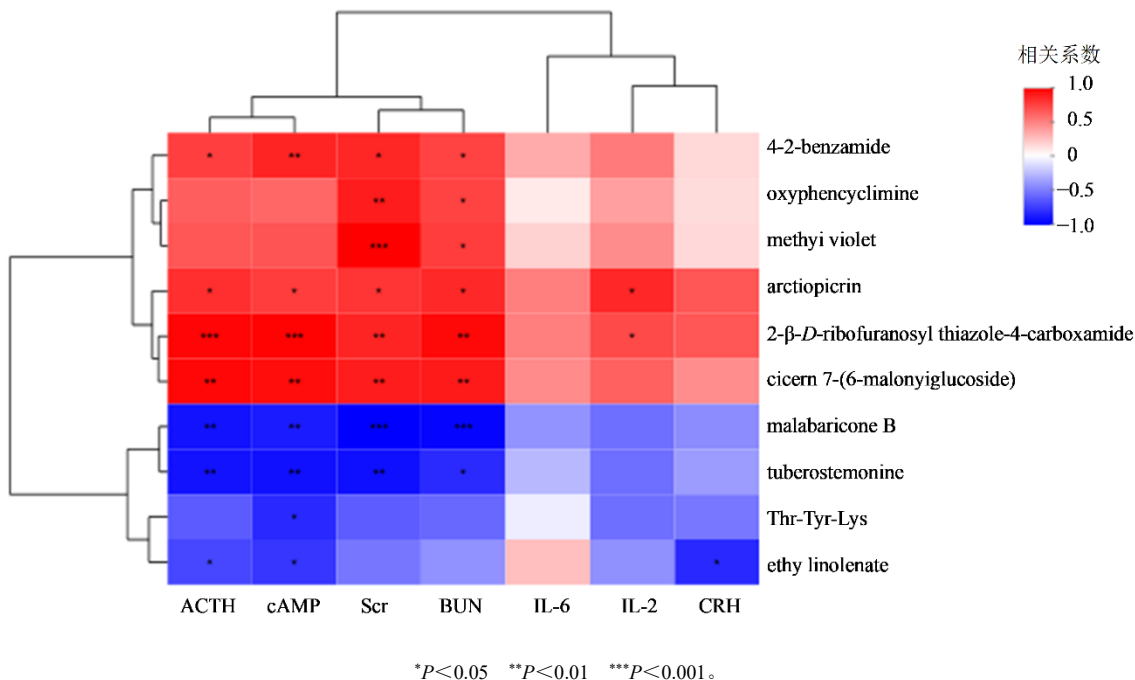


图 7 Y-BGZW 中特征成分与大鼠血清指标含量相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis between characteristic components in Y-BGZW and serum indicators in rats

Y-BGZW 中亚麻酸乙酯成分降低(表 2)。亚麻酸乙酯具有抗炎、抗氧化和神经调节作用,能抑制 NF- κ B 和 COX-2 通路,减少促炎因子^[29]。关联分析显示亚麻酸乙酯与 HPA 轴成显著负相关($P<0.05$),其可能的调控机制为,亚麻酸乙酯减少 $\rightarrow$ 促炎信号增强 $\rightarrow$ CRH 神经元激活 $\rightarrow$ ACTH 释放 $\rightarrow$ cAMP 通路活化^[29],尚需检测 Y-BGZW 组大鼠下丘脑中 NF- κ B 和 COX-2 表达验证炎症通路是否被解除抑制。

Y-BGZW 中牛蒡子素、嘧啶衍生物、甲基紫等成分显著富集(表 2)。且关联分析显示以上富集物与 SCr/BUN 含量显著正相关($P<0.05$),其可能的生物学通路为:通过炎症激活、能量代谢干扰、氧化应激及排泄竞争等途径,使肾虚大鼠 SCr/BUN 水平上升至正常水平^[27]。

4 结论

代谢组学分析筛选并鉴定出的 10 个特征性差异成分,共同构成了 Y-BGZW 发挥药效的活性成分群,协同作用于水盐代谢调节、抗氧化、肾单位保护和抗炎等多条通路与靶点,显著提升了补骨脂丸改善肾虚、固摄肾精、恢复肾功能的作用,证实盐制工艺对补骨脂丸整体功效具有关键的增效作用。从成分(盐制特征成分群)-通路(水盐代谢、抗氧化、抗炎、HPA 轴调节)-效应(改善肾功能、温肾固精)3 个层面,系统揭示了盐制补骨脂增效的科学本质。

未来研究可从以下方面继续展开:①关键活性成分的深入验证:对代谢组学筛选出的 10 种盐制特征成分进行分离纯化和定量分析,并通过体外细胞模型(如肾小管上皮细胞、系膜细胞等)和体内药效学实验(如成分敲除/补充实验),直接验证其各自的生物活性、作用靶点以及相互间的协同关系,明确其作为质量标志物(Q-Marker)的潜力。②结合蛋白质组学、转录组学及分子生物学技术[如 Western blotting、实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)、免疫荧光、甚至基因敲除/过表达模型],深入探究甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢通路、CRH 通路以及电解质转运、抗氧化、抗炎相关的具体信号分子。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 杨林森,冯泳.中药炮制在中医方剂配伍中的应用

[J]. 中国中医基础医学杂志, 2014, 20(6): 819-820, 837.

