

补骨脂雷公炮制过程质量传递与减毒存效科学内涵探讨

郭新宇¹, 石 也^{1#}, 李桂英^{3*}, 韦英杰^{1,2*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院, 江苏 南京 210028

2. 江苏省中医药研究院, 国家中医药管理局中药释药系统重点实验室, 江苏 南京 210028

3. 山东司邦得制药有限公司, 山东 济南 250200

摘 要: **目的** 探讨雷公炮制过程补骨脂核心成分香豆素类、黄酮类和补骨脂酚质量传递及对毒/效的影响。**方法** 采用 HPLC 法检测补骨脂雷公炮制过程(酒浸、水浸、蒸制)核心成分香豆素类、黄酮类、补骨脂酚的动态变化。采用受精后 1~6 d (days post fertilization, dpf) 的斑马鱼评价补骨脂雷公炮制前后的安全性, 观察鱼脏器形态、记录死亡数并计算斑马鱼半数死亡浓度 (half lethal concentration, LC₅₀); 采用 25 μmol/L 泼尼松龙诱导斑马鱼骨丢失模型, 茜素红对培养至 8 dpf 的各给药组斑马鱼幼鱼骨骼染色, 进行显微观察、数码成像, 并用图像软件定量分析骨骼染色区域评价各给药组的抗骨质疏松活性。**结果** 白酒浸液主要含脂溶性成分如(异)补骨脂素、黄酮类和补骨脂酚, 浸出率为 20.91%~63.93%, 而黄酒浸液与水浸液相似, 仅含少量(异)补骨脂苷, (异)补骨脂素或新补骨脂异黄酮(浸出率为 0.22%~6.15%), 进一步蒸制后, (异)补骨脂苷含量明显降低至生品的 9.54%~13.71%, 而(异)补骨脂素含量则升高至生品的 134.27%~143.13%, 提示苷向苷元转化; 此外发现 4'-O-甲基补骨脂查耳酮含量明显升高(为蒸制前的 247.09%~288.18%), 推测可能由其他黄酮经加热转化而来。斑马鱼评价结果表明, 白酒雷公炮制品安全性优于黄酒雷公炮制品, 且均优于生品: 炮制后, 致鱼畸变浓度升高, 致鱼最早死亡时间推迟 2~3 d, 鱼最大死亡率减少 45%~70%, LC₅₀ 值升高 3~4 倍; 雷公炮制品和生品均可增加斑马鱼头骨矿化面积和吸光度值。**结论** 雷公炮制过程(酒浸、水浸及蒸制)中补骨脂核心成分发生物理浸出、苷向苷元生物转化以及黄酮甲基化化学修饰等不同形式动态变化, 雷公炮制具有减毒存效作用, 新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚含量降低是补骨脂炮制减毒的关键因素。

关键词: 补骨脂; 雷公炮制; 质量传递; 斑马鱼; 毒性; 骨质疏松; 新补骨脂异黄酮; 补骨脂甲素; 补骨脂酚

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)22-8222-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.014

Scientific connotation of quality delivery, toxicity reduction and efficacy retention in Leigong processing of *Psoraleae Fructus*

GUO Xinyu¹, SHI Ye¹, LI Guiying³, WEI Yingjie^{1,2}

1. Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Key Laboratory of New Drug Delivery Systems of Chinese Materia Medica, Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Shandong SBOND Pharmaceutical Co., Ltd., Jinan 250200, China

Abstract: Objective To investigate quality delivery of core components such as coumarins, flavonoids, and bakuchiol of Buguzhi (*Psoraleae Fructus*) during Leigong processing and the influence on toxicity/efficacy. **Methods** HPLC method was used to detect the dynamic changes of coumarins, flavonoids, and bakuchiol, the core components of *Psoraleae Fructus* in the Leigong processing process (wine soaking, water soaking, and steaming). The safety of *Psoraleae Fructus* before and after Leigong processing was

收稿日期: 2025-07-22

基金项目: “重大新药创制”科技重大专项资助项目(2017ZX09301056); 江苏省中医药科技发展计划项目(ZD202225); 江苏省中医药研究院高质量研究成果后补助项目(HBZ202501)

作者简介: 郭新宇, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础与质量控制。E-mail: guo15255086091@163.com

#共同第一作者: 石 也, 硕士研究生, 研究方向为中药物质基础与质量控制。E-mail: sy66690@163.com

***通信作者:** 李桂英, 中级工程师, 从事新药研究与开发。E-mail: 793405089@qq.com

韦英杰, 研究员, 博士生导师, 从事中药物质基础与质量控制研究。E-mail: wyj970@163.com

evaluated in zebrafish embryos/larvae (1—6 dpf, days post fertilization), organ morphology was observed, mortality was recorded, and the half lethal concentration (LC₅₀) was calculated. The zebrafish osteoporosis model was induced with 25 μmol/L prednisolone; microscopic observation and digital imaging of zebrafish larvae of each treatment group cultured to 8 dpf were performed using alizarin red, and the bone staining area was quantitatively analyzed by image software to evaluate the anti-osteoporosis activity of the above samples. **Results** Chinese liquor infusion mainly contained lipophilic components such as (iso) psoralen, flavonoids, and bakuchiol, and the leaching rate was 20.91%—63.93%, while the rice wine infusion was similar to that of water infusion, which only contained a small amount of hydrophilic (iso) psoralenoside and lipophilic (iso) psoralen or neobavaisoflavone (leaching rate was 0.22%—6.15%), and then after further steaming, the content of (iso) psoralenoside was significantly reduced to 9.54%—13.71% of the raw products, while the content of (iso) psoralen increased to about 134.27%—143.13% of the raw products, indicating that glycoside was converted to aglycone. In addition, the content of 4'-O-methylbroussonchalcone was significantly increased (about 247.09%—288.18% of the products before steaming), which may be converted from other flavonoids by heating. The results of zebrafish evaluation showed that the safety of Leigong products using rice wine was better than that of using Chinese liquor, and both were better than that of raw products; After processing, the concentration of fish distortion was increased, the earliest death time of fish was delayed by 2—3 d, the maximum mortality rate of fish was reduced by 45%—70%, and the LC₅₀ value of fish increased by 3—4 times. Both Leigong products and raw products could increase the mineralized area and cumulative optical density value of zebrafish skulls. **Conclusion** Leigong processing (wine soaking, water soaking, and steaming) causes different dynamic changes of core components of *Psoraleae Fructus*, such as physical leaching of core components, bioconversion of glycoside to aglycone, and chemical modification of flavonoid methylation, and the evaluation of zebrafish shows that the Leigong processing method can reduce toxicity and save effectivity, and the content reduction of neobavaisoflavone, bavachin, and bakuchiol is the key factor of toxicity attenuation.

Key words: *Psoraleae Fructus*; Leigong processing; quality delivery; zebrafish; toxicity; osteoporosis; neobavaisoflavone; bavachin; bakuchiol

补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实，具温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻之功效，外用消风祛斑，临床用于治疗肾阳不足、阳痿遗精、遗尿尿频等症，外用治白癜风、斑秃^[1]。补骨脂临床应用有 1 500 多年，但近年来，补骨脂及其制剂如仙灵骨葆口服制剂、壮骨关节丸、骨康胶囊等导致肝损伤的报道受到广泛关注^[2-4]。补骨脂化学成分复杂，核心活性成分主要有香豆素类、黄酮类和单萜酚类，具有显著的抗骨质疏松活性^[5]。现有研究表明，黄酮类成分如补骨脂甲素、补骨脂乙素、新补骨脂异黄酮以及补骨脂酚等是补骨脂肝损伤的主要成分^[6-11]。

炮制减毒是补骨脂临床安全应用的有效措施之一。补骨脂始载于南北朝雷敩的《雷公炮炙论》，曰：“凡使，性本大燥，毒，用酒浸一宿后，漉出，却用东流水浸三日夜，却蒸从巳至申出，日干用”^[12]。补骨脂经雷公炮制法酒浸水漂蒸后有效降低毒性。现代对于补骨脂雷公炮制方法描述：将补骨脂浸泡于黄酒中 1 d，之后滤去黄酒，以清水浸泡药材 3 d，经滤过、沥干后，置于锅中隔水蒸 6 h 后取出，晒干^[13-14]，宋迪等^[15]改进雷公炮制法，酒精浓度为 80%，酒浸和水浸次数增加到 3 次。吕彬等^[14]综合现代研究文献，分析补骨脂“雷公炮制法”减毒的

