

补阳还五汤抗脑卒中网络动力学研究

譙 茹^{1,2}, 樊启猛^{1,2}, 贺 鹏^{1,2}, 李海英^{1,2}, 张伟龙^{1,2}, 李文娇^{1,2}, 潘 雪^{1,2}, 贺福元^{1,2,3,4*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208

2. 中药成药性与制剂制备湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

3. 湖南中医药大学 中医药超分子机理与数理特征化实验室, 湖南 长沙 410208

4. 中药药性与药效国家中医药管理局重点实验室, 湖南 长沙 410208

摘要: **目的** 基于补阳还五汤抗缺血性脑卒中的超分子“印迹模板”理论中的物质流量平衡原理, 建立网络动力学平衡常数模型, 阐明补阳还五汤复方抗脑缺血成分-成分作用关系, 为中药复方治疗疾病的复杂作用体系提供新思路。**方法** 通过 UPLC-MS/MS 测定补阳还五汤血药成分及其浓度, 研究稳态血药浓度内再次给药对体系的扰动, 以网络动力学数学模型为媒介, 选取 20 个有效成分作为模型中的节点, 计算补阳还五汤网络动力学平衡常数参数, 从而以平衡常数矩阵的方式揭示补阳还五汤成分群在体内的作用关系。**结果** 在构建的平衡常数拓扑网络中, 补阳还五汤中 10 种入血成分对网络有正向调控作用, 按作用大小排序为异黄芪皂苷 I>琥珀酸>刺芒柄花苷>洋川芎内酯 H>洋川芎内酯 I>香草醛>丁烯苯酐>苦杏仁苷>氧化芍药苷>3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷; 另 10 种成分网络有负向调控作用, 按作用大小排序为黄芪皂苷 I>洋川芎内酯 C>阿魏酸>羟基红花黄色素 A>藁本内酯>胡萝卜苷>洋川芎内酯 A>毛蕊异黄酮>芒柄花素>毛蕊异黄酮葡萄糖苷, 异黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 I 等成分的作用平衡常数较大。**结论** 在构建的成分-成分间的平衡常数拓扑网络中, 异黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 I 等对成分群间的网络影响较大, 可能为补阳还五汤治疗缺血性脑卒中的“印迹模板”。

关键词: 补阳还五汤; 缺血性脑卒中; 印迹模板; 网络动力学; 复杂体系; 异黄芪皂苷 I; 黄芪皂苷 I

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)01-0127-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.01.014

Anti-cerebral apoplexy network dynamics of Buyang Huanwu Decoction

QIAO Ru^{1,2}, FAN Qimeng^{1,2}, HE Peng^{1,2}, LI Haiying^{1,2}, ZHANG Weilong^{1,2}, LI Wenjiao^{1,2}, PAN Xue^{1,2}, HE Fuyuan^{1,2,3,4}

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Provincial Key Laboratory of Druggability and Preparation Modification of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Supramolecular Mechanism and Mathematic-Physics Characterization for Chinese Materia Medica, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

4. Property and Pharmacodynamic Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To establish a network dynamic equilibrium constant model based on the principle of material flow balance in the supramolecular “imprinted template” theory of Buyang Huanwu Decoction (补阳还五汤) for treating ischemic stroke, and clarify the relationship between the components of Buyang Huanwu Decoction compound for treating cerebral ischemia, in order to provide a new idea for the complex system of traditional Chinese medicine (TCM) compound for treating diseases. **Methods** HPLC-MS/MS was used to determine the components and concentrations of Buyang Huanwu Decoction in blood to study the disturbance of the

收稿日期: 2023-10-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874507); 国家自然科学基金资助项目 (82274215); 湖南省重点研发计划项目 (2022SK2014); 湖南省自然科学基金和科药联合基金项目 (2021JJ80058, 2022JJ30453, 2023JJ60124); 湖南省教育厅项目 (22B0379); 长沙市自然科学基金资助项目 (kq2208192); 湖南中医药大学校级研究生创新课题 (2023CX140)

作者简介: 譙 茹, 硕士研究生, 主要从事中药复方的有效性及其新制剂研究。E-mail: 2604806572@qq.com

***通信作者:** 贺福元, 教授, 博士生导师, 从事中药药理学、中药药剂学、中医药超分子与数理特征化研究。

Tel: (0731)88458231 E-mail: pharmsharking@163.com

system induced by re-administration within the steady-state concentration of blood drugs. Using the mathematical model of network dynamics as the medium, 20 active components were selected as nodes in the model to calculate the dynamic equilibrium constant parameters of Buyang Huanwu Decoction network. In this way, the relationship between the components of Buyang Huanwu Decoction *in vivo* was revealed by means of equilibrium constant matrix. **Results** In the topology network of equilibrium constant constructed, 10 components of Buyang Huanwu Decoction had positive effects in blood, which were sorted as follows: Isoastragaloside I > succinic acid > ononin > senkyunolide H > senkyunolide I > vanillin > butyridenephthalide > amygdalin > oxypaeoniflorin > methylchissolin; The other 10 components had negative effects, sorted by effect as follows: Astragaloside I > senkyunolide C > ferulic acid > hydroxysafflor yellow A > ligustilide > daucosterol > senkyunolide A > calycosin > formononetin > calycosin7-*O*- β -D-glucopyranoside. The equilibrium constants of isoastragalus I and astragalus I were larger. **Conclusion** Isoastragalus I and astragalus I have a great effect on the network among the constituent groups in the constructed topological equilibrium constant network, which may be the “blot template” of Buyang Huanwu Decoction in the treatment of ischemic stroke.

Key words: Buyang Huanwu Decoction; ischemic cerebral stroke; imprinted template; network dynamics; complex system; isoastragaloside I; astragaloside I

缺血性脑卒中是一种由于脑动脉血栓淤积，脑局部供血障碍，脑组织随即缺血、缺氧，形成局部梗死灶，引发神经功能障碍及机体损伤的疾病^[1]。缺血性脑卒中具有发病率高、复发率高、致残率高、致死率高的特点，引起的生理病理级联反应可在数分钟内引起缺血核心区不可逆神经组织功能损伤，严重影响患者的身体健康和生活质量，给其家庭和社会经济带来沉重负担^[2]。目前针对缺血性脑卒中的治疗，主要采取药物注射溶栓及机械介入除栓 2 种方法，然而这 2 种方法治疗时间窗窄，出血风险大，具有严格的适应证，且后遗症较多，预后效果差，临床应用范围受限^[3]。

补阳还五汤出自清代医学家王清任的《医林改错·卷下·瘫痪论》^[4]，作为治疗缺血性脑卒中的经典方剂之一，以气虚血瘀立论，具有补气、活血化瘀、通络的功效，临床疗效显著^[5-6]。而中药复方制剂具有多成分、多靶点、多途径的特点，其活性成分的复杂性以及可调节靶点的多样性一直是方剂研究的重点和难点^[7]。目前关于中药复方成分的药物动力学研究，多按不同时序分析复方中代表性成分单次或多次给药、配伍给药等药-时曲线下面积变化，成分在不同组织的达峰浓度 ($C_{\max}$)、达峰时间 ($T_{\max}$)、半衰期 ($t_{1/2}$) 等药动学参数大小^[8]，简单回答药效成分在体内的分布及代谢情况，忽略成分与成分在体内分布与代谢时相互作用的动力学规律以及成分之间可能存在的君臣佐使作用关系，虽有见一成分对另一成分的体内代谢作用研究，但也未阐明作用动力学本质规律^[9]。而关于中药复方的药效物质基础研究，主要集中于利用网络药理学等分析药物成分对相关靶点作用强度关系，配伍前后化学成分变

