



中南药 学

ZHONGNAN YAOXUE

月刊 2003 年 4 月创刊 第 23 卷 第 10 期 (总第 237 期) 2025 年 10 月 20 日出版

顾问

周宏灏

主编

李焕德

编辑部主任

邬志娟

主管单位

湖南省科学技术协会

主办单位

湖南省药学会

编辑: 中南药 学编辑委员会

地址: 长沙市人民中路 139 号中南
大学湘雅二医院内

出版: 《中南药 学》编辑部

发行: 湖南省报刊发行局

印刷: 长沙昌龙印刷有限公司

订阅: 全国各地邮局

定价: 每期 30.00 元, 全年 360.00 元

邮编: 410011

电话: (0731) 84895602/82258487

邮发代号: 42-290

投稿网址: <http://znyx.cbpt.cnki.net>

email: znyxzz2003@vip.163.com

中国标准连续出版物号

ISSN 1672-2981

CN43-1408/R

2025 年版权归《中南药 学》

编辑部所有

目 次

论 著

- (2803) 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的参芪复脉颗粒体内成分研究
..... 李安祁, 霍金海, 李秀伟, 等
- (2814) 基于 Box-Behnken 设计 - 响应面法优选解毒复正煮散提取工艺及指
纹图谱研究 柳子扬, 苏倩榕, 黄金伟, 等
- (2821) 7, 8-二羟基黄酮对癫痫小鼠神经损伤的改善作用及其作用机制研究
..... 符妙颖, 张海菊, 牛萍, 等
- (2828) 基于 Notch 信号通路探讨匝迪 -5 味丸治疗卒中后抑郁的作用机制
..... 苏佳辉, 杨宏昕, 戴立波
- (2837) 甲氧基聚乙二醇氨基 - 苯硼酸 - 迷迭香酸的制备及其初步抗肿瘤活性
研究 梁思怡, 李今璐, 王诚项, 等
- (2843) 冬凌草甲素预防给药对乌头碱诱发的大鼠室性心律失常的影响
..... 强文娟, 马婷, 许正新
- (2850) 黄精复方口服液的提取工艺及抗疲劳作用研究
..... 王蕊蕊, 谷亮亮, 周芊芊, 等
- (2857) HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地杨桃根药材质量
..... 韦彩薇, 刘舒凌, 邓纭宁, 等
- (2864) 基于多成分质量控制的加味四逆散颗粒的制备工艺研究
..... 白妮, 杨振萍, 呼延杰, 等
- (2870) 顶空 - 气相色谱质谱联用法结合电子眼技术鉴别陈皮 (樟头红) 研究
..... 王佳义, 钟卫红, 肖勇, 等
- (2878) 新型黄酮类衍生物的设计、合成及其抗卵巢癌作用机制研究
..... 冯光凌, 王艺蒙, 何香凝, 等
- (2884) 还原响应型载药纳米粒的处方筛选及质量评价研究
..... 朱峰, 傅超婷, 叶香伶, 等
- (2891) 大山楂颗粒高效液相色谱指纹图谱的建立及药理作用研究
..... 华威, 张桦文, 吴方, 等
- (2898) 柴胡提取物通过抑制细胞焦亡执行蛋白 Gasdermin D 依赖的细胞焦亡
减轻非酒精性脂肪性肝炎的作用研究 马田, 杨婷, 蔡淳洲, 等
- (2904) 乌帕替尼缓释片的制备及其体外释放研究
..... 周文俊, 刘肖肖, 程晓佳, 等
- (2909) 连花清菲代用茶对上火合并口腔溃疡大鼠的治疗作用及抗氧化应激
机制 刘可, 彭冬冬, 唐梓宁, 等
- (2915) 超高效液相色谱法测定丙戊酸钠血药浓度的优化
..... 李发双, 李惠英, 宗静, 等
- (2921) 基于代谢组学探讨芍药苷对高原低氧暴露肠损伤代谢物的影响
..... 秦震, 陈杰, 蒲玲玲, 等

《中南药学》杂志第六届编委会

主编

李焕德

副主编（排名不分先后）

陈卫东 刘 韶 苏薇薇 孙国祥

向大雄 颜 苗 阳国平 原永芳

张毕奎 赵志刚 左笑丛

常务编委（排名不分先后）

曹 玲 常福厚 巢志茂 董亚琳

范国荣 冯 星 傅 强 谷福根

姜德建 蒋孟良 金鹏飞 李文莉

刘塔斯 刘雁鸣 孟宪生 彭文兴

孙 进 孙铁民 汤海峰 王 玉

王 峰 魏高文 杨 波 余自成

肇丽梅 朱运贵

编委（排名不分先后）

边 原 卞晓岚 蔡骅琳 蔡天革

蔡 宇 陈 力 陈 琦 陈勇川

邓 晟 邓远雄 丁 骁 董得时

杜恩明 方平飞 高会乐 高利臣

宫 建 郭怀忠 郭 韧 郭 智

韩立峰 韩晓鹏 何 丹 何江江

何 艳 贺 敏 呼庆勋 胡汉昆

胡 楠 黄 芳 黄 勋 季 波

贾素洁 江俊麟 江 沛 姜 敏

姜志平 蒋德旗 蒋利和 金 锐

孔维军 劳海燕 黎 敏 李健和

李 娟 李文龙 李湘平 李 昕

李新刚 廖德华 刘高峰 刘剑敏

刘丽华 刘梦扬 刘 娜 刘文虎

刘新义 刘秀菊 刘艺平 刘应蛟

刘玉峰 龙明辉 娄月芬 卢海儒

鲁 虹 罗 聪 麻兵继 马恩龙

梅升辉 蒙光义 欧阳波 彭向东

秦红岩 秦绪军 史志华 舒 畅

隋 峰 孙丙军 孙 逸 覃 丽

唐 芳 田雪松 王朝辉 王春江

王 刚 王 洪 王立辉 王永军

温金华 夏道宗 肖贵南 肖 雪

（2928）HPLC 特征图谱结合熵权 TOPSIS 法的枳壳及其易混淆品质量差异研究 何健，郑舒宁，曹晖，等

（2934）二维液相色谱法联合瓶内处理技术测定丙戊酸血药浓度在个体化用药中的应用 田春艳，苏怡，陈曦，等

（2941）两种基原扶芳藤药材的薄层色谱鉴别和高效液相色谱指纹图谱建立及化学模式识别分析 杨珍珍，刘婧曦，郝二伟，等

药物分析与检验

（2948）西甲硅油中 9 种元素杂质的测定及风险评估 周颖，蒋贇，李昌亮，等

（2952）蜈蚣中 5 种重金属及有害元素的测定及风险评估 江驾，周坚，韦红言，等

（2957）高效液相色谱法测定多种滴眼液中辅料依地酸二钠的含量 陈蓉，郭彬，马冬阳

（2962）高效液相色谱双波长法测定溴夫定片中的有关物质 许祚芝，黄翠苹，张继新，等

（2967）注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量的高效液相色谱 - 荧光检测器检测方法的建立与验证 邵昭慧，陈慧宁，邵天舒，等

（2971）基于 HPLC 特征图谱的五加皮和三加皮药材鉴别研究 熊菲，倪倩，孙彦敏，等

综述

（2976）柑橘果皮中多甲氧基黄酮类成分的药理作用研究进展 杨芯瑜，张硕，王晨，等

（2983）中药调控 MAPK 信号通路治疗特应性皮炎的研究进展 董宵汗，张译丹，安月鹏，等

（2990）硬尖神香草化学成分及药理活性的研究进展 王盼盼，兰诗琦，阿依达娜·沃坦，等

（2999）寡核苷酸药物非临床生殖发育毒性研究综述 鲁静，王亚文，雷智琦，等

（3009）中药治疗化疗相关性腹泻作用机制的研究进展 董洋，张路帆，张亚薇，等

（3015）天然多糖在抑郁症中的治疗作用及其机制的研究进展 温敏，张珂璇，姚梦圆，等

（3023）淫羊藿苷改善肾损伤的药理作用研究进展与物质基础探讨 王宁豫，陈西敬，赵娣

（3030）可溶性鸟苷酸环化酶激动剂在慢性肾脏病中的研究进展 李静，吴方园，曹生田，等

本草考证

（3039）古代经典名方中茵陈的本草考证 张秀娟，孙晖，王超众，等

药物与临床

（3045）三种唑类药物在造血干细胞移植后侵袭性真菌病一级预防中的单中心疗效分析 张雅卓，李蕴劼，顾秋晨，等

肖轶雯 谢 诚 徐必学 徐华丽
徐 萍 徐 珽 杨树龙 杨献文
杨星钢 杨志平 叶喜德 于海洋
袁 成 张程亮 张纯刚 张 峻
张 俐 章越凡 赵 娣 赵立波
赵 亮 赵龙山 赵 昕 郑杭生
周 权 朱荣华 邹振兴

青年编委（排名不分先后）

蔡 明 柴玉娜 陈富超 陈国宁
陈 凯 陈 璐 陈 倩 陈滔彬
程 军 戴立波 董德刚 杜群群
樊启猛 方 玲 方伟进 龚力民
杭永付 侯志飞 黄亚辉 贾王平
姜 雷 姜琪坤 蒋跃平 寇龙发
兰丽丽 黎 赛 黎 苏 李 丹
李三望 李语玲 厉彦翔 梁光平
廖文婷 刘 畅 刘 检 刘天龙
刘心如 刘雅婷 刘怡曼 刘震营
柳 芳 柳鹏程 龙建飞 秦 超
秦崇臻 邱玉玲 邵莹莹 沈秉正
宋开超 苏 丹 孙孟驰 孙万阳
谭国欣 王 淳 王丽明 王莉宁
王 娜 王胜峰 王 玮 王一男
王悦全 魏 博 吴成军 吴晓毅
肖朝江 谢悦良 徐 建 徐 硕
徐文峰 徐 艺 寻延滨 尹双双
于世慧 张 弘 张洪财 张妙红
张 凭 张 倩 张永杰 周凌云
周志旭 朱 岚 朱志红

编辑：郭志娟 彭金飞 李 科
陆窃窃

本刊声明：

本刊已入编中国知网、万方等数据库，其收录论文作者著作权使用费与本刊稿酬一并支付。凡不同意编入数据库的稿件，请在来稿时声明。

除非特别声明，本刊刊出的所有文章不代表本刊编委会的观点。

药事管理

（3050）药物临床试验现场核查常见问题分析及建议

..... 喻亮宇，管志美，李璟兮，等

（3054）药品集中带量采购政策对某院降脂药物使用的影响分析

..... 王思斯，邓晟，刘韶

（3061）分布式病区智能药柜系统在医院药学服务中的 SWOT 分析与应用策略研究 - 以某医院为例

杨学斌，刘媛媛，孔德元，等

临床药师在临床

（3066）ICIs 治疗后银屑病再发患者的药学监护及文献复习

..... 赵新才，王永刚，杨莉，等

（3071）塞来昔布致类风湿关节炎患者急性肝损伤 1 例及药学监护

..... 韩进彩，史光伟，刘舒怡，等

中药与临床

（3077）基于中药药物警戒思想浅析含汞矿物药毒性与药学服务思考

..... 王倩，陈云，邹葭霜，等

医院药学

（3083）2016—2024 年国家医保谈判药品目录变化及我院谈判药品使用情况分析

孙惠斌，张慧芝，张颖，等

（3088）子宫内膜异位症保守性手术后 3 种预防复发药物的成本 - 效用分析

..... 陈遥，蒋军，夏宗玲

药学教育

（3094）网络教学模式改革探索：以《中药炮制学》课程为例

..... 侯玉姣，兰卫，孔维军，等

（3097）基于成果导向教育理念的循环管理体系在临床药师培训中的应用

..... 杨瑞，阎敏，王萍，等

药品不良反应

（3102）误服高锰酸钾中毒 1 例并文献分析..... 黎超，寻权，黄燕青，等

（3106）基于 FAERS 数据库的仑卡奈单抗安全警戒信号挖掘与分析

..... 刘小林，龚婧如，陈阳，等

（3111）1 例头孢曲松导致Ⅱ型库尼斯综合征的案例分析

..... 罗奕，龙海蕾，郭江，等

（3114）替雷利珠单抗注射液致乳腺癌患者全身免疫反应 1 例

..... 李立，卢丹丹，王彩虹，等

（3117）1 例来曲唑片导致的迟发性皮肤不良反应与药物重整分析

..... 王忠江，黄怡涵，王欢，等

（3122）苯磺酸瑞马唑仑致严重过敏反应病例分析并文献复习

..... 刘欣，毛艳梅，鲁虹

（3126）安罗替尼致周围神经损伤合并手足综合征 1 例病例分析

..... 赵永军，贾东丽

[本刊基本参数] CN43-1408/R*2003*m*A4*326*zh*P*30.0*700*54*2025-10

本期责任编辑：陆窃窃，彭金飞，郭志娟，李科

英文编辑：周静

CENTRAL SOUTH PHARMACY

Monthly Founded in April 2003 Volume 23, Number 10 October 20 2025

Consultant

ZHOU Hong-hao

Editor-in-Chief

LI Huan-de

Chief of Editorial Department

WU Zhi-juan

Directed by

Hunan Association for Science and
Technology

Edited by

Editorial Board of Central South
Pharmacy (139 Middle Renmin
Road, Changsha, China)

Tel

(0731) 84895602/82258487

Website of Authors

<http://znyx.cbpt.cnki.net>

Email

znyxzz2003@vip.163.com

Postal code

42-290

Publish

Editorial Department of Central
South Pharmacy

Subscribe

Post office nationwide for
subscription please contact the
Publishing House of our journal

CONTENTS IN BRIEF

- (2803) Chemical components and blood components in Shenqi Fumai granules based on UPLC-Q-TOF-MS
..... *LI An-qi, HUO Jin-hai, LI Xiu-wei, et al*
- (2814) Optimization of extraction of Jiedu Fuzheng powder decoction and fingerprints based on Box-Behnken design-response surface methodology
..... *LIU Zi-yang, SU Qian-rong, HUANG Jin-wei, et al*
- (2822) Effect of 7, 8-dihydroxyflavone on the nerve injury in epileptic mice and its related mechanism
..... *FU Miao-ying, ZHANG Hai-ju, NIU Ping, et al*
- (2828) Mechanism of Zadi-5 pills for post-stroke depression based on Notch signaling pathway..... *SU Jia-hui, YANG Hong-xin, DAI Li-bo*
- (2837) Preparation of methoxy polyethylene glycol amino-phenylboronic acid-rosemary acid and its preliminary antitumor activity
..... *LIANG Si-yi, LI Jin-lu, WANG Cheng-xiang, et al*
- (2843) Effect of oridonin prophylactic administration on aconitine-induced ventricular arrhythmia in rats
..... *QIANG Wen-juan, MA Ting, XU Zheng-xin*
- (2850) Extraction process and anti-fatigue effect of Polygonatum compound oral liquid
..... *WANG Rui-rui, GU Liang-liang, ZHOU Qian-qian, et al*
- (2857) Quality evaluation of *Averrhoa carambola* L. root from different origins by HPLC fingerprint combined with chemometrics
..... *WEI Caiwei, LIU Shuling, DENG Yunning, et al*
- (2864) Preparation of Jiawei Sinisan granules based on multi-component quality control *BAI Ni, YANG Zhen-ping, HU Yan-jie, et al*
- (2870) Variety identification of dried *Citrus reticulata* 'Zhangshuensis' based on HS-GC-MS and electronic eye technology
..... *WANG Jia-yi, ZHONG Wei-hong, XIAO Yong, et al*
- (2878) Design, synthesis and anti-ovarian cancer mechanism of novel flavonoid derivatives
..... *FENG Guang-ling, WANG Yi-meng, HE Xiang-ning, et al*
- (2884) Formula optimization and characterization of reduction-responsive nanoparticles for drug delivery
..... *ZHU Feng, FU Chao-ting, YE Xiang-ling, et al*
- (2891) HPLC fingerprint and pharmacological effect of Dashanzha granules
..... *HUA Wei, ZHANG Hua-wen, WU Fang, et al*
- (2898) Effect of Bupleurum root extract on alleviating non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting Gasdermin D-dependent pyroptosis
..... *MA Tian, YANG Ting, CAI Chun-zhou, et al*

Price

¥ 30.00 an issue

¥ 360.00 a year

CSSN

ISSN 1672-2981

CN43-1408/R

Copyright 2025 by the
Central South Pharmacy

All articles published represent the
opinions of the authors, do not reflect
the official policy of the Editorial
Board, unless this is clearly specified.

- (2904) Preparation and in vitro release of upadacitinib sustained-release tablets
..... ZHOU Wen-jun, LIU Xiao-xiao, CHENG Xiao-jia, et al
- (2909) Effect of Lianhua Qingfei tea on oral ulcer combined with excessive internal
heat in rats and its anti-oxidative stress mechanism
..... LIU Ke, PENG Dong-dong, TANG Zi-ning, et al
- (2915) Optimization of UPLC for the determination of valproate acid serum
concentration LI Fa-shuang, LI Hui-ying, ZONG Jing, et al
- (2921) Effect of paeoniflorin on intestinal injury metabolites in hypobaric hypoxia
exposure based on metabolomics
..... QIN Zhen, CHEN Jie, PU Ling-ling, et al
- (2928) Quality difference between *Citrus aurantium* (Zhiqiao) and its confusing
products by HPLC characteristic chromatogram combined with entropy-
weighted TOPSIS HE Jian, ZHENG Shu-ning, CAO Hui, et al
- (2935) 2-Dimensional high liquid chromatography coupled with in-bottle technology
in the determination of valproic acid plasma concentration for precision medi-
cine TIAN Chun-yan, SU Yi, CHEN Xi, et al
- (2941) TLC identification and HPLC fingerprint of two original Fufangteng
medicinal materials and chemical pattern recognition
..... YANG Zhen-zhen, LIU Jing-xi, HAO Er-wei, et al
- (2948) Determination and risk assessment of 9 elemental impurities in simethicone
..... ZHOU Ying, JIANG Yun, LI Chang-liang, et al
- (2952) Determination of 5 heavy metals and harmful elements in scolopendra and
risk evaluation JIANG Yuan, ZHOU Jian, WEI Hong-yan, et al
- (2957) Content determination of excipient edetate disodium in different eye drops
by HPLC CHEN Rong, GUO Bin, MA Dong-yang
- (2962) Determination of related substances in brivudine tablets by HPLC dual
wavelength method
..... XU Zuo-zhi, HUANG Cui-ping, ZHANG Ji-xin, et al
- (2967) Development and verification of the content of residual polysorbate 80 in
recombinant coagulation factor VIII for injection by HPLC coupled with
fluorescence detector
..... GAO Zhao-hui, CHEN Hui-ning, SHAO Tian-shu, et al
- (2971) Identification of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum* based
on HPLC characteristic chromatogram
..... XIONG Fei, NI Qian, SUN Yan-min, et al
- (2976) Pharmacological effect of polymethoxyflavone in citrus fruit peels
..... YANG Xin-yu, ZHANG Shuo, WANG Chen, et al
- (2983) Progress in Chinese medicine regulating MAPK signaling pathway for
atopic dermatitis
..... DONG Xiao-han, ZHANG Yi-dan, AN Yue-peng, et al
- (2990) Progress in chemical compositions and pharmacological study of *Hyssopus*
cuspidatus Boriss.
..... WANG Pan-pan, LAN Shi-qi, Ayidana • Wotan, et al
- (2999) Non-clinical developmental and reproductive toxicology assessment of
oligonucleotide therapeutics
..... LU Jing, WANG Ya-wen, LEI Zhi-qi, et al
- (3009) Research progress in the mechanism of action of traditional Chinese medicine
for chemotherapy-induced diarrhea
..... DONG Yang, ZHANG Lu-fan, ZHANG Ya-wei, et al

- (3015) Therapeutic effect of natural polysaccharides on depression and related mechanism WEN Min, ZHANG Ke-xuan, YAO Meng-yuan, et al
- (3023) Pharmacology and material basis of icariin in ameliorating kidney injury WANG Ning-yu, CHEN Xi-jing, ZHAO Di
- (3030) Research progress in soluble guanylate cyclase agonists for chronic kidney disease LI Jing, WU Fang-yuan, CAO Sheng-tian, et al
- (3039) Herbal textual research on classic formulas of *Artemisia capillaris* ZHANG Xiu-juan, SUN Hui, WANG Chao-zhong, et al
- (3045) Efficacy of three triazoles in the primary prevention of invasive fungal diseases after hematopoietic stem cell transplantation: a single-center study ZHANG Ya-zhuo, LI Yun-jie, GU Qiu-chen, et al
- (3050) Common problems in on-site inspection of drug clinical trials YU Liang-yu, GUAN Zhi-mei, LI Jing-xi, et al
- (3054) Impact of the National Centralized Drug Procurement Policy on clinical use of cholesterol-lowering drugs in a tertiary hospital WANG Si-si, DENG Sheng, LIU Shao
- (3061) SWOT analysis and application strategy of on distributed intelligent medicine cabinet system in hospital pharmaceutical services YANG Xue-bin, LIU Yuan-yuan, KONG De-yuan, et al
- (3066) Pharmaceutical care for psoriasis recurrence in patients treated with immune checkpoint inhibitors and literature review ZHAO Xin-cai, WANG Yong-gang, YANG Li, et al
- (3071) Clinical pharmacist's involvement in the management of a severe adverse reaction of acute liver injury caused by celecoxib in a patient HAN Jin-cai, SHI Guang-wei, LIU Shu-yi, et al
- (3077) Toxicity of mercury-containing mineral medicines and reflections on pharmaceutical care based on the pharmacovigilance philosophy in traditional Chinese medicine WANG Qian, CHEN Yun, ZOU Jia-shuang, et al
- (3083) Changes in the national negotiation drug catalog and consumption of negotiated drugs in a hospital from 2016 to 2024 SUN Hui-bin, ZHANG Hui-zhi, ZHANG Ying, et al
- (3088) Cost-utility of three drugs for preventing recurrence after conservative surgery for endometriosis CHEN Yao, JIANG Jun, XIA Zong-ling
- (3094) Reform of on-line teaching: the subject of *Traditional Chinese Medicine Processing* HOU Yu-jiao, LAN Wei, KONG Wei-jun, et al
- (3106) Signals mining and analysis of adverse drug reactions of lecanemab based on FAERS LIU Xiao-lin, GONG Jing-ru, CHEN Yang, et al

论著

基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的参芪复脉颗粒体内外成分研究

李安祁, 霍金海, 李秀伟, 王一安, 孙国东, 薛佳奇*, 王伟明* (黑龙江省中医药科学院, 哈尔滨 150036)

摘要: **目的** 分析参芪复脉颗粒化学成分及入血成分, 阐明其可能的药效物质基础。**方法** 采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术和 Peakview 2.0 软件对参芪复脉颗粒进行数据采集和处理, 结合保留时间、相对分子质量、二级质谱碎片以及对照品二级质谱库分析鉴定参芪复脉颗粒的体内外成分。**结果** 从参芪复脉颗粒中共鉴定出 118 个化学成分, 其中包括木脂素类 19 个、黄酮类 27 个、有机酸类 8 个、三萜皂苷类 29 个、甾体皂苷 7 个、氨基酸类 2 个、脂肪酸类 4 个、生物碱 2 个、三萜类 3 个、维生素 1 个、三萜酸类 1 个、脂肪醇 1 个、其他类 14 个, 从灌胃后的小鼠血清中推测出 33 个入血原形成分。**结论** 本研究运用 UPLC-Q-TOF-MS 技术及中药血清药物化学方法, 分析了参芪复脉颗粒的化学成分及入血成分, 初步探究了其可能的药效物质基础, 可为参芪复脉颗粒的进一步开发利用提供参考依据。

关键词: 参芪复脉颗粒; 化学成分; 入血成分; UPLC-Q-TOF-MS

中图分类号: R285, R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2803-11
doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.001

Chemical components and blood components in Shenqi Fumai granules based on UPLC-Q-TOF-MS

LI An-qi, HUO Jin-hai, LI Xiu-wei, WANG Yi-an, SUN Guo-dong, XUE Jia-qi*, WANG Wei-ming* (Heilongjiang Academy of Chinese Medicine Sciences, Harbin 150036)

Abstract: **Objective** To analyze the chemical components and blood components in Shenqi Fumai granules, and to elucidate their potential pharmacological material basis. **Methods** UPLC-Q-TOF-MS technology and Peakview 2.0 software were used for the data collection and processing of Shenqi Fumai granules. The components were identified via retention time, relative molecular mass, secondary mass spectrometry fragments, and secondary mass spectrometry library of reference substances. **Results** Totally 118 chemical components were identified from Shenqi Fumai granules, including 19 lignans, 27 flavonoids, 8 organic acids, 29 triterpenoid saponins, 7 steroidal saponins, 2 amino acids, 4 fatty acids, 2 alkaloids, 3 triterpenoids, 1 vitamin, 1 triterpene acid, 1 fatty alcohol and 14 other compounds. Totally 33 prototype blood components were inferred from the serum of mice after gavage. **Conclusion** UPLC-Q-TOF-MS technology and serum pharmacochimistry of traditional Chinese medicine are used to analyze the chemical components and blood components of Shenqi Fumai granules, and preliminarily explore their potential pharmacological material basis, providing a reference for the further development and utilization of Shenqi Fumai granules.

Key words: Shenqi Fumai granule; chemical composition; blood component; UPLC-Q-TOF-MS

基金项目: 国家中药材产业体系 (No. CARS-21); 黑龙江省“头雁”团队支持资金 (中医药防治慢病创新研究及产品开发团队)。

作者简介: 李安祁, 女, 硕士研究生, 主要从事中药药效物质基础及质量标准研究, email: Lianqi_61@163.com ***通信作者:** 王伟明, 女, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事中药新产品研发工作, email: zyyjy@163.com; 薛佳奇, 女, 研究实习员, 主要从事中药药效物质基础及质量评价, email: XueJiaQi6@163.com

参芪复脉颗粒(曾用名心肌康泰颗粒)是黑龙江省中医药科学院自主研发后转让给哈药集团世一堂制药厂的中药,为国内独家品种。该方在金元医家李东垣生脉保元汤的基础上加减化裁,经体外抗病毒实验和临床试验筛选而成。由人参(生晒)、黄芪(蜜炙)、麦冬、三七、五味子、炙甘草等药味组成。方中人参大补元气、强心补肺、安神、生津,以助气血生化之源,为君药^[1]。黄芪炙用补中辅人参益元气、补三焦、生血生肌,以补心气^[2];麦冬甘寒、养阴生津、清虚热而除烦,辅人参以养心阴^[3];五味子敛气生津、宁心安神,佐参、芪、麦冬益气养阴,共治虚劳损伤、气阴两伤之候^[4];三七活血散瘀、消肿止痛,佐治脉阻血瘀之兼证^[5];炙甘草益元气而补三焦、补气益脾、调和诸药^[6]。六药协同,共奏益气养阴、活血复脉之功效,用于气阴两虚型心肌炎恢复期的治疗。

本课题组前期研究已证明,参芪复脉颗粒具有改善心脏功能的作用。不论在体外或体内,该药对柯萨奇 B₃ 病毒(CB₃V)引起的心肌炎均有一定的抗病毒作用。间接免疫荧光发现,该药对 CB₃V 具有杀灭和清除作用,而临床初步观察发现,该药具有改善病毒性心肌炎患者心功能的作用^[7]。

基于中药血清药物化学理论,中药真正发挥功效的活性成分与其所含的固有成分往往不同,只有从血中发现直接作用的活性物质并追溯其前体化合物才能真正阐明中药发挥临床疗效的药效物质基础^[8]。但参芪复脉颗粒治疗疾病的药效物质基础尚不明确,且关于参芪复脉颗粒化学成分的研究较少。超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS)技术可以高效、快速得到目标分析物的分子离子峰和碎片离子等信息。因此,本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对参芪复脉颗粒的化学成分进行分析,同时依据中药血清药物化学理论对其入血成分进行分析,以期参芪复脉颗粒药效物质基础研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY UPLC 液相色谱仪(美国 Waters 公司),Triple-TOF 5600 型质谱仪(美国 AB SCIEX 公司),BSA224S-CW 型精密天平(德国赛多利斯公司),XS205 型十万分之一电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司),KQ-300DB 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),MTN-2800W 型氮吹浓缩装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司),Peakview2.0/masterview1.0 software 软件、Metabolite pilot2.0.2 软件(AB SCIEX, USA)。

1.2 试药

人参(批号:20230606)、炙黄芪(批号:

22100201)、麦冬(批号:230404-1)、三七(批号:23020101)、五味子(批号:230401)、炙甘草(批号:20230427),饮片均购自北京同仁堂哈尔滨药店,由黑龙江省中医药科学院王伟明研究员鉴定为正品;三七皂苷 R₁(批号:S-002-140731)、人参皂苷 Rg₃(批号:R-037-170426)、五味子醇甲(批号:W-002-181222)(纯度≥98%,成都瑞芬思生物科技有限公司),毛蕊异黄酮(纯度≥98%,批号:PCS0461,成都植标化纯生物技术有限公司),麦冬皂苷 D(纯度≥98%,批号:A0037-201812)、异甘草素(纯度≥98%,批号:PS001032)(成都普思生物科技股份有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,Merck 公司);甲酸(色谱纯,Fisher 公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);甲醇(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.3 动物

健康雄性 SPF 级 BALB/c 小鼠,共 8 只,体重(20±2)g[哈尔滨医科大学动物实验中心,许可证号:SYXK(黑)2019-001]。该实验由黑龙江省中医药科学院动物伦理委员会批准,批准号:201903001。饲养条件于 SPF 级动物室饲养,室温 20~25℃,湿度 50%~70%。

2 方法

2.1 参芪复脉颗粒的制备

按处方比例称取饮片,人参、三七二味药酌予碎断,加 3 倍量 75% 乙醇加热回流提取 2 次,每次 1.5 h,合并提取液,滤液静置 24 h。取上清液浓缩至相对密度为 1.15~1.20(60℃测)的浸膏;取人参、三七药渣与其余酌予碎断的四味药,加水煎煮 2 次,每次 1 h,合并煎液,离心过滤,滤液静置 24 h,滤取上清液,并浓缩成相对密度为 1.20~1.22(60℃测)的浸膏。上述两种浸膏合并,趁热加环糊精,充分搅拌均匀,减压干燥,粉碎成细粉,加适量乙醇制粒,干燥,即得。

2.2 供试品溶液的制备

称取参芪复脉颗粒 5.00 g,精密称定,加 75% 甲醇 25 mL,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,0.22 μm 滤膜滤过,取续滤液 13 000 r·min⁻¹离心 5 min,取上清液,即得。

2.3 对照品溶液的制备

取人参皂苷 Rg₃、毛蕊异黄酮、麦冬皂苷 D、三七皂苷 R₁、五味子醇甲、异甘草素对照品适量,精密称定,加甲醇分别制成质量浓度为 10 μg·mL⁻¹的对照品溶液。

2.4 灌胃药液的制备

取参芪复脉颗粒,加适量蒸馏水超声溶解,配成质量浓度为 0.60 g·mL⁻¹的小鼠灌胃药液,于 4℃ 冰箱中储存备用。

2.5 分组、给药及取材

BALB/c 小鼠适应性喂养 1 周后, 采取配对比较法将其随机分为空白组和参芪复脉颗粒给药组, 每组 8 只。实验期间自由摄食饮水, 空白组 10 mL/(kg·d) 灌胃蒸馏水, 给药组按 5.20 g/(kg·d) 灌胃参芪复脉颗粒药液。连续给药 7 d, 禁食 12 h (自由饮水), 第 8 日再次给药 1 h 后, 小鼠眼球取血, 静置 30 min, 3000 r·min⁻¹ 离心 10 min (离心半径 7 cm), 取上清液, 进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

2.6 血清样品处理

取空白组和参芪复脉颗粒给药组小鼠血清各 200 μL, 分别加入 5 倍量预冷甲醇, 涡旋 90 s, 混匀, 在 4℃、13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液至 EP 管中, 氮气挥干, 残渣用 120 μL 70% 甲醇复溶, 涡旋振荡 90 s, 4℃、13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液, 即得空白血清样品溶液和含药血清样品溶液。

2.7 检测条件

2.7.1 色谱条件 ACQUITY BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 预柱 (5.0 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 35℃; 流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A)-0.1% 甲酸乙腈溶液 (B), 梯度洗脱 (0~15.0 min, 95%→55%A; 15.0~22.0 min, 55%→0%A; 22.0~22.1 min, 0%→95%A; 22.1~25.0 min, 95%A); 流速为 0.3 mL·min⁻¹; 进样量为 5 μL; 自动进样器温度为 4℃。

2.7.2 质谱条件 电喷雾正、负离子模式, 正、负离子源电压分别为 5500 V、-4500 V, 离子源温度为 550℃, 雾化气体为 N₂, 雾化气、辅助气压力均为 379.2 kPa, 气帘气压力为 241.3 kPa, 裂解电压为 ±80 V, 碰撞能量为 ±35 eV, 碰撞能量扩展均为 15 eV。TOF/MS 扫描范围为 *m/z* 100~1500, IDA 设置响应值超过 100 cps 的 8 个最高峰进行二级质谱扫描, Product Ion 扫描范围为 *m/z* 50~1500, 开启动态背景扣除 (DBS)。数据采集所用软件为 Analyst TF 1.6, 数据处理软件为 Peakview 2.0-masterview 1.0。

2.8 参芪复脉颗粒化学成分及入血成分分析

取参芪复脉颗粒供试品溶液、含药血清样品溶液、空白血清样品溶液, 按“2.7.1”项下条件进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。查阅国内外文献, 建立包括名称、分子式、CAS 号、分子量、结构式的化学成分数据库。将采集的正、负离子数据导入 Peakview 2.0 进行非目标筛查, 首先选取相对分子质量误差在 10 ppm (1×10⁻⁶) 内的化合物, 再进一步与数据库中的二级质谱碎片信息比对, 最后进行结构推断^[9-11]。利用 Peakview 2.0 软件通过对比含

药血清和空白血清的质谱图, 扣除血清中的内源性成分, 将剩余离子峰与体外药材提取液离子峰的保留时间、质荷比及二级质谱图进行对比, 如果一致则确认为参芪复脉颗粒中的原形成分^[12]。根据软件数据结果、参考文献资料和对照品质谱信息初步鉴定参芪复脉颗粒成分和入血成分。

3 结果

3.1 参芪复脉颗粒化学成分鉴定

从参芪复脉颗粒中共鉴定出 118 个化合物, 其中包括木脂素类 19 个、黄酮类 27 个、有机酸类 8 个、三萜皂苷类 29 个、甾体皂苷 7 个、氨基酸类 2 个、脂肪酸类 4 个、生物碱 2 个、三萜类 3 个、维生素 1 个、三萜酸类 1 个、脂肪醇 1 个、其他类 14 个, 详见表 1。参芪复脉颗粒样品的总离子流图见图 1。

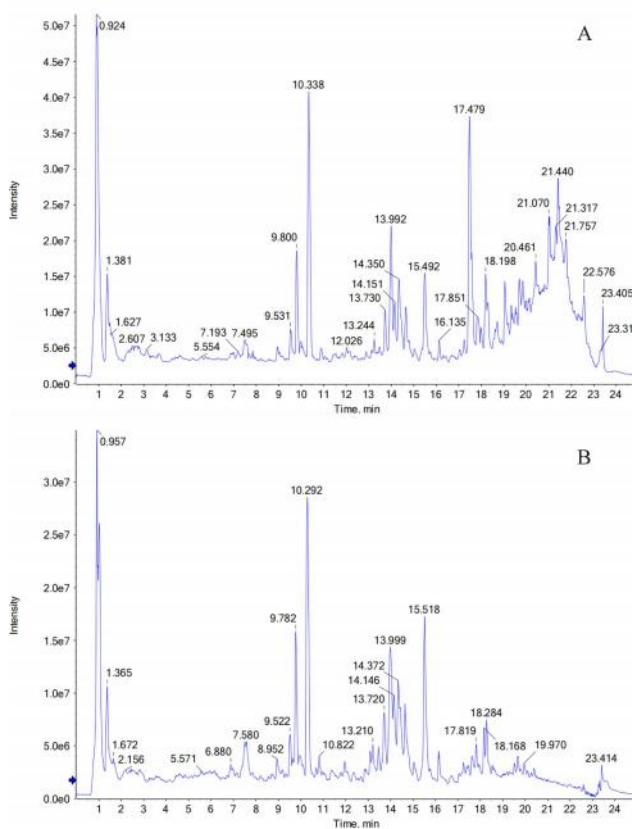


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式下参芪复脉颗粒总离子流图

Fig 1 Total ion chromatogram of Shenqi Fumai granules in the positive (A) and negative (B) ion modes

3.2 主要化合物的裂解规律分析

3.2.1 木脂素类化合物鉴定 以化合物 88 为例进行鉴定分析。在正离子模式下, 化合物 88 的保留时间为 17.47 min, 准分子离子峰为 *m/z* 433.2223[M+H]⁺, 分子式为 C₂₄H₃₂O₇。二级质谱信息中, 首先, 母离子丢失 1 分子 -H₂O, 得到碎片离子 415[M+H-H₂O]⁺, 进一步丢失 1 分子 -CH₃ 得到碎片离子 400[M+H-H₂O-CH₃]⁺; 碎片离子 415[M+H-H₂O]⁺ 或者丢失

表 1 参芪复脉颗粒化学成分分析结果
Tab 1 Chemical components in Shenqi Fumai granules

No.	t_R/min	推断结果	分子式	离子模式	测定值 m/z	理论值 m/z	误差 / ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (MS/MS)	来源	类别
1	0.79	脯氨酸	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.0713	116.0706	5.6	116.0713	人参	氨基酸
2	0.90	麦芽糖	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	341.1090	341.1078	3.5	341.1090, 179.0563, 161.0456, 119.0355	人参	其他
3	0.92	奎宁酸	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.0559	191.0550	4.6	191.0559, 173.0442, 127.0404, 109.0296	五味子	有机酸
4	0.93	精氨酸	$C_6H_{14}N_4O_2$	$[M+H]^+$	175.1187	175.1190	-1.6	175.1187, 158.0921, 157.0325, 116.0707	人参	氨基酸
5	1.04	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	$[M-H]^-$	353.0866	353.0867	-0.4	353.0866, 173.0098, 111.0099	黄芪	有机酸
6	1.14	异芒果苷	$C_{19}H_{18}O_{11}$	$[M-H]^-$	421.0786	421.0765	4.8	421.0786, 259.0221, 241.0125, 222.9637, 191.0197, 150.9801	黄芪	黄酮
7	1.31	水杨酸	$C_7H_6O_3$	$[M+H]^+$	139.0397	139.0390	4.9	139.0397, 111.0437, 110.0379	麦冬	有机酸
8	1.39	柠檬酸	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.0187	191.0186	0.4	191.0187, 173.0141, 129.0144, 111.0095	人参	有机酸
9	1.55	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.1035	268.1040	-2.2	268.1035, 136.0617, 119.0354	人参	其他
10	2.79	麦芽酚	$C_6H_6O_3$	$[M+H]^+$	127.0382	127.0390	-6.1	127.0382, 109.0293	人参	其他
11	2.88	黄芪异黄烷苷	$C_{23}H_{26}O_{10}$	$[M-H]^-$	461.1438	461.1442	-0.8	461.1438, 329.0896, 167.0356, 152.0104	黄芪	黄酮
12	2.96	香草酸	$C_8H_8O_4$	$[M-H]^-$	167.0338	167.0339	-0.4	167.0338, 152.0097, 122.0389, 109.0226	麦冬	有机酸
13	4.25	schisanhenol acetate	$C_{25}H_{32}O_7$	$[M-H]^-$	443.2050	443.2064	-3.2	443.2050, 219.1153, 119.0353	五味子	木脂素
14	4.77	甲基麦冬黄酮 B	$C_{19}H_{18}O_5$	$[M-H]^-$	325.1054	325.1071	-5.1	325.1054, 163.0392, 119.0502	麦冬	黄酮
15	5.02	人参炔醇	$C_{17}H_{24}O$	$[M-H]^-$	243.1729	243.1743	-5.9	243.1729, 225.1515	人参	其他
16	5.39	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	$[M-H]^-$	179.0343	179.0339	2.0	179.0343, 135.0447, 134.0371, 117.0346	黄芪	有机酸
17	5.52	拟人参皂苷 RT ₅	$C_{36}H_{62}O_{10}$	$[M+H]^+$	655.4426	655.4416	1.6	655.4426, 637.4342, 457.3637, 439.3556, 421.3446	人参	三萜皂苷
18	5.54	人参皂苷 Rh ₈	$C_{36}H_{60}O_9$	$[M+H]^+$	637.4300	637.4310	-1.5	637.4300, 619.4180, 457.3652, 439.3561, 421.3461	人参	三萜皂苷
19	5.73	白桦脂酸	$C_{30}H_{48}O_3$	$[M+H]^+$	457.3656	457.3676	-4.5	457.3656, 439.3621, 421.3540, 411.3556, 249.3321	人参	三萜
20	5.79	4-甲氧基苯酚	$C_7H_8O_2$	$[M+H]^+$	125.0602	125.0597	3.9	125.0602, 110.0368, 109.0283, 107.0495	三七	其他
21	5.85	维生素 B ₂	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	$[M+H]^+$	377.1464	377.1456	2.3	377.1464, 359.1322, 243.0881	黄芪	维生素
22	5.92	香豆素	$C_9H_6O_2$	$[M+H]^+$	147.0447	147.0441	4.3	147.0447, 119.0512, 118.0438	黄芪	其他
23	6.43	五味子酯 D	$C_{29}H_{28}O_9$	$[M-H]^-$	519.1680	519.1650	5.9	519.1680, 311.1158, 149.0607	五味子	木脂素
24	6.50	五味子酯 E	$C_{30}H_{34}O_9$	$[M-H]^-$	537.2129	537.2119	1.9	537.2129, 345.1379	麦冬	木脂素
25	6.85	桑色素	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M+H]^+$	303.0507	303.0499	2.5	303.0507, 285.0389, 274.0477, 257.0451, 229.0499, 201.0552	黄芪	黄酮
26	6.86	异槲皮苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M+H]^+$	465.1053	465.1028	5.5	465.1053, 303.0502	黄芪	黄酮
27	6.90	<i>p</i> -香豆酸	$C_9H_8O_3$	$[M-H]^-$	163.0373	163.0390	-9.8	163.0373, 145.0290, 117.0343	黄芪	有机酸
28	7.44	芦丁	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	609.1471	609.1450	3.3	609.1471, 300.0303, 271.0267, 255.0321	黄芪	黄酮
29	7.47	毛蕊异黄酮苷	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M+H]^+$	447.1283	447.1286	-0.7	447.1283, 285.0764, 270.0529, 253.0231, 225.0118	黄芪	黄酮
30	7.58	异甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	417.1198	417.1180	4.2	417.1198, 402.1101, 387.1020, 355.1082, 341.0751, 325.0733	甘草	三萜皂苷
31*	7.60	异甘草素	$C_{15}H_{12}O_4$	$[M+H]^+$	257.0812	257.0808	1.4	257.0812, 239.0731, 211.0724, 147.0443, 137.0263	甘草	黄酮
32	7.65	木犀草素	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M+H]^+$	287.0551	287.0550	0.2	287.0551, 213.0556, 153.0181, 137.0122	人参、 黄芪	黄酮
33	7.77	槲皮素 7- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.0884	463.0871	2.8	463.0884, 301.0378, 271.0272	黄芪	黄酮
34	7.83	异鼠李素	$C_{16}H_{12}O_7$	$[M+H]^+$	317.0660	317.0656	1.2	317.0660, 302.0421, 284.0322, 274.0472	黄芪	黄酮
35	8.09	氧化苦参碱	$C_{16}H_{12}N_2O_2$	$[M+H]^+$	265.0979	265.0972	2.9	265.0979, 247.0873, 165.0531, 135.0331, 111.0122	人参	生物碱
36	8.18	椴树苷	$C_{30}H_{26}O_{13}$	$[M-H]^-$	593.1304	593.1290	2.4	593.1304, 285.0436, 255.0323, 227.0375	人参	黄酮
37	8.46	rubschisantherin	$C_{25}H_{30}O_8$	$[M-H]^-$	457.1830	457.1857	-5.8	457.1830, 149.0621	五味子	木脂素
38	8.57	苯甲酰戈来辛 O	$C_{30}H_{32}O_8$	$[M-H]^-$	519.2021	519.2013	1.5	519.2021, 473.2114	五味子	木脂素
39	8.67	三叶豆苷	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	447.0932	447.0922	2.3	447.0932, 284.0350, 255.0314, 227.0363	人参	黄酮
40	8.99	鼠李柠檬素 -3- <i>O</i> - β -D-葡萄糖苷	$C_{22}H_{22}O_{11}$	$[M+H]^+$	463.1246	463.1235	2.3	463.1246, 301.0710, 286.0467, 269.0434, 241.0480	黄芪	黄酮
41	9.14	壬二酸	$C_9H_{16}O_4$	$[M-H]^-$	187.0967	187.0965	1.0	187.0967, 169.0879, 143.1083, 125.0979	麦冬	有机酸

续表 1

No.	t_R/min	推断结果	分子式	离子模式	测定值 m/z	理论值 m/z	误差 / ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (MS/MS)	来源	类别
42	9.53	人参皂苷 Rd	$C_{48}H_{82}O_{19}$	$[M-H]^-$	961.5428	961.5367	6.4	961.5428, 799.5044, 637.4452	人参、三七	三萜皂苷
43*	9.80	三七皂苷 R_1	$C_{47}H_{80}O_{18}$	$[M-H]^-$	931.5299	931.5261	4.1	931.5299, 799.5029, 769.4838, 637.4436, 475.3860	三七	三萜皂苷
44	9.81	人参皂苷 II	$C_{48}H_{82}O_{20}$	$[M-H]^-$	977.5362	977.5316	4.7	977.5362, 931.5492, 799.5016	人参	三萜皂苷
45*	9.94	人参皂苷 R_{g3}	$C_{42}H_{72}O_{13}$	$[M+H]^+$	785.5028	785.5046	-2.3	785.5028, 767.4938, 749.4770, 411.3731, 423.3622, 405.3496, 367.2967, 327.2712, 127.1115	人参	三萜皂苷
				$[M-H]^-$	783.4913	783.4889	3.0	783.4913, 621.4098, 347.3927, 161.0468		
46	10.03	人参三醇	$C_{30}H_{52}O_4$	$[M+H]^+$	477.3945	477.3938	1.3	477.3945, 459.3882, 441.3692, 423.3641, 405.3529, 349.2887	人参	三萜皂苷
47	10.04	人参皂苷 R_{h1}	$C_{36}H_{62}O_9$	$[M-H]^-$	639.4457	639.4467	-1.5	637.4457, 475.3868, 391.2907, 161.0456	人参	三萜皂苷
48	10.09	甘草苷	$C_{21}H_{22}O_9$	$[M+H]^+$	419.1316	419.1337	-5.0	419.1316, 257.0803, 211.0746, 137.0230	甘草	黄酮
49	10.13	芒柄花苷	$C_{22}H_{22}O_9$	$[M+H]^+$	431.1331	431.1337	-1.3	431.1331, 269.0813, 254.0661, 237.0565	黄芪	黄酮
50	10.38	花侧柏烯	$C_{15}H_{22}$	$[M+H]^+$	203.1800	203.1794	2.6	203.1800, 159.1174, 145.1016, 131.0857, 117.0700	五味子	其他
51	10.40	人参皂苷 R_{h4}	$C_{36}H_{60}O_8$	$[M+H]^+$	621.4380	621.4361	3.0	621.4380, 441.3738, 423.3636, 405.3541	人参	三萜皂苷
52	10.88	人参皂苷 La	$C_{42}H_{70}O_{13}$	$[M-H]^-$	781.4741	781.4733	1.0	781.4741, 637.4438, 619.4348, 475.3841, 161.0469	人参	三萜皂苷
53	10.97	3-羟基-9, 10-二甲氧基紫檀烷	$C_{17}H_{16}O_5$	$[M+H]^+$	301.1072	301.1071	0.6	301.1072, 269.0806, 241.0857, 167.0708, 152.0471, 134.0366	黄芪	黄酮
54	10.99	麦冬皂苷 O	$C_{30}H_{80}O_{24}$	$[M-H]^-$	1063.4872	1063.4956	-7.8	1063.4872, 901.4033	麦冬	甾体皂苷
55	11.36	3 <i>R</i> -3-(2-hydroxy-3, 4-dimethoxyphenyl) chroman-7-ol	$C_{17}H_{18}O_5$	$[M-H]^-$	301.1099	301.1071	9.4	301.1099, 286.0885, 271.0643, 256.0377, 253.0531	黄芪	黄酮
56	11.36	黄芪异黄酮苷	$C_{23}H_{28}O_{10}$	$[M-H]^-$	463.1606	463.1599	1.6	463.1606, 301.1128, 286.0891, 271.0640, 135.0457	黄芪	黄酮
57*	11.57	毛蕊异黄酮	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	285.0767	285.0758	3.4	285.0767, 270.0532, 253.0503, 242.0575, 225.0554, 137.0243	黄芪	黄酮
58	12.44	三七皂苷 R_4	$C_{59}H_{100}O_{27}$	$[M-H]^-$	1239.6404	1239.6368	2.9	1239.6404, 1107.6261, 945.6022	人参、三七	三萜皂苷
59	12.91	戈米辛 S	$C_{23}H_{30}O_7$	$[M-H]^-$	417.1920	417.1908	2.8	417.1920, 402.1633, 387.1488, 355.1220	五味子	木脂素
60	13.03	雅姆皂苷元	$C_{27}H_{42}O_3$	$[M+H]^+$	415.3210	415.3207	0.9	415.3210, 271.2064, 253.1951, 175.1116	麦冬	甾体皂苷
61	13.04	重楼皂苷 V	$C_{39}H_{62}O_{12}$	$[M+H]^+$	723.4321	723.4314	1.0	723.4321, 579.3159, 415.3201, 271.2041, 253.1945, 147.0656	三七	三萜皂苷
62	13.21	人参皂苷 Rf	$C_{42}H_{72}O_{14}$	$[M-H]^-$	799.4895	799.4838	7.1	799.4895, 637.4450, 475.3875	人参	三萜皂苷
63	13.35	雷公藤红素	$C_{29}H_{38}O_4$	$[M-H]^-$	449.2708	449.2686	4.7	449.2708, 403.2655, 329.2369	人参	其他
64	13.68	三七皂苷 R_2	$C_{41}H_{70}O_{13}$	$[M-H]^-$	769.4807	769.4733	9.6	769.4807, 637.4443, 475.3865, 161.0462	三七	三萜皂苷
65	13.95	大黄素	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M+H]^+$	271.0602	271.0601	0.2	271.0602, 253.0501	麦冬	其他
66	13.96	人参皂苷 R_{b1}	$C_{54}H_{92}O_{23}$	$[M-H]^-$	1107.6040	1107.5946	8.5	1107.6040, 945.5668, 783.5221	人参	三萜皂苷
67	13.99	羽扇烯酮	$C_{30}H_{48}O$	$[M+H]^+$	425.3782	425.3778	1.1	425.3782, 407.1084, 369.3160, 351.2437, 285.2583, 217.2425, 109.3219	三七	三萜皂苷
68	14.00	叶黄素	$C_{40}H_{56}O_2$	$[M+H]^+$	569.4285	569.4353	-11.9	569.4285, 551.4083, 533.3982	三七	其他
69	14.02	人参皂苷 R_{h3}	$C_{36}H_{60}O_7$	$[M+H]^+$	605.4409	605.4412	-0.4	605.4409, 425.3761, 407.3665	人参	三萜皂苷
70	14.19	西洋参皂苷 R_1	$C_{56}H_{94}O_{24}$	$[M-H]^-$	1149.6080	1149.6051	2.5	1149.6080, 1107.5331, 945.3020, 783.3111, 621.2675, 459.1144	人参	三萜皂苷
71	14.31	鯊油酸	$C_{22}H_{34}O_2$	$[M-H]^-$	329.2448	329.2475	-8.3	329.2448, 311.2272, 293.2156	五味子	脂肪酸
72	14.42	A- 菖蒲二烯	$C_{15}H_{24}$	$[M+H]^+$	205.1937	205.1951	-7.0	205.1937, 187.1501, 172.1275	人参、三七	其他
73	14.60	人参皂苷 R_{b3}	$C_{53}H_{90}O_{22}$	$[M-H]^-$	1077.5791	1077.5840	-4.5	1077.5791, 945.5877, 783.4060	人参	三萜皂苷
74	14.78	人参皂苷 R_{s1}	$C_{55}H_{92}O_{23}$	$[M-H]^-$	1119.5858	1119.5946	-7.9	1119.5858, 1077.6139, 945.6021, 783.5924	人参	三萜皂苷
75	14.85	芒柄花素	$C_{16}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	267.0693	267.0652	15.2	267.0693, 252.0327, 251.0288, 224.0128	黄芪	黄酮
				$[M+H]^+$	269.0814	267.0652	2.1	269.0814, 254.0882, 253.0496, 237.0547, 226.0626		

续表 1

No.	t_R/min	推断结果	分子式	离子模式	测定值 m/z	理论值 m/z	误差/ ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (MS/MS)	来源	类别
76	15.07	假人参皂苷 RT ₁	C ₄₇ H ₇₄ O ₁₈	[M-H] ⁻	925.4827	925.4791	3.8	925.4827, 763.4037, 569.3960	人参	三萜皂苷
77	15.45	人参皂苷 Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M-H] ⁻	945.5470	945.5417	5.5	945.5470, 783.5087, 621.4503, 161.3881	人参	三萜皂苷
78	15.59	竹节人参皂苷 IV a	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	[M-H] ⁻	793.4398	793.4369	3.7	793.4398, 631.4002, 569.3944	人参	三萜皂苷
79	15.63	麦冬二氢高异黄酮 F	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	[M-H] ⁻	373.1300	373.1282	5.0	373.1300, 358.1100, 343.0856, 254.0470, 237.0805	麦冬	黄酮
80	15.66	8-醛基麦冬高黄酮 B	C ₂₀ H ₂₂ O ₇	[M+H] ⁺	375.1440	375.1438	0.4	375.1440, 357.1340, 251.0923, 109.0649	麦冬	黄酮
81	15.71	麦冬皂苷 C	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₈	[M-H] ⁻	885.4511	885.4478	3.7	885.4511, 753.4242	麦冬	甾体皂苷
82	15.77	甘草酸	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	821.4011	821.3954	6.9	821.4011, 351.0620	甘草	三萜酸
83	15.99	麦冬皂苷 Ra	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	753.4092	753.4056	4.8	753.4092, 607.3600	麦冬	甾体皂苷
84	16.69	三七皂苷 Fe	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	915.5392	915.5312	8.8	915.5392, 783.5106, 621.4491	三七	三萜皂苷
85	17.20	短葶山麦冬皂苷 C	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	869.4596	869.4529	7.7	869.4596, 737.4301	麦冬	甾体皂苷
86	17.39	甘草次酸	C ₃₀ H ₄₆ O ₄	[M+H] ⁺	471.3476	471.3469	1.4	471.3476, 453.3346, 435.3247, 417.3145	甘草	其他
87	17.45	黄柏酮	C ₂₆ H ₃₀ O ₇	[M+H] ⁺	455.2034	455.2064	- 6.6	455.2034, 409.1609, 323.1369, 273.0811	人参	其他
88*	17.47	五味子醇甲	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	[M+H] ⁺	433.2223	433.2221	0.5	433.2223, 415.2104, 400.0375, 384.1426, 358.3241, 369.1691, 338.0211	五味子	木脂素
89	17.63	麦冬黄烷酮 E	C ₁₉ H ₂₀ O ₇	[M-H] ⁻	359.1152	359.1125	7.5	359.1152, 344.1061, 329.0721, 285.0803, 223.0625	麦冬	黄酮
				[M+H] ⁺	361.1281	361.1282	- 0.2	361.1281, 343.1156, 237.0756, 225.0672, 137.0603, 109.0653		
90	17.88	戈米辛 R	C ₂₂ H ₂₄ O ₇	[M+H] ⁺	401.1593	401.1595	- 0.4	401.1593, 383.1494, 371.1327, 357.1128, 353.0891, 352.1022, 341.1011, 337.1075, 311.0916	五味子	木脂素
91	17.90	戈米辛 D	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	531.2237	531.2225	2.2	531.2237, 485.2183, 467.2055, 401.1610, 383.1501, 373.1413	五味子	木脂素
92	17.98	路路通酸	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	[M+H] ⁺	455.3522	455.3520	0.5	455.3522, 437.3409, 419.3314, 401.3201, 329.2467	人参	三萜
93	18.02	戈米辛 J	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	389.1964	389.1959	1.3	389.1964, 374.1728, 357.1706, 325.1442, 319.1183, 288.0899	五味子	木脂素
94	18.23	五味子醇乙	C ₂₃ H ₂₈ O ₇	[M+H] ⁺	417.1895	417.1908	- 3.0	417.1895, 399.1801, 369.1697	五味子	木脂素
95	18.36	人参皂苷 RS ₃	C ₄₄ H ₇₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	825.5045	825.4995	6.1	825.5045, 783.5096, 765.4951, 737.4318	人参	三萜皂苷
96	18.44	麦冬皂苷 P	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄	[M+H] ⁺	781.4356	781.4369	- 1.6	781.4356, 763.4241, 413.3050, 395.2930, 377.2861, 269.1916, 251.1797	麦冬	甾体皂苷
97	18.50	麦冬皂苷 A	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	763.4292	763.4263	3.7	763.4292, 613.3898, 569.3961	麦冬	甾体皂苷
98	18.57	9, 12-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	[M+H] ⁺	277.2167	277.2162	1.8	277.2167, 259.2049, 241.1931, 235.1720, 231.2125, 221.1548, 161.1329	麦冬	脂肪酸
99	18.61	麦冬二氢高异黄酮 A	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	[M-H] ⁻	327.0895	327.0863	9.8	327.0895, 192.0422, 164.0473, 136.0175	麦冬	黄酮
100	18.63	戈米辛 E	C ₂₈ H ₃₄ O ₉	[M+H] ⁺	515.2275	515.2276	- 0.2	515.2275, 469.2225, 385.1649, 370.1551, 367.1341, 355.1547	五味子	木脂素
101*	18.66	麦冬皂苷 D	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₆	[M+H] ⁺	855.4743	855.4737	0.8	855.4743, 431.3050, 287.2010, 251.1790	三七	三萜皂苷
102	18.70	前五味子脂素	C ₂₂ H ₃₀ O ₆	[M-H] ⁻	389.1981	389.1959	5.7	389.1981, 374.1758, 359.1544, 179.0708, 137.0253, 125.0247	五味子	木脂素
				[M+H] ⁺	391.2128	391.2115	3.2	391.2128, 237.1492, 205.1228, 173.0960, 167.0704, 163.0754		
103	18.73	顺酯酰戈米辛 H	C ₂₈ H ₃₆ O ₈	[M+H] ⁺	501.2510	501.2483	5.3	501.2510, 483.2389, 451.2116, 437.1996, 414.1697, 370.1789, 355.1542, 337.1449	五味子	脂肪酸
104	19.05	苯甲酰戈米辛 H	C ₃₀ H ₃₄ O ₈	[M+H] ⁺	523.2309	523.2326	- 3.3	523.2309, 493.1836, 386.1726, 315.1238	五味子	木脂素
105	19.14	甲基麦冬黄酮 A	C ₁₉ H ₁₆ O ₆	[M+H] ⁺	341.1020	341.1020	0.2	341.1020, 219.0654, 191.0704	麦冬	生物碱
106	19.21	人参炔三醇	C ₁₇ H ₂₆ O ₃	[M-H] ⁻	277.1826	277.1798	9.9	277.1826, 233.1915, 205.1597	人参	三萜皂苷
107	19.30	8-醛基异麦冬黄烷酮 B	C ₁₉ H ₁₈ O ₆	[M+H] ⁺	343.1180	343.1176	1.1	343.1180, 207.0648, 135.0440	麦冬	黄酮
108	19.51	甲基麦冬二氢高异黄酮 E	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	[M-H] ⁻	327.1240	327.1227	3.9	327.1240, 206.0601, 178.0647, 163.0418, 150.0324	麦冬	黄酮
				[M+H] ⁺	329.1384	329.1384	0.2	329.1384, 207.1155, 121.0647		
109	19.69	五味子酚	C ₂₃ H ₃₀ O ₆	[M+H] ⁺	403.2139	403.2115	5.8	403.2139, 388.1905, 372.1591, 371.1880, 357.1354	五味子	木脂素

续表 1

No. t_R /min	推断结果	分子式	离子模式	测定值 m/z	理论值 m/z	误差 / ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (MS/MS)	来源	类别
110 19.69	人参皂苷 RK ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	765.4809	765.4784	3.3	765.4809, 603.4379, 161.0466, 101.0263	人参	三萜皂苷
111 19.85	五味子酯甲	C ₃₀ H ₃₂ O ₉	[M+H] ⁺	537.2088	537.2119	- 5.8	537.2088, 437.1562, 415.1741, 385.1669, 397.1421	五味子	木脂素
112 21.01	五味子甲素	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	[M+H] ⁺	417.2260	417.2272	- 2.8	417.2260, 402.2025, 386.5382, 371.2501, 347.1481, 316.5283, 301.1059, 285.1032	五味子	木脂素
113 21.41	积雪草酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	[M-H] ⁻	487.3428	487.3418	2.1	487.3428, 469.3385, 443.3595, 425.3447	人参	三萜
114 21.41	五味子乙素	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.1961	401.1959	0.6	401.1961, 386.1717, 331.1024, 371.5869, 370.1771, 340.2953, 300.0986, 270.5396, 285.0754	五味子	木脂素
115 21.58	五味子丙素	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	[M+H] ⁺	385.1654	385.1646	2.2	385.1654, 355.1533, 325.1443, 315.0868	五味子	木脂素
116 22.07	γ -生育酚	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	[M+H] ⁺	417.3701	417.3727	- 6.3	417.3701, 151.0750, 123.0810	五味子	其他
117 22.57	亚麻醇	C ₁₈ H ₃₂ O	[M+H] ⁺	265.2521	265.2526	- 1.8	265.2521, 247.2413, 235.2241, 219.1993, 218.1931, 207.1822	三七	脂肪醇
118 23.32	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	255.2330	255.2319	4.3	255.2330, 237.2281	人参、麦冬	脂肪酸

注 (Note): * 表示化合物通过与对照品比对确认 (* means compound compared with the control)。

1 分子 -CH₃O 得到碎片离子 384[M + H-H₂O-CH₃O]⁺, 进一步丢失 1 分子 -CH₃ 和 1 分子 -CH₃O 得到碎片离子 338[M + H-H₂O-CH₃O-CH₃-CH₃O]⁺; 碎片离子 415[M + H-H₂O]⁺ 或者丢失 1 分子 -C₄H₉ 得到碎片离子 358[M + H-H₂O-CH₃-C₄H₉]⁺。其中, 最强的碎片离子峰是碎片离子 384 [M + H-H₂O-CH₃O]⁺ 丢失 1 分子 -CH₃ 得到碎片离子 369[M + H-H₂O-CH₃O-CH₃]⁺, 根据碎片信息和文献报道^[13], 推测该化合物为五味子醇甲, 其可能的裂解途径及质谱图见图 2。

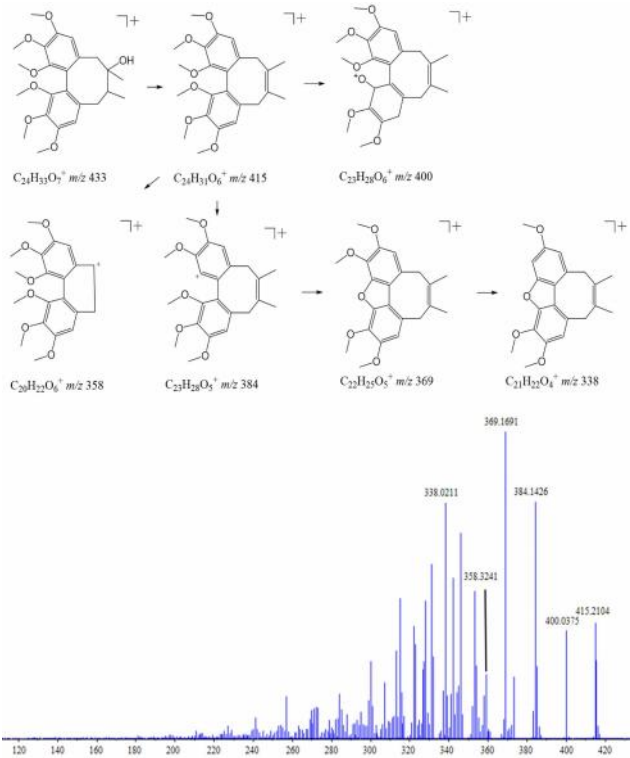


图 2 五味子醇甲可能的裂解规律及质谱图
Fig 2 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of schizandrol A

3.2.2 黄酮类化合物的鉴定 本研究从参芪复脉颗粒中共鉴定出 27 个黄酮类化合物, 以化合物 **48** 和 **49** 为例进行鉴定分析。

在正离子模式下, 化合物 **48** 的保留时间为 10.09 min, 准分子离子峰 m/z 419.1316[M + H]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₂O₉。首先, 母离子丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 257[M + H-Glc]⁺, 再进行 RDA 裂解, 进一步丢失 1 分子 -C₈H₈O 得到碎片离子 137[M + H-Glc-C₈H₈O]⁺。据碎片离子信息及文献报道^[14], 推测该化合物为黄酮类化合物甘草苷, 其可能的裂解途径及质谱图见图 3。

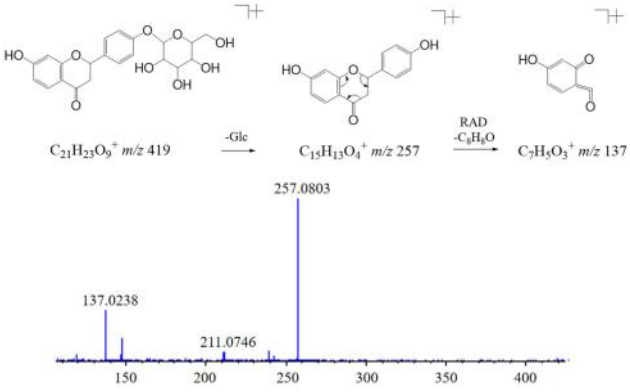


图 3 甘草苷可能的裂解规律及质谱图
Fig 3 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of liquiritin

在正离子模式下, 化合物 **49** 的保留时间为 10.13 min, 准分子离子峰为 m/z 431.1331[M + H]⁺, 分子式为 C₂₂H₂₂O₉。首先, 母离子丢失 1 分子 -C₆H₁₀O₅ 得到碎片 269[M + H-C₆H₁₀O₅]⁺, 进一步丢失 1 分子 -CH₃ 得到碎片 254[M + H-C₆H₁₀O₅-CH₃]⁺。根据碎片离子信息及文献报道^[15], 推测该化合物为黄酮类化合物芒柄花苷, 其可能的裂解途径及质谱图见图 4。

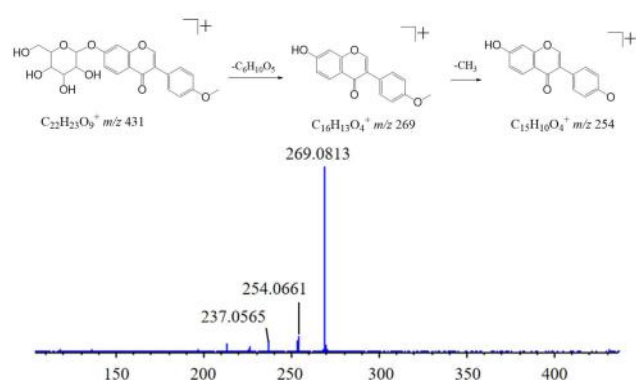
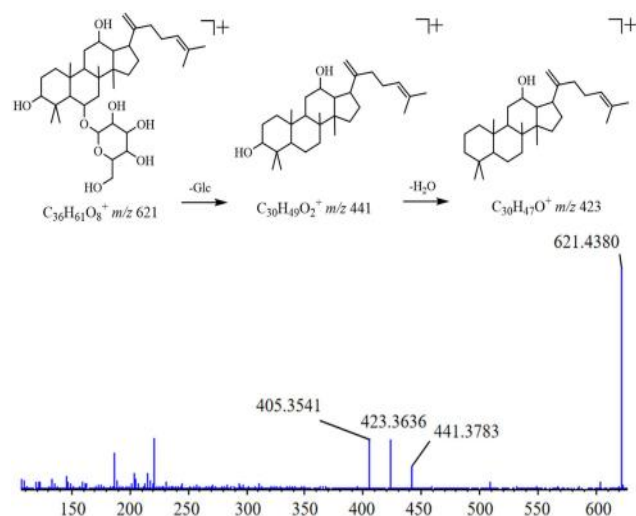


图 4 芒柄花苷可能的裂解规律及质谱图

Fig 4 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of ononin

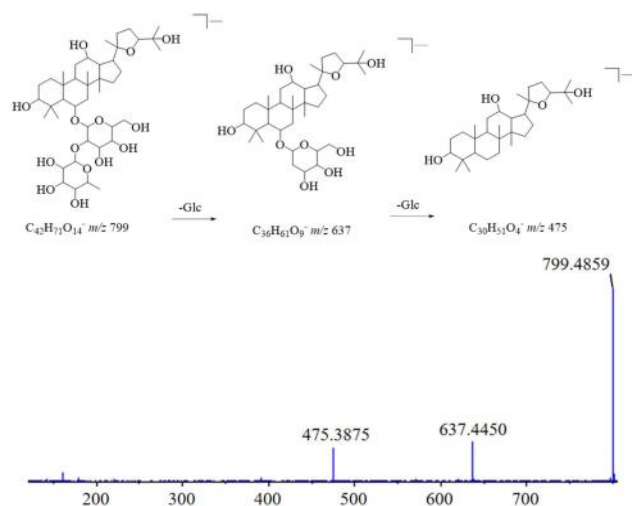
3.2.3 皂苷类化合物的鉴定 从参芪复脉颗粒中共鉴定了 29 个三萜皂苷类化合物, 以化合物 **51**、**62** 和 **66** 为例进行鉴定分析。

在正离子模式下, 化合物 **51** 的保留时间为 10.40 min, 准分子离子峰 m/z 621.4380 $[M + H]^+$, 分子式为 $C_{36}H_{60}O_8$ 。首先, 母离子丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 441 $[M + H - Glc]^+$, 再进一步丢失 1 分子 $-H_2O$ 得到碎片 441 $[M + H - Glc - H_2O]^+$ 。据碎片离子信息^[16], 推测该化合物为皂苷类化合物人参皂苷 Rh_4 , 其可能的裂解途径及质谱图见图 5。

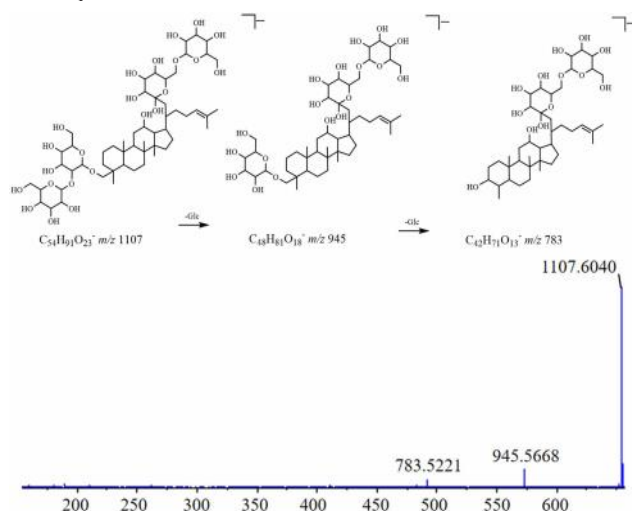
图 5 人参皂苷 Rh_4 可能的裂解规律及质谱图Fig 5 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of ginsenoside Rh_4

在负离子模式下, 化合物 **62** 的保留时间为 13.21 min, 准分子离子峰 m/z 799.4895 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{42}H_{72}O_{14}$ 。首先, 母离子丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 637 $[M - H - Glc]^-$, 再进一步丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 475 $[M - H - Glc - Glc]^-$ 。据碎片离子信息及文献报道^[17], 推测该化合物为皂苷类化合物人参皂苷 Rf , 其可能的裂解途径及质谱图见图 6。

在负离子模式下, 化合物 **66** 的保留时间为 13.96 min, 准分子离子峰 m/z 1107.6040 $[M - H]^-$, 分

图 6 人参皂苷 Rf 可能的裂解规律及质谱图Fig 6 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of ginsenoside Rf

子式为 $C_{54}H_{92}O_{23}$ 。首先, 母离子丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 945 $[M - H - Glc]^-$, 再进一步丢失 1 分子 -Glc 得到碎片 783 $[M - H - Glc - Glc]^-$ 。据碎片离子信息及文献报道^[18], 推测该化合物为皂苷类化合物人参皂苷 Rb_1 , 其可能的裂解途径及质谱图见图 7。

图 7 人参皂苷 Rb_1 可能的裂解规律及质谱图Fig 7 Proposed fragmentation pathway and mass spectrum of ginsenoside Rb_1

3.3 参芪复脉颗粒入血成分分析

本研究首先通过空白血清扣除 BALB/c 小鼠血液中物质对药材入血成分分析的影响, 然后通过对比含药血清、空白血清以及参芪复脉颗粒的质谱信息, 根据色谱峰保留时间、质谱裂解规律及与对照品质谱信息的比较, 共鉴定出 34 个入血成分, 详见表 2。正、负离子模式下 BALB/c 小鼠空白血清及含药血清的总离子流图见图 8。

3.4 对照品验证

在参芪复脉颗粒的化学成分及入血成分中, 人参皂苷 Rg_3 、毛蕊异黄酮、麦冬皂苷 D、三七

表 2 参芪复脉颗粒入血成分分析结果
Tab 2 Chemical composition in Shenqi Fumai granules

No.	保留时间 /min	推断结果	分子式	选择离子	理论值 <i>m/z</i>	理论值 <i>m/z</i>	误差 ($\times 10^{-6}$)	主要二级碎片离子 (MS/MS)	来源	类别
1	0.6	绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	353.0855	353.0867	- 3.5	353.0855, 173.0073, 111.0055	黄芪	有机酸
2	0.8	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.0192	191.0186	3.0	191.0192, 173.0112, 129.0105, 111.0022	人参	有机酸
3	4.5	毛蕊异黄酮苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.1283	447.1286	- 0.6	447.1283, 285.0731, 270.0511, 253.0179, 225.0105	黄芪	黄酮
4	4.6	异甘草素	C ₁₅ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	257.0812	257.0808	1.5	257.0812, 239.0713, 211.0706, 147.0427, 137.0249	甘草	黄酮
5	5.2	三叶豆苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.0941	447.0922	4.3	447.0941, 284.0336, 255.0302, 227.0284	人参	黄酮
6	5.7	人参皂苷 Rd	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₉	[M-H] ⁻	961.5431	961.5367	6.7	961.5431, 799.5024, 637.4452	人参、三七	三萜皂苷
7	5.9	三七皂苷 R ₁	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₈	[M-H] ⁻	931.5299	931.5261	4.1	931.5299, 799.5029, 769.4838, 637.4436, 475.3860	三七	三萜皂苷
8	6.1	甘草苷	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	[M+H] ⁺	419.1314	419.1337	- 5.4	419.1314, 257.0803, 211.0735, 137.0221	甘草	黄酮
9	6.6	3- 羟基 -9, 10- 二甲氧基紫檀烷	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	[M+H] ⁺	301.1070	301.1071	- 0.2	301.1070, 269.0803, 241.0857, 167.0708, 152.0468, 134.0346	黄芪	黄酮
10	6.9	毛蕊异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M+H] ⁺	285.0759	285.0758	0.5	285.0759, 270.0532, 253.0503, 242.0556, 225.0531, 137.0243	黄芪	黄酮
11	7.5	三七皂苷 R ₄	C ₅₉ H ₁₀₀ O ₂₇	[M-H] ⁻	1239.6401	1239.6368	2.7	1239.6401, 1107.6255, 945.6003	人参、三七	三萜皂苷
12	7.9	人参皂苷 Rf	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	799.4907	799.4838	8.6	799.4907, 637.4433, 475.3840	人参	三萜皂苷
13	8.4	人参皂苷 Rb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	[M-H] ⁻	1107.6036	1107.5946	8.1	1107.6036, 945.5670, 783.5201	人参	三萜皂苷
14	8.4	羽扇烯酮	C ₃₀ H ₄₈ O	[M+H] ⁺	425.3782	425.3778	0.9	425.3782, 407.1084, 369.3152, 351.2433, 285.2548, 217.2411, 109.3219	三七	三萜皂苷
15	8.5	西洋参皂苷 R ₁	C ₅₆ H ₉₄ O ₂₄	[M-H] ⁻	1149.6076	1149.6051	2.1	1149.6076, 1107.5321, 945.3020, 783.3102, 621.2654, 459.1133	人参	三萜皂苷
16	8.8	人参皂苷 Rb ₃	C ₅₃ H ₉₀ O ₂₂	[M-H] ⁻	1077.5908	1077.5840	6.3	1077.5908, 945.5843, 783.4043	人参	三萜皂苷
17	8.9	芒柄花素	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	[M+H] ⁺	269.0814	267.0652	2.1	269.0814, 254.0866, 253.0458, 237.0531, 226.0602	黄芪	黄酮
18	9.3	人参皂苷 Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	[M-H] ⁻	945.5470	945.5417	5.6	945.5470, 783.5044, 621.4503, 161.3857	人参	三萜皂苷
19	9.4	竹节人参皂苷 IV a	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	[M-H] ⁻	793.4378	793.4369	1.1	793.4378, 631.4002, 569.3945	人参	三萜皂苷
20	9.5	甘草酸	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	[M-H] ⁻	821.4001	821.3954	5.7	821.4001, 351.0603	甘草	三萜
21	9.6	麦冬皂苷 Ra	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₄	[M-H] ⁻	753.4021	753.4056	- 4.6	753.4021, 607.3600	麦冬	甾体皂苷
22	10.0	三七皂苷 Fe	C ₄₇ H ₈₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	915.5348	915.5312	4.0	915.5348, 783.5101, 621.4475	三七	三萜皂苷
23	10.3	短葶山麦冬皂苷 C	C ₄₄ H ₇₀ O ₁₇	[M-H] ⁻	869.4549	869.4529	2.3	869.4549, 737.4301	麦冬	甾体皂苷
24	10.5	五味子醇甲	C ₂₄ H ₃₂ O ₇	[M+H] ⁺	433.2223	433.2221	0.4	433.2223, 415.2104, 400.0359, 384.1403, 358.3224, 369.1619, 338.0211	五味子	木脂素
25	10.7	戈米辛 D	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₀	[M+H] ⁺	531.2236	531.2225	2.1	531.2236, 485.2182, 467.2052, 401.1603, 383.1501, 373.1411	五味子	木脂素
26	10.8	戈米辛 J	C ₂₂ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	389.1963	389.1959	1.1	389.1963, 374.1724, 357.1702, 325.1439, 319.1164, 288.0984	五味子	木脂素
27	10.9	五味子醇乙	C ₂₃ H ₂₈ O ₇	[M+H] ⁺	417.1895	417.1908	- 3.1	417.1895, 399.1801, 369.1663	五味子	木脂素
28	11.0	人参皂苷 Rg ₃	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	[M-H] ⁻	783.4922	783.4889	4.2	783.4922, 621.4437, 459.3905, 161.0433	人参	三萜皂苷
29	11.2	顺酯酰戈米辛 H	C ₂₈ H ₃₆ O ₈	[M+H] ⁺	501.2510	501.2483	5.3	501.2510, 483.2377, 451.2102, 437.1983, 414.1675, 370.1766, 355.1531, 337.1422	五味子	脂肪酸
30	11.8	人参皂苷 RK ₁	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	765.4797	765.4784	1.7	765.4797, 603.4357, 161.0433, 101.0209	人参	三萜皂苷
31	12.6	五味子甲素	C ₂₄ H ₃₂ O ₆	[M+H] ⁺	417.2260	417.2272	- 2.8	417.2260, 402.2002, 386.5344, 371.2501, 347.1463, 316.5266, 301.1032, 285.1009	五味子	木脂素
32	12.9	五味子乙素	C ₂₃ H ₂₈ O ₆	[M+H] ⁺	401.1961	401.1959	0.6	401.1961, 386.1717, 331.1023, 371.5868, 370.1771, 340.2942, 300.0977, 270.5387, 285.0753	五味子	木脂素
33	13.0	五味子丙素	C ₂₂ H ₂₄ O ₆	[M+H] ⁺	385.1653	385.1646	1.9	385.1653, 355.1502, 325.1431, 315.0855	五味子	木脂素

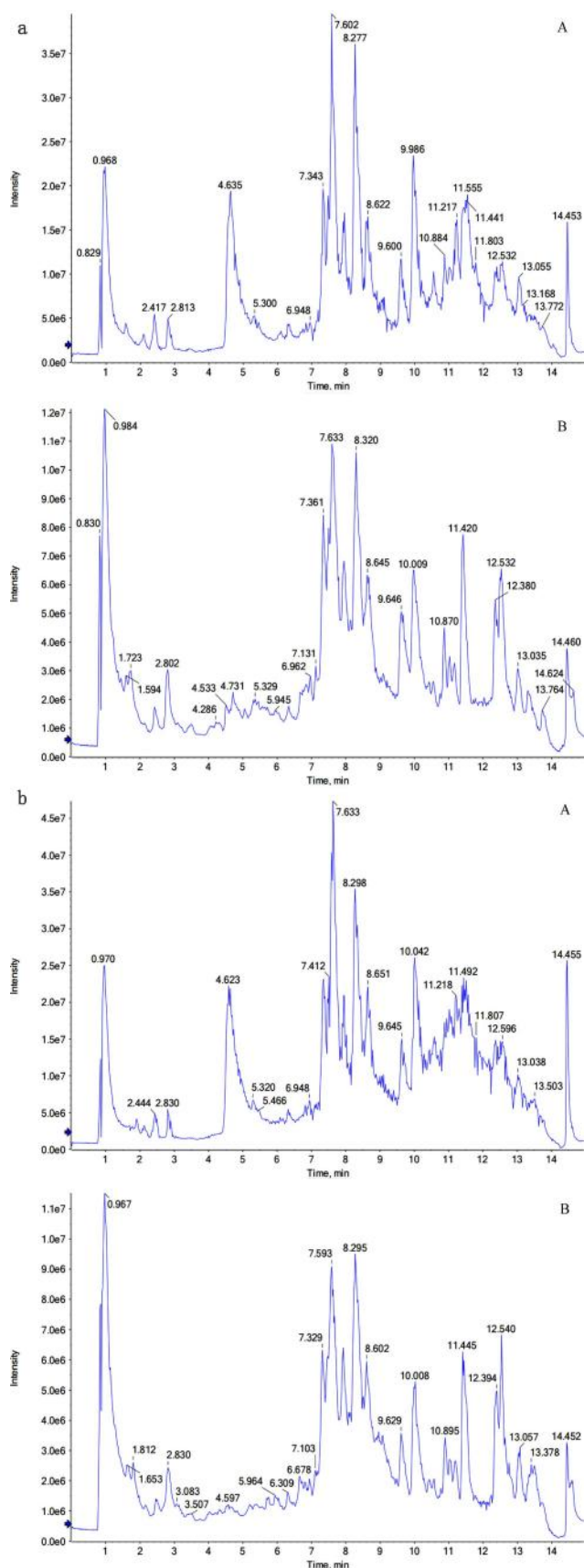


图 8 正 (A)、负 (B) 离子模式下给药血清 (a) 和空白血清 (b) 总离子流图

Fig 8 Total ion chromatograms of drug-containing serum (a) and blank serum (b) in the positive (A) and negative (B) ion modes

皂苷 R_1 、五味子醇甲、异甘草素 6 种成分在二级质谱图与各相应对照品的二级质谱图进行镜像比对,发现两者的碎片离子大量重合,基本可以确认为同一化合物。

4 讨论

本研究采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术结合中药血清药物化学理论,鉴定出了参芪复脉颗粒中 118 个化学成分,并鉴定出 33 个原形入血成分。参芪复脉颗粒的化学成分及入血成分主要为木脂素类、黄酮类及皂苷类成分。参芪复脉颗粒主要用于治疗病毒性心肌炎,促使心肌功能修复,其中木脂素类主要来源于五味子,具有较好的抗氧化、抗炎、抗疲劳和抗肿瘤作用^[19],在多种炎症性及自身免疫性疾病中发挥治疗作用^[20]。黄酮类成分主要来源于黄芪、甘草,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗病毒活性,在增强免疫力、减弱癌细胞的迁移和侵袭以及改善化疗药物的化学敏感性方面也有一定的作用^[21-22]。皂苷类成分主要来源于人参、麦冬、三七,主要药理作用包括抗炎、抗氧化、止血、抗肿瘤、保护心血管和免疫调节活性,有助于治疗慢性疲劳综合征、糖尿病、神经退行性疾病等慢性疾病^[23-25]。

综上所述,测得的入血成分可以初步推测为参芪复脉颗粒的药效物质基础,为后续研究奠定了基础。但中药化学成分复杂,部分化合物响应值较低,本研究检测及鉴定出的成分并不完全,并且越来越多研究发现,中药通过调节肠道菌群而间接发挥治疗作用,有些活性物质未必入血。另外,由于血浆样品中富含大量的代谢小分子等内源性物质,也有一些成分在机体代谢中发生质变,这些物质未被鉴定出来,不能排除是否属于参芪复脉颗粒的入血成分及其衍生物,在未来的研究中,将针对这些物质进一步开展物质鉴定工作。

参考文献

- [1] 王嘉琦,金书含,高海云,等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法测定不同产地人参中 147 种农药残留[J]. 中草药, 2023, 54 (14): 4662-4671.
- [2] 吴怡,余荷蓉,聂心如,等. 基于智能感官技术与多元统计分析的黄芪蜜炙程度快速辨识研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49 (20): 5451-5459.
- [3] 刘楠楠,郭百慧,王晓溪,等. 麦冬对肺炎支原体感染后咳嗽小鼠 TRPA1、SP、CGRP 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42 (12): 185-189, 319-323.
- [4] Rybníkář M, Šmejkal K, Žemlička M. Schisandra chinensis and its phytotherapeutic applications[J]. Ceska Slov Farm, 2019, 68 (3): 95-118.

- [5] 覃灵红, 梁爽. 三七的药理作用及临床应用研究进展[J]. 壮瑶药研究, 2023 (2): 337-340.
- [6] 谢瑞强, 王长福. 炙甘草化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2023, 40 (4): 84-89.
- [7] 朱卫国, 刘勇, 刘学礼, 等. 心肌康泰冲剂对小鼠柯萨奇 B₃ 病毒性心肌炎疗效的病理形态学观察[J]. 黑龙江中医药, 1992 (3): 44-46, 57.
- [8] Yan GL, Sun H, Zhang AH, et al. Progress of serum pharmacochemistry of traditional Chinese medicine and further development of its theory and method[J]. China J Chin Mater Med, 2015, 40 (17): 3406-3412.
- [9] Cheng HY, Chen JH, Yang HH, et al. Identification of active components in *Styela* by HPLC-ESI-TOF/MS and the study on their HPLC specific chromatograms[J]. Yao Xue Xue Bao, 2010, 45 (10): 1285-1289.
- [10] Jia MQ, Xiong YJ, Xue Y, et al. Using UPLC-MS/MS for characterization of active components in extracts of *Yupingfeng* and application to a comparative pharmacokinetic study in rat plasma after oral administration[J]. Molecules, 2017, 22 (5): 810.
- [11] 褚衍涛, 魏文峰, 霍金海, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法分析芩苈清肺浓缩丸中的化学成分[J]. 中成药, 2016, 38 (6): 1303-1310.
- [12] 郑单, 魏文峰, 霍金海, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术的羌活固表颗粒血清药物化学研究[J]. 中草药, 2021, 52 (3): 643-652.
- [13] 苏联麟, 程雪, 季德, 等. 基于 UHPLC-QTOF/MS 技术的生、醋五味子醇提物在大鼠血浆、胆汁、尿液、粪便中药物原形成分及其代谢产物的分析鉴定[J]. 药学报, 2016, 51 (10): 1600-1608.
- [14] 侯玉洁, 张新军, 苏皓, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定达原饮中 28 种成分[J]. 中成药, 2024, 46 (11): 3545-3552.
- [15] Ahn SJ, Kim HJ, Lee A, et al. Determination of 12 herbal compounds for estimating the presence of *Angelica Gigas* Root, *Cornus Fruit*, *Licorice Root*, *Pueraria Root*, and *Schisandra Fruit* in foods by LC-MS/MS[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2020, 7 (9): 1-12.
- [16] Wang HP, Zhang YB, Yang XW, et al. Rapid characterization of ginsenosides in the roots and rhizomes of *Panax ginseng* by UPLC-DAD-QTOF-MS/MS and simultaneous determination of 19 ginsenosides by HPLC-ESI-MS[J]. J Ginseng Res, 2016, 40 (4): 382-394.
- [17] 刘傲雪, 王晶娟, 张贵君, 等. 基于大鼠体内多成分代谢的黄芪质控成分遴选[J]. 药物评价研究, 2018, 41 (2): 216-222.
- [18] Liu H, Lu X, Hu Y, et al. Chemical constituents of *Panax ginseng* and *Panax notoginseng* explain why they differ in therapeutic efficacy[J]. Pharmacol Res, 2020, 161: 105263.
- [19] 《中国药典》2020 年版. 一部[S]. 2020: 68.
- [20] 梁子涵, 尹兰兰. 五味子提取物及其活性成分抗炎作用的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39 (11): 1657-1661.
- [21] Zhang JQ, Wu CX, Gao L, et al. Astragaloside IV derived from *Astragalus membranaceus*: a research review on the pharmacological effects[J]. Adv Pharmacol, 2019, 87: 89-112.
- [22] Yang R, Yuan BC, Ma YS, et al. The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb[J]. Pharm Biol, 2016, 55 (1): 5-18.
- [23] Yang S, Li FY, Lu SY, et al. Ginseng root extract attenuates inflammation by inhibiting the MAPK/NF- κ B signaling pathway and activating autophagy and p62-Nrf2-Keap1 signaling in vitro and in vivo[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 283: 114739.
- [24] Chen MH, Chen XJ, Wang M, et al. *Ophiopogon japonicus*—a phytochemical, ethnomedicinal and pharmacological review[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 185 (1): 1-35.
- [25] Wang T, Guo RX, Zhou GH, et al. Traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen: a review[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 188: 234-258.

(收稿日期: 2024-12-20; 修回日期: 2025-02-01)

基于 Box-Behnken 设计 - 响应面法优选解毒复正煮散 提取工艺及指纹图谱研究

柳子扬¹, 苏倩榕², 黄金伟¹, 姚菲³, 刘鑫鹏¹, 王家晓³, 杨正腾^{3*} (1. 广西中医药大学, 南宁 530000;
2. 广西中医药大学赛恩斯新医药学院, 南宁 530000; 3. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530000)

摘要: **目的** 优选解毒复正煮散提取工艺, 通过指纹图谱研究控制解毒复正煮散质量。 **方法** 以黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素含量及干膏率为指标, 选用层次分析法结合熵权法计算各指标综合权重, 采取响应面法考察粉碎粒度、加水量及煎煮时间对提取工艺的影响, 并且建立了其指纹图谱评价体系。 **结果** 确立解毒复正煮散最佳工艺参数为粉碎粒度 10 目, 加水量 10 倍, 煎煮 5 min, 指纹图谱分析得 15 批解毒复正煮散可分为两类, 控制黄芩药材的质量是确保解毒复正煮散提取工艺稳定的关键。 **结论** 响应面法优选的提取工艺结果可靠, 指纹图谱分析为后续煮散研究打下基础。

关键词: 解毒复正煮散; 提取工艺; 含量测定; 指纹图谱

中图分类号: R283.6, R286 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2814-08
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.002

Optimization of extraction of Jiedu Fuzheng powder decoction and fingerprints based on Box-Behnken design-response surface methodology

LIU Zi-yang¹, SU Qian-rong², HUANG Jin-wei¹, YAO Fei³, LIU Xin-peng¹, WANG Jia-xiao³, YANG Zheng-teng^{3*} (1. *Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000*; 2. *Faculty of Chinese Medical Sciences, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000*; 3. *The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000*)

Abstract: Objective To optimize the extraction of Jiedu Fuzheng powder decoction, and to control its quality by fingerprint study. **Methods** The contents of baicalin, wogonoside, hesperidin, quercetin and the dry extract yielding rate were used as the evaluation indexes, and the comprehensive weight of each index was calculated by Analytic Hierarchy process combined with entropy weight method. Response surface methodology was used to determine the effect of grinding particle size, amount of water-addition and decoction time on the extraction process, and the fingerprint evaluation system was established. **Results** The optimum technological parameters of Jiedu Fuzheng powder decoction included: particle size at 10 mesh, 10 times of water amount, and decoction for 5 min. Controlling the quality of *Scutellaria baicalensis* was key to the stable aqueous extraction process. **Conclusion** The extraction process optimized by response surface methodology is reliable, and the fingerprint analysis lays a foundation for the follow-up study of powder decoction.

Key words: Jiedu Fuzheng powder decoction; extraction; content determination; fingerprint

解毒复正方是由广西中医药大学第一附属医院自拟且用于临床治疗的经验方, 其中包含黄芩、小叶金花草、半枝莲、白花蛇舌草、白术、陈皮等 13

味中药材。该方具有清热解毒、益气扶正的功效, 可改善患者的免疫功能, 主要用于肺癌、肝癌等热毒引起的肿瘤的治疗^[1-2]。解毒复正煮散是在饮片基

基金项目: 广西院内制剂科技成果转化中试研究基地建设 (No.2023AC14005); 国家自然科学基金地区基金项目 (No.82260956)。

作者简介: 柳子扬, 男, 硕士研究生, 主要从事中药制剂研究, email: 865312392@qq.com * **通信作者:** 杨正腾, 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药制剂研究, email: 330560167@qq.com

础上,将各味药材粉碎成一定粒度的药粉,再对其进行煎煮而制备的,因增加了药材与水之间的接触面积,能够提高药物有效成分的煎出率。窦霞等^[3]通过测定葛根苓连汤中 6 种指标性成分的含量,发现煮散中各成分含量均能达到汤剂中的 2 倍以上,证明相比于汤剂,煮散大大提高了有效成分煎出率。余甘树等^[4]研究发现,制何首乌煮散的指标成分含量和均一性比原饮片有显著提高。刘月等^[5]研究银翘散煮散发现,煎煮 5 min 时,非挥发性成分含量即可达到较高值。这些研究表明,煮散相对于饮片,既可以提高煎出率和稳定性、节省中药材资源损耗,又可以缩短煎药时间、降低治疗成本。

本研究针对解毒复正煮散中黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素含量以及干膏率进行测定,采用 Box-Behnken 响应面 (BBD-RSM) 设计,以层次分析法 (AHP) 结合熵权法进行综合评价,优选解毒复正煮散的最佳水提工艺,并对不同批次煮散样品进行指纹图谱研究,以期控制解毒复正煮散的工艺稳定性,为后续煮散的推广应用奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器

e2695 型 Waters 高效液相色谱仪 (美国 Waters), 电磁炉 (C22-RT2240 型, 广东美的生活电器制造有限公司), 电子分析天平 (FA305 型, 上海析牛莱伯仪器有限公司), 恒温定时水浴锅 [WB100-6F 型, 群安科学仪器 (浙江) 有限公司], 高速离心机 (TG16-WS 型, 湖南湘仪离心机仪器有限公司)。

1.2 试药

不同批次解毒复正煮散样品 (自制: 2024061701、2024061702、2024061703、2024061704、2024061705、2024061801、2024061802、2024061803、2024061804、2024061805、2024061901、2024061902、2024061903、2024061904、2024061905)。黄芩、蒲公英、半枝莲、紫花地丁、陈皮等 13 味药材购自广西万宝堂药业有限公司, 经广西中医药大学第一附属医院杨正腾主任中药师鉴定, 均符合 2020 年版《中国药典》相关规定。木犀草苷对照品 (批号: 111720-201106, 中国食品药品检定研究院, 纯度: 99.2%); 黄芩苷 (批号: RP220827, 纯度: 99.44%)、汉黄芩苷 (批号: RP221114, 纯度: 99.38%)、槲皮素 (批号: RP211026, 纯度: 99.26%)、橙皮苷 (批号: RP220321, 纯度: 99.11%)、野黄芩苷 (批号: RP200515, 纯度: 99.37%)、秦皮乙素 (批号: RP210915, 纯度: 99.61%)、黄芩素 (批号: RP220627, 纯度: 99.89%)、汉黄芩素 (批号: RP221130, 纯度: 99.82%) 对照品 (成都麦德生科技有限公司)。乙腈为色谱纯, 甲醇、磷酸、乙醇等为分析纯。

2 方法与结果

2.1 指标成分的含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 SunFire C18 柱 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱程序见表 1; 流速为 0.5 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温为 35 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 274 nm; 进样量为 10 μL 。

表 1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program

时间 /min	乙腈 (A) /%	0.1% 磷酸水溶液 (B) /%
0	5	95
15	27	73
27	30	70
49	37	63
71	60	40
80	70	30

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称定适量黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷和槲皮素对照品, 用甲醇溶解并稀释得到质量浓度分别为 800、300、320、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 按解毒复正方处方量称取全部饮片, 按需求对药材打粉, 加入一定量水浸泡 30 min, 武火煮沸后, 文火煎煮一定时间, 过滤, 浓缩, 另用容器保存。精密吸取 1 mL 解毒复正煮散药液, 置于 10 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至刻度线, 超声 30 min, 3000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液即得供试品溶液。

2.1.4 阴性样品溶液的制备 分别称取方中除黄芩、陈皮以外的其余 12 味药材, 按“2.1.3”项下方法制备, 分别得到缺黄芩、陈皮的阴性样品溶液。

2.1.5 专属性考察 分别取黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素各对照品溶液, 供试品溶液及阴性样品溶液进样测定, 对照品溶液与供试品溶液保留时间一致, 且阴性样品溶液无干扰, 表明此方法专属性好 (见图 1)。

2.1.6 线性关系考察 精密吸取对照品溶液, 稀释得系列溶液进样测定, 分别以对照品溶液质量浓度 (X , $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标建立各指标成分的线性曲线, 得回归方程, 结果见表 2。

表 2 指标成分线性关系

Tab 2 Linearity of index components

成分	回归方程	r	线性范围 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
黄芩苷	$Y = 7.331 \times 10^4 X - 4.469 \times 10^5$	0.9991	40.00 ~ 800.0
汉黄芩苷	$Y = 7.398 \times 10^4 X - 5.797 \times 10^4$	0.9992	12.00 ~ 300.0
橙皮苷	$Y = 2.940 \times 10^4 X + 3.177 \times 10^4$	0.9992	20.00 ~ 320.0
槲皮素	$Y = 4.663 \times 10^4 X + 7.876 \times 10^5$	0.9991	10.00 ~ 200.0

2.1.7 精密度考察 精密吸取各对照品溶液, 进

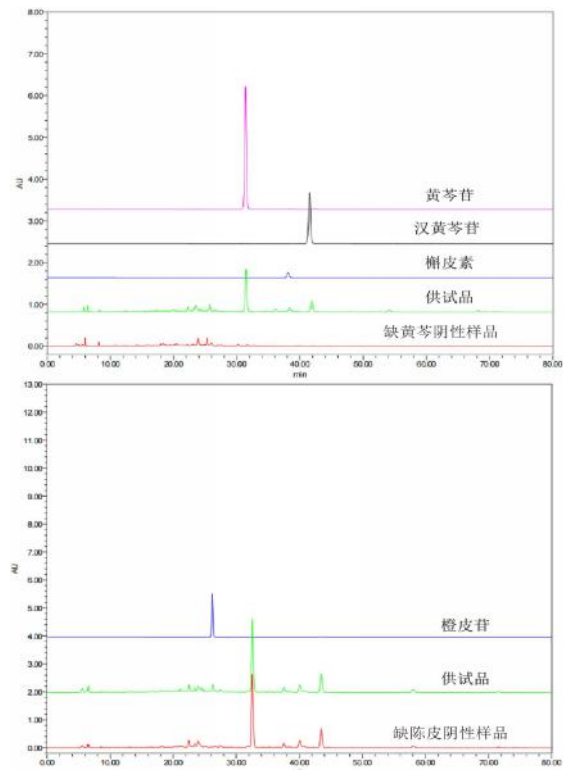


图 1 对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液的 HPLC 叠加图

Fig 1 Overlay of HPLC chromatograms of the reference standard, sample and negative sample solution

样测定 6 次，计算得黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素的 RSD 值分别为 0.60%、0.22%、0.66%、0.72%，结果显示仪器精密度良好。

2.1.8 稳定性考察 精密吸取供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样，测得黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素的 RSD 值分别为 0.85%、0.73%、0.58%、0.81%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.1.9 重复性考察 精密吸取 6 份供试品溶液，进样测得黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素的 RSD 值分别为 1.7%、1.7%、1.5%、1.8%，表明该方法重复性良好。

2.1.10 加样回收考察 精密吸取已知含量的解毒复正煮散样品 6 份，分别向其中加入与样品中含量

一致的黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素对照品，进样测得黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素平均加样回收率分别为 99.80%、99.66%、101.2%、100.4%， RSD 值分别为 1.8%、1.5%、2.1%、1.4%。

2.2 干膏率测定

量取解毒复正煮散浓缩液 20 mL，加置干燥至恒重的蒸发皿 (M_1) 中，水浴加热至水分蒸干后放入烘箱 (105 °C) 3.5 h 后取出，置于干燥器中冷却干燥 30 min，用万分之一分析天平精密称定质量 (M_2)，按公式 1 计算干膏率。

2.3 水提工艺优化

2.3.1 AHP AHP 是将与结论有关的元素分解为各层次，并进行定性与定量分析的方法。以解毒复正煮散中指标性成分黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素含量以及干膏率为评价指标，根据方中君臣佐使、药效作用、含量高低及专家经验判断等，确定各指标的先后顺序为黄芩苷=汉黄芩苷>橙皮苷>槲皮素>干膏率，将各权重指标予以量化，运用一致矩阵法构建对比较的判断矩阵^[6]，最终通过 AHP 得到黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素、干膏率的权重系数 (ω) 为 0.3409、0.3409、0.1757、0.0926、0.0500，见表 3。

表 3 AHP 权重系数结果

Tab 3 Weight coefficient of AHP

权重指标	黄芩苷	汉黄芩苷	橙皮苷	槲皮素	干膏率	ω
黄芩苷	1	1	3	4	5	0.3409
汉黄芩苷	1	1	3	4	5	0.3409
橙皮苷	1/3	1/3	1	3	5	0.1757
槲皮素	1/4	1/4	1/3	1	3	0.0926
干膏率	1/5	1/5	1/5	1/3	1	0.0500

2.3.2 熵权法 熵权法是根据所提供的各指标测量值大小，对各因素进行综合考量从而确定权重的方法。首先按照公式 2 进行数据标准化，接着通过公式 3 计算信息熵，最后以公式 4 计算获得各指标客观权重^[7]。熵权法结果显示，黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素的含量及干膏率的权重系数分别为 0.2203、0.2075、0.2471、0.1761、0.1490。

干膏率 = $[(M_2 - M_1) / 260 \text{ g}] \times (150 \text{ mL} / 20 \text{ mL})$ 式中 260 g 表示药物粗颗粒总重，150 mL 为浓缩液体积，20 mL 为取样量 (公式 1)

$Y_{ij} = [X_{ij} - \min(X_{ij})] / [\max(X_{ij}) - \min(X_{ij})]$ ($j = 1, 2, \dots, n$, 表示指标数目) (公式 2)

$E_j = -\ln(h)^{-1} \sum_{i=1}^h p_{ij} \ln p_{ij}$; $p_{ij} = Y_{ij} / \sum_{i=1}^h Y_{ij}$ 式中, h 表示评价指标的数目 (公式 3)

$W_j = (1 - E_j) / [n - \sum_{j=1}^n E_j]$ (公式 4)

2.3.3 综合权重系数的确定 将 AHP 权重系数与熵权法权重系数按照 1:1 计算加权平均值，即得各项指标综合权重系数，结果如表 4 所示。

2.3.4 单因素试验及响应面设计 将药材制成粗颗粒

是提高煮散有效成分煎出率的关键步骤，因此不同粒度的考察十分重要。整合煮散研究，发现大量煮散工艺涉及加水量和煎煮时间的考察^[8]，于是本研究选择粉碎粒度、加水量和煎煮时间为考察因素。考虑

表 4 煎煮工艺各指标综合权重系数计算
Tab 4 Calculation of comprehensive weight coefficient of the decoction process

指标	AHP	熵权法	综合权重系数
黄芩苷	0.3409	0.2203	0.2806
汉黄芩苷	0.3409	0.2075	0.2742
橙皮苷	0.1757	0.2471	0.2114
槲皮素	0.0926	0.1761	0.1343
干膏率	0.0500	0.1490	0.0995

到不同性质的药材其最佳粉碎度不同^[9]，而粉碎粒度又是煮散工艺研究中关键的因素，固应对每味药材单独进行考察，但鉴于既定的液相方法，并非所有药材均有合适的考察指标，于是本研究选择其中几味重要的药味（黄芩、陈皮、半枝莲、紫花地丁）进行单因素考察。首先，固定加水量和煎煮时间，分别称取不过 5 目、过 5 目不过 10 目、过 10 目不过 24 目、过 24 目不过 50 目、过 50 目不过 65 目的药材进行粉碎粒度考察，综合考量选择过 10 目不过 24 目为整个煮散的最佳粉碎粒度。接着固定粉碎粒度和加水量，

分别煎煮 3、5、7、9、11 min 进行考察，为了达到节省时间的目的，选择 5 min 为最佳煎煮时间。最后由于单味药的加水量与煮散的加水量有很大差异，本研究结合前期汤剂实际生产情况以及临床煮散使用经验得 10 倍加水量为最佳。此外，根据全小林^[10]团队经验，为了节省时间，煎煮次数定为 1 次。

以综合评分 = (黄芩苷含量 / 黄芩苷最高含量 × 0.2806 + 汉黄芩苷含量 / 汉黄芩苷最高含量 × 0.2742 + 橙皮苷含量 / 橙皮苷最高含量 × 0.2114 + 槲皮素含量 / 槲皮素最高含量 × 0.1343 + 干膏率 / 干膏率最大值 × 0.0995) × 100 为响应值，综合单因素试验结果，设计三因素三水平的响应面试验。各因素和水平见表 5，试验方案及结果见表 6。

表 5 煎煮工艺响应面试验因素和水平
Tab 5 Factors and levels of response surface of the decoction process

水平	A. 粉碎粒度 / 目	B. 加水量 / 倍	C. 煎煮时间 / min
— 1	5	8	3
0	10	10	5
1	24	12	7

表 6 煎煮工艺 Box-Behnken 响应面试验方案及结果
Tab 6 Box-Behnken response surface experiment of the decoction process

No.	A	B	C	黄芩苷 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	汉黄芩苷 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	橙皮苷 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	槲皮素 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	干膏率 / %	综合评分
1	1	— 1	0	369.3	79.01	107.5	68.43	11.02	59.24
2	— 1	0	1	426.4	112.3	111.6	85.90	13.14	71.74
3	0	0	— 1	502.7	110.8	145.7	92.59	16.23	81.74
4	0	1	0	491.1	137.2	140.8	85.93	14.55	83.35
5	0	0	0	577.4	158.6	166.6	90.68	17.69	96.62
6	0	— 1	1	401.7	87.67	81.07	69.62	12.34	60.15
7	— 1	1	0	462.0	100.7	85.37	81.75	14.49	68.64
8	— 1	— 1	0	421.3	99.02	80.10	67.22	11.38	62.09
9	— 1	0	— 1	480.6	101.3	108.4	70.24	12.23	69.51
10	— 1	1	1	486.7	115.9	86.46	88.42	14.92	73.69
11	1	1	1	370.8	87.77	111.2	69.34	12.15	62.00
12	1	— 1	— 1	367.6	84.71	85.65	63.35	10.41	56.60
13	0	0	0	539.9	143.0	173.7	96.75	16.24	92.91
14	0	0	0	566.7	147.3	171.2	102.3	16.19	95.36
15	0	0	0	539.9	149.6	182.6	89.61	15.87	93.93
16	0	0	0	569.9	145.8	174.0	91.21	16.89	94.51
17	1	0	— 1	381.3	83.79	121.1	68.05	12.47	62.98

采用 Design Expert 12 软件对响应面方案进行拟合分析，得到解毒复正煮散回归模型为 $Y = -270.75 + 7.18A + 61.97B + 0.30C - 0.088AB - 0.007AC + 2.48BC - 0.23A^2 - 3.60B^2 - 2.40C^2$ 。模型方差分析结果见表 7，影响解毒复正煮散综合评分的因素顺序为粉碎粒度 (A) > 加水量 (B) > 煎煮时间 (C)，A、B、C、BC、A²、B²、C² 均具有显著影响 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，失拟值 $P = 0.3757$ ，不显著，表明该

模型适用于解毒复正煮散提取工艺的分析和预测。响应面图见图 2。

解毒复正煮散在 Design Expert 12 软件设计的回归模型中最佳工艺参数为煎煮时间 5.36 min，粉碎粒度 12.74 目，加水量 10.47 倍，综合得分为 97.83。考虑到试验情形和实际生产操作性，将各因素参数调整为煎煮时间 5 min，粉碎粒度 10 目，加水量 10 倍，平行试验 3 次，结果黄芩苷、汉黄芩苷、

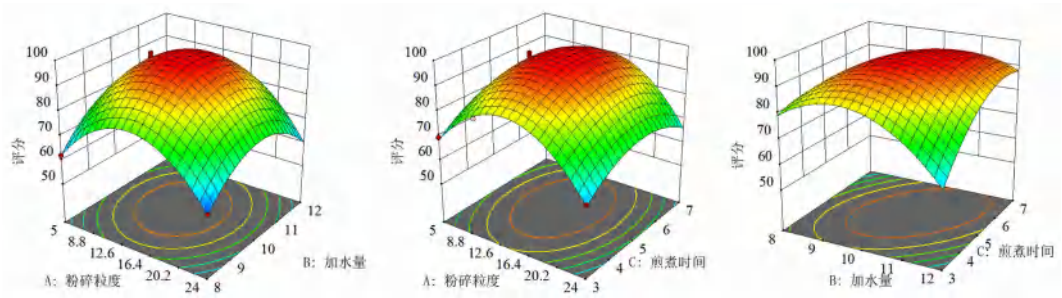


图 2 解毒复正煮散提取工艺的响应面分析结果
Fig 2 Response surface analysis of Jiedu Fuzheng powder decoction extraction process

表 7 解毒复正煮散提取工艺方差分析
Tab 7 Variance analysis of the extraction process of Jiedu Fuzheng powder decoction

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	3405.41	9	378.38	165.20	< 0.0001*
A	67.00	1	67.00	29.25	0.0010*
B	21.47	1	21.47	9.37	0.0183*
C	19.36	1	19.36	8.45	0.0227*
AB	9.16	1	9.16	4.00	0.0856
AC	0.0596	1	0.0596	0.0260	0.8764
BC	189.07	1	189.07	82.55	< 0.0001*
A ²	595.38	1	595.38	259.95	< 0.0001*
B ²	503.47	1	503.47	219.82	< 0.0001*
C ²	275.39	1	275.39	120.23	< 0.0001*
残差	16.03	7	2.29	—	—
失拟项	8.08	3	2.69	1.36	0.3757
误差	7.95	4	1.99	—	—
总误差	3421.45	16	—	—	—

橙皮苷和槲皮素平均含量为 588.5、150.9、172.5、106.3 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，干膏率平均值为 17.31%。解毒复正煮散综合评分平均值为 98.40 ($RSD = 1.3\%$)。

2.4 指纹图谱

2.4.1 色谱条件 / 溶液配制 同“2.1”项下。

2.4.2 精密度试验 吸取解毒复正煮散供试品溶液进行测定，以 7 号黄芩苷色谱峰作为参照，计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.070%~0.50%，相对峰面积的 RSD 值为 0.60%~2.0%，表明仪器精密密度良好。

2.4.3 重复性试验 精密吸取同一批解毒复正煮散样品 (S1)，连续进样 6 次，计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.080%~0.67%，相对峰面积的 RSD 值为 0.92%~2.0%，表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取解毒复正煮散供试品溶液，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样，计算得各共有峰相对保留时间的 RSD 值为 0.090%~0.56%，相对峰面积的 RSD 值为 1.0%~2.0%，表明解毒复正煮散供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 建立指纹图谱及相似度评价 制备不同批

次解毒复正煮散供试品 15 批，进样测定后采集图谱，将 15 批供试品图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”，以 S1 号供试品图谱为参考图谱，进行多点校正和 Mark 峰匹配，共标记出 12 个共有峰，见图 3。相似度评价结果见表 8，15 批供试品相似度均大于 0.99。

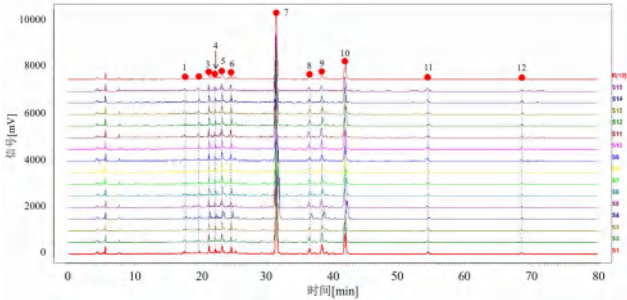


图 3 15 批解毒复正煮散指纹图谱叠加图
Fig 3 Overlay fingerprint spectrum of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

表 8 15 批解毒复正煮散的相似度评价结果
Tab 8 Similarity of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.997	S9	0.993
S2	0.995	S10	0.999
S3	0.997	S11	0.999
S4	0.999	S12	0.999
S5	0.997	S13	0.999
S6	0.999	S14	0.993
S7	0.999	S15	0.995
S8	0.993		

2.5 聚类分析

选取指纹图谱中被指认出的 9 个成分 (如图 4 所示)，将其共有峰含量数据导入 SPSS 25 软件，选用系统聚类，采取组间连接，欧氏平方距离分析结果如图 5 所示。15 批供试品可分为两大类，这与药材来源及贮存时间信息一致。

2.6 主成分分析

将 15 批解毒复正煮散的 9 个成分共有峰含量数据导入 SIMCA 软件进行分析，主成分分析结果如图 6 所示。15 批供试品可大致分为两类，S3、

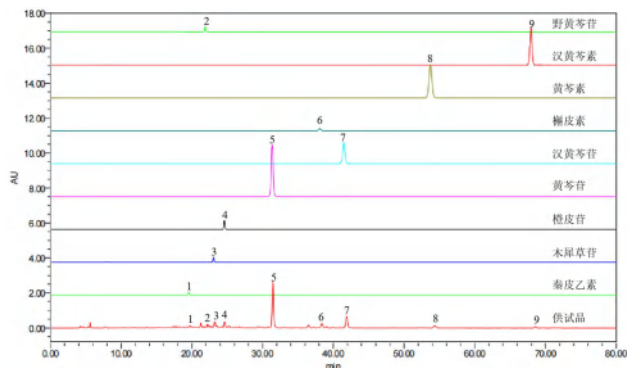


图 4 15 批解毒复正煮散指纹图谱峰指认图

Fig 4 Peak matching of fingerprint spectrum of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

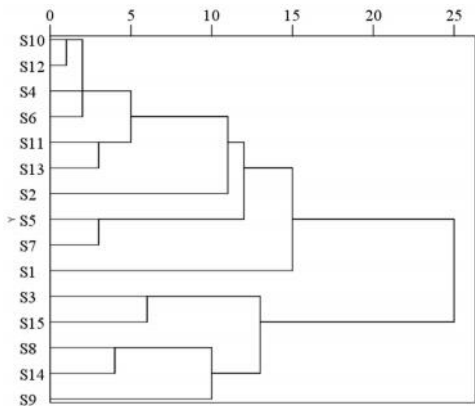


图 5 15 批解毒复正煮散的聚类分析欧氏平方距离

Fig 5 Euclidean squared distance in cluster analysis of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

S8、S9、S14、S15 为第一类，其余 10 批为第二类，可能是因为第一类中的黄芩和第二类黄芩的贮存方式有所不同，致使药材成分含量有所差异。观察主成分分析的载荷图发现（见图 7），影响两个类别供试品的主要成分为槲皮素、黄芩苷、汉黄芩苷、木犀草苷、黄芩素，基本来自黄芩。

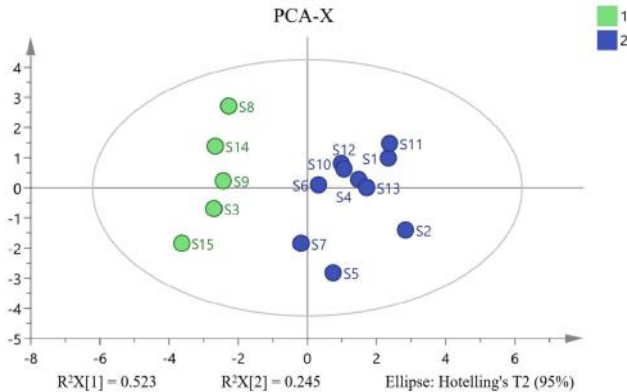


图 6 15 批解毒复正煮散的主成分分析得分图

Fig 6 Scores of principal component analysis of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

2.7 偏最小二乘 - 判别分析

使用 SIMCA 软件对 9 个共有峰含量数据进

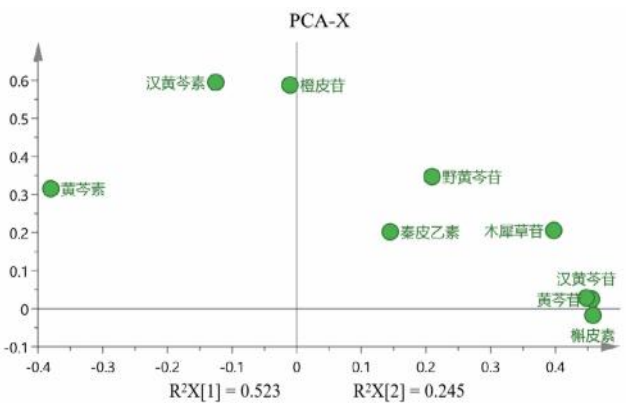


图 7 15 批解毒复正煮散的主成分分析载荷图

Fig 7 Loadings of principal component analysis of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

行偏最小二乘分析，得到 VIP 值结果见图 8。VIP 值大小能够反映其共有峰成分的贡献程度，以 VIP 值 > 1 为判定标准，筛选造成样品批次间差异的标志性成分。如图 8 所示，筛选出 5 个色谱峰，按 VIP 值由大到小分别为槲皮素、黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、木犀草苷，上述 5 个色谱峰是引起批次间差异的主要化学成分，即为潜在差异标志物。5 个标志物均为黄芩所有，进一步说明不同批次解毒复正煮散间质量稳定的关键在于严格控制黄芩药材质量。

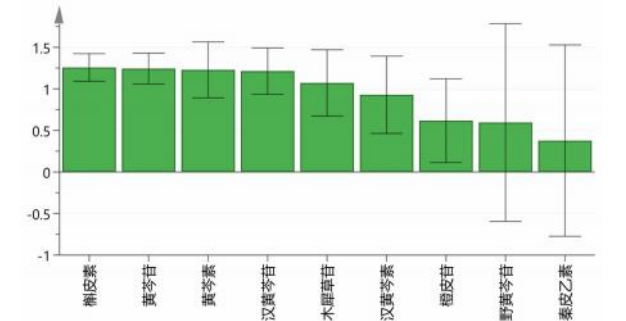


图 8 15 批解毒复正煮散共有峰的 VIP 值图

Fig 8 VIP value of the common peaks of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

在载荷散点图中，距离原点越远，权重值越大，说明该成分的变化对区分样品各批次间的作用越大，作为批次间质量差异性成分的可能性越大。15 批样品共有峰载荷散点图见图 9，结果显示，上述 5 个色谱峰均离原点距离较远，与 VIP 值分析结果一致，与主成分分析载荷结果也相同。

3 讨论

3.1 研究结果

解毒复正煮散是在汤剂基础上的改进，由饮片粉碎成一定粒度的药物颗粒再进行煎煮而得。传统汤剂以饮片形式煎煮药材，传统饮片多质地紧

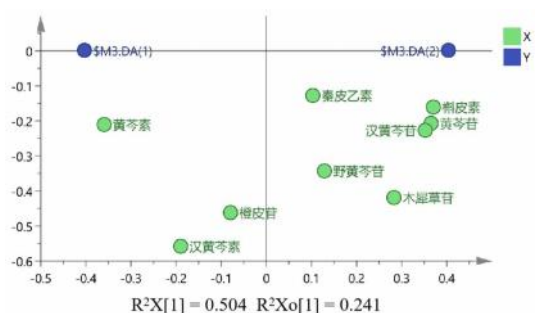


图 9 15 批解毒复正煮散共有峰的偏最小二乘判别分析载荷图

Fig 9 Loadings of orthogonal partial least squares-discriminant analysis of the common peaks of 15 batches of Jiedu Fuzheng powder decoction

密,水分不易溶入药材的细胞组织,致使有效成分溶出困难,因此即使花费大量时间浸泡与煎煮,也难以稳定提取出有效成分,从而导致药材的浪费以及药效的不稳定^[4]。煮散以药粉形态使用,增大了药材与溶剂的接触面积,使得有效成分溶出度更高,减少了药材使用量,且获得药液的性质更加稳定^[10-12]。本研究通过响应面设计优选出解毒复正煮散的最佳提取工艺为粉碎粒度 10 目、加水量 10 倍、煎煮时间 5 min,与同一条件下通过饮片煎煮得到解毒复正汤剂相比,其所含黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷、槲皮素的平均含量 (6.83 、 2.04 、 1.64 、 $1.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ vs 4.73 、 1.30 、 0.82 、 $0.55 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$),分别提高了 44.40%、56.92%、100%、89.09%,用原汤剂药材 2/3 的剂量即可溶出相同含量的有效成分甚至更高。

3.2 指标选择依据

黄芩苷作为黄芩中重要的活性成分之一,可以促使与肿瘤相关的巨噬细胞发生极化,进而促进肝癌细胞自噬^[13];此外,黄芩苷还能通过降低的 STAT3 活性,下调 PD-L1 的表达,从而增强 T 细胞对肝癌细胞的杀伤作用^[14]。汉黄芩苷可以通过下调 HepG2 细胞中 AKT、PI3K 的表达,促进肝癌细胞的凋亡^[15]。槲皮素能够通过上调 PTEN 的表达,阻碍 PI3K/AKT 通路的激活,并进一步调控下游 Cyclin 等凋亡蛋白的表达,加速细胞凋亡^[16-17]。黄芩素是黄芩苷的水解产物,强化了对 STAT3 活性的抑制作用,使 PD-L1 的表达更低, T 细胞免疫效应更强,从而杀死肝癌细胞^[14];还有研究表明,黄芩素可调节 CD24 的表达,影响肝癌细胞的增殖与凋亡^[18],通过 AKT/mTOR 通路或内质网应激引发多种肝癌细胞自噬^[19-20]。野黄芩苷作为半枝莲中的重要成分,具有多种抗肿瘤作用,有研究发现其可使肝癌细胞发生上皮-间质转化 (EMT) 逆转,引起细胞骨架重塑,从而阻止肝癌细胞进行侵袭^[21]。野黄芩苷还可以通过下调肝癌细胞中 Cyclin B1 和 CDK1 的表达,

诱导细胞发生凋亡^[22]。为此,本研究选择黄芩苷、汉黄芩苷、橙皮苷和槲皮素等黄酮类成分作为指标成分进行提取工艺的考察,结合指纹图谱研究,更好地控制解毒复正煮散治疗肿瘤药效的稳定性。

3.3 总结与展望

本研究受液相测定条件限制,仅对黄芩和陈皮中的部分黄酮类物质进行了测定和控制,方中还有半枝莲和白花蛇舌草,作为重要的抗肿瘤药对,其中的指标成分还有待后续发掘。同时,提取工艺只参考相关文献选择了粉碎粒度、加水量和煎煮时间三个影响因素进行考察,下一步可纳入浸泡时间和煎煮次数等更多影响因素及有效成分指标,优化解毒复正煮散提取工艺,从而为其抗肿瘤研究提供更科学的依据。

参考文献

- [1] 王家晓,张玉梅. 清毒扶正汤用于非小细胞肺癌化疗患者疗效观察 [J]. 山东医药, 2011, 51 (7): 86-87.
- [2] 姚菲,石玮,吕梦玉,等. 解毒复正汤通过干扰 miR-223-3p 并靶向调控 TGFBR3 影响肺癌侵袭转移的试验研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25 (4): 1358-1366.
- [3] 窦霞,杨新荣,李硕,等. 高效液相色谱法同时测定葛根芩连汤煮散及汤剂中 6 种指标性成分的含量 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2023, 40 (6): 34-41.
- [4] 余甘树,李娟. 基于多成分含量测定的制何首乌煮散饮片与原饮片煎煮质量比较研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41 (7): 1873-1879.
- [5] 刘月,顾永哲,罗云,等. 银翘散煮散与饮片煎煮过程挥发性成分蒸发规律比较研究 [J]. 中草药, 2022, 53 (10): 2991-2999.
- [6] 梁晓莲,桂雄斌,陈勇,等. 基于层次分析法结合 Box-Behnken 设计响应面法优选咽喉咳合剂提取工艺 [J]. 中药材, 2023, 46 (5): 1243-1248.
- [7] 周晶晶,周洁,窦霞,等. AHP-熵权法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优选党参精准煮散工艺 [J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31 (1): 135-141.
- [8] 俱蓉,李响,朱向东,等. 中药煮散的历史沿革、制备工艺及药效学研究进展 [J]. 中国药房, 2020, 31 (23): 2924-2927.
- [9] 穆兰澄,曹京梅,李冀湘,等. 中药煮散的历史沿革与现代研究概述 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14 (7): 74-75.
- [10] 全小林,张家成,穆兰澄,等. 恢复煮散节省药材 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21 (5): 470-474.
- [11] 孙玉雯,全小林,王菲,等. 中药煮散与饮片煎煮效率的对比研究 I. 部分根和根茎类、花类、叶类和全草类药材 [J]. 中药材, 2016, 39 (3): 598-602.
- [12] 曹丽萍,林晓燕,李曙光,等. 夏枯草精准煮散饮片与普通饮片煎煮质量评价 [J]. 天津药学, 2022, 34 (4): 24-27, 32.
- [13] Hu QC, Zhang WW, Wu Z, et al. Baicalin and the liv-

- er-gut system: pharmacological bases explaining its therapeutic effects [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 165: 105444.
- [14] Ke MY, Zhang ZH, Xu BY, et al. Baicalein and baicalin promote antitumor immunity by suppressing PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105824.
- [15] 李鑫芳. 汉黄芩苷通过 PI3K/AKT 信号通路调控肝癌 HepG2 细胞增殖与凋亡的机制研究 [D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2023.
- [16] Feng XN, Jiang JJ, Shi SH, et al. Knockdown of miR-25 increases the sensitivity of liver cancer stem cells to TRAIL-induced apoptosis via PTEN/PI3K/Akt/Bad signaling pathway [J]. *Int J Oncol*, 2016, 49 (6): 2600-2610.
- [17] 聂新华, 丁浩, 谭丽. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨槲皮素对肝癌细胞增殖、凋亡的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2024, 44 (8): 1960-1964.
- [18] Han ZQ, Zhu SM, Han X, et al. Baicalein inhibits hepatocellular carcinoma cells through suppressing the expression of CD24 [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29 (2): 416-422.
- [19] Wang YF, Li T, Tang ZH, et al. Baicalein triggers autophagy and inhibits the protein kinase B/mammalian target of rapamycin pathway in hepatocellular carcinoma HepG2 cells [J]. *Phytother Res*, 2015, 29 (5): 674-679.
- [20] Wang ZX, Jiang CP, Chen WB, et al. Baicalein induces apoptosis and autophagy via endoplasmic Reticulum stress in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 732516.
- [21] Liu K, Tian T, Zheng Y, et al. Scutellarin inhibits proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cells via down-regulation of JAK2/STAT3 pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (4): 3040-3044.
- [22] Sang EH, Seong MK, Ho JL, et al. Scutellarein induces Fas-mediated extrinsic apoptosis and G₂/M cell cycle arrest in Hep3B hepatocellular carcinoma cells [J]. *Nutrients*, 2019, 11 (2): 263.
- (收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-09)

7, 8-二羟基黄酮对癫痫小鼠神经损伤的改善作用及其作用机制研究

符妙颖*, 张海菊*, 牛萍*, 姚宝珍* (武汉大学人民医院儿科, 武汉 430000)

摘要: **目的** 探讨 7, 8-二羟基黄酮 (7, 8-DHF) 对癫痫小鼠神经损伤的改善作用及其作用机制。**方法** 将雄性 C57BL/6 小鼠 80 只随机分为 4 组, 分别为对照组、模型组、戊四氮 (PTZ) + 7, 8-DHF 组及 7, 8-DHF 组, 每组 20 只。采用腹腔注射 PTZ 的方法制备急性癫痫小鼠模型, 通过观察各组小鼠癫痫发作持续时间、癫痫发作潜伏期、转棒实验及爬杆实验进行行为学评估; 尼氏染色、HE 染色观察脑组织神经元病理变化; ELISA 试剂盒检测各组大鼠血清中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、血清肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、细胞白介素 (IL)-1 β 及 IL-6 水平; 免疫荧光染色观察小胶质细胞激活情况; Western blot 法检测小鼠脑组织中嘌呤能 P2X7 受体 (P2X7R) 及细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 的表达情况。**结果** 行为学结果显示, 与模型组相比, PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠癫痫发作持续时间缩短, 潜伏期延长, 转棒实验掉落潜伏期延长, 爬杆实验下降时间缩短 ($P < 0.05$); 尼氏染色及 HE 染色显示, PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠海马区神经元尼氏小体丰富, 神经元受损减少 ($P < 0.05$); ELISA 结果显示, 小鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 MDA 明显降低, SOD 和 GSH 含量明显增加 ($P < 0.05$); 免疫荧光染色显示, PTZ + 7, 8-DHF 组小胶质细胞激活减少 ($P < 0.05$); Western blot 结果显示, PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠脑组织中 P2X7R 及 ERK 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$)。**结论** 7, 8-DHF 可改善癫痫小鼠神经损伤, 其作用机制可能与抑制 P2X7R/ERK 信号通路, 减轻氧化应激与炎症反应有关。

关键词: 7, 8-二羟基黄酮; 癫痫; P2X7R/ERK 信号通路; 氧化应激; 炎症

中图分类号: R286

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2821-07

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.003

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81901318); 湖北省自然科学基金 (No.2023AFC014); 武汉大学医学腾飞计划 (No.TFLC2018001)。

作者简介: 符妙颖, 女, 硕士研究生, 主要从事儿童神经疾病研究, email: 857716685@qq.com * **通信作者:** 姚宝珍, 女, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事儿童神经疾病研究, email: professorsyao@aliyun.com; 张海菊, 女, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事儿童神经疾病研究, email: streeg@sina.com; 牛萍, 女, 副主任医师, 主要从事儿童免疫及心血管疾病研究, email: niuping999@163.com

Effect of 7, 8-dihydroxyflavone on the nerve injury in epileptic mice and its related mechanism

FU Miao-ying, ZHANG Hai-ju*, NIU Ping*, YAO Bao-zhen* (*Department of Pediatrics, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430000*)

Abstract: Objective To determine the ameliorating effect of 7, 8-dihydroxyflavone (7, 8-DHF) on the nerve injury in epileptic mice, and related mechanism. **Methods** Totally 80 male C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups: a control group, a model group, a pentanttetrazole (PTZ) + 7, 8-DHF group and a 7, 8-DHF group, with 20 mice in each group. Mouse models of acute epilepsy were established by intraperitoneal injection of PTZ. The seizure duration, seizure latency, rod rotation test and rod climbing test were observed in each group of mice. Nissl staining and HE staining were used to observe the pathological changes of neurons in the brain tissue. The serum levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), serum tumor necrosis factor (TNF)- α , cytoleukin (IL)-1 β and IL-6 were detected by ELISA. Immunofluorescence staining was used to observe the activation of microglia. Western blot was used to detect the expression of purinergic P2X7 receptor (P2X7R) and extracellular regulatory protein kinase (ERK) in the brain tissue. **Results** The behavioral study showed that compared with those of the model group, the seizure duration, and the latency of the PTZ + 7, 8-DHF group were shortened, the drop latency of the rotating rod experiment was prolonged, and the descending time of the climbing rod experiment was shortened ($P < 0.05$). Nissl staining and HE staining showed that the neurons in the hippocampus of mice in the PTZ + 7, 8-DHF group were rich in Ni bodies and the neuronal damage was reduced ($P < 0.05$). ELISA showed that TNF- α , IL-1 β , IL-6 and MDA were significantly decreased, and the contents of SOD and GSH were significantly increased ($P < 0.05$). Immunofluorescence staining showed that microglial activation was reduced in the PTZ + 7, 8-DHF group ($P < 0.05$). Western blot showed that the expression levels of P2X7R and ERK proteins in the brain tissues of mice treated with 7, 8-DHF were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** 7, 8-DHF can improve the nerve injury in epileptic mice, whose mechanism may be related to the inhibition of P2X7R/ERK signaling pathway, and alleviation of oxidative stress and inflammatory responses.

Key words: 7, 8-dihydroxyflavonoid; epilepsy; P2X7R/ERK signaling pathway; oxidative stress; inflammation

癫痫是一种由脑部神经元异常放电引起的慢性脑功能障碍综合征, 临床表现为抽搐、意识丧失及认知功能紊乱等, 全球患者总数约达 7000 万人^[1]。其发病机制涉及遗传、免疫、代谢及感染等多重因素^[2]。抗癫痫药物 (AEDs) 是治疗癫痫的主要手段, 但约 30% 的患者对现有 AEDs 治疗无效, 最终进展为难治性癫痫^[3]。此外, 传统 AEDs 常伴随肝毒性、粒细胞缺乏症及嗜睡等严重不良反应^[4-6]。因此, 开发新型治疗策略对改善癫痫患者预后及生活质量具有重要临床意义。

类黄酮是一类广泛存在于自然界中的生物活性物质, 因其显著抗肿瘤、抗炎及抗氧化等药理特性, 在克服传统药物局限性方面具有重要潜力。其中, 7, 8-二羟基黄酮 (7, 8-DHF) 作为

脑源性神经营养因子 (BDNF) 模拟物, 在神经系统疾病治疗中具有独特作用: 其通过激活原肌球蛋白相关激酶 B (TrkB) - 蛋白激酶 B (AKT) / 细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 信号通路, 改善帕金森病模型小鼠线粒体功能障碍及病理改变^[7]; 通过调控 TrkB- 磷脂酶 C (PLC) - γ 信号通路, 缓解亨廷顿病模型小鼠长期记忆障碍和运动缺陷^[8]。然而, 7, 8-DHF 在癫痫治疗方面仍有待深入研究。基于此, 本研究以癫痫模型小鼠为研究对象, 旨在探讨 7, 8-DHF 对癫痫所致神经损伤的保护作用, 并以 P2X7 受体 / 细胞外调节蛋白激酶 (P2X7R/ERK) 信号通路为切入点阐明其作用机制, 以期对 7, 8-DHF 的临床应用及药物开发提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

4~5 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 80 只, 体重 22~28 g [动物生产合格证号: SCXK (湘) 2019-0004], 均饲养于武汉大学人民医院动物实验中心 SPF 级动物房, 小鼠自由饮水进食, 适应性饲养 1 周后进行实验, 环境温度 (22±2) °C, 湿度 55%~65%。本研究通过武汉大学人民医院动物实验伦理委员会批准, 伦理编号为: WDRM 动物 (福利) 第 20220507A 号。

1.2 试剂

7, 8-DHF (上海 MCE 有限公司, 批号: HY-W013372), 戊四氮 (PTZ, 上海阿拉丁生物化学技术有限公司, 批号: P103065), 尼氏染液 (批号: G1036)、苏木精-伊红 (HE) 染色液 (批号: G1005)、Iba1 抗体 (批号: GB1510)、ERK 抗体 (批号: GB11560)、GAPDH 抗体 (批号: GB11002)、超氧化物歧化酶 (SOD) ELISA 试剂盒、丙二醛 (MDA) ELISA 试剂盒、谷胱甘肽 (GSH) ELISA 试剂盒、血清肿瘤坏死因子 (TNF)- α ELISA 试剂盒、白细胞介素 (IL)-1 β ELISA 试剂盒、IL-6 ELISA 试剂盒、二抗 (批号: GB23303)、抗荧光淬灭封片剂 (批号: G1407) (武汉赛维尔生物科技有限公司), P2X7R 抗体 (Abcam 公司, 批号: EPR26989-11)。

1.3 仪器

病理切片机 (德国徕卡仪器有限公司), TECAN sunrise 酶标仪 (瑞士帝肯), 正置显微镜 (OLYMPUS, BX53), 化学发光分析仪 (美国 BIO-RAD 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药

将 80 只小鼠按照随机数字法分为 4 组, 每组 20 只, 分别为对照组、模型组 (PTZ 组, 35 mg·kg⁻¹)、PTZ + 7, 8-DHF 组 (PTZ 35 mg·kg⁻¹ + 7, 8-DHF 5 mg·kg⁻¹) 及 7, 8-DHF 组 (7, 8-DHF 5 mg·kg⁻¹)。PTZ + 7, 8-DHF 组及 7, 8-DHF 组注射 7, 8-DHF 1 h 后, 模型组及 PTZ + 7, 8-DHF 组腹腔注射 PTZ, 7, 8-DHF 组和对照组在同一时间点注射等量生理盐水。各组 10 只小鼠给药当日进行行为学观察后即处死; 余 10 只小鼠连续给药 1 周, 1 周后, 小鼠进行运动行为学评估后处死。

2.2 小鼠癫痫发作情况及运动行为学评估

给药结束 30 min 后, 对小鼠进行行为学观察 1 h, 根据 Racine 分级进行癫痫发作评定^[9], I: 面部肌肉抽搐, 如眨眼、胡须抖动等; II: 头部抽

搐, 如头部的节律性抖动等; III: 前肢阵挛, 可能保持站立, 但动作明显受限; IV: 站立并后肢阵挛, 可能失去平衡; V: 全身性强直阵挛发作, 可失去平衡并倒地。若评估小鼠癫痫表现可达 Racine 分级 IV 以上, 并持续 15 min 以上, 则认为造模成功^[10], 并记录小鼠癫痫发作潜伏期及持续时间。

4 组小鼠提前 3 d 适应仪器、环境, 给药结束 1 周后进行转棒实验、爬杆实验, 旨在检测癫痫发作后小鼠肢体的运动能力。①转棒实验: 将小鼠置于旋转的胶棒上, 匀速调节胶棒转速从 5 r·min⁻¹ 增加至 40 r·min⁻¹, 记录小鼠从转棒上掉落的时间, 即掉落潜伏期, 每只小鼠进行 3 次重复实验。②爬杆实验: 将小鼠置于竖直放置、直径为 10 mm、高度 50 cm 的长杆顶部, 记录小鼠从顶部开始至到达地面的时间, 每只小鼠进行 3 次重复实验。

2.3 小鼠标本采集

行为学观察 1 h 后, 使用二氧化碳麻醉小鼠, 并将其处死。部分脑组织取出后固定于 4% 多聚甲醛, 用于后续切片染色; 另一部分脑组织冻存于 -80 °C 冰箱中, 用于后续的 ELISA 检测等。

2.4 尼氏染色

每组小鼠的脑组织被制成石蜡切片, 经过烤片、脱蜡、梯度乙醇水化后, 用甲苯胺蓝染色, 用蒸馏水冲洗后风干, 梯度乙醇脱水并透明化, 最后用中性树脂封片, 于显微镜下观察染色结果。正常神经元胞体内可见深蓝色尼氏小体, 且细胞核清晰可见。

2.5 HE 染色

取出制备好的石蜡切片, 经过烤片、脱蜡、梯度乙醇水化后, 将切片置于苏木精染液中染色, 使细胞核着色; 接着用 1% 盐酸乙醇进行分化, 再将切片置于伊红染液中染色; 然后将切片依次浸入梯度乙醇 (70%、80%、95%、100%) 中进行脱水, 使用二甲苯透明化切片; 最后用中性树脂封片, 于显微镜下观察染色结果。正常神经元细胞核可被染成深蓝色, 核仁清晰可见, 细胞质内尼氏小体可能呈现颗粒状或斑块状结构。

2.6 免疫荧光染色

取出制备好的石蜡切片, 将石蜡切片烘干, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 浸泡 3 次, 通透液通透 20 min, 再用含有 5% 山羊血清的 PBS 溶液在室温下封闭 1 h, 封闭结束后加入一抗, 于 4 °C 冰箱过夜; 次日回收一抗、用 PBS 清洗 3 次, 加入二抗后室温避光孵育 1 h; 再用 PBS 清洗 3 次, 滴入含有抗荧光淬灭剂 DAPI 染液进行封片, 于显微镜下观察。

2.7 ELISA 检测小鼠脑组织氧化应激及炎症因子指标水平

取出小鼠海马组织，研磨，取上清液，根据 ELISA 试剂盒说明书操作，通过酶标仪在 450 nm 处检测 SOD、MDA、GSH、TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平。

2.8 Western-blot 法检测小鼠脑组织 P2X7R 及 ERK 蛋白水平

取出小鼠海马组织，研磨，取上清液，加入裂解液，采用 BCA 法进行蛋白定量。10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白后，将其转移至 PVDF 膜上，随后用封闭液进行封闭，分别加入一抗 [P2X7R (1:1000) 及 ERK (1:1000)]，于摇床上 4℃ 孵育过夜，次日将 PVDF 膜清洗 3 次，加入二抗，室温摇床上孵育 1 h。最后分析蛋白条带灰度值。

2.9 统计学方法

采用 GraphPad Prism 6.0 软件统计分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA)，方差齐时采

用 Tukey 检验，方差不齐时采用 Games-Howell 检验；两组间比较采用 LSD- t 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠癫痫发作情况和运动行为学的影响

分别在小鼠给药当日和 1 周后，通过小鼠癫痫行为学表现、转棒实验及爬杆实验评估 7, 8-DHF 对小鼠的影响。结果如图 1 所示，与对照组相比，PTZ 组小鼠癫痫发作持续时间显著延长，而发作潜伏期明显缩短，转棒实验掉落潜伏期缩短，爬杆实验小鼠从顶端至底部下降时间延长 ($P < 0.001$)；与 PTZ 组相比，PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠癫痫发作持续时间缩短，潜伏期延长，且转棒实验掉落潜伏期延长，爬杆实验下降时间缩短 ($P < 0.001$)。这表明 7, 8-DHF 可改善 PTZ 小鼠癫痫发作及运动功能缺陷，对癫痫所致的功能损伤具有明显的保护作用。

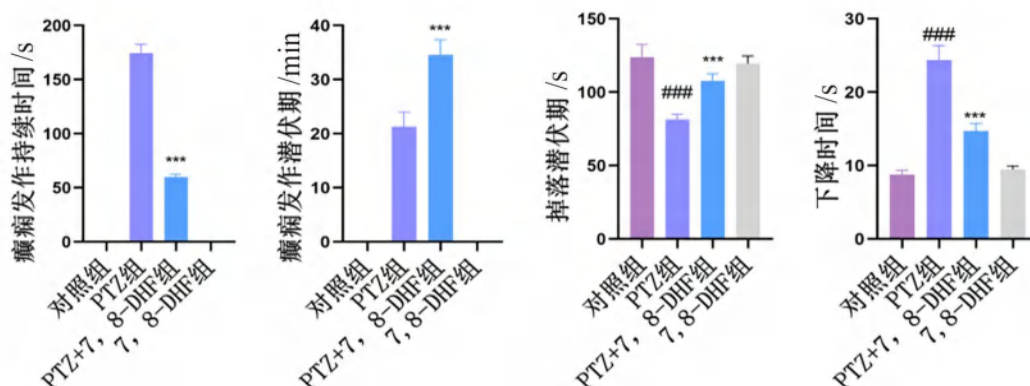


图 1 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠癫痫发作情况和运动行为学的影响 ($n = 10$)

Fig 1 Effect of 7, 8-DHF on seizure conditions and motor behavior in PTZ mice ($n = 10$)

注：与对照组比较，### $P < 0.001$ ；与 PTZ 组比较，*** $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, ### $P < 0.001$; compared with the PTZ group, *** $P < 0.001$.

3.2 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠海马区神经元的影响

采用尼氏染色、HE 染色检测小鼠海马区神经元的病理损伤情况。结果如图 2 所示，对照组及 7, 8-DHF 组海马区神经元排列有序，结构完整，胞体较大，染色质少，核仁明显，尼氏小体较多；PTZ 组海马区神经元排列紊乱，结构遭到破坏，神经元固缩，染色加深，尼氏小体减少 ($P < 0.001$; $P < 0.01$)；PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠海马区神经元受损程度减少，神经元排列整齐，偶见细胞体积缩小、形态不规则状，染色质减少，尼氏小体数量增多 ($P < 0.001$; $P < 0.05$)，这表明海马神经元损伤情况得到了改善。

3.3 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中氧化应激标志物的影响

与对照组及 7, 8-DHF 组相比，PTZ 组小鼠脑组织 MDA 含量显著增加，SOD 和 GSH 含量明显降低 ($P < 0.001$)，经 7, 8-DHF 干预后，小鼠脑组织 MDA 含量明显减少，SOD 和 GSH 含量明显增加 ($P < 0.001$)，结果见表 1。这表明 7, 8-DHF 可有效抑制 PTZ 小鼠氧化应激反应。

3.4 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中炎症因子水平的影响

与对照组及 7, 8-DHF 组相比，PTZ 组小鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 显著升高 ($P < 0.001$)，PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 明显降低 ($P < 0.001$)，结果见表 2，说明 7, 8-DHF 可有效减轻 PTZ 小鼠神经炎症反应。

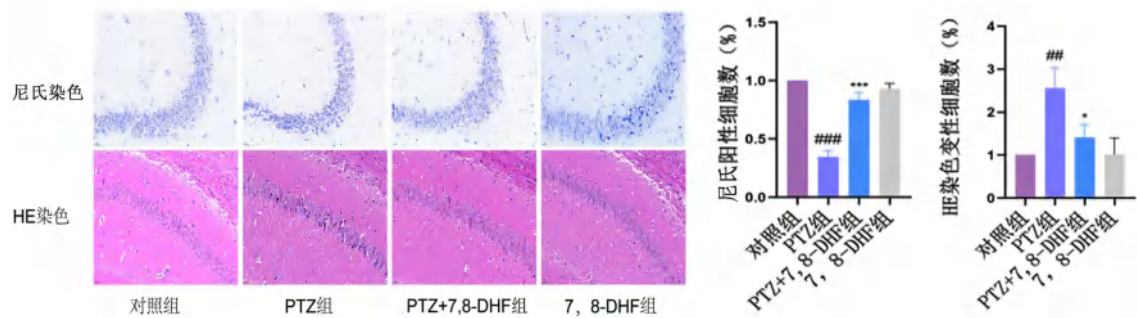


图 2 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织海马区神经元的影响 (n = 10)
Fig 2 Effect of 7, 8-DHF on neurons in the hippocampus of PTZ mouse brain tissue (n = 10)

注：与对照组比较，^{###}*P* < 0.01，^{####}*P* < 0.001；与 PTZ 组比较，^{*}*P* < 0.05，^{***}*P* < 0.001。
Note: Compared with the control group, ^{###}*P* < 0.01, ^{####}*P* < 0.001; compared with the PTZ group, ^{*}*P* < 0.05, ^{***}*P* < 0.001.

表 1 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中氧化应激标志物的影响
($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Tab 1 Effect of 7, 8-DHF on oxidative stress markers in brain tissue of PTZ mice ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	SOD/ (U · mg ⁻¹)	MDA/ (nmol · mg ⁻¹)	GSH/ (nmol · mg ⁻¹)
对照组	192.69 ± 5.91	2.01 ± 0.21	30.25 ± 1.97
PTZ 组	81.08 ± 3.55 ^{###}	6.05 ± 0.28 ^{###}	18.71 ± 0.73 ^{###}
PTZ + 7, 8-DHF 组	131.97 ± 4.18 ^{***}	3.11 ± 0.18 ^{***}	28.14 ± 1.18 ^{***}
7, 8-DHF 组	178.78 ± 6.91	2.67 ± 0.22	29.56 ± 0.78

注：与对照组比较，^{###}*P* < 0.001；与 PTZ 组比较，^{***}*P* < 0.001。
Note: Compared with the control group, ^{###}*P* < 0.001; compared with the PTZ group, ^{***}*P* < 0.001.

表 2 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中炎症因子的影响
($\bar{x} \pm s$, n = 10)

Tab 2 Effect of 7, 8-DHF on inflammatory factors in brain tissue of PTZ mice ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	TNF-α/ (ng · L ⁻¹)	IL-1β/ (ng · L ⁻¹)	IL-6/ (ng · L ⁻¹)
对照组	49.24 ± 5.60	54.33 ± 6.39	69.92 ± 6.33
PTZ 组	126.9 ± 5.49 ^{###}	155.05 ± 6.75 ^{###}	181.2 ± 6.82 ^{###}
PTZ + 7, 8-DHF 组	71.12 ± 4.55 ^{***}	110.84 ± 7.18 ^{***}	107.38 ± 5.14 ^{***}
7, 8-DHF 组	59.08 ± 6.61	77.41 ± 4.78	85.73 ± 4.91

注：与对照组比较，^{###}*P* < 0.001；与 PTZ 组比较，^{***}*P* < 0.001。
Note: Compared with the control group, ^{###}*P* < 0.001; compared with the PTZ group, ^{***}*P* < 0.001.

3.5 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中小胶质细胞的影响

Iba1 是小胶质细胞的标志物，小胶质细胞激活后可提高 Iba1 的表达水平。利用免疫荧光染色检测小鼠脑组织小胶质细胞激活情况。结果如图 3 所示，与对照组及 7, 8-DHF 组相比，PTZ 组

小鼠脑组织 Iba1 免疫荧光强度增强，提示小胶质细胞激活 (*P* < 0.001)；PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠脑组织，Iba1 免疫荧光强度减弱，小胶质细胞激活较少 (*P* < 0.001)，这表明 7, 8-DHF 可抑制小胶质细胞的激活，对 PTZ 小鼠具有神经保护作用。

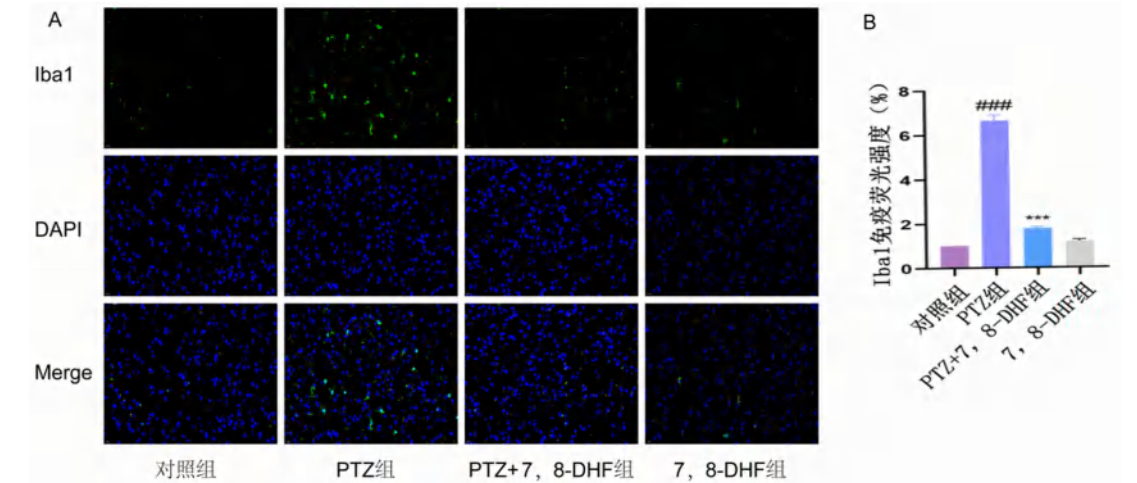


图 3 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中小胶质细胞的影响 (n = 10)
Fig 3 Effect of 7, 8-DHF on microglia in brain tissue of PTZ mice (n = 10)

注：与对照组比较，^{###}*P* < 0.001；与 PTZ 组比较，^{***}*P* < 0.001。
Note: Compared with the control group, ^{###}*P* < 0.001; compared with the PTZ group, ^{***}*P* < 0.001.

3.6 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织 P2X7R/ERK 信号通路的影响

采用 Western blot 法对各组小鼠脑组织中 P2X7R/ERK 信号通路相关蛋白的表达进行检测。结果如图 4 所示, 与对照组和 7, 8-DHF 组相比, PTZ 组小鼠脑组织中 P2X7R 及 ERK 蛋白表达水平提高 ($P < 0.001$), PTZ + 7, 8-DHF 组小鼠脑组织中 P2X7R 及 ERK 蛋白表达水平降低 ($P < 0.001$), 表明 7, 8-DHF 可以抑制 PTZ 小鼠脑组织中的 P2X7R/ERK 信号通路, 发挥神经保护作用。

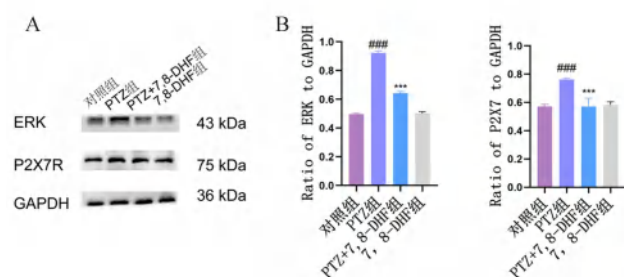


图 4 7, 8-DHF 对 PTZ 小鼠脑组织中 P2X7R/ERK 信号通路的影响 ($n = 10$)

Fig 4 Effect of 7, 8-DHF on P2X7R/ERK signaling pathway in brain tissue of PTZ mice ($n = 10$)

注: 与对照组比较, ^{###} $P < 0.001$; 与 PTZ 组比较, ^{***} $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, ^{###} $P < 0.001$; compared with the PTZ group, ^{***} $P < 0.001$.

4 讨论

癫痫是一种常见慢性神经系统疾病, 其特征为反复发作的无诱因局灶性癫痫。类黄酮化合物因其药理作用广泛、安全性良好、不良反应少及耐药性风险低, 已成为 AEDs 的潜在辅助治疗药物^[11]。7, 8-DHF 作为天然类黄酮之一, 可有效穿过血脑屏障, 模拟 BDNF 功能, 选择性激活 TrkB 及其下游信号通路^[12]。在血管性痴呆小鼠模型中, 7, 8-DHF 通过激活 AKT/环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CREB)/BDNF 信号通路显著抑制氧化应激和炎症反应, 改善慢性脑灌注不足引起的认知功能障碍^[13]。此外, 7, 8-DHF 与利拉鲁肽的联合应用可有效阻止 Wolfram 综合征模型大鼠的侧脑室扩大, 减少神经元炎症, 延缓视神经萎缩, 并促进髓鞘再生^[14]。这些发现为 7, 8-DHF 在神经系统疾病治疗中的应用提供了重要依据。

本研究首次探讨了 7, 8-DHF 在 PTZ 诱导的急性癫痫小鼠模型中的神经保护作用及机制。结果显示, 7, 8-DHF 治疗显著延长癫痫发作潜伏期并缩短发作持续时间, 同时改善模型小鼠的运动功能缺陷, 表现为转棒实验掉落潜伏期延长和

爬杆实验下降时间缩短。此外, 尼氏染色和 HE 染色结果表明, 7, 8-DHF 显著减轻海马区神经元损伤, 维持神经元结构完整性及排列有序性。可见, 7, 8-DHF 对癫痫所致的功能损伤有显著的神经保护作用。

炎症和氧化应激是癫痫发生和发展的重要机制。炎症因子的释放可增强神经元兴奋性, 并通过诱导细胞凋亡、自噬和坏死等程序性死亡途径加剧神经损伤^[15-17]。氧化应激通过大量活性氧 (ROS) 的生成, 导致钙稳态失衡和谷氨酸受体过度激活, 从而促进癫痫发作^[18-20], 抑制氧化应激可显著改善癫痫预后。本研究证实, 模型组脑组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达显著上调; 而 7, 8-DHF 干预后, 上述炎症因子表达水平显著降低。此外, 模型组中氧化应激标志物 MDA 水平升高, 抗 SOD、GSH 活性降低, 而 7, 8-DHF 治疗可逆转这些变化。由此可见, 7, 8-DHF 通过减弱炎症反应和改善氧化损伤来发挥神经保护作用。其作用机制可能涉及多种信号通路, 有待进一步研究。

小胶质细胞是中枢神经系统的常驻免疫细胞, 可在癫痫发作时被激活, 促进神经炎症的发展。P2X7R 是位于小胶质细胞表面, 由细胞外三磷酸腺苷 (ATP) 激活的非选择性阳离子通道受体, 被认为是炎症的重要驱动因素^[21]。癫痫发生时, 氧化应激诱导的细胞死亡常伴随 ATP 水平升高, 而高浓度 ATP 可激活 P2X7R, 活化的 P2X7R 可介导小胶质细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)、细胞内磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等第二信使, 促进炎症因子 (如 IL-1 β 、IL-18、IL-6 和 TNF- α) 的释放^[22]。本研究中, 免疫荧光染色结果显示, 模型组中 Iba1 表达显著上调, 提示小胶质细胞被激活; 而经 7, 8-DHF 干预后, Iba1 荧光强度明显减弱, 表明 7, 8-DHF 有效抑制小胶质细胞的活化; Western blot 检测结果显示, 7, 8-DHF 显著降低模型小鼠脑组织中 P2X7R 及 ERK 蛋白的表达水平, 提示 7, 8-DHF 通过抑制 P2X7R/ERK 信号通路发挥神经保护作用。我们推测, 7, 8-DHF 通过模型小鼠的氧化应激反应, 使脑组织 ATP 浓度下调, 借此调节小胶质细胞中 P2X7R/ERK 信号的表达, 减轻神经炎症反应的发生, 从而发挥神经保护作用, 这可能是其治疗癫痫的潜在分子机制。

综上所述, 本研究证实 7, 8-DHF 可显著改善癫痫发作及运动行为缺陷, 其神经保护作用可能与调控 P2X7R/ERK 信号通路密切相关。这一发现为 7, 8-DHF 在癫痫治疗中的临床应用提供了

理论依据。但本研究仍存在一定局限性：一方面，我们仅研究了急性癫痫模型，未来需进一步探索 7, 8-DHF 在慢性癫痫模型中的长期治疗效果；另一方面，7, 8-DHF 调控 P2X7R/ERK 信号通路的具体分子机制尚未阐明，且其口服生物利用度较低^[23]，限制了其治疗潜力的充分发挥。未来研究应着重于 7, 8-DHF 更深入的机制研究及药物递送策略研究，以期为癫痫的临床治疗提供新思路。

参考文献

- [1] Thijs RD, Surges R, O'Brien TJ, et al. Epilepsy in adults [J]. *Lancet*, 2019, 393 (10172): 689-701.
- [2] 魏丽. 癫痫发病机制研究进展 [J]. *神经疾病与精神卫生*, 2012, 12 (3): 313-315
- [3] Kanner AM, Bicchi MM. Antiepileptic medications for adults with epilepsy: a review [J]. *JAMA*, 2022, 327 (13): 1269-1281.
- [4] Chalasani N, Bonkovsky HL, Stine JG, et al. Clinical characteristics of antiepileptic-induced liver injury in patients from the DILIN prospective study [J]. *J Hepatol*, 2022, 76 (4): 832-840.
- [5] Ortinski P, Meador KJ. Cognitive side effects of antiepileptic drugs [J]. *Epilepsy Behav*, 2004, 62 (6): 872-877.
- [6] Nevitt SJ, Sudell M, Cividini S, et al. Antiepileptic drug monotherapy for epilepsy: a network meta-analysis of individual participant data [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 4 (4): Cd011412.
- [7] Tian Y, Pan LN, Yuan X, et al. 7, 8-dihydroxyflavone ameliorates mitochondrial impairment and motor dysfunction in the α -synuclein 1-103 transgenic mice [J]. *Neurobiol Dis*, 2022, 169: 105736.
- [8] Orefice LL, Waterhouse EG, Partridge JG, et al. Distinct roles for somatically and dendritically synthesized brain-derived neurotrophic factor in morphogenesis of dendritic spines [J]. *J Neurosci*, 2013, 33 (28): 11618-32.
- [9] Van EJ, Van DD, De DPP. PTZ-induced seizures in mice require a revision of the Racine scale [J]. *Epilepsy Behav*, 2019, 95 (1): 51-55.
- [10] 李承, 罗小青, 孙瑞迪, 等. Klotho 在氯化锂-匹罗卡品诱导颞叶癫痫大鼠认知功能障碍中的作用及机制研究 [J]. *华中科技大学学报 (医学版)*, 2022, 51 (2): 207-211.
- [11] Zhang Y, Hu X, Zou LQ. Flavonoids as therapeutic agents for epilepsy: unveiling anti-inflammatory and antioxidant pathways for novel treatments [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1457284.
- [12] Jang SW, Liu X, Yepes M, et al. A selective TrkB agonist with potent neurotrophic activities by 7, 8-dihydroxyflavone [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107 (6): 2687-2692.
- [13] Dhaliwal N, Dhaliwal J, Chopra K. 7, 8-dihydroxyflavone ameliorates cholinergic dysfunction, inflammation, oxidative Stress, and apoptosis in a rat model of vascular dementia [J]. *Neurochem Res*, 2024, 49 (5): 1137-1149.
- [14] Seppa K, Jagomäe T, Kukker KG, et al. Liraglutide, 7, 8-DHF and their co-treatment prevents loss of vision and cognitive decline in a Wolfram syndrome rat model [J]. *Sci Rep*, 2021, 11 (1): 2275.
- [15] Van VE, Aronica E, Vezzani A, et al. Review: neuroinflammatory pathways as treatment targets and biomarker candidates in epilepsy: emerging evidence from preclinical and clinical studies [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44 (1): 91-111.
- [16] Leal B, Chaves J, Carvalho C, et al. Brain expression of inflammatory mediators in Mesial Temporal Lobe Epilepsy patients [J]. *J Neuroimmunol*, 2017, 313: 82-88.
- [17] Mazarati M, Lewis ML, Pittman QJ. Neurobehavioral comorbidities of epilepsy: Role of inflammation [J]. *Epilepsia*, 2017, 58 (Suppl 3): 48-56.
- [18] Liu ZG, Yang CZ, Meng XY, et al. Neuroprotection of edaravone on the hippocampus of kainate-induced epilepsy rats through Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Neurochem Int*, 2018, 112: 159-165.
- [19] Yilgor A, Demir C. Determination of oxidative stress level and some antioxidant activities in refractory epilepsy patients [J]. *Sci Rep*, 2024, 14 (1): 6688.
- [20] Tashakori MM, Ramazi S, Hashemi P, et al. Acetyl-L-carnitine exerts neuroprotective and anticonvulsant effect in kainate murine model of temporal lobe epilepsy [J]. *J Mol Neurosci*, 2022, 72 (6): 1224-1233.
- [21] Adinolfi E, Giuliani AL, Demarchi E, et al. The P2X7 receptor: a main player in inflammation [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 151: 234-244.
- [22] Ahn YH, Tang Y, Illes P. The neuroinflammatory astrocytic P2X7 receptor: Alzheimer's disease, ischemic brain injury, and epileptic state [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2023, 27 (9): 763-778.
- [23] Chen YF, Zhao ZL, Xia GB, et al. Fabrication and characterization of zein/lactoferrin composite nanoparticles for encapsulating 7, 8-dihydroxyflavone: Enhancement of stability, water solubility and bioaccessibility [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 146: 179-192.

(收稿日期: 2025-01-10; 修回日期: 2025-04-10)

基于 Notch 信号通路探讨匝迪 -5 味丸治疗卒中后抑郁的作用机制

苏佳辉¹, 杨宏昕², 戴立波^{2*} (1. 内蒙古科技大学包头医学院, 内蒙古 包头 014040; 2. 内蒙古自治区人民医院药学处, 呼和浩特 010017)

摘要: **目的** 研究蒙药匝迪 -5 味丸对卒中后抑郁 (PSD) 的治疗作用及其通过 Notch 信号通路调控海马神经发生的机制。**方法** 采用大脑中动脉阻塞联合慢性不可预见性轻度刺激法建立大鼠 PSD 模型, 进行体重测定、蔗糖水消耗实验、旷野实验、强迫游泳实验等行为学评价, 通过 HE 染色观察海马病理形态结构, 采用免疫荧光法检测海马组织干细胞增殖/存活和分化的标志物表达水平, 采用实时定量聚合酶链式反应 (q-PCR) 法检测 Notch 胞内活性片段 NICD、配体 *Jag1*、下游靶点 *Hes1*、*Hes5* 基因的表达。**结果** 与模型组相比, 匝迪 -5 味丸高、低剂量组及氟西汀组大鼠体重、蔗糖水消耗比率明显上升, 强迫游泳实验攀爬、游泳时间增加, 旷场实验移动距离、平均速度增加 ($P < 0.01$), 神经功能缺损评分降低。与模型组相比, 匝迪 -5 味丸高、低剂量组及氟西汀组大鼠神经元数量显著恢复, 海马神经干细胞阳性细胞上升 ($P < 0.01$); Notch 胞内活性片段 NICD、配体 *Jag1*、下游靶点 *Hes1*、*Hes5* 基因表达上升 ($P < 0.01$)。与氟西汀组和低剂量组相比, 高剂量组大鼠体重和蔗糖水消耗比率均显著升高 ($P < 0.01$); 强迫游泳实验中, 与氟西汀组和低剂量组相比, 高剂量组大鼠攀爬、游泳时间明显增加, 静止不动时间减少 ($P < 0.01$); 高剂量组、氟西汀组、低剂量组大鼠神经功能缺损评分依次增大 ($P < 0.01$); 与氟西汀组比较, 高剂量组神经元数量较多, Notch 胞内活性片段 NICD、配体 *Jag1*、下游靶点 *Hes1*、*Hes5* 基因表达和海马神经干细胞阳性细胞均上升 ($P < 0.01$)。**结论** 匝迪 -5 味丸在高剂量时显著改善抑郁症状, 其对卒中后抑郁的治疗作用及其抗抑郁机制可能与 Notch 信号通路调控海马神经相关。

关键词: 卒中后抑郁; 蒙药; 匝迪 -5 味丸; Notch 信号通路; 神经发生

中图分类号: R285 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2828-09
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.004

Mechanism of Zadi-5 pills for post-stroke depression based on Notch signaling pathway

SU Jia-hui¹, YANG Hong-xin², DAI Li-bo^{2*} (1. Baotou Medical College, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou Inner Mongolia 014040; 2. People's Hospital, Inner Mongolia Autonomous Region, Hohhot 010017)

Abstract: Objective To determine the therapeutic effect of the Mongolian medicine Zadi-5 pills on post-stroke depression (PSD) and its related mechanism of action in regulating hippocampal neurogenesis via the Notch signaling pathway. **Methods** A PSD model was established with the middle cerebral artery occlusion combined with chronic unpredictable mild stress. Behavioral assessments included body weight measurement, sucrose water consumption test, open field test, and forced swimming test. Histopathological changes in the hippocampus were observed with HE staining. Immunofluorescence staining was used to detect the expression of stem cell proliferation/

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目 (No.2021MS08164, No.2025FX009); 内蒙古医学科学院公立医院科研联合基金科技项目 (No.2023GLLH0071)。

作者简介: 苏佳辉, 男, 硕士研究生, 主要从事临床药学方面的研究, email: 2267874292@qq.com *通信作者: 戴立波, 女, 主任药师, 主要从事体内药物分析与药物代谢动力学研究, email: dailibo0926@163.com

survival and differentiation markers in the hippocampal tissue. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to measure the expression of Notch intracellular domain (NICD), ligand *Jag1*, and downstream target genes *Hes1* and *Hes5*. **Results** Compared with the model group, Zadi-5 pill high-dose group, low-dose group, and fluoxetine group showed marked improvements in body weight, sucrose water consumption ratio, climbing time, and swimming time in the forced swimming test, as well as movement distance and average speed in the open field test ($P < 0.01$). Neurological deficit scores were much lower. The neuron count and number of hippocampal neural stem cell-positive cells were significantly increased ($P < 0.01$). The expression levels of NICD, *Jag1*, *Hes1*, and *Hes5* genes were also increased ($P < 0.01$). The high-dose group exhibited significantly higher body weight and sucrose water consumption ratio compared with both the fluoxetine and low-dose groups ($P < 0.01$). In the forced swimming test, the high-dose group significantly increased climbing and swimming times and decreased immobility time as compared with those of the fluoxetine and the low-dose groups ($P < 0.01$). Neurological deficit scores were the highest in the low-dose group and lowest in the high-dose group ($P < 0.01$). Neuron count, NICD, *Jag1*, *Hes1*, and *Hes5* expression, as well as hippocampal neural stem cell-positive cell numbers, were much higher in the high-dose group than those of the fluoxetine group ($P < 0.01$). **Conclusion** High-dose Zadi-5 pills greatly alleviate depressive symptoms in PSD rats, whose therapeutic effect on post-stroke depression and antidepressant mechanism are associated with the regulation of hippocampal neurogenesis through the Notch signaling pathway.

Key words: post-stroke depression; Mongolian medicine; Zadi-5 pill; Notch signaling pathway; neurogenesis

卒中后抑郁 (post-stroke depression, PSD) 是脑卒中后常见的心境障碍, 严重影响患者生活质量, 妨碍神经和认知功能恢复, 增加病死率和致残率^[1-2]。抗抑郁药是当前治疗 PSD 的主要药物, 尽管西药在治疗 PSD 方面具有一定的疗效, 但患者依从性较低, 复发率较高, 且难以实现根本性治愈, 长期使用可能引发依赖性及肝肾功能损伤等不良反应^[3]。蒙药匝迪 -5 味丸 (又名肉蔻五味丸) 是蒙医用于治疗心“赫依”病、心烦失眠、心神不安、心跳、心悸、胸闷气喘、心绞痛等病症的有效药方。该药方源自蒙医经典著作《蒙医成方集》, 由肉豆蔻、广枣、茺苢、土木香、木香等五味天然药材配伍组成^[4-6]。临床研究表明, 匝迪 -5 味丸在治疗脑卒中后抑郁症中效果显著, 能改善患者睡眠障碍, 缓解患者焦虑抑郁等情绪, 且能显著改善抑郁症患者认知功能, 降低患者血清炎症因子水平^[7-9]。虽然近些年有几项临床观察研究发现蒙药匝迪 -5 味丸在抗抑郁治疗中疗效确切, 也有少量研究者对其药理作用机制进行深入研究, 但关于匝迪 -5 味丸治疗 PSD 的相关研究仍较为有限, 尚缺乏大规模随机对照临床试验以证实其疗效, 亦缺乏对其可能抗抑郁作用机制的系统的基础研究^[10]。Notch 通路是由受

体、配体及其下游的效应物所组成, 与细胞的增殖、分化、凋亡、黏附以及干细胞的自我更新有着密切联系^[11-12]。研究表明, 抑郁会影响大鼠海马神经干细胞增殖、存活和 Notch1 信号通路因子的基因表达^[13], 而抗抑郁一线药物氟西汀可通过上调 Notch1 信号传导促进神经干细胞的增殖^[14], 基于上述研究结果, 推测蒙药匝迪 -5 味丸可能通过调控 Notch 信号通路发挥治疗 PSD 的作用。本研究借助 PSD 动物模型, 阐明蒙药匝迪 -5 味丸治疗卒中后抑郁的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 雄性大鼠 30 只, 6 周龄, 体重 190 ~ 250 g [实验动物许可证号: SCXK (鲁) 20220006, 伦理审批编号: 202409807L, 济南朋悦实验动物繁育有限公司]。将大鼠饲养在温度 24 ~ 26 °C, 相对湿度 55% ~ 65%, 且 12 h 光照和 12 h 黑暗交替的环境中, 本研究严格遵循《实验动物管理条例》和国际动物福利标准。

1.2 试药

匝迪 -5 味丸 (内蒙古大唐药业股份有限公司, 每 10 粒重 2 g, 批号为 23262001), 氟西汀 (麦克林试剂公司, 批号: C16899263), 无水乙

醇、二甲苯、中性树胶、3% 过氧化氢 (H_2O_2)、氯化钠、氯化钾、磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钠 (国药集团化学试剂有限公司), 苏木精、伊红、牛血清白蛋白 (BSA)、Tris 缓冲液、乙二胺四乙酸 (Sigma-Aldrich 公司)。分化液、返蓝液 (Runnerbio 公司), 含 DAPI 防荧光淬灭封片剂 (碧云天生物技术有限公司), TRIpure 总 RNA 快速提取试剂盒 (BIOFIT 生物技术有限公司), SuperReal 荧光定量预混试剂增强版 (SYBR Green)、Fastking gDNA Dispelling RT SuperMix (TIANGEN 生物技术有限公司)。

1.3 仪器

TP1020 脱水机、RM2235 病理切片机 (上海徕卡公司), BMJ-IB 包埋机 (天津天利航空机电有限公司), JK-5 组织摊片机 (武汉俊杰医疗设备有限公司), DHG-9960A 烤箱 (上海三发实验仪器有限公司), Eclipse Ci-L 正置光学显微镜、Nikon DS-Fi2 成像系统 (日本尼康公司), KF-PRO-120 全景扫描仪 (宁波江丰生物信息技术有限公司), CFX96Real-time System 荧光定量 PCR、S1000PCR 仪 (Bio-Rad 公司), S1010 离心机 (Scilogex 公司)。

2 方法

2.1 PSD 模型建立

参照 Koizumi 等^[15]的方法并改进, 建立永久性大脑中动脉阻塞 (MCAO) 模型。术前大鼠禁食不禁水饲养 12 h, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉后, 将大鼠固定于手术台上。剃除颈部毛发, 碘伏消毒, 经颈部正中切口手术。钝性分离皮下组织, 暴露左侧颈总动脉 (CCA)、颈外动脉 (ECA) 和颈内动脉 (ICA)。结扎 CCA 和 ECA, 在 ECA 近心端和 ICA 远心端用动脉夹固定。于 ECA 分叉近心端 2 mm 处切口, 插入直径 0.26 mm 硅胶涂层栓线, 去除动脉夹后沿 ICA 推进至 18 ~ 20 mm 处遇阻, 结扎 ICA 并固定栓线, 阻断大脑中动脉 (MCA) 血流。手术完成后, 逐层缝合, 乙醇消毒, 术后环境温度维持 27℃, 大鼠麻醉清醒后立即出现病灶对侧 Horner 征即说明造模成功。术后 24 h 根据 Longa 评分标准进行评分, 符合标准者 (得分 ≥ 1 分且 < 4 分) 入组。随后, 实验进入干预阶段, 第 0 ~ 2 周期间, 对大鼠进行持续 14 d 的慢性不可预见性温和应激 (CUMS)。按 Willner 和 Katz 等^[16-17]的方法, 将①禁食、禁水 20 h; ②禁水 17 h; ③倾斜鼠笼 (45℃) 17 h; ④持续光照 17 h; ⑤湿笼 (100 g 锯屑加 200 mL 水) 21 h; ⑥ 4℃ 游泳 5 min; ⑦ 水平摇晃 5 min; ⑧ 行为限制 2 h; ⑨ 夹尾 1 min, 共 9 种刺激每日随机采取一种。每

组动物单笼饲养。在第 2 ~ 5 周进行行为学检测, 包括糖水消耗实验、强迫游泳实验、旷场实验等。

2.2 分组与给药

将大鼠随机分为对照组、模型组、匝迪 -5 味丸低剂量组、匝迪 -5 味丸高剂量组、氟西汀组, 每组 6 只。根据临床用药量, 口服, 一次 9 ~ 15 粒, 一日 1 ~ 3 次, 换算大鼠用量为 $0.2 \sim 0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 依据动物实验剂量的换算原则^[18], 考虑匝迪 -5 味丸为复方制剂, 研究中使用 $0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 作为高剂量, $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 作为低剂量。对照组: 大鼠接受相同的麻醉及手术操作, 但不进行任何应激干预, 处于自由摄食、自由饮水状态; 每日灌胃等体积生理盐水。模型组: 构建 PSD 模型, 模型建立成功后不再给予进一步处理, 大鼠继续自由摄食饮水; 每日灌胃等体积生理盐水。匝迪 -5 味丸低、高剂量组: 模型建立成功次日起, 每日分别给予大鼠 $0.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 匝迪 -5 味丸, 经口灌胃给药, 直至实验结束。氟西汀组: 模型建立成功次日起, 每日给予大鼠 $3.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 氟西汀灌胃。

2.3 行为学测试

2.3.1 体重 在实验开始前对大鼠进行称重, 标记为 0 周, 干预开始后每周称重一次, 直至实验结束。

2.3.2 蔗糖水消耗实验 蔗糖水消耗实验检测大鼠欣快感及奖赏行为。借鉴 Willner 等^[16]方法加以改进, 在适应期结束, 给药后第 7 日开展蔗糖水消耗实验, 测定此 24 h 内消耗的蔗糖水和普通饮用水的体积, 计算蔗糖消耗体积 (mL) 与总消耗体积 (蔗糖水 + 饮用水) 的比值 (%), 将该比值作为实验的结果进行统计分析。

2.3.3 旷场实验 (OFT) 给药后第 11 日开展旷场实验, 将大鼠置于长 80 cm、宽 80 cm、高 40 cm 的内空立方体内, 其内壁四周及底面为黑色, 且底面用直线划分为面积相等的 9 块, 根据大鼠活动情况测量出大鼠的移动距离和平均速度。

2.3.4 强迫游泳实验 (FST) 给药后第 13 日参照 Porsolt 等^[19]的实验方法, 实验结束后, 将动物置于灯光下照射干燥 30 min。用摄像机拍摄记录大鼠在水中漂浮不动、游泳及攀爬筒壁时间。

2.3.5 改良神经功能损伤评分 (mNSS) 于处死大鼠前进行评分 (第 5 周): 包括运动实验 (提尾实验 + 放置地板实验)、感觉实验 (视觉和触觉测试 + 本体感觉实验 + 平衡木实验)、反射丧失和不正常运动、癫痫、肌阵挛、肌张力障碍。

2.4 标本制备

行为学检测后, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻

醉大鼠，开胸暴露心脏，将针头插入主动脉，剪开右心耳，以 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲盐（PBS）灌流，直至灌注液无明显血色或大鼠前肢、肺部颜色变浅为止，换用 4℃、10% 多聚甲醛固定组织，取出脑组织于 10% 甲醛中固定备用。

2.5 HE 染色法观察海马病理形态结构

脑组织经 10% 甲醛固定后脱水包埋，切 5 μm 厚度的石蜡切片，置于多聚赖氨酸玻片上，切片经 60℃ 烘烤 2 h 后，依次经二甲苯和梯度乙醇脱蜡至水，使用苏木精染色 10 min 后，盐酸乙醇分化并且流水返蓝 15 min，伊红染色 30 s。最后经乙醇和二甲苯脱水透明，中性树胶封片，观察海马病理形态结构。

2.6 免疫荧光法检测海马神经干细胞的增殖、存活和分化

石蜡切片 62℃ 烤片 1 h 后，依次进行脱蜡、水化、过氧化氢阻断、PBS 洗涤、热抗原修复、5% BSA 封闭。随后于 4℃ 下孵育一抗过夜，37℃ 孵育二抗，使用酪胺转换试剂（try-488、try-cy3、try-cy5）染色，PBS 洗涤 3 次，每次 5 min，最后用含 DAPI 防荧光淬灭封片剂封片。免疫荧光法检测海马齿状回 BrdU 阳性细胞数。

2.7 实时定量 PCR（q-PCR）检测 Notch1 信号系统相关基因的表达

q-PCR 检测 Notch 胞内活性片段 NICD、配体 *Jag1* 及下游靶点 *Hes1*、*Hes5*。使用 TRIpure 法提取组织样品总 RNA，经氯仿振荡混匀后离心分层，取上清液与等体积无水乙醇混合，并通过 RNA 吸附柱纯化洗脱，获得的 RNA 样品储存于 -80℃ 备用。在 42℃ 下反转录 15 min，随后在 95℃ 加热 3 min 以失活逆转录酶。q-PCR 反应为 95℃ 预变性 15 min，随后进行 40 个循环，包括 95℃ 变性 10 s、62℃ 退火并采集荧光信号 32 s。所用 q-PCR 引物由青岛擎科生物技术有限公司合成，引物序列见表 1。

2.8 统计学方法

用 GraphPad Prism 9.5 软件分析数据，计量资料以均数 ± 标准差表示，用单因素方差分析多组间差异，用 Tukey 事后检验分析组内两两差异，以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 匝迪 -5 味丸对 PSD 大鼠体重的影响

与对照组比较，模型组大鼠体重增长显著减缓（ $P < 0.01$ ），提示抑郁模型可能导致食欲下降或代谢紊乱等生理异常；与模型组比较，所有给药组大鼠的体重均呈不同程度回升，其中匝迪 -5 味丸高

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequences

基因	基因	引物序列 (5' → 3')	目的片段长度 /bp
<i>Hes1</i>	F	GCGCCGGCAAGAATAAATG	267
	R	TCGGTGTTAACGCCCTCACAC	267
<i>Hes5</i>	F	GTCGGGACCGCATCAACAG	405
	R	AGAGGCCGCGAGGCAGATTG	405
<i>Jag1</i>	F	GAAGTGGACAAACAAACAGGACAAC	163
	R	CCTCAGACTGGGATACGACAACA	163
<i>NICD</i>	F	CCAGTACAACCCGCTAAGGC	119
	R	GGGACAAGGTATTGGTGGAGA	119
<i>GAPDH</i>	F	ACCACAGTCCATGCCATCAC	450
	R	TCCACCACCCTGTTGCTGTA	450

剂量组体重恢复最为明显（ $P < 0.01$ ）。第 3 周至第 5 周期间，模型组体重维持在最低水平，而各给药组体重呈逐渐上升趋势，表明药物干预对模型大鼠的整体状态具有一定改善作用（见图 1）。

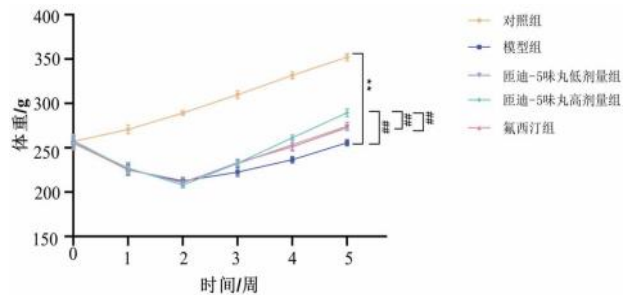


图 1 各组大鼠体重趋势图（ $n = 6$ ）

Fig 1 Weight trends of rats in each group（ $n = 6$ ）

注：与对照组相比，** $P < 0.01$ ；与模型组相比，### $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, ### $P < 0.01$.

3.2 蔗糖水消耗实验

与对照组比较，模型组大鼠的蔗糖水消耗比率显著降低（ $P < 0.01$ ），提示其出现了快感缺失的行为特征，验证了 PSD 模型的成功建立；与模型组比较，各给药组蔗糖水消耗比率显著升高（ $P < 0.01$ ），表明匝迪 -5 味丸及氟西汀均能有效改善快感缺失行为，具有抗抑郁样作用（见表 2）。

3.3 旷场实验

与对照组比较，模型组移动距离和平均速度显著减少（ $P < 0.01$ ），提示模型大鼠活动明显减少，表现出抑郁样行为特征；与模型组比较，各给药组移动距离和平均速度显著增加（ $P < 0.01$ ），表明药物干预有助于改善大鼠的活动能力，缓解其行为抑制状态，具有一定的抗抑郁样行为作用（见表 3）。

表 2 匝迪 -5 味丸对大鼠蔗糖水消耗比率的影响 ($n = 3$)
Tab 2 Effect of Zadi-5 pill on sucrose solution consumption ratio of rats ($n = 3$)

组别	蔗糖水消耗比率 /%
对照组	81.5±0.6
模型组	65.4±1.8**
匝迪 -5 味丸低剂量组	74.4±0.9 ^{##}
匝迪 -5 味丸高剂量组	78.1±1.9 ^{##}
氟西汀组	72.9±1.1 ^{##}

注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{##} $P < 0.01$ 。
Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, ^{##} $P < 0.01$.

表 3 匝迪 -5 味丸对大鼠旷场平均速度及旷场移动距离的影响 ($n = 6$)
Tab 3 Effect of Zadi-5 pill on average open-field velocity and open-field distance traveled of rats ($n = 6$)

组别	旷场平均速度 / ($\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$)	旷场移动距离 /mm
对照组	68.2±2.1	20362.1±898.6
模型组	34.8±2.6**	10323.2±977.9**
匝迪 -5 味丸低剂量组	41.2±0.7 ^{##}	12345.5±217.3 ^{##}
匝迪 -5 味丸高剂量组	52.7±2.4 ^{##}	15778.6±678.8 ^{##}
氟西汀组	45.1±0.2 ^{##}	13403.3±282.7 ^{##}

注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{##} $P < 0.01$ 。
Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, ^{##} $P < 0.01$.

3.4 强迫游泳实验

与对照组比较, 模型组大鼠静止时间显著增加, 攀爬时间和游泳时间显著减少 ($P < 0.01$), 提示其主动应对行为减少, 呈现出明显的行为绝望状态, 表明抑郁模型建立成功; 与模型组比较, 各给药组大鼠静止时间显著减少, 攀爬时间和游泳时间显著增加 ($P < 0.01$), 表明药物干预可显著改善大鼠的被动应对行为, 具有良好的抗抑郁样作用 (见表 4)。

表 4 匝迪 -5 味丸对大鼠强迫游泳实验静止时间、攀爬时间、游泳时间的影响 ($n = 6$)
Tab 4 Effect of Zadi-5 pill on immobility time, climbing time, and swimming time in the forced swim test of rats ($n = 6$)

组别	静止时间 /s	攀爬时间 /s	游泳时间 /s
对照组	34.8±3.3	148.5±5.2	116.7±8.3
模型组	112.5±7.0**	102.5±4.6**	85.0±7.1**
匝迪 -5 味丸低剂量组	76.6±6.6 ^{##}	122.1±5.1 ^{##}	101.2±6.3 ^{##}
匝迪 -5 味丸高剂量组	52.2±6.6 ^{##}	138.5±3.8 ^{##}	109.4±6.1 ^{##}
氟西汀组	71.5±6.9 ^{##}	125.1±5.9 ^{##}	103.3±6.0 ^{##}

注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{##} $P < 0.01$ 。
Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, ^{##} $P < 0.01$.

3.5 匝迪 -5 味丸对神经功能损害评分的影响

与对照组比较, 模型组大鼠的神经功能缺损评分升高 ($P < 0.01$), 提示其存在明显的神经功能损伤, 表明模型成功诱导出脑功能障碍; 与模型组比较, 各给药组大鼠的神经功能缺损评分显

著降低 ($P < 0.01$), 表明药物干预有助于减轻神经损伤, 改善大鼠的神经功能障碍, 具有一定的神经保护作用 (见表 5)。

表 5 匝迪 -5 味丸对大鼠神经功能缺损评分的影响 ($n = 6$)
Tab 5 Effect of Zadi-5 pill on neurological deficit scores of rats ($n = 6$)

组别	分数
对照组	5.2±0.3
模型组	15.0±0.8**
匝迪 -5 味丸低剂量组	11.7±0.9 ^{##}
匝迪 -5 味丸高剂量组	7.9±0.7 ^{##}
氟西汀组	10.0±0.6 ^{##}

注: 与对照组相比, ** $P < 0.01$; 与模型组相比, ^{##} $P < 0.01$ 。
Note: Compared with the control group, ** $P < 0.01$; compared with the model group, ^{##} $P < 0.01$.

3.6 匝迪 -5 味丸对海马病理形态结构的影响

对照组脑组织结构正常, 海马区域神经元排列有序, 胞体较大, 形状规则, 未见明显变性, 模型组脑组织损伤明显, 海马区域神经元数量减少, 排列疏松紊乱, 同时大量神经元变性, 胞体皱缩深染, 形状不规则, 如黑色箭头所示; 匝迪 -5 味丸低剂量组损伤程度较模型组有所改善, 海马区域神经元排列更为有序, 变性神经元数量减少; 匝迪 -5 味丸高剂量组损伤程度进一步减轻, 海马区神经元排列有序, 偶见变性, 如黑色箭头所示; 氟西汀组损伤程度与高剂量组相当, 偶见神经元变性 (见图 2)。

3.7 匝迪 -5 味丸对海马齿状回神经干细胞增殖 / 存活的影响

结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠海马神经干细胞的增殖能力明显下降, 表现为 MCM 和 PCNA 阳性细胞显著减少 ($P < 0.01$), 提示 PSD 模型损伤了大鼠神经干细胞的增殖能力及存活状态; 与模型组比较, 各给药组的阳性细胞数显著增加 ($P < 0.01$), 尤其在高剂量匝迪 -5 味丸干预后, 阳性细胞比例显著回升, 但尚未达到对照组水平, 表明该药物能够在一定程度上促进海马区神经干细胞的增殖与存活, 改善 PSD 所致的神经损伤 (见图 3、4)。

3.8 匝迪 -5 味丸对海马齿状回神经干细胞分化的影响

与对照组比较, 模型组大鼠的海马神经干细胞 SOX2、Nestin、DCX 分化的阳性细胞明显少于对照组 ($P < 0.01$), 表明模型组大鼠的神经干细胞分化受到抑制; 与模型组比较, 各给药组干预后, 分化的阳性细胞比例显著回升, 但未完全恢复至对照组水平, 表明药物干预有效促进了神经干细胞的分化, 改善了模型大鼠的神经损伤 (见图 3、5)。

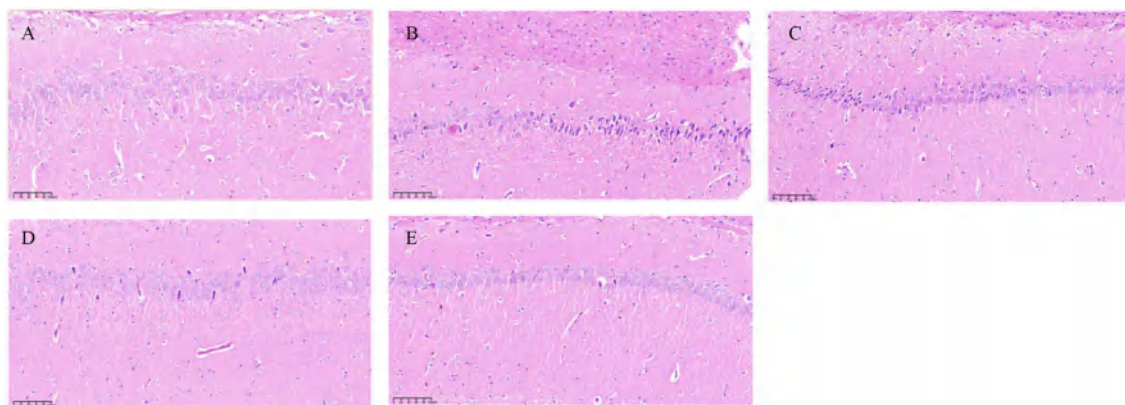


图 2 匝迪-5 味丸对大鼠海马组织的病理形态的影响 (×200, 标尺 = 100 μm)

Fig 2 Effect of Zadi-5 pill on hippocampal tissue pathological morphology of rats (×200, scale bar = 100 μm)

A. 对照组 (control group); B. 模型组 (model group); C. 匝迪-5 味丸低剂量组 (Zadi-5 pill low-dose group); D. 匝迪-5 味丸高剂量组 (Zadi-5 pill high-dose group); E. 氟西汀组 (fluoxetine group)

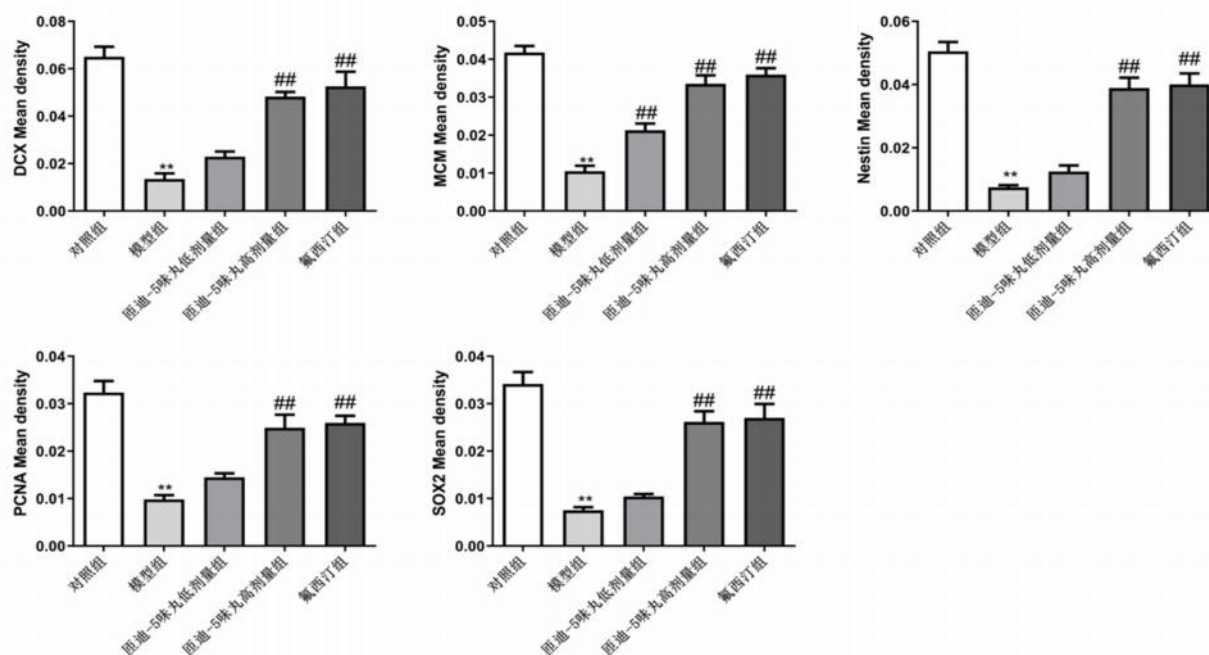


图 3 匝迪-5 味丸对海马齿状回神经干细胞增殖与分化相关指标 (DCX、MCM、Nestin、PCNA、SOX2) 的影响 ($n = 3$)

Fig 3 Effect of Zadi-5 pill on mean optical density of immunofluorescence for hippocampal dentate gyrus neural stem cell proliferation and differentiation indicators (DCX, MCM, Nestin, PCNA, and SOX2) in rats ($n = 3$)

注: 与对照组相比, $**P < 0.01$; 与模型组相比, $##P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, $**P < 0.01$; compared with the model group, $##P < 0.01$.

3.9 匝迪-5 味丸对海马 Notch 胞内活性片段 NICD、配体 *Jag1*、下游靶点 *Hes1*、*Hes5* 的基因表达的影响

与对照组相比, 模型组大鼠 NICD、*Jag1*、*Hes1*、*Hes5* 的相对表达量显著减少 ($P < 0.01$), 提示模型大鼠 Notch 信号通路活性受到抑制; 与模型组比较, 各给药组大鼠 NICD、*Jag1*、*Hes1*、*Hes5* 的相对表达量显著增加 ($P < 0.01$) (见图 6)。

4 讨论

PSD 大约在三分之一的缺血性中风幸存者中发生, 其病因是多方面的, 涉及生物、心理和社

会因素^[20-21]。

与常规抑郁症相比, PSD 不仅病因不同, 表现症状也更易伴随认知与运动障碍, 并且更易受到脑功能区域损伤的影响^[22-24]。在治疗上, PSD 患者对常规抗抑郁药物的代谢和不良反应较为敏感, 约 30% 的抑郁症患者对一线抗抑郁药疗效不佳, 部分患者存在炎症状态并易复发^[25-27]。

蒙药因其多层次、多靶点的作用特性, 在 PSD 治疗中展现出独特的优势。匝迪-5 味丸 (又名肉蔻五味丸) 由肉豆蔻、广枣、萆薢、土木香、木香 5 种天然药材配伍组成。研究表明, 肉豆蔻

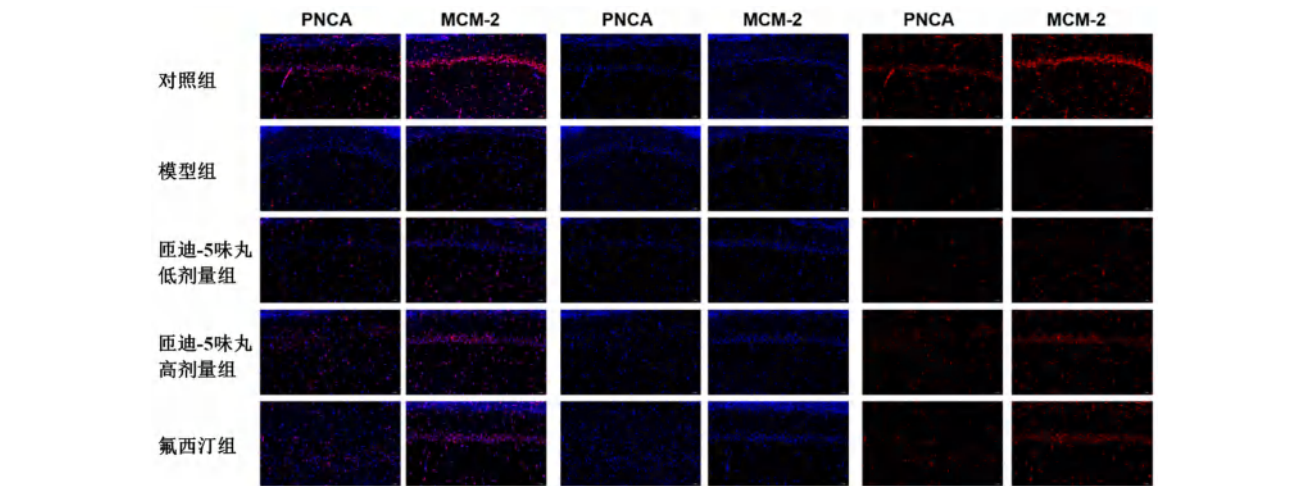


图 4 匝迪-5 味丸对大鼠海马齿状回神经干细胞增殖相关指标 (PCNA、MCM-2) 的影响 (免疫荧光, $\times 200$, 标尺 = $50\ \mu\text{m}$)

Fig 4 Effect of Zadi-5 pill on hippocampal dentate gyrus neural stem cell proliferation markers (PCNA and MCM-2) of rats (immunofluorescence, $\times 200$, scale bar = $50\ \mu\text{m}$)

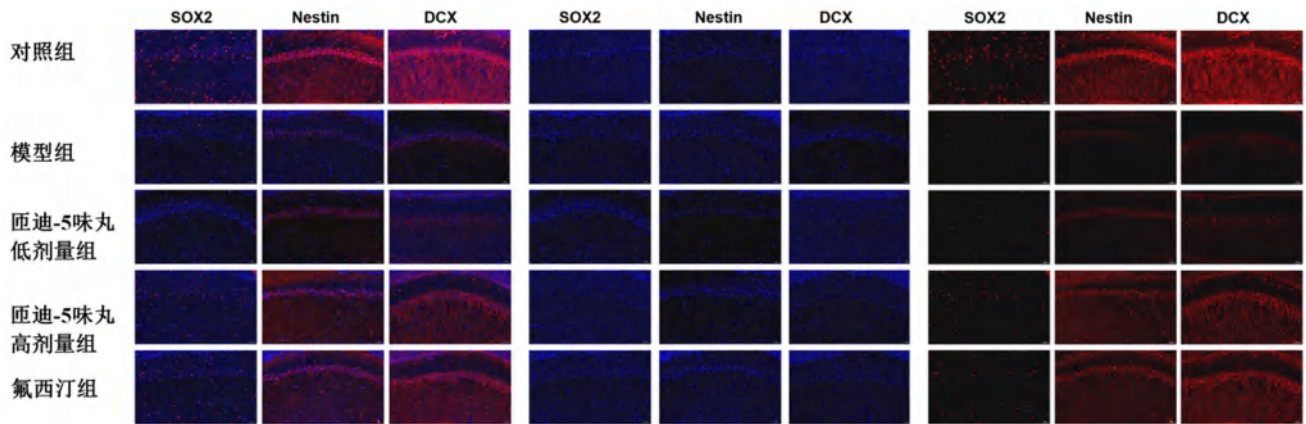


图 5 匝迪-5 味丸对大鼠海马齿状回神经干细胞分化相关指标 (SOX2、Nestin、DCX) 的影响 (免疫荧光, $\times 200$, 标尺 = $50\ \mu\text{m}$)

Fig 5 Effect of Zadi-5 pill on hippocampal dentate gyrus neural stem cell differentiation markers (SOX2, Nestin, and DCX) of rats (immunofluorescence, $\times 200$, scale bar = $50\ \mu\text{m}$)

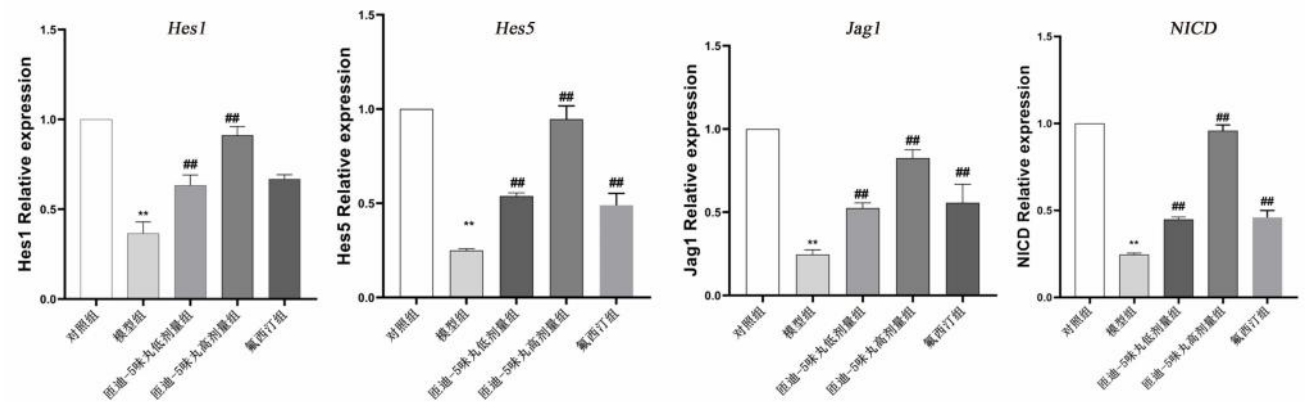


图 6 匝迪-5 味丸对大鼠 *Hes1*、*Hes5*、*Jag1*、*NICD* 基因相关表达的影响 ($n = 3$)

Fig 6 Effect of Zadi-5 pill on the relative expression of *Hes1*, *Hes5*, *Jag1*, and *NICD* genes in rats ($n = 3$)

注: 与对照组相比, $**P < 0.01$; 与模型组相比, $##P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, $**P < 0.01$; compared with the model group, $##P < 0.01$.

及其主要成分木酚素具有抗氧化、抗炎和神经保护作用,可改善脑供血、抑制谷氨酸毒性及氧化应激,保护神经元^[28-30];广枣可抗缺氧、抗病毒;木香则具调节胃肠、抗炎及抗菌作用^[31];荜茇含有

活性酰胺类化合物,具有抗抑郁、抗氧化及免疫调节等活性^[32]。土木香在我国药用历史悠久,亦是蒙医常用特色药材,具抗菌、抗炎、保肝、抗肿瘤、驱虫等药理活性^[33]。因此,匝迪-5 味丸作为 PSD

治疗药物,具有广阔的应用前景。

目前,国内多采用复合建模方法模拟 PSD,既包括脑缺血因素,也加入环境应激,能较好地还原临床发病机制。脑缺血模型主要包括局灶性脑缺血(线栓法)、微栓塞和低氧性脑损伤模型,其中线栓法阻断大脑中动脉最常用^[15]。抑郁模型则以 CUMS 最为常见^[34]。

赵爱梅^[35]采用脑缺血复合慢性刺激来制备大鼠 PSD 模型,通过大鼠颈内动脉注射荧光微球诱导脑缺血。有研究采用大脑中动脉线栓阻塞法诱导局灶性脑缺血,并结合 CUMS 及孤养法制备 PSD 大鼠模型,该复合建模方法可有效模拟 PSD 的行为学特征和神经生物学改变^[36-37]。

本研究采用复合造模方法、MCAO 联合 CUMS 建立大鼠 PSD 模型,通过对大鼠进行体重测定、蔗糖水消耗实验、旷野实验、强迫游泳实验等行为学评价,证实大鼠 PSD 模型的有效性。蔗糖水消耗实验表明对照组大鼠在整个实验期间保持较高的蔗糖水偏好,而 PSD 模型大鼠的蔗糖水偏好显著降低了,出现明显的抑郁症状。上述结果表明,药物干预组对抑郁症状有一定的缓解作用,同时蒙药匝迪-5 味丸尤其是在高剂量时,对 PSD 大鼠具有显著的治疗效果。

本研究通过 HE 染色观察神经元的病理损伤情况,结果显示,模型组大鼠海马组织神经元数量减少,神经元损伤严重,匝迪-5 味丸高、低剂量组大鼠脑组织神经元数量增加,神经元损伤减轻,匝迪-5 味丸高剂量组恢复效果明显优于低剂量组和氟西汀组,显著减轻了 PSD 大鼠海马组织神经元的损伤,提示其在保护神经元方面的潜在作用。

本研究采用免疫荧光法分别检测 PCNA、MCM-2、SOX2、Nestin、DCX 等海马组织干细胞增殖/存活和分化的标志物表达水平,其中 PCNA 和 MCM-2 蛋白是用于评估细胞群体的生长分数的增殖标志物,PCNA 和 MCM2 蛋白在 DNA 复制中起重要作用^[38],转录因子 SOX2 对胚胎发育、胚胎干细胞和成年干细胞的干性维持至关重要,Nestin 和 DCX 在稳定细胞骨架和新神经元最终定位中发挥重要作用^[39-41]。本研究通过检测上述指标考察匝迪-5 味丸对海马齿状回神经干细胞增殖和分化的影响,结果显示,PSD 大鼠的海马齿状回神经干细胞增殖和分化受到抑制,匝迪-5 味丸能够恢复 PSD 大鼠受损的神经干细胞增殖和分化能力,表明其可能通过增强神经发生改善 PSD 症状。

本研究以 Notch 信号系统为切入点,选取

Notch 信号系统的胞内活性部分 NICD,Notch 通路激活后的靶基因 *Hes1*、*Hes5*,以及 Notch 配体 *Jag1* 作为检测指标,结果显示,与模型组相比,高剂量组和低剂量组在匝迪-5 味丸处理后 NICD、*Jag1*、*Hes1*、*Hes5* 表达增加且治疗作用呈剂量依赖性,表明匝迪-5 味丸可能通过激活 Notch 信号系统发挥 PSD 治疗作用。*Jag1* 上调可能通过与 Notch1 受体结合,诱导 NICD 的释放,进一步激活下游靶基因 *Hes1* 和 *Hes5* 的转录,*Hes1* 和 *Hes5* 的上调是神经干细胞增殖和分化的关键调控因素^[42]。

5 结论

匝迪-5 味丸在高剂量时显著改善抑郁症状,其对 PSD 的治疗作用及其抗抑郁机制可能与 Notch 信号通路调控海马神经相关,相比于传统药物,匝迪-5 味丸可能在调节多靶点信号通路方面具有优势,为开发多靶点抗抑郁药物提供了潜在的候选药物。然而,目前的研究尚无法明确作用机制是否集中于某一靶点或因子,未来需进一步探索药物成分的特异性作用,区分 Notch 信号通路中关键因子的直接和间接作用,同时需通过分子对接和通路激动/抑制实验验证其作用靶点的特异性。

参考文献

- [1] 任思琦,张敬华,虞鹤鸣.脑卒中后抑郁的中西医研究进展[J].中医药学报,2021,49(6):104-108.
- [2] 邹昊,邹勇.中西医结合治疗脑卒中后抑郁研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2021,19(1):204-206.
- [3] 王泰勇.中风后抑郁的中医诊疗研究进展[J].光明中医,2024,39(10):2101-2104.
- [4] 牛小琴,陈冬雪,刘派,等.蒙药肉蔻五味丸(匝迪-5)现代研究进展[J].吉林中医药,2022,42(2):221-224.
- [5] 李斌,陈晶,汪英男,等.蒙药匝迪-5 味丸治疗心脏疾病的研究进展[J].中国民族医药杂志,2022,28(12):71-73.
- [6] 巴根那.蒙医方剂学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:195-196.
- [7] 刘耀东,郭春丽,孙丽萍,等.蒙药匝迪-5、逍遥散联合心理疗法治疗脑卒中后抑郁症[J].中国民族医药杂志,2007,13(9):10-11.
- [8] 李静.肉蔻五味丸联合曲唑酮治疗失眠伴焦虑临床研究[J].中国药业,2018,27(23):56-58.
- [9] 陈建波,肖凡,贾晓妮,等.肉蔻五味丸联合舍曲林治疗抑郁症认知功能障碍的临床研究[J].现代中西医结合杂志,2017,26(9):960-962.
- [10] 范琳娜,王乌日娜.蒙药匝迪-5 结合西药治疗脑卒中后抑郁临床观察[J].中国实用医药,2019,14(2):115-116.
- [11] Fiuza UM, Arias AM. Cell and molecular biology of Notch[J]. J Endocrinol, 2007, 194(3): 459-474.

- [12] Salazar JL, Yang SA, Yamamoto S. Post-developmental roles of Notch signaling in the nervous system [J]. *Biomolecules*, 2020, 10 (7): 985.
- [13] 李元, 戴志萍, 隋毓秀. 抑郁状态下大鼠海马 Notch1 信号系统的改变 [J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2011, 37 (11): 641-645.
- [14] 隋毓秀, 张志珺, 郭怡菁, 等. 氟西汀调控胎鼠神经干细胞增殖中 Notch1 通路基因表达的改变 [J]. *东南大学学报: 医学版*, 2010, 29 (5): 509-514.
- [15] Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, et al. Experimental studies of ischemic brain edema. 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area [J]. *Nosotchu*, 1986, 8: 1-7.
- [16] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology*, 1987, 93 (3): 358-364.
- [17] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression [J]. *Neurosci Biobehav*, 1981, 5 (2): 247-251.
- [18] Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N, et al. Dose translation from animal to human studies revisited [J]. *FASEB J*, 2008, 22 (3): 659-661.
- [19] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1981, 229: 327-336.
- [20] Robinson RG, Jorge RE. Post-stroke depression: a review [J]. *Am J Psychiatry*, 2016, 173 (3): 221-231.
- [21] Mast BT, Vedrody S. Poststroke depression: a biopsychosocial approach [J]. *Curr Psychiatry Rep*, 2006, 8 (1): 25-33.
- [22] 胡顺鑫, 冯雷, 杨中弘, 等. 促炎细胞因子与卒中后抑郁讨论与思考 [J]. *临床药学进展*, 2024, 14 (1): 2197-2210.
- [23] 刘蒙蒙, 徐桂芝, 于洪丽, 等. 经颅直流电刺激下脑卒中患者康复期脑功能网络特性研究 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2021, 38 (3): 498-506.
- [24] 公蕾, 牟君. 卒中后认知障碍和卒中后抑郁相关性分析 [J]. *临床医学进展*, 2022, 12 (6): 5205-5211.
- [25] 周章帆. 针刺治疗卒中后抑郁的研究进展 [J]. *中医学*, 2023, 12 (10): 3073-3077.
- [26] 孙瑞, 殷歌, 孙定亚, 等. 神经免疫在抑郁症发病机制中的研究进展 [J]. *中华精神科杂志*, 2023, 56 (2): 137-143.
- [27] Boku S, Nakagawa S, Toda H, et al. Neural basis of major depressive disorder: beyond monoamine hypothesis [J]. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2018, 72 (1): 3-12.
- [28] 姜美子, 宗堪堪, 李莉, 等. 肉豆蔻提取物对慢性缺血缺氧模型大鼠脑膜及脑组织结构损伤的影响研究 [J]. *中华中医药学杂志*, 2020, 38 (4): 56-58, 262-264.
- [29] 刘鑫, 宗堪堪, 玄延花, 等. 肉豆蔻木酚素对谷氨酸导致的小鼠海马 HT22 神经元损伤的影响 [J]. *广东医学*, 2018, 39 (20): 3029-3031.
- [30] 宗堪堪, 刘鑫, 玄延花, 等. 肉豆蔻木酚素对脂多糖激活的胶质细胞条件培养基对海马神经元损伤的保护作用 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 5 (6): 528-531.
- [31] 陈晓婧, 钱占红, 张欣, 等. 肉蔻五味丸、槟榔十三味丸、广枣七味散三种蒙药对产后抑郁症大鼠行为学及海马 DA、5-HT、BDNF 的影响 [J]. *中国民族医药杂志*, 2023, 29 (6): 44-48.
- [32] 李丹, 杨异卉, 赖睿智, 等. 葶苈化学成分和药理活性研究现状 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33 (6): 565-569.
- [33] 风云. 土木香化学成分与药理作用研究进展 [J]. *中国民族医药杂志*, 2021, 27 (12): 48-49.
- [34] 许晶, 李晓秋. 慢性应激抑郁模型的建立及评价 [J]. *中国行为医学科学*, 2003, 12 (1): 97.
- [35] 赵爱梅. 解毒通络颗粒干预卒中后抑郁气虚血瘀证作用机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- [36] 肖伟, 章显宝, 王震, 等. 针刺对卒中后抑郁大鼠脑组织神经递质及 5-羟色胺转运体、5-羟色胺 1A 受体、去甲肾上腺素 α_2 受体的影响 [J]. *针刺研究*, 2016, 41 (6): 528-534.
- [37] 孙培养, 李佩芳, 王涛, 等. “通督调神”针刺对脑卒中后抑郁大鼠海马 PI3K/Akt/mTOR 通路及自噬相关蛋白的影响 [J]. *中国针灸*, 2020, 40 (11): 1205-1210.
- [38] Juríková M, Danihel L, Polák Š. Ki67, PCNA, and MCM proteins: markers of proliferation in the diagnosis of breast cancer [J]. *Acta Histochem*, 2016, 118 (5): 544-552.
- [39] Novak D, Hüser L, Elton JJ, et al. SOX2 in development and cancer biology [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 67 (1): 74-82.
- [40] Bernal A, Arranz L. Nestin-expressing progenitor cells: function, identity and therapeutic implications [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75 (12): 2177-2195.
- [41] 陈云, 刘娜, 李在望, 等. 神经干细胞的体外培养及其 DCX 的表达 [J]. *神经损伤与功能重建*, 2010, 5 (3): 163-165.
- [42] Louvi A, Artavanis-Tsakonas S. Notch and disease: a growing field [J]. *Semin Cell Dev Bio*, 2012, 23 (4): 473-480.

(收稿日期: 2025-01-13; 修回日期: 2025-04-20)

甲氧基聚乙二醇氨基 - 苯硼酸 - 迷迭香酸的制备及其初步抗肿瘤活性研究

梁思怡¹, 李今璐¹, 王诚项¹, 刘悦¹, 宋帅恒¹, 马嘉军¹, 邵强¹, 林平², 林锋^{1*} (1. 哈尔滨医科大学药学院 有机化学教研室, 哈尔滨 150081; 2. 哈尔滨医科大学基础医学院 生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081)

摘要: **目的** 合成甲氧基聚乙二醇氨基 - 苯硼酸 - 迷迭香酸 (mPEG-PBA-RA), 制备成具有 pH 响应的前药胶束, 并评价其抗肿瘤活性。**方法** 利用化学合成法合成甲氧基聚乙二醇氨基 - 苯硼酸 (mPEG-PBA), 并通过茜素红 S 实验检测其与迷迭香酸 (RA) 的结合能力, 进一步合成 mPEG-PBA-RA; 利用紫外光谱、红外光谱与核磁共振氢谱法对其结构表征; 通过粒度仪测定 mPEG-PBA-RA 前药胶束的粒径、Zeta 电位与聚集度指数; 利用高效液相色谱法检测不同 pH 条件下前药胶束中迷迭香酸的释放度; MTT 实验检测其抗肿瘤活性。**结果** 茜素红 S 实验显示, 加入迷迭香酸后荧光强度减弱, 证实 mPEG-PBA 具有结合迷迭香酸的能力。紫外光谱、红外光谱和核磁共振氢谱法证实 mPEG-PBA-RA 成功合成。mPEG-PBA 的收率为 37.47%, mPEG-PBA-RA 的收率为 72.06%, 总体收率为 27.00%。通过粒度仪测试, mPEG-PBA-RA 前药胶束粒径为 (143.8 ± 1.25) nm, Zeta 电位为 (-16.0 ± 2.04) mV, PDI 为 0.254 ± 0.09 。在 pH 为 5.2 条件下, mPEG-PBA-RA 胶束中迷迭香酸的累积释放率为 35%; 在 pH 为 7.4 条件下, mPEG-PBA-RA 胶束中迷迭香酸的释放率为 0%。MTT 实验结果表明, 与相同剂量 ($> 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的迷迭香酸相比, mPEG-PBA-RA 胶束对 MCF-7 细胞生长的抑制作用强于游离 RA。在一定浓度下, mPEG-PBA-RA 前药胶束对 MCF-7 细胞生长具有显著的抑制作用。**结论** 本研究合成了两亲性聚合物 mPEG-PBA-RA, 并制成质量良好且具有 pH 响应性的前药胶束。

关键词: 甲氧基聚乙二醇氨基; 苯硼酸; 迷迭香酸; 前药胶束

中图分类号: R943, R730.5 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2837-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.005

Preparation of methoxy polyethylene glycol amino-phenylboronic acid-rosemary acid and its preliminary antitumor activity

LIANG Si-yi¹, LI Jin-lu¹, WANG Cheng-xiang¹, LIU Yue¹, SONG Shuai-heng¹, MA Jia-jun¹, SHAO Qiang, LIN Ping², LIN Feng^{1*} (1. *Department of Organic Chemistry, College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150081*; 2. *Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Harbin Medical University, Harbin 150081*)

Abstract: Objective To synthesize methoxy polyethylene glycol amino phenylboronic acid rosmarinic acid (mPEG-PBA-RA) and prepare a pH responsive prodrug micelle, evaluate its antitumor activity. **Methods** Methoxy polyethylene glycol amino phenylboronic acid (mPEG-PBA) was synthesized chemically, and its binding ability with rosmarinic acid was detected by cissus red S assay to synthesize mPEG-PBA-RA. The structures were characterized by ultraviolet spectrum, infrared spectrum and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The particle size, Zeta potential and aggregation index of mPEG-PBA-RA pre-drug micelles were measured by particle size analyzer. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to detect the release of rosmarinic acid from the prodrug micelles

基金项目: 2024 年黑龙江省大学生创新创业训练计划项目 (No.S202410226088); 2024 年哈尔滨医科大学大学生创新创业训练计划项目 (No.202410226052)。

作者简介: 梁思怡, 女, 硕士研究生, 主要从事临床药学、肿瘤学研究, email: siyi20242024@163.com *通信作者: 林锋, 女, 副教授, 主要从事天然高分子化合物的修饰及肿瘤分子生物学的研究, email: xiaolin_linfeng@126.com

at different pH conditions. The antitumor activity was detected by MTT assay. **Results** The cissus red S experiments showed that the fluorescence intensity was weakened after the addition of rosmarinic acid, confirming the ability of mPEG-PBA to bind rosmarinic acid. The successful combination of methoxy polyethylene glycol amino, 4-carboxyphenylboric acid and rosmarinic acid was confirmed by UV, IR and NMR. The yield of mPEG-PBA was 37.47%, that mPEG-PBA-RA was 72.06%, and the overall yield was 27.00%. The particle size of mPEG-PBA-RA pre-drug micelles was (143.8 ± 1.25) nm, Zeta potential was (-16.0 ± 2.04) mV, and PDI was 0.254 ± 0.09 . The cumulative release rate of rosmarinic acid from mPEG-PBA-RA micelles was 35% at pH 5.2 and 0% at pH 7.4. The MTT assay showed that when the quality of mPEG-PBA-RA micelles exceeds $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the inhibitory effect of mPEG-PBA-RA micelles on MCF-7 cell growth is stronger than that of free RA. **Conclusion** The amphiphilic polymer mPEG-PBA-RA has been synthesized and the prodrug micelles with good quality and pH response prepared. mPEG-PBA-RA prodrug micelles greatly inhibited the growth of MCF-7 cells compared with the same dose ($> 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) of rosmarinic acid.

