

基于方证代谢组学的三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础研究

孙 野¹, 杨 乐¹, 王文凯¹, 孙 晖^{2*}, 赵雪萍², 张欣雅², 孙 鑫², 刘慧强², 温 浩², 刘芮诚², 韦树云², 闫广利², 孔 玲², 韩 莹², 王喜军^{1,2*}

1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东省中医院, 省部共建中医证国家重点实验室, 广东 广州 510120

2. 黑龙江中医药大学, 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 中医方证代谢组学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要: **目的** 采用方证代谢组学方法分析三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础。**方法** 采用非靶向代谢组学技术筛选湿热下注型痛风病的生物标记物, 利用超高效液相色谱与质谱联用技术分析显效状态下三妙丸的血中移行成分, 并将其疾病生物标记物关联, 确定三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础。**结果** 三妙丸能够显著回调湿热下注型痛风病小鼠的代谢轨迹, 改善模型小鼠湿热证表现及痛风性关节炎情况, 降低踝关节肿胀度, 抑制 NOD 样受体热蛋白结构域 3、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 炎症因子表达, 方证代谢组学分析显示, 白术内酯 III、白术内酯 II、牛膝皂苷 C、京尼平苷、小檗碱、皱唐松草酮碱、亚美罂粟碱、榄香烯、苦楝子酮、油酸为三妙丸干预的湿热下注型痛风病的潜在药效物质基础。**结论** 利用方证代谢组学方法揭示了三妙丸干预的湿热下注型痛风病的药效物质基础, 为三妙丸的精准用药和湿热下注型痛风病治疗药物的开发提供理论依据。

关键词: 三妙丸; 湿热下注型痛风; 生物标记物; 痛风性关节炎; 方证代谢组学; 白术内酯 III; 白术内酯 II; 牛膝皂苷 C; 京尼平苷

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)08-2709-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.08.008

Pharmacological substance basis of Sanmiao Pills in intervening damp-heat type gout based on chinmedomics

SUN Ye¹, YANG Le¹, WANG Wenkai¹, SUN Hui², ZHAO Xueping², ZHANG Xinya², SUN Xin², LIU Huiqiang², WEN Hao², LIU Ruicheng², WEI Shuyun², YAN Guangli², KONG Ling², HAN Ying², WANG Xijun^{1,2}

1. State Key Laboratory of Dampness Syndrome of Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

2. State Key laboratory of Integration and Innovation for Classic Formula and Modern Chinese Medicine, National Chinmedomics Research Center, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract: Objective To analyze the pharmacological substance basis of Sanmiao Pills (三妙丸) in intervening damp-heat type gout by using the chinmedomics. **Methods** Biomarkers of damp-heat type gout were screened by non-targeted metabolomics technology, and ultra-high performance liquid chromatography and mass spectrometry technology were used to analyze the constituents absorbed into blood of Sanmiao Pills in the manifested state, and the disease biomarkers were correlated to determine the pharmacological substance basis of Sanmiao Pills in intervening damp-heat type gout. **Results** Sanmiao Pills was able to significantly regulate the metabolic profile of mice with damp-heat type gout, improve the manifestation of damp-heat syndrome and gouty arthritis in the model mice, reduce ankle swelling, and inhibit the expression of the NOD-like receptor thermoprotein structural domain 3, interleukin-6 (IL-6), and IL-1 β inflammatory factors, and chinmedomics analysis showed that atractylenolide III, atractylenolide II, achyranthoside C, geniposide, berberine, rugosinone, evocouperine, β -elemene, melianone, and oleic acid were the potential pharmacological substance bases of damp-heat type gout intervened with the Sanmiao Pills. **Conclusion** The chinmedomics was used to reveal the pharmacological substance

收稿日期: 2024-12-30

基金项目: 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目 (U23A20501); 省部共建中医证国家重点实验室项目 (SZ2021ZZ49); 省部共建中医证国家重点实验室项目 (SZ2022KF16)

作者简介: 孙 野, 研究实习员, 从事中药药效物质基础和方证代谢组学研究。E-mail: sunye0126@126.com

*通信作者: 王喜军, 教授, 博士生导师, 从事中药血清药物化学和中医方证代谢组学研究。E-mail: xijunw@sina.com

孙 晖, 教授, 博士生导师, 从事药物分析研究。E-mail: sunhui7045@163.com

basis of damp-heat type gout treated with Sanmiao Pills, which provides a theoretical basis for the precise administration of Sanmiao Pills and the development of therapeutic drugs for the treatment of damp-heat type gout.

Key words: Sanmiao Pills; damp-heat type gout; biomarkers; gouty arthritis; chinmedomics; atractylenolide III; atractylenolide II; achyranthoside C; geniposide

痛风以单钠尿酸盐(monosodium urate, MSU)晶体沉积为特征,是一种由免疫系统激活驱动的炎症性疾病^[1-3]。主要因尿酸代谢障碍使血液尿酸浓度过饱和,导致单钠尿酸盐以结晶形式析出并沉积于关节滑膜囊及周围组织,致使局部出现不同程度的发热、灼痛、红肿,多累及第 1 跖趾关节^[4-5]。目前我国痛风患病率呈上升趋势,患者年龄呈下降趋势,具有发病率高、病情易反复发作等特点^[6],2022 年成人痛风患病率为 3% 左右^[7]。痛风在中医中属于“痹证”范畴,以湿热型常见^[8-10],湿热痹阻经络,下注于肢节,则关节疼痛。随着湿热下注型痛风病情加重,可引发关节畸形、功能障碍等,严重损害患者生活健康给患者及家庭带来巨大痛苦和沉重经济负担。

目前临床治疗痛风主要是降低血清尿酸水平和缓解患处炎症性疼痛^[2,11]。常用的化学药存在停药易复发且容易引起胃肠道不良反应。痛风在中医中属于“痹证”范畴,治疗痛风常以清热利湿、通络除痹为原则,三妙丸来源于朱丹溪《丹溪心法》之二妙散,始载于明代虞抟《医学正传·卷五·麻木篇》,主要由苍术、黄柏、牛膝组成^[12]。三妙丸是临床被用于治疗湿热下注痛风^[13-15],效果显著,然而其治疗湿热下注型痛风的药效物质基础尚不明确,严重制约了其临床应用及创新中药开发。

中医方证代谢组学理论体系通过代谢组学技术发现并鉴定证候/疾病的生物标记物^[16-19],将证候生物标记物与有效的状态下血中移行成分相关联,发现与生物标记物轨迹变化高度关联的体内成分^[20-22],从而发现方剂临床疗效的药效物质基础及其作用机制等科学问题^[23-25],能够从本质上揭示三妙丸干预湿热下注型痛风病的代谢轮廓变化,阐明三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础,为三妙丸的精准用药和湿热下注型痛风病治疗药物的开发提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 48 只,7~8 周龄,体质量 18~22 g,购自广东至远生物医药科技有限

公司,动物许可证号 SCXK(粤)2020-0054。饲养于广东省中医院实验动物中心 SPF 级实验室。实验单位使用许可证号 SYXK(粤)2023-0094,动物实验经广东省中医院实验动物伦理委员会批准(批准号 2021072)。小鼠适应性喂养 1 周,期间自由饮水饮食,光照 12 h 昼夜循环。

1.2 药品与试剂

高脂饲料(组成:80%普通饲料、12%猪油、8%蜂蜜,批号 20230727)购自广东省医学实验动物中心;乙腈(批号 223166)购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;甲醇(批号 V22MAY00301VH)购自 Anaqua Chemical(美国)公司;甲酸(批号 #J2113197)、次黄嘌呤(批号 D23081225)、羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na)(批号 D2115189)均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无水乙醇(批号 2023100117)购自广州化学试剂厂;氧嗪酸钾(批号 BCG6675)、尿酸钠盐(批号 BCCB4889)均购自美国 Sigma Aldrich 公司;磷酸盐溶液(2318098)均购自 Viva Cell 公司,NOD 样受体热蛋白结构域 3(NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)抗体(批号 S211824101504)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)抗体(批号 AC240724038)、IL-1 β 抗体(批号 AC240725035)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)测试盒(批号 20230922)、总胆固醇(total cholesterol, TC)测试盒(批号 20230923)、肌酐测试盒(批号 20240506)均购自南京建成公司;秋水仙碱片(批号 231201)购自西双版纳版纳药业有限公司;黄柏(批号 240104901)购自康美药业有限公司;苍术(批号 2311001)购自岭南药业有限公司;牛膝(批号 YPB3K0002)购自采芝林药业有限公司。以上药材均经广东省中医院何凡教授鉴定,苍术为菊科植物北苍术 *Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz. 的干燥根茎,黄柏为芸香科植物黄檗 *Phellodendron amurense* Rupr. 的干燥树皮,牛膝为苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根。

1.3 仪器

LRH-800A-HSE 型人工气候箱 (广东泰宏君科学仪器有限公司); Vanquish 型液相色谱仪、Orbitra-Eclipses 质谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Vortex-genie 2 型涡旋振荡器 (美国 Scientific Industries 公司); BCE124I-1CCN 型万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); KQ-700V 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); SORVALL ST 16R 型高速冷冻离心机 (美国 Thermo scientific 公司)。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 三妙丸的制备 取炒黄柏 60 g、炒苍术 40 g、牛膝 20 g, 粉碎成细粉, 过 6 号筛, 混匀, 进行小檗碱含量测定, 符合《中国药典》2020 年版中三妙丸的质量控制标准。称取三妙丸药粉适量溶于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液中, 制备质量浓度为 0.078、0.156、0.312 g/mL 的三妙丸低、中、高剂量组的灌胃液。

2.1.2 三妙丸化学成分分析样品制备 精密称定三妙丸药粉 500 mg, 置于量瓶中, 分别加入 75% 甲醇 8 mL, 震荡混合 30 s, 密闭超声 10 min, 定容至 10 mL, 摇匀, 静置片刻后 13 000 r/min 离心 10 min, 取上清过 0.22 μ m 滤膜, 进样 3 μ L, 供 UPLC-MS 分析。

2.1.3 代谢组学及血中移行成分分析样本制备 取血清样本 50 μ L, 加入 200 μ L 甲醇, 涡旋 1 min, 静置 20 min, 于 4 $^{\circ}$ C, 13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.22 μ m 滤膜, 供 UPLC-MS 分析。每个样品吸取 10 μ L 混合为质控样本 (quality control, QC), 以进行质量控制。

2.2 动物分组及给药

适应性喂养 1 周后, 随机将小鼠分为 6 组, 每组 8 只, 分别为对照组、模型组、秋水仙碱组 (1 mg/kg)^[26-27]和三妙丸高 (临床 2 倍剂量)、中 (临床等倍剂量)、低 (临床 0.5 倍剂量) 剂量组 (生药量 3.12、1.56、0.78 g/kg) 每组 10 只。

模型组小鼠给予高脂饲料, 每日 ip 次黄嘌呤 0.3 g/kg 及 ig 氧嗪酸钾 0.3 g/kg, 并将小鼠放置于温度 (32 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、湿度 (95 $\pm$ 2)% 的人工气候箱内 6 h/d; 并 ig 12.5% 乙醇溶液 0.1 mL/10 g; 第 28 天, 于小鼠后肢踝关节注射 60 mg/mL MSU 晶体混悬液 25 μ L, 48 h 后取材, 自由饮水。对照组小鼠给予普通饲料,

ip 等体积 0.5% CMC-Na 溶液, ig 等体积生理盐水。三妙丸高、中、低剂量组、秋水仙碱组以 0.01 mL/g 给药, 对照组和模型组 ig 等剂量 0.5% CMC-Na 溶液。小鼠放入代谢笼 12 h, 禁食不禁水, 1 次/周。末次给药 1 h 后麻醉小鼠, 摘眼球取血; 取血完成后解剖小鼠收集肝脏、肾脏、小肠和踝关节组织。

