

基于非靶向血清代谢组学联合网络药理学探究补肾通络方干预膝骨关节炎大鼠的作用机制

蔡均杰¹, 陈永福¹, 李紫琪¹, 李易南¹, 曲婷丽^{1,2,3,4}, 路博丞^{2*}, 郑茜^{1,2,3,4*}

1. 山西医科大学 药学院, 山西 晋中 030600

2. 山西省中医院 骨关节科, 山西 太原 030012

3. 教育部慢性肾脏病医药基础研究创新中心, 山西 太原 030001

4. 山西医科大学 山西省药物合成与新药制备技术重点实验室, 山西 太原 030001

摘要: **目的** 基于血清非靶向代谢组学、血清药物化学和网络药理学, 探究补肾通络方治疗膝骨关节炎(KOA)的药效物质基础和代谢调控机制。**方法** 采用单碘乙酸钠(MIA)诱导大鼠 KOA 模型, 将实验大鼠随机分为对照组、模型组和补肾通络方低、高剂量(400、800 mg·kg⁻¹)组。采用 ELISA 检测大鼠血清炎症因子水平; 通过苏木素-伊红(HE)染色和番红 O-固绿染色观察膝关节软骨组织形态, 并依据国际骨关节炎研究学会(OARSI)半定量评分系统评估软骨退变程度。利用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱技术, 鉴定大鼠血清药物移行成分、筛选潜在差异代谢物并开展代谢通路富集分析; 通过偏最小二乘回归法建立方剂谱效关联模型, 明确核心药效物质。**结果** 补肾通络方可显著降低 MIA 诱导的 KOA 大鼠软骨损伤, 显著抑制机体炎症反应。代谢组学共筛选出 120 个差异代谢物, 主要涉及氨基酸代谢、脂质代谢相关的 6 条通路; 从大鼠血清中鉴定出 18 个补肾通络方入血移行成分。谱效关联分析发现, 甜菜碱、宝藿苣 I 和地黄苦苣元为该方发挥抗炎作用的核心药效物质, 并构建补肾通络方治疗 KOA 的有效成分-靶点-代谢物-通路的关联网络。**结论** 补肾通络方能够显著改善 KOA 大鼠的软骨损伤和炎症反应。其作用机制可能与宝藿苣 I、地黄苦苣元和甜菜碱通过调控 PTGS2 和 ALOX5 基因的表达, 调节血清中亚油酸、鞘氨醇-1-磷酸、棕榈烯酸、磷脂酰酸、棕榈酸等不饱和脂肪酸含量, 进而调控亚油酸和花生四烯酸等代谢通路有关。

关键词: 补肾通络方; 膝骨关节炎; 代谢组学; 网络药理学; 血清药物化学; 宝藿苣 I; 地黄苦苣元; 甜菜碱

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)08-2645-14

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.08.003

Exploring mechanism of Bushen Tongluo Formula in treating knee osteoarthritis in rats through non-targeted serum metabolomics combined with network pharmacology

CAI Junjie¹, CHEN Yongfu¹, LI Ziqi¹, LI Yinan¹, QU Tingli^{1,2,3,4}, LU Bocheng², ZHENG Qian^{1,2,3,4}

1. School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Jinzhong 030600, China

2. Department of Orthopaedics, Shanxi Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

3. Innovation Center for Basic Medical Research on Chronic Kidney Disease, Ministry of Education, Taiyuan 030001, China

4. Key Laboratory of Drug Synthesis and New Drug Preparation Technology of Shanxi Province, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective Based on serum non-targeted metabolomics, serum pharmacokinetics, and network pharmacology, to explore the pharmacodynamic substance basis and metabolic regulatory mechanism of Bushen Tongluo Formula in the treatment of knee osteoarthritis (KOA). **Methods** A rat model of KOA was induced by sodium moniodoethanoate (MIA), and the experimental rats

收稿日期: 2026-02-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82104667); 山西省科技厅基础研究项目(202203021211228); 山西省中医药重点研究室建设项目(zyyyjs2024031); 山西省中医药创新团队(zytd2024008); 山西省卫健委强基工程科技兴医创新计划项目(2026QJGC024)

作者简介: 蔡均杰, 男, 硕士研究生, 从事中药药理学基础研究。E-mail: caijunjie@sxmu.edu.cn

***通信作者:** 郑茜, 女, 博士, 讲师, 从事中药物质基础和作用机制的研究。E-mail: qianz@sxmu.edu.cn

路博丞, 男, 博士, 副主任医师, 从事骨与关节退行性性疾病的基础及临床研究。E-mail: lubocheng0523@163.com

were randomly divided into the control group, the model group, and the low and high-dose (400 and 800 mg·kg⁻¹) groups of the Bushen Tongluo Formula. The levels of inflammatory factors in the rat serum were detected by ELISA; the morphology of knee joint cartilage tissue was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining and safranin O-fast green staining, and the degree of cartilage degeneration was evaluated according to the semi-quantitative scoring system of the International Osteoarthritis Research Society (OARSI). The serum drug transport components of rats were identified by ultra-high performance liquid chromatography-tandem quadrupole/electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometry, potential differential metabolites were screened, and metabolic pathway enrichment analysis was conducted; the formula-spectrum-effect association model was established by partial least squares regression to clarify the core pharmacodynamic substances. **Results** Bushen Tongluo Formula could significantly reduce cartilage damage in MIA-induced KOA rats and significantly inhibit the inflammatory response. A total of 120 differential metabolites were screened out, mainly involving six pathways related to amino acid metabolism and lipid metabolism; 18 serum transport components of the Bushen Tongluo Formula were identified. The spectrum-effect association analysis revealed that betaine, baohuoside I, and rehmapicrogenin were the core pharmacodynamic substances of this formula for anti-inflammatory effects, and the Bushen Tongluo Formula for the treatment of KOA was constructed as an association network of components, targets, metabolites, and pathways. **Conclusion** Bushen Tongluo Formula can significantly improve the cartilage damage and inflammatory response in KOA rats. Its mechanism of action may be related to the regulation of the expression of *PTGS2* and *ALOX5* genes by betaine, baohuo glycoside I, and rehmapicrogenin, which in turn regulates the content of unsaturated fatty acids such as linoleic acid, sphingosine-1-phosphate, palmitoleic acid, phosphatidic acid, and palmitic acid in the serum, thereby regulating metabolic pathways such as linoleic acid and arachidonic acid.

Key words: Bushen Tongluo Formula; knee osteoarthritis; metabolomics; network pharmacology; serum pharmacochimistry; baohuoside I; rehmapicrogenin; betaine

膝骨关节炎 (KOA) 是临床最为常见的骨关节退行性疾病, 常由年龄相关性关节退行性改变、肥胖引发的关节机械负荷过载等因素诱发^[1]。该病属于多因素介导的代谢性骨关节病, 核心病理特征为关节软骨损伤退变、关节局部炎症反应及关节周围骨重塑异常^[2]。KOA 的病理进程是动态活跃的代谢失衡过程, 关节腔内始终存在组织破坏与修复的双向代谢活动; 疾病进展中除关节软骨的进行性损伤外, 常伴随骨赘增生、软骨下骨囊肿、滑膜慢性炎症等一系列典型病理改变^[3]。

补肾通络方源自我国传统中医“天池伤科”流派^[4], 是治疗中医“骨痹”病证的经典方剂, 已在临床长期应用。现有临床研究证实, 补肾通络方单用或联合其他中医外治疗法, 可显著改善 KOA 患者关节疼痛、肿胀、僵硬等核心症状; 长期随访研究进一步表明, 该方可有效延缓 KOA 病情进展, 改善患者关节功能与生活质量^[5-6]。但目前关于补肾通络方治疗 KOA 的具体分子调控机制尚不十分明确。

代谢组学依托液质联用 (LC-MS)、核磁共振 (NMR) 等高精度检测技术, 可系统解析细胞、组织及体液中的内源性代谢物谱, 现已成为中药复方作用机制研究的核心技术手段之一, 在中医药机制探索领域应用广泛^[7]。其中, 血清代谢组学具有样本获取便捷、可同步分析机体代谢紊乱特征与血清

药物成分的独特优势^[8]。由于中药复方具有多成分、多靶点、多通路的作用特点, 仅依靠常规药效学指标, 难以全面揭示补肾通络方治疗 KOA 的药效物质基础与代谢调控机制。基于此, 本研究整合血清代谢组学技术与药效学评价, 系统探究补肾通络方干预 KOA 的药效物质基础及潜在代谢调控分子机制, 为其临床推广应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

33 只 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体质量 (200±20) g, 购自北京斯贝福生物技术有限公司, 生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010。饲养环境条件相对湿度 60%, 室温 25 °C, 昼夜节律为 12 h 光照/12 h 黑暗, 大鼠可自由摄食饮水。实验开始前 7 d 适应性饲养。本研究经山西省中医药研究院医学伦理委员会批准 (批准号 SZYLY2022KY-0310)。