科学内涵，认为在补骨脂雷公炮制过程中，先通过酒浸去除部分（异）补骨脂苷和（异）补骨脂素，再通过水浸促进部分毒性成分（异）补骨脂苷的浸出，最后通过水蒸的方法促进残留的毒性成分（异）补骨脂苷转化为活性成分（异）补骨脂素，同时促进补骨脂酚的受热挥发，使得（异）补骨脂素的含量保持在有效剂量范围内，保障了补骨脂用药的安全性及有效性，最终达到炮制减毒的目的。现代对补骨脂雷公炮制的描述具有差异，如酒浸有低醇度黄酒和高浓度乙醇（80%）^[13,15]，此外，吕彬等^[14]依据文献研究探讨雷公炮制科学内涵仍具有一定局限性，未分析毒性黄酮成分变化，雷公炮制不同步骤如酒浸、水浸及水蒸等对补骨脂中成分的影响仍有待研究。故有必要进行实验验证，全面关注雷公炮制过程补骨脂核心成分如香豆素类、黄酮类和补骨脂酚动态变化，并考察对毒/效的影响，对揭示补骨脂雷公炮制科学内涵具有意义。

斑马鱼是近年来被广泛认可的用于高效评价药物的药理毒理作用的模式动物，斑马幼鱼具有完整的器官和代谢酶系，实验可在微板中进行，具有量微、高效、规模化等优势，可弥补体外模型不能体现在体综合效应，体内模型耗时长、成本高等不足^[16-19]，课题组前期用斑马鱼高效评价多种中药及

成分抗骨质疏松活性和安全性^[20-24]。本研究拟采用高效液相色谱法检测雷公炮制过程补骨脂核心成分香豆素类、黄酮类及补骨脂酚的质量传递,采用斑马鱼高效评价补骨脂雷公炮制前后抗骨质疏松活性及安全性差异,以期为真正揭示补骨脂雷公炮制科学内涵提供实验依据。

1 材料

1.1 动物

斑马鱼成鱼为德国 Tuebingen 品系,购自南京尧顺禹生物科技有限公司。斑马鱼饲养方法参考文献报道^[18],斑马鱼成鱼在斑马鱼养殖系统中饲养,水温(28.0±0.5)℃,pH 6.5~7.5,电导率 450~550 μs/cm,在光照 14 h/黑暗 10 h 条件下养殖。

1.2 药材

补骨脂(产地为云南,批号 20230205)购自亳州市优方药业有限公司,经江苏省中医药研究院韦英杰研究员鉴定为豆科植物补骨脂 *P. corylifolia* L. 的干燥成熟果实。

1.3 药品与试剂

对照品补骨脂苷(批号 210323)、异补骨脂苷(批号 210308)购自上海融禾医药科技有限公司;对照品补骨脂素(批号 110739-201918)、异补骨脂素(批号 110738-202016)、新补骨脂异黄酮(批号 520052-201401)、补骨脂甲素/补骨脂二氢黄酮(批号 520053-201401)、补骨脂宁(批号 112021-201601)购自中国食品药品检定研究院;对照品补骨脂查耳酮(批号 AFB12201)购自成都艾博克生物科技有限公司;对照品补骨脂定(批号 PS000175)、补骨脂乙素/异补骨脂查耳酮(批号 PS010254)、补骨脂二氢黄酮甲醚(批号 PS010229)、corylifol A(批号 PS011631)、4'-O-甲基补骨脂查耳酮(批号 PS001185)、补骨脂酚(批号 PS010154)购自成都普思生物科技股份有限公司;以上所有对照品质量分数为>98%。

乙腈(色谱级,质量分数≥99.9%,批号 24086231)、甲醇(色谱级,质量分数≥99.9%,批号 24076031)购自安徽天地高纯溶剂有限公司;甲酸(质谱级,批号 244337T-33362)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;氢氧化钾(批号 20140530)购自国药集团化学试剂有限公司;氯化钾(批号 120913115884)、磷酸二氢钾(批号 13032010369)、丙三醇(批号 13090311397)购自南京化学试剂股份有限公司;依替膦酸二钠(批号 K22A8M34493)、

茜素红(批号 K08J9C63243)购自上海源叶生物科技有限公司;泼尼松龙(质量分数为 98%,批号 FD050193)购自萨恩化学技术上海有限公司;多聚甲醛(批号 20140901)购自成都展云化工有限公司;氯化钠(批号 P1548228)购自 General-Reagent 公司;上海老酒(黄酒,酒精度 9.0%)购自德清县剑池酿酒厂;牛栏山陈酿酒(白酒,酒精度 52%)购自牛栏山酒厂。

1.4 仪器

Nikon SMZ800N 型显微镜(日本 Nikon 公司);SPX-80 型生化培养箱(宁波海曙赛福实验仪器厂);Agilent 1260 型系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);Organomation N-EVAP™ 112 型氮吹仪(美国 Organomation Associates 公司);KQ3200B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);MS105DU 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

2 方法

2.1 补骨脂雷公炮制品及供试液的制备

2.1.1 补骨脂雷公炮制品(黄酒浸和白酒浸)的制备 取补骨脂 100 g,加黄酒(或白酒)300 mL 浸泡 1 d,滤去黄酒(或白酒),再以清水 300 mL 浸泡 3 d,滤过、沥干后,置于锅中蒸 6 h 后取出,晒干,即得。

2.1.2 HPLC 分析供试液的制备 取补骨脂黄酒、白酒及水浸液适量(相当于 100 mg 生药),于 10 mL 量瓶中,加 80%甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

取补骨脂及其雷公炮制品粉末(过 3 号筛)0.1 g,精密称定,置 25 mL 具塞量瓶中,加入 80%甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 40 min,放冷,再称定质量,用 80%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

称取补骨脂及其雷公炮制品 10 g,分别加 10 倍量水煎煮 2 次,每次 0.5 h,合并煎液,滤过,滤液加纯水至 200 mL,摇匀。取补骨脂及其雷公炮制品水提液(50 mg/mL 生药)1 mL 于 5 mL 量瓶中,加 80%甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2 HPLC 法分析补骨脂香豆素类、黄酮类和补骨脂酚含量变化

2.2.1 色谱条件 Agilent Zorbax Extend C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈(A)-0.05%甲酸水溶液(B),梯度洗脱:0~30 min, 90%~50% B; 30~45 min, 50%~45% B; 45~55 min,

45%~20% B; 55~65 min, 20% B。柱温为 25 ℃; 体积流量为 1.0 mL/min; 检测波长为 246 nm; 进样量为 10 μL。

2.2.2 线性关系考察 分别精密称取对照品补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂宁、补骨脂查耳酮、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、corylifol A、4'-O-甲基补骨脂查耳酮和补骨脂酚适量, 加 80% 甲醇或甲醇溶解、稀释, 配成质量浓度分别为 0.26~542.00、0.13~263.00、0.05~102.30、0.05~110.90、0.05~103.60、0.05~101.40、0.05~106.10、0.02~38.75、0.03~65.75、0.03~59.25、0.03~52.75、0.02~39.75、0.03~58.50、0.31~638.00 μg/mL 的对照品溶液。

按照上述色谱条件, 分析补骨脂香豆素类、黄酮类和补骨脂酚共 14 个核心成分的含量变化。根据对照品质量浓度 (X) 与峰面积 (Y) 得到回归方程及线性范围分别为补骨脂苷 $Y=26.819 X-55.285$, $r=0.999 8$, 线性范围 0.53~542.00 μg/mL; 异补骨脂苷 $Y=27.325 X-28.34$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.51~263.00 μg/mL; 补骨脂素 $Y=70.306 X-16.216$, $r=0.999 8$, 线性范围 0.20~102.30 μg/mL; 异补骨脂素 $Y=64.987 X-12.446$, $r=0.999 8$, 线性范围 0.22~110.90 μg/mL; 新补骨脂异黄酮 $Y=36.4 X-17.017$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.40~103.60 μg/mL; 补骨脂甲素 $Y=20.911 X-11.217$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.80~101.40 μg/mL; 补骨脂宁 $Y=80.007 X-42.281$, $r=0.999 8$, 线性范围 0.21~106.10 μg/mL; 补骨脂查耳酮 $Y=18.007 X-7.710 4$, $r=0.999 9$, 线性范围 1.21~38.75 μg/mL; 补骨脂定 $Y=31.501 X-14.498$, $r=0.999 9$, 线性范围 1.03~65.75 μg/mL; 补骨脂乙素 $Y=20.907 X-9.603 5$, $r=0.999 9$, 线性范围 1.85~59.25 μg/mL; 补骨脂二氢黄酮甲醚 $Y=19.998 X+3.351 2$, $r=0.999 9$, 线性范围 1.65~52.75 μg/mL; corylifol A $Y=36.671 X+10.901$, $r=0.999 8$, 线性范围 0.62~39.75 μg/mL; 4'-O-甲基补骨脂查耳酮 $Y=21.876 X-10.267$, $r=0.999 9$, 线性范围 0.91~58.50 μg/mL; 补骨脂酚 $Y=18.464 X-52.312$, $r=0.999 9$, 线性范围 2.49~638.00 μg/mL。

