

基于指纹图谱与网络药理学研究补骨脂盐炙对四神丸活性成分影响

胡福利¹, 罗建¹, 孟霄¹, 李思睿¹, 胡昌江¹, 余凌英^{1*}, 陈志敏^{1,2*}

1. 成都中医药大学药学院/现代中药产业学院, 西南特色中药资源国家重点实验室 四川省非物质文化遗产传承基地 炮制非遗技艺传承与创新四川省文化和旅游厅重点实验室, 四川 成都 611137
2. 成都中医药大学天府中医药创新港, 四川省经典名方二次创新开发工程研究中心, 四川 彭州 611900

摘要:目的 基于指纹图谱与网络药理学探究补骨脂 *Psoraleae Fructus* 盐炙后对四神丸中活性成分的影响。方法 构建 10 批生补骨脂组 (SP) 与 10 批盐补骨脂组 (YZ) 的四神丸 UPLC 指纹图谱, 运用化学模式识别技术并结合网络药理学技术构建“活性成分-药物靶点-通路”网络, 筛选补骨脂炮制前后的差异活性成分, 并对其定量分析。结果 在构建的 20 批四神丸 UPLC 指纹图谱中, 共标定 22 个共有峰, 其中指认了 12 个共有成分, 相似度均 ≥ 0.970 , 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 结果显示, SP 组与 YZ 组差异明显, 根据变量重要性投影 (variable importance projection, VIP) 值大于 1 为标准筛选炮制前后的 11 个差异性成分, 依次为峰 13、12、21 (补骨脂酚)、15、10 (补骨脂二氢黄酮)、7、17、4 (补骨脂素)、19 (五味子甲素)、3、5 (异补骨脂素), 根据中药质量标志物“五项原则”与网络药理学筛选出补骨脂酚、补骨脂二氢黄酮、补骨脂素、五味子甲素、异补骨脂素为补骨脂炮制前后差异活性成分, 并可能通过雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、类固醇受体辅激活因子 (steroid receptor coactivator, SRC)、前列腺素内过氧化物合成酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2) 等基因靶点及癌症信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-hydroxykinaseprotein kinase B, PI3K-Akt)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)、叉头框蛋白 O (forkhead box O, FoxO) 等信号通路发挥药理作用; 定量测定结果显示, 补骨脂盐炙后, 四神丸中补骨脂二氢黄酮与五味子甲素的含量略有升高, 而补骨脂素和异补骨脂素的含量呈现降低趋势, 补骨脂酚则显著降低。结论 建立的 UPLC 指纹图谱可稳定有效地对 SP 组与 YZ 组进行区分, 结合网络药理学分析盐炙前后的主要差异成分群, 为补骨脂盐炙对四神丸中活性成分的影响研究提供参考。

关键词: 四神丸; 补骨脂; 盐炙; 指纹图谱; 网络药理学; 活性成分; 补骨脂素; 异补骨脂素; 补骨脂二氢黄酮; 补骨脂酚; 五味子甲素; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)24-8932-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.24.007

Effect of salt-processed *Psoraleae Fructus* on active components of Sishen Wan based on fingerprint and network pharmacology

HU Fuli¹, LUO Jian¹, MENG Xiao¹, LI Sirui¹, HU Changjiang¹, YU Lingying¹, CHEN Zhimin^{1,2}

1. School of Pharmacy/School of Modern Chinese Medicine Industry, State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Sichuan Intangible Cultural Heritage Inheritance Center, Key Laboratory of Inheritance and Innovation of Processing Intangible Cultural Heritage Techniques of Sichuan Provincial Department of Culture and Tourism, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. Tianfu TCM Innovation Harbour, Sichuan Provincial Engineering Research Center of Innovative Re-development of Famous Classical Formulas, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Pengzhou 611900, China

收稿日期: 2025-09-08

基金项目: 成都中医药大学“杏林学者”学科人才科研提升计划 (QJRC2023014); 国家中医药管理局胡昌江全国老药工传承工作室建设项目; 中华中医药学会青年人才托举工程 (CACM-2023-QNRC2-B15)

作者简介: 胡福利 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制与制剂。E-mail: 1104087836@qq.com

*通信作者: 陈志敏 (1990—), 男, 博士、博士后, 副教授, 研究方向为中药炮制及其非物质文化遗产传承创新研究。

E-mail: chenzhimin@cdutcm.edu.cn

余凌英 (1973—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药炮制与制剂。E-mail: lingyingyu@cdutcm.edu.cn

Abstract: Objective Based on fingerprint and network pharmacology, the effect of salt-processed *Psoraleae Fructus* on the active components in Sishen Wan was explored. **Methods** The UPLC fingerprints of 20 batches of raw *Psoraleae Fructus* groups (SP) and salt-processed *Psoraleae Fructus* groups (YZ) were constructed. The “active component-drug target-pathway” network was constructed by chemical pattern recognition technology combined with network pharmacology technology to screen the differential active components of *Psoraleae Fructus* before and after salt-processed, and the quantitative analysis was carried out. **Results** A total of 22 common peaks were calibrated in the UPLC fingerprints of 20 batches of Sishen Wan, of which 12 common components were identified, and the similarity was greater than 0.970. The results of principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares method-discriminant analysis (OPLS-DA) showed that there was a significant difference between the SP group and the YZ group. According to the variable importance projection (VIP) value greater than 1 as the standard, a total of 11 differential components before and after processing were screened, followed by peak 13, 12, 21 (bakuchiol), 15, 10 (bavachin), 7, 17, 4 (psoralen), 19 (schisandrin A), 3, 5 (isopsoralen). According to the “five principles” of traditional Chinese medicine quality markers and network pharmacology, bakuchiol, bavachin, psoralen, schisandrin A and isopsoralen were selected as the differential active ingredients before and after processing of *Psoraleae Fructus* and may play a pharmacological role through gene targets such as estrogen receptor 1 (ESR1), steroid receptor coactivator (SRC), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), cancer signaling pathways, phosphatidylinositol-3-hydroxykinaseprotein kinase B (PI3K-Akt), mitogen-activated protein kinase (MAPK), forkhead box O (FoxO) signaling pathways. Quantitative determination results revealed that the salt-processed *Psoraleae Fructus* led to a slight increase in the contents of bavachin and schisandrin A, but a decreasing trend for psoralen and isopsoralen, along with a significant reduction in bakuchiol within Sishen Wan. **Conclusion** The established UPLC fingerprint can reliably distinguish the SP group and YZ group. The main differential component groups before and after salt-processed were analyzed by combining network pharmacology to provide a reference for the study of the effect of salt-processed *Psoraleae Fructu* on the active components in Sishen Wan.

Key words: Sishen Wan; *Psoraleae Fructus*; salt-processed; fingerprint; network pharmacology; active ingredient; psoralen; isopsoralen; bavachin; bakuchiol; schisandrin A; principal component analysis; orthogonal partial least squares method-discriminant analysis

四神丸由《普济本事方》之二神丸与五味子散组合而成，二神丸（补骨脂、肉豆蔻）能温补脾肾、涩肠止泻，五味子散（五味子、吴茱萸）可温中涩肠，两方合用，则温补固涩之功益佳，故有“四神”之名，是治疗脾肾阳虚型泄泻的经典方剂^[1]。现代研究表明，四神丸具有修复肠屏障、调节水通道蛋白、重建菌群稳态的多维作用，主要用于慢性结肠炎、肠结核、肠易激综合征等疾病的治疗^[2]，中医理论认为，四神丸中补骨脂为君药，可补命门之火，温肾以暖脾散寒，中药炮制理论认为，补骨脂盐炙可缓和燥性，引药入肾以增强补肾之功。临床治疗五更泄时，盐炙补骨脂可发挥“引药下行、专入肾经”的作用，以增强四神丸温肾止泻之功，从而提高临床疗效，但补骨脂炮制机制目前尚不明确，更缺乏其在复方中的炮制内涵解析，这与临床以复方入药方式不符合。

指纹图谱技术具有整体性、特征性和可量化等优势，能全面、客观地表示炮制前后药材中化学成分群的组成差异，为炮制前后的化学物质基础变化提供依据^[3]。中药成分复杂多样，其活性成分是发挥药效的物质基础，2016 年中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）^[4]的提出认为中药药效-活性成