Key words: methoxy polyethylene glycol amino; phenylboronic acid; rosmarinic acid; prodrug micelle

肿瘤是威胁人类健康的主要原因, 临床上肿瘤治疗的主要手段有手术治疗、化疗和放疗等^[1]。其中, 对于在全身系统性地治疗肿瘤时, 化学药物治疗仍是主要的治疗手段。研究发现, 肿瘤细胞内的 pH 较低, 纳米药物胶束对 pH 的响应性较好, 从而实现药物的靶向释放, 因此新型纳米载药系统的创建为治疗肿瘤的主要方向之一。

迷迭香酸 (rosmarinic acid, RA) 是从迷迭香等植物中分离得到的一种酚酸类化合物, 具有抗氧化^[2]、抗炎^[3]、抗微生物^[4]、抗肿瘤及神经保护等^[5]作用。然而, RA 水溶性差, 生物利用度低, 限制了其在临床上的应用。RA 与一些新型药物载体包载递送, 如纳米乳、脂质纳米粒、聚合物胶束和高分子微/纳米粒等, 使得 RA 的溶解度、生物利用度等都有显著的提升^[6]。

苯硼酸具有无毒、无免疫原性, 其硼原子所连接的羟基, 能与含邻二羟基化合物形成具有 pH 响应性的硼酸酯键^[6]。RA 含邻二羟基结构, 可与苯硼酸形成具有 pH 响应的硼酸酯键, 对肿瘤细胞具有较高的主动靶向性, 从而增强 RA 抑制肿瘤细胞生长的作用^[7]。

研究表明, 聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 具有良好的水溶性、无毒、无免疫原性与抗原性、无致炎性, 是一种良好的药物辅料。随着 PEG 修饰技术^[8]的成熟应用, 一些药物和递药系统经过 PEG 修饰后, 毒性降低、肾脏清除率减小、药物稳定性增加、半衰期延长, 为许多药物提供了新的研究方向。

目前, 苯硼酸酯 pH 响应性与 PEG 修饰技术在药物治疗领域的应用越来越广泛。因此, 本研究利

用化学合成法合成甲氧基聚乙二醇氨基-苯硼酸-迷迭香酸 (mPEG-PBA-RA), 制备前药胶束^[9]并对其抗肿瘤作用进行研究。

1 材料

1.1 试剂

RA (上海毕得医药科技股份有限公司, 含量 $> 98\%$), 甲氧基聚乙二醇氨基 (mPEG-NH₂) (上海瓦硕生物科技有限公司), 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDCI)、4-羧基苯硼酸 (4-COOH-PBA)、二氯甲烷 (DCM)、四氢呋喃 (THF) (安耐吉化学有限公司), *N,N*-二甲基甲酰胺 (DMF)、甲醇、三乙胺、无水乙醇 (天津市富宇精细化工有限公司), 茜素红 S (上海碧云天生物技术股份有限公司), 磷酸盐缓冲液 (PBS) (武汉博士得生物工程有限公司), 二甲基亚砜 (DMSO)、噻唑蓝 (MTT) (德国 Biofrox 公司), 溴化钾 (天津市光复精细化工研究所), DMEM 培养基 (江苏凯基生物技术股份有限公司), *N*-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) (上海毕得医药科技股份有限公司), 人乳腺癌细胞 (MCF-7) (哈尔滨医科大学药学院有机化学教研室, 关静副教授惠赠), 纯水 (自制)。

1.2 仪器

B11-3 型磁力控温搅拌器 (上海司乐仪器有限公司), AVANCE400 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司), 傅里叶变换红外光谱仪、UV2500 紫外分光光度计、RF5301 荧光分光光度计 (岛津公司), 全自动酶标分析仪 (Gene Company Limited), Agilent 1260 Infinity II HPLC (安捷伦公司)。

2 方法

2.1 mPEG-PBA-RA 的合成及表征

取 EDCI (0.0575 g, 0.3 mmol), NHS (0.0345 g, 0.3 mmol) 溶解于 5 mL 无水 DCM 中, 作为 a 液; 将 4-COOH-PBA (0.0498 g, 0.3 mmol) 溶解于 5 mL 无水 THF 中, 作为 b 液; 将 a 液缓慢滴入 b 液中, 室温反应 1 h, 作为 c 液; 将 mPEG-NH₂ (0.3000 g, 0.15 mmol) 溶解于无水 DCM 中, 作为 d 液; 将 d 液缓慢滴加 c 液中, 在氩气保护下室温反应 24 h。透析 2 d 后纯化得到 mPEG-PBA。

将 mPEG-PBA (0.1143 g, 0.057 mmol) 与 RA (0.0411 g, 0.1140 mmol) 溶解于 5 mL THF 中, 并滴加三乙胺调节 pH 为 8~9, 加入水直至反应液澄清, 室温且避光条件下反应 24 h。

反应液透析选择 500 Da 的透析袋, 透析 48 h, 每日更换 3 次透析液。最后溶液冻干, 得到固体粉末 mPEG-PBA-RA。具体合成路线见图 1。

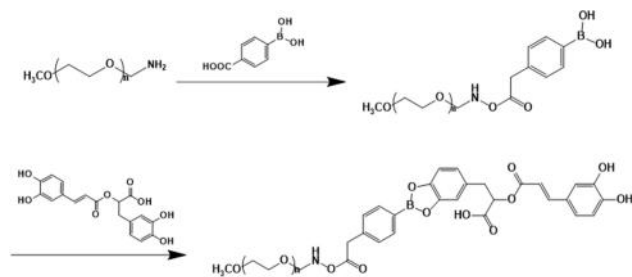


图 1 mPEG-PBA-RA 的合成路线

Fig 1 Synthetic route of mPEG-PBA-RA

将 1 mg 产物与 100 mg 溴化钾粉末混匀压片, 并在傅里叶变换红外光谱仪扫描测定 mPEG-PBA-RA 的红外吸收谱; 将 mPEG-PBA-RA 溶于 DMSO, 利用 AVANCE400 型核磁共振仪测定其核磁氢谱。

2.2 mPEG-PBA-RA 胶束的制备与评价

2.2.1 mPEG-PBA-RA 胶束的制备 称取 10 mg mPEG-PBA-RA 溶于 4 mL DCM 与甲醇体积比为 1:3 的液体中, 40℃ 时真空旋干; 在 45℃ 条件下, 加入 1 mL 45℃ 的水, 并在 45℃ 条件下保持 15 min, 之后降至室温, 得到 mPEG-PBA-RA 前药胶束。

2.2.2 mPEG-PBA-RA 胶束的粒径、Zeta 电位和 pH 响应性评价 采用马尔文激光粒度仪测得 mPEG-PBA-RA (1 mg·mL⁻¹) 胶束的粒径、多分散指数 (PDI) 和 Zeta 电位。将胶束分别调节至 pH 7.4、pH 5.2 的环境下, 放置 24 h 后, 采用马尔文粒度仪测量其粒度分布。根据研究结果, 分析其粒径和 PDI, 对胶束进行 pH 响应性评价。

2.2.3 mPEG-PBA-RA 胶束的体外释放检测 利用

透析法检测 mPEG-PBA-RA 胶束的体外释放。取 2 mg·mL⁻¹ mPEG-PBA-RA 胶束溶液 2 mL, 将其置于 15 mL pH 7.4 和 pH 5.2 的 PBS 溶液 (含 0.025% 吐温 80) 中, 室温下, 恒温振荡 48 h, 于 10 个时间段取 0.3 mL 的释放介质, 补加 0.3 mL 的 PBS 溶液。采用高效液相色谱法测定 RA 的释放量。色谱条件: 色谱柱为 Agilent5 TC-C18 (2) (250 mm×4.6 mm); 流动相为甲醇: 0.05% 三氟乙酸水 = 48:52; 检测波长为 330 nm; 柱温为 30℃; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 进样量为 10 μL。

2.2.4 mPEG-PBA-RA 胶束的体外抗肿瘤活性评价 取 MCF-7 细胞, 用胰酶消化, 制成细胞悬液, 利用血球计数板计数。将 3000 个细胞接种到 96 孔板, 置于细胞培养箱中孵育 24 h, 加 mPEG-PBA 溶液和不同浓度的 mPEG-PBA-RA 溶液, 培养 48 h 后每孔加入 20 μL MTT 溶液 (5 mg·mL⁻¹), 培养箱中培养 4 h。每孔加入 100 μL 的 DMSO 溶液, 摇床缓慢振荡 10 min 后, 利用酶标仪测定其在 492 nm 处的吸光度, 计算细胞存活率 (%)。

2.3 统计学方法

使用 SPSS 软件进行数据分析。连续变量以均值 ± 标准差 (SD) 表示, 满足正态分布, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 Bonferroni 法进行校正。分类变量用数量 (*n*) 和百分比 (%) 表示, 分布比较采用卡方检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 mPEG-PBA-RA 的合成及 mPEG-PBA 与 RA 结合能力的测定

mPEG-PBA-RA 为黄绿色固体粉末状物, mPEG-PBA 收率为 37.47%, mPEG-PBA-RA 收率为 72.06%, 总体收率为 27.00%。

茜素红 S (ARS) 在 556 nm 处显示较弱荧光, 与苯硼酸结合形成苯硼酸酯, 荧光峰红移, 荧光增强, 加入具有邻二醇结构化合物可以与茜素红 S 竞争性结合苯硼酸, 使其荧光变弱。取浓度不同 mPEG-PBA 的实验组和对照组, 分别加入相同浓度的 ARS, 实验组加入相同浓度 RA (1 mg·mL⁻¹), 对照组加入等量的 PBS 溶液, 测得两组的荧光光谱见图 2A。图 2B 显示, 随着 mPEG-PBA 浓度增大, 荧光强度增强, 加入 RA 后, 与对照组相比, 实验组荧光强度明显减弱。结果表明 mPEG-PBA 具有结合 RA 的能力。

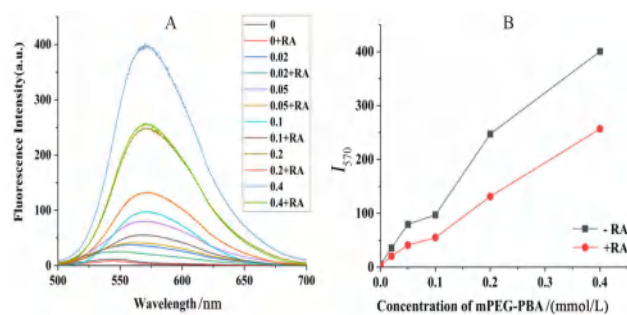


图2 mPEG-PBA 与 RA 的结合能力

Fig 2 Binding ability of mPEG-PBA to RA

A. 不同浓度的 mPEG-PBA 与 ARS 及加入 RA 后的荧光光谱图 (different concentrations of mPEG-PBA and ARS and fluorescence spectra after RA addition); B. mPEG-PBA 与 ARS 及加入 RA 后荧光强度统计图 (statistical diagram of mPEG-PBA and ARS and fluorescence intensity after RA addition)

3.2 mPEG-PBA-RA 的结构表征

通过紫外光谱法, 分别对 mPEG-NH₂、mPEG-PBA 和 mPEG-PBA-RA 进行测定。结果如图 3A 所示, mPEG-NH₂ 在 200 ~ 500 nm 无吸收峰; mPEG-PBA 在 237 nm 处有苯环的紫外吸收峰; RA 中苯环与双键形成了新的共轭体系, mPEG-PBA-RA 在 326 nm 处有紫外吸收峰。结果表明, mPEG-PBA-RA 成功合成。

通过红外光谱法对 mPEG-NH₂、mPEG-PBA 和 mPEG-PBA-RA 进行测定。结果如图 3B 所示, 与 mPEG-NH₂ 相比, mPEG-PBA 在 1651 cm⁻¹ 产生振动峰, 为 mPEG-NH₂ 与 4-COOH-PBA 形成的酰胺键中羰基 (C=O) 的伸缩振动峰; mPEG-PBA-RA 产生新的红外峰 1707 cm⁻¹ 为 C=O 伸缩振动峰; 羟基的 -OH 伸缩振动峰 3385 cm⁻¹。结果表明, mPEG-PBA-RA 成功合成。

通过核磁共振氢谱法, 对 mPEG-PBA-RA 进行结构表征。结果如图 3C 所示: (a) δ 3.24 为聚乙二醇侧的甲氧基 (-OCH₃) 的质子信号; (b) δ 3.274 ~ 4.00 为产物的聚乙二醇中乙氧基 (OCH₂CH₂) 质子信号; (c) δ 6.76 ~ 6.8 和 (d) δ 7.68 ~ 7.72 为产物 4-羧基苯硼酸中苯环上质子氢, 由于羰基 (C=O) 的共轭效应, 使 d 位比 c 位的化学位移增大; (e) δ 7.34 ~ 7.32 和 (f) δ 6.16 ~ 6.13 为产物 RA 一侧碳碳双键 (-C=C-) 上两个碳上氢的信号峰, 由于羰基 (C=O) 的共轭效应, 使 e 位比 f 位的化学位移增大; (g) δ 7.00 为 RA 一侧末端苯环上羟基与间位支链之间的氢的质子信号; (h) δ 6.65 为产物 RA 一侧与硼酸基连接的苯环上的氢的质子信号。据此, 可确定 mPEG-PBA-RA 成功合成。

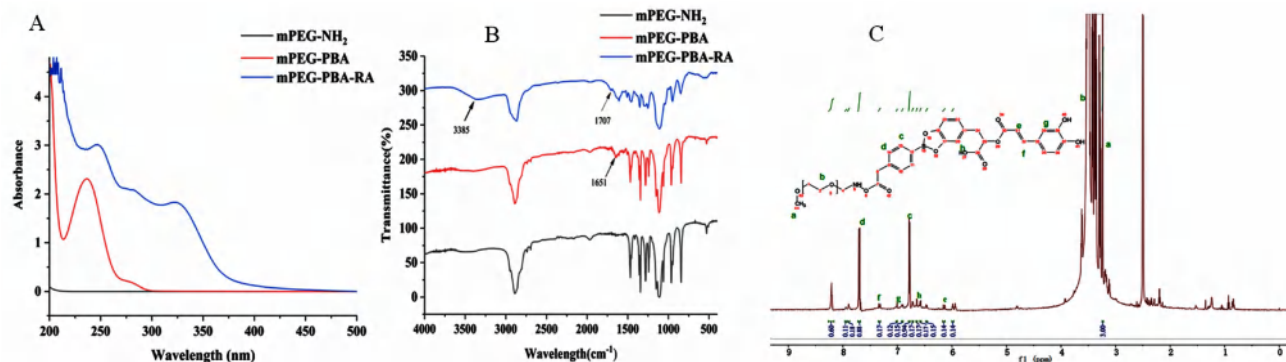


图3 mPEG-PBA-RA 的结构表征

Fig 3 Structural characterization of mPEG-PBA-RA

A. mPEG-NH₂、mPEG-PBA 和 mPEG-PBA-RA 的紫外光谱图 (ultraviolet spectra of mPEG-NH₂, mPEG-PBA and mPEG-PBA-RA); B. mPEG-NH₂、mPEG-PBA 和 mPEG-PBA-RA 的红外光谱图 (infrared spectrogram of mPEG-NH₂, mPEG-PBA); C. mPEG-PBA-RA 的核磁共振氢谱 (¹H-NMR of mPEG-PBA-RA)

3.3 mPEG-PBA-RA 胶束的粒径、Zeta 电位和 PDI

按照“2.2.1”项下方法, 制备出淡黄色的 mPEG-PBA-RA 胶束溶液。利用粒度仪测定 mPEG-PBA-RA 胶束的粒径和 Zeta 电位, 评价胶束质量, 结果如图 4 所示, 胶束粒径为 (143.8 ± 1.25) nm, Zeta 电位为 (-16.0 ± 2.04) mV, PDI 为 0.254 ± 0.09; 粒径小于 200 nm, PDI < 0.3, 表明胶束粒径适中, 且分布良好。

3.4 mPEG-PBA-RA 胶束的 pH 响应性检测

通过测定 pH 分别为 7.4 和 5.2 条件下的胶束粒径大小, 检测 mPEG-PBA-RA 胶束的 pH 响应性。pH 为 5.2 条件下, 胶束平均粒径明显增大, 粒径分布变广, 且裂分为双峰 (见图 5A)。结果表明, mPEG-PBA-RA 胶束在 pH 为 5.2 条件下, 苯硼酸酯响应性断裂, 胶束结构破坏, 发生裂解, 证明该胶束具有 pH 响应性。

利用高效液相色谱仪, 通过线性关系考察测定 mPEG-PBA-RA 胶束在释放介质中 RA 的含量。标准

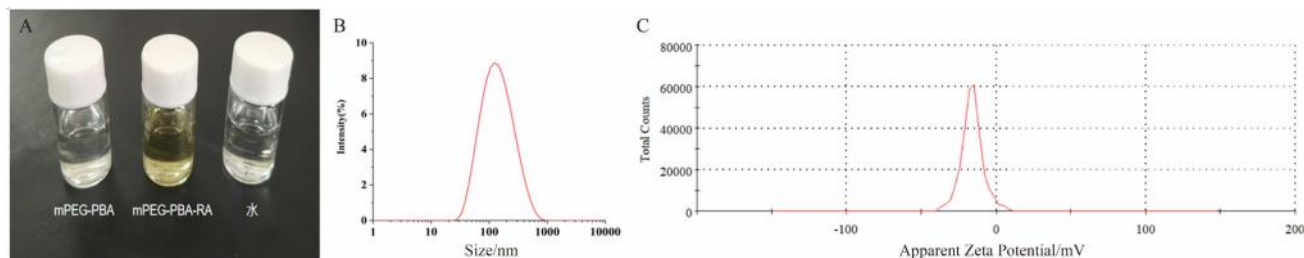


图 4 mPEG-PBA-RA 胶束的质量评价

Fig 4 Quality evaluation of mPEG-PBA-RA micelles

A. 外观 (appearance); B. 粒径分布 (particle size); C. Zeta 电位 (Zeta potential)

曲线回归方程为 $Y = 31.131X - 40.752$, $R^2 = 0.999$ ($n = 5$), 结果表明 RA 在 $2.7 \sim 45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积线性关系良好 (见图 5B)。

在图 5C 中, 在 pH 为 5.2 条件下, mPEG-PBA-RA 胶束中 RA 的累积释放率为 35%; 在 pH

为 7.4 条件下, mPEG-PBA-RA 胶束中 RA 的累积释放率为 0%。说明 mPEG-PBA-RA 胶束具有 pH 响应性, 在酸性环境中, 酯键响应性断裂, 从而促进 RA 的释放; 在中性条件下, 酯键稳定性好、不易断裂, RA 难以释放。

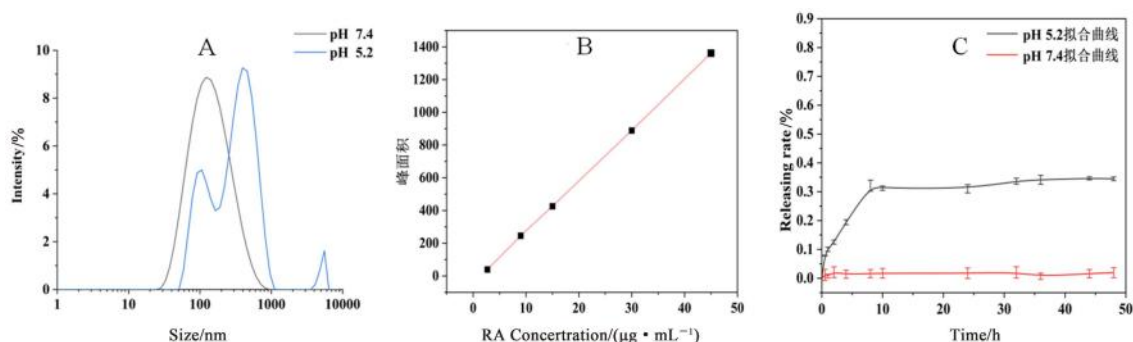


图 5 mPEG-PBA-RA pH 的响应性检测

Fig 5 pH responsiveness of mPEG-PBA-RA

A. mPEG-PBA-RA 胶束在不同 pH 条件下的粒径分布 (particle size distribution of mPEG-PBA-RA micelles under different pH conditions); B. 迷迭香酸的标准曲线 (standard curve of rosmarinic acid); C. 不同 pH 下的体外释放情况 (release of rosmarinic acid in vitro at different pH)

3.5 mPEG-PBA-RA 胶束对 MCF-7 细胞生长的影响

MTT 实验检测 ($n = 3$) 结果显示 (见图 6), 质量浓度为 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, mPEG-PBA-RA 胶束对 MCF-7 细胞生长的抑制作用弱于游离 RA; 质量浓度逐渐增加时, mPEG-PBA-RA 胶束对 MCF-7 细胞生长的抑制作用均强于游离 RA, 且 mPEG-PBA-RA 的抑制作用随浓度升高而增强, 具有剂量依赖性。经计算得 mPEG-PBA-RA 的半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $13.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 游离 RA 的 IC_{50} 为 $30.69 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

4 讨论

近年来, 人们患癌的概率逐渐增高^[10]。传统的肿瘤治疗手段, 如放疗、化疗等^[11], 由于不良反应多及耐药的出现, 导致治疗效果不佳。因此, 靶向药物的研发成为肿瘤治疗的主要方向之一^[12]。

经过 PEG 修饰后的药物具有稳定性增强、毒副作用降低和药物半衰期延长等特点, 且 PEG 修饰可以在药物表面形成一层保护罩, 从而降低在

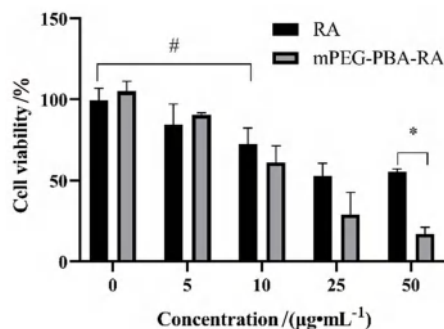


图 6 mPEG-PBA-RA 胶束与 RA 对 MCF-7 细胞存活率的影响

Fig 6 Effect of MCF-7 cell viability by RA and mPEG-PBA-RA micelles

肾代谢的清除速率, 延长药物在血液中的循环时间; PEG 结构的柔韧性导致了药物的聚集现象, 有利于维持胶束的稳定性。RA 是一种具有抗肿瘤活性的天然活性化合物, 结构中含有邻二羟基基团, 易与胶束连接。苯硼酸衍生物具有 pH 响应性, 可以实现靶向作用。本文利用具有亲水性的甲氧基聚乙二醇和具有疏水性的苯硼酸与 RA 进行连接, 并制成前药胶束 mPEG-PBA-RA。通过

紫外光谱法、红外光谱法和核磁共振氢谱对胶束进行结构表征；应用粒度仪测定 mPEG-PBA-RA 胶束的粒径和 Zeta 电位，评价胶束的质量及稳定性；模拟肿瘤细胞胞内环境下，药物释放及胶束的 pH 响应性测定；并通过 MTT 实验检测 mPEG-PBA-RA 胶束对 MCF-7 肿瘤细胞生长抑制作用，与 RA 相比，质量浓度为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时，mPEG-PBA-RA 胶束对肿瘤细胞生长抑制率较低；随着质量浓度的增加，胶束的抑制作用逐渐增强并超过 RA，证明胶束呈现浓度依赖性。本实验结果显示，RA 的 IC_{50} 为 $30.69 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，mPEG-PBA-RA 胶束的 IC_{50} 为 $13.50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。有研究表明，苯硼酸对唾液酸特异识别，可促进肿瘤细胞对该前药胶束的摄取，mPEG-PBA-RA 的 IC_{50} 减小是否由唾液酸特异识别苯硼酸而实现，仍需进一步研究。mPEG-PBA-RA 中 RA 的释放是通过结构中苯硼酸酯键对 pH 值变化的敏感性来实现的。苯硼酸酯键是一种动态可逆的共价键，其解离和形成受到 pH 值的影响。苯硼酸在溶液中存在非解离态和解离态两种构型。在酸性条件下，苯硼酸主要以非解离态存在，此时苯硼酸酯键不稳定，易解离；在碱性条件下，苯硼酸以解离态存在，苯硼酸酯键相对稳定^[13]。本研究对于 mPEG-PBA-RA 前药胶束可以通过优化各成分的比例，从而提高药物的稳定性。在其基础上结合生物相容性更好的材料，降低毒性。可以与其他抗肿瘤药物联用，实现协同治疗。还可以引入其他机制，实现更高效的药物释放。

综上所述，mPEG-PBA-RA 胶束在药物靶向运输、释放领域具有一定的前景。希望可以开发更多以聚乙二醇-苯硼酸联合修饰为基础的载药胶束，制备效果更佳的药物胶束，克服传统治疗手段的困难。

参考文献

- [1] Han BF, Zheng RS, Zeng HM, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022 [J]. JNCC, 2024, 4 (1): 47-53.
- [2] Xiong SY, Ding XW, Zhou L, et al. An antibacterial and antioxidant rosmarinic acid hydrogel normalizes macrophage polarization to expedite diabetic wound healing [J]. J Colloid Interf Sci, 2025, 683 (P2): 357-371.
- [3] Morteza T, Reza A, Jafari RJ, et al. Enhanced anti-inflammatory effect of rosmarinic acid by encapsulation and combination with the exosome in mice with LPS-induced endometritis through suppressing the TLR4-NLRP3 signaling pathway [J]. J Reprod Immunol, 2023, 159: 103992.
- [4] Serena C, Beatrice C, Roberta P, et al. Rosmarinic acid and ulvan from terrestrial and marine sources in anti-microbial bionano systems and biomaterials [J]. Appl Sci, 2021, 11 (19): 9249.
- [5] 龙苗苗, 程贤, 赵振东, 等. 迷迭香酸药理作用及其递送系统的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54 (11): 3715-3724.
- [6] 王丹. 苯硼酸功能化聚合物合成及其对顺式二羟基化合物的富集和分离 [D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- [7] 何向楠. 氨基修饰的 SERS 探针用于细胞表面唾液酸的定量检测和成像 [D]. 沈阳: 东北大学, 2018.
- [8] Yamada C, Kuroki K, Maeda N, et al. Enhanced effect of the immunosuppressive soluble HLA-G2 homodimer by site-specific PEGylation [J]. Sci Rep, 2025, 15 (1): 2509.
- [9] 苗健, 孙丽, 高雷, 等. 活性氧响应型鬼臼毒素聚合物前药胶束的制备及其抗口腔癌活性 [J]. 医药导报, 2024, 43 (11): 1782-1790.
- [10] Gallicchio L, Mollica M, Tesauro G, et al. Rare cancer survivorship research funding at the National Institutes of Health (NIH), 2017 to 2023 [J]. Cancer Causes Control, 2025, 36 (6): 587-594.
- [11] Oršolić N, Jembrek JM. Potential strategies for overcoming drug resistance pathways using propolis and its polyphenolic/ flavonoid compounds in combination with chemotherapy and radiotherapy [J]. Nutrients, 2024, 16 (21): 3741-3741.
- [12] Hoechstetter AM, Wendtner MC. Clinical trials in early-stage CLL: what has been learned and what's next? [J]. Leuk Lymphoma, 2024, 66 (3): 378-388.
- [13] 高雅. 以苯硼酸酯为连接单元的两亲性喜树碱高分子前药合成及共传递胶束载药系统的构建 [D]. 上海: 华东师范大学, 2018.

(收稿日期: 2025-01-27; 修回日期: 2025-04-28)

冬凌草甲素预防给药对乌头碱诱发的大鼠室性心律失常的影响

强文娟¹, 马婷¹, 许正新^{1, 2, 3*} (1. 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225009; 2. 江苏省非编码RNA基础与临床转化实验室, 江苏 扬州 225009; 3. 江苏省中西医结合老年病防治重点实验室, 江苏 扬州 225001)

摘要: **目的** 研究冬凌草甲素 (ORI) 对乌头碱致大鼠室性心律失常 (VA) 的影响, 并探究其作用机制。 **方法** 采用分子对接技术预测 ORI 与 Nav1.5 等通道蛋白可能的结合特性; 采用乌头碱给药法诱导体内 VA 大鼠模型; 使用 Langendorff 逆向灌流、三步酶解法消化分离大鼠心室肌细胞, 应用全细胞膜片钳技术分析不同浓度 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道电流的影响。 **结果** ORI 与 Nav1.5 等通道蛋白具有高结合能, 可形成稳定的复合物; 体内实验中, 与对照组相比, 低、中、高剂量 ORI 组延长大鼠室性早搏、室性心动过速的开始时间 ($n = 7$, $P < 0.05$), 降低室颤的发生率 ($n = 7$, $P < 0.01$); 全细胞膜片钳实验结果表明, 不同浓度 ORI 可浓度依赖性抑制 Nav1.5 通道电流幅度, 与对照组相比, 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ORI 均能降低电流幅度 ($n = 10$, $P < 0.01$); 通道动力学研究表明, 不同浓度 ORI 使 Nav1.5 通道 I-V 曲线明显上移, 不改变曲线形态; 稳态激活曲线右移, 半数激活电位升高 ($n = 8$, $P < 0.01$); 稳态失活曲线左移, 半数失活电位降低 ($n = 8$, $P < 0.01$); 失活后恢复曲线右移, 恢复时间常数延长 ($n = 8$, $P < 0.05$)。 **结论** ORI 能够抗乌头碱诱发的大鼠 VA, 此效应的产生可能与其能够与 Nav1.5 等通道蛋白结合并抑制此通道电流、改变其通道动力学特征有关。

关键词: 冬凌草甲素; 分子对接; 乌头碱; 室性心律失常; 心室肌细胞; 膜片钳; Nav1.5 通道
中图分类号: R285.5, R965.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2843-08
doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.006

Effect of oridonin prophylactic administration on aconitine-induced ventricular arrhythmia in rats

QIANG Wen-juan¹, MA Ting¹, XU Zheng-xin^{1, 2, 3*} (1. Medical College of Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu 225009; 2. Jiangsu Key Laboratory of Basic and Clinical Transformation of Non-coding RNA, Yangzhou Jiangsu 225009; 3. Key Laboratory of Geriatric Disease Prevention and Treatment of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine in Jiangsu, Yangzhou Jiangsu 225001)

Abstract: Objective To determine the effect of oridonin (ORI) on ventricular arrhythmia (VA) in rats and related mechanism. **Methods** The binding of ORI to Nav1.5 channel proteins was observed by molecular docking. An in vivo VA rat model was established by intravenous aconitine administration. Ventricular cardiomyocytes were isolated from rats with Langendorff retrograde perfusion followed by triple enzymatic digestion. The effects of varying concentrations of ORI on Nav1.5 channel currents in rat ventricular cardiomyocytes were analyzed by whole-cell patch-clamp. **Results** ORI had a high binding affinity with Nav1.5 channel proteins and formed stable complexes. In the in vivo experiments, compared with the control group, the low-, medium-, and high-dose ORI groups postponed the onset time of ventricular prematurity and ventricular tachycardia ($n = 7$, $P < 0.05$) and reduced the incidence of ventricular fibrillation ($n = 7$, $P < 0.01$). The whole-cell patch-clamp experiments showed that different concentrations of ORI inhibited the current amplitude of Nav1.5 channel in a concentration-dependent manner. Compared with the control group, ORI at 20, 40, and 80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ reduced the current amplitude ($n = 10$, $P < 0.01$). The channel dynamics showed that the I-V curve of Nav1.5 channel markedly shifted upward without changing the morphology of the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.82174129)。

作者简介: 强文娟, 女, 硕士研究生, 主要从事心血管药理、离子通道药理研究, email: qwj15252573889@163.com * 通信作者: 许正新, 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事心血管药理、离子通道药理研究, email: xuzhengxin405@126.com

curve at different concentrations of ORI. The half activation potential was increased by the right shift of the steady-state activation curve ($n = 8, P < 0.01$). The steady-state inactivation curve shifted to the left, and the half deactivation potential decreased ($n = 8, P < 0.01$). After the inactivation, the recovery curve shifted to the right, and the recovery time constant was extended ($n = 8, P < 0.05$).

Conclusion ORI is resistant to aconitine-induced rat VA, which may be related to its ability to bind to Nav1.5 channel proteins and inhibit this channel current and change its channel kinetics.

Key words: oridonin; molecular docking; aconitine; ventricular arrhythmia; ventricular myocytes; patch clamp; Nav1.5 channel

室性心律失常 (ventricular arrhythmia, VA) 是心血管疾病致死的重要原因, 临床表现为头晕、心悸、胸闷等症状^[1]。目前治疗 VA 的手段主要包括药物治疗与非药物治疗, 其中, 药物治疗 [如使用胺碘酮 (amiodarone, AMI) 等抗心律失常药物] 虽然疗效确切、作用迅速, 但通常存在不良反应多、安全范围窄等弊端, 且在抗心律失常的同时也会导致心律失常, 这影响了患者的长期使用^[2-3]。

相较而言, 中医药在治疗 VA 方面有独特的优势, 其价格便宜且不良反应少^[4]。中医将 VA 归为“心悸、怔忡”, 认为其病机为本虚标实, 即气血阴阳亏虚导致心阳虚衰、气滞血瘀而发病, 治疗上强调活血、益气、通络的原则^[5]。因此, 近年来从中医药中筛选高效低毒的活性成分已成为抗心律失常药物研究的重要方向。

冬凌草甲素 (oridonin, ORI) 是传统中药冬凌草的主要活性成分, 具有抗菌消炎、抗氧化、抗癫痫、降压及神经调节等多种药理作用^[6-7]。研究发现, ORI 的药理作用与离子通道调控密切相关, 其不仅能通过抑制神经元兴奋性发挥抗癫痫作用^[8], 还可抑制氧化应激、改善线粒体功能, 并增强巨噬细胞对凋亡肿瘤细胞的吞噬功能^[9-10], 这些药理效应均可能与钠通道功能存在潜在关联^[11]。

Nav1.5 通道作为心脏中主要的电压门控钠通道, 负责动作电位的快速去极化, 对心脏电信号的正常传导至关重要, 其功能的异常可通过多种机制引发 VA^[12]。研究表明, *SCN5A* 发生突变后会触发 Nav1.5 通道蛋白生物物理特性的改变, 造成长 QT 间期综合征、Brugada 综合征等遗传性 VA 的产生^[13]; Nav1.5 通道表达、功能的异常会改变钠电流, 造成电信号传导速度的异常, 引发心肌缺血、心力衰竭等获得性 VA 的产生。因此, 本实验探讨先聚焦于此通道, 拟从分子动力学角度探讨 ORI 与 Nav1.5 等通道是否有结合的物质基础; 在此基础上, 采用乌头碱 (aconitine, ACO) 诱导的大鼠 VA 模型, 观察 ORI 对大鼠 VA 是否有影响; 采用全细胞

膜片钳技术, 对与其结合的 Nav1.5 通道进行研究, 为该药后续的开发利用提供了理论基础。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠, 8 ~ 10 周龄, 体重 (300 ± 20) g, 雌雄不限 [扬州大学比较医学研究院, 实验动物生产许可证编号: SCXK (苏) 2022-0009, 实验动物使用许可证编号: SYXK (苏) 2022-0044]。本实验获得扬州大学医学院动物伦理委员会的批准, 编号: 202409010。

1.2 仪器

RM6240 生物数据采集和分析系统 (四川成都仪器厂); EPC-10 USB/Patchmaster 膜片钳放大器 (德国 HEKA 公司); IX73 倒置科研级显微镜 (日本 Olympus 公司); MP-225 显微操作器系统、P-97 微电极拉制仪 (美国 SUTTER 公司); 防震台 (美国 TMC 公司); 硼硅酸盐玻璃电极 (武汉微探科学仪器有限公司)。

1.3 试药

ORI (批号: nkl-00564230527, 纯度 ≥ 98%, 成都钠钨锂公司); ACO (批号: AF9051702, 纯度 ≥ 98%, 成都埃法生物科技有限公司); 5% 盐酸胺碘酮注射液 [AMI, 国药准字 J20180044, 赛诺菲 (杭州) 制药有限公司]; 胶原酶 II (批号: 44N15308B, Worthington 公司); 牛血清白蛋白 (纯度 ≥ 98%, 批号: 8398F, ICN 公司); 河豚毒素 (tetrodotoxin, TTX, 批号: AF02, 纯度 ≥ 99%, Affix 科技公司)。

2 方法

2.1 分子对接技术验证 ORI 与 Nav1.5 通道的结合作用

以 ORI 为分析对象, 与 Nav1.5 通道进行分子对接。首先, 通过 PubChem 数据库获取 ORI 的结构。在 PubMed 数据库下载人类 Nav1.5 通道蛋白 (hNav1.5, 6LQA)、大鼠 Nav1.5 通道蛋白 (rNav1.5, 6UZ3)、大鼠 Nav1.5 通道蛋白的开放态 (rNav1.5/QQQ, 7FBS) 结构。通过 AutoDock Vina-

1.5.6 软件进行 ORI 与三组 Nav1.5 通道蛋白的分子对接, 并使用 Pymol 对结果进行可视化分析。

2.2 VA 模型的建立及检测指标

文献报道, ORI 临床使用剂量为 $1.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 根据人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值换算后, 大鼠的等效剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 因此 ORI 低、中、高剂量组分别为 5、10、 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[14]。将 35 只 SD 大鼠随机分为阴性对照组 (生理盐水组)、药物组 (低、中、高剂量组 ORI) 与阳性对照组 (AMI $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。采用 10% 水合氯醛成功麻醉大鼠后, 各实验组采用等体积给药的方式, 观察大鼠心率, 待大鼠心电图稳定后, 各组大鼠尾静脉注射 ACO ($40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 观察心电图变化^[15-16]。据文献报道, 室性早搏 (ventricular prematurity, VP)、室性心动过速 (ventricular tachycardia, VT) 作为心室电活动异常的直接表现, 能明确反映模型诱导的成功率和药物干预效果^[2,17]; 而 QRS 波时限 /QT 间期 (QRS/QT) 作为预测指标, 易受麻醉、体温等实验条件干扰, 综合考虑本实验通过记录 VP、VT 的开始时间, 心室颤动 (ventricular fibrillation, VF) 的发生率等反映心律失常严重程度的指标, 来客观评估 ORI 的抗心律失常效应。

2.3 大鼠心室肌细胞分离

SD 大鼠心室肌细胞的急性分离方法参考文献^[18]并改进。具体操作过程如下: 选取 8~10 周龄 SD 大鼠, 采用 2% 戊巴比妥钠成功麻醉后快速取出大鼠心脏, 将其固定于 Langendorff 灌流装置进行逆向灌流, 采用酶解法消化心脏。待心脏膨胀后终止消化, 取心室部分剪碎, 得到单个心室肌细胞, 4°C 下静置备用。

2.4 全细胞膜片钳实验

将心室肌细胞置于培养皿中, 静置 2 min, 待细胞贴壁后, 选择横纹清晰、无自主颤动、边缘完整的单个细胞作为实验对象, 按照 Nav1.5 通道的刺激方案^[19], 引导并记录 Nav1.5 电流。据文献报道, ORI 体外有效浓度是 $1 \sim 100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[20-21]; MTT 实验结果显示, ORI 浓度不超过 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对新生大鼠心肌细胞活力无明显抑制作用; 因此后续电生理实验 ORI 的浓度为 10、20、40、 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 刺激方案设置^[19]

① 单刺激: 在电压钳模式下, 保持 -80 mV 的膜电位, 给予持续时间 30 ms、电压 -40 mV 的方波刺激, 引出一个内向电流; ② 电流-电压 (I-V) 曲线: 保持 -80 mV 的膜电位, 给予持续时间 30 ms、阶跃 5 mV 、刺激频率 0.5 Hz 的一系列方波刺激, 以

此记录 ORI 给药前后 Nav1.5 通道电流的变化, 以电流密度 (pA/pF) 为纵坐标, 以膜电位 (V) 为横坐标, 绘制出 Nav1.5 通道的 I-V 曲线; ③ 激活曲线: 将 Nav1.5 通道 I-V 曲线的部分数值转化为膜电导值 G , 以归一化电导 (G/G_{max}) 为纵坐标, V 为横坐标, 采用 Boltzmann 方程 $G/G_{\text{max}} = 1/\{1 + \exp[(V_{1/2} - V)/k]\}$ 对所得数据进行拟合, 可得稳态激活曲线的拟合图; ④ 失活曲线: 保持 -80 mV 的膜电位, 采用双脉冲刺激法, 条件脉冲由 -140 mV 去极化至 40 mV , 持续时间 50 ms, 阶跃 10 mV , 再复极化至 -30 mV , 持续时间 25 ms, 以此记录 Nav1.5 通道的失活电流, 以归一化电流 (I/I_{max}) 为纵坐标, V 为横坐标, 采用 Boltzmann 方程 $I/I_{\text{max}} = 1/\{1 + \exp[(V - V_{1/2})/k]\}$ 对所得数据进行拟合, 可得稳态失活曲线的拟合图; ⑤ 失活后恢复曲线: 保持 -80 mV 的膜电位, 采用双脉冲刺激法, 给予 70 mV 、持续时间 100 ms 的方波刺激, 回到膜电位持续 25 ms 后再给予一系列 70 mV 、持续时间 100 ms 的方波刺激, 其中两个脉冲的前后间隔时间以 5 ms 的幅度递增 15 次, 以 I/I_{max} 为纵坐标, 时间间隔 (t) 为横坐标, 采用 One-phase association 方程 $I/I_{\text{max}} = 1 - \exp(-t/\tau)$ 对所得数据进行拟合, 可得失活后恢复曲线的拟合图。

2.6 统计学方法

数据用 Origin 2024b 和 Graphpad Prism 9.1.0 处理, 并用平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, 组内比较采用单因素方差分析进行统计分析, $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

3 结果

3.1 ORI 与 Nav1.5 通道的结合作用

结果显示, ORI 与 hNav1.5、rNav1.5、rNav1.5/QQQ 通道蛋白的结合亲和力分别为 -35.59 、 -38.52 、 $-33.49 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 均具有较强的结合活性, 提示其具有跨物种及抗突变的泛 Nav1.5 通道靶向潜力。ORI 与不同通道的结合模式存在显著差异 (见图 1): 在 hNav1.5 中, ORI 通过 SER873、TYR1375 等氢键和 LEU875、TRP1440 等疏水作用结合; 在 rNav1.5 中, ORI 通过 ASN1594、ARG1640 等氢键和 PHE1532、ASP1533 等疏水作用结合, 反映种属间结合位点的构象差异; 而对突变体 rNav1.5/QQQ, ORI 则与 ALA414、GLU418 等新位点结合, 表明其能适应突变导致的局部结构变化, 通过重构氢键网络和疏水界面维持稳定结合。这种结合机制的多样性和结构可塑性, 展现出 ORI 作为 Nav1.5 通道调节剂的潜力。

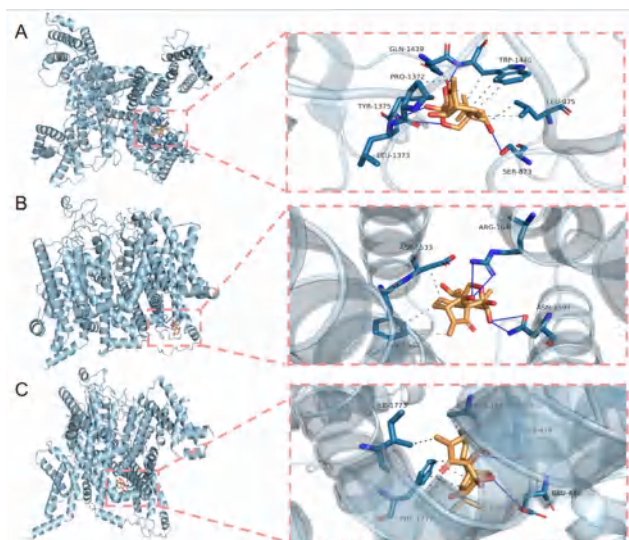


图 1 ORI 与 hNav1.5 (A)、rNav1.5 (B) 及 rNav1.5/QQQ (C) 对接构象图

Fig 1 Docking conformation diagram of the ORI and hNav1.5 (A), rNav1.5 (B), rNav1.5/QQQ (C)

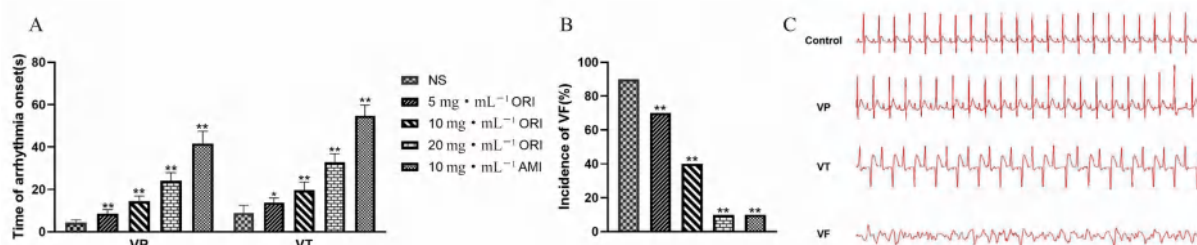


图 2 不同剂量 ORI 和 AMI 对 ACO 诱导的 VA 的影响 ($n = 7$)

Fig 2 Effect of different doses of ORI and AMI on VA induced by ACO ($n = 7$)

A. 给药后不同组 VP、VT 的发生时间 (time of VP and VT onset in different groups after the administration); B. 给药后不同组 VF 的发生概率 (probability of VF in different groups after the administration); C. 正常心电图与给药 20 mg · kg⁻¹ ORI 后出现不同类型 VA 的代表性心电图 (normal ECG and representative ECGs of the different types of VA presented after drug administration)。

注 (Note): 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)。

2.22) pA/pF ($n = 10$, $P < 0.01$); 同理, 24.24 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AMI 使 Nav1.5 通道的电流幅度由给药前的 (-82.92 ± 1.62) pA/pF 降为 (-31.46 ± 2.54) pA/pF ($n = 10$, $P < 0.01$); 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ORI 及 24.24 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AMI 抑制率分别为 $(20.03 \pm 2.87)\%$ 、 $(31.78 \pm 3.28)\%$ 、 $(54.98 \pm 3.08)\%$ 和 $(62.50 \pm 3.57)\%$ ($n = 10$, $P < 0.01$)。由图 3D 可知, ORI 的半数效应浓度 (EC_{50}) 为 45.76 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 具有一定的靶向效力。

3.4 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道电流 - 电压关系 (I-V) 曲线的影响

由于 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ORI 对 Nav1.5 通道电流幅度的抑制作用与对照组相比差异无统计学意义 ($n = 10$, $P > 0.05$), 因此 ORI 后续实验时 ORI 选择 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 这 3 个剂量, 探究其对相关指标的影响。首先观察 ORI 对 Nav1.5 通道 I-V 曲

3.2 ORI 对 VA 模型大鼠的影响

结果显示, 与对照组相比, 低、中、高剂量组 ORI 均延长了模型大鼠 VP、VT 开始时间 ($P < 0.05$, $n = 7$), 降低了 VF 的发生率 ($P < 0.01$, $n = 7$), 见图 2A、2B。代表性心电图见图 2C。

3.3 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道电流幅度的影响

为证实所记录的电流为 Nav1.5 电流, 实验中应用 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的特异性钠通道阻滞剂 TTX, 电流明显被阻断, 再用正常的细胞外液灌流后电流明显恢复, 提示该电流为 Nav1.5 电流, 见图 3A。

由图 3B ~ 3C 可知, ORI 对 Nav1.5 通道电流幅度的抑制呈浓度依赖性, 其中 10、20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ORI 使 Nav1.5 通道的电流幅度由给药前的 (-84.03 ± 2.52) pA/pF 分别降为 (-81.57 ± 2.46) pA/pF ($n = 10$, $P > 0.05$)、 (-67.16 ± 1.96) pA/pF、 (-57.28 ± 2.24) pA/pF 和 $(-37.79 \pm$

线的影响。

与对照组相比, 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ORI 可以使 Nav1.5 通道的 I-V 曲线明显上移且不改变曲线的形态趋势。随着 ORI 浓度的增加, 电流密度逐渐降低, 且在 $-55 \sim -45$ mV 时降低较为明显 ($n = 8$, $P < 0.01$) (见图 4)。

3.5 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道激活曲线的影响

不同浓度的 ORI 和 AMI 可以使 Nav1.5 通道的激活曲线向右偏移, 即向去极化方向发展; 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ORI 可使半数激活电位由给药前的 (-71.26 ± 3.20) mV 分别升为 (-65.29 ± 2.10) mV、 (-63.23 ± 2.03) mV 和 (-62.65 ± 2.16) mV ($n = 8$, $P < 0.01$); 同理, 24.24 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AMI 可使半数激活电位由给药前的 (-70.62 ± 3.50) mV 升为 (-61.59 ± 2.37) mV ($n = 8$, $P < 0.01$)。结果显

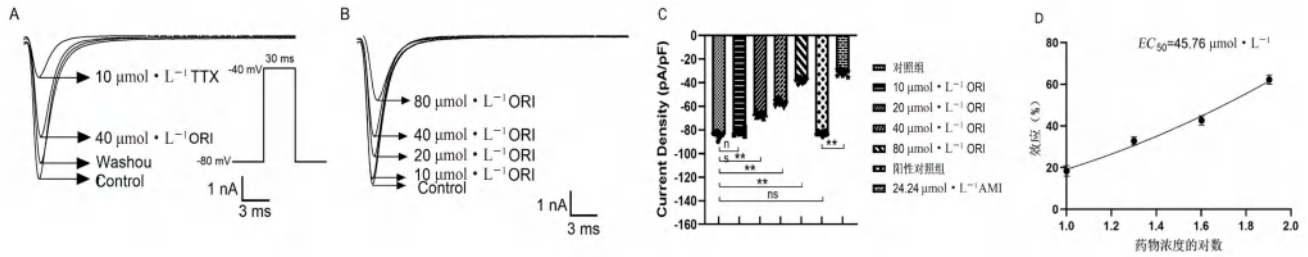


图 3 不同浓度 ORI 和 AMI 对 Nav1.5 通道电流幅度的影响 ($n = 10$)

Fig 3 Effect of different concentrations of ORI and AMI on the current amplitude of Nav1.5 channel ($n = 10$)

A. ORI 对 Nav1.5 通道电流幅度影响的代表性原始图形 (Representative original graph of the effect of ORI on the amplitude of the current amplitude of the Nav1.5 channel); B. 不同浓度 ORI 对 Nav1.5 通道电流幅度的影响 (Effect of different concentrations of ORI on the current amplitude of the Nav1.5 channel); C. 不同浓度 ORI 和 AMI 对 Nav1.5 通道电流幅度的影响的柱状图 (Bar graph of the effect of different concentrations of ORI and AMI on the current amplitude of Nav1.5 channel); D. 不同浓度 ORI 抑制 Nav1.5 通道电流幅度的量效关系曲线 (Volume-effect curve of current amplitude in Nav1.5 channels by different concentrations of ORI)。

注 (Note): 与对照组相比, $^{**}P < 0.01$ (Compared with the control group, $^{**}P < 0.01$)。

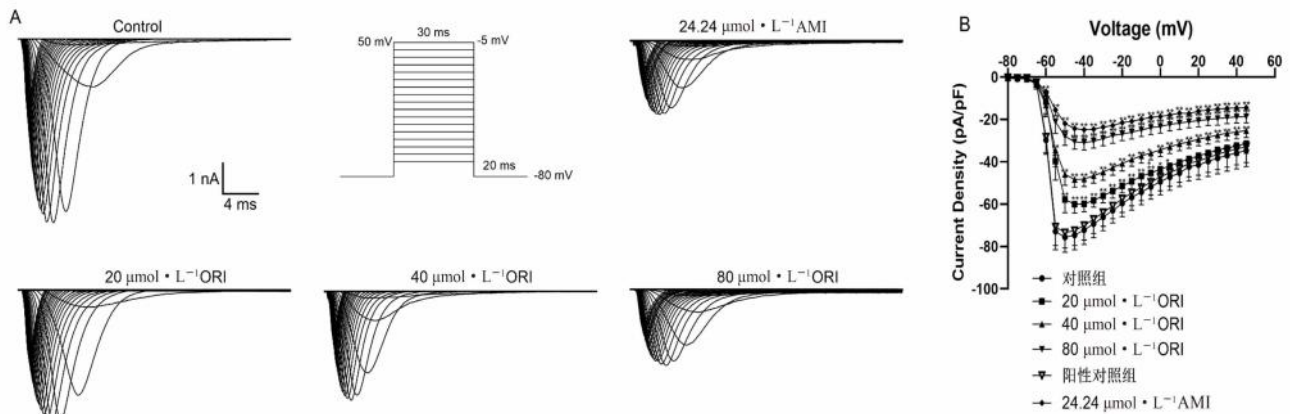


图 4 不同浓度 ORI 和 AMI 对 Nav1.5 通道 I-V 曲线的影响 ($n = 8$)

Fig 4 Effect of different concentrations of ORI and AMI on the I-V curves of Nav1.5 channel ($n = 8$)

A. 原始电流图 (raw current plot); B. 拟合图 (fitting plot)

注 (Note): 与对照组相比, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ (Compared with the control group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$)。

示随着 ORI 浓度的增加, Nav1.5 通道由静息态转变为激活态的激活电位逐渐升高, 表明 ORI 通过改变 此通道的电压传感器结构, 导致其需要更高的膜电位才能激活, 减少了特定电压范围内的通道可用性,

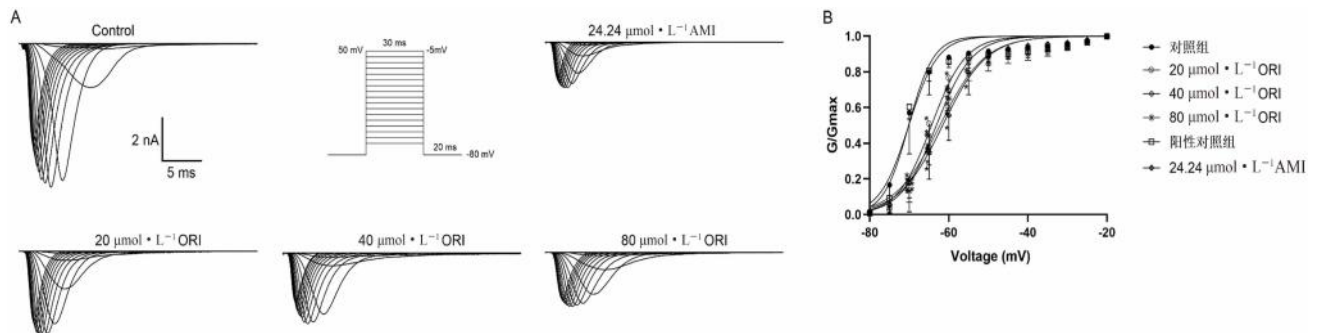


图 5 不同浓度 ORI 和 AMI 对 Nav1.5 通道激活曲线的影响 ($n = 8$)

Fig 5 Effect of different concentrations of ORI and AMI on the activation curves of Nav1.5 channel ($n = 8$)

A. 原始电流图 (raw current plot); B. 拟合图 (fitting plot)

注 (Note): 与对照组相比, $^{**}P < 0.01$ (Compared with the control group, $^{**}P < 0.01$)。

从而降低细胞的兴奋性 (见图 5)。

3.6 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道失活曲线的影响

不同浓度的 ORI 和 AMI 可以使 Nav1.5 通道的失活曲线向左偏移, 即向超极化方向发展; 其中 20、40、80 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ORI 可使半数失活电位由

给药前的 (-72.76 ± 1.10) mV 分别降为 (-80.20 ± 2.68) mV、 (-83.75 ± 1.90) mV 和 (-86.37 ± 2.12) mV ($n = 8$, $P < 0.01$)；同理， $24.24 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AMI 可使半数失活电位由给药前的 (-73.98 ± 0.94) mV 降为 (-88.04 ± 1.19) mV ($n = 8$, $P < 0.01$)。

以上结果表明，随着 ORI 浓度的增加，Nav1.5 通道由激活态转变为失活态的失活电位逐渐降低，表明在持续去极化状态下，即使激活门仍然开放，但该通道的失活门关闭，阻止离子通过，使其在较低电压下失活，缩短了动作电位的持续时间，降低了

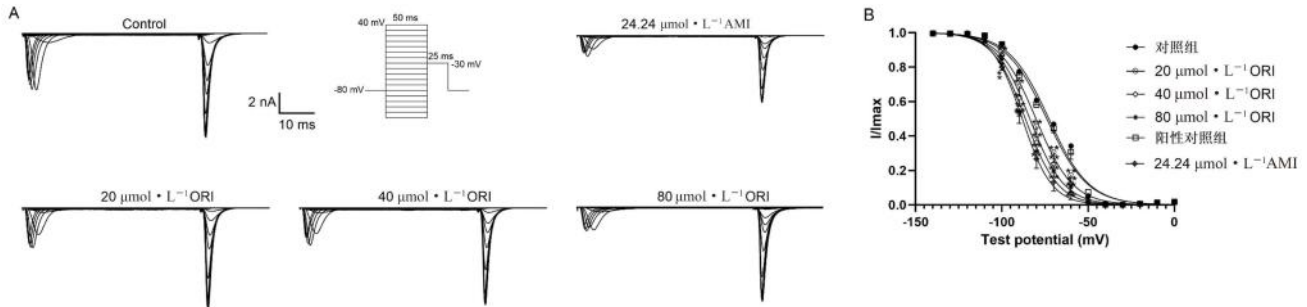


图 6 不同浓度 ORI 和 AMI 对 Nav1.5 通道失活曲线的影响 ($n = 8$)

Fig 6 Effect of different concentrations of ORI and AMI on the inactivation curves of Nav1.5 channel ($n = 8$)

A. 原始电流图 (raw current plot)；B. 拟合图 (fitting plot)

注 (Note)：与对照组相比，** $P < 0.01$ (Compared with the control group, ** $P < 0.01$)。

细胞的兴奋性 (见图 6)。

3.7 ORI 对大鼠心室肌细胞 Nav1.5 通道失活后恢复曲线的影响

不同浓度的 ORI 和 AMI 可以使 Nav1.5 通道的恢复曲线向右偏移；其中 20、40、 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ORI 可以使恢复时间常数由给药前的 (20.02 ± 2.87) ms 分别升为 (27.12 ± 4.78) ms ($n = 8$, $P < 0.05$)、 (30.47 ± 6.16) ms 和 (31.84 ± 4.46) ms ($n = 8$,

$P < 0.01$)；同理， $24.24 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AMI 可使恢复时间常数由给药前的 (21.75 ± 4.36) ms 升为 (33.57 ± 3.92) ms ($n = 8$, $P < 0.01$)。由此说明，随着 ORI 浓度的增加，Nav1.5 通道由失活态转变为静息态的时间逐渐延长，表明 ORI 延缓改变钠通道的电压感应域对膜电位变化的响应，使得其从失活状态恢复复活速率降低，延长恢复时间，降低了细胞的兴奋性 (见图 7)。

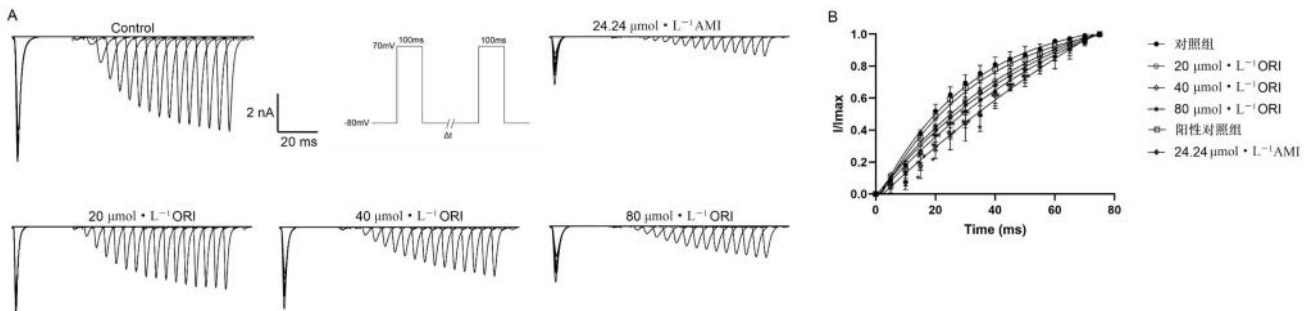


图 7 ORI 对 Nav1.5 通道复活曲线的影响 ($n = 8$)

Fig 7 Effect of ORI on the resurrection curve of Nav1.5 channel ($n = 8$)

A. 原始电流图 (raw current plot)；B. 拟合图 (fitting plot)

注 (Note)：与对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ (Compared with the control group, * $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$)。

4 讨论

心血管疾病中 VA 作为一种慢性、复杂且严重的临床常见病症，其治疗面临重大挑战^[22]。目前的常规药物治疗虽然能够有效控制心律失常，但长期使用往往伴随肝损伤、肺间质纤维化等不良反应，这使得开发高效低毒的新型治疗药物成为临床迫切需求^[23]。近年来，随着对心肌细胞电生理机制研究的深入研究，发现离子通道功能异常与 VA 的发生发展密切相关。特别是负责心肌

动作电位 0 期快速去极化的 Nav1.5 通道，其功能状态异常可直接影响心脏电传导的稳定性，导致 VA、心肌缺血等多种心血管疾病，这使得通过调控离子通道来治疗 VA 成为新的研究热点^[24]。

在这一研究背景下，中药及其活性成分展现出独特的治疗潜力^[25-26]。已有研究表明，马钱子碱可通过抑制豚鼠心肌细胞 Nav1.5 通道电流并上移 I-V 曲线发挥抗心律失常作用^[27]。银杏酮酯则能通过调节心室肌细胞 Nav1.5 通道和 L 型钙通道

来治疗 ACO 诱发的心律失常^[28]。这些发现为探索中药活性成分的抗 VA 作用提供了重要线索。

本研究重点关注中药活性成分 ORI, 该成分先前已被证实能够通过抑制细胞凋亡和氧化应激来减轻心肌缺血再灌注损伤^[29]。考虑到氧化应激可导致 Nav1.5 通道酸化并影响其电流特性, 笔者通过多层次的实验设计系统研究了 ORI 对 VA 的治疗作用及其机制。本研究从分子对接、动物模型、细胞三方面探究 ORI 对 VA 大鼠及心肌细胞 Nav1.5 通道电流的影响。分子对接模拟结果显示 ORI 与 Nav1.5 等通道的结合能较高, 两者之间的相互作用较强, 表明 ORI 可能通过与 Nav1.5 通道的电压感受域结合影响通道的电压依赖性激活或失活及其孔道区域直接阻塞钠离子通道, 抑制离子通透; 这一理论预测在动物模型实验中得到了验证, ORI 在较低剂量下即可显著降低大鼠 VA 的发生率, 表明分子对接的高结合能与动物模型的低剂量有效性高度一致, 推测 ORI 通过抑制 Nav1.5 通道发挥抗 VA 作用, 后续通过全细胞膜片钳实验中 ORI 浓度依赖性地抑制 Nav1.5 通道电流, 并影响其通道动力学特征, 进一步验证了 ORI 通过抑制 Nav1.5 通道电流起到治疗模型大鼠 VA 的作用。

心脏电活动的调控是一个复杂的过程, 涉及多种离子通道的协同作用。近年来, 多项研究表明, 天然活性成分对心脏电生理的调控作用及其分子机制。异莲心碱可通过抑制晚期钠电流和 L 型钙电流来消除后去极化^[30], 红景天苷则通过激活 Kv2.1 通道来调节复极过程^[31]。这些发现提示, ORI 可能也存在多靶点协同作用的特点, 其抗 VA 效应也可能是通过调控多个离子通道而实现的。此外, 本研究在大鼠模型中证实了 ORI 的抗心律失常作用, 但考虑到啮齿类动物与人类在心脏电生理特性上存在显著差异, 研究结果的临床转化价值需进一步验证。后续研究将采用豚鼠、家兔和犬类等更接近人类心脏特性的动物模型进行验证, 并建立人源诱导多能干细胞分化的心肌细胞模型, 从多维度验证 ORI 的抗心律失常效应。现有研究表明, 离子通道蛋白的表达水平与其功能特性密切相关, 是调控心脏电活动稳定性的关键因素^[32]。基于这一理论基础, 后续将系统研究 ORI 对心肌细胞离子通道蛋白表达的调控作用, 深入探索 ORI 调节离子通道功能的具体分子机制。这些研究不仅为天然药物活性成分的心脏保护作用提供新的科学依据, 也为开发基于离子通道靶点的新型抗心律失常药物提供重要的理论指导。

参考文献

- [1] 郭继鸿. 中国心脏性猝死现状与防治[J]. 中国循环杂志, 2013, 28(5): 323-326.
- [2] 曹克将, 陈明龙, 江洪, 等. 室性心律失常中国专家共识[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2016, 30(4): 283-325.
- [3] 徐志强, 徐志红, 张娜, 等. 胺碘酮联合美托洛尔治疗快速心律失常的临床疗效分析[J]. 智慧健康, 2024, 10(12): 83-85.
- [4] 郑盈盈, 王晓丽, 王宪英. 复方丹参滴丸与硝酸异山梨酯片治疗稳定型心绞痛的 Meta 分析及药物经济学评价[J]. 中国药业, 2021, 30(12): 87-91.
- [5] 武蓓蓓, 魏孟玲. 基于“阳化气, 阴成形”理论辨治心律失常气虚血瘀证[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(24): 4393-4395.
- [6] 刘淑云, 谭英姿, 范明松, 等. 冬凌草甲素研究进展[J]. 中国当代医药, 2012, 19(13): 17-18, 20.
- [7] Gao RF, Xiao L, Xiang HY, et al. The covalent NLRP3-inflammasome inhibitor Oridonin relieves myocardial infarction induced myocardial fibrosis and cardiac remodeling in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90(7): 107133-107145.
- [8] Zhao T, Zhang XF, Cui XX, et al. Oridonin exerts anticonvulsant profile and neuroprotective activity in epileptic mice by inhibiting NLRP3-mediated pyroptosis[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 134(6): 112247-112261.
- [9] Zhao XJ, Zhu HY, Wang XL, et al. Oridonin ameliorates traumatic brain injury-induced neurological damage by improving mitochondrial function and antioxidant capacity and suppressing neuroinflammation through the Nrf2 pathway[J]. J Neurotrauma, 2022, 39(7-8): 530-543.
- [10] 刘艳秋, 游松, 张春玲, 等. 冬凌草甲素增强巨噬细胞对凋亡的 U937 细胞的吞噬作用[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(2): 209-213.
- [11] 韩璐, 颜素娟, 李菊香. 线粒体氧化应激与心律失常[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(7): 555-557.
- [12] 曾山, 洪葵. 心脏钠通道 Nav1.5 及相关调控分子最新进展[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志, 2016, 30(2): 154-157.
- [13] 仇晓亮, 李翠兰. SCN5A 基因致钠通道病研究新进展[J]. 心血管病学进展, 2008, 29(2): 198-201.
- [14] 张典瑞, 任天池. 冬凌草甲素的药学研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2003, 51(11): 1-4.
- [15] Liu BX, Li Sh, Su Y, et al. Comparative study of the protective effects of terfenadine and amiodarone on barium chloride/aconitine-induced ventricular arrhythmias in rats: a potential role of terfenadine[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(6): 3217-3226.
- [16] Li MT, Du YY, Zhong F, et al. Inhibitory effects of aloperrine on voltage-gated Na⁺ channels in rat ventricular myocytes[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2021, 394(7): 1579-1588.
- [17] 高艳. QT、QRS 时限、Tp-Te 间期评价恶性心律失常患者预后的临床研究[J]. 心血管病防治知识, 2021, 11(25): 6-8.
- [18] 钟飞, 李梦婷, 杜娅娅, 等. 三七皂苷 Fc 对 SD 大鼠心室肌细胞钠离子通道电流的影响[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1162-1167.
- [19] 匡怡, 沙毛毛, 马宏昕, 等. 大豆苷元对大鼠心室肌细胞 I_{Na} 的影响[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(1): 71-77.
- [20] 史国军, 叶兴涛, 何国浓, 等. 冬凌草甲素对肝癌 Bel-7402/

- Sora 细胞增殖、凋亡、细胞周期及 PI3K/AKT 信号通路的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2024, 48 (9): 1102-1109.
- [21] 蒋秀燕, 马勇. LC-MS 法测定大鼠血浆中的冬凌草甲素含量[J]. 光谱实验室, 2013, 30 (6): 2996-2999.
- [22] 郭海珍, 赵玉珂, 张文玉, 等. 抗心律失常的中药活性成分研究现状、挑战及思考[J]. 中药药理与临床, 2024, 40 (10): 1-14.
- [23] 陆宇华, 赵婷婷, 张彤, 等. 胺碘酮临床不良反应及其预防措施的研究进展[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2022, 28 (4): 409-412.
- [24] Remme CA, Bezzina CR. Sodium channel (dys) function and cardiac arrhythmias [J]. Cardiovasc Ther, 2010, 28 (5): 287-294.
- [25] 李宁, 霍有平, 马克娟, 等. 通络药物对心肌细胞钠钙离子通道的影响[J]. 中华医学杂志, 2007, 87 (14): 995-998.
- [26] 曹瑀莹, 李邵恒, 袁硕, 等. 人参抗心律失常作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52 (10): 3157-3166.
- [27] 曹玉凤, 李佳璇, 安刚, 等. 马钱子碱抑制豚鼠心室肌细胞钠电流的作用研究[J]. 中国实验诊断学, 2024, 28 (5): 571-575.
- [28] 刘备, 张光永, 刘爱华, 等. 银杏酮酯通过抑制钠、钙通道和自发性钙波防治心律失常[J]. 中国药理学通报, 2021, 37 (12): 1721-1726.
- [29] 雷艺, 杨军, 李华, 等. 冬凌草甲素对大鼠糖尿病心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J]. 免疫学杂志, 2019, 35 (10): 838-845.
- [30] Liu ZP, Hu LK, Zhang ZF, et al. Isolinsinine eliminates afterdepolarizations through inhibiting late sodium current and L-type calcium current [J]. Cardiovasc Toxicol, 2021, 21 (1): 67-78.
- [31] Zhang YT, Li R, Jiang H, et al. Salidroside modulates repolarization through stimulating Kv2.1 in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2024, 977 (15): 176741-176750.
- [32] 李志勇, 谭鹏, 朱坤杰, 等. 次乌头碱对心肌细胞钠通道 SCN5A 及钠钙交换蛋白 mRNA 表达的影响[J]. 广东医学, 2011, 32 (20): 2637-2639.
- (收稿日期: 2024-12-29; 修回日期: 2025-06-30)

黄精复方口服液的提取工艺及抗疲劳作用研究

王蕊蕊¹, 谷亮亮¹, 周芊芊¹, 张盛², 陈云娜², 俞年军^{1, 3}, 陈卫东^{1, 3}, 彭代银^{1, 3}, 王雷^{1, 3*}
(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012; 2. 安徽中医药大学分子生物学(脑病)试验室, 合肥 230012; 3. 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 合肥 230012)

摘要: **目的** 优选黄精复方口服液的最佳提取工艺, 并对其抗疲劳功能进行评价。**方法** 在单因素研究的基础上, 通过正交试验对料液比、提取温度、提取时间、提取次数等因素进行优化, 确定最佳提取工艺; 选取 ICR 小鼠进行力竭游泳试验, 测定疲劳相关指标, 考察黄精复方口服液抗疲劳作用。**结果** 黄精复方口服液的最佳提取工艺为料液比 1:12、温度 80℃、时间 2 h、提取次数 5 次; 黄精复方口服液降低了 ICR 小鼠血清尿素氮、血乳酸、肝脏丙二醛含量和乳酸脱氢酶活力水平; 提高了肝糖原、肌糖原含量和超氧化物歧化酶活性, 增强了机体缓解疲劳能力, 进而提高小鼠的运动能力。**结论** 黄精复方口服液最佳提取工艺稳定可靠、综合评分最佳, 抗疲劳效果显著。

关键词: 黄精复方口服液; 提取工艺; 抗疲劳

中图分类号: R283.6, R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2850-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.007

Extraction process and anti-fatigue effect of Polygonatum compound oral liquid

WANG Rui-rui¹, GU Liang-liang¹, ZHOU Qian-qian¹, ZHANG Sheng², CHEN Yun-na², YU Nian-jun^{1, 3}, CHEN Wei-dong^{1, 3}, PENG Dai-yin^{1, 3}, WANG Lei^{1, 3*} (1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012; 2. Key Laboratory of Molecular Biology (Brain Diseases), Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012; 3. MOE-Anhui Joint Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Chinese Medicinal Materials, Hefei 230012)

基金项目: 安徽中医药大学-潜山市医药健康发展产业科研攻关项目 (No.2023QSHZ005); 安徽省科技创新攻坚计划项目 (No.202423110050002); 安徽省高校科研计划项目团队项目 (No.2022AH010036); 高水平中医药重点学科建设项目 (No.zyyzdxk-2023095)。
作者简介: 王蕊蕊, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药药代动力学研究, email: 492514702@qq.com *通信作者: 王雷, 男, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事道地药材品质提升和药物体内过程研究, email: wanglei@ahtcm.edu.cn

Abstract: Objective To optimize the optimal extraction of Polygonatum compound oral liquid and evaluate its anti-fatigue function. **Methods** Based on single-factor study, orthogonal experiments were conducted to optimize the factors such as extraction time, number of extractions, material-liquid ratio, and extraction temperature, to determine the optimal extraction. ICR mice were selected for the exhaustion swimming experiments, and fatigue-related indexes were measured to observe the anti-fatigue effect of Polygonatum compound oral liquid. **Results** The optimal conditions for the extraction of Polygonatum compound oral liquid as follows: material-liquid ratio of 1 : 12, temperature of 80 °C , time of 2 h, and 5 extraction times. Polygonatum compound oral liquid reduced the blood urea nitrogen, blood lactic acid, liver malondialdehyde content and lactate dehydrogenase activity, increased the content of liver glycogen and muscle glycogen, and the level of superoxide dismutase, enhanced the body's ability to relieve fatigue and improved the exercise capacity of mice. **Conclusion** The extraction of Polygonatum compound oral liquid is stable and reliable, with the best overall score and obvious anti-fatigue effect.

Key words: Polygonatum compound oral liquid; extraction process; anti-fatigue

疲劳属中医虚劳范畴, 中医认为, 体力的产生以气、血为物质基础, 以经络为纽带, 通过五脏功能的相互协调而实现^[1]。现代医学认为疲劳是亚健康的主要表现^[2], 是一种疾病前期状态和致病信号, 可导致身体发生一系列生理变化, 如睡眠障碍、内分泌紊乱、代谢紊乱和免疫功能障碍等^[3-4]。在临床治疗中, 中医以调和阴阳、调补五脏、通调营卫等为主, 以其独特的“整体观念”与“辨证施治”为核心理念, 综合考量病患的其他亚健康状态, 采用中医对虚劳的治则治法, 进行针对性的配伍治疗。

黄精复方口服液全方由黄精、枸杞、炙黄芪、桑葚和茯苓 5 味中药组成, 方中黄精主补中益气, 除风湿, 安五脏^[5], 久服轻身、延年、不饥, 具有补气养阴、健脾、润肺、益肾之功效, 被《神农本草经》列为上品; 枸杞滋补肝肾, 益精明目, 与黄精相配伍, 增强黄精的补益作用; 黄芪为补虚药, 偏于健脾益气; 桑葚滋阴补血, 生津润燥; 茯苓利水渗湿、健脾、宁心; 黄精复方口服液全方配伍具有补气养阴、生津益肝、健脾补肾等功效。

提取工艺是中药制剂制备过程中的关键环节, 中药的主要有效成分是其药效的关键, 其优劣直接影响到制剂临床疗效。黄精复方口服液方中 5 味中药的主要有效成分为多糖、皂苷和黄酮^[6-10]。因此本文以其中的总多糖、总皂苷、总黄酮提取率为指标, 优选其最佳提取工艺, 并对其抗疲劳作用进行研究, 为黄精复方口服液的开发奠定基础。

1 材料

1.1 试药

黄精(批号: 20220201)、炙黄芪(批号:

230701)、桑葚(批号: 22070103)、枸杞(批号: 230801)、茯苓(批号: 2202115)(安徽中医药大学国医堂), 均经安徽中医药大学俞年军教授鉴定为正品。D(+)-无水葡萄糖(批号: Y19F11J108781)、芦丁(批号: J01IB203749)、人参皂苷 Rg₁ 对照品(批号: C27N11Q132589)(纯度均大于 98%, 上海源叶生物科技有限公司)。尿素氮(BUN)试剂盒、全血乳酸(LD)试剂盒、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒、肝糖原(LG)试剂盒、肌糖原(MG)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠 40 只, 体重(20±2)g [杭州子源实验动物科技有限公司, 生产许可证号: SCXK(浙)2019-0004], 过程中所有操作均符合安徽中医药大学动物伦理委员会规定, 伦理批件号 AHUCM-mouse-2022114。

1.3 仪器

十万分之一电子分析天平(型号: AB135-S, 德国梅特勒-托利多公司); 紫外分光光度计(型号: UV-1900, 上海元析仪器有限公司); 酶标仪(型号: Multiskan Spectrum, 赛默飞世尔科技公司); 旋转蒸发仪(型号: RE-52AA, 上海亚荣生化仪器厂); 低速离心机(型号: LC-4016, 安徽中科中佳科学仪器有限公司); 台式高速离心机(型号: TG16-WS, 长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 黄精复方口服液制备

按照 1 : 1 : 1 : 1 : 1.5 的比例称取黄精、枸杞、炙黄芪、桑葚、茯苓, 加入 12 倍量的水, 80 °C 回流提取 2 h, 提取 5 次, 合并滤液, 去除滤渣,

减压浓缩后定容至 50 mL, 离心 ($3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min), 取上清液即得黄精复方口服液提取液。

2.2 苯酚-硫酸法测定总多糖含量

精确称取 D (+)-无水葡萄糖对照品 10.00 mg 置于 10 mL 量瓶中, 加入蒸馏水溶解并定容摇匀, 得质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。分别精确移取 0.08、0.10、0.14、0.18、0.22 mL 对照品溶液置于 10 mL 具塞试管中, 加蒸馏水补足至 1 mL, 加 5% 苯酚 1 mL, 混匀, 迅速加 5 mL 浓硫酸混匀后, 置于 100°C 沸水浴中加热 15 min, 取出后迅速于冰水浴中冷却 5 min。以蒸馏水为空白对照, 在波长 490 nm 下测定吸光度 (A), 以葡萄糖质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 3.183X - 0.03024$, $R^2 = 0.9999$, 表明 D (+)-无水葡萄糖质量浓度在 $0.08 \sim 0.22 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与吸光度线性关系良好。

取样品 1 mL 按照上述方法操作后在波长 490 nm 处测定吸光度值, 将其代入所得标准曲线方程中, 并按照下式计算提取液中总多糖含量:

$$\text{总多糖含量}(\%) = (C \times V \times N/M) \times 100\%$$

式中: C 为标准曲线计算得到的多糖质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 为提取液的总体积 (mL); N 为稀释倍数; M 为样品质量 (mg)。

2.3 香草醛-冰乙酸法测定总皂苷含量

精密称取人参皂苷 Rg_1 对照品 10.00 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解, 定容摇匀, 得质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液。分别精确移取 0.04、0.06、0.08、0.10、0.12 mL 对照品溶液于 10 mL 具塞试管中, 用甲醇补足至 1 mL, 沸水浴挥干, 加入 5% 香草醛冰乙酸溶液 0.2 mL 和 0.8 mL 高氯酸, 摇匀后于 80°C 水浴显色 25 min, 取出后置于冰水浴冷却, 再加入 5.0 mL 冰乙酸。以甲醇为空白对照, 在波长 560 nm 下测定吸光度, 以人参皂苷 Rg_1 质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 6.146X - 0.01178$, $R^2 = 0.9989$, 表明人参皂苷 Rg_1 质量浓度在 $0.04 \sim 0.12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与吸光度线性关系良好。

取样品 1 mL, 按照上述方法操作, 在波长 560 nm 处测定吸光度值, 将其代入所得标准曲线方程中, 并按照下式计算提取液中总皂苷含量:

$$\text{总皂苷含量}(\%) = (C \times V \times N/M) \times 100\%$$

式中: C 为标准曲线计算得到的皂苷质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 为提取液的总体积 (mL); N 为稀释倍数; M 为样品质量 (mg)。

2.4 亚硝酸钠-硝酸铝法测定总黄酮含量

精密称取芦丁对照品 10.00 mg 于 10 mL 量瓶

中, 加 75% 乙醇水超声溶解, 定容摇匀, 得到质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芦丁对照品溶液。分别精确移取 0.20、0.30、0.45、0.60、0.75 mL 对照品溶液置于 10 mL 具塞试管中, 用 75% 乙醇水补足至 1 mL, 加入 5% NaNO_2 溶液 0.5 mL, 混匀反应 6 min 后加入 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 溶液 0.5 mL, 混匀反应 6 min 后加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液 5 mL, 并用 75% 乙醇水定容至 10 mL, 混匀, 静置反应 10 min。以蒸馏水为空白对照, 在波长 510 nm 下测定吸光度, 以芦丁质量浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 1.035X - 0.01127$, $R^2 = 0.9993$, 表明芦丁质量浓度在 $0.2 \sim 0.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与吸光度线性关系良好。

取样品 1 mL, 按照上述方法操作后在波长 510 nm 处测定吸光度值, 将其代入所得标准曲线方程中, 并按照下式计算提取液中总黄酮含量:

$$\text{总黄酮含量}(\%) = (C \times V \times N/M) \times 100\%$$

式中: C 为标准曲线计算得到的黄酮浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); V 为提取液的总体积 (mL); N 为稀释倍数; M 为样品质量 (mg)。

2.5 单因素实验

以总多糖、总皂苷、总黄酮含量为指标, 对料液比 (1:6、1:8、1:10、1:12、1:14)、提取温度 (60、70、80、90、 100°C)、提取时间 (0.5、1、1.5、2、2.5 h)、提取次数 (1、2、3、4、5 次) 进行单因素考察。结果如图 1 所示, 随着提取因素水平的递增, 总多糖、总皂苷及总黄酮的含量呈现相似的变化规律。各指标含量随料液比增加而升高, 在 1:12 时趋于稳定; 提取温度达到 90°C 时, 各指标含量均趋于平衡; 提取时间达到 2 h 时, 各指标含量趋于最大值; 提取次数为 5 次时, 各指标含量达到峰值, 但与提取 4 次时结果差异不明显。综合考虑, 选择料液比 1:10、1:12、1:14, 提取温度 80、90、 100°C , 提取时间为 1.5、2、2.5 h, 提取次数 3、4、5 次进行正交实验。

2.6 正交法优化口服液制备条件

以单因素实验筛选的结果作为正交实验研究因素, 以提取液总多糖含量、总皂苷含量、总黄酮含量为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交实验, 因素水平表见表 1。

2.7 权重指标的确定

2.7.1 层次分析法 (AHP 法) 确定权重系数 AHP 法是一种解决多指标复杂问题的主观性的决策分析方法。根据指标成对比较判断的优先矩阵结果进行数据归一化处理, 得到特征向量 $W_j = \sum (a_{ij} / \sum a_{ij})$,

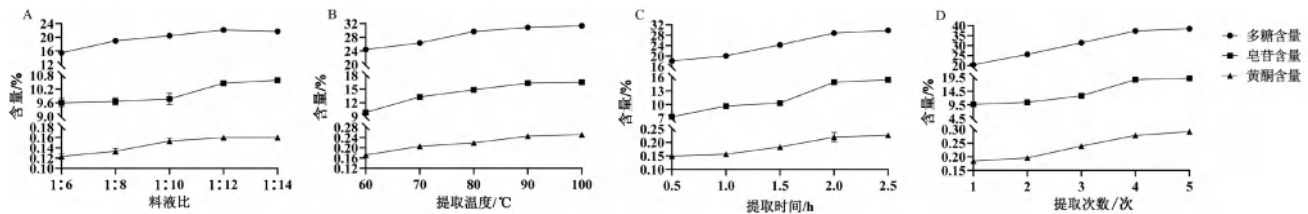


图1 料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)、提取次数(D)对总多糖、总皂苷、总黄酮含量的影响
Fig 1 Effect of material-liquid ratio (A), extraction temperature (B), extraction time (C) and number of extractions (D) on the contents of total polysaccharides, total saponins, and total flavonoids

表1 黄精复方口服液提取工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验因素水平表
Tab 1 Factor and level of the $L_9(3^4)$ orthogonal experiments on the extraction process of Polygonatum compound oral liquid

水平	因素			
	A. 料液比 / (g/mL)	B. 提取 温度 /℃	C. 提取 时间 /h	D. 提取 次数 / 次
1	10	80	1.5	3
2	12	90	2	4
3	14	100	2.5	5

第 i 项的权重系数 $\omega_{ij} = W_{ij} / \sum W_{ij}$, 最大将征值 $\lambda_{max} = \sum [(\sum a_{ij} \times \omega_{ij}) / \omega_{ij}] / n$, 一致性检验指标 $CI = (\lambda_{max} - n) / (n - 1)$, 一致性比率因子 $CR = CI / RI$, RI 为平均随机一致性指标, RI 为平均随机一致性指标, 可根据指标数量查表得。式中 a_{ij} 为判断矩阵的第 i 行第 j 列, 即第 i 个因素对比第 j 个因素的数据结果; n 为评价指标个数。

本实验根据黄精口服液所选活性成分药理作用的强弱, 并参考相关文献^[6], 将总多糖含量、总皂苷含量及总黄酮含量这三个评价指标划分为三个不同层级。确定的优先级顺序为: 总多糖含量=总皂苷含量>总黄酮含量, 对三个指标相互比较并进行评分, 构建指标成对比较的优先判断矩阵, 见表2。根据公式计算得出的总多糖、总皂苷、总黄酮含量的权重系数分别为 42.86%、42.86%、14.28%; $CR = 0.000 < 0.10$, 表明一致性检验通过, 可用于黄精口服液提取工艺的指标赋权。

表2 指标成分成对比较的判断优先矩阵
Tab 2 Priority judgment matrices for pairwise comparison of indicator components

指标成分	总多糖	总皂苷	总黄酮
总多糖	1	1	3
总皂苷	1	1	3
总黄酮	0.333	0.333	1

2.7.2 CRITIC法确定权重系数 CRITIC法是基于评价指标的对比强度和指标之间的冲突性来综合衡量指标的客观权重, 利用数据自身的客观属性进行科学评价。首先将各评价指标按照公式“指标归一化值 = [(实测值 - 最小值) / (最大值 - 最小值)] × 100%”进行归一化处理后, 将结果导入

SPSS 统计软件计算各指标间的变异性、冲突性、信息量与权重 (ω_i) 及各指标权重, 结果见表3。

表3 CRITIC法权重计算结果
Tab 3 Weight calculation of CRITIC method

考察指标	总多糖	总皂苷	总黄酮
指标变异性	0.367	0.351	0.318
指标冲突性	0.076	0.065	0.135
信息量	0.028	0.023	0.043
权重/%	29.69	24.36	45.95

2.7.3 AHP-CRITIC法确定权重系数 上述两种评价方法各有利弊, 两者联合使用可以取长补短, 进行主观与客观的综合评价, 因此本实验采用 AHP-CRITIC 混合加权法来确定各指标的权重系数。复合权重公式: $\omega_{复合ij} = \omega_{AHP} \times \omega_{CRITIC} / \sum (\omega_{AHP} \times \omega_{CRITIC})$ 。式中 ω_{AHP} 表示 AHP 评价方法计算得到的权重系数, ω_{CRITIC} 表示 CRITIC 评价方法计算得到的权重系数。经过计算, 得出了总多糖含量、总皂苷含量和总黄酮含量的复合权重系数, 分别为 42.80%、35.12% 和 22.08%。

2.8 正交实验
将正交实验结果用 AHP-CRITIC 综合评分法确定的权重系数进行综合评分, 根据综合权重系数计算综合得分, 综合得分 = $\sum [\omega_{复合ij} \times Z_i / (Z_i)_{max}]$, 式中 $\omega_{复合ij}$ 为第 i 个指标的综合权重系数, Z_i 为第 i 个指标的结果, $(Z_i)_{max}$ 为实验组中第 i 个指标的最大值, n 为评价指标个数, 其结果见表4。由表4可知, 各因素影响的主次顺序为提取次数>提取时间>料液比>提取温度, 由表4可知提取温度的极差最小, 故选择提取温度为误差项, 用 SPSS 软件对正交结果进行方差分析, 结果如表5所示。料液比、提取时间、提取次数对提取工艺均有显著性影响 ($P < 0.05$)。根据正交实验结果优选出最佳实验方案为 $A_2B_1C_2D_3$, 即料液比 1:12, 提取温度 80℃, 提取时间 2h, 提取次数 5 次。

2.9 验证实验
按上述优选出的最佳提取工艺进行 3 次平行验证实验, 结果见表6, 各指标综合评分的 RSD 为 0.35%, 表明评分稳定, 证明正交实验优选得到的黄精复方口服液的提取工艺合理且稳定可靠。

表 4 黄精复方口服液提取工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Tab 4 Orthogonal experiments of $L_9(3^4)$ extraction process of Polygonatum compound oral liquid

序号	A. 料液比 (g/mL)	B. 提取温度 / $^{\circ}\text{C}$	C. 提取时间 /h	D. 提取次数 / 次	多糖含量 /%	皂苷含量 /%	黄酮含量 /%	综合评分
1	10	80	1.5	3	39.71	19.35	0.35	80.56
2	10	90	2	4	43.63	20.73	0.41	88.82
3	10	100	2.5	5	47.55	22.35	0.48	97.89
4	12	80	2	5	48.20	22.77	0.50	100.00
5	12	90	2.5	3	43.33	20.71	0.40	88.08
6	12	100	1.5	4	40.58	19.79	0.38	83.34
7	14	80	2.5	4	40.81	19.90	0.40	84.58
8	14	90	1.5	5	41.61	20.08	0.43	86.91
9	14	100	2	3	40.54	19.75	0.39	83.68
K_1	267.27	265.14	250.81	252.32				
K_2	271.42	263.81	272.50	256.74				
K_3	255.17	264.91	270.55	284.80				
k_1	89.09	88.38	83.60	84.11				
k_2	90.47	87.94	90.83	85.58				
k_3	85.06	88.30	90.18	94.93				
R	5.42	0.44	7.23	10.83				

表 5 综合评分方差分析表

Tab 5 Comprehensive score of variance analysis

方差来源	偏差平方和	自由度	F	P
A	47.522	2	141.015	0.007
C	95.992	2	284.843	0.003
D	206.872	2	613.864	0.002
B (误差)	0.337	2		

注 (Note): $F_{0.01}(2, 2) = 99$, $F_{0.05}(2, 2) = 19$ 。

表 6 黄精复方口服液提取工艺验证试验结果

Tab 6 Validation of the extraction process of Polygonatum compound oral liquid

序号	多糖含量 /%	皂苷含量 /%	黄酮含量 /%	综合评分
1	48.17	22.73	0.50	99.15
2	48.20	22.95	0.49	99.08
3	48.26	22.76	0.51	99.71
$RSD/\%$	0.090	0.53	2.0	0.35

2.10 抗疲劳作用研究

2.10.1 动物分组及给药 选取 ICR 小鼠, 在实验环境中适应性饲养 1 周后随机分组, 分别为空白对照组 (Control), 黄精复方口服液低剂量组 (L-PCOL, $1.67\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)、黄精复方口服液中剂量组 (M-PCOL, $3.33\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)、黄精复方口服液高剂量组 (H-PCOL, $9.99\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 每组 10 只, 雌雄各半, 灌胃给药。空白对照组动物给予生理盐水溶液, 给药容积为 $0.01\text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 每日两次, 连续给药 30 d, 灌胃期间自由取食和饮水, 给药期间记录小鼠体重变化结果见图 2A, 各组小鼠体重均增长且增长趋势大致相同。

2.10.2 小鼠负重游泳实验 末次给药 30 min 后,

将 5% 体重的铅块缚于小鼠尾巴根部, 将小鼠放入水深 30 cm、水温 (25 ± 1.0) $^{\circ}\text{C}$ 的游泳箱中, 记录小鼠从开始游泳到力竭的时间, 小鼠未能在 7 s 内返回水面视为力竭。结果见图 2B, 与空白对照组相比, 黄精复方口服液各剂量组均能延长小鼠力竭游泳时间, 且中剂量与高剂量组显著高于空白对照组 ($P < 0.05$)。

2.10.3 疲劳相关生化指标的测定 力竭运动实验后, 将小鼠捞出, 吹干, 休息 60 min 后摘眼球取血, 室温静置 30 min, 离心 ($3500\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min, 4°C), 取上清液保存于 -20°C 冰箱; 小鼠颈椎脱臼处死后取出肝脏和腓肠肌, 液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存。采用试剂盒检测血清中 BUN、LD 和 LDH 含量, 肝组织中肝糖原 (LG)、MDA 含量和 SOD 活力及肌肉组织中肌糖原 (MG) 含量。

由图 2C 可知, 给药后小鼠 LG 与 MG 含量升高, 且各剂量组呈剂量依赖性。对 LG 的影响, 除低剂量外, 中、高剂量组均能显著提高 LG 含量 ($P < 0.01$)。与空白对照组比较, 低、中、高剂量组均能显著提高 MG 含量 ($P < 0.01$)。

由图 2D 可知, 给药后小鼠血清中 BUN、LD、LDH 含量降低。对 BUN、LD 的影响, 除低剂量外, 中、高剂量组均能显著降低 BUN、LD 含量 ($P < 0.05$)。与空白对照组比较, 高剂量组能显著降低 LDH 活性水平 ($P < 0.01$)。

由图 2E 可知, 给药后小鼠肝脏 MDA 含量降低, SOD 活性升高, 且各剂量组呈剂量依赖性。

对 SOD 活性的影响, 除低剂量外, 中、高剂量组均能显著提高 SOD 活性 ($P < 0.01$)。与空白

对照组比较, 低、中、高剂量组均能显著降低 MDA 含量 ($P < 0.01$)。

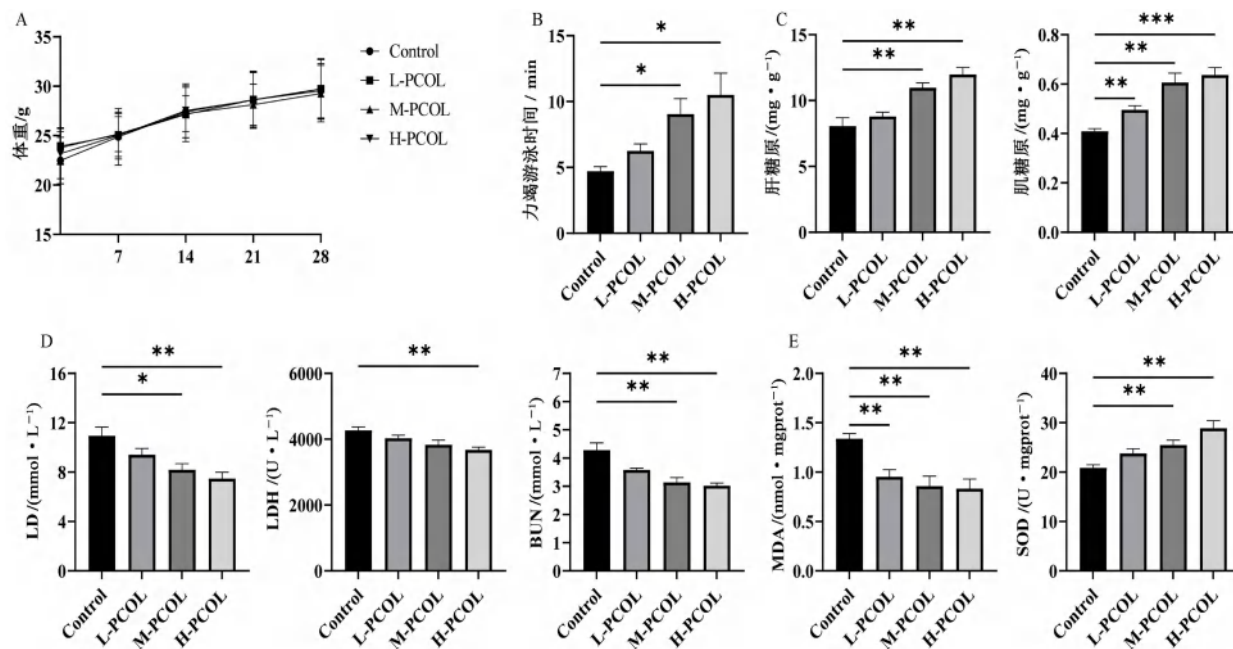


图2 黄精复方口服液对疲劳指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

Fig 2 Effect of Polygonatum compound oral liquid on fatigue index ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

3 讨论

黄精复方口服液全方主要有效成分为多糖、皂苷和黄酮, 研究表明其具有抗氧化、抗疲劳、增强免疫力等功效^[7-11]。因此本研究选取总多糖含量、总皂苷含量、总黄酮含量作为评价指标进行单因素实验和正交实验。AHP法作为一种主观赋权法, 不能客观精准地反映各指标成分在提取过程中的总体提取效果^[12]。CRITIC利用数据本身的信息量 and 相关信息来评估指标的重要性, 具有较强的客观性^[13]。两者互有利弊, 因此本研究采用主观与客观相结合的赋权方式进行综合评分, 使得综合评价更具有科学性和合理性。

糖是机体生命运动的主要能量来源, 疲劳发生的快慢及其发展程度与糖含量密切相关^[14]。在机体中, 糖主要以血糖和糖原两种形式存在。机体剧烈运动时血糖被大量消耗, MG和LG分解供能, 糖原含量降低到一定临界水平时便会导致疲劳的产生。本研究对小鼠体内糖原含量进行测定发现, 黄精复方口服液显著提升了小鼠LG和MG的含量, 通过增加机体糖原储备来发挥抗疲劳作用。糖酵解是机体短期剧烈运动的主要能量来源^[15], LDH是糖酵解的关键酶, LD是糖酵解的代谢产物^[16], 运动中LD积累会引起

疲劳^[17-18]。当机体长时间无法通过糖和脂肪的代谢获得足够的能量时, 蛋白质的分解代谢就会增加, 进而为机体提供所需的能量, 尿素氮是蛋白质、氨基酸等物质分解代谢的产物^[19-20]。本研究通过检测小鼠LDH、LD和血清BUN的含量, 发现给药后其含量均有所下降, 表明黄精复方口服液能够提高小鼠分解LD和BUN的能力, 延缓机体疲劳的产生。机体在疲劳时会加速产生活性氧等自由基, 造成氧化损伤, 导致机体氧化与抗氧化系统平衡被破坏, 干扰细胞代谢, 使其脂质过氧化并产生大量脂质过氧化产物MDA^[21]。SOD是清除活性氧自由基的特异性酶, 催化活性氧产生过氧化氢(H_2O_2)和氧气(O_2)^[22]。本研究表明黄精复方口服液能够增强SOD的活性, 降低MDA的含量, 有效抑制体内脂质氧化, 维持抗氧化系统与活性氧的平衡, 从而延缓小鼠疲劳。

4 结论

综上所述, 黄精复方口服液的最佳提取工艺为料液比1:12、提取温度80℃、提取时间2h、提取次数5次。黄精复方口服液对小鼠疲劳具有明显的改善作用。本研究为黄精复方口服液的提取工艺提供了依据, 并为黄精抗疲劳口服液的开发奠定了一定的药效基础。

参考文献

- [1] 鞠宝兆. 运动性疲劳的中医药调节机制[J]. 沈阳体育学院学报, 2004 (1): 25-26.
- [2] 陈芬, 戴伟华. 亚健康状态研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2013, 34 (24): 3684-3685.
- [3] 杨言言, 李惠珍, 艾志福, 等. 中药防治疲劳作用机制的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54 (7): 2309-2318.
- [4] Matura LA, Malone S, Jaime-Lara R, et al. A systematic review of biological mechanisms of fatigue in chronic illness [J]. Biol Res Nurs, 2018, 20 (4): 410-421.
- [5] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 319.
- [6] 宋添力, 张钰, 肖强, 等. 黄精化学成分以及药用价值的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42 (11): 119-126.
- [7] 王祯, 张俊令, 焦宏基, 等. 黄芪有效成分的药理作用与质量控制研究进展[J]. 药物评价研究, 2023, 46 (4): 917-924.
- [8] 路平, 史汶龙, 杨思雨, 等. 茯苓化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药, 2024, 46 (4): 1246-1254.
- [9] 刘莹, 覃骊兰, 蓝毓营. 桑葚化学成分、药理作用及质量标志物研究进展[J]. 重庆医学, 2021, 50 (6): 1063-1067.
- [10] 王诗雪, 王庆仙, 程肖蕊. 枸杞化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37 (S1): 75.
- [11] 李彦力, 苏艺, 袁晚晴, 等. 黄精主要活性成分、功能及其作用机制研究进展[J]. 现代食品科技, 2023, 39 (12): 354-363.
- [12] Zhou SS, Jiang JG. Anti-fatigue effects of active ingredients from traditional Chinese medicine: a review [J]. Curr Med Chem, 2019, 26 (10): 1833-1848.
- [13] Yu WM, Song CZ, Lei Z. Anti-fatigue effect of traditional Chinese medicines: a review [J]. Saudi Pharm J, 2023, 31 (4): 597-604.
- [14] Luo CH, Xu XR, Wei XC, et. al. Natural medicines for the treatment of fatigue: bioactive components, pharmacology, and mechanisms [J]. Pharmacol Res, 2019, 148: 104409.
- [15] 薛妙, 郭凯丽, 袁盼盼, 等. 酒黄精总黄酮提取工艺及其抗氧化作用研究[J]. 中南药学, 2023, 21 (2): 351-356.
- [16] 高海燕, 余欢迎, 金传山, 等. 多花黄精须根营养成分及抗氧化活性研究[J]. 中南药学, 2022, 20 (6): 1262-1266.
- [17] 朱丽婷, 张利, 田晓玲, 等. 层次分析 - 基于指标相关性的权重确定法结合正交设计优化党参、黄芪、茯苓复合饮料提取工艺[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15 (21): 228-234.
- [18] 郭玉儿, 王信, 董学风, 等. 基于正交设计法和混合加权法优化芪精口服液的提取工艺[J]. 中药材, 2023, 46 (7): 1748-1752.
- [19] 刘志刚. 补糖促进运动的机制研究进展[J]. 青少年体育, 2021 (11): 72-74.
- [20] Liu GY, Yang X, Zhang JX. Synthesis, stability and anti-fatigue activity of selenium nanoparticles stabilized by Lycium barbarum polysaccharides [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 179: 418-428.
- [21] 刘冲, 刘荫贞, 乐智勇, 等. 人参枸杞复方颗粒抗疲劳作用研究[J]. 中南药学, 2017, 15 (7): 924-927.
- [22] Wan JJ, Qin Z, Wang PY, et al. Muscle fatigue: general understanding and treatment [J]. Exp Mol Med, 2017, 49 (10): e384-e384.
- [23] 陈元武, 俞旗. 浅析运动时血中 SOD、LPO、LDH 和 LA 变化与运动性疲劳的关系[J]. 体育与科学, 1992 (2): 16-17.
- [24] Wang L, Zhang HL, Lu R, et. al. The decapeptide CMS001 enhances swimming endurance in mice [J]. Peptides, 2008, 29 (7): 1176-1182.
- [25] Shen WD, Li XY, Deng YY, et. al. Polygonatum cyrtoneura polysaccharide exhibits anti-fatigue activity via regulating osteocalcin signaling [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 175: 235-241.
- [26] 张锐, 白海军, 刘佳. 松杉灵芝多糖结构分析及对小鼠运动性疲劳的缓解作用[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34 (4): 69-78.
- [27] 蓝瑞高, 梁益军. 人参皂苷 CK 对力竭游泳大鼠抗疲劳作用及骨骼肌氧化应激的影响[J]. 云南农业大学学报 (自然科学), 2022, 37 (3): 491-496.

(收稿日期: 2025-02-03; 修回日期: 2025-04-02)

HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地杨桃根药材质量

韦彩薇¹, 刘舒凌², 邓纭宁¹, 李巡¹, 焦方泽¹, 廖彭莹^{1*} (1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学教学实验实训中心, 南宁 530200)

摘要: **目的** 建立杨桃根药材的 HPLC 指纹图谱。**方法** 采用 Ultimate LP-C18 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.2% 磷酸水溶液, 梯度洗脱, 检测波长 210 nm, 流速 0.8 mL·min⁻¹, 柱温 35℃, 进样量 10 μL。通过各产地杨桃根色谱图相似度评价及聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 对不同产地杨桃根药材质量进行探讨。同时, 测定杨桃根中的原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、(+)-南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷含量。**结果** 建立了杨桃根药材指纹图谱共有模式, 标记了 14 个共有峰, 并指认了其中 4 个成分, 10 批杨桃根相似度为 0.998~0.931; 聚类分析可将 10 批杨桃根药材分为 3 类, 主成分分析得到 4 个主成分的累积方差贡献率为 89.773%, 正交偏最小二乘判别分析表明 6、8、10~13 号色谱峰是主要标志性物质。10 批杨桃根中原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、(+)-南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 4 种成分含量为 28.27~79.52、4.12~40.90、12.58~63.42、296.42~547.76 μg·g⁻¹。**结论** 建立的指纹图谱方法稳定、结果可靠, 重复性好; 结合化学计量学分析可以为杨桃根药材质量控制提供可靠参考。

关键词: 杨桃根; HPLC; 指纹图谱; 质量分析; 含量测定; 化学计量学分析

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2857-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.008

Quality evaluation of *Averrhoa carambola* L. root from different origins by HPLC fingerprint combined with chemometrics

WEI Caiwei¹, LIU Shuling², DENG Yunning¹, LI Xun¹, JIAO Fangze¹, LIAO Pengying^{1*} (1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200; 2. Teaching Experiment and Training Centre, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200)

Abstract: **Objective** To establish HPLC fingerprint of *Averrhoa carambola* L. root. **Methods** The chromatographic column was Ultimate LP-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm). The mobile phase was composed of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution in gradient elution at 0.8 mL·min⁻¹, the detection wavelength was 210 nm, the column temperature was 35℃, and the injection volume was 10 μL. The chromatographic similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least square discriminant analysis were used to determine the quality of carambola root from different areas. The content of protocatechuic acid, catechin, (-)-epigallocatechin gallate, and (+)-lyoniresinol 9'-O-glucoside in *Averrhoa carambola* L. root was determined. **Results** The common fingerprint pattern of *Averrhoa carambola* L. root was established. Totally 14 common peaks were marked and 4 components identified, with similarity within 0.998~0.931. The samples were divided into 3 categories by cluster analysis. The cumulative variance contribution rate of the 4 principal components was 89.773%, and chromatographic peaks 6, 8, 10~13 were selected by orthogonal partial least square discriminant analysis model as the main markers. The content of protocatechuic acid, catechin, (-)-epigallocatechin gallate, and (+)-lyoniresinol 9'-O-glucoside in the 10 samples ranged 28.27~79.52, 4.12~40.90, 12.58~63.42, and 296.42~547.76 μg·g⁻¹, respectively.

基金项目: 广西中医药大学 2018 年广西一流学科建设项目重点课题 (No.2018XK045)。

作者简介: 韦彩薇, 女, 硕士研究生, 主要从事中药化学成分开发与应用, email: 1463897378@qq.com *通信作者: 廖彭莹, 女, 教授, 主要从事中药化学成分研究与应用, email: gxlpy@163.com

Conclusion The method is stable, reliable and reproducible. The combination of chemometrics can provide a reliable reference for the quality control of *Averrhoa carambola* L. root.

Key words: *Averrhoa carambola* L. root; HPLC; fingerprint; quality analysis; content determination; chemometrics

杨桃根为酢浆草科阳桃属植物杨桃 (*Averrhoa carambola* L.) 的干燥根, 其味酸、涩, 性平, 具有祛风除湿、行气止痛、涩精止带的功效^[1], 原产于马来西亚、印度尼西亚, 国内主产于广东、广西、云南^[2]等地。杨桃根成分复杂, 其中类黄酮、苯醌、木脂素及其苷类被认为是其主要的活性物质^[3-4], 具有多种生物活性。杨桃根提取物能用于治疗糖尿病和糖尿病肾病^[5-6], 具有改善心肌细胞损伤^[7]、保护肝脏^[8]、抗肿瘤^[9-10]等功效。

目前对杨桃根的质量标准研究较少, 在开发应用杨桃根时, 若质量良莠不齐, 不仅会在临床治疗中因

为质量问题出现失误, 而且会因为其成分及含量不明确、没有可靠的质量标准而限制其开发应用, 因此有必要建立杨桃根的质量标准。为合理评价杨桃根药材质量, 本试验收集 10 批不同产地的杨桃根药材, 对其进行 HPLC 指纹图谱结合化学计量学分析, 以更加全面、科学地分析关键差异成分, 明确药材的最佳产地^[11-12], 并同时测定杨桃根中原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯及 (+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 4 种成分的含量 (结构见图 1), 以期杨桃根药材质量控制标准的制订提供科学依据, 促进这一丰富药用资源的合理开发利用。



图 1 杨桃根中 4 个化合物结构图

Fig 1 Structures of 4 compounds in *Averrhoa carambola* L. root

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); FA2004 型万分之一电子分析天平 (宁波市鄞州华丰仪器厂); KQ-500DA 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); FW135 型中药粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试药

原儿茶酸 (批号: DSTDY008101, 含量 $\geq 98\%$)、(+)-南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 (批号: DSTDN010301, 含量 $\geq 98\%$) (成都德思特生物有限公司); 儿茶素 (批号: 180329, 含量 $\geq 98\%$)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (批号: 180320, 含量 $\geq 98\%$) (上海融禾医药科技有限公司); 色谱甲醇、色谱乙腈 (成都市科隆化学品有限公司); 色谱纯磷酸 (广东光华科技股份有限公司); 水为自制超纯水。

10 批杨桃根药材的来源信息见表 1, 经广西中医药大学朱意麟实验师鉴定为酢浆草科植物杨桃 *Averrhoa carambola* L. 的干燥根。

表 1 杨桃根药材信息 (采集时间: 2020 年 8—10 月)

Tab 1 Information of *Averrhoa carambola* L. root (Collection time: August to October 2020)

编号	产地	编号	产地
S1	广西钦州浦北	S6	广东云浮罗定
S2	广西梧州万秀	S7	广东湛江
S3	广西贵港平南	S8	广西防城港
S4	广东江门新会区	S9	云南西双版纳
S5	广东云浮云安	S10	广东肇庆德庆县

2 方法和结果

2.1 色谱条件

采用 Ultimate LP-C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m) 色谱柱, 流动相为乙腈 (A)-0.2% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 5% ~ 10%A; 10 ~ 20 min, 10% ~ 12%A; 20 ~ 35 min, 12% ~ 14%A; 35 ~ 55 min, 14% ~ 17%A; 55 ~ 80 min, 17% ~ 24%A; 80 ~ 87 min, 24%A); 柱温 35 $^{\circ}$ C; 检测波长 210 nm; 流速 0.8 mL $\cdot$ min⁻¹; 进样体积 10 μ L。

2.2 混合对照品储备液的制备

称取原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食

子酸酯和(+)南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷对照品适量,加入甲醇制成质量浓度分别为0.12、0.11、0.11和0.27 mg•mL⁻¹的对照品储备液,冷藏,备用。

2.3 供试品溶液的制备

将杨桃根粉碎,过80目筛,取粉末1.0 g,精密称定,加入15倍量甲醇,称定重量,超声提取30 min,放冷,用甲醇补足重量,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.4 指纹图谱研究

2.4.1 精密度试验 取杨桃根(S6)供试品溶液,连续进样6次,以12号峰为参照,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积RSD均小于3.5%,表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取杨桃根(S6)供试品溶液,于0、2、4、6、8、12、24 h进样测定,以12号峰为参照,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积RSD均小于2.8%,表明溶液在24 h内稳定。

2.4.3 重复性试验 取杨桃根(S6)供试品溶液6份,分别进样分析,以12号峰为参照,计算得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3.0%,表明方法重复性好。

2.4.4 指纹图谱的建立及相似度计算 将10批不同产地的杨桃根药材HPLC图,导入“中药指纹图谱相似度评价系统2012版”进行分析,以S6色谱图作为参照,时间窗宽度0.5 min,选择平均数法,经多点校正,标记14个共有峰,并Mark峰匹配后,生成杨桃根对照图谱(R)(见图2),计算各样品指纹图谱与生成的对照图谱的相似度,见表2。

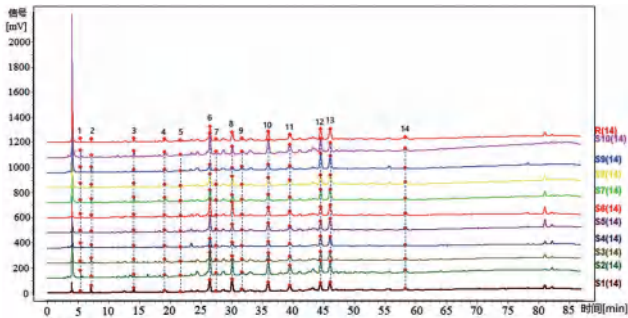


图2 10批杨桃根药材HPLC叠加图谱
Fig 2 Superimposed HPLC map of 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root

表 2 10 批杨桃根的相似度评价结果			
Tab 2 Similarity of 10 batches of <i>Averrhoa carambola</i> L. root			
编号	相似度	编号	相似度
S1	0.980	S6	0.972
S2	0.987	S7	0.976
S3	0.996	S8	0.998
S4	0.979	S9	0.931
S5	0.987	S10	0.984

2.4.5 特征峰的指认 通过与对照品比对,以保留时间作定性依据,指认出3号峰为原儿茶酸、5号峰为儿茶素、9号峰为表没食子儿茶素没食子酸酯、12号峰为(+)南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷(见图3)。

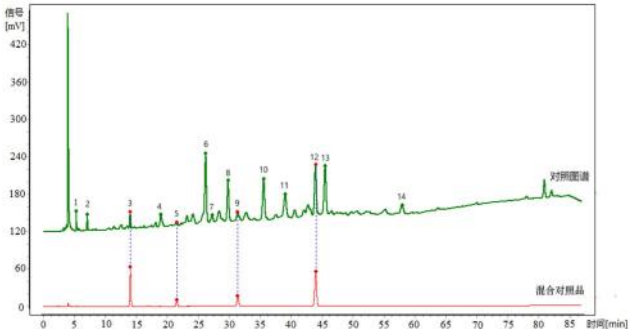


图3 对照图谱和混合对照品溶液的叠加HPLC图
Fig 3 Superposition HPLC diagram of mixed control solution and reference spectrum

3. 原儿茶酸 (protocatechuic acid); 5. 儿茶素 (catechin); 9. 表没食子儿茶素没食子酸酯 [(-)-epigallocatechin gallate]; 12. (+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 [(+)-lyoniresinol 9'-O-glucoside]

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 聚类分析(HCA) 使用IBM SPSS 25.0软件,以10批杨桃根的14个共有峰峰面积为变量,选用组间联接法,以平方欧氏距离为测度进行HCA,得到10批杨桃根树状图(见图4),平方欧氏距离为10时,10批样品聚为三类,第Ⅰ类:S4、S7和S9,第Ⅱ类:S2,第Ⅲ类:S1、S3、S5、S6、S8、S10。同一产地的杨桃根质量相似,但可能因气候和土壤等因素造成同省份的样品质量存在差异。

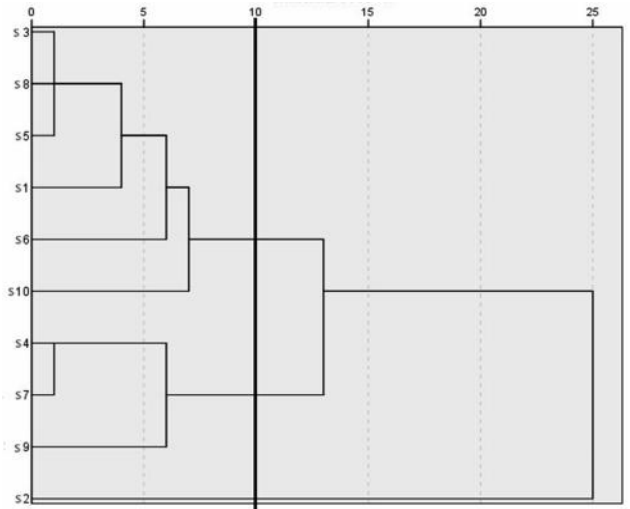


图4 10批杨桃根的聚类分析图(a)
Fig 4 Cluster analysis diagram of 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root (a)

2.5.2 主成分分析(PCA) 将10批杨桃根指纹图谱的共有峰峰面积导入SPSS 25.0软件,进行PCA,

结果见图 5。以特征值 > 1 为标准, 计算出 4 个主成分因子的特征值分别为 5.690、2.879、2.237 和 1.762; 方差贡献率分别为 40.643%、20.563%、15.980% 和 12.587%, 4 个主成分累计方差贡献率为 89.773%。进一步分析杨桃根因子载荷矩阵, 推测影响杨桃根质量差异的不是单一成分, 而是多成分共同作用的结果 (见表 3)。主成分 1 的信息来自色谱峰 1、6~8、10~11、14; 主成分 2 的信息来自色谱峰 12 [(+) 南烛木树脂酚 -9'-O- 葡萄糖苷]、13; 主成分 3 的信息来自色谱峰 3 (原儿茶酸)、4; 主成分 4 的信息来自色谱峰 2、5、9 (表没食子儿茶素没食子酸酯)。

表 3 PCA 因子载荷矩阵
Tab 3 Factor load matrix of PCA

峰号	成分			
	1	2	3	4
1	0.709	0.532	-0.078	0.117
2	-0.465	-0.255	0.383	0.674
3	0.247	-0.215	0.880	-0.228
4	0.160	-0.038	0.783	-0.543
5	0.383	0.299	-0.117	-0.696
6	0.886	-0.289	-0.330	-0.080
7	0.839	0.475	0.101	-0.037
8	0.647	-0.580	-0.304	0.156
9	0.419	0.502	0.386	0.554
10	0.958	-0.217	-0.073	0.124
11	0.945	-0.082	0.252	0.103
12	0.212	0.902	0.182	0.254
13	-0.119	0.686	-0.461	-0.121
14	0.886	-0.397	-0.095	0.139

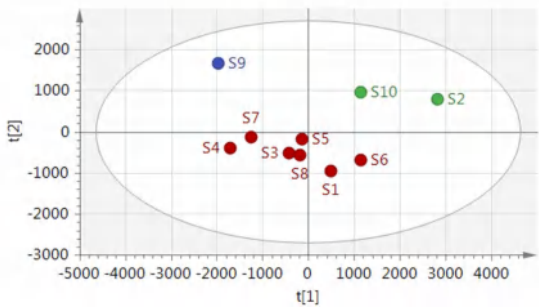


图 5 10 批杨桃根的 PCA 得分图 (a)
Fig 5 Principal component analysis scores of 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root (a)

2.5.3 正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 将 10 批杨桃根样品的 14 个共有峰设为变量, 以 PCA 分类结果为分类依据, 用 SIMCA 14.1 软件进行分析, 建立 OPLS-DA 模型。在模型中, 得分图 R^2X (cum) 为 0.998, R^2Y (cum) 为 0.992, Q^2 (cum) 为 0.879, 建立的模型预测稳定可靠。以变量 VIP 值 > 1 为标准, 筛选出 6 个差异标志物 (见图 6), 即 6、8、10~13

号色谱峰是影响不同采收地杨桃根质量差异的主要成分。进一步分析 OPLS-DA 得分图 (见图 7), 10 批杨桃根分为三类, 其结果与 PCA 得分图结果一致。

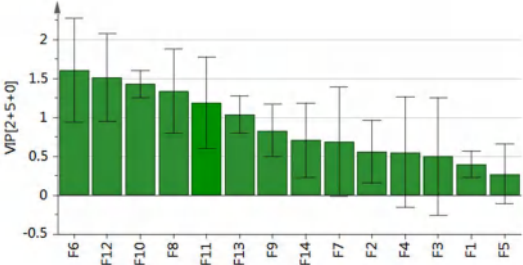


图 6 10 批杨桃根 OPLS-DA VIP 值图 (a)
Fig 6 OPLS-DA VIP value of 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root (a)

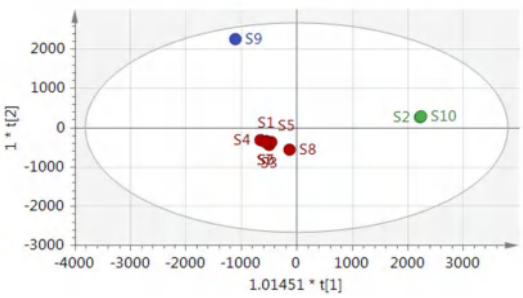


图 7 10 批杨桃根 OPLS-DA 得分图 (a)
Fig 7 OPLS-DA score plot of 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root (a)

2.6 定量分析

2.6.1 对照品溶液的制备 取“2.2”项下混合对照品储备液适量, 用甲醇稀释 8 倍, 得原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯、(+) 南烛木树脂酚 -9'-O- 葡萄糖苷质量浓度分别为 15.00、13.75、13.75、33.75 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.6.2 供试品溶液的制备 杨桃根经粉碎后, 过 80 目筛, 取粉末约 1.0 g, 精密称重, 加入 60 mL 甲醇并称重, 超声提取 30 min, 放冷, 加甲醇定容, 摇匀, 取上清液过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.6.3 线性关系考察 取“2.2”项下混合对照品储备液, 以二倍法用甲醇稀释, 进样分析, 以峰面积 (A) 为纵坐标, 质量浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果见表 4。

2.6.4 精密度的试验 取“2.6.1”项下混合对照品溶液, 连续进样 6 次, 计算得原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯和 (+) 南烛木树脂酚 -9'-O- 葡萄糖苷的峰面积 RSD 值在 0.80% ~ 3.5%, 表明仪器精密度良好。

2.6.5 稳定性试验 按“2.6.2”项下方法制备供试

表 4 线性关系考察结果
Tab 4 Linear relationship

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
原儿茶酸	$Y = 1.109 \times 10^5 X + 2.680 \times 10^4$	0.9992	15.000 ~ 0.469
儿茶素	$Y = 8.535 \times 10^4 X + 8.631 \times 10^3$	0.9992	6.875 ~ 0.215
表没食子儿茶素没食子酸酯	$Y = 1.487 \times 10^5 X - 1.151 \times 10^2$	0.9997	13.750 ~ 0.430
(+) 南烛木树脂酚 -9'- <i>O</i> - 葡萄糖苷	$Y = 7.614 \times 10^4 X + 1.506 \times 10^4$	0.9999	67.500 ~ 2.109

品溶液 (S6), 于 0、2、4、6、8、12、24 h 进样分析, 计算得原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯和 (+) 南烛木树脂酚 -9'-*O*- 葡萄糖苷的含量 *RSD* 值在 2.2% ~ 3.1%, 表明杨桃根供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.6 重复性试验 取杨桃根 (S6) 粉末, 按照“2.6.2”项下方法制备 6 份供试品溶液, 进样分析, 计算得原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯和 (+) 南烛木树脂酚 -9'-*O*- 葡萄糖苷的含量 *RSD* 值在 2.2% ~ 3.2%, 表明该方法的重复性良好。

2.6.7 加样回收试验 精密称取杨桃根 (S6) 粉末, 按 1 : 1 分别精密加入 4 种对照品溶液, 按“2.6.2”项下方法制备 6 份样品溶液, 进样分析, 结果原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯和 (+) 南烛木树脂酚 -9'-*O*- 葡萄糖苷的回收率分别为 98.71%、104.7%、103.0%、102.1%, *RSD* 分别为 1.1%、0.60%、2.2%、1.4%, 表明方法回收率良好。

2.6.8 样品含量测定 称取 10 批杨桃根粉末, 按“2.6.2”项下方法, 每批样品制备供试品溶液 3 份, 进样测定, 以峰面积为变量, 根据标准曲线计算 4 种成分的含量, 结果见表 5。

表 5 10 批杨桃根 4 种成分的含量测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, *n* = 3)

Tab 5 Content of 4 components in 10 batches of *Averrhoa carambola* L. root ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, *n* = 3)

编号	原儿茶酸	儿茶素	表没食子儿茶素没食子酸酯	(+) 南烛木树脂酚 -9'- <i>O</i> - 葡萄糖苷	4 种成分总含量
S1	62.05	5.39	56.99	296.42	420.85
S2	33.17	26.11	50.66	504.72	615.82
S3	69.48	15.54	45.02	429.73	559.77
S4	49.03	4.12	14.31	320.52	387.98
S5	28.27	19.65	22.90	336.97	407.79
S6	57.56	40.90	47.92	344.16	490.54
S7	79.52	8.99	18.06	350.50	457.07
S8	49.86	27.21	12.58	357.43	447.08
S9	32.97	15.24	52.94	547.76	648.91
S10	72.73	12.85	63.42	454.49	603.49

2.6.9 杨桃根中 4 个目标成分含量在产地间的差异 将 4 个目标成分的含量数值导入 SPSS 25.0 软件, 以各成分含量为因变量, 产地为因子, 进

行各成分组间显著性差异分析, 后将分析数据导入 GraphPad Prism 5.0 绘图 (见图 8), 结果显示杨桃根的 4 种成分含量在产地间有一定差异。

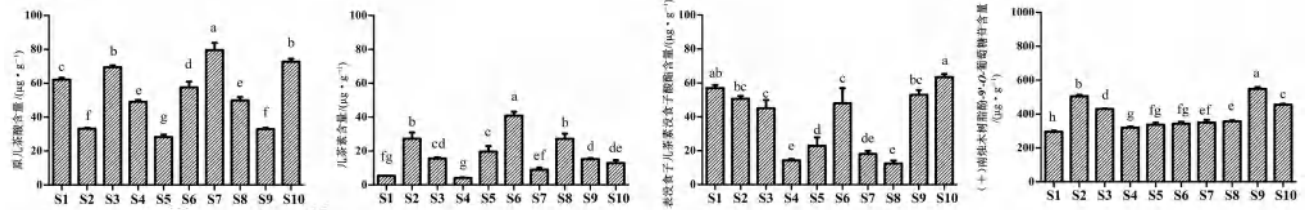


图 8 产地对杨桃根中 4 种成分含量的影响

Fig 8 Effect of producing area on the contents of 4 components in *Averrhoa carambola* L. root

注 (Note): 同一组柱状图中不同字母表示 *P* < 0.05 (Different letters in the same histogram indicate *P* < 0.05)。

2.6.10 HCA 以杨桃根 4 个目标成分的含量作为变量, 按“2.5.1”项下方法进行聚类分析, 结果见图 9。当平方欧氏距离为 10 时, 10 批杨桃根药材可分为两类, 第 I 类为 S2、S3、S9、S10, 第

II 类为 S1、S4 ~ S8。其分类结果与样品产区有相关性, 地理位置相近的杨桃根样品被归为一类, 说明产地相近杨桃根成分总含量差异性较小。

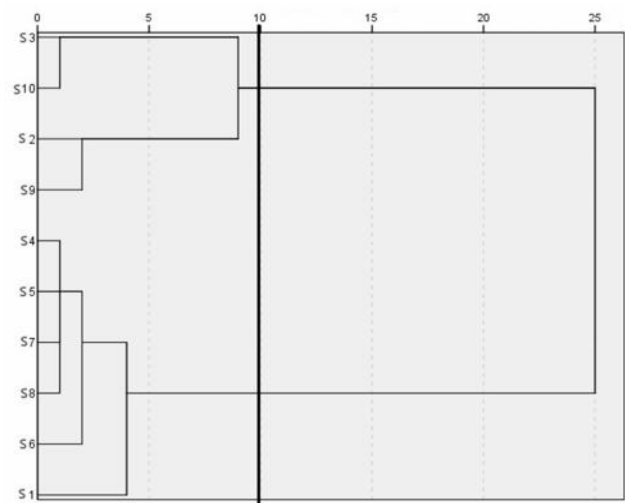


图 9 10 批杨桃根中 4 种成分的聚类分析图 (b)
Fig 9 Cluster analysis diagram of 4 components in *Averrhoa carambola* L. root (b)

2.6.11 PCA 以 10 批杨桃根的 4 个目标成分含量为变量, 进行 PCA。当特征值 > 1 时, 有两个主成分影响杨桃根质量, 其主成分 1 特征值为 1.650, 累计方差贡献率为 41.257%, 结合因子载荷矩阵分析 (见表 6), 信息来自表没食子儿茶素没食子酸酯 (峰 9) 和 (+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 (峰 12); 主成分 2 特征值为 1.215, 累计方差贡献率为 71.644%, 信息主要来自化合物原儿茶酸 (峰 3)。儿茶素可能由于含量少, 对不同产地杨桃根药材的质量差异没有区分作用。同时将 4 种成分的含量数据导入 SIMCA14.1 软件, 进行 PCA 分析, 得分图见图 10。其结果与 HCA 结果一致, 10 个产地杨桃根被分为两类, 第一类为 S2 ~ S3、S9 ~ S10, 第二类为 S1 和 S4 ~ S8。

表 6 PCA 因子载荷矩阵 (b)

Tab 6 Factor load matrix of PCA (b)

成分	主成分	
	1	2
原儿茶酸	-0.500	0.692
儿茶素	0.498	-0.529
表没食子儿茶素没食子酸酯	0.657	0.637
(+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷	0.849	0.225

2.6.12 OPLS-DA 将 10 批杨桃根的 4 个目标成分含量设为变量, 以 HCA 结果为分类依据, 用 SIMCA 14.1 软件进行分析, 建立 OPLS-DA 模型。在模型中, 所有数据点都在 95% 置信区间内, 得分图 $R^2X(\text{cum})$ 为 0.817, $R^2Y(\text{cum})$ 为 0.929, $Q^2(\text{cum})$ 为 0.834, 模型回归系数均大于 0.5, 说明建立的模型预测稳定可靠。以变量重要性 VIP 值 > 1 为标准, 筛选出 1 个差异标志物 (见

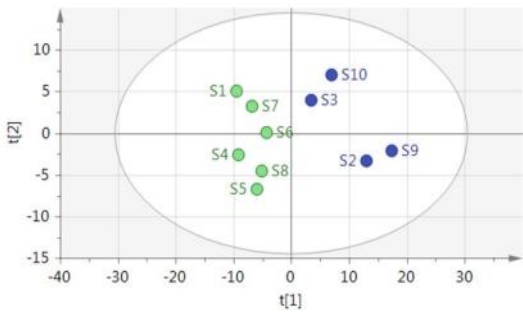


图 10 10 批杨桃根中 4 种成分的 PCA 得分图 (b)
Fig 10 PCA score diagram of 4 components in *Averrhoa carambola* L. root (b)

图 11), 即 (+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷, 其 VIP 值和成分含量最高, 表明其可能为杨桃根质量控制的关键指标成分。进一步分析 OPLS-DA 得分图 (见图 12), 10 批杨桃根可区分为两类。

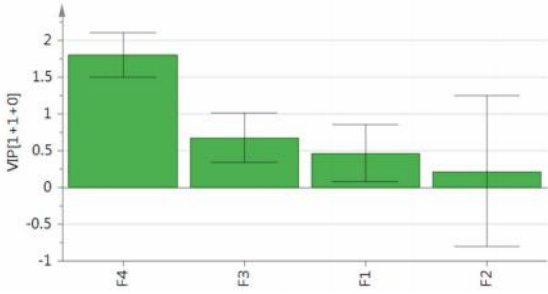


图 11 10 批杨桃根中 4 种成分 OPLS-DA VIP 值图 (b)
Fig 11 OPLS-DA VIP value of 4 components in *Averrhoa carambola* L. root (b)

F1. 原儿茶酸 (protocatechuic acid); F2. 儿茶素 (catechin); F3. 表没食子儿茶素没食子酸酯 [(-) epigallocatechin gallate]; F4. (+) 南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷 [(+) lyoniresinol 9'-O-glucoside]

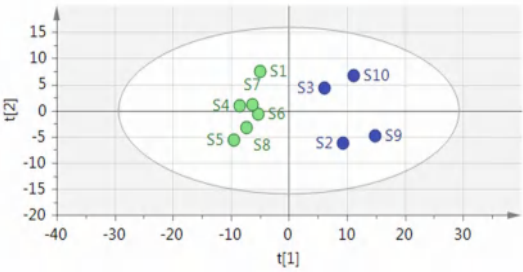


图 12 10 批杨桃根中 4 种成分的 OPLS-DA 得分图 (b)
Fig 12 OPLS-DA score plot of 4 components in *Averrhoa carambola* L. root (b)

3 讨论

3.1 供试品制备方法及色谱条件的考察
本研究考察了超声和加热回流两种方法对提取效果的影响, 结果显示无明显差异, 因此选择了简便快速的超声提取法。继续考察料液比 (1:15、1:30 和 1:60)、提取溶剂 (甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇和水) 和提取时间 (30、40 和 50 min) 对提取效果的影响, 以峰分离度、

峰数目和提取率作为考察指标,最终分别确定了指纹图谱提取条件(以料液比为 1:15,加甲醇进行超声 30 min)和 4 种成分含量测定提取条件(以料液比为 1:60,加甲醇进行超声 30 min)。

对流动相(乙腈-0.2%磷酸、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸、甲醇-0.2%磷酸和甲醇-水)、波长(210~400 nm)、流速(1.2、1.0 和 0.8 mL·min⁻¹)以及柱温(25、30 和 35℃)进行考察。当流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液,检测波长为 210 nm,流速为 0.8 mL·min⁻¹,柱温为 35℃时,色谱峰间分离度相对较好,基线平稳,且色谱峰数量较多,最终确定按照上述色谱条件开展试验。

3.2 指纹图谱的建立与化学计量学分析

本研究建立了 10 批杨桃根药材的指纹图谱,共标识出 14 个共有峰。根据相似度分析,10 批不同产地杨桃根与对照指纹图谱的相似度在 0.998~0.931。通过 HCA、PCA 可将 10 批杨桃根大致分为三类。结合相似度分析结果,表明 10 批杨桃根药材在化学成分组成上具有整体一致性,但也有一定差异,这可能与药材收集时间和初加工过程差异有关,也可能与生长过程中的人为干扰因素有关。通过 OPLS-DA 筛选出 6 个差异标志物,包括 12 号峰(+)南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷和 5 个未知成分(6、8、10、11、13 号峰)。

3.3 多组分定量分析

S2、S3、S9、S10 的药材中(+)南烛木树脂酚-9'-O-葡萄糖苷含量略高于其他地区,而产地 S1、S4~S8 的含量相对较少且组间差异较小,根据该成分含量对产地分组,其结果与 PCA(b)、HCA(b)一致(除 S1 产地外,可能由种植土壤、栽培方式等影响因素造成差异),也与 OPLS-DA 筛选出该成分作为差异性标志物相验证;此外,原儿茶酸、儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯这 3 种成分在杨桃根中含量较少,但广西产地杨桃根中 3 种成分总含量相对稳定,而广东产地杨桃根的 3 种成分总含量差异较大。

3.4 小结

综上,本研究建立的杨桃根指纹图谱及含量

测定方法可靠、准确,可用于杨桃根的质量评价,为该药材质量标准的建立与提高提供了参考。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草.12 卷[M].上海:上海科学技术出版社,1999:713.
- [2] 中国科学院“中国植物志”编辑委员会.中国植物志.43 卷[M].北京:科学出版社,1998:4.
- [3] 廖彭莹,孙雪芹,王登龙,等.杨桃根化学成分及其体外生物活性[J].中成药,2023,45(1):99-105.
- [4] 廖彭莹,周忠玉,陈颖燃,等.杨桃根水提取物化学成分及生物活性的研究[J].天然产物研究与开发,2019,31(1):81-86,92.
- [5] Zheng N, Lin X, Wen QW, et al. Effect of 2-dodecyl-6-methoxycyclohexa-2,5-diene-1,4-dione, isolated from *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) roots, on advanced glycation end-product-mediated renal injury in type 2 diabetic KKAY mice [J]. Toxicol Lett, 2013, 219(1):77-84.
- [6] 明建军,徐小惠,兰博,等.杨桃根提取物对糖尿病小鼠的降糖作用[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(10):133-136.
- [7] 高雨桐,吴娅妮,陈铭,等.杨桃根活性成分对高糖诱导 H9c2 心肌细胞损伤的改善作用及机制[J].中国药房,2021,32(15):1805-1810.
- [8] 吴娅妮,高雨桐,陈铭,等.杨桃根 2-十二烷基-6-甲氧基-2,5-二烯-1,4-环己二酮对 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪肝小鼠的保护作用[J].中药材,2022,45(1):177-181.
- [9] Gao Y, Huang RB, Gong YX, et al. The antidiabetic compound 2-dodecyl-6-methoxycyclohexa-2,5-diene-1,4-dione, isolated from *Averrhoa carambola* L., demonstrates significant antitumor potential against human breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2015, 6(27):24304-24319.
- [10] 吴兴春.杨桃根单体 DMDD 对乳腺癌和肝癌小鼠皮下移植瘤的作用及其机制的研究[D].南宁:广西医科大学,2020.
- [11] 曹斯琼,周湘媛,陈康梅,等.不同产地首乌藤指纹图谱及 4 种成分的含量测定[J].中南药学,2023,21(12):3331-3336.
- [12] 王艺洁,蒋佳丽,陈彦洁,等.基于 HPLC 指纹图谱和多组分含量测定结合化学模式识别研究的龙眼核质量评价[J].中南药学,2024,22(4):1059-1064.

(收稿日期:2025-01-05;修回日期:2025-04-20)

基于多成分质量控制的加味四逆散颗粒的制备工艺研究

白妮¹, 杨振萍¹, 呼延杰¹, 鲁杨¹, 刘杰^{2*} (1. 延安市中医医院制剂室, 陕西 延安 716000; 2. 延安市疾病预防控制中心理化室, 陕西 延安 716000)

摘要: **目的** 以经典名方四逆散为基础得加味四逆散, 将其制备为加味四逆散颗粒, 并对其进行制备工艺优化和多成分质量控制研究。**方法** 采用水提法, 湿法挤压制粒, 以干浸膏得率和 5 种指标成分 (芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、阿魏酸、槲皮素) 含量的综合评分为指标, 严格考察液料比、提取次数、提取时间对水提工艺的影响。另以溶化性、成型率、吸湿率的综合得分为条件, 筛选辅料种类、药辅比、润湿剂种类对成型工艺的影响。**结果** 加味四逆散颗粒的最佳水提工艺条件为液料比为 10 : 1、提取 3 次、每次 1 h; 最佳成型工艺稀释剂为糊精, 药辅比为 1 : 2, 润湿剂为 50% 乙醇。**结论** 优选的加味四逆散颗粒的制备工艺合理、可控, 可以为加味四逆散颗粒及相关中药制剂的开发提供参考, 为其质量控制评价提供依据。

关键词: 加味四逆散颗粒; 芍药苷; 柚皮苷; 新橙皮苷; 阿魏酸; 槲皮素

中图分类号: R283.6, R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2864-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.009

Preparation of Jiawei Sinisan granules based on multi-component quality control

BAI Ni¹, YANG Zhen-ping¹, HU Yan-jie¹, LU Yang¹, LIU Jie^{2*} (1. Yan'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yan'an Shaanxi 716000; 2. Disease Prevention and Control Center of Yan'an, Yan'an Shaanxi 716000)

Abstract: Objective To prepare Jiawei Sinisan granules based on the classic formula Sini powder, and optimize its preparation process and multi-component quality control. **Methods** The yield of dry extract and the content of paeoniflorin, naringin, neohesperidin, ferulic acid and quercetin were determined by water extraction and wet extrusion. The effects of material-liquid ratio, extraction times and extraction time on the water extraction process were strictly measured, and the effects of excipients, excipients ratio, medicament-auxiliary ratio and 95% ethanol dosage on the molding process were determined. **Results** The optimum conditions of water extraction for Jiawei Sinisan granules included 10 times of water, extracting 3 times and 1 hour each time, as dextrin diluting agent and the ratio of extract to diluent at 1 : 2 and 50% ethanol as wetting agent. **Conclusion** The optimized preparation of Jiawei Sinisan granules is reasonable and controllable, which can provide reference for the development of related traditional Chinese medicine preparations, and their quality control.

Key words: Jiawei Sinisan granule; paeoniflorin; naringin; neohesperidin; ferulic acid; quercetin

四逆散为医圣张仲景的经典名方, 始记载于《伤寒论·辨少阴病脉证并治》, 方用甘草炙、枳实破, 水渍, 炙干、柴胡、芍药各十分 (各 6 g), 用法: 上四味, 捣筛, 白饮和, 服方寸匕,

日三服; 功用: 透邪解郁, 疏肝理脾^[1]。适用于肝失疏泄引发的肝脾不和之症^[2]。其组方精简、配伍严谨, 是疏肝解郁首方^[3]。后世常以四逆散加减治疗肝脾气郁所致胁肋脘腹疼痛诸症^[1]。

基金项目: 陕西省科学技术协会青年人才托举计划项目 (No.SWYY202202); 全国中药特色技术传承人才培养项目 (No.T20234832005)。

作者简介: 白妮, 女, 副主任中药师, 主要从事中药制剂质量控制及新制剂研发, email: nibai0112@163.com *通信作者: 刘杰, 男, 副主任技师, 主要从事食品药品微生物检验及质量控制, email: 573919765@qq.com

加味四逆散颗粒是在四逆散的基础上加减,应用现代制药技术制备而成的院内制剂,处方减枳实,加枳壳、木香、香附、佛手、川楝子等疏肝理气、和胃止痛;川芎、延胡索等行气活血止痛;茵陈、金钱草清肝胆湿热;鸡内金、莱菔子健运脾胃,干姜一味辛热,防一众苦寒伤胃,甘草调和诸药。方剂在临床使用 30 余年,功用为疏肝理气止痛,清肝胆胆和胃。适用于肝气郁结犯胃所致的胃脘胁肋胀痛,嘈杂,烧心吞酸,恶心呕吐,身黄尿黄,大便不调等症;急慢性胆囊炎、胆汁反流性胃炎、胃炎见上述症候者。

本研究采用熵权法结合响应面法考察提取次数、提取时间、液料比对方中 5 种指标成分(芍药苷、阿魏酸、槲皮素、柚皮苷、新橙皮苷)的含量及提取液干浸膏得率综合变化的影响;采用正交试验考察不同辅料配比对于颗粒成型率、溶化性、吸湿率的影响,进一步优化筛选出加味四逆散颗粒的最佳提取、成型工艺,以期加味四逆散颗粒及其相关制剂的研究开发提供参考,以更好地开发和应用古代经典名方^[4]。

1 材料

1.1 仪器

YK-160 型摇摆式颗粒机(宝鸡忠诚制药机械有限公司),CH-200L 型槽型混合机、RC-800-2S 型振荡筛、CT-C-11 型热风循环烘箱(南京飞翔干燥设备有限公司),LC-20AT 型岛津高效液相色谱仪(日本岛津公司),KQ-500E 超声波清洗器(上海安亭科学仪器公司),BP210S 型电子天平(德国 SARTORIUS 公司, $d = 0.1 \text{ mg}$),BPX-272 型电热恒温干燥箱(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司),标准检验筛(10、18、20、80、100 目,浙江上虞市金鼎标准筛具厂),SHZ-DⅢ型循环水式多用真空泵(巩义市予华仪器有限公司)。

1.2 试药

加味四逆散颗粒(批号分别为 20240412、20240413、20240414,自制),对照品芍药苷(批号:110736-202145,纯度:94.6%)、槲皮素(批号:100081-200907,纯度:97.4%)、柚皮苷(批号:110722-202116,纯度:93.5%)、新橙皮苷(批号:111857-202305,纯度:99.6%)、阿魏酸(批号:110773-201915,纯度:99.4%)(中国食品药品检定研究院)。甲醇(色谱级,美国费希尔公司),纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司),其他试剂均为分析纯。糊精、可溶性淀粉(天津市大津市大茂化学试剂厂)。所用药材饮片均为市售饮片,购自安徽亳州永刚饮片有限公司,由延安市中医医院制剂室杨振萍主任中药师鉴定。

2 方法与结果

2.1 加味四逆散颗粒的制备

分别按处方比例称取各味饮片开展预试验。以提取时间(60 min)、提取次数(3 次)、液料比(10:1)提取并浓缩获取流浸膏(相对密度 1.25~1.30, 70~80℃)。根据预试验条件,将所得流浸膏按辅料种类为糊精、药辅比(1:2)及 50% 乙醇为润湿剂,湿法挤压制粒,干燥(60~80℃),18 目整粒,即得加味四逆散颗粒。

2.2 多指标含量测定方法学考察

2.2.1 色谱条件 色谱柱:岛津 Shim-pack VP-ODS C18 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)~0.1% 磷酸水(B), 梯度洗脱(0~10 min: 25%~35%A, 10~30 min: 35%~45%A, 30~50 min: 45%A, 50~60 min: 25%A); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 二极管阵列检测器(DAD)全波长扫描, 吸收波长: 芍药苷(230 nm)、阿魏酸(321 nm)、柚皮苷(283 nm)、新橙皮苷(283 nm)、槲皮素(360 nm); 进样量 5 μL; 柱温: 30℃; 在此条件下供试品溶液中的芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素与其他成分分离良好, 色谱图见图 1。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 取芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷和槲皮素 5 种对照品适量, 精密称定, 置于 100 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 称重, 超声处理(500 W, 40 kHz) 15 min, 补足重量, 制成质量浓度分别为 2.48、2.40、4.00、3.40、0.46 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取“2.1”项下制备的颗粒 10.0 g, 置于 25 mL 量瓶内, 加甲醇定容至刻度, 密塞称定重量, 超声处理(500 W, 40 kHz) 30 min, 室温放冷, 用甲醇补足重量, 摇匀, 滤过, 取滤液, 即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 取缺白芍、川芎、枳实、金钱草、柴胡的处方, 按照“2.1”项下方法制备阴性样品颗粒, 取阴性样品颗粒 10.0 g, 按“2.2.3”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液储备液, 制成 5 个不同浓度的系列对照品溶液, 进样测定, 并记录色谱峰面积。以对照品的浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准校准曲线, 并进行回归分析, 得线性回归方程分别为芍药苷 $Y = 1.42 \times 10^4 X - 3.35 \times 10^4$, $r = 0.9992$, 线性范围 12.40~248.0 μg·mL⁻¹; 阿魏酸 $Y = 5.37 \times 10^4 X + 4.44 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 线性范围 12.00~240.0 μg·mL⁻¹; 柚皮苷 $Y = 1.52 \times 10^4 X + 8.17 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 线性范围 20.00~400.0

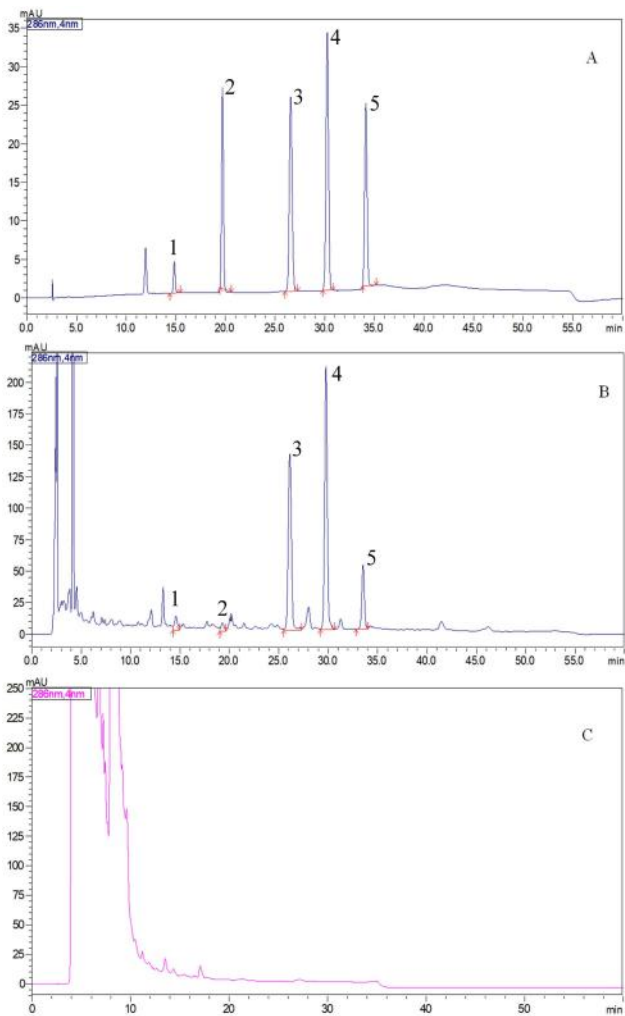


图 1 混合对照品和加味四逆散颗粒的 HPLC 色谱图
Fig 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances and Jiawei Sinisan granules

A. 混合对照品 (mixed reference substances); B. 供试品 (sample); C. 阴性样品 (negative sample); 1. 芍药苷 (paeoniflorin); 2. 阿魏酸 (ferulic acid); 3. 柚皮苷 (naringin); 4. 新橙皮苷 (neohesperidin); 5. 槲皮素 (quercetin)

$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 新橙皮苷 $Y = 1.82 \times 10^4 X + 8.05 \times 10^3$, $r = 0.9998$, 线性范围 $17.00 \sim 340.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 槲皮素 $Y = 3.74 \times 10^5 X - 2.93 \times 10^5$, $r = 0.9999$, 线性范围 $2.30 \sim 46.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.6 稳定性试验 取同一批制备的加味四逆散颗粒样品, 按“2.2.3”项下方法制成供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定, 记录峰面积, 测得芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素峰面积的 *RSD* 分别为 1.8%、1.8%、2.4%、2.6%、1.7%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 精密度试验 取同一批制备的加味四逆散颗粒样品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 测得芍药苷、阿魏

酸、柚皮苷、新橙皮苷、槲皮素峰面积的 *RSD* 分别为 2.8%、2.2%、2.5%、1.6%、2.0%, 表明该仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取同一批制备的加味四逆散颗粒样品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 进样分析, 记录峰面积, 测得芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷和槲皮素质量分数的 *RSD* 分别为 1.2%、2.5%、1.6%、1.5%、2.3%, 表明该方法重复性良好。

2.2.9 加样回收试验 取同一批制备的加味四逆散颗粒样品各 5.0 g, 平行称取 6 份, 将其置于 25 mL 量瓶内, 分别加入“2.2.2”项下的混合对照品溶液 10.0 mL, 加甲醇定容至刻度, 密塞称定重量, 超声处理 (500 W, 40 kHz) 30 min, 室温放冷, 用甲醇补足重量, 摇匀, 滤过, 取滤液, 即得。进样分析, 测得芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷和槲皮素的平均加样回收率分别为 99.81%、99.21%、98.02%、98.86%、99.45%, *RSD* 分别为 1.8%、1.7%、1.5%、1.9%、1.5%, 表明建立的液相色谱方法准确度良好。

2.2.10 样品测定 取加味四逆散颗粒样品 10.0 g (批号: 20240412、20240413、20240414), 按“2.2.3”项下方法, 分别制备成供试品溶液, 进样测定, 计算芍药苷、阿魏酸、柚皮苷、新橙皮苷和槲皮素的质量分数, 结果见表 1。

表 1 加味四逆散颗粒中 5 种成分的含量测定结果
Tab 1 Content of 5 components in Jiawei Sinisan granules

批号	质量分数 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)				
	芍药苷	阿魏酸	柚皮苷	新橙皮苷	槲皮素
20240412	5.23	4.08	9.16	8.24	3.96
20240413	5.12	4.22	8.98	8.18	4.06
20240414	5.17	4.21	9.12	8.16	4.11
平均值	5.16	4.11	9.23	8.23	4.02

2.3 水提工艺研究
2.3.1 熵权法 熵权法为一种客观评价方法, 经过响应面设计, 得到 17 个试验方案, 进行各个指标的含量测定, 得到原始数据, 对原始数据进行归一化处理。设 17 个评价对象, 6 个评价指标的原始数据矩阵为 $A_{17 \times 6}$ 。

2.3.2 基于熵权结果评价 参考文献^[5], 依照不同试验组中各指标的信息熵 (H_j) 及公式计算差异系数 (g_j) 及熵权系数 (W_j), 结果见表 2。从表 2 计算结果可以看出不同试验组指标权重大小为新橙皮苷含量 > 槲皮素含量 > 阿魏酸含量 > 干膏得率 > 芍药苷含量 > 柚皮苷含量。

表 2 6 个指标的信息熵、差异系数、熵权系数计算结果

Tab 2 Calculation of information entropy, difference coefficient, and entropy weight coefficient of 6 indicators			
指标	H_j	g_j	W_j
干膏得率 (Y_1)	0.9425	0.0575	0.1423
芍药苷含量 (Y_2)	0.9433	0.0567	0.1404
阿魏酸含量 (Y_3)	0.9397	0.0603	0.1492
柚皮苷含量 (Y_4)	0.9491	0.0509	0.1260
槲皮素含量 (Y_5)	0.9114	0.0886	0.2194
新橙皮苷含量 (Y_6)	0.9100	0.0900	0.2227

2.3.3 最佳水提取工艺 依据 Box-Behnken 试验设计原则,同时结合单因素试验结果,选取对综合评分影响较大的 3 个因素:提取时间(A)、提取次数(B)和液料比(C),3 个水平分别记为水平-1、0、1,进行 17 个试验点的响应曲面分析试验,并运用数据统计分析软件进行数据分析,得到最佳提取工艺的条件。因素水平及试验设计与结果见表 3。

表 3 加味四逆散颗粒水提工艺的响应面试验设计及结果

Tab 3 Experimental design and results of response surface for the extraction of Jiawei Sinisan granules									
No.	A	B	C	$Y_1/\%$	$Y_2/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_3(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_4(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_5(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	综合评分
1	1	1	8	23.26	50.48	0.49	39.23	12.05	71.60
2	2	1	8	25.04	72.57	0.47	30.20	20.47	71.75
3	1	3	8	33.48	82.12	0.13	10.63	23.45	72.18
4	2	3	8	26.15	102.44	0.94	58.03	28.25	85.43
5	1	2	6	36.41	82.53	0.20	30.32	21.47	73.13
6	2	2	6	21.67	89.72	0.87	45.14	20.29	78.73
7	1	2	10	18.22	63.02	0.52	28.98	53.07	74.49
8	2	2	10	23.33	118.57	0.89	50.91	30.04	86.36
9	1.5	1	6	23.26	65.91	0.28	22.52	8.31	65.50
10	1.5	3	6	27.85	78.36	0.65	65.63	45.63	83.63
11	1.5	1	10	25.37	68.35	0.63	28.63	5.20	75.02
12	1.5	3	10	25.74	80.36	0.48	60.54	47.69	80.76
13	1.5	2	8	33.26	102.56	0.89	60.52	62.32	95.72
14	1.5	2	8	32.78	108.63	0.92	58.52	62.41	96.53
15	1.5	2	8	32.52	104.52	0.85	59.85	64.58	96.43
16	1.5	2	8	32.19	106.85	0.87	58.85	63.63	95.64
17	1.5	2	8	31.37	105.87	0.83	55.74	60.55	93.55

根据表 3 中的试验数据,运用 Design Expert 10.0.7 数据分析软件,对试验数据进行多元回归拟合,设提取时间、提取次数、液料比分别为 A、B、C,以综合评分为响应值进行多元回归拟合分析,得到二次多项回归方程 $Y = 95.57 + 3.86A + 4.77B + 1.96C + 3.27AB + 1.57AC - 3.1BC - 9.19A^2 - 11.14B^2 - 8.2C^2$,回归模型系数及显著性检验结果见表 4。

从表 4 可以看出,该回归模型 $P < 0.01$ (显著),其失拟项 $P = 0.1392 > 0.05$ (不显著),说明模型拟合程度良好,可以对回归方程相应回归值进行预测,从表 5 可以看出,调节后的 $R^2 =$

表 4 回归模型系数及显著性检验结果

Tab 4 Comprehensive scoring model and regression coefficients					
来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	1717.98	9	190.89	66.58	< 0.0001
A	119.12	1	119.12	41.55	0.0004
B	181.74	1	181.74	63.39	< 0.0001
C	30.58	1	30.58	10.67	0.0138
AB	42.90	1	42.90	14.96	0.0061
AC	9.83	1	9.83	3.43	0.1065
BC	38.38	1	38.38	13.39	0.0081
A^2	355.76	1	355.76	124.09	< 0.0001
B^2	522.71	1	522.71	182.33	< 0.0001
C^2	283.43	1	283.43	98.86	< 0.0001
残差	20.07	7	2.87		
失拟项	14.30	3	4.77	3.30	0.1392
纯误差	5.77	4	1.44		
总和	1738.05	16			

0.9736,这就说明 97.36% 的数据可用该模型进行解释,相对准确度为 22.459,变异系数为 2.06,说明回归方程可靠性较高。

表 5 试验的模型相关性分析结果

Tab 5 Correlation analysis of the experimental models			
项目	数值	项目	数值
标准差	1.69	模型相关系数 (R^2)	0.9885
均值	82.14	校正决定系数 (R^2_{Adj})	0.9736
变异系数 /%	2.06	预测决定系数 (R^2_{Pre})	0.8632
预测的误差平方和	237.80	相对准确度	22.459

可以看出,提取时间、提取次数、液料比对综合评分具有显著影响 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),分析各因素的主效应关系为: $B > A > C$,即提取次数 $>$ 提取时间 $>$ 液料比。其二次项交互作用 AB、BC 对综合评分具有显著的影响 ($P < 0.01$),AC 对综合评分的影响不显著 ($P > 0.05$)。具体见图 2。

2.3.4 验证试验结果 根据回归方程模型,以综合评分最大值为最佳目标,得到预测的最佳条件为:提取时间为 1.631 h、提取次数为 2.238 次、液料比为 8.2,根据试验实际条件,将条件修正为提取时间为 1.5 h、提取次数为 2 次、液料比为 8,在此提取条件下,进行 3 次平行试验,得到工艺综合评分为 96.227,预测值综合评分为 96.742,两者之间相差在 5% 范围内,证实了试验值和预测值之间良好的相关性。验证结果见表 6。

表 6 验证试验结果

Tab 6 Verification test						
No.	$Y_1/\%$	$Y_2/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_3(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_4(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$Y_5(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	综合评分
1	35.26	101.56	0.89	59.52	60.52	95.72
2	34.78	106.63	0.93	58.82	60.13	96.53
3	35.52	103.52	0.90	59.96	60.29	96.43

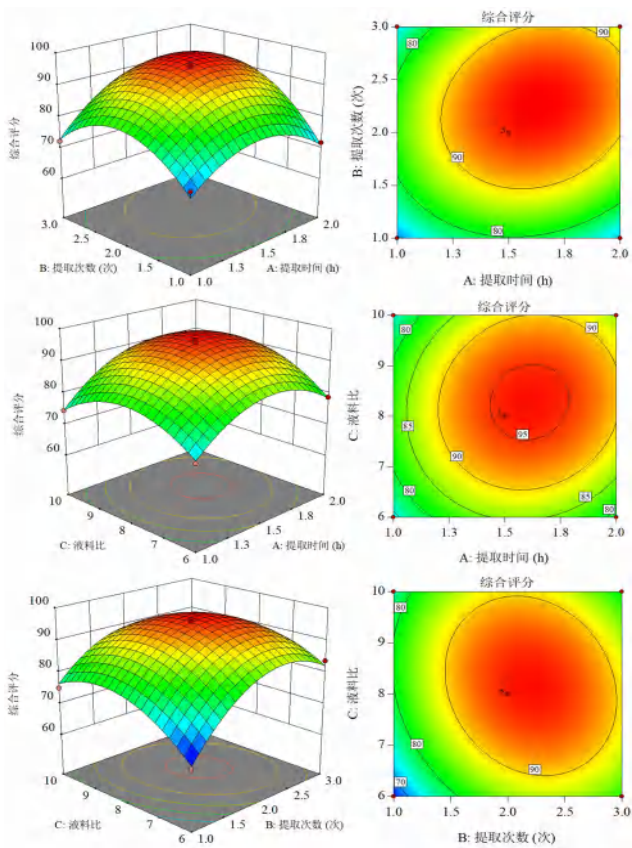


图 2 各因素对加味四逆散颗粒提取工艺综合评分的响应曲面图和等高线图

Fig 2 Response surface plot and contour plot for the comprehensive score of extraction process of Jiawei Sinisan granules

2.4 加味四逆散颗粒成型工艺优化

2.4.1 单因素试验 本研究中浸膏为水提液浓缩制备而得，且糖类物质含量较大，药膏吸湿性较强，不可使用含水量高的润湿剂，因此选用乙醇作为润湿剂。进一步考察颗粒剂制备时的辅料种类与用量，分别以可溶性淀粉、糊精、蔗糖作为稀释剂制备颗粒，发现可溶性淀粉所制得颗粒较为松散，而蔗糖在制粒过程中极易黏结成块状固体，因此确定糊精作为稀释剂^[6]。

2.4.2 正交试验 根据单因素优选结果，进行正交试验设计考察对颗粒成型影响比较大的稀释剂种类、润湿剂浓度、浸膏与稀释剂用量比 3 个因素，试验设计见表 7。

从直观分析结果可知，影响加味四逆散颗粒成型工艺的各种因素作用主次为浸膏与稀释剂用量比 (C) > 稀释剂种类 (A) > 润湿剂浓度 (B)，最佳成型工艺为 A₁B₁C₃，即稀释剂为糊精，润湿剂为 50% 乙醇，浸膏用量与稀释剂比为 1 : 2。方差分析结果说明，C 因素对颗粒成型工艺有影响，而 A 和 B 因素的影响相对较小。因此，综合试验结果及结合实际生产情况考

表 7 加味四逆散颗粒成型工艺优化正交试验设计

Tab 7 Orthogonal experimental design for optimizing the molding process of Jiawei Sinisan granules

水平	因素		
	稀释剂种类 (A)	润湿剂浓度 (B) / %	浸膏与稀释剂用量比 (C)
1	糊精	50	1 : 1
2	糊精:可溶性淀粉 (2 : 1)	60	1 : 1.5
3	糊精:可溶性淀粉 (3 : 1)	70	1 : 2

虑，选定 A₁B₁C₃ 为最佳的成型工艺，即稀释剂为糊精，润湿剂为 50% 乙醇，浸膏与稀释剂用量比为 1 : 2。综合评价中各指标权重系数参考产值及质量标准分别按成型率占 40% 分值、吸湿率占 30% 分值、溶化时间占 30% 分值进行分配，综合评分 = 成型率 / 成型率的最大值 × 40 + 溶化时间最小值 / 溶化时间 × 30 + 吸湿率最小值 / 吸湿率 × 30) 的方法进行评价^[6]，结果见表 8 ~ 9。

表 8 加味四逆散颗粒成型工艺正交试验结果

Tab 8 Orthogonal experiment for optimizing the molding process of Jiawei Sinisan granules

编号	稀释剂种类 (A)	润湿剂浓度 (B)	浸膏与稀释剂用量比 (C)	空白 (D)	总分
1	1	1	1	1	70.47
2	1	2	2	2	86.81
3	1	3	3	3	80.98
4	2	1	2	3	78.81
5	2	2	3	1	79.58
6	2	3	1	2	59.83
7	3	1	3	2	87.20
8	3	2	1	3	51.37
9	3	3	2	1	78.01
K ₁	79.420	78.827	60.557	76.020	
K ₂	72.740	72.587	81.210	77.947	
K ₃	72.193	72.940	82.587	70.387	
极差	7.227	6.240	22.030	7.560	

表 9 加味四逆散颗粒成型工艺正交试验方差分析

Tab 9 Variance analysis of orthogonal experiment of the molding process of Jiawei Sinisan granules

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
稀释剂种类 (A)	97.146	2.000	1.049	9.000	
润湿剂浓度 (B)	73.715	2.000	0.796	9.000	
浸膏与稀释剂用量比 (C)	913.776	2.000	9.868	9.000	*
误差	92.60	2.000			

2.4.3 成型工艺验证 结合实践操作过程，为进一步验证所选的最佳成型工艺，根据拟合的最佳条件，稀释剂为糊精，润湿剂为 50% 乙醇，浸膏与稀释剂用量比为 1 : 2。进行 3 次平行验证试验，得其综合评分结果分别为 98.87、99.09 和 98.73，平均值为 98.90，RSD 为 0.20%，表明该成型工艺稳定、可靠，符合大生产实际要求，结果见表 10。

表 10 验证试验结果
Tab 10 Verification test

编号	成型性		溶化性		吸湿性		总分
	成型率/%	得分	时间/s	得分	吸湿率/%	得分	
1	86.65	39.74	70	29.58	4.65	29.55	98.87
2	87.57	40.17	68	30.00	4.75	28.93	99.09
3	87.21	40.00	71	28.73	4.58	30.00	98.73

3 讨论

方中柴胡辛、苦，微寒。归肝、胆、肺经，辛行苦泄，性善调达肝气，与白芍、川芎、香附配伍治疗肝失疏泄，气机郁滞所致的胸胁疼痛。柴胡含有皂苷、多糖、有机酸、植物甾醇及黄酮类化学成分^[7]，在消化系统方面具有药理作用的主要是柴胡皂苷^[8-11]，柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 为柴胡的指标性成分^[12]，但经试验验证该类成分存在明显的末端吸收，基线不稳定，且中药复方制剂的化学成分复杂，在该波长下干扰测定的杂质较多，不适用于复方中皂苷类成分的测定。柴胡中尚含有黄酮类活性成分槲皮素、阿魏酸等^[13]。柴胡可能通过槲皮素、山柰酚、豆甾醇等多成分作用于多靶点、多通路来改善肝脏损伤达到治疗非酒精性脂肪性肝病的目的^[14]。白芍苦、酸，微寒，归肝、脾经，性酸善敛肝阴，益肝之阴血而柔肝止痛。目前研究发现，白芍中含有单萜及其糖苷类、三萜类、黄酮类、鞣质等多种化学成分，具有抗炎、保肝、镇痛、养血等药理作用，芍药苷是发现最早的一种蒎烷单萜苷^[15]，具有镇痛作用，在单独治疗多种疼痛方面具有重要价值^[16]。芍药苷也是法定的检测白芍质量的重要依据^[12]。因此选择处方中君药及部分臣药的指标性成分芍药苷（白芍）、阿魏酸（川芎、柴胡）、柚皮苷、新橙皮苷（枳壳）、槲皮素（柴胡、金钱草）的含量作为提取工艺优选的物质考察指标，同时遵循中医复方治病的原则，将提取液总浸出物得率作为提取工艺的考察指标。

本研究运用传统煎药方法进行加味四逆散颗粒提取浓缩获取流浸膏，并结合现代中药颗粒剂的制备方法^[17-23]，研究稳定可行的加味四逆散颗粒最佳提取成型工艺。在制备过程中发现水煎液浓缩制备的浸膏甜度适宜，无需再添加矫味剂，所制得的颗粒口感适宜。糊精和可溶性淀粉价格低廉，是常用的颗粒剂制备辅料，但在试验的过程中发现可溶性淀粉与浸膏混合，粘连情况较严重，无法达到制剂要求，而糊精具有稳定性好、溶解性好、黏性低、吸湿性低等优点。本研究的水提工艺、成型工艺研究结果科学合理、重复性、稳定性好、工艺参数稳定、可操作性强，制备的颗粒质量有保证。

综上，本研究基于多指标成分定量制备工艺及质量控制研究，能够全面地对加味四逆散颗粒

进行质量控制与评价，可为加味四逆散颗粒的质量控制评价及其院内新制剂研发提供参考依据。

参考文献

[1] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 1.
[2] 孙志明, 李小娜. 四逆散复方的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20 (25): 3244-3246.
[3] 张福华. 四逆散及其类方的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2005.
[4] 国家药品监督管理局. 古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定[S]. 2018.
[5] 王琳, 赵红艳, 杜宪臣, 等. 基于熵权 TOPSIS 法综合评价三个玫瑰果用新品种果实质量[J]. 中药材, 2023, 46 (8): 1858-1864.
[6] 赫光中, 果秋婷. Box-Behnken 效应面法优化胃爽颗粒剂成型工艺[J]. 中南药学, 2013, 11 (7): 498-501.
[7] 钟赣生. 中药学(4版)[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 8.
[8] 祁正亮, 刘晓, 田曼. 柴胡皂苷调节 HIF-1 α /BNIP3 信号通路抑制线粒体自噬治疗肝胃不和型功能性消化不良大鼠[J]. 中国药理学通报, 2024, 40 (12): 2256-2261.
[9] 沈珊. 柴胡皂苷 d 对顺铂导致大鼠胃粘膜炎症损伤的保护作用机制研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2018.
[10] 涂文玲, 洪银洁, 刘思琦, 等. 基于网络药理学和实验验证研究柴胡疏肝散治疗慢性萎缩性胃炎的作用机制[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2022, 24 (3): 1030-1038.
[11] 洪非惠, 陈洁欣, 陈雨婵, 等. 基于非酒精性脂肪性肝炎模型及主成分分析的柴胡拆分组分引经药性归属探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (15): 53-60.
[12] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 293.
[13] 杨晰雯, 胡文凯, 蒋鑫, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. 药学前沿, 2024, 28 (11): 507-522.
[14] 田新才, 杨梅, 赵琦, 等. 基于网络药理学探讨柴胡治疗非酒精性脂肪性肝病机制[J]. 药品评价, 2022, 19 (5): 261-267.
[15] 吴玲芳, 王晓晴, 陈香茗, 等. 白芍化学成分及药理作用研究进展[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47 (3): 175-187.
[16] 张育贵, 张淑娟, 边甜甜, 等. 芍药苷药理作用研究新进展[J]. 中草药, 2019, 50 (15): 3735-3740.
[17] 潘佳励. 医院制剂——眩痛宁颗粒的开发[D]. 广州: 广州中医药大学, 2023.
[18] 权起元, 陈飞, 王本欢, 等. 益气活血通便颗粒成型工艺研究[J]. 中南药学, 2023, 21 (2): 363-368.
[19] 田香, 拉喜那木吉拉, 哈日呼, 等. 蒙药地格达-4 颗粒成型工艺研究[J]. 中国药业, 2022, 31 (15): 33-38.
[20] 李倩, 吴冰, 裴京楠, 等. 正交试验法优化参芪通脉口服液制备工艺[J]. 中国现代中药, 2024, 9 (21): 1-16.
[21] 陈雪婷, 陈卉, 王洛临, 等. 星点设计-效应面法优选广金钱草提取工艺[J]. 中成药, 2016, 38 (5): 1171-1174.
[22] 祁玉芳, 范星晨, 汪思晨, 等. 基于 AHP-CRITIC 复合加权法优选厚朴姜炙工艺及姜炙前后化学成分变化研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48 (14): 3806-3814.
[23] 郎淑琴, 肖小武, 吴旻昱, 等. 常通舒颗粒质量控制与评价方法[J]. 中国现代中药, 2022, 7 (26): 1237-1242.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-20)

顶空 - 气相色谱质谱联用法结合电子眼技术 鉴别陈皮 (樟头红) 研究

王佳义¹, 钟卫红¹, 肖勇², 邹海勇³, 张寿文¹, 钟国跃¹, 付小梅¹, 吴志瑰^{1*} (1. 江西中医药大学药学院, 南昌 330004; 2. 樟树市中医药产业发展中心, 江西 宜春 331299; 3. 樟树市园艺场, 江西 宜春 331211)

摘要: **目的** 对来源植物樟头红与茶枝柑、大红袍、福橘、温州蜜柑、红橘以及本地早的陈皮样品挥发性成分和色度进行分析鉴别, 揭示樟头红与其他来源陈皮品种的差异性, 为其开发利用提供依据。**方法** 采用顶空 - 气相色谱质谱联用法 (HS-GC-MS) 分析鉴定 7 种陈皮样品中挥发性成分, 采用面积归一化法计算各成分的相对百分含量, 利用 NIST17.L 质谱数据库进行分析, 进行主成分分析 (PCA) 及正交偏最小二乘法 - 判别分析 (OPLS-DA) 以筛选差异性成分。采用电子眼设备识别 7 种陈皮颜色差异, 并对电子眼与 HS-GC-MS 结果进行 Pearson 相关性分析。**结果** HS-GC-MS 共鉴定出 62 个挥发性成分, 主要包括烯烃类和醇类化合物, 其中樟头红 51 个, 特有成分 3 个; 茶枝柑 36 个; 大红袍 42 个; 福橘 40 个, 特有成分 2 个; 温州蜜柑 33 个, 特有成分 2 个; 红橘 37 个, 特有成分 1 个; 本地早 35 个; 7 个品种共有成分 17 个。PCA 及 OPLS-DA 模型筛选出 27 个差异性成分, 其中樟头红与茶枝柑、大红袍、福橘、红橘、温州蜜柑以及本地早陈皮样品差异性成分分别有 15、16、11、13、5、4 个。不同品种陈皮颜色均有明显差异 ($\Delta E^*_{ab} > 1.5$), 通过 Pearson 相关性分析确定了 11 种引起陈皮颜色差异的挥发性成分。**结论** HS-GC-MS 与电子眼技术结合多元统计分析可较好地地区分樟头红与其他品种陈皮, 揭示樟头红与其他 6 个不同品种陈皮样品物质基础差异, 为陈皮品种鉴别提供科学依据; 引入江西特有品种樟头红资源, 为陈皮 (樟头红) 后续研究提供参考。

关键词: 陈皮; 樟头红; 挥发性成分; 色度; 电子眼; 顶空 - 气相色谱质谱联用法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2870-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.010

Variety identification of dried *Citrus reticulata* 'Zhangshuensis' based on HS-GC-MS and electronic eye technology

WANG Jia-yi¹, ZHONG Wei-hong¹, XIAO Yong², ZOU Hai-yong³, ZHANG Shou-wen¹, ZHONG Guo-yue¹, FU Xiao-mei¹, WU Zhi-gui^{1*} (1. School of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004; 2. Zhangshu Traditional Chinese Medicine Development Centre, Yichun Jiangxi 331299; 3. Development Center Zhangshu Horticultural Farm, Yichun Jiangxi 331211)

Abstract: Objective To determine the differences in species between *Citrus reticulata* 'Zhangshuensis' and other varieties based on the volatile components and color of *Citrus reticulata* 'Zhangshuensis' and *Citrus reticulata* 'Chachi', *Citrus reticulata* 'Dahongpao', *Citrus reticulata* 'Tangerina', *Citrus reticulata* 'Unshiu', *Citrus reticulata* 'Erythriosa' and *Citrus reticulata* 'Succosa', to provide reference for its development and utilization. **Methods** The volatile components in the 7 samples were identified by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). The relative percentage of each component was calculated by the area normalization method, and the NIST17.L mass spectrometry database was used for the analysis. The differential components were screened by the principal components analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis. Electronic eyes were used to identify the color of 7 dried tangerine peels. Pearson correlation

基金项目: 江西中医药大学与樟树市政府合作项目 (横 20230037); “十四五”国家中医药管理局培育建设学科 (中药鉴定学 2021)。

作者简介: 王佳义, 女, 硕士, 主要从事中药资源与鉴定研究, email: 1114867265@qq.com ***通信作者:** 吴志瑰, 女, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药资源与鉴定研究, email: nadinewzg@163.com

on the electronic eye and HS-GC-MS was conducted. **Results** HS-GC-MS identified totally 62 volatile compounds, mainly including alkenes and alcohol compounds, among them, Zhangshuensis has 51, with 3 unique components; Chachi has 36; Dahongpao has 42; Tangerina has 40, with 2 unique components; Unshiu has 33, with 2 unique components; Erythriosa has 37, with 1 unique component and Succosa has 35. In total, there were 17 common components in the 7 varieties. Using SIMCA-P14.1 software, PCA and OPLS-DA was constructed to screen 27 differential components, among which there were 15, 16, 11, 13, 5 and 4 differential components among 7 dried tangerine peels. Different varieties of tangerine peel had obvious differences in color ($\Delta E^*_{ab} > 1.5$), and 11 volatile components that caused color differences in tangerine peels were identified through Pearson correlation analysis. **Conclusion** HS-GC-MS and the electronic eye can distinguish Zhangshuensis from other varieties of dried tangerine peel, revealing the differences in material basis between Zhangshuensis and six other dried tangerine peels, and provide a scientific basis for the identification of dried tangerine peels. Unique Zhangshuensis from Jiangxi is introduced for further research.

Key words: dried Tangerine peel; *Citrus reticulata* ‘Zhangshuensis’; volatile component; chroma; electronic eye; headspace gas chromatography-mass spectrometry

陈皮为芸香科植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥成熟果皮, 常见的栽培变种有茶枝柑 *Citrus reticulata* ‘Chachi’、大红袍 *Citrus reticulata* ‘Dahongpao’、温州蜜柑 *Citrus reticulata* ‘Unshiu’ 及福橘 *Citrus reticulata* ‘Tangerina’^[1]。樟头红 *Citrus reticulata* ‘Zhangshuensis’ 与红橘 *Citrus reticulata* ‘Erythriosa’ 为江西省新干县、樟树市的特有种^[2], 且陈皮(樟头红)是“赣食十味”之一^[3]。陈皮是药食同源的代表, 食用既可泡茶又可炒菜, 同时具有理气平喘、燥湿祛痰、抗炎抗菌、健脾保肝等药理作用^[4-5]。

顶空-气相色谱质谱联用技术(HS-GC-MS)能够高效分离复杂样品, 具有高灵敏性, 适用于多种类型样品, 操作便携, 准确性高。近年来, 越来越多研究者采用 HS-GC-MS 对不同品种、不同产地、炮制前后中药挥发性成分差异进行研究^[6-11], 且此技术在医疗^[12]、食品^[13]、环保、化工^[14]等方面也发挥重要作用。电子眼作为现代仿生学设备, 因其快速高效和准确性高等特点, 被广泛应用于中药品种检测中。曲珍妮等^[15]运用电子眼技术对山楂炮制前后颜色变化进行研究, 范星晨等^[16]运用电子眼结合 Box-Behnken 设计-响应面法成功优化了姜栀子的炮制工艺。

本研究采用 HS-GC-MS 和电子眼对栽培变种樟头红、茶枝柑、大红袍、福橘、温州蜜柑、红橘以及本地早 7 种基原陈皮样品挥发性成分、颜色及关联性进行分析, 以揭示樟头红陈皮与其他来源陈皮品种的差异性, 为陈皮(樟头红)开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

7890A 型气相色谱-5975C 型质谱联用仪(美国 Agilent 公司); BSA124S 型万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); 3nh 分光色差仪(深圳市三恩驰科技有限公司)。

1.2 药材

陈皮样品信息见表 1, 经江西中医药大学吴志瑰副教授鉴定为正品。图 1 为陈皮药材及粉末(过 3 号筛)图片。

2 方法

2.1 HS-GC-MS 分析

2.1.1 样品制备 精密称取陈皮粉末(过 3 号筛)各 0.2 g, 置于 20 mL 顶空进样瓶中, 平行 3 份, 备用。

2.1.2 顶空进样条件 样品瓶加热温度: 120 °C; 平衡时间: 10 min; 量环温度: 130 °C; 传输温度: 140 °C; 压力平衡时间: 0.5 min; 进样时间: 0.5 min。

2.1.3 GC-MS 条件 色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm); 程序升温(初始温度 45 °C, 以 4 °C·min⁻¹ 升至 85 °C; 以 1 °C·min⁻¹ 升至 90 °C; 以 5 °C·min⁻¹ 升至 160 °C, 保持 1 min; 以 30 °C·min⁻¹ 升至 200 °C, 保持 1 min); 进样口温度为 220 °C; 载气为高纯度氦气(纯度>99.99%); 柱前压为 7.8 psi, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 分流进样, 分流比为 20:1。采用 EI 离子源; 溶剂延迟: 3.6 min; 离子源温度: 230 °C; 四极杆温度: 150 °C; 扫描范围: *m/z* 40~450。

2.1.4 数据处理方法 利用 NIST17.L 质谱数据库进行分析, 选取匹配度≥90%的化合物, 采用

表 1 陈皮样品信息表

Tab 1 Information of dried Tangerine peel

样品编号	品种	拉丁名	产地	采收时间
ZTH1	樟头红	<i>Citrus reticulata</i> 'Zhangshuensis'	江西省樟树市洲上乡	2023-11
ZTH2	樟头红	<i>Citrus reticulata</i> 'Zhangshuensis'	江西省樟树市洲上乡	2023-11
ZTH3	樟头红	<i>Citrus reticulata</i> 'Zhangshuensis'	江西省樟树市洲上乡	2023-11
CZG1	茶枝柑	<i>Citrus reticulata</i> 'Chachi'	广东省江门市新会区	2023-11
CZG2	茶枝柑	<i>Citrus reticulata</i> 'Chachi'	广西壮族自治区钦州市浦北县	2023-11
CZG3	茶枝柑	<i>Citrus reticulata</i> 'Chachi'	广东省梅州市梅江区	2023-11
DHP1	大红袍	<i>Citrus reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市万州区小周镇马裕村	2023-12
DHP2	大红袍	<i>Citrus reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市万州区大周镇铺垭村	2023-12
DHP3	大红袍	<i>Citrus reticulata</i> 'Dahongpao'	重庆市万州区小周镇马裕村	2023-12
FJ1	福橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Tangerina'	福建省福清市东张镇濂底村	2023-11
FJ2	福橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Tangerina'	福建省福州市马尾区琅岐镇	2023-12
FJ3	福橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Tangerina'	福建省福清市东张镇三星村	2023-12
YQ1	温州蜜柑	<i>Citrus reticulata</i> 'Unshiu'	浙江省临海市涌泉镇	2024-01
NY1	温州蜜柑	<i>Citrus reticulata</i> 'Unshiu'	浙江省温州市乐清市虹桥镇	2024-01
HJ1	红橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Erythriosa'	江西省新干县大洋洲镇	2023-11
HJ2	红橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Erythriosa'	江西省新干县大洋洲镇	2023-11
HJ3	红橘	<i>Citrus reticulata</i> 'Erythriosa'	江西省新干县大洋洲镇	2023-11
BDZ1	本地早	<i>Citrus reticulata</i> 'Succosa'	浙江省台州市黄岩区	2024-01

面积归一化法计算各成分的相对百分含量。结合 CAS 号及相关文献, 鉴定陈皮中挥发成分。利用 SIMCA-P14.1 软件构建 OPLS-DA 模型对数据进行分析, 筛选差异性成分。

2.2 色度测定

仪器开机稳定后, 对其进行黑白矫正, 使用 5 nm 光圈, 光源 D65, 将粉碎过三号筛的样品均匀放置表面皿中采集图像, 平行采集 3 次后取平均值, 记录色度参数明度值 (L^*)、红绿色值 (a^*)、黄蓝色值 (b^*), 并根据 $E^*ab = (L^{*2} + a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ 计算样品的总色度值。 ΔE^*ab 为 2 个色号之间的色差, 当 $\Delta E^*ab > 1.5$ 时, 表示样品之间有明显差异^[17]

2.3 色度与挥发性成分含量相关性分析

将 7 种陈皮样品色度参数 L^* 、 a^* 、 b^* 及 27 个差异性成分相对含量运用 Origin Pro 软件进行 Pearson 相关性分析并绘制可视化热图。

3 结果

3.1 HS-GC-MS 分析

3.1.1 总体差异分析 采用“2.1”项下方法对陈皮进行分析处理, 得到总离子流图, 见图 2。对不同品种陈皮进行 PCA (R^2X : 0.706, Q^2 : 0.246) 处理, 可以看出不同品种陈皮各聚为一群, 温州蜜柑与本地早挥发性成分相似, 樟头红、红橘与其他品种挥发性成分差异较大, 具体见图 3。利用 NIST17.L 质谱数据库进行分析, 共鉴定出 62 个挥发性成分, 主要包括烯烃类和醇类化合物, 其中樟头红 51 个, 特有成分 3 个; 红橘 37 个, 特有成分 1 个; 茶枝柑 36 个; 大红袍 42 个; 福橘 40 个, 特有成分 2 个;

温州蜜柑 33 个, 特有成分 2 个; 本地早 35 个; 7 个品种共有成分 17 个, 为 D- 柠檬烯、月桂烯、正辛醛、萜品烯、沉香醇、乙酸橙花酯等, 具体见表 2 和图 4。

不同品种陈皮中 D- 柠檬烯相对含量最高, 其中红橘 (58.47%) 含量最高, 茶枝柑含量最少 (46.14%); 其次萜品烯相对含量较高, 其中茶枝柑高达 14.32%, 本地早含量最低 (4.38%); 大红袍沉香醇的含量高于其他品种, 为 13.08%; 樟头红乙酸橙花酯与 1- 石竹烯含量高于其他品种, 分别为 2.95% 和 1.07%。樟头红的特有成分 [(E) - β -金合欢烯 (2.51%)、反式-橙花叔醇 (0.03%)、(+)-香茅醛 (0.12%)] 中, (E) - β -金合欢烯含量最高, 可作为樟头红陈皮的标志化合物。

3.1.2 差异性成分筛选 为了进一步研究樟头红陈皮与茶枝柑、大红袍、福橘、温州蜜柑、红橘以及本地早陈皮样品中挥发性成分的差异, 本试验对挥发性数据进行整合后, 利用 SIMCA-P14.1 软件构建 OPLS-DA 模型对数据进行分析, 结果见图 5。 R^2X 与 R^2Y 为该模型解释率参数, Q^2 为该模型预测能力参数, $R^2 > 0.5$ 表明该模型具有良好的稳定性, $R^2 > 0.4$ 表明该模型可以接受, $Q^2 > 0.5$ 表明具有良好的预测性。对 VIP 值进行分析处理, 筛选出 $VIP > 1$ 、双尾 t 检验有统计学意义 ($P < 0.05$) 的成分, 对其进行置换检验 ($n = 200$), 所有左边置换检验的 Q^2 均低于右边所建立模型原始值, Q^2 回归线在 Y 轴的截距为负值, 表明模型未过拟合, 结果证明各模型具有较好的稳定性和预测性, 具体见图 5。

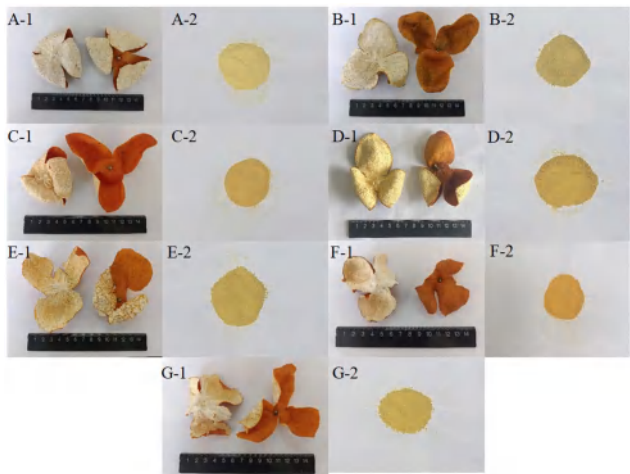


图 1 陈皮药材及粉末

Fig 1 Medicinal herbs and powders of dried Tangerine peel
A. 樟头红 (*Citrus reticulata* 'Zhangshuensis'); B. 茶枝柑 (*Citrus reticulata* 'Chachi'); C. 大红袍 (*Citrus reticulata* 'Dahongpao'); D. 福橘 (*Citrus reticulata* 'Tangerina'); E. 温州蜜柑 (*Citrus reticulata* 'Unshiu'); F. 红橘 (*Citrus reticulata* 'Erythroa'); G. 本地早 (*Citrus reticulata* 'Succosa')

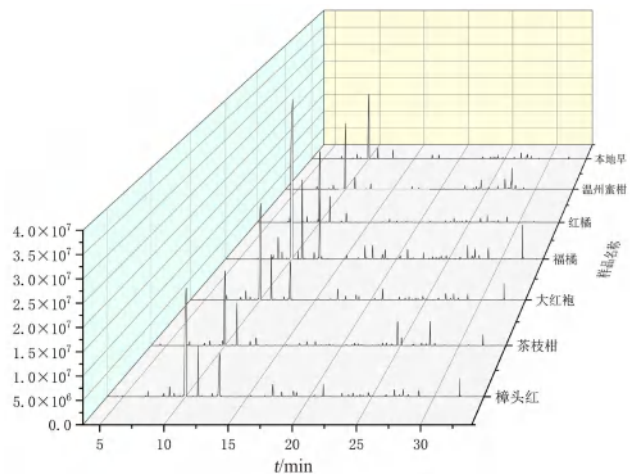


图 2 不同品种陈皮中挥发性成分总离子流图
Fig 2 Total ion flow chart of volatile components in different varieties of dried Tangerine peel

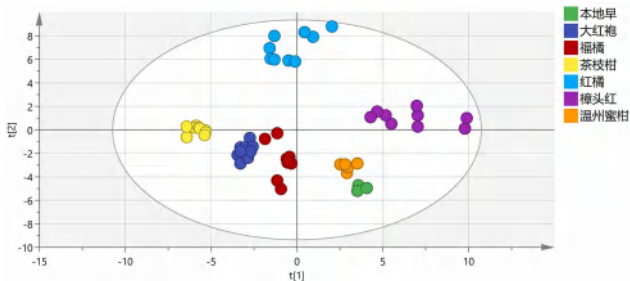


图 3 不同品种陈皮 PCA 分析
Fig 3 PCA analysis for different varieties of dried Tangerine peel

樟头红与茶枝柑、大红袍、福橘、红橘、温州蜜柑以及本地早陈皮样品差异性成分分别有 15、16、11、13、5、4 个，其中 [1S- (1 α , 4 α , 7 α)]-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-八氢化-1, 4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)奥与醋酸辛酯能鉴别出

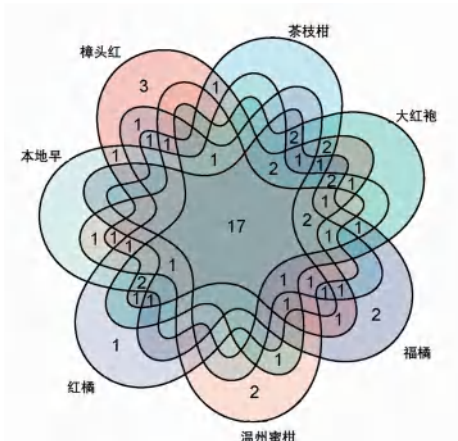


图 4 不同品种陈皮挥发油成分含有情况
Fig 4 Content of volatile oil components in dried Tangerine peel

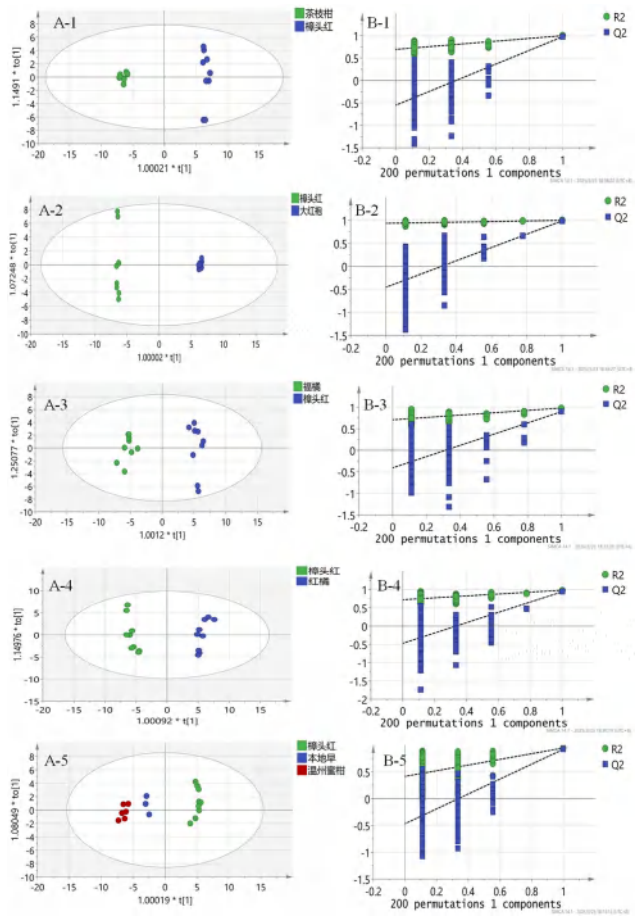


图 5 不同品种陈皮 OPLS-DA 分析
Fig 5 OPLS-DA analysis for different varieties of dried Tangerine peel
注 (Note) : A. 得分图 (score chart) ; B. 置换检验 (permutation test) (n = 200) ; 1. 樟头红 vs 茶枝柑 (Zhangshuensis vs Chachi) ; 2. 樟头红 vs 大红袍 (Zhangshuensis vs Dahongpao) ; 3. 樟头红 vs 福橘 (Zhangshuensis vs Tangerina) ; 4. 樟头红 vs 红橘 (Zhangshuensis vs Erythroa) ; 5. 樟头红 vs 温州蜜柑、本地早 (Zhangshuensis vs Unshiu, Succosa)

樟头红与药典中规定的 4 种陈皮 (茶枝柑、大红袍、福橘、温州蜜柑), 4- (1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-甲醇乙酸酯、4-乙基-2-甲氧基苯酚、

表 2 不同品种陈皮挥发性成分鉴定结果 (%)

Tab 2 Identification of volatile components in different varieties of dried Tangerine peel (%)

No.	t/min	化合物名称	樟头红	茶枝柑	大红袍	福橘	温州蜜柑	红橘	本地早
1	3.849	正己醛	—	—	0.06	—	0.07	—	—
2	4.492	糠醛	0.02	0.04	—	—	0.12	0.04	—
3	4.906	青叶醛	0.04	0.04	—	—	—	0.13	—
4	4.910	2-己烯醛	0.04	—	—	—	0.05	—	0.07
5	6.977	蒎烯	0.39	0.84	—	0.22	—	—	—
6	6.982	左旋- α -蒎烯*	0.18	0.57	0.41	0.36	0.62	1.02	0.69
7	8.258	β -蒎烯	0.16	0.30	—	0.18	—	0.48	—
8	8.258	左旋- β -蒎烯*	0.12	0.67	0.33	0.11	0.35	0.37	0.28
9	8.601	甲基庚烯酮	0.01	—	0.01	—	—	0.02	0.02
10	8.725	月桂烯*	1.97	1.69	1.45	1.35	1.55	2.23	1.78
11	9.101	正辛醛*	0.19	0.30	0.68	0.55	0.23	0.30	0.68
12	9.553	α -蒎品烯*	0.11	0.29	0.21	0.15	0.11	0.31	0.15
13	9.820	邻异丙基甲苯	0.08	0.55	0.53	0.10	—	1.66	0.22
14	9.844	<i>p</i> -伞花烃	—	—	—	—	0.17	—	—
15	10.134	D-柠檬烯*	52.28	46.14	47.41	54.93	52.22	58.47	55.30
16	10.368	3, 5, 5-三甲基-3-环己烯-1-酮	—	—	—	—	—	0.05	—
17	10.468	苯乙醛	0.01	—	0.01	—	—	—	0.03
18	10.639	(<i>Z</i>)-3, 7-二甲基-1, 3, 6-十八烷三烯	0.25	0.10	—	0.04	0.03	0.23	—
19	10.649	罗勒烯	0.32	—	0.07	0.29	0.07	—	0.28
20	11.034	蒎品烯*	6.04	14.32	11.09	5.66	4.29	9.08	4.38
21	11.306	2-甲基-5-异丙基-二环[3.1.0]己烷-2-醇	0.10	0.25	0.19	—	0.13	0.07	0.11
22	12.158	蒎品油烯*	0.55	1.30	0.87	0.48	0.29	0.58	0.31
23	12.715	沉香醇*	5.14	2.53	13.08	12.68	2.37	3.97	4.53
24	12.858	壬醛	—	—	0.10	0.20	—	—	0.13
25	15.258	(+)-香茅醛	0.12	—	—	—	—	—	—
26	15.263	香茅醛	0.11	—	0.17	0.20	0.06	0.07	—
27	16.377	4-蒎烯醇*	0.25	0.49	0.31	0.25	0.13	0.21	0.25
28	17.001	α -松油醇	—	—	—	1.22	—	—	—
29	17.020	(<i>R</i>)- α , α -4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇*	1.29	2.79	2.36	0.57	1.13	0.86	2.11
30	17.411	2, 3-二氢-2, 2, 6-三甲基苯甲醛	0.03	—	0.10	0.09	—	0.23	—
31	17.739	癸醛*	0.67	0.78	0.96	1.39	0.66	0.51	2.01
32	18.044	醋酸辛酯	0.20	0.03	0.05	0.06	0.04	—	0.15
33	18.682	香茅醇	0.45	0.51	1.19	0.79	0.16	—	0.73
34	18.939	2-异丙基-5-甲基茴香醚	0.83	0.22	0.72	1.05	0.02	0.18	—
35	19.173	(<i>Z</i>)-3, 7-二甲基-2, 6-辛二烯醛	—	—	—	0.03	—	—	—
36	19.239	右旋香芹酮	0.22	0.10	0.07	0.10	—	0.18	0.03
37	19.635	3-甲基-6-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮	0.01	0.03	0.02	—	—	—	—
38	20.368	4-(1-甲基乙基)-1-环己烯-1-甲酯*	0.33	0.46	0.32	0.41	0.31	0.18	0.45
39	20.877	4-异丙基-3-甲基苯酚	0.16	0.80	1.69	0.52	—	0.29	—
40	20.963	紫苏醇	0.05	0.03	0.09	—	—	—	—
41	21.354	正十三烷	0.02	—	0.05	0.09	—	—	0.12
42	21.396	麝香草酚	0.10	—	—	0.79	—	—	—
43	21.397	香芹酚	0.03	0.09	—	—	—	—	—
44	21.597	十一醛	0.06	0.05	0.09	0.08	—	—	—
45	21.768	4-乙基-2-甲氧基苯酚	—	0.05	0.04	0.04	—	0.08	—
46	23.492	乙酸橙花酯*	2.95	0.31	0.56	0.29	0.63	0.98	0.86
47	23.787	α -蒎烯*	0.77	0.33	0.18	0.15	0.76	0.23	0.61
48	24.054	乙酸香叶酯	0.66	—	0.26	—	—	0.14	0.74
49	24.511	正十四烷	0.04	—	0.04	0.08	—	—	0.06
50	24.711	<i>N</i> -甲基邻氨基苯甲酸甲酯	—	6.78	0.61	0.14	—	0.34	—
51	24.773	月桂醛	0.14	—	0.17	0.25	0.15	0.12	0.66
52	25.082	1-石竹烯*	1.07	1.01	0.29	0.20	0.84	0.39	0.55
53	25.535	4-(1-甲基乙基)-1-环己烯-1-甲醇乙酸酯	0.08	—	—	—	—	—	0.10
54	25.625	[1 <i>S</i> -(1 <i>α</i> , 4 <i>α</i> , 7 <i>α</i>)]-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8-八氢化-1, 4-二甲基-7-(1-甲基乙基)奥*	0.10	0.02	0.05	0.06	0.16	0.05	0.13

续表 2

No.	<i>t</i> /min	化合物名称	樟头红	茶枝柑	大红袍	福橘	温州蜜柑	红橘	本地早
55	26.154	(<i>E</i>)- β -金合欢烯	2.51	—	—	—	—	—	—
56	26.244	(+)-香橙烯	0.02	—	—	—	0.30	0.04	0.07
57	27.316	α -衣兰油烯	0.12	—	—	—	—	0.06	—
58	27.501	3, 7, 11-三甲基-1, 3, 6, 10-十二碳-四烯	—	5.63	0.99	0.45	7.00	—	1.86
59	28.897	反式-橙花叔醇	0.03	—	—	—	—	—	—
60	30.478	巴伦西亚橘烯	—	—	—	—	0.65	—	0.22
61	30.906	β -桉叶醇	0.09	—	0.03	—	—	0.12	—
62	32.502	圆柚酮	—	—	—	—	0.06	—	—

注：“—”为该陈皮品种不含该成分，“*”为不同品种陈皮共有成分。
Note: “—” indicates that dried Tangerine peel variety does not contain this ingredient, and “*” indicates that different varieties of dried Tangerine peel have common ingredients.

4- 异丙基-3-甲基苯酚仅为樟头红与茶枝柑的差异成分; 十三烷仅为樟头红与福橘的差异成分; α -蒎品烯、异性成分; 3-甲基-6-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮、月桂烯仅为樟头红与大红袍的差异成分; 正甲基庚烯酮仅为樟头红与红橘的差异成分, 具体见表 3。

表 3 不同品种陈皮差异挥发性成分筛选结果
Tab 3 Differential volatile component in different varieties of dried Tangerine peel

No.	樟头红 vs 茶枝柑		樟头红 vs 大红袍		樟头红 vs 福橘		樟头红 vs 红橘		樟头红 vs 温州蜜柑、本地早		
	VIP	<i>P</i>	VIP	<i>P</i>	VIP	<i>P</i>	VIP	<i>P</i>	VIP	<i>P</i>	<i>P</i>
9	—	—	—	—	—	—	1.195	1.292×10^{-3}	—	—	—
10	—	—	1.152	3.370×10^{-4}	—	—	—	—	—	—	—
11	1.057	8.660×10^{-4}	1.472	1.580×10^{-10}	1.353	2.255×10^{-4}	1.183	5.358×10^{-4}	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	1.040	4.621×10^{-3}	—	—	—
13	1.012	2.025×10^{-3}	1.365	5.368×10^{-7}	—	—	1.163	7.592×10^{-4}	—	—	—
20	1.255	7.384×10^{-6}	1.192	1.354×10^{-4}	—	—	1.104	2.465×10^{-3}	—	—	—
21	1.411	2.870×10^{-9}	1.424	1.677×10^{-8}	—	—	—	—	—	—	—
22	1.139	1.464×10^{-4}	1.145	3.056×10^{-4}	—	—	—	—	1.134	—	9.754×10^{-3}
23	1.373	9.470×10^{-8}	—	—	1.533	1.040×10^{-5}	—	—	—	—	—
29	1.256	2.432×10^{-5}	1.417	3.238×10^{-8}	—	—	—	—	—	—	—
30	—	—	1.388	2.278×10^{-7}	—	—	1.527	5.484×10^{-7}	—	—	—
31	—	—	1.375	3.759×10^{-7}	1.430	1.869×10^{-4}	1.182	1.096×10^{-3}	—	—	—
32	1.322	2.612×10^{-7}	1.356	1.021×10^{-6}	1.407	5.415×10^{-5}	—	—	1.519	1.245×10^{-5}	—
33	—	—	1.384	2.455×10^{-7}	1.032	1.606×10^{-2}	—	—	—	—	—
34	1.368	8.115×10^{-8}	—	—	—	—	1.559	1.869×10^{-7}	1.676	1.589×10^{-7}	—
36	—	—	1.426	1.312×10^{-8}	1.548	5.812×10^{-6}	—	—	1.256	3.540×10^{-8}	3.862×10^{-5}
37	—	—	1.136	4.137×10^{-4}	—	—	—	—	—	—	—
38	—	—	—	—	—	—	1.360	5.844×10^{-5}	1.342	—	1.272×10^{-2}
39	1.143	2.739×10^{-4}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41	—	—	—	—	1.207	3.809×10^{-3}	—	—	—	—	—
45	1.420	4.806×10^{-9}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
47	1.215	1.955×10^{-5}	—	—	1.544	1.478×10^{-6}	1.470	8.412×10^{-6}	—	—	—
48	—	—	1.043	1.917×10^{-3}	—	—	1.305	1.633×10^{-4}	—	—	—
49	1.249	2.518×10^{-5}	—	—	1.181	4.308×10^{-3}	—	—	—	—	—
52	—	—	1.500	5.055×10^{-13}	1.735	1.062×10^{-11}	1.554	1.333×10^{-8}	1.232	1.961×10^{-4}	1.093×10^{-5}
53	1.299	2.680×10^{-6}	—	—	—	—	—	—	—	—	—
54	1.348	2.037×10^{-7}	1.239	4.204×10^{-5}	1.202	1.486×10^{-3}	1.329	1.359×10^{-4}	1.403	3.940×10^{-4}	—

注：“—”表示 VIP 值 < 1 或 *P* 值 ≥ 0.05 。
Note: “—” indicates VIP < 1 or *P* ≥ 0.05 .

3.2 色度结果

对不同品种陈皮进行色度测量, 结果显示樟头红陈皮 a^* 、 b^* 值均明显小于其他品种, 樟头红陈皮较其他品种陈皮颜色偏绿, 其他品种陈皮较樟头红陈皮偏黄, 具体见表 4。 ΔE^*ab 为 2 个色

号之间的色差, 规定当 $\Delta E^*ab > 1.5$ 时, 表示样品之间有明显差异, 由表 5 可知, 樟头红陈皮与其他品种陈皮 ΔE^*ab 均大于 1.5, 即说明樟头红陈皮颜色与其他品种陈皮颜色均有明显差异。

3.3 颜色与化学成分关联性

表 4 不同品种陈皮色度分析 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Tab 4 Color analysis of different varieties of dried Tangerine peel ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	L*	a*	b*	E*ab
ZTH1	75.657±0.024 9	4.600±0.0082	37.243±0.0125	84.452±0.0198
ZTH2	78.400±0.0082	2.803±0.0047	40.893±0.0170	88.469±0.0118
ZTH3	77.983±0.0047	3.697±0.0047	46.500±0.0141	99.987±0.0057
CZG1	86.660±0.1020	5.343±0.0419	56.770±0.1766	103.737±0.0136
CZG2	77.173±0.0981	7.817±0.0262	55.487±0.1327	95.371±0.0517
CZG3	80.160±0.0082	6.367±0.0464	55.877±0.0903	97.920±0.0525
DHP1	74.577±0.1866	21.053±0.0464	52.027±0.6746	93.338±0.5281
DHP2	75.643±0.0205	22.707±0.0386	47.823±0.9195	93.217±6.8750
DHP3	76.087±0.0602	22.397±0.0340	55.453±0.1226	96.777±0.0324
FJ1	70.350±0.0510	25.007±0.0189	67.997±0.0340	100.985±0.0630
FJ2	69.310±0.0356	19.033±0.0125	65.427±0.0205	97.195±0.0410
FJ3	64.197±0.0818	18.483±0.0464	67.117±0.1021	94.697±0.0082
YQ1	75.457±0.0340	14.260±0.0082	55.403±0.0249	94.692±0.0428
NY1	75.447±0.1322	15.790±0.1697	56.203±0.2217	95.396±0.2629
HJ1	68.387±0.0660	21.727±0.0125	42.737±0.0822	83.518±0.0968
HJ2	69.020±0.0327	23.967±0.0047	45.497±0.0125	86.070±0.0236
HJ3	68.063±0.0125	23.570±0.0082	41.867±0.0499	83.313±0.0328
BDZ1	75.817±0.0205	16.587±0.0125	56.773±0.1887	96.159±0.0945

表 5 樟头红与其他品种陈皮总色度比较

Tab 5 Total chromaticity between *Citrus reticulata* 'Zhangshuensis' and other varieties of dried Tangerine peel

品种比较	ΔE^*ab
樟头红 vs 茶枝柑	16.377±3.3217
樟头红 vs 大红袍	21.338±2.3813
樟头红 vs 福橘	22.277±7.9448
樟头红 vs 温州蜜柑	15.111±7.1663
樟头红 vs 红橘	22.500±1.5653
樟头红 vs 本地早	20.483±2.3259

可视化热图见图 6, 相关系数 r 的绝对值 ≥ 0.8 认为强相关, $0.5 \sim 0.8$ 认为中等相关, $0.3 \sim 0.5$ 认为低相关, < 0.3 时认为基本不相关^[18]。分析可得 L^* 与 (R)- α , α -4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇、1-石竹烯、2-甲基-5-异丙基-二环[3.1.0]己烷-2-醇、4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-甲醛、萜品烯、萜品油烯成中等正相关 ($P < 0.01$), 与 2, 3-二氢-2, 2, 6-三甲基苯甲醛、甲基庚烯酮成中等负相关 ($P < 0.01$); a^* 与 1-石竹烯成强负相关 ($P < 0.01$), 与沉香醇和正辛醛成中等正相关 ($P < 0.05$); b^* 与正辛醛成中等正相关 ($P < 0.01$), 与 1-石竹烯、2, 3-二氢-2, 2, 6-三甲基苯甲醛、右旋香芹酮成中等负相关 ($P < 0.01$), 与 4-(1-甲基乙烯基)-1-环己烯-1-甲醛、正十三烷成低正相关。故以上 11 种挥发性成分为造成不同品种陈皮颜色差异的物质基础, 其中 1-石竹烯与 L^* 、 a^* 和 b^* 均有关联。

4 讨论

江西省是我国柑橘大省, 具有丰富的宽皮柑橘资源, 主栽品种有樟头红、红橘、南丰蜜橘、新余

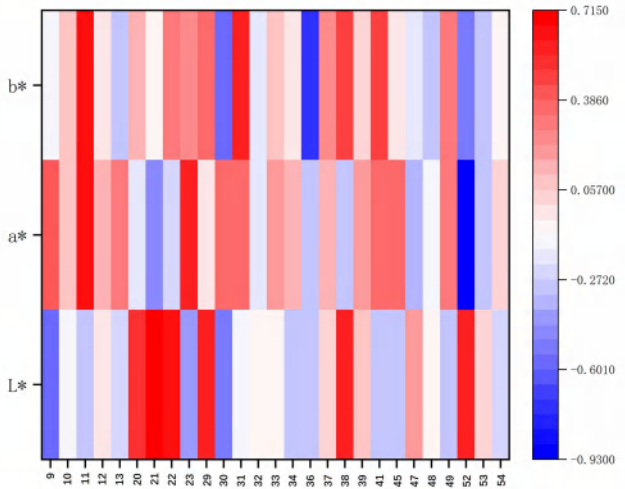


图 6 色度值与差异挥发性成分的关联性分析

Fig 6 Correlation analysis between chromaticity values and differential volatile components

注: 该图横坐标为成分, 与表 4 序号相同。

Note: The horizontal axis of this figure represents the composition, which is the same as the numbering in Table 4.

蜜橘等^[19]。樟头红为三湖红橘与红皮酸橙的天然杂交品种, 曾被视为广陈皮的类似品, 有 80 ~ 100 年的栽培历史, 果实颜色偏红、皮厚籽多、口感偏酸, 富含总酚、总黄酮及橙皮苷, 挥发油含量与其他品种相比较^[19], 体外抗氧化能力较强, 且橙皮苷含量符合《中国药典》标准, 宜开发利用^[2]。

环境因素是导致陈皮质量差异的重要因素^[20], 包括土壤条件、温度、湿度、光照、微生物。不同品种陈皮生长环境不同, 导致化学成分存在差异, 体现在颜色、气味及味道上。本研究

运用电子眼技术区分鉴别樟头红与其他品种陈皮颜色差异,并将挥发性成分与颜色进行相关性分析,结果显示樟头红陈皮中 1-石竹烯的含量高于其他品种且与 a^* 、 b^* 成负相关,正辛醛含量低于其他品种且与 a^* 、 b^* 成正相关,右旋香芹酮含量高于其他品种且与 b^* 成负相关,这三个成分可能是樟头红陈皮比其他品种陈皮颜色更绿、其他品种陈皮比樟头红陈皮颜色更黄的原因。与传统眼观鼻闻的方式相比,电子感官设备具有良好的重复性、可操作性,数据电子化、客观性强、便于描述,可以对色度进行科学定量评价。本研究结果显示,不同品种陈皮色度有明显差异,即樟头红陈皮与其他品种陈皮均能通过色度得到区分。

由于陈皮自身的多变性与复杂性,鉴别技术需要进一步深入与完善,产地及采收时间是导致不同品种陈皮颜色差异的主要原因,需增大样本量,进一步控制单一变量,排除栽培方式及加工条件等其他方面的影响,深入探究产地或采收时间对陈皮颜色变化的影响。

本研究通过 HS-GC-MS 分析樟头红陈皮与其他品种陈皮挥发性成分差异,结合电子眼分析色度区别,并探讨两者之间关联性,揭示樟头红与其他 6 个不同品种陈皮样品物质基础差异,为陈皮品种鉴别提供科学依据;引入江西特有品种樟头红,为樟头红陈皮后续开发利用提供参考。不同成分组成会偏向不同药理作用,本课题组将会进一步对樟头红与其他品种陈皮差异性成分进行药理活性研究,从药效方面对比差异性,深入挖掘樟头红陈皮优势。

参考文献

- [1] 中国药典 2020 年版.一部[S]. 2020: 199-205.
- [2] 朱凤妮.江西主栽宽皮柑橘加工适性及樟头红青皮贮藏特性研究[D].南昌:江西农业大学,2019.
- [3] 陈超,胡慧心,蔡妙婷,等.2021 年江西省中药材生产统计分析[J].中国现代中药,2023,25(11): 2318-2326.
- [4] Yi LZ, Dong NP, Liu S, et al.Chemical features of Pericarpium Citri Reticulate and Pericarpium Citri Reticulate Viride revealed by GG-MS metabolomics analysis [J].Food Chemistry, 2015, 186: 192-199.
- [5] Gao B, Chen YL, Zhang MW, et al.Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of Pericarpium Citri Reticulate essential oil [J].Molecules, 2011, 16: 4082-4096.
- [6] 商杰,彭嘉玉,郑郁清,等.基于电子鼻和 HS-GC-MS 技术结合相对气味活度值分析甘草不同炮制品气味差异及其物质基础[J].中国中药杂志,2024,49(19): 5218-5228.
- [7] 张文,郑鹏,张江山,等.基于电子鼻和 HS-GC-MS 分析茶茺酒制前后挥发性成分变化[J].中国实验方剂学杂志,2025,31(2): 173-181.
- [8] 马涵玉,钱琪,王凤霞,等.基于 HS-GC-MS 和电子感官技术比较不同产地金银花气味和味道差异[J].中草药,2024,55(6): 2085-2093.
- [9] 赵玉珍,解泽阳,高乐,等.基于 HS-GC-MS 和电子鼻技术的不同产地旋覆花挥发性成分差异分析[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(16): 170-176.
- [10] 武英杰,王歆彤,张丹,等.基于 HS-GC-MS 对射干、川射干中挥发性成分的差异性研究[J].中药材,2023,46(6): 1434-1438.
- [11] Castell A, Arroyo-Manzanares N, Guerrero-Nunez Y, et al. Headspace with gas chromatography-mass spectrometry for the use of volatile organic compound profile in botanical origin authentication of honey [J]. Molecules, 2023, 28(11): 4297.
- [12] 马骥,张磊,方雅莉.HS-GC-MS 检测血液中五种常用含氟麻醉剂及六氟异丙醇[J].刑事技术,2024,49(12): 1-6.
- [13] 庄景新,吴云钊,乔庆东,等.顶空-气相色谱法与顶空-气质联用法测定饮用水中苯系物的方法建立及比较[J].现代食品,2024,30(7): 188-192.
- [14] 李应培,邓琪锦,区丽华,等.HS-GC-MS 测定无纺布中的环氧乙烷残留量[J].中国纤检,2022,42(10): 60-62.
- [15] 曲珍妮,吕畅,毕钰,等.基于电子仿生感官技术的山楂不同炮制品颜色、味道变化研究[J].中草药,2024,55(20): 6929-6939.
- [16] 范星辰,祁玉芳,张科卫,等.基于 Box-Behnken 设计-响应面法和电子眼的栀子姜炙工艺研究[J].中草药,2024,55(7): 2175-2182.
- [17] 滕秀金,邱迦易,曾晓栋.颜色测量技术[M].北京:中国计量出版社,2007: 46.
- [18] 彭嘉玉,黄玉珍,温佳文,等.基于 HS-GC-MS 和电子感官技术分析白芍不同炮制品的颜色、气味变化[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(20): 141-150.
- [19] 范崔生,王爱素.江西樟头红和南丰橘皮的生药学研究[J].中国中药杂志,1989,35(10): 5-7, 61.
- [20] 高璐珏,林锦锋,徐万帮.道地药材与广陈皮道地性研究进展[J].中国中医药现代远程教育,2023,21(19): 198-200.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-09)

新型黄酮类衍生物的设计、合成及其抗卵巢癌作用机制研究

冯光凌¹, 王艺蒙^{2, 3}, 何香凝³, 汪凤³, 曾庆敏³, 余美静³, 谢静文^{3*} (1. 广元市中心医院 药学部, 四川 广元 628000; 2. 广元市中心医院 感染老年科, 四川 广元 628000; 3. 重庆工贸职业技术学院 健康学院, 重庆 408000)

摘要: **目的** 本研究旨在通过化学结构改造增强黄酮类化合物的抗卵巢癌活性, 设计并合成一系列新型黄酮类衍生物, 并探究其潜在的作用机制。**方法** 基于化学拼合原理, 在黄酮骨架中引入具有抗肿瘤活性的靛红基团, 设计并合成了新型黄酮类衍生物 JW1 ~ JW5。通过体外实验评估其对卵巢癌细胞 CP70 的抑制活性, 结合网络药理学和分子对接技术预测化合物的潜在靶点, 并通过 GO 和 KEGG 富集分析探讨其作用机制。**结果** 体外实验显示, JW1 ~ JW4 对卵巢癌细胞具有较好的抑制作用。网络药理学分析发现, 其可能通过作用于 SRC 和 PARP1 等关键靶点发挥抗肿瘤作用。分子对接结果表明, 这些化合物与 SRC 和 PARP1 蛋白具有较高的结合亲和力。**结论** 本研究成功设计并合成了一系列具有显著抗卵巢癌活性的新型黄酮类衍生物, 其作用机制可能与抑制 SRC 和 PARP1 蛋白相关。这些化合物有望成为潜在的 SRC 或 PARP1 抑制剂, 为卵巢癌治疗提供新的候选药物。

关键词: 黄酮; 卵巢癌; 网络药理学; 分子对接

中图分类号: R914.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2878-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.011

Design, synthesis and anti-ovarian cancer mechanism of novel flavonoid derivatives

FENG Guang-ling¹, WANG Yi-meng^{2, 3}, HE Xiang-ning³, WANG Feng³, ZENG Qing-min³, YU Meijing³, XIE Jing-wen^{3*} (1. Department of Pharmacy, Guangyuan Central Hospital, Guangyuan Sichuan 628000; 2. Department of Infection Geriatric, Guangyuan Central Hospital, Guangyuan Sichuan 628000; 3. Department of Health, Chongqing Industry & Trade Polytechnic, Chongqing 408000)

Abstract: **Objective** To enhance the anti-ovarian cancer activity of flavonoids through chemical structural modification, design and synthesize a series of novel flavonoid derivatives, and determine their potential mechanisms of action. **Methods** Based on the principle of chemical hybridization, isatin groups with inherent anticancer activity were introduced into the flavonoid scaffold to design and synthesize novel flavonoid derivatives (JW1 ~ JW5). Their inhibition on the ovarian cancer CP70 cells were evaluated with in vitro experiments. Network pharmacology and molecular docking were used to predict potential targets, while GO and KEGG enrichment analyses were conducted to determine the underlying mechanisms. **Results** In vitro experiments demonstrated that JW1 ~ JW4 exhibited obvious inhibition on the ovarian cancer cells. Network pharmacology analysis showed that these compounds might exert antitumor effects by targeting key proteins such as SRC and PARP1. Molecular docking indicated strong binding affinity between these compounds and SRC/PARP1 proteins. **Conclusion** This study successfully designs and synthesizes a series of novel flavonoid derivatives with potent anti-ovarian cancer activity. Their mechanism of action may involve the inhibition of SRC and PARP1 proteins, suggesting their potential as novel SRC or PARP1 inhibitors for ovarian cancer treatment. These compounds may serve as promising candidates for future drug development.