2.3 宏观指标

实验第 30 天, 观察并记录各组小鼠的整体神态形态、步态、对刺激的反应、群体行为、毛发、二便情况; 记录小鼠肛温、体质量、日均饮食量、日均饮水量。

2.4 踝关节肿胀度

采用游标卡尺测量踝关节注射 MSU 混悬液第 0、12、24、48 小时的肿胀度, 并计算肿胀指数, 绘制折线图, 计算曲线下面积。

2.5 生化指标检测

根据 ELISA 试剂盒说明书, 检测各组小鼠血清中 LDL-C、TC、肌酐含量; 取第 30 天的尿液, 检测各组小鼠尿液中肌酐含量。

2.6 HE 染色法和免疫组化观察组织病理变化

取 4% 多聚甲醛固定良好的肝、肾、小肠组织。前处理好后, 按照脱水、包埋、切片、染色、封片流程完成 HE 染色, 在显微镜 40、200 倍下观察组织切片情况。对切片中基本病理改变如充血、淤血、出血、水肿、变性、坏死、增生、纤维化、机化、肉芽组织、炎性变化等情况进行观察, 选择组织出现的病理改变进行评分。免疫组化染色观察 NLRP3、IL-6、IL-1 β 阳性平均荧光强度。

2.7 分析条件

2.7.1 色谱条件

(1) 非靶向代谢组学: Acquity UPLCTM HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 流动相为 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B); 柱温 40 $^{\circ}$ C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 2 μ L, 洗脱梯度: 0~4.0 min, 5%~40% B; 4.0~5.0 min, 40%~70% B; 5.0~10.5 min, 70%~99% B; 10.5~12.5 min, 99% B。

(2) 三妙丸成分: Acquity UPLCTM BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μ m); 流动相 0.1% 甲酸水 (A)-乙腈 (B); 柱温 40 $^{\circ}$ C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 2 μ L, 洗脱梯度: 0~1.5 min, 5%~15% B; 1.5~7.5 min, 15%~33% B; 7.5~10.5 min, 33%~52% B; 10.5~16.5 min, 52%~78% B; 16.5~20.5 min, 78%~99% B; 20.5~22.0 min, 99% B。

2.7.2 质谱条件 加热器温度 325 °C;鞘气流速 50 arb;辅助气流速 10 arb;正离子电喷雾电压 3.5 kV,负离子电喷雾电压 2.5 kV;毛细管温度 350 °C;S-Lens RF Level: 30%。扫描模式 Full Scan 扫描范围 m/z 80~1 200,分辨率 120 000, ddMS² 碰撞能量 20、35、50 (Normalized),分辨率 15 000。

2.8 质谱数据处理

将得到的数据进行色谱峰对齐、峰提取及数据归一化,获得输出矩阵包括保留时间、 m/z 值和归一化峰面积。将这些三维矩阵信息导入 EZinfo 软件进行多元统计分析,利用主成分分析 (principal component analysis, PCA) 直观地表达多元数据在低维空间的特征并观察组间分布。正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA) 构建的 VIP 曲线选择对区分模型组和对照组有重要贡献 (VIP>1) 且 P 值 (Student's t -test) <0.05 的离子作为潜在的生物标记物。然后,通过将其质谱数据与人类代谢组数据库 (<https://hmdb.ca/>) 和文献数据进行比较,对潜在生物标记物的结构进行表征。通过京都基因和基因组百科全书数据库 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG, <http://www.genome.jp/kegg/>) 分析相关代谢途径。

根据目标离子精确相对分子质量、分子式及二

级质谱数据 (MS/MS) 为线索,检索自建的三妙丸化学成分数据库、PubChem、ChemSpider 数据库,根据化学结构裂解的可能性及生物质谱裂解规律及空白血清和含药血清中离子的含量差异分析,表征三妙丸体外化学成分和血中移行成分。

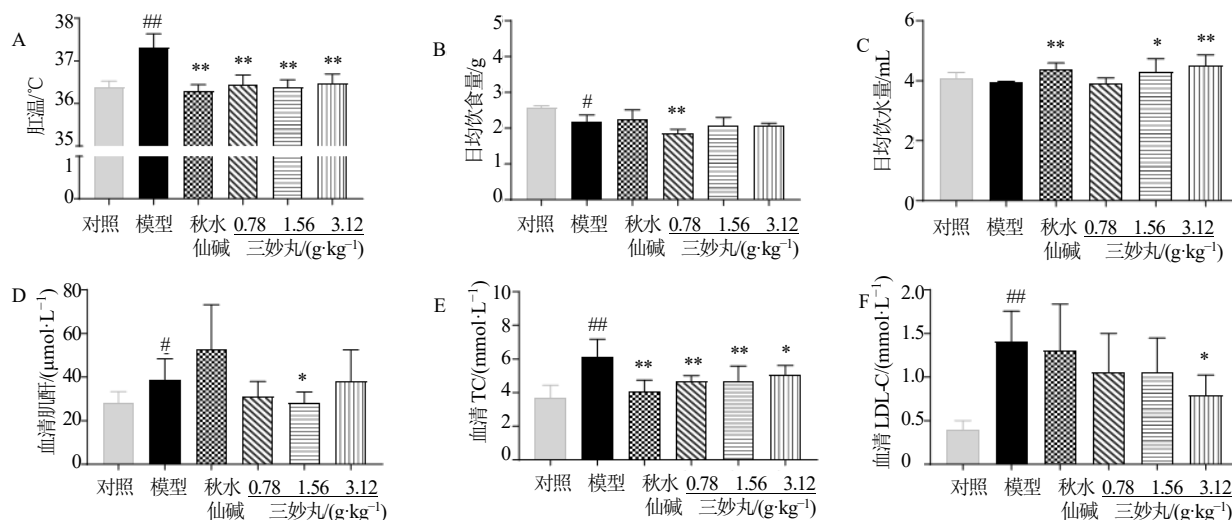
2.9 统计学分析

实验数据采用 IBM SPSS Statistics 25 软件进行分析,符合正态分布的计量资料采用 One-way ANOVA 分析,符合方差齐时选择 LSD 检验进行组间两两比较,不符合方差齐时数据选择 Dunnett's T3 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;不符合正态分布的计量资料和等级资料采用 Kruskal-Wallis 检验对数据进行非参数检验,并采用 Mann-Whitney U 进行组间两两比较,数据采用中位数和四分位数间距表示。结果以 $P<0.05$ 表示有显著性差异。

3 结果

3.1 三妙丸显著改善模型小鼠湿热证情况

如图 1 所示,与对照组比较,模型组小鼠整体神态萎靡,步态迟缓,对刺激反应迟钝,群体行为表现为扎堆,毛发和二便正常,关节红肿拒按,肛温显著升高 ($P<0.01$)、日均饮水量降低 ($P<0.05$),血清肌酐、TC、LDL-C 显著升高 ($P<0.05$ 、0.01);与模型组比较,三妙丸低、中剂量组可改善小鼠神态、群体行为和二便情况;三妙丸高剂量组显著改



A~C-4 周末小鼠肛温、日均饮食物、日均饮水量比较; D~F-4 周末小鼠血清肌酐、TC、LDL-C 比较。与对照组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 下同。

A—C—comparison of anal temperature, average daily diet, and average daily water intake in mice at the end of four weekends; D—F—comparison of serum creatinine, TC, and LDL-C in mice at the end of four weeks. # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; same as below figures.

图 1 各组小鼠宏观表征、血清肌酐、血脂对比 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

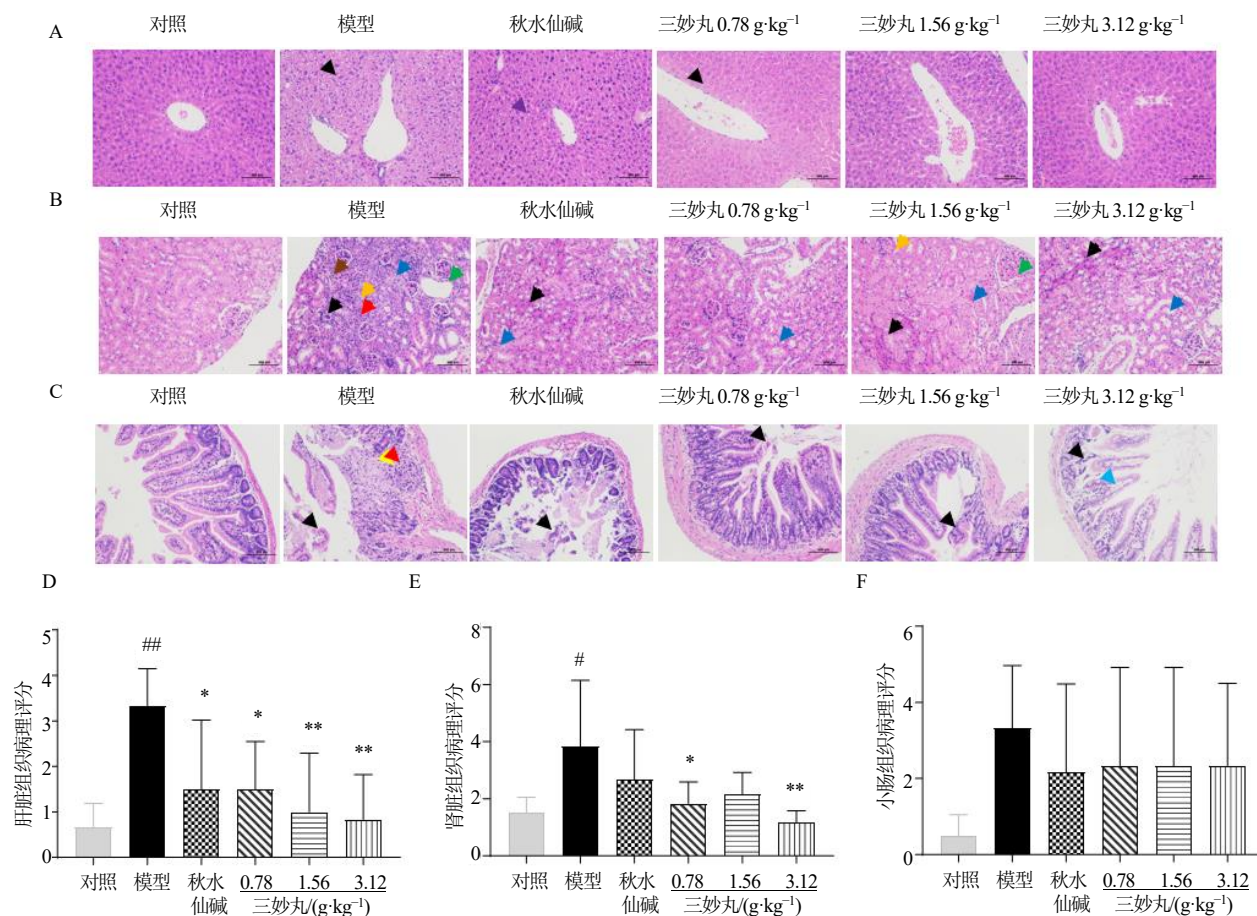
Fig. 1 Comparison of macroscopic characterization, serum creatinine, and blood lipids in different groups of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

善小鼠整体神态、步态、群体行为、对刺激的反应和二便情况。与模型组比较,各给药组肛温显著降低($P<0.01$);三妙丸低剂量组日均饮食量显著减少($P<0.01$),表明低剂量组降低了小鼠对高脂饲料的摄入;三妙丸中、高剂量组日均饮水量增加($P<0.05$ 、 0.01)。三妙丸中剂量组小鼠的血清肌酐含量显著降低($P<0.05$);三妙丸低、中、高剂量组小鼠血清 TC 含量降低($P<0.05$ 、 0.01);三妙丸高剂量组显著降低小鼠 LDL-C 含量($P<0.05$)。结果表明,三妙丸可以改善小鼠湿热证伴随的宏观表征改变,降低湿热证导致的血清肌酐、血脂上调。