2.2.3 方法学考察 考察精密度、重复性、0~24 h 稳定性和加样回收率, 结果显示, 补骨脂苷、异补骨脂苷、补骨脂素、异补骨脂素、新补骨脂异黄酮、

补骨脂甲素、补骨脂宁、补骨脂查耳酮、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、corylifol A、4'-O-甲基补骨脂查耳酮、补骨脂酚在精密度试验中的 RSD 分别为 0.72%、0.77%、1.35%、1.11%、2.39%、3.89%、2.14%、0.27%、0.53%、0.41%、0.44%、0.72%、1.49%、0.47%; 在重复性试验中的 RSD 分别为 0.80%、0.73%、2.39%、1.81%、1.62%、1.20%、2.10%、0.96%、1.86%、1.17%、0.98%、1.20%、1.41%、1.29%; 在稳定性试验中的 RSD 分别为 1.61%、1.58%、3.19%、3.01%、3.38%、3.19%、2.96%、1.47%、1.16%、0.99%、1.15%、2.00%、2.10%、1.59%; 在准确度试验中平均加样回收率分别为 106.39%、101.62%、107.83%、108.26%、106.17%、108.09%、99.61%、92.32%、107.96%、91.36%、92.00%、92.30%、109.36%、104.57%, RSD 分别为 2.49%、2.40%、2.10%、1.94%、2.49%、2.30%、3.92%、2.54%、2.31%、5.35%、2.76%、2.80%、3.09%、1.96%。

2.3 斑马鱼评价补骨脂及其雷公炮制品的安全性

2.3.1 供试品溶液的配制 取补骨脂及其雷公炮制品水提液 (50 mg/mL 生药) 适量, 用斑马鱼培养基配制成 50、100、300、500、750、1 000、1 500 μg/mL 的溶液, 供斑马鱼毒性研究用。

2.3.2 斑马鱼给药与分组 将斑马鱼成鱼按雌: 雄=1:1 分配放入产卵箱内, 自然交配产卵, 挑选健康胚胎放置培养基 (由 5 mmol/L NaCl、0.17 mmol/L KCl、0.33 mmol/L CaCl₂、0.33 mmol/L MgSO₄ 组成) 中, 于 28.5 ℃ 恒温培养箱中培养 24 h。取受精后 1 d (1 d post fertilization, 1 dpf) 的斑马鱼健康胚胎置 24 孔板中, 设置对照组 (空白培养基) 和补骨脂及其雷公炮制品的各质量浓度给药组, 每组 20 枚, 每孔加入各溶液 2 mL。每天记录斑马鱼死亡数量, 并及时捞出已死亡的幼鱼, 记录至 6 dpf, 在显微镜下观察斑马鱼的形态 (3~6 dpf), 并在 3 dpf 时进行拍照。

2.3.3 统计学分析 利用 SPSS 16.0 数据统计软件计算 6 dpf 的斑马鱼半数死亡浓度 (half lethal concentration, LC₅₀)。

2.4 泼尼松龙诱导斑马鱼骨丢失模型评价补骨脂及其雷公炮制品抗骨质疏松活性

2.4.1 药物溶液的配制

(1) 泼尼松龙溶液的配制: 精密称取泼尼松龙 9 mg, 加入二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 溶解, 配制成 25 mmol/L 泼尼松龙储备液。取泼尼

松龙储备液适量, 稀释得到 25 $\mu\text{mol/L}$ 溶液^[20-21]。

(2) 含 25 $\mu\text{mol/L}$ 泼尼松龙的依替膦酸二钠溶液的配制: 精密称取依替膦酸二钠 6 mg, 用培养基稀释得 3 mg/mL 依替膦酸二钠储备液。取依替膦酸二钠储备液及泼尼松龙储备液适量, 用培养基稀释 100 倍, 即得^[20-21]。

(3) 供试液的配制: 取补骨脂及其雷公炮制品水提液 (以生药量计 50 mg/mL, 临用前稀释 50 倍) 和 25 mmol/L 泼尼松龙储备液适量, 配制成含 25 $\mu\text{mol/L}$ 泼尼松龙的 4.0、10.0、25.0 $\mu\text{g/mL}$ 的供试品溶液。

2.4.2 斑马鱼分组与给药方法 将 3 dpf 的斑马鱼胚胎放入 24 孔板中, 设置对照组 (0.4% DMSO 溶液)、模型组 (25 $\mu\text{mol/L}$ 泼尼松龙)、阳性对照组 (30 $\mu\text{g/mL}$ 依替膦酸二钠)、补骨脂生品及 2 种酒 (白酒和黄酒) 雷公炮制品各质量浓度供试液组, 每孔 10 个胚胎, 每组共 2 孔。加入 2 mL 药液, 将 24 孔板放入 28.5 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养, 培养周期共 5 d, 隔天更换溶液 1 mL, 培养至 8 dpf^[20-21]。

2.4.3 斑马鱼幼鱼的固定、骨骼染色与分析 斑马鱼幼鱼培养至 8 dpf, 用 4% 多聚甲醛处死过夜后, 用 50% 乙醇清洗, 采用 1% KOH 配制含 1.5% H_2O_2 漂白剂, 将鱼体漂白 2 h, 再用茜素红对斑马鱼幼鱼头部骨骼染色^[20-21], 过夜去除染色剂, 用 1% KOH-甘油 (1:1) 的透明液透明, 去除多余的染色剂, 固定在纯甘油中。用显微镜观察茜素红染色的斑马鱼头骨腹面, 同时进行拍照。

2.4.4 数据分析 采用 Image pro plus 6.0 图像分析软件计算头部骨骼染色面积和吸光度 (A) 值。用 Excel 软件统计分析头骨染色矿化面积和 A 值数据, 计算各组数据的平均值以及 RSD ($n=8\sim 16$), 运用 SPSS 软件 16.0 进行 Shapiro-Wilk 正态性检验, 若数据符合正态分布, 以单因素方差分析进行多组间比较, 方差齐性时用最小显著性差异法 (LSD) 进行组间两两比较, 方差非齐性时用 Dunnett's T3 法进行组间两两比较, 若数据不符合正态分布, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验, 并以 Bonferroni 校正多重比较。

3 结果

3.1 补骨脂雷公炮制过程 14 个核心成分的质量传递特征

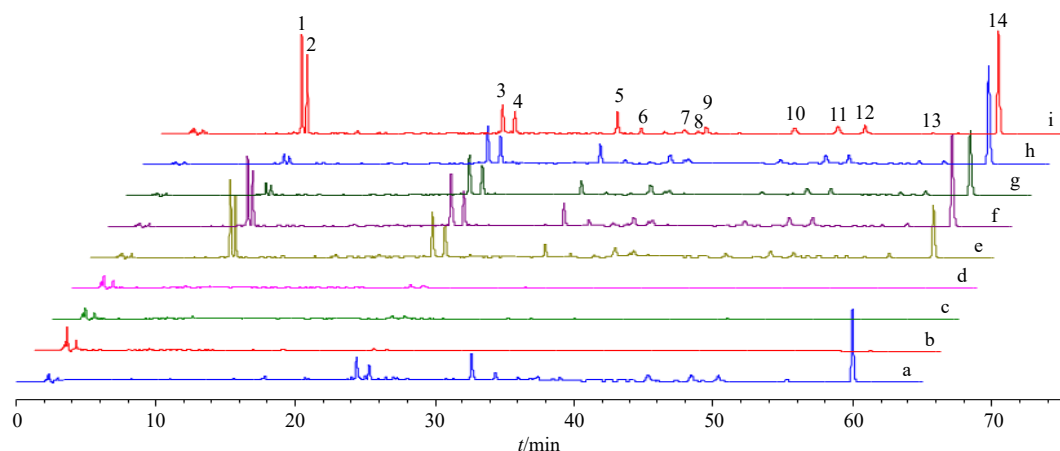
补骨脂雷公炮制过程酒浸液、水浸液、酒和水浸后蒸制品 (0、6 h) 及生品代表色谱图见图 1。炮制过程补骨脂香豆素类、黄酮类及单萜酚类共 14 个

