

牛膝对血府逐瘀汤中指标成分在气滞血瘀证代谢相关脂肪性肝病大鼠体内组织分布、血浆蛋白结合和受体表达的影响

吴贤志¹, 朱昕昀¹, 陈婧¹, 朱叶², 刘爽¹, 段新屹¹, 沈龙宇¹, 黄巍^{1*}, 张宏^{1*}

1. 成都中医药大学, 四川 成都 611137

2. 海南医科大学第一附属医院, 海南 海口 570102

摘要: 目的 探究牛膝 *Achyranthis Bidentatae Radix* 对血府逐瘀汤中指标成分(苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、芍药苷、柚皮苷)在气滞血瘀证代谢相关脂肪性肝病大鼠体内组织分布、血浆蛋白结合率和受体表达的影响, 进而探讨牛膝的引经作用机制。方法 采用高脂饲料联合肾上腺素注射的方法建立气滞血瘀证代谢相关脂肪性肝病大鼠模型, 造模成功后将大鼠按体质量分层分组, 分别 ig 血府逐瘀汤全方、血府逐瘀汤减桔梗方、血府逐瘀汤减牛膝方及血府逐瘀汤减桔梗牛膝方。血浆蛋白结合率和受体表达实验中大鼠于给药后 10、30 min 经腹主动脉采血后处死, 并取脑、心、肺、肝、肾组织。组织分布实验中大鼠于给药后 10、30、60 min 处死, 取脑、心、肺、肝、肾组织。通过高效液相色谱-质谱联用(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)技术检测指标成分在大鼠各组织中的浓度, 并对大鼠血浆中各指标成分进行定性定量分析, 计算各成分的血浆蛋白结合率; 采用 ELISA 检测各组织样本中的血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)、腺苷 A1 受体、P2Y12 受体和内皮素 A 受体表达情况。结果 牛膝能降低血府逐瘀汤中苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、柚皮苷在模型大鼠体内的血浆蛋白结合率, 同时增加苦杏仁苷、芍药苷在大鼠脑、肝中的分布, 羟基红花黄色素 A 在肝、肾中的分布, 阿魏酸在脑、心、肝、肾中的分布, 柚皮苷在肝、肾中的分布; 并且增加脑、心、肝中腺苷 A1 受体和脑、心、肾中 P2Y12 受体含量, 降低脑、心、肝、肾中 PAF 和脑、心、肺中内皮素 A 受体含量。结论 牛膝能降低苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、柚皮苷在大鼠体内的血浆蛋白结合率, 增加其在对应组织中的含量, 从而增强各成分对相应受体的影响, 最终导致受体在每个组织中表达增强或减弱, 协同发挥治疗血瘀证的作用, 这可能是牛膝在血府逐瘀汤中发挥引经作用的机制之一。

关键词: 牛膝; 血府逐瘀汤; 组织分布; 血浆蛋白结合; 受体表达; 气滞血瘀证; 代谢相关脂肪性肝病; 苦杏仁苷; 羟基红花黄色素 A; 阿魏酸; 芍药苷; 柚皮苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)06-2170-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.06.015

Effect of *Achyranthis Bidentatae Radix* on tissue distribution, plasma protein binding and receptor expression of marker components in Xuefu Zhuyu Decoction in rats with metabolic liver disease related to *qi* stagnation and blood stasis syndrome

WU Xianzhi¹, ZHU Xinyun¹, CHEN Jing¹, ZHU Ye², LIU Shuang¹, DUAN Xinyi¹, SHEN Longyu¹, HUANG Wei¹, ZHANG Hong¹

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. The First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, China

Abstract: Objective To investigate the effects of Niuxi (*Achyranthis Bidentatae Radix*, ABR) on tissue distribution, plasma protein binding rate and receptor expression of marker components (amygdalin, hydroxysafflor yellow A, ferulic acid, paeoniflorin, naringin) from Xuefu Zhuyu Decoction (血府逐瘀汤, XFZYD) in rats with metabolic-associated fatty liver disease (MAFLD) of *qi* stagnation

收稿日期: 2025-10-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82574911); 国家自然科学基金资助项目(82360917); 邓中甲名老中医特色诊疗经验总结及学术思想传承研究

作者简介: 吴贤志, 男, 硕士研究生, 研究方向为方剂学。E-mail: wuxianzhi@stu.cdutcm.edu.cn

*通信作者: 张宏, 男, 副教授, 副主任中医师, 从事中医药治疗危急重症方向的基础与临床研究。E-mail: zhanghong1874@163.com

黄巍, 女, 教授, 博士生导师, 从事方剂配伍理论研究。E-mail: huangwei111@cdutcm.edu.cn

and blood stasis syndrome (QS-BSS), and to further clarify the mechanism underlying its meridian-guiding effect. **Methods** A rat model of MAFLD with QS-BSS was established by high-fat diet combined with adrenaline injection. After successful modeling, rats were stratified and grouped by body weight, followed by intragastric administration of XFZYD (full formula), XFZYD without Jiegeng (*Platycodonis Radix*, PR), XFZYD without ABR, and XFZYD without both PR and ABR. For the plasma protein binding rate and receptor expression experiments, abdominal aortic blood was collected at 10, 30 min after a single administration, after which rats were euthanized for the collection of brain, heart, lung, liver, and kidney tissues. For the tissue distribution experiment, rats were euthanized at 10, 30, 60 min after a single administration, with the same tissues collected as above. The concentrations of marker components in tissues were determined by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS). Qualitative and quantitative analyses of these components in plasma were performed to determine their plasma protein binding rates. The expression levels of platelet-activating factor (PAF) and receptors including adenosine A1 receptor (A1R), P2Y12 receptor, and endothelin A receptor (ETAR) in tissues were measured by ELISA. **Results** ABR decreased the plasma protein binding rates of amygdalin, hydroxysafflor yellow A, ferulic acid, and naringin in model rats. Meanwhile, ABR increased the distribution of amygdalin and paeoniflorin in the brain and liver, hydroxysafflor yellow A in the liver and kidney, ferulic acid in the brain, heart, liver, and kidney, and naringin in the liver and kidney. Furthermore, ABR upregulated the expression levels of A1R in brain, heart, and liver as well as P2Y12 receptor in the brain, heart, and kidney, while downregulating the expression level of PAF in brain, heart, liver, and kidney and the expression level of ETAR in brain, heart and lung. **Conclusion** ABR could reduce the plasma protein binding rates of amygdalin, hydroxysafflor yellow A, ferulic acid and naringin in MAFLD-QS-BSS rats, thereby increasing the distribution of these components in the corresponding tissues, enhancing the effect of each component on the related receptors, and ultimately regulating the upregulation or downregulation of receptor expression in various tissues, which synergistically exerts the therapeutic effect against QS-BSS. This may be one of the mechanisms by which ABR exerts its meridian-guiding effect in XFZYD.

Key words: *Achyranthis Bidentatae Radix*; Xuefu Zhuyu Decoction; tissue distribution; plasma protein binding; receptor expression; qi stagnation and blood stasis syndrome; metabolic-associated fatty liver disease; amygdalin; hydroxysafflor yellow A; ferulic acid; paeoniflorin; naringin

血府逐瘀汤出自《医林改错》，由桃红四物汤合四逆散加桔梗牛膝组成，主治胸中血府血瘀之证，现代广泛应用于治疗多种瘀血相关疾病。代谢相关脂肪性肝病（metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD）是指与全身代谢功能障碍相关的肝脂肪变性疾病，其发病机制复杂，发病因素包括炎症、氧化应激、内质网应激、脂肪毒性、遗传基因、线粒体功能障碍以及铁死亡等^[1-3]。MAFLD属于中医“肝痞”“积聚”“肝癖”“胁痛”的范畴，气滞血瘀证是其临床常见证候之一，治疗常以血府逐瘀汤加减^[4]。引经药是复方中发挥“引经报使”作用的药物，可改变其他药物的作用方向，使药物作用集中于特定的脏腑经络，从而提高疗效。为探究牛膝引经作用机制，本研究以气滞血瘀证MAFLD大鼠为模型，探究血府逐瘀汤中牛膝是否会对方中指标成分的体内组织分布情况产生影响，同时采用超滤法结合高效液相色谱-质谱联用（high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS）技术检测血药浓度，并采用ELISA法检测组织受体表达水平，以探究牛膝对血府逐瘀汤中指标成分血浆蛋白结合率及对脑、心、肺、肝、

肾组织中腺苷 A1 受体、P2Y12 受体、血小板活化因子（platelet activating factor, PAF）和内皮素 A 受体表达水平的影响，为揭示传统中药复方多成分-多靶点整合效应提供实验依据，也为科学阐释引经药发挥作用的潜在机制提供参考。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量（200±20）g，6~8 周龄，购自成都达硕实验动物有限公司，实验动物生产许可证号 SCXK（川）2022-030，实验动物使用许可证号 SYXK（川）2020-225。动物于温度 20~22 °C、相对湿度 40%~70%、12 h/12 h 明暗循环的屏障环境中饲养，自由进食饮水。动物实验经成都中医药大学动物伦理委员会批准（批准号 2024C014）。

1.2 药材

桃仁（批号 21042804）、红花（批号 22051907）、甘草（批号 22073002）购自安国一方药业有限公司，赤芍（批号 22121801）、川芎（批号 23021201）、牛膝（批号 23061101）购自亳州谯郡堂中药饮片有限公司，当归（批号 220705）购自安国祁安药业有限

公司, 生地黄(批号 230401) 购自安徽福榕药业有限公司, 柴胡(批号 D23040101) 购自黄冈金贵中药产业发展有限公司, 枳壳(批号 230500121) 购自康美药业股份有限公司, 桔梗(批号 220601) 购自北京本草方源(亳州) 药业科技有限公司, 以上药材饮片经成都中医药大学张廷模教授分别鉴定为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 的干燥成熟种子、菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根、伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanriong* Hort. 的干燥根茎、苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的干燥块根、伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根、芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥未成熟果实、桔梗科植物桔梗 *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. 的干燥根。