1.2 药物

补肾通络方由熟地黄 (玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根炮制加工品)、鸡血藤 (豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn 的干燥藤茎)、烫骨碎补 [水龙骨科植物槲蕨 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. 的干燥根茎烫制品]、烫狗脊 [蚌壳蕨科植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎烫制品]、

炙淫羊藿（小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu* Maxim. 的干燥叶）、肉苁蓉（列当科植物肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 的干燥带鳞叶的肉质茎）、制何首乌（蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根炮制加工品）组成。所有中药饮片均购自北京同仁堂晋中药店，经山西医科大学白云娥教授鉴定，均为正品。采用传统水煎法提取，分别加入 8 倍量水煎煮 3 次，合并滤液后浓缩、冻干（冻干粉得率为 19.05%），所得冻干粉经研磨均匀后密封保存于 20 °C。采用 HPLC 法检测^[9]，冻干粉中有效成分二苯乙烯苷质量分数为 2.61 mg·g⁻¹。

1.3 试剂

单碘乙酸钠（MIA，上海阿拉丁试剂有限公司，批号 D2110097）；色谱级甲醇、乙腈、甲酸和纯水（美国赛默飞公司）；苏木素-伊红（HE）染色液（武汉赛维尔生物科技有限公司，批号 G1005）；番红染色液（北京索莱宝科技有限公司，批号 G1371）；白细胞介素（IL）-6、IL-1 β 和肿瘤坏死因子（TNF）- α 酶联免疫吸附实验试剂盒（上海茁彩生物科技有限公司，批号 ZC-36391、ZC-36404、ZC-37624）。

1.4 仪器

UPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 质谱仪（美国赛默飞公司）；SB-5200 DTD 型超声波清洗器（宁波新芝生物科技有限公司）；KDC-149HR Neofuge 15R 型高速冷冻离心机（上海力新仪器有限公司）；Molecular Devices 酶标仪（美国美谷分子仪器有限公司）；徕卡-2016 转轮式切片机（德国 Leica 公司）；Pannoramic 250 型数字切片扫描仪（匈牙利 3DHISTECH 公司）。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

将 33 只 SD 大鼠随机分为 4 组，其中假手术组 3 只，模型组及补肾通络方低、高剂量（400、800 mg·kg⁻¹）组各 10 只。所有大鼠经 ip 戊巴比妥钠（35 mg·kg⁻¹）麻醉后，于双侧膝关节腔内分别注射 40 μ L 0.114 mol·L⁻¹ MIA 溶液，构建大鼠 KOA 模型^[10]；假手术组大鼠同期于双侧膝关节腔内注射等量 0.9%氯化钠溶液。造模结束后，所有大鼠常规饲养 7 d，使模型状态趋于稳定。

造模后第 8 天启动药物干预，补肾通络方冻干粉以蒸馏水溶解后进行 ig 给药，每天 1 次，连续干预 28 d。其中假手术组与模型组大鼠 ig 等体积蒸馏水，低、高剂量给药组分别 ig 对应质量浓度的补肾

通络方药液〔（给药剂量根据大鼠临床等效剂量（411.42 mg·kg⁻¹）设置〕。

实验最后 1 天，所有大鼠禁食 12 h，末次给药 1 h 后，ip 戊巴比妥钠进行麻醉。采用腹主动脉取血法采集大鼠血液样本，室温静置 2 h 后，于 4 °C、12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，分离获取血清上清液，分装于无菌 EP 管内，置于-80 °C 超低温冰箱中保存备用。采血完成后立即剥离大鼠双侧完整膝关节软骨组织，以备后续切片染色检测使用。

2.2 血清炎症因子检测

将血清样本于室温下平衡后，按照试剂盒说明书的操作步骤，检测各组血清中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平。

2.3 HE 和番红 O-固绿染色

关节组织经 4%多聚甲醛固定 48 h 后，转入 15% EDTA 溶液进行脱钙处理。脱钙完成后，进行脱水、石蜡包埋及切片。经 HE 染色，或番红 O-固绿染色后，使用数字切片扫描仪采集图像观察。采用国际骨关节炎研究学会（OARSI）推荐的半定量评分系统^[11]评估大鼠膝关节软骨的退变程度。

2.4 代谢组学分析

2.4.1 血清样本处理 取 100 μ L 血清样本，按 1:5 加入预冷无水乙腈，充分涡旋混匀后置于冰水浴中超声处理，并静置孵育 20 min 沉淀蛋白。随后在 4 °C、13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min，收集上清液 400 μ L，于 4 °C 条件下旋干。干燥残渣用 100 μ L 无水甲醇复溶，冰水浴中超声处理后再离心，取上清液，经 0.22 μ m 滤膜滤过后转入进样瓶。为评估进样过程的稳定性，将等体积各组血清样本混合制备质控（QC）样本。同时将补肾通络方冻干粉溶液稀释至适当浓度，经 0.22 μ m 滤膜滤过，作为方剂体外进样样本。

2.4.2 进样条件

（1）色谱条件：采用 Waters HSS T3（100 mm×2.1 mm，1.8 μ m）色谱柱，柱温 40 °C，体积流量 0.35 mL·min⁻¹，进样体积 3 μ L。采用 0.1%甲酸水溶液（A）-0.1%甲酸乙腈溶液（B）梯度洗脱：0→2 min，2% B；2→3 min，2%~35% B；3→17 min，35%~70% B；17→18 min，70% B；18→29 min，70%~98% B；29→31 min，98% B；31→32 min，98%~2% B；32→35 min，2% B。

（2）质谱条件：采用 Q-Exactive-Orbitrap 高分辨质谱仪搭配电喷雾电离源（ESI），正负离子模式切换扫描。雾化气体为高纯度氮气（N₂），碰撞气体

为高纯度氦气(He)。采集模式包括全扫描与数据依赖二级质谱扫描,扫描范围 m/z 100~1 500。毛细管电压:正离子模式 3.5 kV,负离子模式 2.5 kV;脱溶剂气体温度为 300 °C,毛细管温度为 320 °C。鞘气流压力为 241 kPa,辅助气流压力为 69 kPa。

2.4.3 代谢组学分析 采用 Compound Discoverer 3.2.0.421 软件完成色谱峰提取与对齐,质量容差 5×10^{-6} ,色谱信噪比阈值 1.5,样品保留时间对齐容差 0.2 min。对原始峰面积数据开展 Z-score 标准化校正,并剔除组内相对标准偏差(RSD)大于 30% 的化合物。预处理后,将数据导入 SIMCA 14.0 软件进行多变量统计分析。包括主成分分析(PCA)与正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。以 OPLS-DA 模型中变量投影重要性(VIP)>1 且 t 检验 $P < 0.05$ 为标准,确定差异代谢物。随后根据代谢物表达趋势,选取给药组中显著回调的差异代谢物。最后,利用 MetaboAnalyst 6.0 (<https://www.metaboanalyst.ca/>) 平台进行代谢通路富集分析。

2.5 移行成分鉴定

移行成分数据的预处理与代谢组学相同,均采用 Compound Discoverer 3.2.0.421 软件完成。移行成分的质谱注释依托 MS-DIAL 配套 MS/MS 公共数据库完成,数据库包含 ReSpect、BMDMS-NP、GNPS 及 Fiehn HILIC,收录各类植物次生代谢物与天然产物的二级碎片质谱信息。分别对比假手术组、模型组与给药组血清样本,筛选药物原型入血成分:将给药组中检出、且给药组峰面积为假手术组、模型组的 10 倍以上的化合物初步判定为血清移行成分。最后联合上述数据库的二级质谱图谱信息,对候选移行成分进行最终结构确证。

2.6 网络药理学分析

根据“2.5 移行成分鉴定”项下所鉴定的移行成分化学结构,分别在 SwissTargetPrediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 及中药系统药理学(TCMSP, <https://www.tcmsp-e.com/>) 数据库中预测其潜在靶点。以“knee osteoarthritis(膝骨关节炎)”为检索词,在人类基因数据库(GeneCards, <https://www.genecards.org/>) 和人类孟德尔遗传数据库(OMIM, <https://omim.org/>) 取与疾病相关的基因靶点。经 Venny 分析筛选交集靶点后,将交集基因导入注释、可视化与综合发现数据库平台(DAVID, <https://david.ncicrf.gov/>) 进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)

通路富集分析。

2.7 谱效关联分析

为消除不同变量间的量纲影响,将移行成分峰面积、代谢物峰面积及大鼠血清中 IL-1、IL-6、TNF- α 的浓度水平分别进行 Z-score 标准化处理。随后采用偏最小二乘回归分析(PLSR)。通过 PLSR 模型中各变量的 VIP 值评估其与炎症因子水平的相关性强弱,并以 VIP>1 作为筛选标准,确定相关性显著的候选指标^[12]。