化，不同提取方法对提取物成分及药理作用差异，入血药源成分差异^[10]等研究。虽说明了中药组方成分在体内、体外的变化过程，提供一定的参考价值，但仍未阐明成分之间变化规律。

基于此，本课题组负责人以超分子“印迹模板”理论中的物质流量平衡原理建立网络动力学数学模型^[11-12]，将成分或靶点都视为网络节点，对应的质量浓度为 C_i ，各节点之间相互连接，对于含 n 个节点的网络体系，即可构成二维 $n \times n$ 拓扑网络，用平衡常数（作用系数） K_{ij} 或 K_{ji} 表示节点之间的作用关系，解释为第 i 节点对第 j 节点的作用或第 j 节点对第 i 节点的作用（图 1）。若体内各节点的浓度达到平衡，各节点流量的增减取决于该节点的质量浓度和其他节点的质量浓度，为正、负 2 种作用方式的代数和，按多中心同时展开，多节点同时考虑，由此可推出生物代谢的数学量变规律，即各节点

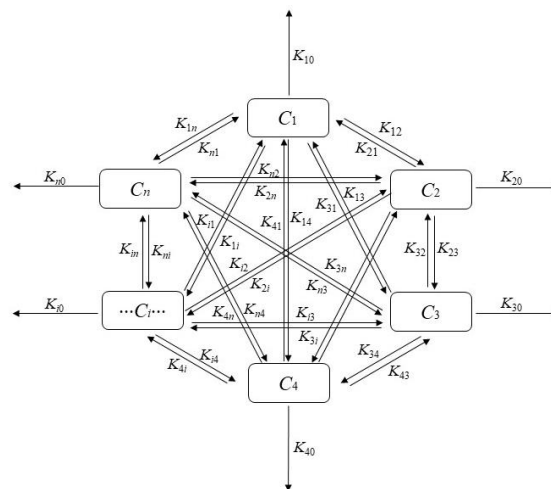


图 1 n 节点网络动力学通用模型

Fig. 1 n Node network dynamics general model

AUC_{∞} 与 K 乘积的代数和等于各节点成分的初始质量浓度之和, 可获得各节点质量浓度通解表达式为 $dc_i/dt = \sum_{j=1, i \neq j}^{m+n} [-(k_{io} + k_{ij})c_i + k_{ji}c_j]$ 。由此可建立 AUC_{∞} 、 K 与初始质量浓度的 n 元线性方程组矩阵, 经改变各节点的浓度构成, 通过克莱姆法、逆拉氏变换等一系列计算后, 即可解得矩阵系数 $A(K)$, 进一步计算即可得成分间的 $K^{[13]}$ 。

本研究以补阳还五汤成分的网络动力学研究为切入点, 研究补阳还五汤成分与成分之间的作用关系, 锁定主要药效成分, 阐明中药多成分组合的量变规律及作用强度关系, 以期包括补阳还五汤在内的中药复方组分优选以及制剂制备提供理论支撑。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 330 只, 体质量 220~250 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号 SCXK(湘) 2016-0002。大鼠均饲养于湖南中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房, 室温 25~27 °C、相对湿度 50%~70%, 12 h 光照/12 h 黑暗, 适应性喂养 3 d 后开始实验。动物实验伦理批准号(LLBH-202110220001)。

1.2 药材

黄芪、当归、红花、桃仁、赤芍、川芎、地龙饮片均购自湖南中医药大学第一附属医院、益丰大药房、老百姓大药房、千金大药房、养天和大药房、竹海堂大药房, 共 40 批次, 编号 BYHWT01-BYHWT40。以上药材均由湖南中医药大学药学院石继连教授分别鉴定为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花、蔷薇科植物山桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎、钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 的干燥体, 均符合《中国药典》2020 年版一部规定。

1.3 药品与试剂

2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC, 批号 822S032) 购自国药集团化学试剂有限公司; 甲醛(批号 190309) 购自湖南汇虹试剂有限公司; 色谱甲醇(批号 1863807647) 购自默克股份两合公司; 色谱乙腈(批号 100269) 购自 Brurdick&Jakson 公司; 超纯水

为实验室自制; 青霉素钠粉针剂购自华北制药集团有限责任公司; EP 管、采血针、肝素钠采血管购自浏阳市三力医药科技发展有限公司; 对照品毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201606)、藁本内酯(批号 111737-201608)、香草醛(批号 100491-200901)、阿魏酸(批号 110773-201614)、琥珀酸(批号 110896-201602)、丁烯苯酐(批号 101413-201601)、芒柄花素(批号 111703-201504)、羟基红花黄色素 A(批号 111637-201810)、苦杏仁苷(批号 110820-201607) 均购自中国食品药品检定研究院, 质量分数均 $\geq 98\%$; 对照品毛蕊异黄酮(批号 Y14J8Y39707)、刺芒柄花苷(批号 R28O8F46957)、胡萝卜苷(批号 P26F9F54684)、黄芪皂苷 I(批号 YM0328HA14)、异黄芪皂苷 I(批号 C16J8G37958)、氧化芍药苷(批号 Z20A9S68312)、洋川芎内酯 H(批号 P02F9F54165)、洋川芎内酯 I(批号 P02F9F54166)、洋川芎内酯 A(批号 P03J9F64872)、洋川芎内酯 C(批号 X22A9L68354)、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷(批号 Y21A9H68361) 均购自上海源叶生物科技有限公司, 质量分数均 $\geq 98\%$; 其他试剂均为分析纯。

1.4 仪器

LC-MS-8050 型岛津三重四极杆液质谱联用仪(岛津公司); RE52AA 型旋转蒸发器(上海雅荣生物设备仪器有限公司); SHZ-DIII 型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司); H1850R 型离心机(湖南湘仪公司); PINE-TREE 型超纯水制水机(北京湘顺源科技有限公司); SQP 型十万分之一分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司); 移液枪(上海大龙医疗设备有限公司); 2634A4 型大鼠中脑动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO) 栓线(北京西浓科技有限公司)。

2 方法

2.1 补阳还五汤提取液的制备

按补阳还五汤处方, 取黄芪 120 g, 川芎 12 g, 当归、红花、赤芍、桃仁、地龙各 18 g, 共 222 g, 加入 8 倍量水, 浸泡 30 min, 回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并 2 次滤液, 减压浓缩至 120 mL, 使水提液质量浓度为 1.85 g/mL, 共 40 批次, 备用。采用 UPLC-MS 方法对 40 批补阳还五汤水提液中主要成分进行定量分析, 其主要成分为毛蕊异黄酮葡萄糖苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、芍药内酯苷、阿魏酸、羟基红花黄色素 A、丁烯苯酐、苦杏仁苷、