Key words: flavonoid; ovarian cancer; network pharmacology; molecular docking

基金项目: 重庆市教委科学技术研究计划项目 (No. KJQN202303604); 重庆市涪陵区科研项目 (No. FLKJ2024AAN3034)。

作者简介: 冯光凌, 男, 主管药师, 主要从事天然药物研究和药事管理, email: 28817986@qq.com * **通信作者:** 谢静文, 男, 讲师, 主要从事新药设计和药物合成, email: xiejingwen@cqgmy.edu.cn

卵巢癌是目前最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率逐年递增,对人类的身体健康和生命安全造成了巨大威胁^[1]。卵巢癌的早期症状不明显,多数患者发现时已是晚期,此时化疗是他们的主要治疗手段。一线的化疗药物主要是细胞毒类药物和靶向药物,细胞毒类药物通过直接杀死肿瘤细胞或阻止核酸、蛋白质等的合成来抑制肿瘤的生长,但也会影响机体的正常功能并产生一系列不良反应;靶向药物通过阻断或增加其靶点的功能以治疗特定疾病,但由于卵巢癌发病机制复杂,靶向药物的临床应用也受到了较大限制^[2]。因此,研究的重心逐渐转向毒性低、不良反应少的天然类药物及其衍生物似物的设计、合成和作用机制研究。

黄酮是一类大量存在于自然界的天然化合物,具有抗氧化、抗菌、抗病毒等活性,其骨架结构如图 1A 所示^[3]。进一步的研究发现,黄酮及其衍生物具有多靶点、多通路抑制肿瘤细胞增殖的抗肿瘤效应。如白杨素-氨基酸衍生物,能够下调 Bcl-2 蛋白和促进 Bax 基因的表达,胃癌细胞的死亡;高良姜素含氮衍生物(如图 1B、1C 所示)能够影响前列腺癌 PC-3 细胞的生长和迁移等^[4]。但目前该类化合物在卵巢癌中的治疗效果和作用机制研究较少。以黄酮类(flavonoid)、卵巢癌(ovarian cancer)为关键词进行文献检索(2015—2024 年),相关性高的核心文章仅有 9 篇,相关性较高的经典文章也只有 29 篇,说明该类化合物的设计、合成及其在卵巢癌中的作用机制有待进一步阐明。基于此,本研究设计并合成了一系列新型黄酮类衍生物 JW1 ~ JW5。体外实验发现,该类化合物能够较好地抑制卵巢癌细胞 CP70 的增殖和生长,其抑制率普遍在 85% 以上。结合网络药理学和分子对接分析发现,该系列化合物的潜在靶点蛋白可能是 SRC 和聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 1 (PARP1),现报道如下。

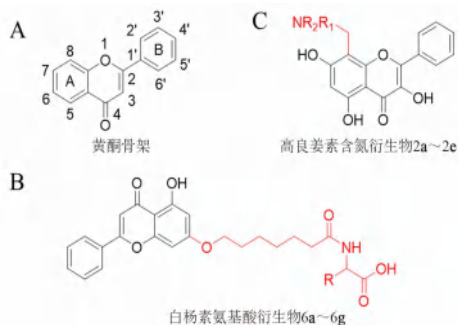


图 1 黄酮及其衍生物的骨架结构

Fig 1 Structures of flavonoids and their derivatives

1 材料

所有化学材料均购自上海 Energy, 未经进一步纯化。Agilent 1100 LC-MS (Palo Alto, CA); 600

MHz 光谱仪 (Bruker Corporation, Switzerland); SpectraMax iD3 (MD, USA)。

2 方法和结果

2.1 化学合成

2.1.1 新型黄酮类衍生物的设计与合成 靛红是一种广泛存在于自然界的天然结构,具有较多的可供修饰位点,能够在 N-1, C-3, C-4, C-5 和 C-7 位引入官能团或药效基团^[5]。最新的研究表明,靛红衍生物能够作用于肿瘤细胞中的多个靶点蛋白,起到阻滞细胞周期、诱导细胞凋亡的作用^[6]。因此,为了加强药物的抗肿瘤活性,本研究在黄酮衍生物母核中引入了靛红结构,设计得到一类全新结构的黄酮类化合物。该类化合物是对黄酮中的吡喃酮结构进行改造,将其改造为抗炎活性更佳的烯酮结构(虚线框内结构);同时,将绿圈内的苯环替换为靛红的苯并氮杂环结构,其中的结合部位为红圈所示(见图 2)。

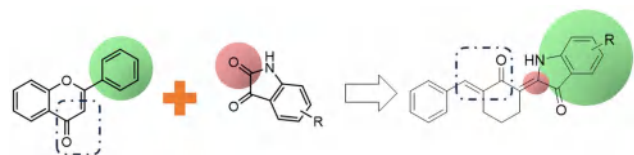


图 2 新型黄酮类衍生物的合成路线

Fig 2 Synthetic routes of novel flavonoid derivatives

新型黄酮类衍生物 JW1 ~ JW5 的合成路线如图 3 所示。首先我们以环己烷为溶剂, 90 °C 条件下, 催化环己酮和吗啉反应得到化合物 3。随后在无水乙醇中, 化合物 3 与取代苯甲醛反应, 得到化合物 5。通过柱层析将化合物 5 纯化以后, 将其溶解在无水乙醇中, 然后滴加适量的浓盐酸, 得到中间体 6。中间体 6 再和各类取代靛红反应, 纯化后得到化合物 X1 ~ X5。X1 ~ X5 再与浓盐酸发生脱水反应, 得到 JW1 ~ JW5。

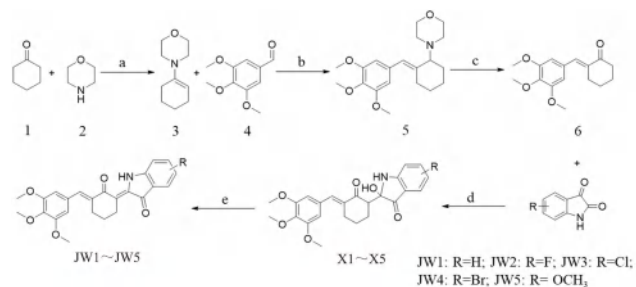


图 3 JW1 ~ JW5 的合成路线

Fig 3 Synthetic routes of JW1 ~ JW5

注 (Note): a. 环己烷, 90 °C (cyclohexane, 90 °C); b. 乙醇, 78 °C (ethanol, 78 °C); c. 浓盐酸 (hydrochloric acid); d. 盐酸气体, 乙醇 (HCl gas, ethanol); e. 浓盐酸 (hydrochloric acid)。

2.1.2 结构鉴定 采用硅胶 (GF254) 进行薄层色谱, 紫外可见。使用 Fisher-Johns 熔点仪测量熔点, 熔点没有校正。使用 Agilent 1100 LC-MS 获得质谱

数据。此外,有关 $^1\text{H-NMR}$ 规格的数据以二甲基亚砜 (DMSO) 为内标,在 600 MHz 光谱仪上得到,相关化学信息如下所示。

(*E*)-2-[2-oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)cyclohexyl]-3H-indol-3-one (JW1): 黄色粉末,产率: 65.7%, mp 238.8 ~ 240.9 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, *d*-DMSO), δ : 10.488 (d, J = 16.8 Hz, 1H, NH), 7.523 ~ 7.451 (m, 2H, Ar-H², Ar-H⁵), 7.162 (s, 1H, C-CH = C), 6.893 ~ 6.856 (m, 1H, Ar-H²), 6.829 (d, J = 10.8 Hz, 2H, Ar-H³, Ar-H⁶), 6.284 (s, 1H, Ar-H⁴), 3.874 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.784 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.072 (d, J = 16.2 Hz, 1H, 3''-CH₂), 2.830 ~ 2.752 (m, 1H, 5''-CH₂), 2.503 ~ 2.462 (m, 1H, 3''-CH₂), 2.164 ~ 2.002 (m, 2H, 4''-CH₂), 1.774 ~ 1.732 (m, 1H, 3''-CH₂)。LC-MS m/z : 406.2 (M + H)⁺, calcd for C₂₄H₂₃NO₅: 405.2。

(*E*)-5-fluoro-2-[2-oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)cyclohexyl]-3H-indol-3-one (JW2): 棕色粉末,产率: 55.6%, mp 224.6 ~ 225.9 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, *d*-DMSO), δ : 10.235 (s, J = 12.9 Hz, 1H, NH), 7.217 (d, J = 12.0 Hz, 1H, Ar-H²), 7.148 (d, J = 9.0 Hz, 1H, C-CH = C), 7.081 (d, J = 7.8 Hz, 1H, Ar-H³), 6.845 (s, 1H, Ar-H⁵), 6.810 ~ 6.779 (m, 2H, Ar-H², Ar-H⁶), 3.877 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.785 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.215 (dd, J = 5.4, 7.2 Hz, 1H, 3''-CH₂), 3.089 ~ 3.041 (m, 1H, 5''-CH₂), 2.796 ~ 2.702 (m, 1H, 3''-CH₂), 2.155 ~ 2.099 (m, 1H, 4''-CH₂), 1.966 ~ 1.931 (m, 1H, 4''-CH₂), 1.772 ~ 1.720 (m, 1H, 3''-CH₂)。LC-MS m/z : 424.2 (M + H)⁺, calcd for C₂₄H₂₂FNO₅: 423.2。

(*E*)-5-chloro-2-[2-oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)cyclohexyl]-3H-indol-3-one (JW3): 红棕色粉末,产率: 46.2%, mp 218.6 ~ 219.5 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, *d*-DMSO), δ : 10.366 (s, 1H, NH), 7.264 ~ 7.215 (m, 1H, C-CH = C), 7.168 ~ 7.083 (m, 2H, Ar-H³, Ar-H⁵), 6.903 ~ 6.864 (m, 1H, Ar-H²), 6.826 (d, J = 12.6 Hz, 2H, Ar-H², Ar-H⁶), 3.873 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.785 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.247 (dd, J = 5.4, 7.8 Hz, 1H, 3''-CH₂), 3.084 ~ 3.056 (m, 1H, 5''-CH₂), 2.821 ~ 2.727 (m, 1H, 3''-CH₂), 2.144 ~ 2.084 (m, 2H, 4''-CH₂), 1.769 ~ 1.728 (m, 1H, 3''-CH₂)。LC-MS m/z : 440.1 (M + H)⁺, calcd for C₂₄H₂₂ClNO₅: 439.1。

(*E*)-5-bromo-2-[2-oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)cyclohexyl]-3H-indol-3-one (JW4): 棕色粉末,产率: 63.1%, mp 226.3 ~ 227.8 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, *d*-DMSO), δ : 10.490 (s, 1H, NH), 7.398 (d, J = 11.4 Hz, 1H, Ar-H⁵), 7.354 ~ 7.317 (m, 2H, Ar-H³), 7.161 (s, 1H, C-CH = C), 6.933 ~ 6.897 (m, 1H, Ar-H²), 6.915 (d, J = 10.8 Hz, 2H, Ar-H², Ar-H⁶), 3.873 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.783 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.255 (dd, J = 4.8, 7.8 Hz, 1H, 3''-CH₂), 3.083 ~ 3.055 (m, 1H, 5''-CH₂), 2.823 ~ 2.721 (m, 1H, 3''-CH₂), 2.164 ~ 2.093 (m, 2H, 4''-CH₂), 1.782 ~ 1.744 (m, 1H, 3''-CH₂)。LC-MS m/z : 484.1 (M + H)⁺, calcd for C₂₄H₂₂BrNO₅: 483.07。

(*E*)-5-methoxy-2-[2-oxo-3-(3,4,5-trimethoxybenzylidene)cyclohexyl]-3H-indol-3-one (JW5): 棕色粉末,产率: 58.4%, mp 213.8 ~ 214.7 °C。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, *d*-DMSO), δ : 10.176 (d, J = 16.8 Hz, 1H, NH), 7.210 (s, 1H, C-CH = C), 7.159 (s, 1H, Ar-H²), 6.992 ~ 6.968 (m, 1H, Ar-H³), 6.870 ~ 6.824 (m, 2H, Ar-H⁵, Ar-H²), 6.824 ~ 6.798 (m, 1H, Ar-H⁶), 3.924 (s, 6H, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.813 (s, 6H, 4-OCH₃, 4'-OCH₃), 3.584 ~ 3.480 (m, 3H, 4'-OCH₃), 3.222 (dd, J = 5.4, 7.8 Hz, 1H, 3''-CH₂), 3.065 (d, J = 15.6 Hz, 1H, 2''-CH₂), 2.808 ~ 2.724 (m, 1H, 5''-CH₂), 2.151 ~ 2.019 (m, 2H, 4''-CH₂), 1.730 (s, 1H, 3''-CH₂)。LC-MS m/z : 436.2 (M + H)⁺, calcd for C₂₅H₂₅NO₆: 435.2。

2.2 新型黄酮类衍生物的抗肿瘤活性检测

MTT 法测定细胞生长速率。以每孔 5×10^3 个的密度将细胞添加到 96 孔板中,在含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养。孵育 4 ~ 5 d 后,每孔中加入 30 μL 新鲜的 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ MTT 试剂,再孵育 3 ~ 4 h 后,加入 300 μL DMSO 溶解甲醛产物,然后用 SpectraMax iD3 测量 490 nm 处的吸光度。

CP70 细胞是人卵巢癌细胞系,被广泛用于科研实验,具有良好的生长特性和活性。在 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度下,用 JW1 ~ JW5 孵育 CP70 细胞,并以同浓度的靛红和单羰基黄酮骨架化合物为对照组。如图 4 所示, JW1 的抑制率在 87% ~ 88%, JW2 的抑制率在 86% ~ 89%, JW3 的抑制率在 85% ~ 86%, JW4 的抑制率在 86% ~ 87%, JW5 的抑制率在 14% ~ 19%, 单羰基黄酮骨架化合物的抑制率在 4% ~ 7%, 靛红的抑制率在 8% ~ 12%。实验结果表明,本课题组设计合成的新型黄酮类

衍生物大部分都具有较好的抗肿瘤活性，其中 JW1 ~ JW4 的抗肿瘤活性普遍在 85% 以上。相较于靛红和骨架结构，新设计的黄酮类衍生物大幅度提升其抗肿瘤活性。

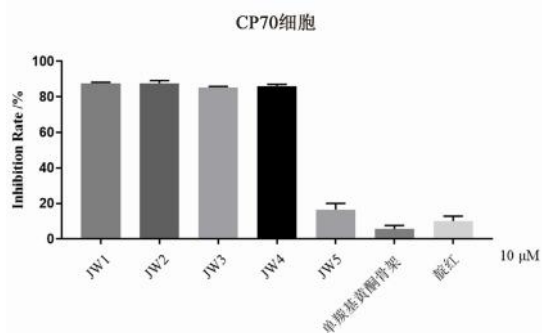


图 4 JW1 ~ JW5 对 CP70 细胞的抑制率

Fig 4 Inhibitory effects of JW1 ~ JW5 against CP70 cells

2.3 新型黄酮类药物的抗肿瘤机制网络药理学研究

2.3.1 药物靶标的收集 利用 ChemDraw 绘制 JW1 ~ JW4 化学结构，随后上传至 SwissTarget-Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 预测潜在靶点。随后，去除重复靶点，

并将剩余靶点输入至 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org>) 进行规范化。

2.3.2 卵巢癌相关靶点的收集和筛选 以“ovarian cancer”作为检索词纳入 GeenCards 数据库，高级检索获得卵巢癌的相关靶点。通过 Venny 2.1.0 在线工具对“化合物 JW1 ~ JW4”和“卵巢癌”的靶点取交集，并绘制相应的韦恩图，得到 16 个交集靶点。

2.3.3 蛋白互作 (PPI) 网络的构建 将交集靶点导入至 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>)，限定物种为 Homo sapiens，设置最低要求互动分数 > 0.4，得到 PPI 网络图，如图 5A 所示。网络结构中共包含 16 个节点和 152 条连线，平均度值为 6.91。将从 STRING 中得到的网络图代入 Cytoscape 软件中，进行 PPI 网络拓扑属性分析。分析结果显示，该网络的平均度值为 14.48、平均介度中心性为 3.19×10^{-2} ，以此筛选出 16 个关键靶点。Cytoscape 软件中进行可视化分析，结果如图 5B 所示。可视化分析中颜色越鲜艳说明靶点的度值越大，由此可看出原癌基因 SRC 和 DNA 修复酶 PARP1 在该网络中具有举足轻重的地位。

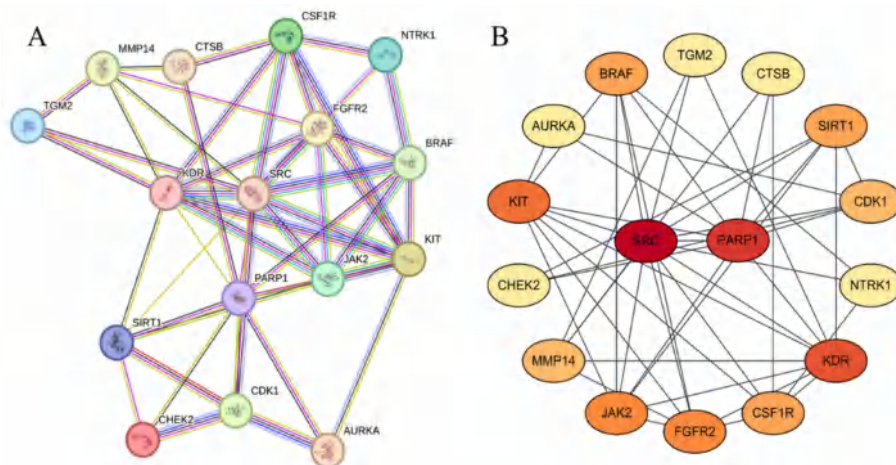


图 5 卵巢癌与活性化合物的蛋白互作网络图

Fig 5 Protein-protein interaction network map of ovarian cancer and active compounds

2.3.4 GO 和 KEGG 富集分析 将“化合物 JW1 ~ JW4”和“卵巢癌”的交集靶点导入至 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)，对基因功能进行富集分析。对结果进行 GO 和 KEGG 分析，并利用 Excel 表格和 ChiPlot 工具网站 (<https://www.chiplot.online/>) 绘制可视化图形。

结果显示，该类化合物相关的基因有 114 个。同时在 uniprot 中输入“ovarian cancer”，发现与卵巢相关的基因有 536 个，获得 16 个共同潜在靶点。结果表明，新合成的 JW1 ~ JW4 可能通过靶向以上 16 个靶标蛋白来抑制卵巢癌细胞的生长或转移。

将关键靶点输入至 DAVID 数据库，富集得到

116 条信号通路。选取排名前十的信号通路，绘制其柱形图进行分析，如图 6A 所示。富集结果显示，JW1 ~ JW4 化合物的关键靶点在 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药、Rap1 信号通路、MAPK 信号通路、PI3K-AKT 信号通路、Ras 信号通路、急性髓性白血病、癌症的中心碳代谢、孕激素介导的卵母细胞成熟、细胞凋亡、甲状腺癌等中都有所涉及。

DAVID 数据库进行 GO 生物功能分析，取前十富集结果导入 ChiPlot 工具网站绘制气泡图。结果细胞组分 (见图 6B) 主要包括染色体区域、黏着斑、染色体、端粒区等，分子功能 (见图 6C) 主要包括酪氨酸激酶活性、跨膜受体蛋白等，生物过程 (见图

6D) 主要包括蛋白质自身磷酸化、磷脂酰肌醇 3-激酶信号的正向调控、磷脂酰肌醇介导的信号传导等。

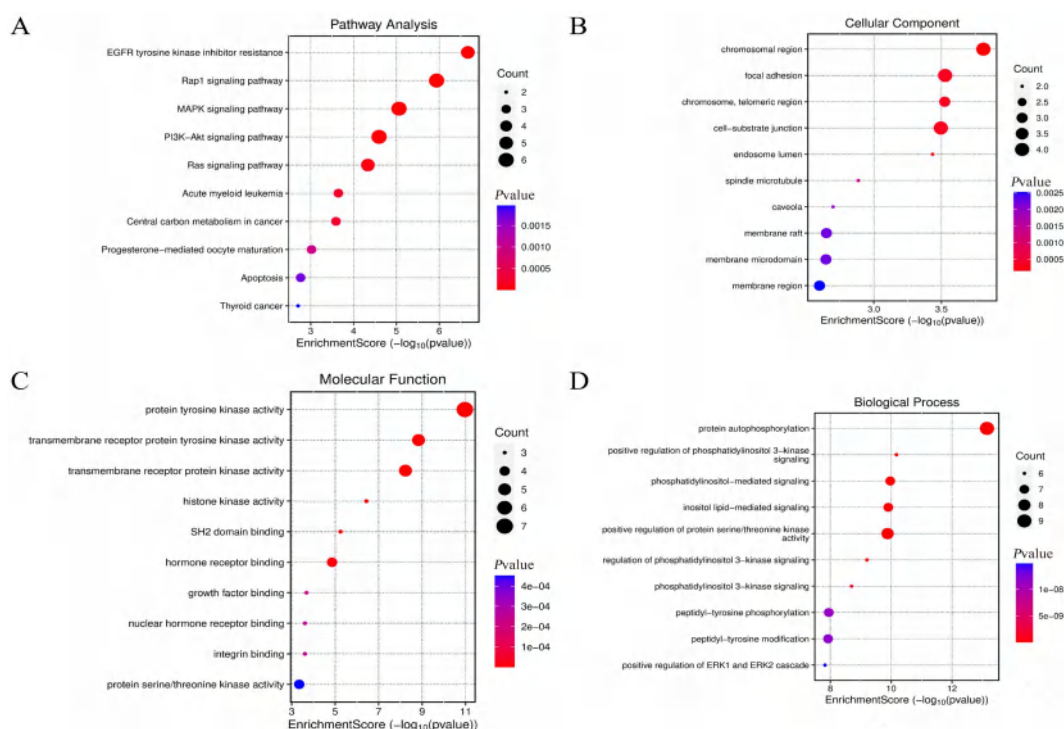


图6 关键靶点的 KEGG 富集分析 (A) 和 GO 富集分析 (B ~ D)

Fig 6 KEGG enrichment analysis (A) and GO enrichment analysis (B ~ D) of key targets

2.4 分子对接

由 RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 下载核心靶标蛋白, 利用 PYMOL 2.3.4 软件对受体蛋白进行去水、去配体等操作, 采用 AutoDockTools 软件对受体蛋白进行加氢、平衡电荷等修饰, 将受体蛋白和配体小分子分别转化

为 pdbqt 格式。利用 AutoDock Vina 1.1.2 对受体蛋白与配体小分子进行分子对接, 并利用 PLIP 分析对接结果, 对接结果使用 pymol 进行可视化。选择 JW1 ~ JW4 作为潜在药物, 与关键蛋白 SRC 和 PARP1 进行分子对接, 结果如图 7 所示。

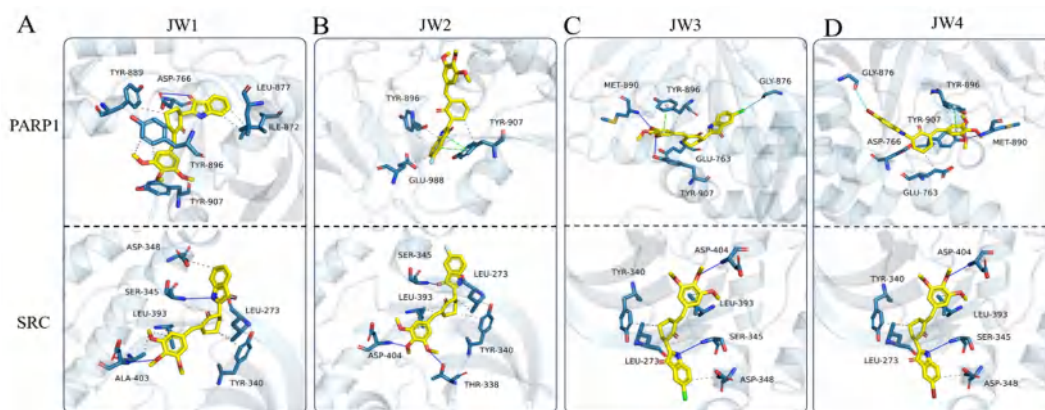


图7 活性成分与关键靶点的分子对接图

Fig 7 Molecular docking diagram of active ingredients and key targets

JW1 与 PARP1 的蛋白 872ILE、877LEU、889TYR、896TYR 形成疏水作用, 与 766ASP、907TYR 形成分子间氢键, 结合能为 $-43.12 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; JW1 与 SRC 的蛋白 273LEU、340TYR、348ASP、393LEU、403ALA 形成疏水作用, 与 273LEU、345SER、404ASP 形成分子间氢键, 结合

能为 $-30.98 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

JW2 与 PARP1 的蛋白 896TYR、907TYR、988GLU 形成疏水作用, 与 907TYR 形成 π - π 堆积, 结合能为 $-44.38 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; JW2 与 SRC 的蛋白 273LEU、340TYR、393LEU 形成疏水作用, 与 273LEU、338THR、345SER、404ASP 形成分子间

氢键, 结合能为 $-32.66 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

JW3 与 PARP1 的蛋白 763GLU、896TYR 形成疏水作用, 与 890MET、907TYR 形成分子间氢键, 与 896TYR 形成 $\pi-\pi$ 堆积, 与 876GLY 形成卤键, 结合能为 $-41.03 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; JW3 与 SRC 的蛋白 273LEU、340TYR、348ASP、393LEU 形成疏水作用, 与 345SER、404ASP 形成分子间氢键, 结合能为 $-31.82 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

JW4 与 PARP1 的蛋白 763GLU、766ASP、896TYR 形成疏水作用, 与 890MET、907TYR 形成氢键, 与 896TYR 形成 $\pi-\pi$ 堆积, 与 876GLY 形成卤键, 结合能为 $-41.03 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$; JW4 与 SRC 的蛋白 273LEU、340TYR、348ASP、393LEU 形成疏水作用, 与 345SER、404ASP 形成分子间氢键, 结合能为 $-31.82 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

3 讨论

SRC 基因是一种编码 SRC 蛋白的基因, SRC 蛋白是一种非受体型酪氨酸激酶, 参与多种细胞信号传导过程^[7]。在卵巢癌的研究中, SRC 蛋白的角色尤为重要, 其与卵巢癌的发生、发展及转移密切相关^[8]。SRC 蛋白在卵巢癌细胞中通常表现出过度表达或异常激活。研究表明, SRC 的激活可以通过多条信号通路 (例如 PI3K/AKT 和 MAPK 通路) 促进肿瘤细胞的增殖和迁移, 进而增强肿瘤的侵袭性^[9]。此外, SRC 蛋白的高表达也与卵巢癌的侵袭性和患者的不良预后密切相关^[10]。本研究中的 JW1 ~ JW4 能够与 SRC 紧密结合, 通过抑制 SRC 蛋白的表达进而抑制卵巢癌细胞的表达, 对于卵巢癌的早期诊断和新疗法的开发具有重要意义。

PARP1 是一种关键的 DNA 修复酶, 参与细胞的 DNA 修复过程, 尤其是在单链断裂的修复中^[11]。PARP1 通过在 DNA 损伤区域聚合 ADP-核糖分子来修复 DNA, 维持细胞的基因组稳定性。在卵巢癌细胞中, DNA 修复系统通常会受到改变, 而 PARP1 作为 DNA 修复过程中关键酶之一, 其异常表达和功能改变可能促进肿瘤细胞的增殖和存活。PARP1 能够修复由化疗引起的 DNA 损伤, 帮助肿瘤细胞逃避药物的毒性, 从而影响肿瘤的治疗效果^[12]。PARP1 抑制剂能够阻止 PARP1 的活性, 从而加剧 DNA 损伤, 特别是在那些本身修复能力较弱的肿瘤细胞中。对于 BRCA 突变的卵巢癌患者, PARP1 抑制剂可以诱导“合成致死”效应, 即通过阻断两条 DNA 修复通路, 最终导致肿瘤细胞死亡^[13]。JW1 ~ JW4 与 PARP1 的结合能为 $-41.03 \sim -44.38 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, 表明 JW1 ~ JW4 能够与 PARP1 紧密结合, 较好地抑

制 PARP1 的表达活性, 有望成为新的 PARP1 抑制剂, 为卵巢癌患者提供了一种新的有效治疗策略。

总而言之, 本研究基于化学拼合原理设计、合成了一系列新型黄酮类化合物 JW1 ~ JW5, 并发现 JW1 ~ JW4 具有较好的抗肿瘤活性, 对卵巢癌细胞的抑制率更是达到了 85%。通过网络药理学分析发现, JW1 ~ JW4 与卵巢癌共同作用的基因有 16 个, 进一步研究发现该类化合物可能作用于 SRC 蛋白和 PARP1 蛋白, 并通过分子对接证实 JW1 ~ JW4 能够与上述两个蛋白紧密结合, 说明该类化合物具有成为卵巢癌治疗药物的潜力, 但其具体的作用机制还需进一步的实验验证。

参考文献

- [1] Ottevanger PB. Ovarian cancer stem cells more questions than answers [J]. Semin Cancer Biol, 2017, 44: 67-71.
- [2] Glajzer J, Grabowski JP, Sehouli J, et al. Recurrent treatment in ovarian cancer patients: what are the best regimens and the order they should be given? [J]. Curr Treat Option On, 2020, 21 (6): 49.
- [3] Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, et al. Flavonoids as anticancer agents [J]. Nutrients, 2020, 12 (2): 457.
- [4] Wen KM, Fang XC, Yang JL, et al. Recent research on flavonoids and their biomedical applications [J]. Curr Med Chem, 2021, 28 (5): 1042-1066.
- [5] Zhang YZ, Du Hz, Liu HL, et al. Isatin dimers and their biological activities [J]. Arch Pharm, 2020, 353 (3): e1900299.
- [6] Ferraz de Paiva RE, Vieira EG, Rodrigues da Silva D, et al. Anticancer compounds based on isatin-derivatives: strategies to ameliorate selectivity and efficiency [J]. Front Mol Biosci, 2020, 7: 627272.
- [7] Bagnato G, Leopizzi M, Urciuoli E, et al. Nuclear functions of the tyrosine kinase src [J]. In J Mol Sci, 2020, 21 (8): 2675.
- [8] Ledermann JA, Raja FA. Targeted trials in ovarian cancer [J]. Gynecol Oncol, 2010, 119 (1): 151-156.
- [9] Chen J, Elfiky A, Han M, et al. The role of Src in colon cancer and its therapeutic implications [J]. Clin Colorectal Canc, 2014, 13 (1): 5-13.
- [10] Senis YA, Nagy Z, Mori J, et al. Platelet Src family kinases: a tale of reversible phosphorylation [J]. Res Pract Thromb Haemost, 2021, 5 (3): 376-389.
- [11] Alemasova EE, Lavrik OI. Poly (ADP-ribosyl) ation by PARP1: reaction mechanism and regulatory proteins [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47 (8): 3811-3827.
- [12] Engbrecht M, Mangerich A. The nucleolus and PARP1 in cancer biology [J]. Cancers, 2020, 12 (7): 1813.
- [13] Noordermeer SM, van Attikum H. PARP inhibitor resistance: a tug-of-war in BRCA-mutated cells [J]. Trends Cell Bio, 2019, 29 (10): 820-834.

(收稿日期: 2024-12-16; 修回日期: 2025-03-20)

还原响应型载药纳米粒的处方筛选及质量评价研究

朱峰¹, 傅超婷¹, 叶香伶², 尹莉芳^{2*} (1. 海南通用三洋药业有限公司, 海口 571924; 2. 中国药科大学, 南京 210009)

摘要: **目的** 根据二硫键的还原敏感性, 设计并制备还原响应型透明质酸-维生素 E 聚乙二醇琥珀酸酯聚合物 (HA-SS-TPGS) 和非还原型聚合物 (HA-CC-TPGS), 用于紫杉醇的递送。**方法** 采用乳化超声法, 制备 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 纳米粒, 采用控制变量法对其处方进行筛选, 测定纳米粒的粒径等进行质量评价。**结果** 纳米粒最优处方是聚合物用量为 16 mg, 紫杉醇为 6 mg, 丙酮用量为 200 μ L。优化后的粒径约为 130 nm, 多分散指数约为 0.1, Zeta 电位约为 -15 mV, 包封率约为 90%, 载药量约为 34%, 其外观呈规则圆球形。纳米粒在 4 $^{\circ}$ C 及模拟体内环境中稳定性良好, 并具有良好还原响应性。**结论** 处方筛选后所制备的纳米粒理化性质良好, 为还原型载药纳米粒的制备研究提供理论基础, 为耐药性非小细胞肺癌的治疗提供新思路。

关键词: 处方筛选; 还原响应型载药纳米粒; 质量评价; 紫杉醇

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2884-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.012

Formula optimization and characterization of reduction-responsive nanoparticles for drug delivery

ZHU Feng¹, FU Chao-ting¹, YE Xiang-ling², YIN Li-fang^{2*} (1. Hainan General Sanyang Pharmaceutical Co., Ltd., Haikou 571924; 2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009)

Abstract: Objective To make use of the reduction sensitivity of disulfide bonds, reduction-responsive (HA-SS-TPGS) and non-reduction-responsive (HA-CC-TPGS) polymers were designed and synthesized for paclitaxel (PTX) delivery. **Methods** HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX nanoparticles were prepared with an emulsification-ultrasonication method. The formula was screened using the controlled variable method, and the particle size and other physicochemical properties of the nanoparticles were measured for quality evaluation. **Results** The optimal nanoparticle formulas were composed of 16 mg of polymer, 6 mg of paclitaxel, and 200 μ L of acetone. The optimized particles held an approximate size of 130 nm, a polydispersity index of 0.1, and a Zeta potential of -15 mV. These nanoparticles exhibited high drug encapsulation efficiency at about 90% and loading capacity at about 34%, along with a regular sphere morphology. Furthermore, they demonstrated good stability at 4 $^{\circ}$ C. **Conclusion** The optimized nanoparticles display desirable physicochemical characteristics. This study provides a promising strategy for overcoming drug resistance in non-small cell lung cancer, offering a novel potential therapy.

Key words: formula optimization; reduction-responsive nanoparticle; characterization; paclitaxel

肺癌是全球范围内癌症相关死亡的最主要原因之一。据 2024 年的统计数据, 肺癌发病率已高于乳腺癌, 占全部癌症病例的 12.4%^[1]。其中, 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 占肺癌病例的 85% 以上^[2]。化疗是 NSCLC 治疗的

重要手段^[3]。紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 等紫杉烷类药物通过使细胞微管蛋白二聚体形成失衡, 抑制细胞有丝分裂并诱导细胞凋亡^[4]。PTX 分子末端基团几乎全部为疏水性基团, 极差的水溶性限制了其临床应用。近年来, 脂质体、纳米胶束、

作者简介: 朱峰, 男, 高级工程师, 主要从事药物制剂和项目管理方面的研究, email: zhufeng1@meheco.gt.cn * 通信作者: 尹莉芳, 女, 教授, 主要从事纳米给药系统的研究, email: lifangyin_@163.com

蛋白质结合型纳米粒等纳米制剂不断涌现,如白蛋白结合型紫杉醇(Abraxane[®])已上市应用^[5-6]。但已有研究表明,Abraxane[®]连续刺激A549细胞株后,A549细胞株的P-糖蛋白(P-gp)表达量明显提高,对Abraxane[®]产生耐药性^[7-8]。因此,如何克服NSCLC耐药性是一个亟待解决的问题。

维生素E聚乙二醇琥珀酸酯(TPGS)是一种合成的维生素E衍生物^[9]。根据文献报道,TPGS可以抑制P-gp的三磷酸腺苷(ATP)结合位点活性,并减少P-gp的表达^[10];TPGS能够破坏线粒体细胞呼吸复合体,减少外排能量供应^[10-11];TPGS能够抑制BCL-2蛋白表达,激活细胞的内源性凋亡^[12]。TPGS分子中以聚乙二醇(PEG)作为亲水端,维生素E中的长烷基碳链作为疏水端,其本身的表面活性使其可作为胶束材料^[13-15]。但TPGS单独作为载体材料时,其表面的PEG亲水层与细胞膜的磷脂双分子层亲和力有限,影响肿瘤细胞对纳米粒的摄取^[16-17]。

肿瘤环境中的谷胱甘肽(glutathione, GSH)高表达,二硫键具有良好的还原反应性,可以有效响应肿瘤环境中高水平的GSH,实现药物的精准递送。为了进一步增强制剂靶向性,本研究构建还原响应型透明质酸-维生素E聚乙二醇琥珀酸酯聚合物HA-SS-TPGS,利用透明质酸(HA)的CD44靶向性和二硫键的还原敏感性,改善TPGS的靶向性和药物的响应性释放。采用乳化超声法,制备了HA-SS-TPGS@PTX和HA-CC-TPGS@PTX纳米粒,并对处方进行筛选和初步质量评价。

1 材料

1.1 仪器

ME104E电子天平(美国METTLER TOLEDO公司);SHZ-D循环水式多用真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);AVANCE AV-500核磁共振仪、TENSOR27红外光谱仪(瑞士BRUKER公司);SCIENTZ-10N冷冻干燥机、SCIENTZ-II D超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技有限公司);ZetaPlus激光粒度仪(美国Brookhaven公司);TDZ5-WS离心机(湖南长沙湘仪检测设备有限公司);JEM-1200EX透射电子显微镜(日本JEOL公司);SHA-C水浴恒温振荡器(金坛市城东宏业实验仪器厂);LC-10AT高效液相色谱仪、RF-5301PC荧光分光光度计(日本岛津公司)。

1.2 试剂

HA(平均分子量8.9 kDa,山东福瑞达生物化工有限公司);4-硝基苯基氯甲酸酯(NPC,上海麦克林生化科技有限公司);甲酰胺、二氯甲烷(南京化学试剂股份有限公司);PTX(福建紫

杉园生物有限公司);苾、胱胺二盐酸盐(CYS)、TPGS、己二胺二盐酸盐(HD)、1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC)、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、十二烷基硫酸钠(SDS)、GSH(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

2 方法

2.1 还原响应型聚合物材料的合成与表征

2.1.1 还原响应型透明质酸(HA-SS)、非还原型透明质酸(HA-CC)的合成 称取400 mg HA溶于30 mL甲酰胺中,加热溶解后恢复至室温;加入152 mg EDC、90 mg NHS,冰浴反应2 h;加入1 g CYS,室温反应48 h;将溶液加入透析袋(MW = 3500 Da),纯水中透析48 h,冷冻干燥,得到白色絮状HA-SS。将反应步骤中CYS替换为HD,得到HA-CC。

2.1.2 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS的合成 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS的合成如图1所示,HA分子中每个重复单元具有的羧基可通过酰胺化、酯化等反应修饰具有不同功能的分子。本研究使用CYS、HD作为修饰HA的linker分子。第一步,通过EDC、NHS催化使linker分子一端胺基与HA中羧基缩合生成酰胺键,得到HA-SS、HA-CC;第二步,利用NPC的酰氯结构与linker分子另一端胺基反应,生成酰胺键,而后TPGS中PEG部分的羟基末端进攻羰基进行酯交换反应,最终与HA骨架连接,得到HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS。称取200 mg TPGS溶于20 mL二氯甲烷中,加入100 mg EDC、50 mg DMAP,冰浴反应30 min;加入50 mg NPC,室温反应5 h;将溶液以45℃,50 r·min⁻¹旋蒸除二氯甲烷,加入300 mg HA-SS或HA-CC,以20 mL甲酰胺复溶,室温反应48 h;将溶液加入透析袋,用乙醇透析得到白色至浅黄色絮状物,再以水透析至其溶解,冷冻干燥,得到HA-SS-TPGS或HA-CC-TPGS。

2.1.3 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS的表征 分别称取适量的合成原料及制备的聚合物材料与溴化钾研磨混合均匀、压片,使用红外光谱仪测定其红外光谱。同时称取以上物质溶于二甲基亚砜(DMSO)-d₆,采用核磁共振氢谱仪测量其核磁共振氢谱。

称取适量苾,用丙酮配制成浓度为1×10⁻⁶ mol·L⁻¹的溶液,取2 mL加入试管,避光挥干丙酮;分别称取适量聚合物及原料溶于水,配制不同浓度的溶液,加入挥干丙酮的试管中。使用荧光分光光度计测定荧光强度,激发波长330 nm,检测波长333、338 nm。作I₃₃₈/I₃₃₃-logC图,拟合两段直线,交点的横坐标值即为该分子的临界胶束浓度。

2.2 还原响应型载药纳米粒的合成与表征

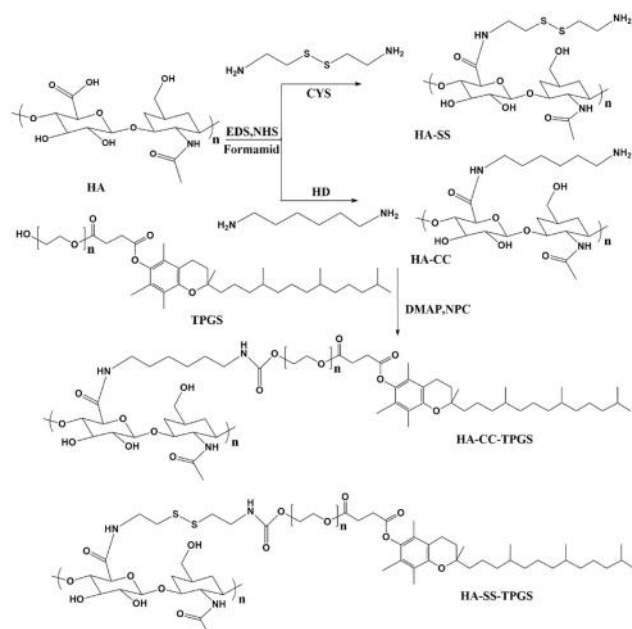


图1 HA-SS-TPGS和HA-CC-TPGS的合成路线图

Fig 1 Synthesis route of HA-SS-TPGS and HA-CC-TPGS

2.2.1 PTX的测定 色谱柱: Diamonsil C18 (5 μm , 250 mm $\times$ 4.6 mm); 流动相: 乙腈-水体系, 体积比为 55:45; 流速: 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 227 nm; 进样量: 20 μL 。精密称取适量 PTX 溶解于乙腈中, 制得母液; 使用乙腈稀释母液, 制得不同梯度浓度的溶液, 进样测定, 绘制峰面积-浓度标准曲线。

2.2.2 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的制备和处方筛选 ① 固定 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 用量为 16 mg, 考察 PTX 与载体质量比为 25%、37.5%、50%。将 16 mg 载体溶于 6 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 溶液中; PTX 溶于 200 μL 丙酮中, 逐滴加入至水相, 冰浴剧烈搅拌 20 min; 将混合物用探头超声处理 15 min, 功率 300 W; 将混合物以 45 $^{\circ}\text{C}$ 、50 r $\cdot$ min $^{-1}$ 旋蒸, 除去丙酮至不再有气泡产生, 得到载药纳米粒溶液。② 固定 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 用量为 16 mg, PTX 用量为 6 mg, 控制丙酮用量为 100、200、300 μL , 其他步骤不变。

2.2.3 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的表征 取适量载药纳米粒溶液, 以甲醇稀释 20 倍, 水浴超声破坏纳米粒, 10 000 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 5 min, 吸取上清液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定 PTX 浓度。按以下公式计算载药量 (DL%) 与包封率 (EE%):

$$DL\% = \frac{W_c}{W_c + W_e} \times 100\%$$

$$EE\% = \frac{W_c}{W_d} \times 100\%$$

其中, W_c 指载药纳米粒搭载的药物质量, W_d 指药物投料量, W_e 指载体投料量。

使用 Zeta Plus 激光粒度仪测定载药纳米粒粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 与 Zeta 电位。将 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 溶液用 PBS、生理盐水 (NaCl 溶液)、适当浓度 SDS 溶液、适当浓度依地酸二钠 (EDTA-2Na) 溶液稀释 5 倍, 室温放置 1 h 后测量粒径。分别将适量 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 溶液滴至铜网上, 4% 磷钨酸溶液染色 10 min, 加热烘干, 使用透射电镜 (TEM) 观察。

2.2.4 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的稳定性考察 将 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 溶液保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏, 在 14 d 中每日测定粒径, 或以适当浓度胎牛血清 (FBS) 稀释 5 倍, 使血清最终浓度为 10% (模拟血浆样品), 混合均匀, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴锅中, 在 24 h 中测定粒径, 绘制粒径-时间变化统计图。

2.2.5 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的还原响应性考察 将 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 溶液以适当浓度的 GSH 溶液 (PBS 为溶剂) 稀释 5 倍, 使 GSH 最终浓度为 10 mmol $\cdot$ L $^{-1}$, 室温放置 1 h 后测量粒径或使用 TEM 观察。

配制含有吐温 80 (0.3%, V/V)、不同浓度 GSH (10、20 mmol $\cdot$ L $^{-1}$) 的 pH 7.4 PBS 作为释放介质, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡器中; 将 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 溶液使用 PBS 稀释至 PTX 质量浓度为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 注入透析袋, 夹紧, 并放入 30 mL 预热的释放介质中, 振荡速度 100 r $\cdot$ min $^{-1}$ 。于 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 h 取 1 mL 释放介质, 同时补液 1 mL, 释放介质按“2.2.1”项下方法检测 PTX 浓度, 计算 PTX 累积释放度。

2.3 统计学分析

实验结果以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。使用 GraphPad 软件对数据进行单因素方差分析 (ANOVA)。

3 结果

3.1 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 的表征

3.1.1 红外光谱 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 及合成原料、中间产物的红外光谱如图 2 所示。HA 在 1150、1046、947 cm^{-1} 处具有糖的特征峰, 3377 cm^{-1} 处为羟基吸收峰; CYS、HD 在 1243 cm^{-1} 附近具有脂肪族氨基的 N-H 伸缩振动峰, 在 2894 cm^{-1} 处具有亚甲基的 C-H 伸缩振动峰; TPGS 分子中, 2887 cm^{-1} 处为分子中 PEG 部分的亚甲基 C-H 伸缩振动峰, 1738 cm^{-1} 处为酯键羰基的 C=O 伸缩振动峰。对于各合成产物, HA 各个特征峰均较为明显。而对于 HA-SS、HA-CC 两中间体, 1243 cm^{-1} 处氨基的 N-H 伸缩振动峰明显减弱, 673 cm^{-1} 处酰胺键 N-H 弯曲振动峰增强, 提示了新的酰胺键生

成; 对于合成的 TPGS 衍生物, 该峰进一步增强, 同时 1656 cm^{-1} 附近出现 HA-SS、TPGS 均不具有的尖峰, 归属于新形成的酰胺键的 -NH 伸缩振动。综上所述, 成功合成了 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS。

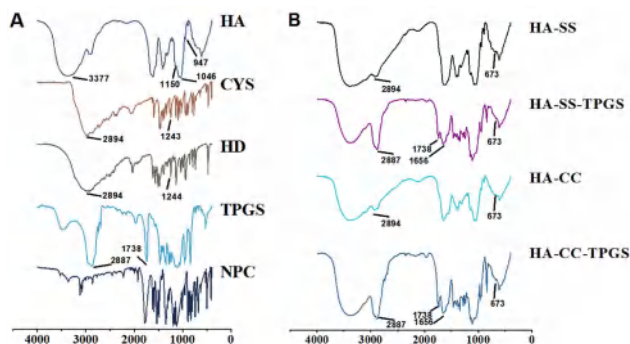


图 2 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 的红外光谱图

Fig 2 FT-IR spectra of HA-SS-TPGS and HA-CC-TPGS

3.1.2 核磁共振氢谱 HA-SS、HA-CC、HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 的 ^1H -NMR 图谱如图 3 所示。HA 每个重复单元中具有一个 *N*-乙酰基，其末端甲基的特征峰为 1.94 ~ 1.98 处单峰 (a 峰)。对于 HA-SS、HA-CC，新增了 2.97 ~ 3.03 处三重峰，归属于 linker 分子中与氨基、亚氨基相邻的亚甲基峰 (b、e 峰)，证明 CYS、HD 连接至 HA 分子上。对于 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS，新增了 3.5 处较大的单峰 (d 峰)，归属于 TPGS 分子中 PEG 部分的亚甲基峰；在 0.78 ~ 0.80 处新增了双峰 (c 峰)，归属于 TPGS 分子中维生素 E 部分的长碳链末端甲基，证明成功将 TPGS 引入聚合物。

3.1.3 临界胶束浓度测定 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 的临界胶束浓度测定结果如图 4 所示。合成的 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 容易形成胶束, 具有优良的载药能力。

3.2 还原响应型载药纳米粒的表征

3.2.1 PTX 分析方法建立 以峰面积 (A) 对质量浓度 (C , $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行线性回归得到标准曲线 $A = 3.219 \times 10^4 C - 492.3$ 。相关系数 $R^2 = 0.9999$, 说明 PTX 在质量浓度为 $0.05 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积具有良好线性关系, 符合分析要求。按药典方法进行方法学考察, 均符合分析要求。

3.2.2 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的处方筛选

为了考察药物 / 载体比对纳米粒粒径、电位等影响, 固定载体材料的用量为 16 mg。由表 1、2 可见, 当药物 / 载体比为 37.5% 时, PTX 的载药量最高, 每 16 mg 载体最多可搭载 6 mg PTX。当丙酮用量为 100 μL 时, 6 mg PTX 全部溶解, 但由于 PTX 在有机相中浓度过高, 滴加至载体溶液中后难以在水相均匀分散, 产生聚团沉淀, 无法与载

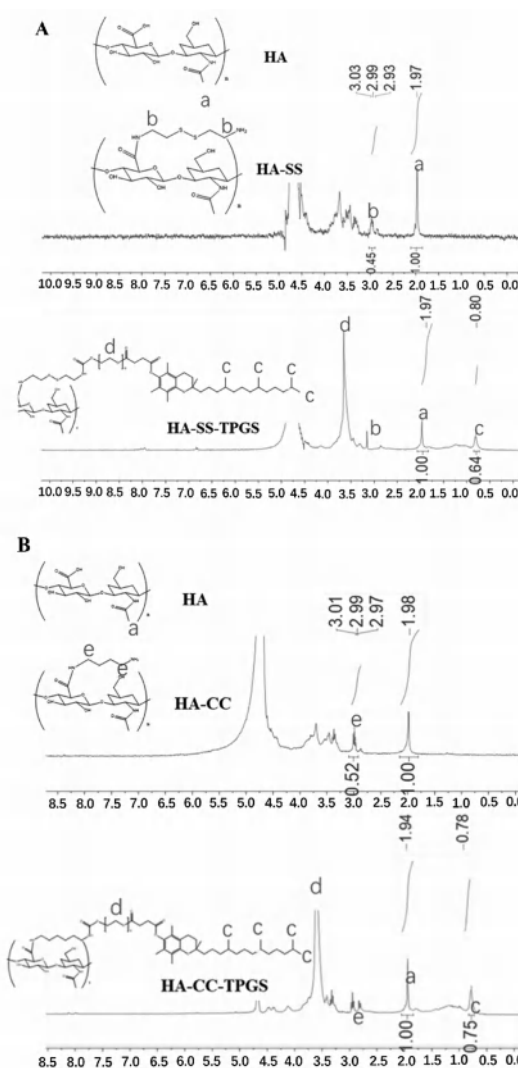


图3 HA-SS、HA-CC、HA-SS-TPGS及HA-CC-TPGS的核磁共振氢谱图

Fig 3 Proton nuclear magnetic resonance spectra of HA-SS, HA-CC, HA-SS-TPGS, and HA-CC-TPGS

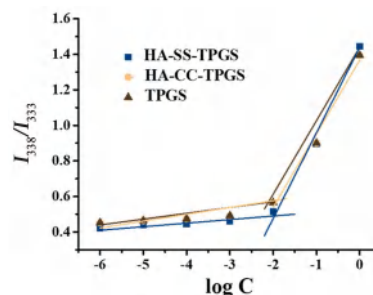


图 4 I_{338}/I_{333} 值随载体浓度变化的曲线图

Fig 4 Curve of I_{338}/I_{333} values with the concentration of carrier

体材料结合;当丙酮用量为 300 μL 时,纳米粒粒径大幅增大。由此,确定丙酮用量为 200 μL 。综合所制备载药纳米粒载药量、包封率及粒径分布结果,确定制剂最佳处方为: 16 mg HA-SS-TPGS 或 HA-CC-TPGS、6 mg PTX、200 μL 丙酮。

表 1 不同药物 / 载体比对纳米粒特征的影响

Tab 1 Effect of different drug/carrier ratio on the characteristics of nanoparticles

样品 (药物 / 载体, w/w%)	载药量 /%	包封率 /%	粒径 /nm	PDI	Zeta 电位 /mV
HA-SS-TPGS@PTX (25%)	23.5±0.8	94.0±2.5	136.5±8.1	0.201±0.1	- 18.0±1.7
HA-SS-TPGS@PTX (37.5%)	34.7±0.4	90.7±2.0	134.5±0.5	0.089±0.1	- 15.7±0.4
HA-SS-TPGS@PTX (50%)	35.1±1.0	70.2±2.4	201.2±15.0	0.195±0.1	- 15.4±0.8
HA-CC-TPGS@PTX (25%)	22.0±1.0	88.0±2.5	138.8±5.6	0.157±0.1	- 16.1±0.6
HA-CC-TPGS@PTX (37.5%)	33.2±1.2	88.5±2.7	132.5±4.8	0.102±0.1	- 14.6±0.3
HA-CC-TPGS@PTX (50%)	30.6±2.4	61.2±2.2	198.6±9.4	0.217±0.1	- 14.4±0.5

表 2 溶剂体积对纳米粒特征的影响

Tab 2 Effect of solvent volume on the characteristics of nanoparticles

丙酮体积 /μL	载药量 /%	包封率 /%	粒径 /nm	PDI
100	5.5±0.8	7.2±1.0	156.5±9.0	0.147±0.1
200	34.7±0.4	90.7±2.0	134.5±0.5	0.089±0.1
300	34.5±0.9	89.9±1.8	277.0±3.5	0.224±0.1

3.2.3 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的表征 纳米粒的基本特征如图 5 所示。根据 HPLC 检测结果, HA-SS-TPGS@PTX 的载药量为 34.7%, 包封率为 90.7%; HA-CC-TPGS@PTX 的载药量为 33.2%, 包封率为 88.5%, 说明 HA-SS-TPGS、HA-CC-TPGS 对 PTX 均具有良好的载药能力。两种载药纳米粒粒径均为 130 ~ 135 nm, PDI 约为 0.1。两种载药纳米粒 Zeta 电位约为 - 15 mV, 适宜的电位使得载药纳米粒具有良好的水溶液稳定性、体内稳定性。如图 6 所示, HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 纳米粒具有较为规则的球形外观, 形态规整, 粒径为 50 ~ 100 nm。

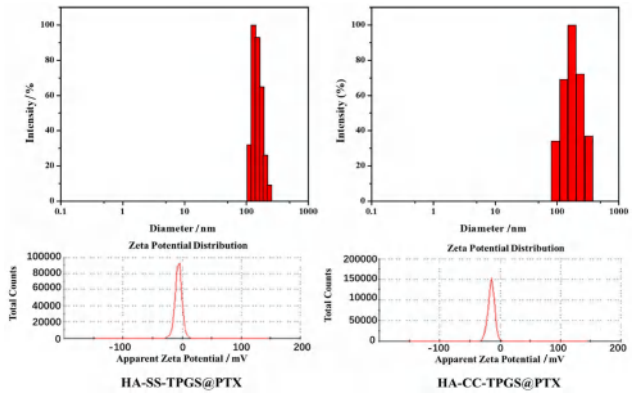


图 5 HA-SS-TPGS@PTX 及 HA-CC-TPGS@PTX 的粒径、电位分布图
Fig 5 Particle size and potential distribution of HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX

载体材料包载药物形成纳米粒的机制大致可分为静电相互作用、疏水相互作用和配位键。具有蛋白质、多肽组分的载体材料中含有氨基, 与药物多以静电相互作用形成纳米粒, 易被其他离子所破坏^[18]; 具有表面活性组分的载体材料含有亲水、疏水端, 与难溶药物通过疏水相互作用形成纳米粒, 易被其他表面活性分子破坏^[19]; 通过配位键形成的纳米粒易被亲核性更强的螯合剂破坏^[20]。基于以上性质, 使

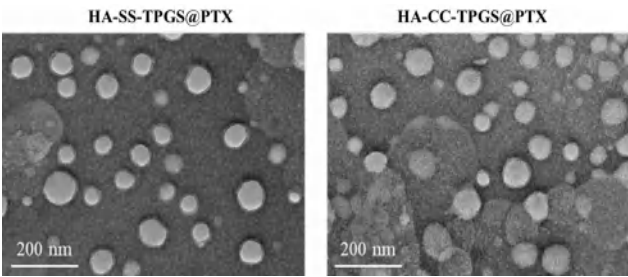


图 6 HA-SS-TPGS@PTX 及 HA-CC-TPGS@PTX 的 TEM 图 (标尺为 200 nm)
Fig 6 TEM images of HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX (scale bar = 200 nm)

用 NaCl 溶液、SDS 溶液、EDTA-2Na 溶液稀释纳米粒溶液, 测量粒径变化、探究制备纳米粒的形成机制。结果如图 7 所示, NaCl 溶液、EDTA-2Na 溶液稀释后, 纳米粒粒径无明显变化; SDS 溶液稀释后, 纳米粒粒径几乎为零, 表明纳米粒完全被破坏。由此可知, 本研究所制备载药纳米粒形成的主要作用力为疏水作用, 即 TPGS 分子中生育酚部分的长链作为疏水内核与 PTX 分子相互作用。

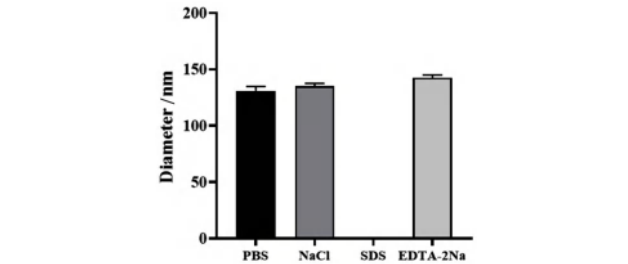


图 7 HA-SS-TPGS@PTX 与不同物质孵育后的粒径变化情况 (n = 3)
Fig 7 Sizes of HA-SS-TPGS@PTX upon incubated with different solutions (n = 3)

3.2.4 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的稳定性考察 通过测定 HA-SS-TPGS@PTX、HA-CC-TPGS@PTX 纳米粒在 4℃ 环境、10% FBS 溶液中的稳定性, 模拟纳米粒运输贮存与体内环境。如图 8 所示, 在 4℃ 环境下放置 14 d 或模拟体内环境中 24 h 内, 纳米粒粒径无明显变化, PDI 不超过 0.2。由此证明, 纳米粒体外稳定性良好, 能够低温长时间储存。纳米粒能够在模拟体循环环境中至少保持 24 h 稳定, 足以支持纳米粒在肿瘤部位蓄积, 可运用于体内给药。

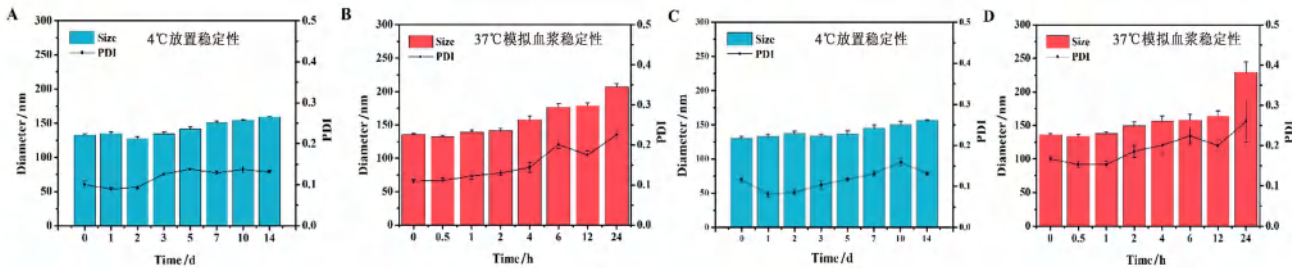


图 8 HA-SS-TPGS@PTX 与 HA-CC-TPGS@PTX 的稳定性 ($n = 3$)
Fig 8 Stability of HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX ($n = 3$)

3.2.5 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的还原响应性考察 肿瘤细胞内的 GSH 浓度约为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上, GSH 水平显著高于血浆及正常细胞^[21]。纳米粒进入肿瘤细胞后处于较强还原环境, 其中的 GSH 足以使载药纳米粒中的二硫键被还原并断开, 亲水骨架 HA 与疏水内核 TPGS 分离, 纳米粒结构崩解。GSH 处理后纳米粒 TEM 照片如图 9 及表 3 所示, 经由 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 处理后, HA-SS-TPGS@PTX 纳米粒发生了大规模崩解与重聚; HA-CC-TPGS@PTX 纳米粒大小均匀、形态为理想圆形, 与图 6 相比无明显变化, 粒径与 TEM 照片结果一致。由此证明, 在 HA-SS-TPGS@PTX 载药纳米粒中, 载体材料 HA-SS-TPGS 中的二硫键能够较高程度响应还原性环境并发生断裂, 引起纳米结构崩坏, 药物与 TPGS 得以释放。

表 3 GSH 对 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 粒径的影响

Tab 3 Effect of GSH on the particle size of HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX

GSH/ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	HA-SS-TPGS@PTX		HA-CC-TPGS@PTX	
	d_n/nm	PDI	d_n/nm	PDI
0	134.5 ± 0.5	0.089	132.5 ± 4.8	0.106
10	35.9 ± 4.0	0.395	144.3 ± 3.7	0.131

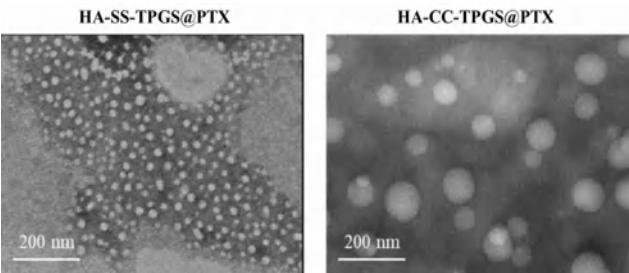


图 9 经 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 处理后 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的 TEM 照片 (标尺为 200 nm)
Fig 9 TEM images of HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX incubated with $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH (scale bar = 200 nm)

采用 pH 7.4 生理盐水, 加入 10、20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 的溶液, 模拟肿瘤细胞中强还原性环境, 在释放介质中加入 0.3% 吐温 80 溶液以提高 PTX 溶解度。结果如图 10 所示, 游离 PTX 3 h 后累积释放度达到

80% 以上, 证明在该释放条件下, PTX 的释放不受透析袋截留及吐温 80 与 PTX 分子形成胶束的影响, 说明该方法可用于研究纳米粒体外释药情况。对于 HA-SS-TPGS@PTX, 在无 GSH 存在时, PTX 释放缓慢, 最终累积释放度仅为 20% ~ 30%; 在 GSH 存在下, PTX 快速释放, 其中 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 下累积释放度近 40%, $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 下累积释放度近 60%, 累积释放度与 GSH 浓度呈现显著的正相关性; 对于 HA-CC-TPGS@PTX, 在不同浓度 GSH 存在条件下, PTX 释放缓慢, 累积释放度均为 20% 左右, 与无 GSH 存在时 HA-SS-TPGS@PTX 的 PTX 释放行为基本一致。由此可见, GSH 对 HA-CC-TPGS@PTX 释药行为无影响。

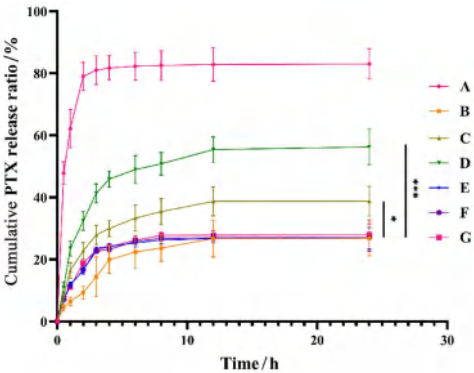


图 10 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 的体外累积释放度 - 时间曲线

Fig 10 Dissolution profiles of PTX from HA-SS-TPGS@PTX and HA-CC-TPGS@PTX

A.PTX; B.HA-SS-TPGS@PTX; C.HA-SS-TPGS@PTX ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH); D.HA-SS-TPGS@PTX ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH); E.HA-CC-TPGS; F.HA-CC-TPGS ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH); G.HA-CC-TPGS ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH) ($n = 3$, $^*P < 0.5$, $^{***}P < 0.005$)

4 讨论

使用自制的还原响应型聚合物制备了 HA-SS-TPGS@PTX 和 HA-CC-TPGS@PTX 纳米粒, 粒径电位仪测得粒径约为 135 nm、Zeta 电位为 -15 mV 左右; TEM 照片显示所制的纳米粒形态为质地均一的圆球形, 粒径约为 50 ~ 100 nm。纳米粒的 PTX 载药量约为 35%、包封率约为 90%。载药纳米粒在 4℃ 下可保持至少 14 d 稳定, 在 10% FBS、37℃ 条

件下可保持 24 h 稳定,表明该制剂的贮存性良好、能够在体内循环中保持结构稳定。模拟肿瘤细胞中 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ GSH 处理后, HA-SS-TPGS@PTX 构崩裂为无规则小粒子,而 HA-CC-TPGS@PTX 粒径、PDI 无明显变化;体外释药行为研究显示, HA-SS-TPGS@PTX 释药速度、累积释放量与 GSH 浓度成正相关,而 HA-CC-TPGS@PTX 释药速度、累积释放不受 GSH 浓度影响。

由此可见, HA-SS-TPGS@PTX 实现了构建载体材料时所设计的还原响应性目标,有望能够在高还原性的肿瘤细胞中快速、大量释放药物,实现对肿瘤细胞的特异性杀伤作用,在治疗 NSCLC 耐药方面具有巨大的潜力。

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2024, 64 (3): 229-263.
- [2] Duma N, Santana DR, Molina JR, et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, ecreening, diagnosis, and treatment [J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94 (8): 1623-1640.
- [3] Rotow J, Bivona TG. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17 (11): 637-658.
- [4] Huang ST, Wang YP, Chen YH, et al. Liposomal paclitaxel induces fewer hematopoietic and cardiovascular complications than bioequivalent doses of Taxol [J]. Int J Oncol, 2018, 1 (1): 1-11.
- [5] Dou ZH, Ding X, Feng Y, et al. Systematic profiling of taxol and its analogues (taxalogues) binding to β -tubulin and molecular analysis of their effects on microtubule stabilization [J]. J Chin Chem Soc, 2023, 70 (4): 825-836.
- [6] Yang CP, Horwitz S. Taxol®: the first microtubule stabilizing agent [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (8): 1-10.
- [7] Tian ZC, Yao WT. Albumin-bound paclitaxel: worthy of further study in Sarcomas [J]. Front Oncol, 2022, 12 (1): 1-15.
- [8] Leggas M, Zhao MZ, Lei CN, et al. Abraxane, the nanoparticle formulation of paclitaxel can induce drug resistance by up-regulation of P-gp [J]. PLoS One, 2015, 10 (7): 1-13.
- [9] Guan YY, Zeng SQ, Qin Y, et al. Vitamin e-tocopheryl polyethylene glycol succinate decorated drug delivery system with synergistic antitumor effects to reverse drug resistance and immunosuppression [J]. Colloid Surface A, 2021, 628 (1): 1-14.
- [10] Yang CL, Wu TT, Qi Y, et al. Recent advances in the application of vitamin E TPGS for drug delivery [J]. Theranostics, 2018, 8 (2): 464-485.
- [11] Su ZG, Chen ML, Xiao YY, et al. ROS-triggered and regenerating anticancer nanosystem: an effective strategy to subdue tumor' s multidrug resistance [J]. J Control Release, 2014, 196 (1): 370-383.
- [12] Ruiz MC, Jimenz DR, Sierra GL, et al. Vitamin e synthetic derivate-TPGS-selectively induces apoptosis in jurkat t cells via oxidative stress signaling pathways: implications for acute lymphoblastic leukemia [J]. Apoptosis, 2016, 21 (9): 1019-1032.
- [13] Yan HX, Du XY, Wang RJ, et al. Progress in the study of D- α -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) reversing multidrug resistance [J]. Colloid Surface B, 2021, 205 (1): 1-16.
- [14] Duranoğlu D, Kumcu YM. Modelling and optimization of bovine serum albumin adsorption on calcium bentonite using box-behnken experimental design method [J]. Physica Scripta, 2023, 99 (1): 1-9.
- [15] Rizwanullah M, Perwez A, Alam M, et al. Polymer-lipid hybrid nanoparticles of exemestane for improved oral bioavailability and anti-tumor efficacy: an extensive preclinical investigation [J]. Int J Pharmaceut, 2023, 642 (1): 1-13.
- [16] Choudhury H, Gorain B, Pandey M, et al. Recent advances in TPGS-based nanoparticles of docetaxel for improved chemotherapy [J]. Int J Pharmaceut, 2017, 529 (1): 506-522.
- [17] Huang C, Chen F, Zhang L, et al. Radiolabeled HA/TPGS-based curcumin-loaded nanoparticle for breast cancer synergistic theranostics: design, in vitro and in vivo evaluation [J]. Int J Nanomed, 2020, 15 (1): 2987-2998.
- [18] Yamada K, Yoshii S, Kumagai S, et al. High-density and highly surface selective adsorption of protein-nanoparticle complexes by controlling electrostatic interaction [J]. Jpn J Appl Phys, 2006, 45 (5R): 4259-4266.
- [19] Cao HQ, Zhang ZW, Zhao S, et. al. Hydrophobic interaction mediating self-assembled nanoparticles of succinobucol suppress lung metastasis of breast cancer by inhibition of VCAM-1 expression [J]. J Control Release, 2015, 205 (1): 162-171.
- [20] Rillo Sato M, Bento DP, Alves DR, et al. Recent advances in nanoparticle carriers for coordination complexes [J]. Curr Top Med Chem, 2015, 15 (4): 287-297.
- [21] Sun HL, Meng FH, Cheng R, et al. Reduction-sensitive degradable micellar nanoparticles as smart and intuitive delivery systems for cancer chemotherapy [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2013, 10 (8): 1109-2200.

(收稿日期: 2025-06-07; 修回日期: 2025-07-26)

大山楂颗粒高效液相色谱指纹图谱的建立及药理作用研究

华威, 张桦文, 吴方, 陈毅卓, 朱艳华* (黑龙江中医药大学 药学院, 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 建立大山楂颗粒高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱, 并系统评价大山楂颗粒对高脂小鼠的体重控制、血脂调节及抗氧化效应。**方法** 采用 ShimNex CS-C18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈与 0.05% 磷酸溶液 (10 : 90, V/V) 为流动相, 流速为 1 mL·min⁻¹, 柱温为 30℃, 等度洗脱, 进样量为 20 μL, 检测波长为 320 nm。对来自不同产地 20 批大山楂颗粒样品进行分析, 匹配共有峰并进行色谱峰归属, 利用计算机相似性评价系统形成标准指纹图谱。采用聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA) 及正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA), 对不同批次的大山楂颗粒进行差异性分析。药理部分以高脂饮食诱导的小鼠高脂血症模型为基础, 设置大山楂颗粒低、中、高剂量组及辛伐他汀阳性对照组, 比较各组小鼠体重及血清中三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的变化。**结果** 建立了大山楂颗粒 HPLC 指纹图谱, 标定出 8 个共有峰, 确认了特征性成分 5-羟甲基糠醛 (5-HMF) 和绿原酸, 除 S1、S10 两批次样品外, 其余 18 批样品相似度均大于 0.9, 表明 18 批样本间化学组成一致性良好。化学模式识别分析表明, 20 批大山楂颗粒可划分为 4 类。通过 OPLS-DA 模型 (VIP > 1.0) 进一步筛选出绿原酸和 5-HMF 为导致批次间质量差异的主要标志物。药理实验显示, 大山楂颗粒降低了高脂小鼠体内 TC、TG、LDL-C 及 MDA 水平, 同时提高 HDL-C、SOD 和 GSH-Px 活性, 并有效抑制体重增加。**结论** 成功建立了大山楂颗粒的 HPLC 指纹图谱分析方法, 结合其抗氧化、降血脂等药理作用的验证, 为制剂质量控制及谱效关联研究提供了科学依据。

关键词: 大山楂颗粒; HPLC 指纹图谱; 质量控制; 降血脂; 抗氧化; 体重调控

中图分类号: R284.1, R285 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2891-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.013

HPLC fingerprint and pharmacological effect of Dashanzha granules

HUA Wei, ZHANG Hua-wen, WU Fang, CHEN Yi-zhuo, ZHU Yan-hua* (School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

Abstract: **Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint for Dashanzha granules and evaluate their effect on body weight control, lipid regulation, and antioxidant activity. **Methods** A ShimNex CS-C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with a mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid aqueous solution (10 : 90, V/V) at a flow rate of 1 mL·min⁻¹. The column temperature was maintained at 30℃ under isocratic elution conditions, the injection volume was 20 μL, the detection wavelength was 320 nm. Twenty batches of Dashanzha granules from different geographical origins and production lots were analyzed. Common chromatographic peaks were matched and assigned, and a standard fingerprint chromatogram was established using a computer-assisted similarity evaluation system. The differences among batches of Dashanzha granules were analyzed by hierarchical cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least squares-discriminant analysis. The pharmacological study was based on

基金项目: 黑龙江省中医药科研项目 (No.ZYW2022-080)。

作者简介: 华威, 男, 硕士, 主要从事缓控释外用制剂方面的研究, email: 974011050@qq.com * **通信作者:** 朱艳华, 女, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事缓控释制剂及经皮给药制剂方面的研究, email: yhz8709@163.com

a hyperlipidemic mouse model induced by a high-fat diet, the low, medium and high dose groups of Dashanzha granules and a simvastatin positive control group were set up. The body weight and serum levels of triacylglycerol, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, malondialdehyde, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase were compared in all groups. **Results** The high-performance liquid chromatography fingerprint of Dashanzha granules was successfully established. Eight common peaks were identified and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) and chlorogenic acid confirmed as characteristic markers. Except batches S1 and S10, the similarity of the other 18 batches was all greater than 0.9, indicating high chemical consistency. Chemical pattern recognition showed that the 20 batches of Dashanzha granules were divided into four categories. The OPLS-DA model ($VIP > 1.0$) further identified chlorogenic acid and 5-HMF as key markers responsible for the inter-batch variability. Pharmacological experiments demonstrated that Dashanzha granules reduced the total cholesterol, triacylglycerol, low-density lipoprotein cholesterol, and malondialdehyde levels, elevated high-density lipoprotein cholesterol, superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities, and suppressed weight gain in mice with high-fat diet-fed. **Conclusion** HPLC fingerprint for Dashanzha granules established. Combined with the validation of pharmacological effect such as antioxidant and lipid-lowering activities, it provides a scientific basis for the quality control and spectrum-effect relationship of the granules.

Key words: Dashanzha granule; HPLC fingerprint; quality control; blood lipid reduction; antioxidation; weight regulation

大山楂颗粒是一种基于传统中医理论的中成药, 主要由山楂、炒麦芽、六神曲(焦)等成分组成, 辅料包括蔗糖和枸橼酸^[1]。具有开胃消食、行气散瘀、化浊降脂等多种功效, 主要用于治疗食欲缺乏、消化不良、肉食积滞、胃脘胀满等症状^[2]。

目前, 已有研究通过高效液相色谱(HPLC)法建立了山楂及大山楂丸^[3]的指纹图谱, 并利用计算机相似性评价系统进行相似度分析。尽管现有关于山楂的指纹图谱^[4-5]技术已较为成熟, 但仍存在一些不足。例如, 与大山楂丸组成成分相同, 剂型和工艺不同的大山楂颗粒^[6], 国内还未见对大山楂颗粒 HPLC 指纹图谱的相关研究, 本研究通过收集不同产地、不同批次的大山楂颗粒样品, 建立更为全面和精确的指纹图谱数据库, 以提高质量控制的准确性和可靠性。

随着现代生活方式的变化, 高脂血症^[7]及其相关代谢疾病发病率不断上升, 探索天然药物在降血脂^[8]、抗氧化^[9]和控制体重^[10]方面的作用也成为当前研究的热点。本研究选择高、中、低三种剂量的大山楂颗粒, 以辛伐他汀为阳性对照组, 以高脂饮食为诱导, 对大鼠进行灌胃处理, 观察不同剂量的大山楂颗粒对高脂小鼠血清中三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘

肽过氧化物酶(GSH-Px)含量的影响。

本研究旨在利用 HPLC 指纹图谱技术对不同批次大山楂颗粒进行化学成分分析, 构建标准指纹图谱, 并结合高脂血症动物模型, 系统评价大山楂颗粒在调控血脂、抗氧化和控制体重方面的药理效应^[11]。通过对比不同剂量组的实验结果, 探讨其作用机制, 为大山楂颗粒的质量控制和临床合理应用提供理论依据和实验数据支持。

1 材料

1.1 试药

20 批大山楂颗粒样品详情见表 1。5-羟甲基糠醛(5-HMF)(批号: DSTDQ005602, 纯度: 98%, 乐美天医药德斯特生物), 绿原酸(批号: 110753-202018, 纯度: 96.1%, 中国食品药品检定研究院), 辛伐他汀(批号: X021957, Merck Sharp Dohme)。甲醇、乙腈和磷酸均为色谱纯(赛默飞世尔科技有限公司), 娃哈哈纯净水。

TG 试剂盒(批号: 20230115)、TC 试剂盒(批号: 20230524)、LDL-C 试剂盒(批号: 20221204)、HDL-C 试剂盒(批号: 20230105)、SOD 试剂盒(批号: 20221059)、MDA 试剂盒(批号: 20230215)、GSH-Px 试剂盒(批号: 20230518)(南京建成生物工程研究所)。高脂饲料(包括 85% 基础饲料, 0.2% 丙硫氧嘧啶, 7.5% 猪油, 5% 蛋白粉, 2% 胆固醇, 0.3% 去氧胆酸钠)(辽宁长生生物技术股份有限公司)。

表 1 20 批大山楂颗粒样品信息
Tab 1 Sample information of 20 batches of Dashanzha granules

编号	产品批号	生产厂家	编号	产品批号	生产厂家
S1	240316	河北万岁药业有限公司	S11	240103	保定中药制药股份有限公司
S2	2309008	太极集团四川绵阳制药有限公司	S12	240602	湖北仁悦药业股份有限公司
S3	22110069	北京同仁堂天然药物(唐山)有限公司	S13	230603	湖北汇中制药股份有限公司
S4	23110283	北京同仁堂天然药物(唐山)有限公司	S14	04230406	通化万通药业股份有限公司
S5	231001	葵花药业集团(襄阳)隆中有限公司	S15	202307001	李时珍医药集团有限公司
S6	231203-051	福建省泉州罗裳制药厂	S16	240201	四川省三星堆制药有限公司
S7	240304	贵州神奇药业有限公司	S17	20240417	湖北盛通药业有限公司
S8	52111101	山东罗欣乐康制药有限公司	S18	230401	三金集团湖南三金制药有限责任公司
S9	230501	广西麦克健丰制药有限公司	S19	230605	葵花药业集团重庆小葵花儿童制药有限公司
S10	220504	陕西利君现代中药有限公司	S20	240701	四川依科制药有限公司

1.2 仪器

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津), BT224S 型十万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司), AB204-L 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), KQ-700DV 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), KH20R 型医用离心机(湖南凯达科学仪器有限公司), 756PC 型紫外分光光度计(上海光谱分析仪器厂), SpectraMax Plus 型酶标仪(Molecular Devices 公司)。

1.3 动物

KM 小鼠 60 只, 体重 18 ~ 22 g, 雌雄各半(辽宁长生生物技术股份有限公司, 合格证号: 202300036883), 饲养于标准动物房, 适应环境 3 d, 自由进食饮水, 相对湿度 40% ~ 70%, 室温 18 ~ 22 ℃。本研究所有动物实验方案均通过黑龙江中医药大学实验动物伦理委员会审查(伦理批件号: HSDYXY-2023021), 实验全程严格遵循《关于善待实验动物的指导性意见》及《实验动物福利伦理审查指南》要求。

2 方法与结果

2.1 HPLC 色谱条件

使用 ShimNex CS-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈与 0.05% 的磷酸溶液为流动相(10 : 90, V/V), 等度洗脱^[12]。流速为 1 mL·min⁻¹, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL, 检测波长为 320 nm^[13], 分析时间为 30 min。

2.2 对照品溶液的制备

分别准确称取 5-HMF 和绿原酸对照品适量, 用 70% 甲醇溶解并定容, 配制质量浓度分别为 55.2、21.4 μg·mL⁻¹ 的溶液。溶液经 0.45 μm 滤膜过滤后, 密封保存于低温避光环境中, 待用。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取样品 10.0 g (编号 S1 ~ S20), 置于具塞锥形瓶中, 加入 25 mL 70% 甲醇, 密封后称重, 超声处理(350 W, 40 kHz) 30 min, 冷却后再次称重, 用 70% 甲醇并补足减失重量。随后在 0 ℃、5000 r·min⁻¹ 下离心 5 min, 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

选择信号稳定且含量较高的绿原酸色谱峰为参照峰, 分析各共有峰的相对保留时间及峰面积比值。精密称取 S1 批次样品粉末, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 连续测定 6 次, 结果显示各共有峰相对保留时间与相对峰面积 RSD 值均小于 2.0%, 表明仪器精密密度良好。精密称取 S1 批次样品粉末, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、24、48 h 进行测定, 结果各共有峰 RSD 值均小于 2.0%, 表明样品在 48 h 内稳定性良好。精密称取 6 份 S1 批次样品粉末, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 结果显示, 其 RSD 值均小于 2.0%, 表明样品制备方法重复性良好。

2.5 HPLC 指纹图谱的建立与分析

2.5.1 HPLC 指纹图谱的建立 取 20 批大山楂颗粒按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 进样分析并记录色谱图, 将图谱导入中药指纹图谱相似度评价系统(2012 版), 以 S1 为参照图谱, 经谱峰多点校正构建共有模式^[14], 设定时间窗为 0.1, 计算相似度并生成提取物的对照指纹图谱, 构建 20 批大山楂颗粒提取物 HPLC 图谱, 结合峰信号强度及峰形特征, 共标定 8 个特征共有峰, 并指认了 5 号峰为 5-HMF, 8 号峰为绿原酸, 对照品色谱图及大山楂颗粒对照指纹图谱详见图 1, 指纹图谱详见图 2。

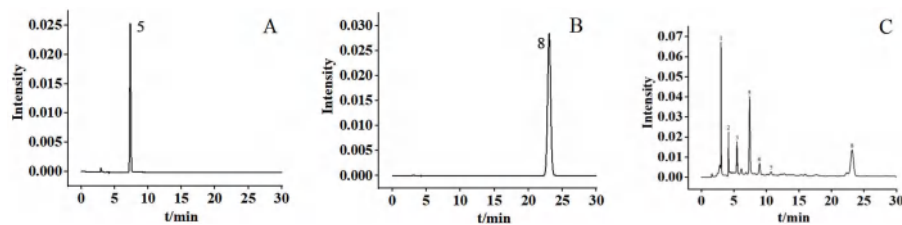


图 1 5-HMF 对照色谱图 (A)、绿原酸对照色谱图 (B) 及大山楂颗粒对照指纹图谱 (C)
Fig 1 Control chromatogram of 5-hydroxymethylfurfural (A), control chromatogram of chlorogenic acid (B), and control fingerprint of Dashanzha granules (C)
5.5-HMF; 8. 绿原酸 (chlorogenic acid)

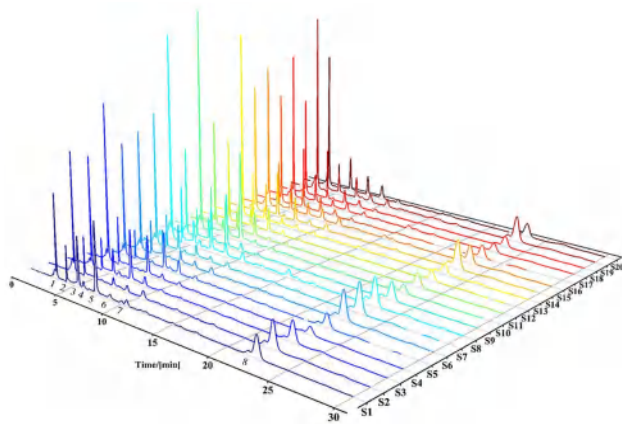


图 2 20 批大山楂颗粒提取物指纹图谱
Fig 2 Chromatographic fingerprints of extracts from 20 batches of Dashanzha granules

2.5.2 相似度评价 20 批大山楂颗粒指纹图谱的相似度分析表明, S1 ~ S20 样品相似度范围为 0.836 ~ 0.996, 其中 S1、S10 两批次样品的相似度分别为 0.836 和 0.872, 其余 18 批样品相似度均大于 0.9, 表明提取物化学组成兼具批次间一致性与合理差异性, 满足谱效关系研究对样本多样性和质量一致性的双重要求。

2.6 化学模式识别分析

2.6.1 聚类分析 (HCA) 及主成分分析 (PCA)

以 20 批大山楂颗粒共有峰的峰面积为变量, 分别导入 SPSS 25.0 和 SIMCA 14.1 软件中, 进行 HCA 和 PCA。由 HCA 图可知, 当距离为 10 时, 20 批大山楂颗粒可分为 4 类, 即 S2、S6、S7、S14、S8、S19 为第一类, S13、S17、S15、S20、S3、S9、S16、S18、S5、S11、S12、S4 为第二类, S1 为第三类, S10 为第四类。由 PCA 得分矩阵图可知, 其分类结果与 HCA 分类结果相同 (见图 3)。此结果与 HCA 分析结果两两相互印证。

2.6.2 正交偏最小二乘法 - 判别分析 (OPLS-DA) 利用 SIMCA 14.1 软件对 20 批大山楂颗粒的 PCA 分析图进行 OPLS-DA 分析, 验证组间分类所体现的质量差异。由 OPLS-DA 得分图可知:

表 2 20 批大山楂颗粒相似度计算结果

Tab 2 Similarity calculation for 20 batches of Dashanzha granules			
批次	相似度	批次	相似度
S1	0.836	S11	0.993
S2	0.933	S12	0.993
S3	0.971	S13	0.922
S4	0.946	S14	0.959
S5	0.991	S15	0.972
S6	0.934	S16	0.986
S7	0.937	S17	0.920
S8	0.996	S18	0.972
S9	0.932	S19	0.983
S10	0.872	S20	0.968

20 批大山楂颗粒可分为 4 类, OPLS-DA 结果与 HCA 及 PCA 分析结果一致。结合 VIP 值 > 1 的判定标准, 筛选差异组分, 共找到了 2 个成分, 按 VIP 值由大到小排序分别为: 8 号峰 (绿原酸)、5 号峰 (5-HMF) (见图 4)。因此确定上述 2 个共有峰所代表的化学成分可能是导致 20 批大山楂颗粒之间质量差异的主要标志物。

2.7 药理作用研究

2.7.1 动物造模与给药 将 60 只小鼠随机分为 6 组 ($n = 10$): 空白对照组 (灌胃生理盐水), 模型对照组, 阳性对照组 (灌胃 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 辛伐他汀) 及大山楂颗粒低、中、高剂量组 (分别灌胃 0.25 、 0.5 、 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 大山楂颗粒, 对应给药剂量为 5 、 10 、 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。除空白对照组外, 其余组采用高脂饲料喂养。每日固定时段灌胃, 按 $0.4 \text{ mL}/20 \text{ g}$ 体重给药, 动态调整体积, 每周称重 2 次, 持续 8 周。空白对照组喂养正常饲料, 饲养期间各组小鼠全部自由饮水并且每日观察体重变化、饮水进食量, 以及精神状态等。

由图 5 可知, 与空白对照组小鼠相比, 第 4 周和第 8 周模型对照组小鼠的体重增加差异具有统计学意义。与模型对照组小鼠相比, 阳性对照组及大山楂颗粒各剂量组在第 4 周和第 8 周均抑制体重增长。这说明高脂饲料可促进小鼠体重增长, 而辛伐

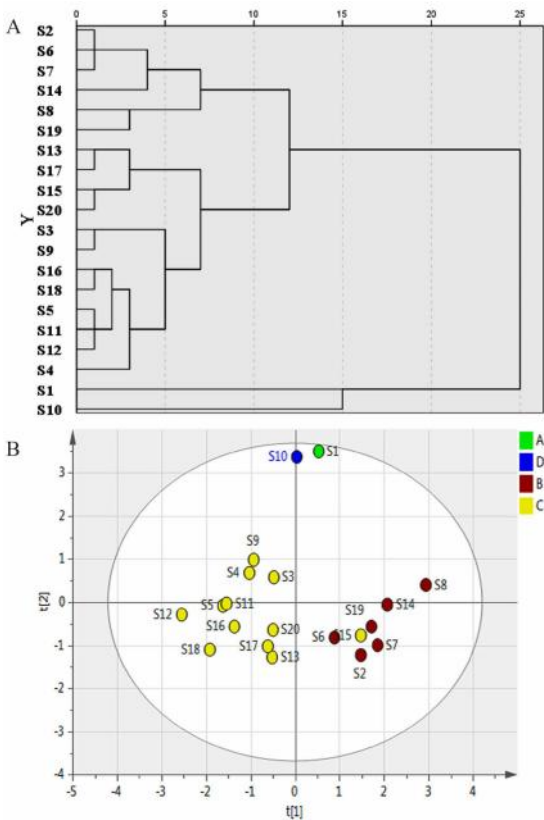


图 3 20 批大山楂颗粒的 HCA 图 (A) 及 PCA 得分矩阵图 (B)
Fig 3 HCA plot (A) and PCA score matrix plot (B) for 20 batches of Dashanzha granules

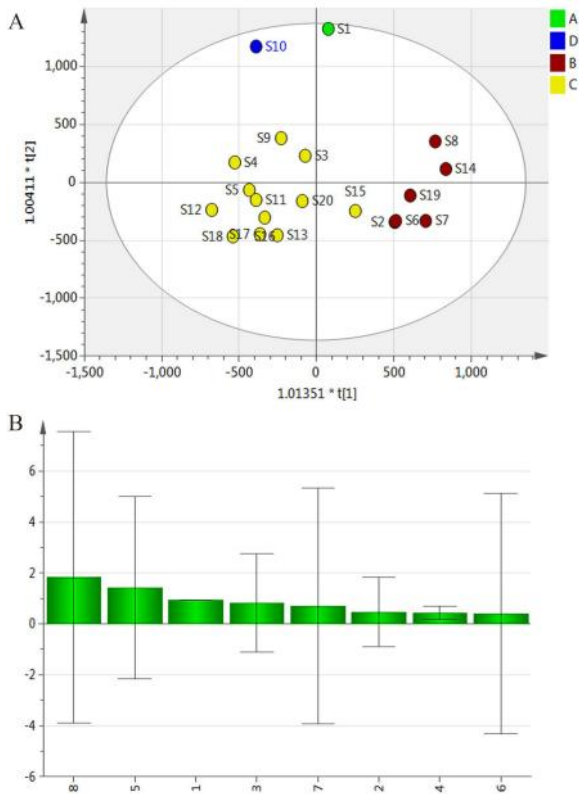


图 4 20 批大山楂颗粒的 OPLS-DA 得分图 (A) 及 VIP 图 (B)
Fig 4 OPLS-DA score plot (A) and VIP plot (B) of 20 batches of Dashanzha granules

他汀和大山楂颗粒能有效抑制小鼠体重的增加, 且大山楂颗粒高剂量的抑制效果较好^[15]。

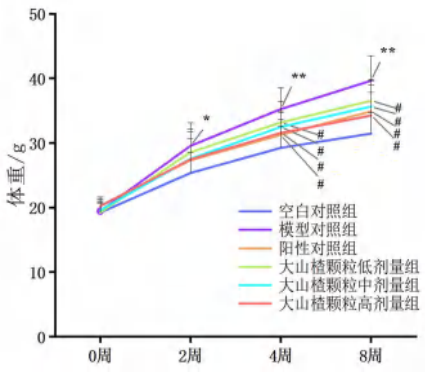


图 5 大山楂颗粒对高脂血症小鼠体重的影响
Fig 5 Effects of Dashanzha granules on body weight in hyperlipidemic mice
注: 与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较, # $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with the model control group, # $P < 0.05$.

2.7.2 血清样本的检测 实验结束后, 禁食 16 h 的小鼠经眼底静脉丛采血。血样经 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 4°C 离心 10 min 分离血清, -80°C 冻存待测。采用生化法检测血清 TG、TC、LDL-C、HDL-C、MDA、SOD 及 GSH-Px 水平。

由图 6 可知, 与空白对照组小鼠相比, 模型对照组小鼠血清中的 TC、TG 和 LDL-C 升高, HDL-C 降低, 差异具有统计学意义, 说明高血脂小鼠建模成功。与模型对照组小鼠相比, 阳性对照组及大山楂颗粒各剂量组小鼠血清中的 TC、TG、LDL-C 降低, HDL-C 升高, 结果表明大山楂颗粒能够阻碍胆固醇的合成, 促进脂质代谢, 达到降低血脂的目的^[16]。

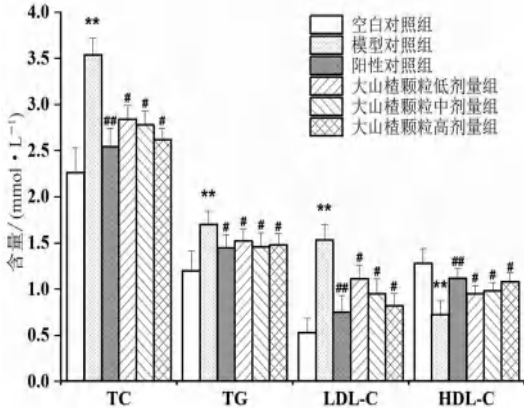


图 6 大山楂颗粒对高脂血症小鼠血清脂质指标的影响
Fig 6 Effect of Dashanzha granules on serum lipid parameters in hyperlipidemic mice

注: 与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较, # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank control group, ** $P < 0.01$; compared with the model control group, # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$.

由图 7 可知,相较于空白对照组,模型对照组小鼠血清中 MDA 水平升高, SOD 及 GSH-Px 活性降低,这反映出高血脂小鼠血清中脂质过氧化产物 MDA 积累,机体自由基清除系统功能受损及氧化代谢功能紊乱等。与模型对照组相比,

阳性对照组及大山楂颗粒各剂量组中 MDA 水平降低, SOD 与 GSH-Px 活性升高,表明大山楂颗粒高剂量可通过抑制脂质过氧化反应、增强抗氧化酶活性发挥高效抗氧化作用。

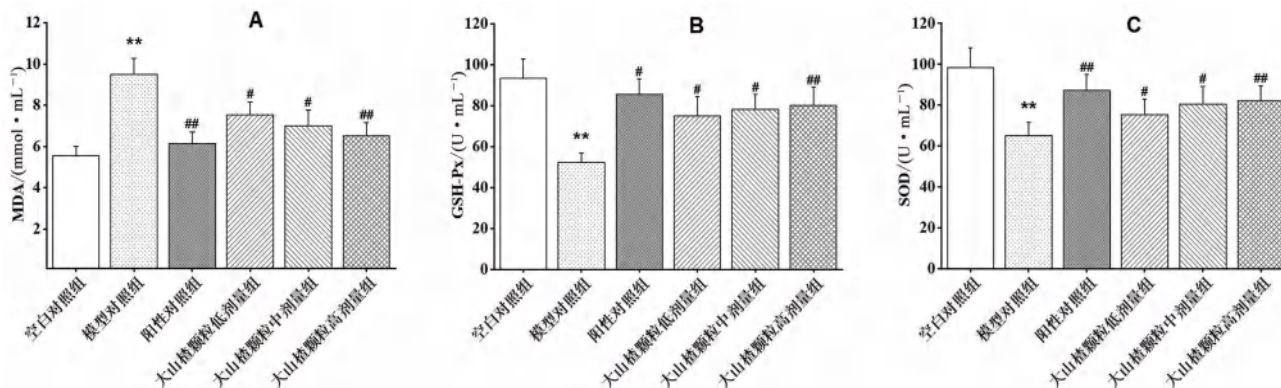


图 7 大山楂颗粒对高血脂症小鼠血清 MDA、GSH-Px、SOD 水平的影响

Fig 7 Effect of Dashanzha granules on serum MDA, GSH-Px, and SOD levels in hyperlipidemic mice

注:与空白对照组比较,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank control group, ** $P < 0.01$; compared with the model control group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

2.7.3 统计分析方法 采用 SPSS 28.0 进行单因素方差分析 (ANOVA), 组间多重比较选用 LSD 法, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 讨论

本研究采用 70% 甲醇对大山楂颗粒进行提取, 以乙腈与 0.05% 磷酸溶液为流动相, 成功分离了 8 个共有峰, 并以 5-HMF 与绿原酸作为特征性成分进行鉴定, 成功建立了大山楂颗粒的 HPLC 指纹图谱分析方法。20 批大山楂颗粒的指纹图谱相似度范围为 0.836 ~ 0.996, 其中 18 批次相似度大于 0.9, S1、S10 两批次的相似度为 0.836 和 0.872, 属于较低水平, 反映了生产工艺或原料差异的波动, 其具体原因可能是山楂、麦芽、六神曲因产地、采收期或储存条件不同而导致化学成分有差异。此外, 不同厂家之间生产工艺参数如浸泡时间、料液比也可能影响最终产品的化学组成。

化学模式识别分析表明, 20 批大山楂颗粒可划分为 4 类。通过 OPLS-DA 模型 (VIP > 1.0) 进一步筛选出 8 号峰 (绿原酸) 和 5 号峰 (5-HMF) 为导致批次间质量差异的主要标志物。现行质量标准的质控指标^[1]较为单一, 难以实现对大山楂颗粒质量的综合评价。建议将本研究筛选的差异标志物 (绿原酸与 5-HMF) 增补为质控指标, 以

提升对不同产地、批次产品的质量均一性控制能力, 为全面科学评价提供依据。

药理实验中, 高脂饮食诱导的高脂血症模型小鼠经不同剂量大山楂颗粒处理后, 体重、血脂及抗氧化指标均呈现改善趋势, 提示大山楂颗粒可能通过抑制胆固醇合成^[15]、促进脂质代谢^[17]及增强机体抗氧化能力^[18], 从而发挥控制体重^[19]和降血脂的作用。

大山楂颗粒调节脂质代谢的核心机制方面, 大山楂颗粒通过协同激活 AMPK 和 PPAR α 双通路调控脂质代谢^[20]。其总黄酮成分激活 AMPK 磷酸化, 抑制 SREBP-1c 转录活性, 下调脂肪酸合成关键酶乙酰辅酶 A 羧化酶和脂肪酸合酶的表达, 减少肝脏脂肪堆积^[21]; 同时激活 PPAR α 表达, 活化的 PPAR α 一方面通过增强肉碱棕榈酰转移酶-1 的表达促进脂肪酸 β -氧化, 降低血清 TG; 另一方面上调胆固醇 7 α -羟化酶加速胆固醇转化为胆汁酸, 降低 TC 和 LDL-C^[22]。PPAR α 激活还可反馈增强 AMPK 磷酸化, 形成调控网络。此外, 该颗粒双重抑制胆固醇合成限速酶和胆固醇酯化吸收酶活性, 阻断胆固醇合成与肠道吸收。已有实验证实, 山楂提取物干预后, 高脂模型小鼠肝脏 PPAR α 表达提升, 血清 TG 下降^[20]。抗氧化机制方面, 猜测大山楂颗粒通过其多酚类成分激活 Nrf2 通路, 提升 SOD 和 GSH-Px 活性

以减轻脂质过氧化损伤。本研究在探讨大山楂颗粒药效机制方面尚处于初步阶段,未来应结合细胞模型及分子生物学手段,深入揭示其在脂质代谢和抗氧化过程中的分子调控机制^[22-23]。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. WS3-B-0881-91. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第五册)[S]. 北京: 卫生部药典委员会, 1991.
- [2] 刘翠. 基于山楂炒焦前后组方大山楂丸的效应物质及作用机制研究[D]. 西安: 西南交通大学, 2022.
- [3] 李运, 王苗, 刘晓玲, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合多成分含量测定和化学模式识别的大山楂丸质量评价[J]. 中国药学杂志, 2024, 59(24): 2372-2383.
- [4] 段玺, 汪芸兰, 雷璇, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及化学识别模式的炒山楂质量评价[J]. 中国野生植物资源, 2024, 43(10): 1-8.
- [5] 高静云, 段丽颖, 赵胜男, 等. 基于 HPLC 指纹图谱评价不同产地山楂叶质量[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2023, 40(3): 62-67, 72.
- [6] 陈培武, 邓仁华, 黄贵平, 等. 大山楂颗粒质量标准提升研究[J]. 中国药业, 2024, 33(10): 90-92.
- [7] 张依娜, 赵锋, 唐瑜, 等. 中药通过 AMPK 信号通路防治高脂血症研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23(5): 1369-1376.
- [8] 聂春霞. 基于 ¹H-NMR 代谢组学研究山楂不同炮制品化学成分及降脂和促消化功效的差异[D]. 晋中: 山西中医药大学, 2019.
- [9] 李晓, 孔欣欣, 王成, 等. 山楂水提物制备泡腾片工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 包装与食品机械, 2025, 43(1): 106-112.
- [10] 吴志嵩. 药膳山楂山药汤对高脂血症小鼠调脂作用及其机制的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2012.
- [11] 李郭浪. 山药山楂酸奶对小鼠高脂血症预防作用的研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2021.
- [12] 李香, 于琳, 彭小冰, 等. RP-HPLC 法同时测定梔子柏皮汤不同剂型甘草苷与甘草酸铵的含量[J]. 中国民族民间医药, 2015, 24(5): 24-25.
- [13] 方妍. 经典名方泻白散标准汤剂的研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- [14] 刘爽, 王翠竹, 李平亚, 等. 参柏舒心颗粒 HPLC 指纹图谱建立[J]. 特产研究, 2024, 46(2): 99-102.
- [15] 陈简, 颜明丽, 谭晓玉, 等. 基于米糠脂肪烷醇的中药复方对高脂血症大鼠肝脏胆固醇代谢的影响[J]. 云南中医药大学学报, 2024, 47(4): 66-74.
- [16] 郝慧敏, 魏平, 秦令祥, 等. 浊点萃取协同超声波辅助提取桑叶黄酮工艺优化及其对高血脂小鼠的降血脂作用研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(18): 303-311.
- [17] 戴欣雅, 王树根, 王颖, 等. 知母山楂饮对高脂血症大鼠血脂代谢的影响[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(15): 3749-3754.
- [18] 尼鹏博, 王瑶瑶, 李丹琦, 等. 苜蓿、山楂叶复配物对油酸诱导 HepG2 细胞脂肪堆积的影响及其抗氧化活性[J]. 饲料工业, 2024, 45(18): 100-105.
- [19] 李强, 李亚婷, 徐华健, 等. 姜黄联合山楂对 C57 肥胖小鼠的减肥作用及机制研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 310-317.
- [20] 裴帅, 曹宁宁, 李晓璇, 等. 中药干预高脂血症相关信号通路的研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(1): 177-185.
- [21] 宓伟, 于敏, 李宁, 等. 基于 AMPK/SREBP-1c 分子通路的山楂原花青素调控脂质代谢机制[J]. 食品科学, 2023, 44(15): 129-136.
- [22] 王玲, 吴军林, 吴清平, 等. 山楂降血脂作用和机理研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(15): 245-248.
- [23] 罗绍驹, 吴佳铭, 张旭涛, 等. 大山楂丸与复方消化酶对促进肠胃消化功能的比较研究[J]. 光明中医, 2015, 30(12): 2552-2554.

(收稿日期: 2025-05-17; 修回日期: 2025-08-08)

柴胡提取物通过抑制细胞焦亡执行蛋白 Gasdermin D 依赖的细胞焦亡减轻非酒精性脂肪性肝炎的作用研究

马田, 杨婷, 蔡淳洲, 牛泽晨, 崔东晓* (陕西中医药大学 陕西省中医药管理局中药配伍重点研究室, 陕西 咸阳 712046)

摘要: **目的** 探讨柴胡水提物对蛋氨酸-胆碱缺乏 (MCD) 饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎 (NASH) 小鼠的保护作用及其分子机制。**方法** 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组和柴胡干预组。柴胡干预组每日灌胃柴胡水提物 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 对照组和模型组给予等体积生理盐水。实验结束后, 试剂盒检测血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平; 通过苏木精-伊红 (HE) 染色法评估肝脏组织病理学变化; 通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测肝脏纤维化及炎症小体激活相关基因的表达; 蛋白免疫印迹 (Western blot) 实验检测细胞焦亡执行蛋白 Gasdermin D (GSDMD) 的剪切和激活。**结果** 与模型组相比, 柴胡干预可显著降低血清 ALT 和 AST 水平, 升高 HDL-C 水平; HE 染色结果显示柴胡改善肝脏脂肪沉积、炎性细胞浸润及纤维化程度。RT-qPCR 结果显示, 柴胡干预后下调了转化生长因子- β ($TGF-\beta$) 的 mRNA 表达, 同时炎症小体 AIM2、NLRP3 及趋化因子配体 5 ($CCL5$)、白细胞介素- 1β ($IL-1\beta$) 的 mRNA 表达也显著降低。Western blot 结果显示模型组小鼠肝脏中焦亡执行蛋白 GSDMD 被显著剪切和激活, 柴胡干预后抑制了 GSDMD 的剪切和激活。**结论** 柴胡水提物能够缓解 NASH 相关的肝损伤及纤维化, 其机制可能与抑制 NLRP3/GSDMD 介导的细胞焦亡有关。

关键词: 非酒精性脂肪性肝炎; 柴胡; Gasdermin D; 焦亡; 炎症

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2898-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.014

Effect of Bupleurum root extract on alleviating non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting Gasdermin D-dependent pyroptosis

MA Tian, YANG Ting, CAI Chun-zhou, NIU Ze-chen, CUI Dong-xiao* (*Key Laboratory of TCM Compatibility, Shaanxi Administration Bureau of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712046*)

Abstract: Objective To determine the protective effect and molecular mechanism of Bupleurum root extract on mouse with non-alcoholic steatohepatitis induced by methionine-choline deficiency diet. **Methods** SPF C57BL/6 mice were randomly divided into three groups: a control group, a model group and a Bupleurum root group. The Bupleurum root group was orally administered Bupleurum root aqueous extract ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) every day, while the control and the model group were given the same volume of normal saline. After the experiment, the levels of serum alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase and high-density lipoprotein cholesterol were detected. The histopathological changes in the liver tissue were evaluated by hematoxylin-eosin staining. The mRNA expression levels of liver fibrosis-related genes and inflammasome activation-related genes were quantified with real-time quantitative polymerase chain reaction. Western blot was used to assess

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划资助项目 (No.2024JC-YBQN-0925)。

作者简介: 马田, 女, email: 1935402973@qq.com * **通信作者:** 崔东晓, 男, 讲师, 主要从事中药抗炎和免疫药理研究, email: 2051143@sntcm.edu.cn

the cleavage and activation of Gasdermin D (GSDMD) protein. **Results** Compared with the model group, Bupleurum root greatly reduced the levels of serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase and increased the level of high-density lipoprotein cholesterol. The hematoxylin-eosin staining showed that Bupleurum root improved the liver fat deposition, inflammatory cell infiltration and the degree of fibrosis. Real-time quantitative polymerase chain reaction showed that Bupleurum root intervention downregulated the mRNA level of transforming growth factor- β , while concurrently reducing the mRNA expressions of inflammasome (*AIM2*, *NLRP3*) and downstream inflammatory factors (*CCL5*, *IL-1 β*). Western blot revealed that the pyroptosis executive protein GSDMD in the model group mice livers underwent significant cleavage and activation, which was effectively suppressed by Bupleurum root. **Conclusion** The aqueous extract of Bupleurum root alleviates non-alcoholic steatohepatitis-related liver injury and fibrosis, potentially through the inhibition of NLRP3/GSDMD-mediated pyroptosis.

Key words: non-alcoholic steatohepatitis; Bupleurum root; Gasdermin D; pyroptosis; inflammation

非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 又称代谢性脂肪性肝炎, 是非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的进一步进展, 其特征是存在脂质代谢异常、肝脂肪变性、炎症和纤维化, 可进一步发展为肝硬化, 甚至肝细胞癌^[1-3]。目前仅有一款针对 NASH 的药物 Rezdiffra (Resmetirom) 获批, 用于治疗患有中晚期肝纤维化的非肝硬化性 NASH 成人患者^[4]。因此, 针对 NASH 的发病机制及其治疗药物的研究仍是肝病领域内研究热点之一。中药柴胡为伞形科植物柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 或狭叶柴胡 (*Bupleurum scorzoneriifolium* Willd.) 的干燥根, 其性味辛、苦, 微寒, 归肝、胆、肺经, 具有疏肝解郁、升举阳气、和解表里之功效。现代药理学研究表明, 柴胡及其有效成分对 NASH 具有显著治疗作用, 可改善肝脏脂肪变性、减轻炎症反应并抑制纤维化进程^[5-6], 其作用机制包括调节脂质代谢、抗氧化应激、调控炎症信号通路等^[7-9]。

NLRP3 是一种关键的模式识别受体, 可识别高脂饮食、代谢应激等多种异常信号, 进而组装成炎症小体并激活。活化的 NLRP3 可进一步激活 Caspase-1, 后者通过剪切白细胞介素 (IL)-1 β 和 IL-18 的前体, 促进 IL-1 β 和 IL-18 的成熟及分泌, 进而触发炎症级联反应^[10]。此外, 活化的 Caspase-1 可剪切焦亡执行蛋白 Gasdermin D (GSDMD), 产生具有活性的 GSDMD 的氨基端片段 (GSDMD-N), 该片段可在细胞膜上寡聚并形成孔道, 诱导细胞焦亡^[11-12], 从而加剧肝脏炎症反应和组织损伤。然而, 柴胡治疗 NASH 的作用是否与 NLRP3/GSDMD 通路有关仍不清楚。

基于此, 本研究旨在探讨柴胡是否能够通过调控 NLRP3/GSDMD 信号通路, 抑制炎症小体的过度活化, 减少细胞焦亡及炎症因子的释放, 从而缓解 NASH 的病理进程。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 36 只, 6~8 周龄 [成都达硕实验动物有限公司, 实验动物生产许可证号 SXCK (川) 2020-0030]。分笼饲养于相对湿度 40%~60%, 室温 22~25℃, 明暗 12 h 的动物实验室内, 自由饮水进食。本研究所有动物实验均经陕西中医药大学动物伦理委员会批准 (批件号: SUCMDL20240304010), 实验过程中遵循 3R 原则。

1.2 试剂

普通饲料、蛋氨酸-胆碱补充 (MCS) 饲料、蛋氨酸-胆碱缺乏 (MCD) 饲料 (成都达硕实验动物有限公司); 柴胡药材 (陕西兴盛德药业有限公司)。柴胡提取液为实验室自制 (取柴胡粉末 30 g 加入 10 倍体积水加热回流提取 1.5 h, 过滤, 残渣继续加入 10 倍体积水回流提取 1.5 h, 两次的滤液合并, 浓缩冷冻干燥, 冻干粉与生药量的比值约为 1:5)。谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 及高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所有限公司)。实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成, 引物序列见表 1。RT-qPCR 试剂盒 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司), 兔抗 GSDMD 单克隆抗体、小鼠抗 GAPDH 单克隆抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司), 山羊抗兔 IgG 与山羊抗小鼠 IgG (武汉博士德生物工程有限公司)。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Tab 1 Primer sequences of RT-qPCR

基因	上游序列	下游序列
<i>TGF-β</i>	5'-GGACCGCAACAACGCCATC-3'	5'-CACTGCTTCCCGAATGTCTGAC-3'
<i>COL1A1</i>	5'-AGGCGAACAAGGTGACAGAGG-3'	5'-GGAGAACCAGGAGAACCAGGAG-3'
<i>CCL-5</i>	5'-TGCTGCTTTGCCTACCTCTCC-3'	5'-TGGCGGTTCTTCGAGTGAC-3'
<i>IL-1β</i>	5'-TCGCAGCAGCACATCAACAAG-3'	5'-TCCACGGGAAAGACACAGGTAG-3'
<i>AIM2</i>	5'-GAAAAGTGTCTGTGCTGCTCTG-3'	5'-GCTTCCTGTCTGCCACCATC-3'
<i>NLRP3</i>	5'-TGAGGAGTGTGATCTGCGGAAG-3'	5'-CATGTGGCTGAAGCTGTAGAATCTC-3'
<i>β-actin</i>	5'-TATGCTCTCCCTCACGCCATCC-3'	5'-GTCACGCACGATTTCCTCTCAG-3'

2 方法

2.1 NASH 模型制备及分组

将实验小鼠随机分为 3 组：对照组（10 只）、模型组（16 只，分别在 30 d、45 d 各处死 3 只，用于模型评价）、柴胡干预组（10 只），所有小鼠先以普通饲料适应性喂养一周。对照组持续以 MCS 饲料饲喂 45 d，第 11 日开始给予生理盐水（持续 35 d）；模型组和柴胡干预组均以 MCD 饲料持续喂养 45 d，第 11 日开始给予生理盐水（持续 35 d）或 200 mg · kg⁻¹ 的柴胡提取物（生理盐水复溶）。

2.2 血清生化指标检测

药物干预完成后，各组小鼠禁食不禁水 12 h，记录体重，小鼠使用异氟烷麻醉后取血，全血室温静置 30 min 后，4℃、3000 r · min⁻¹ 离心 15 min，取上层血清，分别按照试剂盒说明测定小鼠血清中 ALT、AST、HDL-C 水平。

2.3 肝脏组织病理学检测

药物干预完成后，异氟烷麻醉处死小鼠，取肝脏样本，称量后计算肝脏指数。取部分肝脏组织样本，经 4% 多聚甲醛固定 24 h 后进行石蜡包埋，采用轮转式切片机制备 3 ~ 5 μm 厚切片，贴附于 Poly-Lysine 防脱载玻片上并于 60℃ 烘箱中烘烤 60 min。随后依次经二甲苯脱蜡，100%、95%、85%、75% 梯度乙醇各 5 min 水化后，苏木精染色 6 min，1% 盐酸乙醇分化 5 ~ 10 s，0.5% 稀氨水返蓝 30 s，0.5% 伊红染液复染 8 min，再经梯度乙醇脱水、二甲苯透明各 5 min，最后用中性树胶封片，在光学显微镜下观察肝脏组织病理变化（包括脂肪变性、炎症浸润及纤维化程度）并采集图像分析。

2.4 RT-qPCR 检测基因的表达

使用 RNA 提取试剂盒提取肝脏组织总 RNA，测浓度后按逆转录试剂盒说明书进行 RNA 逆转录合成 cDNA，按照说明书采用实时荧光定量 PCR 仪检测转化生长因子-β (*TGF-β*)、I 型胶原蛋白 α1 (*COL1A1*)、趋化因子配体 5 (*CCL-5*)、白细

胞介素-1β (*IL-1β*) 及炎症小体 *AIM2*、*NLRP3* 基因的 mRNA 水平表达，以 *β-actin* 作为内参基因。

2.5 蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测蛋白的表达

取 -80℃ 冻存的小鼠肝脏组织，称重后以预冷磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗，按质量体积比 1 : 10 加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液，冰上匀浆后，4℃、12 000 g 离心 15 min 获取上清液。采用 BCA 法测定蛋白浓度，以牛血清白蛋白 (BSA) 标准曲线校准并调整样品至等浓度，按 4 : 1 比例加入含 β-巯基乙醇的 5×SDS 上样缓冲液，100℃ 煮沸 10 min 使蛋白变性。取等量蛋白进行 10% SDS-PAGE 电泳 (浓缩胶 80 V，分离胶 120 V)，切取目标条带区域凝胶，110 V 恒压湿转 90 min 转膜后，以 5% 脱脂奶粉-TBST 室温封闭 2 h，随后分别加入兔抗 GSDMD 单克隆抗体 (1 : 1000) 与小鼠抗 GAPDH 单克隆抗体 (1 : 5000) 于 4℃ 孵育过夜，TBST 洗涤 3 次后分别加入 HRP 标记山羊抗兔 IgG (1 : 5000) 与山羊抗小鼠 IgG (1 : 5000) 室温孵育 1 h。经 TBST 洗涤后，ECL 化学发光试剂显影，化学发光成像系统采集信号。

2.6 统计学分析

实验数据采用 GraphPad Prism 8.0 进行统计分析，所有数据以平均值 ± 标准差 (Mean ± SD) 表示。采用 Shapiro-Wilk 对数据进行正态性检验，采用 Bartlett 检验验证组间方差齐性。符合正态分布且方差齐的数据，采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行组间差异分析，采用 Tukey's 事后检验进行组间两两比较。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 MCD 诱导的 NASH 模型的建立

在给予 MCD 饲料 10 d 后，给予柴胡提取液进行干预。与对照组比，模型组从第 5 日开始体重降低 (见图 1A)，这是由于 MCD 饲料缺乏蛋

氨酸胆碱, 会导致小鼠肝脏脂肪变性和炎症, 从而导致肝功能异常, 影响营养物质的代谢和吸收, 最终导致体重减轻。如图 1 所示, 给予 MCD 饲料 45 d 后肝脏指数显著增加, ALT 和 AST 水平也显著升高, HDL-C 水平显著降低, 以上结果表明 NASH 模型建立成功。

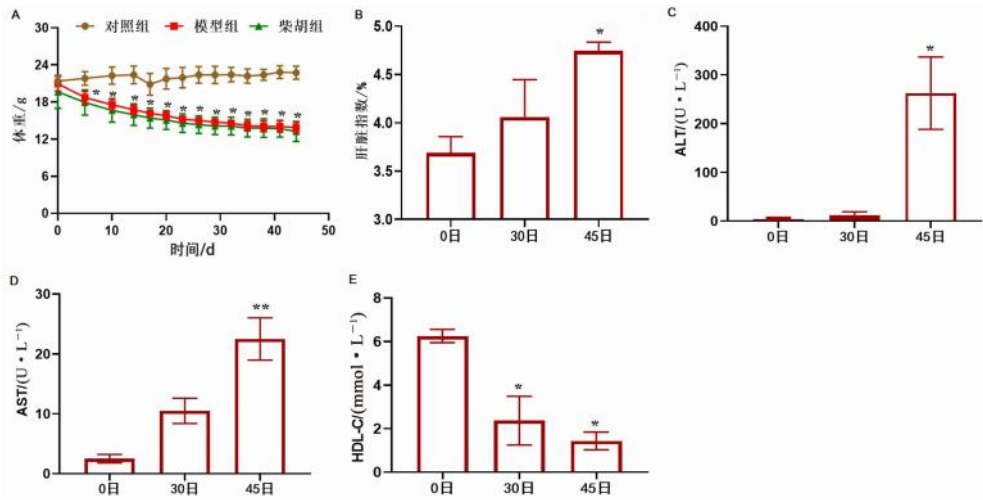


图 1 MCD 诱导的 NASH 小鼠模型的评价

Fig 1 Evaluation of the MCD-induced NASH model mice

注 (Note): 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

3.2 柴胡干预对 MCD 诱导小鼠肝脏指数及血清指标的影响

如图 2 所示, 与模型组比较, 柴胡干预后, 小鼠的肝脏指数显著降低 (见图 2A), ALT 和

AST 水平显著下降 (见图 2B, 2C), HDL-C 水平显著升高 (见图 2D), 证明柴胡对 NASH 小鼠的肝脏损伤具有显著保护作用。

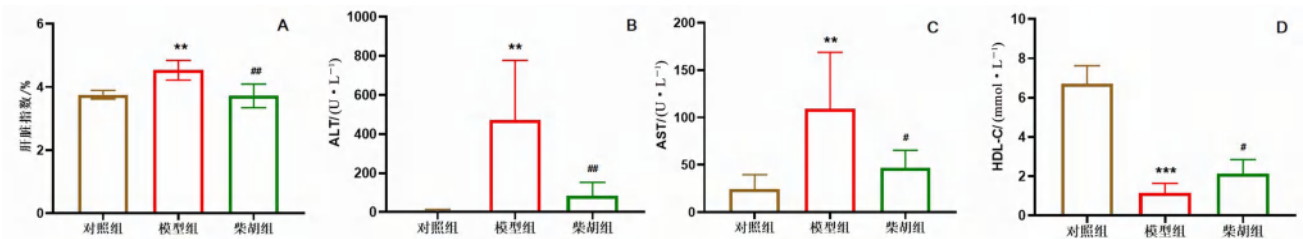


图 2 柴胡对 MCD 诱导小鼠肝脏损伤相关指标的作用

Fig 2 Effect of Bupleurum root on the liver injury indicators induced by MCD in mice

注 (Note): 与对照组比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ (Compared with the control group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$).

3.3 HE 染色观察肝脏组织

如图 3 所示, 模型组小鼠的肝脏组织中出现大量的空泡状脂肪变性 (黄色箭头所示)、小叶炎症 (红色箭头所示)、气球样变 (蓝色箭头所示),

证明 MCD 饲料诱导了小鼠的肝脏脂肪变性和炎症, 而柴胡干预后小鼠的脂肪变性和炎症得到显著缓解, 进一步表明柴胡对 NASH 模型小鼠的肝脏损伤具有显著保护作用。

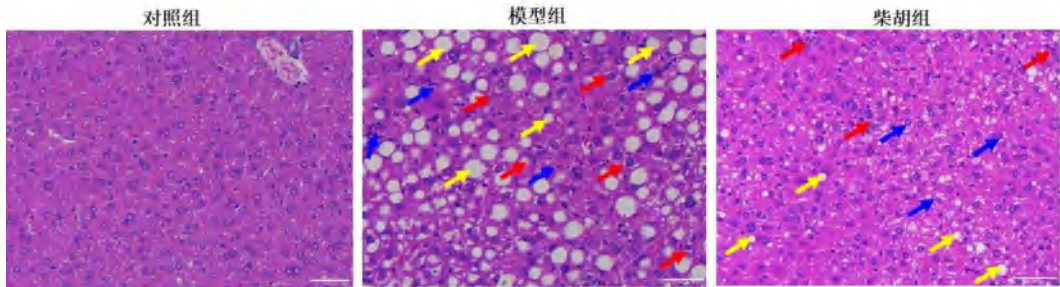


图 3 柴胡对 NASH 模型小鼠肝脏的影响 (标尺 = 100 μm)

Fig 3 Effect of Bupleurum root on liver of NASH model mice (scale bar = 100 μm)

3.4 柴胡干预对纤维化及炎症相关基因表达的影响

为了进一步研究柴胡减轻 NASH 的作用机制,检测了纤维化相关基因的 mRNA 的表达,结果如图 4 所示,模型组小鼠 *TGF-β* 和 *COL1A1* 的 mRNA 的表达显著升高,柴胡干预后纤维化相关基因 *TGF-β*

的表达显著降低。此外,还检测了炎症相关因子的 mRNA 的表达,结果显示 *CCL5* 和 *IL-1β* 的 mRNA 水平在模型组中显著升高,在柴胡干预后显著降低。以上结果表明柴胡可以通过抑制炎症及纤维化相关基因表达,发挥减轻 NASH 的作用。

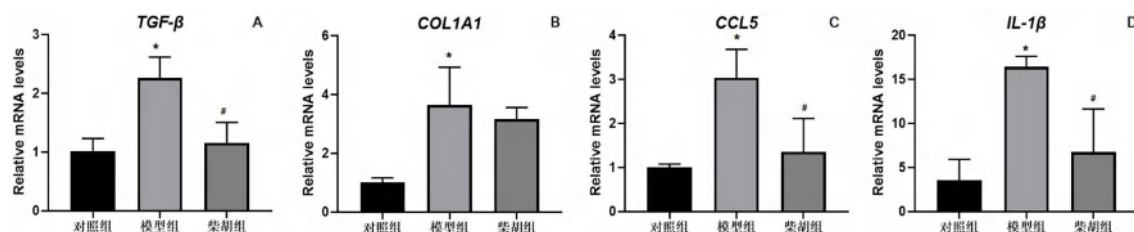


图 4 柴胡对炎症及纤维化相关基因表达的影响

Fig 4 Effect of Bupleurum root on the expression of inflammatory and fibrosis-related genes

注 (Note): 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ (Compared with the control group, * $P < 0.05$; compared with the model group, # $P < 0.05$).

3.5 柴胡干预对炎症小体及 GSDMD 激活的影响

鉴于炎症小体 NLRP3 和焦亡蛋白 GSDMD 在 *IL-1β* 激活中的重要作用,进一步检测了炎症小体相关基因的表达以及 GSDMD 焦亡蛋白的激活情况,结果显示 NASH 模型小鼠中炎症小体 *AIM2* 和 *NLRP3* 的 mRNA 表达水平显著升高,而柴胡干预后显著降低了炎症小体相关 mRNA 的表达 (见图 5A, 5B)。进一步通过 Western blot 检测了 GSDMD 的剪切和激活情况, GSDMD 的剪切和激活会促进 *IL-1β* 从细胞内的释放,如图 5C 所示,对照组小鼠

的肝脏中仅检测出 GSDMD 全长 (FL) 蛋白且表达量较低,而模型组小鼠肝脏中 GSDMD 蛋白表达量升高且可检测到氮端的结构域 (NTD),表明模型组小鼠肝脏中发生了 GSDMD 的剪切与激活,产生了氮端的剪切片段 (见图 5D); 而柴胡干预后显著抑制了 MCD 诱导的 GSDMD 的剪切和激活 (可检测到的 NTD 的表达量减少)。以上结果表明,柴胡通过抑制炎症小体和 GSDMD 焦亡蛋白激活,抑制炎症反应,从而减轻 NASH 模型小鼠的肝脏损伤。

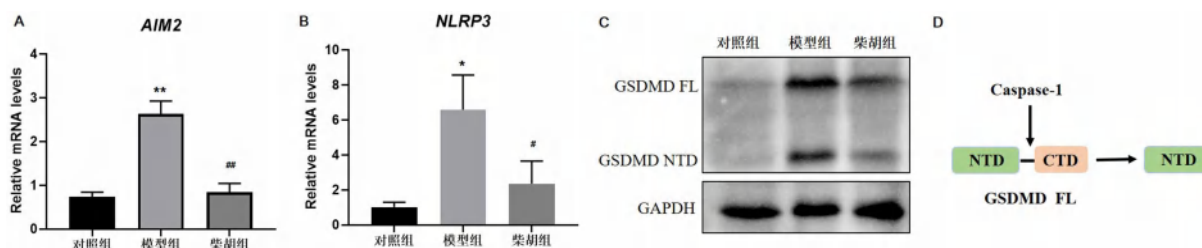


图 5 柴胡对炎性小体和 GSDMD 激活的影响

Fig 5 Effect of Bupleurum root on the activation of inflammasomes and GSDMD

注 (Note): 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ (Compared with the control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with the model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$).

4 讨论与结论

关于 NASH 的病理机制及潜在治疗药物的研究一直是肝病领域的研究重点,并已取得重要进展^[13]。中药柴胡已被证明能够有效改善 NASH 的肝脂肪变性,抑制炎症反应,延缓 NAFLD 疾病进程。MCD 饮食通过诱导肝脏脂质代谢紊乱和氧化应激,模拟了人类 NASH 的脂肪沉积、炎症及纤维化等核心病理特征,是一种经典的 NASH 模型构建方法^[14]。本研究通过肝脏指数和血清生化指标检测与评价,确认了 MCD 诱导的 NASH 模型的成功建立。通过评价柴胡对 MCD 饮食诱导

的 NASH 模型小鼠肝脏损伤的作用,发现柴胡干预后小鼠血清 ALT、AST 水平显著降低, HDL-C 水平升高,肝脏组织学显示脂肪空泡减少、炎症细胞浸润减轻,表明柴胡可通过抑制脂质沉积和减轻炎症反应来延缓 NASH 进展。

NLRP3 炎症小体信号在代谢性疾病的发生发展中起着重要作用,有望成为此类疾病治疗的重要靶点^[15-16]。本研究发现,柴胡可通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活及下游 GSDMD 依赖的细胞焦亡发挥抗 NASH 作用。MCD 饮食激活 NLRP3 炎症小体,触发 GSDMD 剪切和细胞焦亡,进而导致细胞膜破

裂和 IL-1 β 等促炎因子大量释放, 进一步招募免疫细胞加剧炎症。焦亡是程序性炎症细胞死亡, 过度激活的细胞焦亡可能加重炎症反应, 诱导细胞或组织损伤^[17-18]。近年来, 焦亡在 NASH 进展中的机制和功能, 以及潜在的治疗靶点, 已受到越来越多的关注^[19]。最近的研究表明, 抑制肝细胞焦亡可有效减少肝脏脂肪沉积, 改善肝脏炎症^[20]。而柴胡显著下调 NLRP3 及 IL-1 β 的 mRNA 表达, 并抑制 GSDMD 的剪切, 表明其可通过阻断该通路, 可能直接抑制肝细胞焦亡或间接调控肝脏中免疫细胞的活化。未来可利用肝细胞特异性 *NLRP3/GSDMD* 基因敲除模型, 明确柴胡作用的靶细胞类型。

本研究揭示了柴胡通过抑制 GSDMD 依赖的细胞焦亡从而缓解 NASH 的新机制, 为中药治疗代谢性肝病提供了实验依据。柴胡的主要活性成分柴胡皂苷 A 和 D 已被证明可显著改善饮食诱导的肝脏代谢性疾病^[21-23], 因此仍需明确柴胡治疗 NASH 的主要活性成分是否直接作用于 NLRP3 或 GSDMD, 以及是否通过调控其他焦亡相关蛋白 (如 GSDME) 发挥作用。此外, 未来研究可结合单细胞测序技术解析柴胡对肝细胞、肝星状细胞、巨噬细胞的调控差异。在临床转化方面, 可进一步利用肝脏类器官模型或患者活检组织验证 GSDMD 依赖的焦亡在 NASH 中的重要作用以及柴胡对 GSDMD 的调控作用, 并可进一步探索柴胡及其主要活性成分与现有抗 NASH 药物的联合治疗策略。

参考文献

- [1] Huang DQ, Singal AG, Kono Y, et al. Changing global epidemiology of liver cancer from 2010 to 2019: NASH is the fastest growing cause of liver cancer [J]. *Cell Metab*, 2022, 34 (7): 969-977.
- [2] Raza S, Rajak S, Upadhyay A, et al. Current treatment paradigms and emerging therapies for NAFLD/NASH [J]. *Front Biosci*, 2021, 26: 206.
- [3] Wang XC, He QF, Zhou CL, et al. Prolonged hypernutrition impairs TREM2-dependent efferocytosis to license chronic liver inflammation and NASH development [J]. *Immunity*, 2023, 56 (1): 58-77.
- [4] 夏训明. 美国 FDA 批准 Rezdiffra (resmetirom) 用于治疗因非肝硬化非酒精性脂肪性肝炎引起的肝纤维化 [J]. *广东药科大学学报*, 2024, 40 (2): 31.
- [5] Wang WY, Qin JX, Bai SD, et al. Integrative transcriptomics and lipidomics unravels the amelioration effects of Radix Bupleuri on non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 338: 119005.
- [6] 余松, 何杰, 吴叶清, 等. 柴胡桂枝干姜汤治疗胆热脾寒型非酒精性脂肪性肝炎的临床观察 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2023, 33 (6): 509-511.
- [7] 李源, 姚硕, 段超, 等. 柴胡桂枝干姜汤通过 RIP1/RIP3/MLKL 通路抑制坏死性凋亡改善大鼠非酒精性脂肪肝 [J]. *广州中医药大学学报*, 2024, 41 (4): 988-994.
- [8] 祝亚梅, 史艳, 蔡燕子, 等. 基于系统药理学的柴胡防治非酒精性脂肪肝作用机制研究 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2024, 59 (4): 19-28.
- [9] 蒋智锐, 李彪平, 张靖怡, 等. 基于斑马鱼模型和网络药理学研究小柴胡汤治疗非酒精性脂肪肝的作用及潜在机制 [J]. *中国现代应用药学*, 2024, 41 (23): 3285-3295.
- [10] Shi JJ, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death [J]. *Nature*, 2015, 526 (7575): 660-665.
- [11] Wang K, Sun QI, Zhong X, et al. Structural mechanism for GSDMD targeting by autoprocessed caspases in pyroptosis [J]. *Cell*, 2020, 180 (5): 941-955.
- [12] Wang C, Yang T, Xiao JQ, et al. NLRP3 inflammasome activation triggers gasdermin D-independent inflammation [J]. *Sci Immunol*, 2021, 6 (64): eabj3859.
- [13] Wei SL, Wang L, Evans PC, et al. NAFLD and NASH: etiology, targets and emerging therapies [J]. *Drug Discov Today*, 2024, 29 (3): 103910.
- [14] 华晓萍, 刘亚欧, 张媛, 等. 蛋氨酸胆碱缺乏饲料联合肝损伤药物诱导小鼠非酒精性脂肪性肝病模型研究 [J/OL]. *中药药理与临床*, 1-19. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyy1.20250318.005>.
- [15] Hu HM, Wang SW, Chen C. Pathophysiological role and potential drug target of NLRP3 inflammasome in the metabolic disorders [J]. *Cell Signal*, 2024, 122: 111320.
- [16] Ramos-Tovar E, Muriel P. NLRP3 inflammasome in hepatic diseases: a pharmacological target [J]. *Biochem Pharmacol*, 2023, 217: 115861.
- [17] Rao ZP, Zhu YT, Yang P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. *Theranostics*, 2022, 12 (9): 4310.
- [18] Yu P, Zhang X, Liu N, et al. Pyroptosis: mechanisms and diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6 (1): 128.
- [19] Li RX, Xue WY, Wei HT, et al. Research progress of pyroptosis in fatty liver disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (17): 13065.
- [20] Li SJ, Liu AB, Yu YY, et al. The role and mechanism of pyroptosis and potential therapeutic targets in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1407738.
- [21] Li XJ, Ge JD, Li YJ, et al. Integrative lipidomic and transcriptomic study unravels the therapeutic effects of saikosaponins A and D on non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11 (11): 3527-3541.
- [22] 顾雪香, 李祥玉, 单勤星. 柴胡皂苷 a 通过影响 PPAR α 信号通路对非酒精性脂肪性肝病大鼠肝脂肪变的保护作用 [J]. *实用肝脏病杂志*, 2021, 24 (6): 807-810.
- [23] 喻晓凡, 惠登城, 孙明瑜. 柴胡皂苷 D 调控 AMPK 和 NF- κ B 通路改善 NAFLD 的机制研究 [J]. *时珍国医国药*, 2025, 36 (1): 25-33.

(收稿日期: 2025-06-12; 修回日期: 2025-08-10)

乌帕替尼缓释片的制备及其体外释放研究

周文俊^{1, 2}, 刘肖肖², 程晓佳², 叶田田¹, 王淑君^{1*} (1. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016; 2. 南京华威医药科技集团有限公司, 南京 210033)

摘要: **目的** 研究 15 mg 规格乌帕替尼缓释片制剂工艺中制粒处方组成占总处方的比例。**方法** 经调整制粒的处方中填充剂和黏合剂用量, 分别考察了制粒组成占总处方的 24%、32%、40% 等三个比例的梯度研究, 比对最终成品的体外溶出行为。**结果** 得到三种不同的颗粒占比的制剂样品, 与市售参比制剂 RINVOQ 对比, 体外溶出曲线 (参考美国溶出数据库所示溶出方法及其审评报告中所提到的具体参数) 在 1、4、16 h 的累积溶出度符合相关要求, 且 f_2 相似因子均不低于 50, 判定溶出行为相似。**结论** 三种颗粒占比的工艺可根据不同的产线特点进行选择匹配, 对最终成品的相似性不造成显著影响。

关键词: 乌帕替尼; 缓释片; 制剂工艺; 颗粒占比; 释放曲线

中图分类号: R943.4, R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2904-05
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.015

Preparation and in vitro release of upadacitinib sustained-release tablets

ZHOU Wen-jun^{1, 2}, LIU Xiao-xiao², CHENG Xiao-jia², YE Tian-tian¹, WANG Shu-jun^{1*} (1. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016; 2. Nanjing Huawei Pharmaceutical Technology Group Co., Ltd., Nanjing 210033)

Abstract: Objective To determine the proportion of granulation compositions in the total formulation of 15 mg upadacitinib sustained-release tablets. **Methods** By adjusting the amounts of fillers and binders in the granulation formulation, a gradient study was conducted with three proportions of granulation compositions accounting for 24%, 32%, and 40% of the total formulation. The in vitro dissolution behavior of the final products was compared. **Results** Three formulation samples with different granulation proportions were obtained. In comparison to the commercially available reference preparation RINVOQ, the in vitro dissolution profiles (with dissolution method in the Food and Drug Administration dissolution database and the parameters specified in its review report) showed that the cumulative dissolution at 1 h, 4 h, and 16 h met the required specifications. The f_2 similarity factor was no less than 50, indicating similar dissolution behaviors. **Conclusion** The three formulations with different granulation proportions can be selectively matched according to the characteristics of various production lines, not affecting the similarity of the final product.

Key words: upadacitinib; sustained-release tablet; formulation process; granulation proportion; release curve

乌帕替尼是一种新生代的 JAK1 类抑制剂, 可通过抑制炎症病发时期的特征性生物活性酶 (JAK 酶), 从而达到延缓克罗恩病、特应性皮炎、溃疡性结肠炎和类风湿关节炎等炎症病痛的效果, 是治疗银屑病关节炎的首个在中国获批的靶向药物^[1-2]。银屑病关节炎是一种由自身免疫

功能紊乱和环境等因素诱发的银屑病皮疹并伴有关节和周围软组织疼痛、僵硬和运动障碍的病症, 严重可引发骶髂关节炎和 / 或强直性脊柱炎等^[3]。

根据阿根廷药监局披露的艾伯维公司乌帕替尼缓释片 (瑞福 Rinvoq) 药学评估报告信息, 获知乌帕替尼缓释片已被批准的处方组成信息如下:

作者简介: 周文俊, 男, 化工工程师, 主要从事制剂开发及生产放大研究, email: huangmaoaxx@163.com * 通信作者: 王淑君, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事药物新剂型和生物药剂学的研究, email: wangshujun@syphu.edu.cn

每个缓释包衣片剂含有乌帕替尼 15 mg (相当于乌帕替尼半水合物 15.4 mg); 辅料包含微晶纤维素 162.4 mg, 2208 型 HPMC 96 mg, 甘露醇 100.6 mg, 酒石酸 96 mg, 无水胶态二氧化硅 2.4 mg 和硬脂酸镁 7.2 mg; 包衣层含有聚乙烯醇 6.53 mg、3350 型聚乙二醇 3.30 mg; 滑石粉 2.42 mg, 二氧化钛 1.92 mg, 黑色氧化铁 0.16 mg 和红色氧化铁 0.08 mg^[4]。

根据日本厚生劳动省独立行政法人医药品医疗器械综合机构 (PMDA) 公布的药品审评 IF 文件^[5] (Interview form, 审核详细信息) 信息, 已获批上市的乌帕替尼缓释片的剂型外观及规格分布为四种规格, 片芯均为 480 mg, 包衣后重量均约为 0.5 g。不同规格之间虽然总片重基本一致, 但所含乌帕替尼占比存在差异, 最小约 1.5%, 最大为 9%, 常用剂量 15 mg 规格的乌帕替尼占比仅 3%。低剂量规格的品种在处方设计时应优先考虑, 使其主成分与辅料在颗粒大小、流动性等物理属性方面表现相当^[6]。根据《中国药典》2020 年版四部通则 0941 含量均匀度检查法的指导意见, 本品主成分乌帕替尼占比小于 25%, 认为其在混合步骤存在相对较大风险, 从而影响最终成品含量的准确性和用药安全性^[7]。根据原研处方信息, 本品使用的亲水性功能性骨架材料为羟丙甲纤维素 (HPMC) 2208 型, 基于 HPMC 的水溶特性, 遇水后黏性迅速上升, HPMC 作为乌帕替尼缓释片的唯一黏合剂, 在处方设计思路中, HPMC 在制粒处方中的用量成了难点^[8]。

考虑到本品存在混合工艺风险, 根据质量源于设计 (quality by design, QbD) 的质控理念, 工艺设计应遵循全生产周期可控的原则, 因此本研究通过设计 3 个不同的制粒处方 (颗粒占比 24%、32% 和 40%) 用于乌帕替尼缓释片颗粒的制备, 研究不同颗粒占比对于缓释片整体质量的影响, 尤其是对体外释放行为的影响, 从而提高混合效果及后续放大后的产线匹配性。

1 仪器与试药

1.1 仪器

ME3002TE102 电子天平、Labcoating III 多功能制粒包衣机、P100 粉碎整粒机 (深圳市信宜特科技有限公司); WBF-1G 实验型流化床 (重庆英格造粒包衣技术有限公司); ZP8&ZPS8 旋转压片机 (天祥健台制药机械有限公司); E2695 高效液相色谱仪 [沃特世科技 (上海) 有限公司]; HY-100/HYL-105 粉体学密度测试仪 (丹东市皓宇科技有限公司); BZS-200 筛分机 (河南人从众机械

制造有限公司); FADT-1200RC 自动溶出仪 (上海富科思分析仪器有限公司)。

1.2 试药

乌帕替尼缓释片 (商品名: Rinvoq, 批号: 1178503, bbVie Deutschland GmbH & Co. KG), 乌帕替尼半水合物 (C 晶型)、乌帕替尼对照品 (纯度: 97.4%)、杂质 D 对照品 (纯度: 95.2%)、杂质 E 对照品 (纯度: 98.7%) (天地恒一制药股份有限公司); 微晶纤维素 (PH102 型, 安徽山河药用辅料股份有限公司); 羟丙甲纤维素 (HPMC) (K4M CR 型, JRS Pharma GmbH & Co. KG); 甘露醇 (100SD 型, Merck KGaA); DL- 酒石酸 (DL 型, 湖南华纳大药厂手性药物有限公司), 胶态二氧化硅 (JRS Pharma LP); 硬脂酸镁 (MS-8 型, 山东聊城阿华制药股份有限公司); 欧巴代薄膜包衣预混剂 (胃溶型) (85F100091 型, 上海卡乐康包衣技术有限公司); 二水合磷酸二氢钠、乙酸铵和盐酸均为分析纯; 乙腈、甲醇为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 片剂的制备

采用原料药 (乌帕替尼半水合物)、不同量的微晶纤维素和羟丙甲纤维素进行干混合, 湿法制粒, 剩余骨架材料、填充剂、局部 pH 调节剂、助流剂及润滑剂等直接外加后总混 (见表 1), 压片, 并完成包衣。

表 1 制粒占比考察的处方对比表					
Tab 1 Prescriptions for granulation proportion investigation					
组成部分	成分	作用	单片用量 /mg		
			处方 1	处方 2	处方 3
制粒	原料药	活性成分	15.40	15.40	15.40
	微晶纤维素	填充剂	96.00	125.03	162.40
	HPMC	黏合剂 / 骨架剂	4.90	11.00	16.00
	纯化水	黏合剂	30.00	39.00	47.00
	微晶纤维素	填充剂	66.40	37.37	0
	HPMC	骨架剂	91.10	85.00	80.00
	甘露醇	填充剂	100.60	100.60	100.60
	DL- 酒石酸	pH 调节剂	960.00	960.00	960.00
	胶态二氧化硅	助流剂	2.40	2.40	2.40
	硬脂酸镁	润滑剂	7.20	7.20	7.20
包衣层	欧巴代薄膜包衣预混剂 (胃溶型)	包衣材料	19.20	19.20	19.20
	纯化水	包衣液溶剂	108.80	108.80	108.80

2.1.1 乌帕替尼缓释片颗粒的制备 基于原料药良好的溶解性, 参考 PMDA 审评材料中的 IF 文件信息, 本研究采用湿法制粒工艺, 将原料药与填充剂高效混合。为增强颗粒黏结性, 添加适量 HPMC 作为黏合剂, 在纯化水作用下进行高速剪切制粒。本研究以颗粒占比为考察对象, 对

比分析了三种不同处方的颗粒制剂（见表 1）。具体工艺如下：将原料药、微晶纤维素和 HPMC 按处方比例投入湿法制粒机，设置搅拌速度 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、切割速度 $2000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，干混合 $3\sim 5\text{ min}$ 后泵入纯化水，制备成质地均一的软材。软材经整粒机（ $700\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ）及 $5\text{ mm}\times 5\text{ mm}$ 筛网制得湿颗粒，流化床干燥（进风温度 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ）至水分值 $\leq 4\%$ ，最后通过 $\phi 1.5\text{ mm}$ 筛网获得干颗粒。通过上述工艺步骤，成功制备三种不同颗粒占比的制剂，为后续制剂优化提供基础。

2.1.2 乌帕替尼缓释片总混粉的制备 将干颗粒称重并计算得率后，按处方比例称量外加物料（硬脂酸镁除外），加入混合料斗中以 $20\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 混合 $3\sim 5\text{ min}$ ，经 $\phi 1.5\text{ mm}$ 筛网整粒后继续混合 $5\sim 10\text{ min}$ ，最后加入硬脂酸镁混合 $3\sim 5\text{ min}$ 。所得总混粉收率分别为：处方 1 为 88% ，处方 2 为 93% ，处方 3 为 95% 。

2.1.3 乌帕替尼缓释片素片的制备 将总混粉置于旋转压片机上，使用 $\phi 8\text{ mm}$ 冲头模具压制素片。设定理论片重为 480 mg ，调节片厚使硬度为 $100\sim 130\text{ N}$ 。

2.1.4 乌帕替尼缓释片包衣片的制备 将素片投入包衣机中，使用 15% 包衣液（提前 1 h 配制并持续搅拌）进行包衣。片床温度 $35\sim 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，进风温度 $65\sim 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，泵液速度 $3\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，雾化压力 0.15 MPa 。最终获得包衣增重约 3% 的包衣片。

2.2 乌帕替尼的含量测定

2.2.1 色谱条件 Supelco Ascentis Express C18 色谱柱（ $4.6\text{ mm}\times 100\text{ mm}$ ， $2.7\text{ }\mu\text{m}$ ），以 $0.025\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液 - 甲醇（ $95:5$ ， V/V ）为流动相 A，甲醇为流动相 B，进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ ，流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，柱温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，检测波长 340 nm ，按表 2 程序进行洗脱。

表 2 HPLC 流动相洗脱参数

Tab 2 HPLC mobile phase elution parameters		
时间 /min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	84	16
15	21	79
18	21	79
18.1	84	16
25	84	16

2.2.2 对照品溶液的配制

① 乌帕替尼对照品溶液：精密称取适量乌帕替尼对照品适量，加入 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液配制成 $120\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，备用；② 杂质 D 定位溶液：称取杂质 D 对照品适量，加入 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液配制成 $15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，备用；③ 杂质 E 对照品溶液：称取杂质 E 定位适量，加入 0.01

$\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液配制成 $15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，备用。

2.2.3 供试品溶液与空白辅料溶液的配制

① 供试品溶液：取粉碎后的乌帕替尼缓释片加入含 20 mL 溶剂 [$0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 - 乙腈（ $25:75$ ， V/V ）] 的 50 mL 量瓶中，超声 60 min ，摇匀过滤，精密量取 2 mL ，用 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释至 25 mL ，即得。② 空白辅料溶液：按单片用量称取表 1 中除原料药外的全部辅料，按上述供试品溶液同法配制。

2.2.4 系统适用性 量取 $0.3\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 乌帕替尼溶液 2 mL 置于 25 mL 量瓶中，分别加入杂质 D 及 E 定位溶液 0.4 mL ，用 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释至刻度，摇匀后检测。专属性试验结果显示（见图 1）：空白溶剂与辅料对主成分出峰无干扰；乌帕替尼保留时间为 5.927 min ；相邻杂质与主成分的分离度为 1.8 ；主成分乌帕替尼峰面积占比为 98.21% ；各成分间分离度良好，理论塔板数符合要求。

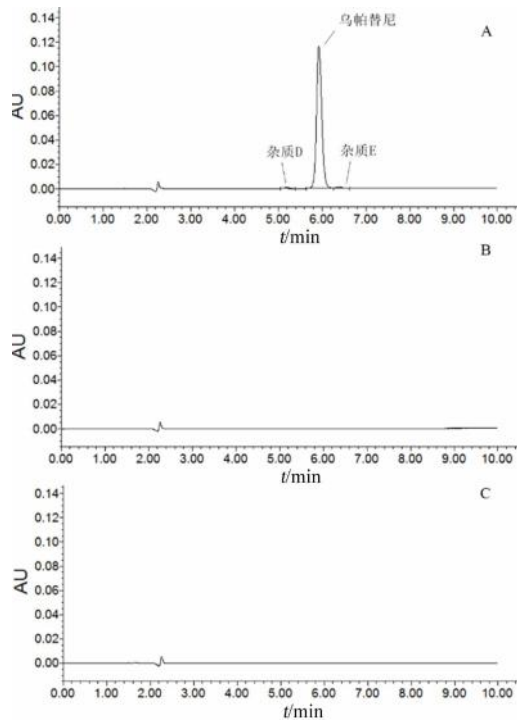


图 1 含量测定专属性试验色谱图

Fig 1 Chromatograms of specificity test

A. 系统适用性溶液（system suitability solution）；B. 空白溶剂（blank solvent）；C. 空白辅料溶液（blank excipient solution）

2.2.5 线性试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量并使用 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液稀释，进样测定，以乌帕替尼溶液质量浓度（ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ）为横坐标（ x ），峰面积为纵坐标（ y ），绘制回归曲线。乌帕替尼的线性方程为 $y = 3.969\times 10^4 x - 2.617\times 10^3$ ，线性范围为 $11.6130\sim 34.8372\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ， $r = 0.9999$ ，表明含量测定方法线性良好。

2.2.6 回收率 取乌帕替尼对照品 300 mg ，加入 0.01

mol · L⁻¹ 盐酸溶液稀释至 20 mL，溶解摇匀，得储备液。分别平行量取 0.8、1.0、1.2 mL 的储备液各 3 份，置于 9 只 50 mL 量瓶中，用 0.01 mol · L⁻¹ 盐酸溶液定容，再分别取 2.0 mL 稀释用 0.01 mol · L⁻¹ 盐酸溶液定容至 25 mL 量瓶，分别制得 80% (19.2 μg · mL⁻¹)、100% (24.0 μg · mL⁻¹) 和 120% (28.8 μg · mL⁻¹) 的回收率溶液 (n = 3)，进样测定。结果显示，低、中、高浓度的乌帕替尼的平均回收率分别为 100.82%、100.25% 和 100.37%，RSD 分别为 0.49%、0.87% 和 0.69%，表明含量检测方法在 80% ~ 120% 目标浓度的回收率良好，稳定性符合要求。

2.2.7 重复性 取乌帕替尼缓释片 (15 mg) 1 片置于 50 mL 量瓶中，用 0.01 mol · L⁻¹ 盐酸溶液 - 乙腈 (25 : 75, V/V) 定容至刻度，平行制备 6 份。精密取 2 mL 后用 0.01 mol · L⁻¹ 盐酸溶液稀释至 25 mL，取样检测。检测结果乌帕替尼均值为 99.5%，RSD 为 0.60%。表明方法重复性良好。

2.3 混合均匀度和中控剂量单位均匀度的测定

参考《口服固体制剂混合均匀度和中控剂量单位均匀度研究技术指导原则 (试行)》^[9] 对总混粉末进行取样检测。鉴于小试研究批量较小，取样点数量减少至 5 点 (按混合料斗的竖直剖面，分四个角落和中心位点进行取样，见图 2)。每点取样约 0.48 g。压片过程中，每 3 min 取样一次，每点取 2 片，按“2.2”项下方法测定。

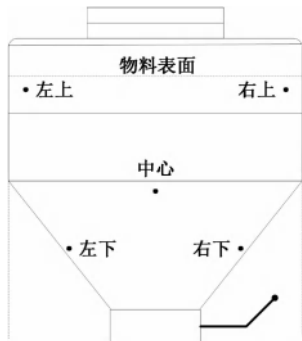


图 2 总混粉末取样示意图

Fig 2 Total mixed powder sampling

在低规格主成分占比的制剂工艺中，优选部分辅料对主成分进行预分散，再外加其他辅料总混后压片包衣，有助于主成分在粉体中的均匀分散，减小批内差异。相比于预分散，将主成分与部分辅料制粒可进一步改善分散效果，避免外加物料混合过程中的二次分离。本研究采用单因素法考察不同颗粒占比 (24%、32%、40%) 对含量均匀度的影响，结果显示三种工艺均能满足含量均匀度的要求。具体结果见表 3 ~ 5，总混颗粒的粒度分布见图 3。

2.4 制粒处方对体外释放行为的影响

参考 2020 年版《中国药典》0931 溶出度与释

表 3 制粒前干混合均匀性结果 (%)

处方	相对百分含量						RSD
	左上	右上	中心	左下	右下	均值	
处方 1	100.2	99.9	99.6	100.3	99.8	100.0	0.3
处方 2	101.0	99.3	100.2	99.9	99.7	100.0	0.6
处方 3	100.4	99.8	100.4	100.0	99.9	100.1	0.3

表 4 不同制粒处方总混颗粒的混合均匀度 (%)

处方	混合均匀度							RSD
	左上	右上	中心	左下	右下	均值	最大值	
处方 1	96.9	98.0	97.5	97.3	98.0	97.5	98.0	0.50
处方 2	97.3	96.5	98.1	98.0	97.2	97.4	98.1	0.70
处方 3	96.8	97.3	96.4	95.9	97.6	96.8	97.6	0.70

注：单值应不超过均值 ± 10%，RSD 应不超过 5.0%。

Note: The single value should not exceed the mean ± 10% and the RSD should not exceed 5.0%.

表 5 不同制粒处方的压片工序中控剂量单位均一性 (%)

压片过程		相对百分含量		
		处方 1	处方 2	处方 3
第 1 min	片 1	98.9	99.7	100.3
	片 2	99.7	98.2	100.1
第 3 min	片 1	100.1	97.9	98.8
	片 2	98.6	100.0	99.7
第 5 min	片 1	97.9	100.3	97.7
	片 2	98.1	98.4	98.4
第 7 min	片 1	99.4	99.1	99.9
	片 2	99.5	99.8	98.6
第 9 min	片 1	98.9	97.8	97.3
	片 2	99.6	98.6	99.1
均值		99.1	98.7	98.7
RSD/%		0.6	0.8	1.0

注：单值应不超过均值 ± 10%，RSD 应不超过 5.0%。

Note: The single value should not exceed the mean ± 10%, and the RSD should not exceed 5.0%.

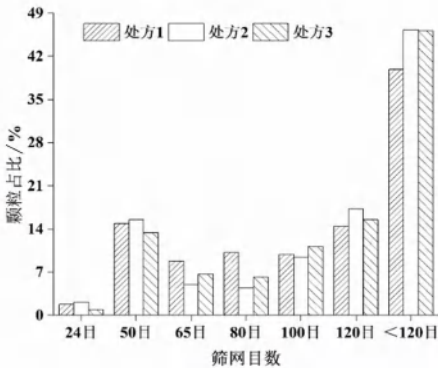


图 3 不同颗粒占比处方的干颗粒粒度对比

Fig 3 Dry particle size with different proportions of granules

放度测定法第二法以及《普通口服固体制剂溶出度实验技术指导原则》，使用自动溶出仪完成包

衣片的溶出曲线检测。以 pH 6.8 磷酸盐缓冲液为介质, (37.0 ± 0.5) °C、篮法 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、单杯 900 mL 条件下检测。

根据《普通口服固体制剂溶出曲线测定与比较指导原则》和《以药动学参数为终点评价指标的化学药物仿制药人体生物等效性研究技术指导原则》, 仿制制剂在确保处方工艺与参比制剂相似的基础上, 还需确保其在人体内的释放行为与参比制剂一致。不同的处方在溶出行为上应存在差异, 为确保所检测的数据具有代表意义, 本研究参考 FDA 溶出曲线数据库及药学评估报告, 在 pH 6.8 介质中完成溶出曲线的检测及对比。检测结果和溶出曲线见图 4。

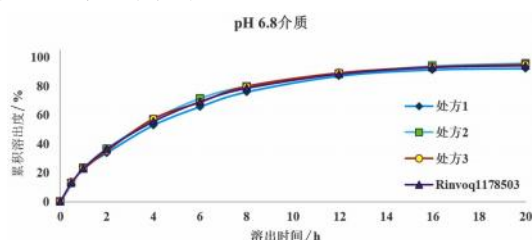


图 4 不同颗粒占比的样品在 pH 6.8 介质中的体外释放曲线

Fig 4 In vitro release curves of samples with different particle proportions in pH 6.8 medium

2.5 数据处理与统计学分析

所有数据处理、分析及绘图均采用 Excel 2021 统计和处理。

3 讨论

低规格口服固体制剂(主成分占比小于 5%)的工艺风险主要集中在混合和压片环节^[10]。如何使微量主药在大量不同型号辅料中均匀分散, 并在后续压片饲料工序保持良好的分散效果, 以确保剂量准确性并符合片间差异的用药安全要求, 是固体制剂工艺研究的永久性核心命题^[11]。目前, 国内尚无针对乌帕替尼缓释片工艺研究的文献报道。

本研究系统考察了不同颗粒占比(24%~40%)对混合均匀度及中控剂量单位均匀度的影响。结果表明, 三种处方设计在制粒前的干混合工序、制粒后的总混工序及压片工序中均呈现出良好的均一性, 粒度分布无显著性差异, 符合相关指导原则要求, 有效解决了低规格口服固体制剂在制粒和压片过程中可能存在的均匀度问题。此外, 该研究证实, 三种处方设计可适配多种生产线需求, 降低了对制粒设备与混合设备单元处理能力的单一性要求, 提供了更多工艺选择。

以往研究表明不同的粒度分布会影响粉体可

压缩性, 进而对最终产品的溶出行为造成不同程度的不良影响。然而, 本研究采用的三种不同颗粒处方的体外溶出曲线未呈现显著性差异, 均与参比制剂保持高度相似的释放行为。这可能归因于水溶性骨架的特性, 即依靠亲水型骨架材料在溶液中吸水膨胀, 延长药物释放的通道, 从而实现缓释的效果^[12]。

综上所述, 采用颗粒占比为 24%~40% 的处方设计, 混合风险可控, 制剂制备过程顺应性良好, 且体外释放行为无显著性差异, 表明该工艺适用于乌帕替尼缓释片的制备。对于低规格药物(主成分占比小于 5%), 提高颗粒占比可有效降低物料在总混阶段的工艺风险, 提高车间生产线中制粒与总混设备的匹配程度, 减少亚批的形成, 有利于药物质量的控制。

参考文献

- [1] 梁珍, 韩建文. 银屑病与 JAK-STAT3 通路研究进展[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2025, 39(2): 224-231.
- [2] Mease PJ, Lertratanakul A, Anderson JK, et al. Upadacitinib for psoriatic arthritis refractory to biologics: SELECT-PsA 2 [J]. Ann Rheum Dis, 2021, 80(3): 312-320.
- [3] 邹祖鹏, 张海萍. 银屑病患者生活质量研究进展[J]. 实用皮肤性病学杂志, 2024, 17(5): 299-302.
- [4] 阿根廷药监局, 乌帕替尼缓释片药学评估报告[R]. 阿根廷共和国, 阿根廷药监局, 2020.
- [5] 日本厚生劳动省独立行政法人医药品医疗器械综合机构, Rinvoq® 药学审评 IF 文书[R]. 日本国, 日本厚生劳动省独立行政法人医药品医疗器械综合机构, 2024.
- [6] 刘茜文, 魏玲. 直接压片工艺在低剂量药物制剂中的应用研究[J]. 数理医药学杂志, 2015(11): 1686-1687.
- [7] 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 通则 0941.
- [8] Sun J, Wang F, Sui Y, et al. Effect of particle size on solubility, dissolution rate, and oral bioavailability: evaluation using coenzyme Q₁₀ as naked nanocrystals [J]. Int J Nanomedicine, 2012; 7: 5733-5744
- [9] 国家药品监督管理局药品审评中心, 化药口服固体制剂混合均匀度和中控剂量单位均匀度研究技术指导原则(试行)[R]. 北京, 国家药品监督管理局药品审评中心, 2022.
- [10] Thapa P, Choi DH, Kim MS, et al. Effects of granulation process variables on the physical properties of dosage forms by combination of experimental design and principal component analysis [J]. Asian J Pharm Sci, 2019, 14(3): 287-304.
- [11] Skelbæk-Pedersen AL, Vilhelmsen TK, Wallaert V, et al. Investigation of the effects of particle size on fragmentation during tableting [J]. Int J Pharm, 2020, 576: 118985.
- [12] 李桐, 程刚. 贝前列素钠缓释片制备及体外释放研究[J]. 中国药理学杂志(网络版), 2024, 22(5): 185-193.

(收稿日期: 2025-01-18; 修回日期: 2025-03-24)

连花清菲代用茶对上火合并口腔溃疡大鼠的治疗作用及抗氧化应激机制

刘可^{1,2}, 彭冬冬^{1,2}, 唐梓宁^{1,2}, 梅秋兰^{1,2}, 李萌^{1,2}, 厉巧^{1,2}, 刘学武^{1,2}, 王小青^{1,2*} (1. 新药药效与安全性评价湖南省重点实验室, 长沙 430329; 2. 湖南普瑞玛药物研究中心有限公司, 长沙 430329)

摘要: **目的** 考察连花清菲代用茶对大鼠上火口腔溃疡的药效作用及可能的机制, 为其在维护口腔健康方面的作用提供依据。 **方法** 将 55 只雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组 (10 只) 和模型组 (45 只), 模型组大鼠连续 21 d 灌胃给予黄芪+党参复制实热上火模型, 于造模第 21 日使用氢氧化钠灼烧诱导大鼠上火合并口腔溃疡模型: 造模后选取 40 只模型组 SD 大鼠按溃疡面积兼顾体重分层随机分为模型对照组, 连花清菲代用茶低、中、高剂量组 (1.6、3.2、6.4 g 生药·kg⁻¹), 10 只/组; 各组大鼠经口灌胃给予相应浓度的药液, 10 mL·kg⁻¹, 1 次·d⁻¹, 连续 7 d, 正常对照组及模型对照组经口灌胃给予等体积纯水。分别于给药前及给药后 D3、D5、D7 测量大鼠肛温及溃疡面积; 于末次给药后次日观察各组大鼠口腔黏膜溃疡评分; 取口腔黏膜组织进行组织病理学检查; 采用 ELISA 试剂盒检测大鼠血清中抗氧化因子谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD); 采用蛋白免疫印迹法检测口腔黏膜组织腺苷酸激活蛋白激酶 (AMPK)、过氧化物酶体增殖激活受体- γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)、核呼吸因子 1 (NRF1)、线粒体转录因子 A (TFAM) 蛋白表达含量。 **结果** 连花清菲代用茶能显著降低模型大鼠口腔黏膜溃疡评分、口腔溃疡面积、肛温、口腔黏膜病理评分, 降低血清中 MDA 的含量, 增加血清中 GSH 和 SOD 的含量, 上调口腔黏膜组织中 NRF1 的表达。 **结论** 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡具有明显的治疗作用, 可以有效缓解口腔黏膜炎症和溃疡情况, 其作用可能与连花清菲代用茶降低氧化应激反应, 上调 NRF1 促进创面愈合相关。

关键词: 连花清菲代用茶; 口腔溃疡; 上火; 氧化应激; 大鼠

中图分类号: R285.5, R965 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2909-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.016

Effect of Lianhua Qingfei tea on oral ulcer combined with excessive internal heat in rats and its anti-oxidative stress mechanism

LIU Ke^{1,2}, PENG Dong-dong^{1,2}, TANG Zi-ning^{1,2}, MEI Qiu-lan^{1,2}, LI Meng^{1,2}, LI Qiao^{1,2}, LIU Xue-wu^{1,2}, WANG Xiao-qing^{1,2*} (1. Hunan Key Laboratory of Pharmacodynamics and Safety Evaluation of New Drugs, Changsha 430329; 2. Hunan Prima Pharmaceutical Research Center Co., Ltd., Changsha 430329)

Abstract: Objective To determine the effect and mechanism of Lianhua Qingfei tea on oral ulcer induced by excessive internal heat in rats, and to provide data for its role in maintaining oral health. **Methods** Fifty-five male SD rats were randomly divided into a normal control group (10 rats) and a model group (45 rats). The model group rats were given Astragalus + Codonopsis pilosula for 21-days via oral gavage, while on D21 sodium hydroxide cauterization was used to induce oral ulcer. Based on the area of the ulcer and rats' bodyweight, 40 SD rats from the model group were stratified randomly divided into four groups: a model control group, and Lianhua Qingfei tea low, medium and high dose groups (1.6, 3.2, and 6.4 g raw material·kg⁻¹), 10 rats per group. The rats in the dose groups were given the corresponding concentration of drug solution via oral gavage, 10 mL·kg⁻¹, once daily for 7 days, while the normal control group and the model control group were given the same volume of pure water via oral gavage.

作者简介: 刘可, 女, 硕士, 主要从事药物非临床安全性研究工作, email: liuke@hnse.org ***通信作者:** 王小青, 女, 博士, 主要从事药物非临床安全性研究工作, email: wangxiaqing@hnse.org

The rectal temperature and ulcer area were measured at pre-dose and post-dose D3, D5, D7. After the final administration, the oral mucosal ulcer scores were assessed in all groups, and the oral mucosal tissues were harvested for histopathological analysis. Furthermore, the serum concentrations of GSH, MDA, and SOD were quantified with ELISA. Western blot was used to determine the expression levels of AMPK, PGC-1 α , NRF1, and TFAM proteins in the mucosal tissues. **Results** Compared with the model control group, Lianhua Qingfei tea reduced the rectal temperature, ulcer area, oral mucosal ulcer scores and oral mucosal pathological scores in rats with oral ulcer; and the level of MDA was also reduced, but that of SOD and GSH was increased. The NRF1 protein expression of the oral mucosal tissue was up-regulated. **Conclusion** Lianhua Qingfei tea demonstrates obvious therapeutic effect on oral ulcer with excessive internal heat, effectively alleviating oral mucosal inflammation and ulcer, which may be associated with reducing oxidative stress and up-regulating NRF1 expression to promote wound healing.

Key words: Lianhua Qingfei tea; oral ulcer; excessive internal heat; oxidative stress; rat

上火是一种亚健康状态,会出现头、面部部分器官和皮肤黏膜的炎症性病变,是口腔溃疡的重要诱因之一^[1-2]。口腔溃疡常发于口腔两侧颊黏膜、牙龈、口唇、舌头、软腭处等,溃疡面呈现凹陷的椭圆形、圆形等,中心呈黄色或白色,周围红肿、充血,并伴有明显的疼痛感,影响患者的生活质量。研究提示,氧化/抗氧化失衡导致的氧化应激反应与口腔溃疡的形成密切相关,而上火状态下机体也会出现较强的氧化应激反应^[2-3]。莲花清菲代用茶由百合、桔梗、胖大海、金银花、薄荷、橘皮、连翘、芦根、罗汉果、杏仁 10 种药食同源的中药组成,具有清肺润喉解毒热之功效。本研究采用党参黄芪水联合氢氧化钠(NaOH)灼伤方法诱导大鼠上火口腔溃疡模型,通过观察给药后口腔溃疡面积、肛温、口腔溃疡组织病理学、血清抗氧化及相关蛋白表达等指标的变化,考察莲花清菲代用茶对大鼠上火口腔溃疡的药效作用及初步的抗氧化应激机制探讨,为其在口腔健康方面的治疗作用和市场开发提供一定理论支持。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠 55 只,雄性,体重 140 ~ 170 g 实验许可证号: SCXK(湘) 2022-0011(长沙市天勤生物技术有限公司)。动物饲养于湖南普瑞玛药物研究中心有限公司屏障环境 A 区实验室,实验动物使用许可证号: SYXK(湘) 2020-0015。饲养条件:动物实验经湖南普瑞玛药物研究中心有限公司实验动物管理伦理委员会批准[批准号: IACUC-2023(3) 004-1]。

1.2 试药

莲花清菲代用茶(批号: 29239131, 石家庄以岭药业股份有限公司提供,每克莲花清菲代用茶提取物含生药约为 4 g),临床用量为 18 g 生药 $\cdot$ d⁻¹。大鼠抗氧化因子谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(黄石

市艾恩斯生物科技有限公司);腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)、过氧化物酶体增殖激活受体- γ 辅激活因子-1 α (PGC-1 α)、核呼吸因子 1(NRF1)、线粒体转录因子 A(TFAM)(Abcam)。

1.3 仪器

Spectra Max i3x 型多功能酶标仪(美国 MD 公司),游标卡尺(美耐特),MC-347 型电子体温计[欧姆龙(大连)有限公司],RM2235 型石蜡切片机、ASP200S 型全自动脱水机、H11220 型烤片机、EG1150H + C 型组织包埋机、CX31 型生物显微镜、BX43 型生物显微镜 + MD50 型数码成像系统、Autostainer XL + CV5030 型自动载玻片染色机 + 自动盖片机(德国 Leica)等。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

取检疫合格 SPF 级雄性 SD 大鼠 55 只,随机分为正常对照组(10 只)和模型组(45 只),模型组大鼠给予黄芪(6 g 生药 $\cdot$ kg⁻¹) + 党参(3 g 生药 $\cdot$ kg⁻¹)药液(混悬溶于 0.9% 氯化钠注射液),1 次 $\cdot$ d⁻¹,连续灌胃给药 21 d,复制实热上火模型;于造模第 21 日使用 NaOH 灼伤诱导大鼠上火合并口腔溃疡模型,具体操作如下:用无菌棉球擦干 SD 大鼠唇侧黏膜,将 3 mm $\times$ 3 mm 的 NaOH 晶体置于唇侧黏膜,维持 30 s 后取下 NaOH 晶体,用含 0.9% 氯化钠注射液的无菌棉球蘸拭处理部位,去除残余 NaOH 晶体,见图 1。造模后选取 40 只模型组 SD 大鼠按溃疡面积兼顾体重分层随机分为模型对照组,莲花清菲代用茶低、中、高剂量组(1.6、3.2、6.4 g 生药 $\cdot$ kg⁻¹),10 只/组;莲花清菲代用茶每日拟用量为 18 g 生药,根据体表面积折算大鼠等效剂量为 18 g 生药 $\times$ 0.018/0.2 kg = 1.6 g 生药 $\cdot$ kg⁻¹;各组大鼠经口灌胃给予相应浓度的药液,10 mL $\cdot$ kg⁻¹,1 次 $\cdot$ d⁻¹,连续 7 d,正常对照组及模型对照组经口灌胃给予等体积纯水。

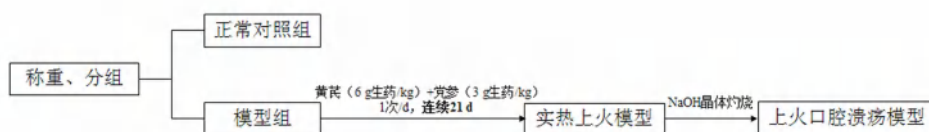


图1 动物模型构建流程图

Fig 1 Flow chart of animal model construction

2.2 指标检测

2.2.1 口腔黏膜溃疡评分^[4] 于末次给药后对各组动物口腔黏膜进行评分。评分标准：无溃疡，口腔黏膜正常，溃疡损伤修复计为 100 分；Ⅰ级：有溃疡，溃疡表面无明显假膜，溃疡损伤修复计为 80 分；Ⅱ级：有溃疡，溃疡表面有薄的一层黄白色的假膜，溃疡损伤修复计为 60 分；Ⅲ级：溃疡表面假膜较厚，且周围有炎性水肿，溃疡损伤修复计为 40 分；Ⅳ级：溃疡表面假膜厚，周围伴有明显炎性水肿，溃疡损伤修复计为 20 分。

2.2.2 溃疡面积测定^[5] 分别于给药前及给药后 D3、D5、D7 使用游标卡尺测量各组大鼠口腔溃疡的最大横径 (d_1) 及最大纵径 (d_2)，计算溃疡面积 (溃疡面积 = $\pi \times d_1 \times d_2 \times 1/4$ ， π 取值 3.14)。

2.2.3 肛温测定 分别于给药前及给药后 D3、D5、D7 检测大鼠肛温。

2.2.4 口腔黏膜组织病理学检查 于末次给药后腹主动脉放血安乐死大鼠，取唇侧黏膜组织置于 10% 甲醛固定 24 h，苏木精-伊红 (HE) 染色，镜下观察口腔黏膜组织病理学变化，同时对黏膜组织病理变化进行量化评分，参考文献^[6-7]并结合模型实际情况设计评分标准：口腔黏膜上皮受损、糜烂，上皮细胞排列紊乱；炎症细胞浸润；血管充血，红细胞外渗；黏膜组织水肿。对上述 4 项表观指标进行量化积分，分为无、轻度、中度、重度 4 级，分别计 0、1、2、3 分。

2.2.5 抗氧化指标检测 于末次给药后颈静脉采血 1 mL，置于 1.5 mL EP 管中，3000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min，取上层血清，采用 ELISA 试剂盒检测 SOD、GSH、MDA 含量。

2.2.6 口腔黏膜组织 AMPK、PGC-1 α 、NRF1、TFAM 蛋白表达含量 于末次给药后各组随机选取 3 只大鼠，取口腔黏膜组织 0.025 g，用预冷磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗组织，加入 RIPA 裂解液 200 μ L 于匀浆器中反复研磨组织直至看不见组织块，裂解、离心后进行蛋白定量。分别取 50 μ g 总蛋白上样，电泳，转膜，用多克隆一抗 (兔抗大鼠 AMPK、PGC-1 α 、NRF1 和 TFAM) 与 PVDF 膜 4℃ 孵育过夜。ECL 化学发光法曝光扫描拍照，用 Quantity one 软件分析各组大鼠口腔黏膜组织中 AMPK、PGC-

1 α 、NRF1 和 TFAM 的蛋白相对表达量，并计算各组中相应蛋白的表达与内参 β -actin 的相对比值。

2.3 统计分析

数据有效数字修约按照四舍五入进行，统计所用软件为 SPSS 23.0。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，并进行正态性和方差齐性检验。如果满足正态性 ($P > 0.05$)，用单因素方差分析 (ANOVA) 进行统计分析，并根据方差齐性情况选用 LSD + Dunnet (方差齐) 或 Tamhane's T2 (方差不齐) 进行比较分析。如果不满足正态性 ($P \leq 0.05$)，则用 Kruskal-Wallis 检验，并用 Mann-Whitney 检验进行两两比较分析。统计结果以 $\alpha = 0.05$ 为检验界限，其中 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般临床观察及连花清菲代用茶对口腔溃疡评分的影响

正常对照组大鼠小便颜色淡黄清亮，舌色淡红，舌面润泽；模型对照组大鼠小便深黄，舌色红，提示实热上火模型构建成功。模型动物给予不同浓度连花清菲代用茶后小便颜色较模型对照组变浅，趋于淡黄，舌色稍红，提示连花清菲代用茶具有清热去火功效。

如表 1 及图 2 所示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠口腔溃疡评分显著增加 ($P < 0.01$)；与模型对照组比较，连花清菲代用茶中、高剂量组口腔溃疡评分均显著降低 ($P < 0.01$)，连花清菲代用茶低剂量组口腔溃疡评分有降低趋势，但差异无统计学意义。

3.2 连花清菲代用茶对溃疡面积的影响

如表 2 所示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠口腔溃疡面积在给药前及不同给药期均显著增加 ($P < 0.01$)；与模型对照组比较，给药后 D7 连花清菲代用茶低、中、高剂量组口腔溃疡面积均显著降低 ($P < 0.01$)，给药后 D3 和 D5 各给药组口腔溃疡面积均有降低趋势，但差异无统计学意义。

3.3 连花清菲代用茶对肛温的影响

如表 3 所示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠肛温在给药前及不同给药期均显著增加 ($P < 0.01$)；与模型对照组比较，给药后 D5 和 D7 连花清菲代用茶中、高剂量组肛温均显著降

表 1 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠口腔黏膜溃疡评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 1 Effect of Lianhua Qingfei tea on oral mucosa score in oral ulcer rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	口腔黏膜溃疡评分
正常对照组	0.0±0.0
模型对照组	8.1±1.1 ⁺⁺
连花清菲代用茶低剂量组	7.2±1.1
连花清菲代用茶中剂量组	6.7±0.9 ^{**}
连花清菲代用茶高剂量组	6.0±1.2 ^{**}

注：与正常对照组比较，⁺⁺ $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, ⁺⁺ $P < 0.01$; compared with the model control group, ^{**} $P < 0.01$.

表 2 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠口腔溃疡面积的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 2 Effect of Lianhua Qingfei tea on ulcer area in oral ulcer rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	溃疡面积 /mm ²			
	给药前	D3 (给药后)	D5 (给药后)	D7 (给药后)
正常对照组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型对照组	31.65±10.16 ⁺⁺	33.60±9.07 ⁺⁺	30.17±8.89 ⁺⁺	26.54±5.50 ⁺⁺
连花清菲代用茶低剂量组	30.86±9.10	27.54±10.39	26.36±6.44	20.18±5.23 ^{**}
连花清菲代用茶中剂量组	31.99±10.68	26.96±8.76	25.87±5.57	19.88±3.45 ^{**}
连花清菲代用茶高剂量组	30.99±9.27	26.96±9.47	23.20±14.69	17.62±2.80 ^{**}

注：与正常对照组比较，⁺⁺ $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, ⁺⁺ $P < 0.01$; compared with the model control group, ^{**} $P < 0.01$.

表 3 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠肛温的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 3 Effect of Lianhua Qingfei tea on rectal temperature in oral ulcer rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	肛温 /℃			
	给药前	D3 (给药后)	D5 (给药后)	D7 (给药后)
正常对照组	37.1±0.7	37.4±0.6	37.0±0.2	37.0±0.5
模型对照组	38.3±0.5 ⁺⁺	38.3±0.3 ⁺⁺	38.1±0.5 ⁺⁺	38.0±0.6 ⁺⁺
连花清菲代用茶低剂量组	38.0±0.6	38.3±0.5	37.9±0.6	37.7±0.7
连花清菲代用茶中剂量组	38.0±0.6	38.1±0.6	37.6±0.4 [*]	37.4±0.5 [*]
连花清菲代用茶高剂量组	38.2±0.4	38.1±0.3	37.6±0.4 [*]	37.3±0.5 ^{**}

注：与正常对照组比较，⁺⁺ $P < 0.01$ ；与模型对照组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, ⁺⁺ $P < 0.01$; compared with the model control group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

3.5 连花清菲代用茶对抗氧化因子的影响

如表 4 所示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠血清中 GSH 和 SOD 含量均显著降低，MDA 含量显著增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型对照组比较，连花清菲代用茶中、高剂量组 GSH 含量显著增加；连花清菲代用茶高剂量组 MDA 含量显著降低，SOD 含量显著增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

3.6 连花清菲代用茶对口腔黏膜组织 AMPK、PGC-1 α 、NRF1、TFAM 蛋白表达含量的影响

如图 4 所示，与正常对照组比较，模型对照组大鼠口腔黏膜组织中 AMPK、NRF1 和 TFAM 相对表达量均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型对照组比较，连花清菲代用茶中、高剂量组 NRF1 显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；AMPK、PGC-1 α 、

低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，其余给药组肛温有降低趋势，但差异无统计学意义。

3.4 连花清菲代用茶对口腔黏膜组织病理学的影响

如图 3 所示，正常对照组黏膜上皮无明显变化，未见炎症细胞浸润；模型对照组大鼠口腔黏膜出现黏膜上皮损伤、炎症细胞浸润、血管充血、水肿；末次给药后次日连花清菲代用茶低、中、高剂量组口腔黏膜组织病变较模型对照组均有不同程度的减轻。与正常对照组比较，模型对照组大鼠口腔黏膜病理评分显著增加 ($P < 0.01$)；与模型对照组比较，连花清菲代用茶低、中、高剂量组口腔黏膜病理评分均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

TFAM 相对表达量有升高趋势。

4 讨论

口腔溃疡是一种常见的发生于口腔黏膜局限性溃疡性损伤病症，具有高复发性、周期性、自限性等特点，多发于唇、舌、颊、软腭等角化程度较差的部位。研究表明，口腔溃疡大多由上火引起，发作时疼痛剧烈，局部灼痛明显，严重时并可并发口臭、慢性咽炎、头晕、恶心、淋巴结肿大等全身症状，影响身心健康^[7]。氧化应激是指体内氧化和抗氧化平衡失调，氧化能力增强，使得自由基及其代谢产物增加，进而引起一系列病理生理变化，与上火及口腔溃疡的发生发展密切相关^[8]。连花清菲代用茶由百合、金银花、桔梗、连翘、芦根、杏仁等组成，清肺润喉，清热解毒，



图 2 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠口腔溃疡大体观察的影响

Fig 2 Effect of Lianhua Qingfei tea on gross observation in oral ulcer rats

A. 正常对照组 (normal control group) ; B. 模型对照组 (model control group) ; C. 连花清菲代用茶低剂量组 (Lianhua Qingfei tea low dose group) ; D. 连花清菲代用茶中剂量组 (Lianhua Qingfei tea medium dose group) ; E. 连花清菲代用茶高剂量组 (Lianhua Qingfei tea high dose group)

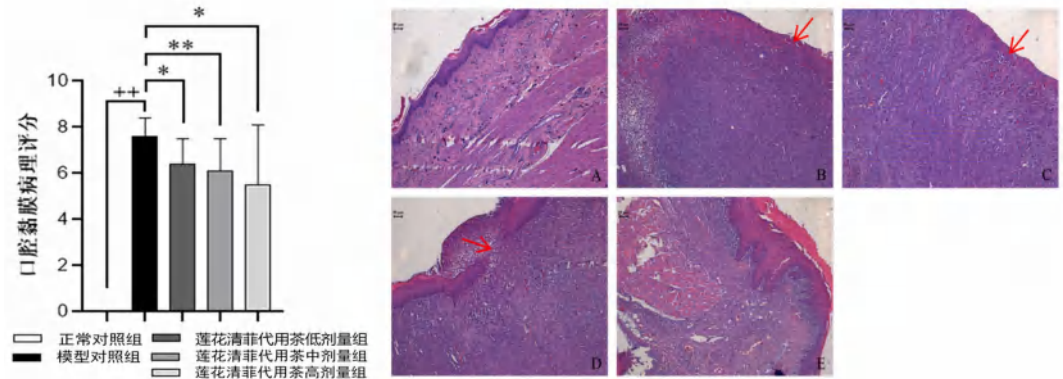


图 3 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠口腔黏膜病理评分的影响 (HE, ×100)

Fig 3 Effect of Lianhua Qingfei tea on oral mucosa pathological score in oral ulcer rats (HE, ×100)

A. 正常对照组 (normal control group) ; B. 模型对照组 (model control group) ; C. 连花清菲代用茶低剂量组 (Lianhua Qingfei tea low dose group) ; D. 连花清菲代用茶中剂量组 (Lianhua Qingfei tea medium dose group) ; E. 连花清菲代用茶高剂量组 (Lianhua Qingfei tea high dose group)

注: 与正常对照组比较, $^{++}P < 0.01$; 与模型对照组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, $^{++}P < 0.01$; compared with the model group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

表 4 连花清菲代用茶对上火口腔溃疡大鼠抗氧化的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 4 Effect of Lianhua Qingfei tea on antioxidant in oral ulcer rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	GSH/ (nmol · mL ⁻¹)	MDA/ (nmol · mL ⁻¹)	SOD/ (ng · mL ⁻¹)
正常对照组	501.734 ± 29.351	6.564 ± 0.387	12.672 ± 0.497
模型对照组	459.061 ± 19.635 ⁺⁺	7.009 ± 0.442 ⁺⁺	11.490 ± 0.572 ⁺
连花清菲代用茶低剂量组	486.677 ± 20.489	6.868 ± 0.382	12.412 ± 0.831
连花清菲代用茶中剂量组	488.419 ± 39.569 [*]	6.804 ± 0.230	12.383 ± 0.811
连花清菲代用茶高剂量组	496.449 ± 34.776 [*]	6.664 ± 0.275 [*]	12.820 ± 2.210 ^{**}

注: 与正常对照组比较, $^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$; 与模型对照组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, $^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$; compared with the model control group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

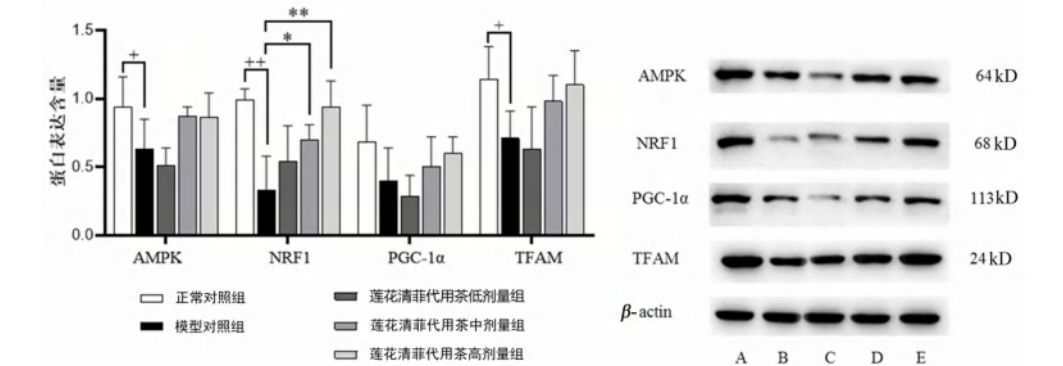


图 4 连花清菲代用茶对口腔黏膜组织 AMPK、PGC-1α、NRF1 及 TFAM 蛋白表达含量的影响

Fig 4 Effect of Lianhua Qingfei tea on AMPK, PGC-1α, NRF1, and TFAM protein expression of oral mucosal tissue in oral ulcer rats

A. 正常对照组 (normal control group) ; B. 模型对照组 (model control group) ; C. 连花清菲代用茶低剂量组 (Lianhua Qingfei tea low dose group) ; D. 连花清菲代用茶中剂量组 (Lianhua Qingfei tea medium dose group) ; E. 连花清菲代用茶高剂量组 (Lianhua Qingfei tea high dose group)

注: 与正常对照组比较, $^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$; 与模型对照组比较, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the normal control group, $^{+}P < 0.05$, $^{++}P < 0.01$; compared with the model control group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ 。

但其对口腔健康的影响尚未有系统研究。本研究采用党参黄芪水灌胃联合 NaOH 灼烧法复制上火口腔溃疡模型,经口灌胃给予不同浓度的连花清菲代用茶,通过观察给药后口腔黏膜溃疡评分、溃疡面积、肛温、组织病理学检查、抗氧化及口腔黏膜组织相关蛋白表达等指标的变化,考察连花清菲代用茶对上火口腔溃疡的治疗作用及其机制是否与减少氧化应激相关。

研究表明,口腔溃疡的发生与体内氧化与抗氧化平衡破坏后,自由基加速形成并引发毒性反应有关^[9-11]。SOD、GSH 和 MDA 是衡量细胞抗氧化能力的标志物。SOD 属于过氧化酶体系,是机体抗氧化系统的主要成员,能减轻自由基引起的组织损伤,其含量间接反映了机体的抗氧化能力;MDA 是脂质过氧化反应产物,其含量间接反映自由基水平和过氧化损伤程度^[12]。在上火及口腔溃疡发生时均发现 SOD、GSH 含量降低,MDA 含量升高^[13-14]。而溃疡面的修复需要抗炎、增生、塑形等多个环节,体内 SOD 活性激活使抗氧化水平升高,有利于 MDA 等自由基的清除,也可为组织增生提供有利的环境^[11],活化的 NRF1 不仅能调控 SOD 等下游抗氧化靶基因的表达,清除活性氧(ROS)发挥抗氧化作用,还可阻断促炎因子分泌,进而发挥抗炎及免疫调节作用^[15-16]。本研究使用党参黄芪水灌胃联合 NaOH 灼烧大鼠后,模型大鼠血清中 MDA 含量明显升高,血清中 GSH 和 SOD 含量均明显降低,且口腔黏膜溃疡评分、口腔溃疡面积、肛温、口腔黏膜病理评分均明显增加,提示上火口腔溃疡大鼠模型构建成功。当模型大鼠给予不同剂量连花清菲代用茶后上述症状均得到较大改善,口腔黏膜溃疡评分、口腔溃疡面积、肛温、口腔黏膜病理评分均比模型对照组显著降低,表明连花清菲代用茶对于上火口腔溃疡有较好的治疗作用。连花清菲代用茶能上调组织中 NRF1 的表达,降低血清中 MDA 的含量,增加血清中 GSH 和 SOD 的含量,提示连花清菲代用茶在一定程度上可以缓解氧化应激现象,提高 NRF1 表达,促进口腔溃疡创面愈合。

综上所述,连花清菲代用茶对上火口腔溃疡有较好疗效,可能是通过抑制氧化应激,上调 NRF1 表达,实现对受损口腔组织的修复。

参考文献

- [1] 罗珂珂. 黄连解毒丸治疗实热火毒证临床生物标志物的探索与筛选[D]. 北京: 中国中医科学院, 2022.
- [2] 张喜召, 杜羽, 范永升, 等. 从氧化应激理论探讨“口疮”发病机制与中医防治[J]. 浙江中西医结合杂志, 2018, 28(2): 150-152.
- [3] 范永升. 从现代生物学认识上火[J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(12): 1415-1417.
- [4] 任理, 覃仁安, 罗健东, 等. 口炎清颗粒对阴虚型口腔溃疡模型大鼠的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(4): 387-392.
- [5] 陈卓, 王金磊, 庄朋伟, 等. 清咽滴丸治疗大鼠口腔溃疡的实验研究[J]. 中草药, 2016, 47(1): 106-109.
- [6] Mesquita KC, Dantas TS, Barros Silva PG, et al. Abatacept treatment impairs the cell migration and wound healing of oral ulcers in rats: role of interleukin (IL)-1 β , -6 and -10 and CD8/CD30 cells: influence of abatacept treatment on oral wound healing: experimental model on rats[J]. Life Sci, 2020, 243: 117243.
- [7] 郑蕾, 李国芳, 杨盼盼, 等. 益气养阴生肌方对大鼠口腔溃疡创面愈合的作用及 PTEN/AKT/GSK3 β 通路的机制研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(3): 157-162.
- [8] Joe M. The evolution of free radicals and oxidative stress[J]. Am J Med, 2000, 108: 652-659.
- [9] 张振凯, 郑亚娟, 张冰贤, 等. 黄连及其炮制品对实热型口腔溃疡大鼠干预作用的代谢组学研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(2): 389-402.
- [10] 陈伟, 吴均锐, 黄舜敏. 醋酸地塞米松粘贴片联合康复新液治疗老年复发性口腔溃疡的效果及对血清 MDA、SOD 的影响[J]. 中外医学研究, 2021, 19(1): 72-74.
- [11] 范照三, 赵海军. 康复新液对口腔溃疡兔的血清中 SOD 和 MDA 的影响[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(3): 390.
- [12] 杜孝林, 刘寅, 杨亚男. 五味子丙素通过 SIRT1/PGC-1 α /NRF1 通路减轻脂多糖诱导的大鼠心肌细胞氧化应激损伤机制的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2023, 40(8): 1044-1050.
- [13] 邢国征, 王长娜, 田旭彤, 等. 蜘蛛毒素口腔溃疡散对口腔溃疡模型大鼠的治疗作用及其机制研究[J]. 中国药房, 2019, 30(8): 1043-1048.
- [14] 魏雅楠, 刘晓慧, 马远新. 黄芩苷对复发性口腔溃疡模型大鼠 IL-33/ST2 信号通路的影响及机制研究[J]. 河北医学, 2022, 28(8): 1262-1267.
- [15] Ji SP, Ma YQ, Xing XY, et al. Suppression of CD13 enhances the cytotoxic effect of chemotherapeutic drugs in hepatocellular carcinoma cells[J]. Front Pharmacol, 2021, 12.
- [16] Wang HH, Zhu JY, Liu ZY, et al. Silencing of long isoforms of nuclear factor erythroid 2 like 1 primes macrophages towards M1 polarization[J]. Free Radical Bio Med, 2018, 117: 37-44.

(收稿日期: 2024-08-07; 修回日期: 2025-07-03)

超高效液相色谱法测定丙戊酸钠血药浓度的优化

李发双, 李惠英*, 宗静, 黎林波, 张力麟 (昆明医科大学附属儿童医院, 昆明 650228)

摘要: **目的** 研究蛋白沉淀剂、萃取剂和柱前衍生化试剂浓度对丙戊酸钠血药浓度检测结果的影响, 确定丙戊酸钠血药浓度检测的最佳衍生化法。**方法** 以硫酸为蛋白沉淀剂、正己烷为萃取剂、2, 4'-二溴苯乙酮为衍生化试剂, 丙戊酸钠衍生物产率为指标。研究超高效液相色谱法测定丙戊酸钠血药浓度时蛋白沉淀剂、萃取剂和柱前衍生化因素 (衍生化试剂浓度、三乙胺浓度、衍生温度、衍生时间) 对丙戊酸钠血药浓度检测结果的影响。**结果** 当衍生化试剂 (2, 4'-二溴苯乙酮) 质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 催化剂 (三乙胺) 浓度为 60%、衍生温度为 60°C , 衍生时间为 15 min, 且蛋白沉淀剂 ($3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸) 用量为 $100 \mu\text{L}$, 萃取剂 (正己烷) 用量为 3 mL 时, 丙戊酸钠衍生化效率最佳。**结论** 本文综合考察了超高效液相色谱法测定丙戊酸钠血药浓度相关影响因素, 建立能够稳定检测丙戊酸钠血药浓度超高效液相色谱法, 检测结果准确、可靠。

关键词: 影响因素; 丙戊酸钠; 超高效液相色谱; 方法优化

中图分类号: R96

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2915-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.017

Optimization of UPLC for the determination of valproate acid serum concentration

LI Fa-shuang, LI Hui-ying*, ZONG Jing, LI Lin-bo, ZHANG Li-lin (Children's Hospital Affiliated to Kunming Medical University, Kunming 650228)

Abstract: Objective To determine the effect of concentrations of protein precipitant, extractant and pre-column derivatization reagent on valproate acid serum concentration assay, and to optimize the derivatization method for valproate acid serum concentration assay. **Methods** Sulfuric acid was used as the protein precipitant, *n*-hexane as the extractant, 2, 4'-dibromoacetophenone as the derivatization reagent, and the yield of valproate acid derivatives as the index. The effects of protein precipitant, extractant and pre-column derivatization factors (concentration of derivatization reagent, concentration of triethylamine, derivatization temperature and derivatization time) on the results of valproate acid serum concentration was determined in the determination of sodium valproate by ultra-performance liquid chromatography. **Results** The derivatization efficiency of valproate acid was optimal when the concentration of derivatization reagent (2, 4'-dibromoacetophenone) was $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, the concentration of catalyst (triethylamine) was 60%, the derivatization temperature was 60°C , the derivatization time was 15 min, the dosage of protein precipitant ($3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sulphuric acid) was $100 \mu\text{L}$, and the amount of extractant (*n*-hexane) was 3 mL. **Conclusion** The ultra-high performance liquid chromatography for the determination of valproate acid serum concentration is established for the stable detection of valproate acid serum concentration, with accurate and reliable results.

Key words: influence factor; valproate acid; UPLC; method optimization

基金项目: 云南省科技厅科技计划项目 (No.202301AY070001-280); 云南省卫生科技成果转化项目 (No.YX-2023-02); 昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目 (No.2023-13-05-002); 昆明市卫生健康委员会卫生科研课题项目 (No.2017-1-S-16778)。

作者简介: 李发双, 男, 主管药师, 主要从事治疗药物监测工作, email: 986938661@qq.com * **通信作者:** 李惠英, 女, 副主任药师, 主要从事临床药学研究, email: 2064790166@qq.com

丙戊酸钠 (valproate acid, VPA) 是临床常用的一线广谱抗癫痫药物^[1], 但其在临床上的治疗指数低, 安全范围较窄 ($50 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 服药周期长, 容易发生不良反应^[2-3]。此外, VPA 在药动学和药效学上存在较大的个体差异, 血药浓度波动较大, 药物相互作用复杂, 剂量难以掌握^[4-5], 因此, 在临床制订或调整 VPA 治疗方案时, 进行治疗药物监测十分必要。而如何建立准确、可靠的监测方法也成了关键。

VPA 血药浓度常用的测定方法有免疫分析法^[6]、高效液相色谱法^[7]和液相色谱串联质谱法^[8]。免疫分析方法虽操作简单、快速, 但试剂成本较高, 且监测过程容易被干扰。液相色谱串联质谱法灵敏度、精密度和准确度均较高, 但因其没有碎片离子, 导致基线干扰很大, 且价格昂贵, 限制其在临床上的应用。而高效液相色谱法, 成本低, 方法专属性好、灵敏度高, 但该药物分子结构中缺乏有效的紫外吸收基团, 用一般的高效液相色谱法难以直接测定, 需进行柱前衍生化处理, 而衍生化过程增加了试验方法的复杂性, 使得检测结果不稳定^[9-10]。目前, 文献^[11]报道柱前衍生高效液相色谱法测定 VPA 血药浓度较多, 但仅仅只是对方法学进行了考察, 或是对衍生条件进行单方面的研究, 没有进行综合分析。因此, 本研究综合考察了蛋白沉淀剂、萃取剂和柱前衍生化因素对 VPA 血药浓度检测结果的影响, 建立能够稳定检测 VPA 血药浓度的超高效液相色谱 (UPLC) 法, 指导 VPA 临床用药方案的调整。

1 材料

1.1 仪器

Acquity UPLC 超高效液相色谱仪 (包括四元泵、自动进样器、紫外检测器等, 美国沃特世公司); MGS 氮气浓缩装置和 XH-B 型旋涡混合器 (倍捷科技有限公司); D1524R 台式高速冷冻离心机 (美国 Agilent 公司); SC-3616 低速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司)。

1.2 试剂

VPA 对照品 (纯度: 98%, 大连美仑生物技术), 环己烷羧酸 (纯度: 99.5%, 海麦克林生化科技), 2, 4'-二溴苯乙酮 (含量: 99.73%, Steinheim, Germany)。乙腈和甲醇 (色谱级, 德国默克公司)。正己烷 (色谱级, 天津市致远化学试剂)、三乙胺 (天津科密欧化学试剂)、硫酸 (四川西陇化工)。水为纯化水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 柱 (1.7 mm , $2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$)。柱温: 40°C ; 检测波长: 265 nm ; 流动相: 甲醇-水 ($75:25$), 流速: $0.20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量: $20 \mu\text{L}$ 。

2.2 溶液的制备

2.2.1 VPA 对照品溶液 称取 VPA 10.00 mg , 置于 10 mL 量瓶中, 精密加入甲醇溶解并定容, 得质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 VPA 对照品溶液, 冰箱保存备用。

2.2.2 环己烷羧酸溶液 称取环己烷羧酸 10.00 mg , 置于 10 mL 量瓶中, 用 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氨水溶解并定容, 得到约为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的环己烷羧酸溶液, 作为内标溶液, 冰箱保存备用。

2.3 样品制备

吸取血清 $180 \mu\text{L}$ 于 5 mL 试管中, 加入内标溶液各 $20 \mu\text{L}$, 混匀, 再加入 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸 $200 \mu\text{L}$, 振荡 1 min ; 然后加入正己烷 3 mL , 振荡 3 min , $14\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min , 吸取 2 mL 上层有机相至另一试管中, 加 2, 4'-二溴苯乙酮 $200 \mu\text{L}$, 三乙胺 $40 \mu\text{L}$, 旋涡 30 s , 60°C 衍生 15 min , 氮气吹干, 吹干样品加 $100 \mu\text{L}$ 流动相溶解, 振荡 1 min , 取 $5 \mu\text{L}$ 进样。

2.4 衍生因素优化

2.4.1 衍生化试剂 称取 2, 4'-二溴苯乙酮 50 mg , 置于 5 mL 量瓶中, 用乙腈溶解并稀释至刻度, 得到质量浓度约为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的衍生化试剂。接着制备不同质量浓度的衍生试剂 (0.4 、 0.8 、 1.6 、 2 、 3 、 4 、 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。测定 VPA 血清样本在不同浓度衍生化试剂条件下的峰面积, 最大的峰面积记为 100% 衍生率。结果见图 1, VPA 衍生率在衍生化试剂质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时达到最大。

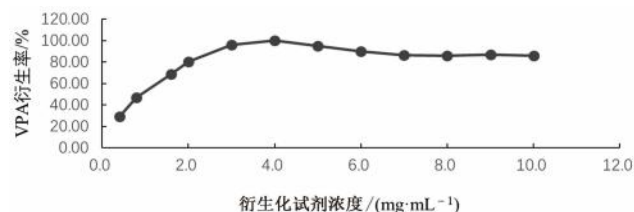


图 1 不同浓度衍生化试剂对 VPA 衍生率的影响

Fig 1 Effect of different concentrations of derivatization reagents on the derivatization rate of VPA

2.4.2 三乙胺 取三乙胺适量, 加入乙腈稀释成不同浓度的三乙胺溶液 (0% 、 20% 、 30% 、 40% 、 50% 、 60% 、 70% 、 80% 、 90% 、 100%)。测定 VPA 血清样本在不同浓度催化剂条件下的峰面积 (衍生化试剂质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 最大的峰面积记为 100%

衍生率，结果见图 2。后续选择 60% 三乙胺溶液。

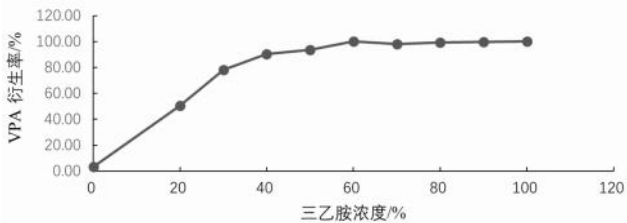


图 2 不同浓度三乙胺对 VPA 衍生率的影响
Fig 2 Effect of different concentrations of triethylamine on the derivatization rate of VPA

2.4.3 衍生时间和衍生温度 测定 VPA 血清样本在不同温度 (45、50、55、60℃)，不同反应时间 (5、10、15、20、25 min) 条件下的峰面积 (衍生试剂质量浓度为 4 mg · mL⁻¹、催化剂浓度为 60%)，最大的峰面积记为 100% 衍生率，结果见图 3。后续试验选择衍生温度为 60℃ 时，衍生时间为 15 min。

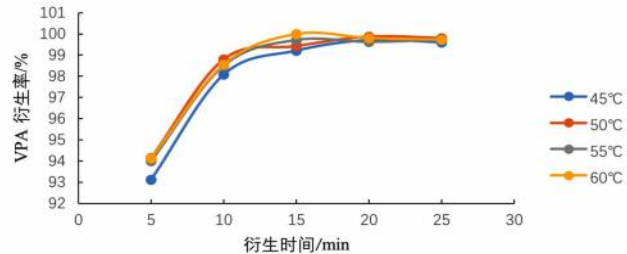


图 3 不同衍生时间和衍生温度对 VPA 衍生率的影响
Fig 3 Effect of different temperature and time on the derivatization rate of VPA

2.5 蛋白沉淀剂、萃取剂用量优化

测定 VPA 血清样本在不同浓度 (1、3 mol · L⁻¹)、不同体积 (50、100、200、300 μL) 蛋白沉淀剂 (硫酸) 和不同体积 (1、2、3、4 mL) 萃取剂 (正己烷) 条件下的峰面积 [衍生条件: 加 2, 4'-二溴苯乙酮 200 μL, 60% 三乙胺 40 μL, 涡旋 30 s, 60℃ 衍生 15 min]。最大的峰面积记为 100%，如果发生乳化，面积记为 0。结果见表 1。当硫酸浓度为 3 mol · L⁻¹、用量为 100 μL，正己烷用量为 3 mL 时，萃取效果最佳。

2.6 最佳方法验证

以质量浓度为 4 mg · mL⁻¹ 的衍生化试剂 (2, 4'-二溴苯乙酮) 200 μL, 60% 催化剂 (三乙胺) 40 μL, 衍生温度为 60℃，衍生时间为 15 min, 硫酸 (3 mol · L⁻¹) 用量为 100 μL，正己烷用量为 3 mL 等为组合条件，监测质量浓度均为 75 μg · mL⁻¹ VPA 和环己烷羧酸血清样本，重复 5 份样本，结果见表 2，在本试验研究条件下，所得实际测定值与真实值偏差较小，重复性好，方法回收率较高。

表 1 不同浓度、不同用量蛋白沉淀剂和不同用量萃取剂对 VPA 萃取率的影响

Tab 1 Effect of different concentration, different dosage of protein precipitator and different dosage of extractant on VPA extraction rate

萃取剂 用量 / mL	蛋白沉淀剂浓度 / (mol · L ⁻¹)	蛋白沉淀 剂用量 / μL	VPA 萃 取率 / %
1	1	50	26.60
	1	100	0.00
	1	200	0.00
	1	300	0.00
	3	50	0.00
	3	100	0.00
	3	200	0.00
	3	300	0.00
	3	300	0.00
2	1	50	44.54
	1	100	54.22
	1	200	68.04
	1	300	0.00
	3	50	68.86
	3	100	97.77
	3	200	0.00
	3	300	0.00
	3	300	0.00
3	1	50	44.54
	1	100	54.22
	1	200	68.04
	1	300	0.00
	3	50	69.68
	3	100	100.00
	3	200	99.87
	3	300	0.00
	3	300	0.00
4	1	50	42.81
	1	100	58.28
	1	200	82.41
	1	300	87.25
	3	50	83.51
	3	100	99.23
	3	200	97.03
	3	300	97.07
	3	300	97.07

表 2 最佳方法验证结果 (n = 5)
Tab 2 Verification results of optimal method (n = 5)

例次	标准值 / (μg · mL ⁻¹)	实测浓度 / (μg · mL ⁻¹)	方法回收 率 / %	RSD / %
1	75	73.71	98.28	1.6
2	75	74.91	99.88	2.4
3	75	73.83	98.44	2.4
4	75	76.28	101.70	2.0
5	75	75.66	100.88	3.7
均值	75	74.88	99.84	1.5

2.7 专属性考察

按优化方法制备不含 VPA 和内标的空白血清

样本、同时包含 VPA 和内标的血清样本、加入内标的服药患者血清样本，按“2.1”项下色谱条件进样分析。患者血清采集时间为服用 VPA 至少一周后，于次日早晨给药前取外周静脉血 2 mL。色谱图见图 4，在本试验条件下，VPA 保留时间为 3.398 min，环己烷羧酸保留时间为 2.182 min，峰形对称，基线平稳，VPA 和环己烷羧酸峰之间完全分离，且不受血浆中内源性物质干扰。

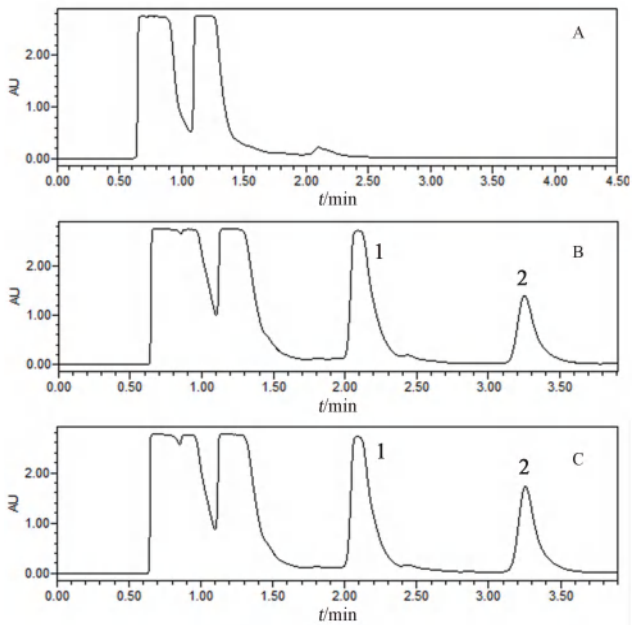


图 4 丙戊酸钠 UPLC 色谱图

Fig 4 UPLC chromatogram of valproic acid

A. 空白血清 (blank serum); B. 空白血清 + VPA 对照品 + 环己烷羧酸 (blank serum + valproic acid, $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ + cyclohexane carboxylic acid, $250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C. 服药患者血清 (patient serum) + 环己烷羧酸 (cyclohexane carboxylic acid, $250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 1. 环己烷羧酸 (cyclohexane carboxylic acid); 2. VPA (valproic acid)

2.8 线性关系考察

于试管中加入不同剂量的 VPA 溶液和内标溶液 ($750 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 各 $20 \mu\text{L}$ ，接着加入 $180 \mu\text{L}$ 空白血清，配制成质量浓度为 1、5、10、25、50、75、 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列溶液。按优化方法处理，并按“2.1”项下操作。以 VPA 峰面积/内标峰面积为 y 轴，VPA 血清样本所对应浓度为 x 轴，绘制标准曲线，得回归方程为 $y = 0.59x + 0.0444$ ($r^2 = 0.9998$)，VPA 线性范围为 $1 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，最低定量限为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.9 准确度和精密度

配制低、中、高质量浓度为 2.5、50、 $80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 VPA 血清样本 (同样每个浓度配制 6 份)，经 UPLC 分析。将血清样本的峰面积和标准样品的峰面积代入标准曲线计算其浓度，并将血清样

本的浓度/对应标准样品的浓度计算准确度。同时将低、中、高质量浓度的血清样本，一日内重复测量 6 次，一周内重复测量 6 d，计算该方法的日内和日间精密度，结果均符合样本检测要求，见表 3。

表 3 回收率及精密度试验 ($n = 6$)

Tab 3 Recovery and precision ($n = 6$)

加入浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	准确度 ($\bar{x} \pm s, \%$)	日内精密度		日间精密度	
		准确 度 /%	RSD/%	准确 度 /%	RSD/%
2.5	95.5 ± 3.9	99.58	4.3	100.88	3.3
50	98.6 ± 5.6	99.03	2.1	97.69	4.1
80	99.9 ± 2.3	100.45	1.7	96.98	2.6

2.10 稳定性

取空白血清，加入 VPA 对照品溶液，配制低、中、高质量浓度 (2.5 、 50 、 $80 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的血清样品，每个质量浓度重复 5 次，分别将血清样品置于室温、 4°C 冰箱、 -20°C 冰箱、反复冻融 3 次，并于第 1、3、5 日进样测定，考察其稳定性，结果血清样品在不同保存条件下测定 RSD 均 $< 5\%$ ，方法稳定性良好。

2.11 临床应用

79 例癫痫患儿服用 VPA 至少一周达到稳态后，于次日早晨给药前取外周静脉血 2 mL ，采用本研究建立的方法测定 VPA 血药浓度 [给药剂量 $20 \sim 40 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]，结果见表 4。在所测样品中 50.63% 患儿低于有效血药浓度范围，22.73% 高于有效血药浓度范围，仅有 30.38% 的患者 VPA 血药浓度在有效浓度范围内 ($50 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。VPA 在不同新生儿、儿童体内的代谢存在明显差异，按经验性给药达到有效血药浓度的比例不高，需要进行治疗药物监测 (伦理批件号: 2022-03-252-KO1)。

表 4 79 例新生儿、儿童患者 VPA 血药浓度的分布情况

$[\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, n(\%)]$

Tab 4 Distribution of VPA serum drug concentrations in 79 neonatal and pediatric patients $[\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, n(\%)]$

年龄/d	n	平均浓度	< 50	$50 \sim 100$	> 100
≤ 28	13	57.23 ± 33.89	7 (53.85)	3 (23.08)	3 (23.08)
> 28	66	41.33 ± 29.91	33 (50.00)	21 (31.82)	12 (18.08)
合计	79	43.95 ± 30.94	40 (50.63)	24 (30.38)	15 (22.73)

3 讨论

VPA 是临床治疗癫痫大发作、小发作以及肌阵挛性发作的首选治疗药物，由于 VPA 抗癫痫的疗效和不良反应与给药剂量和血药浓度密切相关，故临床治疗为发挥其最佳疗效，又尽可能降低不良反应发生率，应监测其血药浓度并制订个

体化给药方案^[2]。目前, 高效液相色谱法仍是国内外 VPA 血药浓度的主要检测方法之一, 已有较多报道^[12-13], 但是, 这些方法的衍生条件并不一致, 并且不同衍生条件对测定结果的影响未见报道。本研究参考之前的方法检测 VPA 血药浓度, 结果均不稳定, 准确性低。因此, 本试验以 VPA 衍生率为评价指标, 综合考察蛋白沉淀剂用量、萃取剂用量、衍生化试剂用量、三乙胺用量、衍生温度、衍生时间等因素对 VPA 衍生率的影响。

3.1 衍生化试剂的选择及浓度分析

有报道^[14-17]使用 4- 溴甲基 -6, 7- 二甲氧基香豆素、2, 4'- 二溴苯乙酮, 2- 溴 -4- 硝基苯乙酮, 2- 溴苯乙酮, α - 溴苯乙酮等作为 VPA 的衍生化试剂, 但主要集中于研究衍生化试剂与 VPA 作用过程中的敏感性, 对于不同浓度衍生化试剂对 VPA 衍生率的影响的研究较少。其中使用 2, 4'- 二溴苯乙酮作为 VPA 衍生化试剂的研究较多^[18], 其具有较强的紫外吸收, 在一定条件下可与 VPA 发生反应, 生成具有紫外吸收基团的衍生产物, 但目前研究均未对其浓度进行优化分析。本试验通过研究不同质量浓度的 2, 4'- 二溴苯乙酮对 VPA 衍生率的影响, 发现 VPA 衍生率随着衍生化试剂质量浓度增加而增加, 在衍生化试剂质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时达到最大; 之后反而降低, 当质量浓度 $\geq 7 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, VPA 衍生率趋于稳定。因此, 选择 2, 4'- 二溴苯乙酮的质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 不仅衍生率高, 而且还能避免因衍生化试剂用量过大对色谱柱造成损害。

3.2 催化剂的选择及浓度分析

决定 VPA 衍生程度的另一影响因素是催化剂浓度, 由于衍生化反应可逆, 碱性催化剂通过中和反应过程中生成的酸性溴化氢阻止逆反应而使 VPA 酯化完全。研究报道^[19] 四甲基氢氧化铵、三乙胺、磷酸盐等均能够催化 2, 4'- 二溴苯乙酮与 VPA 衍生化反应, 但加入多大浓度能够达到最优衍生效果, 并未进行研究。本试验以 2, 4'- 二溴苯乙酮作为衍生化试剂, 三乙胺为催化剂, 研究不同浓度的催化剂对 VPA 衍生率的影响, 发现当催化剂浓度 $\geq 60\%$ 时, VPA 衍生率趋于稳定, 但浓度越高, 基线漂移越严重, 且会产生拖尾现象, 以 60% 浓度的三乙胺为最佳。

3.3 衍生温度和时间的选择

关于衍生温度和时间对 VPA 衍生率影响的研究相对较多^[20-21], 但结果存在一定的差异, 这可能是所选用衍生化试剂和催化剂不同。本试验以

2, 4'- 二溴苯乙酮作为衍生化试剂, 三乙胺为催化剂, 研究不同衍生温度 (45 、 50 、 55 、 60°C), 不同衍生时间 (5 、 10 、 15 、 20 、 25 min) 对 VPA 衍生率的影响, 结果发现在这些温度条件下, VPA 衍生率没有较大差异, 但如果衍生时间较短, VPA 不能衍生完全。在不同温度下, 衍生时间 $\geq 15 \text{ min}$ 后, 衍生化率基本稳定。

3.4 蛋白沉淀剂和萃取剂浓度及用量的选择

蛋白沉淀剂和萃取剂也对 VPA 反应具有重要影响, 有文献对不同蛋白沉淀剂和萃取剂进行研究, 发现蛋白沉淀剂大多采用 $100 \sim 300 \mu\text{L}$ 的硫酸, 且浓度多为 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[10, 22]; 而与其他试剂 (乙醚、二氯甲烷、三氯甲烷) 相比较, 正己烷作为萃取剂, 沸点较高, 水浴过程中较安全, 移液过程中不易发生漏液, 且密度较小, 提取层位于水层及血样层之上, 便于提取, 对 VPA 的萃取效果佳, 但这些研究均未对蛋白沉淀剂、萃取剂用量和浓度进行交叉优化观察。本试验通过比较不同浓度、不同体积的硫酸和不同体积的正己烷对 VPA 的提取效果, 发现 $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸在用量为 $100 \mu\text{L}$, 萃取剂浓度为 3 mL 时, 乳化现象少, 提取率最高。

3.5 衍生条件的确认

采用本研究建立的方法测定 79 例服用 VPA 治疗的癫痫患儿的 VPA 血药浓度, 结果在所测样品中仅有 30.38% 的患者 VPA 血药浓度在有效浓度范围内, VPA 治疗药物检测达标率较低; 50.63% 患儿低于有效血药浓度范围。这和刘春河等^[23] 对 1270 例癫痫患者的 VPA 血药浓度监测数据分析结果一致, 该研究发现仅 43.6% 的标本检测结果落在了目标治疗范围之内, 49.84% 患儿低于有效血药浓度范围, 且在不同新生儿、儿童体内的代谢存在明显差异, 按经验性给药达到有效血药浓度的比例不高。因此, 建议临床在采用 VPA 治疗癫痫患者时进行血药浓度监测, 依据检测结果并结合患者的各项指标、治疗方案、临床表现等进行全面分析, 及时调整治疗方案以实现个体化用药。

3.6 小结

综上所述, 本研究首次通过优化蛋白沉淀剂、萃取剂和柱前衍生化等因素, 提高 VPA 血药浓度检测结果的稳定性、准确性, 保证超高效液相色谱检测 VPA 血药浓度的准确性, 并应用于临床, 指导 VPA 临床用药方案的调整, 提高 VPA 的治疗效率。

参考文献

- [1] Krishna MBN, Seetharam, JC, Mishra A, et al. Total valproate versus free valproate in therapeutic drug monitoring for bipolar disorder: a cross-sectional study [J]. *Asia-pac Psychiat*, 2024, 16 (2): e12555.
- [2] Brown CS, Liu JT, Riker RR, et al. Evaluation of free valproate concentration in critically ill patients [J]. *Crit Care Explor*, 2022, 4 (9): e0746.
- [3] Pretorius E, van ZP, Joubert G. Therapeutic drug monitoring for valproate: deriving a novel formula for calculation of free concentration [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2024, 80 (11): 1751-1759.
- [4] 史群志, 吴戈, 刘芳群, 等. 基于治疗药物监测干预丙戊酸和利福平药物相互作用的案例分析 [J]. *中南药学*, 2021, 19 (12): 2685-2687.
- [5] 陈明, 周利娟, 唐原君. 基于微透析技术的丙戊酸钠与左乙拉西坦相互作用研究 [J]. *中南药学*, 2019, 17 (8): 1279-1282.
- [6] Zhao MM, Li GF, Qiu F, et al. Development and validation of a simple and rapid UPLC-MS assay for valproic acid and its comparison with immunoassay and HPLC methods [J]. *Ther Drug Monit*, 2016, 38 (2): 246-252.
- [7] Kaewpradit S, Yusakul G, Rojsitthisak P, et al. A simple and rapid HPLC-UV method for the determination of valproic acid in human plasma using microwave-assisted derivatization with phenylhydrazine hydrochloride [J]. *Heliyon*, 2024, 10 (6): e27875.
- [8] Lipska K, Gumieniczek A, Pietraś R, et al. HPLC-UV and GC-MS methods for determination of chlorambucil and valproic acid in plasma for further exploring a new combined therapy of chronic lymphocytic leukemia [J]. *Molecules*, 2021, 26 (10): 2903.
- [9] Yang GC, Wang XC, Yang YH, et al. Quantitation of residual valproic acid in fluvaccine drug substance [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1152: 122235.
- [10] Nguyen ST, Ho DN, Huynh TAH, et al. Development of UPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of valproic acid and phenytoin in human plasma and application to study pharmacokinetic interaction in epilepsy patients [J]. *Heliyon*, 2024, 10 (13): e33630.
- [11] Dural E, Çelebi S, Bolayır A, et al. Development and validation of a new HPLC method for valproic acid determination in human plasma and its application to a therapeutic drug monitoring study [J]. *Maced Pharm Bull*, 2020, 66 (1): 1405.
- [12] Karlina M, Kosman V, Makarov V, et al. Pharmacokinetic interactions of phenosanic acid with valproic acid and carbamazepine in dogs [J]. *Bezopasnost' i risk farmakoterapii*, 2022, 10 (4): 420-433.
- [13] Abualhasan M, Odeh NW, Younis GN, et al. Analytical method development for sodium valproate through chemical derivatization [J]. *Int J Anal Chem*, 2020, 2020: 5672183.
- [14] Li YY, Jiang Y, Cao HW, et al. Therapeutic drug monitoring of valproic acid using a dried plasma spot sampling device [J]. *J Mass Spectrom*, 2021, 56 (4): e4603.
- [15] Yaripour S, Zaheri M, Mohammadi A, et al. An electromembrane extraction-HPLC-UV analysis for the determination of valproic acid in human plasma [J]. *Chin Chem Soc*, 2018, 65 (3): 989-994.
- [16] Saleh Faisal M, Jamil A, Ali N, et al. Distribution pattern of UGT1A6 and UGT2B7 gene polymorphism and its impact on the pharmacokinetics of valproic acid and carbamazepine: prospective genetic association study conducted in pakistani patients with epilepsy [J]. *Gene*, 2024, 892: 147886.
- [17] Liu LM, Zhao LM, Wang QN, et al. Influence of valproic acid concentration and polymorphism of UGT1A4*3, UGT2B7-161C > T and UGT2B7*2 on serum concentration of lamotrigine in Chinese epileptic children [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2015, 71 (11): 1341-1347.
- [18] 詹济华, 张春玲, 颜滢. HPLC 法测定癫痫患者丙戊酸钠血药浓度及临床应用 [J]. *临床合理用药*, 2023, 16 (19): 148-151.
- [19] Mao GF, Zhao K, Sun SS, et al. A new derivatization method for the determination of valproic acid in serum using tetramethylammonium hydroxide as a catalyst [J]. *Biomed Chromatogr*, 2019, 33 (3): e4440.
- [20] Lier C, Dejacó A, Kratzer A, et al. Free serum concentrations of antibiotics determined by ultrafiltration: extensive evaluation of experimental variables [J]. *Bioanalysis*, 2024, 16 (14): 747-756.
- [21] Yaripour S, Zaheri M, Mohammadi A, et al. An electromembrane extraction-HPLC-UV analysis for the determination of valproic acid in human plasma [J]. *J Chin Chem Soc-Taipei*, 2018, 65 (8): 989-994.
- [22] 王麟奇. 丙戊酸钠治疗药物监测方法的建立 [D]. 唐山: 华北理工大学, 2023.
- [23] 刘春河, 邓莉, 赵瑛, 等. 2016—2018 年我院 856 例患者的丙戊酸钠血药浓度监测结果分析 [J]. *中国药房*, 2020, 31 (3): 344-348.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-05-03)

基于代谢组学探讨芍药苷对高原低氧暴露肠损伤代谢物的影响

秦震^{1,2}, 陈杰^{1,2}, 蒲玲玲², 陈照立², 刘伟丽^{2*} (1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 军事科学院军事医学研究院, 天津 300050)

摘要: **目的** 基于代谢组学研究芍药苷对高原低氧暴露小鼠肠损伤的粪便代谢物的影响, 为高原低氧暴露肠损伤的调控机制研究提供理论依据。**方法** 将 30 只 BALB/c 小鼠随机分为对照组、低压低氧组和低压低氧+芍药苷组, 每组 10 只。低压低氧组和低压低氧+芍药苷组小鼠在低压氧舱模拟海拔 6000 m 进行慢性低压低氧干预 4 周, 低压低氧+芍药苷组灌胃给予芍药苷 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其余两组灌胃给予等体积生理盐水。实验中每周记录一次体重和摄食量; 采用 HE 染色和 AB-PAS 染色观察肠组织形态变化。通过酶联免疫吸附法检测血清中二胺氧化酶 (DAO) 和胃泌素 (GAS) 水平。采用液质联用 (LC-MS/MS) 技术检测粪便样本进行差异代谢物及代谢通路分析。**结果** 与对照组相比, 低压低氧组小鼠体重和摄食量显著降低 ($P < 0.05$), 绒毛变短且肿胀, 隐窝变深 ($P < 0.05$), GAS 水平降低 ($P < 0.01$), DAO 水平升高 ($P < 0.01$)。与低压低氧组相比, 低压低氧+芍药苷组小鼠体重和摄食量均无显著变化, 绒毛长度和隐窝深度得到显著改善 ($P < 0.05$), GAS 表达水平升高 ($P < 0.01$), DAO 表达水平降低 ($P < 0.01$)。代谢组结果显示, 高原低氧暴露可显著影响模型组小鼠粪便代谢物的水平, 芍药苷干预后, 由低压低氧诱导的缬氨酸、4-胍基丁酸、2-氨基己二酸、4-吡哆酸和 L- 酵母氨酸等代谢物显著得到改善; 代谢通路分析结果显示, 与对照组相比, 低压低氧组显著改变的代谢途径主要包括酪氨酸、嘧啶代谢、脂肪酸的生物合成等; 与低压低氧组相比, 芍药苷干预影响的代谢途径主要包括酪氨酸代谢, 维生素的消化和吸收, 苯丙氨酸代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, 谷胱甘肽代谢。**结论** 芍药苷可以显著改善高原低氧暴露诱导的肠黏膜损伤, 这与其改善缬氨酸、L- 酵母氨酸等代谢物及酪氨酸代谢等代谢通路密切相关。

关键词: 代谢组学; 高原低氧; 芍药苷; 肠损伤

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2921-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.018

Effect of paeoniflorin on intestinal injury metabolites in hypobaric hypoxia exposure based on metabolomics

QIN Zhen^{1,2}, CHEN Jie^{1,2}, PU Ling-ling², CHEN Zhao-li², LIU Wei-li^{2*} (1. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617*; 2. *Military Medicine Sciences Academy, Academy of Military Science, Tianjin 300050*)

Abstract: Objective To determine the effect of paeoniflorin (PF) on fecal metabolites of intestinal injury in hypobaric hypoxia-exposed mice based on metabolomics. **Methods** Thirty BALB/c mice were randomly divided into a control group (Control group), hypobaric hypoxia group (HH group), and hypobaric hypoxia + PF group (HH + PF group), with 10 mice in each group. The mice in the HH group and the HH + PF group were subjected to chronic hypobaric hypoxia in the hypobaric chamber at a simulated elevation of 6000 m for 4 weeks. In the HH + PF group, PF was administered $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ by gavage, while the rest of the mice were administered equal volumes of saline by gavage. The HH + PF group was given at $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of PF by gavage, and the other two groups were given equal volumes of saline by gavage. In the experiment, body weight and

作者简介: 秦震, 女, 硕士研究生, 主要从事中药药理学研究, email: z945415312@163.com * 通信作者: 刘伟丽, 女, 副研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药药理及安全性评价研究, email: liuweili-002@163.com

food intake were recorded once a week. HE staining and AB-PAS staining were used to observe the morphological changes in the intestinal tissues. The serum levels of diamine oxidase (DAO) and gastrin were detected with enzyme-linked immunosorbent assay. Liquid-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique was used to detect fecal samples for differential metabolites and metabolic pathway analysis. **Results** Mice in the HH group had significantly lower body weight and food intake ($P < 0.05$), shorter villus, deeper crypts ($P < 0.05$), lower GAS levels ($P < 0.01$) and higher DAO levels ($P < 0.01$) than those of the control group. Compared with the HH group, mice in the HH + PF group showed no significant changes in body weight and food intake, improved villus length and crypt depth ($P < 0.05$), increased gastrin expression level ($P < 0.01$), and decreased DAO expression level ($P < 0.01$). The metabolomics showed that hypobaric hypoxia exposure obviously affected the levels of fecal metabolites in the mice of the model group, and the metabolites induced by HH such as valine, 4-guanidinobutyric acid, 2-aminoadipic acid, 4-pyridoxic acid, and L-yeast were greatly improved by PF intervention; the metabolic pathway analysis showed that the metabolic pathways were greatly altered in the HH group, mainly obviously tyrosine, pyrimidine metabolism, fatty acid biosynthesis, etc. The metabolic pathways affected by PF intervention mainly included tyrosine metabolism, vitamin digestion and absorption, phenylalanine metabolism, glycine, serine and threonine, and glutathione metabolism, as compared with those of the HH group. **Conclusion** PF can greatly ameliorate intestinal mucosal injury induced by hypoxia exposure, which is closely related to its improvement of metabolites of valine, L-saccharopine and tyrosine metabolism pathways.