2.8 代谢物-反应-酶-基因网络的绘制

在 Cytoscape 3.10.3 中,通过 Metascape 插件整合代谢组学差异代谢物与关键靶点数据,构建代谢物-反应-酶-基因相互作用网络。

2.9 统计方法

采用 SIMCA 14.0 软件对数据进行 Z-score 标准化处理及多元统计分析。使用 R 4.4.3 软件进行偏最小二乘回归分析(PLSR)。组间差异的统计分析采用 GraphPad Prism 10 软件,两组比较采用独立样本 t 检验,多组比较采用单因素方差分析(ANOVA)。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

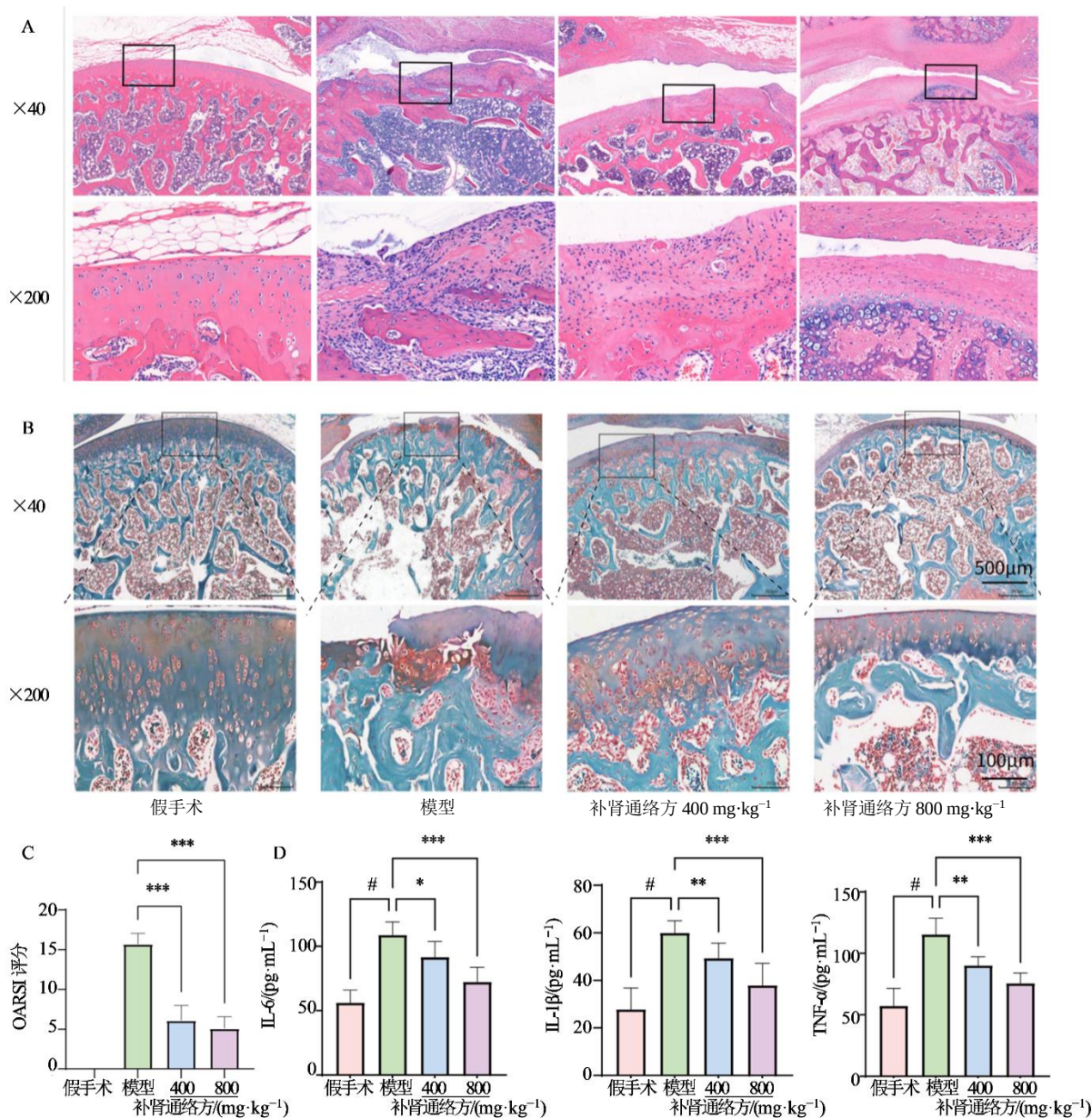
3 结果

3.1 膝骨关节病理形态

HE 染色结果显示(图 1-A),与假手术组相比,模型组大鼠关节面粗糙破损,软骨层变薄,滑膜增生且厚薄不均,关节腔间隙增大,骨小梁坏死,纤维组织增生,软骨细胞排列紊乱。补肾通络方低、高剂量组关节面较为平滑,关节腔间隙较小,但仍可见部分滑膜组织炎症及少量软骨细胞坏死。番红 O-固绿染色结果(图 1-B)显示,模型组软骨层出现全层缺失或局部缺损,表面不平整,厚薄不均,着色不均匀,潮线不整齐或不完整等病理改变,补肾通络方组病变程度明显减轻。基于番红 O-固绿染色进行的 OARSI 评分用于综合评价骨关节炎过程中软骨结构、细胞形态及基质变化及病变发展程度。统计结果显示(图 1-C),与模型组相比,补肾通络方低、高剂量组软骨层厚度增加,缺损减少,着色均匀,潮线完整,OARSI 评分显著降低($P < 0.001$)。

3.2 血清炎症因子水平

与假手术组相比,模型组血清促炎因子 IL-6、TNF- α 及 IL-1 β 水平均显著升高($P < 0.05$),大鼠的膝骨关节处于炎症损伤状态;与模型组相比,补肾通络方低、高剂量组干预后血清促炎因子 IL-6、TNF- α 及 IL-1 β 水平均显著下降($P < 0.05$ 、0.01、



A-大鼠膝关节组织的 HE 染色图; B-大鼠膝关节组织番红 O-固绿染色图; C-基于番红 O-固绿切片的 OARSJ 评分; D-血清炎症因子表达结果; 与假手术组比较: # $P < 0.05$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-HE staining image of rat knee joint tissue; B-safranin O-fast green staining image of rat knee joint tissue; C-OARSJ score based on safranin O-fast green staining; D-expression results of serum inflammatory factors; # $P < 0.05$ vs sham operation group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 1 补肾通络方对 KOA 模型大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 1 Effects of Bushen Tongluo Formula on KOA model rat ($\bar{x} \pm s$)

0.001)。表明补肾通络方对骨关节炎大鼠的软骨损伤及炎症水平具有明显改善作用(图 1-D)。上述结果显示,补肾通络方低、高剂量均可改善软骨损伤、降低炎症因子,存在一定剂量相关性,高剂量组 OARSJ 评分, IL-1 β 、IL-6、TNF- α 抑制效果优于低剂量组;为聚焦核心药效对应的代谢与物质变化,本

研究仅选取效应最优的高剂量组开展血样后续分析。

3.3 补肾通络方的血清移行成分鉴定结果

对假手术组、模型组和补肾通络方高剂量组血清进行检测分析,分别采集正、负离子模式下的总离子流色谱图(图 2)。结合对照品的二级质谱裂解规律,共鉴定出 18 个血清移行成分(表 1)。