Yang L S, Feng Y. Application of Chinese medicine processing in compatibility of Chinese medicine prescriptions [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2014, 20(6): 819-820, 837.

[2] 钟凌云. 中药炮制学 [M]. 第 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021.

Zhong L Y. *Chinese Herbal Processing* [M]. 5th Ed. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2021

[3] 魏岷. 魏氏家藏方 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 1987. Wei X. *Wei's Family Preserved Recipes* [M]. Beijing: China Ancient Medical Literature Press, 1987

[4] 王沐晨, 单思, 刘红宁. 水通道蛋白与“肾主水”理论的关系探析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(18): 205-212.

Wang M C, Shan S, Liu H N. Relationship between aquaporins and “kidney governing water” theory [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2022, 28(18): 205-212.

[5] 毋启桐, 王金山, 杨安南, 等. 基于盐炙前后成分煎出差异与止泻作用相关性探讨补骨脂丸增效机制 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6493-6500.

Wu Q T, Wang J J, Yang A N, et al. To explore synergistic mechanism of Buguzhi Pills based on correlation between antidiarrheal effect and difference of ingredients before and after salt processing [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(21): 6493-6500.

[6] 李凯, 王金山, 周宁, 等. 基于功效评价探讨补骨脂丸组方及盐炙用药的合理性 [J]. 中草药, 2019, 50(22): 5508-5514.

Li K, Wang J J, Zhou N, et al. Research on rationality of salt-processed composition of Buguzhi Pills through efficacy evaluation [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2019, 50(22): 5508-5514.

[7] 中国药典 [S]. 一部. 2020.

Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.

[8] 周宁, 王金山, 李红伟, 等. 盐炙对补骨脂丸中 2 种成分在脾肾虚泄泻大鼠体内药动学的影响 [J]. 中成药, 2022, 44(11): 3422-3427.

Zhou N, Wang J J, Li H W, et al. Effects of stir-frying with salt-water on the *in vivo* pharmacokinetics of two constituents in Buguzhi Pills in diarrhea rats due to spleen-kidney yang deficiency [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(11): 3422-3427.

[9] 吴珊珊. 基于益智仁盐炙前后组成缩泉丸研究“盐炙入肾—肾主水”的作用机制 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.

