

- ◆ 中国科技核心期刊
- ◆ 美国CA收录期刊
- ◆ 中国核心期刊（遴选）数据库收录期刊
- ◆ 科技期刊世界影响力指数收录期刊



ISSN 1672-2981  
CN43-1408/R

# 中南药学

## ZHONGNAN YAOXUE

2026年5月第24卷第5期

Volume 24 Number 5 May 2026

- ◆ 线粒体在神经精神疾病中的作用和机制研究进展专题
- ◆ 雄黄对体外微管及其聚合动力学的影响
- ◆ 基于肠道菌群-炎症屏障轴研究何首乌蒸制减毒的作用机制
- ◆ 代谢组学技术在中药作用机制调控研究中的应用



ISSN 1672-2981



0.5>

**2026/5**

# 创新科技

Innovative Technology  
Guarding Health

# 守护健康

杭州中美华东制药有限公司（华东医药股份有限公司核心工业企业）自1992年成立至今，始终秉承以科研为基石、以患者为中心、以创新为引擎的发展理念，持续研发并供应符合临床需求的高品质药品，获得了广大患者和医疗工作者的广泛信赖。立足新起点，中美华东将继续秉持务实进取的精神，加速国际化布局，致力于为全球患者提供更安全、更有效的治疗选择与服务，向具有全球影响力的领先制药企业稳步迈进。





# 中南药 学

## ZHONGNAN YAOXUE

月刊 2003 年 4 月创刊 第 24 卷 第 5 期 (总第 244 期) 2026 年 5 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: 长沙市芙蓉区韶山北路 39 号  
维一星城国际 613-619

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](mailto:znyxzz2003@vip.163.com)

中国标准连续出版物号

ISSN 1672-2981

CN43-1408/R

2026 年版权归《中南药 学》

编辑部所有

## 目 次

### 线粒体在神经精神疾病中的作用和机制研究进展专题

- (1) 线粒体功能障碍在抑郁症发生发展中的作用和机制研究  
..... 马莉雅, 兀閏竹, 孙逸
- (12) 线粒体自噬在阿尔茨海默病发病中的作用和机制研究进展  
..... 兀閏竹, 马莉雅, 韦玮, 等

### 论 著

- (22) 雄黄对体外微管及其聚合动力学的影响  
..... 尹佳宁, 岳玉霞, 杜保健, 等
- (28) 基于肠道菌群 - 炎症屏障轴研究何首乌蒸制减毒的作用机制  
..... 董安东, 白亚亚, 乔瑞瑞, 等
- (35) 基于肺组织代谢组学探讨桔梗总皂苷干预对肺炎支原体肺炎大鼠的作用机制 ..... 杨振婧, 吴婵毓, 季瑞爽, 等
- (42) 基于 AMPK 信号通路探讨沙棘叶水提物改善高脂血症的作用及机制研究 ..... 陈婕妤, 张依娜, 陈金品, 等
- (50) 泊沙康唑纳米混悬滴眼液的体内外研究 ... 张晓, 申宁, 徐可心, 等
- (57) 基于 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨桑白皮 - 地骨皮配伍干预对紫外线皮肤损伤的作用及机制 ..... 杨盼, 关丽, 孙定康, 等
- (63) 不同来源的人激肽原酶在输液容器表面的吸附研究  
..... 邓玉程, 刘宇轩, 张培彪, 等
- (69) 蒙药扎冲十三味丸调控海马溶酶体通路抗大鼠脑缺血损伤的机制研究 ..... 陈文彬, 尚津锋, 宋琪, 等
- (78) 基于血清蛋白质组学的类过敏反应机制研究  
..... 姚紫莹, 杨奇涛, 沈梦婷, 等
- (83) 基于液质联用技术和网络药理学初探轻燕饮改善高脂血症的药效物质基础及作用机制 ..... 白阳, 于泳, 刘力莉, 等
- (92) 桑白皮化学成分及其抗菌活性研究 ..... 古越涛, 何潇, 崔佳, 等
- (98) 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术鉴定银杏叶提取物化学成分及冻干舌下片入脑成分 ..... 檀世祖, 宋嘉佳, 宇泉霖, 等
- (106) 基于响应面法和 BP 神经网络结合优化蒙药诃子配方颗粒成型工艺研究 ..... 苏德娜, 萨出拉, 布仁, 等
- (112) 红芪超微粉及水提液提高免疫力的药效研究  
..... 张旭, 王冀, 薛思远, 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

(119) 基于网络药理学与实验验证探讨参叶消癥颗粒改善慢性萎缩性胃炎的作用机制 ..... 孙宇菲, 尹东阁, 常榕蓉, 等

(126) 种苗规格驱动当归顶芽发育与木质素积累的关系研究 ..... 阎祎凡, 江媛, 曾宇馨, 等

(133) 基于网络药理学探讨肉桂子改善幽门螺杆菌感染性胃炎细胞模型的作用机制 ..... 王彦顺, 刘宏炳, 孙万诚, 等

(141) 羊角棉枝叶中高级性部位化学成分 ... 于硕, 秦文秀, 李畅, 等

(146) 基于 AHP-CRITIC 复合加权法结合正交设计优选人参-西洋参1:1配伍水提工艺 ..... 吴晶晶, 孙晶, 杨祯, 等

(151) 载姜黄素共聚物纳米粒处方优化及体外改善年龄相关性黄斑变性的作用研究 ..... 刘娟, 杨玉畅, 李诗曼, 等

(159) 不同溶剂在 *hERG* 实验中的适用浓度范围探究 ..... 沈畅, 张宇欣, 魏晓燕, 等

(165) 基于  $q^1\text{H-NMR}$  技术的矿山修复地青蒿品质与安全性评估 ..... 梁光焰, 林绍霞, 姜阳明, 等

## 综述

(172) 代谢组学技术在中药作用机制调控研究中的应用 ..... 王佳媛, 郭文静, 张伟, 等

(181) 抗氧化剂依达拉奉的研究进展 ..... 车彦熹, 罗秀菊, 彭军

(189) 黄芪治疗高血压的临床应用及其活性成分和药理作用研究进展 ..... 裴静怡, 孔玲, 曹博铭, 等

(198) 丁香叶的化学成分及药理作用研究进展 ... 郭键, 窦金金, 张喜武

(206) 氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的研究进展 ..... 龙玉, 崔玉霞

(211) 灯盏花乙素治疗神经系统疾病的作用机制及纳米制剂的研究进展 ..... 李漫, 金黎明, 陈亚飞, 等

(219) 槲皮素抗肺癌的作用机制研究进展 ... 滕欢, 王卓溪, 孟天伟, 等

(228) 免疫检查点抑制剂引起的无菌性脑膜炎: 病例分析及文献综述 ..... 王笑颖, 徐志娅, 余馨怡, 等

(234) 虫草素调节常见代谢性疾病的药理作用研究进展 ..... 徐草梅, 蒋敬庭, 胡楠

(241) 白花蛇舌草抗肿瘤作用机制研究进展 ... 刘春梅, 曾元宁, 匡海学, 等

(248) 中药干预治疗糖尿病视网膜病变作用机制的研究进展 ..... 杨婧萱, 张珂蒙, 李世伟, 等

## 药物分析与检验

(257) HPLC 法测定救必应药材中地榆皂苷 II 的含量 ..... 王娟, 徐佳慧, 魏文颖, 等

(261) 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定知母中知母皂苷 B II 含量的能力验证结果分析 ..... 康荣, 郭晓晗, 常艳, 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 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：邬志娟 彭金飞 李 科  
陆窈窕

#### 本刊声明：

本刊已入编中国知网、万方、维普、超星和长江文库等数据库，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。

- (266) 八味獐牙菜胶囊指纹图谱及多指标成分含量研究  
..... 胡紫怡, 陆国敏, 张雪菊, 等
- (272) 基于超高效液相色谱指纹图谱结合化学模式识别和多成分定量的不同产地花椒质量评价 ..... 陈祥祥, 高松, 陈娜娜, 等
- (278) 基于标准汤剂的海风藤配方颗粒质量评价研究  
..... 顾芹英, 翟燕娟, 顾超, 等

## 中药与临床

- (284) 半夏与乌头类临床配伍应用情况及安全性分析  
..... 王敏慧, 吴丽丽, 梁胜男, 等
- (290) 白及与乌头类配伍应用情况及临床安全性研究  
..... 吴丽丽, 王敏慧, 梁胜男, 等
- (295) 基于数据挖掘的《甘露四部》含石榴方剂的临床应用和配伍规律分析 ..... 萨出仁贵, 包哈申

## 本草考证

- (301) 经典名方中射干的本草考证 ..... 王嫚, 赵法政, 佟欣

## 医院药学

- (309) GenAI 在住院患者用药教育中的应用探索 ... 林贤桂, 李祥, 邢贞建
- (314) 脊髓损伤患者尿动力学检查后尿路感染的危险因素分析及药学干预启示 ..... 曹玲娟, 张海平, 杨晓毅, 等
- (320) 基于 Kano 模型的药品网络零售互联网药学服务需求调查及优化策略 ..... 王洽利, 刘佐仁

## 药学教育

- (327) 多元教学驱动的药学实习生专业分型培养模式构建与效果评价  
..... 袁若珺, 吴帝容, 张本琦, 等

## 药事管理

- (333) 中国短半衰期放射性药品监管体系的创新路径与智慧发展  
..... 章文霞, 徐大丽, 黄蕊, 等
- (336) 国内外药品短缺问题的现状、成因、应对措施及挑战探究  
..... 黄雨婷, 王思斯, 刘韶, 等

## 药品不良反应

- (343) 1 例哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠致罕见严重粒细胞缺乏伴发热的病例分析 ..... 王萍, 任海花, 盛琼玲

[ 本刊基本参数 ] CN43-1408/R\*2003\*m\*A4\*346\*zh\*P\*30.0\*720\*51\*2026-5

本期责任编辑：彭金飞, 邬志娟, 李科, 陆窈窕

英文编辑：周静

# CENTRAL SOUTH PHARMACY

Monthly Founded in April 2003 Volume 24, Number 5 May 20 2026

## Consultant

ZHOU Honghao

## Editor-in-Chief

LI Huande

## Chief of Editorial Department

WU Zhijuan

## Directed by

Hunan Association for Science and  
Technology

## Edited by

Editorial Board of Central South  
Pharmacy (Weiyixingcheng  
International, No.39 Shaoshan  
North Road, Furong District,  
Changsha, China)

## Tel

(0731) 84895602/82258487

## Website of Authors

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

## Email

[znyxzz2003@vip.163.com](mailto: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

- (2) Role and mechanism of mitochondrial dysfunction in depression development ..... MA Liya, WU Runzhu, SUN Yi
- (12) Progress in the role and mechanism of mitophagy in the pathogenesis of Alzheimer's disease ..... WU Runzhu, MA Liya, WEI Wei, et al
- (22) Effect of realgar on tubulin and its polymerization kinetics in vitro ..... YIN Jianing, YUE Yuxia, DU Baojian, et al
- (28) Mechanism of toxicity reduction of *Polygonum multiflorum* by steaming based on the gut microbiota-inflammatory barrier axis ..... DONG Andong, BAI Yaya, QIAO Ruirui, et al
- (35) Mechanism of Platycodon grandiflorum saponins for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in rats based on pulmonary tissue metabolomics ..... YANG Zhenjing, WU Chanyu, JI Ruishuang, et al
- (43) Effect and mechanism of sea buckthorn leaf water extract on ameliorating hyperlipidemia via AMPK signaling pathway ..... CHEN Jieyu, ZHANG Yina, CHEN Jinpin, et al
- (50) Preparation, characterization and preliminary pharmacokinetics of posaconazole nanosuspension eye drops ..... ZHANG Xiao, SHEN Ning, XU Kexin, et al
- (57) Mechanism of *Mori Cortex-Lycii Cortex* in alleviating UV-induced skin injury via TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway ..... YANG Pan, GUAN Li, SUN Dingkang, et al
- (63) Adsorption of human kininogenase from different sources at the surface of infusion containers ..... DENG Yucheng, LIU Yuxuan, ZHANG Peibiao, et al
- (69) Mechanism of Mongolian medicine Zhachong Shisanwei pills in alleviating cerebral ischemia injury in rats via hippocampal lysosomal pathway ..... CHEN Wenbin, SHANG Jinfeng, SONG Qi, et al
- (78) Mechanism of anaphylactoid reactions based on serum proteomics ..... YAO Ziying, YANG Qitao, SHEN Mengting, et al
- (83) Effect of Qingyanyin on hyperlipidemia based on liquid chromatography-mass spectrometry and network pharmacology ..... BAI Yang, YU Yong, LIU Lili, et al
- (92) Chemical constituents and antibacterial activity of *Cortex Mori* ..... GU Yuetao, HE Xiao, CUI Jia, et al
- (98) Chemical components of Ginkgo biloba extract and the brain components of its lyophilized sublingual tablets based on UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS ..... TAN Shizu, SONG Jiajia, YU Quanlin, et al

## Price

¥ 30.00 an issue

¥ 360.00 a year

## CSSN

ISSN 1672-2981

CN43-1408/R

Copyright 2026 by the  
Central South Pharmacy

This journal is indexed in databases including CNKI, Wanfang Data, VIP, Chaoxing, and Changjiang Library. The copyright royalties for published papers will be paid together with the contribution remuneration by this journal. Authors who do not agree to have their articles included in these databases should state so at the time of submission.

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

- (106) On the optimization of the formation of *Terminalia Chebula* formula granules of Mongolian medicine based on response surface methodology and BP neural network combination ..... SU Dena, SA Chula, BU Ren, et al
- (112) Effect of Hedysari Radix ultrafine powder and Hedysari Radix water extract on immunity ..... ZHANG Xu, WANG Ji, XUE Siyuan, et al
- (119) Network pharmacology and experimental validation of the mechanism of Shenye Xiaozheng granules against chronic atrophic gastritis ..... SUN Yufei, YIN Dongge, CHANG Rongrong, et al
- (126) Seedling specifications driving the development of *Angelica sinensis* apical buds and lignin accumulation ..... YAN Yifan, JIANG Yuan, ZENG Yuxin, et al
- (133) Mechanism of *Fructus cinnamomi cassiae immaturi* in ameliorating *Helicobacter pylori*-associated gastritis cell model based on network pharmacology ..... WANG Yanshun, LIU Hongbing, SUN Wancheng, et al
- (141) Chemical constituents from highly polar fraction of *Alstonia mairei* Lévl. twigs and leaves ..... YU Shuo, QIN Wenxiu, LI Chang, et al
- (146) Optimization of water extraction process for the 1 : 1 combination of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* based on AHP-CRITIC composite weighting method plus orthogonal design ..... WU Jingjing, SUN Jing, YANG Zhen, et al
- (152) Formulation optimization of curcumin-loaded copolymer nanoparticles and their in vitro improvement effect on age-related macular degeneration ..... LIU Juan, YANG Yuchang, LI Shiman, et al
- (159) Applicable concentration ranges of different solvents in *hERG* test ..... SHEN Chang, ZHANG Yuxin, WEI Xiaoyan, et al
- (165) Quality and safety of *Artemisia annua* L. in mine restoration areas based on q<sup>1</sup>H-NMR ..... LIANG Guangyan, LIN Shaoxia, JIANG Yangming, et al
- (172) Role of metabonomics technology in research on the mechanistic regulation of traditional Chinese medicine ..... WANG Jiayuan, GUO Wenjing, ZHANG Wei, et al
- (181) Research progress in antioxidant edaravone ..... CHE Yanxi, LUO Xiuju, PENG Jun
- (189) Clinical application, active components, and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* for hypertension ..... PEI Jingyi, KONG Ling, CAO Boming, et al
- (198) Research progress in the chemical constituents and pharmacological effect of *Folium Syringae* ..... GUO Jian, DOU Jinjin, ZHANG Xiwu
- (206) Research progress in loratadine for pediatric allergic rhinitis ..... LONG Yu, CUI Yuxia
- (211) Research progress in scutellarin and its nanoformulations for neurological disorders ..... LI Man, JIN Liming, CHEN Yafei, et al
- (219) Research progress in the mechanism of quercetin against lung cancer ..... TENG Huan, WANG Zhuoxi, MENG Tianwei, et al
- (228) Immune checkpoint inhibitors induced aseptic meningitis: a literature review and case analysis ..... WANG Xiaoying, XU Zhiya, YU Xinyi, et al
- (234) Pharmacological effect of cordycepin on common metabolic diseases ..... XU Caomei, JIANG Jingting, HU Nan



- (241) Research progress in anti-tumor mechanism of *Scleromitrion diffusum* (Willd.) R. J. Wang  
.....LIU Chunmei, ZENG Yuanning, KUANG Haixue, et al
- (249) Mechanism of traditional Chinese medicine intervention for diabetic retinopathy ..... YANG Jingxuan, ZHANG Kemeng, LI Shiwei, et al
- (257) Content determination of ziyuglycoside II in *Ilex rotunda* Thunb. by HPLC  
..... WANG Juan, XU Jiahui, WEI Wenyong, et al
- (261) Proficiency testing for the content determination of timosaponin B II in *Anemarrhenae rhizoma* by HPLC-ELSD  
..... KANG Rong, GUO Xiaohan, CHANG Yan, et al
- (266) Fingerprints and multi-component quantification of Bawei Zhangyacao capsules ..... HU Ziyi, LU Guomin, ZHANG Xueju, et al
- (272) Quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* from different areas based on UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition and multi-component quantification  
..... CHEN Xiangxiang, GAO Song, CHEN Nana, et al
- (278) Quality evaluation of Piperis Kadsurae Caulis formula granules based on standard decoction ..... GU Qinying, ZHAI Yanjuan, GU Chao, et al
- (284) Application and safety of *Pinellia ternata* and *Aconitum* compatibility  
..... WANG Minhui, WU Lili, LIANG Shengnan, et al
- (295) Combination patterns of *Punica granatum*-containing formulas in *Ganlu Sibei* based on data mining analysis ..... Sachurengui, BAO Hashen
- (301) Herbal textual research on classic formula Shigan  
..... WANG Man, ZHAO Fazheng, TONG Xin
- (309) GenAI in medication education for inpatient  
..... LIN Xiangui, LI Xiang, XING Zhenjian
- (314) Risk factors of urinary tract infection after urodynamic examination in patients with spinal cord injury and implications for pharmaceutical intervention  
..... CAO Lingjuan, ZHANG Haiping, YANG Xiaoyi, et al
- (320) Demand and optimization strategies for online pharmacy services based on the Kano model ..... WANG Qiali, LIU Zuoren
- (327) Construction and effect evaluation of a specialty-classified training model for pharmacy interns by diversified teaching methods  
..... YUAN Ruojun, WU Dirong, ZHANG Benqi, et al
- (333) Innovative path and intelligent development of regulatory system for China's short-half-life radioactive drugs  
..... ZHANG Wenxia, XU Dali, HUANG Rui, et al
- (336) Exploration of the current situation, causes, response measures, and challenges of drug shortage in China and other countries  
..... HUANG Yuting, WANG Sisi, LIU Shao, et al



## 线粒体在神经精神疾病中的作用和机制研究进展专题

## 【编者按】

作为神经元的能量工厂与代谢调控中心，线粒体在中枢神经系统的健康与疾病中发挥举足轻重的作用。线粒体功能失调及质量控制异常，不仅会直接导致脑能量代谢危机，还可引发氧化应激、钙稳态紊乱，从而整合并贯通多条神经系统疾病的病理途径。本专题聚焦线粒体在阿尔茨海默病与抑郁症这两大重大神经精神疾病中的作用机制与靶向治疗进展。专题一方面系统解析了线粒体自噬在 AD 发病中扮演的“双刃剑”角色及其与核心病理特征的交互网络；另一方面，全面阐述了线粒体功能障碍在抑郁症发生发展中对多重病理假说的贯通作用。此外，本专题还总结了以线粒体及线粒体自噬为靶点的小分子药物和天然产物等新型干预策略，旨在为阿尔茨海默病与抑郁症的病理机制解析及临床治疗新药研发提供前沿参考与理论依据。

## 【主持人简介】



孙逸，女，中国药科大学，副教授，中国药理学会神经药理专业委员会委员、中国药理学会心血管药理专业委员会青年委员会委员、中国药理学会肾脏药理专业委员会委员。长期开展抑郁症、焦虑症等情绪功能障碍及阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病病理生理机制及药物靶点研究，主持并参与国家自然科学基金项目、宁夏重点研发计划、教育部医药基础研究创新中心开放课题、国家“十二五”重大新药创制专项课题、广东省重大科技专项项目等十余项，研究成果发表于 *Redox Biology*、*Free Radical Biology and Medicine*、*Antioxidants & Redox Signaling*、*Journal of Medicinal Chemistry* 等期刊。获得“江苏省五一创新能手”“江苏省青年岗位能手”。

## 线粒体功能障碍在抑郁症发生发展中的作用和机制研究

马莉雅，兀閏竹，孙逸\*（中国药科大学药学院，南京 211198）

**摘要：**抑郁症是全球性的重大公共卫生挑战，发病机制迄今仍未完全阐明。尽管单胺假说、神经炎症假说、神经营养因子假说等多种理论各自揭示了抑郁症的部分病理过程，但单一假说难以全面解释疾病全貌。近年来，大量研究表明，线粒体功能障碍可能在抑郁症的发生与发展中发挥核心作用。作为神经元的能量工厂和代谢调控中心，线粒体功能失调不仅影响脑能量代谢，还可引发氧化应激、钙稳态紊乱及神经递质释放异常，从而整合并贯通多条已知的病理途径。在抑郁症患者及动物模型中，脑区能量代谢障碍、线粒体结构损伤及质量控制系统失衡已得到多项实验证据支持。本文结合最新研究进展，综述了线粒体结构与动力学基础、线粒体功能障碍参与抑郁症发生的潜在机制，以及以线粒体为靶点的干预策略，旨在为抑郁症的病理机制研究和新型治疗方法探索提供参考。

**关键词：**线粒体；抑郁症；能量代谢；氧化应激；神经炎症；突触可塑性

**中图分类号：**R749.4, R338 **文献标识码：**A **文章编号：**1672-2981(2026)05-001-11  
**doi:**10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.001

**基金项目：**国家自然科学基金青年项目（No.81703520）；大学生创新创业训练计划项目（No.2025103161035）。

**作者简介：**马莉雅，女，email: maliya@stu.cpu.edu.cn \* **通信作者：**孙逸，女，副教授，主要从事神经精神疾病病理机制研究及药物靶点的发现，email: bio\_lunar@163.com

## Role and mechanism of mitochondrial dysfunction in depression development

MA Liya, WU Runzhu, SUN Yi\* (School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198)

**Abstract:** Depression is a major global public health challenge, and its pathogenesis remains incompletely understood. Although various theories, such as the monoamine hypothesis, the neuroinflammation hypothesis, and the neurotrophic factor hypothesis, have each elucidated portions of the pathological process of depression, no single hypothesis fully explains the disease. Recent research has indicated that mitochondrial dysfunction may play a central role in the onset and progression of depression. As the energy factories and metabolic regulation centers of neurons, mitochondria dysfunction not only influences the brain's energy metabolism, but also provokes oxidative stress, disrupts calcium homeostasis, and causes abnormal neurotransmitter release, thereby integrating and linking multiple known pathological pathways. In both patients with depression and in animal models, experimental evidence has supported regional brain energy metabolism impairments, mitochondrial structural damage, and imbalance of mitochondrial quality-control systems. Combining the latest research advances, this review summarized the basics of mitochondrial structure and dynamics, the potential mechanisms by which mitochondrial dysfunction contributes to depression, and mitochondria-targeted intervention strategies, to provide a reference for depression pathogenesis and exploration of novel therapeutics.

**Key words:** mitochondria; depression; energy metabolism; oxidative stress; neuroinflammation; synaptic plasticity

大脑是人体能量需求最高、代谢最活跃的器官。神经元功能的正常维持高度依赖于持续而稳定的能量供应。线粒体是细胞的能量工厂，更是调控细胞凋亡、钙稳态、氧化还原平衡和信号转导的关键中枢。因此，任何损害线粒体结构与功能完整性的因素，都可能引发神经元能量危机和功能紊乱，最终可诱发多种精神疾病，尤其与抑郁症密切相关。抑郁症作为最常见且负担沉重的情感障碍疾病，病理机制复杂。尽管神经递质、内分泌、炎症等经典假说从不同侧面揭示了其病理机制，但尚无法全面阐释抑郁的发病机制。近年来，线粒体功能障碍假说逐渐受到关注，它不仅为解释抑郁症中同时存在的神经递质失衡、内分泌异常、炎症反应和神经营养因子降低等现象提供了新的生物学视角，也为我们系统性地重构抑郁症的病理生理学网络提供了全新的视角。

### 1 抑郁症及其病理假说

抑郁症是一种以愉悦感丧失为核心特征的复杂精神障碍，已成为全球范围内主要的疾病负担之一。据世界卫生组织统计，全球超过 3 亿人受抑郁影响，年患病率高达世界总人口的 4.4%，其高患病率、高复发率和高致残率给社会经济和公共卫生系统带来了沉重负担<sup>[1]</sup>。抑郁症不仅与自伤和自杀高度相关，还与心血管疾病、糖尿病等多种躯体疾病相互影响<sup>[2]</sup>。

抑郁症的病理机制复杂，尚未被完全阐明。经典病理假说包括单胺递质假说、受体假说、免疫炎症假说和神经营养因子假说等<sup>[1]</sup>。这些假说从不同方面解释了抑郁症的部分特征，但任何一种单一假说都无法完整解释抑郁症的发病过程。

现有的药物治疗方法大多基于上述经典机制。常用的抗抑郁药物包括选择性 5-羟色胺 (5-HT) 再摄取抑制剂、5-HT 与去甲肾上腺素再摄取抑制剂和单胺氧化酶抑制剂等。然而它们的治疗效果有限，30% ~ 50% 的患者对治疗反应不佳<sup>[3]</sup>。传统抗抑郁药物还存在延迟作用，抗抑郁效果需 1 ~ 2 周才有所体现<sup>[4]</sup>，这是经典假说单胺理论无法解释的。因此，研究者在继续深化经典假说研究的基础上，开始关注新的发病机制和治疗策略。其中，线粒体功能障碍因其在能量代谢、氧化应激、钙稳态调控及神经递质释放等多方面的核心作用，正成为抑郁症研究的一个重要方向。

### 2 线粒体

#### 2.1 线粒体结构与功能

线粒体广泛存在于真核细胞内，是细胞进行有氧呼吸和三磷酸腺苷 (ATP) 合成的主要场所，其由外膜、膜间隙、内膜和基质四个功能区组成<sup>[5]</sup>。外膜富含多种转运蛋白，可允许小分子自由通过并调控代谢物进出。内膜结构致密，是电子传递链复合



体和 ATP 合酶聚集的核心区域,可高效满足细胞的能量需求。基质中富含多种代谢酶、核酸及钙离子,是三羧酸循环和脂肪酸氧化等关键代谢反应的主要发生区域<sup>[5]</sup>。作为“能量工厂”,线粒体通过氧化磷酸化合成 ATP,同时参与活性氧(ROS)代谢、钙稳态调控、铁硫蛋白生成和脂质代谢等多种细胞功能。四个功能区的协同作用,使线粒体能够完成从能量代谢到细胞死亡调控等多样化生物学过程。

神经元能量需求大且来源相对单一,仅以葡萄糖及其降解产物作为基本原料,高度依赖线粒体氧化磷酸化所产生的 ATP<sup>[6]</sup>。线粒体产生的 ATP 供给  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶维持静息膜电位和动作电位,成为递质合成、囊泡包装及突触后释放与再摄取等一系列高耗能过程的直接动力来源。此外,突触前后的线粒体能够快速缓冲局部钙离子浓度,这对精确调控神经递质释放、维持突触可塑性至关重要,在学习与记忆等高级脑功能中发挥调控作用<sup>[7]</sup>。线粒体功能受损可导致突触形成与维持受损、神经网络完整性下降并引发神经退行性变化<sup>[8]</sup>。线粒体代谢也是调控神经发生与神经元成熟的关键环节。实验表明刺激人类神经元线粒体代谢可加速神经元体内外成熟,而抑制小鼠神经元线粒体代谢则会延缓成熟进程,提示线粒体代谢在神经发生与功能成熟中的决定性作用<sup>[6, 9]</sup>。

因此,线粒体结构的完整性与功能的稳定性是维持神经元正常生理活动和保障大脑高级认知情感功能的基石。任何导致其功能失调的因素,都可能破坏神经系统的稳态,从而诱发或加剧抑郁症等精神疾病的病理进程。

## 2.2 线粒体动力学

线粒体是高度动态的细胞器,通过融合、分裂、运输和自噬等过程持续重塑,以适应不同的代谢需求。

线粒体运输指线粒体沿轴突和树突的定向移动,依赖于微管与微丝骨架以及相关的马达蛋白,包括驱动蛋白、动力蛋白和肌球蛋白等<sup>[10]</sup>。这种运动保证在高度极化的神经元中,能量可以精确分配至突触前末梢等能量需求高的亚细胞区,从而支持突触功能和神经元代谢需求。

线粒体融合由线粒体融合蛋白 1/2 (MFN1/2) 和视神经萎缩蛋白 1 (OPA1) 共同介导。MFN1/2 通过形成二聚体完成外膜融合<sup>[11]</sup>,而 OPA1 通过其不同亚型参与内膜融合与嵴结构稳定<sup>[12]</sup>。融合有助于能量补偿、功能受损线粒体成分的稀释及线粒体基因组的互补重组。

线粒体分裂主要由胞质中的动力相关蛋白 1 (DRP1)、外膜受体线粒体分裂蛋白 (FIS1) 及线粒体分裂因子 (MFF) 等共同完成。DRP1 在应激

状态下被招募至线粒体外膜形成环状结构,通过三磷酸鸟苷 (GTP) 水解驱动膜的收缩与分裂<sup>[13]</sup>。适度的线粒体分裂可增加线粒体数量并优化其空间分布,同时帮助隔离受损片段,便于后续自噬清除。

线粒体自噬则通过清除受损线粒体实现质量控制。当膜电位异常改变或结构受损时,磷酸酶及张力蛋白同源物基因诱导激酶 1 (PINK1) 在线粒体损伤时在外膜累积并招募 E3 泛素连接酶 Parkin,诱导外膜蛋白泛素化和自噬识别<sup>[14]</sup>。此外, BCL2 相互作用蛋白 3 (BNIP3) 和 BNIP3 类蛋白 (NIX) 等受体在缺氧等条件下可独立于泛素系统介导线粒体自噬,从而多途径共同维持线粒体完整性与细胞稳态<sup>[15]</sup>。

动力学失衡会导致线粒体聚集、膜电位及呼吸功能受损,进而造成神经元能量供应不足,参与抑郁症等神经系统疾病的发生与发展。多项研究在抑郁症样本中观察到融合蛋白或分裂蛋白表达异常,这提示线粒体动力学紊乱可能是其重要病理机制之一<sup>[16]</sup>。

为了更直观地展示线粒体的基本结构及其在神经元中的动态变化过程,我们将线粒体的结构组成、分裂、运输与融合机制进行了系统整合(见图 1)。

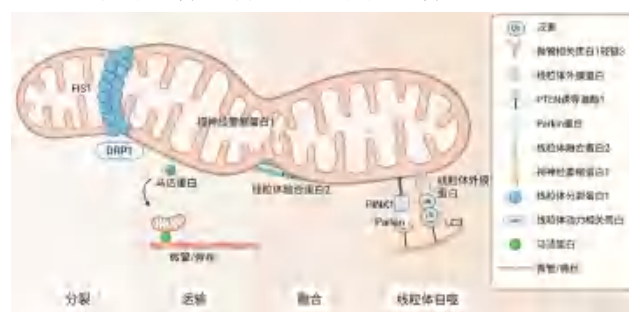


图 1 线粒体结构与线粒体动力学(由 Biorender 绘制)

Fig 1 Mitochondrial structure and mitochondrial dynamics (drawn by Biorender)

## 3 线粒体功能异常影响抑郁症发生发展的机制

精确的线粒体运输与定位对维持神经元的突触传递、轴突发育与再生、局部代谢稳态及应激应答至关重要。线粒体调控失衡已在帕金森病、阿尔茨海默病、周围神经病及缺血性损伤等多种神经系统疾病中被观察到,被认为可能参与病理过程,或成为潜在治疗靶点。

近年来,许多临床与动物模型研究提示线粒体功能障碍与抑郁症之间存在紧密联系。Morava 等<sup>[17]</sup>通过临床研究发现,与正常人群相比,患有线粒体疾病的儿童表现出抑郁和孤僻行为的发生率明显更高,这表明线粒体功能障碍与抑郁症状之间存在显著相关性。脑影像学和组织学研究亦在抑郁症患者的前额叶、海马与基底神经节等关键脑区检测到线粒体形态与功能改变,线粒体功能受损会导致抑郁患者脑部多个区域结构和功能的异常,表明线粒体在神经可塑性和脑区功能维持中具有重要作用<sup>[16]</sup>。

动物研究进一步为病理机制提供了线索。在动物模型中的研究发现,长期轻度应激能够损害小鼠线粒体的超微结构,导致的形态学改变与抑郁样行为相关联,而且这些改变伴随氧化应激增加<sup>[18]</sup>。这提示线粒体功能失调及氧化损伤可能介导应激相关的抑郁样表现。

综上临床与实验证据,线粒体功能异常可能是抑郁症发生与发展的重要病理环节。具体而言,线粒体能量代谢障碍、氧化应激失衡、动力学异常、生物发生减少、线粒体 DNA (mtDNA) 损伤、线粒体自噬失调和钙稳态失衡均是线粒体功能障碍参与抑郁症发生的潜在机制。

### 3.1 能量代谢障碍

能量合成下降是线粒体功能障碍直接且最具生理意义的改变,对脑功能影响显著。

多项影像学与代谢组学研究显示,抑郁症患者在前额叶、海马等关键脑区存在葡萄糖代谢降低与磷酸肌酸、ATP 水平降低;相应地,慢性应激动物模型表现出线粒体呼吸链复合体活性下降及 ATP 生成受损,提示能量供应障碍与抑郁表型相关<sup>[18-20]</sup>。并且抑郁症患者肌肉组织中的 ATP 水平与其躯体症状的严重程度相关<sup>[20]</sup>。

能量不足将直接削弱神经元维持膜电位、突触传递和可塑性的能力,长期能源缺乏可导致突触丢失和神经功能紊乱,影响情绪与认知功能。细胞水平实验表明,线粒体膜电位下降导致 ATP 耗竭,并促使胞质钙离子内流,过量的胞内钙离子进一步损伤线粒体并触发细胞凋亡或坏死信号通路,这一过程与抑郁样状态中检测到的 ATP 降低相吻合<sup>[21]</sup>。

在分子机制上,呼吸链复合体 I 或 III 功能受损一方面直接减少质子梯度和 ATP 合成,另一方面促使电子泄漏并产生过量 ROS。ROS 累积可引发线粒体膜通透性改变及细胞色素 C 释放,进而激活细胞内凋亡与炎症反应,最终导致中枢神经系统功能受损并加重抑郁症状<sup>[22]</sup>。因此,能量代谢障碍与氧化应激、钙离子失衡及细胞凋亡与炎症共同构成促进抑郁发生与进展的重要病理环节。

### 3.2 氧化应激失衡

氧化应激由体内 ROS 和抗氧化防御系统失衡引起。当 ROS 的产生超过抗氧化防御系统的清除能力时,可引起蛋白质氧化和脂质过氧化,引发生理功能损伤。大脑由于氧气消耗量高,脂质含量高及内源性抗氧化能力较弱,比其他器官更容易遭受氧化应激损伤<sup>[23]</sup>。氧化应激发生时,ROS 和下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴活性增加,抗氧化物和其他酶水平下降,促炎因子如核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) 水平升高<sup>[24]</sup>。促炎因子的增加进一步损伤 DNA、蛋白质

和脂质,最终导致神经元细胞死亡和神经发生减少,引起抑郁症患者的相关认知与情绪功能障碍。

线粒体是细胞内 ROS 的主要来源,线粒体自噬通过清除产生过量 ROS 的受损线粒体,形成氧化还原信号负反馈回路,在一定程度上保护神经元免受氧化损伤。这一过程依赖核因子 -E2 相关因子 2 (NRF2) / 抗氧化反应元件 (ARE) 通路的激活<sup>[25]</sup>。NRF2 是一种关键的抗氧化转录因子,能够通过抗氧化酶的结合同提高细胞的抗氧化能力。Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (KEAP1) 是 NRF2 的负调控因子,通过与 NRF2 结合并引导其向蛋白酶体降解以抑制 NRF2 的活性<sup>[26]</sup>。在 p62-KEAP1-NRF2 通路中,自噬底物 p62 水平增加,与 KEAP1 竞争结合,解除其对 NRF2 的抑制作用,从而稳定 NRF2 并激活抗氧化反应基因,提升细胞抗氧化能力<sup>[27]</sup>。

当线粒体自噬功能受损或 ROS 产生持续、过量时,ROS 可通过激活 NF- $\kappa$ B、NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3 (NLRP3) 炎性小体等通路诱发神经炎症,而炎症因子进一步损害线粒体功能,形成线粒体障碍与炎症之间的正反馈环路,加剧抑郁病理过程。流行病学与临床研究表明,重度抑郁障碍常与慢性炎症共病,且某些抑郁亚型与免疫激活高度相关,因此干预氧化应激与线粒体保护可能对抑郁症的治疗具有临床意义<sup>[28]</sup>。

### 3.3 动力学异常

线粒体动力学功能障碍通常由 mtDNA 突变或线粒体蛋白功能异常引起。

线粒体动力学过程受 mtDNA 损伤和相关蛋白表达变化的影响<sup>[29]</sup>,而其失衡被认为是抑郁症病理的重要组成部分。研究提示,线粒体动力学功能障碍可能通过影响氧化应激、mtDNA 释放、能量代谢紊乱及细胞凋亡从而导致炎症反应,推动抑郁症的发生和发展<sup>[29]</sup>。

从分子水平来看,过度融合会形成体积大但功能受损的线粒体;而过度分裂则会造成线粒体碎片化,增加细胞死亡风险。这两种情况均会打破线粒体动力学的精细平衡,阻碍神经信号传递,进而增加抑郁症的发病风险。

MFN2 在不同抑郁症模型中呈现较为一致的下调趋势。Gebara 等<sup>[30]</sup>发现抑郁样大鼠伏隔核 (NAc) 中 MFN2 的表达水平降低,伴随线粒体体积增大以及内质网的相互作用减少,而 MFN2 过表达可使神经元与行为表型恢复正常。此外,有研究指出 MFN2 缺失会导致电子传递链活性降低,进一步加重能量缺陷<sup>[31]</sup>。人群研究同样支持 MFN2 下调与重度抑郁症相关。在对东亚人群的横断面研究中,群体转录组与血样分析显示 MFN2 表达下调与重度抑郁相关<sup>[32]</sup>。这进一步在外周水平上提供了证据。



相比之下,OPA1 的变化更具模型依赖性。在抑郁与糖尿病共病小鼠模型中 OPA1 显著下调<sup>[33]</sup>,而在 Brivio 等<sup>[34]</sup>研究的抑郁易感小鼠中 OPA1 却呈上调趋势。研究者将后者解释为一种对氧化应激与能量危机的代偿性融合反应,即易感个体试图通过增强融合来减轻 ROS 损伤<sup>[34]</sup>。但在持续刺激下可能出现病理性改变,继而 OPA1 表达减少。

在线粒体分裂方面,多项动物实验显示应激情况下 DRP1 表达上调<sup>[35]</sup>,与线粒体片段化、ATP 下降、ROS 增加和抑郁样行为相关。抑制 DRP1 能改善抑郁样行为与线粒体功能<sup>[36]</sup>。作为 DRP1 招募的关键外膜受体,DRP1 与 MFF 也表现出应激依赖性的改变。在慢性不可预知性温和应激(CUMS)模型中,DRP1 上调而 MFF 下调,这种不对称变化会加强线粒体分裂并触发过度线粒体自噬,导致线粒体数量减少和能量耗竭<sup>[37]</sup>。

综上,虽然不同研究在单一蛋白的表达方向上存在一定差异,但总体研究支持抑郁模型中的线粒体动力学变化主要体现为线粒体分裂增加,融合减少,线粒体形态从网络化向碎裂化转变,并伴随 ATP 下降和 ROS 升高。

### 3.4 线粒体生物发生减少

线粒体生物发生维持线粒体数量和功能,这一过程受一系列转录共激活因子和转录因子的精细调控。过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 辅激活因子 $1\alpha$ (PGC- $1\alpha$ )作为核激素受体过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )的转录共激活因子,激活核呼吸因子 1(NRF1)、线粒体转录因子 A(TFAM)等下游因子,促进线粒体基因组复制与线粒体蛋白质表达,从而支持线粒体生物合成与能量代谢。PGC- $1\alpha$ 的活性进一步受到多条能量感知通路调节,包括腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)、NAD-依赖性去乙酰化酶 Sirtuin-1(SIRT1)以及 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)/上调环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(CREB)等,它们可通过磷酸化或去乙酰化调控 PGC- $1\alpha$ 的活性与稳定性。能量需求增加或代谢应激条件下,上述通路通常被激活以维持细胞能量供应。

多项研究显示 PGC- $1\alpha$ 的表达在抑郁模型中显著降低<sup>[38]</sup>。在小鼠中,海马 PGC- $1\alpha$ 下调会诱导抑郁样行为<sup>[39]</sup>。慢性应激诱导的抑郁大鼠模型也表现出海马和前额叶 PGC- $1\alpha$ 表达减少,而使用激活 PGC- $1\alpha$ 的姜黄素可部分逆转线粒体功能障碍。临床研究中,Alcocer-Gomez 等<sup>[38]</sup>发现,抑郁患者外周血单核细胞中 PGC- $1\alpha$ 及其下游目标基因 NRF1、TFAM 表达下调。此外,参与能量感知和抗氧化的 AMPK、NRF2 以及 SIRT1 等也在抑郁状态中表达下调<sup>[40]</sup>。从下游机制来看,PGC- $1\alpha$ 下调导致线粒体蛋白合成下降、呼吸链效率下降,ATP 生成减少,同时抗氧化酶表

达不足,ROS 增加。能量缺陷与氧化应激可触发 mtDNA 损伤外泄、启动炎症通路,从而通过炎症-神经可塑性通路介导情绪和认知异常<sup>[41]</sup>。

近期研究还揭示了单胺系统与线粒体生物发生之间的关联。Fanibunda 等<sup>[42]</sup>的研究表明,血清素是皮质神经元线粒体生物合成与功能的上游调控因子,5-HT<sub>2A</sub>受体活化可以激活 SIRT1/PGC- $1\alpha$ 通路,并指出血清素的线粒体调控效应与其神经保护作用密切相关。这一发现不仅将经典单胺假说与线粒体功能障碍相连接,也为理解抗抑郁药的细胞能量学效应提供了新的解释框架。

### 3.5 mtDNA 损伤

mtDNA 损伤是影响线粒体生物发生和功能稳态的重要因素。当 mtDNA 发生突变、断裂或氧化损伤时,其编码的氧化磷酸化复合体亚基合成受阻,导致线粒体数量减少或功能下降。而线粒体发生故障也可导致线粒体功能衰退,释放 mtDNA,导致外周 mtDNA 水平变化。研究发现在抑郁症患者中,外周组织中 mtDNA 水平显著升高<sup>[43]</sup>,提示其可能作为疾病相关的细胞应激与免疫激活的外周反应。这些胞外 mtDNA 可作为损伤相关分子模式(DAMPs)激活免疫炎症通路并参与病理进程。因此,mtDNA 的损伤与异常分布不仅反映线粒体生物发生受损,也可能通过促炎信号参与抑郁的发病机制<sup>[43]</sup>。

现有证据显示外周血循环游离线粒体 DNA(ccf-mtDNA)与抑郁谱系障碍之间存在关联。Lindqvist 等<sup>[44-45]</sup>研究发现,未接受药物治疗的重度抑郁症患者 ccf-mtDNA 水平显著升高,且该指标升高与 HPA 轴功能亢进及负反馈调节受损相关,这一外周指标提示细胞或线粒体损伤程度加重<sup>[44]</sup>。但也有研究指出抑郁患者的 ccf-mtDNA 水平反而降低,尤其是在接受治疗或长期病程的样本中<sup>[46]</sup>。在二级精神科医疗机构接受治疗的抑郁症患者的 ccf-mtDNA 水平低于健康对照者<sup>[47]</sup>。这种结果差异或与患者用药状态相关,因为精神类药物的使用可能会影响线粒体的功能与细胞健康<sup>[48]</sup>。现有证据表明:短时应激可瞬时升高 ccf-mtDNA,而慢性病程与药物等可能导致其下降<sup>[49-50]</sup>。

值得注意的是,不同抑郁症状谱中 ccf-mtDNA 的调控机制可能存在差异。炎症特征明显的抑郁亚型更常表现为较高的 ccf-mtDNA 水平,这提示 mtDNA 损伤及其免疫效应可能与抑郁症的亚型特异性病理相关<sup>[47]</sup>。

此外,一项专注于老年抑郁的研究中发现 ccf-mtDNA 与抑郁严重程度呈显著正相关<sup>[29]</sup>。另一项近期的有关老年抑郁的纵向研究也显示,血浆 ccf-mtDNA 水平与其缺失率均与抑郁严重程度呈正相关<sup>[51]</sup>。但一项 meta 分析指出,虽然总体来看抑郁组 ccf-mtDNA 有上调倾向,但跨研究异质性非常

高,不同研究之间结果冲突,方法、样本、合并症与药物都会干扰研究结果<sup>[43]</sup>。ccf-mtDNA 与抑郁严重程度关联可能在特定子群下更具意义。

就机制而言,mtDNA 损伤释放可通过环状 GMP-AMP 合成酶-干扰素刺激因子(cGAS-STING)、NLRP3 炎症小体、Toll 样受体 9 (TLR9) 等先天免疫通路诱发神经炎症,并通过 ROS、能量代谢失衡与线粒体自噬失调进一步损害神经可塑性及情绪调节<sup>[9, 52]</sup>。

综上,单一 ccf-mtDNA 目前还不能作为普适的抑郁症独立诊断标志物,但其在疾病分层、炎症亚型识别或作为多指标组合中的潜力值得进一步探索。

### 3.6 线粒体自噬失调

线粒体自噬是选择性清除损伤线粒体的质量控制机制,通过调节能量代谢、减轻氧化应激、调节神经炎症和影响神经突触可塑性来影响线粒体功能,从而影响抑郁症状(见图 2)。

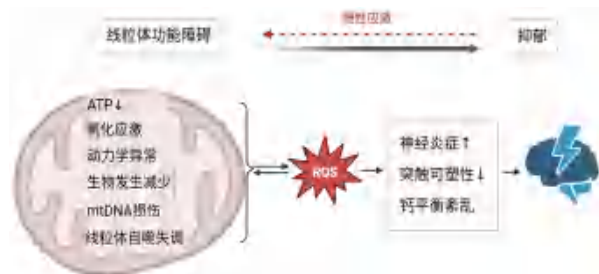


图 2 线粒体功能障碍与抑郁症的关系总图(由 Biorender 绘制)

Fig 2 Relationship between mitochondrial dysfunction and depression (drawn by Biorender)

抑郁状态下这一过程紊乱可导致损伤线粒体的积累并促进病理进展。当自噬发生异常时,线粒体和神经元的生理功能稳态破坏,从而导致神经系统疾病的发生。目前关于线粒体自噬在抑郁症发生发展中的具体作用机制仍存在一定争议,但大部分研究支持抑郁状态与线粒体自噬水平异常降低显著相关。抑郁症患者及动物模型中呈现一些线粒体自噬关键因子的变化。抑郁症大鼠模型海马神经元中微管相关蛋白轻链 3 (LC3-II) / 微管相关蛋白轻链 3 (LC3-I) 比值和 Beclin-1 表达水平提高,自噬水平显著升高<sup>[53]</sup>。小鼠抑郁症模型中,线粒体自噬被抑制,缺陷的线粒体积累,而激活线粒体自噬可以改善小鼠抑郁样行为<sup>[54]</sup>。抑郁症患者中,表现出 NIX 蛋白表达降低,影响线粒体自噬的正常进行。

也有研究认为线粒体自噬在抑郁症的发生发展中起到双重作用。适度的线粒体自噬有助于清除氧化损伤线粒体并减轻细胞应激,但过度自噬则可能导致线粒体数量丢失,能量供应不足,反而不利于细胞生存<sup>[55]</sup>。

综上所述,能量代谢障碍、氧化应激失衡、动力学异常、线粒体生物发生减少、mtDNA 损伤和

线粒体自噬失调等线粒体障碍间接或直接损害能量供应,最终体现为钙平衡紊乱、神经炎症的激活以及突触可塑性下降,影响神经系统功能,形成抑郁症的多系统复杂症状。

### 4 线粒体损伤的脑区异质性

越来越多的动物和人类研究表明,与抑郁相关的线粒体功能障碍并非在全脑同时、均质发生,而是呈现显著的时间与空间差异,且这种差异与具体症状维度密切相关。

不同脑区代谢负荷、细胞组成和神经回路功能存在差异,导致同样的压力或病理状态在不同区域引起不同程度的线粒体损伤。前额叶皮层(PFC)和海马具有更高的能量需求和神经元密度,对线粒体氧化磷酸化产生 ATP 的依赖更强,因此在炎症或高氧化应激环境下更容易发生氧化损伤和膜电位下降<sup>[56]</sup>。相比之下,NAc 富含对多巴胺敏感的中型棘状神经元,对动机驱动依赖能量稳定供应<sup>[57]</sup>。

除了空间差异外,线粒体损伤还呈现时间上的动态异质性。转录组与分子层面的证据显示,PFC 对应激的线粒体基因重编程反应相对敏感且发生较早:多项慢性应激模型中,PFC 的线粒体氧化磷酸化相关基因表达下降,这些转录改变可先于明显的行为表型与组织结构改变<sup>[56]</sup>。随着应激累积,海马更易出现线粒体功能衰竭、动力学异常和结构性破坏,提示其在疾病进展阶段发挥关键作用<sup>[58]</sup>。

此外,不同脑区的线粒体损伤不仅反映结构与代谢负荷的差异,还可能与抑郁症相关的不同症状维度有关。研究表明,NAc 脑区线粒体动力学紊乱主要反映为动机减退、焦虑和快感缺失<sup>[30]</sup>;而 PFC 和海马的线粒体功能障碍更常见于抑郁相关的认知功能障碍<sup>[59]</sup>。这可能与不同脑区的功能不同有关:NAc 及其他基底节结构主要参与奖励-动机和情绪调控,而 PFC 和海马参与认知、情绪调控和记忆功能调控<sup>[60-62]</sup>。这些发现提示抑郁症不同症状维度可能源于不同脑区的线粒体病理异质性及其下游分子通路差异。

全脑尺度的线粒体功能测定研究进一步支持脑区特异性与功能对应。大脑中线粒体表型并非均匀分布,而是组织成功能协调的网络,这些网络与行为表现密切相关。Rosenberg 等<sup>[63]</sup>的研究在 17 个脑区系统测定线粒体呼吸特征,显示不同脑区的线粒体功能特征能解释和预测不同类型的应激相关行为学表型的个体差异。

大脑中线粒体呈现功能网络化组织,抑郁症中的线粒体损伤呈现出显著的空间与时间异质性,并与具体症状维度密切关联。深入解析这些脑区特异的损伤机制,有助于理解抑郁症异质性病理并开发靶向治疗策略。



## 5 与改善线粒体功能相关的抗抑郁方法研究进展及挑战

针对线粒体功能障碍的抗抑郁策略包括药物治疗和非药物干预两大类,核心思路可归为两大方向:一是改善细胞能量代谢,促进中枢神经系统内葡萄糖的有氧氧化与 ATP 生成;二是修复线粒体质量控制系统,通过促进线粒体生物发生、调节动力学与线粒体自噬以及抑制氧化应激来恢复线粒体功能。两类策略常互为补充。

### 5.1 药物治疗

**5.1.1 已上市的抗抑郁药物新机制** 经典的抗抑郁药物本身虽未针对线粒体设计,但越来越多研究发现它们的疗效可能与改善线粒体功能有关,这为其迅速或迟发的神经可塑性作用提供了补充的机制学解释。一些广泛使用的 5-HT 再摄取抑制剂和去甲肾上腺素再摄取抑制剂类抗抑郁药物,如舍曲林、阿戈美拉汀、氟西汀等,都被发现可改善线粒体功能。

舍曲林可作为一种自噬诱导剂,调节 AMPK-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)-核糖体蛋白 S6 激酶 B1(RPS6KB1)途径影响线粒体自噬<sup>[64]</sup>。舍曲林通过结合并拮抗分布于线粒体外膜的电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1(VDAC1),导致细胞内 ATP 水平下降,从而激活 AMPK,并抑制其下游的 mTOR-RPS6KB1 信号通路,从而清除受损线粒体,产生神经保护效应<sup>[64]</sup>。

在慢性应激动物及细胞模型中,阿戈美拉汀和氟西汀被观察到能促进自噬通量、增强受损线粒体的清除并减轻谷氨酸诱导的氧化应激和线粒体功能障碍,从而有效保护小鼠海马免受谷氨酸毒性的影响,产生神经保护作用<sup>[65-66]</sup>。

多项研究提示氯胺酮类药物可调控能量代谢通路。除快速的突触可塑性效应外,艾司氯胺酮也能够上调 PGC-1 $\alpha$  表达,同时短暂抑制 mTOR 通路,防止其在压力下有害的过度激活,然后通过 AMPK-PGC-1 $\alpha$  轴促进线粒体功能恢复<sup>[67]</sup>,有可能是其快速抗抑郁效应的部分分子基础。

在体外分离线粒体实验中,5-HT 再摄取抑制剂沃替西汀被观察到对线粒体复合体尤其是复合体 I 的抑制最为明显<sup>[68]</sup>。沃替西汀还降低了过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)产生并显示部分单胺氧化酶抑制活性,降低氧化应激,有利于神经可塑性与神经元存活,从而间接发挥抗抑郁作用<sup>[68]</sup>。

**5.1.2 新型调控线粒体功能的抗抑郁小分子化合物药物研究** 除上述药物外,一些新型药物或小分子化合物也展现出调节线粒体功能的抗抑郁潜力,未来有望为抑郁症提供新的药物选择。

二甲双胍通过激活 AMPK 信号在慢性应激小鼠中表现出抗抑郁样作用;海马中敲低或化学抑制

AMPK 可消除其效应,提示其抗抑郁作用部分依赖 AMPK 介导的代谢/线粒体调控<sup>[69]</sup>。

吡格列酮作为 PPAR $\gamma$  激动剂,在随机对照和荟萃分析中显示在单相和双相的抑郁发作中均有抗抑郁效应。吡格列酮作用于 PPAR $\gamma$ -PGC-1 $\alpha$  轴,促进线粒体生物发生、耦合能量代谢与抗炎反应,其作用机制与线粒体功能恢复密切相关,并为潜在的抗抑郁治疗策略提供重要依据<sup>[70]</sup>。

小分子化合物 AdipoRon 是一种脂联素受体激动剂,可以抑制 NLRP3 炎症体的激活并促进线粒体自噬,动物研究显示其改善 CUMS 引起的小鼠抑郁样行为及相关神经元损害<sup>[71]</sup>。

BGP-15 是具有聚腺苷二磷酸核糖聚合酶抑制活性的烟酰胺衍生物,可以促进 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬,缓解脂多糖诱导的抑郁模型并促进线粒体恢复,预防神经元损伤<sup>[72]</sup>。

G11-5 是基于中草药大叶菊的活性成分合成的一种小分子化合物。研究证实 G11-5 可调节转位蛋白(TSPO)介导的线粒体自噬信号通路,在习得性无助和社会挫败应激抑郁小鼠模型中显现抗抑郁效果<sup>[73]</sup>。

**5.1.3 天然产物与中药复方** 许多天然化合物具有已知的抗炎、抗氧化特性,具有潜在的抗抑郁功效。一些天然中草药已被证实可通过调节线粒体功能缓解抑郁症状,为治疗和药物研发提供了新的可能。

多酚类化合物白藜芦醇在多种模型中可通过激活 SIRT1/PGC-1 $\alpha$  路径调节线粒体生物合成,同时调节线粒体自噬,从而对抗氧化应激并改善神经元功能<sup>[74]</sup>。

黄芩苷是从黄芩根中提取的黄酮类化合物,具有抑菌、利尿、抗炎等生物活性。黄芩苷通过激活 AMPK/PGC-1 $\alpha$  通路和增强 NIX 介导的线粒体自噬,减少海马神经元损伤,在皮质醇诱导的抑郁小鼠模型和 COMS 模型抑郁小鼠模型中表现出抗抑郁作用<sup>[75-76]</sup>。

四逆散主要由柴胡、芍药、枳实和甘草四种药材组成,用于疏肝理气、调和脾胃。动物实验研究表明,四逆散通过调节线粒体功能,改善海马突触可塑性,减少海马中 ATP 的降低,并逆转突触后致密区 95(PSD-95)、突触素 II(SYN2)、MFN2、DRP1 和 DRP1 蛋白的表达水平,缓解大鼠抑郁样行为<sup>[77]</sup>。

五苓散由泽泻、茯苓、猪苓、白术和桂枝五味药物组成,主要用于治疗水代谢紊乱。近期研究发现五苓散还可通过促进 TSPO 介导的线粒体自噬信号通路,防止学习无助小鼠模型中的抑郁样行为<sup>[78]</sup>。

然而要实现临床转化仍面临若干挑战。单体成分的活性鉴定及其在复方中的相互作用尚不明确,天然产物的药代动力学、血脑屏障透过性、剂量-效应关系需严格评估,此外,安全性与标准化制剂的可重复性亦是推进中药临床试验前必须解决的问题。



5.2 非药物治疗

除了药物治疗以外，运动、饮食调控、针灸等方法也均显示出有通过改善线粒体功能缓解抑郁症状的潜力。运动可促进线粒体生物发生与动力学平衡，改善线粒体质量，并通过调节神经递质水平及激活 AMPK/PGC-1 $\alpha$  等相关神经保护通路缓解抑郁样行为<sup>[79]</sup>。饮食调控，如热量限制和间歇性禁食，则通过激活线粒体自噬，改善线粒体代谢效率并减少氧化应激，从而维持神经元稳态并发挥抗抑郁相关的神经保护作用<sup>[80-81]</sup>。此外，部分实验研究发现针灸可能通过 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬清除受损线粒体、减轻神经元损伤而改善抑郁症状<sup>[82]</sup>。

然而，上述治疗方法在研究设计、干预标准化及证据一致性方面仍存在局限，其疗效与机制仍需要更多高质量随机对照研究进一步验证。

5.3 临床前与临床研究进展及挑战

与线粒体自噬相关的抗抑郁新药研究已取得一定进展，多项治疗方法正在进行临床前或者临床试验。然而，尽管越来越多临床相关研究报道线粒体相关指标与抑郁存在关联，但多数机制性数据仍分散且缺乏重现性，临床转化仍面临诸多挑战，需要在机制研究、患者分层、药物设计和伦理安全性等方面做更多探索。表 1 总结了有望用于未来抑郁症治疗的候选药物。

表 1 作用于线粒体的抗抑郁候选药物  
Tab 1 Antidepressant candidate drugs acting on mitochondria

| 候选分子 / 复方                            | 主要作用机制                                                                                                     | 主要发现                      | 模型                     |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------|
| AdipoRon <sup>[71]</sup>             | 促进线粒体自噬，抑制小胶质细胞中的 NLRP3 炎性体激活                                                                              | 改善抑郁样行为，抑制神经炎症            | CUMS 诱导的抑郁样小鼠模型        |
| 三叶丁素 <sup>[83]</sup><br>(GPR158 配体)  | 上调 OPA1、MFN1 和 MFN2 等线粒体融合蛋白的表达，降低 DRP1 表达水平，恢复线粒体动态平衡                                                     | 恢复线粒体动态平衡，抑制前额叶氧化应激，改善行为  | CUMS 诱导的抑郁样小鼠模型        |
| BGP-15 <sup>[72]</sup>               | 促进 PINK1/Parkin 通路的线粒体自噬，抑制 NLRP 炎症体激活                                                                     | 恢复线粒体功能、减轻炎症并改善行为         | 脂多糖诱导的小鼠抑郁样模型          |
| 姜黄根茎 <sup>[84]</sup>                 | 激活 NRF2/ 血红素加氧酶 1 (HO-1) /NAD (P) H 醌脱氢酶 (NQO1) 抗氧化通路，改善线粒体功能障碍和神经损伤                                       | 降低氧化应激，改善神经损伤与抑郁样行为       | CUMS 诱导的抑郁样小鼠模型        |
| 二甲双胍 <sup>[85]</sup>                 | 改善糖代谢和线粒体生物发生                                                                                              | 表现出抗抑郁样效果，AMPK 依赖性        | 载脂蛋白 E4 介导的晚发抑郁症小鼠模型   |
| 美金刚 <sup>[86]</sup>                  | 上调 CREB/ 脑源性神经营养因子 (BDNF) 信号，防止海马线粒体功能障碍和记忆损伤                                                              | 预防神经毒性和氧化应激，发挥抗抑郁效应       | 慢性不可预知应激诱导抑郁大鼠模型       |
| 栀子豉汤 <sup>[87]</sup>                 | 通过肌醇 1, 4, 5- 三磷酸受体 3 (IP3R3) / 葡萄糖调节蛋白 75 (GRP75) / 电压依赖性阴离子通道 1 (VDAC1) 复合物调节线粒体相关膜结构，减轻内质网应激和线粒体损伤      | 降低内质网应激、减轻线粒体损伤与炎症，改善行为学  | 慢性社会失败压力小鼠模型           |
| 芍药苷 <sup>[88]</sup>                  | 恢复线粒体膜电位，促进线粒体自噬，抑制 NLRP3 炎症小体激活                                                                           | 减少 ROS 与炎症，缓解抑郁样行为        | CUMS 诱导的抑郁样小鼠模型        |
| 黄芩苷 <sup>[76]</sup>                  | 促进 NIX 介导的线粒体自噬，AMPK 依赖性改善代谢                                                                               | 改善抑郁样行为，减轻海马神经元损伤         | 皮质醇诱导的小鼠抑郁样模型          |
| 四逆散 <sup>[77]</sup>                  | 减少海马中 ATP 的降低，并逆转 PSD-95、SYN2、MFN2、DRP1 和 FIS1 蛋白的表达水平，改善线粒体功能和突触可塑性                                       | 改善 ATP 水平与突触蛋白表达，缓解抑郁样行为  | 母婴分离大鼠模型               |
| 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> <sup>[89]</sup> | 下调生长停滞特异性转录因子 5 (GAS5) 的表达，解除增强子同源物 2 (EZH2) 介导的转录抑制，促进细胞因子信号转导抑制因子 3 (SOCS3) 和 NRF2 的表达，减少小胶质细胞激活和线粒体功能障碍 | 减少小胶质细胞激活，恢复线粒体功能并改善抑郁样行为 | 慢性束缚应激大鼠               |
| 巴戟天寡糖 <sup>[90]</sup>                | 上调 MFN2，激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (AKT) / mTOR 途径介导的线粒体自噬，清除受损线粒体，缓解神经炎症                                | 清除受损线粒体，缓解神经炎症与抑郁样行为      | 高血压合并抑郁模型 (Dahl 盐敏感大鼠) |

6 总结与展望

线粒体功能是神经细胞健康的重要保障，帮助维持全身能量代谢的稳定，其调控机制和功能解析在疾病治疗方面展现出巨大的科学潜力。关于线粒体自噬与抑郁症相互作用的相关研究已经取得了显著进展：线粒体功能障碍被证明与抑郁症存在双向关联，线粒体损伤会加剧神经元功能衰退，反之抑郁相关的应激也会损伤线粒体，形成恶性循环。研发靶向线粒体自噬过程的药物可显著改善抑郁样行为。

然而，仍有许多问题亟待解决。当前研究多为相关性观察，线粒体异常究竟是抑郁的驱动因素还是

伴随现象尚未明确，未来需要更精细的因果干预研究来验证。其次，抑郁症表现多样，可能存在亚型和个体差异，不同患者的线粒体损伤特点和信号通路可能不尽相同。因此，发现能反映线粒体功能状态的敏感标志物并验证其在不同抑郁群体中的适用性是一大挑战。治疗层面，线粒体功能的全面调控涉及多条代谢和信号通路，单一靶点药物难以兼顾所有缺陷，因此需要探索多靶向组合治疗策略。药理研究方面，虽然已发现许多药物通过改善线粒体功能起到抗抑郁作用，但进入临床试验的药物较少，临床试验研究不足，动物实验存在实验模型与实验条件不统一等问

题。建立更具预测力的体内药物筛选平台、筛选更多靶向线粒体分裂、融合或自噬调控的小分子化合物,将是推动该领域发展的重要步骤。

总之,线粒体功能障碍为多种抑郁发病机制提供了共同的病理基础,为疾病研究和治疗带来了新的方向与希望。未来研究应着力阐明线粒体功能异常的因果地位,探索以线粒体为靶点的新型动物模型和治疗策略,这将有望为抑郁症的治疗方法带来新的理论突破。

## 参考文献

- [1] Kamran M, Bibi F, Ur Rehman A, et al. Major depressive disorder: existing hypotheses about pathophysiological mechanisms and new genetic findings [J]. *Genes*, 2022, 13 (4): 646.
- [2] Gbd 2019 mental disorders collaborators. Global, regional, and national burden of 12 mental disorders in 204 countries and territories, 1990—2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Psychiatry*, 2022, 9 (2): 137-150.
- [3] Rafeyan R, Papakostas GI, Jackson WC, et al. Inadequate response to treatment in major depressive disorder: augmentation and adjunctive strategies [J]. *J Clin Psychiatry*, 2020, 81 (3): OT19037BR3.
- [4] Khawam EA, Laurencic G, Malone DA. Side effects of antidepressants: an overview [J]. *Cleve Clin J Med*, 2006, 73 (4): 351-361.
- [5] Frey TG, Mannella CA. The internal structure of mitochondria [J]. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25 (7): 319-324.
- [6] Iwata R, Casimir P, Erkol E, et al. Mitochondria metabolism sets the species-specific tempo of neuronal development [J]. *Science*, 2023, 379 (6632): eabn4705.
- [7] Sun JX, Gao G, Wang ST, et al. Decoding the influence of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  regulation on neurodegenerative disease progression [J]. *Mitochondrial Commun*, 2025, 3: 1-15.
- [8] Schousboe A, Booher J, Hertz L. Content of ATP in cultivated neurons and astrocytes exposed to balanced and potassium-rich media [J]. *J Neurochem*, 1970, 17 (10): 1501-1504.
- [9] Zong Y, Li H, Liao P, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1): 124.
- [10] Fenton AR, Jongens TA, Holzbaur ELF. Mitochondrial adaptor TRAK2 activates and functionally links opposing kinesin and dynein motors [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 4578.
- [11] Cao YL, Meng S, Chen Y, et al. Mfn1 structures reveal nucleotide-triggered dimerization critical for mitochondrial fusion [J]. *Nature*, 2017, 542 (7641): 372-376.
- [12] Ban T, Ishihara T, Kohno H, et al. Molecular basis of selective mitochondrial fusion by heterotypic action between OPA1 and cardiolipin [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19 (7): 856-863.
- [13] Losón OC, Song ZY, Chen H, et al. Fis1, Mff, MiD49, and MiD51 mediate Drp1 recruitment in mitochondrial fission [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24 (5): 659-667.
- [14] Terešák P, Lapao A, Subic N, et al. Regulation of PRKN-independent mitophagy [J]. *Autophagy*, 2022, 18 (1): 24-39.
- [15] Novak I, Kirkin V, McEwan DG, et al. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance [J]. *EMBO Rep*, 2010, 11 (1): 45-51.
- [16] Bansal Y, Kuhad A. Mitochondrial dysfunction in depression [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14 (6): 610-618.
- [17] Morava E, Gardeitchik T, Kozicz T, et al. Depressive behaviour in children diagnosed with a mitochondrial disorder [J]. *Mitochondrion*, 2010, 10 (5): 528-533.
- [18] Gong Y, Chai Y, Ding JH, et al. Chronic mild stress damages mitochondrial ultrastructure and function in mouse brain [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 488 (1): 76-80.
- [19] Martin JL, Magistretti PJ, Allaman I. Regulation of neurotrophic factors and energy metabolism by antidepressants in astrocytes [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14 (11): 1308-1321.
- [20] Gardner A, Boles RG. Mitochondrial energy depletion in depression with somatization [J]. *Psychother Psychosom*, 2008, 77 (2): 127-129.
- [21] Bellomo G, Fulceri R, Albano E, et al.  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent and independent mitochondrial damage in hepatocellular injury [J]. *Cell Calcium*, 1991, 12 (5): 335-341.
- [22] Bossy-Wetzel E, Newmeyer DD, Green DR. Mitochondrial cytochrome C release in apoptosis occurs upstream of DEVD-specific caspase activation and independently of mitochondrial transmembrane depolarization [J]. *EMBO J*, 1998, 17 (1): 37-49.
- [23] Hulbert AJ, Pamplona R, Buffenstein R, et al. Life and death: metabolic rate, membrane composition, and life span of animals [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87 (4): 1175-1213.
- [24] Bhatt S, Nagappa AN, Patil CR. Role of oxidative stress in depression [J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25 (7): 1270-1276.
- [25] Zhang JX, Wang XL, Vikash V, et al. ROS and ROS-mediated cellular signaling [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 4350965.
- [26] Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2018, 1865 (5): 721-733.
- [27] Komatsu M, Kurokawa H, Waguri S, et al. The selective autophagy substrate p62 activates the stress responsive transcription factor Nrf2 through inactivation of Keap1 [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12 (3): 213-223.
- [28] Beurel E, Toups M, Nemeroff CB. The bidirectional relationship of depression and inflammation: double trouble [J]. *Neuron*, 2020, 107 (2): 234-256.
- [29] Chen HY, Lu M, Lyu Q, et al. Mitochondrial dynamics dysfunction: unraveling the hidden link to depression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116656.
- [30] Gebara E, Zanoletti O, Ghosal S, et al. Mitofusin-2 in the nucleus accumbens regulates anxiety and depression-like behaviors through mitochondrial and neuronal actions [J]. *Biol Psychiatry*, 2021, 89 (11): 1033-1044.
- [31] Han S, Nandy P, Austria Q, et al. Mfn2 ablation in the adult mouse hippocampus and cortex causes neuronal death [J]. *Cells*, 2020, 9 (1): 116.
- [32] Mo XX, Wang C, Pu QY, et al. Revealing genetic causality between blood-based biomarkers and major depression in east

- Asian ancestry [J]. *Front Psychiatry*, 2024, 15: 1424958.
- [33] Chen C, Wang Y, Zhang J, et al. Contribution of neural cell death to depressive phenotypes of streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7 (6): 723-730.
- [34] Brivio P, Audano M, Gallo MT, et al. Metabolomic signature and mitochondrial dynamics outline the difference between vulnerability and resilience to chronic stress [J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12 (1): 87.
- [35] Tabassum S, Misrani A, Huo QW, et al. Minocycline ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced neuroinflammation and abnormal mPFC-HIPP oscillations in mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (11): 6874-6895.
- [36] Guo PL, Wang ZX, Sun L, et al. 20 (S)-protopanaxadiol alleviates DRP1-mediated mitochondrial dysfunction in a depressive model in vitro and in vivo via the SIRT1/PGC-1 $\alpha$  signaling pathway [J]. *Molecules*, 2024, 29 (21): 5085.
- [37] Qiu XK, Lai SD, Zhang YY, et al. CUMS stress facilitates hippocampal neural mitophagy through FIS1/MFF-mediated mitochondrial fragmentation [J]. *J Neurophysiol*, 2025, 134 (3): 952-961.
- [38] Alcocer-Gómez E, Núñez - Vasco J, Casas-Barquero N, et al. Gene expression profile in major depressive disorder shows reduced mitochondrial biogenesis [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2016, 22 (7): 636-638.
- [39] Wang J, Tang J, Liang X, et al. Hippocampal PGC-1 $\alpha$ -mediated positive effects on parvalbumin interneurons are required for the antidepressant effects of running exercise [J]. *Transl Psychiatry*, 2021, 11 (1): 222.
- [40] Luo J, Tang CF, Chen XB, et al. Impacts of aerobic exercise on depression-like behaviors in chronic unpredictable mild stress mice and related factors in the AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17 (6): 2042.
- [41] Liu X, Luo Q, Zhao YL, et al. The ferroptosis-mitochondrial axis in depression: unraveling the feedforward loop of oxidative stress, metabolic homeostasis dysregulation, and neuroinflammation [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14 (5): 613.
- [42] Fanibunda SE, Deb S, Maniyadath B, et al. Serotonin regulates mitochondrial biogenesis and function in rodent cortical neurons via the 5-HT<sub>2A</sub> receptor and SIRT1-PGC-1 $\alpha$  axis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116 (22): 11028-11037.
- [43] Li WH, Zhu LQ, Chen Y, et al. Association between mitochondrial DNA levels and depression: a systematic review and meta-analysis [J]. *BMC Psychiatry*, 2023, 23 (1): 866.
- [44] Lindqvist D, Fernström J, Grudet C, et al. Increased plasma levels of circulating cell-free mitochondrial DNA in suicide attempters: associations with HPA-axis hyperactivity [J]. *Transl Psychiatry*, 2016, 6 (12): e971.
- [45] Lindqvist D, Wolkowitz OM, Picard M, et al. Circulating cell-free mitochondrial DNA, but not leukocyte mitochondrial DNA copy number, is elevated in major depressive disorder [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2018, 43 (7): 1557-1564.
- [46] Kageyama Y, Kasahara T, Kato M, et al. The relationship between circulating mitochondrial DNA and inflammatory cytokines in patients with major depression [J]. *J Affect Disord*, 2018, 233: 15-20.
- [47] Fernström J, Ohlsson L, Asp M, et al. Plasma circulating cell-free mitochondrial DNA in depressive disorders [J]. *PLOS One*, 2021, 16 (11): e0259591.
- [48] Emmerzaal TL, Nijkamp G, Veldic M, et al. Effect of neuropsychiatric medications on mitochondrial function: for better or for worse [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2021, 127: 555-571.
- [49] Trumpff C, Marsland AL, Basualto-Alarcón C, et al. Acute psychological stress increases serum circulating cell-free mitochondrial DNA [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2019, 106: 268-276.
- [50] Daniels TE, Zitkovsky EK, Laumann LE, et al. Circulating cell-free mitochondrial DNA (cf-mtDNA) and depressive symptoms among low-active adults who smoke [J]. *Psychosom Med*, 2024, 86 (1): 37-43.
- [51] Mendes-Silva AP, El-Ahmad P, Costa AP, et al. Decreased mitochondrial DNA integrity and elevated inflammatory markers in late-life depression: a longitudinal study [J]. *Biol Psychiatry Glob Open Sci*, 2025, 5 (6): 100598.
- [52] Yang NSY, Zhong WJ, Sha HX, et al. mtDNA-cGAS-STING axis-dependent NLRP3 inflammasome activation contributes to postoperative cognitive dysfunction induced by sevoflurane in mice [J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20 (5): 1927-1946.
- [53] 刘昊, 王海涛, 徐爱军, 等. 抑郁症模型大鼠海马神经元自噬变化及其机制 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2013, 39 (4): 672-675.
- [54] Wang GL, Liu Y, Zhu XJ, et al. Knockdown of miRNA-134-5p rescues dendritic deficits by promoting AMPK-mediated mitophagy in a mouse model of depression [J]. *Neuropharmacology*, 2022, 214: 109154.
- [55] Yang MX, He Y, Deng SX, et al. Mitochondrial quality control: a pathophysiological mechanism and therapeutic target for stroke [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 14: 786099.
- [56] Weger M, Alpern D, Cherix A, et al. Mitochondrial gene signature in the prefrontal cortex for differential susceptibility to chronic stress [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 18308.
- [57] Cherix A, Larrieu T, Grosse J, et al. Metabolic signature in nucleus accumbens for anti-depressant-like effects of acetyl-L-carnitine [J]. *ELife*, 2020, 9: e50631.
- [58] Kim EJ, Pellman B, Kim JJ. Stress effects on the hippocampus: a critical review [J]. *Learn Mem*, 2015, 22 (9): 411-416.
- [59] Tagliari B, Noschang CG, Ferreira AGK, et al. Chronic variable stress impairs energy metabolism in prefrontal cortex and hippocampus of rats: prevention by chronic antioxidant treatment [J]. *Metab Brain Dis*, 2010, 25 (2): 169-176.
- [60] Carlezon WA, Thomas MJ. Biological substrates of reward and aversion: a nucleus accumbens activity hypothesis [J]. *Neuropharm*, 2009, 56 Suppl 1 (Suppl 1): 122-132.
- [61] Lisman J, Buzsáki G, Eichenbaum H, et al. Viewpoints: how the hippocampus contributes to memory, navigation and cognition [J]. *Nat Neurosci*, 2017, 20 (11): 1434-1447.
- [62] Dixon ML, Thiruchselvam R, Todd R, et al. Emotion and the prefrontal cortex: an integrative review [J]. *Psychol Bull*, 2017, 143 (10): 1033-1081.
- [63] Rosenberg AM, Saggat M, Monzel AS, et al. Brain mitochondrial diversity and network organization predict anxiety-like behavior in male mice [J]. *Nat Commun*, 2023, 14



- (1): 4726.
- [64] Hwang HY, Shim JS, Kim D, et al. Antidepressant drug sertraline modulates AMPK-MTOR signaling-mediated autophagy via targeting mitochondrial VDAC1 protein [J]. *Autophagy*, 2021, 17 (10): 2783-2799.
  - [65] Ludka FK, Dal-Cim T, Binder LB, et al. Atorvastatin and fluoxetine prevent oxidative stress and mitochondrial dysfunction evoked by glutamate toxicity in hippocampal slices [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54 (5): 3149-3161.
  - [66] Shu XD, Sun YM, Sun XY, et al. The effect of fluoxetine on astrocyte autophagy flux and injured mitochondria clearance in a mouse model of depression [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (8): 577.
  - [67] Hu N, Chen XM, Chen CC, et al. Exploring the role of esketamine in alleviating depressive symptoms in mice via the PGC-1 $\alpha$ /irisin/ERK1/2 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2023, 13 (1): 16611.
  - [68] Lupták M, Fišar Z, Hroudová J. Agomelatine, ketamine and vortioxetine attenuate energy cell metabolism—in vitro study [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (22): 13824.
  - [69] Ai H, Fang WQ, Hu HY, et al. Antidiabetic drug metformin ameliorates depressive-like behavior in mice with chronic restraint stress via activation of AMP-activated protein kinase [J]. *Aging Dis*, 2020, 11 (1): 31-43.
  - [70] Colle R, de Larminat D, Rotenberg S, et al. Pioglitazone could induce remission in major depression: a meta-analysis [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2016, 13: 9-16.
  - [71] Liu YQ, Fu XY, Sun JJ, et al. AdipoRon exerts an antidepressant effect by inhibiting NLRP3 inflammasome activation in microglia via promoting mitophagy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 141: 113011.
  - [72] Liu Q, Zhao JN, Fang ZT, et al. BGP-15 alleviates LPS-induced depression-like behavior by promoting mitophagy [J]. *Brain Behav Immun*, 2024, 119: 648-664.
  - [73] Wei Q, Zhou WY, Zheng J, et al. Antidepressant effects of 3- (3, 4-methylenedioxy-5-trifluoromethyl phenyl) -2*E*-propanoic acid isobutyl amide involve TSPO-mediated mitophagy signalling pathway [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2020, 127 (5): 380-388.
  - [74] Tabassum S, Misrani A, Huang HX, et al. Resveratrol attenuates chronic unpredictable mild stress-induced alterations in the SIRT1/PGC1 $\alpha$ /SIRT3 pathway and associated mitochondrial dysfunction in mice [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60 (9): 5102-5116.
  - [75] Jin XH, Zhu LL, Lu SF, et al. Baicalin ameliorates CUMS-induced depression-like behaviors through activating AMPK/PGC-1 $\alpha$  pathway and enhancing NIX-mediated mitophagy in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 938: 175435.
  - [76] Liu Y, Jin XH, Li CY, et al. Baicalin attenuates corticosterone-induced hippocampal neuronal injury by activating mitophagy in an AMPK-dependent manner [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 985: 177091.
  - [77] Deng D, Cui YF, Gan S, et al. Sinisan alleviates depression-like behaviors by regulating mitochondrial function and synaptic plasticity in maternal separation rats [J]. *Phytomedicine*, 2022, 106: 154395.
  - [78] Li DM, Zheng J, Wang MY, et al. Wuling powder prevents the depression-like behavior in learned helplessness mice model through improving the TSPO mediated-mitophagy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 181-188.
  - [79] Sun LN, Liu TB, Liu JQ, et al. Physical exercise and mitochondrial function: new therapeutic interventions for psychiatric and neurodegenerative disorders [J]. *Front Neurol*, 2022, 13: 929781.
  - [80] Mehrabani S, Bagherniya M, Askari G, et al. The effect of fasting or calorie restriction on mitophagy induction: a literature review [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2020, 11 (6): 1447-1458.
  - [81] Wang YR, Wu RL. The effect of fasting on human metabolism and psychological health [J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 5653739.
  - [82] Wang HY, Chen SH, Zhang YM, et al. Electroacupuncture ameliorates neuronal injury by Pink1/Parkin-mediated mitophagy clearance in cerebral ischemia-reperfusion [J]. *Nitric Oxide*, 2019, 91: 23-34.
  - [83] Lin M, Xie DY, Luo YM, et al. Trilobatin, a naturally occurring GPR158 ligand, alleviates depressive-like behavior by promoting mitophagy [J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73 (9): 5163-5179.
  - [84] Lai MXZ, Su D, Ai ZF, et al. Inhalation of urcumae *Rhizoma* volatile oil attenuates depression-like behaviours via activating the Nrf2 pathway to alleviate oxidative stress and improve mitochondrial dysfunction [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2024, 76 (11): 1449-1462.
  - [85] Lin YB, Dai XM, Zhang J, et al. Metformin alleviates the depression-like behaviors of elderly apoE4 mice via improving glucose metabolism and mitochondrial biogenesis [J]. *Behav Brain Res*, 2022, 423: 113772.
  - [86] Mishra SK, Hida MK, Rai S. Memantine treatment exerts an antidepressant-like effect by preventing hippocampal mitochondrial dysfunction and memory impairment via upregulation of CREB/BDNF signaling in the rat model of chronic unpredictable stress-induced depression [J]. *Neurochem Int*, 2021, 142: 104932.
  - [87] Liu Y, Zhang ZC, Zhao YM, et al. Zhizichi decoction alleviates depressive-like behaviors through modulating mitochondria-associated membrane via the IP3R3-GRP75-VDAC1 complex [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 346: 119628.
  - [88] Su LL, Guo PL, Guo XJ, et al. Paeoniflorin alleviates depression by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome via promoting mitochondrial autophagy [J]. *Chin J Nat Med*, 2024, 22 (6): 515-529.
  - [89] Li JN, Gao W, Zhao ZH, et al. Ginsenoside Rg<sub>1</sub> reduced microglial activation and mitochondrial dysfunction to alleviate depression-like behaviour via the GAS5/EZH2/SOCS3/NRF2 axis [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59 (5): 2855-2873.
  - [90] Yang LX, Ao YT, Li YN, et al. Morinda officinalis oligosaccharides mitigate depression-like behaviors in hypertension rats by regulating Mfn2-mediated mitophagy [J]. *J Neuroinflammation*, 2023, 20 (1): 31.

(收稿日期: 2025-10-21; 修回日期: 2025-12-28)

# 线粒体自噬在阿尔茨海默病发病中的作用和机制研究进展

兀閏竹, 马莉雅, 韦玮, 孙逸\* (中国药科大学药学院, 南京 211198)

**摘要:** 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是痴呆症的主要类型之一, 其发病机制与线粒体自噬异常密切相关。线粒体自噬在 AD 中发挥着“双刃剑”的作用, 一方面线粒体自噬可以清除受损的线粒体, 减少活性氧的产生, 进而减少氧化应激对神经元的损害; 另一方面, 线粒体自噬过度, 将导致健康的线粒体被清除, 加剧神经元能量危机, 促进凋亡。本文聚焦于最新研究进展, 系统阐述线粒体自噬核心分子机制、诱发线粒体自噬异常的病理机制以及线粒体自噬在 AD 调控中的异常、AD 的病理特征与线粒体自噬缺陷的关系。此外, 本文还总结了基于调控线粒体自噬的抗 AD 治疗策略, 包括小分子药物、天然产物等, 以期为 AD 的后续研究提供理论依据。

**关键词:** 线粒体自噬; 阿尔茨海默病;  $\beta$ -淀粉样蛋白; 过度磷酸化 Tau 蛋白; PINK1/Parkin 通路  
**中图分类号:** R742, Q25 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-012-10  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.002

## Progress in the role and mechanism of mitophagy in the pathogenesis of Alzheimer's disease

WU Runzhu, MA Liya, WEI Wei, SUN Yi\* (School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198)

**Abstract:** Alzheimer's disease (AD) is a main type of dementia, with pathogenesis closely related to abnormal mitophagy. Mitophagy is a double-edged sword in AD. On the one hand, mitophagy can remove damaged mitochondria, reduce the production of reactive oxygen species, and decrease damage to the neurons by oxidative stress. On the other hand, excessive mitophagy leads to the elimination of healthy mitochondria, exacerbating neuronal energy crisis and promoting apoptosis. This article systematically elaborated the core molecular mechanism of mitophagy, the pathological mechanism that triggered abnormal mitophagy, and the dysregulation of mitophagy in AD, as well as the relationship between AD pathological features and mitophagy defects. This article also summarized anti-AD treatment strategies based on the regulation of mitophagy, including small-molecule drugs and natural products, aiming to provide a theoretical basis for future AD research.

**Key words:** mitophagy; Alzheimer's disease; amyloid  $\beta$ -protein; hyperphosphorylated Tau protein; PINK1/Parkin pathway

### 1 阿尔茨海默病

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是痴呆的主要类型, 并正迅速成为本世纪最昂贵、最致命、最沉重的疾病之一<sup>[1]</sup>。临床表现为记忆障碍、认知功能下降和行为异常。根据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 发布的报告, 全球目前约有 5700 万痴呆症患者, 其中 60% ~ 70% 为 AD 患者<sup>[2]</sup>。阿尔茨海默病国际联合会 (Alzheimer's disease international, ADI) 预测, 到 2030 年痴呆症患者数量

将攀升至 7800 万, 2050 年更可能达到 1.39 亿<sup>[3]</sup>。我国的发病形势也同样严峻。中国现存 AD 及其他痴呆患者约 1699 万例, 并且患病率和死亡率均高于全球平均水平<sup>[4]</sup>。AD 已成为中国城乡居民第五大死因, 造成巨大社会经济压力<sup>[5]</sup>。

目前 AD 的发病机制尚未完全明确, 主流假说包括  $\beta$ -淀粉样蛋白 (amyloid  $\beta$ -protein,  $A\beta$ ) 级联假说、微管相关蛋白 (microtubule associated protein, Tau) 过度磷酸化、氧化应激与神经炎症等。然而,

**基金项目:** 国家自然科学基金青年项目 (No.81703520); 大学生创新创业训练计划项目 (No.X202510316255)。

**作者简介:** 兀閏竹, 女, email: w15233481890@126.com \* **通信作者:** 孙逸, 女, 副教授, 主要从事神经精神疾病病理机制研究及药物靶点的发现, email: bio\_lunar@163.com

近年来研究表明,作为细胞能量中枢和代谢核心的线粒体功能异常是连接并驱动上述病理过程的关键节点。其中,线粒体自噬稳态失衡在 AD 发生发展中起关键作用。因此,深入研究 AD 病理机制,基于线粒体自噬研发新的治疗策略具有重要意义。

## 2 AD 的病理机制

AD 的经典病理特征为细胞内  $A\beta$  聚集形成  $A\beta$  斑块,细胞外 Tau 蛋白过度磷酸化形成神经元纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)<sup>[6]</sup>。其中, $A\beta$  病变是 AD 早期主要病因<sup>[7]</sup>。而在晚期 AD 患者脑内, $A\beta$  斑块和 Tau 缠结都很丰富。

### 2.1 $\beta$ -淀粉样蛋白沉积

$\beta$ -淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)是一种广泛分布于神经元细胞膜上的跨膜糖蛋白,经过  $\beta$ -分泌酶( $\beta$ -site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1, BACE1)切割,生成膜结合的 C99 片段,再经过  $\gamma$ -分泌酶切割,生成不同长度的  $A\beta$  肽,如  $A\beta_{1-40}$  和  $A\beta_{1-42}$ <sup>[8]</sup>。 $A\beta$  肽具有疏水性,很容易聚集,且聚集形成的可溶性寡聚体有较强的神经毒性<sup>[9]</sup>。随着时间的推移,寡聚体可进一步聚集形成不溶性的纤维状结构,最终形成淀粉样斑块。淀粉样斑块会在大脑中形成物理障碍,并破坏神经元间的通信,导致神经退行性变化。此外, $A\beta$  沉积还与脑  $\beta$ -淀粉样血管病有关,影响脑血流和血管功能,进而加剧神经系统退行性疾病(neurodegenerative diseases, NDDs)<sup>[10]</sup>。

### 2.2 Tau 蛋白过度磷酸化

Tau 蛋白主要存在于神经元的轴突中,通过与微管结合,维持细胞骨架的稳定,确保细胞内物质正常运输并保持细胞形态,促进神经元的生长和发育<sup>[11]</sup>。Tau 蛋白有大量的磷酸化位点,包含 77 个潜在的丝氨酸/苏氨酸和 4 个酪氨酸磷酸化位点<sup>[12]</sup>。Tau 蛋白一旦被过度磷酸化,其与微管的结合亲和力会降低,导致微管不稳定,同时也会影响轴突的运输和神经传递<sup>[13]</sup>。AD 患者脑内,糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )、细胞周期素依赖蛋白激酶 5(cyclin-dependent kinase 5, CDK5)等激酶活性增加,蛋白磷酸酶 2A 等磷酸酶活性降低,共同导致 Tau 蛋白过度磷酸化,进一步形成 NFTs。同时也有研究表明这些磷酸化位点之间有相互依赖性。某些特定的位点如苏氨酸-50、苏氨酸-69 和苏氨酸-181 被称为“主位点”,一旦这些主位点被磷酸化, Tau 蛋白的构象会发生改变,暴露出更多的磷酸化位点,导致 Tau 蛋白过度磷酸化<sup>[14]</sup>。

### 2.3 氧化应激

活性氧(reactive oxygen species, ROS)指具有反应性质的含氧化学物质<sup>[15]</sup>。氧化应激是由 ROS 过量积累及抗氧化系统受损导致的氧化还原不平衡状

态。氧化应激的主要原因有三个:大脑中过渡金属稳态失衡及其与  $A\beta$  结合物的增加、相关氧化酶的激活与过表达和线粒体功能障碍。人体内 ROS 的主要来源为能量转换系统,线粒体电子传递链中的复合体 I 是细胞内 ROS 的主要来源之一,尤其是在急性缺氧的条件下<sup>[16]</sup>。

大量的 ROS 会损伤脂质、蛋白质和核酸等生物大分子以及低密度脂蛋白受体相关蛋白 1,导致  $A\beta$  清除受损<sup>[17]</sup>。氧化应激也会导致  $A\beta$  的生成和聚集,通过多种信号通路激活 BACE1,从而促进 APP 的  $\beta$ -切割,产生更多的  $A\beta$ <sup>[18]</sup>。 $A\beta$  纤维本身也能激活 NADPH 氧化酶,导致线粒体 ROS 升高,进一步促进  $A\beta$  的聚集。此外,氧化应激还会改变  $A\beta$  的构象,使其更容易形成纤维状结构。氧化应激会降低线粒体膜电位,增加线粒体通透性,释放细胞色素 C 等凋亡因子,激活凋亡级联反应,最终导致细胞凋亡<sup>[19]</sup>。氧化应激还可通过激活 Caspase 家族蛋白、c-Jun 氨基末端激酶和 p38 丝裂原活化蛋白激酶等信号通路,进一步促进细胞凋亡。

### 2.4 神经炎症

神经炎症是指中枢神经系统对感染、创伤、缺血、毒素刺激或自身免疫反应等有害因素产生的炎症反应。小胶质细胞是中枢神经系统的常驻免疫细胞,其功能为监测大脑环境,清除病原体 and 细胞碎片,维持神经元的稳态与活动<sup>[20]</sup>。在 AD 中,小胶质细胞被激活,释放出大量的促炎细胞因子和趋化因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 beta, IL-1 $\beta$ )和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等<sup>[21]</sup>。星形胶质细胞被激活后也会释放炎症因子,进一步加剧炎症反应<sup>[22]</sup>。这些因子不仅能直接损伤神经元,还会进一步促进  $A\beta$  的产生和聚集<sup>[23]</sup>。慢性神经炎症会使血脑屏障的通透性增加,巨噬细胞、T 细胞和 B 细胞等外周免疫细胞进入中枢神经系统,共同参与神经炎症反应<sup>[24]</sup>。有研究表明,炎症介质与细胞膜上的受体结合,形成正反馈回路放大炎症反应,形成恶性循环,导致神经元的损伤和退化,最终导致不可逆的脑损伤<sup>[25]</sup>。

除上述以外,AD 的病理机制还有很多,如肠道菌群组成和功能异常、胆碱能系统缺陷、金属离子稳态失衡以及表观遗传学改变等<sup>[26-29]</sup>。值得注意的是, $A\beta$  沉积、Tau 蛋白过度磷酸化、氧化应激和神经炎症这四大核心病理机制,均与线粒体功能状态密切相关。线粒体损伤是氧化应激的源头,而能量代谢紊乱则直接影响  $A\beta$  和 Tau 的磷酸化水平。因此维持线粒体稳态是干预 AD 的关键。

## 3 线粒体及线粒体自噬

### 3.1 线粒体的结构和功能

线粒体是存在于大多数真核细胞中的一种重要细胞器,呈颗粒状或短杆状,由双层膜结构包



裹, 内膜向内折叠形成嵴, 内部充满基质。其被称为生物体的“能量工厂”, 可以通过氧化磷酸化将葡萄糖、氨基酸等营养物质转化为三磷酸腺苷(ATP), 为细胞活动提供能量<sup>[30]</sup>。此外, 线粒体还参与钙离子稳态调节、ROS 产生与清除、硫化氢解毒及细胞凋亡等过程的调控<sup>[31]</sup>。

### 3.2 线粒体动力学

线粒体功能多样性与一系列过程中细胞线粒体网络的不断重塑紧密相关, 这些过程统称为线粒体动力学(mitochondrial dynamics)<sup>[32]</sup>。线粒体动力学指的是线粒体的分裂(fission)、融合(fusion)、自噬(mitophagy)和运输(transport)过程(见图1)。线粒体动力学不仅能维持细胞的能量平衡, 而且是细胞生长、更新和分化以及整体细胞适应性所必需的, 对细胞信号传导和代谢至关重要。一旦线粒体动力学失衡, 则可能引发AD等多种疾病<sup>[33]</sup>。

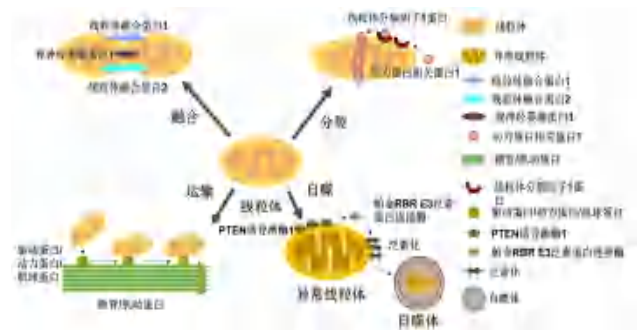


图1 线粒体动力学(由 PowerPoint 绘制)

Fig 1 Mitochondrial dynamics (by PowerPoint)

注(Note): 线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, MFN1); 线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, MFN2); 动力蛋白相关蛋白1(dynamain-related protein 1, DRP1); 驱动蛋白(kinesin); 动力蛋白(dynein); Parkin. 帕金 RBR E3 泛素蛋白连接酶(parkin RBR E3 ubiquitin-protein ligase); PINK1. PTEN 诱导激酶1(PTEN induced kinase 1)。

**3.2.1 线粒体融合、分裂与运输** 线粒体融合分为外膜融合和内膜融合, 分别由两类动力样蛋白介导<sup>[34]</sup>。外膜融合由位于线粒体外膜的MFN1和MFN2调控, 这两个蛋白都是三磷酸鸟苷(GTP)酶, 通过其N端的GTPase结构域及HR1、HR2七肽重复螺旋结构介导线粒体外膜反式连接, 启动融合过程<sup>[35]</sup>。MFN蛋白的翻译后修饰不仅调节线粒体融合活性, 还参与线粒体自噬等非融合功能, 例如MFN2的泛素化可介导线粒体清除, 表明线粒体融合与线粒体自噬机制之间存在密切联系<sup>[36]</sup>。内膜融合由位于线粒体内膜的视神经萎缩蛋白1介导<sup>[37]</sup>。线粒体分裂多发生于线粒体与内质网的接触部位, 主要由DRP1来驱动, 该蛋白会易位到线粒体外膜以切断线粒体<sup>[38]</sup>。DRP1的缺失会导致线粒体伸长<sup>[39]</sup>。线粒体运输主要依赖于微管和微丝以及相关的马达蛋白, 确保线粒体可被精准运送至细胞所需区域, 从而维持细胞正常生理功能。微管马达蛋白主要包括kinesin、dynein和肌球蛋白(myosin)<sup>[40]</sup>。线粒体运输中, kinesin负责将线粒体沿微管向细胞的远端运输, 而dynein负责将线粒体向细胞中心运输; 微丝马达蛋白主要有myosin, 其在某些细胞类型中也参与线粒体的运输。

**3.2.2 线粒体自噬** 线粒体自噬可以通过选择性自噬的形式降解线粒体, 这是一种从酵母到人类的保守基本机制, 是维持线粒体质量和数量的核心机制<sup>[41]</sup>。对于高度分化且不可再生的神经元而言, 线粒体自噬对于清除功能失调的线粒体、防止ROS积累和能量衰竭至关重要。线粒体自噬缺陷也已被证实与多种病理状况相关, 如NDDs、心力衰竭、癌症和衰老等<sup>[42-45]</sup>。

### 3.3 线粒体自噬机制

2008年, 人们发现Parkin被选择性地募集到哺乳动物细胞中膜电位降低的功能失调的线粒体中, 然后介导线粒体的消除<sup>[46]</sup>。这被认为是线粒体自噬研究中的里程碑式的成就, 此后对于线粒体自噬分子机制的探索一直在深入。

线粒体自噬主要由四个过程组成(见图2): 首先细胞内的监测系统识别受损或老化的线粒体; 之后受损的线粒体形成一个双层膜结构, 形成自噬泡; 然后自噬泡与溶酶体融合形成自噬溶酶体; 此后自噬溶酶体内的酶将线粒体分解为氨基酸、脂肪酸等较小的分子; 最后, 分解后的小分子被细胞重新利用, 合成新的线粒体或其他细胞成分。

根据目前研究进展, 线粒体自噬主要通过两种方式进行: 泛素依赖途径和非泛素依赖途径。

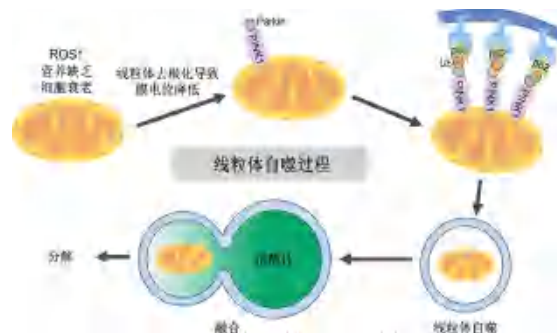


图2 线粒体自噬过程图(由 PowerPoint 绘制)

Fig 2 Mitochondrial autophagy process diagram (by PowerPoint)

**3.3.1 泛素依赖途径** 泛素介导的自噬是研究最深入的线粒体自噬途径, 主要涉及PINK1/Parkin通路(见图3)。PTEN诱导激酶1(PTEN induced kinase 1, PINK1)是一种位于去极化线粒体上的丝氨酸/苏氨酸激酶, 而Parkin是一种E3泛素连接酶, 可催化泛素转移到线粒体底物。

稳态条件下, 胞质中的PINK1前体蛋白在线粒体外膜转位酶和线粒体内膜转位酶的作用下进入线粒体内膜<sup>[47]</sup>。随后被位于线粒体基质和内膜上的线粒体蛋白酶、早老素相关菱形样蛋白酶等蛋白酶切割, 再被释放到胞质中, 被泛素-蛋白酶体系统水解, 因此

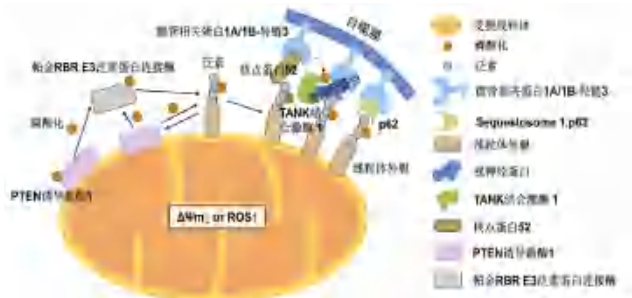


图 3 泛素依赖途径的线粒体自噬 (由 PowerPoint 绘制)

Fig 3 Mitochondrial autophagy via ubiquitin dependent pathway (by PowerPoint)

注 (Note): 视神经蛋白 (optineurin, OPTN); TANK 结合激酶 1 (TANK-binding kinase 1, TBK1); 核点蛋白 52 (nuclear dot protein 52, NDP52)。

PINK1 处于不断地输入和降解的过程中<sup>[48]</sup>。线粒体膜电位降低时, 线粒体基质中未折叠蛋白的积累或 ROS 增加等压力破坏了 PINK1 在线粒体内膜的导入, 能够使 PINK1 稳定在线粒体外膜上<sup>[49]</sup>。积累的 PINK1 前体会形成二聚体发生自磷酸化而被激活, 活化的 PINK1 能从胞质招募 Parkin 到线粒体外膜上并激活其 E3 酶活性, 活化的 Parkin 会将线粒体外膜蛋白泛素化, 由此产生的多泛素链会反过来作为 PINK1 磷酸化的一个靶点形成循环<sup>[49]</sup>。多泛素链会触发泛素链结合接头蛋白的招募, 包括 OPTN 和整合体 1 (sequestosome 1, SQSTM1/p62) 等<sup>[49]</sup>。蛋白通过与 LC 相互作用区域基序结合 LC3 蛋白, 启动自噬体的形成<sup>[50]</sup>。OPTN 对泛素链的亲合力通过磷酸化和 TBK1 来增强。

PINK1 也可以在没有 Parkin 的情况下, 独立介导线粒体自噬<sup>[51]</sup>。其主要机制为 PINK1 直接招募 NDP52 和 OPTN 这两个自噬受体到线粒体。且研究发现线粒体自噬起始仅需要 OPTN、NDP52 和较少的肿瘤坏死因子 (TNF) 受体相关因子 6 结合蛋白 1<sup>[52]</sup>。线粒体自噬启动后, Parkin 通过在受损线粒体上产生更多的泛素链来放大线粒体自噬信号, 从而促进更有效的线粒体自噬。因此, Parkin 也被认为是 PINK1 产生线粒体自噬信号泛素化的放大器。

**3.3.2 非泛素依赖途径** 非泛素依赖途径 (见图 4) 又称为线粒体自噬受体蛋白介导的自噬, 主要由线粒体自噬受体如自噬受体蛋白 BCL2/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3 (BCL2/adenovirus E1B interacting protein 3, BNIP3)、BCL2/腺病毒 E1B 相互作用蛋白 3 样蛋白 (BCL2/adenovirus E1B interacting protein 3-like, NIX) 和 FUN14 结构域包含蛋白 1 (FUN14 domain-containing protein 1, FUNDC1) 蛋白来介导。这些蛋白上存在 LIR 基序。LIR 基序是保守的 LC3 结合域, 两者结合后可以介导自噬体形成, 启动线粒体自噬。尽管 BNIP3/NIX 在清除受损线粒体中不起重要作用, 但是可以改善 Parkin 介导的线粒体自噬

噬并弥补功能性 Parkin 的缺失<sup>[49]</sup>。

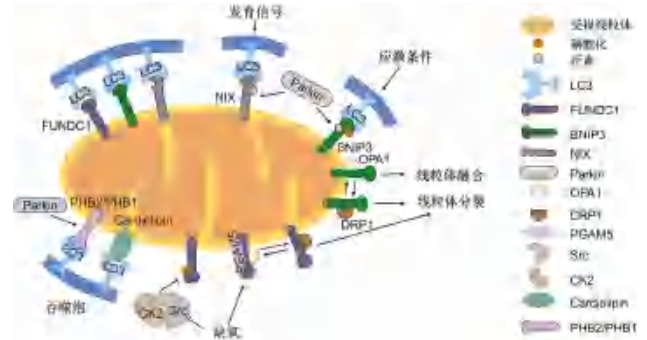


图 4 非泛素依赖途径的线粒体自噬 (由 PowerPoint 绘制)

Fig 4 Mitochondrial autophagy through non-ubiquitin dependent pathways (by PowerPoint)

注 (Note): Src. Src 酪氨酸激酶 (proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src); CK2. 酪蛋白激酶 2 (casein kinase 2); CL. 心磷脂 (cardiolipin); PHB2/PHB1. 抗增殖蛋白 2/抗增殖活蛋白 1 (prohibitin-2/prohibitin-1)。

线粒体自噬与线粒体动力学的其他过程还存在相互影响和调控。在 AD 患者神经元中由于线粒体分裂增强, 融合受损, 导致线粒体体积缩小、碎片化增加, 并伴随嵴结构断裂<sup>[33]</sup>。这可能是因为  $A\beta$  诱导的 DRP1 S-亚硝基化增强其活性, 导致线粒体过度分裂和碎片化<sup>[33]</sup>。5'-腺苷一磷酸激活的蛋白激酶 (5' AMP-activated protein kinase, AMPK) 和去乙酰化酶 Sirtuin3 的活性异常也可能间接抑制线粒体融合<sup>[33]</sup>。由此产生的过量碎片化线粒体虽然更易被自噬体识别, 但由于 AD 中线粒体自噬功能缺陷, 这些碎片无法被及时清除, 最终导致损伤线粒体积累, 形成恶性循环。此外, 由于线粒体运输障碍, 也会导致受损的线粒体无法被及时运送至自噬体形成区域, 从而影响线粒体自噬的效率。

### 3.4 诱发线粒体自噬异常的病理机制

**3.4.1 PINK1/Parkin 的遗传突变或功能失调** 若 PINK1 或 Parkin 基因的缺失、错义突变、启动子甲基化, 或氧化应激、毒素暴露等环境因素导致蛋白表达下调、酶活性丧失或亚细胞定位异常, 均会严重损害该通路的级联反应, 导致线粒体自噬异常。PINK1 突变破坏其激酶结构域或线粒体外膜定位基序, 抑制自噬启动<sup>[53]</sup>。Parkin 突变则会破坏 RING 结构域或磷酸化位点, 抑制泛素化能力, 削弱 Parkin 募集和放大环路<sup>[53]</sup>。

**3.4.2 关键线粒体自噬受体表达异常** 除 PINK1/Parkin 通路依赖的受体外, 还存在 BNIP3、NIX 及 FUNDC1 等受体介导的非经典通路, 它们通过其 LC3 相互作用区域直接与自噬体膜上的 LC3 蛋白结合, 使自噬体靶向受损线粒体。F-box 和富亮氨酸的重复蛋白 4 (F-box and leucine-rich repeat protein 4, FBXL4) 是细胞因子受体样蛋白 1 (cytokine receptor-like 1, CRL1) 泛素连接复合物的底物识别适配器, 可以直接结合 BNIP3/BNIP3L, 促进其 K48 连接的多聚泛素化,



并通过蛋白酶体途径降解,即通过持续降解 BNIP3/BNIP3L, FBXL4 可以抑制基础状态下的线粒体自噬,防止健康线粒体被过度清除<sup>[54]</sup>。但若发生 MTDPS13 相关的 *FBXL4* 突变,则无法有效招募 CRL1 复合物核心组分,从而丧失泛素连接酶活性, BNIP3/BNIP3L 无法被降解,引发过度线粒体自噬<sup>[54]</sup>。在 *FBXL4* 缺陷的细胞、Fbxl4 KI/KI MEFs 小鼠模型及多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) 分化的皮质神经元中,线粒体标志蛋白显著减少且线粒体-溶酶体融合指示剂信号增强,显示线粒体自噬活跃<sup>[54]</sup>。

**3.4.3 能量感应通路失衡** 细胞能量状态的核心感应器 AMPK 和雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 构成相互拮抗的调控网络。细胞能量匮乏时, AMPK 被激活,通过直接磷酸化类 Unc-51 自噬激活激酶 1 (ULK1) 复合物和抑制雷帕霉素靶蛋白复合体 1 (mTORC1) 活性来促进包括线粒体自噬在内的自噬过程;反之,营养充足时通过活化 mTORC1 可以抑制线粒体自噬<sup>[55]</sup>。AD 中能量代谢紊乱可导致这一调控网络失衡。

#### 4 线粒体自噬在 AD 发病中的作用和机制

研究发现 AD 患者与健康志愿者的尸检海马组织中, AD 患者海马神经元中线粒体自噬缺陷导致受损线粒体积累<sup>[56]</sup>。进一步利用家族性 AD 突变体 (APP/V717L)、散发性 AD (APOE4/E4) 及 AD 细胞建立 iPSC 衍生的神经元培养物,并结合单体红色荧光蛋白-绿色荧光蛋白串联荧光标记 LC3 质粒量化自噬通量,体外实验证实 AD 病理状态下线粒体自噬均受损<sup>[56]</sup>。此外,也可以观察到 AD 患者中,磷脂酰肌醇结合网格蛋白组装蛋白、早老素 1、磷酸酶和张力蛋白同源物、PINK1、TBK1、ULK1 和 Bcl-2 相关 athanogene 3 等自噬和线粒体自噬途径的调控因子表达量降低或功能受损<sup>[57]</sup>。线粒体自噬与 AD 的具体关系见图 5。

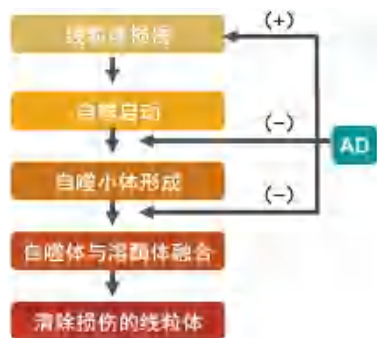


图 5 线粒体自噬与 AD 的关系 (由 PowerPoint 绘制)

Fig 5 Relationship between mitochondrial autophagy and Alzheimer's disease (by PowerPoint)

注 (Note): (+). 促进 (promote); (-). 抑制 (inhibit)。

#### 4.1 线粒体自噬缺陷加剧 $A\beta$ 斑块形成

线粒体自噬异常促进  $A\beta$  斑块的形成。线粒体功能受损导致能量代谢异常,出现 ATP 耗竭,进而激活

AMPK, 协调线粒体分裂<sup>[56]</sup>。正常情况下分裂后的线粒体相对更容易被自噬体识别吞噬,但由于此时线粒体自噬存在障碍,因此受损线粒体无法被及时清除<sup>[56]</sup>。同时,非糖基化、全长的 APP 以及 C 端截断的 APP 会锚定在线粒体蛋白进口通道,阻碍细胞核编码的线粒体蛋白进入线粒体,进一步加重线粒体功能障碍<sup>[56]</sup>。线粒体自噬异常导致的线粒体功能障碍导致呼吸链受损和 ATP 产生减少,从而使 BACE1 和  $\gamma$ -分泌酶活性异常升高,促进 APP 异常切割生成  $A\beta_{1-42}$ <sup>[58]</sup>。线粒体功能障碍也会导致溶酶体酸化缺陷,进而阻碍  $A\beta$  的降解,最终导致其在神经元内积累<sup>[59]</sup>。产生的 ROS 也可以氧化 APP,促进 BACE1 切割位点暴露,使之更容易产生聚集的  $A\beta_{1-42}$  肽异构体<sup>[58]</sup>。此外,  $A\beta$  寡聚体可以嵌入线粒体内膜,破坏电子传递链 (ETC) 复合物活性,进一步加剧 ROS 的生成和线粒体自噬缺陷<sup>[58]</sup>。AD 中小胶质细胞内线粒体损伤和线粒体自噬功能异常,也会导致小胶质细胞无法有效清除  $A\beta$  斑块,促进 AD 的发展<sup>[56]</sup>。

#### 4.2 线粒体自噬缺陷驱动 Tau 过度磷酸化

在 AD 中,线粒体自噬异常是 Tau 过度磷酸化和聚集的重要驱动因素。研究表明,线粒体氧化磷酸化功能受损会导致 ATP 生成减少,进而影响线粒体内磷脂酰乙醇胺的合成<sup>[60]</sup>。脂酰乙醇胺是自噬体膜形成的关键成分,其合成受限会抑制自噬体的形成和成熟,导致自噬体功能障碍<sup>[60]</sup>。自噬功能下降导致过度磷酸化的 Tau 在细胞内积累,进一步被 GSK-3 $\beta$ 、CDK5 等激酶磷酸化,形成寡聚体和 NFTs,随后过度磷酸化的 Tau 又会反过来加剧线粒体损伤,形成恶性循环<sup>[60]</sup>。线粒体自噬激活可以显著改善 3 $\times$ Tg-AD 小鼠模型中的 Tau 病理和认知功能<sup>[56]</sup>。

#### 4.3 线粒体自噬缺陷放大氧化应激

AD 中线粒体自噬水平降低,无法及时有效地清除受损线粒体,会导致 ROS 的产生和积累加剧<sup>[61]</sup>。积累的受损线粒体中,ETC 复合物功能紊乱,导致电子漏出增加。在 AD 患者的大脑新皮质、海马和脉络丛上皮细胞中,线粒体复合物 I~IV 的活性降低<sup>[62]</sup>。在 ROS 长期刺激下,神经元内的谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 等抗氧化防御系统会逐渐失活。ROS 攻击可能通过氧化修饰增强 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 的活性,导致核因子 E2 相关因子 2 的激活和转位受到抑制,下调血红素加氧酶 -1 (HO-1)、NAD (P) H 醌氧化还原酶 1 (NQO1) 等抗氧化酶的表达<sup>[63]</sup>。ROS 的攻击会持续消耗 GSH,导致谷胱甘肽还原酶将氧化型谷胱甘肽还原为 GSH 的速度无法跟上 GSH 消耗速度。ROS 的攻击也会导致 SOD 的损伤,导致细胞无法顺利地将超氧阴离子转化为过氧化氢 ( $H_2O_2$ )。由于 ROS 产生增多和体内抗氧化防御系统逐渐失活,导致 ROS 在细胞内积累,这不仅可以加重线粒体和细胞的整体损伤,还可以



促进 Tau 过度磷酸化、诱导 A $\beta$  的生成与聚集并引发突触功能障碍,进而推动 AD 病理进程。

#### 4.4 线粒体自噬缺陷推动神经炎症

在 AD 病程中,线粒体自噬障碍导致异常线粒体累积,释放线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA)、ROS 和损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs)。这些分子通过多种途径激活固有免疫反应:mtDNA 泄漏至胞质后,激活环鸟苷酸-腺苷酸合成酶,促进干扰素基因刺激蛋白依赖的 I 型干扰素和 TNF- $\alpha$  等促炎因子表达<sup>[64]</sup>;DAMPs 通过 Toll 样受体激活核因子- $\kappa$ B 信号通路触发炎症反应;同时,ROS 和 mtDNA 激活 NLRP3 炎症小体,促进 IL-1 $\beta$  和白细胞介素-18 (interleukin-18, IL-18) 的成熟与分泌<sup>[65]</sup>。持续的炎症信号驱动小胶质细胞向促炎性 M1 表型极化,大量分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ ,并通过异常吞噬作用破坏突触完整性<sup>[66]</sup>。此外,A $\beta$  寡聚体可通过抑制 PINK1/Parkin 功能阻碍线粒体自噬,而过度磷酸化的 Tau 可干扰 Parkin 的线粒体定位,两者形成正反馈环路,导致线粒体清除障碍与炎症信号持续放大<sup>[66]</sup>。此外,炎症微环境中的 TNF- $\alpha$  等因子通过抑制 AMPK/mTOR 通路进一步降低线粒体自噬能力,加剧氧化应激与能量代谢紊乱,最终形成“自噬抑制-炎症加剧”的恶性循环,加速神经元退行性变与认知功能衰退<sup>[67]</sup>。研究表明通过激活 AMPK-ULK1 通路可以减少 3 $\times$ Tg-AD 小鼠中早期 APP 的 C 末端积累,并且可以减少后期出现的 A $\beta$  负担、小胶质细胞增生和星形胶质细胞增生,从而在 AD 中发挥神经保护作用,延缓认知功能衰退<sup>[68]</sup>。

#### 4.5 线粒体自噬的双刃剑作用

近年来研究揭示,线粒体自噬在 AD 发病中发挥着“双刃剑”的作用。在 AD 早期阶段,线粒体自噬被激活,从而选择性清除受损线粒体,维持神经元能量稳态并减轻氧化应激,对神经元具有保护作用<sup>[69]</sup>。随着 A $\beta$  斑块和胆固醇等的积累,胆固醇在溶酶体膜积累,抑制溶酶体与自噬体融合,此时虽然 PINK1/Parkin 等关键通路被激活,但是仍然因线粒体自噬体无法被溶酶体降解而堆积<sup>[70]</sup>。这些未降解的线粒体自噬体在神经元内积累,反而加剧了神经元的损伤。Tau 片段堆积也可以刺激线粒体自噬,导致突触内健康线粒体被过度清除,加速神经元能量危机<sup>[59]</sup>。

当线粒体自噬过度时,可能通过以下途径损伤细胞。一方面是前文提到过的 AD 神经元中自噬体与溶酶体融合效率下降,导致未降解的线粒体自噬体堆积,释放 ROS 并诱发周围健康线粒体损伤<sup>[70]</sup>。另一方面,线粒体自噬过度可能会激活 DRP1 介导的线粒体过度分裂,不仅会损伤健康的线粒体,还会产生碎片化的线粒体,导致线粒体功能异常<sup>[71]</sup>。此外,由于 AD 中溶酶体的功能障碍,会导致一些促进自噬的基因代偿性地上调,导致健康的线粒体

受到损伤<sup>[72]</sup>。这些都会使得线粒体自噬失去保护作用,反而进一步加剧神经元能量危机与突触损伤。

总的来说,在 AD 早期即慢性积累期,以自噬流阻滞为主,线粒体自噬不足。在 AD 的急性损伤期或晚期的能量崩溃阶段,线粒体自噬过度,但由于溶酶体降解障碍,仍旧无法有效清除受损线粒体,甚至过度启动的自噬会误伤健康线粒体。在此情况下,加速健康线粒体耗竭的同时因清除效率下降使损伤线粒体积累,共同推动 A $\beta$  和 Tau 病理播散及神经元死亡,最终表现为认知功能进行性衰退。因此,基于线粒体自噬抗 AD 的策略是恢复自噬稳态,而非单纯增强或抑制,需结合疾病阶段、细胞类型和分子通路精准调控。

### 5 调控线粒体自噬的抗 AD 治疗策略

目前治疗 AD 的药物主要有多奈哌齐、美金刚、仑卡奈单抗等,但均不能够逆转 AD 的疾病进程。越来越多的研究表明,改善线粒体自噬也可以作为治疗 AD 的策略。

#### 5.1 小分子化合物

调控线粒体自噬的抗 AD 小分子化合物主要包括尿石素 A (Urolithin A)、雷帕霉素及其类似物、线粒体分裂抑制剂 1 (mitochondrial division inhibitor 1, Mdivi-1)、二乙基 (3, 4-二羟基苯乙氨基)(喹啉-4-基)甲基膦酸酯 [(diethyl (3, 4-dihydroxyphenethylamino)(quinolin-4-yl) methylphosphonate), DDQ] 和二甲双胍。

Urolithin A 可以激活 PINK1/Parkin 通路,促进受损线粒体清除<sup>[73]</sup>。对 APP/PS1 小鼠给予 Urolithin A 治疗后,通过 Morris 水迷宫和 Y 迷宫实验,显示 Urolithin A 能显著改善 APP/PS1 小鼠的学习和记忆能力,即 Urolithin A 通过激活 PINK1/Parkin 通路可以促进受损线粒体清除,改善能量代谢,减轻氧化应激,从而对 AD 发挥神经保护作用,延缓疾病进展<sup>[73]</sup>。

雷帕霉素作为 mTOR 抑制剂,在 APP/PS1 小鼠中可以显著增强海马区线粒体自噬活性,其机制为抑制 mTOR 磷酸化,促使 Parkin 向受损线粒体转位,促进 SQSTM1/p62 介导的自噬体募集,并修复自噬体-溶酶体融合障碍,最终实现 Parkin 依赖的线粒体清除<sup>[74]</sup>。但长期使用雷帕霉素及其类似物可能会引起免疫抑制等问题。

Mdivi-1 可以抑制线粒体分裂关键蛋白 DRP1 的 GTP 酶活性,抑制线粒体分裂,维持线粒体融合状态,从而改善线粒体功能<sup>[75]</sup>。Mdivi-1 抑制线粒体过度分裂,在 CRND8 转基因 AD 小鼠中发挥细胞保护作用<sup>[76]</sup>。

DDQ 是一种新型合成小分子,在敲入人源化 A $\beta$  (hAbKI) 的小鼠模型中可以改善小鼠的认知功能,其机制为增强 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬;此外,DDQ 还可以上调 PGC1 $\alpha$ /NRF1/TFAM 通路激活线粒体生物发生和抑制小胶质细胞活化及星形胶质细胞产生,三种机制共同发挥抗 AD 的作用<sup>[77]</sup>。

二甲双胍可以直接激活 AMPK，抑制 mTOR，从而促进线粒体自噬，单用二甲双胍并不会显著影响去乙酰化酶 SIRT1，但若将二甲双胍和烟酰胺核苷联用，则可以协同上调 SIRT1/AMPK，抑制 mTOR，显著修复线粒体自噬缺陷<sup>[78]</sup>。在 iPSC 衍生的星形胶质细胞模型中，二甲双胍可以通过此机制改善线粒体自噬功能，从而对 AD 发挥改善能量代谢、减轻神经细胞损伤的作用<sup>[78]</sup>。

5.2 天然产物

白藜芦醇 (resveratrol) 来源于葡萄、蓝莓，可以激活 SIRT1 通路，促进线粒体自噬及能量代谢<sup>[79]</sup>。白藜芦醇不仅可以通过减少 3×Tg-AD 小鼠海马中的 Aβ 和过磷酸化 Tau 蛋白来改善小鼠的记忆丧失和脑病理，也可以诱导健康 NoTg 小鼠认知增强<sup>[80]</sup>。尽管白藜芦醇在一些试验中显示出对 AD 生物标志物和脑血流的积极影响，但目前尚无足够的证据表明其对 AD 患者的认知功能有显著改善<sup>[81]</sup>。

姜黄素 (curcumin) 可以通过转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 增强线粒体自噬，并抑制 Aβ 聚集<sup>[82]</sup>。研究发现利用一种光不稳定的姜黄素二氮嗪类似物 CRANAD-147 与 LED 或 ADLumin-4

分子光的组合具有显著的组织穿透能力，能够有效减少 5×FAD 小鼠脑内 Aβ 的积累<sup>[83]</sup>。

通过 AI 驱动的虚拟筛选平台，从 3724 个天然分子中鉴定发现的山柰酚 (kaempferol) 与丹叶大黄素 (rhapontigenin) 可以通过上调 PINK1/Parkin 通路和增加 ULK1 的磷酸化来启动线粒体自噬<sup>[57]</sup>。此外两者还可以通过增加 DRP1 的磷酸化水平促进线粒体裂变，使线粒体变小，更容易被自噬体吞噬<sup>[57]</sup>。给药后，3×Tg-AD 小鼠在 Morris 水迷宫测试中潜伏期缩短，在 Y 迷宫和新物体识别测试中表现也更好，说明这两种黄酮类化合物可显著改善 AD 小鼠的空间学习和记忆能力<sup>[57]</sup>。

5.3 当前临床前与临床研究进展及挑战

综上所述，无论是小分子化合物还是天然产物，均通过靶向线粒体自噬的不同环节发挥抗 AD 作用，展现了线粒体自噬调控作为 AD 治疗策略的广阔前景。然而，这些候选分子在从基础研究向临床转化过程中仍面临诸多挑战，如血脑屏障穿透效率、长期用药安全性以及临床疗效验证等问题。当前相关研究的临床前与临床进展及主要挑战见表 1。

表 1 当前临床前与临床研究进展及挑战  
Tab 1 Current progress and challenges in preclinical and clinical research

| 候选分子 / 策略                      | 作用机制                                                              | 研发阶段                               | 主要进展                                                                                                                 | 挑战                                                                                                                       |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Urolithin A <sup>[84]</sup>    | 激活 PINK1/Parkin 通路，增强线粒体自噬；上调线粒体相关基因和 mtDNA/细胞核 DNA 比值，刺激新线粒体生成   | I 期临床                              | I 期临床试验 (NCT02655393) 已在健康老年人中完成。无严重不良反应，肝肾功能、血液学指标、心电图均无临床异常                                                        | 短期干预虽显示分子层面改善，但生理功能效益尚未验证，需更长期试验确认能否改善疾病；此外，长期使用的安全性数据空白                                                                 |
| 雷帕霉素 <sup>[85]</sup>           | 抑制 mTOR 激酶，调节细胞生长、自噬和代谢                                           | II 期临床                             | 首次在人体试验 (NCT06022068) 中系统性评估雷帕霉素对 AD 生物标志物的影响；采用间歇性低剂量，从而选择性抑制 mTORC1，减少不良反应；首次在 AD 患者中同步评估雷帕霉素对心脑血管、视网膜、骨骼等多器官的保护作用 | 雷帕霉素的血脑屏障穿透能力在人类中尚未充分验证，目前仅依赖动物数据；存在口腔炎、高脂血症、骨髓抑制等不良反应；尚无大型 III 期临床试验验证雷帕霉素对 AD 认知终点的疗效                                  |
| DDQ <sup>[77]</sup>            | 增强 PINK1/Parkin 依赖的线粒体自噬；上调 PGC1α/NRF1/TFAM 通路；抑制小胶质细胞活化和星形胶质细胞增生 | 临床前                                | 在 hAbKI 小鼠模型中展现出“三重协同机制”                                                                                             | 仍需进一步验证血脑屏障穿透能力，以及在临床试验中进一步评估长期使用的潜在不良反应                                                                                 |
| 二甲双胍 <sup>[78]</sup>           | 激活 AMPK/mTOR 通路；与烟酰胺核苷合用后激活 SIRT1，进一步放大 AMPK 信号并抑制 mTOR           | 临床前                                | 在 iPSC 衍生的星形胶质细胞中可以改善线粒体自噬；与烟酰胺核苷联用疗效加强，证明二甲双胍和烟酰胺核苷联用可能成为治疗 AD 的潜在策略                                                | 二甲双胍具有浓度依赖性；目前研究主要基于体外 iPSC 模型，缺乏动物模型和临床数据                                                                               |
| 基因治疗 / 腺相关病毒载体 <sup>[86]</sup> | 递送 PINK1、Parkin、TFEB 等基因                                          | 临床前 (纤维状 β-淀粉样蛋白肽或骨关节炎诱导的 AD 小鼠模型) | 递送效率提升；双疾病治疗潜力：单载体同时改善帕金森病的运动功能和 AD 的认知功能；LC-MS/MS 证实 Parkin 在脑组织持续表达 ≥ 6 周                                          | 难以高效穿透血脑屏障，且存在脱靶风险；高剂量可能引发免疫原性反应，而基因组随机整合虽概率较低仍存在致癌隐患                                                                    |
| 白藜芦醇 <sup>[87]</sup>           | 激活 SIRT1 通路，促进线粒体自噬                                               | II 期临床                             | II 期临床试验 (NCT01504854) 表明白藜芦醇可使神经退行标志物下降，减轻神经元损伤；也可以缓解神经炎症并使自噬通路正常化；此外，研究发现其还可能促进血管修复                                | 白藜芦醇同时降低保护性的髓样细胞触受体 2 和炎症标志物，其对小胶质细胞的双向调节机制需深入验证；并且在试验中发现白藜芦醇组脑体积丢失增加 3%，可能与抗炎后“伪萎缩”有关，但潜在神经毒性需排除；此外，在试验中生物标志物改善未转化为认知改善 |



## 6 结论和展望

线粒体自噬在 AD 中的作用已成为近年来的研究热点,并且在 AD 发病机制中发挥着复杂的“双刃剑”作用,适度的线粒体自噬可以清除受损的线粒体,减少 ROS 释放和促凋亡因子的产生,保护细胞免受损伤;但过度的线粒体自噬会导致神经元功能障碍,引发细胞死亡;线粒体自噬受损会加剧氧化损伤和细胞能量缺失,导致 A $\beta$  沉积和 Tau 过度磷酸化,导致突触功能障碍和认知缺陷。

尽管目前研究揭示了线粒体自噬在 AD 中的作用,但仍有许多问题亟待解决。如线粒体自噬的调控机制尚未完全明确,尤其是除 PINK1/Parkin 通路之外的其他通路需要进一步探索。其次,线粒体自噬与神经炎症、铁死亡等其他病理过程之间的相互作用也尚未明晰。

在治疗策略方面,调控线粒体自噬抗 AD 的治疗也面临着一些争议与挑战。核心难点在于如何实现线粒体自噬功能的精准调控:既要有效清除损伤线粒体,又需避免过度清除健康线粒体或导致 ATP 合成不足引发神经毒性风险。此外,AD 不同阶段及不同脑区线粒体自噬状态也存在异质性,如何基于生物标志物进行精准分型并制订个体化治疗方案也是亟待解决的问题。

未来研究应更深入地揭示 AD 不同阶段线粒体自噬的动态变化特征,并致力于开发能够恢复线粒体自噬稳态的新型调节剂或实现稳态调控的新型疗法,从而为攻克 AD 提供新的希望。

## 参考文献

- [1] Scheltens P, De Strooper B, Kivipelto M, et al. Alzheimer's disease [J]. *Lancet*, 2021, 397 (10284): 1577-1590.
- [2] 2025. Dementia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>.
- [3] World Health Organization. Global status report on the public health response to dementia [M]. Geneva: World Health Organization, 2021.
- [4] 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.
- [5] 王英全, 梁景宏, 贾瑞霞, 等. 2020—2050 年中国阿尔茨海默病患者病情预测研究 [J]. *阿尔茨海默病及相关病杂志*, 2019, 2 (1): 289-298.
- [6] Jucker M, Walker LC. Alzheimer's disease: from immunotherapy to immunoprevention [J]. *Cell*, 2023, 186 (20): 4260-4270.
- [7] Jack CR Jr, Andrews JS, Beach TG, et al. Revised criteria for diagnosis and staging of Alzheimer's disease: Alzheimer's Association Workgroup [J]. *Alzheimers Dement*, 2024, 20 (8): 5143-5169.
- [8] Nam E, Lin YX, Park J, et al. APP-C31: an intracellular promoter of both metal-free and metal-bound amyloid- $\beta$  (40) aggregation and toxicity in Alzheimer's disease [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11 (4): e2307182.
- [9] Long JM, Holtzman DM. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies [J]. *Cell*, 2019, 179 (2): 312-339.
- [10] Greenberg SM, Bacskai BJ, Hernandez-Guillamon M, et al. Cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer disease-one peptide, two pathways [J]. *Nat Rev Neurol*, 2020, 16 (1): 30-42.
- [11] Kent SA, Spires-Jones TL, Durrant CS. The physiological roles of tau and A $\beta$ : implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics [J]. *Acta Neuropathol*, 2020, 140 (4): 417-447.
- [12] Ittner A, Ittner LM. Dendritic Tau in Alzheimer's disease [J]. *Neuron*, 2018, 99 (1): 13-27.
- [13] Xia YX, Prokop S, Gorion KM, et al. Tau Ser208 phosphorylation promotes aggregation and reveals neuropathologic diversity in Alzheimer's disease and other tauopathies [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8 (1): 88.
- [14] Stefanoska K, Gajwani M, Tan ARP, et al. Alzheimer's disease: ablating single master site abolishes Tau hyperphosphorylation [J]. *Sci Adv*, 2022, 8 (27): eabl8809.
- [15] Gorrini C, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12 (12): 931-947.
- [16] Okoye CN, Koren SA, Wojtovich AP. Mitochondrial complex I ROS production and redox signaling in hypoxia [J]. *Redox Biol*, 2023, 67: 102926.
- [17] Cheignon C, Tomas M, Bonnefont-Rousselot D, et al. Oxidative stress and the amyloid beta peptide in Alzheimer's disease [J]. *Redox Biol*, 2018, 14: 450-464.
- [18] Butterfield DA, Halliwell B. Oxidative stress, dysfunctional glucose metabolism and Alzheimer disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2019, 20 (3): 148-160.
- [19] Yu N, Pasha M, Chua JJE. Redox changes and cellular senescence in Alzheimer's disease [J]. *Redox Biol*, 2024, 70: 103048.
- [20] Scheiblich H, Eikens F, Wischhof L, et al. Microglia rescue neurons from aggregate-induced neuronal dysfunction and death through tunneling nanotubes [J]. *Neuron*, 2024, 112 (18): 3106-3125.
- [21] Agostinho P, Cunha RA, Oliveira C. Neuroinflammation, oxidative stress and the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16 (25): 2766-2778.
- [22] Brett BL, Gardner RC, Godbout J, et al. Traumatic brain injury and risk of neurodegenerative disorder [J]. *Biol Psychiatry*, 2022, 91 (5): 498-507.
- [23] Zhang JF, Zhang YL, Wang JX, et al. Recent advances in Alzheimer's disease: mechanisms, clinical trials and new drug development strategies [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1): 211.
- [24] Gogoleva VS, Mundt S, De Feo D, et al. Mononuclear phagocytes in autoimmune neuroinflammation [J]. *Trends Immunol*, 2024, 45 (10): 814-823.
- [25] Karki R, Kanneganti TD. The 'cytokine storm': molecular mechanisms and therapeutic prospects [J]. *Trends Immunol*,



- 2021, 42 (8): 681-705.
- [26] Zhang T, Gao GQ, Kwok LY, et al. Gut microbiome-targeted therapies for Alzheimer's disease [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15 (2): 2271613.
  - [27] Xiong XS, James BT, Boix CA, et al. Epigenomic dissection of Alzheimer's disease pinpoints causal variants and reveals epigenome erosion [J]. *Cell*, 2023, 186 (20): 4422-4437.
  - [28] Jomova K, Makova M, Alomar SY, et al. Essential metals in health and disease [J]. *Chem Biol Interact*, 2022, 367: 110173.
  - [29] Brown AJH, Bradley SJ, Marshall FH, et al. From structure to clinic: design of a muscarinic M1 receptor agonist with potential to treatment of Alzheimer's disease [J]. *Cell*, 2021, 184 (24): 5886-5901.
  - [30] Pekurnaz G, Wang XN. Mitochondrial heterogeneity and homeostasis through the lens of a neuron [J]. *Nat Metab*, 2022, 4 (7): 802-812.
  - [31] Monzel AS, Enríquez JA, Picard M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction [J]. *Nat Metab*, 2023, 5 (4): 546-562.
  - [32] Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, et al. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21 (4): 204-224.
  - [33] Chen W, Zhao HK, Li YS. Mitochondrial dynamics in health and disease: mechanisms and potential targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8 (1): 333.
  - [34] Gao S, Hu JJ. Mitochondrial fusion: the machineries in and out [J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31 (1): 62-74.
  - [35] Zacharioudakis E, Gavathiotis E. Mitochondrial dynamics proteins as emerging drug targets [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2023, 44 (2): 112-127.
  - [36] Mclelland GL, Goiran T, Yi W, et al. Mfn2 ubiquitination by PINK1/parkin gates the p97-dependent release of ER from mitochondria to drive mitophagy [J]. *Elife*, 2018, 7: e32866.
  - [37] Ge YF, Shi XJ, Boopathy S, et al. Two forms of Opa1 cooperate to complete fusion of the mitochondrial inner-membrane [J]. *Elife*, 2020, 9: e50973.
  - [38] Friedman JR, Lackner LL, West M, et al. ER tubules mark sites of mitochondrial division [J]. *Science*, 2011, 334 (6054): 358-362.
  - [39] Chen SS, Liu SD, Wang JX, et al. TBK1-mediated DRP1 targeting confers nucleic acid sensing to reprogram mitochondrial dynamics and physiology [J]. *Mol Cell*, 2020, 80 (5): 810-827.
  - [40] Fenton AR, Jongens TA, Holzbaur ELF. Mitochondrial adaptor TRAK2 activates and functionally links opposing kinesin and dynein motors [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 4578.
  - [41] Onishi M, Yamano K, Sato M, et al. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy [J]. *EMBO J*, 2021, 40 (3): e104705.
  - [42] Harrington JS, Rytter SW, Plataki M, et al. Mitochondria in health, disease, and aging [J]. *Physiol Rev*, 2023, 103 (4): 2349-2422.
  - [43] Ajoolabady A, Chiong M, Lavandero S, et al. Mitophagy in cardiovascular diseases: molecular mechanisms, pathogenesis, and treatment [J]. *Trends Mol Med*, 2022, 28 (10): 836-849.
  - [44] Lizama BN, Chu CT. Neuronal autophagy and mitophagy in Parkinson's disease [J]. *Mol Aspects Med*, 2021, 82: 100972.
  - [45] Panigrahi DP, Praharaj PP, Bhol CS, et al. The emerging, multifaceted role of mitophagy in cancer and cancer therapeutics [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 66: 45-58.
  - [46] Narendra D, Tanaka A, Suen DF, et al. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy [J]. *J Cell Biol*, 2008, 183 (5): 795-803.
  - [47] Wang WH, Chen XD, Zhang LX, et al. Atomic structure of human TOM core complex [J]. *Cell Discov*, 2020, 6: 67.
  - [48] Yamano K, Youle RJ. PINK1 is degraded through the N-end rule pathway [J]. *Autophagy*, 2013, 9 (11): 1758-1769.
  - [49] Wang SL, Long HJ, Hou LJ, et al. The mitophagy pathway and its implications in human diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8 (1): 304.
  - [50] Lamark T, Johansen T. Mechanisms of selective autophagy [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2021, 37: 143-169.
  - [51] Han R, Liu YT, Li SH, et al. PINK1-PRKN mediated mitophagy: differences between in vitro and in vivo models [J]. *Autophagy*, 2023, 19 (5): 1396-1405.
  - [52] Lazarou M, Sliter DA, Kane LA, et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy [J]. *Nature*, 2015, 524 (7565): 309-314.
  - [53] Eldeeb MA, Thomas RA, Ragheb MA, et al. Mitochondrial quality control in health and in Parkinson's disease [J]. *Physiol Rev*, 2022, 102 (4): 1721-1755.
  - [54] Chen YJ, Jiao DY, Liu Y, et al. FBXL4 mutations cause excessive mitophagy via BNIP3/BNIP3L accumulation leading to mitochondrial DNA depletion syndrome [J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30 (10): 2351-2363.
  - [55] Zhao Z, Yan J, Huang L, et al. Phytochemicals targeting Alzheimer's disease via the AMP-activated protein kinase pathway, effects, and mechanisms of action [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116373.
  - [56] Fang EF, Hou YJ, Palikaras K, et al. Mitophagy inhibits amyloid- $\beta$  and Tau pathology and reverses cognitive deficits in models of Alzheimer's disease [J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22 (3): 401-412.
  - [57] Xie CL, Zhuang XX, Niu ZM, et al. Amelioration of Alzheimer's disease pathology by mitophagy inducers identified via machine learning and a cross-species workflow [J]. *Nat Biomed Eng*, 2022, 6 (1): 76-93.
  - [58] D'alessandro MCB, Kanaan S, Geller M, et al. Mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2025, 107: 102713.
  - [59] Mary A, Eysert F, Checler F, et al. Mitophagy in Alzheimer's disease: molecular defects and therapeutic approaches [J]. *Mol Psychiatry*, 2023, 28 (1): 202-216.
  - [60] Jia N, Ganesan D, Guan HY, et al. Mitochondrial bioenergetics stimulates autophagy for pathological MAPT/Tau clearance in tauopathy neurons [J]. *Autophagy*, 2025, 21 (1): 54-79.