Key words: metabolomics; hypobaric hypoxia; paeoniflorin; intestinal injury

芍药作为一种历史悠久的多年生草本植物，是一味重要的中药材。目前已从芍药中鉴定出 180 多种化合物，包括萜烯、黄酮类、酚类、苷类等多种类别，具有丰富的药用价值^[1]。其中芍药苷（paeoniflorin）是从芍药科植物根部提取的一种单萜类糖苷化合物，具有多种药理活性^[2]。大量研究表明芍药苷在保护心脑血管、保护神经细胞、抗炎、抗抑郁、抗氧化、抗凋亡和调节免疫方面具有显著作用^[3-5]。但是，芍药苷对低压低氧肠道菌群代谢调控的作用尚未见报道。本研究旨在探讨芍药苷对低压低氧肠道菌群代谢的调控作用。

肠道微生物群是一个由数万亿微生物组成的高度多样化生态系统，其产生的小分子和代谢物对宿主肠道的发育、功能及体内平衡具有重要作用^[6]。微生物群及其代谢物都会影响宿主肠道健康^[7]，而其组成发生显著变化（即肠道菌群失调）则可导致代谢紊乱和疾病^[8]。菌群失调与多个系统疾病有着关联^[9]。代谢组学主要借助现代分析技术和高通量的检测方法，研究生物体系代谢产物变化规律，是更接近于表型的组学，能够更直接、更准确地反映生物体的生理状态^[10]。基于此，本研究以高原低氧暴露小鼠为模型，利用代谢组学技术分析对照组、低压低氧组和芍药苷组小鼠粪便中代谢物的变化规律及关键代谢通路，为芍药苷的开发应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

30 只 8 周龄 SPF 级健康雄性 BALB/c 小鼠，体重为 21 ~ 23 g [北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2021-0006]。饲养环境为：温度 24 ~ 26 °C，相对湿度 40% ~ 60%，明暗交替 12 h，自由饮食饮水，适应性饲养 7 d 后用于实验。本实验经环境医学与作业医学研究所实验动物福利伦理委员会批准（审查编号：IACUC of AMMS-04-2024-011）。

1.2 试剂

芍药苷（含量 ≥ 98%，上海源叶生物，货号：S31585）；无水乙醇、二甲苯（国药集团化学试剂有限公司）；伊红染液、苏木精染液（北京中杉金桥生物科技有限公司）；酸性乙醇分化液（上海源叶生物）；返蓝染色液 EDTA 脱钙液（天津国晟中源科技有限公司）；磷酸盐缓冲液（PBS）、中性树胶（北京索莱宝科技有限公司）；甲醇、甲酸（美国 Thermo Fisher 公司）；水（德国 Merck 公司）；二胺氧化酶（diamine oxidase, DAO）、胃泌素（gastrin, GAS）试剂盒（睿信生物）。

1.3 仪器

低压氧舱（上海塔望智能科技有限公司），RT-6100 型酶标仪（深圳雷杜生命科学有限公司），

LEiCA TP-1020 型脱水机 (徕卡仪器有限公司), 全景扫描仪 (3DHISTECH)。

2 方法

2.1 分组与造模

将 30 只 BALB/c 小鼠随机分为 3 组, 每组 10 只, 分别为对照组 (Control, 生理盐水)、低压低氧组 (生理盐水) 和低压低氧+芍药苷组 ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 芍药苷)^[11-12], 各组体重差异无统计学意义。小鼠适应性灌胃 1 周后, 低压低氧组和低压低氧+芍药苷组小鼠转移至低压氧舱 (高度设为 6000 m), $20 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 进行慢性低压低氧暴露 4 周, 每日在 8:00—12:00 对动物进行灌胃、清理等操作。实验过程中每周检测 1 次体重和 1 次摄食量。在实验进行第 28 日通过肛门刺激法收集新鲜小鼠粪便, 通过摘眼球取血的方式收集血液样本, 收集肠组织固定于 4% 多聚甲醛中用于后续分析。

2.2 苏木精-伊红 (HE) 染色

肠组织置于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后行石蜡包埋, 组织切片后依次脱蜡、水化、HE 染色、脱水、封片, 在光学显微镜下观察并采集图像。

2.3 阿利新蓝-过碘酸-雪夫 (AB-PAS) 染色

肠组织置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 后行石蜡包埋, 组织切片后依次脱蜡、水化、阿利新蓝染液染色、水洗, 过碘酸溶液氧化 5 min, 雪夫试剂染色、水洗, 苏木素染液进行染核、水洗, 酸性分化液分化、水洗, Scott 蓝化液返蓝, 水洗。逐级常规乙醇脱水。二甲苯透明, 中性树胶封固, 在光学显微镜下观察并进行图像采集分析。

2.4 ELISA 法检测血清 DAO 和 GAS 的表达情况

采集血液静置 1 h 后于 4°C 、 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 分离出血清备用。依照试剂盒说明书步骤操作测定 DAO 和 GAS 的表达情况。

2.5 代谢组学分析

2.5.1 非靶代谢样本前处理 首先取 100 mg 液氮研磨的粪便样本, 置于 EP 管中, 加入 500 μL 的 80% 甲醇水溶液, 涡旋振荡, 冰浴静置 5 min, $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 4°C 离心 20 min; 取一定量的上清液加质谱级水稀释至甲醇含量为 53%; 再以 $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 4°C 离心 20 min, 收集上清液, 进样行 LC-MS 分析。

2.5.2 色谱条件 色谱柱: HypersilGold column (C18) ($100 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $1.9 \mu\text{m}$), 柱温: 40°C , 流速: $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 流动相 A: 0.1% 甲酸, 流动相 B: 甲醇, 梯度洗脱 ($0 \sim 1.5 \text{ min}$: 98%A; $1.5 \sim 3 \text{ min}$: 98%~15%A; $3 \sim 10 \text{ min}$: 15%~

0%A; $10 \sim 10.1 \text{ min}$: 0%~98%A; $10.1 \sim 12 \text{ min}$: 98%A)。

2.5.3 质谱条件 扫描范围选择 m/z : 100~1500; ESI 源的设置如下: 喷雾电压为 3.5 kV; 鞘气流速为 35 psi; 辅助气流速为 $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 离子传输管温度为 320°C ; 离子导入射频电平为 60; 辅助气加热器温度为 350°C ; 极性: 正离子, 负离子; MS/MS 二级扫描为数据依赖性扫描。

2.5.4 代谢数据处理 使用代谢组学数据处理软件 metaX 对数据进行转换后进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA), 进而得每个代谢物的 VIP 值。单变量分析部分, 基于 t 检验来计算各代谢物在两组间统计学显著性 (P 值), 并计算代谢物在两组间的差异倍数 (fold change) 即 FC 值。差异代谢物筛选的默认标准为 $\text{VIP} > 1$, $P < 0.05$ 且 $\text{FC} > 1.5$ 。使用 KEGG 数据库、HMDB 数据和 LIPIDMaps 数据库对鉴定到的代谢物进行注释。差异代谢物之间进行 Pearson 相关性分析。

2.6 统计学处理

所有计量资料以均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 并使用 Image J 及 SPSS 21.0 软件进行分析。对实验数据进行正态性分析, 满足要求后再进行方差分析, 最后进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芍药苷对低压低氧暴露小鼠体重与摄食量的影响

与对照组相比, 低压低氧组小鼠体重显著降低 ($P < 0.05$); 与低压低氧组相比, 低压低氧+芍药苷组小鼠体重无统计学意义。摄食量结果显示, 与对照组相比, 低压低氧组小鼠摄食量减少 ($P < 0.01$); 随着低压低氧暴露时间的延长摄食量有所恢复, 但仍低于对照组, 与低压低氧组相比, 芍药苷干预对摄食量无统计学意义。结果表明, 芍药苷并不能显著逆转由于低压低氧暴露引起小鼠体重和摄食量的下降 (见图 1)。

3.2 芍药苷对低压低氧暴露小鼠肠道组织病理学的影响

小肠绒毛的长度可以反映肠道吸收功能的强弱, 而正常的绒毛结构和隐窝有助于维持肠道屏障的完整性。HE 染色结果显示, 与对照组相比, 低压低氧组小鼠小肠绒毛长度变短、肿胀, 隐窝间增大, 部分黏膜上皮发生变形甚至脱落, 与低压低氧组相比, 给予芍药苷干预组小鼠肠道损伤得到缓解, 表现为绒毛长度变长, 隐窝变浅 (见图 2)。

杯状细胞是分泌黏液的细胞, 位于肠道黏膜

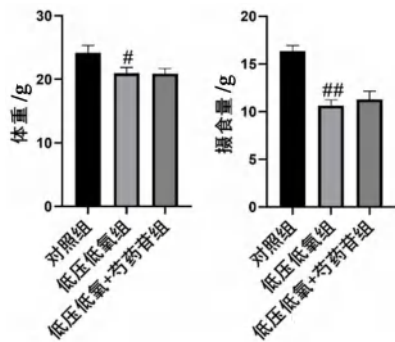


图 1 芍药苷对低压低氧暴露小鼠体重和摄食量的影响

Fig 1 Effect of paeoniflorin on body weight and food intake in mice exposed to hypobaric hypoxia

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.001$.

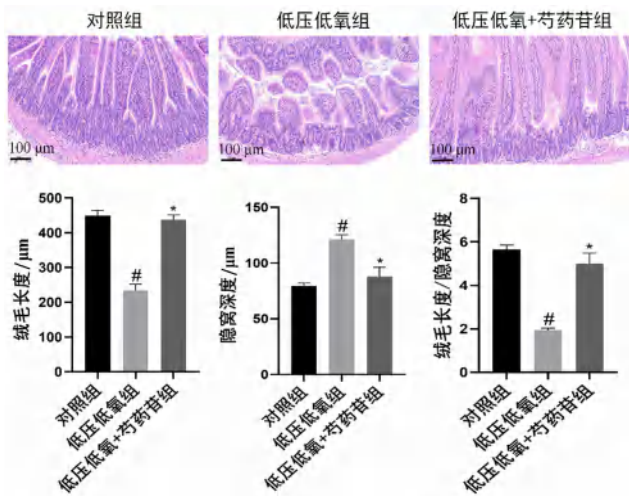


图 2 HE 染色观察芍药苷对低压低氧暴露小鼠肠组织病理学变化的影响

Fig 2 Evaluation of paeoniflorin effects on intestinal histopathological changes in hypobaric hypoxia-exposed mice by HE staining

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$; 与低压低氧组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, [#] $P < 0.05$; compared with the hypobaric hypoxia group, ^{*} $P < 0.05$.

表面, 其生成的黏液覆盖在肠道表面, 发挥保护作用。杯状细胞数量和分泌功能的变化直接反映了肠道黏膜的保护状态。AB-PAS 染色结果显示, 与对照组相比, 低压低氧组小鼠肠上皮损伤严重, 杯状细胞数量显著减少。与低压低氧组相比, 给予芍药苷干预小鼠肠道损伤得到缓解, 杯状细胞数量显著增多 (见图 3)。

以上结果表明高海拔暴露会导致小鼠肠细胞形态学的改变、固有层破坏以及肠黏膜受损, 芍药苷干预可改善低压低氧暴露诱导的肠黏膜损伤。

3.3 芍药苷对低压低氧暴露小鼠肠道损伤的影响

GAS 和 DAO 均可反映肠道机械屏障的完整性

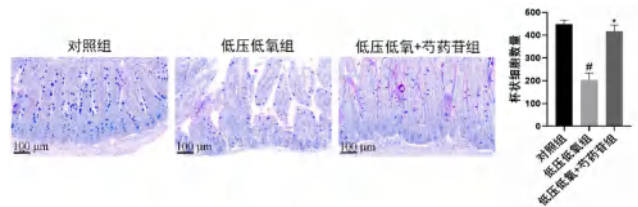


图 3 AB-PAS 染色观察芍药苷对低压低氧暴露观察小鼠肠组织病理学变化

Fig 3 Effect of paeoniflorin on intestinal histopathological changes in hypobaric hypoxia-exposed mice by AB-PAS staining

注: 与对照组比较, [#] $P < 0.05$; 与低压低氧组比较, ^{*} $P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, [#] $P < 0.05$; compared with the hypobaric hypoxia group, ^{*} $P < 0.05$.

和受损伤程度。由图 4 可知, 与对照组相比, 低压低氧组小鼠血清中的 DAO 水平升高 ($P < 0.01$), 而 GAS 水平显著降低 ($P < 0.01$); 与低压低氧组相比, 给予芍药苷干预后 DAO 水平降低 ($P < 0.01$), GAS 水平升高 ($P < 0.01$)。以上结果表明芍药苷可改善低压低氧暴露诱导的肠黏膜损伤。

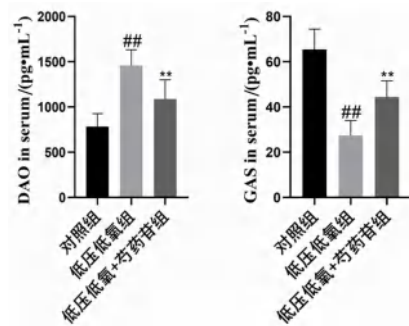


图 4 芍药苷对低压低氧暴露小鼠血清中 DAO 和 GAS 水平的影响

Fig 4 Effect of paeoniflorin on serum levels of DAO and GAS in hypobaric hypoxia-exposed mice

注: 与对照组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与低压低氧组比较, ^{**} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, ^{##} $P < 0.01$; compared with the hypobaric hypoxia group, ^{**} $P < 0.01$.

3.4 芍药苷对高原低氧暴露小鼠体内代谢物的调节作用

采用 LC-MS 分别在正离子和负离子模式下分析对照组、模型组和芍药苷组样本的代谢物组成。共收集到 1644 个代谢物峰, 其中正离子模式 1047 个, 负离子模式 597 个。基于代谢物的相对定量值来计算 QC 样本之间的 Pearson 相关系数显示整个检测过程稳定性好, 数据质量高, 可用于后续分析。PCA 分析结果显示各组有较好的分离。进一步的 PLS-DA 分析结果表明, 对照组可以完全与低压低氧组分开, 低压低氧组可以完全与低压低氧+芍药苷组分开, 显示了良好的模型适应性 (见图 5)。

3.5 筛选差异代谢物

研究发现对照组与低压低氧组有 170 个差异代谢物, 低压低氧组与低压低氧+芍药苷组有 150 个差异代谢物, 共有 47 个交叉的代谢物。基于 PLS-DA 模型, 根据 $VIP > 1.0$, $FC > 1.5$ 或 $FC < 0.667$ 且 $P < 0.05$ 的标准进行差异代谢物的筛选。结果见图 6, 在正离子模式下, 对照组与低压低氧组差异代谢物数量为 170 个, 其中上调代谢物 99 个, 下调代谢物 71 个; 低压低氧组与低压低氧+芍药苷组差异代谢物数量为 150 个, 其中上调代谢物 72 个, 下调代谢物 78 个。进一步分析发现, 与对照组相比, 低压低氧组缬氨酸、4- 胍基丁酸、2- 氨基己二酸和 4- 吡哆酸显著下调; L- 酪母氨酸显著上调, 经芍药苷干预后, 低压低氧诱导的缬氨酸、4- 胍基丁酸、2- 氨基己二酸, 4- 吡哆酸和 L- 酪母氨酸等代谢物显著得到改善。

3.6 代谢途径分析

使用 MetaboAnalyst 软件对上述差异代谢物进行差异途径的筛选, 以筛选显著的代谢途径 (差异代谢物的 $P < 0.05$, 影响值 > 0.10), 见图 7。与对照组相比, 低压低氧组显著改变的代谢途径主要包括不饱和脂肪酸的生物合成 (biosynthesis of unsaturated fatty acids)、嘧啶代谢 (pyrimidine metabolism)、酪氨酸代谢 (tyrosine metabolism)、脂肪酸的生物合成 (fatty acid biosynthesis)、癌症中的胆碱代谢 (choline metabolism in cancer)、抗叶酸抗药性 (antifolate resistance); 与低压低氧组相比, 芍药苷干预显著影响的代谢途径主要包括酪氨酸代谢 (tyrosine metabolism), 维生素的消化和吸收 (vitamin digestion and absorption), 苯丙氨酸代谢 (phenylalanine metabolism), 磷酸戊糖途径 (pentose phosphate pathway), 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 (glycine, serine and threonine metabolism), 谷胱甘肽代谢 (glutathione metabolism), 碳代谢 (carbon metabolism)。

4 讨论

高原低氧暴露引起缺氧, 缺氧引起的氧化应激可能会导致消化性溃疡等胃肠道病变的形成^[13], 受损的肠道屏障可能会损害机体对营养的吸收, 在低压低氧环境中机体的体重和食欲变化较为明显^[14]。本研究在低压低氧暴露小鼠模型中观察到小鼠体重和摄食量均下降, 表明低压低氧暴露可引起小鼠肠道损伤表现。

肠道是机体营养物质消化和吸收的主要场所, 还具有重要的屏障功能^[15]。GAS 为一种胃肠激素, 有助于保护肠道黏膜免受进一步损伤^[16]; DAO 是小肠黏膜细胞中具有高活性的特异性肠黏膜酶, 这种酶对于维持肠道屏障正常的功能起着关键作用^[17]。研究发现通过检测血液中 DAO 的水平, 可以评估肠道屏障受损的状况^[18]。本研究 HE 和 AB-PAS 染色显示, 低压低氧暴露导致小鼠的肠绒毛变短且肿胀, 隐窝间距增大, 伴随着杯状细胞数量减少, GAS 水平均降低, DAO 水平显著升高, 表明肠屏障受损; 而给予芍药苷干预后肠黏膜损伤得到改善, 表明芍药苷有益于肠道黏膜的恢复。

宿主和肠道微生物群都会产生粪便代谢物, 这些代谢物在维护健康方面起着重要作用。研究发现缬氨酸能够刺激肠道中抗菌成分的产生^[19]; 4- 胍基丁酸已用于肠道转运, 对能量代谢至关重要^[20]; L- 酪母氨酸是一种关键代谢物, 破坏线粒体稳态^[21]。研究发现酪氨酸能够帮助有效应对急性应激和维持体内平衡^[22]; 苯丙氨酸通过改善跨膜紧密连接蛋白和胞质紧密连接蛋白的转录以及增加抗氧化酶的表达来调节肠道物理屏障^[23]; 谷胱甘肽是肠道消除过氧化物的关键决定因素^[24]。本研究使用粪便样本分析了代谢差异物和代谢途径的变化, 根据筛选差异代谢物, 发现低压低氧暴露小鼠中有益代谢物如缬氨酸, 4- 胍基丁酸, 2- 氨基己二酸和 4- 吡哆酸含量下降, 而 L- 酪母氨酸含量上升; 给予芍药苷干预明显回调小鼠中有益代谢物如缬氨酸, 4- 胍基丁酸, 2- 氨基己二酸和 4- 吡哆酸含量, 降低 L- 酪母氨酸含量。此外, 本研究发现酪氨酸代谢, 苯丙氨酸代谢, 甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸代谢和谷胱甘肽代谢等参与了芍药苷对低压低氧暴露肠黏膜损伤改善作用的调控。综上所述, 酪氨酸代谢及甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等参与细胞内氧化应激调节过程, 它们可通过产生生物活性物质、参与氧化还原反应等方式从而减轻氧化应激对细胞的损伤^[25-27], 提示芍药苷可能通过影响氧化应激发挥肠道保护作用。

综上, 本研究结果表明, 低压低氧暴露会导致肠黏膜损伤, 肠道功能下降。芍药苷可以改善低压低氧暴露诱导的肠黏膜损伤, 这与其改善缬氨酸、L- 酪母氨酸等代谢物及酪氨酸代谢等代谢通路密切相关。

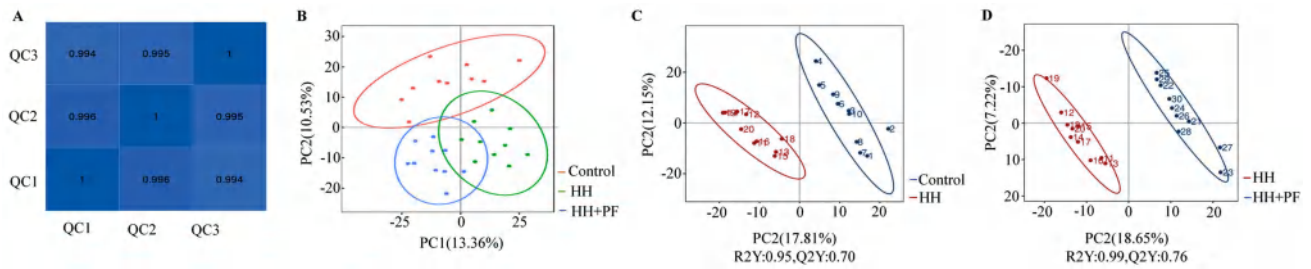


图 5 样本相关性分析

Fig 5 Sample correlation analysis

A. QC 样本相关性分析 (QC sample correlation analysis); B. 总样本 PCA 分析 (total sample PCA analysis); C、D. 主成分分析 (principal component analysis)

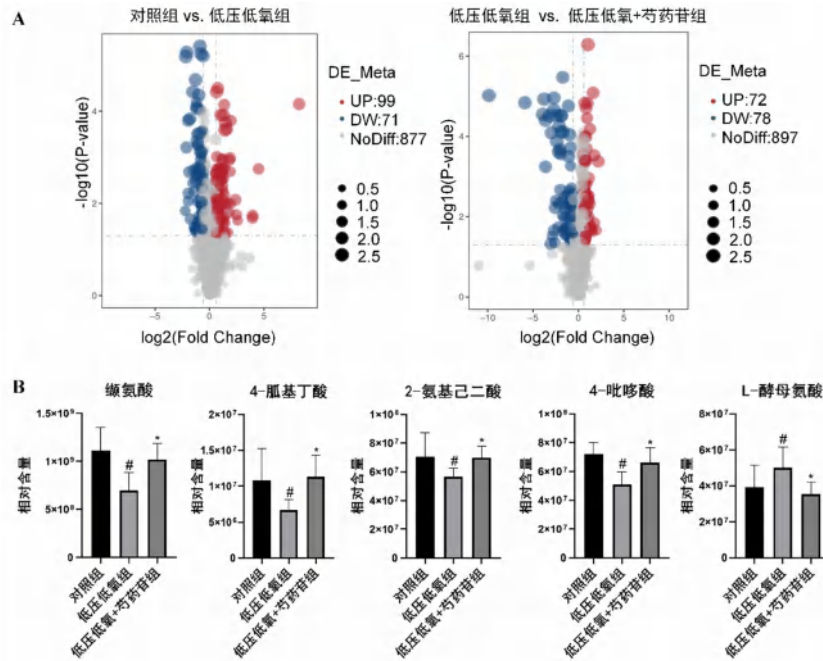


图 6 组间比较差异代谢物分析

Fig 6 Comparative analysis of differential metabolites between groups

注: 与对照组比较, $^{\#}P < 0.05$; 与低压低氧组比较, $^{*}P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group, $^{\#}P < 0.05$; compared with the hypobaric hypoxia group, $^{*}P < 0.05$.

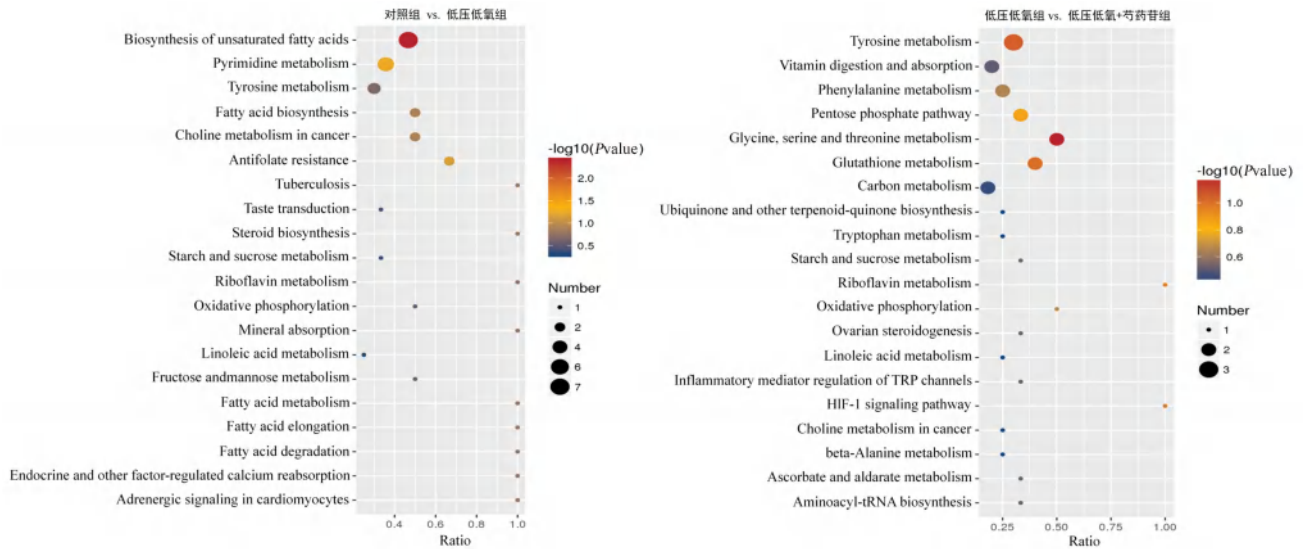


图 7 KEGG 富集代谢途径 Top20

Fig 7 KEGG-enriched metabolic pathway Top20

参考文献

- [1] Ma WJ, Ren HS, Meng X, et al. A review of the ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and quality control of *Paeonia lactiflora* Pall [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335: 118616.
- [2] Wen J, Xu B, Sun YC, et al. Paeoniflorin protects against intestinal ischemia/reperfusion by activating LKB1/AMPK and promoting autophagy [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 146: 104308.
- [3] Fan YX, Qian C, Liu BQ, et al. Induction of suppressor of cytokine signaling 3 via HSF-1-HSP70-TLR4 axis attenuates neuroinflammation and ameliorates postoperative pain [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 68: 111-122.
- [4] Yang XW, Yao WJ, Shi HT, et al. Paeoniflorin protects Schwann cells against high glucose induced oxidative injury by activating Nrf2/ARE pathway and inhibiting apoptosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 361-369.
- [5] Ma XH, Duan WJ, Mo YS, et al. Neuroprotective effect of paeoniflorin on okadaic acid-induced tau hyperphosphorylation via calpain/Akt/GSK-3 β pathway in SH-SY5Y cells [J]. *Brain Res*, 2018, 1690: 1-11.
- [6] Xing PYL, Pettersson S, Kundu P. Microbial metabolites and intestinal stem cells tune intestinal homeostasis [J]. *Proteomics*, 2020, 20 (5-6): e1800419.
- [7] Groen RN, de Clercq NC, Nieuwdorp M, et al. Gut microbiota, metabolism and psychopathology: a critical review and novel perspectives [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2018, 55 (4): 283-293.
- [8] Cai YL, Luo YH, Dai NN, et al. Functional metagenomic and metabolomics analysis of gut dysbiosis induced by hyperoxia [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1197970.
- [9] 汤倩倩, 曹丽华. 肠道菌群与神经系统疾病 [J]. *生物工程学报*, 2021, 37 (11): 3757-3780.
- [10] 张雨馨, 陈碧莹, 王丽明, 等. 代谢组学在中药作用机制研究中的应用 [J]. *中南药学*, 2023, 7 (21): 1712-1719.
- [11] Gu PQ, Zhu L, Liu YJ, et al. Protective effects of paeoniflorin on TNBS-induced ulcerative colitis through inhibiting NF-kappaB pathway and apoptosis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 50: 152-160.
- [12] 司晓丽. 芍药苷对结肠炎相关性结直肠癌的化学预防作用及机制研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
- [13] 朱敏侠, 李晓凤. 高海拔急性胃黏膜损伤的病因与发病机制研究进展 [J]. *沈阳医学院学报*, 2023, 5 (25): 535-539.
- [14] Westerterp-Plantenga MS. Challenging energy balance-during sensitivity to food reward and modulatory factors implying a risk for overweight-during body weight management including dietary restraint and medium-high protein diets [J]. *Physiol Behav*, 2020, 221: 112879.
- [15] 黄小流, 颜小星, 张童童. 马齿苋多糖对早期断奶大鼠生长性能、血清生化指标和肠道形态的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 4 (31): 1773-1780.
- [16] 彭昊, 龙博文, 肖晨, 等. 重症监护室患儿血清胃泌素和胃动素指标的变化及意义研究 [J]. *中国全科医学*, 2021, 32 (24): 102-108.
- [17] Guo YJ, Li HL, Liu Z, et al. Impaired intestinal barrier function in a mouse model of hyperuricemia [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20 (4): 3292-3300.
- [18] 陆一凡, 陈宋海, 王清清, 等. 重症急性胰腺炎患者肠黏膜屏障损伤与血清二胺氧化酶和 TLR9 水平及肠道菌群和其代谢产物的相关性 [J]. *中国微生态学杂志*, 2024, 3 (36): 292-297.
- [19] Tsugami Y, Nii T, Isobe N. Valine treatment enhances antimicrobial component production in mammary epithelial cells and the milk of lactating goats without influencing the tight junction barrier [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2023, 28 (1): 3.
- [20] Song YH, Wei DD, Wang Q, et al. Luteoloside mitigates premature age-related macular degeneration by suppressing p53-p21-Rb1 axis: insights from transcriptomic analysis, serum metabolomics and gut microbiota analysis [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2024, 248: 116296.
- [21] Wen JY, Feng YZ, Xue LR, et al. High-fat diet-induced L-saccharopine accumulation inhibits estradiol synthesis and damages oocyte quality by disturbing mitochondrial homeostasis [J]. *Gut Microbes*, 2024, 16 (1): 2412381.
- [22] Kühn S, Düzel S, Colzato L, et al. Food for thought: association between dietary tyrosine and cognitive performance in younger and older adults [J]. *Psychol Res*, 2019, 83 (6): 1097-1106.
- [23] Feng L, Li W, Liu Y, et al. Dietary phenylalanine-improved intestinal barrier health in young grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) is associated with increased immune status and regulated gene expression of cytokines, tight junction proteins, antioxidant enzymes and related signalling molecules [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2015, 45 (2): 495-509.
- [24] Mardinoglu A, Shoaie S, Bergentall M, et al. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice [J]. *Mol Syst Biol*, 2015, 11 (10): 834.
- [25] Shibafuji Y, Nagao N, Yohda M. Cystine and tyrosine feed reduces oxidative and ER stress in CHO cells [J]. *Biotechnol J*, 2023, 18 (7): e2200638.
- [26] Wu XL, Liu C, Yang S, et al. Glycine-serine-threonine metabolic axis delays intervertebral disc degeneration through antioxidant effects: an imaging and metabolomics study [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021: 5579736.
- [27] Gasmi A, Nasreen A, Lenchyk L, et al. An update on glutathione's biosynthesis, metabolism, functions, and medicinal purposes [J]. *Curr Med Chem*, 2024, 31 (29): 4579-4601.

(收稿日期: 2024-12-31; 修回日期: 2025-03-17)

HPLC 特征图谱结合熵权 TOPSIS 法的枳壳及其易混淆品质量差异研究

何健¹, 郑舒宁^{2, 3}, 曹晖^{2, 3}, 马志国^{2, 3*} (1. 华润三九医药股份有限公司, 广东 深圳 518110; 2. 暨南大学岭南传统中药研究中心, 广州 510632; 3. 国家中药现代化工程技术研究中心岭南资源分中心, 广州 510632)

摘要: **目的** 建立枳壳及其易混淆品(衢枳壳、香圆、绿衣枳壳)的特征图谱分析方法, 结合化学模式识别与熵权 TOPSIS 法评价其质量。**方法** 采用 HPLC 法建立 39 批枳壳及其混淆品的特征图谱并进行相似度评价, 结合偏最小二乘判别分析(PLS-DA)区分 4 种药材, 并确认质量差异标志物。采用熵权 TOPSIS 法计算相对贴近程度, 进行枳壳与衢枳壳的综合质量排名。**结果** 枳壳与衢枳壳特征图谱高度相似, 共识别出 10 个共有峰, 与香圆、绿衣枳壳的特征图谱具有明显差异, 分别识别出 4 个、3 个共有峰, 其中峰 1~峰 10 和峰 12 被准确指认。PLS-DA 将香圆、绿衣枳壳各自聚为一类, 枳壳与衢枳壳聚为一类, 筛选出峰 7(新橙皮苷)、峰 4(柚皮苷)、峰 3(芸香柚皮苷)、峰 10(橘皮素)、峰 2(新北美圣草苷)、峰 5(橙皮苷)、峰 9(川陈皮素) 7 个质量差异标志物。熵权 TOPSIS 评价发现衢枳壳与江西、湖南产的枳壳质量整体一致性高, 均优于重庆产的枳壳。**结论** 建立的分析方法可准确区分枳壳及其易混淆品(香圆、绿衣枳壳), 枳壳与衢枳壳化学组成及质量一致性高。

关键词: 枳壳; 衢枳壳; 香圆; 绿衣枳壳; 熵权 TOPSIS 法; 特征图谱; 化学模式识别

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2928-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.019

Quality difference between *Citrus aurantium* (Zhiqiao) and its confusing products by HPLC characteristic chromatogram combined with entropy-weighted TOPSIS

HE Jian¹, ZHENG Shu-ning^{2, 3}, CAO Hui^{2, 3}, MA Zhi-guo^{2, 3*} (1. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen Guangdong 518110; 2. Research Center for Traditional Chinese Medicine of Lingnan, Jinan University, Guangzhou 510632; 3. National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine Lingnan Resources Branch, Guangzhou 510632)

Abstract: Objective To establish a characteristic chromatogram method to distinguish Zhiqiao (ZQ) from its confusing products [Quzhiqiao (QQZ), Xiangyuan (XY), and Lvzhiqiao (LVZQ)], and to evaluate their quality with chemical pattern recognition combined with entropy-weighted TOPSIS. **Methods** HPLC was used to establish characteristic chromatograms of 39 batches of ZQ and its confusing products, and evaluate the similarity. Partial least square discriminate analysis (PLS-DA) was used to distinguish the four medicinal materials and identify quality-differentiating markers. Subsequently, the entropy-weight TOPSIS method was used to calculate the relative proximity for comprehensive quality ranking of ZQ and QQZ. **Results** The characteristic chromatograms of ZQ and QQZ exhibited high similarity, with 10 common peaks. Significant differences were observed among the characteristic chromatograms of ZQ, XY, and LVZQ, with 4 and 3 common peaks recognized,

基金项目: 广东省药品监督管理局科技创新项目 (No.2023YDZ10)。

作者简介: 何健, 男, 副主任中药师, 主要从事制剂与质量研究, email: heni@999.com.cn *通信作者: 马志国, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药炮制机制与饮片质量标准研究, email: 280595722@qq.com

respectively. Peak 1 to 10 and peak 12 were accurately identified with chemical reference substances. PLS-DA clustered XY into the first category, LVZQ into the second category, while ZQ and QZQ into the third category. The seven quality-differentiating markers, peak 7 (neohesperidin), peak 4 (naringin), peak 3 (narirutin), peak 10 (tangeretin), peak 2 (neoeriocitrin), peak 5 (hesperidin), and peak 9 (nobiletin) were screened by PLS-DA. Entropy-weighted TOPSIS indicated better quality consistency between QZQ and ZQ from Jiangxi and Hunan as compared with ZQ from Chongqing. **Conclusion** The established analytical method may effectively differentiate ZQ from its confusing products XY and LVZQ. ZQ shows high consistency with QZQ in terms of chemical compositions and quality.

Key words: *Citrus aurantium*; *Citrus changshan-huyou*; *Citrus wilsonii*; *Poncirus trifoliata*; entropy-weighted TOPSIS method; characteristic chromatogram; chemical pattern recognition

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实，主产于江西、四川、湖南等地，具有理气宽中、行滞消胀的功效，主治胸胁气滞、胀满疼痛、食积不化、痰饮内停、脏器下垂等症^[1]。枳壳主要活性成分有黄酮苷类、挥发油类、香豆素类等^[2-3]，其中黄酮苷类具有抗氧化、抗炎等多种药理作用^[4-6]，是枳壳理气、行滞、祛痰、平喘的重要成分。

唐宋时期，枸橘与酸橙的果实均作为枳壳使用，至明清确立酸橙为正品^[7]。《全国中草药汇编》^[8]指出个别地区将枸橘果实作枳壳使用，枸橘为芸香科植物枸橘 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥近成熟果实^[9]，俗称“绿衣枳壳”，不是枳壳的法定基原^[10]。此外，“香圆枳壳”“衢枳壳”也是枳壳常见代用、混用品^[11]。香圆来自中药香橼的基原植物香圆 *Citrus wilsonii* Tanaka，主产陕西^[12]；衢枳壳为芸香科植物常山胡柚 *Citrus changshan-huyou* Y. B. Chang 的干燥未成熟果实^[13]，主产地浙江。衢枳壳、香圆、绿衣枳壳因外观性状及名称与枳壳相似，市场流通时极易混用、代用，为枳壳临床用药的有效性和安全性带来了一定的风险。目前有关枳壳鉴别研究多集中于枳壳与易混淆品性状^[14]、显微^[15]、薄层^[16]等特征鉴别及不同产地^[17]、不同基原枳壳^[18]鉴别，未见枳壳与其常见易混淆品的化学成分分析及其质量对比研究。

本研究以枳壳及其 3 种常见混淆品为研究对象，建立 HPLC 特征图谱，结合偏最小二乘判别分析 (partial least square discriminate analysis, PLS-DA) 模式识别法辨识 4 种药材的差异化学成分，进一步采用熵权 - 优劣解距离 (TOPSIS) 法评价枳壳与衢枳壳的质量一致性及差异性，为枳壳鉴别及其质量控制提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高液相色谱 (DAD 检测

器，美国 Thermo 公司)；XSR105/A 型十万分之一天平 (瑞士梅特勒托利多公司)；FA 2204B 型万分之一电子天平 (上海佑科仪器仪表有限公司)；KQ-300DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)；Milli-Q 型超纯水系统 (美国 Millipore 公司)。

1.2 试药

甲醇、乙腈 [色谱纯，赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]；甲酸 (色谱级，天津科密欧化学试剂有限公司)；新西兰牡荆苷 (批号：RDD-X07302206010)、新北美圣草苷 (批号：RDD-X08002205012)、芸香柚皮苷 (批号：RDD-Y07102005010)、柚皮苷 (批号：RDD-Y00611712016)、橙皮苷 (批号：C-006191012)、野漆树苷 (批号：RDD-Y10602204022)、新橙皮苷 (批号：RFS-X-1001908012)、香蜂草苷 (批号：RDD-X03402001007)、枳属苷 (批号：RDD-G01902110011)、川陈皮素 (批号：RDD-C01502009007)、橘皮素 (批号：RDD-J02202008018) (成都瑞芬思生物科技有限公司，纯度均大于 96%)。

共收集样品 39 批，经暨南大学药学院马志国教授鉴定，枳壳 (ZQ-1 ~ ZQ-15) 为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的干燥未成熟果实；衢枳壳 (QZQ-1 ~ QZQ-4) 为芸香科植物常山胡柚 *Citrus changshan-huyou* Y. B. Chang 的干燥未成熟果实；香圆 (XY-1 ~ XY-11) 为芸香科植物香圆 *Citrus wilsonii* Tanaka 的干燥果实；绿衣枳壳 (LVZQ-1 ~ LVZQ-9) 为芸香科植物枸橘 *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. 的干燥近成熟果实。样品信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kinetex C18 100A (100 mm×4.6 mm, 2.6 μm) 色谱柱，0.1% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B) 流动相，梯度洗脱 (0 ~ 20 min, 10% ~ 15%B; 20 ~ 30 min, 15%B; 30 ~ 35 min, 15% ~ 25%B; 35 ~ 40 min, 25% ~ 35%B; 40 ~ 50 min, 35% ~ 40%B)；检

表 1 样品来源信息

Tab 1 Sample source information

批号	产地	批号	产地	批号	产地
ZQ-1	江西宜春	ZQ-14*	湖南常德汉寿	XY-8	浙江
ZQ-2	江西九江	ZQ-15*	湖南常德汉寿	XY-9	广东
ZQ-3	江西吉安	QZQ-1*	浙江衢州	XY-10	广东
ZQ-4	江西新余	QZQ-2*	浙江衢州	XY-11	广东
ZQ-5	江西赣州	QZQ-3*	浙江衢州	LVZQ-1*	河南南阳
ZQ-6	江西樟树	QZQ-4*	浙江衢州	LVZQ-2	河南南阳
ZQ-7*	重庆江津	XY-1*	陕西汉中	LVZQ-3	山东日照
ZQ-8*	重庆江津	XY-2*	陕西汉中	LVZQ-4	浙江衢州
ZQ-9*	重庆江津	XY-3*	陕西汉中	LVZQ-5	安徽亳州
ZQ-10*	重庆江津	XY-4*	陕西汉中	LVZQ-6	安徽亳州
ZQ-11*	湖南常德汉寿	XY-5*	江苏南通	LVZQ-7	湖北
ZQ-12*	湖南常德汉寿	XY-6*	江苏南通	LVZQ-8	不详
ZQ-13*	湖南常德汉寿	XY-7*	江苏南通	LVZQ-9	湖北荆州

注 (Note): *. 自采样品 (samples collected by self)。

测波长 283 nm, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃, 进样量 5 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取新西兰牡荆苷、新北美圣草苷、野漆树苷、香蜂草苷、川陈皮素对照品适量, 甲醇定容于 5 mL 量瓶中, 作为 A 液; 芸香柚皮苷、橙皮苷同法制备, 定容于 2 mL 量瓶中, 作为 B 液; 橘皮素单独定容于 5 mL 量瓶中, 作为 C 液。取柚皮苷、新橙皮苷、枳属苷对照品适量, 置 5 mL 量瓶中, 加入 A 液 0.8 mL、B 液 0.6 mL、C 液 0.3 mL, 甲醇定容, 得到新西兰牡荆苷、新北美圣草苷、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、野漆树苷、新橙皮苷、香蜂草苷、枳属苷、川陈皮素和橘皮素质量浓度分别为 0.0314、0.0483、0.1152、0.9320、0.0930、0.0381、0.6960、0.0492、0.3060、0.0408、0.0156 mg · mL⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品粉末 (过 2 号筛) 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入 75% 甲醇 50 mL, 密塞摇匀, 称定重量, 超声 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 提取 30 min, 放冷补足, 滤过, 取续滤液过 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取枳壳 (ZQ-5)、香圆 (XY-2)、绿衣枳壳 (LVZQ-1) 样品分别按照 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 分别连续进样 6 次。以柚皮苷 (4 号峰) 为参照峰, 计算各峰的相对保留时间与相对峰面积。11 个色谱峰的相对保留时间 *RSD* 均 < 0.48%, 相对峰面积 *RSD* 均 < 1.2%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取枳壳 (ZQ-5)、香圆 (XY-2)、绿衣枳壳 (LVZQ-1) 样品, 分别按照 “2.2.2”

项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、12、16、20、24 h 进样测定, 以柚皮苷 (4 号峰) 为参照峰, 11 个色谱峰的相对保留时间 *RSD* 均 < 3.2%, 相对峰面积 *RSD* 均 < 4.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.3 重复性试验 取枳壳 (ZQ-5)、香圆 (XY-2)、绿衣枳壳 (LVZQ-1) 样品分别按照 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液各 6 份, 进样测定, 以柚皮苷 (4 号峰) 为参照峰, 11 个色谱峰的相对保留时间 *RSD* 均 < 3.3%, 相对峰面积 *RSD* 均 < 1.9%, 表明该方法重复性良好。

2.4 特征图谱的建立及分析

2.4.1 特征图谱的建立 将 39 批次样品按照 “2.2.2” 项下方法制备供试品溶液, 进样分析, 记录色谱图。将各批次样品的原始数据导入 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012 版)”, 分别以 ZQ-1、XY-1、LVZQ-1 为参照图谱, 中位数为基准, 时间窗宽度为 0.1 min, 采用多点校正法分别生成枳壳和衢枳壳、香圆、绿衣枳壳叠加图谱及对照特征图谱, 见图 1、2。15 批枳壳与 4 批衢枳壳特征图谱高度相似, 共标定 10 个特征峰, 11 批香圆特征图谱标定 5 个特征峰, 9 批绿衣枳壳特征图谱标定 7 个特征峰。经与对照品比对, 成功指认 11 个色谱峰, 分别为新西兰牡荆苷 (峰 1)、新北美圣草苷 (峰 2)、芸香柚皮苷 (峰 3)、柚皮苷 (峰 4)、橙皮苷 (峰 5)、野漆树苷 (峰 6)、新橙皮苷 (峰 7)、枳属苷 (峰 8)、川陈皮素 (峰 9)、橘皮素 (峰 10)、香蜂草苷 (峰 12)。

2.4.2 共有峰的识别及分析 由图 2 可知, 枳壳及易混淆品中仍以黄酮类成分为主, 其中峰 1 ~ 峰 10 是枳壳与衢枳壳特征图谱的共有峰, 且峰 4 (柚皮苷)、峰 5 (新橙皮苷) 均是枳壳^[1]、衢枳壳^[13]的含量测定指标。枳壳、香圆、绿衣枳壳三者之间色谱峰差异较大, 枳壳与香圆特征图谱的共有峰有 4 个, 分别为峰 1 (新西兰牡荆苷)、峰 2 (新北美圣草苷)、峰 4 (柚皮苷)、峰 6 (野漆树苷)。枳壳与绿衣枳壳特征图谱的共有峰有 3 个, 分别为峰 3 (芸香柚皮苷)、峰 4 (柚皮苷)、峰 8 (枳属苷)。峰 11 是香圆与绿衣枳壳的共有峰, 峰 12 (香蜂草苷)、峰 13、峰 14 是绿衣枳壳的特征峰, 可用于区分绿衣枳壳与枳壳、衢枳壳、香圆。

2.4.3 相似度评价 15 批枳壳特征图谱的相似度分别为 0.958、0.988、0.992、0.983、0.974、0.987、0.978、0.977、0.990、0.999、0.999、0.998、0.995、0.999、0.998, 4 批衢枳壳特征图谱的相似度分别为 0.995、0.994、0.998、0.990, 两者特征图谱相似度较高, 均在 0.958 以上, 仅通过相似度评价

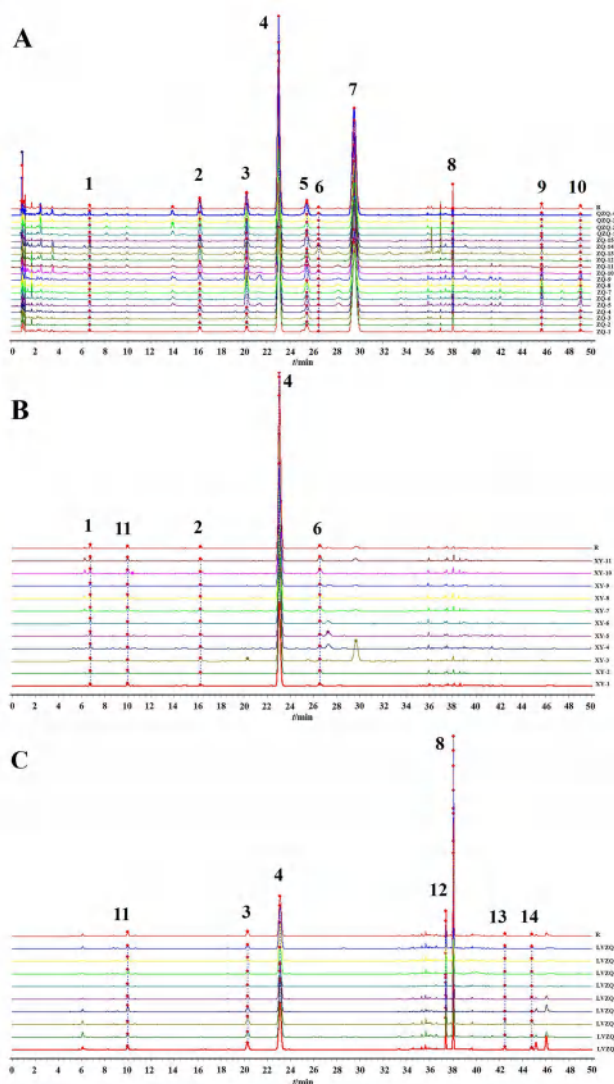


图 1 39 批样品特征图谱

Fig 1 Characteristic chromatograms of 39 batches of samples

A. 枳壳 (ZQ-1 ~ ZQ-15) 和 衢枳壳 (QQZQ-1 ~ QQZQ-4); B. 香圆 (XY-1 ~ XY-11); C. 绿衣枳壳 (LVZQ-1 ~ LVZQ-9)

难以区分^[2]。11 批香圆与枳壳对照图谱的相似度分别为 0.771、0.771、0.896、0.771、0.770、0.771、0.771、0.771、0.771、0.771、0.771，均在 0.90 以下，9 批绿衣枳壳与枳壳对照图谱的相似度分别为 0.509、0.517、0.491、0.655、0.443、0.577、0.494、0.549、0.492，均在 0.66 以下。

多批次枳壳、衢枳壳、香圆、绿衣枳壳的特征图谱中各自特征峰相对保留时间 RSD 分别为 0.060% ~ 0.48%、0.050% ~ 0.18%、0.070% ~ 0.51%、0.010% ~ 0.67%，其相对峰面积 RSD 分别为 24.0% ~ 136.0%、14.0% ~ 62.0%、25.0% ~ 42.0%、26.0% ~ 57.0%。说明 4 种药材各特征峰保留时间对应良好，各批次间共有峰所代表化合物较稳定，但峰面积有明显差别，故选用峰面积为指标，结合化学模式分析对枳壳及其混淆品进行鉴

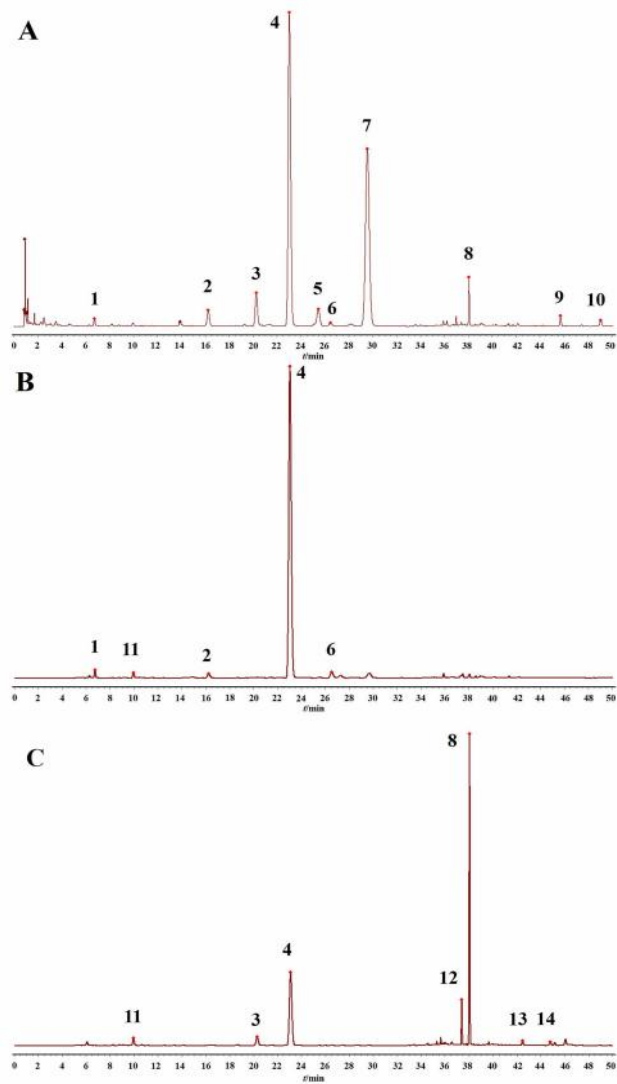


图 2 枳壳及其易混淆品对照特征图谱

Fig 2 Reference characteristic chromatograms of ZQ and its confusing products

A. 枳壳 (ZQ) 和 衢枳壳 (QQZQ); B. 香圆 (XY); C. 绿衣枳壳 (LVZQ); 1. 新西兰牡荆苷 (vicenin II); 2. 新北美圣草苷 (neoeriocitrin); 3. 芸香柚皮苷 (narirutin); 4. 柚皮苷 (naringin); 5. 橙皮苷 (hesperidin); 6. 野漆树苷 (rhoifolin); 7. 新橙皮苷 (neohesperidin); 8. 枳属苷 (poncirin); 9. 川陈皮素 (nobiletin); 10. 橘皮素 (tangeretin); 12. 香蜂草苷 (didymin)

别，并明确 4 种药材的质量差异标志物。

2.5 PLS-DA

为进一步地体现品种组间差异，明晰 4 种药材的质量差异标志物，将 14 个特征峰的峰面积导入 SIMCA 14 软件，PLS-DA 结果显示 38 批样品明显分为 3 类，见图 3A。PLS-DA 模型 $R^2X = 0.854$, $R^2Y = 0.813$, $Q^2 = 0.701$ ，均大于 0.5，表明所建立的模型稳定性好。模型验证 (置换检验 $n = 200$) 结果显示 R^2 拟合直线 Y 轴截距为 0.081，小于 0.3，表明所建立的 PLS-DA 模型结果可靠； Q^2 拟合直线 Y 轴截距为 -0.41，小于 0，说明模

型不存在过度拟合现象, 预测能力好, 见图 3B。

以变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 为指标进行质量差异标志物的筛选, VIP 越大表明该化合物对组间差异的贡献越大^[19]。图 3C 可知, 以 VIP 大于 1 为阈值, 筛选出 7 个差

异性成分, 分别为峰 7 (新橙皮苷, VIP = 1.2527)、峰 4 (柚皮苷, VIP = 1.1235)、峰 3 (芸香柚皮苷, VIP = 1.0798)、峰 10 (橘皮素, VIP = 1.0762)、峰 2 (新北美圣草苷, VIP = 1.0529)、峰 5 (橙皮苷, VIP = 1.0342)、峰 9 (川陈皮素, VIP = 1.0115)。

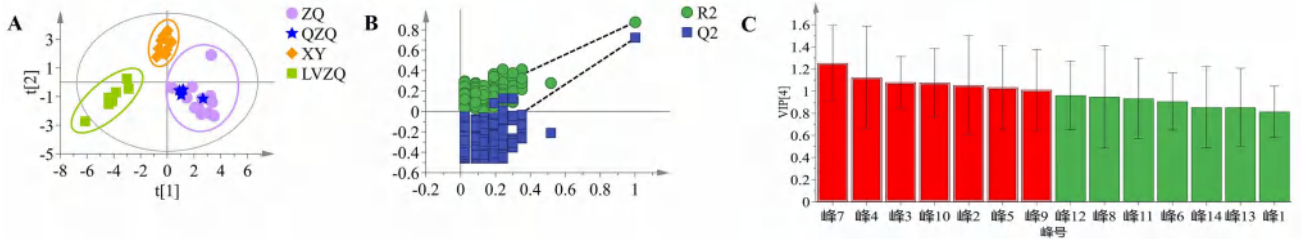


图 3 枳壳及其易混淆品 PLS-DA 得分图 (A)、置换检验图 (B) 和 VIP 值 (C)

Fig 3 PLS-DA score plot (A), permutation test plot (B) and VIP value plot (C) of ZQ and its confusing products

2.6 熵权-TOPSIS 分析

“2.4”项和“2.5”项下分析结果表明衢枳壳与枳壳化学成分组成一致性较高, 枳壳收载于《中国药典》2020 年版, 衢枳壳收载于《浙江省中药炮制规范》2015 版, 含量检测指标均为柚皮苷、新橙皮苷, 功效相同, 故采用熵权 TOPSIS 法进一步评价 2 种药材质量的一致性与差异性。参考本课题组前期研究方法^[20], 将衢枳壳与枳壳的 10 个共有峰面积 (缺失的峰面积以 0 计算) 进行同向化及非负平移处理, 得到处理后的矩阵 (Y'_{ij})。根据公式 (1) ~ (3) 计算各指标权重 (W_j), 按公式 (4) 将矩阵 (Y'_{ij}) 归一化处理, 得到矩阵 (U_{ij}), 按公式 $U_j^+ = \max(U_{ij})$ 或 $U_j^- = \min(U_{ij})$ 确定标准矩阵 U_{ij} 的正理想解 (U_j^+) 和负理想解 (U_j^-), 按公式 (5)、(6) 计算评价对象与 U_j^+ 、 U_j^- 的欧氏距离 (D_i^+ 、 D_i^-), 按公式

$$P_{ij} = -\frac{Y'_{ij}}{\sum_{i=1}^m Y'_{ij}} \quad (1)$$

$$E_j = -\frac{1}{\ln m} \sum_{i=1}^m P_{ij} \ln P_{ij} \quad (2)$$

$$W_j = \frac{1-E_j}{\sum_{j=1}^n (1-E_j)} \quad (3)$$

$$U_{ij} = \frac{Y'_{ij}}{\sqrt{\sum_j Y'^2_{ij}}} \quad (4)$$

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^n W_j \times (U_{ij} - U_j^+)^2} \quad (5)$$

$$D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^n W_j \times (U_{ij} - U_j^-)^2} \quad (6)$$

$C_i = D_i^- / (D_i^+ + D_i^-)$ 计算评价对象与理想解的相对贴近程度 (C_i), 结果见表 3。

表 3 枳壳与衢枳壳的 D_i^+ 、 D_i^- 和 C_i
Tab 3 D_i^+ , D_i^- and C_i of ZQ and QZQ

样品	D_i^+	D_i^-	C_i	排序	样品	D_i^+	D_i^-	C_i	排序
QZQ-4	0.366	0.367	0.50	1	ZQ-12	0.484	0.226	0.32	11
ZQ-4	0.398	0.386	0.49	2	ZQ-14	0.499	0.200	0.29	12
QZQ-2	0.441	0.288	0.40	3	ZQ-3	0.489	0.164	0.25	13
ZQ-15	0.450	0.289	0.39	4	ZQ-6	0.471	0.153	0.24	14
ZQ-11	0.465	0.267	0.36	5	ZQ-7	0.531	0.139	0.21	15
QZQ-1	0.456	0.239	0.34	6	ZQ-10	0.543	0.102	0.16	16
ZQ-5	0.440	0.223	0.34	7	ZQ-2	0.519	0.093	0.15	17
QZQ-3	0.438	0.216	0.33	8	ZQ-9	0.544	0.097	0.15	18
ZQ-13	0.488	0.233	0.32	9	ZQ-8	0.567	0.040	0.07	19
ZQ-1	0.457	0.219	0.32	10					

C_i 越大, 样品的质量评价越佳, 排名越靠前^[20]。从排名情况可知, 排名前十的样品中, 3 批枳壳样品的产地为江西, 3 批枳壳样品的产地为湖南, 排名靠后的样品产地均为重庆。总体来看, 江西和湖南 2 个产地的枳壳药材质量相对较

优。此外, 排名前十的样品中, 有 4 批样品为浙江产的衢枳壳, 且 QZQ-4 样品的 C_i 为 0.50, 排名第一, 说明衢枳壳与江西、湖南产的枳壳质量一致性较好, 个别衢枳壳批次样品的质量优于枳壳。

3 讨论

黄酮苷类成分是枳壳理气、行滞、祛痰、平喘的重要成分,本研究从特征图谱确认的色谱峰亦是以黄酮类成分为主,与枳壳的药理药效对应,对于评价其药材质量具有代表性。枳壳与衢枳壳在主要化学成分谱上呈现高度同源性,质量具有高度一致性,衢枳壳的基原植物常山胡柚具有酸橙的遗传背景^[21],可解释衢枳壳与枳壳在外观性状及特征图谱上具有极高相似度的原因。而枳壳、香圆、绿衣枳壳特征图谱仅有峰 4(柚皮苷) 1 个共有特征,化学成分差异较大。化学计量学可准确区分三者,香圆临床主攻肝胃气滞^[1],绿衣枳壳侧重疏肝止痛^[9],与枳壳在功效主治上存在差异。若混淆使用会影响临床用药的安全性与有效性,应加以区分,保障临床用药精准性。

现代研究表明,胃肠动力障碍、炎症及氧化应激是导致“胀满”症状(如功能性消化不良)的核心机制。本研究筛选出新橙皮苷、柚皮苷、芸香柚皮苷、橘皮素、新北美圣草苷、橙皮苷和川陈皮素 7 个关键黄酮类标志物。其中,柚皮苷、新橙皮苷、橙皮苷、芸香柚皮苷及川陈皮素可显著促进胃排空^[22],黄酮类成分间可能存在协同作用^[23]。柚皮苷通过降低丙二醛(MDA)和亚硝酸盐浓度,恢复超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽 S-转移酶(GST)活性减轻氧化损伤^[24];橙皮苷则通过提升 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)水平,增加线粒体膜电位(MMP)和三磷酸腺苷(ATP)生成,降低活性氧(ROS)、MDA 及葡萄糖水平^[25],减少氧化应激对胃肠动力调节的损害。川陈皮素还可通过诱导 ROS 和 DNA 损伤抑制肿瘤细胞活力^[26]。枳壳的整体功效是其多种活性成分共同作用的结果,而这 7 个黄酮类标志物是这种整体效应的重要物质载体和指示物,其广泛的药理活性为阐释枳壳“理气消胀”这一核心传统功效提供了重要的现代药效学物质基础和科学依据。

经熵权 TOPSIS 法综合评价,主产于江西、湖南的枳壳综合排名均优于重庆产的枳壳,不同产地质量差异可能与气候、采收时间、产地加工、贮藏方式等有关,且采收时间可能是最主要的影响因素,有文献报道,枳壳中的黄酮类成分随着采收期的延后呈逐渐降低趋势,最佳采收期为大暑前后^[27-28]。衢枳壳与江西、湖南的枳壳质量一致性高,有文献报道衢枳壳质量明显优于朱栾和塘橙,且药材质量稳定性优于黄皮酸橙和代代花^[29],本研究亦发现衢枳壳质量较优。鉴于枳壳与衢枳壳在性状、特征图谱、化学成分、质量评价上高度的一致性,应通过进一步的植物学、药效学等研究,探讨将常山胡柚列为枳壳正品基原的可能性。

参考文献

- [1] 中国药典 2020 年版.一部[S]. 2020: 257.
- [2] 童培珍, 李国卫, 何嘉莹, 等. 基于指纹图谱和多指标成分含量测定的枳壳与枳实药材质量差异性研究[J]. 中南药学, 2022, 20(4): 898-904.
- [3] He YJ, Li ZK, Wang W, et al. Chemical profiles and simultaneous quantification of *Aurantii fructus* by use of HPLC-Q-TOF-MS combined with GC-MS and HPLC methods[J]. Molecules, 2018, 23(9): 2189.
- [4] 邱奕飞, 张潇雪, 肖国生, 等. 枳壳黄酮提取物抑制结肠癌肿瘤细胞增殖活性的研究[J]. 食品工业, 2023, 44(5): 199-204.
- [5] Wang ZB, Ding ZX, Li ZYQ, et al. Antioxidant and antibacterial study of 10 flavonoids revealed rutin as a potential antibiofilm agent in *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients[J]. Microb Pathog, 2021, 159: 105121.
- [6] 李顺文, 吴琦, 赵诗云, 等. 枳壳总黄酮降血脂作用的试验研究[J]. 实用中西医结合临床, 2013, 13(3): 91, 94.
- [7] 庞文静, 郑玉莹, 彭维, 等. 正品枳壳指纹图谱的构建及其与混伪品的聚类分析[J]. 中南药学, 2017, 15(10): 1345-1350.
- [8] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975: 539.
- [9] 安徽省药品监督管理局. 安徽省中药饮片炮制规范[S]. 2019: 218.
- [10] 谢彬, 孙锦华, 王晓云, 等. 枳壳本草基原考证和现代基原梳理[J]. 中药材, 2024, 47(1): 231-243.
- [11] 许茹. 柑橘属几种常用理气药的本草学研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [12] 杨辉. 陕西地产香圆枳实枳壳品质分析评价[D]. 汉中: 陕西理工学院, 2010.
- [13] 浙江省药品监督管理局. 浙江省中药炮制规范[S]. 2015: 180-182.
- [14] 张付轩, 卢红委. 青皮枳实枳壳香橼鉴别[J]. 中国中医药现代远程教育, 2018, 16(11): 87-89.
- [15] 沈廷明. 枳壳与香圆枳壳的鉴别[J]. 海峡药学, 2007, 19(12): 71-72.
- [16] 皮达, 谭舒舒, 罗小泉, 等. 陈皮、枳壳和化橘红中黄酮苷类成分的薄层鉴别[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(9): 2184-2187.
- [17] 李丽蓉, 颜干明, 胡越, 等. 不同产区枳壳指纹图谱采集方法研究[J]. 生物化工, 2020, 6(4): 73-75, 82.
- [18] 岳超, 张文婷, 赵维良, 等. 化学模式分析联合指纹图谱评价不同基原枳壳药材的质量[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(23): 3002-3008.
- [19] 王婷格, 罗陆遥, 薛瑞, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和多成分含量测定结合化学计量学的盐杜仲质量评价研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(1): 141-150.
- [20] 田芳, 张英, 吴孟华, 等. HPLC 特征图谱结合多模式识别及熵权 TOPSIS 法不同基原蒲黄药材质量评价[J]. 中草药, 2025, 56(4): 1377-1384.
- [21] 毛桑隐, 汪丽霞, 宋剑锋, 等. 基于全基因组信息的常山胡柚遗传鉴定[J]. 果树学报, 2023, 40(1): 25-34.
- [22] Wang S, Bao YR, Li TJ, et al. Mechanism of Fructus Aurantii flavonoids promoting gastrointestinal motility: from or-

- ganic and inorganic endogenous substances combination point of view [J]. *Pharmacogn Mag*, 2017, 13 (51): 372-377.
- [23] 高萌. 中药枳壳“道地性”研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2021.
- [24] Mahdavinia M, Ahangarpour A, Zeidooni L, et al. Protective effect of naringin on bisphenol a-induced cognitive dysfunction and oxidative damage in rats [J]. *Int J Mol Cell Med*, 2019, 8 (2) 141-153.
- [25] Tian M, Han YB, Zhao CC, et al. Hesperidin alleviates insulin resistance by improving HG-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction by restoring miR-149 [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2021, 13 (1): 50.
- [26] Yang JJ, Yang Y, Wang L, et al. Nobiletin selectively inhibits oral cancer cell growth by promoting apoptosis and DNA damage in vitro [J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radio*, 2020, 130 (4): 419-427.
- [27] 王慧, 黄友荪, 梁燕青, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 代谢组学技术的枳壳适宜采收期研究 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47 (12): 3175-3184.
- [28] 宋玉鹏, 陈海芳, 谭舒舒, 等. 不同采收期江枳壳中柚皮素和橙皮素 HPLC 含量测定 [J]. *井冈山大学学报 (自然科学版)*, 2017, 38 (1): 83-87.
- [29] 岳超, 张文婷, 郑成, 等. 基于 HPLC 指纹图谱研究枳壳与不同栽培变种枳壳质量差异 [J]. *中草药*, 2024, 55 (8): 2764-2770.

(收稿日期: 2025-05-15; 修回日期: 2025-07-11)

二维液相色谱法联合瓶内处理技术测定丙戊酸血药浓度在个体化用药中的应用

田春艳, 苏怡, 陈曦, 张云松, 张玉, 袁海玲* (西安国际医学中心医院, 西安 710100)

摘要: **目的** 考察瓶内处理技术联合二维液相色谱法 (2D-LC) 在丙戊酸个体化用药中的适用性, 优化 2D-LC 测定丙戊酸血药浓度样本前处理流程。**方法** 建立常规处理技术和瓶内处理技术两种样本处理的丙戊酸血药浓度检测方法并进行方法学验证。遵循 CLSI EP9-A3 指南实验设计要求, 检测 50 例服用丙戊酸患者的血药浓度, 同时采用常规处理技术和瓶内处理技术两种样本处理方法进行样本处理, 运用 Spearman 秩相关检验、Passing-Bablok 回归分析、Bland-Altman 一致性检验、医学决定水平 (MDL) 偏倚分析对实验数据进行综合分析; 以自动化程度、适用性、准确性、人力成本、样本处理时间、试剂及耗材消耗情况等为评价指标, 综合评价常规处理技术和瓶内处理技术在 2D-LC 测定丙戊酸血药浓度中的适用性。**结果** 瓶内处理技术和常规处理技术两种样本处理方法在 2D-LC 测定丙戊酸血药浓度的方法学验证结果显示, 丙戊酸保留时间约为 8.20 min, 在 $8.10 \sim 135.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积比线性关系良好, 标准曲线分别为: $Y = 300.98X + 719.781$ ($r = 0.9999$, $n = 6$) 和 $Y = 1856.96X - 122.23$ ($r = 0.9999$, $n = 6$), 最低定量限均为 $8.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 准确度分别在 $103.98\% \sim 106.57\%$ 和 $104.35\% \sim 106.87\%$, 日内、日间 RSD 均小于 5.8%, 稳定性符合要求 ($RSD \leq 5\%$); 稀释可靠性结果与标识浓度对比, 精密度 RSD 均小于 15%, 准确度为 $99.59\% \sim 103.37\%$, 满足方法学验证标准; 检测 50 例服用丙戊酸患者的血药浓度做一致性评价, Spearman 秩相关检验相关系数为 0.9967, 95%CI 为 $0.9945 \sim 0.9983$, $P < 0.0001$, 提示两种样本处理技术检测结果具有较高一致性。综合性评价结果显示, 瓶内处理技术处理样本降低了实验室操作的复杂性, 更为简便快捷, 效率更高, 能快速地为临床提供精准检测结果, 为患者及时制订个体化给药方案提供依据。**结论** 瓶内处理技术适用于 2D-LC 检测丙戊酸血药浓度的样本处理, 其高效、简便的样本处理方式可作为替代常规处理技术的一种有效方法, 在丙戊酸个体化用药中可以为患者提供更快速、高效、准确的用药参考。

关键词: 瓶内处理技术; 二维液相色谱法; 丙戊酸; 个体化用药

中图分类号: R969.1, R927 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2934-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.020

基金项目: 西安国际医学中心医院院级课题青年项目 (No.2023QN05)。

作者简介: 田春艳, 女, 主管药师, 主要从事精准药学服务方面的研究, email: tcy1416@163.com * **通信作者:** 袁海玲, 女, 主任药师, 主要从事精准药学服务与药事管理方面的研究, email: aliceyuanhailing@163.com

2-Dimensional high liquid chromatography coupled with in-bottle technology in the determination of valproic acid plasma concentration for precision medicine

TIAN Chun-yan, SU Yi, CHEN Xi, ZHANG Yun-song, ZHANG Yu, YUAN Hai-ling* (Xi'an International Medical Center Hospital, Xi'an 710100)

Abstract: Objective To determine the applicability of in-bottle technology combined with 2-dimensional high liquid chromatography (2D-LC) in the individualized medication of valproic acid, and to optimize the sample pretreatment to determinate valproic acid blood concentration by 2D-LC. **Methods** Two methods for detecting the blood concentration of valproic acid with different sample treatment techniques, namely the in-bottle technology and the routine processing technology, were established and their methodology was verified. In accordance with the experimental design requirements of CLSI EP9-A3 guideline, the blood concentrations of 50 patients taking valproic acid were detected. The samples were processed with both routine technology and the in-bottle technology. The experiment data were comprehensively analyzed by Spearman rank correlation test, Passing-Bablok regression analysis, Bland-Altman consistency test, and Medical Decision Level (MDL) bias analysis. The degree of automation, applicability, accuracy, labor cost, sample processing time, consumption of reagents and consumables, were taken as the evaluation indicators, the applicability of the routine processing and the in-bottle technology in the determination of valproic acid blood concentration by 2D-LC was evaluated. **Results** The methodological validation of two sample processing techniques (in-bottle technology and routine processing technology), in the determination of valproic acid blood concentration by 2D-LC showed that the retention time of valproic acid was about 8.20 min. Both methods displayed good linearity at $8.10 \sim 135.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, with the standard curves of $Y = 300.98X + 719.781$ ($r = 0.9999$, $n = 6$) and $Y = 1856.96X - 122.23$ ($r = 0.9999$, $n = 6$). The lower limit of quantification for both methods was $8.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The accuracy ranged $103.98\% \sim 106.57\%$ (routine processing) and $104.35\% \sim 106.87\%$ (in-bottle technology). The intra-day and inter-day precision (RSD) was less than 5.8% , and the stability met the acceptance criteria ($RSD \leq 5\%$). For dilution reliability, the precision (RSD) was below 15% , with accuracy ranging from 99.59% to 103.37% , satisfying methodological validation standards. In the consistency evaluation of blood concentrations from 50 patients treated with valproic acid, the Spearman rank correlation test revealed a correlation coefficient of 0.9967 ($95\%CI: 0.9945 \sim 0.9983$, $P < 0.0001$), indicating high consistency between the both techniques. Comprehensive evaluation demonstrated that the in-bottle technology greatly reduced laboratory operational complexity, streamlined workflows, and improved efficiency, enabling rapid delivery of precise detection results for timely decision-making for individualized dosing regimens. **Conclusion** The in-bottle technology can be used in the sample treatment for the detection of valproic acid blood concentration by 2D-LC. This efficient and convenient sample treatment method serves as an effective alternative to the routine processing technology, and provides patients with a faster, more efficient and accurate method for the individualized medication of valproic acid.

Key words: in-bottle technology; 2-dimensional high liquid chromatography; valproic acid; individualized medication

丙戊酸 (valproic acid) 作为一种重要的抗癫痫药物, 其血药浓度监测对于个体化治疗具有至

关重要的作用^[1-3]。目前, 丙戊酸的血药浓度监测方法主要依赖于二维液相色谱 (2D-LC)、液相色谱

谱-质谱联用技术、高效液相色谱法和酶扩大免疫法等^[4-6]。2017 版《神经精神药理学治疗药物监测共识指南》指出有效治疗药物监测(therapeutic drug monitoring, TDM)服务的基本要求是要有适宜的分析检测方法,并能在合理的时间内(如在 48 h 内)获得血药浓度测定结果^[7]。虽然 2D-LC 具有高灵敏度和特异性,能够准确测定血浆中的丙戊酸浓度,但其样本的前处理需采用蛋白沉淀法,该方法耗时长且易受操作人员技术水平的影响,此外,在样本量较大时,还会大幅增加操作人员的工作量,阻碍了 TDM 在精准医疗方面的进一步发展^[8-9]。因此,亟须开发更为简便、高效、经济的新技术,以简化 2D-LC 样本前处理流程,提高工作效率,为临床个体化用药提供及时、有效的参考工具。研究发现,瓶内处理技术可直接进行血样处理,结合质谱法测定血药浓度,可提高血药浓度测定效率^[10]。本研究采用瓶内处理技术处理血样,以期简化 2D-LC 测定丙戊酸血药浓度的样本前处理流程,提高工作效率,及时为临床药物剂量的调整提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

FLC-2701 二维液相色谱耦合仪(湖南德米特仪器有限公司),TDZ4-WS 低速台式离心机(湘仪离心机有限公司),XW-80A 旋涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司),Mini-15K 高速台式离心机(杭州奥盛仪器有限公司),移液枪(赛默飞世尔科技公司),一次性细胞过滤采集器(由样品杯和一体适配器组成,湖南德米特仪器有限公司),一维色谱柱 Aston SC2 (3.5 mm×25 mm, 5 μm)、二维色谱柱 Aston SCB (4.6 mm×125 mm, 5 μm)、捕获柱 Aston SH (3.5 mm×10 mm, 5 μm)(ANAX, 中国),DL-278 (-86) - 80℃超低温冰箱(杭州西凌电器有限公司),HYC-310 医用冷藏冰箱(海尔智家股份有限公司)。

1.2 试剂

丙戊酸(批号:20231116)、ORG-2 蛋白沉淀剂(批号:20231204-1)、丙戊酸质控品(批号:20231117)、VCV-1D 移动相(批号:20240417)、BPI-2C 碱性移动相(批号:20240822-1)、API-2C 酸性移动相(批号:20240407-1)、MPI-2A 移动相(批号:20240321-1)、OPI-2A 有机移动相(批号:20240320-1)、丙戊酸母液(批号:20230725)(湖南德米特仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:一维色谱柱 Aston SC2 (3.5 mm×25 mm, 5 μm)、二维色谱柱 Aston SCB (4.6 mm×125 mm, 5 μm)、捕获柱 Aston SH (3.5 mm×10 mm, 5 μm);一维流动相为 VCV-1D,泵流速为 0.8 mL·min⁻¹,二维流动相为 BPI-2C:API-2C:MPI-2A:OPI-2A = 61:19:0:20,二维泵流速为 1.2 mL·min⁻¹;柱温:40℃,进样体积:200 μL,检测波长:215/225 nm。时间程序:0~2.05 min 进行样品初级分离,2.06~3.20 min 进行样品中目标组分的捕获,3.21~9.00 min 进行样品中目标组分的分离检测。

2.2 血浆样本处理方法

根据不同前处理技术对样本分为瓶内处理组和常规处理组,样本沉淀剂选择 ORG-2。①瓶内处理组样本处理方式:选用一次性细胞过滤采集器进行处理,取 500 μL ORG-2 蛋白沉淀剂于样品杯中,加入 200 μL 血浆样本,将一体化适配器放入样品杯中,手动下压至刚达密封线密封状态,摇晃约 10~15 次混合均匀,将样品杯放置于下压器中,选择模式 2 将一体化适配器下压至与样品杯吻合。②常规处理组样本处理方式:取 500 μL ORG-2 蛋白沉淀剂于 EP 管中,加入 200 μL 血浆样本,涡旋混匀 1 min 后进行高速离心,14 500 r·min⁻¹ 离心 8 min 后,取上清液至进样瓶中。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性 采用外标法^[11],瓶内处理组和常规处理组分别检测空白血浆、丙戊酸标准溶液(311.45 μg·mL⁻¹)、空白血浆+丙戊酸标准溶液、服用丙戊酸的患者血浆,比较两组不同样本在保留时间内色谱峰的分离情况。结果如图 1 所示,血浆内源性物质及其他杂质均不干扰样品的分离测定,显示两组方法专属性良好,丙戊酸钠保留时间约为 8.20 min。

2.3.2 线性范围和最低定量限 取标准曲线样品(丙戊酸靶值质量浓度为 8.01、13.05、27.01、54.02、81.02、135.04 μg·mL⁻¹)按照“2.2”项下方法处理,用加权($W = 1/\chi^2$)最小二乘法对血浆中丙戊酸和丙戊酸的质量浓度(X)与峰面积比(Y)进行线性回归,建立用两种样本前处理方法测定丙戊酸血药浓度的标准曲线,结果提示瓶内处理组和常规处理组回归方程分别为: $Y = 300.98X + 719.781$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)和 $Y = 1856.96X - 122.23$ ($r = 0.9999$, $n = 6$),均在 8.10~135.04 μg·mL⁻¹ 与峰面积比线性关系良好,最低定量限(LLOQ)设定为标准曲线的

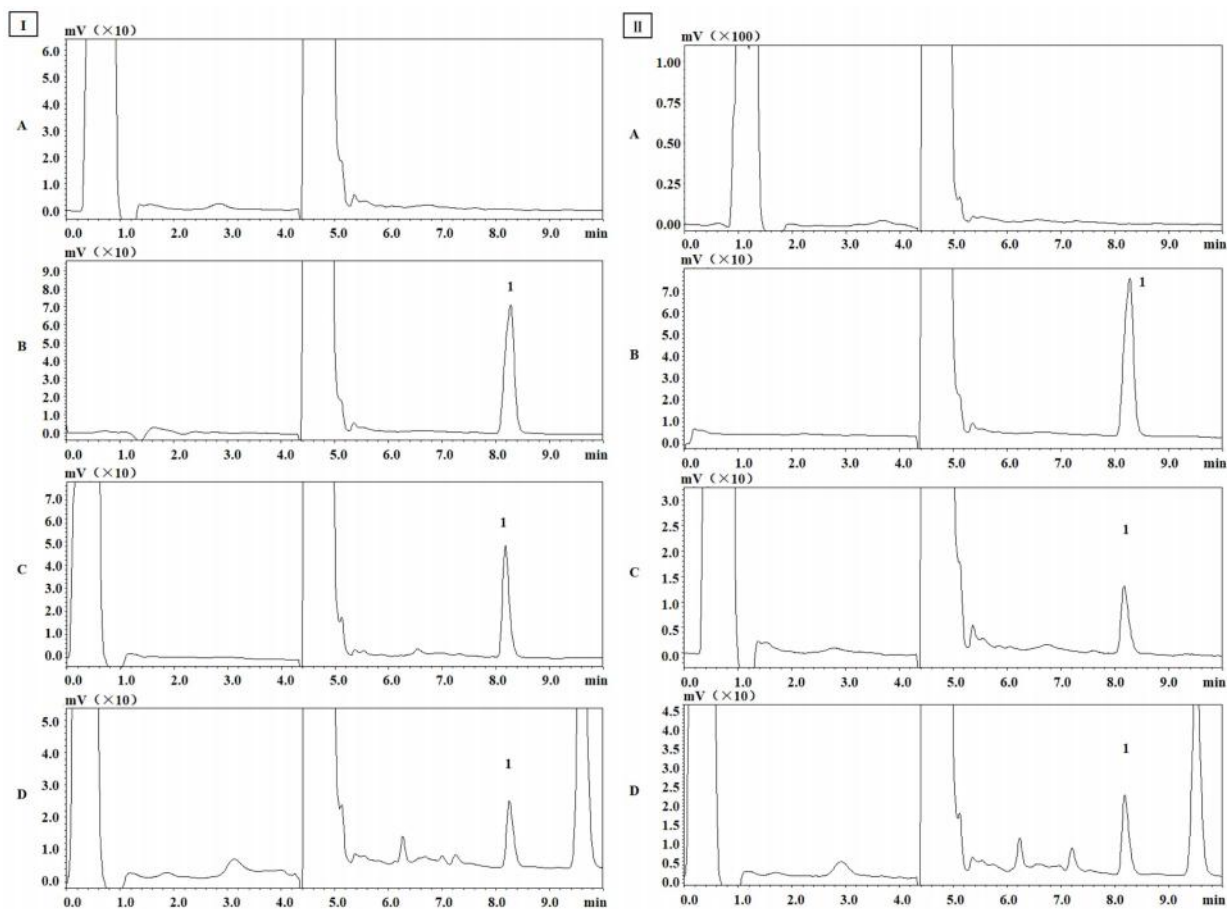


图 1 丙戊酸专属性考察结果

Fig 1 Specificity of valproic acid

I. 常规处理技术 (routine processing technology); II. 瓶内处理技术 (bottle-in technology); A. 空白血浆样本 (blank plasma sample); B. 丙戊酸标准溶液 (valproic acid standard solution); C. 丙戊酸标准溶液 + 空白血浆样本 (valproic acid standard solution + blank plasma sample); D. 服用丙戊酸的患者血浆样本 (plasma samples from patients taking valproic acid); 1. 丙戊酸 (valproic acid)

最低浓度, 即 $8.01 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 色谱图见图 2。

2.3.3 精密度和准确性 取低 ($21.38 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、中 ($53.45 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、高 ($106.90 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 3 个质量浓度的质控样品, 按“2.2”项下方法处理并测定, 每个浓度平行做 6 份, 检验准确度和日内精密度; 连续 3 d 进行处理并测定, 评估方法日间精密度。结果提示, 丙戊酸瓶内处理组和常规处理组两种样本处理方法的准确度分别在 $103.98\% \sim 106.57\%$ 和 $104.35\% \sim 106.87\%$, 日内、日间 RSD 均小于 5.8%。

2.3.4 稳定性 以含有丙戊酸钠药物浓度的血浆样品为考察对象, 考察血浆样品放置在室温、冷藏 ($2 \sim 8^\circ\text{C}$) 以及 -20°C 条件下 3 d 的稳定性。考察结果提示, 血浆样品放置在室温、冷藏 ($2 \sim 8^\circ\text{C}$) 以及 -20°C 条件下 3 d 的稳定性, 降解率均在 5% 以内, 符合稳定性要求 ($\leq 5\%$)。

2.3.5 稀释可靠性 取高浓度质控样品 ($106.90 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 用空白血浆稀释 2、4、10 倍后, 按“2.2”项下方法处理并检测, 平行 6 份。高点稀释的方法学

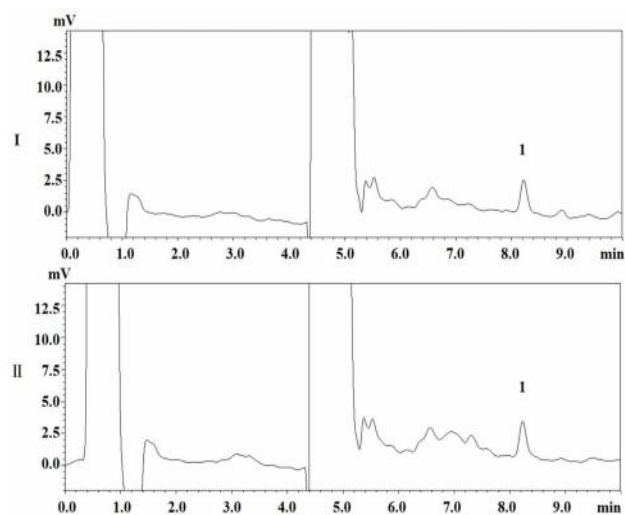


图 2 常规处理技术 (I) 和瓶内处理技术 (II) 后丙戊酸最低定量限图谱

Fig 2 Lower limit of quantification (LLOQ) chromatogram of valproic acid with routine processing technology (I) and bottle-in technology (II)

1. 丙戊酸 (valproic acid)

验证结果显示, 稀释 2、4、8 倍后测定结果乘以稀释倍数所得的计算值, 与标识浓度对比, 精密度 RSD 均小于 15%, 准确度为 99.59% ~ 103.37%, 表明对血浆样品进行稀释, 经校正后计算的结果能够准确反映超出线性范围的药物浓度。

2.4 患者样本检测

按照 CLSI EP9-A3 文件要求设计实验^[12]。共收集西安国际医学中心医院 50 例服用丙戊酸的患者样本 (伦理批件号: GJYX-KY-2024-006), 样本入组标准为: ① 丙戊酸血药浓度达稳态 (4 ~ 5 个 $t_{1/2}$) 的患者血浆样本; ② 年龄不限, 性别不限。排除标准为: ① 严重脂血、溶血、高胆红素样本; ② 重复的样本。患者于清晨给药前采样, 样本经过离心处理后提取血浆分成两份, 每份不少于 200 μL , 储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱备用。采用随机、单盲法分别对两组样本进行检测, 每日检测 10 例标本, 连续检测 5 d。根据 CLSI EP9-A3 文件推荐使用广义极端学生化偏差 (ESD) 方法计算离群值点, 采用 Spearman 秩相关检验、Passing-Bablok 回归分析、Bland-Altman 一致性检验、医学决定水平 (MDL) 偏倚分析对实验数据进行综合分析^[13-15]。

50 例患者样本中, 男性 31 例 (62%), 女性 19 例 (38%), 平均年龄 (42 ± 20.9) 岁。丙戊酸血药质量浓度范围: 瓶内处理组为 $11.08 \sim 113.14\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 常规处理组 $12.29 \sim 115.17\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。确认本实验数据没有离群值。Spearman 秩相关检验相关系数为 0.9967, 95%CI 为 $0.9945 \sim 0.9983$, $P < 0.0001$, 提示丙戊酸瓶内处理组和常规处理组两种样本处理方法检测结果之间存在较高相关度。Passing-Bablok 回归分析显示, 截距 a (0.1627) 的 95%CI 为 $-1.0044 \sim 0.9369$, 斜率 b (1.0118) 的 95%CI 为 $0.9954 \sim 1.0298$, 丙戊酸的直线方程为 $Y = 1.0118X + 0.1627$, 提示瓶内处理组和常规处理组丙戊酸检测结果非常接近, 表明两种不同样本前处理方法检测具有很高一致性, 没有显著系统偏差。Bland-Altman 一致性分析差值图见图 3, 丙戊酸血药浓度检测结果偏倚差值为 -0.41 , 偏倚标准差为 1.11, 95% 一致性界限为 $-3.4 \sim 2.6$, 未出现 95% 一致性界限以外的点, 证实丙戊酸血药浓度检测结果具有良好的一致性。

根据《神经精神药理学中治疗药物监测共识指南: 2017 版》所提出的丙戊酸治疗参考范围为 $50 \sim 100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 确定其医学决定水平 (X_c) 为 $50\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[7]。在此基础上, 遵循国家卫生健康委员会临床检验中心室间质评

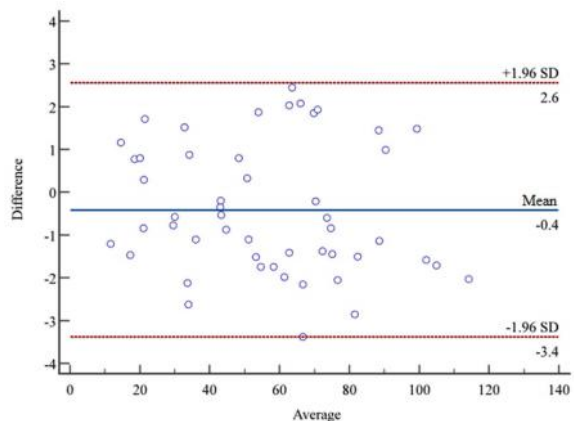


图 3 两种处理方法丙戊酸检测结果 Bland-Altman 一致性分析差值图
Fig 3 Bland-Altman consistency analysis difference plot of valproic acid detection results for two treatment methods

标准, 以 $1/2 TE_a$ ($TE_a = 30\%$) 作为质量控制的可接受误差标准, 进而设定了靶值 $\pm 15\%$ 的允许误差范围。利用 MedCalc 统计软件计算预期偏倚估计值 (B_c) 及其 95%CI 结果见表 1, 数据显示所有样本的 B_c 值均位于可接受偏倚限值的范围内, 表明瓶内处理组和常规处理组之间的检测结果具有高度一致性, 且不存在统计学意义上的显著偏倚。此结果进一步验证了瓶内处理组技术的准确性和可靠性。

表 1 医学决定水平预期偏倚计算

参数	$X_c / (\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	
	50	100
B_c	0.7551	1.3475
B_c 的 95%CI	0.0632 ~ 1.1613	0.1835 ~ 2.0227
可接受的偏倚限值	$-7.5 \sim 7.5$	$-15 \sim 15$

2.5 两种样本前处理方法综合性评价

记录两种样本前处理过程所需时间以及操作流程自动化程度等, 分析仪器设备、试剂耗材使用消耗情况, 结合人力投入等情况, 综合评价常规处理方法和瓶内处理技术, 具体内容见表 2。

3 TDM 药师个体化用药建议

丙戊酸通过调节脑内 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 代谢, 增强 GABA 能神经传递和突触抑制发挥抗癫痫和情绪稳定作用, 可用于治疗全面性癫痫、部分性癫痫、肌阵挛癫痫及双相情感障碍等疾病。丙戊酸在体内代谢个体差异大, 具有非线性动力学特征, 多种因素会影响其血药浓度, 且治疗窗较窄, 治疗窗浓度参考范围为 $50 \sim 100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 实验室警戒浓度为 $120\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[7]。当丙戊酸血药浓度低于 $50\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 可能导致临床治疗效果不佳, 超过 $100\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

表 2 两种样本前处理方法综合性评价结果
Tab 2 Comprehensive evaluation results of two sample pretreatment methods

评价指标	常规处理组	瓶内处理组
自动化程度	自动化程度低	自动化程度高
适用性	适用范围广，已广泛用于多种药物，如利培酮、喹硫平、舍曲林、伏立康唑等	瓶内处理技术相对较新，适用范围有限，适用于进样体积在 50 ~ 350 μL ，且一次性过滤装置中滤膜对药物浓度无影响的药物（利培酮、丙戊酸），对于其他药物可能还需探索
准确性	自动化程度低，需人员操作过程多，需注意由于人员操作引起的误差	自动化程度高，减少了由人员操作引起的误差
人力成本	需要实验人员手动操作多，人力投入大	自动化程度高，减少了人力投入
样本处理时间	整体流程涉及标记、加试剂、加样、涡旋 1 min，离心 8 min，转移至进样瓶（进行对应标记）等步骤，1 个样本整体流程约需 10 min，10 个样本约需 16 min，50 个样本约需 50 min	整体流程涉及标记、加试剂、加样、一体化适配器放入样品杯中、混匀（约 15 s）、下压适配器（约 10 s），1 个样本约需 2 min，10 个样本约需 5 min，50 个样本约需 25 min
试剂消耗情况	常规消耗试剂	常规消耗试剂
耗材消耗情况	需消耗 EP 管、进样瓶，且枪头消耗较多	不需要使用 EP 管、进样瓶，但需考虑一次性细胞过滤采集器的成本，移液枪头消耗较少
仪器设备使用情况	需使用涡旋混匀仪、离心机、移液枪等，需考虑仪器设备使用维护成本	无需使用涡旋混匀仪、离心机，移液枪使用频率较常规处理法少，损耗小
样本处理场地配置情况	样本处理区除配备样本处理所需试剂耗材外，还需配备放置涡旋混匀仪、离心机、移液枪的位置	样本处理区只需配备样本处理所需移液枪、试剂耗材的位置
电耗	除正常照明外，涡旋混匀仪、离心机使用需消耗电	除正常照明外，样本处理过程不耗电

患者可能出现不良反应的风险显著增加。因此，开展丙戊酸的 TDM 对于提升临床用药的安全性、有效性和经济性至关重要。

患者的年龄、体重、肝肾功能、病情、生理状态、合并用药等因素，可能影响丙戊酸血药浓度。在对患者进行 TDM 时，TDM 药师会通过查阅病历，全面收集患者的临床生理病理信息，如患者的肝肾功能指标、是否同时患有其他慢性疾

病（如高血压、糖尿病等）、正在服用的其他药物等情况，结合丙戊酸的药代动力学特点以及相关循证证据，为临床医师提供针对性强的药学建议并反馈至临床。以 50 例患者样本检测中的 6 例异常检测结果患者为例，TDM 药师针对每位患者的具体情况，及时给出相应的用药建议，患者丙戊酸个体化用药建议及血药浓度测定结果详见表 3。

表 3 6 例丙戊酸血药浓度异常患者个体化用药建议及血药浓度测定结果
Tab 3 Individualized medication recommendations and serum concentration measurement results for 6 patients with abnormal serum concentrations of valproic acid

序号	性别	年龄 / 岁	身高 / cm	体重 / kg	日剂量 / g	测得浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	药师建议	复测浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	女	43	150	54	1.00	32.10	丙戊酸和卡马西平合用，由于卡马西平对肝药酶的诱导作用，可使丙戊酸血药浓度降低；同时丙戊酸可使卡马西平的活性代谢物血药浓度增加，建议测定卡马西平血药浓度并调整用药剂量，待稳态后复测	62.60
2	女	75	170	60	1.60	108.72	无其他原因，建议调整丙戊酸的日剂量为 1.20 g，待稳态后复测	83.44
3	男	66	168	62	1.00	24.22	患者因感染，合用美罗培南，建议调整抗感染治疗药物，美罗培南停用后，待丙戊酸稳态后复测	50.54
4	女	35	177	80	1.00	18.16	患者肾功能亢进，建议肾功能改善后复测或增加药物剂量，待肾功能恢复后复测	50.27
5	男	25	172	75	1.00	43.16	患者肾功能亢进，建议肾功能改善后复测或增加药物剂量，待肾功能恢复后复测	57.47
6	女	37	172	92	0.50	20.95	患者体质指数（BMI）约为 $31.1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ ，建议调整丙戊酸日剂量为 1.00 g，待稳态后复测	51.51

注（Note）：临床诊断 1 ~ 3 为癫痫；4 ~ 6 为双相情感障碍（Clinical diagnosis: 1 ~ 3 epilepsy; 4 ~ 6 bipolar affective disorder）。

4 讨论

常规处理方法主要通过旋涡混合器充分涡旋混匀,高速离心机离心分离蛋白质。瓶内处理技术采用一次性细胞过滤采集器的微孔高分子过滤装置阻隔大分子蛋白质进入瓶内,达到瓶内分离蛋白的目的,省略振荡离心、上清液转移至进样瓶等操作,大大节约了时间成本;且瓶内处理技术自动化程度高,减少了实验人员的手动操作,减少了人为误差,降低了人力投入,在时间、人力和设备成本上具有显著优势。

本研究首次将瓶内处理技术用于 2D-LC 测定丙戊酸血药浓度时的样本前处理,通过与常规处理方法进行综合比较,评价瓶内处理技术联合 2D-LC 在丙戊酸个体化用药中的适用性。方法学验证结果提示瓶内处理技术专属性良好,丙戊酸在 $8.10 \sim 135.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内与峰面积比线性关系良好,日内、日间 *RSD* 均小于 5.8%,提示精密度和准确性考察结果良好;稳定性考察结果显示稳定性符合要求;高点稀释的方法学验证结果表明对血浆样品进行稀释后经校正计算的结果能够准确反映超出线性范围的药物浓度。由此表明,通过瓶内处理技术进行样本前处理,采用 2D-LC 检测丙戊酸血药浓度方法学验证结果良好;患者样本检测结果提示,丙戊酸瓶内处理组和常规处理组两种样本处理方法检测结果之间具有高度一致性,没有显著系统偏差,说明通过瓶内处理技术进行样本前处理,采用 2D-LC 检测丙戊酸血药浓度结果准确可靠。

综上所述,瓶内处理技术联合 2D-LC 可用于丙戊酸个体化用药,采用瓶内处理技术处理样本,更为简便快捷,处理效率更高,降低了实验室操作的复杂性,能更为快速地为临床提供精准检测结果,及时为患者制订个体化给药方案。实验室可以根据实际情况,综合考虑成本等因素,选择合适的样本前处理方法,以提高检测效率和准确性。

参考文献

- [1] 钟彩妮,曾环思,蒋家兵,等.二维液相色谱法测定人血清中丙戊酸浓度的不确定度[J].中南药学,2020,18(7):1181-1186.
- [2] 陈明,周利娟,唐原君.基于微透析技术的丙戊酸钠与左乙拉西坦相互作用研究[J].中南药学,2019,17(8):1279-1282.
- [3] Lin K, Cao VFS, Au C, Dahri K. Clinical pharmacokinetic monitoring of free valproic acid levels: a systematic review[J]. Clin Pharmacokinet, 2022, 61(10): 1345-1363.
- [4] 李宛凌.癫痫患者血浆、唾液和头发中新型抗癫痫药物浓度监测的研究[D].成都:四川大学,2021.
- [5] 马瑞杰,胡文彬,段雷.抗癫痫药物浓度监测方法的研究进展[J].齐齐哈尔医学院学报,2017,38(15):1812-1814.
- [6] Abualhsan M, Odeh NW, Younis GN, et al. Analytical method development for sodium valproate through chemical derivatization[J]. Int J Anal Chem, 2020, 2020(5): 1-7.
- [7] Hiemke C, Bergemann N, Clement HW, et al. Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017[J]. Pharmacopsychiatry, 2018, 2018(1): 9-62.
- [8] 王志鹏,徐德铎,侯幸赞,等.医疗机构精准药学平台的建设与应用[J].上海医药,2022,43(9):4-7.
- [9] Taddeo A, Prim D, Bojescu ED, et al. Point-of-care therapeutic drug monitoring for precision dosing of immunosuppressive drugs[J]. J Appl Lab Med, 2020, 5(4): 738-761.
- [10] 夏爽,李小新,郭晓,等.瓶内处理技术结合快速 LC-MS 提高利培酮血药浓度测定效率[J].中南药学,2024,22(5):1270-1275.
- [11] 李锦桑,李桂梅,兰量园. HPLC 外标法快速测定人血清中伏立康唑浓度[J].海峡药学,2020,32(8):45-47.
- [12] Clinical And Laboratory Standards Institute. Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples[M]. 3rd. Wayne: PA, CLSI, 2013.
- [13] 徐建华,刘冬冬,黄宪章,等.新指南 CLSI EP9-A3 在方法学比对及偏移评估中的应用[J].中华医学杂志,2015,95(12):894-897.
- [14] 励璇玮,林美花,翟优,等.基于液相色谱串联质谱技术的喹硫平试剂盒临床一致性评价[J].中国现代应用药学,2024,41(13):1803-1807.
- [15] 果伟,张玲,王刚.中国精神科治疗药物监测临床应用专家共识(2022年版)[J].神经疾病与精神卫生,2022,22(8):601-608.

(收稿日期:2025-01-14;修回日期:2025-04-24)

两种基原扶芳藤药材的薄层色谱鉴别和高效液相色谱指纹图谱建立及化学模式识别分析

杨珍珍^{1, 2}, 刘婧曦^{1, 2}, 郝二伟², 韦玮², 秦健峰², 钟芳菲^{1, 2}, 卢金华^{1, 2}, 侯小涛^{1, 2*}, 周江煜^{1*}
(1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530200; 2. 广西中医药大学广西中药药效研究重点实验室, 中药资源循环利用广西高校工程研究中心, 广西中医湿病方药理论与转化重点实验室, 南宁 530200)

摘要: **目的** 建立扶芳藤药材两种基原(冬青卫矛、爬行卫矛)的薄层色谱法(TLC)和高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,并结合化学模式识别分析评价扶芳藤药材的质量。**方法** 采用TLC进行定性鉴别。建立HPLC指纹图谱,根据《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》确定共有峰并进行相似度评价;对两种基原共15批扶芳藤药材的指纹图谱数据进行化学模式识别分析(聚类分析、主成分分析、正交偏最小二乘法-判别分析)。**结果** 两种基原扶芳藤药材与对照药材的TLC色谱在相应的位置上,显相同斑点。采用中药相似度评价系统对HPLC谱图进行峰匹配,共筛选出16个共有峰,其中5号峰为原儿茶酸、15号峰为山柰苷。聚类分析结果显示,S1~S3、S5~S8、S10~S14为第Ⅰ类,S4、S9、S15为第Ⅱ类。主成分分析结果显示,综合得分排名前2位的样品为S15、S3。正交偏最小二乘法-判别分析结果显示,以变量重要性投影(VIP)值>1为标准,筛选出5个差异标志物。**结论** 成功建立了两种基原扶芳藤药材的TLC及HPLC指纹图谱,结合化学模式识别分析可为扶芳藤药材的质量控制提供参考。本研究发现冬青卫矛、爬行卫矛化学成分差异不大,因此将两者均作为扶芳藤的基原植物是合理的。

关键词: 扶芳藤;基原;薄层色谱法;HPLC指纹图谱;化学模式识别分析

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2941-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.021

TLC identification and HPLC fingerprint of two original Fufangteng medicinal materials and chemical pattern recognition

YANG Zhen-zhen^{1, 2}, LIU Jing-xi^{1, 2}, HAO Er-wei², WEI Wei², QIN Jian-feng², ZHONG Fang-fei^{1, 2}, LU Jin-hua^{1, 2}, HOU Xiao-tao^{1, 2*}, ZHOU Jiang-yu^{1*} (1. School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200; 2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy of Chinese Materia Medica, University Engineering Research Center of Reutilization of Traditional Chinese Medicine Resources, Guangxi Key Laboratory of TCM Formulas Theory and Transformation for Damp Diseases, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200)

Abstract: Objective To establish thin-layer chromatography (TLC) identification method and high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint of two original Fufangteng, and to evaluate the quality of Fufangteng by chemical pattern recognition. **Methods** TLC was used for the qualitative identification, and HPLC fingerprint was established. *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine* (2012 Edition) was used to determine the common peaks and evaluate their similarity. The chemical pattern recognition (cluster analysis, principal component analysis, and orthogonal partial least squares-discriminant

基金项目: 国家重点研发计划课题(No.2019YFC1712304)。

作者研究: 杨珍珍,女,硕士研究生,主要从事中药分析方面的研究, email: 2775357068@qq.com ***通信作者:** 周江煜,女,副教授,主要从事中药分析与质量控制方面的研究, email: 348471096@qq.com; 侯小涛,女,教授,主要从事中药活性成分与质量控制方面的研究, email: 568500387@qq.com

analysis) was performed on the fingerprints of 15 batches of Fufangteng from both sources.

Results The TLC chromatograms of the two original Fufangteng medicinal materials and the control medicinal material showed the same spots at the corresponding positions. The similarity evaluation of traditional Chinese medicine was used to match the peaks of HPLC chromatograms. Totally 16 common peaks were screened, of which peak 5 was protocatechuic acid and peak 15 was kaempferitrin. The cluster analysis showed that S1 ~ S3, S5 ~ S8 and S10 ~ S14 belonged to category I, and S4, S9 and S15 belonged to category II. The principal component analysis showed that S15 and S3 were samples with the highest comprehensive scores. The orthogonal partial least squares-discriminant analysis showed that five differential markers were screened out with variable importance projection (VIP) value > 1 as the standard. **Conclusion** TLC identification method and HPLC fingerprint of two original Fufangteng have been successfully established. Combined with chemical pattern recognition, it can provide reference for the quality control of Fufangteng. The chemical constituents of *Euonymus japonicus* and *Euonymus fortunei* are not that much different, both can be used as the original plants of Fufangteng.

Key words: Fufangteng; origin, thin-layer chromatography; HPLC fingerprint; chemical pattern recognition

扶芳藤是卫矛科卫矛属植物,是我国传统中药材亦是广西传统壮药材,具有舒筋活络、祛风除湿、散瘀止血的功效。《本草拾遗》^[1]所记载的基原为卫矛科植物扶芳藤 *Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz 的带叶茎枝。《中国民族药词典》《中国民族药志要》^[2]、《广西植物志》^[3]等记载均为单一基原,即卫矛科植物扶芳藤 *Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz 的茎叶或地上部分,又名爬行卫矛。而 1990 版《广西中药材标准》^[4]、2011 版《广西壮族自治区壮药质量标准》^[5]及《中国壮药学》^[6]中记载的扶芳藤基原有三种,分别是卫矛科卫矛属爬行卫矛 *Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz、冬青卫矛 *Euonymus japonicus* L. 或无柄卫矛 *Euonymus subsessilis* Sprague。不同文献记载的扶芳藤药材基原不一致,造成了品种混乱问题,同时对其质量控制方面造成了困难。目前,针对扶芳藤药材的质量标准研究集中在爬行卫矛。采用薄层色谱法 (TLC) 以卫矛醇和对照药材为对照进行定性鉴别,采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD)、气相色谱法 (GC)、傅里叶红外光谱 (FTIR) 技术对卫矛醇成分进行定量研究^[7-9];采用高效液相色谱-二极管阵列检测器 (HPLC-PDA) 对槲皮素和山柰素进行定量研究^[10];采用高效液相色谱 (HPLC) 和高效毛细管电泳技术对原儿茶酸进行定量研究^[11];采用红外指纹图谱和 HPLC 指纹图谱对爬行卫矛进行质量控制^[12]。冬青卫矛、无柄卫矛目前研究较少,涉及性状、显微、薄层鉴别等研究^[4,13]。

扶芳藤是壮族常用药材,壮语名称为“勾咬”,由于其基原复杂,不同地区所用扶芳藤品

种也不尽相同。广东、浙江地方标准中扶芳藤的基原植物是爬行卫矛,广西地方标准扶芳藤的基原植物是爬行卫矛、冬青卫矛、无柄卫矛,且三个地方标准中仅涉及性状、显微、薄层鉴别,难以全面有效地评价扶芳藤药材的质量。目前关于扶芳藤药材的质量控制研究,主要聚焦于爬行卫矛 *Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz. 这一基原^[14]。而主要集中在性状、显微、薄层鉴别方面,难以全面有效地评价扶芳藤药材的质量。利用 HPLC 指纹图谱与化学模式识别结合起来控制中药材质量是一种有效的手段。故该文通过建立两种基原扶芳藤药材的 TLC 鉴别方法和 HPLC 指纹图谱,并应用化学模式识别分析[聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)] 评价该药材的质量,拟为完善不同基原的扶芳藤药材质量标准提供研究方法和理论依据。

1 仪器与试药

1.1 试药

扶芳藤两种基原药材,共收到样品 15 批,皆为野外采集,经广西中药研究院黄云峰研究员鉴定均为卫矛科植物, S1 ~ S5 为冬青卫矛 (*Euonymus japonicus* L.), S6 ~ S15 为爬行卫矛 [*Euonymus fortunei* (Turcz.) Hand.-Mazz.]. 详细信息见表 1。扶芳藤对照药材 (中国药品生物制品检定所,批号: 121108-201003)。原儿茶酸 (批号: MUST-22041413)、山柰苷 (批号: MUST-16082805) (成都曼思特生物科技有限公司); 正己烷 (天津市富宇精细化工有限公司,分析纯,批号: 20171101); 甲苯、乙酸乙酯、甲酸

(成都市科隆化学品有限公司); 乙腈、甲醇 (色谱纯, 美国 Merck); 冰乙酸、磷酸 (色谱纯, 天津大茂化学试剂厂); 甲醇、95% 乙醇、无水乙醇 (分析纯, 成都市科隆化学品有限公司)。

表 1 药材信息

Tab 1 Information of medicinal herb

编号	产地	基原
S1	广西桂林资源县两水乡白竹江	冬青卫矛
S2	广西桂林资源县两水乡街道旁	冬青卫矛
S3	广西桂林资源县两水乡塘洞村	冬青卫矛
S4	广西桂林永福县百寿镇江西村	冬青卫矛
S5	广西桂林恭城瑶族自治县西岭镇燕子山	冬青卫矛
S6	广西来宾金秀瑶族自治县县城	爬行卫矛
S7	广西贺州市昭平县	爬行卫矛
S8	广西南宁马山县百龙滩镇	爬行卫矛
S9	广西恭城瑶族自治县三江乡	爬行卫矛
S10	广西兴安县永安村	爬行卫矛
S11	广西临桂区黄沙乡红滩保护站	爬行卫矛
S12	广西桂林兴安县猫儿山	爬行卫矛
S13	广西桂林资源县银竹老山	爬行卫矛
S14	广西来宾金秀瑶族自治县金龙河屯	爬行卫矛
S15	广西桂林龙胜各族自治县三门镇下花村	爬行卫矛

1.2 仪器

WND-200 电热万能粉碎机 (天津太斯特仪器有限公司); ZF-20C 暗箱三用紫外分析仪 (上海精密仪表有限公司); DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); 纯水仪 (四川优普超纯科技有限公司, 型号: UPY-111-103); Waters 2695 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司, 四元超高压溶剂系统、自动化进样样本管理器、PDA 检测器、Empower2 色谱工作站); KQ-500DE 超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); CPA225D 万分之一分析天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司]; DZKW-D-6 电热恒温水浴锅 (北京市永光明医疗仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

取本品粉末 1 g, 加甲醇 25 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液减压浓缩至干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取扶芳藤对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。照 TLC (《中国药典》2020 年版四部通则 0502 薄层色谱法) 试验, 分别吸取上述溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以正己烷 - 乙酸乙酯 - 冰乙酸 (25 : 10 : 0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇显色, 105 $^{\circ}$ C 下烘烤 3 min, 置紫外灯 (365 nm) 下检视。结果表明, 在与对照药材色谱相应的位置上, 15 批扶芳藤样品显相

同斑点, 且分离效果良好, 结果见图 1。

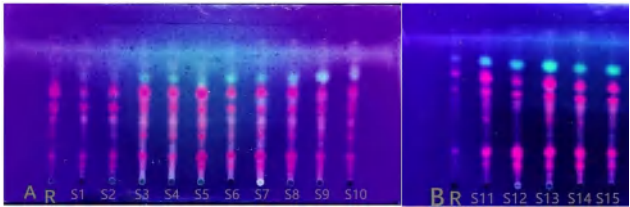


图 1 15 批扶芳藤样品薄层鉴别图

Fig 1 TLC identification of 15 batches of Fufangteng samples

R. 对照药材 (reference medicinal materials)

2.2 指纹图谱的建立

2.2.1 供试品溶液的制备 取扶芳藤药材粉末 (过四号筛) 约 4.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 分别加入甲醇 25 mL, 称定重量, 采用超声提取 60 min, 冷却至室温, 再精密称定重量, 用甲醇补足损失的重量, 滤过, 取续滤液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取各对照品适量, 加甲醇制成山柰苷、原儿茶酸质量浓度分别为 0.50、0.25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 UltimateXB- C_{18} 柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 5% ~ 10%A; 10 ~ 25 min, 10% ~ 15%A; 25 ~ 50 min, 15% ~ 18%A; 50 ~ 65 min, 18% ~ 35%A; 65 ~ 70 min, 35% ~ 40%A), 流速: 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 检测波长: 265 nm, 进样量: 10 μ L。

2.2.4 精密度考察 取扶芳藤药材 (S6) 粉末约 4.0 g, 精密称定, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 $RSD < 3\%$, 表明仪器精密度良好。

2.2.5 重复性考察 取扶芳藤药材 (S6) 粉末 6 份, 各约 4.0 g, 精密称定, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 $RSD < 3\%$, 表明该方法的重复性好。

2.2.6 稳定性考察 取扶芳藤药材 (S6) 粉末约 4.0 g, 精密称定, 按照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别在 0、4、8、12、16、20、24 h 进样测定, 各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 $RSD < 3\%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 空白试验 为确保样品提取溶剂对于供试品分析无明显的干扰, 进样纯甲醇进行分析, 记录空白谱图。结果表明样品提取溶剂对供试品分析无明显的干扰, 见图 2。

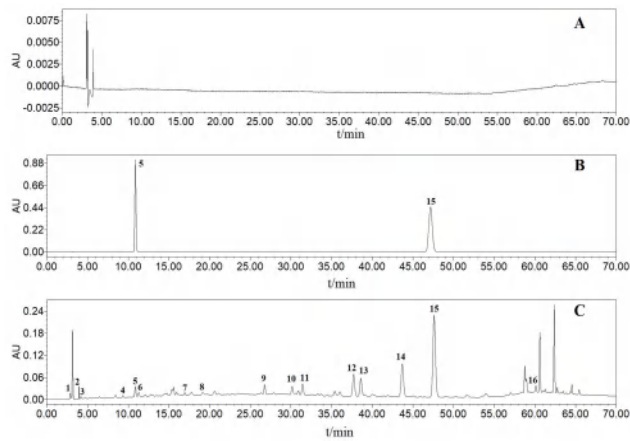


图 2 空白溶液 (A)、混合对照品 (B)、供试品 (C) 的 HPLC 图
Fig 2 HPLC chromatogram of blank solution (A), mixed reference substance (B), and sample (C)

5. 原儿茶酸 (protocatechuic acid); 15. 山柰苷 (kaempferitrin)

2.2.8 相似度分析 称取 15 批扶芳藤药材粉末, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别进样分析, 得到 HPLC 指纹色谱图 (见图 3)。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”对扶芳藤药材指纹图谱进行分析, 将 S1 设为参照图谱, 选择中位数法生成对照指纹图谱, 时间窗宽度设定为 0.5 min, 对 15 批药材的指纹图谱进行多点校正后进行峰匹配, 生成扶芳藤药材指纹图谱的共有模式并标定共有的特征峰。结果共得到 16 个共有峰, 生成的对照图谱见图 4, 相似度结果见表 2。

相似度计算结果较好地体现了不同基原扶芳藤药材所含成分的组成和比例的差异。本文选取了扶芳藤两种基原药材共 15 批次的样品, 进行了相似度比较, 从比较结果看, 冬青卫矛相似度在 0.504 ~ 0.946, 爬行卫矛相似度在 0.353 ~ 0.952。15 批药材样品中 S4、S6、S10、S12、S15 的相似度结果 > 0.9, 其他药材的相似度均 < 0.9, 除 S1、S2、S3、S7、S8 样品的相似度结果小于 0.8, 其余均大于 0.8。冬青卫矛、爬行卫矛之间存在一定的相似性, 而不同批次的扶芳藤药材的指纹图谱有一定的差别。

表 2 15 批扶芳藤药材的相似度
Tab 2 Similarity of 15 batches of Fufangteng

样品	相似度	样品	相似度	样品	相似度
S1	0.566	S6	0.911	S11	0.832
S2	0.504	S7	0.795	S12	0.900
S3	0.516	S8	0.353	S13	0.888
S4	0.946	S9	0.883	S14	0.889
S5	0.833	S10	0.952	S15	0.927

2.2.9 共有峰的指认 经与对照品的色谱图对比, 共指认出 2 个色谱峰, 5 号峰为原儿茶酸, 15 号峰为山柰苷, 结果见图 2B。

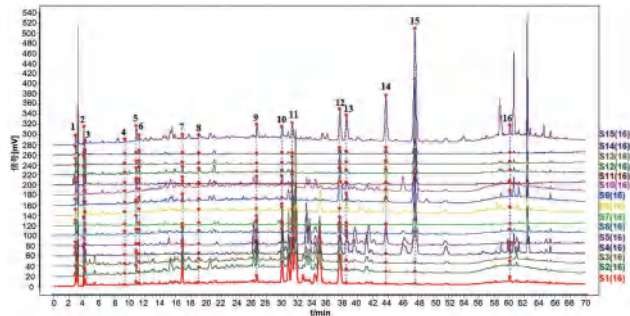


图 3 扶芳藤的指纹图谱
Fig 3 Fingerprint of Fufangteng

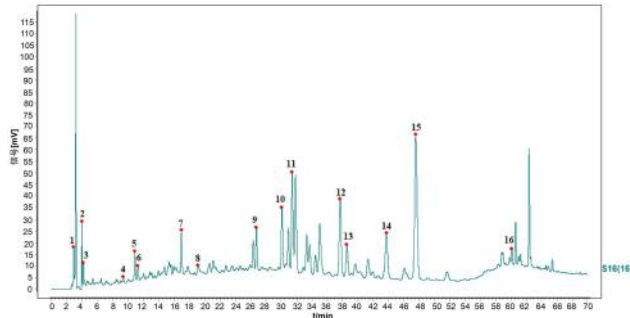


图 4 不同产地扶芳藤药材的对照指纹图谱
Fig 4 Reference fingerprint of Fufangteng from different habitats

2.3 化学模式识别分析

2.3.1 HCA 以指纹图谱 16 个共有峰的峰面积为原始数据, 采用 SPSS 25.0 软件, 采用组间连接平方欧氏距离的方式对已建立指纹图谱的冬青卫矛、爬行卫矛进行聚类分析, 详见图 5。组间距为 15 时, 将 15 批药材大致分为两类, 其中 S1 ~ S3、S5 ~ S8、S10 ~ S14 为第 I 类, S4、S9、S15 为第 II 类。提示不同产地的扶芳藤指纹图谱有一定的差别, S9、S15、S4 批次的扶芳藤与其他批次药材在成分含量上差异较大。

2.3.2 PCA 以标准化处理后的共有峰峰面积为变量, 采用 SPSS 25.0 软件进行 PCA。表 3 结果显示, 共得到 4 个主成分因子, 累计方差贡献率达 86.657%, 能基本反映 15 批次不同基原扶芳藤药材大部分信息。通过 Kaiser 标准化的正交旋转法处理得到旋转后的因子载荷矩阵见表 4, 峰 11、峰 7、峰 10、峰 3、峰 1 对主成分因子 1 的贡献较大; 峰 6、峰 16、峰 4、峰 8、峰 15 对主成分因子 2 的贡献较大; 峰 9、峰 13 对主成分因子 3 的贡献较大; 峰 14、峰 5 对主成分因子 4 的贡献较大。根据表 3、4 的信息计算得到主成分因子得分 (Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Y_4), 再进一步计算得到综合得分 Y ($Y = Y_1 \times W_1 + Y_2 \times W_2 + Y_3 \times W_3 + Y_4 \times W_4$, 其中 W_1 、 W_2 、 W_3 、 W_4 为主成分因子对应的方差贡献率) 并进行排序, Y 值越高表明质量越佳。选择主成分因子 1、2、3, 建立三维图,

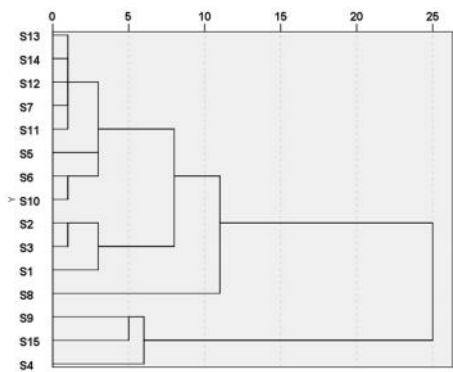


图 5 15 批扶芳藤药材的聚类分析图

Fig 5 Cluster analysis of 15 batches of Fufangteng

结果见表 5。编号 S15、S3 的扶芳藤综合评分较高，质量较优。主成分分析得分图（见图 6）可将扶芳藤药材两种基原植物分为两类，该分类情况与聚类分析结果基本一致。

表 3 成分因子的特征值和方差贡献率

Tab 3 Eigenvalue and variance contribution rate of component factors

主成分因子	特征值	方差贡献率 / %	累计方差贡献率 / %
1	5.101	31.882	31.882
2	4.260	26.628	58.510
3	3.111	19.445	77.955
4	1.392	8.702	86.657

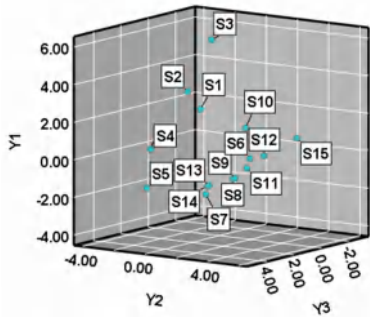


图 6 15 批扶芳藤药材的主成分分析得分图

Fig 6 Principal component analysis score diagram of 15 batches of Fufangteng

2.3.3 OPLS-DA 根据 HCA 和 PCA 得到的结果，以 15 批扶芳藤药材指纹图谱共有峰峰面积为变量，进一步采用 OPLS-DA 对样品进行建模分析（见图 7）。结果显示，建立的 OPLS-DA 模型中，累计解释能力参数 R^2X 和 R^2Y 分别为 0.926 和 0.956，预测能力参数 Q^2 为 0.824，均大于 0.5，提示所建模型的稳定性及预测能力较好^[15]。15 批样品可分为两类，与 HCA 结果、PCA 结果一致；为避免建立的 OPLS-DA 出现过拟合而影响分析结果的准确性，利用 200 次置换试验分别进行置换检验，结果见图 8，显示置换后的 $R^2 = 0.389$ 、 $Q^2 = -1.39$ （均小于置换检验模型右上方

表 4 主成分因子载荷矩阵

Tab 4 Principal component factor loading matrix

峰号	1	2	3	4
1	0.764	-0.019	-0.461	-0.197
2	0.576	0.397	-0.624	-0.148
3	0.778	-0.136	-0.416	-0.001
4	-0.072	0.738	-0.441	-0.058
5	0.488	0.529	-0.222	0.529
6	-0.228	0.815	-0.317	-0.075
7	0.898	-0.298	-0.115	0.074
8	0.461	0.728	-0.227	0.010
9	0.536	-0.150	0.746	0.099
10	0.852	-0.325	0.358	0.112
11	0.905	-0.334	0.136	0.069
12	0.457	0.329	0.495	-0.528
13	0.094	0.532	0.744	0.154
14	-0.139	0.495	0.188	0.729
15	-0.003	0.725	0.522	-0.420
16	0.443	0.758	0.342	0.003

表 5 主成分因子得分及综合得分

Tab 5 Principal component factor score and comprehensive score

样品	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y	排序
S15	1.42	5.92	1.09	0.85	2.36	1
S3	5.59	-1.26	-0.86	0.60	1.51	2
S4	0.77	-0.58	4.37	-0.68	0.66	3
S2	2.90	-2.03	-0.01	0.42	0.47	4
S10	1.10	0.92	-0.88	-0.50	0.46	5
S9	-1.07	2.07	1.21	-2.32	0.16	6
S1	1.91	-1.68	-0.53	-0.92	0.03	7
S8	-1.46	0.80	-0.06	3.01	-0.01	8
S12	-0.59	1.01	-2.14	-0.27	-0.25	9
S6	-0.72	0.49	-1.69	-1.02	-0.45	10
S5	-1.74	-2.21	2.78	0.65	-0.76	11
S11	-1.35	-0.04	-2.06	-0.19	-0.79	12
S7	-2.48	-0.99	-0.14	0.76	-1.08	13
S13	-2.11	-1.16	-0.56	-0.09	-1.14	14
S14	-2.16	-1.25	-0.54	-0.29	-1.19	15

的真实 R^2 和 Q^2 值)，表明所建模型可靠，未出现过拟合现象，可用于标志物的筛选。

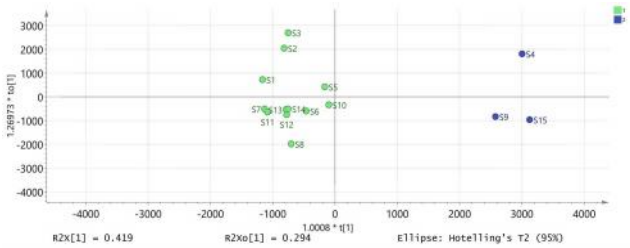


图 7 15 批扶芳藤药材的 OPLS-DA 得分图

Fig 7 OPLS-DA score plot of 15 batches of Fufangteng medicinal materials

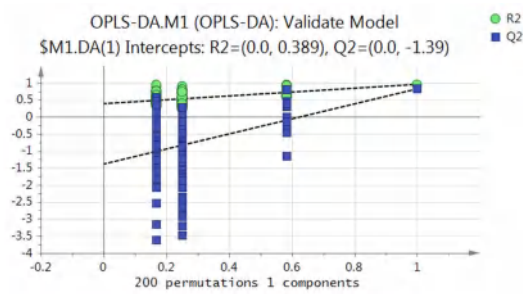


图 8 15 批扶芳藤药材的 OPLS-DA 置换检验图
Fig 8 OPLS-DA permutation test diagram of 15 batches of Fufangteng

采用变量投影重要性 (VIP) 法, 以 $VIP > 1$ 为标准, 筛选贡献较大的差异性成分^[15]。结果见图 9, 共筛选出 5 个差异性标志物, 按影响大小排序依次为峰 15 > 峰 12 > 峰 11 > 峰 14 > 峰 13, 分别为 2.911、1.296、1.135、1.123、1.076, 提示这 5 个差异标志物是影响扶芳藤药材质量的标志性成分, 其中峰 15 的影响最大。

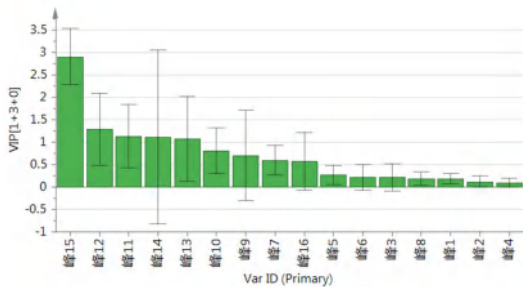


图 9 15 批扶芳藤药材共有峰峰面积的 VIP 图
Fig 9 VIP plot of common peak area of 15 batches of Fufangteng

2.4 含量测定

2.4.1 线性关系考察 取各成分对照品储备液适量, 混匀后定容, 得到混合对照品母液, 再逐级稀释成不同浓度溶液, 按照“2.2.3”项下色谱条件进样分析, 记录原儿茶酸、山柰苷的峰面积。再分别以各对照品的峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标 (X), 绘制回归曲线, 原儿茶酸的线性方程: $Y = 2.111 \times 10^4 X - 1.291 \times 10^3$, $r = 0.9999$, 线性范围为 $0.015 \sim 20.000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 山柰苷的线性方程: $Y = 2.879 \times 10^4 X - 1.714 \times 10^4$, $r = 1.0000$, 线性范围为 $0.625 \sim 200.000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.4.2 精密度试验 取同一份扶芳藤药材 (S6) 供试品溶液, 连续进样测定 6 次, 记录原儿茶酸、山柰苷的峰面积。结果显示两种成分峰面积的 RSD 值分别为 1.3%、0.69%, 表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批扶芳藤药材 (S6), 共 6 份, 按“2.2.1”项下方法制成供试品溶液后进样测定, 计算原儿茶酸、山柰苷平均含量分别为 0.025 、 $0.277 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.5%、1.7%,

表明该方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取同一份扶芳藤药材 (S6) 供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、16、20、24 h 进样测定, 记录原儿茶酸、山柰苷的峰面积, 结果 RSD 值分别为 1.2%、0.87%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 加样回收试验 精密称定 6 份已知含量的扶芳藤药材粉末, 各约 2 g, 分别加入大约等于已知含量的原儿茶酸、山柰苷对照品溶液, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 测得原儿茶酸、山柰苷的平均回收率分别为 99.18%、103.33%, RSD 值分别为 2.9%、1.2%, 表明该方法准确度良好。

2.4.6 样品含量测定 取 15 批扶芳藤药材, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 分别计算原儿茶酸、山柰苷的含量, 结果见表 6, 不同批次样品间各成分的含量有一定差异。

表 6 样品中两种指标成分的含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)

Tab 6 Content of two index components in samples ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)					
样品	原儿茶酸	山柰苷	样品	原儿茶酸	山柰苷
S1	0.020	0.008	S9	0.020	1.163
S2	0.048	0.005	S10	0.068	0.404
S3	0.080	0.004	S11	0.033	0.087
S4	0.012	0.858	S12	0.036	0.188
S5	0.008	0.134	S13	0.018	0.131
S6	0.027	0.299	S14	0.010	0.139
S7	0.057	0.051	S15	0.095	1.067
S8	0.067	0.048			

3 讨论

3.1 化学模式识别分析

将 15 批扶芳藤药材的 HPLC 指纹图谱与化学模式识别分析相结合, 以整体评价其质量。结果显示, 聚类分析可将 15 批扶芳藤药材分为两类; 进一步由主成分综合得分可知, S15、S3 批次扶芳藤药材的质量较好。采用 OPLS-DA 筛选出 5 个影响扶芳藤药材质量的标志性成分, 分别为峰 15、峰 12、峰 11、峰 14、峰 13 所代表的化学成分, 对应 VIP 值分别为 2.911、1.296、1.135、1.123、1.076, VIP 值均大于 1, 其中峰 15 的贡献率最大, 而其他 4 个标志物的贡献值相差不大, 也进一步说明了中药具有多成分的特点, 评价中药的质量应从整体上把握。但在与对照品比对时, 仅指认出 5 号峰为原儿茶酸、15 号峰为山柰苷, 未能对另外 4 个标志性成分进行指认, 后期应结合液相质谱联用仪进行指认, 进一步将指纹图谱与药效结合, 建立中药活性指纹图谱, 以期从整体角度评价中药质量。

3.2 含量测定结果分析

酚酸类化合物原儿茶酸和黄酮类化合物山柰苷是扶芳藤中的有效成分,具有抗炎、抗氧化、抗衰老、抗肿瘤及抗菌等活性^[16]。本研究通过对两种基原扶芳藤药材中的原儿茶酸、山柰苷进行含量测定,发现 5 批冬青卫矛样品中原儿茶酸、山柰苷的含量分别为 $0.008 \sim 0.080 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.004 \sim 0.858 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 10 批爬行卫矛样品的原儿茶酸、山柰苷的含量分别为 $0.010 \sim 0.095 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $0.048 \sim 1.163 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 表明不同批次扶芳藤药材中这两种成分含量存在差异,其原因可能与基原、采收期、药材产地等因素有关。

3.3 扶芳藤基原整理

扶芳藤系壮族习用药材,随着研究的深入,发现其具有多种生物活性,爬行卫矛具有抗氧化、抗衰老、保护心脑血管、凝血等药理作用^[17-22];冬青卫矛具有杀虫杀菌活性^[23-25];因此,理清不同基原扶芳藤的差异,制定质量标准,可为更好地发挥临床疗效提供依据。TLC 中不同批次的冬青卫矛、爬行卫矛在与对照药材色谱相应的位置上,显相同斑点;指纹图谱相似度分析发现,不同批次扶芳藤色谱峰整体特征有良好的相似性,各样品之间有一定差异,但从整体面貌上看,不同批次样品之间仍是相似的,表明两种基原扶芳藤的化学组成一致性良好。对指纹图谱进行 HCA 和 PCA,结果发现当组间距离为 15 时,可分为两类,产自桂林龙胜各族自治县、恭城瑶族自治县的爬行卫矛和广西桂林永福县的冬青卫矛为一类,且主成分得分排在前面,其余批次的冬青卫矛、爬行卫矛大致上可归为一类,结合文献报道的 6 个批次的爬行卫矛与 1 个批次的冬青卫矛 HPLC 图谱具有一定的相似性^[26],故将冬青卫矛纳入扶芳藤质量控制的基原物种是合理的。

本试验成功建立了不同基原扶芳藤药材的 TLC 及 HPLC 指纹图谱,并结合了化学模式识别分析,并同时测定了指标成分原儿茶酸、山柰苷的含量,可为扶芳藤药材的质量控制提供参考。

参考文献

- [1] (唐)陈藏器著;尚志钧辑校.本草拾遗[M].芜湖:皖南医学院科研处,1983.
- [2] 贾敏如,李星炜.中国民族药志要[M].北京:中国医药科技出版社,2005.
- [3] 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所编著.广西植物志[M].南宁:广西科学技术出版社,2016.
- [4] 广西壮族自治区卫生厅.广西中药材标准第 2 册[M].南宁:广西科学技术出版社,1992.
- [5] 广西壮族自治区食品药品监督管理局编.广西壮族自治区壮药质量标准第一卷 2008 年版[M].南宁:广西科学技术

- 出版社,2008.
- [6] 钟鸣,黄瑞松,梁启成.中国壮药学[M].南宁:广西民族出版社,2016.
- [7] 覃洁萍,姚蓉,李芸,等.HPLC-ELSD 法测定扶芳藤中卫矛醇的含量[J].广西中医药,2008,31(4):58-60.
- [8] 辛华,李建华,陈勇,等.气相色谱法测定不同产地扶芳藤中卫矛醇含量[J].广西科学院学报,2006,22(z1):449-450.
- [9] 郑娟梅,毛晓丽,李自达,等.FTIR 定量测定扶芳藤中卫矛醇的方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):60-65.
- [10] 闫利华,金艳,冯学峰,等.扶芳藤药材质量标准研究[J].中国中药杂志,2015,40(10):1877-1886.
- [11] 刘琦.中药扶芳藤及其制剂的质量控制方法研究[D].保定:河北大学,2015.
- [12] 陈玉梅.广西扶芳藤的质量控制研究[D].南宁:广西中医药大学,2017.
- [13] 聂江力,裴毅.冬青卫矛的性状与显微鉴别[J].中药材,2014,37(1):49-52.
- [14] 欧阳熙林,韦新杰,杨城.扶芳藤的化学成分药理及其质量控制方法[J].时珍国医国药,2014,25(4):935-937.
- [15] 梁慧,潘晓君,杨文惠,等.基于 UPLC 指纹图谱和一测多评法的虎杖药材质量评价[J].中国药房,2021,32(15):1842-1848.
- [16] 黄显婷,陈淑莹,李瑞林,等.扶芳藤化学成分和药理作用研究概况[J].广西中医药大学学报,2023,26(3):46-50.
- [17] 肖健.扶芳藤提取物预防给药对大鼠急性脑缺血再灌注后 c-fos 表达的影响[J].广西医学,2007,29(10):1501-1502.
- [18] 李成林,王庆高,崔胜利.扶芳藤对兔心肌缺血再灌注损伤血清 SOD、MDA 的影响[J].广西中医药,2011,34(2):55-57.
- [19] 朱智德,罗宇东,蒋林,等.瑶药扶芳藤对血管内皮细胞缺氧损伤的保护作用[J].中国医药导报,2017,14(10):26-30.
- [20] 温奇龙,银喆,罗育,等.扶芳藤总三萜对衰老小鼠血清及组织 T-AOC、CAT、GSH-PX 表达的影响及意义[J].海南医学,2020,31(4):413-417.
- [21] 郑璐,胡金贵,张佳智,等.扶芳藤提取物体内体外抗氧化作用研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(5):742-748.
- [22] 蒋力群,霍宇,杨捷.扶芳藤醇提液对小鼠凝血四项的影响[J].中国医药指南,2016,14(10):41-42.
- [23] 张启东.30 种药用植物杀虫杀菌活性筛选及冬青卫矛杀虫活性成分研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2006.
- [24] 李会玲.冬青卫矛内生真菌杀菌活性成分研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [25] 杨春平,韩小美,韩江涛,等.冬青卫矛内生放线菌 YDG17 菌株发酵液抑菌活性研究[J].农药学报,2008,10(1):53-60.
- [26] Ouyang XL, Fang XM, Pan YM, et al. Development of HPLC fingerprint for the quality control of Euonymus fortunei and distinguishing it from related species[J]. Acta Chromatographica, 2012, 24(2): 301-316.

(收稿日期:2025-01-15;修回日期:2025-04-02)

药物分析与检验

西甲硅油中 9 种元素杂质的测定及风险评估

周颖^{1, 2}, 蒋贇^{1, 2*}, 李昌亮^{1, 2}, 刘雁鸣^{1, 2*} (1. 湖南省药品检验检测研究院, 长沙 410001; 2. 国家药品监督管理局药用辅料工程技术研究重点实验室, 长沙 410001)

摘要: **目的** 建立电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 测定西甲硅油中镉 (Cd)、铅 (Pb)、砷 (As)、汞 (Hg)、钴 (Co)、钒 (V)、镍 (Ni)、铁 (Fe)、锌 (Zn) 共 9 种元素杂质的含量, 并进行风险评估。**方法** 样品经微波消解后, 采用 ICP-MS 进行测定, 内标校正的标准曲线法定量, 参考 ICH Q3D 以控制阈值方法评估元素杂质的残留风险。**结果** 各元素在对应浓度范围内与峰面积线性关系良好 ($r = 0.997 \sim 1.000$), 低、中、高浓度平均回收率分别在 85.3% ~ 102.7%、91.4% ~ 105.0%、90.1% ~ 107.0%, RSD 分别在 1.1% ~ 3.8%、0.10% ~ 4.6%、0.30% ~ 4.0% ($n = 3$); C 企业 1 批样品 (批号: 4102302081) 中 Pb 含量超过控制阈值, 其他样品中评估的元素杂质含量均未超过控制阈值。**结论** 本方法准确度高、重复性好, 可用于西甲硅油中多种元素杂质的测定, 西甲硅油用于口服制剂中元素杂质残留风险较低。

关键词: 西甲硅油; 电感耦合等离子体质谱法; 元素杂质; 风险评估; ICH Q3D

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2948-04

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.022

Determination and risk assessment of 9 elemental impurities in simethicone

ZHOU Ying^{1, 2}, JIANG Yun^{1, 2*}, LI Chang-liang^{1, 2}, LIU Yan-ming^{1, 2*} (1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001; 2. NMPA Key Laboratory of Pharmaceutical Excipients Engineering Technology Research, Changsha 410001)

Abstract: Objective To determine Cd, Pb, As, Hg, Co, V, Ni, Fe and Zn in simethicone by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and to assess the risk. **Methods** After microwave digestion of the sample, and analyzed by ICP-MS. The standard curve method with internal standard calibration was used for the quantification. The residual risk of elemental impurities was evaluated with the control threshold method in reference to ICH Q3D guidelines. **Results** The standard curves showed good linearity in the corresponding concentration range ($r = 0.997 \sim 1.000$), and the average recovery of low, medium and high concentrations were 85.3% ~ 102.7%, 91.4% ~ 105.0%, and 90.1% ~ 107.0%, respectively, the RSD s were 1.1% ~ 3.8%, 0.10% ~ 4.6%, and 0.30% ~ 4.0%, respectively ($n = 3$). The Pb content in one sample from manufacturer C (No. 4102302081) exceeded the control threshold, while the impurity content of the evaluated elements in other samples did not. **Conclusion** This method is highly accurate and repeatable, and can be used for the determination of elemental impurities in simethicone. The residual risk of elemental impurities in simethicone in oral formula is relatively low.

Key words: simethicone; inductively coupled plasma mass spectrometry; elemental impurity; risk assessment; ICH Q3D

西甲硅油是二甲硅油和二氧化硅的混合物, 为乳白色或灰白色的黏稠液体, 作为药用辅料可用作

基金项目: 湖南省自然科学基金-科药联合基金项目 (No.2023JJ60106)。

作者简介: 周颖, 女, 副主任药师, 主要从事药品药用辅料研究, email: 519315503@qq.com *通信作者: 蒋贇, 女, 副研究员, 主要从事药品药用辅料研究, email: jiangyun127@hotmail.com; 刘雁鸣, 女, 主任药师, 主要从事药品药用辅料研究, email: ymlu68@yahoo.com.cn

消泡剂、片剂稀释剂及防水剂^[1]。西甲硅油已列入 GRAS (Generally Recognized as Safe), 并收录入美国食品药品监督管理局 (FDA) 非活性成分数据库^[2], 在该数据库共查询到 38 条西甲硅油相关记录, 其中 32 条给药途径为口服 (乳剂、散剂、溶液剂、混悬剂、片剂), 5 条为局部外用药, 1 条为直肠用药。国家药品监督管理局药品审评中心的原辅包登记信息公示数据库^[3]查询到西甲硅油关联审评信息共 17 条。西甲硅油《中国药典》2020 年版未收载, USP 现行版^[4]和 EP11.0 版^[5]均有收载, 但 USP 和 EP 质量标准均未设置元素杂质相关质控项目。作为起始物料的二甲硅油在《中国药典》2020 年版中有收载, 质量标准设置了重金属和砷盐检查, 重金属检查采用紫外比色法, 砷盐检查采用《中国药典》2020 年版四部通则 0822 第一法古蔡氏法^[6], 但两种检查方法的专属性和灵敏度均欠佳, 不能满足现今对药品安全性控制更高的要求。人用药品注册技术要求国际协调会《ICH Q3D (R2): 元素杂质指导原则》^[7]规定, 应通过科学和基于风险的评估来确定制剂中元素杂质的控制策略, 包括原辅料、生产设备等可能引入的元素杂质, 目前西甲硅油中各元素杂质的残留量和残留风险尚未可知, 本研究结合该元素杂质指导原则和西甲硅油的生产工艺及给药途径, 采用电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 同时测定样品中 1 类元素镉 (Cd)、铅 (Pb)、砷 (As)、汞 (Hg), 2A 类元素钴 (Co)、钒 (V)、镍 (Ni), 其他元素铁 (Fe)、锌 (Zn), 共 9 种元素杂质, 并对定量测定结果进行分析, 评估口服给药途径下西甲硅油中元素杂质的残留风险, 为西甲硅油质量标准的制定及相关制剂的安全性评价提供可行的测定方法及数据支持。

1 仪器与试药

iCAPQc 电感耦合等离子体质谱分析仪 (赛默飞世尔科技有限公司); AUW220D 型电子天平 (日本岛津, 精度: 0.01 mg); MARS6-Xpress 微波消解仪 (美国 MCE); 多元素标准溶液 (国家有色金属及电子材料分析测试中心, 批号: 23D79488, 质量浓度: Cd 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、Pb 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、As 15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、Hg 30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、Co 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、V 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、Ni 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), Fe、Zn、锆 (Ge)、铈 (Rh)、铼 (Re)、金 (Au) 单元素标准溶液 (国家有色金属及电子材料分析测试中心, 批号分别为 198009-2、217009-3、221007、222027、221050、23B028-1, 质量浓度均为 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 钪 (Sc) 单元素标准溶液 (钢研纳克检测技术股份有限公司国家钢铁材料测试中心, 批号: 21041235, 质量浓度为 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); 硝酸, 氢氟酸均为优级纯; 西甲硅油样品共 14 批 (企业 A、B、C、D)。

2 方法与结果

2.1 ICP-MS 工作参数

射频功率 1550 W; 雾化室温度 2.7 $^{\circ}\text{C}$; 雾化室、等离子气体、载气及辅助气体: 氩气和氦气; 雾化气流量 1.0 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$; 等离子体载气流量 14.0 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$; 氦气流量 4.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 采样深度 5.00 mm; 蠕动泵转速 40 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$; 测定模式为动能歧视 (KED) 模式。

2.2 微波消解程序

10 min 从室温升温至 100 $^{\circ}\text{C}$, 保持 30 min, 功率 600 W; 5 min 继续升温至 120 $^{\circ}\text{C}$, 保持 10 min, 功率 1200 W; 5 min 继续升温至 160 $^{\circ}\text{C}$, 保持 15 min, 功率 1200 W; 5 min 继续升温至 180 $^{\circ}\text{C}$, 保持 90 min, 功率 1200 W。

2.3 溶液的配制

2.3.1 内标溶液 分别精密量取 Sc、Ge、Rh、Re、Au 单元素标准溶液适量, 用 2% 硝酸溶液定量稀释制成含 Sc、Ge、Rh、Re 各 20 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及 Au 200 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的内标溶液。

2.3.2 标准储备液 精密量取多元素标准溶液 2.0 mL 及 Zn、Fe 单元素标准溶液各 2.6 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用 2% 硝酸溶液稀释至刻度, Cd、Pb、As、Hg、Co、V、Ni、Fe、Zn 元素质量浓度分别为 0.2、0.2、0.6、1.2、2.0、4.0、8.0、52.0、52.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3.3 标准曲线溶液 分别精密量取标准储备液 0.15、0.25、0.5、0.75、1.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 用内标溶液稀释至刻度, 制成含 Cd 元素 0.6、1、2、3、4 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Pb 元素 0.6、1、2、3、4 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, As 元素 1.8、3、6、9、12 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Hg 元素 3.6、6、12、18、24 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Co 元素 6、10、20、30、40 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, V 元素 12、20、40、60、80 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Ni 元素 24、40、80、120、160 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Fe 元素 156、260、520、780、1040 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, Zn 元素 156、260、520、780、1040 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为线性系列标准溶液。

2.3.4 供试品溶液 取西甲硅油约 0.2 g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐中, 加入 8 mL 硝酸、0.5 mL 氢氟酸, 放入微波消解装置中消解。消解完成后, 冷却, 置赶酸仪中 140 $^{\circ}\text{C}$ 赶酸至消解液约 0.5 mL, 用内标溶液转移并定量稀释至 50 mL, 摇匀, 即得 (4 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.4 线性关系考察

精密量取线性系列标准溶液, 按“2.1”项下方法测定各元素, 以质量浓度 (x , $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 为横坐标, 以与内标折算后的响应值 (y) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 各元素在各评估浓度范围内与响应值线性关系良好, 详见表 1。

2.5 检测限和定量限

取空白溶液连续进样 11 次, 以 3 倍标准偏差作为检测限, 10 倍标准偏差作为定量限, 见表 1。

表 1 西甲硅油中元素杂质线性方程、检测限、定量限结果

Tab 1 Linear equation, detection limit and quantification limit of elemental impurities in simethicone

元素	线性方程	相关系数	检测限 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	定量限 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
Cd	$y = 8.638 \times 10^3 x + 111.003$	1.000	0.003 89	0.012 98
Pb	$y = 1.600 \times 10^5 x + 2.769 \times 10^4$	0.9992	0.007 32	0.024 40
As	$y = 1.623 \times 10^3 x + 7.543$	1.000	0.006 74	0.022 47
Hg	$y = 2.700 \times 10^4 x + 537.664$	1.000	0.006 96	0.023 19
Co	$y = 3.533 \times 10^4 x + 89.896$	1.000	0.001 13	0.003 76
V	$y = 1.118 \times 10^4 x + 37.145$	1.000	0.002 75	0.009 17
Ni	$y = 9.784 \times 10^3 x + 596.976$	1.000	0.011 72	0.039 08
Fe	$y = 392.970 x + 547.587$	1.000	0.357 33	1.191 10
Zn	$y = 3.593 \times 10^3 x + 2.658 \times 10^5$	0.9970	0.111 36	0.371 21

2.6 精密度试验

取标准曲线溶液第 3 个点的溶液, 连续进样 6 次, 结果各元素 *RSD* 均在 1.0% ~ 4.0%, 表明仪器的精密度良好。

2.7 重复性试验

由于各元素含量较低, 采用加标的方式考察重复性。取样品 (批号: H033M8O022) 约 0.2 g, 精密称定, 置聚四氟乙烯消解罐中, 加入标准储备液 0.5 mL, 按照“2.3.4”项下方法平行配制 6 份 100% 限度水平的供试品加标溶液作为重复性溶液。按“2.1”项下方法测定并计算, 样品中各元素杂质含量的 *RSD* 均在 0.30% ~ 4.1% ($n = 6$), 结果表明本方法重复性良好。

2.8 回收试验

取样品 (批号: H033M8O022) 约 0.2 g, 精密称

定, 共 9 份, 置聚四氟乙烯消解罐中, 每 3 份为一组, 每组分别加入标准储备液 0.25、0.50、0.75 mL, 按照“2.3.4”项下方法制备 50%、100% 和 150% 低、中、高浓度水平的供试品加标溶液作为回收率试验溶液。按“2.1”项下方法测定并计算, 50% 限度水平各元素平均回收率在 85.30% ~ 102.7%, *RSD* 在 1.1% ~ 3.8%; 100% 限度水平各元素平均回收率在 91.4% ~ 105.0%, *RSD* 在 0.10% ~ 4.6%; 150% 限度水平各元素平均回收率在 90.1% ~ 107.0%, *RSD* 在 0.30% ~ 4.0% ($n = 3$)。结果表明本方法准确度好。

2.9 样品测定

取 14 批西甲硅油样品, 按“2.3.4”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算各元素杂质的含量, 结果见表 2。

表 2 西甲硅油中元素杂质测定结果 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

Tab 2 Content of elemental impurities in simethicone ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

企业	批号	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni	Fe	Zn
A	H033M8O022	—	0.061 69	—	—	0.017 55	0.014 09	0.068 55	3.454 00	—
	H033M8N023	—	0.095 54	0.039 58	—	0.035 37	0.021 25	0.082 49	8.049 89	—
	H033M85040	—	0.101 03	—	—	0.032 01	0.021 67	0.070 44	5.784 53	—
B	WT202111YB201	—	0.123 93	—	—	0.055 02	0.032 04	0.048 27	8.484 13	—
	WT202207YB201	—	0.087 08	0.158 50	—	—	0.032 01	—	—	—
	WT202207YB207	—	—	—	—	—	—	0.499 17	—	—
	T202304YB401	—	0.113 07	—	—	0.052 55	0.033 30	0.049 82	8.826 42	—
	T202304YB402	—	—	0.048 22	—	—	—	—	—	0.406 21
C	T202305YB401	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	4102302081	—	0.159 19	—	—	0.076 33	0.042 58	0.076 26	12.229 20	—
	4102302101	—	—	—	—	0.013 88	—	—	1.250 16	—
	4102302191	—	—	0.066 42	—	0.007 99	—	—	—	—
D	H033M8N013	—	0.104 10	—	—	0.033 97	0.023 07	0.089 35	6.391 75	—
	H033M8O014	—	—	0.056 27	—	—	—	0.055 49	—	—

注 (Note): “—” 表示低于定量限 (“—” means lower than the quantification limit)。

2.10 风险评估

ICH Q3D 采用元素杂质 PDE (每日允许暴露量) 值的 30%, 作为元素杂质实测水平显著性的指标和风险评估的控制阈值。1 类和 2A 类元素杂质按照 ICH Q3D 口服给药途径的允许浓度进行风险评估; 因 ICH Q3D 中无推荐的 Fe 和 Zn 的 PDE, 由于其毒性均较低, Fe 和 Zn 参照《化学

药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则 (试行稿)》^[8] 进行评估, 结果见表 3。

3 讨论

3.1 检测方法的建立及方法学验证

西甲硅油中含 4% ~ 7% 的二氧化硅, 仅采用常用的硝酸、盐酸、硫酸等进行消解, 无法消解完全, 基体干扰严重。考虑加入少量的氢氟酸, 经

表 3 西甲硅油风险评估元素及限度

Tab 3 Elements and limits for the risk assessment of simethicone				
元素	分类	口服 PDE/ ($\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$)	口服允许浓度 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	控制阈值 / ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
Cd	1	5	0.5	0.15
Pb	1	5	0.5	0.15
As	1	15	1.5	0.45
Hg	1	30	3	0.9
Co	2A	50	5	1.5
V	2A	100	10	3
Ni	2A	200	20	6
Fe	其他	1300	130	39
Zn	其他	1300	130	39

考察,在 0.2 g 样品中加入 8 mL 硝酸和 0.5 mL 氢氟酸,再按本方法中的消解程序进行微波消解处理,样品能完全消解。对于元素测定,使用内标可有效地校正响应信号的波动,选择的内标应与待测元素质量数相近,本次测定采用内标校正的标准曲线法, ^{51}V 、 ^{56}Fe 、 ^{59}Co 以 ^{45}Sc 为内标, ^{60}Ni 、 ^{64}Zn 、 ^{75}As 以 ^{74}Ge 为内标, ^{114}Cd 以 ^{103}Rh 为内标, ^{202}Hg 、 ^{208}Pb 以 ^{187}Re 为内标。方法学验证结果表明所建方法线性、重复性和回收率均能符合要求,且所有元素的定量限均低于风险评估的控制阈值,表明可用控制阈值的方法来评估各元素的残留风险。

3.2 风险评估元素杂质的选择

药品中的元素杂质有多种来源,它们可能是在合成中有意添加的催化剂的残留,也可能是实际存在的杂质,如与生产设备或包装系统相互作用产生的杂质或药品各个组分中存在的杂质。西甲硅油以二甲硅油和二氧化硅为起始物料,经过加热搅拌、匀质,得到西甲硅油成品^[9-13]。起始物料均为合成来源,且生产工艺中无有意添加的元素杂质,品种整体元素杂质风险较小。对口服给药途径,潜在元素杂质风险评估应评估是否可能存在 1 类和 2A 类元素杂质。1 类元素 As、Cd、Hg 和 Pb 是人体毒素,在药品生产中应限制使用或禁用;2A 类元素 Co、Ni 和 V 出现在药品中的相对可能性高,对所有潜在元素杂质来源以及给药途径都需要进行风险评估;同时考察可能在生产管路及容器中存在的 Fe 和 Zn,综上,本次西甲硅油中元素杂质的考察种类确定为上述 9 种。

3.3 西甲硅油中元素杂质风险评估结果

对 4 个企业共计 14 批次西甲硅油进行 9 种元素杂质风险评估,结果显示:西甲硅油中 Cd 和 Hg 含量均低于定量限,Pb、As、Co、V、Ni、Fe 和 Zn 均有一定检出;但仅企业 C 的 1 批样品(批号:4102302081)中 Pb 元素含量略高于口服制剂中 Pb

的控制阈值(30%PDE),但低于 PDE 水平,其他 8 种元素均未超过其相应的控制阈值;其他 13 批样品中 9 种元素均未超过相应的口服控制阈值。可见作为口服给药途径使用时,西甲硅油整体元素杂质残留的风险较低,无须在国家标准中统一制定元素杂质的检查项,各相关企业只需按照 ICH Q3D 的要求进行合理评估后制定适合自己品种的风险管控策略即可。企业 C 需要关注西甲硅油产品中的 Pb 元素残留,必要时进行生产工艺的优化。

4 结论

本文建立了 ICP-MS 的元素杂质检查方法对西甲硅油中可能存在的 9 种元素杂质进行了检测与风险评估,该方法灵敏度高、准确度好,可用于西甲硅油元素杂质的日常风险监测和质量控制,为西甲硅油相关企业进行元素杂质风险评估提供方法参考;风险评估结果表明西甲硅油整体元素杂质残留风险较低,可为西甲硅油国家标准的制定提供依据和数据支持。

参考文献

[1] Paul JS, Walter GC, Colin GC. Handbook of Pharmaceutical Excipients [M]. 8th edition. Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2017: 833-834.

[2] FDA. Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products [EB/OL]. (2024-10-19) [2025-1-3]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm?event=BasicSearch.page>.

[3] 国家药品监督管理局药品审评中心. 原辅包登记信息 [EB/OL]. (2024-12-23) [2025-1-3]. <https://www.cde.org.cn/main/xxgk/listpage/ba7aed094c29ae31467c0a35463a716e>.

[4] USP2024 [S]. 2024: 6848.

[5] EP11.0 [S]. 2019: 3962-3963.

[6] 中国药典 2020 年版. 四部 [S]. 2020: 111-113, 575-576.

[7] 国家药品监督管理局药品审评中心. ICH Q3D (R2): 元素杂质指导原则 [EB/OL]. (2022-04-26) [2025-01-03]. <https://www.cde.org.cn/ichWeb/guideIch/toGuideIch/1/1>.

[8] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则(试行稿) [EB/OL]. (2015-07-28) [2025-01-03]. <https://www.cde.org.cn/zdyyz/domesticinfo?page=zdyzIdCODE=e821b8271ff9f2f205ed-425c36f9bd0b>.

[9] 王兰周. 一种西甲硅油的制备方法: CN 102532901 A [P]. 2012-7-4.

[10] 王多平. 西甲硅油的制备方法: CN 107573689 A [P]. 2018-1-12.

[11] 张文嘉. 西甲硅油原料药的工艺研究和质量控制 [D]. 济南: 山东大学, 2017.

[12] 胡师祯, 李培源. 硅油的合成及其在医药领域中的应用研究 [J]. 山东化工, 2019, 48 (19): 65-66, 68.

[13] 冯钦邦, 黄伟良, 马哲文, 等. 二甲基硅油生产工艺及其催化体系 [J]. 有机硅材料, 2015, 29 (1): 27-30.

(收稿日期: 2025-01-03; 修回日期: 2025-02-10)

蜈蚣中 5 种重金属及有害元素的测定及风险评估

江鸳, 周坚, 韦红言, 苏婷婷, 吕淑芳, 黄基茂, 梁小妮, 林明* (培力(南宁)药业有限公司, 南宁 530007)

摘要: **目的** 对不同区域、不同个体蜈蚣中重金属及有害元素的富集情况进行分析, 并进行初步的风险评估。**方法** 采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法对蜈蚣中 5 种重金属及有害元素铅、镉、砷、汞、铜的含量进行测定, 采用单因子污染指数法、内梅罗综合污染指数对蜈蚣药材进行综合风险评估。**结果** 蜈蚣中 5 种重金属元素的线性关系良好 ($r > 0.999$), 平均回收率在 90.96% ~ 105.99% ($RSD \leq 5.9\%$)。7 个产地 20 个批次蜈蚣中铅、镉、砷、汞、铜的平均含量分别为 261.62、0.50、1.73、0.11、29.16 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。初步风险评估结果表明, 湖北 4 批、河南 2 批、安徽 1 批的蜈蚣存在重度污染; 安徽 2 批、湖北 1 批的蜈蚣处在警戒级; 广西 3 批、安徽 2 批、河南 2 批, 辽宁、山西、四川各 1 批的蜈蚣均为安全级。**结论** 蜈蚣的重金属及有害元素铅污染情况较为严重, 与产地有一定的相关性, 有关部门应完善动物药重金属及有害元素的限量标准制定。

关键词: 蜈蚣; 重金属及有害元素; 铅; 镉; 砷; 汞; 铜; 风险评估

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2952-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.023

Determination of 5 heavy metals and harmful elements in scolopendra and risk evaluation

JIANG Yuan, ZHOU Jian, WEI Hong-yan, SU Ting-ting, LYU Shu-fang, HUANG Ji-mao, LIANG Xiao-ni, LIN Ming* (PuraPharm (Nanning) Pharmaceuticals Co., Ltd., Nanning 530007)

Abstract: Objective To determine the enrichment of heavy metals and harmful elements in scolopendra from different regions, and evaluate the primary risk. **Methods** The contents of lead, cadmium, arsenic, mercury and copper in scolopendra were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. The one-factor pollution index method and Nemero composite pollution index method were used to assess the comprehensive risk of scolopendra. **Results** The linearity of the 5 heavy metals and harmful elements in scolopendra was good ($r > 0.999$), with the average recovery ranging 90.96% ~ 105.99% ($RSD \leq 5.9\%$). The average contents of lead, cadmium, arsenic, mercury and copper of 20 batches from 7 origins were 261.62, 0.50, 1.73, 0.11 and 29.16 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. All batches of scolopendra from Hubei (4 batches), Henan (2 batches) and Anhui (1 batch) were heavily polluted. Those from Anhui (2 batches) and Hubei (1 batch) were at the warning line, and those from Guangxi (3 batches), Anhui (2 batches), Henan (2 batches), Liaoning (1 batch), Shanxi (1 batch), and Sichuan (1 batch) were safe. **Conclusion** Lead pollution in scolopendra is serious. The study has provided not only reliable data on the relationship between the origin and heavy metals and harmful elements, but also reference for safety evaluation, and quality control of animal medicines.

Key words: scolopendra; heavy metal and harmful element; Pb; Cd; As; Hg; Cu; risk evaluation

根据我国第三次中药材资源普查数据, 中药 资源达 12 800 余种, 其中药用动物 1581 种, 占

基金项目: 广西科技重大项目专项 (桂科 AA23023035)。

作者简介: 江鸳, 女, 工程师, 主要从事药材及中药制剂质量研究, email: yjiang@purapharm.com * **通信作者:** 林明, 男, 工程师, 主要从事中药材及中药制剂质量研究, email: mlin@purapharm.com

比达到 12.35%^[1]。动物药在方剂、成药中疗效独特,不可替代,是中药体系的重要组成部分。蜈蚣作为我国传统的中药材品种,始载于《神农本草经》,2020 年版《中国药典》收录的蜈蚣药用基原为少棘巨蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L.Koch 的干燥体,性温,味辛,有毒。具有息风镇痉、攻毒散结、通络止痛之功能,用于肝风内动、痉挛抽搐、小儿惊风、中风、半身不遂、破伤风、风湿顽痹、偏正头痛、蛇虫咬伤等^[2]。现代药效学研究表明,蜈蚣具有镇痛、抗炎、抗凝血、抗肿瘤等作用^[3-13]。蜈蚣为肉食性动物,食谱范围广泛,尤其喜欢捕食各种昆虫,常活动于潮湿阴暗的墙角、砖块下或石头缝中、烂树叶下、破旧潮湿的房屋中,其生长活动环境易致外源性重金属及有害元素超标。电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 是目前普遍认可的能同时测定多种元素的方法,因其具有较高的灵敏度、较低的检测限和较少的取样量,被广泛用于各类药材和中药制剂中重金属及有害元素的分析和安全性评价^[14-24]。本研究采用 ICP-MS 对不同产地、不同个体的蜈蚣药材中的重金属有害元素的富集情况进行分析,参考土壤污染的评价方法,即单因子污染指数法、内梅罗综合污染指数法,评估蜈蚣药材外源性有害物质的污染风险,以期对蜈蚣药材的质量评价和蜈蚣资源的开发利用提供参考依据。

1 材料

电感耦合等离子体质谱仪 (ICAP RQ, 美国赛默飞世尔公司); 电子天平 (XSE204, $d = 0.1$ mg; XPE205DR, $d = 0.01$ mg; 瑞士梅特勒-托利多公司); 微波消解仪 (MARS X-press, 美国 CEM 公司); 超纯水机 (Milli-Q Reference A⁺, 美国 Milipore 公司)。

锗 (Ge) 标准溶液 (批号: 710899486-3)、铟 (In) 标准溶液 (批号: 154365-54)、铋 (Bi) 标准溶液 (批号: 147356-44)、金 (Au) 标准溶液 (批号: 166660-5)、砷 (As) 标准溶液 (批号: 143356-143)、铜 (Cu) 标准溶液 (批号: 170425-31)、铅 (Pb) 标准溶液 (批号: 165343-8)、镉 (Cd) 标准溶液 (批号: 160499-99)、汞 (Hg) 标准溶液 (批号: 175191-18)(美国 O2SI 公司, 标准溶液质量浓度均为 1000 mg · L⁻¹)。硝酸 (德国 Merck KgaA, 优级纯, 体积分数 65%)。

收集的 20 批样品产地分别为安徽、广西、河南、湖北、辽宁、山西、四川, 经广西壮族自治区食品药品检验研究院中药室韦家福教授鉴定为少棘巨蜈蚣 *Scolopendra subspinipes mutilans* L. Koch 的干燥体。

2 方法与结果

2.1 ICP-MS 条件

参考 2020 年版《中国药典》四部通则 2321^[25], 使用微波消解法对样品进行前处理, 采用 ICP-MS 对收集的 20 批蜈蚣样品中重金属及有害元素含量进行测定。

测定时 ⁶³Cu、⁷⁵As 以 ⁷²Ge 作为内标, ¹¹⁴Cd 以 ¹¹⁵In 作为内标, ²⁰²Hg、²⁰⁸Pb 以 ²⁰⁹Bi 作为内标。

ICP-MS 仪器参数: 仪器射频功率 15 500 W, 冷却气流量 14.0 L · min⁻¹, 载气为氩气, 流量为 0.8 L · min⁻¹, 辅气为氮气, 流量为 1.03 L · min⁻¹, 气体的纯度均 ≥ 99.999%; 雾化器为同心雾化器, 雾化室温度为 2 °C, 负四极杆 RF CD 偏置为 -175.7 V, 正四极杆 RF DC 偏置为 138.9 V, Quad RF 振幅为 1357.86 V, 四极杆 RF DC 偏置为 158.2 V, 采样锥为镍采样锥, 进样蠕动泵速为 40 r · min⁻¹, 采样深度为 5.0 mm, 测量点数 3 点, 重复 3 次, STD 模式扫描。

2.2 溶液的制备及处理

2.2.1 标准品溶液的制备 分别精密量取各单元标准溶液适量, 用 2% 硝酸溶液 (取 65% 硝酸 30.8 mL, 置 1000 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 即得) 稀释, 配制成相应元素质量浓度的系列混合标准溶液 (As、Cd、Pb: 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 ng · mL⁻¹; Cu: 2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 ng · mL⁻¹; Hg: 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ng · mL⁻¹, Hg 溶液临用前配制)。

2.2.2 内标溶液的制备 分别精密量取 Ge、In、Bi 单元标准溶液适量, 用 2% 硝酸溶液稀释, 制成含 Ge、In、Bi 质量浓度均为 10 ng · mL⁻¹ 的混合溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取供试品于 60 °C 干燥 2 h, 粉碎成粗粉 (过 3 号筛), 称取 0.2 g, 精密称定, 置耐压耐高温微波消解罐中, 加硝酸 5.0 mL, 进行消解。消解程序: 在 5 min 内, 温度升至 120 °C, 保持 3 min; 在 3 min 内, 温度升至 150 °C, 保持 5 min; 在 3 min 内, 温度升至 175 °C, 保持 18 min, 消解功率为 1600 W。消解完全后, 消解液冷却至 60 °C 以下, 取出消解罐, 放冷, 用恒温加热仪于 80 °C 赶酸 30 min, 放冷。将消解液转入 50 mL 量瓶中, 用少量水洗涤消解罐 3 次, 洗液合并于量瓶中, 加入 Au 单元标准溶液 (质量浓度 1 μg · mL⁻¹) 200 μL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 空白溶液制备 除不加 Au 单元标准溶液外, 其余同“2.2.3”项下方法制备试剂空白溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 取 As、Cd、Pb、Cu 标准系列浓度混合溶液进样测定, 并另取 Hg 系列浓

度溶液进样测定，以响应值 (y) 对质量浓度 (x , $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行线性回归，结果见表 1。

表 1 回归方程与线性范围
Tab 1 Regression equations and linear ranges

元素	线性方程	线性范围 / ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	r
As	$y = 1.68 \times 10^3 x - 17.83$	1 ~ 10	0.9999
Cd	$y = 1.98 \times 10^4 x - 233.16$	1 ~ 10	0.9999
Pb	$y = 9.25 \times 10^4 x + 1.99 \times 10^3$	1 ~ 10	0.9998
Cu	$y = 2.30 \times 10^4 x + 941.63$	2 ~ 100	1.000
Hg	$y = 1.32 \times 10^4 x + 16.20$	0.5 ~ 2.5	0.9999

2.3.2 精密度考察 精密量取同一混合标准溶液，按照“2.1”项下 ICP-MS 的参数，连续进样 6 次，计算 As、Cd、Pb、Cu、Hg 含量 RSD 分别为 1.2%、1.6%、1.2%、1.6%、1.3%，结果表明仪器精密度良好。

2.3.3 重复性考察 取同一样品 0.2 g，精密称定 6 份，按“2.2.3”项下方法平行制备，进样测定，计算样品中 5 种元素的含量和 RSD 。As、Cd、Pb、Cu、Hg 含量的 RSD 分别为 3.5%、3.8%、4.1%、3.0%、4.7%，表明重复性较好。

2.3.4 稳定性考察 取同一份供试品溶液，按“2.1”项下 ICP-MS 的参数，分别在 0、2、4、6、12、18、24、36 h 时间点进样检测，计算 As、Cd、Pb、Cu、Hg 含量 RSD 分别为 2.2%、2.3%、1.6%、3.0%、3.1%，表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

2.3.5 回收试验 精密称定样品 0.1 g (辽宁产地)，分别加入一定量 As、Cd、Pb、Cu、Hg (按实测值 1:1 的量加标) 的标准溶液。按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份样品溶液。进样测定并计算，As、Cd、Pb、Cu、Hg 的回收率分别为 96.76% ~ 101.04%、87.95% ~ 94.56%、100.93% ~ 109.75%、87.37% ~ 102.93%、96.21% ~ 108.98%。各元素回收率均在 85% ~ 115%， RSD 均小于 8%，结果表明该方法准确可行。

2.3.6 检测限 取空白溶液连续进样 11 次，为各元素响应值的 3 倍标准偏差除以标准曲线斜率，测定并计算检测限，结果 As、Cd、Pb、Cu、Hg 的检测限分别为 0.002、0.002、0.020、0.050、0.001 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.3.7 定量限 取空白溶液连续进样 11 次，为各元素响应值的 10 倍标准偏差除以标准曲线斜率，计算定量限结果 As、Cd、Pb、Cu、Hg 的定量限分别为 0.005、0.005、0.050、0.200、0.003 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.4 样品检测

20 批蜈蚣样品重金属及有害元素残留量的检测结果见表 2。同时，初步验证蜈蚣重金属富集

的个体差异情况，结果见表 3。

由表 2 数据可知，20 批蜈蚣样品中，Pb 元素含量在 0.30 ~ 1979.88 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均含量为 261.62 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；Hg 元素含量在 0.021 ~ 0.569 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均含量为 0.11 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；Cd 元素含量在 0.23 ~ 1.19 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均含量为 0.50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；As 元素含量在 0.63 ~ 5.21 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均含量为 1.73 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ；Cu 元素含量在 14.15 ~ 51.86 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，平均含量为 29.16 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。参考《中国药典》对动物药 水蛭 重金属及有害元素的限量标准 (Pb、Hg、As、Cd 的限度值分别为 10、1、5、1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)，20 批蜈蚣药材中，重金属 As 1 批超标，重金属 Cd 1 批超标，重金属 Pb 7 批超标。湖北产地的 5 批蜈蚣均不符合规定，其中 4 批 Pb 超出标准 6 ~ 198 倍，其中一批 As 超出标准的含量 (5.21 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)；河南产地的两批 Pb 不符合药典标准规定，超出 7 ~ 29 倍；安徽产地的两批不合格，分别为 Cd 和 Pb；Hg 未出现超标情况。可见，蜈蚣中 Pb 超标情况较为严重。

2.5 蜈蚣重金属及有害元素的初步风险评估^[26]

采用单项污染指数法 ($P_i = C_i/S_i$) 对蜈蚣中单一的重金属及有害元素进行评估，其中 P_i 为单项污染指数； C_i 为实测值； S_i 为限量标准值。因目前蜈蚣尚未制订重金属及有害元素的限量标准，暂时参照 2020 年版《中国药典》对于动物药 水蛭 中重金属及有害元素的标准限度：Cd $\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，Pb $\leq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，As $\leq 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，Hg $\leq 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。采用内梅罗综合指数法 ($P_{\text{综合}} = \sqrt{(P_{\text{平均}}^2 + P_{\text{max}}^2)/2}$) 对蜈蚣中整体的重金属及有害元素进行评估，其中 $P_{\text{综合}}$ 代表重金属及有害元素的综合污染指数； $P_{\text{平均}}$ 是指各元素 P_i 的平均值； P_{max} 是各元素 P_i 中的最大值。风险评估等级共分为 5 个等级：安全级 ($P_{\text{综合}} \leq 0.7$)、警戒级 ($0.7 < P_{\text{综合}} \leq 1.0$)、轻度污染 ($1.0 < P_{\text{综合}} \leq 2.0$)、中度污染 ($2.0 < P_{\text{综合}} \leq 3.0$)、重度污染 ($P_{\text{综合}} > 3.0$)。

由图 1 的单项污染指数可知，Pb 元素的污染指数范围为 0.03 ~ 197.99，其中安徽、河南、湖北产地的蜈蚣风险评估等级为重度污染，其余产地的蜈蚣均为安全级。Hg 元素的污染指数范围为 0.02 ~ 0.57，所有产地蜈蚣中 Hg 的风险评估等级均为安全级。Cd 元素的污染指数范围为 0.23 ~ 1.19，除安徽产地有 1 批风险评估等级为轻度污染，其余产地的风险评估均为安全级。As 元素的污染指数范围为 0.13 ~ 1.04，湖北产地有 1 批蜈蚣的风险评估为轻度污染，安徽产地有 1 批蜈蚣风险评估为警戒级，其余产地的蜈蚣均为安全级。

表 2 蜈蚣中重金属及有害元素的富集情况
Tab 2 Content of enrichment of heavy metals and harmful elements in scolopendra

批号	产地	含量 / (mg · kg ⁻¹)				
		Cu	As	Cd	Pb	Hg
130922-01	安徽 1	25.70	1.66	0.51	0.73	0.049
140723-04	安徽 2	27.33	1.82	0.69	509.00*	0.052
140725-01	安徽 3	46.55	4.81	0.42	0.56	0.365
140804-01	安徽 4	20.82	1.51	1.19*	0.57	0.091
140822-02	安徽 5	51.18	1.63	0.62	0.47	0.104
130123-12	广西 1	34.07	3.32	0.65	0.42	0.413
140825-03	广西 2	31.24	0.79	0.38	0.72	0.038
140825-04	广西 3	32.58	0.80	0.27	0.30	0.070
140912-01	河南 1	25.21	1.77	0.58	1.42	0.102
140912-02	河南 2	36.10	1.06	0.38	0.72	0.031
140912-03	河南 3	14.15	0.87	0.29	74.36*	0.030
140912-04	河南新县 4	14.60	0.91	0.30	292.58*	0.024
140721-05	湖北 1	31.29	1.02	0.26	1933.01*	0.017
140721-06	湖北 2	16.38	0.63	0.23	368.12*	0.021
140721-07	湖北 3	32.33	1.73	0.53	1979.88*	0.045
150604-01	湖北 4	14.49	0.85	0.30	67.48*	0.023
150613-01	湖北 5	40.25	5.21*	0.65	0.42	0.569
151022-01	辽宁	15.71	1.04	0.80	0.55	0.057
151104-01	山西	21.44	1.50	0.36	0.52	0.085
151229-01	四川	51.86	1.78	0.65	0.47	0.110

注 (Note): *为超标的数值 (*indicate values that exceed the standard)。

表 3 蜈蚣中重金属及有害元素残留量的个体差异
Tab 3 Individual differences in the contents of heavy metals and harmful elements of scolopendra

批号	含量 / (mg · kg ⁻¹)					备注
	Cu	As	Cd	Pb	Hg	
140721-05 30.89	1.43	0.46	0.49	0.10	0.10	将 2 kg 药材分成 8 等份,
140721-05 31.48	1.34	0.53	0.91	0.10	0.10	分别打粉与检测, 药
140721-05 28.40	1.38	0.42	0.50	0.10	0.10	材个体差异较大
140721-05 31.62	1.00	0.98	463.95*	0.14		
140721-05 32.08	0.94	2.33	1783.35*	0.12		
140721-05 31.95	1.48	0.51	0.62	0.10		
140721-05 30.83	1.21	0.48	0.60	0.09		
140721-05 28.25	1.28	1.24	1220.58*	0.12		
130123-12 34.07	3.32	0.65	0.42	0.41	0.41	取 50 g 打粉检测
130123-12 36.36	3.28	0.73	0.52	0.50	0.50	取 100 g 打粉检测
130123-12 25.21	1.77	0.58	1.42	0.10	0.10	取 200 g 打粉检测
130123-12 14.48	1.18	0.33	3.72	0.18	0.18	取样 500 g 打粉检测
130123-12 36.22	3.22	0.75	4.46	0.55	0.55	取样 1.0 kg 打粉检测
130123-12 34.18	2.86	0.70	4.50	0.50	0.50	取样 1.2 kg 打粉检测
140723-04 21.28	1.11	0.53	0.33	0.05	0.05	取 50 g 打粉检测
140723-04 24.36	1.21	0.44	0.38	0.10	0.10	取 100 g 打粉检测
140723-04 26.11	1.18	0.55	0.36	0.08	0.08	取 200 g 打粉检测
140723-04 28.06	1.55	0.50	126.28	0.15	0.15	取样 500 g 打粉检测
140723-04 29.14	1.63	0.50	154.23*	0.18	0.18	取样 1.0 kg 打粉检测
140723-04 28.94	1.53	0.46	150.64*	0.12	0.12	取样 1.2 kg 打粉检测

注 (Note): *为超标的数值 (*indicate values that exceed the standard)。

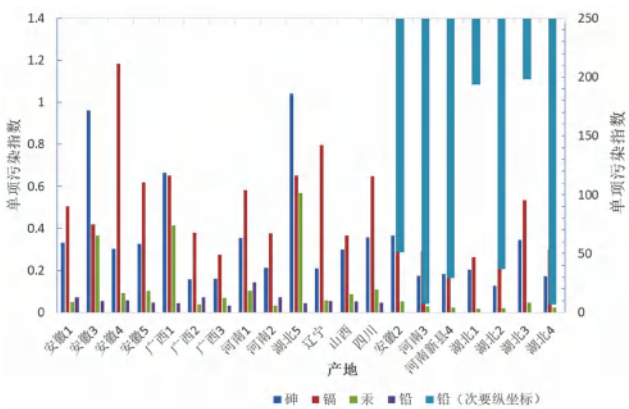


图 1 蜈蚣中重金属及有害元素的单项污染指数
Fig 1 Single pollution index of heavy metals and harmful elements in scolopendra

由图 2 的综合污染指数可知, 湖北产地 4 批、河南产地 2 批、安徽产地 1 批蜈蚣的风险评估等级为重度污染; 安徽产地 2 批、湖北产地 1 批蜈蚣的风险评估等级为警戒级; 广西产地 3 批、安徽产地 2 批、河南产地 2 批蜈蚣的风险评估等级均为安全级, 辽宁、山西、四川产地各 1 批蜈蚣的风险评估等级也均为安全级。

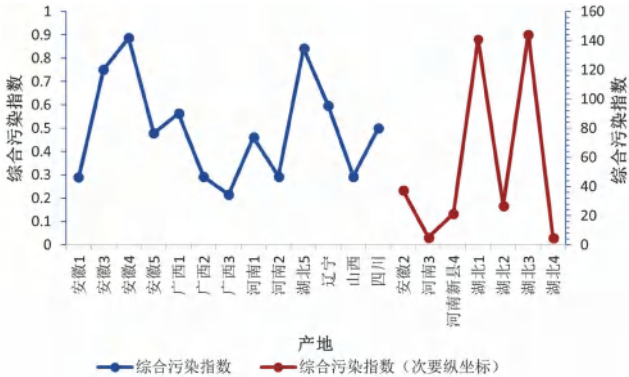


图 2 蜈蚣中重金属及有害元素综合污染指数
Fig 2 Composite pollution index of heavy metals and harmful elements in scolopendra

3 讨论

3.1 影响蜈蚣安全性的因素

由表 2 的检测数据可知, 蜈蚣药材中重金属元素 Pb、As、Cd 超出《中国药典》其他动物类品种项下规定的限度标准, 特别是 Pb 元素的污染情况比较普遍, 初步分析应该是蜈蚣的生长环境 (如潮湿土壤、工业污染区等) 及食物链 (捕食重金属污染的昆虫) 导致体内重金属元素富集。近年来, 随着蜈蚣药材年需求量的增加, 许多地区出现过捕捉, 野生资源日渐枯竭, 人工养殖蜈蚣逐渐成为行业发展趋势。养殖建议: 选址需远离污染源如工厂、公路等, 确保养殖的水质、土壤达标, 投喂无污染饲料。

3.2 重金属及有害元素污染的个体差异

由表 3 的检测数据可知,蜈蚣中重金属元素 Pb 污染个体差异显著,初步分析应是检测取样量不足导致的结果偏差。取样量的考察结果表明,0.5、1.0、1.2 kg 取样量的检测数据比较接近,从结果的准确性及取样的代表性考虑,建议该药材到货每件货取样检测,且加大取样量(每件货取约 1 kg),确保药材检测数据的代表性。

3.3 国家对该药材的重金属残留量未有明确标准
目前,现行版《中国药典》仅对水蛭等少数动物类药材设定重金属及有害元素的限度,各国和地区对天然药品/植物药重金属及有害元素的限度要求差异比较大,详见表 4。检测种类方面,我国增加了 Cu ($\leq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的测定。随着中医药的全球化发展,为了确保用药安全,提升国际竞争力,应整合各国和地区的实际情况,制定科学合理的重金属及有害元素的限量标准,尤其针对蜈蚣易富集的 Pb、Cd、As 等元素。

表 4 各标准对水蛭药材中重金属及有害元素的限度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Tab 4 Permissible limits of heavy metals and harmful elements in different standards ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

标准	Pb	Cd	As	Hg
《中国药典》2020 年版(水蛭)	≤ 10	≤ 1	≤ 5	≤ 1
香港中药材标准	≤ 5.0	≤ 0.3	≤ 2.0	≤ 0.2
USP(中药)	$\leq 3 \sim 10$	—	≤ 3	≤ 3
日本药局方	≤ 5	—	≤ 3	—

参考文献

[1] 中国药材公司. 中国中药资源志要[M]. 北京: 科学出版社, 1994.

[2] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 372-373.

[3] 张晴, 杨素清, 安月鹏. 蜈蚣败毒饮对血瘀证银屑病凝血因素影响的研究[J]. 吉林中医药, 2022, 42(6): 671-676.

[4] 张红, 张豪健, 朱纪烨, 等. 全蝎、蜈蚣调控非小细胞肺癌细胞增殖的机制研究[J]. 生物技术, 2021, 31(6): 561-566.

[5] 王旭昀, 胡志伟, 蒋子康, 等. 基于网络药理学的水蛭-蜈蚣药对治疗糖尿病性勃起功能障碍的作用机制研究[J]. 中国医药导报, 2021, 18(30): 158-162.

[6] 马青, 杨扬, 马韬, 等. 全蝎和蜈蚣的多肽粗提物对肝癌细胞中 HBV 的抑制作用[J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(5): 431-437.

[7] 李钟杰, 袁亚萍, 王勇. 少棘蜈蚣多肽药用价值的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(3): 857-863.

[8] 马凯, 师旭亮, 孙敬宣, 等. 国医大师李士懋运用蜈蚣配伍治高血压眩晕经验探寻[J]. 中华中医药杂志, 2020,

35(12): 6111-6114.

[9] 严宝飞, 朱星宇, 陈亚运, 等. 中药蜈蚣本草考证及临床应用[J]. 食品与药品, 2020, 22(4): 310-315.

[10] 宁迪敏, 田莎, 郭根梅, 等. 蜈蚣抗肝癌的临床应用及药理研究[J]. 中医肿瘤学杂志, 2020, 2(1): 39-41.

[11] 顾成娟, 吴学敏, 王涵. 蜈蚣粉、全蝎粉、僵蚕粉治疗顽固性头痛经验——全小林三味小方撷萃[J]. 吉林中医药, 2019, 39(11): 1460-1462.

[12] 胡雨, 高波, 张辉, 等. 蜈蚣的炮制历史沿革、化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国医药学报, 2024, 52(6): 98-104.

[13] 杨晓慧, 李雁. 中药蜈蚣抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中成药, 2017, 39(2): 373-377.

[14] 蔡元元, 徐滨. ICP-MS 法测定谷精草中重金属及有害元素残留[J]. 中国医药导刊, 2022, 24(5): 504-507.

[15] 邵大志, 张亦萌, 张强, 等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定参苓白术散中重金属及有害元素含量[J]. 质量安全与检验检测, 2022, 32(2): 21-23.

[16] 罗益远, 王娟, 陈宏降, 等. 不同产地、不同部位乌药中 31 种无机元素测定及初步风险评估[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(3): 424-432.

[17] 郑倩倩, 王小芳, 刘红娟, 等. 微波消解-ICP-MS 法测定不同产地蚕沙中 16 种元素的含量及多元统计分析[J]. 分析仪器, 2022(2): 73-80.

[18] 郝校鹏, 周利, 赵玉洋, 等. ICP-MS 法测定决明子中 18 种重金属及有害元素[J]. 食品工业, 2022, 43(1): 334-337.

[19] 何玲, 何卫保, 麦曦, 等. 半边莲中重金属及有害元素测定与污染评价[J]. 南昌大学学报(理科版), 2021, 45(6): 560-564.

[20] 阳文武, 王巍, 万莉, 等. 党参中 7 种重金属及有害元素的污染评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 5954-5959.

[21] 蒋永海, 王伟倩, 邓俊杰, 等. 不同产地覆盆子微量元素含量的相关性研究[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(6): 885-889.

[22] 易远红, 蒋东旭, 杜明胜. ICP-MS 法同时测定不同产地细辛药材中 6 种重金属及聚类分析[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(1): 32-37.

[23] 邱婧, 王湘波, 李瑞莲, 等. ICP-MS 法测定湖南特色中成药中的重金属及有害元素及相关风险评价[J]. 中南药学, 2019, 17(11): 1909-1913.

[24] 郑晓霞, 陈晓璐, 黄美仙, 等. ICP-MS 法结合化学计量学分析不同产地牡蛎无机元素分布及风险评估[J]. 中南药学, 2024, 22(10): 2729-2736.

[25] 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 43-47.

[26] 左甜甜, 金红宇, 王赵, 等. 地龙中重金属及有害元素的含量分析与安全性评价[J]. 中国药物警戒, 2021, 18(5): 450-453.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-10)

高效液相色谱法测定多种滴眼液中辅料依地酸二钠的含量

陈蓉, 郭彬, 马冬阳* (苏州市药品检验检测研究中心, 江苏 苏州 215104)

摘要: **目的** 建立滴眼液中辅料依地酸二钠 (EDTA-2Na) 的通用高效液相色谱检测方法。**方法** 采用阴离子键合硅胶色谱柱 Waters Spherisorb SAX (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以硝酸盐缓冲液-乙腈-三氟乙酸 (75:25:0.1) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35℃, 进样体积 10 μL。**结果** EDTA-2Na 质量浓度在 0.0101 ~ 1.0144 mg·mL⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 1.000$); 精密度、重复性、稳定性试验 (24 h) 的 RSD 均小于 2.0%; 低、中、高三个浓度 (0.01、0.1、0.5 mg·mL⁻¹) 水平的平均回收率分别为 95.2%、98.8%、101.0%, RSD 分别为 1.7%、0.44%、1.0% ($n = 6$); 耐用性考察符合要求。22 批滴眼液均检出 EDTA-2Na, 含量范围为 0.0108 ~ 0.5150 mg·mL⁻¹, 多数在 0.1 mg·mL⁻¹ 水平。**结论** 该方法无需前处理, 操作简单, 测试快捷, 可用于多种滴眼液中辅料 EDTA-2Na 的含量测定。各品种滴眼液辅料 EDTA-2Na 用量不一, 说明书标注情况不一, 质量标准和说明书合理性有待提高。

关键词: 依地酸二钠; 高效液相色谱法; 含量测定; 滴眼液

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2957-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.024

Content determination of excipient edetate disodium in different eye drops by HPLC

CHEN Rong, GUO Bin, MA Dong-yang* (Suzhou Institute for Drug Control, Suzhou Jiangsu 215104)

Abstract: Objective To determine the content of excipient edetate disodium (EDTA-2Na) in different eye drops by HPLC. **Methods** A Waters Spherisorb SAX column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was nitrate buffer solution-acetonitrile-trifluoroacetic acid (75:25:0.1). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 250 nm. The column temperature was 35℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** EDTA-2Na showed good linearity at 0.0101 ~ 1.0144 mg·mL⁻¹ ($r = 1.000$). The RSD s of precision, repeatability, and stability (24 hour) tests were all less than 2.0%. The average recoveries of the 3 levels (0.01, 0.1, and 0.5 mg·mL⁻¹) were 95.2%, 98.8%, and 101.0%, and the RSD s were 1.7%, 0.44%, and 1.0% ($n = 6$), respectively. The method passed the durability test. The content of EDTA-2Na in 22 batches of eye drops ranged 0.0108 ~ 0.5150 mg·mL⁻¹, most at the level of 0.1 mg·mL⁻¹. **Conclusion** This method is simple and fast, without pre-processing, suitable for determining the excipient EDTA-2Na in different eye drops. The content of EDTA-2Na and annotations in the instructions vary among eye drops, which needs improvement.

Key words: EDTA-2Na; HPLC; content determination; eye drop

依地酸二钠 (edetate disodium, EDTA-2Na) 是制药工业常用辅料, 主要用作抗氧化剂、增效剂、抑菌剂, 其本身具有较强的抗氧化作用, 并可以与其他抗氧化剂联合使用, 协同增效^[1]。EDTA-2Na 可与药物中存在的痕量金属离子发生螯合反应, 吸附金属杂质, 从而有利于提高药物在制备、存储和临床使用中的稳定性^[2-4]。EDTA-

2Na 与 Ca²⁺ 螯合作用强, 可有效发挥抗凝作用^[5]。EDTA-2Na 能显著提高超广谱 β-内酰胺酶多重耐药肺炎克雷伯菌对抗菌药物的敏感性, 且对左氧氟沙星敏感性的恢复效果最好^[6-7]。在注射剂中添加 EDTA-2Na, 可以有效降低中硼硅玻璃安瓿瓶包装材料可能产生的微生物污染隐患^[8]。

滴眼液生产过程中的原料、辅料及制药机械

作者简介: 陈蓉, 女, 副主任中药师, 主要从事药物分析研究, email: kedingyu@126.com *通信作者: 马冬阳, 女, 副主任药师, 主要从事药物分析研究, email: 170352458@qq.com

设备均可能引入金属离子, 因此常在药液中添加 EDTA-2Na 以螯合金属离子, 以保证药液在长期放置过程中的稳定性^[9]。但是制剂中的 EDTA-2Na 在一些情况下会引起不良反应, 如与人体内的 Ca^{2+} 发生反应, 可能导致骨钙缺乏和低钙血症^[10]。EDTA-2Na 还会导致根乳头干细胞的增殖受到抑制, 使细胞迁移的速度减弱^[11]。虽然滴眼液单次用量较少, 但存在长期使用的现象, EDTA-2Na 少量多次的累积量, 可能对人体健康产生不良影响^[12-13]。因此, 其在滴眼液生产使用中潜在的安全性风险急需引起关注。

目前, EDTA-2Na 作为药用辅料, 其质量标准收录于《中国药典》《美国药典》《欧洲药典》《日本药局方》《英国药典》等国内外药典中, 但未在上述法定标准的制剂各论项下进行控制。仅有少数药品生产企业, 在各自品种的国家标准中设置了检查项^[14-18]。常见的 EDTA-2Na 检查方法有滴定法、离子色谱法、高效液相色谱法等。滴定法常用于测定常量组分, 在微量组分测定时灵敏度和检测限较差, 重现性和准确性较低, 制备和校准滴定液费时费力, 滴定终点的判断人为误差较大^[19]。离子色谱法具有易操作、灵敏度高、特异性好、准确可靠等优点, 但定性能力较差, 检测时易受其他离子的干扰^[20]。高效液相色谱法是目前最常用的方法, 但直接进样分析 EDTA-2Na 出峰时间过快, 峰形较差,

一般采用预先加入金属离子与 EDTA 络合成单一稳定化合物, 并加入离子对试剂以延迟出峰时间^[21-22]。

针对上述问题, 本文建立了一种通用型高效液相色谱法测定滴眼液中辅料 EDTA-2Na, 该方法简便高效, 适用范围广, 并根据滴眼液筛查情况, 提出了说明书和质量标准修订建议, 以期更好地为药品风险监管提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪, 配备 Chromeleon 工作站 (美国赛默飞公司); Waters Spherisorb SAX (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱 (美国沃特世公司); XSE205DU 型电子天平 (瑞士梅特勒-托利多仪器公司, 精度为 0.01 mg); Millipore 超纯水仪 (美国密理博公司)。

1.2 试药

EDTA-2Na 对照品 (纯度: 100%, 南京化学试剂股份有限公司); 三水合硫酸铜 (分析纯, 批号: 20220805)、硝酸 (优级纯, 批号: 20160616) (国药集团化学试剂股份有限公司); 三氟乙酸 (色谱纯, TEDIA); 乙腈 (色谱纯, Honeywell); 实验用水为超纯水; 12 个厂家 22 批滴眼液样品信息, 见表 1; 查阅收集到的滴眼液说明书, 收集了常见的 18 种辅料, 见表 2。

表 1 滴眼液样品信息

Tab 1 Sample information of eye drops

序号	名称	厂家	批号	序号	名称	厂家	批号
1	盐酸氮革斯汀滴眼液	A	9E760A	12	萘敏维滴眼液	H	2108062
2	氟米龙滴眼液	A	1FM6544	13	他氟前列素滴眼液	A	TP0164
3	玻璃酸钠滴眼液	A	S1H0056	14	复方托吡卡胺滴眼液	I	210601
4	玻璃酸钠滴眼液	A	S3H0249	15	复方磺胺甲噁唑钠滴眼液	J	22G221
5	玻璃酸钠滴眼液	B	B220218	16	色甘酸钠滴眼液	K	22100402
6	玻璃酸钠滴眼液	C	10280426	17	复方门冬维甘滴眼液	J	22K141
7	玻璃酸钠滴眼液	D	20092001	18	萘非滴眼液	D	21120802
8	吡诺克辛滴眼液	A	KRU9187	19	盐酸萘甲唑啉滴眼液	J	22F131
9	硫酸阿托品滴眼液	E	AS005	20	硝酸毛果芸香碱滴眼液	D	22120101
10	氧氟沙星滴眼液	F	22030802	21	阿昔洛韦滴眼液	K	22100403
11	妥布霉素地塞米松滴眼液	G	211201	22	盐酸洛美沙星滴眼液	L	220505

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 空白溶液 (溶剂) 使用超纯水作为空白溶液。

2.1.2 辅料空白溶液 分别称取表 2 中各辅料约 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 用超纯水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为辅料空白溶液。

2.1.3 对照品溶液 精密称取 EDTA-2Na 对照品 25.36 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用超纯水溶解并稀

释至刻度, 摇匀, 制成 $2.536 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。精密量取对照品储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 制成含 EDTA-2Na $0.5072 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.1.4 供试品溶液 取各滴眼液样品适量, 直接作为供试品溶液。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Waters Spherisorb SAX 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为硝酸盐缓冲液 (取硝酸

表 2 辅料信息

Tab 2 Excipient information

序号	名称	来源	批号
1	苯扎氯铵	中国食品药品检定研究院	100549-202106
2	氯化钠	国药集团化学试剂有限公司	20151023
3	氯化钾	国药集团化学试剂有限公司	20150825
4	氢氧化钠	国药集团化学试剂有限公司	20220530
5	氨基乙酸	中国食品药品检定研究院	100105-202104
6	甘露醇	中国食品药品检定研究院	100533-202006
7	苯扎溴铵	北京曼哈格生物科技有限公司	D0015532
8	聚山梨酯 80	Sigma-Aldrich 公司	S7769787943
9	硼砂	国药集团化学试剂有限公司	20120323
10	甘油	国药集团化学试剂有限公司	20140515
11	甲基纤维素	国药集团化学试剂有限公司	20200819
12	羟丙纤维素	国药集团化学试剂有限公司	2020821
13	羟苯乙酯	中国食品药品检定研究院	100847-202105
14	硫柳汞	中国食品药品检定研究院	135050-201401
15	三氯叔丁醇	江西阿尔法高科药业有限公司	20200507
16	苯甲醇	中国食品药品检定研究院	190019-202205
17	苯氧乙醇	Honeywell 公司	62060
18	乙酸钠	国药集团化学试剂有限公司	20171013

铜 3.75 g, 加水 1000 mL 溶解后, 加硝酸 0.75 mL, 混匀) - 乙腈 - 三氟乙酸 (75 : 25 : 0.1), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 250 nm, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL, 运行时间 20 min。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 将空白溶液、对照品溶液、供试品溶液, 按照“2.2”项下色谱条件进样测定, 结果见图 1。溶剂和辅料对主成分测定无干扰。在该色谱条件下, EDTA-2Na 的保留时间约为 5.1 min, 理论塔板数约为 12 000, 方法的专属性符合要求。

2.3.2 线性试验 精密量取“2.1.3”项下对照品储备液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 mL, 分别置于 25 mL 量瓶中, 用超纯水稀释至刻度, 摇匀, 得系列对照品溶液, 进样测定, 以 EDTA-2Na 质量浓度为横坐标 (X , mg · mL⁻¹), 以峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程, $Y = 98.9713X + 0.1495$ ($r = 1.000$)。结果表明, EDTA-2Na 质量浓度在 0.0101 ~ 1.0144 mg · mL⁻¹ 与峰面积成良好的线性关系。

2.3.3 检测限与定量限 分别精密量取对照品溶液适量, 用超纯水稀释成一定浓度进样检测, 以信噪比 $S/N \geq 3$ 确定检测限, 以信噪比 $S/N \geq 10$ 确定定量限。得 EDTA-2Na 的检测限为 0.0005 mg · mL⁻¹, 定量限为 0.0010 mg · mL⁻¹。

2.3.4 精密度试验 取“2.3.2”项下 0.5、0.1、0.01 mg · mL⁻¹ 三个质量浓度的对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果峰面积的 RSD 分别为 0.39%、0.18%、1.2% ($n = 6$), 表明仪器的精密度良好。同时, 将上述三个质量浓度的对照品溶液, 于 2 日分别进样 6 次, 记录峰面积, 结果峰

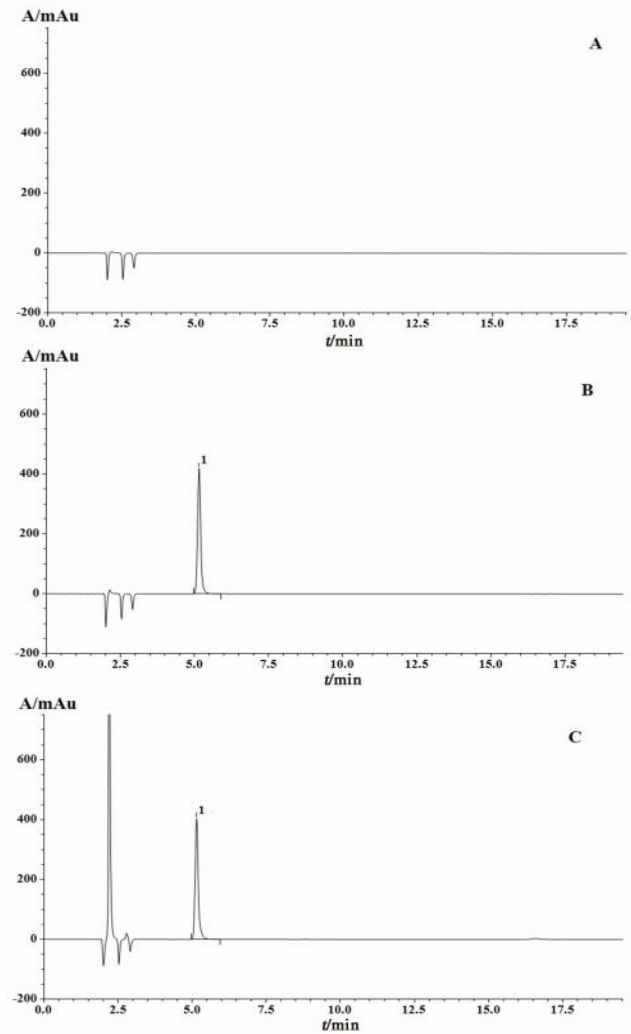


图 1 空白溶液 (A)、对照品溶液 (B) 及供试品溶液 (C, 批号: 9E760A) HPLC 典型色谱图

Fig 1 Typical HPLC chromatogram for blank solution (A), reference solution (B) and sample solution (C, Lot No. 9E760A)

1. 依地酸二钠 (edetate disodium)

面积的 RSD 分别为 0.32%、0.46%、0.85%, 表明日间精密度满足条件。

2.3.5 重复性试验 取样品 1 (EDTA-2Na 约为 0.5 mg · mL⁻¹)、样品 3 (EDTA-2Na 约为 0.1 mg · mL⁻¹)、样品 8 (EDTA-2Na 约为 0.01 mg · mL⁻¹) 三个质量浓度的样品, 进样测定, 记录峰面积, 结果峰面积的 RSD 分别为 0.12%、0.29%、1.5% ($n = 6$), 表明方法的重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取“2.3.2”项下 0.5、0.1、0.01 mg · mL⁻¹ 三个质量浓度的对照品溶液, 以及样品 1 (EDTA-2Na 约为 0.5 mg · mL⁻¹)、样品 3 (EDTA-2Na 约为 0.1 mg · mL⁻¹)、样品 8 (EDTA-2Na 约为 0.01 mg · mL⁻¹) 三个质量浓度的样品, 分别在室温下放置 0、2、4、8、12、16、20、24 h 时, 进样测定, 结果峰面积的 RSD 分别为 0.31%、0.34%、1.8%, 表明对照品溶液和供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.3.7 回收试验 取样品 1 (EDTA-2Na 约为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、样品 3 (EDTA-2Na 约为 0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、样品 8 (EDTA-2Na 约为 0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 三个质量浓度的样品各 6 份, 每份 5 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 分别精密加入对照品溶液 1、0.2、0.02 mL, 用超纯水定容至刻度, 进样测定, 记录峰面积, 计算回收率。结果显示, 0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平的 EDTA-2Na 样品平均回收率为 101.0%, *RSD* 为 1.0%; 0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平的 EDTA-2Na 平均回收率为 98.8%, *RSD* 为 0.44%; 0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平的 EDTA-2Na 平

均回收率为 95.2%, *RSD* 为 1.7%。结果均符合《中国药典》2020 年版要求, 表明该方法准确性良好。

2.3.8 耐用性试验 以样品 1 (EDTA-2Na 约为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、样品 3 (EDTA-2Na 约为 0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、样品 8 (EDTA-2Na 约为 0.01 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 三个质量浓度的样品为对象, 考察了不同流速 (0.8、1.0、1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)、不同色谱柱温度 (30、35、40 $^{\circ}\text{C}$)、不同检测波长 (248、250、252 nm) 对 EDTA-2Na 含量测定的影响, 结果见表 3, 流速、柱温、波长的小范围波动对含量的影响无明显变化, 表明耐用性良好。

表 3 耐用性试验结果
Tab 3 Durability test

色谱条件		样品 1		样品 3		样品 8	
		EDTA-2Na/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>RSD</i> /%	EDTA-2Na/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>RSD</i> /%	EDTA-2Na/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>RSD</i> /%
流速 / ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$)	0.8	0.5045	0.31	0.1003	0.69	0.0106	1.4
	1.0	0.5020		0.1016		0.0108	
	1.2	0.5017		0.1005		0.0105	
柱温 / $^{\circ}\text{C}$	30	0.5060	0.40	0.1011	0.60	0.0105	2.0
	35	0.5020		0.1016		0.0108	
	40	0.5046		0.1004		0.0104	
波长 /nm	248	0.5034	0.21	0.1002	0.75	0.0106	1.9
	250	0.5020		0.1016		0.0108	
	252	0.5041		0.1004		0.0104	

2.4 样品含量测定

分别取 22 批滴眼液样品, 按“2.2”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算各样品中 EDTA-2Na 的含量。22 批样品均检出 EDTA-2Na, 含量在 0.0108 ~ 0.5150 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 多数在 0.1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水平附近。FDA 的《药物非活性成分数据库》中要求, EDTA-2Na 在眼用溶剂中最大用量为 0.13% (1.3 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[23], 本次考察的滴眼液品种 EDTA-2Na 的检出量均符合法规要求。结果见表 4 和图 2。

表 4 样品中 EDTA-2Na 含量测定结果
Tab 4 Content of EDTA-2Na in samples

序号	EDTA-2Na/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	序号	EDTA-2Na/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
1	0.5004	12	0.3044
2	0.1103	13	0.5150
3	0.1016	14	0.1023
4	0.1015	15	0.0465
5	0.0983	16	0.1228
6	0.1029	17	0.0504
7	0.1069	18	0.1035
8	0.0108	19	0.5029
9	0.2573	20	0.2028
10	0.0963	21	0.0284
11	0.0993	22	0.1008

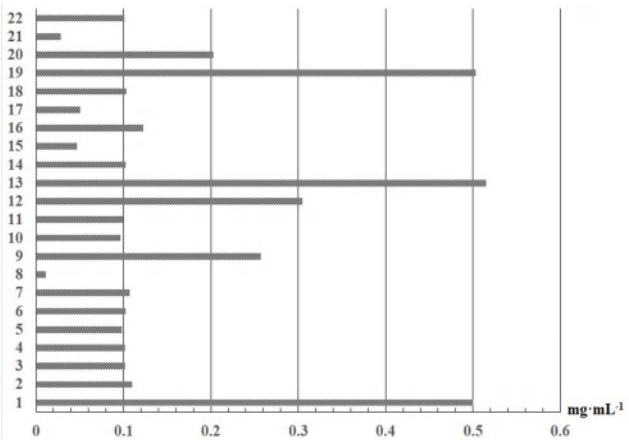


图 2 样品中 EDTA-2Na 含量分布图
Fig 2 Distribution map of EDTA-2Na content in samples

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

EDTA-2Na 常用 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 等金属离子络合, 络合时间、络合剂种类均可能影响络合效率, 且操作较为烦琐^[24]。本文采用在流动相中加入硝酸铜 [$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$], 高效阴离子交换色谱柱后衍生的方法, 保证了各检测样品络合时间的一致。在考察 Cu^{2+} 用量时发现, 随着 Cu^{2+} 浓度增加, 依地酸铜络合物峰面积增大, 当 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 在流动相中的浓度为 0.5% 时, 峰面积稳定、峰形良好。随着其用量增加, 峰面积并无显著变化, 该用量也与常规

Cu^{2+} 络合剂用量相当^[25]；另外，通过二极管阵列检测器扫描，发现依地酸铜络合物最大吸收波长在 254.4 nm 处^[26]，此时基线平稳，因此选择 250 nm 作为检测波长。

3.2 标准及说明书问题

查阅 22 种滴眼液的说明书发现，盐酸氮卓斯汀滴眼液、他氟前列素滴眼液、复方托吡卡胺滴眼液、硝酸毛果芸香碱滴眼液、阿昔洛韦滴眼液等未标明辅料使用了 EDTA-2Na；而盐酸洛美沙星滴眼液、复方磺胺甲噁唑钠滴眼液、复方门冬维甘滴眼液、色甘酸钠滴眼液、萘非滴眼液、盐酸萘甲唑啉滴眼液、部分玻璃酸钠滴眼液等虽然在说明书中标注了 EDTA-2Na，但其质量标准中未对其进行检查。结合 22 种滴眼液中 EDTA-2Na 的含量，发现药品中的辅料安全尚未引起足够的重视，质量标准项目和说明书标注的缺失，可能会造成安全隐患。

3.3 小结

本研究建立的通用型高效液相色谱法，无需前处理，专属性、线性、重复性、精密度、稳定性、准确度均较好，可用于多种滴眼液中 EDTA-2Na 的含量测定。根据检测结果和药品标准、说明书现状，建议各生产企业在研发过程中，加强标准研究，完善说明书，针对各品种中 EDTA-2Na 的处方用量进行质量控制，并保证其处在一定的上下限范围内，以提高药品的安全性和有效性，为药品风险监管提供参考。

参考文献

- [1] 海乐, 龙海燕. 顶空气相色谱法测定依地酸二钠中甲醛残留量[J]. 中国药师, 2018, 21(3): 530-532.
- [2] 刘晓强, 刘毅, 蒋晓勤. HILIC 模式下 UPLC-MS/MS 测定多个注射剂中依地酸二钠含量[J]. 食品与药品, 2023, 25(6): 532-537.
- [3] 屈蓉, 钱桂英, 陈佳. 反相离子对高效液相色谱法测定盐酸林可霉素注射液中乙二胺四乙酸二钠的含量[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(4): 372-374.
- [4] 姚枝玉, 黄朝瑜, 蔡美明, 等. 高效液相色谱法测定咪达唑仑注射液中依地酸二钠的含量[J]. 中南药学, 2020, 18(1): 102-104.
- [5] 雷小平, 杨明亮, 姚吉颢, 等. 注射用泮托拉唑钠中依地酸二钠含量分析方法的建立[J]. 上海医药, 2022, 43(5): 77-80.
- [6] 温庆辉, 徐军发, 李燕嫦, 等. 不同浓度乙二胺四乙酸在产 ESBLs 多重耐药肺炎克雷伯菌对哌拉西林他唑巴坦、阿米卡星与左旋氧氟沙星 3 种药物体外敏感性的恢复作用[J]. 实用药物与临床, 2021, 24(7): 606-609.
- [7] 李洋, 吴戈, 何宁, 等. 阿米卡星治疗老年重症肺炎的可行性及改善患者肺功能的研究[J]. 西北药学杂志, 2023, 38(3): 141-145.
- [8] 闵红, 杨晓莉, 贺聪莹, 等. 丙泊酚乳状注射液抑菌效力评价及抑菌效力检查法解析[J]. 中国药业, 2019, 28(17): 28-31.
- [9] 李晨晨. 0.01% 硫酸阿托品滴眼液的制备及质量研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2020.
- [10] 陈希, 鄢雷娜, 段和祥, 等. HPLC 法测定乳酸左氧氟沙星氯化钠注射液中的依地酸二钠[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(3): 252-256.
- [11] Suphalak P, Benya S, Dhitinant R, et al. Effects of ethylenediaminetetraacetic acid on stem cells from the apical papilla: in vitro study[J]. J Dent Sci, 2023, 18(1): 50-56.
- [12] 刘滢, 高丽. 滴眼液长期使用危害多多[J]. 家庭医学(新健康), 2008(5): 41.
- [13] 姚枝玉, 黄朝瑜, 蔡美明, 等. 高效液相色谱法测定咪达唑仑注射液中依地酸二钠的含量[J]. 中南药学, 2020, 18(1): 102-104.
- [14] 国家食品药品监督管理局标准. JX20080041 盐酸氮卓斯汀滴眼液[S]. 北京, 2008.
- [15] 国家食品药品监督管理局标准. JX20170141 氟米龙滴眼液[S]. 北京, 2017.
- [16] 国家食品药品监督管理局标准. JX20140199 吡诺克辛滴眼液[S]. 北京, 2014.
- [17] 国家食品药品监督管理局标准. YBH01982017 玻璃酸钠滴眼液[S]. 北京, 2017.
- [18] 国家食品药品监督管理局标准. YBH03212018 玻璃酸钠滴眼液[S]. 北京, 2018.
- [19] 焦德权. EDTA 配位滴定法中两种指示剂的改进[J]. 天津化工, 2007, 21(4): 51-52.
- [20] 姚晶晶, 匡钊, 丁苏苏. 离子色谱法测定妥布霉素地塞米松滴眼液中依地酸二钠含量[J]. 中国药业, 2021, 30(24): 78-80.
- [21] 赵磊, 刘北力, 蒋黄卉, 等. 高效液相色谱法测定碳酸氢钠注射液中乙二胺四乙酸二钠[J]. 化学分析计量, 2020, 29(1): 23-25.
- [22] 柯跃鸿, 骆仁红, 孙嘉嘉, 等. HPLC 法测定氯雷他定糖浆中依地酸二钠的含量[J]. 海峡药学, 2022, 34(6): 54-56.
- [23] FDA. Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products [DB/OL]. (2024-10-19) [2024-11-15]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.cfm?event=BasicSearch.page>.
- [24] 郭丹峰, 雷建刚, 章泽恒. 高效液相色谱法测定克林霉素磷酸酯注射液中依地酸二钠含量[J]. 中南药学, 2021, 19(12): 2645-2648.
- [25] 顾晓风, 唐倩倩. HPLC 法测定注射用艾司奥美拉唑钠中依地酸二钠的含量[J]. 中国药品标准, 2021, 22(3): 238-241.
- [26] 兰文. 酚磺乙胺注射液质量分析及整体质量评价[J]. 长沙: 中南大学, 2014.

(收稿日期: 2025-01-13; 修回日期: 2025-03-22)

高效液相色谱双波长法测定溴夫定片中的有关物质

许祚芝, 黄翠苹, 张继新, 张娜*, 张玉杰 (华润双鹤利民药业<济南>有限公司, 济南 250200)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法测定溴夫定片中的有关物质。**方法** 采用 Kromasil (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 (用磷酸调节 pH 值至 4.0) - 甲醇 (70 : 30) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35℃, 检测波长 220、250 nm。**结果** 溴夫定与 3 种已知杂质色谱峰之间的分离度均 > 1.5, 定量限均 < 0.7 μg·mL⁻¹, 检测限均 < 0.35 μg·mL⁻¹。溴夫定及各杂质质量浓度在定量限度到限度浓度 150% 范围内线性关系良好 ($R^2 > 0.99$)。杂质 BVU、β-(Z)-BVDU 和二聚体的平均回收率均在 95.0% ~ 105.0%, RSD 均 < 3.0%。改变波长、缓冲液 pH、流速、柱温及更换不同色谱柱, 对有关物质的检测结果无影响。3 批溴夫定片中最大单杂含量均为 0.060%, 其他杂质总量 < 0.2%。**结论** 本方法专属性强、灵敏度高、精密度好、准确度高, 可用于溴夫定片中有关物质的测定。

关键词: 溴夫定片; 有关物质; 高效液相色谱法; 双波长

中图分类号: R927

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2962-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.025

Determination of related substances in brivudine tablets by HPLC dual wavelength method

XU Zuo-zhi, HUANG Cui-ping, ZHANG Ji-xin, ZHANG Na*, ZHANG Yu-jie (China Resources Double-Crane Limin Pharmaceutical<Jinan> Co., Ltd., Jinan 250200)

Abstract: **Objective** To establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) method to determine related substances in brivudine tablets. **Methods** A Kromasil (150 mm×4.6 mm, 5 μm) chromatographic column was used, with 0.01 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate solution (adjusting pH to 4.0 with phosphoric acid)-methanol (70 : 30) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was 35℃, and detection wavelengths were 220 and 250 nm. **Results** The resolution between brivudine and 3 known impurities chromatographic peaks were all greater than 1.5. The quantification limits were all < 0.7 μg·mL⁻¹, and the detection limits all < 0.35 μg·mL⁻¹. The linearity between the mass concentration of brivudine and various impurities was good within the range of quantitative limit to 150% of the limit concentration ($R^2 > 0.99$). The average recovery of impurities BVU, β-(Z)-BVDU, and dimer all ranged 95.0% ~ 105.0%, with RSD < 3.0%. Changing the wavelength, buffer pH, flow rate, column temperature, and replacing different chromatographic columns did not affect the detection of related substances. The maximum single impurity content in all three batches of brivudine tablets was 0.060%, and the total amount of other impurities < 0.2%. **Conclusion** This method is highly specific, sensitive, precise, and accurate, and can be used for the determination of related substances in brivudine tablets.