分-质量控制标志成分之间关联，这为中药质量控制标准的整体性建立开拓新思想。网络药理学是基于整体调控，探讨多靶点协同机制的研究方法，通过构建“成分-靶点-通路”多维网络模型，预测并筛选炮制前后差异化学成分群潜在的活性成分、核心作用靶点及相关信号通路，进而阐释这些成分变化可能导致的生物活性（如增效、减毒、归经改变等）差异及其分子机制^[4-5]。因此，本研究以四神丸为研究载体，通过 UPLC 法建立指纹图谱，并结合网络药理学方法筛选四神丸中关键活性成分，通过对活性成分的定量测定，为后续补骨脂“炮制归经”及四神丸质量评价提供理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；KQ-500DE 型数控超声波清洗器，昆山市超声仪器有限公司；SQP 型十万分之一分析天平，赛多利斯科学仪器（北京）有限公司；DHG-9240 型电热恒温鼓风干燥箱，上海将任实验设备有限公司；JR-300 型高速中药粉碎机，永康市云达机械设备厂；SHB-III 型循环水式真空泵，巩义市予华仪器有限责任公司。

1.2 对照品与试剂

对照品补骨脂素（批号 23111610，质量分数 99.78%）、异补骨脂素（批号 23042102，质量分数 99.08%）、补骨脂二氢黄酮（批号 21102201，质量分数 99.65%）、补骨脂酚（批号 23111613，质量分数 99.50%）、五味子甲素（批号 21092704，质量分数 99.40%）、五味子乙素（批号 23100908，质量分数 99.21%）、五味子醇甲（批号 22040809，质量分数 98.93%）、吴茱萸碱（批号 23090607，质量分数 99.18%）、吴茱萸次碱（批号 23090609，质量分数 99.02%）、去氢二异丁香酚（批号 21072302，质量分数 99.63%）均购自成都普菲德生物技术有限公司；甲醇、乙腈，色谱纯，赛默飞世尔科技（中国）有限公司；无水乙醇（色谱纯）、磷酸（分析纯），成都市科隆化学制品有限公司。

1.3 试药

生补骨脂、醋五味子、麸煨肉豆蔻、制吴茱萸、大枣 5 味饮片详细信息见表 1，经成都中医药大学胡昌江教授鉴定，生补骨脂为豆科补骨脂属植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实，醋五味子为木兰科五味子属植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实的醋蒸炮制品，麸煨肉豆蔻为肉豆蔻科肉豆蔻属植物肉豆蔻 *Myristica fragrans* Houtt. 的干燥种仁的麸煨炮制品，制吴茱萸为芸香科吴茱萸属植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth 的干燥近成熟果实的甘草制炮制品，大枣为鼠李科枣属植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。生姜购自成都市旭辉超市，经成都中医药大学胡昌江教授鉴定，为姜科姜属植

表 1 饮片信息

| Table 1 Information of decoction pieces | | | | |
|---|-------|----|----------|-----------------|
| 编号 | 饮片 | 产地 | 批号 | 厂家 |
| SB1 | 生补骨脂 | 四川 | D2212040 | 四川新荷花中药饮片股份有限公司 |
| SB2 | 生补骨脂 | 云南 | 20230301 | 四川省中药饮片有限责任公司 |
| SB3 | 生补骨脂 | 云南 | 230801 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| SB4 | 生补骨脂 | 云南 | 2405019 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| CW1 | 醋五味子 | 辽宁 | 20230101 | 四川合纵中药饮片有限公司 |
| CW2 | 醋五味子 | 辽宁 | 32407073 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| R1 | 麸煨肉豆蔻 | 广西 | 230301 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| R2 | 麸煨肉豆蔻 | 广西 | 2407035 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| ZW1 | 制吴茱萸 | 贵州 | 200801 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| ZW2 | 制吴茱萸 | 江西 | 231001 | 四川国强中药饮片有限公司 |
| DZ1 | 大枣 | 新疆 | 20240701 | 河北祁新中药颗粒饮片有限公司 |
| DZ2 | 大枣 | 新疆 | 211101 | 河北安国振宇药业有限公司 |

物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。

2 方法与结果

2.1 盐炙补骨脂及补骨脂生品和盐炙品组成的四神丸的制备

2.1.1 盐炙补骨脂的制备 取生品补骨脂药材，按照《中国药典》2025 年版 0213 炮制通项下的盐炙法规定进行炮制，得到盐补骨脂。

2.1.2 补骨脂生品和盐炙品组成的四神丸的制备 按照《中国药典》2025 年版成方制剂规范，以补骨脂-制吴茱萸-醋五味子-麸煨肉豆蔻-大枣-生姜为 4：1：2：2：2：2 的比例，分别称取盐炙补骨脂粉末 0.50 g，生补骨脂粉末 0.50 g，制吴茱萸 0.125 g，醋五味子 0.25 g，麸煨肉豆蔻 0.25 g，大枣 0.25 g，姜汁 0.25 g，将粉末与姜汁均匀混合组成不同批次四神丸，四神丸批次信息见表 2。

表 2 补骨脂盐炙前、后组成四神丸情况

Table 2 Composition of Sishen Wan before and after salt-processed *Psoraleae Fructus*

| 分组 | 补骨脂 | 醋五味子 | 麸煨肉豆蔻 | 制吴茱萸 | 大枣 |
|------|-----------|------|-------|------|-----|
| SP1 | SB1 | CW1 | R1 | ZW1 | DZ1 |
| SP2 | SB1 | CW2 | R2 | ZW2 | DZ1 |
| SP3 | SB2 | CW1 | R1 | ZW2 | DZ2 |
| SP4 | SB2 | CW2 | R2 | ZW2 | DZ2 |
| SP5 | SB3 | CW1 | R2 | ZW1 | DZ1 |
| SP6 | SB3 | CW2 | R1 | ZW1 | DZ2 |
| SP7 | SB3 | CW1 | R1 | ZW2 | DZ1 |
| SP8 | SB2 | CW1 | R2 | ZW1 | DZ2 |
| SP9 | SB4 | CW2 | R1 | ZW1 | DZ1 |
| SP10 | SB4 | CW1 | R2 | ZW2 | DZ1 |
| YZ1 | 经盐炙后的 SB1 | CW1 | R1 | ZW1 | DZ2 |
| YZ2 | 经盐炙后的 SB1 | CW2 | R2 | ZW2 | DZ1 |
| YZ3 | 经盐炙后的 SB2 | CW1 | R1 | ZW2 | DZ2 |
| YZ4 | 经盐炙后的 SB2 | CW2 | R2 | ZW2 | DZ2 |
| YZ5 | 经盐炙后的 SB3 | CW1 | R2 | ZW1 | DZ1 |
| YZ6 | 经盐炙后的 SB3 | CW2 | R1 | ZW1 | DZ2 |
| YZ7 | 经盐炙后的 SB3 | CW1 | R1 | ZW2 | DZ2 |
| YZ8 | 经盐炙后的 SB2 | CW1 | R2 | ZW1 | DZ1 |
| YZ9 | 经盐炙后的 SB4 | CW2 | R1 | ZW1 | DZ1 |
| YZ10 | 经盐炙后的 SB4 | CW1 | R2 | ZW2 | DZ2 |

2.2 对照品溶液的制备

分别称取各对照品适量，加 75%乙醇溶液，分别制备成含补骨脂苷 0.192 mg/mL、异补骨脂苷 0.170 mg/mL、补骨脂素 0.856 mg/mL、异补骨脂素 0.777 mg/mL、五味子醇甲 0.160 mg/mL、吴茱萸碱 0.141 mg/mL、补骨脂二氢黄酮 0.541 mg/mL、吴茱

莫次碱 0.147 mg/mL、去氢二异丁香酚 0.142 mg/mL、五味子甲素 0.266 mg/mL、五味子乙素 0.145 mg/mL、补骨脂酚 3.839 mg/mL 的单一对照品溶液，取各对照品溶液适量制备混合对照品溶液，备用。

2.3 供试品溶液的制备

取四神丸样品 1.725 g，精密称定，加入 75%乙醇 50 mL，超声提取（250 W、50 kHz）30 min，补足失重，过 0.22 μm 微孔滤膜，置于进样瓶中，即得供试品溶液，备用。