- [61] Lyu Y, Meng ZP, Hu YY, et al. Mechanisms of mitophagy and oxidative stress in cerebral ischemia-reperfusion, vascular dementia, and Alzheimer's disease [J]. *Front Mol Neurosci*, 2024, 17: 1394932.
- [62] Area-Gomez E, Larrea D, Pera M, et al. APOE4 is associated with differential regional vulnerability to bioenergetic deficits in aged APOE mice [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 4277.
- [63] Trofin DM, Sardaru DP, Trofin D, et al. Oxidative stress in brain function [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14 (3): 279.
- [64] Jiménez-Loygorri JI, Villarejo-Zori B, Viedma-Poyatos Á, et al. Mitophagy curtails cytosolic mtDNA-dependent activation of cGAS/STING inflammation during aging [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1): 830.
- [65] Zong Y, Li H, Liao P, et al. Mitochondrial dysfunction: mechanisms and advances in therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1): 124.
- [66] Leng FD, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17 (3): 157-172.
- [67] 王亚婷, 咸郝, 鲍秀蓉, 等. 3-溴丙酮酸通过 AMPK/mTOR 信号通路调控成纤维样滑膜细胞凋亡/自噬失衡的作用 [J]. *中国药理学通报*, 2023, 39 (8): 1463-1469.
- [68] Mary A, Barale S, Eysert F, et al. Hampered AMPK-ULK1 cascade in Alzheimer's disease (AD) instigates mitochondria dysfunctions and AD-related alterations which are alleviated by metformin [J]. *Alzheimers Res Ther*, 2025, 17 (1): 127.
- [69] Ye X, Sun XQ, Starovoytov V, et al. Parkin-mediated mitophagy in mutant hAPP neurons and Alzheimer's disease patient brains [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24 (10): 2938-2951.
- [70] Roca-Agujetas V, De Dios C, Abadin X, et al. Upregulation of brain cholesterol levels inhibits mitophagy in Alzheimer disease [J]. *Autophagy*, 2021, 17 (6): 1555-1557.
- [71] Pradeepkiran JA, Islam MA, Sehar U, et al. Impact of diet and exercise on mitochondrial quality and mitophagy in Alzheimer's disease [J]. *Ageing Res Rev*, 2025, 108: 102734.
- [72] Martinez-Vicente M. Neuronal mitophagy in neurodegenerative diseases [J]. *Front Mol Neurosci*, 2017, 10: 64.
- [73] Hou YJ, Chu XX, Park JH, et al. Urolithin A improves Alzheimer's disease cognition and restores mitophagy and lysosomal functions [J]. *Alzheimers Dement*, 2024, 20 (6): 4212-4233.
- [74] Wang H, Fu JX, Xu XX, et al. Rapamycin activates mitophagy and alleviates cognitive and synaptic plasticity deficits in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021, 76 (10): 1707-1713.
- [75] Aishwarya R, Alam S, Abdullah CS, et al. Pleiotropic effects of mdivi-1 in altering mitochondrial dynamics, respiration, and autophagy in cardiomyocytes [J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101660.
- [76] Liu XQ, Song LJ, Yu JZ, et al. Mdivi-1: a promising drug and its underlying mechanisms in the treatment of neurodegenerative diseases [J]. *Histol Histopathol*, 2022, 37 (6): 505-512.
- [77] Kshirsagar S, Alvir RV, Pradeepkiran JA, et al. Therapeutic potential of DDQ in enhancing mitochondrial health and cognitive function in late-onset Alzheimer's disease [J]. *Mitochondrion*, 2025, 83: 102036.
- [78] Chen AB, Kristiansen CK, Hong Y, et al. Nicotinamide riboside and metformin ameliorate mitophagy defect in induced pluripotent stem cell-derived astrocytes with POLG mutations [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 737304.
- [79] Ma T, Tan MS, Yu JT, et al. Resveratrol as a therapeutic agent for Alzheimer's disease [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 350516.
- [80] Corpas R, Griñán-Ferré C, Rodríguez-Farré E, et al. Resveratrol induces brain resilience against Alzheimer neurodegeneration through proteostasis enhancement [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56 (2): 1502-1516.
- [81] Griñán-Ferré C, Bellver-Sanchis A, Izquierdo V, et al. The pleiotropic neuroprotective effects of resveratrol in cognitive decline and Alzheimer's disease pathology: from antioxidant to epigenetic therapy [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 67: 101271.
- [82] Wang ZY, Yang CB, Liu J, et al. A curcumin derivative activates TFEB and protects against Parkinsonian neurotoxicity in vitro [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (4): 1515.
- [83] Kuang S, Zhu BY, Zhang J, et al. A photolabile curcumin-diazirine analogue enables phototherapy with physically and molecularly produced light for Alzheimer's disease treatment [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2023, 62 (45): e202312519.
- [84] Andreux PA, Blanco-Bose W, Ryu D, et al. The mitophagy activator urolithin A is safe and induces a molecular signature of improved mitochondrial and cellular health in humans [J]. *Nat Metab*, 2019, 1 (6): 595-603.
- [85] Svensson JE, Bolin M, Thor D, et al. Evaluating the effect of rapamycin treatment in Alzheimer's disease and aging using in vivo imaging: the ERAP phase II a clinical study protocol [J]. *BMC Neurol*, 2024, 24 (1): 111.
- [86] Lee S, Kang MG, Lee S, et al. AAV-aMTD-Parkin, a therapeutic gene delivery cargo, enhances motor and cognitive functions in Parkinson's and Alzheimer's diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2024, 208: 107326.
- [87] Liu XG, Baxley S, Hebron M, et al. Resveratrol attenuates CSF markers of neurodegeneration and neuroinflammation in individuals with Alzheimer's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26 (11): 6789.

(收稿日期: 2025-05-19; 修回日期: 2025-09-06)

## 论著

## 雄黄对体外微管及其聚合动力学的影响

尹佳宁, 岳玉霞, 杜保健, 范文倩, 朱欣然, 关君\*, 张谦\* (北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

**摘要:** **目的** 运用体外蛋白水平实验研究雄黄对微管及其聚合动力学的作用, 初步探究雄黄靶向微管发挥抗肿瘤活性的可行性。 **方法** 获取大鼠脑组织, 通过循环离心法经过两个聚合-解聚循环提取并纯化, 得到体外重组微管蛋白。Bradford 法测定蛋白浓度后使用 SDS-PAGE 凝胶电泳进行鉴定。使用浊度法考察雄黄对微管聚合动力学的影响。使用透射电镜表征微管聚合产物。利用微管蛋白的固有色氨酸荧光探究雄黄对微管蛋白的结合作用。 **结果** 成功获得体外重组微管蛋白, 经 SDS-PAGE 凝胶电泳鉴定所得样品符合微管蛋白分子量; 浊度法实验表明雄黄剂量依赖性地抑制体外重组微管蛋白的聚合动力学, 降低其聚合速率与聚合程度; 透射电镜结果表明雄黄破坏聚合产物的丝状网络, 诱导短棒状聚集体生成; 荧光法实验表明雄黄导致微管的固有色氨酸荧光发生猝灭, 发射光的最大波长发生红移。 **结论** 雄黄具有体外靶向微管蛋白的能力, 可为后续进一步拓展雄黄抗肿瘤的作用机制提供物质基础。

**关键词:** 雄黄; 微管蛋白; 机制研究; 聚合动力学; 抗肿瘤活性

中图分类号: R965.1, R284 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2026)05-022-06  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.003

## Effect of realgar on tubulin and its polymerization kinetics in vitro

YIN Jianing, YUE Yuxia, DU Baojian, FAN Wenqian, ZHU Xinran, GUAN Jun\*, ZHANG Qian\*  
(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

**Abstract: Objective** To determine the effect of realgar on tubulin and its polymerization kinetics in vitro, and the feasibility of realgar targeting microtubules for its anti-tumor activity. **Methods** After obtaining the rat brain tissue, the polymerization-competent tubulin was isolated and purified through cycles of polymerization-depolymerization via cyclic centrifugation. Protein concentration was determined with the Bradford method, followed by identification with SDS-PAGE. The effect of realgar on microtubule polymerization kinetics was examined by turbidimetry. The polymerization products were characterized with transmission electron microscopy. The binding interaction between realgar and tubulin was studied by fluorescence spectroscopy, based on the intrinsic tryptophan fluorescence of tubulin. **Results** Polymerization-competent tubulin was successfully obtained in vitro. SDS-PAGE confirmed that the samples corresponded to the correct molecular weight of tubulin. Turbidimetric assays demonstrated that realgar inhibited tubulin polymerization in a dose-dependent manner, reducing both the rate and final extent of polymerization. Transmission electron microscopy showed that realgar disrupted the filamentous network of microtubules and induced the formation of short, rod-shaped aggregates. Fluorescence spectroscopy showed that realgar caused quenching of intrinsic tryptophan fluorescence of tubulin and a redshift in its maximum emission wavelength. **Conclusion** Realgar directly targets tubulin in vitro, which provides a material basis for further elucidating the anti-tumor mechanism of realgar.

**Key words:** realgar; tubulin; mechanism; polymerization kinetics; anti-tumor activity**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目 (No.82074001)。

**作者简介:** 尹佳宁, 女, 在读硕士研究生, 主要从事药物物质基础研究, email: bzyyjn@163.com \*通信作者: 关君, 女, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事矿物药及金属有机药物的药效物质及作用机制研究, email: timeguan@bucm.edu.cn; 张谦, 男, 实验师, 主要从事本科无机化学实验探索与研究, email: love1life@163.com



中医“以毒攻毒”的思想常用于恶性肿瘤的治疗过程中。雄黄是我国传统的含砷矿物类中药,主含四硫化四砷( $\text{As}_4\text{S}_4$ )<sup>[1]</sup>,味辛,性温,有毒。雄黄归肝、大肠经,具有解毒杀虫、燥湿祛痰、截疟之功效,能够解百毒,消积聚,化腹中瘀血<sup>[2-3]</sup>。由于其良好的解毒祛瘀功效,雄黄及其复方制剂被广泛应用于治疗多种以“邪毒瘀滞”为病机的恶性血液肿瘤<sup>[4-6]</sup>。现代药理学研究主要聚焦于雄黄抗肿瘤的作用机制<sup>[7-9]</sup>,研究发现,雄黄及三氧化二砷能够降解细胞中染色体易位所生成的 PML-RAR $\alpha$  融合癌蛋白来发挥细胞杀伤作用,从而对急性早幼粒细胞白血病展现独特疗效<sup>[10-11]</sup>。但有研究进一步发现,砷诱导髓系白血病细胞死亡独立于该蛋白通路<sup>[12]</sup>,这提示我们雄黄抗肿瘤的作用机制还有着巨大的挖掘潜力。

微管是真核生物维持细胞生物学功能所必需的细胞骨架元件<sup>[13]</sup>。其组成的基本单位为 $\alpha$ -微管蛋白和 $\beta$ -微管蛋白,两者结构相似,分子量均为 55 kDa 左右<sup>[14]</sup>。微管具有动态不稳定性<sup>[15]</sup>,其聚合动力学也是维持微管生物学功能的基础<sup>[16]</sup>,包括形态发育、信号传导、细胞器运输以及迁移侵袭等多种细胞过程<sup>[17]</sup>。微管动力学的轻微变化还会导致错误的染色体分离,影响细胞有丝分裂进程<sup>[18]</sup>。

砷能够与含有高半胱氨酸(cysteine, Cys)的蛋白质或含有可接近巯基基团的 Cys 残基的蛋白质反应。而微管是富含 Cys 的蛋白质,人 $\beta$ -微管蛋白共含有 8 个 Cys 残基<sup>[19]</sup>。蛋白质印迹进一步证实,砷能够以浓度依赖的方式结合 $\beta$ -微管蛋白,有研究通过砷亲和层析色谱分离出了 $\alpha$ -微管蛋白和/或 $\beta$ -微管蛋白,同样证实了砷与微管蛋白结合的能力<sup>[19-21]</sup>。因此,有理由假设:雄黄作为含砷矿物药,能够与微管蛋白结合,破坏微管动力学,阻滞细胞周期,这可能是雄黄发挥抗肿瘤作用的背后机制之一。因此,本实验通过提取纯化获得体外重组微管蛋白,并应用浊度法、透射电镜以及荧光法考察雄黄对体外微管蛋白及其聚合动力学的作用,旨在为雄黄抗肿瘤的作用机制提供新视角与新思路。

## 1 材料

### 1.1 动物

健康雄性 SD 大鼠,体重 270 ~ 290 g [维通利华(北京)实验动物技术有限公司]。动物实验经北京中医药大学动物伦理和使用委员会批准,符合相关伦理学要求,动物伦理审查编号为: BUCM-1-2025053001-1032。

### 1.2 试剂

2-(*N*-吗啉)乙磺酸一水物(MES,纯度:99%,北京伊诺凯科技有限公司);乙二醇双(2-氨基乙醚)四乙酸(EGTA,纯度 $\geq 97\%$ );甘油(纯度 $\geq 99\%$ );考马斯亮蓝 R-250(北京索莱宝科技有限公司);无水

氯化镁( $\text{MgCl}_2$ ,上海麦克林生化科技股份有限公司);鸟苷-5'-三磷酸三钠盐(GTP,纯度 $\geq 95\%$ );乙酸氧铀(上海吉至生化科技有限公司);Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司);LabPAGE 10% 12 孔蛋白预制胶、Tris-MOPS-SDS 速溶颗粒(1 $\times$ , T7205M)、4 $\times$  SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(北京兰博利德生物技术有限公司);彩色预染蛋白 Marker (10 ~ 180 kDa)(批号: EG23301S,江苏愚公生物科技有限公司);无水甲醇(美国 Thermo Fisher 公司);冰乙酸(纯度:99.5%);长春新碱(VCR,纯度 $\geq 98\%$ ,批号: B20160)、2.5%戊二醛固定液(上海源叶生物科技有限公司);水飞雄黄粉(贵州,批号: 20241230,北京正程生物科技有限公司);氢氧化钠(NaOH,上海易恩化学技术有限公司);盐酸(HCl,北京市通广精细化工公司)。

### 1.3 仪器

电子天平[ME 155DU,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];数控超声波清洗器(KQ-100DE,昆山市超声仪器有限公司);高速冷冻离心机(Sorvall ST 8R,美国 Thermo Fisher 公司);数显恒温水浴锅[HH4,邦西仪器科技(上海)有限公司];酶标仪(Epoch,美国 BioTek 公司);超低温冰箱(FDE40086FV,美国 Thermo Fisher 公司);水平摇床(WD-9405B,沃德生物医学仪器公司);电泳仪(PowerPac HC)、凝胶成像分析系统(ChemiDoc MP)(美国 Bio-Rad 公司);集热式恒温加热磁力搅拌器(DF-101S,巩义市予华仪器有限责任公司);多功能微孔读板机(Spectramax i3x,美国 Molecular Devices 公司);恒温培养摇床[FS-50B,菲斯福仪器(河北)有限公司];透射电子显微镜(JEM-1400Flash,日本电子株式会社)。

## 2 方法

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 GTP 储备液** GTP 固体粉末充分溶解于无菌双蒸水中,配制为 100 mmol/L 溶液,液氮速冻后保存于 $-80^\circ\text{C}$ 。

### 2.1.2 MES 缓冲液、聚合缓冲液 A 及聚合缓冲液 B

MES 缓冲液:分别精密称取 MES、EGTA 以及  $\text{MgCl}_2$  粉末,充分溶解于纯净水中(使终浓度分别为 0.1 mol/L MES, 1 mmol/L EGTA, 0.5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ ),混匀后 NaOH 调整 pH 为 6.6,  $4^\circ\text{C}$  保存。临用前加入 GTP 储备液使其终浓度为 1 mmol/L。

聚合缓冲液 A:分别精密称取 MES、EGTA 以及  $\text{MgCl}_2$  粉末,充分溶解于纯净水中(使终浓度分别为 0.1 mol/L MES, 1 mmol/L EGTA, 0.5 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ ),再加入一定量甘油使其终浓度为 4 mol/L,充分混匀后 NaOH 调整 pH 为 6.6,  $4^\circ\text{C}$  保存。临用前加入 GTP 储备液使其终浓度为 1 mmol/L。

聚合缓冲液 B:分别精密称取 MES、EGTA 以

及  $\text{MgCl}_2$  粉末, 充分溶解于纯净水中(使终浓度分别为 0.1 mol/L MES, 1 mmol/L EGTA, 4 mmol/L  $\text{MgCl}_2$ ), 再加入一定量甘油使其终浓度为 4 mol/L, 充分混匀后 NaOH 调整 pH 为 6.6, 4℃ 保存。临用前加入 GTP 储备液使其终浓度为 1 mmol/L。

**2.1.3 染色液** 精密称取考马斯亮蓝固体粉末, 充分溶解于无水甲醇:冰乙酸:水 = 5:1:4 (V/V/V), 使其含量为 0.1% (w/V), 4℃ 避光保存。

**2.1.4 脱色液** 以无水甲醇:冰乙酸:水 = 4:1:5 (V/V/V) 的比例配制, 室温保存。

**2.1.5 长春新碱溶液** 精密称取长春新碱粉末, 充分溶解于无菌双蒸水中, 配制为 2 mmol/L 溶液, 液氮速冻后保存于 -80℃。

**2.1.6 雄黄溶液** 使用 1 mol/L NaOH 溶解水飞雄黄粉, 置于磁力搅拌器过夜, 次日静置至肉眼观察无沉淀后, 用 4 mol/L HCl 调节 pH 值至 7.35 ~ 7.45, 减压过滤去除不溶杂质后, 使用 0.22 μm 针筒式过滤器过滤, 4℃ 避光保存。

**2.1.7 乙酸氧铀负染液** 精密称取乙酸氧铀固体粉末, 充分溶解于无菌双蒸水使其含量为 0.1% (w/V), 棕色瓶避光保存于 4℃。

## 2.2 体外重组微管蛋白的提取与纯化

15 只 7 周龄雄性 SD 大鼠, 麻醉后断颈处死, 打开头骨取出脑组织, 于冰上迅速去除脑膜与血管, MES 缓冲液冲洗后剪碎, 漂洗至无血色, 按 0.5 mL/g 脑组织的比例加入预冷的 MES 缓冲液, 匀浆。4℃、13 000 r/min 离心 1 h, 取上清液。

上清液加入约等体积的聚合缓冲液 A, 37℃ 水浴 40 min, 每隔 5 min 轻摇促进聚合; 25 ~ 27℃、13 000 r/min 离心 1 h, 弃上清液; 向沉淀中加入约 1/10 匀浆体积的预冷 MES 缓冲液, 于冰水浴中反复吹打至沉淀完全溶解, 冰浴 40 min; 4℃、13 000 r/min 离心 1 h, 取上清液, 即为一次纯化微管蛋白溶液。

重复一次上述温浴、离心、冰浴、离心的步骤进行第二个循环纯化。上清液分装, 液氮速冻后保存于 -80℃ 备用。

## 2.3 Bradford 法测蛋白浓度

制作浓度梯度牛血清白蛋白 (BSA) 标准溶液, 充分混匀后吸 5 μL 于 96 孔板中, 每孔加入 250 μL G250 染色液, 每个浓度作 3 个复孔。将两次蛋白样品稀释 10 倍后, 同法制备。于酶标仪测定 595 nm 处的吸光度, 根据蛋白标准溶液的标准曲线并计算样品浓度。

## 2.4 SDS-PAGE 凝胶电泳鉴定

根据蛋白浓度结果, 稀释样品调整上样浓度, 样品 95℃ 水浴 5 ~ 10 min。沿玻璃板壁垂直匀速缓慢加样。接通电源, 电压 160 V, 当溴酚蓝跑至胶底部后结束电泳。使用考马斯亮蓝 R-250 染液于水平摇床上室温染色 1 h, 脱色 1.5 h, 其间更换脱色液 2

次。于凝胶成像分析系统上扫描拍照。

## 2.5 浊度法检测体外重组微管蛋白聚合动力学

向 384 孔紫外分析板内添加不同浓度药物, 置于多功能酶标仪中 37℃ 预热 5 min。设置检测参数, 选择动力学模块, 在 350 nm 处测定吸光度, 读数间隔 30 s, 持续 25 min, 两次读数间进行 3 s 环形振荡。在冰上迅速向蛋白样品中加入等量聚合缓冲液 B, 混匀后加入预热完成的孔板内, 立即检测。实验重复 3 次。吸光度数据扣除反应体系的初始值以实现基线校正, 绘制聚合曲线, 记录平稳期最大 OD 值, 计算药物对聚合稳定阶段的抑制率。抑制率 (%) =  $(OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{实验组}}) / OD_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

## 2.6 透射电镜表征体外重组微管蛋白的聚合产物

蛋白样品融化后快速分装至 37℃ 预热离心管内, 加入约等量聚合缓冲液 B, 实验组依次添加不同浓度药物, 阳性对照为 3 μmol/L 长春新碱。样品于 37℃ 恒温摇床孵育 1 h 后, 吸取 10 μL 于 400 目覆盖碳膜的铜网上, 静置吸附 3 min。滴加 20 μL 2.5% 戊二醛, 固定 3 min, 纯净水洗涤。滴加 20 μL 1% 乙酸氧铀, 染色 30 s, 纯净水洗涤。过夜干燥至少 12 h。在透射电子显微镜下于 80 kV 观察, 随机选取 3 个不同视野拍照。

## 2.7 荧光法测定雄黄与微管蛋白的结合

使用 MES 缓冲液稀释雄黄溶液作为溶剂对照组, 空白组仅含 MES 缓冲液。-80℃ 取出蛋白样品, 融化后立即放在冰上, 加入不同质量浓度药物 (雄黄终质量浓度为 30、20、12、10、5、2 以及 0 mg/mL)。各组样品置于 25℃ 恒温避光孵育 30 min, 取 45 μL 加入黑色透明底 384 孔板, 使用多功能酶标仪在 295 nm 激发波长下记录 325 ~ 400 nm 的荧光光谱, 发射光谱以 1 nm 的精度监测。

## 2.8 数据统计学处理

实验数据通过 SPSS Statistics 20 软件进行统计学分析, 应用 GraphPad Prism 10 软件作图。荧光数据使用 OriginLab 2021 软件作图。计量资料的结果以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。

## 3 结果

### 3.1 体外重组微管蛋白的提取纯化、浓度测定与鉴定

本实验使用改良的纯化方法<sup>[22-23]</sup>, 通过循环离心法经过两个聚合-解聚循环进行微管蛋白的提取与纯化, 进一步通过 Bradford 法测定蛋白样品浓度, 得标准曲线方程 ( $y = 0.6243x + 0.6122$ )。

根据蛋白浓度结果, 使用 SDS-PAGE 凝胶电泳分析蛋白质分子量。结果如图 1 所示, 泳道 1, 2, 5, 6 为一次纯化蛋白样品, 泳道 3, 4, 7, 8 为二次纯化蛋白样品; 1 ~ 4 泳道为样品稀释 5 倍的结果, 5 ~ 8 泳道为稀释 10 倍结果。可以看到, 8 个泳道均在 55 kDa 左右富集了大量蛋白, 符合文献所报道的微管蛋白分子量<sup>[24]</sup>。图 1B 为样品稀释 20 倍



结果(与图 1A 非同一批提取所得),泳道 1, 2 为一次纯化蛋白样品,泳道 3, 4 为二次纯化蛋白样品。在 55 kDa 左右均出现两条相邻条带,即为微管蛋白的两个亚基( $\alpha$ -微管蛋白与 $\beta$ -微管蛋白)。上述结果表明,所提取蛋白样品为目标蛋白。

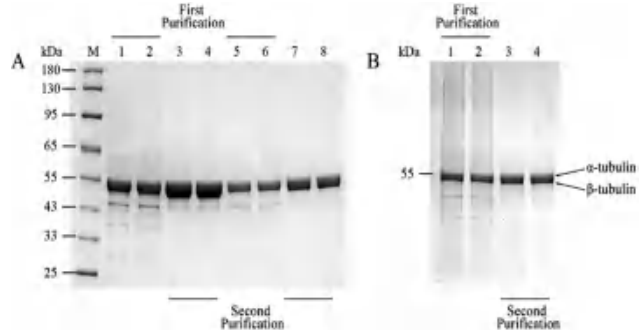


图 1 SDS-PAGE 凝胶电泳鉴定微管蛋白

Fig 1 Identification of tubulin by SDS-PAGE electrophoresis

A. 样品稀释 5 倍与 10 倍结果 (results of 5 times and 10 times sample dilution); B. 样品稀释 20 倍结果 (results of 20 times sample dilution)

### 3.2 雄黄抑制体外重组微管蛋白的聚合动力学

浊度法是最广泛使用的微管蛋白聚合检测方法,于 1974 年由 Gaskin 等<sup>[25]</sup>引入。由于所形成的微管散射光与其质量成比例,可以通过测量溶液浊度定量微管蛋白的聚合情况,所以此类测量常用于探究化合物对微管聚合的稳定或去稳定作用<sup>[26-27]</sup>。如图 2A 所示,在聚合实验中,微管会依次经历成核期(I)、生长期(II),最后进入吸光度几近稳定的稳态平衡期(III),所得到的聚合曲线呈“抛物线”形,能够提供多种聚合信息。

聚合反应在 37℃ 下进行,持续检测 25 min,结果如图 2B 所示。对照组聚合曲线呈经典的“抛物线”形状,随着时间的延长,微管蛋白逐渐聚合,约 15 min 后达到稳态平衡期。从聚合速率的角度分析:随着雄黄浓度升高,聚合曲线斜率降低、生长期延长,即雄黄能够降低微管聚合速率,且给药浓度越高,该趋势越显著。从聚合程度的角度分析:利用公式抑制率 =  $(OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{实验组}}) / OD_{\text{对照组}} \times 100\%$ ,计算微管蛋白聚合抑制率,结果如图 2C 所示,与对照组相比,5、10、20、35 mg/mL 雄黄组聚合抑制率分别为  $(15.19 \pm 0.14)\%$ 、 $(31.83 \pm 0.16)\%$ 、 $(43.87 \pm 0.29)\%$ 、 $(50.99 \pm 0.25)\%$ ,阳性药 3  $\mu\text{mol/L}$  长春新碱组聚合抑制率为  $(39.80 \pm 0.43)\%$ 。结果表明,与对照组相比,雄黄剂量依赖性抑制体外重组微管蛋白的聚合,说明雄黄与长春新碱对微管蛋白聚合的作用一致,均属于微管蛋白聚合抑制剂。

### 3.3 透射电镜表征雄黄对聚合产物的破坏

采用透射电子显微镜表征体外重组微管蛋白的聚合产物,图 3 为多个独立视野中选取的代表性图像。可以看到对照组微管蛋白经 37℃ 聚合孵育后,镜下

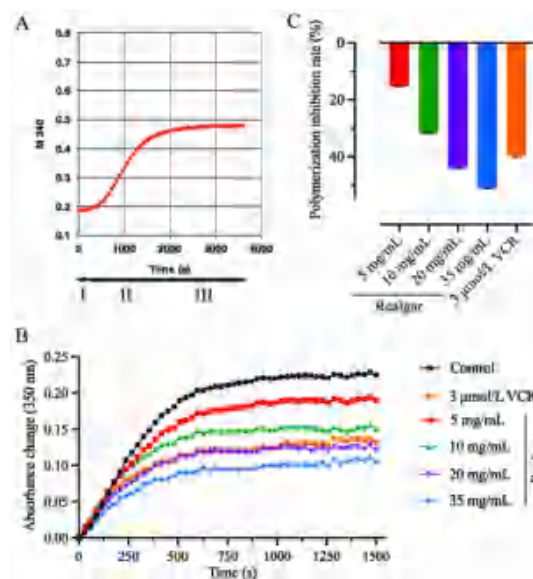


图 2 雄黄对微管聚合动力学的影响

Fig 2 Effect of realgar on microtubule polymerization kinetics

A. 标准纯化微管蛋白聚合动力学曲线<sup>[28]</sup> (polymerization kinetic curve of standard purified-tubulin); B. 体外重组微管蛋白聚合动力学曲线 (polymerization kinetic curve of the polymerization-competent tubulin); C. 聚合抑制率 (polymerization inhibition rate)

观察到聚合产物呈现丝状网络,微丝致密且分布广泛。而与 5 mg/mL 雄黄共同孵育后,其聚合产物的丝状网络遭到破坏(见图 3B 左红色箭头),还出现了非线性杂乱无章的聚集体,呈现短小离散的短棒状结构(见图 3B 右红色箭头)。随着雄黄浓度的升高,视野下丝状微管的数量与密度显著降低,同时出现更多团块状、短棒状结构。而 35 mg/mL 雄黄共孵育后,微管聚合被强烈抑制,视野下未见丝状、网状微管,仅发现大面积短棒状聚集体(见图 3E)。雄黄的作用与长春新碱组类似(见图 3F),结果表明,雄黄可以抑制体外重组微管蛋白聚集,在高浓度时尤为明显。

### 3.4 利用微管蛋白的固有色氨酸荧光探究雄黄与微管蛋白的结合

蛋白质表现固有荧光的能力有助于更好地理解药物-蛋白质的相互作用提供了途径<sup>[29]</sup>。微管的两种亚基各含有 4 个色氨酸 (tryptophan, Trp) 残基<sup>[30-31]</sup>, 295 nm 的激发波长下,来自其他芳香族发色团的贡献可以忽略不计<sup>[32]</sup>。所以,本实验通过在 295 nm 激发波长下记录样品 325 ~ 400 nm 的荧光光谱来探究雄黄与微管蛋白的结合。

图 4 是随着雄黄浓度的增加,微管蛋白固有色氨酸荧光强度变化的曲线。根据文献报道,微管蛋白的固有色氨酸荧光在 340 nm 左右的位置产生峰<sup>[33]</sup>,其最大波长处于 335 ~ 340 nm<sup>[34-36]</sup>。本实验中,对照组微管蛋白在 339 nm 处具有最大波长。而暴露于不同浓度的雄黄 30 min 后,各组微管蛋白的最大固有荧光强度均产生不同程度的下降,发生了荧光的淬灭。



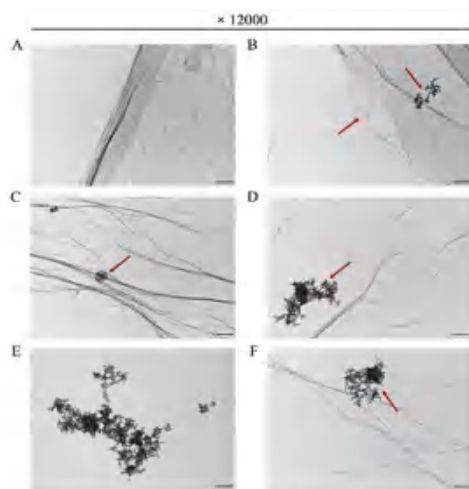


图3 透射电子显微镜表征微管聚合产物(标尺=1 μm)

Fig 3 Electron micrographs of tubulin polymerization products (The scale bar is 1 μm)

注 (Note): A ~ F 分别为对照组, 5 mg/mL 雄黄组, 10 mg/mL 雄黄组, 20 mg/mL 雄黄组, 35 mg/mL 雄黄组以及 3 μmol/L 长春新碱组 (A ~ F as control group, 5 mg/mL realgar group, 10 mg/mL realgar group, 20 mg/mL realgar group, 35 mg/mL realgar group, and 3 μmol/L VCR group)。

还可以观察到, 随着雄黄浓度的升高, 发射光的最大波长发生红移, 30 mg/mL 雄黄处理组检测到约 7 nm 的红移。以上结果表明, 雄黄以浓度依赖的方式降低了微管蛋白的固有色氨酸荧光强度, 且导致了发射光最大波长的偏移。产生以上结果的原因可能是雄黄影响了微管蛋白表面暴露的 Trp 残基附近的极性, 从而对蛋白的结构产生了影响。该结果能够证实, 雄黄能够与微管蛋白结合, 猜测这可能是前文结果中雄黄抑制微管蛋白聚合动力学的其中一个成因, 即雄黄可能通过诱导微管蛋白的结构变化使其动力学遭到破坏, 阻止了微管的组装。

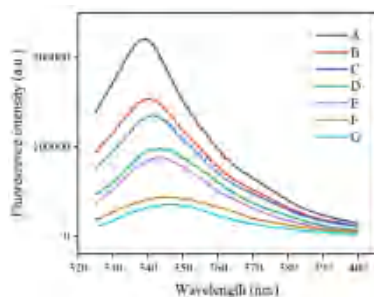


图4 雄黄与体外重组微管蛋白结合的荧光发射光谱图

Fig 4 Fluorescence emission spectra of realgar combined with tubulin

注 (Note): A. 对照组 (control group); B ~ G 分别为 2、5、10、12、20、30 mg/mL 雄黄组 (B ~ G as 2, 5, 10, 12, 20, and 30 mg/mL realgar group)。

#### 4 讨论

本实验利用大鼠脑组织提取纯化得到了体外重组微管蛋白, 并利用 SDS-PAGE 凝胶电泳完成了对蛋白样品的鉴定。进一步采用浊度法、透

射电镜与荧光法探究雄黄对微管及其动力学的影响, 结果表明, 与雄黄共孵育能够抑制微管聚合动力学, 破坏聚合产物的丝状网络, 并导致微管的固有色氨酸荧光发生淬灭。

研究证实, 纯化微管蛋白经重组后, 结构形态类似于完整天然微管, 且所建立的微管体外聚集实验系统, 具有体内组装的特征<sup>[22, 37]</sup>。SDS-PAGE 结果表明, 一次纯化蛋白泳道含有更多杂带, 且其位于 55 kDa 左右的条带更粗, 富集的蛋白含量更高。这表明二次聚合-解聚循环是一种稳健且可行性高的提取纯化方法, 可以进一步提高目标蛋白得率。

浊度法实验中, 虽然雄黄在目标波长下有背景吸收, 但其吸光度值在该实验条件下基本维持稳定, 通过扣除体系初始吸光度, 排除了雄黄背景吸收的影响。另外, 结果中聚合动力学曲线没有表现出明显的成核期, 猜测是由于实验体系的条件 (比如升高的  $Mg^{2+}$  浓度以及甘油等因素) 降低了聚合的临界浓度, 加快了聚合的初始速率, 缩短了成核期时间<sup>[22]</sup>。

此外, 雄黄诱导微管蛋白所形成的离散短棒状聚集体结构与以往报道微管抑制剂的结果高度相似<sup>[34, 38]</sup>。研究表明, 长春新碱能够结合在 GTP 位点附近, 改变相邻二聚体之间的相互作用, 引发螺旋聚集体形成, 限制微管生长<sup>[39]</sup>。亦有研究发现, 微管蛋白中靠近 GTP 结合位点的 Cys12、Cys213 和 Cys305 这 3 个残基可被砷接近<sup>[19]</sup>。这或许是雄黄影响蛋白结构、抑制微管组装的关键靶点。但是由于实验尚无法通过精确计算得到两者结合类型及结合位点等信息, 未来可采用结构生物学研究与计算机模拟技术, 进一步厘清两者的相互作用。也可考虑采用全内反射荧光显微镜动态跟踪微管的生长末端<sup>[26]</sup>, 避免形态学观察的局限性。

综上, 本实验从体外分子水平验证了雄黄能够作用于微管蛋白, 抑制其聚合动力学。这一发现为理解雄黄的作用机制与新药开发提供了全新视角, 为阐释雄黄“攻毒”的传统中医药理论提供了现代科学依据。未来, 雄黄靶向微管发挥抗肿瘤作用的机制将进一步在细胞与动物模型中进行验证。

#### 参考文献

- [1] 宋玲玲, 韩冬月, 姚妮, 等. 应用量子化学研究雄黄分解产物  $As_2S_2$  的结构与能量 [J]. 中南药学, 2020, 18 (3): 453-457.
- [2] 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 351.
- [3] 全日城, 郭小青, 吕妍, 等. 周霁祥治疗血液病思想探析 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37 (8): 4507-4509.
- [4] 王天恩, 王尚平. 中医对急性白血病的认识 [J]. 北京中医药大学学报, 1996, 19 (6): 54-55.
- [5] 李柳, 麻柔. 含砷古方青黄散治疗恶性血液系统疾病 [J]. 医

- 学研究杂志, 2019, 48 (12): 1-3.
- [6] 刘学永, 王剑鹏, 袁雪梅, 等. 雄黄为主治疗中高危骨髓增生异常综合征临床研究[J]. 河北中医药学报, 2014, 29 (1): 19-21.
- [7] 宋玲玲, 韩冬月, 林瑞超, 等. 矿物药雄黄的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (3): 433-440.
- [8] 赵新月, 田颖颖, 左泽平, 等. 雄黄抗肿瘤作用及分子机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30 (4): 169-175.
- [9] 李旭, 鲍蕾蕾, 姜爽, 等. 纳米雄黄诱导 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 Raji 细胞凋亡和自噬的研究[J]. 中南药学, 2023, 21 (1): 58-62.
- [10] 钟璐, 陈芳源, 韩洁英, 等. 雄黄对 NB4 和 HL-60 细胞的形态, PML mRNA 及蛋白的表达影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2001, 9 (3): 223-227.
- [11] Chen GQ, Zhu J, Shi XG, et al. In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide ( $As_2O_3$ ) in the treatment of acute promyelocytic leukemia:  $As_2O_3$  induces NB<sub>4</sub> cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR alpha/PML proteins[J]. Blood, 1996, 88 (3): 1052-1061.
- [12] Wang ZG, Rivi R, Delva L, et al. Arsenic trioxide and melarsoprol induce programmed cell death in myeloid leukemia cell lines and function in a PML and PML-RARalpha independent manner[J]. Blood, 1998, 92 (5): 1497-1504.
- [13] Nogales E, Wolf SG, Downing KH. Structure of the alpha beta tubulin dimer by electron crystallography[J]. Nature, 1998, 391 (6663): 199-203.
- [14] Zhu T, Wang SH, Li D, et al. Progress of tubulin polymerization activity detection methods[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2021, 37 (7): 127698.
- [15] Mitchison T, Kirschner M. Dynamic instability of microtubule growth[J]. Nature, 1984, 312 (5991): 237-242.
- [16] Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4 (4): 253-265.
- [17] Van De Willige D, Hoogenraad CC, Akhmanova A. Microtubule plus-end tracking proteins in neuronal development[J]. Cell Mol Life Sci, 2016, 73 (10): 2053-2077.
- [18] Yu L, Gong YZ, Song H, et al. A review on the microtubule inhibitory effects of active ingredients extracted from TCMs and ethnic medicines in cancer treatment[J]. J Ethnopharmacol, 2025, 350 (15): 120034.
- [19] Zhang X, Yang F, Shim JY, et al. Identification of arsenic-binding proteins in human breast cancer cells[J]. Cancer Lett, 2007, 255 (1): 95-106.
- [20] Hoffman RD, Lane MD. Iodophenylarsine oxide and arsenical affinity chromatography: new probes for dithiol proteins. Application to tubulins and to components of the insulin receptor-glucose transporter signal transduction pathway[J]. J Biol Chem, 1992, 267 (20): 14005-14011.
- [21] Yan H, Wang N, Weinfeld M, et al. Identification of arsenic-binding proteins in human cells by affinity chromatography and mass spectrometry[J]. Anal Chem, 2009, 81 (10): 4144-4152.
- [22] Lee JC, Timasheff SN. The reconstitution of microtubules from purified calf brain tubulin[J]. Biochemistry, 1975, 14 (23): 5183-5187.
- [23] Shelanski ML, Gaskin F, Cantor CR. Microtubule assembly in the absence of added nucleotides[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1973, 70 (3): 765-768.
- [24] Rowinsky EK, Donehower RC, Jones RJ, et al. Microtubule changes and cytotoxicity in leukemic cell lines treated with taxol[J]. Cancer Res, 1988, 48 (14): 4093-4100.
- [25] Gaskin F, Cantor CR, Shelanski ML. Turbidimetric studies of the in vitro assembly and disassembly of porcine neurotubules[J]. J Mol Biol, 1974, 89 (4): 737-755.
- [26] Zwetsloot AJ, Tut G, Straube A. Measuring microtubule dynamics[J]. Essays Biochem, 2018, 62 (6): 725-735.
- [27] Mirigian M, Mukherjee K, Bane SL, et al. Measurement of in vitro microtubule polymerization by turbidity and fluorescence[J]. Methods Cell Biol, 2013, 115 (3): 215-229.
- [28] Mahale S, Bharate SB, Manda S, et al. Antitumour potential of BPT: a dual inhibitor of cdk4 and tubulin polymerization[J]. Cell Death Dis, 2015, 6 (5): e1743.
- [29] Sood D, Kumar N, Rathee G, et al. Mechanistic interaction study of bromo-noscapine with bovine serum albumin employing spectroscopic and chemoinformatics approaches[J]. Sci Rep, 2018, 8 (1): 16964.
- [30] Valenzuela P, Quiroga M, Zaldivar J, et al. Nucleotide and corresponding amino acid sequences encoded by  $\alpha$  and  $\beta$  tubulin mRNAs[J]. Nature, 1981, 289 (5799): 650-655.
- [31] Krauhs E, Little M, Kempf T, et al. Complete amino acid sequence of beta-tubulin from porcine brain[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1981, 78 (7): 4156-4160.
- [32] Khan MM, Tayyab S. Understanding the role of internal lysine residues of serum albumins in conformational stability and bilirubin binding[J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1545 (1-2): 263-277.
- [33] Kumari A, Panda D. Investigating tubulin-drug interaction using fluorescence spectroscopy[J]. Methods Mol Biol, 2022, 2430: 261-276.
- [34] Rai A, Surolia A, Panda D. An antitubulin agent BCFMT inhibits proliferation of cancer cells and induces cell death by inhibiting microtubule dynamics[J]. PLOS One, 2012, 7 (8): e44311.
- [35] Prasad AR, Luduena RF, Horowitz PM. Detection of energy transfer between tryptophan residues in the tubulin molecule and bound bis (8-anilinonaphthalene-1-sulfonate), an inhibitor of microtubule assembly, that binds to a flexible region on tubulin[J]. Biochemistry, 1986, 25 (12): 3536-3540.
- [36] Mousavidoust S, Mobasheri H, Riazzi GH. Effects of static magnetic fields on the structure, polymerization, and bioelectric of tubulin assemblies[J]. J Biomol Struct Dyn, 2017, 35 (15): 3370-3383.
- [37] Borisy GG, Olmsted JB, Klugman RA. In vitro aggregation of cytoplasmic microtubule subunits[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1972, 69 (10): 2890-2894.
- [38] 李春雷. 基于微管蛋白抗肿瘤活性物质靶向筛选模型的建立及应用[D]. 昆明: 昆明医学院, 2007.
- [39] Stanton RA, Gernert KM, Nettles JH, et al. Drugs that target dynamic microtubules: a new molecular perspective[J]. Med Res Rev, 2011, 31 (3): 443-481.

(收稿日期: 2025-11-11; 修回日期: 2026-01-14)

# 基于肠道菌群 - 炎症屏障轴研究何首乌蒸制减毒的作用机制

董安东<sup>1</sup>, 白亚亚<sup>1</sup>, 乔瑞瑞<sup>1</sup>, 赵重博<sup>1, 2, 3</sup>, 孙静<sup>1, 2, 3\*</sup>, 张桥<sup>1, 2, 3\*</sup> (1. 陕西中医药大学, 西安 712046; 2. 陕西省中药饮片工程技术研究中心, 西安 712046; 3. 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 西安 712046)

**摘要:** 目的 基于 16S rRNA 测序, 探讨蒸制前后何首乌对小鼠肠道菌群结构的影响。方法 42 只 ICR 小鼠分为 7 组: 空白组 (Control)、生何首乌高剂量组 (PM-H)、生何首乌低剂量组 (PM-L)、清蒸何首乌高剂量组 (SPM-H)、清蒸何首乌低剂量组 (SPM-L)、黑豆汁制何首乌高剂量组 (PPM-H)、黑豆汁制何首乌低剂量组 (PPM-L)。灌胃给药 3 周后, 收集结肠内容物进行 16S rRNA 测序, 结肠组织用于 HE 染色、免疫组化及炎症因子白细胞介素 -6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 - $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 -17 (IL-17)、干扰素 - $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 检测。结果 PM 组结肠黏膜损伤严重, 促炎因子升高, 紧密连接蛋白 ZO-1 与 Occludin 水平降低; SPM 和 PPM 组损伤及炎症显著减轻, 上述指标趋于空白组。16S rRNA 测序显示, PM-H/L 组肠道菌群 Alpha 多样性升高, Beta 多样性偏离; SPM-H/L 和 PPM-H/L 组则趋于正常。在属水平, PM 组乳杆菌属 (*Lactobacillus*) 和杜氏菌属 (*Dubosiella*) 丰度降低, 葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 上升; SPM 和 PPM 组逆转该变化。结论 蒸制何首乌可通过调节肠道菌群, 提升有益菌丰度、降低致病菌丰度, 缓解炎症, 从而减轻肠道微生态失衡, 其中黑豆汁制何首乌 (PPM) 效果更显著, 为何首乌“炮制减毒”机制提供了依据。

**关键词:** 何首乌; 清蒸; 黑豆汁蒸制; 肠毒; 肠道菌群

中图分类号: R286

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-028-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.004

## Mechanism of toxicity reduction of *Polygonum multiflorum* by steaming based on the gut microbiota-inflammatory barrier axis

DONG Andong<sup>1</sup>, BAI Yaya<sup>1</sup>, QIAO Ruirui<sup>1</sup>, ZHAO Chongbo<sup>1, 2, 3</sup>, SUN Jing<sup>1, 2, 3\*</sup>, ZHANG Qiao<sup>1, 2, 3\*</sup> (1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046; 2. Shaanxi Engineering Research Center for Chinese Herbal Pieces, Xi'an 712046; 3. Qinling Mountains Herbal Medicine Application Development Engineering Research Center of Shaanxi, Xi'an 712046)

**Abstract: Objective** To determine the effect of raw and steamed *Polygonum multiflorum* on the intestinal microbiota structure in mice based on 16S rRNA sequencing. **Methods** Forty-two ICR mice were randomly divided into seven groups ( $n = 6$ ): Control (control group), PM-H (high-dose *Polygonum multiflorum*), PM-L (low-dose *Polygonum multiflorum*), SPM-H (high-dose steamed *Polygonum multiflorum*), SPM-L (low-dose steamed *Polygonum multiflorum*), PPM-H (high-dose *Polygonum multiflorum* processed with black bean juice), and PPM-L group (low-dose *Polygonum multiflorum* processed with black bean juice). After three weeks of oral administration, the colon contents were collected for 16S rRNA sequencing, and colonic tissues were subjected to hematoxylin-eosin staining, immunohistochemistry, and measurement of inflammatory cytokines (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-17, and IFN- $\gamma$ ). **Results** The PM groups exhibited severe colonic mucosal injury, elevated pro-inflammatory cytokines, and reduced expression of tight junction proteins ZO-1 and Occludin. In contrast, the SPM and PPM groups showed markedly alleviated mucosal damage and inflammation, with the above indicators being close to those of the control group. 16S rRNA sequencing

**基金项目:** 陕西省重点研发计划项目 (No.2024SF-ZDCYL-03-11, No.2025SF-YBXM-257)。

**作者简介:** 董安东, 男, 硕士研究生, 主要从事中药炮制原理和机制的相关研究, email: 18220086319@163.com \*通信作者: 孙静, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药炮制机制与质量分析研究, email: ph.175@163.com; 张桥, 男, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药炮制机制与质量分析研究, email: 18700081184@163.com



revealed increased alpha diversity and altered beta diversity of the gut microbiota in the PM-H/L groups, whereas the SPM-H/L and PPM-H/L groups displayed microbial profiles closer to those of the control group. At the genus level, the abundance of *Lactobacillus* and *Dubosiella* decreased, while *Staphylococcus* increased in PM-treated mice. These changes were reversed in the SPM and PPM groups. **Conclusion** Processed by steaming, particularly by black bean juice, *Polygonum multiflorum* mitigates the intestinal ecological imbalance by modulating the gut microbiota structure, promotes the abundance of beneficial bacteria and suppresses the abundance of potential pathogens-to alleviate inflammation. These findings provide mechanistic support for the traditional processing “detoxification through processing” theory.

**Key words:** *Polygonum multiflorum*; steaming; steaming with black bean juice; intestinal toxicity; gut microbiota

何首乌 (*Polygonum multiflorum* Radix., PM) 具有润肠通便、解毒消痈、截疟等功效, 常用于治疗肠燥便秘、疮痈肿毒、久疟不止等证<sup>[1]</sup>。然而, PM 具有较强的毒性, 可能引起腹泻、肠炎等肠道不良反应, 由此带来的安全性风险制约了其临床应用, 限制了其更广泛地推广和使用<sup>[2]</sup>。为降低其毒性并缓和药性, PM 常需经过炮制处理。其中, 最具代表性的炮制方法为“清蒸 (steamed *Polygoni Multiflori* Radix, SPM)”或“黑豆汁拌蒸法 (steamed after processing black soybean juice *Polygoni Multiflori* Radix, PPM)”, 经过炮制处理后, 何首乌毒性显著降低, 补益作用增强, 体现了中药炮制“减毒存效”的核心思想<sup>[3-4]</sup>。

近年来, PM 所诱发的肠道毒性与其对肠道微生态的干扰密切相关<sup>[5]</sup>。肠道菌群 (gut microbiota, GM) 作为外源性物质进入机体后的“首要代谢界面”, 在 PM 毒性的表达与转化中起着核心作用<sup>[6]</sup>。研究表明, PM 的肠毒性与肠道微生物紊乱存在显著的相互作用, 但炮制干预如何调节这种互作关系, 从而实现减毒增效的机制仍有待进一步阐明<sup>[7]</sup>。

综上所述, 本研究采用 16S rRNA 高通量测序技术, 系统分析生、制何首乌对小鼠肠道菌群结构、多样性及关键菌属的影响, 旨在从“菌群-宿主”互作角度揭示其炮制减毒的微生物学机制, 为何首乌的临床安全应用与炮制原理阐释提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

304 不锈钢打粉机 (红太阳机电有限公司), 800TS 型酶标仪 (BioTek 公司), HiSeq 2500 高通量测序仪 (美国 Illumina 公司), KH-500B 型超声波清洗器 (昆山禾创超声仪器有限公司), BA400Digital 型显微镜 (麦克奥迪实业集团有限公司), DNA 凝胶回收纯化试剂盒 (中国逾华), -80℃ 冰箱、Qubit4.0、Nano Drop 2000 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

### 1.2 试药

PM 药材购于陕西省南部, 经陕西中医药大学赵重博副教授鉴定为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根。4% 中性多聚甲醛 (陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司, 批号: BB1116), 伊红染液 (合肥博美生物科技有限责任公司, 批号: YE2080), 白细胞介素 -17 (IL-17)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素 - $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素 -6 (IL-6) 试剂盒 (上海酶联实业有限公司), ZO-1 (Abcam, 批号: ab307799), Occludin (Abcam, 批号: ab216327), 山羊抗兔 IgG (BOSTER, 批号: BST 18J20 B18K54), 二氨基联苯胺 (DAB, 北京中杉金桥生物有限公司, 批号: ZL1-9018)。

### 1.3 动物

SPF 级健康 ICR 小鼠 42 只, 体重 (20±2) g [成都达硕动物实验有限公司, 实验动物许可号为 SCXK (川) 2020-030], 饲养于清洁级动物房 (温度 24~26℃, 相对湿度 35%~45%, 12 h/12 h 明暗交替)。本研究通过陕西中医药大学动物伦理委员会批准 (批件号 SUCMDL20250324004)。

## 2 方法

### 2.1 PM 炮制品及水煎液制备

取净制后的 PM 300 g, 按 2025 年版《中国药典》蒸法 (通则 0213) 蒸至内外棕褐色, 或晒至半干后切片、干燥, 即得 SPM。另取 300 g PM 加 75 mL 黑豆汁搅拌均匀, 浸润 1.5 h 至汁液被完全吸尽后蒸制 32 h, 即得 PPM<sup>[1]</sup>。

分别将 PM、SPM 和 PPM 粉碎成粉末 (65 目), 按 1:10 的比例加水, 浸泡 30 min 后煎煮, 过滤。药渣再次按 1:10 的比例加水, 重复上述提取过程一次, 合并两次滤液, 于 45℃ 水浴浓缩至 0.5 g/mL 浓度。将浓缩液在 -65℃ 以下冷冻干燥 48 h, 得到深棕色粉末 (得率: 51.7%), 并置于干燥器中保存。

## 2.2 分组及给药

ICR 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 7 组, 每组 6 只, 包括空白对照组 (Control)、何首乌高剂量组 (PM-H)、何首乌低剂量组 (PM-L)、蒸制何首乌高剂量组 (SPM-H)、蒸制何首乌低剂量组 (SPM-L)、黑豆汁蒸制何首乌高剂量组 (PPM-H) 及黑豆汁蒸制何首乌低剂量组 (PPM-L)。给药方案如下: PM 及炮制何首乌高、低剂量组分别按 4.5 g/kg 和 0.9 g/kg 连续灌胃给药, 每日一次; 空白对照组给予等体积生理盐水。各组均连续给药 21 d。

## 2.3 小鼠粪便形态、尿液颜色测定

给药期间观察各组小鼠精神状态、行为活动及粪便形态。第 3 周结束收集各组小鼠粪便及尿液进行拍照。

## 2.4 小鼠结肠组织病理形态学观察

取 4% 中性多聚甲醛中固定的结肠适量, 石蜡包埋, 经组织固定、乙醇逐级脱水、二甲苯透明、包埋、切片、脱蜡至水、苏木精-伊红 (HE) 染色、二甲苯透明、中性树胶封固后, 切片在显微镜下成像, 用于病理观察。

## 2.5 小鼠结肠组织炎症因子含量测定

收集各组小鼠结肠组织, 加入适量磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 进行组织匀浆, 离心 (13 000 r/min, 10 min, 4℃), 收集上清液, BCA 法测定蛋白浓度, 然后使用酶联免疫吸附试剂盒 (ELISA) 测定 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6 和 IL-17 水平。

## 2.6 小鼠 16S rRNA 基因测序

收集各组小鼠结肠内容物, -80℃冻存, 用于测序。采用 DNA 试剂盒提取 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳分别测量提取 DNA 的完整性, 使用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度和纯度。用引物 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG) 和 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT) 对 338F\_806R 区进行聚合酶链式反应 (PCR) 扩增, 扩增条件为 95℃预变性 3 min; 95℃变性 30 s, 53℃退火 30 s, 72℃延伸 45 s, 共 29 个循环; 72℃稳定延伸 10 min。使用 2% 琼脂糖凝胶分离, 回收 PCR 产物, 并对回收产物进行检测定量。使用 Illumina Nova-Seq 平台进行测序分析。差异菌属分析采用线性判别分析 (LDA) 以  $\lg \text{LDA} > 3.5$  作为筛选条件。

## 2.7 免疫组织化学 (IHC) 检测紧密连接蛋白-1 (ZO-1)/Occludin 蛋白表达

将石蜡包埋的结肠组织切片置于二甲苯中进行脱蜡处理; 用 PBS 洗涤 3 次 (每次洗涤 5 min),

用 3% 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理, 在室温下避光孵育 15 min, 然后用 5% 的山羊血清封闭 30 min; 加入一抗 (ZO-1, 1:1500; Occludin, 1:100) 在 4℃下孵育过夜, 结束后用 PBS 洗涤 3 次; 再加入山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG) 抗体 (1:500) 在 37℃下孵育 40 min; 最后, 用 DAB 对切片进行染色, 随后洗涤以观察目标信号。使用 Image-Pro Plus 测量平均染色密度。

## 2.8 统计分析

采用 Graphpad Prism 9.0 软件进行统计学分析及制图, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。相关性分析采用 Spearman 分析。

## 3 结果

### 3.1 小鼠粪便形态及尿液结果

如图 1A 所示, 各组小鼠粪便形态存在明显差异: 与 Control 组相比, PM-H 组和 SPM-H 组粪便呈稀软、半流质状态; 而与 PM-H 组相比, PM-L、SPM-L 和 PPM 组粪便均具有一定形态。与 PM 组相比, SPM 组和 PPM 组粪便形态均有不同程度改善, 表现为半固体状。尿液颜色观察结果 (见图 1B) 显示, PM-H 组小鼠尿液呈暗红色, 而 SPM 组和 PPM 组尿液虽也偏红, 但颜色较 PM-H 组浅。表 1 数据表明, 与 Control 组相比, PM-H 组小鼠粪便重量略有增加, 且稀粪数量显著上升, 其余各组均未见显著差异。综上结果表明, 制何首乌可缓解 PM 引起的小鼠粪便稀软及尿液暗红现象。

### 3.2 小鼠结肠组织 HE 检测结果

如图 2 所示, Control 组小鼠结肠组织结构完整, 无明显病理损伤; 与 Control 组比较, PM-H 组小鼠结肠杯状细胞数量减少, 中性粒细胞、浆细胞、纤维细胞数量增多, 并伴有上皮变性、坏死, 肠绒毛断裂、脱落等情况; 与 PM-H 组比较, 其余组的结肠损伤程度减轻; 与 SPM-H 组比较, PPM-H 组损伤情况较弱。病理结果显示, PM、SPM 和 PPM 组均呈现出一定的剂量依赖性损伤特点, 即高剂量组较低剂量组病理损伤更为严重; 在相同剂量下, PM 组造成的病理损伤较炮制品 SPM 和 PPM 严重。这表明炮制能够降低 PM 对结肠组织的刺激性或毒性。

### 3.3 小鼠 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6、IL-17 测定结果

如表 2 所示, 与 Control 组比较, 各给药组 IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量显著增加 (SPM-L 和 PPM-L 组 IL-6、TNF- $\alpha$  含量变化除外); 与 PM-H



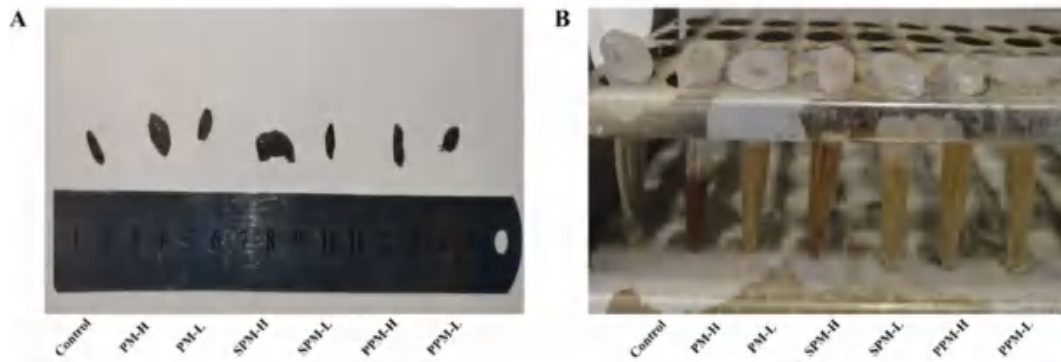


图 1 生、制何首乌各组小鼠粪便 (A) 及尿液 (B) 结果 ( $n = 6$ )

Fig 1 Feces (A) and urine (B) in mice from each group of PM, SPM and PPM ( $n = 6$ )

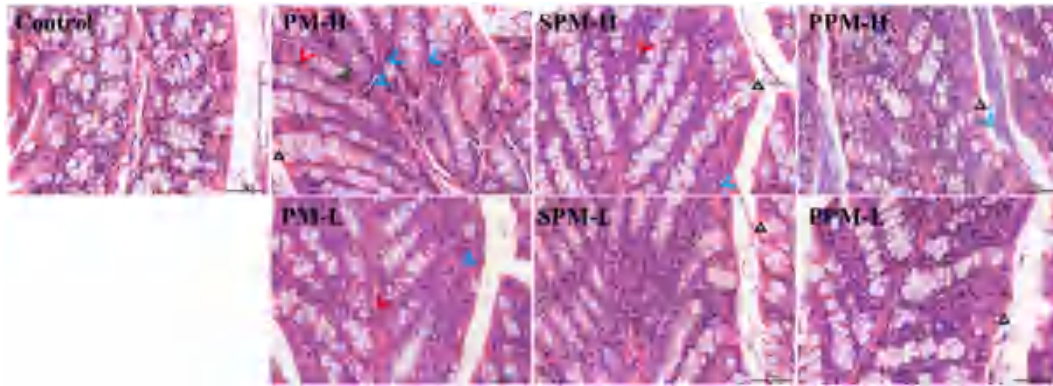


图 2 生、制何首乌对空白小鼠结肠组织病理变化的影响 ( $n = 6$ , HE  $\times 400$ )

Fig 2 HE staining of PM, SPM and PPM dose groups ( $n = 6$ , HE  $\times 400$ )

注: 黑色三角形为区域杯状细胞数量; 蓝色箭头为浆细胞; 黑色箭头为纤维细胞; 红色箭头为中性粒细胞。

Note: Black triangles are goblet cells; blue arrows are plasma cells; black arrows are fibroblasts; red arrows are neutrophils.

表 1 生、制何首乌小鼠的粪便重量和稀便数 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Tab 1 Fecal weight and number of loose stools in mice treated with raw and processed *Polygonum multiflorum* ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

| 组别        | 粪便重量 /g           | 拉稀便数           |
|-----------|-------------------|----------------|
| Control 组 | 0.022 $\pm$ 0.001 | 0              |
| PM-H 组    | 0.034 $\pm$ 0.007 | 5 <sup>#</sup> |
| PM-L 组    | 0.026 $\pm$ 0.009 | 0              |
| SPM-H 组   | 0.031 $\pm$ 0.011 | 1              |
| SPM-L 组   | 0.024 $\pm$ 0.002 | 0              |
| PPM-H 组   | 0.026 $\pm$ 0.002 | 0              |
| PPM-L 组   | 0.024 $\pm$ 0.003 | 0              |

注: 与 Control 组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

Note: vs Control group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ .

组比较, 剩余各给药组 IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-6 和 TNF- $\alpha$  的含量显著降低 (PM-L 组 IFN- $\gamma$  含量和 SPM-H 组 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  含量明显降低); 与 SPM-H 组比较, PPM 组炎症因子含量均呈降低趋势但差异无统计学意义。以上数据表明与高剂量组比较, 低剂量组炎症因子水平变化较小; 且与 PM 组比较, SPM 和 PPM 组炎症因子水平显著降低, 此外 PPM 组降低趋势较大。

### 3.4 各组小鼠 16S rRNA 基因测序结果

#### 3.4.1 肠道菌群丰富度及多样性分析

Control、PM-H、SPM-H 和 PPM-H 组结肠中特有的扩增子序

列变异 (ASV) 数量分别为 192、60、101 和 147 (见图 3A)。如图 3B 所示, 各组的稀释曲线趋于平缓, 说明测序数据量充足, 可以进行下一步研究。通过 Simpson 指数 (见图 3C) 分析肠道菌群的  $\alpha$  多样性, 发现与 Control 组比较, PM-H 组肠道菌群的丰富度和多样性明显升高, 与 PM-H 组比较, SPM-H 和 PPM-H 组肠道菌群的丰富度和多样性均呈降低趋势但无显著性差异。通过主坐标分析 (PCoA) 分析肠道菌群的  $\beta$  多样性 (见图 3D)。Control、PM-H、SPM-H 和 PPM-H 组的样品可以大致分开, 且 Control 组和 PM-H 组之间的距离大于 Control 组和 SPM-H、PPM-H 组之间的距离, 说明 PM-H 对微生物群落结构的影响大于 SPM-H、PPM-H。

#### 3.4.2 物种组成及差异分析

结肠的物种组成分析如图 4 所示。在门水平 (见图 4A), 厚壁菌门 (Bacillota)、拟杆菌门 (Bacteroidota) 和放线菌门 (Actinomycetota) 是主要的物种。与 Control 组比较, PM-H 和 SPM-H 组 Bacillota 的相对丰度降低; 然而, 与 PM-H 组比较, SPM-H 和 PPM-H 组 Bacillota 的相对丰度升高。在属水平 (见图 4B), 乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、杜氏菌属 (*Dubosiella*)



表 2 生、制何首乌对小鼠结肠组织 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IFN- $\gamma$ 、IL-17 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ ,  $\mu\text{g/L}$ )

Tab 2 Effect of raw and processed *Polygonum multiflorum* on the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IFN- $\gamma$ , and IL-17 in mouse colon tissue ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ ,  $\mu\text{g/L}$ )

| 组别        | TNF- $\alpha$       | IL-6                | IFN- $\gamma$       | IL-17               |
|-----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Control 组 | 33.40 $\pm$ 2.59    | 21.08 $\pm$ 0.97    | 15.55 $\pm$ 1.54    | 46.37 $\pm$ 1.37    |
| PM-H 组    | 47.45 $\pm$ 3.96*** | 31.78 $\pm$ 1.15*** | 30.52 $\pm$ 2.70*** | 68.53 $\pm$ 2.71*** |
| PM-L 组    | 40.57 $\pm$ 2.45*** | 25.08 $\pm$ 2.05*** | 24.92 $\pm$ 2.95*** | 54.55 $\pm$ 3.37*** |
| SPM-H 组   | 40.95 $\pm$ 2.16*** | 27.12 $\pm$ 1.75*** | 24.83 $\pm$ 2.38*** | 56.92 $\pm$ 3.08*** |
| SPM-L 组   | 37.88 $\pm$ 1.83*** | 23.70 $\pm$ 1.34*** | 20.07 $\pm$ 2.44*** | 52.88 $\pm$ 2.52*** |
| PPM-H 组   | 40.32 $\pm$ 1.94*** | 24.83 $\pm$ 1.37*** | 22.30 $\pm$ 1.94*** | 54.48 $\pm$ 2.86*** |
| PPM-L 组   | 35.72 $\pm$ 2.16*** | 22.65 $\pm$ 1.39*** | 20.23 $\pm$ 1.83*** | 52.38 $\pm$ 3.13*** |

注: 与 Control 组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 PM-H 组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

Note: vs Control group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; vs PM-H group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ .

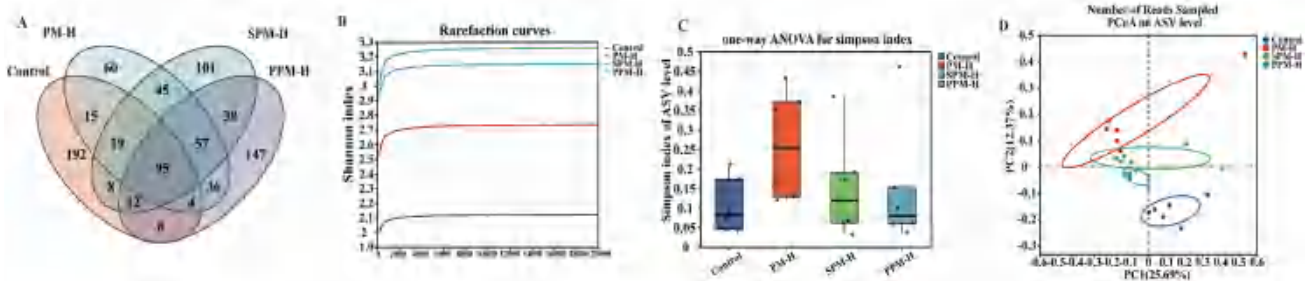


图 3 肠道菌群丰富度及多样性分析

Fig 3 Gut microbiota richness and diversity

A. 生、制何首乌高剂量组 ASV Venn 分析 (Venn analysis of ASVs in PM-H, SPM-H and PPM-H); B. 生、制何首乌高剂量组稀疏曲线 (rarefaction curves in PM-H, SPM-H and PPM-H); C. 生、制何首乌高剂量组  $\alpha$  多样性 ( $\alpha$  diversity in PM-H, SPM-H and PPM-H); D. 生、制何首乌高剂量组  $\beta$  多样性 ( $\beta$  diversity in PM-H, SPM-H and PPM-H) ( $n = 6$ )

和葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 是主要的细菌属。与 Control 组比较, PM-H 组中 *Lactobacillus* 和 *Dubosiella* 的相对丰度显著降低, *Staphylococcus* 的相对丰度显著升高; 然而, 与 PM-H 组比较, SPM-H 和 PPM-H 组中 *Dubosiella* 和 *Bacillus* 的相对丰度明显升高, *Staphylococcus* 的相对丰度降低; 与 SPM-H 比较, PPM-H 组中 *Bacillus* 的相对丰度明显升高。

采用线性判别分析效应大小 (LEfSe) (LDA 得分  $> 3.5$  分) 分析各组肠道细菌的差异。如图 4C 所示, 与 Control 组比较, PM-H 组干预后, 戈登氏菌 (*Gordonibacter*) 和 *Litchfieldia* 在属水平上的相对丰度降低, *Staphylococcus* 的相对丰度在属水平上升高; 与 PM-H 组比较, SPM-H 组链球菌属 (*Streptococcus*) 和孪生球菌属 (*Gemella*) 在属水平上的相对丰度降低, 乳球菌属 (*Lactococcus*) 的相对丰度在属水平上升高; PPM-H 组哺乳动物球菌属 (*Mammaliicoccus*)、*Allobaculum*、假纤细芽孢杆菌属 (*Pseudogracilibacillus*) 和肉杆菌属 (*Atopostipes*) 在属水平上的相对丰度升高; 这些结果表明, 有益菌属 (如 *Dubosiella*、*Bacillus*) 相对丰度的减少和致病菌属 (如 *Staphylococcus*) 相对丰度的增加可能是 PM 引起肠道毒性的原因, 且

SPM 和 PPM 组对肠道菌群影响较弱。

### 3.5 IHC 检测结果

IHC 分析结果如图 5 所示, 与 Control 组比较, PM-H、SPM-H 和 PPM-H 组 Occludin 和 ZO-1 表达显著降低; 与 PM-H 组比较, PPM-H 组 Occludin 表达显著升高。IHC 结果表明 SPM-H 和 PPM-H 组对肠屏障蛋白的表达影响较弱。

### 3.6 Spearman 分析结果

肠道菌群与炎症因子、ZO-1 和 Occludin 的相关性分析结果如图 6 所示, *Lactobacillus* 和炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ ) 在属水平上呈显著负相关, *Lactobacillus* 与 IL-6 和 IL-17 之间呈负相关, 但无显著性差异; *Dubosiella* 与 IL-17 和 IFN- $\gamma$  在属水平上呈显著负相关; *Lactobacillus* 和 *Dubosiella* 与 ZO-1 和 Occludin 在属水平上呈正相关但无显著性差异; *Staphylococcus* 与 IL-17、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  在属水平上呈显著正相关, 与 ZO-1 和 Occludin 在属水平上呈负相关但无显著性差异。相关性分析结果表明, 有益菌属 (*Lactobacillus* 和 *Dubosiella*) 与炎症因子在属水平上呈负相关, 与肠屏障蛋白 (ZO-1、Occludin) 在属水平上呈正相关。相反, 致病菌属 (*Staphylococcus*) 与炎症因子在属水平上呈正相关, 与肠屏障蛋白在属水平上呈负相关。

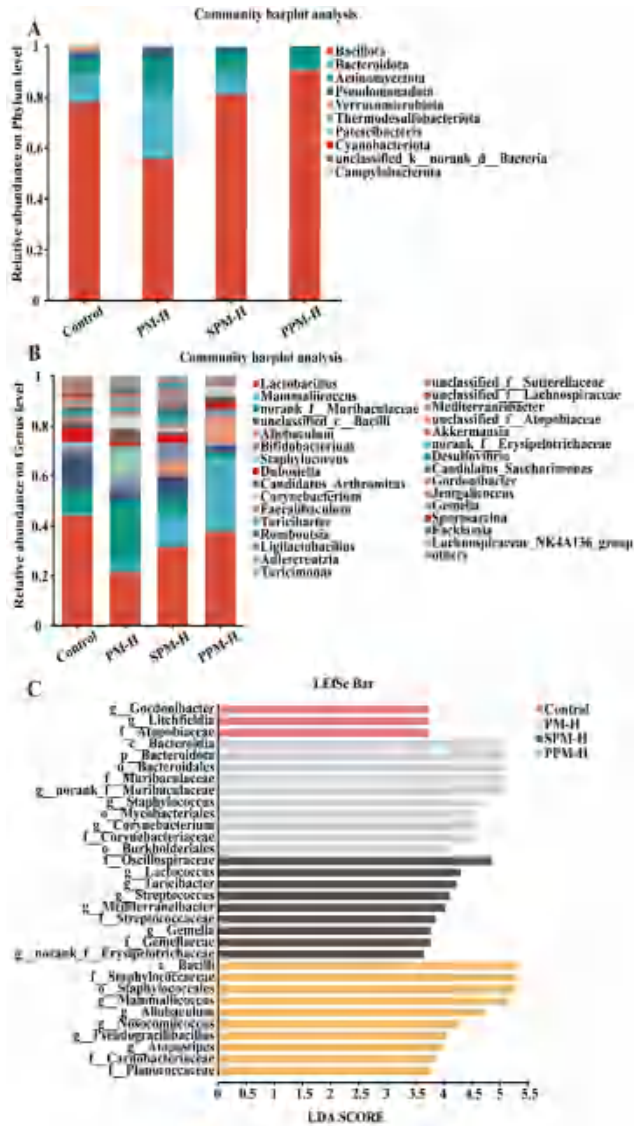


图 4 生、制何首乌高剂量组肠道菌群门属水平以及 LefSe 差异分析 ( $n = 6$ )

Fig 4 Gut microbiota at phylum and genus levels and LefSe differential analysis in PM-H, SPM-H and PPM-H dose groups ( $n = 6$ )  
A. 门水平分析 (phylum-level analysis); B. 属水平分析 (genus-level analysis); C. LefSe 差异分析 (LefSe differential analysis)

#### 4 讨论

肠道菌群结构的改变与肠屏障功能密切相关<sup>[8]</sup>。本研究中,生何首乌引起的菌群紊乱伴随着肠道紧密连接蛋白 ZO-1 与 Occludin 表达的下降,以及促炎因子水平的升高,表明菌群失调可能破坏肠黏膜屏障,加剧肠道毒性。此外,SPM 和 PPM 在恢复有益菌丰度的同时,亦改善了肠上皮屏障完整性,并缓解了全身性炎症反应。据此我们推测,炮制为 PM 减毒的机制之一,在于其通过优化菌群结构 (*Dubosiella* 和 *Bacillus*),降低炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6 和 IL-17) 的释放。这一发现将传统炮制效应与现代微生物生态理

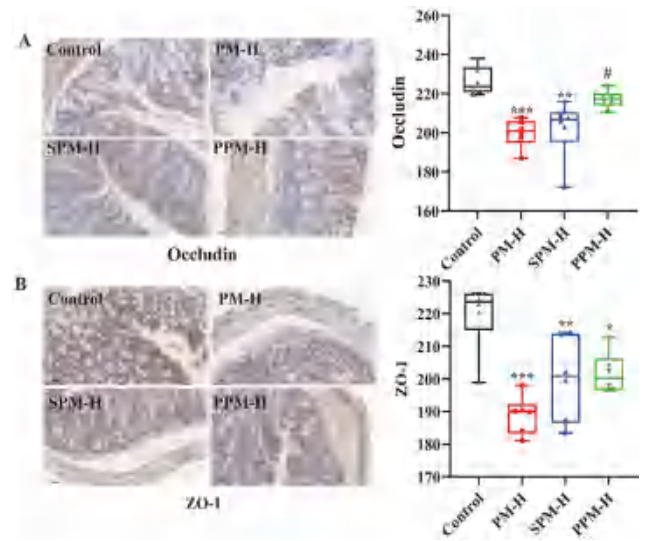


图 5 生、制何首乌高剂量组 ZO-1 和 Occludin 蛋白表达水平 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 5 Protein expression levels of ZO-1 and Occludin in PM-H, SPM-H and PPM-H dose groups ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注:与 Control 组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与 PM-H 组比较, # $P < 0.05$ 。

Note: vs Control group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; vs PM-H group, # $P < 0.05$ 。

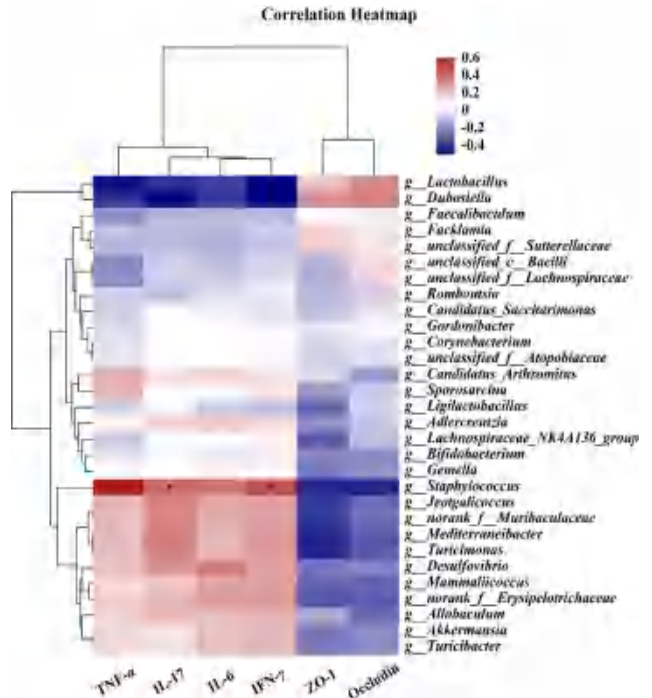


图 6 肠道菌群与炎症因子和 ZO-1/Occludin 的相关性分析  
Fig 6 Correlation analysis of gut microbiota with inflammatory factors and ZO-1/Occludin

论相衔接,深化了对 PM “炮制减毒”机制的理解,也为从肠道菌群角度评价中药安全性提供了新的思路。

本研究通过 16S rRNA 测序与炎症指标检测的关联分析发现,PM 蒸制前后所引起的菌群结

构变化,特别是 *Staphylococcus*、*Dubosiella* 及 *Bacillus* 相对丰度的改变,与肠道炎症水平和屏障功能密切相关。PM 干预后, *Staphylococcus* 的相对丰度显著上升。有研究表明,该菌属中包含多种条件性致病菌,在炎症性肠道疾病中,其过度增殖与肠道促炎环境形成密切相关<sup>[9-10]</sup>。本研究结果与此一致: *Staphylococcus* 丰度的升高伴随着促炎因子 IL-6 与 TNF- $\alpha$  水平的显著上调。其潜在机制可能是 *Staphylococcus* 通过激活 Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 2, TLR2) / 核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa$ B) 等信号通路,驱动炎症反应,进而攻击肠上皮细胞,并负向调控紧密连接蛋白 ZO-1 与 Occludin 的表达,最终导致肠屏障功能受损<sup>[11-12]</sup>。

与之相反,有益菌属 *Dubosiella* 与 *Lactobacillus* 的相对丰度在 SPM 和 PPM 组中显著回升。已有研究证实, *Dubosiella* 是肠道内重要的短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 产生菌,其代谢产物 (如丁酸盐) 不仅能直接为肠上皮细胞提供能量、促进屏障相关蛋白的合成,还能通过抑制组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 发挥抗炎作用<sup>[13-14]</sup>,这可能是我们观察到炎症因子水平下降、屏障蛋白表达增强的重要原因之一。而 *Lactobacillus* 作为常见的益生菌属,可通过调节调节性 T 细胞 (Treg) 功能来平衡免疫应答,从而在恢复菌群稳态与减轻肠道炎症的协同过程中扮演关键角色<sup>[15-16]</sup>。

综上所述,PM 蒸制后的减毒机制,可能是致病菌属 *Staphylococcus* 的相对丰度降低,有益菌属 *Dubosiella* 与 *Bacillus* 的相对丰度升高。这种菌群结构的优化,共同导向了肠道炎症状态的缓解与肠道屏障结构的修复,为 PM “炮制减毒”提供了数据支撑。但在本研究中未进行 SCFAs 及免疫细胞水平的测定,后续进一步完善 PM 蒸制后的减毒作用机制研究。

## 参考文献

- [1] 中国药典 2025 年版.一部[S]. 2025: 189-190.
- [2] 王婉茹,洪滨,单国顺.何首乌肝毒性作用机制的研究进展[J].现代药物与临床,2020,35(2): 378-382.
- [3] 邓仙梅,赵斌.制首乌的研究进展[J].亚太传统医药,2019,15(1): 192-195.
- [4] 张涛,张金莲,张青,等.何首乌炮制历史沿革及现代研究进展[J].中成药,2023,45(7): 2308-2316.
- [5] 邓红,吴纯启,赵春雪,等.高通量测序和实时荧光定量 PCR 分析何首乌肝损伤与肠道微生物组的关系[J].药物评价研究,2017,40(4): 464-471.
- [6] Aimaier D, Bai WQ, Zhang Y, et al. Susceptibility factor TNF- $\alpha$  synergizes with *Polygonum multiflorum* to drive idiosyncratic liver injury in mice by disrupting gut microbiota composition and hepatic metabolite homeostasis [J]. J Inflamm Res, 2025, 18: 9477-9494.
- [7] Dai XY, He LF, Hu NH, et al. *Polygoni multiflori* radix praeparata ethanol extract exerts a protective effect against high-fat diet induced non-alcoholic fatty liver disease in mice by remodeling intestinal microbial structure and maintaining metabolic homeostasis of bile acids [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 734670.
- [8] 徐雁云,陈民利.肠道菌群与肠屏障互作影响动脉粥样硬化形成的研究进展[J].中国实验动物学报,2022,30(7): 973-982.
- [9] Liu S, Zhao WJ, Lan P, et al. The microbiome in inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to therapy [J]. Protein Cell, 2021, 12(5): 331-345.
- [10] Srivastava A, Gupta J, Kumar S, et al. Gut biofilm forming bacteria in inflammatory bowel disease [J]. Microb Pathog, 2017, 112: 5-14.
- [11] Pérez-Bosque A, Moretó M. A rat model of mild intestinal inflammation induced by staphylococcus aureus enterotoxin B [J]. Proc Nutr Soc, 2010, 69(3): 447-453.
- [12] Martens K, Seys SF, Alpizar YA, et al. Staphylococcus aureus enterotoxin B disrupts nasal epithelial barrier integrity [J]. Clin Exp Allergy, 2021, 51(1): 87-98.
- [13] Zhang YN, Tu SY, Ji XW, et al. *Dubosiella newyorkensis* modulates immune tolerance in colitis via the L-lysine-activated AhR-IDO1-Kyn pathway [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 1333.
- [14] Hijová E. Postbiotics as metabolites and their biotherapeutic potential [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(10): 5441.
- [15] Sudan SS, Zhan XS, Li JL. A novel probiotic *Bacillus subtilis* strain confers cytoprotection to host pig intestinal epithelial cells during enterotoxic *Escherichia coli* infection [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4): e0125721.
- [16] Vittoria M, Horwell E, Bastoni D, et al. *Bacillus subtilis* SF106 and *Bacillus clausii* SF174 spores reduce the inflammation and modulate the gut microbiota in a colitis model [J]. Benef Microbes, 2024, 15(4): 343-355.

(收稿日期: 2025-10-21; 修回日期: 2025-12-25)



# 基于肺组织代谢组学探讨桔梗总皂苷干预对肺炎支原体肺炎大鼠的作用机制

杨振婧, 吴婵毓, 李瑞爽, 姚琳\*, 王伟明\* (黑龙江省中医药科学院, 哈尔滨 150036)

**摘要:** **目的** 基于肺组织代谢组学, 探究桔梗总皂苷治疗肺炎支原体肺炎大鼠的作用机制。**方法** 选取 50 只健康 Wistar 大鼠, 随机分为空白组, 模型组, 桔梗总皂苷低、中、高剂量组; 采用滴鼻法构建大鼠肺炎支原体肺炎模型, 待造模成功后持续给药 10 d; 末次给药后, 采集大鼠肺组织样本, 运用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱测定代谢物; 采用 MS-DIAL 软件进行原始数据预处理, 结合主成分分析与正交偏最小二乘法判别分析, 筛选并鉴定差异性代谢产物; 将差异代谢物导入 MetaboAnalyst 6.0 进行代谢通路富集分析。**结果** 成功构建了肺炎支原体肺炎大鼠模型; 肺组织样品保留时间 *RSD* 在 1.5% 以内, 峰强度 *RSD* 在 8.8% 以内; 得到在桔梗总皂苷干预下的 24 种差异代谢产物, 包括上调核黄素、亚油酸等 8 种代谢物水平, 下调花生四烯酸、前列腺素 E<sub>2</sub>、白三烯 D<sub>4</sub>、全反式视黄醛、犬尿氨酸等 16 种代谢物水平; 筛选出核黄素代谢、花生四烯酸代谢、亚油酸代谢、视黄醇代谢以及色氨酸代谢等影响前 5 的代谢通路。**结论** 桔梗总皂苷可能通过抑制前列腺素 E<sub>2</sub>、白三烯 D<sub>4</sub>、全反式视黄醛、犬尿氨酸水平, 恢复核黄素、亚油酸水平, 发挥对肺炎支原体肺炎大鼠的治疗作用。

**关键词:** 桔梗总皂苷; 肺组织代谢组学; 肺炎支原体肺炎; 差异代谢产物; 代谢通路

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-035-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.005

## Mechanism of Platycodon grandiflorum saponins for *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in rats based on pulmonary tissue metabolomics

YANG Zhenjing, WU Chanyu, JI Ruishuang, YAO Lin\*, WANG Weiming\* (Heilongjiang Academy of Chinese Medical Sciences, Harbin 150036)

**Abstract: Objective** To determine the therapeutic mechanism of Platycodon grandiflorum saponins (PGS) against *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia (MPP) in rats based on lung tissue metabolomics. **Methods** Fifty healthy Wistar rats were randomly divided into a control group, a model group, and PGS low-, medium-, and high-dose groups. The MPP rat model was established by intranasal instillation. After the successful modeling, the administration continued for 10 days. Lung tissue samples were collected after the last administration and analyzed with ultra-high-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF/MS). Raw data were processed using MS-DIAL software, with differential metabolites identified through principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis. Metabolic pathway enrichment was performed using MetaboAnalyst 6.0. **Results** The MPP rat model was successfully established. Quality control metrics showed that the relative standard deviation of retention time was less than 1.5% and that of peak intensity was less than 8.8% in lung tissue samples. Twenty-four differential metabolites were identified after the PGS intervention, with 8 metabolites (including riboflavin and linoleic acid) up-regulated and 16 metabolites (including arachidonic acid, prostaglandin E<sub>2</sub>, leukotriene D<sub>4</sub>, all-trans-retinal, and kynurenine) down-regulated. The top five

**基金项目:** 黑龙江省自然科学基金重点项目 (No.ZD2024H005)。

**作者简介:** 杨振婧, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药新产品开发研究工作, email: yangzhenjing0206@163.com \*通信作者: 姚琳, 女, 主任药师, 硕士研究生导师, 主要从事中药新产品开发研究工作, email: yaoyao198003@aliyun.com; 王伟明, 女, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事中药新产品开发研究工作, email: zyyjy@163.com

metabolic pathways identified included riboflavin metabolism, arachidonic acid metabolism, linoleic acid metabolism, retinol metabolism, and tryptophan metabolism. **Conclusion** PGS may exert a therapeutic effect on rats with MPP by suppressing the levels of prostaglandin E<sub>2</sub>, leukotriene D<sub>4</sub>, all-trans-retinal, and kynurenine, while restoring the levels of linoleic acid and riboflavin.

**Key words:** Platycodon grandiflorum saponin; lung tissue metabolomics; *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia; differential metabolite; metabolic pathway

肺炎支原体肺炎 (*Mycoplasma pneumoniae* pneumonia, MPP), 是由肺炎支原体 (*Mycoplasma pneumoniae*, MP) 感染引发的肺部炎症, 临床上常表现为发热、咳嗽、咽痛等症状<sup>[1-2]</sup>。研究表明, 桔梗对 MPP 感染大鼠有一定的治疗作用, 其中桔梗总皂苷 (Platycodon grandiflorum saponin, PGS) 是桔梗的主要有效组分, 是其药效作用的物质基础。PGS 能够显著减轻 MP 感染大鼠肺组织的炎症反应, 并改善间质性肺炎的病理状态<sup>[3-6]</sup>。代谢组学是系统生物学的重要分支, 主要用于评估机体代谢产物的变化, 发现与疾病相关的生物标志物<sup>[7-8]</sup>。基于代谢组学研究 MPP 大鼠肺组织中代谢物的变化能直接反映局部病变, 例如炎症、氧化损伤等, 从而在分子水平为阐释 PGS 治疗 MPP 的作用机制提供依据, 也因此成为 MPP 大鼠代谢组学研究的重点。

本研究基于非靶向代谢组学策略, 采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 技术对肺组织代谢物进行定性分析, 结合多元统计分析方法筛选 PGS 干预下的差异代谢物, 并通过代谢通路富集分析进一步探讨 PGS 治疗 MPP 大鼠的潜在作用机制。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF 级 Wistar 大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重为 (100±20) g [长春市亿斯实验动物技术有限责任公司], 动物合格证号 SCXK (吉) 2023-0002。动物实验经黑龙江省中医药科学院动物实验伦理委员会批准 (批件号 SY3R-2023018)。

### 1.2 试药

桔梗饮片 (安徽普仁中药饮片有限公司, 批号: 2201122); MP 菌株 (American Type Culture Collection, 菌种保藏编号: ATCC15531); 色谱级乙腈、甲醇 (德国 Merck 公司); 色谱级甲酸 (美国 Thermo Scientific 公司); 无水乙醇 (国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.3 仪器

KZ-III-F 型高速组织研磨仪、MX-F 型涡旋混合器 (Servicebio 公司), N-1300V 型旋转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司), BSA224-CW 型万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司), ST16R 型低温

高速离心机 (美国 Thermo Fisher Scientific), Waters ACQUITY™ UPLC 型色谱仪 (美国 Waters 公司), AB Sciex 5600<sup>+</sup> 型质谱仪、Analyst TF 1.7.1 工作站 (美国 AB SCIEX 公司), ATC2-5-U 型艾科浦超纯水机 (颐洋企业发展有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 PGS 的制备<sup>[9]</sup>

取桔梗饮片, 加入 8 倍量 75% 乙醇, 回流提取 3 次, 每次 2 h, 滤过, 合并滤液, 减压浓缩至稠膏状。采用 AB-8 型大孔吸附树脂, 分别以 5 BV 水、25% 乙醇、50% 乙醇洗脱, 洗脱速率为 1.5 BV/h, 收集 50% 乙醇洗脱液, 减压浓缩后, 喷雾干燥得 PGS, 1 g 总皂苷相当于 46.95 g 生药。

### 2.2 动物分组、造模、给药<sup>[10-11]</sup>

取 Wistar 大鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为空白组, 模型组, PGS 低、中、高剂量组。除空白组外, 每组均腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉 (30 mg/kg), 向大鼠鼻腔内滴入  $1 \times 10^6$  ccu/mL MP 菌液, 空白组滴入等量蒸馏水。造模成功后灌胃给药 10 d, PGS 低、中、高剂量组分别按 12.5、25、50 mg/(kg·d) 剂量给药, 空白组、模型组给予等量生理盐水。

### 2.3 肺组织样品制备

称取肺组织 100 mg, 加入 300 μL 生理盐水和研磨珠, 研磨匀浆 3 次, 每次 2 min。取 200 μL 匀浆液, 加入 600 μL 甲醇, 涡旋混匀 2 min, 4℃ 下 13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液过 0.22 μm 有机滤膜, 即得。

取每个样品等量肺组织, 按上述方法制备质控 (QC) 样品。每进 6 个待测样品, 进一针 QC 样品。

### 2.4 UPLC-Q-TOF/MS 分析条件

**2.4.1 色谱条件** Waters ACQUITY™ UPLC 液相色谱仪, BEH C18 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 0.1% 甲酸水 (A) ~ 0.1% 甲酸乙腈 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 4 min, 5% ~ 25%B; 4 ~ 10 min, 25% ~ 45%B; 10 ~ 22 min, 45% ~ 100%B; 22.1 ~ 25 min, 100% ~ 5%B); 柱温 40℃, 流速 0.3 mL/min, 进样量: 5 μL。

**2.4.2 质谱条件** 电喷雾正、负离子模式, 喷雾电压 + 5500 V、- 4500 V; 离子源温度 550℃, 雾

化气体为氮气 ( $N_2$ ), 雾化气和辅助气为 379.2 kPa, 气帘气为 241.3 kPa; 裂解电压  $\pm 80$  V, 碰撞能量  $\pm 35$  eV, 碰撞能量扩展 (CES) 均为 15 eV; 全扫描范围为  $m/z$  80 ~ 1500; 产物离子 (Product Ion) 扫描范围为  $m/z$  50 ~ 1500, 智能数据依赖采集 (IDA) 响应值超过 100 cps 的 8 个最高峰进行二级质谱扫描, 并开启动态背景扣除 (DBS)。

## 2.5 差异代谢物及相关代谢通路分析

采用 Analyst TF 1.7 软件进行色谱采集, 利用 MS-DIAL 软件进行鉴定 (保留时间  $RSD < 2.0\%$ , 峰强度  $RSD < 9.0\%$ ,  $m/z$  偏差在  $\pm 5$  以内); 导入 MetaboAnalyst 6.0 数据库, 进行多元统计分析, 包括主成分分析 (PCA)、正交-偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)、火山图分析 (Volcano Plot), 并进行差异代谢物筛选 ( $VIP > 1$ ,  $P < 0.05$ ,  $FC > 1.5$  或  $FC < 0.67$ ); 利用 MetaboAnalyst 6.0 进行富集分析, 寻找相关代谢通路, 根据通路影响值 (Impact) 排序。

## 3 结果

### 3.1 PGS 对 MPP 大鼠肺组织的影响

PGS 对 MPP 大鼠肺组织的影响结果见图 1。与空白组相比, 模型组大鼠肺组织表现为肺泡壁增厚, 肺泡萎缩且间隔增宽, 并伴有少量的淋巴细胞浸润, 少量血管周围可见淋巴细胞灶性浸润, 出现轻度或重度病变, 表示 MPP 模型复制成功。经 PGS 给药后, 低、中、高各剂量组均表现出不同程度的病理改善, 具体表现为肺泡萎缩数量减少、间隔变窄, 淋巴细胞浸润程度减轻, 且修复效果随剂量递增而更为明显。

### 3.2 UPLC-Q-TOF/MS 分析结果

正负离子模式下肺组织样品总离子流图见图 2。针对系统稳定性, 随机选取 QC 样本中 10 个离子, 计算 QC 样品的保留时间以及峰强度的  $RSD$ , 结果表明所选取离子保留时间  $RSD$  在  $0.020\% \sim 1.5\%$  内, 峰强度的  $RSD$  在  $3.5\% \sim 8.8\%$ , 表明 QC 样品重复性良好, 质谱检测时具有良好的稳定性, 数据可靠, 结果符合代谢组学分析要求。

### 3.3 差异代谢物

PGS 对 MPP 大鼠肺组织生物标志物的影响结果见表 1。以  $VIP > 1$ ,  $P < 0.05$ ,  $FC > 1.5$  或  $FC < 0.67$  作为筛选条件, 结果表明 PGS 能够回调肺组织中的 24 种生物标志物, 包括上调烟酰胺、核黄素、4-吡哆酸、柠檬酸、前列腺素  $B_2$ 、石胆酸、LA、3-吡啶丁酸等 8 种代谢物水平, 下调甲硫氨酸、L-色氨酸、鞘氨醇、溶血磷脂酰胆碱 (16: 0/0: 0)、溶血磷脂酰胆碱 (18: 1 (11Z) /0: 0)、AA、13-羟基十八碳三烯酸、(10E, 12Z) -9-羟基十八碳二烯酸、溶血磷脂酰乙醇胺 (0: 0/18: 2 (9Z, 12Z))、溶血磷脂酰乙醇胺 (0:

0/18: 1 (9Z))、 $PGE_2$ 、前列腺素  $F_{2\alpha}$ 、 $LTD_4$ 、全反式视黄醛、犬尿氨酸 (Kyn)、胆酸等 16 种代谢物水平。

### 3.4 PCA

正、负离子模式下各组肺组织代谢物的 PCA 得分图见图 3。正离子模式下, PC1 主成分对样品差异的贡献值为 29.3%, PC2 主成分对样品差异的贡献值为 9.8%。负离子模式下, PC1 主成分对样品差异的贡献值为 14.7%, PC2 主成分对样品差异的贡献值为 12.7%。图中空白组与模型组、模型组与 PGS 各剂量组均能被很好地区分, 且同组样品近类相聚, 所有样本点全部处于 95% 的置信区间内, 组内差异小, 结果具有可比性。

### 3.5 OPLS-DA

正离子与负离子模式下, 各剂量 PGS 组与模型组肺组织代谢物的 OPLS-DA 得分图及相应验证图分别见图 4 与图 5。图中显示各组间分离明显, 区分效果显著, 表明模型组与各给药组之间存在显著的代谢差异。在本研究中, PGS 低剂量组与模型组正负离子模式  $R^2Y$  分别为 0.897、0.839,  $Q^2$  分别为 0.59、0.643; PGS 中剂量组与模型组正负离子模式  $R^2Y$  分别为 0.849、0.826,  $Q^2$  分别为 0.446、0.615; PGS 高剂量组与模型组正负离子模式  $R^2Y$  分别为 0.865、0.881,  $Q^2$  分别为 0.613、0.695。正负离子模式下两者均大于 0.5 且接近 1, 表明该 OPLS-DA 模型合理、有效, 能良好地解释和预测组间的样本差异。

### 3.6 Volcano Plot

PGS 各剂量组与模型组肺组织代谢物火山图见图 6。火山图的中间密集点代表无显著变化, 两侧分散点则代表显著变化。选用  $FC$  值及  $P$  值进行对数转换,  $\log_2$  Fold Change 作为  $X$  轴,  $-\log_{10}(P)$  作为  $Y$  轴, 绘制相应的火山图, 两组之间样本中所有的代谢物都能够直观展示显著性及表达差异, 通过火山图初步筛选  $FC > 1.5$  或  $FC < 0.67$  的代谢物, 结果显示模型组与 PGS 低剂量组之间, 显著上调了 641 种物质, 下调物质共 806 种。模型组与 PGS 中剂量组之间, 显著上调了 1108 种物质, 下调物质共 529 种。模型组与 PGS 高剂量组之间, 显著上调了 1286 种物质, 下调物质共 640 种。

### 3.7 差异代谢通路分析、注释

PGS 回调肺组织生物标志物相关代谢通路图见图 7。将 PGS 回调的 MPP 大鼠肺组织生物标志物进行 Metabolomics pathway analysis 分析, 将代谢物导入 MetaboAnalyst 数据库构建和分析代谢通路, 得到代谢通路图。最终得到相关的代谢通路 16 条, 按照代谢通路 Impact 的大小排序, 得到亚油酸代谢、核黄素代谢、花生四烯酸代谢、





图 1 PGS 对肺炎支原体肺炎大鼠肺组织的影响

Fig 1 Effect of PGS on lung tissue of rats with *Mycoplasma pneumoniae pneumonia*

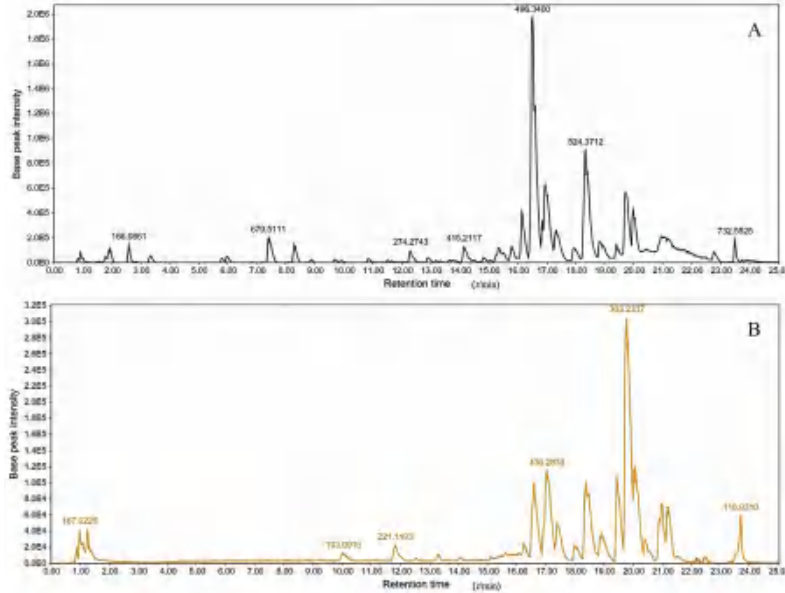


图 2 正 (A)、负 (B) 离子模式下肺炎支原体肺炎大鼠肺组织中 PGS 的总离子流图

Fig 2 Total ion chromatogram of PGS in lung tissue of *Mycoplasma pneumoniae pneumonia* rats under positive (A) and negative (B) ion modes

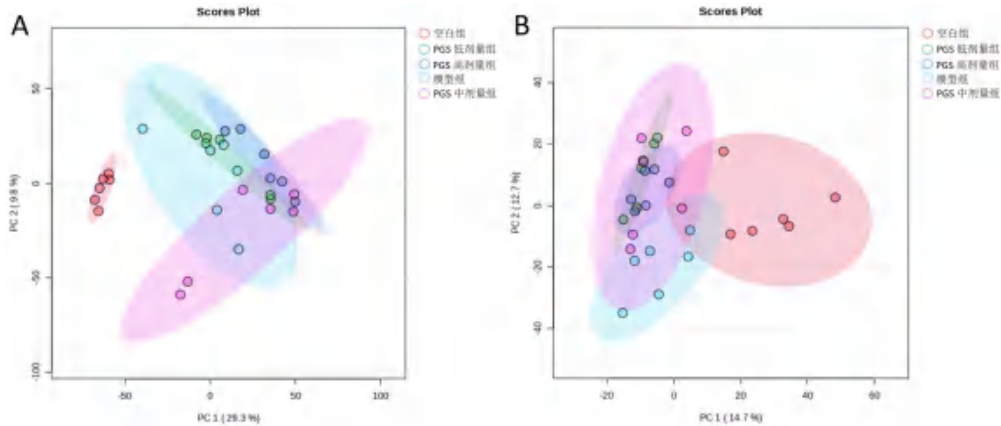


图 3 正 (A)、负 (B) 离子模式下肺组织代谢物的 PCA 得分图

Fig 3 PCA score plot of lung tissue metabolites in positive (A) and negative (B) ion modes

视黄醇代谢、色氨酸代谢等通路 (见表 2)。

#### 4 讨论

AA 是炎症反应中的关键前体物质。它可经环氧化酶 -2 (COX-2) 催化生成 PGE<sub>2</sub>; AA 也可经 5-脂氧合酶催化生成 LTD<sub>4</sub>, 后者是呼吸道疾病的重要检测指标 [12-14]。在炎症状态下, COX-2 的表达增强, 催化 AA 生成 PGE<sub>2</sub> [15]。PGE<sub>2</sub> 表现出浓度依赖的双向调节作用: 低浓度时与 EP4 受体结合促进 Th1 细胞分化, 加剧炎症反应; 高浓度时与 EP2 受体结合, 抑制炎症反应 [13, 16]。

此外, PGE<sub>2</sub> 还能通过激活 12/15-脂氧合酶, 促进抗炎介质脂氧素 A<sub>4</sub> (lipoxin A<sub>4</sub>, LXA<sub>4</sub>) 的生成 [17-18]。LXA<sub>4</sub> 则可反馈抑制 PGE<sub>2</sub> 及白三烯 (LTs) 的合成, 并诱导 M2 型巨噬细胞极化, 从而缓解炎症 [17-18]。本研究中模型组肺组织 LTD<sub>4</sub>、PGE<sub>2</sub> 水平显著上升, 推测 PGE<sub>2</sub> 可能通过结合 EP 受体促进 Th17 细胞扩增, 从而加剧肺部炎症。经 PGS 干预后, 两者水平明显下降, 表明 PGS 可能通过调控 AA 代谢通路发挥抗炎作用。

LA 是 AA 的合成关键前体, 其代谢紊乱与局

表 1 PGS 对肺炎支原体肺炎大鼠肺组织生物标志物的影响

Tab 1 Effect of PGS on biomarkers in the lung tissue of rats with *Mycoplasma pneumoniae pneumonia*

| 化合物                                     | 保留时<br>间/min | 理论值<br>( <i>m/z</i> ) | 实测值<br>( <i>m/z</i> ) | 误差/<br>×10 <sup>-6</sup> | 加和离子                              | 分子式                                                             | HMDB        | Trend |       | FC 值  |       |
|-----------------------------------------|--------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
|                                         |              |                       |                       |                          |                                   |                                                                 |             | M/C   | PGS/M | M/C   | PGS/M |
| 烟酰胺                                     | 1.608        | 123.055               | 123.055               | -2.0                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O                  | HMDB0001406 | ↓     | ↑     | 0.44  | 2.42  |
| 甲硫氨酸                                    | 1.527        | 150.058               | 150.058               | -2.1                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S                | HMDB0000696 | ↑     | ↓     | 115.9 | 0.39  |
| L-色氨酸                                   | 3.720        | 205.097               | 205.097               | -0.6                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>   | HMDB0000929 | ↑     | ↓     | 18.52 | 0.22  |
| 核黄素                                     | 4.745        | 377.146               | 377.146               | -0.1                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>   | HMDB0000244 | ↓     | ↑     | 0.57  | 5.95  |
| 鞘氨醇                                     | 14.286       | 300.290               | 300.290               | 0.8                      | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>2</sub>                 | HMDB0000252 | ↑     | ↓     | 74.84 | 0.61  |
| 溶血磷脂酰胆碱 (16: 0/0: 0)                    | 16.522       | 540.330               | 540.331               | 1.9                      | [M+HCOO] <sup>-</sup>             | C <sub>24</sub> H <sub>50</sub> NO <sub>7</sub> P               | HMDB0010382 | ↑     | ↓     | 1.52  | 0.66  |
| 溶血磷脂酰胆碱 (18:1 (11Z) /0:0)               | 16.909       | 566.345               | 566.346               | 1.0                      | [M+HCOO] <sup>-</sup>             | C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> NO <sub>7</sub> P               | HMDB0010385 | ↑     | ↓     | 1.71  | 0.60  |
| 花生四烯酸 (AA)                              | 17.088       | 305.248               | 305.248               | 1.0                      | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                  | HMDB0001043 | ↑     | ↓     | 18.52 | 0.22  |
| 4-吡哆酸                                   | 2.129        | 182.046               | 182.047               | 4.4                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>                   | HMDB0000017 | ↓     | ↑     | 0.22  | 15.61 |
| 13-羟基十八碳三烯酸                             | 15.245       | 295.228               | 295.228               | 1.8                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>                  | HMDB0010203 | ↑     | ↓     | 5.29  | 0.38  |
| (10E, 12Z) -9-羟基十八碳二烯酸                  | 15.989       | 295.228               | 295.228               | 0.9                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>                  | HMDB0062652 | ↑     | ↓     | 3.68  | 0.35  |
| 溶血磷脂酰乙醇胺 (0: 0/18: 2 (9Z, 12Z))         | 15.766       | 476.278               | 476.278               | -0.7                     | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> NO <sub>7</sub> P               | HMDB0011477 | ↑     | ↓     | 1.90  | 0.40  |
| 溶血磷脂酰乙醇胺 (0:0/18:1 (9Z))                | 16.881       | 478.294               | 478.294               | -0.5                     | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> NO <sub>7</sub> P               | HMDB0011476 | ↑     | ↓     | 1.98  | 0.58  |
| 前列腺素 E <sub>2</sub> (PGE <sub>2</sub> ) | 13.195       | 351.218               | 351.218               | 1.9                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>                  | HMDB0001220 | ↑     | ↓     | 7.42  | 0.26  |
| 前列腺素 F <sub>2α</sub>                    | 13.494       | 353.233               | 353.234               | 1.2                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>                  | HMDB0001139 | ↑     | ↓     | 13.51 | 0.09  |
| 白三烯 D <sub>4</sub> (LTD <sub>4</sub> )  | 23.456       | 495.253               | 495.256               | -4.6                     | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S | HMDB0003080 | ↑     | ↓     | 4.64  | 0.41  |
| 柠檬酸                                     | 1.789        | 191.020               | 191.020               | 3.0                      | [M-H] <sup>-</sup>                | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>                    | HMDB0000094 | ↓     | ↑     | 0.12  | 2.40  |
| 全反式视黄醛                                  | 14.725       | 285.221               | 285.222               | 0.8                      | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O                               | HMDB0001358 | ↑     | ↓     | 3.33  | 0.49  |
| 前列腺素 B <sub>2</sub>                     | 9.397        | 335.222               | 335.220               | 0.9                      | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>                  | HMDB0004236 | ↓     | ↑     | 0.11  | 55.68 |
| 石胆酸                                     | 15.763       | 394.332               | 394.332               | 1.9                      | [M+NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup> | C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub>                  | HMDB0000761 | ↓     | ↑     | 0.04  | 1.57  |
| 亚油酸 (LA)                                | 19.987       | 281.248               | 281.248               | 0.9                      | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                  | HMDB0000673 | ↓     | ↑     | 0.22  | 1.52  |
| 犬尿氨酸                                    | 23.470       | 209.092               | 209.092               | -1.6                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>   | HMDB0000684 | ↑     | ↓     | 9.32  | 0.43  |
| 3-吡啶丁酸                                  | 9.432        | 204.102               | 204.102               | -0.4                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>                 | HMDB0002096 | ↓     | ↑     | 0.05  | 5.31  |
| 胆酸                                      | 12.635       | 409.295               | 409.295               | -0.8                     | [M+H] <sup>+</sup>                | C <sub>24</sub> H <sub>40</sub> O <sub>5</sub>                  | HMDB0000619 | ↑     | ↓     | 3.36  | 0.45  |

注: M/C 代表模型组与空白组比较, PGS/M 代表 PGS 各剂量组与模型组比较。

Note: M/C represents the model group vs the control group, PGS/M represents different dose groups of PGS vs the model group.

表 2 PGS 回调肺组织生物标志物相关代谢通路分析结果

Tab 2 Metabolic pathway analysis related to biomarkers in lung tissue regulated by PGS

| No. | 通路名称                                                          | 代谢物总数 | 差异代谢物数量 | logP | 通路影响值 |
|-----|---------------------------------------------------------------|-------|---------|------|-------|
| 1   | 亚油酸代谢 (linoleic acid metabolism)                              | 5     | 1       | 1.30 | 1.00  |
| 2   | 核黄素代谢 (riboflavin metabolism)                                 | 4     | 1       | 1.39 | 0.50  |
| 3   | 花生四烯酸代谢 (arachidonic acid metabolism)                         | 44    | 4       | 3.09 | 0.33  |
| 4   | 视黄醇代谢 (retinol metabolism)                                    | 16    | 1       | 0.81 | 0.25  |
| 5   | 色氨酸代谢 (tryptophan metabolism)                                 | 41    | 2       | 1.19 | 0.24  |
| 6   | 烟酸和烟酰胺代谢 (nicotinate and nicotinamide metabolism)             | 15    | 1       | 0.84 | 0.19  |
| 7   | 半胱氨酸和蛋氨酸代谢 (cysteine and methionine metabolism)               | 33    | 1       | 0.53 | 0.10  |
| 8   | 柠檬酸循环 (citrate cycle)                                         | 20    | 1       | 0.72 | 0.09  |
| 9   | 乙醛酸和二羧酸代谢 (glyoxylate and dicarboxylate metabolism)           | 32    | 1       | 0.54 | 0.08  |
| 10  | 鞘脂代谢 (sphingolipid metabolism)                                | 32    | 1       | 0.54 | 0.06  |
| 11  | 叶酸的单碳库 (one carbon pool by folate)                            | 26    | 1       | 0.62 | 0.05  |
| 12  | 甘油磷脂代谢 (glycerophospholipid metabolism)                       | 36    | 1       | 0.50 | 0.02  |
| 13  | 不饱和脂肪酸的生物合成 (biosynthesis of unsaturated fatty acids)         | 36    | 2       | 1.29 | 0.00  |
| 14  | 维生素 B <sub>6</sub> 代谢 (vitamin B <sub>6</sub> metabolism)     | 9     | 1       | 1.05 | 0.00  |
| 15  | 丙氨酸、天门冬氨酸和谷氨酸代谢 (alanine, aspartate and glutamate metabolism) | 28    | 1       | 0.59 | 0.00  |
| 16  | 初级胆汁酸的生物合成 (primary bile acid biosynthesis)                   | 46    | 1       | 0.42 | 0.00  |

部炎症反应密切相关。既往研究报道, 桔梗皂苷 D 能够通过调控亚油酸代谢途径发挥镇咳祛痰作用<sup>[19]</sup>。本研究中模型组肺组织 LA 水平降低, 可能源于其向 AA 的转化增强, 从而促进了炎症进程; 经 PGS 给药后, LA 水平恢复至正常范围, 提示 PGS 可能

通过抑制 LA 向 AA 的转化, 进而抑制炎症反应。

核黄素作为一种水溶性维生素, 广泛参与氨基酸、脂质等代谢过程<sup>[20]</sup>。研究表明, 核黄素缺乏会导致脂质代谢紊乱, 并通过激活 NF-κB 信号通路促进其 mRNA 及蛋白表达<sup>[21-23]</sup>。本研究

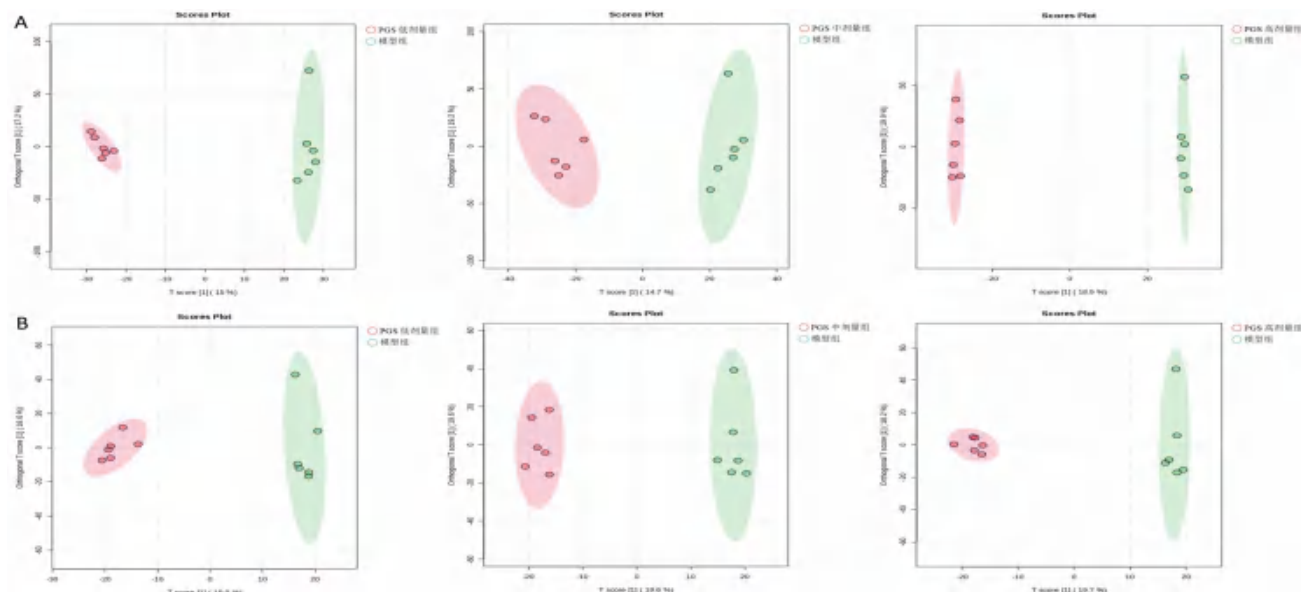


图 4 正 (A)、负 (B) 离子模式下 PGS 各剂量组与模型组肺组织代谢物 OPLS-DA 得分图

Fig 4 OPLS-DA score plots of lung tissue metabolites of different dose groups of PGS and the model group in positive (A) and negative (B) ion modes

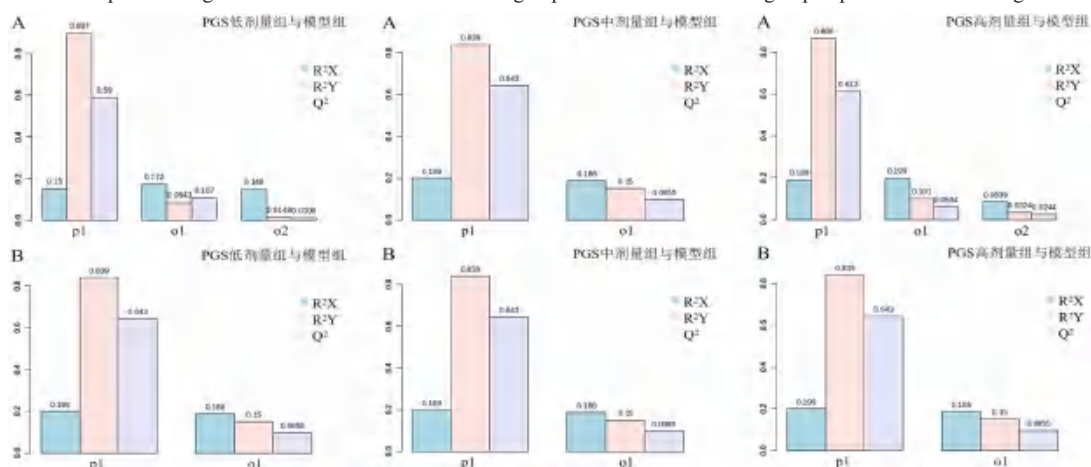


图 5 正 (A)、负 (B) 离子模式下 PGS 各剂量组与模型组肺组织代谢物 OPLS-DA 验证图

Fig 5 OPLS-DA validation plots of lung tissue metabolites of different dose groups of PGS and the model group in positive (A) and negative (B) ion modes

显示, 模型组肺组织中核黄素水平下降, 可能与能量代谢支持不足及氧化应激反应增强有关; 经 PGS 治疗后核黄素水平回升, 提示 PGS 具有改善核黄素代谢紊乱的作用。

视黄醇代谢产物包括视黄醛 (RAL) 和视黄酸 (RA), 其中全反式视黄酸 (ATRA) 是其主要活性形式<sup>[24]</sup>。Pu 等<sup>[25]</sup>研究发现, ATRA 能抑制 NF- $\kappa$ B 通路表达并维持上皮屏障的完整性; Midha 等<sup>[13]</sup>在肺炎模型中证实, 经 RA 给药后能减少嗜酸性粒细胞浸润。本实验模型组肺组织中 RAL 水平异常升高, 可能与 MP 感染破坏肺上皮结构, 导致醇脱氢酶功能异常, 进而阻碍 RAL 向 RA 转化有关。经 PGS 干预后 RAL 水平恢复正常, 表明 PGS 能有效调节视黄醇代谢通路。

色氨酸 (Trp) 代谢主要包括 Kyn 途径、5-羟色胺 (5-HT) 途径。5-HT 途径产生的 5-羟基色氨

酸能抑制 NF- $\kappa$ B 的活化, 降低炎症因子表达<sup>[26]</sup>。在炎症状态下吲哚胺-2, 3 双加氧酶 (IDO) 的表达显著增强, 促进 Trp 向 Kyn 途径转化。本实验模型组中的 Kyn 增多, 可能与 IDO 活性增强有关。而 PGS 给药后 Kyn 水平降低, 提示 PGS 可能通过抑制 IDO 活性, 恢复色氨酸代谢平衡。

## 5 结论

本实验研究表明, PGS 可能通过以下机制对 MPP 感染大鼠发挥治疗作用: 抑制 COX-2 表达从而减少 PGE<sub>2</sub> 和 LTD<sub>4</sub> 的生成; 调节 LA 与 AA 之间的转化过程; 恢复核黄素水平以抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路活化; 恢复视黄醇代谢平衡, 减少 RAL 的异常聚集; 并抑制 IDO 介导的 Kyn 生成。这些效应共同减轻了肺部炎症反应和氧化应激损伤, 并维持了肺泡结构的完整性, 从而促进 MPP 感染后的组织修复。



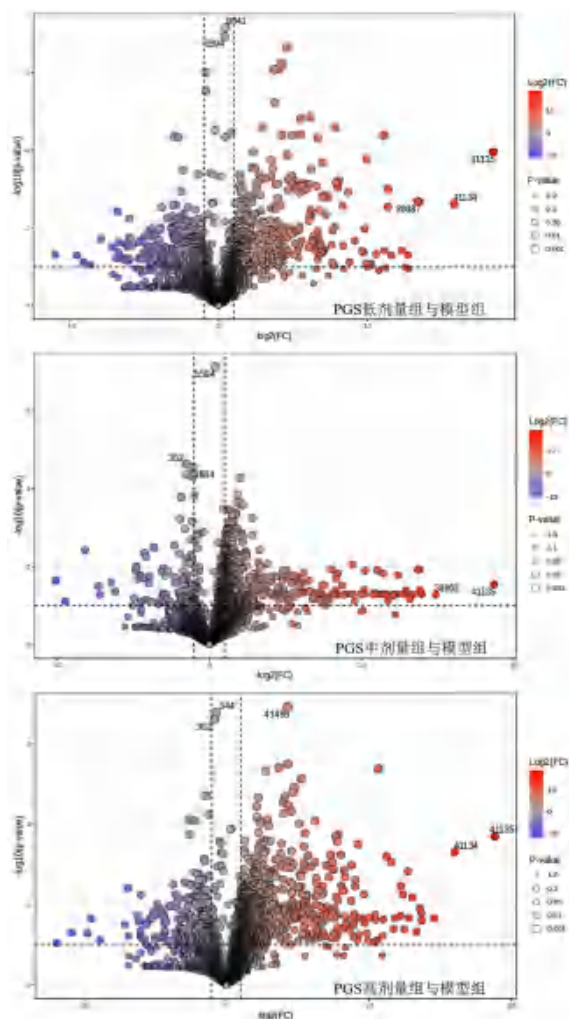


图 6 PGS 各剂量组与模型组肺组织火山图

Fig 6 Volcano plots of lung tissue of different dose groups PGS and the model group

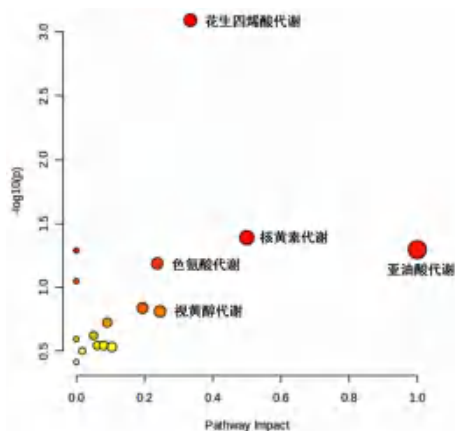


图 7 PGS 回调肺组织生物标志物相关代谢通路图

Fig 7 Map of metabolic pathways related to biomarkers in lung tissue regulated by PGS

## 参考文献

[1] 李行, 朱天文, 王沁怡. 穴位敷贴联合小儿肺热清颗粒治疗肺炎支原体肺炎患儿的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志, 2025, 52 (11): 165-168.

[2] Li Y, Wu MZ, Liang Y, et al. Mycoplasma pneumoniae infection outbreak in Guangzhou, China after COVID-19 pandemic[J]. Virol J, 2024, 21 (1): 183.

[3] 谢雄雄, 张迟, 曾金祥, 等. 中药桔梗的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中医药通报, 2018, 17 (5): 66-72, 13.

[4] 隋美娇, 姚琳, 隋文霞, 等. 桔梗总皂苷对肺炎支原体感染大鼠肺组织 SP-A 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (9): 156-159.

[5] 秦治伟. 黄芩苷联合桔梗多糖的药代动力学及治疗支原体肺炎的作用机制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江省中医药科学院, 2023.

[6] 胡鹏, 蒙艳丽, 唐静, 等. 桔梗抑制支原体肺炎上皮间质转化的机制研究[J]. 中医药学报, 2025, 53 (1): 7-13.

[7] 梁明宇, 邹联洪, 樊麦英. 百草枯中毒致大鼠肺纤维化的代谢组学研究[J]. 实用休克杂志(中英文), 2020, 4 (6): 349-353, 357.

[8] 王新红, 张迟, 周丽, 等. 基于代谢组学的桔梗总皂苷镇咳祛痰作用机制研究[J]. 药学学报, 2022, 57 (3): 757-765.

[9] 姚琳, 隋美娇, 隋文霞, 等. 桔梗抗肺炎支原体有效部位的分离纯化工艺研究[J]. 中国药房, 2015, 26 (10): 1386-1389.

[10] 姚琳, 董坤, 杨云飞, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术探讨桔梗对芩百清肺浓缩丸入血成分的影响[J]. 时珍国医国药, 2023, 34 (7): 1779-1783.

[11] 杨云飞, 高辛, 冯丽娜, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术探讨桔梗对芩百清肺浓缩丸在肺组织中化学成分的影响[J]. 时珍国医国药, 2024, 35 (4): 1017-1021.

[12] 陈书涛, 季爽, 郭美娜, 等. 前列腺素 E<sub>2</sub> 受体亚型 1 (EP1) 研究进展[J]. 生理学报, 2024, 76 (1): 105-118.

[13] Midha IK, Kumar N, Kumar A, et al. Mega doses of retinol: a possible immunomodulation in Covid-19 illness in resource-limited settings[J]. Rev Med Virol, 2021, 31 (5): 1-14.

[14] Huang HY, Zhu SM, Zhong SW, et al. Fuzheng xuanfei huashi prescription suppresses inflammation in lipopolysaccharide-induced lung injury in mice toll-like receptor 4/nuclear transcription factor  $\kappa$ B and cyclooxygenase-2/prostaglandin E<sub>2</sub> pathway[J]. J Tradit Chin Med, 2025, 45 (2): 272-280.

[15] Robb CT, Zhou Y, Felton JM, et al. Metabolic regulation by prostaglandin E<sub>2</sub> impairs lung group 2 innate lymphoid cell responses[J]. Allergy, 2023, 78 (3): 714-730.

[16] Das UN. Essential fatty acids and their metabolites in the pathobiology of inflammation and its resolution[J]. Biomolecules, 2021, 11 (12): 1873.

[17] Bernatchez JA, Mccall LI. Insights gained into respiratory infection pathogenesis using lung tissue metabolomics[J]. PLOS Pathog, 2020, 16 (7): e1008662.

[18] Zhang WY, Wu FJ. Linoleic acid induces human ovarian granulosa cell inflammation and apoptosis through the ER-FOXO1-ROS-NF $\kappa$ B pathway[J]. Sci Rep, 2024, 14 (1): 6392.

[19] 张欣雨, 钟渊涵, 冯艳, 等. 基于代谢组学的桔梗皂苷 D 镇咳祛痰活性及作用机制阐释研究[J]. 药学学报, 2024, 59 (3): 724-734.

- [20] 辛中豪, 高蔚娜, 郭长江. 核黄素对脂质代谢影响研究进展[J]. 解放军预防医学杂志, 2016, 34 (2): 281-283.
- [21] Zhu YY, Thakur K, Feng JY, et al. Riboflavin bioenriched soymilk alleviates oxidative stress mediated liver injury, intestinal inflammation, and gut microbiota modification in B<sub>2</sub> depletion-repletion mice [J]. J Agric Food Chem, 2022, 70 (12): 3818-3831.
- [22] Taniguchi M. Effects of riboflavin deficiency on lipid peroxidation of rat liver microsomes [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 2018, 26 (4): 401-413.
- [23] Ma ZA, Wang LX, Zhang H, et al. Jianpi Gushen Huayu decoction ameliorated diabetic nephropathy through modulating metabolites in kidney, and inhibiting TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 and JNK/P38 pathways [J]. World J Diabetes, 2024, 15 (3): 502-518.
- [24] Pequerul R, Vera J, Giménez-Dejor J, et al. Structural and kinetic features of aldehyde dehydrogenase 1A (ALDH1A) subfamily members, cancer stem cell markers active in retinoic acid biosynthesis [J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 681 (2020): 108256.
- [25] Pu JN, Chen DW, Tian G, et al. All-trans retinoic acid attenuates transmissible gastroenteritis virus-induced inflammation in IPEC-J2 cells via suppressing the RLRs/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Front Immunol, 2022, 13: 734171.
- [26] 常一川, 史俊祖, 王雪峰. 基于 UPLC-Q-Exactive MS 技术的宣白承气汤加味治疗流感病毒与肺炎链球菌共感染小鼠肺炎代谢组学研究 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42 (7): 101-107, 268-270.