Key words: brivudine tablet; related substance; HPLC; dual wavelength

带状疱疹是老年人和免疫功能低下人群中常见的疾病, 终身风险为 20% ~ 30%, 随着年龄增长, 风险增加^[1-3]。临床获批用于带状疱疹的药物有阿昔洛韦、伐昔洛韦、溴夫定等。溴夫定

是一种抗病毒药, 是嘧啶核苷衍生物, 能嵌入病毒 DNA, 阻碍 DNA 多聚酶活性, 抑制病毒复制, 用于免疫功能正常的成年急性带状疱疹患者的早期治疗^[4-5]。溴夫定片最早由德国柏林化学股份有

作者简介: 许祚芝, 女, 工程师, 主要从事化学药品质量管理, email: xuzuozi@dcpc.com *通信作者: 张娜, 女, 高级工程师, 主要从事化学药品研发注册工作, email: 176101042@qq.com

限公司 (Berlin-Chemie AG) 研制, 20 世纪 80 年代首次在欧洲几个国家被批准上市^[6], 用于免疫功能正常的成年急性带状疱疹患者的早期治疗。1999 年在中国被批准上市^[7], 用于治疗带状疱疹。与其他药物相比, 溴夫定具有更强的抗病毒作用, 疗效好, 不良反应小, 安全性较高, 每日 125 mg 的给药剂量, 可有效预防带状疱疹患者产生新水疱、缩短带状疱疹后神经痛的持续时间^[8-10]。

溴夫定片的质量标准尚未收载于各国药典, 经杂质谱分析, 该产品主要降解杂质为 (*E*)-5-(2-溴乙烯基) 嘧啶-2, 4-(1H, 3H)-二酮 (BVU 杂质)、(*Z*)-5-(2-溴乙烯基)-2'-脱氧尿苷 [β -(*Z*)-BVDU 杂质] 和二聚体杂质 (见图 1)。本研究建立了一种双波长高效液相色谱法 (HPLC), 同时检测溴夫定片中的 BVU 杂质、 β -(*Z*)-BVDU 杂质和二聚体杂质, 按照人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) Q2 (R2)^[11]、《中国药典》2020 年版四部通则 9101^[12], 进行方法验证, 可有效检出溴夫定片中的潜在杂质, 保证产品质量。

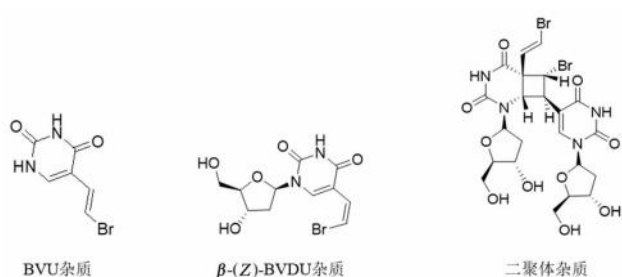


图 1 溴夫定片有关物质化学结构

Fig 1 Structure of related substances of brivudine tablets

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695-2489 高效液相色谱仪 (Waters Corporation); XSR205 电子天平 [精度: 十万分之一, 梅特勒-托利多 (上海) 有限公司]; 913 pH 计 (瑞士万通)。

1.2 试药

溴夫定片 [华润双鹤利民药业 (济南) 有限公司, 批号: 02011103, 规格: 125 mg]; 溴夫定对照品 (含量: 99.83%, 批号: 4006180102, 商丘双鹤药业有限公司); BVU 杂质 (含量: 99.17%, 批号: ENB200605-006)、 β -(*Z*)-BVDU 杂质 (含量: 97.33%, 批号: ENB200601-006-B)、二聚体杂质 (含量: 96.43%, 批号: ENB200645-001) [保诺科技 (北京) 有限公司]; 甲醇 (色谱纯, Honeywell); 纯化水 (自制); 乙醇 (分析纯, 科密欧化学试剂有限公司); 磷酸二氢钾、磷酸 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Kromasil C18 (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱, 以磷酸二氢钾缓冲液 (称取磷酸二氢钾 1.36 g, 溶解于 1000 mL 水中, 用磷酸调 pH 至 4.0, 用 0.45 μ m 滤膜过滤) - 甲醇 (70 : 30) 为流动相, 流速 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温 35 $^{\circ}$ C; 检测波长 220 nm [β -(*Z*)-BVDU 杂质和二聚体杂质]、250 nm (其他杂质), 进样体积 20 μ L。

2.2 溶液配制

2.2.1 空白辅料溶液 称取空白辅料 (相当于溴夫定 0.125 g), 置于 50 mL 棕色量瓶中, 加乙醇 5 mL, 超声处理 10 min, 再加流动相 25 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品, 研细, 取细粉 (相当于溴夫定 0.125 g), 精密称定, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 加乙醇 5 mL, 超声处理 10 min, 再加流动相 25 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.3 混合对照品溶液 取 BVU 杂质对照品与溴夫定对照品各约 12 mg, 精密称定, 置同一 100 mL 棕色量瓶中, 加乙醇适量使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 mL, 置于 50 mL 棕色量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 对照品储备液 取溴夫定、BVU 杂质、 β -(*Z*)-BVDU 杂质、二聚体杂质各约 6 mg, 分别置于 50 mL 量瓶中, 加乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为各组分对照品储备液。

2.2.5 混合溶液 称取本品细粉 (相当于溴夫定 0.125 g), 置 50 mL 棕色量瓶中, 加乙醇 5 mL, 精密加入 BVU 杂质对照品储备液、 β -(*Z*)-BVDU 杂质对照品储备液和二聚体杂质对照品储备液各 1 mL, 再加流动相 25 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.3 专属性试验

精密量取空白辅料溶液、供试品溶液和混合对照品溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图 (见图 2)。空白辅料溶液不干扰各杂质峰, β -(*Z*)-BVDU、二聚体在 220 nm 波长处可检出, BVU 杂质在 250 nm 波长处可检出, 各峰间分离度均 > 1.5 。

2.4 强制降解试验

2.4.1 未破坏溶液 称取本品细粉 (相当于溴夫定 62.5 mg), 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加乙醇 2.5 mL, 加流动相 13 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.4.2 酸破坏溶液 称取本品细粉 (相当于溴夫定

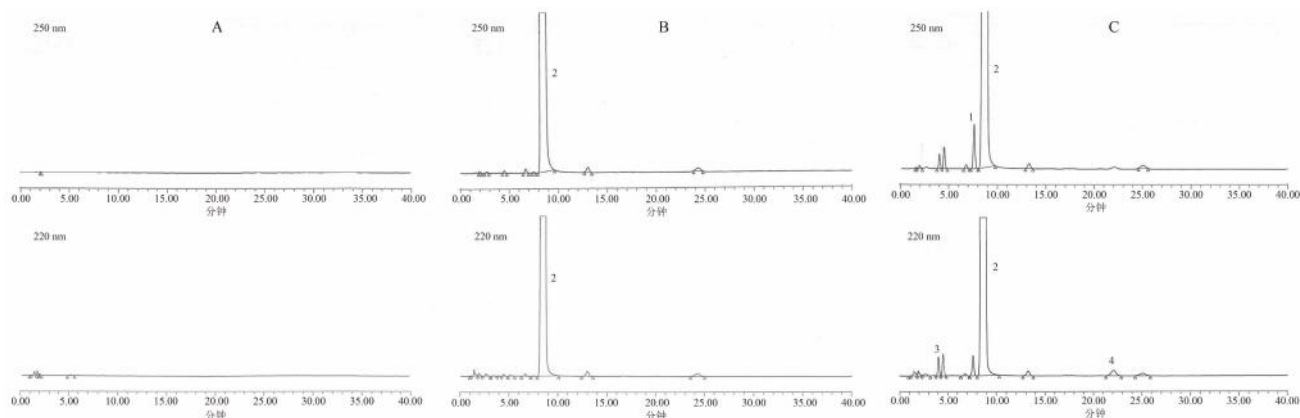


图2 空白辅料(A)、供试品(B)、混合对照品(C)溶液色谱图

Fig 2 Chromatograms of blank excipient (A), test sample (B), mixed reference sample (C) solution

1. BVU 杂质 (BVU impurity); 2. 溴夫定 (brivudine); 3. β -(Z)-BVDU; 4. 二聚体 (dimer)

62.5 mg), 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 精密加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 1 mL, 密封避光室温放置 4 h, 精密加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 1 mL 中和, 加乙醇 2.5 mL, 再加流动相 13 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.4.3 碱破坏溶液 称取本品细粉 (相当于溴夫定 62.5 mg), 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液 1 mL, 密封避光室温放置 4 h, 精密加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液 1 mL 中和, 加乙醇 2.5 mL, 再加流动相 13 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.4.4 氧化破坏溶液 称取本品细粉 (相当于溴夫定 62.5 mg), 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入 30% 过氧化氢 1 mL, 密封避光室温放置 4 h, 加乙醇 2.5 mL, 再加流动相 13 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.4.5 高温破坏溶液 取本品细粉于 80°C 烘箱中避光加热 4 h, 称取相当于溴夫定 62.5 mg, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 再加乙醇 2.5 mL, 加流动相 5 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

2.4.6 光破坏溶液 取本品细粉于照度 5000 lx、近紫外灯能量不低于 $200 \text{ W} \cdot \text{h} \cdot \text{m}^{-2}$ 条件下放置 7 h, 称取相当于溴夫定 62.5 mg, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加乙醇 2.5 mL, 再加流动相 5 mL, 超声处理 10 min, 放冷, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 滤过。

精密量取上述溶液各 20 μL , 按“2.1”项下色谱条件进样分析, 结果见表 1。在酸、碱、氧化和高温条件下, 溴夫定片较稳定, 未产生新的杂质, 原有杂质也没有显著增长。在光照条件下, 溴夫定片中的 β -(Z)-BVDU 和二聚体杂质含量显著升高, 其他已知杂质和未知杂质均未发生明显变化; 表明溴夫定对光敏感, 在生产、贮藏、运输

以及检测过程中, 应注意避光。在本色谱条件下, 各降解产物之间、降解产物与主成分之间的分离度均大于 1.5, 计算降解前后的物料平衡, 均在 95.0% ~ 105.0%, 说明强制降解后物料质量守恒, 本方法能够较好地检测出可能存在的降解产物。

表 1 溴夫定片强制降解试验结果

Tab 1 Forced degradation tests of brivudine tablets

化合物	有关物质含量 /%					
	未破坏	酸破坏	碱破坏	氧化破坏	光破坏	高温破坏
BVU	0.002	0.003	0.003	0.01	0.008	0.02
β -(Z)-BVDU	0.003	未检出	0.27	0.10	未检出	0.01
二聚体	未检出	未检出	5.87	未检出	未检出	未检出
未知杂质	0.03	0.09	0.03	0.41	0.07	0.03
总杂质	0.07	0.16	6.27	1.10	0.26	0.08
物料平衡 /%	100.10	99.34	104.60	96.42	99.87	100.30

2.5 检测限和定量限

精密量取各对照品储备液, 用流动相逐级稀释, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以各化合物信噪比为 10 的进样浓度作为定量限。在 250 nm 下溴夫定、BVU 杂质的定量限分别为 0.0245、0.0234 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 220 nm 下溴夫定、 β -(Z)-BVDU 杂质和二聚体杂质的定量限分别为 0.1464、0.0708、0.6378 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

精密量取定量限溶液 5 mL, 用流动相稀释至 10 mL, 摇匀, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 各化合物的信噪比约为 3, 在 250 nm 下溴夫定、BVU 杂质的检测限分别为 0.0123、0.0117 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在 220 nm 下溴夫定、 β -(Z)-BVDU 杂质和二聚体杂质的检测限分别为 0.0073、0.035、0.3189 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果表明, 本方法检测溴夫定及各杂质灵敏度较高, 可以满足检测需求。

2.6 线性关系与范围

精密量取各对照品储备液 10 mL, 置同一 100 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为线

性储备溶液；精密量取线性储备溶液 5、7.5、10、12、15 mL，分别置于不同的 50 mL 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，制得相对浓度为 50%、75%、100%、120%、150% 的线性溶液。精密量取上述线性溶液和定量限溶液各 20 μ L，按“2.1”项下色谱条件进样测定，采用最小二乘法，以进

样浓度为横坐标、峰面积为纵坐标，进行线性回归，结果见表 2。各杂质在定量限至 1.5 倍限度浓度范围内线性关系良好， R^2 均大于 0.99。以斜率比值计算相对校正因子，BVU 杂质约为 0.61，采用对照品外标法计算；其他各杂质相对校正因子均在 0.8 ~ 1.2 内，采用对照品外标法计算。

表 2 线性试验结果

Tab 2 Linearity

化合物	线性范围 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回归方程	R^2	相对校正因子
溴夫定 (250 nm)	0.0245 ~ 3.729	$Y = 5.191 \times 10^4 X + 4.859 \times 10^2$	0.9999	/
BVU (250 nm)	0.0234 ~ 3.556	$Y = 8.504 \times 10^4 X - 5.785 \times 10^2$	0.9999	0.61
溴夫定 (220 nm)	0.1464 ~ 3.729	$Y = 2.292 \times 10^4 X + 1.125 \times 10^3$	0.9993	/
β -(Z)-BVDU (220 nm)	0.0708 ~ 3.510	$Y = 2.632 \times 10^4 X - 83.63$	0.9998	0.87
二聚体 (220 nm)	0.6378 ~ 3.598	$Y = 2.597 \times 10^4 X - 2.481 \times 10^3$	0.9965	0.88

2.7 准确度

精密称取本品细粉 10 份，每份相当于溴夫定 62.5 mg，分别置 25 mL 量瓶中，其中 1 份作为本底溶液；另外 9 份分为 3 组，每组分别精密加入线性储备溶液 2.5、5、7.5 mL；每个量瓶中加入乙醇 5 mL，超声处理 10 min，放冷，用流动相稀释至刻度，摇匀，滤过，作为相对浓度 50%、100%、150% 的回收率溶液。精密量取上述溶液各 20 μ L，按“2.1”项下色谱条件进行测定，采用外标法计算各杂质的含量，并计算回收率。试验结果见表 3。结果表明本方法准确度良好。

表 3 溴夫定片中杂质的回收率

Tab 3 Recovery of impurities in brivudine tablets

杂质	平均回收率 / %			RSD / %
	50% 浓度	100% 浓度	150% 浓度	
BVU	98.9	99.6	100.4	0.76
β -(Z)-BVDU	98.3	99.4	100.7	1.1
二聚体	96.8	101.3	103.7	2.9

2.8 精密度

2.8.1 重复性 取同批次溴夫定片细粉，按“2.2.5”项下方法配制混合溶液 6 份，按“2.1”项下色谱条件测定，采用外标法计算杂质含量。结果 BVU、 β -(Z)-BVDU、二聚体的平均含量分别为 0.11%、0.12%、0.099%，RSD 分别为 1.2%、1.5%、1.7%，其他最大单杂平均值 0.05%，RSD 为 1.9%，其他杂质总和平均值为 0.19%，RSD 为 1.1%。结果表明，本方法重复性良好。

2.8.2 中间精密度 由另一试验人员按照“2.8.1”项下方法，在不同日期不同仪器上进行试验，记录色谱图。结果 BVU、 β -(Z)-BVDU、二聚体的平均含量分别为 0.10%、0.13%、0.10%，RSD 分别为 0.43%、0.19%、0.81%，其他最大单杂含量的平均值为 0.06%，RSD 为 1.7%，其他杂质含量总和平均值为 0.20%，RSD 为 1.5%。结果表明，本方法中间

精密度良好。

2.9 溶液稳定性试验

按“2.2”项下方法制备供试品溶液、混合对照品溶液，在室温避光放置，分别在 0、4、8、12、16、24 h 各取 20 μ L 注入液相色谱仪，考察各化合物的峰面积变化。结果相对于 0 时峰面积比值，混合对照品溶液中溴夫定各时间点峰面积为 99.73% ~ 102.3%，BVU 杂质峰面积比值为 100.0% ~ 102.1%， β -(Z)-BVDU 杂质峰面积比值为 100.0% ~ 102.0%，二聚体杂质峰面积比值为 97.20% ~ 101.9%，表明混合对照品溶液在 24 h 内稳定性良好；供试品溶液各特定杂质、杂质总量基本稳定，未检出大于 0.05% 的杂质，表明供试品溶液稳定性良好。

2.10 耐用性试验

取“2.7”项下相对浓度 100% 的回收率溶液作为耐用性试验供试液，考察不同波长 [(250 $\pm$ 2) nm、(220 $\pm$ 2) nm]、不同缓冲液 pH 值 (3.8、4.0、4.2)、不同流速 (0.9、1.0、1.1 mL $\cdot$ min⁻¹)、不同柱温 (30、35、40 $^{\circ}$ C)、不同批次色谱柱对测定结果的影响。结果表明，上述色谱条件下系统适用性良好，各杂质检测值一致，本方法耐用性良好。

2.11 样品测定

取 3 批供试品溶液、对照品溶液各 20 μ L，按“2.1”项下色谱条件进样测定，以对照品外标法计算杂质 BVU 的含量，以主成分外标法计算 β -(Z)-BVDU 和二聚体的含量，结果见表 4。

表 4 溴夫定片样品中杂质含量测定结果

Tab 4 Content of impurity in brivudine tablets

批号	有关物质含量 / %				
	BVU (250 nm)	β -(Z)-BVDU (220 nm)	二聚体 (220 nm)	未知单杂 (250 nm)	未知总杂 (250 nm)
02101102	0.003	0.005	未检出	0.05	0.2
02101103	0.003	0.007	未检出	0.06	0.2
02101104	0.008	0.01	未检出	0.06	0.2

3 讨论

3.1 色谱方法的建立

采用灵敏度高、专属性强的 HPLC 法对溴夫定片的有关物质进行检查；以常用的 C18 柱为固定相，分别以甲醇-水系统和乙腈-水系统作为流动相，考察杂质与主成分间的分离度，结果表明，甲醇-水系统下主成分与杂质间分离度大于 1.5，达到基线分离。以不同组分间分离度为指标，对流动相比例、pH 值进行筛选，确定色谱条件。

3.2 检测波长的确定

紫外扫描发现，杂质 β -(Z)-BVDU 和二聚体的紫外吸收特征不明显，仅在低波长有吸收，因此以 220 nm 作为检测杂质 β -(Z)-BVDU 和二聚体的波长；溴夫定和 BVU 杂质在 250 nm 有明显吸收，可以将 250 nm 作为 BVU 杂质和其他单杂的检测波长。采用双波长检测可实时扣除偏差，减少干扰，提高检测效率，适用于药品多成分或杂质分析^[13-14]。

3.3 避光操作

强制降解试验显示，在强光照射下，溴夫定易降解产生二聚体杂质。因此，在进行本产品有关物质检查时，需注意避光操作，避免因检测过程中发生降解，影响对产品质量的判断。溶液稳定性试验放置时采用棕色瓶避光，试验结果表明在避光情况下，供试品溶液和对照品溶液在 24 h 内稳定，满足检测试验的需求。

3.4 限度的描述

采用 HPLC 双波长法测定溴夫定片中的有关物质，在不同波长处检测不同的特定杂质。溴夫定在 250 nm 附近吸收明显，因此未知杂质在 250 nm 波长下检测，相应的未知总杂也以 250 nm 波长检测结果计算。在限度描述部分，需表述清楚，以免处理图谱时波长错误导致杂质计算错误。

溴夫定片每日最大用量为 125 mg，按 ICH Q3B (R2) 要求^[15]，报告限为 0.1%，界定限为 0.2%。建议限度拟订描述如下：供试品溶液色谱图中 (220 nm)，如有与二聚体和 β -(Z)-BVDU 保留时间一致的色谱峰，按外标法以溴夫定峰面积计算，均不得过溴夫定标示量的 0.2%；供试品溶液色谱图中 (250 nm)，如有与 BVU 保留时间一致的色谱峰，按外标法以 BVU 峰面积计算，不得过溴夫定标示量的 0.2%；如有其他杂质峰，溶剂峰、二聚体和 β -(Z)-BVDU 峰除外，按外标法以溴夫定峰面积计算，均不得过溴夫定标示量的 0.2%；未知杂质总量不得过溴夫定标示量的 0.5%。

4 结论

本研究建立了溴夫定片中有关物质的检查方法，并根据 ICH Q2 (R2) 和《中国药典》2020 年

版四部 9101 的要求，进行全面的方法验证，结果表明本方法的专属性、精密度、线性和范围、准确度、检测限和定量限、溶液稳定性、耐用性均符合要求，可以用于溴夫定片中有关物质的检测，以保证产品的安全性和有效性。

参考文献

- [1] Hun SK. Current scenario and future applicability of anti-virals against herpes zoster [J]. Korean J Pain, 2023, 36 (1): 4-10.
- [2] 沈馨蕊, 王芸芸, 熊壮, 等. 中老年人带状疱疹疫苗接种意愿影响因素的 Meta 分析 [J]. 循证护理, 2024, 10 (24): 4391-4396.
- [3] 刘云秋, 刘晓强, 阮艳琴. 带状疱疹流行病学和疫苗接种意愿的研究进展 [J]. 预防医学论坛, 2024, 30 (8): 636-640.
- [4] Xavier R. Brivudine: a herpes virostatic with rapid antiviral activity and once-daily dosing [J]. Drugs Today, 2003, 39 (5): 359-371.
- [5] Hewlett G, Hallenberger S, Rubsamen-Waigmann H. Antivirals against DNA viruses (hepatitis B and the herpes viruses) [J]. Curr Opin Pharmacol, 2004, 4 (5): 453-464.
- [6] Anna M, Beata M. 40 years after the registration of acyclovir: do we need new anti-herpetic drugs? [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (7): 3431.
- [7] 药智数据库. 中国药品上市历史 [EB/OL]. (1999-10-29) [2024-12-01]. https://vip.yaozh.com/pijian_jinkou_old-data?comprehensive=drug&searchwords=%E6%BA%B4%E5%A4%AB%E5%AE%9A.
- [8] 王爱平, 漆军, 王宏伟, 等. 溴夫定治疗带状疱疹的疗效和安全性评价 [J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40 (12): 717-719.
- [9] 董玲玲, 夏笛, 张理涛. 溴夫定治疗带状疱疹有效性与安全性的 Meta 分析 [J]. 临床合理用药, 2023, 16 (34): 27-31.
- [10] 牟卫彩, 卢祥婷. 溴夫定治疗 9 例特殊带状疱疹临床效果与安全性分析 [J]. 医药论坛杂志, 2024, 45 (18): 1988-1992, 1997.
- [11] ICH, Q2 (R2) Analytical validation [EB/OL]. (2023-11-30) [2024-12-01]. https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q2%28R2%29_Guideline_2023_1130.pdf.
- [12] 中国药典 2020 年版. 四部 [S]. 2020: 122-124.
- [13] 马永青, 杜高峰, 李小盼. 高效液相色谱法双波长测定川贝枇杷糖浆中 8 种防腐剂含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39 (12): 1439-1446.
- [14] 王珺, 乔亚玲, 刘亚蓉. 双波长高效液相色谱法同时测定愈伤灵胶囊中 10 种成分含量 [J]. 中南药学, 2022, 20 (3): 617-620.
- [15] ICH, Q3 (R2) Impurities in New Drug Products [EB/OL]. (2006-06-02) [2024-12-01]. <https://database.ich.org/sites/default/files/Q3B%28R2%29%20Guideline.pdf>.

(收稿日期: 2025-01-07; 修回日期: 2025-03-20)

注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量的高效液相色谱 - 荧光检测器检测方法的建立与验证

郜昭慧, 陈慧宁, 邵天舒, 郭雷* (北京市药品检验研究院, 北京市疫苗检验中心, 国家药品监督管理局仿制药研究与评价重点实验室, 中药成分分析与生物评价北京市重点实验室, 北京 102206)

摘要: **目的** 建立注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量的高效液相色谱 - 荧光检测器 (HPLC-FLD) 检测方法。**方法** HPLC 法, 采用 Supelco 反应线圈, 检测注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量。验证方法的系统适用性、线性范围、检测限、定量限、重复性、稳定性及准确性, 并与紫外分光光度检测法进行比较。用建立的 HPLC 法检测 4 批样品中聚山梨酯 80 残留量。**结果** 聚山梨酯 80 在 $10.155 \sim 152.325 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度内线性关系良好, 回归方程 $Y = 3.7888 \times 10^4 X - 2.8543 \times 10^5$, 相关系数 $r = 0.9996$; 检测限为 $1.016 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 定量限为 $2.031 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.0% ($n = 6$); 低、中、高浓度的回收率平均值分别为 99.96% 、 98.29% 、 97.26% , RSD 分别为 0.070% 、 0.13% 、 0.56% ($n = 3$), 4 批样品中聚山梨酯 80 残留量在 $10.22 \sim 19.94 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 均符合其质量标准规定。**结论** 成功建立了检测注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量的 HPLC-FLD 检测方法, 该方法重复性、稳定性及准确性良好, 可用于检测注射用重组人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量。

关键词: 注射用重组人凝血因子Ⅷ; 聚山梨酯 80; 高效液相色谱 - 荧光检测器

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2967-04

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.026

Development and verification of the content of residual polysorbate 80 in recombinant coagulation factor Ⅷ for injection by HPLC coupled with fluorescence detector

GAO Zhao-hui, CHEN Hui-ning, SHAO Tian-shu, GUO Lei* (*Beijing Institute for Drug Control, Beijing Center for Vaccine Control, NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drugs, Beijing Key Laboratory of Analysis and Evaluation on Chinese Medicine, Beijing 102206*)

Abstract: **Objective** To develop a method to determine the content of residual polysorbate 80 in recombinant coagulation factor Ⅷ for injection by high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with fluorescence detector (FLD). **Methods** Supelco reaction coil was used in HPLC. The method was verified for system suitability, linear range, detection limit, quantitative limit, reproducibility, stability and accuracy. The determination result was compared with that of the ultraviolet spectrophotometry. The established HPLC method was used to detect polysorbate 80 residue in 4 batches of recombinant coagulation factor Ⅷ for injection. **Results** The linear range of polysorbate 80 was $10.155 \sim 152.325 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, with a regression equation of $Y = 3.7888 \times 10^4 X - 2.8543 \times 10^5$ ($r = 0.9996$). The limit of detection was $1.016 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the limit of quantification was $2.031 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The RSD of precision, stability and repeatability tests was less than 2.0% ($n = 6$). The average recovery for low, medium, and high concentrations was 99.96% , 98.29% , and 97.26% , with RSD of 0.070% , 0.13% , and 0.56% ($n = 3$) respectively. The content of residual polysorbate 80 in the 4 batches of samples ranged $10.22 \sim 19.94 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, which met the requirements in quality standard. **Conclusion**

作者简介: 郜昭慧, 女, 主管药师, 主要从事药物质量控制研究, email: zhaohui_gao111@126.com *通信作者: 郭雷, 男, 副主任药师, 主要从事生物制品质量控制研究, email: leileimap@sina.com

HPLC-FLD method for the content of residual polysorbate 80 in recombinant coagulation factor VIII for injection is successfully developed, which is stable, sensitive, reproducible, and accurate.

Key words: recombinant coagulation factor VIII for injection; polysorbate 80; HPLC-FLD

注射用重组人凝血因子Ⅷ (recombinant coagulation factor VIII for injection), 是由经遗传学构建导入了人凝血因子Ⅷ基因的幼年仓鼠肾细胞系产生的一种冻干粉末, 复溶后溶液为无色澄明液体。临床用于成人和儿童 A 型血友病患者的治疗, 该类型患者为先天性凝血因子Ⅷ缺乏。在血管出血时凝血因子Ⅷ被激活, 与血小板粘连在一起, 堵塞血管上的漏口, 这个过程被称为凝血。人凝血因子Ⅷ可逆转因凝血因子缺乏导致的出血, 被广泛应用于临床^[1-4]。

基于重组治疗用生物制品病毒安全控制的考虑, 排除传播病毒的潜在风险, 对于真核细胞表达制品应包含能够有效去除或灭活病毒的工艺步骤。有机溶剂/表面活性剂 (S/D) 法可有效灭活样品中的脂包膜病毒^[5-7], 且条件相对温和, 其中聚山梨酯 80 为该方法中常用的表面活性剂之一。聚山梨酯 80 是一种复杂的混合物, 各成分含量波动较大, 且含有微量杂质及降解产物, 而这些杂质和降解产物可进一步氧化降解, 从而产生更多的有毒成分, 过量的聚山梨酯 80 可引起溶血等不良反应^[8-14]。虽然在生产过程中经 S/D 法进行病毒灭活后, 大部分聚山梨酯 80 会经精制纯化步骤、再经超滤透析最终达到极低残留, 但鉴于其潜在的危害性, 在血液制品质量标准中一般要求对聚山梨酯 80 含量进行控制。2020 年版《中国药典》三部中规定, 人凝血因子Ⅷ中聚山梨酯 80 残留量应 $\leq 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[15], 药典方法测定注射用重组人凝血因子Ⅷ (进口注册标准 JS20210052), 规定其残留量应不高于 $96 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。药典方法测定聚山梨酯 80 含量是依据其聚氧基和铵钴硫氰酸盐反应形成蓝色复合物, 可溶于二氯甲烷, 用比色法测定并计算含量。该方法需要复杂的前期准备和处理, 试验过程中需除去蛋白, 如样品中蛋白去除不完全, 则蛋白与显色剂反应造成测量结果偏高甚至超出规定限度。试验中需用二氯甲烷萃取反应产物且每隔 1.5 h 需振摇一次, 二氯甲烷挥发性强, 易造成测量结果不准确, 同时也会污染环境并危害实验者的健康。

本文建立检测注射用重组人凝血因子Ⅷ中

聚山梨酯 80 残留量的高效液相色谱-荧光检测器 (HPLC-FLD) 法, 使用苯基萘胺 (N-phenyl-1-naphthylamine, NPN) 对聚山梨酯 80 的基团进行染色, 用荧光检测器检测聚山梨酯 80 的含量。该方法操作简便, 可处理多批次样品, 在重复性、准确性及灵敏度方面均优于现行标准方法, 为聚山梨酯 80 测定方法的提升提供了参考。

1 仪器与试药

LC-20AT 型高效液相色谱仪、FLD 荧光检测器、LAB-solution 色谱工作站 (日本岛津公司); 乙腈为色谱纯 (美国 Fisher Scientific 公司); 水为超纯水; 聚山梨酯 80 对照品 (纯度: 100%, 批号: BCCF5441)、组氨酸、聚氧乙烯月桂醚、NPN、氯化钠 (美国 Sigma 公司), 盐酸 (中国医药集团有限公司)。注射用重组人凝血因子Ⅷ样品 (批号分别为 2715R19、2715CVV、2715LK3、2715P87, 拜耳公司)。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

① 对照品溶液: 精密称取聚山梨酯 80 对照品 101.55 mg 置于 100 mL 量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 $1.0155 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的聚山梨酯 80 对照品储备液。分别精密量取对照品储备液 0.1、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5 mL 置于 10 mL 量瓶中, 超纯水定容, 摇匀, 即得质量浓度为 10.155、25.3875、50.775、76.1625、101.550、152.325 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列对照品溶液。

② 供试品溶液: 取样品 1 瓶, 精密加入超纯水溶解至人凝血因子Ⅷ $20 \text{ IU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 作为供试品溶液。

③ NPN 储备液: 将 0.22 g NPN 溶于 90 mL 乙腈中, 摇匀, 加乙腈至 100 mL, 即得。

④ 聚氧乙烯月桂醚储备液: 将 3.0 g 聚氧乙烯月桂醚溶于 90 mL 水中, 摇匀, 加水至 100 mL, 即得。

2.2 HPLC-FLD 法色谱条件

Supelco 反应线圈 ($0.5 \text{ mm} \times 500 \text{ cm}$), 流动相: 17.5 g 氯化钠、15.5 g 组氨酸, 加水至 1800 mL 溶解, 用 30% 盐酸调 pH 值至 5.8, 加 100 mL 乙腈混合, 加水至 2000 mL, 加入 1.0 mL NPN 储备液及 1.0 mL 聚氧乙烯月桂醚储备液, 混匀, 即

得流动相。荧光检测器检测，激发波长为 350 nm、发射波长为 420 nm，进样体积为 10 μL ，流速 1.5 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ，等度洗脱。

2.3 方法的验证

2.3.1 专属性 取“2.1”项下对照品溶液、供试品

溶液和空白溶剂（流动相）各 10 μL ，按照“2.2”项下色谱条件进样分析，色谱图见图 1。结果表明，供试品溶液色谱图中色谱峰与对照品溶液色谱图中色谱峰保留时间一致，空白溶剂未检测到色谱峰，对测定结果无干扰，表明系统适用性良好。

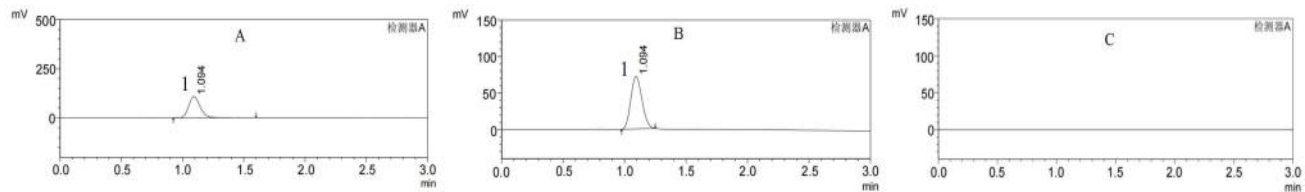


图 1 专属性试验液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of specificity test

A. 对照品溶液（reference solution）；B. 供试品溶液（test solution）；C. 空白溶剂（blank solvent）；1. 聚山梨酯 80（polysorbate 80）

2.3.2 线性范围、定量限和检测限 取系列对照品溶液，进样分析，以聚山梨酯 80 质量浓度（ X ， $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）为横坐标，峰面积（ Y ）为纵坐标绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程为 $Y = 3.7888 \times 10^4 X - 2.8543 \times 10^5$ ， $r = 0.9996$ ，聚山梨酯 80 在 10.155 ~ 152.325 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 质量浓度内与峰面积线性关系良好。取质量浓度为 10.155 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液，用超纯水逐级稀释并进行检测，记录峰面积及 S/N 值，以 $S/N = 3$ 时测得的浓度为检测限， $S/N = 10$ 时测得的浓度为定量限。结果检测限为 1.016 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，定量限为 2.031 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3.3 精密度与稳定性 制备供试品溶液（批号为 2715CVV）6 份，进样测定，测得聚山梨酯 80 含量分别为 13.90、13.90、13.59、13.63、13.58、13.68 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ， RSD 为 1.1%（ $n = 6$ ），表明该方法精密度良好。供试品溶液于室温下放置 0、2、4、6、8、10 h，进样测定，测得聚山梨酯 80 含量分别为 13.70、13.80、13.75、13.82、13.88、13.78 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ， RSD 为 0.45%（ $n = 6$ ），表明供试品溶液在室温下放置 10 h 内稳定性良好。

2.3.4 加样回收试验 精密量取已稀释至 40 IU 的已知含量样品（批号为 2715CVV）5.0 mL，置 10 mL 量瓶中，平行 9 份，分别精密加入质量浓度为 101.55 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 0.8、1.5、2.0 mL 各 3 份，用超纯水定容并摇匀，按“2.2”项下色谱条件进样测定，计算样品中聚山梨酯 80 的回收率及 RSD ，结果见表 1，低、中、高浓度的回收率平均值分别为 99.96%、98.29%、97.26%， RSD 分别为 0.070%、0.13%、0.56%（ $n = 3$ ），证明此方法准确度良好。

表 1 加样回收试验（ $n = 3$ ）

Tab 1 Recovery ($n = 3$)

样品含量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	加入量 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	实测值 / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收 率 /%	平均回 收率 /%	RSD / %
13.90	8.12	22.01	99.88	99.96	0.070
		22.02	100.00		
		22.02	100.00		
13.90	15.23	28.87	98.29	98.29	0.13
		28.85	98.16		
		28.89	98.42		
13.90	20.31	33.77	97.83	97.26	0.56
		33.55	96.75		
		33.64	97.19		

2.4 方法的应用

分别采用药典方法及本文 HPLC-FLD 方法检测不同批号的 4 批次样品，计算聚山梨酯 80 的含量，检测结果见表 2。

表 2 4 批样品中聚山梨酯 80 残留量的药典方法、HPLC-FLD 法检测结果（ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ）

Tab 2 Content of polysorbate contents in 4 batches of samples by the method in Chinese Pharmacopeia and HPLC-FLD ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

样品批号	药典方法	HPLC-FLD 法
2715R19	14.90	10.22
2715CVV	21.00	13.90
2715LK3	26.37	19.19
2715P87	30.71	19.94

3 讨论

目前有报道的测定人凝血因子 VIII 中聚山梨酯 80 的方法有高效液相色谱 - 电喷雾检测器（HPLC-CAD）^[16]，HPLC-CAD 法重复性、稳定性及准确性均良好，而本研究方法定量限更低，分析时间更短，且色谱条件较 HPLC-CAD 法更为简单，易于操作。此外，测定聚山梨酯 80 或者聚山梨酯 20 的其他方法有高效液相色谱 - 蒸发光散射检测

器 (HPLC-ELSD) 等^[17-20], 这些方法存在检测器重现性差、检测灵敏度低等一系列问题。近年来, 随着单抗类药物的不断上市, 其质量控制分析方法也得到了进一步发展, 俞小娟等^[21]验证了高效液相色谱-荧光单体分析 (HPLC-FMA) 测定单抗药物中聚山梨酯 80 含量的方法, 方法灵敏、快速、稳定, 方法准确性、精密度、线性和专属性均良好, 作为潜在的药典方法, 可用于多种单抗药物的放行和质量控制中聚山梨酯 80 含量的测定。NPN 是一种疏水性荧光染料, 在水溶液中荧光信号值较低, 但在疏水环境 (如胶束核心) 中荧光信号值激增, 荧光强度与聚山梨酯 80 的浓度成正相关。因此, 通过测定荧光值可以反映出聚山梨酯 80 的含量。本文建立了测定聚山梨酯 80 含量的 HPLC-FLD 法, 该方法无需色谱柱, 尼龙反应线圈可以使胶束与 NPN 分子充分衍生吸收, 样品无需进行复杂的前处理, 仅用超纯水溶解即可, 检测过程简单高效, 实用性较强。从验证结果可以看出, 4 批样品按药典方法检测得到聚山梨酯 80 的残留量均高于 HPLC-FLD 法的检测结果, 其主要原因是药典方法操作步骤复杂, 特别是萃取过程中二氯甲烷的挥发可能导致结果偏高。

综上, 本研究建立了检测人凝血因子Ⅷ制品中聚山梨酯 80 残留量的 HPLC-FLD 法, 该方法简单、灵敏、快速、稳定, 为血液制品质量控制中聚山梨酯 80 含量的测定提供了新的思路。

参考文献

- [1] 王辨明, 沈迪, 魏文宁. 凝血机理与凝血因子的某些新进展 [J]. 新医学, 1980 (7): 368-375.
- [2] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组, 中国血友病协作组. 血友病诊断与治疗中国专家共识 (2017 年版) [J]. 中华血液学杂志, 2016, 37 (5): 364-370.
- [3] 李燕. 凝血因子Ⅷ制剂及其临床应用 [J]. 中国医学物理学杂志, 2005, 22 (5): 656-657.
- [4] 林传明, 黄走方, 辛柳燕, 等. 重组人凝血因子Ⅷ在重型血友病 A 患者中的药代动力学研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2023, 31 (6): 1787-1790.
- [5] 陈柯君, 李健. 血液制品病毒灭活的研究进展 [J]. 中国消毒学杂志, 2017, 34 (2): 166-171.
- [6] 国家药品监督管理局药品审评中心. 血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则 [EB/OL]. (2008-09-04) [2024-12-20]. <https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfo?zdyzIdCODE=1df43aa707869a9c8bc11a-fe1ed48ff1>.
- [7] 徐宏山, 岳广智, 杨立宏, 等. 我国与 WHO 血液制品去除/灭活病毒技术方法与验证指导原则的比较研究 [J]. 中国药事, 2023, 37 (4): 367-375.
- [8] Dwivedi M, Blech M, Presser I, et al. Polysorbate degradation in biotherapeutic formulations identification and discussion of current root causes [J]. Int J Pharm, 2018, 552: 422-436.
- [9] Webster GK, Chang JC, Heflin JL. Stability indicating method for polysorbate 80 in protein formulations [J]. J Chromatogr Sci, 2020, 116: 1-8.
- [10] 牛慧玲, 李庆忠, 陈志勇, 等. 含吐温 80 的不同注射剂溶血试验研究 [J]. 中国药品标准, 2012, 13 (2): 108-111.
- [11] 李畅, 涂家生. 聚山梨酯 80 组分与其溶血性的关系 [J]. 中国药科大学学报, 2012, 43 (3): 231-235.
- [12] 李钦, 赵吟, 郑晓亮, 等. 药用注射辅料聚山梨酯 80 诱发类过敏反应的细胞研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16 (5): 501-505.
- [13] 孙会敏, 杨锐, 栾琳, 等. 聚山梨酯 80 质量分析与致敏原探究 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31 (10): 1850-1855.
- [14] 程欧, 高鹏, 涂家生, 等. 吐温 80 质量与致敏性关系的研究 [J]. 中国药科大学学报, 2010, 41 (3): 244-247.
- [15] 中国药典 2020 年版. 三部 [S]. 2020: 273-274.
- [16] 邵天舒, 丁锐, 周长明, 等. 人凝血因子Ⅷ制品中聚山梨酯 80 残留量高效液相色谱-电喷雾检测器检测方法的建立及验证 [J]. 中国生物制品学杂志, 2021, 34 (9): 1105-1110.
- [17] 聂黎行, 何雨晴, 戴忠, 等. 聚山梨酯 80 质量评价及检测方法的研究概况 [J]. 药物评价研究, 2017, 40 (7): 1005-1012.
- [18] Hewitt D, Zhang T, Kao YH. Quantitation of polysorbate 20 in protein solutions using mixed-mode chromatography and evaporative light scattering detection [J]. J Chromatogr A, 2008, 1215 (1-2): 156-160.
- [19] 李心怡, 蒋运斌, 马逾英, 等. 电喷雾检测器在药物 HPLC 分析中的优势及应用进展 [J]. 中国药房, 2017, 28 (15): 2152-2156.
- [20] Furota S, Ogawan O, Takano Y, et al. Quantitative analysis of underivatized amino acids in the sub-to several nanomol range by ion-pair HPLC using a corona-charged aerosol detector (HPLC-CAD) [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2018, 1095: 191-197.
- [21] 俞小娟, 于传飞, 张荣建, 等. HPLC-FMA 法测定单抗药物中聚山梨酯 80 含量的方法学联合验证 [J]. 药学报, 2021, 56 (8): 2276-2281.

(收稿日期: 2025-01-10; 修回日期: 2025-04-02)

基于 HPLC 特征图谱的五加皮和三加皮药材鉴别研究

熊菲¹, 倪倩², 孙彦敏², 胡浩彬², 张妤琳², 庞庆林^{2*} (1. 中国药科大学, 南京 210009; 2. 江苏省药品监督管理局, 南京 210019)

摘要: **目的** 基于 HPLC 特征图谱技术建立五加皮和三加皮药材的特征图谱, 并结合化学计量学方法进行分析, 为五加皮和三加皮的鉴别及质量控制提供依据。**方法** 采用 Agilent Eclipse Plus C18 RRHD (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 柱温 35℃, 以 0.1% 磷酸溶液 (A) - 乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.4 mL·min⁻¹, 检测波长为 220 nm (0~25 min)、202 nm (25~35 min), 进样量 1 μL; 共采集 5 批五加皮、15 批三加皮和 10 批市售五加皮, 建立五加皮和三加皮特征图谱, 通过对照品比对并结合 UV-3D 光谱确定成分峰; 对 30 批五加皮和三加皮药材特征图谱分别进行相似度评价, 结合主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法 - 判别分析 (OPLS-DA) 对两者的化学成分进行研究。**结果** 五加皮和三加皮特征图谱具有明显差异, 五加皮具有 9 个特征峰, 三加皮具有 8 个特征峰, 可通过松柏苷、紫丁香苷、刺五加苷 D、峰 8 和峰 11 来区分两者。通过特征图谱发现, 10 批市售五加皮均为三加皮, PCA、OPLS-DA 结果与特征图谱结果一致; 此外, 通过 OPLS-DA 确定了松柏苷、峰 11、刺五加苷 D、紫丁香苷、异贝壳杉烯酸为差异标志物。**结论** 建立的特征图谱方法可以准确、高效地区分五加皮和三加皮, 且方法操作简便, 可为中药五加皮的质量控制提供参考。

关键词: 五加皮; 三加皮; 特征图谱; 质量评价; 主成分分析; 正交偏最小二乘法 - 判别分析
中图分类号: R282.5, R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-2971-05
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.027

Identification of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum* based on HPLC characteristic chromatogram

XIONG Fei¹, NI Qian², SUN Yan-min², HU Hao-bin², ZHANG Yu-lin², PANG Qing-lin^{2*} (1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; 2. Jiangsu Institute for Drug Control, Nanjing 210019)

Abstract: **Objective** To establish an HPLC characteristic chromatogram of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum*, and analyze the chromatogram with chemometry to provide reference for their identification and quality control. **Methods** The chromatography was performed on an Agilent Eclipse Plus C18 RRHD (150 mm×3.0 mm, 1.8 μm) column at 35℃. The 0.1% phosphoric acid solution (A)-acetonitrile (B) was used as mobile phase with gradient elution at 0.4 mL·min⁻¹. The detection wavelength were 220 nm (0~25 min) and 202 nm (25~35 min), with the sample volume of 1 μL. Totally 5 batches of *Acanthopanax cortex*, 15 batches of *Acanthopanax trifoliatum* and 10 batches of commercially available *Acanthopanax cortex* were collected to establish their respective characteristics. The component peaks were determined by comparison and UV-3D spectroscopy. The similarity was evaluated based on the characteristic chromatograms of 30 batches of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum* respectively, the chemical constituents of them were studied by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least square discriminant analysis (OPLS-DA). **Results** There were significant differences between the characteristic chromatograms of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum*. *Acanthopanax cortex* had 9 characteristic peaks, and *Acanthopanax trifoliatum* had 8 characteristic peaks. They could be distinguished by abinocide,

基金项目: 国家中药材质量监测计划项目资助 (国药监药管〔2024〕2 号)。

作者简介: 熊菲, 女, 在读硕士研究生, 主要从事药物质量控制研究, email: 2386600636@qq.com *通信作者: 庞庆林, 女, 主任药师, 主要从事药物分析研究, email: 616966032@qq.com

syringin, eleutheroside D, peak 8 and peak 11. All the 10 batches of commercially sold *Acanthopanax cortex* were *Acanthopanax trifoliatum*. The PCA and OPLS-DA were consistent with those of the characteristic chromatogram. In addition, abinoside, peak 11, eleutheroside D, syringin and kaurenic acid were identified as differential markers by OPLS-DA. **Conclusion** The established method is simple and easy to operate, and can accurately and efficiently distinguish *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum*, providing reference for the quality control of *Acanthopanax cortex*.

Key words: *Acanthopanax cortex*; *Acanthopanax trifoliatum*; characteristic chromatogram; quality evaluation; principal component analysis; orthogonal partial least square discriminant analysis

五加科植物 (Araliaceae) 种类丰富, 具有广泛的药用价值, 尤其是五加属 (*Acanthopanax* Miq.) 中的多个物种, 因显著的药理作用而备受关注。目前, 全世界已发现的五加科植物有 37 种^[1], 我国已发现的有 27 种^[2]。五加皮和三加皮均为五加科植物根皮类中药。五加皮为五加科植物细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W.W.Smith 的干燥根皮^[3]; 三加皮为五加科植物白筋 *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. 的干燥根或根皮^[4]。五加皮收载于 2020 年版《中国药典》中, 三加皮收载于《广东省中药材标准》第三册中。三加皮在梁代之前已与细柱五加根皮同作五加皮用, 但其不含五加的有效成分紫丁香苷, 故被认为质次^[5]。五加皮和三加皮虽然都具备祛风除湿的作用, 但五加皮主要通过补益肝肾、强筋壮骨来治疗虚弱和风湿痹病, 而三加皮则侧重于清热解毒、散瘀止痛, 适用于湿热引起的病症。故两者不可混用。

我国华中及西南地区有时将三加皮与五加皮混合购销^[4], 2018 年市场调研也显示, 香加皮、红毛五加和三加皮 3 种掺伪品作为商品五加皮出售^[6]。香加皮、红毛五加与五加皮在性状与化学成分上差异显著^[7], 比较容易辨别。但三加皮和五加皮在性状、显微和薄层鉴别方面极为相似, 难以区分。从显微方面来看, 两者特征均为草酸钙簇晶、分泌道、木栓细胞和韧皮射线细胞^[8]; 在制成药材饮片后, 外表形态一样, 无法采用传统的鉴别方法进行区分。《中国药典》一部“五加皮”项下薄层鉴别主要成分为异贝壳杉烯酸, 有研究表明, 三加皮中也含有异贝壳杉烯酸^[9], 两者也无法通过薄层鉴别区分, 容易在临床使用和药材市场中被混淆, 从而影响其药效的发挥和药材质量的控制, 因此, 亟须建立一种简便、快速、专属性强的鉴别方法。本研究收集了细柱五加和白筋原植株, 采用 HPLC 法建立五加皮和三加皮的特征图谱鉴别方法, 并对 10 批市售五加皮药材的质量进行研究, 以期在五加皮和三加皮的质量控制提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Thermo Vanquish 液相色谱仪 (美国赛默飞公司), Milli-QIQ 7000 型纯水仪 (密理博公司), 5510 型超声清洗仪 (必能信超声上海有限公司), MS204S 型万分之一天平、XP6 型百万分之一天平 (梅特勒-托利多公司)。

1.2 试药

绿原酸 (纯度: 96.3%, 批号: 110753-202119)、紫丁香苷 (纯度: 94.3%, 批号: 111574-202106)、异贝壳杉烯酸 (纯度: 98.0%, 批号: 111999-201902)、1, 3-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (纯度: 94.5%, 批号: 111717-201402)、3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (纯度: 95.0%, 批号: 111782-202309)、4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (纯度: 94.9%, 批号: 111894-202205) (中国食品药品检定研究院), 松柏苷 (纯度: 99.7%, 批号: 2414912)、刺五加苷 D (纯度: 98.0%, 批号: 2416428) (上海安谱瑞世标准技术服务有限公司), 色谱纯乙腈、甲醇 (Merck 公司), 色谱纯磷酸 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。5 批五加皮药材为五加科植物细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W.W.Smith 的干燥根皮, 15 批三加皮为五加科植物白筋 *Acanthopanax trifoliatum* (L.) Merr. 的干燥根或根皮, 均由原植株水洗剥皮晾干制得, 原植株均由江苏省药品监督管理局胡浩彬主任鉴定。此外, 分别从不同药材市场、企业及网络途径收集了 10 批五加皮药材, 供试品详细信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用 Agilent Eclipse Plus C18 RRHD (150 mm × 3.0 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 柱温 35 °C, 以 0.1% 磷酸溶液 (A) - 乙腈 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0 ~ 9.5 min, 10% → 20%B; 9.5 ~ 16 min, 20% → 40%B; 16 ~ 19 min, 40% → 85%B; 19 ~ 28.5 min, 85%B; 28.6 min, 10%B; 28.6 ~ 35 min, 10%B); 流速为 0.4 mL · min⁻¹; 检测波长为 220 nm (0 ~ 25 min)、202 nm (25 ~ 35 min), 进样量为 1 μL。

2.2 对照品溶液的制备

取松柏苷、紫丁香苷、绿原酸、1, 3-*O*-二

表 1 五加皮和三加皮药材来源信息

Tab 1 Source information of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatius*

编号	品名	基原	来源	编号	品名	基原	来源
W1	五加皮	细柱五加	湖北宜昌	T11	三加皮	白筋	安徽亳州
W2	五加皮	细柱五加	江苏南京	T12	三加皮	白筋	安徽亳州
W3	五加皮	细柱五加	湖北黄冈	T13	三加皮	白筋	安徽亳州
W4	五加皮	细柱五加	江苏南京	T14	三加皮	白筋	安徽亳州
W5	五加皮	细柱五加	江苏连云港	T15	三加皮	白筋	安徽亳州
T1	三加皮	白筋	湖北黄冈	C1	市售五加皮	—	安徽亳州中药材交易市场
T2	三加皮	白筋	湖北宜昌	C2	市售五加皮	—	企业调样
T3	三加皮	白筋	湖北宜昌	C3	市售五加皮	—	安徽亳州中药材交易市场
T4	三加皮	白筋	湖北宜昌	C4	市售五加皮	—	安徽亳州中药材交易市场
T5	三加皮	白筋	湖北宜昌	C5	市售五加皮	—	当阳中药材种植专业合作社
T6	三加皮	白筋	湖北宜昌	C6	市售五加皮	—	成都荷花池中药材交易市场
T7	三加皮	白筋	湖北宜昌	C7	市售五加皮	—	企业调样
T8	三加皮	白筋	湖北宜昌	C8	市售五加皮	—	河北安国药材市场
T9	三加皮	白筋	安徽亳州	C9	市售五加皮	—	河北安国药材市场
T10	三加皮	白筋	安徽亳州	C10	市售五加皮	—	网购

咖啡酰奎宁酸、刺五加苷 D、3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、异贝壳杉烯酸对照品适量, 用 80% 甲醇溶解并制成质量浓度分别为 4.040、4.144、50.66、30.32、2.073、30.67、20.15、50.31 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

药材粉碎, 过二号筛。取粉末约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 25 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 45 min, 放冷, 再称定重量, 用 80% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 特征图谱研究

2.4.1 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液 (编号 W1) 各 1 μL , 注入液相色谱仪, 考察方法的专属性。结果如图 1 所示, 供试品中检测到的峰与对照品在保留时间及紫外吸收光谱上一致, 表明该方法具备良好的专属性。

2.4.2 进样精密度试验 取供试品药材 (编号 C4) 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 以绿原酸 (S1) 和异贝壳杉烯酸 (S2) 为参照峰, 计算得各峰相对保留时间的 *RSD* 为 0.00%~0.25%, 相对峰面积的 *RSD* 为 0.14%~1.7%, 表明仪器精密密度良好。

2.4.3 重复性试验 取供试品药材 (编号 C4) 按“2.3”项下方法制备供试品溶液 6 份, 分别进样, 以绿原酸 (S1) 和异贝壳杉烯酸 (S2) 为参照峰, 计算得各峰相对保留时间的 *RSD* 为 0.00%~0.080%, 相对峰面积的 *RSD* 为 0.79%~2.1%, 表明方法重复性良好。

2.4.4 稳定性试验 取供试品药材 (编号 C4) 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 于 0、2、4、8、

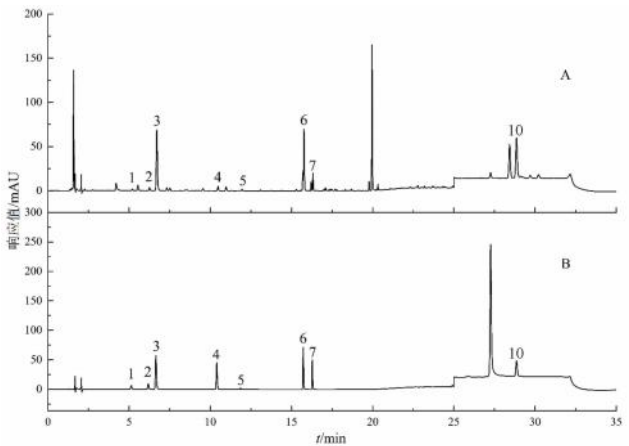


图 1 供试品溶液 (W1)(A) 和混合对照品溶液 (B) 的 HPLC 图
Fig 1 HPLC chromatograms of sample solution (W1)(A) and mixed reference solution (B)

1. 松柏苷 (abinoside); 2. 紫丁香苷 (syringin); 3. 绿原酸 (chlorogenic acid); 4. 1, 3-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (1, 3-*O*-dicafeoylquinic acid); 5. 刺五加苷 D (eleutheroside D); 6. 3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (3, 5-*O*-dicafeoylquinic acid); 7. 4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 (4, 5-*O*-dicafeoylquinic acid); 10. 异贝壳杉烯酸 (kaurenic acid)

16、24 h 进样测定, 以绿原酸 (S1) 和异贝壳杉烯酸 (S2) 为参照峰, 计算得各峰相对保留时间的 *RSD* 为 0.00%~0.10%, 相对峰面积的 *RSD* 为 0.12%~1.6%, 表明方法稳定性良好。

2.4.5 特征图谱的建立 精密吸取空白溶剂 (甲醇)、对照品溶液、供试品溶液各 1 μL , 进样测定, 记录色谱图。分别将五加皮、三加皮和市售五加皮的图谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件”, 以 W1 和 T1 样品为参照图谱, 进行多点校正和 Mark 峰匹配, 采用中位数法分别生成五加皮 (R1) 和三加皮 (R2) 的对照特征图谱, 结果如图 2 所示, 五加皮具有 9 个特征峰, 三加皮具有 8 个特征峰, 两者共有 6 个相同的峰, 分别为峰 3、峰 4、

峰 6、峰 7、峰 9 和峰 10，可通过峰 1、峰 2、峰 5、峰 8 和峰 11 来区分五加皮和三加皮。进一步通过与对照品溶液的图谱对比，确认峰 1 为松柏苷、峰 2 为紫丁香苷、峰 3 为绿原酸、峰 4 为 1, 3-*O*-二咖啡酰奎宁酸、峰 5 为刺五加苷 D、峰 6 为 3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、峰 7 为 4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸、峰 10 为异贝壳杉烯酸。30 批供试品叠加特征图谱如图 3 所示，市售五加皮的特征图谱与五加皮不同，但与三加皮相同，确认所购买的市售五加皮均为三加皮。分别计算五加皮、三加皮与市售五加皮的相似度系数，结果见表 2。

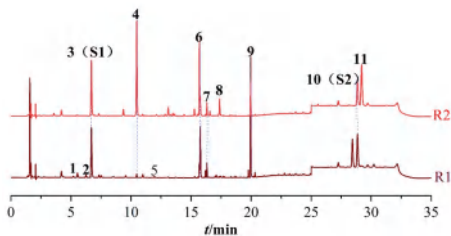


图 2 五加皮 (R1) 和三加皮 (R2) 对照特征图谱
Fig 2 Reference characteristic chromatogram of *Acanthopanax cortex* (R1) and *Acanthopanax trifoliatum* (R2)

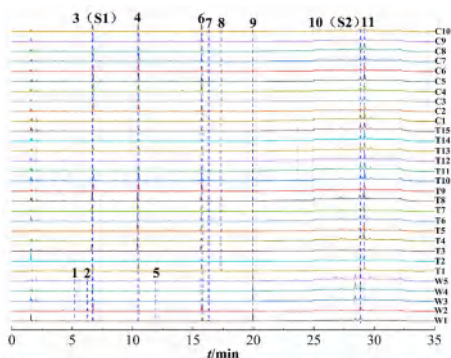


图 3 30 批供试品 HPLC 叠加特征图谱
Fig 3 Overlay of HPLC characteristic chromatogram for 30 batches of sample

表 2 五加皮和三加皮特征图谱相似度评价结果
Tab 2 Similarity of characteristic chromatogram of *Acanthopanax cortex* and *Acanthopanax trifoliatum*

编号	相似度	编号	相似度
W1	1.000	T11	0.818
W2	0.775	T12	0.807
W3	0.949	T13	0.860
W4	0.932	T14	0.726
W5	0.916	T15	0.770
T1	1.000	C1	0.826
T2	0.750	C2	0.948
T3	0.964	C3	0.938
T4	0.836	C4	0.944
T5	0.970	C5	0.970
T6	0.982	C6	0.984
T7	0.997	C7	0.975
T8	0.966	C8	0.804
T9	0.964	C9	0.961
T10	0.953	C10	0.954

2.4.6 主成分分析 (PCA) 以 11 个特征峰的峰面积为指标，使用 SIMCA 14.1 软件对 30 批供试品进行分析，生成得分散点图 (见图 4)。从图 4 中可以看出，自主采挖的五加皮聚为一类，市售五加皮与三加皮聚为一类。

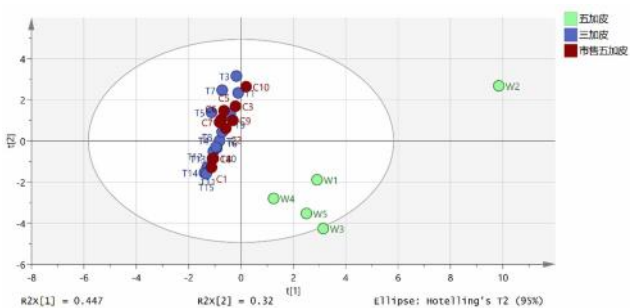


图 4 30 批供试品 PCA 得分散点图
Fig 4 PCA scatter score chart for 30 batches of sample

2.4.7 正交偏最小二乘法 - 判别分析 (OPLS-DA) 采用 SIMCA 14.1 软件，以 11 个特征峰的峰面积为指标进行 OPLS-DA 分析，所建立的模型 $R^2X = 0.721$, $R^2Y = 0.932$, $Q^2 = 0.899$, 均 > 0.5 , 表明模型有效。散点得分图 (见图 5) 显示，自主采挖的五加皮聚为一类，自主采挖的三加皮和市售五加皮聚为一类。通过 VIP 图 (见图 6) 可以看出指标对分类的影响：松柏苷 $>$ 峰 11 $>$ 刺五加苷 D $>$ 紫丁香苷 $>$ 异贝壳杉烯酸 $>$ 峰 9 $>$ 峰 8 $>$ 4, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 $>$ 1, 3-*O*-二咖啡酰奎宁酸 $>$ 3, 5-*O*-二咖啡酰奎宁酸 $>$ 绿原酸。其中松柏苷、峰 11、刺五加苷 D、紫丁香苷、异贝壳杉烯酸的 VIP 值 > 1 ，为显著影响，可作为差异标志物。

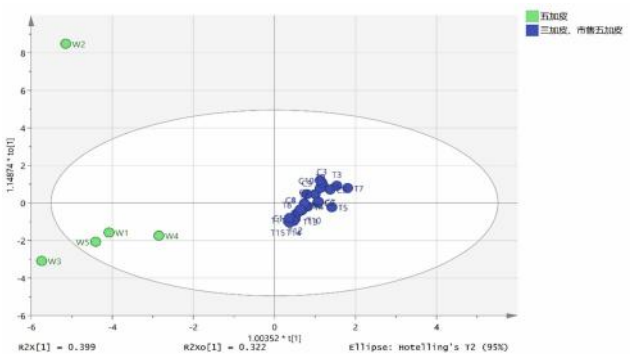


图 5 30 批供试品 OPLS-DA 散点得分图
Fig 5 OPLS-DA scatter score chart for 30 batches of sample

3 讨论

3.1 色谱条件的优化

本研究参考并优化王力弘等^[10]测定五加皮的梯度洗脱方法，优化后各化合物的分离度符合要求，运行时间缩短，流速降低，有效节约了流动相。采用 DAD 检测器对各化合物 200 ~ 400 nm 的 UV 图谱进行检测，结果异贝壳杉烯酸仅在 202 nm 附近有最大吸收，其他化合物均在 220 nm 附近有

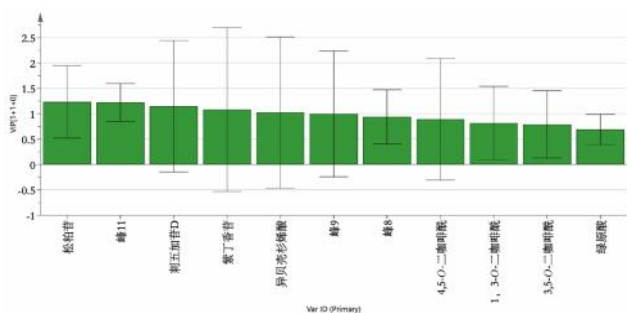


图 6 30 批供试品 OPLS-DA VIP 值图

Fig 6 OPLS-DA VIP values of 30 batches of sample

较大吸收。由于异贝壳杉烯酸为代表的萜类化合物极性较小，出峰时间较晚，因此在 25 min 以前设定 220 nm，25 min 后则设定 202 nm 为检测波长，以实现最佳检测效果。

3.2 提取方法优化

在供试品的提取过程中，本研究考察了不同料液比（供试品分别为 0.2、0.5、0.8 g，精密加入 25 mL 溶剂）、不同提取溶剂（水、20% 甲醇、50% 甲醇、80% 甲醇、甲醇）及不同提取方式（回流 30 min 及超声 15、30、45 min）对色谱峰的影响。通过色谱图结果的对比分析，综合考虑到化合物色谱峰峰形和响应值，并防止色谱柱过载，最终确定采用供试品 0.2 g、80% 甲醇超声 45 min 作为最佳提取条件。

3.3 特征图谱结果分析

绿原酸在各供试品溶液中均有检出，将其作为 S1 峰；异贝壳杉烯酸为药典中五加皮薄层鉴别的主要成分，将其作为 S2 峰。三加皮中不含紫丁香苷、松柏苷和刺五加苷 D，而五加皮含有这些成分，可用于区分五加皮与三加皮，因此将这 3 个成分作为特征峰。此外，1, 3-O-二咖啡酰奎宁酸、3, 5-O-二咖啡酰奎宁酸、4, 5-O-二咖啡酰奎宁酸在五加皮和三加皮中均有检出，因此也被纳入特征峰。由紫外吸收光谱可知，峰 8 和峰 9 可能为苯丙素类物质^[11]，峰 11 可能为与异贝壳杉烯酸相似的萜类物质，这 3 个峰还有待进一步研究指认。通过 OPLS-DA 确定了松柏苷、峰 11、刺五加苷 D、紫丁香苷、异贝壳杉烯酸为差异标志物。异贝壳杉烯酸为二萜类物质，具有抗炎、抗痉挛、抗肿瘤、抗过敏等药理作用^[12]，松柏苷、刺五加苷 D、紫丁香苷均为苯丙素类化合物，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、改善心脑血管

管系统作用^[13]。

4 结论

本研究建立了五加皮和三加皮 HPLC 特征图谱的鉴别方法，可实现对五加皮和三加皮准确、高效地区分，弥补了现行药典的不足。通过 OPLS-DA 确定了松柏苷、峰 11、刺五加苷 D、紫丁香苷、异贝壳杉烯酸为差异标志物。此外，经特征图谱分析发现，目前市面购买的五加皮均为三加皮，提示市面流通的五加皮存在伪品的现象。

参考文献

- [1] 倪娜, 刘向前. 五加科五加属植物的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37 (12): 1895-1900.
- [2] 韩明虎, 胡浩斌, 芦娅妮, 等. 五加属植物化学成分的研究进展 [J]. 中药材, 2019, 42 (11): 2720-2729.
- [3] 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 67-68.
- [4] 广东省药品监督管理局. 广东省中药材标准第三册 [S]. 2020: 17.
- [5] 朱兆仪, 冯毓秀, 陈碧珠, 等. 五加皮类的研究 [A]. 楼之岑, 秦波. 常用中药材品种整理和质量研究·北方编: 第二册 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1995: 672-675.
- [6] 杨建波, 张文娟, 程显隆, 等. 五加皮药材及饮片的质量分析及监管建议 [J]. 中国食品药品监管, 2022 (3): 66-73.
- [7] 张斌贝, 李小军, 高大林, 等. 五加属植物化学成分多样性研究进展 [J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39 (4): 556-561.
- [8] 徐国均, 徐珞珊. 中药材粉末显微鉴定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 590-593.
- [9] Peng Q, Chen JY, Duan HY, et al. Determination of kaurenoic acid in acanthopanax trifolius by ultra-high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 3378.
- [10] 王力弘, 钱怡云, 韦敏, 等. 基于多波长切换 HPLC 同时测定五加皮中 10 个成分研究 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43 (4): 558-563.
- [11] 肖珊, 罗姣, 许忠, 等. HPLC 法同时检测 16 种五加属植物中 14 种苯丙素类成分 [J]. 中草药, 2020, 51 (14): 3791-3796.
- [12] 谢欣辛. 五加皮及其饮片的质量标准研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2012.
- [13] 蒋诗琴, 罗姣, 韦春玲, 等. 五加属植物苯丙素类成分及药理作用研究进展 [J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44 (7): 1335-1345.

(收稿日期: 2024-12-23; 修回日期: 2025-03-13)

综述

柑橘果皮中多甲氧基黄酮类成分的药理作用研究进展

杨芯瑜¹, 张硕¹, 王晨¹, 王梦瑶¹, 苏声泽¹, 于国华^{1*}, 罗志强^{2*} (1. 北京中医药大学, 北京 102488; 2. 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

摘要: 近年来, 随着人们对健康饮食的重视程度不断提高, 植物化学物质在预防和治疗多种疾病中的重要性 and 关注度也日渐增加。柑橘类水果果皮中富含的多甲氧基黄酮 (PMFs) 因药理活性强, 尤其在抗氧化、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、抗肥胖和抗糖尿病等方面, 引起广泛关注。然而, 尽管已有研究揭示了 PMFs 的多种活性, 现有文献中仍缺乏对其药理特性进行的系统总结。本文系统回顾了近年来关于柑橘果皮中 PMFs 的研究进展, 对已发表的 PMFs 的作用机制进行汇总整理, 并详细探讨其主要成分川陈皮素、橘皮素等在抗氧化、抗肿瘤、神经保护、生物节律和肠道菌群调节等方面的作用, 以期对未来 PMFs 的深入探索奠定基础。

关键词: 多甲氧基黄酮; 药理活性; 柑橘皮; 川陈皮素; 橘皮素

中图分类号: R286 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2976-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.028

Pharmacological effect of polymethoxyflavone in citrus fruit peels

YANG Xin-yu¹, ZHANG Shuo¹, WANG Chen¹, WANG Meng-yao¹, SU Sheng-ze¹, YU Guo-hua^{1*}, LUO Zhi-qiang^{2*} (1. *Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488*; 2. *National Key Laboratory of Quality Assurance and Sustainable Utilization of Traditional Chinese Medicinal Materials, Chinese Medicine Resource Center, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700*)

Abstract: In recent years, with the increasing emphasis on health-conscious dietary practices, there has been growing recognition of phytochemicals in the prevention and treatment of various diseases. Polymethoxyflavone (PMFs), which are abundant in citrus peel, have attracted widespread attention due to their potent pharmacological activities, particularly their antioxidation, anticancer, anti-atherosclerosis, anti-obesity, and antidiabetes effects. Although extensive research has elucidated the diverse biological activities of PMFs, a summary of their pharmacological characteristics is needed. This review thoroughly examined the research progress in PMFs in citrus peels over the past five years, and mechanism of PMFs in published literature, with particular focus on nobiletin and tangeretin as representative constituents. The regulatory effect of PMFs on biological rhythms and gut microbiota was also examined, laying a foundation for future research.

Key words: polymethoxyflavones; pharmacological activity; citrus peel; nobiletin; tangeretin

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No. 82404936); 中央级公益性科研院所基本科研业务费 (No. ZZ16-YQ-044, No. ZZXT202207, No. ZZXT202402, No. ZZ2024030, No. ZZXT202415)。

作者简介: 杨芯瑜, 女, email: yy1119054790@outlook.com * **通信作者:** 罗志强, 男, 副研究员, 主要从事中西医结合抗肿瘤方面的研究, email: luozhiqiang@nrc.ac.cn; 于国华, 女, 助理研究员, 主要从事中医药抗衰老方面的研究, email: ghyu@bucm.edu.cn

人们普遍认为,食用新鲜水果和蔬菜可以显著降低疾病的发生率。有报道显示,富含新鲜水果和蔬菜的饮食与降低心血管疾病和某些癌症的风险密切相关^[1],这主要得益于其中丰富的植物化学物质。植物化学物质是指广泛存在于水果、蔬菜、谷类等食物中的生物活性成分,包括黄酮类、异黄酮类、酚及多酚类、胡萝卜素类等^[2]。尤其是类黄酮类化合物,由于其具有显著的抗氧化、抗炎等生物活性,已成为研究热点。多甲氧基黄酮(PMFs)是柑橘果皮中主要的类黄酮类化合物之一,近年来因其抗炎、抗肿瘤等药理作用备受关注。柑橘果皮作为传统中药“陈皮”的主要来源,早在《神农本草经》中即有记载,其性温、味苦辛,归肺、脾经,具有理气健脾、燥湿化痰之效^[3]。现代研究表明,陈皮的功效与其富含的 PMFs 密切相关。例如,橘皮素(tangeretin)和川陈皮素(nobiletin)作为 PMFs 的代表性成分,已被证实可调节胃肠动力、抑制炎症因子释放^[4]。在中医临床中,柑橘果皮常用于治疗胸腹胀满、咳嗽痰多等症。《本草纲目》载其“同补药则补,同泻药则泻,同升药则升,同降药则降”,体现了其多靶点调节特性。近年来,基于“药食同源”理念,柑橘皮提取物在功能性食品开发中备受关注。研究表明,陈皮中 PMFs 的抗炎、抗氧化活性与其传统功效高度契合,如橘皮素可通过抑制环氧化酶-2(COX-2)表达缓解痰湿咳嗽^[5],为其传统应用方面的功效提供了分子层面的解释。尽管已有大量研究探讨 PMFs 的药理作用,但当前文献主要集中于活性较强的川陈皮素和橘皮素,对 PMFs 的系统性总结仍较为匮乏,特别是在其组成特点和作用机制方面。基于此,本文将对近年来柑橘果皮中 PMFs 的研究进展进行系统梳理,深入分析其药理活性及作用机制,以期对未来相关研究提供理论依据,并推动植物化学物质在促进健康与防治疾病中的应用。

1 PMFs 的药理作用

1.1 PMFs 的抗氧化作用

柑橘果皮被认为是一种重要的天然抗氧化剂来源^[6],其主要活性成分 PMFs 在抗氧化防御中发挥着至关重要的作用。PMFs 主要通过调节抗氧化酶的活性和关键信号通路来抑制活性氧(ROS)的生成,从而增强细胞的抗氧化能力。研究表明,PMFs 可通过增强超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽还原酶(GR)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)的活性,减轻由氧化应激引起的细胞损伤^[7-8]。核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)是一种关键的转录因子,主要参与调控细胞的抗氧化应答,PMFs 可通过抑制 Nrf2 的泛素化与降

解,使 Nrf2 保持稳定并转移至细胞核,结合抗氧化反应元件(ARE)上调内源性抗氧化酶的表达,从而进一步抑制氧化应激^[9]。此外,PMFs 能够改善线粒体功能,激活促进呼吸链的酶,增强线粒体的抗氧化能力^[10]。随着 PMFs 抗氧化机制研究的不断深入,其在食品、营养补充品及药物开发中的应用前景愈发明朗。未来的研究可聚焦于 PMFs 在不同病理状态下的作用机制,同时探索 PMFs 与其他抗氧化物质的联合作用,以寻找潜在的协同效应,提升整体抗氧化能力。这种组合策略可能为抵御与氧化应激相关的疾病(如心血管疾病、糖尿病及老年性疾病)提供更有效的解决方案。

1.2 PMFs 的抗肿瘤作用

肿瘤是一种多因素引起的疾病,表现为细胞失控增殖、侵袭及转移。研究表明,类黄酮在抗过敏、抗炎、抗氧化、抗诱变、抗肿瘤和酶行为等方面发挥着重要作用^[11]。PMFs 作为类黄酮家族的一员,也可通过多途径发挥抗肿瘤作用,包括抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤转移、减少肿瘤血管生成等,其作用机制涉及细胞周期调控、信号通路干预、抗氧化抗炎作用及肿瘤微环境的调节。Wang 等^[12]研究发现,川陈皮素和橘皮素能够抑制胃癌细胞增殖,且可上调视黄酸受体 β (RAR β)表达,激活 Caspase-3、Caspase-9 和 PARP1,诱导细胞凋亡。PMFs 还可抑制乳腺癌细胞中 CYP1 家族酶的活性和表达,促进自身的新陈代谢,增强自身或其他抗肿瘤药物的抗增殖活性^[13]。此外,橘皮素可通过上调 p53/p21 通路,诱导 G₁/S 期细胞周期阻滞,抑制肿瘤细胞增殖^[14]。

1.3 PMFs 的抗肥胖作用

超重和肥胖被世界卫生组织定义为异常或过度的脂肪堆积。数据显示,约有 500 万例非传染性疾病(NCD)死亡与高体质量指数(BMI)相关,凸显了肥胖作为全球公共卫生挑战的严重性^[15]。研究表明,PMFs 通过多器官协同调控改善代谢紊乱^[4,16-18]:①调节肠道菌群平衡,增加 *Bacteroides* 等有益菌丰度;②抑制脂质合成关键基因(如 *SREBP-1c*),同时上调脂肪酸氧化相关基因(*PPAR α*);③降低高脂饮食大鼠体重,减少肝脏脂肪变性面积。其代谢调节作用与抑制 TLR4/NF- κ B 炎症通路密切相关。

1.4 PMFs 的抗动脉粥样硬化(AS)作用

AS 是一种慢性炎症性疾病,其特征为脂质和其他血液成分在动脉内膜堆积、平滑肌细胞增殖以及动脉壁硬化^[19]。泡沫细胞积累形成斑块是引发 AS 的关键因素,有研究团队利用网络药理学研究了川陈皮素与 AS 作用的相关靶点,发现其

与 PPARG、CD36 等核心靶点具有较强的结合亲和力, 又通过 RAW264.7 细胞和 AS 小鼠模型的体外实验验证了川陈皮素能够抑制 PPARG/CD36 通路, 减少巨噬细胞对脂质的摄取, 降低细胞内胆固醇和三酰甘油 (TG) 水平, 最终延缓泡沫细胞的形成, 具有良好的抗 AS 活性^[20]。此外, 血管炎症反应也会促使 AS 发生。一项关于肠道菌群失调与动脉粥样硬化性心血管疾病 (ACVD) 的研究指出, 肠道微生物代谢物质三甲胺 (TMA) 能够诱发血管炎症反应, 具有促进 AS 发生的作用^[21]。Cao 等^[22]使用胆碱氯化物 (SPC) 诱导的血管炎症大鼠模型在橘皮素的治疗下出现了内膜增厚减轻, 平滑肌细胞排列正常、增生减少, 其机制与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 炎症信号通路及胆碱转化成 TMA 相关, 据此可推测橘皮素能够抑制血管炎症反应, 从而表现出良好的抗 AS 活性。此外, 血小板聚集可引发血栓, 损伤血管内皮细胞, 进而加速 AS 的形成, 而川陈皮素具有显著的抗血小板活性, 其机制与 Akt 和 MAPKs 信号通路的激活密切相关^[23]。

1.5 PMFs 的抗糖尿病作用

糖尿病是一种全球性的慢性代谢性疾病, 影响约 4.22 亿人, 每年导致约 150 万人死亡^[24]。糖尿病的发生发展与胰岛素抵抗、葡萄糖代谢紊乱及慢性炎症等密切相关, 其机制主要是调节葡萄糖代谢相关信号通路、基因表达和细胞因子等。研究表明, 橘皮素可通过增强与糖酵解相关的酶 (如己糖激酶和丙酮酸激酶) 的活性, 激活 AMPK 信号通路, 促进葡萄糖代谢, 降低血糖、胰岛素和糖化血红蛋白水平^[25-26]。在降低血脂的研究中发现, 川陈皮素能够增加血浆脂联素水平, 通过调节脂肪组织的功能来改善胰岛素敏感性, 进一步帮助控制与糖尿病相关的代谢紊乱^[27]。除此之外, 川陈皮素还可降低糖尿病并发症的风险, 如降低视网膜-血脑屏障通透性和肾脏炎症, 防止糖尿病引起的器官损伤^[28]。此外, PMFs 还能够通过促进肝脏葡萄糖转运蛋白 GLUT2 和 CAT 的表达, 调节肠道微生物群, 抑制脂肪细胞分化, 增强胰岛素敏感性, 从而改善糖尿病症状^[29-30]。综上, 橘皮素和川陈皮素等天然化合物通过多重机制调节糖代谢, 表现出显著的抗糖尿病潜力, 能够有效改善糖尿病症状, 减少并发症风险, 具有较好的临床应用前景, 值得进一步研究与开发。

1.6 PMFs 的抗炎作用

炎症是机体对损伤、感染或刺激的保护性反应, 旨在修复组织并清除病原。然而, 过度或持续的炎症反应可能导致组织损伤及功能障碍。近年

来, PMFs 因其显著的抗炎作用备受学者关注, 其抗炎作用主要与抑制关键炎症因子的生成相关, 主要通过抑制一氧化氮 (NO) 以及促炎细胞因子 [如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-6 等] 的合成及一氧化氮合酶 (iNOS) 和 COX-2 的表达, 从而减少炎症因子的产生。例如, 川陈皮素能够在脂多糖 (LPS) 刺激下显著下调小鼠巨噬细胞 COX-2 基因表达, 表现出强烈的抗炎效果^[5]。此外, PMFs 还能通过抑制 NF- κ B、MAPK 和 Akt 等信号通路, 进一步减少炎症因子的释放, 展示了其多靶点调控的特性^[31]。除直接抑制炎症因子外, PMFs 还通过抗氧化作用增强抗炎活性。研究发现, PMFs 能诱导细胞内超氧化物歧化酶基因 (EC-SOD) 的表达, 从而减轻氧化应激对细胞的损伤, 降低炎症反应^[32]。综上所述, PMFs 凭借其多重作用机制, 在炎症性疾病防治中具有广阔的应用前景。未来研究可进一步探讨其与炎症信号通路和关键酶的相互作用, 并通过优化药物传输系统和剂型提升其生物利用度和临床效果, 为炎症性疾病的治疗提供新思路。

1.7 PMFs 的神经保护作用

随着老龄化人口的增加, 神经退行性疾病 [如阿尔茨海默病 (AD)、帕金森病 (PD)、亨廷顿舞蹈病等] 发病率逐渐上升, 其产生的不良社会影响正成为全球亟待解决的焦点问题^[33]。这些疾病的病理机制复杂, 涉及氧化应激、炎症反应、线粒体功能障碍及细胞凋亡等多重因素。PMFs 可通过抑制炎症反应来减轻神经毒性, 具有良好的神经保护作用。在 AD 模型研究中, Chai 等^[34]用川陈皮素处理 LPS 和尼日利亚素诱导的小胶质细胞 (Mgs) 及 APP/PS1 小鼠研究川陈皮素防治 AD 的潜力, 结果显示川陈皮素能够显著降低神经炎症因子, 提高小鼠记忆能力, 具有良好的神经保护活性。除川陈皮素外, 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮也可通过促进脑内脑源性神经营养因子 (BDNF) 的生成和抑制 Tau 蛋白 Ser396 处的磷酸化发挥保护神经的作用^[35]。此外, PMFs 还在抗氧化应激、调控细胞信号通路等方面显示出良好的神经保护活性。Matsuzaki 等^[36]研究表明橘皮素通过抑制由缺血再灌注引起的氧化应激和炎症反应, 激活 PKA/ERK/CREB 信号通路, 抑制神经细胞凋亡等机制发挥神经保护作用。总体而言, PMFs 通过多种机制发挥神经保护作用, 具有广阔的应用前景, 尤其在神经退行性疾病的预防和治疗中, 值得进一步研究和开发。

1.8 PMFs 治疗心血管疾病 (CVD) 的作用

CVD 是一类包括冠心病、脑血管疾病和外周

动脉疾病在内的病症，是全球范围内的主要致死原因。PMFs 通过多种机制对心血管系统发挥保护作用，包括抑制血管平滑肌细胞（VSMC）增殖和迁移、降低氧化应激及全身炎症、调节血小板功能等。VSMC 的异常增殖和迁移是 AS 和血管重塑的重要病理过程。研究显示，橘皮素可通过减少 ROS 的产生，抑制血小板衍生生长因子（PDGF）-BB 诱导的 ERK1/2 磷酸化及核 NF-κB p65 的表达，从而抑制 VSMC 的增殖和迁移^[37]。氧化应激和炎症是内皮功能障碍及动脉粥样硬化的重要诱因。随着年龄增长，炎症标志物如 IL-6、C 反应蛋白（CRP）和纤维蛋白原水平升高，显著增加了 CVD 风险^[38]。PMFs 以其显著的抗炎和抗氧化活性，通过降低氧化应激和促炎细胞因子水平，改善内皮功能，进而发挥心血管保护作用。AS 是 CVD 的核心病理基础，PMFs 可通过调控脂质代谢和抗炎途径，防止斑块形成和发展。一项研究发现，橘皮素可改善糖尿病模型大鼠的血脂谱和心肌抗氧化能力，同时降低炎症因子及心肌损伤标志酶水平^[39]。PMFs 还可能提高 cGMP 水平和血管扩张剂刺激蛋白的磷酸化，抑制血小板聚集和血小板源性生长因子释放，改善血小板功能，降低血栓风险^[40]。

1.9 PMFs 的其他作用

除上述抗氧化等作用外，PMFs 还表现出广泛

的药理活性，包括抗菌、调节生物节律和调节肠道菌群等，为疾病防治提供了新思路。在抗菌方面，据报道，5，7-二羟基-4'，6，8-三甲氧基黄酮和 5，6-二羟基-4'，7，8-三甲氧基黄酮对多种细菌菌株（如大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌）和真菌（如白念珠菌）均表现出抗菌活性，抗菌机制包括直接抑制代谢酶、降低细胞膜流动性、增强钾离子流失、增强抗菌药物敏感性以及改变代谢通路等^[39,41]。在调节生物节律方面，Wang 等^[42]通过小鼠肝脏体内实验证明以川陈皮素为代表的 PMFs 能够有效恢复 LPS 诱导的节律紊乱，并抑制 Nlrp3 炎性小体的相关基因表达，同时在体外实验（BV-2 细胞）中，PMFs 也展现出显著调节节律基因振荡的能力，具有明显的调节生物节律的活性。在调节肠道菌群方面，魏柯健等^[43]研究发现，PMFs 可以调节肠道菌群结构，增加有益菌（如杜波菌和厌氧菌）的丰度，抑制有害菌生长。除此之外，PMFs 可通过改变肠道菌群组成，影响肠道微生态，恢复微生物代谢的稳态来调节肠道菌群^[44-45]。未来研究可聚焦 PMFs 在具体疾病模型中的作用机制与安全性，同时优化其提取技术和临床应用形式，以进一步揭示其药理潜力。

综上所述，PMFs 的药理活性主要包括抗氧化、抗肿瘤、抗肥胖等，其作用机制涉及多条信号通路，见表 1。

表 1 PMFs 的主要药理活性及其机制
Tab 1 Main pharmacological activities of PMFs and related mechanisms

药理活性	化学成分	用药剂量	病理模型	作用机制	文献
抗氧化	川陈皮素	100 μmol · L ⁻¹	INS-1 细胞、3T3-L1 脂肪细胞、人视网膜色素上皮细胞	① 增强抗氧化酶活性；② 抑制 NF-κB 氧化应激相关通路；③ 增强抗 Bcl-2 活性，降低 Bax 的活性	^[7]
	柑橘皮提取物	400 mg · kg ⁻¹	大鼠 ABM 慢性毒性模型	① 清除 ROS 和活性氮（RNS），激活体内的抗氧化酶系统；② 抑制脂质过氧化反应，降低丙二醛（MDA）和氯铬酸吡啶（PCC）的水平	^[8]
	(2S)-5, 6, 7, 3', 4'-五甲氧基黄酮	0.39 ~ 100 μmol · L ⁻¹	Hepa 1c1c7 细胞；MDA-MB-231 细胞；Beas-2B 细胞	① 激活 Nrf2 及其下游基因 <i>NQO1</i> 和 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶（ γ -GCS）的表达；② 促进 Nrf2 转移到细胞核与 ARE 结合，激活下游基因的表达；③ 抑制 Nrf2 的泛素化；④ 抑制 ROS 产生；⑤ 增加谷胱甘肽（GSH）水平和 γ -GCS 表达	^[9]
抗肿瘤	川陈皮素、橘皮素、5-去甲川陈皮素	12.5 ~ 200 mg · L ⁻¹ ； 5、25、125 mg · L ⁻¹	AGS、BGC-823、SGC-7901 胃癌细胞系；小鼠肿瘤异种移植模型	① 上调 <i>RARβ</i> 基因表达，对 <i>RARα</i> 和 <i>RARγ</i> 基因表达没有显著影响；② 抑制 Caspase-3、Caspase-9、PARP1 蛋白的前体形式，并促进其切割产物的表达	^[12]
	川陈皮素、橘皮素	0.94 μmol · L ⁻¹ ，10 μg · mL ⁻¹	HCT8/T 细胞	① 下调 <i>P-gp</i> 和 <i>ABCB1</i> mRNA；② 降低 HCT8/T 细胞的细胞外酸化率（ECAR）和耗氧率（OCR），降低细胞内三磷酸腺苷（ATP）生成和最大呼吸水平，降低 HCT8/T 细胞的 ROS 含量；③ 下调自噬相关蛋白表达水平，减少自噬体的数量	^[14]
抗肥胖	川陈皮素、橘皮素	200 mg · kg ⁻¹ ；100 mg · kg ⁻¹	高脂饮食小鼠模型；链佐菌素诱发的糖尿病小鼠模型	① 减少炎症反应；② 调节免疫细胞和脂肪组织的代谢与免疫反应，抑制 TLR，激活 NF-κB、JNK 等信号通路	^[17]

续表 1

药理活性	化学成分	用药剂量	病理模型	作用机制	文献
抗 AS	3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-七甲氧基黄酮	0.02%、0.04%、0.08% (w/w)	高脂饮食喂养的 Sprague-Dawley 大鼠模型	① 降低血清总胆固醇、TG 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 水平, 抑制脂肪积累; ② 提高代谢率和促进脂肪代谢	[4]
	川陈皮素	5 ~ 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	RAW264.7 细胞; AS 小鼠模型	① 抑制巨噬细胞脂质摄取; ② 抑制氧化型低密度脂蛋白 (OxLDL) 诱导的炎症因子释放, 减少动脉内的炎症反应; ③ 抑制脂质积聚与动脉斑块形成	[20]
	橘皮素	200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	SPC 诱导的 AS 大鼠模型	① 抑制 SPC 诱导的炎症反应, 减少炎症因子的含量; ② 抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路; ③ 提高 SOD 和 CAT 抗氧化酶的活性, 减少 MDA 的水平; ④ 增加有益菌 (如 <i>Lactobacillus</i>) 的数量, 减少有害菌 (如 <i>Enterococcus</i>) 的数量, 进而减少胆碱转化为 TMA; ⑤ 抑制胆碱转化为 TMA	[21]
抗糖尿病	橘皮素	0 ~ 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	hSGLT1 细胞系; ICR 小鼠糖尿病模型	① 通过 SGLT1 抑制葡萄糖摄取; ② 抗氧化作用; ③ 直接降低血糖水平; ④ 抑制炎症因子的释放, 减少血管内的炎症反应	[25]
	川陈皮素	10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	高糖高脂饮食联合链脲佐菌素诱导的小鼠糖尿病模型	① 调节胰岛素的敏感性, 降低胰岛素抵抗水平; ② 抑制炎症因子, 减轻慢性炎症反应; ③ 降低血脂水平, 减轻脂质代谢紊乱; ④ 增强抗氧化酶活性, 降低氧化应激反应	[26]
	橙皮多甲氧基黄酮 (OG-PMFs)	7.5、0.61 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 1.22 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	15、C57BL/6J 小鼠和 KK/Upj-Ay 糖尿病小鼠模型	① 改善胰岛素的敏感性; ② 促进糖酵解、葡萄糖转运或通过其他机制提高细胞对葡萄糖的吸收和利用; ③ 减少炎症反应, 抑制炎症因子的表达; ④ 减轻脂肪积累或促进脂肪酸的氧化, 减少脂肪对胰岛素作用的抑制; ⑤ 调节肠道微生物的组成	[29]
神经保护	5, 7, 4'-三羟基-6, 8, 3'-三甲氧基黄酮	5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	高脂饮食诱导的小鼠肥胖模型	① 降低体重, 增加、体脂肪细胞大小、TG 和游离脂肪酸 (FFA) 浓度; ② 增强胰岛素抵抗、能量消耗、基础 ATP 含量和 β -氧化; ③ 增加 PPAR- γ 的表达	[30]
	川陈皮素	5、10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 25、50、75 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	MGs; APP/PS1 小鼠	① 降低炎症细胞因子表达和释放, 减少炎症反应; ② 抑制焦亡相关蛋白和 HMGB-1 的表达; ③ 改善空间学习和记忆能力; ④ 抑制 MG 的激活	[34]
	橘皮素	20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 5、10、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	帕金森病 (PD) 模型; 大鼠脑缺血再灌注损伤模型	① 抑制梗死体积、脑水肿、脑水分含量; ② 下调多种炎症介质和氧化应激标志物; ③ 激活 PI3K/Akt 通路和调节基质金属蛋白酶	[36]
治疗 CVD	橘皮素	1、5、10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	猪冠状动脉平滑肌、人冠状动脉平滑肌细胞	① 抑制 Fyn 的转位和激活; ② 抑制 ROK 的转位和激活; ③ 抑制 MLC 磷酸化	[37]
	无水橘皮油 (OPO)	5、10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	N ω -硝基-L-精氨酸诱导的高血压大鼠模型	① 血压调节; ② 提高 NO 水平发挥降压作用; ③ 调节 ET-1、VEGF 和 E-selectin 表达; ④ 增加 iNOS 表达	[36]
	5-羟基-3, 6, 7, 8, 3', 4'-六甲氧基黄酮、川陈皮素、橘皮素	62.5、125 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 0.5%、0.3%	高血糖饮食诱导的肥胖小鼠模型; APC ^{Min/+} 小鼠模型; 高血压大鼠模型	① 抑制 PDGF 和血管紧张素 II; ② 抑制 ROS 的生成, 提高抗氧化酶的活性; ③ 降低 OxLDL 的摄取; ④ 降低 TG、低密度脂蛋白 (LDL)、极低密度脂蛋白 (VLDL); ⑤ 调节与炎症相关的信号通路, 抑制促炎细胞因子	[38]
抗菌	5, 7-二羟基-4', 6, 8-三甲氧基黄酮和 5, 6-二羟基-4', 7, 8-三甲氧基黄酮	30、100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	白念珠菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、茄科链格孢菌和鼠伤寒沙门氏菌	① 直接抑制代谢; ② 降低细胞膜流动性增强钾离子流失; ③ 增强抗菌药物敏感性, 改变代谢通路	[36,41]
调节生物节律	不同种类和品种的柑橘果皮提取物 川陈皮素	25、50、400 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 200 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	BV-2 小胶质细胞	① 调节细胞中昼夜节律基因 (如 <i>Per2</i> 、 <i>Clock</i> 、 <i>Bmal1</i> 、 <i>Per1</i> 等) 的表达; ② 抑制 LPS 导致的 <i>Circadian rhythm</i> 基因表达紊乱	[42]
调节肠道菌群	PMFs	62.5、125 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 10、25、50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	高脂饮食诱导的大鼠肥胖模型; 高脂饮食诱导的 AS 模型	① 增加肠道菌群的多样性和均匀性; ② 改变特定肠道细菌属的丰度; ③ 改善肠道微生物的群落结构、增强有益菌群的比例, 抑制有害菌的生长	[44-45]

2 讨论

PMFs 作为一类重要的植物化学物质, 近年来因其广泛的生物活性而备受关注。然而, 目前 PMFs 的研究仍存在以下不足: 第一, PMFs 的代谢途径及其与肠道微生物群的相互作用机制尚未完全阐明, 这限制了对其在体内作用机制的全面理解; 第二, 关于柑橘皮中 PMFs 的研究主要集中于川陈皮素和橘皮素, 其他 PMFs 的研究较为有限, 且不同 PMFs 之间的相互作用尚未得到充分探索, 这限制了对柑橘皮中 PMFs 整体药理作用及其协同效应的深入理解; 第三, PMFs 的临床研究数据较为匮乏, 其剂量-效应关系、长期使用的安全性及有效性仍需通过系统的临床试验加以验证。基于以上问题, 未来研究应重点关注以下方向: ① 深入解析 PMFs 的代谢与肠道菌群互作机制: 运用代谢组学、宏基因组学及单细胞测序技术, 系统研究 PMFs 在体内的代谢途径, 特别是其与肠道菌群的相互作用; 探索 PMFs 如何通过调控特定菌群影响宿主代谢和免疫, 以优化其生物利用度。② 加强 PMFs 复方制剂及协同效应研究: 除川陈皮素和橘皮素外, 应拓展其他 PMFs 的研究, 并探索不同 PMFs 间的协同作用, 研究 PMFs 与其他植物化学物质的联用效果。③ 优化递送系统与结构修饰: 开发纳米制剂 (如 PLGA 纳米粒、脂质体)、微胶囊化等技术, 改善 PMFs 的水溶性和稳定性; 采用结构修饰策略 (如磺酸化、糖基化) 或前药设计, 减少首过效应, 提高靶向递送效率。④ 推进临床转化研究, 建立精准干预策略: 开展多中心、大样本随机对照试验 (RCT), 评估 PMFs 在代谢性疾病、神经退行性疾病及癌症防治中的安全性和有效性, 并结合个体化医疗 (如基于肠道菌群和宿主基因型), 开发 PMFs 精准营养干预方案。

3 结语

PMFs 作为天然来源的多靶点活性成分, 在慢性病防治中具有广阔前景。未来研究应整合多组学技术、优化递送系统和临床转化策略, 以突破现有瓶颈, 推动 PMFs 从实验室研究走向临床应用, 为功能食品和药物开发提供新思路。

参考文献

- [1] 李烨, 张峻. 地中海饮食对常见慢性病的饮食护理应用 [J]. 护理学, 2024, 13 (11): 1569-1575.
- [2] 朱珍珠, 姚明江, 廖柳月, 等. 植物化学物质抗衰老活性研究进展 [J]. 食品科学, 2024, 45 (17): 156-166.
- [3] 李时珍. 本草纲目 (校注本) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 卷 23.
- [4] Feng KL, Zhu XA, Chen T, et al. Prevention of obesity and hyperlipidemia by heptamethoxyflavone in high-fat diet-induced rats [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67 (9): 2476-2489.
- [5] Rong X, Xu J, Jiang Y, et al. Citrus peel flavonoid nobiletin alleviates lipopolysaccharide-induced inflammation by activating IL-6/STAT3/FOXO3a-mediated autophagy [J]. Food Funct, 2021, 12 (3): 1305-1317.
- [6] Liu N, Yang WN, Li X, et al. Comparison of characterization and antioxidant activity of different citrus peel pectins [J]. Food Chem, 2022, 386: 132683.
- [7] Nonglang FP, Roy D, Newar D, et al. Tangeretin-a special polymethoxyflavones: an insight into its pharmacological and therapeutic effects on diabetes [J]. GSC Biol Pharm Sci, 2023, 23 (1): 127-136.
- [8] Rahib A, Karhib MM, Nasr HM, et al. Citrus reticulata peel extract mitigates oxidative stress and liver injury induced by abamectin in rats [J]. Tissue Cell, 2024, 87: 102321.
- [9] Zhou MX, Li GH, Wu XY, et al. (2S)-5, 6, 7, 3', 4'-pentamethoxyflavanone, a citrus polymethoxyflavone ameliorates arsenic-and cigarette smoke extract-induced cytotoxicity via activating Nrf2-mediated defense system [J]. J Funct Foods, 2019, 54: 337-347.
- [10] Zhang ML, Yang Q, Li XP, et al. Nobiletin inhibits hypoxia-induced placental redox imbalance and subsequent offspring brain damage by regulating the one-carbon metabolism [J]. J Funct Foods, 2023, 110: 105870.
- [11] Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent [J]. Molecules, 2020, 25 (22): 5243.
- [12] Wang Y, Chen YY, Zhang H, et al. Polymethoxyflavones from citrus inhibited gastric cancer cell proliferation through inducing apoptosis by upregulating RAR β , both in vitro and in vivo [J]. Food Chem Toxicol, 2020, 146: 111811.
- [13] Benoit L, Jornod F, Zgheib E, et al. Adverse outcome pathway from activation of the AhR to breast cancer-related death [J]. Environ Int, 2022, 165: 107323.
- [14] Yin YQ, Wu Y, Huang HL, et al. The superiority of PMFs on reversing drug resistance of colon cancer and the effect on aerobic glycolysis-ROS-autophagy signaling axis [J]. Oncol Res, 2024, 32 (12): 1891-1902.
- [15] World Health Organization. Obesity [EB/OL]. World Health Organization. https://www.who.int/health-topics/obesity#tab=tab_1, (2020-02-21) [2024-12-25].
- [16] Zeng SL, Li SZ, Xiao PT, et al. Citrus polymethoxyflavones attenuate metabolic syndrome by regulating gut microbiome and amino acid metabolism [J]. Sci Adv, 2020, 6 (1): eaax6208.
- [17] Zhang M, Zhu SY, Ho CT, et al. Citrus polymethoxyflavones as regulators of metabolic homeostasis: recent advances for possible mechanisms [J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 110: 743-753.
- [18] Du YZ, Su J, Yan MQ, et al. Polymethoxyflavones in citrus extract has a beneficial effect on hypercholesterolemia rats by promoting liver cholesterol metabolism [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 322: 117644.
- [19] Li B, Ji YM, Yi CL, et al. Rutin inhibits Ox-LDL-Mediated macrophage inflammation and foam cell formation by

- inducing autophagy and modulating PI3K/ATK signaling [J]. *Molecules*, 2022, 27 (13): 4201.
- [20] Wang H, Tian QQ, Zhang RJ, et al. Nobiletin alleviates atherosclerosis by inhibiting lipid uptake via the PPARG/CD36 pathway [J]. *Lipids Health Dis*, 2024, 23 (1): 76.
- [21] Yoo JY, Sniffen S, McGill Percy KC, et al. Gut dysbiosis and immune system in atherosclerotic cardiovascular disease (ACVD) [J]. *Microorganisms*, 2022, 10 (1): 108.
- [22] Cao Y, Leng CL, Lin K, et al. Tangeretin mitigates trimethylamine oxide induced arterial inflammation by disrupting choline-trimethylamine conversion through specific manipulation of intestinal microflora [J]. *Molecules*, 2024, 29 (6): 1323.
- [23] Shpakova V, Avdeeva AV, Al-Arawe N, et al. Antiplatelet effect of nobiletin is mediated by activation of A2A adenosine receptor [J]. *Biochem (Mosc) Suppl Ser A Membr Cell Biol*, 2021, 15: 387-394.
- [24] World Health Organization. Diabetes [EB/OL]. World Health Organization, https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1, (2019-05-13) [2024-12-25].
- [25] Satsu H, Shibata R, Suzuki H, et al. Inhibitory effect of tangeretin and cardamonin on human intestinal SGLT1 activity in vitro and blood glucose levels in mice in vivo [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (10): 3382.
- [26] Wang JQ, Zhang RB, Hu JN, et al. Tangeretin, an active flavonoid in citrus peel, alleviates cisplatin-induced cardiotoxicity via the activation of AMPK and the prevention on mitochondrial dysfunction [J]. *J Funct Foods*, 2024, 120: 106364.
- [27] Kim YJ, Yoon DS, Jung UJ. Efficacy of nobiletin in improving hypercholesterolemia and nonalcoholic fatty liver disease in high-cholesterol diet-fed mice [J]. *Nutr Res Pract*, 2021, 15 (4): 431-443.
- [28] Uslu GA. Protective efficacy of Nobiletin and physiological pathways it uses [A]// Evereklioglu C, ed. *Research & reviews in health sciences-II* [M]. Ankara: Gece Publishing, 2021: 107-123.
- [29] Chen JB, Liu Y, Wang HX, et al. Polymethoxyflavone-enriched fraction from Ougan (*Citrus reticulata* cv. Suavissima) attenuated diabetes and modulated gut microbiota in diabetic KK-Ay mice [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71 (18): 6944-6955.
- [30] Vajdi M, Farhangi MA. Citrus peel derived poly-methoxylated flavones (PMF) [J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2022, 93 (3): 252-267.
- [31] Hosokawa Y, Hosokawa I, Ozaki K, et al. Nobiletin inhibits inflammatory reaction in interleukin-1 β -stimulated human periodontal ligament cells [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13 (5): 667.
- [32] Li GJ, Tan F, Zhang QL, et al. Protective effects of polymethoxyflavone-rich cold-pressed orange peel oil against ultraviolet B-induced photoaging on mouse skin [J]. *J Funct Foods*, 2020, 67: 103834.
- [33] World Health Organization. WHO Global Status Report on Alcohol and Health 2018 [EB/OL]. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240033245> (2017-07-14) [2024-12-25].
- [34] Chai W, Zhang J, Xiang ZB, et al. Potential of nobiletin against Alzheimer's disease through inhibiting neuroinflammation [J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37 (4): 1145-1154.
- [35] Omasa T, Sawamoto A, Nakajima M, et al. Anti-inflammatory and neurotrophic factor production effects of 3, 5, 6, 7, 8, 3', 4'-heptamethoxyflavone in the hippocampus of lipopolysaccharide-induced inflammation model mice [J]. *Molecules*, 2024, 29 (23): 5559.
- [36] Matsuzaki K, Ohizumi Y. Beneficial effects of citrus-derived polymethoxylated flavones for central nervous system disorders [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (1): 145.
- [37] Li N, Zhang Y, Morita T, et al. Inhibitory mechanism of tangeretin, a citrus flavone on the sphingosylphosphorylcholine (SPC)-induced vascular smooth muscle contraction [J]. *J Pharmacol Sci*, 2022, 149 (4): 189-197.
- [38] Teissier T, Boulanger E, Cox LS. Interconnections between inflammageing and immunosenescence during ageing [J]. *Cells*, 2022, 11 (3): 359.
- [39] Mushtaq Z, Aslam M, Imran M, et al. Polymethoxyflavones: an updated review on pharmacological properties and underlying molecular mechanisms [J]. *Int J Food Prop*, 2023, 26 (1): 866-893.
- [40] Toledo R, Tomas-navarro M, Yuste JE, et al. An update on citrus polymethoxyflavones: chemistry, metabolic fate, and relevant bioactivities [J]. *Eur Food Res Technol*, 2024, 250: 2179-2192.
- [41] Chagas MDSS, Behrens MD, Moragas-Tellis CJ, et al. Flavonols and flavones as potential anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial compounds [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022 (1): 9966750.
- [42] Wang Y, Song B, Chen JB, et al. Polymethoxyflavones in citrus regulate lipopolysaccharide-induced oscillating decay of circadian rhythm genes by inhibiting Nlrp3 expression [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021 (1): 8419415.
- [43] 魏柯健, 潘斌辉, 杜宇忠, 等. 多甲氧基黄酮对高脂饮食诱导肥胖大鼠糖脂代谢的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49 (12): 3270-3279.
- [44] 曹志, 刘猛, 高炳宏. 柑橘多甲氧基黄酮对促进肠-肺轴调节潜在效益的研究进展 [A]// 第十三届全国体育科学大会论文摘要集——专题报告(运动营养分会) [C]. 中国体育科学学会, 2023.
- [45] Zhang MT, Jiang H, Ou SB, et al. Dietary sinensetin and polymethoxyflavonoids: bioavailability and potential metabolic syndrome-related bioactivity [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2024, 64 (27): 9992-10008.

(收稿日期: 2024-12-18; 修回日期: 2025-03-15)

中药调控 MAPK 信号通路治疗特应性皮炎的研究进展

董宵汗¹, 张译丹¹, 安月鹏², 杨素清^{2*} (1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院皮肤科, 哈尔滨 150040)

摘要: 特应性皮炎 (atopic dermatitis, AD) 是常见的慢性复发性皮肤病, 是临床亟待解决的疑难皮肤病。目前中药调控 MAPK 信号通路治疗 AD 的研究日益丰富, 针对其作用机制、相关靶点的研究逐渐完善, 对提高 AD 治疗的有效性、可靠性具有重要意义, 中药有效成分黄酮类、萜类、酚类等有机化合物及中药复方通过干预 MAPK 信号通路的激活与下游靶基因的转录来抑制局部炎症反应、免疫损伤、真皮血管增生, 从而治疗 AD。本文综述近年来中药调控 MAPK 信号通路治疗 AD 的研究进展, 重点介绍中药单体与中药复方对 MAPK 信号通路的抑制作用与相关机制, 并探讨中药在治疗 AD 中的临床应用及前景, 以为中药调控 MAPK 信号通路治疗 AD 的深入研究和应用开发提供新的思路和方法。

关键词: 中药; 特应性皮炎; MAPK 信号通路; 作用机制

中图分类号: R275.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2983-07

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.029

Progress in Chinese medicine regulating MAPK signaling pathway for atopic dermatitis

DONG Xiao-han¹, ZHANG Yi-dan¹, AN Yue-peng², YANG Su-qing^{2*} (1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040; 2. Department of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040)

Abstract: Atopic dermatitis (AD) is a common chronic recurrent dermatosis and a difficult one. At present, more and more research on the modulation of the MAPK signaling pathway by traditional Chinese medicine for AD, its mechanism of action and related targets, which is important to improve the effectiveness and reliability of AD treatment. The active ingredients of traditional Chinese medicine, such as flavonoids, terpenoids, phenols, and other organic compounds, as well as traditional Chinese medicine prescriptions, are used to inhibit local inflammation, immune damage, and dermal vascular proliferation by interfering with the activation of the MAPK signaling pathway and the transcription of the target genes downstream. This article summarized the research progress in Chinese medicine regulating MAPK signaling pathway for AD in recent years, focused on the inhibition of Chinese medicine monomers and compounds on MAPK signaling pathway and the related mechanism, and discussed the clinical application and prospect of Chinese medicine for AD, to provide new ideas for the in-depth research and development of Chinese medicine regulating MAPK signaling pathway for AD.

Key words: traditional Chinese medicine; atopic dermatitis; MAPK signaling pathway; mechanism of action

特应性皮炎 (AD) 又称异位性皮炎, 以慢性反复性发作的渗出性皮损伴随剧烈瘙痒为特征, 常与哮喘、过敏性鼻炎等疾病并见, 是皮肤科常见的复发性炎症性自身免疫性疾病。近年来, 我

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No.81904201, No.81973846); 黑龙江省自然科学基金项目 (No.LH2019H108)。

作者简介: 董宵汗, 男, 在读硕士研究生, 主要从事中医药防治疑难性皮肤病研究, email: 798438806@qq.com *通信作者: 杨素清, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中医药治疗疑难性皮肤病研究, email: ysq_6410@163.com

国 AD 患者数量明显上升, Guo 等^[1]通过问卷结合体格检查的方式调查了 12 座城市 1~7 岁儿童, 发现 AD 的患病率高达 12.94%。Mao 等^[2]通过在全国 31 个省份抽样调查, 发现我国成人 AD 的患病率为 2.42%, 其中男性为 2.39%, 女性为 2.46%。由于 AD 发作时瘙痒剧烈, 难以缓解, 对患者的工作与生活产生较大的困扰, 此外其搔抓而增厚的皮损破坏了原有皮肤, 给患者造成了严重的心理压力, 而过度的压力又会导致本病的进一步加重, 陷入恶性循环^[3]。AD 病因复杂, 涉及易感基因遗传、免疫调节异常、外界环境刺激、皮肤屏障受损等多方面。在治疗方面, 西医治疗首选生物制剂 (如度普利尤单抗、奈莫利珠单抗等), 外用药物以糖皮质激素为一线用药、钙调磷酸酶抑制剂为辅, 口服药物以抗组胺药、免疫抑制剂为主。但长期应用西药治疗还存在价格高昂、疗效减弱、停药易复发等问题。中医药治疗 AD 具有个体化、多靶点、多通路、复发率低、不良反应轻微的优势^[4]。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 是一种能被不同的细胞外刺激, 如细胞因子、神经递质、激素、细胞应激及细胞黏附等激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 是介导炎症性皮肤病的关键^[5]。研究表明, 在 AD 皮肤活检样本中 MAPK 相关蛋白呈高水平表达, MAPK 信号通路激活可诱导 AD 炎症反应的发生与免疫异常, 在 AD 发病中起重要作用^[6]。因此, 本文综述 MAPK 信号通路治疗 AD 的具体作用机制及中药干预 MAPK 信号通路的作用靶点, 以期为临床用药及相关研究提供参考。

1 MAPK 信号通路简介

MAPK 信号通路是典型的三级激酶级联通路, 将细胞外信号通过 MAPK 激酶激酶 (MAPKKK)、MAPK 激酶 (MAPKK)、MAPK 三级激酶依次传递至细胞内, 从而调节细胞生长、分化、凋亡等生命进程。按激酶种类可将 MAPK 信号通路分为四条亚通路: 胞外信号调节激酶 1/2 (ERK) 通路、c-Jun 氨基末端蛋白激酶 (JNK) 通路、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38/MAPK) 通路和 ERK5/MAPK 通路。MAPK 通路的激活可由表皮生长因子 (EGF)、转化生长因子- β (TGF- β)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素- γ (IFN- γ) 等触发, 导致包括表皮生长因子受体 (EGFR) 与受体酪氨酸激酶 (RTKs)、大鼠肉瘤蛋白 (RAS) 自磷酸化, 使下游有丝分裂原活化蛋白激酶 (MEKK)、Raf 蛋白激酶、ERK 等激酶逐级磷酸化, 并转移至细胞核内与 c-myc、c-fos、

c-Jun、FoxO1、ek1 形成转录复合物, 进而调控基因转录。AD 患者真皮 MAPK 信号通路通常处于高度开启状态, 导致巨噬细胞、淋巴细胞、辅助型 T 细胞 (Th2) 高度浸润, 从而导致炎症反应与免疫损伤^[7]。MAPK 信号通路见图 1。

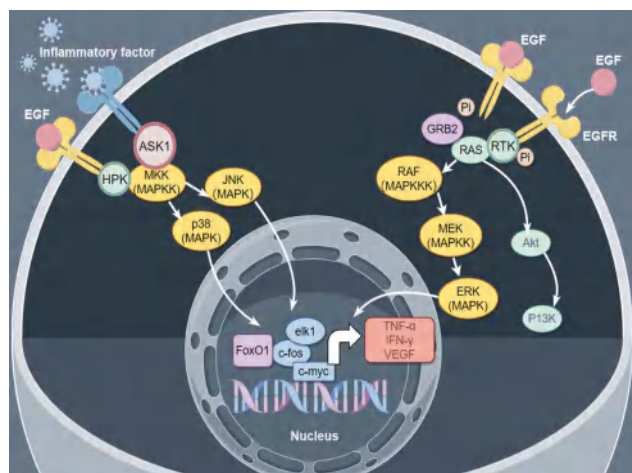


图 1 MAPK 信号通路图 (由 Figdraw 绘制)

Fig 1 MAPK signaling pathway (drawn by Figdraw)

注 (Note): ASK1. 凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal-regulating kinase 1); HPK. 组氨酸激酶 (histidine protein kinases); P13K. 磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase); Akt. 蛋白激酶 B (protein kinase B); RTK. 受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase); GRB2. 衔接蛋白 (growth factor receptor-bound protein 2); Pi. 磷酸 (phosphoric acid)。

2 MAPK 信号通路在 AD 病理机制中的作用

2.1 炎症反应

炎症反应是 AD 的典型特征, 皮损处初始的炎症微环境由自然杀伤细胞定向聚集并分泌 TNF- α 等炎症细胞因子产生^[8]。FoxO1 是 ERK1/2/MAPK 通路的靶基因, 其介导的基因转录通路是炎症反应诱导的皮肤中蛋白质分解代谢的关键触发因素^[9]。当细胞接受外界刺激后, ERK1/2/MAPK 通路开启逐级磷酸化, 并提高 FoxO1 的转录, 进而与 IL-1 β 启动子相结合, 促进 IL-1 β 产生, 进一步加重 AD 的炎症反应。同时激活的 ERK1/2/MAPK 通路可增加核因子 (NF- κ B) 的表达水平, 诱导巨噬细胞合成 IL-1 β mRNA、IL-1, 并释放入血, 提高血液炎症细胞因子的水平^[10]。因此, 调控 MAPK 信号通路可影响炎症反应, 为未来 AD 的治疗提供新方向。

2.2 Th2 细胞介导的免疫异常

Th2 细胞与免疫球蛋白 E (IgE) 在 AD 皮损中显著增高是 AD 的典型特征, 其原因是 p38/MAPK 通路开启后下游胸腺基质淋巴细胞生成素 (TSLP) 的水平升高, 进而诱导 T 细胞发育与分化, 并促进抗原提呈细胞、B 细胞活化, 加速 IgE 释放入血, 触发肥大细胞脱颗粒产生炎症因子与趋化因子

(CCL2)^[11]。此外,在 AD 慢性期 TSLP 可以诱导 Th1 细胞分泌 IFN- γ 定向激活巨噬细胞 p38/MAPK 通路,上调 TSLP 表达并与 NLRP3 炎症小体结合共同促进树突状细胞成熟,引发 CD4⁺T 细胞产生促敏因子。由此可见,干预 p38/MAPK 通路可纠正 Th2 细胞介导的免疫异常^[12]。

2.3 真皮血管增生

真皮血管增生是 AD 皮损形成、加重的重要因素,其暗红色背景、点状与球状血管的灶性改变是 AD 的典型皮肤镜特征,病理上可见皮肤棘层不规则肥厚、真皮浅层血管增生伴周围淋巴、组织浸润^[13]。研究指出,在 IL-36 α 、IL-36 β 和 IL-36 γ 诱导的人类永生化表皮细胞 (HaCaT) 实验中, p38/MAPK、ERK1/2/MAPK、NF- κ B 通路相关蛋白均有上调,血管内皮生长因子 (VEGF) 水平显著增高^[14], VEGF 是 MAPK 信号通路下游关键的靶基因,其过度表达可加速真皮血管过度增生并提高血管通透性,促进 Th2 细胞、巨噬细胞等免疫细胞向真皮浸润的速度,过多的 Th2 细胞又会促进 MAPK 通路的开启,进一步增加 VEGF 的表达,形成恶性循环,加重炎症反应与免疫失调,并诱发 AD 皮损的产生,提示 MAPK 通路导致的真皮血管增生在 AD 的发生发展中具有重要作用。

3 中药干预 MAPK 信号通路治疗 AD

3.1 中药单体有效成分干预 MAPK 信号通路治疗 AD

3.1.1 酮类 姜黄素是一种广泛存在于中药姜黄中的天然二酮类化合物,具有抗炎、抗肿瘤的药理作用。王延洁^[15]通过研究发现姜黄素可通过抑制 JNK/p38/MAPK 信号通路,减少局部炎性细胞浸润,避免皮损过度增厚并降低血清 IgE 水平,从而阻断免疫反应过度激活,达到治疗 AD 的作用。从中药山柰中提取的黄酮类化合物山柰酚,具有较强的抗菌、抗炎活性:一方面,山柰酚可通过下调转录激活因子 (STAT3) /MAPK/NF- κ B 信号通路抑制真皮炎症微环境形成,避免 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子过度产生,减轻局部炎症^[16];另一方面,通过减少 p-p38 MAPK/p38 MAPK、STAT3 蛋白的产生,避免下游 T 细胞聚集,协调 Th1/Th2 平衡,缓解病理损伤,恢复皮肤屏障功能。根皮素是一种类黄酮化合物,广泛存在于苹果、湖北海棠等植物的果皮与根皮中,具有抗氧化、抗炎和免疫抑制等生物活性。Wu 等^[17]采用 2, 4-二硝基氯苯 (DNFB) 处理 8 周龄的雄性 BALB/C 小鼠,并分别使用根皮素 50、100 mg $\cdot$ kg⁻¹ 对小鼠灌胃连续 27 d,结果发现根皮素通过抑制 p38/MAPK/ASK1 通路降低皮

损处 TSLP、IFN- γ 等的表达,避免 CD4⁺T 细胞的聚集,减轻炎症细胞浸润,从而避免真皮增厚;根皮素还可通过下调血清中 IL-6、IL-4、IL-17A 的数量,阻止脾脏内 T 细胞的活化,发挥抗炎作用,进而改善 AD 皮损。黄芩苷是一种天然黄酮类化合物,来源于中药黄芩,具有护肝、抗肿瘤的药理作用。Sur 等^[18]研究发现,连续 7 d 使用黄芩苷 10、50、100 mg $\cdot$ kg⁻¹ 处理偏苯三酸酐刺激的小鼠耳部 AD 模型,结果发现双耳淋巴结重量、耳朵厚度、皮肤评分均显著降低,抓挠行为明显减少,并且血清 IgE、IL-4 和 MAPK 磷酸化水平出现下调,提示黄芩苷通过干预 MAPK/IL 通路,抑制炎症反应。牡丹皮具有清热凉血、活血消瘀的功效,其主要成分槲皮素在抗氧化、抗血小板聚集等方面有较强的作用。Beken 等^[19]使用 IL-4、IL-13 和 TNF- α 处理永生化人角质形成细胞,建立 AD 细胞模型,并使用 1.5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 槲皮素进行干预,结果显示 IL-1 β 、IL-6、IL-8 与 TSLP 的表达降低,同时超氧化物歧化酶 -1 (SOD1)、谷胱甘肽过氧化物酶的表达增加,基质金属蛋白酶 (MMP) 1 (MMP1)、MMP2 和 MMP9 的表达下降,提示槲皮素通过抑制 ERK/MAPK/SOD 通路,诱导上皮-间质转化,促进皮损愈合,从而治疗 AD。芹菜素是一种从中药紫苏中提取的类黄酮化合物,具有抗病毒、抗氧化应激的药理作用。体内外研究发现,不同浓度芹菜素可以分别抑制 AD 的数个病理生理过程,100 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 芹菜素可显著抑制一氧化氮 (NO) 的产生,下调 IL-1 β 、IL-6、环氧合酶 (COX) 和诱导型一氧化氮合酶 (iNOS),并减少 RAW264.7 细胞中 ERK 和 c-Jun 的表达,抑制 MAPK/ERK/JNK 通路,减轻炎症反应;30 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 芹菜素可抑制信号分子磷脂酶 C γ 1、ERK、JNK 的磷酸化以及高亲和力 IgE 受体,抑制 RBL-2H3 细胞诱导过敏反应,阻断免疫活化进程,改善 AD 皮损;20 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 芹菜素可上调 HaCaT 细胞中聚丝蛋白、兜甲蛋白、水通道蛋白 -3、透明质酸合酶 (HAS) 的表达,修护皮肤物理屏障^[20]。

3.1.2 萜类 积雪草酸是一种天然存在于中药积雪草中的五环三萜类化合物,具有抗炎、抗紫外线的药理作用。Moon 等^[21]采用 IFN- γ 联合 TNF- α 处理 HaCaT 细胞建立细胞模型, DNFB 处理小鼠建立 AD 动物模型,并分别使用积雪草酸 30、75 mg/(kg $\cdot$ d) 进行灌胃给药,结果发现积雪草酸下调了 T 细胞相关炎症因子的 mRNA 表达水平 (如 TNF- α 、IL-1 β 等),其他细胞因子趋化因子 CXCL9 表达同样出现下调,提示积雪草酸通过抑制 MAPK 途径介

导下游 IL 信号, 避免 Th1、Th2 细胞活化与聚集, 产生抗 AD 作用。Lu 等^[22]采用脂多糖 (LPS) 诱导 RAW264.7 细胞建立 AD 模型, 结果发现, 使用来源于中药木香的倍半萜内酯类化合物木香烃内酯干预可抑制 p38、p65 核糖体激酶的活性, 下调 Th2 细胞相关信号因子 IL-6、IL-7 的表达, 提示木香烃内酯可通过抑制 MAPK 通路控制炎症进程, 改善皮肤损伤症状。千日菊素是从中药菊花中提取的二萜类化合物, 具有抗氧化、抗炎、抗菌等多种药理作用。有研究指出, 在 DNCB 诱导的 AD 小鼠皮损中, 肥大细胞和嗜酸性粒细胞相关因子 IgE、免疫球蛋白 G (IgG) 水平明显升高, 促炎症因子 COX-2、iNOS 大量累积, 经千日菊素干预后, 该情况得到逆转, 提示千日菊素可阻断 MAPK 信号通路介导的下游免疫激活, 抑制肥大细胞和嗜酸性粒细胞向 AD 样病变皮肤的浸润, 并减少表皮厚度和胶原蛋白积累, 对皮肤炎症起抑制作用^[23]。此外, α -红没药醇是一种倍半萜类化合物, 来源于中药菊花, 具有抗过敏、抗紫外线等药理作用。Li 等^[24]采用 DNCB 刺激 BALB/c 小鼠建立 AD 模型, 并使用 α -红没药醇 200、400 mg $\cdot$ kg⁻¹ 进行干预, 组织病理学检查显示, 表皮厚度降低且 AD 皮损中肥大细胞浸润情况明显改善。同时, 皮损中 IL-4 含量降低且未检出 IgE, 提示 α -红没药醇可抑制 IgE 介导的免疫反应, 进而调控下游 β -己糖胺酶、TNF- α 的水平, 通过阻断 NF- κ B/MAPK/c-Jun 通路抑制下游 p38、ERK1/2 与 JNK 表达, 抑制肥大细胞介导的被动皮肤过敏反应, 从而抑制 AD 进展。

3.1.3 酚类 百里香酚是从中药百里香中提取出来的单萜酚类化合物, 具有较强的抗真菌、抗炎作用。王华^[25]采用 LPS 刺激巨噬细胞建立体外 AD 炎症模型, 结果发现百里香酚通过抑制 MAPK 信号通路中 p38 与 ERK 的表达, 降低下游的炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 mRNA 水平。此外, 在半抗原方正酸二丁酯刺激 6 周龄 C57BL/6J 雄性小鼠建立的 AD 体外模型中, 给予皮下注射百里香酚 50、100、150 mg $\cdot$ kg⁻¹, 随着药物剂量的增加, 小鼠的自发性抓挠次数显著降低, 真皮组织中 TNF- α 、IL-1 β 及 IFN- γ 的含量和 mRNA 表达水平均出现不同程度的降低, 提示百里香酚能够显著缓解小鼠皮肤屏障受损症状与瘙痒程度, 并阻止肥大细胞向真皮层的浸润, 产生抗 AD 作用。紫檀芪是提取自中药血竭的多酚类化合物, 具有较强的抗肿瘤、抗炎活性。Bangash 等^[26]通过体内外研究发现, 紫檀芪可通过降低 DNCB 诱导的 AD 模型小

鼠皮损中升高的 IgE, 改善肥厚皮损并降低胸腺和脾脏重量; 同时下调血液内炎症细胞的数量, 降低皮肤中 IL-4、IL-6、TNF- α 、MAPK 和 NF- κ B 的表达, 缓解皮损处氧化损伤并减少局部炎性细胞因子数量, 进而改善 AD 的症状。

3.1.4 其他类 苦参中的主要活性成分苦参碱是治疗 AD 的主要活性成分, 具有抗炎、抗氧化等药理作用。黄盼等^[27]发现苦参碱除显著减轻 DNCB 诱导的 AD 小鼠症状、降低局部皮损炎症细胞因子浓度外, 还可下调 Th2 相关炎症因子胸腺活化调节趋化因子 (TARC)、IL-6 和 Th2 细胞中炎症因子 IL-4、IL-5 的表达, 提示苦参碱可通过调控 TARC/MAPK/JNK-IL 通路, 抑制 Th2 聚集并减少其分泌的炎症因子, 减轻炎症反应与免疫损伤。忍冬苷是中药忍冬藤中的苷类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗菌等作用。Zhang 等^[28]研究发现, 使用忍冬苷干预 DNCB 处理的小鼠 AD 模型, 小鼠背部与耳后皮肤皮损评分均有所降低, 血清 IgE、IL-1 β 显著下调; 此外, 真皮组织中 MAPK 相关蛋白 ERK、JNK 的表达下调, 表明忍冬苷通过抑制 MAPK 信号通路延缓 AD 的进展。伞形酮是当归中的香豆素类化合物, 具有较强的抗氧化、抗炎作用。Lim 等^[29]采用 DNCB 与屋尘螨提取物 (DFE) 处理小鼠建立 AD 体外动物模型, 同时 TNF- α 、IFN- γ 处理 HaCaT 细胞建立体外细胞模型, 均使用伞形酮进行干预, 结果发现, 在 DNCB/DFE 处理组中, 小鼠耳朵厚度、脾脏大小和重量、IgE、IgG1、IgG2a、TNF- α 、IL-4 及肥大细胞浸润均有不同程度的缓解; 此外, 伞形酮通过调节 MAPK γ 与 NF- κ B 信号通路, 减少了 TNF- α /IFN- γ 处理的 HaCaT 细胞中促炎细胞因子和趋化因子的分泌, 提示伞形酮通过调节 MAPK 信号通路改善 AD 相关症状。白鲜碱是中药白鲜皮中的一种生物碱, 具有抗菌和治疗皮肤湿疹、皮肤瘙痒的作用。杨妞妞等^[30]用 DNCB 处理 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠建立 AD 体外模型, 并使用白鲜碱 10 mg/(kg $\cdot$ d) 进行灌胃, 连续 14 d, 结果发现, 经白鲜碱处理后小鼠搔抓次数显著降低, 皮损组织中两面神激酶 1 (JAK1)、STAT 显著降低, 其下游产物 IL-4、IL-10 等炎症产物同样降低, 提示白鲜碱可通过抑制 JAK/MAPK 信号通路抑制 AD 的炎症反应并串扰 MAPK 信号通路与 JAK/STAT 信号通路, 改善皮损症状, 抑制表皮增厚。中药有效成分基于 MAPK 信号通路抗 AD 的研究概括见表 1。

表 1 中药有效成分基于 MAPK 信号通路抗 AD 的研究

Tab 1 Research on ingredients in traditional Chinese medicine against Alzheimer's disease based on the MAPK signaling pathway

分类	有效成分	作用机制	文献
酮类	姜黄素	抑制 JNK/ 丝裂原活化蛋白 p38/MAPK 信号通路并降低血清 IgE 水平	[15]
	山柰酚	下调 STAT3/MAPK/NF-κB 信号通路抑制 TNF-α、IFN-γ 产生，减轻局部炎症并协调 Th1/Th2 平衡	[16]
	根皮素	降低 TSLP、IFN-γ 等的表达避免了 CD4 ⁺ T 细胞的聚集，下调血清中 IL-6、IL-4、IL-17A 的表达	[17]
	黄芩苷	干预 MAPK/IL 通路下调血清 IgE、IL-4 和 MAPK 磷酸化水平	[18]
	槲皮素	抑制 ERK/MAPK/SOD 通路，诱导上皮 - 间质转化，抑制 MMP1、MMP2 和 MMP9 表达	[19]
	芹菜素	下调 IL-1β、IL6、COX、iNOS，并减少 RAW264.7 细胞中 ERK 和 c-Jun 表达，抑制 MAPK/ERK/JNK 通路	[20]
萜类	积雪草酸	下调 TNF-α、IL-1β、CXCL9 等细胞因子表达，抑制 MAPK 途径介导的下游 IL 信号，避免 Th1、Th2 细胞活化与聚集	[21]
	木香炔内酯	抑制 p38、p65 核糖体激酶的活性，下调 Th2 细胞相关信号因子 IL-6、IL-7 的表达	[22]
	千日菊素	抑制肥大细胞和嗜酸性粒细胞浸润	[23]
	α-红没药醇	抑制 IgE 介导的免疫反应，进而调控下游 β- 己糖胺酶、TNF-α 的水平；通过阻断 NF-κB/MAPK/c-Jun 通路，抑制下游 p38、ERK1/2 与 JNK 的表达	[24]
酚类	百里香酚	抑制 MAPK 信号通路中 p-p38 与 p-ERK 的表达，降低下游的炎症因子 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 mRNA 水平	[25]
	紫檀芪	下调血液中炎症细胞的数量，降低皮肤中 IL-4、IL-6、TNF-α、MAPK 和 NF-κB 的表达	[26]
其他类	苦参碱	下调 TARC、IL-6 和 Th2 细胞因子 IL-4、IL-5 的表达	[27]
	忍冬苷	降低 IgE、IL-1β/MAPK 相关蛋白 ERK、JNK 的表达	[28]
	伞形酮	调节 MAPK/NF-κB 信号转导 STAT1 信号通路，抑制 HaCaT 细胞中促炎细胞因子和趋化因子的分泌	[29]
	白鲜碱	下调 JAK1、STAT、IL-4、IL-10 等炎症产物，抑制 JAK/MAPK 信号通路	[30]

3.2 中药复方干预 MAPK 信号通路治疗 AD

3.2.1 麻黄连翘赤小豆汤 麻黄连翘赤小豆汤由麻黄、连翘、杏仁、赤小豆、大枣、桑白皮、生姜、炙甘草组成，常用于湿热蕴肤型 AD，具有清热解毒、滋阴润肺的功效。Yuan 等^[31]研究发现麻黄连翘赤小豆汤不仅能降低炎症细胞因子 IL-1β、IL-18 相应 mRNA 的表达，缓解 DNCB 诱导的 AD 小鼠炎症反应，还可下调海马区核心受体蛋白（NLRP3）、胱天蛋白酶（caspase-1）mRNA 和蛋白的表达，提示麻黄连翘赤小豆汤可通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活，关闭 NLRP3/MAPK/NF-κB 通路，从而有效治疗 AD 皮损并缓解焦虑样和抑郁样行为。

3.2.2 黄连解毒汤 黄连解毒汤由黄连、黄芩、黄柏、栀子组成，常用于心脾积热型 AD，具有清热凉血、泻火解毒的功效。Chen 等^[32]采用 DNCB 处理 4 ~ 6 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠，结果发现 AD 模型组 IL-33、TSLP、IL-4、IL-13 和 IL-5 水平显著上调，其原因为皮损处角质形成细胞释放大量炎症因子，如 IL-33 和 TSLP，并激活 Th2 细胞相关的炎症级联反应。分别使用黄连解毒汤制剂 3.2、6.4、12.8 g/（kg·d）进行灌胃，连续 16 d 后上述细胞因子均出现不同程度的下降，提示黄连解毒汤可抑制 IL/MAPK/Th2 信号通路，减少上下游影响因子释放并避免 T 细胞聚集，减轻 AD 瘙痒程度并改善肥厚皮损。

3.2.3 清血解毒汤 清血解毒汤由金银花、野菊

花、连翘、生地黄、赤芍、牡丹皮、当归、茯苓皮、黄芩、甘草组成，具有清热解毒、凉血散瘀的功效。Xiong 等^[33]通过体内外研究发现，清血解毒汤可通过抑制 NF-κB、STAT3 的激活以及 JAK1、JAK2、JAK3 的磷酸化，同时部分抑制 MAPK 信号通路，降低皮损组织中 IL-12、TNF-α、IL-4、IL-6 和 IgE 的水平，缓解皮损处的炎症，避免真皮炎症细胞过度浸润，并改善肥厚皮损。

3.2.4 当归饮子 当归饮子由当归、熟地黄、白芍、川芎、荆芥、防风、黄芪、甘草、制首乌、刺蒺藜组成，具有养血活血、祛风止痒的功效。Liu 等^[34]使用 DNCB 处理 C57BL/6 小鼠建立体外 AD 模型，结果发现当归饮子不仅能显著降低 p38、MAPK、JNK、ERK 蛋白的表达，还可下调血清 IgE、IL-1β 和 TNF-α mRNA 水平，减轻炎症反应；同时抑制皮损组织中 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白（ASC）、caspase-1 的水平，提示当归饮子通过抑制 NLRP3 炎症小体和 MAPK/NF-κB 信号通路，抑制表皮细胞凋亡，改善肥厚皮损并减少皮屑产生。

3.2.5 芍药甘草汤 芍药甘草汤由芍药与炙甘草组成，具有养血益阴、缓急止痛的功效。王海林等^[35]使用 DNCB 处理 BALA/c 小鼠建立体外 AD 模型，使用白芍总苷、甘草总黄酮进行干预，结果显示小鼠瘙痒程度与皮损评分显著改善，皮损组织中 IL-6 含量明显下降，提示芍药甘草汤制剂通过降低角质层中炎症因子含量，并增加角质

层中的神经酰胺以修复皮肤屏障，从而改善 AD；此外，小鼠血清 IgE、Th2 细胞数量明显降低，其相关产物 INF- γ 、TNF- α 也有不同程度的降低，表明芍药甘草汤制剂能够抑制 MAPK 信号通路进而调节 Th2 细胞介导的免疫反应，避免角质形成细胞过度增生，对 AD 产生治疗作用。

综上所述，中药复方通过调控 MAPK 通路的活性，调节炎症相关细胞因子的产生及 Th2 细胞介导的免疫异常和真皮血管增生，从而有效控制 AD 皮损的进展，发挥抗炎与免疫调节作用，为研究 AD 的病理机制与新药研发提供新思路。中药复方基于 MAPK 信号通路抗 AD 的研究概况见表 2。

表 2 中药复方基于 MAPK 信号通路的抗 AD 的研究

Tab 2 Research on Chinese herbal formulas against Alzheimer's disease based on the MAPK signaling pathway		
中药复方	作用机制	文献
麻黄连翘赤小豆汤	下调核心受体蛋白 NLRP3、caspase-1 mRNA 和蛋白的表达，抑制 NLRP3 炎症小体的激活，关闭 NLRP3/MAPK/NF- κ B 通路	[31]
黄连解毒汤	可抑制 IL/MAPK/Th2 信号通路，减少上下游影响因子释放并避免 T 细胞聚集	[32]
清血解毒汤	抑制 NF- κ B、STAT3 的激活以及 JAK1、JAK2、JAK3 的磷酸化	[33]
当归饮子	降低 p38、MAPK、JNK、ERK 蛋白的表达，还可下调血清 IgE、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 水平，减轻炎症反应	[34]
芍药甘草汤	下调 IL-6、INF- γ 、TNF- α 等炎症因子含量，并增加角质层中的神经酰胺以修复皮肤屏障	[35]

4 小结与展望

AD 是临床上常见的慢性复发性皮肤病，与免疫异常、遗传因素、外界刺激等致病因素紧密相关。本文归纳总结中药通过调控 MAPK 信号通路的作用机制，提示其对 AD 病理生理过程的多重影响，包括抑制炎症反应、调节 Th2 细胞介导的免疫反应、抑制真皮血管生成，继而改善 AD 肥厚皮损、瘙痒症状及红斑表现，为 AD 治疗提供新方向。中医对 AD 的认识由来已久，通常选用具有清热凉血、健脾除湿、活血散瘀、祛风润燥、补益气血的中药单体与中药方剂，这与中医治疗 AD 从“湿”论治、从“血”论治的原则不谋而合。基于中医“天人合一”与“辨证论治”的思维体系，中医治疗 AD 强调因势利导，通过分析先天禀赋、后天环境与个人因素对 AD 进行全面的治疗，与现代医学重视遗传因素、环境刺激的思维不谋而合，未来更应当在中西医结合的基础上发挥中医个体化、差异化、疗效持久、毒副作用小的优势，为 AD 治疗开辟新的道路。

中药治疗 AD 具有丰富的理论积累与实践印证，但是目前中药调控 MAPK 信号通路治疗 AD 的研究仍有不足：

首先，在 MAPK 信号通路对 AD 的调控过程中，MAPK 信号通路与 PI3K/Akt、NF- κ B 等信号通路相互串扰，形成复杂的立体结构，且目前大量研究是同时研究两条甚至多条高度相关的信号通路，对单一信号通路的研究与多条信号通路之间的交互机制尚不深入，未来应加强对单一信号通路的研究，分析其下各个亚型通路的具体机制以及串扰规律，并研究不同信号通路之间的作用机制。

其次，现阶段大量研究以体外细胞与动物实验

为基础，缺乏临床试验依据，笔者认为仍需进行大样本量、科学规范的临床研究，对中药复方与中药单体的药物代谢规律、半衰期、肝肾代谢压力情况进一步完善，以确保中药的安全性和有效性，为临床用药提供证据。

最后，中药干预 MAPK 信号通路治疗 AD 的机制缺乏中医理论基础，机械地将中药组分拆分成中药单体独立应用，抛弃了在君臣佐使配伍理论下药物的互相作用，导致中药单体预期疗效与毒副作用均与中药复方相差甚远，笔者认为下一步应将中医理论体系与用药规律与现代实验方法相结合，建立中医思维指导下的实验体系，并依赖人工智能、网络药理学等网络技术为深入探究中药治疗 AD 的作用机制与靶点提供客观依据。

参考文献

[1] Guo YP, Li P, Tang JP, et al. Prevalence of atopic dermatitis in Chinese children aged 1—7 ys [J]. Sci Rep, 2016, 6 (1): 29751.

[2] Mao DD, Li JQ, Liu SS, et al. Prevalence and risk factors of atopic dermatitis in Chinese adults: a nationwide population-based cross-sectional study [J]. Chin Med J (Engl), 2023, 136 (5): 604-606.

[3] Borrego-Ruiz A, Borrego JJ. Nutritional and microbial strategies for treating acne, alopecia, and atopic dermatitis [J]. Nutrients, 2024, 16 (20): 3559.

[4] 林欢儿, 李孜怡, 彭静, 等. 中医药治疗特应性皮炎研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21 (11): 29-32.

[5] Vukmanovic-Stejic M, Chambers ES, Suárez-Fariñas M, et al. Enhancement of cutaneous immunity during aging by blocking p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase-induced inflammation [J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 142 (3): 844-856.

[6] Moens U, Kostenko S, Sveinbjörnsson B. The role of

- mitogen-activated protein kinase-activated protein kinases (MAPKAPKs) in inflammation [J]. *Genes*, 2013, 4 (2) : 101-133.
- [7] Jamal F, Singh MK, Hansa J, et al. RETRACTED: Leishmania-specific promiscuous membrane protein tubulin folding cofactor D divulges Th1/Th2 polarization in the host via ERK-1/2 and p38 MAPK signaling cascade [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 817.
- [8] Sun ZW, Kim JH, Kim SH, et al. Skin-resident natural killer T cells participate in cutaneous allergic inflammation in atopic dermatitis [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2021, 147 (5) : 1764-1777.
- [9] Kashiwagi S, Khan MA, Yasuhara S, et al. Prevention of burn-induced inflammatory responses and muscle wasting by GTS-21, a specific agonist for $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors [J]. *Shock*, 2017, 47 (1) : 61-69.
- [10] Su DM, Coudriet GM, Kim DH, et al. FoxO1 links insulin resistance to proinflammatory cytokine IL-1 β production in macrophages [J]. *Diabetes*, 2009, 58 (11) : 2624-2633.
- [11] Oh MS, Hong JY, Kim MN, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule modulates Th2 immune response in atopic dermatitis [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2019, 11 (5) : 677-690.
- [12] Garcia-Reyes MM, Zumaya-Perez LC, Pastelin-Palacios R, et al. Serum thymic stromal lymphopoietin (TSLP) levels in atopic dermatitis patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Exp Med*, 2023, 23 (8) : 4129-4139.
- [13] Liu ZR, Niu ZH, Zhang DD, et al. Improve the dupilumab therapy evaluation with dermoscopy and high-frequency ultrasound in moderate-to-severe atopic dermatitis [J]. *Skin Res Technol*, 2023, 29 (1) : e13260.
- [14] Komaki R, Miyagaki T, Tanaka M, et al. 1574 increased IL-36 β may contribute to angiogenesis though vascular endothelial growth factor induction from epidermal keratinocytes in atopic dermatitis [J]. *J Invest Dermatol*, 2023, 143 (5) : S270.
- [15] 王延洁. 双去甲基姜黄素对特异性皮炎的作用及其机制研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [16] 沈云章, 竺璐, 杨红霞. 山柰酚对特异性皮炎小鼠炎症反应的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39 (1) : 76-80.
- [17] Wu CS, Lin SC, Li SM, et al. Phloretin alleviates dinitrochlorobenzene-induced dermatitis in BALB/c mice [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2020, 34: 2058738420929442.
- [18] Sur B, Lee B. Anti-atopic dermatitis effect of *Scutellaria barbata* D. Don via regulation of MAPK signaling pathways [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2022, 21: 12-17.
- [19] Beken B, Serttas R, Yazicioglu M, et al. Quercetin improves inflammation, oxidative stress, and impaired wound healing in atopic dermatitis model of human keratinocytes [J]. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*, 2020, 33 (2) : 69-79.
- [20] Park CH, Min SY, Yu HW, et al. Effects of apigenin on RBL-2H3, RAW264.7, and HaCaT cells: anti-allergic, anti-inflammatory, and skin-protective activities [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (13) : 4620.
- [21] Moon GH, Lee Y, Kim EK, et al. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of asiatic acid in a DNCB-induced atopic dermatitis animal model [J]. *Nutrients*, 2021, 13 (7) : 2448.
- [22] Lu C, Li XY, Du WX, et al. Exploration of costunolide derivatives as potential anti-inflammatory agents for topical treatment of atopic dermatitis by inhibiting MAPK/NF- κ B pathways [J]. *Bioorg Chem*, 2024, 143: 107054.
- [23] Huang WC, Huang CH, Hu S, et al. Topical spilanthol inhibits MAPK signaling and ameliorates allergic inflammation in DNCB-induced atopic dermatitis in mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (10) : 2490.
- [24] Li GX, Wu HY, Sun LQ, et al. (-) - α -bisabolol alleviates atopic dermatitis by inhibiting MAPK and NF- κ B signaling in mast cell [J]. *Molecules*, 2022, 27 (13) : 3985.
- [25] 王华. 百里香酚治疗特异性皮炎及银屑病的作用机制研究 [D]. 武汉: 中南民族大学, 2020.
- [26] Bangash Y, Saleem A, Akhtar MF, et al. Pterostilbene reduces the progression of atopic dermatitis via modulating inflammatory and oxidative stress biomarkers in mice [J]. *Inflammopharmacology*, 2023, 31 (3) : 1289-1303.
- [27] 黄盼, 潘意, 王畅, 等. 苦参通过抑制 MAPK/NF- κ B 通路改善免疫平衡缓解特异性皮炎实验研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2024, 44 (11) : 1365-1371.
- [28] Zhang T, Rao XM, Song SY, et al. WLJP-025p, a homogeneous *Lonicera japonica* polysaccharide, attenuates atopic dermatitis by regulating the MAPK/NF κ B/AP-1 axis via Act1 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 256: 128435.
- [29] Lim JY, Lee JH, Lee DH, et al. Umbelliferone reduces the expression of inflammatory chemokines in HaCaT cells and DNCB/DFE-induced atopic dermatitis symptoms in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 75: 105830.
- [30] 杨妞妞, 邵海峰, 邓嘉林, 等. 白鲜皮主要药效成分白鲜碱、黄柏酮、枳酮的抗皮炎作用比较及机制研究 [J]. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2023, 43 (12) : 1636-1642, 1649.
- [31] Yuan HM, Tang Y, Zhang SJ, et al. NLRP3 neuroinflammatory intervention of Mahuang-Lianqiao-Chixiaodou decoction for mental disorders in atopic dermatitis mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 319: 117263.
- [32] Chen J, Chen SZ, Chen JG, et al. Study on the molecular basis of Huanglian Jiedu decoction against atopic dermatitis integrating chemistry, biochemistry, and metabolomics strategies [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 770524.
- [33] Xiong X, Huang CQ, Wang FQ, et al. Qingxue jiedu formulation ameliorated DNFB-induced atopic dermatitis by inhibiting STAT3/MAPK/NF- κ B signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270: 113773.
- [34] Liu W, Song WC, Luo Y, et al. Angelica Yinzi alleviates 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene-induced atopic dermatitis by inhibiting activation of NLRP3 inflammasome and down-regulating the MAPKs/NF- κ B signaling pathway [J]. *Saudi Pharm J*, 2022, 30 (10) : 1426-1434.
- [35] 王海林, 刘陆, 回连强, 等. 基于芍药甘草汤的 4 种中药润肤霜对特异性皮炎的治疗作用及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26 (22) : 7-15.

(收稿日期: 2025-01-01; 修回日期: 2025-03-12)

硬尖神香草化学成分及药理活性的研究进展

王盼盼¹, 兰诗琦⁴, 阿依达娜·沃坦², 张兰兰³, 戎晓娟^{2*} (1. 新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830046; 2. 新疆维吾尔自治区药物研究院, 乌鲁木齐 830004; 3. 新疆生产建设兵团食品药品审评核查中心, 乌鲁木齐 831400; 4. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830017)

摘要: 神香草为唇形科植物硬尖神香草 *Hyssopus cuspidatus* Boriss. 的干燥地上部分, 是新疆当地特色药材, 性质干热, 气芳香, 味辛苦, 具有促进机体自然免疫调节作用, 有独特的疗效和临床价值, 也是当地特色药材的典型代表。硬尖神香草药用全草, 主要含有萜类、黄酮类、酚酸类、挥发油类等化学成分, 其镇咳、祛痰、抗炎、抗哮喘、降血糖、抗氧化、抗菌、抗肿瘤等作用在现代药理学的研究亦有证实。本文旨在对近年来硬尖神香草的化学成分及药理活性的研究成果进行系统论述, 以期对硬尖神香草下一步研究的展开提供思路。

关键词: 硬尖神香草; 化学成分; 药理活性

中图分类号: R284.1, R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-2990-09
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.030

Progress in chemical compositions and pharmacological study of *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

WANG Pan-pan¹, LAN Shi-qi⁴, Ayidana · Wotan², ZHANG Lan-lan³, RONG Xiao-juan^{2*} (1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, Urumqi 830046; 2. Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Pharmaceutical Research, Urumqi 830004; 3. Food and Drug Review and Verification Center of Xinjiang Production and Construction Corps, Urumqi 831400; 4. School of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017)

Abstract: *Hyssopus cuspidatus* Boriss., commonly known as Hyssopus, is a plant from the Lamiaceae family. Characteristic medicinal herbs of Xinjiang. The herb is characterized by its dry and hot nature, aromatic fragrance, and pungent-bitter taste. It has immune-modulatory effects that promote the body's natural immune regulation and possesses unique therapeutic value, making it a representative of local medicinal plants. The whole plant of *Hyssopus cuspidatus* Boriss. contains various chemical components, including terpenes, flavonoids, phenolic acids, and essential oils. Modern pharmacological studies have confirmed its antitussive, expectorant, anti-inflammatory, anti-asthmatic, hypoglycemic, antioxidant, antimicrobial, and anticancer properties. This review summarized research findings of recent studies on the chemical components and pharmacological activities of *Hyssopus cuspidatus* Boriss. to provide insights for further development of this plant.

Key words: *Hyssopus cuspidatus* Boriss.; chemical constituent; pharmacological activity

硬尖神香草 *Hyssopus cuspidatus* Boriss. 是唇形科、神香草属植物的干燥地上部分, 是新疆当地特色药材。维吾尔语药材名为“祖发”, 被维吾尔族医广泛用于治疗咳嗽、气喘、支气管炎、外伤和风湿等^[1]。

《维吾尔药志》记载其“性二级热, 味苦、辛, 气芳香, 具有温肺平喘、祛寒止咳、燥湿祛痰、发汗解毒、消炎退肿的功效, 用于湿寒性和黏液质性呼吸病”^[2]。以硬尖神香草为主药的寒喘祖帕颗粒应用广泛, 收

基金项目: “天山英才” 培养计划 (No.2023TSYCCX0065); 国家自然科学基金 (No.82460809); 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (No.2022D01E65, No.2022D01A326); 中药审评要点研究 (No.SK-L-QRCM-MITMI-ORP2302)。

作者简介: 王盼盼, 女, 硕士研究生, 主要从事中药民族药质量控制研究, email: 3379780041@qq.com *通信作者: 戎晓娟, 女, 副研究员, 主要从事中药民族药质量控制研究, email: 109303620@qq.com

载于《中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册》^[3]。目前,关于硬尖神香草的化学成分析解和药理机制的探讨还比较滞后。因此,本文结合课题组前期研究及国内外文献报道,系统综述硬尖神香草的化学成分及其生物活性研究,有助于了解硬尖神香草中的化学成分类型和主要活性成分,对于阐明硬尖神香草的药效物质基础和进一步开发其药用价值有着重要意义。为硬尖神香草在医药方面的进一步开发利用提供科学依据^[4],以期为该药材的临床应用和新药研发提供参考。

1 化学成分

当前已从硬尖神香草中分离出多种化合物,包括萜类(单萜、倍半萜、三萜)、黄酮类、挥发油类、酚酸类和其他类成分。其中萜类、黄酮类、挥发油类是硬尖神香草的主要成分^[5],也是目前研究比较多的成分。这些化合物具有抗炎、抗过敏、抗病毒、抗菌等生物活性。

1.1 黄酮类

黄酮类化合物在自然界中广泛存在,其核心结构是由两个苯环与一个氧原子连接而成的二苯并吡喃环(C6-C3-C6),这种平面或接近平面的结构有助于其在细胞膜中的扩散以及与靶点的结合。该结构可以通过 π - π 相互作用与生物大分子(如DNA、蛋白质)结合,从而展现其抗肿瘤、

抗菌、抗病毒等活性。硬尖神香草中含有的黄酮类化合物主要包括黄酮及其苷、黄酮醇及其苷,是硬尖神香草药用的重要活性部位。目前从硬尖神香草中分离到的黄酮类化合物见表1及图1。

表1 从硬尖神香草中分离鉴定的黄酮类化合物

Tab 1 Flavonoids isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

No.	化合物名称	文献
1	三裂鼠尾草素	[6]
2	木犀草素 7-O- β -D-吡喃葡萄糖醛酸苷	[7]
3	香叶木苷	[6]
4	木犀草素 7-O- α -L-吡喃鼠李糖(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷	[7]
5	5-羟基-6, 7, 3', 4'-四甲氧基黄酮	[8]
6	槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷	[6]
7	蒙花苷	[6]
8	木犀草素	[6]
9	香叶木素	[9]
10	金合欢素	[10]
11	芹菜素	[9]
12	芦丁	[6]
13	金丝桃苷	[8]
14	胡萝卜苷	[8]
15	3'-methoxy-vittarilide-B	[10]
16	金合欢素 7-O- α -L-吡喃鼠李糖(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖苷	[10]
17	荭黄素	[6]
18	8-羟基荭黄素	[7]
19	合欢素-7-O-芸香糖苷	[8]
20	白杨素	[7]

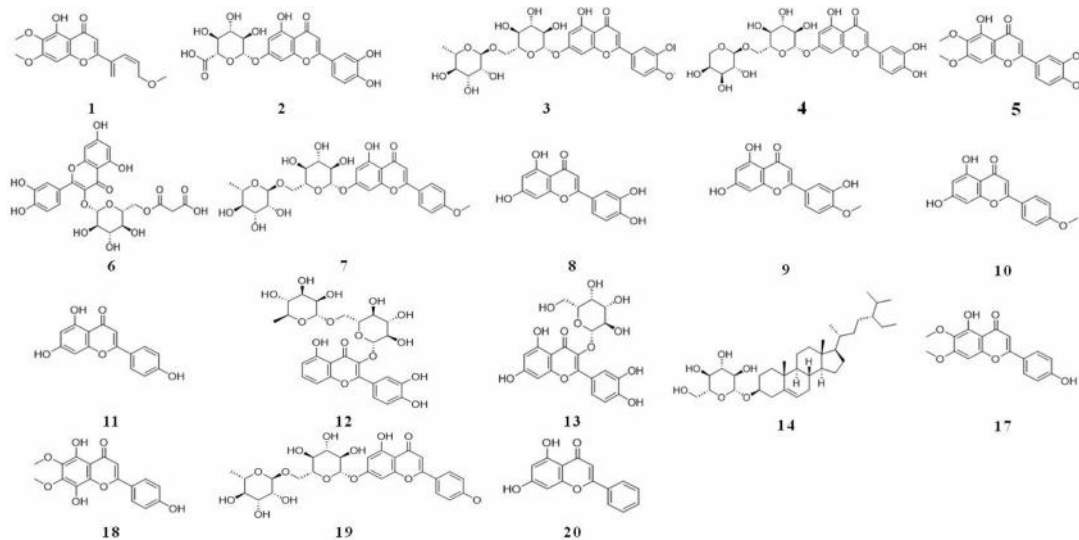


图1 从硬尖神香草中分离鉴定的黄酮类化合物的结构

Fig 1 Structure of flavonoids isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

1.2 萜类

自然界中的萜类化合物分布广泛。其环状结构是药理活性的关键,特别是在抗肿瘤和抗菌作用方面,环状结构增强了化合物与生物大分子(如酶、受体)的相互作用能力。许多萜类化合物中含有不饱和双键,这些双键能够与生物分子发生反应,如与自由基发生反应、与酶的活性位点结合等,从而

发挥抗氧化、抗炎等药理作用,大多数具有很好的生物活性^[11]。从神香草属植物中分离得到的萜类化合物总数不多,但包含各种类型,具体包括环烯醚萜、单萜、倍半萜、二萜以及五环三萜等。刘丹等^[12]对硬尖神香草的化学成分进行了系统研究,从其95%乙醇提取物中共分离鉴定了15个倍半萜类化合物。张亚杰等^[13]对硬尖神香草提取物进行

化学成分研究, 从其乙酸乙酯部位中分离得到了 8 个三萜类化合物 (见表 2 及图 2)。

表 2 从硬尖神香草中分离鉴定的萜类化合物
Tab 2 Terpenoids isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

No.	化合物名称	文献
21	1 β , 11- 二羟基 -5- 桉叶烯	[12]
22	4- 桉叶烯 -1 β , 11- 二醇	[12]
23	ent-4 (15) - 桉叶烯 -1 α , 11- 二醇	[12]
24	桉叶烯 -1 β , 11- 二醇	[12]
25	桉叶烯 -1 β , 5 α , 11- 三醇	[12]
26	4 (15) - 桉叶烯 -1 β , 6 α - 二醇	[12]
27	柳杉二醇	[12]
28	石竹烷 -1, 9 β - 二醇	[12]
29	桉叶醇	[12]
30	5- 表 - 桉叶烷 -4 (15) - 烯 -1 β , 6 β - 二醇	[12]
31	20 β - 羟基熊果酸	[12]
32	(7 R^*) - opposit-4 (15) - ene-1 β , 11-diol	[13]
33	熊果酸	[13]
34	2 α , 3 α - 二羟基 - 乌索 12- 烯 -28- 酸	[13]
35	2 α , 3 β , 19 α - 三羟基 - 乌索 12- 烯 -28- 酸	[13]
36	3 β , 23- 二羟基 - 乌索 12- 烯 -28- 酸	[13]
37	4 β , 10 α - 香树兰烷二醇	[12]
38	(3 S , 5 R , 6 S , 7 E) -3, 5, 6-6-trihydroxy-7-megastigmen-9-one	[12]
39	齐墩果酸	[13]
40	山楂酸	[13]
41	八氢 -4- 羟基 -3 α - 甲基 -7- 亚甲基 - α - (1- 甲基乙基) -1 H - 茛 -1- 甲醇	[12]
42	β - 谷甾醇	[13]
43	3- 桉叶烯 -1 β , 11- 二醇	[12]

1.3 酚酸类

存在于中药中的酚酸具有多种生物学功能, 酚酸化合物中羟基的位置会显著影响其抗氧化和其他药理作用。例如, 3, 4- 二羟基的结构通常增强其抗氧化活性, 因为在此位置的两个羟基能够协同作用中和自由基。此外, 羟基的数量直接影响化合物的电子供给能力。多个羟基可以增强其电子供给能力, 从而增强抗氧化、抗炎等作用^[14]。Venditti 等^[15]发现硬尖神香草富含酚酸类成分, 具体包括奎尼酸衍生物 (绿原酸、新绿原酸、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-对羟基苯甲酰奎尼酸, 其中绿原酸的含量最高, 其次为新绿原酸)、多酚酸类成分 (迷迭香酸、咖啡酸)、羟基苯甲酸衍生物 (丁香酸)。此外, Shomirzoeva 等^[16]从硬尖神香草地上部分乙酸乙酯部位分离得到迷迭香酸、咖啡酸、迷迭香甲酯、4-*O*-咖啡酰奎尼酸甲酯、3-*O*-咖啡酰奎尼酸甲酯以及 oresbiusin A (见表 3 及图 3)。

1.4 挥发油类

对硬尖神香草精油化学成分的研究最早开始于 1990 年。硬尖神香草中挥发油类成分丰富, 具有祛痰散风、发汗解毒、抗炎消肿的功效, 临床上硬尖神香草被应用于哮喘等呼吸道类

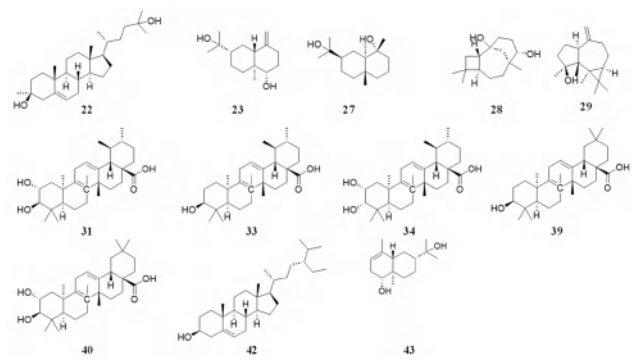


图 2 从硬尖神香草中分离鉴定的部分萜类化合物的化学结构

Fig 2 Structure of terpenoids isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

表 3 从硬尖神香草中分离鉴定的酚酸类化合物
Tab 3 Phenolic acid compounds isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

No.	化合物名称	文献
44	咖啡酸甲酯	[15]
45	迷迭香酸	[15]
46	4- 羟基 -3- 甲氧基乙基肉桂酸盐	[16]
47	<i>E-p</i> - 香豆醇乙醚	[16]
48	oresbiusin A	[16]
49	咖啡酸	[15]
50	反式 4- 羟基 -3- 甲氧基肉桂酸甲酯	[15]
51	绿原酸	[15]
52	阿魏酸	[15]
53	对茴香酸	[16]
54	丁香酸	[15]
55	迷迭香酸甲酯	[15]
56	2 α , 3 α - 二羟基 - 乌索 12- 烯 -28- 酸	[16]
57	4- <i>O</i> - 咖啡酰奎尼酸甲酯	[16]
58	3- <i>O</i> - 咖啡酰奎尼酸甲酯	[16]
59	methyl rosmarinate	[16]
60	新绿原酸	[16]
61	4- <i>O</i> - 咖啡酰奎尼酸	[15]
62	4- <i>O</i> - 阿魏酰奎尼酸	[15]
63	5- <i>O</i> - 对羟基苯甲酰奎尼酸	[15]

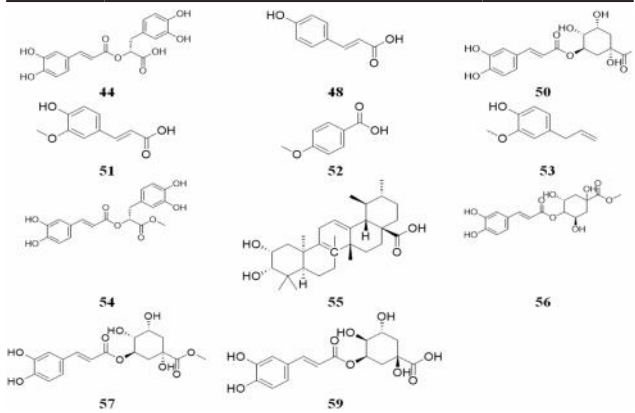


图 3 从硬尖神香草中分离鉴定的酚酸类化合物的结构

Fig 3 Structure of phenolic acid compounds isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

疾病的治疗^[17]。薛敦渊等^[6]对硬尖神香草去根全草采用水蒸气蒸馏、乙醚萃取, 萃取物再经硅胶

柱层析, 硅胶制备薄层层析结合制备色谱、气相色谱分离, 鉴定出 32 个化合物。符继红等^[18]采用水蒸气蒸馏法获得硬尖神香草的挥发油提取物, 通过气-质联用分析, 计算机质谱图库检索技术对分离的化合物进行结构分析, 共鉴定了 39 个成分。买买提江等^[19]采用正己烷为提取溶剂, 首次研究了硬尖神香草挥发性的成分。通过气相色谱-质谱联用技术, 以及计算机质谱图库检索对分离的化合物进行鉴定, 共鉴定出 46 个成分。吕红

红等^[20]通过对硬尖神香草挥发油总离子流色谱图中的各个峰进行面积归一化法计算, 共鉴定出了 36 种化合物, 其中含量较高的有 D-大叶香根烯 (18.67%)、 β -大叶香根烯 (15.61%)、反式-石竹烯 (8.04%)、(+)-斯巴醇 (4.11%) 等。付晓等^[21]研究发现硬尖神香草挥发油主要有 2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基双环 [4, 4, 0]-1-烯 (11.59%)、 γ -榄香烯 (8.53%)、1-氟代甲烷-3-硝基萘 (7.57%)、 α -蒎烯 (4.18%) 等 (见表 4 及图 4)。

表 4 从硬尖神香草中分离鉴定的挥发油类化合物
Tab 4 Volatile oil compounds isolated and identified from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

No.	化合物名称	文献
64 ~ 73	呋喃醛、反式-己烯-2-醛、 α -苧烯、苯甲醛、 α -蒎烯、 β -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、对聚伞花素、1, 8-桉叶素等	[6]
74 ~ 85	己醛、2-呋喃甲醛、顺-1, 1, 3, 4-四甲基环戊烷、1, 3-二甲基苯、 α -蒎烯、苯甲醛、1-辛烯-3-酮、2-戊基呋喃、1-甲基-4-(1-甲基乙基)苯、冰片烯、苯乙醛、 γ -蒎品烯等	[18]
86 ~ 94	3-甲基庚烷、5-乙基-2, 2, 3-三甲基庚烷、1, 3, 5-三甲基环己烷、2, 5-二甲基庚烷、2-甲基辛烷、3-甲基辛烷、2, 2, 4-三甲基庚烷、2, 2-二甲基辛烷、3, 3, 5-三甲基庚烷等	[19]
95 ~ 98	D-大叶香根烯、 β -大叶香根烯、反式-石竹烯、(+)-斯巴醇等	[20]
99 ~ 102	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基双环 [4, 4, 0]-1-烯、 γ -榄香烯、1-氟代甲烷-3-硝基萘、 α -蒎烯等	[17]

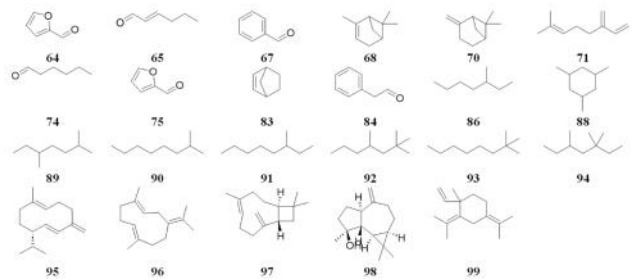


图 4 从硬尖神香草中分离鉴定的部分挥发油类化合物
Fig 4 Structure of some volatile oils isolated and characterized from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

1.5 其他类成分

除以上介绍的四类化合物外, 研究者还从该植物中分离得到了 (E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烯酸、3, 4-二羟基苯甲醛等^[21], 邻苯二甲酸二丁酯、5-咖啡酸甲酯、肉桂酸甲酯等^[22], 甾醇类、胡萝卜苷、 β -谷甾醇、癸醇、4-羟基苯乙醇等^[23] (见表 5 及图 5)。

2 药理活性

现代药理研究表明, 硬尖神香草具有镇咳、祛痰、抗哮喘、降血糖、抗氧化、抗菌、抗肿瘤等多种生物活性, 目前临床主要用于咳嗽、头痛, 哮喘及寒性引起的感冒发烧, 气管炎引起的咳嗽气喘等疾病的治疗。

2.1 镇咳、祛痰

硬尖神香草提取液能有效镇咳、祛痰和平喘, 且效果呈剂量依赖性, 其中硬尖神香草乙酸乙酯提取物的镇咳、祛痰作用最显著, 其机制为通过影响化学感受器抑制支气管黏膜反应。

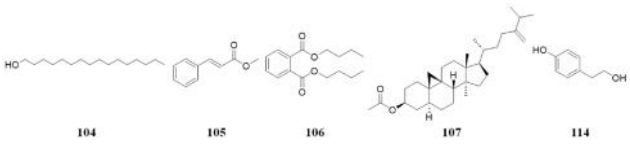


图 5 从硬尖神香草中分离鉴定的其他类化合物
Fig 5 Isolation and identification of other analogs from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

表 5 从硬尖神香草中分离鉴定的其他类化合物
Tab 5 Isolation and identification of other analogs from *Hyssopus cuspidatus* Boriss.

No.	化合物名称	文献
103 (3R, 4aR, 5R, 6R)	-6-羟基-4a, 5-二甲基-3-(丙-1-烯-2-基)-3, 4, 4a, 5, 6, 7-六氢萘-1(2H)-酮	[21]
104	蜡醇	[23]
105	肉桂酸甲酯	[22]
106	邻苯二甲酸二丁酯	[22]
107	二十四亚甲基环阿尔廷醇	[23]
108	4S-(2-羟基异丙基)-环己烷-2-烯-1-酮	[22]
109	8, 8-diethyldecyl acetate	[22]
110	癸醇	[23]
111	2 α , 3 β , 19 α -三羟基-乌索-12-烯-28-酸	[22]
112	(E)-3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)丙烯酸	[21]
113	3, 4-二羟基苯甲醛	[21]
114	4-羟基苯乙醇	[23]

丁剑冰等^[24]考察了硬尖神香草水提物和寒喘祖帕颗粒 (阳性对照) 对实验动物的镇咳、祛痰和平喘的效果, 结果表明硬尖神香草提取液能明显地对抗氨水引起的咳嗽和磷酸组胺造成的哮喘作用, 并且大剂量用药时有祛痰作用, 小剂量用药则无明显的祛痰作用。有研究对咳嗽小鼠使用硬尖神香草水提物、醇提物及乙酸乙酯萃取物分别灌胃

治疗,发现硬尖神香草不同提取物均对小鼠的咳嗽反应有明显抑制作用,可以延长小鼠咳嗽反应的潜伏期,减少咳嗽次数,并显著促进小鼠气管段酚红排泄量^[25],且乙酸乙酯提取物的止咳、化痰作用比其水提物、醇提物更突出。因此推测硬尖神香草乙酸乙酯提取物可能是其发挥止咳、化痰作用的重要活性部位。麦合苏木等^[26]用 AB-8 大孔树脂对硬尖神香草乙酸乙酯部位进行分离纯化,得到总黄酮后进行镇咳祛痰药效分析,硬尖神香草总黄酮可明显减少氨水喷雾致小鼠咳嗽的次数,促进小鼠气管对酚红的排泄,止咳祛痰作用均呈明显的剂量依赖关系^[27]。推测硬尖神香草乙酸乙酯部位可能作用于有关咳嗽刺激的化学感受器,抑制支气管黏膜对刺激的反应。

2.2 抗哮喘

2.2.1 改善气道重塑

大量研究表明,硬尖神香草在防治哮喘的发生发展过程中有显著优势。哮喘作为一种免疫炎症性疾病,最主要的特征是气道重塑和气道高反应性,而硬尖神香草在改善哮喘发作中支气管痉挛和气道重塑中起着重要作用。

尹龙萍等^[28]通过体外实验发现,硬尖神香草挥发油对由卡巴胆碱和组胺引起的离体豚鼠气管平滑肌的收缩表现出显著的舒张作用。结果表明,神香草挥发油虽抗氧化活性较弱,但具有非内皮依赖的血管舒张作用,可能与抑制血管收缩物质有关。袁凤娟等^[29]研究表明,硬尖神香草水洗脱物和乙醇洗脱物对乙酰胆碱或组胺诱导的豚鼠离体支气管平滑肌收缩均具有一定的作用,能减缓支气管痉挛,其中以硬尖神香草 60% 乙醇洗脱物的效果最强,其在高质量浓度 ($2.56 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 下的作用效果与标准物质氨茶碱相当。推测硬尖神香草可能通过抑制 M 胆碱受体和 H_1 受体进而松弛支气管平滑肌,抑制支气管痉挛,从而改善哮喘症状。阿勒腾图娅等^[30]在血管舒张实验中发现,神香草挥发油对去氧肾上腺素 (PE) 预收缩的血管显示出明显的舒张作用,且这种作用不依赖于内皮,表现为浓度依赖性。神香草挥发油对多巴胺 (Dopa)、 K^+ 和 PE 诱导的血管收缩的最大抑制率分别为 74.38%、89.91% 和 95.81%。此外,神香草挥发油处理组的氯化钙 (CaCl_2) 量效曲线明显右移,表明其可能通过抑制外钙内流和干扰胞质内钙离子平衡来发挥作用。陈超辉等^[31]通过卵白蛋白 (OVA) 诱导 SD 哮喘幼鼠模型,比较了不同组别间支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的炎症细胞数量和细胞因子水平,观察了肺组织的病变情况。分析了上皮型钙黏蛋白 (E-cadherin)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、母

同源物 (Smad) 2 和 Smad3 的 mRNA 及蛋白表达水平。研究结果表明硬尖神香草提取物能有效抑制哮喘幼鼠气道重塑,可能通过调控 TGF- $\beta 1$ /Smads 通路调控相关 mRNA 和蛋白的表达,抑制上皮-间充质转化 (EMT) 发挥作用。

2.2.2 纠正免疫失衡,调节炎症网络

免疫失衡是伴随哮喘发生发展的重要因素之一,硬尖神香草通过调节免疫-炎症网络,改善免疫失衡,减轻气道炎症反应,从而发挥抗哮喘的作用。已有研究表明,硬尖神香草提取物可通过影响 γ -干扰素 (IFN- γ)、白细胞介素 (IL)-4、IL-17 与 IL-10 等因子从而调节 Th1/Th2 和 Th17/Treg 细胞亚群失衡^[32-33]。

徐茜等^[34]通过 OVA 诱导的 Wistar 哮喘大鼠模型发现,神香草多糖能够有效抑制哮喘大鼠 IL-6 的分泌,降低 BALF 中的嗜酸性粒细胞 (EOS) 数量,并减轻哮喘大鼠的炎症反应。这些结果表明,神香草多糖具有显著的抗炎作用。康瑜等^[35]研究结果显示,硬尖神香草 40% 乙醇洗脱物可通过 MyD88/NF- κ B、NO/iNOS、MAPK 及花生四烯酸信号通路抑制因脂多糖 (LPS) 刺激引起的小鼠腹腔巨噬细胞 (RAW264.7) 的炎症反应来发挥抗炎作用,其中对 NF- κ B 及 NO/iNOS 信号通路的作用较为显著。Khanzode 等^[36]研究发现,哮喘大鼠血清中嗜酸性粒细胞趋化因子 (Eotaxin)-2 与 Eotaxin-3 和可溶性 P-选择素 (sP-selectin) 水平成正相关,说明 Eotaxin-2、Eotaxin-3 和 sP-selectin 可以相互协调,激活并趋化 EOS,使 EOS 浸润至肺部,增强对哮喘的炎症反应,但在硬尖神香草治疗组的哮喘大鼠的血清中,其 Eotaxin-2 水平表现出了明显的下调,而 Eotaxin-3 和 sP-selectin 的水平却并未显现出明显的变化,这表明硬尖神香草或许是通过调控 Eotaxin-2 的释放,减轻哮喘的炎症反应。Yuan 等^[37]研究结果显示,硬尖神香草提取物可以减少炎性细胞的浸润,抑制 Th2 细胞的免疫应答,从而抑制炎症因子的释放及前炎症因子的产生,对 Th1 细胞的免疫应答具有一定的促进作用,其机制可能是硬尖神香草提取物通过抑制炎症因子的产生和抑制炎性介质的表达,促进 Th1/Th2 免疫调节的平衡,从而达到防治支气管哮喘的作用。潘雅朦等^[38]研究发现,硬尖神香草提取物能明显提高哮喘小鼠 Th1、Treg 细胞水平,升高 Th1/Th2 比值,并且可以提高哮喘小鼠 BALF 中 IFN- γ 和 IL-10 的表达水平;Th2、Th17 细胞水平及 Th17/Treg 均低于模型组,且哮喘小鼠 BALF 中 IL-4 和 IL-17 表达降低。这表明硬尖神香草提取物调节哮喘模型中免疫失衡的机制可能是通过抑制 Notch 通路中部分受体/配体蛋白的表达来发挥调节作用。

2.2.3 调节脂质代谢网络 硬尖神香草可以通过调节类二十烷酸代谢网络而发挥抗哮喘作用。戎晓娟等^[39]研究发现, OVA 诱导的过敏性哮喘可引起内源性脂质介质代谢紊乱, 模型组小鼠靶器官和外周循环系统中的类二十烷酸代谢轮廓均发生了显著变化, 在肺组织和血清中分别发现并鉴定了 17 个和 6 个显著变化的类二十烷酸类脂质代谢物。Kong 等^[40]研究发现, 神香草有效部位 (SXCF) 治疗的哮喘小鼠中受扰动的脂质介质 (LMs) 代谢网络以剂量依赖性方式部分恢复, 抗炎代谢物显著升高, 而促炎脂质降低。同时逆转了 $TNF-\alpha$ 和 IL-4 等细胞因子的变化, 进而降低了炎症程度和细胞浸润, 最终达到哮喘症状的减轻。Qin 等^[41]进一步研究发现, SXCF 及其主要成分迷迭香酸均通过调节与细胞因子产生和白细胞趋化性相关的 LMs 来控制哮喘和减轻炎症, 证明迷迭香酸作为主要有效成分可以发挥治疗哮喘的作用。但需要更多的实验来探索迷迭香酸作为抗哮喘药物的潜力。Guo 等^[42]研究结果显示, 迷迭香酸通过减少孢子形成细菌衍生的代谢物 (主要是胆酸盐) 来抑制 5-羟色胺 (5-HT) 的生物合成, 从而抑制 5-HT 介导的支气管收缩和血管舒张。此外, 5-HT 水平的降低通过改变 LMs 代谢 [主要是血栓素 A₂ (TXA₂) 和 5-羟基二十碳四烯酸 (5-HETE)] 来抑制免疫球蛋白 E (IgE) 和黏液的产生, 提示口服迷迭香酸的抗哮喘机制可能是通过改变肠道内微生物代谢产物的水平来影响肠道和循环中的 5-HT 水平, 进而产生抗哮喘作用。

2.2.4 影响下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴 此外, 有研究表明硬尖神香草能够通过调节炎性细胞因子以及 HPA 相关因子, 改善 HPA 轴的功能, 从多环节上对神经-免疫-内分泌 (NEI) 网络进行调节从而发挥抗哮喘作用。薛志琴等^[43]研究发现, 经 1、2、4 g·kg⁻¹ 神香草灌胃作用后, 大鼠血清中皮质酮 (CORT) 水平升高, 说明硬尖神香草可能从肾上腺层面加强大鼠的 HPA 轴的功能作用, 然而其促肾上腺皮质激素 (ACTH) 无明显变化, 说明肾上腺 CORT 的分泌可能还受其他神经和免疫等因素的调节。马雪萍等^[44]研究发现, 哮喘模型中小鼠的 HPA 轴功能受到抑制, 神经内分泌激素减少, 炎性细胞因子 IL-4、IL-6 和 IL-17 增加, 这种改变加重了哮喘炎症。用 0.65、2.6 g·kg⁻¹ 硬尖神香草多糖进行治疗后发现, 硬尖神香草多糖可纠正 Th1/Th2 细胞失衡, 降低 IL-4、IL-6 和 IL-17 分泌, 升高下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) mRNA 表达和血清 CORT 含量, 表明硬尖神香草多糖能够调节 HPA 轴的功能, 在一定程度上调节 NEI 网络, 并且能够调节内源性抗炎机

制和减少炎性细胞因子的释放, 进而改善哮喘的炎症反应, 以有效治疗哮喘。

2.2.5 其他 刘林慧^[45]在通过 OVA 诱导的过敏性哮喘小鼠模型的研究中发现, 应用硬尖神香草提取物治疗后, 观察到哮喘小鼠气道阻力降低、炎症细胞数量减少、炎症因子水平下降以及气道炎症缓解的现象。此外, 研究进一步揭示, 神香草通过下调 Fc epsilon 通路中的 p-PI3K、p-p38 和 p-JNK 靶点蛋白的表达来治疗过敏性哮喘, 表明 PI3K/JNK/p38 信号通路与神香草发挥抗过敏性哮喘作用密切相关。Zhang 等^[46]进一步研究发现, 通过 LPS 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞和 OVA 诱导的 BALB/c 小鼠哮喘模型验证了硬尖神香草挥发油潜在的信号转导途径, 结果表明硬尖神香草挥发油通过抑制 PI3K/Akt/JNK/p38 信号通路减轻 OVA 诱导的哮喘小鼠的气道炎症, 并通过减少 occludin、ZO-1、ZO-2 和 E-cadherin 的降解来维持气道屏障的完整性。

综上所述, 硬尖神香草调控哮喘是通过多靶点、多途径整合共同完成的, 具有较好的疗效及安全性, 但硬尖神香草治疗哮喘的物质基础研究较为薄弱, 进一步研究硬尖神香草抗哮喘的物质基础及作用机制可为哮喘等呼吸系统疾病治疗药物的发现提供新思路。

2.3 降血糖

郭玉婷等^[47]研究发现, 硬尖神香草提取物能够显著降低 1 型糖尿病小鼠的空腹血糖, 并能明显改善糖尿病小鼠糖耐量, 表现为较好的治疗糖尿病作用。此外, 神香草提取物对于蔗糖及麦芽糖处理的葡萄糖浓度升高有显著的抑制作用, 但对葡萄糖处理所致的肠管吸收无抑制作用。由此表明, 硬尖神香草提取物通过抑制葡萄糖苷酶来抑制单糖分解, 从而控制葡萄糖浓度升高^[48]。研究发现, 硬尖神香草提取物能下调链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病大鼠的 *C-fos*、*GSK-3 β* 、*NF- κ B* 和 *TNF- α* 基因表达, 显著上调 *ABCA1* 和 *ABCG1* mRNA 的表达, 并推测多酚类和黄酮类可能是硬尖神香草主要的降血糖活性成分^[49]。

硬尖神香草的降血糖作用对 1 型、2 型糖尿病均有效, 现有研究已证明硬尖神香草可以通过调节 *GSK-3 β* 、*C-fos*、*NF- κ B*、*ABCA1* 和 *ABGAI* 的基因表达从而发挥降糖作用, 并能有效抑制葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶来降低血糖。但目前硬尖神香草治疗糖尿病的机制尚不完善, 药效物质基础尚不清楚, 未来可在此基础上加强硬尖神香草治疗糖尿病的研究与应用。

2.4 抗氧化

研究发现, 硬尖神香草乙醇提取物的不同萃取部分具有不同程度的清除自由基能力和还原能

力,其中二氯甲烷部位抗氧化活性最强,正丁醇部位次之,水部位几乎无抗氧化活性^[50]。Aihaiti等^[51]将硬尖神香草乙醇粗提物(ECE)、石油醚提取物(PEF)、乙酸乙酯提取物(EAF)、正丁醇提取物(BF)和水提物(WF)以 $50\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的浓度溶解于二甲基亚砜(DMSO)中,测定其抗DPPH、ABTS和FRAP的活性,结果EAF对DPPH、ABTS和FRAP具有较强的抗氧化活性;BF对ABTS和FRAP具有较强的抗氧化活性,对DPPH具有中等的抗氧化活性;WF对DPPH、ABTS和FRAP的抗氧化活性较弱,PEF无抗氧化活性^[51]。麦麦提江等^[52]以硬尖神香草总黄酮和神香草水提取物及30%、50%、70%乙醇提取物作为受试药进行体外抗氧化活性实验,结果显示,硬尖神香草不同浓度乙醇提取物及其总黄酮DPPH $\cdot$ 、OH $\cdot$ 、O $_2^{\cdot-}$ 清除能力和铁离子还原能力比较,总黄酮抗氧化能力最强。Zhao等^[53]研究发现,与DPPH $\cdot$ 、OH $\cdot$ 、O $_2^{\cdot-}$ 相比,硬尖神香草对ABTS自由基的清除能力更强,平均 IC_{50} 值为 $0.0245\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在动物抗氧化性实验中,硬尖神香草乙醇提取物提高了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,降低了丙二醛(MDA)含量,其抗氧化的机制可能与神香草中总多酚和类黄酮含量有关。裘惠霞等^[22]研究发现,分别喂食含硬尖神香草干叶的饲料及灌胃硬尖神香草非挥发性提取物均能明显改善由D-半乳糖所致大鼠衰老及血清中SOD、GSH-Px、CAT的活性,并能显著降低MDA及脂褐素(LPF)的含量。这表明硬尖神香草及其非挥发性提取物可以通过调节组织和血中某些氧化指标来清除机体氧自由基,提高机体抗活性氧损伤的能力。Aihaiti等^[51]研究显示,硬尖神香草挥发油腹腔注射给药21 d可显著降低慢性应激引起的学习和记忆障碍小鼠血清和脑中MDA和血清CORT水平,并增加了大脑和血清抗氧化能力,表明硬尖神香草挥发油对慢性压力引起的认知障碍的改善可能是由于其抗氧化和神经保护作用。阿勒腾图娅等^[30]采用DPPH自由基法、邻苯三酚自氧化法,以维生素C为参照,发现神香草挥发油具有一定清除自由基能力,DPPH自由基法和邻苯三酚法测得神香草挥发油最大抑制率分别为19.24%和11.44%。

综上,硬尖神香草不同部位及其挥发油均展现出抗氧化活性,尤以二氯甲烷和乙酸乙酯提取物的活性较强,未来,可以进一步深入研究硬尖神香草的抗氧化机制及其具体活性成分,为其在实际应用中的优化和改进提供科学依据。

2.5 抗菌

目前,硬尖神香草的抗菌活性在制药、食品、化妆品等领域中已体现出其重要的应用价值,其

发挥抗菌作用的主要成分为挥发油类和酚酸类,但是对于硬尖神香草抗菌作用的机制研究尚少,目前已证明硬尖神香草可以通过改变细胞膜的通透性产生抑菌效果,开展硬尖神香草的抗菌机制研究将有力地促进其在医药、食品、化妆品等方面的开发应用。

Aihaiti等^[54]研究发现,硬尖神香草中的迷迭香酸、迷迭香酸甲酯、迷迭香酸丁酯和丹参素对白念珠菌、大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌均表现出较强的抑制活性,并且硬尖神香草挥发油比水提物的抗菌效果更为显著。已有研究表明迷迭香酸为硬尖神香草的主要成分^[55],孙响等^[56]研究发现,迷迭香酸可改变细菌细胞膜的通透性,导致还原糖和蛋白质的渗漏而影响细胞代谢,通过抑制DNA聚合酶的活性而影响DNA复制,从而发挥了抑菌作用。此外,迷迭香酸对常见的几种有害菌均有不同程度的抑制作用,具有广谱抗菌活性,通过最小抑制浓度(MIC)值比较抑菌效果为单增李斯特菌>金黄色葡萄球菌>托拉斯假单胞杆菌^[57]。Shomirzoeva等^[58]从神香草EAF分离得到18个化合物并采用HPLC-DAD-ESI-HRMS/质谱法对EAF酚类进行分析,鉴定出咖啡酸、阿魏酸和异阿魏酸等9个衍生物。对其抗菌活性进行了评价,结果表明EAF抑菌圈直径:白念珠菌9.5 mm、大肠埃希菌8.0 mm、金黄色葡萄球菌11.0 mm。

2.6 抗肿瘤

刘畅等^[59]通过对神香草95%乙醇提取物中的化学成分进行分离,从中获得9个化合物,对9个化合物进行抗肿瘤活性筛选,结果显示,化合物神香草酮A、茴香酸、(E)-p-香豆醇 γ -O-甲醚对HGC-27胃癌细胞具有一定的抑制作用,其中,神香草酮A的半数抑制浓度(IC_{50})值为 $8.76\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,表明硬尖神香草中部分化合物可以作为潜在的抗肿瘤药物。贺金华^[60]研究发现,硬尖神香草提取物可显著抑制人肺癌细胞A549和NCI-H1975的增殖、迁移和侵袭,影响细胞形态及细胞上清液中炎症因子TNF- α 、IL-6的释放,且具有剂量依赖性,同时有效抑制对其侵袭相关的基质金属酶(MMP)-2、MMP-9的分泌。同时,与顺铂联用可降低顺铂对肺癌小鼠的免疫抑制作用。

以上研究为硬尖神香草治疗肿瘤提供了可靠的理论依据,但硬尖神香草的抗肿瘤作用机制尚未完全阐明、活性成分的分离及化学表征有待进一步的研究。未来可加强其作为新的抗肿瘤药物的应用与研究。

3 总结与展望

硬尖神香草作为新疆当地特色药材,临床应用历史悠久,在防治哮喘方面具有独特的疗效和

临床价值。然而，其抗哮喘机制涉及的信号通路
与调控分子复杂，核心调控靶点尚未明确。未来
需进一步深入系统研究硬尖神香草通过多靶点、
多途径整合调控哮喘的作用机制与物质基础，可
为硬尖神香草治疗哮喘等呼吸系统疾病提供全面
系统的理论依据，为硬尖神香草药用植物的资源
开发及利用提供参考。

目前，硬尖神香草所含的丰富化学成分尚未
完全解析，且许多成分因难以入血或微量入血而
缺乏明确的生物活性与生物利用度，这无疑为其
有效性的阐释增添了难度。鉴于此，聚焦于硬尖神
香草的实际应用，以药效物质基础为抓手，深入
剖析其物质构成特征，开展化学成分的重构工作、
入血成分的定量分析，对于推动药效机制的研究、
全面阐述其作用机制至关重要。此外，硬尖神香草
在降血糖、抗菌、抗肿瘤等方面的虽已展现出较好
活性，但相关研究尚浅，药效物质、作用机制及临
床疗效等层面的探索尚待深化。值得关注的是，基
础研究与临床研究之间存在的脱节现象，使得硬
尖神香草的诸多药理活性亟待在临床实践中进一
步验证。因此，亟须深化对硬尖神香草药理活性
的筛选，加强其安全性及有效性的综合评价。

综上，硬尖神香草具有广阔的应用前景，对
其开展广泛深入的研究，可为后期临床开发新药
提供重要参考，为中药民族药的传承、发展、创新
奠定基础。

参考文献

- [1] 耿东升. 维吾尔医药基本理论及其药物研究进展(下)[J]. 中国民族医药杂志, 2007, 3(3): 9-14.
- [2] 艾买提江·阿衣甫别克, 买买提·努尔艾合买提, 买买提江·阿布都瓦克. 维药“祖发”的本草考证[J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(16): 29-35.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册[S]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999.
- [4] 喀日耶姆·艾海提. 硬尖神香草化学成分及其生物活性研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2021.
- [5] 兰卫. 维吾尔药神香草的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(8): 115-121.
- [6] 薛敦渊, 陈宁, 潘鑫复, 等. 硬尖神香草挥发油化学成分研究[J]. 高等学校化学学报, 1990, 11(1): 90-92.
- [7] 魏敏, 孙璇. RP-HPLC 同时测定硬尖神香草中 4 种成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(11): 77-79.
- [8] 蔡晓翠, 买买提·艾力, 王新堂, 等. 硬尖神香草的化学成分研究[J]. 中药材, 2021, 44(4): 848-852.
- [9] 韩雪, 李莉, 刘佳倪, 等. 正交试验优化神香草中的迷迭香酸和蒙花苷提取工艺[J]. 安徽医药, 2023, 27(2): 251-254.
- [10] Furukawa M, Makino M, Ohkoshi E, et al. Terpenoids and phenethyl glucosides from *Hyssopus cuspidatus* (Labiatae) [J]. Phytochemistry, 2011, 72(17): 2244-2252.
- [11] 吕红红, 周凡, 马小琴. 神香草挥发油化学成分的 GC-MS 研究概述[J]. 中国中医药科技, 2018, 25(4): 615-617.
- [12] 刘丹, 朱小涛, 向瑾, 等. 神香草倍半萜类化学成分研究[J]. 中草药, 2019, 50(5): 1049-1054.
- [13] 张亚杰, 康雨彤, 贺金华, 等. 硬尖神香草三萜类化学成分研究[J]. 中药材, 2020, 43(2): 347-349.
- [14] 郑伊诺, 贾佳庆, 刘媚琪, 等. 丹参酚酸类化合物的合成生物学研究进展[J]. 中南药学, 2024, 22(8): 2116-2123.
- [15] Venditti A, Bianco A, Frezza C, et al. Essential oil composition, polar compounds, glandular trichomes and biological activity of *Hyssopus officinalis* subsp. *aristatus* (Godr.) Nyman from central Italy [J]. Ind Crop Prod, 2015, 77: 353-363.
- [16] Shomirzoeva O, Li J, Numonov S, et al. Chemical components of *Hyssopus cuspidatus* Boriss.: isolation and identification, characterization by HPLC-DAD-ESI-HRMS/MS, antioxidant activity and antimicrobial activity [J]. Nat Prod Res, 2018, 34: 534-540.
- [17] 潘雅朦, 康雨彤, 蔡晓翠, 等. 基于 Notch/STAT 信号通路研究神香草对哮喘免疫失衡的调节作用[J]. 中南药学, 2023, 21(5): 1138-1144.
- [18] 符继红, 张丽静. 新疆维吾尔医用药材神香草挥发油的 GC-MS 分析[J]. 中成药, 2008, 30(3): 413-414.
- [19] 买买提江·阿布都瓦克, 夏木西努尔·艾克拜尔, 海白尔·火加艾合买提, 等. 维吾尔医常用药材硬尖神香草花正己烷部位化学成分 GC-MS 分析[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(3): 33-35.
- [20] 吕红红, 周凡, 马小琴. 神香草挥发油化学成分的 GC-MS 研究概述[J]. 中国中医药科技, 2018, 25(4): 615-617.
- [21] 付晓, 王莹, 兰卫. 超声辅助水蒸气蒸馏提取硬尖神香草精油的工艺优化[J]. 化学与生物工程, 2022, 39(2): 19-22.
- [22] 裘惠霞, 姚雷. 神香草及提取物的抗衰老作用[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2005, 23(1): 1-4.
- [23] 吴晓菊, 徐效圣, 金英姿, 等. 四种提取方法对神香草精油的品质影响[J]. 农产品加工, 2016(6): 10-11, 15.
- [24] 丁剑冰, 武新华, 王亚男, 等. 神香草的实验研究[J]. 新疆中医药, 2002, 20(3): 10-11.
- [25] 阿孜古丽·吐鲁洪, 努尔江·肉孜, 于洋, 等. 维药神香草不同提取物镇咳、祛痰作用比较研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(17): 10-12.
- [26] 麦合苏木·艾克木, 努尔江·肉孜, 于洋, 等. 维药神香草乙酸乙酯部位的抗炎、止咳、祛痰及平喘作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2014, 20(4): 39-42.
- [27] 麦合苏木·艾克木, 努尔江·肉孜, 阿不都热依木·玉苏甫. 维药神香草总黄酮抗炎、止咳、祛痰及喘作用研究[J]. 新疆医科大学学报, 2014, 37(4): 403-406.
- [28] 尹龙萍, 邓毅, 姚雷, 等. 维药祖发奇尼的抗菌和解痉作用实验研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(2): 409-411.
- [29] 袁凤娟, 孙玉华, 哈木拉提·哈斯木, 等. 神香草不同洗脱物对豚鼠离体气管平滑肌收缩的影响[J]. 中国药房, 2017, 28(13): 1790-1793.
- [30] 阿勒腾图娅, 姜敏, 郭玉婷, 等. 神香草挥发油抗氧化能力和血管舒张作用及其机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(4): 579-585.
- [31] 陈超辉, 汤昱, 董利利, 等. 硬尖神香草提取物对哮喘幼鼠气道重塑的作用机制[J]. 西北药学杂志, 2024, 39(3):

- 33-39.
- [32] 姜敏, 田戈, 王晶, 等. 维药神香草对 COPD 小鼠 Th1/Th2 和 Th17/Treg 平衡的影响 [J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2013, 15 (3): 591-594.
- [33] 侯敏, 朱明, 马秀敏, 等. 维药神香草对哮喘大鼠血清白介素 -17 水平及 Th1/Th2 平衡的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2010, 20 (3): 365-368.
- [34] 徐茜, 马雪萍, 贺家勇. 维药神香草对治疗哮喘大鼠的免疫机制研究 [J]. 转化医学杂志, 2017, 6 (4): 203-206.
- [35] 康瑜, 张亚杰, 沈晓丽, 等. 神香草提取物抗炎作用机制研究 [J]. 中药材, 2022, 45 (1): 187-193.
- [36] Khanzode S, Dakhale G, Khanzode S, et al. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors [J]. Redox Report, 2003, 8 (6): 365-370.
- [37] Yuan F, Liu R, Hu M, et al. JAX2, an ethanol extract of *Hyssopus cuspidatus* Boriss, can prevent bronchial asthma by inhibiting MAPK/NF- κ B inflammatory signaling [J]. Phytomedicine, 2019, 57: 305-314.
- [38] 潘雅朦, 康雨彤, 蔡晓翠, 等. 基于 Notch/STAT 信号通路研究神香草对哮喘免疫失衡的调节作用 [J]. 中南药学, 2023, 21 (5): 1138-1144.
- [39] 戎晓娟, 孔令霏, 康雨彤, 等. 基于脂质代谢组学的卵白蛋白诱导小鼠过敏性哮喘机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2023, 39 (3): 477-483.
- [40] Kong LF, Rong XJ, Yong P, et al. The influence of *Hyssopus cuspidatus* Boriss extract on lipid mediators metabolism network in asthmatic mice [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1066643.
- [41] Qin T, Rong XJ, Zhang X, et al. Lipid mediators metabolic chaos of asthmatic mice reversed by rosmarinic acid [J]. Molecules, 2023, 28 (9): 3827.
- [42] Guo HH, Han YX, Rong XJ, et al. Alleviation of allergic asthma by rosmarinic acid via gut-lung axis [J]. Phytomedicine, 2024, 126: 155470.
- [43] 薛志琴, 马雪萍, 徐琦, 等. 维吾尔药神香草调节哮喘大鼠下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴功能紊乱的实验研究 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11 (22): 4222-4224.
- [44] 马雪萍. 神香草多糖对哮喘大鼠细胞因子和神经内分泌免疫网络的实验研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2011.
- [45] 刘林慧. 神香草治疗过敏性哮喘的作用机制研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2022.
- [46] Zhang YL, Peng HM, Li JJ, et al. The volatile oil of *Hyssopus cuspidatus* Boriss. (HVO) ameliorates OVA-induced allergic asthma via inhibiting PI3K/Akt/JNK/P38 signaling pathway and maintaining airway barrier integrity [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 334: 118568.
- [47] 郭玉婷, 耿直, 兰卫, 等. 维药神香草提取物对 I 型糖尿病小鼠血糖及糖耐量的影响 [J]. 新疆医科大学学报, 2015, 38 (11): 1351-1353.
- [48] 怡悦. 神香草提取物抑制血糖升高的作用 [J]. 国外医学 (中医中药分册), 2005, 27 (3): 179.
- [49] Abdel-Megeed RM, El Newary SA, Kadry MO, et al. *Hyssopus officinalis* exerts hypoglycemic effects on streptozotocin-induced diabetic rats via modulating *GSK-3 β* , *C-fos*, *NF- κ B*, *ABCA1* and *ABGAL* gene expression [J]. J Diabetes Metab Disord, 2020, 19 (1): 483-91.
- [50] 阿提坎木·瓦合甫, 热娜·卡斯木, 米仁沙·牙库甫, 等. 神香草与大苞荆芥体外抗氧化活性研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20 (5): 106-109.
- [51] Aihaiti K, Li J, Yaermaimaiti S, et al. Non-volatile compounds of *Hyssopus cuspidatus* Boriss and their antioxidant and antimicrobial activities [J]. Food Chem, 2022, 374: 131638.
- [52] 麦麦提江·阿依丁 (Mamatjan. Aydin). 神香草总黄酮主要化学成分分析及体外抗氧化、抗炎作用研究 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2018.
- [53] Zhao L, Ji ZH, Li KA, et al. HPLC-DAD analysis of *Hyssopus cuspidatus* Boriss extract and mensuration of its antioxidant property [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20 (1): 228.
- [54] Aihaiti K, Li J, Xu NN, et al. Monoterpenoid derivatives from *Hyssopus cuspidatus* Boriss. and their bioactivities [J]. Fito-terapia, 2023, 165: 105432.
- [55] 戎晓娟, 严欢, 韩阳, 等. 神香草水提物的主成分分析及含量测定 [J]. 中国药房, 2015, 26 (6): 808-810.
- [56] 孙岫, 汪靖超, 李洪涛, 等. 迷迭香酸的抗菌机理研究 [J]. 青岛大学学报 (自然科学版), 2005, 18 (4): 41-45.
- [57] 王音. 迷迭香酸对三种常见细菌抑菌活性的研究 [J]. 太原师范学院学报 (自然科学版), 2020, 19 (2): 71-74.
- [58] Shomirzoeva O, Li J, Numonov S, et al. Chemical components of *Hyssopus cuspidatus* Boriss.: isolation and identification, characterization by HPLC-DAD-ESI-HRMS/MS, antioxidant activity and antimicrobial activity [J]. Nat Prod Res, 2018, 34: 534-540.
- [59] 刘畅, 孙照翠, 夏提古丽·阿不利孜, 等. 硬尖神香草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2023, 54 (17): 5481-5486.
- [60] 贺金华. 神香草提取物在制备抗肺癌药物中的应用: 202211405827.1 [P]. 2023-02-24.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-05)

寡核苷酸药物非临床生殖发育毒性研究综述

鲁静^{1,2}, 王亚文¹, 雷智琦¹, 舒嘉傲¹, 李玲娜¹, 万治民¹, 窦德虎¹, 宫新江^{1*} (1. 江苏鼎泰药物研究(集团)股份有限公司, 南京 211800; 2. 南京医科大学, 南京 211166)

摘要: 截至 2024 年 10 月, 全球已有 20 款寡核苷酸类药物 (ONT) 获监管审批进入临床。随着研发管线的迅速扩展, 已有超过 60 个 ONT 候选分子进入临床, 呈现显著的增长态势, 其中部分候选药物在关键性临床试验筹备阶段, 其潜在生殖发育毒性也日渐受到关注。近年来, ONT 产品在靶向性和疗效方面展现出显著优势, 但相关生殖发育毒性研究较少, 尚缺乏系统性认识。本文通过整理分析主要监管机构 (FDA/EMA/NMPA/PMDA) 发布的 ONT 非临床研究指导原则、行业共识, 以及已上市 ONT 产品的审评案例, 系统综述了该类药物生殖发育毒性的特征、研究基本原则、评价策略和实验设计要点。本文旨在为 ONT 的生殖发育毒性评价提供更多思路, 帮助设计基于产品属性的科学评估方案, 以期为后续研究、用药以及风险评估提供参考。

关键词: 寡核苷酸药物; 生殖发育毒性; 非临床评价; 作用机制; 风险评估

中图分类号: R994.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-2999-10

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.031

Non-clinical developmental and reproductive toxicology assessment of oligonucleotide therapeutics

LU Jing^{1,2}, WANG Ya-wen¹, LEI Zhi-qi¹, SHU Jia-ao¹, LI Ling-na¹, WAN Zhi-min¹, DOU De-hu¹, GONG Xin-jiang^{1*} (1. TriApex Laboratories Co., Ltd., Nanjing 211800; 2. Nanjing Medical University, Nanjing 211166)

Abstract: As of October 2024, globally 20 oligonucleotide therapeutics (ONT) have been approved for clinical use by regulatory agencies. With the rapid expansion of research and development, over 60 ONT candidates have entered clinical trials. An increasing trend observed in these preparatory stages for pivotal trials is the heightened focus on potential reproductive and developmental toxicity risks. Despite recent advancements in ONT with superior targeting capabilities and therapeutic efficacy, nonclinical evaluations of their reproductive and developmental toxicity profiles remain limited, lacking systematic understanding. This article reviewed the characteristics, fundamental research principles, evaluation strategies, and key considerations in study design to assess reproductive and developmental toxicity of ONT. Through comprehensive analysis of guidelines from major international regulatory authorities (FDA/EMA/NMPA/PMDA), industry consensus documents, and regulatory review cases of approved ONT products, we aimed to enhanced perspectives for toxicity evaluation, assist in designing scientific protocols tailored for product attributes, and offer reference for subsequent non-clinical investigations, clinical trials, and risk assessment.

Key words: oligonucleotide therapeutics; developmental and reproductive toxicology; non-clinical assessment; mechanism of action; risk assessment

寡核苷酸药物 (oligonucleotide therapeutics, ONT) 作为一种新兴的治疗手段, 在临床治疗领域已展现出广泛的应用价值。ONT 不仅在罕见病治疗中取得突破性进展, 在慢性代谢性疾病、心

血管等治疗领域也具有转化潜力^[1]。生殖发育毒性 (developmental and reproductive toxicology, DART) 是非临床安全性评价的重要组成部分, 其研究范围覆盖生殖周期全过程。2014 年国际学术联合体首

基金项目: 南京市生命健康科技专项项目 (No. 202205009)。

作者简介: 鲁静, 女, 博士, 主要从事非临床研究工作, email: lujing@tri-pex.com * **通信作者:** 宫新江, 男, 正高级工程师, 主要从事非临床研究工作, email: gongxinjiang@tri-apex.com

次系统阐述了 ONT 的 DART 评价策略,为后续多个获批产品的研发提供了方法论基础^[2]。截至 2023 年,美国健康与环境科学研究所(HESI)通过行业调研更新了 ONT 生殖发育毒性评价的实践。2024 年 11 月 15 日,美国食品药品监督管理局(FDA)发布了 ONT 非临床研究草案。本文结合现行指导原则、行业共识以及 20 款已上市 ONT 的研究数据,综述了该类药物的 DART 特点和研究要点,旨在为

ONT 的研发提供参考。

1 ONT 概述

ONT 通常由 20~60 个核苷酸组成,主要包括反义寡核苷酸(ASO)、小干扰 RNA(siRNA)和适配体(aptamer)等^[3]。ONT 主要通过 Watson-Crick 碱基互补配对原理(或其他原理)与 DNA、mRNA、pre-mRNA 杂交,能够沉默异常基因,从而抑制错误蛋白的表达(见图 1)。

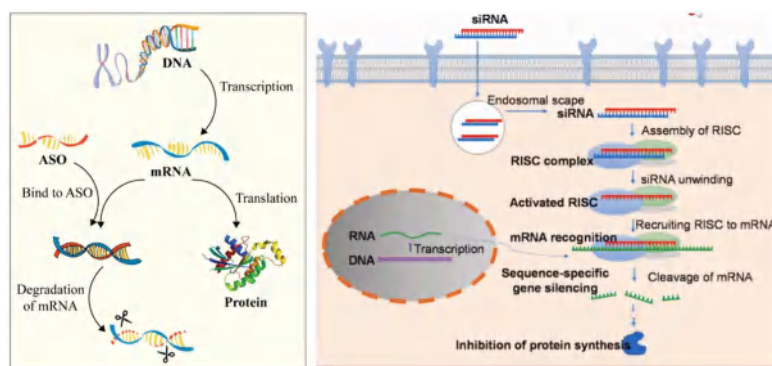


图 1 ASO 和 siRNA 药物的作用机制^[4-5]

Fig 1 Mechanisms of action of ASO and siRNA drugs^[4-5]

天然 ONT 在细胞外稳定性差,易被核酸酶降解,且因分子量大和带负电荷等特性,难以有效进入细胞。为增强体内稳定性,需在保留其生物活性的前提下对其进行化学修饰^[6]。近年来,ONT 在化学修饰和合成工艺上取得了重大突破,为新型 ONT 的研发创造了契机。全球已上市 20 款 ONT (见表 1),在序列设计、化学修饰和递送系统方面积累了丰富的经验。因结构亚类和生物学机制的不同,使其非临床安全性评价更复杂、多样,特别是在 DART 方面,仍缺乏系统认知。鉴于 ONT 在某些疾病领域的巨大潜力,基于相关指导原则并结合药物自身特征深入研究其 DART,对药物开发具有重要的指导意义。

2 ONT 的 DART 特征

由于 ONT 结构亚类和生物学机制复杂多样,且毒性可受到骨架结构、药理学活性和脱靶效应的多重影响,常规的设计不一定适用于所有类型的 ONT。故需对每种产品的 DART 实验进行适当调整^[2],根据产品特性设计实验方案。此外,ONT 的药理学作用可能与生殖功能和子代发育密切相关,对妊娠维持或胚胎发育产生影响。例如,硫代寡核苷酸易引起免疫毒性,可能产生促炎因子,导致炎症反应、组织损伤和生殖功能障碍等^[7];某些 ONT 可在卵巢、胎盘等组织中被检测到,且在胎盘中暴露水平呈剂量依赖性,可能导致炎症细胞浸润,从而对生殖发育过程产生影响^[8]。然而,目前关于 ONT 进入或穿过胎盘屏障的机制尚不明确,深入研究胎盘转运机制对于其 DART 的评估和指导药物开发具有重要意义。

3 ONT 的 DART 研究设计的基本原则和开展策略

3.1 指导原则

ONT 兼具小分子化药和生物制品的属性^[2]。一方面,ONT 含有生物系统中天然存在或不存在的化学元件,应关注其在细胞内的作用以及化学修饰的影响并遵循小分子化药非临床安全性评价相关的指导原则;另一方面,某些 ONT 的特性与生物制品相似,包括种属特异性、与内源性分子(即 DNA 和/或 RNA)的结构相似性,以及更长的半衰期和/或药效学作用等。同时,ONT 还可能具有脱靶效应。因此,ONT 的非临床安全性评价不仅需要参考当前针对小分子化药和生物制品的指导原则,还需结合已发布的行业技术指导原则、白皮书及相关文献等^[2,9-19],并基于每种 ONT 的产品特性进行评估。

根据 ONT 的适应证和覆盖的用药人群等因素,通常地开展动物的 DART 实验,包括对生育力与早期胚胎发育、胚胎-胎仔发育以及出生前后发育终点的影响^[19]。其实验设计原则上可参考人用药品技术要求国际协调理事会(ICH)S5(R3)、S6(R1)、日本医药品和医疗器械管理局(PMDA) *Guideline for preclinical safety assessment of oligonucleotide therapeutics* 及 FDA *Nonclinical safety assessment of onigonucleotide-based therapeutics guidance for industry* (征求意见稿),实施时间可参考 ICH M3(R2)。一般可采用分段式实验策略,也可以根据实际需要进行特殊设计,如生育力与早期胚胎发育毒性联合胚胎-胎仔发育毒性评估的方式。实验设计将取决于特定 ONT 的目标患者人群和药理作

表 1 全球已上市的 20 款 ONT 及其化学修饰汇总

Tab 1 Summary of 20 globally marketed ONT and their chemical modifications

药物类型	英文通用名	靶点	上市时间	临床适应证	修饰
ASO	fomivirsen	CMV	1998 年	巨细胞病毒视网膜炎	硫代
	mipomersen	ApoB	2013 年	Ⅱ a 型高脂蛋白血症	硫代 /2'-MOE
	eteplirsen	Exon51	2016 年	杜氏肌营养不良症 (DMD)	PMO
	nusinersen	SMN2	2016 年	脊髓性肌萎缩症	硫代 /2'-MOE
	inotersen	TTR	2018 年	ATTR	硫代 /2'-MOE
	volanesorsen	ApoC3	2019 年	I 型高脂蛋白血症	硫代 /2'-MOE
	golodirsen	Exon53	2019 年	DMD	PMO
	viltolarsen	Exon53	2020 年	DMD	PMO
	casimersen	Exon45	2021 年	DMD	PMO
	tofersen	SOD1	2023 年	肌萎缩侧索硬化	硫代 /2'-MOE
	eplontersen	TTR	2023 年	遗传性 ATTR (ATTRv) 多发性神经病	硫代 /2'-MOE
siRNA	patisiran	TTR	2018 年	ATTR	2'-O- 甲基
	givosiran	ALAS1	2019 年	急性肝卟啉症	2'F 和 2'-O- 甲基
	inclisiran	PCSK9	2020 年	原发性高胆固醇血症或混合型血脂异常	2'F 和 2'-O- 甲基 4 种硫代磷酸盐
	lumasiran	HAO 1	2021 年	原发性高草酸尿症 I 型	2'F 和 2'-O- 甲基
	vutrisiran	TTR	2022 年	ATTR	2'F 和 2'-O- 甲基
	nedosiran	LDHA	2023 年	原发性高草酸尿症 I 型	2'F 和 2'-O- 甲基
	defibrotide	PAI-1 + tPA + vWF	2016 年	肝静脉闭塞性疾病	无
	pegaptanib	VEGF	2004 年	黄斑变性	聚乙二醇 (PEG)
	avacincaptad pegol	C5	2023 年	地图样萎缩	PEG

注：“2'-MOE”表示 2'-O- 甲氧基乙基；“PMO”表示磷酸二胺吗啉代寡核苷酸；“ATTR”转甲状腺素蛋白淀粉样变性。药品信息来源于 <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> 和 <https://data.pharmacodia.com/>。

Note: “2'-MOE” for 2'-O-methoxyethyl; “PMO” for phosphorodiamidate morpholino oligome; “ATTR” for transthyretin amyloid. Data from <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> and <https://data.pharmacodia.com/>.

用^[20]。在某些情况下，现有数据[如作用机制、转基因动物的表型数据、效应的类别、一般毒理学研究结果、胚胎-胎仔发育毒性（EFD）初步研究结果、人类遗传数据]中的证据权重（WoE）可表明 ONT 对生育能力或妊娠结果有明显不利影响，可证实存在生殖和胚胎-胎仔发育风险，则无需进行其他非临床研究^[19]。

综上，国际上尚未形成统一的用于指导 ONT 的 DART 实验的指导原则。ICH 指导原则、ONT 相关白皮书及 FDA 技术指导原则征求意见稿为 ONT 的 DART 实验的基本设计提供了理论指导，同时也需要基于科学性原则，通过逐案分析进行 ONT 非临床研究评估。各国监管机构和 ICH 等正在积极规划与 ONT 非临床安全性评估有关的工作，以期形成指导 ONT 研发的科学指导原则^[2,16]。

3.2 动物种属选择和替代分子的使用

对于在常用动物种属中具有药理学活性的 ONT，其 DART 研究可采用啮齿类动物或兔。具体而言，用啮齿类动物进行生育力与早期胚胎发育毒性（FEED）实验和围产期发育毒性（PPND）实验，用啮齿类和兔进行 EFD 实验。PMDA、FDA 指导原则征求意见稿和白皮书等^[2,12,16,19,21]建议，当临床分子在啮齿类和兔中无药理学活性时，推荐用替代分子评估药理学相关的生殖毒性风险；同时用临床候选分子评估脱靶生殖毒性风险。研究设计通常

包括三个剂量水平的临床候选药物组和一个剂量水平的替代分子组，其他设计需说明理由^[19]。

由于序列依赖性杂交活性的可能性最大，且具有可靠的历史背景记录，非人灵长类动物（NHP）是迄今为止用于 ASO 和 siRNA 候选分子非临床研究的最常见非啮齿类动物^[18]。建议选择相关动物种属进行实验，当必须使用 NHP 时，最好开展增强的围产期发育毒性实验（ePPND）^[22]。但对于 ONT，需慎重考虑，提供充足的科学依据^[19]，NHP 仅在需要回答特定问题或替代分子不适用时使用。当啮齿类和兔生殖发育毒性风险的形成机制与人存在较大差异时，可用 NHP 开展 ePPND 实验识别生殖毒性风险，如 semaglutide 的生殖毒性研究（尽管不属于同一类产品）^[23]。总之，相关动物种属的选择、给药方案以及是否使用临床候选分子或替代分子需根据 ONT 的产品属性考虑。

4 已上市 ONT 的 DART 研究案例概述

通过对 FDA 及欧洲药品管理局（EMA）批准的 ONT（包括 ASO、siRNA、适配体等）进行调研，系统梳理了 siRNA 和 ASO 两大类产品的主要 DART 表现（见表 2 和表 3）。基于 ONT 药物在结构特征上的共性，已上市产品的毒理学研究数据在一定程度上为后续新药的 DART 评价提供了重要参考：① ONT 通常分布在特定的靶组织中，FEED 风险相对较小；② ONT 的胎盘转运效率和

生物学效应在一定程度上决定了 EFD 实验的结果；③ 免疫激活等作用可能会产生一定的 DART；④ 替代分子的毒性结果可为临床 DART 风险提供一定参考。此外，还需关注 ONT 在结构特征、药理学作用和代谢特征方面的差异，可能产生不同的 DART，如 eplontersen 的生殖实验中需关注药效学指标的变化（见表 3）。

5 ONT 的 DART 研究实验设计

方案设计需综合考量 ONT 的化学结构特征与预期的药理学效应。特定靶点的抑制效应可能通过双重机制干扰生殖功能：一方面，靶蛋白表达水平或功能的下调可能直接影响生殖系统；另一方面，妊娠期动物健康状态或胚胎发育情况可能因放大的药理学效应而受到影响。对于大多数 ONT，这种评估通常侧重于靶蛋白水平表达或功能降低的影响。因此，需系统评估特定靶蛋白在生殖系统及胚胎发育关键阶段的时空表达谱，以确定药物作用与靶点生物学功能的相关性。但 siRNA 类药物的评估通常侧重于关注 RNA 家族表达水平上调后对机体的影响。

胚胎-胎仔发育风险评估应基于药物暴露及代谢动力学特征展开。如果胎仔的 ONT 暴露量较少，则表明药物对胚胎或胎仔体内靶点直接影响的概率有限。有关胎盘转移的信息将有助于评估药物对胚胎和胎仔的影响^[16]。此外，需特别关注药理学相关的母体生理参数变化，此类变化可能通过干扰胚胎着床、影响妊娠维持或诱导发育异常等机制间接引起致畸效应。

给药方案设计须遵循 ICH S5 (R3) 指导原则的基本框架，但需结合 ONT 特有的药代动力学/药效学特征进行优化调整。可能与标准 DART 研究设计有区别，例如：一些 ONT 血浆半衰期短，但组织半衰期较长，具有持久的药效学 (PD) 效应，因此临床给药频率较低，然而生殖研究（尤其是 EFD 研究）要求药物在胚胎发育时期存在充分暴露，进行研究设计时需要平衡药物暴露和母体毒性反应。这也是 ONT 的 DART 研究所面临的挑战^[19]。

总之，建议研究前先基于现有研究证据建立系统靶点评估框架：先考察靶蛋白表达情况，及在胚胎、胎仔、幼龄动物体内（如果有）和生殖器官及组织中的分布和表达情况，预估靶蛋白表达抑制对母体生育力及子代生殖发育的潜在影响^[22]；其次，预估靶点抑制与生殖功能损伤的量效关系；最后，在实验设计和开展方面，系统全面地关注动物种属的选择、剂量选择、替代分子的设计和分组、给药方案、药效学指标和暴露评估等。这种整合型研究策略有助于准确评估 ONT 类药物对母体生育力及子代发育的潜在风险。

5.1 种属选择

种属选择需在药代动力学/毒代动力学 (PK/TK)、代谢及毒性敏感性和药理学作用方面与人类接近，且具有代表性。首先考虑受试物在啮齿类动物和/或兔中是否具有药理学活性，具体动物种属选择详见图 2。表 4 总结了已上市 ONT 的 DART 实验及动物种属。分析发现，inotersen、volanesorsen、patisiran 和 vutrisiran 等药物的相关种属仅为非人灵长类（猴），而 FEED 和 PPND 实验均用了啮齿类动物，研究对象包括临床候选分子和/或替代分子。除适应证和用药人群仅限男性的产品外，其他 ONT 均在啮齿类动物和兔中开展 EFD 实验。兔 EFD 实验均采用了临床候选分子，主要目的可能在于用临床候选分子在第二个种属中考察因脱靶效应带来的生殖毒性。考虑到 DMD 这一特殊适应证（患者主要为男性），相关药物如 eteplirsen、golodirsen 在重复给药毒性实验中均未见对雄性生殖系统的损伤，因此豁免了单独开展 DART 实验。同为 DMD 适应证的治疗药物 viltolarsen 和 casimersen，前者仅开展雄鼠的 FEED 实验，后者则在重复给药毒性实验中进行考察。该案例体现了生殖毒性评估与适应证特征及药物特性的综合评估策略。

① 若受试物在啮齿类动物和/或兔中具有药理学活性，则按照以下情形制订研究策略：

进行标准的啮齿类和兔研究，参考常规小分子化药的设计；受试物仅在用于 EFD 研究的一个常规种属（大鼠或兔）中有活性的情况下，需在第二个种属的 EFD 研究中彻底评估与 ONT 脱靶效应相关的影响。这一研究策略在案例中有所体现，如 givosiran、inclisiran、lumasiran 均用了无药理学活性的兔作为第二个种属来考察 EFD 毒性。

② 若受试物在啮齿类和兔中均无药理学活性，仅有猴为相关种属时，则按照以下情况制订研究策略：

进行常规种属（啮齿类动物或兔）的 DART 研究是有价值的，同时设置替代分子组考察与预期药理学相关的生殖毒性。如 eplontersen 药理相关种属为猴，仅采用小鼠进行了临床候选分子和替代分子的生殖 I、II 段联合实验，均未见毒性表现。可见检测水平的亲代雌雄动物游离 eplontersen 暴露，并在肝脏组织中累积，但在胎盘和胎仔肝脏中未检测到。替代分子可引起肝脏 TTR mRNA 水平显著下降，血清中正常胚胎发育所必需的维生素 A 水平下降，为临床提供风险提示。

当研究的目的是确定某种生殖毒性的特征时，如有特定生殖问题的 RNA 靶点（无法在啮齿类动物和兔中解决）或基于一般毒性研究中的独特结果的情况下，可能需要在 NHP 中评估 DART^[17]。

表 2 已上市 siRNAs 的生殖发育毒性实验设计和毒性表现

Tab 2 Developmental and reproductive toxicity study design and findings in marketed siRNAs

通用名	生殖阶段	实验设计			实验结果	
		种属 性别	剂量 / (mg · kg ⁻¹)	频率 途径		
patisiran	I	大鼠 M	L: 0, 0.03, 0.1, 0.3; S: 0.1	q2w iv	未见生育力异常	
	I + II	大鼠 F	L: 0, 0.15, 0.5, 1.5; S: 1.5	qw iv	未见雌性动物生育力和胚胎 - 胎仔异常	
		兔 F	0, 0.1, 0.3, 0.6	q6d iv	未见胚胎 - 胎仔毒性	
	III	大鼠 F	L: 0, 0.15, 0.5, 1.5; S: 1.5	q6d iv	未见供试品相关的围产期发育毒性	
givosiran	I	大鼠 M	伴随长毒实验考察: 0, 3, 10, 30	qw sc	NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹	
	I + II	大鼠 F	合笼前: 0, 3, 10, 30	qw sc	母体: 中高剂量谷草转氨酶 (AST)、三酰甘油 (TG)、钾离子 (K ⁺)、谷丙转氨酶 (ALT)、碱性磷酸酶 (ALP) 和磷 (P) 升高、白蛋白 (ALB) 降低。各组均未见对生育能力的影响。雌性生育力 NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹ ; 胚胎: 高剂量下骨盆耻骨骨化不完全	
			器官形成期: 0, 0.5, 1.5, 5	qd	母体: 中高剂量组可见摄食、增重减少, 红细胞 (RBC) 降低; 中高剂量组肝脏大体观察改变及高剂量 ALT、AST、纤维蛋白原 (FIB)、血小板 (PLT)、网织红细胞 (Retic) 改变; 生殖发育: 流产、着床后丢失率增加, 吸收胎数增加导致活胎仔和胎仔总数减少, 骨骼变异增加 (胸骨孤立骨化点、不对称骨化); NOAEL 为 0.5 mg · kg ⁻¹	
	II	兔 F	0, 0.5, 1.5, 5 (或 20, GD7 给药)	qd sc	母体: 各给药组可见摄食、增重减少, 红细胞 (RBC) 降低; 中高剂量组肝脏大体观察改变及高剂量 ALT、AST、纤维蛋白原 (FIB)、血小板 (PLT)、网织红细胞 (Retic) 改变; 生殖发育: 流产、着床后丢失率增加, 吸收胎数增加导致活胎仔和胎仔总数减少, 骨骼变异增加 (胸骨孤立骨化点、不对称骨化); NOAEL 为 0.5 mg · kg ⁻¹	
	III	大鼠 F	0, 3, 10, 30	q6d sc	未见供试品相关的围产期发育毒性	
	inclisiran I	大鼠 F	交配前 0, 10, 50, 250	q2w sc	未见生育力相关异常, NOAEL 为 250 mg · kg ⁻¹	
			0, 10, 50, 250/150	q4d	未见生育力及早期胚胎发育异常, NOAEL 为 250 mg · kg ⁻¹	
	II	大鼠 F	0, 50, 100, 150	qd sc	母体和胚胎 - 胎仔 NOAEL 均为 150 mg · kg ⁻¹	
			兔 F 0, 50, 100, 150	qd sc	母体和胚胎 - 胎仔 NOAEL 均为 150 mg · kg ⁻¹	
lumasiran	III	大鼠	0, 50, 100, 150	qd sc	NOAEL 为 150 mg · kg ⁻¹	
	I	大鼠 M	0, 5, 15, 50	qw sc	体重增长、摄食降低, NOAEL 为 50 mg · kg ⁻¹	
			F 0, 5, 15, 50		未见生育力及早期胚胎发育异常, NOAEL 为 50 mg · kg ⁻¹	
			DRF: 交配前 0, 10, 30, 100	qw	体 NOAEL; 生育力和早期胚胎发育 NOAEL 为 100 mg · kg ⁻¹ qw/30	
			交配后 0, 3, 10, 30	qd	mg · kg ⁻¹ qd	
	II	大鼠 F	0, 3, 10, 30	qd sc	高剂量下摄食下降, 母体 NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹ ; 骨骼异常 (胸骨骨化, 颈弓畸形), 胚胎 - 胎仔 NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹	
			兔 DRF 0, 3, 10, 30	qd sc	母体 NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹ ; 胎仔参数: 内脏畸形 (主动脉弓、膈疝、胆囊缺失、心脏肥大、三室心脏、室间隔缺损、肝大、肝分叶异常、脾脏过小) 未获得 NOAEL	
			0, 3, 10, 30		母体: 少量稀便, 体重增长和摄食下降, NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹ ; 胎仔参数: 骨骼异常 (下颌 / 颧弓融合), NOAEL 为 10 mg · kg ⁻¹	
vutrisiran	I	大鼠 F	DRF: 交配前 L 0, 15, 50, 150	qw sc	DRF: 中高剂量下可见体重增加和 RBC 减少, Retic 和 WBC 增加, 与肝损伤一致的临检指标变化, 子宫和胎仔重量降低; 未见交配、繁殖、生育和畸形相关异常。正式: F0 体重增长、摄食、前列腺分泌和重量减少, 肝脏变色变大, 可见剂量反应关系; 交配、繁育力、生育力 NOAEL 为 70 mg · kg ⁻¹	
			交配后 L 0, 3, 10, 30; S: 30	qd sc	和重量减少, 肝脏变色变大, 可见剂量反应关系; 交配、繁育力、生育力 NOAEL 为 70 mg · kg ⁻¹	
			正式: 0, 15, 30, 70	qw sc	和重量减少, 肝脏变色变大, 可见剂量反应关系; 交配、繁育力、生育力 NOAEL 为 70 mg · kg ⁻¹	
	II	大鼠 F	0, 3, 10, 30	qd sc	高剂量下妊娠期子宫减轻, 早产、早期和晚期吸收增加、着床后损失和死胎数增加; 中高剂量下胎仔体重减轻, 骨骼变异; 母体和胚胎 - 胎仔 NOAEL 均为 3 mg · kg ⁻¹	
			兔 F 0, 3, 10, 30	qd sc	母体和发育 NOAEL 为 30 mg · kg ⁻¹	
	III	大鼠 F	0, 5, 10, 20		NOAEL 为 20 mg · kg ⁻¹	
	nedosiran I	小鼠 M	L: 0, 500, 1000, 2000; S: 10	qw sc	NOAEL 为 2000 mg · kg ⁻¹	
	II	小鼠 F	L: 0, 500, 1000, 2000; S: 10	qod sc	L: 母体和发育 NOAEL 为 2000 mg · kg ⁻¹ ; S: 10 mg · kg ⁻¹ 未见母体和发育毒性, LDHA mRNA 表达水平降低约 75%	
			兔 F 0, 2, 6, 20	qod sc	L: 中高剂量下母体体重减轻和摄食下降; 子代着床后丢失率升高, 活胎数下降; 高剂量下胎儿心血管和骨骼畸形发生率升高; 母体和胚胎 - 胎仔 NOAEL 均为 2 mg · kg ⁻¹	

续表 2

通用名	生殖阶段	实验设计			实验结果
		种属 性别	剂量 / (mg • kg ⁻¹)	频率 途径	
Ⅲ	小鼠	F	L: 0, 250, 500, 1000; S: 10	qod/ sc qw	NOAEL 为 1000 mg • kg ⁻¹ 和 10 mg • kg ⁻¹

注: “iv” 为静脉注射; “sc” 为皮下注射; “qw” 为每周给药 1 次; “q2w” 为每周给药 2 次; “q6d” 为每 6 日给药 1 次; “q4d” 为每 4 日给药 1 次; “qod” 为隔日给药; “qd” 为每日给药 1 次; “L” 为临床分子; “S” 为替代分子。“M” 为雄性动物; “F” 为雌性动物; “TK” 为伴随毒代实验; “PD” 为伴随药效实验; “NOAEL” 为未见不良反应剂量; “DRF” 为剂量探索试验。数据来源于 <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> 和 <https://data.pharmacodia.com/>。

Note: “iv” for intravenous; “sc” for subcutaneous; “qw” for to administer once a week; “q2w” for twice a week; “q6d” for once every 6 days; “q4d” for once every 4 days; “qod” for every other day; “qd” for once daily; “L” means the clinical molecule; “S” is the surrogate molecule. “M” for male animals; “F” for female animals; “TK” means accompanying toxicokinetics studies; “PD” accompanying pharmacodynamic studies. “NOAEL” for no observed adverse effect. “DRF” indicates dose range finding. Data from <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> and <https://data.pharmacodia.com/>.