1.3 药品与试剂

对照品苦杏仁苷(批号 Y0800K96808, 质量分数为 98%)、羟基红花黄色素 A(批号 A09IB22053, 质量分数为 98%)、氯霉素(批号 K22UB79196, 质量分数为 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 对照品芍药苷(批号 M22HB179898, 质量分数为 98%)、阿魏酸(批号 L03A9D57744, 质量分数为 98%)、柚皮苷(批号 F07B206334, 质量分数为 98%) 购自中国食品药品检定研究院; 总胆固醇(total cholesterol, TC) 检测试剂盒(批号 20230721)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 检测试剂盒(批号 20230717)、高密度脂蛋白胆固醇(批号 20230715)、三酰甘油(triglyceride, TG) 检测试剂盒(批号 20230721)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 检测试剂盒(批号 20230715) 购自南京建成生物工程研究所; 大鼠 PAF ELISA 试剂盒(批号 mL1006043-J)、大鼠腺苷 A1 受体 ELISA 试剂盒(批号 mL1015107-J)、大鼠 P2Y12 受体 ELISA 试剂盒(批号 mL1026028-J)、大鼠内皮素受体 A ELISA 试剂盒(批号 mL1002003-J) 购自上海酶联生物科技有限公司; 甲醇购自德国 Simark 公司; 甲酸购自德国 Merck 公司; 盐酸肾上腺素注射液(批号 20240613) 购自合肥都帮生物制药有限公

司; 戊巴比妥钠(批号 090208) 购自西安科昊生物科技有限公司。

1.4 仪器

H1850R 型高速冷冻离心机、WS/TDZ4AWS 型低速自动平衡离心机、TD24A-WS 型台式冷冻离心机(湖南湘仪科学仪器设备有限公司); KQ-100DE 型超声波清洗机(昆山超声仪器厂); WD-12 型水浴氮吹仪(杭州奥盛仪器有限公司); Waters2695 型高效液相色谱仪、Waters2996 型光电二极管阵列检测器、QuattromicroAPIMS 型三重四级杆质谱仪、E2M30 型机械泵(英国 EDWARDS 公司); Athena C₁₈ 液相色谱柱(上海安谱实验科技股份有限公司); XW-80A 型旋涡混匀器(海门其林贝尔仪器有限公司); DW-86L338J 型医用低温保存箱(海尔特种电冰柜有限公司); HH-6 型数显恒温水浴锅(金坛成辉仪器厂); S82-1E 型恒温磁力搅拌器(上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司); G50 型组织研磨器(江苏卡尤迪医疗器械有限公司); ultiskan FC 型酶标分析仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 血府逐瘀汤全方及拆方冻干粉的制备

称取桃仁 24g、红花 18g、赤芍 12g、川芎 9g、当归 18g、生地黄 18g、柴胡 6g、枳壳 12g、桔梗 9g、牛膝 18g、甘草 12g, 加入 10 倍量水浸泡 30 min, 煮沸后转文火微沸 1h, 滤过; 药渣再加 10 倍量水, 同法煎煮 30 min, 滤过。合并 2 次滤液, 减压浓缩为稠膏, 冻干, 得血府逐瘀汤全方冻干粉 54.444 g, 即 0.349 g 冻干粉/g 生药。

同法制备血府逐瘀汤减桔梗方、血府逐瘀汤减牛膝方、血府逐瘀汤减桔梗牛膝方, 血府逐瘀汤减桔梗方得冻干粉 51.009 g, 即 0.347 g 冻干粉/g 生药; 血府逐瘀汤减牛膝方得冻干粉 52.026 g, 即 0.377 g 冻干粉/g 生药; 血府逐瘀汤减桔梗牛膝方得冻干粉 44.634 g, 即 0.346 g 冻干粉/g 生药。

2.2 气滞血瘀证 MAFLD 大鼠模型的建立

大鼠适应性喂养 3 d 后, 随机分为对照组和模型组。对照组大鼠给予全价饲料喂养, 模型组大鼠给予高脂饲料喂养^[5]。模型组大鼠喂养至 74 d 开始建立证候模型, 每日 10: 00 时 sc 0.6 mL/kg 肾上腺素, 连续注射 10 d^[6]。造模期间, 每周称量大鼠体质量, 记录大鼠舌象、爪趾颜色、精神状态、毛发状态等情况, 进行气滞血瘀证候评分, 评分标准见表 1。MAFLD 造模成功的判断标准为肝脏油红 O

表 1 气滞血瘀证候评分标准

Table 4 Scoring criteria for qi stagnation and blood stasis syndrome

指标	0分	1分	2分	3分
舌象	淡红	淡紫	紫暗	瘀点瘀斑
爪趾颜色	淡红	淡紫	紫暗	瘀点瘀斑
饮食	进食量未减少	进食量减少<1/3	进食量减少 1/3~2/3	进食量减少>2/3
急躁易怒	无	偶有烦躁不安	急躁易怒	多怒撕咬
精神状态	眼光有神, 活动迅速	精神倦怠, 懒动、自发活动减少	自发活动减少, 逃避眼神, 蜷曲	攻击行为明显减少, 蜷缩不动
毛发	毛发光泽	毛发稍有不整, 毛色白尚有光泽	毛发不整, 毛色黯无光泽	毛色枯槁或散乱竖毛
粪便	大便成形	粪便质软	粪便稀溏部分不成形	粪便稀溏, 完全不成形

染色超过 5%的肝脏细胞出现脂肪堆积^[7], 并以肉眼可见明显肝脏脂肪病变、血脂四项出现显著异常、肝脏指数显著升高为辅征^[8]。气滞血瘀证造模成功的判断标准为凝血酶原时间 (prothrombin time, PT)、活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间 (thrombin time, TT)、纤维蛋白原 (fibrinogen, FIB) 的检测结果显著异常, 同时辅以体征半定量指标评分进行判断^[9-11]。结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠气滞血瘀证候评分和肝脏指数显著升高 ($P<0.01$ 、 0.001), 肝脏组织内脂滴表达面积百分率 $>5\%$, 肝脏体积增大, 颜色明显变浅, 呈现淡褐色, 质地油腻; 模型组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C 水平显著升高 ($P<0.001$), HDL-C 水平显著下降 ($P<0.01$), APTT、TT、PT 显著缩短 ($P<0.01$ 、 0.001), FIB 显著升高 ($P<0.001$), 提示气滞血瘀证 MAFLD 大鼠模型成功建立。

2.3 组织分布实验

2.3.1 动物分组、造模与给药 大鼠适应性喂养 3 d 后, 随机分为对照组 5 只与模型组 65 只。按“2.2”项下方法制备气滞血瘀证 MAFLD 大鼠模型, 将造模成功的 65 只大鼠按体质量随机分为模型组 ($n=5$)、血府逐瘀汤全方 (XF) 组 ($n=15$)、血府逐瘀汤减桔梗 (XF-J) 组 ($n=15$)、血府逐瘀汤减牛膝 (XF-N) 组 ($n=15$)、血府逐瘀汤减桔梗牛膝 (XF-JN) 组 ($n=15$), 各给药组按取材时间点 (10、30、60 min) 分为 3 个亚组, 每组 5 只大鼠。以血府逐瘀汤全方为例, 成人每日服用剂量为 78 g, 换算成大鼠等效剂量为 7.8 g/kg, 本研究采用 2 倍临床等效剂量 15.6 g/kg 作为 XF 组的给药剂量。血府逐瘀汤减桔梗方、血府逐瘀汤减牛膝方、血府逐瘀汤减桔梗牛膝方同样按照 2 倍临床等效剂量 14.7、13.8、12.9 g/kg 作为 XF-J 组、XF-N 组、XF-JN 组的给药剂量。大鼠禁食不禁水 12 h, 次日 9:00 时

ig 相应药物或灭菌水 (10 mL/kg)。

2.3.2 指标成分在各组织浓度测定

(1) 储备溶液的制备: 精密称取对照品苦杏仁苷 21.1 mg、羟基红花黄色素 A 16.4 mg、芍药苷 22.3 mg、阿魏酸 18.7 mg、柚皮苷 20.1 mg 以及内标鼠霉毒素 27.7 mg, 用 50%甲醇水溶解、摇匀, 定容至 50 mL, 得质量浓度分别为 414、324、442、366、398 $\mu\text{g/mL}$ 的单一成分储备液, 质量浓度为 542 $\mu\text{g/mL}$ 的内标储备液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存, 备用。

(2) 工作溶液的制备: 分别精密量取苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷储备液各适量, 用 17%甲醇水溶液稀释为质量浓度分别为 828、216、332、366、597 ng/mL 的混合对照品溶液 A, -20°C 存放, 用于制备组织质控样品。

精密量取内标储备液 20 μL , 用 17%甲醇水溶液稀释 300 倍, 即得到质量浓度为 1 807 ng/mL 的内标溶液 A, -20°C 存放。

(3) 样品处理: 取大鼠 ig 10、30、60 min 的脑、心、肺、肝、肾组织, 用冰生理盐水洗净组织表面血液、滤纸吸干水分, -80°C 冷冻保存。精密称取组织样本各 0.4 g, 分别加入 2 mL 90%甲醇水溶液充分匀浆, 取匀浆液于 5 mL 离心管中, 涡旋混匀, 10 000 r/min 离心 10 min, 转移上清液, 加入内标工作液 20 μL 。40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮吹仪吹干; 加 100 mL 17%甲醇水复溶, 涡旋混匀, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液进样分析。

(4) 质控样品的制备: 分别取混合对照品溶液 A 30 μL , 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 100 μL 空白组织匀浆, 依次加入 400 μL 甲醇、20 μL 内标溶液, 涡旋混匀 30 s, 10 000 r/min 离心 2 min, 取上清液重复离心 2 次, 水浴氮吹仪上吹干 (37°C)。加入 17%甲醇水溶液 100 μL 复溶, 涡旋混匀 30 s, 10 000 r/min 离心 2 min, 取上清液 80 μL 进样分析。

(5) 色谱条件: Athena C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 (A) -含 2 mmol/L 乙酸钠的 0.1% 甲酸溶液 (B); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 °C; 样品室温度 20 °C; 进样体积 10 μL。洗脱条件: 苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸以 17% A 等度洗脱 25 min; 柚皮苷以 30% A 等度洗脱 15 min。

(6) 质谱条件: 采用电喷雾电离源 (electrospray ionization, ESI), 毛细管电压 3.5 kV; 离子源温度 120 °C; 脱溶剂气体为氮气; 脱溶剂气体流量 650 L/h; 溶剂气温度 400 °C; 扫描方式为离子扫描 (SIR); 正、负离子模式下扫描。各指标成分定量分析检测参数见表 2。

表 2 指标成分及内标 MS 参数

Table 2 Index components and internal standard MS parameters

成分	化学式	离子模式	m/z
羟基红花黄色素 A	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	611.169 0
阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	193.050 6
芍药苷	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	479.155 9
苦杏仁苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	456.151 1
		[M+FA-H] ⁻	502.156 1
柚皮苷	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	579.172 7
氯霉素 (内标)	C ₁₁ H ₁₂ Cl ₂ N ₂ O ₅	[M-H] ⁻	321.005 1