(收稿日期: 2025-07-20; 修回日期: 2025-08-20)

## 基于 AMPK 信号通路探讨沙棘叶水提物改善高脂血症的作用及机制研究

陈婕妤, 张依娜, 陈金品, 李敏, 卫培峰, 高峰\* (陕西中医药大学药学院临床中药学教研室, 陕西 咸阳 712046)

**摘要:** **目的** 基于腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 信号通路探讨沙棘叶水提物对高脂血症小鼠的药效及作用机制。**方法** C57BL/6J 小鼠, 除空白组外, 给予高脂饲料喂养建立高脂血症小鼠模型, 造模成功小鼠后随机分为模型组、沙棘叶低剂量组、沙棘叶中剂量组、沙棘叶高剂量组以及阿托伐他汀钙片组 (阳性药组)。药物干预 8 周后使用比色法检测小鼠血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、游离脂肪酸 (FFA), 谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 水平; 苏木精/伊红染色法 (HE 染色) 观察小鼠肝脏、脂肪组织病理形态; 油红 O 染色法观察小鼠肝脏脂质沉积, 实时荧光定量法检测各组肝脏 AMPK、乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 以及肉碱棕榈酰基转移酶 1 (CPT1) mRNA 表达水平; 蛋白印迹法测定 p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC 及 CPT1 蛋白表达水平。**结果** 给药后, 小鼠血清 TC、TG、LDL-C、FFA 水平均有不同程度的降低, 但仅有沙棘叶高剂量组小鼠血清 HDL-C 水平明显升高。各给药组小鼠 ALT、AST 水平均有不同程度的降低, 肝组织中 SOD 水平均有不同程度的升高, 沙棘叶高剂量组小鼠肝组织中 MDA 水平明显降低。HE 染色结果显示肝细胞受损有明显的改善, 油红 O 染色结果显示各给药组的脂肪含量明显减少, 脂滴密度降低, 染色变淡。机制研究发现, 经给药后小鼠肝脏组织 AMPK、CPT1 mRNA 表达量升高, ACC mRNA 表达量降低, p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC 以及 CPT1 蛋白表达量升高, 其中沙棘叶各给药组的作用随着给药浓度的增大而增强。**结论** 沙棘叶对高脂血症小鼠有明显的药效, 可能是通过激活 AMPK/ACC/CPT1 信号通路, 促进脂肪酸氧化, 降低脂肪酸合成, 发挥降脂作用。

**关键词:** 沙棘叶; 腺苷酸活化蛋白激酶; 乙酰辅酶 A 羧化酶; 肉碱棕榈酰基转移酶 1; 高脂血症  
**中图分类号:** R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-042-08  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.006

**基金项目:** 咸阳市科技局项目 (No.2021ZDYF-SF-0044); 咸阳市科技局项目 (No.2021-02-ZZ-008); 陕西省科技厅项目 (No.2024CY-JJQ-10)。  
**作者简介:** 陈婕妤, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药临床与机制研究, email: 1677460274@qq.com \*通信作者: 高峰, 女, 教授, 主要从事中药药性理论研究, email: 7204612@qq.com

## Effect and mechanism of sea buckthorn leaf water extract on ameliorating hyperlipidemia via AMPK signaling pathway

CHEN Jieyu, ZHANG Yina, CHEN Jinpin, LI Min, WEI Peifeng, GAO Feng\* (*Clinical Chinese Pharmacy Teaching and Research Section, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712046*)

**Abstract: Objective** To determine the efficacy and mechanism of action of sea buckthorn leaf water extract on hyperlipidemia in mice based on the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) signaling pathway. **Methods** C57BL/6J mice, except for the blank group, were fed with high-fat diet to establish a hyperlipidemia mouse model. After successful modeling, the mice were randomly divided into a model group, a low-dose sea buckthorn leaf group, a medium-dose sea buckthorn leaf group, a high-dose sea buckthorn leaf group, and an atorvastatin calcium tablet group (positive drug group). After 8 weeks of drug intervention, the levels of total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), free fatty acids (FFA), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) levels in the mouse serum were detected by colorimetry; hematoxylin and eosin (HE) staining was used to observe the pathological morphology of mouse liver and adipose tissue; oil red O staining was used to observe lipid deposition in the mouse liver; real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the mRNA expression levels of AMPK, acetyl-CoA carboxylase (ACC), and carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1) in each group of liver. The expression levels of p-AMPK/AMPK, p-ACC/ACC, and CPT1 proteins were determined by Western blot. **Results** After the administration, the levels of TC, TG, LDL-C, and FFA in the serum of mice decreased to various degrees, and only the level of HDL-C in the serum of mice in the high-dose sea buckthorn leaf group increased remarkably. The levels of ALT and AST in mice of each administration group decreased to various degrees, the level of SOD in the liver tissue increased, and the level of MDA in the liver tissue of mice in the high-dose sea buckthorn leaf group also decreased obviously. The HE staining showed a clear improvement in the liver cell damage. The oil red O staining indicated that the fat content in each administration group was greatly reduced, the lipid droplet density decreased, and the staining became lighter. After the administration, the expression level of *AMPK* and *CPT1* mRNA in the liver tissue of mice increased, that of *ACC* mRNA decreased, and that of p-AMPK/AMPK, p-ACC/ACC and CPT1 proteins increased. Among them, the effects of sea buckthorn leaves in each administration group enhanced with the increase of their concentration. **Conclusion** Sea buckthorn leaves have an obvious therapeutic effect on hyperlipidemia in mice, possibly by activating the AMPK/ACC/CPT1 signaling pathway, promoting fatty acid oxidation, and reducing fatty acid synthesis.

**Key words:** sea buckthorn leaf; adenosine monophosphate-activated protein kinase; acetyl-CoA carboxylase; carnitine palmitoyltransferase 1; hyperlipidemia

高脂血症 (hyperlipidemia) 是一种代谢紊乱疾病, 主要症状为血浆中一种或多种脂质失衡<sup>[1]</sup>。血脂过高引起血管内皮功能损伤, 脂质进入血管内膜并产生沉积, 大量巨噬细胞、单核细胞吞噬沉积的脂质形成泡沫细胞, 产生动脉粥样硬化。高脂血症会引起较多并发症, 大量研究已证实高脂血症是动脉粥样硬化、冠心病、脑卒中等疾病的高危因素<sup>[2]</sup>。目前, 高脂血症治疗药物以他汀类为主, 还有贝特类、烟酸类等<sup>[3]</sup>, 他汀类药物会引起肌炎、肌无力、

肝酶升高等症状<sup>[4]</sup>, 贝特类药物多在他汀类治疗效果不好时联用, 而长期使用烟酸类药物可能引发肝功能异常、血尿酸升高等不良反应, 同时增加缺血性脑卒中发生概率<sup>[5-6]</sup>。这些药物治疗高脂血症的效果已得到验证, 但部分药物具有的不良反应限制了其长期使用。因此, 开发不良反应小且疗效稳定的降脂药物成为高脂血症研究领域的重要方向。

沙棘叶为胡颓子科落叶性灌木或乔木沙棘的叶子<sup>[7]</sup>, 我国的沙棘种植面积居世界第一, 超过全球



90%<sup>[8]</sup>, 具有丰富的药材资源。沙棘叶活性成分众多, 其中黄酮类、多糖类、鞣质类以及三萜类化合物等都表现出了良好的降脂活性, 但是目前沙棘叶降脂的具体作用机制尚不完全明确。课题组前期通过网络药理学筛选发现, 沙棘叶可能通过 AMPK 信号通路调节脂质发挥治疗作用<sup>[9]</sup>。本研究使用 C57BL/6J 小鼠建立高脂血症小鼠模型, 探究沙棘叶水提物是否可以通过 AMPK 信号通路发挥降脂作用。

## 1 材料

### 1.1 试药

沙棘叶产自新疆, 经陕西中医药大学中药鉴定学教研室杨新杰老师鉴定为正品。阿托伐他汀钙片(乐普制药科技有限公司, 批号: 2023122370), 高脂饲料(成都达硕实验动物有限公司), 总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、游离脂肪酸(FFA)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程研究所), 游离脂肪酸(FFA)试剂盒(伊莱瑞特, 批号: E-BC-L792-M), 油红 O 染色试剂盒(北京索莱宝, 批号: G1261), SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒、SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR (With gDNA Eraser)、2×SYBRGreenqPCRMix (With ROX) (山东思科捷生物技术有限公司, 批号分别为 AC0201、AG0305-A、AH0104), BCA 蛋白浓度试剂盒、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、特超敏 ECL 化学发光试剂盒、AMPK 抗体、ACC 抗体、CPT1 抗体、 $\beta$ -actin 抗体、羊抗兔 IgG-HRP (武汉博士德生物工程有限公司), 彩色预染蛋白 maker (10~250 kDa) (上海雅酶生物医药科技有限公司, 批号: WJ103), 彩色预染蛋白 maker (10~310 kDa) (北京聚合美生物科技有限公司, 批号: MF-290-plus-01), p-ACC 抗体、p-AMPK 抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司, 批号分别为 AF3421、AF3423)。

### 1.2 实验动物

雄性 C57BL/6J 小鼠 72 只, 体重 (20±2) g, 6 周龄[成都达硕实验动物有限公司, 许可证号: SCXK (川) 2020-0030, 本次实验经陕西中医药大学伦理委员会批准, 伦理号为 SUCMDL20240604002]。

### 1.3 仪器

ELx808 型全自动酶标仪(美国 BIOTEK 公司), KDC-160HR 型低速离心机(科大创新股份有限公司), 5430 型高速离心机(Eppendorf), OD500C 型倒置显微镜(舜宇集团有限公司), TC-96/G/H (b) C 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司), A40425 型

荧光实时定量 PCR 仪(赛默飞世尔科技), 164-5051 型 Western 电泳仪、170-3930 型转印槽、65-8001 型电泳槽(美国伯乐公司), Tanon 4600 型超高灵敏度化学发光成像系统(上海天能科技有限公司)。

## 2 方法和结果

### 2.1 沙棘叶药物制备

称取适量沙棘叶用蒸馏水按照 1:10 的料液比浸泡 30 min, 煮沸后转文火慢煮 40 min, 过滤。滤渣按照 1:8 的料液比再煎煮 30 min, 合并两次滤液, 重复 3 次。按 70 kg 成年人 20 g/d 的给药剂量, 参照《药理实验方法学》换算方式, 小鼠的等效剂量为人的 9.1 倍, 即将合并的水煎液浓缩至低剂量为 3.033 g/kg、中剂量为 6.066 g/kg、高剂量为 12.132 g/kg, 于 4℃ 冷藏备用<sup>[9-10]</sup>。阿托伐他汀钙片用蒸馏水溶解成 3.033 mg/kg 的溶液, 于 4℃ 保存。

### 2.2 高脂血症模型的建立与分组

C57BL/6J 小鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为空白组和造模组。除空白组外, 造模组小鼠给予高脂饲料(高脂饲料配方为: 67% 基础饲料, 20% 蔗糖, 10% 猪油, 2% 胆固醇, 1% 胆盐)喂养 8 周<sup>[11]</sup>, 8 周后尾静脉取血, 比较空白组和造模组小鼠血脂差异以确定造模是否成功。将造模成功小鼠随机分为模型组、沙棘叶低剂量组、沙棘叶中剂量组、沙棘叶高剂量组以及阿托伐他汀钙片组(阳性药组), 每组 12 只。按照各给药组的给药方案给药 8 周, 给药剂量为 20 mL/kg, 并持续喂养高脂饲料以维持模型稳定。

### 2.3 样本采集

末次给药后充分禁食 12 h, 注射 10% 乌木糖麻醉后, 眼底静脉丛取血, 血样静置 1 h 后 3500 r/min 离心 15 min, 吸取上清液于 -80℃ 保存备用。取血后剥离小鼠肝脏并称重, 取部分肝组织置于组织固定液中固定, 其余于 -80℃ 保存备用, 剥离小鼠腹部脂肪组织并称重, 置于 -80℃ 保存备用。

### 2.4 小鼠体重、肝脏指数、脂肪指数变化

观察沙棘叶对高脂血症小鼠体重、肝脏指数、脂肪指数的影响, 记录小鼠给药前的体重(首次体重)、给药结束后的体重(末次体重)及小鼠肝脏、腹部脂肪重量。结果如图 1 所示, 造模结束后随机分组, 与空白组小鼠相比, 其余各组小鼠平均体重更高 ( $P < 0.01$ ), 各组之间无差异。给药结束后, 与空白组相比, 模型组小鼠体重仍明显较高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 各给药组小鼠体重明显较低 ( $P < 0.01$ )。与空白组相比, 模型组小鼠肝脏指数及脂肪指数明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 各给药组小鼠肝脏指数及脂肪指数有不同程度的降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。

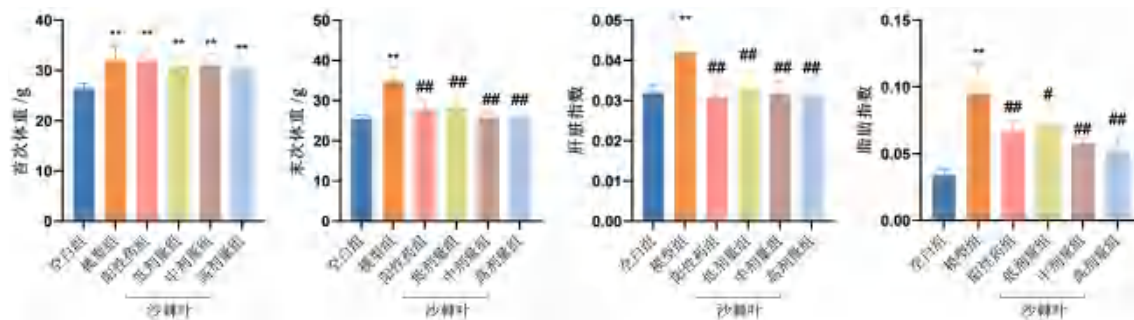

 图 1 沙棘叶对高脂血症小鼠体重、肝脏指数及脂肪指数的影响 ( $n = 6$ )

 Fig 1 Effect of sea buckthorn leaves on body weight liver index and fat index of hyperlipidemia mice ( $n = 6$ )

 注: 与空白组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

 Note: Compared with the blank group, \*\* $P < 0.01$ ; compared with the model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ .

## 2.5 小鼠血清中 TC、TG、LDL-C、HDL-C、FFA 水平的测定

取小鼠血清室温下解冻, 按照试剂盒说明书方法加样并孵育, 最后用酶标仪在相应吸光度下检测各孔吸光度值并计算小鼠血清中血脂四项 (TC、TG、HDL-C、LDL-C) 水平。结果如图 2 所示, 与空白组相比, 模型组小鼠血清 TC、TG、

LDL-C、FFA 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ), HDL-C 水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 各给药组小鼠血清 TC、TG、LDL-C、FFA 水平均有不同程度的降低, 高剂量组小鼠血清 HDL-C 水平明显升高 ( $P < 0.05$ ), 提示沙棘叶可改善高脂饮食引起的小鼠血清脂质水平紊乱, 具有一定的降脂作用。

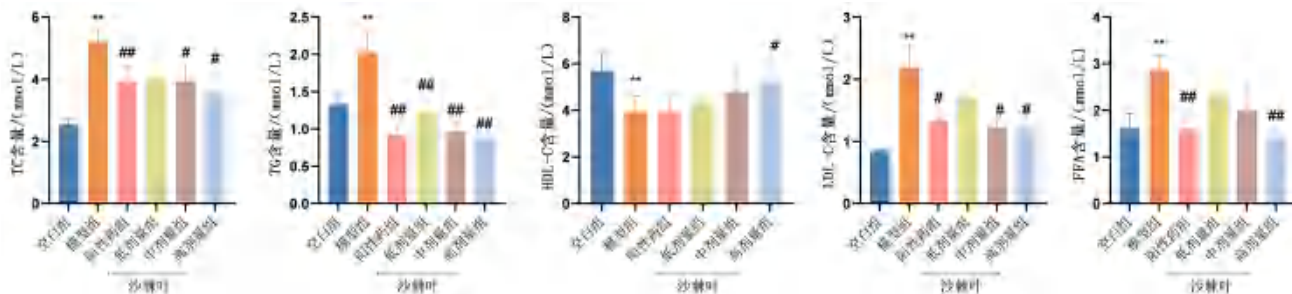

 图 2 沙棘叶对高脂血症小鼠血脂水平的影响 ( $n = 6$ )

 Fig 2 Effect of sea buckthorn leaves on blood lipid levels in hyperlipidemia mice ( $n = 6$ )

 注: 与空白组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

 Note: Compared with the blank group, \*\* $P < 0.01$ ; compared with the model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ .

## 2.6 小鼠血清中肝功指标 ALT、AST 水平的测定

取小鼠血清室温下解冻, 按照试剂盒说明书方法加样并孵育, 最后用酶标仪在相应吸光度下检测各孔吸光度值并计算小鼠血清中 ALT、AST 水平。结果如图 3 所示, 与空白组相比, 模型组小鼠 ALT、AST 水平明显升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 除高剂量组外各给药组小鼠 ALT、AST 水平均有不同程度的下降 ( $P < 0.01$ )。提示沙棘叶具有一定的改善肝功能的作用。

## 2.7 小鼠肝脏组织中 SOD、MDA 水平的测定

取小鼠肝脏左叶约 50 mg, 加 10 倍裂解液在冰上进行组织匀浆, 匀浆液经 10 000 r/min 离心取上清液, 按照试剂盒说明书方法加样并孵育, 检测肝脏 SOD、MDA 水平。结果如图 4 所示, 与空白组小鼠相比, 模型组小鼠肝组织中 SOD 水平明显降低、MDA 水平明显升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比,

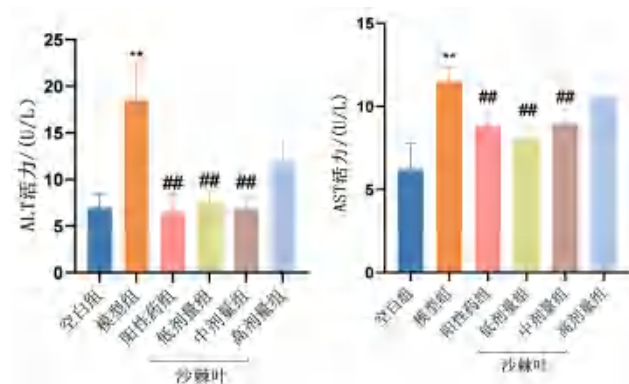

 图 3 沙棘叶对高脂血症小鼠肝功能的影响 ( $n = 6$ )

 Fig 3 Effect of sea buckthorn leaves on liver function in hyperlipidemia mice ( $n = 6$ )

 注: 与空白组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。

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



各给药组小鼠肝组织中 SOD 水平均有不同程度的升高, 中剂量组及高剂量组小鼠肝组织中 MDA 水平明显降低 ( $P < 0.01$ )。提示沙棘叶有减轻高脂血症小鼠氧化应激, 提高抗氧化能力的作用。

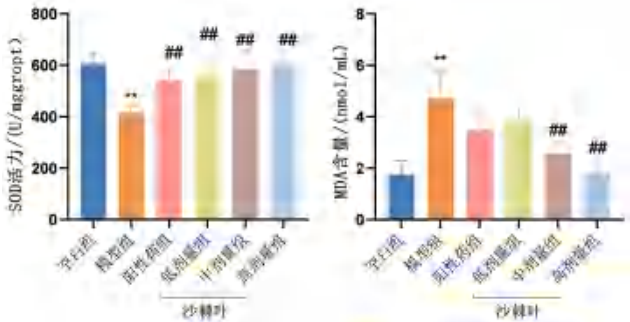


图 4 沙棘叶对高脂血症小鼠肝脏氧化应激水平的影响 ( $n = 6$ )  
Fig 4 Effect of sea buckthorn leaves on liver oxidant levels in hyperlipidemic mice ( $n = 6$ )

注: 与空白组相比, \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组相比, ## $P < 0.01$ 。  
Note: Compared with the blank group, \*\* $P < 0.01$ ; compared with the model group, ## $P < 0.01$ .

2.8 HE 染色法观察小鼠肝脏病理形态

取小鼠肝脏左叶与脂肪组织置于 4% 多聚甲醛中固定后石蜡包埋切片, 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; 最后用中性树胶封片, 于显微镜下观察染色结果, 拍照记录。结果如图 5 所示, 空白组小鼠汇管区没有明显的肝细胞异常, 细胞排列较为整齐规律, 界限分明, 肝窦未见明显挤压或扩张。与空白组相比, 模型组可见广泛肝细胞水肿, 较多肝细胞出现气球样变, 同时有大量脂肪细胞变性, 肝窦广泛受挤压, 经各给药组干预后, 肝细胞受损具有明显的改善。

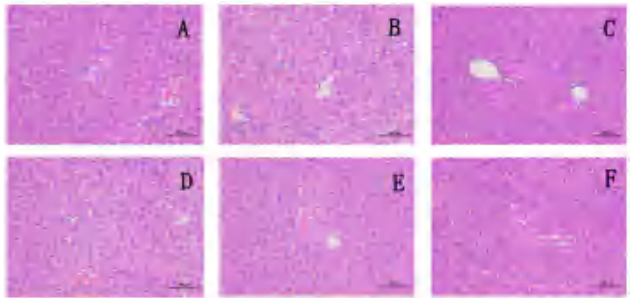


图 5 沙棘叶对高脂血症小鼠肝脏病理变化的影响 ( $\times 200$ )  
Fig 5 Effect of seabuckthorn leaves on liver injury in hyperlipidemia mice ( $\times 200$ )  
A. 空白组 (blank group); B. 模型组 (model group); C. 阳性药组 (positive drug group); D. 沙棘叶低剂量组 (low-dose sea buckthorn leaf group); E. 沙棘叶中剂量组 (medium-dose sea buckthorn leaf group); F. 沙棘叶高剂量组 (high-dose sea buckthorn leaf group)

2.9 油红 O 染色法观察小鼠肝脏脂质沉积

取固定于 4% 多聚甲醛中的小鼠肝脏左叶, 冰冻切片, 自然风干后根据油红 O 染色试剂盒说明书进行染色后置于显微镜下观察, 拍照记录。结果如图 6、7 所示, 油红 O 染色将肝脏细胞细胞核染为蓝色, 脂质被染成红色。与空白组相比, 模型组肝脏肝细胞中出现了较多的脂肪堆积, 视野里能看到弥漫性大小不等的密集的橘红色圆形脂滴, 而各给药组的脂肪含量明显减少, 脂滴密度降低, 染色变淡。空白组小鼠脂肪细胞体积较小, 数量较多, 而模型组脂肪细胞体积较大, 给药后能观察到各给药组脂肪细胞的大小被明显降低。

2.10 RT-PCR 法检测肝组织中 AMPK、ACC、CPT1 基因的表达水平

采用组织 RNA 快速提取试剂盒提取小鼠肝脏组织中的总 RNA, 测定 RNA 浓度, 按反转录试剂盒反转录为 cDNA, 反应条件: 50 °C 15 min、85 °C 5 min。将得到的产物稀释后, 加入 PCR 仪反应, 反应体积: 20  $\mu$ L; 反应程序遵循两步法: 先 94 °C 反应 2 min, 后 94 °C, 10 s 为高温变性阶段, 60 °C, 34 s 为延伸阶段, 进行 40 个循环。数据采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法分析 AMPK、ACC 和 CPT1 的 mRNA 表达水平。各基因引物由上海生工生物工程公司合成, 序列如表 1。结果如图 8 所示, 与空白组相比, 模型组 AMPK 以及 CPT1 mRNA 表达量明显降低 ( $P < 0.01$ ), ACC mRNA 表达量明显升高 ( $P < 0.01$ ), 经给药后 AMPK、CPT1 mRNA 表达量升高 ( $P < 0.01$ ), 除低剂量组外其余各组 ACC mRNA 表达量有不同程度降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。

表 1 引物序列  
Tab 1 Primer sequences

| 引物名称           | 序列 (5'-3')                  | 碱基数 /nt |
|----------------|-----------------------------|---------|
| AMPK           | F GAGTGTTCGGAGGAGGAGGTC     | 21      |
|                | R CTGTTGTCTATGATGAGGTGGTAGG | 25      |
| ACC            | F ATCGCCTCCACCATCGTAGC      | 20      |
|                | R GTCCTCCGTCCACTCCACTG      | 20      |
| CPT1A          | F ACGGCAGAGCAGAGGTTCAAG     | 21      |
|                | R ACACCACATAGAGGCAGAAGAGG   | 23      |
| $\beta$ -actin | F GTGCTAIGTTGCTCTAGACTTCG   | 23      |
|                | R ATGCCACAGGATTCCATACC      | 20      |

2.11 Western blot 法检测肝组织中 AMPK、p-AMPK、ACC、p-ACC、CPT1 蛋白的表达量

取小鼠肝脏组织 50 mg 加入 10 倍量的裂解混合液 (裂解液: 蛋白酶抑制剂: 磷酸酶抑制剂 = 100 : 1 : 1,  $V/V/V$ ) 匀浆, 12 000 r/min 离心收集上清液, BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 分装。配制 10% 或 6% 凝胶, 制胶后每孔上样 30  $\mu$ g 进行电泳, 转至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1h, 加



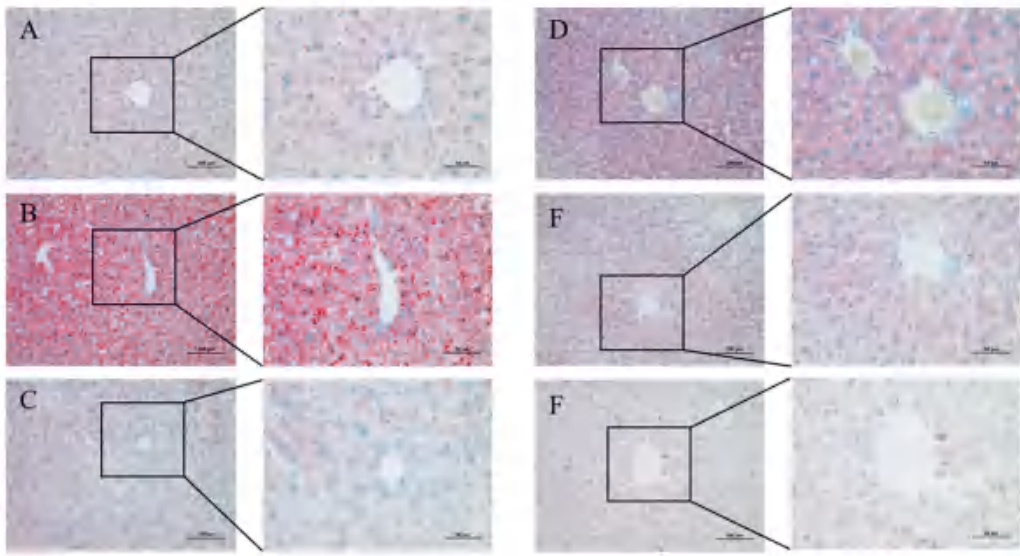


图 6 沙棘叶对高脂血症小鼠肝脏脂质积累的影响 (×200、×400)

Fig 6 Effect of seabuckthorn leaves on liver lipid accumulation in hyperlipidemia mice (×200, ×400)

A. 空白组 (blank group); B. 模型组 (model group); C. 阳性药组 (positive drug group); D. 沙棘叶低剂量组 (low-dose sea buckthorn leaf group); E. 沙棘叶中剂量组 (medium-dose sea buckthorn leaf group); F. 沙棘叶高剂量组 (high-dose sea buckthorn leaf group)

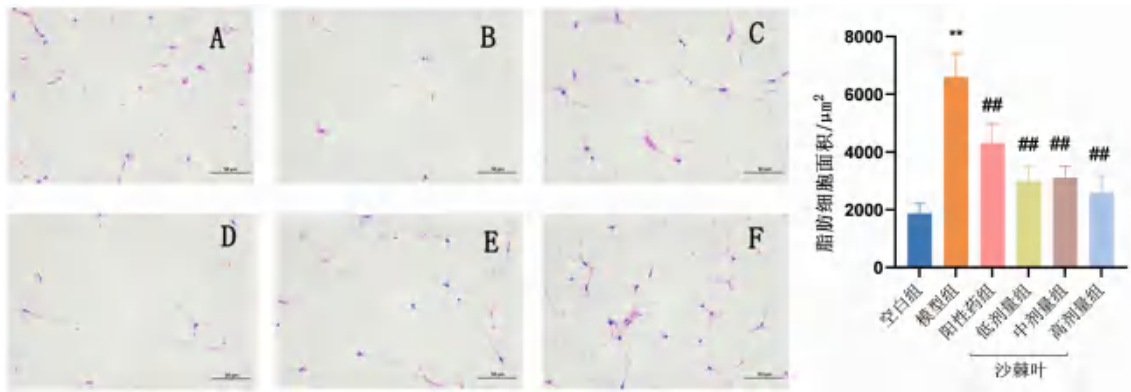


图 7 沙棘叶对高脂血症小鼠脂肪细胞大小的影响 (×400)

Fig 7 Effect of sea buckthorn leaves on adipocyte size in hyperlipidemic mice (×400)

A. 空白组 (blank group); B. 模型组 (model group); C. 阳性药组 (positive drug group); D. 沙棘叶低剂量组 (low-dose sea buckthorn leaf group); E. 沙棘叶中剂量组 (medium-dose sea buckthorn leaf group); F. 沙棘叶高剂量组 (high-dose sea buckthorn leaf group)

注: 与空白组相比,  $^{**}P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $^{##}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank group,  $^{**}P < 0.01$ ; compared with the model group,  $^{##}P < 0.01$ .

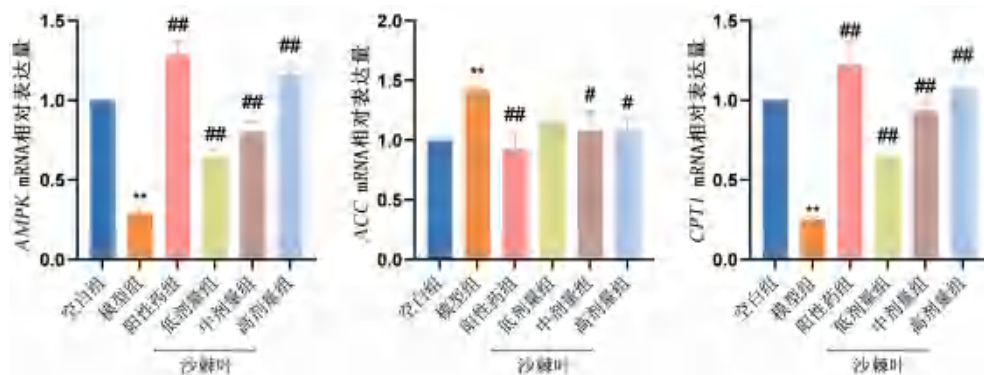


图 8 沙棘叶对高脂血症小鼠 *AMPK*、*ACC*、*CPT1* mRNA 表达的影响 ( $n = 3$ )

Fig 8 Effect of sea buckthorn leaves on the expression of *AMPK*, *ACC* and *CPT1* mRNA in hyperlipidemia mice ( $n = 3$ )

注: 与空白组相比,  $^{**}P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank group,  $^{**}P < 0.01$ ; compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ .

入配制好的一抗 (1:1000)、 $\beta$ -actin 抗体 (1:10000), 4℃ 冰箱孵育过夜。一抗孵育后 TBST 洗膜 3 次, 孵育二抗 (1:8000), 慢摇孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 取出膜片于显影仪中, 添加显影液进行显影操作, 使用 Image J 分析灰度值,

计算目标蛋白相对表达量。结果如图 9 所示, 与空白组相比, 模型组 p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC 以及 CPT1 蛋白表达量明显降低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ), 经给药后上升。其中沙棘叶各给药组的作用随着给药浓度的增大而增强。

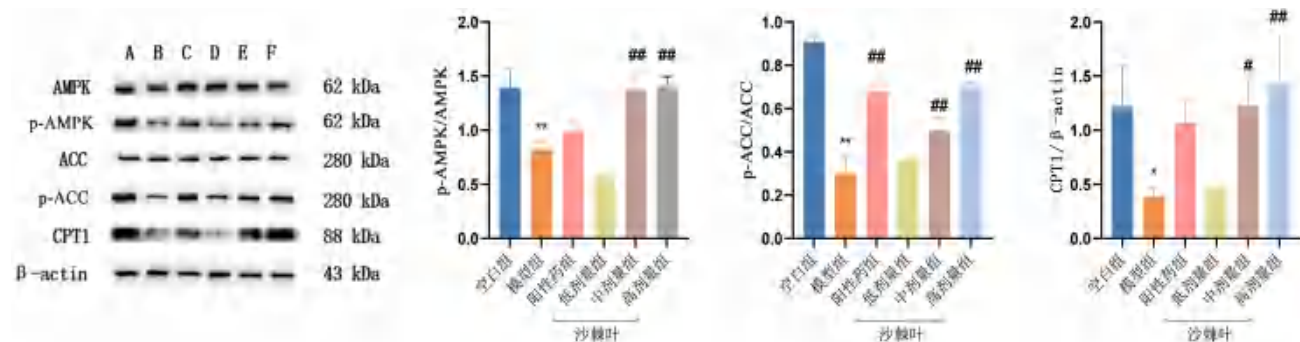


图 9 沙棘叶对高脂血症小鼠 p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC、CPT1 蛋白表达的影响 ( $n = 3$ )

Fig 9 Effect of sea buckthorn leaves on the expression of p-AMPK/AMPK, p-ACC/ACC and CPT1 protein in hyperlipidemia mice ( $n = 3$ )

A. 空白组 (blank group); B. 模型组 (model group); C. 阳性药组 (positive drug group); D. 沙棘叶低剂量组 (low-dose sea buckthorn leaf group); E. 沙棘叶中剂量组 (medium-dose sea buckthorn leaf group); F. 沙棘叶高剂量组 (high-dose sea buckthorn leaf group)

注: 与空白组相比,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the blank group,  $^*P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ; compared with the model group,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ .

## 2.12 数据分析

使用 Graphpad Prism 9.5 软件进行数据分析并制图; 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行多组比较, 若数据方差齐性, 则事后组间多重比较采用 Tukey 检验, 若方差不齐, 则采用 Tamhane's T2 检验,  $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 3 讨论

中医理论中并未有“高脂血症”这一名词, 在中医学中可归属于“血浊”“血瘀”“膏”等范畴<sup>[12]</sup>, 主要涉及脾、肾、肝等脏腑。众多医家在临床中总结经验认为脾胃虚弱、痰湿内生是高脂血症发病内因, 嗜食厚味、饮食不节是其发病外因<sup>[13]</sup>。中药在治疗上以“养”为主, 标本兼治, 毒副作用小, 并且资源丰富易得, 在治疗高脂血症这类慢性疾病上具有较大的优势<sup>[14]</sup>。沙棘叶作为沙棘果的副产品, 产量大、易收集、采集周期长, 具有丰富的药用资源<sup>[15]</sup>。沙棘叶富含多酚、黄酮、多糖等有效成分, 具有调节糖脂代谢的作用<sup>[16]</sup>。

高脂血症被认为是一种脂质代谢失衡性疾病, 与血液中多种脂质成分密切相关<sup>[17]</sup>, 其中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 是主要指标。TC 是血液中胆固醇的总和, 包括 LDL-C、HDL-C 等, TC 与 TG 尤其是 LDL-C 水平升高时, 血液的黏稠度增加, 导致血液流动缓慢, 进而在血管壁上

沉积, 最后形成动脉粥样硬化斑块, 引发冠心病、脑血管疾病<sup>[18]</sup>。相反, HDL-C 具有抗动脉粥样硬化的作用。它能够将外周组织中的胆固醇转运到肝脏进行代谢和排泄, 从而减少胆固醇在血管壁的沉积。肝脏是体内代谢调节的中枢器官, 在脂类的合成、吸收、分解等代谢过程中起着关键作用。高脂血症伴随的 TC、TG 的异常蓄积以及氧化应激等反应都会导致肝功能异常、肝组织炎症改变甚至肝组织损伤<sup>[19-20]</sup>。ALT、AST 水平是反映肝脏功能状态的常用指标, SOD、MDA 是衡量氧化应激的两种重要生物标志物<sup>[21]</sup>。本研究结果显示, 沙棘叶能有效降低高脂血症小鼠的体重, 降低血脂 TC、TG、LDL-C 水平, 提高 HDL-C 水平, 改善氧化应激水平以及肝脏功能。病理结果显示沙棘叶能显著改善高脂饮食所致的小鼠肝脏细胞脂肪变性、空泡变性等问题。

AMPK 是一种重要的能量传感器, 广泛存在于人体的组织细胞中, 激活后会促进或抑制一系列代谢途径, 包括葡萄糖代谢、脂肪酸合成、脂肪酸氧化、胆固醇合成等<sup>[22]</sup>。AMPK 可直接下调 ACC 的表达, 而 ACC 能将脂肪酸合成的前体原料乙酰辅酶 A 羧化形成丙二酰辅酶 A, 这一步是脂肪酸合成的关键步骤。同时, 生成的丙二酰辅酶 A 能抑制脂肪酸氧化的 CPT1 活性。在机体的代谢系统中, 肝脏脂肪酸的主要消耗途径是线粒体  $\beta$  氧化, 而 CPT1 是这一过程的关键限速酶,

其主要作用是对游离脂肪酸进行转运<sup>[23-24]</sup>。因此 ACC 活性降低既能直接抑制脂肪酸的合成,又能间接促进脂肪酸的氧化。本研究结果显示,模型组小鼠肝脏 p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC 及 CPT1 的 mRNA 和蛋白表达均降低,沙棘叶各剂量组 p-AMPK/AMPK、p-ACC/ACC 及 CPT1 的 mRNA 和蛋白表达升高。表明沙棘叶可有效激活 AMPK 通路,降低 ACC 活性,促进 CPT1 表达,使脂肪酸合成减少,又能促进脂肪酸的氧化分解,进而改善高脂血症。

综上所述,沙棘叶能明显改善高脂血症小鼠体重、肝脏指数、脂肪指数,显著降低高脂血症小鼠血清脂质以及 FFA 水平,改善氧化应激,保护肝脏,对高脂血症有一定的干预作用。进一步机制研究发现沙棘叶的这种干预作用与激活 AMPK/ACC/CPT1 信号通路,促进脂肪酸氧化,降低脂肪酸合成有关。本研究初步探讨了沙棘叶治疗高脂血症的作用机制,为沙棘叶的进一步研究利用奠定了实验基础提供了理论支持。

## 参考文献

- [1] 娜仁花, 吴斌, 赵明芬. 中西医治疗高脂血症研究进展 [J]. 新疆中医药, 2024, 42 (6): 139-142.
- [2] 赵雨朝. 降脂灵片联合瑞舒伐他汀对高脂血症病人血清 VEGF、NO、SOD 的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16 (20): 2941-2942.
- [3] Karr S. Epidemiology and management of hyperlipidemia [J]. Am J Manag Care, 2017, 23 (9 Suppl): S139-S148.
- [4] Tummala R, Gupta M, Devanabanda AR, et al. Berberic acid and its role in contemporary management of hyperlipidemia in atherosclerosis [J]. Ann Med, 2022, 54 (1): 1287-1296.
- [5] 杨颖, 张旭, 王银霄, 等. 基于脂质组学探究保利尔胶囊治疗高脂血症的作用机制 [J]. 药物评价研究, 2025, 48 (7): 1717-1728.
- [6] 南京, 杨水祥. 非他汀类调脂药物的研究进展 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18 (6): 655-658.
- [7] 高峰, 郭延丽, 刘巧, 等. 沙棘叶子研究利用综述 [J]. 安徽农业科学, 2020, 48 (10): 7-11.
- [8] 钟心, 尤飞, 周振亚, 等. 我国沙棘产业发展现状与对策建议 [J]. 世界林业研究, 2021, 34 (3): 102-106.
- [9] 唐瑜, 张依娜, 邹远荣, 等. 沙棘叶治疗高脂血症的药效物质基础 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (22): 116-122.
- [10] 刘建文. 药理实验方法学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [11] 车梦竹, 杨关林, 闵冬雨, 等. 加味香砂六君子汤对高脂血症小鼠脂肪组织 IL-6/JAK1/STAT3 通路的影响 [J]. 时珍国医国药, 2024, 35 (14): 3134-3138.
- [12] 逯维钰, 刘新宇, 冯玲. 探讨高脂血症的中西医治疗现状 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2023, 21 (22): 65-67.
- [13] 托力木吉·孟克其其格, 吴斌, 赵明芬. 中医药诊治高脂血症的研究进展 [J]. 新疆中医药, 2023, 41 (5): 134-137.
- [14] 韩文杰, 张赤道, 李兰馨, 等. 中医药防治高脂血症临床研究的证据图分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35 (10): 1611-1620.
- [15] 许甜, 吴萌, 葛世辉, 等. 沙棘果、叶的研究进展 [J]. 今日药学, 2024, 34 (6): 466-472.
- [16] 任梦梦, 徐旭彤, 晋程妮, 等. 沙棘叶的活性成分、生物功能及应用研究进展 [J/OL]. 现代食品科技, <https://doi.org/10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.0918>.
- [17] Yang L, Li Z, Song YQ, et al. Study on urine metabolic profiling and pathogenesis of hyperlipidemia [J]. Clin Chim Acta, 2019, 495: 365-373.
- [18] 仝彤, 孙嘉颖, 史艳楠, 等. 金丝桃苷降低小鼠血浆胆固醇水平的效果研究 [J]. 护理研究, 2025, 39 (6): 947-953.
- [19] 李想, 董文婷, 张旭, 等. 玉米须对高脂血症大鼠肝组织保护作用研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37 (4): 84-90.
- [20] Tessari P, Coracina A, Cosma A, et al. Hepatic lipid metabolism and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2009, 19 (4): 291-302.
- [21] 张志豪, 陈晓, 陈湘, 等. 黄秦艽对 ANIT 诱导的小鼠胆汁淤积性肝损伤保护作用研究 [J]. 中南民族大学学报, 2023, 42 (3): 306-312.
- [22] Heidary Moghaddam R, Samimi Z, Asgary S, et al. Natural AMPK activators in cardiovascular disease prevention [J]. Front Pharmacol, 2022, 12: 738420.
- [23] Yuan ED, Duan XF, Xiang LM, et al. Aged oolong tea reduces high-fat diet-induced fat accumulation and dyslipidemia by regulating the AMPK/ACC signaling pathway [J]. Nutrients, 2018, 10 (2): 187.
- [24] 蒋鸣, 田冲冲. 白头翁皂苷 B4 通过调控 AMPK/ACC/CPT1A 信号通路改善非酒精性脂肪肝小鼠氧化应激水平的研究 [J]. 海南医学院学报, 2026, 32 (2): 128-136.

(收稿日期: 2025-10-20; 修回日期: 2026-01-07)



# 泊沙康唑纳米混悬滴眼液的体内外研究

张晓, 申宁, 徐可心, 董洁英, 张向东, 杨存爱, 赵丽芸, 韩鹏飞, 杨赞章\*, 李善学\* (河北省眼科医院, 邢台 河北 054001)

**摘要:** **目的** 制备泊沙康唑纳米混悬滴眼液 (PCZ-NS) 并对其表征、体外释放和初步药动学考察。**方法** 使用微型化介质研磨法制备泊沙康唑纳米混悬滴眼液。通过粒径、Zeta 电位、扫描电子显微镜、差示扫描量热法和 X 射线衍射对 PCZ-NS 进行表征。使用 Franz 扩散池考察 PCZ-NS 的体外释放行为。通过多剂量给药角膜药动学研究筛选 PCZ-NS 中吐温 80 和泊沙康唑的最佳浓度, 对最佳纳米混悬滴眼液处方进行眼刺激性和物理稳定性考察。**结果** PCZ-NS 的最佳药物浓度为 0.5% (w/V), 最佳处方组成为泊沙康唑:吐温 80:HPMC E5:甘油 = 1:1:2:5.2; 制备的纳米晶为稳定的晶体结构, 呈棒状, 平均粒径为  $(241.61 \pm 1.67)$  nm, 多分散指数 (PDI) 为  $0.151 \pm 0.014$ , Zeta 电位为  $(-11.39 \pm 0.13)$  mV; PCZ-NS 最佳处方经多剂量给药对兔眼无刺激性, 室温放置 60 d 纳米晶粒径及 PDI 基本不变; 与未经研磨的相同处方组成的混悬液相比, PCZ-NS 最佳处方经多剂量点药后, 可使角膜药物浓度提高 2.5 倍。**结论** PCZ-NS 制备工艺简单, 粒径稳定性好, 无眼刺激性, 可显著提高药物在角膜的吸收, 可为泊沙康唑开发成眼外用制剂提供参考。

**关键词:** 泊沙康唑; 纳米混悬滴眼液; 角膜药动学

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-050-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.007

## Preparation, characterization and preliminary pharmacokinetics of posaconazole nanosuspension eye drops

ZHANG Xiao, SHEN Ning, XU Kexin, DONG Jieying, ZHANG Xiangdong, YANG Cunai, ZHAO Liyun, HAN Pengfei, YANG Zanzhang\*, LI Shanxue\* (Hebei Eye Hospital, Xingtai Hebei 054001)

**Abstract: Objective** To prepare and characterize posaconazole nanosuspension eye drops (PCZ-NS), and determine their in vitro release behavior and pharmacokinetics. **Methods** PCZ-NS was prepared by a miniaturized media milling method. PCZ-NS was characterized by particle size, Zeta potential, scanning electron microscopy, differential scanning calorimetry and X-ray diffraction. The Franz diffusion cell was used to determine the in vitro release behavior of PCZ-NS. The optimal concentrations of Tween 80 and posaconazole in PCZ-NS were screened through multiple-dose corneal pharmacokinetics, and ocular irritation and physical stability were evaluated for optimal PCZ-NS. **Results** The optimal formulation composition was posaconazole : Tween 80 : HPMC E5 : glycerol = 1 : 1 : 2 : 5.2, with the PCZ concentration at 0.5% (w/V). The nanoparticles in PCZ-NS were a stable crystalline structure with rod-shaped morphology, average particle size of  $(241.61 \pm 1.67)$  nm, polydispersity index of  $(0.151 \pm 0.014)$ , and Zeta potential of  $(-11.39 \pm 0.13)$  mV. The optimal PCZ-NS formulation demonstrated no irritant effects on rabbit eyes following multiple-dose administration and maintained stable nanocrystal particle size and PDI during 60 days storage at room temperature. Compared with the un-milled PCZ suspension with the same composition, the optimal PCZ-NS increased corneal drug concentration by 2.5-fold after

**基金项目:** 邢台市重点研发计划项目 (No.2023ZZ056)。

**作者简介:** 张晓, 女, 主管药师, 主要从事眼用制剂工艺与技术研究, email: zx917821@sina.com \* **通信作者:** 杨赞章, 男, 主任药师, 教授, 主要从事眼用制剂新剂型与新技术研究, email: yangzanzhang@163.com; 李善学, 男, 主任药师, 主要从事眼用制剂新剂型与新技术研究, email: 956537877@qq.com

multiple-dose administration. **Conclusion** PCZ-NS has simple preparation process, excellent particle size stability, and absence of ocular irritation, while significantly enhances corneal drug absorption. This study provides valuable reference for the development of posaconazole into topical ophthalmic preparation.

**Key words:** posaconazole; nanosuspension eye drop; corneal pharmacokinetics

真菌性角膜炎 (fungal keratitis) 是致病性真菌感染引起的一种致盲性角膜病, 在我国居于感染性角膜病致盲率的首位, 镰刀菌、曲霉菌和念珠菌是真菌性角膜炎排列前三位的致病菌<sup>[1]</sup>。目前, 眼用抗真菌药物主要有多烯类 (两性霉素 B、那他霉素等)、唑类 (伊曲康唑、氟康唑等)、烯丙胺类 (特比萘芬等)。泊沙康唑作为新一代三唑类抗真菌药物, 其抗菌谱广、活性高、耐药性强<sup>[2]</sup>, 有文献报道, 口服泊沙康唑可成功治疗经酮康唑、氟康唑、伏立康唑、两性霉素 B 和那他霉素治疗无效的镰刀菌性角膜炎<sup>[3-6]</sup>, 而镰刀菌属是真菌性角膜炎中最常见致病菌<sup>[7]</sup>。虽然泊沙康唑已有口服液、片剂和注射剂上市, 但存在全身用药到达眼病灶部位的有效浓度有限, 全身不良反应多, 且价格昂贵的问题<sup>[8]</sup>。已有研究将泊沙康唑制备成纳米胶束滴眼液<sup>[9-10]</sup>和眼用植入剂<sup>[11]</sup>, 但纳米胶束滴眼液中含有的吸收促进剂 D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇琥珀酸酯 (TPGS) 可能会破坏角膜上皮细胞的脂质双分子层结构并导致严重的毒性效应<sup>[12]</sup>, 冷冻干燥法制备的眼用植入剂, 制备成本高, 且眼部植入剂使用不方便。因此寻找制备工艺简单, 药物使用安全、方便的泊沙康唑眼用制剂仍是目前面临的挑战。

角膜主要由三层组成, 最外层为亲脂性的上皮层, 中间为亲水性的基质层, 最内层为将房水与基质层分隔的内皮层<sup>[13]</sup>。泊沙康唑 (posaconazole, PCZ) 为 BCS II 类药物,  $\log P$  值为 4.6, 渗透性高, 水中溶解度小于 1  $\mu\text{g/mL}$ , 几乎不溶于水<sup>[14]</sup>。提高药物溶解度, 使更多脂溶性药物分子渗透进入亲脂性的角膜上皮层, 是制备泊沙康唑眼用制剂的关键。

纳米混悬液是一种纳米级药物颗粒悬浮于液体介质中的稳定的胶体体系, 将药物颗粒降至纳米级尺寸, 可大大增加颗粒的比表面积, 从而增加药物的溶解速率和溶解度<sup>[14]</sup>。将难溶性药物制备成纳米混悬液可显著提高药物在角膜的生物利用度<sup>[15]</sup>, 文献报道, 用于口服的泊沙康唑纳米晶可使药物溶解度提高 17 倍<sup>[16]</sup>。微型化介质研磨法可通过研磨技术, 将药物颗粒尺寸由微米级研

磨成纳米级, 因制备工艺简单且成本低, 是制备纳米混悬滴眼液的常用制备方法<sup>[17]</sup>, 因此本研究采用微型化介质研磨法制备泊沙康唑纳米混悬滴眼液, 并对制备的纳米晶进行表征、体外释放和初步药动学研究, 以期为泊沙康唑开发成眼外用制剂提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

磁力搅拌器 (石家庄市惠友生物科技有限公司); BeNano 180 纳米粒度分析仪、百特纳米粒度电位分析仪 (丹东百特仪器有限公司); 酸度计 (德国赛多利斯); 渗透压摩尔浓度仪 (天河医疗仪器有限公司); LC-2010A HT 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); TGL-16GR 高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂); DSC200 型差式扫描量热仪 (日立分析仪器有限公司); SmartLab SE 型 X 射线衍射仪 (日本理学公司); TR-3000 透皮扩散仪 (上海玉研科学仪器有限公司); MIRA LMS 型扫描电子显微镜 (捷克 TESCAN 公司)。

### 1.2 试药

泊沙康唑原料药 (批号: 07002303002, 山东金城昆仑药业有限公司, 纯度: 99.0%); 羟丙基甲基纤维素 (HPMC E5, 江西阿尔法高科药业有限公司); 吐温 80 (Tween 80, 四川金山制药有限公司); 甘油 (湖南尔康制药股份有限公司); 钕稳定的氧化锆珠 (直径 0.2 mm, 批号: SILI230714, 浙江金琨西立锆珠有限公司); 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津索尔科学技术有限公司)。

### 1.3 动物

新西兰兔 27 只, 体重 2.0 ~ 2.5 kg, 雌雄不限, 动物生产许可证号 SCXK (辽) 2025-0001 (辽宁长生生物技术股份有限公司)。动物实验获河北省眼科医院伦理委员会批准 (伦理批件号: 2023KY08)。

## 2 方法与结果

### 2.1 微型介质研磨法制备 PCZ-NS

称取 0.15 g 泊沙康唑原料药及 5 mL 研磨液 [自配的含一定浓度吐温 80 和 3% (w/V, 下同) HPMC 的水溶液], 置于 25 mL 玻璃瓶中, 加入 2 个搅拌子及 25 g 的氧化锆珠, 于磁力搅拌器上, 1000

r/min 研磨 4 h, 以 200 目的筛子过滤除去氧化锆珠, 得到含 3% 泊沙康唑的初始纳米混悬液 (primary nanosuspension, PNS)。纳米混悬液中加入 2 倍体积的 3.9% 的甘油溶液, 混合均匀调节渗透压, 即得含 1% 泊沙康唑的纳米混悬液 PCZ-NS。

采用以上方法, 改变吐温 80 的用量, 分别制备含 0.25%、0.5% 吐温 80 的 NS-3、NS-6。与 NS-3 和 NS-6 相对应的初始纳米混悬液为 PNS-3、PNS-6。

用去离子水配制 NS-3 的辅料溶液, 即含 0.25% 吐温 80、1.0% HPMC 和 2.6% 甘油的水溶液。用辅料溶液将 NS-3 分别稀释 2 倍和 10 倍, 制得 NS-2 和 NS-1。同法配制 NS-6 的辅料溶液, 将 NS-6 分别稀释 2 倍和 10 倍, 制得 NS-5 和 NS-4。泊沙康唑原料药不经研磨, 直接与 NS-5 的辅料溶液混合均匀, 即得泊沙康唑混悬液 US。各处方组成见表 1。

表 1 泊沙康唑混悬液的处方组成  
Tab 1 Formulation plan for posaconazole suspensions

| 处方   | 处方组成 /% (w/V) |      |      |     |
|------|---------------|------|------|-----|
|      | 泊沙康唑          | 吐温   | HPMC | 甘油  |
| NS-1 | 0.1           | 0.25 | 1.0  | 2.6 |
| NS-2 | 0.5           | 0.25 | 1.0  | 2.6 |
| NS-3 | 1.0           | 0.25 | 1.0  | 2.6 |
| NS-4 | 0.1           | 0.5  | 1.0  | 2.6 |
| NS-5 | 0.5           | 0.5  | 1.0  | 2.6 |
| NS-6 | 1.0           | 0.5  | 1.0  | 2.6 |
| US   | 0.5           | 0.5  | 1.0  | 2.6 |

2.2 制剂的表征

2.2.1 pH 及渗透压 滴眼液的 pH 和渗透压与泪液越接近, 滴眼液对眼睛的刺激性就越小。利用酸度计对所有制剂的 pH 进行测定, 结果显示所有混悬液的 pH 为 6.46 ~ 6.67, 与泪液的 pH 7.2 ~ 7.4 相近<sup>[18]</sup>, 在滴眼液允许的 pH 范围 3.5 ~ 8.5 内<sup>[13]</sup>。利用渗透压摩尔浓度计对所有制剂的渗透压进行测定, 结果显示所有制剂的渗透压为 303 ~ 309 mOsm/kg, 符合泪液的渗透压 (310 ± 7) mOsm/kg<sup>[19]</sup> 的要求。

2.2.2 粒径、PDI 及 Zeta 电位 为达到粒径测定所需的透光率要求, 先用去离子水将系列纳米混悬液中药物浓度稀释至 0.05 mg/mL 左右, 然后使用纳米粒度分析仪测定粒径大小及多分散指数 (PDI)。用纳米粒度电位分析仪测定 Zeta 电位。所有测定均重复测定 3 次, 取平均值, 结果显示, 纳米制剂的平均粒径为 241.05 ~ 253.58 nm, PDI 平均值为 0.125 ~ 0.151, Zeta 电位平均值为 - 10.82 ~ - 11.69 mV, 结果见表 2。

表 2 纳米混悬液的粒径、PDI 及 Zeta 电位 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
Tab 2 Particle size, PDI and Zeta potential of nanosuspensions ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

| 处方   | 粒径 /nm        | PDI           | Zeta 电位 /mV    |
|------|---------------|---------------|----------------|
| NS-1 | 241.20 ± 4.09 | 0.125 ± 0.013 | - 11.19 ± 0.22 |
| NS-2 | 241.05 ± 2.21 | 0.141 ± 0.016 | - 11.69 ± 0.76 |
| NS-3 | 241.77 ± 0.66 | 0.138 ± 0.006 | - 11.09 ± 0.48 |
| NS-4 | 253.58 ± 8.90 | 0.140 ± 0.025 | - 10.82 ± 0.57 |
| NS-5 | 241.61 ± 1.67 | 0.151 ± 0.014 | - 11.39 ± 0.13 |
| NS-6 | 244.15 ± 2.10 | 0.136 ± 0.023 | - 10.96 ± 0.16 |

2.2.3 扫描电子显微镜 (SEM) 样品中固体颗粒浓度过大不利于微观形貌的观察, 因此先用去离子水将 PNS-3 和 PNS-6 稀释 3 倍, 室温晾干为固体样品。用导电胶带分别将晾干后的固体样品和泊沙康唑原料药黏附到样品台上, 真空镀金, 电压为 6.0 kV, 在扫描电镜下观察样品的微观形貌。如图 1A 所示, 泊沙康唑原料药中的药物颗粒呈不规则形状, 最大粒径可达 10 μm。如图 1B、1C 所示, PNS-3 和 PNS-6 中的药物颗粒大小为 200 nm 左右, 与粒径测定结果一致, 药物颗粒呈棒状。

2.2.4 差示扫描量热 (DSC) 通过离心法收集 NS-3 和 NS-6 中的 PCZ 纳米粒子, 并进行 DSC 分析<sup>[20]</sup>。将纳米混悬液在 4 °C、12 000 r/min 离心 50 min, 弃去上清液, 将沉淀物转移至培养皿中, 自然晾干。取收集到的 PCZ 纳米颗粒和 PCZ 原料药适量于铝制坩埚中, 通过差示扫描量热仪进行分析。参数设置为: 氮气流速 40 mL/min, 升温速度 10 °C/min, 升温范围 30 ~ 250 °C。结果如图 2 所示, PCZ 原料药分别在 136.8 °C (相转变温度) 和 172.6 °C (熔点温度) 出现了明显的吸热峰, 表明原料药中 PCZ 为晶体结构。与 PCZ 原料药相似, NS-3 和 NS-6 中药物纳米颗粒分别在 135.5 °C 和 159.4 °C 出现了明显的吸收峰, 表明经研磨制备的 NS-3 和 NS-6 中, 药物纳米颗粒的晶型未发生改变, 为稳定的晶体结构。PCZ 纳米颗粒熔点的降低, 可能是由于 PCZ 粒度的减小以及 PCZ 纳米颗粒表面残留的稳定剂所致<sup>[16]</sup>。

2.2.5 X 射线衍射 (X-ray diffraction, XRD) 通过离心法收集 NS-3 和 NS-6 中的 PCZ 纳米颗粒, 取适量 PCZ 纳米颗粒和原料药, 进行 XRD 分析。工作电压为 40 kV, 电流为 40 mA, 采用 Cu 靶, 扫描速度为 1 (°)/min, 扫描范围 5° ~ 40°。结果如图 3 所示, PCZ 原料药分别在 7.50°、9.74°、17.64°、19.78°、22.14° 和 25.34° 处出现尖锐的特征衍射峰, 表明 PCZ 原料药中药物为晶体结构,





图 1 Unprocessed PCZ (A), PNS-3 (B) 和 PNS-6 (C) 的扫描电镜图

Fig 1 SEM diagram of unprocessed PCZ (A), PNS-3 (B) and PNS-6 (C)

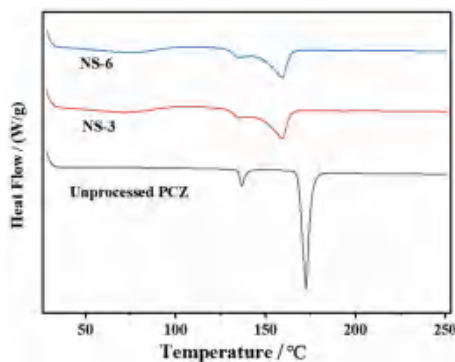


图 2 NS-3 和 NS-6 中泊沙康唑纳米颗粒与泊沙康唑原料药差示扫描量热图

Fig 2 DSC diagram of unprocessed PCZ and PCZ nanoparticles in NS-3 and NS-6

NS-3 和 NS-6 中药物纳米颗粒的衍射峰与 PCZ 原料药完全一致,表明经研磨后的纳米颗粒晶型不变,为稳定的晶体结构,与 DSC 分析结果一致。

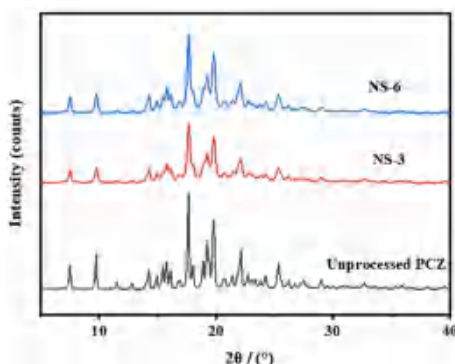


图 3 NS-3 和 NS-6 中泊沙康唑纳米颗粒与泊沙康唑原料药 X 射线衍射图

Fig 3 X-ray diffractogram of unprocessed PCZ and PCZ nanoparticles in NS-3 and NS-6

## 2.3 体外释放考察

**2.3.1 释放介质的配制** 将吐温 1 g, 碳酸氢钠 0.218 g, 氯化钾 0.138 g, 氯化钠 0.678 g, 二水氯化钙 8.4 mg 溶于 100 mL 水中, 即得含 1% (w/V) 吐温的人工泪液<sup>[21]</sup>。

**2.3.2 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (80:20, V/V), 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 20 μL; 检测波长: 262 nm。

**2.3.3 专属性考察** 取人工泪液 (含 1% 吐温)、NS-2 和 NS-5 的辅料溶液、泊沙康唑的甲醇溶液、体外释放的样品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 结果显示, 泊沙康唑的出峰时间为 8.2 min, 峰形良好且没有干扰。

**2.3.4 线性实验** 配制 PCZ 质量浓度为 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 μg/mL 的甲醇溶液, 在“2.3.2”项下条件进样测定, 记录峰面积。以 PCZ 峰面积 (A) 对 PCZ 质量浓度 (C, μg/mL) 进行线性回归, 得到方程为  $A = 4.7563 \times 10^4 C - 999.57$  ( $R^2 = 0.9992$ )。

**2.3.5 加样回收实验** 精密量取“2.3.4”项下 8.0 μg/mL 的对照品储备液适量, 加释放介质稀释成质量浓度分别为 0.2、1.0 和 4.0 μg/mL 的溶液, 作为低、中、高 3 个浓度水平的回收率溶液, 每个浓度水平平行制备 3 份, 在“2.3.2”项条件下进样检测。外标法计算平均回收率分别为 97.63%、103.91%、97.55%, RSD 分别为 1.8%、3.2% 和 0.67%, 表明方法的回收率良好。

**2.3.6 体外释放方法** 使用 Franz 扩散池<sup>[22]</sup>考察具有相同药物浓度 (0.5%, w/V) 的 NS-5、NS-2 与 US 的体外释放行为。将醋酸纤维素膜 (孔径 100 nm, 直径 25 mm) 放置于模拟泪液中浸泡过夜, 并固定于扩散池上、下室间 (扩散面积为 1.91 cm<sup>2</sup>)。接收池中加入模拟泪液 8 mL, 搅拌转速 100 r/min, 水浴温度 34.0 °C。在供给池中加入制剂 2 mL, 分别于给药后 1、2、3、4、6、8、10 h 从接收池中取出接收液 1.5 mL (同时补加同温同体积模拟泪液), 在“2.3.2”项色谱条件下进样测定, 计算药物累积释放量, 绘制累积释放量-时间曲线, 如图 4 所示。结果显示, 纳米混悬液 NS-5 的体外释放明显好于与其处方组成完全相同的微米混悬液 US, 这表明将药物颗粒的粒径降低至纳米级, 可提高药物在辅料溶液中的溶解度, 继而使更多的药物分子通过醋酸纤维素膜扩散至接收池; 含较高吐温浓度 (0.5%) 的 NS-5 的体外释放明显好于含较低吐温浓度 (0.25%) 的 NS-2, 这表明吐温对药物具有增溶作用, 且吐温的浓度越大, 增溶效果越好。

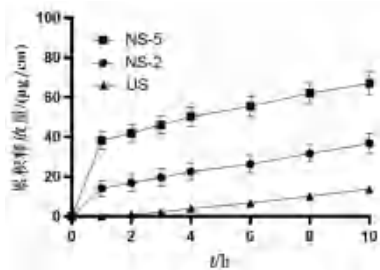


图4 NS-5、NS-2 和 US 体外释放曲线图 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
Fig 4 In vitro cumulative release of NS-5, NS-2, and US ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

2.4 兔眼角膜药动学研究

2.4.1 角膜样品处理<sup>[23]</sup> 取兔眼角膜并剪碎, 加入乙腈 (或溶有 PCZ 的乙腈浸提液) 0.4 mL, 涡旋振荡 2 min, 封口膜密封, 于 4℃ 冰箱静置浸泡 24 h。取出浸泡样品, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液进样测定。

2.4.2 色谱条件<sup>[24]</sup> 色谱柱: Diamonsil C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 水 (70 : 30, V/V), 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 50 μL; 检测波长: 262 nm。

2.4.3 专属性考察 取空白角膜+乙腈浸提液、空白角膜+溶有 PCZ 的乙腈浸提液和给药后角膜样品浸提液, 按“2.4.1”项下方法处理后进样测定。色谱图显示, 泊沙康唑的保留时间为 4.9 min 左右, 峰形良好, 空白角膜浸提液对测定无干扰。

2.4.4 标准曲线 配制 PCZ 质量浓度为 0.2、0.5、0.8、1.0、2.0、4.0 μg/mL 的乙腈溶液, 并按“2.4.1”项下方法处理空白角膜, 得到系列角膜浸提液, 进样测定, 记录峰面积。以 PCZ 峰面积 ( $A$ ) 对 PCZ 质量浓度 ( $C$ , μg/mL) 进行线性回归, 得到方程为  $A = 1.438 \times 10^5 C - 2.589 \times 10^3$  ( $R^2 = 0.9993$ ), PCZ 线性范围为 0.2 ~ 4.0 μg/mL, 检测限为 0.2 μg/mL。

2.4.5 回收实验 配制 PCZ 质量浓度为 0.4、1.5、3.0 μg/mL 的乙腈溶液, 在“2.4.2”项色谱条件下进样检测峰面积, 将峰面积代入标准曲线计算得到 PCZ 浓度  $C_1$ ; 按“2.4.1”项下方法, 用 3 种 PCZ 浓度的乙腈溶液处理空白角膜, 得到质量浓度相当于 0.4、1.5、3.0 μg/mL 的模拟角膜样品, 进样检测峰面积, 将峰面积代入标准曲线计算得到 PCZ 浓度  $C_2$ 。提取回收率为  $C_2/C_1$ , 每个样本制备 3 份, 计算得平均回收率分别为 106.40%、102.36%、101.05%,  $RSD$  分别为 1.5%、2.7%、4.1%。

2.4.6 给药与样品测定 新西兰兔 21 只随机分为 7 组, 每个处方为一小组, 每小组 3 只兔 (6 只眼)。移液枪精密吸取 50 μL 药液滴入兔眼结膜囊内, 轻

轻闭合眼睑 30 s。每小时点药 1 次, 连续点药 8 次, 第 8 次点药后 1 h, 耳缘静脉空气栓塞法处死兔子, 生理盐水冲洗结膜囊, 取角膜组织, 生理盐水冲洗, 滤纸吸干, 精密称重后, -70℃ 保存待测。样品解冻后按“2.4.1”项下方法处理角膜样品, 进样检测, 通过峰面积外标法, 计算角膜浸提液中的药物浓度。角膜中药物浓度=角膜浸提液中药物浓度×测定总体积 (角膜体积+0.4 mL)/角膜总质量, 其中角膜体积相当于同等数量的角膜重量<sup>[25]</sup>。

2.4.7 统计分析 角膜中药物浓度以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SPSS 软件进行方差分析和多重比较, 使用字母标记法标记组间的差异具有统计学意义, 结果见表 3。使用 GraphPad Prism 软件作图, 比较纳米混悬液中吐温和药物浓度对角膜药物吸收的影响, 如图 5 所示。

表 3 不同制剂的兔眼角膜药物吸收浓度 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
Tab 3 Drug absorption concentration in rabbit cornea for different formulations ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

| 处方   | 角膜中药物浓度 / (μg/g)         | 处方   | 角膜中药物浓度 / (μg/g)          |
|------|--------------------------|------|---------------------------|
| NS-1 | 3.73 ± 0.65 <sup>d</sup> | NS-5 | 10.59 ± 0.64 <sup>a</sup> |
| NS-2 | 6.12 ± 0.94 <sup>c</sup> | NS-6 | 8.01 ± 0.97 <sup>b</sup>  |
| NS-3 | 5.79 ± 0.68 <sup>c</sup> | US   | 3.04 ± 0.60 <sup>d</sup>  |
| NS-4 | 5.83 ± 0.40 <sup>c</sup> |      |                           |

注: 相异字母表示差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ 。  
Note: Different letters indicate statistically significant differences,  $P < 0.05$ .

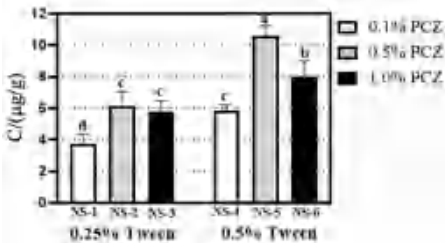


图5 不同纳米混悬剂的角膜药动学 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )  
Fig 5 Corneal pharmacokinetics of different nanosuspensions ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注: 相异字母表示差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ 。  
Note: Different letters indicate statistically significant differences,  $P < 0.05$ .

由图 5 可知, NS-4 的角膜吸收较 NS-1、NS-5 较 NS-2、NS-6 较 NS-3 均有显著提高 ( $P < 0.05$ ), 表明增加制剂中吐温的浓度, 可显著提高药物在角膜的吸收。药物浓度由 0.1% 增加到 0.5% 时, 药物吸收显著增加 (NS-2 vs NS-1, NS-5 vs NS-4), 但当药物浓度继续增加至 1.0% 时, 药物吸收不再增加 (NS-3 vs NS-2), 甚至明显减少 (NS-6 vs NS-5) ( $P < 0.05$ )。6 种纳米混悬液中, NS-5 的角膜吸收最好, 表明在纳米混悬液中 PCZ 和吐温的

最佳浓度均为 0.5% (w/V), NS-5 为最佳处方。

由表 3 可知, 未经研磨的制剂 US (处方组成与最佳处方 NS-5 完全相同) 的角膜药物浓度为 3.04  $\mu\text{g/g}$ , 而 NS-5 的角膜药物浓度为 10.59  $\mu\text{g/g}$ , 结果表明, 将 PCZ 原料药研磨成 240 nm 左右的尺寸可使药物在角膜的吸收提高 2.5 倍。

## 2.5 眼刺激性实验

选用 6 只角膜、结膜及虹膜均无病变的新西兰兔, 采用自身左右眼对照法, 进行 NS-5 的兔眼刺激性实验。分别将 NS-5、生理盐水各 50  $\mu\text{L}$  滴入兔子左眼和右眼, 每次点药后轻合眼睑约 30 s。每日点药时间为 8:00—19:00, 每 1 h 点药一次, 每日总共点药 12 次, 连续点药 4 d, 依据 Draize 眼刺激性评价标准, 分别于每次点药前及最后一次点药后 1、2、4、12、24、48 和 72 h 对角膜、结膜和虹膜进行评分。评分结果表明, NS-5 与生理盐水相同, 评分结果均为 0, 表明 NS-5 对兔眼无刺激性。

## 2.6 物理稳定性

将 NS-5 室温放置 60 d, 分别于制备后 0、10、20、30、45 和 60 d 进行粒度测定, 结果如图 6 所示, NS-5 的粒径始终稳定在 240 nm 左右, PDI 始终稳定在 0.15 左右, 表明 NS-5 在室温放置 60 d, 稳定性良好。

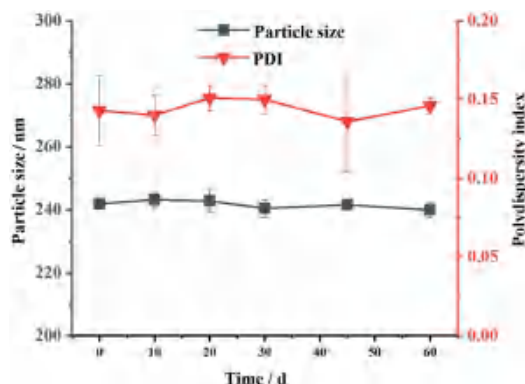


图 6 NS-5 的粒径随室温储存时间的改变 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 6 Change of particle size of NS-5 with storage time at room temperature ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

## 3 讨论

本研究制备了 6 种纳米混悬液, 但文章中只描述了 NS-3 和 NS-6 两种混悬液的 DSC 和 XRD 测定结果。这是由于其他 4 种混悬液均是由 NS-3 或 NS-6 稀释制得, NS-3 和 NS-6 中的纳米晶均为稳定的晶体结构, 简单的稀释操作不会改变纳米晶的晶体结构。本研究曾对 NS-3 和 NS-6 进行了 SEM 的形貌观察, 发现甘油对纳米晶有包裹和黏连作用, 无法通过 SEM 清晰地观察 NS-3 和

NS-6 中纳米晶的形貌, 因此本研究考察了不含甘油的 PNS-3 和 PNS-6 中纳米晶的微观形貌。

为达到有效治疗浓度, 用于治疗真菌性角膜炎的滴眼液往往需要高频次点药, 如那他霉素滴眼液在治疗真菌性角膜炎时, 需每 1 h 点药 1 次, 连续点药 3 ~ 4 d<sup>[26]</sup>。因此在进行药动学研究和眼刺激性实验时, 选用了每小时点药一次的给药方法。

本研究使用 HPMC 和吐温作为稳定剂, 制备了可使粒径稳定 60 d 的 PCZ 纳米混悬液。吐温为非离子表面活性剂型稳定剂, 它一方面通过吸附在纳米颗粒表面, 形成空间位阻, 抑制纳米晶的聚集, 从而提高纳米混悬液的稳定性<sup>[27]</sup>, 另一方面可以在水溶液中形成胶束, 将难溶性药物包裹于其疏水核心, 从而实现增溶作用<sup>[28-29]</sup>。Wang 等<sup>[30]</sup>在氟康唑眼用原位凝胶的制备中, 就使用了 1.0% (w/V) 的吐温 80 作为增溶剂, 且此制剂对兔眼无刺激性。吐温作为一种表面活性剂, 其眼刺激性具有浓度依赖性, 为确保纳米混悬液在高频次点眼的情况下, 仍对兔眼无刺激, 本研究选用了两种较低浓度的吐温进行处方筛选。

由药动学结果可知, 当药物浓度相同时, 吐温的浓度越大, 药物吸收越好, 这可能是由于吐温的浓度越大, 形成的胶束越多, 增溶效果越好, 越有利于药物分子吸收进入角膜。当药物浓度由 0.1% 增加到 0.5%, 药物吸收显著增加, 这可能是由于增加药物浓度, 有利于更多的纳米颗粒在泪液中溶解为药物分子, 继而被吸收进入角膜; 但当药物浓度增加至 1.0% 时, 药物吸收不再增加, 甚至明显减少, 这可能是由于两方面原因导致: 一是, 兔眼结膜囊中泪液的体积只有 7.5  $\mu\text{L}$ <sup>[31]</sup>, 当纳米颗粒在泪液中的溶解达到饱和时, 即使增加纳米颗粒的浓度也不会增加其溶解量, 二是, 增加制剂中纳米颗粒的浓度, 意味着需要更多的吐温 80 吸附于纳米颗粒表面, 这会使得吐温 80 形成胶束的数量减少, 增溶能力降低, 继而使药物吸收降低。

## 参考文献

- [1] Jacqueline KN, Frederick WF, Kevin LW, et al. Review and update on the epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment of fungal keratitis [J]. Curr Fungal Infect Rep, 2013, 7 (4): 293-300.
- [2] Vanathi M, Yadav DK, Velpandian T, et al. Evaluation of topical 1% posaconazole therapy in refractory fungal keratitis [J]. Indian J Ophthalmol, 2025, 73 (1): 64-72.
- [3] Elmer YT, David LM, Richard FB, et al. Successful



- treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592) [J]. *Am J Ophthalmol*, 2007, 143 (2): 222-227.
- [4] Altun A, Kurna SA, Sengor T, et al. Effectiveness of posaconazole in recalcitrant fungal keratitis resistant to conventional antifungal drugs [J]. *Case Rep Ophthalmol Med*, 2014, 2014: 701653.
- [5] Dang DT, Sponsel WE, Graybill J, et al. Combined topical and systemic posaconazole (SCH-5692) for treatment of refractory fusarium keratitis and endophthalmitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43: 882-883.
- [6] Michael AA, Ahmad K, Frederick AJ, et al. Successful treatment of paecilomyces lilacinus keratitis with oral posaconazole [J]. *Cornea*, 2014, 33: 747-749.
- [7] 孙红娟, 顾焱, 陆水, 等. 129 例真菌性角膜炎病原菌分析 [J]. *中国真菌学杂志*, 2025, 20 (2): 136-139.
- [8] 柴双, 展敬伦, 肇丽梅, 等. 5 种三唑类抗真菌药物的药物不良反应分析 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38 (17): 2079-2083.
- [9] Meltem ED, Emine K, Mayram H, et al. Posaconazole micelles for ocular delivery: in vitro permeation, ocular irritation and antifungal activity studies [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2022, 12: 662-675.
- [10] Meltem ED, Emine K, Sevgi G, et al. Optimization and characterization of aqueous micellar formulations for ocular delivery of an antifungal drug, posaconazole [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26: 1543-1555.
- [11] Kadir A, Evrim Y, Müzeyyen D, et al. Posaconazole loaded ocular inserts for antifungal activity [J]. *Pharm Technol*, 2020, 1 (1): 1-6.
- [12] Durgun ME, Güngör S, Özsoy Y. Micelles: promising ocular drug carriers for anterior and posterior segment diseases [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2020, 36 (6): 323-341.
- [13] Dhahir RK, AlNima AM, Albazzaz FY, et al. Nanoemulsions as ophthalmic drug delivery systems [J]. *Turk J Pharm Sci*, 2021, 18 (5): 652-664.
- [14] Wang TH, Wang YJ, Li SM, et al. Nanomedicine in ophthalmology: conquering anatomical barriers and enhancing therapeutic efficacy [J]. *Biomater Sci*, 2026, 14 (3): 611-631.
- [15] Josyula A, Omiadze R, Parikh K, et al. An ion-paired moxifloxacin nanosuspension eye drop provides improved prevention and treatment of ocular infection [J]. *Bioeng Transl Med*, 2021, 6 (3): 1-10.
- [16] Rayapolu GR, Yadav B, Apte SS, et al. Development of posaconazole nanocrystalline solid dispersion: preparation, characterization and in vivo evaluation [J]. *Pharm Dev Technol*, 2024, 29 (5): 530-540.
- [17] Andi DP, Rifka NU, Patricia L, et al. Thermosensitive and mucoadhesive in situ ocular gel for effective local delivery and antifungal activity of itraconazole nanocrystal in the treatment of fungal keratitis [J]. *Int J Pharm*, 2021, 602: 120623.
- [18] 方娜, 龚佳怡. 复方枸杞熏蒸制剂超声雾化治疗大鼠蒸发过强型干眼模型的实验观察 [J]. *中医药信息*, 2024, 41 (12): 17-22.
- [19] Tomlinson A, McCann LC, Pearce EI. Comparison of human tear film osmolarity measured by electrical impedance and freezing point depression techniques [J]. *Cornea*, 2010, 29: 1036-1041.
- [20] Hany SA, Peter Y, Ahmed MA, et al. Hydrocortisone nanosuspensions for ophthalmic delivery: a comparative study between microfluidic nanoprecipitation and wet milling [J]. *J Control Release*, 2011, 149: 175-181.
- [21] 沈小玲, 江仁望. 阿奇霉素微乳滴眼液的体外释放度特性 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2018, 35 (7): 530-538.
- [22] 李秋艳, 谢鹏. 奈帕芬胺纳米混悬滴眼剂的制备及其性能评价 [J]. *现代药物与临床*, 2024, 39 (11): 2799-2807.
- [23] 朱玲, 邵彦江, 周天洋, 等. 建立测定兔眼角膜中盐酸特比萘芬含量的甲醇浸提-HPLC 法 [J]. *中国药房*, 2015, 26 (7): 924-926.
- [24] 吴伟, 何梅凤, 钟建文, 等. 高效液相色谱法测定兔眼角膜中泊沙康唑的含量 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2014, 24 (22): 5516-5518.
- [25] 窦新岩, 陈世伟, 杨柯, 等. 双醋瑞因在小鼠角膜中的药代动力学行为 [J]. *中成药*, 2017, 39 (11): 2289-2292.
- [26] 叶明, 江琴, 刘璐. 那他霉素眼液治疗真菌性角膜炎的效果 [J]. *智慧健康*, 2025, 11 (20): 120-122.
- [27] 陈永顺, 李静, 蒋建平, 等. 叶黄素纳米混悬剂制备及其体内药动学研究 [J]. *中成药*, 2023, 45 (10): 3180-3186.
- [28] Lawrence MJ. Surfactant systems: their use in drug delivery [J]. *Chem Soc Rev*, 1994, 23 (6): 417-424.
- [29] 李欢, 王伟, 刘怀伟, 等. 吐温 80 对甲硝唑氯己定含漱液中薄荷脑的增溶作用研究 [J]. *当代化工研究*, 2024, 23: 167-169.
- [30] Wang LH, Che X, Guo YX, et al. Thermoresponsive ophthalmic poloxamer/tween/carbopol in situ gels of a poorly water-soluble drug fluconazole: preparation and in vitro-in vivo evaluation [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2014, 40 (10): 1402-1410.
- [31] Chrai SS, Patton TF, Mehta A, et al. Lacrimal and instilled fluid dynamics in rabbit eyes [J]. *J Pharm Sci*, 1973, 62 (7): 1112-1121.

(收稿日期: 2025-10-10; 修回日期: 2026-01-05)

# 基于 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨桑白皮 - 地骨皮配伍干预对紫外线皮肤损伤的作用及机制

杨盼<sup>1, 2</sup>, 关丽<sup>3</sup>, 孙定康<sup>2</sup>, 何金穗<sup>3</sup>, 吉腾腾<sup>1, 2</sup>, 刘雪英<sup>2\*</sup>, 王庆伟<sup>1, 3\*</sup> (1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 空军军医大学药学院, 西安 710032; 3. 西安秦皇医院药学院, 西安 710600)

**摘要:** **目的** 基于 Toll 样受体 4 (TLR4) / 髓样分化因子 88 (MyD88) / 核转录因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 通路探讨桑白皮 - 地骨皮配伍对紫外辐射致 SD 大鼠皮肤损伤的保护作用及机制。 **方法** 72 只 SD 雄性大鼠随机分为 9 组: 正常组、模型组、基质组、阳性药组、桑白皮组、地骨皮组、桑 - 地 (1:1) 组、桑 - 地 (2:1) 组及桑 - 地 (1:2) 组。以长波紫外线 (UVA) 联合中波紫外线 (UVB) 照射大鼠背部裸露皮肤, 建立紫外线皮肤损伤模型。造模成功后在皮肤患处分别涂抹含药乳剂和湿润烧伤膏予以治疗, 2 次 /d, 连续给药 10 d。苏木精 - 伊红 (HE)、马松 (Masson) 染色观察皮肤组织病理变化情况; 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 检测炎症因子含量; 免疫组化 (IHC) 和蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测相关蛋白表达情况。 **结果** HE、Masson 染色显示各给药组可改善皮肤病理损伤情况。ELISA 检测显示各给药组可显著降低大鼠肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 -6 (IL-6) 含量。IHC 检测显示各给药组能显著减少 NF- $\kappa$ B 的分布表达。Western blot 检测显示各给药组可显著降低 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  及 IL-6 的表达。 **结论** 桑白皮 - 地骨皮配伍主要通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路介导的炎症反应, 发挥治疗紫外线皮肤损伤的作用。

**关键词:** 紫外线皮肤损伤; 桑白皮; 地骨皮; TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-057-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.008

## Mechanism of *Mori Cortex-Lycii Cortex* in alleviating UV-induced skin injury via TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway

YANG Pan<sup>1, 2</sup>, GUAN Li<sup>3</sup>, SUN Dingkan<sup>2</sup>, HE Jinsui<sup>3</sup>, JI Tengting<sup>1, 2</sup>, LIU Xueying<sup>2\*</sup>, WANG Qingwei<sup>1, 3\*</sup> (1. Department of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712046; 2. Department of Pharmacy, Air Force Medical University, Xi'an 710032; 3. Department of Pharmacy, Xi'an Qinhuang Hospital, Xi'an 710600)

**Abstract: Objective** To determine the protective effect and mechanism of *Mori Cortex-Lycii Cortex* pair against ultraviolet (UV)-induced skin injury in SD rats via TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway. **Methods** Seventy-two male SD rats were randomly divided into nine groups: a normal control group, a model control group, a vehicle control group, a positive drug (moisture exposed burn ointment, MEBO) group, a *Mori Cortex* alone group, a *Lycii Cortex* alone group, a *Mori Cortex-Lycii Cortex* (1:1) group, the *Mori Cortex-Lycii Cortex* (2:1) group, and the *Mori Cortex-Lycii Cortex* (1:2) group. A UV-induced skin injury model was established by exposing the shaved dorsal skin to combined UVA and UVB irradiation. After successful modeling, the affected skin was topically treated with medicated emulsion or moist burn ointment twice daily for 10 consecutive days. Pathological changes in the skin tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) and Masson

**基金项目:** 陕西省手性药物工程技术研究中心 (No.S2021-ZC-GCZXBZ-1-0003); 陕西省秦创原“科学家+工程师”队伍建设 (No.2023KXJ-080)。

**作者简介:** 杨盼, 女, 硕士研究生, 主要从事临床中药学研究, email: yangpan15686129151@163.com \***通信作者:** 刘雪英, 女, 教授, 主要从事药代动力学及药物合成与活性研究, email: xylou0427@163.com; 王庆伟, 男, 主任药师, 主要从事药代动力学和经皮递药研究, email: wqwlxy@163.com

staining. The levels of inflammatory cytokines were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of related proteins was detected using immunohistochemistry (IHC) and Western blot. **Results** HE and Masson staining revealed that the treatment groups exhibited improved skin histopathology. ELISA demonstrated that the treatment groups greatly reduced the levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6). IHC showed that the treatment groups markedly decreased NF- $\kappa$ B distribution and expression. Western blot indicated that the treatment groups obviously downregulated the expression of TLR4, MyD88, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ , and IL-6. **Conclusion** The *Mori Cortex-Lycii Cortex* drug pair alleviates UV-induced skin injury primarily by suppressing the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway-mediated inflammatory response.

**Key words:** UV-induced skin injury; *Mori Cortex*; *Lycii Cortex*; TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway

紫外线 (UV) 是诱发皮肤衰老、色素沉着及炎症反应的关键外源性因素<sup>[1]</sup>。研究表明, 约 70% 的皮肤癌与日光损伤密切相关<sup>[2]</sup>。作为人体最大器官, 皮肤长期暴露于太阳紫外线辐射下, 可导致晒伤、角质化、炎症反应和氧化损伤等<sup>[3-4]</sup>。紫外线按波长可分为长波紫外线 (UVA, 315 ~ 400 nm)、中波紫外线 (UVB, 280 ~ 315 nm) 和短波紫外线 (UVC, 200 ~ 280 nm), 其中 UVA 与 UVB 是导致皮肤光损伤的主要波段<sup>[5-6]</sup>。目前紫外线防护产品主要为物理屏蔽剂和化学吸收剂, 但存在堵塞毛孔、引发接触性皮炎等不良反应<sup>[7]</sup>。因此, 开发安全有效的天然产品对修复紫外线皮肤损伤具有重要临床意义。

桑白皮 (*Mori Cortex*) 和地骨皮 (*Lycii Cortex*) 均始载于《神农本草经》, 现代研究证实, 桑白皮具有抗炎、抗氧化及免疫调节作用, 地骨皮则表现出抑菌抗炎、解热镇痛等活性<sup>[8-10]</sup>。桑白皮-地骨皮药对源自经典名方泻白散, 桑白皮味甘性寒, 归肺经, 功能清泻肺热、利水消肿; 地骨皮味甘性寒, 归肺、肾经, 具有凉血除蒸、清肺降火之效。两者配伍, 共奏清泻肺热、凉血解毒之功, 兼能养阴润肤。现代药理学研究显示, 地骨皮具有促进小鼠烫伤皮肤创面愈合及抑制皮肤炎症反应的作用<sup>[11]</sup>。此外, 其乙醇、氯仿及石油醚提取物可提高皮肤羟脯氨酸含量, 促进胶原沉积与皮肤修复<sup>[12]</sup>。桑白皮的主要活性成分桑根酮 B 可有效抑制肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等促炎因子的生成<sup>[13]</sup>, 桑辛素则通过调节核转录因子 (NF)- $\kappa$ B 通路在体外模型中减轻骨关节炎相关炎症反应<sup>[14]</sup>。上述研究均提示桑白皮与地骨皮具有良好的抗炎活性。Toll 样受体 4 (TLR4) / 髓样分化因子 88 (MyD88) / NF- $\kappa$ B 通路为经典炎症通路, 研究表明在炎症性皮肤中 NF- $\kappa$ B 处于高度活化状态<sup>[15-16]</sup>。本研究通过探讨桑白皮-地骨皮配伍对大鼠紫外线皮肤损伤的治疗作用及对 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路的调控机制, 为其临床应用提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

72 只 6 ~ 8 周龄雄性 SD 大鼠, SPF 级, 体重 (200 ± 20) g, 由空军军医大学实验动物中心提供 [实验动物生产许可证号: SCXK (陕) 2024-003, 动物伦理审查编号: IACUC-20241361, 环境温度 20 ~ 25 °C, 空气湿度 40% ~ 70%, 空气洁净度 7 级]。

### 1.2 试药

桑白皮 (批号: C3472401001, 河北荷花池药业有限公司), 地骨皮 (批号: 24012304, 陕西济世康源医药科技有限公司), 经空军军医大学天然药物化学教研室王四旺教授鉴定, 桑白皮为桑科植物桑 (*Morus alba* L.) 的干燥根皮, 地骨皮为茄科植物枸杞 (*Lycium chinense* Mill.) 的干燥根皮; 美宝湿润烧伤膏 (MEBO) (批号: 2204103A, 汕头市美宝制药有限公司); TNF- $\alpha$ 、白细胞介素-6 (IL-6) 试剂盒 (货号: ml002859L、ml064292L, 上海酶联); 3, 3'-二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒 (货号: ZLI-9018, 北京中杉金桥); TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 抗体 (货号: 66350-1-AP、23230-1-AP、10745-1-AP, Proteintech), TNF- $\alpha$  抗体 (货号: ab215188, Abcam), IL-6 抗体 (货号: BD-PT5348, 博奥龙); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: BL521A, Biosharp)。

### 1.3 仪器

荧光灯管 (规格: 600N58B40R-02、590FLB-40T12E/100D, 南京华强电子有限公司); 紫外辐照计 (规格: UV-A、313 nm, 北京师范大学光电仪器厂); 数字病理切片扫描仪 (型号: KF-PRO-120-HI, 江丰生物); 酶标仪 (型号: Synergy LX, 美国 BioTek 公司); 包埋机 (型号: HD 310, 湖北惠达仪器); 一体式化学发光成像仪 (型号: ChemiScope 5300 Pro, 上海勤翔科学仪器有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 乳剂的制备



取桑白皮、地骨皮浸膏,加入助溶剂甘油(4.00 g)、丁二醇(2.00 g),经搅拌均匀,加入保湿剂透明质酸(0.35 g)、乳化剂甘露醇(1.00 g)、油相辛酸癸酸甘油三酯(GTCC, 0.75 g)及角鲨烷(0.75 g),于 80℃搅拌至辅料全部溶解,补足纯水至 100%,以 5000 r/min 乳化均质 25 min,静置室温后于 4℃冰箱储存备用。桑白皮浸膏、地骨皮浸膏每 1 g 分别相当于原药材 3.7586 g 和 4.1299 g,100 g 乳剂含生药量为 20%,经换算,各组浸膏加入量分别为桑白皮组(5.32 g)、地骨皮组(4.84 g)、桑-地(1:1)组(桑白皮和地骨皮混合浸膏 5.08 g)、桑-地(2:1)组(桑白皮和地骨皮混合浸膏 5.16 g)、桑-地(1:2)组(桑白皮和地骨皮混合浸膏 5.00 g),基质组为空白乳剂。

**2.2 大鼠紫外线皮肤损伤模型的构建及分组给药**  
接受紫外辐照前,大鼠背部皮肤进行脱毛处理。参考课题组前期动物实验模型,以 UVA 联合 UVB 照射 SD 大鼠背部 3 cm×3 cm 区域裸露皮肤,辐照强度分别为 1.05 mW/cm<sup>2</sup> 及 0.15 mW/cm<sup>2</sup>,灯距 30 cm,第一周每日照射 10 min,逐周递加至每日照射 40 min,累计照射 6 周后大鼠背部皮肤均出现红肿、脱屑、结痂等损伤情况,说明紫外线皮肤损伤模型构建成功。

采用完全随机化法将造模成功大鼠随机分配至模型组、基质组、阳性药组、桑白皮组、地骨皮组、桑-地(1:1)组、桑-地(2:1)组及桑-地(1:2)组。除正常组、模型组外,基质组涂抹空白乳剂,其余各组分别涂抹含药乳剂予以治疗,给药量以均匀覆盖创面为宜,2 次/d,阳性药组以湿润烧伤膏涂抹患处<sup>[17]</sup>,连续给药 10 d。及时拍照记录大鼠皮肤状态改变情况。

### 2.3 大鼠组织形态学检测

给药结束后次日处死大鼠并取材,将接受照射区域 1 cm×1 cm 皮肤组织样本用 4% 多聚甲醛固定液进行固定,经石蜡包埋、切片后分别进行苏木精-伊红(HE)及马松(Masson)染色,镜检以观察皮肤组织病理变化。

### 2.4 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量

取冻存组织剪碎,加入磷酸盐缓冲液(PBS)于冰上充分研磨,将匀浆液于 5000×g 离心 10 min,取上清液检测,于 450 nm 波长处测定各孔吸光度。

### 2.5 免疫组化(IHC)检测 NF- $\kappa$ B 表达情况

将皮肤组织石蜡切片进行脱蜡处理,随后经抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、血清封闭,甩去多余液体,滴加一抗,于 4℃湿盒中孵育过夜。PBS 冲洗切片,擦干后滴加经辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗,37℃孵育 30 min。经

DAB 显色,显微镜下观察,阳性信号为棕黄色,自来水冲洗切片终止显色。苏木精复染后 2 min, PBS 水洗返蓝。切片经流水冲洗后进行脱水、封片处理,最后镜检观察并借助 Image J 软件分析阳性表达。

### 2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 及 IL-6 表达量

于适量组织中加入裂解液进行蛋白提取,采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。样品制备完成后逐步进行上样、电泳、转膜,使用 5% 牛血清白蛋白封闭处理,随后加入一抗过夜孵育,待孵育结束加入二抗,洗膜后加入发光液显色。借助 Image J 软件对条带进行灰度分析。

### 2.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析并作图,计量资料以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步采用图基多重比较检验进行两两比较。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 大鼠皮肤组织病理学观察结果

观察各组大鼠表皮外观情况,正常组大鼠皮肤未见损伤;模型组皮肤干燥脱屑、红肿结痂,呈革质样;基质组皮肤呈现明显红斑,与模型组情况类同。其余各组给药后表皮损伤均得到不同程度改善,阳性药组、配伍组恢复效果相较单味药组更好(见图 1)。

HE 染色结果显示,正常组表皮完整,真皮细胞呈波浪纤维状且分布均匀;与正常组相比,模型组表皮破损且显著增厚,真皮层炎性浸润严重,基质组情况类同;与模型组相比,阳性药组、配伍组表皮厚度接近正常,单味药组表皮呈轻度增厚(见图 2)。

Masson 染色结果显示,正常组胶原纤维排列整齐有序;模型组真皮胶原纤维排列紊乱,间质纤维增生并出现纤维化病变,基质组情况类同;给药后纤维病变均有改善,配伍组效果优于单味药组(见图 3)。

### 3.2 大鼠皮肤组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的含量测定

与正常组相比,模型组、基质组 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量显著增加( $P < 0.001$ );与模型组相比,各给药组炎症因子含量明显降低( $P < 0.001$ )。其中,阳性药组与配伍组较单味药组效果更好(见图 4)。

### 3.3 大鼠皮肤组织中 NF- $\kappa$ B 表达情况

相比于正常组,模型组、基质组 NF- $\kappa$ B 的分布表达显著增加( $P < 0.001$ );与模型组相比,各给药组 NF- $\kappa$ B 的分布表达均显著减少( $P < 0.001$ ),且阳性药组和配伍组的效果较单味药组好(见图 5)。

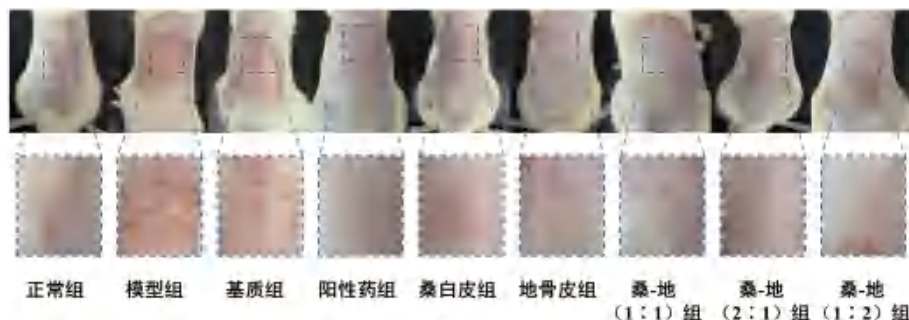


图 1 桑白皮 - 地骨皮配伍对大鼠皮肤外观恢复的影响

Fig 1 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on the recovery of skin appearance in rats

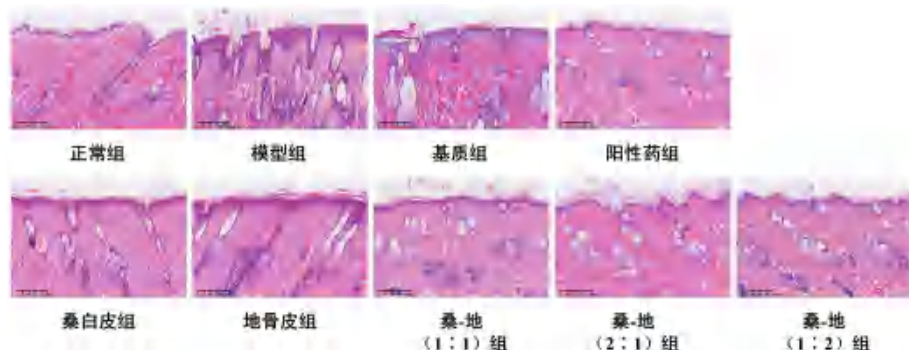


图 2 桑白皮 - 地骨皮配伍对大鼠皮肤 HE 染色的影响 (×20)

Fig 2 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on HE staining of rat skin (×20)

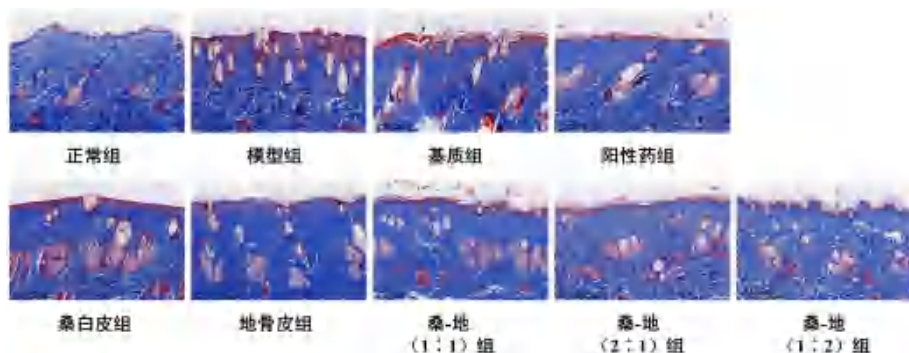


图 3 桑白皮 - 地骨皮配伍对大鼠皮肤 Masson 染色的影响 (×20)

Fig 3 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on Masson staining of rat skin (×20)

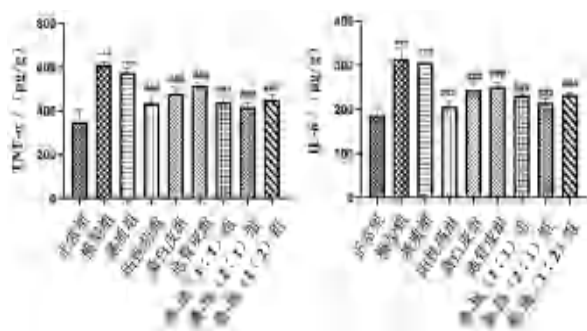


图 4 桑白皮 - 地骨皮配伍对大鼠皮肤组织中炎症因子含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 4 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on the levels of inflammatory cytokines in rat skin tissues ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注 (Note): 与正常组比较,  $***P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $####P < 0.001$  (Compared with the normal group,  $***P < 0.001$ ; compared with the model group,  $####P < 0.001$ ).

### 3.4 大鼠皮肤组织中 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 及 IL-6 表达量

Western blot结果显示, 与正常组相比, 模型组 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  及 IL-6 表达量显著升高 ( $P < 0.001$ ); 相比于模型组, 各给药组 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$  及 IL-6 表达量显著下降 ( $P < 0.001$ )。其中, 阳性药组与桑 - 地 (2:1) 组效果更好 (见图 6)。

## 4 讨论

在中医理论中, 紫外线损伤多归属于“日晒疮”“火毒疮”等范畴, 急性期损伤多表现为皮肤红斑、肿胀, 伴有灼热、疼痛及瘙痒, 甚至出现水疱与渗液。后期或长时间紫外线暴露则表现为灼热感持续时间长、干燥脱屑及瘙痒等症状。其





图 5 桑白皮-地骨皮配伍对大鼠皮肤组织中 NF-κB 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 5 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on the expression of NF-κB in rat skin tissues ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注 (Note): 与正常组比较,  $***P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $###P < 0.001$  (Compared with the normal group,  $***P < 0.001$ ; compared with the model group,  $###P < 0.001$ ).

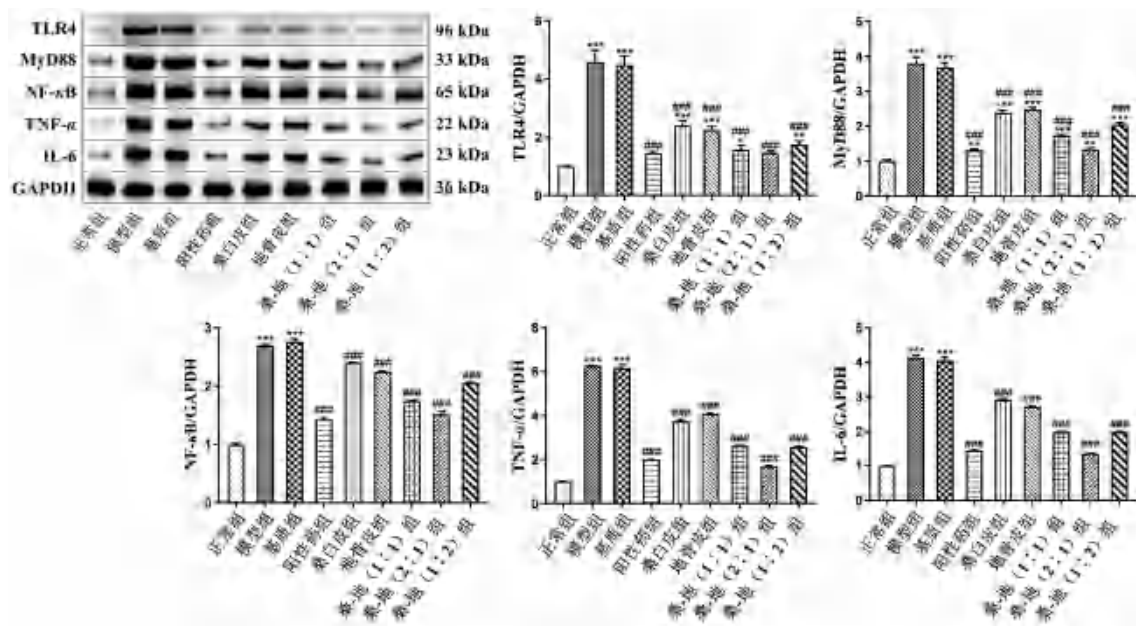


图 6 桑白皮-地骨皮配伍对大鼠皮肤组织中 TLR4、MyD88、NF-κB、TNF-α 及 IL-6 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 6 Effect of the compatibility of *Mori* Cortex and *Lycii* Cortex on the protein expression of TLR4, MyD88, NF-κB, TNF-α, and IL-6 in rat skin tissues ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注 (Note): 与正常组比较,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $###P < 0.001$  (Compared with the normal group,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ ; compared with the model group,  $###P < 0.001$ ).

核心病机与紫外线作为“火热之邪”或“暑热之邪”侵袭肌肤、耗伤津液、灼伤脉络有关, 亦可因日久热邪蕴结, 进一步损伤阴液<sup>[18]</sup>。紫外线损伤的关键病机是“火热外袭”, 初期以实热为主, 后期可因热邪耗伤阴液转为虚热, 或实热与虚热夹杂。肺主皮毛, 热邪郁于肌肤, 可致津液输布失常, 肌肤失于濡养<sup>[19]</sup>。

本研究通过建立紫外线诱导的大鼠皮肤损伤模型, 从组织病理学、炎症因子水平及 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路蛋白表达三个层面, 系统评价桑白皮-地骨皮配伍的治疗作用。结果显示, 经紫外线照射 6 周后, 模型组大鼠背部皮肤有明显损伤, 表皮显著增厚且真皮层炎症浸润严重, 伴随纤维化病变。经药物干预后, 各给药组大鼠皮肤的

病理改变 (包括角质层增厚、炎症浸润及纤维化) 均显著改善。TNF-α、IL-6 水平是评估机体炎症反应的重要细胞因子<sup>[20]</sup>, ELISA 检测发现与模型组相比, 各治疗组大鼠皮肤组织中 TNF-α 和 IL-6 水平均显著降低, 其中桑-地 (2:1) 组效果较好, 提示桑白皮-地骨皮配伍具明显抗炎作用。IHC 检测结果显示配伍组可有效缓解模型组大鼠皮肤组织中 NF-κB 的高度表达。同时, Western blot 分析表明, 配伍组能显著下调 TLR4、MyD88、NF-κB 及其下游炎症因子的表达, 其中桑-地 (2:1) 组效果最佳。这些结果证实, 桑白皮-地骨皮配伍可通过抑制 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路活化, 从而有效缓解紫外线引起的皮肤炎症反应。

研究表明, UVB 辐照会导致氧化损伤的发



生并诱发炎症和免疫抑制,引起皮肤损伤甚至发生癌变,并可通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路诱导多种炎性细胞因子的合成和释放,从而引发强烈的炎症反应<sup>[21]</sup>。TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路在炎症反应调控中具有重要作用,TLR4 作为炎症关键识别受体之一,可使机体产生炎症免疫应答<sup>[22]</sup>,NF- $\kappa$ B 作为核转录因子,通过调节相关炎症介质的表达在炎症反应中发挥关键作用<sup>[21]</sup>。该通路中 MyD88 作为关键衔接蛋白,能够介导核转录因子 NF- $\kappa$ B 的活化,进而促进 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等促炎因子的表达与释放,在炎症反应中发挥核心调控作用<sup>[23-24]</sup>。作为 TLR 家族最早发现的受体蛋白,TLR4 可通过刺激接头蛋白分子 MyD88 从而活化转录因子 NF- $\kappa$ B,最终导致炎症介质的释放<sup>[22]</sup>。本研究发现,桑白皮-地骨皮配伍可显著抑制紫外线损伤皮肤组织中 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 及下游炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的表达,揭示桑白皮-地骨皮配伍可能通过下调 TLR4 受体表达,阻断 MyD88 介导的细胞内信号转导,进而抑制 NF- $\kappa$ B 激活,减少促炎因子生成,通过多靶点调控有效减轻了紫外线辐照引发的皮肤炎症反应。

综上所述,桑白皮-地骨皮配伍可能通过调控 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路关键节点,抑制过度炎症反应,恢复免疫稳态,从而发挥治疗紫外线所致皮肤损伤的作用。

## 参考文献

- [1] 徐珊珊.基于斑马鱼活体模型的西洋参抗紫外线皮肤损伤关键活性物质的筛选发现及活性评价[D].太原:山西医科大学,2024.
- [2] Marks R, Sober AJ. Clinical Photomedicine [M]. London: Routledge, 2018: 113-135.
- [3] Geng RX, Wang YN, Fang JJ, et al. Ectopic odorant receptors responding to flavor compounds in skin health and disease: current insights and future perspectives [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 63 (28): 11-17.
- [4] Sawako S, Tatsuo N, Hiroyasu I, et al. Rose myrtle (Rhodomyrtus tomentosa) extract and its component, piceatannol, enhance the activity of DNA polymerase and suppress the inflammatory response elicited by UVB-induced DNA damage in skin cells [J]. Mol Med Rep, 2015, 12 (4): 5857-5864.
- [5] 徐晓浩.石斛多糖对皮肤光损伤的修复作用及其机制研究[D].长春:长春中医药大学,2023.
- [6] Hwang SY, Chae JI, Kwak AW, et al. Alternative options for skin cancer therapy via regulation of AKT and related signaling pathways [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (18): 6869.
- [7] 李晓琳,王芑,李茂星,等.毛蕊花糖苷防晒霜对紫外线辐射诱导大鼠皮肤损伤的保护作用研究[J].中南药学,2023,21(3):594-600.
- [8] 丁倩云,马双成,许凤国,等.桑白皮的化学成分、药理及质量控制研究进展[J].药物分析杂志,2021,41(7):1114-1124.
- [9] 赵晓玲.中药材地骨皮的质量评价方法研究[D].北京:北京协和医学院,2013.
- [10] 陈靖枝,卢星,胡运琪,等.传统中药地骨皮化学成分和药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2021,46(12):3066-3075.
- [11] 李志勇,刘洪超,周凤琴.地骨皮治疗小鼠皮肤烫伤的药效学研究[J].中药材,2011,34(8):1266-1270.
- [12] 叶田园,李志勇,李彦文,等.地骨皮提取物对热损伤大鼠皮肤成纤维细胞的保护作用[J].时珍国医国药,2015,26(11):2641-2643.
- [13] 吴永祥,吴丽萍,胡长玉,等.桑白皮中 sanggenon B 对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞炎症反应的影响[J].天然产物研究与开发,2018,30(7):1132-1137.
- [14] Jia YW, He W, Zhang HX, et al. Morusin ameliorates IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte inflammation and osteoarthritis via NF- $\kappa$ B signal pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 1227-1240.
- [15] 张潇亚,席晓霞,张豆,等.基于 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨敦煌白术饮子合过敏煎对小鼠特异性皮炎的治疗机制[J].时珍国医国药,2025,36(20):5-11.
- [16] Wu ZW, Mehrabi Nasab E, Arora P, et al. Study effect of probiotics and prebiotics on treatment of OVA-LPS-induced of allergic asthma inflammation and pneumonia by regulating the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. J Transl Med, 2022, 20(1):130.
- [17] 肖学敏.点阵 CO<sub>2</sub> 激光对紫外线照射所致豚鼠皮肤色素沉着的影响的实验研究[D].衡阳:南华大学,2011.
- [18] 欧阳晓勇.当代中医皮肤科临床家丛书(第2辑):刘复兴[M].北京:中国医药科技出版社,2015:191-192.
- [19] 薛崇祥,陈颖,鲍婷婷,等.全小林应用桑白皮、地骨皮、白鲜皮治疗老年皮肤瘙痒症经验[J].吉林中医药,2024,44(8):902-904.
- [20] 徐晓辰,丁焕发,刘淑娟,等.血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18 及 TNF- $\alpha$  水平在急性痛风性关节炎镇痛治疗不同时间动态变化的研究[J].中国医学创新,2016,13(24):4-10.
- [21] Xie YY, Chen ZL, Wu ZW. Four-octyl itaconate attenuates UVB-induced melanocytes and keratinocytes apoptosis by Nrf2 activation-dependent ROS inhibition [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9897442.
- [22] 单佳铃,程虹毓,文乐,等.TLR/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路参与不同疾病作用机制研究进展[J].中国药理学通报,2019,35(4):451-455.
- [23] Sun XJ, Li P, Qu XY, et al. Isovitexin alleviates acute gouty arthritis in rats by inhibiting inflammation via the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway [J]. Pharm Biol, 2021, 59(1):1326-1333.
- [24] 王双乐,刘欢,倪海滨.血府逐瘀汤对 COPD 模型小鼠炎症因子及 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响[J].中国中医急症,2022,31(5):769-772.

(收稿日期:2025-10-10;修回日期:2025-12-15)

## 不同来源的人激肽原酶在输液容器表面的吸附研究

邓玉程<sup>1, 3</sup>, 刘宇轩<sup>2</sup>, 张培彪<sup>3</sup>, 刘炳光<sup>4</sup>, 张贵民<sup>4\*</sup> (1. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 中国医科大学, 沈阳 110122; 3. 山东新时代药业有限公司, 山东 临沂 273400; 4. 鲁南制药集团股份有限公司, 山东 临沂 276000)

**摘要:** **目的** 量化低浓度人尿激肽原酶 (HUK) 与重组人激肽原酶 (rhK1) 在聚丙烯及玻璃输液容器表面因疏水相互作用导致的吸附程度并揭示吸附差异机制, 进而开发有效抑制策略。 **方法** 采用效价测定法精准量化超低浓度下 HUK 和 rhK1 在材料表面的吸附损失, 克服传统浓度检测局限; 结合液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS) 解析蛋白糖基化特征, 探究吸附差异的结构基础; 提出并验证基于表面活性剂聚山梨酯 80 (PS80) 竞争性抑制吸附的策略, 评估其对蛋白吸附的抑制效果。 **结果** 实验确证超低浓度下 HUK 和 rhK1 在输液容器表面吸附可导致约 40% 的效价损失。LC-MS 分析揭示, 两者因糖链结构差异调控的亲疏水平衡不同是吸附行为差异的关键。添加 0.002% 浓度 PS80 后, 两种蛋白的效价损失率均降至 5% 以内。该策略的机制在于 PS80 优先占据材料界面, 有效阻断蛋白与容器表面的疏水相互作用。本实验中 PS80 的总用量仅为 2 mg, 远低于其安全阈值 10 mg/kg。 **结论** 本研究通过 PS80 竞争性抑制 HUK/rhK1 在输液容器表面的吸附, 解决了由此产生的给药剂量偏差问题, 阐明了糖链结构调控亲疏水平衡是两者吸附差异的关键机制, 保障了蛋白类药物的递送有效性, 为低浓度蛋白制剂的开发提供了参考。

**关键词:** 人尿激肽原酶; 重组人激肽原酶; 表面吸附; 效价测定

**中图分类号:** R945

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-063-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.009

## Adsorption of human kininogenase from different sources at the surface of infusion containers

DENG Yucheng<sup>1, 3</sup>, LIU Yuxuan<sup>2</sup>, ZHANG Peibiao<sup>3</sup>, LIU Bingguang<sup>4</sup>, ZHANG Guimin<sup>4\*</sup> (1. *Ocean University of China, Qingdao Shandong 266003*; 2. *China Medical University, Shenyang 110122*; 3. *Shandong New Time Pharmaceutical Co., Ltd., Linyi Shandong 273400*; 4. *Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi Shandong 276000*)

**Abstract: Objective** To quantify the adsorption of low-concentration human urinary kallidinogenase (HUK) and recombinant human tissue kallikrein-1 (rhK1) on polypropylene and glass infusion container surfaces due to hydrophobic interactions, reveal the mechanism underlying the adsorption differences, and develop effective inhibition strategies. **Methods** A potency assay was used to precisely quantify the adsorption-induced potency loss of HUK and rhK1 at ultra-low concentrations, overcoming the limitations of conventional concentration detection methods. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) was used to determine protein glycosylation characteristics and the structural basis for the adsorption differences. Polysorbate 80 (PS80) for competitive inhibition of adsorption was proposed and evaluated. **Results** Experiments confirmed that the adsorption of HUK and rhK1 on the surface of infusion containers at ultra-low concentrations resulted in a potency loss of up to approximately 40%. LC-MS analysis revealed that the difference in their adsorption behaviors was primarily attributed to their distinct hydrophilic-hydrophobic balances, regulated by variations in glycan structures. Upon the addition of 0.002% PS80, the potency loss rates of both

**基金项目:** 山东省重点研发计划 (泰山产业领军人才工程) (No.tscx202306088)。

**作者简介:** 邓玉程, 男, 硕士研究生, 主要从事生物制剂研发方面的研究, email: 17503998119@163.com \* **通信作者:** 张贵民, 男, 研究员, 博士研究生导师, 主要从事药物制剂技术与开发方面的研究, email: lunanzhangguimin@163.com

proteins were suppressed to less than 5%. The mechanism involved the preferential occupation of the material interface by PS80, which effectively blocked the hydrophobic interactions between the proteins and the container surface. The total amount of PS80 used was 2 mg, which was far below its safety threshold of 10 mg/kg. **Conclusion** This study addresses the drug dosage deviation caused by the adsorption of HUK/rhK1 on infusion container surfaces through the competitive inhibition by PS80. The regulation of hydrophilic-hydrophobic balance by glycan structures is the key mechanism underlying their differential adsorption behaviors, which ensures the delivery efficacy of protein drugs, and offers a reference for developing low-concentration protein formulations.

**Key words:** human urinary kallidinogenase; recombinant human tissue kallikrein-1; surface adsorption; potency assay

人体内的激肽释放酶分为血浆激肽释放酶 (plasma kallikrein, PK) 和组织激肽释放酶 (tissue kallikrein, TK) 两大类<sup>[1-2]</sup>。PK 特异地在肝细胞中表达, 以高分子量激肽原为底物释放缓激肽<sup>[3-4]</sup>。TK 是一个由多基因 (*KLK1* ~ *KLK15*) 编码的蛋白酶家族, 成员为人组织激肽释放酶 1 ~ 15 (human tissue kallikrein 1 ~ 15, hK1 ~ hK15)<sup>[5]</sup>。后续研究证实, 该家族中仅有由 *KLK1* 基因编码的 hK1 能够有效裂解低分子量激肽原释放具有生物活性的激肽, 因此只有 hK1 保留了组织激肽释放酶的称谓, 其余成员则被称为激肽释放酶相关肽酶 (hK2 ~ hK15)<sup>[6-7]</sup>。由于 hK1 能够裂解激肽原, 所以也称为人激肽原酶。

目前临床上使用的人激肽原酶是从尿液中提取的, 如尤瑞克林是从人尿液中提取的人尿激肽原酶 (human urinary kallidinogenase, HUK)<sup>[8]</sup>; 而重组人组织激肽释放酶 (recombinant human tissue kallikrein, rhK1) 是通过基因工程技术在宿主细胞中表达的重组蛋白, 也称为重组人激肽原酶。两者来源不同, 在糖基化修饰方面略有不同, 但具有相似的酶活性, 均通过激活激肽释放酶-激肽系统发挥心脑血管保护作用, 从而起到预防和治疗急性缺血性脑卒中的效果<sup>[9-12]</sup>。该药物在临床上的给药方式是每次 0.15 PNA 单位溶于 100 mL 氯化钠注射液中静脉滴注, 静脉滴注时间不少于 50 min, 可根据患者情况增加溶媒用量和/或减慢滴速<sup>[13]</sup>。

前期针对 HUK 与 rhK1 的使用期间稳定性实验显示, 两者在氯化钠注射液输液瓶中存放时效价显著降低。进一步研究表明, 该效价损失源于药物蛋白在输液容器表面的吸附, 而非化学降解。这一现象可能直接影响需精准给药的脑卒中患者的治疗效果与预后。现有研究多聚焦高浓度药物的药效学评价, 忽视了输液材料与药物之间的相互作用, 且缺乏天然与重组人激肽原酶吸附行为的系统性对比。基于此, 本研究首次系统分

析两者吸附行为差异, 揭示结构对吸附机制的调控作用并提出解决方案, 以期临床输液容器选择、药物制剂优化提供理论支撑, 保障低浓度蛋白类药物的疗效与用药安全。

## 1 材料

### 1.1 仪器

SYC 型智能超级恒温水槽 (郑州予华仪器制造有限公司); KBF 240 型恒温恒湿箱 [宾德环境试验设备 (上海) 有限公司]; Evolution 300 型紫外分光光度计、QE Plus 型高分辨质谱仪、Vanquish UHPLC 型超高效液相色谱仪、Fresco 21 型高速冷冻离心机 [赛默飞世尔 (中国) 科技有限公司]; HVS-1800-U 型超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司)。

### 1.2 试药

注射用尤瑞克林 (规格: 0.15 PNA 单位, 批号: 24X02RA, 广东天普生化医药股份有限公司); 重组人组织激肽释放酶 (规格: 0.15 PNA/mL, 批号: 42202412002, 山东新时代药业有限公司); 氯化钠注射液 (规格: 100 mL/0.9 g, 辰欣药业股份有限公司); 注射用水 (国药集团容生制药有限公司); 三羟甲基氨基甲烷 (Tris)、盐酸胍 (中国医药集团有限公司); 发色底物 S-2266 (南京莱昂生物科技有限公司); 乙酸溶液 (西陇科学股份有限公司); 乙腈、二硫苏糖醇、碘乙酰胺、浓盐酸、聚山梨酯 80 (德国默克公司); Glu C 蛋白酶 (日本和光纯药工业株式会社); 甲酸 (梯希爱化成工业发展有限公司); ACQUITY UPLC peptide CSH C18 色谱柱 (2.1 mm×150 mm, 1.7 μm)、ACQUITY UPLC peptide CSH C18 VanGuard Pre 色谱柱 (2.1 mm×5 mm, 1.7 μm) (沃特世科技有限公司); 50 mL 蛋白低吸附离心管 (货号: CT-002-50A-PLR, 北京兰杰柯科技有限公司); 50 mL 离心管 (货号: 602001, 无锡耐思生命科技股份有限公司); 50 mL 中硼硅玻璃管制注射剂瓶 (肖特药品包装有限公司)。

## 2 方法与结果



## 2.1 HUK 和 rhK1 的 *N*-糖基化糖型分析

### 2.1.1 样品处理和 LC-MS 分析

① 样品处理：取一支尤瑞克林，注入 1 mL 注射用水复溶，再取一支 rhK1 作为供试品。在供试品中依次用 8 mol/L 盐酸胍变性、二硫苏糖醇（约 20 mmol/L）和碘乙酰胺（约 50 mmol/L）还原烷基化处理，将供试品转移至截留分子量为 10 kDa 的超滤管中，将其置换到 Tris-HCl（pH 7.5）缓冲液中，经 Glu C 蛋白酶酶解成肽段，随后加入甲酸（FA）终止酶切反应，即得 LC-MS 分析样品。

#### ② LC-MS 分析条件

LC 条件：流动相 A 为 0.1%FA 水溶液，流动相 B 为 0.1%FA 乙腈溶液，流速为 0.2 mL/min，检测波长 214 nm，柱温 60 °C，洗脱梯度见表 1。

MS 条件：分析时长为 100 min；ESI 正离子模式；母离子扫描范围：200 ~ 2000 *m/z*；喷雾电压：3.8 kV；毛细管温度：320 °C；鞘气流速：35 arb；辅助气流速：10 arb；辅助气加热温度：350 °C；NCE：27；一级质谱分辨率 70 000；二级质谱分辨率 17 500。数据采集方式：Full MS/dd-MS<sup>2</sup>。通

表 1 超高效液相色谱梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution program for ultra-performance liquid chromatography

| 时间 /min | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
|---------|---------|---------|
| 0.00    | 100.0   | 0.0     |
| 2.00    | 100.0   | 0.0     |
| 80.00   | 60.0    | 40.0    |
| 85.00   | 10.0    | 90.0    |
| 90.00   | 10.0    | 90.0    |
| 90.10   | 100.0   | 0.0     |
| 100.00  | 100.0   | 0.0     |

过 Biopharma Finder 4.0（Thermo）软件查库进行质谱数据处理。

2.1.2 HUK 和 rhK1 的 *N*-糖基化糖型差异分析  
蛋白质糖基化可分为两种主要类型：*N*-糖基化和 *O*-糖基化。由于多种原因，*O*-糖基化糖型的表征被认为是一项艰巨的任务<sup>[14]</sup>。LC-MS 是糖基化加合物稳健、定量和多重分析领域的主要分析平台<sup>[15]</sup>。在本实验中，通过 LC-MS 对 HUK 和 rhK1 的 *N*-糖基化糖型进行分析。实验结果如图 1 ~ 2 所示。

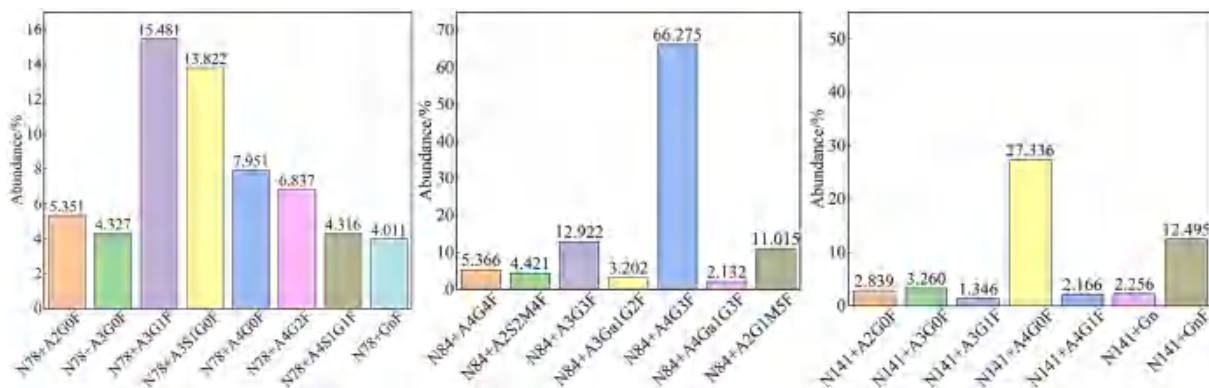


图 1 HUK 不同位点 *N*-糖基化糖型相对百分含量

Fig 1 Relative percentage content of *N*-glycosylation glycoforms at different sites of HUK

注：N 代表糖基化位点在肽链中的 Asn 位置；A 值代表天线数（糖分支数）；G 值代表末端半乳糖数量；S 值代表唾液酸化；F 值代表岩藻糖基化。

Note: N denotes the position of the glycosylation site relative to the Asn residue in the peptide chain; A value represents the number of antennae (sugar branches); G value represents the number of terminal galactose residues; S value represents sialylation; F value represents fucosylation.

从图 1 可以看出 HUK 的主要 *N*-糖基化组成为 N78 + A3G1F、N78 + A3S1G0F、N84 + A4G3F、N141 + A4G0F，糖基化位点与 UniProt 数据库查询结构一致；从图 2 可以看出 rhK1 的主要 *N*-糖基化组成为 N78 + A3G3F、N84 + A3S1G2F、N84 + A2S1G1F。*N*-糖基化是蛋白质翻译后修饰的一种重要形式，糖链通过与蛋白质的天冬酰胺（Asn）残基连接。*N*-糖链具有一个共同的核心结构：两个 *N*-乙酰葡萄糖胺（GlcNAc）和三个甘露糖（Man），即 Man3GlcNAc2。根据核心结构外围糖链的不同，*N*-糖可以分为三类：高甘露糖型、杂合型和复合型<sup>[16]</sup>。HUK 和 rhK1 的主要糖型均含 Man3GlcNAc2 核心和

核心岩藻糖，HUK 的糖基化位点包括 N78、N84 和 N141，其中 N78 以低岩藻糖基化的混合型糖链为主，N84 呈现高分支特征，而独有的 N141 位点为无岩藻糖的四天线结构。相比之下，rhK1 仅保留 N78 和 N84 位点，其 N78 以高岩藻糖基化为标志，N84 则表现为唾液酸化主导的糖型，缺乏 N141 位点。

两者的糖型差异在于分支复杂度、唾液酸化程度以及半乳糖修饰。HUK 含有 A4 高分支结构，天线分支数以 A3/A4 高分支结构为主，而 rhK1 的主要糖型为中低分支的 A2/A3 天线结构；HUK 的糖型中唾液酸化程度较低，而 rhK1 含有更多唾液酸化修饰，其糖链以 G2/S1 末端为主；HUK 在 N141 位

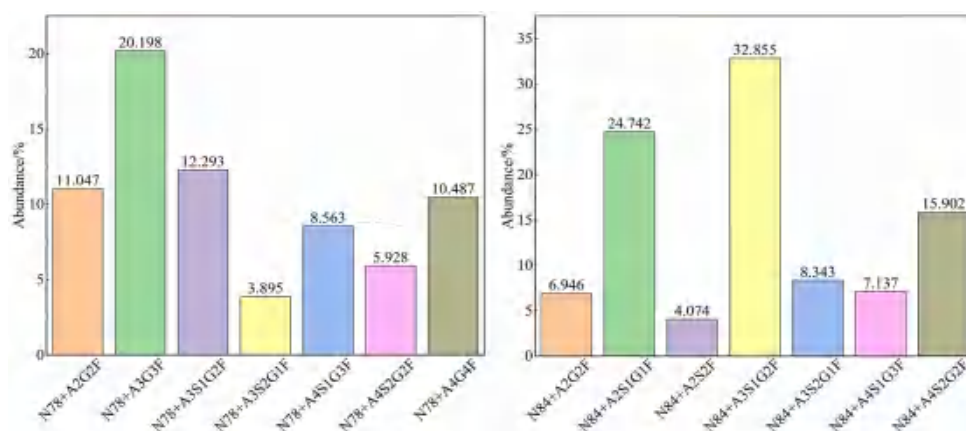


图2 rhK1不同位点N-糖基化糖型相对百分含量

Fig 2 Relative percentage content of N-glycosylation glycoforms at different sites of rhK1

注: N代表糖基化位点在肽链中的Asn位置; A值代表天线数(糖分支数); G值代表末端半乳糖数量; S值代表唾液酸化; F值代表岩藻糖基化。

Note: N denotes the position of the glycosylation site relative to the Asn residue in the peptide chain; A value represents the number of antennae (sugar branches); G value represents the number of terminal galactose residues; S value represents sialylation; F value represents fucosylation.

点存在A4G0F这种缺乏半乳糖和唾液酸的G0末端高分支结构,而rhK1在相同位点没有糖基化修饰。这些差异源于蛋白来源与表达系统的不同:天然来源的HUK保留高分支糖链与独特位点,适合多价相互作用;基因工程来源的rhK1因CHO细胞的高唾液酸转移酶活性,形成唾液酸化与岩藻糖基化主导的糖型,有利于提升稳定性和免疫调节功能。

## 2.2 HUK和rhK1的效价测定

### 2.2.1 样品配制

① 不含表面活性剂的注射液:取一支尤瑞克林,注入1 mL注射用水复溶,将此溶液注入100 mL氯化钠注射液中,配制得到浓度约为0.0015 PNA/mL的HUK注射液。取两支rhK1,每支抽取1 mL分别注入100 mL氯化钠注射液中,配制得到相同浓度(0.0015 PNA/mL)的rhK1注射液。将上述三瓶配制好的注射液,分别取25 mL样品至玻璃瓶、离心管和蛋白低吸附离心管内。取样后立即测定0 h效价(T0)。将剩余药液于25℃条件下放置6 h后,再次取样测定效价。

② 含PS80的注射液[含0.002% (w/V) PS80]:取三瓶氯化钠注射液,每瓶抽出2 mL液体弃去后注入2 mL 0.1% (w/V) PS80溶液,随后取一瓶注入1 mL尤瑞克林药液,另外两瓶各注入1 mL rhK1药液,配制三瓶含0.002% (w/V) PS80且浓度为0.0015 PNA/mL的注射液,立即测定0 h效价并于25℃放置6 h后再次测定效价。

2.2.2 效价测定方法 效价单位定义:在37℃、pH 8.0的条件下,每分钟水解1 μmol缬氨酸-亮氨酸-精氨酸-对硝基苯胺的酶量为1 PNA单位(PNA:对硝基苯胺)。照紫外-可见分光光度法(《中国药典》2025年版四部通则0401)测定。取试管四支,各精密加入

待测样品1.0 mL,再分别加入0.2 mol/L Tris缓冲液3.2 mL,混匀,置(37±0.5)℃水浴中保温5 min,再于第1管中加入50%乙酸溶液0.4 mL,其余3管中加入底物溶液0.4 mL,立即摇匀,置(37±0.5)℃水浴中准确反应15 min,反应后在第1管中加入底物溶液0.4 mL,第2、3、4管中各加入50%乙酸溶液0.4 mL终止反应,在405 nm波长处,以第1管为空白,测定吸收值。按下式计算:每1 mL样品的效价(PNA单位)=34.72×A/1000(A为吸光度平均值)。

2.2.3 HUK和rhK1效价测定结果分析 按“2.2.2”项下方法对“2.2.1”项下样品进行效价测定,结果见图3,HUK和rhK1在聚丙烯(PP)材质的盐水瓶、离心管及中硼硅玻璃瓶中存放6 h后效价明显降低,而在蛋白低吸附离心管中效价降低情况明显改善,表明HUK和rhK1效价降低是由吸附在容器表面导致,而非生物降解所致。

HUK和rhK1在不同容器中的效价保留百分比如图3所示。HUK在PP容器中吸附率(1-效价保留率)约为40%,在玻璃容器中吸附率约为30%;rhK1在PP容器中吸附率约为35%,在玻璃容器中吸附率约为40%。可以看出rhK1更倾向于吸附在玻璃(亲水性)表面,HUK倾向于吸附在PP(疏水性)表面。HUK和rhK1吸附行为的差异主要来源于结构的差异。尽管两者的氨基酸序列高度相似,但最大的差异是糖型的不同。HUK的糖型以高分支结构为主,且唾液酸化程度较低,同时存在缺半乳糖的G0型糖链,此类糖型结构导致其表面疏水性增强。高分支糖链的紧密折叠会暴露蛋白疏水残基,而G0型末端的GlcNAc进一步增加疏水性,因此HUK更倾向吸附于疏水性表面,在PP材料中也表现出更高的吸附率。相比



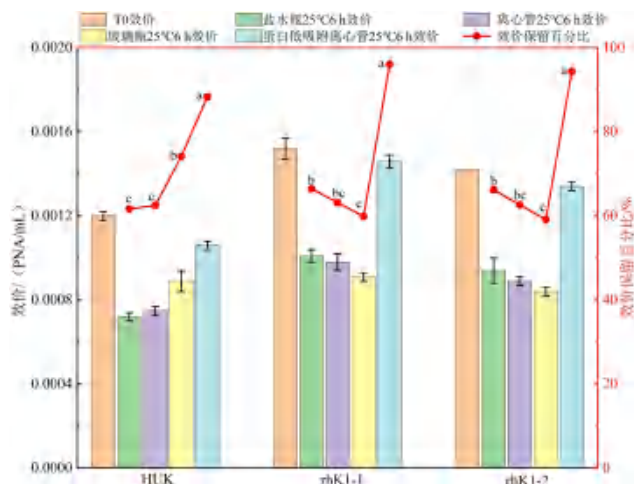


图 3 HUK 和 rhK1 在不同容器中的效价

Fig 3 Potency of HUK and rhK1 in different containers

 注:不同字母表示同种药液组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

 Note: Different letters indicate statistically significant differences between groups of the same drug solution ( $P < 0.05$ ).