表 3 已上市 ASOs 的生殖发育毒性实验和毒性表现

Tab 3 Developmental and reproductive toxicity study design and findings in marketed ASOs

通用名	生殖阶段	实验设计			实验结果
		种属 性别	剂量 / (mg • kg ⁻¹)	频率 途径 伴随	
mipomersen	I + II	小鼠 M/F	L: 0, 3, 10, 25; S: 25	qod sc	TK 未见异常
	II	兔	L: 0, 2.5, 5, 15 S: 15	qod sc	TK L: 未穿过胎盘屏障, 未在胎仔肝脏和肾脏中检测到; 未见母体和胚胎发育异常。S: 与母体摄食和体重增长减少相关的流产, 胎儿体重和胸椎骨化部位显著减少, 可能与药理学活性有关 [该剂量下未见低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 变化]
	III	大鼠	L: 0, 2, 10, 20 S: 10	q2w sc	TK L: 母体哺乳期摄食下降; 高剂量下子代存活率下降; 哺乳期子代体重剂量依赖性下降; 中高剂量下子代视觉定位和握力受损; 离乳后雄性子代摄食和体重增长减少; 高剂量下雌性子代性成熟延迟。S: 子代视觉定位和握力受损, 雄性子代性成熟延迟
eteplirsen	I	猴 M	L: 猴 39 周 (≤ 320 mg • kg ⁻¹) 和幼龄大鼠 10 周 (≤ 900	/ / /	L: 猴 39 周和幼龄大鼠 10 周, S: 小鼠 26 周未见对雄性生殖系统的影响
	II	/	mg • kg ⁻¹), S: 小鼠 26 周 (960 mg • kg ⁻¹) 未见对雄性生殖系统的影响	/ /	
	III	大鼠 F	0, 5, 40, 320	qw sc	/ 可见骨长度、宽度、面积、矿物质含量, 骨密度剂量依赖性减低
nusinersen	I + II	小鼠 M/F	0, 3, 10, 25	qod sc	TK 胎盘转移量很低, 未观察到对胚胎发育的不利影响
	II	兔 F	0, 6, 12.6, 25	qod sc	TK 可见母体肝脏和胎盘暴露, 未见子代肝脏暴露, 未见母体毒性和胚胎发育异常
	III	小鼠 F	0, 1.4, 5.8, 17.2	qod sc q6d	/ 可见神经行为影响 (运动活动变化、学习和记忆缺陷); 未确定神经行为损害的无效应水平
inotersen	I + II	小鼠 M/F	L: 0, 3, 15, 25; S: 15	qod sc	TK/ 未见异常 PD
	II	兔 F	0, 2.5, 5, 15	qod sc	TK 高剂量下可见母鼠体重减轻、早产及胎仔偏小, 与母体毒性相关, 未观察到致畸性 PD
	III	小鼠 F	L: 妊 0, 2.9, 11.4, 22.9; 哺 0, 10, 40, 80 S: 妊 11.4, 哺 40	qod sc	/ 未见异常
volanesorsen	I + II	小鼠 M	mg / (kg • 周) ① L: 0, 10.5, 35, 87.5; S: 10.5; ② S: 0, 35, 87.5	qod sc	/ ① 87.5 mg • kg ⁻¹ : 精子数下降, 胎仔骨骼变异率升高; NOAEL 生育力: M 35 mg • kg ⁻¹ , F 87.5 mg • kg ⁻¹ ; F0 发育 35 mg • kg ⁻¹ ; ② ≥ 35 mg • kg ⁻¹ : 精子异常率上升, 胎仔骨骼变异率上升; NOAEL 生育力: M 10.5 mg • kg ⁻¹ , F 87.5 mg • kg ⁻¹ ; F0 发育 10.5 mg • kg ⁻¹
	II	兔 F	mg / (kg • 周) DRF: 0, 21, 52.5, 122.5 正式: 0, 10.5, 21, 52	qod sc	/ DRF: ≥ 52.5 mg • kg ⁻¹ 体重增长下降, AST 和 ALT 升高, 肾脏变色; 122.5 mg • kg ⁻¹ 肾脏和脾脏重量增加; F0 的 NOAEL 为 21 mg • kg ⁻¹ ; 正式: 52.5 mg • kg ⁻¹ : 母体增重、摄食下降, 4 只动物流产 / 早产, 胎仔体重下降; F0 和 F1 NOAEL 均为 21 mg • kg ⁻¹
	III	小鼠 F	L: 0, 10.5, 35, 87.5 S: 87.5	qw sc	/ F0 ≥ 10.5 mg • kg ⁻¹ 时肾脏重量增加, ≥ 35 mg • kg ⁻¹ 肝脏、脾脏重量增加; F1 ≥ 10.5 mg • kg ⁻¹ 阴道张开时间延迟, 87.5 mg • kg ⁻¹ 时仅 L 分子体重下降; 均未获得 F0 和 F1 的 NOAEL, F2 的 NOAEL 为 87.5 mg • kg ⁻¹

续表 3

通用名	生殖		实验设计				实验结果
	阶段	种属 性别	剂量 / (mg • kg ⁻¹)	频率	途径	伴随	
golodirsen	I + II	/ M	患者为男性,故伴随(小鼠、猴)长毒实验考察				TK 伴随实验在任何物种中均未观察到对雄性生殖器官或精子(运动能力和形态)的不良影响
	III	幼龄 M 大鼠	DRF: 0, 100, 300, 600, 960; 正式: 0, 100, 300, 900	qw	iv	TK	DRF: NOAEL 300 mg • kg ⁻¹ ; 正式: 900 mg • kg ⁻¹ ; 后肢和前肢握力轻度下降,给药期运动活动性轻度下降; NOAEL 为 100 mg • kg ⁻¹ ,由于中高剂量组可见肾毒性
viltolarsen	I + II	小鼠 M	患者男性,未开展雌性生殖实验; 0, 60, 240, 1000	qw	iv	TK	未见雄性生育力相关异常 ADA
	III	小鼠 M	DRF1: 0, 60, 240, 1000 DRF2: 0, 60, 240, 1000, 2000 正式: 0, 15, 60, 240, 1200	qw	iv	TK	1000 mg • kg ⁻¹ 肾脏重量增加,肾小管上皮中可见颗粒状嗜碱性物质; 240 mg • kg ⁻¹ 肾小管上皮中可见颗粒状嗜碱性物质。2000 mg • kg ⁻¹ 有 2/5 存在与肾小管扩张有关的肾脏“棕褐色病灶”,肾脏重量增加; 1000 mg • kg ⁻¹ 肾脏重量增加。1200 mg • kg ⁻¹ 有 5 例死亡(可能与肾小管变性相关),体重增重减少、性成熟延迟; ≥ 240 mg • kg ⁻¹ 肾小管变性; 基于肾毒性, NOAEL 为 60 mg • kg ⁻¹
casimersen	I	小鼠 M	患者为男性,伴随长毒实验考	qw	iv	/	均未见药物对激素或雄性生殖产生影响;
	II	猴 M	察即可,未考察雌性生殖毒 DRF: 0, 100, 300, 600, 960; 正式: 0, 100, 300, 900			/	DRF, 各剂量组肾脏均可见苍白变色; 300、600、960 mg • kg ⁻¹ : 肾小管空泡(轻微到轻度),发生率和严重程度呈剂量相关性; NOAEL 为 960 mg • kg ⁻¹ 。
	III	幼龄 M 大鼠 F				TK	正式,未见对发育参数(雄性生殖等)的影响,在所有剂量下均检测到肾小管空泡,在中高剂量下检测到细胞质嗜碱性颗粒和变性/坏死; NOAEL 为 300 mg • kg ⁻¹
tofersen	I + II	小鼠 M F	0, 3, 10, 30	qod	sc	TK	睾丸和附睾间质内空泡样、嗜双性巨噬细胞,睾丸生精小管变性或扩张、精子细胞滞留, NOAEL 为 10 mg • kg ⁻¹ ; 对雌鼠交配、动情周期、交配指数、生育指数或卵巢和子宫参数均无影响,妊娠率为 81.8% ~ 100%,对照低中高剂量组可见吸收胎比率分别为 52.9%、50.0%、70.6% 和 94.4%。未见药物相关的畸形或对窝仔参数的影响。EFD 的 NOAEL 为 30 mg • kg ⁻¹ (血浆暴露 MRHD×4)
	II	兔 F	0, 3, 10, 30	qod	sc	TK	NOAEL 为 30 mg • kg ⁻¹ (血浆暴露 MRHD×20)
	III	小鼠	0, 1, 10, 30	qod	sc	/	NOEAL 为 30 mg • kg ⁻¹ (血浆暴露 MRHD×4 倍)
eplontersen	I + II	小鼠 M/F	L: 0, 5, 25, 75; S: 25	qw/ qod	sc	PD	L: 对生育能力、母体毒性和胎仔发育影响的 NOAEL 为 75 mg • kg ⁻¹ ; S: 未见不良反应,使肝脏 <i>TTR</i> mRNA 分别减少了 93% 和 97%
fomivirsen	I, II	未知生殖发育风险,风险获益评估					
非啮齿类动物的生殖 II 段实验和啮齿类动物生殖 III 段实验均未开展							

注:“/”为未开展或资料中未披露;“iv”为静脉注射;“sc”为皮下注射;“qw”为每周给药 1 次;“q2w”为每周给药 2 次;“q6d”为每 6 日给药 1 次;“q4d”为每 4 日给药 1 次;“qod”为隔日给药;“qd”为每日给药 1 次;“L”为临床分子;“S”为替代分子。“M”为雄性动物;“F”为雌性动物;“TK”为伴随毒代实验;“PD”为伴随药效实验;ADA. 抗药抗体。“NOAEL”为未见不良反应剂量;“DRF”为剂量探索试验;“MRHD”为最大推荐人体剂量。数据来源于 <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> 和 <https://data.pharmacodia.com/>。

Note:“/” for not conducted or not disclosed in the data;“iv” for intravenous;“sc” for subcutaneous;“qw” for to administer once a week;“q2w” for to administer twice a week;“q6d” means once every 6 days;“q4d” for once every 4 days;“qod” for every other day;“qd” for to administer once daily;“L” is the clinical molecule;“S” is the surrogate molecule.“M” for male animals;“F” for female animals;“TK” means accompany ing toxicokinetics studies;“PD” for accompanying pharmacodynamic studies;“ADA” for anti-drug antibody.“NOAEL” for no observed adverse effect.“DRF” indicates dose range finding.“MRHD” indicates maximum recommended human dose. Data from <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> and <https://data.pharmacodia.com/>.

③ 无任何相关种属时进行常规种属(啮齿类动物或兔)的生殖发育毒性研究,参考小分子化药,相关研究策略总结如下:

一般毒性研究外推:分析一般毒性评价结果,寻找可能对生殖系统产生潜在影响的迹象;关注药物的组织分布(是否在生殖器官中蓄积)。

遗传毒性研究的外推:倘若遗传毒性研究发现药物可能引发生殖细胞产生基因突变或染色体损伤^[24-25],那么可能会增加生殖风险。

体外研究方法^[26]:细胞培养、胚胎干细胞模型。
替代动物模型/替代分子实验:如有条件设计替代分子,可同时采用替代分子在生殖毒性预实验和/或正式实验中,评估药理学作用相关的生殖毒性风险^[11]。

5.2 剂量选择

5.2.1 高剂量的设置 高剂量组的剂量设置是确保研究结果可靠性和科学性的关键因素之一。高剂量的确定可基于多种考量,包括毒性终点选择、全身

表 4 已上市 ONT 进行的生殖发育毒性实验类型及使用的动物种属

Tab 4 Types of reproductive developmental toxicity studies on marketed ONT and animal species used

药物类型	通用名	生殖实验类型	相关种属	实验动物种属
ASO	fomivirsen	—	—	—
	mipomersen	FEED-EFD/EFD/PPND	猴	小鼠 ^a /兔 ^a /大鼠 ^a
	etelplirsen	FEED	猴	猴
	nusinersen (诺西那生)	FEED-EFD/EFD/PPND	猴	小鼠/兔/小鼠
	inotersen	FEED-EFD/EFD/PPND	猴	小鼠 ^a /兔 ^a /小鼠 ^a
	volanesorsen	FEED-EFD/EFD/PPND	猴	小鼠 ^a /兔 ^a /小鼠 ^a
	golodirsen	EFD/PPND	大鼠、猴	大鼠/幼龄大鼠
	viltolarsen	FEED/PPND	猴	小鼠/幼龄小鼠
	casimersen	伴随长毒实验考察(患者为男性)	—	—
	tofersen (托夫生)	FEED-EFD/EFD/PPND	猴	小鼠/兔/小鼠
	eplontersen	FEED-EFD	猴	小鼠 ^a
	patisirán	FEED/EFD/PPND	猴	大鼠 ^a /大鼠 ^a /兔 ^a /大鼠 ^a
siRNA	givosiran	FEED-EFD/EFD/PPND	大鼠、猴	大鼠/兔/大鼠
	inclisiran (英克利兰)	FEED/EFD/PPND	大鼠、猴	大鼠/大鼠、兔/大鼠
	lumasiran	FEED/EFD/PPND	啮齿类、猴	大鼠/大鼠、兔/大鼠
	vutrisiran	FEED/EFD/PPND	猴	大鼠 ^a /大鼠、兔/大鼠
	nedosiran	FEED/EFD/PPND	猴	小鼠 ^a /小鼠 ^a 、兔/小鼠 ^a
	defibrotide	EFD/PPND	大鼠	大鼠、兔/大鼠
	pegaptanib	EFD	啮齿类	小鼠、兔
	avacincaptad-pegol	EFD	大鼠、猴	大鼠、兔

注：“—”表示未开展或资料中未披露；“FEED-EFD”表示生殖Ⅰ、Ⅱ段实验联合；“a”表示使用了临床分子和替代分子。药品信息来源于 <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> 和 <https://data.pharmacodia.com/>。

Note: “—” indicates not conducted or not disclosed in the data; “FEED-EFD” indicates a combination of reproductive phase I and phase II studies; “a” means that both clinical and surrogate molecules were used. Data from <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/drug-approvals-and-databases> and <https://data.pharmacodia.com/>.

暴露饱和、暴露倍数、最大可行剂量 (MFD)、限定剂量 (LTD) 等。其中毒性终点是基于母体动物中产生的最低程度毒性的剂量。如体重变化、放大的药理学作用、毒理学反应 (如抽搐、过高的胚胎-胎仔致死性等)；inotersen 的兔 EFD 实验、mipomersen 的大鼠 PPND 实验，高剂量组均可见预期毒性。基于耐受性实验或 DRF 结果及一般毒性实验的结果，可获得全身暴露饱和的剂量，该剂量作为高剂量是合适的。关于暴露倍数，大于 MRHD 的 25 倍作为 EFD 和 PPND 的高剂量，是小分子化药常用的方式；生物制品会考虑最大预期药理学作用剂量或临床最大暴露 10 倍的剂量。对于 ONT，需要兼顾两者的要求：在动物种属产生最大的预期药理学效应，如 lumasiran，大鼠 EFD 高剂量 $30\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为人 MRHD 的 45 倍，兔 EFD 高剂量 $30\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为人 MRHD 的 90 倍；高于临床最大暴露约 10 倍的暴露量，如 inclisiran，兔 EFD 高剂量 $150\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 为人 MRHD 的 10 倍。

当给药途径/频率与药物 (或制剂) 的理化性质相关，以及受试种属的解剖构造/生理特性限制了给药剂量时，高剂量可设定为 MFD。此外，对于某些安全性较好的 ONT，若其他方法也无法适用，则可考虑使用 LTD。例如，在 nedosiran 的小鼠生殖毒性实验中，剂量设置为 500、1000、2000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 每周一次皮下注射给药，即采用了 LTD 的方法。

5.2.2 低剂量的设置 一般低剂量是预期观察到 DART 的 NOAEL，通常应为 MRHD 人体暴露的较低倍数 (如 1 ~ 5 倍)。如 mipomersen 的小鼠Ⅰ段和Ⅱ段、兔Ⅱ段实验中，在 MRHD 的 2 倍和 5 倍暴露量下，未见生育力和胚胎-胎仔毒性。

5.3 替代分子实验的设计与分组

原则上应使母体达到最大的药效水平，避免过高。超过最大药效水平的暴露与安全性评价无关，反而可能反映出 ONT 的脱靶效应，而替代分子本身不会被应用于人类^[19]。若在单剂量下已观察到生殖功能异常，可进一步确定与药理学相关的生殖效应的剂量反应关系，考察 NOAEL。若用安全性已知的替代分子，其化学结构相关的生殖毒性风险已被充分评估，可能仅需在最高剂量水平 (如最大耐受剂量) 考察临床分子毒性。如 volanesorsen，低剂量未观察到生殖功能异常，为进一步考察生殖毒性和剂量效应，继续中高剂量实验，最终确定 NOAEL 为低剂量。该分层研究策略有效平衡了实验效率与数据完整性要求。

5.4 给药方案

给药方案设计应基于 ONT 的药代动力学特征。ONT 通常表现出较短的血浆半衰期，但其在组织和药效学方面的半衰期较长，临床给药频率较低 (如每周给药或更长的间隔)。故 DART 实验中的给药频率不应简单地参照临床给药方案，而应根据具体药物的代谢特征进行优化。给药频率过高可能导致母体不耐

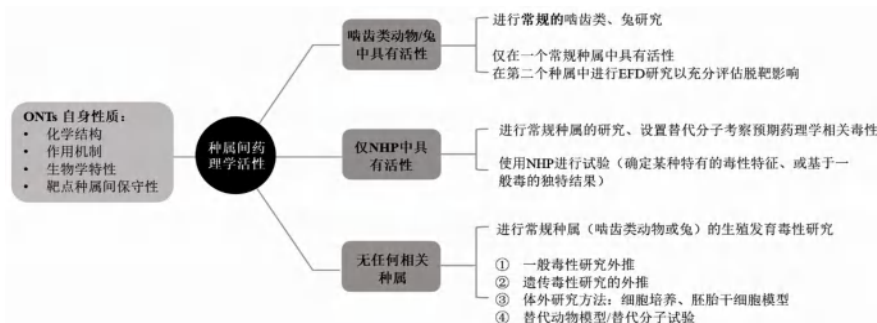


图2 ONT 种属选择的决策树

Fig 2 Decision tree for ONT species selection

注：确保实验符合科学和监管要求是种属选择的重要考虑因素，同时结合指导原则进行[例如 ICH S5 (R3)、ICH S6 (R1) 等]；实际种属选择过程中可能需要根据具体情况进行调整和进一步的研究；新的方法和技术也可能会影响种属选择的决策。

Note: The most important consideration in the species selection is to ensure that the study complies with scientific and regulatory requirements, in conjunction with the guidelines [e.g., ICH S5 (R3), ICH S6 (R1), etc.]. The actual species selection may need adjustment according to specific situation and further research. At the same time, new methods and technologies may also affect the decision-making in species selection.

受，而给药频率过低则可能无法覆盖器官形成期或致畸敏感期。如 vutrisiran 的临床给药频率为每 3 个月 1 次，且已证实肝脏和肾脏能够完全清除该药物。因此，在大鼠生殖毒性实验中，通过提高给药频率（如每日一次或每周一次）来确保妊娠期及子代离乳前的关键发育期有足够的母体和胎仔暴露。研究设计需要综合考虑药物的药代动力学特征、动物的生理状态和耐受性等因素。如已有类似药物或产品的经验，给药频率可供参考。在实验中需密切观察动物的行为、生理指标和神经发育情况，确保给药频率的合理性。在对具有持久的 PK/PD 效应的 ONT 进行 DART 研究时，给药方案的设计往往需在确保覆盖所有发育阶段的药物暴露与避免因过度药物暴露或分布部位积聚而导致的无关临床母体毒性之间找到平衡，针对这类产品，所选实验方法应具备充足的科学依据，如 FDA 建议与审查部门协商以明确合理的实验设计^[19]。

5.5 药效学指标考察

药效学生物标志物的检测非必要。如前期实验已充分评估药效学指标的变化，则可在 DART 实验中省略。例如，lumasiran 在猴重复给药实验中已显示 *HAOI* mRNA 的剂量依赖性沉默效应，沉默率在 QM 4 mg · kg⁻¹ 或 QW 2 mg · kg⁻¹ 剂量下可达 99%，在后续的 DART 实验中无需重复监测。然而，当使用替代分子进行实验时，建议考察药效学指标，以及相关基因或蛋白表达是否引起其他蛋白的改变。例如，在 EFD 实验中，mipomersen 评估了临床和替代分子对低密度脂蛋白 (LDL) / 极低密度脂蛋白 (VLDL) 水平的影响，结果显示未降低 LDL/VLDL 水平。这表明在替代分子实验设计中，药效学指标的考察对于实验结果的解读和临床分子毒性预测具有重要意义。

5.6 暴露量评估

充分了解靶点的表达水平，评估需关注的程度。ONT 在血浆中代谢快，组织半衰期长，主要分布于

肝脏和肾脏。建议检测母体靶器官 / 组织浓度，并评估胎盘或胎仔组织浓度（如 mipomersen、nusinersen、volanesorsen 等）。根据 S5 (R3) 指导原则，评估时需确认妊娠状态的暴露水平，必要时测定胚胎或胎仔的浓度（如 inclisiran、givosiran、patisiran 等），或采集乳汁或离乳前子代系统暴露。此外，还需考虑评估非预期的免疫刺激作用的潜在影响。例如，用 Toll 样受体 3 (TLR3) 激动剂处理妊娠小鼠后，可引起妊娠母体先兆子痫或胚胎吸收率上升，易引发流产或早产^[27-28]。因血 - 辜屏障结构致密^[29]，ONT 在辜丸中暴露较低；若 ONT 在子宫内暴露较低，则对胚胎或胎仔中靶点产生直接药理学活性的可能性小。例如，稳定的单链硫代寡核苷酸药物的胎盘转运非常有限^[8,30]。鉴于 PK/TK 特性与序列无关，可能无需监测所有类别分子的暴露量，但对某一特定化学类别的 ONT，可能需初步测定^[2]。如已有来自同一种属的其他研究数据，则无需详细评估暴露量。综上所述，科学的设计和母体暴露评估是 ONT 生殖发育毒性研究的重要考量点。

6 结语

在药物临床试验和应用中，必须高度重视生殖发育风险，特别是随着 ONT 药物研发的增加，其 DART 风险关注度上升。ONT 的生殖发育毒性机制受多种因素影响。目前研究尚不充分，需结合产品特点进行科学实验设计和综合分析。已上市产品的 DART 研究为临床试验和新药开发提供参考，但缺乏针对 ONT 的 DART 研究的指导原则。本文汇总了已上市药物 DART 评价的策略和技术要点，强调在实验设计中需关注动物种属选择、剂量设置、给药频率、替代分子使用（如适用）及暴露量评估等，以提高对临床风险的预测价值。DART 评价结果对临床决策和风险管理意义重大，尤其是针对育龄人群、孕妇和哺乳期妇女等潜在用药对象。

参考文献

- [1] Gerthoffer W. Epigenetic targets for oligonucleotide therapies of pulmonary arterial hypertension [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (23): 9222.
- [2] Cavagnaro J, Berman C, Kornbrust D, et al. Considerations for assessment of reproductive and developmental toxicity of oligonucleotide-based therapeutics [J]. *Nucleic Acid Ther*, 2014, 24 (5): 313-325.
- [3] Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19 (10): 673-694.
- [4] Gheibi-Hayat SM, Jamialahmadi K. Antisense oligonucleotide (AS-ODN) technology: principle, mechanism and challenges [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2021, 68 (5): 1086-1094.
- [5] Alshaer W, Zureigat H, Karaki A, et al. siRNA: mechanism of action, challenges, and therapeutic approaches [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 905: 174178.
- [6] Pourshahian S. Therapeutic oligonucleotides, impurities, degradants, and their characterization by mass spectrometry [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2021, 40 (2): 75-109.
- [7] Delannois F, Planty C, Giordano G, et al. Signal management in pharmacovigilance and human risk assessment of CpG 7909, integrating embryo-fetal and post-natal developmental toxicity studies in rats and rabbits [J]. *Reprod Toxicol*, 2018, 75: 110-120.
- [8] Henry SP, Denny KH, Templin MV, et al. Effects of human and murine antisense oligonucleotide inhibitors of ICAM-1 on reproductive performance, fetal development, and post-natal development in mice [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2004, 71 (6): 359-367.
- [9] ICH. S6 (R1) Harmonized tripartite guideline: preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals [EB/OL]. (2011-06-12) [2024-12-23]. https://database.ich.org/sites/default/files/S6_R1_Guideline_0.pdf.
- [10] ICH. M3 (R2) Guideline on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorisation for pharmaceuticals [EB/OL]. (2009-06-11) [2024-12-23]. https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2_Guideline.pdf.
- [11] ICH. S5 (R3) Detection of reproductive and developmental toxicity for human pharmaceuticals [EB/OL]. (2020-02-18) [2024-12-23]. https://database.ich.org/sites/default/files/S5R3_Step4_Guideline_2020_021.pdf.
- [12] PMDA. Guideline for preclinical safety assessment of oligonucleotide therapeutics [EB/OL]. (2020-03-30) [2024-12-23]. <https://www.pmda.go.jp/files/000236289.pdf>.
- [13] FDA. IND Submissions for individualized antisense oligonucleotide drug products; administrative and procedural recommendations [EB/OL]. (2021-01-04) [2024-12-23]. <https://www.fda.gov/media/144872/download>.
- [14] FDA. Nonclinical testing of individualized antisense oligonucleotide drug products for severely debilitating or life threatening diseases [EB/OL]. (2021-04-26) [2024-12-23]. <https://www.fda.gov/media/147876/download>.
- [15] EMA. Guideline on the development and manufacture of oligonucleotides [EB/OL]. (2024-07-22) [2024-12-23]. <https://www.ema.europa.eu/en/development-manufacture-oligonucleotides-scientific-guideline>.
- [16] Hirabayashi Y, Maki K, Kinoshita K, et al. Considerations of the Japanese Research Working Group for the ICH S6 & related issues regarding nonclinical safety assessments of oligonucleotide therapeutics: comparison with those of biopharmaceuticals [J]. *Nucleic Acid Ther*, 2021, 31 (2): 114-125.
- [17] Goyenvall A, Jimenez-Mallebrera C, Van Roon W, et al. Considerations in the preclinical assessment of the safety of antisense oligonucleotides [J]. *Nucleic Acid Ther*, 2023, 33 (1): 1-16.
- [18] Andersson P. Preclinical safety assessment of therapeutic oligonucleotides [J]. *Methods Mol Biol*, 2022, 2434: 355-370.
- [19] FDA. Nonclinical safety assessment of oligonucleotide-based therapeutics (Draft) [EB/OL]. (2024-11-15) [2024-12-23]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/nonclinical-safety-assessment-oligonucleotide-based-therapeutics>.
- [20] 王恒, 李华, 汪溪洁, 等. 小核酸药物非临床特点和药理毒理评价策略 [J]. *中国新药杂志*, 2022, 31 (12): 1137-1145.
- [21] 周宇, 王士奇, 孙涛, 等. 日本药品和医疗器械管理局《寡核苷酸治疗产品非临床安全性评价指导原则》指南介绍 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38 (22): 2788-2792.
- [22] 余珊珊, 胡晓敏, 王海学, 等. 治疗用单链寡核苷酸药物的非临床研究评价概述 [J]. *中国新药杂志*, 2018, 27 (10): 1122-1129.
- [23] FDA. 2017. Approval History Letters Reviews and Related Documents Semaglutide. (2021-06-04) [2024-12-03]. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209637Orig1s000TOC.cfm.
- [24] Motto AE, Lawson-EVI P, Diallo A, et al. Genotoxicity assessment and protective effect of anogeissus leiocarpus roots against cyclophosphamide-induced DNA damage in vivo [J]. *J Toxicol*, 2021, 2021: 8020240.
- [25] NMPA. 药物遗传毒性研究技术指导原则 [EB/OL]. (2018) [2024-12-23]. <https://www.cde.org.cn/zdyz/domesticinfolpage?zdyzIdCODE=ffca3812829ecc6b9fb436c519ffa675>.
- [26] Naren G, Wang L, Zhang X, et al. The reversible reproductive toxicity of 5-fluorouracil in mice [J]. *Reprod Toxicol*, 2021, 101: 1-8.
- [27] Zhang JH, Wei HM, Wu DM, et al. Toll-like receptor 3 agonist induces impairment of uterine vascular remodeling and fetal losses in CBA x DBA/2 mice [J]. *J Reprod Immunol*, 2007, 74 (1-2): 61-67.
- [28] Koga K, Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2010, 63 (6): 587-600.
- [29] Mruk DD, Cheng C. The mammalian blood-testis barrier: its biology and regulation [J]. *Endocr Rev*, 2015, 36 (5): 564-591.
- [30] Henry SP, Denny KH, Templin MV, et al. Effects of an antisense oligonucleotide inhibitor of human ICAM-1 on fetal development in rabbits [J]. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*, 2004, 71 (6): 368-373.

(收稿日期: 2024-12-23; 修回日期: 2025-05-12)

中药治疗化疗相关性腹泻作用机制的研究进展

董洋¹, 张路帆¹, 张亚薇¹, 李蒙星¹, 陈倩¹, 王丹^{1, 2, 3}, 吴昱铮^{1, 2, 3*}, 王涛^{1, 2*} (1. 天津中医药大学中医药研究院, 天津 301617; 2. 天津中医药大学, 组分中药国家重点实验室, 天津 301617; 3. 天津中医药大学, 现代中药创制全国重点实验室, 天津 301617)

摘要: 化疗相关性腹泻 (CID) 是化疗药物治疗常见的消化道不良反应, 主要表现为排便次数多 (每日腹泻数次或数十次, 持续数日), 严重限制了化疗进程, 甚至导致化疗中断, 延误病情。中药具有整体协同调控、作用相对温和的特点, 近年来在 CID 治疗中的作用逐渐受到关注。中药可通过多种途径发挥治疗 CID 的作用, 包括提高肠上皮细胞的增殖活性, 修复肠黏膜屏障的结构和完整性; 减少促炎因子的释放, 抑制炎症反应; 提高厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度, 降低拟杆菌门 (Bacteroidetes) 丰度, 恢复原有肠道菌群结构等。本文主要总结近年来复方中药、中药化学成分或部位在治疗 CID 中的应用和机制研究进展, 为进一步研究中药治疗 CID 的药效和机制提供参考。

关键词: 中药; 化疗相关性腹泻; 作用机制

中图分类号: R273.5, R285 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-3009-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.032

Research progress in the mechanism of action of traditional Chinese medicine for chemotherapy-induced diarrhea

DONG Yang¹, ZHANG Lu-fan¹, ZHANG Ya-wei¹, LI Meng-xing¹, CHEN Qian¹, WANG Dan^{1, 2, 3}, WU Yu-zheng^{1, 2, 3*}, WANG Tao^{1, 2*} (1. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617*; 2. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin 301617*; 3. *Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, National Key Laboratory of Modern Chinese Medicine Innovation, Tianjin 301617*)

Abstract: Chemotherapy-induced diarrhea (CID) is a common gastrointestinal side effect after the chemotherapy. CID is characterized by frequent defecation, diarrhea several or even tens of times a day, lasting for several days. This severely limits the course of chemotherapy, leads to the interruption of chemotherapy and delays timely treatment of the disease. Traditional Chinese medicine (TCM) possesses the feature of overall coordination and moderate action, which has aroused much attention in treating CID. TCM may improve the proliferation of intestinal epithelial cells while repairing the structure and integrity of the intestinal mucosal barrier. TCM also reduces the release of pro-inflammatory factors and inhibits the inflammatory responses. Additionally, TCM increases the abundance of Firmicutes but reduces the abundance of Bacteroidetes, thus restoring the original gut microbiota structure. This article summarized the recent progress in the application and mechanism of TCM formulas, as well as the chemical constituents of TCM compounds, in the treatment of CID to provide a reference for further research on the efficacy and mechanism of TCM for CID.

Key words: traditional Chinese medicine; chemotherapy-induced diarrhea; mechanism of action

基金项目: 天津市卫生健康委员会项目 (No.2024009)。

作者简介: 董洋, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药治疗肠炎的药效及机制研究, email: Dong1756@outlook.com *通信作者: 吴昱铮, 女, 助理研究员, 主要从事炎症性肠病的药效物质与作用机制研究, email: wuz2019@tjutc.edu.cn; 王涛, 男, 教授, 主要从事中药治疗代谢性疾病、炎症性肠病机制研究, email: wangtao@tjutc.edu.cn

化疗相关性腹泻 (chemotherapy-induced diarrhea, CID) 是化疗过程中常见的不良反应, 一般表现为稀便或水样便, 常伴有腹胀、腹痛以及食欲减退等症状^[1]。临床数据表明, 一线化疗药物五氟尿嘧啶 (5-FU) 和伊立替康 (CPT-11) 联合治疗引发的 3~4 级腹泻发生率高达 47%^[2]。CID 的发生会导致、电解质紊乱、肾功能不全、感染等严重并发症, 甚至导致化疗中断, 影响疾病治疗进程^[3]。目前, 临床上治疗 CID 的方法除补液维持电解质平衡外, 还会使用一些化学药物, 主要包括阿片类药物 (洛哌丁胺、地芬诺酯等), 生长抑素类似物 (奥曲肽、乌司他丁等), 三醋酸尿苷, 抗菌药物以及胆汁酸螯合物等^[4-5]。然而, 部分患者使用单一药物或多种药物联合治疗后效果仍不理想, 且停药后腹泻症状容易反复。

传统中医理论中没有“化疗药物”的概念, 而化疗药物药性寒凉, 故将 CID 归属于中医学“药毒”范畴^[6]。肿瘤患者本身正气亏损或久病损耗, 导致脾气不足^[7]。化疗药物进一步损伤脾胃^[8], 致脾胃虚弱、运化失常、水谷不化、湿邪内生、清气不升, 浊气下注大肠, 大肠传导功能失常^[9], 最终出现腹泻症状。由此可知, CID 的核心病机在于脾胃虚弱^[6,10], 因此中医治疗 CID 以“益气健脾、祛湿止泻”为主^[4,11]。目前, 已有一些中药方剂用于临床缓解 CID。例如, 卢冬雪等^[12]对 50 例化疗后出现腹泻症状的结直肠癌患者进行随机试验, 以评估乌梅丸中药汤剂对 CID 的治疗效果, 结果表明, 患者服用乌梅丸中药汤剂后, 大便泄泻、倦怠乏力、腹痛腹胀、食欲不振等中医相关证候明显减轻, 腹泻发生率显著下降。此外, 沈彬雯等^[13]在 66 例接受过 FOLFOX 或 FOLFIRI 化疗方案的胃肠癌患者中发现, 服用扶正消癌 I 号方对 CID 的治疗总有效率为 68.75%, 优于双歧杆菌三联活菌胶囊 (36.67%), 并且对于食欲下降、疲乏等伴随症状也有一定的改善作用。

随着中药缓解 CID 的临床有效性被证实, 以及国内外学者对中药“整体调节、多靶点协同作用”独特优势的深入了解, 中药治疗 CID 逐渐成为研究热点。本文从中药复方及单体中药修复肠黏膜屏障的结构和完整性、抑制炎症反应以及恢复肠道菌群结构三个方面对近年来中药治疗 CID 的相关文献进行综述, 以期为进一步开发治疗 CID 的中药新药提供参考。

1 CID 的发生机制

1.1 肠屏障受损

化疗药物导致的肠上皮屏障损伤是其引起 CID 的重要机制之一。肠上皮屏障由肠上皮细胞、紧密连接 (tight junctions, TJs) 和黏液层组成。肠上皮细胞包括杯状细胞、潘氏细胞 (Paneth cell, PC) 和 M 细胞 (microfold cell, M cell), 这些细胞可由位于肠隐窝底部的多能干细胞不断更新, 负责感知肠道中

微生物或外来物质的刺激, 参与协调肠黏膜免疫反应。CPT-11、5-FU、多西紫杉醇等传统化疗药物大多是非靶向性药物, 在有效控制肿瘤细胞生长的同时, 不可避免地造成正常细胞的死亡。一方面, 化疗药物直接损伤细胞 DNA 或阻碍 DNA 合成, 使肠上皮细胞和肠干细胞发生凋亡或坏死, 进一步导致肠绒毛损伤、隐窝破坏、肠黏膜屏障损伤, 造成肠道水液调节失衡, 从而引发腹泻^[14]; 另一方面, 化疗药物异常激活肠上皮细胞中一系列与 Caspase 家族相关的因子, 破坏细胞结构的完整性, 从而加速细胞凋亡。例如, 研究表明 5-FU 激活 p38 MAPK 通路, 上调了 Caspase-8、Caspase-3 的表达, 促进细胞凋亡, 引起肠道损伤^[15]。此外, 化疗药物干扰 Bcl-2 蛋白家族成员的表达平衡, 使促凋亡蛋白 (如 Bax) 等表达增加或活性增强, 抗凋亡蛋白 (如 Bcl-2) 等表达减少或功能受抑制, 加速线粒体途径的细胞凋亡。Zhang 等^[16]发现 CID 小鼠模型中 Bcl-2 的表达降低, Bax 的表达升高, Bcl-2/Bax 比率显著降低, 而给予清解扶正颗粒可显著缓解此现象。除此之外, 肠上皮细胞异常凋亡导致的密封蛋白 (Claudins)、闭合蛋白 (Occludin)、闭锁小带蛋白 -1 (ZO-1) 等紧密连接蛋白表达的减少, 也是化疗药物导致肠上皮屏障功能受损的关键原因。另有研究发现, 5-FU 会抑制 ZO-1、Claudin-1、Occludin 蛋白的表达, 促使 MLC mRNA 以及磷酸化 MLC 蛋白异常高表达, 增加大鼠的肠道通透性, 损伤肠上皮屏障^[17]。

1.2 肠道炎症

化疗药物不仅会导致肠屏障受损, 还会诱发肠道的免疫炎症反应, 促进肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-6 等炎症因子的释放, 进一步加重肠道黏膜损伤和腹泻症状。例如, Deng 等^[18]采用 5-FU 建立动物腹泻模型, 发现 5-FU 处理的肠道组织中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达水平显著高于对照组。另有研究表明, CPT-11 通过上调核因子 (NF)- κ B、STAT1 和 MAPK 信号通路激活巨噬细胞 NLRP3 炎症小体, 增加促炎细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的分泌; 其代谢物 SN-38 诱导肠上皮细胞死亡, 并导致致病菌入侵肠道固有层, 激活 TLR4/MyD88 通路, 增加 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等炎症介质的产生, 诱发肠道炎症, 进而导致腹泻^[19]。5-FU 刺激细胞产生活性氧 (ROS) 等物质, 激活 NF- κ B, 诱导 p65 磷酸化, 促使其向细胞核内转移, 启动炎症因子 TNF- α 的转录, 从而加剧炎症反应。此外, 化疗药物激活肠道巨噬细胞, 促进 M1 型极化、造成中性粒细胞等免疫细胞过度表达, 释放大炎症介质, 加重肠黏膜的炎症反应^[20]。

1.3 肠道菌群紊乱

研究表明, 肠道菌群紊乱也是引起 CID 的重要机制之一^[21-22]。临床研究显示, 肿瘤患者在接受

CPT-11、甲氨蝶呤等化疗药物治疗后,常会发生肠道微生物群紊乱,主要表现为肠道菌群多样性和丰度的减少。在门水平上,表现为变形菌门丰度的增加,厚壁菌门和放线菌门丰度的下降,尤其是一些能够产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)和发挥抑制炎症作用的菌群(或菌属),其相对丰度在患者接受化疗后大幅减少^[23]。Huang 等^[24]收集 100 例接受化疗的结直肠癌患者的粪便样本进行分析,发现化疗会引起患者肠道微生物群的显著变化,主要表现为厚壁菌门相对丰度的降低,拟杆菌门、变形菌门和疣微菌门相对丰度的增加,以及普雷沃氏菌、乳酸杆菌等菌属丰度的降低。Chen 等^[25]采用 5-FU 建立动物模型,对大鼠粪便进行分析,发现 5-FU 可显著降低厚壁菌门和软壁菌门的相对丰度;并且在属水平上,乳酸杆菌、普雷沃氏菌、梭菌等有益菌的相对丰度显著降低,而类杆菌属、埃希氏菌/志贺氏菌等有害菌的相对丰度显著升高。可见,化疗药物通过破坏肠道菌群平衡,使得有益菌减少、有害菌增多,造成炎症细胞因子和代谢物的异常表达,进而影响肠道的消化和免疫功能,最终导致腹泻的发生^[26]。因此,调节肠道微生态环境,增加双歧杆菌、乳酸杆菌等有益菌的数量,促进 SCFAs 等有益菌代谢物的产生,可能是缓解 CID 的有效途径。

2 中药对 CID 的调节作用

2.1 中药修复肠黏膜屏障缓解 CID

葛根芩连汤(Gegen Qinlian decoction, GQD)是《伤寒论》中记载的经典中药方剂,由黄芩、黄连、葛根、甘草组成,具有解表清里、协热下利的功效^[27],临床上常用于治疗溃疡性结肠炎等胃肠道疾病导致的腹泻,具有抗病毒、抗炎、缓解腹泻的效果^[28-29]。Wu 等^[30]给予葛根芩连汤治疗 CPT-11 诱导的 CID 动物模型,发现葛根芩连汤能够通过增加紧密连接蛋白 ZO-1 的表达,改善 CPT-11 造成的肠道屏障功能损伤。

黄连解毒汤(Huanglian Jiedu decoction, HLJDD)由黄连、黄柏、黄芩、栀子 4 味中药配伍而成,具有清热解毒的功效,主治三焦火毒证,临床用于治疗溃疡性结肠炎等胃肠道疾病。研究发现,5-FU 和 CPT-11 均可引起小鼠肠道细胞 DNA 损伤,促进肠道细胞凋亡,造成肠屏障受损。Chan 等^[31]分别以 5-FU 和 CPT-11 建立小鼠 CID 模型,发现给予黄连解毒汤可以激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,提高肠干细胞标志物 Lgr5 的表达,进而促进化疗后肠上皮隐窝干细胞的增殖和更新,恢复受损的肠屏障功能。

木犀草素(luteolin)属于黄酮类化合物,主要以糖苷的形式存在于中草药金银花、丹参中,具有抗炎和免疫调节特性^[32]。Boeing 等^[33]发现木犀草素能够明显抑制 CPT-11 诱导的腹泻模型中促炎因子

TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达,增加抑炎因子 IL-4 和 IL-10 的表达,从而减轻肠道炎症;同时,木犀草素还能增加 ZO-1 等紧密连接蛋白的表达,修复肠道上皮屏障功能,缓解腹泻症状。

广藿香油(Patchouli oil)是广藿香的主要有效成分,临床上常用于治疗腹泻以及调节胃肠功能。Wu 等^[17]通过腹腔注射 5-FU 建立 CID 动物模型,发现广藿香油通过调控 TLR2/TLR4-MyD88 信号通路,显著降低 Caspase-8、Caspase-3 和 Bax 的表达,增加 Bcl-2 的表达,抑制肠上皮细胞凋亡;此外,广藿香油可显著增加肠道组织中紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达,进一步修复化疗药物导致的肠上皮屏障损伤,阻止肠腔中有害物质向体内扩散。

2.2 中药通过抑制炎症缓解 CID

黄芩汤(Huangqin decoction, HQD)出自《伤寒论》,是中医治痢的经典名方,主要由黄芩、芍药、甘草和大枣 4 味中药组成,具有清热止痢祛湿、和中养脾止痛的功效,临床上常用于治疗急性胃肠炎、小儿腹泻等胃肠道疾病^[34]。李泽豪等^[35]建立 CID 动物模型,发现黄芩汤通过促进 Nrf2 核转位,增强抗氧化酶血红素氧合酶-1(HO-1)活性,抑制回肠组织中 NF- κ B 表达,从而抑制炎症,减轻化疗药物引起的腹泻。

香连丸(Xianglian pill, XLP)由黄连、木香两味药组成,具有清热燥湿、行气止痛的功效。现代研究表明,香连丸具有抗腹泻、抗炎及抗菌等多种药理活性,可用于治疗痢疾、泄泻等疾病^[36-37]。Yu 等^[38]研究发现香连丸可以显著降低胃癌腹泻模型小鼠中 IL-6、NF- κ B 和 MyD88 的表达水平,减轻炎症;此外,香连丸促进 Bcl-2 的表达,抑制 Bax 的表达,使得 Bcl-2/Bax 比率增加,表明香连丸可以抑制小肠上皮细胞的凋亡,减轻 5-FU 对肠屏障的损伤,缓解胃癌小鼠模型腹泻症状。

去氢木香内酯(dehydrocostus lactone, DHL)是木香的主要成分之一,具有抗炎、抗肿瘤以及抗菌的药理活性^[39-40]。Sun 等^[41]研究发现去氢木香内酯通过靶向抑制 TLR4/MD2 复合物的形成,调节 NF- κ B/NLRP3 信号通路,下调促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平,发挥抗炎作用,进而缓解 CPT-11 诱导的 CID 模型小鼠的腹泻症状。

厚朴酚(magnolol)是厚朴的主要活性成分之一^[42],已有研究报道表明,厚朴酚通过提高肠道抗氧化能力、维系肠道微生态稳定、增强肠道紧密连接蛋白表达等途径,维护肠道健康^[43]。夏婷^[44]发现厚朴酚可以显著增加 CPT-11 和奥沙利铂诱导的 CT26 荷瘤小鼠腹泻模型中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽(GSH)的活性,抑制氧化应激;还会降低 NF- κ B、TNF- α 、

IL-6 的表达水平,减轻炎症,进而缓解荷瘤小鼠腹泄症状。

2.3 中药通过调整肠道菌群缓解 CID

乌梅丸 (Wumei pills, WMP) 最早记载于《伤寒论》,对慢性腹泻和其他胃肠道疾病均有显著疗效^[45]。Lu 等^[46]发现乌梅丸通过抑制 p65 核移位,降低 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路相关蛋白的表达,从而下调促炎细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的表达,减轻炎症;同时发现乌梅丸可以显著提高粪便中乳酸杆菌的相对丰度。而乳酸杆菌可以增强肠道紧密连接蛋白的表达,降低肠屏障的通透性^[47-50]。因此,乌梅丸通过增加乳酸杆菌的丰度,增强肠道紧密连接蛋白的表达,抑制 NF- κ B 活化,发挥保护肠上皮屏障、抑制炎症和缓解腹泄症状的作用。

小檗碱 (berberine, BBR) 主要来源于黄连属和黄柏属植物^[51-52],临床上主要用于治疗溃疡性结肠炎等疾病。由于其生物利用度低,主要在肠道中蓄积,因此对肠道菌群具有显著的调节作用^[53]。Wu 等^[51]发现小檗碱通过增加阿克曼氏菌丰度,降低埃希氏菌/志贺氏菌丰度,调节肠道菌群,激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,抑制肠上皮细胞凋亡,保护肠上皮屏障功能,缓解荷瘤小鼠腹泄症状。

白术 (*Atractylodes macrocephala* Koidz, AM) 和人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey., PG) 配伍具有健脾益气的作用,常用于治疗脾胃方面的疾病^[54-55]。Wang 等^[56]腹腔注射 5-FU 诱导 CID 模型,从白术和人参中提取白术挥发油和人参总皂苷,两者联合灌胃给药。采用 16S rRNA 测序发现,在门水平上,5-FU 显著降低厚壁菌 (Firmicutes) 的相对丰度、增加拟杆菌 (Bacteroidetes) 的相对丰度,并引起 Firmicutes/Bacteroidetes (F/B) 比率的下降,导致肠腔对细菌的感染更加敏感,从而引发腹泄。在属水平上,5-FU

使得拟杆菌、瘤胃球菌、厌氧菌和脱硫弧菌的数量增加。其中脱硫弧菌在腹泻的动物和人类肠道中富集,是诱导肠上皮增生、脓肿和炎性浸润的关键因素之一。然而,在白术挥发油和人参总皂苷联合给药处理后,小鼠肠道微生物结构在门水平上趋于正常,脱硫弧菌的相对丰度显著降低,腹泄症状得到改善。结果表明,白术挥发油和人参总皂苷联合给药能够通过调节肠菌稳态缓解 5-FU 诱导的腹泄。

草豆蔻挥发油 (*Alpinia Katsumadai* Hayata oil, AKHO), 是菊科山姜属植物草豆蔻的主要成分,常被用于治疗结肠炎等胃肠道相关疾病^[57]。Liu 等^[58]发现,AKHO 通过下调 GC/GR 通路,增强 mPGES-1/PGE2/EP4 的表达;增加乳酸杆菌的水平,恢复肠道微生物丰度;增强紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达,减轻肠上皮屏障损伤,降低肠通透性,最终缓解 CID 小鼠的腹泄症状。

3 总结与展望

CID 是化疗中一种常见的不良反应,严重影响患者的生活质量与治疗进程。本文从中药修复肠黏膜屏障、抑制炎症以及调节肠道菌群三个方面综述了中药改善 CID 的作用机制 (见图 1)。中药通过修复肠黏膜屏障、抑制炎症以及调节肠道菌群三个方面改善 CID。其中,葛根芩连汤、木犀草素、广藿香油、黄连解毒汤、乌梅丸、去氢木香内酯通过增加紧密连接蛋白表达,修复肠屏障,缓解 CID (黄色标签);黄芩汤、香连丸、乌梅丸、厚朴酚、去氢木香内酯、木犀草素、白术挥发油和人参总皂苷通过抑制促炎因子表达、增加抑炎因子表达减轻炎症反应,缓解 CID (紫色标签);乌梅丸、小檗碱、草豆蔻挥发油、白术挥发油联合人参总皂苷通过上调有益菌的相对丰度,下调有害菌的相对丰度,恢复原有肠道菌群结构,进而缓解 CID (绿色标签)。

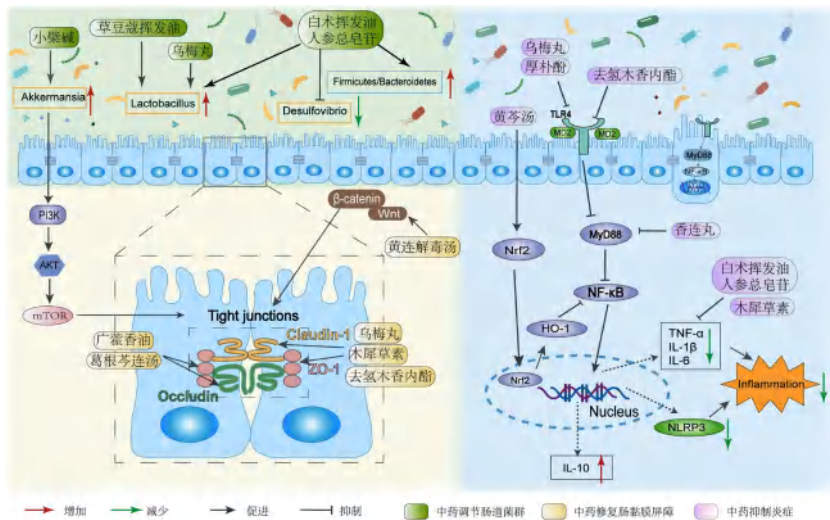


图 1 中药改善 CID 的作用机制 (由 Adobe Illustrator 绘制)

Fig 1 Mechanism of action of Chinese medicines to improve CID (drawn by Adobe Illustrator)

中药遵循中医整体观念与辨证论治原则,通过多途径、多靶点、协同作用,多维度改善化疗药物导致的肠道损伤。从整体上调节机体的内环境平衡,增强患者的抵抗力和自我修复能力。另外,中药不良反应相对较小,在治疗 CID 方面逐渐成为研究热点。然而,中药治疗 CID 仍存在一定的局限性:一方面,中药的成分复杂,其作用机制难以完全阐明,这给中药的标准化和精准化应用带来了挑战;另一方面,目前关于中药治疗 CID 的临床研究大多样本量较小,研究设计的严谨性和科学性有待进一步提高,缺乏多中心、大样本、随机对照的高质量临床试验来充分验证其疗效和安全性,这在一定程度上限制了中药在治疗 CID 方面的广泛推广和国际认可。针对这些问题,建议在进一步的研究中结合中药物质基础解析、人工智能辅助的高通量筛选、代谢组学、肠道菌群宏基因组学等手段,系统解析中药多成分、多靶点协同机制。同时,扩大临床研究样本量,开展设计严谨的临床研究,建立临床数据与组学数据融合的管理平台,优化科研转化能力,进一步提升中药在改善 CID 方面的应用价值。

参考文献

- [1] 李进城,刘振昌,李冬梅,等.乌梅丸联合蒙脱石散治疗化疗相关性腹泻临床观察[J].山西中医,2024,40(8):19-21.
- [2] 王圣子.四君子汤改善大肠癌术后化疗肠黏膜屏障功能损伤的临床研究[D].上海:上海中医药大学,2021.
- [3] 赵曦,贾晋生,李青.益生菌对化疗相关性腹泻防治作用的 Meta 分析[J].药物流行病学杂志,2018,27(6):366-373,409.
- [4] 阴毅然.六君安胃方防治化疗相关性腹泻的机制研究与临床辨治规律探讨[D].北京:中国中医科学院,2023.
- [5] de Gramont A, Figer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer[J]. J Clin Oncol, 2000, 18(16):2938-2947.
- [6] 李奕,刘福栋,庞博,等.中医药防治化疗相关性腹泻临床用药规律研究[J].中成药,2023,45(2):671-674.
- [7] 覃琬婷.中医药防治化疗相关性腹泻的 Meta 分析[D].成都:成都中医药大学,2020.
- [8] 于海游.恶性血液病化疗相关性腹泻中医证型研究[D].南京:南京中医药大学,2021.
- [9] 王柯菁.补肠止泻方治疗大肠癌化疗相关性腹泻脾胃虚弱证的临床观察[D].长沙:湖南中医药大学,2022.
- [10] 吴存恩,刘沈林,壮雨雯,等.中医药治疗化疗相关性腹泻之优势探析[J].中华中医药学刊,2016,34(8):1887-1889.
- [11] 茶秀艳.加味参苓白术散联合益生菌改善大肠癌化疗相关性腹泻脾虚湿盛证的临床观察[D].昆明:云南中医药大学,2023.
- [12] 卢冬雪,严晶,孙志广,等.乌梅丸治疗化疗性肠黏膜炎的临床疗效及机制研究[J].南京中医药大学学报,2021,37(3):371-375.
- [13] 沈彬雯,周兰,高红芳.扶正消癌 I 号方治疗化疗相关性腹泻临床研究[J].实用中医药杂志,2023,39(6):1074-1076.
- [14] Mehandru S, Colombel JF. The intestinal barrier, an arbitrator turned provocateur in IBD[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2021, 18(2):83-84.
- [15] Xiang DC, Yang JY, Xu YJ, et al. Protective effect of andrographolide on 5-Fu induced intestinal mucositis by regulating p38 MAPK signaling pathway[J]. Life Sci, 2020, 252:117612.
- [16] Zhang L, Jin YY, Peng J, et al. Qingjie Fuzheng granule attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal damage[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 118:109223.
- [17] Wu JZ, Gan YX, Li MX, et al. Patchouli alcohol attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis via TLR2/MyD88/NF- κ B pathway and regulation of microbiota[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124:109883.
- [18] Deng SH, Wu DM, Li L, et al. TBHQ attenuates ferroptosis against 5-fluorouracil-induced intestinal epithelial cell injury and intestinal mucositis via activation of Nrf2[J]. Cell Mol Biol Lett, 2021, 26(1):48.
- [19] He YJ, Zheng JR, Ye BB, et al. Chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity: pathogenesis and current management[J]. Biochem Pharmacol, 2023, 216:115787.
- [20] Wang PP, Wang HH, Huang QQ, et al. Exosomes from M1-polarized macrophages enhance paclitaxel antitumor activity by activating macrophages-mediated inflammation[J]. Theranostics, 2019, 9(6):1714-1727.
- [21] Yue B, Gao RY, Wang ZT, et al. Microbiota-host-irinotecan axis: a new insight toward irinotecan chemotherapy[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:710945.
- [22] Wang CY, Teng XJ, Wang C, et al. Insight into the mechanism of Xiao-Chai-Hu-Tang alleviates irinotecan-induced diarrhea based on regulating the gut microbiota and inhibiting Gut β -GUS[J]. Phytomedicine, 2023, 120:155040.
- [23] Rooks MG, Veiga P, Wardwell-Scott LH, et al. Gut microbiome composition and function in experimental colitis during active disease and treatment-induced remission[J]. ISME J, 2014, 8(7):1403-1417.
- [24] Huang F, Li SJ, Chen WJ, et al. Postoperative probiotics administration attenuates gastrointestinal complications and gut microbiota dysbiosis caused by chemotherapy in colorectal cancer patients[J]. Nutrients, 2023, 15(2):356.
- [25] Chen HT, Zhang F, Li RR, et al. Berberine regulates fecal metabolites to ameliorate 5-fluorouracil induced intestinal mucositis through modulating gut microbiota[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 124:109829.
- [26] Huang SW, Ye QJ, Wang AJ, et al. Paeoniae decoction restores intestinal barrier dysfunction by promoting the interaction between ILC3 and gut flora[J]. Phytomedicine, 2024, 132:155873.
- [27] 刘莲萱,吴威,庞琳琳,等.葛根芩连汤化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J].中华中医药学刊,2022,40(3):147-154.
- [28] 刘晓艺.葛根芩连汤治疗溃疡性结肠炎临床研究[J].内蒙

- 古中医药, 2024, 43 (10): 54-56.
- [29] 翁方宇, 徐素琴. 葛根芩连汤合白头翁汤治疗湿热型溃疡性结肠炎的效果[J]. 中外医学研究, 2024, 22 (24): 21-25.
- [30] Wu YH, Wang D, Yang XQ, et al. Traditional Chinese medicine Gegen Qinlian decoction ameliorates irinotecan chemotherapy-induced gut toxicity in mice [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 109: 2252-2261.
- [31] Chan YT, Cheung F, Zhang C, et al. Ancient Chinese medicine herbal formula Huanglian Jiedu decoction as a neo-adjuvant treatment of chemotherapy by improving diarrhea and tumor response [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 252.
- [32] Yang S, Duan HW, Zeng JL, et al. Luteolin modulates macrophage phenotypic switching via the AMPK-PPAR γ pathway to alleviate ulcerative colitis in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 339: 119157.
- [33] Boeing T, de Souza P, Specia S, et al. Luteolin prevents irinotecan-induced intestinal mucositis in mice through antioxidant and anti-inflammatory properties [J]. Br J Pharmacol, 2020, 177 (10): 2393-2408.
- [34] 张保国, 梁晓夏, 刘庆芳. 黄芩汤现代药效学研究及临床运用[J]. 中国中药杂志, 2008, 33 (22): 2587-2590.
- [35] 李泽豪, 麦丽婷, 雷骏轩, 等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路探讨黄芩汤对氟尿嘧啶致小鼠化疗性肠黏膜炎的保护作用及机制[J]. 中药新药与临床药理, 2022, 33 (7): 861-869.
- [36] Yang LJ, Zhang Q, Huang JY, et al. Xianglian pill ameliorates antibiotic-associated diarrhea by restoring intestinal microbiota and attenuating mucosal damage [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 264: 113377.
- [37] 余蕾, 谢晓芳, 彭芙, 等. 香连丸水提物和醇提物对 5-FU 致小鼠肠黏膜损伤保护作用的比较[J]. 中成药, 2024, 46 (4): 1322-1326.
- [38] Yu L, Qin JY, Sun C, et al. Xianglian pill combined with 5-fluorouracil enhances antitumor activity and reduces gastrointestinal toxicity in gastric cancer by regulating the p38 MAPK/NF- κ B signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 326: 117988.
- [39] Chen YY, Li RS, Wang ZL, et al. Dehydrocostus lactone inhibits NLRP3 inflammasome activation by blocking ASC oligomerization and prevents LPS-mediated inflammation in vivo [J]. Cell Immunol, 2020, 349: 104046.
- [40] Peng Y, Zhou TX, Wang SS, et al. Dehydrocostus lactone inhibits the proliferation of esophageal cancer cells in vivo and in vitro through ROS-mediated apoptosis and autophagy [J]. Food Chem Toxicol, 2022, 170: 113453.
- [41] Sun MM, Zhan HH, Long XL, et al. Dehydrocostus lactone alleviates irinotecan-induced intestinal mucositis by blocking TLR4/MD2 complex formation [J]. Phytomedicine, 2024, 128: 155371.
- [42] 王娜, 陆兴玥, 高盼微, 等. 胃肠安丸对大鼠离体回肠平滑肌收缩的影响[J]. 中国药理学通报, 2023, 39 (9): 1774-1781.
- [43] 梅华迪, 李袁飞, 马现永, 等. 厚朴酚对动物肠道健康的影响及其调控机制[J]. 动物营养学报, 2023, 35 (4): 2111-2118.
- [44] 夏婷. 胃肠安丸及其活性成分厚朴酚对伊立替康及其他化疗药引起的肠毒性的作用[D]. 天津: 天津大学, 2019.
- [45] 吴梦雨. 比较生姜泻心汤与黄芩汤防治伊立替康所致小鼠腹泻的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.
- [46] Lu DX, Liu F, Wu H, et al. Wumei pills attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis through Toll-like receptor 4/myeloid differentiation factor 88/nuclear factor- κ B pathway and microbiota regulation [J]. World J Gastroenterol, 2022, 28 (32): 4574-4599.
- [47] Tulyeu J, Kumagai H, Jimbo E, et al. Probiotics prevents sensitization to oral antigen and subsequent increases in intestinal tight junction permeability in Juvenile-young adult rats [J]. Microorganisms, 2019, 7 (10): 463.
- [48] Rocha-Ramírez LM, Pérez-Solano RA, Castañón-Alonso SL, et al. Probiotic lactobacillus strains stimulate the inflammatory response and activate human macrophages [J]. J Immunol Res, 2017, 2017: 4607491.
- [49] Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24 (1): 5-14.
- [50] Gao YH, Han T, Han CL, et al. Propofol regulates the TLR4/NF- κ B pathway through miRNA-155 to protect colorectal cancer intestinal barrier [J]. Inflammation, 2021, 44 (5): 2078-2090.
- [51] Wu CH, Yang J, Ye CX, et al. Berberine attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucosal injury by modulating the gut microbiota without compromising its anti-tumor efficacy [J]. Heliyon, 2024, 10 (14): e34528.
- [52] 冯雯, 张亚薇, 张祎, 等. 中药活性物质对肠屏障功能的保护作用研究进展[J]. 中南药学, 2023, 21 (5): 1300-1306.
- [53] Moon JM, Ratliff KM, Hagele AM, et al. Absorption kinetics of berberine and dihydroberberine and their impact on glycemia: a randomized, controlled, crossover pilot trial [J]. Nutrients, 2021, 14 (1): 124.
- [54] 张世洋, 王晶, 盛永成, 等. 白术配伍人参前后挥发油成分及抗菌活性比较研究[J]. 保鲜与加工, 2019, 19 (1): 133-139.
- [55] 高婧, 张昊, 任坤, 等. 中药人参药对的药理活性研究进展[J]. 人参研究, 2024, 36 (4): 67-72.
- [56] Wang J, Feng WW, Zhang SY, et al. Ameliorative effect of Atractylodes macrocephala essential oil combined with Panax ginseng total saponins on 5-fluorouracil induced diarrhea is associated with gut microbial modulation [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 238: 111887.
- [57] Lv Q, Shi C, Qiao SM, et al. Alpinetin exerts anti-colitis efficacy by activating AhR, regulating miR-302/DNMT-1/CREB signals, and therefore promoting Treg differentiation [J]. Cell Death Dis, 2018, 9 (9): 890.
- [58] Liu D, Tang F, Zhang L, et al. Alpinia katsumadai Hayata Volatile oil is effective in treating 5-fluorouracil-induced mucositis by regulating gut microbiota and modulating the GC/GR pathway and the mPGES-1/PGE2/EP4 pathways [J]. J Agric Food Chem, 2023, 71 (41): 15156-15169.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-02)

天然多糖在抑郁症中的治疗作用及其机制的研究进展

温敏^{1, 2}, 张珂璇³, 姚梦圆², 陈光辉², 周本宏^{2*} (1.武汉大学人民医院精神卫生中心, 武汉 430060; 2.武汉大学人民医院药学部, 武汉 430060; 3.武汉大学药学院, 武汉 430071)

摘要: 抑郁症是一种复杂而普遍的精神疾病, 对全球健康构成重大挑战。近年来, 天然多糖因其独特的生物活性和较少的不良反应, 逐渐成为抑郁症治疗研究中的热点。本综述重点介绍在了解天然多糖发挥抗抑郁作用的分子机制方面取得的最新进展, 包括调节肠道微生物平衡、抑制神经炎症、调控下丘脑-垂体-肾上腺轴功能、增强神经可塑性和抗氧化能力、上调脑源性神经营养因子的表达、促进神经元的存活和突触可塑性, 并展望了未来在抑郁症治疗中开发天然多糖药物的潜力和挑战。

关键词: 天然多糖; 抑郁症; 分子机制; 脑肠轴

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3015-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.033

Therapeutic effect of natural polysaccharides on depression and related mechanism

WEN Min^{1, 2}, ZHANG Ke-xuan³, YAO Meng-yuan², CHEN Guang-hui¹, ZHOU Ben-hong^{2*} (1. Department of Psychiatry, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060; 2. Department of Pharmacy, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060; 3. School of Pharmaceutical Sciences, Wuhan University, Wuhan 430071)

Abstract: Depression is a multifaceted and pervasive psychiatric disorder that presents great challenges to global public health. In recent years, natural polysaccharides have garnered considerable attention in depression treatment due to their distinct pharmacological properties and relatively mild side-effects. This review highlighted recent advancements in elucidating the molecular mechanism underlying the antidepressant effects of natural polysaccharides. These mechanisms included the regulation of gut microbiota balance, attenuation of neuroinflammation, modulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity, enhancement of neuroplasticity and antioxidant defense, as well as the upregulation of expression of brain-derived neurotrophic factor. This review predicted the potential and challenges of developing natural polysaccharide-based drugs for depression.

Key words: natural polysaccharide; depression; molecular mechanism; gut-brain axis

抑郁症是全球常见的心理障碍之一, 影响大约 20% 的人口, 每年约 5% 的成年人遭受其影响^[1-2], 具有高发病率、高复发率和高致残率的特点。抑郁症的发生与神经递质失调、下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴过度激活、神经炎症、氧化应激及肠道微生物群失衡等多种因素有关^[3]。当前治疗主要包括药物、心理和物理疗法, 常用抗抑郁药包括选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂、三环类抗抑郁药、单胺氧化酶

抑制剂和去甲肾上腺素再摄取抑制剂, 但其疗效有限, 不良反应较大且起效缓慢, 导致 30% ~ 60% 患者的抑郁症症状未能显著缓解^[4]。鉴于抑郁症病理机制复杂, 单一靶点药物 (如选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂、三环类抗抑郁药) 难以满足临床需求, 亟须开发高效、多靶点、低毒的新型抗抑郁药物。

近年来, 开发高效、低毒且适合长期使用的抗抑郁药成为研究热点, 其中天然多糖因其丰富的药

基金项目: 吴阶平医学基金会 (No.320.6750.2024-6-57)。

作者简介: 温敏, 女, 博士研究生, 主要从事精神病与精神卫生学方面的研究, email: wm12369@yeah.net * 通信作者: 周本宏, 男, 教授, 主要从事中药天然药物活性成分及临床代谢药理学方面的研究, email: benhongzh@whu.edu.cn

理活性和较低的毒性备受关注^[2]。多糖是一类由单糖通过糖苷键连接形成的大分子化合物，具有生物活性。单糖苷键由多羟基聚合物及其衍生物构成，且多糖毒性较低，广泛存在于植物、动物以及微生物中，因其结构多样性在生物系统中表现出多种功

能。研究表明，天然多糖通过调节肠道微生物群、抗炎和抗氧化等多靶点机制，可有效预防和缓解抑郁症状（见表 1）。本文综述了多糖在抑郁症治疗中的药理作用及其机制（见表 2），探讨其潜在应用前景，以推动多糖药用价值的进一步挖掘。

表 1 天然多糖与化学药物在抗抑郁治疗中的对比

Tab 1 Natural polysaccharides and chemical drugs in antidepressant therapy				
项目	来源	作用机制	多系统协同作用	不良反应
化学药物	化学合成或半合成	单靶点为主	主要作用于中枢神经系统，对其他系统影响有限	恶心、失眠、性功能障碍长期使用可能引发代谢综合征
天然多糖	植物、真菌、动物等天然产物	多靶点	整合肠道 - 脑轴、免疫、代谢多系统，改善全身性炎症及氧化应激	轻微

表 2 多糖对抗抑郁的药理作用及机制

Tab 2 Pharmacological effects and mechanisms of polysaccharides in antidepressant activity					
作用机制	多糖名称	动物 / 细胞模型	剂量 / [mg/ (kg · d)]	作用机制	文献
肠道微生物	白术多糖	慢性不可预知应激模型 (CUMS) 抑郁小鼠	62.5、125、250	调节肠道菌群稳态，上调厚壁菌门与拟杆菌门的比值	[5-6]
肠道微生物、神经递质、抗炎	羧甲基苄基多糖	亚慢性温和应激诱发抑郁小鼠	100、200、400	调节乳酸杆菌和副拟杆菌属的丰度，显著下调异戊酸、去甲肾上腺素 (NE)、5-羟色胺 (5-HT) 以及乙酰胆碱 (ACh) 的含量，从而减少白细胞介素 (IL)-6 的过量释放	[7-8]
肠道微生物、神经递质	玉郎伞多糖	CUMS 抑郁大鼠	300、600	增加有益菌丰度降低有害菌比例，并通过调控色氨酸 - 犬尿氨酸代谢通路中色氨酸 2, 3-双加氧酶 (TDO)、犬尿氨酸单加氧酶 (KMO)、犬尿氨酸酶 (Kynu) 等蛋白表达及色氨酸、犬尿氨酸、5-羟基吲哚乙酸、犬尿喹啉酸等代谢产物的功能发挥抗抑郁作用	[9]
肠道微生物	枸杞多糖	腹腔注射脂多糖 (LPS) 刺激小鼠抑郁模型	40、80	调节肠道菌群组成，调节乳酸杆菌、双歧杆菌的丰度，通过调节肠道微生物的代谢增加短链脂肪酸 (SCFAs) 在肠道中的水平	[10]
肠道微生物、神经递质、抗炎	芍药多糖	CUMS 抑郁小鼠	50、100、200	降低 IL-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平，增加 5-HT 水平；调节 CUMS 小鼠的肠道菌群，增加其物种丰富度；抑制 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路在 CUMS 小鼠的结肠组织中激活	[11]
肠道微生物、抗炎	杜仲多糖	CUMS 抑郁小鼠	400	增加乳杆菌科的丰度和抑制变形菌门，从而减轻肠道炎症和屏障紊乱；抑制了小胶质细胞介导的 TLR4/NF- κ B/MAPK 信号通路	[12]
肠道微生物	逍遥散多糖	CUMS 抑郁大鼠	1200	调节肠道总菌群，改善产丁酸、产丙酸功能菌群的结构和丰度，增加肠道 SCFAs 水平	[13]
肠道微生物	印度崖豆多糖	慢性可变应激诱导的抑郁大鼠	300、600	纠正大鼠尿液代谢谱的紊乱，提高肠道微生物群相关 SCFAs 的含量，提高肠道乳酸菌属的含量	[14]
单胺类神经递质、氧化应激、HPA 轴	裙带菜多糖	CUMS 抑郁大鼠	120、360、1200	促进海马 5-HT、多巴胺 (DA)、NE 水平，抑制血清和海马丙二醛 (MDA) 降低，促进 SOD、过氧化氢酶 (CAT) 活性，抑制血清 ACTH、CORT 水平	[15]
氧化应激、抗炎、神经递质	羌活粗多糖	腹腔注射 LPS 刺激小鼠抑郁模型	50、75、100	促进血清及海马中 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、CAT、5-HT 水平，抑制血清和海马 MDA 降低；降低 IL-1 β 和 IL-6 水平，促进 IL-10 的表达	[16]
抗炎	茯苓多糖	腹腔注射 LPS 刺激小鼠抑郁模型	20、80	降低 IL-1 β 、IL-18、TNF- α ，抑制 CD16/32、NF- κ B p65、NLRP3、ASC、Cleaved caspase-1 表达，促进 CD206 的表达	[17]
抗炎	天麻多糖	腹腔注射 LPS 刺激小鼠抑郁模型	50、100、200	降低 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 水平，促进尼氏体数量	[18]
神经递质、抗炎	硫酸茯苓多糖	CUMS 抑郁大鼠	100、300、500	促进神经元细胞数目增多，提高海马脑源性神经营养因子 (BDNF)、5-HT、5-羟吲哚乙酸 (5-HIAA)、DA、NE 的水平，降低葡萄糖 (GLU) 水平与血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 促炎因子水平，降低 ASC、caspase-1、IL-1 β 、IL-18 表达水平，同时升高 pro-caspase-1、pro-IL-1 β 、pro-IL-18 蛋白表达水平	[19]

1 多糖的生物活性与抑郁症肠道微生物调节

多糖的化学结构决定了其在人体内的代谢途径和生物活性。由于多糖通常难以被人体消化酶降解,进入肠道后主要作为未消化的复杂碳水化合物被肠道微生物发酵利用。发酵过程中产生的关键代谢产物 SCFAs 能够穿越血脑屏障,调控神经炎症、神经内分泌、神经递质代谢及神经营养因子(如 BDNF)的水平,进而改善脑功能并发挥抗抑郁作用^[20]。Palepu 等^[21]的研究表明,向难治性抑郁症模型大鼠补充 SCFAs,可显著恢复血浆和粪便中的 SCFAs 水平,调节肠道微生物群多样性,增加 BDNF 表达,同时降低犬尿氨酸和喹啉酸水平。此外,SCFAs 还能够修复受损的肠道屏障功能,如增加结肠杯状细胞数量,进一步支持其通过调节肠-脑轴发挥抗抑郁作用。多糖通过调节肠道微生物促进 SCFAs 的产生,进而改善中枢神经系统的炎症和神经递质水平,最终发挥抗抑郁效果。

微生物-肠-脑(MGB)轴通过双向信号交流,促进抑郁症的发生与发展。肠道菌群失衡可通过炎症反应、神经递质调节和肠屏障功能障碍影响中枢神经系统^[22]。研究表明,抑郁症患者的肠道微生物组成显著异常,表现为厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门的相对丰度发生变化^[23],作为天然益生元,多糖通过调节肠道菌群,促进有益菌(如双歧杆菌和乳酸菌)增殖,抑制有害菌生长,从而恢复肠道微生态平衡,缓解抑郁样症状^[24]。Yu 等^[25]研究发现,延胡索多糖可显著改善 CUMS 抑郁模型小鼠的肠道菌群失调,提升 SCFAs 水平,并进一步增加脑内 DA、5-HT、NE、BDNF 的表达,这些改善作用与 SCFAs 水平成正相关,表明多糖可能通过调控 MGB 轴途径发挥抗抑郁效果。

肠道屏障功能的损伤和微生物代谢产物被认为与抑郁症密切相关。肠道屏障功能受损可导致菌群迁移至血液循环,激活炎症免疫反应,加重或诱发抑郁症状^[26]。肠道微生物失衡可导致细菌产物进入血液,激活炎症反应,进而加剧中枢神经系统的损伤^[27]。多糖通过促进 SCFAs 的生成,恢复肠道屏障功能,减少肠道毒素的入侵,从源头上减少全身性炎症,减轻系统性炎症反应,显著改善 CUMS 小鼠的抑郁样行为^[28]。乳花芍药多糖不仅通过调节肠道微生物群显著提高 CUMS 小鼠的菌群多样性,还能同时降低结肠、血清和海马组织中的 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 水平,减轻炎症反应,从而改善抑郁症状^[11]。综上所述,多糖通过调节肠

道微生物及改善肠屏障功能,在神经炎症、神经递质平衡及脑功能调节中发挥了重要作用。

2 多糖的抗炎机制

抑郁症患者通常存在全身性低度炎症状态,表现为促炎性细胞因子(如 TNF- α 、IL-1 β)水平的升高。这些外周促炎因子能够穿越血脑屏障,激活大脑中的小胶质细胞和星形胶质细胞,促使其释放大量的炎症因子,进而导致神经元损伤。此外,促炎性细胞因子还可通过激活吲哚胺 2,3-双加氧酶(IDO),加速色氨酸向犬尿氨酸途径的转化,从而减少 5-HT 的合成。研究表明,抑制 IDO 活性能够提高 5-HT 水平,从而缓解抑郁症状。玉郎伞多糖已被发现能够显著提高色氨酸、犬尿氨酸及其代谢产物(如 5-羟基吲哚乙酸和犬尿喹啉酸)的水平,同时增加 5-HT 含量,这表明玉郎伞多糖在调节色氨酸代谢方面具有潜在的治疗作用^[9]。此外,黄精多糖的研究表明,它能够显著提高抑郁小鼠脑组织中的 5-HT、DA 和 NE 水平,同时下调海马区中的色氨酸和 3-羟基犬尿氨酸水平,并降低血清中 TNF- α 和 IL-10 的浓度^[29]。

多糖通过与免疫细胞表面受体(如 Toll 样受体 TLR4)相互作用,调节免疫细胞功能,减少促炎性细胞因子的释放,从而降低全身性和中枢神经系统的炎症水平。例如,秋葵多糖能够抑制小鼠抑郁模型海马中的 TLR4 表达,降低血清促炎因子,并通过体外实验验证了其抗炎特性^[30]。此外,灵芝多糖通过前额叶的 Dectin-1/AMPA 受体信号通路调节免疫功能,同时降低 IL-2 和 Saa3 的表达,抑制 NLRP3 炎症小体的激活,从而发挥抗抑郁作用^[31]。香菇多糖则可促进 LPS 诱导的小胶质细胞从 M1 型向 M2 型转化,通过调节 Dectin-1 信号下调少突胶质细胞和星形胶质细胞的活化,降低 TNF- α 和 IL-1 β 水平,并增强 IL-10 的表达^[32]。

另外,多糖还能通过促进 SCFAs 生成和增强肠道屏障功能,从源头上减少肠道毒素和细菌产物进入血液,抑制全身性炎症反应。调控肠道中 Treg 细胞的功能及 Th17/Treg 平衡对于炎症调节至关重要。藤椒多糖能够改善右旋糖酐硫酸钠诱导的小鼠炎症,恢复肠道微生物平衡及 SCFAs 和胆汁酸代谢,调节 Th17/Treg 平衡,从而维持免疫稳态并缓解抑郁症状^[33]。*Gracilaria lemaneiformis* 的硫酸化多糖通过提高 SCFAs 水平、下调 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达以及上调紧密连接蛋白(Claudin-1、ZO-1 和 MUC-2)来减轻炎症^[34]。

多糖通过多途径调控炎症反应和免疫功能,在抑郁症的治疗中展现了重要的潜在价值。一方面,它们通过降低促炎因子水平和调节 IDO 途径改善神经递质平衡;另一方面,通过肠道-脑轴增强肠道屏障功能和微生物代谢,进一步减少系统性炎症。

3 多糖通过减少氧化应激缓解抑郁症状

氧化应激作为抑郁症病理生理机制中的一个核心要素,其根源在于体内活性氧(ROS)与活性氮(RNS)的过度累积,或是抗氧化防御体系的效能不足。大脑组织因其高耗氧量及富含脂质的特性,对氧化应激的敏感性尤为突出。过量的自由基对神经元膜结构、线粒体功能及其他细胞组件构成严重威胁,进而诱发神经元功能障碍^[35-36]。研究表明,抑郁症患者通常伴随氧化应激水平升高,这与神经递质代谢紊乱、神经炎症增强、神经元可塑性下降以及神经元死亡密切相关^[37]。特别是氧化应激能够干预 5-HT 等关键神经递质的合成与功能,直接对情绪调节机制产生负面影响。同时,高水平的自由基通过触发细胞凋亡、自噬、坏死及线粒体功能障碍等多种机制,加速神经元的死亡,进而加剧中枢神经系统的损伤。

多糖在抵御氧化应激、保护神经元免受损害方面展现出显著潜力,其抗氧化性能主要依赖于分子中的酚羟基等官能团,能够捕捉并中和自由基,防止其对细胞膜、蛋白质及 DNA 的氧化性损伤^[38-39]。此外,多糖还能增加关键抗氧化酶(如 SOD 和 MDA)的活性,为神经元提供强有力的保护屏障。黄精多糖通过调节血清皮质酮(CORT)水平、增加海马区 ROS 含量,并激活细胞外调节蛋白激酶 1/2、NF- κ B 等信号通路,有效缓解抑郁模型中的氧化应激状态^[40]。而枸杞多糖则通过上调 SOD 表达水平,逆转光诱导模型中 Nrf2/HO-1 信号通路的抑制状态,从而维护神经元的正常生理功能,减少凋亡现象的发生^[41]。

鉴于抑郁症病理机制的复杂性,单一抗氧化剂的应用难以达到预期效果。多糖类物质凭借其出色的协同作用能力,能够与其他抗氧化剂共同作用,通过模式识别受体介导的信号通路激活机制,调控相关基因的表达水平,促进信号级联反应的进行,从而显著增强抗氧化及抗抑郁效果^[42]。在减少氧化应激的同时,多糖类物质还能够改善神经炎症反应、平衡神经递质水平及提升神经元存活率,展现出多层次、全方位的抗抑郁保护机制。

4 多糖对抑郁症患者 HPA 轴的影响

抑郁症患者的 HPA 轴常呈现出过度活跃状态,伴随着糖皮质激素(如 CORT)水平的显著升高。这一现象主要归因于 HPA 轴反馈调节机制的受损,特别是海马区糖皮质激素受体(GR)的功能异常。作为 HPA 轴调控的核心组件,海马 GR 负责介导 CORT 的信号传导,通过调节下游基因表达来影响炎症反应、神经可塑性及应激反应的负反馈调节。在正常生理状态下,CORT 与 GR 结合后,能够激活负反馈机制,有效抑制促肾上腺皮质激素释放激素和 ACTH 的分泌,从而维持 HPA 轴的稳态平衡^[43]。然而,在抑郁症患者中,GR 功能可能因过度激活或敏感性降低而受损,导致 CORT 的负反馈调节机制失效,HPA 轴持续亢进^[44-45]。CORT 水平升高不仅直接损伤海马神经元,还通过抑制 BDNF 及其下游信号通路(如 PI3K/Akt 和 MAPK/ERK 通路),进一步削弱神经可塑性。此外,HPA 轴的失衡还与炎症因子水平升高和氧化应激加剧密切相关,共同构成一个炎症-应激的恶性循环,显著加重抑郁症患者的神经系统损伤。

多糖作为一类具有广泛生物活性的天然物质,在调控 HPA 轴功能、减轻抑郁症状方面展现出独特的优势。多糖可通过抑制促炎性细胞因子的释放,有效遏制 HPA 轴的过度激活。例如,黄精多糖能够显著降低 CORT 水平,减轻海马神经元的氧化损伤,并抑制细胞凋亡通路的激活,从而恢复 HPA 轴的平衡,并减轻由急性或慢性应激引发的神经炎症和突触损伤^[46]。多糖能够增强神经元的存活能力和突触可塑性。百合多糖与黄芪多糖的联合应用能够减轻海马 CA1 区神经元的病理性损伤,并通过上调 BDNF 及其受体 TrkB 的表达显著改善动物模型的行为缺陷。此外,多糖还具有显著的抗氧化作用,能够保护神经元膜和线粒体功能,防止长期高 CORT 水平诱导的细胞凋亡^[47]。

进一步的研究表明,多糖还可能通过抑制神经炎症反应,从源头上改善应激状态下的 HPA 轴紊乱。多糖能够抑制促炎因子的释放,从而缓解炎症对 GR 功能的抑制作用。例如,白术多糖能够回调 CUMS 抑郁小鼠脑内 5-HT、NE、DA 等神经递质水平^[5],以及血清中 IL-6、CORT 和 ACTH 的水平。氧化应激同样会影响 GR 的表达和活性,而裙带菜多糖则能够通过减轻海马氧化应激,提高 5-HT、DA、NE 等神经递质水平,降低血清 SOD、ACTH、CORT 水平,从而改善

CUMS 大鼠的抑郁样行为^[15]。

尽管目前尚无直接证据表明多糖能直接与 GR 结合,但多糖结构中丰富的羟基、羧基等官能团可能通过分子相互作用影响 GR 的构象或活性,从而间接改善 GR 的功能。这一发现为多糖在抑郁症治疗中的应用提供了新的思路,也为其未来的深入研究奠定了理论基础。

5 多糖与神经可塑性及 BDNF

神经递质是神经细胞之间传递信号的化学物质,参与调节大脑的情绪、行为和认知功能。DA、NE、5-HT、 γ -氨基丁酸(GABA)等神经递质在情绪调节中扮演了关键角色。

BDNF 作为大脑中关键的神经营养分子,对神经元的生存、分化和突触可塑性具有重要作用,是抑郁症发病机制的重要生物标志物。BDNF 表达水平的下调与大脑的神经可塑性下降和情绪调节障碍密切相关。通过策略性地提升 BDNF 的表达水平,不仅能够逆转由抑郁症所导致的海马体积缩减、突触连接密度下降等神经结构变化,还能够显著改善患者的抑郁症状^[48]。尤为值得一提的是,BDNF/TrkB/CREB 信号通路作为调控神经元生长发育及突触可塑性的核心机制,当归多糖通过激活 BDNF/TrkB/CREB 通路抑制炎症因子和神经元凋亡,从而改善海马 CA1、CA3 和 DG 区域的病理改变和记忆障碍,提供了一种创新的调节机制,展现出了显著的抗抑郁潜能^[49]。

多巴胺是与奖励、动机和愉悦感相关的神经递质,在抑郁症患者体内往往表现出功能减退的现象,进而引发动力缺失、快感缺乏等一系列症状。这种功能异常可能与神经炎症或氧化应激诱导的神经元损伤密切相关。绣球菌多糖等生物活性物质,通过精确调控肠道微生物群落结构,促进 SCFAs 等有益代谢产物的生成,进而对海马体及血清中 ACh、GABA、谷氨酸、天冬氨酸及 5-HT 等多种神经递质水平进行精细调节,为改善上述症状提供了新的治疗视角^[50]。NE 主要参与应激反应和注意力调节,在抑郁症患者中普遍呈现出水平下降的趋势,导致注意力分散、疲劳感加剧及抑郁情绪恶化。炎症因子的异常升高可能干扰 NE 的正常合成与释放过程。多糖类物质凭借其卓越的抗炎活性,能够有效抑制 TNF- α 、IL-1 β 等促炎细胞因子的释放,对神经炎症实施多重抑制策略,进而保护血脑屏障完整性,维护线粒体功能稳态,并促进 BDNF/TrkB 信号通路的正常运作。此外,NE 在重度抑郁症(MDD)

患者大脑中功能的恢复,以及 GABA 与谷氨酰胺能系统平衡的重建,亦是多糖类物质发挥抗抑郁作用的重要方面。例如,水溶性人参多糖可以提高周围神经系统中的 5-HT 水平^[51],而黄精多糖通过减轻外周及中枢神经系统炎症反应,增加海马组织内 5-HT 与 NE 的含量,从而改善海马突触结构与细胞损伤,有效缓解抑郁症状^[28]。

DA 与 NE 等神经递质与 BDNF 之间存在着复杂的相互作用关系。它们不仅能够调节 BDNF 的表达水平,进而增强神经可塑性;同时 BDNF 通过维护神经元的正常生理功能与结构完整性,促进神经递质的合成与释放过程,形成了一个相互促进、协同增效的正反馈循环^[52-53]。多糖类物质通过上调 BDNF 水平,不仅有助于神经结构的恢复,还能够激发积极的神经可塑性变化,从而有效减轻抑郁症状。此外,研究表明,多糖类物质能够通过调节肠道微生物群落、减轻氧化应激损伤及降低炎症水平,产生如 SCFAs 等具有神经保护作用的代谢产物。这些代谢产物能够穿越血脑屏障,激活神经保护通路,进一步增强 BDNF 的表达;同时,通过减少促炎性细胞因子的释放、抑制神经炎症的进展,以及防止外周 BDNF 水平的下降,多糖类物质也展现出了显著的抗抑郁效果^[29]。

6 展望

多糖作为一类具有多靶点调节功能的生物大分子,在缓解抑郁症方面展现出了巨大的潜力与希望。多糖的应用取决于多糖的来源和结构,其单糖组成和分子量对其生物活性具有显著影响。首先,单糖组成能够选择性地调节肠道中 SCFAs 的产生模式,例如葡萄糖和果糖分别促进丁酸盐和丙酸盐的生成,而木糖和乳糖则对丁酸和乙酸的产量有显著影响^[54]。其次,多糖的分子量与其抗氧化性能密切相关,高分子量多糖在增强肠道屏障功能方面表现出更强的效果,而低分子量多糖可能更易穿过血脑屏障,直接作用于中枢神经系统^[55]。此外,通过化学修饰,可以改善多糖的结构特征,进而提升其生物活性。例如,羧甲基化多糖不仅具有更高的溶解度,还表现出显著的抗氧化活性^[56]。硫酸化多糖的部分羟基被取代为 -OSO₃H,其在 DPPH 自由基、羟基自由基、超氧自由基清除能力检测中表现出较好的抗氧化活性^[57-58]。同时, β -糖苷键可能更有利于增强免疫活性^[59]。未来应进一步解析多糖的结构-功能关系,明确其关键活性基团及靶点,从而优化其生物利用度和药效。结合多组学技术(如转录组学、

代谢组学和蛋白组学)系统揭示多糖在抑郁症中的分子作用网络,深入探索其对神经炎症、氧化应激、线粒体功能及肠道-脑轴的综合调控机制。

传统抗抑郁药的治疗靶点主要是通过调节神经递质(如 5-HT、NE、DA)的浓度或通过抑制单胺氧化酶来发挥作用^[60]。尽管这些药物可以有效缓解抑郁症状,但它们通常存在不良反应,如胃肠道不适、性功能障碍、体重增加等。天然多糖的作用机制更为复杂且多样,能够通过多通路调节,如调节肠道菌群、减少氧化应激、促进 BDNF/TrkB/

CREB 信号通路等,展现了相对独特且温和的抗抑郁潜力(见图 1)。近年来,天然植物多糖在抑郁症治疗的临床前和临床研究中取得了显著的进展。例如,枸杞多糖可以通过调节免疫反应缓解青少年阈下抑郁症状,且无不良事件报道^[61]。然而,不同来源的多糖(如植物多糖、真菌多糖和海洋多糖)在化学结构和生物活性上存在显著的差异,这可能导致其抗抑郁效果的多样性。因此,系统比较不同种类多糖的抗抑郁效果,识别出最有效的多糖类型,是未来研究的重要方向。

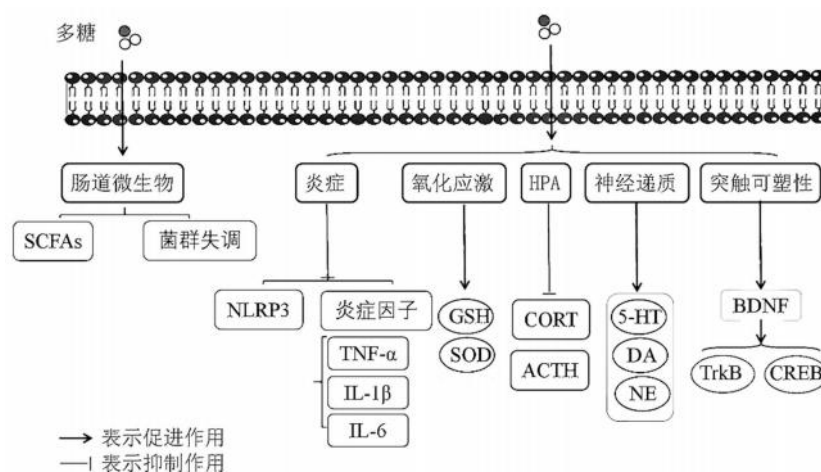


图 1 多糖抗抑郁的作用机制

Fig 1 Antidepressant mechanisms of polysaccharides

多糖作为一种多靶点抗抑郁药物尽管展现出了广阔的前景,但其是否能够直接穿过血脑屏障并在神经系统中发挥作用仍不明确,进一步研究需要明确多糖在神经系统内的直接作用靶点和作用机制,以全面理解其抗抑郁效应。此外,多糖通过调节肠道微生物影响神经递质代谢的分子路径和相互作用机制仍需深入探索。例如,多糖如何精确调控 DA、NE 和 5-HT 等神经递质的水平,以及这些变化如何转化为行为和情绪的改善,是未来研究的重点。

综上所述,多糖作为一种天然抗抑郁药,具有重要的研究和应用价值。然而,目前的研究仍主要停留在基础阶段,需要开展更多大规模、长期的临床试验,以进一步验证其安全性和有效性。未来的研究应聚焦于多糖的神经系统作用机制、肠道-脑轴调控路径以及不同种类多糖的抗抑郁效果比较,为抑郁症治疗提供新的策略和思路。

参考文献

[1] WHO. Depression [J]. 2021.
[2] Helen H, Vikram P, Christian K, et al. Time for united action on depression: a lancet-world psychiatric association commission [J]. Lancet, 2022, 399 (10328): 957-1022.

[3] Dean J, Keshavan M. The neurobiology of depression: an integrated view [J]. Asian J Psychiatr, 2017, 27: 101-111.
[4] Srikumar NB, Paschapur M, Kalidindi N, et al. Characterization of the adrenocorticotrophic hormone-induced mouse model of resistance to antidepressant drug treatment [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2017, 161: 53-61.
[5] 卢杨君, 陈磊, 伍春桃, 等. 白术多糖对 CUMS 模型小鼠抑郁样行为及其脑肠轴和 HPA 轴的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2025, 37 (1): 1-9.
[6] 伍春桃, 陈磊, 常祥兵, 等. 白术多糖对抑郁症小鼠动物模型的作用及机制研究 [J]. 中国药理学杂志, 2024, 59 (9): 789-800.
[7] 何嘉桃, 胡连花, 王晨, 等. 羧甲基茯苓多糖阻遏亚慢性应激诱导的抑郁样行为 [J]. 生物学杂志, 2024, 41 (2): 44-50.
[8] 何嘉桃. 基于系统炎症探究羧甲基茯苓多糖对亚慢性应激诱导临床前抑郁症状的阻遏作用 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2023.
[9] 蔡聪聪. 玉郎伞多糖对慢性应激抑郁大鼠代谢和肠道菌群的调控作用研究 [D]. 太原: 山西大学, 2023.
[10] 李明鉴. 枸杞多糖通过调节肠道微生物群发挥抗抑郁作用的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
[11] Zhou ZJ, Wang YL, Sun SQ, et al. *Paeonia lactiflora* Pall. polysaccharide alleviates depression in CUMS mice by inhibiting the NLRP3/ASC/Caspase-1 signaling pathway

- and affecting the composition of their intestinal flora [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 316: 116716.
- [12] Wang ML, Sun PH, Li ZN, et al. Eucommiae cortex polysaccharides attenuate gut microbiota dysbiosis and neuroinflammation in mice exposed to chronic unpredictable mild stress: beneficial in ameliorating depressive-like behaviors [J]. *J Affect Disord*, 2023, 334: 278-292.
- [13] 熊林林. 逍遥散多糖调节肠道总菌群产 SCFAs 功能菌群改善 CUMS 大鼠抑郁样行为的机制研究 [D]. 南昌: 江西中医药大学, 2022.
- [14] Meng Y, Cai CC, Huang FY, et al. A novel antidepressant homogeneous polysaccharide YLP-1 from *Milletia pulchra* ameliorates tryptophan metabolism and SCFAs through modulating gut microbiota [J]. *Carbohydr Polym*, 2024, 344: 122527.
- [15] 鲁萌萌, 张阳, 林菲, 等. 裙带菜多糖通过减轻海马氧化应激改善 CUMS 大鼠抑郁样行为 [J]. *神经解剖学杂志*, 2024, 40 (2): 145-152.
- [16] 姚文娟. 羌活粗多糖改善小鼠抑郁样行为的作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2023.
- [17] 史云静, 李玉霞. 茯苓多糖通过 NF- κ B 和 NLRP3 信号通路调节脂多糖引起的焦虑和抑郁样行为 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44 (12): 371-377.
- [18] 刘萌萌, 张伊, 张耀元, 等. 天麻多糖对脂多糖诱导抑郁小鼠的作用及机制研究 [J]. *中国药师*, 2021, 24 (11): 2018-2023.
- [19] 陈可琢, 陈实, 任洁怡, 等. 茯苓酸性多糖抗抑郁作用及其调节神经递质和 NLRP3 通路机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46 (19): 5088-5095.
- [20] Boushra D, Lukas OV, Bram V, et al. The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16 (8): 461-478.
- [21] Palepu KSM, Gajula RNS, KM, et al. SCFAs supplementation rescues anxiety-and depression-like phenotypes generated by fecal engraftment of treatment-resistant depression rats [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2024, 15 (5): 1010-1025.
- [22] Katarzyna S, Urszula D, Aleksandra S, et al. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 172: 105840.
- [23] Gao MX, Wang JZ, Liu PH, et al. Gut microbiota composition in depressive disorder: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression [J]. *Transl Psychiatry*, 2023, 13 (1): 379.
- [24] Zhang XF, Qiao YJ, Li GQ, et al. Exploratory studies of the antidepressant effect of *Cordyceps sinensis* polysaccharide and its potential mechanism [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 277 (P2): 134281.
- [25] Yu F, Li YQ, Liao X, et al. *Corydalis yanhusuo* polysaccharides ameliorate chronic stress-induced depression in mice through gut microbiota-derived short-chain fatty acid activation of 5-hydroxytryptamine signaling [J]. *J Med Food*, 2023, 26 (12): 890-901.
- [26] Chen C, Liao JM, Xia YY, et al. Gut microbiota regulate Alzheimer's disease pathologies and cognitive disorders via PUFA-associated neuroinflammation [J]. *Gut*, 2022, 71 (11): 2233-2252.
- [27] Zhang HM, Chen YJ, Wang ZF, et al. Implications of gut microbiota in neurodegenerative diseases [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 785644.
- [28] Zhang YY, Sun Y, Liu YP, et al. *Polygonum sibiricum* polysaccharides exert the antidepressant-like effects in chronic unpredictable mild stress-induced depressive mice by modulating microbiota-gut-brain axis [J]. *Phytother Res*, 2023, 37 (8): 3408-3423.
- [29] 韦震, 宋洪波, 安凤平, 等. 黄精多糖对急性抑郁小鼠模型的改善作用及机制 [J]. *食品工业科技*, 2022, 43 (6): 351-357.
- [30] Yan TX, Nian TT, Liao ZZ, et al. Antidepressant effects of a polysaccharide from okra (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench) by anti-inflammation and rebalancing the gut microbiota [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 144 (C): 427-440.
- [31] Haoran L, Xiao YH, Li H, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides ameliorated depression-like behaviors in the chronic social defeat stress depression model via modulation of Dectin-1 and the innate immune system [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 17116-17124.
- [32] Zhang DD, Jia X, Sun XZ, et al. The dectin-1 receptor signaling pathway mediates the remyelination effect of lentinan through suppression of neuroinflammation and conversion of microglia [J]. *J Immunol Res*, 2022, 2022: 3002304.
- [33] Chang LL, Wang CD, Peng J, et al. Rattan pepper polysaccharide regulates DSS-induced intestinal inflammation and depressive behavior through microbiota-gut-brain axis [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72 (1): 437-448.
- [34] Han R, Ma YX, Xiao JB, et al. The possible mechanism of the protective effect of a sulfated polysaccharide from *Gracilaria Lemaneiformis* against colitis induced by dextran sulfate sodium in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2021, 149112001.
- [35] Hong YH, Boiti A, Vallone D, et al. Reactive oxygen species signaling and oxidative stress: transcriptional regulation and evolution [J]. *Antioxidants*, 2024, 13 (3): 312.
- [36] Bhat HA, Dar BK, Anees S, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight [J]. *Biomed Pharmacother*, 2015, 74: 101-110.
- [37] Bhatt S, Nagappa NA, Patil RC. Role of oxidative stress in depression [J]. *Drug Discovery Today*, 2020, 25 (7): 1270-1276.
- [38] 刘玉婷, 李井雷. 多糖体外抗氧化活性研究进展 [J]. *食品研究与开发*, 2019, 40 (6): 214-219.
- [39] Fernandes PAR, Coimbra MA. The antioxidant activity

- of polysaccharides: a structure-function relationship overview [J]. *Carbohydr Polym*, 2023, 314: 120965.
- [40] Fengming S, Zhujin S, Pan X, et al. Polygonatum sibiricum polysaccharide prevents depression-like behaviors by reducing oxidative stress, inflammation, and cellular and synaptic damage [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114164.
- [41] Mu S, Yang WJ, Huang GL. Antioxidant activities and mechanisms of polysaccharides [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2020, 97 (3): 628-632.
- [42] Zeng FS, Yao FY, Wang LF, et al. Polysaccharides as antioxidants and prooxidants in managing the double-edged sword of reactive oxygen species [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 159: 114221.
- [43] Pariante CM. Risk factors for development of depression and psychosis. Glucocorticoid receptors and pituitary implications for treatment with antidepressant and glucocorticoids [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1179 (1): 144-152.
- [44] Hori H, Yoshida F, Ishida I, et al. Blood mRNA expression levels of glucocorticoid receptors and FKBP5 are associated with depressive disorder and altered HPA axis [J]. *J Affect Disord*, 2024, 349: 244-253.
- [45] Claire G, Aleks S, Harris MA, et al. Hair glucocorticoids are associated with childhood adversity, depressive symptoms and reduced global and lobar grey matter in Generation Scotland [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11 (1): 523-523.
- [46] Shen FM, Song ZJ, Pan X, et al. Polygonatum sibiricum polysaccharide prevents depression-like behaviors by reducing oxidative stress, inflammation, and cellular and synaptic damage [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114164.
- [47] 刘佳蕾, 王宇亮, 赵宏, 等. 百合多糖与黄芪多糖联用对慢性应激小鼠抑郁行为的影响及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28 (5): 62-70.
- [48] Eero C, Lisa M. Brain-derived neurotrophic factor signaling in depression and antidepressant action [J]. *Biol Psychiatry*, 2021, 90 (2): 128-136.
- [49] Du Q, Zhu XY, Si JR. Angelica polysaccharide ameliorates memory impairment in Alzheimer's disease rat through activating BDNF/TrkB/CREB pathway [J]. *Exp Biol Med*, 2020, 245 (1): 1-10.
- [50] 张文易. 绣球菌多糖结构表征及其对阿尔茨海默症小鼠的干预作用 [D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [51] Niu J, Pi ZF, Yue H, et al. Effect of ginseng polysaccharide on the urinary excretion of type 2 diabetic rats studied by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 907: 7-12.
- [52] Naha N, Gandhi D, Gautam A, et al. Nicotine and cigarette smoke modulate Nrf2-BDNF-dopaminergic signal and neurobehavioral disorders in adult rat cerebral cortex [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2018, 37 (5): 540-556.
- [53] Yang T, Wang XB, Liu L, et al. Ginkgolide-platinum (II) Complex GPt (II) exhibits therapeutic effect on depression in mice via upregulation of DA and 5-HT neurotransmitters [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e922052.
- [54] Nicole R, Maren V, Grietje H, et al. Specific substrate-driven changes in human faecal microbiota composition contrast with functional redundancy in short-chain fatty acid production [J]. *ISME J*, 2018, 12 (2): 610-622.
- [55] Li CP, Duan SS, Li YP, et al. Polysaccharides in natural products that repair the damage to intestinal mucosa caused by cyclophosphamide and their mechanisms: a review [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 261: 117876.
- [56] Zhang X, Liu JX, Wang X, et al. Structure characterization and antioxidant activity of carboxymethylated polysaccharide from *Pholiota nameko* [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46 (7): e14121.
- [57] Xiao H, Fu X, Cao CL, et al. Sulfated modification, characterization, antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from *Sargassum pallidum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 121: 407-414.
- [58] Xu YQ, Gao YK, Liu F, et al. Sulfated modification of the polysaccharides from blackcurrant and their antioxidant and α -amylase inhibitory activities [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 109: 1344-1354.
- [59] 陈诺, 席文杰, 胡美芬, 等. 多糖免疫调节作用与结构关系研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2023, 48 (10): 2667-2678.
- [60] Fabio P, Siegfried K, Joseph Z, et al. Characterization of medication side effects in patients with mostly resistant depression in a real-world setting [J]. *World J Biol Psychiatry*, 2022, 24 (5): 31-36.
- [61] Li XY, Liu T, Mo X, et al. Effects of Lycium barbarum polysaccharide on cytokines in adolescents with subthreshold depression: a randomized controlled study [J]. *Neural Regen Res*, 2024, 19 (9): 2036-2040.

(收稿日期: 2025-01-14; 修回日期: 2025-03-07)

淫羊藿苷改善肾损伤的药理作用研究进展与物质基础探讨

王宁豫, 陈西敬*, 赵娣* (中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 211198)

摘要: 肾病可由药物、手术、疾病等多种因素引起, 主要包括急性肾损伤和慢性肾病等。淫羊藿苷作为传统保肾中药淫羊藿的活性成分, 在近年来的研究中逐渐显露出良好的肾损伤改善作用。本文围绕淫羊藿苷改善肾损伤的体内外药效及作用机制研究进行综述, 并结合现有药动学研究讨论其经胃肠道给药发挥肾保护作用可能的物质基础, 旨在为深入研究淫羊藿苷肾保护作用机制提供参考, 为其进一步开发与临床应用提供支撑。

关键词: 淫羊藿苷; 肾损伤; 药动学; 分子机制

中图分类号: R285.5, R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-3023-07
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.034

Pharmacology and material basis of icariin in ameliorating kidney injury

WANG Ning-yu, CHEN Xi-jing*, ZHAO Di* (School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198)

Abstract: Kidney diseases may be caused by various factors such as drugs, surgeries, and diseases. According to clinical manifestations, they can be classified as acute and chronic kidney disease. As the active component of traditional Chinese medicine *Epimedium* for kidney preservation, icariin has demonstrated promising efficacy in ameliorating kidney injury in recent studies. This article reviewed the progress in the in vitro and in vivo——efficacy of icariin in mitigating kidney injury and its mechanism, and discussed the possible in vivo material basis for the renal protective effect of oral administration based on existing pharmacokinetic studies. The aim is to support research on the mechanism of icariin's renal protective effect, and development and clinical application.

Key words: icariin; kidney injury; pharmacokinetics; molecular mechanism

肾病被认为是一个全球性的公共卫生问题, 根据其临床表现可分为急性肾病 (acute kidney disease, AKD)、慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 及其他未定义的肾病。AKD 指短期 (3 个月内) 的肾脏功能紊乱, 其中最常见的类型为急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI), 定义为肾功能在短时间内 (7 d 内) 的迅速下降, 临床表现为血清肌酐的迅速增高或尿量的迅速减少; CKD 定义为长期 (3 个月以上) 持续的肾脏结构和功能损害, 临床表现为肾小球滤过率降低、尿蛋白升高, 伴成像或活检异常等, 可能是原发性的或继发于糖尿病、高血压等疾病^[1-2]。目前, 全球约有 8.5 亿人患有肾病, 并且这一数字持续上升^[3]。临床上 AKI 的治疗重点在于恢复血流动力学和纠正水 - 电

解质失衡; CKD 的治疗则关注改善高血压等诱因、使用钠 - 葡萄糖协同转运蛋白 2 (SGLT2) 抑制剂延缓疾病进程, 对于进展至终末期的患者则需要进行透析或肾移植治疗^[4-6]。然而上述疗法常常受到资源匮乏、难逆性损伤、术后并发症等限制, 因此, 开发新的肾病治疗方法十分重要。

淫羊藿属于小檗科植物, 是一种常见的用于补肾壮阳的中草药, 目前上市的含有淫羊藿的中药制剂有喘可治注射液、仙灵骨葆胶囊、复方玄驹胶囊等, 主要用于呼吸系统、神经系统、骨骼、男性生殖系统相关疾病的治疗^[7-9]。淫羊藿苷 (icariin, ICA) 是淫羊藿最主要的活性成分, 在《中国药典》中是淫羊藿质量控制的标志物^[10]。ICA 已在临床前研究中被证明具有多种生物活性,

作者简介: 王宁豫, 女, 硕士研究生, 主要从事药物代谢动力学研究, email: 1745549778@qq.com * **通信作者:** 陈西敬, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事药物代谢动力学研究, email: 83271286@163.com; 赵娣, 女, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事药物代谢动力学研究, email: zh_d99@cpu.edu.cn

包括抗氧化、抗炎、免疫调节等^[11],且大量体内外研究表明其具有改善肾损伤的作用^[12-14]。本文综述了 ICA 的肾保护作用研究现状及其潜在作用机制,并结合其药动学特点探讨口服 ICA 发挥药效可能的物质基础,以期深入了解 ICA 的体内行为、开发其新适应证提供思路 and 参考。

1 ICA 的肾损伤改善作用研究现状

1.1 体内研究

1.1.1 CKD 模型 自 2011 年 Qi 等^[15]首次发现 ICA 单体对大鼠糖尿病的改善作用以来,越来越多的研究表明,ICA 在多种 CKD 模型中发挥改善作用,包括长期暴露于肾毒性药物^[12, 16],糖尿病肾病^[14],以及单侧输尿管梗阻(UUO)^[17]、5/6 肾切除^[18]等。损伤模型建立后,通常经过 1~3 个月的每日连续给药,损伤的肾脏可以得到较为充分的恢复,表现为血清肌酐、尿素氮等肾脏清除功能指标的恢复,以及肾组织纤维化的减少^[19-20]。

1.1.2 AKI 模型 近年来,关于 ICA 改善 AKI 的研究也在不断增加,使用的体内造模手段包括妊娠高血压模型,叶酸^[13]、顺铂^[21]、碘普罗胺^[22]的单次大剂量注射构建的化学损伤模型,盲肠结扎-穿孔引发的脓毒症模型^[23]等,可模拟肾血流灌注减少、肾毒性药物或对比剂以及感染造成的 AKI。通常采取自造模前数日开始每日预防性给药的方案以抵御急性损伤的冲击^[21],给药持续数日至数周。ICA 处理组可观察到肾功能指标的恢复、肾小管损伤的明显减轻,以及肾损伤分子-1(KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)等早期损伤标志物含量的下降^[12-13]。

上述体内研究中 ICA 的剂量范围通常在 10~100 mg·kg⁻¹,最高为 200 mg·kg⁻¹^[16],给药频率均为每日一次。除 Zhang 等^[13]选择了采取腹腔注射以外,其余均采用灌胃给药的方式,以减少长期给药对动物的伤害。

总之,上述研究证明了 ICA 在动物体内对多种急性、慢性肾损伤具有良好的改善作用,为其临床转化提供了给药方案参考。相关研究见表 1。

1.2 体外研究

ICA 的体外活性评价最常选用的细胞是 HK-2 (一种人肾小管上皮细胞系),通过肾毒性药物处理或转化生长因子 β (TGF- β)诱导,可用于模拟临床上多种急性、慢性肾损伤状态下的肾小管细胞损伤状态,并研究 ICA 在其中的改善作用^[16-17, 24]。另一些研究使用鼠源的肾小管上皮细胞系(NRK-52E)^[18],肾间质成纤维细胞系(NRK-49F)^[20]及肾小球足细胞与内皮细胞系(MPC-5,

mGEnCs)^[14, 25]等,证明了 ICA 能够减轻高糖处理及 TGF- β 诱导的细胞损伤,可用于支撑 ICA 在糖尿病及肾纤维化过程中的综合改善作用。

上述研究中多采用 ICA 与造模剂共同处理细胞的方案,通常处理 24~48 h。也有研究显示,造模前预处理或造模后处理,也能发挥预防和改善细胞损伤的作用^[16, 25]。ICA 发挥保护作用的浓度多分布在 1~50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[18, 26],最高者采用了 150 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[16]。关于 ICA 的体外药效研究详见表 2。

2 ICA 改善肾损伤的机制研究

2.1 改善氧化应激,维护线粒体稳态

氧化应激存在于多种肾脏疾病的进程中,是肾损伤的重要早期特征之一^[37],其核心机制是活性氧(ROS)的生成与清除失衡导致其过量蓄积,进而引发细胞结构和功能损伤,表现为肾组织抗氧化能力降低、过氧化产物积累等。研究显示,ICA 能够升高肾组织中抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性水平,降低促氧化酶 NOX4 的表达,恢复肾组织总抗氧化能力,并减少脂质过氧化产物丙二醛(MDA)在组织中的累积^[20-21, 23, 28, 30]。此外,ICA 被证明能够逆转 HEK293 细胞中的谷胱甘肽(GSH)耗竭^[35]。可见,ICA 的抗氧化活性在其肾保护过程中起重要作用。ICA 的抗氧化作用与其激活 Nrf-2/HO-1 信号通路有关^[17]。

线粒体是维持氧化还原功能的关键细胞器,是 ROS 产生的主要场所,同时也是 ROS 攻击的主要器官^[38],因此线粒体损伤也是肾损伤的关键步骤^[39-40]。ICA 能够恢复线粒体膜电位,减少线粒体肿胀、破裂和嵴消失^[17];并调节线粒体融合与裂分相关蛋白表达,减少“点状”线粒体的生成^[18]。除了氧化还原平衡,Zhao 等^[16]关注了 ICA 在调节线粒体能量平衡方面的作用。该研究发现 ICA 通过激活 AMPK/ACC 信号通路,调节三羧酸循环,恢复损伤肾组织的能量供应。上述研究表明,ICA 可通过减少线粒体结构损伤、改善线粒体动力学,维持线粒体正常功能,从而发挥保肾作用。

2.2 减轻炎症反应,调节免疫

损伤状态下的肾脏细胞能够激活炎症反应,引起肾组织和肾功能受损,进一步引发全身性炎症并驱动肾纤维化。在此过程中,ICA 能够减少细胞和组织水平炎症小体关键蛋白 NLRP3、凋亡相关颗粒样蛋白(ASC)和 caspase-1 的表达,继而降低肾组织肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 和 IL-18 等促炎因子水平^[23-25],并且能够降低肾组织中趋化因子 CCL2 水平^[31],减少中性粒细

表 1 体内实验中模型建立、ICA 处理方案及作用效果

Tab 1 Model building, ICA treatment and in vivo effect

动物种属	造模药物 / 手段及所需时间	ICA 给药剂量及持续时间	作用效果	文献
SD 大鼠	氯化镉, 10 d	25 ~ 100 mg • kg ⁻¹ , 43 d	抑制炎症小体形成, 减轻氧化应激、细胞凋亡, 减轻肾小管损伤和肾功能损伤	[12]
BALB/c 小鼠	叶酸, 48 h	30 mg • kg ⁻¹ , 2 d	调节凝血和补体级联信号通路, 减轻肾功能损伤	[13]
SD 大鼠	高糖高脂饮食+链脲佐菌素 (STZ), 8 周	20 ~ 80 mg • kg ⁻¹ , 12 周	激活 AR/RKIP 途径, 抑制 MEK/ERK 信号, 减轻内皮-间质转化 (EndMT) 和肾纤维化	[14]
SD 大鼠	STZ, 7 d	200 mg • kg ⁻¹ , 8 周	减轻肾组织损伤和胶原沉积	[15]
SD 大鼠	腺嘌呤, 28 d	100 ~ 200 mg • kg ⁻¹ , 28 d	减轻炎症和氧化应激, 减轻上皮-间质转化 (EMT), 减轻肾纤维化和肾功能损伤	[16]
C57BL/6 小鼠	UUO	50 mg • kg ⁻¹ , 14 d	激活 Nrf2/HO-1, 减轻炎症、氧化应激, 调节线粒体稳态, 减轻肾纤维化和肾功能损伤	[17]
SD 大鼠	5/6 肾切除, 5 周	20 ~ 40 mg • kg ⁻¹ , 8 周	调节线粒体动力学相关蛋白表达, 减轻肾纤维化	[18]
SD 大鼠	STZ, 7 d	20 ~ 80 mg • kg ⁻¹ , 5 周	减轻肾功能损伤和肾纤维化	[19]
SD 大鼠	5/6 肾切除, 5 周	20 ~ 40 mg • kg ⁻¹ , 8 周	减轻炎症、氧化应激, 减轻肾小管损伤和肾纤维化, 减轻肾功能损伤	[20]
BALB/c 小鼠	顺铂, 72 h	30 ~ 60 mg • kg ⁻¹ , 6 d	抑制 NF-κB 激活, 减轻氧化应激和细胞凋亡, 减轻肾小管损伤和肾功能损伤	[21]
SD 大鼠	碘普罗胺, 30 h	100 mg • kg ⁻¹ , 3 d	减轻细胞凋亡, 减轻肾纤维化和肾功能损伤	[22]
C57BL/6 小鼠	盲肠结扎穿孔	30 ~ 60 mg • kg ⁻¹ , 3 d	减轻炎症和氧化应激, 减轻肾功能损伤, 延长生存期	[23]
SD 大鼠	阿霉素, 7 d	50 mg • kg ⁻¹ , 6 周	减轻炎症和细胞焦亡, 减轻肾纤维化和肾功能损伤	[24]
SD 大鼠	STZ, 7 d	20 ~ 80 mg • kg ⁻¹ , 8 周	促进 Keap1 降解, 激活 Nrf2/HO-1, 抑制减轻炎症小体的形成, 激活自噬, 减轻肾小球足细胞损伤和肾功能损伤, 抑制糖尿病进展	[25]
SD 大鼠	高糖高脂饮食+ STZ, 5 周	20 ~ 80 mg • kg ⁻¹ , 12 周	激活自噬, 减轻肾纤维化和肾功能损伤	[26]
SD 大鼠	阿霉素, 14 d	60 mg • kg ⁻¹ , 8 周	减轻足细胞损伤和肾功能损伤	[27]
ICR 小鼠	STZ, 72 h	150 mg • kg ⁻¹ , 8 周	减轻氧化应激, 减轻肾小球损伤、肾纤维化和肾功能损伤	[28]
SD 大鼠	STZ, 7 d	20 ~ 80 mg • kg ⁻¹ , 9 周	减轻氧化应激, 减轻细胞外基质沉积和肾小球损伤, 减轻肾功能损伤, 抑制糖尿病进展	[29]
C57BL/6 小鼠	UUO	20 mg • kg ⁻¹ , 9 ~ 20 d	减轻炎症、氧化应激, 减轻肾组织损伤和肾纤维化	[30]
MRL/lpr 小鼠	自发性狼疮性肾炎	10 mg • kg ⁻¹ , 8 周	抑制 NF-κB 激活, 减少肾组织免疫复合物沉积, 减轻肾功能损伤	[31]
Wistar 大鼠	左旋精氨酸甲酯诱导的妊娠高血压	10 ~ 100 mg • kg ⁻¹ , 18 d	减轻肾小球肿胀和肾功能损伤, 改善妊娠高血压	[32]
SD 大鼠	牛 γ-球蛋白, 12 周	10 mg • kg ⁻¹ , 6 周	抑制 IKKβ/IκBα 信号, 抑制 NF-κB 激活, 减轻炎症, 减少免疫球蛋白 A (IgA) 复合物沉积, 减轻肾纤维化, 减轻肾小球肿胀和肾功能损伤	[33]
SD 大鼠	5/6 肾切除, 11 d	20 ~ 40 mg • kg ⁻¹ , 12 周	减轻细胞凋亡, 减轻肾功能损伤	[34]

表 2 体外实验中模型建立、ICA 处理方案及作用效果

Tab 2 Model building, ICA treatment and effects in vitro

细胞	造模药物处理方式	ICA 处理方式	作用效果	文献
mGEnCs	葡萄糖 35 mmol • L ⁻¹ , 48 h	3 ~ 30 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 48 h	抑制 EMT	[14]
HK-2	腺嘌呤 10 ng • mL ⁻¹ , 24 h	75 ~ 150 μmol • L ⁻¹ , 预处理 12 h	抑制 EMT	[16]
HK-2	TGF-β 10 ng • mL ⁻¹ , 24 h	50 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 24 h	减轻炎症和氧化应激, 减轻线粒体损伤, 减轻纤维化	[17]
NRK-52E	TGF-β 20 ng • mL ⁻¹ , 24 h	0.5 ~ 5 μmol • L ⁻¹ , 造模后处理 24 h	改善线粒体动力学和线粒体功能, 减轻纤维化	[18]
NRK-49F	IL-1β 8 ng • mL ⁻¹ , 24 h	0.5 ~ 5 μmol • L ⁻¹ , 造模后处理 24 h	减轻纤维化	[20]
HK-2	碘普罗胺 150 ng • mL ⁻¹ , 9 h	1 ~ 50 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 9 h	改善细胞存活率	[22]
HK-2	阿霉素 10 μmol • L ⁻¹ , 24 h	10 μmol • L ⁻¹ , 造模后处理 24 h	抑制 EMT	[24]
MPC-5	葡萄糖 35 mmol • L ⁻¹ , 48 h	1 ~ 10 μmol • L ⁻¹ , 造模后处理 48 h	激活 Sesn2/PINK1/PARK2 信号, 激活自噬	[25]
HK-2 和 NRK-49F	葡萄糖 30 mmol • L ⁻¹ , 48 h	2 ~ 50 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 48 h	下调 miR-192-5p 表达, 减轻自噬, 减轻纤维化	[26]
大鼠肾足细胞	阿霉素 10 μmol • L ⁻¹ , 24 h	10 μmol • L ⁻¹ , 造模后处理 24 h	抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号, 激活自噬, 减少凋亡	[27]
HMC	葡萄糖 30 mmol • L ⁻¹ , 48 h	1 ~ 10 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 48 h	抑制 Nrf-2 降解, 抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号	[29]
HEK-293	顺铂 20 μmol • L ⁻¹ , 24 h	0.25 ~ 2.0 μmol • L ⁻¹ , 预处理 24 h	抑制 PI3K/Akt 信号, 减轻炎症、氧化应激和凋亡	[35]
小鼠肾足细胞	葡萄糖 35 mmol • L ⁻¹ , 48 h	10 μmol • L ⁻¹ , 共同处理 48 h	激活 G 蛋白偶联雌激素受体 (GPER), 减轻线粒体损伤和细胞凋亡	[36]

胞和巨噬细胞浸润^[17,30], 表明 ICA 能够减轻肾脏炎症; Wang 等^[20]使用 IL-1β 诱导 NRK-49F 细胞模拟炎症过程, 证明了 ICA 通过抑制 TGF-β/Smad 信号通路减轻炎症引起的纤维化; 另外在整体水平上, ICA 能够降低肾损伤大鼠血清中的促炎因子水

平^[16,23]。以上证据均表明 ICA 能够通过减轻炎症反应发挥其肾脏保护作用。值得一提的是, 这种抗炎活性使 ICA 在自身免疫性肾病模型, 包括 IgA 肾病大鼠^[33]与自发性狼疮性肾炎小鼠^[31]中表现出良好的改善作用。

研究表明, ICA 通过抑制 NF- κ B 信号发挥抗炎作用^[20,30]。Zheng 等^[12]发现, ICA 能够减轻镉所致 AKI 大鼠的 Toll 样受体 4 (TLR4) 和 P2rx7 基因表达, 作为细胞膜表面受体, 两者在损伤信号识别和炎症激活过程中均发挥重要作用, 提示 ICA 的抗炎作用可能与 TLR4/P2rx7/NF- κ B 信号通路抑制有关。

2.3 减少细胞凋亡

损伤的肾脏细胞会通过凋亡进行程序性的自我清除, 即肾脏细胞接受的损伤信号由 Bcl-2 家族蛋白进行整合, 激活 caspase 家族蛋白, 对细胞内多种功能蛋白进行剪切破坏^[41]。在这个过程中, ICA 被证明能够逆转损伤引起的 Bax 表达升高、Bcl-2 表达降低, 并减少 caspase-3、caspase-9 激活^[12], 从而减轻细胞膜外翻^[22]、DNA 断裂^[15,34]等凋亡特征, 表明 ICA 能够减少肾损伤引起的细胞凋亡。

关于 ICA 的抗凋亡机制研究, Zhou 等^[35]发现 ICA 改善了顺铂在 HEK293 细胞中引起的凋亡及 PI3K/Akt 信号激活, 且这种改善作用能够被 PI3K 抑制剂阻断, 证明了 ICA 能够通过抑制 PI3K/Akt 信号发挥抗凋亡作用; Lin 等^[22]通过构建并分析竞争性内源 RNA 网络, 揭示 ICA 的凋亡作用可能与其调节 ERK1/2 级联信号有关, 但这一通路的重要程度有待进一步验证。

2.4 抑制 EMT 与 EndMT

EMT 与 EndMT 分别指上皮细胞和内皮细胞失去原有特征, 转向间质细胞表型的过程。肾脏中大量的肾小管上皮细胞和肾小球血管内皮细胞对于肾清除功能的维持起着不可或缺的作用, 因此 EMT 与 EndMT 被普遍认为是肾纤维化的关键过程^[42-43]。

通过检测 E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 或 VE-钙黏蛋白 (VE-cadherin) 等上皮/内皮标志物, 及 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 等间质标志物, Yao 等^[14]证明了 ICA 能够减轻糖尿病肾病大鼠肾脏中的 EndMT, 减轻肾纤维化, 并在体外使用鼠肾小球内皮细胞系进行了验证; Zhao 等^[16]的研究则证明了 ICA 在糖尿病大鼠肾组织中对 EMT 的改善作用。抑制 EMT 与 EndMT, 从而减轻肾纤维化, 对于 ICA 改善肾损伤, 尤其是阻止糖尿病肾病等慢性肾病进展具有重要意义。

2.5 其他

ICA 被证明对 GPER 具有激动作用, 即一种类似雌激素的作用。研究表明, ICA 能够通过激活 GPER, 在肾足细胞系中减轻高糖诱导的氧化应激和凋亡^[36,44], 以及在糖尿病大鼠体内减轻 Sirt1/HMGB1 所介导的内皮细胞炎症^[44]。在 Duan 等^[24]的研究中,

ICA 显著下调阿霉素引起的肾病综合征大鼠体内焦亡关键蛋白 caspase-1 与 GaSDermin D 水平, 可减轻炎症、肾纤维化和肾功能损伤。可见, 减少焦亡也可能是 ICA 发挥肾保护作用的原因之一。Jia 等^[26]的研究显示, ICA 能够降低糖尿病大鼠肾脏中自噬接头蛋白 p62 的表达, 并增加自噬体形成关键蛋白 LC 3 的表达, 进而改善肾纤维化。该研究表明 ICA 具有自噬激活作用, 且这种作用可能与 miR-192/GLP-1R 途径有关。另外, Zhang 等^[13]将定量蛋白质组学技术用于分析 ICA 改善叶酸在小鼠中改善 AKI 的机制, 发现其可能与凝血和补体级联信号的调控有关。

3 ICA 肾保护作用的体内物质基础

现有的 ICA 改善肾损伤的体内药效研究通常采取经口给药的方式^[45]。然而, 和多数黄酮苷类化合物一样, ICA 因其分子量大、极性大的结构特征, 限制了其口服生物利用度; 两个糖苷键的存在又赋予其更加复杂的代谢过程。因此, 在进行药理作用及机制研究的同时, 深入理解口服 ICA 的体内行为, 对于阐明其体内药效的产生原因具有重要意义。

3.1 ICA 的吸收

普遍认为 ICA 的口服吸收速度较快, 但吸收率较低。在一项大鼠灌胃给予 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ICA 的研究中, $C_{\max}$ 为 $(27.2 \pm 5.4) \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, $AUC_{0 \sim \infty}$ 为 $(657.8 \pm 80.4) \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$, $t_{\max}$ 为 $(0.25 \pm 0.00) \text{ h}$, 绝对生物利用度仅为 0.1% ^[46]。I 期临床试验结果显示, 健康成年受试者口服 ICA 胶囊 ($100 \sim 1680 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$, 连续 5 d) 后血浆中 ICA 暴露量较低, 难以计算其药动学参数^[47]。在一项以小鼠为研究对象的药动学研究中, 灌胃给予 $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ICA 后, 未检测到血浆中 ICA 原药的存在^[48]。一项基于 Caco-2 单层细胞模型的吸收机制研究结果显示, ICA 的肠道渗透性较差, 同时存在明显的由 P-gp 介导的外排现象 ($P_{\text{BA}}/P_{\text{AB}} \geq 4$)^[49]。

3.2 ICA 的代谢转化

关于 ICA 的代谢过程已有较多研究, 大致的代谢转化过程如图 1 所示, 可描述为: ICA 脱糖基形成淫羊藿次苷 I (ICS I)、淫羊藿次苷 II (ICS II)、淫羊藿素 (ICT), 上述物质可进一步发生脱氢、羟基化或去甲基化等反应。ICA 体内 II 相代谢的主要形式为葡糖醛酸化, 反应可发生在脱糖基、去甲基等暴露出的活性羟基上^[50-52]。ICA 及其几种主要代谢产物的结构见图 1。

Wang 等^[51]对大鼠灌胃给予 ICA 后血浆及排泄物中的代谢产物进行了全面鉴定, 从粪便中鉴别到的代谢产物最多 (20 种), 胆汁次之, 尿液

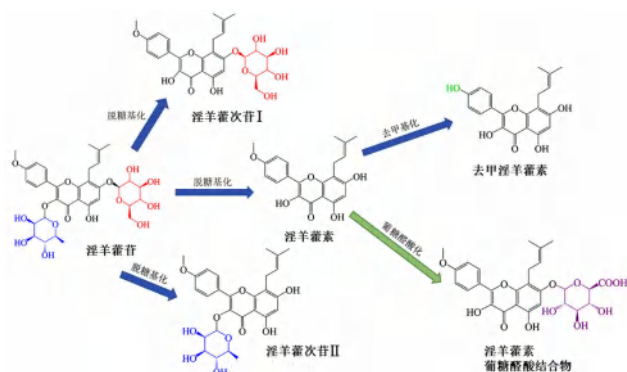


图 1 ICA 及其部分代谢产物的结构与转化过程

Fig 1 Structure and transformation of ICA and its several metabolites

最少。其中 ICS II 在血浆、胆汁、尿液和粪便中均存在，而 ICS I 和 ICT 则仅在粪便和血浆中检测到，而未在胆汁中检测到。这表明肠道对 ICA 的代谢，尤其是 I 相代谢，有重要贡献。相较于静脉注射，大鼠灌胃 ICA 后体内 ICS II 转化率明显提升，可推测 ICS II 作为口服 ICA 的主要代谢产物，其产生很大程度上依赖于肠道代谢^[46]。相关体外研究表明，大鼠肠道菌群、肠微粒体均可水解 ICA，产生大量 ICS II、ICT 以及去甲淫羊藿素（DICT）^[53]，人类肠道微生物代谢亦可产生 ICS II、ICT 和 DICT^[54]。综上，口服的 ICA 可能有较大一部分在肠道内发生水解等反应，以单糖基、苷元和双糖基混合物的形式被吸收，经肝脏发生进一步代谢后进入全身循环。

3.3 ICA 及其代谢物的肾组织分布

ICA 吸收率低，因此大鼠灌胃给药后到达各组织的原药均较少，相对集中于肝脏^[55]。ICS I 尾静脉注射 5 ~ 10 min 后，在高血流灌注的肝、肾、肺组织具有较高的初始分布，但在肌肉组织蓄积的时间更长^[56]。Wang 等^[57]通过计算 ICS II 尾静脉注射后 3 h 内血浆和组织中的 $AUC_{0 \sim t}$ ，发现肾组织 ICS II 含量最高，其次是肝、肺组织，且分布含量远高于血浆。Zhang 等^[58-59]注意到 ICT 在体内易于生成 II 相代谢产物，故测定了大鼠腹腔注射 ICT 后各组织中的 ICT 与淫羊藿素葡萄糖醛酸结合物（GICT），发现肾脏中 ICT 含量较低，GICT 含量则最高，且浓度维持长达 12 h 以上。总体上看，高血流灌注成了血浆中的代谢物快速向肾脏分布的有利条件。

3.4 代谢物的药理作用

Tian 等^[60]发现 ICS II 能够减少氧化应激，抑制 $TGF-\beta/Smad$ 信号，改善 2 型糖尿病大鼠的肾损伤症状；Wang 等^[61]发现 ICS II 能够在体内外层面激活过氧化物酶体增殖物激活受体（PPAR）途径，改善脂质代谢，从而延缓 CKD 大鼠的肾纤维化进展。

Liao 等^[62]发现连续两周灌胃给予 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ICT 能够显著下调 Foxp3/IL17a 信号，减轻肾脏炎症，从而改善狼疮性肾炎小鼠的肾功能；然而，另外一项研究显示小鼠连续一周灌胃给予 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及以上 ICT 后表现出肾毒性作用，原因可能是有机阴离子转运蛋白 1（OAT1）介导的 ICT 在肾小管上皮细胞中的过量积累，反而下调了 PPAR 表达，引发了脂代谢紊乱^[63]。这提示 ICA 在应用时应当注意控制剂量以避免不良反应。目前尚缺少 ICS I 等其他代谢产物的肾保护活性研究。

总之，综合现有的药动学研究成果来看，口服 ICA 对肾脏的保护作用，可能更多来自代谢产物而非原药，且需要考虑到以 ICS II 为首的多种代谢产物所产生的药效与毒性的综合作用。

4 总结与展望

ICA 作为一种源自中药淫羊藿的活性成分，在近年来的研究中逐渐显露出良好的肾保护作用。许多体内外研究均表明 ICA 能够减轻氧化应激，减少炎症和细胞凋亡等，继而显著改善各种急性、慢性肾损伤模型。这些研究结果为 ICA 在肾病领域的临床应用提供了研究基础。

然而，当前的研究仍存在一些不足：

一方面，ICA 已被证明能够通过调节多种信号通路发挥肾损伤改善作用，然而目前尚缺少对其具体作用靶蛋白的研究。未来的研究可以通过结合化学蛋白质组学等新技术，深入解析 ICA 及其代谢产物在肾脏保护中的多靶点机制。

另一方面，现有研究大多集中在对 ICA 药理效应的分析，有关其物质基础的研究尚不充分。未来的研究应当结合药动学手段，深入理解 ICA 的体内行为，关注肾脏疾病与治疗条件下靶部位、靶细胞中的主要代谢物，明确代谢机制以及代谢对活性的影响，方能更好地理解 ICA 药效产生的原因，从而指导对该系列化合物结构、给药方式的优化，推动其临床应用。

参考文献

- [1] Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, et al. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury [J]. Kidney Int, 2012, 2 (1): 1-138.
- [2] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease [J]. Kidney Int, 2024, 105 (4S): S117-S134.
- [3] Deng L, Guo SJ, Liu YP, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease and its underlying etiologies from 1990 to 2021: a systematic analysis for

- the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. BMC Public Health, 2025, 25 (1): 636.
- [4] Charles C, Ferris AH. Chronic kidney disease [J]. Prim Care, 2020, 47 (4): 585-595.
 - [5] Terzo C, Gembillo G, Cernaro V, et al. Investigational new drugs for the treatment of chronic renal failure: an overview of the literature [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2024, 33 (4): 319-334.
 - [6] Vanmassenhove J, Veys N, Van Biesen W. Prevention and conservative management of acute kidney injury [J]. Minerva Urol Nefrol, 2016, 68 (1): 58-71.
 - [7] 陈诗琪, 杨欣宇, 唐潇旖, 等. 喘可治注射液治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的系统评价 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42 (14): 2789-2795.
 - [8] Bao HS, Guo HZ, Feng ZQ, et al. Deciphering the underlying mechanism of Xianlinggubao capsule against osteoporosis by network pharmacology [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20 (1): 208-219.
 - [9] 黄奉献, 李培轮, 刘擎, 等. 中医药治疗勃起功能障碍研究进展 [J]. 中华全科医学, 2020, 18 (4): 646-650.
 - [10] 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 389-389.
 - [11] Li CR, Li Q, Mei QB, et al. Pharmacological effects and pharmacokinetic properties of icariin, the major bioactive component in Herba Epimedii [J]. Life Sci, 2015, 126: 57-68.
 - [12] Zheng JW, Yang X, Zhang C, et al. Icariin reduces cadmium-induced renal injury in rats [J]. Food Chem Toxicol, 2024, 193: 114964.
 - [13] Zhang DL, Liu S, Jiang HH, et al. DIA proteomics analysis reveals the mechanism of folic acid-induced acute kidney injury and the effects of icariin [J]. Chem Biol Interact, 2024, 390: 110878.
 - [14] Yao WH, Tao RP, Xu Y, et al. AR/RKIP pathway mediates the inhibitory effects of icariin on renal fibrosis and endothelial-to-mesenchymal transition in type 2 diabetic nephropathy [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 320: 117414.
 - [15] Qi MY, Kai C, Liu HR, et al. Protective effect of icariin on the early stage of experimental diabetic nephropathy induced by streptozotocin via modulating transforming growth factor beta1 and type IV collagen expression in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 138 (3): 1-6.
 - [16] Zhao YD, Yang WY, Zhang X, et al. Icariin, the main prenylflavonoid of Epimedii Folium, ameliorated chronic kidney disease by modulating energy metabolism via AMPK activation [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 312 (1): 11654-11661.
 - [17] Ding NN, Sun SY, Zhou ST, et al. Icariin alleviates renal inflammation and tubulointerstitial fibrosis via Nrf2-mediated attenuation of mitochondrial damage [J]. Cell Biochem Funct, 2024, 42 (3): 437-442.
 - [18] 王蒙, 王凌晨, 冯晓轩, 等. 淫羊藿苷调控线粒体动力学改善慢性肾衰竭模型大鼠肾间质纤维化 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47 (8): 2170-2177.
 - [19] Zang L, Gao F, Huang AJ, et al. Icariin inhibits epithelial mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells via regulating the miR-122-5p/FOXP2 axis in diabetic nephropathy rats [J]. J Pharmacol Sci, 2022, 148 (2): 204-213.
 - [20] Wang M, Wang LC, Zhou Y, et al. Icariin attenuates renal fibrosis in chronic kidney disease by inhibiting interleukin-1beta/transforming growth factor-beta-mediated activation of renal fibroblasts [J]. Phytother Res, 2021, 35 (11): 6204-6215.
 - [21] Ma P, Zhang S, Su XL, et al. Protective effects of icariin on cisplatin-induced acute renal injury in mice [J]. Am J Transl Res, 2015, 7 (10): 2105-2114.
 - [22] Lin Y, Zhu GF, Li XY, et al. Icariin and competing endogenous RNA network: a potential protective strategy against contrast-induced acute kidney injury [J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 2343-2363.
 - [23] Xie CY, Liu L, Wang ZJ, et al. Icariin improves sepsis-induced mortality and acute kidney injury [J]. Pharmacology, 2018, 102 (3-4): 196-205.
 - [24] Duan SW, Ding ZR, Liu C, et al. Icariin suppresses nephrotic syndrome by inhibiting pyroptosis and epithelial-to-mesenchymal transition [J]. PLoS One, 2024, 19 (7): 0298353.
 - [25] Ding XS, Zhao HZ, Qiao C. Icariin protects podocytes from NLRP3 activation by Sesn2-induced mitophagy through the Keap1-Nrf2/HO-1 axis in diabetic nephropathy [J]. Phyto-medicine, 2022, 99 (6): 254-260.
 - [26] Jia ZR, Wang KW, Zhang YM, et al. Icariin ameliorates diabetic renal tubulointerstitial fibrosis by restoring autophagy via regulation of the miR-192-5p/GLP-1R pathway [J]. Front Pharmacol, 2021, 12 (3): 411-419.
 - [27] Lv J, Xue GZ, Zhang YX, et al. Icariin synergizes therapeutic effect of dexamethasone on adriamycin-induced nephrotic syndrome [J]. Eur J Med Res, 2023, 28 (1): 52-58.
 - [28] Qi MY, He YH, Cheng Y, et al. Icariin ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy through suppressing the TLR4/NF-kappaB signal pathway [J]. Food Funct, 2021, 12 (3): 1241-1251.
 - [29] Wang K, Zheng XL, Pan ZZ, et al. Icariin prevents extracellular matrix accumulation and ameliorates experimental diabetic kidney disease by inhibiting oxidative stress via GPER Mediated p62-dependent keap1 degradation and Nrf2 activation [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 559.
 - [30] Chen HA, Chen CM, Guan SS, et al. The antifibrotic and anti-inflammatory effects of icariin on the kidney in a unilateral ureteral obstruction mouse model [J]. Phytomedicine, 2019, 59: 152917.
 - [31] Su BF, Ye H, You XH, et al. Icariin alleviates murine lupus nephritis via inhibiting NF-kappaB activation pathway and NLRP3 inflammasome [J]. Life Sci, 2018, 208: 26-32.
 - [32] Zhang WY, Yuan W, Xu N, et al. Icariin improves acute kidney injury and proteinuria in a rat model of pregnancy-induced hypertension [J]. Mol Med Rep, 2017, 16 (5): 7398-7404.
 - [33] Zhang L, Wang XZ, Li YS, et al. Icariin ameliorates IgA nephropathy by inhibition of nuclear factor kappa B/Nlrp3 pathway [J]. FEBS Open Bio, 2017, 7 (1): 54-63.

- [34] Liang SR, Bi JW, Guo ZL, et al. Protective effect of icariin on kidney in 5/6 nephrectomized rats and its mechanism [J]. *Genet Mol Res*, 2014, 13 (3): 66-71.
- [35] Zhou YD, Hou JG, Yang G, et al. Icariin ameliorates cisplatin-induced cytotoxicity in human embryonic kidney 293 cells by suppressing ROS-mediated PI3K/Akt pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2309-2317.
- [36] Qiao C, Ye WJ, Li S, et al. Icariin modulates mitochondrial function and apoptosis in high glucose-induced glomerular podocytes through G protein-coupled estrogen receptors [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 473: 146-155.
- [37] Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protection of renal tubular cells by antioxidants: current knowledge and new trends [J]. *Cell J*, 2015, 16 (4): 68-71.
- [38] Hernansanz-Agustín P, Enriquez JA. Generation of reactive oxygen species by mitochondria [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10 (3): 415-433.
- [39] Chung KW, Dhillon P, Huang S, et al. Mitochondrial damage and activation of the STING pathway lead to renal inflammation and fibrosis [J]. *Cell Metab*, 2019, 30 (4): 784-799.
- [40] Li XY, Zhang W, Cao QT, et al. Mitochondrial dysfunction in fibrotic diseases [J]. *Cell Death Discov*, 2020, 6: 80-89.
- [41] Lieberthal W, Levine JS. Mechanisms of apoptosis and its potential role in renal tubular epithelial cell injury [J]. *Am J Physiol*, 1996, 271 (3): 77-88.
- [42] Srivastava SP, Li J, Takagaki Y, et al. Endothelial SIRT3 regulates myofibroblast metabolic shifts in diabetic kidneys [J]. *iScience*, 2021, 24 (5): 102390.
- [43] Inoue T, Umezawa A, Takenaka T, et al. The contribution of epithelial-mesenchymal transition to renal fibrosis differs among kidney disease models [J]. *Kidney Int*, 2015, 87 (1): 3-8.
- [44] Yao WH, Tao RP, Wang K, et al. Icariin attenuates vascular endothelial dysfunction by inhibiting inflammation through GPER/Sirt1/HMGB1 signaling pathway in type 1 diabetic rats [J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22 (4): 293-306.
- [45] Ma XY, Zhu KL, Yao ZL, et al. Icariin alleviates the injury of Sertoli cell junction function by upregulating PKR pathway via ERalpha/c-fos signaling in aged mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335 (2): 52-59.
- [46] Cheng T, Zhang Y, Zhang T, et al. Comparative pharmacokinetics study of icariin and icariside II in rats [J]. *Molecules*, 2015, 20 (12): 74-86.
- [47] Brown ES, Bice C, Putnam WC, et al. Human safety and pharmacokinetics study of orally administered icariin: randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Natural Product Communications*, 2019, 14 (6): 32-41.
- [48] Liu W, Li XY, Li N, et al. UPLC-MS/MS method for icariin and metabolites in whole blood of C57 mice: development, validation, and pharmacokinetics study [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14 (3): 85-92.
- [49] 陈彦, 贾晓斌, 胡明, 等. 淫羊藿苷在 Caco-2 细胞单层模型中的吸收机制 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 10: 1164-1167.
- [50] Cheng T, Sheng TT, Yi YX, et al. Metabolism profiles of icariin in rats using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry and in vitro enzymatic study [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1034: 353-360.
- [51] Wang T, Feng XC, Ding LQ, et al. Metabolic profiling of icariin in rat feces, urine, bile and plasma after oral administration using ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 168: 155-162.
- [52] Qian Q, Li SL, Sun E, et al. Metabolite profiles of icariin in rat plasma by ultra-fast liquid chromatography coupled to triple-quadrupole/time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 66: 2-8.
- [53] Zhou J, Chen Y, Wang Y, et al. A comparative study on the metabolism of epimedium koreanum nakai-prenylated flavonoids in rats by an intestinal enzyme (lactase phlorizin hydrolase) and intestinal flora [J]. *Molecules*, 2013, 19 (1): 177-203.
- [54] Wu H, Kim M, Han J. Icariin metabolism by human intestinal microflora [J]. *Molecules*, 2016, 21 (9): 1158-1167.
- [55] Xu SJ, Yu JJ, Zhan JJ, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism study of icariin in rat [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 32 (4): 532-539.
- [56] 刘子琛, 徐英, 陈世忠. 淫羊藿次苷 I 在大鼠体内的药动学和组织分布研究 [J]. *中国药理学杂志*, 2008, 11 (1): 848-851.
- [57] Wang CG, Sun JB, Wang JC, et al. LC Determination of icariside II in rat plasma and tissues: application to a tissue distribution study [J]. *Chromatographia*, 2011, 74 (4): 251-258.
- [58] Zhang SQ. Dynamic biodistribution of icaritin and its phase-II metabolite in rat tissues by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Anal Sci*, 2016, 32 (6): 631-637.
- [59] Zhang SQ, Zhang SZ. Oral absorption, distribution, metabolism, and excretion of icaritin in rats by Q-TOF and UHPLC-MS/MS [J]. *Drug Test Anal*, 2017, 9 (10): 1604-1610.
- [60] Tian WJ, Lei HG, Guan RL, et al. Icariside II ameliorates diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 5147-5157.
- [61] Wang M, Wang J, Wang LC, et al. Icariside II prevents kidney fibrosis development in chronic kidney disease by promoting fatty acid oxidation [J]. *Phytother Res*, 2024, 38 (2): 839-855.
- [62] Liao JY, Liu Y, Wu HJ, et al. The role of icaritin in regulating Foxp3/IL17a balance in systemic lupus erythematosus and its effects on the treatment of MRL/LPR mice [J]. *Clin Immunol*, 2016, 162: 74-83.
- [63] Wang DL, Liu J, Chen XD, et al. Renal transporter OAT1 and PPAR- α pathway co-contribute to icaritin-induced nephrotoxicity [J]. *Phytother Res*, 2023, 37 (2): 549-562.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-20)

可溶性鸟苷酸环化酶激动剂在慢性肾脏病中的研究进展

李静^{1,2}, 吴方园¹, 曹生田¹, 左应林^{1,2} (1. 广东东阳光药业股份有限公司, 广东 东莞 523871; 2. 广东东阳光药业股份有限公司抗感染新药研发全国重点实验室, 广东 东莞 523871)

摘要: 慢性肾脏病 (CKD) 是一种进展性疾病, 持续的肾功能下降通常会导致终末期肾病, 需要进行透析或肾移植。全球约有 7 亿 CKD 患者, 除了肾功能下降导致的预后不良, 也给医疗系统带来了巨大的负担。尽管肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制剂 (RAASi)、钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂 (SGLT2i) 和胰高血糖素样肽-1 受体激动剂 (GLP-1RA) 减缓了 CKD 疾病的进展, 但 CKD 仍有巨大的未满足的临床需求, 需要新型的更有效的治疗方法。可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) 激动剂在 CKD 患者临床试验中的安全性和疗效已得到初步验证, 表现出巨大的开发潜力。本文将对 sGC 激动剂在 CKD 中的研究进展进行综述。

关键词: 慢性肾脏病; 糖尿病肾病; 可溶性鸟苷酸环化酶; 激动剂

中图分类号: R979.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3030-09

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.035

Research progress in soluble guanylate cyclase agonists for chronic kidney disease

LI Jing^{1,2}, WU Fang-yuan¹, CAO Sheng-tian¹, ZUO Ying-lin^{1,2} (1. *Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., Dongguan Guangdong 523871*; 2. *State Key Laboratory of Anti-Infection Drug Discovery and Development, Sunshine Lake Pharma Co., Ltd., Dongguan Guangdong 523871*)

Abstract: Chronic kidney disease (CKD) is progressive, and persistent decline in kidney function may cause end-stage renal disease, which requires dialysis or kidney transplantation. There are about 700 million CKD patients globally. The progressive decline of kidney function indicates a poor prognosis for patients, enormous economic costs cause a huge burden for healthcare systems. Although renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors (RAASi), sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors (SGLT2i) and glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1RA) may have slowed down the progression of CKD, it still remains a major unmet medical need, for which new and more effective treatments are expected. Several randomized clinical trials have demonstrated the safety and efficacy of soluble guanylate cyclase (sGC) agonists in CKD, showing great potential for development of new drugs for CKD. This review summarizes recent advances in soluble guanylate cyclase agonists for CKD.

Key words: chronic kidney disease; diabetic kidney disease; soluble guanylate cyclase; agonist

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 是指肾脏结构或功能异常, 持续时间超过 3 个月, 诊断标准为肾小球滤过率 (eGFR) 下降 [$< 60 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$] 或有肾脏损伤标志 (如蛋白尿、血尿、组织学异常或影像学异常等)^[1]。CKD 是一种进展性疾病, 持续的 CKD 通常会导致终末期肾病, 最终需要进行透析或肾移植^[2-3]。除了肾脏功能逐渐

下降导致患者预后不良之外, 巨大的经济成本 (尤其是血液透析和肾移植) 也给医疗保健系统带来了巨大且不断增加的负担^[4]。据估计, 全球约有 7 亿 CKD 患者, 中国约有 1.18 亿 CKD 患者^[5-6]。随着预期寿命的不断延长, 以及糖尿病、肥胖症、高血压等危险因素患病率稳步上升, CKD 患者数量仍在增加^[4]。尽管血管紧张素转化酶抑制剂 (an-

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目 (No.2022A1515140082)。

作者简介: 李静, 男, 博士, 副主任药师, 主要从事新药的药理毒理研究, email: lijing@hec.cn

giotensin converting enzyme inhibitors, ACEi) / 血管紧张素受体拮抗剂 (angiotensin receptor blockers, ARB)、钠-葡萄糖协同转运蛋白 2 抑制剂 (sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors, SGLT2i)、醛固酮受体拮抗剂和胰高血糖素样肽-1 受体激动剂 (glucagon-like peptide-1 receptor agonists, GLP-1RA) 已在 CKD 患者中证实可以降低心血管疾病风险和肾病进展风险, 但 CKD 进展的风险并未完全减弱。CKD 的发病机制复杂, 单一靶点的药物难以达到很好的治疗效果, 迫切需要具有不同作用机制的新型 CKD 治疗药物, 以克服现有药物的局限性^[7-9]。

研究发现, 无论肾脏病变的潜在病因如何, 大多数肾脏疾病都存在一氧化氮 (NO) - 可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) - 环鸟苷酸 (cGMP) (NO-sGC-cGMP) 信号传导障碍, 这可能为治疗 CKD 提供了一种新的策略^[4]。近些年的研究显示, sGC 激动剂 (包括 sGC 刺激剂和 sGC 激活剂) 在 CKD 动物模型和 CKD 患者中表现出较好的肾病治疗潜力^[10-16]。与 ACEi/ARB (改善血流动力学和水钠潴留)、SGLT2i (改善代谢异常和降低肾小球内压)、醛固酮受体拮抗剂 (改善血流动力学和水钠潴留) 和 GLP-1RA (改善代谢异常, 激活环磷酸腺苷通路改善炎症和氧化应激) 治疗 CKD 的主要作用机制不同, sGC 激动剂在肾脏通过激活 cGMP 通路发挥抗炎和抗纤维化效应, 有望与现有疗法形成机制互补, 进一步减缓肾病进展风险^[17-20]。II 期临床试验也证实, sGC 激活剂 runciciguat 和 avenciguat 可在一线疗法 (ACEi/ARB + SGLT2i) 的基础上进一步降低 CKD 患者的尿白蛋白肌酐比 (urine albumin-to-creatinine ratio, UACR)^[12, 14]。高血钾是接受 ACEi/ARB 或醛固酮受体拮抗剂治疗患者最常见和最严重的不良反应之一, 该不良反应限制了这些药物在高血钾风险 CKD 患者中的使用^[21]。临床试验发现, sGC 激动剂不会影响电解质水平^[12, 22]。GLP-1RA 在 CKD 中的主要获益人群是肥胖、超重或糖尿病相关的 CKD 患者^[23], 其他病因相关的 CKD 患者能否获益有待研究; runciciguat 和 avenciguat 的 II 期临床数据显示, 其在糖尿病或非糖尿病相关的 CKD 患者中均能降低 UACR^[12, 14]。因此, sGC 激动剂有望与 CKD 现有一线疗法形成机制互补进一步改善糖尿病或非糖尿病相关 CKD 的疾病进展, 并能为高血钾风险患者提供更好的选择, 具有很好的开发价值。现就 sGC 激动剂在 CKD 中的研究进展进行综述。

1 sGC 激动剂的作用机制

sGC 是一种胞质异二聚体蛋白, 由 α 亚基和 β 亚基组成, β 亚基中含有亚铁 (Fe^{2+}) 血红素辅基^[24]。sGC 是一氧化氮 (NO) 的受体, NO 通过与血红素辅基的 Fe^{2+} 结合, 从而诱导 Fe^{2+} -组氨酸 (第 105 位) 键断裂, 由此产生的构象重组传递到催化亚基中, 使 sGC 的催化活性提高数百倍, 催化三磷酸鸟苷 (GTP) 生成 cGMP^[25-27]。cGMP 作用于下游效应分子, 如 cGMP 依赖性蛋白激酶 G (PKG)、环核苷酸门控离子通道和磷酸二酯酶等, 产生各种生理反应, 包括血管舒张、抑制血小板聚集、抑制重构、抗凋亡、抗炎、抗纤维化和影响神经传递等^[28-30]。

在氧化应激条件下, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的形成会大幅增加, 一方面 ROS 与 NO 反应, 使 NO 形成过氧亚硝酸盐而被清除, 另一方面 ROS 能够氧化 sGC 的血红素铁 ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$), 破坏血红素复合物的稳定性, 最终导致血红素辅基丢失, 形成无血红素形式的 sGC (apo-sGC)、含铁 (Fe^{3+}) 血红素辅基的 sGC 和 apo-sGC 均失去 NO 结合能力, 不能催化 cGMP 的生成。目前发现了两类能够以 NO 非依赖性方式激活 sGC 的化合物, 即血红素依赖性 sGC 刺激剂和血红素非依赖性 sGC 激活剂, sGC 刺激剂只能激活含亚铁血红素辅基的 sGC, 而 sGC 激活剂能够激活含铁 (Fe^{3+}) 血红素辅基的 sGC 或 apo-sGC^[8, 24, 31]。sGC 激动剂通过激活 sGC 催化 GTP 生成 cGMP 从而达到恢复 NO-sGC-cGMP 通路的效果^[32]。sGC 激动剂的作用机制见图 1。

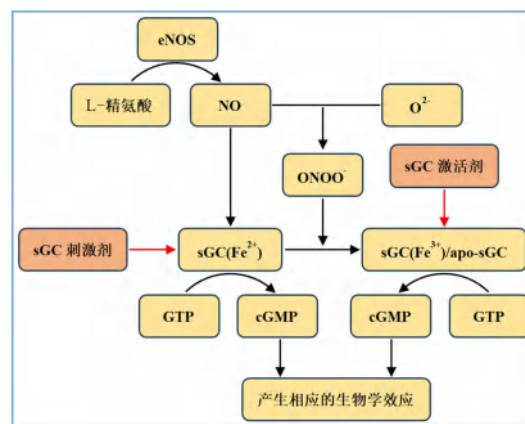


图 1 sGC 激动剂的作用机制示意图^[33]

Fig 1 Schematic diagram of mechanism of action of sGC agonists^[33]

注 (Note): eNOS. 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase); O^{2-} . 超氧根离子 (superoxide radical); ONOO^- . 过氧亚硝基阴离子 (peroxynitrite)。

2 sGC 激动剂在肾脏中的药理作用

sGC 存在于多种组织中, 尤其是在脑、心血管系统、肾脏和肺^[34]。在肾脏的血管、肾小管、系

膜细胞、足细胞等部位表达丰富^[8,35-37]。NO-sGC-cGMP 通路成分的遗传变异会显著影响血压、心血管和肾脏疾病的风险,NO 信号或 sGC 功能的增强与更高的 eGFR 和更低的 CKD 风险相关;高血压、糖尿病或肥胖等 CKD 合并症引发的氧化应激可能是 CKD 肾功能衰退的驱动因素之一,氧化应激会破坏 NO-sGC-cGMP 信号传导,从而抵消 NO 对肾功能的生理调节^[38]。肥胖 ZSF1 大鼠糖尿病肾脏疾病(diabetic kidney disease, DKD)模型中,与 ZSF1 瘦大鼠相比,ZSF1 肥胖大鼠的 cGMP 信号明显减少^[8]。对早期、晚期 DKD 患者肾活检样本分析发现,晚期 DKD 肾脏的 cGMP 效应评分明显低于早期 DKD 肾脏($P = 0.019$)^[8,39]。晚期肾病与 NO 水平的逐渐下降有关^[40]。因此,通过 sGC 激动剂激活 cGMP 通路可能治疗 CKD 有益。

目前,已有四个 sGC 激动剂进入 CKD II 期临床研究阶段,其中 praliguat 是 sGC 刺激剂,runaciguat、avenciguat 和 BAY3283142 为 sGC 激活剂。sGC 激动剂对 CKD 的治疗作用主要与以下药理效应相关。

2.1 降血压

大多数 CKD 患者同时患有高血压^[4]。基于肾素-血管紧张素-醛固酮系统抑制剂(renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors, RAASi)的降血压疗法已显示对 CKD 患者的肾功能有益,该类抑制剂可降低全身血压和肾小球高滤过,从而减少蛋白尿并防止肾功能衰退^[38,41]。在 CKD 动物模型和 CKD 患者临床研究中,sGC 激动剂 praliguat、runaciguat 和 avenciguat 等均显示出降血压作用^[10-16]。sGC 激动剂的降压机制主要是两种方式:

一是对平滑肌的直接松弛作用,如血管平滑肌细胞内 cGMP 的升高会激活 PKG,进而导致血管扩张剂刺激磷蛋白在丝氨酸 239 位点发生磷酸化,随后,已收缩的磷酸化肌动蛋白-肌球蛋白被肌球蛋白轻链磷酸酶去磷酸化,最终导致血管平滑肌舒张^[42]。二是间接的降压作用,如通过抑制近端小管 Na^+ 重吸收,预防高容量性高血压;肾脏中 NO 生成受损会导致尿钠排泄量明显下降进而诱发容量依赖性高血压,该效应可通过注射 cGMP 逆转^[43]。

2.2 调节肾脏血流

NO-sGC-cGMP 信号传导在肾脏中参与肾血流和肾小球血流动力学调节^[44]。肾小动脉张力在很大程度上取决于 NO 通过激活 sGC 和 cGMP 产生的舒张作用^[35]。抑制 NO 产生或抑制 sGC 均会导致入

球小动脉收缩^[45]。sGC 激活剂在氧化应激条件下可增加肾小球 cGMP 浓度,可诱导预收缩的肾小球传入和传出小动脉扩张,并显著改善氧化应激条件下的肾血流量(renal blood flow, RBF);表明 sGC 激活剂对肾血管有直接影响,并能抵消氧化应激引起的 RBF 下降,从而预防肾小球损伤和肾小球硬化,对肾脏缺血和缺氧也有保护作用^[35,38,46]。

2.3 抗炎、抗纤维化

炎症越来越多地被认为是 CKD 的驱动因素,持续的肾脏炎症可导致肾脏纤维化和重塑,从而导致 CKD 或终末期肾病;而 cGMP 的抗炎作用可能会阻断这一早期事件,对于肾小球和肾小管,增加 cGMP 可减少巨噬细胞浸润和转化生长因子- β (TGF- β) 诱导的纤维化^[4]。在体外肾近端小管细胞中,用 sGC 刺激剂治疗可减少 TGF- β 诱导的细胞凋亡和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 诱导的单核细胞趋化蛋白-1 增加^[47]。在阿霉素引起的急性肾损伤模型中,使用 sGC 刺激剂利奥西呱治疗可减轻阿霉素引起的白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的增加,改善肾功能和组织病理学,利奥西呱的肾脏保护作用可部分归因于该药物的抗炎效应^[48]。

Praliguat、runaciguat 和 avenciguat 已发表多篇在 CKD 动物模型中的研究结果,在多种病因诱导的 CKD 模型中,三个 sGC 激动剂均表现出较好的 CKD 治疗潜力,主要结果见表 1。

3 sGC 激动剂在 CKD 中的临床研究

在开展 CKD (包括 DKD) 患者 II 期临床研究的四个 sGC 激动剂中,praliguat、runaciguat 和 avenciguat 已完成 II 期临床试验,临床研究概况见表 2,现将其主要临床研究结果进行总结。

3.1 Praliguat^[13]

Praliguat 最早是由 Cycleron Therapeutics 公司开发的 sGC 刺激剂,2021 年授权给 Akebia Therapeutics 公司。Praliguat (20 和 40 mg, qd) 治疗 DKD 的 II 期临床试验,以 UACR 从基线到第 8 周和第 12 周的变化为主要疗效终点。结果显示,praliguat (20 和 40 mg 合并分析) 治疗组第 8 周到第 12 周期间 UACR 与基线相比降低 28%,安慰剂组降低 15%,两组间差异无统计学意义($P = 0.17$);而在第 12 周 UACR 变化的敏感性分析中,20、40 mg praliguat 组的 UACR 相对于基线分别降低 35%、26%,安慰剂组降低 15%。探索性疗效终点方面,与安慰剂组相比,从基线到第 12 周,20、40 mg praliguat 组平均 24 h 收缩压(降低 4 mmHg)(1 mmHg = 0.133 kPa)、糖化血红蛋白(降低 0.3%)和血清胆固醇(降

表 1 Praliciguat、runcaciguat 和 avenciguat 在不同 CKD 动物模型中的主要药效结果

Tab 1 Main efficacy of praliciguat, runcaciguat and avenciguat in different animal models of CKD

化合物	疾病模型	剂量	每组动物数 (n)	给药周期	主要结果
praliciguat	高盐喂养 Dahl 盐敏感大鼠诱导 高血压和心肾损伤模型 ^[49]	1、3 和 10 mg/(kg·d)	研究 1: 7 ~ 8; 研究 2: 8 ~ 12	研究 1: 6 周; 研究 2: 5 周	可降低血压、UACR、肾小球硬化、 肾小管损伤、肾间质纤维化和炎 症浸润, 并可改善左心室功能
	ZSF1 大鼠糖尿病肾病模型 ^[15]	1、3 和 10 mg/(kg·d)	6 ~ 9	11 周	降低了尿蛋白排泄
	单侧输尿管结扎诱导的肾纤维 化模型 ^[50]	10 mg/(kg·d)	8	14 d	可降低肾脏羟脯氨酸水平和 I 型胶 原 $\alpha 1$ mRNA 水平
runcaciguat	血管紧张素 II 诱导大鼠慢性肾 衰模型 ^[11]	0.3、1 和 3 mg·kg ⁻¹ (bid)	12	13 d	可降低 UACR
	肾素转基因大鼠喂养 N- 硝 基 -L- 精氨酸甲酯诱导高血 压和心肾损伤模型 ^[11]	1、3 和 10 mg·kg ⁻¹ (bid)	18 ~ 24	8 周	可降低血压、UACR 和肾损伤评分
	ZDF 大鼠糖尿病肾病模型 ^[11]	掺食给药, 浓度 0.014% (相 当于 3 mg·kg ⁻¹ , bid)	20	7 周	可降低 UACR 和肾脏损伤
	ZSF1 大鼠糖尿病肾病模型 ^[10]	1、3 和 10 mg·kg ⁻¹ (bid)	多项研究合并 分析	12 周	可降低血压、UACR、肾小球损伤、 肾小管损伤和肾间质纤维化
avenciguat (BI 685509)	ZSF1 大鼠糖尿病肾病模型 ^[16]	依那普利: 3 mg/(kg·d) 单药或分别与 avenciguat 1、3、10 和 30 mg/(kg·d) 联合给药	10	10 周	依那普利单药可降低血压和尿蛋 白, 但对肾小球硬化的改善不明 显; 与 avenciguat 联用可进一步 降低血压和尿蛋白, 同时可改善 肾小球硬化
	单侧输尿管结扎诱导的肾纤维 化模型 ^[16]	10 和 30 mg/(kg·d)	8 ~ 10	7 d	可剂量依赖性地降低肾小管间质纤 维化

表 2 Praliciguat、runcaciguat 和 avenciguat 的 CKD 患者 II 期临床试验概况

Tab 2 Phase 2 clinical trials in patients with CKD of praliciguat, runcaciguat and avenciguat

化合物 (试验登记号)	研究人群主要特征			研究设计	入组 人数 / n	服药剂量 和方式	治疗周 期 / 周	主要终点
	人群	eGFR/[mL/ (min·1.73 m ²)]	UACR/ (mg·g ⁻¹)					
praliciguat ^[13] (NCT03217591)	DKD (接受 ACEi/ARB 和至少一种降糖药治 疗)	30 ~ 75	200 ~ 5000	随机、双盲、安慰 剂对照	156	20 和 40 mg, po qd	12	UACR 的变化, 安全性考察
runcaciguat ^[14] (NCT04507061)	CKD (患有 2 型糖尿病 和 / 或高血压, 确诊 有动脉粥样硬化或 纽约心功能分级为 I ~ II 级心力衰竭, 接受 ACEi/ARB 治疗)	25 ~ 60	30 ~ 3000	随机、双盲、安慰 剂对照, 根据是 否患有糖尿病和 是否服用 SGLT2i 进行分层研究	243	120 mg (从 30 mg 滴定至 120 mg), po qd	8	UACR 的变化, 安全性考察
avenciguat ^[12] (CKD: NCT04736628; DKD: NCT04750577)	CKD (不含 DKD, 接 受 ACEi/ARB 治疗)	20 ~ 90	200 ~ 3500	随机、双盲、安慰 剂对照, 根据是 否服用 SGLT2i 进行分层研究	261	1、2 和 3 mg (从 1 mg 滴 定至目标剂 量), po tid	20	第 20 周时 10 h 尿液中经 对数转换的 UACR 相比 基线的变化, 安全性考察
	DKD (接受 ACEi/ARB 治疗)	20 ~ 90	200 ~ 3500	随机、双盲、安慰 剂对照, 根据是 否服用 SGLT2i 进行分层研究	243			

低 10 mg·dL⁻¹) 均有降低。中介效应检验表明, 第 12 周时 75% 的 UACR 降低是直接效应, 与 24 h 动态血压监测到的收缩压降低无关; 基于第 4、8 和 12 周 12 h 日间收缩压以及第 12 周 24 h 谷值血压的中介效应检验分析结果也与此一致。在 12 周的研究期间, praliciguat 两个剂量组的估算肾小球滤过率 (eGFR) 均出现小幅下降, 20 mg 和 40 mg 剂量组在第 12 周时相比基线分别降低 3.6 和 2.0 mL/(min·1.73 m²),

安慰剂组降低 $1.4 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ 。治疗结束 4 周后随访时, praliciguat 20 mg 和 40 mg 剂量组 eGFR 分别比 12 周治疗结束时增加 0.9 和 $1.0 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$, 而安慰剂组降低 $1.5 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ 。

安全性结果显示, 40 mg praliciguat 组、20 mg praliciguat 组和安慰剂组由于一种或多种治疗期间出现的不良事件 (treatment emergent adverse event, TEAE) 而提前停用研究药物的受试者例数分别为 6 例、2 例和 1 例, 与研究药物相关的 TEAE 发生率分别为 19%、6% 和 11%, 严重不良事件 (serious adverse event, SAE) 的发生率分别为 8%、2% 和 2%。在所有受试者中, 胃肠道事件的报告频率 (12%) 最高, 主要发生在 40 mg praliciguat 组。仅在接受 praliciguat 治疗的受试者中观察到可能与血压降低相关的 TEAE, 包括头晕 [5 (5%)] 和晕厥 [2 (2%)] , 主要来自 40 mg praliciguat 组。由于 20、40 mg praliciguat 组对 UACR、血流动力学参数和糖化血红蛋白水平的影响相似, 40 mg praliciguat 组报告的 SAE、导致停用研究药物的事件、胃肠道事件以及可能与降低血压相关的事件的频率更高, 而 20 mg praliciguat 组和安慰剂组的不良事件报告频率相似。因此, 20 mg 可能是 praliciguat 在未来 DKD 试验中进行评估的最佳剂量。

3.2 Runcaciguat^[14]

Runcaciguat 是拜耳公司开发的一款 sGC 激活剂。CONCORD 研究是评估 runcaciguat (120 mg, qd) 对 CKD 患者 UACR 影响的 II 期临床试验, 该试验还根据患者是否患有糖尿病和是否服用 SGLT2i 进行分层研究。在 243 例受试者中, 229 例被纳入全分析集, 其中 170 例被纳入符合方案集。在符合方案集中, 合并 2 型糖尿病的 CKD 患者, 无论是否服用 SGLT2i, runcaciguat 在两类人群中的疗效没有显著差异, 对于未服用 SGLT2i 的 CKD 患者, runcaciguat 治疗组 UACR 相比安慰剂组降低 45.2% ($P < 0.001$); 对于服用 SGLT2i 的 CKD 患者, runcaciguat 治疗组 UACR 相比安慰剂组降低 48.1% ($P = 0.02$)。在未合并糖尿病的 CKD 患者中, runcaciguat 治疗后 UACR 相比基线降低 45.9%, 但相比安慰剂组差异无统计学意义。在全分析集中, runcaciguat 组和安慰剂组的 UACR 变化与符合方案集相似。

在探索性疗效终点方面, 对于 eGFR 指标, 在未服用 SGLT2i 的糖尿病 CKD 患者中, runcaciguat 组第 22、29 和 57 日的平均 eGFR 经安慰剂校正后降低 $4.4 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ ($P = 0.03$); 在服用 SGLT2i 的糖尿病 CKD 患者中, runcaciguat 组平均 eGFR 经安慰剂校正后降低 $2.6 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$

($P = 0.23$); 在非糖尿病 CKD 患者中, runcaciguat 组平均 eGFR 经安慰剂校正后降低 $5.8 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ ($P = 0.02$)。

在血压方面, 在合并 2 型糖尿病的 CKD 患者中, runcaciguat 组收缩压经安慰剂校正后降低 8.3 mmHg ($P = 0.004$, 未服用 SGLT2i) 和 2.8 mmHg ($P = 0.45$, 服用 SGLT2i); 在未合并糖尿病的 CKD 患者中, runcaciguat 组收缩压经安慰剂校正后降低 2.4 mmHg ($P = 0.48$)。对于糖化血红蛋白指标, 在合并 2 型糖尿病的 CKD 患者中, runcaciguat 组糖化血红蛋白经安慰剂校正后降低 0.62% ($P = 0.004$, 未服用 SGLT2i) 和 0.05% ($P = 0.81$, 服用 SGLT2i); 在未合并糖尿病的 CKD 患者中, runcaciguat 组糖化血红蛋白经安慰剂校正后降低 0.01% ($P = 0.87$)。

在安全性方面, 试验中大部分 TEAE 为轻度或中度, runcaciguat 组和安慰剂组 TEAE 的发生率分别为 69.0% 和 52.5%, 这种差异主要体现在轻度 TEAE 的不同。两个治疗组中观察到的中度和重度不良事件的频率相当, runcaciguat 组和安慰剂组严重 TEAE 发生率分别为 7% 和 8%。导致停用 runcaciguat 或安慰剂的 TEAE 发生率分别为 16.3% 和 6.8%。与安慰剂组相比, runcaciguat 组最常见的 TEAE 包括外周水肿 (12%)、腹泻 (7%)、低血压 (4%)、贫血 (3%) 和乏力 (3%)。在剂量滴定阶段, 外周水肿发生率随着剂量增加而增加, 30 mg、120 mg 剂量下首次水肿的发生率分别为 1.6%、4.7%。Runcaciguat 组轻度和中度水肿的发生率分别为 9.2% 和 2.7%, 其中有 2 例 (1%) 因水肿而退出试验。Runcaciguat 组和安慰剂组均报告了 1 例死亡, 由新型冠状病毒感染所致, 与研究药物无关。总之, runcaciguat 耐受性良好, 没有总体的安全性问题。

3.3 Avenciguat^[12]

Avenciguat 是勃林格殷格翰 (Boehringer-Ingelheim) 开发的一款 sGC 激活剂。该公司分别在 DKD 患者和原发性 CKD (非 DKD) 患者中开展了 avenciguat (1、2 和 3 mg, tid) 的 II 期临床试验, 考察其对患者 UACR (经对数转换) 的影响。其进行的两项研究的研究设计相同, 同时根据患者是否服用 SGLT2i 进行分层研究, 总共有 500 例患者接受治疗。与安慰剂相比, 在整个治疗期间, avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 均降低了 10 h 尿液 (从第 1 次晨尿后开始的 10 h 尿液) 中的 UACR。在第 20 周, avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 治疗后, 10 h 尿液中 UACR 经安慰剂校正后较基线的平均

降幅分别为 15.5%、13.2% 和 21.5%。Avenciguat 在 DKD 和非 DKD 患者中的研究结果基本一致, 在 DKD 患者研究中, avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 各组第 20 周 10 h UACR 经安慰剂校正后较基线的平均降幅分别为 9.8% ($P=0.32$)、6.1% ($P=0.56$) 和 22.2% ($P=0.02$); 在非 DKD 患者研究中, 相应的降幅分别为 20.4% ($P=0.02$)、18.9% ($P=0.03$) 和 20.9% ($P=0.02$)。无论基线时是否服用 SGLT2i, 治疗效果都是一致的, 在 avenciguat 3 mg (tid) 组中, 服用 SGLT2i 的患者第 20 周 10 h 尿液中 UACR 经安慰剂校正后较基线的平均降幅为 23.3%, 而未服用 SGLT2i 的患者为 21.4%。

在 20 周的治疗期间, avenciguat 各剂量组和安慰剂组的收缩压相对基线的平均变化适中。第 20 周时, avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 剂量组的收缩压相比安慰剂组分别降低 5.4、3.0 和 0.4 mmHg, 与 avenciguat 在 DKD 患者中给药 28 d 观察到的血压变化相似^[51]; 而 avenciguat 各剂量组收缩压的急性变化 (给药后 2 h 与给药前的差值) 比安慰剂组更明显。在治疗期的前 6 周, 在 avenciguat 2 和 3 mg (tid) 治疗组中观察到 eGFR 急性适度降低。与安慰剂组比, 第 6 周时 avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 剂量组对应 eGFR 相对于基线变化的平均差异分别为 0.2、-1.0 和 -1.0 mL/(min · 1.73 m²)。Avenciguat 2 和 3 mg (tid) 剂量组的 eGFR 降低持续到第 20 周, 与安慰剂组比, eGFR 变化分别为 -0.6 和 -0.7 mL/(min · 1.73 m²), 差异无统计学意义。停用安慰剂或 avenciguat 治疗后的 4 周内, eGFR 保持稳定。

Avenciguat 耐受性良好, 不良事件的总体发生率较低, 与安慰剂相似。安慰剂组以及 avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 各剂量组因不良事件而停药的患者比例分别为 3%、4%、9% 和 9%。低血压、新型冠状病毒感染、外周水肿和腹泻是最常见的不良事件。DKD 和非 DKD 患者中均有低血压事件发生, 与安慰剂组相比, 接受 avenciguat 的患者低血压事件更常见, 安慰剂组以及 avenciguat 1、2 和 3 mg (tid) 各剂量组低血压发生比例分别为 3%、6%、10% 和 8%。Avenciguat 2 和 3 mg (tid) 剂量组外周水肿发生率稍高于安慰剂组, 分别为 7%、8%、5%。血清钠、钾和肝功能检查在 avenciguat 组和安慰剂组间差异无统计学意义。总之, avenciguat 3 mg (tid) 作为最大耐受剂量治疗 20 周可显著降低 UACR, 且与安慰剂相比其安全性可接受。

3.4 讨论

在安全性可接受的治疗剂量下, runcaciguat、

avenciguat 和 praliciguat 在 CKD 患者中均表现出良好的降 UACR 效果。在合并糖尿病的 CKD 人群中, runcaciguat (120 mg, qd) 组 UACR 相比安慰剂降低 45.2% (未服用 SGLT2i 患者) 和 48.1% (服用 SGLT2i 患者)。在合并或未合并糖尿病的 CKD 患者中, avenciguat (3 mg, tid) 治疗后 UACR 经安慰剂校正后较基线降低 21.5%。在 DKD 患者中, praliciguat (20 mg, qd) 治疗后 UACR 相比基线平均降低 35%。作为对比, 部分上市 CKD 药物治疗后 UACR 相比安慰剂的降幅如下: SGLT2i (卡格列净、达格列净、索格列净和恩格列净) 的降幅在 19% ~ 31%^[52-55]; 非奈利酮的降幅为 33.4%^[56]; 厄贝沙坦的降幅为 47%^[57]; 索马鲁肽的降幅在 24% ~ 34%^[58]。UACR 降低与终末期肾病风险的降低相关, Coresh 等^[59]对 67 万多例 CKD 患者的数据分析显示, UACR 降低 30% 后终末期肾病的调整风险比 (hazard ratio, HR) 为 0.83, 进一步的回归稀释校正后 HR 降至 0.78。Heerspink 等^[60]对近 3 万名 CKD 患者的数据分析发现, 与对照组相比, 治疗期间 UACR (几何均值) 每降低 30%, 临床终点风险平均降低 27%; 若分析基线 UACR 大于 30 mg · g⁻¹ 的患者, 其相关性更强。基于 CKD 上市药物的 UACR 疗效数据, 以及文献^[59-60]对 UACR 变化与临床终点的相关性研究, 推测以上 sGC 激动剂对 UACR 的改善可能转化为长期的临床获益。

近年来, CKD 的治疗尽管取得了一些进展, 但仍无法治愈, 需要新的疗法来减缓 CKD 患者肾功能的逐渐丧失。sGC 激动剂的作用方式与指南推荐药物不同, 因此, 它可能在现有疗法的基础上有进一步获益^[4,18]。Runcaciguat 和 avenciguat 在合并和未合并使用 SGLT2i 的患者中降低 UACR 的幅度相似, 支持在未来的临床试验中基于 ACEi/ARB + SGLT2i 治疗基础上加用 sGC 激动剂进一步发挥肾脏保护作用。同时, 临床试验中也未观察到 sGC 激动剂有升高血钾的风险, 有望为高血钾风险 CKD 患者提供更好的选择。当然, 尽管 praliciguat、runcaciguat 和 avenciguat 在 CKD 或 DKD 患者中表现出降 UACR 的潜力和可接受的安全性, 但也有局限性。首先, 研究周期短, 缺乏长期的疗效和安全性评估, 无法评估 sGC 激动剂对 eGFR 变化、肾病进展和心血管事件的影响。其次, 研究样本量较小。因此, 仍有待更大规模和更长周期的 III 期临床试验确证。此外, 在 CKD 或 DKD 市场上也面临其他疗法的竞争, 如非奈利酮^[56,61-62]、索马鲁肽^[9]已获批治疗 2 型糖尿病相关的 CKD, 两者均能降

低心血管事件、肾衰竭和死亡风险。一项交叉试验分析显示,对于 2 型糖尿病合并中度及以上白蛋白尿患者,SGLT2i、GLP-1RA 和非甾体醛固酮受体拮抗剂的联合治疗相比传统疗法(RAASi)和任何单一疗法均有更好的心血管和肾脏获益^[18],sGC 激动剂能否在上述联合疗法基础上有进一步的获益也有待研究。

除 CKD 外,NO-sGC-cGMP 信号传导障碍也被证实参与多种其他疾病的进展,如 riociguat 已被批准用于治疗肺动脉高压和慢性血栓栓塞性肺高血压^[63];vericiguat 已被批准用于治疗射血分数降低型心力衰竭的加重患者^[64-65],非加重患者的 III 期临床试验也在进行中^[66]。sGC 激动剂在慢性阻塞性肺疾病相关肺高血压^[67]、间质性肺疾病相关肺高血压^[68]以及线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作^[69]方面的应用也进入临床研究阶段,展示出一定的治疗潜力。

4 结语

大多数 CKD 患者存在 NO-sGC-cGMP 信号传导障碍,而服用 sGC 激动剂可以恢复该信号通路。临床前 CKD 动物模型药效研究显示,sGC 激动剂可以改善多种病因诱导的肾小球硬化、肾小管损伤和肾间质纤维化,降低模型动物的蛋白尿水平。在 CKD 患者的 II 期临床研究中,sGC 激动剂同样可以降低患者 UACR,并显示出良好的耐受性。值得关注的是,sGC 激动剂在一线疗法(ACEi/ARB + SGLT2i)基础上仍展示出明显的降 UACR 效果,这可能是由于 sGC 激动剂的作用机制与 ACEi/ARB 和 SGLT2i 不同,产生了互补效应。CKD 的发病机制复杂,单一靶点的药物难以达到很好的治疗效果,sGC 激动剂在一线疗法基础上有进一步获益,且安全性良好,有望与现有疗法形成机制互补,进一步延缓肾病进展以及为高血钾风险 CKD 患者提供更好的选择。当然,仍需更大规模的 III 期确证性临床试验以验证 sGC 激动剂长期给药的安全性,以及对终末期肾病风险和心血管事件的影响。

参考文献

- [1] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2024, 105 (4S): S117-S314.
- [2] Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345 (12): 861-869.
- [3] Coresh J. Update on the burden of CKD [J]. *J Am Soc*

- Nephrol*, 2017, 28 (4): 1020-1022.
- [4] Krishnan SM, Kraehling JR, Eitner F, et al. The impact of the nitric oxide (NO)/soluble guanylyl cyclase (sGC) signaling cascade on kidney health and disease: a preclinical perspective [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (6): 1721.
- [5] Francis A, Harhay MN, Ong ACM, et al. Chronic kidney disease and the global public health agenda: an international consensus [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20: 473-485.
- [6] Huang Y, Ye PP, Wen L, et al. Disease burden of chronic kidney disease in China (1990-2021): an analysis for the global burden of disease study 2021 [J]. *Kidney Dis*, 2025, 11 (1): 595-609.
- [7] Sarafidis P. Use of ACEi/ARBs, SGLT2 inhibitors and MRAs can help us reach the therapeutic ceiling in CKD [J]. *Clin Kidney J*, 2024, 17 (2): sfac014.
- [8] Balzer MS, Pavkovic M, Frederick J, et al. Treatment effects of soluble guanylate cyclase modulation on diabetic kidney disease at single-cell resolution [J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4 (4): 100992.
- [9] Perkovic V, Tuttle KR, Rossing P, et al. Effects of semaglutide on chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2024, 391 (2): 109-121.
- [10] Kraehling JR, Benardeau A, Schomber T, et al. The sGC activator runcaciguat has kidney protective effects and prevents a decline of kidney function in ZSF1 rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (17): 13226.
- [11] Benardeau A, Kahnert A, Schomber T, et al. Runcaciguat, a novel soluble guanylate cyclase activator, shows renoprotection in hypertensive, diabetic, and metabolic preclinical models of chronic kidney disease [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2021, 394 (12): 2363-2379.
- [12] Heerspink HJL, Cherney D, Gafori AHA, et al. Effect of avaciguat on albuminuria in patients with CKD: two randomized placebo-controlled trials [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2024, 35 (9): 1227-1239.
- [13] Hanrahan JP, de Boer IH, Bakris GL, et al. Effects of the soluble guanylate cyclase stimulator praliciguat in diabetic kidney disease: a randomized placebo-controlled clinical trial [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2020, 16 (1): 59-69.
- [14] Gansevoort RT, Wheeler DC, Debén FM, et al. The soluble guanylate cyclase activator runcaciguat significantly improves albuminuria in patients with chronic kidney disease: a randomized placebo-controlled clinical trial [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2024, 40 (6): 1147-1160.
- [15] Liu G, Shea CM, Jones JE, et al. Praliciguat inhibits progression of diabetic nephropathy in ZSF1 rats and suppresses inflammation and apoptosis in human renal proximal tubular cells [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 319 (4): F697-F711.
- [16] Reinhart GA, Harrison PC, Lincoln K, et al. The novel, clinical-stage soluble guanylate cyclase activator BI 685509 protects from disease progression in models of renal injury and disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2023, 384 (3): 382-392.

- [17] Nardone M, Yau K, Kugathasan L, et al. Upcoming drug targets for kidney protective effects in chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2025, 40 (Supplement_1): i47-i58.
- [18] Neuen BL, Heerspink HJL, Vart P, et al. Estimated life-time cardiovascular, kidney, and mortality benefits of combination treatment with SGLT2 inhibitors, GLP-1 receptor agonists, and nonsteroidal MRA compared with conventional care in patients with type 2 diabetes and albuminuria [J]. *Circulation*, 2024, 149 (6): 450-462.
- [19] Tian SS, Zhou SJ, Wu WX, et al. GLP-1 receptor agonists alleviate diabetic kidney injury via β -klotho-mediated ferroptosis inhibition [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, 12 (4): e2409781.
- [20] Kawanami D, Takashi Y. GLP-1 receptor agonists in diabetic kidney disease: from clinical outcomes to mechanisms [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 967.
- [21] Morales J, and Palmer BF. Non-steroidal mineralocorticoid antagonists and hyperkalemia monitoring in chronic kidney disease patients associated with type II diabetes: a narrative review [J]. *Postgrad Med*, 2024, 136 (2): 111-119.
- [22] Sahana U, Wehland M, Simonsen U, et al. A systematic review of the effect of vericiguat on patients with heart failure [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (14): 11826.
- [23] Abasheva D, Ortiz A, Fernandez-Fernandez B. GLP-1 receptor agonists in patients with chronic kidney disease and either overweight or obesity [J]. *Clin Kidney J*, 2024, 17 (Supplement_2): ii19-ii35.
- [24] Hahn MG, Lampe T, El Sheikh S, et al. Discovery of the soluble guanylate cyclase activator runcaciguat (BAY 1101042) [J]. *J Med Chem*, 2021, 64 (9): 5323-5344.
- [25] Farah C, Michel LYM, Balligand JL. Nitric oxide signaling in cardiovascular health and disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15 (5): 292-316.
- [26] Horst BG, Marletta MA. Physiological activation and deactivation of soluble guanylate cyclase [J]. *Nitric Oxide*, 2018, 77: 65-74.
- [27] Evgenov OV, Pacher P, Schmidt PM, et al. NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5 (9): 755-768.
- [28] Bohlen HG. Nitric oxide and the cardiovascular system [J]. *Compr Physiol*, 2015, 5 (2): 808-823.
- [29] Steinert JR, Chernova T, Forsythe ID. Nitric oxide signaling in brain function, dysfunction, and dementia [J]. *Neuroscientist*, 2010, 16 (4): 435-452.
- [30] Greene SJ, Gheorghiade M, Borlaug BA, et al. The cGMP signaling pathway as a therapeutic target in heart failure with preserved ejection fraction [J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2 (6): e000536.
- [31] Durgin BG, Hahn SA, Schmidt HM, et al. Loss of smooth muscle CYB5R3 amplifies angiotensin II-induced hypertension by increasing sGC heme oxidation [J]. *JCI Insight*, 2019, 4 (19): e129183.
- [32] Nelissen E, Schepers M, Ponsaerts L, et al. Soluble guanylyl cyclase: a novel target for the treatment of vascular cognitive impairment? [J]. *Pharmacol Res*, 2023, 197 (2): 106970.
- [33] Cordwin DJ, Berei TJ, Pogue KT. The role of sGC stimulators and activators in heart failure with reduced ejection fraction [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2021, 26 (6): 593-600.
- [34] Potter LR. Guanylyl cyclase structure, function and regulation [J]. *Cell Signal*, 2011, 23 (12): 1921-1926.
- [35] Wennysia IC, Zhao L, Schomber T, et al. Role of soluble guanylyl cyclase in renal afferent and efferent arterioles [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021, 320 (2): F193-F202.
- [36] Lewko B, Stepinski J. Cyclic GMP signaling in podocytes [J]. *Microsc Res Tech*, 2002, 57 (4): 232-235.
- [37] Theilig F, Bostanjoglo M, Pavenstadt H, et al. Cellular distribution and function of soluble guanylyl cyclase in rat kidney and liver [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12 (11): 2209-2220.
- [38] Stehle D, Xu MZ, Schomber T, et al. Novel soluble guanylyl cyclase activators increase glomerular cGMP, induce vasodilation and improve blood flow in the murine kidney [J]. *Br J Pharmacol*, 2022, 179 (11): 2476-2489.
- [39] Fan Y, Yi ZZ, D'Agati VD, et al. Comparison of kidney transcriptomic profiles of early and advanced diabetic nephropathy reveals potential new mechanisms for disease progression [J]. *Diabetes*, 2019, 68 (12): 2301-2314.
- [40] Prabhakar SS. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy [J]. *Semin Nephrol*, 2004, 24 (4): 333-344.
- [41] Breyer MD, Susztak K. The next generation of therapeutics for chronic kidney disease [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15 (8): 568-588.
- [42] Ataabadi EA, Golshiri K, Juttner A, et al. Nitric oxide-cGMP signaling in hypertension: current and future options for pharmacotherapy [J]. *Hypertension*, 2020, 76 (4): 1055-1068.
- [43] Lahera V, Salazar J, Salom MG, et al. Deficient production of nitric oxide induces volume-dependent hypertension [J]. *J Hypertens Suppl*, 1992, 10 (7): S173-S177.
- [44] Kone BC. Nitric oxide in renal health and disease [J]. *Am J Kidney Dis*, 1997, 30 (3): 311-333.
- [45] Botros FT, Navar LG. Interaction between endogenously produced carbon monoxide and nitric oxide in regulation of renal afferent arterioles [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291 (6): H2772-H2778.
- [46] Bidani AK, Polichnowski AJ, Loutzenhiser R, et al. Renal microvascular dysfunction, hypertension and CKD progression [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2013, 22 (1): 1-9.
- [47] Sandner P, Zimmer DP, Milne GT, et al. Soluble guanylate cyclase stimulators and activators [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2021, 264: 355-394.
- [48] Al-Maskari R, Abdelrahman AM, Ali H, et al. Nephroprotective effects of the soluble guanylyl cyclase stimulator, riociguat in doxorubicin-induced acute kidney injury in

- rats [J]. *Toxicol Rep*, 2024, 13 (3): 101800.
- [49] Shea CM, Price GM, Liu G, et al. Soluble guanylate cyclase stimulator pralicigat attenuates inflammation, fibrosis, and end-organ damage in the Dahl model of cardiorenal failure [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318 (1): F148-F159.
- [50] Tobin JV, Zimmer DP, Shea C, et al. Pharmacological characterization of IW-1973, a novel soluble guanylate cyclase stimulator with extensive tissue distribution, antihypertensive, anti-inflammatory, and antifibrotic effects in preclinical models of disease [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 365 (3): 664-675.
- [51] Cherney DZI, Zeeuw D, Heerspink HJL, et al. Safety, tolerability, pharmacodynamics and pharmacokinetics of the soluble guanylyl cyclase activator BI 685509 in patients with diabetic kidney disease: a randomized trial [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2023, 25 (8): 2218-2226.
- [52] Perkovic V, Jardine MJ, Neal B, et al. Canagliflozin and renal outcomes in type 2 diabetes and nephropathy [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380 (24): 2295-2306.
- [53] Jongs N, Greene T, Chertow GM, et al. Effect of dapagliflozin on urinary albumin excretion in patients with chronic kidney disease with and without type 2 diabetes: a prespecified analysis from the DAPA-CKD trial [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2021, 9 (11): 755-766.
- [54] Cherney DZI, Bhatt DL, Szarek M, et al. Effect of sotagliflozin on albuminuria in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2023, 25 (11): 3410-3414.
- [55] Herrington WG, Staplin N, Wanner C, et al. Empagliflozin in patients with chronic kidney disease [J]. *N Engl J Med*, 2023, 388 (2): 117-127.
- [56] Bakris GL, Agarwal R, Anker SD, et al. Effect of finerenone on chronic kidney disease outcomes in type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383 (23): 2219-2229.
- [57] Hunsicker LG, Atkins RC, Lewis JB, et al. Impact of irbesartan, blood pressure control, and proteinuria on renal outcomes in the irbesartan diabetic nephropathy trial [J]. *Kidney Int Suppl*, 2004, (92): S99-S101.
- [58] Mann JFE, Rossing P, Bakris G, et al. Effects of semaglutide with and without concomitant SGLT2 inhibitor use in participants with type 2 diabetes and chronic kidney disease in the FLOW trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30 (10): 2849-2856.
- [59] Coresh J, Heerspink HJL, Sang YY, et al. Change in albuminuria and subsequent risk of end-stage kidney disease: an individual participant-level consortium meta-analysis of observational studies [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7 (2): 115-127.
- [60] Heerspink HJL, Greene T, Tighiouart H, et al. Change in albuminuria as a surrogate endpoint for progression of kidney disease: a meta-analysis of treatment effects in randomised clinical trials [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7 (2): 128-139.
- [61] Vaduganathan M, Filippatos G, Claggett BL, et al. Finerenone in heart failure and chronic kidney disease with type 2 diabetes: FINE-HEART pooled analysis of cardiovascular, kidney and mortality outcomes [J]. *Nat Med*, 2024, 30 (12): 3758-3764.
- [62] Pitt B, Filippatos G, Agarwal R, et al. Cardiovascular events with finerenone in kidney disease and type 2 diabetes [J]. *N Engl J Med*, 2021, 385 (24): 2252-2263.
- [63] Benza RL, Grünig E, Sandner P, et al. The nitric oxide-soluble guanylate cyclase-cGMP pathway in pulmonary hypertension: from PDE5 to soluble guanylate cyclase [J]. *Eur Respir Rev*, 2024, 33 (171): 230183.
- [64] Markham A, Duggan S. Vericiguat: first approval [J]. *Drugs*, 2021, 81 (6): 721-726.
- [65] Hammer A, Niessner A, Sulzgruber P. Vericiguat: a fifth cornerstone in the treatment of heart failure with reduced ejection fraction? [J]. *ESC Heart Fail*, 2023, 10 (6): 3735-3738.
- [66] Reddy YNV, Butler J, Anstrom KJ, et al. Vericiguat global study in participants with chronic heart failure: design of the VICTOR trial [J]. *Eur J Heart Fail*, 2025, 27 (2): 209-218.
- [67] Bajwa EK, Cislak D, Kumar A, et al. Phase 1 study of MK-5475, an inhaled soluble guanylate cyclase stimulator, in participants with pulmonary hypertension associated with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2024, 19: 1105-1121.
- [68] Pulmovant, Inc. A phase 2, randomized, placebo-controlled trial to assess the efficacy and safety of mosliciguat in participants with pulmonary hypertension associated with Interstitial lung disease [NCT06635850] [EB/OL]. 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06635850>.
- [69] Tisento Therapeutics. Phase 2b randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study evaluating the efficacy and safety of zagociguat in participants with MELAS (PRIZM) [NCT06402123] [EB/OL]. 2024. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT06402123>.

(收稿日期: 2025-01-18; 修回日期: 2025-04-17)

本草考证

古代经典名方中茵陈的本草考证

张秀娟, 孙晖, 王超众, 方衡, 闫广利, 王喜军* (黑龙江中医药大学, 经方与现代中药融合创新全国重点实验室, 国家中医药管理局中医方证代谢组学研究中心, 哈尔滨 150040)

摘要: 通过查阅历代本草、医籍、方书等文献, 结合近现代相关研究资料, 对茵陈的名称、基原、药用部位、产地、质量评价、采收加工及炮制、性味归经与功能主治等不同方面的历史沿革进行系统的梳理与考证。历代所用茵陈的来源古今一致, 均为菊科艾属植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分。茵陈苦、辛、微寒, 归脾、胃、肝、胆经, 清利湿热, 利胆退黄, 用于黄疸尿少, 湿温暑湿, 湿疮瘙痒。基于考证结果并依据《中国药典》, 建议开发含茵陈的经典名方时, 选用滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分入药。

关键词: 经典名方; 茵陈; 本草考证

中图分类号: R283

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3039-06

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.036

Herbal textual research on classic formulas of *Artemisia capillaris*

ZHANG Xiu-juan, SUN Hui, WANG Chao-zhong, FANG Heng, YAN Guang-li, WANG Xi-jun* (State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formulas and Modern Chinese Medicine, Chinmedomics Research Center of National Administration of Traditional Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

Abstract: By referring to literature such as materia medica, medical books and formula books in the past dynasties, combined with research data in modern times, this paper sorted out the history of *Artemisia capillaris* from different aspects, such as name, origin of medicinal material, medicinal parts, geographical origin, quality evaluation, harvest processing and clinical application. The origin of *Artemisia capillaris* remained the same in ancient and modern times, and it is the dry above-ground part of *Artemisia scoparia* (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.) or *Artemisia capillaris* (*Artemisia capillaris* Thunb.) of the asteraceae family. *Herba Artemisiae Scopariae* (Yin Chen) is bitter, pungent and slightly cold in nature. It enters the spleen, stomach, liver and gallbladder meridians. Its functions include clearing damp-heat, promoting bile secretion to alleviate jaundice. Clinically used for jaundice with oliguria, damp-warm febrile diseases, summerheat-dampness syndromes, and dampness-induced pruritus. Based on the verification results and in accordance with the "Chinese Pharmacopoeia", when developing the famous classic formulas containing *Artemisia capillaris*, the dry ground part of *Artemisia scoparia* (*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.) or *Artemisia capillaris* (*Artemisia capillaris* Thunb.) is preferred.

Key words: famous classic formula; *Artemisia capillaris*; herbal textual research

茵陈是临床常用中药, 味苦、辛, 性微寒。归脾、胃、肝、胆经, 有清利湿热、利胆退黄的功效, 临床广泛用于治疗黄疸尿少, 湿温暑湿, 湿疮瘙痒之证^[1]。《中国药典》2020年版规定茵陈的来源为菊

科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分^[2]。春季幼苗高 6 ~ 10 cm 时采收或秋季花蕾长成至花初开时采割, 除去杂质和老茎, 晒干。春季采收的习称

作者简介: 张秀娟, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究, email: zxj5966@163.com

***通信作者:** 王喜军, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究, email: xijunw@sina.com

“绵茵陈”，秋季采割的称“花茵陈”。

2018 年国家中医药管理局会同国家药品监督管理局制定并公布的《古代经典名方目录（第一批）》中，包含茵陈的名方共 1 首，为宋代太平惠民和剂局《太平惠民和剂局方》中的“甘露饮”。2023 年国家中医药管理局会同国家药品监督管理局制定并公布的《古代经典名方目录（第二批）》中，包含茵陈的名方共 2 首，为汉代张仲景《伤寒论》中的“茵陈蒿汤”，清代程国彭《医学心悟》中的“茵陈术附汤”。这 3 首名方中，存在山茵陈、茵陈蒿、茵陈等多种表述，同时，炮制方法有“去梗”与未标注两类。

不同时代经典名方关键信息的内涵不同，这将直接影响经典名方的开发应用。因此，有必要对历代茵陈的关键信息重新进行本草考证，理清历史变迁过程。本文基于历代本草、医籍、方书和近现代研究，对茵陈不同历史时期名称、基原、药用部位等方面进行系统的梳理和考证，以期为该药的科学开发和安全合理使用提供参考。

1 名称考证

茵陈在历代本草中均有记载，始载于西汉《尔雅》^[3]：“繁之丑，秋为蒿。此草春为茵陈，盛夏则蒿矣。”此后，历代本草多沿用此名。东汉《神农本草经》^[4]记载：“茵陈蒿，味苦，平。”医籍初见于《伤寒杂病论》^[5]。在《神农本草经》^[4]、《名医别录》^[6]、《本草经集注》^[7]、《本草拾遗》^[8]、《本草图经》^[9]、《汤液本草》^[10]、《本草蒙筌》^[11]等古籍中均有记载，至今《中国药典》2020 年版^[2]仍将茵陈定为正名。

茵陈别名众多，《广雅》^[12]称其为“马先”；《吴普本草》^[13]中称为“因尘”；《日华子本草》^[14]记载为“石茵陈”；《经史证类备急本草》^[15]中有“白蒿”的记载；《本经逢原》^[16]中将茵陈又称为“绵茵陈”。

茵陈蒿的名称由来，源于古人对其生长特性的细致观察，唐代《本草拾遗》^[8]记载：“茵陈，虽蒿类，苗细经冬不死，更因旧苗而生，故名因陈，后加‘蒿’字也”；宋代《本草图经》^[9]中记载：“春初生苗，高三、五寸，似蓬蒿而叶紧细，无花实，秋后叶枯，茎秆经冬不死，至春更因旧苗而生新叶，故名茵陈蒿”；明代《本草蒙筌》^[11]记载：“秋后叶落，茎梗不凋。至春复发旧枝，故因名茵陈蒿也”；清代《本草崇原》^[17]中记载：“茵陈蒿苗似蓬蒿，其叶紧细，臭香如艾，秋后茎枯，终冬不死，至春因旧根而复生，故名茵陈”。

由于茵陈分布较广，各地方对茵陈的别名也各有差异，例如在《广西中兽医药用植物》^[18]中以“绒蒿”命名；《江苏省植物药材志》^[19]中记载茵陈为“臭蒿”“安吕草”；《山东中药》^[20]中有“婆婆蒿”“白蒿嫩苗”的记载，并附其药材图（见图 1A）；《湖南药物志》^[21]将茵陈称为“野兰蒿”，附其药材图（见图

1B）；此外在东北地区，茵陈也称为“黄蒿”“狼尾蒿”，在西北地区，茵陈被称为“西茵陈”。

综上，茵陈的名称来源多是根据其植物的生长规律而定，如古籍《本草拾遗》^[8]、《本草图经》^[9]、《本草蒙筌》^[11]等中记载，茵陈秋后落叶，茎梗不凋谢，经过一个冬季也不会死，到了春季在旧根的基础上生根发芽，故名茵陈蒿。茵陈的别名众多，古称有马先、因尘、白蒿、山茵陈、家茵陈等，此外部分地区也有地方习用名，如绒蒿（广西）、臭蒿、安吕草（江苏）、婆婆蒿、白蒿嫩苗（山东）、野兰蒿（湖南）、黄蒿、狼尾蒿（东北地区）、西茵陈（西北地区）。虽然从古至今茵陈别名众多，但一直沿用“茵陈”为其正名。

2 基原考证

茵陈的本草记载始见于东汉《神农本草经》^[4]：“茵陈蒿，味苦，平。主风湿寒热邪气，热结，黄疸”。《神农本草经》^[4]中描述茵陈蒿的主治基本符合今茵陈蒿清利湿热、利胆退黄的功效，但未提及原植物或药材的形态特征。

魏晋南北朝《吴普本草》^[13]中最早提及茵陈的植物形态：“因尘，生中田。葉如蓝。十一月採”。《本草经集注》^[7]记载：“茵陈，生太山及丘陵坡岸上……治黄疸用”，后逐渐以“茵陈”“茵陈蒿”作为药材正名。

唐朝《新修本草》^[22]记载：“茵陈蒿，生太山及丘陵坡岸上……疗黄疸用。”基本沿用了《本草经集注》^[7]中的描述，为后世茵陈蒿的开发使用提供依据。

北宋苏颂等所著《本草图经》^[9]中详细描述了茵陈蒿的植物形态：“春初生苗，高三、五寸，似蓬蒿而叶紧细，无花实”，至此，本草著作中对茵陈的形态特征进行了详尽的描述。

明朝李时珍所著的《本草纲目》^[23]除引载上述本草外，尚载有茵陈图（见图 1C）。《本草蒙筌》^[11]记载：“茵陈，叶细青蒿虽同，叶背白色却异”。李中立《本原始》^[24]记载：“似蓬蒿而叶紧细，无花实”，并附其药图（见图 1D）。可见历史茵陈来源于菊科的两个近缘品种猪毛蒿（滨蒿）*Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 和茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb.。

清朝吴其浚《植物名实图考》^[25]记载：“茵陈蒿……叶似青蒿而背白。杜诗：茵陈春藕香。吾乡亦摘其嫩芽食之”，亦载有茵陈图（见图 1E），且由杜甫的诗记载可知，茵陈蒿在古时既可药用，又可作食物用。

民国《中国药物标本图影》^[26]中附有茵陈的药材图，分别为茵陈、铃茵陈、西茵陈和绵茵陈（见图 2）。

现代《中药材手册》^[27]中记载：“茵陈俗名‘小白蒿’，是一种多年野生的草本植物。它的秧仅有二、三寸高，叶细长，密生一层白毛，好象一把碎线，夏秋之间开白色穗状小花，花落后结籽，好象芥



图1 历代本草中所附茵陈

Fig 1 *Artemisia capillaris* attached to traditional Chinese herbal medicine
A.《山东中药》(Shandong Materia Medica); B.《湖南药物志》(Annals of Hunan Pharmaceutics); C.《本草纲目》(Compendium of Materia Medica); D.《本草原始》(Original Materia Medica); E.《植物名实图考》(A Study on the Names of Plants)



图2 《中国药物标本图影》中所附茵陈

Fig 2 *Artemisia capillaris* attached to Pictures of Chinese Drug Specimens

子”。其中茵陈在《中国药典》1963 年版中被正式收录^[28]正式收载：“茵陈为菊科(Compositae)植物茵陈(*Artemisia capillaris* Thunb.)的干燥幼苗”。《中国药典》1977 年版^[29]中，茵陈的基原植物被确定为滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥幼苗，增加了植物来源滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.

《中国药典》1990 年版^[30]记载：“茵陈为菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 的干燥地上部分”。春季采收的习称“绵茵陈”，秋季采割的称“茵陈蒿”，将茵陈药用部位改为“干燥地上部分”。《中国药典》2010 年版^[31]将秋季采割的改称为“花茵陈”。关于茵陈的基原记载自《中国药典》2010 年版^[31]所记载沿用至今。

综上，茵陈药用最早收录于《神农本草经》^[4]，载名“茵陈蒿”，茵陈在我国具有悠久的历史

史，历代本草所载茵陈虽来源较多，但就其形态描述结合所附药图来看，几乎都为菊科蒿属植物，具体品种因产地不同而异，仍以《中国药典》2020 年版^[2]所载为主流品种。结合名称考证与古代典籍对“茵陈”“茵陈蒿”的生境、植株形态的图文描述来看，历代所用植物基原是一致的，基本可判断其基原植物为现用滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb.

3 药用部位考证

茵陈的药用部位历代本草记载较为一致，如《尔雅》^[3]记载：“此草春为茵陈，盛夏则蒿矣”；《本草经集注》^[7]记载：“五月及立秋采，阴干。今处处有，似蓬蒿而叶紧细”；《新修本草》^[22]记载：“五月及立秋采，阴干。今处处有，似蓬蒿而叶紧细”；《本草图经》^[9]记载：“春初生苗，高三、五寸，似蓬蒿而叶紧细，无花实，五月、七月采茎叶阴干”；《卫生宝鉴》^[32]记载：“去枝用叶，手搓碎用”；《本草纲目》^[23]记载：“五、七月采茎叶，阴干”；《药性会元》^[33]记载：“凡使，须用叶，有八角者，采得阴干，去根细剉”；现代《中药材手册》^[27]中记载：“药用地上的全秧”。后世本草多转引以上记载，可知茵陈主要药用部位为其干燥地上部分，与《中国药典》2020 年版^[2]记载一致。

4 产地变迁及历代品质评价考证

东汉时期，《神农本草经》^[4]记载：“生邱陵阪岸上”，并没有具体指出茵陈在东汉时期的区域产地，只提到了其大多生于丘陵斜坡及河岸上。

魏晋南北朝时期，陶弘景所著《名医别录》^[6]中最早记载了茵陈的产地：“生太山及丘陵坡岸上”。在《本草经集注》^[7]中又指出：“生太山及丘陵坡岸上”，此处太山即如今山东省泰安市的泰山，可见这一时期茵陈产地主要为山东中部及山西。

唐代《新修本草》^[22]中记载：“生太山及丘陵坡岸上，今处处有，似蓬蒿而叶紧细”。五代《日华子本草》^[14]记载：“本出和州及南山岭上皆有”，此处所指和州、南山岭为如今的安徽省马鞍山市和县、秦岭南端一带。宋代《本草图经》^[9]中记载“生泰山及丘陵坡岸上，今近道皆有之，而不及泰山者佳”；《开宝本草》^[34]中记载“生太山及丘陵坡岸上”，可以看出唐宋时期有关记载茵陈的产地与《本草经集注》^[7]基本一致，茵陈产地较广，尤其山东泰山所产者质量较佳。

明代《本草蒙筌》^[11]记载：“随处俱产，泰山者良”，《本草原始》^[24]记载：“始生太山及丘陵坡岸上，今近道有之”。清代《本草崇原》^[17]记载：“茵陈蒿始出太山及丘陵坡岸上，今处处有之，不若太山者佳”。可以看出明清时期茵陈也产地较广，尤以山东泰山所产茵陈质量较佳，同唐宋时期古

籍中对茵陈产地的记载较为一致。

现代《中药材手册》^[27]中记载：“茵陈一般多长在山野、地埂、干河滩、村边等地”，《中药学》^[35]中记载茵陈主产于陕西、山西、安徽等地。

综合上述文献资料，可以发现历代本草著作记载的茵陈最开始生长于山东泰山及丘陵斜坡、河岸上，后随处俱产，产地较多，但仍以山东泰山为道地产区。查询现代文献，茵陈多生于山坡、河岸、砂砾地。茵陈蒿主产于陕西、山西、安徽等省，江苏江宁、安徽滁州、江西都昌等地均适宜其生产；滨蒿主产于东北地区及河北、山东等省区，陕西三原、河南郑州、河北安国等地均适宜其生产，尤以陕西三原最为适宜，销全国并出口^[36]。

5 采收加工及炮制考证

茵陈的采收加工本草记载最早可追溯至魏晋时期，《名医别录》^[6]记载：“五月及立秋采，阴干”，后采收加工多延此记载。《吴普本草》^[13]记载：“生中田。葉如藍。十一月採”。南北朝《本草经集注》^[7]载：“五月及立秋采，阴干”。唐代《新修本草》^[22]记载：“五月及立秋采，阴干”。北宋苏颂《本草图经》^[9]载：“五月、七月采茎叶阴干”。《开宝本草》^[34]中记载“五月及立秋采，阴干”。明代李时珍《本草纲目》^[23]记载：“五、七月采茎叶，阴干”。《本草品汇精要》^[37]载：“五月七月立秋采，阴干”。《药性会元》^[33]记载：“凡使，须用叶，有八角者，采得阴干，去根细剉。凡采，五月五日起，至秋中取，似蓬蒿者，勿令经火气”。

现代《中药材手册》^[27]中记载：“采集季节在每年春季三月，俗语说：‘三月茵陈四月蒿’，必须抓住季节，秧子一窜苔就过季了，不能入药。采集时，用手拔，拔出以后把根去掉，放在通风的地方阴干即可”。

《中国药典》1963 年版^[28]中记载：“春季幼苗高约 3 寸时采收，除去杂质，去净泥土，晒干即得。”《中国药典》1990 年版^[30]记载：“茵陈在古代各家本草记载，均为 5 月、7 月（阴历）或立秋采收茎叶，故可确定古时所用茵陈并非幼苗”，同时指出春季幼苗高 6~10 cm 时采收的习称“绵茵陈”，秋季花蕾长成时采割的称“茵陈蒿”。《中国药典》2010 年版^[31]将秋季采割的改称为“花茵陈”，且其中关于茵陈采收加工的记载沿用至今。

由以上本草考证可知，古时药用茵陈的采收时间大部分为阴历五月、七月或立秋，采收后及时阴干；现代茵陈的采收时间为春季幼苗生长期及秋季花蕾长成至花初开时，采收后除去杂质及老茎，晒干，与古时关于茵陈采收加工的相关记载略有出入。

茵陈炮制方法始见于南朝宋《雷公炮炙论》^[38]中记载：“雷公云：凡使，须用叶有八角者。凡修

事，采得，阴干，去根，细锉用。勿令犯火。”通过去除根部并细细切碎的方式对茵陈进行初步处理，便于后续的药用。

宋代增加了焙制，出自《洪氏集验方》^[39]：“茵陈（半两，焙）防风（半两，焙）……马牙硝（半两，研，各取末）”。焙制即指将净选后的药物置于金属容器或锅内，用文火经较短时间加热，并不断翻动，焙至药物颜色加深，质地酥脆为度，此方法使药物充分干燥，增强保存稳定性，便于粉碎和贮存。此外还有酒制（《妇人大全良方》^[40]），即借助酒的辛散之性，使茵陈更利于发散，增强其活血通络等相关作用，拓展了其在不同病症中的应用范围。

元代又有酒炒法和去枝、叶手搓碎用（《卫生宝鉴》^[32]）的炮制手段，酒炒进一步强化了酒制所带来的药效变化，去枝、叶手搓碎用则更利于精准控制用药剂量以及方便调剂制剂等。

明代有了酒浸制（《奇效良方》^[41]）、酒制（《本草蒙筌》^[11]）记载：“酒拌润透，晒干锉碎”）、酒洗法（《仁术便览》^[42]）、醋制（《普济方》^[43]）等多种炮制方法，酒浸制可使茵陈充分吸收酒的成分，在增强药效的同时，还可能改变其药物的性味归经，酒洗法侧重于对茵陈进行清洁并适度改变其表面性质，醋制则借助醋的酸性，起到了入肝经、增强疏肝等功效的作用。

明清时期茵陈多修治，如明代《本草原始》^[24]记载：“凡用茵陈蒿，要连枯茎者方真。入药去茎并根，细剉。茵陈，阴中微阳，入足太阳经。伏硝砂”。《药性会元》^[33]记载：“凡使，须用叶，有八角者，采得阴干，去根细剉”。清代《本草述钩元》^[44]记载：“采得叶有八角者。阴干。去根。细剉。勿令犯火”。

《中国药典》1963 年版^[28]记载：“过筛，拣去杂质除去残根，碾碎，再过罗去净泥屑即得。”《中国药典》2020 年版^[2]记载：“除去残根和杂质，搓碎或切碎。绵茵陈筛去灰屑。”

由上可知，古时记载茵陈的炮制方法繁多，以净制品最为多见，其净制之法与《中国药典》2020 年版所记载茵陈的炮制方法基本一致。

6 性味归经及功效主治考证

茵陈的功效早在西汉时期就有记载，《尔雅》^[3]记载：“去湿”。东汉《神农本草经》^[4]最早记载茵陈的性味和较为详细的功效：“味苦，平。主风湿寒热邪气，热结，黄疸”，“苦”味能泄、能燥、能坚，茵陈借此发挥清泄湿热之功。由此可见，早在那时人们就认识到茵陈在应对风湿寒热邪气以及黄疸病症方面有着独特的功效，为后世将茵陈作为治疗黄疸的重要药物奠定了基础。

南北朝《名医别录》^[6]记载：“微寒，无毒。主治通身发黄，小便不利，除头热，去伏瘕”，首次

记载了茵陈微寒，无毒的特性，使茵陈寒凉之性更为明晰，“微寒”属性赋予它清热之力，却又避免大寒伤正。《本草经集注》^[7]记载：“味苦，平、微寒，无毒。主治风湿寒热邪气，热结黄胆……惟入治黄疸用”，提出了茵陈为黄疸专药的理念，后续的本草记载逐渐补充细化茵陈的功效。

唐代《本草拾遗》^[8]记载：“通关节，去滞热，伤寒用之”，提示在湿热痹证中，茵陈可清利关节处湿热，缓解疼痛肿胀，拓宽了临床应用范畴。五代《日华子本草》^[14]记载：“味苦，凉，无毒。治天行时疾，热狂，头痛，头旋，风眼疼，瘴症，女人症瘕并闪损乏绝”，改茵陈药性为“凉”，并增补“头痛，头旋，风眼疼，瘴症，女人症瘕并闪损乏绝”功效。宋代《开宝本草》^[34]记载：“味苦，平、微寒，无毒。主风湿，寒热，邪气，热结，黄疸。”

元代《汤液本草》^[10]首次记载了茵陈的归经为“入足太阳经”，归膀胱经，因膀胱为州都之官，津液藏焉，茵陈助力膀胱气化，排出湿邪，茵陈利水通淋之效显著，与膀胱主司水液代谢功能契合。历代本草多沿用此记载，如明代《雷公炮制药性解》^[45]记载：“入膀胱经”；《本草汇言》^[46]记载：“入足太阳、阳明、太阴经”，兼入阳明经，可调理肠胃积滞湿热，促进胆汁排泄，协同完成消化

吸收环节的湿热清除；《神农本草经疏》^[47]记载：“皆湿热在阳明、太阴所生病也”，亦指出茵陈的功效与足阳明、足太阴经相关，足阳明经多涉肠胃，也关联着茵陈利胆退黄对消化排泄系统的作用，足太阴经主脾，湿热蕴结脾胃，可导致黄疸等病症，茵陈通过清利脾胃湿热而发挥作用；

清代《本草从新》^[48]记载：“入足太阳经”；《本草易读》^[49]记载：“入太阴脾、太阳膀胱经”；《本草新编》^[50]记载：“入足太阳、少阳之经”，在肯定前人认为茵陈入足太阳膀胱经的基础上，又提出入足少阳经，因为少阳经与肝胆相表里，茵陈利胆退黄的作用与肝胆密切相关，所以认为其入足少阳经；现代《药材学》^[51]记载：“入膀胱经”，直至《中国药典》1985 年版^[52]总结修改茵陈的归经为“归脾、胃、肝、胆经”，并沿用至今。《中国药典》2010 年版^[31]记载其性味归经为“苦、辛，微寒。归脾、胃、肝、胆经”，功能主治为“清利湿热，利胆退黄。用于黄疸尿少，湿温暑湿，湿疮瘙痒”，《中国药典》2020 年版^[2]记载同上。可见，从古至今，茵陈性味归经变化并不明显，功效亦变化不大，主要为“清利湿热，利胆退黄，利水道，除头热，去伏瘕”。历代本草对茵陈的性味归经、功能主治记载见表 1。

表 1 茵陈的性味归经及功能主治
Tab 1 Nature, taste and meridian of *Artemisia capillaris*

年代	出处	性味归经、毒性	功能主治
东汉	《神农本草经》	味苦，平	主风湿寒热邪气，热结，黄疸。久服轻身、益气、耐老
南北朝	《本草经集注》	味苦，平、微寒，无毒	主治风湿寒热邪气，热结黄胆。通身发黄，小便不利，除头热，去伏瘕。久服轻身，益气，耐老，面白悦长年。白兔食之，仙。惟入治黄疸用
唐代	《新修本草》	味苦，平、微寒，无毒	主风湿，寒热，邪气，热结，黄疸。通身发黄，小便不利，除头热，去伏瘕。久服轻身益气耐老，面白悦长年。白兔食之，仙
宋代	《开宝本草》	味苦，平、微寒，无毒	主风湿，寒热，邪气，热结，黄疸。通身发黄，小便不利，除头热，去伏瘕。久服轻身，益气耐老，面白悦长年。白兔食之，仙
明代	《雷公炮制药性解》	味苦，性微寒，无毒，入膀胱经	主伤寒大热、黄疸便赤，治眼目，行滞气，能发汗，去风湿。去根用，犯火无功
清代	《本草新编》	味苦、辛，气微寒，阴中微阳，无毒；入足太阳、少阳之经	专治瘴症发黄，非黄症，断不可用。果是真黄病，可用之为君。但黄症又不同，有阴黄、阳黄，有热黄、寒黄、燥黄，有血黄、气黄之殊，不可不辨
1963 年	《中国药典》	苦、辛，微寒	清热，利湿。主治黄疸身热，小便不利
1985 年	《中国药典》	苦、辛，微寒；归脾、胃、肝、胆经	清湿热，退黄疸。用于黄疸尿少，湿疮瘙痒；传染性黄疸型肝炎
2010、2020 年	《中国药典》	苦、辛，微寒；归脾、胃、肝、胆经	清利湿热，利胆退黄。用于黄疸尿少，湿温暑湿，湿疮瘙痒

7 结语

茵陈在我国应用历史悠久，别名较多，多以其药材生长特性、外形、颜色等命名。历代本草所载茵陈虽来源较多，主流均为菊科艾属植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb., 具体品种因产地不同而异，仍以《中国药典》2020 年版^[2]所载为主流品种；古籍记载茵陈最开始生长于山东泰山及丘陵斜坡、河岸上，后随处俱产，产地较多，但仍以山东泰山为道

地产区，现代茵陈蒿主产陕西、山西、安徽等省，江苏江宁、安徽滁州、江西都昌等地均适宜其生产；滨蒿主产于东北地区及河北、山东等省区，陕西三原、河南郑州、河北安国等地均适宜其生产。历代本草记载茵陈的药用部位为茎叶，采收时间记载最多的是在阴历五月、七月或立秋，采收后阴干，《中国药典》2020 年版^[2]记载茵陈的药用部位为干燥的地上部分，且多于春、秋二季采收，采收后除去杂质及老茎，晒干；历代本草记载茵陈的炮制方法众

多,其中以净制居多,其净制之法与《中国药典》2020 年版^[2]所记载茵陈的炮制方法基本一致:除去残根和杂质,搓碎或切碎。绵茵陈筛去灰屑。茵陈自古至今性味归经及功能主治无过大差异,《中国药典》2020 年版^[2]记载其性苦、辛,微寒。归脾、胃、肝、胆经。清利湿热,利胆退黄,用于治疗黄疸尿少,湿温暑湿,湿疮瘙痒。基于以上讨论研究认为,在进行含茵陈的经典名方的开发时可选用《中国药典》2020 年版^[2]中记载供药用的滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *Artemisia capillaris* Thunb. 两个品种。本文考证进一步明确了茵陈的名称、基原、药用部位、产地、质量评价等重要内容,为茵陈在临床中合理应用及相关经典名方开发利用提供依据。

参考文献

- [1] 姜波,焦文霞.茵陈的古今临床应用[J].中国民族民间医药,2012,21(3):36.
- [2] 中国药典 2020 年版.一部[S].2020:250.
- [3] 佚名.尔雅[M].南京:东南大学出版社,2015:241.
- [4] 吴普,孙星衍,石学文.神农本草经[M].广州:广东科学技术出版社,2022:25.
- [5] 张仲景.伤寒杂病论[M].石家庄:河北科学技术出版社,1994:126.
- [6] 陶弘景,尚志钧.名医别录[M].3卷.北京:人民卫生出版社,1986:52.
- [7] 陶弘景,尚志钧,尚元胜.本草经集注[M].芜湖:芜湖医学专科学校出版社,1963:50.
- [8] 陈藏器.《本草拾遗》辑释[M].合肥:安徽科学技术出版社,2002:344.
- [9] 苏颂,尚志钧.本草图经[M].8卷.合肥:安徽科学技术出版社,1994:136.
- [10] 王好古.汤液本草[M].北京:中国中医药出版社,2013:78.
- [11] 陈嘉谟.本草蒙筌[M].北京:中医古籍出版社,2009:123.
- [12] 张揖.广雅逸文补辑并注[M].广州:暨南大学出版社,1993:155.
- [13] 吴普.吴普本草[M].北京:人民卫生出版社,1987:29.
- [14] 佚名.日华子本草[M].芜湖:皖南医学院科研处,1983:35.
- [15] 唐慎微,尚志钧.证类本草重修政和经史证类备急本草[M].第10卷.北京:华夏出版社,1993:176.
- [16] 张璐,赵小青,裴晓峰.本经逢原[M].2卷.北京:中国中医药出版社,1996:72.
- [17] 张志聪,高世栻.本草崇原[M].北京:中国中医药出版社,1992:40.
- [18] 中国科学院华南植物研究所广西分所.广西中兽医药用植物[M].北京:科学出版社,1959:2.
- [19] 中国科学院植物研究所,南京中山植物园药用植物组.江苏省植物药材志[M].北京:科学出版社,1959:3.
- [20] 山东卫生干部进修学院.山东中药[M].济南:山东人民出版社,1959:170.
- [21] 蔡光先.湖南药物志第4卷[M].长沙:湖南科学技术出版社,2004:3076.
- [22] 苏敬,尚志钧.新修本草辑复本[M].10卷.合肥:安徽科学技术出版社,1981:194.
- [23] 李时珍.本草纲目[M].南昌:二十一世纪出版社;南昌:全国百佳出版社,2017:94.
- [24] 李中立.本草原始[M].北京:人民卫生出版社,2007:145.
- [25] 清吴其浚著.植物名实图考[M].11卷.北京:商务印书馆,1957:263.
- [26] 陈存仁.中国药物标本图影[M].上海:世界书局出版社,1935:81.
- [27] 张家口专员公署商业局药材经理部.中药材手册[M].石家庄:河北人民出版社,1959:76.
- [28] 中国药典 1963 年版.一部[S].1964:191.
- [29] 中国药典 1977 年版.一部[S].北京:人民卫生出版社,1978:390.
- [30] 中华人民共和国药典(1990 年版一部)注释编委会编.中华人民共和国药典一部 1990 年版注释选编[M].广州:广东科技出版社,1993:136.
- [31] 中国药典 2010 年版.一部[S].2010:223.
- [32] 罗天益.卫生宝鉴[M].北京:中国中医药出版社,2007:282.
- [33] 于永铎,于永敏,尹玲慧.药性会元[M].沈阳:辽宁科学技术出版社,2018:21.
- [34] 刘翰,马志,李昉,等.开宝本草辑复本[M].合肥:安徽科学技术出版社,1998:177.
- [35] 滕佳林.中药学[M].济南:山东科学技术出版社,2020:74.
- [36] 彭成.中华道地药材下[M].北京:中国中医药出版社,2012:4233.
- [37] 刘文泰.本草品汇精要上[M].北京:中国中医药出版社,2013:190.
- [38] (南北朝)雷敫.雷公炮炙论辑佚本[M].上海:上海中医学院出版社,1986:27.
- [39] (宋)洪遵.洪氏集验方[M].上海:上海科学技术出版社,2003:20.
- [40] (宋)陈自明.妇人大全良方[M].北京:人民卫生出版社,1992:44.
- [41] (明)董宿.奇效良方上[M].天津:天津科学技术出版社,2003:651.
- [42] 张洁.仁术便览[M].北京:中国中医药出版社,2015:266.
- [43] 朱橚,滕硕,刘醇.普济方[M].北京:人民卫生出版社,1960:2693.
- [44] 杨时泰.本草述钩元 37 卷[M].9卷.北京:科技卫生出版社,1958:213.
- [45] 雷敫,顿宝生,王盛民.雷公炮炙论药性解[M].北京:中国中医药出版社,1998:102.
- [46] (明)倪朱谟.本草汇言[M].上海:上海科学技术出版社,2005:194.
- [47] (明)缪希雍.神农本草经疏[M].太原:山西科学技术出版社,2013:172.
- [48] 吴仪洛.本草从新[M].郑州:河南科学技术出版社,2017:40.
- [49] (清)汪切庵.本草易读[M].北京:人民卫生出版社,1987:173.
- [50] (清)陈士铎.精校本草新编[M].北京:人民军医出版社,2013:188.
- [51] 南京药学院药材教研组.药材学[M].北京:人民卫生出版社,1960:1113.
- [52] 中国药典 1985 年版.一部[S].1985:227.