成分的含量变化与质量传递结果见图 2。

3.1.1 酒浸过程的质量传递 以补骨脂中成分浸出到浸液中的百分率 (即浸出率, 浸出率=浸液中成分含量/生品成分含量) 考察浸出效果。黄酒浸液含少量水溶性 (异) 补骨脂苷 (浸出率为 0.27%、0.32%), 脂溶性 (异) 补骨脂素 (浸出率为 2.90%、3.14%) 和新补骨脂异黄酮 (浸出率为 0.64%), 未见其他黄酮成分和补骨脂酚; 而白酒浸液不含水溶性 (异) 补骨脂苷, 主含脂溶性 (异) 补骨脂素及黄酮成分 (如新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、4'- O -甲基补骨脂查耳酮等) 和补骨脂酚, 浸出率为 20.91%~63.93%, 显著高于黄酒浸液 ($P<0.01$ 、0.001)。

3.1.2 水浸过程的质量传递 白酒、黄酒浸后水浸液均含少量 (异) 补骨脂苷 (浸出率为 0.22%~1.14%)、(异) 补骨脂素 (浸出率为 4.18%~6.15%) 和新补骨脂异黄酮 (白酒浸后水浸液, 浸出率为 1.63%), 未见其他黄酮成分和补骨脂酚。

3.1.3 蒸制过程的质量传递 以补骨脂中成分经浸制或蒸制后仍然保留在补骨脂中的百分率 (即保留率, 保留率=蒸制品中成分含量/生品成分含量) 考察成分保留情况。补骨脂中 (异) 补骨脂苷在白酒/黄酒和水浸后 (即蒸制前) 的保留率为 80.76%~82.30% 和 72.49%~73.99%, 蒸制后含量均明显降低 ($P<0.001$), 保留率降低至生品的 13.63%~13.71% 和 9.54%~9.64%; 但 (异) 补骨脂素蒸制前含量却显著升高至生品的 155.67%~166.25% 和 174.70%~197.91% ($P<0.001$), 蒸制后略有降低, 但仍为生品的 142.82%~143.13% 和 134.27%~137.09%, 提示浸泡和蒸制过程中, 糖苷会 (经 β -葡萄糖苷酶) 转化为苷元, 二者也会随热蒸气流; 4'- O -甲基补骨脂查耳酮在蒸制 6 h 后含量显著升高至蒸制前的 247.09%~288.18% ($P<0.05$ 、0.001), 提示可能由其他黄酮 (如补骨脂查耳酮) 经加热转化而来; 其他黄酮蒸制前后含量变化不大; 未见补骨脂酚含量降低。白酒制雷公炮制品 (白酒水浸蒸 6 h) 中脂溶性黄酮成分 (新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、corylifol A) 和补骨脂酚含量是黄酒浸雷公炮制品 (黄酒水浸蒸 6 h) 的 49.84%~77.18%, 而水溶性 (异) 补骨脂苷含量则是黄酒制雷公炮制品的 142.18%~142.96%, 差异均具显著性 ($P<0.001$), 2 种炮制品其他成分含量差异不明显。

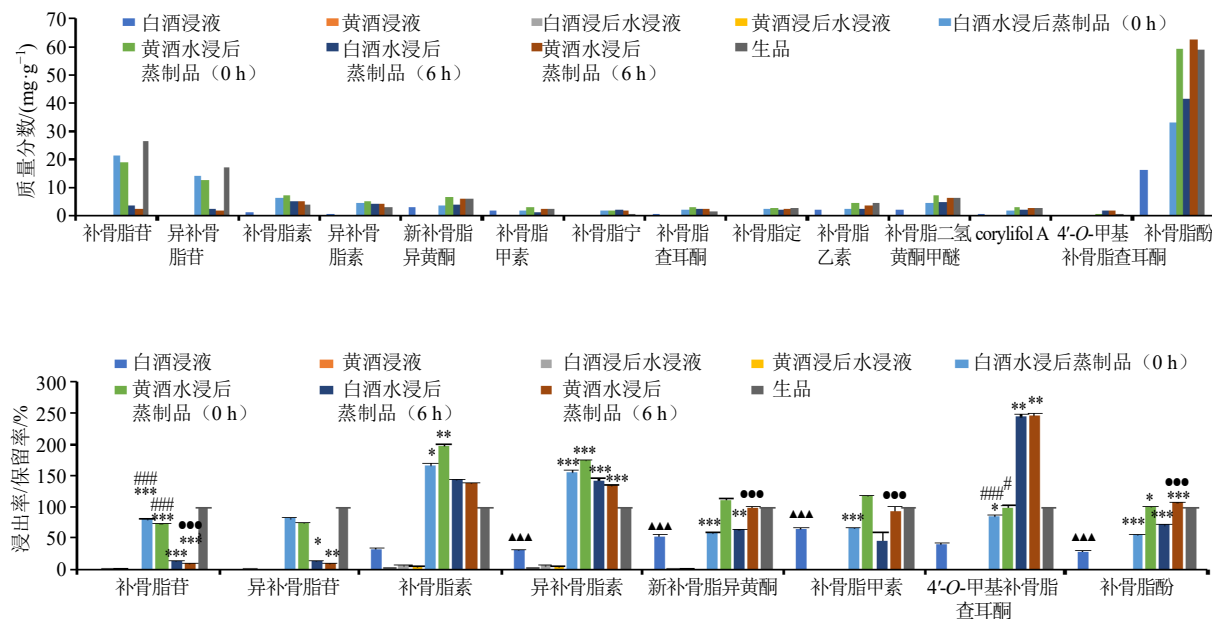


a-白酒浸液; b-黄酒浸液; c-白酒浸后水浸液; d-黄酒浸后水浸液; e-白酒水浸后蒸制品 (0 h); f-黄酒水浸后蒸制品 (0 h); g-白酒水浸后蒸制品 (6 h); h-黄酒水浸后蒸制品 (6 h); i-生品; 1-补骨脂苷; 2-异补骨脂苷; 3-补骨脂素; 4-异补骨脂素; 5-新补骨脂异黄酮; 6-补骨脂甲素 (补骨脂二氢黄酮); 7-补骨脂宁; 8-补骨脂查耳酮; 9-补骨脂定; 10-补骨脂乙素; 11-补骨脂二氢黄酮甲醚; 12-corylifol A; 13-4'-O-甲基补骨脂查耳酮; 14-补骨脂酚。

a-Chinese wine infusion; b-rice wine infusion; c-water infusion followed by Chinese wine soaking; d-water infusion followed by rice wine soaking; e-steaming (0 h) product after Chinese wine and water soaking; f-steaming (0 h) product after rice wine and water soaking; g-steaming (6 h) product after Chinese wine and water soaking; h-steaming (6 h) product after rice wine and water soaking i-raw products; 1-psoralenoside; 2-isopsoralenoside; 3-psoralen; 4-isopsoralen; 5-neobavaisoflavone; 6-bavachin; 7-corylin; 8-bavachalcone; 9-psoralidin; 10-isobavachalcone; 11-bavachinin; 12-corylifol A; 13-4'-O-methylbroussosochalcone; 14-bakuchiol.

图 1 补骨脂雷公炮制过程样品及炮制品 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of samples during Leigong processing and processed products of *Psoraleae Fructus*



与黄酒浸液比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$; 与生品比较: $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ $***P < 0.001$; 与蒸制 6 h 炮制品比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ $^{\#\#\#}P < 0.001$; 与白酒浸雷公炮制品比较: $^{\bullet\bullet\bullet}P < 0.001$ 。
 $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs rice wine infusion; $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ $***P < 0.001$ vs raw products; $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ $^{\#\#\#}P < 0.001$ vs steamed product; $^{\bullet\bullet\bullet}P < 0.001$ vs Leigong products using Chinese liquor.