2.4 血浆蛋白结合率和受体表达实验

2.4.1 动物分组、造模与给药 大鼠适应性喂养 3 d 后, 随机分为对照组 5 只与模型组 55 只。按“2.2”项下方法制备气滞血瘀证 MAFLD 大鼠模型, 将造模成功的 55 只大鼠按体质量随机分为模型组 (MC, n=5)、ig 10 min 模型组 (M1, n=5)、ig 30 min 模型组 (M2, n=5)、血府逐瘀汤 (XF) 组 (n=10)、血府逐瘀汤减桔梗 (XF-J) 组 (n=10)、血府逐瘀汤减牛膝 (XF-N) 组 (n=10)、血府逐瘀汤减桔梗牛膝 (XF-JN) 组 (n=10), 各给药组按取材时间点 (10、30 min) 分为 2 个亚组, 每组 5 只大鼠。按“2.3”项下方法给药。

2.4.2 血浆蛋白结合率测定

(1) 工作溶液的制备: 分别精密量取苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷储备液适量, 用 17% 甲醇水溶液稀释为质量浓度分别为 828.0、810.0、88.4、732.0、1 194.0 ng/mL 的混合对照品溶液 B, -20 °C 存放, 用于制备血浆质控样品。

分别精密量取苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、阿魏酸、柚皮苷储备液适量, 用 17% 甲醇

水溶液定容至 100 mL, 即得到质量浓度分别为 828.0、810.0、88.4、732.0、119.4 ng/mL 的混合对照品溶液 C, -20 °C 存放, 用于制备超滤液质控样品。

精密量取内标储备液 70 μL, 用 17% 甲醇水溶液定容至 10 mL, 即得到质量浓度为 3 797.5 ng/mL 的内标溶液 B, -20 °C 存放。

(2) 质控样品的制备: 分别取混合对照品溶液 B、C 各 90、180 μL, 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 100 μL 空白血浆、空白超滤液, 依次加入 400 μL 甲醇、20 μL 内标溶液 B, 涡旋混匀 30 s, 10 000 r/min 离心 2 min, 取上清液重复离心 2 次, 水浴氮吹仪上吹干 (37 °C)。加入 17% 甲醇水溶液 100 μL 复溶, 涡旋混匀 30 s, 10 000 r/min 离心 2 min, 取上清液 80 μL 进样分析。

(3) 各指标成分总血药浓度的测定: 大鼠 ig 10、30 min 经腹主动脉取血, 每只大鼠每个时间点取血 5 mL, 置于 EDTA-K2 抗凝管中。移液枪精密移取 300 μL 含药血浆, 加甲醇沉淀蛋白, 分离与血浆蛋白结合的指标成分, 按照“2.3.2”项下色谱条件和质谱条件进样, 测定各指标成分总血药浓度^[12]。

(4) 血浆蛋白结合率的测定: 取 300 μL 含药血浆, 不做预处理, 移至超滤管中, 4 °C、12 000 r/min 离心 25 min, 记录制得含药血浆超滤液的体积; 取 160 μL 超滤液加入 20 μL 内标溶液后氮气吹干, 再加入 100 μL 30% 甲醇水溶液复溶, 振荡混匀, 10 000 r/min 离心 2 min, 取 90 μL 上清液进样, 按照“2.3.2”项下色谱条件测定超滤液中游离的各指标成分浓度, 按以下公式计算血浆蛋白结合率。

血浆蛋白结合率 = (血浆中药物质量 - 超滤液中药物质量) / 血浆中药物质量

血浆中药物质量 = 血浆中药物浓度 × 血浆体积 (300 μL)

超滤液中药物质量 = 复溶前超滤液中药物浓度 × 制得超滤液体积

复溶前超滤液中药物浓度 = 复溶后超滤液中测得药物浓度 × 复溶体积 (100 μL/160 μL)

2.4.3 受体表达检测 取大鼠 ig 10、30 min 的脑、心、肺、肝、肾组织, 用冰生理盐水洗净组织表面血液、滤纸吸干水分, -80 °C 冷冻保存。按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 采用 origin 软件绘制标准曲线, 分别检测大鼠脑、心、肺、肝、肾组织中 PAF、内皮素 A 受体、腺苷 A1 受体、P2Y₁₂ 受体表达情况。

2.5 统计学分析

采用 Graphpad Prism 10.2.1 软件对数据进行统

计分析, 计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对组织分布浓度参数进行 Two-Way ANOVA 因素方差分析, 对血浆蛋白结合率和受体表达组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 方法学考察结果

如图 1~3 所示, 内源性成分均不干扰待测物

及内标的测定, 各待测成分分离度良好, 该方法专属性良好。如表 3~5 所示, 大鼠组织匀浆液、血浆、超滤液中苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、芍药苷、柚皮苷的相关系数 (R^2) 均大于 0.997, 各指标成分在相应质量浓度范围内线性关系良好。各指标成分精密性、加样回收率及稳定性的 RSD 均小于 10%, 见表 6~14。