之下, rhK1 的糖型以中低分支为主, 唾液酸化程度更高, 且半乳糖修饰完整, 此类结构可通过唾液酸的羧基与羟基形成亲水屏障, 并增加负电荷密度, 促使 rhK1 更易与亲水表面通过氢键网络结合, 而在疏水表面的吸附作用相对较弱。糖型结构差异是驱动 HUK 与 rhK1 吸附行为分化的核心因素, 为重组蛋白制剂开发、生物材料表面设计及临床给药系统选择提供了分子层面的理论依据。

#### 2.2.4 添加 PS80 后 HUK 和 rhK1 效价测定结果分析

添加 0.002%PS80 前后的 HUK 和 rhK1 注射液的吸附数据如图 4 所示。加入 PS80 后, HUK 和 rhK1 的 T0 及 25℃ 存放 6 h 后的效价均显著高于未添加 PS80 组, 且 25℃ 存放 6 h 后效价保留百分比接近一百, 远高于未添加 PS80 组。未添加表活的注射液 T0 效价明显低于添加 PS80 的注射液, 表明 HUK 和 rhK1 在配制完成后极短的时间内发生了快速吸附。使用 SPSS 27 对添加和未添加 PS80 的 HUK 和 rhK1 的效价保留百分比进行单因素方差分析, 结果表明, PS80 消除了 HUK 和 rhK1 在盐水瓶表面上吸附行为的差异, 无论是 HUK 还是 rhK1 在添加 PS80 后均未发生明显吸附, 效价保留百分比均大于 97%, 远远高于未添加 PS80 的注射液。PS80 凭借其高表面活性, 通过与 HUK 和 rhK1 竞争吸附在容器表面, 成功地抑制了蛋白质吸附至固体容器表面。

PS80 是市售生物制品中最常用的表面活性剂, 有研究表明, 市售抗体 Libtayo 剂量体积高达 7 mL, 其中 PS80 质量浓度为 2 mg/mL, 因此通过静脉输注使用高达 14 mg 的 PS80<sup>[17]</sup>。该实验添加 0.002% 的 PS80 总量仅有 2 mg, 远低于市售生物制品最高静脉输注施用量和安全阈值 10 mg/kg<sup>[18]</sup>。

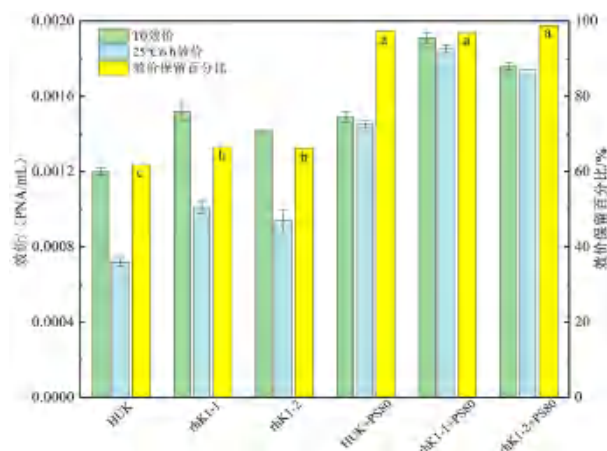


图 4 添加 PS80 前后 HUK 和 rhK1 的效价

Fig 4 Potency of HUK and rhK1 before and after the addition of PS80

 注: 不同字母表示组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

 Note: Different letters indicate statistically significant differences between groups ( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

本研究采用效价测定法探究蛋白质在容器表面的吸附行为, 解决了低浓度蛋白质难以通过传统浓度测定研究吸附的难题; 同步运用 LC-MS 法测定 HUK 与 rhK1 的 N-糖基化糖型, 结合吸附数据解析糖型差异与吸附行为的关联, 最终建立低浓度蛋白质表面吸附的解决方案。

研究发现, HUK 与 rhK1 在 PP 及中硼硅玻璃表面均表现出较高吸附率, 其中 HUK 更倾向于吸附于 PP 表面, 而 rhK1 则更倾向吸附于中硼硅玻璃表面, 这种差异主要由疏水相互作用所主导。PP 表面本质为疏水性, 中硼硅玻璃表面本质为亲水性<sup>[19-20]</sup>。HUK 与 rhK1 均为高内部稳定性的“硬”蛋白质, 吸附行为由蛋白质与容器表面的疏水及静电相互作用共同调控<sup>[21]</sup>。以 0.9%NaCl 为稀释溶液时, 较高离子强度可屏蔽表面电荷, 削弱静电作用, 使疏水相互作用成为两者吸附差异的主导因素<sup>[22]</sup>。进一步研究表明, 该吸附行为的差异本质源于糖链结构与末端化学基团对蛋白表面亲疏水平衡的调控。HUK 的糖型表现为高分支、低唾液酸化及 G0 末端结构, 使其整体更疏水, 易于吸附于疏水界面; 而 rhK1 的糖型呈现中低分支、高唾液酸化和 G2/S1 末端结构, 使其更亲水, 倾向于吸附于亲水界面。为抑制吸附, 本研究在 HUK 和 rhK1 注射液中添加表面活性更强的 PS80 (0.002%), 效价降低的情况显著改善。PS80 作为一种非离子型表面活性剂, 其分子结构包含疏水的单油酸酯链、亲水的聚氧乙烯链以及连接二者的山梨醇酐环<sup>[23-24]</sup>。凭借其高表面活性, PS80 快速吸附至气/液或固/液等高能界面, 优先占据界面位点并形成定向排列的单分子层, 与 HUK 和 rhK1 竞



争吸附在容器表面,从而抑制蛋白质分子吸附至固体容器表面,进而减少蛋白质在界面的吸附量<sup>[25-28]</sup>。

综上,本文系统研究了天然与重组人激肽原酶在不同材质容器表面的吸附行为差异,揭示了糖基化结构通过调控蛋白质亲疏水平衡而影响吸附选择性的机制。通过表面活性剂竞争性抑制策略解决了人激肽原酶因吸附导致的效价降低问题,为其他低浓度蛋白制剂提供了普适性风险警示与解决方案。本研究为优化蛋白制剂配方提供了关键理论依据,从剂量准确性和治疗安全性双重维度保障了蛋白类药物的临床应用。

## 参考文献

- [1] Pathak M, Wong SS, Dreveny I, et al. Structure of plasma and tissue kallikreins [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 110 (3): 423-433.
- [2] Björkqvist J, Jämsä A, Renné T. Plasma kallikrein: the bradykinin-producing enzyme [J]. *J Thromb Haemost*, 2013, 110 (9): 399-407.
- [3] Wisniewski P, Gangnus T, Burckhardt BB, et al. Recent advances in the discovery and development of drugs targeting the kallikrein-kinin system [J]. *J Transl Med*, 2024, 22 (1): 388.
- [4] Motta G, Juliano L, Chagas JR. Human plasma kallikrein: roles in coagulation, fibrinolysis, inflammation pathways, and beyond [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1-12.
- [5] Diamandis EP, Yousef GM, Clements J, et al. New nomenclature for the human tissue kallikrein gene family [J]. *Clin Chem*, 2000, 46 (11): 1855-1858.
- [6] Devetzi M, Goulielmaki M, Khoury N, et al. Genetically-modified stem cells in treatment of human diseases: tissue kallikrein (KLK1)-based targeted therapy (review) [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41 (3): 1177-1186.
- [7] Chen J, Wu JX, Wu QY, et al. Biosynthesis and secretion of human tissue kallikrein in transgenic chlamydomonas reinhardtii [J]. *Mar Drugs*, 2018, 16 (12): 493.
- [8] Emanuelia C, Madeddu P. Human tissue kallikrein: a new bullet for the treatment of ischemia [J]. *Curr Pharm Des*, 2003, 9 (7): 589-597.
- [9] Alexander-Curtis M, Pauls R, Chao JL, et al. Human tissue kallikrein in the treatment of acute ischemic stroke [J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2019, 12: 1-15.
- [10] Xie YJ, Li SY, Zhang J, et al. Human urinary kallidinogenase may improve the prognosis of acute stroke patients with early neurological deterioration [J]. *Brain Behav*, 2022, 12 (3): e2524.
- [11] Wang RX, Zhang YJ, Shao YJ, et al. Efficacy and safety of human urinary kallidinogenase for acute ischemic stroke: a retrospective single-center study [J]. *Neurologist*, 2024, 29 (1): 36-40.
- [12] Wang MM, Guo CW, Yang J, et al. The effectiveness and safety of human urinary kallidinogenase in acute ischemic stroke patients undergoing endovascular therapy [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2024, 44 (9): 1565-1576.
- [13] 王东, 张咏, 邓可, 等. 尤瑞克林联合丁苯酞氯化钠注射液治疗急性进展型脑梗死的疗效观察 [J]. *中南药学*, 2017, 15 (7): 989-992.
- [14] Mulagapati S, Koppolu V, Raju TS. Decoding of O-linked glycosylation by mass spectrometry [J]. *Biochemistry*, 2017, 56 (9): 1218-1226.
- [15] Rabbani N, Ashour A, Thornalley PJ. Mass spectrometric determination of early and advanced glycation in biology [J]. *Glycoconj J*, 2016, 3 (4): 553-568.
- [16] 顾星月, 高伟, 鲁翔. 蛋白质酶促糖基化修饰在阿尔茨海默病中的研究进展 [J]. *实用老年医学*, 2025, 39 (6): 631-635.
- [17] Strickley RG, Lambert WJ. A review of formulations of commercially available antibodies [J]. *J Pharm Sci*, 2021, 110 (7): 2590-2608.
- [18] 张明, 萧惠来. EMA 对说明书中辅料聚山梨酯安全性资料的最新要求 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42 (6): 1075-1080.
- [19] Himma NF, Wardani AK, Wenten IG. The effects of non-solvent on surface morphology and hydrophobicity of dip-coated polypropylene membrane [J]. *Mater Res Express*, 2017, 4 (5): 054001.
- [20] Silverio V, Canane PAG, Cardoso S. Surface wettability and stability of chemically modified silicon, glass and polymeric surfaces via room temperature chemical vapor deposition [J]. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, 2019, 570: 210-217.
- [21] Pinholt C, Hartvig RA, Medlicott NJ, et al. The importance of interfaces in protein drug delivery-why is protein adsorption of interest in pharmaceutical formulations? [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8 (7): 949-964.
- [22] Besheer A. Protein adsorption to in-line filters of intravenous administration sets [J]. *J Pharm Sci*, 2017, 106 (10): 2959-2965.
- [23] Kerwin BA. Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways [J]. *J Pharm Sci*, 2008, 97 (8): 2924-2935.
- [24] Hassan A, Diederichs T, Garidel P, et al. Anomalous clouding behavior of polysorbate 80-deciphering the role of nonesterified components [J]. *Mol Pharm*, 2025, 22 (6): 2917-2926.
- [25] Larson NR, Wei YJ, Prajapati I, et al. Comparison of polysorbate 80 hydrolysis and oxidation on the aggregation of a monoclonal antibody [J]. *J Pharm Sci*, 2020, 109 (1): 633-639.
- [26] Zürcher D, Wuchner K, Arosio P. Mitigation strategies against antibody aggregation induced by oleic acid in liquid formulations [J]. *Mol Pharm*, 2024, 21 (11): 5761-5771.
- [27] Kannan A, Shieh IC, Negulescu PG, et al. Adsorption and aggregation of monoclonal antibodies at silicone oil-water interfaces [J]. *Mol Pharm*, 2021, 18 (4): 1656-1665.
- [28] 周颖, 蒋赞, 李昌亮, 等. 不同企业、不同级别聚山梨酯 80 中过氧化物测定及比较研究 [J]. *中南药学*, 2025, 23 (8): 2421-2427.

(收稿日期: 2025-11-03; 修回日期: 2025-12-29)

# 蒙药扎冲十三味丸调控海马溶酶体通路 抗大鼠脑缺血损伤的机制研究

陈文彬<sup>1</sup>, 尚津锋<sup>1</sup>, 宋琪<sup>1</sup>, 韦婉婷<sup>1</sup>, 王伯洪<sup>1</sup>, 卫然<sup>1</sup>, 冀梦瑶<sup>1</sup>, 魏天城<sup>1</sup>, 白梅荣<sup>2</sup>, 刘欣<sup>1\*</sup>  
(1.北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2.内蒙古民族大学蒙医药研发工程教育部重点实验室, 内蒙古 通辽 028000)

**摘要:** **目的** 探讨蒙药扎冲十三味丸对脑缺血损伤的保护作用及其通过调控海马溶酶体通路的作用机制。**方法** 研究分为体内与体外两部分。体内药效评价采用大脑中动脉阻塞(MCAO)模型大鼠, 随机分为假手术组, 模型组, 扎冲十三味丸高、中、低剂量(324、162、81 mg/kg)组及阳性药(金纳多, 21.6 mg/kg)组。通过神经功能评分与 TTC 染色测定脑梗死率、HE 与尼氏染色观察病理形态, 评估药物疗效; 体外药效评价建立 PC12 细胞氧糖剥夺/复氧(OGD/R)模型, 随机分为对照组, 模型组, 扎冲十三味丸含药血清高、中、低剂量(5%、2.5%、1.25%含药血清)组及阳性药(依达拉奉, 1 μg/mL)组, 采用 CCK-8 法检测细胞活力。机制研究基于蛋白质组学技术筛选差异表达蛋白并进行 KEGG 通路富集分析, 锁定关键通路。通过 ELISA、溶酶体荧光探针及透射电镜检测溶酶体活性与数量变化, 采用免疫组化、Western blot 及 RT-qPCR 技术, 验证溶酶体通路相关蛋白(LAMP2、AP3M1、SCARB2)的表达变化。**结果** 药效学研究显示, 扎冲十三味丸中剂量(162 mg/kg)能显著减小脑梗死体积、改善神经功能评分并减轻海马神经元损伤; 其含药血清中剂量(2.5%含药血清)能显著提高 OGD/R 损伤的 PC12 细胞活力。蛋白质组学分析显示, 溶酶体通路是扎冲十三味丸抗脑缺血损伤的关键通路。分子生物学实验证实, 扎冲十三味丸可下调 LAMP2 和 AP3M1 的表达, 上调 SCARB2 的表达, 从而调控溶酶体功能。**结论** 蒙药扎冲十三味丸可能通过调控海马溶酶体通路, 改善溶酶体功能障碍, 从而发挥抗脑缺血损伤的作用。

**关键词:** 蒙药; 扎冲十三味丸; 脑缺血; 海马; 溶酶体通路; 机制研究

中图分类号: R285, R29 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2026)05-069-09  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.010

## Mechanism of Mongolian medicine Zhachong Shisanwei pills in alleviating cerebral ischemia injury in rats via hippocampal lysosomal pathway

CHEN Wenbin<sup>1</sup>, SHANG Jinfeng<sup>1</sup>, SONG Qi<sup>1</sup>, WEI Wanting<sup>1</sup>, WANG Bohong<sup>1</sup>, WEI Ran<sup>1</sup>, JI Mengyao<sup>1</sup>, WEI Tiancheng<sup>1</sup>, BAI Meirong<sup>2</sup>, LIU Xin<sup>1\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488; 2. Key Laboratory of Mongolian Medicine Research and Development Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Minzu University, Tongliao Inner Mongolia 028000)

**Abstract: Objective** To determine the protective effect of Mongolian medicine Zhachong Shisanwei pills against cerebral ischemic injury and its potential mechanism via modulating the hippocampal lysosomal pathway. **Methods** The study consisted of in vivo and in vitro experiments. To evaluate the in vivo efficacy, a middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established in rats. The rats were randomly divided into a sham group, a model group, Zhachong Shisanwei pill high-, medium-, low-dose (324 mg/kg, 162 mg/kg, and 81 mg/kg) groups and a positive control (Ginaton, 21.6 mg/kg) group. The neurological function scores and TTC staining for cerebral infarction rate, HE and Nissl staining were used to assess the efficacy. For in vitro efficacy evaluation, an oxygen-glucose deprivation/reoxygenation

**基金项目:** 蒙医药研发工程教育部重点实验室开放课题项目 (No.MDK2023062, No.MDK2022043)。

**作者简介:** 陈文彬, 男, 硕士研究生, 主要从事脑缺血及中药复方干预方面的研究, email: wenbin990915@126.com \*通信作者: 刘欣, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事脑缺血及中药复方干预方面的研究, email: liuxin1011@bucm.edu.cn

(OGD/R) model was established in PC12 cells. Cells were randomly divided into a control group, an OGD/R group, Zhachong Shisanwei pill-containing serum high-, medium-, low-dose (5%, 2.5%, and 1.25%) groups, and a positive control (edaravone, 1  $\mu\text{g/mL}$ ) group. The cell viability was assessed with the CCK-8 assay. Mechanistic investigations involved screening differentially expressed proteins via proteomics and identifying key pathways through KEGG enrichment analysis. Lysosome activity and quantity were evaluated by ELISA, lysosome fluorescent probes, and transmission electron microscopy. The expression levels of key lysosomal pathway proteins (LAMP2, AP3M1, and SCARB2) were validated by immunohistochemistry, Western blot, and RT-qPCR. **Results** Pharmacodynamic studies demonstrated that the medium dose of Zhachong Shisanwei pill (162 mg/kg) greatly reduced the cerebral infarct volume, improved neurological function scores, and alleviated hippocampal neuronal damage. The medium dose of Zhachong Shisanwei pill-containing serum (2.5%) markedly enhanced the viability of OGD/R-injured PC12 cells. Proteomics revealed that the lysosomal pathway was a key target of Zhachong Shisanwei pills against cerebral ischemic injury. Molecular biology experiments confirmed that Zhachong Shisanwei pills downregulated the expression of LAMP2 and AP3M1 while upregulated the expression of SCARB2, thus modulating the lysosomal function. **Conclusion** The Mongolian medicine Zhachong Shisanwei pill may exert its protective effect against cerebral ischemic injury by regulating the hippocampal lysosomal pathway and ameliorating lysosomal dysfunction.

**Key words:** Mongolian medicine; Zhachong Shisanwei pill; cerebral ischemia; hippocampus; lysosomal pathway; mechanism

脑卒中是全球范围内导致死亡和残疾的主要原因,其终生发病风险高达 8%~10%<sup>[1]</sup>。这一问题在中国尤为突出<sup>[2-3]</sup>。预测表明,至 2050 年,脑卒中仍将是我国人口死亡和伤残调整寿命年损失的首要病因<sup>[4]</sup>。中医认为中风的基本病机为阴阳失调,气血逆乱,其病位在脑,气血不足或肝肾阴虚是致病之本,气血发生逆乱而致卒中<sup>[5]</sup>。治疗中风主要采用中药、针灸、推拿和食疗等方法,旨在疏通经络,以及平衡阴阳<sup>[6]</sup>。扎冲十三味丸又称嘎日迪-13 味丸,是蒙医的传统药方,由诃子、制草乌、石菖蒲、木香、麝香、制珊瑚、制珍珠、肉豆蔻、丁香、沉香、禹粮土、煅磁石、甘草共 13 味中药材组成,其功效包括除“协日乌素”、镇静安神、祛风通窍、舒筋活血。经过长期的临床观察,扎冲十三味丸在心脑血管疾病、神经系统疾病、风湿类疾病等方面取得了较好的临床疗效<sup>[7]</sup>,主要用于治疗急性脑梗死、脑缺血、脑血栓、坐骨神经痛等神经系统疾病,对协日乌素症(风湿病)、关节协日乌素(风湿性关节炎)、萨病(中风、脑卒中)等疾病均有疗效<sup>[8-9]</sup>。研究表明,脑缺血中溶酶体发挥作用常伴随着自噬途径,自噬是一种主要的降解途径,负责去除异常的蛋白质聚集体和受损的细胞器,并且自噬体必须与溶酶体融合发挥降解功能<sup>[10]</sup>。为此,本研究在确定蒙药扎冲十三味丸改善脑缺血损伤的最佳有效剂量基础上,将蛋白质组学与药理实验相结合,探究蒙药扎冲十三味丸抗脑缺血的作用特点及其调控脑缺血状态下溶酶体功能

的作用机制。

## 1 材料

### 1.1 试药

扎冲十三味丸(批号:M14060747,内蒙古民族大学附属医院蒙药制剂室,规格:2 g/丸);金纳多(批号:8710120,德国威玛舒培博士药厂);依达拉奉(批号:80-210801,江苏先声药业);2,3,5-三苯基氯化四氮唑染液(TTC)、苏木精-伊红染色(HE)试剂盒、尼氏染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);戊二醛固定液(上海麦克林生化科技股份有限公司);4%多聚甲醛固定液(武汉赛维尔生物科技有限公司);大鼠溶酶体 ELISA 试剂盒(批号:ST-H4565,上海森肽生物科技有限公司);RNA 提取试剂盒(批号:017E2211JA,南京诺唯赞生物科技股份有限公司);溶酶体相关膜蛋白 2 抗体(LAMP2)、AP-3 complex subunit mu-1 抗体(AP3M1)(Proteintech);清道夫受体 B 类成员 2 抗体(SCARB2,Abcam);超敏 ECL 化学发光试剂盒(批号:P10200,新赛美生物科技有限公司);山羊抗鼠二抗(Solarbio); $\beta$ -actin、山羊抗兔二抗(Affinity);Cell Counting Kit-8(苏州新赛美生物科技有限公司);LysoSensor Green DND-189(南通飞宇生物科技有限公司);Lyso-Tracker Red(上海碧云天生物技术股份有限公司)。

### 1.2 仪器

石蜡切片机、水浴锅(Leica);化学发光成像仪(GE Healthcare);透射电子显微镜(日本



Hitachi); 荧光定量 PCR 检测仪 (Bio-Rad); 低速台式离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 酶标仪 (BioTek); 细胞计数仪 (美国 Thermo Fisher); 细胞培养箱 (美国 Nuair); 倒置荧光显微镜、显微镜 (Olympus)。

### 1.3 实验动物

SPF 级 6 ~ 8 周龄健康雄性 SD 大鼠 86 只, 体重 (200 ± 10) g, 购于北京斯贝福生物技术有限公司, 饲养于北京中医药大学动物房, 于室温 22 ~ 25 °C, 相对湿度 50% ~ 60%, 12 h/12 h 明暗交替环境中适应性饲养 5 d 后进入实验。实验动物许可证号 SCXK (京) 2024-0001, 实验经北京中医药大学伦理委员会批准, 伦理编号 BUCM-2024121702-4244。

### 1.4 细胞来源

PC12 细胞 (大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤克隆化细胞株细胞) 来源于北京中医药大学中药学院。

## 2 方法

### 2.1 动物实验

**2.1.1 动物造模、分组和给药** 在药效学研究 (神经功能评分、脑梗死率、组织染色) 中, 将大鼠随机分为假手术组, 模型组, 扎冲十三味丸高 (324 mg/kg)、中 (162 mg/kg)、低 (81 mg/kg) 剂量组, 阳性药 (金纳多, 21.6 mg/kg) 组<sup>[11]</sup>。根据临床用量折算, 扎冲十三味丸临床等效剂量为 162 mg/kg, 将此设置为中剂量, 临床等效剂量的两倍为高剂量, 临床等效剂量的二分之一为低剂量。考虑到阳性药的作用机制可能与所研究通路存在不同, 因此在机制研究 (ELISA、免疫组化、RT-qPCR) 中, 将大鼠随机分为假手术组、模型组、扎冲十三味丸最佳剂量组。各给药组大鼠每日早晚各灌胃 1 次, 持续 5 d, 其余组大鼠灌胃同体积蒸馏水。于末次给药 1 h 后, 进行造模。

以大脑中动脉阻塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型为脑缺血模型, 采用改良 Zea-Longa 线栓法制备模型<sup>[12]</sup>。术前大鼠禁食不禁水 12 h 后, 异氟烷吸入麻醉, 仰卧位固定。大鼠颈部脱毛后, 手术剪做颈部正中切口, 钝性分离颈总、颈外与颈内动脉, 近心端结扎颈总动脉, 并剪一小口, 插入线栓至标记进入颈内与颈总动脉分叉处, 用缝合线将线栓系于颈总动脉处, 随后缝合, 术后保温。假手术组除不插线栓外, 其他与模型组大鼠操作一致。61 只大鼠经 MCAO 造模后, 有 4 只大鼠死亡。将存活的 57 只 MCAO 大鼠和 15 只假手术大鼠随机分组: 药效学研究中分为 6 组, 每组 9 只, 共计 54 只; 机制研究中分为 3 组, 每组 6 只, 共计 18 只。造模后 1 h, 根据随机盲法原则, 对各组大鼠分

别采用 Longa 五分法进行评分<sup>[12]</sup>。神经功能评分在 2 ~ 3 分的大鼠评价为造模成功, 可开展后续实验。具体评分标准为: 0 分, 属于正常神经功能; 1 分, 动物左前肢不能完全伸展; 2 分, 动物左侧肢体瘫痪, 行走时向左侧绕圈; 3 分, 动物行走向左侧跌倒, 不能站立或打滚; 4 分, 没有自发活动, 出现意识障碍。

**2.1.2 脑组织取材** 在大鼠造模后 12 h, 异氟烷吸入麻醉, 腹主动脉取血后死亡, 开胸暴露心脏, 剪开心耳, 向左心室灌注 4 °C 生理盐水约 100 mL。迅速进行脑组织取材, 后分离患侧海马 CA1 区组织, 将其置于 - 80 °C 贮藏备用。

**2.1.3 神经功能评分评价神经功能** 造模后 12 h, 根据随机盲法原则, 采用 Garcia JH 评分法<sup>[13]</sup>对各组大鼠进行神经功能评分。从自主运动、体态的对称性、前肢伸展运动、网屏实验、身体触觉反射及胡须触觉反射, 共计 6 个方面评定大鼠神经功能损伤程度, 评分范围为 3 ~ 18 分, 评分越低表明其损伤越严重。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.4 TTC 染色计算脑梗死率** 大鼠脑组织用 4 °C 生理盐水洗去表面血液, 用滤纸吸去表面液体, 在 - 20 °C 下冷冻 20 min。沿冠状纵切成 5 片, 放入 15 mL 固定瓶中, 加入 2% 的 TTC 染液, 37 °C 水浴约 15 min, 将 TTC 倒出, 并固定在 4% 组织固定溶液中。根据盲法原则, 对染色切片的图像进行拍照和记录, 用 Image J 软件画出每个脑片的缺血面积和全脑片面积, 计算脑梗死率。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.5 HE 染色观察病理组织改变** 将大鼠患侧海马组织存放至 4% 多聚甲醛中保存, 脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制备石蜡切片, 将其平铺在 40 °C 的水中, 展片后载玻片捞起。60 °C 烘箱内烤片, 脱蜡水化后, 进行 HE 染色, 脱水中性树脂封片。根据盲法原则, 于光学显微镜下观察患侧海马 CA1 区组织部位图像并采集。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.6 尼氏染色观察尼氏体和神经元** 大鼠患侧海马组织切片脱蜡复水后于恒温箱 56 °C 焦油紫染色 30 min, 酒精灯加热, 去离子水洗涤, 尼氏分化液分化, 无水乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片。根据盲法原则, 于光学显微镜下观察患侧海马 CA1 区组织部位神经元的情况并采集图像。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.7 蛋白质组学筛选差异表达蛋白和关键富集通路** 取大鼠患侧海马组织适量, 液氮研磨, 加入适量蛋白酶抑制剂。4 °C 下 14 000 × g 离心 20 min, 取上清液。依次加入适量二硫苏糖醇还原、

碘代乙酰胺烷基化,并用碳酸氢铵稀释 4 倍。加入适量胰酶,于 37℃ 下孵育过夜,而后终止酶切。使用 100  $\mu\text{L}$  乙腈活化 C18 柱,以 1200 r/min 离心 3 min。再用 100  $\mu\text{L}$  0.1% 甲酸冲洗两次,以 1200 r/min 离心 3 min。用 100  $\mu\text{L}$  水清洗后,最后用 70% 的乙腈溶液进行洗脱,收集洗脱液,冻干处理。

配制流动相 A 液 (100% 质谱水、0.1% 甲酸) 和 B 液 (80% 乙腈、0.1% 甲酸)。使用 10  $\mu\text{L}$  A 液溶解冻干粉,4℃ 下 14 000 $\times g$  离心 20 min,取上清液进样。液相色谱洗脱条件:流速 600 nL/min,梯度洗脱 (0~8 min, 6%B; 8~15 min, 6%~12%B; 15~63 min, 12%~30%B; 63~73 min, 30%~40%B; 73~74 min, 40%~95%B; 74~84 min, 95%B; 84~85 min, 95%~6%B; 85~100 min, 6%~0%B)。预分离后,使用 Orbitrap Eclipse 质谱仪, Nanospray Flex (NSI) 离子源,设定离子喷雾电压为 2000 V,离子传输管温度为 320℃,质谱采用数据依赖型采集模式,全扫描范围为 350~2000  $m/z$ ,分辨率设为 120 000 (200  $m/z$ ),自动增益控制目标为 400 000,最大注入时间为 50 ms;母离子使用高能碰撞裂解方法碎裂,进行二级质谱检测,分辨率设为 15 000 (200  $m/z$ ),自动增益控制目标为 50 000,最大注入时间为 22 ms,肽段碎裂碰撞能量设为 30%,生成质谱检测原始数据。选择 Rattus norvegicus 数据库,采用 Proteome Discoverer 2.4 软件搜库,以  $P$  值阈值 0.05,  $\text{Log}_2$  [差异倍数 (FC)] 阈值 0.5 倍,得到差异蛋白的分析结果,进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析。依照此方法,进行 3 次独立重复的实验。

**2.1.8 透射电镜观察溶酶体数量** 通过电镜对大鼠患侧海马 CA1 区进行结构观察。取样部位是患侧海马 CA1 区组织,尺寸为 1  $\text{mm}^3$ 。将其转移到盛有电子显微镜固定液的 EP 管中,4℃ 下保存。在室温下固定 2 h 后,脱水,渗透并包埋。将树脂块切成薄片,染色并在室温下干燥。透射电子显微镜观察和图像分析。依照此方法,进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.9 ELISA 检测溶酶体活性** 用生理盐水制备 10% 大鼠患侧海马 CA1 区组织匀浆。各组大鼠溶酶体活性通过大鼠溶酶体活性 ELISA 试剂盒进行检测,具体实验步骤严格按照说明书操作。依照此方法,进行 6 次独立重复的实验。

**2.1.10 免疫组化检测蛋白相对表达量** 取大鼠患侧海马组织放入 4% 多聚甲醛固定,置于包埋盒中,脱水。将石蜡块放入包埋机中加热,脱水后浸蜡。组织蜡块切片,40℃ 水中展片,用载玻片捞起。室温脱蜡、水化,切片放入抗原修复液

中,加热 15 min,冷却至室温。将切片放入湿盒中,加入少量蒸馏水,滴加 3% 过氧化氢,室温孵育 10 min,磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗 3 次,蒸馏水洗 3 min。加入封闭液,室温 10 min,后滴加一抗 LAMP2 (1:1000)、AP3M1 (1:200) 或 SCARB2 (1:50) 4℃ 过夜, PBS 清洗。滴加山羊抗鼠二抗 (1:200) 或山羊抗兔二抗 (1:200),室温 10 min, PBS 清洗。滴加链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温孵育 10 min 后, PBS 清洗。使用 DAB 染色试剂盒进行室温显色后用苏木精轻度复染,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,于通风橱中晾干后,中性树胶封固,在光学显微镜下拍片,观察并计算患侧海马 CA1 区 LAMP2、AP3M1、SCARB2 的阳性表达水平。依照此方法,进行 3 次独立重复的实验。

**2.1.11 RT-qPCR 检测 mRNA 相对表达量** 根据 RNA 提取试剂盒说明取大鼠患侧海马 CA1 组织 20 mg,加入裂解液匀浆,提取大鼠海马 CA1 区组织总 RNA,测定浓度和纯度,  $A_{260}/A_{280}$  在 1.8~2.0。参照单链合成试剂盒说明书进行逆转录,操作条件是 20  $\mu\text{L}$  体系,42℃ 持续 15 min,85℃ 持续 5 s,然后降温到 4℃,合成第一链 cDNA。以 cDNA 为模板,加入 LAMP2、AP3M1、SCARB2 的引物进行 RT-qPCR,体系 20  $\mu\text{L}$ ,扩增条为 94℃ 预变性 1 min,94℃ 变性 5 s,55℃ 退火 15 s,72℃ 延伸 10 s,共 40 个循环。以 GAPDH 为内参,计算 mRNA 相对表达水平,引物序列见表 1。依照此方法,进行 3 次独立重复的实验。

表 1 RT-qPCR 实验的引物序列  
Tab 1 Primer sequences used for RT-qPCR

| 引物名称     | 引物序列                         |
|----------|------------------------------|
| LAMP2-F  | 5'-GTAGCACCCATCATTACACACC-3' |
| LAMP2-R  | 5'-AGACAGGTAGCATTGCCAT-3'    |
| AP3M1-F  | 5'-CACAAAAGCTCCCAAGTCT-3'    |
| AP3M1-R  | 5'-TAAGCCTGAAATAGCAAGCTG-3'  |
| SCARB2-F | 5'-AGCTCAGGAACAAGGCAAA-3'    |
| SCARB2-R | 5'-TAATCAAGTCAACGGTAGGGTC-3' |
| GAPDH-F  | 5'-AAGATGGTGAAGGTCGGTGT-3'   |
| GAPDH-R  | 5'-GATCTCCTGGAAGATG-3'       |

## 2.2 细胞实验

**2.2.1 含药血清的制备** 10 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,随机分为空白组、扎冲十三味丸临床等效剂量 (162 mg/kg) 组,每组 5 只。适应性饲养 5 d 后,每日早晚各灌胃一次,连续 5 d,空白组灌胃同体积蒸馏水。末次给药 2 h 后,腹主动脉取血。全血在室温下静置 1 h 后,以 3500 r/min 离心 10 min,分离血清,合并收集于离心管中。56℃ 水浴灭活 30 min,使用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤,分装后,置 -80℃ 贮藏备用。



**2.2.2 细胞造模、分组和给药** 将细胞随机分为对照组, 模型组, 扎冲十三味丸含药血清高 (5% 含药血清)、中 (2.5% 含药血清)、低 (1.25% 含药血清) 剂量组, 阳性药 (依达拉奉,  $1 \mu\text{g/mL}$ ) 组。上述剂量均由预实验得到。PC12 细胞用完全培养基置于  $37^\circ\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$  细胞培养箱中培养, 培养 24 h 待细胞贴壁后, 将 PBS 溶液预热至  $37^\circ\text{C}$ , 洗涤 2 次, 更换无糖 DMEM 培养基 (对于扎冲十三味丸各给药组, 需加入相应浓度的含药血清, 阳性药组加入药物和空白血清, 其余组加入空白血清)。放置于  $37^\circ\text{C}$ 、含 94% $\text{N}_2$ 、5% $\text{CO}_2$ 、1% $\text{O}_2$  的三气培养箱中进行 2 h 缺氧缺糖, 更换为完全培养基, 重新放置于细胞培养箱进行 22 h 复氧复糖, 以此方法进行氧糖剥夺/复氧 (OGD/R) 造模处理<sup>[14]</sup>。

**2.2.3 CCK-8 计算细胞存活率** 将 PC12 细胞以  $4 \times 10^3$  个/孔密度接种于 96 孔板, 待细胞贴壁后, 进行分组造模。造模 12 h 后, 更换含 CCK-8 溶液培养基, 每孔应加入  $10 \mu\text{L}$  的 CCK-8 溶液。放置于细胞培养箱孵育 1 h, 用酶标仪在  $450 \text{ nm}$  处测定吸光度。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.2.4 透射电镜观察溶酶体数量** 将 PC12 细胞以  $5 \times 10^5$  个/皿密度接种于  $60 \text{ mm}$  培养皿中, 待细胞贴壁后, 进行分组造模。吸除培养基后, 加入 2.5% 的常温戊二醛固定液。避光固定 1 h 后, 用细胞刮轻轻刮下细胞, 收集于离心管中, 以  $2000 \text{ r/min}$  离心 2 min, 固定后在  $4^\circ\text{C}$  下保存。后续步骤同上。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.2.5 溶酶体荧光探针染色细胞分析溶酶体功能** 将 PC12 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔密度接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后, 进行分组造模。吸去培养基, 加入  $37^\circ\text{C}$  预热的  $100 \text{ nm}$  绿色荧光探针工作液或  $75 \text{ nm}$  红色荧光探针工作液, 放置于细胞培养箱孵育 30 min。将染色液替换为无荧光探针的新鲜培养基, 在荧光显微镜下观察, 拍照记录。依照此方法, 进行 6 次独立重复的实验。

**2.2.6 Western blot 检测蛋白相对表达量** 将 PC12 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔密度接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后, 进行分组造模。每孔加入适量裂解液, 15 min 后, 用细胞刮将细胞样品刮下, 收集于离心管中。于  $4^\circ\text{C}$ 、 $12\,000 \text{ r/min}$  离心 10 min, 取上清液。BCA 法测定蛋白浓度, 并用已混合磷酸酶抑制剂和 PMSF 的高效 RIPA 裂解液稀释至同一浓度, 按比例加入蛋白上样缓冲液, 沸水浴 10 min, 冷却后短暂离心, 取上清液备用。将  $10 \mu\text{L}$  蛋白样品和  $2.5 \mu\text{L}$  Marker 上样至十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶加样孔中, 采用恒压电泳, 依次经  $80 \text{ V } 15 \text{ min}$ 、 $120 \text{ V } 60 \text{ min}$ 。待电泳结束后, 采用湿转法转移至预先经甲醇活化的 PVDF 膜上。转

膜条件为恒流  $2.5 \text{ A}$ , 电压  $25 \text{ V}$ , 根据蛋白分子量调整转膜时间  $10 \sim 20 \text{ min}$ 。后经封闭、洗膜后, 分别用 LAMP2 ( $1:2000$ )、AP3M1 ( $1:4000$ )、SCARB2 ( $1:1000$ ) 或  $\beta\text{-actin}$  ( $1:10000$ ) 及山羊抗鼠二抗 ( $1:6000$ ) 或山羊抗兔二抗 ( $1:6000$ ) 进行孵育、检测。以  $\beta\text{-actin}$  作为内参, 用 Image J 软件计算 LAMP2、AP3M1、SCARB2 的相对表达水平。依照此方法, 进行 3 次独立重复的实验。

**2.2.7 RT-qPCR 检测 mRNA 相对表达量** 将 PC12 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔密度接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后, 进行分组造模。根据 RNA 提取试剂盒步骤提取细胞总 RNA, 测定浓度和纯度,  $A_{260}/A_{280}$  在  $1.8 \sim 2.0$ 。后续步骤同上。依照此方法, 进行 3 次独立重复的实验。

## 2.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析, 所有实验数据以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组之间比较采用  $t$  检验, 多组之间比较采用单因素方差分析, 采用最小显著性差异法进行事后多重比较。若数据不符合正态分布或方差不齐, 则采用非参数检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 动物部分实验结果

**3.1.1 蒙药扎冲十三味丸减轻脑梗死体积和海马损伤** 大鼠脑梗死率和神经功能评分结果显示 (见图 1), 假手术组未出现梗死区域, 无神经功能损伤; 模型组的脑梗死率显著增加, 神经功能评分显著降低; 各给药组脑梗死率均显著减少, 扎冲十三味丸低、中剂量组神经功能评分均升高。

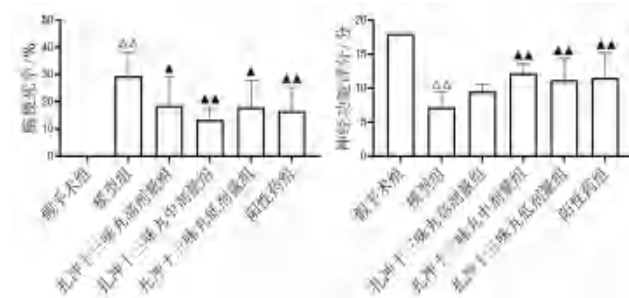


图 1 扎冲十三味丸对 MCAO 大鼠脑梗死率和神经功能评分的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 1 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the cerebral infarction rate and neurological function scores in MCAO rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注: 与假手术组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: Compared with the sham group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the model group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ .

大鼠脑组织 HE 染色结果显示 (见图 2), 假手术组观察到海马 CA1 区神经元的形态正常, 结构清晰; 模型组大鼠海马 CA1 区神经元显示出不同程度的损伤, 具体表现为空泡, 细胞核固



缩、深染；扎冲十三味丸高剂量组与低剂量组改善了细胞核的固缩、深染，但并未改善其空泡现象，而扎冲十三味丸中剂量组对上述现象均有所恢复。结果表明扎冲十三味丸可以减轻神经元损伤并保护神经元。

大鼠脑组织尼氏染色结果显示（见图 2），假手术组大鼠海马 CA1 区神经细胞分布均匀，排列规整；模型组海马 CA1 区细胞密度较低，排列紊乱，细胞核模糊，胞体收缩变形，神经元结构损伤；各给药组神经细胞数量增多，胞核清楚，胞体无皱缩变形，尼氏体明显增多，神经元损伤较轻。

结合脑梗死率、神经功能评分和组织染色结果，发现扎冲十三味丸中剂量（162 mg/kg）组的药效最佳，被认为是最佳给药剂量组。因此，将其定为扎冲十三味丸组，用于后续的机制研究。

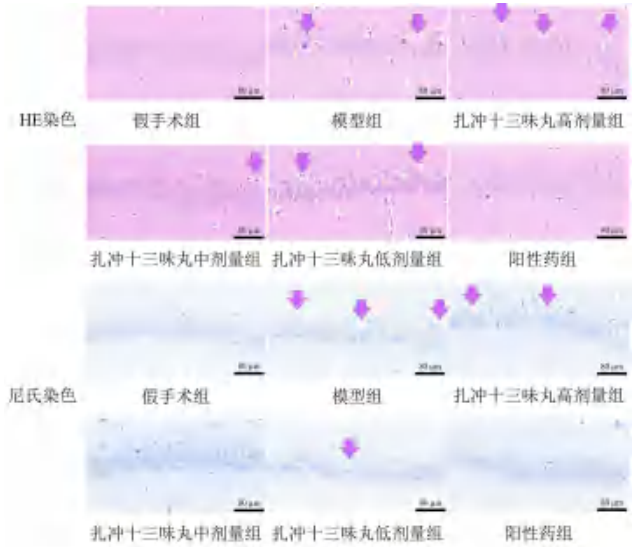


图 2 扎冲十三味丸对 MCAO 大鼠海马 HE 染色和尼氏染色的影响（ $\times 400$ ， $n = 6$ ）

Fig 2 Effect of Zhachong Shisanwei pills on hippocampal HE staining and Nissl staining in MCAO rats（ $\times 400$ ， $n = 6$ ）

注：紫色箭头代表脑组织损伤。

Note: The purple arrow indicates brain tissue damage.

**3.1.2 蒙药扎冲十三味丸可能通过调控溶酶体通路抗脑缺血损伤** 对差异蛋白进行 KEGG 分析（见图 3），模型组与假手术组的差异蛋白按富集度排序前 10 个 KEGG 通路注释结果为紧密连接、Ras 相关蛋白 1 信号通路、多巴胺能突触、自噬、溶酶体、线粒体自噬、爱帕琳肽信号通路、催产素信号通路、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路、 $\gamma$ -氨基丁酸能突触。扎冲十三味丸组与模型组的差异蛋白按富集度排序前 10 个 KEGG 通路注释结果为溶酶体、铁死亡、磷脂酰肌醇 3-激酶 - 蛋白激酶 B 信号通路、血管内皮生长因子信号通路、钙信号通路、Fc  $\gamma$  R 介导的吞噬作用、Ras 信号

通路、环磷酸腺苷信号通路、长时程增强作用、缺氧诱导因子 -1 信号通路。

**3.1.3 蒙药扎冲十三味丸影响溶酶体功能减轻脑缺血损伤** 采用电镜观察溶酶体的变化，结果显示（见图 4），MCAO 后溶酶体数量增加，扎冲十三味丸组溶酶体数量较模型组减少。表明溶酶体的正常生理功能在建立 MCAO 模型 12 h 后被破坏，扎冲十三味丸可减轻溶酶体功能障碍。溶酶体酶 ELISA 检测结果显示（见图 4），模型组溶酶体活性显著提高；扎冲十三味丸组溶酶体活性显著降低。

**3.1.4 蒙药扎冲十三味丸调控溶酶体通路相关蛋白减轻脑缺血损伤** 免疫组化的结果显示（见图 5），模型组的 LAMP2、AP3M1 蛋白阳性表达量显著升高，SCARB2 蛋白阳性表达量显著降低；扎冲十三味丸组的 LAMP2、AP3M1 蛋白阳性表达量显著降低，SCARB2 蛋白阳性表达量显著升高。

RT-qPCR 结果显示（见图 5），模型组 *LAMP2*、*AP3M1* 的 mRNA 相对表达量显著上调，*SCARB2* 的 mRNA 相对表达量下调；扎冲十三味丸组 *LAMP2*、*AP3M1* 的 mRNA 相对表达量显著下调，*SCARB2* 的 mRNA 相对表达量上调。

**3.2 细胞部分实验结果**

**3.2.1 蒙药扎冲十三味丸恢复神经元细胞存活率**

CCK-8 法检测结果显示（见表 2），模型组细胞存活率显著降低；各给药组细胞存活率均显著提高，其中扎冲十三味丸含药血清中剂量（2.5% 含药血清）组提高 PC12 细胞活力的效果最好，被认为是最佳给药剂量组。因此，将其定为扎冲十三味丸含药血清组，用于后续的机制研究。

表 2 扎冲十三味丸对 OGD/R 的 PC12 细胞的细胞存活率影响

Tab 2 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the cell viability of PC12 cells subjected to OGD/R

| 组别（ $n = 6$ ）  | 细胞存活率 / %                        |
|----------------|----------------------------------|
| 对照组            | 100.00 $\pm$ 0.00                |
| 模型组            | 56.68 $\pm$ 10.65 $\Delta\Delta$ |
| 扎冲十三味丸含药血清高剂量组 | 79.66 $\pm$ 8.88 $\Delta\Delta$  |
| 扎冲十三味丸含药血清中剂量组 | 82.66 $\pm$ 10.66 $\Delta\Delta$ |
| 扎冲十三味丸含药血清低剂量组 | 75.52 $\pm$ 20.64 $\Delta$       |
| 阳性药组           | 75.66 $\pm$ 13.32 $\Delta$       |

注：与对照组相比， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与模型组相比， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the model group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ .

**3.2.2 蒙药扎冲十三味丸影响溶酶体功能减轻 OGD/R 损伤** 采用电镜观察了溶酶体的形态和数量变化，结果显示（见图 6），造模后溶酶体数量增加，且溶酶体体积增加，形态发生变化，扎冲十三

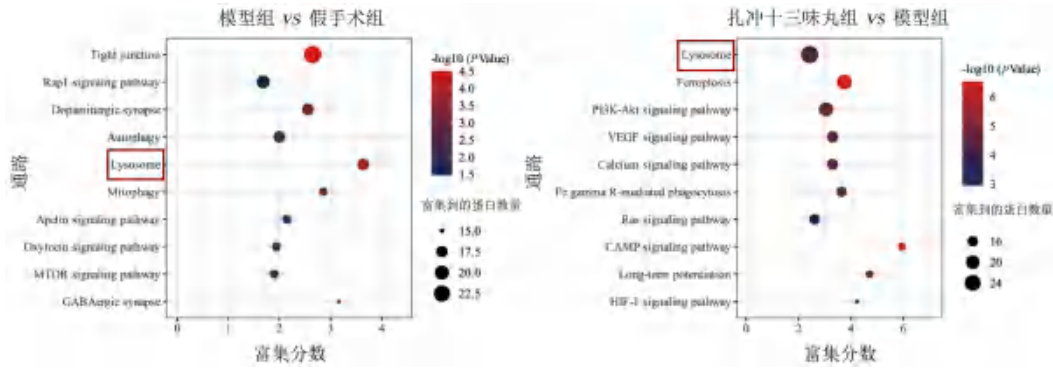


图 3 扎冲十三味丸对 MCAO 大鼠海马蛋白质组学的影响 ( $n = 3$ )

Fig 3 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the hippocampal proteomics in MCAO rats ( $n = 3$ )

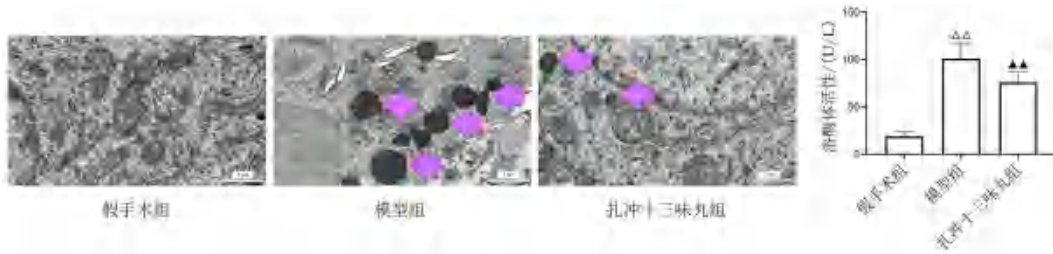


图 4 扎冲十三味丸对 MCAO 大鼠海马溶酶体的影响 ( $\times 7000$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 4 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the hippocampal lysosomes in MCAO rats ( $\times 7000$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注: 紫色箭头代表溶酶体。与假手术组相比,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: The purple arrow indicates the lysosome. Compared with the sham group,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the model group,  $\Delta\Delta P < 0.01$ .

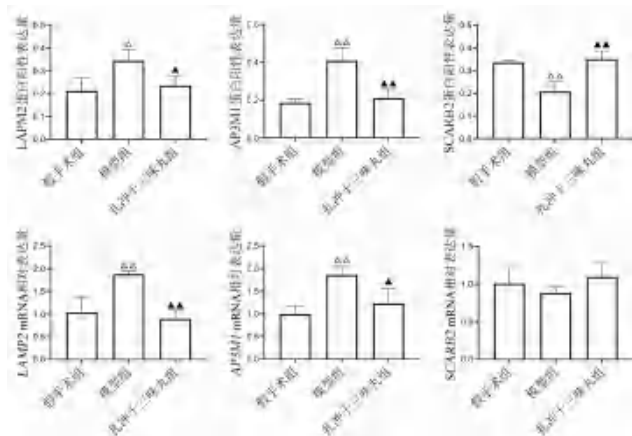


图 5 扎冲十三味丸对 MCAO 大鼠海马溶酶体相关靶点蛋白表达量 (IHC) 和相关靶点 mRNA 的影响 ( $\times 400$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 5 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the expression levels of lysosome-related target proteins (IHC) and their corresponding mRNA in the hippocampus of MCAO rats ( $\times 400$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与假手术组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: Compared with the sham group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the model group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ .

味丸含药血清组溶酶体数量较模型组减少。表明溶酶体的正常功能在 OGD/R 后被破坏, 扎冲十三味丸含药血清可减轻 OGD/R 导致的溶酶体功能障碍。

采用溶酶体绿色荧光探针探究溶酶体 pH 值变化, 结果显示 (见图 6), 模型组荧光强度显著降低, OGD/R 后 PC12 细胞中的溶酶体 pH 值发

生改变, 表明 OGD/R 使溶酶体的酸性环境被破坏, 导致溶酶体功能障碍; 扎冲十三味丸含药血清组荧光强度显著增加, 说明扎冲十三味丸含药血清可以减少 OGD/R 对溶酶体的酸性环境的破坏。采用溶酶体红色荧光探针观察溶酶体丰度变化, 结果显示, 模型组荧光强度显著增加, 表明 OGD/R 后 PC12 细胞中的溶酶体个数增加, 溶酶体功能受到影响; 扎冲十三味丸含药血清组荧光强度显著降低, 说明 PC12 细胞中的溶酶体个数减少。以上结果表明扎冲十三味丸含药血清可以改善 OGD/R 造成的溶酶体功能障碍。

**3.2.3 蒙药扎冲十三味丸调控溶酶体通路相关蛋白减轻 OGD/R 损伤** Western blot 实验结果显示 (见图 7), 模型组 LAMP2、AP3M1 蛋白相对表达量均显著升高, SCARB2 蛋白相对表达量显著降低。扎冲十三味丸含药血清组 LAMP2、AP3M1 蛋白相对表达量均显著降低, SCARB2 蛋白相对表达量显著增加。

RT-qPCR 结果显示 (见图 7), 模型组 LAMP2、AP3M1 的 mRNA 相对表达量显著上调; SCARB2 的 mRNA 相对表达量下调; 扎冲十三味丸含药血清组 LAMP2 的 mRNA 相对表达量显著下调, AP3M1 的 mRNA 相对表达量下调, SCARB2 的 mRNA 相对表达量上调。上述结果证明蒙药扎冲十三味丸对溶酶体通路相关蛋白 LAMP2、AP3M1 和 SCARB2 具有调控作用, 以此减轻 OGD/R 损伤。

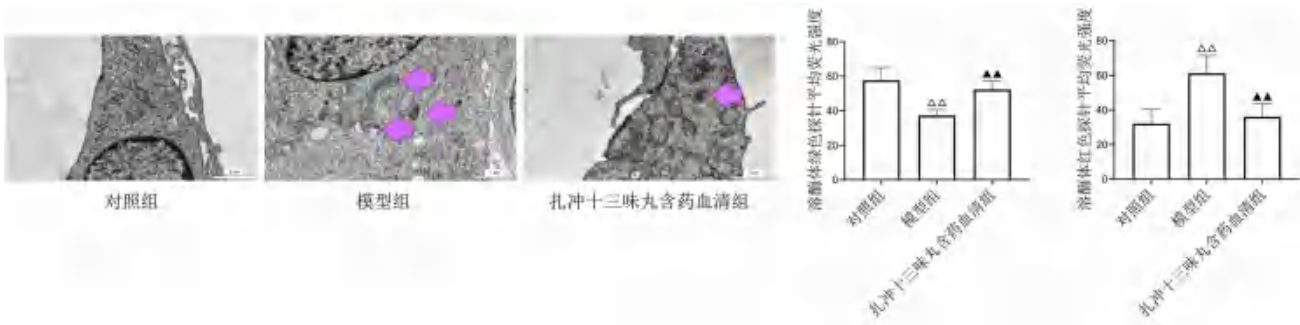


图 6 扎冲十三味丸对 OGD/R 的 PC12 细胞的溶酶体影响 ( $\times 5000$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 6 Effect of Zhachong Shisanwei pills on lysosomes in PC12 cells subjected to OGD/R ( $\times 5000$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注: 紫色箭头代表溶酶体。与对照组相比,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

Note: The purple arrow indicates the lysosome. Compared with the control group,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the OGD/R group,  $\Delta\Delta P < 0.01$ .

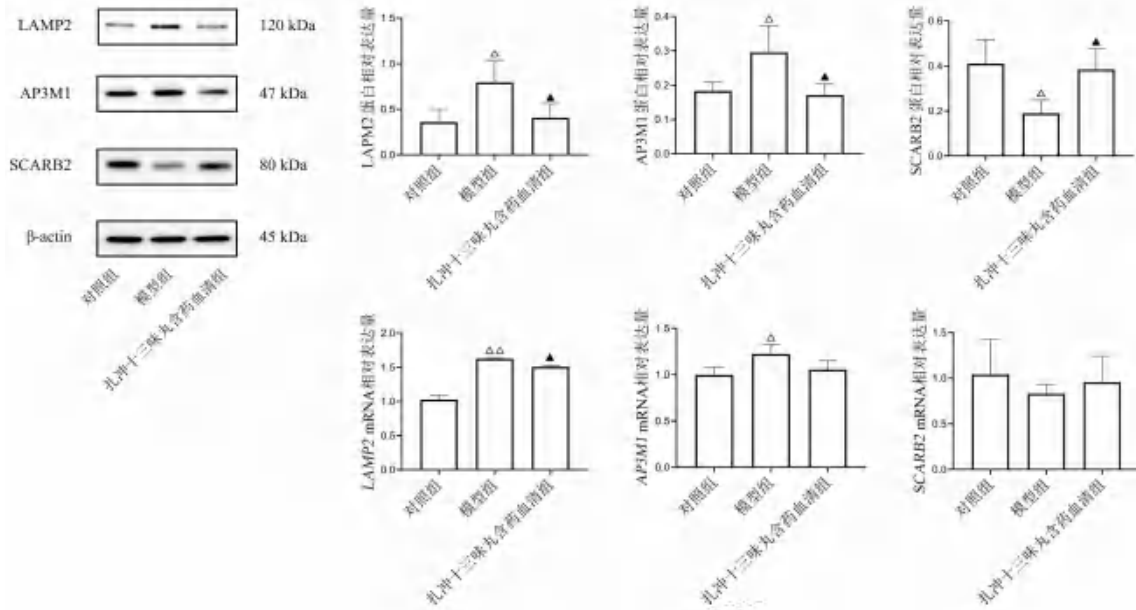


图 7 扎冲十三味丸对 OGD/R 的 PC12 细胞的溶酶体相关靶点蛋白表达量和相关靶点 mRNA 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 7 Effect of Zhachong Shisanwei pills on the expression of lysosome-related target proteins and their corresponding mRNA in PC12 cells subjected to OGD/R ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与对照组相比,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比,  $\Delta P < 0.05$ 。

Note: Compared with the control group,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; compared with the OGD/R group,  $\Delta P < 0.05$ .

#### 4 讨论

脑缺血的核心发病机制是脑部某一区域的血液流动受阻或者动脉粥样硬化斑块破裂后, 局部形成血栓, 从而阻塞血管<sup>[15]</sup>。脑缺血会使血流减少, 大脑中的氧气和葡萄糖被耗尽, 从而中断能量合成, 破坏离子稳态和酸碱失衡<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, 脑缺血大鼠神经功能障碍, 脑梗死率显著提高, 同时出现神经元缺失、溶酶体数量增多和活性提高等现象。此外, 缺氧、缺糖会诱发神经元细胞存活率降低, 形态出现病理改变。

扎冲十三味丸方中以诃子、制草乌、石菖蒲为君药, 诃子味涩, 具有降火利咽之效, 制草乌则擅长祛风除湿、温经止痛, 石菖蒲能开窍豁痰、醒神益智。其余诸药如木香、沉香行气止痛, 麝

香开窍醒神、活血通经, 制珊瑚、制珍珠镇心安神, 肉豆蔻温中行气, 丁香温中降逆, 禹粮土、煅磁石重镇安神、平肝潜阳, 甘草调和诸药<sup>[17]</sup>。全方十三味药配伍严谨, 既能愈“白脉”(神经)损伤, 又能“黏”(祛除病邪), 尤其针对中风、半身不遂等脑血管疾病及风湿痹痛等症疗效显著。本研究的药效学结果显示, 扎冲十三味丸及含药血清能够减少神经元损伤和死亡, 恢复神经功能, 并降低溶酶体活性和数量的异常增加, 与既往研究结果相符。

现有研究发现脑缺血后会发生溶酶体途径的功能障碍, 在缺血性脑损伤中发挥关键作用<sup>[18]</sup>。基于蛋白质组学分析提示溶酶体通路是扎冲十三味丸作用的关键枢纽。溶酶体荧光探针结果显示,



扎冲十三味丸含药血清可以减少 OGD/R 对溶酶体的酸性环境的破坏和改善溶酶体功能受损；电镜结果显示，蒙药扎冲十三味丸减轻了溶酶体损伤，表明扎冲十三味丸可能通过改善溶酶体功能缺陷来减轻缺血缺氧条件下神经元的损伤。

蛋白质组学结果显示，LAMP2、AP3M1 和 SCARB2 是扎冲十三味丸在溶酶体途径中的抗脑缺血作用相关的差异蛋白。LAMP2 是溶酶体膜的主要蛋白质成分之一，其缺失会导致自噬体-溶酶体融合障碍，加重脑缺血中的溶酶体降解功能障碍<sup>[19]</sup>。AP3M1 通过参与蛋白运输和分选，影响溶酶体的组成、功能和运输，在维持溶酶体稳态中发挥重要作用<sup>[20]</sup>。SCARB2 能够介导磷脂、鞘氨醇和胆固醇从溶酶体腔向膜的转运，对维持溶酶体膜稳态和溶酶体功能至关重要<sup>[21]</sup>。分子生物学实验结果表明蒙药扎冲十三味丸能够介导大鼠脑缺血模型体内溶酶体途径，可能通过下调 LAMP2、AP3M1 和上调 SCARB2 对神经元发挥保护作用，并且扎冲十三味丸可以减轻脑缺血导致的溶酶体功能障碍。在体外，Western blot 实验和 RT-qPCR 实验结果进一步验证了扎冲十三味丸通过下调 LAMP2、AP3M1 和上调 SCARB2 介导了溶酶体通路，从而减轻 OGD/R 导致的溶酶体功能障碍。

本研究结合蛋白质组学与生物信息学分析，系统阐释蒙药扎冲十三味丸改善脑缺血损伤的药理机制。本研究发现，扎冲十三味丸通过调控溶酶体通路关键差异蛋白（LAMP2、AP3M1、SCARB2）的表达发挥神经保护作用。未来可补充多时间点动态分析，并在此基础上，深入阐明扎冲十三味丸调控 LAMP2、AP3M1 及 SCARB2 表达的作用机制。

## 参考文献

- [1] Ebrahimi V, Rastegar-Moghaddam SH, Mohammadipour A. Therapeutic potentials of microRNA-126 in cerebral ischemia [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60 (4): 2062-2069.
- [2] 国家卫生健康委加强脑卒中防治工作减少百万新发残疾工程专家委员会, 吉训明. 《2024 年中国脑卒中防治报告》概要 [J]. *首都医科大学学报*, 2025, 46 (6): 947-960.
- [3] Tu WJ, Zhao Z, Yin P, et al. Estimated burden of stroke in China in 2020 [J]. *JAMA Netw Open*, 2023, 6 (3): e231455.
- [4] Ma QF, Li R, Wang LJ, et al. Temporal trend and attributable risk factors of stroke burden in China, 1990—2019:

an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Public Health*, 2021, 6 (12): e897-e906.

- [5] 谢水平, 王晓春, 邵银进. 中药内服治疗气虚血瘀型脑梗死的临床研究进展 [J]. *江西中医药*, 2021, 52 (11): 70-73.
- [6] 周文奇, 程肖蕊. 针药结合治疗脑中风康复研究 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2023, 37 (S1): 56-59.
- [7] 白梦蕾, 陈宇欣, 陶春, 等. 蒙成药扎冲十三味丸药效学的研究进展 [J]. *中国民族医药杂志*, 2020, 26 (5): 62-64.
- [8] 汤文莉. 用扎冲十三味丸治疗缺血性脑卒中的效果分析 [J]. *当代医药论坛*, 2016, 14 (15): 110-111.
- [9] 祁向明. 蒙药结合药浴治疗类风湿性关节炎 106 例 [J]. *中国民族民间医药*, 2011, 20 (24): 7.
- [10] Abada A, Levin-Zaidman S, Porat Z, et al. SNARE priming is essential for maturation of autophagosomes but not for their formation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114 (48): 12749-12754.
- [11] Song Q, Bi L, Jiao JK, et al. Zhachong Shisanwei pill resists ischemic stroke by lysosome pathway based on proteomics and bioinformatics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301 (1): 115766.
- [12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20 (1): 84-91.
- [13] Garcia JH, Wagner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation [J]. *Stroke*, 1995, 26 (4): 627-635.
- [14] Shang JF, Wen YL, Zhang XL, et al. Naoxintong capsule accelerates mitophagy in cerebral ischemia-reperfusion injury via TP53/PINK1/PRKN pathway based on network pharmacology analysis and experimental validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 336 (1): 118721.
- [15] Libby P, Buring JE, Badimon L, et al. Atherosclerosis [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5 (1): 56.
- [16] 张艾嘉, 王爽, 王萍, 等. 缺血性脑卒中的病理机制研究进展及中医药防治 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26 (5): 227-240.
- [17] 王建, 张冰. 临床中药学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2016: 41-313.
- [18] Hu K, Gaire BP, Subedi L, et al. Interruption of endolysosomal trafficking after focal brain ischemia [J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14 (1): 719100.
- [19] Xu ZM, Notomi S, Wu GN, et al. Altered fatty acid distribution in lysosome-associated membrane protein-2 deficient mice [J]. *Biochem Biophys Rep*, 2024, 40: 101822.
- [20] Zeng WP, Li CJ, Wu RK, et al. Optogenetic manipulation of lysosomal physiology and autophagy-dependent clearance of amyloid beta [J]. *PLOS Biol*, 2024, 22 (4): e3002591.
- [21] Ebner M, Fröhlich F, Haucke V. Mechanisms and functions of lysosomal lipid homeostasis [J]. *Cell Chem Biol*, 2025, 32 (3): 392-407.

(收稿日期: 2025-12-12; 修回日期: 2026-01-22)

# 基于血清蛋白质组学的类过敏反应机制研究

姚紫莹<sup>1, 2</sup>, 杨奇涛<sup>2</sup>, 沈梦婷<sup>2</sup>, 孟长虹<sup>2</sup>, 汪玉馨<sup>2\*</sup>, 康安<sup>1\*</sup> (1. 南京中医药大学, 南京 210023; 2. 江苏省药品监督检验研究院, 南京 210019)

**摘要:** **目的** 采用血清蛋白质组学对骨肽类注射液类过敏反应及潜在机制进行研究。**方法** 将给药后的动物血清前处理后经纳升液相-线性离子阱串联轨道阱质谱仪 (Nano-LC-LTQ-Orbitrap MS) 分析, 通过 MaxQuant 软件和 LFQ-Analyst 工具分析得到部分可定量的蛋白, 再使用 SIMCA-P 软件进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘-判别分析 (PLS-DA) 分析, 将变量投影重要度 (VIP) 大于 1 且单因素方差分析具有显著差异的蛋白筛选出来, 导入 Cytoscape 软件依托 STRING 插件进行蛋白质相互作用网络构建及生物通路富集分析。**结果** 蛋白质组学结合信号通路分析显示, 蛋白补体因子 H (CFH) 最有可能为主要区分骨肽类注射液类过敏反应的血清生物标志物, 其次为黏蛋白 (Orm1)、纤溶酶原 (Plg) 和高分子量激肽原 (Kng1)。**结论** 骨肽类注射液可能存在类过敏反应风险, 其发生的机制与补体系统、激肽系统及凝血系统有关。

**关键词:** 骨肽类注射液; 类过敏反应; 蛋白质组学; 血清生物标志物

中图分类号: R96

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-078-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.011

## Mechanism of anaphylactoid reactions based on serum proteomics

YAO Ziyang<sup>1, 2</sup>, YANG Qitao<sup>2</sup>, SHEN Mengting<sup>2</sup>, MENG Changhong<sup>2</sup>, WANG Yuxin<sup>2\*</sup>, KANG An<sup>1\*</sup> (1. *Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023*; 2. *Jiangsu Institute for Drug Control, Nanjing 210019*)

**Abstract:** **Objective** To determine the potential mechanism of anaphylactoid reaction of ossotide injections with serum proteomics. **Methods** After the administration, pre-treated animal serum samples were analyzed by Nano-LC-LTQ-Orbitrap MS. Quantifiable proteins were identified with MaxQuant and LFQ-Analyst, followed by principal component analysis and partial least squares discriminant analysis in SIMCA-P to screen proteins with variable importance in projection (VIP) > 1 and remarkable one-way ANOVA difference. These proteins were imported into Cytoscape for protein interaction network construction and biological pathway enrichment using the STRING plugin. **Results** Integrative proteomics and signaling pathway analyses identified complement factor H (CFH) as the main serum biomarker for discriminating anaphylactoid reactions to ossotide injections, followed by orosomucoid 1 (Orm1), plasminogen (Plg), and high-molecular-weight kininogen (Kng1). **Conclusion** Ossotide injections have a potential risk of anaphylactoid reaction, which may be related to the complement, kinin and coagulation systems.

**Key words:** ossotide injection; anaphylactoid reaction; proteomics; serum biomarker

过敏反应通常指 I 型过敏反应, 是由免疫球蛋白 E (IgE) 与细胞表面受体 FcεRI 特异性结合介导的超敏反应, 初次接触变应原为致敏阶段, 再次接触变应原导致肥大细胞脱颗粒释放活性介

**基金项目:** 江苏省药品监督管理局科研计划课题 (No.202119); 江苏省食品药品监督管理局药品监督检验研究院科研项目 (No.JSIFDC202406)。

**作者简介:** 姚紫莹, 女, 硕士研究生, 主要从事药品质量控制相关研究, email: 1372923389@qq.com \***通信作者:** 汪玉馨, 女, 主任药师, 硕士研究生导师, 主要从事药理毒理研究, email: wyx\_carrie@163.com; 康安, 男, 教授, 主要从事中药药效物质基础方面的研究, email: kanga@njucm.edu.cn

质为激发阶段<sup>[1]</sup>。而部分药物在首次给药后短时间内就发生过敏样反应的症状,此类反应被归为类过敏反应,其发生无需 IgE 介导,临床症状与 I 型过敏反应相似,主要表现为注射部位反应、局部红肿、皮疹、瘙痒、荨麻疹、胃肠道和循环系统反应以及过敏性休克等<sup>[2-3]</sup>。临床上可引起类过敏反应的药物主要有中药类注射剂、造影剂、脂质体纳米制剂、非甾体抗炎药、单克隆抗体、抗菌药物等<sup>[4-6]</sup>。这些药物多为静脉注射制剂,给药具有较高的吸收速率与效率,能在短时间内发挥药效的同时也易引起速发的不良反应。

骨肽类制剂为多组分生化药,由健康猪或胎牛四肢骨提取液制成,或与全蝎提取液混合制成复方骨肽制剂,成分包括活性肽、肽类活性因子、有机钙、磷、无机钙、无机盐、微量元素、氨基酸等,具有物质基础不明确的特点<sup>[7-8]</sup>。临床该制剂主要通过静脉注射或肌肉注射给药,用于骨折、骨质疏松、风湿、类风湿关节炎等疾病的治疗<sup>[9-10]</sup>。国家药品不良反应监测中心在《药品不良反应信息通报》中对骨肽和复方骨肽注射剂的安全问题进行了通报<sup>[11]</sup>。近年来,对骨肽类注射剂不良反应病历分析发现,其不良反应的临床表现有过敏性休克、皮疹、瘙痒、胸闷、心慌、呼吸困难、寒战、发热等;同时可累及消化系统、血液系统,引发系统损害<sup>[12]</sup>。骨肽类注射剂的不良反应中,给药 30 min 内发生的不良反应占比较高(40%以上)<sup>[13]</sup>。骨肽类注射剂在临床用药时可能存在类过敏反应风险,课题组前期采用小鼠耳郭蓝染模型<sup>[14]</sup>和 RBL-2H3 细胞脱颗粒模型评价骨肽类注射液的类过敏反应,发现反应程度与给药剂量之间存在量效关系,因此有必要对其类过敏反应风险和机制进行进一步研究。

蛋白质组学是以蛋白质为研究对象,在各种生理、病理或外界刺激情况下,研究多种蛋白的组成及变化规律的学科。通过研究可筛选出不同给药处理组之间的显著性差异蛋白,结合生物信息学分析,可以明确地描绘出给药后整个生物机体的蛋白调节网络进而发现药物的作用靶点和相关生物标志物,因此血清蛋白质组学已被广泛应用于各类疾病的生物标志物筛选。本研究中采用基于质谱的血清蛋白质组学,通过自下而上的“鸟枪式”工作流程,包括酶消化混合物中的蛋白质、液相色谱分离多肽和基于串联质谱的多肽测定以及数据库搜索,鉴定复杂混合物中的蛋白质<sup>[15]</sup>,探究骨肽类注射液的类过敏反应相关机

制,以期为复杂基质药物的类过敏机制研究提供依据。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠,雄性,体重 22 ~ 24 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 (浙) 2022-0001,实验动物使用许可证号: SYXK (苏) 2022-0047]。动物饲养于江苏省食品药品监督检验研究院屏障系统内,自由饮水,室温 20 ~ 22 °C,相对湿度 60% ~ 70%,昼夜明暗交替时间为 12 h/12 h。本研究经江苏省食品药品监督检验研究院实验动物福利伦理审查委员会审批,审查编号为 JSIFDC2021-04。实验动物按 3R 原则给予人道关怀。

### 1.2 试剂

二硫苏糖醇(美国 Bio-Rad 公司,批号: 1610611); 碳酸氢铵(美国 Sigma 公司,批号: 1066-33-7); 乙腈(美国 Millipore 公司,批号: 34851); 甲酸(FA)(美国 TEDIA 公司,批号: FS0630-015); 质谱测序级胰蛋白酶(美国 Promega 公司,批号: V5111)。

### 1.3 仪器

纳升液相-线性离子阱串联轨道阱质谱仪(Nano-LC-LTQ-Orbitrap MS)、酶标仪、微量分光光度计、真空离心浓缩仪、蛋白去除试剂盒(Thermo Fisher); Eppendorf 5430R 低温高速离心机(Eppendorf); BCA 蛋白定量试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司); 10 kDa 超滤离心管、Ziptip 脱盐柱(Millipore)。

## 2 方法

### 2.1 动物血清样本制备

ICR 小鼠按照体重随机分组,每组 5 只,每只小鼠尾静脉给予 0.5 mL 含 0.16% 伊文思蓝(EB)药液。当小鼠耳郭蓝染发生率 ≥ 30% 且 EB 升高率 ≥ 50% 时,判定为类过敏反应阳性<sup>[14]</sup>。实验分组给药: Y 组(阴性对照组)给予 0.9% 氯化钠溶液(含 0.16% EB); 实验组(A ~ E 组)给予 5 mg/mL 复方骨肽注射液(企业 a、b)和 5 mg/mL 骨肽注射液(企业 c、d、a),30 min 后小鼠眼眶静脉丛取血至 EP 管内。

### 2.2 血清蛋白样品前处理

采用 BCA 法测定去除高丰度蛋白前后的总蛋白浓度。取样品血清 10 μL,经 14 种高丰度蛋白去除试剂盒处理后,采用蛋白过滤器辅助样品制备法(FASP)进行消化,用 Ziptip 脱盐柱进行脱盐后,用 30 μL 含 0.2% FA 的水复溶后备用。



2.3 Nano-LC-LTQ Orbitrap MS 分析

2.3.1 色谱条件 流动相:A 液为 0.1% 甲酸水溶液, B 液为 0.1% 甲酸乙腈水溶液(乙腈体积比为 80%), 以 97% 的 A 液平衡。进样体积 1  $\mu$ L, 样品由自动进样器上样分析柱 Thermo scientific EASY column 分离, 流速为 0.3  $\mu$ L/min, 梯度洗脱(0 ~ 12 min, 97%A; 12 ~ 120 min, 97%  $\rightarrow$  55%A; 120 ~ 125 min, 55%  $\rightarrow$  2%A; 125 ~ 144 min, 2%A)。

2.3.2 质谱条件 采集参数如下: 运行时间 160 min; 采用正离子检测模式; 母离子扫描范围  $m/z$  350 ~ 1800。一级质谱由 Orbitrap 检测, 分辨率设为 60 000, 自动增益控制靶值 (AGC)  $1 \times 10^6$ , 最大注入时间为 100 ms, 扫描范围数量为 1, 动态排除时间为 30.0 s。二级质谱采用数据依赖采集模式: 每次全扫描后触发 10 次  $MS^2$  扫描, 离子碎裂方式设置为碰撞诱导解离 (CID), 母离子选择窗口 2  $m/z$ , 归一化碰撞能量 35 eV;  $MS^2$  谱图由经线性离子阱 (LTQ) 检测, 扫描方式为普通 (Normal), 微扫描 (Microscan) 次数 1, 最大注入时间 100 ms。

2.4 数据分析

用软件 MaxQuant 对质谱分析原始数据 (RAW 文件) 进行查库鉴定及定量分析。本次使用数据为 Uniprot 下载的 “Mus musculus (Mouse)” (共 85 159 条序列)。将 MaxQuant 计算后得到的 ProteinGroup.txt 数据文件用 LFQ-Analyst (<https://bioinformatics.erc.monash.edu/apps/LFQ-Analyst>) 进行处理, 将处理好的 Full\_dataset.csv 用 SIMCA-P 进行主成分分析 (PCA) 和偏最小二乘 - 判别分析 (PLS-DA), 将变量投影重要度 (VIP) 值大于 1, 且单因素方差分析 (One-way ANOVA) 显著 ( $P < 0.05$ ) 的蛋白筛选出来。

2.5 生物信息学分析

将筛选出来的蛋白 Uniprot ID 导入 Cytoscape 软件, 依托 STRING 插件进行蛋白质相互作用网络 (PPI) 构建及生物通路富集分析。

3 结果

3.1 蛋白鉴定结果

实验有 6 个处理组, 每组内 5 个生物学重复, 共有 30 个血清样品经高丰度蛋白酶消化后, 进行 Nano-LC-LTQ Orbitrap MS 分析。原始数据经 MaxQuant 和 LFQ-Analyst 分析后, 以假阳性率  $FDR \leq 0.01$  为基准, 并过滤不合格蛋白数据后, 最终可定量到 231 个蛋白组 (protein groups), 3173 条肽段 (peptides)。

3.2 PCA 与 PLS-DA

将各组血清中可定量的蛋白的  $\log_2$  (LFQ intensity) 导入 SIMCA-P, 进行 PCA。PCA 可以揭示数据的内部结构, 从而更好地解释数据变量。PCA 能够提供一幅比较低维度的图像 (二维或三维), 在其中蛋白质组数据是一个多元数集, 在高维数据空间坐标系中被显现出来, 展示为在包含信息最多的点上对原对象的 “投影”, 有效地利用少量的主成分使得数据的维度降低。小鼠血清样本 PCA 分析结果显示没有异常值 (见图 1A)。

为了进一步区分各组样本, 对数据进行 PLS-DA 分析。结果如图 1B 所示, D 组血清蛋白表达量与阴性组接近, 而 A、B、C、E 四组的血清蛋白表达与 Y 组差别较大。小鼠耳郭蓝染实验结果 (见表 1) 表明阴性组与 D 组均呈现阴性结果, 而 A、B、C、E 四组呈现阳性结果, 这与各组的血清蛋白组结果相符合。

表 1 骨肽注射液类过敏反应研究实验结果

Tab 1 Experimental results for anaphylactoid reaction study of ossotide injections

| 分组 | 制剂         | 企业 | 耳郭蓝染实验结果 |
|----|------------|----|----------|
| A  | 复方骨肽注射液    | a  | 阳性       |
| B  | 复方骨肽注射液    | b  | 阳性       |
| C  | 骨肽注射液      | c  | 阳性       |
| D  | 骨肽注射液      | d  | 阴性       |
| E  | 骨肽注射液      | a  | 阳性       |
| Y  | 0.9% 氯化钠溶液 | /  | 阴性       |

通过 VIP 值筛选对于此 PLS-DA 模型最相关的蛋白, 有 98 个蛋白符合  $VIP > 1$ ; 随后采用单因素方差分析评价 98 个蛋白在六组间的差异, 筛选到 52 个差异蛋白。根据图中不同组别与蛋白质的层次聚类, 将 52 个差异蛋白数据绘制聚类热图 (见图 1C)。

3.3 52 个差异蛋白的通路富集分析结果

基于 Cytoscape 软件的 STRING App 模块构建 52 个差异蛋白的 PPI, 并整合 VIP 值与方差分析结果进行通路富集分析。在 STRING 数据库中, 共映射到 48 个蛋白的相互作用关系, 其中节点大小与 VIP 值呈正相关, 即 VIP 值越大的蛋白对 PLS-DA 模型的分类贡献越显著, 而连线灰度则反映蛋白间相互作用的可信度, 灰度越深表示相互作用越可靠。通路富集分析显示, 48 个蛋白显著富集于两大生物学通路: 补体与凝血级联反应和先天免疫系统。结合小鼠耳郭蓝染实验结果, A、B、C、E 四组骨肽类注射液均诱导阳性反应, 而 D 组与生理盐水组为阴性反应。统计分析表明, 48 个蛋白在 D 组与 Y 组间差异均无统计学意义,

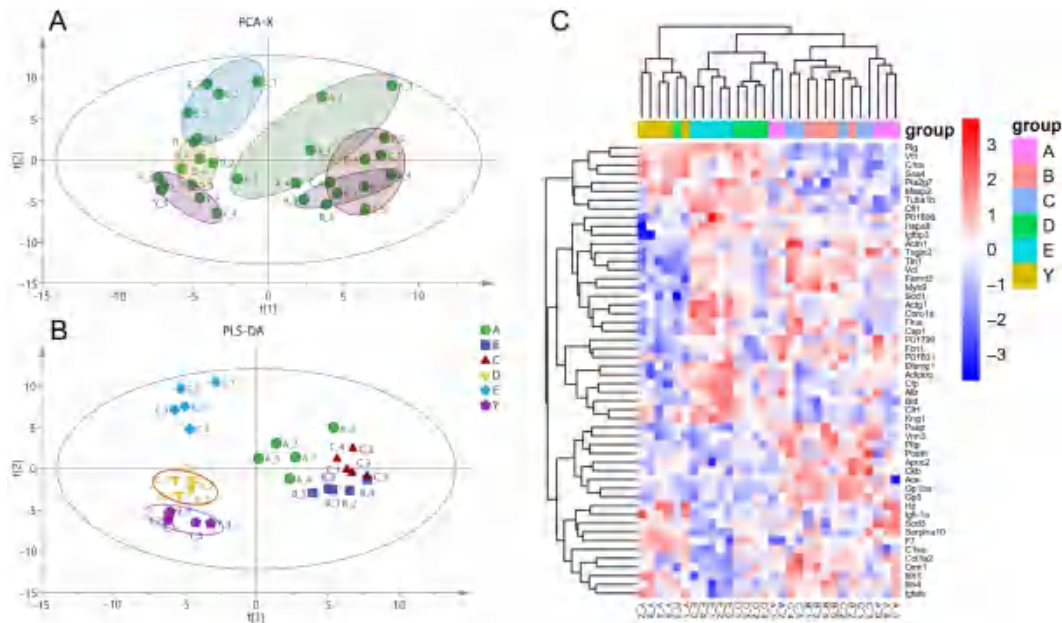


图 1 小鼠血清样本蛋白质组学分析结果

Fig 1 Proteomic analysis of mouse serum

A. PCA 得分图 (PCA score map); B. PLS-DA 得分图 (PLS-DA score map); C. 差异蛋白聚类热图 (differential protein clustering heat map)

而 A、B、C、E 组与 Y 组比较中,至少有一组差异显著的蛋白被重点标记,提示其可能与过敏反应相关。综合网络拓扑、VIP 值及通路富集结果,CFH 为最具区分潜力的血清生物标志物,其 VIP 值显著高于其他蛋白且处于补体通路核心位置。次要候选标志物包括 Orm1、Plg 及 Kng1,上述蛋白均满足位于富集通路关键节点,在 A、B、C、E 组与 Y 组间存在显著差异表达且相互作用网络中与高置信度连线关联的条件,因此 CFH 可作为区分骨肽注射液过敏反应的核心标志物,其余三者为其协同指标。

#### 4 讨论

前期研究发现骨肽类注射液可能存在类过敏反应风险<sup>[14]</sup>,因此小鼠蓝染模型研究基础上,对高剂量骨肽类注射液给药后各组小鼠血清蛋白质进行组学分析,结果显示,四组骨肽类注射液过敏反应呈阳性,血清蛋白质组学结果结合通路分析得到了 4 个区分骨肽注射液过敏反应的血清生物标志物蛋白,按重要性排序依次为 CFH、Orm1、Plg 和 Kng1。

类过敏反应的发生机制中,除了细胞表面的相关受体外,C3a、C5a 这两个过敏毒素的生成途径尤为重要。CFH 能够通过阻断替代途径的 C3 转化酶 (C3bBb) 抑制 C3a 的进一步生成,但并不能排除通过经典途径和凝集素途径激活补体系统导致 C3a 与 C5a 产生的可能<sup>[16]</sup>。Orm1 浓度与凝血酶生成潜力呈负相关,即 Orm1 下调时,凝

血酶活性升高;体外与体内实验均表明,凝血酶在高浓度可直接裂解 C5 与 C3,生成 C5a 与 C3a,该过程不依赖经典途径的 C3/C5 转化酶<sup>[17]</sup>。Plg 是纤溶酶的无活性前体,当凝血酶不断积累,在激肽系统与凝血系统的激活下,Plg 将转化为纤溶酶,进一步促进 C5 裂解<sup>[18-19]</sup>。生成的 C5a/C3a 通过结合肥大细胞 C5aR/C3aR 触发脱颗粒,释放组胺和  $\beta$ -氨基己糖胺酶,导致血管通透性增加及平滑肌收缩。此外,Kng1 经激肽释放酶水解后产生缓激肽,协同增加血管通透性并放大炎症反应。

CFH、Kng1、Plg 在类过敏阳性组 A、B、C 三组血清中相较于阴性组 D、Y 两组明显下调,Orm1 在类过敏阳性组 E 组血清中较阴性组 D、Y 两组明显下调 (见图 1C)。结合类过敏机制分析发现<sup>[20]</sup>,在类过敏阳性组 A、B、C 三组中,CFH 的抑制作用减弱,替代途径可能被一定程度激活;Plg 的下调减弱了对 C3b 的抑制作用,对补体系统的激活有促进作用,同时部分 Plg 可能转变为纤溶酶间接作用于 C3a 与 C5a 的形成;Kng1 的减少可能是在酶解作用下产生缓激肽,与相应受体结合导致炎症发生。区别于 A、B、C 三组,类过敏阳性组 E 组中,Orm1 在血清中明显下调,对凝血酶的抑制作用减弱,可能作用于 C3a 和 C5a 的生成,但仍需进一步检测血清中凝血酶含量加以确认。因此,A、B、C 三组与 E 组骨肽注射液引起类过敏反应的体内机制可能存在差异。此外,本实验室前期已通过小鼠耳郭蓝染实验证实耳郭



蓝染结果与 RBL-2H3 细胞  $\beta$ -氨基己糖胺酶释放率呈正相关,提示蓝染强度可间接反映肥大细胞活化水平。文中差异蛋白富集于补体-激肽-凝血网络,与类过敏反应的分子特征一致,从蛋白质组学层面支持了表型判断的可靠性。

综上,骨肽注射液诱发类过敏反应的体内机制涉及凝血、激肽及补体三大系统。补体系统和凝血系统裂解生成的 C3a 和 C5a 可诱导肥大细胞和嗜碱性粒细胞脱颗粒,激肽系统转化生成的缓激肽可提高血管通透性,放大炎症反应。临床用药时,常将骨肽注射液与非甾体抗炎药如布洛芬、抗凝药如肝素钠、奥美拉唑或氯化钾等联用,以实现骨折镇痛、术后抗栓及胃黏膜保护<sup>[21]</sup>。非甾体抗炎药通过抑制环氧合酶-1 (COX-1) 减少血小板聚集和胃黏膜前列腺素 I<sub>2</sub>,相对增强缓激肽介导的血管扩张效应;抗凝药则与骨肽共同激活凝血-激肽轴,叠加促进 C5a 生成,放大过敏毒素信号。因此,联合用药时应避免同瓶输注,采用单独静脉通路,并在给药后 30 min 内监测血压、皮肤及呼吸变化。

本研究对补体调节关键蛋白 CFH 下调效应的论述是基于蛋白质组学与生物信息学的推论,尚需通过体内外实验系统检测血清 C3a、C5a、缓激肽等效应分子水平,并验证肝脾中 CFH 的表达变化,以明确其因果关系。后续将围绕上述核心蛋白及通路靶点开展靶向定量分析,为完善骨肽类制剂的类过敏反应机制及临床安全用药提供依据。

## 参考文献

- [1] Simons FE. Anaphylaxis [J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125 (2 Suppl 2): S161-S181.
- [2] 王新宇,张艳仙,蒋睿,等. 药物不良反应 1055 份报告分析 [J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14 (7): 141-142.
- [3] Zou FM, Du QZ, Zhang YY, et al. Pseudo-allergic reactions induced by Chinese medicine injections: a review [J]. Chin Med, 2023, 18 (1): 149.
- [4] Berkes EA. Anaphylactic and anaphylactoid reactions to aspirin and other NSAIDs [J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2003, 24 (2): 137-148.
- [5] Cochran ST. Anaphylactoid reactions to radiocontrast media [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2005, 5 (1): 28-31.
- [6] Szebeni J. Complement activation-related pseudoallergy: a stress reaction in blood triggered by nanomedicines and biologicals [J]. Mol Immunol, 2014, 61 (2): 163-173.
- [7] 杨泽岸,张媛,吴彦霖,等. 基于生物活性测定的骨肽类制剂质量评价方法 [J]. 中国药事, 2019, 33 (4): 380-384.
- [8] 吴彦霖,张媛,杨泽岸,等. 骨肽原液促 UMR106 细胞增殖法的建立及验证 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36 (9): 1324-1328.
- [9] 刘中均,李霞,段小云,等. 丹红注射液联合骨肽注射液辅助治疗骨质疏松性骨折的疗效及对患者炎症反应和骨代谢的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2020, 20 (18): 3549-3552.
- [10] 张卫东,朱传奇,郑哲,等. 骨肽注射液联合富血小板血浆注射治疗膝关节骨关节炎的疗效探究 [J]. 中国合理用药探索, 2020, 17 (9): 71-75.
- [11] 国家食品药品监督管理局. 关注骨肽和复方骨肽注射剂的安全性问题(摘录)——药品不良反应信息通报(第 26 期) [J]. 中国社区医师, 2010, 26 (14): 9.
- [12] 黄美婷,李建修,郭柳清. 复方骨肽注射液不良反应发生的危险因素分析 [J]. 北方药学, 2015, 12 (11): 164-165.
- [13] 李二平. 91 例骨肽和复方骨肽注射剂不良反应病例分析 [J]. 中国药物警戒, 2021, 18 (9): 880-882.
- [14] 杨奇涛,吴殷因,汪玉馨,等. 骨肽类注射剂类过敏反应评价研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (2): 53-59.
- [15] Li X, Wang WQ, Chen JJ. Recent progress in mass spectrometry proteomics for biomedical research [J]. Sci China Life Sci, 2017, 60 (10): 1093-1113.
- [16] Meszaros T, Csicsi AI, Uzonyi B, et al. Factor H inhibits complement activation induced by liposomal and micellar drugs and the therapeutic antibody rituximab in vitro [J]. Nanomedicine, 2016, 12 (4): 1023-1031.
- [17] Rocanin-Arjo A, Cohen W, Carcaillon L, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies ORM1 as a novel gene controlling thrombin generation potential [J]. Blood, 2014, 123 (5): 777-785.
- [18] Amara U, Rittirsch D, Flierl M, et al. Interaction between the coagulation and complement system [J]. Adv Exp Med Biol, 2008, 632: 71-79.
- [19] Foley JH, Walton BL, Aleman MM, et al. Complement activation in arterial and venous thrombosis is mediated by plasmin [J]. EBioMedicine, 2016, 5: 175-182.
- [20] 杨奇涛,吴畅,林新丽,等. 药物类过敏反应及其机制的研究进展 [J]. 药学与临床研究, 2023, 31 (2): 159-163.
- [21] 冉超,周虎,谭超,等. 骨肽注射液疑似过敏反应影响因素分析: 基于 7 家医疗机构的真实数据 [J]. 中国全科医学, 2021, 24 (2): 205-209.

(收稿日期: 2025-10-21; 修回日期: 2025-12-04)



# 基于液质联用技术和网络药理学初探轻燕饮改善高脂血症的药效物质基础及作用机制

白阳<sup>1</sup>, 于泳<sup>2</sup>, 刘力莉<sup>2</sup>, 赵逸莲<sup>1</sup>, 陶欧<sup>1\*</sup>, 孙毅坤<sup>1\*</sup> (1.北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2.数源汇通(北京)医药科技有限公司, 北京 100089)

**摘要:** **目的** 探究轻燕饮在改善高脂血症中的活性成分及作用机制。**方法** 采用 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术对轻燕饮中的成分进行鉴别分析; 利用网络药理学初步预测轻燕饮改善高脂血症的作用机制; 利用油酸诱导 HepG2 细胞建立高脂血症细胞模型, 设置对照组, 模型组和轻燕饮低、中、高浓度给药组, 通过测定各组细胞内三酰甘油的含量以及油红 O 染色观察细胞内脂质沉积的变化, 验证轻燕饮对高脂血症的改善作用。**结果** 在轻燕饮中共鉴定出 73 个化合物, 包括黄酮类、有机酸类及萜类等, 通过关键靶点筛选、蛋白质互作网络分析及通路富集分析发现轻燕饮主要是以芥子酸、山柰酚和木犀草素等作为活性成分, 作用于肿瘤坏死因子 (TNF)、丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT1)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 等核心靶点, 调控高级糖基化终末产物-受体 (AGE-RAGE) 信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路和白细胞介素-17 (IL-17) 信号通路等通路来发挥作用。细胞实验结果显示, 与模型组相比, 轻燕饮显著改善油酸诱导的 HepG2 细胞脂肪堆积, 降低细胞中的三酰甘油含量。**结论** 通过液质联用技术、网络药理学结合细胞实验验证了轻燕饮改善油酸诱导的 HepG2 细胞高脂血症的作用, 初探了轻燕饮改善高脂血症的潜在作用通路, 为轻燕饮的后续开发利用提供了坚实基础。

**关键词:** 轻燕饮; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; 网络药理学; 高脂血症

**中图分类号:** R284.1, R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-083-09  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.012

## Effect of Qingyanyin on hyperlipidemia based on liquid chromatography-mass spectrometry and network pharmacology

BAI Yang<sup>1</sup>, YU Yong<sup>2</sup>, LIU Lili<sup>2</sup>, ZHAO Yilian<sup>1</sup>, TAO Ou<sup>1\*</sup>, SUN Yikun<sup>1\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488; 2. Digital Source Convergence (Beijing) Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Beijing 100089)

**Abstract: Objective** To determine the effect of active components in Qingyanyin on hyperlipidemia and its mechanism. **Methods** UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS technology was used to identify the components in Qingyanyin. Network pharmacology was used to predict the mechanism of Qingyanyin in alleviating hyperlipidemia. Oleic acid was used to induce HepG2 cells to establish a hyperlipidemia cell model. A control group, a model group and Qingyanyin low, medium and high concentration groups were set up. The content of intracellular triglyceride and oil red O staining were used to observe the changes of intracellular lipid deposition in each group to verify the improvement of Qingyanyin on hyperlipidemia. **Results** Totally 73 compounds were identified, including flavonoids, organic acids and terpenoids, etc. Through key target screening, protein interaction network and pathway enrichment, the main active components included sinapic acid, kaempferol and luteolin, etc., which acted on the core targets such as tumor necrosis factor, AKT serine/threonine kinase 1 and matrix metalloproteinase 9. It regulated advanced glycation endproducts receptor signaling pathway,

**作者简介:** 白阳, 女, 硕士研究生, 主要从事中药学研究, email: 17839970469@163.com **\*通信作者:** 陶欧, 女, 副教授, 主要从事信息技术在中药质量控制中的应用研究, email: 602213@bucm.edu.cn; 孙毅坤, 男, 教授, 主要从事中药药效物质及质量控制研究, email: sunyk@bucm.edu.cn

tumor necrosis factor signaling pathway, interleukin-17 signaling pathway and other pathways to play a role. Compared with the model group, Qingyanyin greatly improved oleic acid-induced fat accumulation in HepG2 cells and reduced the content of triglyceride in the cells. **Conclusion** The effect of Qingyanyin on improving oleic acid-induced hyperlipidemia in HepG2 cells is verified by UPLC-MS/MS, network pharmacology and cell experiments. The potential pathway is determined, which provides a solid basis for further development of Qingyanyin.

**Key words:** Qingyanyin; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS; network pharmacology; hyperlipidemia

高脂血症是一种由遗传和环境等因素综合作用引起的脂质代谢失衡性疾病,其主要特征为三高一低,即血浆中三酰甘油(TG)、胆固醇(TC)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)高,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)低<sup>[1]</sup>。血脂长期过高会导致动脉粥样硬化,进而引发冠心病、脑梗死等严重心脑血管疾病<sup>[2]</sup>。相关数据显示,因心脑血管疾病死亡的人数约占全球死亡人数的31%<sup>[3]</sup>。中医认为高脂血症与肝、肾、脾密切相关,其病因为肝失疏泄、脾失运化、肾失气化,导致血瘀、痰浊、气滞等<sup>[4]</sup>。临床上多采用他汀类药物,疗效显著,但不良反应也较明显<sup>[5]</sup>。中药具有多途径多靶点的特点,且部分中药药食同源,不良反应少,因此探究开发具有调节血脂、改善高脂血症的中药或复方具有现实意义。

轻燕饮由荷叶、山楂、薏苡仁、黄精、莱菔子、麦芽、鸡内金组成,其中荷叶性辛凉、味苦,治疗肥胖和代谢异常<sup>[6]</sup>;山楂性辛凉、味酸甘,临床用于高脂血症及过度饮食导致的肥胖<sup>[7]</sup>;薏苡仁性凉、味甘,对高血脂、脂肪肝等具有改善作用<sup>[8]</sup>;黄精性平、味甘,具有降脂降糖等功效<sup>[9]</sup>;莱菔子性平、味辛甘,具有降脂保肝、抗肿瘤等作用<sup>[10]</sup>;麦芽性平、味甘,具有抑制胆固醇和血脂质增加等功效<sup>[11]</sup>;鸡内金性平、味甘,治疗食积不消、呕吐泻痢等<sup>[12]</sup>。七味药合用,具有健脾祛湿、降脂等功效,因此,轻燕饮或许可以作为高脂血症的一种辅助治疗手段。

液质联用技术以高灵敏度和高选择性的特点被广泛应用于中药分析<sup>[13]</sup>,具有高分辨率和高质量精度的静电场轨道阱质谱可以增强母离子的选择,从而提高低丰度化学成分的定量检测的准确性<sup>[14]</sup>。网络药理学利用高通量数据分析、数据库搜索和网络可视化技术,构建药物与疾病之间的综合网络,探索其作用机制<sup>[15]</sup>。目前,对轻燕饮中的化学成分的研究尚不全面,其发挥功效的物质基础也未知。因此本研究采用 UPLC-Q-

Exactive-Orbitrap-MS 技术鉴定分析轻燕饮中的化学成分,利用网络药理学技术探究轻燕饮改善高脂血症的核心成分、靶点以及作用通路,并通过油酸诱导 HepG2 细胞建立高脂血症细胞模型,进一步验证轻燕饮对高脂血症模型细胞内脂质沉积的作用,为轻燕饮改善高脂血症提供理论基础。

## 1 材料

### 1.1 实验细胞

人肝癌 HepG2 细胞(中国医学科学院基础医学研究所协和细胞库)。

### 1.2 试剂

轻燕饮(批号:202111261,山西亚宝九合医药科技有限公司);甲醇、乙腈、甲酸(质谱级,美国 Thermo Fisher 公司);蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司);DMEM 高糖培养基、胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶-EDTA、青霉素/链霉素、磷酸盐缓冲液(PBS)(美国 Gibco 公司);快速细胞冻存液(上海雅酶生物医药科技有限公司);油酸(山东科源生化有限公司);TG 测试盒(南京建成生物工程研究所);油红 O 染色试剂盒(细胞专用)(北京索莱宝科技有限公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒、Cell Counting Kit-8 (CCK-8)试剂盒(北京百瑞极生物科技有限公司)。

### 1.3 仪器

EPS-202 型电子天平(精度:0.01 g,长沙湘平科技发展有限公司);U3000 型超高效液相色谱、Q-Exactive 型质谱仪[Thermo Fisher Scientific 公司,配有电喷雾离子源(ESI)及 Xcalibur 3.0 数据处理系统];ST8R 高速冷冻离心机、二氧化碳培养箱(Thermo Fisher Scientific 公司);DK-98-II A 电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司);BJ-2CD 净化工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);荧光倒置显微镜(尼康株式会社);全波长酶标仪(美国 BioTek 公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 轻燕饮的化学成分研究

**2.1.1 供试品溶液的制备** 取轻燕饮 2 g, 置于锥形瓶中, 加入 20 mL 去离子水, 加热回流提取 1 h。冷却后, 取轻燕饮提取液 1 mL 置于离心管, 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 置于离心管中, 用超纯水稀释 2 倍, 置液相小瓶中, 待测。

**2.1.2 色谱条件** 采用 Waters Acquity UPLC BEH C18 色谱柱 (2.1 mm×150 mm, 1.7  $\mu$ m), 流动相由 0.1% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B) 组成, 梯度洗脱 (0 ~ 2 min, 5%B; 2 ~ 17 min, 5% ~ 95%B; 17 ~ 20 min, 95%B; 20 ~ 23 min, 95% ~ 5%B; 23 ~ 25 min, 5%B), 流速 0.3 mL/min, 进样器温度 10  $^{\circ}$ C, 柱温 40  $^{\circ}$ C, 进样量 5  $\mu$ L。

**2.1.3 质谱条件** 离子源: 电喷雾电离源 (HESI); 正负离子分别扫描; 扫描模式为: Full scan/dd MS<sup>2</sup>, 质量扫描范围  $m/z$  100 ~ 1500 Da; 毛细管温度 350  $^{\circ}$ C。正离子模式喷雾电压 3200 V, 负离子模式喷雾电压 3000 V, 鞘气 N<sub>2</sub>: 35 arb; 辅助气 N<sub>2</sub>: 15 arb。一级质谱分辨率: Full Scan 70 000 FWHM, 二级质谱分辨率: MS/MS 17 500 FWHM。

**2.1.4 化学成分鉴定** 正、负离子模式下的基峰离子流图见图 1。通过保留时间、母离子质荷比及二级碎片信息, 利用 Xcalibur 3.2 软件共鉴定出 73 个化合物, 见表 1, 其中有 37 种成分来自荷叶, 19 种成分来自山楂, 17 种成分来自麦芽, 5 种成分来自黄精, 3 种成分来自鸡内金, 6 种成分来自薏苡仁, 5 种成分来自莱菔子。

## 2.2 网络药理学

**2.2.1 轻燕饮活性成分靶点预测** 应用 TCMSP 数据库, 以口服利用度 (oral bioavailability, OB)  $\geq$  30% 和类药性 (drug likeness, DL)  $\geq$  0.18 为条件筛选轻燕饮的体外成分, 得到 71 个活性成分。利用 PubChem 数据库搜索轻燕饮的活性成分的 2D 结构或 SMILES 结构, 将 2D 结构或 SMILES 结构输入 SwissTargetPrediction 数据库搜索成分靶点, 以 Probability  $>$  0.1 为条件筛选, 去除重复靶点获得轻燕饮的活性成分靶点共 776 个。

**2.2.2 高脂血症疾病靶点预测** 以“Hyperlipidemia”作为关键词在 GeneCards 数据库进行筛选, 获取高脂血症相关疾病靶点, 去除重复靶点得到疾病靶点共 3449 个。

**2.2.3 轻燕饮潜在作用靶点预测** 采用韦恩图对轻燕饮活性成分靶点和高脂血症疾病相关靶点取交集, 获得轻燕饮潜在作用靶点, 并利用微生信 (<https://www.bioinformatics.com.cn/>) 进行可视化得到活性成分靶点与疾病靶点的交集靶点共 308 个。

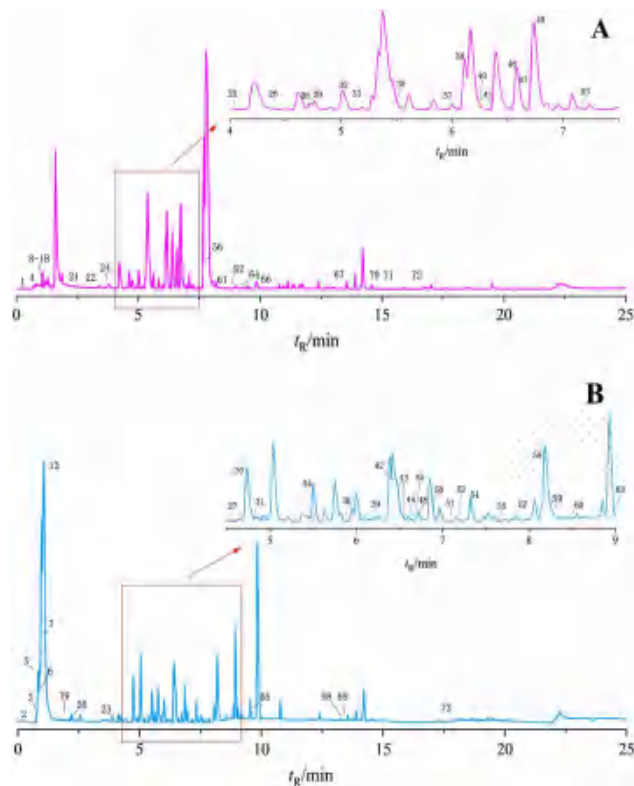


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式下轻燕饮的基峰离子流

Fig 1 Base peak ion flow diagram of Qingyanyin under positive (A) and negative (B) ion modes

**2.2.4 蛋白-蛋白互作网络的构建** 将成分靶点和疾病靶点的交集靶点导入 STRING 数据库, 以置信度  $>$  0.7 作为条件进行筛选, 获得靶点间相互作用关系, 导入 Cytoscape 3.2.1 软件构建蛋白质-蛋白质互作网络。利用 Cytoscape 软件分析每个靶点度值, 采用 Cytohubba 插件的最大团中心性 (MCC) 算法筛选节点, 度值排名前 20 的作为核心靶点 (见图 2)。

**2.2.5 GO 功能富集分析** 通过 Metascape (<http://metascape.org/gp/index.html>) 将 20 个核心靶点导入 Metascape 数据库进行 GO 分析, 共富集得到 755 个 GO 条目, 其中生物过程 (BP) 690 条, 主要包括调节平滑肌细胞增殖、对活性氧的响应等; 分子功能 (MF) 41 条, 涉及磷酸酶结合、蛋白激酶结合等; 细胞组成 (CC) 24 条, 包括膜微结构、转录调节因子复合物等; 将富集结果按 P 值进行排序, P 值越小富集的程度越高, 分别选择 P 值最小的前 10 个 GO 条目, 利用微生信网站绘制 GO 功能富集柱状图 (见图 3) 进行展示。

**2.2.6 KEGG 信号通路富集分析** 将核心靶点导入 Metascape 数据库进行 KEGG 分析, 富集得到 125 条通路, 选择  $\log P$  值最小的前 20 条通路在微生信网站绘制 KEGG 通路富集气泡图, 见图 4。



表 1 轻燕饮中化学成分的鉴定结果  
Tab 1 Identification of chemical constituents in Qingyanyin

| 峰号 | t/min | 化合物                 | 分子式                                                           | 理论值<br>m/z | 真实值<br>m/z | 误差 /<br>(1×10 <sup>-6</sup> ) | 碎片离子 (m/z)                                                                           | 离子形式                  | 来源            | 分类   |
|----|-------|---------------------|---------------------------------------------------------------|------------|------------|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------|------|
| 1  | 0.36  | 芥子酸                 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>                | 225.0758   | 225.0757   | - 0.04                        | 207.0649, 165.0546, 147.0450,<br>119.9609, 93.0699                                   | [M+H] <sup>+</sup>    | 莱菔子、麦芽        | 有机酸类 |
| 2  | 0.71  | 乳糖                  | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>               | 387.1144   | 387.1149   | 1.27                          | 341.1105, 161.0458, 146.0352,<br>101.0245, 71.0139, 59.0138                          | [M+HCOO] <sup>-</sup> | 荷叶            | 糖类   |
| 3  | 0.77  | 麦芽糖                 | C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>               | 341.1089   | 341.1094   | 1.48                          | 101.0245, 97.0296, 89.0245,<br>73.0295, 71.0139, 59.0139                             | [M-H] <sup>-</sup>    | 黄精            | 糖类   |
| 4  | 0.81  | L- 肉碱               | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>                | 162.1125   | 162.1124   | - 0.74                        | 103.0393, 102.0915, 85.0287,<br>60.0813, 58.0657                                     | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 氨基酸类 |
| 5  | 0.82  | 苹果酸                 | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>                  | 133.0143   | 133.0144   | 1.30                          | 115.0038, 89.0245, 72.9931,<br>71.0139, 59.0139                                      | [M-H] <sup>-</sup>    | 山楂            | 有机酸类 |
| 6  | 0.86  | D- 葡萄糖              | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                 | 179.0561   | 179.0563   | 1.28                          | 119.03532, 113.02465, 101.0246,<br>89.0245, 71.0139, 59.0139                         | [M-H] <sup>-</sup>    | 黄精            | 糖类   |
| 7  | 0.93  | 顺丁烯二酸               | C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>                  | 115.0037   | 115.0038   | 0.85                          | 115.0039, 71.0139                                                                    | [M-H] <sup>-</sup>    | 荷叶            | 有机酸类 |
| 8  | 0.95  | 烟酸                  | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>                 | 124.0393   | 124.0393   | 0.04                          | 106.0658, 96.0447, 80.0498,<br>53.0391                                               | [M+H] <sup>+</sup>    | 麦芽            | 其他   |
| 9  | 0.97  | L- 缬氨酸              | C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>                | 118.0863   | 118.0862   | - 0.64                        | 72.0811, 55.0547                                                                     | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 氨基酸类 |
| 10 | 1.01  | 烟酰胺                 | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O                | 123.0553   | 123.0553   | 0.17                          | 96.0447, 80.0497, 78.0339,<br>53.0391                                                | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 其他   |
| 11 | 1.04  | 腺苷                  | C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub> | 268.1040   | 268.1037   | - 1.23                        | 136.0621, 119.0351, 92.0242,<br>71.0129, 57.0339                                     | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶、鸡内金        | 其他   |
| 12 | 1.06  | 腺嘌呤                 | C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub>                  | 136.0618   | 136.0618   | 0.29                          | 119.0496, 109.0654, 94.0404,<br>65.0389                                              | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 其他   |
| 13 | 1.08  | 柠檬酸                 | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>                  | 191.0197   | 191.0199   | 1.07                          | 173.0094, 111.0089, 129.0195,<br>87.0088                                             | [M-H] <sup>-</sup>    | 山楂            | 有机酸类 |
| 14 | 1.08  | 鸟苷                  | C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>5</sub> | 284.0990   | 284.0985   | - 1.43                        | 152.0572, 135.0308                                                                   | [M+H] <sup>+</sup>    | 鸡内金           | 其他   |
| 15 | 1.09  | 鸟嘌呤                 | C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>3</sub> O                | 152.0567   | 152.0567   | - 0.20                        | 135.0305, 128.0460, 110.0353                                                         | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 其他   |
| 16 | 1.10  | 4- 羟基肉桂酸            | C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                  | 165.0546   | 165.0546   | - 0.13                        | 147.0446, 119.0496, 101.9692                                                         | [M+H] <sup>+</sup>    | 薏苡仁           | 有机酸类 |
| 17 | 1.18  | L- 亮氨酸              | C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>                | 132.1019   | 132.1019   | - 0.42                        | 86.0966, 69.0702                                                                     | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 氨基酸类 |
| 18 | 1.29  | N- 甲基酪胺             | C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO                             | 152.1070   | 152.1070   | - 0.20                        | 121.0651, 103.0545, 93.0702,<br>77.0391                                              | [M+H] <sup>+</sup>    | 麦芽            | 氨基酸类 |
| 19 | 1.94  | 苯丙氨酸                | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>                | 164.0717   | 164.0721   | 2.12                          | 147.0454, 103.9204, 91.0553,<br>78.9590, 72.0091, 61.9884                            | [M-H] <sup>-</sup>    | 麦芽            | 氨基酸类 |
| 20 | 2.17  | 番石榴酸                | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>                | 255.0510   | 255.0514   | 1.51                          | 193.0508, 179.0352, 165.0559,<br>149.0610, 107.0504, 72.9931                         | [M-H] <sup>-</sup>    | 山楂            | 有机酸类 |
| 21 | 2.48  | 山柰酚 -3- 芸香苷         | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>15</sub>               | 595.1658   | 595.1648   | - 1.52                        | 287.0555, 213.0551, 153.0189,<br>121.4668, 68.9974                                   | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶            | 黄酮类  |
| 22 | 2.75  | L- 酪氨酸              | C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>                | 182.0812   | 182.0812   | 0.22                          | 164.0710, 136.0761                                                                   | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶、鸡内金        | 氨基酸类 |
| 23 | 3.21  | 羟基酪醇                | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>                 | 153.0557   | 153.0560   | 1.72                          | 123.0453                                                                             | [M-H] <sup>-</sup>    | 荷叶            | 氨基酸类 |
| 24 | 3.75  | 色氨酸                 | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | 205.0972   | 205.0969   | - 1.34                        | 188.0711, 159.0922, 142.0655,<br>132.0812, 118.0654                                  | [M+H] <sup>+</sup>    | 麦芽            | 氨基酸类 |
| 25 | 4.04  | 3, 4- 二羟基苯甲酸        | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>                  | 155.0339   | 155.0338   | - 0.55                        | 155.0820, 113.9640, 93.0701                                                          | [M+H] <sup>+</sup>    | 麦芽            | 有机酸类 |
| 26 | 4.41  | 原花青素 B <sub>2</sub> | C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>               | 579.1497   | 579.1498   | 0.13                          | 427.1056, 411.1094, 301.0710,<br>291.0866, 287.0554, 271.0607,<br>127.0393, 123.0444 | [M+H] <sup>+</sup>    | 荷叶、山楂         | 黄酮类  |
| 27 | 4.58  | 草夹竹桃苷               | C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>8</sub>                | 327.1085   | 327.1093   | 2.35                          | 165.0559, 121.0661, 59.0138                                                          | [M-H] <sup>-</sup>    | 荷叶            | 其他   |
| 28 | 4.70  | 4- 羟基苯甲酸            | C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                  | 139.0390   | 139.0390   | - 0.08                        | 121.0288, 105.0207, 95.0494,<br>67.0546                                              | [M+H] <sup>+</sup>    | 山楂、薏苡仁、<br>麦芽 | 有机酸类 |
| 29 | 4.75  | 伞形花内酯               | C <sub>9</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>                  | 163.0390   | 163.0388   | - 0.86                        | 145.0289, 135.0444, 107.0494,<br>89.0388, 79.0545                                    | [M+H] <sup>+</sup>    | 山楂、莱菔子        | 香豆素类 |
| 30 | 4.74  | 奎宁酸                 | C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>                 | 191.0561   | 191.0562   | 0.62                          | 173.0459, 155.0349, 127.0402,<br>111.0089, 85.0296, 59.0139                          | [M-H] <sup>-</sup>    | 荷叶、山楂         | 有机酸类 |
| 31 | 4.76  | 绿原酸                 | C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O <sub>9</sub>                | 353.0878   | 353.0880   | 0.41                          | 191.0563, 173.0456, 135.0454,<br>127.0403, 111.0453, 85.0295                         | [M-H] <sup>-</sup>    | 山楂            | 有机酸类 |

续表 1

| 峰号 | <i>t</i> /min | 化合物                    | 分子式                                                           | 理论值<br><i>m/z</i> | 真实值<br><i>m/z</i> | 误差 /<br>( $1 \times 10^{-6}$ ) | 碎片离子 ( <i>m/z</i> )                                                           | 离子形式               | 来源            | 分类   |
|----|---------------|------------------------|---------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------|------|
| 32 | 5.04          | 原花青素 B <sub>1</sub>    | C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>               | 579.1497          | 579.1491          | - 1.02                         | 407.7389, 289.0714, 245.0450, 161.0600                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 33 | 5.11          | 四氢异喹啉生物碱               | C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>               | 286.1438          | 286.1434          | - 1.19                         | 269.1441, 237.0915, 143.0495, 137.0602, 107.0494                              | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 生物碱类 |
| 34 | 5.49          | 儿茶酚                    | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                | 289.0718          | 289.0720          | 0.69                           | 245.0820, 203.0716, 125.0246, 109.0296                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽            | 黄酮类  |
| 35 | 5.50          | 表儿茶素                   | C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>                | 291.0863          | 291.0858          | - 1.94                         | 273.0754, 207.0657, 165.0551, 147.0446, 139.0394, 123.0445, 91.0547           | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶、山楂         | 黄酮类  |
| 36 | 5.88          | 3- <i>O</i> -阿魏酰奎宁酸    | C <sub>17</sub> H <sub>20</sub> O <sub>9</sub>                | 367.1035          | 367.1042          | 2.08                           | 191.0563, 173.0457, 134.0376, 93.0346                                         | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽            | 有机酸类 |
| 37 | 6.02          | 香草醛                    | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                  | 153.0546          | 153.0545          | - 0.59                         | 125.0601, 111.0444, 110.0366, 93.0338, 65.0390                                | [M+H] <sup>+</sup> | 山楂、麦芽         | 其他   |
| 38 | 6.15          | 异莲心碱                   | C <sub>37</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> | 611.3116          | 611.3099          | - 2.66                         | 303.0503, 192.1025, 121.0652                                                  | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 生物碱类 |
| 39 | 6.24          | 芦丁                     | C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>               | 609.1461          | 609.1469          | 1.22                           | 300.0276, 271.0248, 255.0298                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶、山楂、<br>薏苡仁 | 黄酮类  |
| 40 | 6.25          | 2-吡咯烷羧酸                | C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>                 | 116.0706          | 116.0706          | - 0.43                         | 70.0654                                                                       | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 氨基酸类 |
| 41 | 6.36          | 牡荆素                    | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>               | 433.1129          | 433.1132          | 0.62                           | 415.1039, 323.0916, 313.0711, 283.0607                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 山楂            | 黄酮类  |
| 42 | 6.35          | 异槲皮苷                   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>               | 463.0882          | 463.0884          | 0.46                           | 300.0277, 271.0249, 255.0300                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 43 | 6.37          | 金丝桃苷                   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>               | 463.0882          | 463.0883          | 0.46                           | 301.0354, 271.0249, 255.0300                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 山楂            | 黄酮类  |
| 44 | 6.39          | 山柰酚 3- <i>O</i> -桑布双糖苷 | C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>15</sub>               | 579.1355          | 579.1364          | 1.39                           | 285.0404, 284.0327, 255.0300, 227.0352                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 45 | 6.53          | 木犀草苷                   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>               | 447.0933          | 447.0936          | 0.64                           | 287.0555, 153.0184, 135.0444, 68.9981                                         | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶、山楂         | 黄酮类  |
| 46 | 6.59          | 北豆根碱                   | C <sub>38</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> | 625.3272          | 625.3256          | - 2.55                         | 489.2398, 206.1181, 121.0652                                                  | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 生物碱类 |
| 47 | 6.71          | 矢车菊素                   | C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub>                | 287.0550          | 287.0540          | - 3.67                         | 241.0506, 231.0657, 213.0549, 165.0188, 153.0187, 137.0238, 121.0288          | [M+H] <sup>+</sup> | 山楂            | 黄酮类  |
| 48 | 6.73          | 水仙苷                    | C <sub>28</sub> H <sub>32</sub> O <sub>16</sub>               | 623.1618          | 623.1640          | 3.60                           | 315.0511, 314.0433, 300.0277, 299.0198                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 49 | 6.74          | <i>O</i> -去甲酰亚胺        | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>2</sub>               | 282.1489          | 282.1482          | - 2.25                         | 251.1071, 220.0889, 219.0810, 191.0860                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 生物碱类 |
| 50 | 6.88          | 黄芪素                    | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>               | 447.0933          | 447.0936          | 0.64                           | 327.0509, 284.0325, 255.0299, 227.0350, 151.0036                              | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 51 | 7.05          | 异牡荆素                   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>               | 431.0984          | 431.0995          | 2.53                           | 311.0560, 283.0606, 269.0455                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽、山楂         | 黄酮类  |
| 52 | 7.14          | 香叶木素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>               | 461.1089          | 461.1093          | 0.88                           | 446.0857, 297.0404, 283.0247, 255.0298                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 53 | 7.15          | 高车前苷                   | C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>               | 463.1235          | 463.1232          | - 0.56                         | 301.0711, 286.0477, 258.0515                                                  | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 54 | 7.31          | 壬二酸                    | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>                 | 187.0976          | 187.0978          | 0.90                           | 125.0972, 97.0659, 57.0345                                                    | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽            | 有机酸类 |
| 55 | 7.64          | 3, 6'-二芥子酰基蔗糖          | C <sub>34</sub> H <sub>42</sub> O <sub>19</sub>               | 753.2248          | 753.2284          | 4.83                           | 547.1670, 205.0506, 190.0272, 175.0037                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 莱菔子           | 其他   |
| 56 | 7.65          | 番荔枝碱                   | C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub>               | 266.1176          | 266.1173          | - 1.03                         | 219.0808, 191.0859, 190.0779, 189.0702, 178.0780                              | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶            | 生物碱类 |
| 57 | 7.87          | <i>N</i> -反式-阿魏酰酪胺     | C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>4</sub>               | 312.1241          | 312.1244          | 0.92                           | 190.0510, 176.0353, 148.0531                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 黄精            | 生物碱类 |
| 58 | 8.13          | 木犀草素                   | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>                | 285.0405          | 285.0406          | 0.35                           | 241.0507, 217.0507, 199.0401, 175.0402, 151.0038, 133.0296, 107.0138, 65.0032 | [M-H] <sup>-</sup> | 荷叶            | 黄酮类  |
| 59 | 8.16          | 槲皮素                    | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>                | 301.0354          | 301.0354          | 0.18                           | 178.9987, 151.0038, 121.0296, 107.0139, 93.0345                               | [M-H] <sup>-</sup> | 山楂、薏苡仁        | 黄酮类  |
| 60 | 8.23          | 香草酸                    | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>                  | 167.0350          | 167.0351          | 0.47                           | 152.0115, 123.0452, 108.0217, 91.0120                                         | [M-H] <sup>-</sup> | 薏苡仁、莱菔子、麦芽    | 有机酸类 |

续表 1

| 峰号 | <i>t</i> /min | 化合物      | 分子式                                              | 理论值<br><i>m/z</i> | 真实值<br><i>m/z</i> | 误差 /<br>( $1 \times 10^{-6}$ ) | 碎片离子 ( <i>m/z</i> )                                                 | 离子形式               | 来源           | 分类   |
|----|---------------|----------|--------------------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------|--------------|------|
| 61 | 8.69          | 异樱花苷     | C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub>  | 449.1442          | 449.1443          | 0.15                           | 317.0900, 287.0918, 153.0187                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶           | 黄酮类  |
| 62 | 8.80          | 四氢小檗碱    | C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> N | 340.1543          | 340.1539          | -1.37                          | 176.0721, 149.1333, 121.0652, 119.0858                              | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶           | 生物碱类 |
| 63 | 8.98          | 苜蓿素      | C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>   | 329.0667          | 329.0670          | 0.95                           | 314.0433, 299.0198, 271.0247, 161.0246                              | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽           | 黄酮类  |
| 64 | 9.01          | 山柰酚      | C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>   | 287.0550          | 287.0545          | -1.79                          | 258.0531, 241.0504, 213.0550, 165.0187, 153.0186, 121.0287, 68.9974 | [M+H] <sup>+</sup> | 薏苡仁          | 黄酮类  |
| 65 | 9.52          | 蒽酸       | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>   | 329.2334          | 329.2336          | 0.71                           | 311.2220, 211.1341                                                  | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽           | 有机酸类 |
| 66 | 10.03         | 欧前胡素     | C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>   | 271.0965          | 271.0960          | -1.64                          | 151.0394, 119.0496, 95.0855                                         | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶           | 香豆素类 |
| 67 | 13.18         | 马兜铃酮     | C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O                | 219.1743          | 219.1741          | -0.97                          | 203.1435, 177.9521, 121.4019                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶           | 萜类   |
| 68 | 13.37         | 邻苯二甲酸二丁酯 | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>   | 277.1445          | 277.1446          | 0.32                           | 134.0374, 127.1129, 121.0295, 74.9894                               | [M-H] <sup>-</sup> | 黄精           | 其他   |
| 69 | 13.45         | 姜糖酯 B    | C <sub>33</sub> H <sub>58</sub> O <sub>14</sub>  | 677.3754          | 677.3781          | 4.03                           | 415.1457, 397.1351, 279.2330                                        | [M-H] <sup>-</sup> | 麦芽           | 其他   |
| 70 | 14.61         | 邻苯二甲酸酐   | C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>     | 149.0233          | 149.0233          | 0.00                           | 121.0288, 111.0443, 93.0336                                         | [M+H] <sup>+</sup> | 莱菔子          | 其他   |
| 71 | 15.20         | 荷叶碱      | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>2</sub>  | 296.1645          | 296.1642          | -1.10                          | 265.1227, 250.0992, 234.1044                                        | [M+H] <sup>+</sup> | 荷叶           | 生物碱类 |
| 72 | 16.36         | 熊果酸      | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>   | 457.3676          | 457.3673          | -0.81                          | 411.3628, 393.3517, 203.1800, 163.1484, 95.0858                     | [M+H] <sup>+</sup> | 山楂           | 有机酸类 |
| 73 | 17.53         | 亚油酸      | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 279.2330          | 279.2332          | 0.70                           | 261.2226, 181.3794, 83.0505, 59.0137                                | [M-H] <sup>-</sup> | 山楂、黄精、<br>麦芽 | 有机酸类 |

结果表明,轻燕饮可能是通过 AGE-RAGE、TNF 和 IL-17 等信号通路来改善高脂血症的。

**2.2.7 轻燕饮活性成分-靶点-作用通路关系网络图构建** 通过 Cytoscape 构建轻燕饮活性成分-靶点-通路网络,利用不同颜色的节点代表不同的物质,紫色节点对应活性成分,橙色节点对应靶点,绿色节点对应通路,得到成分-靶点-通路图,见图 5。节点大小和颜色均与度值呈正相关,即节点越大颜色越深,degree 值越大。根据成分-靶点-通路图中活性成分及核心靶点的度值发现,轻燕饮可能是以芥子酸、山柰酚、木犀草等作为核心成分,作用于 TNF、MMP9、AKT1 和 IL6 等靶点,调控 AGE-RAGE、TNF 和 IL-17 等核心信号通路发挥改善高脂血症的作用。

**2.3 轻燕饮改善 HepG2 细胞脂质沉积的药效学研究**

**2.3.1 细胞培养及药液配制** HepG2 细胞用含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 DMEM 完全培养基,于 5%CO<sub>2</sub>、37℃ 的恒温培养箱中培养。将轻燕饮供试液加入适量蒸馏水稀释,制成生药量质量浓度为 66.67 mg/mL 的轻燕饮母液,过 0.22 μm 微孔滤膜。取适量轻燕饮母液,加入完全培养基稀释至工作浓度。

**2.3.2 轻燕饮安全给药浓度的测定** 取对数生长期的 HepG2 细胞,以  $1 \times 10^5$  个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μL,培养 24 h。设置空白组、对照组和实验组。空白组加入完全培养基后不做任何处理;对照组为完全培养基正常培养 HepG2 细胞;实验组分别加入 100 μL 终质量浓度为 100、200、400、800、1600、3200、6400 μg/mL 的轻燕饮处理细胞 24 h 后,每孔加入 10 μL CCK-8 工作液,37℃ 孵育 1 h,采用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(*A*)值,计算细胞存活率。细胞存活率(%) = (*A*<sub>实验</sub> - *A*<sub>空白</sub>) / (*A*<sub>对照</sub> - *A*<sub>空白</sub>) × 100%。每组进行 6 次生物学重复。

CCK-8 实验结果显示(见图 6),与对照组相比,100、200 μg/mL 的轻燕饮提取液对 HepG2 细胞存活率无显著影响,400、800、1600、3200、6400 μg/mL 的轻燕饮组 HepG2 细胞的存活率显著降低( $P < 0.01$ )。其中 3200 μg/mL 的轻燕饮给药 24 h 后,HepG2 细胞的存活率在 60% 左右,因此后续轻燕饮提取液给药浓度要控制在 3200 μg/mL 以内。

**2.3.3 轻燕饮对油酸诱导的 HepG2 细胞 TG 含量的影响** 取对数生长期的 HepG2 细胞,以  $8 \times 10^5$  个/mL 接种于 6 孔板中,每孔 2 mL 培养 24 h。设置对照组,模型组,轻燕饮低、中、高浓度给



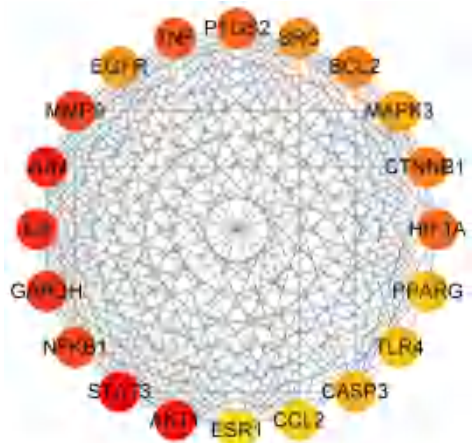


图 2 轻燕饮改善高脂血症作用的核心靶点  
Fig 2 Core target of Qingyanyin in improving hyperlipidemia

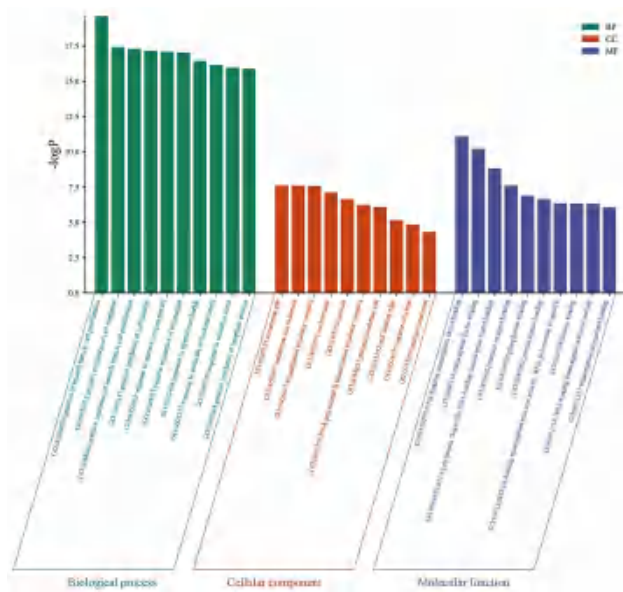


图 3 轻燕饮改善高脂血症的 GO 功能富集分析  
Fig 3 GO functional enrichment analysis of Qingyanyin in improving hyperlipidemia

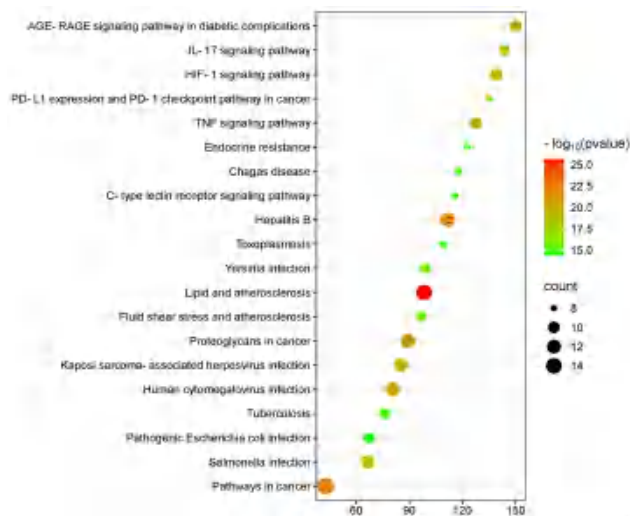


图 4 轻燕饮改善高脂血症的 KEGG 信号通路富集分析  
Fig 4 KEGG signaling pathway enrichment analysis of Qingyanyin improving hyperlipidemia

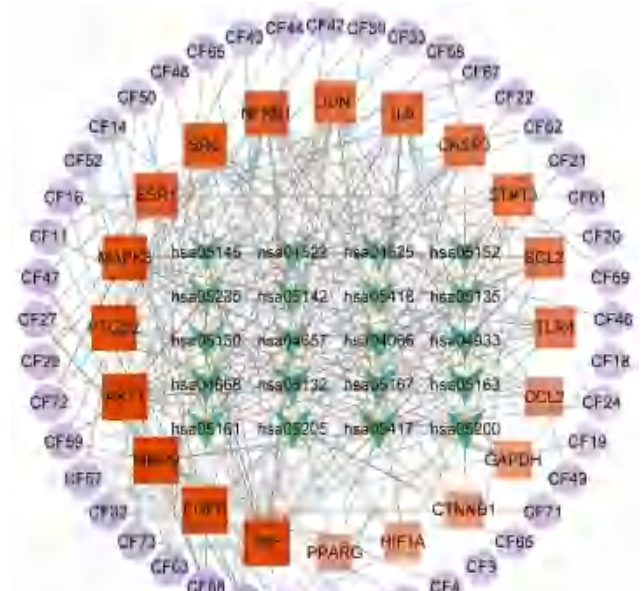


图 5 轻燕饮改善高脂血症的成分-靶点-通路图  
Fig 5 Component-target-pathway diagram of Qingyanyin in improving hyperlipidemia  
注：图中活性成分以“CF”代指，“CF”后的数字对应的表 1 中的成分编号。  
Note: The active ingredient in the figure is referred to by “CF”, and the number after “CF” corresponds to the ingredient number in Table 1.

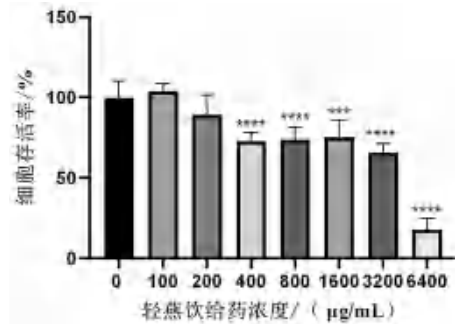


图 6 轻燕饮对 HepG2 细胞存活率的影响  
Fig 6 Effect of Qingyanyin on HepG2 cell viability  
注：与对照组比较，\*\*\* $P < 0.001$ ，\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。  
Note: Compared with the control group, \*\*\* $P < 0.001$ ，\*\*\*\* $P < 0.0001$ .

药组。对照组用完全培养基正常培养 HepG2 细胞；模型组和给药组加入终浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  的油酸；给药组再分别加入终质量浓度为 200、400、800  $\mu\text{g/mL}$  的轻燕饮处理细胞。培养 24 h 后，对细胞内 TG 含量进行测定。

与对照组比较，模型组 HepG2 细胞经油酸诱导后 TG 含量显著增加；与模型组比较，轻燕饮给药组细胞中 TG 含量显著降低，说明轻燕饮对细胞脂肪堆积具有改善作用（见图 7）。

**2.3.4 油红 O 染色观察轻燕饮对油酸诱导的 HepG2 细胞的影响** 同“2.3.3”项下分组和给药，培养 24 h 后，弃去培养基，PBS 缓冲液冲洗两

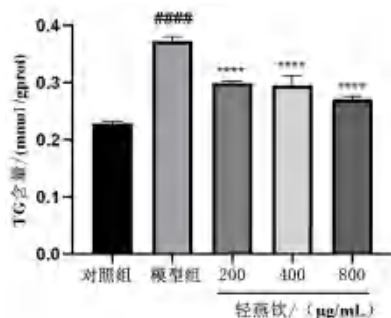


图7 轻燕饮对油酸诱导的 HepG2 细胞 TG 含量的影响

Fig 7 Effect of Qingyanyin on oleic acid-induced TG content in HepG2 cells

注: 与对照组比较, ####  $P < 0.0001$ ; 与模型组比较, \*\*\*\*  $P < 0.0001$ 。

Note: Compared with the control group, ####  $P < 0.0001$ ; compared with the model group, \*\*\*\*  $P < 0.0001$ .