图 2 补骨脂雷公炮制过程香豆素、黄酮和补骨脂酚的含量与传递 ($n = 3$)

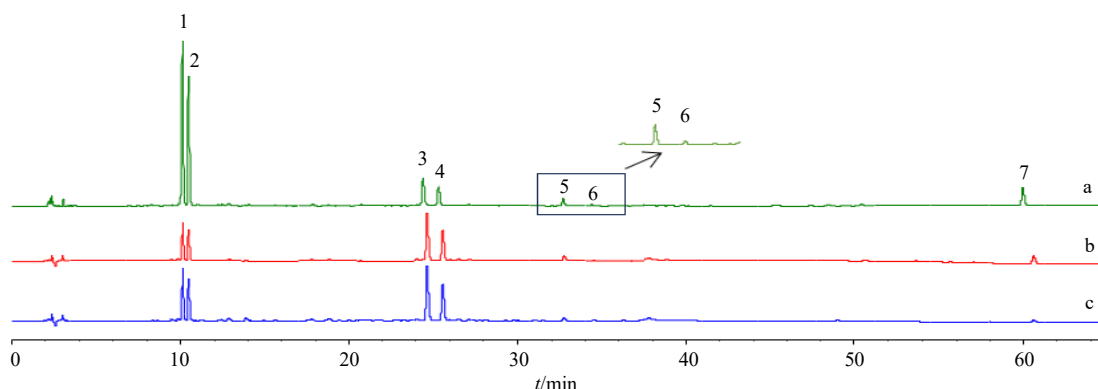
Fig. 2 Contents and transfer rates of coumarins, flavonoids and bakuchiol during Leigong processing of *Psoraleae Fructus* ($n = 3$)

3.2 补骨脂及其雷公炮制品水提液的成分分析

补骨脂及其雷公炮制品（雷白酒和雷黄酒制品）水提液代表色谱图见图 3。补骨脂香豆素类、黄酮类及补骨脂酚的含量变化及相对生品水提液含量结果见图 4。

雷白酒和雷黄酒制品水提液中（异）补骨脂苷含量显著降低为生品水提液的 32.07%~32.55%和 23.46%~23.57% ($P<0.001$)，（异）补骨脂素则显著升高为生品水提液的 197.71%~214.56% 和

174.60%~183.14% ($P<0.001$)；黄酮成分主要检测到新补骨脂异黄酮和补骨脂甲素，分别为生品水提液的 44.35%~45.87% 和 71.70%~73.27% ($P<0.01$ 、0.001)，生品水提液中另检测到少量补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚和 corylifol A；补骨脂酚含量分别为生品水提液的 15.24% 和 46.41%。可见雷白酒制品水提液中黄酮成分和补骨脂酚低于雷黄酒制品水提液 ($P<0.001$)，且均明显低于生品水提液 ($P<0.01$ 、0.001)。

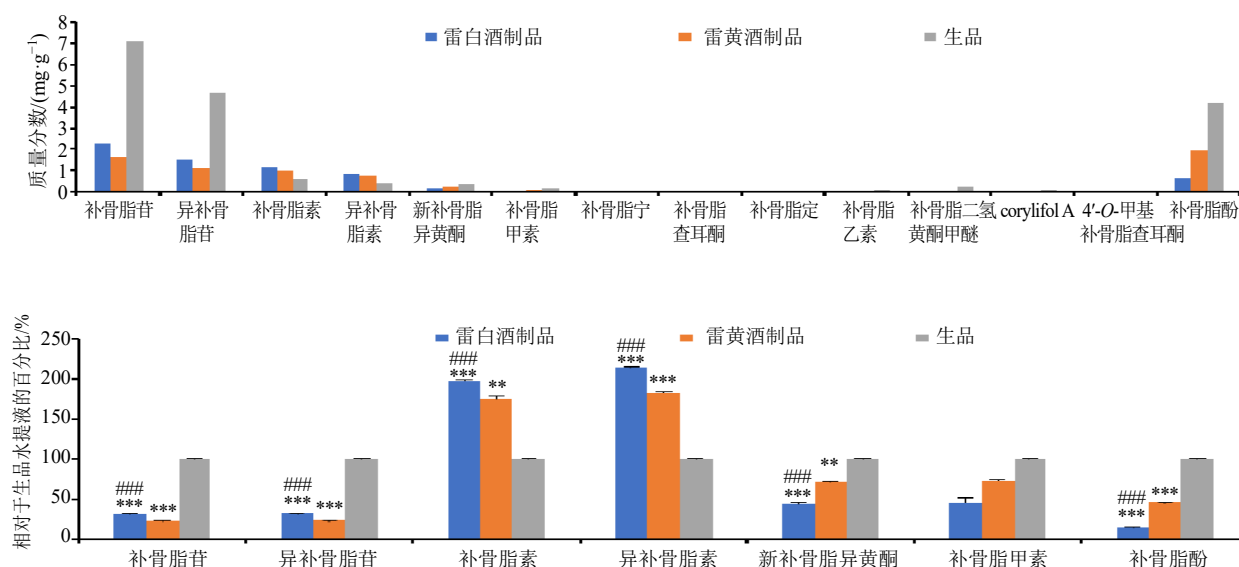


a-生品；b-雷黄酒制品；c-雷白酒制品；1-补骨脂苷；2-异补骨脂苷；3-补骨脂素；4-异补骨脂素；5-新补骨脂异黄酮；6-补骨脂甲素；7-补骨脂酚。

a-raw product; b-Leigong processed products with rice wine soaking; c-Leigong processed products with Chinese wine soaking; 1-psoralenoside; 2-isopsoralenoside; 3-psoralen; 4-isopsoralen; 5-neobavaisoflavone; 6-bavachin; 7-bakuchiol.

图 3 补骨脂生品及雷公炮制品水提液 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of water extract of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products



与生品比较：** $P<0.01$ *** $P<0.001$ ；与雷黄酒制品比较：### $P<0.001$ 。

** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs raw products; ### $P<0.001$ vs Leigong products using rice wine.

图 4 补骨脂及雷公炮制品水提液香豆素、黄酮和补骨脂酚含量 ($n=3$)

Fig. 4 Contents of coumarins, flavonoids and bakuchiol of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products ($n=3$)

3.3 补骨脂及雷公炮制品对斑马鱼的毒性作用

3.3.1 斑马鱼形态检视结果 斑马鱼受精 3 d 后孵化成幼鱼，各脏器发育基本完全，鱼体透明，在载玻片上易侧卧，显微镜下检视脏器形态清楚、直观。故将 3 dpf 斑马鱼胚胎或幼鱼进行显微镜检视，并拍照，结果见图 5。

与空白组比较，生品（500 μg/mL）组鱼卵黄囊肿大、变黑，鱼体弯曲，750 μg/mL 组鱼胚胎未孵化成幼鱼，1 500 μg/mL 组鱼则全部死亡。雷白酒和雷黄酒制品组鱼则在较高质量浓度（750 μg/mL）出现主要器官畸变（卵黄囊肿大、变黑，心包肿大或鱼体弯曲），雷白酒制品（1 500 μg/mL）组鱼未孵化

成幼鱼，死亡率≤10%。

3.3.2 对斑马鱼死亡率的影响 补骨脂及其雷公炮制品水提液致斑马鱼的死亡率与给药浓度和时间呈相关性，其时间-剂量-死亡率关系见表 1 和图 6。结果可见，补骨脂雷白酒和雷黄酒制品水提液致鱼死亡时间较生品水提液推迟 2~3 d，2 种雷公炮制品致鱼最大死亡率分别为 30%和 55%，而生品组则为 100%。

3.3.3 对斑马鱼 LC₅₀ 的影响 雷白酒制品 LC₅₀ 值最高，为 1 919.20 μg/mL，安全性最好；其次是雷黄酒制品，LC₅₀ 值为 1 481.45 μg/mL；生品 LC₅₀ 值最低，为 471.06 μg/mL，安全性最差。