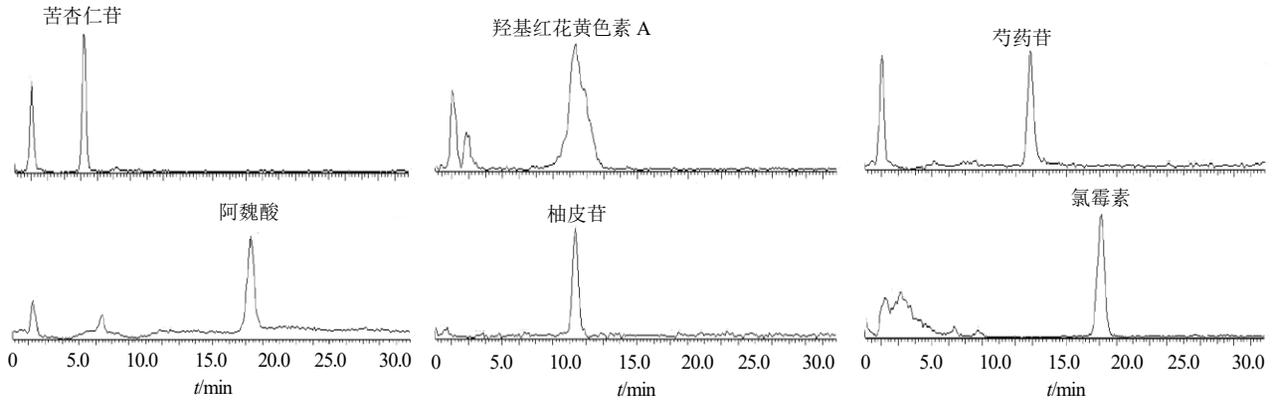


图 1 血浆样品中各指标成分色谱图

Fig. 1 Chromatograms of each index component in plasma samples

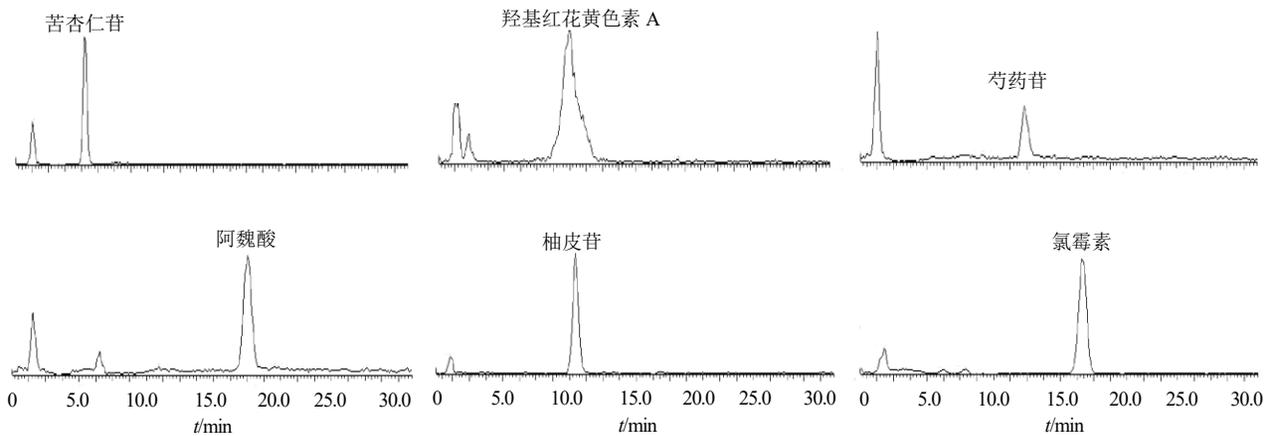


图 2 超滤液样品中各指标成分色谱图

Fig. 2 Chromatograms of each index component in ultrafiltrate samples

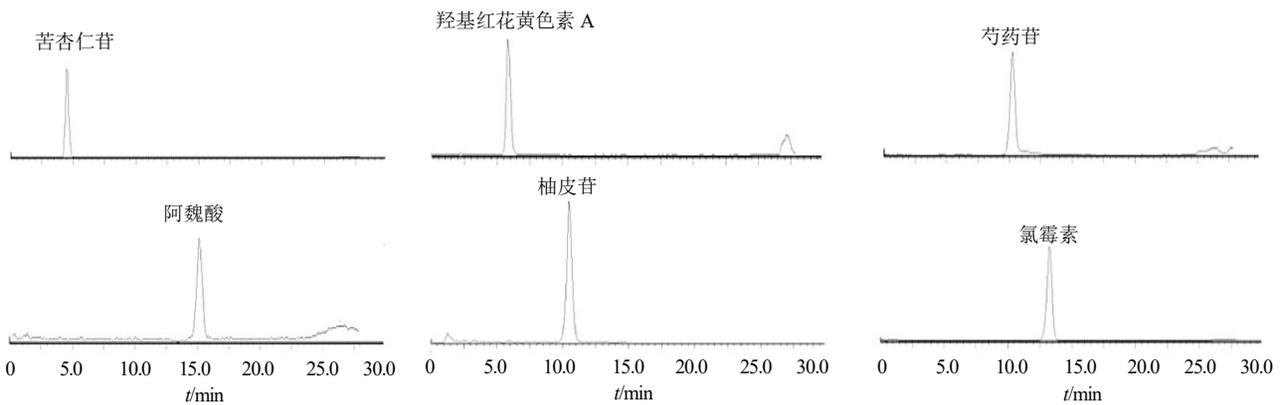


图 3 组织样品中各指标成分色谱图

Fig. 3 Chromatogram of each index component in tissue samples

表3 各指标成分在组织匀浆中的线性关系

Table 3 Linear relationship of each index component in tissue homogenate

成分	组织	线性回归方程	R ²	线性范围/(ng·mL ⁻¹)
羟基红花黄色素A	脑	Y=0.104 2 X-0.323	0.998 3	2.7~129.6
芍药苷		Y=0.343 5 X-1.066	0.998 6	4.1~198.9
阿魏酸		Y=0.020 8 X+28.279	0.999 7	4.6~219.6
柚皮苷		Y=0.006 7 X+38.042	0.999 2	7.5~358.2
苦杏仁苷		Y=0.102 5 X+36.862	0.997 8	10.4~496.8
羟基红花黄色素A	心	Y=0.101 8 X-0.852	0.999 0	2.7~129.6
芍药苷		Y=0.085 6 X+34.723	0.998 6	4.1~198.9
阿魏酸		Y=0.015 0 X+31.442	0.998 5	4.6~219.6
柚皮苷		Y=0.104 3 X+23.939	0.998 9	7.5~358.2
苦杏仁苷		Y=0.096 1 X+33.294	0.999 5	41.4~1 656.0
羟基红花黄色素A	肺	Y=0.106 9 X+0.184	0.998 3	10.8~432.0
芍药苷		Y=0.103 7 X+19.862	0.999 9	16.6~663.0
阿魏酸		Y=0.027 6 X+32.503	0.998 7	18.7~732.0
柚皮苷		Y=0.113 4 X+22.009	0.999 0	7.5~358.2
苦杏仁苷		Y=0.154 1 X+19.155	0.998 3	41.4~1 656.0
羟基红花黄色素A	肝	Y=0.131 2 X-3.732	0.997 3	10.8~432.0
芍药苷		Y=0.273 8 X+4.986	0.999 0	16.6~663.0
阿魏酸		Y=0.010 7 X+35.316	0.997 4	18.7~732.0
柚皮苷		Y=0.016 9 X+38.511	0.999 7	29.9~1 194.0
苦杏仁苷		Y=0.220 4 X-0.293	0.999 5	41.4~1 656.0
羟基红花黄色素A	肾	Y=0.099 8 X+6.499	0.998 6	10.8~432.0
芍药苷		Y=0.131 9 X+29.137	0.998 7	16.6~663.0
阿魏酸		Y=0.073 0 X+25.161	0.998 5	18.7~732.0
柚皮苷		Y=0.023 6 X+33.942	0.998 8	29.9~1 194.0

表4 各指标成分在血浆中的线性关系

Table 4 Linear relationship of each index component in plasma

成分	线性回归方程	R ²	线性范围/(ng·mL ⁻¹)
羟基红花黄色素A	Y=0.079 502 7 X+25.334	0.999 0	81.0~1 620.0
芍药苷	Y=0.325 157 X+41.472	0.998 0	8.8~176.8
阿魏酸	Y=0.035 768 7 X+7.570	0.998 1	73.2~1 464.0
柚皮苷	Y=0.022 806 4 X+14.610	0.998 6	119.4~2 388.0
苦杏仁苷	Y=0.720 528 X+21.551	0.998 4	82.8~1 656.0

表5 各指标成分在超滤液中的线性关系

Table 5 Linear relationship of each index component in ultrafiltrate

成分	线性回归方程	R ²	线性范围/(ng·mL ⁻¹)
羟基红花黄色素A	Y=0.035 769 X+9.263	0.999 4	16.2~810.0
芍药苷	Y=0.227 599 X+27.030	0.999 1	1.8~88.4
阿魏酸	Y=0.049 525 9 X+8.183	0.998 9	14.6~732.0
柚皮苷	Y=0.008 549 29 X+1.481	0.998 8	2.4~119.4
苦杏仁苷	Y=1.453 21 X+13.864	0.998 6	16.6~828.0

表6 组织样品精密度与准确度 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Precision and accuracy of tissue samples ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内		日间		成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	日内		日间	
		准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%			准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%
苦杏仁苷	5.18	98.80	3.90	106.72	4.33	阿魏酸	2.29	97.67	3.22	105.34	4.98
	20.70	96.79	5.32	106.01	4.50		9.15	99.02	5.41	102.54	1.08
	82.80	98.89	2.99	101.23	2.92		36.60	101.22	4.81	99.78	0.98
羟基红花黄色素A	1.35	103.09	5.09	104.88	5.11	柚皮苷	3.73	102.78	4.68	104.56	5.45
	5.40	104.22	4.34	107.43	3.22		14.93	101.78	3.45	103.44	3.33
	21.60	103.90	2.32	102.98	2.11		59.70	103.67	3.08	101.03	2.34
芍药苷	2.07	102.34	5.21	96.34	2.09						
	8.29	98.91	4.09	101.89	2.76						
	33.15	98.67	3.09	103.09	2.01						

表 7 血浆样品精密度与准确度 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 7 Precision and accuracy of plasma samples ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	日内		日间	
		准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%
苦杏仁苷	248.40	103.53	3.98	99.64	5.80
	745.20	99.04	7.40	103.35	4.63
	1 490.40	97.80	5.51	106.52	8.60
羟基红花黄色素 A	243.00	100.37	4.39	96.35	7.21
	729.00	95.30	5.46	99.64	4.97
	1 458.00	98.92	7.50	97.69	8.59
芍药苷	26.52	104.52	4.76	98.89	6.03
	79.56	106.08	6.88	107.84	7.54
	159.12	93.85	4.99	96.51	8.15
阿魏酸	219.60	99.49	6.16	93.45	4.87
	658.80	108.44	3.84	104.59	8.96
	1 317.60	96.70	6.37	102.68	3.91
柚皮苷	358.20	98.97	7.97	94.40	4.94
	1 074.60	91.24	5.74	102.87	5.09
	2 149.20	94.53	5.48	98.50	9.02

表 8 超滤液样品精密度与准确度 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 8 Precision and accuracy of ultrafiltrate sample ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	日内		日间	
		准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%
苦杏仁苷	41.40	93.55	6.39	104.19	5.48
	331.20	101.92	3.74	108.73	2.62
	745.20	103.64	7.67	95.12	8.38
羟基红花黄色素A	40.50	91.68	2.57	97.62	2.72
	324.00	92.20	5.01	95.26	6.72
	729.00	97.88	3.57	106.54	7.90
芍药苷	4.42	94.57	5.15	104.03	7.01
	35.36	108.60	5.41	90.86	5.15
	79.56	96.35	3.83	98.52	4.41
阿魏酸	36.60	104.18	2.30	91.69	4.97
	292.80	98.46	4.63	93.50	3.08
	658.80	97.21	5.61	93.33	8.08
柚皮苷	5.97	91.86	7.42	96.93	1.96
	47.76	106.74	3.64	94.34	6.21
	107.46	102.63	4.63	104.50	3.40

表 9 组织样品回收率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 9 Tissue sample recovery rate ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	回收率/%	RSD/%	成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
苦杏仁苷	5.18	98.81	5.23	阿魏酸	2.29	100.57	8.22
	20.7	97.26	6.34		9.15	104.28	6.19
	82.8	109.48	7.85		36.60	118.40	3.35
羟基红花黄色素A	1.35	97.25	5.68	柚皮苷	3.73	104.36	9.03
	5.40	105.14	9.17		14.93	108.48	7.54
	21.60	109.73	8.46		59.70	114.10	5.27
芍药苷	2.07	95.56	3.66				
	8.29	96.37	4.88				
	33.15	109.27	7.32				

表 10 血浆样品回收率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 10 Plasma sample recovery rate ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
苦杏仁苷	248.40	240.11	96.66	8.52
	745.20	753.64	101.13	6.94
	1 490.40	1 463.67	98.21	5.68
羟基红花黄色素A	243.00	235.38	96.86	2.70
	729.00	677.35	92.91	5.10
	1 458.00	1 389.87	95.33	7.04
芍药苷	26.52	25.14	94.80	8.99
	79.56	76.82	96.56	6.96
	159.12	159.89	100.48	5.41
阿魏酸	219.60	213.27	97.12	9.79
	658.80	612.84	93.02	7.65
	1 317.60	1 355.27	102.86	6.53
柚皮苷	358.20	342.32	95.57	4.46
	1 074.60	1 007.87	93.79	6.98
	2 149.20	2 117.80	98.54	8.79

表 11 超滤液样品回收率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 11 Recovery rate of ultrafiltrate sample ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	理论质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	实测质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
苦杏仁苷	41.40	38.75	93.60	2.74
	331.20	345.93	104.45	8.76
	745.20	721.05	96.76	7.63
羟基红花黄色素A	40.50	37.86	93.48	6.79
	324.00	314.72	97.14	9.42
	729.00	694.88	95.32	3.48
芍药苷	4.42	4.79	108.37	4.19
	35.36	32.27	91.26	8.81
	79.56	79.52	99.95	4.92
阿魏酸	36.60	33.84	92.46	6.28
	292.80	302.67	103.37	6.87
	658.80	631.84	95.91	4.94
柚皮苷	5.97	5.85	97.99	7.74
	47.76	48.99	102.58	3.32
	107.46	108.83	101.27	5.86

表 12 组织样品稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 12 Tissue sample stability ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%			
		长期-80 °C放置 1 个月	冻融-冷冻循环	短期室温下放置 4 h	短期 4 °C放置 12 h
苦杏仁苷	5.18	3.54	5.63	3.98	6.74
	20.7	6.32	2.15	3.66	4.22
	82.8	4.13	4.37	7.25	7.45
羟基红花黄色素A	1.35	9.57	6.54	8.61	2.33
	5.40	5.55	4.36	2.36	9.57
	21.60	3.60	7.88	4.51	6.11
芍药苷	2.07	5.78	3.24	7.32	7.92
	8.29	8.21	5.73	4.03	4.87
	33.15	2.36	7.05	5.78	3.34
阿魏酸	2.29	5.99	8.64	7.51	2.35
	9.15	3.91	2.37	3.38	6.41
	36.60	2.72	4.41	3.21	4.47
柚皮苷	3.73	2.97	4.28	1.68	7.25
	14.93	4.11	6.49	2.57	4.12
	59.70	5.35	2.58	6.84	5.14

表 13 血浆样品稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 13 Stability of plasma samples ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	常温 4 h		4 °C 12 h		-80 °C 24 h		-80 °C 1 个月	
		准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%
苦杏仁苷	248.40	96.49	2.28	93.32	2.40	92.57	3.78	94.52	6.85
	745.20	92.91	3.70	95.20	6.40	95.54	6.29	91.97	3.69
	1 490.40	90.71	4.01	96.10	4.47	94.09	3.57	91.29	6.82
羟基红花黄色素A	243.00	94.81	3.63	93.94	5.13	97.03	5.48	95.08	5.66
	729.00	93.71	4.34	95.37	2.65	96.10	6.77	91.88	1.56
	1 458.00	94.67	7.25	90.51	3.33	95.06	4.36	96.67	2.88
芍药苷	26.52	94.83	3.34	94.11	5.01	98.48	7.59	93.02	2.99
	79.56	93.33	4.12	92.36	3.67	97.21	7.75	92.34	8.10
	159.12	91.31	4.53	92.10	3.85	95.99	5.58	90.77	7.09
阿魏酸	219.60	93.12	2.90	90.69	6.97	95.23	5.75	93.87	2.19
	658.80	96.29	6.01	90.87	2.41	93.16	6.13	92.40	2.37
	1 317.60	94.95	3.95	94.82	6.17	91.92	4.73	95.45	3.57
柚皮苷	358.20	95.12	3.14	93.84	3.90	91.73	6.40	91.23	5.80
	1 074.60	97.82	8.88	91.84	7.69	94.55	7.82	96.19	8.65
	2 149.20	95.88	7.38	92.91	8.66	96.73	6.99	90.89	2.67