洋川芎内酯 H、藁本内酯，质量分数分别为 0~3.73%、0.01%~0.57%、0~1.24%、0~6.69%、0~2.22%、1.81%~46.34%、0.02%~4.41%、0~9.09%、0.49%~2.16%、0~2.81%。

2.2 脑缺血模型的制备、分组、给药及取材

参照改良线栓法^[14]制备脑缺血模型，大鼠麻醉后固定于鼠板上，颈部消毒去毛，沿颈部中央偏左剪开，剥离肌肉层，暴露颈部后分离左侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉，在颈总动脉上剪一小口，将栓线自左侧颈外动脉处插入，通过颈内动脉颅外段及颈总动脉分叉处进入颈内动脉颅内段，并继续深入直到大脑中动脉分支处，剪掉多余的栓线，结扎颈总动脉，缝合伤口，洒上青霉素粉末。假手术组仅剪开皮肤和剥离血管，其余操作均相同。造模后采用 Longa 5 级 4 分制^[14]进行神经功能评分。无明显神经功能缺失症状，记 0 分；轻微的神经功能损伤，大鼠不能完全伸展脑缺血对侧前爪，记 1 分；中度局灶性神经功能损伤，向脑缺血对侧转圈，记 2 分；重度局灶性神经功能损伤，大鼠爬行时向脑缺血对侧倾倒，记 3 分；无自发活动，昏迷状，意识水平低下，记 4 分。剔除得分为 0、4 的大鼠，得分为 1~3 的大鼠进入后续分组。

动物分为正常组、假手术组、模型组和补阳还五汤（11.1 g/kg，以生药量计）组，补阳还五汤组分别 ig 1~40 批次的药物，且又分为给药前组和给药 1 h 组，每组 3 只，正常组、假手术组和模型组 ig 等体积生理盐水。参照本课题组前期稳态血药浓度给药方法^[15]，造模后第 2 天开始，早晚各 1 次，间隔 12 h。连续给药 3 天，于第 7 次给药前及给药后 1 h 分别腹主动脉取血，静置 30 min，4 000 r/min 离心 15 min，取上清液，-80 ℃ 冷冻，备用。各组取材前参考 Longa 5 级 4 分制进行神经功能评分。

2.3 补阳还五汤药液及血浆样品的制备

移取补阳还五汤提取液 100 μ L 至 10 mL 量瓶中，稀释后定容，15 ℃、12 000 r/min 离心 15 min，取上清液置于进样小瓶中，待测。

取每组 3 mL 血浆样品混合血浆，加 3 倍甲醇除蛋白，涡旋 10 min 后 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，氮气吹干，300 μ L 甲醇复溶，待超声完全溶解后，4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min 后取上清液，装入进样小瓶，-20 ℃ 冰箱保存，待测。

2.4 含量测定

2.4.1 LC-MS/MS 条件 采用 Waters Acquity

UPLC[®] BEH Shield RP₁₈ 色谱柱（50 mm $\times$ 2.1 mm，1.7 μ m），流动相为 0.1% 甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0~2 min，5% B；2~6 min，5%~40% B；6~10 min，40% B；10~10.1 min，40%~100% B；10.1~13 min，100% B；13~13.1 min，100%~5% B；13.1~15 min，5% B。柱温 25 ℃；体积流量 0.2 mL/min；进样量 4 μ L。电喷雾离子源（electrospray ionization, ESI），多反应检测（multiple reaction monitoring, MRM）模式，高纯氮气为雾化器和辅助气，氦气为碰撞气，离子源温度 400 ℃，离子传输管温度 250 ℃，接口温度 300 ℃，干燥气体积流量 10 L/min，加热气体积流量 10 L/min，雾化气体积流量 2.7 L/min。

2.4.2 混合对照品溶液和质量控制样品的制备 经对比补阳还五汤提取液、入血后成分的离子对、保留时间及分离度等，选择补阳还五汤及血浆中的 20 个成分进行定量检测及方法学考察。精密称取琥珀酸、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藁本内酯等 20 个对照品适量，用甲醇溶解制成储备液备用。分别精密吸取各对照品的储备液逐级稀释，制备质量控制样品（琥珀酸 0.16~1 600 ng/mL、苦杏仁苷 0.1~1 000 ng/mL、氧化芍药苷 0.12~1 200 ng/mL、羟基红花色色素黄色素 A 7.6~76 000 ng/mL、毛蕊异黄酮葡萄糖苷 1.5~15 000 ng/mL、香草醛 0.015~150 ng/mL、阿魏酸 0.11~1 100 ng/mL、洋川芎内酯 H 0.24~2 400 ng/mL、洋川芎内酯 I 0.13~1 300 ng/mL、胡萝卜苷 0.16~1 600 ng/mL、刺芒柄花苷 0.38~3 800 ng/mL、藁本内酯 1~1 000 ng/mL、毛蕊异黄酮 0.14~1 400 ng/mL、黄芪皂苷 I 0.19~1 900 ng/mL、异黄芪皂苷 I 0.22~2 200 ng/mL、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷 0.698 3~6 983 ng/mL、芒柄花素 0.2~2 000 ng/mL、洋川芎内酯 A 0.36~3 600 ng/mL、洋川芎内酯 C 0.12~1 200 ng/mL、丁烯苯酚 0.4~4 000 ng/mL）。

2.4.3 线性范围 取空白血浆 500 μ L，分别加入 500 μ L 混合对照品溶液，涡旋 3 min，12 000 r/min 离心 5 min，取 500 μ L 上清液，常温下氮气吹干，500 μ L 甲醇复溶，超声溶解，4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min 后取上清液，-20 ℃ 冰箱保存，备用。以峰面积的对数为纵坐标（Y），质量浓度的对数为横坐标（X），进行线性回归，得到琥珀酸等 20 个成分的回归方程。结果见表 1，琥珀酸等 20 个成分在一定质量浓度范围内，线性关系良好。

表 1 各成分线性回归方程

Table 1 Linear regression equations for each component

成分	回归方程	R^2	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)
琥珀酸	$Y=0.861\ 1\ X+3.749\ 1$	0.998 6	1.600~1 600.000	1.600
苦杏仁苷	$Y=0.872\ 3\ X+4.541\ 4$	0.997 7	1.000~10 000.000	1.000
氧化芍药苷	$Y=0.649\ 8\ X+4.348\ 7$	0.993 1	0.120~1 200.000	0.120
羟基红花黄色素 A	$Y=0.856\ 5\ X+2.921\ 2$	0.994 3	7.600~76 000.000	7.600
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	$Y=1.023\ 1\ X+4.719\ 1$	0.999 3	1.500~15 000.000	1.500
香草醛	$Y=0.705\ 1\ X+4.857\ 9$	0.991 5	0.015~150.000	0.015
阿魏酸	$Y=0.771\ 1\ X+3.738\ 4$	0.998 7	1.100~1 100.000	1.100
洋川芎内酯 H	$Y=0.919\ 6\ X+3.677\ 7$	0.999 8	2.400~2 400.000	2.400
洋川芎内酯 I	$Y=0.972\ 1\ X+3.838\ 4$	0.994 8	1.300~1 300.000	1.300
胡萝卜苷	$Y=0.957\ 3\ X+3.680\ 6$	0.993 1	1.600~1 600.000	1.600
刺芒柄花苷	$Y=0.801\ 3\ X+3.266\ 0$	0.998 6	3.800~3 800.000	3.800
藜本内酯	$Y=0.933\ 0\ X+2.795\ 3$	0.997 5	10.000~10 000.000	10.000
毛蕊异黄酮	$Y=0.953\ 1\ X+4.733\ 1$	0.999 9	0.140~1 400.000	0.140
黄芪皂苷 I	$Y=0.949\ 2\ X+3.719\ 6$	0.999 1	1.900~1 900.000	1.900
异黄芪皂苷 I	$Y=0.923\ 7\ X+3.684\ 8$	0.999 6	2.200~2 200.000	2.200
3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷	$Y=0.933\ 2\ X+4.128\ 5$	0.999 2	0.700~7 000.000	0.700
芒柄花素	$Y=0.946\ 4\ X+4.542\ 9$	0.999 3	0.200~2 000.000	0.200
洋川芎内酯 A	$Y=0.588\ 7\ X+4.895\ 6$	0.990 6	0.360~3 600.000	0.360
洋川芎内酯 C	$Y=0.911\ 4\ X+4.554\ 4$	0.998 5	0.120~1 200.000	0.120
丁烯苯酞	$Y=0.814\ 0\ X+3.180\ 1$	0.991 6	4.000~4 000.000	4.000