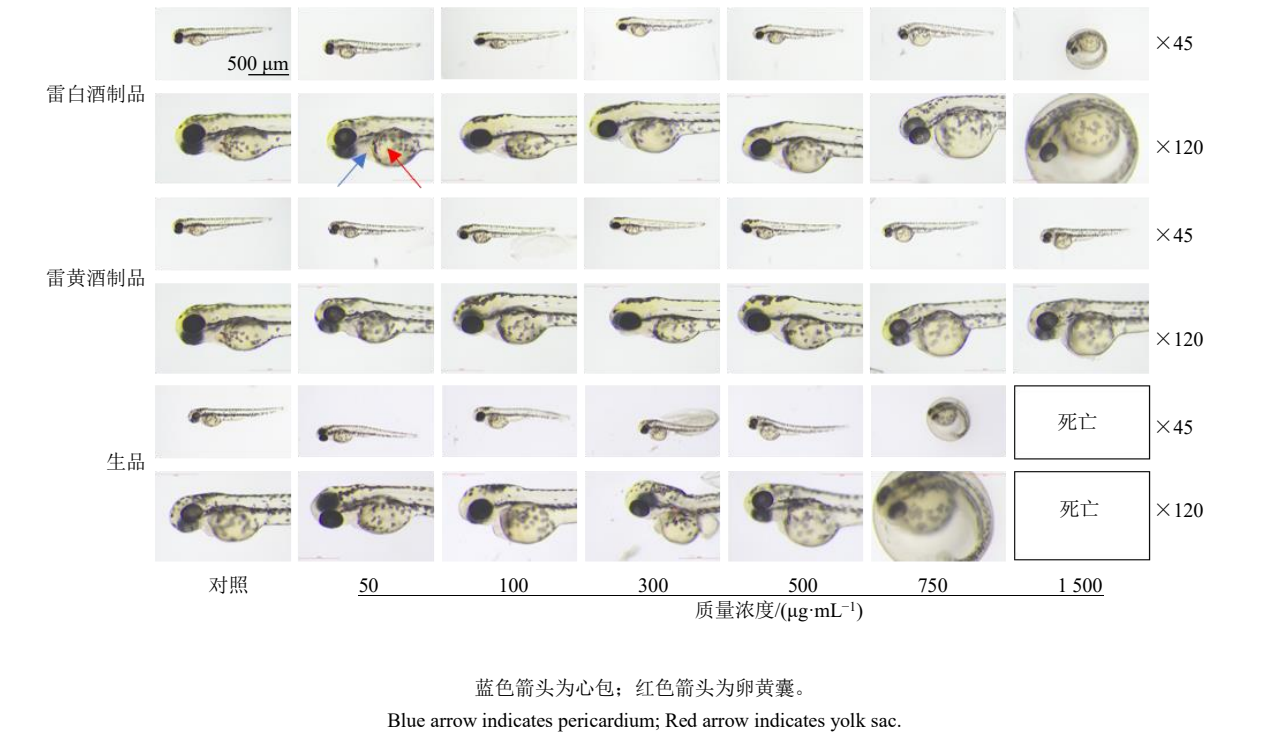


图 5 补骨脂及其雷公炮制品水提液干预的斑马鱼 (3 dpf) 显微检视图
 Fig. 5 Micrograph of zebrafish larvae at 3 dpf exposed to water extract of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products

表 1 补骨脂及其雷公炮制品水提液致斑马鱼最早死亡和最大死亡率情况
 Table 1 Earliest death time and maximum mortality rate in zebrafish caused by water extract of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products

样品	最早死亡情况			最大死亡率情况		
	最低质量浓度/(μg·mL ⁻¹)	死亡率/%	鱼龄/dpf	最低质量浓度/(μg·mL ⁻¹)	死亡率/%	鱼龄/dpf
生品水提液	750	20	2	1 500	100	3
雷白酒制品水提液	750	15	5	1 500	30	5
雷黄酒制品水提液	1 500	15	4	1 500	55	5

空白培养基也会致斑马鱼少量死亡，死亡率一般约 10%，故致鱼最早死亡浓度以死亡率>10%始计。
 Blank culture medium also causes a small number of zebrafish deaths, with a mortality rate of approximately 10%. Therefore, the lowest concentration causing fish death is defined as the concentration at which the mortality rate exceeds 10%.

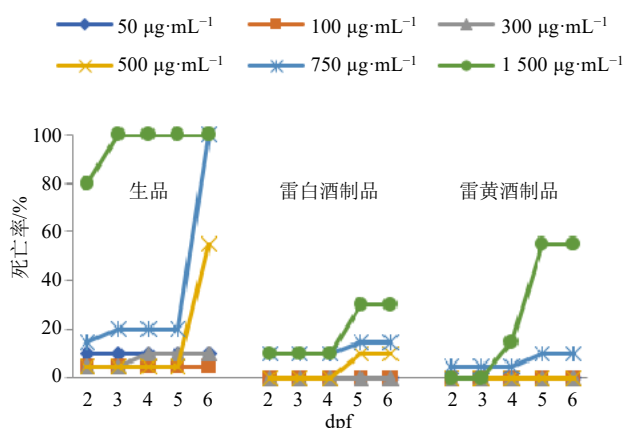
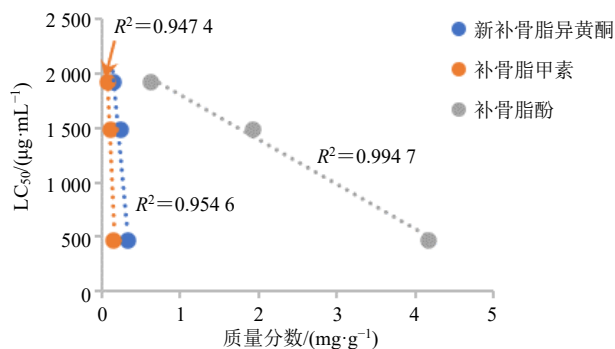


图 6 补骨脂及雷公炮制品水提液致鱼死亡的时间-剂量-死亡率关系和 LC_{50} (6 dpf)

Fig. 6 Time-dose-mortality of zebrafish death at 6 dpf caused by water extract of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products



补骨脂及 2 种雷公炮制品的水提液中核心成分含量与 LC_{50} (6 dpf) 值的相关分析见图 7。结果可见, 新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚的含量与 LC_{50} 值显著负相关 ($R^2 \geq 0.9474$), 即与毒性正相关; (异) 补骨脂素的含量与 LC_{50} 值正相关 ($R^2 \geq 0.995$); 未见 (异) 补骨脂苷的含量与 LC_{50} 值相关性。

3.4 补骨脂及其雷公炮制品对斑马鱼头骨矿化面积和骨密度的影响

斑马鱼幼鱼 (8 dpf) 头骨茜素红染色的显微成像结果见图 8, 图像分析软件分析结果见图 9, 与对照组比较, 模型组斑马鱼头骨染色矿化面积和 A 值显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 提示泼尼松龙成功诱导斑马鱼骨量减少。与模型组比较, 依替膦酸二钠组鱼头骨染色矿化面积和 A 值显著升高 ($P <$

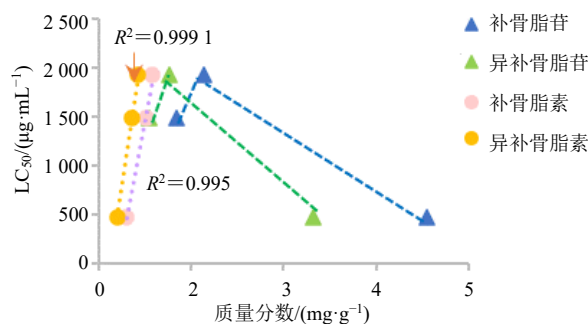


图 7 补骨脂及雷公炮制品水提液中主要成分含量与斑马鱼 (6 dpf) LC_{50} 值相关性

Fig. 7 Correlation between major components content and zebrafish (6 dpf) LC_{50} of water extract of *Psoraleae Fructus* and its Leigong processed products

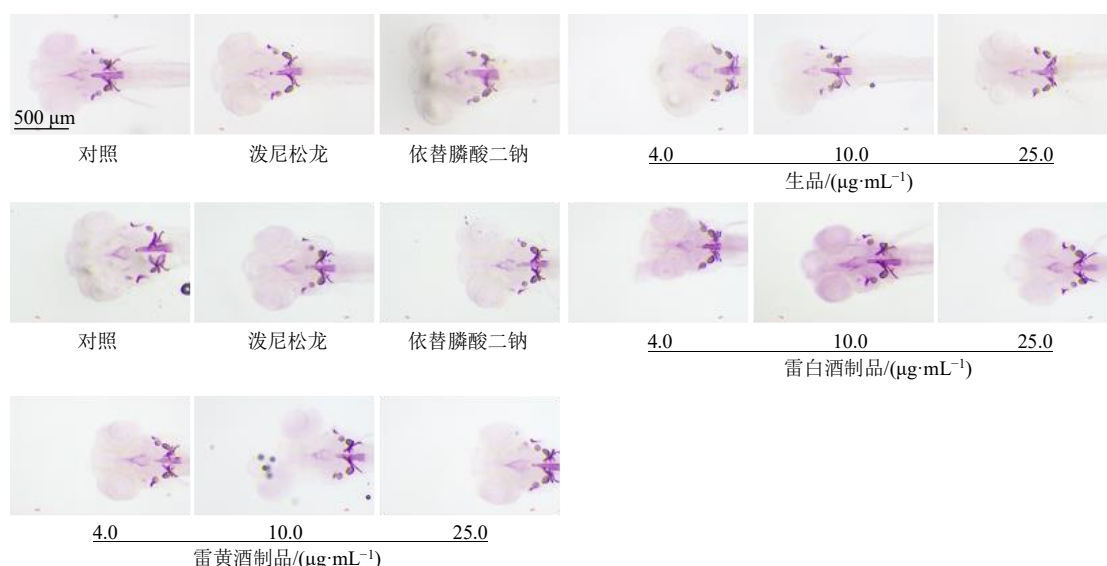
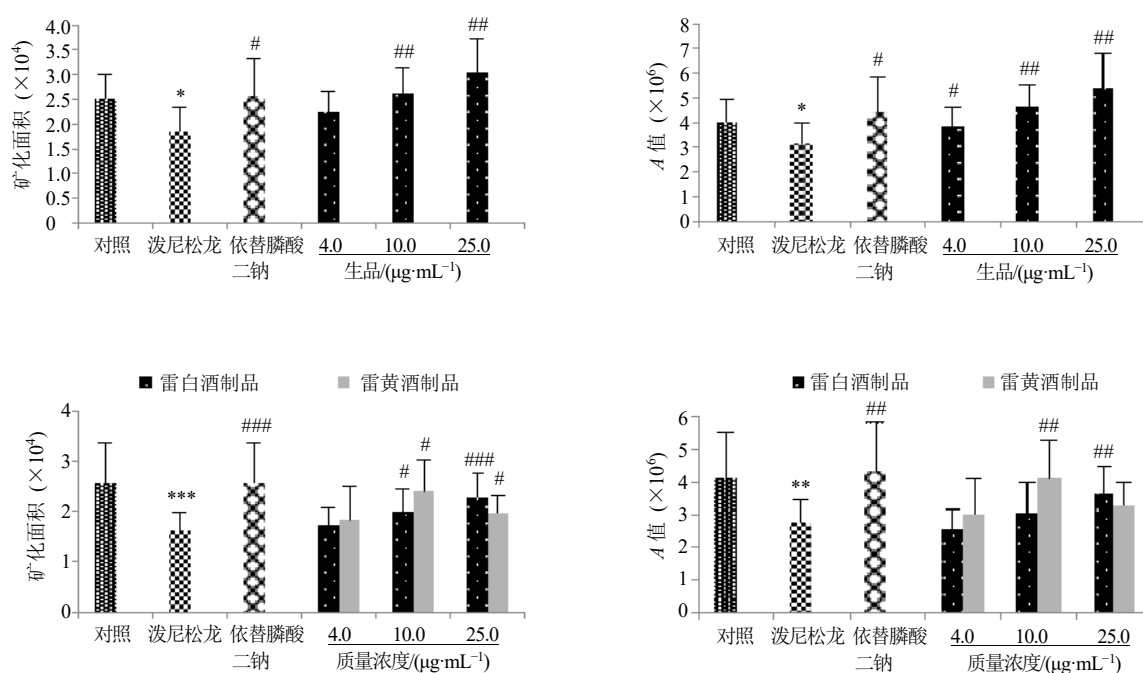