表 14 超滤液样品稳定性 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 14 Stability of ultrafiltrate sample ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量浓度/ (ng·mL ⁻¹)	常温 4 h		4 °C 12 h		-80 °C 24 h		-80 °C 1 个月	
		准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%	准确度/%	精密度/%
苦杏仁苷	41.40	93.33	5.63	97.36	7.14	94.30	6.62	90.72	5.85
	331.20	91.83	5.05	96.90	9.60	90.79	5.79	94.55	8.68
	745.20	94.77	3.84	94.51	6.84	92.61	4.18	93.49	5.04
羟基红花黄色素A	40.50	96.19	6.87	91.38	7.37	90.92	6.75	95.64	4.05
	324.00	96.86	3.42	98.21	5.16	97.19	5.14	94.71	7.46
	729.00	92.56	3.57	94.31	8.43	92.48	8.59	99.54	3.19
芍药苷	4.42	96.62	1.01	98.64	8.66	91.01	7.43	91.72	5.97
	35.36	96.81	6.57	93.52	4.91	94.20	5.66	96.04	8.30
	79.56	95.95	5.77	94.87	8.21	96.69	9.55	91.96	5.12
阿魏酸	36.60	94.50	7.07	91.26	5.10	97.88	7.46	92.07	7.19
	292.80	93.88	7.20	92.03	7.03	90.84	7.24	94.66	5.91
	658.80	92.60	1.71	94.18	5.72	96.47	6.83	93.36	6.00
柚皮苷	5.97	93.15	4.46	94.83	6.50	92.12	8.66	94.51	9.15
	47.76	95.93	7.09	93.35	7.08	90.54	7.65	99.40	8.27
	107.46	92.65	5.90	94.28	4.77	92.98	9.20	92.85	3.77

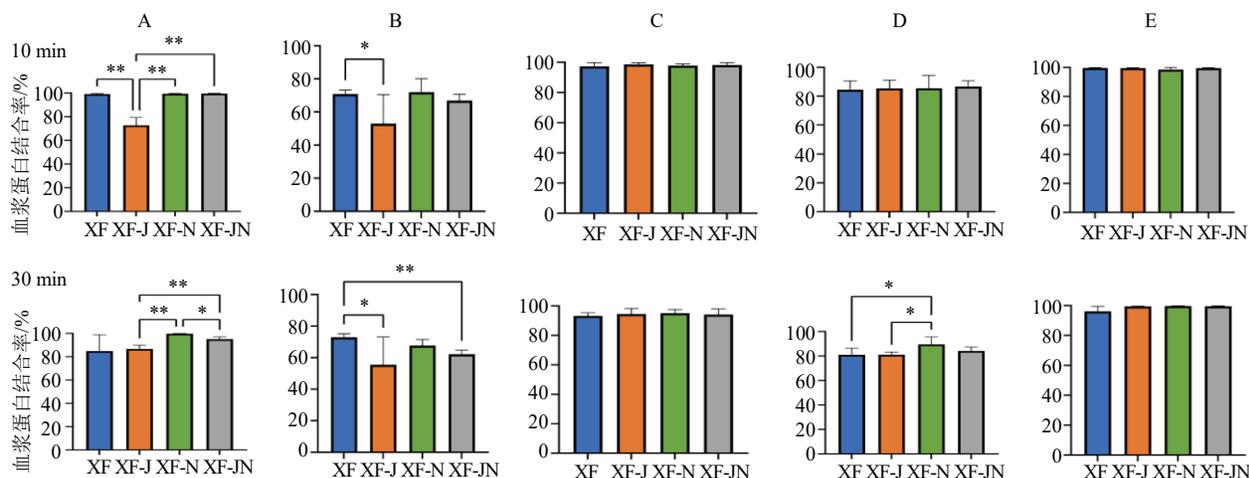
3.2 血浆蛋白结合率结果

当某组血浆蛋白结合率为最低值或次低值时,认为该组的牛膝配伍对降低各成分血浆蛋白结合率有促进作用。如图 4 所示, ig 10 min 苦杏仁苷血浆蛋白结合率 XF-J 组显著低于 XF 组、XF-N 组和 XF-JN 组 ($P < 0.01$); 羟基红花黄色素 A 血浆蛋白结合率 XF-J 组显著低于 XF 组 ($P < 0.05$)。ig 30 min 苦杏仁苷血浆蛋白结合率 XF-J 组显著低于 XF-N 组、XF-JN 组 ($P < 0.01$), XF-JN 组血浆蛋白结合率显著低于 XF-N 组 ($P < 0.05$); 羟基红花黄色素 A 血浆蛋白结合率 XF-J 组显著低于 XF 组 ($P <$

0.05), XF-JN 组血浆蛋白结合率显著低于 XF 组 ($P < 0.01$); 阿魏酸血浆蛋白结合率 XF 组显著低于 XF-N 组 ($P < 0.05$), XF-J 组血浆蛋白结合率显著低于 XF-N 组 ($P < 0.05$)。

3.3 组织分布结果

3.3.1 苦杏仁苷在各组织中的浓度 如表 15 所示,在脑组织中, ig 30 min 时,与 XF 组相比, XF-N 组苦杏仁苷浓度显著降低 ($P < 0.05$)。在肝组织中, ig 30 min 时,与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$ 、0.001); 与 XF-J 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。



A-苦杏仁苷; B-羟基红花黄色素 A; C-芍药苷; D-阿魏酸; E-柚皮苷; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-amygdalin; B-hydroxysafflor yellow A; C-paeoniflorin; D-ferulic acid; E-naringin; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

图 4 10、30 min 各指标成分在大鼠体内血浆蛋白结合率

Fig. 4 Protein binding rate of each index component in rats plasma at 10, 30 min

表 15 各时间点各指标成分在各组织中的浓度 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 15 Concentration of each index component in each tissue at each time point ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组织 组别	苦杏仁苷质量分数/(ng·g ⁻¹)			羟基红花黄色素 A 质量分数/(ng·g ⁻¹)			
	10 min	30 min	60 min	10 min	30 min	60 min	
脑	XF	42.59 ± 39.88	112.91 ± 51.68	138.13 ± 82.36	60.61 ± 28.60	75.89 ± 15.48	59.41 ± 44.6
	XF-J	8.00 ± 4.24	52.48 ± 39.50	37.03 ± 23.09	35.20 ± 6.99	37.36 ± 7.23*	35.05 ± 3.17
	XF-N	8.99 ± 4.57	18.45 ± 9.16*	33.19 ± 19.59	57.14 ± 23.17	58.69 ± 20.49	53.96 ± 14.40
	XF-JN	11.67 ± 5.74	87.80 ± 41.33	29.03 ± 14.51	55.48 ± 35.43	48.10 ± 36.39	41.57 ± 15.25
心	XF	177.97 ± 56.97	249.56 ± 36.13	135.83 ± 81.65	109.46 ± 27.49	91.62 ± 52.28	61.01 ± 20.42
	XF-J	60.10 ± 41.78*	65.52 ± 18.13***	22.40 ± 8.15	39.39 ± 11.84**	37.71 ± 5.25	64.00 ± 11.92
	XF-N	65.12 ± 34.96*	68.22 ± 35.04***	32.23 ± 16.66	83.86 ± 68.53	66.81 ± 53.47	62.53 ± 54.99
	XF-JN	13.77 ± 8.77**	57.28 ± 31.21***	15.18 ± 5.45	37.38 ± 8.23*	31.74 ± 4.06	36.65 ± 4.75 [△]
肺	XF	179.12 ± 72.17	711.65 ± 191.96	120.68 ± 50.69	201.08 ± 125.11	81.80 ± 11.45	39.92 ± 7.58
	XF-J	107.15 ± 30.77	365.63 ± 129.21*	75.19 ± 43.51	57.59 ± 33.29	37.74 ± 7.22***	52.38 ± 5.19
	XF-N	170.45 ± 46.65	215.54 ± 144.65**	102.08 ± 45.23	93.93 ± 43.51	69.39 ± 36.37	38.46 ± 13.20
	XF-JN	90.56 ± 24.03	224.49 ± 142.56**	78.73 ± 42.50	49.01 ± 31.61	57.87 ± 41.01	53.48 ± 46.60
肝	XF	157.58 ± 66.08	884.40 ± 159.99	138.83 ± 70.94	175.95 ± 99.04	144.40 ± 50.25	227.13 ± 64.34
	XF-J	255.80 ± 169.17	380.53 ± 91.39**	105.17 ± 85.70	151.20 ± 24.11	263.80 ± 12.79*	207.40 ± 12.01
	XF-N	81.37 ± 14.58	172.31 ± 109.03*** [△]	63.40 ± 31.49	55.37 ± 32.00 ^{△△}	43.03 ± 14.60*** ^{△△△}	52.46 ± 8.53*** ^{△△△}
	XF-JN	82.93 ± 34.94	140.30 ± 114.33*** [△]	67.54 ± 27.29	35.37 ± 6.13 ^{△△△}	31.68 ± 3.81*** ^{△△△}	34.29 ± 3.68*** ^{△△△#}
肾	XF	704.44 ± 499.45	102.45 ± 1834.73	921.46 ± 597.31	218.30 ± 93.37	225.63 ± 38.80	154.65 ± 40.43
	XF-J	308.21 ± 199.80	563.00 ± 172.09	455.83 ± 366.36	101.76 ± 51.92	64.06 ± 25.81	49.71 ± 13.35*
	XF-N	364.36 ± 224.01	178.10 ± 487.88	439.51 ± 315.52	41.54 ± 12.81*	48.43 ± 17.52	42.62 ± 11.94**
	XF-JN	192.52 ± 56.58	405.68 ± 283.79	277.03 ± 128.77	47.94 ± 27.24*	45.00 ± 13.71	40.99 ± 10.65**
组织 组别	芍药苷质量分数/(ng·g ⁻¹)			阿魏酸质量分数/(ng·g ⁻¹)			
	10 min	30 min	60 min	10 min	30 min	60 min	
脑	XF	12.27 ± 8.72	101.96 ± 68.28	21.58 ± 11.11	89.75 ± 27.92	219.40 ± 28.4	183.90 ± 30.42
	XF-J	4.02 ± 1.68	28.50 ± 7.75	1.49 ± 0.60	118.75 ± 84.20	135.20 ± 2.77**	119.30 ± 68.26
	XF-N	10.85 ± 6.46	34.45 ± 16.87	11.74 ± 7.15	153.95 ± 92.69	98.95 ± 51.27*	112.15 ± 84.33
	XF-JN	4.82 ± 2.14	4.95 ± 2.43 ^{△△}	18.79 ± 13.23	2.00 ± 0.77**	29.75 ± 21.40*** ^{△△}	47.15 ± 31.97***
心	XF	37.55 ± 20.35	73.47 ± 31.88	35.78 ± 16.28	304.47 ± 51.56	631.80 ± 298.41	63.70 ± 22.29
	XF-J	17.89 ± 12.99	17.91 ± 6.57	11.40 ± 2.07	215.45 ± 198.92	173.70 ± 41.52**	55.05 ± 19.01
	XF-N	21.77 ± 14.51	22.27 ± 6.81	15.67 ± 4.58	199.40 ± 147.42	148.75 ± 43.53**	46.05 ± 37.84
	XF-JN	13.38 ± 6.81	5.82 ± 2.06* ^{△#}	10.40 ± 2.79	57.15 ± 46.22***	73.65 ± 10.80*** [△]	38.60 ± 26.03