3.2 肝脏、肾脏、小肠组织病理分析

肝脏组织 HE 染色结果表明(图 2-A),三妙丸低剂量组小鼠肝脏组织水样变性(黑色箭头)改善;

三妙丸中、高剂量组显著改善小鼠肝细胞损伤及肝板排列;肝脏病理评分结果表明,各给药组肝脏病理损伤显著低于模型组($P<0.05$ 、 0.01)(图 2-D);肾脏组织 HE 染色结果表明(图 2-B),三妙丸低剂量组肾脏组织改善淋巴细胞浸润与结缔组织增生;三妙丸中剂量组改善小鼠肾小管萎缩、结缔组织增生,减少淋巴细胞浸润;三妙丸高剂量组改善小鼠肾小管萎缩和淋巴细胞浸润;肾脏病理评分结果表明,模型组肾脏病理损伤显著高于对照组($P<0.05$)。三妙丸低、高剂量组肝脏病理损伤显著低于模型组($P<0.05$ 、 0.01)(图 2-E);小肠组织 HE 染色结果表明(图 2-C),三妙丸低、中、高剂量组均改善小鼠黏膜层上皮细胞脱落(黑色箭头)、肠腺坏死及淋巴细胞浸润;小肠病理评分结果表明,各组小肠病理损伤与模型组无显著变化(图 2-F);结果表



A~C-各组小鼠肝脏、肾脏、小肠组织病理变化情况; D~F-各组小鼠肝脏、肾脏、小肠组织病理评分比较。

A—C-histopathological changes in liver, kidney and small intestine of mice in each group; D—F-comparison of histopathological scores of liver, kidney and small intestine of mice in each group.

图 2 各组小鼠肝脏、肾脏、小肠病理改变情况及病理评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 2 Pathological changes in liver, kidney and small intestine of mice in each group, and comparison of pathological scores ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

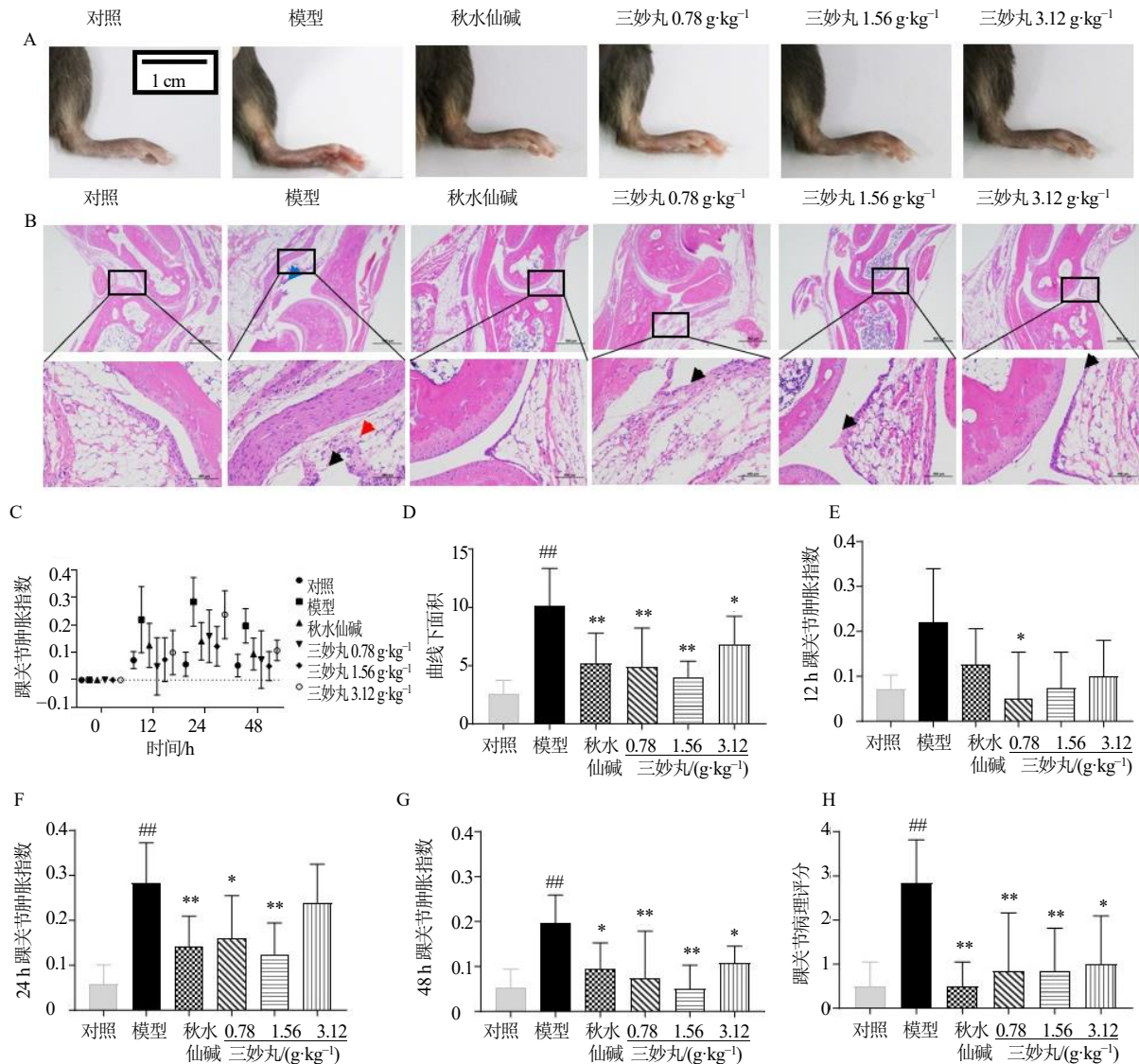
明,三妙丸可以改善湿热证所致的小鼠肝脏、肾脏组织损伤。

3.3 三妙丸显著改善小鼠急性痛风性关节炎

踝关节肿胀度结果表明,与对照组相比,模型组小鼠踝关节明显肿胀 ($P<0.01$);与模型组相比,各给药组小鼠踝关节肿胀明显改善 ($P<0.05$ 、 0.01) (图 3-A、C、D)。注射 MSU 混悬液 24、48 h,与对照组比较,模型组小鼠踝关节明显肿胀 ($P<$

0.01)。与模型组比较,注射 MSU 混悬液 12 h 三妙丸低剂量组踝关节肿胀指数显著降低 ($P<0.05$);注射 24 h 三妙丸低、中剂量组踝关节肿胀指数显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01);注射 MSU 混悬液 48 h,各给药组踝关节肿胀指数明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01) (图 3-E~G)。

踝关节组织 HE 染色结果表明 (图 3-B),与对照组比较,三妙丸低、中、高剂量组均可改善小鼠



A-各组小鼠踝关节肿胀实景图; B-各组小鼠踝关节病理变化情况; C-各组小鼠踝关节注射 MSU 混悬液第 0、12、24、48 小时踝关节肿胀指数折线图; D-踝关节肿胀指数折线图的曲线下面积比较; E~G-踝关节注射 MSU 混悬液第 12、24、48 小时各组小鼠踝关节肿胀指数比较; H-各组小鼠踝关节组织病理变化情况评分比较。

A-real view of ankle joint swelling in each group of mice; B-pathological changes in ankle joint in each group of mice; C-line graph of ankle joint swelling index at 0, 12, 24, and 48 h of ankle joint injection of MSU suspension in each group of mice; D-comparison of area under the curve for the line graph of ankle joint swelling index; E—G-comparison of ankle joint swelling index between groups of mice injected with MSU suspension at the 12, 24 and 48 h in ankle joint; H-comparison of scores of histopathological changes in ankle joint between groups of mice.

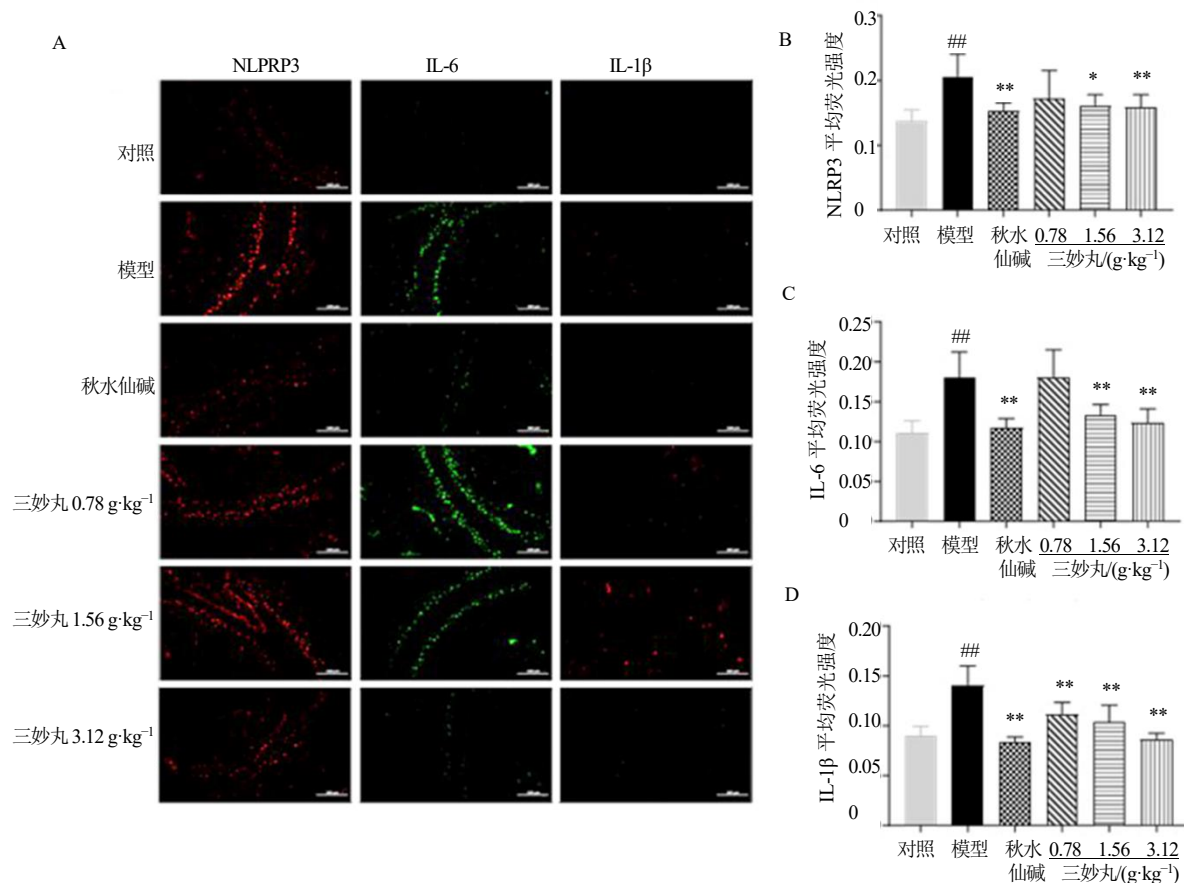
图 3 各组小鼠踝关节肿胀、踝关节病理改变情况比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 8$)

Fig. 3 Comparison of ankle joint swelling and ankle joint pathological changes in each group of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6\sim 8$)

踝关节滑膜增生及结缔组织内淋巴细胞浸润。踝关节病理评分结果表明,模型组踝关节病理损伤显著高于对照组 ($P<0.01$),与模型组比较,各给药组小鼠踝关节病理损伤均显著回调 ($P<0.05$ 、 0.01) (图 3-H)。

踝关节组织 NLRP3、IL-6、IL-1 β 免疫荧光检测结果表明 (图 4-A),与对照组相比,模型组 NLRP3、

IL-6、IL-1 β 阳性平均光密度值显著增加 ($P<0.01$),三妙丸中、高剂量组能够下调 NLRP3 水平 ($P<0.05$ 、 0.01),三妙丸中、高剂量组显著下调 IL-6 水平 ($P<0.01$),三妙丸低、中、高剂量组均能显著下调 IL-1 β 水平 ($P<0.01$) (图 4-B~D)。结果表明,三妙丸可以改善急性痛风性关节炎引起的小鼠踝关节肿胀、踝关节组织病变及关节炎症。



A-各组小鼠踝关节组织 NLRP3、IL-6、IL-1 β 检测免疫荧光图; B~D-各组小鼠踝关节组织 NLRP3、IL-6、IL-1 β 阳性平均荧光强度。

A-immunofluorescence of NLRP3, IL-6 and IL-1 β in ankle joint tissues of mice in each group. B—D-comparison of positive mean optical density values of NLRP3, IL-6, and IL-1 β in ankle tissues of mice in each group.