图8 油红 O 染色观察轻燕饮对油酸诱导的 HepG2 细胞的影响

Fig 8 Effect of Qingyanyin on oleic acid induced HepG2 cells observed by Oil red O staining

A. 对照组 (control group); B. 模型组 (model group); C. 200  $\mu\text{g/mL}$  轻燕饮给药组 (200  $\mu\text{g/mL}$  Qingyanyin group); D. 400  $\mu\text{g/mL}$  轻燕饮给药组 (400  $\mu\text{g/mL}$  Qingyanyin group); E. 800  $\mu\text{g/mL}$  轻燕饮给药组 (800  $\mu\text{g/mL}$  Qingyanyin group)

### 3 讨论

本研究采用 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术分离鉴定出轻燕饮中 73 个化学成分, 其中包括 22 种黄酮类成分、16 种有机酸类成分、8 种生物碱类成分、12 种其他类成分、9 种氨基酸类成分、3 种糖类成分、2 种香豆素类成分、1 种萜类成分。网络药理学分析发现轻燕饮可能是以芥子酸、山柰酚和木犀草素等作为活性成分。其中, 芥子酸是一种羟基肉桂酸, 具有抗炎和抗氧化等多种生物活性, 黄春想等<sup>[16]</sup>通过前期研究发现, 芥子酸可以显著降低高脂饮食导致的小鼠血脂异常水平。山柰酚是一种广泛存在于多种植物中的黄酮类化合物, 其具有抗炎、抗氧化以及抗高血脂的作用, 研究发现山柰酚可以抑制脂肪生成基因的相关蛋白表达, 还降低脂质代谢相关转录因子激活受体和 CCAAT 增强子结合蛋白的表达, 从而减少脂肪的沉积<sup>[17]</sup>。木犀草素属于黄酮类化合物, 可以阻断信号的传导以及 STAT3 的表达, 从而显著减少高脂血症大鼠中 TG、TC 以及 LDL-C 的水平, 从而降低肝脏脂肪变性的可能<sup>[18]</sup>。

蛋白质互作网络及成分-靶点-通路图分析发现, 轻燕饮可能通过作用于 TNF、AKT1、MMP9、IL6 等核心靶点发挥降血脂的作用。AKT1 是内皮

次, 利用油红 O 染色试剂盒进行染色, 在显微镜下观察。

对照组的细胞呈蓝色, 细胞内有极少的红色脂滴存在。相比于对照组, 模型组细胞内有明显的红色脂滴生成。而与模型组相比, 随着轻燕饮给药浓度的增加, 细胞内红色油滴量逐渐减少, 说明轻燕饮可以在一定程度上抑制油酸诱导的细胞内脂滴积累 (见图 8)。

**2.3.5 统计学分析** 利用 GraphPad Prism 8.0.2 软件对数据进行处理, 采用单因素方差分析, 多组比较采用 Dunnett 多重比较,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

细胞活化激酶, 其主要参与调节脂质代谢、细胞增殖以及蛋白质合成等过程<sup>[19]</sup>。MMP9 参与改善脂肪酸代谢、肥胖和糖尿病等过程, 同时还与炎症反应的发生息息相关<sup>[20]</sup>。IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量的增加会引起胰岛素抵抗和炎症因子的激活, 从而引发血脂异常<sup>[21]</sup>。根据 GO 功能和 KEGG 通路富集发现轻燕饮可能是通过调控 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路和 IL-17 信号通路等核心通路来发挥治疗高脂血症的作用。高脂饮食增加 AGE 的含量水平, 随着 AGE 含量的增多, 机体会发生氧化应激以及脂质的积聚<sup>[22]</sup>, AGE-RAGE 信号通路的激活会影响炎症因子以及血管黏附分子的形成, 破坏正常的血管壁, 导致动脉粥样硬化的加剧<sup>[23]</sup>; TNF 信号通路是调节炎症反应的关键通路, TNF- $\alpha$  的激活会导致细胞对低密度脂蛋白的胞吞作用增强, 内皮细胞中的低密度脂蛋白的含量急剧增加, 引起动脉粥样硬化<sup>[24]</sup>; IL-17 信号通路参与免疫反应的调控, 该通路的激活会加剧高脂饮食引起的动脉粥样硬化<sup>[25]</sup>。

同时, 为了进一步验证轻燕饮对高脂血症的改善作用, 采用油酸诱导的 HepG2 细胞模型进行实验, 结果显示, 轻燕饮可以有效改善油酸诱导的 HepG2 细胞脂肪堆积, 降低细胞中的 TG 含量。本研究初步探究了轻燕饮改善高脂血



症可能的作用机制,为后续扩大轻燕饮的应用前景提供了理论依据,也为高脂血症疗法的开发提供了新的方向。同时本文也存在一定的局限性:不同批次的轻燕饮对化学成分的鉴定可能有影响,后续可以对比轻燕饮不同批次之间的成分差异,以确保鉴定出的成分具有稳定性和准确性;本文只系统地进行了体外细胞层面的药理学验证,后续可以建立高脂小鼠模型来深入评价轻燕饮的药效;同时还可以通过使用 Western blot、qPCR 等技术检测核心通路关键靶点蛋白的表达及活性或进行代谢组学分析脂质相关代谢物的含量变化,进而深入解析轻燕饮对细胞代谢通路的长期、动态影响。

### 参考文献

- [1] 李青松,李晓晨,王晓萌,等. 中医药干预 PPAR $\gamma$  信号通路改善高脂血症的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40 (4): 1851-1855.
- [2] 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.
- [3] Benjamin Ej, Muntner P, Alonso A, et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: a report from the American heart association [J]. Circulation, 2019, 139 (10): e56-e528.
- [4] 李雨露,刘志勇. 基于“寓药于食”理论的高脂血症辨证施膳研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 2025, 37 (3): 120-124.
- [5] 王可馨,徐文杰,张锋林,等. 基于 PIK3CA/AKT1/PPARG/CYP7A1 信号通路探讨四妙丸改善游离脂肪酸诱导的高脂血症 HepG2 细胞模型脂质沉积[J]. 药物评价研究, 2025, 48 (6): 1425-1437.
- [6] 李天海,黄理哲,陈慧娴. 荷叶对肥胖及代谢异常作用机制的研究进展[J]. 中国现代医生, 2025, 63 (8): 110-112.
- [7] 黄美虹,杨净钧,全婷薇,等. 中药治疗单纯性肥胖的研究进展[J]. 江西中医药, 2025, 56 (3): 70-73, 78.
- [8] 刘俊潼,田蓉,刘春铄,等. 薏苡仁的降脂活性及其作用机制研究进展[J/OL]. 特产研究, <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.148>.
- [9] 卿崧,范民霞,陈桂林,等. 黄精多糖及皂苷化学成分与药理活性研究进展[J]. 药学前沿, 2025, 29 (4): 681-697.
- [10] 许诺,高明利. 莱菔及莱菔子的药理作用及临床应用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26 (7): 60-67.
- [11] 刘纹纹,孔娜,刘双,等. 麦芽的化学成分及功能活性研究进展[J]. 食品与药品, 2023, 25 (4): 384-390.
- [12] 樊佳,刘晓谦,彭博,等. 中药鸡内金的现代研究进展[J]. 世界中医药, 2021, 16 (17): 2542-2547.
- [13] 覃翔,廖强. 静电场轨道阱高分辨质谱技术在中药分析中的应用进展[J]. 中国药师, 2022, 25 (7): 1240-1245.
- [14] 林晨,洪芳,陈俊裕,等. UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 法同时测定牛黄上清片中 18 种胆汁酸的含量[J]. 中成药, 2024, 46 (4): 1065-1072.
- [15] Shang LR, Wang YC, Li JX, et al. Mechanism of Si junzi decoction in the treatment of colorectal cancer based on network pharmacology and experimental validation [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 302 (Pt A): 115876.
- [16] 黄春想,王可盈,刘俊阳,等. 芥子酸抑制 2 型糖尿病小鼠心肌纤维化相关机制研究[J]. 营养学报, 2024, 46 (5): 483491.
- [17] 游云晖,周明艳,胡继成,等. 山柰酚抗肝脏疾病的研究进展[J]. 中国医药导报, 2024, 21 (6): 58-61.
- [18] 田晓丹,金晨,陈志,等. 石榴花对棕榈酸诱导的 HepG2 细胞脂质沉积的改善作用及机制研究[J]. 中草药, 2023, 54 (8): 2462-2470.
- [19] 赫雨薇,刘迪,官蜀钧,等. 基于 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 通路探究加味泽泻汤对高脂饲料大鼠血管内皮保护作用机制[J]. 中华中医药学刊, 2026, 44 (3): 120-128, 299-302.
- [20] 蔡中齐,罗益远,王芙蓉,等. 基于 UFLC-MS/MS 结合网络药理学及实验验证的乌药叶抗高脂血症作用及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2024, 41 (24): 3553-3564.
- [21] 韦乃球,杨焕春,周玲梅,等. 基于网络药理学、分子对接和动物实验探讨白子菜治疗高脂血症的作用机制[J]. 现代中药研究与实践, 2025, 39 (3): 23-30, 36.
- [22] Wu BX, Li CR, Kan H, et al. Hypolipidemic and antithrombotic effect of 6'-caffeoylarbutin from based on zebrafish model, network pharmacology, and molecular docking [J]. Molecules, 2024, 29 (4): 780.
- [23] 王影,亓柯鑫,张玲雨,等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap MS 的丝瓜络化学成分鉴定及其防治高脂血症网络药理学研究[J]. 中南药学, 2025, 23 (2): 298-304.
- [24] 吴佳芸,李玲玲,李瑞茜,等. 基于网络药理学与分子对接探讨桑杞清眩颗粒治疗高脂血症的机制[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32 (7): 969-978.
- [25] Ismail BS, Mahmoud B, Abdel-Reheim ES, et al. Cinnamaldehyde mitigates atherosclerosis induced by high-fat diet via modulation of hyperlipidemia, oxidative stress, and inflammation [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 4464180.

(收稿日期: 2025-07-11; 修回日期: 2025-08-10)



# 桑白皮化学成分及其抗菌活性研究

古越涛, 何潇, 崔佳, 黄昕玥, 张吉仲, 李丽梅\* (西南民族大学药学与食品学院, 成都 610225)

**摘要:** **目的** 研究桑白皮 (*Cortex Mori*) 的化学成分及其抗菌活性。**方法** 采用薄层层析、柱层析和高效液相色谱等方法对桑白皮中的化学成分进行分离和纯化, 并运用核磁共振波谱技术鉴定其结构, 最后通过牛津杯法对分离得到的化合物进行抗菌活性研究。**结果** 从桑白皮中分离得到 13 个化合物, 分别鉴定为 kuwanon A (1)、kuwanon C (2)、moracin P (3)、moracin O (4)、桑根酮 C (5)、morusignin L (6)、physcion-8-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (7)、albanin A (8)、桑辛素 (9)、桑辛素 M (10)、morunigrol B (11)、kuwanon H (12) 和 5-dehydroxy-moracin U (13)。**结论** 化合物 7、13 为首次从桑白皮中分离得到。化合物 2、8、12 能够有效抑制枯草芽孢杆菌, 化合物 5、12 对腐生葡萄球菌有一定的抑制效果。

**关键词:** 桑白皮; 化学成分; 抗菌活性; 枯草芽孢杆菌; 腐生葡萄球菌

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-092-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.013

## Chemical constituents and antibacterial activity of *Cortex Mori*

GU Yuetao, HE Xiao, CUI Jia, HUANG Xinyue, ZHANG Jizhong, LI Limei\* (College of Pharmacy and Food, Southwest Minzu University, Chengdu 610225)

**Abstract:** **Objective** To determine the chemical constituents and antimicrobial activity of *Cortex Mori* (*Morus alba* L.). **Methods** Compounds were isolated and purified with thin-layer chromatography (TLC), open column chromatography, and high-performance liquid chromatography (HPLC). Their structures were elucidated through nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, and their antimicrobial activities were evaluated with the Oxford-Cup method. **Results** Thirteen compounds were isolated and identified as kuwanon A (1), kuwanon C (2), moracin P (3), moracin O (4), sanggenon C (5), morusignin L (6), physcion-8-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (7), albanin A (8), morusin (9), morusin M (10), morunigrol B (11), kuwanon H (12), and 5-dehydroxy-moracin U (13). **Conclusion** Compounds 7 and 13 have been obtained from *Cortex Mori* for the first time. Compounds 2, 8, and 12 exhibit obvious inhibitory effect against *Bacillus subtilis*, while compounds 5 and 12 display moderate activity against *Staphylococcus saprophyticus*.

**Key words:** *Cortex Mori*; chemical constituent; antimicrobial activity; *Bacillus subtilis*; *Staphylococcus saprophyticus*

常见的桑属植物 (*Morus* L.) 有桑 (*Morus alba* L.)、华桑 (*Morus cathayana* Hemsl.)、鸡桑 (*Morus australis* Poir.)、黑桑 (*Morus nigra* L.) 和蒙桑 [*Morus mongolica* (Bureau) C. K. Schneid.] 等, 栽培或野生。《中国药典》2020 年版一部中所收载的桑白皮 (*Cortex Mori*) 为桑 (*M. alba*) 除去栓皮的干燥根皮,

在《本经》中又名桑根白皮, 首次记载于《神农本草经》<sup>[1]</sup>。桑白皮产地随着养蚕业的发展而变迁, 南北朝时为四川, 从宋朝起产地扩大, 清朝时江浙地区生长最多, 现代以河南、安徽、浙江、江苏等地为主产区, 以安徽亳州为道地产区<sup>[2]</sup>, 其性甘寒, 归肺经, 具有泻肺平喘、利水消肿之功, 临床上常用于

**基金项目:** 西藏自治区自然科学基金项目 (No. XZ202501ZR0118); 西南民族大学大学生创新创业训练计划项目 (No. S202510656154); 国家自然科学基金项目 (No. U23A20516)。

**作者简介:** 古越涛, 男, email: 2188769739@qq.com \* **通信作者:** 李丽梅, 女, 硕士研究生导师, 主要从事中药药效物质及质量标准研究, email: limeili@swun.edu.cn

治疗肺热喘咳、水肿胀满、尿少、面目肌肤浮肿等病证<sup>[3]</sup>。桑白皮的特征成分主要有 Diels-Alder 型加合物和黄酮类,具有降血糖、平喘、利尿、抗炎、镇痛、抗氧化、护肝和美白等药理作用<sup>[4-5]</sup>。近年来,桑白皮的抗菌活性成分引起了关注,例如,我国学者发现其所含的 kuwanon G、kuwanon H、mulberrin 和桑辛素 4 个异戊烯基黄酮可以高效地杀死各种耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)菌株,且可促进 MRSA 感染小鼠的伤口愈合<sup>[6]</sup>。为了从桑白皮中寻找更多具有良好抑菌活性的成分,本研究采用多种现代色谱和波谱方法对桑白皮中的化学成分进行分离纯化和结构鉴定,并通过牛津杯法探究其抗菌活性,以期对桑白皮化学成分研究及抗菌药物研发提供参考。

## 1 材料

R-100 旋转蒸发仪(瑞士 Büchi 公司);核磁共振波谱仪(Avance III -400, 瑞士 Bruker 公司);高效液相色谱仪(上海伍丰科学仪器有限公司);制备色谱柱(250 mm×21.2 mm, 10 μm, 苏州纳微生物科技有限公司),半制备色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司)。柱色谱硅胶(80~100 目、200~300 目)、薄层硅胶板 GF<sub>254</sub>(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(GE Healthcare Bio-Sciences AB);聚酰胺色谱(100~200 目,常州市长丰化工有限公司);其他试剂均为分析纯或色谱纯。

桑白皮购自成都荷花池药材市场,由西南民族大学吕露阳副教授鉴定。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)、腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*)、烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)、白假丝酵母菌(*Candida albicans*)均来源于中国科学院成都生物研究所。

## 2 方法与结果

### 2.1 提取与分离

粉碎的桑白皮药材(10 kg)用 80% 甲醇溶液常温浸泡提取 3 次,第 1 次 48 h(20 L),第 2、3 次各 24 h(15 L),滤液减压蒸干,得总浸膏(584.4 g)。总浸膏溶解后,进行硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(30:1~5:1, V/V)梯度洗脱,得到 Fr1、Fr2、Fr3 和 Fr4 共 4 个组分。Fr1 组分经制备液相色谱(80% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 1(156 mg,  $t_R = 10$  min)和化合物 9(1.9 g,  $t_R = 21$  min)。Fr2 经制备液相色谱(76% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 6(0.5 g,  $t_R = 21$  min)和 Fr2.1。Fr2.1(6.5 g)经制备液相色谱(45% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 10

(120 mg,  $t_R = 21$  min)和 Fr2.1.1。Fr2.1.1(6.0 g)用聚酰胺色谱柱分离,以甲醇水(55%~90%)梯度洗脱得到 Fr2.1.1.1~Fr2.1.1.3 组分。Fr2.1.1.1(1.7 g)用 Sephadex LH-20(甲醇)分离得到组分 Fr2.1.1.1.1~Fr2.1.1.1.4。Fr2.1.1.1.2(211.9 mg)经半制备液相色谱(75% 甲醇水, 3 mL/min,  $t_R = 19.3$  min)分离得到化合物 2(50 mg);组分 Fr2.1.1.1.4(241.8 mg)经半制备液相色谱(60% 甲醇水, 3 mL/min)分离得到化合物 3(62.6 mg,  $t_R = 11.1$  min)、化合物 4(57.4 mg,  $t_R = 12.6$  min)。Fr2.1.1.2(237.9 mg)先用 Sephadex LH-20(甲醇)分离,再经半制备液相色谱(70% 甲醇水, 3 mL/min)分离得到化合物 8(21.4 mg,  $t_R = 30.7$  min);Fr2.1.1.2(237.9 mg)先用 Sephadex LH-20(甲醇)分离,再经半制备液相色谱(85% 甲醇水, 3 mL/min)分离得到化合物 13(9.2 mg,  $t_R = 11.9$  min)。Fr2.1.1.3(2.9 g)先经过 Sephadex LH-20(甲醇)分离,后采用制备液相色谱(80% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 11(170 mg,  $t_R = 18$  min)。化合物 7(25 mg)从 Fr3 中结晶析出,剩余母液经制备液相色谱(75% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 12(4.3 g,  $t_R = 25$  min)。Fr4(5.9 g)先经过 Sephadex LH-20(甲醇)分离,后采用制备液相色谱(75% 甲醇水, 10 mL/min)分离得到化合物 5(306 mg,  $t_R = 29$  min)。

### 2.2 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 6.95(1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6'), 6.68(1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-14), 6.41(1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.22(1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-8), 6.17(1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-6), 5.62(1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-15), 5.06(1H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-10), 3.05(2H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-9), 1.56(3H, s, H-12), 1.38(3H, s, H-13), 1.34(6H, s, H-17, 18); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 183.6(C-4), 165.6(C-7), 163.3(C-2), 163.1(C-5), 159.7(C-4'), 156.5(C-8a), 153.2(C-2'), 132.7(C-11), 131.0(C-6'), 129.9(C-15), 122.8(C-10), 121.8(C-3), 117.8(C-14), 114.0(C-1'), 110.9(C-3'), 108.4(C-5'), 105.3(C-4a), 99.5(C-6), 94.4(C-8), 77.7(C-16), 28.2(C-17, 18), 25.9(C-12), 24.9(C-9), 17.7(C-13)。<sup>1</sup>H-NMR 和 <sup>13</sup>C-NMR 与文献报道<sup>[7]</sup>对照一致,所以鉴定该化合物为 kuwanon A。

化合物 2: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.07(1H, d,  $J = 8.3$  Hz, H-6'),

6.43 (1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3'), 6.40 (1H, dd,  $J = 8.3, 2.2$  Hz, H-5'), 6.23 (1H, s, H-6), 5.16 (1H, br t,  $J = 7.4$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH} =$ ), 5.10 (1H, br t,  $J = 7.0$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH} =$ ), 3.34 (2H, br d,  $J = 7.4$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH} =$ ), 3.09 (2H, br d,  $J = 7.0$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH} =$ ), 1.59, 1.58, 1.55, 1.39 (each 3H, s,  $4 \times \text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 184.0 (C-4), 163.6 (C-7), 162.6 (C-8a), 161.8 (C-2), 160.7 (C-4'), 157.9 (C-2'), 157.1 (C-5), 132.6 (C-3''), 132.4 (C-3'''), 132.0 (C-6'), 123.4, 123.0 (C-2'', 2'''), 121.3 (C-3), 113.5 (C-1'), 107.8 (C-5'), 107.5 (C-8), 103.7 (C-3'), 98.9 (C-6), 25.9, 25.8 (C-4'', 4'''), 24.8 (C-1''), 22.4 (C-1'''), 17.8, 17.7 (C-5'', 5'''). 以上数据与文献报道基本一致<sup>[8]</sup>, 所以鉴定该化合物为 kuwanon C。

化合物 3: 黄色粉末。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.19 (1H, s, H-4), 6.86 (1H, s, H-3), 6.85 (1H, s, H-7), 6.76 (2H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2', 6'), 6.26 (1H, br t,  $J = 2.0$  Hz, H-4'), 3.77 (1H, dd,  $J = 7.6, 5.2$  Hz, H-2''), 3.10 (1H, dd,  $J = 16.5, 5.2$  Hz, H-1''a), 2.82 (1H, dd,  $J = 16.5, 7.6$  Hz, H-1''b), 1.34 (3H, s, H-5''), 1.27 (3H, s, H-4'');  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 160.0 (C-3', 5'), 156.6 (C-2), 155.9 (C-7a), 152.6 (C-6), 133.8 (C-1'), 124.2 (C-3a), 121.9 (C-4), 117.7 (C-5), 104.1 (C-2', 6'), 103.7 (C-4'), 101.9 (C-3), 99.7 (C-7), 78.2 (C-3''), 70.6 (C-2''), 32.5 (C-1''), 26.0 (C-5''), 21.2 (C-4''). 以上数据与文献报道基本一致<sup>[9]</sup>, 所以鉴定该化合物为 moracin P。

化合物 4: 黄色粉末。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.25 (1H, s, H-4), 6.86 (1H, s, H-3), 6.83 (1H, s, H-7), 6.75 (2H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2', 6'), 6.24 (1H, br t,  $J = 2.0$  Hz, H-4'), 4.60 (1H, m, H-2''), 3.17 (2H, m, H-1''), 1.27 (3H, s, H-4''), 1.21 (3H, s, H-5'');  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 159.9 (C-3', 5'), 159.8 (C-6), 156.3 (C-7a), 156.1 (C-2), 133.8 (C-1'), 125.1 (C-5), 123.9 (C-3a), 117.0 (C-4), 103.8 (C-2', 6'), 103.4 (C-4'), 102.4 (C-3), 93.2 (C-7), 91.4 (C-2''), 72.5 (C-3''), 31.2 (C-1''), 25.3 (C-4'', 5''). 以上数据与文献报道基本一致<sup>[9]</sup>, 所以鉴定该化合物为 moracin O。

化合物 5: 黄色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 709.75

$[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 7.90 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-14''), 7.20 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-6'), 6.69 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-20''), 6.38 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-5'), 6.27 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-13''), 6.15 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-3'), 6.04 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-11''), 5.96 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-19''), 5.58 (1H, m, H-2''), 5.03 (1H, m, H-10), 4.46 (1H, m, H-4''), 3.97 (1H, m, H-3''), 2.90 (1H, dd,  $J = 9.0, 14.0$  Hz, H-9), 1.69 (3H, s, H-7''), 1.50 (6H, s, H-12, 13);  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 206.3 (C-8''), 187.3 (C-4), 168.1 (C-7), 164.3 (C-10'', 12''), 164.2 (C-5), 160.2 (C-8a), 159.7 (C-4'), 159.4 (C-2'), 155.8 (C-18''), 155.6 (C-16''), 135.3 (C-11), 132.9 (C-1''), 132.4 (C-20''), 128.5 (C-14''), 124.9 (C-6'), 122.6 (C-1'), 121.6 (C-2''), 119.5 (C-15''), 117.6 (C-10), 113.8 (C-9''), 108.6 (C-5'), 107.7 (C-6), 107.5 (C-19''), 105.9 (C-13''), 102.2 (C-17''), 102.1 (C-3), 98.5 (C-4a), 98.4 (C-3'), 94.4 (C-8), 90.2 (C-2), 47.1 (C-4''), 33.2 (C-3'', 5'', 6''), 31.2 (C-9), 25.6 (C-12), 23.4 (C-7''), 17.8 (C-13)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[10]</sup>, 所以鉴定该化合物为桑根酮 C。

化合物 6: 黄色粉末。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 7.15 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-6'), 6.49 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-14), 6.43 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-3'), 6.35 (1H, dd,  $J = 8.4, 2.0$  Hz, H-5'), 6.20 (1H, s, H-8), 5.67 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-15), 2.32 (2H, m, H-9), 1.44 (2H, m, H-10), 1.40 (6H, s, H-17, 18), 0.96 (6H, s, H-12, 13)。以上数据与文献报道的一致<sup>[11]</sup>, 所以鉴定该化合物为 morusignin L。

化合物 7: 黄色粉末。 $^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 13.08 (1H, s, OH-1), 7.47 (1H, s, H-4), 7.35 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-5), 7.17 (2H, br s, H-2, 7), 5.14 (4H, m,  $3 \times \text{OH-glc}$  and H-1'), 4.70 ~ 4.67 (1H, m, OH-glc), 3.96 (3H, s,  $\text{OCH}_3$ ), 3.72 (1H, m, H-glc), 3.48 ~ 3.42 (3H, m, H-glc), 3.32 (1H, m, H-6'a), 3.17 (1H, m, H-6'b), 2.41 (3H, s,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 186.5 (C-9), 181.9 (C-10), 164.7 (C-6), 161.7 (C-1), 160.7 (C-8), 147.1 (C-3), 136.4 (C-11), 132.1 (C-14), 124.3 (C-2), 119.4 (C-4), 114.5



(C-12, 13), 107.3 (C-5), 106.5 (C-7), 100.6 (C-1'), 77.5 (C-5'), 76.6 (C-3'), 73.3 (C-2'), 69.8 (C-4'), 60.8 (C-6'), 56.1 (OCH<sub>3</sub>), 21.4 (CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道的一致<sup>[12]</sup>, 所以鉴定该化合物为 physcion-8-*O*-β-D-glucopyranoside。

化合物 8: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.06 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6'), 6.41 (1H, s, H-3'), 6.39 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 6.26 (1H, s, H-8), 6.18 (1H, s, H-6), 5.08 (1H, t, *J* = 6.9 Hz, H-2''), 3.08 (2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-1''), 1.58, 1.38 (each 3H, s, 2×CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 183.6 (C-4), 165.6 (C-7), 163.5 (C-4'), 163.2 (C-2'), 161.9 (C-5), 159.8 (C-2), 157.7 (C-8a), 132.7 (C-6'), 132.3 (C-3''), 122.8 (C-2''), 121.8 (C-3), 113.4 (C-1'), 107.9 (C-5'), 105.3 (C-4a), 103.7 (C-3'), 99.5 (C-6), 94.5 (C-8), 25.8 (C-4''), 24.8 (C-1''), 17.6 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[13]</sup>, 所以鉴定该化合物为 albanin A。

化合物 9: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 13.17 (1H, s, 5-OH), 9.85, 9.84 (each 1H, s, 2', 4'-OH), 7.14 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-6'), 6.21 ~ 6.46 (5H, m, H-6, 14, 15, 3', 5'), 5.03 (1H, m, H-10), 1.54 (3H, s, 11-CH<sub>3</sub>), 1.39 (9H, s, 11-CH<sub>3</sub>, 16-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 181.8 (C-4), 161.9 (C-2), 160.9 (C-5), 160.6 (C-4'), 158.5 (C-7), 156.6 (C-2'), 151.7 (C-8a), 131.4 (C-11), 131.3 (C-6'), 127.7 (C-15), 121.4 (C-10), 120.6 (C-3), 114.2 (C-14), 110.7 (C-1'), 106.9 (C-5'), 104.2 (C-4a), 102.8 (C-3'), 100.5 (C-8), 98.8 (C-6), 78.1 (C-16), 27.7 (C-17, 18), 25.5 (C-12), 23.7 (C-9), 17.4 (C-13)。以上数据与文献报道一致<sup>[14]</sup>, 所以鉴定该化合物为桑辛素。

化合物 10: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 9.59 (1H, s, 6-OH), 9.46 (2H, br s, 3', 5'-OH), 7.38 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.07 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-7), 6.92 (1H, s, H-3), 6.74 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, H-5), 6.67 (2H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2', H-6'), 6.20 (1H, t, d, *J* = 2.0 Hz, H-4'); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 158.8 (C-3', 5'), 155.8 (C-7a), 155.3 (C-6), 153.9 (C-2), 131.7 (C-1'), 121.1 (C-4), 120.8 (C-3a), 112.5 (C-5), 102.6 (C-3), 102.3 (C-2', 6'), 101.6 (C-

4'), 97.5 (C-7)。以上数据与文献报道<sup>[15]</sup>基本一致, 所以鉴定该化合物为桑辛素 M。

化合物 11: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 6.78 (1H, s, H-6'), 6.44 (1H, s, H-3'), 6.26 (1H, s, H-6), 5.26 (1H, t, *J* = 7.2 Hz, H-2'''), 5.14 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-2'''), 5.07 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-2''), 3.35 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1'''), 3.20 (2H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.12 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 1.97 (3H, s, H-5'''), 1.67 (3H, s, H-4'''), 1.60 (3H, s, H-5'''), 1.58 (3H, s, H-5''), 1.41 (3H, s, H-4'''), 1.36 (3H, s, H-4''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 183.9 (C-4), 163.6 (C-2), 162.1 (C-7), 161.9 (C-5), 160.5 (C-4'), 157.9 (C-8a), 157.8 (C-2'), 133.5 (C-3'''), 132.8 (C-3''), 132.6 (C-3'''), 132.2 (C-6'), 123.0 (C-2'''), 122.8 (C-2'', C-2'''), 121.9 (C-3), 121.5 (C-5'), 113.4 (C-1'), 108.1 (C-8), 106.0 (C-4a), 103.9 (C-3'), 99.1 (C-6), 28.7 (C-1'''), 25.8 (C-5'', C-5''', C-5'''), 25.0 (C-1''), 21.7 (C-1'''), 17.7 (C-4'', C-4''', C-4''')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[16]</sup>, 所以鉴定该化合物为 morunigrol B。

化合物 12: 黄色粉末。ESI-MS *m/z*: 761.83 [*M* + *H*]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 13.36 (1H, s, 23-OH), 12.86 (1H, s, 5-OH), 7.29 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-27, 6'), 6.82 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-33), 6.60 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3'), 6.55 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-5'), 6.22 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-30), 6.08 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-26), 6.00 (2H, m, H-6, 32), 4.90 ~ 5.50 (3H, m, H-10, 15, 35), 1.66, 1.63, 1.58, 1.55, 1.47 (each 3H, s, 5×CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 208.2 (C-21), 181.7 (C-4), 162.0 (C-23), 161.8 (C-25), 161.5 (C-7), 161.0 (C-4'), 160.3 (C-8a), 159.1 (C-2), 156.5 (C-2'), 156.1 (C-31), 155.9 (C-29), 155.4 (C-5), 132.8 (C-16), 131.2 (C-33), 131.1 (C-27), 130.9 (C-11), 130.3 (C-36), 129.4 (C-6'), 123.3 (C-15), 122.3 (C-35), 121.9 (C-10), 121.4 (C-28), 119.6 (C-3), 113.7 (C-22), 113.3 (C-24), 111.3 (C-1'), 106.9 (C-32), 106.8 (C-26), 106.6 (C-8, 5'), 103.6 (C-4a), 102.7 (C-30), 102.6 (C-3'), 97.5 (C-6), 45.5 (C-20), 39.9 (C-19), 39.7 (C-14), 39.3 (C-

18), 25.5 (C-12), 25.4 (C-37), 23.5 (C-9), 22.5 (C-17), 21.2 (C-34), 17.6 (C-13), 17.5 (C-38)。以上数据与文献报道基本一致<sup>[17]</sup>, 所以鉴定该化合物为 kuwanon H。

化合物 **13**: 黄色粉末。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub> OD)  $\delta$ : 7.31 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-4), 6.99 (1H, s, H-3), 6.90 (1H, d,  $J$  = 11.9 Hz, H-4''), 6.86 (1H, d,  $J$  = 8.4 Hz, H-5), 6.80 (2H, s, H-2', 6'), 6.25 (1H, br s, H-4'), 6.08 (1H, d,  $J$  = 11.9 Hz, H-5''), 4.04 (2H,

s, H-7''), 1.38 (3H, s, H-8''); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub> OD)  $\delta$ : 160.1 (C-3', 5'), 157.8 (C-6), 157.1 (C-2), 154.7 (C-7a), 138.9 (C-5''), 133.4 (C-1'), 125.1 (C-3a), 121.3 (C-4), 117.9 (C-4''), 116.9 (C-5), 112.1 (C-7), 104.1 (C-2', 6'), 103.9 (C-4'), 102.9 (C-3), 79.3 (C-7''), 73.5 (C-6''), 26.1 (C-8'')。以上数据与文献报道基本一致<sup>[18]</sup>, 所以鉴定该化合物为 5-dehydroxy-moracin U。

化合物 **1** ~ **13** 的结构见图 1。

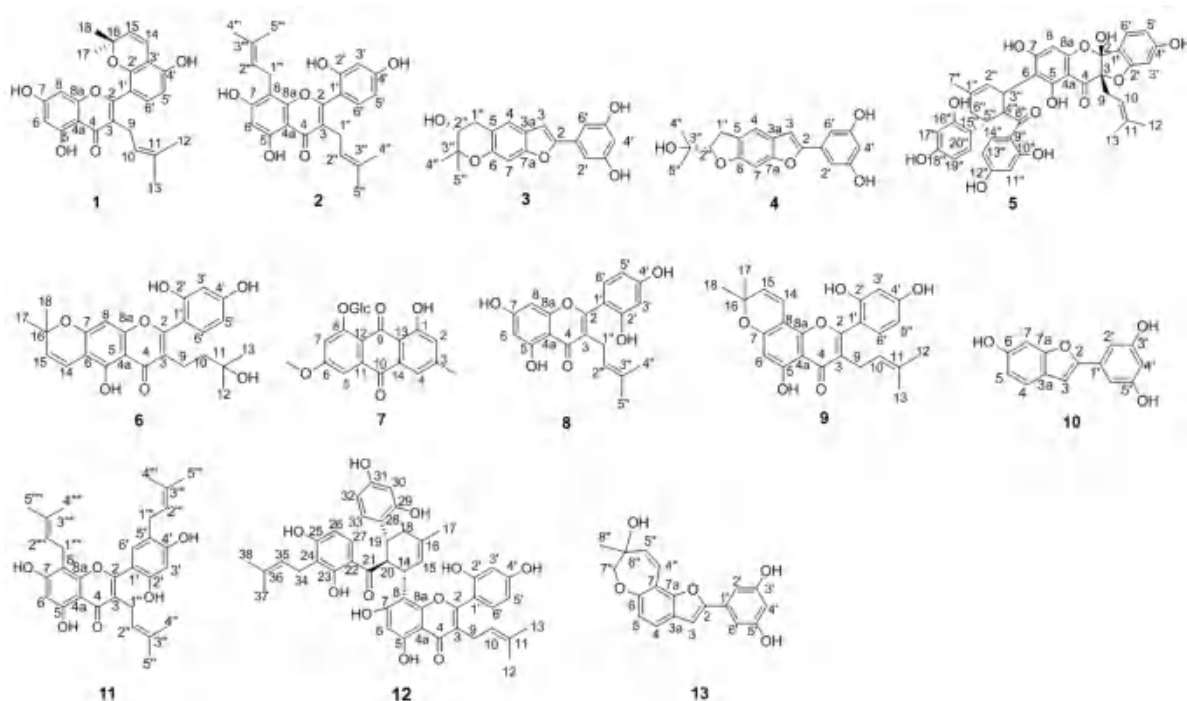


图 1 化合物 **1** ~ **13** 的化学结构式

Fig 1 Chemical structures of compounds **1** ~ **13**

## 2.3 化合物抗菌活性研究

采用牛津杯法<sup>[19]</sup>评估化合物 **1** ~ **13** 对真菌 (烟曲霉、禾谷镰孢菌、白假丝酵母菌) 及细菌 (枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌、腐生葡萄球菌) 的体外抑制活性。将各待测细菌及真菌的菌悬液与 40 ~ 45 °C 的熔融琼脂培养基均匀混合后倾注平板。待测化合物以二甲基亚砜 (DMSO) 溶解至终浓度 0.1 mg/mL, 取 0.2 mL 溶液无菌注入牛津杯 (内径 9 mm), 以等体积 DMSO 为阴性对照。细菌平板于 37 °C 培养 24 h, 真菌平板于 30 °C 培养 48 h。抗细菌活性的阳性对照为氨苄西林 (5  $\mu$ g/mL)、抗真菌活性的对照为制霉菌素 (50  $\mu$ g/mL)。实验结束后, 测量抑菌圈直径 (mm), 每组实验独立重复 3 次, 取平均值。阳性对照氨苄西林 (5  $\mu$ g/mL) 对枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌和腐生葡萄球菌的抑菌圈直径分别为 19 mm、14 mm 和 21 mm; 制霉菌素 (50

$\mu$ g/mL) 对烟曲霉、禾谷镰孢菌和白假丝酵母菌的抑菌圈分别为 16 mm、16 mm 和 20 mm, 表明实验体系有效。

化合物 **2**、**8**、**12** 对枯草芽孢杆菌表现出明显的抑制活性, 其抑菌圈直径分别为 16 mm、19 mm 和 16 mm。其中, 化合物 **8** 的抑菌效果与阳性对照氨苄西林 (19 mm) 相当。此外, 化合物 **5** 和 **12** 对腐生葡萄球菌也显示出一定的抑制效果, 抑菌圈直径分别为 14 mm 和 11 mm。然而, 所有测试化合物对大肠埃希菌均未表现出抗菌作用。在真菌抑制方面, 本研究中所筛选的 13 个化合物对 3 种供试真菌 (烟曲霉、禾谷镰孢菌及白假丝酵母菌) 均未表现出明显的抑制活性。

## 3 讨论

本研究通过各种色谱方法和核磁共振波谱技术从桑白皮中分离鉴定了 13 个化合物, 包括 6

个异戊烯基黄酮(化合物 1、2、6、8、9、11)、4 个 2-苯基苯并呋喃类(化合物 3、4、10、13)、2 个 Diels-Alder 型加合物(化合物 5、12)和 1 个蒽醌(化合物 7)。化合物 7 和 13 为首次从桑白皮中分离得到。

大肠埃希菌(革兰氏阴性菌)是常见的人体病原菌,枯草芽孢杆菌(革兰氏阳性菌)、腐生葡萄球菌(革兰氏阳性菌)、烟曲霉和白假丝酵母菌分别是人体重要的条件致病菌和致病菌,禾谷镰孢菌是重要的农作物病原菌,本研究通过筛选从桑白皮中分离得到的化合物对上述不同类型病原菌的抑制活性,可充分认识桑白皮的抗菌药效物质基础,为拓展其应用范围奠定基础。抗菌活性实验结果表明 kuwanon C、albanin A、kuwanon H 能够有效抑制枯草芽孢杆菌活性;桑根酮 C、kuwanon H 对腐生葡萄球菌有一定抑制能力。桑白皮通过其富含的多种独特活性成分,展现出显著的抗炎、抗肿瘤、降血糖、抗肥胖、促进毛发生长等多重药理活性<sup>[20]</sup>。朱蒙<sup>[21]</sup>从桑白皮中分离得到 32 个化合物,并发现大多数具有一个或多个异戊烯基和香叶基单元的化合物表现出优越的抗 MRSA 活性。目前对桑白皮中成分除抗 MRSA 以外的抗菌活性研究相对较少。本研究筛选了所分离得到的桑白皮化合物对重要的人体病原菌、条件致病菌和农作物病原菌等的抑制活性,拓展了其抗菌活性范围。

综上所述,本研究报道了桑白皮提取物的化学成分,并探究其对多种类型菌的抑制活性,这些成果不仅丰富了该植物的化学成分库,也为桑属植物的开发与应用提供了科学基础,但具体抗菌活性机制尚需进一步研究。

## 参考文献

- [1] 郑甜碧. 基于化学成分的桑白皮品质评价研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2020.
- [2] 成胜荣, 欧阳臻, 詹志来, 等. 桑白皮的本草考证[J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(4): 70-76.
- [3] 丁倩云, 马双成, 许风国, 等. 桑白皮的化学成分、药理及质量控制研究进展[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(7): 1114-1124.
- [4] 张嘉欣, 朱珠, 孙念霞, 等. 桑白皮化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物预测[J]. 中草药, 2025, 56(9): 3340-3353.
- [5] Yin ZH, Li YF, Gan HX, et al. Synergistic effects and antityrosinase mechanism of four plant polyphenols from *Morus* and *Hulless Barley* [J]. Food Chem, 2022, 374(15): 131576-131586.
- [6] Wu SC, Han F, Song MR, et al. Natural flavones from *Morus alba* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via targeting the proton motive force and membrane permeability [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(36): 10222-10234.
- [7] 何雪梅, 吴东玲, 邹宇晓, 等. 广东桑根皮化学成分研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(6): 219-228.
- [8] Tang F, Wang Y, Hou AJ. Total syntheses of nigrasin I and kuwanon C [J]. Tetrahedron, 2014, 70(26): 3963-3970.
- [9] Zoofishan Z, Kusz N, Csorba A, et al. Antispasmodic activity of prenylated phenolic compounds from the root bark of *Morus nigra* [J]. Molecules, 2019, 24(13): 2497-2513.
- [10] 干泓侠. 桑白皮化学成分的分离鉴定及桑根酮 C 壳聚糖印迹聚合物的研究[D]. 成都: 西南民族大学, 2023.
- [11] 张国刚, 黎琼红, 叶英子博, 等. 桑白皮黄酮化学成分的研究[J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(2): 108-112.
- [12] Kwon BM, Kim SH, Baek NI, et al. Farnesyl protein transferase inhibitory components of *Polygonum multiflorum* [J]. Arch Pharm Res, 2009, 32(4): 495-499.
- [13] 陶小宇, 张德武, 陈日道, 等. 桑树细胞培养物的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(24): 3738-3742.
- [14] Hano Y, Yamagami Y, Kobayashi M, et al. Artonins E and F, two new prenylflavones from the bark of *Artocarpus communis* forst [J]. Heterocycles, 1990, 31(5): 879-882.
- [15] 罗隽, 孙培文, 刘韶, 等. 应用高速逆流色谱分离桑枝酚类成分[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(4): 486-489.
- [16] Qu KJ, Wang B, Jiang CS, et al. Rearranged Diels-Alder adducts and prenylated flavonoids as potential PTP1B inhibitors from *Morus nigra* [J]. J Nat Prod, 2021, 84(8): 2303-2311.
- [17] Hirakura K, Fukai T, Hano Y, et al. Kuwanon W, a natural Diels-Alder type adduct from the root bark of *Morus lhou* [J]. Phytochemistry, 1985, 24(1): 159-161.
- [18] Zhang DW, Tao XY, Yu LY, et al. New 2-arylbenzofuran metabolite from cell cultures of *Morus alba* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2015, 17(6): 683-688.
- [19] 靳天雄, 冯鸣鹤, 梁洪秀, 等. 3 种乳酸菌的分离鉴定及其对奶牛乳房炎源性肺炎克雷伯菌的抑菌特性[J]. 中国兽医杂志, 2025, 61(1): 86-93.
- [20] Wang YM, Ai Q, Gu ML, et al. Comprehensive overview of different medicinal parts from *Morus alba* L.: chemical compositions and pharmacological activities [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1364948.
- [21] 朱蒙. 桑白皮的化学成分和抗 MRSA 活性研究[D]. 昆明: 云南大学, 2021.

(收稿日期: 2025-08-10; 修回日期: 2025-09-20)



# 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术鉴定 银杏叶提取物化学成分及冻干舌下片入脑成分

檀世祖<sup>1</sup>, 宋嘉佳<sup>1</sup>, 宇泉霖<sup>1</sup>, 李寒冰<sup>1</sup>, 李敏枫<sup>1</sup>, 王天舒<sup>1</sup>, 张昊然<sup>1</sup>, 郑睿玺<sup>1</sup>, 张妍<sup>1</sup>, 蔡程科<sup>1\*</sup>, 郭文波<sup>2\*</sup> (1.北京中医药大学中药学院, 北京 102400; 2.中意九州生物科技有限公司, 山东 青岛 266100)

**摘要:** **目的** 基于超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用 (UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS) 技术分析银杏叶提取物的化学成分及银杏叶提取物冻干舌下片于大鼠体内的入脑成分。**方法** 通过 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS, 结合化学成分数据库、相关文献信息及 Compound Discoverer 3.3、Xcalibur Qual Browser 4.7 等软件分析银杏叶提取物的化学成分; 雄性 SD 大鼠 9 只, 随机分为对照组、舌下片健康组、舌下片脑缺血模型组, 大鼠经给药后收集样本, 通过 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术分析银杏叶提取物冻干舌下片的入脑成分。**结果** 共在银杏叶提取物中鉴定出 161 个化学成分, 主要包括黄酮类 47 个、萜类 10 个、苯丙素类 18 个、有机酸类 40 个、氨基酸及其衍生物类 14 个、核苷酸类 7 个、生物碱类 13 个、糖类 8 个和维生素类 4 个; 在舌下片健康组样品中共鉴定出 5 个原形入脑成分, 均为萜类化合物; 在舌下片脑缺血模型组样品中共鉴定出 53 个原形入脑成分, 包括黄酮类化合物 30 个、苯丙素类化合物 11 个、萜类化合物 7 个、有机酸类化合物 5 个。**结论** 明确了银杏叶提取物的化学成分和银杏叶提取物冻干舌下片于大鼠的入脑成分。**关键词:** 银杏叶提取物; 银杏叶提取物冻干舌下片; 化学成分; 入脑成分; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-098-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.014

## Chemical components of Ginkgo biloba extract and the brain components of its lyophilized sublingual tablets based on UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

TAN Shizu<sup>1</sup>, SONG Jiajia<sup>1</sup>, YU Quanlin<sup>1</sup>, LI Hanbing<sup>1</sup>, LI Minfeng<sup>1</sup>, WANG Tianshu<sup>1</sup>, ZHANG Haoran<sup>1</sup>, ZHENG Ruixi<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>1</sup>, CAI Chengke<sup>1\*</sup>, GUO Wenbo<sup>2\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102400; 2. Zhongyi Jiuzhou Biotechnology Co., Ltd, Qingdao Shandong 266100)

**Abstract: Objective** To determine the chemical constituents of Ginkgo biloba extract and the brain components of its lyophilized sublingual tablets in rats based on UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS. **Methods** The chemical composition of Ginkgo biloba extract was analyzed by UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS, combined with chemical composition database, relevant literature information, Compound Discoverer 3.3, Xcalibur Qual Browser 4.7 and other software. Nine male SD rats were randomly divided into three groups: a control group, a sublingual tablets healthy group, and a sublingual tablets cerebral ischemia model group. **Results** A total of 161 chemical components were identified in Ginkgo biloba extract, namely 47 flavonoids, 10 terpenes, 18 phenylpropanoids, 40 organic acids, 14 amino acids and their derivatives, 7 nucleotides, 13 alkaloids, 8 glycans and 4 vitamins. A total of 5 prototype brain components were identified in the sublingual tablets healthy samples, all of which were terpenoids. A total of 53 prototypes were identified in the sublingual ischemia model group, including 30 flavonoids, 11 phenylpropanoids, 7 terpenoids, and 5 organic acids. **Conclusion** The chemical compositions of

**作者简介:** 檀世祖, 女, 硕士研究生, 主要从事中药新剂型与新制剂研究, email: 18031917108@163.com \* **通信作者:** 蔡程科, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药新剂型与新制剂研究, email: cck98@126.com; 郭文波, 男, 主要从事中药新剂型与新制剂研究, email: guowenbo@jiuzhoubio.cn

Ginkgo biloba extract and the brain components of its lyophilized sublingual tablets in rats are clarified.

**Key words:** Ginkgo biloba extract; lyophilized sublingual tablet of Ginkgo biloba extract; chemical composition; brain component; UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

脑梗死是由于脑动脉血流中断导致脑组织缺血、缺氧而发生的坏死,是一种严重的中枢神经系统疾病,会导致不可逆的神经功能障碍,该病的特点是患病率高、致残率高、复发率高及死亡率高<sup>[1]</sup>。银杏叶提取物是银杏叶经提取纯化富集等工艺得到的有效提取物,是制备银杏叶制剂的基础原料<sup>[2]</sup>。现代研究表明,银杏叶提取物具有抗炎、抗肿瘤、神经保护等多种药理作用,广泛应用于脑梗死及神经功能障碍等病症的临床治疗<sup>[3]</sup>。

真空冷冻干燥技术能够最大程度地保留药品的生物活性,增加药物的溶解度<sup>[4]</sup>,舌下给药能避免肝肠首过效应,直接进入体循环<sup>[5]</sup>,近年来被视为颇具前景的新给药途径,本研究即采用真空冷冻干燥技术将银杏叶提取物制备成舌下片进行实验探究。

中药体系具有成分复杂性、作用靶点多元性及效应整体性的核心特征,其物质基础的系统阐明是揭示其药理作用本质、解析作用机制的前提与关键,因此本实验基于超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱联用(UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS)技术,鉴定银杏叶提取物的化学成分,进一步探究银杏叶提取物冻干舌下片的入脑成分,以期阐明药效物质基础提供科学依据,为银杏叶提取物的开发以及临床应用提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 高分辨液质联用系统(美国赛默飞公司); BT125D 型电子分析天平(北京赛多利斯有限公司); Vortex-2 Genie 涡旋混合器(Scientific Industries); WD-9415C 型超声波清洗器(北京市六一仪器厂); 5810R 低温离心机(Eppendorf); CentriVap 真空离心浓缩仪(Labconco); F-MM500 纳米高能振动球磨仪(湖南弗卡斯实验仪器有限公司)。

### 1.2 试药

银杏叶提取物(批号: G20241215, 陕西华泽生物科技有限公司); 银杏叶提取物冻干舌下片(自制, 规格: 含 7.5 mg 银杏叶提取物/片)。甲醇、乙腈、甲酸(质谱级, 美国赛默飞公司); 蒸馏水(屈臣氏)。

### 1.3 实验动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 9 只, 体重(300±20) g [维通利华实验动物科技有限公司, 实验动物生产许

可证号: SYXK(京)2023-0011]; 大鼠饲养于北京中医药大学动物房屏障环境, 饲养温度为(23±2)℃, 相对湿度为(60±2)%, 其间正常喂养饲料, 自由饮水, 适应性喂养 7 d。本实验获得北京中医药大学实验动物伦理委员会批准, 动物伦理审批编号为 BUCM20250428-001。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件和质谱条件

**2.1.1 色谱条件** 采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 流动相为 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.1% 甲酸水(B), 平衡时间为 60 min, 柱温 35℃, 流速 0.2 mL/min, 进样量 5 μL, 梯度洗脱(0~10 min, 0%A; 10~20 min, 30%A; 20~25 min, 40%A; 25~30 min, 50%A; 30~40 min, 70%A; 40~45 min, 90%A; 45~60 min, 100%A)。

**2.1.2 质谱条件** 加热电喷雾离子化源(HESI), 鞘气流量 40 arb, 辅助气体流量 15 arb, 毛细管温度 320℃, 辅助气体加热器温度 350℃, 正喷雾电压 3.2 kV, 负喷雾电压 3.0 kV。MS 的分辨率 70 000, MS/MS 的分辨率 17 500, 扫描方式为全扫模式, 正、负离子模式同时检测, 质谱记录正离子谱扫描范围  $m/z$  100~1500。

### 2.2 供试品溶液的制备

取银杏叶提取物粉末 100 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中; 精密加入 80% 甲醇水溶液 10 mL, 涡旋 1 min, 超声处理 30 min(功率 400 W, 频率 40 kHz), 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液。

### 2.3 银杏叶提取物冻干舌下片的制备

首先称取处方量的银杏叶提取物、普鲁兰多糖、三氯蔗糖、氢氧化钠和黄原胶, 按处方顺序将其混合均匀后, 加纯净水定容至处方量, 即为药液。对药液依次进行剪切、过滤和灌装后, 借助液氮对其进行预冻, 预冻结束后进入冻干机开启冻干程序, 冻干结束, 出箱覆膜, 即得银杏叶提取物冻干舌下片。

### 2.4 动物造模、分组与给药

大鼠造模前 6 h 禁食不禁水, 选择线栓法对左侧颈动脉进行造模, 以模拟临床脑缺血, 2 h 后轻拔出线栓, 长度约 1 cm, 模拟临床脑缺血再灌注。再灌注 24 h 后对大鼠进行神经功能评分, 评分 1~4 分者为造模成功, 本实验纳入 2~3 分的大鼠进行后续取材和检测。

雄性 SD 大鼠 9 只, 适应性饲养 7 d 后, 随机分成 3 组, 每组 3 只, 分别为对照组、舌下片健康组和舌下片脑缺血模型组, 舌下片组给药时先用异氟烷将大鼠麻醉后, 拿镊子夹起大鼠舌头, 将药物放至舌下后捏住大鼠嘴巴, 实现舌下给药, 每日给药 1 次, 1 次 1 片, 连续给药 3 d。

## 2.5 样品的采集与处理

末次给药前 12 h 禁食不禁水, 末次给药后的 40 min 采集样本。将大鼠仰卧位固定于鼠板上注射 1.5% 戊巴比妥钠对大鼠进行深度麻醉, 灌流后, 用手术剪沿着大鼠头部正中剪开皮肤, 使颅骨暴露出来, 然后将颅骨拉开, 使大鼠大脑的脑组织完整暴露, 小心分离视神经、嗅球等与脑组织相连的部分, 最后取出整个脑组织。将脑组织均匀分成 8 份, 液氮速冻后于  $-80^{\circ}\text{C}$  下冷冻保存备用。

将冻存的样品取出, 冷冻研磨, 加入 80% 甲醇水溶液 1 mL, 涡旋振荡 5 min, 冰水超声 10 min, 在  $4^{\circ}\text{C}$  以 13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 氮气吹干, 用 100  $\mu\text{L}$  80% 甲醇复溶, 将一组鼠的样品合并为一个样, 涡旋 10 min 混匀, 在  $4^{\circ}\text{C}$  以 13 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 重复操作两次后, 上清液即为样品, 待上机检测。

## 2.6 数据的处理

将原始数据导入 Compound Discoverer 3.3 软件, 借助该软件的在线匹配预测, 将供试品液质数据与 mzCloud、mzVault 等数据库进行匹配。借助 Xcalibur Qual Browser 4.7 软件, 将匹配筛选得到的化学成分, 与相关文献和 PubChem、Chemicalbook 化学成分数据库中化学成分的信息进行人工复核验证, 以确保匹配结果的真实性和可信度。

## 3 结果

### 3.1 银杏叶提取物化学成分分析

共分析出 161 个化合物, 包括黄酮类 47 个、萜类 10 个、苯丙素类 18 个、有机酸类 40 个、氨基酸及其衍生物类 14 个、核苷酸类 7 个、生物碱类 13 个、糖类 8 个、维生素类 4 个。正离子和负离子模式下的银杏叶提取物总离子流图如图 1 所示。鉴定的各成分具体信息及分类如表 1 所示。

### 3.2 银杏叶提取物冻干舌下片入脑成分鉴定

舌下片健康组共鉴定出 5 个原形入脑成分, 分别为银杏内酯 A/B/C/J/K, 均为萜类化合物。舌下片脑缺血模型组共鉴定出 53 个原形入脑成分, 其中包括黄酮类化合物 30 个、苯丙素类化合物 11 个、萜类化合物 7 个 (含银杏内酯 A/B/C/J/K)、有机酸类化合物 5 个。对照组和含药脑组织样品分别在正、负离子模式下的总离子流图如图 2 所示, 入脑成分的具体鉴定信息如表 1 所示。

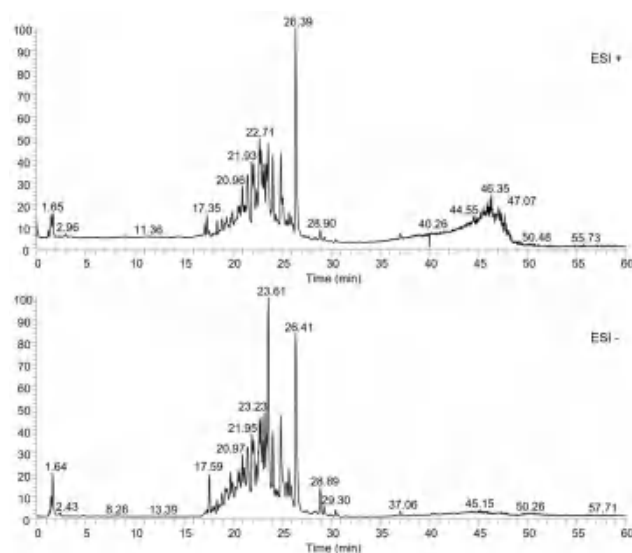


图 1 银杏叶提取物在正、负离子模式下的总离子流图

Fig 1 Total ion flow diagram of Ginkgo biloba extract in positive and negative ion modes

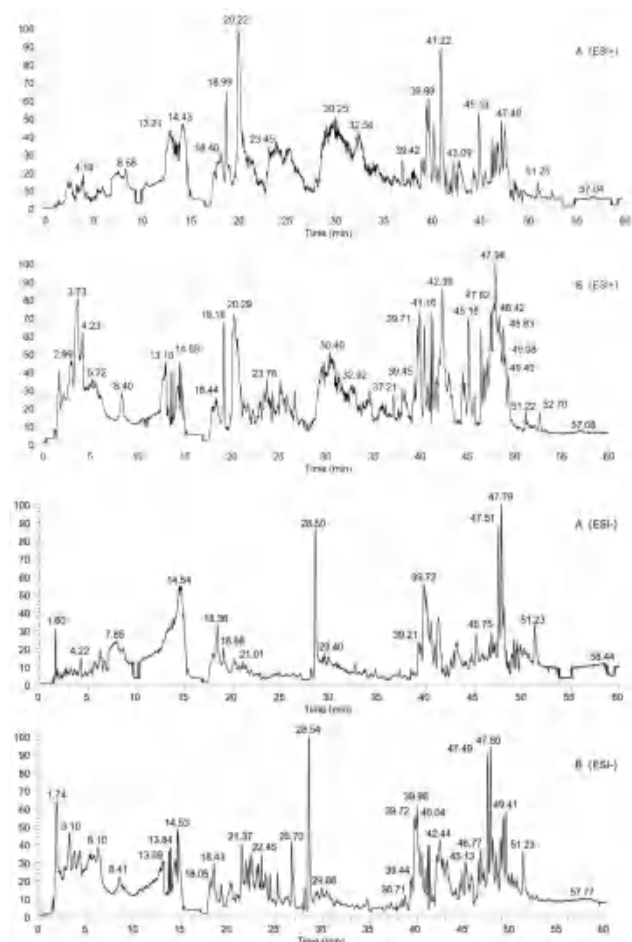


图 2 含药脑组织样品分别在正、负离子模式下的总离子流图

Fig 2 Drug-containing brain tissue samples in positive and negative ion modes  
A. 健康组 (health group); B: 模型组 (model group)

## 4 讨论

本实验在银杏叶提取物中共鉴定出 161 个化学成分, 主要包括黄酮类、萜类、苯丙素类、有机酸



表 1 银杏叶提取物化学成分及银杏叶提取物冻干舌下片入脑成分的鉴定结果

Tab 1 Identification of the chemical composition of Ginkgo biloba extract and brain components of Ginkgo biloba extract lyophilized sublingual tablets

| 编号              | $t_R/\text{min}$ | 分子式                                                      | 理论值<br>$m/z$ | 实测值<br>$m/z$ | 离子模式                              | 误差 /<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片离子                     | 化合物                       | 分类 |
|-----------------|------------------|----------------------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|----|
| 1               | 1.510            | $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5$                     | 179.0795     | 180.0868     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.00                         | 162.0762、144.0657、126.0551 | D- 氨基葡萄糖                  | H  |
| 2               | 1.536            | $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$            | 174.1119     | 175.1191     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.35                         | 158.0800、130.0975、116.0706 | DL- 精氨酸                   | E  |
| 3               | 1.574            | $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{O}_9\text{P}$              | 260.0295     | 259.0222     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.75                       | 171.0062、138.9800、96.9694  | D- 甘露糖 -6- 磷酸盐            | H  |
| 4               | 1.585            | $\text{C}_4\text{H}_7\text{NO}_4$                        | 133.0374     | 132.0300     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.60                       | 115.0035、88.0402、71.0137   | L- 天门冬氨酸                  | E  |
| 5               | 1.617            | $\text{C}_3\text{H}_{13}\text{NO}$                       | 103.0998     | 104.1070     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.80                         | 87.0442、69.0337、60.0811    | 胆碱                        | G  |
| 6               | 1.673            | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_7$                      | 196.0581     | 195.0508     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.86                       | 152.8947、129.0192、99.0087  | 葡萄糖酸                      | H  |
| 7               | 1.678            | $\text{C}_3\text{H}_{11}\text{NO}_2$                     | 117.0790     | 118.0863     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.52                         | 91.0543、59.0733            | 甜菜碱                       | G  |
| 8               | 1.682            | $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NO}_7$                     | 251.1005     | 252.1078     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.23                         | 234.0971、216.0866、174.0763 | 胞壁酸                       | H  |
| 9               | 1.782            | $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$                | 342.1161     | 387.1144     | $[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$ | - 0.12                       | 229.5549、131.0351、119.0348 | $\alpha$ 、 $\alpha$ - 海藻糖 | H  |
| 10              | 1.800            | $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}$                          | 109.0529     | 110.0602     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.59                         | 95.0241、83.0492、67.0545    | 对氨基苯酚                     | G  |
| 11              | 1.802            | $\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$                        | 137.0478     | 138.0551     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.11                         | 119.0353、94.0653、67.0543   | 对氨基苯甲酸                    | D  |
| 12              | 1.805            | $\text{C}_3\text{H}_9\text{NO}_2$                        | 115.0634     | 116.0707     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.36                         | 96.0808、70.0653            | 脯氨酸                       | E  |
| 13              | 1.806            | $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_7$                      | 222.0739     | 267.0722     | $[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$ | - 0.08                       | 205.0353、161.0455、131.0349 | 乙基 - $\beta$ -D- 葡萄糖醛酸    | H  |
| 14              | 1.830            | $\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_5$                         | 135.0547     | 136.0619     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.53                         | 119.0353、110.0601、94.0653  | 腺嘌呤                       | F  |
| 15              | 1.836            | $\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_5\text{O}$                 | 151.0496     | 152.0568     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.73                         | 135.0302、110.0350、97.0649  | 鸟嘌呤                       | F  |
| 16              | 1.910            | $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_5$                         | 134.0214     | 133.0141     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.75                       | 115.0035、89.0242、71.0137   | 苹果酸                       | D  |
| 17              | 2.569            | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$                         | 138.0317     | 139.0391     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.31                         | 111.0441、93.0336、83.0492   | 4- 羟基苯甲酸                  | D  |
| 18              | 2.570            | $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$                      | 174.0527     | 173.0454     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.61                       | 155.0351、137.0242、111.0450 | 莽草酸                       | D  |
| 19              | 2.570            | $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$                         | 112.0522     | 111.0449     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 1.67                       | 93.0344、83.0501、81.0344    | 山梨酸                       | D  |
| 20              | 3.006            | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$                      | 164.0684     | 163.0612     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.09                         | 119.0348、101.0242、73.0293  | 1, 5- 酐 -D- 山梨糖醇          | H  |
| 21              | 3.182            | $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$                        | 123.0321     | 124.0394     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.17                         | 109.0524、96.0445、80.0496   | 烟酸                        | I  |
| 22              | 3.636            | $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_7\text{P}$ | 347.0631     | 346.0556     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.17                         | 203.9829、136.0618、97.0285  | 腺苷酸                       | F  |
| 23              | 3.652            | $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$                 | 122.0481     | 123.0553     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.83                         | 96.0444、80.0495、55.0546    | 烟酰胺                       | I  |
| 24              | 3.910            | $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$                         | 192.0271     | 191.0198     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.82                         | 154.9982、129.0193、111.0086 | 柠檬酸                       | D  |
| 25              | 4.045            | $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$               | 168.0283     | 167.0210     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.04                       | 142.0255、124.0150、96.0202  | 尿酸                        | F  |
| 26              | 4.165            | $\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_3$                        | 129.0426     | 128.0352     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.19                         | 118.3793、84.0454、70.8464   | 4- 氧代脯氨酸                  | E  |
| 27              | 4.944            | $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$                         | 118.0264     | 117.0191     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 1.28                       | 99.0086、73.0293            | 丁二酸                       | D  |
| 28              | 5.685            | $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$                     | 131.0947     | 132.1020     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.88                         | 113.9638、105.0699、86.0965  | 异亮氨酸                      | E  |
| 29              | 6.887            | $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$                      | 162.0527     | 161.0455     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.29                       | 143.0350、118.0298、99.0450  | 3- 羟基 -3- 甲基戊二酸           | D  |
| 30              | 7.277            | $\text{C}_7\text{H}_{15}\text{NO}_2$                     | 145.1104     | 146.1176     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.83                         | 100.1121、58.0655           | N- 甲基 -DL- 亮氨酸            | E  |
| 31              | 7.486            | $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}$ | 322.0565     | 321.0493     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.03                       | 195.0067、125.0356、103.9201 | 5'- 一磷酸胸苷                 | F  |
| 32              | 8.400            | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$                         | 170.0214     | 169.0141     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.46                       | 125.0243、97.0294、81.0343   | 没食子酸                      | D  |
| 33              | 11.361           | $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{NO}$                    | 165.1155     | 166.1228     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.27                         | 153.0422、138.0550、121.0648 | 大麦芽碱                      | G  |
| 34              | 13.076           | $\text{C}_6\text{H}_9\text{NOS}$                         | 143.0406     | 144.0479     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.27                         | 126.0373、113.0294、99.0263  | 4- 甲基 -5- 噻唑乙醇            | G  |
| 35              | 14.617           | $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$                     | 165.0791     | 166.0864     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.96                         | 137.0598、120.0808、103.0543 | L- 苯丙氨酸                   | E  |
| 36              | 17.424           | $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}$                          | 133.0529     | 134.0602     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.17                         | 106.0652、95.0492、79.0543   | 6- 甲基苯并恶唑                 | G  |
| 37              | 17.961           | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$                         | 154.0265     | 155.0341     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | - 0.66                       | 109.0293、81.0345           | 2, 3- 二羟基苯甲酸              | D  |
| 38              | 18.055           | $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}$                        | 121.0893     | 122.0966     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.40                         | 105.0700、91.0543、79.0543   | 2, 6- 二甲基苯胺               | G  |
| 39              | 18.090           | $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$         | 228.1476     | 229.1549     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.27                         | 183.1492、142.0500、87.0442  | 脯氨酰胺                      | E  |
| 40              | 18.234           | $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}$                          | 109.0529     | 110.0602     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.50                         | 91.0543、81.0700、67.0545    | 3- 羟基 -2- 甲基吡啶            | G  |
| 41              | 18.271           | $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$                  | 207.0897     | 208.0969     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.81                         | 166.0500、149.0599、107.0492 | N- 乙酰 -DL- 苯丙氨酸           | E  |
| 42              | 18.286           | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2$                   | 162.0681     | 163.0754     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.46                         | 134.0964、131.0492、103.0542 | 4- 甲氧基肉桂醛                 | C  |
| 43              | 18.396           | $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$                         | 168.0421     | 167.0348     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.56                       | 152.0114、123.0450、68.9956  | 5- 甲氧基水杨酸                 | D  |
| 44 <sup>*</sup> | 18.412           | $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_7$                   | 306.0740     | 305.0667     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.34                         | 219.0661、179.0350、167.0349 | 表没食子儿茶素                   | A  |
| 45              | 18.607           | $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}_2$                        | 161.0475     | 160.0402     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | - 0.70                       | 132.0455、118.0296          | 2, 8- 喹啉二醇                | G  |
| 46              | 18.609           | $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_4$                     | 205.0375     | 206.0449     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.31                         | 178.0499、151.0591、105.0336 | 黄尿酸                       | F  |

续表 1

| 编号  | $t_R/\text{min}$ | 分子式                                                      | 理论值<br>$m/z$ | 实测值<br>$m/z$ | 离子模式                              | 误差 /<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片离子                                                    | 化合物                       | 分类 |
|-----|------------------|----------------------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|----|
| 47  | 18.651           | $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4$                         | 166.0267     | 167.0340     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.74                         | 137.0599、121.0285、111.0442                                | 邻苯二甲酸                     | D  |
| 48  | 18.661           | $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$         | 228.1476     | 229.1549     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.31                         | 183.1491、142.0499、86.0965                                 | 亮酰脯氨酸                     | E  |
| 49  | 18.976           | $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ | 297.0898     | 298.0971     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.03                         | 265.0862、163.0426、136.0619、97.0285                        | 5'-甲基基-5'-脱氧腺苷            | F  |
| 50  | 19.088           | $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$         | 204.0900     | 205.0973     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.83                         | 188.0707、159.0918、146.0601                                | DL-色氨酸                    | E  |
| 51  | 19.093           | $\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$                          | 145.0528     | 146.0601     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.80                         | 119.0492、91.0543、65.0388                                  | 吡啶-3-甲醛                   | G  |
| 52  | 19.096           | $\text{C}_8\text{H}_7\text{N}$                           | 117.0579     | 118.0652     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.79                         | 91.0544、59.0733                                           | 吡啶                        | G  |
| 53  | 19.224           | $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$         | 218.1057     | 219.1129     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.86                         | 188.0707、172.1332、146.0601                                | N-甲基-L-色氨酸                | E  |
| 54  | 19.377           | $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_9$                   | 340.0794     | 339.0721     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.10                        | 277.0347、223.0978、177.0193                                | 七叶苷                       | C  |
| 55  | 19.465           | $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_4$                         | 166.0265     | 165.0192     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.40                        | 139.04004、121.02940、93.03441、<br>77.03957                 | 对苯二甲酸                     | D  |
| 56  | 19.478           | $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_7$                   | 306.0740     | 305.0667     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.33                         | 219.0662、167.0349、125.0243                                | 没食子儿茶素                    | A  |
| 57  | 19.509           | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$                      | 166.0629     | 165.0555     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.15                        | 137.0244、121.0294、93.03444                                | 对羟基苯丙酸                    | D  |
| 58* | 19.527           | $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_9$                   | 356.1108     | 355.1035     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.26                         | 193.0506、178.0271、149.0607                                | 龙胆苦苷                      | B  |
| 59  | 19.547           | $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$                        | 151.0635     | 152.0707     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 1.20                         | 134.0601、123.0441、110.0601                                | 邻乙酰氨基酚                    | G  |
| 60  | 19.590           | $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NO}_3$                     | 189.0426     | 190.0500     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.54                         | 162.0550、144.0443、116.0494                                | 犬尿喹啉酸                     | D  |
| 61  | 19.765           | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}$                           | 132.0576     | 133.0649     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.99                         | 118.0414、105.0700、91.0544                                 | 反式肉桂醛                     | C  |
| 62* | 19.771           | $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_5$                      | 176.0684     | 175.0611     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.41                        | 157.0505、115.0399、85.0657                                 | 2-异丙基苹果酸                  | D  |
| 63  | 19.826           | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_4$                         | 154.0265     | 153.0192     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.71                        | 136.0165、123.0087、109.0294                                | 龙胆酸                       | D  |
| 64* | 19.892           | $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$                   | 224.0684     | 225.0758     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.02                         | 208.0377、193.0742、164.0479                                | 芥子酸                       | C  |
| 65  | 19.930           | $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3$                     | 169.0740     | 170.0812     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.74                         | 152.0706、124.0757、110.0601                                | 维生素 B <sub>6</sub>        | I  |
| 66  | 19.946           | $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_6$                      | 192.0633     | 191.0560     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.28                        | 173.0454、127.0400、111.0450                                | 奎宁酸                       | D  |
| 67* | 19.957           | $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$                   | 354.0951     | 353.0878     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.26                         | 277.1549、233.0457、191.0562                                | 绿原酸                       | C  |
| 68  | 19.989           | $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$         | 246.1005     | 247.1078     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.51                         | 230.0810、188.0706、156.0808                                | N-乙酰-DL-色氨酸               | E  |
| 69  | 20.012           | $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$                   | 290.0790     | 289.0717     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.02                         | 245.0817、203.0714、179.0348、151.0399、<br>125.0242、109.0293 | 儿茶素                       | A  |
| 70* | 20.045           | $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_{16}$                | 686.2792     | 731.2774     | $[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$ | 0.93                         | 361.1658、165.0556、122.0373                                | 亚麻木酚素                     | C  |
| 71  | 20.221           | $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$                      | 204.0424     | 205.0497     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.95                         | 187.0390、171.0554、161.0598                                | 3, 5-二羟基-2-萘羧酸            | D  |
| 72  | 20.228           | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$                | 610.1533     | 611.1608     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.00                         | 203.8667、89.0242                                          | 槲皮素-3-O-鼠李糖苷-7-O-<br>葡萄糖苷 | A  |
| 73  | 20.277           | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$                      | 182.0579     | 181.0506     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.06                        | 137.0607、121.0294、109.0293                                | 二氢咖啡酸                     | D  |
| 74  | 20.465           | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_2$                         | 148.0525     | 149.0598     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.77                         | 121.0284、107.0492、91.0543                                 | 肉桂酸                       | C  |
| 75  | 20.486           | $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_4$                      | 160.0734     | 159.0661     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.58                        | 141.0557、115.0763、97.0657                                 | 庚二酸                       | D  |
| 76* | 20.506           | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$                | 594.1587     | 593.1515     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.48                         | 473.1088、383.0774、353.0668                                | 维采宁-2                     | A  |
| 77* | 20.669           | $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$                         | 178.0265     | 177.0192     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.21                        | 133.0295、105.0344、89.0395                                 | 七叶素                       | C  |
| 78  | 20.674           | $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_6$         | 376.1382     | 377.1456     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | -0.16                        | 243.0877、172.0870、69.0337                                 | 核黄素                       | I  |
| 79* | 20.715           | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$                         | 180.0421     | 179.0348     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.48                        | 164.0115、149.0242、91.0553                                 | 咖啡酸                       | C  |
| 80* | 20.834           | $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_{16}$                | 682.2477     | 727.2460     | $[\text{M}+\text{FA}-\text{H}]^-$ | 0.68                         | 357.1344、190.0636、151.0399                                | 松酯醇二葡萄糖苷                  | C  |
| 81* | 20.863           | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$                         | 138.0315     | 137.0242     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.77                        | 93.0344、69.1248                                           | 水杨酸                       | D  |
| 82  | 20.889           | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$                         | 164.0474     | 165.0546     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.43                         | 147.0441、137.0598、119.0492                                | 反式对羟基肉桂酸                  | C  |
| 83  | 21.026           | $\text{C}_9\text{H}_7\text{N}$                           | 129.0579     | 130.0652     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.96                         | 116.0621、103.0543、91.0543                                 | 异喹啉                       | G  |
| 84  | 21.193           | $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$                | 564.1482     | 565.1555     | $[\text{M}+\text{H}]^+$           | 0.59                         | 511.1243、427.1028、379.0812                                | 维采宁-3                     | A  |
| 85  | 21.266           | $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$                   | 194.0577     | 193.0505     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.59                        | 178.0271、149.0606、134.0372                                | 阿魏酸                       | C  |
| 86  | 21.277           | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_3$                      | 132.0785     | 131.0712     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.95                        | 113.0606、85.0657、69.0345                                  | 闪白酸                       | D  |
| 87  | 21.277           | $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$                         | 122.0366     | 121.0293     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.88                        | 108.0215、93.0345、70.6927                                  | 苯甲酸                       | D  |
| 88  | 21.325           | $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_8$                   | 320.0531     | 319.0458     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.12                        | 272.0276、193.0142、125.0243                                | 二氢杨梅素                     | A  |
| 89  | 21.420           | $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{NO}_3$                  | 207.0894     | 206.0821     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | -0.43                        | 164.0716、133.0291、58.0297                                 | N-乙酰-L-苯丙氨酸               | E  |
| 90  | 21.436           | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4$                      | 182.0580     | 363.1087     | $[\text{2M}-\text{H}]^-$          | 0.49                         | 137.0243、121.0290、93.0344                                 | 高香草酸                      | D  |
| 91* | 21.464           | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_7$                   | 376.1523     | 375.1450     | $[\text{M}-\text{H}]^-$           | 0.51                         | 345.0982、311.0923、257.0816                                | 异橄榄树脂素                    | C  |

续表 1

| 编号   | $t_R/\text{min}$ | 分子式                                       | 理论值<br>$m/z$ | 实测值<br>$m/z$ | 离子模式                  | 误差 /<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片离子                                                | 化合物                    | 分类 |
|------|------------------|-------------------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------|----|
| 92*  | 21.590           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{13}$ | 480.0904     | 479.0831     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.09                         | 316.0224、271.0247、178.9986、125.0228                   | 杨梅素 -3-O- 半乳糖苷         | A  |
| 93*  | 21.717           | $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_{20}$ | 770.2269     | 769.2198     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.06                         | 314.0433、299.0196、271.0246、243.0298、151.0035          | 香蒲新苷                   | A  |
| 94*  | 21.720           | $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$ | 624.1691     | 625.1764     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.20                         | 479.1185、317.0656、285.0394、229.0491、153.0183、85.0285  | 异鼠李素 -3-O- 新橙皮糖苷       | A  |
| 95   | 21.935           | $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$    | 248.1414     | 249.1486     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.63                         | 231.1379、185.1326、119.0856                            | 小白菊内酯                  | B  |
| 96*  | 22.091           | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$ | 610.1533     | 609.1459     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.11                        | 300.0276、255.0298、178.9984、151.0035                   | 芦丁                     | A  |
| 97*  | 22.094           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ | 464.0958     | 465.1031     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.77                         | 303.0499、229.0495、153.0183                            | 槲皮素 -3-O- 呋喃糖苷         | A  |
| 98*  | 22.271           | $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$ | 522.2101     | 567.2083     | [M+FA-H] <sup>-</sup> | 0.12                         | 357.1465、329.1396、175.0764                            | 落叶松树脂醇 -4-O- 葡萄糖苷      | C  |
| 99*  | 22.298           | $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$          | 164.0473     | 165.0546     | [M+H] <sup>+</sup>    | -0.07                        | 119.0500、93.0343、68.6471                              | 3- 羟基肉桂酸               | C  |
| 100  | 22.456           | $\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$       | 302.0062     | 300.9990     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.09                         | 257.0092、229.0142、185.0244、151.0038                   | 鞣花酸                    | D  |
| 101* | 22.506           | $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$       | 166.0628     | 165.0555     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.64                        | 147.0451、119.0501、72.9930                             | 3- 苯基 -2- 羟丙酸          | D  |
| 102* | 22.538           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ | 464.0957     | 463.0884     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.60                         | 343.0451、300.0275、271.0248、255.0297、151.0036          | 槲皮素 -3-O- 葡萄糖苷         | A  |
| 103* | 22.552           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | 448.1006     | 493.0988     | [M+FA-H] <sup>-</sup> | 0.20                         | 285.0404、256.0385、209.1182、151.0036、71.0137           | 山柰酚 -7-O- 葡萄糖苷         | A  |
| 104  | 22.651           | $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{15}$ | 580.1432     | 579.1360     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.74                         | 460.1338、315.0872、285.0402、227.0352                   | 山柰酚 -3-O- 桑布双糖苷        | A  |
| 105  | 22.691           | $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$    | 164.0839     | 165.0911     | [M+H] <sup>+</sup>    | 1.13                         | 137.0961、120.0809、103.0543                            | 4- 苯基丁酸                | D  |
| 106* | 22.854           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | 448.1007     | 449.1080     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.36                         | 287.0549、213.0549、153.0184、85.0285                    | 山柰酚 -3-O- 葡萄糖苷         | A  |
| 107* | 22.855           | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$    | 286.0477     | 287.0550     | [M+H] <sup>+</sup>    | -0.06                        | 258.0531、213.0547、183.0287、153.0183、121.0285          | 山柰酚                    | A  |
| 108* | 22.857           | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$ | 594.1586     | 593.1513     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.24                         | 285.0402、255.0299、227.0350                            | 山柰酚 -3-O- 芸香糖苷         | A  |
| 109* | 23.007           | $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$ | 624.1691     | 623.1618     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.12                         | 315.0509、300.0271、271.0249、243.0298                   | 异鼠李素 -3-O- 芸香糖苷        | A  |
| 110* | 23.008           | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$    | 316.0582     | 317.0655     | [M+H] <sup>+</sup>    | -0.03                        | 302.0420、285.0392、229.0494、153.0183、92.0257           | 异鼠李素                   | A  |
| 111* | 23.152           | $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$    | 304.0583     | 303.0510     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.04                         | 285.0405、241.0507、199.0401、175.0400、125.0243          | 二氢槲皮素                  | A  |
| 112  | 23.201           | $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$    | 418.1627     | 417.1553     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.03                        | 387.1086、181.0506、166.0270                            | 丁香树脂酚                  | C  |
| 113* | 23.201           | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ | 440.1319     | 879.2567     | [2M-H] <sup>-</sup>   | 0.10                         | 303.1239、259.1340、231.1393、195.1024、141.0194、125.0243 | 银杏内酯 C                 | B  |
| 114* | 23.201           | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ | 424.1369     | 423.1295     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.11                        | 349.0931、233.1182、209.0456、177.0555、121.0294、73.0293  | 银杏内酯 J                 | B  |
| 115  | 23.392           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | 448.1006     | 447.0933     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.24                         | 345.1181、284.0327、255.0299、227.0350、178.9987、151.0035 | 槲皮素 -3-O- 鼠李糖苷         | A  |
| 116* | 23.502           | $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{12}$ | 478.1111     | 477.1038     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.10                         | 330.0285、314.0433、286.0470、271.0247、243.0297          | 异鼠李素 -3-O- 葡萄糖苷        | A  |
| 117* | 23.548           | $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{15}$ | 594.1586     | 593.1513     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.22                         | 414.0931、284.0326、255.0299、227.0350                   | 山柰酚 -3-O- 葡萄糖鼠李糖苷      | A  |
| 118* | 23.611           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ | 432.1057     | 433.1131     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.30                         | 397.0919、329.0654、287.0551、271.0601、153.0183、121.0285 | 芹菜素 -7-O- 葡萄糖苷         | A  |
| 119  | 23.623           | $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$ | 506.1064     | 505.0989     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.71                         | 300.0275、271.0249、255.0299、151.0036                   | 槲皮素 -3-O- 葡萄糖苷 -6"- 乙酯 | A  |
| 120* | 23.685           | $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$ | 624.1691     | 623.1618     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.15                         | 314.0434、299.0197、243.0294、123.0450                   | 异鼠李素 -3-O- 刺槐二糖苷       | A  |
| 121  | 23.736           | $\text{C}_2\text{H}_{18}\text{O}_{11}$    | 446.0850     | 447.0923     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.39                         | 287.0549、271.0600、153.0182、121.0285                   | 芹菜素 -7-O- 葡萄糖醛酸苷       | A  |
| 122* | 23.750           | $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_8$    | 326.1002     | 327.1074     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.21                         | 309.0967、263.0924、235.0963、207.1016、173.0963、149.0599 | 白果内酯                   | B  |
| 123* | 23.934           | $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$ | 418.0902     | 417.0828     | [M-H] <sup>-</sup>    | 0.51                         | 284.0326、255.0299、227.0350、151.0039、101.0237          | 山柰酚 -3-O- 阿拉伯糖苷        | A  |
| 124* | 24.080           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ | 448.1006     | 449.1080     | [M+H] <sup>+</sup>    | 0.26                         | 285.0405、256.0378、151.0036、69.0810                    | 木犀草素 -7-O- 葡萄糖苷        | A  |
| 125  | 24.224           | $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_4$       | 188.1047     | 187.0974     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.85                        | 143.1076、125.0970、97.0657                             | 壬二酸                    | D  |
| 126  | 24.352           | $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_5$    | 224.0684     | 223.0611     | [M-H] <sup>-</sup>    | -0.09                        | 207.1020、179.0713、161.0609                            | 抗倒酯                    | D  |



续表 1

| 编号   | $t_R/\text{min}$ | 分子式                                            | 理论值<br>$m/z$ | 实测值<br>$m/z$ | 离子模式                     | 误差 /<br>( $\times 10^{-6}$ ) | 二级碎片离子                                                | 化合物                                                                            | 分类 |
|------|------------------|------------------------------------------------|--------------|--------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| 127* | 24.439           | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_8$         | 318.0375     | 317.0302     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.04                         | 273.0394、245.0445、217.0496、153.0183                   | 杨梅素                                                                            | A  |
| 128* | 24.497           | $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$      | 432.1057     | 431.0984     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.15                         | 358.1049、285.0399、255.0299、227.0349                   | 山柰酚-3- <i>O</i> -鼠李糖苷                                                          | A  |
| 129* | 24.537           | $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$         | 362.1730     | 361.1657     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.26                         | 346.1425、259.1342、179.0714、165.0556、122.0373          | 开环异落叶松树脂酯                                                                      | C  |
| 130* | 24.628           | $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$      | 492.1271     | 493.1344     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.69                         | 203.8667、89.0242                                      | 苜蓿素-5- <i>O</i> -葡萄糖苷                                                          | A  |
| 131  | 24.687           | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$         | 302.0425     | 301.0352     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.37                        | 255.0298、215.0348、191.0352                            | 草质素                                                                            | A  |
| 132* | 25.002           | $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$      | 436.1370     | 437.1442     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.13                         | 331.1025、257.0814、151.0390                            | 根皮苷                                                                            | A  |
| 133* | 25.003           | $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$               | 146.0367     | 147.0440     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.05                        | 119.0492、91.0543、65.0388                              | 香豆素                                                                            | C  |
| 134  | 25.705           | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$            | 180.0633     | 179.0560     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.42                        | 149.0608、121.0294、89.0294                             | D-甘露糖                                                                          | H  |
| 135* | 26.061           | $\text{C}_{36}\text{H}_{36}\text{O}_{17}$      | 740.1951     | 741.2023     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.18                        | 433.1136、329.0652、287.0547、147.0441、119.0492          | 山柰酚-3- <i>O</i> -{2- <i>O</i> -[6- <i>O</i> -( <i>p</i> -羟基-反-香豆酰)-葡萄糖基]-鼠李糖基} | A  |
| 136  | 26.183           | $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$         | 264.1360     | 263.1287     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.46                        | 219.1389、204.1155、151.0765                            | 脱落酸                                                                            | D  |
| 137* | 26.313           | $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_4$         | 202.1205     | 201.1132     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.01                        | 183.1026、157.1230、139.1128                            | 3-叔丁基己二酸                                                                       | D  |
| 138* | 26.527           | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9$         | 408.1419     | 409.1491     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.29                        | 363.1438、345.1331、299.1276、249.0756、197.0962、113.0962 | 银杏内酯 A                                                                         | B  |
| 139* | 26.536           | $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$      | 424.1368     | 847.2663     | $[2\text{M}-\text{H}]^-$ | -0.24                        | 367.1401、305.1384、261.1494、141.0193、125.0243          | 银杏内酯 B                                                                         | B  |
| 140* | 26.683           | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$         | 302.0425     | 301.0352     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.34                        | 257.0452、178.9985、151.0035                            | 槲皮素                                                                            | A  |
| 141  | 26.739           | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_7$         | 316.0583     | 315.0510     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.05                         | 302.0421、274.0471、208.0526                            | 3- <i>O</i> -甲基槲皮素                                                             | A  |
| 142  | 27.862           | $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$         | 306.2559     | 307.2632     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.32                         | 251.2013、237.1846、151.1482                            | 顺式-11, 14, 17-二十碳三烯酸                                                           | D  |
| 143* | 28.358           | $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_3$         | 292.2037     | 293.2110     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.38                        | 203.8667、89.0242                                      | 12-氧代植物二烯酸                                                                     | D  |
| 144* | 28.549           | $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$         | 272.0684     | 271.0611     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.24                        | 253.0528、177.0193、151.0036                            | 柚皮素                                                                            | A  |
| 145* | 28.584           | $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$         | 270.0528     | 269.0455     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.08                        | 225.0555、201.0557、151.0035                            | 芹菜素                                                                            | A  |
| 146  | 28.588           | $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$         | 304.2402     | 305.2475     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.01                        | 287.2364、249.1853、149.1325                            | 花生四烯酸                                                                          | D  |
| 147  | 28.928           | $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$         | 330.0739     | 331.0811     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.15                        | 315.0498、270.0524、242.0573                            | 鸢尾甲黄素 B                                                                        | A  |
| 148* | 29.086           | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$         | 300.0632     | 301.0705     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | -0.53                        | 286.0471、258.0522、229.0497                            | 香叶木素                                                                           | A  |
| 149  | 29.310           | $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$           | 220.1828     | 221.1901     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.55                         | 203.1432、175.1484、147.1170                            | 石竹素                                                                            | B  |
| 150  | 29.638           | $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_5$         | 330.2407     | 329.2334     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.34                         | 229.1444、211.1339、171.1026                            | (15 <i>Z</i> )-9, 12, 13-三羟基-15-十八烯酸                                           | D  |
| 151  | 30.662           | $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$      | 538.0900     | 537.0827     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.13                         | 417.0618、375.0511、331.0613、203.0351、159.0452、117.0345 | 穗花杉双黄酮                                                                         | A  |
| 152* | 30.811           | $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_9$         | 406.1263     | 405.1190     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.02                         | 349.1295、303.1242、287.2228、215.1449、165.0194、72.9929  | 银杏内酯 K                                                                         | B  |
| 153  | 31.626           | $\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_2$         | 250.1933     | 251.2005     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.10                         | 233.1899、215.1797、133.1012                            | 香紫苏内酯                                                                          | B  |
| 154  | 32.852           | $\text{C}_{31}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$      | 552.1058     | 551.0985     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.44                         | 519.0723、451.0827、401.0302、151.0035                   | 白果双黄酮                                                                          | A  |
| 155  | 33.794           | $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$         | 286.0841     | 287.0914     | $[\text{M}+\text{H}]^+$  | 0.02                         | 242.0568、213.0539、167.0339、153.0183、147.0441          | 樱花素                                                                            | A  |
| 156  | 34.100           | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$         | 284.0685     | 283.0612     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.11                         | 240.0427、211.0396、185.0607、151.0017、93.0331           | 黄豆黄素                                                                           | A  |
| 157  | 37.254           | $\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$      | 566.1214     | 565.1139     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.18                         | 535.1016、417.0596、325.0720、283.0603、239.0703、153.0182 | 银杏双黄酮                                                                          | A  |
| 158  | 42.295           | $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_3$         | 272.2350     | 271.2278     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.20                        | 225.2224、99.9252、69.6567                              | 16-羟基十六烷酸                                                                      | D  |
| 159  | 44.997           | $\text{C}_{18}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{S}$ | 326.1914     | 325.1842     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | -0.28                        | 239.0743、183.0120、127.2171                            | 4-十二烷基苯磺酸                                                                      | D  |
| 160  | 50.201           | $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3$         | 346.2508     | 345.2435     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.17                         | 301.2539、133.0654、119.0505                            | 银杏酸 C15: 1                                                                     | D  |
| 161  | 52.460           | $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_3$         | 374.2821     | 373.2748     | $[\text{M}-\text{H}]^-$  | 0.06                         | 329.2850                                              | 银杏酸 C17: 1                                                                     | D  |

注: \*. 入脑成分; A. 黄酮类; B. 萜类; C. 苯丙素类; D. 有机酸类; E. 氨基酸及其衍生物类; F. 核苷酸类; G. 生物碱类; H. 糖类; I. 维生素类。

Note: \*. Brain components; A. flavonoids; B. terpenes; C. phenylpropanoids; D. organic acids; E. amino acids and their derivatives; F. nucleotides; G. alkaloids; H. glycans; I. vitamins.

类等；在舌下片脑缺血模型组样品中鉴定出的原形入脑成分，主要是以槲皮素苷、山柰酚苷、异鼠李素苷等为代表的黄酮醇苷类成分，以白果内酯、银杏内酯为代表的萜内酯类成分，及以香豆素、咖啡酸、绿原酸等为代表的苯丙素类成分。有研究表明，入脑的银杏黄酮类成分具有抗氧化、防治再灌注损伤、增强记忆及调节免疫等作用，银杏内酯类成分主要功效为抗氧化、抑制血小板聚集、防止缺血再灌注损伤、改善记忆及减轻炎症损伤<sup>[6-8]</sup>。李祥欣等<sup>[9]</sup>研究发现，香豆素具有较强的抗氧化药理活性，可减轻因氧化应激而导致的脑损伤；曹栋等<sup>[10]</sup>研究表明，咖啡酸可通过降低脑缺血再灌注损伤，改善小鼠认知功能障碍。因此本研究推测银杏黄酮类成分、银杏内酯类成分、苯丙素类成分及其在体内的代谢产物可能是银杏叶提取物冻干舌下片发挥抗氧化、降低脑缺血再灌注损伤功效的药效物质基础。

除此之外，本实验发现在舌下片健康组样品中仅鉴定出 5 个原形入脑成分，分别是银杏内酯 A/B/C/J/K；在舌下片脑缺血模型组样品中鉴定出 53 个原形入脑成分。就个数而言，银杏叶提取物舌下片中进入脑缺血模型大鼠的成分显著增多；仅通过峰面积积分对银杏内酯 A/B/C/J/K 进行半定量分析发现，这 5 个成分在健康组的峰面积积分远低于脑缺血模型组，Wang 等<sup>[11]</sup>研究指出，脑缺血再灌注后，原本难以进入脑组织的黄酮类及其代谢物在缺血侧脑区的分布量和暴露水平显著升高，萜内酯类在缺血侧脑区的浓度显著高于假手术组，提示病理状态下大鼠脑内血脑屏障（BBB）通透性进一步提升。故初步认为大鼠脑缺血会改变血脑屏障的通透性，且会使血脑屏障对银杏内酯类、黄酮苷类和苯丙素类成分的通透性变大。

值得讨论的是，在脑组织样品中鉴定出较多的生物碱类成分、氨基酸类成分和核苷酸类成分，如胆碱、酰胺、谷氨酸、组氨酸、腺苷等，这些成分是大鼠体内的内源性成分，通过半定量的方法比对空白组与给药组的响应值，判断这些成分少量入脑，其也可能在银杏叶提取物冻干舌下片发挥抗氧化、降低脑缺血再灌注损伤功效中起着积极的作用。如腺嘌呤核苷被公认是在缺血性脑卒中起重要作用的一种内源性神经保护剂<sup>[12]</sup>；Ruan 等<sup>[13]</sup>分析了缺血性脑卒中大鼠模型左右脑半球的代谢物变化，结果表明，受损脑半球中的谷氨酸和天冬氨酸含量下降；Dai 等<sup>[14]</sup>实验发现，在局灶性脑缺血的大鼠模型中，无论是脑缺血发生时刻还是 6 h 后，腹腔注射组氨酸均可显著减少大鼠的梗死面积，这一结果指出组氨酸对于脑梗死具有一定的保护效果。

本研究基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 技术，阐明了银杏叶提取物的化学成分及分类，进一步探究了银杏叶提取物冻干舌下片于大鼠的原

形入脑成分，为银杏叶提取物及其制剂的药效物质基础、临床应用和作用机制研究提供了科学依据和参考。但仍存在一定的局限性，由于中药本身组成复杂，本实验中许多代谢内源性成分以及在大鼠体内代谢中发生质变和转化的成分未被鉴定，且实验仅从定性方面进行了探究，后续仍需要对入脑成分的含量及代谢进行深入研究。

## 参考文献

- [1] 王汝全, 张晴昉. 常规治疗方案联合银杏叶提取物注射液治疗脑梗死的效果探讨[J]. 中国实用医药, 2025, 20(12): 133-136.
- [2] 苏腾伟, 曾健, 谢园, 等. 银杏叶有效成分提取工艺研究进展综述[J]. 山东化工, 2025, 54(6): 130-132.
- [3] 孙芳, 王璐, 闫滨, 等. 银杏叶提取物活性成分及其药理作用[J]. 山东中医杂志, 2014, 33(3): 221-223.
- [4] 徐磊. 真空冷冻干燥技术在云南三种道地药材新型饮片加工中的应用研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2018.
- [5] 梁硕, 李超英. 舌下给药研究进展[J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(6): 1309-1311.
- [6] 肖斯婷, 曹春然, 刘红艳, 等. 银杏叶提取物的药学研究进展[J]. 中国药事, 2022, 36(4): 429-443.
- [7] Qiao ZY, Huang JH, Ma JW, et al. Ginkgo biloba extract reducing myocardium cells apoptosis by regulating apoptotic related proteins expression in myocardium tissues[J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(1): 347-353.
- [8] 欧阳洁, 杨璐, 李秋颖, 等. 银杏酮酯类组分抗缺血性脑损伤的作用机制研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2025, 31(6): 1105-1109.
- [9] 李祥欣, 刘义锋, 孙军, 等. 香豆素通过调节 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路减轻脑缺血-再灌注大鼠神经损伤[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(3): 608-612.
- [10] 曹栋, 李法良, 张文召, 等. 咖啡酸通过调节 Hippo/YAP 信号通路对脑缺血再灌注大鼠认知功能障碍的影响[J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(6): 1411-1415.
- [11] Wang CH, Jia ZX, Wang Z, et al. Pharmacokinetics of 21 active components in focal cerebral ischemic rats after oral administration of the active fraction of Xiao-Xu-Ming decoction[J]. Pharm Biomed Anal, 2016, 122: 110-117.
- [12] 徐建可, 韩新生, 栗延伟, 等. 腺嘌呤核苷及其受体对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 新乡医学院学报, 2013, 30(8): 680-682.
- [13] Ruan L, Wang Y, Chen SC, et al. Metabolite changes in the ipsilateral and contralateral cerebral hemispheres in rats with middle cerebral artery occlusion[J]. Neural Regen Res, 2017, 12(6): 931-937.
- [14] Dai HB, Fu QL, Shen Y, et al. The histamine H3 receptor antagonist clobenpropit enhances GABA release to protect against NMDA-induced excitotoxicity through the cAMP/protein kinase A pathway in cultured cortical neurons[J]. Eur J Pharmacol, 2007, 563(1-3): 117-123.

(收稿日期: 2025-11-20; 修回日期: 2025-12-20)

# 基于响应面法和 BP 神经网络结合优化蒙药诃子配方颗粒成型工艺研究

苏德娜<sup>1</sup>, 萨出拉<sup>2</sup>, 布仁<sup>3</sup>, 苏日古嘎<sup>1</sup>, 王金晶<sup>1</sup>, 苏日娜<sup>1</sup>, 包勒朝鲁<sup>1, 2\*</sup> (1.内蒙古医科大学蒙医药学院, 呼和浩特 010110; 2.内蒙古医科大学民族医药创新中心, 呼和浩特 010110; 3.内蒙古医科大学药学院, 呼和浩特 010110)

**摘要:** **目的** 通过响应面法和 Back Propagation (BP) 神经网络筛选并获取蒙药诃子配方颗粒的最佳成型工艺参数。**方法** 采用单因素试验与响应面法, 测定蒙药诃子配方颗粒的成型率、休止角、吸湿率及堆密度, 并结合层次分析 (AHP) - 熵权法 (EWM) 对指标赋予权重系数后进行综合评分, 且通过 BP 神经网络与响应面法预测模型, 验证蒙药诃子配方颗粒最佳成型工艺参数。**结果** 通过响应面法和 AHP-EWM 法赋予颗粒的成型率、休止角、吸湿率及堆密度的权重系数分别为 0.510、0.270、0.164、0.055, 结合响应面法和 BP 神经网络确定最佳成型工艺为干膏粉与乳糖比例为 1 : 0.4, 用 80% 乙醇进行润湿, 干膏粉与润湿剂的比例为 14 : 1.8, 响应面法获得的最佳成型工艺条件与 BP 神经网络预测的结果一致。**结论** 本制备工艺简单, 稳定适用, 而且符合《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》, 可用于蒙药诃子配方颗粒的大规模生产。

**关键词:** 蒙药; 诃子; 配方颗粒; 成型工艺; 星点设计 - 响应面法; BP 神经网络

中图分类号: R360.40

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-106-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.015

## On the optimization of the formation of *Terminalia Chebula* formula granules of Mongolian medicine based on response surface methodology and BP neural network combination

SU Dena<sup>1</sup>, SA Chula<sup>2</sup>, BU Ren<sup>3</sup>, SU Riguga<sup>1</sup>, WANG Jinjing<sup>1</sup>, SU Rina<sup>1</sup>, BAO Lechaolu<sup>1, 2\*</sup> (1. Mongolian Medical, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110; 2. National Medicine Innovation Center of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110; 3. School of Pharmacy, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110)

**Abstract: Objective** To screen parameters to optimize the formation of Mongolian medicine *Terminalia Chebula* formula granules through response surface methodology and Back Propagation (BP) neural network. **Methods** The formation rate, angle of repose, moisture absorption rate and bulk density of Mongolian medicine *Terminalia Chebula* formula granules were determined by single factor experiments and response surface methodology. The analytic hierarchy process (AHP)-entropy weight method (EWM) was used to assign weight coefficients to the indicators before the comprehensive scoring. The optimal formation parameters were verified by BP neural network and response surface prediction model. **Results** The weight coefficients of the formation rate, angle of repose, moisture absorption rate and bulk density of the granules were 0.510, 0.270, 0.164 and 0.055, respectively. The optimal formation included the ratio of dry extract powder to lactose at 1 : 0.4; moistening with 80% ethanol; and the ratio of dry extract powder to the moistening agent at 14 : 1.8. The optimal formation conditions by the response

**基金项目:** 内蒙古医科大学博士启动项目 (No. YKD2023BSQD003); 2024 年度内蒙古医科大学蒙医药“一流学科”科学研究项目 (No. myylxk202419); 内蒙古自治区高校蒙药重点实验室建设 (No. RZ2400000451); 内蒙古自治区蒙药重点实验室科研平台建设项目 (No. DC2400000724)。

**作者简介:** 苏德娜, 女, 硕士, 主要从事蒙药标准化研究, email: 2394287249@qq.com \* **通信作者:** 包勒朝鲁, 男, 教授, 主要从事蒙药标准化研究, email: 956613769@qq.com



surface methodology was consistent with the prediction of the BP neural network. **Conclusion** This preparation process is simple, stable and applicable, in compliance with the *Technical Requirements for Quality Control and Standardization of Chinese Herbal Formula Granules*, and can be used for large-scale production of the Mongolian medicine *Terminalia Chebula* formula granules.

**Key words:** Mongolian medicine; *Terminalia Chebula*; formula granule; formation; central composite design-response surface methodology; BP neural network

蒙医药学作为中医学的重要组成部分,具有疗效确切、不良反应小、天然绿色的特色。蒙药汤剂是蒙药传统剂型的重要组成部分,也是蒙医治疗急性疾病和作为药引子调节、补充其他剂型功效的重要载体。到目前为止,蒙医仍然没有一个以蒙医传统标准汤剂为参照物的,较为系统研发的蒙药配方颗粒,蒙药汤剂仍然采用传统的煎煮方式进行,存在煎煮过程复杂多变、操作烦琐、携带不便等弊端。同时,由于煎煮方法因人而异,汤剂质量多有不均,处方疗效也难以保障。中药配方颗粒是中药新剂型,以饮片为原料,经加水煎煮、固液分离、浓缩、干燥、制粒而成的单味、定量、可直接冲服用的颗粒。中药配方颗粒在保留中药辨证论治精髓的同时,解决了传统中药煎煮的剂量不准、质量不稳定等问题,适应了现代社会的需求。

诃子是使君子科植物诃子 (*Terminalia chebula* Retz.) 或者绒毛诃子 (*Terminalia chebula* Retz. var. *tomentella* Kurt.) 的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>, 是蒙医最为常用的药材, 具有祛病变三根、调和身体元气以及解毒等功效<sup>[2]</sup>, 诃子也是蒙医入药汤剂最多的药材之一, 味三子汤、额日敦-7 味汤、扫日劳-7 味汤、忠伦-5 味汤、森登-4 味汤、乌兰-13 味汤等蒙医临床常用方剂中均有配伍<sup>[3]</sup>; 同时, 它也是临床最常用的药引子诃子单味汤的原药材。本研究以蒙医传统汤剂理论为基础, 在前期提取工艺的基础上, 运用现代制药技术, 以单因素试验明确蒙药诃子配方颗粒成型工艺的影响因素范围, 通过响应面法获取成型工艺各影响因素的参数, 并采用层次分析法-熵权法 (AHP-EWM 法), 以成型率、休止角、吸湿率及堆密度为指标, 赋予权重系数计算综合评分的同时, 结合 Back Propagation (BP) 神经网络构建模型进行参数优化, 将其预测的参数与响应面法的预测值、实际实验值进行对比验证, 为蒙药诃子配方颗粒的成型工艺优化提供参考。

## 1 材料

### 1.1 试药

诃子饮片, 批号: 20230801, 产地云南, 购自河北祁新中药颗粒饮片有限公司, 经内蒙古医

科大学民族医药创新中心包勒朝鲁教授鉴定为使君子科植物诃子 *Terminalia chebula* Retz. 的干燥成熟果实, 经检测符合《中国药典》(2025 年版) 诃子项下相关要求。

无水乙醇 (批号: 20250408, 纯度: 99.8%, 天津市津东天正精细化学试剂厂), 乳糖 (批号: 20240925, 纯度: 99%, 美国 Leprino Foods), 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

FA2004N 型号万分之一电子天平 (上海菁海仪器有限公司), EX225DZH 型号十万分之一电子天平 (奥豪斯仪器有限公司), OSB-2200 型旋转浓缩仪器 (上海爱朗仪器有限公司), HH-8 型恒温水浴锅 (常州越新仪器制造有限公司), 101-2AB 型电热鼓风干燥箱 (天津市泰斯特仪器有限公司), 98-II-C 型电热套 (菲斯福仪器有限公司), 单联万用电炉子 (北京科伟永兴仪器有限公司), JS-80 型超声波清洗器 (东莞康士洁超声波科技有限公司); SMARTPLUS-NT 型超纯水系统 (上海康雷分析仪器有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 蒙药诃子配方颗粒的制备

取诃子饮片粉碎 (过 3 号筛), 加约 1000 mL 水, 煎煮 15 min, 过滤 (过 9 号筛), 浓缩至 1/3 (约 300 mL), 水浴锅蒸干, 即得干膏粉。加入乳糖辅料混合均匀, 再加入适量的乙醇, 制粒成软材料, 过 14 目筛, 烘干, 即得蒙药诃子配方颗粒。

### 2.2 物性参数测定

**2.2.1 成型率** 采用双筛子法, 称取定量 ( $M_1$ ) 的颗粒后, 通过 1 号、5 号标准筛的颗粒称重 ( $M_2$ ) (通过 1 号筛子但不能通过 5 号筛子的质量), 计算成型率 (%), 成型率 (%) =  $M_2/M_1 \times 100\%$ 。

**2.2.2 休止角** 采用固定漏斗法测定, 用木架固定漏斗下口离坐标纸高 1 cm, 将颗粒从漏斗壁倒入使其自由下落, 待颗粒从漏斗中缓缓落到实验台上并形成稳定的堆积圆锥时, 由坐标纸测出圆锥底部的直径 ( $2R$ ), 测定其漏斗开口到圆锥顶距离 ( $H$ ) 和底面半径 ( $R$ ), 平行做 3 次, 计算休止角 ( $^\circ$ ),  $\tan\theta = H/R$ 。

**2.2.3 吸湿率** 称取颗粒样品 2 g, 置于已恒重

的称量瓶中,精密称定 ( $M_1$ ), 打开瓶盖, 置于盛有氯化钠饱和溶液的玻璃干燥器中, 24 h 后精密称定质量 ( $M_2$ ), 按公式计算颗粒吸湿率 (%), 吸湿率 (%) =  $(M_2 - M_1) / M_1 \times 100\%$ 。

**2.2.4 堆密度** 称取颗粒样品 10 g, 置于干燥 10 mL 的量筒中, 轻敲振动, 至颗粒体积不再变化, 记录体积 ( $V$ ), 计算堆密度 (g/mL), 堆密度 (g/mL) =  $10 \text{ g} / V$ 。

**2.3 AHP-EWM 法确定指标复合权重系数**

表 1 评价指标两两比较的判断矩阵

Tab 1 Judgment matrix for pairwise comparison of evaluation indicators

| 评价指标 | 成型率 | 休止角 | 吸湿率 | 堆密度 | $\omega_i'$ | $W_A$  | $\lambda_{\max}$ | CI     | CR     |
|------|-----|-----|-----|-----|-------------|--------|------------------|--------|--------|
| 成型率  | 1   | 3   | 3   | 3   | 0.4965      | 2.1400 | 4.1239           | 0.0413 | 0.0464 |
| 休止角  | 1/3 | 1   | 2   | 2   | 0.2345      | 0.9919 |                  |        |        |
| 吸湿率  | 1/3 | 1/2 | 1   | 1   | 0.1345      | 0.5669 |                  |        |        |
| 堆密度  | 1/3 | 1/2 | 1   | 1   | 0.1345      | 0.5669 |                  |        |        |

**2.3.2 EWM 法计算权重系数** 将评价指标的原数据进行归一化处理, 成型率需要正向化处理按公式 1, 休止角、吸湿率和堆密度需要按公式 2 逆向化处理, 归一化的数值按公式 3 得到信息熵  $P_i$ , 再按公式 4 得到成型率、休止角、吸湿率及堆密度的权重系数  $W_i$ 。结果权重系数  $W_i$  分别为 0.2694、0.3015、0.3216、0.1075。

**2.3.3 AHP-EWM 复合加权法计算综合权重系数** 在本研究的评估体系中, 客观数据与主观数据相差较大。所以通过公式 5 计算得到成型率、休止角、吸湿率及堆密度的权重系数分别为 0.510、0.270、0.164、0.055。AHP-EWM 复合加权法从主观、客观两方面考虑, 包含信息更为科学合理, 故采用 AHP-EWM 复合加权法进行最终评分, 确定综合评分的计算公式, 以总评分值 ( $W$ ) 为最终参考指标。公式  $W = (0.510X_{\text{成型率}} / X_{\text{最大成型率}} + 0.270X_{\text{最小休止角}} / X_{\text{休止角}} + 0.164X_{\text{最小吸湿率}} / X_{\text{吸湿率}} + 0.055X_{\text{最小堆密度}} / X_{\text{堆密度}}) \times 100$ 。分别用 AHP、EWM、AHP-EWM 复合加权法赋予权重系数, 计算综合评分结果见表 2。AHP 法计算的综合评分整体偏高, 因权重依赖专家对指标重要性的判断, 易放大关键指标正向贡献, 而 EWM 法计算的综合评分偏低, 受数据的离散度影响, 对波动小的关键指标赋权低, 导致整体评分低, 而 AHP-EWM 法计算的综合评分规避了 AHP 法的主观偏差, 又补充了 EWM 法忽略指标实际重要性的缺陷, 结果更贴近工艺的真实水平, 验证了最佳工艺的一致性与可靠性。

$$Y_1 = (X_{\max} - X_i) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (\text{公式 1})$$

$$Y_2 = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min}) \quad (\text{公式 2})$$

$$P_i = - \sum_{j=1}^n X_j \ln X_j / \ln n \quad (\text{公式 3})$$

$$W_i = (1 - P_i) / \sum_{i=1}^n (1 - P_i) \quad (\text{公式 4})$$

$$W_{\text{综合}} = W_{\text{AHP}} \times W_{\text{EWM}} / \sum_{i=1}^n (W_{\text{AHP}} \times W_{\text{EWM}}) \quad (\text{公式 5})$$

**2.3.1 AHP 法计算权重系数** 以颗粒剂性质评价蒙药诃子配方颗粒成型工艺的各指标重要性从大到小排序为成型率 > 休止角 > 吸湿率 = 堆密度<sup>[4]</sup>, 评价指标两两比较, 构建 AHP 法的判断矩阵, 见表 1。成型率、休止角、吸湿率及堆密度的权重系数 ( $\omega_i'$ ) 分别为 0.4965、0.2345、0.1345、0.1345, 一致性指标 (CI)  $0.0413 < 0.1$ , 相应的平均一致性指标 (RI) 为 0.89, 一致性比率 (CR) 为  $0.0464 < 0.1$ , 表明判断矩阵合理。

表 2 不同权重系数赋予方法的综合评分

Tab 2 Comprehensive scores of different weight coefficient assignment methods

| 试验号 | AHP 法 | EWM 法 | AHP-EWM 法 |
|-----|-------|-------|-----------|
| 1   | 75.91 | 66.88 | 77.65     |
| 2   | 79.81 | 74.01 | 82.22     |
| 3   | 82.94 | 71.05 | 83.37     |
| 4   | 83.76 | 72.08 | 84.16     |
| 5   | 79.79 | 68.54 | 80.54     |
| 6   | 79.03 | 69.38 | 79.36     |
| 7   | 80.84 | 69.90 | 82.79     |
| 8   | 89.65 | 78.94 | 87.39     |
| 9   | 83.39 | 73.22 | 84.35     |
| 10  | 83.21 | 72.24 | 83.76     |
| 11  | 82.66 | 70.41 | 82.77     |
| 12  | 91.77 | 93.31 | 94.53     |
| 13  | 81.72 | 70.36 | 82.30     |
| 14  | 81.43 | 70.16 | 82.08     |
| 15  | 79.49 | 68.76 | 79.74     |
| 16  | 81.16 | 70.35 | 81.58     |
| 17  | 80.19 | 70.40 | 80.90     |

**2.4 单因素试验**

本研究从辅料种类、干膏粉与辅料比例、润湿剂浓度及干膏粉与润湿剂比例 4 个方面进行单因素考察。干膏粉制粒时, 选取  $\beta$ -环状糊精、可溶性淀粉、药用糊精、乳糖、麦芽糊精等 5 种辅料单用或联用进行筛选<sup>[5]</sup>, 结果 (见图 1A) 显示乳糖作为辅料时综合评分最高, 确定其为适宜辅料。考察干膏粉与辅料乳糖比例, 1 : 0.2、1 : 0.4、1 : 0.6、1 : 0.8、1 : 1 (g/g) 的配比结果 (见图 1B), 发现 1 : 0.4 时综合评分最高, 故选择该比例。精密称取干膏粉, 按 1 : 0.4 质量比加入乳糖混匀后, 分别加入适量 70%、75%、80%、85% 乙醇溶液, 迅速搅拌制粒, 结果 (见图 1C) 以 80% 乙醇为润湿剂

时综合评分最高，确定其为最佳润湿剂。进一步考察干膏粉与润湿剂比例，分别为 14 : 1.4、14 : 1.6、14 : 1.8、14 : 2.0、14 : 2.2 (g/mL)，喷淋后迅速

搅拌制粒并观察软材性状，结果 (见图 1D) 比例为 14 : 1.6 时综合评分最高。由此，确定干膏粉与润湿剂比例为 14 : 1.6。

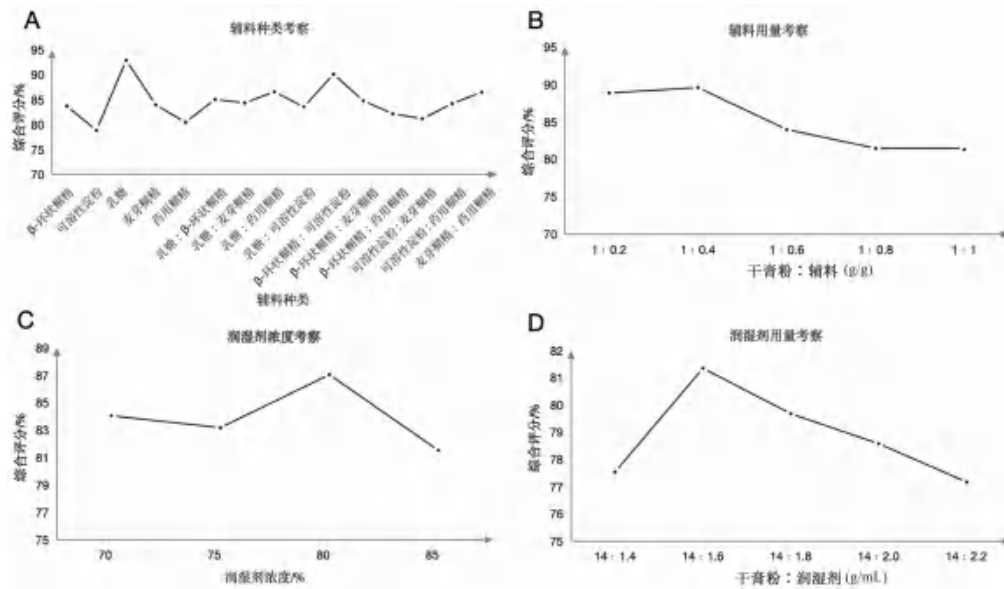


图 1 单因素试验考察图

Fig 1 Single-factor experiments were conducted to investigate the following aspects

## 2.5 星点设计 - 响应面试验优化成型工艺

基于单因素试验，以颗粒剂的成型率、吸湿率、休止角、堆密度 4 种评价指标作为响应值，以干膏粉与辅料比例、润湿剂浓度、干膏粉与润湿剂比例为影响因素进行响应面优化。因素与水平见表 3，设计与结果见表 4。

表 3 响应面试验的因素与水平

Tab 3 Response surface of test factors and levels

| 水平 | A. 干膏粉与辅料<br>比例 / (g/g) | B. 润湿剂<br>浓度 / % | C. 干膏粉与润湿剂<br>比例 / (g/mL) |
|----|-------------------------|------------------|---------------------------|
| -1 | 1 : 0.2                 | 70               | 14 : 1.4                  |
| 0  | 1 : 0.4                 | 75               | 14 : 1.6                  |
| 1  | 1 : 0.6                 | 80               | 14 : 1.8                  |

经分析得到的回归模型为  $Y = 81.32 + 1.10A + 2.35B + 2.43C - 0.9450AB + 1.45AC + 3.09BC - 1.65A^2 + 2.18B^2 + 2.85C^2$ 。方差分析显示，该模型的  $P < 0.05$  具有显著性。失拟项  $P = 0.6121 > 0.05$ ，表明两组之间的失拟程度没有差异性，说明未知因素的影响小。决定系数  $R^2 = 0.9711$ ，表明方程式的相关性好， $R^2_{Adj} = 0.9340$ ，接近于 1，表明数据对模型具有很高的拟合度， $R^2_{Adj}$  与  $R^2_{Pre}$  的相差值小于 0.2，说明模型的预测能力与拟合能一致性<sup>[6]</sup>。由综合评分的  $F$  数值得到，各影响因素对成型工艺的显著性排序为：干膏粉与润湿剂比例 (C) > 润湿剂浓度 (B) > 干膏粉与辅料比例 (A)。在回归模型的一次项 A、B、C 对综合评分均有显著影响 ( $P < 0.05$ )，各交互项 AC、BC 有

表 4 响应面法设计与试验结果

Tab 4 Design and experimental results of response surface methodology

| 序号 | A/<br>(g/g) | B/% | C/<br>(g/mL) | 成型<br>率 / % | 休止<br>角 / ° | 吸湿<br>率 / % | 堆密度 /<br>(g/mL) | 综合评<br>分 / % |
|----|-------------|-----|--------------|-------------|-------------|-------------|-----------------|--------------|
| 1  | 1 : 0.2     | 70  | 14 : 1.6     | 83.16       | 13.59       | 4.5149      | 0.5478          | 77.65        |
| 2  | 1 : 0.6     | 70  | 14 : 1.6     | 85.28       | 13.45       | 2.7963      | 0.5556          | 82.22        |
| 3  | 1 : 0.2     | 80  | 14 : 1.6     | 90.57       | 14.92       | 4.2685      | 0.4348          | 83.37        |
| 4  | 1 : 0.6     | 80  | 14 : 1.6     | 92.02       | 15.39       | 3.7963      | 0.4279          | 84.16        |
| 5  | 1 : 0.2     | 75  | 14 : 1.4     | 86.68       | 14.89       | 4.6348      | 0.4767          | 80.54        |
| 6  | 1 : 0.6     | 75  | 14 : 1.4     | 84.08       | 15.71       | 3.7136      | 0.4348          | 79.36        |
| 7  | 1 : 0.2     | 75  | 14 : 1.8     | 90.57       | 14.92       | 3.9721      | 0.6129          | 82.79        |
| 8  | 1 : 0.6     | 75  | 14 : 1.8     | 90.51       | 14.89       | 3.1592      | 0.2694          | 87.39        |
| 9  | 1 : 0.4     | 70  | 14 : 1.4     | 89.03       | 14.24       | 3.6988      | 0.4574          | 84.35        |
| 10 | 1 : 0.4     | 80  | 14 : 1.4     | 90.81       | 15.38       | 3.6036      | 0.4374          | 83.76        |
| 11 | 1 : 0.4     | 70  | 14 : 1.8     | 91.71       | 16.05       | 4.0090      | 0.4193          | 82.77        |
| 12 | 1 : 0.4     | 80  | 14 : 1.8     | 88.59       | 14.09       | 1.4133      | 0.4554          | 94.53        |
| 13 | 1 : 0.4     | 75  | 14 : 1.6     | 90.33       | 15.46       | 3.5709      | 0.4550          | 82.30        |
| 14 | 1 : 0.4     | 75  | 14 : 1.6     | 88.46       | 14.90       | 4.2685      | 0.4564          | 82.08        |
| 15 | 1 : 0.4     | 75  | 14 : 1.6     | 86.24       | 16.01       | 3.9555      | 0.4359          | 79.74        |
| 16 | 1 : 0.4     | 75  | 14 : 1.6     | 87.83       | 15.40       | 3.9074      | 0.4371          | 81.58        |
| 17 | 1 : 0.4     | 75  | 14 : 1.6     | 85.16       | 14.84       | 3.8699      | 0.4564          | 80.90        |

显著影响 ( $P < 0.05$ )，说明干膏粉与辅料比例和干膏粉与润湿剂比例、润湿剂浓度和干膏粉与润湿剂比例相互影响程度较大。二次项中  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  均有显著影响 ( $P < 0.05$ )，说明成型工艺中各影响因素与综合评分并非简单的线性关系<sup>[7-8]</sup>。

通过 Design-Expert 8.0.6.1 软件对响应面法试验数据进行处理，得到两因素之间交互作用的三维响应曲面 (见图 2)。从响应曲面的形态分析可



知<sup>[9-10]</sup>: AB 两因素之间交互作用对试验结果影响不显著, AC 两因素之间、BC 两因素之间存在显著的交互作用。基于综合得分进行优化分析, 获得最佳参数组合为: 干膏粉与辅料比例 1 : 0.4562、润湿剂浓度为 80.0%、干膏粉与润湿剂比例为

14 : 1.7999, 对应综合得分为 94.538%。考虑到实际操作的可性和便捷性, 对参数进行适度调整, 最终确定实际应用参数为: 干膏粉与辅料比例 1 : 0.4、润湿剂浓度 80%、干膏粉与润湿剂比例为 14 : 1.8。

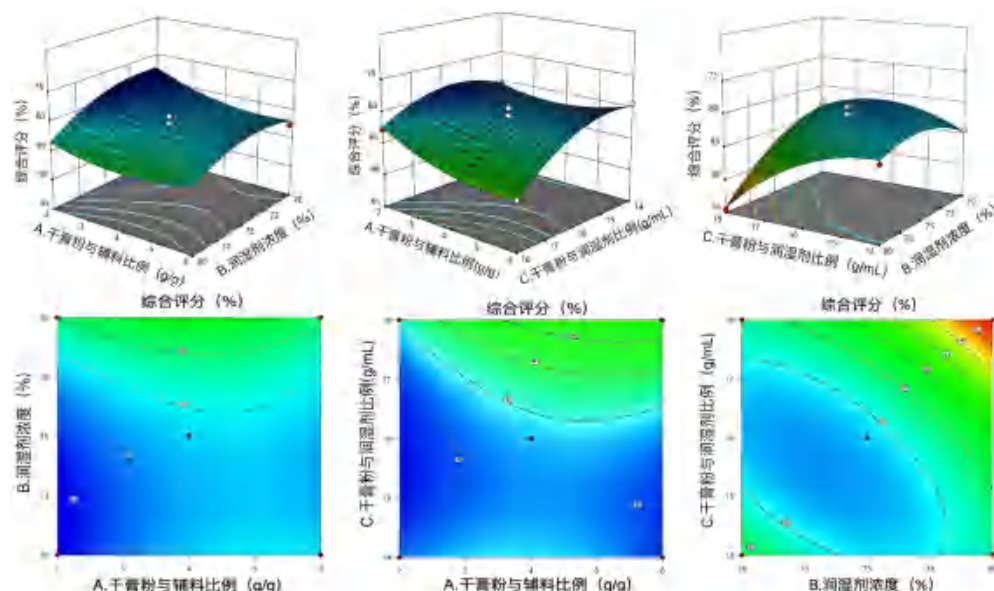


图2 各因素交互作用响应面图和等高线图

Fig 2 Response surface and contour plots for interactions between factors

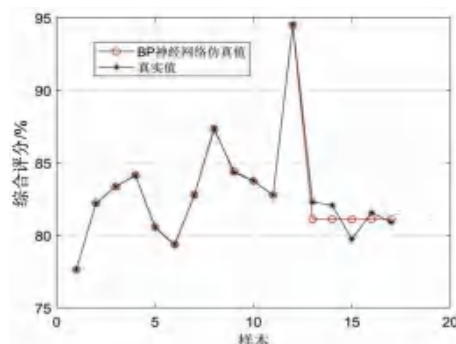


图3 BP神经网络预测值与响应面法实测值

Fig 3 Predicted values by BP neural network and measured values by response surface methodology

## 2.6 BP神经网络优化工艺

**2.6.1 BP神经网络模型建立** 使用Python 3.11构建BP神经网络的模型<sup>[11-12]</sup>, 输入层为干膏粉与辅料比例、润湿剂浓度及干膏粉与润湿剂比例的分值, 输出层为综合评分。通过对隐含层神经元数量的调整, 得到了3个隐含层神经元的学习准确率较高。设置网络的最大迭代数500, 0.2的学习率和0.0001的错误阈值。

**2.6.2 BP神经网络的运行** 采用BP神经网络方法, 以响应面法的17个数据为训练集。其中, 模型训练11个, 模型预测3个, 模型验证3个。模型训练回归曲线相关系数 $R = 0.992\ 61$ , 模型验证回归曲线相关系数 $R = 0.987\ 32$ , 模型测试回归曲线相

关系数 $R = 0.9744$ , 模型总回归曲线相关系数 $R = 0.99$ 。通常, 在均方误差(MSE)较低时,  $R$ 接近于1, 表明拟合程度好。再进行预测响应面试验的17组数据, 如图3所示, 响应面法得到的实测值与BP神经网络模型的预测值误差较小, 表明该模型具有较高的模拟精度和稳定性, 能够有效揭示蒙药诃子配方颗粒加工过程中各影响因素的影响规律。

**2.6.3 BP神经网络仿真模拟预测** 固定两个因素的水平, 将其余因素的水平值调为适合的梯度, 响应面法中的干膏粉与辅料比例为1 : 0.2 ~ 1 : 0.6, 从已知的最大值与最小值之间数值平均选出6个值, 共设定6个水平; 润湿剂的浓度为70% ~ 80%, 每间隔2%设一个水平, 共6个水平; 干膏粉与润湿剂比例为14 : 1.4 ~ 14 : 1.8, 从已知的最大值与最小值之间数值平均选出6个值, 共设定6个水平; 新增的因素水平任意组合可以得到216种组合, 将这216种组合的数据导入输入层, 通过对BP神经网络的仿真和优化, 得到216个在输出层的综合得分。最终得到蒙药诃子配方颗粒的最佳成型工艺为干膏粉与辅料比例为1 : 0.4667, 润湿剂浓度为80%, 干膏粉与润湿剂比例为14 : 1.8, 综合评分为94.537%。

**2.6.4 验证试验** 为了验证优化工艺的可靠性与重复性, 采用响应面法、BP神经网络优化的成型工艺进行3次平行验证试验, 结果见表5。将BP神经网络与AHP-EWM法结合响应面法的数据相比较发

表 5 BP 神经网络与 AHP-EWM 法结合响应面法验证的结果

Tab 5 Verification combining BP neural network with AHP-entropy weight method and response surface method

| 优化方法            | 预测综合<br>评分值 | 成型率 /% | 休止角 /° | 吸湿率 /% | 堆密度 / (g/mL) | 实际评分值 | 实际综合评<br>分平均值 | RSD/% |
|-----------------|-------------|--------|--------|--------|--------------|-------|---------------|-------|
| BP 神经网络         | 94.537      | 91.72  | 13.13  | 2.0672 | 0.3271       | 94.23 | 94.22         | 0.238 |
|                 |             | 91.79  | 13.47  | 2.0178 | 0.3104       | 94.09 |               |       |
|                 |             | 91.91  | 13.46  | 2.0163 | 0.3007       | 94.34 |               |       |
| AHP-EWM 法结合响应面法 | 94.538      | 91.97  | 13.42  | 2.0145 | 0.3026       | 94.43 | 94.26         | 0.081 |
|                 |             | 92.14  | 13.21  | 2.0234 | 0.3511       | 94.23 |               |       |
|                 |             | 91.73  | 13.02  | 2.1482 | 0.3231       | 94.11 |               |       |

现,两种优化方法的预测综合评分值与实际测定的评分值整体趋势相近、数值差异较小。实现两种不同原理优化方法的交叉验证,减少单一方法可能存在的系统误差,提升优化参数的可信度与说服力。

### 3 讨论

#### 3.1 颗粒剂评价指标选定

本研究选择成型率、休止角、吸湿率及堆密度作为蒙药诃子配方颗粒成型工艺的评价指标。成型率反映成型效果与工艺适配性,休止角体现颗粒的流动性,吸湿率关联储存的稳定性和使用性,堆密度反映颗粒堆积致密程度,四者共同构成成型工艺适配性关键评价体系。

#### 3.2 辅料及润湿剂参数选定

单因素试验表明,水为润湿剂易导致诃子干膏粉黏性过强,无法制粒,而乳糖可显著改善颗粒综合性能。同时确定干膏粉与润湿剂最佳比例为 14 : 1.8,颗粒湿度适宜,制备的颗粒成型性和流动性良好,可避免黏筛网或“微飞散”问题。

#### 3.3 两种方法优化及验证成型工艺参数

采用 AHP-EWM 法结合响应面法、BP 神经网络优化工艺参数,以干膏粉与辅料比例、润湿剂浓度、干膏粉与润湿剂比例为影响因素,综合评分为评价指标<sup>[13-16]</sup>。结果显示,两种方法的预测值与实际实验值偏差小 ( $RSD < 1\%$ ),有效验证了最佳工艺参数并揭示因素间非线性关系。

综上,本研究基于蒙医传统汤剂理论及前期提取工艺,通过优化辅料与润湿剂参数,解决了蒙药诃子配方颗粒黏性、成型性及流动性问题。借助 AHP-EWM 组合赋权法、星点设计-响应面法与 BP 神经网络协同模型,筛选出稳定适用的成型工艺参数,量化多指标权重并揭示参数间关系,克服单一方法局限。研究结果为后续质量标准研究及权重系数模型选择提供参考,后期将建立配方颗粒质量标准并开展 6 个月稳定性考察,为产业化生产提供数据支撑。

### 参考文献

[1] 中国药典 2025 年版.一部[S]. 2025: 194-195.

[2] 赵鹿,廖翠萍,杨秀娟,等.诃子的研究进展及质量标志物的预测[J].中草药,2020,51(10):2732-2744.

[3] 巴根那.蒙医方剂学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:79-373.

[4] 谢谭芳,程哲,覃春捷.层次分析-熵权法结合星点设计-响应面法优选艾纳香配方颗粒成型工艺[J].中国药业,2023,32(13):50-55.

[5] 黄大利,蒙玉梅,齐彪,等.石膏配方颗粒的制备工艺研究[J].时珍国医国药,2019,30(2):334-337.

[6] 赵艳丽,苏锁财,李婧媛,等.AHP-EWM 结合 Box-Behnken 响应面法优化重楼-三七药对的提取工艺[J].中药材,2025,48(8):2037-2043.

[7] 王贺伟,任盈盈,刘亭阳,等.基于 AHP-熵权法结合响应面法和 BP 神经网络优化茵陈果配方颗粒制备工艺[J].中药材,2025,48(5):1226-1230.

[8] 袁红飞,肖金超,周家华,等.大果木姜子配方颗粒的工艺研究[J].中国新药杂志,2025,34(1):80-88.

[9] 韩云凤,唐茜,石懿,等.基于熵权法-层次分析法结合响应面法优化养阴润目颗粒的提取工艺[J].中国现代应用药学,2022,39(7):896-903.

[10] 张志鹏,张兰兰,施文婷,等.基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化化湿败毒颗粒喷雾干燥工艺[J].中草药,2023,54(22):7429-7435.

[11] 梁新丽,唐凤悦,廖正根,等.基于 Plackett-Burman 和 G1-熵权法设计结合 Box-Behnken 响应面法优化中药颗粒成型工艺:以小儿热速清颗粒为例[J].中国医院药学杂志,2024,44(11):1298-1304.

[12] 王晶晶,徐忠坤,付娟,等.Box-Behnken 设计-响应面法结合 BP 神经网络法优化经典名方泻白颗粒成型工艺[J].南京中医药大学学报,2025,41(10):1333-1343.

[13] 呼玉含,姚烁,宋学忠,等.基于响应面和 BP 神经网络结合提取液物化特性优化南葶苈子配方颗粒提取工艺研究[J].中草药,2025,56(16):5763-5771.

[14] 谢慧娟,唐竹芊,胡丹,等.基于层次分析-熵权法、网络药理学和分子对接探究小青龙颗粒治疗支气管哮喘的质量标志物[J].中国实验方剂学杂志,2025,18(19):1-13.

[15] 孙人杰,田茂雨,何琴,等.层次分析-熵权法评价结合正交试验优化铁皮石斛颗粒配方工艺[J].食品工业科技,2024,45(8):227-234.

[16] 张泽宇,陶振,王佳,等.D-最优混料设计法结合 Box-Behnken 设计-响应面法优化五味益心颗粒成型工艺[J].药物评价研究,2025,48(3):698-707.