表 15 (续)

组织 组别	芍药苷质量分数/(ng·g ⁻¹)			阿魏酸质量分数/(ng·g ⁻¹)		
	10 min	30 min	60 min	10 min	30 min	60 min
肺 XF	64.55±29.89	192.15±91.80	102.29±24.89	163.35±36.81	525.85±333.73	150.95±59.10
XF-J	44.60±17.24	117.05±61.14	25.12±9.59**	160.80±26.70	172.50±112.07	77.10±35.58
XF-N	53.80±7.65	129.62±58.74	49.24±19.75*	152.90±34.77	121.65±55.06	15.55±7.35*
XF-JN	19.26±4.72###	34.80±14.72	12.17±5.16***	59.60±34.46**△△#	18.25±12.56#	16.90±9.99*
肝 XF	136.19±85.54	150.46±41.29	75.41±34.44	968.25±627.63	1 032.80±251.42	735.65±403.50
XF-J	147.67±87.75	208.94±55.92	77.07±23.86	209.75±26.00	994.90±163.70	342.70±234.92
XF-N	80.16±72.58	94.07±38.81 [△]	21.65±17.23 [△]	192.85±29.91	801.15±186.46	310.35±160.44
XF-JN	29.15±24.04	30.20±9.04**△△	117.23±80.11	119.30±76.82	495.05±141.90*△△	156.75±48.06
肾 XF	181.29±90.03	553.90±257.93	484.33±306.71	1 180.24±141.37	1 357.30±491.58	530.65±170.00
XF-J	74.48±53.77	69.45±51.77*	83.70±39.04	1 041.00±238.64	1 121.90±293.16	313.85±91.80
XF-N	76.04±35.66	87.75±72.92*	84.36±28.23	963.05±109.19	1 095.10±391.80	263.60±152.81
XF-JN	52.67±15.48	61.54±30.60*	58.35±29.51	50.20±9.39***△△###	286.55±43.10*△△	127.00±33.94*△

组织 组别	柚皮苷质量分数/(ng·g ⁻¹)		
	10 min	30 min	60 min
脑 XF	159.95±47.08	201.75±63.90	199.25±56.22
XF-J	129.50±6.20	184.65±28.34	177.45±67.25
XF-N	140.75±13.00	153.35±26.92	145.45±26.20
XF-JN	141.15±9.75	168.85±40.95	156.05±21.12
心 XF	222.75±119.54	238.00±54.47	270.85±130.28
XF-J	154.75±25.56	190.00±68.11	171.05±37.91
XF-N	154.75±41.81	178.60±40.20	165.10±45.66
XF-JN	133.55±11.28	151.60±28.60	154.15±32.16
肺 XF	151.10±21.13	244.25±49.17	269.80±136.51
XF-J	147.40±36.58	250.40±35.30	150.65±15.13
XF-N	169.15±49.73	220.15±22.69	147.60±43.02
XF-JN	151.75±18.42	174.40±69.69	139.45±13.19
肝 XF	184.90±45.03	548.20±112.28	794.90±180.03
XF-J	228.65±69.06	536.50±129.55	269.15±94.71**
XF-N	185.05±39.82	492.30±61.71	217.80±44.67**
XF-JN	182.55±55.59	463.20±104.37	269.45±197.52*
肾 XF	182.60±43.12	858.80±110.91	302.80±71.09
XF-J	150.00±22.31	508.45±137.39*	142.05±14.19*
XF-N	141.10±21.04	476.00±83.10**	150.80±20.84*
XF-JN	172.95±56.91	154.85±28.86***△###	144.50±26.52*

与 XF 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与 XF-J 组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$; 与 XF-N 组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs XF group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$ vs XF-J group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs XF-N group.

3.3.2 羟基红花黄色素 A 在各组织中的浓度 如表 15 所示, 在肝组织中, ig 10 min 时, 与 XF-J 组相比, XF-N、XF-JN 组羟基红花黄色素 A 浓度显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$), XF-J 组浓度显著升高 ($P < 0.05$); 与 XF-J 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$)。ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与 XF-J 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$); 与 XF-N 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。在肾组织中,

ig 10 min 时, 与 XF 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$); ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.3.3 芍药苷在不同组织中的浓度 如表 15 所示, 在脑组织中, ig 30 min 时, 与 XF-J 组相比, XF-JN 组芍药苷浓度显著降低 ($P < 0.01$)。在肝组织中, 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$); 与 XF-J 组相比, XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。ig 60 min 时, 与 XF-J 组相比, XF-N 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。在肾组

织中, 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。

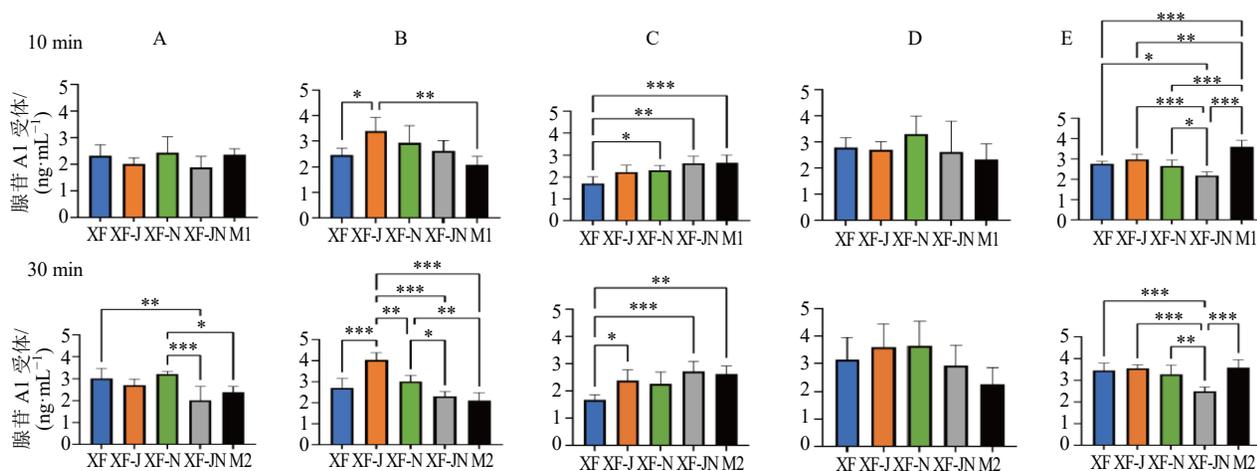
3.3.4 阿魏酸在不同组织中的浓度 如表 15 所示, 在脑组织中, ig 10 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组阿魏酸浓度显著降低 ($P < 0.01$)。ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.0001), 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$); ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$)。在心组织中, 10 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$)。ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。在肝组织中, ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$)。在肾组织中, ig 10 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$); 与 XF-N 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.001$)。ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.01$); ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$)。

3.3.5 柚皮苷在不同组织中的浓度 如表 15 所示, 在肝组织中, ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、

XF-N、XF-JN 组柚皮苷浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。在肾组织中, ig 30 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组浓度显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 与 XF-J 组相比, XF-JN 组柚皮苷浓度显著降低 ($P < 0.05$); 与 XF-N 组相比, XF-JN 组柚皮苷浓度显著降低 ($P < 0.01$)。ig 60 min 时, 与 XF 组相比, XF-J、XF-N、XF-JN 组柚皮苷浓度显著降低 ($P < 0.05$)。

3.4 受体表达结果

3.4.1 牛膝对腺苷 A1 受体表达的影响 如图 5 所示, 在脑组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF-N 组腺苷 A1 受体水平显著升高 ($P < 0.05$); 4 个给药组比较, XF 组显著高于 XF-JN 组 ($P < 0.01$), XF-N 组显著高于 XF-JN 组 ($P < 0.001$), 其中 XF-JN < XF-J < XF < XF-N。在心组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, XF-J 组显著升高 ($P < 0.01$); 4 个给药组比较, XF-J 组显著高于 XF 组 ($P < 0.05$), 其中 XF < XF-JN < XF-N < XF-J; ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF-J 组显著升高 ($P < 0.001$), XF-N 组显著升高 ($P < 0.01$); 4 个给药组比较, XF-J 组显著高于 XF 组 ($P < 0.001$)、XF-N 组 ($P < 0.01$) 和 XF-JN 组 ($P < 0.001$); XF-N 组显著高于 XF-JN 组 ($P < 0.05$), 其中 XF-JN < XF < XF-N < XF-J。在肝组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, 4 个给药组均升高; 4 个给药组比较 XF-JN < XF-J < XF < XF-N。ig 30 min 时, 与 M2 组相比, 4 个给药组均升高; 4 个给药组比较 XF-JN < XF < XF-J < XF-N。



A-脑; B-心; C-肺; D-肝; E-肾; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下图同。
A-brain; B-heart; C-lung; D-liver; E-kidney; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, same as below figures.