2.4 阴性溶液的制备及单味中药溶液的制备

按照“2.1.2”项下方法分别制备缺生补骨脂、缺制吴茱萸、缺麸煨肉豆蔻、缺五味子的四神丸粉末及各单味中药粉末，并按照“2.3”项下制备方法分别制备缺生补骨脂、缺制吴茱萸、缺醋五味子、缺麸煨肉豆蔻阴性溶液及各单味中药溶液。

2.5 色谱条件

采用 Ultimate 3000 型超高效液相色谱仪，Kromasil 100-1.8- C_{18} 色谱柱（100 mm \times 2.1 mm，1.8 μm ），以乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相，进样量为 1 μL ，体积流量为 0.2 mL/min，梯度洗脱：0~6 min，15.0%~22.0%乙腈；6~7 min，22.0%~41.5%乙腈；7~17 min，41.5%~50.5%乙腈；17~23 min，50.5%乙腈；23~25 min，50.5%~70.0%乙腈；25~26 min，70.0%~75.0%乙腈；26~31 min，75.0%~82.5%乙腈；31~36 min，82.5%~100.0%乙腈；36~37 min，100.0%乙腈；柱温为 32 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长为 230 nm。

2.6 方法学考察

2.6.1 精密度试验 取四神丸（SP2）样品粉末 1.725g，精密称定，按照“2.3”项下供试品溶液制备方法处理，并在“2.5”项色谱条件下连续 6 次进样分析，以性质稳定、分离度良好的补骨脂酚作为参照峰，计算各批次四神丸共有峰的相对峰面积 RSD 均低于 5%，相对保留时间的 RSD 均低于 1%，证明实验仪器的精密度良好。

2.6.2 稳定性试验 取四神丸（SP2）样品粉末 1.725g，精密称定，按照“2.3”项下制备方法制备供试品溶液，在室温条件下分别放置 0、2、4、8、12、24 h 后，按照“2.5”项下色谱条件进样检验，以补骨脂酚作为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值，结果发现，各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 5%，结果表明四神丸样品供试品溶液在 24 h 内性质保持稳定。

2.6.3 重复性试验 取四神丸（SP2）样品粉末 1.725 g，精密称定，按照“2.3”项下制备方法，平行制备供试品溶液 6 份，按照“2.5”项下色谱条件进行定量测定，以补骨脂酚作为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值，结果显示各共有峰的相对峰面积的 RSD 均低于 5%，相对保留时间的 RSD 均低于 2%，表明色谱条件与制备方法的重复性良好。

2.7 指纹图谱建立及化学模式识别

2.7.1 四神丸指纹图谱建立 分别制备补骨脂生品组成的四神丸（10 批，SP1~SP10）及盐炙补骨脂组成的四神丸（10 批，YZ1~YZ10）样品溶液，按照“2.5”项下色谱条件进样测定，借助于《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》（2012 年版）软件对液相数据进行分析，分别设置 SP2 为补骨脂生品四神丸组参照图谱，YZ2 作为补骨脂盐炙四神丸组的参照图谱，时间窗宽度设置为 0.1 min，随后进行多点校正和色谱峰的匹配，最终生成补骨脂生品四神丸（SP1~SP10）及补骨脂盐炙四神丸（YZ1~YZ10）的标准对照指纹图谱，结果见图 1。

对指纹图谱分析表明，补骨脂生品四神丸和补骨脂盐炙四神丸中均共存 22 个共有峰，经过与对照品溶液色谱图（图 2）进行比较，成功指认了其中 12 个色谱峰，依次为补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、五味子醇甲、吴茱萸碱、补骨脂二氢黄酮、吴茱萸次碱、去氢二异丁香酚、五味子甲素、五味子乙素，补骨脂酚。对比补骨脂生品四神丸组，补骨脂盐炙四神丸组未出现新的色谱峰，但补骨脂酚、补骨脂二氢黄酮、补骨脂素、异补骨脂素、五味子甲素等特征峰响应度发生变化，表明补骨脂盐炙后引起的自身化学成分含量变化，可能进一步影响其在复方提取过程中其他成分的溶出行为，这种化学成分组整体差异可能是导致炮制前后药效差异的物质基础之一。

2.7.2 共有峰归属研究 取缺生补骨脂、缺醋五味子、缺制吴茱萸、缺麸煨肉豆蔻的阴性样品溶液及单味中药供试液，按照“2.5”项下色谱条件方法，记录 UPLC 色谱图，通过对比分析，对 22 个共有峰进行归属，结果见图 3，其中制吴茱萸有 5 个专有峰，包括峰 3、9（吴茱萸碱）、11（吴茱萸次碱）、18、22；生补骨脂有 11 个专有峰，包括峰 1（补骨脂苷）、2（异补骨脂苷）、4（补骨脂素）、5（异补骨脂素）、7、10（补骨脂二氢黄酮）、12、13、15、

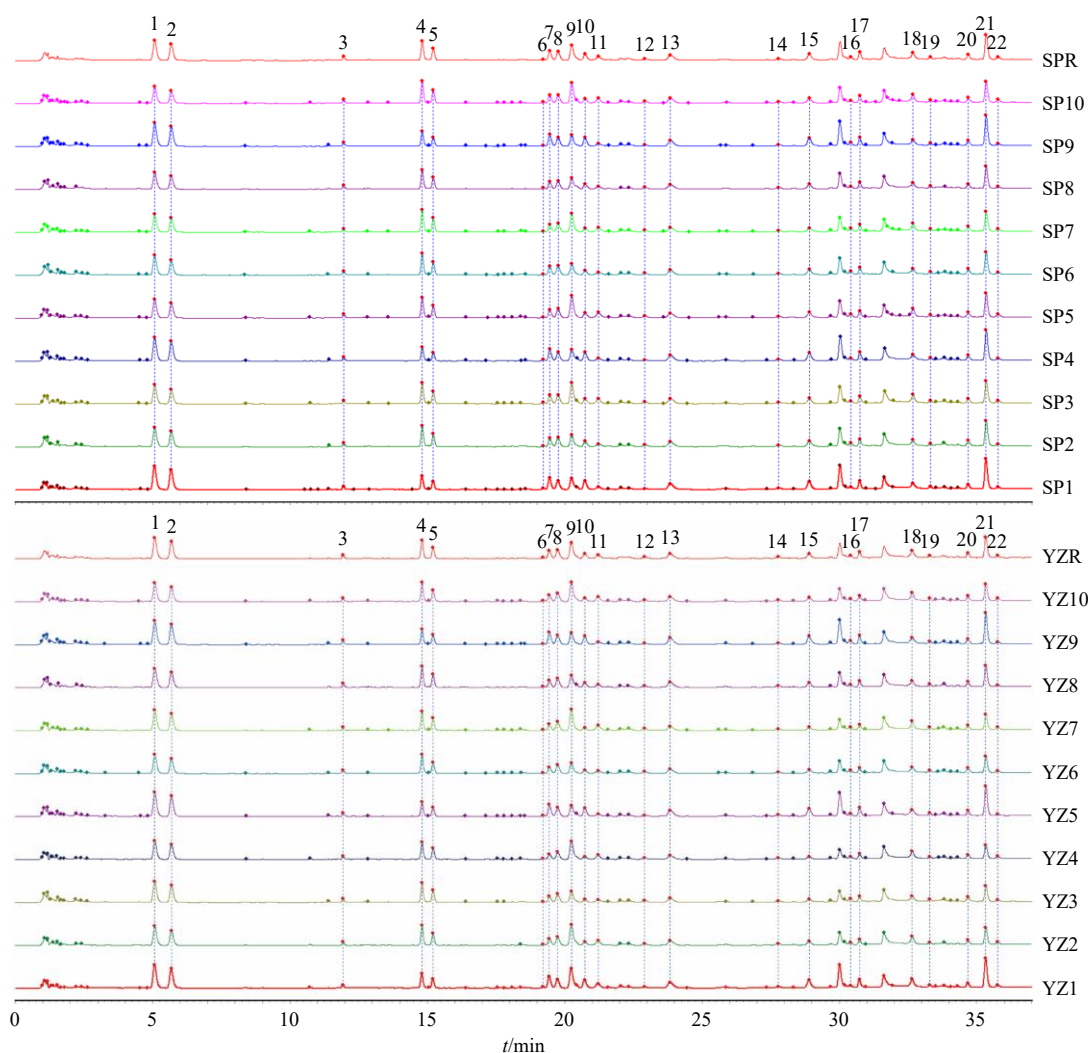
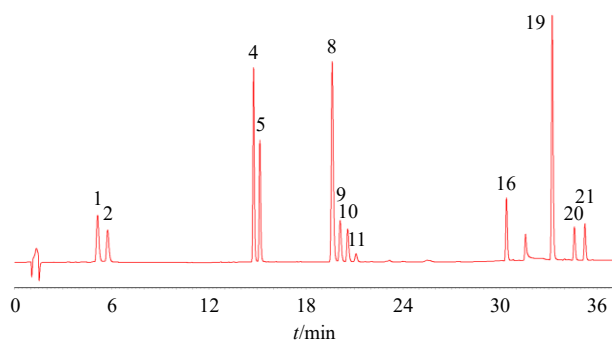