(收稿日期:2025-11-03;修回日期:2025-12-19)

# 红芪超微粉及水提液提高免疫力的药效研究

张旭<sup>1</sup>, 王冀<sup>2, 3</sup>, 薛思远<sup>1</sup>, 李智<sup>2, 3</sup>, 倪秀一<sup>1</sup>, 万梅绪<sup>2, 3</sup>, 原景<sup>2, 3</sup>, 李德坤<sup>4</sup>, 鞠爱春<sup>5\*</sup> (1. 河北中医药大学, 石家庄 050200; 2. 天士力之骄药业有限公司, 天津 300410; 3. 天津市中药注射剂安全性评价重点实验室, 天津 300410; 4. 天士力医药集团股份有限公司, 天士力研发中心, 现代中药开发部, 天津 300410; 5. 天士力医药集团股份有限公司, 天津 300410)

**摘要:** **目的** 比较红芪超微粉及水提液对小鼠免疫功能的影响。**方法** 通过苯酚-浓硫酸法测定红芪超微粉及水提液多糖类成分含量, HPLC 测定黄酮类成分含量, 将 80 只 ICR 小鼠随机分成 8 组: 对照组, 模型组, 红芪超微粉及水提液低、中、高剂量组 (5.2、10.4、20.8 g/kg)。对照组给予生理盐水, 其余小鼠连续 10 d 灌胃 36 mg/kg 环磷酰胺造模。造模第 10 日后, 对照组和模型组灌胃生理盐水, 给药组灌胃相应药物, 连续 14 d。给药结束后, 测定小鼠体重、脾脏指数、脾淋巴细胞增殖能力、碳廓清能力、腹腔巨噬细胞吞噬能力及 NK 细胞活性。**结果** 红芪超微粉及水提液黄酮类成分含量相近, 而水提液多糖类成分含量稍高。给药 14 d 后, 与对照组比较, 模型组小鼠免疫力指标均显著降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ), 表明环磷酰胺诱导免疫抑制模型造模成功。与模型组比较, 红芪水提液各组小鼠体重增重值、脾脏指数和胸腺指数、脾淋巴细胞增殖率、吞噬指数、NK 细胞活性明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。红芪超微粉各组小鼠脾脏指数显著增加 ( $P < 0.05$ ), 低、中剂量组体重增重值及 NK 细胞活性显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 低剂量组胸腺指数、吞噬指数显著增加 ( $P < 0.05$ )。**结论** 在免疫增强方面红芪水提液效果更佳, 可能与红芪水提液中多糖类含量稍高有关。

**关键词:** 红芪超微粉; 红芪水提液; 环磷酰胺; 免疫抑制; 免疫功能

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-112-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.016

## Effect of Hedysari Radix ultrafine powder and Hedysari Radix water extract on immunity

ZHANG Xu<sup>1</sup>, WANG Ji<sup>2, 3</sup>, XUE Siyuan<sup>1</sup>, LI Zhi<sup>2, 3</sup>, NI Xiuyi<sup>1</sup>, WAN Meixu<sup>2, 3</sup>, YUAN Jing<sup>2, 3</sup>, LI Dekun<sup>4</sup>, JU Aichun<sup>5\*</sup> (1. Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200; 2. Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410; 3. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of TCM Injections, Tianjin 300410; 4. Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd. Tasly Pharmaceutical R&D Center, Modern Traditional Chinese Medicine Development Division, Tianjin 300410; 5. Tasly Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300410)

**Abstract:** **Objective** To compare the effects of Hedysari Radix ultrafine powder and Hedysari Radix water extract on the immunity of mice. **Methods** The polysaccharide content of Hedysari Radix ultrafine powder and water extract was determined by the phenol-concentrated sulfuric acid method, and the flavonoid content was determined by HPLC. Totally 80 ICR mice were randomly divided into 8 groups: a control group, a model group, and low, medium, and high dose groups of Hedysari Radix ultrafine powder and water extract (5.2, 10.4, and 20.8 g/kg). The control group was given physiological saline, while the remaining mice were orally administered 36 mg/kg cyclophosphamide for 10 consecutive days. Ten days after the modeling, the control group and the model group were orally administered with physiological saline, while the treatment group was orally administered with corresponding drugs for 14 consecutive days. After the end of administration, the body mass, spleen index, spleen lymphocyte

基金项目: 2024 年产业基础再造和制造业高质量发展专项 (No.2440STCZB2616)。

作者简介: 张旭, 男, 硕士研究生, 主要从事中药生产与质量控制研究, email: YJS20234017@hebcm.edu.cn \* 通信作者: 鞠爱春, 男, 正高级工程师, 硕士研究生导师, 主要从事中药注射剂工艺及质量控制研究, email: Juach@tasly.com



proliferation ability, carbon clearance ability, peritoneal macrophage phagocytic ability, and NK cell activity of the mice were measured. **Results** The content of flavonoids in Hedysari Radix ultrafine powder and water extract was similar, while that of polysaccharides in the water extract was slightly higher. After 14 days of administration, compared with the control group, the immune related indicators in the model group mice were significantly reduced ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ), indicating the successful establishment of cyclophosphamide induced immunosuppression model. Compared with the model group, the weight gain, spleen index, thymus index, splenic lymphocyte proliferation rate, phagocytic index, and NK cell activity of the mice in each water extract group were significantly increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). The spleen index of the mice in each group treated with Hedysari Radix ultrafine powder increased significantly ( $P < 0.05$ ), so did the weight gain and NK cell activity of the low and medium dose groups ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The thymus index and phagocytic index of the low dose group also increased substantially ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Hedysari Radix water extract has a better immune enhancement effect, which may be related to its slightly higher polysaccharide content.

**Key words:** Hedysari Radix ultrafine powder; Hedysari Radix water extract; cyclophosphamide; immune suppression; immunity

红芪是豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. 的干燥根<sup>[1]</sup>, 作为一种传统中药材, 具有补气固表、利尿托毒、敛疮生肌等功效<sup>[2]</sup>。红芪中含有多种活性成分, 如多糖、黄酮类化合物等, 这些成分可能在提高小鼠免疫力方面发挥着重要作用。现代药理研究表明, 红芪具有免疫调节、抗氧化、抗炎等多种药理作用<sup>[3]</sup>。红芪多糖<sup>[4]</sup>可以促进免疫抑制小鼠免疫细胞的增殖和白细胞介素-2 (IL-2) 的表达, 增强巨噬细胞的吞噬能力, 增加溶血素, 提升巨噬细胞的杀伤力。此外, 红芪多糖还可以调节脾淋巴细胞的免疫功能, 增加 IL-2 分泌, 诱导辅助性 T 细胞分化, 增强免疫细胞的应答。红芪的黄酮类化合物<sup>[5]</sup>也可以调节机体的免疫功能, 增强机体的非特异性免疫和特异性免疫反应。研究表明, 各种黄酮类化合物可以促进巨噬细胞的吞噬作用, 增加自然杀伤 (NK) 细胞的活性, 调节 T 细胞和 B 细胞的增殖和分化, 对各种免疫指标的调节是全面而显著的<sup>[6]</sup>。

近年来, 红芪产品有多种剂型: 超微粉剂型、口服液、胶囊剂、水提液等类型, 其中红芪水提液和红芪超微粉最为多见。但是, 红芪药材这两种剂型在提高免疫力方面的效果未见相关的报道, 本文旨在比较研究红芪超微粉及红芪水提液对环磷酰胺 (CTX) 诱导的免疫抑制小鼠免疫功能的影响及主要化学成分的含量, 为红芪的进一步开发和应用提供理论依据。

## 1 材料

### 1.1 试药

红芪来源于甘肃陇西, 经甘肃之骄制药有限公司质量检验部门鉴定, 符合 2025 年版《中国药典》要求。红芪超微粉及红芪药材均来源于甘肃之

骄制药有限公司, 经浓度计算每 1 mL 红芪水提液和红芪超微粉均对应红芪生药材的量为 1 g。

环磷酰胺片 (通化茂祥制药有限公司, 批号: 221201); YAC-1 细胞 (武汉普诺赛公司); 印度墨汁 (批号: 20221102)、Giemsa 染液 (批号: 20221115)(福州飞净生物科技有限公司); 胎牛血清 (美国 Hyclone 公司, 批号: DF29570026); 台酚兰 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: C0040-50); Hank's 液 (天津市灏洋生物制品科技有限公司, 批号: 20220523); RPMI 1640 培养液 (美国 Gibco 公司, 批号: 2462011); CCK-8 (东仁化学科技有限公司, 批号: WR644); 乳酸脱氢酶 (LDH) 细胞毒性检测试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 110922240506); D- 无水葡萄糖对照品 (批号: 110833-202109, 纯度: 99.9%)、毛蕊异黄酮对照品 (批号: 112117-202301, 纯度: 99.5%)、槲皮素对照品 (批号: 100081-201610, 纯度: 99.1%)、芒柄花素对照品 (批号: 111703-202401, 纯度: 99.0%)、芒柄花苷对照品 (批号 112131-202401, 纯度: 99.0%)(中国食品药品检定研究院); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余制剂均为分析纯。

### 1.2 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠 80 只, 雄性, 体质量 20 ~ 25 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为 SCXK (京) 2021-0006]。分笼饲养于天士力控股集团有限公司动物设施屏障系统内, 动物使用许可证 SYXK (津) 2022-0005。动物实验严格按照天津天士力集团动物伦理委员会标准执行, 伦理批号 TSL-IACUC-2023-18。

### 1.3 仪器

万分之一电子天平 (型号: MS204TS, 梅特勒 -

托利多仪器上海有限公司); Infinite M200 酶标仪(东胜创新生物科技有限公司); STI6R 高速冷冻离心机(赛默飞世尔科技中国有限公司); MBR-022UP 往复式恒温振荡器(日本 TAITEC 公司); Heracell I50 二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司); 96 孔培养板(美国 CoStar 公司); LC-20AT 型高效液相色谱仪(贝克智普科技有限公司加工); Alltech 3300 型蒸发光散射检测器(ELSD)(瑞士步琦公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 红芪超微粉及水提液中多糖类成分的含量测定<sup>[7]</sup>

**2.1.1 检测方法** 分别精密量取供试品溶液 1.0 mL, 共 6 份, 置 10 mL 量瓶中, 加水补至 2 mL, 加 5% 苯酚溶液 1 mL 及浓硫酸 5 mL, 混匀, 室温放置 20 min 后于 490 nm 处测定吸光度。从标准曲线上读出供试品溶液中无水葡萄糖的质量。计算, 即得。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 取葡萄糖 8.3 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 制得质量浓度为 166 mg/L 的葡萄糖溶液。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 分别取样品粉末及药材各约 12.5 g, 置圆底烧瓶中, 精密加入水 250 mL, 称定质量, 100 °C 回流提取 1.5 h, 放至室温, 再称定质量, 以水补足缺失的质量, 离心, 精密量取上清液 1 mL, 置离心管中, 加无水乙醇 5.4 mL (醇沉浓度 80%), 摇匀, 冷藏过夜, 离心, 取沉淀加无水乙醇 10 mL 洗涤 1 次, 离心, 取沉淀加水溶解, 置 50 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 的滤膜即得待测样品。

**2.1.4 线性关系考察** 精密吸取葡萄糖对照品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水补至 2 mL, 加 5% 苯酚溶液 1 mL 及浓硫酸 5 mL, 混匀, 室温放置 20 min 后于 490 nm 处测定吸光度, 以葡萄糖质量分数为横坐标 ( $X$ ), 吸光度为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线, 计算回归方程。结果其回归方程为  $Y = 1.1522X - 0.0129$ ,  $r = 0.9990$ , 线性范围为 16.5 ~ 165 μg。

**2.1.5 精密度试验** 称取对照品适量, 按照“2.1.2”项下方法制备对照品溶液, 按照“2.1.1”项下检测方法, 重复测定 6 次, 计算吸光度的  $RSD$  值。对照品溶液吸光度的  $RSD$  值为 1.9%, 结果表明该仪器精密度良好。

**2.1.6 稳定性试验** 分别称取红芪超微粉及红芪原药材, 分别按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”项下检测方法, 分别于 0、15、30、60、90、120 min 测定其吸光度, 计算其  $RSD$  值, 红芪超微粉  $RSD$  值为 2.0%, 红芪水

提液  $RSD$  值为 1.1%, 结果表明红芪超微粉及红芪水提液供试品溶液在 2 h 内稳定性良好。

**2.1.7 重复性试验** 分别称取同一红芪超微粉及红芪原药材样品各 6 份, 按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.1.1”项下检测方法测定其吸光度, 计算其  $RSD$  值。红芪超微粉  $RSD$  值为 1.6%, 红芪水提液  $RSD$  值为 1.4%, 结果表明该方法重复性良好。

**2.1.8 样品的含量测定** 取“2.1.3”项下方法制备的供试品溶液各 3 份, 按“2.1.1”项下检测方法测定红芪超微粉及红芪水提液的吸光度并计算多糖含量, 结果见表 1。红芪水提液中多糖含量显著高于红芪超微粉组。

### 2.2 红芪超微粉及水提液中黄酮类成分的含量测定<sup>[8]</sup>

**2.2.1 HPLC 色谱条件** 色谱柱: Hanbon Sci. & Tech. Phecda C18 (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相: 0.1% 磷酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 10% ~ 15%B; 10 ~ 15 min, 15% ~ 25%B; 15 ~ 35 min, 25% ~ 45%B; 35 ~ 45 min, 45% ~ 60%B); 柱温: 25 °C; 检测波长: 254 nm; 进样量: 10 μL; 流速: 1.0 mL/min。混合对照品、红芪超微粉和红芪水提液典型色谱图见图 1。

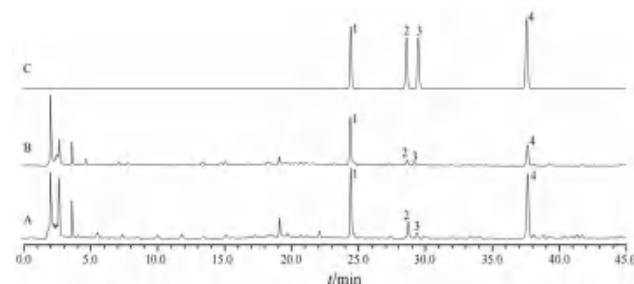


图 1 红芪水提液 (A)、红芪超微粉 (B)、混合对照品 (C) 的 HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of Hedysari Radix water extract (A), Hedysari Radix ultrafine powder (B) and mixed reference standard (C) 1. 芒柄花苷 (ononin); 2. 毛蕊异黄酮 (calycosin); 3. 槲皮素 (quercetin); 4. 芒柄花素 (formononetin)

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素对照品适量, 加甲醇制成质量浓度分别为 0.4813、0.4920、0.5030、0.4993 mg/mL 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 分别取样品粉末及药材各约 15.0 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 125 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足缺失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 的滤膜, 即得红芪超微粉溶液及红芪水提液。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素混合对照品溶液, 稀释至



适量倍数,按照“2.2.1”项下方法测定各指标成分的峰面积,以峰面积为纵坐标( $Y$ ),质量浓度为横坐标( $X$ ),分别绘制各成分标准曲线,进行线性回归,得回归方程分别为芒柄花苷  $Y = 1.026 \times 10^4 X - 1.029 \times 10^5$ ,  $r = 0.9991$ ,线性范围  $30.0833 \sim 481.3333 \mu\text{g/mL}$ ;毛蕊异黄酮  $Y = 9.501 \times 10^3 X + 8.882 \times 10^3$ ,  $r = 0.9994$ ,线性范围  $30.7500 \sim 492.0000 \mu\text{g/mL}$ ;槲皮素  $Y = 9.325 \times 10^3 X + 7.78 \times 10^3$ ,  $r = 0.9995$ ,线性范围  $31.2083 \sim 499.3333 \mu\text{g/mL}$ ;芒柄花素  $Y = 1.034 \times 10^4 X + 1.599 \times 10^4$ ,  $r = 0.9995$ ,线性范围  $31.4375 \sim 503.0000 \mu\text{g/mL}$ 。

**2.2.5 精密度试验** 精密量取对照品,按照“2.2.2”项下方法制备对照品溶液,按照“2.2.1”项下检测方法,重复进样6次,计算峰面积的  $RSD$  值。芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素峰面积的  $RSD$  值分别为 0.86%、0.96%、0.94%、1.4%,结果表明该仪器精密度良好。

**2.2.6 稳定性试验** 分别称取红芪超微粉及红芪原药材,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12、24 h 按照“2.2.1”项下方法进样检测,结果红芪超微粉中芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素峰在 24 h 内峰面积  $RSD$  分别为 1.3%、0.89%、0.61%、0.73%,红芪水提液中芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素在 24 h 内峰面积  $RSD$  分别为 0.53%、0.62%、0.52%、1.0%,结果表明红芪超微粉及红芪水提液供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性试验** 分别称取同一红芪超微粉及红芪原药材样品各 6 份,按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2.1”项下方法检测,结果红芪超微粉中芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素峰含量  $RSD$  分别为 0.54%、0.28%、0.45%、0.56%,红芪水提液中芒柄花苷、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花素峰含量  $RSD$  分别为 1.3%、0.28%、0.57%、0.40%,结果表明红芪超微粉及红芪水提液供试品溶液的重复性均符合规定。

**2.2.8 含量测定** 分别吸取对照品溶液和供试品溶液适量,按“2.2.1”项下检测方法进样分析,记录黄酮类成分的保留时间和峰面积,通过外标法分别计算各成分的含量。

结果如表 1 所示,芒柄花素、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、槲皮素在两者中均被检出。红芪水提液中,芒柄花素、毛蕊异黄酮、槲皮素、芒柄花苷类物质的含量略高于同质量的红芪超微粉,但差异无统计学意义。

表 1 红芪超微粉及红芪水提液多糖及 4 种黄酮类化合物含量 (mg/mL,  $n = 3$ )

Tab 1 Content of polysaccharide and four flavonoid compounds ultra-fine powder and water extract of Hedysari Radix (mg/mL,  $n = 3$ )

| 样品    | 多糖     | 黄酮类    |        |        |        |
|-------|--------|--------|--------|--------|--------|
|       |        | 芒柄花素   | 毛蕊异黄酮  | 槲皮素    | 芒柄花苷   |
| 红芪超微粉 | 0.9592 | 0.0723 | 0.0490 | 0.0192 | 0.0674 |
| 红芪水提液 | 1.0540 | 0.0851 | 0.0565 | 0.0239 | 0.0768 |

**2.3 红芪超微粉及水提液对提高免疫力的药效对比研究**

**2.3.1 实验分组和给药** 将小鼠随机分为 8 组,每组 10 只,即对照组,模型组,红芪超微粉低、中、高剂量组 (5.2、10.4、20.8 g/kg) 和红芪水提液低、中、高剂量组 (5.2、10.4、20.8 g/kg)。

将小鼠适应性饲喂 7 d,除对照组外,实验开始后按照宋雁等<sup>[9]</sup>的方法,以 36 mg/kg 灌胃 CTX 制备免疫抑制模型,连续 10 d。第 10 日开始灌胃给药,对照组和模型组灌胃纯化水,其余组分别灌胃红芪超微粉及红芪水提液低、中、高剂量,灌胃给药体积 10 mL/kg,连续 14 d,实验期间,所有小鼠均正常饮食。

**2.3.2 免疫抑制小鼠一般情况** 给药期间,观察各组小鼠的精神状态,进食情况,毛发光滑度及眼睑状态等。记录小鼠给药前体重和处死前体重,记录小鼠脾脏质量,计算脾脏指数。

**2.3.3 刀豆蛋白 A (ConA) 诱导的脾淋巴细胞转化实验** 小鼠灌胃给药第 14 日,无菌取脾,将脾脏放置于适量无菌 Hank's 液的平皿中,用镊子磨碎,制成单个的细胞悬液,经 200 目筛网滤过,用 Hank's 液洗 2 次,每次离心 (1000 r/min) 10 min。将细胞悬浮于 1 mL 的完全培养液中,用台酚兰染色计数后调整细胞浓度为  $5 \times 10^6$  个/mL。将每份细胞悬液分两孔加到 96 孔培养板中,每孔 100  $\mu\text{L}$ ,一孔加 100  $\mu\text{L}$  的 ConA 液 (100  $\mu\text{g/mL}$ ),另一孔作为对照,于 5%CO<sub>2</sub>、37℃ 的 CO<sub>2</sub> 孵箱中培养 72 h,通过 CCK-8 法进行检测,以 570 nm 的波长用酶标仪检测光密度 (OD) 值,计算脾淋巴细胞的增殖能力。增殖能力 (%) = (加 ConA 孔的 OD 值 - 对照孔的 OD 值) / 对照孔的 OD 值  $\times 100\%$ 。

**2.3.4 碳廓清实验** 小鼠灌胃给药第 14 日,将印度墨汁原液用生理盐水稀释 3 倍,得印度墨汁工作液,小鼠尾静脉印度墨汁工作液 (10 mL/kg),尾静脉后 2、10 min 从内眦静脉丛取血 20  $\mu\text{L}$ ,立即将其加入 2 mL 0.1% 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中,以 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液作为空白对照,用酶标仪在 600 nm 波长处测定 2 min ( $t_1$ )、10 min ( $t_2$ ) 的光密度值 (OD<sub>1</sub>、



$OD_2$ )。将小鼠处死,取其肝脏和脾脏,分别称质量,计算其吞噬指数。吞噬指数 =  $[ \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重}) ] \times \sqrt[3]{K}$ ,  $K = (\lg OD_1 - \lg OD_2) / (t_2 - t_1)$ 。

### 2.3.5 NK 细胞活性测定

① 靶细胞的传代:实验前将 YAC-1 细胞进行传代培养,用 Hank's 液洗 3 次,用 RPMI 1640 培养液调整浓度为  $4 \times 10^5$  个 /mL,即为靶细胞。

② 效应细胞的制备:小鼠灌胃给药第 14 日,无菌取脾,将脾脏放置于适量无菌 Hank's 液的平皿中,用镊子磨碎,制成单个的细胞悬液,经 200 目筛网滤过,用台酚兰染色计数后调整细胞浓度为  $2 \times 10^7$  个 /mL,即为效应细胞。

③ NK 细胞活性测定:取靶细胞和效应细胞各 100  $\mu$ L (效靶比 50 : 1),加入 96 孔培养板中,靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100  $\mu$ L,靶细胞最大释放孔加靶细胞和 1% NP 40 各 100  $\mu$ L,反应孔加靶细胞和效应细胞各 100  $\mu$ L,于 37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 4 h,然后将 96 孔培养板离心 5 min (1500 r/min),每孔吸取上清液 100  $\mu$ L 加入 LDH 检测试剂盒中,在酶标仪 490 nm 处测定

OD 值。NK 细胞活性 (%) = (反应孔的 OD 值 - 自然释放孔 OD 值) / (最大释放孔 OD 值 - 自然释放孔 OD 值)  $\times$  100%。

2.3.6 对免疫抑制小鼠状态、体质量、脾脏指数及胸腺指数的影响 实验期间,对照组小鼠毛发光滑,动作灵敏,其他组别小鼠给予 CTX 第 10 日后出现精神萎靡、毛色暗淡且杂乱、蜷缩少动、食量减少、眼睑开合无力等体征。给予药物后,各给药组小鼠活动逐渐活跃,炸毛减少,小鼠状态均有不同程度的好转。结果见表 2,与对照组比较,模型组小鼠体重增重值显著降低 ( $P < 0.001$ ),脾脏指数与胸腺指数均显著降低 ( $P < 0.01$ ),证明造模成功。与模型组相比,红芪水提液低、中、高剂量组小鼠的体重增重值明显增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ),且小鼠脾脏指数和胸腺指数均显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。红芪超微粉低、中剂量组小鼠的体重增重值显著增加 ( $P < 0.05$ ),红芪超微粉低、中、高剂量组小鼠脾脏指数均显著增加 ( $P < 0.05$ ),红芪超微粉低剂量组小鼠胸腺指数显著增加 ( $P < 0.05$ ),其他给药组差异均无统计学意义。

表 2 红芪超微粉及水提液对免疫抑制小鼠体质量、脾脏指数、胸腺指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Tab 2 Effect of Hedysari Radix ultrafine powder and water extract on body weight spleen and thymus index of immune suppression induced in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

| 组别        | 剂量 / (g/kg) | 初始体质量 /g         | 终末体质量 /g         | 增重值 /g                         | 脾脏指数 / (mg/g)                 | 胸腺指数 / (mg/g)                 |
|-----------|-------------|------------------|------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 对照组       | —           | 23.73 $\pm$ 0.72 | 36.72 $\pm$ 2.03 | 12.99 $\pm$ 1.92               | 7.67 $\pm$ 1.61               | 2.61 $\pm$ 0.15               |
| 模型组       | —           | 23.59 $\pm$ 0.70 | 29.74 $\pm$ 1.08 | 6.15 $\pm$ 0.96 <sup>###</sup> | 4.77 $\pm$ 0.42 <sup>##</sup> | 1.75 $\pm$ 0.18 <sup>##</sup> |
| 红芪水提液低剂量组 | 5.2         | 24.73 $\pm$ 0.65 | 32.48 $\pm$ 2.17 | 7.75 $\pm$ 1.87 <sup>*</sup>   | 7.47 $\pm$ 2.29 <sup>*</sup>  | 2.02 $\pm$ 0.48 <sup>*</sup>  |
| 红芪水提液中剂量组 | 10.4        | 24.51 $\pm$ 0.80 | 33.15 $\pm$ 1.70 | 8.64 $\pm$ 1.65 <sup>**</sup>  | 8.04 $\pm$ 2.67 <sup>**</sup> | 2.33 $\pm$ 0.30 <sup>**</sup> |
| 红芪水提液高剂量组 | 20.8        | 23.70 $\pm$ 0.54 | 33.21 $\pm$ 2.43 | 9.51 $\pm$ 2.25 <sup>***</sup> | 8.00 $\pm$ 2.52 <sup>**</sup> | 2.53 $\pm$ 0.49 <sup>**</sup> |
| 红芪超微粉低剂量组 | 5.2         | 25.33 $\pm$ 0.87 | 33.14 $\pm$ 2.12 | 7.81 $\pm$ 1.57 <sup>*</sup>   | 7.46 $\pm$ 1.96 <sup>*</sup>  | 1.98 $\pm$ 0.32 <sup>*</sup>  |
| 红芪超微粉中剂量组 | 10.4        | 24.23 $\pm$ 0.82 | 31.67 $\pm$ 1.93 | 7.44 $\pm$ 1.93 <sup>*</sup>   | 7.54 $\pm$ 1.40 <sup>*</sup>  | 1.78 $\pm$ 0.63               |
| 红芪超微粉高剂量组 | 20.8        | 24.02 $\pm$ 0.33 | 30.37 $\pm$ 1.09 | 6.35 $\pm$ 1.12                | 7.33 $\pm$ 1.59 <sup>*</sup>  | 1.72 $\pm$ 0.12               |

注:与对照组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ , <sup>###</sup> $P < 0.001$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>##</sup> $P < 0.01$ , <sup>###</sup> $P < 0.001$ ; compared with the model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ .

2.3.7 对免疫抑制小鼠免疫力指标的影响 由表 3 可知,与对照组相比,模型组小鼠的脾淋巴细胞增殖率显著降低 ( $P < 0.001$ )。与模型组相比,红芪水提液低、中、高剂量组小鼠的脾淋巴细胞增殖率显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),红芪超微粉低剂量组小鼠的脾淋巴细胞增殖率显著增加 ( $P < 0.05$ ),其他给药组小鼠的脾淋巴细胞增殖率无统计学差异。即红芪水提液各剂量组提高免疫低下小鼠细胞免疫能力效果较好。

由表 3 可知,与对照组相比,模型组小鼠的吞噬指数显著降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比,红芪水提液低、中、高剂量组小鼠的吞噬指数均显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ),红芪超

微粉低剂量小鼠的吞噬指数显著增加 ( $P < 0.05$ ),其余各组无统计学差异,因此红芪水提液各剂量组可通过增强单核 - 巨噬细胞吞噬功能提高免疫低下小鼠细胞免疫能力。

由表 3 可知,与对照组相比,模型组小鼠的 NK 细胞活性显著降低 ( $P < 0.001$ )。与模型组相比,红芪水提液低、中、高剂量的 NK 细胞活性均显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ),红芪超微粉低、中剂量组小鼠的 NK 细胞活性显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。其他给药组小鼠的 NK 细胞活性差异无统计学意义。即红芪水提液各剂量组均可以通过促进 NK 细胞活性从而提高小鼠的免疫力。

2.3.8 数据处理 采用 GraphPad 8.0.2 统计软件分

表 3 红芪超微粉及水提液对免疫力指标的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Tab 3 Effect of Hedysari Radix ultrafine powder and water extract on immune indicators ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

| 组别        | 剂量 / (g/kg) | 脾淋巴细胞增殖率 / %                | 单核 - 巨噬细胞碳廓清吞噬指数           | NK 细胞活性 / %                 |
|-----------|-------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 对照组       | —           | 41.72 ± 3.43                | 5.46 ± 0.42                | 32.06 ± 2.23                |
| 模型组       | —           | 11.18 ± 3.24 <sup>###</sup> | 3.77 ± 0.71 <sup>###</sup> | 19.74 ± 1.02 <sup>###</sup> |
| 红芪水提液低剂量组 | 5.2         | 22.92 ± 4.67 <sup>*</sup>   | 4.90 ± 0.49 <sup>*</sup>   | 26.41 ± 1.09 <sup>*</sup>   |
| 红芪水提液中剂量组 | 10.4        | 27.15 ± 4.23 <sup>**</sup>  | 5.03 ± 0.70 <sup>**</sup>  | 32.06 ± 2.22 <sup>***</sup> |
| 红芪水提液高剂量组 | 20.8        | 33.61 ± 2.69 <sup>**</sup>  | 5.27 ± 0.42 <sup>***</sup> | 36.24 ± 0.98 <sup>***</sup> |
| 红芪超微粉低剂量组 | 5.2         | 21.27 ± 5.28 <sup>*</sup>   | 4.89 ± 0.37 <sup>*</sup>   | 29.84 ± 0.82 <sup>**</sup>  |
| 红芪超微粉中剂量组 | 10.4        | 17.43 ± 6.62                | 4.61 ± 0.69                | 26.36 ± 2.16 <sup>*</sup>   |
| 红芪超微粉高剂量组 | 20.8        | 13.55 ± 1.48                | 4.34 ± 0.54                | 22.40 ± 1.11                |

注: 与对照组比较, <sup>###</sup> $P < 0.01$ , <sup>####</sup> $P < 0.001$ ; 与模型组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>###</sup> $P < 0.01$ , <sup>####</sup> $P < 0.001$ ; compared with the model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ .

析, 实验结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间差异比较使用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 当  $P < 0.05$  时表示组间比较差异有统计学意义。

### 3 讨论

#### 3.1 免疫系统构成与免疫功能评价依据及免疫抑制模型构建原理

机体免疫系统是由特异性和非特异性免疫共同构成的防御系统。特异性免疫由细胞免疫和体液免疫组成, 通过形成抗体或产生细胞因子等方式, 反映机体免疫水平高低。单核 - 巨噬细胞的吞噬能力是衡量机体非特异性免疫功能的标志之一, 脾脏、胸腺指数在一定程度上能反映出免疫器官的发育程度, 可以直观地体现出机体免疫功能的强弱<sup>[10]</sup>。本研究采用红芪提取物治疗经灌胃 CTX 建立免疫抑制模型<sup>[11]</sup>的小鼠, 根据《保健食品功能检验与评价技术指导原则 (2023 年版)》中免疫功能的检测方法, 从免疫抑制小鼠细胞免疫功能、体液免疫功能、单核 - 巨噬细胞功能、NK 细胞活性等方面探讨其对免疫抑制小鼠免疫功能的调节作用。

#### 3.2 红芪免疫调节的活性成分

红芪作为一种传统中药材, 对提高小鼠免疫力具有显著效果。毛蕊异黄酮、芒柄花素、芒柄花苷、槲皮素均为黄酮类化合物, 可通过抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用发挥双向免疫调节作用, 是红芪发挥免疫调节作用的潜在核心化合物<sup>[12]</sup>。同时, 红芪提取物中的多糖类成分经研究证实其具有良好的免疫调节作用, 可增加小鼠脾脏和胸腺指数, 促进淋巴细胞转化, 增强巨噬细胞吞噬能力和 NK 细胞杀伤作用, 提高小鼠免疫力<sup>[13]</sup>。

#### 3.3 红芪调节免疫功能的作用途径<sup>[14]</sup>

脾脏的组织细胞凋亡率、数量、超微结构及指数反映机体免疫功能的强弱, 在维持机体免疫稳

态中具有关键作用<sup>[15]</sup>。胸腺是机体 T 淋巴细胞分化、发育和成熟的场所, 对于维持机体免疫平衡具有重要作用<sup>[16]</sup>。胸腺指数是评价免疫功能的重要指标<sup>[17]</sup>。实验研究表明, 红芪超微粉及水提液可提高免疫抑制小鼠的脾脏指数和胸腺指数, 这意味着红芪对免疫器官具有保护作用。红芪中的多糖、黄酮类化合物等活性成分可能在其中发挥了重要作用。

免疫细胞是参与免疫应答或与免疫应答相关的细胞群, 主要包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞等<sup>[18-20]</sup>。红芪水提液及超微粉均能提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率和吞噬指数, 同时, 促进 T 细胞增殖和分泌细胞因子, 提高 T 细胞杀伤作用, 促进 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖, 增强非特异性免疫功能。研究结果表明, 红芪水提液及超微粉具有增强免疫抑制小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力的作用, 增强小鼠机体免疫功能, 且红芪水提液比红芪超微粉表现出更好的免疫调节作用。

NK 细胞是人体固有免疫系统最重要的细胞, 介导机体的非特异性免疫, 具有对宿主的防御、免疫调节等功能<sup>[21-22]</sup>。研究结果表明红芪超微粉及水提液均可增加小鼠 NK 细胞杀伤活性, 但红芪水提物作用更显著, 提示相较于红芪超微粉, 红芪水提液可以显著调节免疫细胞活性, 具有更强的免疫调节作用, 因此, 在临床上可以首选红芪水提液作为治疗免疫相关疾病的药物。

#### 3.4 红芪两种剂型药效差异的物质基础

药效物质基础与中药制剂的药效密切相关, 以其作为制剂质量及其均一性控制指标具有重要意义。但是, 由于多种原因往往存在一定困难和缺陷。牛江涛等<sup>[23]</sup>研究发现红芪多糖可以促进免疫抑制小鼠免疫细胞的增殖, 增强巨噬细胞的吞噬能力, 增加溶血素, 提升巨噬细胞的杀伤活力。邵晶等<sup>[24]</sup>发现红芪多糖能够显著提高 CTX 诱导



的免疫低下小鼠的胸腺指数、脾脏指数,具有很好的免疫增效作用。相关研究发现<sup>[25-26]</sup>黄酮类化合物可促进小鼠脾淋巴细胞增殖,提高T、B淋巴细胞增殖和细胞因子的分泌,从而提高NK细胞的杀伤活力,提高小鼠免疫应答。这些研究说明红芪超微粉及水提液提高免疫力的药效的相关性。

本研究通过苯酚-浓硫酸法及HPLC法测定红芪超微粉及水提液中多糖类及黄酮类成分,结果表明红芪水提液中多糖及黄酮类成分高于超微粉,故可得出通过水提醇沉传统方法制备的水提液比经过机械粉碎的超微粉提取物其溶出率更高,有效成分含量更多,是其药效优于超微粉的关键原因之一。

### 3.5 结论与展望

综上所述,红芪通过保护免疫器官、调节免疫细胞功能和增加细胞因子释放等多种途径提高小鼠免疫力。红芪水提液改善CTX致免疫低下小鼠的疗效较同剂量红芪超微粉好,可能是由于其多糖含量较高。未来的研究可以进一步深入探讨红芪水提液提高免疫力的作用机制,如研究红芪水提液中不同活性成分的协同作用、红芪对免疫信号通路的影响等。此外,还可以开展更多的临床研究,验证红芪在人类疾病治疗中的有效性和安全性,为红芪水提液的临床应用提供更有力的理论支持。

### 参考文献

- [1] Goel A, Raghuvanshi A, Kumar A, et al. 9-Demethoxy-medicarpin promotes peak bone mass achievement and has bone conserving effect in ovariectomized mice: positively regulates osteoblast functions and suppresses osteoclastogenesis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 411: 155-166.
- [2] 张李峰,程卫东,桂曼曼,等.红芪替换玉屏风口服液中的黄芪后对免疫抑制小鼠细胞免疫作用的比较研究 [J]. *中药材*, 2012, 35 (2): 269-273.
- [3] Yang Z, Ji P, Li CC, et al. Research progress on the chemical constituents and pharmacological effects of *Houttuynia cordata* Thunb and a predictive analysis of quality markers [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2024, 47 (1): 18.
- [4] 魏小成,李成义,贾妙婷,等.红芪多糖药理作用及机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54 (9): 2953-2961.
- [5] Huang CC, Mao HY, Wan WW, et al. Extraction, content determination, component analysis, and pharmacological action of Hedysari flavonoids: a review of research progress [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1517832.
- [6] 李盼,于澎,于澳雪,等.淫羊藿调节免疫功能的研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43 (9): 226-230.
- [7] 魏舒畅,王继龙,李昶,等.改良差示酚磺法测定红芪粗多糖的方法研究 [J]. *中成药*, 2013, 35 (3): 634-636.
- [8] 赵端玮,武雪,宋平顺,等.HPLC同时测定红芪中4种黄酮类成分的含量 [J]. *中国药师*, 2015, 18 (1): 44-46.
- [9] 宋雁,贾旭东,崔文明,等.不同途径和剂量环磷酰胺建立小鼠免疫抑制模型的对比研究 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25 (3): 218-225.
- [10] 胡萍,魏琳琳,崔建伟,等.红芪提取物对小鼠免疫功能的影响 [J]. *毒理学杂志*, 2021, 35 (3): 236-240.
- [11] 邵晶,王志旺,杜丽东,等.红芪不同提取物对环磷酰胺所致免疫低下小鼠的影响及相关成分含量研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 34 (6): 698-702.
- [12] 崔方,韩增护,刘小花,等.红芪提高免疫功能活性部位的谱效关系研究 [J]. *中草药*, 2016, 47 (1): 101-105.
- [13] 李磊强.红芪多糖对小鼠脾淋巴细胞免疫调节作用的实验研究 [D]. 兰州:兰州大学, 2015.
- [14] 陈远兴,申茜,王骥,等.红芪口服液增强免疫力的药理作用研究 [J]. *天津中医药*, 2022, 39 (4): 498-502.
- [15] Liu D, Wu JX, An JP, et al. Requirements for cDC2 positioning in blood-exposed regions of the neonatal and adult spleen [J]. *J Exp Med*, 2020, 217 (11): e20192300.
- [16] Liang ZF, Dong X, Zhang ZQ, et al. Age-related thymic involution: mechanisms and functional impact [J]. *Aging Cell*, 2022, 21 (8): e13671.
- [17] Tian HH, Guo YJ, Ding MX, et al. Identification of genes related to stress affecting thymus immune function in a chicken stress model using transcriptome analysis [J]. *Res Vet Sci*, 2021, 138: 90-99.
- [18] 武莎,瞿萍,万金华,等.黄芪多糖对免疫细胞调控作用研究进展 [J]. *江西中医药*, 2022, 53 (3): 75-77.
- [19] Zhang CY, Yang M, C. A E. Function of Macrophages in disease: current understanding on molecular mechanisms [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 620510.
- [20] Mosser DM, Hamidzadeh K, Goncalves R. Macrophages and the maintenance of homeostasis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 18 (3): 579-587.
- [21] 卜欣阳,李维妙,张瑞,等.基于自然杀伤(NK)细胞的肿瘤免疫治疗研究新进展 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2023, 39 (5): 463-467.
- [22] 朱怡颖.NK细胞肿瘤免疫增敏化合物筛选及机制研究 [D]. 昆明:云南大学, 2021.
- [23] 牛江涛,曹瑞,司昕蕾,等.红芪与黄芪免疫调节和抗氧化作用对比研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39 (4): 21-23.
- [24] 邵晶,杜丽东,吴国泰,等.红芪等4种中药多糖对环磷酰胺所致免疫低下小鼠模型的免疫调节作用对比研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33 (21): 2175-2178, 2186.
- [25] 司丽君,王雪,王林林,等.槲皮素的抗炎免疫及部分机制研究 [J]. *中国医药导报*, 2021, 18 (27): 26-29, 34.
- [26] Chen Y, Peng F, Xing ZW, et al. Beneficial effects of natural flavonoids on neuroinflammation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1006434.

(收稿日期: 2025-10-20; 修回日期: 2025-12-10)



# 基于网络药理学与实验验证探讨参叶消癥颗粒改善慢性萎缩性胃炎的作用机制

孙宇菲<sup>1</sup>, 尹东阁<sup>1</sup>, 常榕蓉<sup>1</sup>, 荆霄鸿<sup>1</sup>, 林舒婷<sup>1</sup>, 陈红月<sup>1</sup>, 冯洋<sup>1</sup>, 邓兮玺<sup>1</sup>, 杨洋<sup>2</sup>, 倪健<sup>1</sup>, 魏玮<sup>2\*</sup>, 尹兴斌<sup>1\*</sup> (1.北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2.中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

**摘要:** **目的** 探讨参叶消癥颗粒对于慢性萎缩性胃炎 (CAG) 的治疗作用及其可能的作用机制。**方法** 通过网络药理学方法, 包括建立蛋白-蛋白相互作用网络、GO/KEGG 富集分析以及分子对接等方法, 预测参叶消癥颗粒在 CAG 治疗过程中的潜在靶点和机制。随后采用 *N*-甲基-*N*-硝基-*N*-亚硝基胍 (MNNG) 诱导建立人胃黏膜上皮细胞 (GES-1) 细胞模型。利用 CCK8 法及 TUNEL 染色法分析细胞凋亡情况, 利用酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应法 (RT-qPCR)、蛋白质印迹法 (Western blot) 等分析细胞中炎症因子以及靶点蛋白等相关指标, 进一步验证网络药理学结果。**结果** 网络药理学结果显示, 参叶消癥颗粒与 CAG 之间有 106 个重叠靶点, 与细胞凋亡、炎症和 PI3K/AKT 通路相关。分子对接结果显示核心靶点 AKT1、TNF、CASP3、Bcl2、HIF1A 与参叶消癥颗粒活性成分之间具有很强的亲和力。体外细胞实验结果显示, 参叶消癥颗粒在 700 μg/mL 时对 GES-1 细胞无毒性, 并且选择 40 μmol/L 作为 MNNG 诱导 GES-1 细胞模拟 CAG 的造模浓度。参叶消癥颗粒在 100 μg/mL 以上时能够抑制 MNNG 诱导的细胞凋亡, 在 300 μg/mL 及以上时能够显著抑制 PI3K/AKT 磷酸化, 抑制 PI3K、AKT、BAX 和 Caspase-3 的表达, 同时促进 Bcl-2 的表达。**结论** 参叶消癥颗粒能够抑制 MNNG 诱导的 GES-1 细胞炎症和凋亡, 可能是通过调节 PI3K/AKT 通路和凋亡相关蛋白发挥作用。

**关键词:** 慢性萎缩性胃炎; 参叶消癥颗粒; 网络药理学; 分子对接; PI3K/AKT 通路

**中图分类号:** R286

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-119-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.017

## Network pharmacology and experimental validation of the mechanism of Shenye Xiaozheng granules against chronic atrophic gastritis

SUN Yufei<sup>1</sup>, YIN Dongge<sup>1</sup>, CHANG Rongrong<sup>1</sup>, JING Xiaohong<sup>1</sup>, LIN Shuting<sup>1</sup>, CHEN Hongyue<sup>1</sup>, FENG Yang<sup>1</sup>, DENG Xixi<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>2</sup>, NI Jian<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>2\*</sup>, YIN Xingbin<sup>1\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488; 2. WangJing Hospital of CACMS, Beijing 100102)

**Abstract: Objective** To determine the therapeutic effect of Shenye Xiaozheng granules (SYXZG) on chronic atrophic gastritis (CAG) and its potential mechanism. **Methods** Through network pharmacology, approaches, including protein-protein interaction (PPI) network construction, Gene Ontology/Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes enrichment analysis, and molecular docking, potential targets and mechanisms of SYXZG during CAG treatment were predicted. Subsequently, an *N*-methyl-*N*-nitroso-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)-induced human gastric epithelial cell (GES-1) model was established. CCK8 assay and TUNEL staining were used to assess the cell apoptosis. The mechanisms identified through network pharmacology were further validated by inflammatory mediators and target proteins via enzyme-linked immunosorbent assay, reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction, and Western blot. **Results** Network pharmacology analysis revealed 106 overlapping targets between SYXZG and CAG, associated with apoptosis, inflammation, and PI3K/AKT pathway. Molecular docking

**基金项目:** 国家重点研发计划 (No.2023YFC3503605)。

**作者简介:** 孙宇菲, 女, 硕士研究生, 主要从事中药新制剂与新技术研究, email: 20230935210@bucm.edu.cn \*通信作者: 魏玮, 男, 博士研究生导师, 主任医师, 主要从事中西医结合防治消化系统疾病研究, email: sxxyy@sina.com; 尹兴斌, 男, 博士研究生导师, 教授, 主要从事中药新制剂与新技术研究, email: yxbtcm@163.com

demonstrated strong affinity between core targets (AKT1, TNF, CASP3, Bcl2, and HIF1A) and the active constituents of SYXZG. In vitro cellular experiments demonstrated that SYXZG exhibited no toxicity to GES-1 cells at a mass concentration of 700  $\mu\text{g/mL}$ . A concentration of 40  $\mu\text{mol/L}$  was selected as the modelling concentration for MNNG-induced GES-1 cells simulating CAG. SYXZG inhibited MNNG-induced apoptosis when  $> 100 \mu\text{g/mL}$ . At 300  $\mu\text{g/mL}$  and above, SYXZG obviously suppressed PI3K/AKT phosphorylation, inhibited the expression of PI3K, AKT, BAX, and Caspase-3, while simultaneously promoted Bcl-2 expression. **Conclusion** SYXZG can inhibit MNNG-induced inflammation and apoptosis in GES-1 cells, potentially by regulating the PI3K/AKT pathway and apoptosis-related proteins.

**Key words:** chronic atrophic gastritis; Shenye Xiaozheng granule; network pharmacology; molecular docking; PI3K/AKT pathway

慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 系指胃黏膜上皮承受反复侵蚀导致固有腺体减少, 伴或不伴肠腺化生和/或假幽门腺化生的一种慢性胃部疾病<sup>[1]</sup>。CAG 多由多种因素共同作用所致, 主要包括幽门螺杆菌持续感染、长期胃黏膜慢性炎症, 还与免疫、饮食及药物等相关<sup>[2]</sup>。CAG 与胃癌之间存在密切的关系。正常胃黏膜、慢性炎症、萎缩性胃炎、肠上皮化生 (intestinal metaplasia, IM)、上皮内瘤变 (intraepithelial neoplasia, IN)、胃癌 (gastric cancer, GC) 是目前公认的胃癌前病变发展演变模式<sup>[3]</sup>。因此及时干预和治疗 CAG, 对于减少胃癌的发生有着关键作用。

中医药长期应用于慢性疾病的治疗, 并显示出显著的疗效<sup>[4]</sup>。胃复春胶囊对 CAG 疾病具有抑制炎症细胞因子、调节免疫细胞 (如 T 细胞和巨噬细胞) 以及相关基因的作用<sup>[5]</sup>。石丹颗粒能有效改善 CAG 大鼠的生化指标和病理特征, 主要机制可能为能量平衡、炎症抑制和改善氨基酸和脂质代谢紊乱<sup>[6]</sup>。Liu 等<sup>[7]</sup>研究发现黄芪建中汤可以改善 CAG 大鼠胃黏膜损伤, 其主要机制可能是通过构建 CAG 大鼠的能量消耗平衡、抑制炎症、改善免疫系统和减轻氧化应激。参叶消癥颗粒 (Shenye Xiaozheng granules, SYXZ) 为中国中医科学院望京医院的临床常用方, 具有健脾化瘀、行气解郁的功效, 用于 CAG 伴异型增生者。处方由人参、白术、贯叶金丝桃、半枝莲、黄连、枳实共十味药组成。目前, 一项关于参叶消癥方干预胃低级别异型增生的多中心、随机、双盲、安慰剂对照临床试验正在开展, 旨在从循证医学角度系统评估其临床疗效与作用机制, 为中医药防治胃癌前病变提供高级别证据支持。

本研究通过网络药理学方法分析参叶消癥颗粒治疗 CAG 的活性成分、信号传导通路、作用靶点, 采用分子对接技术和体外细胞实验对网络药理学结果进行综合验证, 分析参叶消癥颗粒治疗 CAG 的作用机制, 为后续基础研究提供一定的理论基础及数据支持。

## 1 材料

### 1.1 试药

人 参 (批 号: 230626004)、黄 连 (批 号: 230624003)、麸炒白术 (批号: 230914004)、半枝莲 (批号: 221125003) (北京仟草中药饮片有限公司); 贯叶金丝桃 (批号: C202311001, 河北嘉恒冷背药业有限公司); 麸炒枳实 (批号: 73092711, 北京华邈药业有限公司); 以上药材均由北京中医药大学中药学院资源与鉴定系任广喜副教授鉴定合格。N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍 (MNNG, CAS 号: 70-25-7, 纯度  $\geq 99.5\%$ , 上海源叶生物科技有限公司)。肿瘤坏死因子 (TNF)- $\alpha$ 、白细胞介素 (IL)-1 $\beta$ 、IL-6 酶联免疫吸附法 (ELISA) 试剂盒、TUNEL 细胞凋亡试剂盒 (LABLEAD 公司)。SteadyPure Universal RNA 提取试剂盒, Evo M-MLV RT Premix for qPCR 试剂盒 (艾科瑞生物科技有限公司)。

### 1.2 细胞

人胃黏膜上皮细胞 GES-1 (逸漠生物有限公司) 置于 RPMI 1640 培养基 (Gibco) 中培养, 添加 10% 胎牛血清 (逸漠生物有限公司) 和 1% 青霉素/链霉素, 并在 5%CO<sub>2</sub>、37 °C 恒温培养箱中保存。

## 2 方法

### 2.1 网络药理学部分

**2.1.1 参叶消癥颗粒成分筛选及靶点预测** 在中药系统网络药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 数据库中检索人参、贯叶金丝桃、黄连、白术、半枝莲、枳实等十味药的化学成分, 筛选口服生物利用度 (OB)  $\geq 30\%$  且类药性 (DL)  $\geq 0.18$  的活性成分, 通过 PubChem 数据库获取其 3D 结构, 通过 SwissTargetPrediction 数据库, 其中物种选择 "homo sapiens", 预测其靶点。

**2.1.2 CAG 相关靶点获取** 在 GeneCards 和在线人类孟德尔遗传数据库 (OMIM) 等数据库中, 以 "chronic atrophic gastritis" 作为关键词对疾病靶点进行检索, 去除数据库中重复项获得 CAG 相关靶点。

**2.1.3 网络构建与分析** 应用 Venny 线上作图平台制作韦恩图, 获取参叶消癥颗粒和 CAG 的交集靶点。将交集靶点导入 STRING 数据库进行蛋白互作分析构建蛋白质-蛋白质相互作用网络图 (PPI)。导入 Cytoscape3.9.1, 选取 Degree 值前 5 位的靶点作为参叶消癥颗粒治疗 CAG 的核心靶点。将中药、活性成分及交集靶点导入 Cytoscape3.10.1 软件构建“药物-成分-靶点”网络图, 筛选出度值排名靠前的成分作为关键成分。

**2.1.4 基因本体 (GO) 与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 富集分析** 将共同靶点导入 Metascape 网络在线平台, 条件物种设置为“homo sapiens”, 获得 GO 和 KEGG 富集数据, 并用微生信平台将 GO 中生物过程 (BP)、细胞组成 (CC)、生物功能 (MF) 的前 10 条及 KEGG 的前 10 条可视化。

**2.1.5 分子对接验证** 选取“2.1.3”中“中药-成分-靶点”网络中 Degree 值最高的 5 个关键成分, 并与 Degree 值排名前 5 的关键靶点进行分子对接。在 PDB 数据库中获取核心靶点蛋白的 3D 结构, 利用 Autodock 运行分子对接过程, 记录对接得分, 并利用 PyMOL 软件将对接结果可视化。

## 2.2 细胞验证部分

**2.2.1 参叶消癥提取物制备** 取全方 10 味药材, 水提煎煮 2 次, 每次 2 h, 合并水煎液, 滤过, 冻干, 即得参叶消癥提取物。

**2.2.2 药物安全浓度范围测定** 取对数生长期 GES-1 细胞, 胰蛋白酶消化、离心, 加入一定量完全培养基吹打均匀。每孔 100  $\mu\text{L}$  接种到 96 孔板中, 每孔接种细胞约 8000 个, 培养 12 h 贴壁后, 吸出培养液, 设置空白组与给药组, 给药组分别加入终质量浓度为 500、550、600、650、700、750  $\mu\text{g/mL}$  的参叶消癥提取物, 孵育 24 h, 在每孔中加入 CCK8 溶液培养 1~4 h 后, 采用酶标仪测定其在 450 nm 处的吸光度。

**2.2.3 MNNG 诱导 GES-1 细胞建立 CAG 模型** 按“2.2.2”项下方法, GES-1 细胞培养 12 h 后吸弃上清液, 设置空白组和给药组, 给药组分别加入终浓度为 20、40、80、100、120、140  $\mu\text{mol/L}$  的 MNNG 溶液 100  $\mu\text{L}$ , 培养 12 h 后, 吸出上清液, 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤后, 加入 CCK8 溶液孵育 2 h 后, 在酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。

**2.2.4 CCK8 法检测参叶消癥颗粒对 MNNG 诱导 GES-1 细胞增殖的影响** 按“2.2.2”项下方法进行培养, 将细胞分为空白组、模型组、给药组。空白组每孔加入 100  $\mu\text{L}$  的 RPMI 1640 培养基, 模型组与给药组分别加入终浓度为 40  $\mu\text{mol/L}$  的 MNNG, 干预 12 h 后, 吸出上清液, PBS 洗涤两次。空白组和模型组加入 100  $\mu\text{L}$  培养基, 给药组分别加入

不同质量浓度的参叶消癥提取物 (40、80、100、200、400、600  $\mu\text{g/mL}$ ) 100  $\mu\text{L}$ , 培养 24 h。培养结束后, 吸弃上清液, 每孔加入 10% CCK8 溶液, 孵育 2 h 后在酶标仪测定 450 nm 处的吸光度。

**2.2.5 ELISA 法检测 GES-1 细胞上清液中炎症因子** 将 GES-1 细胞接种于 6 孔板中, 细胞密度为每孔  $3 \times 10^5$  个, 每孔 2 mL, 培养 12 h, 待细胞贴壁后轻轻吸弃培养液, 细胞分为对照组, 模型组, 参叶消癥提取物低浓度、中浓度、高浓度药物组。给药干预后, 按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 检测细胞上清液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的含量。

**2.2.6 DAPI&TUNEL 荧光染色检测细胞凋亡** 细胞分组及处理方法同“2.2.5”项下。TUNEL 细胞凋亡试验按照说明书进行, 并在荧光显微镜下检查样品以评估细胞凋亡。

**2.2.7 逆转录实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 检测 mRNA** 细胞分组及处理方法同“2.2.5”项下, 使用试剂盒逆转录合成互补 DNA (cDNA), PCR 扩增, 引物序列见表 1。采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  方法定量 PI3K、AKT、Bcl-2、BAX、Caspase-3 mRNA 的相对表达量。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer sequences

| 基因名称      | 序列                                                                  |
|-----------|---------------------------------------------------------------------|
| PI3K      | F 5'-TAGGCAAGTCGAGGCAATGG-3'<br>R 5'-GCCCTGTAGAGCATCCATGA-3'        |
| AKT       | F 5'-AGCGACGTGGCTATTGTGAA-3'<br>R 5'-CACGTTGGTCCACATCCTG-3'         |
| Caspase-3 | F 5'-GACTCTGGAATATCCCTGGACAACA-3'<br>R 5'-AGGTTTGCTGCATCGACATCTG-3' |
| Bcl-2     | F 5'-GTCATGTGTGTGGAGAGCGT-3'<br>R 5'-AGGTGCCGGTTCAGGTACTC-3'        |
| BAX       | F 5'-TCTGACGCAACTTCAACTG-3'<br>R 5'-GTCCAATGTCCAGCCCATGA-3'         |
| GAPDH     | F 5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'<br>R 5'-TGGTGAAGACGCCAGTGGA-3'         |

**2.2.8 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测蛋白** 用 TBS 缓冲液润洗贴壁细胞 2~3 次, 加入适当体积的细胞总蛋白提取试剂 (使用前数分钟内加入蛋白酶抑制剂) 裂解 3~5 min, 其间反复晃动, 使试剂与细胞充分接触。用细胞刮刀将细胞及试剂刮下, 收集到 1.5 mL 离心管中。冰浴 30 min, 其间反复吹打。4 $^{\circ}\text{C}$ 、13 000 g 离心 5 min, 收集上清液, 在蛋白样品中加入适当量的 5 $\times$  蛋白上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$  金属浴 10 min。用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离不同样品间的蛋白质, 然后转移到 PVDF 膜上。转膜后, 用封闭液室温封闭 1 h, 然后加入 AKT、p-AKT、PI3K、p-PI3K、Bcl-2 蛋白 4 $^{\circ}\text{C}$  孵育 12 h。TBST 洗涤后, 加入与一抗种属对应的二抗, 室温孵育 1 h, 用 TBST 在



室温下摇床上洗 3 次, 每次 10 min。最后将图片从仪器中导出整理, Image J 软件处理系统分析目标带的光密度值, 进行化学发光检测。

### 3 结果

#### 3.1 网络药理学部分

**3.1.1** 参叶消癥颗粒治疗 CAG 的活性成分及其作用靶点 TCMSP 数据库检索和筛选共获得 144 个参叶消癥颗粒有效活性成分, 主要包括人参 22 个、白术 7 个、枳实 22 个、黄连 14 个、贯叶金丝桃 6 个、半枝莲 29 个; SwissTargetPrediction 数据库收集到参叶消癥颗粒活性成分的作用靶点 914 个; GeneCards、OMIM 数据库检索得到 CAG 疾病相关靶点 494 个, 与参叶消癥颗粒的 914 个靶点取交集, 得到参叶消癥颗粒治疗 CAG 的 106 个靶点。

**3.1.2** 参叶消癥颗粒治疗 CAG 的“中药-成分-靶点”网络 以 Cytoscape3.9.1 建立“中药-成分-靶点”网络, 共有 1013 个节点, 7647 条边, 含药物 10 种, 有效成分 144 个, 作用靶点 914 个; 结果显示, 参叶消癥颗粒 Degree 值前 5 的活性成分分别为木犀草素 (归属枳实、贯叶金丝桃、半枝莲)、槲皮素 (归属黄连、贯叶金丝桃、半枝莲)、黄柏酮 (归属枳实、黄连)、山柰酚 (归属贯叶金丝桃)、小檗碱 (归属黄连) 这些活性成分被认为是参叶消癥颗粒治疗 CAG 过程中的关键成分。

**3.1.3** 参叶消癥颗粒对治疗 CAG 潜在作用靶点的 PPI 网络 将 106 个交集靶点导入 STRING 数据库, 获得参叶消癥颗粒干预 CAG 的潜在靶点 PPI 关系, 将数据导入 Cytoscape3.10.1 软件构建 PPI 网络, 该网络共有 106 个节点, 4076 条边。采用 cytoNCA 插件进行核心基因分析, 其中 Degree 值排名前 5 的靶点分别为 AKT1 (P31749)、TNF (P01375)、CASP3 (P42574)、Bcl-2 (P10415)、HIF1A (Q16665), 预测以上靶点为参叶消癥颗粒治疗 CAG 的核心靶点。

**3.1.4** 潜在作用靶点的 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 GO 功能富集以及 KEGG 通路富集前 10 个分析结果见图 1。GO 功能富集分析显示: 生物过程 (BP) 主要涉及对转运的调节、对外部刺激反应的正调节、磷酸化的正调节等; 细胞组分 (CC) 主要涉及膜筏、膜侧、受体复合体等组分; 分子功能 (MF) 主要涉及蛋白激酶活性、激酶结合、蛋白酪氨酸激酶活性等; KEGG 通路富集分析主要涉及: 炎症反应 (包括 TNF)、氧化应激 (包括 AKT) 等多条信号途径癌症通路、核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 信号通路、Janus 激酶-信号传导及转录激活蛋白 (JAK-STAT) 信号通路等。

**3.1.5** 分子对接 选择“3.1.2”中“中药-成分-靶点”网络中 Degree 值前 5 的关键活性成分 (木犀草素、槲皮素、黄柏酮、山柰酚、小檗碱) 与“3.1.3”中 Degree 值前 5 的潜在核心靶点进行分子对接, 结果见图 2。AKT 对槲皮素结合能力最强; CASP3、AKT 和 Bcl-2 与黄柏酮结合能力均较强。

#### 3.2 细胞验证部分

**3.2.1** MNNG 建立 GES-1 细胞损伤模型评价 通过 CCK8 法检测参叶消癥提取物对 MNNG 诱导的 GES-1 细胞增殖的影响。结果如图 3 所示, 参叶消癥提取物质量浓度在 700  $\mu$ g/mL 以下时对 GES-1 细胞无明显毒性, 超过 700  $\mu$ g/mL 时细胞存活率显著下降, 因此选取 700  $\mu$ g/mL 以下的参叶消癥提取物进行后续实验。在选择 MNNG 造模浓度时发现, 当浓度为 40  $\mu$ mol/mL, 干预时间为 12 h 时, 细胞存活率约为 70%, 因此选择该浓度作为 GES-1 细胞建立 CAG 模型的造模条件。由图 3C 可知, 参叶消癥提取物能够改善 MNNG 造成的细胞损伤, 并且在 200  $\mu$ g/mL 质量浓度以上时, 给药组的细胞存活率显著上升。此外, TUNEL 和 DAPI 检测结果同样显示了 MNNG 显著诱导 GES-1 细胞凋亡 (见图 4)。然而, 参叶消癥提取物有效地减轻了 MNNG 诱导的细胞凋亡。

**3.2.2** 参叶消癥颗粒对 GES-1 细胞炎症因子的影响 与空白组比较, 模型组 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  含量均显著升高; 与模型组比较, 参叶消癥颗粒 300、600  $\mu$ g/mL 组能显著降低 IL-6 含量, 参叶消癥 100、300、600  $\mu$ g/mL 组能显著降低 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量, 表明参叶消癥提取物可抑制 MNNG 诱导的 GES-1 细胞炎症因子的释放 (见图 5)。

**3.2.3** 参叶消癥颗粒对 MNNG 诱导 GES-1 细胞 mRNA 及相关蛋白表达水平的影响 通过 RT-qPCR 实验结果可知, MNNG 诱导显著提高了 GES-1 细胞中 PI3K、AKT、BAX 和 Caspase-3 mRNA 的相对表达水平, 同时显著降低了 Bcl-2 mRNA 的表达水平, 不同浓度的参叶消癥提取物能够逆转这些基因的异常表达 (见图 6)。

Western blot 分析结果见图 7, 以 GAPDH 为内参蛋白, 根据化学发光法及凝胶图像分析定量检测, 在 MNNG 处理的 GES-1 细胞中, p-PI3K 和 p-AKT 显著下调; 相反, Bcl-2 表达显著上调。不同浓度的参叶消癥提取物不同程度地抑制 p-PI3K、p-AKT 的表达, 同时增强 Bcl-2 的表达。ELISA, RT-qPCR 以及 Western blot 实验结果一致。表明参叶消癥颗粒可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路, 从而减弱 MNNG 诱导的 GES-1 细胞过度凋亡。

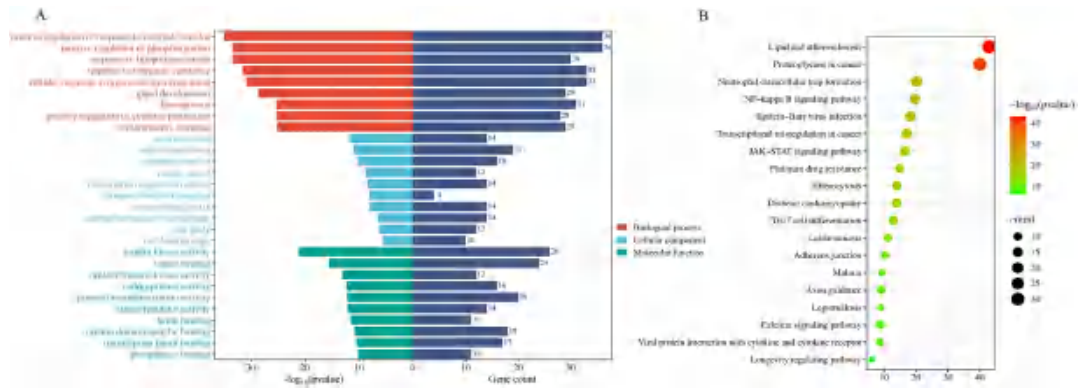


图 1 参叶消癥颗粒“药材-成分-信号通路靶点”网络图

Fig 1 Network diagram of “medicinal materials-ingredients-signaling pathway targets” for SYXZ

A.GO 富集分析 (GO enrichment analysis); B.“靶点-通路”KEGG 通路分析 (KEGG pathway analysis)

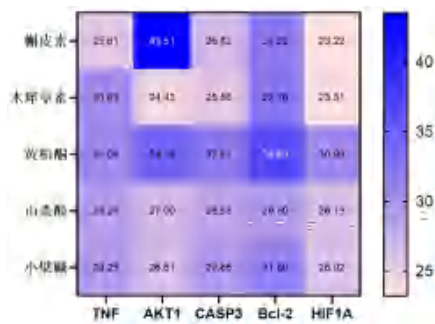


图 2 参叶消癥颗粒中活性成分与 CAG 潜在靶点的分子对接结果 (kJ/mol)

Fig 2 Molecular docking of active ingredients in SYXZ and potential targets of CAG (kJ/mol)

#### 4 讨论

CAG 是一种多因素疾病，基于本课题的先前研究，已对 CAG 进行全面系统的文献计量学研究以及主题聚类研究。近十年来国内外 CAG 领域的研究主要集中在代谢组学、miRNA、三联及四联疗法、中药复方治疗以及新型人工智能辅助治疗等方面。西医目前在临床治疗 CAG 中常用且疗效较好的药物为质子泵抑制剂，包括奥美拉唑、埃索美拉唑、雷贝拉唑等。但临床报道的不良反应较多，如长期服用质子泵抑制剂会抑制胃酸可能影响维生素 B<sub>12</sub>、铁、钙、镁等营养素的吸收，长期使用可导致维生素 B<sub>12</sub> 缺乏、缺铁性贫血、低镁血症等<sup>[8]</sup>。

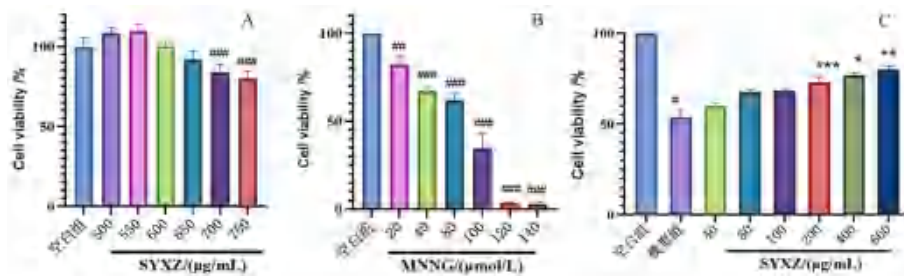


图 3 参叶消癥提取物对 MNNG 诱导的细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 3 Effect of SYXZ extract on cell viability induced by MNNG ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注：与空白组比较，<sup>#</sup> $P < 0.05$ ，<sup>##</sup> $P < 0.01$ ，<sup>###</sup> $P < 0.001$ ；与模型组比较，<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ，<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ ，<sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ 。

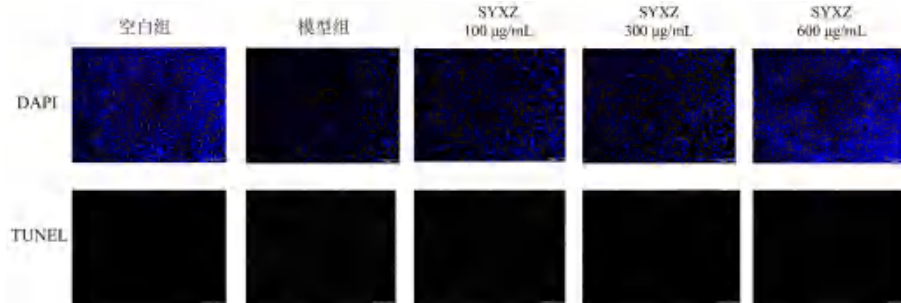
Note: Compared with the blank group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ , <sup>###</sup> $P < 0.001$ ; compared with the model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ .

国内临床治疗 CAG 以中成药为主类别的药物居多，CAG 的发生和发展涉及多个病理环节，而中药复方通常由多种中药成分组成，可通过作用于多个靶点来发挥治疗作用。中医认为 CAG 的发生与脾胃虚弱、肝胃不和、湿热蕴脾等多种中医证型相关，中成药可根据中医辨证论治的原则，对机体进行整体调节，因此在 CAG 的治疗方面有着广阔的前景。

参叶消癥方为中国中医科学院望京医院临床经验方，治疗 CAG 疗效确切，因此本文对此药方治疗 CAG 的作用机制进行探讨。

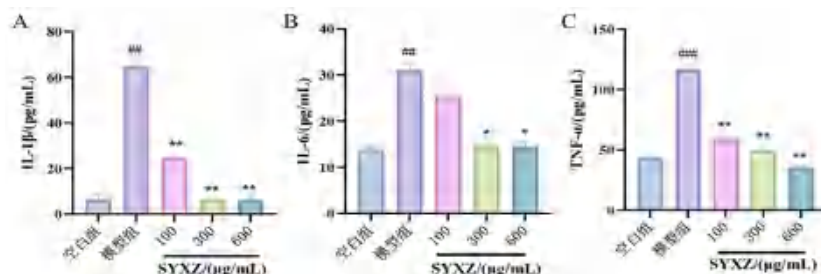
网络药理学为传统中药及其中药方剂作用机制的深入研究，提供了创新性的研究思路<sup>[9]</sup>。本研究通过网络药理学方法筛选参叶消癥方中治疗 CAG 的活性化合物、相应靶点及药理作用机制。共获得参叶消癥颗粒有效活性成分 144 个，治疗 CAG 的靶点 106 个。利用 PPI 网络，确定了 10 个核心靶点。通过 GO 和 KEGG 富集分析对 10 个核心靶点分析结果表明，参叶消癥颗粒可能通过 PI3K/AKT 信号通路发挥其治疗作用，同时调节炎症反应和细胞凋亡。随后将参叶消颗粒中关键成分与核心靶点进行分子对接，



图4 参叶消癥颗粒对 GES-1 细胞凋亡的影响 ( $\times 5$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )Fig 4 Effect of SYXZ granules on apoptosis of GES-1 cells ( $\times 5$ ,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

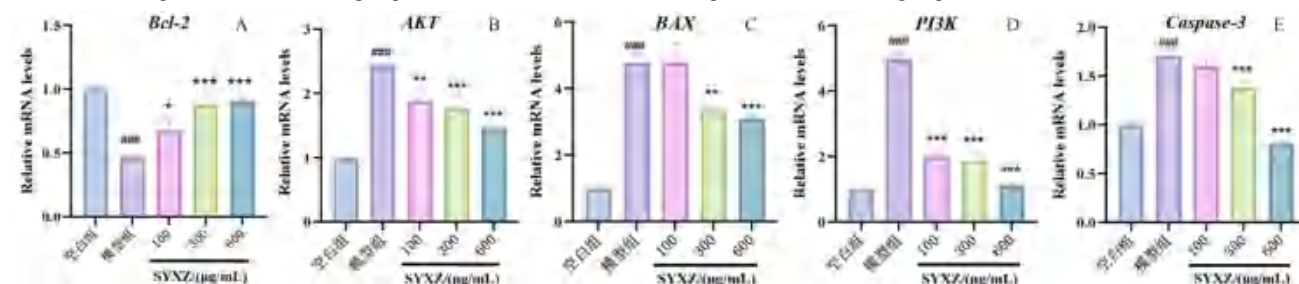
注: 蓝色荧光表示 DAPI 染色的细胞核; 绿色荧光表示 TUNEL 染色的凋亡细胞。

Note: Blue fluorescence indicates cell nuclei stained with DAPI; green fluorescence indicates apoptotic cells stained by TUNEL.

图5 参叶消癥颗粒对 GES-1 细胞炎症因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Fig 5 Effect of SYXZ on the expression levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  in GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

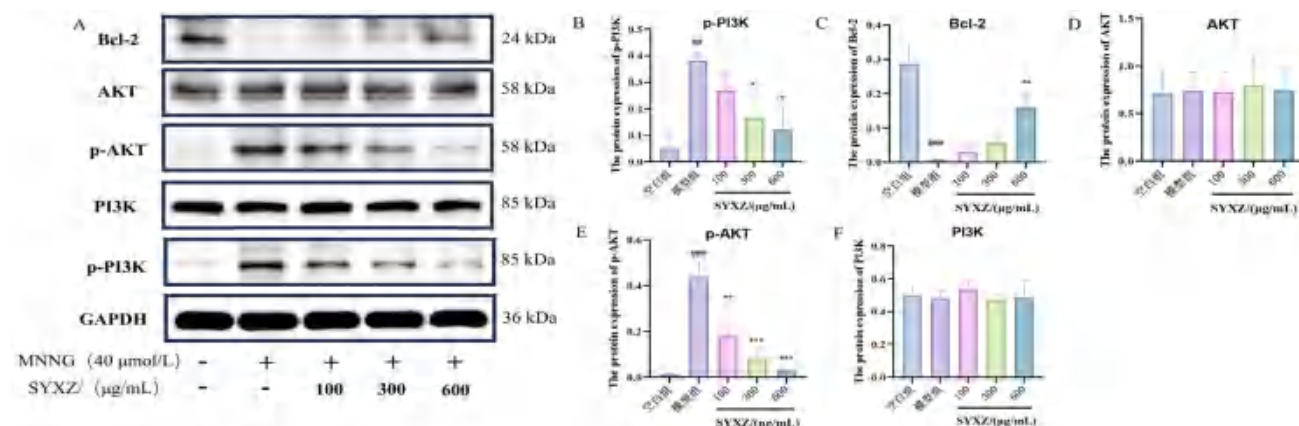
注: 与空白组比较,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ .

图6 参叶消癥颗粒对 MNNG 诱导 GES-1 细胞 mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )Fig 6 Effect of SYXZ on mRNA in GES-1 cells induced by MNNG ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

注: 与空白组比较,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ 。

Note: Compared with the blank group,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ .

图7 参叶消癥提取物对 MNNG 诱导 GES-1 细胞中 Bcl-2、AKT、p-AKT、PI3K、p-PI3K 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )Fig 7 Effect of SYXZ extract on the protein expressions of Bcl-2, AKT, p-AKT, PI3K and p-PI3K in MNNG-induced GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与空白组比较,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; 与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ 。

Note: Compared with the blank group,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ ; compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ ,  $^{***}P < 0.001$ .



结果显示, 这些成分均具有较强的结合亲和力。

PI3K/AKT 信号通路被认为是参与 CAG 治疗的重要通路, 通过抗炎、抑制细胞凋亡、保护胃黏膜发挥治疗作用<sup>[10]</sup>。有研究表明, 左金丸能够通过 PI3K/AKT 通路显著改善 CAG 大鼠的胃黏膜病理损伤<sup>[11]</sup>, AKT 是细胞内信号转导系统中位于 PI3K 下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶<sup>[12]</sup>, 调控细胞凋亡和炎症反应<sup>[13]</sup>。Bcl-2 是一种细胞凋亡抑制剂, 而 BAX 则能够促进细胞凋亡进程。Bcl-2 的过表达或异常激活直接参与维持各种类型的肿瘤细胞生长和促进治疗耐药性<sup>[14-15]</sup>。此外, Caspase-3 的激活在凋亡级联中至关重要, 它通过切割各种细胞内底物来执行细胞死亡。IL-6 作为一种淋巴因子, 当胃黏膜发生损伤时, 单核巨噬细胞会被激活并大量分泌 IL-6; 而高浓度的 IL-6 会进一步诱发机体内的氧化应激反应, 促使大量氧自由基生成, 进而破坏细胞膜的正常结构与功能, 导致细胞膜失活甚至细胞死亡, 还能直接作用于蛋白质和核酸, 最终引发细胞损伤, 严重时甚至会造成器官病变或功能衰竭<sup>[16]</sup>。MNNG 具有很强的诱变能力, 可引起 DNA 链上的碱基烷基化并产生致癌性, 能诱发大鼠胃癌、食管癌和结直肠癌等多种癌症, 因此本研究使用 MNNG 作为细胞 CAG 模型的造模剂。通过 ELISA 法证实, 参叶消癥颗粒可显著降低促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的水平, 减轻炎症反应, 改善局部微环境。此外通过 Western blot 和 RT-qPCR 实验分析表明, 经参叶消癥颗粒处理后的细胞相对于模型组可有效抑制 PI3K、AKT、BAX 和 Caspase-3 的表达, 同时促进 Bcl-2 的表达。这些数据表明参叶消癥颗粒通过抑制 PI3K/AKT 信号通路, 进而触发下游凋亡因子, 从而防止细胞过度凋亡, 起到保护作用。

本研究将网络药理学、分子对接与体外细胞实验相结合, 揭示了参叶消癥颗粒在 MNNG 诱导的 GES-1 细胞中的抗炎机制以及抗凋亡作用, 其机制与 PI3K/AKT 信号通路的调节和凋亡相关蛋白表达密切相关。然而本研究只限于评价参叶消癥提取物抗 MNNG 诱导的细胞损伤, 对于其他方式诱导的 CAG 模型 (如幽门螺杆菌的侵袭, 乙醇诱导等) 是否有效尚未可知, 还需要建立其他类型的模型来进一步论证。

## 参考文献

[1] Vannella L, Lahner E, Annibale B. Risk for gastric neoplasias in patients with chronic atrophic gastritis: a critical reappraisal [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18 (12): 1279-1285.

[2] Han LP, Li T, Wang YY, et al. Weierning, a Chinese patent medicine, improves chronic atrophic gastritis with intestinal metaplasia [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 309: 116345.

[3] Gullo I, Grillo F, Mastracci L, et al. Precancerous lesions of the stomach, gastric cancer, and hereditary gastric cancer syndromes [J]. Pathologica, 2020, 112 (3): 166-185.

[4] Liu YX, Huang TT, Wang L, et al. Traditional Chinese medicine in the treatment of chronic atrophic gastritis, precancerous lesions, and gastric cancer [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 337 (Pt 1): 118812.

[5] Wang BY, Zhou WA, Zhang H, et al. Exploring the effect of Weifuchun capsule on the toll-like receptor pathway mediated HES6 and immune regulation against chronic atrophic gastritis [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 303: 115930.

[6] Xi ZH, Wang M, Xia JQ, et al. Explore the effects of Shidan granules on chronic atrophic gastritis using LC-MS based plasma metabolomics study [J]. Biomed Chromatogr, 2021, 35 (9): e5129.

[7] Liu YT, Jin ZD, Qin XM, et al. Urinary metabolomics research for Huangqi Jianzhong Tang against chronic atrophic gastritis rats based on HNMR and UPLC-Q/TOF MS [J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72 (5): 748-760.

[8] Lam JR, Schneider JL, Zhao W, et al. Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B<sub>12</sub> deficiency [J]. JAMA, 2013, 310: 2435-2442.

[9] Zhang P, Zhang DF, Zhou WA, et al. Network pharmacology: towards artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine [J]. Brief Bioinform, 2023, 25 (1): bbad518.

[10] Pei TM, Meng FZ, Peng X, et al. MUC13 promotes intrahepatic cholangiocarcinoma progression via EGFR/PI3K/AKT pathways [J]. J Hepatol, 2020, 72 (4): 761-773.

[11] Tong YL, Wang RL, Liu X, et al. Zuojin Pill ameliorates chronic atrophic gastritis induced by MNNG through TGF- $\beta$ 1/PI3K/Akt axis [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 271: 113893.

[12] Peng Y, Wang YY, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? [J]. Front Oncol, 2022, 12: 819128.

[13] Jiang RQ, Tang JF, Zhang XH, et al. CCN1 promotes inflammation by inducing IL-6 production via  $\alpha$ 6 $\beta$ 1/PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway in autoimmune hepatitis [J]. Front Immunol, 2022, 13: 810671.

[14] Warren CFA, Wong-Brown MW, Bowden NA. BCL-2 family isoforms in apoptosis and cancer [J]. Cell Death Dis, 2019, 10 (3): 177.

[15] Timucin AC, Basaga H, Kutuk O. Selective targeting of antiapoptotic BCL-2 proteins in cancer [J]. Med Res Rev, 2019, 39 (1): 146-175.

[16] Xue ZY, Shi GG, Fang YY, et al. Protective effect of polysaccharides from Radix Hedysari on gastric ulcers induced by acetic acid in rats [J]. Food Funct, 2019, 10 (7): 3965-3976.

(收稿日期: 2025-10-20; 修回日期: 2026-02-20)

# 种苗规格驱动当归顶芽发育与木质素积累的关系研究

阎祎凡<sup>1</sup>, 江媛<sup>1</sup>, 曾宇馨<sup>1</sup>, 朱成豪<sup>1, 4</sup>, 尚虎山<sup>2</sup>, 王富胜<sup>2</sup>, 赵子龙<sup>3</sup>, 孙志蓉<sup>1\*</sup> (1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488; 2. 定西市农业科学研究院, 甘肃 定西 743002; 3. 甘肃陇萃源百草中药材有限责任公司, 甘肃 定西 748400; 4. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006)

**摘要:** **目的** 探究种苗规格对当归种苗顶芽分化及根部木质素积累的影响。**方法** 以不同规格的当归种苗为试材, 在贮藏期间及移栽后植株生长期间观察其顶芽和根部的变化, 采用紫外分光光度计测定其可溶性糖、可溶性蛋白和木质素的含量, 并通过元素分析仪测定全碳和全氮的含量。**结果** 当归种苗在贮藏期间除顶芽外其他外观形态变化不明显, 种苗顶芽随着贮藏时间延长逐渐生长发育, 在贮藏 1~4 个月期间, 各时期大苗的顶芽均较小苗的大而饱满。移栽 2 个月后, 大苗和小苗植株均出现羽状复叶, 移栽 3 个月后, 大苗植株出现抽薹现象。当归种苗根部可溶性糖含量随着贮藏时间和移栽后生长时间的延长呈下降的趋势, 大苗的可溶性糖含量和 C/N 比值高于小苗, 而小苗的可溶性蛋白含量高于大苗。此外, 大苗及移栽后植株根部各时期的木质素含量均高于小苗。灰色关联度分析表明, 可溶性蛋白含量、C/N 比值与木质素含量的相关性较高。**结论** 在贮藏期内当归大苗相较于小苗的花芽分化速度快, 移栽后易出现早期抽薹现象, 这与种苗储藏态营养物质变化和木质素含量积累存在一定的关系。

**关键词:** 当归; 抽薹; 木质素积累; 种苗; 营养物质

**中图分类号:** R282.2, Q945.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-126-07  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.018

## Seedling specifications driving the development of *Angelica sinensis* apical buds and lignin accumulation

YAN Yifan<sup>1</sup>, JIANG Yuan<sup>1</sup>, ZENG Yuxin<sup>1</sup>, ZHU Chenghao<sup>1, 4</sup>, SHANG Hushan<sup>2</sup>, WANG Fusheng<sup>2</sup>, ZHANG Zilong<sup>3</sup>, SUN Zhirong<sup>1\*</sup> (1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488; 2. Dingxi Academy of Agricultural Sciences, Dingxi Gansu 743002; 3. Gansu Longcuiyuan Baicao Chinese Herbal Medicine Limited Liability Company, Dingxi Gansu 748400; 4. Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin Guangxi 541006)

**Abstract: Objective** To determine the effect of seedling specifications and time on the differentiation of apical buds and accumulation of nutrients and lignin in the roots of *Angelica sinensis* seedlings. **Methods** Seedlings of *Angelica sinensis* of different sizes were used as the test materials, and the changes in the apical buds and roots were observed in the storage period and the growth period of plants after the transplantation. The contents of soluble sugars, soluble proteins and lignin were measured by ultraviolet-visible spectroscopy, and those of total carbon and total nitrogen by element analyzer. **Results** The morphological changes of *Angelica sinensis* seedlings during storage were not obvious except for the apical buds, which grew and developed gradually with the storage time. The apical buds of the large seedlings were larger and fuller than those of the small seedlings in all the storage periods of 1~4 months. Two months after the transplantation, both large and small seedlings showed pinnately compound leaves, and three months after the transplantation, shoots were seen

**基金项目:** 现代农业产业技术体系建设专项资助 (No.CARS-21); 定西市科技计划项目 (No.DX2019N02); 岷县科技计划项目 (No.MX2024XM11R)。

**作者简介:** 阎祎凡, 女, 硕士, 主要从事中药资源方面的研究, email: 13031442981@163.com \* **通信作者:** 孙志蓉, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药资源方面的研究, email: szrbucm67@163.com

in large seedlings. The soluble sugar content of the roots of *Angelica sinensis* seedlings tended to decrease with storage time and growth time after the transplantation. The soluble sugar content and C/N ratio of large seedlings were higher than those of small seedlings, while the soluble protein content of small seedlings was higher than that of large seedlings. In addition, the lignin content in the roots of large seedlings and post-transplant plants was higher than that of small seedlings in all periods. Grey relational analysis showed that C/N ratio, soluble protein and lignin content were strongly correlated.

**Conclusion** During the storage, large seedlings of *Angelica sinensis* differentiate faster than do small seedlings, and are prone to early shoots after the transplantation, which is related to the changes of nutrients during storage and lignin accumulation.

**Key words:** *Angelica sinensis*; premature bolting; lignin accumulation; seedling specification; nutrient

当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 是我国传统的大宗中药材, 素有“十方九归”之称, 其为伞形科多年生草本植物当归属的干燥根, 具有补血活血、调经止痛、润肠通便等功效, 常用于治疗血虚萎黄、眩晕心悸、月经不调、经闭痛经等病证<sup>[1-2]</sup>, 而藁本内酯、阿魏酸和精油作为当归的核心活性成分, 对其药用功效的发挥起到决定性作用<sup>[3-4]</sup>。随着中医药产业的快速发展, 当归的市场需求逐年递增, 人工栽培规模不断扩大。

在当归生产过程中, 早期抽薹开花现象较为普遍, 严重影响了当归的品质和产量<sup>[5]</sup>。而早期抽薹的当归根部木质化程度增加, 有效药用成分含量降低, 导致其商品价值大幅下降<sup>[6-9]</sup>。抽薹开花的本质为花芽分化, 春化对促进花芽分化及开花起着至关重要的作用<sup>[10-11]</sup>。春化作用主要在当归种苗阶段启动, 种苗规格是影响当归早期抽薹和品质形成的关键因素之一<sup>[12]</sup>。种苗的大小、年龄、育苗方式及育苗种源会显著影响当归的商品产量和质量, 其中壮苗、大苗及高龄苗的抽薹率较高<sup>[13]</sup>。值得注意的是, 考虑到抽薹开花对营养物质的大量需求, 研究数据表明, 在抽薹发生前, 植株体内可溶性蛋白和可溶性糖等营养成分的积累量显著高于未抽薹植株; 而随着抽薹进程的推进, 这些营养物质的含量则会显著降低<sup>[14-15]</sup>。木质素作为根部关键次生代谢产物, 其积累不仅关乎根的结构稳定性与品质, 更可能通过改变植株养分运输效率, 成为连接种苗营养状态与早期抽薹启动的重要纽带<sup>[16-17]</sup>。当归根部木质素含量增加, 同时阿魏酸含量骤降, 且根部次生木质部发育加速、导管数量显著增多, 最终导致根部药用价值消失<sup>[17]</sup>。然而, 当归不同规格种苗的营养物质与其早薹及根部木质素积累之间关系的研究还比较少。本文以播种培育 1 年的当归

种苗为试验材料, 通过考察不同规格种苗贮藏期和移栽后的形态学特征、营养物质动态变化及木质素含量的积累规律, 阐释不同规格种苗的生理生化特征与其花芽分化及抽薹之间的关系, 研究结果为防治当归早薹提供参考。

## 1 材料

### 1.1 样品

供试当归种苗采自甘肃省定西市岷县, 经北京中医药大学中药学院孙志蓉教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的种苗。种苗于 2019 年 6 月 20 日播种并在同年 11 月末起苗所得, 经分级筛选后于低温贮藏。分别于贮藏 1 个月、2 个月、4 个月进行时序采样, 每处理组随机抽取 6~8 株完整种苗, 液氮速冻后 -80℃ 保存待测。

### 1.2 仪器

HH-1A 型电热恒温水浴锅 (北京科伟永兴仪器有限公司), UV-2800 型紫外分光光度计 (上海尤尼柯仪器有限公司), BY-G20 型医用离心机 (北京白杨医疗器械有限公司), DHG-9050A 型电热鼓风干燥箱 (上海善志仪器设备有限公司), YCD-EL260 型医用冷藏冷冻冰箱 (中科美菱低温科技股份有限公司), ECS 8024 型元素分析仪 (意大利 NC Technologies S.r.l. 公司), SP-742D 型高速粉碎机 (广州市兆利电器实业有限公司), SQP 型十万分之一电子天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.3 试剂

乙酰溴 (批号: C10778707, 纯度 ≥ 98%, 上海麦克林生化科技股份有限公司); 氢氧化钠 (批号: 20230301, 纯度 ≥ 97%, 天津市大茂化学试剂厂); 冰乙酸 (批号: 11916114, 纯度 ≥ 99.0%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 高氯酸 (批号: 2023020, 纯度为 71%, 天津市鑫源化工有限公司); 牛血清白蛋白 (BSA) 标准品 (批号:



BN208152, 纯度 $\geq 98\%$ , 北京拜尔迪生物医药技术有限公司); 碳元素(C)、氮元素(N)对照品(批号: ZH04721, 纯度 $\geq 98\%$ , 万佳标准物质研发中心有限公司); 高粱粉标准品(批号: 257737, 英国 Elemental Microanalysis 公司); 木质素对照品(批号: G1904153, 纯度 $\geq 98\%$ , 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 葡萄糖标准品(批号: S08J6G1, 纯度 $\geq 98\%$ , 上海源叶生物科技有限责任公司)。

## 2 方法和结果

### 2.1 种苗贮藏区气温

当归正常种子于 2019 年 6 月 20 日播种, 常规管理, 于当年 11 月底起苗。根据采集到的所有种苗, 按照根重排序, 前 1/3 为小苗, 后 1/3 为大苗, 据此划分为小苗(根重 $< 1.24\text{ g}$ )和大苗(根重 $> 2.52\text{ g}$ )。在北京中医药大学良乡校区药用植物培养区室外环境下用湿沙贮藏, 分别于贮藏 1 个月(当年 12 月)、贮藏 2 个月(次年 1 月)、贮藏 4 个月(次年 3 月)各采样 1 次, 每次各取 6~8 株。随后于次年 3 月底移栽至盆中, 分别于移栽 1 个月(次年 4 月)、移栽 2 个月(次年 5 月)、移栽 3 个月(次年 6 月)各取样 1 次, 每次各取 2~3 株。贮藏和移栽期(当年 12 月至次年 6 月)室外的最低温及最高温变化见图 1。

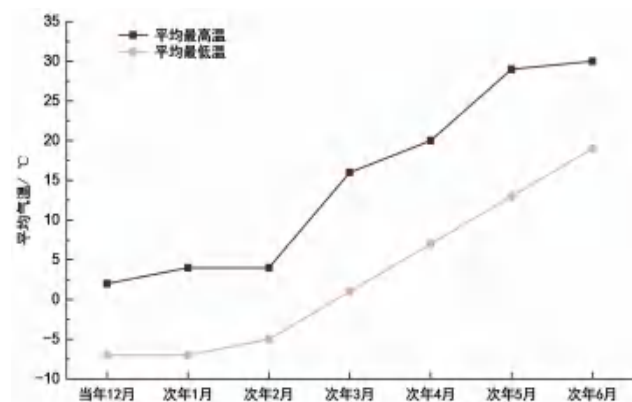


图1 当归种苗贮藏区气温变化

Fig 1 Changes in temperature in the storage area of *Angelica sinensis* seedlings

### 2.2 种苗石蜡切片制作

取顶芽样品用清水清洗后自然晾干, 切割成 0.5~1.0 cm 的小段备用, 进行固定、冲洗、脱水、透明、浸蜡后, 采用纸盒包埋法进行包埋, 再进行切片、贴蜡、染色、脱色和封片, 最后置生物显微镜下观察, 描述组织特征。

### 2.3 可溶性糖含量测定

**2.3.1 供试品溶液的制备** 精密称取 25.00 mg 当归粉末置于试管中, 加入 10 mL 蒸馏水, 于 100℃ 水浴中恒温加热 20 min, 取出后冷却至室温, 过滤至

25 mL 量瓶中。重复上述提取操作 4~5 次, 合并所有滤液, 用纯水定容至刻度线, 即得待测液。精密吸取待测液 0.2 mL, 用蒸馏水定容至 1 mL, 加入 5 mL 硫酸-蒽酮试剂, 按蒽酮比色法处理后, 于 620 nm 波长下测定吸光度 ( $A_{620\text{ nm}}$ )。

**2.3.2 标准品溶液的制备** 精密称取干燥至恒重的葡萄糖标准品 10.03 mg, 用蒸馏水溶解后并定容至 100 mL 量瓶中, 配制得质量浓度为 0.1003 mg/mL 的葡萄糖标准品溶液。

**2.3.3 标准曲线绘制** 准确吸取 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 葡萄糖标准品溶液至 10 mL 试管中, 用蒸馏水补足至 1 mL, 精密吸取待测液 0.2 mL, 向试管中加入 5 mL 硫酸-蒽酮试剂, 迅速混匀后置于 100℃ 恒温水浴中恒温加热 10 min, 取出后立即以冷水冷却至室温并平衡 10 min。采用紫外分光光度计在 620 nm 波长下测定各管吸光度。以葡萄糖浓度为横坐标 ( $X$ ), 测得的吸光度为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线方程,  $Y = 8.3224X + 0.0238$ ,  $R^2 = 0.9957$ , 线性范围为 0.0101~0.1003 mg/mL。

### 2.4 可溶性蛋白含量的测定

**2.4.1 供试品溶液的制备** 精密称取 25.00 mg 当归粉末置于试管中, 加入 10 mL 预冷的 PBS (pH 7.4), 振荡摇匀。提取结束后, 将匀浆液在 4℃、8000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。底层沉淀重复上述提取操作 4~5 次, 合并所有滤液, 用 PBS 定容至刻度线, 即得待测液。

**2.4.2 测定方法** 采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白含量, 以 BSA 为对照品, 绘制标准曲线。精密称取 BSA 0.0501 g 溶于蒸馏水并转移至 100 mL 量瓶中定容, 得到质量浓度为 0.501 mg/mL 的 BSA 标准溶液。依次准确移取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 标准溶液至 10 mL 试管中, 用蒸馏水补足至 1 mL, 向各试管中加入 5 mL 考马斯亮蓝染色液, 快速混匀后室温下静置 10 min。在 595 nm 波长处用紫外分光光度计测定吸光度, 以牛血清白蛋白浓度为横坐标 ( $X$ ), 测得的吸光度为纵坐标 ( $Y$ ), 绘制标准曲线方程,  $Y = 1.0328X - 0.0113$ ,  $R^2 = 0.9980$ , 线性范围为 0.0067~0.034 mg/mL。

### 2.5 全 C 和全 N 含量测定

**2.5.1 供试品制备** 当归根部用清水洗净后, 放入 60℃ 烘箱中烘干至恒重后粉碎, 过 100 目筛得样品粉末。称取适量粉末, 采用元素分析仪测定, 计算 C、N 含量。为保障分析准确性, 每测定 20 个样品插入一个内标样以确保精度, 所有样品均重复测定 3 次。

**2.5.2 仪器参数设置** 反应炉温度: 980 °C; GC 炉温度: 70 °C; GC 反应管: 2 m; 载气流速: 100 mL/min; 氦气 (He) (载气) 压力: 40 psi; 氧气 (O<sub>2</sub>) 压力: 30 psi; 压缩空气压力: 40 psi。

**2.5.3 标准曲线绘制** 选取 C、N 含量 (N: 1.47%, C: 41.26%) 较接近的高粱粉标准品进行标准曲线绘制。分别精确称取 0.833、1.749、2.698、3.870、5.168 mg 的标准品, 封装于锡杯并压合成锡球后置于元素分析仪上机测定。仪器根据样品重量和对应的 C、N 信号自动绘制均过原点的标准曲线。以 C、N 含量为横坐标 (X), 仪器检测信号值为纵坐标 (Y) 进行拟合。其中, C 含量标准曲线呈二次曲线关系, N 含量标准曲线呈线性关系, 绘制标准曲线, 得到方程, C 含量标准曲线:  $Y = 8.923 \times 10^3 X - 3.164 \times 10^2 X^2$ ,  $R^2 = 0.9999$ ; N 含量标准曲线:  $Y = 3.231 \times 10^3 X$ ,  $R^2 = 0.9998$ 。

## 2.6 木质素含量测定方法

采用紫外分光光度计法于 205 nm 下测定木质素含量<sup>[16]</sup>。以对照品浓度为横坐标 (X), 吸光度为纵坐标 (Y) 进行线性拟合, 得到标准曲线回归方程,  $Y = 28.707X + 0.1724$ ,  $R^2 = 0.9921$ 。

## 2.7 当归种苗及植株的形态变化

当归大苗、小苗贮藏期间根部及移栽后植株根部及地上部形态变化见图 2。大苗和小苗的根粗在贮藏 1~4 个月期间变化不大。大苗和小苗移栽后, 萌芽到地上部分茎伸长并长出复叶的时间基本一致, 移栽 2 个月后大苗和小苗植株均出现羽状复叶。移栽 3 个月后, 大苗和小苗的植株高度出现明显差异, 大苗较小苗植株高出 10 cm, 且形态上已见膨大的花芽, 出现抽薹现象。

当归花芽分化是由顶芽变化所产生。不同规格当归种苗贮藏期间顶芽形态变化见图 3。大苗和小苗均从贮藏前无明显突出顶芽, 到逐渐出现顶芽且不断伸长, 大苗贮藏期间各时期的顶芽均较小苗的大而饱满。

由图 2 可见, 移栽 2 个月后的当归植株形态与苗期有明显差异。为了更细致地观察大苗、小苗顶芽的变化, 对移栽 2 个月的大苗、小苗植株顶芽采样制作石蜡切片进行观察, 其纵剖面见图 4。大苗植株已经有花芽分化的明显特征, 其生长点变得圆滑肥大并向上隆起, 形似半球, 此时的小苗植株顶芽的内部组织仍呈未分化状态。

## 2.8 当归种苗及移栽后植株根部可溶性糖含量变化

当归大苗、小苗贮藏期间及移栽后植株根部可溶性糖含量变化见图 5。各时期大苗的可溶性



图 2 当归种苗及植株不同时期形态变化

Fig 2 Morphological changes of *Angelica sinensis* seedlings and plants at different stages

注: a、b、c、d、e 和 f 分别为贮藏 1 个月、2 个月、4 个月和移栽 1 个月、2 个月、3 个月采集的样品。

Note: a, b, c, d, e, and f correspond to samples collected after 1 month, 2 months, 4 months of storage and 1 month, 2 months, 3 months after transplanting, respectively.

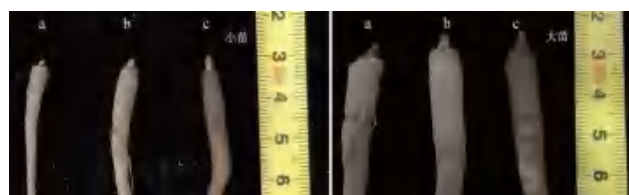


图 3 当归种苗不同贮藏时期顶芽形态变化

Fig 3 Changes in apical bud morphology of *Angelica sinensis* seedlings at different storage stages

注: a、b 和 c 分别为贮藏 1 个月、2 个月、4 个月采集的样品。

Note: a, b, and c are samples collected after 1 month, 2 months, and 4 months of storage, respectively.



图 4 移栽 2 个月的当归植株顶芽结构

Fig 4 Apical bud structure of *Angelica sinensis* plants transplanted for 2 months

A. 小苗 (small seedling); B. 大苗 (large seedling)

糖含量均高于小苗, 除移栽 3 个月植株外, 其他时期差异均有统计学意义, 最大差值出现于贮藏

4 个月时, 大苗、小苗可溶性糖含量相差 89.263 mg/g。可溶性糖的含量随着种苗贮藏时期和移栽后生长时间的延长均呈下降的趋势, 小苗可溶性糖含量从 279.379 mg/g 下降到 44.985 mg/g, 大苗从 338.537 mg/g 下降到 58.401 mg/g。

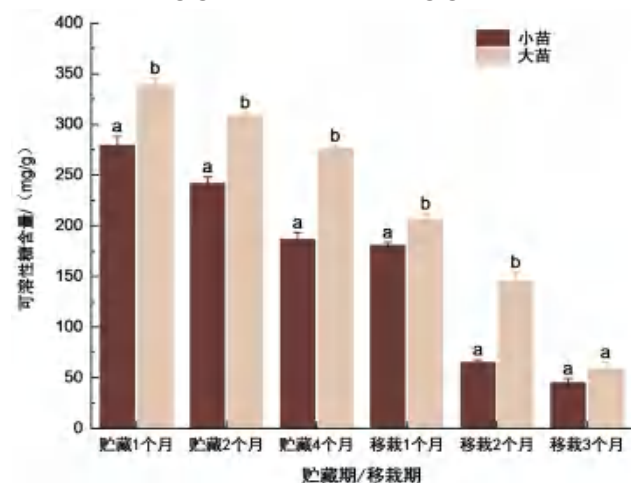


图5 当归种苗及植株根部可溶性糖含量变化

Fig 5 Changes in soluble sugar content in seedlings and roots of *Angelica sinensis*

注: a、b 表示同一时期不同规格种苗差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

Note: a and b indicate statistically significant differences between seedlings of different specifications in the same period ( $P < 0.05$ ).

## 2.9 当归种苗及移栽后植株根部可溶性蛋白含量变化

当归大苗、小苗贮藏期间及移栽后根部的可溶性蛋白含量变化见图 6。各时期小苗的可溶性蛋白含量均高于大苗, 除移栽 3 个月外, 其他时期差异均存在统计学意义, 其中移栽 2 个月后大苗与小苗植株的可溶性蛋白含量差值最大, 为 6.401 mg/g。小苗可溶性蛋白含量变化整体呈 W 形趋势, 贮藏 1~4 个月期间的变化较小, 呈缓慢降低的趋势, 移栽后植株根部可溶性蛋白含量略升高, 之后下降, 移栽 3 个月后植株可溶性蛋白含量增加至 24.570 mg/g。大苗的可溶性蛋白含量变化趋势同小苗, 移栽 3 个月后植株可溶性蛋白含量最高, 为 22.650 mg/g。

## 2.10 当归种苗及移栽后植株根部全 C 和全 N 含量变化

当归大苗、小苗贮藏期间及移栽后植株根部的全 C、全 N 含量变化见图 7。除贮藏 2 个月的外, 大苗其他时期全 C 含量均高于小苗, 以移栽 1~2 个月后植株含量相差最为明显, 其中移栽 2 个月后大苗、小苗植株的含量差值最大, 为 1.433%。小苗的全 C 含量在贮藏期间的变化不

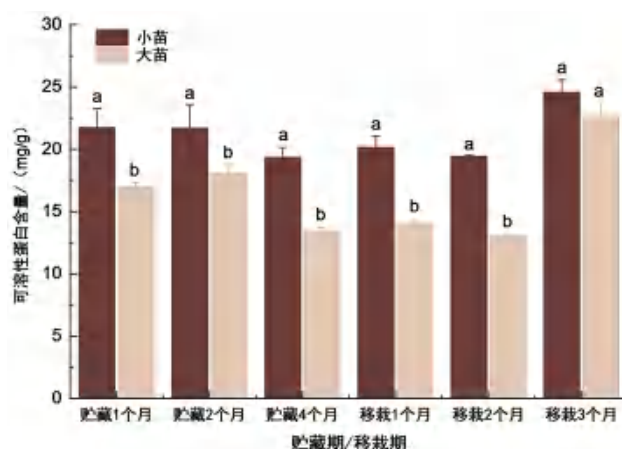


图6 当归种苗及植株根部可溶性蛋白含量变化

Fig 6 Changes in soluble protein content in seedlings and roots of *Angelica sinensis*

注: a、b 表示同一时期不同规格种苗差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

Note: a and b indicate statistically significant differences between seedlings of different specifications in the same period ( $P < 0.05$ ).

大, 移栽 1 个月时达到最大值 (39.084%), 随后降低, 移栽 3 个月后降至 35.971%。大苗在贮藏期间的含量变化不大, 移栽 1 个月时植株根部全 C 含量最高 (39.825%), 随后降至 36.693%。

当归大苗、小苗全 N 含量变化具体为, 除贮藏 1、4 个月外, 小苗全 N 含量其他时期均高于大苗, 移栽 2 个月后两者相差最多, 达 1.107%。小苗全 N 含量随贮藏期时间增加逐渐升高, 移栽 2 个月后含量升高至 4.164%, 之后有所下降。大苗全 N 含量在贮藏期间变化较大, 呈先降后升的趋势, 贮藏 4 个月时达到最大值 (3.383%), 移栽后下降至 2.783%, 随后逐渐升高。

当归大苗、小苗贮藏期间及移栽后植株根部的 C/N 比值变化见图 7。除贮藏 1、4 个月外, 其余时期大苗的 C/N 比值均高于小苗。小苗 C/N 比值在贮藏期间及移栽后均随时间的增加而缓慢降低。大苗 C/N 比峰值出现在贮藏 2 个月时, 为 16.592, 在贮藏 4 个月时下降至 11.552, 移栽 1 个月后上升至 14.310, 随后逐渐下降。

## 2.11 当归种苗及移栽后植株根部木质素含量变化

大苗、小苗贮藏期间及移栽后根部木质素含量变化见图 8。大苗各时期的木质素含量均高于小苗, 其中贮藏 1 个月时大苗和小苗含量差异具有统计学意义, 相差 2.340%。小苗木质素含量在贮藏 4 个月时的最低, 为 10.256%, 移栽 2 个月时增加至 13.704%, 随后略有下降。大苗在贮藏 4 个月时含量最低, 为 12.265%, 移栽 2 个月时含量最高, 为 14.730%。

通过灰色关联度分析, 进一步探究同一规格种



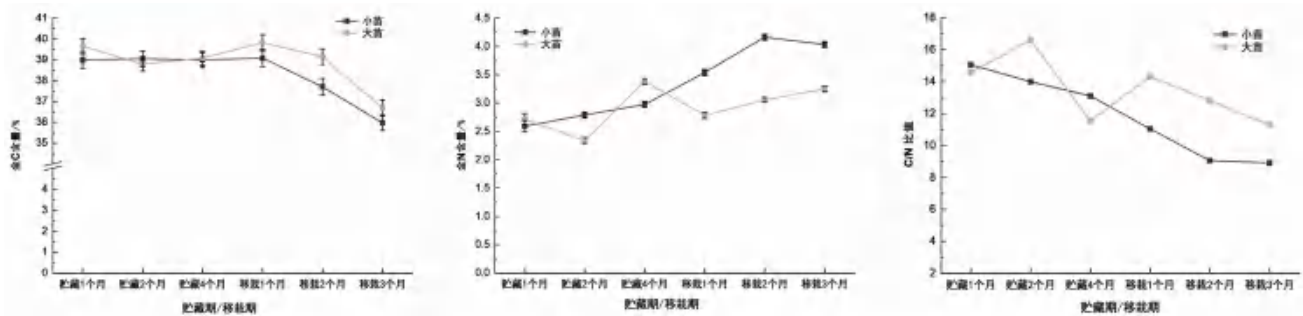


图 7 当归种苗及植株根部全 C、全 N 含量及 C/N 值变化  
Fig 7 Total C, total N contents and C/N ratios of *Angelica sinensis* seedlings and roots

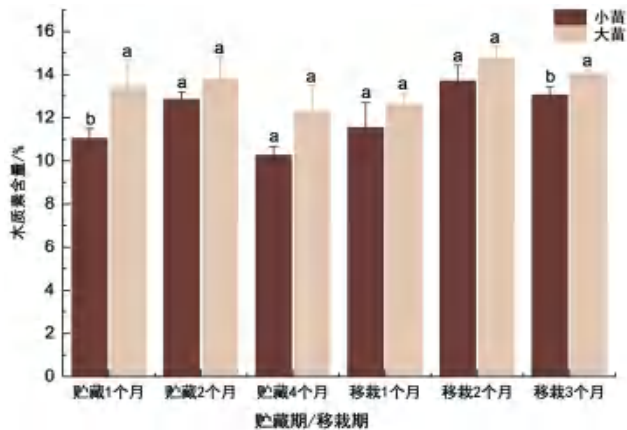


图 8 当归种苗及植株根木质素含量变化  
Fig 8 Changes in lignin content in seedlings and roots of *Angelica sinensis*  
注: a、b 表示同一时期不同规格种苗差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

Note: a and b indicate statistically significant differences between seedlings of different specifications in the same period ( $P < 0.05$ ).

苗,可溶性糖、可溶性蛋白及 C/N 比值与木质素含量的关联关系。大苗、小苗的分析结果如表 1 所示,3 个指标与木质素含量的关联序为:小苗为可溶性蛋白> C/N 比值>可溶性糖;大苗为 C/N 比值>可溶性蛋白>可溶性糖,小苗最大差值  $\Delta_{\max} = 0.830$ 。大苗最大差值  $\Delta_{\max} = 0.799$ 。大苗、小苗营养成分与木质素关联度较高的因素均为 C/N 比值和可溶性蛋白的含量。

表 1 种苗营养成分与木质素含量的灰色关联度评价  
Tab 1 Grey relational analysis of seedling nutritional components and lignin content

| 样本 | 评价项    | 关联度   | 排名 |
|----|--------|-------|----|
| 小苗 | 可溶性糖   | 0.491 | 3  |
|    | 可溶性蛋白  | 0.848 | 1  |
|    | C/N 比值 | 0.667 | 2  |
| 大苗 | 可溶性糖   | 0.563 | 3  |
|    | 可溶性蛋白  | 0.833 | 2  |
|    | C/N 比值 | 0.837 | 1  |

### 3 讨论

本研究通过整合当归种苗的生理生化及形态

学指标,揭示当归种苗大小对当归早薹的影响。吴萍等<sup>[15]</sup>研究发现内源激素(生长素、吲哚乙酸等)与早期抽薹开花密切相关。有相关研究证实种苗大小(根直径、鲜重)是影响当归早抽薹的关键形态与农艺指标,同时筛选抽薹率低的优良栽培植株,主要聚焦于宏观表型与产量的关联分析<sup>[11-12]</sup>。木质素作为植物细胞壁核心结构成分,对抽薹具有关键的调控作用,早抽薹植株叶、茎、根木质部木质素含量显著高于正常植株,根韧皮部退化,养分含量下降,干扰抽薹相关代谢与信号通路<sup>[16]</sup>。然而,对于当归种苗规格驱动抽薹的内在生理生化指标研究较少。因此,本研究在此基础上,从碳氮营养代谢与木质素积累的动态变化角度阐释种苗大小对当归抽薹的影响。

从当归大苗、小苗越冬贮藏期的形态变化可知,其根部外形变化不大,但顶芽变化较明显,贮藏期间大苗的顶芽较小苗的大而饱满。移栽 2 个月后大苗植株花芽分化特征明显,移栽 3 个月后大苗植株形态上已经出现抽薹现象。该结果表明当归早期抽薹率受种苗规格的影响,生产上应尽量避免种植根重过大的种苗。

植物成花生理进程中,碳水化合物扮演着双重关键角色,既可作为调控成花的核心信号分子,又能为活跃的成花代谢过程供应能量<sup>[18-19]</sup>。本文研究结果显示,当归大苗、小苗的可溶性糖含量均随贮藏期和移栽后生长时间的延长呈下降趋势,且大苗可溶性糖含量高于小苗。移栽 2~3 个月时,大苗可溶性糖含量迅速降低,而小苗变化不大,且移栽 3 个月后大苗植株出现早薹现象。该结果表明,抽薹需要较多的碳水化合物提供能量,可溶性糖含量高有益于花茎的发育,导致植株更容易发生抽薹开花现象。

在细胞生命活动以及生物体的整体代谢进程中,蛋白质扮演着不可或缺的角色,它深度参与并调控植株营养生长的各个环节,对植株形态建成、物质合成与运输等关键过程具有重要意义<sup>[20-21]</sup>。贮

藏期及移栽后各时期小苗及植株根部的可溶性蛋白含量均高于大苗的, 含量高则营养生长较强, 不易进入生殖生长阶段。结合大苗移栽 3 个月后植株形态上的变化, 说明可溶性蛋白积累较低的种苗可能会更早地进入生殖生长出现花芽分化。

碳和氮元素的含量水平被视作调控植物成花进程的关键要素, 研究表明, 当植物体内 C/N 比值处于较高水平时, 能够在一定程度上加速植物抽薹开花的进程<sup>[18]</sup>。除贮藏 1、4 个月外, 大苗的 C/N 比值均高于小苗, 且移栽后的差异较为明显。这一高 C/N 比促进抽薹的规律, 在葱、萝卜等典型抽薹植物的生理调控机制中亦得到验证<sup>[21-22]</sup>。

当归根部木质化现象的形成与木质素在根内的逐步积累密切相关<sup>[23]</sup>。不同时期大苗及移栽后植株根部的木质素含量均高于小苗, 这也说明大苗移植后植株根部更容易木质化而失去商品价值。灰色关联度分析表明, C/N 比值、可溶性蛋白与木质素含量呈较强的相关性。因此, 在当归栽培中, 建议施用氮含量较高的肥料, 降低种苗的碳氮比 (C/N), 抑制其提前抽薹开花, 从而减少根部木质素积累, 最终提高根部药材的品质。

#### 4 结论

综上所述, 当归大苗相较于小苗在贮藏期间花芽分化更快, 移栽后更易发生早薹现象。通过比较大苗、小苗的营养成分发现, 较高的可溶性糖含量和 C/N 比值及较低的可溶性蛋白含量, 会促使移栽后植株从营养生长转为繁殖生长, 进而出现早期抽薹现象发生。

#### 参考文献

- [1] Zhang Y, Kang QM, He LY, et al. Exploring the immunometabolic potential of danggui buxue decoction for the treatment of IBD-related colorectal cancer [J]. Chin Med UK, 2024, 19 (1): 117.
- [2] 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 138-139.
- [3] Li ML, Cui XW, Jin L, et al. Bolting reduces ferulic acid and flavonoid biosynthesis and induces root lignification in *Angelica sinensis* [J]. Plant Physiol Bioch, 2022, 170: 171-179.
- [4] Qin WB, Tang HP, Tao XH, et al. Study on the differences of active ingredients among different medicinal parts of *Angelica sinensis* (Oliv.) based on LC-MS combined with multivariate statistical analysis [J]. Chinese J Anal Chem, 2025, 53 (1): 100486.
- [5] 樊世婷, 李云, 罗香怡, 等. 当归抽薹关键基因 FT 和 SOC1 的生物信息学分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 20 (11): 3562-3569.
- [6] 栗孟飞, 康天兰, 晋玲, 等. 当归抽薹开花及其调控途径研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51 (22): 5894-5899.
- [7] Ma F, Jiang Y, Li BS, et al. The dynamic accumulation rules of chemical components during the medicine formation period of *Angelica sinensis* and chemometric classifying analysis for different bolting times using ATR-FTIR [J]. Molecules, 2023, 28 (21): 7292.
- [8] Zhu CH, Bai Y, Jiang Y, et al. Integrated transcriptomic and metabolomic analysis reveals the regulation mechanism of early bolting and flowering in two cultivars of *Angelica sinensis* [J]. Heliyon, 2024, 10 (7): e28636.
- [9] 苏红彦, 栗孟飞, 魏建和. 根及根茎类药材抽薹开花及调控机制研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56 (5): 1861-1876.
- [10] 蔺海明, 邱黛玉, 陈垣. 当归苗根直径大小对提前抽薹率及产量的影响 [J]. 中草药, 2007, 38 (9): 1386-1389.
- [11] 曹佳琰, 王惠玉, 韩莹琰. 酵母单杂交技术验证叶用莴苣 LsHPB 互作启动子 [J]. 北京农学院学报, 2025, 40 (1): 37-43.
- [12] 李丽, 王富胜, 杨荣洲, 等. 品种及种苗规格对当归成药期质量和经济效益的影响 [J]. 寒旱农业科学, 2023, 2 (3): 239-245.
- [13] 尚虎山, 孙志蓉, 王富胜, 等. 播种时期与育苗密度对当归种苗质量及其成药产值的影响 [J]. 中国现代中药, 2021, 23 (2): 326-331.
- [14] 张铮茹, 江媛, 曾宇馨, 等. 贮藏温度和时间对当归种苗顶芽分化及根部木质素积累的影响 [J]. 中医药导报, 2024, 30 (8): 63-67.
- [15] 吴萍, 郭俊霞, 王晓宇, 等. 播期对白芷幼苗生长及早期抽薹发生的影响 [J]. 北方园艺, 2025, 49 (4): 97-103.
- [16] 陈晨. IAA 参与调控白芷早抽薹机制研究 [D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
- [17] Yuan CX, Li LS, Zhou PH, et al. Decoding the root lignification mechanism of *Angelica sinensis* through genome-wide DNA methylation analysis [J]. J Exp Bot, 2025, 76 (9): 2573-2589.
- [18] 常海龙, 王勤南, 周峰, 等. 光周期诱导甘蔗花芽分化及成花逆转过程中生理代谢的变化 [J]. 植物生理学报, 2014, 50 (7): 1045-1052.
- [19] 周强, 耿佳麒, 王宇航, 等. 越橘花芽分化期叶片矿质元素含量和 C/N 变化分析 [J]. 东北农业大学学报, 2017, 48 (2): 37-45.
- [20] 孙笑, 李国亮, 李菲, 等. 大白菜木质素含量测定方法的建立 [J]. 中国蔬菜, 2021, 41 (6): 61-67.
- [21] 秦宏坤, 李明卓, 秦冰倩, 等. 拟南芥膜蛋白与 AtGSL5 互作筛选研究 [J]. 赣南师范大学学报, 2024, 45 (6): 84-90.
- [22] O' Brien JA, Vega A, Bouguignon E, et al. Nitrate transport, sensing, and responses in plants [J]. Mol Plant, 2016, 9 (6): 837-856.
- [23] 杨波, 郭春苗, 木巴热克·阿尤普, 等. 扁桃果实发育过程内果皮中糖及木质素含量变化规律 [J]. 新疆农业科学, 2021, 58 (1): 23-29.

(收稿日期: 2025-10-18; 修回日期: 2025-12-15)

# 基于网络药理学探讨肉桂子改善幽门螺杆菌 感染性胃炎细胞模型的作用机制

王彦顺<sup>1, 2</sup>, 刘宏炳<sup>1, 2</sup>, 孙万诚<sup>1, 2</sup>, 阿依夏·依明江<sup>1, 2</sup>, 燕雪花<sup>1, 2\*</sup> (1.新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830017; 2.新疆名医名方与特色方剂学重点实验室, 乌鲁木齐 830017)

**摘要:** 目的 联合运用网络药理学、分子对接及细胞实验, 探讨肉桂子 (FCCI) 改善幽门螺杆菌 (*H. pylori*) 感染相关慢性萎缩性胃炎 (CAG) 的作用机制。方法 通过 TCMSP、SwissADME 数据库筛选 FCCI 活性成分及靶点, 并用 Cytoscape 3.10.3 筛选关键成分; 经 GeneCards、OMIM 等数据库获取 CAG/*H. pylori* 感染相关靶点, 取交集后用 STRING 12.0 构建蛋白互作网络, 再通过 Cytoscape 3.10.3 筛选核心靶点; 基于 Metascape 数据库进行 GO、KEGG 富集分析, 通过 AutoDockVina 软件进行分子对接验证。构建 *H. pylori* GES-1 细胞损伤模型, 采用 Griess 法、流式细胞术、ELISA、细胞黏附实验、RT-qPCR 及 Western blot 验证网络药理学结果。结果 获得 FCCI 靶点 427 个、CAG 靶点 1246 个、*H. pylori* 感染靶点 1035 个, 三者交集 105 个治疗靶点, 核心靶点为 *TNF*、*IL6*、*IL1B*、*NFKB1* 和 *TLR4* 等; 功能富集分析表明, FCCI 主要通过细胞凋亡、NF- $\kappa$ B 信号通路及 Toll 样受体通路发挥作用; 分子对接结果显示, 槲皮素、胡椒碱、桑黄素、邻甲氧基肉桂醛、肉桂醛与靶点 *TNF*、*IL6*、*IL1B*、*NFKB1* 和 *TLR4* 结合活性高; 细胞实验证实 FCCI 可调节凋亡, 减少 *H. pylori* 诱导的细胞黏附及 NO 释放量, 抑制 TLR4、MyD88、p-NF- $\kappa$ B、NF- $\kappa$ B 及 TNF- $\alpha$  等蛋白表达, 从而改善 CAG。结论 FCCI 通过其关键成分作用核心靶点, 调节细胞凋亡, 减少黏附和 NO 释放量, 调控 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路改善 *H. pylori* 感染性 CAG。

**关键词:** 肉桂子; 慢性萎缩性胃炎; 幽门螺杆菌感染; 网络药理学; 细胞实验

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-133-09

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.019

## Mechanism of *Fructus cinnamomi cassiae immaturi* in ameliorating *Helicobacter pylori*-associated gastritis cell model based on network pharmacology

WANG Yanshun<sup>1, 2</sup>, LIU Hongbing<sup>1, 2</sup>, SUN Wancheng<sup>1, 2</sup>, Ayixia · Yimingjiang<sup>1, 2</sup>, YAN Xuehua<sup>1, 2\*</sup> (1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017; 2. Key Laboratory of Famous Doctors' Prescriptions and Characteristic Prescriptions of Xinjiang, Urumqi 830017)

**Abstract: Objective** To determine the mechanism of *Fructus cinnamomi cassiae immaturi* (FCCI) in ameliorating chronic atrophic gastritis (CAG) associated with *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection by integrating network pharmacology, molecular docking, and cellular experiments. **Methods** The active components and corresponding targets of FCCI were screened with the TCMSP and SwissADME databases, and the key components were identified via Cytoscape 3.10.3. The disease-related targets of CAG and *H. pylori* infection were retrieved from databases such as GeneCards and OMIM. The intersection targets of FCCI and the diseases were obtained to establish a protein-protein interaction network with STRING 12.0, followed by the screening of core targets with Cytoscape 3.10.3. GO and KEGG enrichment analyses were performed based on the Metascape database, and molecular docking was used for the verification via AutoDockVina software. An *H. pylori*-induced GES-1 cell injury model

**基金项目:** 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (No.2023D01C43); 肉桂子地方药材质量标准制定 (No. 20210012)。

**作者简介:** 王彦顺, 男, 在读硕士研究生, 主要从事中药活性成分及药理作用机制研究, email: 1621294847@qq.com \*通信作者: 燕雪花, 女, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药活性成分制剂研究, email: yxhzy@xjmu.edu.cn



was established. Network pharmacology validated the results with a series of experiments, including Griess assay, flow cytometry, ELISA, cell adhesion assay, RT-qPCR, and Western blot. **Results** Totally 427 FCCI-related targets, 1246 CAG-related targets, and 1035 *H. pylori* infection-related targets were obtained, with 105 overlapping therapeutic targets identified among the three groups. The core targets included *TNF*, *IL6*, *IL1B*, *NFKB1*, and *TLR4*. Functional enrichment indicated that FCCI exerted its pharmacological effects mainly by regulating the cell apoptosis, the NF- $\kappa$ B signaling pathway, and the Toll-like receptor signaling pathway. Molecular docking showed that quercetin, piperine, morin, *O*-methoxycinnamaldehyde, and cinnamaldehyde exhibited high binding affinity to *TNF*, *IL6*, *IL1B*, *NFKB1*, and *TLR4*. Cellular experiments confirmed that FCCI regulated the cell apoptosis, reduced *H. pylori*-induced cell adhesion and NO release, inhibited the protein expression of TLR4, MyD88, p-NF- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B, and TNF- $\alpha$ , to ameliorate CAG. **Conclusion** FCCI ameliorates *H. pylori*-associated CAG by acting via its key components on the core targets, which further regulates cell apoptosis, reduces cell adhesion and NO release, and modulates the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway.

**Key words:** *Fructus cinnamomi cassiae immaturi*; chronic atrophic gastritis; *Helicobacter pylori* infection; network pharmacology; cellular experiment

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 感染是慢性胃炎发生发展的核心始动因素, 其介导的胃黏膜持续性炎症可进一步发展为慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) [1-2]。作为胃癌前病变的重要阶段, CAG 以胃黏膜腺体萎缩、黏膜层变薄、炎症细胞浸润为典型病理特征, 常伴肠腺或幽门腺化生, 而 *H. pylori* 感染可通过破坏胃黏膜屏障、激活炎症信号通路等途径加速该病理进程 [3]。值得关注的是, *H. pylori* 已被世界卫生组织列为 I 类致癌物, 其感染相关 CAG 患者患癌风险显著高于非感染性 CAG 人群 [4]。临床现行治疗以抗菌药物、质子泵抑制剂等为主, 虽疗效尚可, 但抗菌药物耐药性逐年升高 [5], 亟需新型治疗药物或优化策略摆脱困境。

中医药凭借悠久历史与独特优势备受关注, 已成为 CAG 的潜力干预手段, 可提高 *H. pylori* 抑制率、减少不良反应及抗菌药物用量, 同时改善胃黏膜病理状态 [6]。肉桂子 (*Fructus cinnamomi cassiae immaturi*, FCCI) 是樟科植物肉桂的未成熟果实, 药食同源且药性温热 [7]。《中华本草·维吾尔药卷》载其味微辛甘, 气芳香, 归脾、胃、肾、肺经。具有芳香开窍、温中散寒、止痛消化功效, 传统用于湿寒性或黏滞性的胃肠疾病治疗 [8]。CAG 属中医“胃痞”“胃脘痛”范畴, 证型繁杂, 脾胃虚弱证为核心证型之一, 多由脾胃虚寒、阳气亏虚所致, 治疗以扶正祛寒为要 [9], FCCI 的药性与功效使其在该病治疗中极具潜力。本研究拟通过网络药理学与分子对接筛选 FCCI 有效成分, 解析其作用于 *H. pylori* 感染性 CAG 的核心靶点与信号通路, 结合细胞模型验证, 探究其抑制 *H. pylori*、改善胃黏膜炎症损伤的治疗分子机制。

## 1 材料

### 1.1 细胞系

人胃黏膜上皮细胞株 GES-1 购自美国模式培养物集存库 (American Type Culture Collection, ATCC)。

### 1.2 菌株来源

*H. pylori* 标准参考株 ATCC 700392 (ATCC)。

### 1.3 试剂

哥伦比亚琼脂基、脑心浸出液肉汤 (英国 Oxoid 公司); 无菌脱纤维羊血 (广州鸿泉生物科技有限公司); RPMI-1640 培养基、双抗 (青霉素 100 U/mL + 链霉素 100 U/mL)、0.25% 胰酶、Trizol 试剂 (美国赛默飞公司); 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (CME0004)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) (CME0015) 酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 试剂盒 (北京四正柏生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒 (C0039) (上海碧云天生物科技有限公司); 一氧化氮 (NO) 检测试剂盒 (美国 Promega 公司, G2930); Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (美国 BD 公司, 556547); 一抗 (1:1000): MyD88 抗体 (#4283)、p-NF- $\kappa$ B 抗体 (#3033)、TNF- $\alpha$  抗体 (#6945)、GAPDH 抗体 (#5174) (美国 CST 公司), TLR4 抗体 (美国赛默飞公司, #MA5-16216), NF- $\kappa$ B 抗体 (英国 Abcam 公司, ab16502),  $\beta$ -actin 抗体 (上海碧云天生物科技有限公司, AF2811); 辣根过氧化物酶 (HRP) 结合二抗 (1:5000): 山羊抗兔二抗 (AF208)、山羊抗鼠二抗 (AF216) (上海碧云天生物科技有限公司); RIPA 裂解液、苯基甲磺酰氟 (PMSF)、磷酸酶抑制剂预混液 A&C (50 $\times$ )、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 快速制胶试剂盒、BeyoColorTM 预染蛋白 marker、一抗稀释液、蛋白上样缓冲液 (5 $\times$ )、

BeyoECL Star 超敏化学发光检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)。肉桂子(新疆新绿宝药业有限公司,批号为RGZ-YP-220510-1),经新疆医科大学中医学院徐海燕教授鉴定为樟科植物肉桂的干燥未成熟果实。

## 1.4 仪器

CB170 型三气培养箱(德国BINDER公司);BSC-1304II A2 型生物安全柜(中国苏州净化公司);IM-5FLD 型荧光倒置显微镜(意大利OPTIKA公司);HERACELL 150i 型 CO<sub>2</sub> 培养箱、Nano Drop 2000 型微量核酸蛋白定量仪(美国赛默飞公司);Spark 多功能酶标仪(瑞士Tecan公司);T100 Thermal Cycle 型普通PCR仪(美国Bio-Rad公司);LightCycler 480 II 型qPCR仪(瑞士Roche公司);CytoFLEX 型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司);Tanon 5200 型化学发光成像分析仪(上海天能科技有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 网络药理学分析

**2.1.1 肉桂子活性成分及靶点的筛选** 基于课题组前期UHPLC-MS/MS分析获得的FCCI化学成分<sup>[10]</sup>,通过SwissADME数据库筛选符合胃肠吸收度“High”及类药五原则“≥3YES”的成分,同时结合TCMSP数据库,以生物利用度(OB)≥30%且药物相似度(DL)≥0.18的标准进行成分筛选,汇总两个数据库的靶点并剔除重复项。运用Cytoscape 3.10.3 软件的AnalyzeNetwork工具对活性成分进行degree值计算分析并结合前期液质数据筛选出5个关键成分。

**2.1.2 CAG 及 *H. pylori* 的靶点筛选** 以“chronic atrophic gastritis”“*Helicobacter pylori* infection”为关键词,通过GeneCards、OMIM、DisGeNET、DrugBank、PharmGKB等数据库收集CAG及*H. pylori*感染的相关靶点。

**2.1.3 交集靶点可视化** 利用迈维云工具,将FCCI靶点与疾病靶点取交集并可视化。

**2.1.4 构建蛋白相互作用网络(PPI)** 将交集靶点导入STRING 12.0 数据库构建PPI网络;使用Cytoscape 3.10.3 软件的cytphubba插件(MCC算法)分析网络数据,筛选10个核心靶点并进行可视化。

**2.1.5 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析** 通过Metascape数据库,将交集靶点进行GO及KEGG通路富集分析;利用微生信在线平台对富集结果进行可视化。

**2.1.6 分子对接** 选取5个得分最高的核心靶点与关键成分开展分子对接:从PubChem数据库获取关键成分的三维结构,从PDB数据库下载核心靶点的三维结构;采用AutoDockVina软件筛选结合能最高的作用位点,再用PyMOL软件可视化对接结果。

### 2.2 细胞实验验证

**2.2.1 样品制备** 称取肉桂子样品10 g,将其粉碎过40目筛,加入10倍量体积75%乙醇预先浸泡1 h,然后在80℃的75%乙醇中浸提2次,每次2 h,将提取液用两层双圈中速滤纸过滤后合并滤液。使用旋转蒸发仪在70~75℃, -0.08 MPa的条件下浓缩后置于-80℃冰箱过夜。之后,将预冻的浓缩液于冻干机上冻干后得到75%乙醇提取物冻干粉。收集冻干粉并称质量,每10 g肉桂子可以得到805.70 mg冻干粉,之后储存在-20℃备用<sup>[11]</sup>。

**2.2.2 细菌培养** 标准菌株ATCC 700392(-80℃冻存于65%脑心浸出液肉汤+25%甘油+10%胎牛血清,经形态学、革兰氏染色及生化鉴定),无菌涂布于5%绵羊血哥伦比亚琼脂培养基,37℃、10%CO<sub>2</sub>、5%O<sub>2</sub>、85%N<sub>2</sub>培养箱倒置培养2~3 d。

**2.2.3 细胞培养** GES-1细胞用含10%胎牛血清、1%双抗的RPMI 1640培养基,37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养。

**2.2.4 细胞活性试验** GES-1细胞以6×10<sup>3</sup>个/孔接种于96孔板中,培养24 h后经不同浓度FCCI处理24 h;每孔加10 μL CCK-8,37℃孵育2 h,酶标仪检测450 nm吸光度。细胞活力(%)=(A<sub>1</sub>/A<sub>0</sub>)×100%(A<sub>1</sub>为实验组吸光度,A<sub>0</sub>为对照组吸光度)。

**2.2.5 NO释放量测定** GES-1细胞以4×10<sup>5</sup>个/孔接种于6孔板中,40~160 μg/mL FCCI单独或与*H. pylori*(MOI=100:1)共培养24 h;按NO试剂盒说明书检测上清液中NO含量。

**2.2.6 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞实验** GES-1细胞以4×10<sup>5</sup>个/孔接种于6孔板中,按“2.2.5”项下方法处理;收集细胞磷酸盐缓冲液(PBS)洗3次,按AnnexinV-FITC/PI双标试剂盒操作,室温避光孵育15 min,流式细胞仪检测并计算凋亡率。

**2.2.7 细胞炎症因子水平测定** GES-1细胞以4×10<sup>5</sup>个/孔接种于6孔板中,按“2.2.5”项下方法处理;收集上清液离心,按ELISA试剂盒说明书检测IL-1β、TNF-α水平。

**2.2.8 细胞黏附能力测定** GES-1细胞以4×10<sup>5</sup>个/孔接种于24孔板中,培养24 h加40~160 μg/mL FCCI孵育4 h;1McFarland菌株加10 μL FITC(10 mg/mL),37℃避光1 h,5000 r/min离心10 min,PBS洗3次;FITC标记ATCC 700392菌株(MOI=100:1)感染4 h,PBS洗2次,4%多聚甲醛固定20 min,DAPI染色5 min,加PBS与抗荧光淬灭封片液;荧光倒置显微镜检测荧光,Image J分析荧光区域<sup>[12]</sup>。

**2.2.9 RT-qPCR** GES-1细胞以4×10<sup>5</sup>个/孔接种于6孔板中,按“2.2.5”项下方法处理;加500 μL



Trizol 至无酶 EP 管, 加 1/5 体积氯仿振荡 15 s, 冰浴 2 ~ 3 min 后 12 000 r/min 离心 15 min; 取上清液至新无酶 EP 管, 加等体积预冷异丙醇冰浴 10 min, 12 000 r/min 离心 5 min 弃上清液; 然后加入 300  $\mu$ L 预冷的 75% 乙醇, 12 000 r/min 离心 5 min,

弃上清液, 重复洗涤 2 次后, 挥干乙醇加 DEPC 水, 分光光度计测 RNA 浓度; 逆转录为 cDNA, PCR 仪及 TB Green<sup>®</sup>Premix Ex Taq II 试剂检测; 2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 法分析, 内参归一化比较组间差异, 引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

Tab 1 RT-qPCR primer sequences

| 基因                             | 正向引物 (5'-3')            | 反向引物 (5'-3')            |
|--------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>GAPDH</i>                   | GGCAAATTCACGGCACAGTCAAG | TCGCTCCTGGAAGATGGTGATGG |
| <i>IL-6</i>                    | AGTCGGAGGCTTAATTACACA   | TCATACAATCAGAAATTGCCAT  |
| <i>IL-1<math>\beta</math></i>  | GCTGCTTCCAAACCTTTGACC   | ACAGCCACAATGAGTGATACTGC |
| <i>TNF-<math>\alpha</math></i> | CGGCATGGATCTCAAAGACAAC  | TATGAGATAGCAAATCGGCTGAC |
| <i>IFN-<math>\beta</math></i>  | CCAGCTCCAAGAAAGGACGAA   | GATCTTGAAGTCCGCCCTGT    |

**2.2.10 Western blot** GES-1 细胞以 4 $\times$ 10<sup>5</sup> 个 / 孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后与 FCCI、ATCC 700392 菌株 (MOI = 100 : 1) 共感染 24 h; 冰上 RIPA (含 100 mmol/LPMSF 及蛋白酶 / 磷酸酶抑制剂) 裂解, BCA 法测蛋白浓度; 上清液 + 上样缓冲液 100 $^{\circ}$ C 加热 10 min, 10%SDS-PAGE 电泳 90 min (每孔上样 10  $\mu$ g); 转 PVDF 膜, 5% 脱脂奶室温封闭 2 h; 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 二抗 (小鼠 / 兔源, 1 : 5000) 室温孵育 70 min; ECL (A : B = 1 : 1) 检测发光信号, Image J 分析灰度值。

**2.3 数据分析**

采用 GraphPad Prism 10.1.3 软件进行分析, 实验数据以均数  $\pm$  标准差表示。多组比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 网络药理学预测结果**

通过 TCMSP、SwissADME 及 SwissTarget-Prediction 共筛选出 427 个靶点、14 个活性成分 (槲皮素、胡椒碱、桑黄素、4- 苯基 -2- 丁烯醛、4- 苯基 -3- 丁烯 -2- 酮、邻甲氧基肉桂醛、原儿茶酸、没食子酸、3- 羟基苯甲酸、香豆素、肉桂醛、二氢香豆素、吉马酮、2- 异丙基苹果酸)。运用 Cytoscape 3.10.3 的 Network Analyzer 工具计算成分度值, 结合度值及液质数据确定槲皮素、胡椒碱、桑黄素、邻甲氧基肉桂醛、肉桂醛为 5 个关键成分。在 GeneCards、OMIM、DisGeNET、DrugBank、PharmGKB 等数据库中检索疾病靶点, 共收集到 1246 个 CAG 靶点和 1035 个 *H. pylori* 靶点。取 FCCI 靶点、CAG 靶点及 *H. pylori* 靶点三者的交集, 获得 105 个交集靶点。将其导入 STRING 12.0, 设生物物种 Homosapiens、置信度 0.900, 构建 PPI 网络; 通过 Cytoscape 3.10.3 的 cytpubba 插件 (MCC 算法) 分析数据, 筛选得到 10 个核心靶点。

将交集靶点导入 Metascape 数据库进行 GO 及 KEGG 通路富集分析。GO 分析共得到 1801 个条目, 其中生物过程 (BP) 1618 条、细胞组分 (CC) 71 条、分子功能 (MF) 112 条, 各取前十条进行可视化 (见图 1)。BP 核心过程: 凋亡、炎症反应、Toll 样受体 4 信号通路等; CC 核心组分: 质膜外侧、蛋白酶抑制剂复合物、溶酶体等; MF 核心功能: 泛素蛋白连接酶结合、肿瘤坏死因子受体结合等。KEGG 通路预测核心通路有细胞凋亡、TNF 信号通路、NF- $\kappa$ B 信号通路、Toll 样受体信号通路等 (见图 2)。

**3.2 分子对接验证**

将槲皮素、胡椒碱、桑黄素、邻甲氧基肉桂醛、肉桂醛与 TNF、IL6、IL1B、NFKB1、TLR4 进行分子对接, 计算得蛋白质与配体的结合能均小于 - 16.7 kJ/mol (见图 3); 药物分子配体与靶蛋白结合时, 能量越低构象越稳定。对接结果经 PyMOL 可视化, 选取结合能较低的代表性复合物 (如 IL6- 槲皮素、TNF- 胡椒碱、IL6- 桑黄素、IL6- 邻甲氧基肉桂醛、IL6- 肉桂醛) 进行展示 (见图 4)。

**3.3 FCCI 对 GES-1 细胞的影响**

如图 5 所示, GES-1 细胞经 10 ~ 2560  $\mu$ g/mL 的 FCCI 处理 24 h 后, 其半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 167.0  $\mu$ g/mL。因此, 本研究选择 40 ~ 160  $\mu$ g/mL 的 FCCI 干预 GES-1 细胞 24 h, 用于后续细胞模型<sup>[13]</sup>的建立。

**3.4 FCCI 对 GES-1 细胞 NO 释放的影响**

如图 6 所示, 与空白组相比, 模型组 (*H. pylori* 诱导) NO 含量显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 40 ~ 160  $\mu$ g/mL 的 FCCI 可显著抑制 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞内 NO 水平升高 ( $P < 0.01$ )。

**3.5 FCCI 对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞凋亡的影响**

如图 7 所示, 与空白组相比, 模型组细胞凋亡



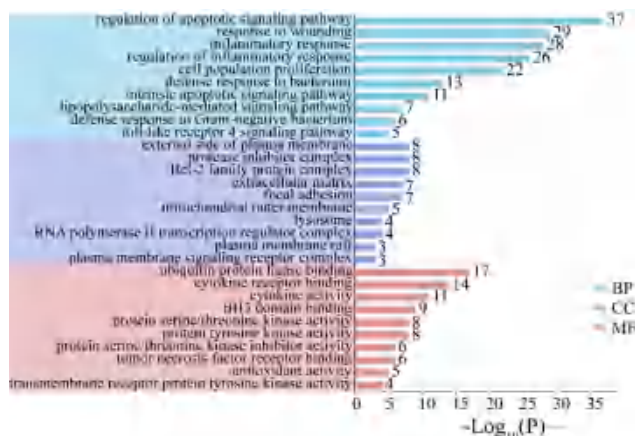


图1 肉桂子改善幽门螺杆菌感染性慢性萎缩性胃炎的GO富集分析  
Fig 1 GO enrichment analysis of FCCI in improving *H. pylori*-infected CAG

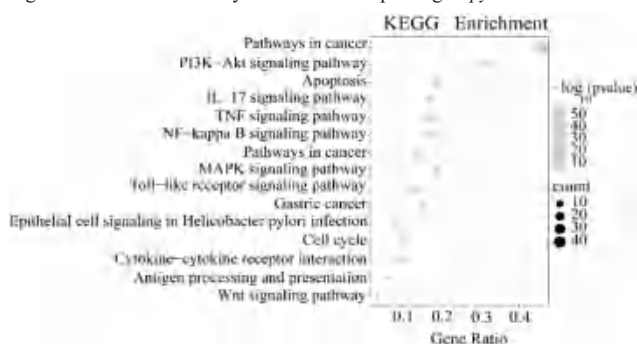


图2 肉桂子改善幽门螺杆菌感染性慢性萎缩性胃炎的 KEGG 通路富集分析

Fig 2 KEGG pathway enrichment analysis of FCCI in improving *H. pylori*-infected CAG

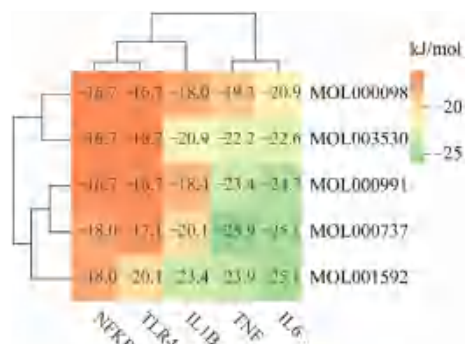


图3 肉桂子关键成分与核心靶点的结合能

Fig 3 Binding energies of key components of FCCI with core targets

率显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 80  $\mu\text{g/mL}$  的 FCCI 可显著抑制 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞凋亡 ( $P < 0.05$ )。

### 3.6 FCCI 对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞炎症因子的影响

与空白组比较,模型组 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量均显著升高 ( $P < 0.001$ );与模型组比较,FCCI 40 ~ 160  $\mu\text{g/mL}$  的 FCCI 能显著降低 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  含量 ( $P < 0.05$ ),表明 FCCI 可抑制 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞炎症因子的释放 (见图 8)。

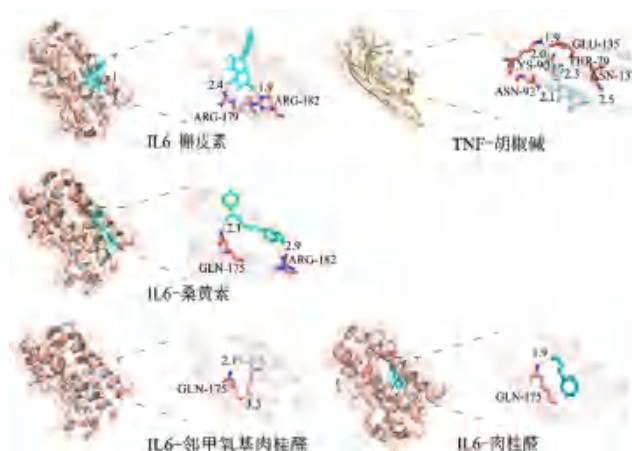


图4 肉桂子关键成分与核心靶点的对接口袋图

Fig 4 Pocket map of key components and core targets in FCCI

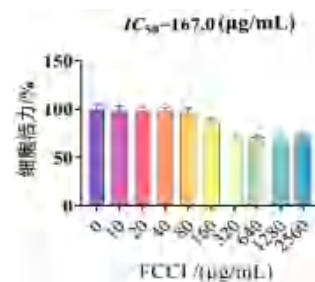
图 5 肉桂子对 GES-1 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Fig 5 Effect of FCCI on GES-1 cell viability ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

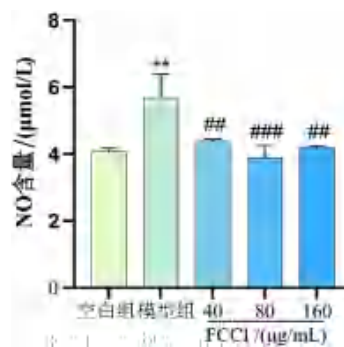


图6 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞内 NO 水平的影响  
( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig 6 Effect of FCCI on NO levels in *H. pylori*-induced GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注:与空白组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,### $P < 0.01$ ,  
#### $P < 0.001$ 。

Note: vs the blank group,  $^{**}P < 0.01$ ; vs the model group,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ .