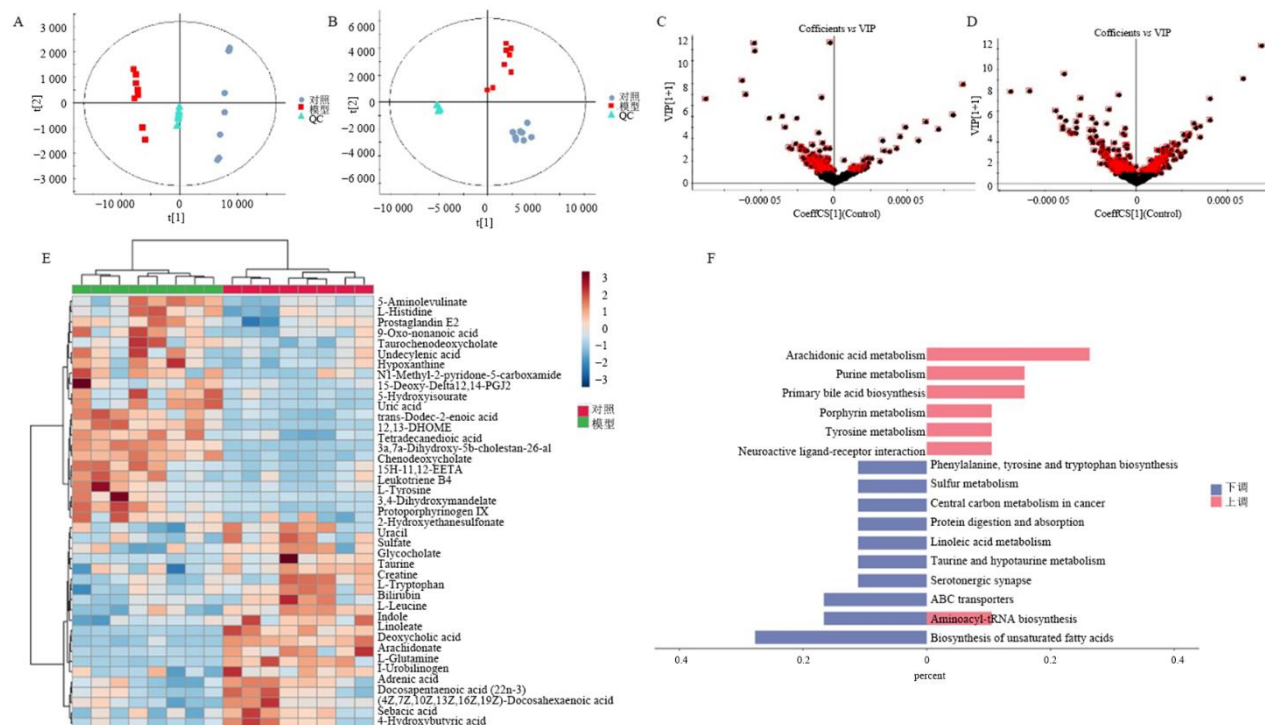
图 4 各组小鼠踝关节组织 NLRP3、IL-6、IL-1 β 免疫荧光检测结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 4 Immunofluorescence results of NLRP3, IL-6 and IL-1 β in ankle joint tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.4 湿热下注型痛风小鼠的代谢显著偏移

通过对 QC 样品进行分析,仪器精密度、样品稳定性良好 (图 5-A、B),进而对各组小鼠代谢轮廓数据进行峰对齐、峰提取、数据归一化等数据预处理,并采用多元统计分析,PCA 结果显示对照组与模型组小鼠血清代谢轮廓明显聚类且组间分离,模型组小鼠的代谢轮廓明显远离对照组小鼠 (图 5-A、B),说明湿热下注型痛风病小鼠体内代谢轮廓已经发生明显变化,为了找到对代谢轮廓变化起关

键作用的内源性代谢物,进行 OPLS-DA,进一步获得能够直观反映对代谢轮廓变化贡献率的 VIP 得分图 (图 5-C、D),距离原点越远的离子代表对代谢轮廓轨迹变化的贡献值越大。选取 VIP>1 及单维统计分析 (Student's t -test) 中 $P<0.05$ 的离子作为潜在的生物标记物进行表征,共发现 42 个湿热下注型痛风病小鼠血清生物标记物,生物标记物热图见图 5-E,相关信息见表 1,主要涉及初级胆汁酸生物合成、花生四烯酸、嘌呤代谢和不饱和脂肪酸生



A-对照组和模型组正离子模式 PCA 图; B-对照组和模型组负离子模式 PCA 图; C-正离子模式下模型组差异离子 VIP 得分图; D-负离子模式下模型组差异离子 VIP 得分图; E-生物标记物的热图; F-生物标记物 KEGG 通路富集分析图。

A-PCA plots of positive ion pattern in control and model groups; B-PCA plots of negative ion pattern in control and model groups; C-differential ion VIP score chart of model group in positive ion pattern; D-differential ion VIP score chart of model group in negative ion pattern; E-heatmap of biomarkers; F-biomarker KEGG pathway enrichment analysis.

图 5 湿热下注型痛风病小鼠血清代谢组学分析

Fig. 5 Metabolomics analysis of serum from mice with damp-heat type gout

表 1 生物标记物信息表

Table 1 Biomarker information

编号	t _R /min	化合物名称	加和形式	分子式	m/z	误差值(×10 ⁻⁶)	趋势	三妙丸各剂量组回调情况		
								低	中	高
1	0.82	5-氨基酮戊酸	[M+H] ⁺	C ₅ H ₉ NO ₃	132.065 5	-0.50	↑	√	√*	√
2	0.83	牛磺酸	[M-H] ⁻	C ₂ H ₇ NO ₃ S	124.007 4	0.46	↓	√	√	
3	0.83	2-羟乙基磺酸盐	[M-H] ⁻	C ₂ H ₆ O ₄ S	124.991 5	0.61	↓	√*	√	√*
4	0.86	肌酸	[M+H, M+Na] ⁺	C ₄ H ₉ N ₃ O ₂	132.076 7	-0.73	↓	√*	√	√
5	0.90	硫酸盐	[M-H] ⁻	H ₂ O ₄ S	96.960 2	1.37	↓		√	√
6	0.91	L-组氨酸	[M+H] ⁺	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	156.076 7	-0.32	↑	√	√	√
7	0.91	尿酸	[M+H, M+Na] ⁺	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	168.028 3	-0.21	↑		√	
8	0.91	L-谷氨酸	[M+FA-H] ⁻	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	191.067 2	-0.95	↓	√*	√*	√*
9	1.27	尿嘧啶	[M+H] ⁺	C ₄ H ₄ N ₂ O ₂	113.034 5	-0.33	↓	√	√	√
10	1.28	次黄嘌呤	[M+H] ⁺	C ₅ H ₄ N ₄ O	137.045 7	-0.42	↑	√	√	
11	1.29	5-羟基色氨酸	[M+H] ⁺	C ₅ H ₄ N ₄ O ₄	185.030 3	-1.49	↑	√	√	√
12	1.46	L-亮氨酸	[M+H] ⁺	C ₆ H ₁₃ NO ₂	132.101 8	-0.86	↓	√		
13	1.48	4-羟基丁酸钠	[M-H] ⁻	C ₄ H ₈ O ₃	103.040 1	0.67	↓			
14	1.50	1-甲基-6-氧代吡啶-3-甲酰胺	[M+H] ⁺	C ₇ H ₈ N ₂ O ₂	153.065 8	-0.39	↑		√	√*
15	3.29	L-色氨酸	[M+H, M+Na] ⁺	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	204.089 9	-0.07	↓	√		
16	3.32	吡啶	[M-H] ⁻	C ₈ H ₇ N	116.050 5	-0.49	↓	√	√*	√
17	4.03	L-酪氨酸	[M-H] ⁻	C ₉ H ₁₁ NO ₃	180.066 7	0.44	↑	√*	√*	√*

表 1 (续)

编号	tr/min	化合物名称	加和形式	分子式	m/z	误差值($\times 10^{-6}$)	趋势	三妙丸各剂量组回调情况		
								低	中	高
18	4.74	3,4-二羟基扁桃酸酯	$[M-H]^-$	$C_8H_8O_5$	183.030 0	0.46	↑	√*	√*	√*
19	4.93	9-氧代壬酸	$[M+FA-H]^-$	$C_9H_{16}O_3$	217.108 1	-0.19	↑			
20	5.28	胆红素	$[M+H, M+Na]^+$	$C_{33}H_{36}N_4O_6$	584.263 7	0.39	↓	√	√	√*
21	6.04	癸二酸	$[M-H]^-$	$C_{10}H_{18}O_4$	201.113 3	0.09	↓	√	√	√*
22	6.30	15-deoxy-delta12,14-PGJ ₂	$[M+FA-H]^-$	$C_{20}H_{28}O_3$	361.202 0	-0.17	↑	√	√	√
23	6.31	前列腺素 E ₂	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{32}O_5$	353.232 4	0.50	↑	√	√*	√*
24	6.48	甘氨酸盐	$[M+H, M+Na]^+$	$C_{26}H_{43}NO_6$	465.309 4	0.67	↓	√*	√*	√*
25	6.60	十一烯酸	$[M+FA-H]^-$	$C_{11}H_{20}O_2$	229.144 5	-0.32	↑			
26	6.61	原卟啉 IX	$[M+H]^+$	$C_{34}H_{40}N_4O_4$	569.312 6	0.62	↑	√*	√	√
27	6.85	15-oxoETE	$[M+H]^+$	$C_{20}H_{30}O_3$	319.227 0	0.58	↑			
28	6.86	白三烯 B ₄	$[M-H]^-$	$C_{20}H_{32}O_4$	335.222 7	-0.36	↑			
29	6.87	反式-2-十二烷烯酸	$[M+FA-H]^-$	$C_{12}H_{22}O_2$	243.160 1	-0.59	↑	√	√	
30	6.91	牛磺熊去氧胆酸盐	$[M+H, M+Na]^+$	$C_{26}H_{45}NO_6S$	499.297 0	0.43	↑	√		
31	7.11	15H-11,12-EETA	$[M-H]^-$	$C_{20}H_{32}O_4$	335.222 7	-0.37	↑			
32	7.13	十四烷二酸	$[M-H]^-$	$C_{14}H_{26}O_4$	257.175 8	-0.08	↑	√		
33	7.13	尿胆原	$[M+H, M+Na]^+$	$C_{33}H_{44}N_4O_6$	592.326 0	-0.23	↓	√*	√	√*
34	8.07	鹅去氧胆酸盐	$[M-H]^-$	$C_{24}H_{40}O_5$	407.280 3	0.09	↑		√	√
35	8.63	花生四烯酸盐	$[M+FA-H]^-$	$C_{20}H_{32}O_2$	349.238 2	-0.76	↓	√*	√*	√*
36	9.96	去氧胆酸	$[M-H]^-$	$C_{24}H_{40}O_4$	391.285 3	-0.26	↓	√*	√*	√*
37	10.56	亚油酸盐	$[M+FA-H]^-$	$C_{18}H_{32}O_2$	325.238 3	-0.63	↓	√*	√*	√*
38	10.60	12,13-二羟基-9Z-十八烯酸	$[M-H]^-$	$C_{18}H_{34}O_4$	313.238 3	-0.35	↑	√*	√*	√*
39	10.72	(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosahexaenoic acid	$[M-H]^-$	$C_{22}H_{32}O_2$	327.232 7	-0.63	↓			√
40	11.15	3a,7a-dihydroxy-5β-cholestan-26-al	$[M+FA-H]^-$	$C_{27}H_{46}O_3$	463.343 1	0.47	↑	√*	√	√*
41	11.46	二十二碳五烯酸	$[M-H]^-$	$C_{22}H_{34}O_2$	329.248 5	-0.42	↓			√
42	11.90	肾上腺酸	$[M-H]^-$	$C_{22}H_{36}O_2$	331.264 2	-0.30	↓		√	√*