(收稿日期:2025-01-20;修回日期:2025-03-13)

药物与临床

三种唑类药物在造血干细胞移植后侵袭性真菌病 一级预防中的单中心疗效分析

张雅卓¹, 李蕴劼², 顾秋晨¹, 史玉叶², 梁茂本¹, 王昕雯^{1*} (南京医科大学附属淮安第一医院, 1. 药学部, 2. 血液科, 江苏 淮安 223300)

摘要: **目的** 探讨使用氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑在造血干细胞移植 (HSCT) 合并侵袭性真菌病 (IFD) 患者中的疗效。**方法** 回顾性分析 2020 年 1 月至 2023 年 12 月于我院行 HSCT 且用三唑类药物行真菌预防的 94 例患者, 对比经验治疗组与诊断驱动治疗组中自体移植 (auto-HSCT) 和异体移植 (allo-HSCT) 患者的宿主因素、住院天数、IFD 风险分级和疗效结局; 氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑组中 auto-HSCT 和 allo-HSCT 患者的 IFD 发生率、药品不良反应发生率、180 d 死亡率等指标差异, 并对 allo-HSCT 患者的疗效进行多因素分析。**结果** 诊断驱动治疗组患者平均住院天数多于经验治疗组 ($P = 0.007$), 但 IFD 风险分级和结局指标间差异均无统计学意义 ($P = 0.659, 0.521$); 氟康唑组不良反应发生率 (56.52%) 高于泊沙康唑组 (28.57%, $P = 0.044$) 和伏立康唑组 (30.23%, $P = 0.037$); 多因素分析结果显示, 预处理方案中有 / 无抗胸腺细胞球蛋白 (ATG) 与 allo-HSCT 疗效有相关性 ($P < 0.05$)。**结论** 在 IFD 低危患者中启动诊断驱动治疗可与高危患者中使用经验治疗获得相似的结局和预后; 泊沙康唑和伏立康唑相较于氟康唑在进一步降低患者药品相关不良反应率的基础上, 未影响 HSCT 后患者的 IFD 发生率及生存率; 预处理方案与 allo-HSCT 疗效相关。

关键词: 造血干细胞移植; 侵袭性真菌病; 诊断驱动治疗; 一级预防

中图分类号: R969.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3045-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.037

Efficacy of three triazoles in the primary prevention of invasive fungal diseases after hematopoietic stem cell transplantation: a single-center study

ZHANG Ya-zhuo¹, LI Yun-jie², GU Qiu-chen¹, SHI Yu-ye², LIANG Mao-ben¹, WANG Xin-wen^{1*} (1. Department of Pharmacy, 2. Department of Hematology, the Affiliated Huai'an First People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an Jiangsu 223300)

Abstract: Objective To determine the efficacy of fluconazole, voriconazole, and posaconazole in patients with hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) complicated with invasive fungal diseases (IFD). **Methods** A retrospective analysis was conducted on 94 patients who underwent HSCT and received fungal prophylaxis with three triazoles at our hospital from January 2020 to December 2023. The host factors, length of hospital day, IFD risk classification and efficacy outcomes of auto-HSCT and allo-HSCT patients between empirical and diagnostic-driven treatment groups were compared. The differences in indicators such as the incidence of IFD, adverse drug reactions, and 180 d mortality rates among auto-HSCT and allo-HSCT patients in the fluconazole, voriconazole, and posaconazole groups were analyzed. Moreover, a multifactorial Logistic regression analysis of allo-HSCT efficacy was performed. **Results** The average length of hospitalization days in the diagnosis-driven therapy group was longer than that in the empiric therapy group ($P = 0.007$), but there were no significant differences in the risk classification and outcome indicators between both groups ($P = 0.659, 0.521$). The adverse reaction rate of the fluconazole group was

基金项目: 淮安市卫生健康科研项目 (No. HAWJ202109)。

作者简介: 张雅卓, 女, 硕士研究生, 主要从事临床药学 (血液方向) 研究, email: yazhuozhang96@163.com * **通信作者:** 王昕雯, 女, 主任药师, 主要从事医院药学研究, email: Hasyyyjk@163.com

56.52%, higher than that of the posaconazole group (28.57%, $P = 0.044$) and the voriconazole group (30.23%, $P = 0.037$). Multifactorial analysis showed that the presence/absence of anti thymocyte globulin in the pretreatment was correlated with allo-HSCT efficacy ($P < 0.05$). **Conclusion** Initiation of diagnostic-driven therapy in low-risk IFD patients can expect similar outcomes and prognosis as using empiric therapy in high-risk patients. Posaconazole and voriconazole do not affect the incidence of IFD or survival of patients after HSCT compared with that of the fluconazole group, besides further reducing patient's drug-related adverse reactions. Pretreatment regimen is correlated with the efficacy of allo-HSCT.

Key words: hematopoietic stem cell transplantation; invasive fungal disease; diagnosis-driven therapy; primary prophylaxis

造血干细胞移植 (HSCT) 主要分异体移植 (allo-HSCT) 和自体移植 (auto-HSCT), 作为治愈多种血液病/恶性肿瘤患者的有效选择之一, 目前在临床的应用与日俱增。侵袭性真菌病 (IFD) 是 HSCT 后的常见严重并发症, 系指真菌侵入人体, 在组织、器官或血液中生长、繁殖并导致炎症反应及组织损伤的感染性疾病^[1]。国内的一项多中心、前瞻性流行病学研究表明, 在接受 HSCT 患者中, 有 7.7% 为确诊和临床诊断 IFD, 19.0% 为拟诊 IFD。在移植 1 个月内, auto-HSCT 和 allo-HSCT 的 IFD 发生率类似, 但在移植半年后, allo-HSCT 的 IFD 累积发生率显著增加^[2]。近年来, 随着靶向药物的普及、真菌流行病学的变迁、耐药菌的增加, 患者行 HSCT 后 IFD 的风险或将进一步提高。IFD 不仅会延长病程、增加患者的总体治疗费用, 也是引起血液病/恶性肿瘤患者治疗相关死亡的重要因素^[3]。IFD 的临床症状多不典型、早期诊断时机和标准较难统一, 存在漏诊或误诊的可能, 因此针对 IFD 的一级预防和启动诊断驱动治疗的时机, 对于减少血液病/恶性肿瘤患者相关经济负担和不良预后相当重要。本研究通过回顾性分析, 对比氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑在 HSCT 后 IFD 中的疗效和安全性差异。

1 研究对象

通过 HIS 系统和 PASS 合理用药系统, 收集 2020 年 1 月至 2023 年 12 月在我院血液科行 HSCT 的 143 例血液病/恶性肿瘤患者的相关数据, 包括 ① 患者基本信息: 年龄、性别和临床诊断; ② 药品: 预防用药、预处理用药; ③ 疗效: 粒细胞缺乏情况、住院时间、IFD 风险分级和结局、是否发生不良反应; ④ 检查: 微生物、影像学和其检查结果。

真菌感染观察期为 HSCT 后 180 d, 随访时间截至 2024 年 6 月。本研究获南京医科大学附属淮安第一医院医学伦理委员会审批通过 (医学伦理审第 KY-2024-213-01)。

2 方法与结果

2.1 纳入与排除标准

纳入标准: ① 2020 年 1 月至 2023 年 12 月于我院行 HSCT 且进行真菌预防患者; ② 年龄、性

别、血液病相关病种不限; ③ 患者 HSCT 前进行疾病状态评估, 移植、用药过程中监测三系指标和肝肾功能指标 ≥ 2 次。

排除标准: ① 移植时有活动性真菌感染的患者, 以区别于二级预防^[4]; ② HSCT 后接受三唑类 (氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑) 以外药物预防 IFD 的患者; ③ 临床资料严重不全者。

2.2 分组情况

诊断分组标准参照《血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则 (第六次修订版)》^[1], 其中预防用药起点: 经验治疗组为持续粒细胞缺乏伴发热, 且广谱抗菌药物用药时间 ≥ 4 d; 诊断驱动治疗组则依据特征性临床症状、影像学 and GM (Glactomannan) /G 试验等微生物学检查。目标治疗组包括临床诊断或确诊 IFD 患者, 由于感染病原菌较为明确, 可根据真菌种类、药物抗菌谱及患者具体情况选择用药。

2.3 观察指标

主要观察指标为 HSCT 后经验治疗组和诊断驱动治疗组间 IFD 风险分级、结局指标, 各预防用药组间的 IFD 发生率、药物相关不良反应和 180 d 死亡率; 次要观察指标为 HSCT 后经验治疗组和诊断驱动治疗组间的宿主因素 (年龄和粒细胞缺乏时间)、住院天数以及 allo-HSCT 前患者的疾病状态和预处理方案。

2.4 IFD 风险分级与结局评定

HSCT 后 IFD 的风险分级, 参考第五届欧洲白血病感染会议指南, 主要分为高危和中低危两种^[5]。依据《血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则 (第六次修订版)》, IFD 治疗效果分为有效 (完全缓解、部分缓解) 和无效 (稳定、进展和死亡)。

2.5 allo-HSCT 前预处理方案

参照国际血液与骨髓移植研究中心 (CIBMTR) 标准^[6] 和中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识 (2014 版), allo-HSCT 的预处理方案主要分为清髓性方案 (MAC)、非清髓性方案 (NMAC) 和减低强度预处理方案 (RIC) 方案^[7]。

2.6 统计分析

应用 SPSS 27.0 软件进行分析, 计数资料采用例数和百分数。分类变量分析采用卡方检验或 Fisher 精确检验; 多个样本均数比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 分组情况

为进行药品安全性评价, 根据一级预防用药品种进行分组, 如表 1 所示。

表 1 一般资料

Tab 1 General information

变量		总计	治疗分组			预防用药分组		
			经验治疗 (<i>n</i> = 48)	诊断驱动治疗 (<i>n</i> = 36)	目标治疗 (<i>n</i> = 10)	氟康唑 (<i>n</i> = 23)	伏立康唑 (<i>n</i> = 43)	泊沙康唑 (<i>n</i> = 28)
年龄 / 岁		42.22 ± 17.94	40.65 ± 17.43	41.15 ± 18.12	56.00 ± 10.77	41.52 ± 20.56	44.57 ± 17.46	41.09 ± 17.04
性别 [<i>n</i> (%)]	男	53 (56.38)	22 (45.83)	25 (69.44)	6 (60.00)	15 (65.22)	22 (51.16)	16 (57.14)
	女	41 (43.62)	26 (54.17)	11 (30.56)	4 (40.00)	8 (34.78)	21 (48.84)	12 (42.86)
移植类型 [<i>n</i> (%)]	auto-HSCT	37 (39.36)	18 (37.50)	15 (41.67)	4 (40.00)	15 (65.22)	17 (39.53)	5 (17.86)
	allo-HSCT	57 (60.64)	30 (62.50)	21 (58.33)	6 (60.00)	8 (34.78)	26 (60.47)	23 (82.14)

3.2 患者因素

经验治疗组和诊断驱动治疗组中患者的宿主因素(粒细胞缺乏 > 7 d 占比、年龄)在 auto-HSCT 和 allo-HSCT 间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 诊断驱动治疗组的住院时间比经验治疗组长 ($P = 0.007$), 且在 auto-HSCT 和 allo-HSCT 间差异均有统计学意义 ($P = 0.034, 0.029$)(见表 2)。

表 2 经验治疗组和诊断驱动治疗组宿主因素和住院天数比较结果
Tab 2 Host factors and hospitalization days in the empirical and diagnosis-driven treatment groups

组别	粒细胞缺乏 > 7 d 占比 [<i>n</i> (%)]	年龄 / 岁	住院天数 / d
经验治疗组 (<i>n</i> = 48)	41 (85.42)	40.65 ± 17.43	39.38 ± 9.16
auto-HSCT	12	49.67 ± 11.06	32.17 ± 4.67
allo-HSCT	29	34.23 ± 19.2	44.40 ± 9.54
诊断驱动治疗组 (<i>n</i> = 36)	32 (88.89)	41.15 ± 18.12	47.14 ± 16.44
auto-HSCT	13	48.73 ± 15.44	39.00 ± 10.72
allo-HSCT	19	35.71 ± 20.76	52.95 ± 17.54
<i>P</i> 值	0.641	0.882	0.007

3.3 HSCT 后 IFD 的风险分级

经验治疗组中 IFD 高危患者占比略大于 IFD 中低危患者, 而诊断驱动治疗组中的结果相反, 但两者差异均无统计学意义 ($P = 0.659$); allo-HSCT 组高危患者和 auto-HSCT 组中低危患者多行经验治疗, 如表 3 所示。

表 3 经验治疗组和诊断驱动治疗组 IFD 风险分级结果
Tab 3 IFD risk classification in the empirical and diagnosis-driven treatment groups

组别	高危 [<i>n</i> (%)]	中低危 [<i>n</i> (%)]
经验治疗组 (<i>n</i> = 48)	25 (52.08)	23 (47.92)
auto-HSCT	2	16
allo-HSCT	23	7
诊断驱动治疗组 (<i>n</i> = 36)	17 (47.22)	19 (52.78)
auto-HSCT	4	11
allo-HSCT	13	8
<i>P</i> 值	0.659	

3.4 一级预防后 IFD 发生情况

HSCT 后 180 d 内泊沙康唑组的 IFD 发生率(拟诊+临床诊断+确诊)最高为 28.57%, 氟康唑组次之(21.74%), 伏立康唑组最低(20.93%), 各预防用药组间差异均无统计学意义。相较于 auto-HSCT 组, allo-HSCT 组较少使用氟康唑进行一级预防, 如表 4 所示。

表 4 造血干细胞移植后 180 d 内各预防用药组的 IFD 发生率
Tab 4 Incidence of adverse reactions in each prophylactic medicine group within 180 d after HSCT

用药品种	auto-HSCT	allo-HSCT	总计 [<i>n</i> (%)]	<i>P</i> 值
氟康唑 (<i>n</i> = 23)	5	0	5 (21.74)	
泊沙康唑 (<i>n</i> = 28)	3	5	8 (28.57)	0.577
伏立康唑 (<i>n</i> = 43)	4	5	9 (20.93)	0.939

3.5 药品不良反应

美国卫生及公共服务部发布的常见不良事件评价标准(CTCAE 5.0 版)中, 根据严重程度分为 1 级至 5 级。预防用药组中泊沙康唑组和伏立康唑组的不良反应发生率均低于氟康唑组 ($P = 0.044, 0.037$), 但均无危及生命的严重不良反应(4 级和 5 级), 主要不良反应包括胃肠道反应、肝功能异常(谷丙转氨酶、谷草转氨酶升高)、皮疹、精神异常等, 如表 5 所示。

3.6 结局指标

两组患者的结局指标中, auto-HSCT 组有效占比高于无效, allo-HSCT 组相反, 但总体上有效和无效间差异无统计学意义 ($P = 0.521$, 见表 6)。

3.7 多因素回归分析

Logistics 回归分析结果显示, 无抗胸腺细胞球蛋白(ATG)的预处理方案, 是影响 allo-HSCT 疗效的独立危险因素 ($P = 0.001$), 如表 7 所示。

3.8 临床特征

微生物学检查、影像学表现和其他检查结果, 数量及其阳性占比如表 8 所示。

4 讨论

表 5 造血干细胞移植后 180 d 内各预防用药组的不良反应发生率

Tab 5 Adverse reactions rate in each prophylactic drug group within 180 d after HSCT

用药品种		不良反应例数					总计 [n (%)]	P 值
		1 级	2 级	3 级	4 级	5 级		
氟康唑 (n = 23)	auto-HSCT	2	6	0	0	0	8 (53.33)	0.044
	allo-HSCT	0	4	1	0	0	5 (62.50)	
泊沙康唑 (n = 28)	auto-HSCT	0	3	0	0	0	3 (60.00)	
	allo-HSCT	0	5	0	0	0	5 (21.74)	
伏立康唑 (n = 43)	auto-HSCT	1	2	1	0	0	4 (23.53)	0.037
	allo-HSCT	1	6	2	0	0	9 (34.62)	

表 6 经验治疗组和诊断驱动治疗组结局指标结果

Tab 6 Outcome metrics for the empiric and diagnosis-driven treatment groups

组别		有效 (n = 35)	无效 (n = 49)
经验治疗组 (n = 48)	auto-HSCT (n = 18)	11	7
	allo-HSCT (n = 30)	8	22
诊断驱动治疗组 (n = 36)	auto-HSCT (n = 15)	8	7
	allo-HSCT (n = 21)	8	13

表 7 allo-HSCT 疗效的多因素 Logistics 回归分析

Tab 7 Multifactorial Logistics regression analysis of allo-HSCT efficacy

因素		β	SE	Wald	P 值	OR	95%CI
疾病状态	进展 vs 缓解	-0.452	0.571	0.629	0.428	0.636	(0.208, 1.946)
预处理方案	有 ATG vs 无 ATG	2.241	0.683	10.758	0.001	9.404	(2.464, 35.887)
	MAC 方案 vs RIC 方案	-0.987	0.879	1.261	0.261	0.373	(0.066, 2.087)
	其他方案 vs RIC 方案	-0.386	0.705	0.300	0.584	0.680	(0.171, 2.705)

表 8 临床检查结果

Tab 8 Clinical results

检查项目	结果 [n (%)]
微生物学检查 (n = 165)	32 (19.39)
影像 (n = 37)	32 (86.49)
其他 (n = 3)	3 (100.00)

服混悬液的效果易受胃肠吸收及相互作用的影响^[12]。近年来,流行病学表明,由于唑类药物以及靶向药物的广泛使用,白色念珠菌的发病率相对降低,曲霉菌、接合菌和镰刀菌的发病率相对提高^[13]。

allo-HSCT 患者接受真菌一级或二级预防后突破性 IFD 的发生率为 0.4% ~ 3.6%^[14],且早期存在独特的双峰模式,分别是造血重建前(移植后 30 d 内)和造血重建后(移植后 2 ~ 3 个月),主要病原菌为曲霉菌和白色念珠菌^[15]。然而近年无关供者、半相合移植等持续开展,IFD 发生率随着移植抗宿主疾病(GVHD)的发生率而逐渐上升,在移植 100 d 后出现第 3 个高峰^[16]。因此为避免药物未覆盖到突破菌,相较于 auto-HSCT,本研究中 allo-HSCT 患者的 IFD 一级预防较少使用氟康唑,多首选伏立康唑或泊沙康唑。

血液病合并 IFD 的患者通常由于免疫屏障,早期的胸部 CT 以非特征性表现为主,而特征性胸部 CT 改变是 IFD 的晚期标志^[17],其中曲霉在肺部的特征性改变包括出现伴或不伴晕征的致密边界清楚

血液病/恶性肿瘤患者在治疗过程中由于放化疗、HSCT、免疫抑制剂和糖皮质激素的使用等原因而成为 IFD 的易感人群^[8]。三唑类、多烯类和棘白菌素类均可用于预防和治疗 IFD。氟康唑作为预防侵袭性念珠菌病的经典药物,可能存在耐药,且对曲霉菌缺乏活性^[9]。伏立康唑的敏感菌群包括念珠菌、曲霉菌和镰刀菌,但对接合菌无效^[10]。泊沙康唑对曲霉菌、接合菌、念珠菌和隐球菌均有效^[11],但其口

病变、楔型和节段性大叶性实变、结节或实变病灶中出现新月征和空洞形^[18],播散性念珠菌在肝脏中的感染症状则可能表现为“牛眼征”^[19]。

微生物学直接检查为 IFD 诊断的金标准,真菌敏感性试验和病原鉴定是 IFD 诊断和治疗的关键^[20],但 G/GM 试验、体液/组织培养等的阳性率和可及性不如意,使得 IFD 诊断面临多种挑战。HSCT 后 IFD 的高危风险因素包括铁超载、早期或复发性巨细胞病毒感染、急性移植抗宿主疾病(aGVHD)、移植延迟(中性粒细胞减少超过 3 周)、大剂量皮质类固醇(2 mg · kg⁻¹或以上)超过 1 周^[21]。IFD 高危、粒细胞缺乏伴发热的患者,在 4 ~ 7 d 广谱抗菌药物使用无效后,结合微生物学检查,通常会经验性预防真菌。相较于诊断驱动治疗,经验治疗的启用标准简单,在一定程度上降低了血液病合并 IFD 的发生率和可归因死亡率^[22]。对于低风险患者,结合微生物检查和影像学结果进行诊断驱动治疗,能够减少不必要的真菌治疗暴露和药品不良反应,并减轻患者的经济负担。

本研究对比分析行 HSCT 后的血液病患者使用氟康唑、伏立康唑和泊沙康唑一级预防 IFD 的作用,结果发现三种药物在整体人群中差异无显著性,与 Tang 等^[23]的研究一致。预防用药组的不良反应分级结果中均无危及生命的严重不良反应(4/5 级),但伏立康唑作为侵袭性肺曲霉病(IPA)的首

选药物^[24], 存在患者因幻视、精神异常等不良反应而停药或换药的情况, 以上表明, 相较于伏立康唑, 患者对泊沙康唑组的耐受性更高, 与 Phillips 等^[25]的研究结果一致。此外, 在特殊人群用药方面, IFD 高风险和肝肾功能较差的患者也更推荐使用泊沙康唑^[26]。最后, 该研究局限于单中心回顾性研究且样本数量有限, 并缺乏完整的血药浓度的数据。因此, 需要更多多中心、前瞻性临床对比研究来完善相关循证学依据, 为进一步优化 HSCT 合并 IFD 的诊断和治疗提供更加合理的建议和指导。

参考文献

- [1] 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(10): 754-763.
- [2] Sun YQ, Meng FY, Han MZ, et al. Epidemiology, management, and outcome of invasive fungal disease in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation in China: a multicenter prospective observational study [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2015, 21(6): 1117-1126.
- [3] 张潇予, 张荣莉. 异基因造血干细胞移植后患者预防性抗真菌治疗的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志, 2015, 38(1): 42-44.
- [4] 刘明娟, 黄文荣, 于力. 恶性血液病患者中侵袭性真菌病的二级预防[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(2): 596-600.
- [5] Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ, et al. European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on infections in leukaemia [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(12): 3221-3230.
- [6] Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all [J]. Blood, 2014, 124(3): 344-353.
- [7] 中华医学会血液学分会干细胞应用学组. 中国异基因造血干细胞移植治疗血液系统疾病专家共识(Ⅰ)——适应证、预处理方案及供者选择(2014年版)[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(8): 775-780.
- [8] Sheikhabaei S, Mohammadi A, Sherkat R, et al. Invasive fungal infection in febrile patients with hematologic malignancies undergoing chemotherapy in Iran [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2019, 19(3): 302-307.
- [9] Su HC, Hua YM, Feng IJ, et al. Comparative effectiveness of antifungal agents in patients with hematopoietic stem cell transplantation: a systematic review and network meta-analysis [J]. Infect Drug Resist, 2019, 15(12): 1311-1324.
- [10] El-Ghazzam AMS, El-Zimaity M, Elafifi AM, et al. Effectiveness and cost-effectiveness of prophylactic voriconazole and fluconazole regarding prevention of post-hematopoietic stem cell transplantation invasive fungal infection and its related death: a single center experience [J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2020, 36(4): 680-689.
- [11] Chen L, Krekels EHJ, Verweij PE, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of posaconazole [J]. Drugs, 2020, 80(7): 671-695.
- [12] 屈若尘, 于静, 王子阳, 等. 泊沙康唑联用 PPI 对恶性血液病患者血药浓度和侵袭性真菌感染的影响 [J]. 中国药房, 2023, 34(10): 1237-1241.
- [13] Linke C, Ehlert K, Ahlmann M, et al. Epidemiology, utilisation of healthcare resources and outcome of invasive fungal diseases following paediatric allogeneic haematopoietic stem cell transplantation [J]. Mycoses, 2020, 63(2): 172-180.
- [14] Lionakis MS, Lewis RE, Kontoyiannis DP. Breakthrough invasive mold infections in the hematology patient: current concepts and future directions [J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(10): 1621-1630.
- [15] 薛慧, 冯术青, 李雪敏, 等. 米卡芬净与氟康唑预防造血干细胞移植真菌感染的临床对比观察 [J]. 天津医药, 2019, 47(6): 650-653.
- [16] 陆静峰, 王椿. 异基因造血干细胞移植患者侵袭性真菌病的诊治进展 [J]. 中国感染与化疗杂志, 2008, 8(3): 195-199.
- [17] 苏佩珣, 李勇华. 血液病合并侵袭性真菌病患者进行伏立康唑诊断驱动治疗的价值 [J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(4): 1272-1276.
- [18] Stanzani M, Sassi C, Lewis R, et al. Early low-dose computed tomography with pulmonary angiography to improve the early diagnosis of invasive mould disease in patients with haematological malignancies: a pilot study [J]. J Infect, 2021, 83(3): 371-380.
- [19] 包云飞, 翁卿吉, 胡苗苗, 等. 血液病免疫抑制治疗后播散性白色念珠菌感染的 CT 表现 [J]. 医学影像学杂志, 2019, 29(5): 808-810, 813.
- [20] Colombo AL, de Almeida Júnior JN, Slavin MA, et al. Candida and invasive mould diseases in non-neutropenic critically ill patients and patients with haematological cancer [J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(11): e344-e356.
- [21] Maertens JA, Girmenia C, Brüggemann RJ, et al. European guidelines for primary antifungal prophylaxis in adult haematology patients: summary of the updated recommendations from the European Conference on infections in leukaemia [J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(12): 3221-3230.
- [22] Pagano L, Caira M, Nosari A, et al. The use and efficacy of empirical versus pre-emptive therapy in the management of fungal infections: the HEMA e-chart project [J]. Haematologica, 2011, 96(9): 1366-1370.
- [23] Tang L, Yang XF, Qiao M, et al. Posaconazole vs. voriconazole in the prevention of invasive fungal diseases in patients with haematological malignancies: a retrospective study [J]. J Mycol Med, 2018, 28(2): 379-383.
- [24] 韩欢欢. 伏立康唑与两性霉素 B 联合治疗侵袭性肺曲霉病研究进展 [J]. 中南药学, 2020, 18(7): 1206-1209.
- [25] Phillips K, Cirrone F, Ahuja T, et al. Posaconazole versus voriconazole as antifungal prophylaxis during induction therapy for acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome [J]. J Oncol Pharm Pract, 2019, 25(2): 398-403.
- [26] 彭英楠, 边志磊, 曹伟杰, 等. 泊沙康唑与伏立康唑预防异基因造血干细胞移植后侵袭性真菌感染的疗效和安全性 [J]. 实用医学杂志, 2023, 39(6): 742-746.

(收稿日期: 2025-01-05; 修回日期: 2025-03-28)

药事管理

药物临床试验现场核查常见问题分析及建议

喻亮宇, 管志美, 李璟兮, 张思维, 扈麟* (湖南省药品审核查验中心, 长沙 410001)

摘要: **目的** 为完善药物临床试验注册核查工作提供参考。**方法** 统计 2024 年湖南省药品审核查验中心完成药品注册联合核查任务(生物等效性试验、新药临床试验)中临床试验机构的有关情况,梳理现场核查过程中存在的问题,分析原因并给出建议。**结果** 完成对临床试验机构核查任务 39 个,发现问题 246 个,存在问题集中在临床试验数据记录和报告、安全性信息处理与报告、受试者筛选入组及方案执行这几个方面。**结论** 建议临床试验机构加强人才培养,完善质量管理体系建设,利用信息化系统实现管理增效和数据互通;建议监管部门做好检查员的管理,探索同级核查部门跨区域联合检查、交叉检查的工作模式,强化检查员自身能力建设。

关键词: 药物临床试验;注册核查;问题分析;建议

中图分类号: R95, R969.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3050-04

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.038

Common problems in on-site inspection of drug clinical trials

YU Liang-yu, GUAN Zhi-mei, LI Jing-xi, ZHANG Si-wei, HU Lin* (Hunan Drug Inspection Center, Changsha 410001)

Abstract: **Objective** To provide reference for improving the inspection of drug registration in drug clinical trials. **Methods** We summarized the relevant situation of clinical trial institutions joint verification of drug registration (Bioequivalence trial and clinical trial of new drugs) completed by Hunan Drug Inspection Center in 2024, sorted out the problems with on-site inspection, analyzed causes and provided suggestions. **Results** Totally 39 clinical trial institutions were verified and 246 problems were found, mainly involving clinical trial data collection and reporting, security information processing and reporting, subject screening and protocol implementation. **Conclusion** Clinical trial institutions should strengthen personnel training, improve the quality control system, improve management efficiency and data interoperability in the information system. The supervision department should monitor inspectors, explore the working mode of cross sectional and regional inspection to strengthen the capacity building.

Key words: drug clinical trial; inspection for drug registration; problem analysis; suggestion

药物临床试验是指以药品上市注册为目的,为确定药物安全性与有效性在人体开展的药物研究,分为 I 期、II 期、III 期、IV 期临床试验以及生物等效性试验^[1],是药品上市注册中的关键环节之一。为保证试验数据的真实性、有效性和受试者的安全,国家药品监督管理局启动对药物临床试验的现场检查工作,于 2020 年 7 月 1 日施行《药品注册管理办

法》《药物临床试验质量管理规范》,对试验全过程的质量控制、各相关方的职责要求作出规定。为了细化药品注册核查实施过程中的具体流程、时限、核查关键点及要求,规范药品注册生产现场核查和上市前药品生产质量管理规范检查的衔接工作,国家药品监督管理局食品药品审核查验中心于 2021 年 12 月 20 日发布《药品注册核查工作程序(试行)》

基金项目: 湖南省自然科学基金部门(行业)联合基金(No.2025JJ80159)。

作者简介: 喻亮宇,女,副主任药师,主要从事药品、医疗器械的现场核查研究, email: 759453907@qq.com *通信作者: 扈麟,女,硕士,助理研究员,主要从事药品、医疗器械现场核查研究, email: 249888243@qq.com

《药品注册核查要点与判定原则（药理毒理学研究）（试行）》《药品注册核查要点与判定原则（药物临床试验）（试行）》《药品注册核查要点与判定原则（药学研制和生产现场）（试行）》《药品注册生产现场检查 and 上市前药品生产质量管理规范检查衔接工作程序（试行）》5 个文件。其中《药品注册核查要点与判定原则（药物临床试验）（试行）》对注册核查的目的、范围、临床试验部分现场核查要点（临床试验许可与条件、伦理审查、临床试验实施过程、试验用药品管理、生物样品管理、中心实验室及独立评估机构、临床试验数据采集与管理、委托研究）、生物样品分析部分现场核查要点（生物样品分析条件与合规性、生物样品分析实验的实施、记录的管理）、核查结果判定原则这 5 个方面作出规定^[2]。疫情防控期间，为统筹做好疫情防控和促进医药企业复工复产，根据《国家药监局综合司关于新冠肺炎疫情防控工作期间做好药品注册核查工作的通知》（药监综药注[2020]15 号）的部署，国家药品监督管理局食品药品审核查验中心启动药品注册联合核查相关工作，各省级药品监督管理局协助组织实施核查任务。本文统计了 2024 年湖南省药品审核查验中心完成药品注册联合核查任务（生物等效性试验、新药临床试验）中临床试验机构的有关情况，梳理出在临床试验数据现场核查过程中存在的问题并进行原因分析，为临床试验的开展和监管，以及药品注册联合核查的具体实施提出建议和思考。

1 基本情况

2024 年，完成对临床试验机构的药品注册联合核查任务（生物等效性试验、新药临床试验）39 个，派出核查组 39 个，共 148 人次，核查共计 123 d，发现问题 246 个。其中生物等效性试验完成核查 16 个，现场核查结论均为“建议通过”；新药临床试验完成核查 23 个，现场核查结论：22 个品种为“通过”，1 个品种为“通过，但存在需审评重点关注的问题”[该项为湖南省药品监督管理局（以下简称省局）审核后结论]。核查基本情况详见表 1。

表 1 药品注册联合核查基本情况汇总

Tab 1 Tasks of joint verification of drug registration				
核查项目	核查组数 / 个	核查人次	核查天数 / d	发现问题数 / 个
生物等效性试验	16	54	51	91
新药临床试验	23	94	72	155（主要缺陷 1，一般缺陷 154）

2 缺陷情况

2024 年共 21 家临床试验机构完成临床试验机构核查，各机构接受核查次数情况见图 1，各地区机构核查次数情况见图 2。

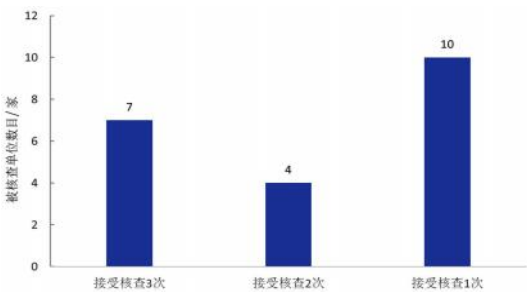


图 1 各机构接受核查次数情况
Fig 1 Number of inspections received by institutions

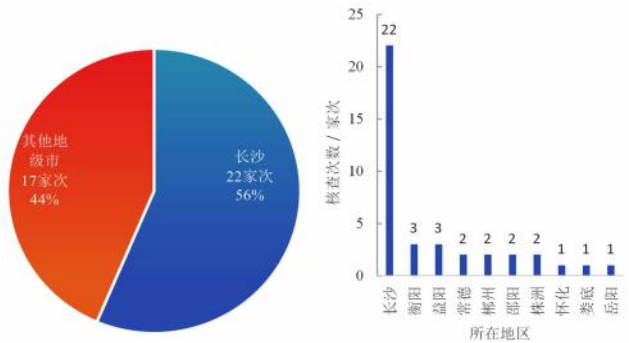


图 2 各地区机构核查次数情况
Fig 2 Number of inspections by regional institutions

将所有发现的问题归属到《药品注册核查要点与判定原则（药物临床试验）（试行）》各个条款，具体情况见表 2。发现问题前三项为临床试验数据记录和报告、安全性信息处理与报告、受试者筛选入组及方案执行。

表 2 问题汇总表（临床试验机构）

Tab 2 Summary of problems (clinical trial institutions)		
涉及条款	发现问题数 / 个	问题占比 / %
临床试验数据记录和报告	58	23.6
安全性信息处理与报告	45	18.3
受试者筛选入组及方案执行	40	16.3
试验用药品管理	28	11.4
临床试验许可与条件	18	7.3
临床试验数据采集与管理	12	4.9
生物样品管理	12	4.9
知情同意书的签署	10	4.1
伦理审查	9	3.7
其他	7	2.8
临床试验数据溯源	5	2.0
中心实验室及独立评估机构	1	0.4
委托研究	1	0.4
总计	246	/

2.1 临床试验数据记录和报告

临床试验数据记录和报告问题主要包括：①不良事件（AE）或严重不良事件（SAE）漏记；②病历报告表漏记或误记；③源文件书写不规范或错误；④数据修改不规范或未注明修改理由；⑤病例报告表、源数据、数据库及申报资料之间数据不一致。

第⑤项问题为本年度出现的唯一一个主要缺陷)。现场核查 4 例受试者相关研究资料,发现 4 例次原始数据与电子数据采集系统(EDC)数据不一致。因涉及一定比例受试者的试验数据不一致,可能损害试验的真实性和可靠性,故省局将核查组判定的该项一般缺陷上升为主要缺陷,现场核查结论由“通过”改为“通过,但存在需审评重点关注的问题”。

2.2 安全性信息处理与报告

安全性信息处理与报告问题主要包括:① AE 或 SAE 与药物相关性判定依据不足;② SAE 上报不及时、报告表填写信息不全或随访不完整;③ 死亡事件未报告或上报不及时;④ 可疑且非预期的严重不良反应及其他安全性报告上报不及时,伦理审查不充分。

2.3 受试者筛选入组及方案执行

受试者筛选入组及方案执行问题主要包括:① 方案偏离漏记;② 合并用药漏记;③ 受试者违反纳入排除标准入组,或未保留足够的支持性证据表明受试者是否符合纳入排除标准。

3 原因分析

3.1 临床试验人才缺乏,人员素质不高

研究者开展药物临床试验的积极性有限,对药物临床试验质量管理规范(GCP)知识培训不够,未充分理解临床试验与常规临床工作的区别,未认识到临床试验的未知性、风险性和复杂性。个别主要研究者(PI)项目太多,难以兼顾,对临床试验投入精力不足,将试验的监督工作完全委托给其他研究人员,造成试验质量失去控制^[3]。而新备案机构研究人员经验不足、缺乏团队合作和风险把控能力^[4],有些仅对临床试验门诊/住院病历、检验报告单等签字,未对知情同意、筛选、随访、质控、AE 报告、病历记录等重要环节深度参与。

3.2 临床试验机构对质量管理未引起足够重视

未配备足够的临床试验质量管理人员,未建立完善的管理制度和标准操作规程,未按照质控计划开展质量检查,对质控中发现的问题,未要求研究或人员进行整改,也未对整改情况进行跟踪^[5]。

3.3 临床试验机构对试验硬件投入有待加强

个别机构受场地、资金、人员等限制,医疗资源一般都优先常规患者使用,导致出现以下情形,如 I 期临床试验病房床位数不足、无专门的抢救室或抢救设施几个科室共用、机构办专职人员过少、中心药房或资料室无相对独立的空间等。

3.4 信息化系统在临床试验中的运用存在漏洞

信息化系统,如医院信息系统(HIS)、实验室信息管理系统(LIS)、医学影像存档与通信系统(PACS),缺乏更新和升级、验证报告不完善、

或未运用到临床试验当中。另外,各机构间信息化系统未互通共享,在现场核查中对于受试者既往病史,在外院就诊的信息往往仅能查看到研究者的问诊记录或受试者提供的外院就诊记录不全,无法溯源。

3.5 GCP 法律法规执行落实不严

现行法律法规存在执行不严格的情况,对违规行为的处罚力度也不够。如:国家药品监督管理局食品药品审核查验中心于 2023 年 11 月 3 日发布的《药物临床试验机构监督检查要点及判定原则(试行)》中规定:研究者具有高级职称,参加过 3 个以上药物临床试验^[6]。该项为关键项目,不符合要求判为严重缺陷。但在检查中发现,部分新备案 PI 参加的临床试验非注册类项目,或与备案专业相关性不够,或未能全程参与且有独立完成临床试验的能力,这就体现了机构对 PI 的资质要求审核不严。而对于这一检查项目的判定,不同的检查组和检查员之间没有统一的认识,就容易造成意见分歧,结论误判的后果。

4 工作建议

4.1 临床试验机构

4.1.1 加强临床试验人才培养 临床试验机构应配备专职人员来管理临床试验;制定并执行严格的 PI 准入制度;积极组织开展培训,内容包括 GCP 及相关法规、体系文件、药物临床试验技术、案例等几个方面^[5]。研究人员应增强对临床试验工作的责任感和法律意识,保障上市药物的安全有效及受试者的权益。

4.1.2 完善质量管理体系建设,试验全程质控管理 第一,应建立能满足临床试验实际工作需要的管理制度、标准操作规程、应急预案等体系文件,使工作做到“有章可循,有据可依”;第二,在试验进行过程中,应不断更新完善体系文件,使质量管理全程全方位、职责清晰易于执行、记录完整及时准确;第三,对于发现的问题,应采取整改、补救措施,问题重大的还要求重新试验、剔除数据、上报相关部门,同时应开展调查分析,及时调整试验方案,防微杜渐。

4.1.3 利用信息化系统,实现管理增效和数据互通

目前已有多家机构实现自主开发或引进试验信息化管理系统与医院 HIS、LIS、PACS 系统等对接,并可在系统中制定质控计划、设置提醒、记录质控问题,质控结束可在系统中填写发现的问题,研究者可在线完成整改和反馈。但涉及多中心的临床试验,尤其是国际多中心,各参与机构往往各自开展试验,缺少交流和协作,可设置信息化交流平台,各机构和研究者可对试验的操作规程、安全性信息更新、质控问题等进行交流^[7]。还可以通过信息化

系统将各机构之间的就诊用药检查等原始数据互通,那么受试者参与试验期间筛选入组、病史、合并用药或治疗等涉及的数据就均可溯源。信息化系统可集成记录、监查、备份功能,为临床研究提供了高质量、高效率的工作工具,将研究者从烦琐的手工记录中解放出来^[8]。

在信息化带来便捷高效管理的同时,也应关注电子记录存在的潜在风险,系统需经过验证,采取访问控制、权限分配、审计追踪、授权更改、电子签名等手段来保证临床试验数据的准确、完整、安全、保密。

4.2 监管部门

4.2.1 做好检查员的管理工作 参与 GCP 核查的检查员来自药监系统相关部门及直属单位(简称系统内检查员)和临床试验机构(简称系统外检查员)。监管部门应根据核查需求建立全职 GCP 核查人员梯队,明确国家药品监督管理局人员及各省局人员在 GCP 核查过程中的构成及职责划分。建立核查人员能力培养体系,保证新聘核查人员的能力达到要求^[9]。系统内检查员偏重于药品监管,临床知识方面较薄弱,建议将专职检查员派往机构对试验设计、临床诊断、伦理审查、数据溯源、医院管理流程、信息化系统开展全方位跟班学习。针对系统内兼职检查员因本职工作繁重,无法安排时间参与检查的问题,建议通过表彰奖励、考核加分、参加培训学习等方式来调动其参加核查的积极性。

2024 年我省药品注册联合核查任务均由系统外检查员担任组长,且每组仅有 1 名系统内检查员,故系统外检查员的业务能力、法律责任意识、工作作风对核查工作尤为重要。省局应协助国家核查中心在专业技能培训、政策法规宣贯、廉政教育等方面做好系统外检查员的管理工作。

监管部门可通过评估核查报告的质量、抽调检查员的响应度、核查期间请假情况等,对检查员的检查水平和履职配合度进行考察。同时应建立更加完善的检查员信息库,明确各检查员的专业特色,根据核查项目中的病例数目和所属专业来合理安排核查人数和时长,根据专业来抽调专业对口的检查员。

4.2.2 同级核查部门开展跨区域联合检查、交叉检查 2024 年我省 GCP 核查任务量较去年增长了 96.8%,核查人次增长了 145.3%,所有现场核查结论均为通过(其中 1 个核查项目现场核查结论为“通过”,经省局审核后改为“通过,但存在需审评重点关注的问题”)。面对任务激增,人员缺乏,核查发现问题总体质量不高,可能存在各机构检查员之间相互关照的风险,建议各省同级核查部门跨区域协作,开展联合检查或交叉检查。

4.2.3 强化检查员自身能力建设 “基于风险”的核查启动模式是监管机构根据当前产业发展实际,加之匹配有限注册核查资源所采取的监管方式。监管力度与风险程度相适宜有利于提高注册核查的针对性和效能^[10]。检查员在核查过程中应不断提高风险识别、风险评估的能力,把握风险点,对于风险防控措施能给出建议。例如对于生物等效性试验临床研究部分而言,临床试验合规性、受试者及管理、试验用药物及管理、生物样本采集及管理是注册核查关键点^[11]。临床试验涉及多学科交叉,检查员除了掌握各项法规、技能和知识外,还应注重培养交流沟通能力,关注医药前沿领域的发展和创新^[12]。

参考文献

- [1] 国家市场监督管理总局. 药品注册管理办法 [EB/OL]. (2020-01-22) [2025-01-02]. https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/fgs/art/2023/art_3275cb2a929d4c34ac-8c0421b2a9c257.html.
- [2] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 药品注册核查要点与判定原则(药物临床试验)(试行) [EB/OL]. (2021-12-20) [2025-01-02]. <https://www.cfdi.org.cn/cfdi/resource/news/14200.html>.
- [3] 王佳楠,钱雪,李见明. 药物临床试验数据核查工作及常见问题分析[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(11): 1273-1276.
- [4] 张娟利,刘美佑,樊婷婷,等. 陕西省药物临床试验机构现状分析[J]. 中南药学, 2024, 22(2): 548-552.
- [5] 高荣,宁靖,王安娜,等. 从药物临床试验数据核查看药物临床试验机构的职责履行情况[J]. 中国新药杂志, 2019, 28(20): 2518-2523.
- [6] 国家药品监督管理局食品药品审核查验中心. 药物临床试验机构监督检查要点及判定原则(试行) [EB/OL]. (2023-11-03) [2025-01-02]. <https://www.cfdi.org.cn/cfdi/resource/news/15689.html>.
- [7] 曹丽亚,郭薇,谢林利,等. 药物临床试验机构对临床试验项目质量控制工作的实践与思考[J]. 中国药师, 2020, 23(4): 713-715.
- [8] 陈元璐,谢朋飞,崔宏娣,等. 药物早期临床试验信息化建设应用与实践[J]. 中南药学, 2023, 21(9): 2519-2524.
- [9] 中国外商投资企业协会药品研制和开发行业委员会,中国药学会药物临床评价研究专业委员会,北京大学亚太经合组织监管科学卓越中心,等. 改善中国临床研究监管体系的几点建议[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(11): 1217-1224.
- [10] 何辉,刘艺迪,周刚. 监管科学视角下基于风险启动药品注册临床试验现场核查的新思考[J]. 中国新药杂志, 2024, 33(8): 756-760.
- [11] 张正付,秦婷,李萌. 生物等效性试验的重要环节和注册核查关键点[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(18): 2943-2946.
- [12] 吴方,于倩,王康冉,等. 欧盟临床检查员职业化制度的经验与启示[J]. 中国新药与临床杂志, 2020, 39(7): 406-410.

(收稿日期: 2025-01-10; 修回日期: 2025-03-05)

药品集中带量采购政策对某院降脂药物使用的影响分析

王思斯, 邓晟, 刘韶* (中南大学湘雅医院药学部, 长沙 410008)

摘要: 目的 分析国家实行药品集中带量采购 (简称集采) 政策对某大型公立三级医院降脂药物临床使用的影响。**方法** 通过医院信息系统调取某院 2018 年 12 月至 2021 年 12 月每月他汀类、降脂中成药、胆固醇吸收抑制剂、PCSK9 抑制剂、普罗布考、烟酸类和贝特类七类降脂药物的采购金额、采购数量。通过间断时间序列模型分析某院降脂药物集采执行前后临床使用行为的变化。采用“A.M.”指数体系对他汀类药物的费用情况进行因素分析。**结果** 降脂药物采购金额在集采执行后呈下降趋势 ($\beta_1 + \beta_3 = -12\,985.11$, $P > 0.1$), 2019 年降脂药物采购金额为 2148.62 万元, 2020 年为 928.99 万元, 2021 年为 899.05 万元, 降幅达 56.76% 和 58.16%。贝特类、PCSK9 抑制剂和降脂中成药的采购金额呈上涨趋势, 他汀类、胆固醇吸收抑制剂的采购金额明显下降。通过“A.M.”指数体系对某院他汀类药物的费用情况进行分析, 他汀类药物的药品费用指数及价格指数在集采执行后明显下降, 用药结构指数在集采执行后大部分时间仍在 1 以上, 提示高价他汀类药品的使用比例较高。阿托伐他汀钙和瑞舒伐他汀钙在集采执行后月度用药频度 (DDD_s) 无明显变化, 辛伐他汀和匹伐他汀 DDD_s 值明显下降, 未进入集采的普伐他汀用量无明显变化, 院内他汀类药物总 DDD_s 值在集采执行后未明显上升 ($\beta_2 = -81\,811.32$, $P < 0.05$, $\beta_1 + \beta_3 = 2115.64$)。**结论** 实施集采政策后, 降脂药物的医疗费用确有降低, 但并未出现“价低量升”的线性关系, 未进入集采的其他降脂药物的用量在集采执行后反而有上升趋势。结合患者调查问卷结果, 推测可能与患者及临床医师对于集采药品的疗效存在疑虑, 对集采药品接受度不高有关。医疗机构应安排集采管理专项小组, 联合院内药学、临床、信息等多部门, 实现集采数据的实时可视化, 及时发现集采执行过程中非中选同类药品用量异常增多、集采中选药品完成进度严重滞后等情况。

关键词: 集中带量采购; 降脂药物; 间断时间序列分析; “A.M.”指数体系因素分析法

中图分类号: R95

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3054-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.039

Impact of the National Centralized Drug Procurement Policy on clinical use of cholesterol-lowering drugs in a tertiary hospital

WANG Si-si, DENG Sheng, LIU Shao* (Department of Pharmacy, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008)

Abstract: Objective To determine the impact of the National Centralized Drug Procurement (NCDP) Policy on the clinic use of cholesterol-lowering drug in a tertiary hospital. **Methods** Relevant data of seven types of cholesterol-lowering drugs were retrieved from the hospital's information system between December 2018 and December 2021. An interrupted time series model was used to analyze the changes in clinical drug use patterns before and after the implementation of NCDP. The “A.M.” index system was applied to assess the cost factors for statin drugs. **Results** After the implementation of NCDP Policy, the purchase amount of cholesterol-lowering drug decreased significantly ($\beta_1 + \beta_3 = -12\,985.11$, $P > 0.1$). From 21.4862 million yuan in 2019 to 9.2899 million yuan in 2020, and then to 8.9905 million yuan in 2021, with a decrease of 56.76% and 58.16%, respectively. The purchase amount of Chinese patent medicine, fibrates and PCSK9 inhibitors increased a little, meanwhile the purchase amount of statin and cholesterol absorption inhibitors decreased. Analysis using the A.M. index system revealed a significant decrease in the cost and price indices of statins following centralized procurement. The prescribing

基金项目: 湖南省自然科学基金 (No.2023JJ60515)。

作者简介: 王思斯, 女, 主管药师, 主要从事药事管理研究, email: cpuwangsisi2022@163.com *通信作者: 刘韶, 男, 主任药师, 博士研究生导师, 主要从事药事管理、天然药物研究和开发, email: liushao999@csu.edu.cn

structure index remained above 1 for most of the period, indicating a continued high proportion of high-cost statins. The monthly defined drug dose numbers (DDD_s) of atorvastatin and rosuvastatin showed no significant change, while those of simvastatin and pitavastatin declined markedly. The usage of pravastatin, which was not included in the procurement, remained stable. However, the DDD_s of statin didn't increase apparently ($\beta_2 = -81\,811.32, P < 0.05, \beta_1 + \beta_3 = 2115.64$). **Conclusion** NCDP Policy successfully reduces the cost of cholesterol-lowering drugs, reduces the burden on patients and facilitated the rational clinical drug use. However, there is no linear relationship between low price and more purchase. It is probably related to the doubts of patients and clinical physicians about the efficacy of centrally procured drugs. The medical insurance department and medical institutions should set up a special group to strengthen supervision. Multiple departments such as pharmacy, clinical, and information ought to make joint efforts to achieve real-time visualization of data of centralized procurement, to timely discover abnormal increases in the use of drugs failing to enter the procurement catalogue.

Key words: National Centralized Drug Procurement Policy; cholesterol-lowering drug; interrupted time series analysis; A. M. index analysis system

2019 年 1 月, 国务院办公厅关于印发《国家组织药品集中采购和使用试点方案》的通知中提出在通过质量和疗效一致性评价的仿制药对应的通用名药品中遴选试点品种, 带量采购, 以量换价, 降低人民群众的医疗负担, 促进公立医疗机构健康发展^[1]。2019 年 12 月 17 日, 湖南省医疗保障局发布《关于落实国家药品集中采购和使用试点医保配套措施的通知》^[2], 在湖南省开始执行第一批国家集中带量采购(简称集采)。

近年来, 随着人民群众生活质量的不断提高, 高脂血症的发病率逐年上升^[3], 血脂异常是动脉粥样硬化性心血管疾病的发生、发展以及恶化的重要原因^[4], 因此临床对于降脂药物的需求日益增长。瑞舒伐他汀、阿托伐他汀、辛伐他汀、匹伐他汀等多个他汀类降脂药物进入集采。本文采取间断时间序列法^[5]分析 2018 年 12 月至 2021 年 12 月期间每个月某三级公立医院他汀类、贝特类、烟酸类、普罗布考、PCSK9 抑制剂、胆固醇吸收抑制剂、降脂中成药七类降脂药物集采执行前后采购金额及总采购金额的变化趋势, 探究集采政策的实施对某院降脂药物采购金额的影响。院内用在他汀类降脂药物包括辛伐他汀、瑞舒伐他汀、阿托伐他汀、匹伐他汀、氟伐他汀、普伐他汀, 本研究运用“A.M.”指数体系因素分析法^[6]研究集采政策对 6 种他汀类药物的价格、用量和用药结构的影响。同时采取间断时间序列法分析集采执行前后 6 种他汀类降脂药的月度用药频度(defined drug dose numbers, DDD_s)值^[7]的变化趋势, 研究集采实施前后医院使用他汀类药物的行为变化。综合以上数据, 探讨集采政策的实施对临床降脂药物用药的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究选取的是某三级公立医院院内七类降脂药物, 分别为他汀类、贝特类、烟酸类、普罗布考、PCSK9 抑制剂、胆固醇吸收抑制剂、中成药类, 具体药品名称见表 1。

表 1 某院降脂药物情况概述

Tab 1 Lipid-lowering drugs in a certain hospital

药品类别	药品通用名	进入集采时间	集采批次
他汀类	辛伐他汀片	2020 年 05 月	国家第二批集采
	匹伐他汀钙片	2020 年 11 月	国家第三批集采
	氟伐他汀胶囊	未进入集采	
	瑞舒伐他汀钙片	2019 年 12 月	国家第一批集采
	阿托伐他汀钙片	2019 年 12 月	国家第一批集采
	普伐他汀钠片	未进入集采	
烟酸类	阿昔莫司胶囊	未进入集采	
	阿昔莫司分散片	未进入集采	
	普罗布考片	未进入集采	
贝特类	苯扎贝特片	未进入集采	
	非诺贝特缓释胶囊	未进入集采	
	非诺贝特胶囊	未进入集采	
	非诺贝特片	未进入集采	
胆固醇吸收抑制剂	海博麦布片	未进入集采	
	依折麦布片	2022 年 11 月	国家第七批集采
PCSK9 抑制剂	依洛尤单抗注射液	未进入集采	
	阿利西尤单抗注射液	未进入集采	
中成药类	血脂康胶囊	未进入集采	
	脂必泰胶囊	未进入集采	
	脂必妥胶囊	未进入集采	

1.2 数据来源

本研究中所有数据均来源于医院信息系统(HIS), 数据采集时段为 2018 年 12 月至 2021 年 12 月。提取降脂药物的使用情况, 包括七类降脂药物的药品单价、采购量、采购金额和他汀类药物的月度使用量等数据。

1.3 研究方法

1.3.1 间断时间序列分析 (interrupted time series analysis, ITS) 以 2018 年 12 月至 2021 年 12 月每月院内降脂药物的采购金额为因变量 Y , 湖南省实施第一批集采的时间 2019 年 12 月作为 ITS 的干预时间点, 分析在集采政策落地实施前后, 样本医院采购降脂药物总金额的变化趋势。模型如下:

$$Y_t = \beta_0 + \beta_1 T_1 + \beta_2 T_2 + \beta_3 T_3 + \varepsilon_t$$

其中 Y_t 代表因变量, 即院内七类降脂药物每月采购总金额; β_0 代表初始水平估计值; β_1 代表集采执行前的降脂药物采购总金额的变化趋势, 即其斜率; β_2 表示干预点的瞬间变量的变化, 即集采后降脂药物采购总金额瞬间水平的变化; $\beta_1 + \beta_3$ 表示政策执行后降脂药物采购总金额的变化趋势, 即其斜率。

T_1 为从 0 开始到 T 月份的连续时间变量, $T_1 = 0, 1, 2, \dots, 36$, T_1 为 0 时即 2018 年 12 月, T_1 为 36 时即 2021 年 12 月。干预时点前有 12 个月, 干预时点后有 24 个月。 T_2 为虚拟变量, 在干预时间点前为 0, 在干预时间点后为 1。 T_3 为集采政策实施后的时间序列, 实施前与实施时取 0, 实施后为“1, 2, 3...”, ε_t 为随机误差。采用 Stata 16.0 统计学软件进行分析。

1.3.2 自相关检验方法 采用 ITS 法对数据进行分析时, 数据的自相关对结果有一定的影响, 因此采用 Cumby-Huizinga 检验来判定数据是否存在自相关^[8]。降脂药物采购总金额的自相关检验结果见表 2, 可知某院降脂药物采购总金额在显著性 ($P < 0.05$) 上不存在自相关。研究中后续每种降脂药物的采购金额、每一种他汀类药物的 DDD_s 值及他汀类药物总 DDD_s 值的 ITS 都采用了 Cumby-Huizinga 检验来判定数据是否存在自相关。

1.3.3 “A.M.” 指数体系因素分析 本研究借鉴意大利流行病学研究小组建立的针对药品费用的三因素分析法^[9] (简称 A.M. 指数体系分析法) 对院内 2018 年 12 月至 2021 年 12 月此 36 个月时间内 6 种他汀类药物的药品使用数据进行分析。其公式表达为药品费用指数 = 用量因素 × 价格因素 × 结构因素, 转化为计算公式, 其表示形式为:

$$\frac{\sum P_1 Q_1}{\sum P_0 Q_0} = \frac{\sum Q_1}{\sum Q_0} \times \frac{\sum P_1 Q_0}{\sum P_0 Q_0} \times \frac{\frac{\sum P_1 Q_1}{\sum Q_1}}{\frac{\sum P_1 Q_0}{\sum Q_0}} \quad (1) \quad (2) \quad (3)$$

表 2 降脂药物月采购总金额的 Cumby-Huizinga 检验结果

Tab 2 Cumby-Huizinga test of monthly purchase quantity and amount of cholesterol-lowering drug

指标	原假设 $q = 0$ (没有序列相关) 备择假设: 在特定范围内存在相关				原假设 $q = 1$ (没有序列相关) 备择假设: 存在特定阶数自相关			
	滞后数	χ^2	自由度	P 值	滞后数	χ^2	自由度	P 值
月采购量	1-1	1.686	1	0.1942	1-1	1.686	1	0.1942
	1-2	5.671	2	0.0587	1-2	2.588	1	0.1077
	1-3	5.752	3	0.1243	1-3	0.373	1	0.5414

注: 选用 Stata 中的 `actest` 命令。滞后数 1-1、1-2、1-3 分别表示前 1、前 2、前 3 阶滞后数。滞后数 1, 2, 3 表示每个单独阶数的检验结果。 $P < 0.05$ 表示存在自相关。

Note: The `actest` command in the Stata is adopted. The lag numbers 1-1, 1-2 and 1-3 respectively indicate the first, second, third order of lags. The lag numbers 1, 2 and 3 represent the test results of each separate order. The autocorrelation exists when $P < 0.05$.

以 2018 年 12 月为基期, 之后的 36 个月为报告期, Q_0 、 Q_1 分别代表某个他汀类药物的药品 DDD_s, P_0 、 P_1 分别代表某个他汀类药物在基期以及报告期的价格水平 (DDD_c) = 药品月度销售金额 (以元计) / 该药品的 DDD_s 值。

公式中的 (1) 项、(2) 项和 (3) 项分别表示药品数量增长指数、药品价格指数及药品用药结构指数。药品数量增长指数: 就当前市场流通药品来看, 药品的规格剂型众多, 且无法用统一的单位进行衡量, 因此以 DDD_s 药品限定日剂量代入公式, 反映该种药品的使用情况和药量增长。药品用药结构指数是使用两个加权平均值的比值反映相对高价的药品是否使用得更多, 当这个比值大于 1 时, 说明用药中高价药品使用得更多。

2 结果

2.1 集采对降脂药物的采购金额的影响

统计 2019 年—2021 年某院降脂药物采购金额发现, 2019 年降脂药物采购金额为 2148.62 万元, 2020 年为 928.99 万元, 2021 年为 899.05 万元, 降幅达 56.76% 和 58.16%。由 ITS 的结果可知 (见图 1), 他汀类降脂药物及胆固醇吸收抑制剂的采购金额在 2019 年 12 月集采执行后有明显下降, 普罗布考和烟酸类降脂药物在集采执行前后的采购金额无明显变化, 贝特类、中成药类和 PCSK9 抑制剂在集采执行后采购金额有上涨。

降脂药物的采购总金额呈上涨趋势, $\beta_1 = 69\ 135.42$ ($P > 0.1$), 集采实施当月, 降脂药物采购总金额下降, $\beta_2 = -1\ 251\ 696$ ($P < 0.01$), 集采实施后, 院内降脂药物采购总金额呈下降趋势, $\beta_1 + \beta_3 = -12\ 985.11$ ($P > 0.1$), 详见表 3。

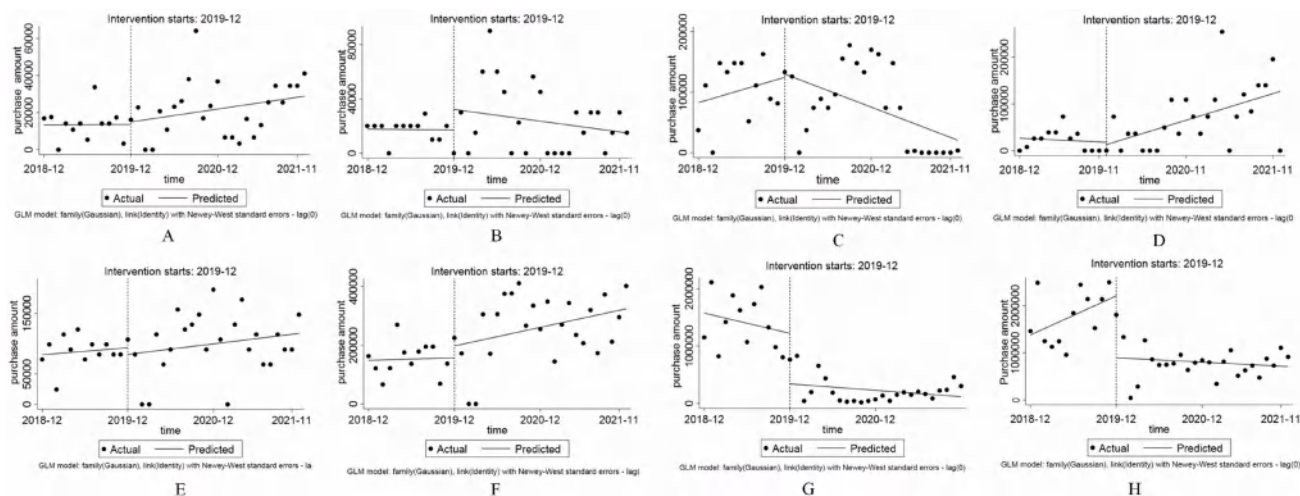


图 1 实施集采前后院内贝特类药物 (A)、烟酸类药物 (B)、胆固醇吸收抑制剂 (C)、PCSK9 抑制剂 (D)、普罗布考片 (E)、降脂中成药 (F)、他汀类药物 (G)、院内降脂药物 (H) 月采购金额及降脂药物总采购金额的变化趋势

Fig 1 Changes of monthly procurement amount of fibrates (A), niacinlipid-lowering drugs (B), cholesterol absorption inhibitor (C), PCSK9 inhibitor (D), probucol (E), proprietary Chinese medicine lowering lipid (F), statins (G), lipid lowering drugs total (H) before and after the implementation of the NCDP policy

表 3 降脂药物采购总金额及各类降脂药物采购金额间断时间序列分析结果

Tab 3 Interrupted time series analysis of the procurement amount for cholesterol-lowering drugs

种类	β_0	β_1	β_2	β_3	$\beta_1 + \beta_3$
贝特类	13 309.47**	27.07	1345.64	550.89	577.96
烟酸类	17 790.11**	- 52.70	15 103.41	- 668.10	720.80
胆固醇吸收抑制类	82 666.23**	3497.34	5362.56	- 8058.95**	- 4561.61
PCSK9 抑制剂	26 658.92**	- 717.08	- 5080.50	5418.14*	4701.06
普罗布考	81 993.35**	950.95	- 10 783.27	485.27	1436.22
中成药类	148 803.90**	679.18	40 605.25	4596.36	5275.54
他汀类	1 575 089.00**	- 29 415.62	- 880 859.40	20 109.98*	- 9305.64

注 (Note): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

2.2 集采实施前后他汀类药物用药结构变化分析

根据“A.M.”指数体系因素分析结果可知 (见图 2), 他汀类药品费用指数和药品价格指数在集采执行后明显下降。药品用量指数在 2020 年 1 月因新冠疫情暴发的影响急剧下降, 在 2020 年 4 月后渐趋平稳; 药品结构指数在 2020 年 1 月至 2020 年 5 月期间较高, 后下降至 1 以下, 在 2021 年 2 月又升高至 1 以上, 后一直在 1 左右徘徊。2020 年 1—5 月结构指数较高可能是因为集采执行伊始, 临床医师对此认识不足, 价格较低的集采中选他汀用量并未在总他汀药物中占据高比例。2021 年 2 月后药品结构指数值也在 1 以上, 他汀类药物中未进入集采的仅普伐他汀钠片和氟伐他汀胶囊, 两者价格无明显变化, 在院内他汀中价格较高。氟伐他汀胶囊 2021 年无使用量, 而普伐他汀钠片 2021 年的使用量对比 2020 年明显上涨, 这可能是药品结构指数值超过 1 的原因。

对各个他汀类药物的 DDD_s 值及总 DDD_s 值以集采政策执行时间 2019 年 12 月为时间节点进行 ITS, 根据分析结果 (见图 3 及表 4), 瑞舒伐

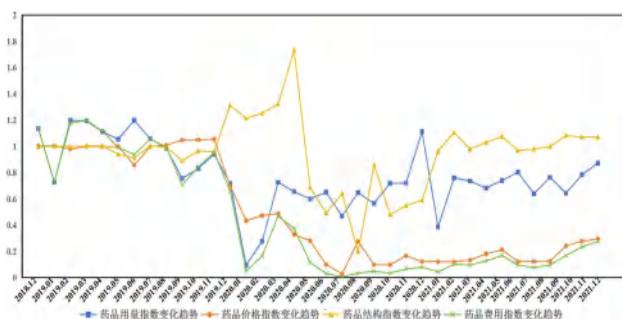


图 2 2018 年 12 月—2021 年 12 月他汀类药物的药品费用指数变化趋势

Fig 2 Trends in the cost index of statins from December 2018 to December 2021

他汀钙片、阿托伐他汀钙片在集采执行前后月度 DDD_s 值无明显下降; 辛伐他汀片、匹伐他汀钙片、氟伐他汀胶囊在集采执行前后月度 DDD_s 值下降明显; 普伐他汀钠片的月度 DDD_s 值在集采执行后稍有下降; 以上 6 种他汀类药物的总 DDD_s 值在集采执行后未明显上升。

2.3 患者关于降脂药物集采政策调查问卷总体情况
问卷调查结果见表 5, 共回收 374 份调查问卷, 其中 366 位患者正在服用降脂药物。使用最多的分

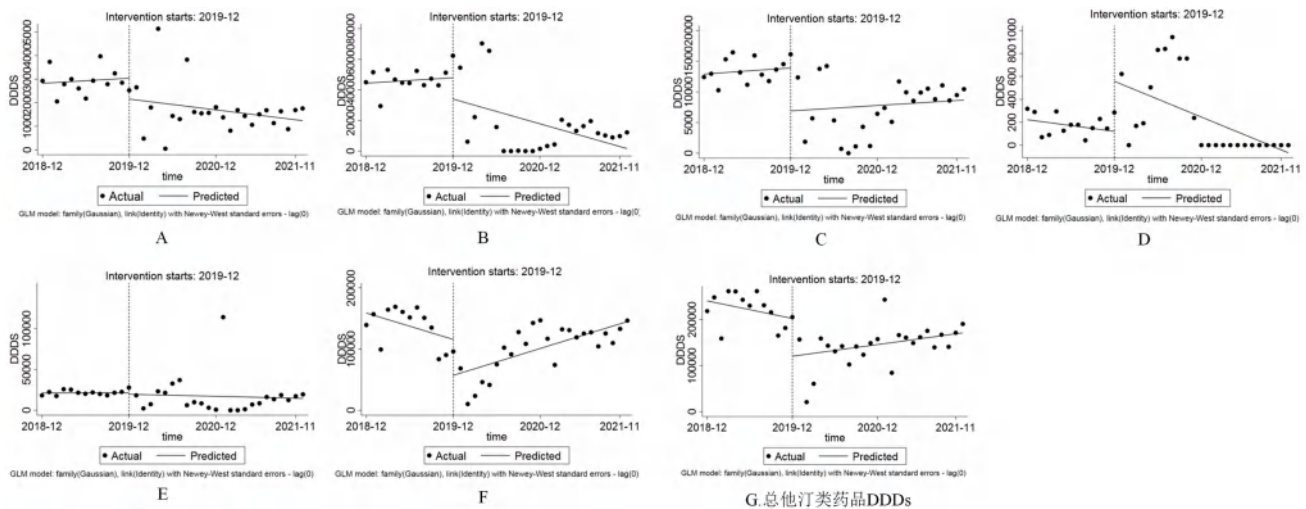


图 3 实施集采前后院内辛伐他汀片 (A)、匹伐他汀钙片 (B)、普伐他汀片 (C)、氟伐他汀胶囊 (D)、瑞舒伐他汀钙片 (E)、阿托伐他汀钙片 (F)、总他汀类药物 (G) DDD_s 的变化

Fig 3 Changes of DDD_s of simvastatin (A), pitavastatin (B), pravastatin (C), fluvastatin (D), rosuvastatin (E), atorvastatin (F), total statin (G) before and after the implementation of the NCDP policy

表 4 他汀类药物月度 DDD_s 值及各他汀类药物月度 DDD_s 值间断时间序列分析结果

Fig 4 Interrupted time series analysis of the monthly DDD_s for statins

变量	辛伐他汀	匹伐他汀	普伐他汀	氟伐他汀	瑞舒伐他汀	阿托伐他汀	总他汀类
β_0	2823.95**	44 422.94**	12 899.80**	221.97**	21 131.79**	158 958.90**	240 459.40**
β_1	18.06	291.42	83.87	- 8.47	14.77	- 3598.79	- 3200.01
β_2	- 885.97	- 13 889.49	- 7010.70*	- 436.81*	- 1473.81	- 58 718.16*	- 81 811.32*
β_3	- 56.20	- 1641.14**	- 9.46	- 17.52	- 224.30	7264.26**	5315.65
$\beta_1 + \beta_3$	- 38.14	- 1349.72	73.91	- 25.99	- 209.53	3665.47	2115.64

注 (Note): * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

别为他汀类药物 (269, 73.50%)、PCSK9 抑制剂 (106, 28.96%)、依折麦布片 (168, 45.90%)、中成药类 (175, 47.81%)、贝特类 (93, 25.41%) 和其他降脂药物 (69, 18.85%)。289 位患者使用的降脂药物为集采中选药品, 与原研进口药品相比, 33 位患者认为集采降脂药物控制血脂的效果优秀, 203 位患者认为效果良好, 37 位患者认为效果一般, 16 位患者认为效果较差。对于集采改进的建议, 35 位患者建议在集采药品的供应稳定性方面有所改进, 165 位建议加强集采中选药品质量保障, 133 位建议加强医师对集采中选药品的用药指导, 128 位患者建议加强集采医保相关政策的宣传。对于未来是否还会继续选用集采中选降脂药物, 45 位选择愿意, 208 位选择视药品效果而定, 36 位选择不愿意。

3 讨论

3.1 集采政策对降脂药物使用行为的影响

2019 年 12 月 25 日湖南省落地实行国家集采政策, 到本研究截止时间 2021 年 12 月, 某院七类降脂药物进入国家集采的仅他汀类药物, 其中阿托伐他汀钙片和瑞舒伐他汀钙片最早进入集采, 随后辛伐他汀片于 2020 年 5 月进入集采, 匹伐他汀钙片于 2020 年 11 月进入集采。进入集采的药

表 5 集中带量采购降脂药物患者满意度调研

Tab 5 Patient satisfaction survey on centralized volume-based procurement of lipid-lowering drugs

问题及选项	人数 [n/ (%)]
使用的降脂药物	
他汀类药物	269 (73.50)
PCSK9 抑制剂	106 (28.96)
依折麦布片	168 (45.90)
中成药类	175 (47.81)
贝特类	93 (25.41)
其他降脂药物	69 (18.85)
集采降脂药物降血脂的效果对比原研药品评价	
优秀	33 (9.02)
良好	203 (76.32)
一般	37 (10.11)
较差	16 (4.37)
对集采执行改进的建议	
集采药品的供应稳定性方面有所改进	35 (9.56)
加强集采中选药品质量保障	165 (45.08)
加强医师对集采中选药品的用药指导	133 (36.33)
加强集采医保相关政策的宣传	128 (34.97)
未来使用降脂药物的意愿	
愿意	45 (12.29)
视药品效果而定	208 (56.83)
不愿意	36 (9.84)

物在国家集采批次周期结束后, 一般会接续省际联盟集采, 如阿托伐他汀和瑞舒伐他汀后又进入

了第一、三批国家组织集采药品接续(广东省联盟集采),辛伐他汀进入了国家组织第二、四批接续(上海市联盟集采)。至今进入集采的他汀类药物集采身份不变,选取 2018—2021 年为本文的研究时间,是集采政策从无到有的时间,是集采政策对降脂药物在某院的使用行为影响最大的时间。

集采执行后,根据 ITS 结果,降脂药物采购总金额呈下降趋势。根据降脂药物最小计量单位集采执行前后价格的变化(见表 6),普罗布考和烟酸类降脂药物集采执行前后单价无明显差异,采购金额亦无明显变化,因药品采购量与使用量是强相关的,可推测临床使用这两类药物的情况在集采前后并无明显改变。中成药类和 PCSK9 抑制剂在集采数据期间单价无明显变化,但采购金额上涨,可推断为这两类药物的临床使用量有所上涨。胆固醇吸收抑制剂依折麦布片在集采执行前后单价未改变,采购金额下降可推断临床用量有所下降。

表 6 降脂药物最小计量单位集采执行前后价格的变化

Tab 6 Changes in prices of minimum unit cholesterol-lowering drugs before and after the implementation of National Centralized

Drug Procurement Policy

药品名称	2019 年 12 月前 单价(片/支/粒)	2019 年 12 月后 单价(片/支/粒)	变化趋势
辛伐他汀片	5.020	0.211	降低
匹伐他汀钙片	5.500	0.771	降低
氟伐他汀胶囊	3.420	3.420	不变
瑞舒伐他汀钙片	5.540	0.200	降低
阿托伐他汀钙片	6.780	0.672	降低
普伐他汀钠片	5.190	5.180	不变
阿昔莫司分散片	3.130	3.130	不变
阿昔莫司胶囊	2.090	2.090	不变
普罗布考片	1.070	1.070	不变
苯扎贝特片	0.830	0.830	不变
非诺贝特片	0.097	/	2019 年 12 月后未采购
非诺贝特胶囊	/	3.790	2019 年 12 月前未采购
非诺贝特缓释胶囊	2.693	2.693	不变
依折麦布片	7.050	7.050	不变
海博麦布片	/	/	不变
依洛尤单抗注射液	1298.000	1298.000	不变
阿利西尤单抗注射液	/	/	不变
血脂康胶囊	1.090	1.090	不变
脂必泰胶囊	2.150	2.150	不变
脂必妥胶囊	1.180	1.180	不变

PCSK9 抑制剂为降脂新药,为国家医保谈判药品,在 2020 年 1 月进院,虽然单价较高,但用药频次少,患者依从性高,临床认可度高,用量在 2020 年 1 月后逐渐上升。他汀类药物因在集采执行前后单价变化明显,无法由采购金额的改变得出使用数量的变化,因此,继续深入研究

他汀类药物的 DDD_s 值在集采执行前后的变化。

3.2 集采政策对他汀类药物使用行为的影响

他汀类药物采购总金额在集采执行后明显下降,他汀类药物中的瑞舒伐他汀、阿托伐他汀、辛伐他汀和匹伐他汀先后进入集采,价格大幅下降。瑞舒伐他汀和阿托伐他汀 2019 年 12 月进入集采,阿托伐他汀钙片集采前院内为原研进口厂家,单价为 $0.339 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$,进入集采后,中选阿托伐他汀钙片单价为 $0.0336 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$,价格下跌 90.09%;瑞舒伐他汀片由 $0.554 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$ 降至 $0.02 \text{ 元} / 10 \text{ mg}$,降幅为 96.39%;辛伐他汀片单价由 $0.138 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$ 降至 $0.005 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$,降幅为 95.80%;匹伐他汀钙片集采前院内使用为同一厂家,进入集采后单价由 $2.75 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$ 降至 $0.386 \text{ 元} \cdot \text{mg}^{-1}$,降幅为 85.97%。

根据他汀类药物月度 DDD_s 值的 ITS 结果,集采执行前,他汀类月度 DDD_s 值以每月 3200.01 的趋势下降,集采执行后以每月 2115.64 的趋势上升,但总他汀类药物月度 DDD_s 相比于集采前并无明显上升。根据“A.M.”指数体系因素结果,集采执行后,药品用量指数仅在 2020 年 12 月超过 1,其余时间均在 1 以下,而集采执行前 2019 年 2—7 月均在 1 以上,由此可得知,他汀类药物的用量在集采执行后并未明显上涨。

阿托伐他汀和瑞舒伐他汀月度 DDD_s 值基本保持稳定,辛伐他汀、氟伐他汀和匹伐他汀的月度 DDD_s 值下降明显,普伐他汀稍有下降。根据 2021 年广东省药学会发布的《广东省他汀类药物评价与遴选专家共识》^[10],瑞舒伐他汀和阿托伐他汀为高强度降胆固醇他汀,且阿托伐他汀在《国家卫健委稳定性冠心病临床路径》^[11]中是唯一推荐,因此临床对这两类他汀药物认可度较高,用量未在集采执行后明显下降。氟伐他汀因 2018—2019 年年度采购金额均不足 10 万元被精减,2020 年 8 月后无采购数据,用量明显下降。普伐他汀钠未进入集采,2020 年 6 月,第一批国家集采周期已过半,为完成集采任务,2020 年 7—8 月限制了临床使用普伐他汀,用量下降明显,2021 年 1 月后逐渐恢复使用。普伐他汀为中等强度降脂药物,不经过 CYP3A4 酶代谢,与药物的相互作用较少,相较于原研进口的阿托伐他汀和瑞舒伐他汀日治疗费用较低,适用于血脂轻中度异常需服用其他药物的患者,普伐他汀有特定的使用人群,临床的用量在集采前后未有明显的变化。辛伐他汀和匹伐他汀在药学特性、有效性、安全性几方面均无明显优势,因此在集采执行后,临床用量显著下降。

3.3 助力集中带量采购政策落地的系列措施

医疗机构应组织药学部、医务部、临床科室成立集采专项工作小组,负责合理填报集采协议量、监测集采任务完成进度、建立集采工作相关奖惩制度、宣传集采政策等工作。信息科应开发信息系统功能助力集采落地,在填报协议量时,临床可借助信息系统获取 3 年来本科室的使用数据,综合循证医学证据和最新指南等合理填报本科室需完成的协议量。执行集采时,信息系统可将协议量分解至各临床科室,临床可实时获取集采中选药品协议量的完成进度。在处方系统对集采药品进行标识,便于临床优先选择集采中选药品。

完善集采中选药品短缺预警机制,一旦发现集采中选药品短缺,即刻选取可替代品种满足临床需求,同时上报医保部门协调解决。

鼓励创作集采宣传科普视频,依托公众号、视频号等电子媒介宣传集采惠民政策,提高患者对集采中选药品的接受度。同时药品质量监督管理部门需做好对集采中选药品的质量监测工作,保证集采中选药品质量,确保患者权益。

3.4 研究局限性

本研究存在一定的局限性,首先本研究仅采纳了某院降脂药物的采购金额和他汀类药物月度 DDD_s 值,样本获取范围较窄,在后续的研究中应当加强与同地区医疗机构的合作,获取广泛样本数据。基于阿托伐他汀钙片和瑞舒伐他汀钙片集采执行的时间是 2019 年 12 月,本文 ITS 选择 2019 年 12 月作为干预时间点,但各药品集采执行的时间并不一致,例如辛伐他汀集采执行时间为 2020 年 5 月,匹伐他汀集采执行时间为 2020 年 11 月,这可能对结果有一定影响。由于本研究采纳的是截至 2021 年 12 月的数据,即使是 2020 年 11 月才纳入集采,亦选取了 13 个数据点,也基本可看出变化趋势,因此对结果影响较小。

4 结论

综合以上研究结果,院内降脂药物的采购金额由 2019 年的 2148.62 万元降低至 2020 年的 928.99 万元,2021 年仅 899.05 万元,降幅分别为 56.76% 和 58.16%。国家为减轻人民群众的医疗负担,降低药品生产企业在流通环节的成本,简化药品招采环节所实施的集采政策确实降低了医疗费用。但某院进入集采的他汀类药物却并未达到“价降量升”的效果,反而降脂中成药类和 PCSK9 抑制剂的用量较集采前有所上涨。一方面,由于部分他汀类药物在临床无明显优势,同时 PCSK9 抑制剂依洛尤单抗进院,这一国家医保谈判药品可显著减少用药频次,提高患者依从性,临床疗效明确,挤占了部

分他汀类药品的用量。另一方面,根据患者问卷调查的结果,这可能与政策的宣传力度不足有关,临床医师和患者存在对集采中选药品质量的担忧。药师可做好沟通的桥梁,从专业的角度向患者和医师宣传,加强医师对集采政策的理解和重视程度,提升患者对集采药品的信任程度^[12]。现国家对于集采政策的推行并不“唯低价论”,在药品价格下降的同时也严抓集采中选药品的质量。进入国家集采的品种均为通过了仿制药一致性评价的药品,国家药品监督管理局等相关部门也加强了对集采中选药品的质量监管。同时,医疗机构也应当加强对集采中选药品不良反应的监测,并将监测结果及时反馈至相关部门,便于真实反映集采中选药品在临床的实际使用情况,助力集采政策的落地执行。

参考文献

- [1] 国务院办公厅. 关于印发国家组织药品集中采购和试点方案的通知 [EB/OL]. (2019-01-17) [2025-01-17]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2019-01/17/content_5358604.htm.
- [2] 湖南省医疗保障局. 关于落实国家药品集中采购和使用试点医保配套措施的通知 [EB/OL]. (2019-12-17) [2025-01-17]. https://ybj.hunan.gov.cn/ybj/first113541/firstF/f3113607/202107/t20210722_19978138.html.
- [3] 梁东, 黄世见. PCSK9 抑制剂在 ASCVD 中的应用进展 [J]. 右江医学, 2023, 51 (8): 739-743.
- [4] 国家卫生健康委员会疾病预防控制局. 中国居民营养与慢性病状况报告 2015 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [5] 于石成, 王琦琦, 毛凡, 等. 中断时间序列设计及其分析方法 [J]. 中华预防医学杂志, 2019, 53 (8): 858-864.
- [6] 尚兰成, 常峰. 药品用药费用测算工具的创新与完善——基于用药结构视角的分析 [J]. 价格理论与实践, 2019 (2): 51-54.
- [7] WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Guidelines for ATC classification and DDD assignment 2019 [M]. Norway: Norwegian Institute of Public Health, 2018.
- [8] Addis A, Magrini N. New approaches to analysing prescription data and to transfer pharmacoepidemiological and evidence-based reports to prescribers [J]. Pharmacoepidemiol Drug Saf, 2002, 11 (8): 721-726.
- [9] Linden A. Conducting interrupted time-series analysis for single and multiple-group comparisons [J]. Stata J, 2015, 15 (2): 480-500.
- [10] 广东省药学会. 广东省他汀类药物评价与遴选专家共识 [J]. 今日药学, 2022, 32 (7): 481-489.
- [11] 国家卫生健康委办公厅. 关于印发有关病种临床路径 (2019 年版) 的通知 [EB/OL]. (2019-12-29) [2025-01-17]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7659/202001/b3c9e097b-0c1471a969d7a63be471759.shtml>.
- [12] 山东省医院协会药物经济学专业委员会. 山东省医疗机构落实药品集中带量采购政策的药学专家共识 (2022) [J]. 山东医药, 2022, 62 (21): 113-114.

(收稿日期: 2025-02-05; 修回日期: 2025-05-03)

分布式病区智能药柜系统在医院药学服务中的 SWOT 分析与应用策略研究 - 以某医院为例

杨学斌, 刘媛媛, 孔德元, 谢吉科, 冀召帅* (清华大学北京清华长庚医院药剂科, 北京 102218)

摘要:目的 探讨分布式病区智能药柜系统在医院药学服务中的应用现状、优势、劣势、机会和威胁, 并提出相应的应用策略。方法 通过 SWOT 分析方法, 结合我院经验以及相关文献资料, 对分布式病区智能药柜系统在医院药学服务中的应用进行评估。结果 分布式病区智能药柜系统具有智能化、自动化和个性化的优势, 在提升药品管理效率、保障用药安全、减少人为错误等方面表现出色, 同时也存在投资成本高、技术依赖性强等劣势。需警惕技术、市场和政策等风险, 并通过持续优化和创新来应对挑战, 以满足医疗机构和患者日益增长的需求。结论 分布式病区智能药柜系统在医院智慧药学服务中具有广阔前景, 在政策支持和市场需求的双重机遇下, 医院应积极引入分布式病区智能药柜, 同时注意应对竞争加剧、数据安全和隐私保护等威胁, 以提升医院药学服务的质量和效率。

关键词: 分布式病区智能药柜系统; 药品管理; 医院智慧药学服务; SWOT 分析; 应用策略

中图分类号: R952

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3061-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.040

SWOT analysis and application strategy of on distributed intelligent medicine cabinet system in hospital pharmaceutical services

YANG Xue-bin, LIU Yuan-yuan, KONG De-yuan, XIE Ji-ke, JI Zhao-shuai* (Department of Pharmacy, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua Medicine, Tsinghua University, Beijing 102218)

Abstract: Objective To determine the application status, advantages, disadvantages, opportunities, and challenges of the distributed ward intelligent medicine cabinet system in hospital pharmaceutical care, and to put forward corresponding strategies. **Methods** By SWOT analysis and the experience of our hospital and related literature, we evaluate the distributed ward intelligent medicine cabinet system in the hospital pharmacy service. **Results** The distributed ward intelligent medicine cabinet system was automatic and personalized, and improved drug management efficiency, to ensure drug safety and reduction of human errors. Its disadvantages included high cost and strong technical dependence. We need to be alert to technological, market and policy risks, and to meet the growing needs of healthcare institutions and patients via continuous optimization and innovation. **Conclusion** The distributed ward intelligent medicine cabinet system has broad prospects in the hospital smart pharmaceutical care. Under the dual opportunities of policy support and market demand, hospitals should actively introduce this system and pay attention to intensified competition, data security and privacy protection to improve the quality and efficiency of hospital pharmaceutical care.

Key words: distributed ward smart medicine cabinet system; drug management; hospital smart pharmaceutical service; SWOT analysis; application strategy

随着我国医疗服务从信息化向智慧化迈进, 智慧型医院建设成为提升医疗服务质量和效率的重要方向。国家对以智慧医疗、智慧服务和智慧

管理为核心的智慧医院概念的界定逐渐清晰^[1]。2021 年 5 月国务院办公厅印发的《关于推动公立医院高质量发展的意见》(国办发[2021]18

基金项目: 2022 年北京药学会临床药学研究项目 (No.LCYX-2022-18)。

作者简介: 杨学斌, 男, 主管药师, 主要从事医院药学和药事管理工作, email: yxba01297@btch.edu.cn * **通信作者:** 冀召帅, 男, 副主任药师, 主要从事医院药事管理、精准化药学和智能药房建设工作, email: jzsa00270@btch.edu.cn

号)^[2], 提出了推进电子病历、智慧服务、智慧管理“三位一体”的智慧医院建设要求。在这一背景下, 分布式病区智能药柜系统作为实现智慧医院药物精细化管理的创新技术, 为药物精细化管理提供了新的解决方案。本文将探讨分布式病区智能药柜在医院药学服务中的应用, 并深入阐述其在药物管理中的策略研究。

1 分布式病区智能药柜系统概述

1.1 分布式病区智能药柜系统的定义和技术原理
分布式病区智能药柜系统(简称本系统)是一种基于现代信息技术, 如物联网、云计算、人工智能等, 将药品存储、管理和分发系统分布在医院不同病区或护理单元的新型药品管理解决方案。本系统主要功能包括登录系统、查询系统、加药系统、取药系统和退出系统, 与医院信息系统(HIS)相连, 在各临床病区配置终端智能药柜, 并在住院药房端总控显示^[3]。

1.2 病区药柜的发展历程和现状
病区药柜的发展经历了从传统机械式药柜到现代化智能药柜的转变。智能药柜最初于 20 世纪 80 年代被美国医院引入, 作为病区药品分布式调剂模式的核心, 大大加快了药房自动化的步伐。智能药柜在美国的应用非常广泛, 到 2013 年约有 80% 的医院配置了, 特别是在床位数量较多的医院, 配备率更高。国内医院药房在自动化建设方面的发展相对较慢, 自动化设备的配置率较低, 还处于发展阶段, 需要进一步加强对医疗机构的支持, 完善基础配套设施^[4]。

1.3 一般情况介绍

笔者所在医院为北京市某三级综合医院, 为智慧医院三级、电子病历系统六级, 现有 1000 张床位, 年出院人数约 7 万人次。现阶段我院住院药房通过分布式病区智能药柜系统为 28 个住院病房提供 24 h 用药服务, 每台智能药柜的工作展开面积为 1.5 m², 设定的药品补充周期为每周 1 次, 由 2 名药师共同完成, 医嘱使用合理用药监测系统(prescription automatic screening system, PASS)进行实时审核, 异常处方由经验药师复审。我院现阶段的分布式病区智能药柜的取药/补药事务流程图见图 1。伴随医院的发展, 住院病患量逐渐上涨, 患者对医疗服务质量的要求也不断提高, 传统的人工取药模式受限。目前国内大部分医院中住院患者的药品调剂仍采用中心药房统一调剂的形式, 这种集中调剂药品的模式多采用人工摆药、定时发药的方式, 例如, 护士或中央运送人员每日需要多次往返住院药房, 导致药品取送时间长、工作强度大, 且药品库存和效期检查压力大, 如检查不及时则容易造成药品积压或过期浪费, 流程烦琐且容易影响用药的及时性^[5-6]。因此, 我院药剂科结合实际工作情况与第三方公司合作开发了基于分布式的病区智能药柜系统并取得了软件著作权。该系统通过对药品发放、库存、药品效期等信息进行实时动态管理和有效整合, 优化病区取用药流程, 使药品管理更加智能、安全和人性化。本系统具备多种功能, 如称重自动计数、效期实时提醒、一键全部盘点以及轻松补药等, 大幅提高了药品管理的效率和安全性。

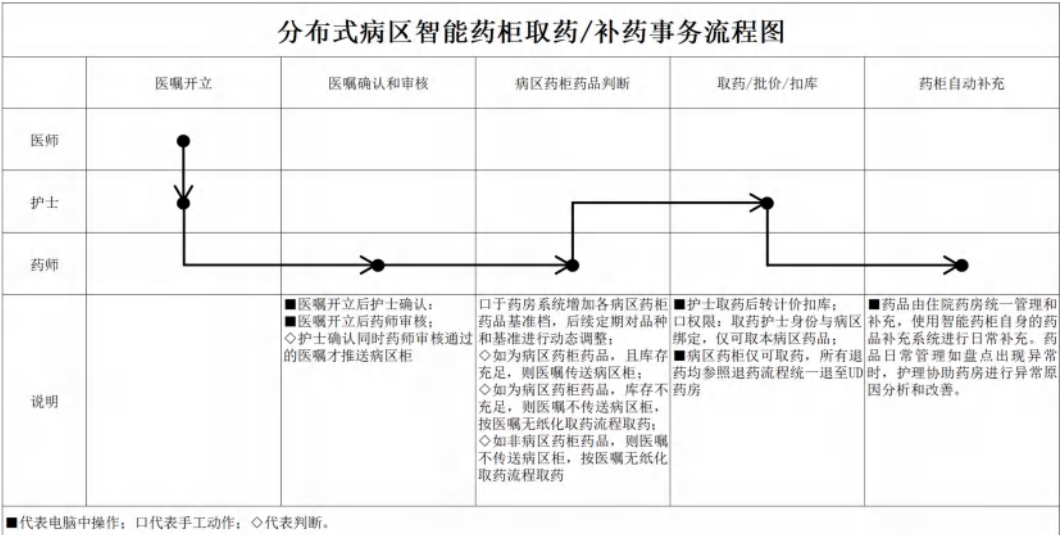


图 1 我院分布式病区智能药柜取药/补药事务流程图

Fig 1 Process flow diagram for medication retrieval/supplement in distributed ward intelligent medicine cabinets of our hospital

注: UD 药房为单一剂量药房, 为住院患者提供用药服务。

Note: UD pharmacy refers to Unit Dose Pharmacy, which provides medication services for inpatients.

2 分布式病区智能药柜在医院药学服务中的 SWOT 分析

基于我国智慧医院建设现状，采用 SWOT 分析法分析分布式病区智能药柜在医院药学服务

中的内部及外部因素，探讨“优势 - 机会”组合（SO）、“劣势 - 机会”组合（WO）、“优势 - 威胁”组合（ST）和“劣势 - 威胁”组合（WT）应对策略模式。分析内容见图 2。

内部因素 外部因素	内部优势（S）	内部劣势（W）
	S1：提高药品管理效率 S2：优化药学服务流程 S3：确保医院药品质量	W1：技术依赖性强 W2：初始投资成本较高 W3：人员培训需求 W4：药品存储限制 W5：维护、更新成本较高
外部机遇（O）	SO策略：	WO策略：
O1：提高患者满意度和安全性 O2：优化药品管理流程 O3：促进药师与护士协作 O4：推动医院信息化建设 O5：积极响应政策要求	1.利用提高药品管理效率的优势，抓住提高患者满意度和安全性的机会 2.通过优化药学服务流程的优势，推动医院信息化建设的机遇 3.确保医院药品质量的优势，有助于积极响应政策要求的机遇	1.面对初始投资成本较高的劣势，可以通过优化药品管理流程的机会来降低长期运营成本 2.技术依赖性高的劣势可以通过推动医院信息化建设的机遇来逐步解决 3.人员培训需求可以通过促进药师与护士协作的机会来提高效率
外部威胁（T）	ST策略：	WT策略：
T1：数据安全和隐私保护技术安全风险 T2：法规政策变化与安全性 T3：与其他系统的兼容性	1.利用提高药品管理效率的优势来应对数据安全和隐私保护的技术安全风险 2.优化药学服务流程的优势可以帮助应对法规政策变化与安全性的威胁 3.确保医院药品质量的优势可以减少与其他系统兼容性问题的威胁	1.技术依赖性强和初始投资成本较高的劣势可能加剧数据安全和隐私保护的技术安全风险 2.人员培训需求和药品存储限制的劣势可能因为法规政策变化而变得更加严峻 3.维护、更新成本较高可能与其他系统兼容性的威胁相互作用，限制系统的发展和应用

图 2 分布式病区智能药柜在医院药学服务中的 SWOT 分析

Fig 2 SWOT analysis of distributed ward intelligent medicine cabinets in hospital pharmaceutical services

2.1 优势（strengths）

2.1.1 提高药品管理效率 本系统通过对接医院 HIS，实现药品有效期、批号等信息自动推送，形成从药品验收入药库到患者床旁使用的全闭环，药房端实时掌控全病区全流程药品信息，提高了药学部门的药品管理效率。各病区应用该系统后，可将已设定的符合存放标准的病房常备药取消，由住院药房存入药柜进行统一管理，大大减轻了病房自管常备药品的每班点交工作负担。同时该系统还符合麻精药品的管理要求，可通过双人指纹 / 密码登录取用，实现麻精药品智慧化管理^[7]。

2.1.2 优化药学服务流程 通过智能化管理，包括实时监控与数据记录、药品分类存储、与医疗系统集成、药品调拨与填充以及药品追溯与报表生成等功能，确保医院药品的质量和安全。精准控制抽屉、药盒的开启、关闭和取用，通过智能称重功能，减少人为错误，确保药品准确取用和存储。根据不同药品特性和管理等级，设定不同的存储模式，例

如麻精药品等特殊管制或高警示药品统一存放在首层受控药盒内，而其余药品则存放在定制的受控抽屉内。当药柜内药品库存不足时，系统会自动提示并传递信息给药师，确保药品及时补充。药师可设置并生成报表，全程追溯药品的入库、使用和填充过程，及时发现问题并改进。通过减少人为干预，降低药品质量问题的风险。

2.1.3 确保医院药品质量 本系统与 HIS 集成，实现了信息即时共享，显著提升了医疗服务质量。智能药柜部署在病区，通过省去药房与病房的取药环节，缩短了药品与患者距离，大幅减少了住院患者的候药时间，在紧急救治中尤为重要^[8]。身份验证和控制系统确保取药精准与安全，同时系统能详细记录药品信息，为药品管理提供了数据支持。此外，本系统还具备闭环管理追溯功能，可全面追踪药品流程，不仅增强了药品的监管力度，还为医院提供了有力的质量控制手段^[9]。如出现问题，医院可以迅速定位并解决，确保患者

用药安全。库存监控功能可避免药品短缺或过剩,确保药品的连续供应。药师可依据系统调拨单进行药品补充和调拨,使药品分配更加高效合理^[10]。

2.2 劣势 (weaknesses)

2.2.1 技术依赖性高 高度依赖于先进的技术和稳定的网络。一旦技术或网络出现故障,可能导致整个系统瘫痪,影响药品的正常管理和供应,甚至影响临床治疗以及患者的满意度。

2.2.2 初始投资成本较高 系统的搭建需要较大的资金投入,包括智能硬件设备购置、软件开发、系统维护等。短期内可能会增加医院的运营成本,这对于资金紧张的医院来说是不小的负担。

2.2.3 人员培训需求 设备需要经过培训的专业人员进行操作和管理。医院需要投入一定的时间和资源对医护人员进行培训,以确保他们能够有效使用和维护系统。

2.2.4 药品存储限制 智能设备存储空间有限,每个病区存在患有多种疾病的住院患者,无法覆盖所有疾病种类的药品。此外,一些需要特殊存储条件的药品,如冷藏、阴凉等,无法全部满足。

2.2.5 维护、更新成本较高 系统需要定期维护和更新,以确保其正常运行和安全性。特别是在系统出现故障或需要升级时,可能需要投入更多的时间和资金进行修复和更新。

2.3 机会 (opportunities)

2.3.1 提高患者满意度和安全性 医院可以实时追踪药品库存和使用情况,确保患者用药的及时性。同时还能够减少人为错误,如药品的误用或过期使用,提高患者用药的安全性。

2.3.2 优化药品管理流程 实现药品自动化管理和实时监控,减少药师和护士在药品管理上的时间和精力投入,使他们能够更专注于提供其他药学服务和临床护理工作。自动生成各类报表,帮助医院实现药品的精细化管理。

2.3.3 促进药师与护士协作 可以作为药师和护士之间沟通的桥梁,促进双方在药品的储存、使用、账物等方面的协作。与传统药品管理模式相比,智能药柜改变了药师和护士的工作模式。病区的备用药品转变为药房药品,药品品种和数量均增加,极大地满足了临床用药需求,进一步提高了合理用药水平^[11]。

2.3.4 推动医院信息化建设 作为智慧医院信息化建设的重要组成部分,通过与医院其他智能系统的全面对接,可以实现药品信息的共享和互通,提高医院整体的管理水平和服务质量。

2.3.5 积极响应政策要求 随着国家对医疗改革

的深入推进,对医院药品管理的要求也越来越高。病区智能药柜系统作为一种先进的药品管理工具,能够满足政策对药品管理的要求,帮助医院更好地适应政策环境。

2.4 威胁 (threats)

2.4.1 数据安全和隐私保护技术安全风险 病区智能药柜系统需要收集和存储大量的药品信息和患者数据,且高度依赖网络和计算机技术,这带来了数据泄露、黑客攻击和系统崩溃等安全风险。一旦系统受到攻击或出现故障,可能导致药品信息泄露、药品管理混乱,甚至威胁患者的用药安全^[12]。

2.4.2 法规政策变化与安全性 随着医疗改革的深入和医药行业的发展,相关法规政策可能会发生变化。病区智能药柜能够降低用药错误的风险,由护士取药而不是传统的药师发药,虽然在提高效率和保证患者安全方面具有明显优势,但在实际应用中仍存在一些挑战和潜在争议。这些问题需要医院管理层的重视、药师与护士之间的良好沟通以及相关政策法规的支持。同时,医院需及时调整系统功能和管理策略,以适应政策环境的变化。

2.4.3 与其他系统的兼容性 需要与医院的其他系统[如 HIS、实验室信息系统(LIS)等]进行全面对接,以实现药品信息的共享和互通。然而,不同系统之间的兼容性问题可能会成为制约智能药柜系统发展的瓶颈。需要确保系统之间的兼容性,以充分发挥智能药柜系统的优势。

3 应用策略

3.1 加强政策支持和合作

在推进智能药柜应用的过程中,应着重加强政策支持和合作,制订长期发展规划,明确发展目标、路径和措施。积极争取政府及相关部门的政策支持,包括项目资助和补贴,为智能设备的推广和应用提供坚实保障。加强与其他医疗机构、第三方科技公司等的合作,共同开展科研项目和技术交流,推动医院智能设备的持续优化和升级。同时,建立与政府部门的沟通机制,确保智能药柜的发展符合政策导向和行业趋势。通过这些措施,共同推动医院病区智能药柜系统的广泛应用,提升医疗服务质量和效率。

3.2 提升技术研发和创新能力

与科研机构和相关企业合作,不断优化智能药柜的技术,提高其性能和稳定性。建立跨部门的协作创新机制,加强药学、信息、护理等部门之间的沟通和协作,共同推动智能药柜系统的研发创新。充分调研实际应用情况和患者真实需

求,持续改进和创新分布式病区智能药柜系统的功能和服务,提高医院智慧药学服务的整体水平和竞争力。

3.3 优化培训和管理体系

对相关人员进行专业培训,建立完善的管理制度,确保智能药柜顺利运行。在优化培训和管理体系时,应首先建立完善的培训体系,制定标准作业程序(standard operating procedure, SOP),确保医疗人员熟练掌握系统操作并持续跟进最新知识和技能。同时,加强管理体系建设,明确责任分工和操作流程,实施严格的权限管理。通过有效的沟通和协作机制,促进人员间的交流与合作,确保病区智能药柜系统充分发挥其优势。通过持续改进和优化机制,及时评估系统使用情况,发现问题并采取改进措施,为医疗服务提供有力支持。

3.4 加强数据安全和隐私保护

数据安全在智慧医院建设当中是要保证的底线,信息安全工作需要形成常态化的网络安全保障机制^[13]。医院应对本系统的患者用药数据进行高级安全管控,确保患者隐私和信息安全。实施数据加密技术保护患者用药数据传输和存储过程,实施严格的访问控制和权限管理,限制非授权访问^[14]。同时,涉及导出使用的数据采用匿名化和脱敏方式以降低病患隐私泄露风险,并定期对系统进行安全漏洞扫描和风险评估。加强员工数据安全和隐私保护培训,提高安全意识。建立健全的数据泄露应急响应机制,确保在发生安全事件时能够迅速响应并减轻损害。对发现的安全事件进行通报预警和响应处置,形成安全运行流程中云安全、数据安全、应用安全、终端安全等的协同和联动^[15]。这些综合措施将有效加强医院病区智能药柜的数据安全和隐私保护。

4 结论

分布式病区智能药柜系统在医院智慧药学服务中具有广泛的应用前景。通过对智能药柜进行SWOT分析,我们发现其具有提高药品管理效率、确保药品质量等优势,但同时也存在投资成本高、技术依赖性强等劣势。在政策支持和市场需求的双重机遇下,医院应积极引入分布式病区智能药柜,

同时注意应对竞争加剧、数据安全和隐私保护等威胁,以提升医院智慧药学服务的质量和效率。

参考文献

- [1] 张世红, 据文胜, 白玲, 等. 北京地区三级医院智慧管理建设现状调查及分析[J]. 中国卫生信息管理杂志, 2024, 21(2): 183-191, 204.
- [2] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于推动公立医院高质量发展的意见[EB/OL]. (2021-05-14)[2024-12-21]. https://www.gov.cn/gongbao/content/2021/content_5618942.htm.
- [3] 王森森, 朱赞. 智能存取系统在药学部住院药房药品定量管理中的应用[J]. 中医药管理杂志, 2022, 30(6): 183-185.
- [4] 陈瑞娥, 郑薇亮, 闫丽娟, 等. 智能药柜管理系统在心血管病区药品管理流程优化中的应用价值[J]. 中西医结合护理(中英文), 2021, 7(4): 187-189.
- [5] 朱翠华, 于建立, 王卫平, 等. 病区使用自动化智能药柜管理药品模式的实践与体会[J]. 中国药房, 2017, 28(22): 3102-3105.
- [6] 钱晓萍, 金涛, 钱峰, 等. 基于分布式智能药柜的药师工作方式转变[J]. 儿科药学杂志, 2021, 27(6): 47-49.
- [7] 闫婷婷. SPD模式下医院病区药品库存管理研究[D]. 南京: 南京大学, 2020.
- [8] 王芳, 李莎, 卢旺, 等. 我院ICU病区使用智能药柜前后的工作模式比较与效果分析[J]. 中国药房, 2016, 27(19): 2660-2662.
- [9] 王海娇, 王欣然, 王硕, 等. 闭环式智能化ICU病房基数药品管理系统的开发与应用[J]. 中国卫生质量管理, 2016, 23(1): 76-78.
- [10] 陈亚宾, 王明辉, 钟庆丽, 等. 我院分院区基数药品管理现状与干预效果分析[J]. 中医药管理杂志, 2022, 30(16): 139-141.
- [11] 刘宇思, 蓝春海, 秦卓, 等. 自动化智能药柜在神经科病区的应用及效果分析[J]. 海峡药学, 2024, 36(3): 115-118.
- [12] 王晟, 赵建福, 李超峰, 等. 持续化网络安全运营体系研究[J]. 电信工程技术与标准化, 2020, 33(12): 37-41.
- [13] 许昌, 孙逸凡, 董四平, 等. 智慧医院建设促进公立医院高质量发展的思考[J]. 中国医院管理, 2023, 43(1): 10-13.
- [14] 陈军. 数据隐私保护下的医院互联互通平台建设[J]. 软件, 2024, 45(1): 83-85.
- [15] 刘阳. 基于实战化安全运营的智慧医院网络安全保护体系构建与应用[J]. 中国医疗设备, 2023, 38(11): 127-132.

(收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-10)

临床药师在临床

ICIs 治疗后银屑病再复发患者的药学监护及文献复习

赵新才^{1, 3}, 王永刚², 杨莉¹, 朱万虎¹, 郭澄¹, 张剑萍¹, 徐嵘^{1*} (1. 上海交通大学医学院附属第六人民医院药剂科, 上海 200233; 2. 上海交通大学医学院附属第六人民医院肿瘤内科, 上海 200233; 3. 上海申康医院管理研究所, 上海 200233)

摘要: 报道 1 例临床药师参与免疫检查点抑制剂 (ICIs) 治疗后银屑病复发的病例并进行文献复习, 为临床治疗和药学服务提供参考。患者因 ICIs 治疗后出现全身瘙痒、皮肤红色斑块皮疹, 症状逐渐加重 2 周后至肿瘤药学门诊就诊。临床药师经药品不良反应关联性评价和诺氏不良反应评估量表评估, 判断患者银屑病复发且很可能由信迪利单抗引起。后患者至皮肤科就诊, 明确诊断为重度斑块状银屑病。药师与临床医师紧密合作, 最终患者银屑病症状缓解, 重启免疫治疗。回顾文献, 共检索到 19 篇 ICIs 导致银屑病不良反应的文献, 共有 225 例患者, 症状大部分出现在免疫治疗后的 1~4 个周期, 其中 85 例 (37.8%) 患者既往有银屑病史, 169 例 (75.1%) 患者进行对症治疗 after 银屑病好转。综上, 临床药师应主动监测并识别免疫相关不良反应, 保证患者用药的安全性及有效性, 提高医疗机构药学服务综合水平。

关键词: 药师; 免疫检查点抑制剂; 银屑病复发; 文献复习

中图分类号: R969.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3066-06

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.041

Pharmaceutical care for psoriasis recurrence in patients treated with immune checkpoint inhibitors and literature review

ZHAO Xin-cai^{1, 3}, WANG Yong-gang², YANG Li¹, ZHU Wan-hu¹, GUO Cheng¹, ZHANG Jian-ping¹, XU Rong^{1*} (1. *Department of Pharmacy, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233*; 2. *Department of Oncology, Shanghai Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200233*; 3. *Shenkang Hospital Management Research Institute, Shanghai 200233*)

Abstract: We reported a case of psoriasis recurrence after treatment with immune checkpoint inhibitors (ICIs), with the involvement of clinical pharmacists, and conducted a literature review to provide reference for clinical treatment and pharmaceutical care. The patient presented with generalized pruritus and erythematous maculopapular rashes after treatment with ICIs. The symptoms progressively worsened over two weeks before visiting the oncology pharmacy clinic. After evaluating the drug adverse reaction correlation with the Naranjo assessment scale, the clinical pharmacist determined that the relapse of psoriasis was likely caused by sintilimab. The patient was subsequently referred to a dermatologist and diagnosed with severe plaque psoriasis. The pharmacist collaborated closely with clinicians to help alleviate of psoriasis symptoms and successful resumption of immunotherapy. Totally 19 publications reporting adverse reactions of psoriasis caused by ICIs were retrieved, involving 225 patients. Their symptoms predominantly emerged within 1~4 cycles of immunotherapy, with 85 (37.8%) patients having a prior history of psoriasis. Among them, 169

基金项目: 上海市医院协会临床药事管理专业委员会抗肿瘤药物临床应用管理项目 (No.YS2021001); 上海交通大学医学院附属第六人民医院医院管理院级科研专项 (No.Lygl202407)。

作者简介: 赵新才, 男, 主管药师, 主要从事肿瘤临床药学、循证药学研究工作, email: xincaiz@126.com * 通信作者: 徐嵘, 女, 副主任药师, 主要从事临床药学、药事管理工作, email: poohxu@yeah.net

(75.1%) patients showed improvement after symptomatic treatment. Clinical pharmacists should proactively monitor and identify immune-related adverse reactions to ensure the safety and efficacy of medication use and promote pharmaceutical services in healthcare institutions.

Key words: clinical pharmacist; immune checkpoint inhibitor; psoriasis relapse; literature review

近年来,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)在多种恶性肿瘤的治疗中取得了突破性进展,成为抗肿瘤治疗的关键手段之一,显著改善了患者的生存率和预后,其主要机制是阻断免疫检查点蛋白与其配体的结合,恢复T细胞对肿瘤细胞的杀伤力^[1-2]。目前,临床常用的ICIs包括细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)抑制剂、程序性死亡受体1(PD-1)抑制剂、程序性死亡受体配体1(PD-L1)抑制剂及淋巴细胞激活基因3(LAG-3)抑制剂等^[3]。然而,ICIs治疗常伴随免疫相关不良反应(immune-related adverse events, irAEs),其中常见的是皮肤不良反应,发生率在40%以上^[4-5],主要表现为斑丘疹和瘙痒,部分患者可能会出现新发或加重的银屑病,影响患者生活质量和心理健康,甚至导致治疗中断,影响肿瘤预后。如何在维持抗肿瘤疗效的同时,有效防治和控制银屑病复发,成为临床医师面临的一大挑战^[6-7]。本研究通过报道1例ICIs治疗后银屑病再复发的病例,并对ICIs致银屑病的相关文献进行回顾性分析,以期为此类不良反应的管理提供参考。

1 病历资料

患者,男,61岁,身高165 cm,体重70.0 kg,体表面积1.75 m²,美国东部肿瘤协作组体能状态(ECOG PS)评分1分。患者因“确诊直肠癌1年余,治疗后皮肤瘙痒、红色斑块皮疹逐渐加重近半月”就诊于本院肿瘤药学门诊。既往史:银屑病史10余年,系统治疗后病情一直稳定。

患者因直肠恶性肿瘤于2023年3月16日行腹腔镜下直肠癌根治术(直肠DIXON'S手术),病理示“腺癌,Ⅱ级,肿瘤大小4.5 cm×4 cm×0.7 cm,浸润至肠周纤维脂肪组织,区域淋巴结未见癌转移”;基因检测示“KRAS Exon-2 突变,微卫星稳定, NRAS 及 BRAF V600E 未见突变”;明确诊断为直肠恶性肿瘤(T3N0M0 ⅡA期)。术后定期复查。10月27日复查胸部CT显示两下肺胸膜下出现大小不一结节,较前(3月10日胸部CT)新发,结合病史,考虑转移。10月31日复查PET-CT提示直肠癌术后,双肺多发转移瘤可能,双侧肾门水平腹膜后淋巴结转移性可能。11月6日行经皮穿刺肺活检术,病理示“直肠腺癌肺转移”。排除禁忌后患者于11月6日、11月23日行一线FOLFOX方

案治疗2个周期,具体方案为:奥沙利铂150 mg ivgtt d1 + 亚叶酸钙注射液700 mg ivgtt d1 + 氟尿嘧啶注射液700 mg iv d1 + 氟尿嘧啶注射液4000 mg civ 46 h, q3w。12月6日疗效评价为稳定,后计划联合免疫及抗血管生成治疗。2023年12月13日至2024年1月25日行FOLFOX + 信迪利单抗200 mg ivgtt d1 + 贝伐珠单抗450 mg ivgtt d1 方案治疗3个周期。

2 主要治疗经过

自2024年2月初,患者出现全身瘙痒、红色斑块皮疹,且症状逐渐加重。2月19日,就诊于本院肿瘤药学门诊,自诉全身瘙痒难以忍受,查体发现双下肢、前胸、后背红斑,皮肤干燥,鳞屑伴肿胀及渗出。药师整理患者目前用药方案,考虑为ICIs相关皮肤不良反应,结合病史,判断为ICIs相关银屑病加重(3级)。2月19日胸部CT显示双肺转移病灶较前缩小,血常规、肝肾功能指标均正常。药师建议此次治疗暂停使用信迪利单抗,对患者进行免疫治疗相关皮肤不良反应教育,降低患者焦虑情绪,并建议患者至皮肤科就诊,临床医师、患者均采纳药师意见,于2月20日行FOLFOX + 贝伐珠单抗450 mg ivgtt d1 方案治疗。2月24日患者至皮肤科就诊,诊断为重度斑块状银屑病,予以外用重组人酸性成纤维细胞生长因子适量,每日1次,外敷;克立硼罗软膏适量,每日2次,外敷;卤米松乳膏适量,每日2次,外敷治疗。治疗1周后,3月2日患者于皮肤科复诊,诉瘙痒较前好转,皮肤仍有少量脱屑,无明显渗出。腹部皮肤病理示:表面鳞状上皮变薄,伴过度角化、角化不全,见少量中性粒细胞浸润,真皮乳头抬高,伴真皮浅层小血管增生,炎症细胞浸润。检验检查排除活动性结核感染及乙肝,嘱咐患者继续外敷用药,并予古塞奇尤单抗注射液1支(100 mg),皮下注射;第4周(4月2日)予古塞奇尤单抗注射液1支(100 mg),皮下注射,之后计划每2个月使用1次。药师对患者进行古塞奇尤单抗注射液用药须知教育,提高患者用药依从性,其间,3月13日、4月3日患者行FOLFOX + 贝伐珠单抗450 mg ivgtt d1 方案治疗2个周期。4月24日,患者皮肤表现明显好转,瘙痒及皮疹症状消退至1级以下。药师根据患者病情进展和身体状况,结合指南及循证医学证据,

建议恢复使用信迪利单抗免疫治疗, 临床医师、患者均同意, 分别于 4 月 24 日、5 月 15 日完成 FOLFOX + 信迪利单抗 200 mg ivgtt d1 + 贝伐珠单抗 450 mg ivgtt d1 方案治疗。后患者至皮肤科、肿瘤药学科门诊规律随访治疗, 银屑病未再加重。

3 分析与讨论

3.1 免疫相关皮肤不良反应的发生机制

PD-1 和 CTLA-4 通路在细胞免疫应答的调节中发挥着关键作用。在生理状态下, CTLA-4 主要参与胸腺中 T 细胞的成熟过程, 并抑制 T 细胞的过度激活, PD-1 通路则主要负责诱导和维持外周免疫系统对自身反应性 T 细胞的耐受性, 从而防止自身免疫反应的发生。当这些通路被 ICI 阻断时, T 细胞反应增强, 引起抗肿瘤反应和自身反应性 T 细胞的过度增殖, 从而导致自身免疫反应的发生^[8]。银屑病是一种免疫介导的、难治且极易复发的、慢性炎症性皮肤病, 其病因尚未完全明确, 目前认为涉及遗传、免疫、环境、代谢和内分泌等多种因素^[9]。银屑病的发病机制涉及多种细胞因子和免疫细胞的相互作用, 其中, 白细胞介素 23 (IL-23) 和辅助性 T 细胞 17 (Th17) 在银屑病的发病中起着关键作用。研究发现, 在银屑病中 IL-23 和 Th17 细胞之间存在一个正反馈循环, IL-23 不仅刺激 Th17 细胞的生成, 还通过 Th17 细胞产生 IL-17 等细胞因子, 进一步增强炎症反应。

3.2 银屑病再复发不良反应与信迪利单抗的关联性评价

根据国家药品不良反应监测中心制定的不良反应关联性评价标准^[10], 对本例患者的银屑病复发与信迪利单抗的关联性进行评价: ① 本例患者在使用信迪利单抗 3 个周期后出现皮损表现, 不良反应发生与使用信迪利单抗具有时间相关性; ② 信迪利单抗说明书中提及该药的皮肤不良反应包括银屑病, 本例患者的银屑病复发符合该药的已知不良反应类型; ③ 患者合并银屑病病史 10 余年, 经系统治疗后银屑病病情一直稳定, 信迪利单抗使用 3 个周期后出现周身皮肤瘙痒、干燥、红色斑块皮疹, 伴有鳞屑、肿胀、液体渗出等皮损表现, 与银屑病复发临床表现相符; ④ 停用信迪利单抗免疫治疗, 皮肤科对症予以激素外用联合生物制剂治疗后, 不良反应症状好转; ⑤ 药师整理患者治疗方案及既往用药史, 患者除静脉治疗用药外, 口服药物包括利可君片、双歧杆菌三联活菌胶囊, 查阅说明书及文献资料, 排除其他药物、食物导致银屑病。因此, 药师评价本例患者出现银屑病复发不良反应与信迪利单抗的关联性为“很可能”。另外, 药师采用诺氏评估量表法对银屑病复发和信迪利单抗的关联性进行评分^[10], 最终评分结果为 6 分, 表明该药物与上述不良反应

的因果关系为很可能。因此, 综合评价该患者银屑病复发很可能由信迪利单抗引起。

3.3 ICI 致银屑病流行病学特点

在中国知网、万方数据库、Web of Science 和 PubMed 等数据库检索关于 ICI 导致银屑病的相关文献报道, 结果检索到相关不良反应文献 19 篇^[11-29], 涉及 225 例患者。报道的 ICI 主要包括纳武利尤单抗 (142 例)、帕博利珠单抗 (43 例)、阿替利珠单抗 (14 例)、度伐利尤单抗 (8 例)、信迪利单抗 (5 例)、卡瑞利珠单抗 (5 例)、替雷利珠单抗 (3 例)、特瑞普利单抗 (1 例)、斯鲁利单抗 (1 例)、艾帕洛利托沃瑞利单抗 (1 例)、斯巴达珠单抗 (1 例)、阿维鲁单抗 (1 例)(见表 1)。银屑病样皮肤不良反应发生时间最短为使用免疫治疗后的第 3 日, 最长是免疫治疗后第 369 日, 大部分出现在免疫治疗后的第 1 ~ 4 个周期。这些发生银屑病样皮肤不良反应的患者中, 85 例 (37.8%) 患者既往有银屑病病史, 169 例 (75.1%) 患者进行对症治疗后银屑病好转, 130 例 (57.8%) 患者重新启用 ICI 治疗。真实世界临床实践中也有 5 例信迪利单抗引起银屑病再复发的报道^[16,18,25], 5 例患者均合并有银屑病病史, 停用信迪利单抗并进行治疗后, 银屑病均好转。研究发现 ICI 引起的银屑病样皮疹中, 83% 是由单一的 PD-1 治疗引起, 其中男性患者的发生率更高, 发病时间平均为使用 ICI 后的第 1 ~ 4 个周期, 约 50% 患者既往无银屑病病史, 新发银屑病患者的皮损出现时间可能较复发患者延后^[30-31]。

3.4 银屑病复发的处理及药学监护

银屑病本身是一种免疫介导的慢性炎症性疾病, 其复发可能与免疫系统过度激活有关。该患者有 10 余年银屑病病史, 遗传因素、个体免疫系统特点, 以及使用 ICI 可能使其更容易在免疫刺激下复发。患者双下肢、前胸、后背红斑、瘙痒, 皮损 > 30% 体表面积, 不良反应分级属于 G3 ~ G4^[32-33], 影响患者的日常活动, 如穿衣、运动, 且加重心理负担, 患者非常焦虑, 担心其肿瘤治疗效果。根据 ICI 相关的毒性管理指南^[33], 药师建议患者暂停免疫治疗, 并建议患者至皮肤科就诊。另外, 还应重视其他 irAEs, 如胃肠道反应、肝毒性、内分泌异常、肺毒性、心血管毒性等, 定期监测相关指标, 确保患者安全和治疗效果。

考虑到银屑病的复杂性, 治疗方案应根据患者病情个体化制订, 银屑病的治疗药物包括外用药物、系统药物治疗和物理疗法等。常用的外用药物包括润肤剂、外用糖皮质激素、维生素 D₃ 衍生物、维 A 酸类药物及钙调磷酸酶抑制剂等, 系统药物包括传统药物 (如甲氨蝶呤、环孢素等)、生物制剂

表 1 ICI 致银屑病样皮疹 225 例案例汇总信息

Tab 1 225 cases of psoriasis-like rash caused by ICIs

原发疾病	ICIs 类型及患者例数	发生时间	银屑病类型	银屑病病史	对银屑病的处理	结局
转移性非小细胞肺癌 ^[11]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	21 d	斑块型	无	停用 ICIs; 口服小分子磷酸二酯酶 (PDE) 4 抑制剂、糖皮质激素	好转并重启 ICIs 治疗
转移性非小细胞肺癌 ^[12]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	30 d	斑块型	有	停用 ICIs; 外用糖皮质激素, 注射生物制剂	好转并重启 ICIs 治疗
转移性非小细胞肺癌 ^[13]	阿替利珠单抗 1 例 (男)	84 d	寻常型	有	停用 ICIs; 皮下注射生物制剂, 外用糖皮质激素	好转并重启 ICIs 治疗
黑色素瘤 21 例, 肺癌 20 例, 肾癌 4 例, 其他 10 例 ^[14]	纳武利尤单抗 55 例 (男 44 例, 女 11 例)	3 ~ 360 d	斑块型, 银屑病关节炎, 掌跖银屑病, 甲银屑病, 反向型, 点滴型, 红皮病型	新发银屑病 3 例, 有银屑病 10 例	25 例暂停 ICIs 治疗, 19 例继续 ICIs 治疗, 11 例不详; 口服糖皮质激素、阿维 A 酸等, 外用糖皮质激素	52 例好转, 3 例不详; 7 例重启 ICIs 治疗
肝细胞癌 ^[15]	替雷利珠单抗 1 例 (男)	20 d	斑块型	无	停用 ICIs; 口服抗组胺药、糖皮质激素, 外用糖皮质激素	好转并重启 ICIs 治疗
肺癌 7 例, 胃癌 5 例, 胆管癌 1 例 ^[16]	卡瑞利珠单抗 5 例、信迪利单抗 3 例、特瑞普利单抗 1 例、替雷利珠单抗 1 例、阿替利珠单抗 1 例、斯鲁利单抗 1 例、艾帕洛利托沃瑞利单抗 1 例 (男 10 例, 女 3 例)	3 ~ 369 d	斑块型, 点滴型	新发银屑病 38 例, 有银屑病 17 例	11 例暂停 ICIs 治疗, 2 例继续 ICIs 治疗; 口服抗组胺药、复方甘草酸苷、阿维 A 酸等, 外用糖皮质激素、卡泊三醇、水杨酸制剂、他克莫司乳膏等	好转; 3 例重启 ICIs 治疗
胃癌 ^[17]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	60 d	银屑病关节炎	有	停用 ICIs; 口服糖皮质激素, 注射生物制剂	好转; 停用 ICIs
转移性肺鳞状细胞癌 ^[18]	信迪利单抗 1 例 (女)	84 d	斑块型	有	停用 ICIs; 外用消毒制剂, 口服抗银颗粒, 窄谱紫外线光疗	好转; 停用 ICIs
非小细胞肺癌 ^[19]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	42 d	斑块型	无	停用 ICIs; 口服抗组胺药、糖皮质激素, 外用糖皮质激素	好转并重启 ICIs 治疗
局部晚期尿路上皮癌 ^[20]	阿替利珠单抗 1 例 (男)	60 d	脓疱型	无	停用 ICIs; 口服阿维 A 酸, 外用糖皮质激素、水杨酸制剂	好转; 不详
晚期肺癌 ^[21]	替雷利珠单抗 1 例 (男)	7 d	脓疱型	无	停用 ICIs; 口服抗组胺药、糖皮质激素, 外用糖皮质激素	好转; 不详
转移性肺鳞状细胞癌 ^[22]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	84 d	斑块型	无	停用 ICIs; 口服阿维 A 酸, 外用糖皮质激素, 窄谱紫外线光疗	好转并重启 ICIs 治疗
黑色素瘤 1 例, 肺癌 1 例, 喉癌 1 例 ^[23]	纳武利尤单抗 3 例 (男)	7 ~ 150 d	斑块型	新发银屑病 1 例, 有银屑病 2 例	停用 ICIs; 口服糖皮质激素, 外用糖皮质激素, 注射生物制剂	好转; 1 例重启 ICIs 治疗
非小细胞肺癌 69 例, 黑色素瘤 17 例, 头颈部鳞状细胞癌 6 例, 其他 23 例 ^[24]	纳武利尤单抗 68 例、帕博利珠单抗 30 例、阿替利珠单抗 9 例、度伐利尤单抗 6 例、斯鲁利单抗 1 例、阿维鲁单抗 1 例 (男 88 例, 女 27 例)	平均 279 d	斑块型, 掌跖银屑病, 脓疱型, 甲银屑病, 反向型, 点滴型, 红皮病型	新发银屑病 82 例, 有银屑病 33 例	29 例暂停 ICIs 治疗; 口服并外用糖皮质激素、阿维 A 酸等, 窄谱紫外线光疗, 注射生物制剂	67 例好转; 91 例重启 ICIs 治疗
转移性非小细胞肺癌 ^[25]	信迪利单抗 1 例 (男)	14 d	斑块型	有	停用 ICIs; 口服抗组胺药、糖皮质激素、雷公藤糖苷片, 外用糖皮质激素、凡士林	好转; 不详
转移性非小细胞肺癌 ^[26]	阿替利珠单抗 1 例 (男)	14 d	点滴型	有	停用 ICIs; 口服抗组胺药, 外用糖皮质激素	好转; 停用 ICIs
肺鳞状细胞癌 ^[27]	帕博利珠单抗 1 例 (男)	14 d	寻常型	无	ICIs 调整剂量; 外用糖皮质激素, 窄谱紫外线光疗	好转并重启 ICIs 治疗
非小细胞肺癌 3 例, 尿路上皮癌 1 例, 扁桃体鳞状细胞癌 1 例 ^[28]	帕博利珠单抗 1 例、纳武利尤单抗 2 例、度伐利尤单抗 2 例 (男 4 例, 女 1 例)	42 ~ 126 d	斑块型, 点滴型, 掌跖银屑病, 甲银屑病, 银屑病关节炎	新发银屑病 3 例, 有银屑病 2 例	停用 ICIs; 口服及外用糖皮质激素, 窄谱紫外线光疗	好转; 4 例重启 ICIs 治疗

续表 1

原发疾病	ICIs 类型及患者例数	发生时间	银屑病类型	银屑病病史	对银屑病的处理	结局
肺癌 10 例, 黑色素瘤 11 例 ^[29]	帕博利珠单抗 6 例、纳武利尤单抗 14 例、阿替利珠单抗 1 例 (男 18 例, 女 3 例)	15 ~ 229 d	斑块型, 脓疱型, 掌跖银屑病, 点滴型, 红皮病型	新发银屑病 6 例, 有银屑病病史 15 例	停用 ICIs; 口服糖皮质激素、阿维 A 酸等, 外用糖皮质激素, 窄谱紫外线光疗	18 例好转, 3 例恶化; 17 例重启 ICIs 治疗

和小分子靶向药等^[8]。本案例患者至皮肤科就诊后, 予皮肤组织活检, 并诊断为重度斑块银屑病。患者既往银屑病外用糖皮质激素治疗有效, 因此皮肤科诊断明确后首先予以外用糖皮质激素、重组人酸性成纤维细胞生长因子等, 用药 1 周左右患者皮肤瘙痒、干燥等症状较前减轻, 肝肾功能检查指标均正常。2 月 28 日查乙肝两对半、结核感染 T 细胞斑点试验 (T-SPOT) 均为阴性, 后给予生物制剂古塞奇尤单抗注射液, 皮下注射, 继续外用激素治疗 4 周, 症状明显好转, 银屑病分级至 G1 级以下。

文献报道纳武利尤单抗、帕博利珠单抗引起的银屑病大多可以通过传统治疗方案或生物制剂治疗得到控制, 且在有效控制的前提下可以继续使用免疫治疗^[34]。根据 CSCO ICIs 相关的毒性管理指南 (2023) 推荐, 待皮肤症状消退至 G1 级后, 可以重启 ICIs 治疗^[33], 因此, 药师对患者进行用药教育, 有银屑病病史的恶性肿瘤患者, 不必因担心银屑病加重而回避免疫治疗。后医师、患者接受药师意见, 继续使用信迪利单抗免疫治疗, 银屑病规律治疗未再加重。

4 总结

ICIs 引起的银屑病样皮疹极大地影响了患者的生活质量和抗肿瘤的治疗决策, 应得到临床医师的高度重视。对于有银屑病病史的患者使用 ICIs 时, 预防银屑病复发至关重要, 应定期监测皮肤状况, 一旦发现银屑病复发迹象, 及时至皮肤科进行干预。在本例患者的不良反应鉴别及处理过程中, 药师通过查阅国内外文献, 结合患者合并银屑病病史 10 余年, 判断为信迪利单抗治疗后出现银屑病再复发, 并且与临床医师协作, 全程参与治疗及监护, 最终患者银屑病症状缓解, 并重启免疫治疗。回顾此次病例药学监护过程, 对于既往合并其他慢性疾病的肿瘤患者, 若患者行化疗或免疫抑制剂治疗, 应及时监护患者的 irAEs, 以防严重不良反应的发生。

参考文献

[1] He X, Xu CQ. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy [J]. Cell Res, 2020, 30 (8): 660-669.
[2] 杨敏, 王玉忠. 免疫检查点抑制剂的作用机制及常见不良反应的研究进展 [J]. 中国临床实用医学, 2022, 13 (4): 62-65.
[3] Qin S, Xu LP, Yi M, et al. Novel immune checkpoint targets: moving beyond PD-1 and CTLA-4 [J]. Mol Cancer, 2019, 18 (1): 1-14.
[4] 华雨薇, 赵林. 免疫治疗相关不良反应研究进展 [J]. 中华

胃肠外科杂志, 2022, 25 (3): 271-276.
[5] Kennedy LB, Salama AKS. A review of cancer immunotherapy toxicity [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70 (2): 86-104.
[6] 中华医学会皮肤性病学分会, 中国医师协会皮肤科医师分会, 中国老年医学学会皮肤医学分会. 免疫检查点抑制剂相关皮肤不良反应诊治中国专家共识 (2024 版) [J]. 中华医学杂志, 2024, 104 (20): 1790-1803.
[7] 龙霞, 黄孟文, 蒲诗云, 等. FAERS 中免疫检查点抑制剂相关严重皮肤不良反应数据挖掘 [J]. 中国药房, 2023, 34 (22): 2760-2765.
[8] 孙毅, 杨骥. 肿瘤免疫检查点抑制剂引起皮肤不良反应多学科专家共识 (2025 版) [J]. 中国临床医学, 2025, 32 (2): 1-16.
[9] 中华医学会皮肤性病学分会银屑病专业委员会. 中国银屑病诊疗指南 (2023 版) [J]. 中华皮肤科杂志, 2023, 56 (7): 573-625.
[10] 陈静静, 钱佩佩, 曹凯, 等. 我国药品不良反应关联性评价方法与诺氏评估量表法的对比与分析 [J]. 中国药事, 2020, 34 (8): 988-992.
[11] Ambrogio F, Rubino L, Laface C, et al. Pembrolizumab-induced rupioid psoriasis treated by apremilast without interrupting the ongoing antineoplastic treatment [J]. Cureus, 2024, 16 (2): e55249.
[12] Greene A, Penner S, Edmond A, et al. Successful treatment of PD1-inhibitor induced psoriasiform dermatitis using IL-17 blockade without compromising immunotherapy efficacy [J]. J Oncol Pharm Pract, 2024, 30 (8): 1450-1454.
[13] Fukui M, Chihara Y, Takahashi Y, et al. Biological agents for treating atezolizumab-induced psoriasis in small-cell lung cancer: a case report [J]. Cureus, 2024, 16 (5): e61395.
[14] Zhao SL, Sun W, Sun JC, et al. Clinical features, treatment, and outcomes of nivolumab induced psoriasis [J]. Invest New Drugs, 2024, 12: 1-8.
[15] 李洁, 汪荣华, 谢晓蕾. 替雷利珠单抗致银屑病样皮疹 1 例 [J]. 药物流行病学杂志, 2024, 33 (10): 1189-1195.
[16] 王慧云, 宋姍爱, 梁淑雅, 等. 免疫检查点抑制剂相关银屑病临床病例回顾性分析 [J]. 药物不良反应杂志, 2024, 26 (12): 743-748.
[17] Kim S, Sun JH, Kim H, et al. Pembrolizumab-induced psoriatic arthritis treated with disease-modifying anti-rheumatic drugs in a patient with gastric cancer: a case report [J]. World J Clin Cases, 2023, 11 (1): 218-224.
[18] Huang WY, Liu Y, Li M, et al. Sintilimab-related diabetes mellitus and psoriasis: a case report and literature review [J]. Medicine (Baltimore), 2023, 102 (45): e35946.
[19] Gatti F, Caruso G, Potenza C, et al. Psoriasis induced by first-line pembrolizumab in metastatic non-small cell lung cancer: a case report [J]. Oncol Lett, 2023, 26 (1): 1-6.
[20] Mohta A, Arora A, Jain SK. Atezolizumab induced de novo rupoid psoriasis: a rare cutaneous manifestation of immune

- checkpoint inhibitors [J]. J Cosmet Dermatol, 2022, 21 (5): 2005-2008.
- [21] 方兆珺, 王鲁梅, 李俊杰. 晚期肺癌患者应用 PD-1 抑制剂致银屑病样药疹一例并文献复习 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2022, 38 (3): 161-163.
- [22] 何春霞, 斯晓燕, 渠涛, 等. 免疫检查点抑制剂帕博利珠单抗诱发银屑病一例并文献复习 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2021, 37 (1): 3-7.
- [23] Mayor Ibarguren A, Enrique EA, Diana PL, et al. Apremilast for immune checkpoint inhibitor-induced psoriasis: a case series [J]. JAAD Case Rep, 2021, 11: 84-89.
- [24] Nikolaou V, Sibaud V, Fattore D, et al. Immune checkpoint-mediated psoriasis: a multicenter European study of 115 patients from the European Network for Cutaneous Adverse Event to Oncologic Drugs (ENCADO) group [J]. J Am Acad Dermatol, 2021, 84 (5): 1310-1320.
- [25] Sui CL, Lin XF, He L, et al. Dermoscopic features of acutely exacerbated plaque psoriasis induced by anti-programmed death-1 for lung cancer [J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133 (17): 2123-2125.
- [26] Mao M, Shi M, Li T, et al. Atezolizumab-induced psoriasis in a patient with metastatic lung cancer-a case report [J]. Transl Cancer Res, 2020, 9 (5): 3776-3782.
- [27] 陈媚, 马慧森, 赵锐恒, 等. PD-1 抑制剂致银屑病样药疹一例 [J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2019, 35 (8): 494-495.
- [28] Voudouri D, Nikolaou V, Laschos K, et al. Anti-PD1/PDL1 induced psoriasis [J]. Curr Probl Cancer, 2017, 41 (6): 407-412.
- [29] Bonigen J, Raynaud-Donzel C, Hureauux J, et al. Anti-PD1-induced psoriasis: a study of 21 patients [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2017, 31 (5): e254-e257.
- [30] Said JT, Elman SA, Perez-Chada LM, et al. Treatment of immune checkpoint inhibitor mediated psoriasis: a systematic review [J]. J Am Acad Dermatol, 2022, 87 (2): 399-400.
- [31] Yu YX, Zhou Y, Zhang X, et al. Immune checkpoint inhibitors in the treatment of patients with cancer and pre-existing psoriasis: a systematic review and meta analysis of observational studies [J]. Front Oncol, 2022, 12: 934093.
- [32] 倪军, 黄森, 张力, 等. 非小细胞肺癌围手术期免疫治疗相关不良反应管理的临床诊疗建议 [J]. 中国肺癌杂志, 2021, 24 (3): 141-160.
- [33] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 免疫检查点抑制剂相关的毒性管理指南 2023 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023.
- [34] 隋长霖, 常晓, 赵琪, 等. 抗肿瘤靶向和免疫治疗致银屑病研究进展 [J]. 中华皮肤科杂志, 2024, 57 (6): 570-574.
- (收稿日期: 2025-01-02; 修回日期: 2025-03-20)

塞来昔布致类风湿关节炎患者急性肝损伤 1 例及药学监护

韩进彩¹, 史光伟^{1*}, 刘舒怡², 史娟¹, 曾俊媛¹, 杨燕梅¹ (1.酒泉市中医医院 临床药理学室, 甘肃 酒泉 735000; 2.酒泉市中医医院 风湿病区域医疗中心, 甘肃 酒泉 735000)

摘要: 药物性肝损伤的及时识别、临床处置和风险防范目前依旧面临巨大的挑战, 本文报道了临床药师参与 1 例类风湿关节炎所致关节肿痛患者给予塞来昔布 0.2 g po bid 治疗 60 h 后出现严重急性肝损伤的药物不良反应处置全过程, 旨在为类风湿关节炎患者治疗过程中可能出现的药物性肝损伤提供识别和处置的参考资料。

关键词: 类风湿关节炎; 塞来昔布; 药物性肝损伤; 严重不良反应; 药学监护

中图分类号: R969.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1672-2981(2025)10-3071-05
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.042

Clinical pharmacist's involvement in the management of a severe adverse reaction of acute liver injury caused by celecoxib in a patient

HAN Jin-cai¹, SHI Guang-wei^{1*}, LIU Shu-yi², SHI Juan¹, ZENG Jun-yuan¹, YANG Yan-mei¹ (1. Clinical Pharmacy Section of Jiuquan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiuquan Gansu 735000; 2. Department of Rheumatology, Jiuquan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiuquan Gansu 735000)

基金项目: 甘肃省药品监督管理局科研项目 (No.2024GSMPA027)。

作者简介: 韩进彩, 女, 主管药师, 主要从事西药临床药学工作, email: 2279926364@qq.com ^{*} **通信作者:** 史光伟, 男, 主管中药师, 主要从事中医理论及临床药学工作, email: 1368403509@qq.com

Abstract: At present, the timely identification, clinical management, and risk prevention of drug-induced liver injury face formidable challenges. This paper reported the whole process in which clinical pharmacists were involved in handling the adverse drug reaction of a patient with joint swelling and pain caused by rheumatoid arthritis. The patient developed severe acute liver injury 60 hours after receiving celecoxib at 0.2 g orally, twice daily (po bid). The aim is to provide reference for the identification and management of potential drug-induced liver injury among rheumatoid arthritis patients.

Key words: rheumatoid arthritis; celecoxib; drug-induced liver injury; serious adverse reaction; pharmaceutical care

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以侵蚀性关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病, 发病高峰年龄为 45 ~ 60 岁, 但可发生于任何年龄^[1]。随着 RA 的治疗药物不断更新, 越来越多的新药在我国获批上市, 用药后的不良反应也越来越多。本研究通过临床药师参与 1 例塞来昔布致患者急性肝损伤的药学实践, 旨在为 RA 治疗过程中药物性肝损伤 (DILI) 的识别和处置提供参考资料。

1 病历资料

患者, 女性, 59 岁, 身高 157 cm, 体重 77 kg, 体表面积 (BSA) 1.91 m², 体质指数 (BMI) 31.2 kg · m⁻²。因“多关节对称性肿痛 7 年, 加重 1 个月”于 2024 年 10 月 31 日入院。患者 7 年前因劳累并受凉后出现双手小关节多节肿胀、疼痛, 未予重视。1 年前渐出现双腕、双肩、双膝关节肿痛, 于本院就诊, 行相关检查后诊断为 RA, 口服来氟米特等药物, 症状好转后自行停药。1 月前全身多关节肿痛加重, 为求进一步治疗前来我院就诊, 门诊以尪痹收住。

体格检查: 体温 (T) 36 °C、脉搏 (P) 113 次 · min⁻¹、呼吸 (R) 21 次 · min⁻¹、血压 (BP) 128/93 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 患者全身多关节肿胀、疼痛, 诸关节晨起僵硬、遇寒加重; 乏力, 汗多; 食纳差; 睡眠欠佳, 多梦易醒, 大小便正常。其他无异常。

既往病史: 高血压病史 10 年, 血压最高达 180/120 mmHg, 口服马来酸氨氯地平片 10 mg qd, 未规律监测血压; 高脂血症、重度骨质疏松病史 1 年, 未规律服药; 否认其他病史。

过敏史: 有阿莫西林过敏史 (具体不详), 无其他食物、药物过敏史。

实验室检查: 葡萄糖 (GLU) 9.51 mol · L⁻¹↑, 尿素 (UREA) 6.8 mmol · L⁻¹, 尿酸 (UA) 426

μmol · L⁻¹, 肌酐 (CREA) 64.3 μmol · L⁻¹, 谷丙转氨酶 (ALT) 48 U · L⁻¹↑, 谷草转氨酶 (AST) 22 U · L⁻¹, 谷氨酰基转移酶 (γ-GT) 76 U · L⁻¹↑, 总胆红素 (TBIL) 6.5 μmol · L⁻¹, 直接胆红素 (DBIL) 1.5 μmol · L⁻¹, 间接胆红素 (IBIL) 5 μmol · L⁻¹, C-反应蛋白 (CRP) 24.46 mg · L⁻¹↑; 白细胞计数 (WBC) 10.47 × 10⁹ L⁻¹↑, 中性粒细胞数目 (NE) 5.56 × 10⁹ L⁻¹, 淋巴细胞数目 (LY) 4.1 × 10⁹ L⁻¹↑; 类风湿因子 52.64 IU · mL⁻¹↑; 红细胞沉降率 41 mm · h⁻¹↑; 抗环瓜氨酸肽抗体 (抗 CCP) > 500.00 U · mL⁻¹↑; 血凝相关无异常。

辅助检查: 窦性心动过速; 左侧肘关节腔积液并滑膜增厚, 左侧肘关节骨赘形成; 颈椎退行性改变; 腰 2/3、腰 3/4、腰 4/5、腰 5/骶 1 椎间盘膨出, 腰 4 椎体滑脱 (I 度), 腰椎退行性改变, 胸 12 椎体血管瘤。

入院西医诊断: ① 血清反应阳性的 RA; ② 高血压病 3 级 (极高危); ③ 绝经后骨质疏松。中医诊断: 尪痹 - 寒湿痹阻证。

2 诊治过程

患者入院后, 予以双氯芬酸钠缓释胶囊 0.1 g po st 抗炎, 氢溴酸高乌甲素注射液 4 mg im st 止痛等对症治疗。另给予中药 3 剂 (每日 1 剂) 以健脾祛湿 (桂枝 10 g、焦山楂 15 g、生石膏 15 g、焦六神曲 15 g、炙甘草 10 g、酒黄芩 10 g、白术 15 g、火麻仁 6 g、甘草片 5 g、干姜 6 g、玉竹 10 g、天冬 10 g、焦麦芽 15 g、茯苓 10 g、升麻 6 g、当归 12 g、白芍 10 g)。

11 月 1 日, 患者症状体征同前。尿常规回报示: 胆红素 0 μmol · L⁻¹、蛋白质 0 g · L⁻¹, 白细胞 ++ (125 个 · μL⁻¹)、葡萄糖 0 mmol · L⁻¹。患者诊断明确, 予以塞来昔布胶囊 0.2 g po bid 抗炎止痛, 来氟米特片 20 mg po qd、锝 [⁹⁹Tc] 亚甲基二膦酸盐注射液 2 套 (本品 A+B 剂为 1 套, 其

中 A 剂每瓶 5 mL, 内含钨 [^{99}Tc]0.05 μg ; B 剂每瓶内含亚甲基二膦酸 5 mg、氯化亚锡 0.5 mg) ivgtt qd 治疗 RA。

11 月 4 日, 患者诉其凌晨 4 时全身瘙痒 (以腋窝、腹股沟明显)、双上肢及腹部出现少量皮疹, 小便颜色呈黄红色, 腹部胀满, 大便干。主管医师考虑药物来氟米特引起的不良反应, 遂即停用来氟米特, 并给予氯雷他定片抗过敏 (10 mg po st, 患者未服用); 结合尿常规 (11 月 1 日尿常规示: 白细胞++)、尿色考虑患者尿路感染, 给予三金片 (3 片 po tid) 并监测尿常规; 患者今日自行停用中药汤剂。

11 月 5 日, 患者皮疹瘙痒及尿黄红情况加重, 腹胀依旧。随即予以盐酸苯海拉明注射液 (20 mg im st) 抗过敏, 并继续观察, 同时主管医师向临床药学室上报该不良反应。尿常规回报示: 胆红素++ (50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、尿蛋白+ (33 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、白细胞+++ (500 个 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$)、葡萄糖+ (14 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$)。临床药师收到不良反应报告后床旁查看, 患者诉皮疹瘙痒难忍, 小便颜色异常 (自述如冰红茶色)。患者既往服用过来氟米特 (20 mg po qd) 并未出现该类情况, 评估后认为不排除塞来昔布胶囊引起的不良反应 (胆红素异常、肝损伤相关), 塞来昔布胶囊也应停用, 并监护患者肝功能, 嘱适量饮水排尿, 医师接受建议, 于 11 月 5 日 10:45 停塞来昔布胶囊医嘱, 嘱密切观察、采血送检待回报。

11 月 6 日, 患者瘙痒感稍有减轻, 皮疹基本消退, 小便颜色略微变浅, 腹胀稍有缓解。“肝功能十项”回报示: ALT 345 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, AST 158.3 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, $\gamma\text{-GT}$ 1105 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, TBIL 52.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, DBIL 45.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, IBIL 6.8 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。临床药师认为该患者为 DILI, 系塞来昔布引起的严重不良反应, 建议给予熊去氧胆酸 (UDCA) 胶囊 0.25 g po tid、葡醛内酯片 0.2 g po tid 保肝治疗, 并调整抗风湿方案为注射用甲氨蝶呤 10 mg im qw, 嘱密切观察。主治医师接受建议。

11 月 8 日, 患者瘙痒感减轻, 皮疹消退, 小便颜色呈深黄色, 腹胀缓解, 大便干燥, 全身多关节肿痛稍有缓解, 继续当前治疗。在医师和临床药师的共同宣教后, 患者愿服中药, 遂处以理气解郁、保肝利胆组方 (柴胡疏肝散合小柴胡汤加减: 北柴胡 20 g、陈皮 12 g、川芎 10 g、醋香附 12 g、麸炒枳壳 10 g、炒白芍 15 g、炙甘草 6 g、

生半夏 9 g、党参片 20 g、酒黄芩 10 g、大枣 10 g、茵陈 15 g、盐泽泻 10 g、连翘 15 g、郁金 10 g、麦芽 15 g; 3 剂)。

11 月 9 日, 患者瘙痒感较前一日减轻, 皮疹消退, 小便颜色呈深黄色, 腹胀缓解, 大便干燥, 全身多关节肿痛稍有缓解。“肝功能十项”回报示: ALT 274 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, AST 96 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, $\gamma\text{-GT}$ 1120 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, TBIL 51.7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, DBIL 33.6 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, IBIL 18.1 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$ 。尿常规回报示: 胆红素++ (50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、尿蛋白+ (33 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、白细胞++ (125 个 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$)、葡萄糖+- (5.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$)。继续当前治疗方案。

11 月 13 日, 患者瘙痒感减轻, 皮疹消退, 小便颜色呈亮黄色, 全身多关节肿痛缓解。“肝功能十项”回报示: ALT 253 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, AST 64 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, $\gamma\text{-GT}$ 909 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, TBIL 27.9 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, DBIL 13.9 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$, IBIL 14 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\uparrow$ 。尿常规回报示: 胆红素- (0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、尿蛋白+- (17 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、白细胞+++ (500 个 $\cdot \mu\text{L}^{-1}$)、葡萄糖+- (5.5 mmol $\cdot \text{L}^{-1}$)。继续当前治疗方案。

11 月 14 日, 患者瘙痒感减轻, 皮疹消退, 小便颜色呈浅黄色, 全身多关节肿痛缓解。患者实验室检查结果、临床症状较前好转, 予以出院。嘱出院后继续口服保肝药物, 中成药调整为肝爽颗粒 3 g po tid。11 月 27 日患者门诊随访时各项指标好转明显, 部分指标恢复正常 (见图 1、2)。

3 药师参与分析致敏药物及药学监护

DILI 是指由化学药品、生物制品、中成药、中药材、保健品等产品, 或其代谢产物乃至其辅料、污染物、杂质等所导致的肝损伤^[2]。复杂的药物种类、不同的处方和用药习惯, 对人群异质性、损伤机制、风险因素、临床表型等认识的局限, 以及缺乏特异性诊断生物标志物和有效干预措施的现状, 使得 DILI 的防控面临巨大的挑战^[2]。临床上主要根据 R 值将 DILI 分为肝细胞损伤型 DILI ($R \geq 5$)、混合型 DILI ($2 < R < 5$) 及胆汁淤积型 DILI ($R \leq 2$), 该患者肝功能检查 ALT $\geq 5\text{ULN}$ 、ALP $\geq 2\text{ULN}$ 、ALP $\geq 3\text{ULN}$ 同时 TBil $\geq 2\text{ULN}$, $R = 2.4$, 明确为混合型肝损伤^[2-3]。

3.1 致敏药物分析

Roussel Uclaf 因果关系评价法 (RUCAM) 是一种对肝损伤的临床、生化、血清学及放射学特点进行评分, 最后得出一个全面总分的方法, 可反映肝损伤由某种药物引起的可能性。该患者

R 值判断为混合型肝损伤，结合 RUCAM 评分 的因果关系，具体见表 1。
表^[2]，判断塞来昔布胶囊、来氟米特片与肝损伤

表 1 塞来昔布胶囊与来氟米特片致药物性肝损伤 RUCAM 评分表
Tab 1 RUCAM scoring for celecoxib capsules and leflunomide tablets induced drug-induced liver injury

计分项目	肝细胞型			胆汁淤积型或混合型			分值	
	初次用药	非初次用药		初次用药	非初次用药		塞来昔布胶囊	来氟米特片
服药至起病时间 /d	5 ~ 90	1 ~ 5	+ 2	5 ~ 90	1 ~ 90	+ 2	+ 1	+ 1
	< 5 或> 90	> 15	+ 1	< 5 或> 90	> 90	+ 1		
停药至起病时间 /d	≤ 15	≤ 15	+ 1	≤ 30	≤ 30	+ 1	+ 1	
停药后病程	ALT 自峰值的降幅			ALP 或胆红素自峰值的降幅			+ 2	+ 2
	8 d 内下降≥ 50%ULN		+ 3	< 180 d 内下降> 50%ULN		+ 2		
	30 d 内下降> 50%ULN		+ 2	< 180 d 内下降< 50%ULN		+ 1		
	> 30 d 后下降≥ 50%ULN		0	持续存在或升高或无资料		0		
	> 30 d 后下降< 50%ULN		- 2					
危险因素	有饮酒		+ 1	有饮酒或妊娠		+ 1	0	0
	无饮酒		0	无饮酒或妊娠		0		
年龄 / 岁	≥ 55		+ 1	≥ 55		+ 1	+ 1	+ 1
	< 55		0	< 55		0		
其他药物	无合并用药或缺少相关资料		0	无合并用药或缺少相关资料		0	- 2	- 2
	有合并用药且时间有提示性		- 1	有合并用药且时间有提示性		- 1		
	肝毒性药物且时间有提示性		- 2	肝毒性药物且时间有提示性		- 2		
	有其他致肝损伤证据的药物（如再刺激反应阳性）		- 3	有其他致肝损伤证据的药物（如再刺激反应阳性）		- 3		
其他原因	完全排除组 I * 及组 II **		+ 2	完全排除组 I * 及组 II **		+ 2	+ 2	+ 2
	完全排除组 I		+ 1	完全排除组 I		+ 1		
	排除组 I 中 4 ~ 5 项		0	排除组 I 中 4 ~ 5 项		0		
	排除组 I 中不足 4 项		- 2	排除组 I 中不足 4 项		- 2		
既往信息	非药物性因素高度可能		- 3	非药物性因素高度可能		- 3		
	药签中有相关记载		+ 2	药签中有相关记载		+ 2	+ 2	+ 2
	有文献报告，但药签无说明		+ 1	有文献报告，但药签无说明		+ 1		
	未知		0	未知		0		
药物再刺激	阳性		+ 3	阳性		+ 3	0	- 2
	可疑阳性		+ 1	可疑阳性		+ 1		
	阴性		- 2	阴性		- 2		
	未做或无法判断		0	未做或无法判断		0		
总分							7	4

判断标准：> 8 分极有可能；6 ~ 8 分很可能有关；3 ~ 5 分可能有关；1 ~ 2 分可能无关；≤ 0 分无关

注：* 组 I 包括甲型肝炎病毒（HAV）、乙型肝炎病毒（HBV）、丙型肝炎病毒（HCV）、胆道梗阻、酗酒、新近发生过低血压（休克肝）；** 组 II 包括巨细胞病毒（CMV）、EB 病毒（EBV）、疱疹病毒感染。

Note: *Group I includes acute infections of hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), biliary tract obstruction, excessive alcohol consumption, and recent occurrence of hypotension shock liver. **Group II includes infections of cytomegalovirus (CMV), epstein-barr virus (EBV), and herpesviruses.

根据 RUCAM 评分系统，认为塞来昔布胶囊（7 分）很可能与此次药物性肝损伤有关，而来氟米特片（4 分）可能与此次药物性肝损伤有关；且根据国际通用诺氏药品不良反应评估量表^[4]，认为塞来昔布很可能是此次不良反应的致敏药物；其次通过文献检索、中医理法方药一致性、组方

配伍等综合评价，基本可以排除患者同时用中药处方所引起的肝损伤^[5]。

塞来昔布的作用机制是选择性抑制环氧化酶 -2（COX-2），该酶负责前列腺素的合成，是疼痛和炎症途径的一个组成部分，这种药理活性使塞来昔布具有镇痛、抗炎和解热作用^[6]，目前

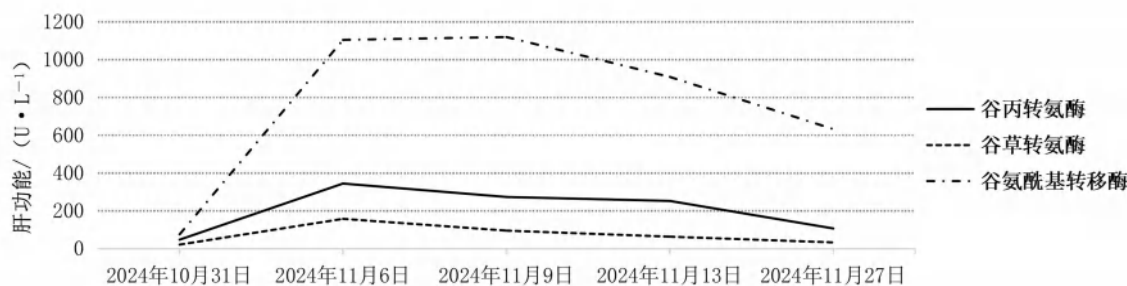


图1 患者住院期间肝功能监测

Fig 1 Changes in liver function indexes of patients during hospitalization

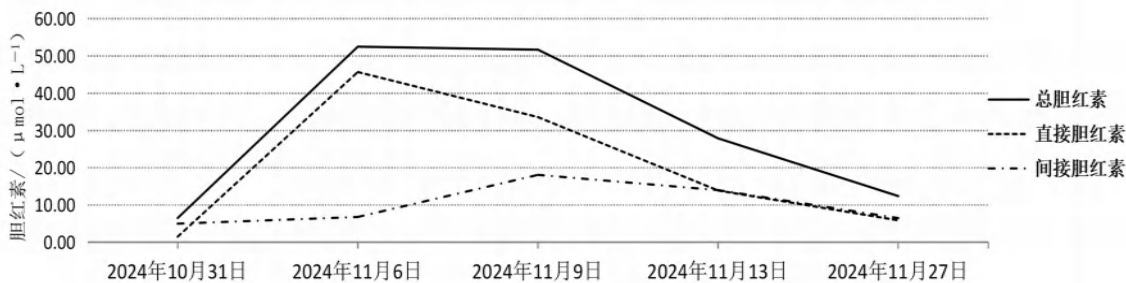


图2 患者住院期间胆红素监测

Fig 2 Changes in bilirubin index of patients during hospitalization

广泛用于治疗风湿病和骨关节炎。塞来昔布在胃肠道吸收迅速，单次给药后 3 h 内达到血浆峰浓度^[7]，其稳态分布体积约为 429 L，表明其广泛分布于各种组织中^[8]，主要通过细胞色素 P4502C9 (CYP2C9) 代谢，并可能与作为 CYP2C9 底物的其他药物相互作用^[9]，半衰期为 11.2 h，该药物主要通过肝脏代谢消除，少量药物在粪便中保持不变，口服时约 57% 的剂量以代谢物的形式通过粪便排出，27% 通过尿液排出^[6]。在已发表的塞来昔布 DILI 报道中，女性比例过高，大多数患者的潜伏期较短 (< 3 个月)，一些受试者在长期使用塞来昔布后可能出现 DILI，虽然罕见，但可能威胁生命^[10]。Kaplowitz 等^[11]在药物性肝病中提及塞来昔布常导致急性胆汁淤积性肝炎，但通常是可逆的。

3.2 治疗药物的药学监护

3.2.1 RA 的药物治 该患者诊断为 RA，根据《2024 中国类风湿关节炎诊疗指南》^[1] 指导意见：RA 一经确诊，应尽早开始 csDMARD (传统合成抗风湿药) 治疗，有利于缓解临床症状、延缓影像学进展、改善患者预后。目前国际各大 RA 指南均推荐甲氨蝶呤单药作为 RA 初始治疗的首选药物。甲氨蝶呤治疗 RA 的口服剂量通常为 7.5 ~ 20 mg/周，并应根据病情、治疗效果及不良反应及时调整剂量。在使用甲氨蝶呤治疗时，建议每周补充叶酸 5 mg 以减少不良反应。当存

在甲氨蝶呤禁忌或不耐受时，建议使用柳氮磺吡啶或来氟米特。该患者初始药物选择的合理性有待商榷，在临床药师干预后给予甲氨蝶呤注射液治疗，患者全身多关节肿痛缓解，效果良好。

3.2.2 DILI 药学监护 患者明确为混合型 DILI，根据《胆汁淤积性肝病管理指南 (2021)》^[12] 指导意见，UDCA 为一线治疗药物^[12]。在停用肝损伤药物的基础上使用，UDCA 可有效治疗 DILI，尤其是胆汁淤积型和混合型患者。UDCA 使用时可根据患者的体重给予相应的剂量，该患者体重 77 kg，给予“0.25 g po tid”较为合理。葡醛内酯片为解毒保肝类药物，用于急慢性肝炎的辅助治疗，成人一次 1 ~ 2 片，一日 3 次，用法用量合理。中药临床药师在中医辨证基础上，建议医师开具中药柴胡疏肝散合小柴胡汤加减方，其同样具有一定的保肝利胆作用^[13]，处方中茵陈可有效改善肝功能和胆红素水平^[14]，泽泻也具有保肝活性^[15]。

患者停止使用致敏药物后，使用 UDCA 和葡醛内酯利胆解毒保肝，同时应用具有保肝利胆功效的中药，积极治疗后皮肤瘙痒症状减轻，皮疹消退，小便颜色由冰红茶色转为浅黄色，尿胆红素检测为阴性，肝功能指标好转。

4 小结

本病例的药品不良反应处置全过程，有几个重要内容值得总结：首先，该患者出现不良反应后医师第一时间上报，为后续药物治疗、干预赢

得了最佳时机；其次，临床药师在获悉后第一时间深入临床核实调查，并开展床旁药学问诊，掌握更为详细的不良反应资料，为进一步确定致敏药物赢得了转机；再次，临床药师根据患者“小便色红+皮疹瘙痒”锁定肝功能异常、胆红素升高，为致敏药物的确定提供了方向；最后，临床药师从药物角度查阅文献及相关资料，最终确定致敏药物，并参与了后续个体化治疗方案的制订，得到了医师的认可，为患者用药安全提供了更有力的保障。另外，在处置过程中，不难发现患者的用药依从性差，临床药师反复开展用药教育，大大提高了患者的用药依从性。

综上所述，通过药师参与本例塞来昔布致患者急性肝损伤的处置全过程，充分发挥药师专业优势，审核治疗方案，甄别致敏药物，开展药师问诊、用药宣教、药学监护等，并参与制订个体化用药方案，极大程度上促进了合理用药，缩短了住院周期，保障了患者权益。

参考文献

- [1] 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京协和医院),中国医师协会风湿免疫专科医师分会,中国康复医学会风湿免疫病康复专业委员会,等.2024中国类风湿关节炎诊疗指南[J].中华内科杂志,2024,63(11):1059-1077.
- [2] 马世武,刘成海,刘晓琰,等.中国药物性肝损伤诊治指南(2023年版)[J].胃肠病学,2023,28(7):397-431.
- [3] 赖筱姮,吴丽芳,高泉源.药物性肝损伤患者临床特征及预后情况的回顾性分析[J].海峡药学,2022,34(9):113-117.
- [4] Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions [J]. Clin Pharmacol Ther, 1981, 30 (2): 239-245.
- [5] 刘成海.中草药相关肝损伤的研究进展与挑战[J].临床肝胆病杂志,2024,40(8):1505-1511.
- [6] McAdam BF, Catella-Lawson F, Mardini IA, et al. Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: the human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96 (1): 272-277.
- [7] Gong L, Thorn CF, Bertagnolli MM, et al. Celecoxib pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics [J]. Pharmacogenet Genom, 2012, 22 (4): 310-318.
- [8] Ahmad SR, Kortepeter C, Brinker A, et al. Renal failure associated with the use of celecoxib and rofecoxib [J]. Drug Saf, 2002, 25 (7): 537-544.
- [9] Wang B, Wang J, Huang SQ, et al. Genetic polymorphism of the human cytochrome P450 2C9 gene and its clinical significance [J]. Curr Drug Metab, 2009, 10 (7): 781-834.
- [10] Mukthinuthalapati PK, Fontana RJ, Vuppalanchi R, et al. Celecoxib-induced liver injury: analysis of published case reports and cases reported to the food and drug administration [J]. J Clin Gastroenterol, 2018, 52 (2): 114-122.
- [11] Kaplowitz N, DeLeve LD. Drug-induced liver disease. 3rd [M]. Amsterdam: Elsevier, 2013: 369-401.
- [12] 陆伦根,蔡晓波,王建设,等.胆汁淤积性肝病管理指南(2021)[J].临床肝胆病杂志,2022,38(1):62-69.
- [13] 凌晓瑜,高月求.柴胡疏肝散治疗肝脏疾病作用机制及临床研究进展[J].湖南中医杂志,2024,40(4):193-198.
- [14] 闫雅婕,王亚亚,梁轩,等.茵陈化学成分、药理作用及在肝胆疾病中的临床应用研究进展[J].中华中医药学刊,2024,42(11):237-248.
- [15] 刘珊珊,郭杰,李宗艾,等.泽泻化学成分及药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(7):1578-1595.

(收稿日期:2024-12-19;修回日期:2025-02-05)

中药与临床

基于中药药物警戒思想浅析含汞矿物药毒性与药学服务思考

王倩¹, 陈云², 邹葭霜¹, 杨晓铭¹, 顾利芳^{1*}, 梁婷婷^{1*} (1. 南京中医药大学常熟附属医院, 江苏 常熟 215500; 2. 衢州职业技术学院, 浙江 衢州 324000)

摘要: **目的** 挖掘含汞矿物药临床使用中的药物警戒思想及实践, 旨在为临床药学服务与安全用药提供理论支撑。**方法** 基于“识毒-用毒-防毒-解毒”的中药药物警戒思想, 通过文献学方法, 结合古籍记载与现代研究探析含汞矿物药的毒性。**结果** 含汞矿物药的毒性主要表现为汞的急、慢性中毒; 临床使用方面, 内服多以丸、散为主, 外用多与其他药物复配后使用; 预防含汞矿物药毒性可从矿物药品种及质量、炮制方法、合理使用等方面进行; 配伍、微生物吸附等方法可以解汞毒。**结论** 含汞矿物药毒性警戒思想不断完善, 临床应用时, 应充分考虑其毒-效之间的关系, 开展药学服务并指导临床合理用药。

关键词: 含汞矿物药; 中药毒性; 药物警戒; 药学服务

中图分类号: R283

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3077-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.043

Toxicity of mercury-containing mineral medicines and reflections on pharmaceutical care based on the pharmacovigilance philosophy in traditional Chinese medicine

WANG Qian¹, CHEN Yun², ZOU Jia-shuang¹, YANG Xiao-ming¹, GU Li-fang^{1*}, LIANG Ting-ting^{1*} (1. *Changshu Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Changshu Jiangsu 215500*; 2. *Quzhou Vocational College of Technology, Quzhou Zhejiang 324000*)

Abstract: **Objective** To explore the pharmacovigilance concepts and practices in the clinical use of mercury-containing mineral medicines, and to provide theoretical support for clinical pharmaceutical care and safe medication use. **Methods** The toxicity of mercury-containing mineral medicines was analyzed with the pharmacovigilance framework encompassing of “recognizing toxicity, applying toxicity, preventing toxicity, and detoxifying”, combining philological methods with ancient records in modern research. **Results** The toxicity of mercury-containing mineral medicines was primarily characterized by acute and chronic mercury poisoning. Clinically, they were administered orally in pills and powders, while for external use they were typically mixed with other medications. Prevention of toxicity involved strict selection of mineral medicine varieties and quality control, optimized processing methods, and rational usage guidelines. Methods for detoxification included herbal compatibility approaches and microbial adsorption to neutralize mercury toxicity. **Conclusion** The pharmacovigilance concepts and practices for mercury-containing mineral medicines are continuously refined. In clinical application, the toxicity-efficacy relationship should be fully considered in pharmaceutical services and rational medication use.

Key words: mercury-containing mineral medicine; toxicity of traditional Chinese medicine; pharmacovigilance; pharmaceutical care

基金项目: 江苏省高等学校基础科学(自然科学)研究项目(No.1020241311); 衢州市重点科技攻关项目(No.2024K313); 苏州市科技发展规划指导性项目(No.SKYXD2022006)

作者简介: 王倩, 女, 主管中药师, 主要从事临床中药学研究, email: 15951979508@163.com ***通信作者:** 顾利芳, 女, 副主任药师, 主要从事医院药学工作, email: g41880326@163.com; 梁婷婷, 女, 主管中药师, 主要从事医院药学工作, email: Lttlw@163.com

中药药物警戒思想以“毒”为核心，其起源、发展与实践均围绕中药“毒”展开^[1]。中药“毒”有着丰富的含义，大致可归纳为四个方面：一，药物的总称，如“神农尝百草，一日而遇七十毒”，这里的“毒”是指药物^[2]；二，药物的偏性，如“药以治病，因毒为能，所谓毒者，以气味之有偏也”^[3]；三，造成人体伤害的物质，导致不良反应，如“凡药物云有毒及有大毒者，皆能变乱，于人为害，亦能杀人”^[4]；四，药物的烈性程度。“识毒”是对中药毒性客观、深入的实践总结；“用毒”是利用中药的毒峻偏性矫正人体脏腑的偏性，将“毒”转化为“效”；而“防毒”则是对“用毒”过程中潜在风险的系统性规避；“解毒”是对一些固有的难以避免的“毒性”采取降低损害的措施^[5]。

目前，2020 年版《中国药典》（简称《中国药典》）中记载临床常用含汞矿物药有 3 个品种，分别为朱砂、轻粉（ Hg_2Cl_2 ）、红粉（ HgO ）^[6]。现代药理毒理研究表明，尽管含汞矿物药疗效显著，但汞在不同形态下可以经胃肠道、呼吸道和皮肤吸收，并可在血液、肾脏、肝脏和脑等组织蓄积，从而对蓄积脏器产生毒性^[7]。因此，含汞矿物药的安全问题受到了广泛的关注。本研究遵循传统中药药物警戒思想，基于“识毒-用毒-防毒-解毒”警戒实践框架，对含汞矿物药临床合理应用提出探索性思考，以期对含汞矿物药临床安全合理使用提供参考^[8]。

1 识含汞矿物药的毒性

1.1 古代沿革

《神农本草经》^[9]将朱砂列为上品，虽然该书未标明朱砂有毒无毒，但从其归类推断，当时普遍认为朱砂无毒，而这一局限认知，多因朱砂是当时道士炼丹的主要原料之一，受道家“服食仙丹可长生”思想的影响，认为其是上等佳品。《药性论》^[10]记载朱砂“有大毒”，《日华子本草》^[11]则称其“凉，微毒”，由此可知，朱砂的毒性逐渐被认识。《本草衍义》^[12]载：“此物镇养心神，但宜生使，……一旦大热，数夕而毙”。《本草蒙筌》^[13]云：“丹砂，味甘，气微寒，生饵无毒，炼服杀人”。此时，医药家们认识到朱砂通过加热，毒性大大增加。《本草备要》^[14]认为朱砂“多服反令人痴呆”。《本草从新》^[15]亦警示“朱砂独用多用，令人呆闷”，在朱砂神经毒性、用法与疗程上提出警戒。朱砂导致的神经毒性轻者表现为视力损伤、幻听，重者表现为全身抽搐、精神紊乱、

循环衰竭甚至死亡^[16]。轻粉，始载于《嘉祐本草》^[17]：“辛冷，无毒”。《得配本草》^[18]：“辛温燥，有大毒”。《本草求真》^[19]引刘完素曰：“银粉能伤牙齿……毒气感于肠胃”。如前所述，主要对轻粉的口腔毒性及胃肠毒性提出警戒，具体表现为腐蚀性口腔炎、牙龈肿痛、溃烂、胃肠炎等，严重者昏迷、休克，甚至发生急性肾功能衰竭^[20]。红粉首载于《医门补要》^[21]：“少壮者可少用，若幼孩，老人及虚体者用之生变”。《疡科纲要》^[22]指出：“俗谓陈久不痛，新炼者则痛”，……因其刺激性强烈，故强调“研必极细”，并警示“如多用之则大痛矣”。这里对红粉外用产生的刺激予以警戒，同时规范炮制品应制成极细粉且控制用量。

含汞矿物药用药警戒思想是伴随着“识汞毒”的过程发展起来的。从加热致毒到神经毒性，再至用法与疗程规范，对朱砂的警戒思想逐渐形成体系。随着轻粉、红粉等含汞升华物的临床应用，医药学家进一步提出其对牙齿、胃肠、皮肤等靶器官毒性的系统警戒，并对炮制品选择、用法用量等提出具体用药规范。

1.2 现代研究

现代研究对朱砂的毒性警戒主要包括黏膜损伤（表现为口腔金属味、口腔黏膜溃疡、牙龈炎），肝肾毒性（血尿、蛋白尿、管型尿），胃肠炎（呕吐血样物、腹痛、腹泻），神经毒性（视物模糊、听力下降）和生殖毒性等。有研究指出，朱砂的肝毒性可能是通过影响细胞色素 P450 酶的基因表达进而影响肝脏正常代谢^[23]。朱砂的肾毒性可能与诱导肾小管上皮细胞凋亡及抑制有机阴离子转运体功能从而引起肾功能紊乱有关^[24]。神经毒性则与朱砂中游离汞和可溶性汞通过血脑屏障，抑制脑组织中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性，影响氨基酸类神经递质合成，刺激神经胶质细胞，导致脑部发生炎症反应有关^[16, 25]。此外，朱砂的生殖毒性主要体现在对妊娠早期胚胎的危害，主要导致骨骼发育异常^[25-27]。研究对含红粉制剂的九一丹提出的用药警戒为过敏反应和中毒，过敏反应常表现为创口周围出现红色小丘疹、皮肤潮红等^[28]，中毒则表现为齿龈酸痛、肌肉震颤、恐惧、厌烦、忧郁等^[28]。另一含红粉制剂朱红膏的用药警戒主要强调其肝肾毒性，其中肾毒性可导致患者出现肾小球的损伤和肾小管上皮细胞的变性，进而出现血汞、尿汞、肾汞及血清肌酐等指标的改变^[29-30]。轻粉及含轻粉中药的用药警戒主要包括接触性皮炎（局部丘疹、瘙痒

伴高热、疼痛、心慌),红皮病(皮肤红肿、四肢脱皮),肝肾损伤[谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)等指标升高,肾炎、肾衰竭],心血管系统疾病(心肌损伤、心率加快),神经系统损伤(认知、感觉、运动神经的紊乱)等^[31]。

从现代研究可见,含汞矿物药及其制剂的用药警戒体系已从对靶器官的毒性症状描述深化至生物标志物监测。在毒性机制研究上,尽管已揭示了氧化应激、线粒体功能障碍等通路,但表观遗传调控、肠道菌群-器官轴等新型机制仍需深入探索,以构建更精准的警戒模型。

2 含汞矿物药应用

2.1 内服

含汞矿物药朱砂、轻粉和红粉均具有悠久的用药历史,历代医书典籍记载的制剂品种及用法颇为丰富,本研究仅针对延续至今仍在临床广泛使用的制剂品种及用法进行分析与探讨。

含汞矿物药内服以朱砂,轻粉及其制剂为主。现代药理研究表明,朱砂可降低中枢神经兴奋性,具有镇静、催眠及抗心律失常等作用^[32-33],小剂量时还可抗焦虑、抗病毒、抗菌^[25]。但需注意,长期使用可能引发慢性毒性:大鼠连续1个月口服朱砂 $\geq 0.4\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 或小鼠连续44 d口服 $0.3\text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 均可致肝肾毒性^[34-35]。此外,轻粉的急性毒性不容忽视,1例患者服用含 0.02 g 轻粉的制剂(远低于药典规定的 $0.1\sim 0.2\text{ g}$),6 d后即出现轻度汞中毒^[20],提示用药警戒需兼顾剂量、疗程及个体差异。

朱砂拌衣是将药物表面用水润湿,使朱砂作为粉剂辅料黏附于药物上面以增强其镇心安神作用的一种传统炮制方法^[36]。《本草害利》^[37]于“茯苓修治”条记载:“宁心用辰砂拌。”《医宗金鉴》^[38]:“上为细末,酒泡蒸饼丸如麻子大,朱砂为衣……”。然而,值得注意的是,朱砂在高温煎煮中会产生剧毒,故有关朱砂拌衣中药是否可以入煎剂的问题,值得审慎。鉴于朱砂有效成分几乎不溶于水,作为煎剂朱砂有效成分不溶或难以溶出,不仅降低其临床疗效,还可能增加用药安全风险^[39],这也是朱砂拌衣中药内服时需要警戒的重要内容之一。因此,朱砂拌衣中药在临床使用时,可以将朱砂拌衣的中药粉碎,筛制成细粉,与水飞朱砂按比例用打底套色法制成散剂或丸剂,该用法不仅可减少朱砂使用剂量,充分提高药效,亦可减少因煎煮所产生的毒性^[40]。这一朱砂拌衣新用法是含汞矿物药临床用药警戒的创

新实践,满足现代临床安全有效的用药需求。

2.2 外用

含汞矿物药外用具有拔毒、祛腐、生肌、敛疮等作用,外用虽具有不经胃肠吸收,不良反应少,安全性高等优点,但用药时间与剂量的合理性是保证其安全、有效的前提。九一丹为含红粉制剂,有研究指出其用量与用药疗程成负相关,患者平均用量约 0.8 g 时,安全使用时间为 $7\sim 8\text{ d}$;若疗程为 10 d ,推荐用量为 0.45 g ^[41]。九圣散和拔毒膏含轻粉,其中轻粉外用时,建议成年患者临床单次外用 $< 1.5\text{ g}$,2周内每日轻粉用量 $> 1.1\text{ g}$ 时,应密切监测肝肾功能的變化^[31]。上述对含汞矿物药外用过程中的用量及疗程等提出警戒,临床应用中需充分辨证,严格把握适应证,做到中病即止。

3 防含汞矿物药的毒性

3.1 保证用药品种及质量

朱砂多为天然朱砂,而红粉、轻粉均为人工炼制品。朱砂在临床使用中存在掺伪,或将灵砂、银朱等人工朱砂代替天然朱砂的现象。调研发现,我国朱砂生产方式以家庭作坊为主,规模小且工艺参差不齐,难以从源头上确保朱砂质量,故需采取有效措施规范矿石的开采、生产等环节,以保障朱砂临床用药的安全有效及药用矿产的可持续利用^[42]。轻粉是以汞、盐、矾等为主要原料炼制而成,研究表明,轻粉的毒性与炼制时水银的用量相关。若水银用量不足,化学反应不完全,二价汞含量增加;反之,若用量过多,则汞升华导致氯化亚汞含量降低,杂质增多,毒性增强^[43]。轻粉的制备除了传统的升炼法,还可以采用化合法,即汞、硝酸和食盐溶液的混合反应来制备。化合法操作简单且节省燃料,但临床应用显示其疗效不及升炼法^[44]。故轻粉的生产企业需紧密结合临床用药实践,保证轻粉的质量,以满足临床用药需求。红粉的传统制备方法存在炼制工艺复杂、用具守旧、用料不统一及缺乏核心指标保证成品质量等问题^[45]。此外,因处方中含雄黄,不仅会引入重金属砷,临床使用时还可能对创面非腐肉部分产生刺激^[46]。《中国药典》对红粉的性状、鉴别、检查以及含量测定等均有详细的规定,含量测定项要求 HgO 不得少于 99% ^[6]。故红粉的生产与使用需不断改进生产制备工艺,完善质量检测指标,以确保红粉临床应用的质量与安全。

3.2 规范炮制方法

朱砂炮制技术多样,涵盖了传统水飞法、煅

烧法、煅淬法、现代球磨法以及真空蒸馏法^[36]。水飞法被认为是最佳的传统方法,其减毒增效作用可能与硫离子水平升高和汞水平降低有关^[47]。尽管水飞法可降低朱砂毒性,但《中国药典》未明确游离汞和可溶性汞的限量标准,导致炮制品质量参差不齐。因此,规范炮制工艺对于确保朱砂临床用药安全至关重要。

3.3 合理用药

含汞矿物药常见的不良反应多与服药时间过长、服用剂量过大、不当加热使用以及未经医师严格辨证自行用药等因素密切相关。基于此,本研究提出以下建议:

① 用药时间尽量缩短,轻粉、红粉外用时尽量做到“腐祛即止”。② 用药剂量宜小,外用时如用量较小难以掌握时,可适当加入赋形剂。③ 朱砂在使用时,忌火煅,不宜入煎剂或用热水冲服。④ 临床使用需严格掌握适应证,外用时对创伤面积较大的急慢性化脓性感染,应尽量减少使用频率。⑤ 特殊人群用药需谨慎,肝肾功能不全及孕妇禁用;儿童使用时,用量宜轻,疗程宜短,且应密切监测;老人使用时,需考虑多重用药产生的相互作用,并加强用药监测。

4 解含汞矿物药的毒性

4.1 配伍解毒

《本经逢原》^[48]：“丹砂，入火则烈，毒能杀人，急以生羊血、童便、金汁等解之”。《本草备要》^[14]：“轻粉，……，土茯苓、黄连、黑铅、铁浆、陈酱，能制其毒”。古籍记载药物黄连、土茯苓、羊血、童便、陈酱等可解汞毒。临床常用的减毒配伍有红粉与熟石膏，代表方九一丹，研究显示熟石膏可减轻红粉的刺激性^[28]；朱砂与黄连，代表方朱砂安神丸，研究发现黄连与朱砂配伍使用可减少汞吸收或促进尿汞排出^[49]。黄连碱和小檗碱是减毒的主要成分，其作用机制包括减少血汞吸收，降低肾汞蓄积以及调节炎症细胞因子白细胞介素（IL）-1 β 、肿瘤坏死因子（TNF）- α 的表达^[50-51]。此外，古籍中广泛记载了土茯苓具有解汞毒的作用，现代药理研究发现土茯苓通过形成汞离子配合物、增加尿量来解毒，进而保护肝肾功能^[52]。土茯苓的乙酸乙酯萃取部位是其解毒的有效部位，其作用可能与利尿、抗氧化应激损伤及保护肝肾功能有关^[53]。

4.2 解汞毒现代疗法

含汞矿物药若使用方法不当、剂量过大或者长期使用，可能会导致急、慢性毒性。口服引起

的急性中毒，可用牛奶、羊奶、生鸡蛋等蛋白与汞结合，延缓吸收，并采用洗胃、灌肠等方法促进毒物排出^[54]。此外，可通过肌肉注射二巯基丙醇或二巯基丙磺酸钠，或采用口服青霉胺解毒^[55]。吸入汞中毒者，应立即撤离现场，并进行驱汞治疗。对慢性汞中毒者，可给予二巯基丙磺酸钠 125 ~ 250 mg 肌肉注射，每日 1 ~ 2 次，连用 3 日，间隔 4 日为一个疗程，临床需严密结合病情及驱汞情况决定用药疗程^[56]。在治疗的同时，应结合补液、纠正水电解质紊乱，口腔护理，应用糖皮质激素等改善病情。

4.3 微生物吸附解毒

利用微生物吸附重金属以降低毒性的方法最初用于治理重金属污染的水体和土壤。肠道菌群能影响药物吸收、改变药物的药理作用以及对宿主靶向药物疗效的影响^[57]。近年来，研究揭示肠道微生物在人体代谢中的关键作用，甚至可能在肝脏之前参与药物代谢^[58]，故在对汞中毒解毒方法的探索上有了新的思路。研究发现，*Lactobacillus*（乳杆菌属）和 *Weissella*（魏斯氏菌属）等菌通过细胞表面吸附方式对食品中的汞具有清除作用^[59-60]。基于此，我国学者分离出短乳杆菌 23017，被证实能有效缓解急性汞中毒，其作用机制涉及调节氧化-抗氧化系统失衡、细胞因子调控失衡及 p38MAPK 和 NF- κ B 通路激活^[61]。微生物解毒未来可能成为绿色、高效、低成本的缓解含汞矿物药中毒的新途径。

5 含汞矿物药临床应用的药学服务思考

含汞矿物药在临床应用中具有重要价值，但不当使用可能对身体造成毒性损害。遵循“识毒-用毒-防毒-解毒”的中药药物警戒思想原则，针对汞毒的警戒实践不断丰富和完善。中药临床药师是中药药物警戒在医院工作开展及实践中的执行者和传播者，通过提供科学有效的药学服务并及时发出风险预警信号，可降低不良反应发生的风险，保障含汞矿物药的安全合理使用^[62]。

5.1 审核处方合理性，建立风险信号预警机制

通过对含汞矿物药处方的审核和点评，及时发现风险信号，设置预警机制。含汞矿物药朱砂、红粉、轻粉均为有毒中药，中药临床药师在进行处方审核、点评时，可针对含汞矿物药的方证不符、治则矛盾、配伍禁忌、超剂量用药、超说明书用药等问题进行干预。积极探索基于大数据的毒性含汞矿物药处方点评模式，并依托医院管理信息系统（HIS）实施，以提高审核效率和保障用药安全^[62]。

5.2 加强用药监护, 提前预警药源性疾病

在使用含汞矿物药时, 中药临床药师应加强用药监护, 特别是对孕妇、儿童和老人。孕妇应避免使用含汞矿物药; 儿童使用时需严格监护, 明确告知监护人用药细节和潜在风险; 老年患者多伴有心脑血管等多种慢性疾病, 长期服用多种药物, 需特别注意药物相互作用和剂量调整。因此, 建议中药临床药师记录患者详细且准确的用药史, 建立用药安全数据库, 与医疗团队合作制订用药方案, 指导患者正确用药, 预防药源性疾病。

5.3 开展用药教育与科普宣教, 提高全民用药风险预警意识。

科普含汞矿物药的用药知识应覆盖医师、护士、患者及其家属。对开具中药处方的西医师, 因缺乏中医药理论基础, 可根据本医疗机构含汞矿物药使用情况, 定期在晨会或病例讨论会上进行分析讨论并规范医师开医嘱; 对护士的宣教应聚焦具体含汞矿物药品种的用法用量、使用疗程及操作规范; 对患者及其家属, 应重点关注用药依从性, 不得擅自增减剂量或延长用药时间。最后, 中药临床药师可结合临床使用误区或常见错误, 制作多种形式的科普作品, 通过多媒体平台向公众普及相关知识, 使含汞矿物药的用药安全观念家喻户晓, 充分发挥中药临床药师在开展中药药物警戒工作中的实际价值, 保证患者的安全, 构建文明和谐的医疗环境。

参考文献

- [1] 张冰, 林志健, 张晓朦. 基于“识毒-用毒-防毒-解毒”实践的中药药物警戒思想[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(10): 2017-2020.
- [2] 郑玄. 周礼[M]. 崔高维点校. 沈阳: 辽宁教育出版社, 1997.
- [3] 张景岳. 景岳全书[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1959.
- [4] 巢元方. 诸病源候论[M]. 丁光迪等点校. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [5] 张冰. 中药药物警戒[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 3-10.
- [6] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020.
- [7] Wu YS, Osman AI, Hosny M, et al. The toxicity of mercury and its chemical compounds: molecular mechanisms and environmental and human health implications: a comprehensive review[J]. ACS Omega, 2024, 9(5): 5100-5126.
- [8] 李高玺, 时磊. 基于中药药物警戒思想探讨朱砂的合理使用[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(9): 227-234.
- [9] 吴普述. 神农本草经[M]. 孙兴衍, 孙冯翼辑. 北京: 科学技术文献出版社, 1996: 2.
- [10] 甄权. 药性论[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2006: 7.
- [11] 日华子. 日华子本草[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2005: 11.
- [12] 寇宗奭. 本草衍义[M]. 颜正华等点校. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 21.
- [13] 陈嘉谟. 本草蒙筌[M]. 张印生, 韩学杰, 赵慧玲校. 北京: 中医古籍出版社, 2009: 307.
- [14] 汪昂. 本草备要[M]. 余力, 陈赞育校注. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 229-230.
- [15] 吴仪洛. 本草从新[M]. 朱建平, 吴文清点校. 北京: 中医古籍出版社, 2001: 188-189.
- [16] 张月, 佟海英. 关于朱砂神经毒性的分析及对策[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(7): 1-4.
- [17] 掌禹锡. 嘉祐本草辑复本[M]. 尚志钧等辑. 北京: 中医古籍出版社, 2009: 98.
- [18] 严西亭, 施澹宁, 洪缉庵同. 得配本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1958: 11.
- [19] 黄宫绣. 本草求真[M]. 赵贵铭点校. 太原: 山西科学技术出版社, 2012: 295.
- [20] 李安, 孙利梅, 王涤新. 含轻粉中药丸导致急性汞中毒[J]. 药物不良反应杂志, 2010, 12(2): 120-121.
- [21] 赵谦等. 医门补要[M]. 上海: 上海卫生出版社, 1957: 22.
- [22] 张山雷. 疡科纲要[M]. 上海: 上海卫生出版社, 1958: 79-81.
- [23] 李钊颖, 郭俊, 杨东东. 朱砂的药理及毒理作用研究进展[J]. 河南中医, 2021, 41(9): 1422-1426.
- [24] Yu WH, Zhang N, Qi JF, et al. Arsenic and mercury containing traditional Chinese medicine (realgar and cinnabar) strongly inhibit organic anion transporters, Oat1 and Oat3, in vivo in mice[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 1-7.
- [25] Guan HF, Xu Y, Ma CY, et al. Pharmacology, toxicology, and rational application of cinnabar, realgar, and their formulations[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 6369150.
- [26] 梁爱华, 李春英, 刘婷, 等. 朱砂的胚胎毒性研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2794-2798.
- [27] Dong W, Liu J, Wei LX, et al. Developmental toxicity from exposure to various forms of mercury compounds in medaka fish (Oryzias latipes) embryos[J]. Peer J, 2016, 4: 1-17.
- [28] 季炳武, 陈伯仪, 陈仲伟, 等. 九一丹研究综述[J]. 中医外治杂志, 2020, 29(6): 73-75.
- [29] 林含, 张旭辉, 董建勋, 等. 朱红膏对破损皮肤模型大鼠汞蓄积及肾组织形态的影响[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 739-743.
- [30] 田悦, 黄建梅, 王晓烨, 等. 朱红膏中汞在破损皮肤模型大鼠体内的蓄积及毒性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(8): 34-39.
- [31] 邱恒, 王旗. 中药轻粉临床外用的风险评估[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2706-2710.

- [32] 刘君. 对中药朱砂药理作用、毒性及炮制方法的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2020, 18(8): 199-201.
- [33] Wang Q, Yang XD, Zhang BX, et al. The anxiolytic effect of cinnabar involves changes of serotonin levels[J]. Eur J Pharmacol, 2007, 565(1-3): 132-137.
- [34] 梁爱华, 王金华, 薛宝云, 等. 朱砂对大鼠的肝肾毒性研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(3): 312-318.
- [35] Lu YF, Wu Q, Liang SX, et al. Evaluation of hepatotoxicity potential of cinnabar-containing An-Gong-Niu-Huang Wan, a patent traditional Chinese medicine[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2011, 60(2): 206-211.
- [36] 卓鱼周, 刘晓琴, 王贤书, 等. 朱砂及其不同炮制品的显微结构及主微量元素含量差异性研究[J]. 中国药理学杂志, 2023, 58(21): 1922-1930.
- [37] 凌免. 本草害利[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1982: 5.
- [38] 吴谦等. 医宗金鉴[M]. 鲁兆麟, 石学文等点校. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1997: 274-275.
- [39] 韩俊生. 中药“拌衣”炮制法的沿革与评价[J]. 上海中医药杂志, 2002(12): 38-39.
- [40] 汤明启. 朱砂拌衣类中药饮片的临床应用探讨[J]. 湖北中医杂志, 2022, 44(6): 53-55.
- [41] 叶媚娜, 杨铭, 程亦勤, 等. 偏最小二乘判别分析法在九一丹外用治疗浆细胞性乳腺炎中的安全性分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(4): 429-433.
- [42] 夏晶, 曹帅, 吴赵云, 等. 药用朱砂的基源考证及实地调研[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(5): 1269-1272.
- [43] 杜冠华, 张永祥, 张莉, 等. 中药材“毒”古今研究概评[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2018: 65-68.
- [44] 梅全喜. 梅全喜论中药全集·临床药学分册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2022: 265-270.
- [45] 徐洋, 张清波, 笔雪艳. 中药传统丹剂现状与创新探讨[J]. 黑龙江医药, 2022, 35(5): 1066-1069.
- [46] 李大经, 李鸿超. 中国矿物药[M]. 北京: 地质出版社, 1988: 307-310.
- [47] 郭婧潭, 张颖花, 霍韬光, 等. 水飞法炮制对朱砂中可溶性硫和汞的影响[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(5): 1113-1115.
- [48] 张璐. 本经逢原[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 10.
- [49] Wang DL, Yu C, Liu BX, et al. Traditional Chinese medicine Zhusha Anshen Wan: protective effects on liver, kidney, and intestine of the individual drugs using (1)H NMR metabolomics[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1-14.
- [50] 黄海. 万氏牛黄清心丸中各单味药对朱砂肾毒性的配伍减毒作用研究[D]. 辽宁: 锦州医科大学, 2017.
- [51] 周颖. 黄连对朱砂肾毒性配伍减毒的物质基础及机制研究[D]. 辽宁: 锦州医科大学, 2018.
- [52] 徐笑飞, 陈红凤, 叶媚娜. 土茯苓解汞毒的研究概况[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 750-753.
- [53] 郑捷. 土茯苓解汞毒活性及其物质基础研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [54] 刘士敬, 宫嫚, 孙永强, 等. 要正确使用含汞中药[J]. 中国中医药现代远程教育, 2008, 6(9): 1129-1130.
- [55] 姚青, 杨国宝, 王皓, 等. 巯基螯合剂治疗重金属中毒研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2022, 36(4): 314-320.
- [56] 徐明, 冯娜, 白金, 等. 二巯丙磺酸钠治疗慢性汞中毒的临床效果及对血清指标水平的影响[J]. 中国医药指南, 2022, 20(33): 1-4.
- [57] Mani S, Boelsterli UA, Redinbo MR. Understanding and modulating mammalian-microbial communication for improved human health[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2014, 54: 559-580.
- [58] Sun CN, Chen L, Shen Z. Mechanisms of gastrointestinal microflora on drug metabolism in clinical practice[J]. Saudi Pharm J, 2019, 27(8): 1146-1156.
- [59] Rodríguez-Viso P, Domene A, Vélez D, et al. Lactic acid bacteria strains reduce in vitro mercury toxicity on the intestinal mucosa[J]. Food Chem Toxicol, 2023, 173: 113631.
- [60] Zoghi A, Massoud R, Todorov SD, et al. Role of the lactobacilli in food bio-decontamination: friends with benefits[J]. Enzyme Microb Technol, 2021, 150: 109861.
- [61] 谷珊珊. 抗汞益生乳酸菌筛选及其缓解汞毒性机制研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017.
- [62] 方志娥, 李强, 李艳艳, 等. 基于药物警戒指导下的中药临床药学安全观[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(3): 232-235.

(收稿日期: 2024-12-04; 修回日期: 2025-02-05)

2016—2024 年国家医保谈判药品目录变化及 我院谈判药品使用情况分析

孙惠斌, 张慧芝, 张颖, 李凤娟, 张思云, 郑玉洁 (郑州市第二人民医院药学部, 郑州 450006)

摘要: **目的** 了解国家医保谈判药品 (简称“谈判药品”) 目录 (简称“国谈目录”) 变化及我院谈判药品使用情况, 为国家医保药品价格谈判 (以下简称“国谈”) 政策的实施提供数据参考。**方法** 运用描述性统计分析方法, 对 2016—2024 年协议期内国谈目录的品种和数量变化进行分析, 从我院药品管理系统中筛选出谈判药品品种, 对国谈前后品种变化情况、总体入院率、国谈后入院率、总品种数量增幅、国谈产生的经济效益等数据进行分析。**结果** 谈判药品数量逐年增加, 且增幅显著。按药理作用分类, 抗肿瘤药及免疫调节剂药品数量稳居第一, 占总数量的 23.99%, 排名前八位的谈判药品品种数量占总数量的 84.09%。抗肿瘤药及免疫调节剂等六类谈判药品品种数量呈逐年上升趋势, 其他种类稍有波动。我院谈判药品在院总品种呈逐年上升趋势, 总体入院率、国谈后入院率和增幅均呈逐渐上升后又下降的趋势。但是, 谈判药品销售金额占比呈逐渐上升趋势, 仅 2024 年稍有下降。有 35 种药品国谈前后均在我院处方集, 国谈后 17 种药品价格的平均降幅在 50% 以上, 最大降幅 91.81%, 最小降幅 11.11%, 平均降幅 50.59%, 节约药品费用 8099.86 万元。**结论** 国谈、集采等药品政策相辅相成; 谈判药品数量逐渐增加, 抗肿瘤药、新药的不断增长限制了市级医院谈判药品入院率的提高; 国谈政策的实施节约了大量的医保资金, 减轻了患者的用药负担。

关键词: 国谈; 医保谈判药品; 入院率; 金额占比; 效益

中图分类号: R591, R95 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-3083-05
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.044

Changes in the national negotiation drug catalog and consumption of negotiated drugs in a hospital from 2016 to 2024

SUN Hui-bin, ZHANG Hui-zhi, ZHANG Ying, LI Feng-juan, ZHANG Si-yun, ZHENG Yu-jie
(Department of Pharmacy, Zhengzhou Second Hospital, Zhengzhou 450006)

Abstract: Objective To understand the changes in the national medical insurance negotiation drug catalog and the consumption of negotiation drugs in our hospital, and to provide reference for the implementation of national negotiation policy. **Methods** Using descriptive statistical analysis methods, we analyzed the changes in the variety and quantity of negotiated drug catalog during the agreement period from 2016 to 2024. The negotiated drug varieties were selected from the drug information system in our hospital. Changes in varieties before and after the national negotiation, overall admission rates, admission rates after the national negotiation, increase of the total number and economic benefit generated by the national negotiation were analyzed. **Results** The number of negotiated drugs increased year by year with a significant growth rate. According to pharmacological classification, the number of anti-tumor and immunomodulatory drugs ranked first, accounting for more than 23.99%. The top eight negotiated drug varieties accounted for over 84.09%. Six negotiated drug varieties increased year by year, including anti-tumor and immunomodulatory drugs, while others fluctuated slightly. The total varieties of negotiated drugs also increased every year. The overall admission rate, the admission rate after the national negotiations gradually increased before the

基金项目: 2024 年度郑州市医学科研项目 (No.ZZYK2024019)。

作者简介: 孙惠斌, 女, 副主任药师, 主要从事医院药学和药事管理研究, email: 741445455@qq.com

decreasing. The proportion of negotiated drug sales also gradually increased, with a slight decrease only in 2024. Totally 35 drugs in our hospital's prescription were shown before and after the negotiation. After the national negotiation, the price of 17 drugs decreased by more than 50%, with the largest decrease of 91.81%, the smallest decrease of 11.11%, an average decrease of 50.59%, saving 80 998 600 yuan. **Conclusion** National negotiation, centralized procurement and other drug policies complement each other. The number of negotiated drug increase gradually, and the increasing number of anti-tumor drugs and new drugs restricts the increase of admission rate of negotiated drug variety in municipal hospitals. National negotiation saves medical insurance funds and reduces the burden of medication on patients.

Key words: national negotiation; medical insurance negotiated drug; admission rate; consumption sum proportion; benefit

为减轻患者用药负担,政府部门出台了一系列药品政策,药品集中采购制度是其中一项重要措施,有效地降低了药品价格^[1]。在构建公立医疗机构药品集中采购新机制过程中,专利药品和独家生产药品因缺乏市场竞争,价格普遍偏高,采取统一谈判的方式——国家医保药品价格谈判(以下简称“国谈”)是深化医药卫生体制改革、推进公立医院药品集中采购、降低患者用药负担的重要举措^[2-3]。目前,国家医保局等政府部门已发布 8 版国谈目录,但是关于各个版本间的横向对比分析鲜见文献报道。国家医保局和各省份政府部门采取了不同的方法确保谈判药品顺利落地,尽管已有少量文献对某类谈判药品的使用情况进行分析,但对谈判药品全面使用情况的分析尚存不足^[4-5]。本研究将横向对比各版本谈判药品目录变化情况,并对我院 2016—2024 年谈判药品采购变化情况、入院率、增幅、年度销售金额占比以及国谈后产生的效益等数据进行分析,为国谈政策的进一步优化提供数据参考。

1 资料

本研究数据来源于 2016—2024 年《国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录》协议期内谈判药品部分和我院药品管理系统谈判药品的药品名称、价格、销售金额、销售数量等。

2 方法与结果

2.1 研究方法

采用描述性统计分析方法,将 2016—2024 年国家医保局、人力资源社会保障部、原国家卫生计生委公布的谈判药品的药品分类、药品名称、品种数量等进行对比分析。

谈判药品在院总品种数量增幅=(该年度谈判药品品种数量-去年谈判药品品种数量)/去年谈判药品品种数量;谈判药品总体入院率=该年度采购的谈判药品品种数量/该年度国谈目录药品总数量;国谈后入院率=该年度国谈后谈判药品入院品种数量/(该年度国谈目录药品总数量-国谈

前已在院谈判药品品种数量)。从我院药品管理系统中筛选出各个年度谈判药品的药品名称、生产厂家、价格、销售金额、销售数量等数据,计算出谈判药品总体入院率、国谈后入院率、品种数量增幅、销售金额占比,对上述数据进行对比分析。对国谈前已在院品种的价格和国谈后的价格进行对比,计算国谈政策产生的经济效益。

2.2 结果

2.2.1 国谈目录变化情况 2016 年 5 月 17 日,原国家卫生计生委办公厅发布“关于公布国家药品价格谈判结果的通知”,将首批 3 种药物国家药品价格谈判结果向社会公布^[6-7]。2017 年,人力资源社会保障部发布公告,确定将 44 个品种纳入 2017 年国谈目录范围^[8]。2019—2024 年,国家医保局人力资源社会保障部每年印发《国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录》的通知,分别确定将 118 种、221 种、275 种、346 种、397 种、406 种药物纳入国谈目录,并备注协议有效期^[9-10],谈判药品数量逐年增加。2019 年版国谈目录开始采用药理作用分类统计方式,将 2016、2017 年版国谈目录按照药理作用分类后,对 2016—2024 年各类药品的数量进行分析,具体结果见图 1。按照药理作用分类谈判药品品种共分为 21 大类。排名前 8 位的谈判药品品种为抗肿瘤药及免疫调节剂、中成药内科用药、全身用抗感染药、消化道和代谢方面的药物、血液和造血器官药、神经系统药物、呼吸系统药物、心血管系统药物,占总数量的 84.09% 以上;抗肿瘤药及免疫调节剂药物数量稳居第一,占总数量的 23.99% 以上;中成药内科用药自 2017 年开始纳入国谈目录,居第二或第三位,占总数量的 10.10% 以上;抗肿瘤药及免疫调节剂、肌肉-骨骼系统药物、神经系统药物、中成药外科用药、中成药妇科用药呈逐年上升趋势,其他品种药品品种数量整体呈上升趋势,稍有波动。

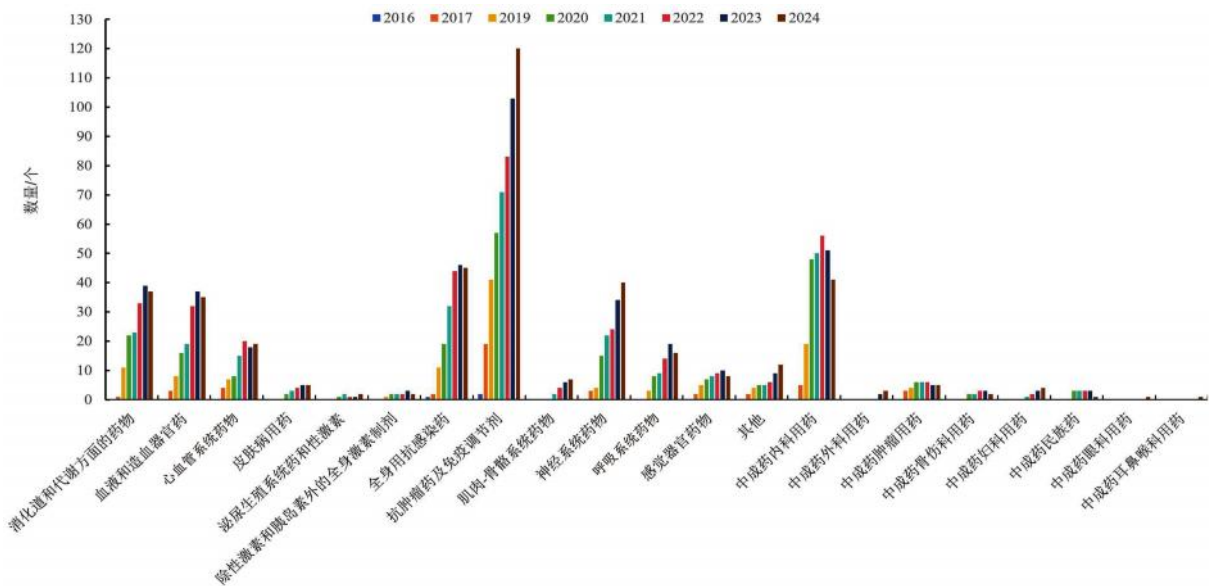


图 1 2016—2024 年谈判药品按照药理作用分类的数量分布情况
Fig 1 Quantitative distribution of negotiated drugs by pharmacology from 2016 to 2024

2.2.2 我院谈判药品入院率及销售金额占比情况
2016 版国谈目录的生效日期为 2016 年 5 月 17 日，2017 版国谈目录生效日期为 2017 年 2 月 21 日，2019、2021、2023、2024 版国谈目录生效时间均为次年 1 月 1 日，2020 和 2022 版国谈目录生效时间为次年 3 月 1 日。各年份执行国谈目录

情况以及我院谈判药品入院率、增幅、销售金额占比见表 1。随着谈判药品数量的增加，我院谈判药品在院总品种数呈逐年上升趋势，总品种数量增幅、总体入院率和国谈后入院率均呈逐渐上升后又下降的趋势，谈判药品销售金额占比呈逐年上升趋势，仅 2024 年稍有下降。

表 1 2016—2024 年我院谈判药品入院率及销售金额占比情况

Tab 1 Admission rate and sales amount proportion of negotiated drugs in our hospital from 2016 to 2024									
年份	执行国谈 目录版本	国谈目录 总数 / 种	国谈前已在 院品种数 / 种	国谈后新入 院品种数 / 种	谈判药品在 院总品种数 / 种	谈判药品在院 总品种数量增幅 / %	总体入 院率 / %	国谈后 入院率 / %	金额占 比 / %
2016	2016 版	3	0	0	0	—	0	0	0
2017	2017 版	44	6	2	8	—	18.18	5.26	5.14
2018	2017 版	44	6	3	9	12.50	20.45	7.89	6.51
2019	2017 版	44	6	5	11	22.22	25.00	13.16	7.84
2020	2019 版	118	11	11	22	100.00	18.64	10.28	8.93
2021	2020 版	221	38	16	54	145.45	24.43	8.74	16.59
2022	2021 版	275	52	23	75	38.89	27.27	10.31	18.33
2023	2022 版	346	73	10	83	10.67	23.99	3.66	20.88
2024	2023 版	397	67	17	84	1.20	21.16	5.15	20.20

2.2.3 单个国谈品种产生效益分析 将国谈前后均在我院的药品品种进行梳理，分析国谈前及经过多次国谈后药品价格变化，计算国谈前后药品的最大差价和最大降幅，并把该药品从进入国谈目录至 2024 年 12 月 31 日的药品价格和对应销量从药品管理系统中导出，计算每一次国谈降价后所产生的经济效益，最后合计得出该药品国谈后产生的最大经济效益，具体情况见表 2。由结果可知，在国谈前已在我院购进的药品品种数有 35 种，国谈前后单个药品降价最多、产生效益最多的药品为雷珠单抗注射液，降价 6126.50 元，自 2017 年 2 月 21 日至 2024 年底产生经济效益

为 1279.56 万元；降幅最大的药品为多拉司琼注射液，降幅 91.81%；降幅最小的药品为托伐普坦片，降幅 11.11%；降幅 50% 以上的品种有 17 种，平均降幅 50.59%，与文献报道相似^[11]；上述 35 种药品自逐渐加入国谈后至 2024 年底产生经济效益 8099.86 万元。

3 讨论

3.1 国谈目录变化和药品政策相辅相成

国谈药品的重点为临床疗效确切的专利药品和独家生产药品^[12]。国谈实行“一药一策”，随着国谈的深入，经验不断积累，药品品种不断增多，涉及临床范围更广，价格范围也逐渐扩大，由最

表 2 国谈前后药品价格变化及产生的经济效益情况
Tab 2 Changes in drug prices before and after the national negotiation and economic benefits

药品名称	生产厂家	国谈前及多次国谈后 药品价格变化 / 元	进入国 谈目录 年份 / 年	国谈前后 药品最大 差价 / 元	国谈前后药 品价格最大 降幅 / %	国谈后 总销量 / (支 / 盒)	产生效 益 / (万 元)
雷珠单抗注射液	瑞士 (Novartis Pharma Stein AG)	9800 → 7200 → 7125 → 5700 → 3950 → 3673.5	2017	6126.50	62.52	9316	1279.56
达格列净片	阿斯利康药业 (中国) 有限公司	228 → 223.44 → 61.04	2019	166.96	73.23	57368	931.66
康柏西普眼用注射液	成都康弘生物科技有限公司	6725 → 5550 → 4160 → 3452.8	2017	3272.20	48.66	8865	834.15
阿柏西普眼内注射 溶液	德国 (Vtter Pharma-Fertigung GmbH&Co.KG)	5850 → 4100	2017	1750.00	29.91	4574	800.45
丁苯酞氯化钠注射液	石药集团恩必普药业有限公司	285.3 → 139 → 116.76	2017	168.54	59.07	85226	710.80
环孢素滴眼液	沈阳兴齐眼药股份有限公司	799 → 165	2017	634.00	79.35	10619	673.24
血必净注射液	天津红日药业股份有限公司	47.40 → 41.3 → 22.08	2017	25.32	53.42	422242	576.40
银杏内酯注射液	成都百裕制药股份有限公司	79 → 19.68	2017	59.32	75.09	93165	540.01
沙库巴曲缬沙坦钠片	北京诺华制药有限公司	242.57 → 242.54 → 139.3 → 44.52 → 42.56	2017	200.01	82.45	88409	455.50
尤瑞克林针	广东天普生化医药股份有限 公司	461 → 410 → 356.6 → 100	2019	361.00	78.31	18818	428.15
益气复脉粉针	天津天士力之骄药业有限公司	46.8 → 40.1 → 39.5 → 16.5 → 15.92	2019	30.88	65.98	116860	147.43
复方电解质眼内冲 洗液	兰西哈三联制药有限公司	150 → 52.7	2020	97.30	64.87	37231	136.03
心脉隆注射液	云南腾药制药股份有限公司	86.1 → 80 → 79.5 → 69.21 → 66.16 → 26	2017	60.10	69.80	53560	121.61
兰地洛尔粉针	南京海辰药业股份有限公司	619 → 168	2020	451.00	72.86	2250	101.48
丹红注射液 10 mL	山东丹红制药有限公司	45.9 → 44.5 → 38.7 → 17.32 → 16.92	2017	28.98	63.14	351562	84.12
阿替普酶针 50 mg	德国 (Vtter Pharma-Fertigung GmbH&Co.KG)	5527 → 5452.46 → 5297.36 → 5090.76 → 3570	2020	1957.00	35.41	374	56.88
丁苯酞软胶囊	石药集团恩必普药业有限公司	248 → 213 → 185.62 → 181.8 → 80.64	2020	167.36	67.48	5089	51.48
阿替普酶针 20 mg	德国 (Vtter Pharma-Fertigung GmbH&Co.KG)	2480 → 2405 → 2362.92 → 2274.43 → 1770.24	2020	709.76	28.62	931	46.94
丹红注射液 20 mL	山东丹红制药有限公司	68.82 → 29.44 → 28.76	2020	40.06	58.21	37186	22.16
利拉鲁肽注射液	诺和诺德 (中国) 制药有限公司	410 → 339 → 315.27	2020	94.73	23.10	4974	18.60
尖吻蝮蛇血凝酶针	北京康辰药业股份有限公司	119 → 106 → 92.83 → 62.2 → 59.15	2020	59.85	50.29	27117	18.53
蓝芩口服液	扬子江药业集团江苏龙凤堂中 药有限公司	56 → 50 → 35.28	2020	20.72	37.00	11396	16.77
多拉司琼注射液	辽宁海恩科制药有限公司	166 → 144.63 → 144.5 → 13.6	2020	152.40	91.81	1201	15.72
百令胶囊	杭州中美华东制药有限公司	74.9 → 74.8 → 65.05 → 65.02 → 43.26	2020	31.64	42.24	4612	10.03
阿兹夫定片	河南真实生物科技有限公司	270 → 174.65	2021	95.35	35.31	518	4.84
戈舍瑞林缓释植入剂 10.8 mg	AstraZeneca UK Limited	4646 → 4571.78 → 4438.83 → 3994.48 → 3942.54 → 2736 → 2489.76	2020	2156.24	46.41	73	4.77
替格瑞洛片	阿斯利康制药有限公司	182 → 159.13 → 118.3 → 94.64	2020	87.36	48.00	1726	4.50
川芎清脑颗粒	济川药业集团有限公司	35.3 → 30.75 → 28.8 → 28.49 → 19.98	2021	15.32	43.40	2829	2.41
戈舍瑞林缓释植入剂 3.6 mg	AstraZeneca UK Limited	2047 → 1797 → 1722 → 1700.29 → 1680 → 1615.28 → 1179.95 → 1073.75	2020	973.25	47.55	132	1.96
复合磷酸钾注射液	苏州天马医药集团天吉制药 有限公司	40 → 34.8 → 29.3 → 29.01 → 27.09 → 26.58	2020	13.42	33.55	31175	1.59
重组人血小板生成素 注射液	沈阳三生制药有限责任公司	1120 → 1008 → 789	2022	331.00	29.55	50	1.10
阿帕替尼片	江苏恒瑞医药股份有限公司	1360 → 1316.03 → 1150	2022	210.00	15.44	45	0.35
托伐普坦片	浙江大家制药有限公司	495 → 440	2021	55.00	11.11	67	0.34
丹参酮注射液	上海上药第一生化药业有限 公司	18.3 → 17.9 → 15.6 → 11.9	2022	6.40	34.97	415	0.15
安儿宁颗粒	金珂藏药股份有限公司	20.34 → 19.5 → 17.82	2017	2.52	12.39	895	0.15

初数千元的药品, 扩展到数十元的药品。销量较多的药品, 如川芎清脑颗粒, 国谈前药品价格 35.3 元, 国谈后 19.98 元。多种药品经过数次国

谈, 药品价格逐渐降低后, 退出国谈目录, 进入医保乙类目录, 如利拉鲁肽注射液在 2017 至 2022 版国谈目录内, 退出 2023 版国谈目录, 进入 2023

年医保乙类目录。亦有药品经过国谈降低药品价格后进入集采目录,如盐酸左沙丁胺醇雾化吸入溶液在 2021 版国谈目录内,退出 2022 版国谈目录后进入第九批国家组织药品集中采购目录。

因此,国家药品政策相辅相成,国谈将药品药价降至合理范围以后,可增加进入医保目录及集中采购的概率,销量的增加也为生产厂家提高生产效能、保证产品质量、进一步降低药品价格提供更多的可能性。

3.2 我院谈判药品使用情况分析

我院谈判药品增幅、总体入院率和国谈后入院率并未随着谈判药品目录内数量增加而增加,整体呈先增加后减少的趋势,原因分析如下:①谈判药品目录和集采药品目录存在同一种药品的不同剂型,通常优选集采药品,如美金刚、孟鲁司特钠等;②抗肿瘤及免疫调节剂在谈判药品目录中占比较高^[13],而我院并未设置肿瘤科,肿瘤患者非常少;③新药/新剂型的药物在谈判药品目录中占比逐渐增加,而作为市级医院相对接触少,临床接受程度有待进一步提高,如盐酸凯普拉生片于 2023 年 3 月 8 日批准上市,泽贝妥单抗注射液于 2023 年 5 月 12 日批准上市等。我院增幅和入院率虽有波动,但是,谈判药品在院总品种和销售金额占比呈逐渐上升趋势,说明药品进入国谈后临床科室的选择性不断提高。2024 年谈判药品增幅下降明显的原因 14 种一直在国谈目录内的药品品种退出 2023 版国谈目录,进入医保乙类目录。

3.3 国谈品种产生效益分析

每一轮的国谈,均会引起新一轮的药品价格下降,国谈政策的实施极大地降低了药品的价格,能节约医保费用,减轻患者负担^[14-15]。我院国谈后药品价格降幅最大可达 91.82%,平均降幅达 50.59%,国谈后 35 种药品产生经济效益达 8099.86 万元,若加上国谈后逐渐进入医院采购目录的品种数量,产生的经济效益更多。

综上所述,国谈目录内药品种类和数量不断增多,抗肿瘤、新药的占比不断增加影响市级医院谈判药品的入院率,临床科室对于已采购谈判药品的选择性逐渐提高。国谈、集采、医保目录调整等药品政策相辅相成,相互补充,相互促进,国谈政策是降低药品费用、减轻患者经济负担、维护人们生命健康的重要保障^[16]。

参考文献

[1] 颜伊琪,汪皖青,潘杰,等.苏州地区 14 家医疗机构医师对国家药品集中采购政策的认知现状及药学

需求调查研究[J].中国现代应用药学,2023,40(9):1240-1247.

- [2] 李伟,陈红斗,陆伟,等.2016—2021 年国家医保谈判药品可及性研究——基于全国大数据的实证分析[J].中国现代应用药学,2023,40(10):1405-1410.
- [3] 刘丹,刘吉芳,龙葵英,等.国家组织药品集中采购和医保谈判政策对公立医疗机构与社会药房的影响[J].中国药业,2024,33(20):12-15.
- [4] 陈红斗,李伟,陆伟,等.2020—2021 年我国国家医保谈判抗肿瘤药物的可及性及应用分析[J].中国医院药学杂志,2023,43(5):530-535.
- [5] 吴欢欢,李伟,陈红斗,等.2020—2021 年我国国家医保谈判降糖药物的可及性及应用分析[J].中国医院药学杂志,2023,43(22):2570-2573,2578.
- [6] 卫生计生委.卫生计生委办公厅关于公布国家药品价格谈判结果的通知[EB/OL].(2016-05-17)[2025-02-06].https://www.gov.cn/xinwen/2016-05/20/content_5075027.htm.
- [7] 卫生计生委.国家药品价格谈判取得重要进展和成果[EB/OL].(2016-5-20)[2025-01-06].https://www.gov.cn/xinwen/2016-05/20/content_5075021.htm.
- [8] 人力资源社会保障部.44 种药品纳入工伤生育保险谈判范围[EB/OL].(2017-5-23)[2025-02-06].https://www.mohrss.gov.cn/gsbxs/GSBXSgongzuodongtai/201705/t20170523_271280.html.
- [9] 国家医保局人力资源社会保障部.国家医保局人力资源社会保障部关于将 2019 年谈判药品纳入《国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录》乙类范围的通知[EB/OL].(2019-11-22)[2025-01-06].https://www.nhsa.gov.cn/art/2019/11/28/art_53_2051.html.
- [10] 国家医保局人力资源社会保障部.国家医保局人力资源社会保障部关于印发《2023 年版国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录》的通知[EB/OL].(2023-12-15)[2025-01-06].https://www.mohrss.gov.cn/SYrlzyhshbzb/dongtaixinwen/buneyiaowen/rsxw/202312/t20231215_510611.html.
- [11] 邱志国,柯磊,万元胜,等.国家医保谈判药品在某院可及性的现状和影响因素研究[J].中国医院药学杂志,2022,42(18):1918-1922.
- [12] 李欣雨,徐娟.我国医保谈判药品“双通道”管理政策执行困境及推进策略[J].中国药房,2024,35(8):906-911.
- [13] 韩伟迪,朱昱.2022 年版《国家医保药品目录》药品收录情况简析[J].解放军药学学报,2024,37(2):160-163.
- [14] 孙惠斌,李凤娟,郑玉洁,等.“国谈”政策对某院眼科抗 VEGF 药物使用的影响及发展趋势分析[J].中国医院药学杂志,2025,45(3):313-317.
- [15] 李宵,丁琮洋,任炳楠,等.国家医保谈判药品新型 GLP-1RA 司美格鲁肽注射液的数字化遴选评价[J].中国现代应用药学,2022,39(22):2981-2990.
- [16] 谭清立,李永盈,崔洪瑞.创新药医保谈判的博弈分析[J].卫生经济研究,2024,41(6):5-9,15.