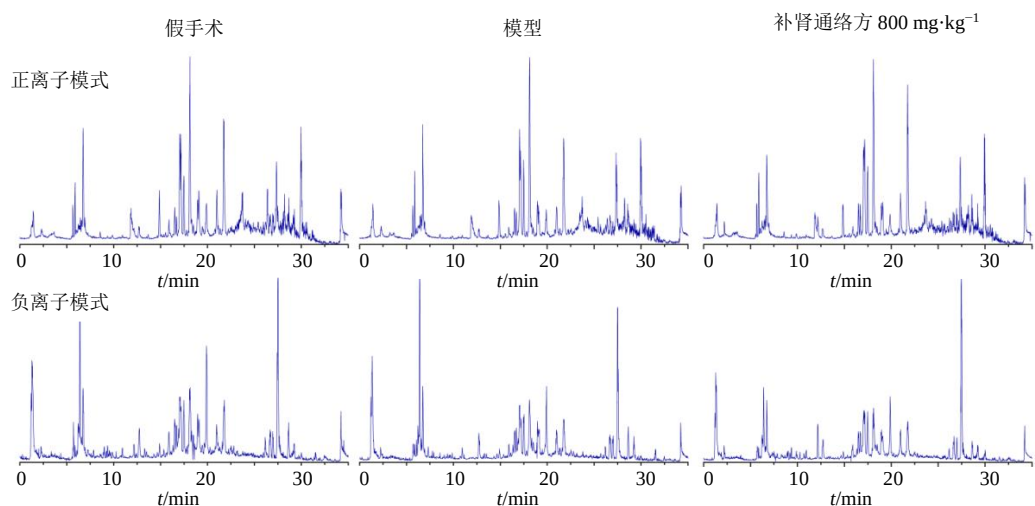


图 2 大鼠血清样品总离子流图
Fig. 2 Total ion chromatogram of rat serum samples

表 1 补肾通络方血中移行成分鉴定结果

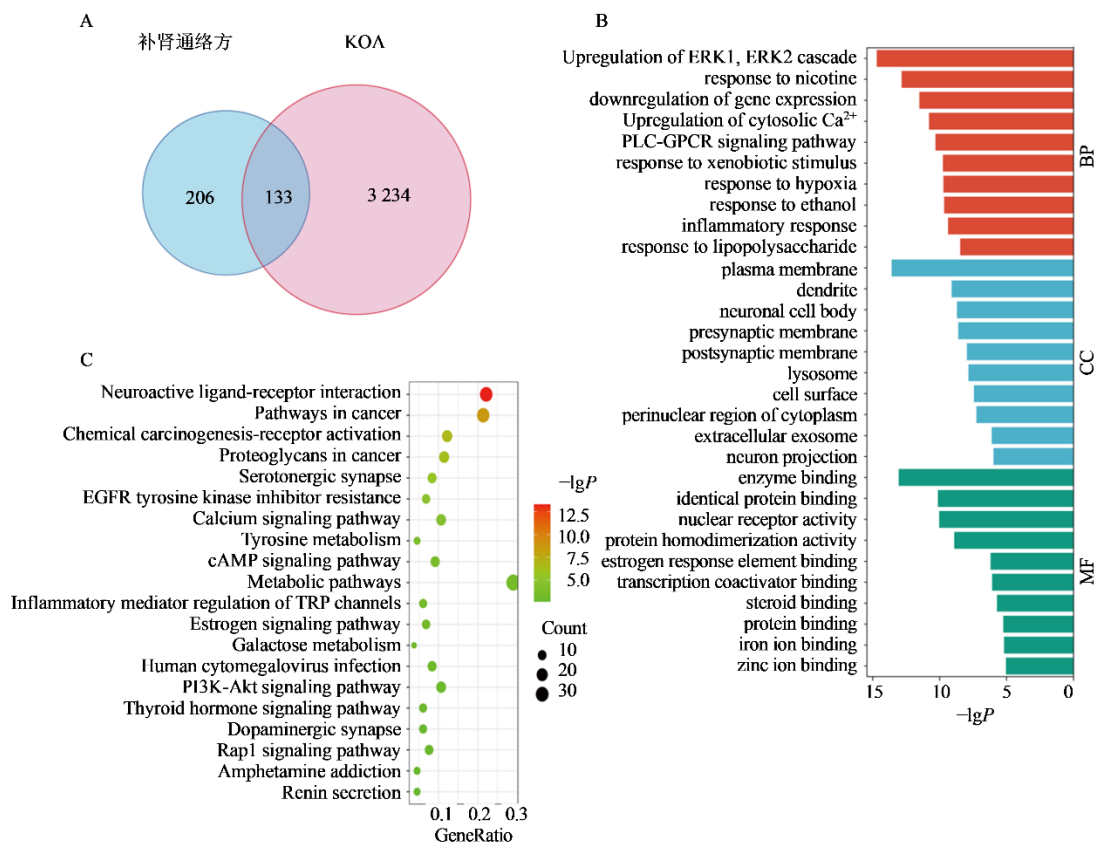
Table 1 Identification results of migrated components in serum of Bushen Tongluo Formula

序号	化合物	t/min	离子模式	分子式	m/z		碎片离子	误差/ ($\times 10^{-6}$)
					理论值	实测值		
1	甜菜碱	1.45	POS	C ₅ H ₁₁ NO ₂	118.086 25	118.086 38	74.060 5、59.073 5、58.065 7	1.10
2	麦芽酚	1.43	POS	C ₆ H ₆ O ₃	127.038 97	127.038 99	109.028 6、81.033 9、53.039 2	0.16
3	水杨酸	8.01	NEG	C ₇ H ₆ O ₃	137.024 41	137.024 46	93.034 5、94.037 8、65.0398	0.36
4	香草醛	9.31	NEG	C ₈ H ₈ O ₃	151.040 06	151.040 10	107.050 2、89.024 4、71.013 8	0.26
5	原儿茶酸	6.51	NEG	C ₇ H ₆ O ₄	153.019 33	153.019 68	123.045 1、109.029 4、66.034 9	2.29
6	苯丙氨酸	5.73	NEG	C ₉ H ₁₁ NO ₂	164.071 70	164.071 91	120.080 8、93.070 1、84.960 0	1.28
7	4-羟基苯丙酮酸	7.41	NEG	C ₉ H ₈ O ₄	179.0349 8	179.035 32	135.045 2、59.013 8	1.90
8	果糖	1.44	NEG	C ₆ H ₁₂ O ₆	179.056 11	179.055 97	131.034 6、113.024 0	-0.78
9	地黄苦苷元	10.69	NEG	C ₁₀ H ₁₆ O ₃	183.102 66	183.103 02	181.071 4、89.024 4	1.97
10	壬二酸	7.34	NEG	C ₉ H ₁₆ O ₄	187.097 58	187.097 66	125.097 2、97.065 8	0.43
11	表儿茶素	9.71	NEG	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.071 76	289.069 97	221.081 9、141.053 5、121.029 4	-6.19
12	庚二酸	9.66	NEG	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	329.233 34	329.233 45	171.102 7、139.112 9	0.33
13	没食子酸-己糖	5.74	NEG	C ₁₄ H ₂₀ O ₉	331.103 45	331.103 67	169.014 1、107.013 7、151.003 6	0.66
14	大黄素单甲醚-O-己糖	9.51	NEG	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	445.114 02	445.115 07	283.061 1、240.042 8、59.013 8	2.36
15	大黄素	9.23	NEG	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 54	269.045 94	199.041 8、185.061 2、182.038 5	1.49
16	紫云英苷	6.95	NEG	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	447.093 28	447.094 39	271.024 7、151.003 6、107.013 9	2.48
17	宝藿苷I	12.49	NEG	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₀	513.176 62	513.177 51	351.087 4、323.091 8	1.73
18	5, 7-二羟基-1(3H)-异苯并呋喃酮	6.35	NEG	C ₈ H ₆ O ₄	165.019 33	165.019 51	121.029 4、91.916 5	1.09

3.4 基于血清移行成分的关键作用靶点预测和筛选

根据鉴定的 18 个血清移行成分, 预测获得 339 个潜在作用靶点。同时, 通过数据库检索共收集到 3 367 个与 KOA 相关的靶点。利用 Venny 工具 (图 3-

A), 共得到 133 个交集靶点。GO 功能富集注释分析的生物过程如图 3-B 所示, 其中“缺氧反应”对应 KOA 关节腔内低氧的特征, “炎症反应上调”和“脂多糖反应上调”提示补肾通络方可能通过增强对炎症刺激



A-KOA 相关靶点和补肾通络方入血成分预测靶点韦恩图; B-GO 富集分析; C-KEGG 富集分析。

A-Venn diagram of relevant targets of KOA and components of Bushen Tongluo formula; B-GO enrichment analysis; C-KEGG enrichment analysis.

图 3 药物与疾病靶点的网络药理学分析结果

Fig. 3 Network pharmacology analysis results of drug-disease target interactions

的响应对抗 KOA。图 3-C 所示为 KEGG 通路富集分析结果。其中,“蛋白聚糖代谢”提示补肾通络方可能通过调节软骨细胞外基质的合成与降解发挥作用,“PI3K-Akt 信号通路”与“酪氨酸代谢”通路的富集则与 KOA 的炎症反应和免疫调节密切相关。