图 1 10 批补骨脂生品四神丸 (SP1~SP10) 和补骨脂盐炙品四神丸 (YZ1~YZ10) 的指纹图谱叠加图

Fig. 1 Overlaid chromatographic fingerprints of 10 batches of Sishen Wan prepared with raw (SP1—SP10) and salt-processed *Psoraleae Fructus* (YZ1—YZ10)



1-补骨脂苷; 2-异补骨脂苷; 4-补骨脂素; 5-异补骨脂素; 8-五味子醇甲; 9-吴茱萸碱; 10-补骨脂二氢黄酮; 11-吴茱萸次碱; 16-去氢二异丁香酚; 19-五味子甲素; 20-五味子乙素; 21-补骨脂酚。

1-psoralenoside; 2-isopsoralen; 4-psoralen; 5-isopsoralen; 8-schisandrol; 9-evodiamine; 10-bavachin; 11-rutecarpine; 16-dehydrodiisoeugenol; 19-schisandrin A; 20-schisandrin B; 21-bakuchiol.

图 2 混合对照品的 UPLC 图

Fig. 2 UPLC of mixed reference substances

17、21 (补骨脂酚) 共 11 个; 麸煨肉豆蔻有 3 个专有峰, 包括 6、14、16 (去氢二异丁香酚); 醋五味子有 3 个专有峰, 包括 8 (五味子醇甲)、19 (五味子甲素)、20 (五味子乙素)。

2.7.3 相似度分析 按“2.7.1”项下方法, 建立四神丸指纹图谱, 以生成的对照指纹图谱为参照, 计算各 10 批次样品相似度, 结果显示, 补骨脂生品四神丸组 (SP1~SP10) 指纹图谱相似度分别为 0.979、0.995、0.985、0.980、0.986、0.992、0.985、0.998、0.980、0.976, 在 0.976~0.998; 补骨脂盐炙四神丸组 (YZ1~YZ10) 指纹图谱相似度分别为 0.988、0.983、0.989、0.978、0.970、0.991、0.984、0.991、0.973、0.985, 在 0.970~0.991; 结果表明该复方整体质量较稳定, 化学组分相似。

2.7.4 主成分分析 (principal component analysis,

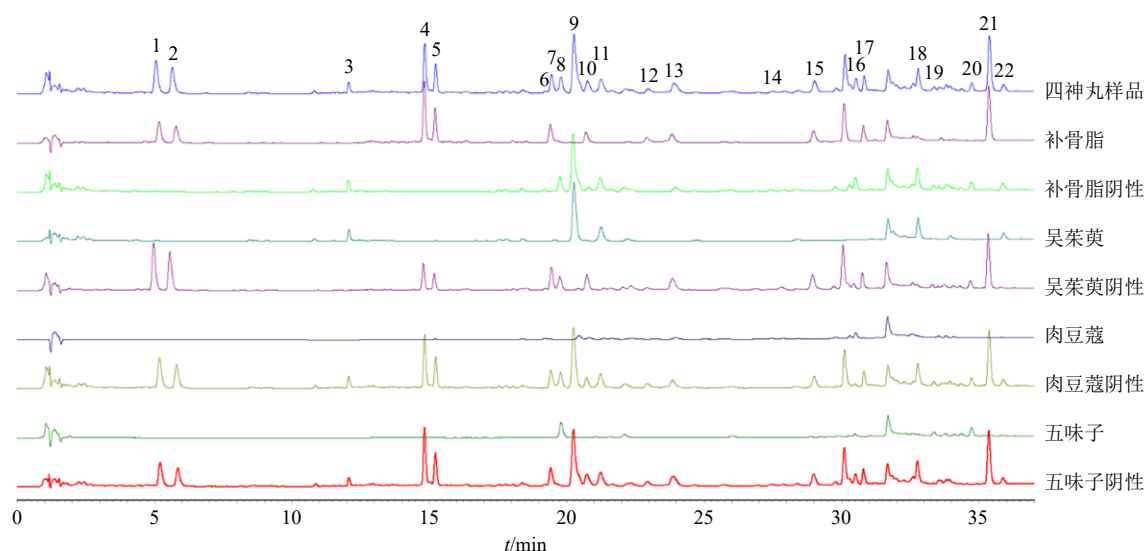


图 3 专属性 UPLC 指纹图谱

Fig. 3 UPLC fingerprints of proprietary

PCA) 与偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 基于 10 批生品与 10 批盐炙品四神丸的指纹图谱数据, 本研究借助 SIMCA 14.1 软件, 依次采用 PCA 与 OPLS-DA 以解析炮制引发的化学差异。PCA 结果显示, 生品组与盐炙品组样本在主成分空间中呈现出一定的聚集趋势, 但组间分离尚不显著, 结果见图 4。这可能由于样本固有的批次间差异在一定程度上影响由炮制工艺引起的主效应差异, 因此为最大化区分组间差异并寻找潜在化学标志物, 进一步构建了 OPLS-DA 模型, 该有监督算法通过排除与分类不相关的正交变异, 增强了模型的判别能力与解释性, 结果见图 5, 最终的 OPLS-DA 模型清晰地表明, 2 组间分离显著且组内一致性高, 确证了盐炙工艺对四神丸的整体化学成分产生了决定性影响, 对该 OPLS-DA 模型的可靠性进行评估, 其 R^2 和 Q^2 值均大于 0.5, 表明模型拟合优度与预测能力良好。此外, 200 次置换检验结果 (图 6) 显示, Q^2 回归线的纵截距小于 0, 表明该统计检验证实模型未出现过拟合, 具有稳定的预测效能。

2.8 补骨脂盐炙前、后四神丸差异成分及网络药理学分析

2.8.1 差异成分确定 为了确定炮制前化学差异, 通过变量重要性投影值 (variable importance for the projection, VIP) 筛选出化学成分差异的主要标志性成分, 以 $VIP > 1$ 作为标准筛选, 初步认为指纹图谱中峰 13、12、21、15、10、7、17、4、19、3、5 这 11 个化学成分为主要差异特征性物质, 结果见

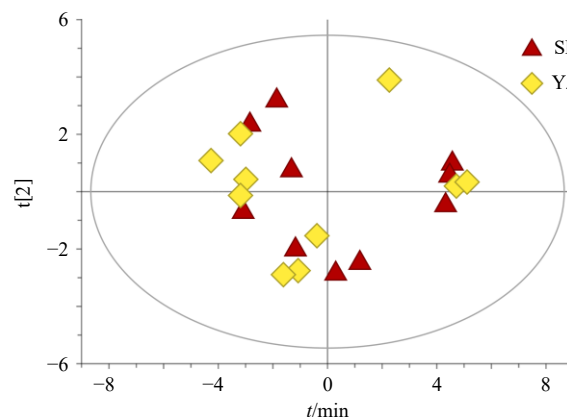


图 4 补骨脂生品四神丸与盐炙品四神丸 PCA 得分图

Fig. 4 PCA score plot of Sishen Wan samples with raw and salt-processed *Psoraleae Fructus*