图 8 斑马鱼幼鱼 (8 dpf) 头骨茜素红染色放大的显微成像图 ($\times 120$)

Fig. 8 Ventral view of alizarin red whole-mount preparations of juvenile zebrafish cranium (8 dpf) ($\times 120$)



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

图 9 斑马鱼幼鱼 (8 dpf) 头骨茜素红染色面积和 A 值 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8 \sim 16$)

Fig. 9 Stained area and A value of alizarin red in zebrafish cranium (8 dpf) ($\bar{x} \pm s$, $n = 8 \sim 16$)

0.05、0.01、0.001); 补骨脂生品 (10.0、25.0 $\mu\text{g/mL}$) 组鱼头骨矿化面积显著升高 ($P < 0.01$), 补骨脂生品 (4.0、10.0、25.0 $\mu\text{g/mL}$) 组 A 值均显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01); 雷白酒和雷黄酒制品 (10.0、25.0 $\mu\text{g/mL}$) 组矿化面积显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001), 雷白酒制品 (25.0 $\mu\text{g/mL}$) 和雷黄酒制品 (10.0 $\mu\text{g/mL}$) 组 A 值显著升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

补骨脂的安全性受到广泛关注, 炮制减毒是临床安全用药的有效手段之一。补骨脂始载于南北朝雷敫的《雷公炮炙论》, 雷公炮制法采用酒浸水漂蒸制补骨脂。现代研究亦证实酒浸水漂法有效减毒, 但对补骨脂雷公炮制的描述不同, 如用黄酒浸或 80% 乙醇浸, 此外, 依据文献研究推测雷公炮制的科学内涵具一定局限性^[13-15]。

采用 HPLC 法分析雷公炮制酒 (白酒和黄酒) 浸、水浸、蒸制过程中 4 个香豆素、9 个黄酮及补骨脂酚的动态变化与传递。参考民间用酒习惯, 比较白酒 (酒精度 52%) 和黄酒 (酒精度 9.0%) 的浸出效果。结果显示, 白酒浸液不含水溶性 (异) 补骨脂苷, 主含脂溶性 (异) 补骨脂素, 9 个黄酮成

分及补骨脂酚 (浸出率为 20.91%~63.93%), 与文献推测 “酒浸去除部分 (异) 补骨脂苷和 (异) 补骨脂素” 不完全相同^[14]; 而黄酒浸与水浸效果相当, (异) 补骨脂苷浸出率低 (0.22%~1.14%), 与文献推测结果 “水浸促进部分毒性成分 (异) 补骨脂苷的浸出” 也不同^[14], 此外, 黄酒浸液及水浸液尚含少量 (异) 补骨脂素 (浸出率 2.90%~6.15%) 或新补骨脂异黄酮 (浸出率 0.64%~1.63%)。现有研究表明脂溶性黄酮、单萜酚及香豆素 (补骨脂素、异补骨脂素) 类成分主要分布在果皮, 而水溶性 (异) 补骨脂苷则主要分布在果实中^[25-26]。结果可见, 酒浸和水浸均难浸出果实中的水溶性 (异) 补骨脂苷, 原因主要为白酒中乙醇含量高 (酒精度 52%), 且含有其他脂溶性成分如高级醇及酯类等^[27], 易于浸出果皮中的脂溶性黄酮、单萜酚、(异) 补骨脂素, 而黄酒中乙醇含量低 (酒精度 9.0%), 其他成分氨基酸、有机酸、多酚等水溶性强^[27], 则难于浸出脂溶性成分, 效果与水浸相当。提示酒、水浸泡过程各类成分的浸出效率与溶剂的成分组成、化合物溶解特性相关, 亦与其在种子中的分布相关。

补骨脂酒浸 (白酒和黄酒)、水浸液中 (异) 补

骨脂苷累积浸出率不足 1.50%，但蒸制前补骨脂中（异）补骨脂苷的保留率却仅有 80.76%~82.30%（白酒和水浸后）和 72.49%~73.99%（黄酒和水浸后）；酒、水浸液中（异）补骨脂素累积浸出率 36.38%~38.05%（白酒和水浸）和 7.08%~8.30%（黄酒和水浸），但蒸制前补骨脂中（异）补骨脂素的保留率却提高至 155.67%~166.25%和 174.70%~197.91%，提示酒、水浸过程中，部分糖苷由补骨脂中的 β -葡萄糖苷酶转化为苷元。蒸制后（异）补骨脂苷含量进一步明显降低，保留率迅速降低至 13.63%~13.71%和 9.54%~9.64%；（异）补骨脂素的保留率较蒸制前降低，但仍为生品的 142.82%~143.13%和 134.27%~137.09%，提示蒸制过程存在糖苷进一步向苷元转化，此外，香豆素类成分也会因种皮受热破裂随热蒸气流失。另发现黄酮类成分 4'-O-甲基补骨脂查耳酮的含量蒸制后提高，为蒸制前的 247.09%~288.18%，推测可能由其他黄酮如补骨脂查耳酮经加热发生甲基化而来；蒸制前后其他黄酮成分含量变化不大；亦未见补骨脂酚含量降低，与文献推测“蒸制促进补骨脂酚的受热挥发”不同^[14]。补骨脂酚为油性液体，37 °C 水中的平衡溶解度为 $(0.86 \pm 0.19) \text{ mg/L}$ ^[28]，是几乎不溶于水的亲脂性物质，此外，补骨脂酚的沸点为 391 °C（Chemical Book 数据库），高于 100 °C，故在水蒸气中挥发的可能性较低。

补骨脂及其雷公炮制品水提液主含（异）补骨脂苷和（异）补骨脂素（占可测成分含量总和的 67%~87%），尚含少量新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚等；雷公炮制品水提液中（异）补骨脂苷，黄酮成分和补骨脂酚含量低于生品水提液，但（异）补骨脂素却高于生品水提液 74.60%~114.56%。生品水提液中（异）补骨脂苷与（异）补骨脂素比值约为 1:0.5，而雷公炮制品水提液中苷与素的比值则为 1:3.4~1:4.1。

近年来斑马鱼因遗传特性与人类高度保守等优点而被广泛用于探索药物药理、毒理及代谢等研究，此外，斑马鱼繁殖能力较强，体外受精卵发育迅速，主要器官在受精后 3~5 d 均已基本形成，斑马鱼头骨在受精后 8~9 d 也已发育完全，幼鱼全身透明，适合显微镜下实时动态观察，体小适合微板中实验，故可用于规模化抗骨质疏松活性及安全性评价^[16-24]。斑马鱼评价发现补骨脂雷白酒制品水提液安全性优于黄酒制品，二者均优于生品：致鱼畸