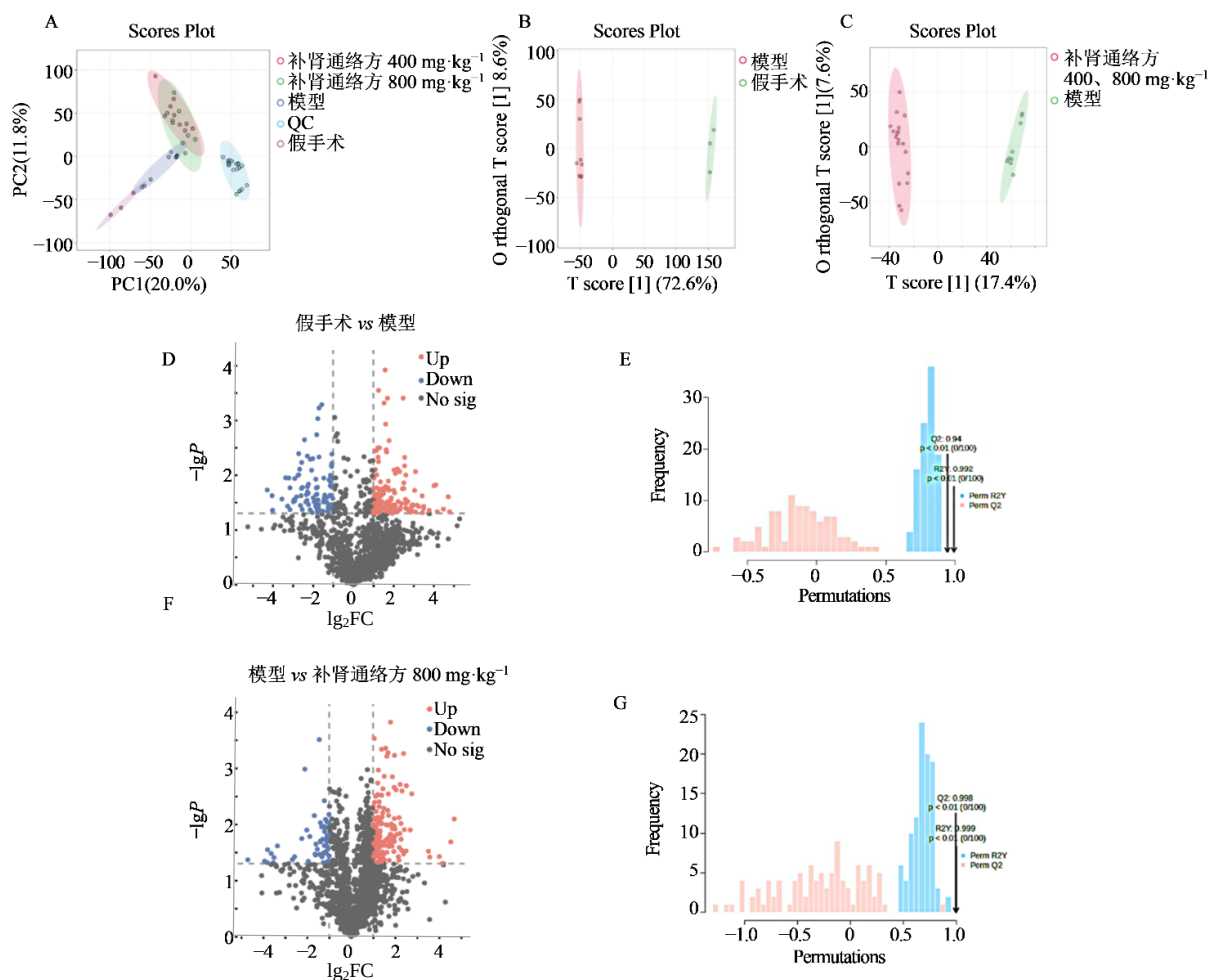
3.5 补肾通络方改善 KOA 相关代谢异常

PCA 结果(图 4-A)显示, QC 样本在得分图中分布集中, 聚集性良好, 表明本研究的代谢组学检测方法具有良好的稳定性与重复性。OPLS-DA 结果(图 4-B、C)显示, 假手术组、模型组以及高、低剂量给药组的大鼠血清代谢谱在模型中分别聚集, 并呈明显组间区分, 提示各组之间存在显著的代谢差异。为验证 OPLS-DA 模型的稳健性与预测能力, 分别对“假手术 vs 模型”与“模型 vs 补肾通络方 $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ”的模型进行了 100 次置换检验(图 4-E、G)。结果显示, 前者模型的拟合度(R^2)为 0.992, 预测能力(Q^2)为 0.940; 后者模型的 R^2 为 0.999, Q^2 为 0.998, 表明模型具有较强的解释性

与预测性, 能够有效区分不同组别的样本。基于 PCA 和 OPLS-DA 评分, 对所有代谢物进行差异分析并绘制代谢物火山图(图 4-D、F)。与假手术组相比, 模型组中 171 个代谢物显著上调, 113 个显著下调; 与模型组相比, 给药组中 223 个代谢物显著上调, 96 个显著下调。基于 OPLS-DA 模型并结合 $VIP > 1$, 筛选出具有统计学意义的差异代谢物。进一步按代谢趋势筛选出 120 个在给药后出现回调的代谢物(图 5-A)。对上述 120 个代谢物进行 KEGG 通路富集分析(图 5-B), 共富集到 6 条显著通路, 分别为“精氨酸生物合成”“缬氨酸/亮氨酸/异亮氨酸生物合成”“甘氨酸/丝氨酸/苏氨酸代谢”“不饱和脂肪酸生物合成”“精氨酸和脯氨酸代谢”“新霉素/卡那霉素/庆大霉素生物合成”通路。上述结果表明, 补肾通络方可能主要通过调节氨基酸代谢与不饱和脂肪酸代谢来发挥干预 KOA 的作用。

3.6 补肾通络方抗炎活性谱效关联分析

基于偏最小二乘回归(PLSR)建立谱效关联模



A-PCA 得分图; B-假手术组与模型组的 OPLS-DA 得分图; C-模型组与给药组的 OPLS-DA 得分图; D-假手术组与模型组火山图; E-假手术组与模型组 OPLS-DA 置换检验结果; F-模型组与补肾通络方高剂量组火山图; G-模型组与补肾通络方高剂量组 OPLS-DA 置换检验结果。
A-PCA score plot; B-OPLS-DA score plots of sham operation group and model group; C-OPLS-DA score plots of model group and administration group; D-volcano plots of sham operation group and model group; E-OPLS-DA permutation test results of sham operation group and model group; F-volcano plots of model group and high-dose group of Bushen Tongluo Formula; G-OPLS-DA permutation test results of model group and high-dose group of Bushen Tongluo Formula.

图 4 大鼠血清样本多元统计分析结果

Fig. 4 Multivariate statistical analysis results of rat serum samples

型, 分别分析大鼠血清移行成分、差异代谢物、炎症因子 3 者之间的相关性 (图 6)。将与移行成分或血清炎症因子浓度存在显著相关性的前 20 个回调代谢组作为关键差异代谢物 (表 2)。结果显示, 宝藿苣I、地黄苦苣元和甜菜碱在代谢物回调及炎症因子抑制中贡献显著, 提示其可能为补肾通络方发挥抗炎作用的关键活性成分。进一步分析发现, 甜菜碱与缬氨酸、肌酸、鞘氨醇-1-磷酸、苯甲酸、丙二酸、胆酸、去氧胆酸、7-酮去氧胆酸等代谢物呈显著相关; 宝藿苣I与去氧胆酸、鞘氨醇-1-磷酸、色氨酸、3-羟基-3-羧甲基己二酸等显著相关; 地黄苦苣

元则与缬氨酸、7-酮去氧胆酸、鞘氨醇-1-磷酸、苯甲酸、丙二酸、胆酸、异戊酰甘氨酸显著相关。

3.7 整合代谢组学与关键靶点构建补肾通络方调控代谢网络

将移行成分预测获得的 133 个靶点与 120 个差异回调代谢物整合构建出“代谢物-反应-酶-靶点”网络 (图 7), 主要涉及“亚油酸代谢和花生四烯酸代谢”“酪氨酸代谢”“缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸代谢”等多个代谢通路。网络清晰展现了靶点与差异代谢物之间的关系。在亚油酸和花生四烯酸代谢通路中, *ALOX5* 和 *PTGS2* 分别编码了 5-脂氧合

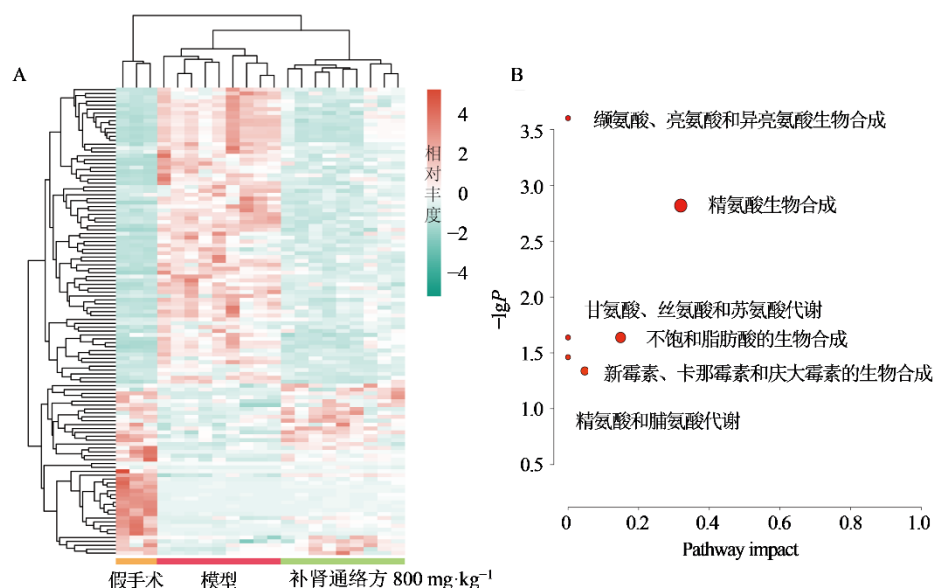


图 5 补肾通络方调节 KOA 的差异代谢物聚类分析 (A) 和通路富集分析 (B)