### 3.7 FCCI 对 *H. pylori* 黏附 GES-1 细胞的抑制作用

如图9所示,蓝色荧光标记GES-1细胞,绿色荧光标记*H. pylori*。结果显示,经FCCI处理组的绿色荧光强度显著低于模型组,提示肉桂子对*H. pylori*黏附GES-1细胞的能力具有抑制作用。进一步通过黏附指数的定量分析表明,与模型组相比,40~160 μg/mL范围内的肉桂子对*H. pylori*的黏附均具有显著的抑制效果( $P < 0.01$ )(见图10)。

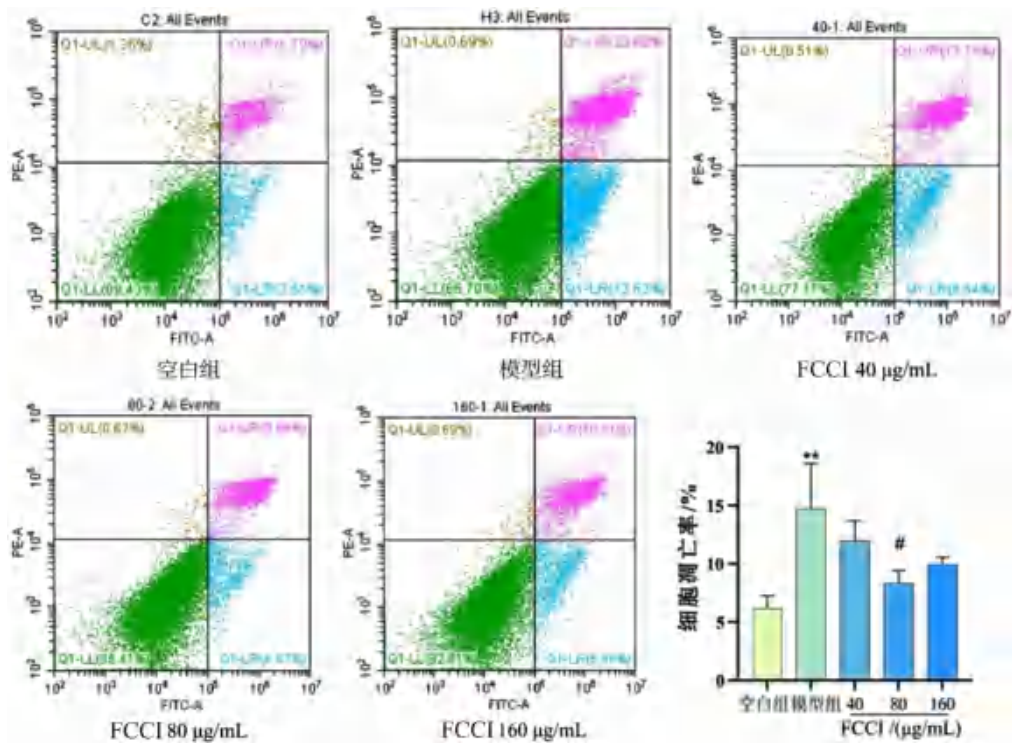


图 7 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞凋亡的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
Fig 7 Effect of FCCI on *H. pylori*-induced apoptosis in GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
注: 与空白组比较,  $^{**}P < 0.01$ ; 与模型组比较:  $^{\#}P < 0.01$ 。  
Note: vs the blank group,  $^{**}P < 0.01$ ; vs the model group,  $^{\#}P < 0.01$ .

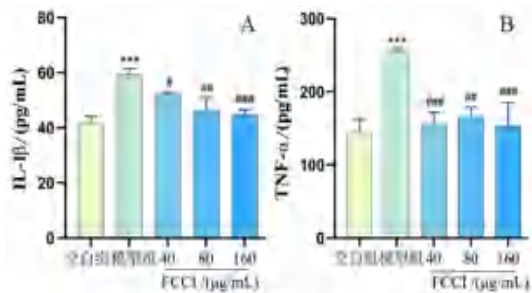


图 8 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞炎症因子的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
Fig 8 Effect of FCCI on *H. pylori*-induced inflammatory cytokines in GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
注: 与空白组比较,  $^{***}P < 0.001$ ; 与模型组比较:  $^{\#}P < 0.01$ ,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ 。  
Note: vs the blank group,  $^{***}P < 0.001$ ; vs the model group,  $^{\#}P < 0.01$ ,  $^{##}P < 0.01$ ,  $^{###}P < 0.001$ .

**3.8 FCCI 对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 炎症细胞因子 mRNA 表达水平的影响**  
采用 RT-qPCR 技术检测 *IFN-β*、*IL-6*、*IL-1β* 和 *TNF-α* 的 mRNA 表达 (见图 11), 结果显示: 与空白组相比, 模型组 *IFN-β*、*IL-6*、*IL-1β* 和 *TNF-α* 的 mRNA 表达水平均显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组相比, 肉桂子治疗组 *IFN-β*、*IL-6*、*IL-1β* 和 *TNF-α* 的 mRNA 表达均呈下调趋势, 提示 FCCI 能抑制 *H. pylori* 诱导的炎症因子转录水平升高。

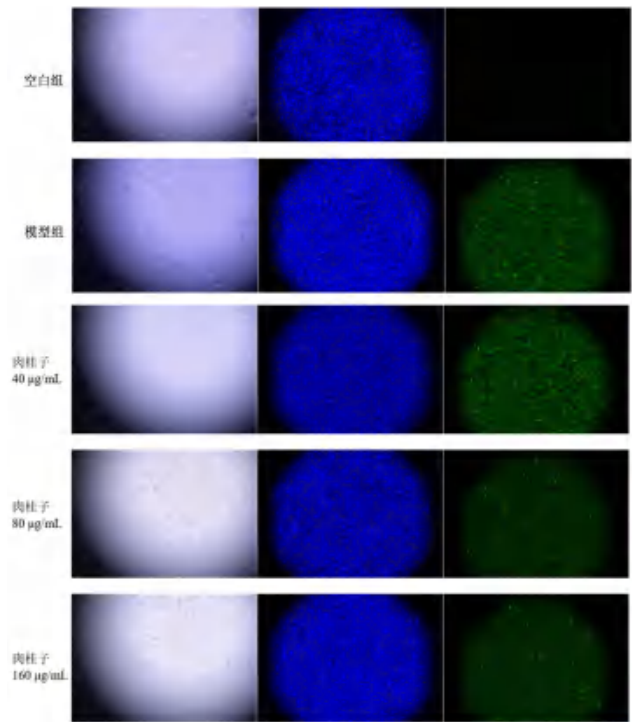


图 9 肉桂子对 *H. pylori* 黏附 GES-1 细胞的影响 ( $\times 100$ ) ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )  
Fig 9 Effect of FCCI on the adhesion to *H. pylori*-induced GES-1 cells ( $\times 100$ ) ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

**3.9 FCCI 对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞 TLR4/ NF-κB 通路表达的影响**

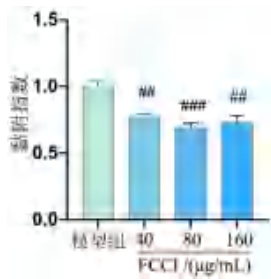


图 10 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞黏附指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 10 Effect of FCCI on the adhesion index of *H. pylori*-induced GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与模型组比较: ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

Note: vs the model group, ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ .

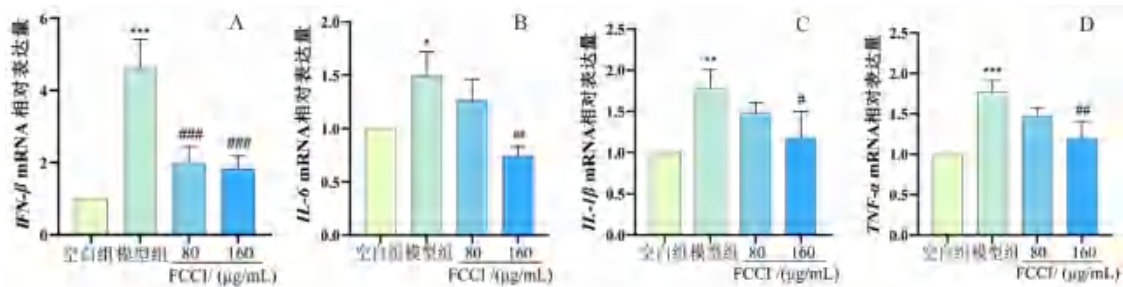


图 11 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞中 *IFN-β*、*IL-6*、*IL-1β* 和 *TNF-α* mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 11 Effect of FCCI on the expression of *IFN-β*, *IL-6*, *IL-1β*, and *TNF-α* mRNA in *H. pylori*-induced GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与空白组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: # $P < 0.01$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ 。

Note: vs the blank group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; vs the model group, # $P < 0.01$ , ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$ .

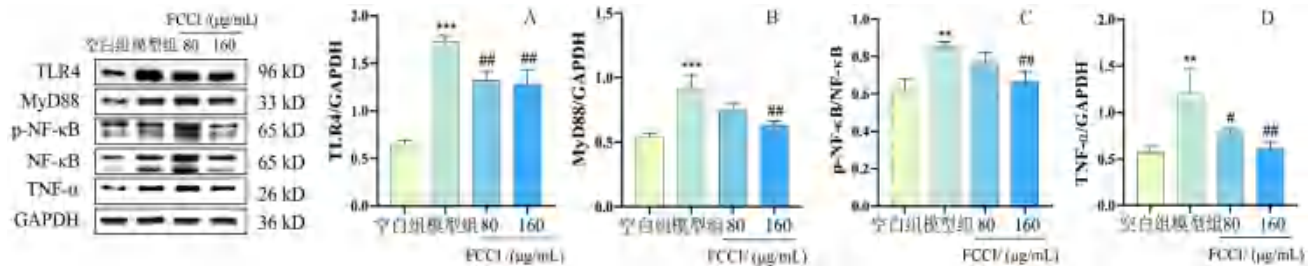


图 12 肉桂子对 *H. pylori* 诱导的 GES-1 细胞内 TLR4、MyD88、NF-κB、p-NF-κB 和 *TNF-α* 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig 12 Effect of FCCI on the protein expression of TLR4, MyD88, NF-κB, p-NF-κB, and *TNF-α* in *H. pylori*-induced GES-1 cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

注: 与空白组比较, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: # $P < 0.01$ , ## $P < 0.01$ 。

Note: vs the blank group, \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ; vs the model group, # $P < 0.01$ , ## $P < 0.01$ .

手段, 通过抑制 *H. pylori* 感染以阻断 CAG 进展具有重要意义<sup>[13-14]</sup>。本研究基于前期 UHPLC-MS/MS 对 FCCI 化学成分的分析, 采用网络药理学筛选获得 105 个与 *H. pylori* 感染及 CAG 相关的交集靶点, 经蛋白互作分析锁定 *TNF*、*IL6*、*IL1B*、*NFKB1*、*TLR4* 等核心节点, 主要富集于 Toll 样受体信号通路。分子对接结果显示, 槲皮素、胡椒碱、桑黄素、邻甲氧基肉桂醛及肉桂醛与上述靶点结合能均  $< -16.7$  kJ/mol, 提示 FCCI 可能以多成分、多靶点方式协同调控 TLR4/MyD88/NF-κB 炎症轴, 体现出中药“多靶点网络调节”的特点。网络药理学将“成分-靶点-通路-疾病表型”整合于同一分析框架, 一方

如图 12 所示, *H. pylori* 感染后, 细胞中 TLR4、MyD88、NF-κB、p-NF-κB 和 *TNF-α* 的表达均上调, 提示 *H. pylori* 感染可能会激活 TLR4 信号通路。当与 FCCI 共同作用后, *H. pylori* 感染细胞中 TLR4、MyD88、NF-κB、p-NF-κB 和 *TNF-α* 蛋白的上调趋势被逆转。FCCI 可能是通过回调 *H. pylori* 诱导的 TLR4 信号通路异常激活, 从而抑制其引发的炎症反应, 但该机制仍需进一步实验验证。

#### 4 讨论

CAG 是胃癌 Correa 级联中的关键癌前阶段, 其发生发展与 *H. pylori* 感染密切相关, 全球约 50% 人群感染 *H. pylori*, 因此寻找安全、有效的中药干预

面有助于从系统层面理解 FCCI 干预 CAG 的整体机制, 另一方面可提前聚焦关键通路和枢纽靶点, 提高后续实验验证的针对性与效率。

既往研究部分证实了本研究挖掘出的关键成分及其通路基础: 槲皮素具有抗 *H. pylori* 及抗炎、促胃黏膜修复作用, 可通过 TGF-β1/Smads 通路发挥保护效应<sup>[15-16]</sup>; 胡椒碱能抑制 *H. pylori* 增殖并减轻炎症<sup>[17]</sup>; 桑黄素通过抑制脲酶活性干扰 *H. pylori* 生存<sup>[18]</sup>; 肉桂醛不仅靶向 GyrA、GyrB 干扰细菌 DNA 复制与转录, 抑制黏附定植和生物膜形成, 还可通过调控 PI3K/AKT 下游 mTOR、GSK3β、NRF2 等减轻胃上皮细胞的自噬、凋亡



与铁死亡<sup>[19-20]</sup>；邻甲氧基肉桂醛虽缺乏直接抗 *H. pylori* 报道，但其抗菌活性<sup>[21]</sup>与本研究靶点预测相吻合。为验证网络预测，本研究以人胃黏膜上皮细胞系 GES-1 构建 *H. pylori* 感染模型<sup>[15]</sup>，发现 40 ~ 160  $\mu\text{g/mL}$  FCCI 可显著下调 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎症因子，80 ~ 160  $\mu\text{g/mL}$  肉桂子还能减少 *H. pylori* 黏附定植，抑制细胞凋亡并降低 NO 释放；RT-qPCR 和 Western blot 结果进一步证实其可下调 IFN- $\beta$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等 mRNA 表达，逆转 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、p-NF- $\kappa$ B 及 TNF- $\alpha$  上调趋势，从实验层面支持其通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路发挥胃黏膜保护作用。

需要指出，本研究存在一定局限性：网络药理学和分子对接依赖现有数据库及算法，难以完全再现体内复杂药代、药效及微环境<sup>[22]</sup>；GES-1 永生细胞系缺乏免疫细胞、基质及酸性环境等关键因素，单层模型难以模拟 CAG 的慢性炎症及组织重塑过程；所用 *H. pylori* 菌株与感染条件相对单一；FCCI 为多组分体系，其核心活性成分、协同/拮抗关系尚未完全厘清。未来有必要在 *H. pylori* 诱导的 CAG 动物模型中，从病理学及多组学角度系统评价 FCCI 对腺体萎缩、肠上皮化生及炎症微环境的影响，引入胃类器官、原代细胞及共培养体系以更贴近真实胃黏膜微环境，并开展活性成分的分离鉴定、构效关系及药代动力学研究；在充分验证安全性和有效性的基础上，进一步探索 FCCI 或其标准化制剂作为 *H. pylori* 根除及 CAG 二级预防辅助治疗方案的临床转化潜力。综上，本研究从网络药理学与细胞实验相结合的角度，初步揭示了 FCCI 通过调控 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路、抑制炎症反应及 *H. pylori* 黏附定植从而干预 CAG 进展的可能机制，为 CAG 的中药防治提供了实验依据和理论支撑。

## 参考文献

- [1] Ma YM, Jiang JM, Yang ZF, et al. Changes of gastric microflora and metabolites in patients with chronic atrophic gastritis [J]. J Transl Med, 2025, 23 (1): 537.
- [2] 胡梦情, 杨欣雨, 宫唯涵, 等. 霍山石斛鲜、干品对慢性萎缩性胃炎作用的差异 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31 (22): 29-39.
- [3] Bordin DS, Livzan MA, Mozgovoi SI, et al. Autoimmune gastritis and helicobacter pylori infection: molecular mechanisms of relationship [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26 (16): 7737.
- [4] Zhang ZF, Chen ST, Li SD, et al. Association of *Helicobacter pylori* related chronic atrophic gastritis and gastric cancer risk: a literature review [J]. Front Med (Lausanne), 2025, 12: 1504749.
- [5] Lai YK, Zhang TL, Yin XJ, et al. An antibiotic-free platform for eliminating persistent *Helicobacter pylori* infection without disrupting gut microbiota [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14 (7): 31843204.
- [6] Li K, Ma XY, Li ZH, et al. A natural peptide from a traditional Chinese medicine has the potential to treat chronic atrophic gastritis by activating gastric stem cells [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11 (20): e2304326.
- [7] 黄梦, 刘宏炳, 杨珍, 等. 响应面法优化肉桂子总有机酸提取工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 饲料工业, 2024, 45 (16): 132-139.
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 维吾尔药卷 [M]. 上海: 科学技术出版社, 1999: 123.
- [9] 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 慢性萎缩性胃炎中西医结合诊疗专家共识 (2025 年) [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2025, 33 (3): 230-241.
- [10] 黄梦, 刘宏炳, 杨珍, 等. 肉桂子化学成分鉴定、总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 化学试剂, 2024, 46 (3): 56-65.
- [11] Peng C, Sang SY, Shen X, et al. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of *Syzygium aromaticum* and the preliminary mechanism of action [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 288: 114995.
- [12] Feng Z, Li H, Hao YJ, et al. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity and the underlining mechanism of an empirical herbal formula-Hezi Qingyou [J]. Front Microbiol, 2024, 15: 1355460.
- [13] Liao WH, Wang J, Li YC, et al. Natural products based on Correa's cascade for the treatment of gastric cancer trilogy: current status and future perspective [J]. J Pharm Anal, 2025, 15 (2): 101075.
- [14] Zhang T, Tang XD. Beyond metaplasia: unraveling the complex pathogenesis of autoimmune atrophic gastritis and its implications for gastric cancer risk [J]. QJM, 2025, 118 (4): 203247.
- [15] Cai PP, Song QQ, Ye FP, et al. Protective role of quercetin in chronic atrophic gastritis: modulation of gastric mucosal integrity via the transforming growth factor-beta1/Smads signaling pathway [J]. Discov Med, 2025, 37 (197): 10621073.
- [16] 喻春红, 卢霞洪, 李玲玲, 等. 槲皮素介导 IRF8/IFN- $\gamma$  改善 Hp 感染诱导慢性萎缩性胃炎的机制研究 [J]. 中华医院感染学杂志, 2022, 32 (20): 3073-3077.
- [17] Toyoda T, Shi L, Takasu S, et al. Anti-inflammatory effects of capsaicin and piperine on *Helicobacter pylori*-induced chronic gastritis in Mongolian gerbils [J]. Helicobacter, 2016, 21 (2): 131142.
- [18] Asadi GS, Abdizadeh R, Abdizadeh T. Investigation of a set of flavonoid compounds as *Helicobacter pylori* urease inhibitors: insights from in silico studies [J]. J Biomol Struct Dyn, 2025, 43 (5): 23662388.
- [19] Li CY, Liao LJ, Yang SX, et al. Cinnamaldehyde: an

- effective component of *Cinnamomum cassia* inhibiting *Helicobacter pylori* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 330: 118222.
- [20] Yan SG, Bao SC, Chen T, et al. Cinnamaldehyde alleviates aspirin-induced gastric mucosal injury by regulating PI3K/Akt pathway-mediated apoptosis, autophagy and ferroptosis [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155791.
- [21] Liu WN, Wang T, Su EZ. Insights into the antifungal activity and mechanisms of cinnamon components against *Aspergillus flavus* and *Penicillium citrinum* [J]. *Food Res Int*, 2024, 197 (Pt 2): 115291.
- [22] Zhai YY, Liu L, Zhang FQ, et al. Network pharmacology: a crucial approach in traditional Chinese medicine research [J]. *Chin Med*, 2025, 20 (1): 8.
- (收稿日期: 2025-10-27; 修回日期: 2026-01-21)

## 羊角棉枝叶中高级性部位化学成分

于硕, 秦文秀, 李畅, 裴月湖, 杨异卉\* (哈尔滨医科大学药学院, 哈尔滨 150000)

**摘要:** **目的** 研究鸡骨常山属羊角棉 (*Alstonia mairei* Lévl.) 枝叶中高级性部位的化学成分。**方法** 采用 MCI 凝胶柱对羊角棉提取物进行分离, 而后选取 30% 乙醇洗脱部位进行成分研究。使用硅胶、ODS、HW-40、Sephadex LH-20 等多种色谱手段分离获得单体化合物, 再利用核磁共振氢谱、碳谱以及质谱鉴定化合物结构。采用二倍稀释法测定化合物对白色念珠菌 CMCC 98001 和黑曲霉菌 R330 的抗真菌活性。**结果** 从羊角棉的高级性部位分离鉴定了 8 个化合物, 分别为 6-羟基-3, 4-二氢-1-氧代- $\beta$ -吡啶 (1)、沙棘酰胺 (2)、降马桔星碱 B (3)、蛇根精 (4)、科阿布拉昔 (5)、4-羟甲基-2, 6-二甲氧基苯酚-1- $O$ - $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (6)、(1' $R$ )-1'-(4-羟基-3, 5-二甲氧基苯基)丙-1'-醇-4- $O$ - $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (7)、顺式-紫丁香苷 (8)。化合物 7 和 8 对白色念珠菌 CMCC 98001 和黑曲霉菌 R330 有一定的抑制作用, 最低抑菌浓度 (MIC) 均为 50  $\mu$ g/mL。**结论** 化合物 1、2 以及 5~8 为从鸡骨常山属植物中首次分离, 其中化合物 7 和 8 具有抗真菌活性。

**关键词:** 羊角棉; 化学成分; 吲哚生物碱; 鸡骨常山属

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-141-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.020

## Chemical constituents from highly polar fraction of *Alstonia mairei* Lévl. twigs and leaves

YU Shuo, QIN Wenxiu, LI Chang, PEI Yuehu, YANG Yihui\* (College of Pharmacy, Harbin Medical University, Harbin 150000)

**Abstract:** **Objective** To determine the highly polar chemical constituents in twigs and leaves of *Alstonia mairei* Lévl.. **Methods** The extracts of *Alstonia mairei* Lévl. were separated by MCI gel column. Then the 30% ethanol elution fraction was selected for the component study. Monomeric compounds were isolated by various chromatographic methods such as silica gel, ODS, HW-40, and Sephadex LH-20, and their chemical structures were determined by  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR and MS. These compounds were evaluated for their antifungal activity against *Candida albicans* CMCC 98001 and *Aspergillus niger* R330 with the two-fold dilution method. **Results** Eight compounds were isolated and identified from the highly polar fraction of *Alstonia mairei* Lévl.: 6-hydroxy-3, 4-dihydro-1-oxo- $\beta$ -carboline (1), hippophamide (2), normacusine B (3), sarpagine (4), koaburaside

**作者简介:** 于硕, 男, 在读硕士研究生, 主要从事天然产物提取与分离研究, email: hmuys1218@163.com \*通信作者: 杨异卉, 女, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事天然药物化学研究, email: yangyihui19790508@sina.com

(5), 4-hydroxymethyl-2, 6-dimethoxyphenol-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (6), (1'*R*)-1'- (4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl)propan-1'-ol-4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (7), and *cis*-syringin (8). Compounds 7 and 8 exhibited inhibitory effects on both *Candida albicans* CMCC 98001 and *Aspergillus niger* R330 with minimal inhibitory concentration (MIC) of 50  $\mu$ g/mL. **Conclusion** Compounds 1, 2 and 5 ~ 8 are separated from the genus *Alstonia* for the first time. Among them, compounds 7 and 8 exhibit antifungal activity.

**Key words:** *Alstonia mairei* Lévl.; chemical constituent; indole alkaloid; *Alstonia*

夹竹桃科鸡骨常山属 (*Alstonia*) 植物是民间常用药用植物, 现代化学研究表明, 吲哚、羟吲哚以及双吲哚型生物碱为鸡骨常山属植物的标志性成分, 并具有抗增殖、抗疟原虫、抗炎、抗微生物等多种生物学活性<sup>[1]</sup>。羊角棉 (*Alstonia mairei* Lévl.) 为我国特有品种的鸡骨常山属植物, 分布于云南、贵州和四川, 以根和叶入药, 具有清热、解毒、止痛、止血和排脓生肌等功效, 可用于治疗外伤出血和疮毒等<sup>[2]</sup>。此前仅有几篇文章报道了其化学成分的研究工作, 总计分离与鉴定了 21 个单萜吲哚类生物碱、12 个萜类化合物以及若干个黄酮、酚酸与糖苷类化合物<sup>[3-8]</sup>。目前, 关于羊角棉植物化学成分的研究主要是针对其生物碱类化合物或中、低极性部位的化学成分。单萜吲哚类生物碱是鸡骨常山属植物的代表性化学成分, 数目较多, 在分离过程中此类成分主要分布于中、低极性部位。为了更全面地阐明羊角棉的化学成分组成, 我们将重点针对羊角棉高极性部位的化学成分进行系统的分离和鉴定。在民间, 羊角棉常用于疥癣等皮肤疾病的治疗, 因此, 本研究对分离获得的单体化合物进行了初步的抗真菌活性评估。

## 1 材料

核磁共振光谱仪 AV-600/500/400 (瑞士 Bruker 公司); 全自动旋光仪 SAC-i (日本 ATAGO 公司); 安捷伦 6310 Ion trap LC/MS (美国 Agilent 公司); 柱色谱填料硅胶 (中国青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); MCI 凝胶 (日本三菱化学株式会社); HW40 (日本 TOSOH 公司); ODS (日本 YMC 公司); 分析级有机试剂 (天津市富宇精细化工有限公司); 白色念珠菌 (*Candida albicans* CMCC 98001) 和黑曲霉菌 (*Aspergillus niger* R330) (北京睿博兴科生物技术有限公司); 羊角棉枝叶部分采集于中国云南省漾濞彝族自治县, 并由昆明基因技术有限公司鉴定为鸡骨常山属植物羊角棉, 凭证标

本 (AM20210413) 保存于哈尔滨医科大学药学院 610 实验室。

## 2 方法

### 2.1 提取与分离

采用 95% 乙醇溶液加热回流提取 50 kg 羊角棉枝叶, 浓缩干燥后得到提取物 2.6 kg。利用 MCI 凝胶色谱柱对提取物进行初步的分离, 而后对 30% 乙醇洗脱部位 (533.0 g) 开展细致的化学成分分离。首先, 使用硅胶柱色谱进行分离, 二氯甲烷-甲醇 (100:0  $\rightarrow$  1:1, *V/V*) 梯度洗脱得到 Fr.1 ~ Fr.5。采用 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 0:100  $\rightarrow$  100:0, *V/V*) 对 Fr.2 (9.3 g) 进行分离后得到 Fr.2-1 ~ Fr.2-5。其中, Fr.2-3 (573.7 mg) 先利用硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 50:1, *V/V*) 分离, 而后再通过 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 纯化, 得化合物 1 (2.4 mg) 和化合物 2 (2.1 mg)。Fr.3 (40.3 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 50:1  $\rightarrow$  1:1, *V/V*) 分离得到 Fr.3-1 ~ Fr.3-9。Fr.3-8 (1.6 g) 通过硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 12:1, *V/V*) 分离, 后续利用 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 纯化, 得化合物 3 (3.5 mg)。Fr.3-9 (0.6 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 15:1, *V/V*) 分离, 后续利用 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 纯化, 得化合物 4 (3.2 mg)。Fr.3-6 (9.9 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 20:1  $\rightarrow$  5:1, *V/V*) 分离后得到 Fr.3-6-1 ~ Fr.3-6-6, 其中 Fr.3-6-3 再使用 HW40 柱色谱 (甲醇-水, 30:70, *V/V*) 进一步分离, 最后通过 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 纯化, 得化合物 5 (2.0 mg) 与化合物 6 (1.7 mg)。Fr.3-4 (12.2 g) 经 HW40 柱色谱 (甲醇-水, 35:65, *V/V*) 分离得到 Fr.3-4-1 ~ Fr.3-4-7, 其中 Fr.3-4-3 (3.1 g) 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇, 15:1, *V/V*) 分离, 再通过 Sephadex LH-20 (甲醇) 纯化, 得化合物 7 (2.2 mg) 和 8 (2.1 mg)。

### 2.2 抗真菌活性测定

采用二倍稀释法测定化合物的抗真菌活性。选取白色念珠菌 (*Candida albicans* CMCC 98001)



和黑曲霉菌 (*Aspergillus niger* R330.) 在沙氏葡萄糖琼脂培养基 (含 2% 葡萄糖、1% 蛋白胨和 1.8% 琼脂) 上于 28 °C 培养 4 ~ 7 d。收集孢子, 用 0.9% 生理盐水将浓度调整至  $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^9$  CFU/mL。随后, 将 100  $\mu$ L 的孢子悬液加入 200 mL 沙氏葡萄糖肉汤中, 制备成孢子液。待测化合物溶解于二甲基亚砜 (DMSO) 中, 配制成 1 mg/mL 的样品溶液。取 10  $\mu$ L 样品溶液与 190  $\mu$ L 孢子液加入

96 孔板进行混合后, 再依次用孢子液进行二倍稀释, 直至样品最低浓度达到 0.39  $\mu$ g/mL。卡泊芬净 (caspofungin) 用作阳性对照药, DMSO 用作阴性对照。将 96 孔板置于 28 °C 下孵育 48 h, 最后确定最低抑菌浓度 (MIC)。

### 3 结果

#### 3.1 结构鉴定

化合物 1 ~ 8 的化学结构见图 1。

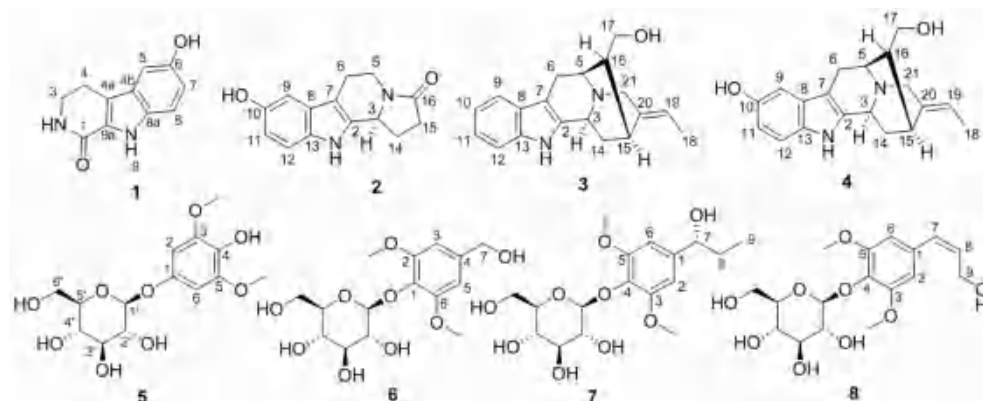


图 1 化合物 1 ~ 8 的化学结构

Fig 1 Chemical structures of compounds 1 ~ 8

化合物 1, 黄色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 203  $[M + H]^+$ , 分子式  $C_{11}H_{10}N_2O_2$ 。 $^1H$ -NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_H$ : 7.27 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-8), 6.91 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-5), 6.84 (1H, dd,  $J = 8.8, 2.4$  Hz, H-7), 3.62 (2H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-3), 2.94 (2H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-4);  $^{13}C$ -NMR (101 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_C$ : 165.1 (C-1), 152.2 (C-6), 134.3 (C-8a), 127.9 (C-4b), 127.1 (C-9a), 120.2 (C-4a), 116.9 (C-7), 114.1 (C-8), 104.3 (C-5), 42.8 (C-3), 21.6 (C-4)。以上数据与文献报道<sup>[9]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 1 为 6-羟基-3, 4-二氢-1-氧代- $\beta$ -咔啉 (6-hydroxy-3, 4-dihydro-1-oxo- $\beta$ -carboline)。

化合物 2, 淡黄色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 243  $[M + H]^+$ , 分子式  $C_{14}H_{14}N_2O_2$ 。 $[\alpha]_D^{20} - 84.3$  ( $c$  0.1, MeOH)。 $^1H$ -NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_H$ : 7.13 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-12), 6.79 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz, H-9), 6.65 (1H, dd,  $J = 8.6, 2.4$  Hz, H-11), 4.98 (1H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-3), 4.41 (1H, m, H-5b), 3.08 (1H, m, H-5a), 2.74 (2H, m, H-6), 2.64 (1H, m, H-14b), 2.62 (1H, m, H-15b), 2.44 (1H, dd,  $J = 14.4, 9.5$  Hz, H-15a), 1.90 (1H, m, H-14a);  $^{13}C$ -NMR (101 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_C$ : 176.5 (C-16), 152.0 (C-10), 136.1 (C-2), 133.5 (C-

13), 129.2 (C-8), 112.9 (C-12), 112.7 (C-11), 107.5 (C-7), 103.9 (C-9), 56.9 (C-3), 39.4 (C-5), 33.1 (C-15), 27.3 (C-14), 22.5 (C-6)。以上数据与文献报道<sup>[10]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 2 为沙棘酰胺 (hippophamide)。

化合物 3, 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 295  $[M + H]^+$ , 分子式  $C_{19}H_{22}N_2O$ 。 $[\alpha]_D^{20} - 129.3$  ( $c$  0.1, MeOH)。 $^1H$ -NMR (400 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_H$ : 7.39 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-9), 7.28 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-12), 7.05 (1H, td,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, H-11), 6.97 (1H, td,  $J = 7.7, 1.2$  Hz, H-10), 5.47 (1H, q,  $J = 6.8$  Hz, H-19), 4.19 (1H, d,  $J = 9.8$  Hz, H-3), 3.62 (1H, d,  $J = 16.6$  Hz, H-21a), 3.48 (1H, overlap, H-21b), 3.48 (2H, overlap, H-17), 3.03 (1H, dd,  $J = 15.4, 5.1$  Hz, H-6a), 2.88 (1H, m, H-5), 2.75 (1H, m, H-15), 2.70 (1H, d,  $J = 15.4$  Hz, H-6b), 2.12 (1H, ddd,  $J = 12.5, 10.3, 2.0$  Hz, H-14a), 1.86 (1H, q,  $J = 7.5$  Hz, H-16), 1.78 (1H, dt,  $J = 12.5, 3.8$  Hz, H-14b), 1.65 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>);  $^{13}C$ -NMR (101 MHz, methanol- $d_4$ )  $\delta_C$ : 139.2 (C-2), 138.2 (C-13), 136.1 (C-20), 128.8 (C-8), 122.1 (C-11), 119.8 (C-10), 118.6 (C-9), 118.2 (C-19), 112.0 (C-12), 104.4 (C-7), 65.1 (C-17), 56.6

(C-21), 56.2 (C-5), 51.8 (C-3), 45.5 (C-16), 34.5 (C-14), 28.7 (C-6), 27.8 (C-15), 13.0 (18-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道<sup>[11]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为降马桔星碱 B (normacusine B)。

化合物 **4**, 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 311  $[M + H]^+$ , 分子式 C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。  $[\alpha]_D^{20} - 22.0$  ( $c$  0.1, MeOH)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_H$ : 10.4 (1H, s, NH), 8.5 (1H, s, 10-OH), 7.04 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-12), 6.65 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-9), 6.50 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.3$  Hz, H-11), 5.31 (1H, q,  $J = 6.8$  Hz, H-19), 4.23 (1H, t,  $J = 5.1$  Hz, 17-OH), 4.09 (1H, brs, H-3), 3.45 (1H, d,  $J = 16.8$  Hz, H-21a), 3.36 ~ 3.15 (4H, overlap, H-6a, H-21b, H-17), 2.72 (2H, overlap, H-5, H-15), 2.40 (1H, d,  $J = 14.8$  Hz, H-6b), 1.91 (1H, ddd,  $J = 12.1, 10.0, 2.0$  Hz, H-14a), 1.62 (1H, q,  $J = 7.7$  Hz, H-16), 1.56 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, 18-CH<sub>3</sub>), 1.54 (1H, m, H-14b); <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_C$ : 150.2 (C-10), 140.2 (C-20), 137.5 (C-2), 130.5 (C-13), 128.0 (C-8), 114.8 (C-19), 111.2 (C-12), 109.1 (C-11), 102.2 (C-7), 101.9 (C-9), 63.4 (C-17), 55.6 (C-21), 54.4 (C-5), 49.9 (C-3), 44.3 (C-16), 33.6 (C-14), 27.4 (C-15), 26.9 (C-6), 12.6 (18-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道<sup>[12]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为蛇根精 (sarpagine)。

化合物 **5**, 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 355  $[M + Na]^+$ , 分子式 C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_H$ : 7.87 (1H, s, 4-OH), 6.37 (2H, s, H-2, 6), 4.68 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz, Glc-H-1'), 3.71 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.05 ~ 3.45 之间为糖上其他质子信号; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta_C$ : 150.3 (C-1), 148.1 (C-3, 5), 130.4 (C-4), 101.6 (C-1'), 95.0 (C-2, 6), 77.2 (C-5'), 76.8 (C-3'), 73.3 (C-2'), 70.1 (C-4'), 60.9 (C-6'), 55.8 (3, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道<sup>[13]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为科阿布拉昔 (koaburaside)。

化合物 **6**, 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 347  $[M + H]^+$ , 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_H$ : 6.70 (2H, s, H-3, 5), 4.85 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, Glc-H-1'), 4.55 (2H, s, H-7), 3.85 (6H, s, 2, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.80 ~ 3.20 之间为糖上其他质子信号; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_C$ : 154.2 (C-2, 6), 139.7 (C-4), 135.2 (C-1), 105.6

(C-3, 5), 105.4 (C-1'), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.7 (C-2'), 71.3 (C-4'), 65.1 (C-7), 62.5 (C-6'), 57.0 (2, 6-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道<sup>[14]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **6** 为 4-羟甲基-2, 6-二甲氧基苯酚-1-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (4-hydroxymethyl-2, 6-dimethoxyphenol-1-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物 **7**, 无色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 375  $[M + H]^+$ , 分子式 C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_H$ : 6.69 (2H, s, H-2, 6), 4.84 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, Glc-H-1'), 4.48 (1H, t,  $J = 6.6$  Hz, H-7), 3.85 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 1.72 (2H, m, H-8), 0.92 (3H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-9), 3.20 ~ 3.80 之间为糖上其他质子信号; <sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_C$ : 154.1 (C-3, 5), 143.4 (C-1), 135.2 (C-4), 105.5 (C-1'), 104.9 (C-2, 6), 75.7 (C-7), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 76.6 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.5 (C-6'), 57.0 (3, 5-OCH<sub>3</sub>), 33.0 (C-8), 10.6 (C-9)。以上数据与文献报道<sup>[15]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **7** 为 (1'*R*)-1'-(4-羟基-3, 5-二甲氧基苯基)丙-1'-醇-4-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 [(1'*R*)-1'-(4-hydroxy-3, 5-dimethoxyphenyl) propan-1'-ol-4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside]。

化合物 **8**, 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 373  $[M + H]^+$ , 分子式 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_H$ : 6.59 (2H, s, H-2, 6), 6.50 (1H, dt,  $J = 11.8, 1.8$  Hz, H-7), 5.82 (1H, dt,  $J = 11.8, 6.5$  Hz, H-8), 4.90 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz, Glc-H-1'), 4.35 (2H, dd,  $J = 6.5, 1.8$  Hz, H-9), 3.85 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.20 ~ 3.80 之间为糖上其他质子信号; <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta_C$ : 154.0 (C-3, 5), 135.6 (C-4), 134.7 (C-1), 132.5 (C-7), 131.5 (C-8), 108.0 (C-2, 6), 105.3 (C-1'), 78.4 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.7 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.6 (C-6'), 59.8 (C-9), 57.1 (3, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献报道<sup>[16]</sup>基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为顺式-紫丁香苷 (cis-syringin)。

### 3.2 抗真菌活性

化合物 **7** 和 **8** 对菌株 *Aspergillus niger* R330. 具有一定程度的抑制作用, MIC 均为 50  $\mu$ g/mL。化合物 **1** 以及 **4** ~ **8** 对菌株 *Candida albicans* CMCC 98001 具有一定程度的抑制作用, MIC 均为 50  $\mu$ g/mL。其他化合物在 100  $\mu$ g/mL 的质量浓度下对两株真菌未产生抑制作用, 具体结果见表 1。

表 1 化合物 1 ~ 8 的抗真菌活性  
Tab 1 Antifungal activity of compounds 1 ~ 8

| 化合物  | MIC/ ( $\mu\text{g/mL}$ )     |                                    |
|------|-------------------------------|------------------------------------|
|      | <i>Aspergillus niger</i> R330 | <i>Candida albicans</i> CMCC 98001 |
| 1    | > 100.00                      | 50.00                              |
| 2    | > 100.00                      | > 100.00                           |
| 3    | > 100.00                      | > 100.00                           |
| 4    | > 100.00                      | 50.00                              |
| 5    | > 100.00                      | 50.00                              |
| 6    | > 100.00                      | 50.00                              |
| 7    | 50.00                         | 50.00                              |
| 8    | 50.00                         | 50.00                              |
| 卡泊芬净 | 6.25                          | 12.50                              |

#### 4 结果与讨论

目前,关于羊角棉植物化学成分的研究主要是针对其生物碱类成分或中、低极性的化学成分,而本文主要针对其高极性化合物部位(总提物 MCI 柱 30% 乙醇洗脱部位)的成分进行系统分离。目前已从该部位获得 40 个化合物,这些化学成分整体极性偏高,其中约半数以上为糖苷类成分,并以苯衍生物类糖苷为主,因此,本文选取了 4 个鸡骨常山属植物首次分离获得的苯衍生物类糖苷化合物 5 ~ 8 进行报道。鸡骨常山属植物富含吲哚生物碱类成分,利用薄层色谱法结合碘化铋钾显色分析,此类成分主要聚集在 MCI 柱 60% 以及 90% 乙醇洗脱部位,而 30% 乙醇洗脱部位生物碱类化合物的数目以及含量相对较少。目前从 30% 乙醇洗脱部位分离获得 9 个吲哚类生物碱,从结构上分析,它们均含有极性基团羟基,因此,出现在高极性化合物富集的部位。本文选取了 4 个吲哚类生物碱(1 ~ 4)进行报道,其中化合物 1 和 2 为鸡骨常山属植物首次分离。

综上所述,化合物 1、2 以及 5 ~ 8 是从鸡骨常山属植物中首次分离鉴定。羊角棉在民间常外用治疗疥癣等皮肤疾病,因此,本文对上述分离的化合物进行了抗真菌活性的初步评价。苯丙素类糖苷化合物 7 和 8 对 *Aspergillus niger* R330 与 *Candida albicans* CMCC 98001 两株真菌均展现一定程度的抑制作用,但对比阳性药

物其抗真菌活性均相对较弱,后续可以对其其他部位的化合物进行相关活性评价,深入挖掘其潜在药用价值。

#### 参考文献

- [1] 王潇,孔文茹,杨纯国,等.羊角棉总生物碱提取及纯化工艺研究[J].食品与药品,2025,27(4):301-306.
- [2] 田建平,胡远艳,杨卫丽,等.夹竹桃科植物叶表皮特征及其系统学研究[J].西北植物学报,2013,33(6):1151-1158.
- [3] 李淑敏,杨俊玲,刘艳萍,等.羊角棉中非生物碱类化学成分研究[J].中草药,2015,46(18):2683-2688.
- [4] 秦文秀,于硕,李畅,等.羊角棉枝叶的化学成分研究[J].中南药学,2025,23(6):1653-1658.
- [5] 王立柯,李冰燕,赵珍珠,等.羊角棉中 1 个新的糖苷类化合物[J].药学报,2025,60(1):191-195.
- [6] Li YQ, Cai J, Cheng JX, et al. Alstomairines D ~ G: new monoterpenoid indole alkaloids with cytotoxic activity from *Alstonia mairei* [J]. J Mol Struct, 2022, 1253: 132277.
- [7] Yan TL, Han DX, Hu J, et al. Monoterpenoid indole alkaloids from *Alstonia mairei* and their cytotoxicity [J]. J Asian Nat Prod Res, 2017, 19(6): 550-556.
- [8] Cai XH, Zeng CX, Feng T, et al. Monoterpenoid indole alkaloids from *Alstonia mairei* [J]. Helv Chim Acta, 2010, 93(11): 2037-2044.
- [9] So WW, Li B, Li JK. A new lignan from *Elaeagnus lanceolata* [J]. Plant Divers, 2010, 32(5): 455-462.
- [10] Ouyang J, Zhou WN, Li G, et al. Three new alkaloids from *Hippophae rhamnoides* Linn. Sub sp. sinensis Rousi [J]. Helv Chim Acta, 2015, 98(9): 1287-1291.
- [11] 吴昊,宋京凤,范堃,等.云南萝芙木根中吲哚生物碱及其抗菌活性[J].中草药,2023,54(4):1033-1042.
- [12] 李文静,野津,杨德柱,等.萝芙木中的化学成分与结构鉴定研究[J].中国当代医药,2016,23(25):4-8-15.
- [13] 瞿璐,李晓霞,陈玥,等.鸡血藤中的酚酸类化合物[J].热带亚热带植物学报,2014,22(3):301-306.
- [14] 欧阳春杰,贾芳欣,黄佳佳,等.铁皮石斛花中杂环类和酚苷类成分研究[J].中国中药杂志,2023,48(15):4115-4123.
- [15] 张璐,向伦理,杨琳垚,等.苗药大黄药的化学成分研究[J].中药材,2019,42(4):785-789.
- [16] 李军,姜勇,屠鹏飞.密花远志的化学成分研究(II)[J].中国中药杂志,2006,31(1):45-47.

(收稿日期:2025-11-03;修回日期:2025-12-05)



# 基于 AHP-CRITIC 复合加权法结合正交设计优选 人参 - 西洋参 1 : 1 配伍水提工艺

吴晶晶, 孙晶, 杨祯, 张梓婧, 戴俊东\*, 董玲\* (北京中医药大学, 北京 102488)

**摘要:** 目的 确定指标权重, 优选人参 - 西洋参 1 : 1 配伍水提工艺。方法 以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rf、Rb<sub>1</sub>、Rc 含量和干膏率为指标, 通过 AHP-CRITIC 复合加权法确定各指标权重系数, 结合 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验表考察液料比、煎煮时间、煎煮次数对人参 - 西洋参 1 : 1 配伍水提工艺的影响, 优选最佳水提工艺。结果 通过 AHP-CRITIC 法确定的权重系数与正交试验综合评分法所得综合评分结果, 优选出的最佳水提工艺为药材加 10 倍量水, 煎煮 3 次, 每次 30 min。结论 优选得到的工艺条件稳定可行, 可为人参 - 西洋参复方后续产品开发提供参考。

**关键词:** 人参; 西洋参; 多指标测定; AHP-CRITIC 复合加权法; 正交设计

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-146-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.021

## Optimization of water extraction process for the 1 : 1 combination of Panax ginseng and Panax quinquefolius based on AHP-CRITIC composite weighting method plus orthogonal design

WU Jingjing, SUN Jing, YANG Zhen, ZHANG Zijong, DAI Jundong\*, DONG Ling\* (Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488)

**Abstract: Objective** To determine the index weight, optimize the water extraction of the 1 : 1 combination of Panax ginseng and Panax quinquefolius. **Methods** The weight coefficients of indicators including the contents of ginsenosides Rg<sub>1</sub>, Re, Rf, Rb<sub>1</sub>, Rc and dry extract yield were determined with AHP-CRITIC composite weighting method. Combined with L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal design, the effects of liquid-to-material ratio, decoction time, and number of decoctions on the water extraction process for the 1 : 1 combination of Panax ginseng and Panax quinquefolius were determined. Comprehensive scoring method was used to analyze the orthogonal experimental results, ultimately optimizing the optimal water extraction parameters. **Results** The optimal extraction based on the comprehensive evaluation by combining the weight coefficients by the AHP-CRITIC methodology with the orthogonal experimental scoring method was as follows: extracting the medicinal materials three times with 10 times the amount of water, lasting for 30 minutes. **Conclusion** The optimized water extraction parameters are stable and feasible, providing a reference for the subsequent development of Panax ginseng and Panax quinquefolius compound preparations.

**Key words:** Panax ginseng; Panax quinquefolius; multi-index determination; AHP-CRITIC composite weighting method; orthogonal design

人参 (*Panax ginseng* C.A.Mey.) 与西洋参 (*Panax quinquefolium* L.) 为五加科植物多年生草本植物, 作为传统名贵中药材, 在临床应用中具有重要地位。

人参具有大补元气、复脉固脱等功效<sup>[1]</sup>, 《神农本草经》谓其“主补五脏, 安精神, 定魂魄, 止惊悸, 除邪气, 明目, 开心益智”。西洋参具有补气养阴、清

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (No.82003943); 北京中医药薪火传承“新 3 + 3”工程示范案例项目 (No.2023-ZYSF-15)。

**作者简介:** 吴晶晶, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药药剂学研究, email: a3175522168@163.com \*通信作者: 戴俊东, 男, 副教授, 主要从事分子药剂学与纳米靶向给药系统研究, email: daijd@163.com; 董玲, 女, 研究员, 主要从事中药标准化、中药生物药剂学、中药制剂新技术研究, email: dongling@bucm.edu.cn

热生津的功效<sup>[1]</sup>,《本草从新》记载其“补肺降火,生津液,除烦倦,虚而有火者相宜”。《黄帝内经》提出“阴在内,阳之守也;阳在外,阴之使也”,强调阴阳互根互用。人参性温,主补阳气,善补脾肺元气;西洋参性凉,主补阴液,善清虚火、养阴生津。两者 1:1 配伍可体现阴阳互补,既补气又不助热,养阴而不碍阳,使复方性质趋于平和,符合“阴平阳秘”的调理原则。1:1 配伍在经典方剂生脉散等名方化裁中常有体现,是临床常用配伍比例。

现代药理研究表明,人参和西洋参含有多种活性成分,人参皂苷具有抗肿瘤<sup>[2]</sup>、增强免疫<sup>[3]</sup>、保护心脑血管<sup>[4]</sup>、调节中枢神经系统<sup>[5]</sup>及抗疲劳<sup>[6]</sup>等多种药理作用,已被公认为两者的主要活性成分之一。目前已报道的人参皂苷约有 200 种<sup>[7]</sup>,人参的主要人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rf、Rb<sub>1</sub>、Rc 等占人参总皂苷的 90% 以上<sup>[8-9]</sup>;西洋参中人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、Re、Rg<sub>1</sub>、Rc 等同样占总皂苷的 90% 以上<sup>[10-11]</sup>,是评价其质量的重要指标。中药复方的药效发挥与其提取工艺密切相关,提取条件直接影响有效成分的溶出效率与稳定性,进而决定制剂的质量与临床疗效。因此,优化人参-西洋参配伍的提取工艺,对其复方制剂的开发与应用具有重要意义。目前,关于中药提取工艺的优化多是在单因素试验的基础上进行正交设计,试验结果会受到随机误差的影响<sup>[12]</sup>。因此,亟需结合主客观权重的复合评价模型提高权重赋值的科学性。

基于此,本试验以人参和西洋参中 5 个主要皂苷类成分含量和干膏率为指标,拟对人参-西洋参 1:1 配伍水提过程中的浸液料比、煎煮时间、煎煮次数进行考察,通过层次分析法-指标相关性的权重确定法(AHP-CRITIC)复合加权法确定各指标权重系数,结合正交试验设计优选人参-西洋参复方水提工艺,以期为该复方制剂的开发与应用提供依据。

## 1 材料

LC-20ADXR 高效液相色谱仪[岛津企业管理(中国)有限公司];SQP 电子分析天平[赛多利斯科学仪器有限公司];RE-501 旋转蒸发器(北京神泰伟业仪器设备有限公司);KQ-500DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

人参、西洋参饮片(批号:20241129,白山林村中药开发有限公司),经北京中医药大学王晶娟教授鉴定为正品;对照品人参皂苷 Rg<sub>1</sub>(批号:23011412,纯度≥98%)、人参皂苷 Re(批号:23012405,纯度≥98%)、人参皂苷 Rf(批号:23071411,纯度≥98%)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>(批号:23021701,纯度≥98%)、人参皂苷 Rc(批号:224061517,纯度≥98%)(北京倍特仁康生

物医药科技有限公司);乙腈、磷酸均为色谱级,水为娃哈哈饮用水,其余试剂均为分析纯。

## 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:Atlantis d C18 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1% 磷酸水溶液(B),梯度洗脱(0~10 min, 81%~80%B;10~25 min, 80%~78%B;25~35 min, 78%~75%B;35~50 min, 75%~71%B;50~60 min, 71%~69%B;60~70 min, 69%~62%B;70~85 min, 62%~50%B);柱温 30℃;进样量 10 μL;检测波长 203 nm;流速 1 mL/min。

**2.1.2 混合对照品溶液的制备** 精密称取人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rf、Rb<sub>1</sub>、Rc 对照品适量于量瓶中,加甲醇溶解制成质量浓度分别为 1.05、1.26、0.84、2.00、1.15 mg/mL 的混合对照品溶液,冷藏备用。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 精密量取样品提取液 1 mL 于 5 mL 量瓶中,加入甲醇定容,摇匀后以 500 W 功率超声辅助提取 15 min,冷却至室温,加甲醇补足重量,摇匀,过滤,取续滤液,0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.4 空白溶剂** 取甲醇溶液,用 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得。

**2.1.5 专属性考察** 分别精密吸取空白溶剂、混合对照品溶液、供试品溶液适量,在“2.1.1”项色谱条件下进样测定,结果见图 1。供试品溶液和混合对照品溶液在同一保留时间处有相同色谱峰,空白溶剂无干扰,表明该方法专属性良好。

**2.1.6 线性关系考察** 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液适量,用甲醇稀释成系列浓度,按“2.1.1”项下色谱条件进样分析,以对照品溶液的质量浓度(mg/mL)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,结果见表 1,各成分在各自质量浓度范围内与峰面积线性关系良好。

表 1 5 种人参皂苷的线性关系

Tab 1 Linear relationships of the 5 ginsenosides

| 成分                   | 回归方程                                    | <i>r</i> | 线性范围/(mg/mL) |
|----------------------|-----------------------------------------|----------|--------------|
| 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> | $Y = 4 \times 10^6 X - 1.1 \times 10^5$ | 0.9997   | 0.05 ~ 1.05  |
| 人参皂苷 Re              | $Y = 3 \times 10^6 X - 1.1 \times 10^5$ | 0.9997   | 0.06 ~ 1.26  |
| 人参皂苷 Rf              | $Y = 5 \times 10^6 X - 5.9 \times 10^4$ | 0.9998   | 0.02 ~ 0.84  |
| 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> | $Y = 3 \times 10^6 X - 1.4 \times 10^5$ | 0.9998   | 0.10 ~ 2.00  |
| 人参皂苷 Rc              | $Y = 3 \times 10^6 X - 8.8 \times 10^4$ | 0.9997   | 0.06 ~ 1.15  |

**2.1.7 精密度试验** 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次。计算得人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rf、Rb<sub>1</sub>、Rc 峰面积的 RSD 分别为 0.67%、1.1%、0.19%、0.15%、0.15%,表明仪器精密度良好。

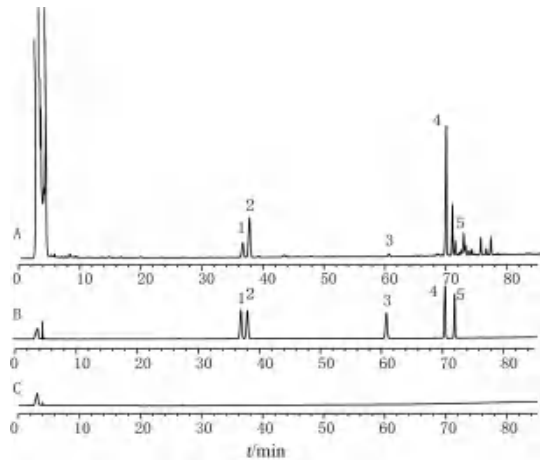


图1 人参-西洋参 1 : 1 配伍水提液中 5 种人参皂苷 HPLC 色谱图  
Fig 1 HPLC chromatogram of 5 ginsenosides in the 1 : 1 combination of Panax ginseng and Panax quinquefolius water extract

A. 供试品 (sample); B. 混合对照品 (mixed reference substances); C. 空白溶剂 (blank solvent); 1. 人参皂苷  $Rg_1$  (ginsenoside  $Rg_1$ ); 2. 人参皂苷  $Re$  (ginsenoside  $Re$ ); 3. 人参皂苷  $Rf$  (ginsenoside  $Rf$ ); 4. 人参皂苷  $Rb_1$  (ginsenoside  $Rb_1$ ); 5. 人参皂苷  $Rc$  (ginsenoside  $Rc$ )

**2.1.8 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件在 0、2、4、8、12、24 h 分别进样测定。计算得人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  峰面积的  $RSD$  分别为 1.4%、0.93%、1.2%、1.7%、1.2%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.1.9 重复性试验** 取同一批供试品, 按“2.1.3”项下条件平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件依次进样检测, 计算得人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量的  $RSD$  分别为 0.68%、0.53%、

1.4%、1.0%、0.67%, 表明该方法重复性良好。

**2.1.10 加样回收试验** 精密吸取各成分含量已知的供试品溶液 9 份, 每份 1 mL, 分别加入高、中、低 3 个浓度的混合对照品溶液, 每个浓度 3 份, 按“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 计算得各指标的平均加样回收率均在 97.53% ~ 100.13%,  $RSD$  均在 0.86% ~ 2.0%, 表明该含量测定方法准确度良好。

**2.2 干膏率测定**

精密量取 20 mL 人参-西洋参 1 : 1 配伍水提液, 置已干燥至恒重的蒸发皿中, 水浴蒸干, 于 105 °C 干燥 3 h, 取出, 置干燥器中冷却 30 min, 精密称定重量, 根据公式: 干膏率 (%) = 干膏质量 / 药材质量  $\times$  100%, 计算干膏率。

**2.3 指标权重的确定**

**2.3.1 AHP 法确定权重** 本文以干膏率及人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量作为权重指标予以量化, 本研究根据各指标成分含量高低、结合文献<sup>[13-16]</sup>, 将 6 个指标分为 3 个层次, 确定指标优先顺序为: 人参皂苷  $Rg_1$  = 人参皂苷  $Re$  = 人参皂苷  $Rb_1$  > 人参皂苷  $Rf$  = 人参皂苷  $Rc$  > 干膏率, 构建优先矩阵见表 2, 借助在线分析软件 SPSSPRO 进行 AHP 层次分析, 得出人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量及干膏率的权重系数分别为 0.26、0.26、0.10、0.26、0.10、0.04, 一致性比例因子 ( $CR$ ) < 0.10, 表明矩阵符合一致性检验, 权重系数合理有效。

表 2 人参-西洋参 1 : 1 配伍各指标成对比较的判断矩阵及权重

Tab 2 Judgment matrix and weights for pairwise comparisons of indicators in the 1 : 1 Panax ginseng and Panax quinquefolius combination

| 成分          | 人参皂苷 $Rg_1$ | 人参皂苷 $Re$ | 人参皂苷 $Rf$ | 人参皂苷 $Rb_1$ | 人参皂苷 $Rc$ | 干膏率 |
|-------------|-------------|-----------|-----------|-------------|-----------|-----|
| 人参皂苷 $Rg_1$ | 1           | 1         | 3         | 1           | 3         | 5   |
| 人参皂苷 $Re$   | 1           | 1         | 3         | 1           | 3         | 5   |
| 人参皂苷 $Rf$   | 1/3         | 1/3       | 1         | 1/3         | 1         | 3   |
| 人参皂苷 $Rb_1$ | 1           | 1         | 3         | 1           | 3         | 5   |
| 人参皂苷 $Rc$   | 1/3         | 1/3       | 1         | 1/3         | 1         | 3   |
| 干膏率         | 1/5         | 1/5       | 1/3       | 1/5         | 1/3       | 1   |

**2.3.2 CRITIC 法确定权重系数** 将各指标的数据按公式 [ 标准化数值 = ( 实测值 - 最小值 ) / ( 最大值 - 最小值 ) ] 进行标准化处理<sup>[17]</sup>, 使用在线分析软件 SPSSPRO 处理数据, 计算得到人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量及干膏率的权重系数分别为 0.12、0.15、0.10、0.19、0.25、0.20。

**2.3.3 AHP-CRITIC 复合加权法确定权重系数** 采用 AHP-CRITIC 复合加权法评价权重, 计算公式为  $w_{AHP-CRITIC} = w_{AHPij} \times w_{CRITICij} / \sum w_{AHPij} w_{CRITICij}$ , 其中  $w_{AHPij}$  和  $w_{CRITICij}$  分别是 AHP 和 CRITIC 的权重

系数<sup>[18-20]</sup>, 得到人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量及干膏率各指标权重系数分别为 0.19、0.19、0.09、0.20、0.18、0.15。

**2.4 正交试验设计**

根据前期预试验和相关文献<sup>[21-23]</sup>, 以料液比 (A)、煎煮时间 (B)、煎煮次数 (C) 为考察因素, 以人参皂苷  $Rg_1$ 、 $Re$ 、 $Rf$ 、 $Rb_1$ 、 $Rc$  含量及干膏率为测定指标, 采用  $L_9 (3^4)$  正交表进行试验, 因素水平表见表 3。

分别精密称取人参和西洋参饮片各 25 g, 按



表 3 人参-西洋参 1:1 配伍水提工艺正交试验因素与水平设计  
Tab 3 Orthogonal test factors and level design of water extraction process for the 1:1 Panax ginseng and Panax quinquefolius combination

| 水平 | A 料液比 / (g/mL) | B 煎煮时间 /min | C 煎煮次数 / 次 |
|----|----------------|-------------|------------|
| 1  | 1:6            | 30          | 1          |
| 2  | 1:8            | 60          | 2          |
| 3  | 1:10           | 90          | 3          |

正交试验方案进行煎煮,水煎液经 200 目筛网过滤后,于 60℃ 下减压浓缩至终体积为 100 mL,即得样品提取液。

### 2.5 综合评分的比较与确定

分别根据 AHP、CRITIC、AHP-CRITIC 复合加权法得到的权重系数对正交试验结果进行综合评分,结果见表 4。运用在线分析软件 SPSSPRO 进行相关性分析。结果显示,AHP 法与 CRITIC 法的相关系数为 0.999,AHP 法、CRITIC 法与 AHP-CRITIC 复合加权法的相关系数均为 1.000,且三者相关性显著 ( $P < 0.01$ )。说明通过 3 种方法得到的综合评分结果具备一致性。AHP 法与 CRITIC 法权重系数的相关系数为 -0.339,两者相关性不显著 ( $P > 0.05$ ),说明所反映的信息不具叠加性。基于上述分析,本研究最终采用 AHP-CRITIC 复合加权法确定各指标权重,并按以下公式计算综合评分:

综合评分 = [(人参皂苷  $R_{g1}$  含量 / 人参皂苷  $R_{g1}$  含量最大值)  $\times 0.19$  + (人参皂苷  $R_e$  含量 / 人参皂苷

$R_e$  含量最大值)  $\times 0.19$  + (人参皂苷  $R_f$  含量 / 人参皂苷  $R_f$  含量最大值)  $\times 0.09$  + (人参皂苷  $R_{b1}$  含量 / 人参皂苷  $R_{b1}$  含量最大值)  $\times 0.20$  + (人参皂苷  $R_c$  含量 / 人参皂苷  $R_c$  含量最大值)  $\times 0.18$  + (干膏率 / 干膏率最大值)  $\times 0.15]$   $\times 100$ 。

表 4 不同权重分析方法的综合评分

Tab 4 Comprehensive scores of different weighting analysis methods

| 编号 | AHP   | CRITIC | AHP-CRITIC |
|----|-------|--------|------------|
| 1  | 45.67 | 43.33  | 44.14      |
| 2  | 74.29 | 73.34  | 73.38      |
| 3  | 87.04 | 85.81  | 85.80      |
| 4  | 80.96 | 77.29  | 78.70      |
| 5  | 96.95 | 94.94  | 95.45      |
| 6  | 55.67 | 54.42  | 54.63      |
| 7  | 97.35 | 96.81  | 97.17      |
| 8  | 67.39 | 65.61  | 66.15      |
| 9  | 89.01 | 87.02  | 87.58      |

### 2.6 正交试验结果与分析

正交试验结果见表 5,方差分析结果见表 6。根据直观分析可知,影响人参-西洋参配伍水提工艺的主次顺序为煎煮次数 (C)  $>$  料液比 (A)  $>$  煎煮时间 (B)。由方差分析结果可知,煎煮次数 (C) 和料液比 (A) 对综合评分的影响有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。因此,确定最佳工艺为  $A_3B_1C_3$ ,即 10 倍量水,煎煮 3 次,每次 30 min。

表 5 人参-西洋参 1:1 配伍水提工艺的正交试验与综合评分结果

Tab 5 Orthogonal test and comprehensive score of water extraction process of the 1:1 Ginseng and Panax quinquefolius combination

| 编号    | A      | B      | C      | 质量分数 / (mg/mL) |            |            |               |            | 干膏率 /% | 综合评分  |
|-------|--------|--------|--------|----------------|------------|------------|---------------|------------|--------|-------|
|       |        |        |        | 人参皂苷 $R_{g1}$  | 人参皂苷 $R_e$ | 人参皂苷 $R_f$ | 人参皂苷 $R_{b1}$ | 人参皂苷 $R_c$ |        |       |
| 1     | 1      | 1      | 1      | 0.51           | 1.35       | 0.11       | 2.49          | 0.49       | 12.17  | 44.14 |
| 2     | 1      | 2      | 2      | 0.77           | 2.05       | 0.15       | 4.61          | 0.94       | 20.57  | 73.38 |
| 3     | 1      | 3      | 3      | 0.87           | 2.46       | 0.18       | 5.48          | 1.12       | 23.13  | 85.80 |
| 4     | 2      | 1      | 2      | 0.88           | 2.55       | 0.17       | 4.44          | 0.85       | 23.60  | 78.70 |
| 5     | 2      | 2      | 3      | 1.02           | 2.78       | 0.20       | 5.87          | 1.15       | 28.02  | 95.45 |
| 6     | 2      | 3      | 1      | 0.57           | 1.61       | 0.12       | 3.36          | 0.67       | 15.16  | 54.63 |
| 7     | 3      | 1      | 3      | 1.06           | 2.90       | 0.20       | 5.41          | 1.07       | 34.23  | 97.17 |
| 8     | 3      | 2      | 1      | 0.72           | 1.98       | 0.14       | 3.87          | 0.79       | 19.29  | 66.15 |
| 9     | 3      | 3      | 2      | 0.91           | 2.67       | 0.18       | 5.35          | 1.03       | 26.28  | 87.58 |
| $K_1$ | 203.32 | 220.00 | 186.35 |                |            |            |               |            |        |       |
| $K_2$ | 228.78 | 234.99 | 239.66 |                |            |            |               |            |        |       |
| $K_3$ | 250.90 | 228.01 | 278.43 |                |            |            |               |            |        |       |
| $R$   | 15.86  | 4.99   | 30.69  |                |            |            |               |            |        |       |

### 2.7 工艺验证

根据优选出来的人参-西洋参配伍水提工艺,进行 3 批验证试验,结果见表 7。结果表明,验证试验的 3 批结果与优选工艺的结果基本一致,各指标  $RSD < 3.0\%$ ,表明该工艺重现性良好。

### 3 讨论

中药复方具有“多成分、多靶点、整合调节”的特点,其临床疗效依赖于多种活性成分的协同作用。在提取过程中,仅依赖单一指标难以全面评估工艺效果<sup>[24-25]</sup>。多指标综合评价能综合考虑

表 6 人参-西洋参 1 : 1 配伍水提工艺的正交试验结果方差分析

Tab 6 Analysis of variance for the orthogonal test of the 1 : 1 Ginseng and Panax quinquefolius water extraction process

| 方差来源   | 离差平方和   | 自由度 | F 值    | P 值     |
|--------|---------|-----|--------|---------|
| A 料液比  | 378.03  | 2   | 73.98  | 0.01    |
| B 煎煮时间 | 37.48   | 2   | 7.33   | 0.12    |
| C 煎煮次数 | 2219.17 | 2   | 434.27 | < 0.001 |
| 误差     | 5.11    | 2   |        |         |

表 7 最佳水提工艺的验证结果

Tab 7 Validation of the optimal water extraction process

| 序号      | 质量分数 / ( mg/mL )     |         |         |                      |         | 干膏率 / % |
|---------|----------------------|---------|---------|----------------------|---------|---------|
|         | 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> | 人参皂苷 Re | 人参皂苷 Rf | 人参皂苷 Rb <sub>1</sub> | 人参皂苷 Rc |         |
| 1       | 1.08                 | 2.97    | 0.20    | 5.50                 | 1.08    | 35.12   |
| 2       | 1.05                 | 2.90    | 0.20    | 5.40                 | 1.07    | 34.95   |
| 3       | 1.05                 | 2.91    | 0.20    | 5.49                 | 1.08    | 36.35   |
| RSD / % | 1.6                  | 1.3     | 1.5     | 1.1                  | 0.61    | 2.16    |

分法，权重系数的建立是多指标评价中主要考虑的问题。根据权重产生方法的不同，多指标综合评价方法分为主观赋权法、客观赋权法和主客观结合法。AHP 法是研究者根据经验进行指标间重要性的比较，构建判断矩阵，建立层次模型，从而计算出不同指标的权重系数的一种主观赋权法，存在一定的个人经验不足等主观判断影响。CRITIC 法是根据评价指标的对比强度和冲突性来综合衡量计算指标客观权重的一种客观赋权法，可消除个人经验等干扰，但会造成各指标间重要性差异关系的极大弱化<sup>[27]</sup>。为克服单一赋权方法的局限性，本研究综合两种方法之优势，采用 AHP-CRITIC 复合加权法，在提供理论依据的基础上增加客观性从而确定了各指标更加合理的权重，相较于单一赋权方法，能够更加全面、科学地反映评价体系的稳定性与可靠性，所得综合评分更能科学合理地反映工艺参数的实际影响。

本研究以人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rf、Rb<sub>1</sub>、Rc 含量及干膏率为指标，采用 AHP-CRITIC 复合加权法结合正交设计，优选出人参-西洋参 1 : 1 配伍的最佳水提工艺为复方饮片加 10 倍量水，煎煮 3 次，每次 30 min。该结果通过 3 批验证试验证实稳定可靠，为该复方的后续开发提供了可靠依据。

参考文献

[1] 中国药典 2025 年版. 一部[S]. 2025: 9.

[2] Xie NN, Wu CY, Ge Q, et al. Structure-specific antitumor effects and potential gut microbiota-involved mechanisms of ginseng polysaccharides on B16F10 melanoma-bearing mice [J]. Food Funct, 2023, 14 ( 2 ) : 796-809.

[3] Jin X, Wu YT, Zhang Y, et al. Overcoming acquired im-

munotherapy resistance in non-small cell lung cancer using ginsenoside Rb<sub>1</sub>-loaded, peptide-enhanced exosome delivery systems [J]. J Nanobiotechnol, 2025, 23 ( 1 ) : 443.

[4] 王巍, 苏光悦, 胡婉琦, 等. 近 10 年人参皂苷对心血管疾病的药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47 ( 20 ) : 3736-3741.

[5] 夏子怡, 车晓青, 李文, 等. 基于双向调节药效的人参、西洋参和三七中药质量标志物研究 [J]. 世界中医药, 2023, 18 ( 3 ) : 421-424.

[6] Zhang YH, Yang G, Gao YS, et al. Total minor ginsenosides exert anti-fatigue effects via antioxidant, anti-inflammatory, regulating gut microbiota and serum metabolism [J]. Life Sci, 2024, 359: 123231.

[7] Park SK, Hyun SH, In G, et al. The antioxidant activities of Korean Red Ginseng ( Panax ginseng ) and ginsenosides: a systemic review through in vivo and clinical trials [J]. J Ginseng Res, 2021, 45 ( 1 ) : 41-47.

[8] Shi ZY, Zeng JZ, Wong AST. Chemical structures and pharmacological profiles of ginseng saponins [J]. Molecules, 2019, 24 ( 13 ) : 2443.

[9] 胡杨, 李先芝, 毛琼丽, 等. 高效液相色谱法测定人参保健酒中 11 种人参皂苷含量 [J]. 中国酿造, 2024, 43 ( 3 ) : 229-233.

[10] 鲁辉, 吴杨, 闵春艳. 基于 UPLC 一测多评法测定西洋参及其保健食品中人参皂苷的含量 [J]. 食品与药品, 2018, 20 ( 3 ) : 173-179.

[11] 徐灿辉, 何维为. 西洋参保健食品中 7 种人参皂苷的高效液相色谱法测定 [J]. 食品与药品, 2015, 17 ( 4 ) : 273-277.

[12] 赵娟娟, 叶侃侃, 叶芷希, 等. 苓黄利咽颗粒提取工艺优化及其质量控制 [J]. 中成药, 2025, 47 ( 7 ) : 2354-2358.

[13] 黄钰芳, 陈亚明, 曹瑞, 等. 层次分析-指标相关性赋权系数法赋权的响应面法优化黄芩提取工艺及其抗炎活性研究 [J]. 中国新药杂志, 2023, 32 ( 13 ) : 1377-1384.

[14] 王永祥, 朱志军, 李莹丽, 等. 基于多指标权重分析和

- 均匀设计法优选人参提取工艺[J]. 中国药师, 2020, 23(2): 345-348.
- [15] 刘小妹, 王姗姗, 施崇精, 等. 基于 AHP-CRITIC 权重分析的 Box-Behnken 响应面法优化参膝口服液提取工艺研究[J]. 中药材, 2019, 42(1): 150-155.
- [16] 朱芝慧, 龚芬芳, 李慧, 等. 基于 AHP-CRITIC 混合加权法结合正交设计优选参芪益气方提取工艺研究[J]. 亚太传统医药, 2023, 19(11): 28-34.
- [17] 张娇, 蒋倩倩, 张伯言, 等. 基于 AHP-CRITIC 法正交优选乌甘袋泡茶提取工艺及抗炎作用研究[J]. 中草药, 2020, 51(8): 2177-2184.
- [18] 俞越童, 邹慧琴, 姚月保, 等. 基于 AHP-CRITIC 法结合正交设计优选复方血竭跌打膏中四味中药提取工艺[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(8): 2807-2816.
- [19] Jiang LD, Zhang WD, Zhao WB, et al. Optimization of ethanol extraction technology for yujin powder using response surface methodology with a Box-Behnken design based on analytic hierarchy process-criteria importance through intercriteria correlation weight analysis and its safety evaluation[J]. *Molecules*, 2023, 28(24): 8124.
- [20] Ji P, Li CC, Wei YM, et al. Screening study of blood-supplementing active components in water decoction of *Angelica sinensis* processed with yellow rice wine based on response surface methodology[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 1176-1185.
- [21] 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, 26(10): 1773-1781.
- [22] 赵唯年, 赵丽娟, 刘玉婷, 等. 三七-西洋参药物配伍中皂苷类提取工艺优化[J]. 中国药师, 2022, 25(9): 1557-1562.
- [23] 刘宇, 郑蕊, 李浩, 等. 基于 AHP 法结合正交试验法优选参麻益智方水提工艺[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(12): 40-44.
- [24] 郑文炜, 沈洋, 许舒瑜, 等. 基于 UPLC-MS/MS 多指标加权综合评分法优选百解合剂提取工艺[J]. 中国中医药信息杂志, 2023, 30(1): 128-134.
- [25] 冯怡, 张继全, 王优杰, 等. 关于中药复方新药工艺研究的思考[J]. 中国医药工业杂志, 2016, 47(9): 1125-1129.
- [26] 蒋佳丽, 王艺洁, 谢谭芳, 等. 基于抗氧化活性的龙眼核标准汤剂提取工艺研究[J]. 中国药房, 2025, 36(3): 330-335.
- [27] 武艳雪, 陈天丽, 侯晓琳, 等. 酒赤芍炮制工艺优化及其体外抗凝血作用考察[J]. 中国药房, 2021, 32(21): 2613-2618.

(收稿日期: 2025-09-15; 修回日期: 2025-11-20)

## 载姜黄素共聚物纳米粒处方优化及体外改善年龄相关性黄斑变性的作用研究

刘娟, 杨玉畅, 李诗曼, 王子恒, 易丽莎, 周佳, 高静怡, 尹兴斌, 董晓旭, 倪健\*, 曲昌海\*  
(北京中医药大学 中药学院, 北京 100029)

**摘要:** **目的** 制备载姜黄素共聚物纳米粒, 并对其进行制剂学表征和体外药效学评价。**方法** 制备载姜黄素共聚物纳米粒并优化制备工艺; 对其进行制剂学表征, 如粒径、多分散性指数、Zeta 电位、载药量及包封率等; 通过考察其对视网膜色素上皮细胞氧化应激的保护作用以及对人脐静脉内皮细胞迁移的抑制作用, 来评估对年龄相关性黄斑变性体外的疗效。**结果** 载姜黄素共聚物纳米粒呈球形, 平均粒径为  $(167.43 \pm 2.28)$  nm、多分散指数为  $(0.241 \pm 0.060)$ 、Zeta 电位为  $-42.24$  mV, 具有良好的稳定性。纳米粒包封率为  $(73.87 \pm 0.85)\%$ , 载药量为  $(7.12 \pm 0.08)\%$ 。载姜黄素共聚物纳米粒对 ARPE-19 细胞氧化应激有保护作用并且显著抑制 HUVEC 细胞迁移。**结论** 载姜黄素共聚物纳米粒通过对氧化应激的保护, 对新生血管的抑制, 达到改善年龄相关性黄斑变性的目的。

**关键词:** 姜黄素; 纳米粒; PCL-PEG; 乳化溶剂挥发法; 星点设计-效应面优化法; 年龄相关性黄斑变性

中图分类号: R943, R96 文献标识码: A  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.022

文章编号: 1672-2981(2026)05-151-08

**基金项目:** 北京市自然科学基金资助项目 (No.7202123)。

**作者简介:** 刘娟, 女, 硕士研究生, 主要从事中药制剂新技术与新剂型研究, email: lj15726285576@163.com \*通信作者: 曲昌海, 男, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事药物制剂新技术及递药系统研究, email: quchanghai@bucm.edu.cn; 倪健, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药新剂型与新技术研究, email: nijian@bucm.edu.cn



## Formulation optimization of curcumin-loaded copolymer nanoparticles and their in vitro improvement effect on age-related macular degeneration

LIU Juan, YANG Yuchang, LI Shiman, WANG Ziheng, YI Lisha, ZHOU Jia, GAO Jingyi, YIN Xingbin, DONG Xiaoxu, NI Jian\*, QU Changhai\* (School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

**Abstract: Objective** To prepare and characterize curcumin-loaded copolymer nanoparticles (Cur@PCL-PEG NPs) and to evaluate their pharmacodynamic effect in models of age-related macular degeneration (AMD). **Methods** Preparation of nanoparticles was optimized. Their physicochemical properties, including particle size, polydispersity index, zeta potential, drug loading, and encapsulation efficiency, were characterized. The in vitro efficacy was assessed by examining the protective effect against oxidative stress in ARPE-19 cells and the inhibitory effect on the migration of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). **Results** The obtained Cur@PCL-PEG NPs were spherical and stable, with an average size of  $(167.43 \pm 2.28)$  nm, a polydispersity index of  $(0.241 \pm 0.060)$ , and a zeta potential of  $-42.24$  mV. The encapsulation efficiency and drug loading capacity were  $(73.87 \pm 0.85)\%$  and  $(7.12 \pm 0.08)\%$ , respectively. The Cur@PCL-PEG NPs protected ARPE-19 cells from oxidative stress and greatly inhibited HUVEC migration. **Conclusion** Cur@PCL-PEG NPs exhibit potential for AMD by alleviating oxidative stress and suppressing neovascularization.

**Key words:** curcumin; nanoparticle; PCL-PEG; emulsion solvent evaporation method; central composite design-response surface methodology; age-related macular degeneration

年龄相关性黄斑变性为全球失明的主要原因之一,随着许多国家人口老龄化,超过 20% 的人患有此病<sup>[1]</sup>。其中湿性年龄相关性黄斑变性也称为新生血管性黄斑变性,占突发性和急性失明的 90%<sup>[2]</sup>,病理表现为脉络膜新生血管。其发病机制目前尚不清楚,主要涉及氧化应激损伤、线粒体及脂质代谢功能障碍等多种因素<sup>[3]</sup>。目前有许多湿性年龄相关性黄斑变性治疗方案可供选择,包括抗血管内皮生长因子 (anti-VEGF) 疗法、光动力疗法、激光光凝疗法等<sup>[1]</sup>。

玻璃体内注射抗血管内皮生长因子药物作为目前治疗湿性年龄相关性黄斑变性的最典型的治疗方法具有明显的缺点,给药需要频繁注射,可能导致结膜下出血、高眼压、眼内感染,甚至造成视网膜脱离的不可逆损伤<sup>[1]</sup>。因此,延长注射药物的半衰期,减少玻璃体注射次数成为改善方向,制备缓释纳米递药系统成为治疗湿性年龄相关性黄斑变性的新策略。

纳米载体如脂质体和介孔二氧化硅纳米颗粒 (NPs) 以及其他功能性 NPs 已被证明是多种药物和疾病治疗同步递送的有效纳米系统<sup>[4-11]</sup>。尽管几种基于脂质体的纳米载体已经被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于临床,但脂质体在生理介质中是不稳定的,因此需要使用额外的材料来提高其稳定性<sup>[12-13]</sup>。介孔二氧化硅纳米颗粒的生物降解和生物分布阻碍了其临床应用的发展,在这种

情况下,两嵌段共聚物聚己内酯-聚乙二醇 (PCL-PEG) 在视网膜色素上皮细胞区域具有高度的生物相容性,其生物降解产物的酸性较低,一定程度上避免炎症相关的视网膜细胞死亡。PCL-PEG 通过分子自组装形成的纳米粒具有较小粒径、较高载药量的特点,表现出更持久的释放模式。

姜黄素 (Cur) 作为姜科姜黄属植物根茎中提取到的植物多酚,具有良好的抗氧化及抗炎作用,在多种疾病中被广泛研究,比如抗肿瘤、糖尿病肾病以及慢性炎症等<sup>[14-23]</sup>。有研究表明,姜黄素具有减缓甚至逆转某些眼底疾病发生、发展的作用<sup>[24]</sup>,可以降低 VEGF 蛋白在兔角膜新生血管模型中的表达<sup>[25]</sup>。因此,姜黄素成为湿性年龄相关性黄斑变性的潜在治疗药物之一。本课题以姜黄素为药物, PCL-PEG 为载体,自组装形成载姜黄素共聚物纳米粒 (Cur@PCL-PEG),现报道如下。

### 1 材料

#### 1.1 试药

姜黄素 (纯度: 98.0%, 上海麦克林生物有限公司); 二氯甲烷 (赛默飞世尔科技有限公司); 乙酸乙酯 (福晨化学试剂有限公司); PEG-PCL (西安瑞禧生物科技有限公司); 泊洛沙姆 188 (上海源叶生物科技有限公司); 乙腈、甲醇、冰乙酸 (色谱纯, 美国赛默飞世尔科技公司); 3% 过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 溶

液(北京化玻站生物分析技术有限公司); DMEM/F12 培养基、HUVEC 细胞专用培养基、胎牛血清、磷酸盐缓冲液(PBS)、CCK8(拜尔迪生物技术有限公司); 0.25% 胰蛋白酶(Gibco 公司); 活性氧(ROS)测试盒(碧云天生物技术有限公司)。

## 1.2 仪器

KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); CJB-S-10D 型多点磁力搅拌器(郑州腾跃仪器设备有限公司); BY-G20 型医用离心机(北京白洋医疗器械有限公司); MS105DU 型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; JY92-11N 型超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技股份有限公司); FD-1A-80+型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); ZEN-3600 型马尔文激光粒度仪(英国马尔文公司); ThermolS5 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo 公司); 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司); Epoch 型酶标仪(美国 BioTeK 仪器有限公司); JEM-1230 型透射电子显微镜(日本 JEOL 公司); Ts2 型荧光倒置显微镜(日本尼康公司)。

## 1.3 细胞

视网膜色素上皮细胞 ARPE-19、人脐静脉内皮细胞 HUVEC(武汉普诺赛生命科技有限公司), 培养条件为 37℃、5%CO<sub>2</sub>。

## 2 方法

### 2.1 Cur@PCL-PEG 纳米粒的制备

称取姜黄素 37.5 mg 溶于 10 mL 二氯甲烷-乙酸乙酯混合溶液(4:1, V/V) 作为母液; 吸取 1 mL 母液与 50 mg PCL-PEG 混合, 作为有机相; 吸取 2% 泊洛沙姆 188 溶液 3 mL 与有机相混合; 混合后, 600 W 探针超声 2 min, 加入 0.5% 泊洛沙姆 188 溶液 4 mL, 1500 r/min 磁力搅拌 6 h, 即得 Cur@PCL-PEG 纳米粒。不加姜黄素, 同法制得 Blank@PCL-PEG 纳米粒。

### 2.2 姜黄素含量测定

#### 2.2.1 溶液制备

① 对照品储备液: 精密称取姜黄素 5.0 mg, 加入甲醇溶解定容于 25 mL 量瓶, 得到姜黄素为 200.0 μg/mL 的对照品储备液。

② 供试品溶液: 取 Cur@PCL-PEG 纳米粒溶液适量, 加入 4 倍量甲醇, 涡旋 30 s, 5000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 甲醇定容, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

③ 空白溶液: 取 Blank@PCL-PEG 纳米粒溶液适量, 加同供试品溶液制备方法处理, 即得。

**2.2.2 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil Pius C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-4% 冰

乙酸溶液(48:52, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 430 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μL。

**2.2.3 方法学考察** 分别取对照品溶液(15 μg/mL)、空白溶液、Cur@PCL-PEG 纳米粒供试品溶液, 进样, 考察专属性。吸取对照品储备液加甲醇依次稀释, 配制成 10、15、20、25、50、100 μg/mL 的姜黄素对照品溶液, 进样测定, 考察线性关系。取对照品溶液, 分别连续进样 6 次, 记录峰面积并计算其 RSD 值, 考察精密度。取同一批 Cur@PCL-PEG 纳米粒供试品溶液, 进样检测, 记录峰面积, 计算载药量和 RSD 值, 考察重复性。取 Cur@PCL-PEG 纳米粒供试品溶液, 分别在第 0、3、6、9、12、15、18、21、24 h 进样, 记录峰面积并计算 RSD 值, 考察稳定性。

### 2.3 Cur@PCL-PEG 纳米粒工艺优化

采用星点设计-效应面优化法筛选最佳处方。根据前期实验, 以姜黄素质量( $X_1$ )、初始水相体积( $X_2$ )、乳化剂体积分数( $X_3$ )为自变量, 以包封率( $Y_1$ )为考察指标, 采用 Design Expert 13 统计软件进行三因素五水平的星点设计。制备 Cur@PCL-PEG 纳米粒, 计算每组包封率, 运用 Design Expert 13 软件进行拟合分析。

### 2.4 Cur@PCL-PEG 纳米粒质量评价

**2.4.1 粒径及 Zeta 电位的测定** 取 Cur@PCL-PEG 纳米粒溶液 100 μL, 用纯水稀释后, 取 1 mL 于 25℃下用马尔文粒径仪分别测定粒径与多分散指数(PDI)、Zeta 电位, 每样品重复 3 次。

**2.4.2 包封率和载药量** 取 Cur@PCL-PEG 纳米粒溶液适量, 15 000 r/min 离心 30 min; 沉淀用纯水洗涤 2 次, 合并上清液, 用甲醇定容至 25 mL 量瓶, 混匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液进样测定, 计算上清液中姜黄素质量, 进一步计算纳米粒的包封率和载药量。包封率(%) =  $[(W_2 - W_1)/W_2] \times 100\%$ , 载药量(%) =  $[(W_2 - W_1)/W_3] \times 100\%$ , 其中,  $W_2$  为 Cur 的投药量,  $W_1$  为纳米溶液中游离的 Cur 药量,  $W_3$  为纳米粒的总重量。

**2.4.3 透射电子显微镜(TEM)** 取 Cur@PCL-PEG 纳米粒适量, 稀释得到样品溶液。吸取少量样品滴于铜网正面, 静置 2~3 min, 室温下晾干, 经 2.0% 磷钨酸溶液负染, 置于 TEM 下观察纳米粒的形态并拍照。

**2.4.4 傅里叶红外光谱分析(FTIR)** 分别取姜黄素、Blank@PCL-PEG 纳米粒、Cur@PCL-PEG 纳米粒适量, 与适量光谱纯溴化钾混合稀释, 研磨均匀后压片, 在 4000~400 cm<sup>-1</sup> 进行 FTIR 分析。



**2.4.5 稳定性研究** 取 Cur@PCL-PEG 纳米粒溶液 100  $\mu\text{L}$ , 用纯水稀释至 10 mL, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存, 平行 3 份。每日取 1 mL 缓慢注入马尔文比色皿中, 测定 Cur@PCL-PEG 纳米粒粒径, 连续测定 7 d。

**2.4.6 释放行为研究** 取适量的 Cur@PCL-PEG 纳米粒 3 份, 使姜黄素包封量为 2.0 mg, 加入 25 mL 的 PBS (含 1% 聚山梨酯 80), 置于摇床中水浴振荡 (37  $^{\circ}\text{C}$ 、100 r/min), 避光, 分别于 1、2、4、8、12、24、48、72、96、120、144 h 吸取 1.0 mL 溶液, 并补充同温等量释放介质。取出的 1.0 mL 溶液 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 测定上清液中姜黄素含量, 计算累积释放率, 绘制溶出曲线, 考察 Cur@PCL-PEG 纳米粒的体外释药行为。

**2.5 CCK8 评价载药纳米粒对 ARPE-19 细胞增殖的影响**

将对数生长期 ARPE-19 细胞按 5000 个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h, 使细胞贴壁, 以 6.25、12.5、25  $\mu\text{mol/L}$  Cur@PCL-PEG 干预 24 h 后, 吸弃旧培养基, 加入含 300  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  的 DMEM/F12 完全培养基干预细胞 6 h, 作为给药组。以只加培养基为空白组, 以细胞不加  $\text{H}_2\text{O}_2$  为正常组, 以细胞中加  $\text{H}_2\text{O}_2$  (300  $\mu\text{mol/L}$ ) 为模型组。每孔加入 CCK8 溶液, 继续培养 2 h 后, 于酶标仪上测各孔在 450 nm 的吸光度 (OD) 值, 计算细胞增殖率。细胞增殖率 (%) = [(实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (正常组 OD 值 - 空白组平均 OD 值)]  $\times$  100%, 每组 3 个复孔。

**2.6 ROS 检测评价载药纳米粒对 ARPE-19 细胞氧化应激的影响**

将对数生长期 ARPE-19 细胞接种于 6 孔板中, 培养 24 h, 待细胞贴壁。以 6.25、12.5、25  $\mu\text{mol/L}$  Cur@PCL-PEG 干预 24 h 后, 加含 300  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  的 DMEM/F12 完全培养基, 干预 ARPE-19 细胞 6 h, 作为给药组。以细胞加完全培养基为空白组, 以细胞中加  $\text{H}_2\text{O}_2$  (300  $\mu\text{mol/L}$ ) 为模型组。更换稀释好的 DCFH-DA, 37  $^{\circ}\text{C}$  细胞培养箱内孵育 20 min。通过倒置共聚焦显微镜检查荧光强度。

**2.7 划痕实验评价载药纳米粒对 HUVEC 迁移能力的影响**

将处于对数生长期的 HUVEC 细胞, 胰蛋白酶消化成单细胞悬液, 以 5000 个/孔接种于 6 孔板, 每孔最终的培养基总量 2 mL; 细胞培养 24 h, 第 2 日用 200  $\mu\text{L}$  枪头比着直尺, 平行于背后的横线划痕; PBS 冲洗细胞 3 次, 除去划下的细胞, 加入无血清培养基。荧光倒置显微镜下 4 倍镜进行拍照, 设置空白组 (完全培养基), 6.25、12.5、25  $\mu\text{mol/L}$  Cur@PCL-PEG

组 (更换相应纳米粒浓度的完全培养基), 12 h 时间点取样, 拍照, 使用 Image J 软件统计细胞间距离划痕面积, 计算细胞迁移率, 并进行统计学分析。

## 2.8 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8 软件统计分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间采用  $t$  检验,  $P < 0.05$  差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 方法学考察

专属性结果 (见图 1) 表明在该色谱检测条件下, 载体材料对主药的含量测定没有干扰, 方法专属性良好。以峰面积为纵坐标 ( $Y$ ), 质量浓度为横坐标 ( $X$ ), 进行线性回归, 得到姜黄素回归方程  $Y = 81.806X - 118.76$  ( $R^2 = 0.9996$ ), 表明姜黄素在 10.0 ~ 100.0  $\mu\text{g/mL}$  与峰面积线性关系良好。精密密度试验结果显示姜黄素峰面积的  $RSD$  值为 0.22%, 表明仪器精密密度良好。重复性考察结果显示 Cur@PCL-PEG 纳米粒供试品溶液姜黄素含量的  $RSD$  值为 1.1%, 表明该方法的重复性良好。稳定性试验结果显示 Cur@PCL-PEG 纳米粒供试品溶液峰面积的  $RSD$  值为 0.32%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 3.2 Cur@PCL-PEG 纳米粒工艺优化

星点设计-效应面优化法筛选最佳处方, 试验因素水平设计见表 1。按表 2 中比例和处方量, 制备 Cur@PCL-PEG 纳米粒, 计算包封率, 结果见表 2。

表 1 试验因素水平设计表  
Tab 1 Experimental factor level design table

| 因素              | 水平      |      |      |      |       |
|-----------------|---------|------|------|------|-------|
|                 | - 1.732 | - 1  | 0    | 1    | 1.732 |
| $X_1/\text{mg}$ | 1.25    | 2.31 | 3.75 | 5.19 | 6.25  |
| $X_2/\text{mL}$ | 1.00    | 1.85 | 3.00 | 4.15 | 5.00  |
| $X_3/\%$        | 1.00    | 1.42 | 2.00 | 2.58 | 3.00  |

运用 Design Expert 13 软件进行拟合分析, 得三维效应面图 (见图 2), 得到二次多元回归方程为  $Y_1 = 49.0750 + 0.9216X_1 - 7.6583X_2 - 5.9614X_3 + 0.9312X_1X_2 + 1.1062X_1X_3 + 0.0712X_2X_3 + 2.3775X_1^2 + 8.2825X_2^2 + 1.2542X_3^2$ 。方法分析结果见表 3, 其中  $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_2^2$  的差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 结果表示期望模型拟合良好。Adeq Precision 为 9.3214 表示信号充足, 这个模型可以用来进行处方优化预测。运用 Design Expert 13 软件分析, 以包封率最佳对姜黄素纳米粒制剂处方进行预测。

预测的最佳处方质量配比:  $X_1$  (姜黄素质量) = 1.0,  $X_2$  (初始水相体积) = - 1.0,  $X_3$  (乳化剂体积分数) = - 1.0, 即姜黄素质量 5.19 mg, 初始水



表 2 星点设计 - 效应面优化法试验设计结果

Tab 2 Experimental design optimized by central composite design-response surface methodology

| No. | $X_1$  | $X_2$  | $X_3$  | $Y_1/\%$ |
|-----|--------|--------|--------|----------|
| 1   | -1     | -1     | -1     | 66.00    |
| 2   | 1      | -1     | -1     | 69.94    |
| 3   | -1     | 1      | -1     | 57.27    |
| 4   | 1      | 1      | -1     | 58.24    |
| 5   | -1     | -1     | 1      | 57.07    |
| 6   | 1      | -1     | 1      | 58.74    |
| 7   | -1     | 1      | 1      | 41.93    |
| 8   | 1      | 1      | 1      | 54.02    |
| 9   | -1.732 | 0      | 0      | 61.99    |
| 10  | 1.732  | 0      | 0      | 58.66    |
| 11  | 0      | -1.732 | 0      | 97.36    |
| 12  | 0      | 1.732  | 0      | 58.72    |
| 13  | 0      | 0      | -1.732 | 69.59    |
| 14  | 0      | 0      | 1.732  | 44.32    |
| 15  | 0      | 0      | 0      | 46.31    |
| 16  | 0      | 0      | 0      | 49.97    |
| 17  | 0      | 0      | 0      | 53.06    |
| 18  | 0      | 0      | 0      | 53.94    |
| 19  | 0      | 0      | 0      | 46.68    |
| 20  | 0      | 0      | 0      | 44.49    |

表 3 星点设计 - 效应面优化法方差分析结果

Tab 3 Variance analysis for central composite design-response surface methodology optimization

| 来源       | F 值     | P 值    |
|----------|---------|--------|
| $X_1$    | 0.2588  | 0.6220 |
| $X_2$    | 17.8700 | 0.0018 |
| $X_3$    | 10.8300 | 0.0081 |
| $X_1X_2$ | 0.1510  | 0.7057 |
| $X_1X_3$ | 0.2131  | 0.6542 |
| $X_2X_3$ | 0.0009  | 0.9769 |
| $X_1^2$  | 1.9400  | 0.1941 |
| $X_2^2$  | 23.5200 | 0.0007 |
| $X_3^2$  | 0.5393  | 0.4796 |

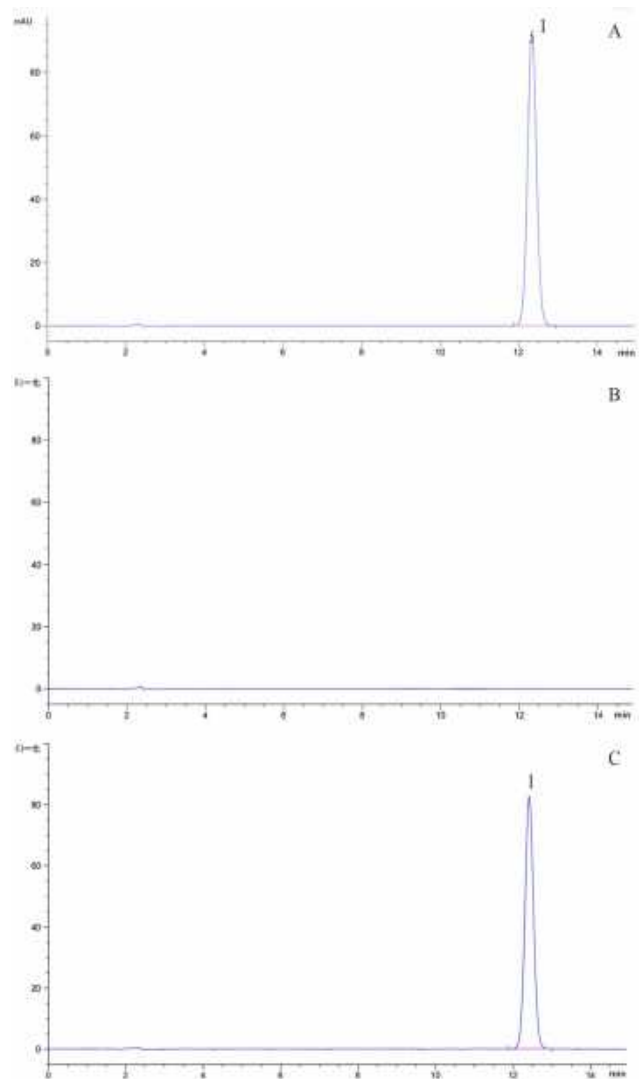


图 1 姜黄素专属考察的高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram for specificity of curcumin

A. 对照品溶液 (reference solution); B. 空白溶液 (blank solution); C. 供试品溶液 (test solution); 1. 姜黄素 (curcumin)

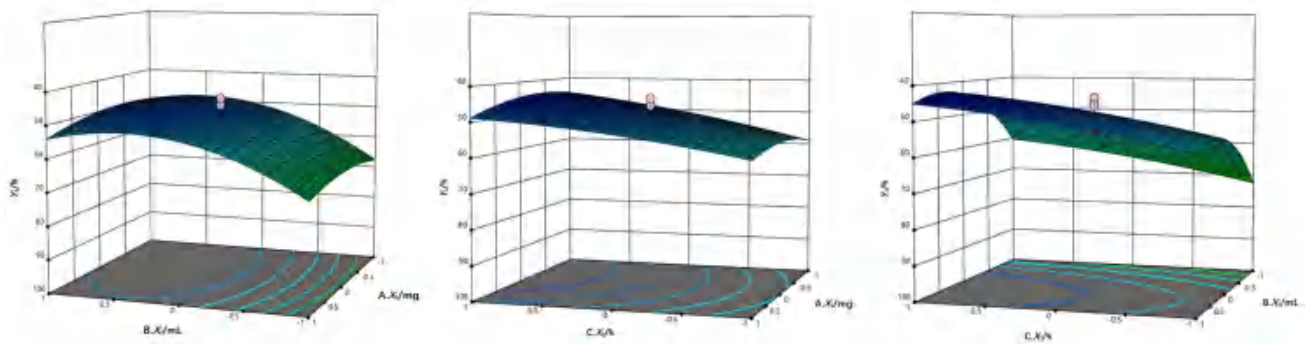


图 2 星点设计 - 效应面优化法三维效应面图

Fig 2 Three-dimensional response surface plot optimized by central composite design-response surface methodology

相体积 1.85 mL, 乳化剂体积分数 1.42%。预测  $Y_1$  (包封率) 为 73.56%。以最佳预测的处方比例进行验证试验, 制备 3 批, 结果显示, 平均包封率为  $(73.87 \pm 0.85)\%$ , 证实所建模型预测性良好。

### 3.3 Cur@PCL-PEG 纳米粒质量评价

**3.3.1 粒径及电位的测定** 结果显示, Cur@PCL-PEG 纳米粒平均粒径为  $(167.43 \pm 2.28)$  nm, PDI 为  $(0.241 \pm 0.060)$ , 表明纳米粒粒径分布较窄, 大

小均匀。结果显示, Cur@PCL-PEG 纳米粒的 Zeta 电位为  $-42.24 \text{ mV}$ 。Zeta 电位绝对值越大, 纳米粒在水中分散时斥力越强, 越有利于保持稳定性。

**3.3.2 包封率和载药量** Cur@PCL-PEG 纳米粒包封率及载药量分别为  $(73.87 \pm 0.85) \%$ 、 $(7.12 \pm 0.08) \%$ 。

**3.3.3 TEM** TEM 下观察纳米粒的形态, 纳米粒呈球形或类球形 (见图 3), 符合乳化挥发法纳米粒自组装规律。

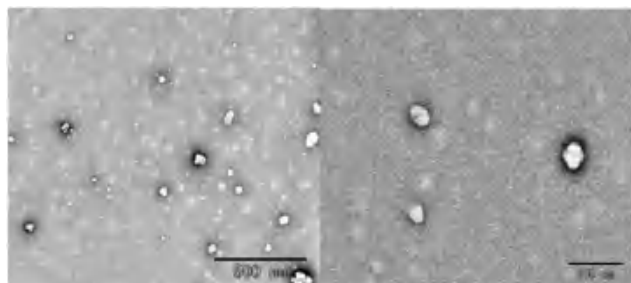


图 3 Cur@PCL-PEG 纳米粒透射电镜结果

Fig 3 Transmission electron microscopy of Cur@PCL-PEG nanoparticles

**3.3.4 FTIR** 结果如图 4 所示。Cur@PCL-PEG 纳米粒的红外光谱与 Blank@PCL-PEG 纳米粒的红外光谱基本保持一致, 而姜黄素的特征峰并未在纳米粒中显现, 表明姜黄素被成功包载于 PCL-PEG 中, 且纳米粒表面未吸附游离的姜黄素。

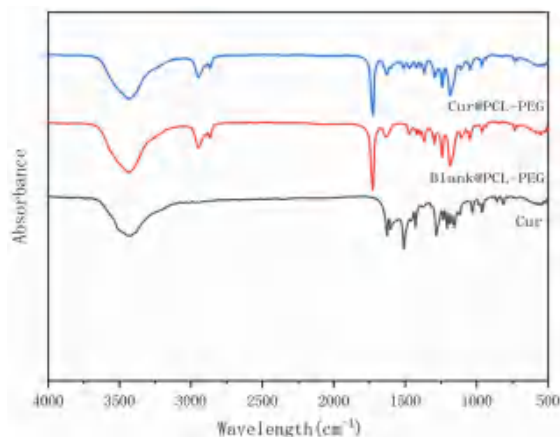


图 4 姜黄素、Blank@PCL-PEG 纳米粒、Cur@PCL-PEG 纳米粒 FTIR 分析结果

Fig 4 Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analysis of curcumin, Blank@PCL-PEG nanoparticles, and Cur@PCL-PEG nanoparticles

**3.3.5 稳定性研究**  $4^\circ\text{C}$  环境下, 保存 7 d, Cur@PCL-PEG 纳米粒的粒径相对稳定, 粒径保持在  $150 \sim 165 \text{ nm}$ 。

**3.3.6 释放行为研究** 结果见图 5, Cur@PCL-PEG 纳米粒呈现出良好的缓释特性。Cur@PCL-PEG 在  $0 \sim 2 \text{ h}$  内药物释放较快, 累积释放  $51.7\%$ , 在  $144 \text{ h}$  累积释放率达到  $79.3\%$ 。

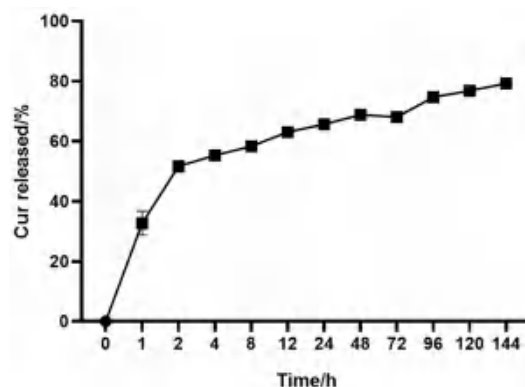


图 5 Cur@PCL-PEG 纳米粒的体外释药曲线

Fig 5 In vitro drug release profile of Cur@PCL-PEG nanoparticles

**3.4 CCK8 评价载药纳米粒对 ARPE-19 细胞增殖的影响**

根据细胞增殖实验结果 (见图 6), 药物干预  $24 \text{ h}$  条件下, 不同浓度下, 与模型组相比, 给药组细胞存活率差异有统计学意义, 表明 Cur@PCL-PEG 纳米粒可以保护  $\text{H}_2\text{O}_2$  引起的 ARPE-19 细胞损伤。

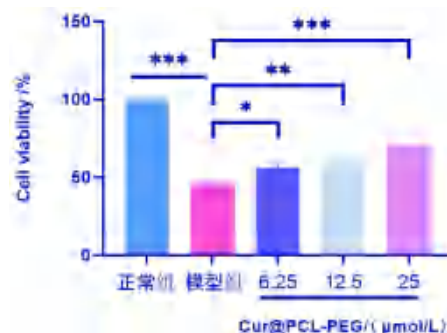


图 6 载药纳米粒对 ARPE-19 细胞存活率的影响 (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

Fig 6 Effect of drug-loaded nanoparticles on the viability of ARPE-19 cells (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

**3.5 ROS 检测评价载药纳米粒对 ARPE-19 细胞氧化应激的影响**

DCFH-DA 荧光结果发现 (见图 7),  $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激显著增强 ARPE-19 细胞内的绿色荧光强度, Cur@PCL-PEG 组的绿色荧光强度较模型组明显减弱, 表明 Cur@PCL-PEG 处理显著降低了 ARPE-19 细胞中的 ROS 水平, 结果表明 Cur@PCL-PEG 可以改善  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的 ROS。

**3.6 划痕实验评价载药纳米粒对人脐静脉内皮细胞迁移能力的影响**

结果表明, 空白组  $12 \text{ h}$  划痕完全愈合, 对比空白组, Cur@PCL-PEG 各剂量组显著抑制 HUVEC 细胞迁移, 细胞迁移率在  $12 \text{ h}$  显著低于空白组 (见图 8)。

## 4 讨论与结论

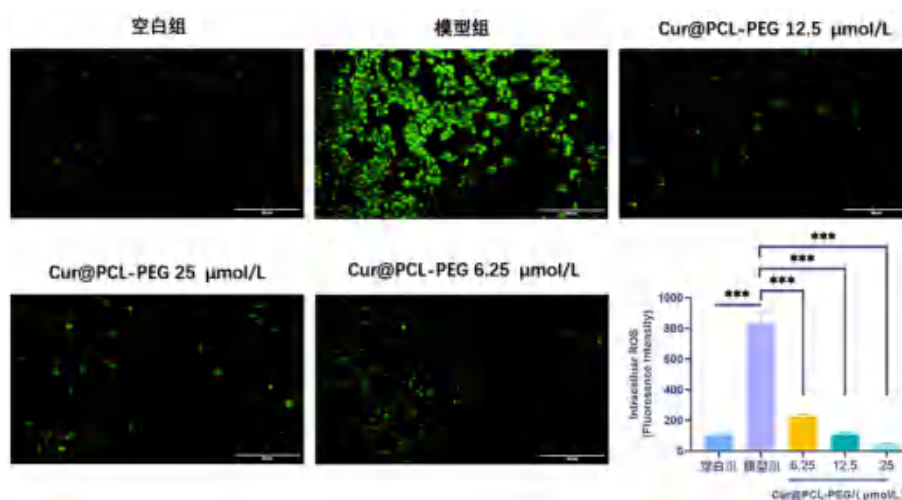

 图 7 载药纳米粒对 ARPE-19 细胞氧化应激的影响 (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

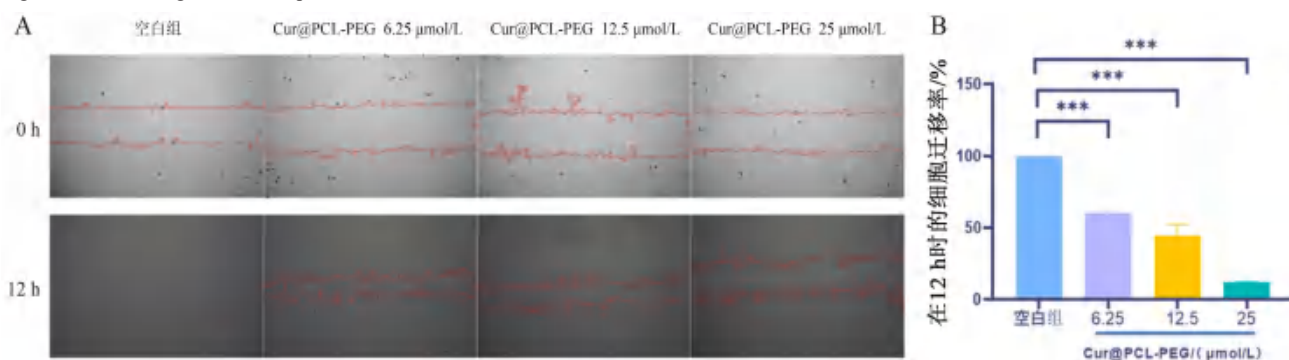
 Fig 7 Effect of drug-loaded nanoparticles on oxidative stress in ARPE-19 cells (\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )

 图 8 Cur@PCL-PEG 纳米粒对 HUVEC 细胞迁移能力的影响 (\*\* $P < 0.001$ )

 Fig 8 Effect of Cur@PCL-PEG nanoparticles on the migration ability of HUVEC cells (\*\* $P < 0.001$ )

共聚物制备纳米粒常用的方法有沉淀法、乳化挥发法等。乳化溶剂挥发法是目前制备纳米粒最常用的方法,具有操作简单、重复性好的优点,被广泛用于疏水性成分<sup>[26-29]</sup>。通过前期预实验并结合文献,确定 Cur@PCL-PEG 纳米粒优化制备工艺的因素为姜黄素质量、初始水相体积、乳化剂体积分数,星点设计-效应面优化法优化最佳工艺为姜黄素质量 5.19 mg,初始水相体积 1.85 mL,乳化剂体积分数 1.42%。在最优制备工艺条件下制备纳米粒,包封率为 $(73.87 \pm 0.85)\%$ ,载药量为 $(7.12 \pm 0.08)\%$ 。Cur@PCL-PEG 纳米粒形态呈球形,平均粒径为 $(167.43 \pm 2.28)$  nm、多分散指数为 $(0.241 \pm 0.060)$ 、电位为 $-42.24$  mV,具有良好的稳定性。纳米粒在 7 d 内的稳定性良好,能够满足短期储存要求,且纳米粒呈现出良好的缓释特性。

湿性年龄相关性黄斑变性是一种常见的不可逆疾病,主要涉及氧化应激损伤、线粒体及脂质代谢功能障碍等多种因素<sup>[29]</sup>。氧化应激和脉络膜功能障碍是湿性年龄相关性黄斑变性的主要因

素<sup>[30]</sup>。姜黄素本身作为治疗湿性年龄相关性黄斑变性的潜在药物之一,已被证实具有改善氧化应激、炎症和血管生成等多种作用,可以用来改善湿性年龄相关性黄斑变性。但是姜黄素难溶于水的特性使其生物利用度低,而 anti-VEGF 疗法需要频繁注射,可能导致结膜下出血、高眼压、眼内感染,甚至视网膜脱离的不可逆损伤。所以本研究制备载姜黄素的 PCL-PEG 的高生物相容性纳米粒,用于玻璃体注射治疗湿性年龄相关性黄斑变性。并细胞增殖实验结果表明 Cur@PCL-PEG 纳米粒可以保护  $H_2O_2$  引起的 ARPE-19 细胞损伤。DCFH-DA 荧光结果表明 Cur@PCL-PEG 纳米粒可以改善  $H_2O_2$  诱导的 ROS。细胞划痕实验表明, Cur@PCL-PEG 纳米粒显著抑制 HUVEC 细胞迁移能力。证明姜黄素通过抗氧化作用,使 Cur@PCL-PEG 纳米粒能够对 ARPE-19 细胞氧化应激起到良好保护效果,改善新生血管生成。因此 Cur@PCL-PEG 纳米粒在一定程度上改善湿性年龄相关性黄斑变性。



## 参考文献

- [1] Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, et al. Age-related macular degeneration [J]. *Lancet*, 2012, 379 (9827): 1728-1738.
- [2] Tang Y, Kang YY, Zhang X, et al. Mesenchymal stem cell exosomes as nanotherapeutics for dry age-related macular degeneration [J]. *J Control Release*, 2023, 357: 356-370.
- [3] Vyawahare H, Shinde P. Age-related macular degeneration: epidemiology, pathophysiology, diagnosis, and treatment [J]. *Cureus*, 2021, 14 (9): e29583.
- [4] Jang B, Kwon H, Katila P, et al. Dual delivery of biological therapeutics for multimodal and synergistic cancer therapies [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 98: 113-133.
- [5] Zhang B, Song YM, Wang TQ, et al. Efficient co-delivery of immiscible hydrophilic/hydrophobic chemotherapeutics by lipid emulsions for improved treatment of cancer [J]. *Int J Nanomed*, 2017, 12: 2871-2886.
- [6] Liu J, Zhao ZH, Qiu NS, et al. Co-delivery of IOX1 and doxorubicin for antibody-independent cancer chemo-immunotherapy [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1): 2425.
- [7] Fang F, Yuan Y, Wan YP, et al. Near-infrared thermally activated delayed fluorescence nanoparticle: a metal-free photo-sensitizer for two-photon-activated photodynamic therapy at the cell and small animal levels [J]. *Small*, 2022, 18 (6): e2106215.
- [8] Cui X, Zhang Z, Yang YL, et al. Organic radical materials in biomedical applications: state of the art and perspectives [J]. *Exploration*, 2022, 2 (2): 20210264.
- [9] Xue XD, Qu HJ, Li Y. Stimuli-responsive crosslinked nanomedicine for cancer treatment [J]. *Exploration*, 2022, 2 (6): 20210134.
- [10] Liu JY, Liu C, Zhang JF, et al. A self-assembled  $\alpha$ -synuclein nanoscavenger for Parkinson's disease [J]. *ACS Nano*, 2020, 14 (2): 1533-1549.
- [11] Zhang JF, Nie WD, Chen R, et al. Green mass production of pure nanodrugs via an ice-template-assisted strategy [J]. *Nano Lett*, 2019, 19 (2): 658-665.
- [12] Torchilin VP. Recent advances with liposomes as pharmaceutical carriers [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4 (2): 145-160.
- [13] Sang R, Stratton B, Engel A, et al. Liposome technologies towards colorectal cancer therapeutics [J]. *Acta Biomater*, 2021, 127: 24-40.
- [14] 李洁云, 石永辉, 李国成, 等. 共载姜黄素与紫杉醇纳米粒抗结肠癌和脑胶质瘤及其肿瘤干细胞效果的评价 [J]. *中南药学*, 2025, 23 (9): 2657-2662.
- [15] 胡宪龙, 苏厚霖, 邱圣楷, 等. 姜黄素介孔缓释载药系统制备工艺优化及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. *中南药学*, 2023, 21 (9): 2328-2334.
- [16] 陈美琪, 杨嘉玮, 王国平, 等. 中药抑制脉络膜新生血管的研究进展 [J]. *中南药学*, 2023, 21 (6): 1550-1556.
- [17] 李芳婵, 韦志英, 罗小莉, 等. 共载姜黄素与阿霉素胶束的制备工艺优化及体外抗肿瘤评价 [J]. *中南药学*, 2023, 21 (2): 449-455.
- [18] 左清平, 黄娟娟, 张顺芝, 等. 姜黄素对 HepG2 裸鼠移植瘤的抑制作用及对瘤体组织中 NLRP3、IL-1 $\beta$  表达的影响 [J]. *中南药学*, 2022, 20 (4): 766-771.
- [19] 王玉蓉, 巨佳, 王济, 等. 包载姜黄素的羧甲基化白及多糖-壳聚糖聚电解质复合膜对大鼠口腔溃疡的治疗作用研究 [J]. *中南药学*, 2021, 19 (8): 1532-1536.
- [20] 吴文强, 夏宸渝, 谢鑫炎, 等. 姜黄素对衰老相关骨质疏松小鼠骨代谢平衡的影响 [J]. *中南药学*, 2021, 19 (6): 1108-1113.
- [21] 滕飞, 孙重霄, 陈毅, 等. 姜黄素治疗骨肉瘤的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29 (6): 275-282.
- [22] 宋亚丽, 秦凯丽, 公慧萍, 等. 姜黄素对 LPS 诱导小鼠滑膜成纤维细胞炎症和纤维化的影响 [J]. *中成药*, 2024, 46 (4): 1356-1359.
- [23] 田韦韦, 唐碧华, 刘俐, 等. 姜黄素改善慢性低度炎症及其相关疾病研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49 (10): 2607-2618.
- [24] Farajipour H, Rahimian S, Taghizadeh M. Curcumin: a new candidate for retinal disease therapy? [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120 (5): 6886-6893.
- [25] Kim JS, Choi JS, Chung Sk. The effect of curcumin on corneal neovascularization in rabbit eyes [J]. *Curr Eye Res*, 2010, 35 (4): 274-280.
- [26] 尹元元, 耿燕娜, 范明松. Box-Behnken 设计-效应面法优化延胡索乙素聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒处方和体外释药行为研究 [J]. *中草药*, 2021, 52 (22): 6806-6815.
- [27] 魏永鸽, 黄贺梅, 齐园圃, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优化吴茱萸碱-羟基乙酸共聚物纳米粒处方及体外释药研究 [J]. *中国医院药学杂志*, 2021, 41 (23): 2416-2422.
- [28] 黄华婷, 吴念, 蔡梦如, 等. 共载姜黄素和 IR780 的聚乳酸-羟基乙酸共聚物纳米粒的制备及其体外抗肿瘤评价 [J]. *中草药*, 2023, 54 (2): 498-508.
- [29] Pennington KL, DeAngelis MM. Epidemiology of age-related macular degeneration (AMD): associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors [J]. *Eye and Vision*, 2016, 3 (1): 34.
- [30] Bellezza I. Oxidative stress in age-related macular degeneration: Nrf2 as therapeutic target [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1280.

(收稿日期: 2025-11-10; 修回日期: 2026-03-10)

## 不同溶剂在 *hERG* 实验中的适用浓度范围探究

沈畅, 张宇欣, 魏晓燕, 朱星熠, 彭雅琴, 蒋逸文, 宫新江, 张雪峰, 王陈\* (江苏鼎泰药物研究(集团)股份有限公司, 南京 211800)

**摘要:** **目的** 评价 6 种常用细胞实验溶剂对人类 *ether-a-go-go-related* 基因 (*hERG*) 编码的快速延迟整流钾电流 ( $I_{kr}$ ) 的影响, 为不同类型药物的体外心脏安全性评价提供科学可靠的溶剂选择依据。 **方法** 选择稳定转染 *hERG* 基因的 HEK293 细胞, 采用全自动膜片钳技术研究 0.3% ~ 10% 二甲基亚砜 (DMSO)、0.3% ~ 8% 纯水、0.1% ~ 4% 乙醇、0.1% ~ 4% 聚乙二醇 400 (PEG-400)、0.01% ~ 0.2% 吐温 80 (Tween 80)、0.01% ~ 0.4% 普朗尼克 F-68 (PF-68) 对  $I_{kr}$  的影响及安全阈值。 **结果** DMSO、纯水和乙醇 3 种溶剂对  $I_{kr}$  抑制作用呈浓度依赖性, 分别在浓度小于等于 0.5%、1% 和 0.3% 时各溶剂对  $I_{kr}$  无明显抑制作用,  $IC_{50}$  为 4.7% (DMSO) 和 1.73% (乙醇); 在 3 种增溶剂中, PEG-400 和 PF-68 浓度分别在 2% 和 0.2% 以内时对  $I_{kr}$  无明显抑制作用。Tween 80 对  $I_{kr}$  抑制作用呈浓度依赖性, 其在极低浓度 (0.01%) 时对  $I_{kr}$  抑制作用较强,  $IC_{50}$  为 0.06%。 **结论** 溶剂类型和浓度会干扰 *hERG* 钾离子电流检测的可靠性, 在实验过程中应优先选择 PEG-400 ( $\leq 2\%$ ) 和 PF-68 ( $\leq 0.2\%$ ) 作为增溶剂, 避免使用 Tween 80; DMSO、纯水和乙醇作为溶剂时浓度控制在 0.5%、1% 和 0.3% 内即可。严格控制溶剂参数对获得准确的体外心脏安全性数据至关重要。

**关键词:** 溶剂; 全自动膜片钳; *hERG* 钾离子通道

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-159-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.023

### Applicable concentration ranges of different solvents in *hERG* test

SHEN Chang, ZHANG Yuxin, WEI Xiaoyan, ZHU Xingyi, PENG Yaqin, JIANG Yiwen, GONG Xinjiang, ZHANG Xuefeng, WANG Chen\* (TriApex Laboratories Co., Ltd., Nanjing 211800)

**Abstract: Objective** To evaluate the effect of 6 common cell assay solvents on the rapid delayed rectifier potassium current ( $I_{kr}$ ) encoded by the human *ether-a-go-go-related* gene (*hERG*), and to establish a reliable basis for solvent selection in the in vitro cardiac safety evaluation of various drugs. **Methods** HEK293 cells with stable transfection of the *hERG* gene were selected. The effects of 0.3% ~ 10% dimethyl sulfoxide (DMSO), 0.3% ~ 8% pure water, 0.1% ~ 4% ethanol, 0.1% ~ 4% polyethylene glycol 400 (PEG-400), 0.01% ~ 0.2% Tween 80, and 0.01% ~ 0.4% Pluronic F-68 (PF-68) on  $I_{kr}$  and their safety thresholds were determined by automated patch-clamp. **Results** The DMSO, pure water and ethanol inhibited  $I_{kr}$  in a concentration-dependent manner. No obvious inhibition of  $I_{kr}$  was observed at concentrations  $\leq 0.5\%$  (DMSO),  $\leq 1\%$  (pure water), and  $\leq 0.3\%$  (ethanol). The  $IC_{50}$  was 4.7% for DMSO and 1.73% for ethanol. The PEG-400 and PF-68 showed negligible  $I_{kr}$  inhibition at concentrations  $\leq 2\%$  and  $\leq 0.2\%$ , respectively. Tween 80 showed potent concentration-dependent  $I_{kr}$  inhibition and exhibited strong inhibition even at a very low concentration of 0.01%, with an  $IC_{50}$  of 0.06%. **Conclusion** The type and concentration of solvents may interfere with the reliability of *hERG* potassium current detection. PEG-400 ( $\leq 2\%$ ) and PF-68 ( $\leq 0.2\%$ ) may serve as preferable solvents while Tween 80 should be avoided. When DMSO, pure water, or

**基金项目:** 南京市科技计划项目 (No.202205009)。

**作者简介:** 沈畅, 女, 硕士, 主要从事药物非临床安全性评价工作, email: shenchang@tri-apex \* **通信作者:** 王陈, 男, 博士, 主要从事药物非临床安全性评价工作, email: wangchen@tri-apex

ethanol are used as solvents, their concentrations should be controlled below 0.5%, 1%, and 0.3%, respectively. Strict control of solvent parameters is crucial for accurate data on in vitro cardiac safety.