2.4.4 精密度试验 取“2.4.2”项下制备的低、中、高质量浓度（中间 3 个质量浓度）的混合对照品溶液，每个质量浓度平行制备 6 份，在上述色谱条件下，分别在 24、48 h 内测定。计算各成分质量浓度并计算 RSD。结果表明，日内精密度 RSD 为 4.22%~8.56%，日间精密度 RSD 为 4.57~9.16%，表明仪器精密度良好。

2.4.5 稳定性试验 取大鼠空白血浆，加入低、中、高质量浓度（中间 3 个质量浓度）的混合对照品溶液，按“2.4.3”项下制备样品，每个质量浓度平行制备 6 份。分别测定制备后稳定性（样品制备后 4 ℃ 保存 24 h）、长期稳定性（-20 ℃ 保存 2 周）、冻融稳定性（-20 ℃ 3 次冻融循环）。结果表明，在 3 个质量浓度下，20 个成分制备后稳定性、长期稳定性、冻融稳定性 RSD 均小于 9.83%，表明 3 种不同储存条件下样品稳定性良好。

2.4.6 加样回收率试验 取大鼠空白血浆，加入低、中、高质量浓度（中间 3 个质量浓度）的混合对照品溶液，按“2.4.3”项下制备样品，各质量浓度平行制备 6 份，按回归方程计算各成分质量浓度，计算相对回收率。结果表明，加样回收率均在 84.25%~108.76%，RSD 均小于 3.64%，回收率良好。

2.4.7 基质效应 取大鼠空白血浆，按“2.3”项下处理后，残渣加入低、中、高质量浓度（中间 3 个质量浓度）的混合对照品溶液，每个质量浓度平行

制备 6 份，涡旋混匀，氮气吹干，残渣加入甲醇涡旋充分溶解，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液进样分析，记录各成分峰面积（A）。另取低、中、高质量浓度的混合对照品溶液，用甲醇代替空白血浆，每个质量浓度平行制备 6 份，按“2.3”项下处理，残渣加入甲醇，涡旋溶解，12 000 r/min 离心 15 min，取上清液进样分析，记录各成分峰面积（B），计算基质效应（A/B）。结果表明，基质效应均在 77.92%~108.1%，RSD 均小于 9.70%，符合要求。

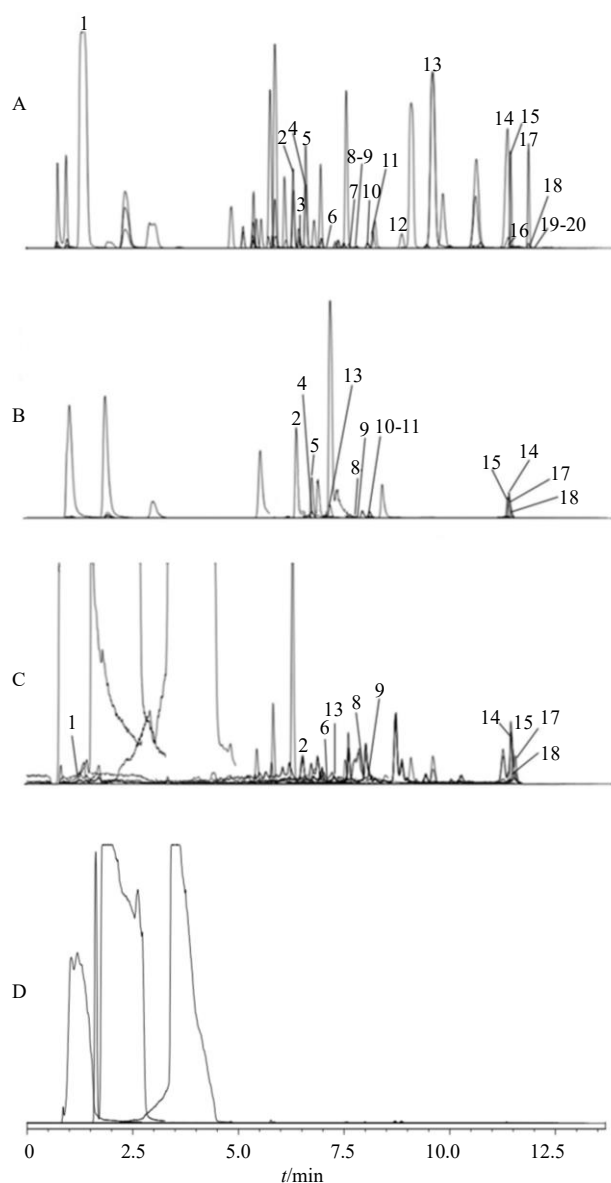
2.5 平衡常数及其相似度计算

利用所测得的血浆样品成分含量，计算出各组动物给药达到稳态后再一次给药前后体内血样中琥珀酸、苦杏仁苷、氧化芍药苷、羟基红花黄色素 A、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、香草醛、阿魏酸、洋川芎内酯 H 等 20 个入血成分的含量，计算其在 1 个给药间隔内的药时曲线下面积（AUC），根据网络动力学平衡常数模型^[13]，利用 MATLAB 编程，求得系数矩阵 $A(K)$ ，进一步计算得补阳还五汤成分群间的网络平衡常数与平衡常数之间相似度。

3 结果

3.1 补阳还五汤中成分含量及 MCAO 大鼠血浆中成分含量测定结果

补阳还五汤药液、对照品给药后血浆以及空白血浆总离子流图见图 2。40 组补阳还五汤中 20 个成分的含量结果见图 3，40 组补阳还五汤最后 1 次



1-琥珀酸; 2-苦杏仁苷; 3-氧化芍药苷; 4-羟基红花色素 A; 5-毛蕊异黄酮葡萄糖苷; 6-香草醛; 7-阿魏酸; 8-洋川芎内酯 H; 9-洋川芎内酯 I; 10-胡萝卜苷; 11-刺芒柄花苷; 12-藜本内酯; 13-毛蕊异黄酮; 14-黄芪皂苷 I; 15-异黄芪皂苷 I; 16-3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷; 17-芒柄花素; 18-洋川芎内酯 A; 19-洋川芎内酯 C; 20-丁烯苯酚。

1-succinic acid; 2-amygdalin; 3-oxypaeoniflora; 4-hydroxysafflor yellow A; 5-calycosin-7-O-β-D-glucoside; 6-vanillin; 7-ferulic acid; 8-senkyunolide H; 9-senkyunolide I; 10-daucosterol; 11-ononin; 12-ligustilide; 13-calycosin; 14-astragaloside I; 15-isoastragaloside I; 16-methylchisinol; 17-formononetin; 18-senkyunolide A; 19-senkyunolide C; 20-3-butylidenephthalide.