“↑”上调;“↓”下调;“√”回调; * $P < 0.05$ 。

“↑” up; “↓” down; “√” back; * $P < 0.05$ 。

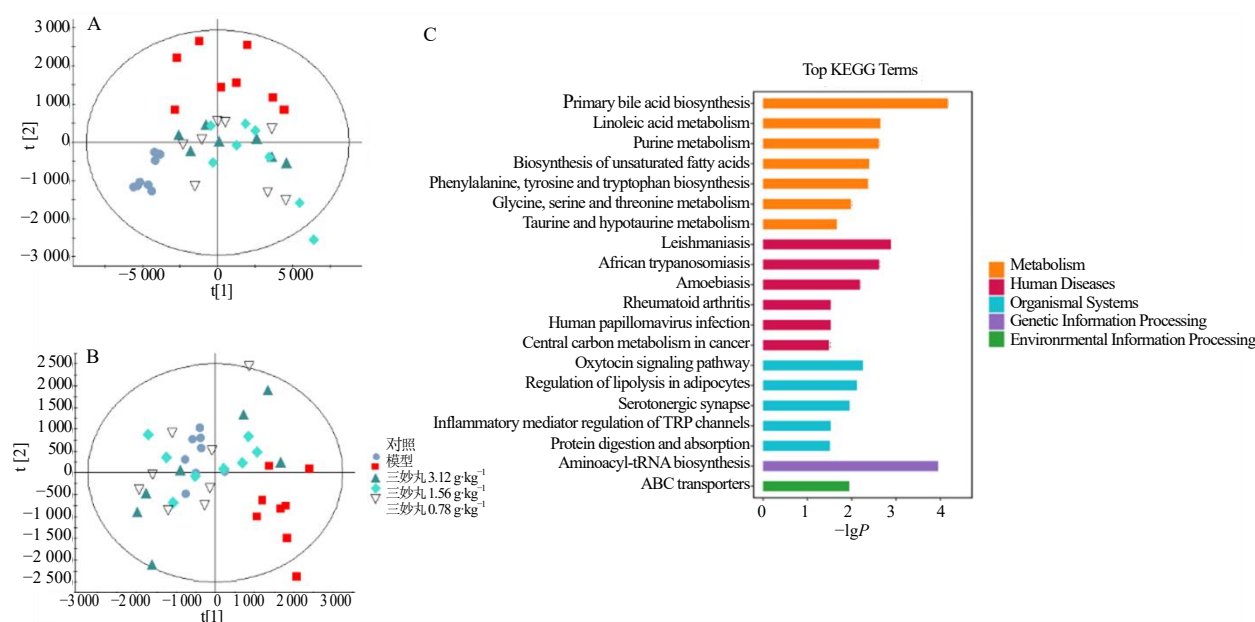
物合成等代谢通路 (图 5-F)。

3.5 三妙丸通过调控小鼠代谢轮廓改善小鼠湿热下注型痛风病

各组小鼠代谢组学数据的 PCA 结果显示三妙丸高中低剂量组能够显著回调湿热下注型痛风病小鼠的代谢轮廓 (图 6-A、B), 含量变化分析显示三妙丸低剂量组能够显著回调前列腺素 E₂、胆红素、鹅去氧胆酸等 29 个代谢物; 三妙丸中剂量组能够显著回调次黄嘌呤、嘌呤、脱氧胆酸等 30 个代谢物; 三妙丸高剂量组能够显著回调牛磺酸、花生四烯酸、亚油酸盐等 28 个代谢物代谢物, 见表 1。通路分析显示, 三妙丸可通过调控初级胆汁酸生物合成、亚油酸代谢、嘌呤代谢和不饱和脂肪酸生物合成等代谢通路改善小鼠湿热下注型痛风病 (图 6-C)。

3.6 三妙丸血中移行成分分析

对模型组空白血清及三妙丸低、中、高剂量组含药血清进行正、负离子模式全扫描采集, 共鉴定三妙丸 89 个体外化学成分 (表 2), 通过文献及数据库对成分来源进行归属, 其中来源于黄柏的有 45 个成分, 来源于苍术的有 19 个成分, 来源于牛膝的有 13 个成分, 此外, 2 个成分为黄柏和苍术共有, 5 个成分为黄柏和牛膝共有, 5 个成分为黄柏、苍术和牛膝共有。在中药血清药物化学理论指导下, 在正负离子全扫描模式下共鉴定了 38 个三妙丸血中移行成分, 其中包括 34 个原型成分和 4 个代谢产物 (表 3), 其中来源于黄柏的有 16 个成分, 包括 13 个原型入血成分和 3 个代谢产物, 来源于苍术的有 15 个成分, 包括 14 个原型入血成分和 1 个代谢



A-各组小鼠血清代谢组学正离子模式 PCA 图; B-各组小鼠血清代谢组学负离子模式 PCA 图; C-三妙丸回调代谢物通路分析图。
A-PCA of positive ion mode of serum metabolomics in each group of mice; B-PCA of negative ion mode of serum metabolomics in each group of mice;
C-analysis of metabolite pathway regulated by Sanmiao Pills.

图 6 三妙丸对湿热下注型痛风小鼠代谢调控分析

Fig. 6 Analysis of metabolic regulation of Sanmiao Pills in mice with damp-heat type gout

表 2 三妙丸化学成分分析

Table 2 Chemical composition analysis of Sanmiao Pills

编号	t_R/min	化合物名称	分子式	离子碎片	加和形式	m/z	误差值 ($\times 10^{-6}$)	归属
1	0.49	L-香芹酮	$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$	123.013 7, 118.034 8, 105.003 1	$[\text{M}+\text{H}]^+$	151.111 7	-0.40	A
2	0.78	D-葡萄糖	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	119.345 3, 89.142 1	$[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$	225.061 7	0.35	C
3	1.09	柠檬酸	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	111.008 4, 102.948 2, 87.008 3	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.019 7	-0.23	ABC
4	1.47	延胡索单酚碱	$\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{NO}_4$	297.112 1, 265.086 1, 192.101 8	$[\text{M}+\text{H}]^+$	342.170 3	0.95	A
5	1.62	androbiphenylene	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{NO}_6$	270.112 7, 162.055 5, 89.023 8	$[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$	432.166 5	0.31	A
6	1.82	2-乙烯基苯胺	$\text{C}_8\text{H}_9\text{N}$	147.044 9, 120.053 0, 72.008 6	$[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$	164.071 7	0.14	B
7	2.29	罗汉松甾酮 C	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_8$	185.077 4, 184.073 4, 104.106 8	$[\text{M}+\text{H}]^+$	497.311 1	0.37	C
8	2.37	腺苷	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$	196.889 2, 136.061 4	$[\text{M}+\text{H}]^+$	268.104 3	0.88	B
9	2.48	丁香树脂酚	$\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$	95.015 8, 89.059 4, 87.043 7	$[\text{M}+\text{H}]^+$	419.170 3	0.51	A
10	2.69	杏黄甾碱	$\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_3$	133.085 6, 103.038 6, 89.059 4	$[\text{M}+\text{H}]^+$	314.175 2	0.36	A
11	3.27	氧巴马亭	$\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_5$	353.125 8	$[\text{M}+\text{H}]^+$	368.149 4	0.51	A
12	3.37	紫丁香酚苷	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_9$	249.061 2, 167.034 8, 61.987 8	$[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$	417.140 1	-0.24	B
13	3.64	壬二酸	$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$	121.029 1, 101.940 4	$[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$	233.103 0	-0.25	AC
14	3.69	京尼平苷	$\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	341.107 5, 326.133 8, 89.023 8	$[\text{M}-\text{H}]^-$	387.129 5	-0.39	AC
15	4.04	香草醇 4-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$	167.034 3, 152.010 8, 123.044 5	$[\text{M}-\text{H}]^-$	315.108 2	-0.97	A
16	4.45	奎宁酸	$\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$	191.235 9, 126.873 4	$[\text{M}-\text{H}]^-$	191.056 1	0.02	A
17	4.86	5-羟小檗碱	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_5^+$	191.055 5, 173.044 9, 133.028 9	$[\text{M}-\text{H}]^-$	351.111 6	0.98	A
18	4.92	绿原酸	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$	191.055 5, 179.034 7, 135.044 9	$[\text{M}-\text{H}]^-$	353.087 5	-0.98	ABC
19	5.00	金丝桃苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	148.048 4, 147.046 8, 77.004 9	$[\text{M}+\text{H}, \text{M}+\text{Na}]^+$	465.103 0	0.48	A
20	5.17	降氧化北美黄连次碱	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_3$	177.078 3, 149.083 5, 148.075 6	$[\text{M}+\text{H}]^+$	192.065 5	-0.15	A

表 2 (续)