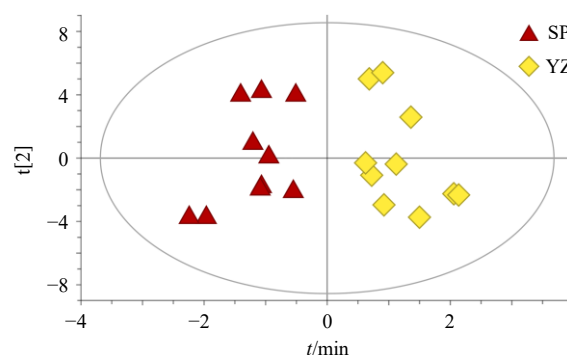


图 5 补骨脂生品四神丸与盐炙品四神丸 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA score plot of Sishen Wan samples with raw and salt-processed *Psoraleae Fructus*

图 7。进一步通过对照品比对, 鉴定出 4 号峰为补骨脂素、5 号峰为异补骨脂素、10 号峰为补骨脂二氢黄酮、19 号峰为五味子甲素、21 号峰为补骨脂

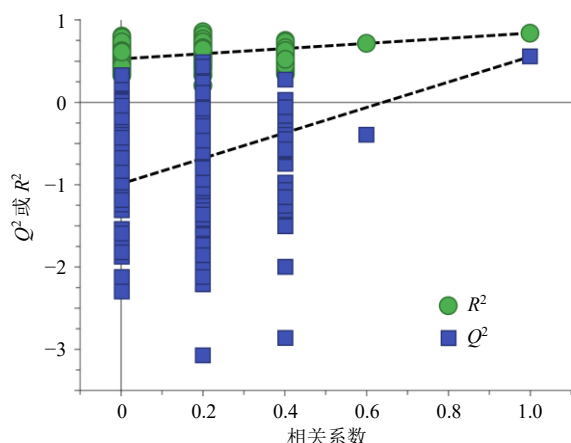


图 6 OPLS-DA 模型中 200 次置换检验

Fig. 6 200 permutation tests in OPLS-DA model

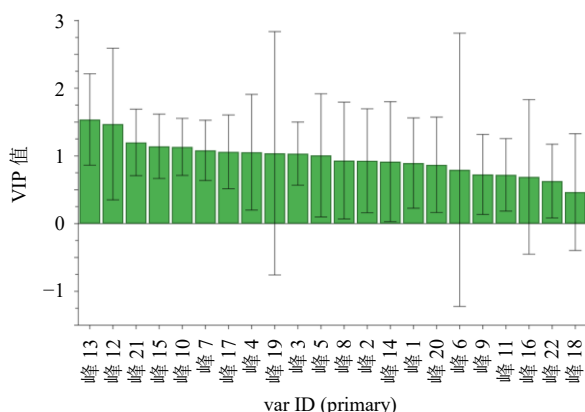


图 7 OPLS-DA 模型中色谱峰的 VIP 值

Fig. 7 VIP values of peaks in OPLS-DA model

酚，其中，补骨脂素、异补骨脂素为《中国药典》2025 年版中补骨脂和四神丸的质量控制成分，补骨脂酚炮制后差异变化明显；药理学研究发现，五味子甲素、补骨脂二氢黄酮具有良好的生物活性，随后基于中药 Q-Marker 的“五原则”^[6]，选择已鉴定出的补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、五味子甲素、补骨脂酚 5 个差异成分进行网络药理学分析。

2.8.2 差异化学成分收集及靶点预测 对筛选的 5 个差异性成分进行网络药理学分析，借助于 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索 5 个成分 smile 号，随后导入 SwissTargetPrediction 数据库 (<http://swisstargetprediction.ch/>) 检索相应的成分靶点，以 probability 大于 0 为标准，除去重复，无效的靶点，最终得到有效成分靶点共 186 个。

2.8.3 蛋白-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建 为解析活性成分与靶点蛋白相互作用的分子机制，将筛选得到的 186 个靶

点名称导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，选择基因来源为“Homo sapiens”，设置蛋白交互评分值为“highest confidence 0.900”构建 PPI 网络，随后通过 Cytoscape 3.7.0 软件对数据结果进行分析，以 degree 值 ≥ 2 倍中位数为标准，筛选出 10 个核心靶点，包括表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、热休克蛋白 90 α 家族 B 类成员 1 (complete information for HSP90AB1 gene, HSP90AB1)、雌激素受体 1 (estrogen receptor 1, ESR1)、非受体酪氨酸激酶 (steroid receptor coactivator, SRC)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3B)、磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸 3-激酶催化亚基 α (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit α , PIK3CA)、CAMP 反应元件结合蛋白结合蛋白 (CREB binding lysine acetyltransferase, CREBBP)、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)、细胞色素 P450 家族 19 亚家族 A 成员 1 (cytochrome P450 family 19 subfamily A member 1, CYP19A1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)，结果见图 8。

2.8.4 基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析 将筛选的药物靶点带入 David 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行 GO 功能富集和 KEGG 通路分析，随后

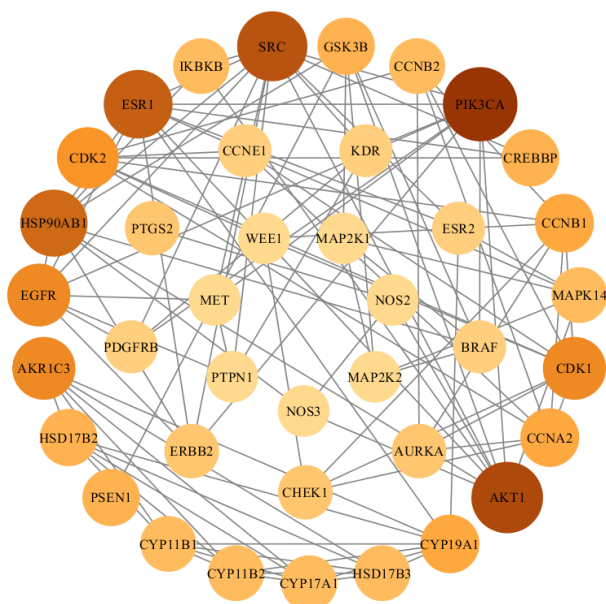


图 8 靶点 PPI 网络图

Fig. 8 Target PPI network

通过微生信网站 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 对排名前 10 条 GO 功能结果和前 20 条 KEGG 通路富集结果进行可视化分析。GO 功能富集结果显示, 生物过程 229 条, 主要涉及蛋白质磷酸化、表皮生长因子受体信号通路、基因表达的正调控

等; 分子功能 106 条, 主要包括蛋白激酶活性、蛋白激酶结合、ATP 结合蛋白、血红素结合等; 细胞组成 44 条主要包括细胞质、谷氨酸能突触、内质网、细胞内膜结合细胞器等, 结果见图 9。