图 2 对照品 (A)、补阳还五汤药液 (B)、补阳还五汤给药后血浆样品 (C)、空白血浆样品 (D) 的总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion flow chromatography of reference substance (A), Buyang Huanwu Decoction (B), plasma sample after administration of Buyang Huanwu Decoction (C), blank plasma sample (D)

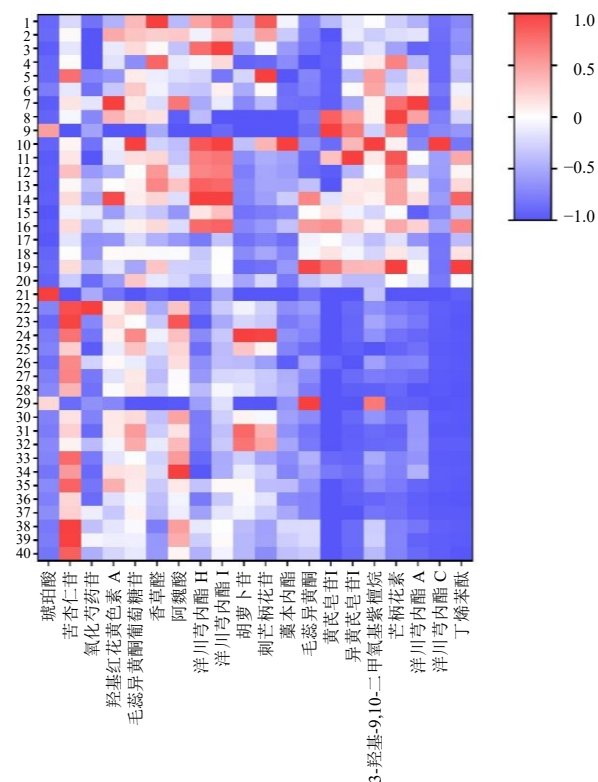


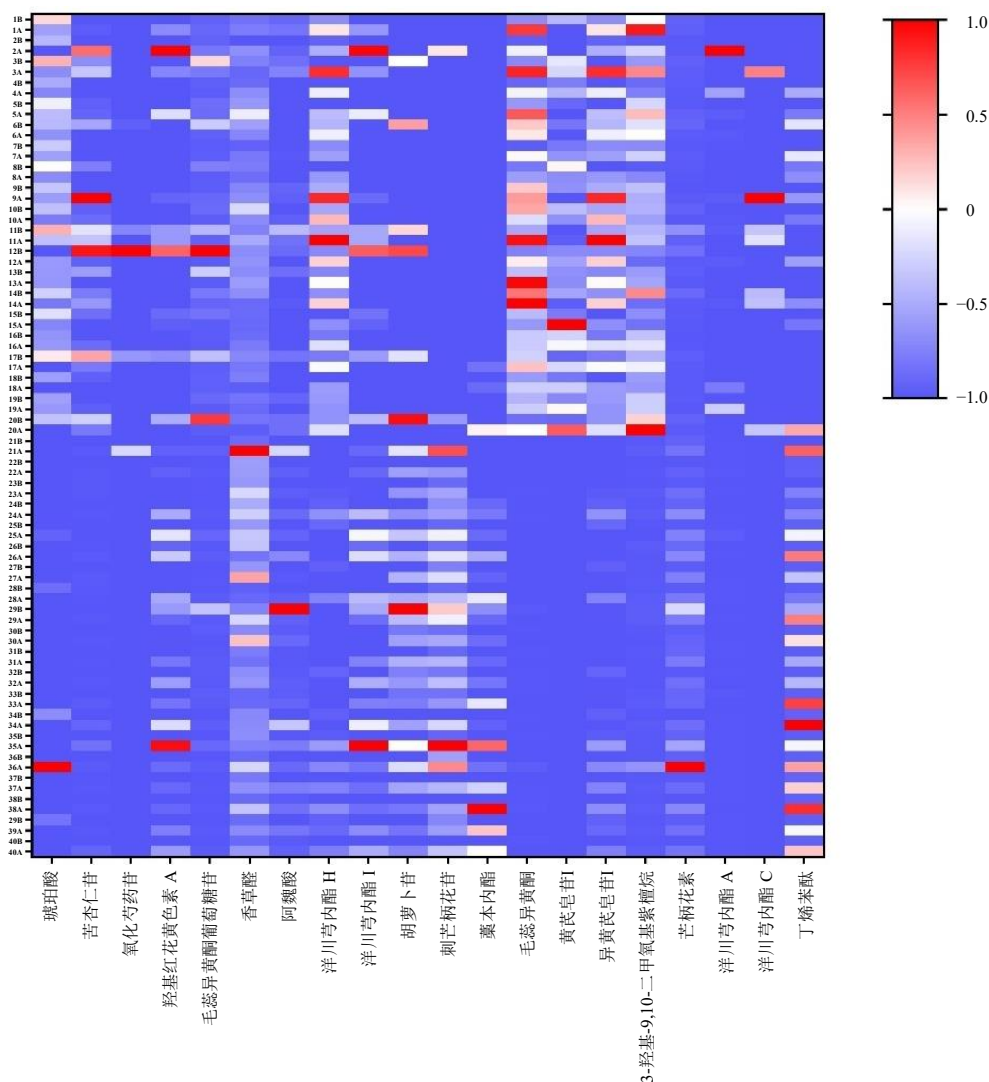
图 3 40 组补阳还五汤药液中 20 种成分的含量归一化比较

Fig. 3 Normalized comparison of 20 components in 40 groups of Buyang Huanwu Decoction

给药前后血浆中毛蕊异黄酮葡萄糖苷、藜本内酯等 20 个成分的含量结果见图 4。结果显示各批补阳还五汤中所含成分数目和含量不相同, 给药后大鼠体内的成分数目及含量也存在一定差异。这可能与中药成分随域、随时、随株变化相关, 从而导致不用批次间中药材成分含量的差异性。但其整体“印迹模板”存在相似性, 即不同批次的补阳还五汤质量稳定, 宏观上表现出不同批次的药物药理作用相同^[6]。

3.2 补阳还五汤入血成分网络动力学平衡常数

补阳还五汤入血 20 个成分的网络动力学平衡常数见表 2。平衡常数绝对值越大, 成分-成分间的作用速度越快、影响越大、联系越紧密^[7]。正负表示作用的方向, 作用为负, 表明成分与成分之间为拮抗作用; 系数为正, 表明成分与成分之间为促进作用, 二者可能形成了超分子^[8]。根据表 2 结果, 以藜本内酯为例, 藜本内酯对丁烯苯酚、洋川芎内酯 C、3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I 的作用方向为正, 对其他成分作用方向为负, 且对洋川芎内酯 C (71.75) 的正向作用强度最大, 对洋川芎内酯 A (-87.95) 负向作用强度最大, 对阿魏酸 (-3.16) 的影响最小; 同理可知其



左侧 40 组样本编号中 A 为最后一次给药 1 h 后, B 为最后一次给药前。

A indicates 1 h after last administration, B indicates before last administration in 40 groups of sample numbers on left.