图 5 10、30 min 腺苷 A1 受体表达情况

Fig. 5 Expression of adenosine A1 receptor at 10, 30 min

3.4.2 牛膝对腺苷 P2Y₁₂ 受体表达的影响 如图 6 所示, 在脑组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, 4 个给药组腺苷 P2Y₁₂ 受体水平均升高; 4 个给药组比较 XF-J<XF-JN<XF<XF-N。在心组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF 组升高, 其他 3 个给药组降低; 4 个给药组比较 XF<XF-JN<XF-N<XF-J。在肾组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, XF-J 组升高, 其他 3 个给药组降低; 4 个给药组比较 XF<XF-N<XF-JN<XF-J。ig 30 min 时, XF-J 组升高, 其他 3 个给药组降低; 4 个给药组比较 XF-N<XF<XF-JN<XF-J。

3.4.3 牛膝对 PAF 表达的影响 如图 7 所示, 在脑组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF 组 PAF 水平显著降低 ($P<0.01$), XF-J 组显著降低 ($P<0.05$), XF-N 组显著降低 ($P<0.001$), XF-JN 组

显著降低 ($P<0.001$); 4 个给药组比较 XF-JN<XF-N<XF<XF-J。在心组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, XF 组显著降低 ($P<0.001$), XF-J 组显著降低 ($P<0.001$), XF-N 组显著降低 ($P<0.001$), XF-JN 组显著降低 ($P<0.001$)。4 个给药组比较 XF-N<XF-JN<XF<XF-J。ig 30 min 时, 与 M2 组相比, 心组织中 XF-N 组显著降低 ($P<0.01$), XF-JN 组显著降低 ($P<0.01$); 4 个给药组比较 XF-JN<XF-N<XF<XF-J。在肝组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF 组升高, 其他 3 个给药组降低; 4 个给药组比较 XF-JN<XF-N<XF-J<XF。在肾组织中, 30 min 时, 与 M2 组相比, XF-N 组 PAF 受体水平显著降低 ($P<0.05$), 其他 3 个给药组降低。4 个给药组比较, XF-N 组显著低于 XF-J 组 ($P<0.05$), 其中 XF-N<XF<XF-JN<XF-J。

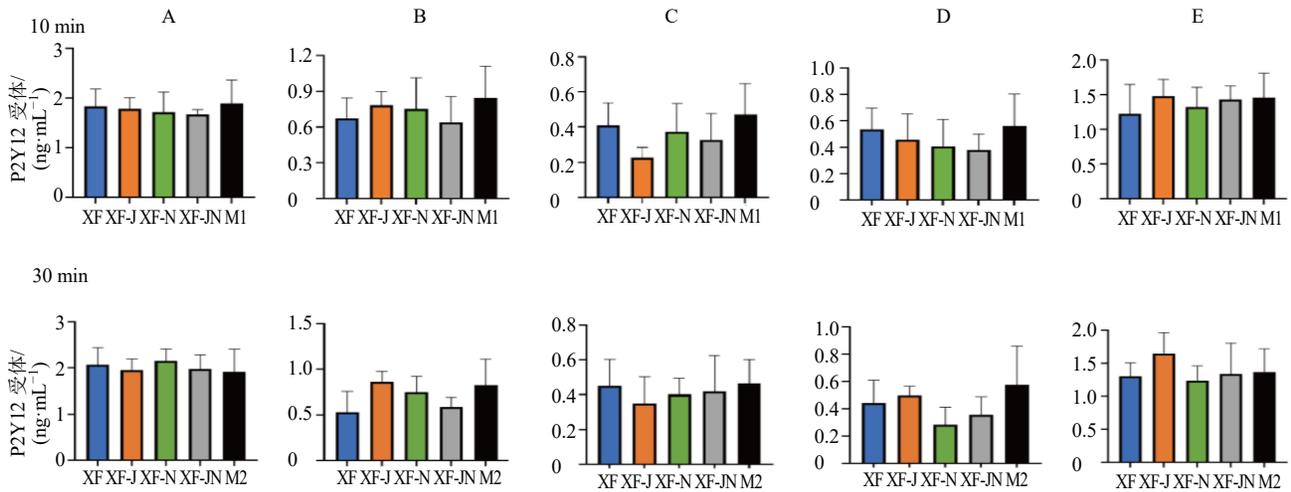


图 6 10、30 min P2Y₁₂ 受体表达情况

Fig. 6 Expression of P2Y₁₂ receptor at 10, 30 min

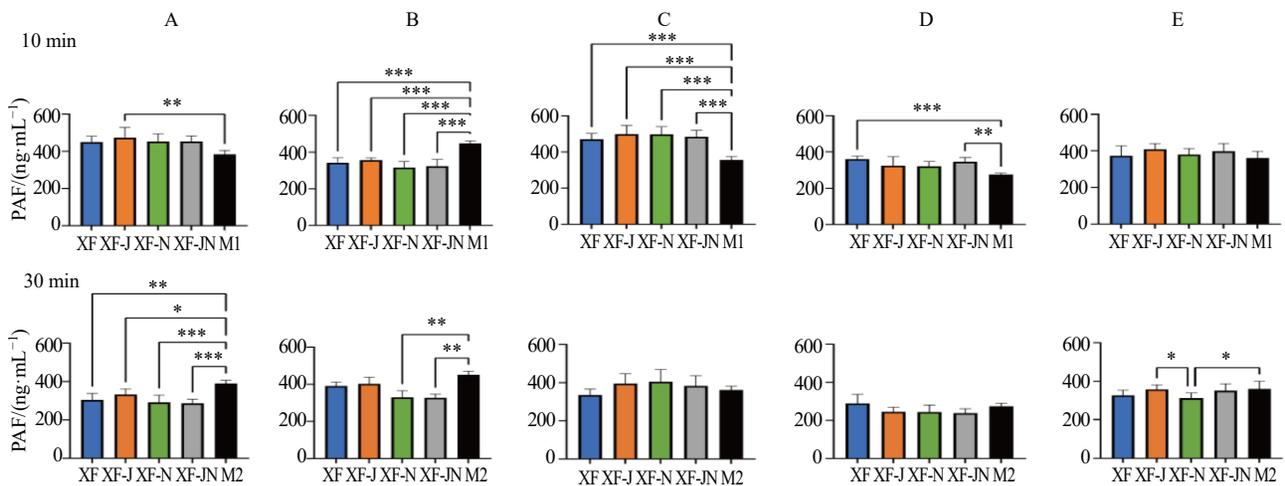


图 7 10、30 min PAF 表达情况

Fig. 7 Expression of PAF at 10, 30 min

3.4.4 牛膝对内皮素 A 受体表达的影响 如图 8 所示, 在脑组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, 4 个给药组内皮素 A 受体水平均降低。4 个给药组比较 XF-N<XF<XF-J<XF-JN; ig 30 min 时, 与 M2 组相比, 4 个给药组内皮素 A 受体均降低; 4 个给药组比较 XF<XF-N<XF-JN<XF-J。在心组织中, ig 10 min 时, 与 M1 组相比, 4 个给药组均降低; 4 个

给药组比较 XF-N<XF-JN<XF-J<XF; ig 30 min 时, 与 M2 组相比, 4 个给药组均降低; 4 个给药组比较 XF-JN<XF-N<XF-J<XF。在肺组织中, ig 30 min 时, 与 M2 组相比, XF-N 组和 XF-JN 组升高, XF 组和 XF-J 组降低; 4 个给药组比较, XF-J 组显著低于 XF-JN 组 ($P<0.05$), 其中 XF-J<XF<XF-N<XF-JN。

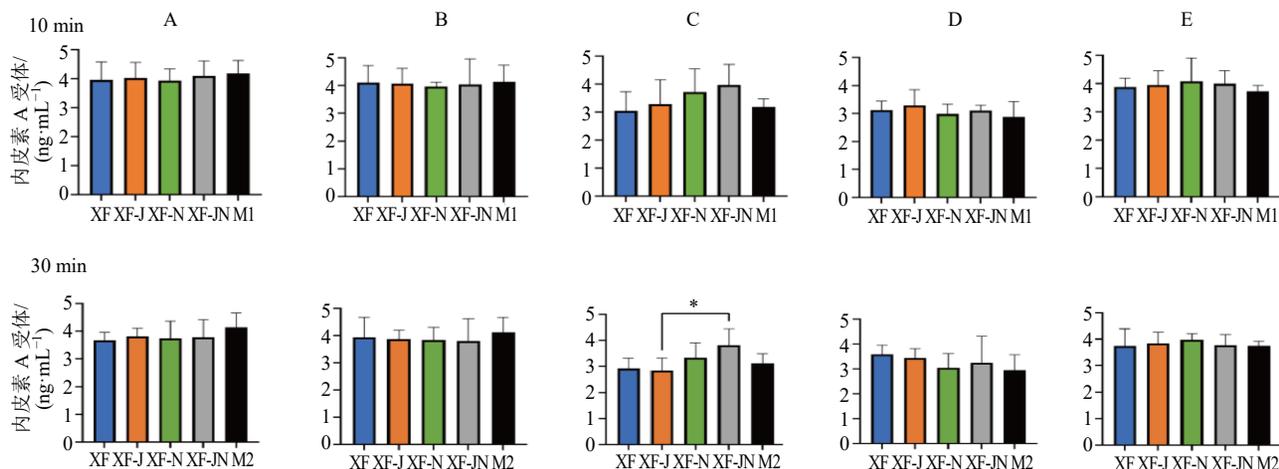


图 8 10、30 min 内皮素 A 受体表达情况

Fig. 8 Expression of endothelin A receptor at 10, 30 min

以上结果表明, 配伍牛膝能降低血府逐瘀汤中苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、柚皮苷在模型大鼠体内的血浆蛋白结合率, 同时增加苦杏仁苷、芍药苷在大鼠脑、肝中的分布, 羟基红花黄色素 A 在肝、肾中的分布, 阿魏酸在脑、心、肝、肾中的分布, 柚皮苷在肝、肾中的分布; 并且增加脑、心、肝中腺苷 A1 受体和脑、心、肾中 P2Y12 受体含量, 降低脑、心、肝、肾中 PAF 和脑、心、肺中内皮素 A 受体含量。

4 讨论

本研究从复方有效物质的“分布-效应”差异角度探究牛膝的引经机制。研究药物体内分布需要针对具体的脏器组织中的药物浓度进行检测, 而脏器的选择参考了王清任的学术思想。王清任立法制方秉持“夫业医诊病, 当先明脏腑”的思想, 十分重视脏腑与人体解剖学部位的相应关系, 其创制的五逐瘀汤外以头面四肢、内以膈膜为界区分人体部位, 配伍不同的药物, 治疗不同部位的血瘀证, 故本研究选择横膈膜以上的脑、心、肺作为上焦器官; 本课题组前期研究发现, 桔梗和牛膝能增加芍药苷在肝脏的浓度, 且肝主疏泄的功能与活血化瘀作用密切相关^[13]; 此外, “下焦如渎”, 肾通过气化作用