Fig. 5 Cluster analysis (A) and pathway enrichment analysis (B) of differential metabolites of Bushen Tongluo Formula in regulating KOA

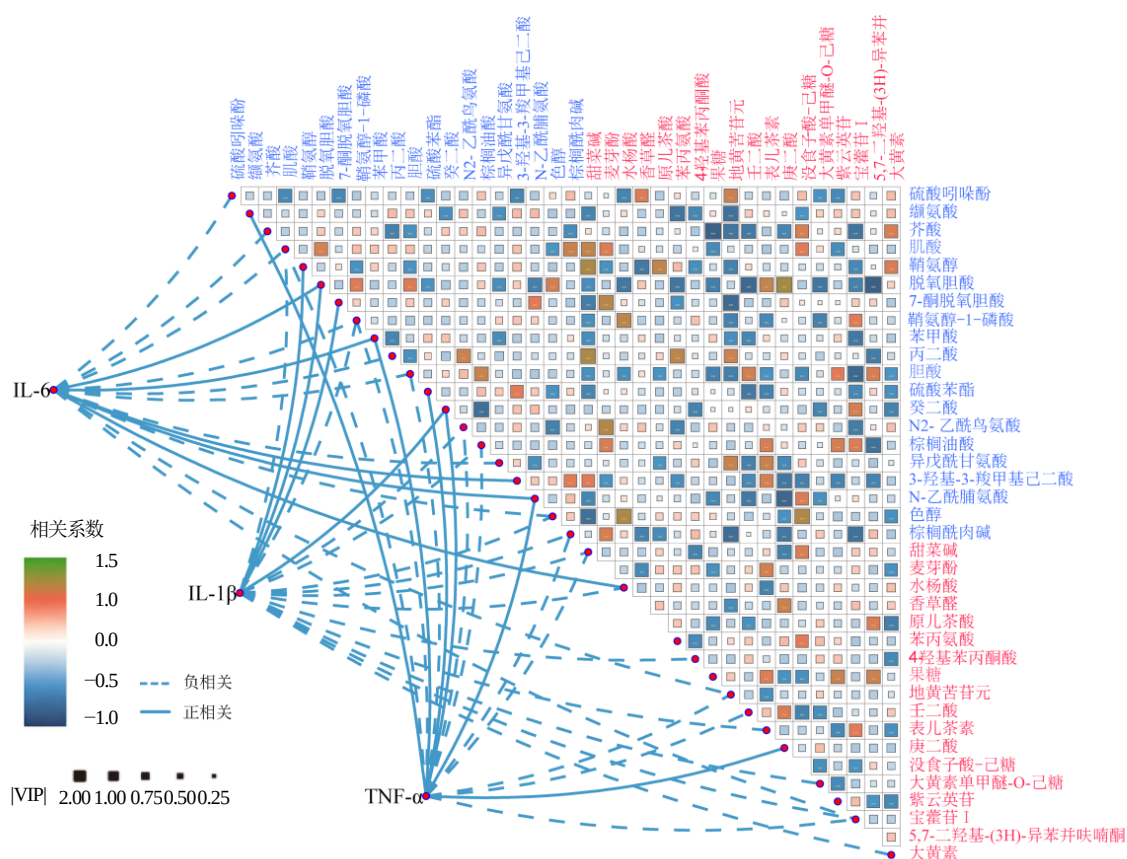


图 6 大鼠血清移行成分 (红色)、差异代谢物 (蓝色) 和炎症因子 (黑色) 的关联分析

Fig. 6 Correlation analysis of migrating components in rat serum (red), differential metabolites (blue), and inflammatory factors (black)

表 2 关键差异代谢物信息

Table 2 Key callback differential metabolite information

序号	代谢物	分子式	t/min	m/z	检出模式	模型 vs 假手术			补肾通路方高剂量 vs 模型		
						VIP	log ₂ FC	变化	VIP	log ₂ FC	变化
1	硫酸吡啶酚	C ₈ H ₇ NO ₄ S	17.12	212.002 54	NEG	1.39	-0.67	↓	1.07	1.03	↑
2	缬氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂	7.44	118.086 48	POS	1.09	1.18	↑	1.15	-1.03	↓
3	芥酸	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	7.89	338.341 57	POS	1.43	0.95	↑	1.26	-1.91	↓
4	肌酸	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	15.71	132.076 88	POS	2.10	1.14	↑	1.50	-1.13	↓
5	鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₇ NO ₂	6.45	300.289 63	POS	1.32	0.82	↑	2.04	-1.74	↓
6	脱氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	11.19	391.285 53	NEG	1.22	1.47	↑	1.15	-2.32	↓
7	7-酮脱氧胆酸	C ₂₄ H ₃₈ O ₅	17.05	405.264 77	NEG	1.34	0.59	↑	1.22	-1.50	↓
8	鞘氨醇-1-磷酸	C ₁₈ H ₃₈ NO ₅ P	12.74	378.241 61	NEG	1.12	0.69	↑	1.26	-0.67	↓
9	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂	15.07	121.029 51	NEG	1.10	0.65	↓	1.61	2.05	↑
10	丙二酸	C ₃ H ₄ O ₄	19.03	103.003 70	NEG	1.45	-1.02	↓	2.03	0.88	↑
11	胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₅	15.52	407.280 35	NEG	1.05	2.63	↑	1.22	-1.58	↓
12	硫酸苯酯	C ₆ H ₆ O ₄ S	6.26	233.012 58	NEG	1.08	-1.33	↓	1.15	1.81	↑
13	癸二酸	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	23.73	201.113 31	NEG	1.55	0.93	↑	1.29	-0.91	↓
14	N2-乙酰鸟氨酸	C ₇ H ₁₃ N ₃ O ₃	16.71	175.107 69	POS	1.15	1.23	↑	1.50	-1.87	↓
15	棕榈油酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	21.77	313.238 65	NEG	1.48	0.70	↑	1.08	-0.67	↓
16	异戊酰甘氨酸	C ₇ H ₁₃ NO ₃	16.69	158.082 37	NEG	1.04	-1.84	↓	2.21	1.30	↑
17	3-羟基-3-羧甲基己二酸	C ₈ H ₁₂ O ₆	14.86	219.051 03	NEG	2.25	0.61	↑	1.67	-1.06	↓
18	N-乙酰脯氨酸	C ₇ H ₁₁ NO ₃	15.59	156.066 62	NEG	1.39	0.74	↑	1.17	-1.70	↓
19	色醇	C ₁₀ H ₁₁ NO	15.90	194.117 52	NEG	1.40	0.80	↑	1.03	-1.00	↓
20	棕榈酰肉碱	C ₂₃ H ₄₅ NO ₄	5.86	400.342 37	POS	1.16	1.53	↑	1.18	-1.65	↓

“↑”-含量上升;“↓”-含量下降; POS-阳离子模式; NEG-阴离子模式。

“↑”-content increases; “↓”-content decreases; POS-positive ion mode; NEG-negative ion mode.

酶和环氧合酶催化反应生成 5 (S) -HPETE 和 9 (S) -HPODE 等脂质氧化代谢产物。在 KOA 的持续慢性炎症状态中, 这类氧化脂质介导的炎症放大反应被认为是导致软骨降解和疼痛的重要机制之一^[13]。因此, 补肾通路方可能通过调控 *ALOX5* 和 *PTGS2* 所编码酶的表达与活性, 从而减少脂质过氧化物的生成, 缓解关节局部的氧化应激和炎症反应。

3.8 综合血清药物化学与代谢组学揭示补肾通路方的代谢调控机制

综合网络药理学、代谢组学及谱效关联分析结果, 绘制药材-成分-靶点、代谢物-通路网络 (图 8)。结果表明, 补肾通路方可能通过多成分-多靶点/代谢物-多通路的协调作用治疗 KOA。例如, 淫羊藿中的主要有效成分宝藿苷 I 吸收入血后, 调控 *PTGS2* 和 *ALOX5* 蛋白的表达及代谢物亚油酸、鞘氨醇-1-磷酸、棕榈烯酸、磷脂酰酸、棕榈酸在血液中的浓度, 影响亚油酸代谢、不饱和脂肪酸 β-氧化、

酪氨酸代谢、雌激素生物合成和代谢、磷脂代谢及不饱和脂肪酸的生物合成从而发挥其抗炎活性。此外, 从图中发现亚油酸代谢和花生四烯酸代谢等促炎通路在补肾通路方调节的代谢通路中占据重要地位, 这些通路与 KOA 的炎症及炎性疼痛密切相关, 该结果为补肾通路方调控代谢治疗 KOA 的机制研究提供参考。