编号	tr/min	化合物名称	分子式	离子碎片	加和形式	m/z	误差值 ($\times 10^{-6}$)	归属
21	5.22	二氢山奈酚	C ₁₅ H ₁₂ O ₆	285.182 7, 265.216 4, 261.149 0	[M+FA-H] ⁻	333.061 3	-0.92	A
2	5.46	芥子醇	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	209.061 7	[M+FA-H] ⁻	255.087 3	-0.52	A
23	5.49	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	178.027 0, 134.036 9, 133.029 2	[M-H] ⁻	193.050 8	0.88	B
24	5.92	(25R)-牛膝甾酮	C ₂₇ H ₄₄ O ₇	335.170 1, 199.850 6, 61.987 8	[M-H] ⁻	479.301 6	0.35	C
25	6.04	脱氢异黄柏苷	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₂	340.154 0, 61.987 8	[M-H, M+FA-H] ⁻	533.166 9	0.83	A
26	6.24	berbithine	C ₁₉ H ₁₇ NO ₅	133.085 7, 89.059 4, 73.028 1	[M+H] ⁺	340.118 2	0.60	A
27	6.27	黄藤素	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄ ⁺	359.074 1, 330.105 0, 256.068 5	[M+Na] ⁺	375.144 0	-0.16	A
28	6.38	N-反式-阿魏酰酪胺	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	312.123 1, 190.057 1, 150.027 6	[M+FA-H] ⁻	358.129 3	-1.04	C
29	6.78	甘草查耳酮 A	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	191.055 8, 173.045 6, 134.037 2	[M-H] ⁻	367.103 2	-0.71	A
30	6.81	四氢巴马汀	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	340.118 4, 324.086 9, 292.133 8	[M+FA-H] ⁻	400.176 4	-0.48	A
31	6.95	四氢小檗碱	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	294.071 6, 163.112 7, 87.008 1	[M-H, M+FA-H] ⁻	384.145 1	-0.77	A
32	7.26	去甲淫羊藿黄素	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	356.090 1	[M+FA-H] ⁻	417.119 3	0.53	A
33	7.61	原阿片碱	C ₂₀ H ₁₉ NO ₅	338.130 2, 310.135 0, 190.086 1	[M+H] ⁺	354.133 9	0.97	A
34	7.88	卡维丁	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	338.102 2, 323.078 8, 308.055 3	[M+FA-H] ⁻	398.160 4	-1.34	A
35	8.10	(E)-咖啡酸乙酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	152.078 5, 177.054 4, 91.053 8	[M+H] ⁺	209.080 8	0.01	AB
36	8.98	旌节花甾酮 D	C ₂₇ H ₄₂ O ₆	461.202 2, 279.232 3, 152.995 7	[M+FA-H] ⁻	507.296 8	0.91	C
37	9.10	药根碱	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄ ⁺	272.013 7, 244.018 5, 105.033 3	[M+H] ⁺	339.146 3	-0.52	A
38	9.20	榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	149.132 3, 109.100 8, 95.085 2	[M+H] ⁺	205.195 1	-0.01	B
39	9.33	对羟苯乙基三甲基铵	C ₁₁ H ₁₈ NO ⁺	147.116 5, 144.080 4, 105.069 5	[M+Na] ⁺	203.127 8	-1.55	A
40	9.77	苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	201.112 4, 187.097 1, 125.096 8	[M+FA-H] ⁻	261.149 7	0.19	B
41	9.80	小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	321.100 0, 320.091 9, 292.097 1	[M+H] ⁺	336.123 2	-3.83	A
42	9.81	黄连碱	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄ ⁺	229.122 3, 120.080 7, 60.080 6	[M+H] ⁺	321.099 7	0.50	AC
43	9.91	汉黄芩苷	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	283.061 2, 267.020 9, 175.024 8	[M-H] ⁻	459.093 4	0.26	B
44	10.16	pteleine	C ₁₃ H ₁₁ NO ₃	194.081 1, 98.059 7, 86.059 6	[M+H] ⁺	230.081 2	0.15	A
45	10.21	白鲜碱	C ₁₂ H ₉ NO ₂	185.046 9, 135.944 9, 114.971 1	[M+H] ⁺	200.070 7	0.34	A
46	10.29	芒柄花黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	223.133 4, 133.029 0	[M-H] ⁻	267.066 1	-0.64	C
47	10.49	N-methylflindersine	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	218.983 7, 200.070 6, 182.153 9	[M+H] ⁺	242.117 6	0.23	A
48	10.50	oxo-9,11-octadecadienoic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	277.216 1, 151.111 5, 93.069 5	[M+H] ⁺	295.226 9	0.54	A
49	10.63	obamegine	C ₃₆ H ₃₈ N ₂ O ₆	415.221 7, 317.208 6, 147.046 8	[M+H] ⁺	595.280 5	0.32	A
50	10.95	铁屎米酮	C ₁₄ H ₈ N ₂ O	192.076 0, 167.060 3	[M+H] ⁺	221.071 0	0.15	A
51	11.13	牛膝皂苷 D	C ₅₃ H ₈₂ O ₂₅	997.498 8, 955.488 9, 793.436 0	[M-H] ⁻	1 117.507 4	0.17	C
52	11.41	蒺藜酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	311.222 8, 199.134 0, 131.107 8	[M-H] ⁻	329.233 1	-0.66	ABC
53	11.57	皱唐松草酮碱	C ₁₉ H ₁₅ NO ₆	323.078 8, 308.055 3, 61.987 7	[M+FA-H] ⁻	398.088 1	-0.18	A
54	11.62	楝木皂苷 A	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	805.438 5, 763.426 6, 130.997 7	[M-H] ⁻	925.481 0	0.82	C
55	11.77	竹节参皂苷 IVa	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	755.494 0, 621.436 1, 109.101 2	[M+Na] ⁺	817.434 7	0.31	C
56	11.92	苍术素醇	C ₁₃ H ₁₀ O ₂	140.046 4, 128.061 8, 95.048 8	[M+H] ⁺	199.075 4	0.03	B
57	12.29	氧化小檗碱	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	336.122 4, 322.107 2, 308.127 9	[M+H] ⁺	352.118 1	0.35	A
58	12.29	白术内酯 III	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	232.145 8, 231.138 1, 159.080 3	[M+H] ⁺	249.148 6	0.38	B
59	12.30	2-苯基苯甲	C ₁₃ H ₁₂ O	142.077 4, 129.069 6, 91.053 8	[M+H] ⁺	185.096 1	0.01	B
60	12.30	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	239.070 4, 189.018 7, 119.049 6	[M-H] ⁻	283.060 9	-0.98	B
61	12.49	黄柏酮	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	336.123 4, 321.100 2, 161.059 5	[M+H, M+Na] ⁺	473.217 2	0.44	A
62	12.56	人参皂苷 Ro	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	777.442 5, 619.421 0, 455.352 5	[M+Na] ⁺	979.487 4	0.08	C
63	12.60	基哈丹宁 A	C ₂₆ H ₃₀ O ₉	337.126 1, 321.097 0, 293.099 9	[M+H] ⁺	487.196 2	-0.18	A
64	12.64	黄柏酮	C ₂₆ H ₃₀ O ₇	338.136 1, 292.202 0, 204.101 8	[M+H, M+Na] ⁺	455.206 7	0.60	A
65	13.05	苦楝子酮	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	425.196 4, 161.059 6, 95.012 6	[M+H] ⁺	471.347 1	0.55	A

表 2 (续)

编号	tr/min	化合物名称	分子式	离子碎片	加和形式	m/z	误差值 ($\times 10^{-6}$)	归属
66	13.50	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	95.085 5, 81.069 9, 55.054 2	[M+H] ⁺	137.132 5	0.27	A
67	13.73	白术内酯 I	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	216.060 9, 185.132 5, 157.101 0	[M+H] ⁺	231.138 0	0.26	B
68	13.76	2-十一烯醛	C ₁₁ H ₂₀ O	169.122 7, 151.112 3	[M+FA-H] ⁻	213.149 6	-0.30	A
69	13.96	白术内酯 II	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	215.143 1, 187.148 0, 151.075 0	[M+H] ⁺	233.153 7	0.19	B
70	13.97	红菟萁酮	C ₁₉ H ₂₆ O ₅	116.928 1, 99.925 3, 84.938 2	[M+FA-H] ⁻	379.176 0	-0.73	C
71	14.11	栝楼酯碱	C ₂₇ H ₂₈ N ₂ O ₄	426.200 1, 384.240 5, 95.012 3	[M+H, M+Na] ⁺	445.212 4	0.46	A
72	14.18	柠檬苦素	C ₂₆ H ₃₀ O ₈	471.201 3, 425.195 9	[M+H, M+Na] ⁺	471.201 6	0.55	A
73	14.56	黄芩素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	269.045 3	[M-H] ⁻	269.045 4	-0.69	C
74	15.28	广玉兰内酯	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	193.121 9, 103.039 4, 87.008 2	[M-H] ⁻	265.144 5	-0.13	A
75	15.43	愈创萜醇	C ₁₅ H ₂₆ O	252.063 0, 133.029 0	[M+FA-H] ⁻	267.196 4	-0.83	B
76	15.47	牛膝皂苷 C	C ₄₇ H ₇₂ O ₂₀	817.432 4, 523.091 1, 203.016 2	[M+Na] ⁺	979.451 0	0.10	C
77	15.70	苍术素	C ₁₃ H ₁₀ O	131.974 0, 113.963 4, 72.936 8	[M+H] ⁺	183.080 4	-0.08	B
78	16.24	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.233 0, 261.222 4, 235.243 1	[M+FA-H] ⁻	325.238 2	-0.99	ABC
79	19.03	AR-姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂	147.116 5, 144.080 4, 105.069 5	[M+H] ⁺	203.179 4	0.06	B
80	19.07	α -亚麻酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	261.222 4, 95.085 3, 81.069 5	[M+H] ⁺	279.232 0	0.39	ABC
81	19.45	3-己基-7-羟基-4	C ₁₇ H ₂₂ O ₃	257.136 7, 203.089 4, 181.075 8	[M+H] ⁺	275.164 3	0.47	B
82	19.50	kihadalactone B	C ₃₀ H ₄₂ O ₈	193.050 1, 173.045 1, 93.034 3	[M-H] ⁻	529.281 1	0.82	A
83	19.73	齐墩果酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	439.321 8, 411.363 2, 383.259 2	[M-H] ⁻	455.353 2	0.36	AB
84	19.93	2-戊基癸酮	C ₁₅ H ₃₀ O	225.221 6, 59.013 2	[M+FA-H] ⁻	271.227 7	-0.75	A
85	20.12	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	265.129 7, 134.095 9, 70.064 7	[M+H] ⁺	283.263 3	0.37	B
86	20.58	赛奥林-NP36	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	438.313 9	[M-H] ⁻	453.337 6	0.31	A
87	21.19	二高- γ -亚麻酸	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	95.085 3	[M-H] ⁻	305.248 4	-0.60	B
88	21.40	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	237.221 4, 116.927 8	[M-H, M+FA-H] ⁻	255.232 9	-0.25	AC
89	22.50	硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	266.259 1	[M-H, M+FA-H] ⁻	283.264 0	-0.77	AC

A-黄柏; B-苍术; C-牛膝; 表 3 同。

A-*Phellodendri Chinensis Cortex*; B-*Atractylodis Rhizoma*; C-*Achyranthis Bidentatae Radix*; same as table 3.

产物, 来源于牛膝的有 2 个成分, 此外, 1 个成分为黄柏和苍术共有, 2 个成分为黄柏和牛膝共有, 2 个成分为黄柏、苍术和牛膝共有, 如图 7 所示。

3.7 基于方证代谢组学的三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础研究

利用 PCMS 分析平台计算三妙丸血中移行成分与三妙丸效应生物标记物相关系数, 本研究以相关系数 $r_1=0.7$, $r_2=0.7$ 为界值, 筛选血中移行成分与生物标记物相关个数达到 6 个及以上的为高度相关成分, 即与药效生物标记物相关联的结果高度相关成分均大于 6 个以上的血中成分被认为是三妙丸干预湿热下注型痛风病的药效物质基础。依据三妙丸显效状态下血中移行成分(表 3)与三妙丸中剂量组的 30 个效应生物标记物(顺序见表 1)关联性分析结果如图 8 所示, 白术内酯 III、白术内酯 II、牛膝皂苷 C、京尼平苷、小檗碱、皱唐松草酮碱、亚美罂粟碱、榄香烯、苦楝子酮、油酸为三妙丸干