图 4 40 组补阳还五汤最后 1 次给药前后大鼠血浆中 20 种成分含量归一化比较

Fig. 4 Normalized comparison of 20 components in plasma of 40 groups before and after last administration of Buyang Huanwu Decoction

他成分对除此成分的作用方向与强度大小,从而解析各成分之间的作用关系。

依据平衡常数计算结果可知,产生正向作用的有 10 个成分,按作用大小排序为异黄芪皂苷 I (970.51) > 琥珀酸 (934.39) > 刺芒柄花苷 (916.91) > 洋川芎内酯 H (729.49) > 洋川芎内酯 I (637.18) > 香草醛 (377.03) > 丁烯苯酚 (273.81) > 苦杏仁苷 (236.82) > 氧化芍药苷 (102.15) > 3-羟基-9,10-二甲氧基紫檀烷 (52.19); 产生负向作用的为另外 10 个成分,按作用大小排序为黄芪皂苷 I (-3110.90) > 洋川芎内酯 C (-599.52) > 阿魏酸 (-568.56) > 羟基红花黄色素 A (-532.92) > 藜本内酯 (-527.63) > 胡

萝卜苷 (-513.75) > 洋川芎内酯 A (-139.03) > 毛蕊异黄酮 (-128.45) > 芒柄花素 (-117.36) > 毛蕊异黄酮葡萄糖苷 (-92.06), 由此可知黄芪皂苷 I、异黄芪皂苷 I 等对成分群间的网络影响较大,推测其可能对补阳还五汤成分群的体内过程的贡献程度较大,在入血成分中作用最强,为主要药效成分。这 2 种成分主要来源于黄芪^[9],这也与补阳还五汤中黄芪为君药相印证。

通过计算 20 入血成分之间的相似度(图 5)发现,各成分之间的相似度均较小,说明各成分在体内代谢速度不近相似,表明成分与机体作用的方式与路径存在一定差别。

表 2 补阳还五汤入血成分网络动力学平衡常数

Table 2 Dynamic equilibrium constant of Buyang Huanwu Decoction in blood component network

成分	平衡常数																				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	
A	-527.63	-24.04	-85.75	-25.40	-42.89	-3.16	-34.80	25.36	71.75	-28.91	3.29	-87.95	-62.19	-66.97	-38.65	-48.34	6.22	-11.64	7.26	-24.76	
B	-7.01	-92.06	-11.28	-4.08	-6.87	-1.65	-9.64	-1.03	9.10	-4.51	-0.15	-10.10	-8.51	-11.94	-4.25	-6.34	0.31	-3.64	-0.22	-3.47	
C	-4.17	-13.50	-117.36	-2.74	-6.63	-2.88	-21.40	-9.36	8.73	-7.29	1.88	-4.39	-8.65	-18.75	-2.60	-5.39	0.16	-7.45	-0.69	-2.37	
D	82.13	52.62	123.67	934.39	74.78	12.58	80.46	-16.47	-98.84	52.92	-2.78	124.29	97.01	113.86	59.63	75.07	-3.20	29.98	-0.84	38.88	
E	34.86	21.04	53.62	16.61	377.03	4.19	31.70	-8.78	-43.99	19.70	-1.79	53.29	40.56	47.63	24.34	31.16	-2.59	11.29	-1.98	16.11	
F	-51.40	-32.36	-83.77	-29.30	-43.41	-568.56	-45.85	11.70	70.31	-27.84	-0.32	-82.78	-60.81	-73.72	-33.55	-46.70	4.94	-16.80	3.48	-24.74	
G	-26.03	-47.10	-53.40	-22.13	-33.06	-10.14	-532.92	-26.22	45.35	-21.16	1.19	-41.60	-44.97	-76.82	-18.86	-31.76	-0.20	-28.26	-6.49	-15.07	
H	17.33	23.99	36.40	12.69	16.55	3.53	36.48	273.81	-33.79	11.06	-2.37	28.43	26.90	43.20	10.94	18.89	-2.70	12.83	-1.19	8.87	
I	-52.20	-33.74	-87.18	-31.34	-44.15	-5.44	-49.74	10.43	-599.52	-29.43	-0.50	-86.61	-64.11	-78.80	-35.31	-49.36	4.87	-18.27	2.86	-25.22	
J	-5.36	13.62	9.58	15.55	-1.88	0.58	19.72	22.32	-11.60	102.15	7.84	5.04	4.38	21.88	-7.67	2.13	-0.87	8.37	4.68	1.10	
K	8.24	1.54	10.56	0.50	5.88	0.09	2.39	-6.91	-9.14	5.04	52.19	10.70	7.72	6.47	6.23	6.01	-1.11	0.26	-2.51	2.84	
L	-11.70	-7.17	-18.76	-6.50	-9.92	-1.38	-11.95	2.01	15.04	-6.95	0.07	-139.03	-14.80	-17.62	-9.01	-11.56	0.59	-4.39	-0.12	-5.64	
M	-6.19	-10.47	-19.32	-13.02	-6.17	-0.38	-14.56	-6.57	19.28	2.24	-3.60	-17.39	-128.45	-21.31	-1.37	-8.31	1.80	-5.77	-0.94	-4.51	
N	71.18	60.55	125.78	47.80	64.28	10.10	90.50	0.48	-107.75	39.53	0.60	118.49	92.97	916.91	46.54	69.75	-6.72	33.13	-1.51	35.62	
O	-59.34	-21.62	-88.28	-23.35	-44.21	-3.02	-28.69	34.38	74.43	-31.45	4.55	-90.75	-63.28	-63.83	-513.75	-49.61	6.80	-9.58	9.71	-25.76	
P	104.60	44.34	151.50	37.43	83.20	8.44	66.44	-51.01	-124.70	62.45	-11.01	155.49	114.32	118.69	75.85	970.51	-9.19	22.21	-13.21	45.42	
Q	62.18	41.61	103.80	38.34	52.36	6.90	61.76	-9.46	-86.67	35.99	1.63	103.14	76.82	95.61	41.51	58.95	729.49	22.71	-2.44	30.43	
R	-235.65	-206.84	-408.69	-152.08	-216.54	-37.66	-315.92	-12.93	342.92	-144.94	0.11	-384.47	-309.73	-420.90	-159.15	-232.80	18.23	-3	110.90	-0.48	-117.90
S	41.67	50.16	82.01	34.59	39.53	7.92	74.13	16.32	-71.01	24.70	1.75	70.59	59.46	93.09	24.34	43.01	-4.76	27.03	637.18	21.86	
T	16.88	16.77	29.98	11.19	16.30	3.15	25.96	2.86	-25.25	10.59	-0.29	27.38	22.98	32.54	11.50	17.07	-1.19	9.45	0.38	236.82	