(收稿日期:2025-01-07;修回日期:2025-02-20)

子宫内膜异位症保守性手术后 3 种预防复发药物的成本-效用分析

陈遥, 蒋军, 夏宗玲* (常州市第一人民医院药学部, 江苏 常州 213003)

摘要: **目的** 从医疗机构角度出发, 评价子宫内膜异位症保守性手术后 3 种预防复发药物的经济性, 为临床用药提供参考依据。**方法** 基于国内外公开发表的临床研究数据, 根据子宫内膜异位症保守性手术后疾病的状态建立决策树模型, 研究时间为 2 年, 以质量调整生命年 (QALY) 和增量成本-效用比 (ICER) 为产出指标, 比较亮丙瑞林方案、屈螺酮炔雌醇方案、地诺孕素方案的经济性, 采用单因素敏感性分析及概率敏感性分析检验结果的稳健性。**结果**

地诺孕素方案对比亮丙瑞林方案的 ICER 值为 685 914.73 元/QALY, 大于 2024 年 3 倍人均 GDP (287 247 元), 即意愿支付阈值 (WTP), 不具有经济性。地诺孕素方案对比屈螺酮炔雌醇方案的 ICER 值为 273 937.45 元/QALY, 小于 WTP, 具有经济性。亮丙瑞林方案对比屈螺酮炔雌醇方案的 ICER 值为 122 360.90 元/QALY, 小于 WTP, 具有经济性。概率敏感性分析显示在 WTP 下, 亮丙瑞林方案对比屈螺酮炔雌醇方案具有成本-效用优势的的概率为 95.6%, 亮丙瑞林方案对比地诺孕素方案具有成本-效用优势的的概率为 88.4%, 地诺孕素方案对比屈螺酮炔雌醇方案具有成本-效用优势的的概率为 52.6%。**结论** 以 2024 年 3 倍我国人均 GDP 为 WTP 时, 子宫内膜异位症保守性手术后药物维持 2 年内, 3 种方案对比亮丙瑞林方案最具经济性, 其次是地诺孕素方案, 再次为屈螺酮炔雌醇方案。

关键词: 地诺孕素; 亮丙瑞林; 屈螺酮炔雌醇; 成本-效用分析; 决策树模型; 子宫内膜异位症
中图分类号: R956, R711.71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2025)10-3088-06
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.045

Cost-utility of three drugs for preventing recurrence after conservative surgery for endometriosis

CHEN Yao, JIANG Jun, XIA Zong-ling* (Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Changzhou, Changzhou Jiangsu 213003)

Abstract: Objective To evaluate the economic efficiency of three drugs for preventing the recurrence after conservative surgery for endometriosis to provide a reference for clinical medication use. **Methods** Based on the clinical research data publicly published at home and abroad, a decision tree model was established according to the disease status after the conservative surgery for endometriosis. The study lasted 2 years. The quality-adjusted life years (QALY) and the incremental cost-utility ratio (ICER) were taken as the output indicators, the economic efficiency of leuporelin scheme, drospirenone and ethinyl estradiol scheme, and dienogest scheme was compared. Univariate sensitivity analysis and probabilistic sensitivity analysis were used to test the robustness of the results. **Results** The ICER of the dienogest regimen was 685 914.73 yuan/QALY, which was greater than 287 247 yuan, three times of the per capita GDP in 2024, that is, the willingness-to-pay threshold (WTP), so it was not economical. The ICER of the dienogest regimen compared with the drospirenone and ethinyl estradiol regimen was 273 937.45 yuan/QALY, which was less than the WTP, so it was more economical. The ICER of the leuporelin regimen compared with the drospirenone and ethinyl

基金项目: 2024 年常州市第七批科技计划项目 (No.CJ20242024)。

作者简介: 陈遥, 男, 主管药师, 主要从事临床药学研究, email: 423033558@qq.com * **通信作者:** 夏宗玲, 女, 硕士, 副主任药师, 主要从事医院合理用药研究, email: lysaxia@163.com

estradiol regimen was 122 360.90 yuan/QALY, less than the WTP and economical. The probabilistic sensitivity analysis showed that, under the WTP, the probability that the cost-utility advantage of leuprorelin regimen as compared with that of drospirenone and ethinyl estradiol regimen was 95.6%, while the probability that the cost-utility advantage of leuprorelin regimen compared with that of the dienogest regimen was 88.4%, and that of dienogest regimen compared with drospirenone and ethinyl estradiol regimen was 52.6%. **Conclusion** When taking three times the per capita GDP of China in 2024 as the WTP, among the three regimens of drug maintenance within 2 years after conservative surgery for endometriosis, the leuprorelin regimen is the most economical, followed by the dienogest regimen, and then the drospirenone and ethinyl estradiol regimen.

Key words: dienogest; leuprorelin; drospirenone and ethinyl estradiol; cost-utility analysis; decision tree model; endometriosis

子宫内膜异位症（endometriosis, EMs）是子宫内膜组织在子宫以外或子宫腔被覆内膜出现、生长、浸润、反复出血，而引发疼痛、不孕、结节、包块等，全球有 10% 的育龄妇女患有 EMs，20% ~ 50% 的不孕症妇女、71% ~ 87% 慢性盆腔疼痛妇女患有 EMs^[1]，位于我国第三大严重妇科疾病^[2]。保守性手术即病灶切除术，手术尽量剔除肉眼可见的异位病灶、异位囊肿，分离粘连等，适用于年龄较轻或需要保留生育功能者。保守手术治疗复发率高，2 年平均复发率 20%，5 年平均复发率 50%，术后未予药物巩固治疗为复发的高危因素之一，手术后辅助药物治疗并长期管理，可减少复发率^[1]。《子宫内膜异位症诊治指南（第三版）》推荐预防复发有效的药物有复方口服避孕药（COC）、口服孕激素、促性腺激素释放激素激动剂（GnRH-a）和左炔诺孕酮宫内缓释系统（LNG-IUS）^[1]。由于本院不提供左炔诺孕酮宫内缓释系统，放置和相关检查费用难以获得，暂不讨论。由于没有明确的临床试验证明某一种避孕药的有效性优于另一种避孕药^[3]，因此选择市场占有率较高的口服避孕药^[4]：COC 选择屈螺酮炔雌醇片；GnRH-a 选择我院使用

的注射用醋酸亮丙瑞林微球；口服孕激素选择 EMs 长期管理的首选药物地诺孕素片^[1]。由于 3 种预防复发药物在真实临床中何种更具有经济性的研究仍存空白，因此本研究从医疗卫生体系角度，基于公开发表的 EMs 文献，比较屈螺酮炔雌醇方案、亮丙瑞林方案、地诺孕素方案治疗 2 年的成本-效用，为术后长期治疗的经济性提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 治疗方案

EMs 术后长期口服屈螺酮炔雌醇（> 12 个月）不仅可以控制痛经，还可以减少 EMs 的复发^[5]，可长期应用，治疗时间定为 24 个月。亮丙瑞林长期应用可导致骨密度下降，应用 6 个月以上可导致骨丢失 4% ~ 6%^[5]，治疗时间定为 6 个月。地诺孕素自上市以来已在全球积累了 5 年、7 年的使用经验，证实了长期应用的安全性和耐受性^[6]，患者 EMs 术后连续使用地诺孕素 24 个月，可显著降低复发率^[1]，治疗时间定为 24 个月。给药方案具体见表 1。由于术后最初 28 个月至 30 个月的复发率是恒定的，之后复发率会急剧上升^[7]，因此本研究讨论 EMs 术后药物治疗 2 年内的经济性。

表 1 3 种药物的治疗方案

Tab 1 Therapeutic regimens for the three medications

治疗药物	生产厂家	国药准字	给药方案
屈螺酮炔雌醇片	Bayer Weimar GmbH & Co.KG	HJ20170317	口服，每日 1 片，每月服用 21 d 停药 7 d（周期给药），治疗 24 个月
地诺孕素片	Bayer Weimar GmbH und Co.KG	HJ20180090	口服，每日 2 mg，治疗 24 个月
注射用醋酸亮丙瑞林微球	北京博恩特药业有限公司	H20093852	皮下注射，3.75 mg/次，每 4 周 1 次，连用 6 个月停药

复发的定义为再次出现临床症状且症状恢复至治疗前的水平或加重，或再次出现 EMs 病灶^[1]。假设使用屈螺酮炔雌醇片方案和地诺孕素片方案患者在复发后继续激素治疗，注射用醋酸亮丙瑞林微球方案患者在复发后开始地诺孕素片治疗（本研究

讨论 EMs 术后药物治疗 2 年内的经济性，亮丙瑞林方案患者复发后即使用地诺孕素方案治疗，因为 2 年内的任何时间均可能复发，复发后地诺孕素片治疗的时长均匀分布在 0 年到 2 年内，所以治疗的时长取均数 1 年），且均无需手术或其他治疗。

1.2 模型建立

本研究基于公开发表的 EMs 文献，因为地诺孕素片 2019 年才在中国作为 EMs 口服药物上市，缺乏长期用药的数据，故采用 TreeAge Pro Healthcare 2022 构建决策树模型，见图 1。复发状态的效用值适用于整个 2 年期间，与许多临床试验一样，在模型中不管患者在 2 年内的任何时间复发，都将被视为复发。成本 - 效用通过增量成本 - 效用比进行评估，增量成本 - 效用比的计算方法是将成本差额除以 2 年时间跨度内质量调整生命年（quality-adjusted life years, QALY）的净收益。为检验结果的稳健性，对结果进行单因素敏感性分析和概率敏感性分析。

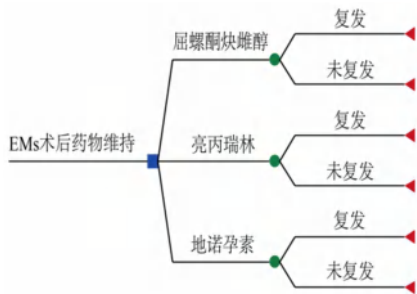


图 1 EMs 术后药物维持方案的决策树模型

Fig 1 Decision tree model for post-EMs surgery medication maintenance regimen

1.3 研究角度和成本

本研究从卫生体系角度，纳入卫生体系内的所有直接医疗成本，包括药费、检查费、诊疗费、注射费。非直接医疗成本（如交通费、食宿费）、间接成本（如工资损失）、隐性成本（如生理和精神上的痛

苦）不在卫生体系角度讨论范围之内，不予考虑^[8]。价格通过我院医院管理信息系统（HIS）查询、江苏省医疗保障局（<https://ybj.jiangsu.gov.cn/col/col85454/index.html>）和药智数据（<https://db.yaozh.com>）获得。查询时间为 2024 年 12 月 20 日，各项费用见表 2。

表 2 药品、检查、诊疗、治疗费用的单价及来源

Tab 2 Cost and source data of pharmaceuticals, diagnostics, consultations, and therapies			
名称	包装和剂量	价格（元 / 盒或元 / 次）	来源
地诺孕素片	2 mg×28 片	535.00	江苏省医疗保障局
注射用醋酸亮丙瑞林微球	3.75 mg×1 支	903.86	江苏省医疗保障局
屈螺酮炔雌醇片	30 μg: 3 mg×21 片	108.00	药智数据
腔内彩超检查		72.21	HIS 查询
皮下注射（治疗费）		8.50	HIS 查询
CA125 糖类抗原测定		65.00	HIS 查询
诊疗费		12.00	HIS 查询

根据《子宫内膜异位症长期管理中国专家共识》建议子宫内膜异位症患者术后随访，术后 6 个月每 3 个月随访 1 次，之后每 6 个月随访 1 次^[5]，因此第一年随访 3 次，第二年随访 2 次，随访内容包括经阴道超声检查和血清糖类抗原 125（CA125）。所有患者均随访 5 次，亮丙瑞林方案患者需支付治疗费，其他方案患者自行口服。由于集中招标采购和医疗改革药品和各项检查价格下降趋势明显，成本下限假设为现在成本的 80%，上限为现在成本，各项花费见表 3。

表 3 不同给药方案 2 年的花费

Tab 3 Cost comparison of drug administration strategies over 2 years								
参数类别	药费 / 元	检查费 / 元	诊疗费 / 元	治疗费 / 元	2 年总成本 / 元	成本上限 / 元	成本下限 / 元	分布
屈螺酮炔雌醇方案	2592.00	686.05	60	0	3338.05	3338.05	2670.44	γ
亮丙瑞林方案（复发）	11 843.16	686.05	60	51	12 640.21	12 640.21	10 112.17	γ
亮丙瑞林方案（未复发）	5423.16	686.05	60	51	6220.21	6220.21	4976.17	γ
地诺孕素方案	12 840.00	686.05	60	0	13 586.05	13 586.05	10 868.84	γ

1.4 模型中复发概率和效用参数的建立

模型的终节点分为有效和复发，效用以质量调整生命年（quality-adjusted life years, QALY）衡量，状态节点为地诺孕素、亮丙瑞林、屈螺酮炔雌醇。首选基于中国人的数据，在中国知网和万方数据库中检索关键词“子宫内膜异位症和腹腔镜手术和亮丙瑞林或 GnRH-a”和“子宫内膜异位症和腹腔镜手术和地诺孕素”及“子宫内膜异位症和腹腔镜手术和口服避孕药”筛选报道 EMs 术后 2 年复发率且给药方案与本研究相同的文献，最终获得亮

丙瑞林方案文献 3 篇^[9-11]，未查询到有关地诺孕素方案及屈螺酮炔雌醇方案的文献。在 PubMed 中搜索关键词“Endometrioma AND Laparoscopic surgery AND Dienogest”和“Endometrioma AND Laparoscopic surgery AND Oral contraceptives”筛选报道 EMs 手术后 2 年复发率且给药方案与本研究相同的文献，最终获得地诺孕素方案文献 2 篇^[12-13]，屈螺酮炔雌醇周期给药方案文献 2 篇^[14-15]。由于相同治疗方案下不同文献报道的 EMs 复发率有差异，本文将文献中提取的复发率求均数得到 EMs 复发率，区间

高值为文献中复发率的高值，区间低值为文献中复发率的低值，效用值参考同类型药物经济学评价文献^[3]，见表 4。

表 4 地诺孕素、屈螺酮炔雌醇、亮丙瑞林各节点概率及效用值
Tab 4 Node probabilities and utility values for dienogest, drospirenone and ethinyl estradiol and leuprolide

给药方案	EMs 复发率	效用值	区间	参数分布
亮丙瑞林方案	0.0723	—	0.0670 ~ 0.0750 ^[9-11]	β
地诺孕素方案	0.0489	—	0.0391 ~ 0.0587 ^[12-13]	β
屈螺酮炔雌醇方案 (周期使用)	0.1359	—	0.1467 ~ 0.1250 ^[14-15]	β
EMs 复发的效用	—	0.33	0.24 ~ 0.43 ^[3]	β
EMs 未复发的效用	—	0.76	0.71 ~ 0.81 ^[3]	β

1.5 意愿支付阈值和贴现

根据《中国药物经济学评价指南 2020》，本研究意愿支付阈值（willingness to pay，WTP）采用 3 倍人均 GDP。采用 2024 年中国国家统计局公布的数据，人均 GDP 为 95 749 元，3 倍人均 GDP 为 287 247 元^[16]。同时本研究时长为 2 年，在本研究中成本的贴现率设为 5%，敏感性分析时以 0% ~ 8% 的贴现率进行分析^[8]。

表 5 成本-效用分析数据

Tab 5 Data of cost-utility analysis

方案	成本 / 元	效用 (QALY)	对比方案	增量成本 / 元	增量效用 (ΔQALY)	ICER (元/QALY)
屈螺酮炔雌醇方案	3338	0.70	—	0	0	0
亮丙瑞林方案	6684	0.73	屈螺酮炔雌醇方案	3346	0.03	122 360.90
地诺孕素方案	13 586	0.74	亮丙瑞林方案	6902	0.01	685 914.73
			屈螺酮炔雌醇方案	10 248	0.04	273 937.45

2.2 单因素敏感性分析

3 种降低 EMs 术后复发的药物方案相互对比的单因素敏感性分析结果见图 2。亮丙瑞林方案对比屈螺酮炔雌醇方案中，图形整体形态对称，模型对复发的效用在取值范围内的变化最敏感，由于期望价值（EV）小于 WTP，亮丙瑞林方案对比屈螺酮炔雌醇方案具有经济性。地诺孕素方案对比亮丙瑞林方案中，图形整体形态对称，地诺孕素方案复发的概率对模型影响最大，其次是地诺孕素的花费，由于 EV 值大于 WTP，说明地诺孕素方案对比亮丙瑞林方案不具有经济性。地诺孕素方案对比屈螺酮炔雌醇方案中，图形整体对称，复发的效用对模型影响最大，其次是地诺孕素的花费，由于 EV 值小于 WTP，说明地诺孕素方案对比屈螺酮炔雌醇方案具有经济性。

2.3 概率敏感性分析

1.6 不良反应处理

屈螺酮炔雌醇片的不良反应相对较少，主要是胃肠道和皮肤黏膜方面的不良反应。亮丙瑞林可导致雌激素降低的一系列症状如盗汗、潮热、情绪变化、骨密度降低等不良反应。地诺孕素出现阴道出血的概率比亮丙瑞林高但通常无需终止治疗，随着治疗时间的延长，阴道出血的频率与持续时间会逐渐降低^[14]，均无需额外治疗。

2 结果

2.1 成本-效用分析

将各分支节点概率数值、效用值和相应治疗费用代入 TreeAge Pro Healthcare 2022 软件，运行决策树模型后结果显示，亮丙瑞林方案比屈螺酮炔雌醇方案多花费 3346 元，健康产出多获得 0.03 个 QALY，ICER 为 122 360.90 元/QALY < WTP。地诺孕素方案比亮丙瑞林方案多花费 6902 元，健康产出多获得 0.01 个 QALY，ICER 为 685 914.73 元/QALY > WTP。地诺孕素方案比屈螺酮炔雌醇方案多花费 10 248 元，健康产出多获得 0.04 个 QALY，ICER 为 273 937.45 元/QALY < WTP，结果见表 5（数据均来源于软件）。

Monte Carlo 模拟随机抽样 1000 次，在支付意愿阈值（287 247 元/QALY）下，3 种药物方案相互对比的概率敏感性分析见图 3。以亮丙瑞林方案和屈螺酮炔雌醇方案对比，亮丙瑞林方案具有成本-效用优势的的概率为 95.6%；以地诺孕素方案和亮丙瑞林方案对比，亮丙瑞林方案具有成本-效用优势的的概率为 88.4%；以地诺孕素方案和屈螺酮炔雌醇方案对比，地诺孕素方案具有成本-效用优势的的概率为 52.6%。

2.4 成本-效用可接受曲线

当 WTP < 126 000 元时，屈螺酮炔雌醇方案为优；当 126 000 < WTP < 689 500 元，亮丙瑞林方案为优；当 WTP > 689 500 元时，地诺孕素方案为优。目前 WTP 为 287 247 元，亮丙瑞林方案最优，其次为地诺孕素方案，再次为屈螺酮炔雌醇方案，见图 4。

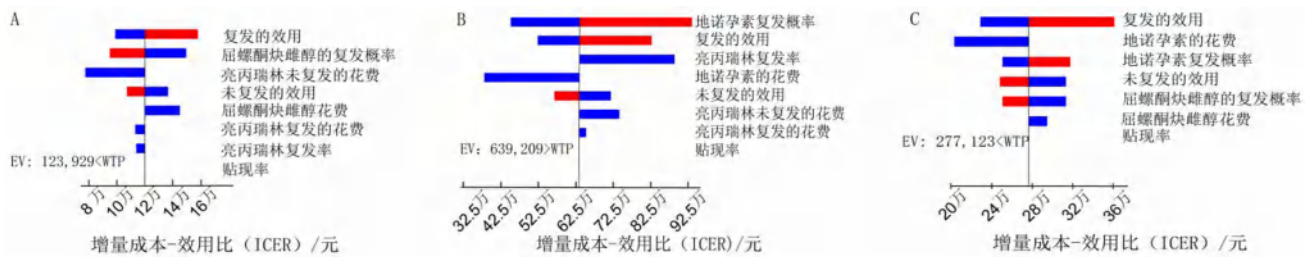


图 2 单因素敏感性分析旋风图

Fig 2 Tornado diagram of univariate sensitivity analysis

A. 亮丙瑞林方案和屈螺酮炔雌醇方案 (the leuporelin regimen and the drospirenone and ethinylestradiol regimen); B. 地诺孕素方案和亮丙瑞林方案 (the dienogest regimen and the leuporelin regimen); C. 地诺孕素方案和屈螺酮炔雌醇方案 (the dienogest regimen and the drospirenone and ethinylestradiol regimen)

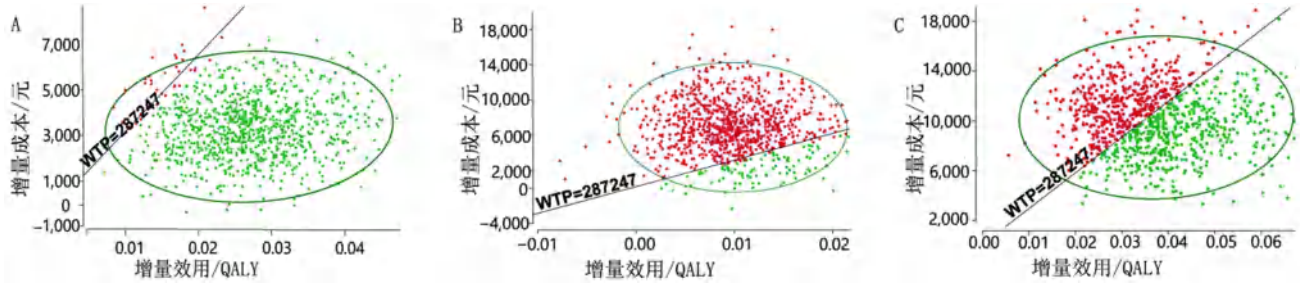


图 3 增量成本-效用散点图

Fig 3 Scatter plot of incremental cost-utility

A. 亮丙瑞林方案和屈螺酮炔雌醇方案 (the leuporelin regimen and the drospirenone and ethinylestradiol regimen); B. 地诺孕素方案和亮丙瑞林方案 (the dienogest regimen and the leuporelin regimen); C. 地诺孕素方案和屈螺酮炔雌醇方案 (the dienogest regimen and the drospirenone and ethinylestradiol regimen)

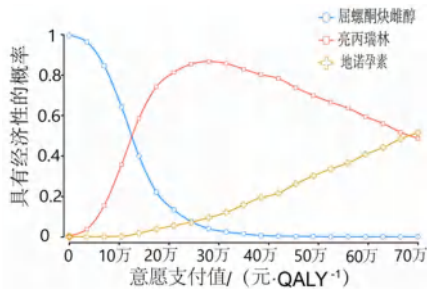


图 4 3 种方案成本-效用可接受曲线

Fig 4 Cost-utility acceptability curves of three schemes

3 讨论

EMs 位列我国第三大严重妇科疾病^[2], 保守性手术后, 复发率高, 给患者、医保和社会带来沉重的经济负担, 药物长期维持可以显著减小复发概率, 但治疗方案多, 价格相差大, 急需寻找经济性高的方案。本研究通过成本-效用分析法比较了 3 种 EMs 保守性手术后预防复发药物的获益与成本, 结果显示: 地诺孕素方案对比亮丙瑞林方案的 ICER 值为 685 914.73 元/QALY, 大于 WTP, 不具有经济性; 地诺孕素方案对比屈螺酮炔雌醇方案的 ICER 值为 273 937.45 元/QALY, 小于 WTP, 具有经济性; 亮丙瑞林方案对比屈螺酮炔雌醇方案的 ICER 值为 122 360.90 元/QALY, 小于 WTP, 具有经济性。相比较之下, 亮丙瑞林

方案为当前最具经济性的方案, 其次是地诺孕素方案, 再次为屈螺酮炔雌醇方案, 单因素敏感性分析和概率敏感性分析的结果亦证明本研究结论是稳健的。

本研究结果显示, 地诺孕素方案对比亮丙瑞林方案的 ICER 值为 685 914.73 元/QALY, 大于 WTP, 不具有经济性, 但指南^[1]推荐首选地诺孕素片。单因素敏感性分析显示, 当前地诺孕素的花费对模型影响较大, 地诺孕素进入我国不久, 价格较贵, 治疗费用达 13 586 元/年, 长期治疗经济性差, 但给药方便、依从性高、不良反应轻微。如果地诺孕素价格降低, 且随着经济发展 WTP 值提高, 其经济性会逐渐提高。

目前国内发表的关于子宫内膜异位症的经济学研究均为以治疗有效率为效果的成本-效果分析, 尚无以 QALY 为效用的成本-效用分析。两篇文献^[17-18]采用成本-效用分析法分别比较了戈舍瑞林和地诺孕素, 地诺孕素和口服避孕药的经济性, 其中一篇作者为 Zhang 等^[17]的研究表明在预防 EMs 术后复发方面的经济性为地诺孕素 < 口服避孕药, 指南推荐口服避孕药可连续或周期给药^[1], Zhang 等^[17]的研究中口服避孕药为连续给药而本文选择周期给药, 可能是因为口服避孕药连续给药 EMs 的复

发率低于周期给药,使其经济性提高,但不能忽略连续给药导致的闭经等不良反应。Dai 等^[18]的研究表明,在预防 EMs 术后复发方面的经济性为地诺孕素>戈舍瑞林,指南^[1]推荐的 EMs 术后连续使用地诺孕素 24 个月, Dai 等^[18]的研究中地诺孕素治疗方案为 $2\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$, 治疗 6 个月, 本研究中地诺孕素治疗方案为 $2\text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$, 治疗 24 个月, 可能是地诺孕素疗程缩短使成本减少导致经济性提高。本研究依据指南^[1]推荐方案比较 3 种常见的药物, 填补研究空白, 为临床用药提供参考依据。

本研究还存在一定的局限性: ① EMs 保守性手术多在腹腔镜辅助下实施, 微小病灶难以清除, 手术医师手术水平有差异, 各种研究的复发率差异较大, 本研究中复发率采用多项研究的均值, 随着医疗水平的提高均值发生率可能大于真实发生率, 导致 QALY 降低, ICER 值偏大, 使研究偏向不具有经济性方向。② 由于国内缺乏相关临床研究数据, 部分复发率采用国外数据, 人种差异导致国内真实复发率可能高于或低于国外, 本文尽量选择国内数据以减小误差。由于 GnRH-a 影响骨密度, 通常其使用时间不超过 6 个月, 而 EMs 术后需要长时间维持低雌激素状态, 现实中有许多患者选择以 GnRH-a 为基础的联合用药方案, 其中 GnRH-a 联合地诺孕素方案的复发率最低^[19], 今后可进行联合方案的经济学研究。

综上所述, EMs 保守性手术后 2 年内亮丙瑞林方案为当前 3 种治疗方案中最具经济性的方案, 其次是地诺孕素方案, 再次为屈螺酮炔雌醇方案, 未来期待更多基于国内 EMs 术后复发率的临床研究, 以提高 EMs 复发率的准确度并验证本研究结论。

参考文献

- [1] 中国医师协会妇产科医师分会, 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症诊治指南(第三版)[J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(12): 812-824.
- [2] 吉宁, 刘世炜, 曾新颖, 等. 2016 年中国妇科疾病的疾病负担研究[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(5): 313-318.
- [3] Sanghera S, Barton P, Bhattacharya S, et al. Pharmaceutical treatments to prevent recurrence of endometriosis following surgery: a model-based economic evaluation[J]. BMJ Open, 2016, 6(10): e010580.
- [4] 中国医师协会妇产科医师分会子宫内膜异位症专业委员会, 中华医学会妇产科学分会子宫内膜异位症协作组. 子宫内膜异位症长期管理中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2018, 53(12): 836-841.
- [5] 避孕药品牌 - 中国报告大厅 [EB/OL]. (2024-12-20) [2025-01-19]. <https://m.chinabgao.com/k/biyun Yao/brand/>.
- [6] 中国医师协会妇产科医师分会子宫内膜异位症学组. 地诺孕素临床应用中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2024, 59(7): 505-512.
- [7] Liu XS, Yuan L, Shen FH, et al. Patterns of and risk factors for recurrence in women with ovarian endometriomas[J]. Obstet Gynecol, 2007, 109: 1411-1420.
- [8] 刘国恩, 胡善联, 吴久鸿, 等. 中国药物经济学评价指南(2020)[M]. 北京: 中国市场出版社, 2020: 20-30.
- [9] 陈华, 李海宁, 张雪玉. 腹腔镜保守性手术联合 GnRH-a、曼月乐治疗卵巢型内膜异位症的对比性研究[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(9): 802-804.
- [10] 葛春晓, 朱湘虹, 汤晓秋. 腹腔镜保守性手术联合戈舍瑞林治疗重度卵巢内异症 206 例近远期疗效分析[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(8): 589-593.
- [11] 刘阳, 郭端英, 姜晓琦. 醋酸戈舍瑞林缓释植入剂联合腹腔镜手术治疗子宫内膜异位症效果[J]. 中国计划生育学杂志, 2021, 29(1): 14-17.
- [12] Yamanaka A, Hada T, Matsumoto T, et al. Effect of dienogest on pain and ovarian endometrioma occurrence after laparoscopic resection of uterosacral ligaments with deep infiltrating endometriosis[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2017, 216: 51-55.
- [13] Adachi K, Takahashi K, Nakamura K, et al. Postoperative administration of dienogest for suppressing recurrence of disease and relieving pain in subjects with ovarian endometriomas[J]. Gynecol Endocrinol, 2016, 32: 646-649.
- [14] Seracchioli R, Mabrouk M, Frascà C, et al. Long-term cyclic and continuous oral contraceptive therapy and endometrioma recurrence: a randomized controlled trial[J]. Fertil Steril, 2010, 93(1): 52-56.
- [15] Cucinella G, Granese R, Calagna G, et al. Oral contraceptives in the prevention of endometrioma recurrence: does the different progestins used make a difference? [J]. Arch Gynecol Obstet, 2013, 288(4): 821-827.
- [16] 国家统计局. 2024 年经济运行稳中有进主要发展目标顺利实现 [EB/OL]. (2025-01-17) [2025-01-19]. https://www.gov.cn/lianbo/bumen/202501/content_6999261.htm.
- [17] Zhang ZX, Wang XL, Wang L, et al. Cost-effectiveness analysis of dienogest compared with combined oral contraceptives after surgery for endometriosis[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2023, 30(4): 312-318.
- [18] Dai Y, Shi B, Huang XF, et al. Cost-effectiveness analysis of dienogest compared with gonadotropin-releasing hormone agonist after conservative surgery for endometriosis in China[J]. Clin Ther, 2021, 43(8): 1276-1284.
- [19] Chiu CC, Hsu TF, Jiang LY, et al. Maintenance therapy for preventing endometrioma recurrence after endometriosis resection surgery: a systematic review and network meta-analysis[J]. J Minim Invasive Gynecol, 2022, 29(5): 602-612.

(收稿日期: 2025-01-21; 修回日期: 2025-05-30)

药学教育

网络教学模式改革探索：以《中药炮制学》课程为例

侯玉姣¹, 兰卫¹, 孔维军^{2*}, 燕雪花^{1*} (1. 新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830017; 2. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069)

摘要: 随着信息技术的飞速发展, 网络教学已成为现代教育的重要组成部分。与传统的线下教学模式相比, 网络教学具备教学资源共享、教学模式新颖、教学生动、不受时空限制等显著优势, 目前已广泛应用于各大高校。《中药炮制学》是中药学专业的一门专业必修课, 在其教学研究领域, 网络教学的应用不仅丰富了教学手段, 还能够提高教学效果。本文以《中药炮制学》课程为例, 从教学平台、教学资源、教学质量以及考核评估四方面入手, 积极探索网络教学新模式和新方法, 旨在实现优质教学, 培养高质量人才, 促进学科发展。

关键词: 《中药炮制学》; 网络教学; 教学质量; 人才培养

中图分类号: R2-4, G642.4 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2025)10-3094-04
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.046

Reform of online teaching: the subject of *Traditional Chinese Medicine Processing*

HOU Yu-jiao¹, LAN Wei¹, KONG Wei-jun^{2*}, YAN Xue-hua^{1*} (1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069)

Abstract: With the rapid development of information technology, online teaching has become an important part in modern education. Compared with the traditional teaching mode, online teaching exhibits such advantages as easy resource sharing, lively novel modes, and time and space flexibility. Nowadays, it has been widely applied in various universities. The application of online teaching in the core subject *Traditional Chinese Medicine Processing* not only enriches the teaching methods, but also improves the teaching effectiveness. We actively explored the new teaching modes of online teaching by discussing the teaching platforms, teaching resources, teaching quality, as well as student evaluation, aiming to achieve high-quality teaching, cultivate talents, and promote disciplines development.

Key words: *Traditional Chinese Medicine Processing*; online teaching; teaching quality; talent training

随着信息技术的飞速发展, 信息化浪潮推动着教育不断变革。网络教学已成为现代教育的重要组成部分, 在教学中所占的比重逐渐增加。与传统课堂授课相比, 网络教学更加灵活, 授课资源更加丰富。近年来, 各种线上线下相结合的授课方式为广大高校教师所采用^[1], 特别是在需要远程教育的非全日制学生课程学习中, 网络教学展现了独特的优势^[2]。网络教学在经历快速发展期后, 已进入初步

成熟期, 然而目前还存在许多局限性, 其与传统课堂授课有很大差别, 如何让师生顺利转变、快速适应是一个新的挑战, 成为药学教育的一个难点。首先, 网络教学监督性不足, 需要学生有较强的自主学习能力; 其次, 网络教学的“远距离”对教师授课的新颖性和趣味性也有较高要求, 在保证正常授课的同时, 需要及时、充分地调动学生的学习积极性和能动性; 此外, 网络教学对环境没有限制, 开

基金项目: 自治区高校基本科研业务费项目 (No. XJEDU2025P052); 新疆医科大学第十二期教育教学改革研究项目 (No. YG2024002)。

作者简介: 侯玉姣, 女, 博士, 讲师, 主要从事中药民族药资源质量控制研究, email: houyuj117@163.com *通信作者: 孔维军, 男, 教授, 主要从事中药质量与安全研究, email: kongwj302@126.com; 燕雪花, 女, 教授, 主要从事中药复方制剂及活性成分研究, email: yxh_zy@xjmu.edu.cn

放的空间也意味着学生更易受干扰、注意力不易集中；开展网络教学需要教师与学生均具备一定的现代信息技术知识及网络教学平台操作技术。上述局限性限制了网络教学的发展。

中药炮制学作为中医药学的重要组成部分，具有悠久的历史 and 深厚的理论基础，其在继承中药炮制传统制药技术和理论的同时，运用现代科学技术阐释炮制原理，改进炮制方法，提高中药饮片质量^[3-4]。《中药炮制学》是中药学专业的必修课程，本文以《中药炮制学》为例，从教学平台、教学资源、教学质量以及考核评估四方面入手，探讨网络教学新模式的改革及在本课程教学中的应用。

1 依托多元化教学平台，实现优质教学

网络教学依托一部手机或一台电脑即可完成，大多在校园教学平台和教学 APP 上实施。“雨课堂”和“学习通”是许多高校使用的在线学习平台^[5]，其中，“学习通”由北京超星公司开发，是教育部推荐的在线学习平台之一；“雨课堂”由清华大学和学堂在线共同研发推出，涵盖多种功能，在课前、课中以及课后都有不同的功能服务^[6]，可通过网页、APP、微信小程序等多种途径进行访问和登录，为师生共同参与提供便捷。学生必修和选修的所有课程在“雨课堂”和“学习通”均有显示，课前预习、课堂教学以及课后考试等整个学习过程都可在平台完成。同时，结合“腾讯会议”“钉钉”、WeLink 等其他教学平台进行授课，可以满足多样的教学需求。

我校的主要教学平台是“雨课堂”“学习通”和“钉钉”。在课程正式开课之前，授课教师常以发公告的形式在“雨课堂”平台告知学生本学期的课程安排以及考核办法，并在每节课之前提醒学生预习，“雨课堂”的上课提醒功能对自主学习能力不足的学生还起到一定的督促作用。本团队教师在每节课程内容讲授之前，会在“雨课堂”平台发布上节课内容的课堂小练，学生在规定的时间内及时完成，教师根据答题情况进行针对性讲解，帮助学生复习和查漏补缺。而后，教师通过共享屏幕分享课件进行本节内容讲解，学生可随时截屏以及发送弹幕实时交流^[7]，比如在教师讲解《中药炮制学》中醋炙可引药入肝，增强活血祛瘀、理气止痛作用，提问其适用药物类别并举例时，学生就会发送“适用于活血化瘀、疏肝行气止痛药，如延胡索、莪术、柴胡、香附”；当教师讲到“米炒斑蝥时斑蝥素部分升华而使得斑蝥毒性降低”时，学生会发送弹幕提问“斑蝥可以用别的固体辅料炒制吗？”“斑蝥素的含量下降多少？”等，教师看到后会适时进行补充并加以解释。这样既可以活跃课堂氛围，提高学生的学习积

极性，还可以达到即时回答与解惑的目的。课后许多学生会在讨论区进行提问和交流，老师能够随时关注并回复，以解答学生的疑惑。课程结束后，教师在我校在线教学一体化平台“学习通”发布考试试卷，并设置特定的考试时间和地点，学生在规定时间内完成。教师及时批改并将成绩反馈给学生，在线无纸化考试既节约纸张又节约时间。我校成人本科教育采用“钉钉”平台进行直播授课，该平台的提问、小测等互动功能能够活跃课堂氛围。“雨课堂”和“钉钉”平台中所有的课堂讲授内容均有视频回放，“雨课堂”所发布的公告、授课 PPT 以及成绩等可随时查看，还可设置学习小组进行任务分配、不定时安排讲座等。但是，也存在一些不足，如无法自动生成课表、无法自主设置上课提醒等。因软硬件和网络环境的限制，“雨课堂”还会出现高峰卡顿的现象^[8]，平台休整期还会导致直播教学无法进行，此时就需要借助其他平台完成教学。

“腾讯会议”软件同样可实现签到、会议提醒、实时弹幕沟通、录制、分组讨论等功能，除此之外还可随时记录个人笔记、举手发言、投票等。“钉钉”软件也具有类似功能，还有任务管理一栏，对需要完成的事项增加了待办提醒，能起到更好的监督作用。WeLink 最多可允许 1000 人同时入会，适合大班授课。教师可根据不同课程的特点选择不同的教学途径，采用多平台结合的多元化授课以实现优质教学。

2 共享网络教学资源为学生自主学习提供便利

相较于线下教学，网络教学资源更丰富，综合性和专业类在线学习网站提供了丰富的免费资源获取途径，可实现信息共享，使得学生的学习更加便利。不同的学习网站会收集、整合某一领域的专业课程，纳入的总课程数甚至高达百余门，许多非营利性网站的资源免费，或偶有部分高级功能使用需收费。学习网站有许多与国内外顶尖高校联合上线的课程，支持中、英文字幕，为学生的学习提供便利，特别是对一些英文基础薄弱的学生。

《中药炮制学》课程在多个学习网站上都可搜索到免费的教学资源。例如中国大学 MOOC（慕课）（<http://www.icourse163.org/>），该平台全部是中文课程资源，合作高校也全部来自国内，资源全部免费。该平台共收录两所大学的《中药炮制学》教学课程，分别是南京中医药大学陆逸林教授、河南中医药大学李凯教授团队讲授的课程视频。其中南京中医药大学的《中药炮制学》课程还入选了国家精品课程，课件精美，内容丰富，讲解清晰、详细、透彻、通俗易懂，知识结构流畅，拓展知识面广。免费的教学网站不仅为学生的学习提供了便利，还实现了高质量教学资

源的网络共享。“学习强国”平台的慕课中也有南京中医药大学的《中药炮制学》课程，其是以知识点为单元的短视频，可保证学生注意力集中，且符合碎片化学习需求，学生自主学习时可反复观看，教师在授课之前也会在各在线学习平台学习以补充知识。此外，智慧树在线教育平台还收录了江西中医药大学、中国药科大学、安徽中医药大学、陕西中医药大学等多所高校的《中药炮制学》慕课，提供了丰富的教学资源。本团队教师常参考上述学习平台的《中药炮制学》课程资源，并推荐给学生。

各高校的教务系统也有网络课程资源共享。河南中医药大学教务信息管理系统中有课程资源云平台、精品录播、常态化录播、精品课程等多个模块；成都中医药大学的教务系统有在线教育、精品课程、视频公开课和慕课平台模块等。该系统涵盖了《中药炮制学》在内的多个学科领域的课程，学生可免费获取课程教学资源，部分平台具有下载功能，学生可下载保存反复观看。本团队在学校的在线教学一体化平台中搭建了《中药炮制学》课程，包含授课课件和课程内容拓展小视频等，学生可自行观看学习。

除了专业课程学习，培养兴趣爱好或语言学习也有免费的网络资源共享，如网易公开课 (<https://open.163.com/>)，该平台已有上千门课程资源，覆盖科学、经济、人文、哲学等 22 个领域，免费课程以实用技能、兴趣爱好为主；Coursera (<https://www.coursera.org/>) 的许多课程都提供中、英文字幕，且大部分资源可免费获取；TED (<http://www.ted.com/>) 平台每年邀请各界人士进行主题演讲，演讲内容完全免费。各个学习网站有其独特的资源和优势，可满足不同人群的学习需求。

3 丰富教学形式和内容，提升教学质量

网络教学对于学生的自主学习能力和自我约束能力要求较高，为保证教学质量，基础教学方法需做调整，无论是形式的多样性还是内容的丰富度都要有所改进。线下教学形式已由传统的“教师讲解、学生听讲”为主，衍生出了“翻转课堂、问题式教学法 (problem-based learning, PBL)”等新型教学模式^[9]。采用 PBL 方式，在此基础上还可根据学生的认知水平与特质增加新的教学方式，本团队在《中药炮制学》课程教学中，通过设计在线教学活动，提高教学效果和趣味性，如：① 根据教学内容选取一些关注度高的辩题举行辩论赛，激发学生的自主学习能力和；② 通过相互学习增强学生间交流：A 小组提出问题，B 小组回答；B 小组提出问题，C 小组回答；以此类推，若对回答

不满意可质疑，进行二次解答；③ 举行优秀课堂笔记评比，设置一、二、三档，评比结果算入课程成绩；④ 一节或一章的教学完成后，安排学生根据自己的理解进行总结并通过思维导图的形式呈现，加强学生的理解和总结能力^[10]。通过不同的教学形式增强课堂趣味性，还可设置团队任务，提高学生团队合作能力，并设置小组长，培养学生的统筹安排能力。此外，可根据课程特点和教学内容做进一步改进，开发网络教学新形式。

丰富教学资源也是提高教学质量的一种方法。首先，教学课件要与时俱进，避免重复提及耳熟能详的案例，影响学生的学习积极性^[11]。例如讲授《中药炮制学》提到酒炙法，就会想到酒炙法能够改变药性、引药上行，黄连、大黄均采用酒炙法炮制，此时就可进行补充：常山、桑枝、益母草等中药也可采用酒炙法，酒常山能够减轻恶心呕吐的不良反应，使药材毒性降低；酒桑枝祛风除湿、通络止痛的作用增强；酒益母草寒性缓和，活血祛瘀、调经止痛的作用增强。其次，可对课本知识进行拓展和延伸，增加学生视野的宽泛性，多结合时事进行理论知识的讲解，本团队会讲授一些新型研究方法，比如药材的新加工工艺、Weibull 函数模型、支持向量机等人工智能算法在中药炮制中的应用，结合新技术、新方法的开发与运用，讲解采用电子眼、电子鼻等对中药炮制品的颜色、气味进行量化表征，采用色谱、光谱技术以及新型传感器技术对炮制品所含成分进行定量与定性分析^[12-13]。在讲授知识的同时创设问题链，增加教师与学生的互动。最后，可进行多学科联合教学，培养学生的整体性、开拓性思维，同时也有助于学生对课程内容的理解，将其有效结合并应用于实际。

4 全面综合考核，客观真实评估

网络教学应遵循教与学的基本规律，建立并实施全面、多维的教学评价体系，避免局限于试卷测评。本团队综合学生的课前预习情况、课堂互动积极性、回答问题正确率以及课后作业完成度等对学生《中药炮制学》的学习情况进行评估，并根据课程特点将每部分设置不同的占比，最后按照百分比进行计算，得到最终成绩。同时要根据实际情况进行评分，允许学生成绩的无规律分布。

评估不仅是教师对学生的评估，还应包括学生对教师的评价，以提高在线教学评估的客观性和公正性，并指导改进方向^[14]。我校的评价体系包括教师评价、学生评价、同行评价、专家评价，常采用问卷、访谈、听课评分等多种有效的教学

评价方法。教师对学生的评估不能只是终结性评价,而要终结性评价与过程性评价相结合,综合课前、课堂和课后进行全面评估。

5 结语

《中药炮制学》是中药学专业一门非常重要的专业必修课。本文对《中药炮制学》课程的网络教学模式进行探索,通过改变授课方式、引入更丰富的教学资源、转变互动形式以及全面评估等多方面尝试,实现了线上线下多模式授课的优势互补。本课程授课形式以任务驱动为主,学生自主学习为本,帮助学生更好地从被动学习转变为主动汲取,培养学生的知识整合能力,有利于科研思维的培养和团结协作意识的形成,提高中医药人才的培养质量,从而推动中药炮制学学科的发展。

参考文献

- [1] 陈应奇,姜子祥,张广娜,等.基于双主教学的线上线下混合模式在中药学课程的应用[J].中国中医药现代远程教育,2025,23(4):23-26.
- [2] 付彩霞,高宗华,荣先国,等.《有机化学》网络化教学在成人高等教育教学中的应用[J].继续医学教育,2019,33(9):3-5.
- [3] 汪祺,赵宇新,顾杰,等.基于炮制建立反映中药饮片质量特点的中药标准[J].中国药学杂志,2025,60(2):114-120.
- [4] 刘蓬蓬,才谦,史辑,等.中药炮制化学生物学”的提出及研究思路[J].中国中药杂志,2025,50(3):833-839.
- [5] 刘宪凯,吴隼,黄琰,等.雨课堂联合 LBL 教学法在医学研究生教学中的应用[J].继续医学教育,2024,38(11):34-37.
- [6] 高源,马重阳.基于网络思维的中药学课程网络教学探索与实践[J].中医教育,2023,42(2):75-78.
- [7] 孟祥磊,种兰祥,张艳敏.弹幕在高校课堂教学中的应用研究[J].中国教育信息化,2017(16):48-51,55.
- [8] 童宇茹,杨淑敏,吴晓毅,等.《天然药物化学》在线教学模式探究[J].医学教育管理,2021,7(5):496-500.
- [9] 林飞宁,詹萍,赵利,等.慕课+翻转课堂在中医药院校心血管内科教学中的应用[J].承德医学院学报,2024,41(6):519-521.
- [10] 何文静,孙芸,马红梅,等.思维导图在《中药化学》课程的应用探索和启示[J].广东化工,2021,48(15):284-285,268.
- [11] 巴寅颖,吴霞,邹海艳,等.基于线上线下混合教学的中药化学课程思政探索[J].中国中医药图书情报杂志,2022,46(6):59-63.
- [12] 闫蓓蓓,邵冰梅,吕志强,等.人工智能感官技术在中药炮制研究中的应用[J].时珍国医国药,2023,34(11):2665-2669.
- [13] 尚超凡,周巧,朱娟娟,等.电子感官技术在中药质量辨识及炮制的应用概况[J].中草药,2024,55(24):8654-8663.
- [14] 刘仁慧,罗良涛,许利平,等.混合式教学模式中药学课程评价体系的建立与实践[J].医学教育管理,2022,8(1):29-33.

(收稿日期:2024-12-11;修回日期:2025-01-14)

基于成果导向教育理念的循环管理体系在临床药师培训中的应用

杨瑞,阎敏,王萍,刘韶,李湘平^{*}(中南大学湘雅医院药学部,长沙 410008)

摘要:目的 探讨临床药师规范化培训模式,以组建一支驱动力强、执行力强和影响力强的“三强”师资队伍,培养出专业型、实践型和科研型的“三型”临床药师人才,为提高临床药师培训质量提供参考和指导。**方法** 结合临床药师规范化培训的内容与目标,将成果导向教育(OBE)理念融入教学过程中,构建“目标-设计-实践-评价-改进”的循环管理体系。通过应用效果、辐射情况及学员满意度等维度来综合评价培训质量。**结果** 基于OBE理念的循环管理体系不仅得到了学员的高度认可,而且显著提高了学员的理论知识水平和综合技术能力。**结论** 基于OBE理念的循环管理体系在临床药师培训中展现出了高效性和实用性,具有广泛的推广潜力,为临床药师培训的规范化、标准化和高质量发展提供了有力支撑。

关键词: 成果导向教育理念;临床药师;规范化培训;教学模式;人才培养

中图分类号: R-05, G726

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2025)10-3097-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.047

基金项目: 湖南省学位与研究生教改项目(No.2021JGYB026)。

作者简介: 杨瑞,女,副主任药师,主要从事临床药学和药学教育学, email: yangrui198807@163.com ^{*} **通信作者:** 李湘平,男,主任药师,主要从事临床药学和药学教育学, email: xylxping@126.com

随着医疗改革的不断深入,培养一支优质的临床药师队伍已成为医院药学发展的重要方向,而临床药师培训基地的建设与管理是确保临床药师培养质量的关键因素。尽管我国已全面启动了临床药师的规范化培训,但其培训模式和培训效果有待改进。调查显示,我国三级医院平均百张病床仅配备临床药师 0.43 名,二级医院配备临床药师 0.4 名,其中,通过国家级专科培训认证的占 63.3%,通过国家级通科和省级通科培训认证的占 2.3% 和 1.7%,而仍有 30.4% 的临床药师未获得任何从业资质认证,临床药师的数量和质量均不能满足临床的需求^[1-4]。因此,如何加强培训基地管理,强化师资队伍建设,开展高质量的临床药师培训显得尤为重要。

成果导向教育(outcome based education, OBE)是一种“以学生为本”的教学理念,其核心与临床药师规范化培训中强调的专业实践能力培养不谋而合,通过多样化和立体化的教学手段以满足个性化的学习需求,从而促进学生的自我挑战和自我实现。同时,通过教学评价的反馈,不断优化教学设计和实施过程,以达到培养目标。OBE 理念已广泛应用于住院医师规范化培训医学教育中,并取得了不错的效果,而在临床药师人才培养中的研究却较少^[5-6]。本研究将探索基于 OBE 理念的循环管理体系在临床药师培训中的效果,以期为临床药师培训的规范化、标准化及高质量发展提供新思路。

1 基于 OBE 理念的循环管理体系的构建

传统的临床药师学员培训模式是以带教老师为中心,学员仅作为辅助角色,协助带教老师开展临床药学服务。然而,这种模式存在显著的局限性:一方面,学员的理论和临床实践能力无法得到有效的提升;另一方面,对于带教质量,缺乏系统、科学的评价体系。我院作为首批中国医院协会临床药师培训基地,陆续承担了中华医学会临床药师培训中心以及国家紧缺人才项目的临床药师培训,经过多年的努力与探索,于 2021 年首次将 OBE 理论引入临床药师规范化培训管理中,确立了以明确的教学目标,反向设计和实施教学的新路径,即“目标-设计-实践-评价-改进”循环管理体系(见图 1)。这一体系以优化教学设计、完善教学流程、提升教学质量为核心思想,以组建一支驱动力强、执行力强和影响力强的“三强”师资团队及培养出专业型、服务型 and 科研型的“三型”临床药师人才为目标。

2 基于 OBE 理念的循环管理体系在临床药师培训中的设计

2.1 完善培训制度,强化基地管理

建立健全的制度是规范化管理的基础。首先,

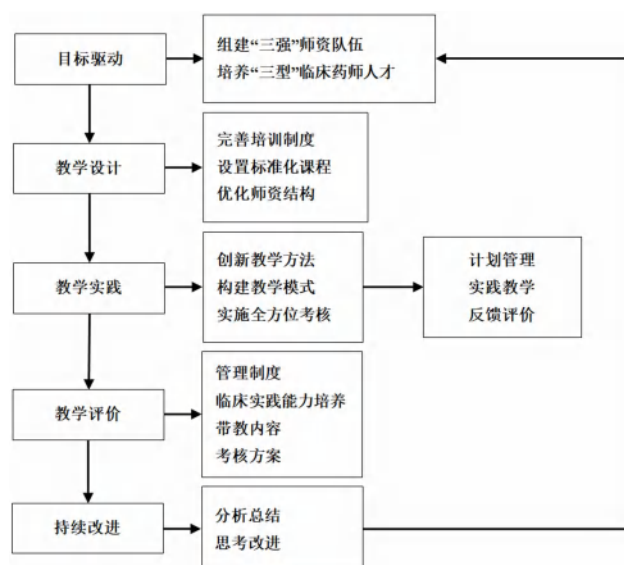


图 1 “目标-设计-实践-评价-改进”循环管理体系

从组织架构上设立临床药师培训基地领导小组和工作小组,明确其职责与分工,以确保临床药师培训工作的顺利开展。其次,制定全面的规章制度,覆盖从招生宣传、入科培训、日常管理、教学设计、临床科室轮转到结业考核的各个环节,以实现教学质量的统一性和标准化。再者,设置奖励机制,通过带教情况、教学内容、教学获奖、开展活动这四个维度评选优秀带教老师,从理论考试、平时成绩、问诊考核、结业答辩、附加分这五个维度评选优秀学员,以激发带教老师和进修学员的积极性与主动性,进一步提升培训质量(见图 2)。

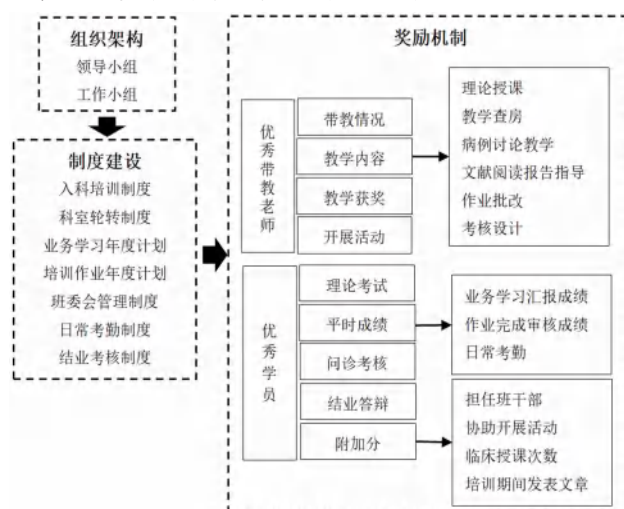


图 2 基地管理培训制度

2.2 设置标准化课程,提升培训质量

目前,临床药师培训中的学员多为药学及相关专业毕业生,药学知识掌握的深度不够,临床知识也存在缺失,与临床药师培训之间存在学科知识衔接的断层,从而增加了培训过程规范化和出口同质化的难

度。在一项关于临床药师规范化培训模式满意度的调查中^[7], 临床药师培训学员对理论教学的满意度仅为 79%, 其中 15.8% 的学员认为课程的设置需要优化。培训课程的设置是保证培训质量的前提。标准化的培训课程体系, 首先, 需从课程结构上进行梳理, 根据《临床药师培训基地管理细则》和各专科培训大纲要求, 按不同知识结构层次, 将整个课程体系分为基础理论课程、药文学文书书写课程和临床用药实践技能课程三个部分。其中, 基础理论课程主要针对医学基础知识以及药专业知识进行理论学习。药文学文书书写课程主要针对药历书写、病例讨论、文献阅读等进行系统的理论指导。临床用药实践技能课程主要是将理论与临床药学日常工作结合, 对患者进行药学查房、药学监护、用药教育等药学服务。

其次, 需分阶段实施各项课程内容, 在培训初期采取理论授课形式, 由临床医师、带教老师及其他药专业老师进行基础专业知识的授课。在培训中期以专业小组形式, 由带教老师指导并组织学员进行病历讨论及文献阅读, 批改学员药历及病例分析, 注重培养其分析问题、检索文献及建立循证医学思维的能力。培训后期, 重点转向临床实践技能, 以学员为主导, 带教老师审核和指导, 共同开展药学巡诊、药学咨询及药学会诊等药学服务, 使学员尽早进入专职临床药师角色, 能独立、规范地开展与本专业相关的临床工作。

这一课程体系的设置, 可大大提升临床药师培训学员的知识结构层次和综合素质, 为培养具备良好职业道德、人文素养和实践能力的临床药师奠定扎实的理论基础。

2.3 优化师资结构, 加强师资队伍建设

师资力量是基地建设的关键环节, 是提高临床药师培训质量的重中之重。只有提升师资素养, 才能切实培养出有相应岗位胜任力的临床药师^[8]。因此, 应严格遴选出优秀的带教候选人, 有针对性地分阶段培养。师资培养可分为五个阶段: 第一阶段, 青年药师作为资深带教老师的带教助手, 通过临床实践积累教学经验; 第二阶段, 资深带教老师开设医药联合门诊, 青年药师在资深带教老师的指导下协助门诊建设; 第三阶段, 青年药师负责基地教学安排, 并逐步开展教学查房、床旁问诊等实践教学, 资深带教老师对各项教学计划和内容进行修订和指导; 第四阶段, 青年药师进行师资培训, 选派经过前面三阶段培养的青年药师, 申报中国医院协会或中华医学会临床药学分会师资培训, 经过师资基地 1~2 个月的脱产培训且考核合格, 能独立开展带教内容后, 方可进行临床药师学员带教; 第五阶段, 鼓励并

组织带教老师参加全国性的大型会议, 与其他医院的药学同行进行深入交流和讨论, 通过“走出去”和“请进来”的方式, 提高带教老师的专业能力及影响力。经过这五个阶段, 逐步形成“资深+青年”的师资结构, 目标明确, 层次分明, 以期组建一支驱动力强、执行力强和影响力强的“三强”师资队伍, 为临床药师培训高质量发展提供坚实的人才支持。

3 基于 OBE 理念的循环管理体系在临床药师培训中的应用

3.1 创新教学方法

在教学实践过程中, 不仅需要充分考虑学员的药学背景, 确保教学内容的系统性和完整性, 而且需要激发学员的学习热情, 提高学员解决实际临床问题的能力。因此, 我们将“以授课为基础 (lecture-based learning, LBL)”的传统教学方法, 与“以学生为主体”的教学方法 [包括病例导向教学 (case-based learning, CBL)、问题导向教学 (problem-based learning, PBL) 以及文献导向自我学习法 (reference induced self-education, RISE)] 创新性地融合^[9], 最终形成“病例-问题-解决方案”的教学模式 (见图 3), 以培养具有卓越实践能力的临床药师。这一模式的核心在于, 基础理论培训采用 LBL 教学方法, 让学员系统、整体且全面地学习基础理论知识。药历文书书写采用 LBL 与 CBL/RISE 相结合的形式, 围绕病例设计问题, 通过病例引导学员进行文献检索, 细化并解决问题。药学实践技能采用 PBL 结合 CBL/RISE, 通过教学查房, 让学员整理病历资料, 制定个体化给药方案, 同时, 通过文献检索, 让学员进一步深化对治疗方案的理解, 并在老师的专业点评和总结中得到提升。

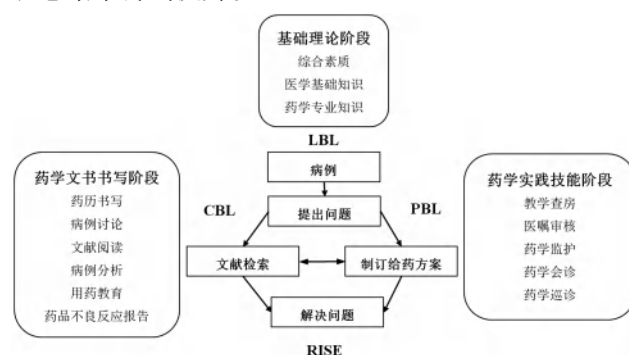


图3 “LBL-CBL-PBL-RISE”教学方法

3.2 建立“三位一体”教学模式

长期以来, 规范化的教学模式一直是确保临床药师培训质量和一致性的关键挑战^[10-12]。为了应对这一挑战, 我们严格遵照培训大纲要求, 并结合实际情况, 构建了一个以计划管理、实践教学及反馈评价为核心要素的“三位一体”教学模式。① 计划管

理:制订详尽的年度规划,涵盖理论课程、科室轮转、文献阅读、病例讨论及作业完成等培训内容。各个专业小组再根据年度计划进一步细化,制订具体的小组培训计划,确保培训目标的明确性和可执行性。②实践教学:由带教老师开展药学查房、床旁问诊等临床实践活动,指导学员进行药物重整、用药监护、用药教育、药学巡诊、药学会诊等药学服务,使其在实际临床环境中学习并应用药学知识,提升其临床实践能力。每周组织业务学习,让学员通过病例讨论和文献阅读汇报来深化对药物治疗相关知识的理解,同时,由带教老师进行专业点评和打分,作为结业考核的一部分。③反馈评价:利用临床药师管理信息系统,每月调取学员对门诊、住院患者进行药学服务的记录情况,每季度审核学员药历、病例分析、用药教育、不良反应上报等作业完成情况,以确保能及时反馈教学效果,调整教学策略,从而优化培训过程。通过这三个核心要素的有机结合,确保临床药师培训质量和效果,培养出既具备扎实理论基础又能在临床实践中发挥作用的专业人才。

3.3 实施全方位考核体系

为全面提升培训质量,基地不断改进摸索考核模式,实施了“多维度+阶段性”全方位考核体系。从理论考核、作业审核和实践考核这三个维度进行量

化,并将量化指标分布在培训前、中、后三个阶段,以确保学员在各个阶段都能得到全面而深入的考核评价。前期阶段,通过理论试题考核学员对基础理论知识的掌握情况;中期阶段,通过审核学员培训期间书写的药历、文献阅读报告、病例讨论、病例分析、会诊及用药教育等作业,考核学员专业知识运用能力;后期阶段,主要通过问诊考核和结业答辩考核学员的临床实践能力。在考核方式上,为提高考核的客观性和公正性,一方面,采取“线下+线上”相结合的形式对案例考核答辩全过程进行直播;另一方面,在保持传统结业考核模式的基础上,有计划地引入客观结构化临床考试(OSCE)考核体系。通过模拟临床情景,全面评估学员的临床思维和操作技能,以确保学员达到基本的培训要求,提升其临床综合应用能力。

4 基于 OBE 理念的循环管理体系在临床药师培训中的应用效果

4.1 实施前后效果对比

对实施前后的理论考核和综合技能考核进行对比分析。结果显示,基于 OBE 理念的循环管理体系的应用显著提高了学员的理论知识水平和综合技术能力,且随着每年管理体系的不断优化,培训效果也逐步得到提升($P < 0.05$),见表 1。

4.2 基地影响辐射情况

表 1 OBE 理念的循环管理体系实施前后理论考核成绩和综合技能考核成绩的比较(分)

时间	年份	人数	理论考核成绩			综合技能考核成绩		
			分数	<i>t</i>	<i>P</i>	分数	<i>t</i>	<i>P</i>
实施前	2020 年	35	73.68±1.77	8.08	0.025	78.25±2.36	3.14	0.004
实施后	2021 年	36	81.42±1.71			86.19±2.71		
	2022 年	39	89.18±1.51			89.08±3.77		
	2023 年	44	90.22±1.07			89.90±3.55		

注:理论考核成绩为期中考试和期末考试的平均成绩;综合技能考核成绩包括学员沟通和接诊能力考核、案例考核及培养过程考核等平均成绩。

我院临床药师培训基地共开设 14 个培训专业,招收 278 名临床药师进修学员,每年度招生人数呈递增趋势(见图 4)。在地域分布上,外省学员共计 110 名,占总人数的 39.57%,每年度招收的外省学员也逐渐增多(见图 5),表明我院培训基地的影响力和辐射范围日益扩大。

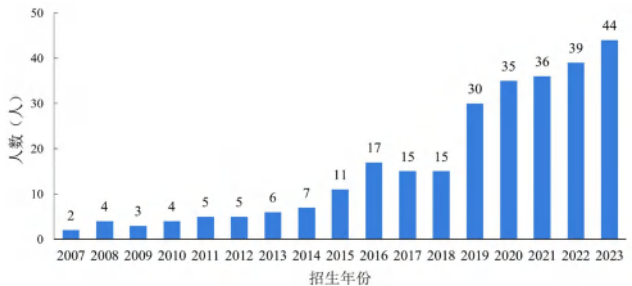


图 4 2007—2023 年基地招生学员人数

4.3 基地培训满意度调查

为了解基地整体培训效果,对 278 名临床药师学

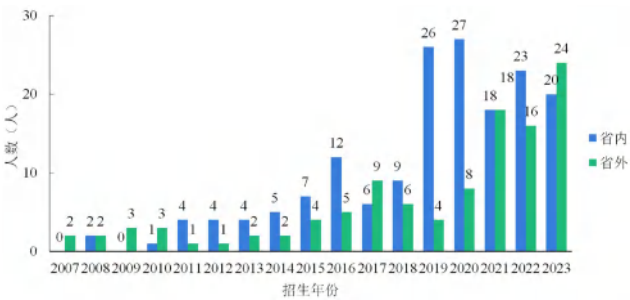


图 5 2007—2023 年基地学员地区分布

员展开了一项全面的满意度调查。调查内容包括管理制度、临床实践能力培养、带教内容、考核方案及培训后获奖情况等。结果显示,管理制度满意率达 99.62%,临床实践能力培养满意率为 97.69%,带教内容满意度为 98.30%,考核方案满意度达到 100%(见表 2)。经过系统的规范化培训,学员在药学服务相关赛事中,有 97 名学员在院内获奖,73 名学员在省内获奖,3 名学员在全国获奖。

表 2 培训基地满意度调查情况 [n(%)]

选项	很不满意	不满意	一般	满意	很满意	平均满意率 /%
管理制度						99.62
入科培训	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	55 (19.81)	223 (80.19)	
科室轮转	0 (0.00)	0 (0.00)	5 (1.88)	58 (20.75)	215 (77.36)	
业务学习年度	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	52 (18.87)	226 (81.13)	
作业提交年度	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	55 (19.81)	223 (80.19)	
日常考勤管理	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	50 (17.92)	228 (82.08)	
临床实践能力培养						97.69
药学理论知识	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	63 (22.64)	212 (76.42)	
阅读临床资料	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	60 (21.7)	215 (77.36)	
案例分析能力	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	63 (22.64)	215 (77.36)	
用药咨询能力	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	63 (22.64)	215 (77.36)	
沟通交流能力	0 (0.00)	0 (0.00)	5 (1.89)	58 (20.75)	215 (77.36)	
药学问诊能力	0 (0.00)	0 (0.00)	10 (3.77)	60 (21.41)	208 (74.82)	
药历书写能力	0 (0.00)	0 (0.00)	5 (1.89)	66 (23.58)	207 (74.53)	
文献查阅能力	0 (0.00)	0 (0.00)	11 (3.77)	58 (20.75)	209 (75.47)	
发现药学问题的能力	0 (0.00)	0 (0.00)	11 (3.77)	63 (22.64)	204 (73.58)	
分析药学问题的能力	0 (0.00)	0 (0.00)	11 (3.77)	63 (22.64)	204 (73.58)	
解决药学问题的能力	0 (0.00)	0 (0.00)	8 (2.83)	66 (23.58)	204 (73.58)	
带教内容						98.30
理论授课	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	50 (17.92)	225 (81.13)	
教学查房	0 (0.00)	0 (0.00)	8 (2.83)	47 (16.98)	223 (80.19)	
病例讨论教学	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	50 (17.92)	225 (81.13)	
文献阅读报告指导	0 (0.00)	0 (0.00)	3 (0.94)	42 (15.09)	233 (83.96)	
作业批改	0 (0.00)	0 (0.00)	8 (2.83)	47 (16.98)	223 (80.19)	
考核方案						100.00
对目前考核内容的设置	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	52 (18.87)	226 (81.13)	
对目前的考核形式	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	55 (19.81)	223 (80.19)	

5 结论

借助 OBE 理念的先进框架，我院培训基地在临床药师规范化培训中成功构建了一个“目标 - 设计 - 实践 - 评价 - 改进”循环管理体系。该体系使学员能够在掌握基础理论和实践操作之余，实现专业能力、团队协作精神、科技创新能力等综合素质的培养，满足了当今医院药学发展对高水平临床药师的迫切需求。目前，这一体系的应用初见成效，不仅提升了学员药学服务技能，得到了学员的高度认可，也充分证明了基于 OBE 理念的循环管理体系在临床药师培训中的高效性和实用性。未来，我们期待这一经验推广至全国，从而推动临床药师规范化培训的系统化管理、整体化培养和层次化提升。

参考文献

[1] 吴颖其, 张圣雨, 沈爱宗. 临床药师人才培养创新模式研究与实践[J]. 中华医学教育探索杂志, 2023, 22 (2): 289-292.

[2] 刘洁, 姚东宁, 黄蓉, 等. 未担任临床工作的医院药学人员成为临床药师的必要性与可行性分析[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40 (11): 1192-1195.

[3] 苏娜, 沈超, 吴逢波. 多学科协作模式在临床药师规范化培训中的应用研究[J]. 中华医学教育杂志, 2020, 40

(9): 696-699.

[4] 蒋君好, 郑航, 严波. 临床药师队伍的现状、问题与建设措施[J]. 中国高等医学教育, 2024 (3): 32-33, 36.

[5] 孙贲, 李晶, 于海波, 等. 基于 OBE 理念的规培医师培训效果研究——运用柯氏评估模型[J]. 中国教育技术装备, 2022 (15): 61-64.

[6] 李家青, 王小玲, 聂静雯, 等. 基于成果导向教育理念的內科学整合课程在住院医师规范化培训中的探索[J]. 卫生职业教育, 2022, 40 (19): 141-144.

[7] 苏娜, 沈超, 吴逢波. 多学科协作模式在临床药师规范化培训中的应用研究[J]. 中华医学教育杂志, 2020, 40 (9): 696-699.

[8] 甄健存, 吴永佩, 颜青, 等. 加强医院药学人才建设建设适应医改需求的临床药师培训体系[J]. 中国医院, 2020, 24 (5): 65-67.

[9] 潘惠玲, 王小梅, 张馨, 等. LBL/CBL/PBL 交叉教学法用于我院临床药师培训的探索[J]. 智慧健康, 2024, 10 (1): 172-176.

[10] 张觅, 杨雨飞, 胡汉昆. 临床药师培训和住院医师规范化培训的比较及启示[J]. 中南药学, 2020, 18 (9): 1595-1598.

[11] 张英, 方红娟. 在药学专业教学工作中对医学生科学普及能力的培养[J]. 基础医学与临床, 2023, 43 (7): 1175-1178.

[12] 冯琴, 丁乐韵, 王文娟, 等. 新时代科研型临床药师的特点与临床作用[J]. 抗感染药学, 2022, 19 (10): 1496-1498.

(收稿日期: 2025-01-08; 修回日期: 2025-02-25)

药品不良反应

误服高锰酸钾中毒 1 例并文献分析

黎超¹, 寻权², 黄燕青¹, 李进军^{2*} (1. 浏阳市中医医院, 湖南 浏阳 410300; 2. 浏阳市人民医院, 湖南 浏阳 410300)

关键词: 高锰酸钾; 中毒; 维生素 C; 病例报道; 文献分析

中图分类号: R595, R963.9 文献标识码: B 文章编号: 1672-2981(2025)10-3102-04
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.048

高锰酸钾, 化学式 KMnO_4 , 是一种强氧化剂, 能够有效杀灭细菌和真菌, 在医学领域常用于消毒和杀菌, 尤其在外科术后及皮肤病治疗中应用广泛^[1]。然而, 高锰酸钾的使用也伴随着一定的风险, 特别是在误服时可能导致严重的不良反应。快速识别和早期有效处理对高锰酸钾中毒的救治至关重要。然而, 目前关于高锰酸钾中毒的报道较为有限, 且缺乏系统性总结。本文报道 1 例外科术后误服高锰酸钾中毒患者的救治经过, 并结合既往文献报道, 探讨高锰酸钾中毒的危险因素、临床特征、治疗策略及预后转归, 旨在为高锰酸钾中毒的防治工作提供参考。

1 资料与方法

1.1 病历资料

患者男性, 57 岁, 既往有听力减退病史, 2024 年 6 月 29 日因“龟头包皮红肿疼痛 40 余日”入院, 入院体查: 体温 36.3°C , 脉搏 $76\text{次}\cdot\text{min}^{-1}$, 呼吸 $20\text{次}\cdot\text{min}^{-1}$, 血压 $130/85\text{ mmHg}$ ($1\text{ mmHg} = 0.133\text{ kPa}$)。患者神清合作, 听力减退, 语言清晰, 胸腹部及神经系统体查未见异常。专科体查: 生殖器无畸形, 包皮过长, 龟头包皮红肿、压痛, 包皮不能翻转, 表皮无破溃及炎性分泌物, 尿道口稍红肿, 局部压痛。入院诊断: ①包皮龟头炎; ②包茎; ③听力减退。入院后完善三大常规、肝肾功能、凝血常规等相关检查, 均大致正常。完善相关术前准备, 在阴茎神经阻滞麻醉下行包皮环切术+嵌顿包茎松解术, 术后予以头孢他啶抗感染、换药、切口红外线理疗等对症治疗。

术后第 3 日 (7 月 3 日) 患者包皮切口对合可, 切口稍红肿、压痛, 无流血渗液, 医嘱予以高锰酸钾 1:5000 泡洗术口。当日 11:20, 患者腹痛、呕吐褐色胃内容物两次, 口腔、舌面染成棕褐色, 核对床旁高锰酸钾片, 发现患者误服高锰酸钾 12 片 [规格: 0.2 g/片 , 批号: 230902, 上海商玺伟康

(商丘)医药用品有限公司]。

立即予以维生素 C 溶液清洗口腔, 随后应用 0.5% 维生素 C 溶液反复多次洗胃, 洗出褐色液体及少量高锰酸钾破碎药片, 直至洗出液呈清亮, 经胃管注入牛奶保护胃黏膜, 并给予葡萄糖+维生素 C 静脉滴注抗氧化、奥美拉唑静脉滴注护胃等对症处理。12:30 患者出现神志淡漠, 反应迟钝, 四肢肌张力升高, 呈齿轮样强直, 病理征阴性。急查血常规示红细胞 $2.82\times 10^{12}\cdot\text{L}^{-1}\downarrow$, 红细胞压积 $26.8\%\downarrow$, 血红蛋白 $81\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\downarrow$; 肝功能示: 总蛋白 $33.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\downarrow$, 白蛋白 $20.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\downarrow$; 葡萄糖 $8.79\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\uparrow$; 肾功能、电解质、心肌酶、血气分析、凝血常规、D-二聚体均正常。头胸腹部 CT 示: ①考虑蛛网膜囊肿; ②双肺肺间质性病变; ③双肾小结石; ④腹腔少量积液。进一步完善急诊颅脑 DWI 示颅内未见明显弥散受限信号。患者神志改变, 考虑锰中毒致神经系统损伤, 予以依地酸钙钠螯合锰离子治疗。患者血红蛋白、白蛋白降低, 考虑大量洗胃及输液引起血液稀释, 4 h 后复查血常规示红细胞计数 $4.45\times 10^{12}\cdot\text{L}^{-1}$, 血红蛋白量 $136\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; 白蛋白 $39.7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\downarrow$; 血红蛋白及白蛋白较前明显回升。20:00 患者神志逐渐转清, 醒后诉上腹隐痛不适, 间有恶心呕吐, 无咖啡色液体, 未诉其他特殊不适。经上述积极治疗后, 患者腹痛、呕吐症状缓解, 包皮切口红肿消退、愈合良好, 7 月 10 日痊愈出院。

1.2 文献检索

以“高锰酸钾中毒”为主题词检索中国知网、万方及维普数据库, 以“potassium permanganate poisoning”“potassium permanganate toxicity”为题目/关键词检索 PubMed, 检索 2000 年 1 月至 2024 年 9 月发表的病例文献, 排除病历资料不全、诊断不明确及重复报道的文献, 对纳入患者的性别、年龄、

作者简介: 黎超, 男, 副主任医师, 主要从事脾胃肝病方面的研究, email: 812573430@qq.com *通信作者: 李进军, 男, 主治医师, 主要从事中毒及脓毒症方面的研究, email: lijunjun322@163.com

服药方式与剂量、就诊时间、临床表现、救治措施、并发症与转归情况进行归纳总结及统计分析。

1.3 统计方法

使用 SPSS 26.0 软件对文献病历数据进行统计分析,分类计数资料采用例数(%)表示,组间比较采用 Fisher 精确检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况及服药情况

共检索到高锰酸钾中毒相关病例文献 41 篇,最终纳入分析 32 篇,其中中文文献 27 篇,英文文献 5 篇(见表 1)。共报道 87 例患者,其中男性 45 例(51.72%)、女性 42 例(48.28%)。中毒年龄最小者 8 周,最大者 73 岁,其中 8 周~13 岁的婴幼儿或儿童 60 例(68.97%),19~73 岁成人 27 例(31.03%)。87 例患者均为口服高锰酸钾片剂或溶液中毒,其中误服者 69 例(79.31%),自杀者 18 例(20.69%),且自杀者均为成人,详见表 2。

表 1 32 篇高锰酸钾中毒文献资料

作者	年份	病例数	年龄	性别	服药剂量	气道管理	并发症	预后
吴明振等 ^[2]	2023	1	1 岁 4 月	男	不详	气管插管	中毒性脑病	好转
Sam 等 ^[3]	2022	1	55 岁	女	25 g	气管插管	—	好转
杨家顺 ^[4]	2020	1	30 岁	女	不详	气管切开	—	好转
Özyigit 等 ^[5]	2020	1	66 岁	男	5 g	—	—	好转
顾宏英等 ^[6]	2018	1	39 岁	女	1 瓶	气管切开	肺部感染、食管气管瘘	好转
林雪 ^[7]	2016	1	36 岁	女	0.4 g	—	—	好转
Eteiw 等 ^[8]	2015	1	73 岁	男	20 g	—	急性呼吸窘迫综合征、肝损伤	好转
陈晓清等 ^[9]	2014	1	69 岁	女	30~50 g	—	—	好转
韩文文等 ^[10]	2014	1	19 岁	男	0.6 g	—	急性肺损伤、纵隔气肿、肺部感染	好转
Karthik 等 ^[11]	2014	1	34 岁	女	3.3 g	—	—	好转
Agrawal 等 ^[12]	2014	1	30 岁	女	15 g	气管切开	肝损伤	好转
王久胜 ^[13]	2013	26	2~5 岁	男 16 女 10	不详	—	—	好转
林美华等 ^[14]	2013	1	3 岁	女	不详	—	—	好转
张吕胜等 ^[15]	2012	1	65 岁	男	5 g	—	—	好转
林秀英 ^[16]	2012	1	25 岁	女	1 包	气管切开	—	好转
王小红等 ^[17]	2010	1	22 岁	女	不详	—	—	好转
孙金凤等 ^[18]	2010	2	2~13 岁	男 2	不详	—	—	好转
杨桃 ^[19]	2010	1	56 岁	男	3 g	—	消化道出血	好转
霍梅 ^[20]	2010	11	1.7~3.2 岁	男 7 女 4	不详	气管插管 1 例	肺部感染 3 例	好转
曲丽莉等 ^[21]	2010	1	4 岁	男	0.2 g	—	—	好转
林英 ^[22]	2010	1	1 岁 7 月	男	不详	—	—	好转
谢惠芳 ^[23]	2010	1	2 岁	男	不详	—	—	好转
范晨 ^[24]	2009	1	2 岁	女	不详	—	—	好转
翟春燕等 ^[25]	2009	2	青年	女 2	3~10 g	—	—	好转
阿曼古丽·铁木尔等 ^[26]	2008	1	22 岁	女	15~20 g	—	—	好转
王严冬等 ^[27]	2007	3	1~5 岁	男 2 女 1	2 g	—	—	好转
杜军等 ^[28]	2007	1	36 岁	女	15~20 g	气管切开	肺部感染	好转
王芳 ^[29]	2006	15	儿童(9)、成人(6)	男 6 女 9	0.2~2.5 g	—	—	好转
杨继荣等 ^[30]	2001	1	1 岁 7 月	男	5 g	—	—	好转
陈玥 ^[31]	2001	1	2 岁	男	不详	—	—	好转
方晓 ^[32]	2000	1	8 周	男	不详	—	急性呼吸窘迫综合征、肾衰竭	死亡
刘艳华 ^[33]	2000	3	青年	女 3	4~6 g	—	—	好转

注:“—”表示无。

2.2 临床表现

口服高锰酸钾中毒的主要表现为口腔、舌面及牙齿呈棕褐色,口腔、咽喉部黏膜、糜烂疼痛,胸骨后、上腹部烧灼样疼痛,恶心呕吐、腹泻等,见表 2。

2.3 治疗措施

文献报道的救治措施包括维生素 C 溶液/清水清洗口腔,温水洗胃/催吐,维生素 C 溶液洗胃,硫酸镁/甘露醇导泻,抑酸护胃、胃黏膜保护

剂,维生素 C 口服或静脉滴注抗氧化等,见表 2。

2.4 并发症及转归

87 例患者中有 11 例(12.64%)出现并发症,包括消化道出血、急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征、肺部感染、肾功能衰竭、肝损伤、中毒性脑病等。87 例患者中有 8 例(9.20%)行气管插管/切开治疗。结局事件中,1 例(1.15%)8 周男婴抢救无效死亡,余 86 例(98.85%)患者经积极救治后痊愈或好转出院,详见表 2。

表 2 高锰酸钾中毒患者的临床表现、治疗及转归

项目	类别	例数 /n (%)
年龄	婴幼儿 / 儿童 (8 周 ~ 13 岁)	60 (68.97)
	成人 (19 ~ 73 岁)	27 (31.03)
性别	男	45 (51.72)
	女	42 (48.28)
服药原因	误服	69 (79.31)
	自杀	18 (20.69)
服药剂量	< 3 g	21 (24.14)
	≥ 3 g	18 (20.69)
	不详	48 (55.17)
临床表现	口腔、舌面、牙齿呈棕褐色	64 (73.56)
	口腔、咽喉部黏膜糜烂疼痛	56 (64.37)
	恶心呕吐、腹泻	39 (44.83)
	胸骨后、上腹部烧灼样疼痛	28 (32.18)
	喉头水肿、呼吸困难	18 (20.69)
	吞咽困难	16 (18.39)
	神志改变	6 (6.90)
	面色苍白、皮肤湿冷	5 (5.75)
	呕血黑便	1 (1.15)
治疗方法	维生素 C 溶液 / 清水清洗口腔	75 (86.21)
	温水洗胃 / 催吐	44 (50.57)
	维生素 C 溶液洗胃	36 (41.38)
	硫酸镁 / 甘露醇导泻	8 (9.20)
	抑酸护胃、胃黏膜保护剂	67 (77.01)
	维生素 C 口服 / 静脉滴注抗氧化	73 (83.91)
	预防感染	60 (68.97)
	金属螯合剂	21 (24.14)
	糖皮质激素	12 (13.79)
	气管插管 / 切开	8 (9.20)
并发症	消化道出血	1 (1.15)
	急性肺损伤或急性呼吸窘迫综合征	3 (3.45)
	肺部感染	6 (6.90)
	食管气管瘘	1 (1.15)
	肾衰竭	1 (1.15)
	肝损伤	2 (2.30)
	中毒性脑病	1 (1.15)
转归结局	治愈、好转	86 (98.85)
	死亡	1 (1.15)

2.5 亚组分析

对 87 例患者按年龄阶段、服药方式、服药剂量及洗胃方式不同进行亚组分析,结果显示:婴幼儿 / 儿童的气管插管 / 切开率较成人低 ($P < 0.01$),但两组并发症发生率差异均无统计学意义;误服组的气管插管 / 切开率较自杀组低 ($P < 0.001$),但两组并发症发生率并无显著差异;服药剂量 < 3 g 患者的气管插管 / 切开率较 ≥ 3 g 患者低 ($P < 0.05$),但并发症发生率差异均无统计学意义;使用维生素 C 溶液洗胃较温水洗胃 / 催吐或未洗胃 / 催吐的并发症发生率均低 (均 $P < 0.05$),但气管插管 / 切开率差异均无统计学意义 (见表 3)。

3 讨论

高锰酸钾中毒的常见途径是经口摄入,成人口服致死剂量为 3 ~ 10 g^[34]。高锰酸钾易于获取,是许多家庭中的常备药品,如果保管不当,很容易被

表 3 不同分组对高锰酸钾中毒患者气道及并发症的影响

项目	分组	n	气管插管 / 切开		并发症	
			[n (%)]	P	[n (%)]	P
年龄阶段	婴幼儿 / 儿童	60	2 (3.33)	0.0099	5 (8.33)	0.0885
	成人	27	6 (22.22)		6 (22.22)	
服药方式	误服	69	2 (2.90)	0.0008	8 (11.59)	0.6904
	自杀	18	6 (33.33)		3 (16.67)	
服药剂量	< 3 g	21	0 (0.00)		1 (4.76)	
	≥ 3 g	18	5 (27.78)	0.0149*	5 (27.78)	0.0775*
	不详	48	3 (6.25)	0.5479*	5 (10.42)	0.6591*
洗胃方式	维生素 C 溶液	36	2 (5.56)		0 (0.00)	
	洗胃					
	温水洗胃 / 催吐	44	4 (9.09)	0.6853 [#]	7 (15.91)	0.0147 [#]
	未洗胃 / 催吐	7	2 (28.57)	0.1177 [#]	4 (57.14)	0.0003 [#]

注: * 与服药剂量 < 3 g 组比较, [#] 与维 C 溶液洗胃组比较。婴幼儿或儿童误服。另外,抑郁症患者常大量服用高锰酸钾企图自杀,加强对此类患者的心理疏导及对日常使用药品的监管至关重要。本文报道的该例患者有听力障碍,床旁发药时已告知家属具体用法用量,但家属未将该药品妥善保管,患者误将其当成口服药一次服下。这一案例提醒我们,对于有视听功能障碍的患者,药品应当按单次需要量发放,且需向监护人详细交代药品的用法及保管措施,防止外用药品误服或过量使用。

高锰酸钾在胃酸的作用下生成二氧化锰 (MnO₂) 和氢氧化钾 (KOH)。KOH 是一种强碱,能与组织蛋白结合形成复合物,使组织坏死;KOH 还能皂化脂肪组织,释放热量,加重损害,并且碱性物质能向组织深处穿透,使创面扩大加深、愈合减慢^[6]。此外,MnO₂ 在胃酸中部分溶解释放 Mn⁴⁺,后者在酸性条件下可能被还原成 Mn²⁺,并经肠道吸收进入血液。部分 Mn²⁺ 在血浆中被氧化为 Mn³⁺,并与白蛋白、转铁蛋白等结合转运,最终蓄积于线粒体丰富的肝、肾、脑组织中,通过干扰能量代谢和诱导氧化应激导致脏器损伤^[6]。本例患者除了胃肠道症状外,还出现意识障碍、肌张力升高,考虑合并中毒性脑病。目前,锰中毒神经毒性机制尚未完全明确,可能是由于锰离子 (Mn²⁺、Mn³⁺、Mn⁴⁺,价态越高,氧化性越强) 刺激细胞色素 P450 氧化酶,产生大量的氧自由基,使巯基耗竭,形成大量的过氧化物、超氧化物、醌类等细胞毒物,造成氧化损伤,引起黑质纹状体多巴胺能神经元变性,出现类似于帕金森综合征样症状,如表情淡漠、震颤、齿轮样肌张力增高。等。

对于高锰酸钾中毒的救治,当务之急是确保气道畅通,部分患者出现急性喉头水肿和气道阻塞,需要早期气管插管,如果插管困难,需要紧急气管切开或行环甲膜穿刺。维生素 C 具有较强的还原性和水溶性,能迅速作用于高锰酸钾,使高价锰变为 Mn²⁺,使其毒性降低或失效,可视

为高锰酸钾的特效拮抗药。另外,维生素 C 可促进胶原蛋白形成并维持结缔组织完整性,从而促进灼伤黏膜的修复和愈合^[35-36]。国内研究表明,使用维生素 C 溶液洗胃,较常规温水洗胃,可明显改善患者症状,降低并发症发生率,提高治愈率^[13,34]。依地酸钙钠可与锰离子发生螯合反应,促进锰离子排泄,从而降低血液中锰浓度,对锰中毒具有一定的疗效,但该药存在肾功能损伤风险,肾脏疾病患者需要谨慎使用。其他支持治疗包括质子泵抑制剂、胃黏膜保护剂、维持水电解质平衡等。

综上所述,高锰酸钾作为一种常用的抗菌剂,意外摄入风险较高,尤其是婴幼儿和儿童群体,监护人应加强对该药品的保管。高锰酸钾摄入常导致口咽、食道及胃黏膜灼伤,少数患者可出现系统性毒性症状或严重并发症。高锰酸钾中毒以对症支持治疗为主,早期应用维生素 C 溶液洗胃可快速缓解症状、保护胃黏膜并降低并发症的发生风险。

参考文献

- Palaniappan V, Karthikeyan K. Potassium permanganate: a 'desert island drug' in dermatology [J]. Clin Exp Dermatol, 2022, 47 (9): 1650-1657.
- 吴明振, 张传臣, 王研, 等. 幼儿高锰酸钾中毒性脑病 1 例 [J]. 中国医学影像技术, 2023, 39 (9): 1305.
- Sam K, Graudins A. Not a common cause of poisoning: severe potassium permanganate toxicity with upper gastrointestinal injury [J]. Clin Toxicol (Phila), 2022, 60 (8): 988-990.
- 杨家顺. 高锰酸钾粉剂中毒患者的抢救及护理 [J]. 大健康, 2020 (8): 168-170.
- Özyiğit F, Yıldız E, Çetiner M, et al. A rare case of poisoning: potassium permanganate toxicity [J]. Turk J Anaesthesiol Reanim, 2020, 48 (3): 248-250.
- 顾宏英, 陈巧, 黄伟. 口服高锰酸钾中毒病例报道 [J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46 (9): 1133-1134.
- 林雪. 1 例误服高锰酸钾中毒患者的急救护理 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16 (95): 245-248.
- Eteiw SM, Al-Eyadah AA, Al-Sarihin KK, et al. Potassium permanganate poisoning: a nonfatal outcome [J]. Oman Med J, 2015, 30 (4): 291-294.
- 陈晓清, 陆美红, 罗警艺. 1 例急性高锰酸钾中毒合并高血压病人的急救护理 [J]. 全科护理, 2014, 12 (7): 672-672.
- 韩文文, 支绍册, 赵倩, 等. 误服高锰酸钾致急性肺损伤伴纵膈气肿一例 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32 (11): 852-853.
- Karthik R, Veerendranath HP, Wali S, et al. Suicidal ingestion of potassium permanganate crystals: a rare encounter [J]. Toxicol Int, 2014, 21 (3): 331-334.
- Agrawal VK, Bansal A, Kumar R, et al. Potassium permanganate toxicity: a rare case with difficult airway management and hepatic damage [J]. Indian J Crit Care Med, 2014, 18 (12): 819-821.
- 王久胜. 应用维生素 C 洗胃治疗小儿误服高锰酸钾中毒 26 例 [J]. 中国实用医刊, 2013, 40 (2): 77.
- 林美华, 王慕卿, 陈赛玉. 1 例儿童误服高锰酸钾中毒的临床护理 [J]. 医药前沿, 2013 (28): 287-288.
- 张吕胜, 肖婷. 误服高锰酸钾中毒 1 例抢救体会 [J]. 长江大学学报 (自科版) 医学卷, 2012, 9 (4): 26.
- 林秀英. 高锰酸钾粉剂中毒患者一例的抢救及护理 [J]. 山西医药杂志, 2012, 41 (1): 87-88.
- 王小红, 谢芳, 姜颖. 口服高锰酸钾粉剂中毒一例护理 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2010, 28 (7): 560.
- 孙金凤, 周立娜. 急性高锰酸钾中毒 2 例治疗体会 [J]. 中国实用医药, 2010, 5 (26): 184-185.
- 杨桃. 高锰酸钾中毒病人的护理体会 [J]. 现代医药卫生, 2010, 26 (9): 1417.
- 霍梅. 11 例高锰酸钾中毒患儿的抢救及护理 [J]. 中华护理杂志, 2010, 45 (2): 173-174.
- 曲丽莉, 吴燕, 张家香. 1 例误服高锰酸钾中毒患儿的护理体会 [J]. 全科护理, 2010, 8 (33): 3100.
- 林英. 1 例高锰酸钾中毒患儿的急救护理体会 [J]. 医学信息, 2010, 23 (7): 2162-2163.
- 谢惠芳. 高锰酸钾中毒患儿 1 例的抢救与护理 [J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10 (29): 7166.
- 范晨. 高锰酸钾中毒 1 例救治体会 [J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18 (18): 2117.
- 翟春燕, 陈慕豪. 2 例高锰酸钾粉剂中毒的急救护理 [J]. 中国校医, 2009, 23 (3): 325-327.
- 阿曼古丽·铁木尔, 罗新辉. 小儿高锰酸钾中毒 3 例抢救体会 [J]. 新疆医学, 2007, 37 (4): 195-196.
- 王严冬, 潘伊凡, 陈慕豪. 成功抢救吞服大量高锰酸钾粉剂中毒 1 例 [A]/2008 年广东省中医热病、急症、中西医结合急救、危重病、灾害医学学术会议学术论文论文集 [C]. 广东省中医院珠海医院, 2008: 289-290.
- 杜军, 高燕, 赵雪生, 等. 成功抢救吞服高锰酸钾粉剂 1 例 [J]. 世界急危重病医学杂志, 2007, 4 (1): 1692.
- 王芳. 高锰酸钾中毒病人的急救护理 [J]. 护理研究, 2006, 20 (23): 2103.
- 杨继荣, 汪金, 王真, 等. 急性高锰酸钾中毒 1 例 [J]. 罕少疾病杂志, 2001, 8 (4): 63.
- 陈玥. 小儿误服高锰酸钾中毒 1 例 [J]. 实用医药杂志, 2001, 14 (4): 52-53.
- 方晓. 婴儿致命性高锰酸钾中毒 [J]. 国外医学 (医学地理分册), 2000, 21 (2): 87.
- 刘艳华. 口服高锰酸钾粉剂的急救与护理 [J]. 衡阳医学院学报 (医学版), 2000, 28 (3): 320-322.
- 高琼, 徐凌霞, 徐文青. 大剂量维生素 C 洗胃对误服高锰酸钾中毒患儿抢救的临床价值探析 [J]. 系统医学, 2023, 8 (7): 66-69.
- 石玉琴, 张本延. 锰的神经毒作用研究进展 [J]. 武汉科技大学学报 (自然科学版), 2004, 27 (3): 315-318.
- 张玉林, 冯顺易. 大剂量维生素 C 治疗高锰酸钾中毒化学性灼伤疗效观察 [J]. 中国医学创新, 2011, 8 (12): 28-29.

(收稿日期: 2024-12-27; 修回日期: 2025-02-25)

基于 FAERS 数据库的仑卡奈单抗安全警戒信号挖掘与分析

刘小林¹, 龚婧如¹, 陈阳², 卢萧萧¹, 陆惠平^{1*} (1.上海市浦东医院药学部, 上海 200120; 2.上海市嘉定区江桥医院临床药学科, 上海 201800)

摘要: **目的** 基于美国食品药品监督管理局 (FDA) 不良事件报告系统 (FAERS) 数据库挖掘仑卡奈单抗的药品不良事件 (ADE) 信号, 为临床安全用药提供参考。**方法** 收集 FAERS 数据库中 2023 年第一季度—2024 年第二季度仑卡奈单抗的 ADE 报告, 利用比例失衡法中的报告比值比 (ROR) 和比例报告比 (PRR) 法进行数据挖掘。**结果** 共收集到仑卡奈单抗为首要怀疑药物的 ADE 报告 868 份, 涉及患者 868 例, 男女比例为 1 : 1.47, 美国提交的报告数最多 (93.20%)。共挖掘出仑卡奈单抗 ADE 信号 56 个, 累及 3 个 SOC 系统, 分别为各类神经系统疾病、全身性疾病及给药部位各种反应、精神病类。ADE 报告数较多的不良事件有头痛、寒战、疲劳、淀粉样蛋白相关性影像异常水肿/渗出型 (ARIA-E) 及淀粉样蛋白相关性影像异常微出血和血铁质沉积型 (ARIA-H)。淀粉样蛋白相关性影像异常 (ARIA)、ARIA-E、ARIA-H 和中枢神经系统表面铁沉积症与仑卡奈单抗呈现出较高的相关性。值得关注的是, 此次研究还甄别出部分说明书尚未提及的新信号, 如脑雾、尖叫、脑炎、蚁行感、意识模糊、失禁等。**结论** 仑卡奈单抗常见 ADE 与药品说明书基本一致, 但需要警惕说明书未提及的 ADE, 以保障治疗的安全性。

关键词: 仑卡奈单抗; 药品不良事件; FAERS 数据库; 信号挖掘; 阿尔茨海默病

中图分类号: R969

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3106-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.049

Signals mining and analysis of adverse drug reactions of lecanemab based on FAERS database

LIU Xiao-lin¹, GONG Jing-ru¹, CHEN Yang², LU Xiao-xiao¹, LU Hui-ping^{1*} (1. *Department of Pharmacy, Pudong Hospital, Shanghai 200120*; 2. *Department of Clinical Pharmacy, Jiangqiao Hospital of Jiading District, Shanghai 201800*)

Abstract: Objective To determine the signals of adverse drug event (ADE) signals of lecanemab based on the United States Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System (FAERS) database. **Methods** ADE reports related to lecanemab from the first quarter of 2023 to the second quarter of 2024 in the FAERS database were collected. Data mining was performed with the reporting odds ratio (ROR) and proportional reporting ratio (PRR) methods. **Results** In all 868 ADE reports lecanemab was identified as the primary suspect drug, with a male-to-female ratio of 1 : 1.47, the majority of reports (93.20%) from the United States. Fifty-six ADE signals associated with lecanemab were identified, affecting three systems: general disorders, administration site conditions, nervous system disorders, as well as psychiatric disorders. The most frequently reported ADEs included headache, chills, fatigue, amyloid related imaging abnormality-oedema/effusion (ARIA-E), and amyloid related imaging abnormality-microhemorrhages and hemosiderin deposits (ARIA-H). There was an obvious correlation between amyloid-related imaging abnormalities (ARIA), ARIA-E, ARIA-H, and superficial siderosis of the central nervous system with lecanemab. Notably, the study also identified new signals not yet mentioned in the product labeling, such as brain fog, screaming, encephalitis, formication, psychiatric disorders and incontinence. **Conclusion** The common ADEs associated with lecanemab are mostly in accordance with the product labeling;

基金项目: 上海市浦东新区卫生系统重点学科建设项目 (No.PWZxk2022-27); 复旦大学附属浦东医院重点专科诊治中心项目 (No.Tszk2020-05)。

作者简介: 刘小林, 女, 硕士, 主管药师, 主要从事临床药学研究, email: xiaolinstayreal@126.com * **通信作者:** 陆惠平, 男, 硕士, 主任药师, 主要从事临床药学研究, email: lhp310@126.com

however, attention must be given to the ADEs not specified in the labeling to ensure therapy safety.

Key words: lecanemab; adverse drug event; FAERS database; signal mining; Alzheimer’s disease

阿尔茨海默病 (Alzheimer’s disease, AD) 是一种不可逆转的进行性神经退行性疾病, 会影响患者的语言、记忆和思维能力以及日常活动^[1-2]。近年来, 随着我国人口老龄化, AD 发病率和病死率均呈现上升趋势。目前, AD 已成为我国城乡居民第五大死亡原因^[3], 对患者家庭、社会及医疗保健系统带来了沉重的负担。仑卡奈单抗 (lecanemab) 是一种重组人源化单克隆抗体, 对大脑内可溶性 β -淀粉样蛋白 ($A\beta$) 原纤维具有高度的亲和力, 可减少 $A\beta$ 斑块的形成, 改善 AD 患者的脑部病理特征, 从而延缓 AD 的进展^[4-5]。2023 年 1 月, 仑卡奈单抗在美国首次获批用于治疗 AD, 于 2024 年 1 月在我国上市^[6-7]。目前, 仑卡奈单抗的国内临床应用经验较少, 安全性数据多来自临床试验, 尚无基于真实世界的研究探讨。本研究基于美国食品药品监督管理局不良事件报告系统 (FAERS) 挖掘仑卡奈单抗药品不良事件 (ADE) 风险信号, 以期为该药在临床上的安全应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源

数据来源美国 FAERS 数据库, 提取时间段为 2023 年第一季度—2024 年第二季度。以目标药物通用名 “lecanemab” 和商品名 “LEQEMBI” 为检索词进行检索, 剔除重复数据, 最终将以仑卡奈单抗为首要怀疑药物的 ADE 报告纳入研究。

1.2 数据整理

本研究采用国际医学科学组织理事会《国际医学用语词典》(MedDRA) 26.0 版术语集中的首选语 (PT)、系统器官分类 (SOC) 对所得 ADE 名称进行描述和分类。

1.3 数据分析

国内外常用的 ADE 检测方法主要是比例失衡法, 包括报告比值比法 (ROR) 和比例报告比值比法 (PRR)^[8]。通过比例失衡法四格表对比分析目标药物及其对应事件的发生率与背景频率之间的差异, 以检测药物与 ADE 之间的关联^[9]。在 ROR 法中, 报告数 ≥ 3 , 且 ROR 值的 95% 置信区间 (CI) 下限 > 1 ; 在 PRR 法中, 以报告数 ≥ 3 , $PRR \geq 2$ 且 $\chi^2 \geq 4$, 作为确定 ADE 有效信号的判定条件。ROR 值和 PRR 值越大, 代表信号越强, 表示药物与目标 ADE 的统计学联系越紧密。本研究计数采用例数和构成比描述, 统计分析通过 Microsoft Excel 2019 完成。

2 结果

2.1 ADE 报告的基本信息

本研究共检索到仑卡奈单抗相关 ADE 报告 868 份, 涉及患者 868 例。女性报告数占比 (55.10%) 高于男性 (37.40%); 在记录年龄的报告中, 65 ~ 85 岁患者的报告数占比最大 (66.82%); 报告人群中, 消费者报告例数最多 (50.69%); 从国家分布来看, 美国提交的报告数最多 (93.20%), 其次为日本 (3.57%), 而来自中国的报告仅有 5 份 (0.58%)。ADE 转归为住院的报告数占 11.98%, 死亡及危及生命的报告数占 2.99%, 详见表 1。自 2023 年仑卡奈单抗批准上市以来, 其 ADE 报告数呈增加趋势。其中, 2023 年第三季度增长率最大, 达到了 171.88%, 结果见图 1。

表 1 ADE 报告的基本信息

Tab 1 Basic information of ADE reports associated with lecanemab

项目	分类	报告数量 / 份	构成比 / %
性别	男	325	37.40
	女	478	55.10
	不详	65	7.50
年龄 / 岁	< 18	3	0.35
	18 ~ 65	93	10.71
	65 ~ 85	580	66.82
	> 85	21	2.42
	不详	171	19.70
	不详	171	19.70
报告人群	消费者	440	50.69
	健康专业人员	144	16.59
	医师	252	29.03
	药师	20	2.30
报告国家	不详	12	1.38
	美国	809	93.20
	日本	31	3.57
	中国	5	0.58
	法国	4	0.46
	英国	3	0.35
	意大利	3	0.35
	韩国	3	0.35
	阿根廷	2	0.23
	澳大利亚	2	0.23
	西班牙	2	0.23
	加拿大	1	0.12
	瑞士	1	0.12
	以色列	1	0.12
	瑞典	1	0.12
结局指标	住院	104	11.98
	其他	54	6.22
	死亡	16	1.84
	危及生命	10	1.15

2.2 SOC 分布情况



图1 仑卡奈单抗 ADE 上报例数

Fig 1 Number of reported adverse events of lecanemab

共挖掘到 56 个 ADE 信号，累及的 SOC 系统器官共 3 个，主要为各类神经系统疾病、全身性疾病及给药部位各种反应、精神病类，见表 2。

2.3 ADE 发生频次

按发生频次对仑卡奈单抗相关 PT 进行排序，排名前 5 的 PT 分别为头痛（9.70%）、寒战（5.03%）、疲劳（4.67%）、ARIA-E（4.58%）和 ARIA-H（3.52%），发生频次排名前 20 的 PT 中，疲劳、意识模糊状态、虚弱、嗜睡等为药品说明书中未提及的 ADE，见表 3。

表 2 ADE 信号的 SOC 分类

Tab 2 SOC classification of adverse event signals

SOC	主要 ADE 信号	信号数 / 个	报告数 / 份	ROR (95%CI)	PRR (χ^2)
各类神经系统疾病	头痛 (193)、淀粉样蛋白相关性影像异常水肿 / 渗出型 (ARIA-E)(91)、淀粉样蛋白相关性影像异常微出血和血铁质沉积型 (ARIA-H)(70)、头晕 (51)、震颤 (37)、淀粉样蛋白相关性影像异常 (ARIA)(31)、嗜睡 (26)、记忆受损 (15)、大脑出血 (12)、晕厥 (11)、脑水肿 (11)、痫性发作 (10)、困倦 (9)、脑雾 (9)、阿尔茨海默型痴呆 (8)、偏头痛 (8)、认知障碍 (8)、失忆症 (6)、失语 (6)、中枢神经系统表面铁沉积症 (5)、大脑微出血 (4)、头部不适 (4)、全身强直阵挛性癫痫发作 (3)、蚁行感 (3)、缺血性卒中 (3)、癫痫持续状态 (3)	26	720	6.08 (5.55, 6.66)	4.24 (1948.29)
全身性疾病及给药部位各种反应	寒战 (100)、疲劳 (93)、发热 (65)、虚弱 (27)、流感样疾病 (26)、感到寒冷 (17)、步态障碍 (17)、尖叫 (3)、反应迟缓 (3)	9	450	1.38 (1.24, 1.53)	1.29 (36.58)
精神病类	意识模糊状态 (64)、定向力障碍 (8)、愤怒 (6)、幻觉 (6)、异常做梦 (6)、睡眠质量差 (5)、躁动 (4)	7	148	1.32 (1.11, 1.56)	1.29 (10.44)

表 3 仑卡奈单抗发生频次排名前 20 的不良事件

Tab 3 Top 20 adverse events with the frequency of lecanemab

序号	ADE 信号	报告数 [n (%)]	ROR (95%CI)	PRR (χ^2)
1	头痛	139 (9.70)	10.16 (8.75, 11.78)	9.27 (1438.04)
2	寒战	100 (5.03)	26.77 (21.89, 32.74)	25.48 (2354.13)
3	疲劳*	93 (4.67)	3.78 (3.07, 4.66)	3.65 (181.43)
4	ARIA-E	91 (4.58)	16 330.27 (12 553.38, 21 243.49)	15 583.18 (89 1247.51)
5	ARIA-H	70 (3.52)	16 214.75 (12 023.46, 21 867.09)	15 644.13 (68 7257.69)
6	输液相关反应	66 (3.32)	33.25 (26.01, 42.5)	32.18 (1993.33)
7	发热	65 (3.27)	5.78 (4.51, 7.4)	5.62 (248.52)
8	意识模糊状态*	64 (3.22)	12.17 (9.49, 15.62)	11.82 (635.03)
9	恶心	63 (3.17)	2.48 (1.93, 3.18)	2.43 (53.66)
10	头晕	51 (2.56)	3.14 (2.38, 4.15)	3.09 (72.58)
11	震颤	37 (1.86)	6.7 (4.84, 9.28)	6.6 (176.13)
12	呕吐	33 (1.66)	2.18 (1.55, 3.07)	2.16 (20.71)
13	ARIA	31 (1.56)	41 523.02 (23 626.39, 72 976.07)	40 875.87 (496 898.55)
14	虚弱*	27 (1.36)	2.18 (1.49, 3.19)	2.17 (17.09)
15	嗜睡*	26 (1.31)	3.93 (2.67, 5.79)	3.89 (56.12)
16	流感样疾病	26 (1.31)	9.3 (6.31, 13.69)	9.19 (189.99)
17	跌倒*	20 (1.01)	1.82 (1.17, 2.83)	1.81 (7.33)
18	感到寒冷	17 (0.85)	18.35 (11.38, 29.58)	18.2 (276.22)
19	步态障碍	17 (0.85)	2.64 (1.63, 4.25)	2.62 (17.1)
20	记忆受损*	15 (0.75)	3.27 (1.97, 5.44)	3.26 (23.52)

注 (Note): * 为说明书中未提及的 ADE (* Means ADE not mentioned in the instruction)。

2.4 ADE 信号强度

不良事件信号按照 ROR 下限值进行降序排列，排名前 20 位的信号中，ROR 和 PRR 两种药品信号检测方法检测出来的 ADE 信号基本一致，均以 ARIA、ARIA-E、ARIA-H、中枢神经系统表面铁

沉积症和大脑微出血等 PT 为主，还出现了脑雾、尖叫、脑炎、蚁行感、意识模糊状态、失禁等未被药品说明书收录的 ADE，见表 4。

2.5 ADE 发生时间

共计 216 份报告提供了 ADE 的发生时间，其中

表 4 仑卡奈单抗信号强度排名前 20 的 ADE (按 ROR 值排序)
Tab 4 Top 20 adverse events ranked by lecanemab signal strength

序号	ADE 信号	报告数 [n (%)]	ROR (95%CI)	PRR (χ^2)
1	ARIA	31 (1.56)	41 523.02 (23 626.39, 72976.07)	40 875.87 (496 898.55)
2	ARIA-E	91 (4.58)	16 330.27 (12 553.38, 21 243.49)	15 583.18 (891 247.51)
3	ARIA-H	70 (3.52)	16 214.75 (12 023.46, 21 867.09)	15 644.13 (687 257.69)
4	中枢神经系统表面铁沉积症	5 (0.25)	2937.55 (1164.83, 7408.12)	2930.17 (13 176.78)
5	大脑微出血	4 (0.20)	476.12 (176.96, 1281.05)	475.16 (1859.17)
6	脑雾*	9 (0.45)	44.94 (23.33, 86.54)	44.74 (384.25)
7	输液相关反应	66 (3.32)	33.25 (26.01, 42.5)	32.18 (1993.33)
8	寒战	100 (5.03)	26.77 (21.89, 32.74)	25.48 (2354.13)
9	脑水肿	11 (0.55)	26.52 (14.66, 47.97)	26.37 (268.32)
10	阿尔茨海默型痴呆	8 (0.40)	26.01 (12.99, 52.11)	25.91 (191.44)
11	感到寒冷	17 (0.85)	18.35 (11.38, 29.58)	18.2 (276.22)
12	尖叫*	3 (0.15)	14.15 (4.56, 43.93)	14.13 (36.59)
13	脑炎*	3 (0.15)	13.58 (4.38, 42.16)	13.56 (34.9)
14	蚁行感*	3 (0.15)	12.46 (4.01, 38.67)	12.44 (31.55)
15	意识模糊状态*	64 (3.22)	12.17 (9.49, 15.62)	11.82 (635.03)
16	呃逆	3 (0.15)	11.43 (3.68, 35.49)	11.42 (28.51)
17	失禁*	4 (0.20)	11.3 (4.24, 30.14)	11.28 (37.45)
18	头痛	139 (9.70)	10.16 (8.75, 11.78)	9.27 (1438.04)
19	大脑出血	12 (0.60)	10.05 (5.7, 17.73)	10 (97.17)
20	静脉通路不良*	3 (0.15)	9.34 (3.01, 28.99)	9.33 (22.3)

注 (Note): *为说明书中未提及的 ADE (* Means ADE not mentioned in the instruction)。

99 例 (45.83%) 的 ADE 在用药 30 d 内发生, 47 例 (21.76%) 的 ADE 在第一次用药 2 个月内发生, 28 例不良事件在用药一年后才发生 (12.96%), 见图 2。

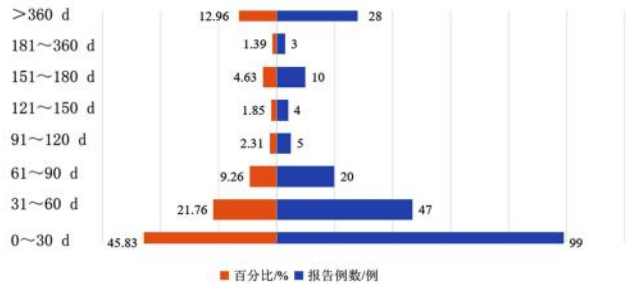


图 2 仑卡奈单抗 ADE 发生时间
Fig 2 ADE occurrence time of lecanemab

3 讨论

3.1 ADE 基本情况分析

女性患者仑卡奈单抗相关 ADE 发生率较男性高, 发生年龄主要集中在 65 ~ 85 岁, 这与 AD 的流行病学基本一致。2021 年, 我国 AD 流行病学显示, AD 及其他痴呆的女性患病率、死亡率等相关数据均高于男性, 其中女性的患病率约为男性的 1.8 倍^[10-11]。随着仑卡奈单抗在美国、日本、中国等全球范围内的广泛应用, 其 ADE 上报数量呈逐年增加趋势。但是从上报国家来看, 以美国为主, 中国仅有 5 例数据, 这与 FAERS 数据库的开发以及仑卡奈单抗在美国上市时间长有关。仑卡奈单抗导致的不良事件结局有住院、死亡、危及生命等, 提示医务人员应提高警惕, 全面了解药品相关不良事件和安全知识, 加强对患者的用药监护和用药教育。

仑卡奈单抗发生 ADE 的高峰时段在 0 ~ 30 d, 其次是 31 ~ 60 d。临床研究表明, 仑卡奈单抗大多数 ADE 发生在首次给药时, 大多数 ARIA-E 病例发生在治疗的前 3 个月内 (71.00%)^[4], 尽管如此, 用药一年后仍有 28 例 ADE 的发生, 表明在使用仑卡奈单抗期间均应监测其安全性。

3.2 ADE 信号强度分析

仑卡奈单抗 ADE 信号主要涉及各类神经系统疾病、全身性疾病及给药部位各种反应和精神病。其中, ARIA、ARIA-E、ARIA-H 和中枢神经系统表面铁沉积症与仑卡奈单抗有强相关性。ARIA 是淀粉样蛋白靶向抗体常见的剂量依赖性效应, 与载脂蛋白 E (APOE) $\epsilon 4$ 等位基因密切相关^[12]。研究表明, 包括仑卡奈单抗在内的 β -淀粉样蛋白的单克隆抗体均可能会导致 ARIA, 表现为 ARIA-E 和 ARIA-H, 包括微出血和表浅含铁症。虽然 ARIA 通常无症状, 但偶尔会导致严重事件, 包括癫痫和癫痫持续状态^[13]。ApoE $\epsilon 4$ 纯合子患者的 ARIA 风险和严重程度高于杂合子和非携带者^[14-15]。因此, 临床在决定开始仑卡奈单抗治疗前, 建议检测 ApoE $\epsilon 4$ 状态, 以评估潜在的治疗益处和与 ARIA 相关的不良事件风险。对于已接受治疗的患者, 无论 ARIA 类型如何, 剂量调整应考虑影像学严重程度, 特别是复发性 ARIA-E 患者。然而, 目前对有症状或无症状但影像学上表现为 ARIA-E 的患者继续给药的经验尚显不足, 需要更多真实世界的循证医学证据来支持。

3.3 常见 ADE 信号分析

仑卡奈单抗发生频次较高的 ADE 包括头痛、寒

战、疲劳、ARIA-E、ARIA-H 等, 这些结果与说明书及相关文献基本一致^[7,16]。其中, 头痛报告次数最高, 研究表明 ARIA 患者也常伴有头痛、恶心等症状。因此临床上对出现头痛的患者应警惕 ARIA 的可能性。在 III 期临床研究中, 接受仑卡奈单抗治疗的患者群体里, 输注相关反应的发生率居于首位, 占比高达 26.40%^[4]。尽管本研究中, 输液反应报告频率相对不高, 但这并不能表明其实际发生率也处于较低水平。输液反应所表现出的症状极为多样, 涵盖发热、流感样症状、恶心、呕吐、血氧饱和度降低等多种情况。基于此, 临床实践中务必要对输液反应的发生保持高度警惕。另外, 预防性给予抗组胺药、非甾体抗炎药或皮质类固醇, 能够有效降低输液相关反应的发生率^[17-18]。关于 ARIA-E, 大多数病例发生在治疗的前 3 个月内, 其放射学严重程度多为轻至中度, 在临床研究中, 所有 ARIA-E 病例在 4~12 周内均得到缓解^[16]。在临床中需要注意的是, 使用治疗性抗血栓药物, 如抗血小板药和抗凝剂, 可能会增加 ARIA-H 微出血的出血风险, 而且 ARIA-H 与 ARIA-E 有可能同时出现。此外, 药品说明书提及的腹泻、咳嗽、皮疹、过敏反应等 ADE 在本次研究中未被发现, 这可能与用药时间短数据量有限, 或数据库本身局限性有关。

3.4 新发现可疑 ADE

本研究发现多个药品说明书中未记录的 ADE, 如脑雾、尖叫、脑炎、蚁行感、意识模糊状态、失禁等。提示医护人员在临床工作中应对这些 ADE 需提高警惕, 并做好相关性评价工作。在未来的研究中, 需进一步评估这些 ADE 信号的临床意义, 适时更新药品说明书, 以确保患者用药安全。

3.5 研究局限性

本研究的局限性如下: ① 上报国家主要集中在美国, 亚裔病例较少, 存在种族偏倚; ② 由于 FAERS 数据库为自愿填报系统, 呈报数据质量参差不齐, 存在缺失、重复、漏报等问题, 难以排除其他风险因素; ③ ROR 法和 PRR 法反映仑卡奈单抗与不良事件间的关联强度, 其临床意义尚需进一步临床试验验证; ④ ADE 的发生可能与性别、年龄、共病状态有关, 而本研究无法排除这些因素的影响。此外, 由于药品上市时间短, 病例数量有限, 仍需更多真实世界数据完善相关研究。

3.6 小结

本研所得结果与药品说明书基本一致, 主要涉及各类神经系统疾病、全身性疾病及给药部位各种反应、精神病类。另外, 也发现了一些药品说明书未提及的 ADE, 这提示临床使用仑卡奈单抗时, 不仅要着重关注常见 ADE 信号, 还需定期监测新的 ADE, 以便及时察觉、治疗, 保障患者用药安全。

参考文献

- [1] Khan S, Barve KH, Kumar MS. Recent advancements in pathogenesis, diagnostics and treatment of Alzheimer's disease [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2020, 18 (11): 1106-1125.
- [2] 田欣, 梅丹. 治疗早期阿尔茨海默病的新药仑卡奈单抗 (lecanemab) [J]. *中国合理用药探索*, 2023, 20 (4): 11-15.
- [3] Ren RJ, Qi JL, Lin SH, et al. The China Alzheimer report 2022 [J]. *Gen Psychiatr*, 2022, 35 (1): e100751.
- [4] Van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, et al. Lecanemab in early Alzheimer's disease [J]. *N Engl J Med*, 2023, 388 (1): 9-21.
- [5] Cummings J, Apostolova L, Rabinovici GD, et al. Lecanemab: appropriate use recommendations [J]. *J Prev Alzheimers Dis*, 2023, 10 (3): 362-377.
- [6] 贺飞. 阿尔茨海默病治疗药——仑卡奈单抗注射液上市 [J]. *药物与人*, 2024 (2): 91-93.
- [7] Hoy SM. Lecanemab: first approval [J]. *Drugs*, 2023, 83 (4): 359-365.
- [8] Jiao XF, Pu L, Lan S, et al. Adverse drug reaction signal detection methods in spontaneous reporting system: a systematic review [J]. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2024, 33 (3): e5768.
- [9] 高鹏, 程峰. 基于 FAERS 数据库挖掘开展的药物安全性研究进展 [J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43 (3): 337-340.
- [10] 王刚, 齐金蕾, 刘馨雅, 等. 中国阿尔茨海默病报告 2024 [J]. *诊断学理论与实践*, 2024, 23 (3): 219-256.
- [11] Jia LF, Du YF, Chu L, et al. Prevalence, risk factors, and management of dementia and mild cognitive impairment in adults aged 60 years or older in China: a cross-sectional study [J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5 (12): e661-e671.
- [12] Vandevrede L, Gibbs DM, Koestler M, et al. Symptomatic amyloid-related imaging abnormalities in an APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ patient treated with aducanumab [J]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 2020, 12 (1): e12101.
- [13] FDA. lecanemab injection (LEQEMBI®) [EB/OL]. (2023-07-01) [2024-04-22]. <https://nctr-crs.fda.gov/fdabel/ui/spl-summaries/criteria/410643>.
- [14] Vukmir RB. Amyloid-related imaging abnormalities (ARIA): diagnosis, management, and care in the setting of amyloid-modifying therapy [J]. *Ann Clin Transl Neurol*, 2024, 11 (7): 1669-1680.
- [15] Evans CD, Sparks J, Andersen SW, et al. APOE $\epsilon 4$'s impact on response to amyloid therapies in early symptomatic Alzheimer's disease: analyses from multiple clinical trials [J]. *Alzheimers Dement*, 2023, 19 (12): 5407-5417.
- [16] Swanson CJ, Zhang Y, Dhadda S, et al. A randomized, double-blind, phase 2b proof-of-concept clinical trial in early Alzheimer's disease with lecanemab, an anti-A β protofibril antibody [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2021, 13 (1): 80.
- [17] Alvarado Sánchez JI, Amaya Zúñiga WF, Monge García MI. Predictors to intravenous fluid responsiveness [J]. *J Intensive Care Med*, 2018, 33 (4): 227-240.
- [18] Xian SX, Yang ZQ, Lee J, et al. A randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled clinical study on the efficacy and safety of Shenmai injection in patients with chronic heart failure [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 136-142.

(收稿日期: 2024-12-12; 修回日期: 2025-01-10)

1 例头孢曲松导致 II 型库尼斯综合征的案例分析

罗奕¹, 龙海蕾¹, 郭江², 沈红伟³, 高增杰⁴ (1.贵阳市花溪区人民医院药剂科, 贵阳 550025; 2.贵阳市花溪区人民医院重症医学科, 贵阳 550025; 3.贵阳市花溪区人民医院老年医学科, 贵阳 550025; 4.北京积水潭医院贵州医院骨内科, 贵阳 550025)

关键词: 库尼斯综合征; 头孢曲松; 药品不良反应; 抗菌药物; 过敏反应

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3111-03

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.050

过敏性心绞痛综合征, 又称过敏性心肌缺血综合征, 或库尼斯综合征 (Kounis syndrome, KS), 1991 年由 Kounis 和 Zavars 首次提出^[1]。KS 是指由过敏反应诱发的急性冠脉综合征 (acute coronary syndromes, ACS)。临床表现为血管痉挛性过敏性心绞痛、过敏性急性心肌梗死、冠脉支架内血栓形成等^[2]。KS 分为三型, I 型通常为冠状动脉正常, 表现为内皮功能障碍或微血管性心绞痛, 临床表现为冠状动脉痉挛; II 型表现为具有动脉粥样硬化性疾病, 表现为冠状动脉痉挛或伴斑块侵蚀或破裂, 临床可进展为急性心肌梗死; III 型为冠状动脉支架内血栓形成或再狭窄^[2-4]。其中, I 型 KS 最为常见, 且预后最好, III 型预后最差。

有关大规模 KS 流行病学的研究较少, 其发病机制尚不清楚。目前报道的 KS 主要由抗菌药物、非甾体抗炎药、昆虫叮咬、食物、碘造影剂等因素诱发引起^[3]。其中, 由头孢曲松抗菌药物诱发的 KS 案例在国内尚无报道, 主要来自土耳其 (3 例)^[4-6]、意大利 (2 例)^[7-8]、约旦 (2 例)^[9-10]、沙特阿拉伯 (1 例)^[11]、印度 (1 例)^[12]。现报道 1 例由头孢曲松诱发 II 型 KS 案例, 以期为该病的诊治提供参考。

1 病历介绍

患者, 男, 66 岁, 163 cm, 80 kg, 体质指数 (BMI) 为 $30.11 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 。因“劳力性胸闷、气促 6 年, 加重 10 d”于 2024 年 10 月 28 日入院, 伴咳嗽、咳黄脓痰, 自发病以来精神、饮食、睡眠欠佳, 夜尿次数为 3~5 次, 白昼尿次数为 5~6 次, 体重无明显变化。2 年前曾反复发作劳力性心绞痛, 自行服用速效救心丸缓解。既往高血压病 (20 多年)、脑梗死、行双侧颈动脉支架植入术 (2 年多)、痛风、高脂血症、肺气肿、慢性肾功能不全 (6 年多), 间断服用马来酸左氨氯地平片 (2.5 mg qd)、阿托伐他汀钙片 (20 mg qd)、

阿司匹林肠溶片 (0.1 g qd)、氯吡格雷片 (75 mg qd), 血压控制不佳, 饮酒、吸烟 30 多年, 否认食物及药物过敏史。入院测体温 36.0°C , 脉搏 $72 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$, 呼吸 $22 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$, 血压 $154/92 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$)。言语欠流利, 口唇明显发绀, 胸廓对称呈桶状, 双下肺闻及少量湿啰音, 心界左扩大, 心率 $72 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$, 律齐, 双下肢对称性轻-中度凹陷性水肿, 其余查体无特殊。心电图 (ECG) 提示窦性心律, 心电图轴左偏, V1-V3 导联见 Q 波, ST-T 波改变, 指脉氧 96%, 血气分析提示低氧血症, 粪便隐血试验阳性, 钾 (K) $3.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 估算肾小球滤过率 (eGFR) $19.71 \text{ mL} / (\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$, B 型利钠肽 (BNP) $160.11 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 凝血纤溶六项、肝功能、心肌酶、血常规均正常。心脏超声提示左心房明显增大, 右心房稍大, 升主动脉增宽, 左室壁增厚; 三尖瓣重度反流, 肺动脉瓣中度反流, 二尖瓣、主动脉瓣轻度反流; 左室舒张功能减低。颈部血管超声提示双侧颈动脉支架术后, 双侧颈内动脉血流速度增快——考虑狭窄可能, 右侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉斑块, 左侧颈总动脉、颈内动脉斑块, 右侧颈外动脉血流速度增快, 右侧椎动脉阻力指数增高。泌尿系超声提示左肾光点改变。胸部 CT 提示支气管炎样改变, 多考虑中叶及舌叶炎性病变 (慢性病灶?), 主动脉及冠状动脉壁多发钙化斑块, 肺动脉高压征象, 心脏稍增大。入院诊断: 慢性心力衰竭 急性加重期, 原发性高血压病 3 级 很高危组, 心功能 III 级, 社区获得性肺炎, 陈旧性脑梗死, 冠状动脉粥样硬化性心脏病? 慢性肾脏病 (CKD) 4 期, 双侧颈动脉支架术后, 双侧颈动脉内动狭窄, 高脂血症, 痛风临床缓解期, 低钾血症。患者入院后予低盐低脂饮食, 呋塞米注射液 20 mg 静脉推注利尿, 氯化钾注射液 (10%) 60 mL 兑水分 3 次服用补钾,

基金项目: 贵州省卫健委科学技术基金项目 (No.GZWKJ2025-364)。

作者简介: 罗奕, 女, 主管药师, 主要从事临床药学工作, email: 929354612@qq.com * **通信作者:** 高增杰, 男, 主治医师, 在读博士研究生, 主要从事疑难杂症疼痛研究, email: 1531692654@qq.com

丹参注射液 (10 mL ivgtt qd) 活血化瘀, 通脉养心及头孢曲松 (2 g ivgtt qd) 抗感染等治疗。

2024 年 10 月 29 日于 12:10 开始使用头孢曲松 (2 g ivgtt qd, 深圳致君制药有限公司, 批号: K 240703) 抗感染治疗, 约 5 min 时突发呼吸困难、呼吸急促、烦躁、大汗淋漓, 呼吸约 35 次 $\cdot$ min⁻¹, 不排除药物过敏可能, 立即予地塞米松 5 mg 静脉推注, 症状持续存在未缓解, 12:15 再次予地塞米松 10 mg 静脉推注, 高流量 (氧浓度 80%, 流速: 40 mL $\cdot$ min⁻¹) 下, 指脉氧从 85% 上升至 98%。12:19 查心电图提示窦性心动过速, 心率 129 次 $\cdot$ min⁻¹, 电轴不偏, II、III、aVF 导联呈 ST 段弓背向上抬高, 血压 144/100 mmHg, 考虑右冠脉痉挛所致, 立即予硝酸甘油 (5 mg 泵入) 扩冠, 钾镁合剂 [0.9% 氯化钠注射液 500 mL + 硫酸镁注射液 2 g + 氯化钾注射液 (10%) 7 mL] 稳定心肌细胞膜, 症状仍持续存在未缓解, 立即予苯海拉明 10 mg 肌肉注射, 注射用甲泼尼龙琥珀酸钠 40 mg 静脉滴注, 12:30 血压 90/60 mmHg, 临床考虑过敏性休克, 停用硝酸甘油, 症状未缓解, 再次立即予注射用甲泼尼龙琥珀酸钠 40 mg 静脉推注、复方氯化钠注射液 500 mL 补充血容量, 盐酸肾上腺素注射液 0.5 mg 肌肉注射, 盐酸多巴胺注射液 5 μ g / (kg $\cdot$ min) 联合重酒石酸去甲肾上腺素注射液 0.4 μ g / (kg $\cdot$ min) 泵入升压, 12:35 复查心电图见 II、III、aVF 导联呈 ST 段明显回落至正常, 复测血压 120/70 mmHg, 12:47 血气分析提示代谢性酸中毒, 高乳酸血症, 12:50 肌红蛋白、肌钙蛋白 I、肌酸激酶 (CK-MB) 回示正常, 上述症状逐渐缓解。12:52 复查心电图提示窦性心律, 电轴左偏, ST 段回落至正常, 13:00 症状明显缓解。10 月 30 日停升压药, 血压 120/70 mmHg, 呼吸 25 次 $\cdot$ min⁻¹, 脉搏 105 次 $\cdot$ min⁻¹, 指脉氧 99%, 神志清楚, 双肺呼吸音粗, 闻及干湿性啰音, 复查血气分析提示基本正常, 血常规提示嗜酸粒细胞直接计数下降为 $0.00 \times 10^9 \cdot L^{-1}$ ($0.04 \times 10^9 \cdot L^{-1}$), 后多次复查心电图及心肌酶均正常, 生命体征平稳, 临床继续予左氧氟沙星氯化钠注射液 (0.25 g ivgtt qd) 抗感染, 非洛地平缓释片 (5 mg po bid) 降压, 阿托伐他汀钙片 (20 mg po qd) 稳定斑块, 阿司匹林肠溶片 (0.1 g po qd) 抗血小板, 氯化钾缓释片 (1 g po bid) 补钾, 奥美拉唑 (40 mg ivgtt qd) 抑酸护胃等治疗后于 2024 年 11 月 6 日好转出院。

2 讨论

头孢曲松为三代头孢菌素类抗菌药物, 主要用于各种部位感染。本例患者因肺部感染使用头孢曲松 2 g qd 静脉滴注后, 约 5 min 时出现呼吸

困难、呼吸急促、烦躁、大汗淋漓, 低血压, 考虑是由头孢曲松引起的过敏性休克。

文献检索发现, KS 常由抗菌药物、非甾体抗炎药等诱发引起^[13], Yakushin 等^[14]报道 235 个 KS 案例中抗菌药物、非甾体抗炎药分别占 32.3%、24.3%; 其中, I 型 KS 占 49.7%, II 型 KS 占 27.2%, III 型 KS 占 5.9%。此外, 文献报道各类抗菌药物均可引发 KS, 主要包括 β -内酰胺类如青霉素类 (青霉素 G、阿莫西林、氨苄西林)^[8-9,15], 头孢菌素类 (头孢西丁、头孢唑林、头孢呋辛、头孢他啶、头孢曲松、头孢噻肟)^[16], β -内酰胺酶抑制剂复方制剂 (头孢哌酮/舒巴坦、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林/舒巴坦、哌拉西林/他唑巴坦)^[13,17], 大环内酯类 (阿奇霉素), 硝基咪唑类 (甲硝唑、奥硝唑)^[13,8], 糖肽类 (万古霉素)^[13], 氟喹诺酮类 (环丙沙星、左氧氟沙星、吉米沙星)^[13,18]。其中, 以青霉素和头孢菌素最为常见^[11,19]。

KS 在临床实践中并不罕见, 与 ACS 及过敏反应的临床症状相似, 以胸痛、呼吸困难、低血压及皮肤瘙痒、皮疹等为主^[1,3,13-14]。KS 主要发生在南欧, 如土耳其、希腊、意大利和西班牙^[2], 文献已报道来自瑞士、土耳其、希腊、美国的 KS 部分流行病学^[15,19-20], Giovannini 等^[19]研究显示在美国住院过敏患者中 KS 发病率为 1.1%, 院内死亡率为 7.0%, 而中国仅报道了散发病例。KS 的年龄分布以 40 ~ 70 岁为主, 占 68%, 男性多于女性, 约占 74.3%^[15]。KS 的危险因素包括过敏史、吸烟史以及合并基础疾病等, 25% KS 患者有已知的过敏史或曾经有过过敏反应^[21]。

目前关于 KS 的发病机制尚不清楚, 文献报道其病理生理机制主要是由过敏反应引起肥大细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞和炎症细胞因子的相互作用, 而肥大细胞起着主要作用^[2]。其中, T 淋巴细胞参与和介导肥大细胞活化和增殖, 当发生超敏反应时, 肥大细胞脱颗粒, 产生炎症介质 (如组胺、花生四烯酸、中性蛋白酶、血小板活化因子等), 其炎症介质可诱发冠脉收缩、斑块侵蚀和破裂, 最终导致血管痉挛、斑块破裂、血栓形成等, 从而引发 ACS^[3]。而过敏反应的机制是由抗原特异性免疫球蛋白 (Ig) E 与其表面高亲和力 IgE 受体结合来激活肥大细胞^[2]。此外, Kovanen 等^[22]报道, 冠状动脉斑块侵蚀或破裂部位肥大细胞脱颗粒程度明显高于邻近区域或较远的未受影响区域 (200:1)。本例患者为男性, 66 岁, 吸烟, 无药物及食物过敏史, 合并冠心病等多种基础疾病, 且此次不良反应由头孢曲松引发, 发生不良反应时, 心电图呈 ST 段弓背抬高动态演变, 符合 II 型 KS 特征。

目前,关于KS的临床诊断为临床症状、体征、实验室检查(嗜酸性粒细胞直接计数升高或心肌标志物如肌钙蛋白I升高等)^[2]、12导联心电图(如ST段抬高或压低)以及超声心动图、血管造影等^[2]。药物治疗主要包括停用可疑药物、抗过敏及ACS处理。可使用糖皮质激素类药物、抗组胺药以及改善血管痉挛的血管扩张剂(钙离子通道拮抗剂和硝酸酯类药物),若出现急性心肌梗死可使用抗血小板和抗凝药物等^[2]。其中,肾上腺皮质激素适用于严重或迁延的急性过敏,但也有文献报道,肾上腺素可促进动脉粥样硬化斑块破裂和血压升高,有加重心肌缺血可能^[3,21],临床应慎用。本例患者在先后使用地塞米松、硝酸甘油、苯海拉明、肾上腺素等药物治疗后病情转归,但在治疗期间使用硝酸甘油后,血压降至90/60 mmHg,不排除与其易导致血压下降相关,临床需密切监测,并采取相应抢救措施。此外,发生不良反应期间肌钙蛋白I和嗜酸粒细胞直接计数显示正常,经药物治疗和症状缓解后患者嗜酸粒细胞明显降低。由于本例患者缺乏血管造影等相关检查,无法确诊是否有药物支架内血栓形成或狭窄可能,未来临床可考虑完善血管造影等,以更好地确诊KS的分型。

通过分析本案例,了解到由抗菌药物引发的KS并非罕见,但其与过敏反应相似,易导致临床对其漏诊或误诊。尤其是针对中老年男性,当同时存在冠心病等多种危险因素时,发生过敏反应时,临床应首先考虑与KS相鉴别,同时完善心电图、心肌酶、血常规等,以快速诊疗KS,提高KS的救治率。

参考文献

- [1] Kounis NG, Zavras GM. Histamine-induced coronary artery spasm: the concept of allergic angina [J]. Br J Clin Pract, 1991, 45 (2): 121-128.
- [2] Kounis NG. Kounis syndrome: an update on epidemiology, pathogenesis, diagnosis and therapeutic management [J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54 (10): 1545-1559.
- [3] Poggiali E, Benedetti I, Vertemati V, et al. Kounis syndrome: from an unexpected case in the Emergency Room to a review of the literature [J]. Acta Biomed, 2022, 93 (1): e2022002.
- [4] Caglar FN, Caglar IM, Coskun U, et al. Kounis syndrome: myocardial infarction secondary to an allergic insult—a rare clinical entity [J]. Acta Cardiol, 2011, 66 (4): 559-562.
- [5] Ilgenli TF, Açikalin A, Türkmen S, et al. ST elevation in inferior derivation, coronary ectasia, and slow coronary flow following ceftriaxone use [J]. Am J Emerg Med, 2012, 30 (8): 1657.
- [6] Yurtdaş M, Aydın MK. A case of coronary spasm with resultant acute myocardial infarction: likely the result of an allergic reaction [J]. Intern Med, 2012, 51 (16): 2161-2164.
- [7] Ricciardi L, Furci F, Casciaro M, et al. Drug induced Kounis syndrome: does oxidative stress play a role? [J]. Clin Mol Allergy, 2018, 16: 21.
- [8] Forlani D, Scarano G, D'Alleva A, et al. Kounis syndrome as first manifestation of allergic sensitization [J]. Case Rep Med, 2019, 2019: 6317956.
- [9] Saleh AA. Kounis syndrome: acute inferior myocardial infarction with atroventricular node block due to ceftriaxone: a first reported case [J]. Ann Saudi Med, 2014, 34 (3): 250-253.
- [10] Çakmak A, Keskin G. Kounis syndrome: is ceftriaxone or metronidazole responsible for acute myocardial infarction? A rare case [J]. Anatol J Cardiol, 2021, 25 (6): 451-452.
- [11] Almegbel M, Alshamardi K, Aleshaiwi L, et al. Kounis syndrome: a case report and a review of recent literature [J]. Cureus, 2024, 16 (7): e64627.
- [12] Ali S, Athar M, Rahman R, et al. Ceftriaxone-induced Kounis syndrome: a case report and review of the literature [J]. Rev Esp Anesthesiol Reanim (Engl Ed), 2024, 71 (2): 129-133.
- [13] Ollo-Morales P, Gutierrez-Niso M, De-la-Viuda-Camino E, et al. Drug-induced Kounis syndrome: latest novelties [J]. Curr Treat Options Allergy, 2023, 10: 1-18.
- [14] Yakushin S, Gurbanova A, Pereverzeva K. Kounis syndrome: review of clinical cases [J]. Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets, 2024, 24 (2): 83-97.
- [15] Wang C, Zhou Y, Fang W, et al. Clinical features, diagnosis and management of amoxicillin-induced Kounis syndrome [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 998239.
- [16] Fang WJ, Song LY, Deng ZZ, et al. Analysis of clinical features of kounis syndrome induced by cephalosporin [J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 885438.
- [17] 潘振峰, 李岩, 周增慧, 等. 舒巴坦制剂致 Kounis 综合征的文献病例分析 [J]. 中国药学杂志, 2024, 59 (12): 1161-1164.
- [18] Koniari I, Kounis NG, Soufras G, et al. Quinolone-induced hypersensitivity reactions and the Kounis syndrome [J]. Rev Port Cardiol, 2017, 36 (6): 481-482.
- [19] Giovannini M, Koniari I, Mori F, et al. Kounis syndrome: a clinical entity penetrating from pediatrics to geriatrics [J]. J Geriatr Cardiol, 2020, 17 (5): 294-299.
- [20] Kounis NG, Mazarakis A, Tsigkas G, et al. Kounis syndrome: a new twist on an old disease [J]. Future Cardiol, 2011, 7 (6): 805-824.
- [21] 韩德宽, 牛东升, 赵红亮. 库尼斯综合征的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2024, 45 (4): 332-335.
- [22] Kovanen PT, Kaartinen M, Paavonen T. Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction [J]. Circulation, 1995, 92 (5): 1084-1088.

(收稿日期: 2024-12-30; 修回日期: 2025-02-18)

替雷利珠单抗注射液致乳腺癌患者全身免疫反应 1 例

李立¹, 卢丹丹², 王彩虹¹, 孟笑玮¹, 王慧¹ (河北中石油中心医院, 1.医疗质量控制办公室; 2.临床药学办公室, 河北 廊坊 065000)

关键词: 替雷利珠单抗; 乳腺癌; 全身免疫反应; 药品不良反应

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3114-03

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.051

恶性肿瘤的疾病死亡率在全球大部分国家中排前二位, 而我国恶性肿瘤发病率和病死率在全球均排第一位。传统的手术治疗、放射治疗(简称放疗)和化学药物治疗(简称化疗)对人体正常组织损伤较大, 肿瘤免疫疗法已经成为继化疗、放疗、靶向治疗后治疗多种恶性肿瘤的重要临床策略, 尤其是以程序性死亡受体-1(PD-1)为靶点的免疫检查点抑制剂(ICI)。替雷利珠单抗属新型肿瘤免疫治疗药物, 乳腺癌细胞表面大量表达程序性死亡配体-1(PD-L1), 阻断PD-1/PD-L1轴将是乳腺癌治疗的一种主要策略^[1], 报道显示, 雷利珠单抗联合阿帕替尼治疗乳腺癌的疗效优于阿帕替尼单药疗效, 且安全性可控^[2]。替雷利珠单抗越来越多地应用于乳腺癌的治疗, 一般认为肿瘤免疫治疗安全性较高, 但免疫相关不良事件(irAE)也时有发生。本文报道 1 例由替雷利珠单抗引发乳腺癌患者全身免疫的不良反应, 供相关医务工作者参考。

1 病历资料

患者女, 33 岁, 身高 158 cm, 体重 66 kg, 主因“左乳癌再发术后拟行第 5 周期化疗”, 于 2024 年 7 月 8 日入院。患者否认既往患有冠心病、高血压、糖尿病等合并疾病以及自身免疫性疾病史, 否认肝炎、结核、伤寒、疟疾等传染病史, 曾在 2021 年 9 月于廊坊市人民医院行剖宫产手术, 产 1 子, 体健, 否认药物、食物及其他过敏史, 无其他不良反应史。患者于 2 年前发现左乳浸润癌 cT2N1Mx, 于 2023 年 3 月 21 日在全身麻醉下行左侧乳房保留乳头乳晕复合体的皮下腺体切除术+左侧腋窝淋巴结清扫术+乳房假体植入术, 手术顺利。2024 年 4 月 25 日因左乳再发恶性肿瘤, 在全麻下行左乳癌根治术+假体取出术, 手术顺利。术后分别于 2024 年 5 月 20 日和 6 月 11 日行 2 周期恶性肿瘤免疫、化疗, 免疫治疗方案为替雷利珠

单抗注射液(广州百济神州生物制药有限公司, 批号: G202402009) 200 mg + 0.9% 氯化钠注射液(大连大冢制药有限公司, 批号: 24053032) 100 mL, 每 3 周 1 次, 化疗方案为注射用紫杉醇(白蛋白结合型)[齐鲁制药(海南)有限公司, 批号: AA1Q4075B] + 0.9% 氯化钠注射液(大连大冢制药有限公司, 批号: 24053032) 80 mL, 每 3 周 1 次。患者在第 2 周期化疗后 1 周出现心慌、心悸、眼干、咽喉疼痛等症状, 入院后完善相关检查检验, 包括甲状腺功能、肝功能、心肌梗死三项、自身免疫性肝病抗体、甲状腺 B 超、抗核抗体+抗双链 DNA 等, 结果提示: 总三碘甲状腺原氨酸(TT₃) 3.25 nmol·L⁻¹(参考范围 0.92 ~ 2.38 nmol·L⁻¹), 总甲状腺素(TT₄) 233.89 nmol·L⁻¹(参考范围 69.71 ~ 163.95 nmol·L⁻¹), 促甲状腺素(TSH) 0.011 mIU·L⁻¹(参考范围 0.56 ~ 5.91 mIU·L⁻¹), 谷丙转氨酶(ALT) 80.0 U·L⁻¹(参考范围 7 ~ 40 U·L⁻¹), 谷草转氨酶(AST) 59.6 U·L⁻¹(参考范围 13 ~ 35 U·L⁻¹), γ -谷氨酰转氨酶(GGT) 63 U·L⁻¹(参考范围 7 ~ 45 U·L⁻¹), 乳酸脱氢酶(LDH) 317.0 U·L⁻¹(参考范围 120 ~ 250 U·L⁻¹), α -羟丁酸脱氢酶(HBDH) 282.0 U·L⁻¹(参考范围 72 ~ 182 U·L⁻¹), 肌酸激酶(CK) 340.00 U·L⁻¹(参考范围 40 ~ 200 U·L⁻¹), 高敏肌钙蛋白(TNSH) 959.40 ng·L⁻¹(参考范围 0 ~ 11 ng·L⁻¹), 肌红蛋白(MYO) 104.00 ng·L⁻¹(参考范围 0 ~ 46 ng·L⁻¹), 心电图提示 T 波改变, 抗 RO-52 抗体: 阳性, 甲状腺 B 超提示: 甲状腺弥漫性病变, 抗核抗体胞浆抗体弱阳性。

结合上述结果, 医师考虑不排除免疫性心肌炎、免疫性甲状腺损伤, 亦不排除肝脏免疫不良反应。科室组织多学科会诊, 眼科专家建议患者行泪腺超声检查, 评估泪腺受累程度, 与干燥综合征引起的干眼症相鉴别, 并明确干眼症是否与

基金项目: 廊坊市科技支撑计划项目 (No.2017013061)。

作者简介: 李立, 女, 副主任药师, 主要从事临床药学与医院药学研究, email: lili2dc@126.com

应用替雷利珠单抗相关。患者肝酶升高并结合肝自身免疫抗体抗 RO-52 阳性，感染科专家考虑肝自身免疫不良反应导致，建议给予保肝药治疗。心内科专家诊断患者心肌损伤，建议给予辅酶 Q10、维生素 C 口服，同时酌情给予心电监护或动态心电图，观察有无心律失常。内分泌专家考虑患者甲状腺功能异常为一过性甲状腺炎，为免疫治疗不良反应，暂无特殊处理，停用免疫治疗后监测甲状腺功能。免疫科专家考虑患者为全身免疫反应，目前症状轻，可不给予特殊处理，监测各项指标。药学专家考虑患者为免疫治疗引起的全身免疫反应，建议停用替雷利珠单抗注射液，并密切监测相关指标。综合会诊讨论意见，患者目前所出现的眼干症状及肝功能、甲状腺功能、心肌酶等指标异常，为化疗、免疫治疗导致的不良反应，肝功能、甲状腺功能轻度损伤，心肌损伤较为明显，暂停化疗及免疫治疗，予以对症治疗改善症状，暂不需激素治疗。

患者自 2024 年 7 月 8 日起停用替雷利珠单抗注射液，改用注射用紫杉醇（白蛋白结合型）单药化疗，并口服双环醇片 50 mg tid 保肝治疗。患者分别于 7 月 29 日和 8 月 28 日住院化疗，并监测肝功能、心肌梗死三项、甲状腺功能等指标，检验结果提示上述指标逐渐恢复。9 月 18 日住院期间监测上述指标均恢复正常，眼干症状较前缓解，泪腺超声提示泪腺回声略不均，提示腺体有轻度破坏。

2 讨论

2.1 关联性评价

本例患者乳腺癌术后化疗应用替雷利珠单抗注射液免疫治疗后出现多器官免疫反应，患者既往无干眼症、心脏损伤、肝脏损伤、甲状腺功能异常及其他自身免疫性疾病，未见其他脏器转移瘤，在 2 周期免疫+化疗前监测相关指标均正常，故不考虑患者的眼干症状及肝脏、心脏和甲状腺异常由原发疾病导致。患者免疫治疗合并应用注射用紫杉醇（白蛋白结合型）化疗方案，查阅紫杉醇说明书和不良反应相关文献^[3-4]，不良反应发生率较高的为骨髓抑制、脱发、胃肠道反应及四肢麻木等，紫杉醇导致全身免疫不良反应未见相关报道，患者在停用替雷利珠单抗注射液后仍单药应用紫杉醇化疗，且单药应用紫杉醇期间各项检验指标逐渐恢复正常，故患者出现的眼干症状和肝脏、心脏、甲状腺等异常不考虑由紫杉醇导致。患者抗核抗体+抗双链 DNA 提示抗核抗体分型胞浆抗体弱阳性，考虑患者干眼症由替雷

利珠单抗引起的淋巴细胞过度表达，自身免疫引起泪腺受累。根据 Naranjo 氏评估量表^[5]中关于不良反应关联性评价，得分为 5 分（见表 1），为很可能，考虑患者多器官免疫反应与应用替雷利珠单抗注射液很可能相关。

表 1 Naranjo 氏不良反应关联性评价

问题	是	否	不知道	得分
该 ADR 以前是否曾有报告	+ 1	0	0	0
该 ADR 是否在使用可疑药物后出现	+ 2	- 1	0	+ 2
停药或使用拮抗剂，ADR 是否改善	+ 1	0	0	+ 1
再次使用该药 ADR 是否再现	+ 2	- 1	0	0
是否有其他原因也可引起该 ADR	- 1	+ 2	0	+ 2
给予安慰剂 ADR 能否再现	- 1	+ 1	0	0
血药浓度是否为中毒浓度	+ 1	0	0	0
ADR 的轻重是否与剂量相关	+ 1	0	0	0
患者以前使用该药或同类药物是否有类似 ADR	+ 1	0	0	0
该 ADR 是否经过客观检查证实	+ 1	0	0	0
总分				5

2.2 可能的机制

替雷利珠单抗是我国自主研发的一种新型人源化 IgG4 型 PD-1 抑制剂，可通过抑制 PD-1 与 PD-L1 的结合，激活 T 淋巴细胞，利用人体自身的免疫系统产生持续的抗肿瘤效应。PD-1 抑制剂引起免疫不良反应的机制为，T 淋巴细胞活性减弱导致细胞因子产生增多以及 B 淋巴细胞介导产生自身免疫抗体^[6]。该患者免疫不良反应累及泪腺、甲状腺、肝脏、心脏。查阅相关文献未见替雷利珠单抗致干眼症的报道，在干燥综合征的干眼症患者中泪腺超声提示泪腺在大量淋巴细胞浸润下有不同程度的破坏^[7]。该患者泪腺超声提示回声略不均，考虑在应用替雷利珠单抗后淋巴细胞在泪腺过度表达，使得泪腺在一定程度上被破坏，可能的机制类似于干燥综合征的自身免疫反应导致的干眼症。

替雷利珠单抗注射液引起的甲状腺功能异常已有相关报道^[8]，机制是 PD-1 在所有 B 淋巴细胞表面表达，包括分泌免疫球蛋白 M（IgM）的记忆 B 细胞^[9-10]。甲状腺功能减退症是甲状腺不良反应最常见的表现，通常发生在联合治疗开始后约 63 d，单独使用 PD-1 抑制剂后约 70 d^[11]。极少数情况下，可能会发生甲状腺功能减退症相关的肌炎，包括严重的肌痛、关节痛和高水平的肌酸激酶^[12-13]。

替雷利珠单抗致免疫性肝损伤主要表现为 ALT 值或 AST 值升高，伴或不伴有胆红素升高，临床症状不明显，有时伴发热、疲惫和食欲下降等

非特异性症状。替雷利珠单抗所致的免疫性肝损伤可能的机制为机体免疫应答的增强，增加了 T 淋巴细胞对抗肿瘤细胞的作用，同时又增强对正常肝

脏组织的破坏^[14]。目前国际上通常将药物性肝损伤严重程度分为 G1 ~ G4 级^[15]，见表 2，该患者根据分级标准确定为肝损伤 G1 级即轻度肝损伤。

表 2 药物性肝损伤分级

项目	G1 (轻度)	G2 (中度)	G3 (重度)	G4 (威胁生命)
AST 或 ALT	< 3 ULN	3 ~ 5 ULN	5 ~ 20 ULN	> 20 ULN
ALP 或 GGT	< 2.5 ULN	2.5 ~ 5 ULN	5 ~ 20 ULN	> 20 ULN
TBil	< 1.5 ULN	1.5 ~ 3 ULN	3 ~ 10 ULN	> 10 ULN

注：ALP. 碱性磷酸酶；ULN. 正常值上限。

替雷利珠单抗注射液致免疫性心肌炎病例已有相关报道^[16-17]。目前，导致免疫性心肌炎的生理病理机制尚不完全明确，免疫系统本身的改变可能是免疫性心肌炎的诱发因素之一。阻断 PD-1 通路可能导致心肌自我保护机制失调，心肌内稳态失衡，增强 T 淋巴细胞对心肌细胞的反应性，引发心肌炎性细胞浸润和纤维化^[18]。该患者出现明显心脏不适，心电图提示 T 波改变，同时伴随 CK 和 TNSH 的明显升高。

2.3 预防和治疗

替雷利珠单抗引发内分泌系统异常的时间通常为 63 ~ 70 d^[11]，该患者出现全身免疫不良反应的时间为首次用药后 28 d，较文献报道时间出现早。在应用替雷利珠单抗后出现的甲状腺功能亢进的患者应密切监测甲状腺功能，一旦进入甲状腺功能减退症期应及时补充甲状腺激素治疗。该患者的肝损伤可不应用糖皮质激素等治疗，并可在肝功能恢复后复用替雷利珠单抗注射液。该患者出现眼干症状，泪腺有一定程度的破坏，故在应用替雷利珠单抗的患者早期出现眼干症状时，需超声评估泪腺受累程度，早期干预，对于干眼症状，可应用人工泪液或眼部凝胶等缓解症状。通过该例不良反应的监测和报道，建议应用替雷利珠单抗进行免疫治疗的人群在治疗过程中，应在用药前、用药期间常规监测肝功能、心肌梗死三项、甲状腺功能等指标，如发现异常及时评估是否为替雷利珠单抗引起的不良反应，早期评估患者应用替雷利珠的适用性，使患者早期获益。

参考文献

[1] 秦薛斌, 纪智礼. 乳腺癌免疫治疗临床研究进展 [J]. 中国医药杂志, 2024, 19 (8): 1258-1262.

[2] 虞伟妃, 汪笑秋, 赵丽萍, 等. 阿帕替尼联合替雷利珠单抗治疗三阴性乳腺癌的疗效和安全性分析 [J]. 中国妇幼保健杂志, 2024, 39 (21): 4191-4194.

[3] 胜男. 抗肿瘤药紫杉醇注射治疗患者的不良反应发生情况分析 [J]. 中国当代医药, 2022, 29 (7): 1156-1121.

[4] 唐宗虎. 紫杉醇注射液不良反应及临床合理用药分析 [J].

临床合理用药杂志, 2022, 15 (20): 170-172.

[5] 魏晶, 王瑜歆. 药品不良反应报告因果关系评价方法概述 [J]. 中国药物警戒, 2011, 8 (10): 600-603.

[6] 林恒, 谢强. PD-1 抑制剂一线治疗晚期非小细胞肺癌的疗效和安全性 [J]. 中国新药与临床杂志, 2021, 40 (6): 436-440.

[7] 冯丹, 周素芬, 刘月君, 等. 干燥综合征不同程度干眼患者的泪腺超声表现 [J]. 中国超声医学杂志, 2023, 39 (6): 609-612.

[8] 庞婕, 郭玉竹, 骆继业. 替雷利珠单抗致自身免疫性多内分泌腺综合征 1 例 [J]. 医药导报杂志, 2024, 43 (2): 308-311.

[9] Sanchez K, Page DB, Urba W. Immunotherapy toxicities [J]. Surg Oncol Clin N Am, 2019, 28 (3): 387-401.

[10] Chhabra N, Kennedy J. A review of cancer immunotherapy toxicity: immune checkpoint inhibitors [J]. J Med Toxicol, 2021, 17 (4): 411-424.

[11] Bhandari S, Gill AS, Perez CA, et al. Management of immunotherapy toxicities in older adults [J]. Semin Oncol, 2018, 45 (4): 226-231.

[12] Johnson ED, Kerrigan K, Butler K, et al. Nivolumab-induced hypothyroidism with consequent hypothyroid related myopathy [J]. J Oncol Pharm Pract, 2020, 26 (1): 224-227.

[13] Badovinac S, Korsic M, Zarkovic K, et al. Nivolumab-induced synchronous occurrence of myositis and hypothyroidism in a patient with squamous cell lung cancer [J]. Immunotherapy, 2018, 10 (6): 427-431.

[14] Peeraphatdit TB, Wang J, Odenwald MA, et al. Hepatotoxicity from immune checkpoint inhibitors: a systematic review and management recommendation [J]. Hepatology, 2020, 72 (1): 315-329.

[15] Kleiner DE, Chalasani NP, Lee WM, et al. Hepatic histological findings in suspected drug-induced liver injury: systematic evaluation and clinical associations [J]. Hepatology, 2014, 59 (2): 661-670.

[16] 吕田园, 张新峰, 王佳, 等. 替雷利珠单抗致严重免疫性心肌炎 1 例 [J]. 中国医院药学杂志, 2024, 44 (2): 241-244.

[17] 邹娟, 湛甜甜, 魏安华, 等. 替雷利珠单抗致免疫性心肌炎二例 [J]. 临床药物治疗杂志, 2023, 21 (9): 87-89.

[18] 李松珊, 曹慧丽, 赵娅敬, 等. 程序性死亡受体 1 抑制剂相关性心肌炎研究进展 [J]. 中国心血管病研究, 2022, 20 (7): 662-666.

(收稿日期: 2024-12-30; 修回日期: 2025-03-06)

1 例来曲唑片导致的迟发性皮肤不良反应与药物重整分析

王忠江^{1,2}, 黄怡涵³, 王欢⁴, 杨燕^{1*} (1.空军军医大学第二附属医院药剂科, 西安 710038; 2.丹凤县医院药剂科, 陕西 商洛 726200; 3.榆林市子洲县中医医院药剂科, 陕西 榆林 718400; 4.空军军医大学第二附属医院皮肤科, 西安 710038)

关键词: 乳腺癌; 来曲唑; 皮肤瘙痒; 临床药师; 不良反应; 药物重整

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3117-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.052

药疹亦称为药物性皮炎, 指药物通过口服、注射、吸入等各种途径进入人体后引起的皮肤黏膜炎症性皮损, 严重时可累及机体的其他系统, 属于皮肤药品不良反应。药物引起的不良反应很常见, 可累及 2% ~ 3% 的住院患者, 是门诊并发症的重要原因^[1]。严重的皮肤不良反应如果得不到及时救治, 不仅严重影响患者的生活质量, 甚至影响患者的生命。来曲唑不良反应主要集中在骨关节、心血管, 引起迟发型皮肤不良反应相对较少^[2]。不良反应监测是临床药师工作的重要切入点, 药源性疾病也是临床药师需要参与药物服务的重点内容^[3]。本文从临床药师的角度对 1 例乳腺癌患者放化疗后接受来曲唑片内分泌治疗出现严重皮肤反应进行分析判断及药物重整, 以期临床提供参考。

1 病例发现与病史资料

1.1 病例发现过程

2024 年 8 月 23 日患者于空军军医大学第二附属医院药学科门诊进行药学咨询, 反映全身瘙痒, 双腿更为严重, 接诊药师初步查体: 患者双下肢小腿, 皮肤黧黑, 色素沉着, 多处陈旧性瘢痕, 伴随静脉曲张, 可见多处破溃伴黑色痂, 黑痂下隐约可见黄绿色包裹性脓液, 无渗出, 触之有压痛 (见图 1A)。患者自诉 5 年前发现患乳腺癌, 规律口服来曲唑片 (浙江海正药业股份有限公司, 规格: 2.5 mg×30 粒) 辅助内分泌治疗 5 年。

1.2 病史资料及诊疗过程回顾

患者, 55 岁, 女性, 64 kg, 49 岁绝经。2019 年 3 月无明显诱因发现左侧乳腺包块, 自诉偶感胀痛。专科检查: 胸廓对称无畸形, 双侧乳腺对称, 无乳头溢液及橘皮样改变, 左侧乳腺上方可见皮肤内陷, 无乳头溢液, 可触及直径约 2



图 1 就诊时双下肢皮肤状况

A. 2024 年 8 月 23 日; B. 2024 年 9 月 15 日

cm×2 cm×3 cm 的包块, 与周围组织界限差, 活动度差, 压痛阴性。左侧乳房正常, 皮肤无橘皮样改变, 无溃疡, 双侧腋窝及双侧锁骨上窝未扪及肿大淋巴结。

行乳腺彩超示: 左侧乳腺内上象限低回声包块 (BI-RADS 分类: 4A 类), 右侧乳腺未见异常, 双侧颈部、锁骨上窝、右侧腋窝未见明确肿大淋巴结。乳腺 (左侧乳腺穿刺组织) 穿刺活检示: 送检纤维组织内查见少许异型细胞, 组织学特点提示恶性肿瘤。肿瘤细胞免疫学标记结果: Her-2 (1+), ER (+, 强阳性, 约 80%), PR (+, 强阳性, 约 85%)。

既往病史: 自述 2016 年因“股骨头坏死”行手术治疗, 并输血; 2016 年起双腿小腿逐渐出现静脉曲张, 未治疗, 近年来静脉曲张加重; 否认其他病史、特殊个人史, 否认易过敏体质。

1.3 主要诊疗过程

2019 年 4 月 4 日患者于唐都医院普外科全麻

基金项目:《临床重点药品的使用监测和评价研究专项 (2023)》(No.Y2023FH-YWPJ)。

作者简介: 王忠江, 男, 主管药师, 主要从事临床药学研究和个体化药学服务, email: 619705683@qq.com *通信作者: 杨燕, 女, 硕士, 副主任药师, 主要从事临床药学和医院药学研究, email: 632653418@qq.com

下行“左侧乳腺包块切除+前哨淋巴结活检术”，术后恢复良好。病理结果回报：左侧乳腺浸润癌，非特殊型，Ⅱ级。术后采用“AC→T”化疗方案[注射用盐酸吡柔比星 90 mg·m⁻²、d1(第1日)，注射用环磷酰胺 900 mg·m⁻²、d1，每 21 日一次，4 个周期；之后序贯多西他赛注射液 140 mg·m⁻²、d1，每 21 日一次，4 个周期]静脉化疗，化疗周期为 2019 年 5 月 10 日至 10 月 8 日。2019 年 11 月于放疗科行左侧乳腺、内乳及腋窝区适形放疗 DT 2.0 Gyx25f, 5f/w；完成后酌情瘤床区加量；追问后，患者自诉放疗科门诊规律放疗 28 次。

2024 年 3 月 12 日于唐都医院皮肤科门诊就诊。患者诉双下肢、腿部皮肤红斑疹瘙痒约 1 年，因瘙痒难耐，不自主抓痒，导致双下肢丘疹破溃，渗出红黄色的液体。请皮肤科会诊，教授指出该患者双下肢静脉曲张，粗细不等，胫前多处褐红色斑，部分表面糜烂，溃疡、血痂，左下肢外踝经足背连线靠近胫骨处增生性斑块约 3 cm×6 cm，中央破溃，黑痂，黄绿色包裹性脓液，触之有压痛，胫前内侧中下部褐色斑块约 1 cm×1 cm 中央黑痂，诊断为慢性皮炎，建议活检，但患者拒绝。开具润燥止痒胶囊 2 g po tid，枸地氯雷他定片 8.8 mg po qd，复方黄柏液涂剂、氧化锌油 20 g (20%) 外用涂抹患处，症状未缓解。2024 年 6 月，患者于当地民间行拔罐引流出黏稠的脓液约 30 mL。2024 年 7 月至 8 月，患者自行停止服

用来曲唑片大约 1 个月后，自觉小腿瘙痒明显减轻，后又担心停药后病情复发重新启用来曲唑片，服药至本次门诊就诊的前一日(2024 年 8 月 22 日)。2024 年 8 月 23 日，患者为乳腺癌术后复查再次就诊于唐都医院普外科门诊并开取来曲唑片，反映厂家规格未变更，再次启用来曲唑片后瘙痒症状加剧，于药学门诊咨询。

2 分析与讨论

2.1 药物性皮疹的诊断

根据中华医学会《药疹基层诊疗指南(2022 年)》诊断标准和诺氏药品不良反应因果关系评定量表(简称 Naranjo 评估量表)。该患者出现皮肤损伤与使用来曲唑片关联性分析：①该患者出现皮肤瘙痒、丘疹伴脓点之前以标准剂量长期服用来曲唑片，2.5 mg po qd，5 年 3 个月；②并未使用其他药物，使用润燥止痒胶囊、枸氯雷他定片，复方黄柏液涂剂、氧化锌油外用涂抹患处，症状未缓解；③2024 年 7 月自行停药来曲唑约 1 个月后，瘙痒症状缓解，再次启用症状加剧，可以判断该患者双下肢丘疹伴瘙痒与来曲唑片具有较强的因果、时间相关性；④该患者既往未患有皮肤相关疾病，否认毒物接触史，否认易过敏体质，否认药物、食物过敏史；⑤该患者 2016 年起双下肢患有静脉曲张，近年来逐渐加重，考虑与长期体力劳动有关。Naranjo 评估量表评分为 8 分，为很可能，见表 1。

表 1 Naranjo 评估量表评分标准^[1]

项目	评分 / 分			本例评分
	是	否	未知	
以前是否有关于此种不良反应确定的研究报告?	1	0	0	1
此种不良反应是否发生于服药之后?	2	-1	0	2
当停药或服用此药之解药，不良反应是否减轻?	1	0	0	1
停药一段时间再重新服用此药，同样的不良反应是否再度发生?	2	-1	0	2
有没有其他原因(此药物以外)可以引起同样的不良反应?	-1	2	0	2
当给予安慰剂时，此项不良反应是否会再度发生?	-1	1	0	0
药物的血药浓度是否达到中毒剂量?	1	0	0	0
对此患者而言，药物剂量与不良反应的程度是否成正相关?	1	0	0	0
患者过去对同样或类似药物是否也产生同样的不良反应?	1	0	0	0
此项不良反应是否有客观的证据证明是药物所引起?	1	0	0	0
合计				8

注：≤ 0 分为不可能有关；1~4 分为可能有关；5~8 分为很可能有关；≥ 9 分为肯定有关。

国内外既往研究和报道来曲唑片的不良反应有乏力、胃肠道反应、头痛、骨关节痛、潮热、骨质疏松、骨量减少、多囊卵巢综合征、致畸、肺纤维化、肝炎等^[2,4-9]，但是鲜有报道来曲唑片引起的严重皮肤瘙痒，如 Tripathy 等^[10]首次报道

了 1 位 61 岁女性浸润性导管乳腺癌患者经来曲唑治疗 6 个月后发现右大腿瘙痒病变；Azria 等^[11]报道了 2 例乳腺癌患者经放疗同步和序贯来曲唑片治疗后出现了迟发性的 2 级及以上严重的皮肤不良反应，王冠钰等^[12]报道了 1 例来曲唑片导

致的湿疹型皮疹。同时诺华公司的来曲唑片说明书也提示来曲唑片导致的瘙痒、风疹发生频率在 0.1% ~ 1%。

综上所述,结合国内外有限的来曲唑皮肤不良反应报道和本例患者 Naranjo's 评分为 8 分,判断该患者发生的少见、严重的迟发性皮肤瘙痒、丘疹不良反应,与长期服用来曲唑片关系密切。

2.2 来曲唑片引发皮肤不良反应可能的原因

瘙痒的主要原因有系统性疾病、身心疾病及药物等,机制上分为组胺依赖性和非组胺依赖性^[13]。结合该患者病史及经相关药物治疗瘙痒症状未曾缓解,基本排除过敏、皮肤干燥、系统性疾病等原因。因此推测,皮肤瘙痒可能与放疗辐射诱导、芳香化酶基因的多态性以及来曲唑未被鉴定的代谢产物激发的非组胺依赖性炎症有关。

2.2.1 放疗辐射诱导可能诱发不良反应 放射性皮炎典型症状是毛细血管扩张、色素沉着、皮肤萎缩、皮肤硬化和角化病^[14]。在放疗治疗结束后 5 ~ 10 年出现的皮炎被称为慢性或迟发性皮炎^[15]。一项样本为 150 例患者的开放标签、多中心 II 期随机试验^[11]发现:放疗同步序贯来曲唑片治疗乳腺癌患者,均出现了 2 级或更严重的皮肤相关毒性反应,大多为皮炎,中位随访 26 个月,每组出现了 2 例迟发性的 2 级或更严重的不良反应(均为辐射诱导下的皮肤纤维化)。但该研究中位随访时间仅为 26 个月,且样本量较小,亦未能解释放疗辐射诱导来曲唑片引发皮肤毒性的机制。放射性皮炎是放疗后普遍的不良反应,通常发生在 2 ~ 3 周^[16-17],Jamaluddin 等^[18]报道了 1 例发生在放疗后 40 年的放射回忆性皮炎病例。以上提示放疗辐射可能导致的皮肤炎症可能发生在放疗的多年以后。

2.2.2 来曲唑的不良反应可能与芳香化酶基因多态性相关 乳腺癌是一种雌激素依赖性疾病,而雌激素生物合成的关键酶为芳香化酶[细胞色素 P450 19 (CYP19)],芳香化酶催化雄激素向雌激素转化。芳香化酶基因位于染色体 15q21,存在于卵巢、睾丸、乳腺、脂肪、脑、胎盘和骨等多种器官或组织^[19]。一项早期研究发现,芳香化酶基因 CYP19 存在着广泛的多态性,与 COS-1 细胞中瞬时表达后的野生型(WT)酶相比,Cys264、Thr364 和双变体 Arg39Cys264 同种异体酶的活性和免疫反应蛋白水平显著降低^[20]。尤其是芳香化酶抑制剂(AIs)依西美坦和来曲唑对双突变体 Arg39Cys264 同种异体酶的抑制常数与 WT 酶显著不同,这表明 CYP19

的遗传变异可能导致雌激素依赖性疾病的病理生理学变异。Umamaheswaran 等^[21]研究指出编码芳香酶的 CYP19A1 基因中的单核苷酸多态性(SNP)与 AIs 治疗相关的药品不良反应有关。有研究显示,CYP 2A6 基因变异导致血浆来曲唑片浓度是正常基因型的 8.5 倍,依据基因型将患者分为来曲唑的标准代谢者、中间代谢者和慢代谢者,强调来曲唑片代谢的个体间差异^[22-24]。这些研究证明了芳香化酶基因在雌激素信号传导和合成中影响来曲唑片疗效和不良事件(AE)的有力证据。另有研究显示,雌激素水平与炎症细胞因子[白细胞介素(IL)-6、IL-7]成负相关,AIs 通过降低雌激素水平达到治疗目的,但炎症细胞因子水平升高,从而诱导炎症的发生^[25-26]。非组胺性瘙痒是由瘙痒原介导的,炎症细胞因子[如 IL-1、IL-4、IL-13 和 IL-31]就是瘙痒原之一^[27]。其中 IL-4、IL-13、IL-31 可分别与感觉神经元上受体(IL-4R α 与 IL-31RA)直接结合^[28-29],当这些物质在皮肤积累足够多时可能导致剧烈瘙痒。基于以上研究,芳香化酶基因多态性影响着来曲唑的血药浓度,间接影响着体内雌激素水平,以致炎症细胞因子水平升高,导致了瘙痒。患者的双下肢静脉曲张导致静脉血液回流受阻,可能引起局部雌激素水平异常进而引起炎症反应,从而导致局部剧烈瘙痒。AIs 影响体内雌激素水平,但现有的 AIs 迟发的皮肤瘙痒报道并不常见。因此推测该患者属于人群中少见的芳香化酶基因型,但目前缺少芳香化酶基因型与皮肤不良反应(主要是皮肤瘙痒)之间关系的研究。

2.2.3 来曲唑在体内未知的代谢产物可能引发皮肤不良反应 来曲唑片药品说明书显示:来曲唑片在组织中分布迅速、广泛,稳态时的表观分布容积为 $(1.87 \pm 0.47) \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。健康绝经后志愿者服用 2.5 mg 来曲唑片后, $(88 \pm 7.6) \%$ 药物经肾脏排泄,直到用药 216 h 后,尿液中收集到的放射活性物质中约 9% 为两种未鉴定的代谢物。未被鉴定的代谢产物是否在体内发挥着生物学效应,是否与本例患者的皮肤瘙痒有关,这些都不待而知。因此,来曲唑在体内被鉴定的代谢产物可能是导致皮肤瘙痒的原因之一。

综上所述,本例患者口服来曲唑片后的相关皮肤不良反应可能与放疗辐射诱导、芳香化酶基因多态性、来曲唑在体内代谢的两种未鉴定的代谢物有关。

3 药物重整与随访

3.1 循证依据

3.1.1 指南推荐 《乳腺癌内分泌治疗药物药学服务指南(2023 版)》指出,早期乳腺癌绝经后辅助治疗批准的 AI 药物包括来曲唑片、阿那曲唑、依西美坦片等,它们的扩展适应证相同。对于乳腺癌术后内分泌辅助治疗方案,《中国抗癌协会乳腺诊治指南与规范(2024 版)》推荐所有绝经后 ER 和 PR 阳性患者接受 AI 治疗,不同种类 AI 均可选择,主要考虑药物的耐受性和安全性。因此,这种情况下在决定最佳治疗方法时,应考虑患者的偏好、耐受性和经济限制^[30]。

3.1.2 疗效与不良反应比较 承晓定等^[31]研究显示依西美坦片与来曲唑片在治疗绝经后激素受体阳性乳腺癌患者的有效性方面差异无统计学意义(93.33% vs 86.67%);不良反应发生率方面依西美坦片更低(6.67% vs 33.33%, $P < 0.05$)。关于各类 AI 的皮肤不良反应的数据比较有限,国内一篇较早期的文章^[9]回顾分析了三代 AI 的不良反应,依西美坦片与来曲唑的皮肤瘙痒发生率(0.65% vs 0.51%)及皮疹发生率(0 vs 1.52%)区别不大,但该文献研究的样本量较小,且纳入的文献证据级别不高,因此参考意义不大。

3.2 临床药师给出重整建议

基于以上依据、患者病史及患者目前治疗需要,临床药师综合考虑了药物的安全性、有效性、患者的经济承受能力等因素,建议停止服用来曲唑片,更换为依西美坦片 25 mg qd po 治疗,主管医师全面评估患者病情后予以采纳。

3.3 药学随访

2024 年 8 月 23 日药学门诊随访,患者诉对比之前瘙痒程度明显减轻,发作时抓挠后会得到缓解,采用中国医师协会皮肤科医师分会发布的《慢性瘙痒管理指南(2024 版)》推荐的数值评定量尺法(NRS)评分为 7 分;9 月 25 日电话随访,患者诉只是偶尔感觉到皮肤上有轻微的刺痒感,可忍受,能够安稳睡眠,发来图片可见双下肢色素沉着斑,局部脱屑,血痂及糜烂面较前减少,左下肢斑块处黑痂脱落,无脓性分泌物,皮损较前变薄(见图 1B),瘙痒程度评分为 3 分。鉴于依西美坦片常见不良反应为轻度至中度潮热、关节痛、疲劳、头痛、失眠和出汗增多,临床药师给患者建立门诊档案,制订随访计划,将患者纳入重点随访对象,建议患者服用依西美坦片 3 个月后查血常规、肝肾功能,6 个月查骨密度,肿瘤标志物、影像学指标,如有不适及时复诊。

3.4 预防措施建议

来曲唑可以在乳腺癌激素受体阳性患者手术后与放疗同时给药,但是长期辅助治疗应谨慎评估皮肤瘙痒发生的风险。来曲唑主要通过肝脏 CYP3A4 和 CYP2A6 代谢,可中度抑制 CYP2A19^[32]。对于乳腺癌激素受体阳性患者,建议如下:① 用药前应该谨慎评估患者体格体质,如是不是过敏体质,询问既往病史,瘙痒相关病史、是否具有肝肾功能异常、皮肤痒觉神经敏化等系统性疾病,芳香化酶相关基因的代谢类型,谨慎与 CYP3A4 和 CYP2A6 强抑制剂或 CYP3A4 强诱导剂合用;谨慎与主要依靠 CYP2A19 消除且治疗窗较窄的药物(如苯妥英、氯吡格雷)合用;② 交代患者可能出现的不良反应及应对措施、积极随诊,如教育患者避免过度洗浴、使用非碱性肥皂等,减少或避免剧烈搔抓,控制瘙痒-搔抓循环;③ 提醒患者治疗过程中保持警惕,一旦出现皮肤瘙痒、丘疹等症状,及时皮肤科复诊,行皮肤组织病理、血清生化检查,必要时行神经电生理及神经影像学检查,明确瘙痒原,去除诱因并积极治疗原发病或对症治疗。

4 总结

来曲唑临床应用广泛,严重的迟发性皮肤瘙痒发生率低,不易被发现。该病例提示临床药师需要关注药物少见的不良反应,保持对药品不良反应识别的敏感性,以早期识别相关信号,尽快协助医师作出临床决策。需要指出的是,本文存在一定的局限性:没有进行皮肤特异性斑片试验、皮肤活检;随访时,侧重于患者的实际感受反馈,疏忽了客观的实验室检查如芳香化酶基因型的监测等;由于目前对伴发疾病(静脉曲张)及其与来曲唑相互作用的了解有限,本文没有提供关于来曲唑相关皮肤瘙痒潜在机制的决定性证据,其与基因相互作用尚未在任何实验模型中得到验证。

参考文献

- [1] 中华医学会.药疹基层诊疗指南(2022 年)[J].中华全科医师杂志,2022,21(9):804-813.
- [2] 张琪琳,丁玉峰,陈力,等.基于 FAERS 数据库的芳香化酶抑制剂不良事件信号挖掘研究[J].中国现代应用药学,2023,40(2):224-231.
- [3] 范小飞,郭道华,范国荣,等.临床药师在消化科病房开展闭环式药学服务模式的探讨及案例分析[J].中南药学,2020,18(10):1754-1758.
- [4] 洪瑞彩,程俏添,冯光辉,等.他莫昔芬与来曲唑治疗绝经后激素受体阳性乳腺癌的疗效与安全性[J].中国医药科学,2019,9(23):80-82.
- [5] 张利军.来曲唑新辅助治疗老年绝经后乳腺癌临床疗效

- 观察[J].实用中西医结合临床, 2017, 17(8): 84-85.
- [6] 林力生和李魁. 来曲唑与依西美坦在绝经后老年乳腺癌新辅助内分泌治疗中的临床效果评价[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(2): 119-122.
- [7] 李山岭. 来曲唑用于绝经后期乳腺癌治疗的疗效分析[J]. 湖北民族学院学报, 2018, 35(2): 48-50.
- [8] Mukherjee AG, Wanjari UR, Nagarajan D, et al. Letrozole: pharmacology, toxicity and potential therapeutic effects[J]. Life Sci, 2022, 310: 121074.
- [9] 阳乐, 唐尧, 徐珽, 等. 芳香化酶抑制剂治疗乳腺癌的不良反应回顾性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2009, 29(8): 654-657.
- [10] Tripathy A, Kumari KM, Babu AVM, et al. Anything rare is possible: letrozole induced eczematous skin eruption[J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(6): Yd03-04.
- [11] Azria D, Belkacemi Y, Romieu G, et al. Concurrent or sequential adjuvant letrozole and radiotherapy after conservative surgery for early-stage breast cancer (CO-HO-RT): a phase 2 randomised trial[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(3): 258-265.
- [12] 王冠钰, 李薇薇, 郭独一, 等. 来曲唑致湿疹型药疹一例[J]. 中华皮肤科杂志, 2021, 54(11): 1007-1008.
- [13] 中国医师协会皮肤科医师分会. 慢性瘙痒管理指南(2024版)[J]. 中华皮肤科杂志, 2024, 57(5): 387-399.
- [14] Whelan TJ, Pignol JP, Levine MN, et al. Long-term results of hypofractionated radiation therapy for breast cancer[J]. N Engl J Med, 2010, 362(6): 513-520.
- [15] Seit  S, Bensadoun RJ, Mazer JM. Prevention and treatment of acute and chronic radiodermatitis[J]. Breast Cancer (Dove Med Press), 2017, 9: 551-557.
- [16] Valakh V, Trombetta MG, Werts ED, et al. Influence of concurrent anastrozole on acute and late side effects of whole breast radiotherapy[J]. Am J Clin Oncol, 2011, 34(3): 245-248.
- [17] Backler C, Bruce SD, Suarez L, et al. Radiodermatitis: clinical summary of the ONS guidelinesTM for cancer treatment-related radiodermatitis[J]. Clin J Oncol Nurs, 2020, 24(6): 681-684.
- [18] Jamaluddin MF, Abraham AG, Menon G, et al. Recurrent radiation recall dermatitis 40 years after radiation therapy for breast cancer[J]. Breast J, 2021, 27(6): 543-546.
- [19] 李小玲, 叶进. 第三代芳香化酶抑制剂促生长作用的有效性及安全性[J]. 中南药学, 2020, 18(4): 630-634.
- [20] Ma CX, Adjei AA, Salavaggione OE, et al. Human aromatase: gene resequencing and functional genomics[J]. Cancer Res, 2005, 65(23): 11071-11082.
- [21] Umamaheswaran G, Kadambari D, Muthuvel SK, et al. Association of CYP19A1 gene variations with adjuvant letrozole-induced adverse events in South Indian postmenopausal breast cancer cohort expressing hormone-receptor positivity[J]. Breast Cancer Res Treat, 2020, 182(1): 147-158.
- [22] Turkistani A, Marsh S. Pharmacogenomics of third-generation aromatase inhibitors[J]. Expert Opin Pharmacol, 2012, 13(9): 1299-1307.
- [23] Desta Z, Tyndale R, Hoffmann E, et al. Cytochrome P450 (CYP) 2A6 genetic variation predicts letrozole plasma concentrations in postmenopausal women with breast cancer[J]. Cancer Res, 2009, 69(24_Supplement): 5160.
- [24] Desta Z, Kreutz Y, Nguyen AT, et al. Plasma letrozole concentrations in postmenopausal women with breast cancer are associated with CYP2A6 genetic variants, body mass index, and age[J]. Clin Pharmacol Ther, 2011, 90(5): 693-700.
- [25] Bruun JM, Nielsen CB, Pedersen SB, et al. Estrogen reduces pro-inflammatory cytokines in rodent adipose tissue: studies in vivo and in vitro[J]. Horm Metab Res, 2003, 35(3): 142-146.
- [26] Al-Safi ZA, Liu H, Carlson NE, et al. Estradiol priming improves gonadotrope sensitivity and pro-inflammatory cytokines in obese women[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2015, 100(11): 4372-4381.
- [27] Satoh T, Yokozeki H, Murota H, et al. 2020 guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous pruritus[J]. J Dermatol, 2021, 48(9): e399-e413.
- [28] Oetjen LK, Mack MR, Feng J, et al. Sensory neurons co-opt classical immune signaling pathways to mediate chronic itch[J]. Cell, 2017, 171(1): 217-228.e213.
- [29] Cevikbas F, Wang X, Akiyama T, et al. A sensory neuron-expressed IL-31 receptor mediates T helper cell-dependent itch: involvement of TRPV1 and TRPA1[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 133(2): 448-460.
- [30] De Placido S, Gallo C, De Laurentiis M, et al. Adjuvant anastrozole versus exemestane versus letrozole, upfront or after 2 years of tamoxifen, in endocrine-sensitive breast cancer (FATA-GIM3): a randomised, phase 3 trial[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(4): 474-485.
- [31] 承晓定, 路群. 依西美坦片治疗绝经后激素受体阳性乳腺癌的临床疗效及安全性[J]. 大医师, 2019, 4(16): 130-131.
- [32] 国家癌症中心, 中国药师协会肿瘤专科药师分会, 李国辉, 等. 乳腺癌内分泌治疗药物药学服务指南(2023版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2023, 45(10): 834-862.

(收稿日期: 2025-01-01; 修回日期: 2025-03-05)

苯磺酸瑞马唑仑致严重过敏反应病例分析并文献复习

刘欣, 毛艳梅, 鲁虹* (南华大学附属长沙中心医院药学部, 长沙 410004)

关键词: 瑞马唑仑; 严重过敏反应; 右旋糖酐 40

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3122-05

doi: 10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.053

严重过敏反应是一种速发、危及生命、可累及全身多系统的超敏反应^[1]。有研究报道, 围手术期过敏反应的发生率是 1:4000 ~ 1:25 000^[2], 严重过敏反应发生率约为 1:10 000^[3], 其中过敏反应 72.18% 是免疫球蛋白 E (IgE) 介导的^[4], 涉及的主要药物是抗菌药物和神经肌肉阻滞剂^[3]。

瑞马唑仑 (remimazolam) 是一种新型苯二氮草类药物, 在咪达唑仑的苯二氮草母环上引入可以水解代谢的丙酸甲酯侧链修饰而成, 是 γ -氨基丁酸 A (GABA_A) 受体上苯二氮草类 (BZD) 位点的高亲和力选择性配体, 对其他位点没有亲和力。瑞马唑仑可通过非器官代谢, 由非特异性酯酶迅速代谢为基本无活性的羧酸代谢物^[5], 且无需依赖细胞色素酶系统 (如 P450 通路) 介导, 出现具有临床意义的药物相互作用的可能性较低^[6-7], 已被成功用于手术镇静和全身麻醉的诱导和维持。瑞马唑仑分子为游离碱, 目前有甲苯磺酸盐与苯磺酸盐两种盐形式^[6], 甲苯磺酸瑞马唑仑辅料为亮氨酸、海藻糖、盐酸、注射用水; 苯磺酸瑞马唑仑辅料为乳糖、右旋糖酐 40、盐酸、注射用水。瑞马唑仑最常见的不良反应是血压降低, 药品说明书提到发生率为 10.9% ~ 30%, 国内瑞马唑仑致严重过敏反应的报道较少。本文对我院收到的 2 例苯磺酸瑞马唑仑致严重过敏反应及国内外相关文献报道进行回顾性分析, 旨在总结瑞马唑仑致严重过敏反应 (remimazolam-induced anaphylaxis, RIA) 的临床特征, 为临床中瑞马唑仑的安全使用提供参考。

1 病历资料

1.1 病例 1

患者女性, 59 岁, 身高 157 cm, 体重 59 kg。诊断为“继发性肺结核、支气管结核”。该患者既往史无特殊, 否认食物药物过敏史。2025 年 2 月 24 日患者第一次行支气管镜检查, 术中使用利多卡因、咪达唑仑 3.5 mg 和舒芬太尼 5

μg, 未出现不适。3 月 4 日 16:01 患者第二次进行支气管镜检查, 术中使用利多卡因、苯磺酸瑞马唑仑 (宜昌人福药业, 规格: 25 mg/瓶, 批号: AC4100011) 9 mg 和舒芬太尼 5 μg, 16:30 患者出现呼之不应, 心率 (HR) 106 次·min⁻¹, 血氧饱和度 (SpO₂) 85%, 立即予氟马西尼拮抗, 5 min 后患者仍呼之不应, 且嘴唇发绀, 大汗淋漓, HR 121 次·min⁻¹, 血压 (BP) 和 SpO₂ 监测不到, 不排除药物过敏性休克可能, 立即予以复方氯化钠补液, 多巴胺升血压, 碳酸氢钠纠酸, 气管插管球囊辅助通气, 16:40, HR 126 次·min⁻¹, BP 62/20 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), SpO₂ 70%。继续持续补液、升压及球囊通气处理, 16:50 测得 HR 115 次·min⁻¹, BP 81/38 mmHg, SpO₂ 93%, 16:57 转入重症监护病房 (ICU)。入 ICU 时, HR 150 次·min⁻¹, 呼吸频率 (R) 30 次·min⁻¹, BP 80/50 mmHg (多巴胺维持), SpO₂ 92%。立即有创呼吸机辅助通气, 予以复方氯化钠注射液补液扩容; 改用去甲肾上腺素升压。经抢救后, 患者神志较前好转, HR 110 次·min⁻¹, R 20 次·min⁻¹, BP 120/80 mmHg (去甲肾上腺素维持), SpO₂ 99%。3 月 24 日患者再次行支气管镜检查, 术中使用利多卡因、咪达唑仑和舒芬太尼未出现异常。

依据我国《药品不良反应报告和监测工作手册》的不良反应关联性评价的 5 条原则: 该患者行支气管镜前, 无过敏反应症状, 使用苯磺酸瑞马唑仑 30 min 后, 出现严重过敏反应, 有明显的时间相关性; 符合药品说明书已知不良反应类型; 停用苯磺酸瑞马唑仑并对症处理后, 患者症状明显好转; 本次事件 8 d 前和 20 d 后患者使用咪达唑仑和其他药物, 没有出现类似反应, 可以排除其他药物和疾病的影响。据此, 患者发生严重过敏反应与苯磺酸瑞马唑仑“很可能”相关。

1.2 病例 2

作者简介: 刘欣, 女, 药师, 主要从事处方审核和临床药学工作, email: lx_stone@163.com *通信作者: 鲁虹, 女, 副主任药师, 主要从事药品不良反应评价和临床药学工作, email: 1430368@qq.com

患者男性, 51 岁, 身高 158 cm, 体重 80 kg。诊断为“耐多药肺结核”, 否认食物药物过敏史。2025 年 2 月 26 日、3 月 3 日和 3 月 26 日, 患者分别三次行支气管镜诊疗。第三次术中使用的利多卡因、苯磺酸瑞马唑仑(宜昌人福药业, 规格: 25 mg/瓶, 批号: AC4120241) 14 mg 和舒芬太尼 5 μ g, 前两次患者使用药物与第三次用药一样, 未出现不适。3 月 26 日 10:28 患者第三次行支气管镜出现大汗淋漓、头晕、恶心、呕吐, 呕吐物为胃内容物, BP 降至 63/37 mmHg, HR 84 次 $\cdot$ min⁻¹, R 22 次 $\cdot$ min⁻¹, SpO₂ 下降至 88%。立刻予吸氧, 氟马西尼拮抗, 多巴胺升血压, 生理盐水补液, 经处理后患者血压及指脉氧饱和度逐步上升, 约 10 min 后患者神志恢复, 心电监护示: BP 90/46 mmHg, HR 95 次 $\cdot$ min⁻¹, R 20 次 $\cdot$ min⁻¹, SpO₂ 100%, 予以平车护送回病房。继续补液, 多巴胺升血压, 甲泼尼龙抗炎。11:00 患者恢复, BP 111/63 mmHg, HR 80 次 $\cdot$ min⁻¹, R 21 次 $\cdot$ min⁻¹, SpO₂ 95% (鼻导管吸氧, 氧流量 2 L $\cdot$ min⁻¹)。

该患者行支气管镜术中使用苯磺酸瑞马唑仑, 约 30 min 突发严重过敏反应, 具有明显的时间相关性, 符合药品说明书已知不良反应类型; 经过停药及对症处理之后, 患者症状明显好转, 但无法排除另两种药物的可能性, 据此判定患者发生严重过敏反应与瑞马唑仑“可能”相关。

2 文献检索资料及分析

以“瑞马唑仑”“过敏”为中文检索词, 以“remimazolam”“allergy”“allergic”“anaphylaxis”“anaphylactic”为英文检索词, 分别检索中国知网、万方医学、中华医学期刊全文数据库、PubMed 中涉及 RIA 的相关文献, 时间截止至 2025 年 4 月 13 日。获取文献的以下信息: ① 第一作者、报道年份和国家; ② 所报道病例的性别、年龄、身高、体重、既往疾病史、药物过敏史、使用瑞马唑仑的主要目的、使用剂量、合并用药; ③ 过敏反应的症状, 包括心血管系统症状、神经系统症状、呼吸系统症状、胃肠道系统症状、皮肤黏膜系统症状; ④ 用药到出现临床症状的发生时间; ⑤ 治疗措施、预后、过敏反应验证等情况。

经检索, 共收集到 10 篇文献报道了 15 例 RIA^[8-17], 汇总情况见表 1。15 例患者均使用苯磺酸瑞马唑仑, 年龄 23 ~ 88 岁, 中位年龄 66 岁。2 例患者过敏反应发生在术中, 13 例患者发生在用药后 15 min 内, 为速发型过敏反应。所有患者都出现了不同程度的心血管系统障碍, 主要体现在血压下降 (93.33%)、血氧饱和度下降 (40%)

和心动过速 (33.33%), 4 例患者发生了心搏骤停, 通过心肺复苏恢复。8 例患者出现了皮肤黏膜系统症状, 9 例患者出现呼吸系统症状, 呼吸困难 3 例 (20%), 支气管痉挛、喉部水肿和二氧化碳分压下降各 2 例 (13.33%)。有 1 例累及胃肠道系统, 发生了腹泻。2 例出现神经系统症状, 患者失去意识并全身抖动。11 例患者过敏急性期检测了血清类胰蛋白酶, 9 例类胰蛋白酶水平升高。11 例患者进行皮肤试验或药物激发试验 (drug provocation test, DPT), 5 例瑞马唑仑结果阳性。除 1 例患者使用去氧肾上腺素之外, 其他患者均接受肾上腺素治疗, 所有患者预后良好。

3 讨论

3.1 文献病例与医院病例的对比分析

严重过敏反应的临床诊断依据主要是详细的发作史, 包括症状、体征, 以及所暴露的已知或可疑过敏原、伴发因素等^[1]。通常为多系统受累, 包括皮肤黏膜系统、呼吸系统、胃肠道系统、心血管系统、中枢神经系统等。文献病例与本院病例都出现了不同程度的心血管系统障碍; 皮肤症状可能不是必然发生: 文献中 7 例患者未出现皮肤症状, 我院 2 例患者均未出现皮肤症状; 文献中 1 例出现腹泻, 我院 1 例患者出现呕吐, 可见胃肠道症状较少发生; 呼吸系统症状较为常见, 但如果 RIA 患者出现支气管痉挛, 由于瑞马唑仑起效迅速可能与气管插管的时间重叠, 识别具有一定的挑战; 患者麻醉后本身会失去意识^[8-17], 因此是否出现中枢神经系统症状不易判断。瑞马唑仑输注速度较快 [12 mg/(kg $\cdot$ h)] 的患者发生严重过敏反应的比例明显高于输注速度较慢 [< 6 mg/(kg $\cdot$ h)] 的患者^[12], 我院 2 例患者瑞马唑仑用药速度无差别。

目前, 国际上认为 DPT 是识别引起超敏反应药物的金标准^[18]。本文的局限在于, 病例未对可疑药物瑞马唑仑进行皮肤测试或 DPT, 因此, 致病因子未通过实验室检查确定。

3.2 瑞马唑仑导致 RIA 的作用机制

目前尚不能确定 RIA 的具体作用机制, 但明确患者的药物过敏史对预防 RIA 至关重要, 最佳的预防办法就是避免患者再次与过敏药物接触, 包括交叉抗原物质。有报道指出, 瑞马唑仑和咪达唑仑可出现交叉过敏反应: Tsurumi 等^[8]报道的患者发生过敏反应后, 术后 4 周瑞马唑仑及咪达唑仑皮内试验均为阳性。Nakai 等^[15]报道的患者既往手术时突发循环衰竭和支气管痉挛, 当时未考虑唯一使用药物咪达唑仑所致可能性, 再次手术使用瑞马唑仑及其他药物后发生 RIA, 皮肤试验排除了其他药物致敏可

表 1 文献报道的 15 例瑞马唑仑诱导过敏反应患者情况

作者	性别	年龄 / 岁	既往史 / 过敏史	用药目的	瑞马唑仑 使用剂量	过敏反应症状	发生 时间	治疗	转归	皮肤试验 / 药 物激发试验	血清类 胰蛋白 酶升高
Tsurumi ^[8]	男	32	均无	右侧骨内植 人物取出 术	6 mg/(kg·h)使 用 2 min, 共 计 12 mg	SBP 下降 ^a 、SpO ₂ 下降 ^c 、喉 部水肿、发绀、面部潮红	2 min	肾上腺素 iv + im	恢复	ID: R(+), 否 M(+)	
Hasushita ^[9]	男	72	高血压, 前列腺增 生, 带状疱疹 / 阿 司匹林、菊叶草	胸腔镜左肺 段切除术	初始剂量 12 mg, 随后以 10 mg/ (kg·h) 维持, 未描述总剂量	BP 无法检出、颈动脉无法检 出、心搏骤停、PETCO ₂ 下降 ^c 、皮肤红斑	约 10 min	肾上腺素 iv, 心 肺复苏	恢复	ID: R(+), 未描述 D(-)	
Yamaoka ^[10]	男	78	结肠癌 / 无	肠道切除手 术	12 mg/(kg·h) 使用 1 min, 共 计 10 mg	SBP 下降 ^a 、SpO ₂ 下降 ^c 、左 心室塌陷、高动力收缩、 支气管痉挛、发绀	术中	肾上腺素 im + iv	恢复	SP: R(-), 是 ID: R(+)	
Uchida ^[11]	男	74	高血压, 糖尿病 / 无	烧伤清创皮 肤移植	4 mg	SBP 下降 ^a 、SpO ₂ 下降 ^c	立刻	肾上腺素 iv	恢复	未进行	是
	男	59	糖尿病 / 无	腹腔镜辅助 乙状结肠 切除术	9 mg	心动过速 ^d 、SBP 下降 ^a 、失 去意识、身体抖动	几分钟	肾上腺素 iv	恢复	SP&ID: R(-)	是
Kim ^[12]	男	65	均无	腹股沟疝修 补术	12 mg/(kg·h) 使用 6.5 min, 共计 97.5 mg	SBP 下降 ^a 、ST 段抬高	8 ~ 9 min	肾上腺素 iv	恢复	SP&ID: R(-), M(-)	是
	男	69	肝癌 / 无	脐疝修补术	12 mg/(kg·h) 使用 6.8 min, 共计 76.8 mg	SBP 下降 ^a 、ST 段抬高	8 ~ 9 min	肾上腺素 iv	恢复	未进行	是
	男	66	慢性阻塞性肺疾病, 慢性肾脏病 / 无	回肠造口术	12 mg/(kg·h) 使用 5 min, 共 计 56.3 mg	SBP 下降 ^a 、心搏骤停	7 ~ 8 min	肾上腺素 iv, 心 肺复苏	恢复	SP&ID: R(-), M(-)	是
	女	23	克罗恩病 / 无	回盲肠的切 除术	12 mg/(kg·h) 使用 2 min, 共 计 25.6 mg	SBP 下降 ^a 、心动过速 ^d 、咳 嗽、胸闷、面部潮红、皮 疹	2 ~ 3 min	肾上腺素 iv	恢复	SP&ID: R(-), M(-)	血样处 理不当
	女	33	均无	甲状腺切除 术	2 mg/(kg·h)使 用 4.6 min, 共 计 8.3 mg	SBP 下降 ^a 、心动过速 ^d 、呼 吸困难、面部潮红、皮疹	2 ~ 3 min	肾上腺素 iv	恢复	SP&ID: R(-), M(-)	是
	男	41	均无	结肠镜检查	10 mg	BP 下降 ^b 、SpO ₂ 下降 ^c 、喉 鸣音、呼吸困难、喉部水 肿、腹泻、皮肤红斑、眶 周水肿、唇部肿胀	1 min	肾上腺素 iv	恢复	ID: M(+), 未描述 R(-), D(-)	
Lee ^[14]	女	51	均无	闭合性肱骨 复位和固 定手术	12 mg/(kg·h) 使用 1 min, 共 计 10 mg	BP 下降 ^b 、心动过速 ^d 、皮 疹	术中	肾上腺素 iv	恢复	ID: R(-) 否 DPT: M(-), R(+)	
Nakai ^[15]	男	75	高血压, 高血脂, 肺 气肿 / 咪达唑仑 (事发时未确认)	机器人辅助 胃切除术	6 mg/(kg·h)使 用 1.3 min, 共 计 8 mg	BP 下降 ^b 、心搏骤停、气胸、3 哮喘、无呼吸音、支气管 痉挛、皮疹、黏膜水肿	3 ~ 4 min	肾上腺素 iv, 心 肺复苏	恢复	未进行	是
Mani ^[16]	男	77	肿瘤性肥大细胞增多 症 / 对乙酰氨基酚, 碳酸钙, 阿司匹 林, 吗啡, 布洛芬	中心静脉导 管置入术	2.5 mg	呼吸频率增加、心动过速 ^d 、 SpO ₂ 下降 ^c 、失去意识、 呼吸困难、发绀	1 min	去氧肾上 腺素 iv	恢复	未进行	是
白玉 ^[17]	男	88	高血压, 冠心病, 脑 梗死, 胆囊切除 术, 白内障手术, 膀胱肿瘤 / 未描述	膀胱肿瘤切 除术	初始剂量 5 mg, 随后以 0.3 mg/ (kg·h) 维持, 未描述总剂量	BP 测不出、SpO ₂ 测不出、 心搏骤停、PETCO ₂ 下降 ^c 、 皮肤青紫	15 min	肾上腺素 iv, 心 肺复苏	恢复	DPT: R(+), 未描述	

注: SBP. 收缩压; PETCO₂. 呼气末二氧化碳分压; ID. 皮内试验; SP. 皮肤点刺试验; DPT. 药物激发试验; R. 瑞马唑仑; M. 咪达唑仑;
D. 右旋糖酐 40; a. 下降至 < 70 mmHg; b. 下降至 < 80 mmHg; c. 下降至 < 90%; d. 心率均增加至超过 100 次 · min⁻¹; e. 下降至 < 20
mmHg。

能性,怀疑为瑞马唑仑导致,且与咪达唑仑有交叉过敏反应。Hu 等^[13]报道的患者发生 RIA 时使用的药物是瑞马唑仑,但皮肤试验显示瑞马唑仑和右旋糖酐 40 为阴性,但咪达唑仑为阳性,考虑咪达唑仑和瑞马唑仑结构相似,推断两者具有交叉过敏反应。

另一种推测 RIA 的发生可能与瑞马唑仑的药用辅料右旋糖酐 40 有关。有报道显示,右旋糖酐 40 致 RIA 发生率为 0.013%^[19],美国食品药品监督管理局(FDA)的一项研究指出右旋糖酐 40 和 70 导致的药品不良反应(ADR)报告中,24.6%是过敏反应,其中 81.8%为右旋糖酐 40 所致,均发生在用药 60 min 内^[20]。国家药品不良反应监测中心早在 2005 年就通报了右旋糖酐 40 可引起过敏性休克,且多在首次输入数滴至数毫升时发生^[21]。含右旋糖酐 40 的制剂引发的过敏反应主要累及心血管系统、呼吸系统、皮肤及其附件和全身性损害^[22-23],与我院 2 例患者的表现类似。右旋糖酐诱导过敏反应可能是通过非 IgE 途径,一小部分人体内存在高滴度预先形成的 IgG 类右旋糖酐反应性抗体(DRAs),临床输注右旋糖酐会产生有害的免疫复合物,激活补体系统,导致白细胞和血小板聚集,释放活性血管介质,引发过敏症状,属于Ⅲ型超敏反应,其严重程度与体内 DRAs 的滴度有关^[24],这可能是我院第 2 例患者第三次使用瑞马唑仑才发生严重过敏反应的原因。由于右旋糖酐 40 导致过敏反应可能与 IgE 介导无关,无法通过皮肤试验诊断^[25],这与 Uchida 等^[11-13]报道的 6 例病例进行瑞马唑仑皮肤试验均为阴性的结果一致。特别是 Lee 等^[14]的报道,瑞马唑仑皮内试验为阴性,而 DPT 阳性,这可能是瑞马唑仑制剂中的辅料右旋糖酐 40 引发过敏反应更有力的证据。

4 结语

苯磺酸瑞马唑仑制剂有瑞马唑仑和右旋糖酐 40 两个可能致敏的因素,增加了发生过敏反应的可能性,因此,笔者建议:①临床使用苯磺酸瑞马唑仑,应关注到瑞马唑仑的给药剂量、给药速度、药用辅料右旋糖酐 40 和患者本身的因素;②在使用苯磺酸瑞马唑仑过程中,如遇循环系统障碍(如严重低血压或休克等),同时合并其他器官受累,需要高度怀疑 RIA,应立刻停用苯磺酸瑞马唑仑,及时给予肾上腺素治疗。

参考文献

[1] 中国康复医学会变态反应性疾病康复专业委员会,中华医学会变态反应学分会过敏原特异性诊断学组,中华预防医学会过敏病预防与控制专业委员会等.严重过敏反应诊断和临床管理专家共识[J].中华预防医学杂志,2025,

59(6):749-765.

- [2] Mali S. Anaphylaxis during the perioperative period [J]. *Anesth Essays Res*, 2012, 6(2): 124-133.
- [3] Harper NJN, Cook TM, Garcez T, et al. Anaesthesia, surgery, and lifethreatening allergic reactions: epidemiology and clinical features of perioperative anaphylaxis in the 6th National Audit Project (NAP6) [J]. *Br J Anaesth*, 2018, 121(1): 159-171.
- [4] Mertes PM, Alla F, Tréchet P, et al. Anaphylaxis during anesthesia in France: an 8-year national survey [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(2): 366-373.
- [5] Nordt SP, Clark RF. Midazolam: a review of therapeutic uses and toxicity [J]. *J Emerg Med*, 1997, 15(3): 357-365.
- [6] 瑞马唑仑临床应用专家指导意见专家组.瑞马唑仑临床应用专家指导意见[J].国际麻醉学与复苏杂志,2023,44(6):561-566.
- [7] Hu QX, Liu X, Wen CL, et al. Remimazolam: an updated review of a new sedative and anaesthetic [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 3957-3974.
- [8] Tsurumi K, Takahashi S, Hiramoto Y, et al. Remimazolam anaphylaxis during anesthesia induction [J]. *J Anesth*, 2021, 35(4): 571-575.
- [9] Hasushita Y, Nagao M, Miyazawa Y, et al. Cardiac arrest following remimazolam-induced anaphylaxis: a case report [J]. *AA Pract*, 2022, 16(9): 1-4.
- [10] Yamaoka M, Kuroda K, Matsumoto N, et al. Remimazolam anaphylaxis confirmed by serum tryptase elevation and skin test [J]. *Anaesth Rep*, 2022, 10(1): 1-3.
- [11] Uchida S, Takekawa D, Kitayama M, et al. Two cases of circulatory collapse due to suspected remimazolam anaphylaxis [J]. *JA Clin Rep*, 2022, 8(1): 18.
- [12] Kim KM, Lee H, Bang JY, et al. Anaphylaxis following remimazolam administration during induction of anaesthesia [J]. *Br J Anaesth*, 2022, 129(5): e122-e124.
- [13] Hu XW, Tang YN, Fang XM. Laryngeal edema following remimazolam-induced anaphylaxis: a rare clinical manifestation [J]. *BMC Anesthesiol*, 2023, 23(1): 99.
- [14] Lee S, Park J, Kim NH, et al. Remimazolam anaphylaxis during induction of general anesthesia confirmed by provocation test-a case report and literature review [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2023, 59(11): 1915.
- [15] Nakai T, Kako E, Ota H, et al. Remimazolam anaphylaxis in a patient not allergic to brotizolam: a case report and literature review [J]. *BMC Anesthesiol*, 2024, 24(1): 204.
- [16] Mani J, Strang A, Faruki AA, et al. Severe anaphylaxis from remimazolam in a mastocytosis cancer patient: a case report [J]. *Cureus*, 2024, 16(9): e69079.
- [17] 白玉,陶海勇,解小艺,等.瑞马唑仑诱发严重过敏性休克致心搏骤停 1 例[J].中国基层医药,2024,31(10):1562-1563.
- [18] Demoly P, Adkinson NF, Brockow K, et al. International consensus on drug allergy [J]. *Allergy*, 2014, 69(4): 420-437.
- [19] Ljungström KG, Renck H, Strandberg K, et al. Adverse reactions to dextran in Sweden 1970—1979 [J]. *Acta Chir*

- Scand, 1983, 149 (3): 253-262.
- [20] Zinderman CE, Landow L, Wise RP. Anaphylactoid reactions to dextran 40 and 70: reports to the United States Food and Drug Administration, 1969 to 2004 [J]. J Vasc Surg, 2006, 43 (5): 1004-1009.
- [21] 国家药品监督管理局药品评价中心, 国家药品不良反应监测中心. 国家药品不良反应信息通报 (第 3 期) 右旋糖酐 40 与过敏性休克、甘露聚糖肽注射液的不不良反应、葛根素注射液的不不良反应、穿琥宁注射剂的不不良反应、参麦注射剂的不不良反应 [EB/OL]. (2005-05-31) [2025-4-13]. https://cdr-adr.org.cn/drug_1/aqjs_1/drug_aqjs_xxtb/200806/t20080626_36881.html.
- [22] 阮广新, 何淑妍. 注射用促肝细胞生长素致过敏性休克 33 例文献分析 [J]. 中国药物应用与监测, 2021, 18 (4): 256-259.
- [23] 饶芸, 骆群, 徐萍, 等. 我院 35 例低分子右旋糖酐氨基酸注射液致 ADR 分析 [J]. 中国药房, 2017, 28 (32): 4510-4513.
- [24] Cianferoni A. Non-IgE-mediated anaphylaxis [J]. J Allergy Clin Immunol, 2021, 147 (4): 1123-1131.
- [25] Hamilton RG. Clinical laboratory assessment of immediate-type hypersensitivity [J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125 (2): S284-S296.
- (收稿日期: 2025-05-30; 修回日期: 2025-08-01)

安罗替尼致周围神经损伤合并手足综合征 1 例病例分析

赵永军¹, 贾东丽^{2*} (1.邯郸市第一医院肿瘤二科, 河北 邯郸 056002; 2.邯郸市第一医院药学部, 河北 邯郸 056002)

关键词: 安罗替尼; 周围神经损伤; 手足综合征; 不良反应

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2025)10-3126-03

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2025.10.054

近年来, 多靶点酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 通过抑制血管生成和增殖信号传导, 在多种肿瘤类型中具有显著的抗肿瘤作用^[1]。安罗替尼是中国原研小分子多靶点 TKI, 可以作用于血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR)、成纤维细胞生长因子受体 (FGFR) 及 c-Kit 等多个靶点, 具有抗肿瘤血管新生及抑制肿瘤生长的双重作用^[2]。目前安罗替尼已被批准用于接受至少两种系统化疗后进展或复发的局部晚期或转移性非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者的治疗。有研究表明, 安罗替尼可以提高肿瘤组织中 CD8⁺ FoxP3⁺ T 细胞的比例, 从而改变肿瘤微环境^[3]。安罗替尼的常见不良反应主要为高血压、蛋白尿、胃肠道反应、肝功能异常、高血脂、出血和手足综合征 (HFS) 等^[4-5]。有报道在采用安罗替尼的治疗中 HFS 发生率为 7.14%~42.9%^[6-7]。汪龙等^[8]报道 1 例患者在服用安罗替尼过程中出现了严重 (3 级) 的 HFS。宗玉峰等^[9]报道显示, 安罗替尼联合放疗三线治疗广泛期小细胞肺癌中多数不良反应为 1~2 级, 出现 3 级神经-运动障碍 1 例。关于安罗替尼引起的 HFS 较为常见, 但关于安罗

替尼引起的神经损伤较为少见。本文对 1 例患者使用安罗替尼后出现神经损伤合并 HFS 的病例进行分析, 以期临床安全用药提供参考。

1 病历资料

患者, 女, 66 岁, 身高 165 cm, 体重 69 kg, 既往无特殊病史, 无药物、食物等过敏史。2020 年 1 月患者无明显诱因出现咳嗽、咳白色黏痰, 查胸部 CT: 右肺占位性病变, 右侧胸腔积液。行胸腔穿刺脱落细胞学检查示: 可见少量异常细胞, 考虑瘤细胞, 建议病理活检确诊。2020 年 1 月 6 日行 CT 引导下右肺穿刺活检术, 活检病理示: 腺癌。临床诊断: 右肺腺癌 (T1bN0M1a IV A 期)。2020 年 1 月 13 日给予 PP 方案 (培美曲塞联合顺铂) 化疗 1 周期。2020 年 1 月 20 日行外周血基因检测示: EGFR E19 缺失, 2020 年 1 月至 2022 年 1 月口服吉非替尼 250 mg qd 靶向治疗。2022 年 1 月 20 日复查疗效评价: 疾病进展。2022 年 1 月 30 日再次行外周血基因检测示: EGFR 19 外显子缺失突变, 2022 年 2 月至 3 月口服奥希替尼 80 mg qd 靶向治疗。2023 年 3 月 17 日复查提示疾病进展, 于 2023 年 3 月 25 日至 7 月 22 日给予贝

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划资助 (No.20240759)。

作者简介: 赵永军, 男, 副主任医师, 主要从事临床肿瘤诊疗工作, email: zyj003915@sina.com * 通信作者: 贾东丽, 女, 副主任医师, 主要从事临床药学工作, email: 1067188577@qq.com

伐珠单抗联合 PC 方案（培美曲塞联合卡铂）化疗 6 周期。2023 年 8 月 19 日至 9 月 11 日给予贝伐珠单抗联合培美曲塞维持 2 周期。2023 年 10 月 17 日复查疗效评价：疾病进展，2023 年 10 月 19 日、11 月 11 日给予盐酸安罗替尼胶囊（正大天晴药业集团股份有限公司，规格：每粒 12 mg，批号：190928183）12 mg qd d1 ~ 14 联合白蛋白紫杉醇化疗 2 周期。11 月 13 日患者无明显诱因出现手指、脚趾末梢麻木、疼痛伴脱屑，影响睡眠，给予甲钴胺、珍珠通路丸营养神经等治疗，症状未见明显好转。考虑患者手足麻木、疼痛伴脱屑、皸裂可能与用药有关，于 2024 年 1 月至 5 月安罗替尼减量为 8 mg qd d1 ~ 14，联合白蛋白紫杉醇治疗 4 周期。减量后患者手足麻木、疼痛伴脱屑、皸裂较前好转。2024 年 5 月患者无明显诱因出现双下肢小腿以下指凹性水肿，查双侧髂静脉及双下肢动静脉超声未见异常。2024 年 6 月患者出现左小腿以下 1/2 处至足底麻木，行走无力，考虑与白蛋白紫杉醇的神经毒性有关，其间于 2024 年 6 月 15 日复查胸部 CT 示病灶较前缩小，6 月 17 日、7 月 23 日调整治疗方案为信迪利单抗 200 mg d1 + 安罗替尼 8 mg d1 ~ 14 q21d 治疗 2 个周期。8 月 26 日复查胸部 CT 示原发灶稳定，双肺部分结节较前增大。因患者左下肢肿胀明显，呈凹陷性水肿，手指、脚趾末梢麻木加重，甲周可见皮肤皸裂，步态不稳，并出现跌倒，再次行左下肢动静脉超声检查，未见明显异常。考虑患者上述 2 个周期未按时用药，2024 年 8 月 30 日、9 月 26 日分别给予替雷利珠单抗 200 mg d1 + 安罗替尼 8 mg qd d1 ~ 14 联合吉西他滨 1.6 mg d1、8 + 奈达铂 40 mg d1 ~ 3 方案治疗 2 周期。9 月 27 日行双下肢肌电图示：双下肢周围神经损害，以感觉神经受损、轴索受损为主，双下肢所见周围诸肌未见异常。经临床药师、皮肤科和神经内科医师会诊，结合患者用药情况，考虑可能为安罗替尼所致周围神经损伤合并 HFS，暂停使用安罗替尼，给予维生素 B₁、甲钴胺等营养神经治疗。10 月 1 日调整方案为重组人血管内皮抑制素靶向治疗联合伏美替尼靶向治疗至 12 月 2 日，患者左下肢肿胀消失，仅遗留左下肢趾末梢轻微麻木。

2 讨论

2.1 不良反应关联性评价

根据国家药品不良反应监测的关联性评价原则：
① 患者用药前无下肢水肿、HFS 异常等情况，应用安罗替尼第 2 周期开始 2 d 后出现手指、脚趾末梢麻木、疼痛伴脱屑，6 周期后出现双下肢小腿以下

指凹性水肿，小腿以下 1/2 处至足底麻木，左侧较为明显，行走无力；8 周期后患者左下肢肿胀加重，呈凹陷性水肿，手指、脚趾末梢麻木加重，甲周可见皮肤皸裂，步态不稳，并出现跌倒，间断给予利尿治疗后未见明显好转；10 周期治疗后行双下肢肌电图示：双下肢周围神经损伤，以感觉神经受损，轴索受损为主。② 安罗替尼说明书指出其可致 HFS、水肿等不良反应，亦有引起神经 - 运动障碍相关病例的报道^[9]，提示安罗替尼存在神经毒性的可能，其发生率未见相关文献报道。③ 患者安罗替尼由 12 mg 减量至 8 mg 继续服用，HFS 曾一过性好转，停药后明显好转；停用安罗替尼后双下肢水肿消失。④ 合并用药白蛋白紫杉醇也可引起神经毒性，表现为手足麻木和水肿，但白蛋白紫杉醇停药后，患者水肿、四肢麻木、无力等不良反应仍明显加重，故可基本排除白蛋白紫杉醇所致神经毒性、水肿的主要诱因。⑤ 患者既往无 HFS、水肿等相关病史，各项检查提示无甲状腺功能减退、肝肾疾病、心力衰竭等可导致水肿的相关疾病，故可排除疾病本身所致。

依据诺氏药品不良反应评估量表^[10]，患者总分为 5 分（见表 1），关联性评价为“很可能”。

表 1 诺氏药品不良反应评估量表

评价标准	问题分值			得分
	是	否	未知	
1. 该不良反应发生之前是否有总结性报告	+ 1	0	0	+ 1
2. 该不良反应是否出现在使用可疑药物之后	+ 2	- 1	0	+ 2
3. 停用该药物或使用其他拮抗剂，不良反应是否改善	+ 1	0	0	+ 1
4. 再次使用该药物，不良反应是否再次出现	+ 2	- 1	0	
5. 是否存在其他原因引起不良反应	+ 1	+ 2	0	
6. 给予安慰剂，不良反应是否再次出现	+ 1	+ 1	0	
7. 血药浓度是否为中毒浓度	+ 1	0	0	
8. 不良反应的轻重程度与可疑药物剂量变化是否有关	+ 1	0	0	
9. 患者之前使用该药物或类似的药物是否发生不良反应	+ 1	0	0	
10. 经过客观检查，该不良反应是否被证实	+ 1	0	0	+ 1
总分 / 分				5

2.2 不良反应发生机制与防治

安罗替尼致神经损伤的具体机制尚未完全明确，可以推测其可能与以下几个药理作用相关：安罗替尼通过抑制 VEGFR/PDGFR/FGFR 等靶点的活性，抑制肿瘤血管的生成，可能抑制肿瘤细胞以及正常细胞的功能，包括神经细胞缺乏营养而凋亡；抗血管生成靶向药物是通过抑制血管内皮生长因子（VEGF）来实现抗肿瘤的，VEGF 在中枢神经系统中也起着重要作用，因此抗血管生

成药物的使用可能会中断 VEGF 的中枢神经系统功能, 导致认知功能障碍^[11]。而安罗替尼对于神经损伤的直接影响, 需要更多的实验研究和临床数据来证实。

HFS 是 TKI 类制剂最常见的不良反应, 在类似安罗替尼这样的多靶点 TKI 中表现更为明显, TKI 可以抑制血小板衍生生长因子和 VEGFR 介导的血管修复功能, 而毛细血管修复功能受损导致小血管损伤的加重可引起药物从毛细血管外渗, 而药物外渗又反过来加剧毛细管损伤并导致皮肤发生一系列改变, 最终诱发 HFS 的发生^[12]。其可能机制为: ① 毛细血管中的药物浓度增加; ② 血管修复受损, 导致细胞凋亡和产生炎症; ③ 干扰内皮细胞生存机制^[13]。

在既往的临床研究中, 安罗替尼所产生的不良事件 (AE) 大多数较轻, 可以得到有效的控制^[14-16], 但也存在一些严重不良反应, 如本例患者出现的 HFS、水肿、无力甚至跌倒的情况, 严重影响患者的生活, 故对于使用安罗替尼靶向治疗的患者, 尤其在联合化疗、免疫治疗等治疗手段的同时, 需密切监测患者用药后的反应, 及早发现、精确鉴别并及时给予有效的处理措施, 避免严重不良反应的发生。

关于 HFS 的防治, 可以穿棉袜、软底鞋, 尽量减少站立, 戴厚棉布手套, 保护好手掌和足底的毛细血管, 尽量减少足部压力和手部摩擦, 避免接触过热水, 避免阳光直晒, 必要时可以采取局部冷敷。如果出现 HFS 应及时对症治疗, HFS 并没有标准的防治方案, 目前认为尿素软膏、维生素 E、糖皮质激素、环氧合酶-2 (COX-2) 抑制剂以及部分中药对预防和治疗 HFS 可能有一定的作用, 如发生 2 级及以上 HFS, 除对症治疗外还应及时停用安罗替尼, 待解决 HFS 症状以后再减量使用^[12]。关于神经损伤, 较为少见, 目前无确切有效措施, 可尝试给予营养神经类药物、中药, 并注意保暖。

3 小结

安罗替尼临床应用较为广泛, 但其周围神经损伤合并 HFS 的相关报道罕见, 机制尚不完全明确, 临床诊治此类不良反应时, 应及早与临床药师、皮肤科、神经内科等相关科室沟通合作, 重视多学科团队协作 (MDT) 诊疗模式, 以期为临床安全用药提供参考。

参考文献

- [1] Ferguson FM, Gray NS. Kinase inhibitors: the road ahead [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17 (5): 353-377.
- [2] Syed YY. Anlotinib: first global approval [J]. *Drugs*, 2018, 78 (10): 1057-1062.
- [3] Liu SC, Qin TT, Liu ZJ, et al. Anlotinib alters tumor immune microenvironment by downregulating PD-L1 expression on vascular endothelial cells [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11 (5): 309.
- [4] 黄薇, 王燕, 韩美玲. 安罗替尼治疗恶性肿瘤的不良反应分析 [J]. *肿瘤药学*, 2023, 13 (3): 313-318.
- [5] Yin JQ, Wu YJ, Yang X, et al. Checkpoint inhibitor pneumonitis induced by anti-PD-1 /PD-L1 therapy in non-small-cell lung cancer: occurrence and mechanism [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 830631.
- [6] Wu Y, Zhou XF, Zhao WQ, et al. Therapeutic effectiveness of anlotinib combined with etoposide in extensive-stage small-cell lung cancer: a single-arm, phase II trial [J]. *Invest New Drugs*, 2023, 41 (6): 825-833.
- [7] Ma JH, Song Y, Shou JZ, et al. Anlotinib for patients with metastatic renal cell carcinoma previously treated with one vascular endothelial growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor: a phase 2 trial [J]. *Front Oncol*, 2020, 7 (10): 664.
- [8] 汪龙, 徐涵, 周宁宁, 等. 安罗替尼致严重手足综合征 1 例 [J]. *医药导报*, 2021, 40 (7): 952-953.
- [9] 宗玉峰, 张鑫, 谭遥, 等. 安罗替尼联合放疗三线治疗广泛期小细胞肺癌真实世界研究 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2024, 33 (1): 13-18.
- [10] 陈静静, 钱佩佩, 曹凯, 等. 我国药品不良反应关联性评价方法与诺氏评估量表法的对比与分析 [J]. *中国药事*, 2020, 34 (8): 988-992.
- [11] 张兰, 周晓波, 姜军. 恶性肿瘤药物治疗相关性神经毒性诊治进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2022, 30 (17): 3235-3239.
- [12] 周伟, 杨爽, 封亮, 等. 安罗替尼不良反应的文献计量学分析 [J]. *中国药事*, 2020, 34 (12): 1467-1474.
- [13] 廖小兰, 汪滢, 黄爱文, 等. 安罗替尼上市后不良反应文献回顾性分析 [J]. *药实践杂志*, 2020, 38 (6): 558-562.
- [14] Sun YK, Niu W, Du F, et al. Safety, pharmacokinetics, and antitumor properties of anlotinib, an oral multi-target tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced refractory solid tumors [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9: 105.
- [15] Si XY, Zhang L, Wang HP, et al. Management of anlotinib-related adverse events in patients with advanced non-small cell lung cancer: experiences in ALTER-0303 [J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10 (3): 551-556.
- [16] Zhou AP, Bai Y, Song Y, et al. Anlotinib versus sunitinib as first-line treatment for metastatic renal cell carcinoma: a randomized phase II clinical trial [J]. *Oncologist*, 2019, 24 (8): 702-708.

(收稿日期: 2025-01-05; 修回日期: 2025-03-08)