预的湿热下注型痛风病的潜在药效物质基础。

4 讨论

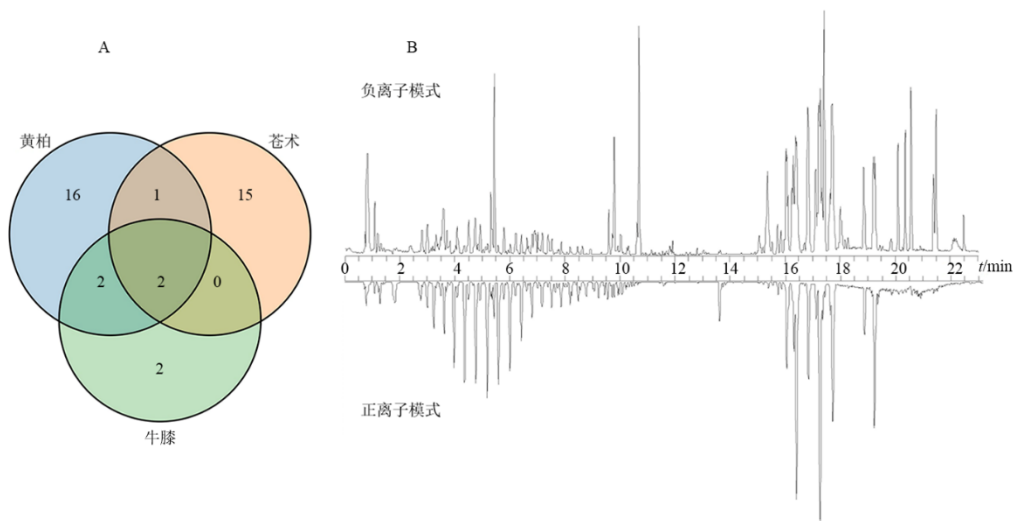
本研究发现了白术内酯 II、白术内酯 III、牛膝皂苷 C、京尼平苷、小檗碱、皱唐松草酮碱、亚美罂粟碱、榄香烯、苦楝子酮、油酸为三妙丸干预的湿热下注型痛风病的潜在药效物质基础, 这些成分在改善湿热下注型痛风病方面具有重要意义。

小檗碱, 广泛存在于黄柏中, 是一种植物来源的天然异喹啉生物碱, 小檗碱具有抑制炎症反应、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用^[28-29], 抑制 NLRP3 炎性小体激活, 介导细胞焦亡, 特异性阻断 NEK7 (NIMA-related kinase 7)-NLRP3 之间的相互作用, 并通过不断抑制 IL-1 β 的释放发挥抗炎作用^[30]。京尼平苷具有抗炎、神经保护、抗糖尿病、肝保护、镇痛、心脏保护、抗氧化、免疫调节和抗肿瘤生物活性等药理作用^[31-32], 研究表明京尼平苷通过调节 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated

表 3 三妙丸血中移行成分
Table 3 Constituents absorbed into blood of Sanmiao Pills

编号	t _R /min	化合物名称	分子式	离子碎片	加和形式	m/z	误差值 (×10 ⁻⁶)	归属
1	0.78	D-葡萄糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	119.345 3, 89.142 1	[M+FA-H] ⁻	225.061 7	0.35	C
2	1.09	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	111.008 4, 102.948 2, 87.008 3	[M-H] ⁻	191.019 7	-0.23	ABC
3	2.37	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	196.889 2, 136.061 4	[M+H] ⁺	268.104 3	0.88	B
4	2.59	小檗碱 9-O-葡萄糖苷酸	C ₂₅ H ₂₄ NO ₁₀ ⁺	320.222 6, 264.196 4	[M+FA-H] ⁻	543.136 2	-4.15	A
5	2.69	杏黄甾碱	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	133.085 6, 103.038 6, 89.059 4	[M+H] ⁺	314.175 2	0.36	A
6	3.37	紫丁香酚苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	249.061 2, 167.034 8, 61.987 8	[M+FA-H] ⁻	417.140 1	-0.24	B
7	3.69	京尼平苷	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	341.107 5, 326.133 8, 89.023 8	[M-H] ⁻	387.129 5	-0.39	AC
8	5.46	芥子醇	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	209.061 7	[[M+FA-H] ⁻	255.0873	-0.52	A
9	5.49	阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	178.027 0, 134.036 9, 133.029 2	[M-H] ⁻	193.050 8	0.88	B
10	6.04	脱氢异黄柏甙	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₂	340.154 0, 61.987 8	[M-H, M+FA-H] ⁻	533.166 9	0.83	A
11	6.81	四氢巴马汀	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	340.118 4, 324.086 9, 292.133 8	[M+FA-H] ⁻	400.176 4	-0.48	A
12	6.95	四氢小檗碱	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	294.071 6, 163.112 7, 87.008 1	[M-H, M+FA-H] ⁻	384.145 1	-0.77	A
13	7.26	去甲淫羊藿黄素	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	356.090 1	[M+FA-H] ⁻	417.119 3	0.53	A
14	7.26	2-羟基苯乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	93.137 2, 59.012 1	[M-H] ⁻	151.040 2	0.84	B
15	7.88	卡维丁	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	338.102 2, 323.078 8, 308.055 3	[M+FA-H] ⁻	398.160 4	-1.34	A
16	8.10	(E)-咖啡酸乙酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	152.078 5, 177.054 4, 91.053 8	[M+H] ⁺	209.080 8	0.01	AB
17	9.20	榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	149.132 3, 109.100 8, 95.085 2	[M+H] ⁺	205.195 1	-0.01	B
18	9.50	小檗碱代谢物 HM1	C ₁₉ H ₁₇ NO ₇ S	320.222 6, 212.165 1	[M-H] ⁻	402.065 4	0.27	A
19	9.77	苍术酮	C ₁₅ H ₂₀ O	201.112 4, 187.097 1, 125.096 8	[M+FA-H] ⁻	261.149 7	0.19	B
20	9.80	小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	321.100 0, 320.091 9, 292.097 1	[M+H] ⁺	336.123 2	-3.83	A
21	9.81	黄连碱	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄ ⁺	229.122 3, 120.080 7, 60.080 6	[M+H] ⁺	321.099 7	0.50	AC
22	11.57	皱唐松草酮碱	C ₁₉ H ₁₅ NO ₆	323.078 8, 308.055 3, 61.987 7	[M+FA-H] ⁻	398.088 1	-0.18	A
23	11.92	苍术素醇	C ₁₃ H ₁₀ O ₂	140.046 4, 128.061 8, 95.048 8	[M+H] ⁺	199.075 4	0.03	B
24	12.29	白术内酯 III	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	232.145 8, 231.138 1, 159.080 3	[M+H] ⁺	249.148 6	0.38	B
25	12.30	2-苯基苯甲	C ₁₃ H ₁₂ O	142.077 4, 129.069 6, 91.053 8	[M+H] ⁺	185.096 1	0.01	B
26	12.30	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	239.070 4, 189.018 7, 119.049 6	[M-H] ⁻	283.060 9	-0.98	B
27	12.49	黄柏酮	C ₂₆ H ₃₂ O ₈	336.123 4, 321.100 2, 161.059 5	[M+H, M+Na] ⁺	473.217 2	0.44	A
28	13.05	苦楝子酮	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	425.196 4, 161.059 6, 95.012 6	[M+H] ⁺	471.347 1	0.55	A
29	13.73	白术内酯 I	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	216.060 9, 185.132 5, 157.101 0	[M+H] ⁺	231.138 0	0.26	B
30	13.96	白术内酯 II	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	215.143 1, 187.148 0, 151.075 0	[M+H] ⁺	233.153 7	0.19	B
31	15.28	广玉兰内酯	C ₁₅ H ₂₂ O ₄	193.121 9, 103.039 4, 87.008 2	[M-H] ⁻	265.144 5	-0.13	A
32	15.43	愈创萜醇	C ₁₅ H ₂₆ O	252.063 0, 133.029 0	[M+FA-H] ⁻	267.196 4	-0.83	B
33	15.47	牛膝皂苷 C	C ₄₇ H ₇₂ O ₂₀	817.432 4, 523.091 1, 203.016 2	[M+Na] ⁺	979.451 0	0.10	C
34	16.24	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.233 0, 261.222 4, 235.243 1	[M+FA-H] ⁻	325.238 2	-0.99	ABC
35	20.12	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	265.129 7, 134.095 9, 70.064 7	[M+H] ⁺	283.263 3	0.37	B
36	20.58	赛奥林-NP36	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	438.313 9	[M-H] ⁻	453.337 6	0.31	A
37	20.88	小檗碱代谢物 HM2	C ₂₆ H ₂₈ NO ₁₀ ⁺	320.222 6, 304.227 7	[M+FA-H] ⁻	559.171 4	3.73	A
38	21.19	二高-γ-亚麻酸	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	95.085 3	[M-H] ⁻	305.248 4	-0.60	B

protein 1, Keap1)/核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2)/抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 信号通路起到抗炎作用,发现京尼平苷可能与 Keap1 相互作用,激活 Nrf2/ARE 通路的转录活性,进而上调抗氧化酶的表达,抑制炎症反应^[33]。亚美罂粟碱是一种核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 抑制剂,不仅对人外周血单核细胞具有抗炎作用,且对 T 淋巴细胞也具有免疫抑制作用^[34-35]。亚美罂粟碱抑制肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 诱导



A-三妙丸血中移行成分归属; B-三妙丸血中移行成分色谱分布。

A-attribution of constituents absorbed into blood of Sanmiao Pills; B-chromatographic distribution of constituents absorbed into blood of Sanmiao Pills.

图 7 三妙丸血中移行成分分析

Fig. 7 Analysis of constituents absorbed into blood of Sanmiao Pills

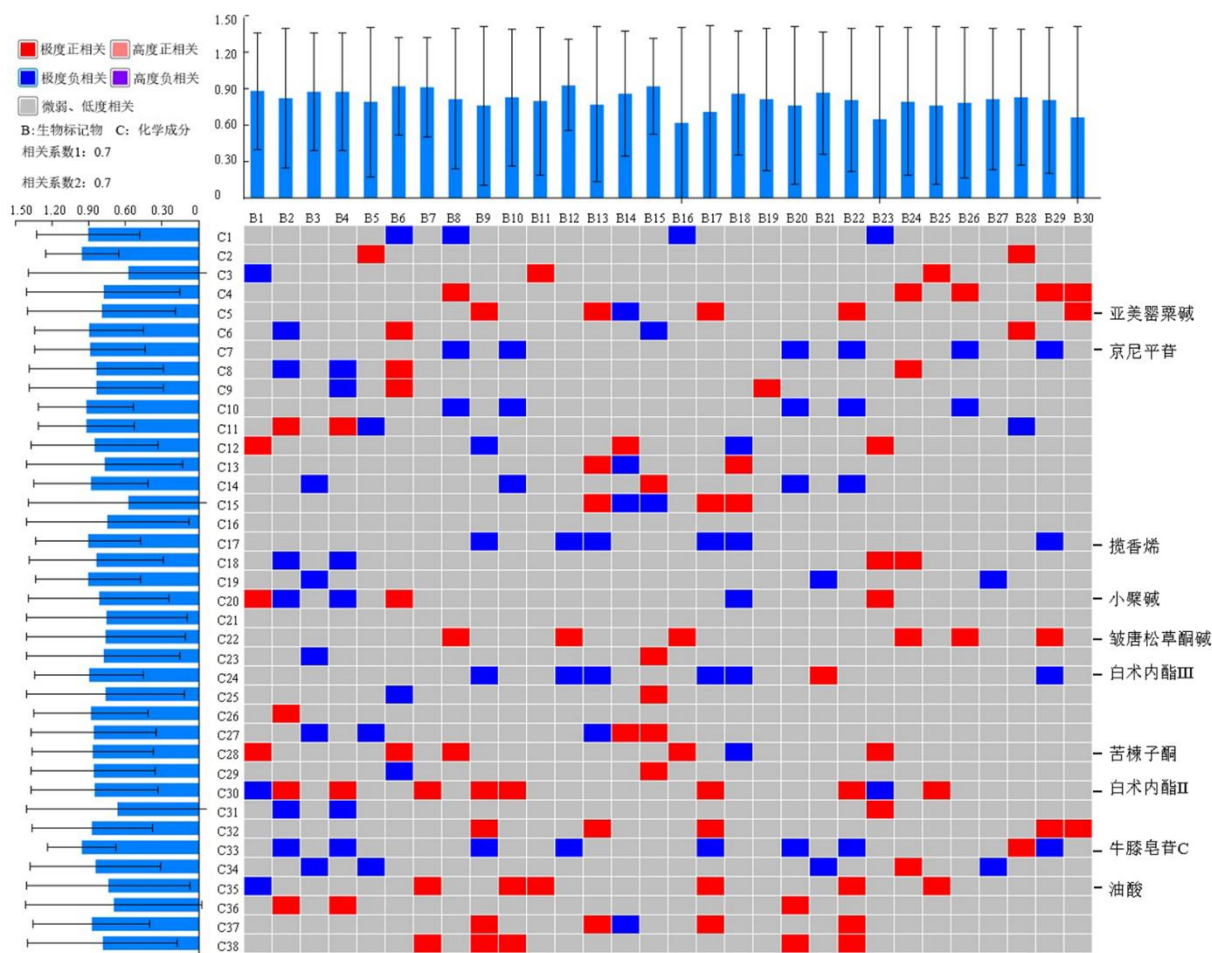


图 8 三妙丸干预湿热下注型痛风病效应生物标记物与血中移行成分相对峰面积关联性分析图

Fig. 8 Correlation between biomarkers of effect of Sanmiao Pills on intervention of damp-heat type gout and relative peak areas of constituents absorbed into blood