KEGG 通路富集共筛选出 125 条显著条目, 其

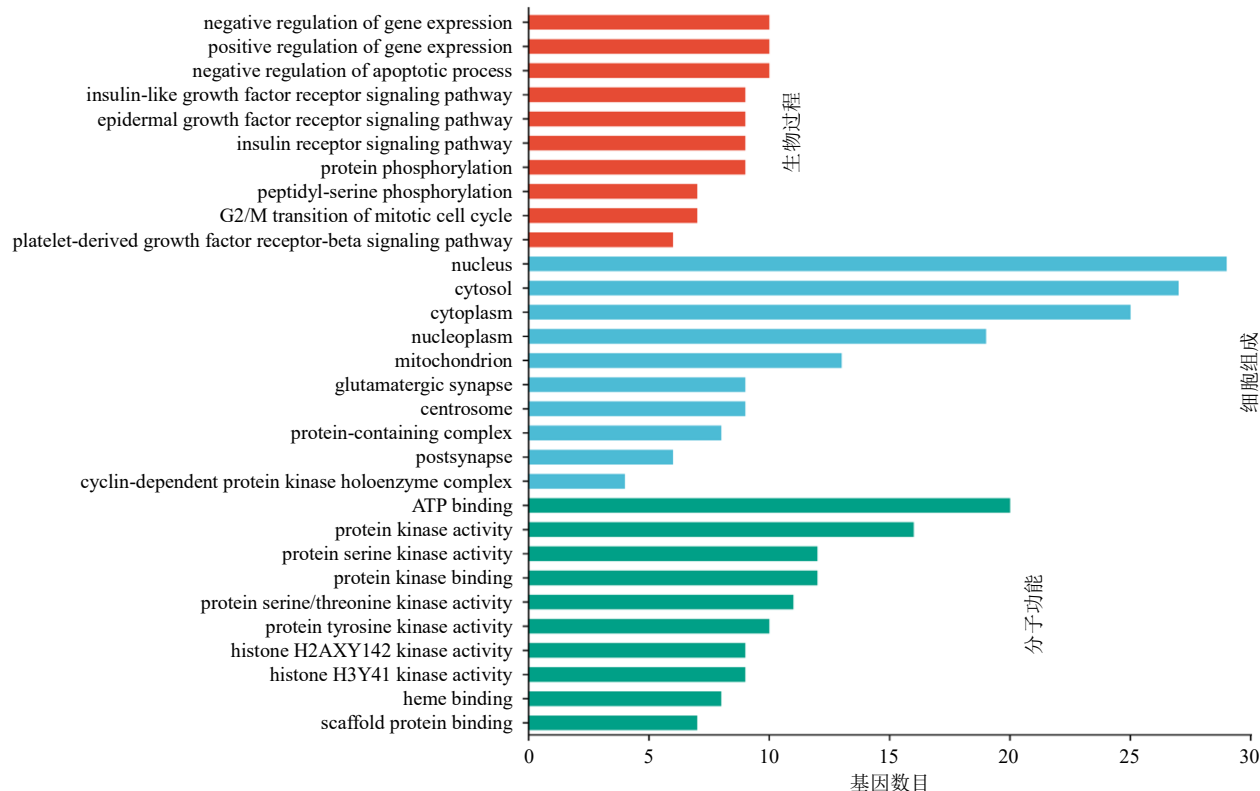


图 9 GO 功能富集分析

Fig. 9 Analysis of GO function enrichment

核心通路涵盖癌症信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路、叉头框 O (forkhead box O, FoxO) 信号通路、Ras 相关蛋白 1 (Ras-proximate-1, Rap1) 信号通路等, 结果见图 10。

2.8.5 差异成分-核心靶点-通路网络构建及分析
基于前期筛选确定的 5 个关键差异成分、10 个核心作用靶点及 20 条显著性通路, 利用 Cytoscape 3.7.0 软件进行整合分析, 建立补骨脂后与活性成分相关的“成分-核心靶点-通路”级联调控网络, 结果见图 11。补骨脂性温, 味苦, 归脾肾经, 具有温脾止泻、温肾助阳的功效, 现代药理学发现补骨脂的止泻药理活性与多种蛋白靶点和信号通路的调节密切相关^[7]。结合网络药理学分析显示, MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路均参与肠道炎症反应与机体腹

泻, 在 5 个差异性成分中与补骨脂二氢黄酮、五味子甲素连接度最高, 表明两者在发挥抗炎止泻作用有较好的协同作用, 这可能与两者均作用于 EGFR、AKT1、PTGS2、PIK3CA 这 4 个关键靶点有关, AKT1 是丝氨酸/苏氨酸激酶家族中的一种原癌基因, 通过炎症和代谢相关信号通路调节肿瘤细胞增殖、存活和代谢^[8]。

目前研究发现, PI3K/AKT 通路的激活, 可引发下游核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路级联反应参与炎症反应和肠道黏膜屏障改变^[9], EGFR 是一种糖蛋白, 属于 EGF 细胞增殖和信息传递的受体; PIK3CA 是编码 PI3K α 催化亚基的基因, 两者均可直接或间接参与 PI3K/Akt 通路^[10-11], 进而实现对胃肠道功能调节。PTGS2 是一种在机体多种细胞类型中表达的酶, 可以介导花生四烯酸形成前列腺素, 进而参与炎症反应的传导与调节^[12]。研究发现 PTGS2 在腹泻与肠炎病理中, 其

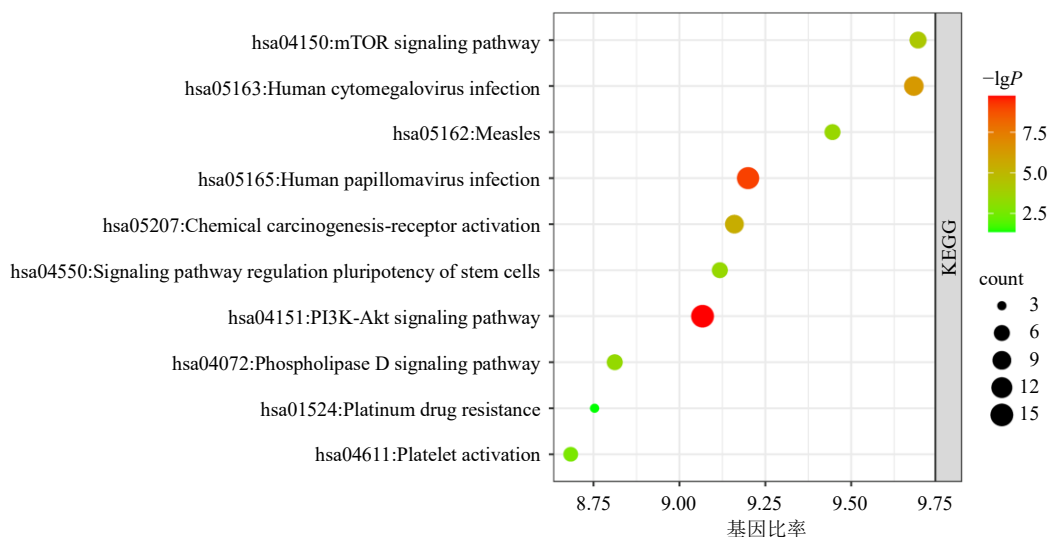


图 10 KEGG 通路富集分析

Fig. 10 KEGG pathway enrichment analysis

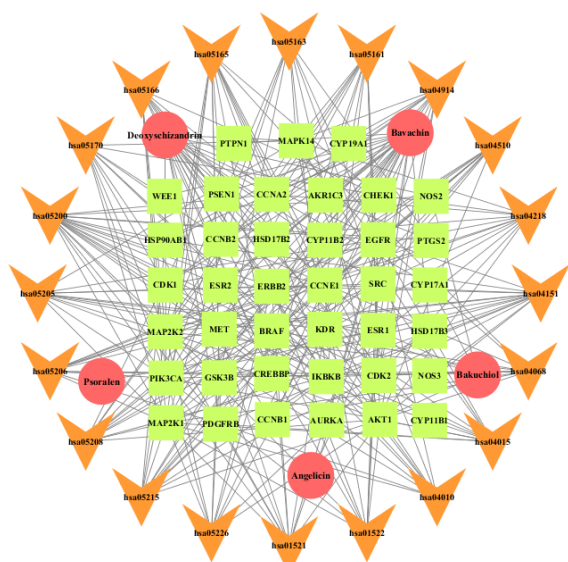


图 11 “成分-核心靶点-通路”调控网络

Fig. 11 Regulatory network of “compounds-core targets-pathways”

通过介导前列腺素 (prostaglandin, PGs) 合成, 诱导肠黏膜屏障损伤、水电解质分泌失衡及内脏高敏反应, 引发腹泻等肠道疾病^[13-14], 提示 PTGS2 可能是四神丸止泻的关键靶点。

文献研究表明, 五味子甲素可通过调节 NF- κ B/COX-2 通路的激活而抑制炎症反应, 从而改善小鼠腹泻情况^[15]; 补骨脂二氢黄酮可通过抑制 COX 酶活性, 调节炎症信号的传导并通过激活 MAPK 信号通路诱导结直肠癌细胞凋亡^[16-17], 此外现代药理学研究发现, 补骨脂酚能部分通过激活 GPR120 维持屏障功能, 抑制炎症通路, 例如趋化因子信号传

导、IL-17 信号传导和 TNF 信号传导^[18]。补骨脂素和异补骨脂素是补骨脂的特征性成分, 两者均表现出良好的抗炎的作用^[19]。

综上, 炮制前后药理活性的改变, 本质上是其差异化合物群、核心作用靶标及调控通路网络协同互作的结果。本研究发现补骨脂盐炙后使补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂酚、五味子甲素等成分峰面积改变且网络药理学结果与文献研究相似, 表明该研究方法的可行性与准确性, 为进一步探讨补骨脂炮制对的四神丸中活性成分的影响, 有必要对其进行含量测定研究。