4 讨论

本研究通过构建 KOA 大鼠模型, 明确了补肾通路方的干预效应, 结果证实该方可有效改善大鼠软骨病理损伤、抑制关节炎症反应, 在动物模型中展现出显著的 KOA 治疗效果。通过血清药物化学分析, 本研究共鉴定出 18 种补肾通路方血清移行成分, 为阐释该复方的药效物质基础提供了直接实验依据。基于非靶向代谢组学筛选, 最终识别出 120 个可被补肾通路方显著调控的差异代谢物, 相关代谢产物富集于多条关键代谢通路, 其中以氨基酸代

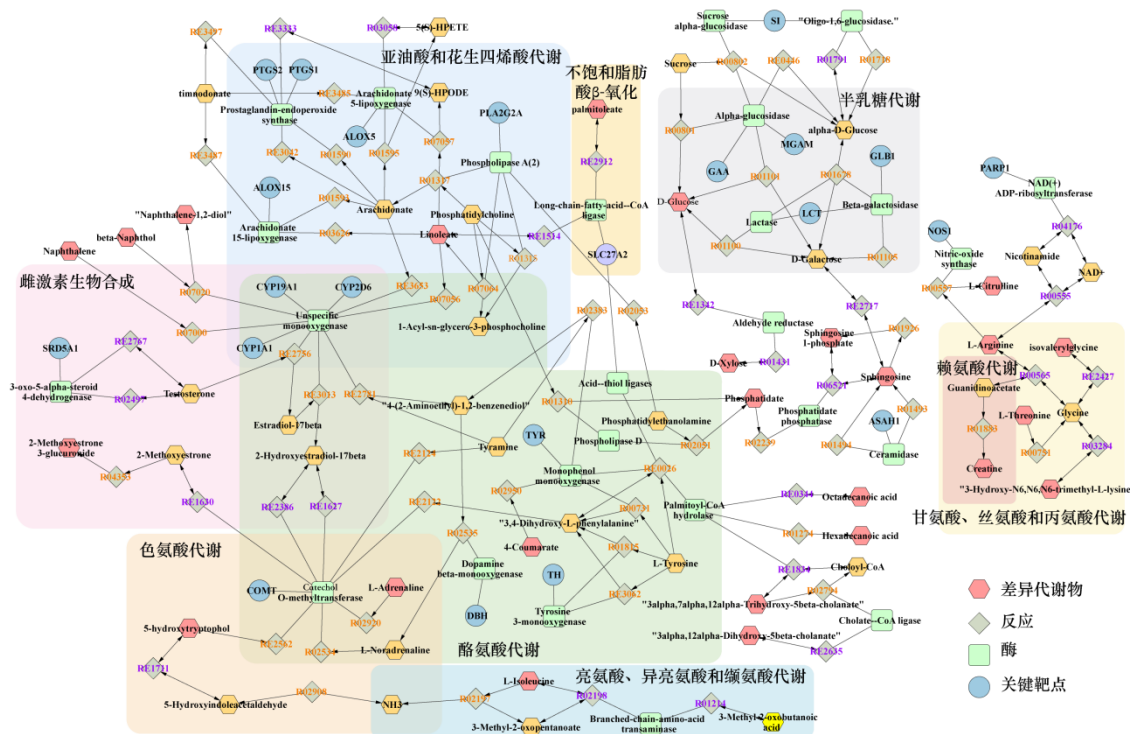


图 7 代谢物-反应-酶-靶点网络

Fig. 7 Regulatory network of metabolite-driven enzyme reactions and targets

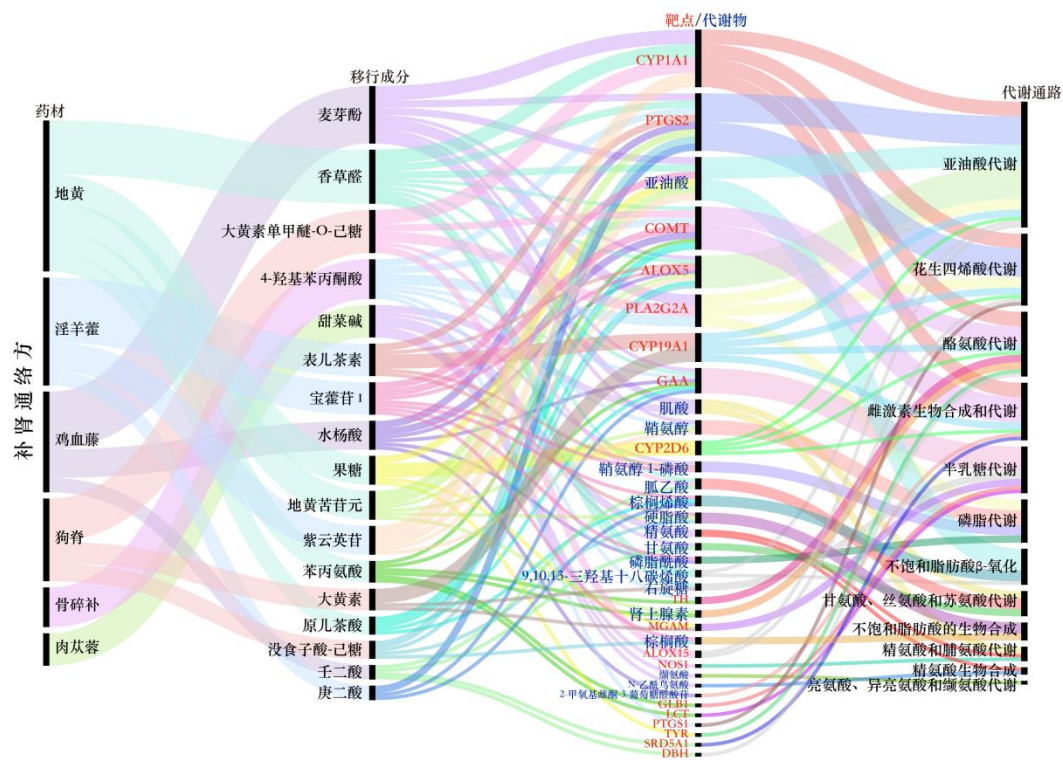


图 8 药材-成分-代谢物/靶点-通路图

Fig. 8 Herbs-components-metabolites/targets-pathways network

谢与不饱和脂肪酸代谢通路的调控效应最为显著,提示补肾通络方可能通过调控上述代谢通路及相关代谢物,发挥抗 KOA 作用。本研究进一步整合谱效关联分析与网络药理学靶点预测结果,成功构建“成分-代谢物-炎症因子”“代谢物-靶点”多维关联网络,最终系统阐明了补肾通络方“成分-靶点-代谢物-通路”的整体调控机制图谱。

代谢组学分析结果表明,补肾通络方可显著干预机体氨基酸代谢与不饱和脂肪酸代谢进程。其中,差异显著的氨基酸代谢物主要包括缬氨酸、亮氨酸、丙氨酸、精氨酸、赖氨酸等;不饱和脂肪酸代谢物则涵盖亚油酸、棕榈烯酸、芥酸等。现有研究已证实,氨基酸与脂质代谢紊乱是 KOA 特征性代谢紊乱表现^[14-16]。其中,精氨酸可促进术后关节组织修复^[17];赖氨酸及其代谢产物脯氨酸具备良好的抗炎、抗氧化活性,能够有效缓解 KOA 引发的关节炎与疼痛症状^[18-19]。在脂质代谢层面,n-6 型多不饱和脂肪酸可介导炎症级联反应的激活^[20-21],而 n-3 型多不饱和脂肪酸则发挥抗炎、保护心血管的生物学效应^[22-23]。

值得注意的是,亚油酸及花生四烯酸代谢通路是补肾通络方干预 KOA 的核心靶点通路,参与调控关节慢性炎症的活化进程。既往研究认为,亚油酸可通过代谢生成花生四烯酸,进一步诱导前列腺素、白三烯 B 等促炎介质大量释放,进而触发关节炎炎症反应^[24-25];但近期研究发现,亚油酸对体内花生四烯酸稳态无明显调控作用,其促炎效应主要由自身及其氧化代谢产物介导^[26]。本研究发现,补肾通络方可显著下调亚油酸氧化产物 9,10,13-三羧基十八碳烯酸水平,提示其可能通过抑制亚油酸氧化代谢产物的积累发挥抗炎作用。进一步结合网络药理学结果显示,宝藿苣I、地黄苦苣元和甜菜碱等活性成分可能通过作用于关键靶点 PTGS2 和 ALOX5,干预不饱和脂肪酸的酶促过氧化反应,进而调控亚油酸/花生四烯酸代谢通路。PTGS2 与 ALOX5 分别参与前列腺素和白三烯的合成,是炎症反应中的重要调节酶^[27-28]。据此推测,补肾通络方中的活性成分通过抑制 PTGS2/ALOX5 介导的炎性脂质代谢过程,减少促炎介质的生成,从而缓解骨关节炎局部的慢性炎症反应,缓解关节损伤。