变浓度升高，致鱼最早死亡时间迟后 2~3 d，鱼最大死亡率减少 45%~70%， LC_{50} 值提高 3~4 倍， LC_{50} 值越高，致鱼中毒浓度越高，安全性越好。其中雷白酒制品水提液 LC_{50} 值最高，安全性最好。发现水提液中新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚的含量与 LC_{50} 值显著负相关 ($R^2 \geq 0.9474$)，即与毒性正相关，与课题组前期研究 18 批补骨脂水煎液的成分含量与斑马鱼毒性 (LC_{50} 值) 相关性的结论具一致性^[22]，现有研究表明，新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚可致小鼠、斑马鱼肝损伤^[8,11,22,29-30]。提示此 3 种成分含量降低是补骨脂雷公炮制减毒的关键因素。本研究发现（异）补骨脂素含量与 LC_{50} 值正相关 ($R^2 \geq 0.995$)，未见（异）补骨脂苷含量与 LC_{50} 值的相关性，与课题组前期研究表明补骨脂香豆素类成分与斑马鱼毒性相关性低的结论一致^[22]，提示雷公炮制所致的（异）补骨脂苷和（异）补骨脂素含量变化不会增加毒性。本研究样本量较少（生品、雷白酒制品和雷黄酒制品 3 个），相关系数的可靠性和统计效力具有一定局限性，结果进一步与现有研究报道比较具有一致性。雷公炮制品和生品水提液均可增加斑马鱼头骨矿化面积和 A 值，具有显著的抗泼尼松龙诱导的斑马鱼骨丢失作用。提示雷公炮制法对补骨脂成分的改变未影响其抗骨质疏松活性，具有存效作用。

综上，雷公炮制过程（酒浸、水浸及蒸制）中补骨脂香豆素类、黄酮类和补骨脂酚等核心成分主要发生物理浸出、苷向苷元的生物转化以及黄酮甲基化的化学修饰等不同形式动态变化，其中（异）补骨脂苷含量降低高达 86.29%~90.46%，相反（异）补骨脂素和 4'-O-甲基补骨脂查耳酮含量分别升高 34.27%~43.13%和 144.32%~145.66%。白酒浸出脂溶性毒性黄酮成分、补骨脂酚效果优于黄酒。水煎过程中脂溶性黄酮和补骨脂酚转移率低，雷公炮制品水提液中主要毒性黄酮如新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素和补骨脂酚含量低于生品水提液，与补骨脂减毒作用相关，炮制成分变化未影响抗骨质疏松活性。核心成分动态质量传递与毒/效关联分析为揭示补骨脂雷公炮制科学内涵提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 195.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 警惕仙灵骨葆口服制剂引起的肝损伤风险 [J]. 上海医药, 2017, 38(1): 80.

- [3] 国家食品药品监督管理局. 警惕壮骨关节丸引起的肝损害 [J]. 中国社区医师, 2009, 25(8): 21.
- [4] 陈超, 朱兰, 刘丽红, 等. 文献来源的补骨脂及其制剂引起药物性肝损伤特点探析 [J]. 中国药物警戒, 2023, 20(4): 449-453.
- [5] 曲敬蓉, 王玉龙, 王波, 等. 网络药理学及体内外实验探讨补骨脂素治疗绝经后骨质疏松症的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(10): 2445-2455.
- [6] Wei Q Y, Zhou Y R, Hu Z T, *et al.* Function-oriented mechanism discovery of coumarins from *Psoralea corylifolia* L. in the treatment of ovariectomy-induced osteoporosis based on multi-omics analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 329: 118130.
- [7] Liu B J, Liu X X, Ning Q, *et al.* Evaluation of toxicity and anti-osteoporosis effect in rats treated with the flavonoids of *Psoraleae Fructus* [J]. *J Funct Foods*, 2020, 75: 104262.
- [8] She L, Gao L, Pan J C, *et al.* A systematic review on the safety of *Psoraleae Fructus*: potential risks, toxic characteristics, underlying mechanisms and detoxification methods [J]. *Chin J Nat Med*, 2022, 20(11): 805-813.
- [9] Chen L L, Chen S G, Sun P, *et al.* *Psoralea corylifolia* L.: a comprehensive review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, quality control and pharmacokinetics [J]. *Chin Med*, 2023, 18(1): 4.
- [10] Wang D N, Guo J M, Chai X, *et al.* Dynamic variations of bioactive compounds driven by enzymes in *Psoralea corylifolia* L. from growth to storage and processing [J]. *Arab J Chem*, 2022, 15(1): 103461.
- [11] 尚慧莹, 魏雪, 程宏博, 等. 基于高内涵技术的补骨脂肝毒性成分筛选研究 [J]. 中国药物警戒, 2024, 21(1): 74-82.
- [12] 南北朝·雷敩, 王兴法辑校. 雷公炮炙论 [M]. 上海: 上海中医学院出版社, 1986: 71.
- [13] 张健, 张伟. 不同炮制方法对补骨脂中抗骨质疏松成分含量水平的影响 [J]. 陕西中医, 2018, 39(11): 1649-1652.
- [14] 吕彬, 谭旺晓, 刘潇, 等. 补骨脂“雷公炮制法”减毒的科学内涵 [J]. 天津中医药, 2020, 37(9): 976-983.
- [15] 宋迪, 陈帅帅, 李朋彦, 等. 补骨脂潜在肝毒性的修制减毒方法研究: 酒浸水漂法 [J]. 药学报, 2020, 55(2): 276-282.
- [16] 李懿, 刘夏进, 宿树兰, 等. 模式生物斑马鱼在中药活性筛选和毒性评价中的应用进展与展望 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 715-720.
- [17] Zhang Y, Xia Q, Wang J, *et al.* Progress in using zebrafish as a toxicological model for traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282: 114638.
- [18] Westerfield M. *The Zebrafish Book: A Guide for The Laboratory Use of Zebrafish (Brachydanio Rerio)* [M]. Eugene: Institute of Neuroscience, University of Oregon, 2000.
- [19] Nasrallah G K, Al-Asmakh M, Rasool K, *et al.* Ecotoxicological assessment of Ti3C2Tx (MXene) using a zebrafish embryo model [J]. *Environ Sci-Nano*, 2018, 5(4): 1002-1011.
- [20] 吴栩满, 李佳妍, 宁青, 等. 基于斑马鱼整合评价补骨脂粗多糖对补骨脂中香豆素组分的代谢及毒效关系的影响 [J]. 中国现代应用药理学, 2023, 40(23): 3208-3216.
- [21] 高一波, 李佳妍, 石子琪, 等. 基于斑马鱼多模态评价杜仲配伍补骨脂对其香豆素成分的代谢及毒/效影响 [J]. 中草药, 2023, 54(5): 1449-1460.
- [22] 李佳妍, 刘欣欣, 宁青, 等. 基于斑马鱼模型的补骨脂毒性相关成分群的高效辨识研究 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 129-136.
- [23] 刘欣欣, 宁青, 王莱, 等. 斑马鱼毒性-代谢关联分析法评价补骨脂香豆素及其糖苷成分安全性 [J]. 中国药理学杂志, 2020, 53(24): 2000-2005.
- [24] 王莱, 凌洁, 陈颖, 等. 基于斑马鱼 M-Act/Tox 一体化评价的抗骨质疏松中药高效筛选思路与方法 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(21): 4246-4250.
- [25] 张潇予, 王丹妮, 柴欣, 等. 补骨脂的质量特征解析及其在减毒工艺中的应用 [J]. 中草药, 2024, 55(8): 2784-2791.
- [26] 李敏, 杨君君, 杨静, 等. 补骨脂果皮和种子中化学成分分布规律研究 [J]. 天津中医药, 2018, 35(9): 706-709.
- [27] 张美丽. 色谱法分析三类酒的化学成分 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2011.
- [28] 高旭, 于悦, 王亚静, 等. 补骨脂酚平衡溶解度和表观油水分分配系数的测定 [J]. 华西药学杂志, 2013, 28(3): 285-286.
- [29] 李春雨, 李国辉, 肖小河. 基于“三因致毒”假说的中药免疫特异质肝损伤成因机制解析 [J]. 中国科学基金, 2024, 38(3): 475-482.
- [30] Yang Y, Zhou W, Wang Y H, *et al.* Bavachin induces liver injury and cell apoptosis by targeting Wnt/ β -catenin/DRP1 signaling pathway mediated mitochondrial dysfunction [J]. *Toxicol Lett*, 2023, 387: 1-13.

[责任编辑 李亚楠]