2.9 补骨脂炮制前、后差异成分含量测定

2.9.1 供试品溶液的制备 同“2.3”项下制备方法。

2.9.2 对照品溶液的制备 同“2.2”项下方法制备对照品溶液。

2.9.3 色谱条件 同“2.5”项下色谱条件。

2.9.4 线性关系考察 称取“2.2”项下制备的补骨脂酚、补骨脂素、五味子甲素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮对照品溶液各 1 mL, 加 75%乙醇定容于 10 mL 量瓶中, 制成混合对照品溶液。取上述混合对照品逐步稀释 2、5、10、25、50 倍, 按照“2.5”项下色谱条件进行测定, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积大小为纵坐标 (Y), 绘制质量浓度与峰面积的标准曲线, 计算回归方程结果分别为补骨脂素 $Y=281\,494.0X-0.238\,8$, $R^2=0.999\,9$, 线性范围 3.4~428.0 $\mu\text{g/mL}$; 异补骨脂素 $Y=227\,433.0X-0.211\,4$, $R^2=0.999\,8$, 线性范围 0.17~17.43 mg/mL; 补骨脂二氢黄酮 $Y=296\,180.0X-0.174\,8$, $R^2=1.000\,0$,

线性范围 2.164~270.500 μg/mL；五味子甲素 $Y=268\,007.0X+0.257\,4$ ， $R^2=0.999\,8$ ，线性范围 1.06~133.30 μg/mL；补骨脂酚 $Y=4\,505.90X-0.217\,2$ ， $R^2=1.000\,0$ ，线性范围 153.5~19\,195.0 μg/mL。

2.9.5 精密度试验 取四神丸（SP1）粉末样本 1.725 g，精密称定，参照“2.3”项供试品溶液制备方法处理，并在“2.5”项色谱条件下连续 6 次进样分析，计算各组分的 RSD 值，结果显示补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、五味子甲素、补骨脂酚峰面积的 RSD 分别为 2.83%、2.26%、2.39%、2.25%、1.33%，表明液相仪器精密度正常。

2.9.6 稳定性试验 取四神丸（SP2）样品粉末 1.725 g，精密称定，按照“2.3”项下制备方法制备供试品溶液，在室温条件下分别放置 0、2、4、8、12、24 h 后，按照“2.5”项下色谱条件进样检验，计算各组分的 RSD 值，结果显示补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、五味子甲素、补骨脂酚峰面积的 RSD 分别为 1.28%、2.71%、2.23%、1.78%、0.82%，结果表明供试品溶液稳定性良好。

2.9.7 重复性试验 取四神丸（SP1）样品粉末 1.725 g，精密称定，按照“2.3”项下制备方法，平行制备供试品溶液 6 份，按照 2.5”项下色谱条件进行定量测定，其补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二

氢黄酮、五味子甲素、补骨脂酚质量分数的 RSD 分别为 2.5%、1.13%、1.26%、2.59%、1.23%，结果表明该定量测定方法可重复性良好。

2.9.8 加样回收率试验 取已知差异成分含量的四神丸（SP7）0.8625g，精密称定，加入对照品溶液适量且与待测成分含量相同，置 50 mL 量瓶内，随后用 75%乙醇定容，按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，并在“2.5”项下色谱条件进行测定，记录 UPLC 色谱图，计算待测的 5 个成分的加样回收率，结果显示，补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮、五味子甲素、补骨脂酚的平均加样回收率分别为 98.33%、103.51%、97.84%、101.02%、96.53%，RSD 值分别为 1.49%、3.42%、2.72%、3.21%、0.96%。

2.9.9 样品含量测定 分别取补骨脂生品组与补骨脂盐炙品组样品各 10 批，分别按照“2.3”项下方法制备供试品溶液，按照“2.5”项下色谱条件测定 20 批四神丸样品中 5 种指标成分含量，结果见表 3。结果表明各批次补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素之和均大于 0.7%，符合《中国药典》2025 年版标准，研究发现补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂酚在盐炙后均出现降低，补骨脂二氢黄酮、五味子甲素含量增加。

表 3 补骨脂盐炙前、后四神丸样品中 5 种差异性成分的质量分数

| Table 3 Mass fraction of five differential components in raw and salt-processed Psoraleae Fructus Sishen Wan samples | | | | | | | | | | | |
|--|----------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-----------------|----------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| 样品 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | | 样品 | 质量分数/(mg·g ⁻¹) | | | | |
| | 补骨脂素 | 异补骨脂素 | 补骨脂二氢黄酮 | 五味子甲素 | 补骨脂酚 | | 补骨脂素 | 异补骨脂素 | 补骨脂二氢黄酮 | 五味子甲素 | 补骨脂酚 |
| SP1 | 1.869 | 1.522 | 1.584 | 0.487 | 26.242 | YZ1 | 1.692 | 1.350 | 0.160 | 0.519 | 25.442 |
| SP2 | 1.710 | 1.479 | 1.499 | 0.649 | 24.917 | YZ2 | 1.677 | 1.338 | 0.149 | 0.897 | 23.277 |
| SP3 | 2.469 | 1.947 | 0.737 | 0.629 | 19.941 | YZ3 | 2.412 | 1.754 | 0.826 | 0.758 | 16.551 |
| SP4 | 2.478 | 1.954 | 0.886 | 0.655 | 20.626 | YZ4 | 2.457 | 1.974 | 0.971 | 0.690 | 18.002 |
| SP5 | 1.832 | 1.353 | 1.656 | 0.516 | 24.971 | YZ5 | 1.822 | 1.306 | 0.167 | 0.529 | 23.484 |
| SP6 | 2.407 | 1.938 | 0.105 | 0.581 | 19.313 | YZ6 | 2.369 | 1.985 | 0.109 | 0.619 | 17.368 |
| SP7 | 2.383 | 1.875 | 0.743 | 0.605 | 16.617 | YZ7 | 2.319 | 1.674 | 0.927 | 0.814 | 19.203 |
| SP8 | 2.421 | 1.702 | 0.863 | 0.241 | 18.303 | YZ8 | 2.384 | 1.720 | 0.952 | 0.694 | 15.688 |
| SP9 | 2.407 | 1.976 | 0.865 | 0.607 | 16.684 | YZ9 | 2.253 | 1.753 | 0.883 | 0.616 | 13.581 |
| SP10 | 2.370 | 1.940 | 0.712 | 0.549 | 13.607 | YZ10 | 2.322 | 1.901 | 0.867 | 0.564 | 15.754 |
| $\bar{x} \pm s$ | 2.235 ± 0.302 | 1.769 ± 0.024 | 1.060 ± 0.037 | 0.552 ± 0.012 | 20.122 ± 0.415 | $\bar{x} \pm s$ | 2.171 ± 0.311 | 1.676 ± 0.026 | 1.128 ± 0.033 | 0.670 ± 0.013 | 18.835 ± 0.395 |

3 讨论

本实验分别考察了不同波长（230、260、245 nm）、不同提取溶剂（甲醇、95%乙醇、75%乙醇）、提取方法（煎煮、回流提取、超声提取）、流动相（甲

醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.1%甲酸水溶液）、色谱柱温度（25、32、35 ℃），体积流量（0.1、0.2、0.3 mL/min）对四神丸各色谱峰的影响，结果表明，以柱温 32 ℃、波长 230 nm、以