谱效关联分析结果筛选出宝藿苣I、地黄苦苣元和甜菜碱为潜在的关键抗炎活性成分。据文献报道,甜菜碱具有调节能量代谢、减缓氧化应激和细

胞凋亡的作用^[29];宝藿苣I可调控巨噬细胞 M2 型极化,具有免疫调节功能^[30];地黄苦苣元被多项研究证实具有显著的抗炎活性^[31]。本研究发现,上述 3 种核心成分与多种差异代谢物、炎症因子存在密切关联性,提示其可通过多成分协同作用,靶向调控多个关键靶点与代谢通路,共同介导补肾通络方治疗 KOA 的药理效应。

本研究通过代谢组学、网络药理学、谱效关联分析等方式分析了补肾通络方通过代谢调控治疗 KOA 的潜在作用机制,但是仍存在一些不足。在代谢组学研究中,假手术组动物数量较少,可能会导致结果存在一定偏差。同时,补肾通络方对 PTGS2、ALOX5 和不饱和脂肪酸、氨基酸代谢通路的具体调控机制,仍需后续开展针对性实验进一步验证与完善。

综上,本研究揭示了补肾通络方对 KOA 的抗炎和软骨保护作用。通过血清药物化学和非靶向代谢组学,筛选获得 18 种入血药效成分与 120 个差异代谢物,结合网络药理学,发现补肾通络方可能主要通过调节 PTGS2、ALOX5,干预以亚油酸为核心的不饱和脂肪酸代谢以及多种氨基酸代谢通路,发挥多成分、多靶点、多通路的协同治疗作用。本研究初步阐明了补肾通络方干预 KOA 的代谢调控机制,为揭示该中药复方组方的科学内涵提供了实验支撑与理论依据。

志谢:山西医科大学药学院共享仪器平台在本研究过程中提供的仪器设备支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhai G J. The role of metabolomics in precision medicine of osteoarthritis: How far are we? [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2021, 3(4): 100170.
- [2] Abramoff B, Caldera F E. Osteoarthritis pathology, diagnosis, and treatment options [J]. Med Clin N Am, 2020, 104(2): 293-311.
- [3] Glyn-Jones S, Palmer A J R, Agricola R, et al. Osteoarthritis [J]. Lancet, 2015, 386(9991): 376-387.
- [4] 赵长伟,李振华,冷向阳,等.天池伤科流派论治骨关节炎的学术思想浅析 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(8): 4772-4774.
- [5] Zhao C W, Li Z H, Leng X Y, et al. Discussion on the academic thought of Tianchi traumatology school in treating osteoarthritis [J]. China J Tradit Chin Med Pharm,

- 2021, 36(8): 4772-4774.
- [5] 董响, 李建伟, 路博丞, 等. 补肾通络丸联合八段锦治疗膝骨性关节炎临床观察 [J]. 山西中医, 2022, 38(7): 24-25.
- Dong X, Li J W, Lu B C, et al. Efficacy observation of Bushen Tongluo pill and eight-sectioned exercise on knee osteoarthritis [J]. Shanxi J Tradit Chin Med, 2022, 38(7): 24-25.
- [6] 谭登, 方彭华, 孙旭, 等. 补肾通络方通过抑制 chemerin 及炎症因子干预骨质疏松症的机制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(19): 5899-5909.
- Tan D, Fang P H, Sun X, et al. Mechanism of Bushen Tongluo Formula on intervention for osteoporosis by inhibiting chemerin and inflammatory factors [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(19): 5899-5909.
- [7] Schrimpe-Rutledge A C, Codreanu S G, Sherrod S D, et al. Untargeted metabolomics strategies: Challenges and emerging directions [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2016, 27(12): 1897-1905.
- [8] James E L, Parkinson E K. Serum metabolomics in animal models and human disease [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2015, 18(5): 478-483.
- [9] 许江红, 张若良, 黄礼福, 等. HPLC 法测定不同产地何首乌中蒽醌类、二苯乙烯苷、没食子酸的含量 [J]. 中成药, 2024, 46(12): 4102-4105.
- Xu J H, Zhang R L, Huang L F, et al. HPLC method was used to determine the content of anthraquinones, stilbenosides and gallic acid in *Polygonum multiflorum* from different regions [J]. Chin J Tradit Pat Med, 2024, 46(12): 4102-4105.
- [10] Lu B C, Chen Y F, Cai J J, et al. FoxO1/PINK1/Parkin-dependent mitophagy mediates the chondroprotective effect of Guzhi Zengsheng Zhitong decoction in osteoarthritis [J]. Phytomedicine, 2025, 148: 157322.
- [11] Gerwin N, Bendele A M, Glasson S, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat [J]. Osteoarthritis Cartil, 2010, 18: S24-S34.
- [12] Yan Y, Li J H, Zhang Y J, et al. Screening the effective components of Suanzaoren decoction on the treatment of chronic restraint stress induced anxiety-like mice by integrated chinmedomics and network pharmacology [J]. Phytomedicine, 2023, 115: 154853.
- [13] Arra M, Abu-Amer Y. Cross-talk of inflammation and chondrocyte intracellular metabolism in osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartil, 2023, 31(8): 1012-1021.
- [14] Van Pevenage P M, Birchmier J T, June R K. Utilizing metabolomics to identify potential biomarkers and perturbed metabolic pathways in osteoarthritis: A systematic review [J]. Semin Arthritis Rheum, 2023, 59: 152163.
- [15] Batushansky A, Zhu S, Komaravolu R K, et al. Fundamentals of OA. An initiative of Osteoarthritis and Cartilage. Obesity and metabolic factors in OA [J]. Osteoarthritis Cartil, 2022, 30(4): 501-515.
- [16] Zhai G J, Randell E W, Rahman P. Metabolomics of osteoarthritis: Emerging novel markers and their potential clinical utility [J]. Rheumatology, 2018, 57(12): 2087-2095.
- [17] Nishizaki K, Ikegami H, Tanaka Y, et al. PP284-SUN: Effect of supplementation with a combination of β -hydroxy β -methylbutyrate, *L*-arginine, and *L*-glutamine on quadriceps muscle strength in patients with osteoarthritis following total knee arthroplasty [J]. Clin Nutr, 2014, 33: S125-S126.
- [18] Tonomura H, Takahashi K A, Mazda O, et al. Glutamine protects articular chondrocytes from heat stress and NO-induced apoptosis with HSP70 expression [J]. Osteoarthritis Cartil, 2006, 14(6): 545-553.
- [19] Shrode R L, Cady N, Jensen S N, et al. Isoflavone consumption reduces inflammation through modulation of phenylalanine and lipid metabolism [J]. Metabolomics, 2022, 18(11): 84.
- [20] Liput K P, Lepczyński A, Ogłuszka M, et al. Effects of dietary n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids in inflammation and cancerogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(13): 6965.
- [21] Chareonrungrueangchai K, Wongkawinwoot K, Anothaisintawee T, et al. Dietary factors and risks of cardiovascular diseases: An umbrella review [J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1088.
- [22] Shahidi F, Ambigaipalan P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits [J]. Annu Rev Food Sci Technol, 2018, 9: 345-381.
- [23] Gao J, Xie C Q, Yang J, et al. The effects of n-3 PUFA supplementation on bone metabolism markers and body bone mineral density in adults: A systematic review and meta-analysis of RCTs [J]. Nutrients, 2023, 15(12): 2806.
- [24] Li T Y, Tang Z Z, Li S C, et al. Association of unsaturated fatty acid intake with risk of all-cause death in patients with osteoarthritis [J]. Front Nutr, 2025, 12: 1454431.
- [25] Burns J L, Nakamura M T, Ma D W L. Differentiating the biological effects of linoleic acid from arachidonic acid in health and disease [J]. Prostaglandins Leukot Essent Fat

- Acids, 2018, 135: 1-4.
- [26] Rett B S, Whelan J. Increasing dietary linoleic acid does not increase tissue arachidonic acid content in adults consuming Western-type diets: A systematic review [J]. Nutr Metab, 2011, 8(1): 36.
- [27] Wan M, Tang X, Stsiapanava A, et al. Biosynthesis of leukotriene B4 [J]. Semin Immunol, 2017, 33: 3-15.
- [28] Simon L S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation [J]. Am J Med, 1999, 106(5): 37S-42S.
- [29] Zhao G F, He F, Wu C L, et al. Betaine in inflammation: Mechanistic aspects and applications [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1070.
- [30] Wang S Q, Li J, Xu S, et al. Baohuoside I chemosensitises breast cancer to paclitaxel by suppressing extracellular vesicle/CXCL1 signal released from apoptotic cells [J]. J Extracell Vesicles, 2024, 13(7): e12493.
- [31] Liu C L, Cheng L, Ko C H, et al. Bioassay-guided isolation of anti-inflammatory components from the root of *Rehmannia glutinosa* and its underlying mechanism via inhibition of iNOS pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 143(3): 867-875.

[责任编辑 孙英杰]