A-藜本内酯; B-毛蕊异黄酮葡萄糖苷; C-芒柄花素; D-琥珀酸; E-香草醛; F-阿魏酸; G-羟基红花色素 A; H-丁烯苯酐; I-洋川芎内酯 C; J-氧化芍药苷; K-3-羟基-9,10-二甲基紫檀烷; L-洋川芎内酯 A; M-毛蕊异黄酮; N-刺芒柄花苷; O-胡萝卜苷; P-异黄芩皂苷 I; Q-洋川芎内酯 H; R-黄芩皂苷 I; S-洋川芎内酯 I; T-苦杏仁苷; 对角线的数据为该成分的 $K_{a_i}-K_i$ 。

A-ligustilide; B-calycosin-7-O- β -D-glucoside; C-formononetin; D-succinic acid; E-vanillin; F-ferulic acid; G-hydroxysafflor yellow A; H-3-butylidenephthalide; I-senkyunolide C; J-oxypaeoniflora; K-methylnissolin; L-senkyunolide A; M-calycosin; N-ononin; O-daucosterol; P-isoastragaloside I; Q-senkyunolide H; R-astragaloside I; S-senkyunolide I; T-amygdalin; The diagonal data is the $K_{a_i}-K_i$ of the component.

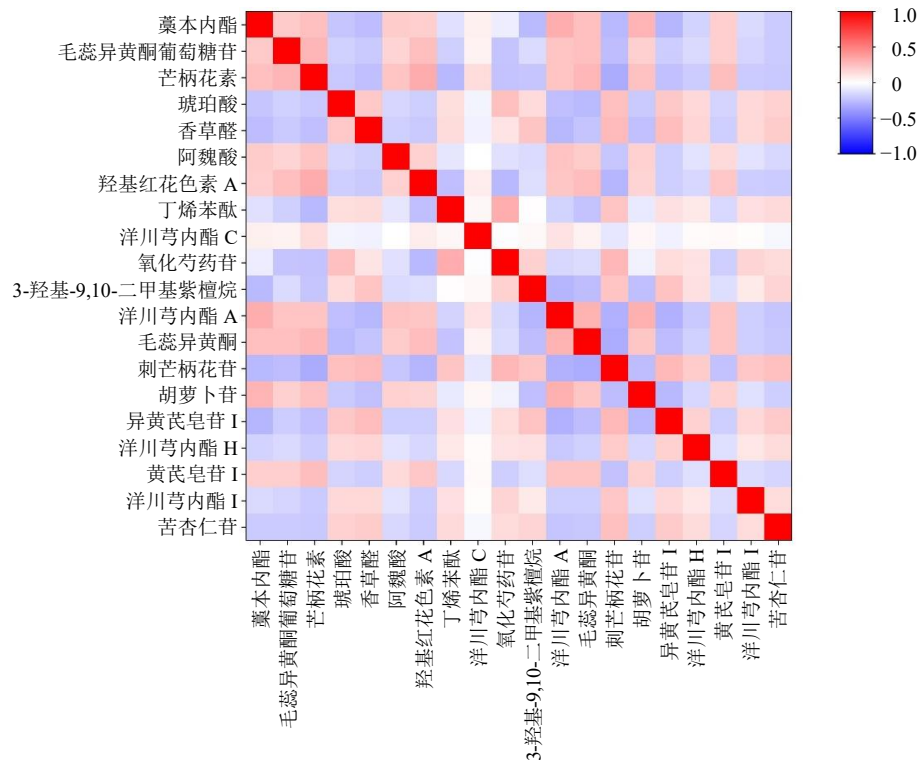


图 5 20 个成分间网络动力学平衡常数相似度

Fig. 5 Similarity of network dynamics equilibrium constants between 20 components

4 讨论

补阳还五汤是目前广泛用于治疗缺血性心脑血管疾病和脑卒中致残的中药复方制剂^[20],其药理、药效和质量标准已有较多的研究和报道。补阳还五汤作为一种中药复方制剂,其进入体内后发挥药效的物质基础有可能是药物原型、代谢产物^[21],甚至是药物成分彼此之间形成成分簇的巨复分子体^[22]。目前对于中药复方物质基础的理论研究集中于网络药理学研究,实验研究集中于药效成分分析、药效组分分析或代谢物分析^[23],将 2 种方法结合起来即可有效阐明中药复方的药效物质基础。但这 2 种方法都忽略了中药成分进入体内后由于结构相似或药效基团碰撞、药效成分吸收与消除等作用的动力学过程。同时,中药复方相较于单成分化学药的优点就在于配伍用药,利用不同药味之间的君臣佐使、升降浮沉性质,但整方药研究起来难度大,化学成分多,各物质成分含量差异大,体内外活性成分不一致,难以确定真正的药效物质成分,且单一活性成分难以体现中药复方用药内涵,极大地限制了中药复方的发展。

本课题组负责人构建的超分子“印迹模板”网络动力学平衡常数模型即可解决这一问题,获得复方各成分之间效应作用大小、活度系数正负号等,从而获得各成分的作用强度、作用和反作用方向、单位作用能力等表征药物效应体系作用程度的参数,解析各成分作用强度关系,揭示成分之间量-量作用关系,反映印迹作用强弱,确定成分之间的“君臣佐使”作用关系^[22]。但需注意的是中药各成分中效应系数大者不一定代谢时间长,代谢时间长者不一定效应系数大,整体效应应向代谢时间长且效应系数大者靠近。

本研究通过建立的网络动力学数学模型,计算出补阳还五汤中 20 个成分的网络动力学平衡常数,确定黄芪皂苷 I、异黄芪皂苷 I、琥珀酸、刺芒柄花苷、洋川芎内酯 H、洋川芎内酯 I、洋川芎内酯 C、阿魏酸、羟基红花色素 A 等为补阳还五汤复方中作用强度最大的几种成分,其中黄芪皂苷 I、异黄芪皂苷 I、刺芒柄花苷主要来源于黄芪,琥珀酸来源于地龙,但目前未见这几种外源性成分的药理作用研究。其中内源性琥珀酸作为琥珀酸脱氢酶的底物,在维持细胞结构完整性方面发挥作用。研究表明,TP53 诱导的糖酵解调节磷酸酶 (TP53-induced glycolysis regulatory phosphatase, TIGAR) 可通过调控琥珀酸

脱氢酶从而上调琥珀酸,对神经元中线粒体功能产生保护作用,减轻脑损伤^[24]。洋川芎内酯 H、I、C 来源于当归和川芎,研究表明洋川芎内酯 H 可通过激活磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 通路,抑制核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的表达,从而减少神经细胞凋亡^[25];洋川芎内酯 I 可能通过激活环腺苷酸反应元件结合蛋白 (cyclic-AMP response binding protein, CREB) 通路,增加糖氧剥夺/复氧大鼠脑皮层神经元细胞线粒体电势,调控活性氧和三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 的生成,抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 等炎症因子的表达及 NF- κ B、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 磷酸化,从而保护神经元细胞^[26-27]。阿魏酸来源于当归和川芎,可通过抑制 NF- κ B p65 核转位减轻缺血再灌注大鼠脑神经细胞炎症反应,抑制 p38 MAPK 通路,保护星形胶质细胞,维持脑部正常形态^[28-29]。羟基红花色素 A 作为红花的主要药理活性成分之一,可对脑缺血大鼠发挥抗炎、抗氧化、维持血脑屏障结构和功能完整性的作用^[30-31]。