乙腈-0.1%磷酸水溶液为流动相, 0.2 mL/min 进行梯度洗脱时, 所得色谱峰数目最多, 分离度最佳。

传统中药炮制理论认为, 补骨脂性温, 辛燥有毒, 炮制后可降低毒性, 缓和辛燥之性, 文献记载补骨脂的炮制方法多样, 目前常以净制法与盐炙法为主^[20-21]。补骨脂素和异补骨脂素是香豆素类成分, 本实验结果显示, 盐炙后两者含量出现降低, 这个可能由于盐炙过程中高温致其开环而使含量降低^[22]。刘玲等^[23]研究发现, 补骨脂苷和异补骨脂苷能在酶的催化下转化成补骨脂素和异补骨脂素, 而盐炙后, 酶被灭活, 苷类成分无法转换, 导致其含量降低, 值得注意的是补骨脂素与异补骨脂素盐炙后出现含量的降低, 但其在体内变化过程同样也发生改变。周宁等^[24]研究发现补骨脂盐炙后, 补骨脂素和异补骨脂素在大鼠体内的吸收增加, 代谢减慢, 止泻作用增强; 网络药理学结果显示, 补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮与 ESR1 关联度较高, ESR1 是介导雌激素信号转导的核转录因子, 同时调控骨代谢与生殖系统稳定^[25], Li 等^[26]研究发现异补骨脂素通过调节 ESR1、PTGS2、EGFR 等靶点抑制小鼠的氧化应激和细胞凋亡, 促进成骨分化; 补骨脂二氢黄酮是补骨脂中具有雌激素活性的黄酮类成分, 实验结果表明, 经盐炙后含量增加, 这可能提示补骨脂盐炙后 Na⁺载体效应补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂二氢黄酮靶向肾脏, 通过多通路激活活性激素合成、改善骨代谢^[27]。

五味子甲素是中药五味子的重要活性成分, 具有抗炎、抗氧化、调血脂的药理活性^[28], 本研究发现补骨脂盐炙后, 可促进五味子甲素的溶出, 这可能由于在制剂过程中, 成分间可能发生络合、水解、沉淀等物理化学反应, 导致成分种类、含量及存在形态的动态变化^[29]; 而五味子甲素的溶出增加, 可能是导致四神丸整体疗效差异的因素之一。补骨脂酚是介导肝毒性的核心物质, 且在补骨脂中含量丰富^[30], 结果发现盐炙后补骨脂酚含量明显降低, 补骨脂酚属于挥发油类成分, 含量的降低可能与盐炙过程的温度升高相关^[31]。

综上所述, 本研究通过建立 UPLC 指纹图谱可较为直观地反映补骨脂盐炙前后对四神丸的变化信息, 补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂酚、补骨脂二氢黄酮是四神丸的重要的活性成分, 盐炙后四者均发生不同程度的改变, 具体表现为补骨脂素、异补骨脂素、补骨脂酚含量降低、补骨脂二氢黄酮含

量升高, 提示这可能与炮制“减毒增效”理论相关, 此外盐炙后的补骨脂还可以影响五味子甲素的溶出, 体现出君药炮制对复方成分的引导作用。

由于四神丸中化学成分复杂, 无法实现对复方每一个成分的具体评价, 对于尚未指认的峰 12、13、15、7 等炮制前后差异变化化学物质仍需借助于 NMR、LC-MS 等技术进行分析鉴定。此外还需借助于高分辨质谱技术展开体内外活性成分变化, 体内组织分布及相关药理学研究, 进一步探讨补骨脂盐炙对四神丸的影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 852-853.
- [2] 李雪莹, 王佐梅, 姚欣卉, 等. 四神丸药理作用及临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(4): 122-126.
- [3] 杨秋琛, 张琼琼, 王桂群, 等. 基于 UPLC 四神丸方中 19 种有效成分定量测定以及提取工艺优化研究 [J]. 中草药, 2024, 55(11): 3679-3688.
- [4] 刘昌孝. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [5] Zhao W B, Wang B Y, Li S. Network pharmacology for traditional Chinese medicine in era of artificial intelligence artificial intelligence [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 558-560.
- [6] 薛蓉, 张倩, 陈鹏, 等. 中药饮片质量标志物 (Q-Marker) 研究策略 [J]. 中草药, 2022, 53(5): 1285-1293.
- [7] 范冰冰, 仲人中, 马壮, 等. 补骨脂的药理学研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(4): 84-87.
- [8] Li D, Wang G C, Jin G G, et al. Resveratrol suppresses colon cancer growth by targeting the AKT/STAT3 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1): 630-640.
- [9] Wu X Y, Dong Q W, Zhang Y B, et al. *Cimicifuga heracleifolia* kom. attenuates ulcerative colitis through the PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 3): 118892.
- [10] Ai L W, Guo L Y, Liu W X, et al. Determination and mechanism of antidiarrheal chemical constituents of *Paederia scandens* determined by HPLC-ESI-MS integrated with network pharmacology [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(31): 28834-28845.
- [11] 鲁家彤, 吴亚娇, 李楚涛, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究千金子引发腹泻的作用机制 [J]. 毒理学杂志, 2023, 37(3): 181-188.
- [12] Frejborg E, Salo T, Salem A. Role of cyclooxygenase-2 in

- head and neck tumorigenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 9246.
- [13] 付伊萌, 吴松, 卢威, 等. 标本配穴针灸干预 COX2/PGE2 信号通路改善腹泻型肠易激综合征大鼠内脏高敏感性 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(8): 2030-2034.
- [14] 王晓鸽. 腹泻要方调控铁死亡介导 MC/COX2/PGE2 信号轴在 IBS-D 内脏高敏感中的作用机制研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2023.
- [15] 王绍洁, 张莹, 梁晗业, 等. 五味子甲素对炎症肠病小鼠结肠 NF- κ B/COX-2 信号通路的影响 [J]. *西部中医药*, 2023, 36(9): 35-39.
- [16] Chakraborty D, Malik S, Mann S, *et al.* Chronic disease management via modulation of cellular signaling by phytoestrogen bavachin [J]. *Mol Biol Rep*, 2024, 51(1): 921.
- [17] Wang M R, Tian B P, Shen J, *et al.* Bavachin induces apoptosis in colorectal cancer cells through Gadd45a via the MAPK signaling pathway [J]. *Chin J Nat Med*, 2023, 21(1): 36-46.
- [18] Xu F F, Wang J X, Zhang T Y, *et al.* Bakuchiol mitigates colitis through GPR120 activation [J]. *Phytomedicine*, 2025, 140: 156618.
- [19] 刘奇, 陈景华. 补骨脂素对腹泻型肠易激综合征模型大鼠的治疗作用 [J]. *环境与健康杂志*, 2025, 42(5): 394-399.
- [20] 王芳, 王雯, 何晓劲, 等. 补骨脂炮制历史沿革及现代研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(10): 193-199.
- [21] 王静宜, 吕明月, 殷佳, 等. 补骨脂炮制历史沿革和机制研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测 [J]. *中草药*, 2023, 54(17): 5759-5772.
- [22] 颜翠萍, 吴育, 翁泽斌, 等. 盐制对补骨脂中主要化学成分的影响 [J]. *中成药*, 2013, 35(11): 2470-2474.
- [23] 刘玲, 朱星宇, 陆金兰, 等. 盐炙对青娥丸主要成分溶出的影响 [J]. *中成药*, 2018, 40(12): 2714-2718.
- [24] 周宁, 王金金, 李红伟, 等. 盐炙对补骨脂丸中 2 种成分在脾肾阳虚泄泻大鼠体内药动学的影响 [J]. *中成药*, 2022, 44(11): 3422-3427.
- [25] Bai X H, Su J, Mu Y Y, *et al.* Association between the ESR1 and ESR2 polymorphisms and osteoporosis risk: An updated meta-analysis [J]. *Medicine*, 2023, 102(41): e35461.
- [26] Li H, Wang C Y, Jin Y, *et al.* Anti-postmenopausal osteoporosis effects of isopsoralen: A bioinformatics-integrated experimental study [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(1): 231-251.
- [27] Weng Z B, Gao Q Q, Wang F, *et al.* Positive skeletal effect of two ingredients of *Psoralea corylifolia* L. on estrogen deficiency-induced osteoporosis and the possible mechanisms of action [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 417: 103-113.
- [28] 赵晓露, 刘静, 周晓玲. 五味子甲素治疗肝脏疾病及其代谢研究进展 [J]. *广西医学*, 2023, 45(15): 1886-1889.
- [29] 周逸群, 贺福元, 杨岩涛, 等. 美拉德反应研究现状及对中药炮制和制剂工艺研究方法的影响 [J]. *中草药*, 2014, 45(1): 125-130.
- [30] 尚慧莹. 补骨脂中肝毒性成分筛选及补骨脂酚致肝损伤机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2024.
- [31] 李凯, 许梦莹, 周宁, 等. 炮制时间对盐补骨脂中 10 种化学成分的影响 [J]. *中草药*, 2017, 48(4): 710-713.

[责任编辑 郑礼胜]