的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 NF- κ B 信号级联反应^[36]。

白术内酯 II 和白术内酯 III 是来自苍术中的倍半萜类化合物, 可以通过调节炎症介质的产生来发挥抗炎作用。它能够抑制一些炎症因子如 IL-1、NF- κ B、IL-6 和 TNF- α 的表达^[37-38], 减少炎症介质的合成, 从而缓解痛风炎症。白术内酯 III 治疗可以减轻骨关节炎, 其对骨关节炎作用可以被 NF- κ B 激动剂逆转, 说明白术内酯 III 可以通过 NF- κ B 途径抑制骨关节炎^[39]。

牛膝皂苷 C 来源于牛膝, 其对脂多糖诱导的小鼠胚胎瘤 ATDC5 细胞 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的分泌具有不同程度的抑制作用, 此外牛膝皂苷 C 可以抑制脂多糖诱导的 ATDC5 细胞诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶-2 及 NF- κ B 信号通路, 牛膝皂苷 C 具有改善痛风性关节炎的炎症反应的潜力。

榄香烯具有抗炎作用, 研究表明其可以抑制高糖诱导的大鼠心肌 H9c2 细胞中 Janus 激酶 2 和信号转导和转录激活因子 3 的磷酸化及促炎因子的 mRNA 和蛋白水平, 抑制 NF- κ B 通路中 p65 磷酸化、p65 核易位上调^[40]。此外, 榄香烯还可诱导细胞凋亡, 通过铁依赖性活性氧积累和谷胱甘肽消耗诱导铁死亡, 体内抑制结肠癌在体内生长和淋巴结转移^[41]。铁死亡使细胞膜上的不饱和脂肪酸通过铁离子或酯氧合酶达到较高的表达水平, 引起过氧化脂质反应, 从而导致细胞的死亡。榄香烯对 MAPK/细胞外调节蛋白激酶和磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号传导途径具有抑制作用, 引导细胞凋亡、保护性自噬^[42]。

油酸可直接调节抗氧化酶的合成和活性。对炎症性疾病具有一定的调节作用抗炎作用, 可能与抑制促炎因子和激活抗炎因子有关^[43]。有研究显示油酸在、炎症、免疫、心血管疾病或皮肤修复方法的潜在的积极作用^[44]。

综上所述, 本研究揭示了三妙丸干预的湿热下注型痛风病的潜在药效物质基础, 这些成分在抗炎和保护关节方面具有潜在作用, 为三妙丸干预湿热下注型痛风病的深入研究提供研究基础, 为三妙丸的精准用药和湿热下注型痛风病治疗药物的开发提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Dalbeth N, Gosling A L, Gaffo A, *et al*. Gout [J]. *Lancet*,

2021, 397(10287): 1843-1855.

[2] 刘维, 吴沅峰, 卡玉秀, 等. 中医药治疗痛风的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(23): 7895-7906.

[3] 梁晓伟, 何佳, 高翔, 等. 白头翁皂苷 B4 栓剂改善大鼠痛风药效学研究 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(7): 1466-1474.

[4] 刘维. 痛风及高尿酸血症中西医结合诊疗指南 [J]. *中医杂志*, 2023, 64(1): 98-106.

[5] Yip K, Berman J. What is gout? [J]. *Jama*, 2021, 326(24): 2541.

[6] 李维俏, 李雨昕, 刘冉, 等. 痛风动物模型建立方法及中药治疗痛风机制研究进展 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2024(13): 27-32.

[7] 杨丽华, 刘晓丽, 蒋雅琼, 等. 我国痛风的患病率及危险因素 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(12): 4-6.

[8] 胡怡恺. 急性痛风性关节炎中医证型分布特点和用药规律探究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.

[9] 陈家兴, 梁铭. 痛风性关节炎中医证候分布规律探讨 [J]. *中国医疗前沿*, 2013, 8(12): 41.

[10] 王婕, 张晓东, 鲍凤和. 老年痛风性关节炎发病危险因素及其中医证候分布特点分析 [J]. *辽宁中医杂志*, 2024, 51(12): 82-85.

[11] Stamp L K, Dalbeth N. Prevention and treatment of gout [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019, 15(2): 68-70.

[12] 吴娟, 王德群, 谢晋, 等. 三妙丸方诸药基原考 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2014, 33(2): 87-90.

[13] 吴娟. 应用大鼠急性痛风性关节炎和高尿酸血症模型研究三妙丸方中牛膝“引药下行”作用 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2015.

[14] 何麒, 邵华. 邵华教授运用三妙丸治疗痛风的经验 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2019, 17(11): 42-44.

[15] 陈杰. 三妙丸加味治疗痛风性关节炎临床观察 [J]. *中国中医急症*, 2014, 23(3): 532-533.

[16] Han Y, Sun H, Zhang A H, *et al*. Chinmedomics, a new strategy for evaluating the therapeutic efficacy of herbal medicines [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107680.

[17] 刘鸿达, 孔玲, 孙晖, 等. 方证代谢组学理论及方法的形成和发展 [J]. *中草药*, 2025, 56(8): 2629-2637.

[18] Li X H, Yin F T, Zhou X H, *et al*. The signaling pathways and targets of natural compounds from traditional Chinese medicine in treating ischemic stroke [J]. *Molecules*, 2022, 27(10): 3099.

[19] Zhang Y, Yang Y, Ren J L, *et al*. Chinmedomics strategy for elucidating the effects and effective constituents of Danggui Buxue Decoction in treating blood deficiency syndrome [J]. *Front Mol Biosci*, 2024, 11: 1376345.

[20] Wang Y, Yang L, Zhang X W, *et al*. Quality marker discovery of Danggui Jianzhong Decoction for treating primary dysmenorrhoea based on chinmedomics strategy [J]. *Phytomedicine*, 2023, 115: 154724.

- [21] Wang Z W, Liu C, Zhang A H, *et al.* Discovery of Q-Markers of Wenxin Formula based on a chinmedomics strategy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 298: 115576.
- [22] Li T P, Wu F F, Zhang A H, *et al.* High-throughput chinmedomics strategy discovers the quality markers and mechanisms of Wutou Decoction therapeutic for rheumatoid arthritis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 854087.
- [23] Ren J L, Yang L, Qiu S, *et al.* Efficacy evaluation, active ingredients, and multitarget exploration of herbal medicine [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2023, 34(3): 146-157.
- [24] Liu H D, Kong L, Cao D D, *et al.* Efficacy and mechanism of the Ermiao San series of formulas for rheumatoid arthritis based on Chinmedomics strategy [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155903.
- [25] Wei W F, Sun H, Liu S B, *et al.* Targets and effective constituents of ZhiziBaipi Decoction for treating damp-heat jaundice syndrome based on chinmedomics coupled with UPLC-MS/MS [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 857361.
- [26] 姚燕箐, 汪焱, 徐文静, 等. 异落新妇苷通过调节 NLRP3 炎症小体和 NF- κ B 信号通路减轻尿酸钠诱导的小鼠急性痛风性关节炎机制研究 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2022, 46(9): 929-935.
- [27] 姜晓琳, 郭凯, 贺玉伟, 等. NLRP3 炎症小体抑制剂 N14 对小鼠痛风性关节炎的治疗作用 [J]. *药学报*, 2024, 59(5): 1229-1237.
- [28] Zhang S C, Xu P Y, Zhu Z W, *et al.* Acetylation of p65^{Lys310} by p300 in macrophages mediates anti-inflammatory property of berberine [J]. *Redox Biol*, 2023, 62: 102704.
- [29] 张明玥, 夏玮, 韦珊珊, 等. 小檗碱在结直肠癌治疗中的作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(7): 2491-2502.
- [30] Zeng Q X, Deng H B, Li Y H, *et al.* Berberine directly targets the NEK7 protein to block the NEK7-NLRP3 interaction and exert anti-inflammatory activity [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(1): 768-781.
- [31] Huang J S, Chen Z X, Wu Z Y, *et al.* Geniposide stimulates autophagy by activating the GLP-1R/AMPK/mTOR signaling in osteoarthritis chondrocytes [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115595.
- [32] Qin T T, Hasnat M, Wang Z W, *et al.* Geniposide alleviated bile acid-associated NLRP3 inflammasome activation by regulating SIRT1/FXR signaling in bile duct ligation-induced liver fibrosis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 118: 154971.
- [33] Zhuge X J, Jin X S, Ji T T, *et al.* Geniposide ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis via Keap1-Nrf2 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116626.
- [34] Weng T C, Shen C C, Chiu Y T, *et al.* Inhibitory effects of arnepavine against hepatic fibrosis in rats [J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16(1): 78.
- [35] Liu C P, Kuo Y C, Shen C C, *et al.* (S)-Arnepavine inhibits human peripheral blood mononuclear cell activation by regulating Itk and PLCgamma activation in a PI-3K-dependent manner [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(5): 1276-1286.
- [36] Weng T C, Shen C C, Chiu Y T, *et al.* Effects of arnepavine against hepatic fibrosis induced by thioacetamide in rats [J]. *Phytother Res*, 2012, 26(3): 344-353.
- [37] Shi K, Wang Y, Xiao Y X, *et al.* Therapeutic effects and mechanism of *Atractylodes Rhizoma* in acute lung injury: Investigation based on an Integrated approach [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1181951.
- [38] Zhou K C, Chen J, Wu J Y, *et al.* Atractylenolide III ameliorates cerebral ischemic injury and neuroinflammation associated with inhibiting JAK2/STAT3/Drp1-dependent mitochondrial fission in microglia [J]. *Phytomedicine*, 2019, 59: 152922.
- [39] Xu Y Z, Hu X F, Cai J L, *et al.* Atractylenolide-III alleviates osteoarthritis and chondrocyte senescence by targeting NF- κ B signaling [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(10): 4607-4620.
- [40] Wang J, Qian C C, Chen Y, *et al.* β -Elemene alleviates hyperglycemia-induced cardiac inflammation and remodeling by inhibiting the JAK/STAT3-NF- κ B pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 119: 154987.
- [41] Chen P, Li X J, Zhang R N, *et al.* Combinative treatment of β -elemene and cetuximab is sensitive to KRAS mutant colorectal cancer cells by inducing ferroptosis and inhibiting epithelial-mesenchymal transformation [J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 5107-5119.
- [42] Zhan Y H, Liu J, Qu X J, *et al.* β -Elemene induces apoptosis in human renal-cell carcinoma 786-0 cells through inhibition of MAPK/ERK and PI3K/Akt/mTOR signalling pathways [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(6): 2739-2744.
- [43] Santa-Maria C, López-Enríquez S, Montserrat-de la Paz S, *et al.* Update on anti-inflammatory molecular mechanisms induced by oleic acid [J]. *Nutrients*, 2023, 15(1): 224.
- [44] Sales-Campos H, Souza P R, Peghini B C, *et al.* An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(2): 201-210.

[责任编辑 赵慧亮]