同时,补阳还五汤中的大部分化学成分由于结构单位过大以及脂溶性过低等特性而难以透过正常环境下的血脑屏障,但其中的一些小分子物质,如绿原酸、芒柄花素、羟基红花色素 A 等可透过正常环境下的血脑屏障,且当使用芳香开窍药冰片时,又可引药上行,增加其在脑组织内的浓度,增强治疗效果^[32-33]。也有研究表明活血行气药川芎可促进芍药苷、松果菊苷、天麻素等苷类物质进入血脑屏障,这可能与川芎中藁本内酯、洋川芎内酯 A、洋川芎内酯 I 等药理活性物质抑制 P-糖蛋白、多药耐药蛋白 1 表达有关^[34]。

本研究通过对网络动力学关键问题的深入分析,阐明中药成分之间复杂关系以及化学成分对药效作用贡献的大小,将会对中药的有效性、安全性和新药研究等,对推动中药国际化、科学化和标准化产生重大影响。网络动力学方法不仅为中药复方关键成分群筛选、多成分配伍用药与复方药味加减提供可测可算的实验方法与依据,也为下一步进行体内超分子成分群与靶点群网络动力学研究与实验结果验证奠定基础,同时给中药复方的数字化、现代化研究提供新方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mehta S L, Manhas N, Raghubir R. Molecular targets in cerebral ischemia for developing novel therapeutics [J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1): 34-66.
- [2] Qin C, Yang S, Chu Y H, *et al.* Signaling pathways involved in ischemic stroke: Molecular mechanisms and therapeutic interventions [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 215.
- [3] Jadhav A P, Mokin M, Ortega-Gutierrez S, *et al.* An appraisal of the 2018 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke [J]. *Interv Neurol*, 2020, 8(1): 55-59.
- [4] 清·王清任撰. 医林改错 [M]. 新 1 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1966: 48.
- [5] 周啸天, 骆亚莉, 李佳蔚, 等. 补阳还五汤防治缺血性脑卒中作用机制的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(9): 1011-1015.
- [6] 吴万丰, 聂慧芳, 胡立娟, 等. 补阳还五汤对缺血性脑卒中气虚血瘀证大鼠肠道菌群及其血浆代谢产物的影响 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 118-128.
- [7] 李鹏, 张浩然, 张元媛, 等. 基于整体化学和生物效应谱推演的中药靶点研究新模式及应用 [J]. 中草药, 2023, 54(6): 1986-1997.
- [8] 苏如玉, 张磊, 张玉, 等. 从药物代谢动力学角度探讨中药复方有效性的思路与方法 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(1): 111-115.
- [9] Xu S X, Peng J, Li Y J, *et al.* Pharmacokinetic comparisons of rutaecarpine and evodiamine after oral administration of Wu-Chu-Yu extracts with different purities to rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139(2): 395-400.
- [10] Zhou M M, Hong Y L, Lin X, *et al.* Recent pharmaceutical evidence on the compatibility rationality of traditional Chinese medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 206: 363-375.
- [11] 杨岩涛. 补阳还五汤抗脑缺血靶点网络系统的特征研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2015.
- [12] 贺福元, 周宏灏, 罗杰英. 多成分药物代谢网络动力学数学模型建立及参数分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(12): 1321-1331.
- [13] 李文姣, 肖美凤, 李海英, 等. 中药超分子“印迹模板”作用对成分簇动态性与稳态性变化规律的理论研究 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2659-2667.
- [14] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [15] 邓俊林. 补阳还五汤抗脑缺血症神经细胞损伤谱效学位内外关联性研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [16] 贺鹏, 樊启猛, 李海英, 等. 古代经典名方芍药甘草汤质量稳定性与传递性研究 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(5): 1123-1126.
- [17] 邓凯文, 刘文龙, 石继连, 等. 中药复方网络药效动力学数学模型的建立及参数测算 [A] // 全国中药药理学联合会学术交流会论文摘要汇编 [C]. 南京: 江苏省药理学会, 2012: 63-64.
- [18] 廖琼. 补阳还五汤提取谱动力学研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2015.
- [19] Salehi B, Carneiro J N P, Rocha J E, *et al.* *Astragalus* species: Insights on its chemical composition toward pharmacological applications [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(5): 2445-2476.
- [20] Shaw L H, Lin L C, Tsai T H. HPLC-MS/MS analysis of a traditional Chinese medical formulation of Bu-Yang-Huan-Wu-Tang and its pharmacokinetics after oral administration to rats [J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43848.
- [21] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4200-4208.
- [22] 李海英, 潘雪, 王敏存, 等. 基于超分子“气析”理论定量整合与验证中药成分及靶点群 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(21): 207-213.
- [23] 姚维一, 王春, 龚弟鸿, 等. 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap-MS 快速鉴定补阳还五汤及其在人血浆和尿液中药物化学成分 [J]. 中国现代应用药理学, 2020, 37(14): 1719-1725.
- [24] Kula-Alwar D, Prag H A, Krieg T. Targeting succinate metabolism in ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2019, 140(24): 1968-1970.
- [25] Jiang Y Y, Luo Y Y, Chen X Y, *et al.* Senkyunolide H protects PC12 cells from OGD/R-induced injury via cAMP-PI3K/AKT signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282: 114659.
- [26] Yang Q, Zhao Z Z, Xie J, *et al.* Senkyunolide I attenuates hepatic ischemia/reperfusion injury in mice via anti-oxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97: 107717.
- [27] Zhu Y L, Huang J, Chen X Y, *et al.* Senkyunolide I alleviates renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and

- apoptosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 102: 108393.
- [28] 王立霞, 王枫, 陈欣, 等. 阿魏酸钠的心脑血管药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(3): 772-777.
- [29] 王卓, 周瑾, 曾泌梅, 等. 阿魏酸钠对氧糖剥夺所致星形胶质细胞损伤的保护作用及机制研究 [J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(5): 26-30.
- [30] Lv Y N, Fu L S. The potential mechanism for hydroxysafflor yellow A attenuating blood-brain barrier dysfunction via tight junction signaling pathways excavated by an integrated serial affinity chromatography and shotgun proteomics analysis approach [J]. *Neurochem Int*, 2018, 112: 38-48.
- [31] Yang X W, Li Y H, Zhang H, *et al.* Safflower Yellow regulates microglial polarization and inhibits inflammatory response in LPS-stimulated Bv2 cells [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2016, 29(1): 54-64.
- [32] 李嘉雨. 天然冰片促进芒柄花素透过血脑屏障发挥抗脑缺血作用的研究 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2022.
- [33] Zheng Q, Chen Z X, Xu M B, *et al.* Borneol, a messenger agent, improves central nervous system drug delivery through enhancing blood-brain barrier permeability: A preclinical systematic review and meta-analysis [J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1617-1633.
- [34] 胡鹏翼. 以体外细胞模型研究川芎活性成分调控天麻素等苷类成分透过血脑屏障的作用及机制 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.

[责任编辑 李亚楠]