- Wu S S. Research on the mechanism of "Salt-Frying Enters the Kidney—Kidney Governs Water" based on the composition of shrink urine pill before and after salt-frying of *Fructus Polygalae* [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [10] 王伟. 自发性肾虚体质动物模型水液代谢紊乱分子机制研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2024.
- Wang Y. Molecular mechanism study on water metabolism disorder in animal model of spontaneous kidney yang deficiency constitution [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2024.
- [11] 黄娜, 郝单丽, 郭辉, 等. 牛蒡叶倍半萜内酯对氧糖剥夺/复氧损伤脑微血管内皮细胞血管新生的作用机制 [J]. 世界中医药, 2025, 20(1): 25-33.
- Huang N, Hao D L, Guo H, et al. Mechanisms of melitensin on angiogenesis of brain microvascular endothelial cells after oxygen glucose deprivation/reoxygenation injury [J]. World Chin Med, 2025, 20(1): 25-33.
- [12] 崔占武, 赵建中. 膀胱过度活动症治疗药物临床研究进展 [J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(4): 473-478.
- Cui Z W, Zhao J Z. Clinical research progress on therapeutic drugs for overactive bladder [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2021, 37(4): 473-478.
- [13] 吴清泉, 李卫平. 中药药理学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2021: 120-125.
- Wu Q Q, Li W P. *Pharmacology of Traditional Chinese Medicine* [M]. 3rd edition Beijing: People's Health Publishing House, 2021: 120-125.
- [14] Meltzer H, Massey B. The role of serotonin receptors in the action of atypical antipsychotic drugs [J]. Curr Opin Pharmacol, 2011, 11(1): 59-67.
- [15] Silva J D, Nunes M T. Facilitatory role of serotonin (5-HT) in the control of thyrotropin releasing hormone/thyrotropin (TRH/TSH) secretion in rats [J]. Braz J Med Biol Res, 1996, 29(5): 677-683.
- [16] 张巍岚, 谭从娥. 右归丸对肾阳虚证大鼠肾脏线粒体功能的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(8): 73-76.
- Zhang W L, Tan C E. Effects of Yougui Pills on the function of kidney mitochondria in rats with kidney-yang deficiency syndrome [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2021, 28(8): 73-76.
- [17] 安冬, 梁永林, 李璐, 等. 右归丸及其拆方对肾阳虚大鼠肝线粒体能量代谢变化的影响 [J]. 中成药, 2022, 44(3): 948-951.
- An D, Liang Y L, Li L, et al. Effect of Yougui Pill and its decomposed prescriptions on the changes of energy metabolism of liver mitochondria in rats with kidney-yang deficiency [J]. Chin Tradit Pat Med, 2022, 44(3): 948-951.
- [18] Wang H J, Fan M Z, Liu S C, et al. Redox homeostasis of one-carbon metabolism-dependent reprogramming is critical for RCC progression under exogenous serine/glycine-deprived conditions [J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 1515.
- [19] 李婧婧, 张俊清, 陈蕾, 等. 甘氨酸减少糖基化终产物对链脲佐菌素诱导的糖尿病大鼠肾脏损伤的影响研究 [J]. 中国糖尿病杂志, 2017, 25(6): 536-540.
- Li J J, Zhang J Q, Chen L, et al. Glycine reduced renal lesions caused by AGEs in STZ-induced diabetic rats [J]. Chin J Diabetes, 2017, 25(6): 536-540.
- [20] 王瑾珺, 徐自强, 倪晓洁, 等. 还原型谷胱甘肽对马兜铃酸肾病小鼠肾脏的影响 [J]. 实用医学杂志, 2016, 32(21): 3524-3527.
- Wang J J, Xu Z Q, Ni X J, et al. The impact of glutathione on aristolochic acid nephropathy mice [J]. J Pract Med, 2016, 32(21): 3524-3527.
- [21] 余伟伟. 葡萄糖代谢协同丝氨酸-甘氨酸-一碳代谢网络调控巨噬细胞免疫功能的机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2019.
- Yu W W. Mechanism of glucose metabolism coordinated with serine glycine carbon metabolism network in regulating macrophage immune function [D]. Wuhan: Wuhan University, 2019.
- [22] 杨豪. 代谢工程改造大肠杆菌生产 L-苏氨酸 [D]. 无锡: 江南大学, 2023.
- Yang H. Metabolic engineering modification of *Escherichia coli* for production of L-threonine [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [23] 董迅衍, 王小元. 微生物生产 L-苏氨酸的代谢工程研究进展 [J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(12): 1233-1240.
- Dong X Y, Wang X Y. Advances in microbial metabolic engineering to increase L-threonine production [J]. J Food Sci Biotechnol, 2016, 35(12): 1233-1240.
- [24] 唐维我, 张会永, 李芹, 等. 肾阳虚证动物模型造模方法及模型评价 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(4): 1317-1324.
- Tang W W, Zhang H Y, Li Q, et al. Modeling methods and model evaluation of animal models for kidney yang deficiency syndrome [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2021, 23(4): 1317-1324.
- [25] 李耿, 张喆, 尹西拳, 等. 地黄丸类方对肾阳虚大鼠 HPA 轴的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2015, 26(3): 320-324.
- Li G, Zhang Z, Yin X Q, et al. Effect of Dihuang Wan

- formula series on hypothalamic-pituitary-adrenal axis of kidney-*yang* deficiency rats [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2015, 26(3): 320-324.
- [26] 杨卓, 张希, 陈志敏, 等. 五子衍宗丸中药物盐制后对肾精亏虚大鼠免疫功能的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(9): 2134-2137.
- Yang Z, Zhang X, Chen Z M, et al. Effect of Salt Processing of Wuzi Yanzong Pill on immune function of rats with deficiency of kidney essence [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2019, 30(9): 2134-2137.
- [27] 梁灿璨, 吴诗华, 魏羽, 等. 补骨脂盐炙前后对肾阳虚大鼠肝肾功能及水通道蛋白表达的影响 [J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4713-4718.
- Liang C C, Wu S H, Wei Y, et al. Effect of raw and salt-processed of psoralen on function of liver and kidney and expression of aquaporins in kidney-*yang* deficiency model rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2017, 48(22): 4713-4718.
- [28] 杨潇, 郭家庚, 段宇, 等. 中药调控神经-内分泌-免疫系统治疗肾阳虚证的研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(15): 4153-4165.
- Yang X, Guo J G, Duan Y, et al. Research progress in traditional Chinese medicine treatment of kidney-*yang* deficiency syndrome by regulating neuro-endocrine-immune system [J]. *China J Chin Mater Med*, 2025, 50(15): 4153-4165.
- [29] 白璐, 陈永哲, 王倩, 等. 基于 IKK β /NF- κ B/COX-2 信号通路探讨桃红四物汤加味对糖尿病肾病大鼠炎症因子及肾脏纤维化的干预作用 [J]. *中药药理与临床*, 2024, 40(6): 11-17.
- Bai L, Chen Y Z, Wang Q, et al. Intervention effect of modified Taohong Siwu Decoction (桃红四物汤) on inflammatory factors and renal fibrosis in rats with diabetic nephropathy based on IKK β /NF- κ B/COX-2 signaling pathway [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2024, 40(6): 11-17.

[责任编辑 兰新新]