主司全身水液代谢与二便排泄, 是“渎道”通畅的动力源泉, 故选择肝、肾作为下焦器官。

桃仁中的苦杏仁苷能改善微循环、调血脂、抗脑缺血、抗动脉粥样硬化^[14]。红花中羟基红花黄色素 A 能抗凝血、抗血栓、抑制心肌细胞凋亡、促进血管生成^[15-16]。赤芍中芍药苷能抗动脉粥样硬化、抗血栓、减轻心肌缺血再灌注损伤、减轻血脂异常^[17-18]。当归和川芎中阿魏酸能抗血小板聚集、保护血管内皮细胞^[19]。枳壳中柚皮苷能抗动脉粥样硬化、抗心肌梗死、降血压、改善肺动脉高压^[20]。这 5 个成分的药理作用均与活血化瘀相关, 在各自药物中含量高, 为《中国药典》2025 年版中药材质量控制的含量测定指标成分, 易测得, 且前期研究也已测得; 其性质稳定, 是高效液相色谱检测所必须的, 故选为检测指标成分。

芍药苷可通过激活腺苷 A1 受体促进斑马鱼及人脐静脉内皮细胞血管新生^[21]。羟基红花黄色素 A 可拮抗 PAF 与血小板膜上受体结合, 从而抑制血小板激活^[22]。阿魏酸可拮抗内皮素 1 与内皮素 A 受体结合, 改善血管收缩、血压升高^[23-24]。柚皮素能作用于 P2Y12 介导的信号通路而抑制血小板聚集^[25]。这些受体与活血化瘀药效相关, 且是各成分的作用

靶点,可检测性强,故选为观察指标。

指标成分的代谢产物在一定程度上会影响组织分布的实验结果,例如,苦杏仁苷 ig 后主要被肠道菌群 β -葡萄糖苷酶代谢为野黑樱苷,并进一步水解为氢氰酸^[26]。本研究在对模型大鼠进行血府逐瘀汤灌胃后在肺、肝、肾组织中检测到苦杏仁苷,这一现象出现的原因可能有:复方环境可能影响药物成分的药动学,血府逐瘀汤中黄酮类药物成分可能抑制肠道 β -葡萄糖苷酶活性,减少苦杏仁苷水解;其次,复方加强吸收途径的多样性,血府逐瘀汤中的皂苷类成分(如桔梗皂苷、柴胡皂苷)是表面活性剂,可以增加细胞膜的通透性,促进苦杏仁苷的被动扩散吸收^[27]。因此,在相应组织中检测出指标成分原型是复方多成分互作与组织特异性蓄积共同作用的结果,这些在单味药研究中不会出现的机制,恰恰是复方研究需要进一步去探讨的价值。

本课题组前期研究已测得血府逐瘀汤中各指标成分在大鼠血浆中达最大浓度的时间段,预实验进一步分别于各成分在血浆中达峰时间(t_{max})的周围时间点取材检测,结果提示 ig 10 min 大多数成分处于吸收相,ig 30 min 各成分处于分布相,且 ig 30 min 时各成分血浆中含量较高,更容易测得。2 个时间点的血浆蛋白结合率进行比较,阿魏酸、柚皮苷从 10 min(吸收相)到 30 min(分布相)结合率降低,提示牛膝在 30 min 时抑制其与血浆蛋白结合的作用更显著,血浆中游离药物分子的浓度应更大。组织分布实验显示,30 min 时阿魏酸在脑、心、肝、肾组织中的含量显著升高、柚皮苷在肾组织中的含量显著升高。二者结果趋势相符,存在因果关联,为牛膝的“引经”作用提供了潜在依据。

本研究结果显示,与配伍桔梗和牛膝或配伍桔梗比较,配伍牛膝在降低苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、芍药苷、柚皮苷血浆蛋白结合率及增加苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A 在肝中含量,阿魏酸在脑、心中含量,柚皮苷在肾中含量的同时,更能降低肝中 PAF 含量,脑、心中内皮素 A 受体含量,增加肾中 P2Y12 受体含量。这提示牛膝不仅促进指标成分在下焦肝、肾的集中分布,还促进药物有效成分在上焦心、脑的富集。上焦与下焦并非孤立存在,而是在气机升降、阴阳相交、水火互济中构成一个动态平衡的整体。谭滢等^[28]提出的治疗肺癌胸腔积液,构建“温肾-通三焦-治肺”的辨治思路,正是从上病下治的角度印证了这种密切联系。牛膝促进指

标成分在上下焦双向分布不仅符合其“引血下行”功能,也反映了其对全身气血升降的调节作用,旨在恢复上下焦之间的功能平衡。正如《医学衷中参西录》所言“然《名医别录》又谓其除脑中痛,时珍又谓其治口疮齿痛者何也?……重用牛膝引其气血下行,并能引其浮越之火下行,是以能愈也。”牛膝通过引上逆之气血下行,恢复上焦气机的清肃,使药力抵达病所,这与本研究中牛膝促进成分在上焦富集的结果相契合,说明其可能通过调节上下焦的气血流通,实现治疗作用。

综上,血府逐瘀汤中牛膝能通过降低苦杏仁苷、羟基红花黄色素 A、阿魏酸、柚皮苷在气滞血瘀证 MAFLD 大鼠体内的血浆蛋白结合率,升高血浆中游离的各指标成分的浓度,进而增加其在对应组织中的含量,促进各成分作用于相应受体,最终导致各受体在各组织中表达增强或减弱,协同发挥治疗血瘀证的作用,这可能是牛膝发挥引经作用的机制之一。本研究为揭示“药物归经”理论科学内涵提供更深入的证据,下一步实验可探究牛膝通过哪些分子信号通路直接影响成分的游离浓度及受体活性,进一步完善引经作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Guo X Y, Yin X Z, Liu Z J, *et al.* Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 15489.
- [2] Younossi Z, Anstee Q M, Marietti M, *et al.* Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(1): 11-20.
- [3] Cui S J, Ye J. MAFLD: A ferroptotic disease [J]. *Trends Mol Med*, 2025, doi: 10.1016/j.molmed.2025.08.006.
- [4] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 非酒精性脂肪性肝病中西医结合诊疗专家共识 (2025 年) [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2025, 33(4): 339-350.
- [5] 张颖, 谈燕清, 刘杰, 等. 青钱柳总三萜通过调节 FXR 介导的胆汁酸和脂质代谢途径改善高脂饮食诱导的小鼠代谢相关脂肪性肝病 [J]. *中草药*, 2026, 57(3): 949-967.
- [6] 杨会珍. 血府逐瘀汤调节慢性气滞血瘀大鼠模型的物质基础研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [7] 范建高, 徐小元, 南月敏, 等. 代谢相关(非酒精性)脂肪性肝病防治指南 (2024 年版) [J]. *实用肝脏病杂志*, 2024, 27(4): 494-510.

- [8] 高艳艳, 薛茹云, 徐芳莹, 等. 茵陈蒿汤成分配伍对高脂诱导小鼠代谢相关脂肪性肝病的治疗作用 [J/OL]. 浙江大学学报: 医学版, (2025-11-19) [2025-11-28]. <https://link.cnki.net/urlid/33.1248.R.20251118.1738.002>.
- [9] 刘楠, 姜云耀, 李莹, 等. 气滞血瘀证动物模型研究现状 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(1): 217-226.
- [10] 梅姗姗, 黄苗苗, 黄楚莹, 等. 基于代谢组学及肠道菌群的水蛭治疗气滞血瘀证大鼠作用机制探究 [J]. 中国现代中药, 2025, 27(5): 878-889.
- [11] 郭文鹤, 黄娜娜, 张晓亮, 等. 动脉粥样硬化(气滞血瘀证)病证结合大鼠模型的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 32-41.
- [12] 陈思琦, 刘德鸿, 黄东, 等. 超滤法结合高效液相色谱法测定积实中两个生物碱在不同种属生物中的血浆蛋白结合率 [J]. 中国药学杂志, 2023, 58(15): 1410-1415.
- [13] 董靓, 陈伶俐, 李杰. 从“血道由肝”理论探析动脉粥样硬化的病机与治疗 [J]. 北京中医药大学学报, 2025, 48(7): 966-972.
- [14] 张德珂, 聂金娥, 钱芳芳. 中药苦杏仁药理作用研究进展 [J]. 山东化工, 2021, 50(22): 100-102.
- [15] 牛芬溪, 刘悦, 刘雅楠, 等. 羟基红花黄色素 A 的药理作用及研究进展 [J]. 中国药学杂志, 2021, 56(17): 1372-1377.
- [16] 李秀阳, 张天资. 羟基红花黄色素 A 的临床药理研究进展 [J]. 中国现代医药杂志, 2025, 27(5): 36-42.
- [17] 刘平, 赵俊超, 李日光. 芍药苷药理作用及其机制研究进展 [J]. 中医药导报, 2023, 29(8): 84-88.
- [18] 陈园, 杜利新, 李涛, 等. 芍药苷对心血管疾病的药理作用及其新型药物制剂的研究进展 [J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(7): 1394-1400.
- [19] 唐潇潇, 温伟烜, 李佳乐, 等. 阿魏酸药理活性研究进展 [J]. 广州化工, 2024, 52(6): 22-25.
- [20] 刘丹, 苗加伟, 谭子豪, 等. 柚皮苷对心血管疾病的药理作用研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2025, 30(2): 272-281.
- [21] 信琪琪. 基于腺苷 A₁ 受体探讨芍药苷促血管新生作用 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [22] 臧宝霞, 金鸣, 司南, 等. 羟基红花黄色素 A 对血小板活化因子的拮抗作用 [J]. 药学学报, 2002, 37(9): 696-699.
- [23] 黄瑾, 胡晋红, 朱全刚. 阿魏酸及其衍生物的药理作用 [J]. 中药材, 2001, 24(7): 522-526.
- [24] 刘彦茹. 阿魏酸钠对冠心病的疗效及对血管内皮功能的保护作用分析 [J]. 当代临床医刊, 2022, 35(3): 10-11.
- [25] 黄曼婷. 柚皮素通过 P2Y₁₂ 受体信号通路抑制血小板活性和动脉血栓形成 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.
- [26] Wen Q Y, Yu S, Wang S S, *et al.* Impact of intestinal microbiota on metabolic toxicity and potential detoxification of amygdalin [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 1030516.
- [27] 王炯文, 季笑遥, 陈可禧, 等. 皂苷表面活性剂在药物递送系统中的研究进展 [J]. 药学研究, 2024, 43(8): 793-797.
- [28] 谭滢, 韩宝瑾, 钟毅薇, 等. 基于湿浊三焦传变探讨肺癌胸腔积液的治疗思路 [J]. 中医杂志, 2025, 66(21): 2287-2291.

[责任编辑 李亚楠]