**Key words:** solvent; automated patch-clamp; *hERG* potassium channel

心脏毒性(尤其是药物相关 QT 间期延长和心律失常)是药物无法获批或退市的主要原因之一<sup>[1]</sup>。由人类 *ether-a-go-go-related* (*hERG*) 基因编码的钾离子通道  $\alpha$  亚基的功能异常是引发此类毒性的核心机制,该通道介导的快速激活延迟整流钾电流 ( $I_{kr}$ ) 主要参与心肌动作电位 III 期复极化形成,  $I_{kr}$  受阻滞可能导致心肌细胞动作电位时程异常延长,在心电图上即表现为 QT 间期延长,从而增加尖端扭转型室性心动过速 (Torsades de Pointes, TdP) 和猝死的风险<sup>[2]</sup>。*hERG* 通道独特的孔域结构使其配体结合域更易被多种结构不同的药物抑制,不仅限于心血管药物,许多非心血管类药物如抗组胺药、抗菌药物、抗精神病药等也可能引起类似的毒性反应<sup>[3-4]</sup>。人用药品注册技术要求国际协调会 (ICH) 于 2005 年发布了指南 S7B “人用药品延迟心室复极化 (QT 间期延长) 潜在作用的非临床评价指导原则 [The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals]”,明确提出将体外测定 *hERG* 钾离子通道电流与体内 QT 检测结果相结合进行心脏安全性风险综合评估,并且研究的受试物应涵盖广泛的浓度范围以确定安全性阈值<sup>[5]</sup>。

近年来,部分寡核苷酸类 (ONTs)、多肽类药物以及抗体药物偶联物 (ADC) 中的小分子毒素也开始进行 *hERG* 通道的安全性评估<sup>[6]</sup>,其中 ONTs 以小干扰 RNA (siRNA) 和反义寡核苷酸 (ASO) 类药物居多,此外,ONTs 的代谢产物或降解产物也被证明可能具有潜在的 *hERG* 通道抑制作用<sup>[7]</sup>。研究表明,siRNA 和 ASO 的磷酸骨架因带负电荷而呈现强亲水性<sup>[8]</sup>,二甲基亚砜 (DMSO) 被 ICH Q3C (R9) “杂质:残留溶剂的指导原则 (Impurities: guideline for residual solvents)” 列为 III 类低毒溶剂<sup>[9]</sup>,但其极性基团可通过氢键干扰 RNA 的正常结构和空间折叠<sup>[10]</sup>;同时,其疏水性会破坏碱基堆积作用<sup>[11]</sup>,故不适用于 ONTs 类药物体系。相比之下,同为 III 类溶剂的乙醇更适于溶解极性和离子型化合物<sup>[12]</sup>。

基于药物理化性质(亲疏水性、极性/非极性、分子量等)的系统评估,本研究选取了 6 种溶剂,包括 3 种可涵盖药物特性范围的基础溶剂 (DMSO、

纯水和乙醇)以及 3 种常用增溶剂 [聚乙二醇 400 (PEG-400)、吐温 80 (Tween 80) 和普朗尼克 F-68 (PF-68)],在 *hERG* 实验中探索上述溶剂的浓度阈值,旨在增强不同理化特性药物的溶解性和稳定性,且保证溶剂本身不影响  $I_{kr}$ 。

## 1 材料

### 1.1 实验系统

稳定转染表达 *hERG* 钾离子通道的 HEK293 细胞 (*hERG*-HEK293 稳态细胞系)(斯高电生理研究院)。

### 1.2 仪器

NPC-16 全自动膜片钳 (德国 Nanion 公司), EPC-10 Quadro Amplifier 膜片钳放大器 (德国 HEKA 公司), CKX53 倒置显微镜 [奥林巴斯 (中国) 有限公司], Thermo 4111 二氧化碳培养箱、1379 生物安全柜 (赛默飞世尔科技公司), HH-2 恒温水浴锅 (常州国华电器有限公司)。

### 1.3 试剂

胎牛血清、DMEM 高糖培养基、杜氏磷酸缓冲盐溶液 (DPBS)、青链霉素、G418、Accutase 消化液、10% PLURONIC® F-68 (美国 Gibco 公司),细胞内液、细胞外液、封接液、洗脱液 (德国 Nanion 公司),无水乙醇 (南京化学试剂股份有限公司), PEG-400 (江西益普生药业有限公司), Tween 80 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 细胞培养

将 DMEM 高糖培养基、10% 胎牛血清、1% 双抗 (青链霉素) 和 0.4 mg/mL G418 混合均匀作为完全培养基。*hERG*-HEK293 细胞使用完全培养基,在 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下,对细胞进行传代培养。

### 2.2 受试物配制

量取 1 mL 细胞外液至灭菌西林瓶中,加入适量检测的各溶剂,轻摇混匀即得受试物溶液。终浓度分别为 (V/V): DMSO (0.3%、0.5%、1%、3%、5% 和 10%), 纯水 (0.3%、0.5%、1%、2%、4% 和 8%), 乙醇 (0.1%、0.3%、0.5%、1%、2% 和 4%), PEG-400 (0.1%、0.3%、0.5%、1%、2% 和 4%), Tween 80 (0.01%、0.02%、0.05%、0.1% 和 0.2%), PF-68 (0.01%、0.03%、0.05%、0.1%、0.2% 和 0.4%)。



## 2.3 细胞准备

将处于对数生长期、汇合度达 80% ~ 90% 的 *hERG*-HEK293 细胞, 弃去培养基, 加入 2 ~ 3 mL DPBS 清洗 2 次, 加入 1 mL Accutase 覆盖细胞层, 均匀分布后吸除多余液体。37 °C 培养箱静置 3 min 至细胞脱落, 加入 1 mL 细胞外液终止消化, 轻柔吹打成单细胞悬液。取 1 ~ 2 mL 细胞悬液转移至全自动膜片钳的“cell hotel”待测。

## 2.4 受试物准备

打开放大器、全自动膜片钳和主机电源, 在指定位置的 4 个玻璃瓶中依次加入细胞内液、细胞外液、封接液和洗脱液, 同时把配制好的受试物分装至 1.5 mL 的 EP 管中, 按照浓度从低到高放置在全自动膜片钳平台 C 序列上。

## 2.5 电生理实验

启动 PatchControlHT 后 PatchMaster 随后自动打开, PatchControlHT 通过运行 tree 文件完成实验操作。全自动膜片钳系统自动完成对细胞的抓取、封接及破膜操作形成全细胞封接。当系统记录的 *hERG* 电流稳定后开始自动给药, 电压刺激程序为: 细胞的钳制电压为 -80 mV 持续 0.1 s; 细胞预刺激的钳制电压为 +40 mV, 维持 2 s; 再应用 -40 mV 的电压刺激尾电流, 维持 2 s; 最后将细胞钳制在 -80 mV 维持 0.1 s。同一个细胞从空白对照(细胞外液)、受试物低浓度至高浓度依次给药, 每次加样至电流稳定后检测下一个浓度(见图 1)。每个受试物浓度下需获得至少 3 个独立的有效细胞数据。Patchmaster 软件通过 EPC-10 放大器采集并自动存储 *hERG* 电流数据相关参数( $I_{kr}$ 、串联电阻、膜电容等)。

## 2.6 数据质量控制标准

① 细胞参数: 封接电阻  $\geq 1\text{ G}\Omega$ , 串联电阻  $\leq 20\text{ M}\Omega$ , 膜电容  $\geq 2\text{ pF}$ ; ② 电流稳定性: 各浓度给药处理后最后 3 次记录的电流值变化的绝对值小于均值的 10% (当电流  $\geq 200\text{ pA}$  时) 或小于均值的 50% (当电流  $< 200\text{ pA}$ )。

两项标准均满足方可将该细胞电流数据纳入统计。

## 2.7 数据分析

使用 Igor Pro、Graphpad Prism 和 Microsoft Excel 软件进行数据分析和作图, 实验数据以 Mean  $\pm$  SEM 表示。以受试物浓度为横坐标, *hERG* 电流抑制率为纵坐标, 拟合浓度 - 反应关系曲线, 计算半数最大抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 和 Hill 系数, 用于评估受试物对 *hERG* 通道的抑制效力和协同性。

若受试物所有浓度对 *hERG* 钾离子通道的抑制率均值皆低于 50%, 则不进行  $IC_{50}$  的计算。受试物对  $I_{kr}$  的抑制率不高于 10% 认为对 *hERG* 电流无明显抑制作用<sup>[13]</sup>。抑制率 (%) = (同一细胞阴性对照电流均值 - 给药后电流均值) / 同一细胞阴性对照电流均值  $\times 100\%$ ; 电流变化率 (%) = (最后 3 个刺激条电流值 - 电流均值) / 电流均值  $\times 100\%$ 。

## 3 结果

DMSO、纯水、乙醇、PEG-400、Tween 80 和 PF-68 等 6 种常用溶剂对  $I_{kr}$  的影响, 结果见图 2。除 PF-68 外, 其余 5 种溶剂在不同程度上均表现出浓度依赖性的  $I_{kr}$  抑制效应, 但其抑制强度、起效浓度和量效关系特征存在明显差异。

DMSO 浓度低于 0.5% 或乙醇浓度低于 0.3% 时, 对  $I_{kr}$  均无显著抑制作用。因此, 为避免因溶剂浓度过高抑制  $I_{kr}$  而导致的假阳性结果, 误导对药物本身作用的判断, 建议在实验中将 DMSO 浓度严格控制在 0.5% 以内, 乙醇浓度控制在 0.3% 以内。Tween 80 在低至 0.01% 的浓度下即对  $I_{kr}$  产生明显抑制作用, 其  $IC_{50}$  仅为 0.06%, Hill 系数为 0.61, 提示 Tween 80 在极低浓度下对  $I_{kr}$  就具有显著抑制作用, 应尽量避免其作为 *hERG* 实验溶剂。纯水、PEG-400 和 PF-68 显示出相对较小的  $I_{kr}$  抑制作用。纯水在 1% 以内、PEG-400 在 2% 以内、PF-68 在 0.2% 以内均对  $I_{kr}$  无明显抑制作用。

基于以上数据, 在进行 *hERG* 试验时, 可优先考虑在以下浓度范围内使用这 3 种溶剂: 纯水 ( $\leq 1\%$ )、PEG-400 ( $\leq 2\%$ ) 和 PF-68 ( $\leq 0.2\%$ ), 以最大限度地降低溶剂本身对实验结果的干扰。

## 4 讨论

### 4.1 *hERG* 试验浓度设计依据

本实验的受试物浓度设计基于两方面考虑: 一是采用常规安全浓度 (DMSO、乙醇、PEG-400  $\leq 0.5\%$ , Tween 80、PF-68  $\leq 0.1\%$ ), 最大程度减少溶剂本身对细胞活性的影响, 避免干扰  $I_{kr}$  测定; 二是设置超出安全范围的高浓度组, 用于评估溶剂在更高浓度下 (如 DMSO 短期暴露于冻存常用浓度 10%, 以及其他溶剂在更高浓度下可能引起细胞损伤、膜通透性改变等情况) 对  $I_{kr}$  的潜在影响。此外, 通过纯水浓度梯度实验, 考察溶剂添加体积本身 (非化学因素) 对细胞活性及  $I_{kr}$  的可能干扰。

### 4.2 溶剂干扰 *hERG* 试验的途径

溶剂的类型和浓度选择均可能会对 *hERG* 实验结果产生不同程度的干扰, 主要通过两种途

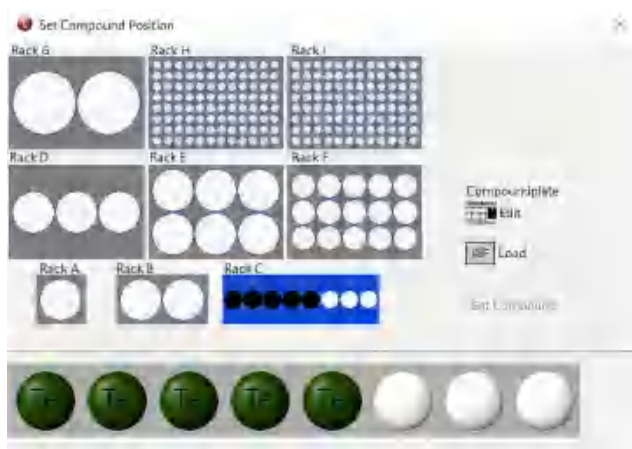
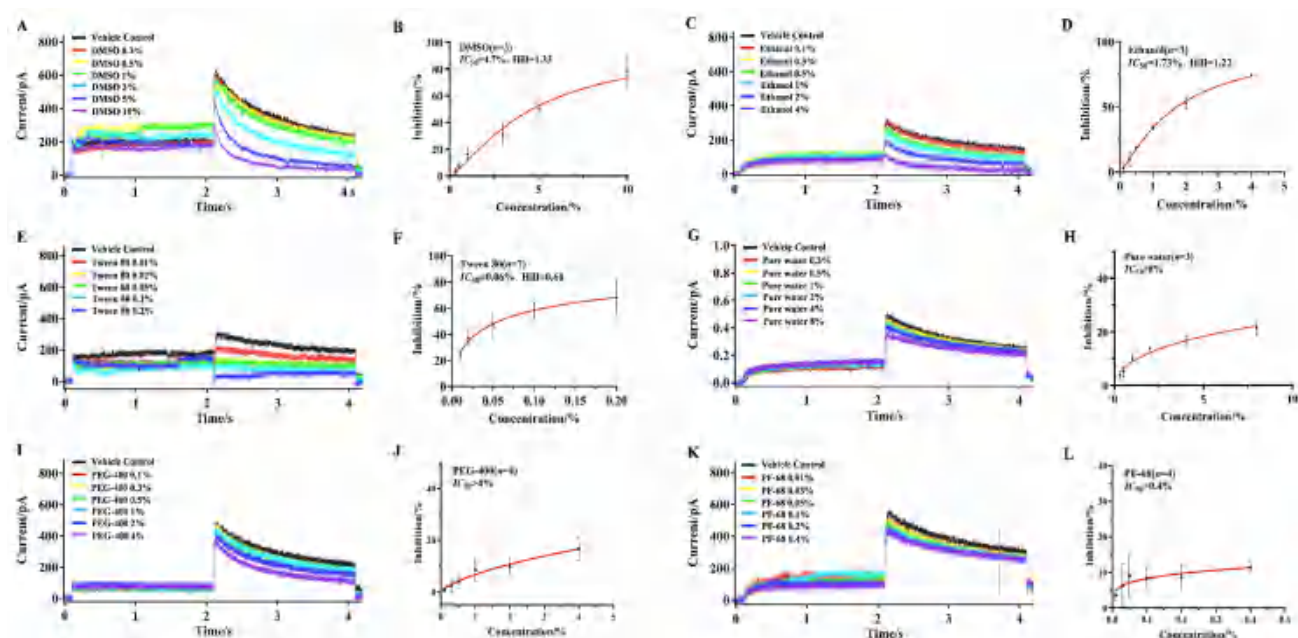


图1 受试物加样示意图

Fig 1 Schematic diagram of sample addition of the test substance

注:C序列,从左至右依次为阴性对照、受试物低浓度至高浓度。

Note: Rack C, from left to right are negative control, low concentration to high concentration of the test substance.

图2 不同受试物对  $hERG$ -HEK293 细胞  $I_{kr}$  的影响Fig 2 Effects of different test substances on  $I_{kr}$  in  $hERG$ -HEK293 cells

A、B. DMSO; C、D. 乙醇 (ethanol); E、F. Tween 80; G、H. 纯水 (water); I、J. PEG-400; K、L. PF-68

成。体外实验研究表明, DMSO可降低人胚胎细胞系的活力, 并以浓度依赖性的方式改变细胞形态<sup>[14-16]</sup>, 在这种情况下, 通常无法执行全细胞电流记录。因此当其作为溶剂应用时, 需谨慎考虑其浓度范围的选择。本实验结果表明, DMSO在所选浓度(0.3%~10%)对  $I_{kr}$  的阻断作用呈浓度依赖性, 0.5%以内的DMSO对  $I_{kr}$  无明显作用。小分子化学合成药物以及ADC药物中的小分子毒素通常具有较低的分子量, 溶解性差异较大<sup>[17]</sup>, 溶解时可优先选用低浓度(0.5%以内)DMSO作为  $hERG$  实验溶剂。

径, 一是影响药物本身, 包括改变药物在细胞内外的分布、渗透性及构象, 影响其对通道的可及性和亲和力; 二是干扰实验系统( $hERG$ -HEK293细胞), 如影响通道蛋白表达或修饰、改变细胞膜的形态或电生理特性。鉴于这些潜在干扰因素, 选择合适的溶剂至关重要。因此, 本研究评估了6种溶剂的安全浓度阈值, 进一步优化  $hERG$  实验条件, 以期为新技术药物的制剂设计提供关键参数。

#### 4.3 6种溶剂的安全浓度评估与应用建议

DMSO是一种既溶于水又溶于有机溶剂的偶极性非质子溶剂, 因其独特的分子结构(强极性亚砷基与疏水甲基共存), 在药物研发领域被誉为“通用溶剂”, 低浓度DMSO可以促进细胞核酸和蛋白质的合成, 而高浓度则可能抑制其合

纯水作为常见的基础溶剂, 常用于水溶性化合物的制备。考虑高浓度水溶液会稀释细胞外液使其渗透压或pH改变, 破坏电生理记录所需的稳态环境, 本研究考察了纯水作为  $hERG$  实验溶剂的安全浓度范围。结果显示, 所选浓度(0.3%~8%)的纯水呈浓度依赖性阻断  $I_{kr}$ , 低浓度(1%以内)纯水对  $I_{kr}$  无明显作用。由于ONTs具有较高分子量和较强亲水性, 因此纯水是理想溶剂, 对于此类药物的配制可将其浓度控制在1%以内; 对于亲水性的小分子药物亦可选择纯水作为溶剂。



乙醇可较好地保持细胞形态和功能,亦是细胞实验的理想溶剂之一<sup>[18]</sup>。研究表明,50 mmol/L 乙醇能显著抑制 *hERG* 通道电流,并诱导动作电位持续时间 (APD) 延长<sup>[19]</sup>。本实验结果表明,所选浓度 (0.1% ~ 4%) 的乙醇呈浓度依赖性阻断  $I_{kr}$ , 0.3% 以内的乙醇对  $I_{kr}$  无明显抑制作用。因此,建议在 *hERG* 实验药物配制时,将其用于极性较强的药物配制并将浓度控制在 0.3% 以内。

PEG-400 是一种非离子型聚合物溶剂,具有强亲水性、低毒性和良好的生物相容性,其能够与纯水、乙醇等溶剂有效结合,进而增强亲水性药物 (如 ONTs) 的溶解度和稳定性<sup>[20-21]</sup>。此外,PEG 化技术广泛应用于蛋白质类药物的修饰中,以延长其半衰期并提高稳定性<sup>[22]</sup>。研究表明,PEG-400 对 *hERG* 的抑制机制以渗透压效应为主,但其高分子特性可能引入额外的直接作用<sup>[23]</sup>。本实验结果表明,0.1% ~ 4% 的 PEG-400 对  $I_{kr}$  无明显作用且呈浓度依赖性。建议在 *hERG* 实验药物配制时,将其浓度控制在 2% 以内,亦可与纯水、乙醇等溶剂共同溶解药物。

Tween 80 是一种非离子型表面活性剂,具有较高的亲水亲脂平衡 (HLB) 值,能够有效减少药物在容器或移液器吸头等表面的吸附,同时显著增强药物的溶解度和稳定性<sup>[24-25]</sup>。然而,表面活性剂的分子特性 (尤其是自组装形成胶束的能力) 可能使 Tween 80 与细胞膜相互作用从而影响离子通道功能。本实验结果表明,Tween 80 在极低浓度 (0.01%) 下对  $I_{kr}$  有明显抑制作用,建议在 *hERG* 实验制剂配制过程中避免使用该非离子表面活性剂,以防止实验数据出现假阳性干扰。

PF-68 是一种可与细胞膜相互作用的表面活性剂,其毒性相对较低,通常用于保护细胞免受剪切应力,其表面活性特性能够形成胶束结构,从而增加药物的表面溶解度,并且可与多种类型的溶剂兼容<sup>[26-28]</sup>。结果显示,0.01% ~ 0.2% 的 PF-68 对  $I_{kr}$  无明显作用。建议在 *hERG* 实验药物配制时,将其浓度控制在 0.2% 以内。

#### 4.4 *hERG* 实验系统综合优化策略

现阶段,进行 *hERG* 实验的药物类型主要包括小分子化药、ADC 药物中的小分子毒素、多肽类药物、ONTs 以及在动物实验心电监测时出现 QT 间期延长需要进一步补充该实验的药物,因此需要针对不同药物的来源和特性来选择合适溶剂及安全浓度范围。针对部分溶解度较低的药物,

使用单一溶剂可能无法满足溶解需求,可采用混合溶剂并设置含相同浓度混合溶剂的对照组,同时需确保各组分在最终体系中的浓度低于其单独作用的安全阈值,也要避免溶剂间的协同作用对实验的影响。除 Tween 80 外,本研究中其余 5 种溶剂在安全浓度范围内均可用于 *hERG* 实验药物的配制。

此外,*hERG* 通道功能检测结果易受以下关键实验参数的影响,需在实验设计与操作中予以系统考量:

① 细胞培养密度:当融合度达到 80% 左右时,细胞处于最佳代谢活性状态,为电生理记录的最佳状态;② 温度效应:部分化合物对 *hERG* 通道电流的阻断呈现显著温度依赖性,温度变化亦影响通道动力学特性,故生理温度下的检测结果更具临床预测价值;③ 化合物疏水性:强疏水性化合物易吸附于实验容器与移液器表面导致损失,因此选择低吸附性的容器或耗材和能减少吸附的溶剂尤为重要;④ 化合物暴露时间:*hERG* 通道阻断效应因化合物渗透效率而异,化合物作用于细胞上的起效时间需要根据化合物的性质来确定<sup>[29]</sup>。

## 5 结论

*hERG* 通道电流检测需高度关注不同类型的溶剂引发的渗透压负荷或其浓度接近临界胶束浓度时所产生的干扰效应,这两种因素均可能显著影响离子通道功能表征;实验过程中应基于化合物的理化性质优化溶剂体系,并严格控制溶剂使用浓度范围。基于此,建议优先规避 Tween 80 等具有强表面活性的增溶剂,推荐采用 PEG-400 (浓度 ≤ 2%) 或 PF-68 (浓度 ≤ 0.2%) 作为优选增溶剂;对于常规溶解体系,DMSO、纯水及乙醇的浓度需分别控制在 0.5%、1% 及 0.3% 阈值内。进而有效降低非靶标因素对 *hERG* 电流记录的干扰,为药物体外心脏安全性评价提供更可靠的数据支持。

## 参考文献

- [1] Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Aronson JK. Post-marketing withdrawal of 462 medicinal products because of adverse drug reactions: a systematic review of the world literature [J]. BMC Med, 2016, 14: 10.
- [2] Witchel HJ. Drug-induced *hERG* block and long QT syndrome [J]. Cardiovasc Ther, 2011, 29 (4): 251-259.
- [3] Parker JA, Fung ES, Trejo-Martin A, et al. The utility of *hERG* channel inhibition data in the derivation of occupa-



- tional exposure limits [J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2022, 134: 105224.
- [4] Cubeddu LX. Drug-induced inhibition and trafficking disruption of ion channels: pathogenesis of QT abnormalities and drug-induced fatal arrhythmias [J]. Curr Cardiol Rev, 2016, 12 (2): 141-154.
  - [5] ICH S7B. The Non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals [S]. 2005: 1-10.
  - [6] 冯政, 岳岩, 李德利, 等. 寡核苷酸药物非临床安全性评价的一般考虑及案例分析 [J]. 中国新药杂志, 2024, 33 (23): 2446-2455.
  - [7] 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.
  - [8] Dowdy SF. Overcoming cellular barriers for RNA therapeutics [J]. Nat Biotechnol, 2017, 35 (3): 222-229.
  - [9] ICH Q3C (R9). Impurities: guideline for residual solvents [S]. 2024: 1-44.
  - [10] Lee J, Vogt CE, McBairty M, et al. Influence of dimethylsulfoxide on RNA structure and ligand binding [J]. Anal Chem, 2013, 85 (20): 9692-9698.
  - [11] Wald J, Goessweiner-Mohr N, Real-Hohn A, et al. DMSO might impact ligand binding, capsid stability, and RNA interaction in viral preparations [J]. Sci Rep, 2024, 14 (1): 30408.
  - [12] Biswas A, Maloverjan M, Padari K, et al. Choosing an optimal solvent is crucial for obtaining cell-penetrating peptide nanoparticles with desired properties and high activity in nucleic acid delivery [J]. Pharmaceutics, 2023, 15 (2): 396.
  - [13] 杜春燕, 邢红艳, 赵琪, 等. 不同温度条件对药物作用 *hERG* 钾通道的影响研究 [J]. 中国新药杂志, 2022, 31 (22): 2270-2280.
  - [14] Du X, Lu D, Daharsh ED, et al. Dimethyl sulfoxide effects on *hERG* channels expressed in HEK293 cells [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2006, 54 (2): 164-172.
  - [15] 杨远和. 二甲亚砜对人表皮核酸和蛋白质合成的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1994, 12 (1): 32-34, 60.
  - [16] Stevens AS, Pirotte N, Plusquin M, et al. Toxicity profiles and solvent-toxicant interference in the planarian *Schmidtea mediterranea* after dimethylsulfoxide (DMSO) exposure [J]. J Appl Toxicol, 2015, 35 (3): 319-326.
  - [17] Ye ZYF, Ouyang DF. Prediction of small-molecule compound solubility in organic solvents by machine learning algorithms [J]. J Cheminform, 2021, 13 (1): 98.
  - [18] Mühlbauer E, Rommelspacher H. Ethanol differently affects stress protein and *hERG* K<sup>+</sup> channel expression in SH-SY5Y cells [J]. Eur J Pharmacol, 2003, 459 (2-3): 121-129.
  - [19] Yang BD, Li CX, Sun JY, et al. Inhibition of potassium currents is involved in antiarrhythmic effect of moderate ethanol on atrial fibrillation [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2017, 322: 89-96.
  - [20] Chen YS, Chiu YH, Li YS, et al. Integration of PEG 400 into a self-nanoemulsifying drug delivery system improves drug loading capacity and nasal mucosa permeability and prolongs the survival of rats with malignant brain tumors [J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 3601-3613.
  - [21] Zhao M, Wang PJ, Sun XD, et al. Detrimental impacts of pharmaceutical excipient PEG400 on gut microbiota and metabolome in healthy mice [J]. Molecules, 2023, 28 (22): 7562.
  - [22] 李爱贵, 邓联东, 董岸杰. 聚乙二醇在新型药物制剂中的应用 [J]. 高分子通报, 2004 (4): 96-101.
  - [23] Himmel HM. Suitability of commonly used excipients for electrophysiological in-vitro safety pharmacology assessment of effects on *hERG* potassium current and on rabbit Purkinje fiber action potential [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007, 56 (2): 145-158.
  - [24] 王庆利, 彭健. 吐温 80 的安全性研究进展 [J]. 毒理学杂志, 2006, 20 (4): 262-264.
  - [25] Bollenbach L, Buske J, Mäder K, et al. Poloxamer 188 as surfactant in biological formulations-An alternative for polysorbate 20/80? [J]. Int J Pharm, 2022, 620: 121706.
  - [26] Guźniczak E, Jimenez M, Irwin M, et al. Impact of poloxamer 188 (Pluronic F-68) additive on cell mechanical properties, quantification by real-time deformability cytometry [J]. Biomicrofluidics, 2018, 12 (4): 044118.
  - [27] Wang JC, Bindokas VP, Skinner M, et al. Mitochondrial mechanisms of neuronal rescue by F-68, a hydrophilic Pluronic block co-polymer, following acute substrate deprivation [J]. Neurochem Int, 2017, 109: 126-140.
  - [28] Joshy KS, Susan MA, Snigdha S, et al. Encapsulation of zidovudine in PF-68 coated alginate conjugate nanoparticles for anti-HIV drug delivery [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 107 (Pt A): 929-937.
  - [29] Kramer J, Himmel HM, Lindqvist A, et al. Cross-site and cross-platform variability of automated patch clamp assessments of drug effects on human cardiac currents in recombinant cells [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 5627.

(收稿日期: 2025-06-20; 修回日期: 2025-08-20)

# 基于 $q^1\text{H-NMR}$ 技术的矿山修复地青蒿品质与安全性评估

梁光焰<sup>1, 2</sup>, 林绍霞<sup>1, 2</sup>, 姜阳明<sup>1, 2</sup>, 魏福晓<sup>1, 2</sup>, 陈雄<sup>3</sup>, 王道平<sup>1, 2\*</sup> (1. 贵州省天然产物研究中心, 贵阳 550014; 2. 中药功效成分发掘与利用全国重点实验室, 贵阳 550014; 3. 贵州富乾生态农业科技有限公司, 贵州 遵义 563100)

**摘要:** **目的** 拟通过定量氢核磁共振 ( $q^1\text{H-NMR}$ ) 技术建立青蒿素含量测定法, 系统评估蚯蚓粪修复矿山废弃地对青蒿的安全性及品质调控效应。**方法** 以氘代氯仿 ( $\text{CDCl}_3$ ) 为溶剂, 均三溴苯 ( $\delta$  7.61) 为内标, 优化弛豫延迟时间 ( $D_1 = 40$  s)、扫描次数 ( $NS = 16$  次) 等关键参数, 建立基于青蒿素特征氢信号 ( $\delta$  5.86, H-12)  $^1\text{H-NMR}$  的定量模型; 同步分析青蒿中 5 种重金属 (Pb、Cd、Hg、As、Cu) 及 4 种微量元素 (Cr、Ni、Zn、Mn) 含量。**结果**  $q^1\text{H-NMR}$  法测定青蒿素的线性范围为  $0.0261 \sim 65.2876$  mg/mL ( $r = 0.9999$ ), 加标回收率良好 ( $96.24\% \sim 104.23\%$ ), 重复性优异 ( $RSD = 1.9\%$ ,  $n = 6$ ), 定量限  $0.0261$  mg/mL, 结果与 HPLC 法差异无统计学意义。元素分析表明, 修复地种植的青蒿重金属含量均低于药典限量。**结论** 经蚯蚓粪修复后的矿山废弃地可用于青蒿的种植, 建立的  $q^1\text{H-NMR}$  含量测定法具有精密度高、重现性好、结果准确可靠、样品处理简单等优势, 为青蒿素原料药质量控制及工业化生产提供了新的检测手段。

**关键词:** 定量核磁共振; 青蒿素; 矿山生态修复; 蚯蚓粪; 重金属安全

**中图分类号:** R284.1, O657.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-165-07  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.024

## Quality and safety of *Artemisia annua* L. in mine restoration areas based on $q^1\text{H-NMR}$

LIANG Guangyan<sup>1, 2</sup>, LIN Shaoxia<sup>1, 2</sup>, JIANG Yangming<sup>1, 2</sup>, WEI Fuxiao<sup>1, 2</sup>, CHEN Xiong<sup>3</sup>, WANG Daoping<sup>1, 2\*</sup> (1. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550014; 2. State Key Laboratory of Discovery and Utilization of Functional Components in Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550014; 3. Guizhou Fuqiang Ecological Agriculture Science and Technology Co., Ltd., Zunyi Guizhou 563100)

**Abstract: Objective** To establish a quantitative  $^1\text{H}$ -nuclear magnetic resonance ( $q^1\text{H-NMR}$ ) spectroscopy to determine artemisinin content and evaluate the safety and quality-modulating effects of vermicompost-remediated mine wasteland on *Artemisia annua* L.. **Methods** Deuterated chloroform ( $\text{CDCl}_3$ ) was used as the solvent and 1, 3, 5-tribromobenzene ( $\delta$  7.61) as the internal standard, to establish a  $q^1\text{H-NMR}$  method. Key parameters were optimized (relaxation delay  $D_1 = 40$  s; number of scans  $NS = 16$ ), and quantified with characteristic signal of artemisinin H-12 proton at  $\delta$  5.86. The content of five heavy metals (Pb, Cd, Hg, As, and Cu) and four trace elements (Cr, Ni, Zn, and Mn) was also determined. **Results** The  $q^1\text{H-NMR}$  method for artemisinin demonstrated a wide linear range at  $0.0261 \sim 65.2876$  mg/mL ( $r = 0.9999$ ), with good spike recoveries ( $96.24\% \sim 104.23\%$ ) and excellent repeatability ( $RSD = 1.9\%$ ,  $n = 6$ ). The limit of quantification was  $0.0261$  mg/mL. No significant difference was observed between the results obtained by the  $q^1\text{H-NMR}$  and conventional HPLC. Element analysis indicated that the concentrations of all heavy metals in *Artemisia annua*

**基金项目:** 贵州省科学技术基金项目 (黔科合基础 -zk[2025]面上 122; 黔教合[2020]018; 黔科合中引地[2023]026)。

**作者简介:** 梁光焰, 女, 实验师, 主要从事分析与品质评价工作, email: 1004390045@qq.com \*通信作者: 王道平, 男, 副研究员, 主要从事分析化学工作, email: wdp\_7897@aliyun.com

L. cultivated on the remediated land were below the official pharmacopoeial limits. **Conclusion** Vermicompost-remediated mine wasteland is a viable substrate for cultivating *Artemisia annua* L.. The developed q<sup>1</sup>H-NMR assay is precise, accurate, reproducible, and requires minimal sample preparation, presenting a new analytical strategy for the quality control and industrial production of artemisinin.

**Key words:** quantitative <sup>1</sup>H-NMR; artemisinin; restoration of mine waste land; vermicompost; heavy metal safety

矿山开采活动引发的生态系统退化已成为全球性环境问题,其造成的土地损毁与重金属复合污染不仅导致区域生物多样性丧失,还可能通过食物链迁移对人类健康构成威胁<sup>[1]</sup>。据统计,全球约 670 万公顷矿区土地因重金属污染丧失生态功能,其中砷(As)、汞(Hg)等致癌元素通过作物富集导致的健康风险指数(HI)可达 3.2~5.8,远超安全阈值(HI=1)<sup>[2-3]</sup>。在此背景下,矿山废弃地的生态修复与安全利用已成为环境科学和生态工程领域的研究热点,其挑战在于如何协同实现土壤功能恢复与经济价值转化。蚯蚓粪作为蚯蚓代谢有机废弃物生成的腐殖化产物,因其独特的环境友好特性与土壤改良功能备受关注。研究表明,蚯蚓粪富含腐殖酸、胞外多糖及多种微量元素[铁(Fe)、锌(Zn)等],其三维多孔结构(孔隙度>60%)可显著改善土壤团粒结构(粒径分布优化率达40%)、增强保水保肥能力,并通过有机-无机复合作用有效降低重金属生物有效性<sup>[4-6]</sup>。黄花蒿(*Artemisia annua* L.)作为青蒿的唯一植物来源,不仅是《中国药典》收录的重要药用植物,其较强的生态适应性与高经济价值特性,更是矿区生态-经济协同修复的理想物种。基于此,本研究以贵州省遵义市团溪镇典型矿山废弃修复基地为研究对象,系统探究蚯蚓粪改良对黄花蒿生长特性、重金属含量及次生代谢产物积累情况的调控,旨在构建矿区土壤修复-药用植物栽培的可持续模式。

青蒿的药用价值可追溯至马王堆汉墓出土的《五十二病方》,历代典籍《神农本草经》《本草纲目》均详载其“清热解毒、截疟退黄”之功。现代药理学研究揭示,青蒿素(artemisinin)作为其核心功效成分,不仅是世界卫生组织(WHO)推荐的一线抗疟药物(治愈率>95%),更在抗肿瘤、调节免疫及治疗代谢性疾病中展现出多重药理活性<sup>[7-10]</sup>。2015年屠呦呦教授因青蒿素抗疟机制研究荣获诺贝尔生理学或医学奖<sup>[11]</sup>,标志着该化合物在全球公共卫生领域的里程碑式贡献。然而,

2020年版《中国药典》仅采用薄层色谱法(TLC)进行青蒿素定性鉴别<sup>[12]</sup>,定量检测体系缺失导致药材质量评价缺乏标准化依据。虽有HPLC-UV/ELSD法测定青蒿素含量的文献报道,但由于青蒿素自身化学性质,现有检测方法存在样品需衍生化处理、测试误差大、样品损耗严重、效率低及有毒试剂消耗大等缺点<sup>[13-14]</sup>。为此,本论文创新性地引入核磁共振氢谱(q<sup>1</sup>H-NMR),该技术基于待测化合物特征氢信号与内标物氢信号的面积比值建立定量模型,可直接测得目标化合物的准确含量,具有前处理简单、测试高效、试剂消耗量低、测试结果准确可靠等优势<sup>[15]</sup>。因此,本论文拟采用q<sup>1</sup>H-NMR技术建立一种直接测定青蒿中青蒿素含量的方法,以期为青蒿的品质评价及生产应用提供一种高效、可靠的检测手段。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Bruker Avance NEO 600 MHz 型核磁共振波谱仪(德国Bruker公司);Cubis MSA 百万分之一天平(美国梅特勒-托利多公司);Agilent 1100 高效液相色谱仪、Agilent240Z/FS 石墨炉-火焰原子吸光度计(美国Agilent公司),液相色谱柱为资生堂CAPCELL-PAK (4.6 mm×250 mm, 5 μm)(日本资生堂公司);Prodigy XP 等离子体发射光谱仪(美国利曼/Teledyne Leeman Labs公司);AFS-2100 双道原子荧光光度计(北京海光仪器有限公司);APL 微波消解仪[奥普乐科技集团(成都)有限公司];明澈TM-D24uv-纯水系统(德国Merck Millipore公司)。

### 1.2 试药

氘代氯仿(CDCl<sub>3</sub>)(美国剑桥同位素实验室);青蒿素对照品(HPLC≥98%,成都植标化纯生物技术有限公司,批号:220518),均三溴苯(含量:98%,上海易恩化学技术有限公司);石油醚、甲醇、盐酸、氢氧化钠、硝酸、高氯酸、30%过氧化氢(天津市科密欧化学试剂有限公司);1000 μg/mL 单元素标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心)。



样品来源于贵州省遵义市播州区团溪镇贵州富乾生态农业科技有限公司矿山修复实验地,海拔 1374.7 m, 经度 107°38', 纬度 27°27'42", 矿山废弃地施用蚯蚓粪一年后, 将地翻耕并撒入青蒿种子, 待青蒿进入营养生长后期 (Y1)、花芽分化期 (Y2)、盛蕾期 (Y3)、盛花期 (Y4)、末花期 (Y5) 时分别进行采摘, 采摘后的样品经林邵霞研究员鉴定为青蒿, 将采摘后的样品及时置于 60 °C 烘箱中烘 30 min 进行杀青、灭酶处理, 于 45 °C 低温烘干、粉碎; 另取花芽分化期的叶和茎分别用于无机元素分析。

## 2 方法

### 2.1 无机元素样品处理

参照 2020 年版《中国药典》及相关文献中关于中药材重金属的测定方法测定<sup>[16]</sup>, 采用微波消解-等离子体发射光谱法 (Prodigy XP) 测定铬 (Cr), 铜 (Cu), 镍 (Ni), 锰 (Mn), 锌 (Zn) 元素; 采用石墨炉原子吸收光度法 (Agilent 240Z/FS) 测定镉 (Cd), 铅 (Pb) 元素; 采用原子荧光光谱仪 (AFS-2100) 测定 Hg、As 元素。

称取样品 0.2 ~ 0.5 g 于消解罐中, 加入 5 mL 浓硝酸, 振荡混匀、浸泡过夜, 以消除有机物质反应产生的大量气泡, 加 2 mL 30% 过氧化氢摇匀, 盖上内外盖子放入微波中消解, 置于石墨消解炉赶酸至 1 mL, 超纯水定容至 25 mL, 待测。取 8 mL 消解液于 10 mL 比色管中, 加入 1 mL 浓盐酸和 1 mL 5% 的硫脲-抗坏血酸混合液, 振荡混匀, 静置反应后测定 As。另取 8 mL 消解液于 10 mL 比色管中, 加入 0.5 mL 浓盐酸, 混匀定容, 静置后测 Hg; 其余元素直接取消解液进行测定。

### 2.2 样品溶液制备

**2.2.1 核磁共振样品** 精确称取均三溴苯 20 mg 于 10 mL 量瓶, 加入 CDCl<sub>3</sub> 溶解定容, 配制为 A 试剂, 密封存于 4 °C 冰箱备用。精确称取适量青蒿样品粉末, 按料液比 1 : 100 加入石油醚 (60 ~ 90 °C) 超声 30 min, 取续滤液浓缩至干, 得青蒿提取物, 相当于含生药量 0.5 g。精确称取 30 mg 青蒿提取物至内径为 5 mm 核磁管中, 加入 A 试剂 500 μL, 混匀后进行测试。

制备样品于 0、6、12、24、32、48 h 测定稳定性; 取同一样品制备 6 份平行样品测定重复性; 取同一样品制备 9 份平行样品, 测试后加入原样品中 80%、100%、120% 含量的青蒿素对照品, 各 3 份, 测定加样回收率。精确称取适量青蒿素对照品, 加入 A 试剂稀释为 6 个对照样品 (质量浓度区间: 0.0261 ~ 65.2876 mg/mL), 按上述样品配

制方法配制、混匀后进行测试, 并绘制标准曲线。

**2.2.2 高效液相样品** 精确称取青蒿粉末 0.5 g, 按料液比 1 : 100 加入石油醚 (60 ~ 90 °C) 超声提取 30 min, 过滤、取续滤液 5 mL, 低温蒸干。加甲醇 1 mL 溶解, 再加入 2 g/L 氢氧化钠 4 mL, 混匀后放入 50 °C 水浴中振荡 30 min。待青蒿素衍生完全后, 取出冷却至室温, 加盐酸中和后, 用甲醇定容至 10 mL, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后上机检测。

精确称取适量青蒿素对照品, 加甲醇溶解后, 按照上述衍生化操作流程进行处理, 同时取甲醇制备试样空白对照, 将衍生后的青蒿素对照样品稀释为 6 个对照样品 (质量浓度区间: 5.46 ~ 109.2 μg/mL), 混匀后进行测试, 绘制标准曲线。

### 2.3 核磁仪器参数设置

<sup>1</sup>H-NMR 采用 90° 脉冲, 脉冲程序为 zg, 谱宽设置为 SW 为 17.50 ppm、O<sub>1</sub> 为 6.50 ppm, 采集次数 (NS) 为 16 次, 测试温度为 298 K, 采集时间 (AQ) 为 3 s, 弛豫延迟时间 (D<sub>1</sub>) 为 40 s, 采集点数为 64 K。

<sup>13</sup>C-NMR 脉冲程序为 zgpg30, DEPT 脉冲程序为 deptsp45/90/135, 其他参数为仪器默认参数。

<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 脉冲程序为 cosygpppqf, 谱宽 SW 为 13.02 ppm, D<sub>1</sub> 为 1.5 s, NS 为 4 次, 空扫 (DS) 为 16, O<sub>1</sub>: 5.80 ppm。

<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC 脉冲程序为 hsqcedetgsp.3, F2 (<sup>1</sup>H) 谱宽 SW 为 13.02 ppm, F1 (<sup>13</sup>C) 谱宽 SW 为 200 ppm, NS 为 8 次, DS 为 32。

<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC 脉冲程序为 hmbcgpndqf, F2 (<sup>1</sup>H) 谱宽 SW 为 13.02 ppm, F1 (<sup>13</sup>C) 谱宽 SW 为 200 ppm, CNST13 为 8 Hz, NS 为 8 次, DS 为 16。

### 2.4 液相色谱条件<sup>[17]</sup>

进样量 10 μL, 柱温: 35 °C, 流速: 1 mL/min, 流动相 A 为 pH 5.8 乙酸钠水溶液, B 为甲醇, 采用 40%B 等度洗脱 20 min, 检测波长 260 nm。

### 2.5 数据处理与计算

**2.5.1 核磁数据分析** 将核磁采集结果使用 Topspin 4.0.3 软件处理, 经傅里叶变换、定标、相位校正、基线校正后, 放大后对均三溴苯和青蒿素的定量特征峰进行积分, 取 5 次积分平均值进行计算, 计算公式:  $W_s = W_r (A_s/A_r) (E_s/E_r)$ 。

$W_r$ : 均三溴苯的重量 (mg),  $A_s$  和  $A_r$  分别为供试品特征峰和内标峰的平均峰面积;  $E_s$  和  $E_r$  分别为供试品和内标物的质子当量重量 (以分子量除以特征峰的质子数计算得到), 计算青蒿中青蒿素的含量。

**2.5.2 数据分析** 采用 Excel 2013、SPSS 21 版软件对结果进行计算并绘制相关表格以及进行统计检验等, 采用 MestReNova 核磁数据处理软件绘制核磁相关图谱。

**3 结果与分析**

**3.1 青蒿不同部位无机元素含量分析**

参照 2020 年版《中国药典》测定青蒿叶和茎

的 9 种无机元素, 其中铅、镉、汞、砷、铜 5 种为药典限制的潜在毒性元素, 另外 4 种为人体所需的微量元素。结果显示 (见表 1), 青蒿中潜在毒性元素的含量远低于药典规定的限值, 且含有 4 种人体所需的微量元素。9 种无机元素分析表明, 矿山废弃地改良后种植的黄花蒿其重金属含量符合药典标准<sup>[18]</sup>。

表 1 青蒿不同组织无机元素含量分析 (mg/kg)

Tab 1 Average content of inorganic elements in different parts of *Artemisia annua* L. (mg/kg)

| 组织 | Pb            | Cd            | Hg            | As            | Cu             | Cr            | Ni            | Zn              | Mn              |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|
| 叶  | 0.0275±0.0007 | 0.2595±0.0007 | 0.0325±0.0007 | 0.3540±0.0000 | 13.5665±0.0262 | 1.3910±0.0085 | 2.8690±0.0350 | 52.4885±0.0969  | 216.2050±0.0353 |
| 茎  | ND            | 0.2530±0.0014 | 0.0100±0.0000 | 0.0885±0.0007 | 11.1000±0.0169 | 0.4044±0.0353 | 1.2075±0.0176 | 113.0785±0.0177 | 69.0895±0.1760  |
| 限量 | 5.0           | 4.0           | 0.1           | 2.0           | 20             | /             | /             | /               | /               |

注: “ND” 表示未检出; “/” 未限定。

Note: “ND” not detected; “/” not specified.

**3.2 青蒿素定量信号的确定**

配制青蒿提取物核磁共振样品溶液测定 <sup>1</sup>H-NMR (见图 1)、<sup>13</sup>C-NMR、DEPT45/90/135、<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY、<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC 和 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC 谱图 (见图 2), 对提取物中青蒿素的核磁信号进行解析, 结果见表 2。对 <sup>1</sup>H-NMR 图谱分析可知, 核磁共振样品的氢信号绝大多数位于高场区 (低化学位移), 重叠严重,

青蒿素在高场区氢信号受其他化合物干扰, 不能用作定量信号; 但其结构中 C2 与两个氧原子相连, 由于氧原子的吸电子能力使得 C2 上的氢信号向低场 (高化学位移区域) 移动, 其化学位移 ( $\delta$ ) 为 5.86; 结合一维、二维核磁谱图综合分析, 显示该信号不受其他信号干扰且专属性强, 初步判定其可用作青蒿素的含量测定。

表 2 青蒿素结构解析

Tab 2 Structure analysis of artemisinin

| 碳序号 | 氢化学位移 (耦合常数) | C 的化学位移                  | 碳序号 | 氢化学位移 (耦合常数)    | C 的化学位移                  |
|-----|--------------|--------------------------|-----|-----------------|--------------------------|
| C1  | /            | 105.37 (C)               | C9  | 1.10, 1.80 m    | 33.62 (CH <sub>2</sub> ) |
| C2  | 5.86 s       | 93.46 (CH)               | C10 | 1.44 m          | 37.53 (CH)               |
| C3  | /            | 79.49 (C)                | C11 | 3.42 m          | 32.91 (CH)               |
| C4  | 1.40 m       | 50.07 (CH)               | C12 | /               | 172.15 (C)               |
| C5  | 1.48, 2.04 m | 24.87 (CH <sub>2</sub> ) | C13 | 1.02 d (6.1 Hz) | 19.85 (CH <sub>3</sub> ) |
| C6  | 2.08, 2.42 m | 35.09 (CH <sub>2</sub> ) | C14 | 1.46 s          | 25.22 (CH <sub>3</sub> ) |
| C7  | 1.79 m       | 44.96 (CH)               | C15 | 1.20 d (7.3 Hz) | 12.59 (CH <sub>3</sub> ) |
| C8  | 1.10, 1.90 m | 23.42 (CH <sub>2</sub> ) |     |                 |                          |

**3.3 <sup>1</sup>H-NMR 检测方法的优化**

**3.3.1 溶剂与内标的选择** 青蒿素是倍半萜内酯类化合物, 在氯仿、丙酮、甲醇等氘代试剂中均可测试, 考虑检测成本与溶剂效应, 本文选用 CDCl<sub>3</sub> 为测试溶剂。实验发现, 核磁共振样品非活泼氢信号位于 0.00 ~ 6.00, 内标信号大于  $\delta$  6.00 可减少干扰。结合文献调研与测试, 均三溴苯不仅易溶于 CDCl<sub>3</sub>、在 <sup>1</sup>H-NMR 谱图中只有一个信号峰  $\delta$  7.61, 且不受核磁共振样品中其他成分的干扰, 与青蒿素定量信号  $\delta$  5.86 和溶剂信号 ( $\delta$  7.28、 $\delta$  1.59) 互不干扰, 加之其化合物性质稳定, 不易降解, 故选定均三溴苯为本实验的内标。综上, 本实验最终选用 CDCl<sub>3</sub> 为测试溶剂、

均三溴苯为内标, 测试结果见图 1。

**3.3.2 专属性考察** 取核磁共振样品测得青蒿提取物的 <sup>13</sup>C-NMR 和 DEPT45/90/135 谱图, 根据图谱归属出青蒿素定量信号直接相连的碳信号 (C2,  $\delta$  93.46); <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 归属青蒿素 C2 的氢信号无交叉峰且不受其他信号干扰; <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC 归属 C2 的 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C 直接相关 ( $\delta$  5.86,  $\delta$  93.46) 信号, 谱图显示无别的信号与之重合; <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC 归属青蒿素 <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C 间接相关, 分析可知 C2 上的氢在空间上与 C1、C3、C12 相关 ( $\delta$  5.86,  $\delta$  105.37、 $\delta$  79.49、 $\delta$  172.15), 且不存在其他信号相关联, 测试图谱见图 2。通过分析青蒿提取物一维和二维核磁谱图, 青蒿素 C2 上的氢信号 ( $\delta$  5.86) 不受提取

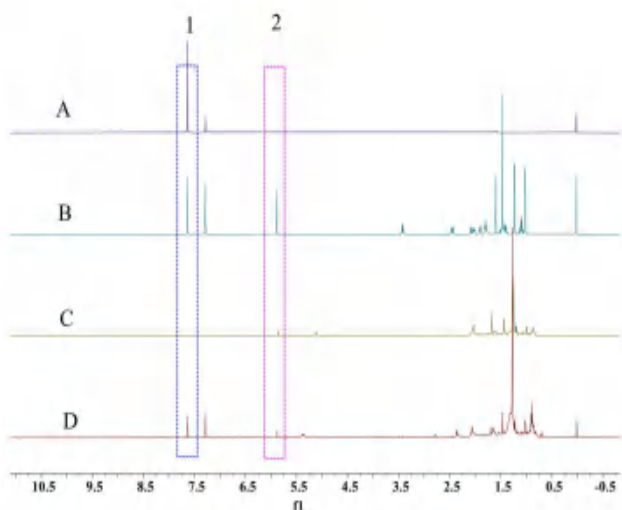

 图 1 青蒿样品  $^1\text{H}$ -NMR 谱图

 Fig 1  $^1\text{H}$ -NMR spectrum of *Artemisia annua* L.

A. 内标 (IS); B. 青蒿素+内标 (artemisinin + IS); C. 核磁共振样品 ( $^1\text{H}$ -NMR sample); D. 核磁共振样品+内标 ( $^1\text{H}$ -NMR sample + IS); 1. 内标 (IS); 2. 青蒿素 (artemisinin)

物中其他物质的信号干扰, 该信号峰的专属性强、特异性强, 可用于青蒿中青蒿素的含量测定。

**3.3.3 测试参数的优化** 核磁定量测试中  $D_1$ 、NS 及 AQ 参数都会影响测试结果。其中自由感应衰减 (FID) 长度约等于 AQ; 当  $D_1 \geq 5T_1$  ( $T_1$  纵向弛豫时间) 能保证测定结果的准确度, 本试验采用反转恢复法 (拟合曲线见图 3), 测得青蒿素和均三溴苯  $T_1$  分别为 7.562 s、1.963 s, 故此将  $D_1$  设为 40 s。在  $^1\text{H}$ -NMR 测试中, 信噪比 ( $S/N$ ) 与扫描次数 (NS) 在一定范围内成正相关, 但 NS 的增加也会延长测试时间, 降低检测效率。本论文对 NS 为 4、8、16、32、64 进行测试考察, 在保证信噪比满足定量要求下, 对比不同扫描次数下峰面积积分差异, 结果发现峰面积之比无明显差异变化  $RSD$  为 0.080% (谱图及积分比值见图 3), 为保证测试结果的稳定性, 本研究最终确定 NS 为 16 次、 $D_1$  为 40 s、AQ 为 3 s。

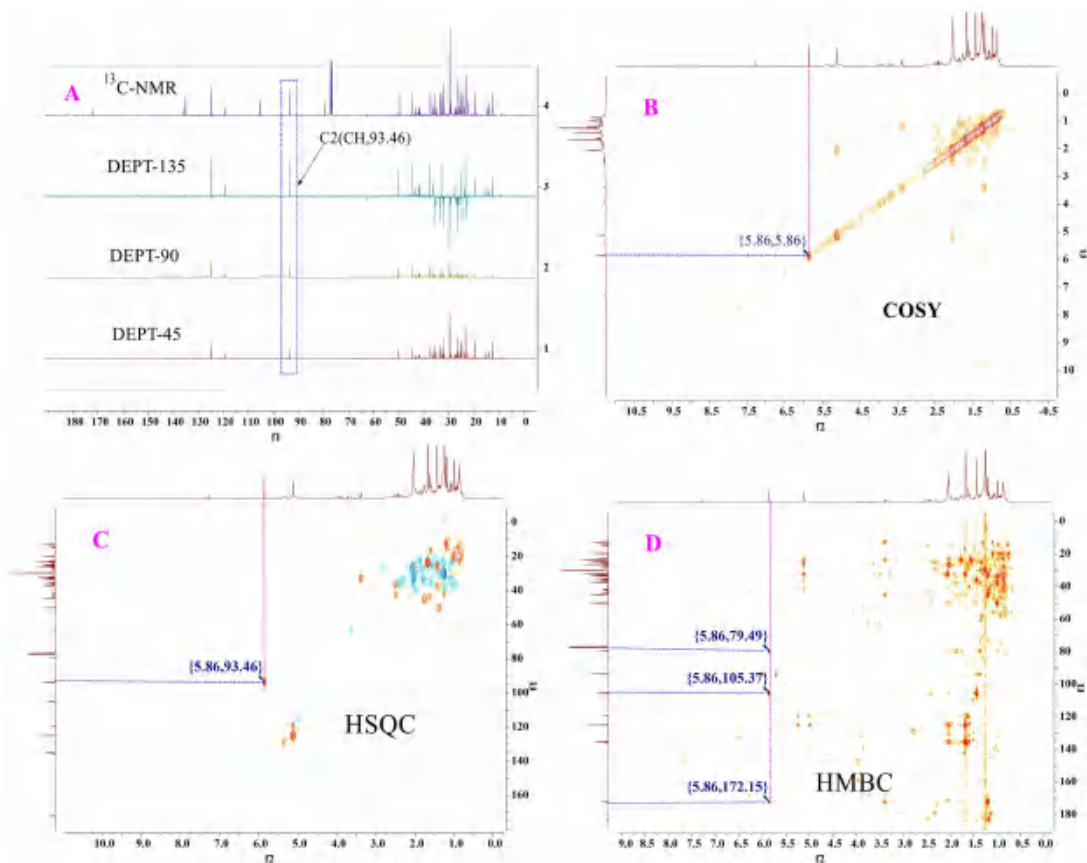


图 2 青蒿样品 NMR 谱图

 Fig 2 NMR spectrum of *Artemisia annua* L.

A. 一维碳谱图 ( $^{13}\text{C}$  and DEPT-45/90/135); B、C、D. 二维氢碳相关谱图 ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC, and  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC)

### 3.4 方法学考察

**3.4.1 线性试验** 按“2.2.1”项下方法配制核磁标样, 采集数据经处理后, 计算青蒿素与均三溴苯的质量之比, 以质量比为横坐标, 获得线性回归方

程:  $Y = 0.392X + 0.0053$ ,  $r = 0.9999$  (线性范围 0.0261 ~ 65.2876 mg/mL)。当信噪比  $S/N \geq 10$  时测得定量限为 0.0261 mg/mL; 当信噪比  $S/N \geq 3$  时测得定量限为 0.013 mg/mL。



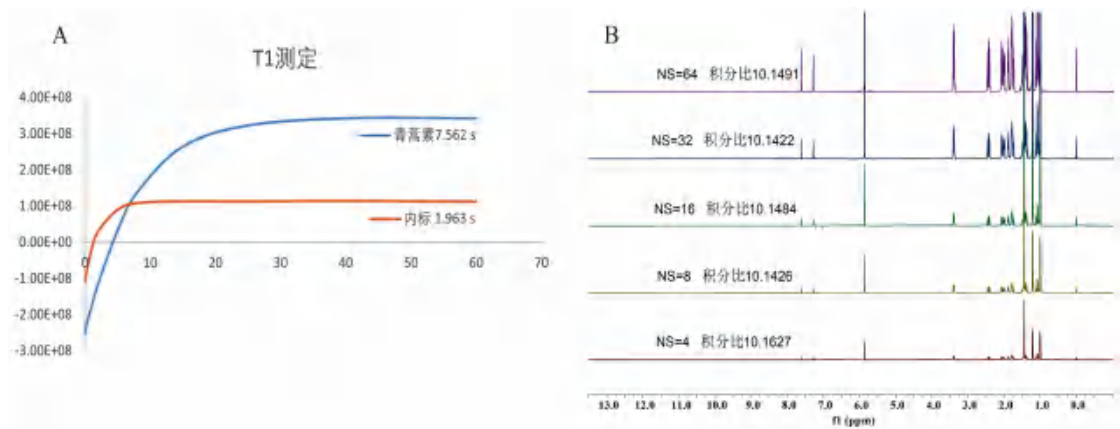


图 3 拟合曲线 (A) 和氢谱 (B)

Fig 3 Fitting curve (A) and <sup>1</sup>H-NMR (B)

A. 反转恢复法测试 T1 拟合曲线 (T1 fitting curve measured); B. 不同采样次数氢谱及对应峰面积积分比 (spectra at different NS and ratios of peak areas)

**3.4.2 重复性试验** 按“2.2.1”项下方法配制样品后进行数据采集,测得青蒿素的含量,并计算平行样品中青蒿素的 *RSD* 值为 1.9% (小于 3%),结果显示该方法重复性良好。

**3.4.3 稳定性试验** 按“2.2.1”项下方法配制样品后进行数据采集,并计算青蒿素的含量,48 h 内青蒿素含量的 *RSD* 值为 0.48%,结果显示该方法在 48 h 内稳定性良好。

**3.4.4 加样回收试验** 按“2.2.1”项下方法配制样品后进行数据采集,计算青蒿素的含量,将实际值与理论值比较,结果低、中、高浓度的平均回收率分别为 98.15%、102.80%、98.46%,*RSD* 分别为 2.7%、1.7%、2.3%,结果显示该测试方法准确度良好。

**3.5 测定结果及验证**

按“2.2.1”项下方法配制样品后进行数据采集,测得不同生长期青蒿中青蒿素的含量,同时本实验采用 HPLC 法测定。对两种方法测定的青蒿素含量结果进行 *t* 检验,结果对比分析 *P* > 0.05,差异无统计学意义 (见表 3)。

表 3 青蒿素含量的定量氢核磁共振和高效液相测试结果 (*n* = 3)  
Tab 3 Determination of artemisinin content by q<sup>1</sup>H-NMR and HPLC (*n* = 3)

| 样品 | 青蒿素含量 /%             |                 |
|----|----------------------|-----------------|
|    | q <sup>1</sup> H-NMR | HPLC            |
| Y1 | 1.2595 ± 0.0025      | 1.2095 ± 0.0114 |
| Y2 | 1.5121 ± 0.0010      | 1.4661 ± 0.0061 |
| Y3 | 1.5332 ± 0.0014      | 1.4932 ± 0.0020 |
| Y4 | 1.4778 ± 0.0012      | 1.4476 ± 0.0149 |
| Y5 | 1.3489 ± 0.0009      | 1.2996 ± 0.0073 |

**4 讨论**

本论文在分析方法层面上,成功构建了基于

q<sup>1</sup>H-NMR 技术的青蒿素检测方法。通过系统解析青蒿提取物的一维 / 二维核磁共振谱,首次选定  $\delta$  5.86 的特征氢信号作为青蒿的定量信号,以均三溴苯 ( $\delta$  7.61) 作为内标物,优化了测试试剂、*D*<sub>1</sub>、AQ、NS 等参数,成功解决了青蒿提取物中复杂基质信号重叠干扰青蒿素定量的关键问题。与 HPLC 相比, q<sup>1</sup>H-NMR 测试样品无需衍生化,具有专属性强、精密度高、准确度高、检测效率高、试剂消耗量少和样品易回收等优点。测试结果虽与 HPLC 法存在偏差,但两者结果经 *t* 检验分析差异无统计学意义 (*P* > 0.05),证实 q<sup>1</sup>H-NMR 检测方法具有良好的准确度,可作为青蒿素含量测定的新技术。本论文建立的 q<sup>1</sup>H-NMR 法具有样品前处理简单、可直接测定青蒿中青蒿素的绝对含量且不损耗样品的优势,这些优势可有效减少烦琐的样品前处理,提升检测方法的操作性和测试结果的准确度;此外,这种样品非破坏性的检测技术特性可为珍贵种质资源的分析提供极大的助力。

本论文通过系统分析蚯蚓粪修复后矿山废弃地种植的黄花蒿叶、茎中 9 种无机元素的分布特征,揭示了蚯蚓粪作为生态修复材料对药用植物品质调控的双重效应。实验数据显示,矿山修复地种植的黄花蒿 5 种潜在毒性元素含量均显著低于 2020 年版《中国药典》的限量标准,并含 4 种人体所需的微量元素。结果揭示,经蚯蚓粪改良后的矿山废弃地可作为经济作物黄花蒿的安全生产基地。为深入探究修复措施对植物次生代谢产物的影响,本论文通过 q<sup>1</sup>H-NMR 法测定了黄花蒿 5 个关键生长阶段 (Y1 ~ Y5) 的青蒿素动态积累规律,发现青蒿素在花芽分化期 (Y2) 至盛

蕾期 (Y3) 呈含量峰值, 测试结果为细化青蒿的最佳采收期提供数据支撑。与文献对比发现, 蚯蚓粪修复后矿山废弃地种植的青蒿中青蒿素的含量较文献值提升 2 ~ 3 倍<sup>[19]</sup>, 这一现象提示蚯蚓粪可能通过改善根际微生物群落结构或调节植物内源激素平衡等协同机制促进次生代谢产物青蒿素的合成。本论文建立了元素分析-药用植物品质的关联模型, 为矿山生态修复与中药材种植优化提供了数据参考。

## 5 结论

本研究综合运用 q<sup>1</sup>H-NMR 方法与元素分析技术, 系统评估了蚯蚓粪修复矿山废弃地种植黄花蒿的药材品质及生态安全性, 主要获得以下结论: ① 元素分析结果显示蚯蚓粪修复后的矿山废弃地可用于黄花蒿的安全种植; ② 建立的 q<sup>1</sup>H-NMR 法成功弥补了 HPLC 法需衍生化、测试效率低、有害试剂消耗量大、样品不易回收的局限性, 其非破坏性检测特性可为珍贵种质资源的检测提供技术参考, 为植物代谢组学研究提供了新的技术途径。本研究不仅为矿山废弃地生态-经济协同修复提供了实践范例, 所构建的元素分析-药用植物品质研究框架, 亦可拓展至矿区生态修复中其他药用植物或经济作物的可持续利用研究, 为同类型的生态修复工程提供实例参考与技术支持。

## 参考文献

- [1] 梅振然, 赵中秋, 杨侨, 等. 我国金属矿山废弃地生态修复研究进展及趋势分析[J]. 中国矿业, 2024, 33 (10): 102-118.
- [2] 罗飞. 南岭生态功能区典型金属矿区岩溶地下河系统重金属迁移转化规律及生态修复研究[D]. 北京: 中国地质科学院, 2024.
- [3] 赵鑫娜, 杨忠芳, 余涛. 矿区土壤重金属污染及修复技术研究进展[J]. 中国地质, 2023, 50 (1): 84-101.
- [4] 黄玉波, 梁路, 庄秋丽, 等. 蚯蚓营养液促进番茄生长

- 并改善其果实品质[J]. 北方园艺, 2025, 1 (1): 44-51.
- [5] Ferlian O, Thakur MP, González AC, et al. Soil chemistry turned upside down: a meta-analysis of invasive earthworm effects on soil chemical properties[J]. Ecology, 2020, 101 (3): 2936-2947.
- [6] 庞博文, 李永梅, 徐昆龙, 等. 蚯蚓堆肥影响土壤健康和作物生长的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2020, 48 (12): 29-35.
- [7] Li J, Casteels T, Frogne T, et al. Artemisinin target GABAA receptor signaling and impair  $\alpha$  cell identity[J]. Cell, 2017, 168 (1): 86-100.
- [8] Peplow M. Synthetic malaria drug meets market resistance[J]. Nature, 2016, 530 (7591): 389-390.
- [9] Brown GD. The biosynthesis of artemisinin (Qinghaosu) and the phytochemistry of *Artemisia annua* L. (Qinghao) [J]. Molecules, 2010, 15 (11): 7603.
- [10] 梁艳, 瞿水清, 李玉, 等. 青蒿素及其衍生物对神经系统疾病的保护作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30 (23): 292-299.
- [11] Tu YY. The discovery of artemisinin (Qinghaosu) and gifts from Chinese medicine[J]. Nat Med, 2011, 17 (10): 1217.
- [12] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 207.
- [13] 刘冲, 刘荫贞, 乐智勇, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定六神曲中青蒿素的含量[J]. 中南药学, 2017, 15 (2): 225-227.
- [14] 刘倩, 杨俊卿, 袁佩, 等. 快速测定青蒿素的创新型分析化学实验设计与实践[J]. 化学教育(中英文), 2024, 45 (22): 79-83.
- [15] Dikmen G, Uslu O. The application of qNMR for the determination of rosuvastatin in tablet form[J]. Turk J Chem, 2021, 45 (1): 132-142.
- [16] 中国药典 2020 年版. 四部[S]. 2020: 234-236.
- [17] 万俊, 贾曦文, 刘书渊, 等. 超声辅助提取青蒿素工艺的响应面法优化研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33 (1): 98-100.
- [18] 颜秋晓, 王道平, 李相楹, 等. 黔产 7 种药用植物重金属污染特征及健康风险评价[J]. 沈阳药科大学学报, 2022, 39 (9): 1091-1099.

(收稿日期: 2025-06-30; 修回日期: 2025-10-14)

## 综述

# 代谢组学技术在中药作用机制调控研究中的应用

王佳媛<sup>1</sup>, 郭文静<sup>2</sup>, 张伟<sup>1</sup>, 许凤清<sup>1</sup>, 赵宏苏<sup>1\*</sup>, 吴德玲<sup>1, 3\*</sup> (1.安徽中医药大学 药学院, 国家中医药管理局中药炮制传承基地, 省部共建安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 中药饮片制造新技术安徽省重点实验室, 合肥 230012; 2.安徽中医药大学 中西医结合学院, 合肥 230012; 3.亳州学院, 安徽 亳州 236800)

**摘要:** 代谢组学聚焦生物体内代谢物的变化及其相互关系, 其多样的分析技术及方法为中药作用机制研究提供了更多思路。本文综述了代谢组学技术在中药作用机制研究中的应用, 重点介绍了主要代谢通路及其生物学功能, 详细探讨了核磁共振波谱 (NMR)、气相色谱-质谱联用 (GC-MS)、液相色谱-质谱联用 (LC-MS) 及质谱成像技术 (MSI) 的特点和应用, 列举了不同代谢组学技术的操作流程和应用, 对推动该技术在中药疾病预防与治疗中的应用具有重要意义。

**关键词:** 代谢通路; 代谢组学; 代谢流; 中药现代化

中图分类号: R28

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-172-09

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.025

## Role of metabonomics technology in research on the mechanistic regulation of traditional Chinese medicine

WANG Jiayuan<sup>1</sup>, GUO Wenjing<sup>2</sup>, ZHANG Wei<sup>1</sup>, XU Fengqing<sup>1</sup>, ZHAO Hongsu<sup>1\*</sup>, WU Deling<sup>1, 3\*</sup> (1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Traditional Chinese Medicine Processing and Inheritance Base of National Administration of TCM, MOE-Anhui Joint Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Anhui Genuine Medicinal Materials, Anhui Key Laboratory of TCM Decoction Pieces of New Manufacturing Technology, Hefei 230012; 2. School of Integrated Traditional and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012; 3. Bozhou University, Bozhou Anhui 236800)

**Abstract:** Metabolomics focuses on the changes and interrelationships of metabolites within living organisms, and its diverse analytical techniques and methods provide more insights into the research of the mechanisms of traditional Chinese medicine (TCM). This paper reviewed the application of metabolomics in the research on the regulatory mechanism of TCM, focusing on key metabolic pathways and their biological functions. It discussed the characteristics and applications of nuclear magnetic resonance, gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-mass spectrometry, and mass spectrometry imaging. Additionally, the operation procedures and applications of various metabolomic methods were outlined, aiming to promote the application of metabolomics in the prevention and treatment of diseases with TCM.

**Key words:** metabolic pathway; metabolomics; metabolic flux; modernization of traditional Chinese medicine

**基金项目:** 国家重点研发计划项目 (No.2023YFC3504202)。

**作者简介:** 王佳媛, 女, 硕士研究生, 主要从事中药质量评价和药效物质基础研究, email: 2357806302@qq.com \***通信作者:** 吴德玲, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药活性成分研究、中药质量评价和中药新药的开发与研究, email: dlwu7375@ahtcm.edu.cn; 赵宏苏, 女, 实验师, 主要从事中药质量评价和药效物质基础研究, email: hongsu Zhao@ahtcm.edu.cn



代谢组学作为系统生物学的重要组成部分，以生物体液、细胞或组织中的内源性代谢物为研究对象，通过定性与定量分析，揭示其与生理、病理变化的内在联系，已成为生物标志物发现与生命过程解析的重要技术。代谢组学强调整体与动态分析的理念，与中医“整体观”及中药多成分、多靶点、多途径的作用特点高度契合<sup>[1]</sup>。作为基因表达、蛋白质功能及环境因素相互作用的“终端表型”，代谢组能直观反映生物体的功能状态。因此，在中药现代化研究中，代谢组学技术已广泛应用于中药道地性鉴别、安全性评价、配伍规律以及机制探索等领域<sup>[2-4]</sup>。本文在概述代谢物、代谢通路及检测技术的基础上，重点聚焦于如何运用代谢组学方法研究中药的作用机制，并深入剖析各类方法在应对中药复杂体系时所面临的技术瓶颈及相应的解决策略，以期为中药作用机制研究提供思路，促进代谢组学技术的发展创新。

### 1 代谢物、代谢通路及检测技术概述

代谢物根据其生物学功能可分为初级代谢产物和次级代谢产物，前者是维持细胞基本生命活动的必需物质，包括氨基酸、糖类、核苷酸及脂类等，广泛参与能量代谢与物质合成；后者则具有物种特异性，如抗菌药物、生物碱、萜类等，主要在防御、信号传递或生态适应中发挥作用<sup>[5]</sup>。代谢物参与的化学反应与生物途径极为复杂，而代谢通路可以系统概括代谢物的分类及其相互关系。京都基因和基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG）是目前应用最为广泛的通路数据库，收录了多个物种的代谢物、反应、酶和基因信息<sup>[6]</sup>，目前代谢通路主要分为碳水化合物代谢、脂质代谢、氨基酸代谢、核苷酸代谢这四大类，各核心代谢通路概要见表 1。这些通路相互交织，共同维持着生物体正常的新陈代谢和生命活动，研究代谢通路有助于深入了解代谢组学在中药作用机制中的意义<sup>[7-8]</sup>。

表 1 代谢物分类与核心代谢通路  
Tab 1 Metabolite classification and core metabolic pathways

| 代谢物类别 | 代表物质                              | 核心代谢通路                                        | 核心生物功能                                                                       | 参考文献    |
|-------|-----------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 碳水化合物 | 单糖（葡萄糖）、双糖、多糖（糖原、纤维素）、糖复合物（糖肽、糖脂） | 糖酵解、三羧酸循环（TCA）、磷酸戊糖途径、糖异生、糖原代谢、蔗糖代谢、半乳糖代谢     | 快速供能（如运动、脑功能）、生物大分子合成的碳骨架来源、血糖稳态调节                                           | [9-11]  |
| 脂质    | 脂肪酸、磷脂、胆固醇、鞘脂                     | 脂肪酸生物合成、甘油磷脂代谢、鞘脂代谢、胆固醇代谢、胆汁酸合成、类固醇生成         | 能量长期储存、细胞膜结构与功能维持、作为信号分子（如类固醇激素、炎症介质）前体                                      | [12-14] |
| 核苷酸   | 腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶                  | 嘌呤代谢、嘧啶代谢                                     | 遗传信息载体 [脱氧核糖核酸（DNA）/核糖核酸（RNA）]、能量货币 [三磷酸腺苷（ATP）] 与信号分子 [环磷酸腺苷（cAMP）] 组成、辅酶成分 | [15-16] |
| 氨基酸   | 甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、色氨酸      | 氨基酸合成 / 降解、色氨酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 | 蛋白质合成与修复、转化为神经递质（如 5-羟色胺）调节生理活动、参与免疫调节与氧化应激等                                 | [17-19] |

代谢组学数据的生物学解释依赖于多种检测技术，包括核磁共振波谱技术（NMR）、气相色谱 - 质谱联用技术（GC-MS）、液相色谱 - 质谱联用技术（LC-MS）、质谱成像技术（MSI）等<sup>[20-21]</sup>，这些技术各具特点（见表 2），在实际研究中，根据具体研究对象和目的，将不同检测技术进行合理结合与优势互补，以实现对代谢物更为全面、高效地分析。

NMR、GC-MS、LC-MS 与 MSI 四种代谢组学分析技术各具特色，共同构成了代谢组学研究的方法学基石，具体选择需根据研究目标与样本特性而定。NMR 以其无损检测和卓越的定量能力，适用于代谢物结构解析与动态过程追踪，但其灵敏度较低，可能遗漏中药细微调控的信号；

GC-MS 在初级代谢产物分析中表现出高分辨率与高灵敏度，并拥有成熟的数据库支持，但其对样品衍生化要求高，无法检测热不稳定化合物，使其在中药多成分协同机制研究中存在明显的覆盖盲区；LC-MS 凭借其广泛的化合物覆盖范围与高灵敏度，已成为中药代谢组学研究的核心平台，适合分析中药中复杂的极性或非极性成分，但其离子抑制效应和数据库碎片化降低了代谢物注释的可靠性；MSI 能够直接获取代谢物在组织中的空间分布信息，为揭示中药成分在靶器官的分布及局部代谢调控提供了独特视角，但其定量精度有限，样品制备过程可能干扰代谢稳态，目前主要用于机制探索的辅助证据分析，难以独立支撑结论<sup>[30-33]</sup>。

表 2 代谢组学分析技术比较  
Tab 2 Metabolomics analysis techniques

| 方法    | 适用范围                        | 优点                                | 缺点                                 | 应用案例                                                               | 参考文献    |
|-------|-----------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|---------|
| NMR   | 复杂体系分子结构解析、动态过程及定量分析        | 检测无偏向性；对样本无损伤性；无需复杂前处理；可实时动态检测    | 灵敏度较低；检测范围狭窄；仪器昂贵；维护成本高            | 从内源性代谢物的整体角度揭示了传统中药黄精的抗疲劳作用机制，并发现其关键作用通路是调控苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸的生物合成       | [22-23] |
| GC-MS | 挥发性代谢物、初级代谢产物、靶向分析          | 分辨率及灵敏度高；有成熟的数据库；选择性和重现性好         | 检测范围窄；且碎裂分子、离子无法被检测到；对样品要求高；检测有偏向性 | 通过鉴定槐花散中的挥发性活性成分，并结合分子对接揭示其抗炎和免疫调节的潜在分子机制                          | [24-25] |
| LC-MS | 非靶向代谢组学、脂质组学、极性/非极性代谢物、药物代谢 | 分辨率及灵敏度高；样品处理简单；可分析不稳定的且难挥发代谢物    | 可检测的样品有限；无成熟的数据库；易受离子抑制和基质效应影响     | 利用 LC-MS 检测小鼠粪便代谢物，发现四逆散通过调节脂质、核苷酸等多条代谢途径抗白血病                      | [26-27] |
| MSI   | 组织切片中代谢物空间分布、病理学研究、植物代谢物分布  | 提供空间分布信息；无需荧光标记或抗体；多组分同时检测；高空间分辨率 | 样品制备复杂；基质干扰严重；数据处理复杂               | 可视化分析三七干预糖尿病大鼠视网膜中代谢物（磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺等）的空间分布变化，揭示其通过调节甘油磷脂代谢通路改善视网膜病变 | [28-29] |

2 代谢组学方法在中药作用机制研究中的应用

代谢组学检测方法主要有非靶向代谢组学、靶向代谢组学、拟靶向代谢组学和代谢流<sup>[34]</sup>。常用非靶向代谢组学进行定性和相对定量，侧重于对生物体内代谢物进行系统性、无偏向性的分析，全面揭示中药干预所引发的整体代谢轮廓变化<sup>[35]</sup>。在此基础上，靶向代谢组学可对特定的关键代谢物进行绝对定量和验证，使结果更加可靠<sup>[36]</sup>。拟靶向代谢组学结合以上两者优点，既能够提高非靶向分析的灵敏度、专属性和定量能力，同时又能提高靶向分析所检测的化合物的数量。代谢流则能够动态追踪特定代谢物在生物体内的转化过程和流向，揭示代谢通路的活性和代谢物的转化路径<sup>[37]</sup>。

2.1 非靶向代谢组学

非靶向代谢组学通过高分辨质谱全面检测代谢物，以筛选差异代谢物及相关通路。尽管存在复杂性高、重复性差和线性范围窄等问题，但由于其无偏向性和高覆盖率的优势，已成为代谢物发现阶段的首选策略<sup>[38]</sup>。

2.1.1 分析流程 非靶向代谢组学基本分析流程如图 1 所示，主要包括样本采集、样本前处理、数据预处理、统计学分析、代谢物鉴定以及代谢通路分析。样本采集和前处理是代谢组学研究最关键的环

节，根据分析对象、研究目的和采用的分析技术平台不同，所需的样本前处理方法也不相同，但目的的都是最大化提取代谢物并去除杂质，以便后续分析，常用的样本前处理方法包括蛋白质沉淀、液液萃取、固相萃取、超临界流体萃取等<sup>[39]</sup>。代谢组学研究产生的海量原始数据构成了复杂且庞大的数据集，其高维度和复杂性使得无法实现全面的信息挖掘，因此需要对数据进行预处理以去除混杂因素，包括峰识别、去卷积、峰对齐、归一化等关键步骤<sup>[40]</sup>，从而提升数据质量。常用的数据处理平台有 XCMS、Compound Discoverer、Mzmine、MS-DIAL、MarkerView 等<sup>[41]</sup>。在数据统计分析方面，单变量分析方法包括 *t* 检验、Wilcoxon 秩和检验以及方差分析（ANOVA）等方法，多变量分析方法包括主成分分析法（PCA）、偏最小二乘判别分析（PLS-DA）、正交偏最小二乘判别分析（OPLS-DA）等，常使用变化倍数（FC）、投影变量重要性（VIP）和 *P* 值为指标筛选各组间差异代谢物<sup>[42]</sup>。多变量分析工具通常使用 SPSS、SIMCA 软件，常用的代谢物鉴定平台为 HMDB、METLIN、Massbank、PubChem 等<sup>[43]</sup>。代谢通路分析旨在通过解析代谢物之间的相互作用和转化过程，揭示生物体内的代谢调控机制，常用的分析平台有 MetaboAnalyst、KEGG、Metacyc 等。

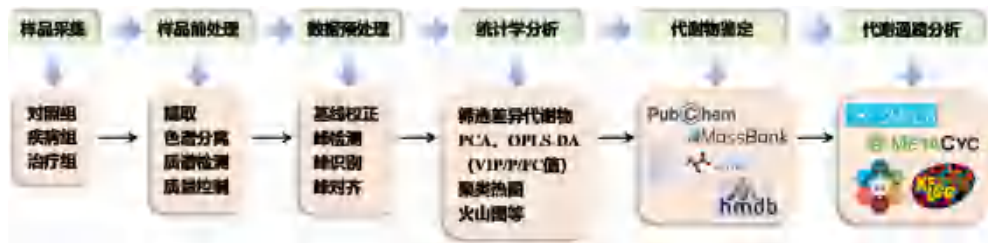


图 1 非靶向代谢组学基本分析流程

Fig 1 Basic analysis workflow for non-targeted metabolomics



**2.1.2 非靶向代谢组学在中药作用机制调控研究中的应用** 非靶向代谢组学因其能够系统性捕捉代谢物整体变化、揭示多成分协同作用的独特优势,已成为连接中药复杂成分与生物效应的重要桥梁。高滢萍<sup>[44]</sup>基于UHPLC-MS非靶向代谢组学研究白扁豆及扁豆花醇提物对溃疡性结肠炎小鼠内源性代谢物的调节作用,发现其可通过调节色氨酸代谢、组氨酸代谢、亚油酸代谢及 $\alpha$ -亚麻酸代谢等10条代谢通路恢复机体的代谢稳态。Xin等<sup>[45]</sup>通过非靶向代谢组学筛选出20种潜在的代谢物作为炎症性肠病相关肝脏病变的特征生物标志物,并通过代谢通路富集发现其代谢紊乱主要涉及胆汁酸代谢、花生四烯酸代谢以及类固醇激素生物合成等途径。Liu等<sup>[46]</sup>构建小鼠心肌梗死模型并给予槲皮素干预,通过非靶向代谢组学分析发现,槲皮素通过调节糖酵解与精氨酸代谢促进巨噬细胞M2表型极化,从而改善心肌梗死。以上研究表明,非靶向代谢组学能够有效识别与疾病代谢紊乱相关的关键代谢物,并通过代谢通路整合分析揭示代谢物在疾病发生发展中的调控作用,为疾病的早期诊断、治疗监测和预后评估提供重要依据。

**2.1.3 非靶向代谢组学面临的挑战** 在中药多成分协同机制研究中,非靶向代谢组学以全局性视角展现出显著优势,但在其分析过程中仍面临多重挑战。非靶向代谢组学主要基于高分辨质谱技术,在样品分析时易受基质效应的干扰,单次实验可产生数以万计的数据点(如质荷比、保留时间、离子淌度等),形成高维度、宽动态范围的多维数据集,若不对基质效应加以控制,将影响数据的准确性和可靠性。此外,代谢物鉴定严重依赖数据库和算法,而现有通用数据库覆盖范围有限,许多代谢物缺乏标准二级质谱图谱,导致注释困难。这种鉴定过程中的不确定性使得非靶向代谢组学面临检测结果是否可靠以及所识别出的差异代谢物数量是否充分<sup>[47-48]</sup>。为应对这些挑战,必须发展综合性策略:开发针对中药样本的特异性前处理技术(如选择性固相萃取、亲和富集等),并结合离子淌度质谱等维度分离技术,以降低基质干扰;同时,构建中药专属代谢物数据库,融合人工智能辅助鉴定算法,以提升峰识别与化合物注释的精度与效率。

## 2.2 靶向代谢组学

靶向代谢组学旨在对特定一组代谢物进行精确定量与验证,以对照品为参照,针对生物样本中某一类特定代谢物进行定量分析。基于三重四极杆质谱或质谱成像技术的靶向代谢组学通常用于验证阶段,对目标化合物进行量化,具有灵敏度高、特异

性强、重复性好、线性范围宽等特点<sup>[49]</sup>。

**2.2.1 分析流程** 靶向代谢组学基本分析流程如图2所示,主要包括样品采集、样品前处理、对照品检测、样品检测、方法学考察和统计分析等步骤<sup>[50]</sup>。在样品前处理时,不同性质的代谢物可能需要不同的样品前处理方法,例如,在研究脂质组学时,要选择对脂质有较大溶解性的溶剂(如氯仿-甲醇体系)以提取出更多的脂质<sup>[51]</sup>。在质谱检测中多采用多反应监测模式(MRM)优化目标代谢物的母离子、子离子及碰撞能量等参数,摸索最佳检测条件,并且为了确保得到的实验结果准确,建立的检测方法可靠,要对所建立的方法进行方法学验证,包括专属性、线性与范围、精密度与准确度、提取回收率和基质效应、稳定性等。因靶向代谢组学目标代谢物已知且检测方法预先优化,其数据处理较非靶向代谢组学更为简单方便,无需费时进行数据库搜索和化合物鉴定,得出的数据可直接用于统计分析和代谢通路研究等。

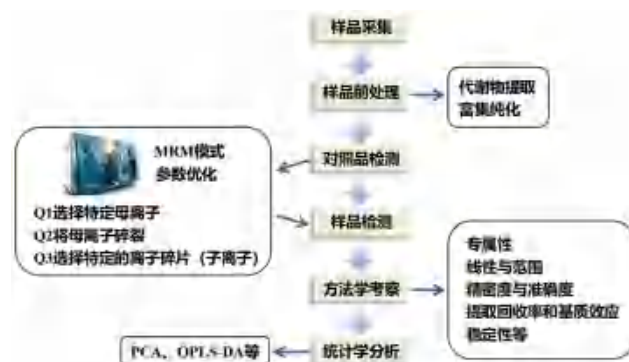


图2 靶向代谢组学基本分析流程

Fig 2 Basic analysis workflow for targeted metabolomics

**2.2.2 靶向代谢组学在中药作用机制调控研究中的应用** 靶向代谢组学因其特点在中药多组分调控机制验证、药效物质追踪及临床转化中更具优势。姚莹<sup>[52]</sup>基于HPLC-MS/MS建立了内源性氨基酸靶向代谢组学方法,对青蒿素敏感/抗性疟原虫感染小鼠以及给药小鼠血清、肝脏、脾脏、肾脏等样品中的目标氨基酸进行定量研究,结果显示两种疟疾感染小鼠表现出显著的氨基酸代谢谱。抗性疟原虫感染特异性扰动甘氨酸、异亮氨酸、丙氨酸等氨基酸,提示其代谢适应机制。Sun等<sup>[53]</sup>基于UHPLC-MS/MS,对大鼠海马组织进行了靶向脂质组学绝对定量分析,结果发现,癫痫大鼠海马组织中特定脂质(如胆固醇酯和二氢神经酰胺升高,部分磷脂降低)的变化,表明其可能与神经元损伤和神经炎症触发的细胞膜修复有关。刘婧<sup>[54]</sup>运用靶向代谢组学检测代谢相关性脂肪肝患者血清中的氨基酸变化,筛选出了亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸、谷氨酸、酪



氨酸等 8 种有显著浓度差异的氨基酸。以上研究表明,靶向代谢组学作为代谢组学领域的重要分支,能够实现对代谢物的准确定量,从而为深入了解生物体内特定代谢网络的变化和调控机制提供依据。

**2.2.3 靶向代谢组学面临的挑战** 尽管靶向代谢组学带来了许多可能性,但它也存在着局限性。靶向代谢组学作为一种有偏向的分析策略,需事先了解被分析物质的相关信息,强调特定代谢途径或代谢产物,可能会忽略其他重要但未被选择的代谢物的信息,从而在一定程度上限制了对生物体系整体代谢调控网络的全面解析。此外,样本的选择和处理过程可能会产生一些变异性和误差,从而导致所关注的代谢物损失或降解,影响研究结果的可靠性,为了应对以上问题,有必要优化样本前处理流程以去除杂质,富集目标代谢物,同时结合基质匹配校准等策略降低基质干扰<sup>[55]</sup>。

## 2.3 拟靶向代谢组学

拟靶向代谢组学结合了非靶向和靶向的优点,先通过非靶向方法建立目标离子列表,然后在 MRM 模式下对大量样本进行定量分析,兼具高通量和准确定量的优势<sup>[56]</sup>。

**2.3.1 分析流程** 拟靶向代谢组学基本分析流程如图 3 所示,主要包括非靶向高分辨质谱分析、靶向定量方法建立、样品靶向检测与数据分析等步骤。首先,使用高分辨质谱对代表性样品(通常为包含所有分组的混合样本)进行分析,以获取尽可能多的代谢物离子信息,在此基础上,筛选出重现性好、响应强度高的代谢物特征离子,并依据其精确质量数和碎片离子等信息,为每个目标代谢物确定最优的“母离子-子离子”离子对;其次,将上一步筛选出的所有离子对导入三重四极杆质谱,对每个离子对的碰撞能等参数进行优化,从而建立包含优化参数的最终 MRM 检测方法;最后,使用已建立的 MRM 方法对所有样本进行重新检测,获得灵敏度高、重复性好的定量数据,再进行 PCA、PLS-DA 等多元统计分析,并结合代谢通路分析,揭示数据背后潜在的生物学意义和机制<sup>[57]</sup>。



图 3 拟靶向代谢组学基本分析流程

Fig 3 Basic analysis workflow for pseudotargeted metabolomics

**2.3.2 拟靶向代谢组学在中药作用机制调控研究中的应用** 拟靶向代谢组学作为一种融合非靶向发现与靶向定量优势的方法,逐渐成为阐明中药整体效应与作用机制的关键技术手段。Chen 等<sup>[58]</sup>通过将非靶向数据转化为 MRM 离子对,实现了对 518 种血清代谢物的检测,线性范围宽,重复性好,并将其成功应用于肝癌生物标志物的发现,揭示了包括溶血磷脂酰胆碱、酰基肉碱及氨基酸在内的多种代谢物异常变化。杨太忠等<sup>[59]</sup>基于拟靶向代谢组学分析了胃癌患者与健康人血清代谢组,筛选出 57 个差异代谢物,其中二氢胆固醇表现出显著的胃癌诊断潜力。高芳荣等<sup>[60]</sup>首先筛选确定柴胡低极性部位为最佳抗抑郁活性部位,其能够显著改善慢性应激抑郁模型大鼠的抑郁行为、调节多种神经递质水平,并具有肝保护作用,进一步通过拟靶向代谢组学方法建立了 36 种胆汁酸的相对定量分析体系,发现柴胡低极性部位可通过调节盲肠内容物中 5 种关键胆汁酸(如牛磺熊去氧胆酸、熊去氧胆酸等)的代谢紊乱来发挥抗抑郁作用。以上研究表明,拟靶向代谢组学在系统解析中药整体调控模式中具有独特优势,能够有效揭示中药干预下机体代谢网络的动态响应与重构过程,为中药现代化研究提供了有力的方法学支撑。

**2.3.3 拟靶向代谢组学面临的挑战** 拟靶向代谢组学作为一种半定量的方法,可应用于对绝对定量没有特殊要求的发现阶段。由于拟靶向代谢组学所使用的 MRM 离子通道来自真实样本而非化学标准品,所以仍需使用对照品进行方法验证与定量,并且所检测的代谢物的数量受限于色谱分离和质谱的扫描速率。为提升拟靶向代谢组学的研究质量,需要加强多维度鉴定,开发更智能的离子对自动筛选算法,构建并不断扩充自建标准品数据库;通过优化色谱分离条件,结合动态 MRM、离子淌度分离等技术提升代谢物覆盖度和数据质量。

## 2.4 代谢流

代谢流分析(metabolic flux analysis, MFA)是基于稳定同位素示踪( $^{13}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^2\text{H}$ 、 $^{18}\text{O}$ 等)代谢组学的一种深度数据挖掘技术<sup>[61]</sup>。该技术通过追踪稳定同位素在代谢产物中的富集程度,借助数学建模,计算出代谢物之间的通量,进而推算出该代谢物在生物体内代谢通路中的周转速率、流向和分布情况,还能动态监测中药干预后可能引发的代谢重编程现象<sup>[62]</sup>。

**2.4.1 分析流程** 代谢流分析的操作流程如图 4 所示,主要由稳定同位素示踪剂选择与引入、样本制备、样本检测、数据处理、代谢物鉴定、代谢通路分析构

成<sup>[63]</sup>。首先,根据实验目的选择最佳示踪剂,然后通过体外培养基添加或体内给药等方式引入示踪剂,目前常见的动物体内引入方法主要有灌胃、饲料掺入、颈静脉注射与尾静脉注射等<sup>[64]</sup>。在样品收集制备时,要控制好温度和时间等实验条件,减少对代谢的扰动,以确保维持代谢稳态。常借助 NMR 或 MS 分析技术在不同时间点或代谢稳态时测定代谢物含量,通

过解析下游代谢物的同位素标记模式和同位素异数体分布来确定不同代谢途径的相对贡献和代谢通量。在数据处理方面,需借助 XCMS、SIMCA-P 等工具对原始数据进行峰提取、峰对齐、归一化等预处理,以去除天然同位素带来的背景干扰,实现代谢物的定性与定量,代谢流的数据可视化、代谢物鉴定、代谢通路富集仍需借助传统代谢组学的分析策略<sup>[65]</sup>。

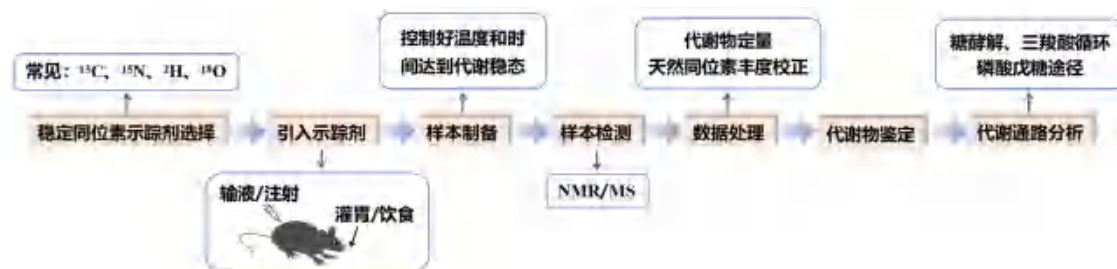


图 4 代谢流基本分析流程

Fig 4 Basic analysis workflow for metabolic flux

## 2.4.2 代谢流在中药作用机制调控研究中的应用

代谢流技术因其能够动态追踪代谢途径中物质的流向和通量变化,近年来在中药作用机制研究中展现出独特优势。McNair 等<sup>[66]</sup>使用  $[U-^{13}C]$  葡萄糖、 $[U-^{13}C]$  谷氨酸和  $[^{15}N]$  谷氨酸等示踪剂对比研究了不同年龄小鼠海马体的细胞能量代谢和神经递质代谢变化,发现海马体的能量代谢和神经递质代谢会随着衰老而发生紊乱,具体表现为糖酵解活性增加,星形胶质细胞能量代谢受损,而谷氨酸摄取和代谢能力反而提高,提示星形胶质细胞代谢异常可能与海马体功能衰退有关。Shan 等<sup>[67]</sup>通过  $[U-^{13}C]$  葡萄糖代谢流分析发现,丹参酮 II A 能够抑制糖酵解和 TCA 通量,并下调关键代谢酶 HK2 的表达,从而减少异常代谢物的积累,缓解肺纤维化,进一步机制研究揭示,该过程与 PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 $\alpha$ /HK2 信号通路的调控有关。冀翠<sup>[68]</sup>以稳定同位素  $^{13}C$  标记的葡萄糖为示踪剂引入大鼠体内,并采用 LC-MS 技术测定大鼠血清中的代谢物,追踪抑郁大鼠体内被标记碳原子代谢物的代谢轨迹,研究发现逍遥散可使血清中丙酮酸、乳酸和柠檬酸等代谢物的水平显著回调,推测其通过调控丙酮酸代谢、糖酵解及 TCA 循环改善机体能量代谢紊乱。以上研究表明,代谢流能够清晰揭示代谢通量的动态变化与通路调控机制,在阐释疾病背后的代谢紊乱及药物干预的代谢基础方面展现出重要价值,提供了新的切入点。

**2.4.3 代谢流分析面临的挑战** 代谢流分析作为揭示代谢动态过程的关键技术,在疾病机制研究、药物靶点发现及生物合成途径优化中具有重要价值,但目前仍存在诸多技术瓶颈,制约其在实际研究中

的推广。首先,代谢流分析通常需要精确的同位素标记和复杂的样品前处理,例如,在细胞代谢流分析中,要选择合适的同位素标底物,控制标记时间,确保细胞达到代谢稳态,同时,细胞收集、代谢物提取等操作也需要严格规范,否则会影响实验结果的准确性。其次,同位素标记代谢物价格昂贵,在动物实验中需求量大,导致实验成本大大增加<sup>[69]</sup>。此外,代谢流分析会产生大量的数据,其解析过程依赖复杂的计算模型和算法,才能从海量数据中推断出代谢通路的流量与流向<sup>[70]</sup>。上述技术壁垒限制了代谢流分析在常规实验室的普及,因此,需充分利用人工智能与机器学习算法,建立智能化的数据解析平台,实现代谢通路流量的自动拟合、动态建模与预测,从而降低分析难度,推动代谢流技术在中药研究中的标准化应用与普及。

## 2.5 联合应用

越来越多的研究尝试通过结合多种基于质谱技术的代谢组学方法,以实现生物代谢网络的全面解析和深入理解。非靶向代谢组学通常被用于初步无偏性筛查,其高通量特性为后续研究提供全局视角,然后针对筛选出的显著性差异代谢物使用靶向代谢组学进行精确定量验证<sup>[71]</sup>。Shao 等<sup>[72]</sup>通过非靶向代谢组学分析,确定了与卡格列净治疗糖尿病肾病密切相关的甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢途径,进一步通过靶向代谢组学验证了甘氨酸在卡格列净干预后表达水平显著上调。尽管非靶向代谢组学和靶向代谢组学分析可以提供丰富的代谢物信息,但这两种方法均难以准确反映细胞内代谢速率或途径的相对活性,因为某一代谢物水平的升高,可能源于其合成酶活性的



增强或分解酶活性的减弱<sup>[31]</sup>。Lv 等<sup>[73]</sup>通过非靶向代谢组学和代谢流分析,阐明了心肌细胞中脯氨酸脱氢酶(PSDH)的过表达可重编程脯氨酸分解代谢,从而补充琥珀酸、苹果酸、柠檬酸等 TCA 中间产物,增强能量产生,恢复谷胱甘肽氧化还原平衡,这凸显了 PSDH 作为心脏重构治疗靶点的潜力。Xia 等<sup>[74]</sup>结合非靶向代谢组学和靶向代谢组学分析发现,多发性骨髓瘤(MM)患者的骨髓液和外周血浆中甘氨酸水平较健康供体显著升高,进一步通过<sup>13</sup>C<sub>2</sub>-glycine 代谢流示踪实验发现甘氨酸被 MM 细胞吸收后代谢为谷胱甘肽、嘌呤和丝氨酸。

综上所述,非靶向代谢组学、靶向代谢组学与代谢流技术各有优势,相互补充,三者联合应用推动了代谢网络分析从静态表征向动态机制解析跃迁,是系统阐释中药多靶点、整体性调节机制的有力工具,为疾病的早期诊断、治疗和预防提供了新的思路和方法。

### 3 总结与展望

代谢组学技术作为系统生物学的重要分支,其整体性、动态性和高通量的特点与中医药整体观及多成分、多靶点、多层次高度契合,已成为揭示中药作用机制的关键技术。目前主要依托 LC-MS、GC-MS、NMR、MSI 等平台,系统解析生物体内氨基酸、脂质、有机酸等小分子代谢物的动态变化及其调控网络,并利用非靶向代谢组学、靶向代谢组学、拟靶向代谢组学、代谢流等方法,在揭示中药多成分协同作用、解析代谢调控网络及探究药效机制等方面取得了显著进展。

然而,当前代谢组学研究在中医药领域的应用仍面临诸多挑战。在技术层面,非靶向代谢组学高度依赖质谱数据库,其覆盖度有限,导致大量代谢物(尤其是“已知未知”及“未知未知”代谢物)难以被准确注释。靶向代谢组学虽能精准定量,但通量有限,难以全局揭示代谢网络的相互作用;拟靶向代谢组学虽然将非靶向分析和靶向分析进行融合,但也不可避免地存在一些问题;代谢流分析虽能动态追踪代谢通量,但因稳定同位素标记成本高、实验设计与数据解析复杂,限制了其在大样本临床或药理研究中的普及。此外,中药复杂成分与生物样本基质叠加反应引起显著的质谱基质干扰,加之生物体内代谢物具有动态与空间异质性,进一步增加了分析难度。为应对这些挑战,未来研究应发展针对中药复杂体系的标准化前处理策略,例如,采用基于磁珠的亲和萃取技术等,以特异性吸附并富集目标内源性代谢物,同时高效去除多糖、

蛋白及中药原型成分等基质的干扰;建立针对不同生物样本和不同中药剂型的标准化样品制备流程,提升数据质量与重现性。还应注重多组学技术整合,结合基因组学、转录组学、蛋白质组学等组学数据,并发展具有高分辨率的单细胞代谢组学与原位分析能力的空间代谢组学等方法,通过构建“成分-靶点-通路-代谢表型”多维网络,逆向追溯中药关键药效物质,并正向验证其调控的生物学通路。在数据分析层面,应积极引入人工智能算法,提升大数据挖掘、代谢网络预测及化合物鉴定的效率与精度。目前,国内学者已在代谢组学研究瓶颈中有所突破。如朱正江团队开发了新一代代谢组学规模化注释技术 MetDNA3,可在 MetDNA 网站(<http://metdna.zhulab.cn/>)免费使用,该方法通过知识与数据双层代谢网络的交互驱动,在非靶向代谢组学的质谱数据中实现了代谢物化学结构的高覆盖率与高准确度注释,并显著提升了大规模代谢物注释的计算效率<sup>[75]</sup>;Zhang 等<sup>[76]</sup>提出了适用于大规模样本非靶向质谱分析特征检测和匹配的 MetCohort 新方法,降低了检测的假阳性和假阴性,并开发了基于化学分类驱动的网络分析揭示关键代谢途径的新方法,有效挖掘非靶向代谢组学中隐藏的代谢物结构信息,大大提高了组学数据利用率。随着上述技术的不断成熟与跨学科协作的深入,代谢组学有望在中药药效物质基础发现、作用机制精准解析以及临床个体化诊疗等方面发挥更为关键的作用,从而有力推动中医药现代化与国际化进程。

### 参考文献

- [1] 崔美岩,杨佳颖,王志刚,等.代谢组学在中医药领域的应用与展望[J].中草药,2022,53(14):4512-4526.
- [2] Song L, Zhou YT, Zhai YX, et al. Sub-chronic toxicity of an aqueous extract of *Epimedium sagittatum* (Sieb. Et Zucc.) Maxim. in rats[J]. Drug Chem Toxicol, 2023, 46(3): 451-461.
- [3] Li SZ, Wang YM, Li CY, et al. Study on hepatotoxicity of rhubarb based on metabolomics and network pharmacology[J]. Drug Des Dev Ther, 2021, 15: 1883-1902.
- [4] 王曼姝,孙思彤,袁宇,等.功能代谢组学在中药毒性评价中的研究策略及其应用[J].中草药,2023,54(2):349-358.
- [5] 华会明,姜红祥.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,2022.
- [6] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(D1): D587-D592.
- [7] Maeda HA. Harnessing evolutionary diversification of primary metabolism for plant synthetic biology[J]. J Biol Chem, 2019, 294(45): 16549-16566.
- [8] Erb M, Kliebenstein DJ. Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred func-



- tional trichotomy[J]. *Plant Physiol*, 2020, 184(1): 39-52.
- [9] Dashty M. A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(15): 1339-1352.
- [10] Chandel NS. Carbohydrate metabolism[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2021, 13(1): a040568.
- [11] Pashaei S, Mohammadi P, Yarani R, et al. Carbohydrate and lipid metabolism in multiple sclerosis: clinical implications for etiology, pathogenesis, diagnosis, prognosis, and therapy[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 712: 109030.
- [12] 白双, 王怡, 孙云燕. 脂代谢异常在宫颈癌转移中作用的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2025, 25(7): 1271-1280.
- [13] 翟亚荣. 基于 PPP 途径介导脂肪酸合成探究化痰祛痰方对肝癌细胞增殖、迁移的影响[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
- [14] 赵聪, 王革生, 马涛, 等. 基于代谢组学探讨补气摄血方保护脑梗死溶栓后脑内皮细胞的机制[J]. *环球中医药*, 2025, 18(8): 1553-1566.
- [15] 苑小星. 嘌呤核苷酸代谢与恶性肿瘤关系的研究进展[J]. *癌症进展*, 2019, 17(21): 2498-2501.
- [16] 陈鑫球, 赵希琳, 朱小玉, 等. 中医药调控代谢重编程干预肝细胞癌的研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(3): 469-478.
- [17] 刘汝杰, 葛振影, 张家轩, 等. 肠道中氨基酸的分解代谢及调节[J]. *中国饲料*, 2025(7): 25-30.
- [18] Chandel NS. Amino acid metabolism[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2021, 13(4): a040584.
- [19] Yang LM, Chu ZL, Liu M, et al. Amino acid metabolism in immune cells: essential regulators of the effector functions, and promising opportunities to enhance cancer immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 59.
- [20] 郑智洋, 雷霞, 张亚峰, 等. 代谢组学技术在骨关节炎研究中的应用[J]. *生命的化学*, 2025, 45(1): 1-7.
- [21] 王景存, 田春雨, 张帆, 等. 代谢组学技术在中药有效成分及作用机制研究中的应用[J]. *中国民族民间医药*, 2024, 33(14): 76-80.
- [22] 陈磊, 杨莹莹, 连让平, 等. 基于核磁共振代谢组学揭示黄精通过调控苯丙氨酸、酪氨酸及色氨酸的生物合成发挥抗疲劳作用机制[J]. *山西中医药大学学报*, 2025, 26(1): 27-34.
- [23] Nagana Gowda GA, Raftery D. NMR-based metabolomics[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1280: 19-37.
- [24] 连益纯, 张东元, 杨辉, 等. 藿香正气方挥发油提取工艺优化及 GC-MS 分析[J]. *中成药*, 2023, 45(12): 4076-4080.
- [25] 李帅锋, 李洁, 吕秋菊, 等. 基于 GC-MS 和分子对接技术研究槐花散治疗溃疡性结肠炎的挥发性成分及作用机制[J]. *中国医院药学杂志*, 2025, 45(22): 2556-2560.
- [26] Hajnajafi K, Iqbal MA. Mass-spectrometry based metabolomics: an overview of workflows, strategies, data analysis and applications[J]. *Proteome Sci*, 2025, 23(1): 5.
- [27] 刘婕, 陈抒鹏, 周云龙, 等. 基于 LC-MS 技术探讨经典名方四逆散干预急性髓系白血病小鼠的代谢组学研究[J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(16): 3007-3016.
- [28] 熊田田, 罗世英, 裴照卿, 等. 基于质谱成像可视化表征甘草饮片主要化学成分组织分布[J]. *亚太传统医药*, 2023, 19(5): 54-58.
- [29] 籍宇星, 彭美中, 宁尚秋, 等. 基于质谱成像技术探讨三七改善糖尿病大鼠视网膜代谢物的分布研究[J]. *药学报*, 2025, 60(5): 1515-1524.
- [30] Nagana Gowda GA, Raftery D. NMR metabolomics methods for investigating disease[J]. *Anal Chem*, 2023, 95(1): 83-99.
- [31] 高莹. 基于 GC-MS 代谢组学技术研究药物对谷氨酸诱导 PC12 细胞损伤的保护作用[D]. 郑州: 郑州大学, 2022.
- [32] 陈明曦, 李艳梅, 孙婷, 等. 液相色谱-质谱联用技术在中药质量研究中的应用[J]. *中国药理学杂志*, 2021, 19(1): 12-17.
- [33] 申夺, 闵建新, 陈杰, 等. 质谱成像技术在中药分析领域中的研究与应用[J]. *中国科学: 化学*, 2025, 55(3): 661-677.
- [34] 徐天润, 刘心昱, 许国旺. 基于液相色谱-质谱联用技术的代谢组学分析方法研究进展[J]. *分析测试学报*, 2020, 39(1): 10-18.
- [35] 罗苗苗, 许洪展, 何镜, 等. 非靶向代谢组学对栀子苷给药后大鼠盲肠内容物中差异代谢物分析[J]. *药学报*, 2025, 60(3): 655-666.
- [36] 冷雪, 李阳, 王琦, 等. 基于靶向代谢组学探讨人参皂苷 Rb1 对高脂饮食诱导大鼠肝脏 FXR 通路以及肝脏和粪便胆汁酸谱的影响[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(16): 4649-4658.
- [37] 王相宜. 空间分辨代谢流组学分析方法揭示肿瘤宿主代谢相互作用[D]. 北京: 北京协和医学院, 2024.
- [38] 秦爽. 湿疹湿证的临床观察及尿液代谢组学研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2021.
- [39] 秦楠坤. 基于非靶向和靶向代谢组学的高尿酸血症生物标志物研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [40] 刘月涛, 胡英还, 秦雪梅. 非靶标代谢组学研究的影响因素分析[J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(1): 86-93.
- [41] Li ZC, Lu Y, Guo YF, et al. Comprehensive evaluation of untargeted metabolomics data processing software in feature detection, quantification and discriminating marker selection[J]. *Anal Chim Acta*, 2018, 1029: 50-57.
- [42] 王霄霄, 王海霞, 左德筠, 等. 代谢组学及其分析技术在医学研究中的应用进展[J]. *中国现代医生*, 2019, 57(1): 165-169.
- [43] Metz TO, Chang CH, Gautam V, et al. Introducing "identification probability" for automated and transferable assessment of metabolite identification confidence in metabolomics and related studies[J]. *Anal Chem*, 2025, 97(1): 1-11.
- [44] 高滢萍. 扁豆不同药用部位抗溃疡性结肠炎作用及初步机制研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2022.
- [45] Xin ZQ, Zhai ZY, Long HR, et al. Metabolic profiling by UPLC-Orbitrap-MS/MS of liver from C57BL/6 mice with DSS-induced inflammatory bowel disease[J]. *Mediat Inflamm*, 2020, 2020: 6020247.
- [46] Liu CY, Huang JG, Qiu JX, et al. Quercitrin improves cardiac remodeling following myocardial infarction by reg-

- ulating macrophage polarization and metabolic reprogramming[J]. *Phytomedicine*, 2024, 127: 155467.
- [47] Yuan XY, Smith NSS, Moghe GD. Analysis of plant metabolomics data using identification-free approaches[J]. *Appl Plant Sci*, 2025, 13 (4): e70001.
- [48] 徐杨, 何芷绮, 刘晓凤, 等. 代谢组学在中药复方制剂领域的研究进展及面临的挑战[J]. *中草药*, 2024, 55 (4): 1354-1364.
- [49] Shang WQ, Wei GZ, Li HB, et al. Advances in high-resolution mass spectrometry-based metabolomics: applications in food analysis and biomarker discovery[J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73 (6): 3305-3325.
- [50] Alarcon-Barrera JC, Kostidis S, Ondo-Mendez A, et al. Recent advances in metabolomics analysis for early drug development[J]. *Drug Discov Today*, 2022, 27 (6): 1763-1773.
- [51] Randolph CE, Walker KA, Yu RL, et al. Glial Biologist's guide to mass spectrometry-based lipidomics: a tutorial from sample preparation to data analysis[J]. *Glia*, 2025, 73 (3): 474-494.
- [52] 姚莹. 靶向代谢组学在猫眼草黄酮调控青蒿素抗性相关氨基酸代谢中的应用[D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [53] Sun HY, Li XW, Chen ZQ, et al. Targeted lipidomics analysis of possible molecular mechanisms of lipid changes in temporal lobe epilepsy models[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 15: 1531524.
- [54] 刘婧. 代谢相关性脂肪性肝病患者的临床特征、血清代谢组学分析及饮食干预研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2024.
- [55] Lu WY, Su XY, Klein MS, et al. Metabolite measurement: pitfalls to avoid and practices to follow[J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 277-304.
- [56] Luo P, Dai WD, Yin PY, et al. Multiple reaction monitoring-ion pair finder: a systematic approach to transform nontargeted mode to pseudotargeted mode for metabolomics study based on liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (10): 5050-5055.
- [57] Shao YP, Zhu B, Zheng RY, et al. Development of urinary pseudotargeted LC-MS-based metabolomics method and its application in hepatocellular carcinoma biomarker discovery[J]. *J Proteome Res*, 2015, 14 (2): 906-916.
- [58] Chen SL, Kong HW, Lu X, et al. Pseudotargeted metabolomics method and its application in serum biomarker discovery for hepatocellular carcinoma based on ultra high-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2013, 85 (17): 8326-8333.
- [59] 杨太忠, 罗萍, 李艳丽, 等. 基于拟靶向液相色谱-质谱联用的胃癌患者血清代谢组分析[J]. *色谱*, 2014, 32 (2): 126-132.
- [60] 高芳荣, 王威宇, 罗培琰, 等. 基于拟靶向胆汁酸代谢组学筛选柴胡抗抑郁的活性部位[J]. *中草药*, 2024, 55 (3): 832-841.
- [61] Fernández-García J, Altea-Manzano P, Pranzini E, et al. Stable isotopes for tracing mammalian-cell metabolism in vivo[J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45 (3): 185-201.
- [62] 刘少博. 稳定同位素示踪代谢组学探究皮质酮损伤 PC12 细胞的能量代谢紊乱机制[D]. 太原: 山西大学, 2020.
- [63] 陈佳俊, 周玉枝, 秦雪梅. 代谢组学技术在生物医药领域研究中的创新与应用[J]. *药学学报*, 2023, 58 (8): 2271-2282.
- [64] 田俊生, 赵云昊, 令狐婷, 等. 以抑郁症葡萄糖分解代谢障碍机制解析为例探究稳定同位素示踪代谢组学的研究思路与策略[J]. *药学学报*, 2023, 58 (7): 1725-1731.
- [65] 武文泽, 令狐婷, 高耀, 等. 稳定同位素示踪代谢组学技术在葡萄糖分解代谢研究中的应用进展[J]. *药学学报*, 2021, 56 (5): 1286-1292.
- [66] McNair LM, Andersen JV, Waagepetersen HS. Stable isotope tracing reveals disturbed cellular energy and glutamate metabolism in hippocampal slices of aged male mice[J]. *Neurochem Int*, 2023, 171: 105626.
- [67] Shan BX, Zhou HY, Guo CY, et al. Tanshinone II A ameliorates energy metabolism dysfunction of pulmonary fibrosis using  $^{13}\text{C}$  metabolic flux analysis[J]. *J Pharm Anal*, 2024, 14 (2): 244-258.
- [68] 冀翠. 逍遥散改善抑郁大鼠运动能力的稳定同位素示踪代谢组学研究[D]. 太原: 山西大学, 2023.
- [69] Radenkovic S, Vuckovic I, Lanza IR. Metabolic flux analysis: moving beyond static metabolomics[J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45 (6): 545-546.
- [70] 牛宇佳, 徐同冉, 林树海. 代谢流分析技术及其在肿瘤代谢中的应用进展[J]. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2022, 61 (3): 365-376.
- [71] Liu MX, Ma W, He Y, et al. Recent progress in mass spectrometry-based metabolomics in major depressive disorder research[J]. *Molecules*, 2023, 28 (21): 7430.
- [72] Shao MW, Chen D, Wang QZ, et al. Canagliflozin regulates metabolic reprogramming in diabetic kidney disease by inducing fasting-like and aestivation-like metabolic patterns[J]. *Diabetologia*, 2024, 67 (4): 738-754.
- [73] Lv QB, Li DB, Zhao LD, et al. Proline metabolic reprogramming modulates cardiac remodeling induced by pressure overload in the heart[J]. *Sci Adv*, 2024, 10 (19): ead13549.
- [74] Xia JL, Zhang JY, Wu X, et al. Blocking glycine utilization inhibits multiple myeloma progression by disrupting glutathione balance[J]. *Nat Commun*, 2022, 13 (1): 4007.
- [75] Zhang HS, Zeng XH, Yin YD, et al. Knowledge and data-driven two-layer networking for accurate metabolite annotation in untargeted metabolomics[J]. *Nat Commun*, 2025, 16 (1): 8118.
- [76] Zhang XQ, Li ZF, Zhao CX, et al. Leveraging unidentified metabolic features for key pathway discovery: chemical classification-driven network analysis in untargeted metabolomics[J]. *Anal Chem*, 2024, 96 (8): 3409-3418.

(收稿日期: 2025-11-10; 修回日期: 2025-12-20)

## 抗氧化剂依达拉奉的研究进展

车彦熹<sup>1</sup>, 罗秀菊<sup>2</sup>, 彭军<sup>1\*</sup> (1. 中南大学湘雅药学院药理学系, 长沙 410013; 2. 中南大学湘雅三医院检验系, 长沙 410013)

**摘要:** 依达拉奉作为一种抗氧化剂, 用于治疗缺血性脑卒中和肌萎缩侧索硬化。其主要作用机制为清除氧自由基、降低氧化应激水平。此外, 依达拉奉还被认为具有抗炎及抗凋亡等作用。鉴于具有复杂病理机制的神经系统疾病、心血管系统疾病以及化疗药物所致的损害均在不同程度上与氧化应激损伤相关, 依达拉奉被认为是一种具有广阔应用前景的药物。当前, 依达拉奉的研究焦点主要集中在新型制剂的开发和联合用药策略等方面。随着对其作用靶点和作用机制的深入探索, 其适应证有望进一步拓展。

**关键词:** 依达拉奉; 脑卒中; 神经退行性疾病; 心血管系统疾病; 氧化应激

中图分类号: R96

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-181-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.026

### Research progress in antioxidant edaravone

CHE Yanxi<sup>1</sup>, LUO Xiuju<sup>2</sup>, PENG Jun<sup>1\*</sup> (1. Department of Pharmacology, Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013; 2. Department of Laboratory Medicine, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013)

**Abstract:** Edaravone acts as an antioxidant for ischemic stroke and amyotrophic lateral sclerosis. Its main mechanism is to scavenge oxygen free radicals and reduce oxidative stress levels. In addition, edaravone also has anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. Given that neurological diseases with complex pathological mechanisms, cardiovascular system diseases, and damage caused by chemotherapy drugs are all associated with oxidative stress damage to varying degrees, edaravone is considered a drug with broad application prospects. At present, the research of edaravone mainly focuses on the development of new formulations and combination drug strategies. With the in-depth exploration of its targets and mechanism, indications of edaravone are expected to be further explored.

**Key words:** edaravone; stroke; neurodegenerative diseases; cardiovascular disease; oxidative stress

依达拉奉 (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O), 化学名为 3-甲基-1-苯基-2-吡啶啉-5-酮, 是一种芳香环类化合物。作为一种新型的氧自由基清除剂, 依达拉奉最早于 2001 年 4 月在日本上市, 用于缺血性脑卒中的治疗; 2015 年, 依达拉奉被日本批准用于治疗肌萎缩侧索硬化 (ALS, 渐冻症); 2020 年 7 月, 依达拉奉右莰醇注射用浓溶液 (商品名: 先必新<sup>®</sup>) 获国家药品监督管理局批准, 用于急性缺血性脑卒中; 2024 年 12 月, 依达拉奉右莰醇舌下片 (商品名: 先必新<sup>®</sup> 舌下片) 获国家药品监督管理局批准上市, 用于改善急性缺血性脑卒中所致的神经

症状; 2024 年 12 月, 澳宗生物自主研发的依达拉奉片 (商品名: AUKONTALS) 向美国食品药品监督管理局 (FDA) 递交新药上市申请 (NDA), 用于治疗 ALS, 目标获批时间 2025 年 10 月; 2025 年 5 月, 三菱田边制药授权特瓦制药在澳大利亚上市 Radicava<sup>®</sup> (依达拉奉), 用于 ALS 治疗。

虽然依达拉奉从 2001 年上市至今已有 20 余年, 但围绕依达拉奉的基础和临床研究方兴未艾, 主要聚焦于依达拉奉新剂型的开发、复方制剂的寻找和新适应证的拓展, 以及结合基因组学和药物代谢学, 探索个体化治疗方案的优化。本

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (No. 82173815, No. 81872873)。

**作者简介:** 车彦熹, 男, 硕士, 主要从事心血管药理学方面的研究, email: 237211066@csu.edu.cn \*通信作者: 彭军, 男, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管药理学方面的研究, email: junpeng@csu.edu.cn



文旨在系统探讨依达拉奉的作用机制、疾病防治应用及其未来发展方向。

## 1 依达拉奉的作用机制

### 1.1 清除氧自由基作用

活性氧 (ROS) 是一类含氧且具有高化学反应活性的分子或自由基的总称。正常情况下, 机体氧自由基清除和氧自由基生成维持动态平衡。病理条件下, 当氧自由基生成超过其清除时, 会导致氧自由基堆积, 造成机体组织和细胞发生氧化应激 (OS) 损伤。

依达拉奉分子中的芳香氮杂环, 使其具有较强的电子亲和性, 能与氧化应激损伤中的电子进行反应, 并通过其离子结构来稳定反应物过渡态。此外, 氧基团也是其抗氧化活性的来源之一, 可与高度反应活性的分子或自由基反应, 并形成稳定的产物。依达拉奉经体内代谢后, 以阴离子形式存在。该形式的依达拉奉以单电子转移的方式向氧自由基提供电子, 是中性形式反应的 8.6 倍<sup>[1]</sup>。依达拉奉能将氧自由基转化为非活性分子, 有效降低氧自由基的毒性效应, 抑制由氧自由基导致的膜脂质过氧化的连锁反应, 也能以加成的方式减轻羟自由基的细胞毒性, 剂量依赖性地抑制羟自由基介导的蛋白质和核酸的氧化损伤<sup>[2]</sup>。除直接清除氧自由基外, 在脑缺血/再灌注发生后使用依达拉奉可以增强超氧化物歧化酶 (SOD) 活性, 降低脂质过氧化产物丙二醛 (MDA) 的含量, 维持细胞的氧化还原平衡, 减轻神经元和脑血管内皮细胞膜的氧化损伤, 提示依达拉奉还可能通过增强机体的抗氧化能力, 间接清除氧自由基<sup>[3]</sup>。

### 1.2 抗炎症作用

除抗氧化作用外, 依达拉奉被报道具有抗炎作用, 其机制涉及抑制核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 通路以及减少炎症因子释放等环节。NF- $\kappa$ B 是一个关键的转录因子, 参与调控免疫反应、炎症反应, 从而调控细胞存活。NF- $\kappa$ B 激活可致肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-6 (IL-6) 等炎症因子释放, 加剧局部或全身的炎症反应。多项研究表明, 依达拉奉可以通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路, 减少炎症因子表达, 进而抑制炎症反应。Zeng 等<sup>[4]</sup>证明, 依达拉奉通过维持线粒体平衡和调节 ROS-NF- $\kappa$ B p65 信号通路, 抑制颗粒物诱导的肺部炎症反应; Liu 等<sup>[5]</sup>证明, 依达拉奉通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路, 减轻了血管生成和炎症反应, 同时减少了由 NF- $\kappa$ B 激活导

致的骨吸收, 从而减轻了完全弗氏佐剂诱导的大鼠类风湿关节炎。除直接的抗炎作用外, 依达拉奉对氧自由基的清除作用及对神经细胞凋亡的抑制作用间接抑制炎症反应, 保护细胞免受损伤。

### 1.3 其他机制

依达拉奉可通过抑制氧化和炎症反应发挥间接抗细胞凋亡作用, 同时也具有直接抗细胞凋亡作用。Bcl-2 是一种抗凋亡蛋白, 而 Bax 是一种促凋亡蛋白, Bcl-2 与 Bax 的比例决定细胞凋亡走向, Bcl-2/Bax 比例降低, 往往会促进细胞凋亡。Zheng 等<sup>[6]</sup>的研究中, 依达拉奉作为阳性对照药物, 通过抑制 Toll 样受体 4 (TLR4) /NF- $\kappa$ B 信号通路, 显著降低脑卒中大鼠脑梗死面积、Bax 和 Caspase-3 的水平, 上调 Bcl-2 蛋白水平, 进而减少神经元凋亡数量。研究表明, 依达拉奉通过提高 Bcl-2/Bax 水平, 缓解内质网应激诱导的大鼠海马神经元凋亡, 并改善大鼠脑缺血/再灌注损伤, 这些报道均显示依达拉奉具有直接抗凋亡作用<sup>[7-8]</sup>。

此外, 依达拉奉还具有以下作用 (见图 1): 调节自噬, 阻止受体相互作用蛋白激酶 1 (RIP1) /受体相互作用蛋白激酶 3 (RIP3) /混合谱系激酶域样蛋白 (MLKL) 的自噬和磷酸化<sup>[9]</sup>; 调节线粒体功能, 改善大鼠抑郁样行为中的线粒体功能障碍<sup>[10]</sup>; 调节 mRNA 甲基化水平, 缓解敌草快在大鼠体内和体外诱导的急性中枢神经系统损伤<sup>[11]</sup>; 减轻大鼠脊髓屏障的破坏, 促进脊髓损伤后功能恢复<sup>[9]</sup>; 改善心肌缺血/再灌注后大鼠的血流动力学<sup>[12]</sup>; 促进细胞血管生成, 抑制血管内皮细胞损伤等, 这些作用涉及的相关机制有待进一步阐明。

## 2 依达拉奉疾病防治的研究进展

### 2.1 神经系统疾病的防治

#### 2.1.1 缺血性脑卒中

急性缺血性脑卒中由于血流中断, 脑组织缺氧引起能量供给不足, 通常引起神经炎症, 从而分泌各种细胞因子, 进而通过兴奋性神经毒性、氧化应激、钙超载等机制造成神经元细胞损伤, 而再灌注阶段因血流恢复灌注, 产生过量的 ROS, 造成进一步损伤。作为氧自由基清除剂, 依达拉奉能有效清除 ROS, 抑制脂质过氧化, 对缺血性脑卒中发挥保护作用。有研究表明, 依达拉奉可以通过激活核转录因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) /铁蛋白 (FPN) 通路, 抑制大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 大鼠铁死亡, 并降低促炎细胞因子, 减轻脑缺血/再灌注损伤<sup>[13]</sup>, 或通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt) 信号

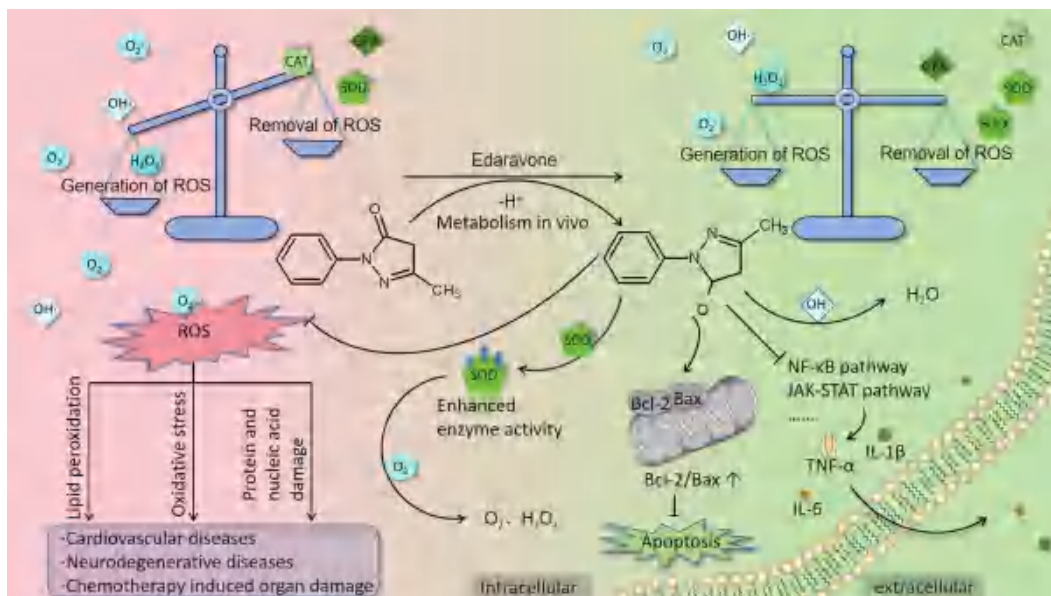


图 1 依达拉奉与活性氧的关系及作用机制 (PPT 绘制)

Fig 1 Relationship between Edaravone and reactive oxygen species and its mechanism of action (drawn by PowerPoint)

通路缓解小胶质细胞介导的 MCAO 小鼠炎症反应<sup>[14]</sup>；依达拉奉与右莰醇合用时通过激活 Nrf2/血红素加氧酶-1 (HO-1) / 谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 轴抑制脑卒中大鼠铁死亡，减少梗死面积，改善神经功能缺损，保护血脑屏障完整性，从而降低脑缺血 / 再灌注损伤<sup>[15]</sup>。

临床应用中，依达拉奉通过降低血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-8 水平，提高脑梗死患者的神经功能，而不会引起明显的不良反应，从而提高患者生活质量<sup>[16]</sup>。阿替普酶是一种重组组织型纤溶酶原激活剂，通过激活纤溶酶原转化为纤溶酶，分解血栓中的纤维蛋白而恢复血流，用于治疗急性缺血性脑卒中，但其使用具有一定治疗时间窗限制。一项临床研究表明，采用阿替普酶联合依达拉奉溶栓治疗缺血性脑卒中比单独使用阿替普酶在减轻脑损伤、改善神经功能和大脑血流动力等指标方面效果更优<sup>[17]</sup>。

**2.1.2 出血性脑卒中** 发生出血性脑卒中时，脑内出血 (ICH) 和蛛网膜下腔出血 (SAH) 多见。ICH 通常因血管破裂导致血液在脑组织内聚积，引起包括脑组织压迫、脑肿胀、脑功能障碍在内的一系列严重损伤。丝裂原活化蛋白激酶激酶 (MEK) / 细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 途径在 ICH 病理进程中起重要作用，依达拉奉通过抑制该通路降低大鼠脑组织 p-MEK 和 p-ERK1/2 水平，减少细胞内 ROS，逆转线粒体损伤，发挥对 ICH 及其继发性脑损伤的保护作用<sup>[18]</sup>。氧化应激为 ICH 继发性损伤的主要原因，依达拉奉可通过抑

制 OS / 基质金属蛋白酶 9 (MMP9) /  $\beta$ -半乳糖苷受体 ( $\beta$ -DG) 途径，维持水通道蛋白 4 (AQP4) 的表达，进而降低继发性大鼠脑损伤<sup>[19]</sup>。值得注意的是，依达拉奉用于临床 ICH 的治疗是否有益尚未定论。研究表明，依达拉奉可以缓解 ICH 患者神经功能缺陷，但长期应用是否有益还需进一步证实<sup>[20-21]</sup>。

SAH 早期脑损伤与氧化应激和炎症反应相关。依达拉奉可以抑制由氧化应激诱导的微血管内皮细胞和周细胞凋亡，改善大鼠 SAH 后微血管紊乱的症状。Munakata 等<sup>[22]</sup>应用依达拉奉治疗脑动脉瘤性 SAH 患者发现，与对照组相比，依达拉奉治疗组患者的迟发性缺血性神经功能障碍 (DINDs) 发生率更低，同时脑梗死的发生率和格拉斯哥预后评分也得到了进一步改善。值得一提的是，临床上依达拉奉通常不用于 SAH 患者脑血管痉挛的预防治疗，更多用于治疗脑缺血 / 再灌注损伤<sup>[23]</sup>。

**2.1.3 ALS** ALS 的特征是上下运动神经元的退化，少部分为遗传所致，但大多数病例病因仍不明确，依达拉奉通过清除自由基，抑制氧化损伤，主要用于延缓 ALS 病情进展。虽然静脉注射依达拉奉已被批准为 ALS 患者的疾病缓解药物，但在预期疗效研究中仅显示短期治疗效果<sup>[24]</sup>。Witzel 等<sup>[25]</sup>对筛选的 1440 名 ALS 患者开展的研究发现，长期静脉注射依达拉奉治疗 ALS 患者是可行的，并且患者耐受性良好，但与仅接受利鲁唑的标准常规治疗相比，依达拉奉未能提



供临床相关的额外益处。机制上,氧化应激、铁代谢以及缺氧和炎症的主要调节因子低氧诱导因子(HIF)和NF- $\kappa$ B被认为是ALS治疗的有效干预靶点<sup>[26]</sup>。

**2.1.4 阿尔茨海默病(AD)** 淀粉样蛋白 $\beta$ (A $\beta$ )诱导的氧化应激在AD的发病机制中起着重要作用。细胞实验表明,A $\beta$ 的积累会导致线粒体氧化损伤,而依达拉奉可以通过抑制凋亡、减少ROS产生、恢复ATP水平及改善线粒体动力学减轻SH-SY5Y细胞中A $\beta$ 引起的线粒体氧化损伤<sup>[27]</sup>。此外,依达拉奉通过激活Nrf2/抗氧化反应元件(ARE)信号通路对A $\beta$ 25-35诱导的SH-SY5Y细胞发挥抗凋亡与抗细胞毒性的作用;动物实验表明,口服依达拉奉可以显著减少A $\beta$ 沉积,Tau过度磷酸化,挽救APPswe/PS1小鼠的行为缺陷<sup>[28]</sup>;对AD伴慢性脑缺血(CCH)的模型小鼠,依达拉奉可通过减轻氧化应激和炎症反应发挥治疗作用<sup>[29]</sup>。目前,依达拉奉对AD作用的研究多数仍停留在细胞及动物水平。鉴于依达拉奉在AD中的多靶点作用,已经有双位点抑制活性的依达拉奉衍生物被设计为抗AD药物的先导分子,但其实际临床效果和安全性还有待验证<sup>[30]</sup>。

**2.1.5 血管性痴呆(VAD)** VAD是由脑血管病变导致脑部血流受阻,神经细胞缺血缺氧,进而引起认知功能衰退的中枢退行性疾病。研究表明,VAD大鼠给予依达拉奉可增加大脑SOD活性,降低MDA/乳酸脱氢酶(LDH)比例和ROS产量,降低氧化应激水平,同时恢复海马中多种突触蛋白水平,从而发挥神经保护作用<sup>[31]</sup>。依达拉奉对VAD大鼠的神经保护作用在Meftahi等<sup>[32]</sup>的研究中也得到证实。临床试验中,基于VAD患者精神状态检查(MMSE)评分结果,在21种不同的抗VAD药物之中,依达拉奉为最有效的药物之一<sup>[33]</sup>。

**2.1.6 帕金森病(PD)** PD主要因大脑黑质区域的神经元退化,导致多巴胺分泌不足,引发运动迟缓、静止性震颤、肌强直等症状。多巴胺能神经元周围产生过多的氧自由基,导致线粒体功能障碍与炎症反应,路易小体的形成也会导致神经元功能丧失。目前药物仍多采取对症治疗,针对关键机制的靶向治疗是未来研究的主要方向。依达拉奉对6-羟基多巴胺诱导的SH-SY5Y细胞的体外PD模型有明显的保护作用,减少了细胞毒性、早期和晚期凋亡,提高了细胞的存活率<sup>[34]</sup>。此外,依达拉奉的羧酸衍生物4-(5-羟基-3-甲

基-1H-吡唑-1-基)苯甲酸具有螯合Fe(iii)和抗氧化辅助基团的双重功能,抑制神经元内过量的铁导致活性氧的生成,可减轻PD小鼠模型的神经元损伤<sup>[35]</sup>。临床中,针对PD的传统疗法仅为对症状进行有限的缓解,与现有的药物如左旋多巴、多巴胺激动剂类药物相比,依达拉奉在PD患者中的使用效果尚未被充分证明,仍需确凿临床数据支持。

**2.1.7 抑郁症** 氧化应激与重度抑郁症密切相关,重度抑郁症患者伴随大脑抗氧化能力下降和ROS水平升高。适量的ROS是神经元生长和发育所必需的,参与谷氨酸依赖的长时程增强作用,而过量的ROS则会对神经元造成损伤<sup>[36]</sup>。依达拉奉可以显著改善抑郁症小鼠的抑郁和焦虑样行为,其机制涉及减少氧化应激损伤和改善能量代谢障碍<sup>[37]</sup>。临床上,依达拉奉可减轻抑郁和降低卒中后抑郁(post-stroke depression, PSD)的发生率,并提高支架植入术治疗颅内动脉狭窄的临床疗效<sup>[38]</sup>。一项随机对照研究也表明,被纳入的93例患者(试验组51例,对照组42例),与接受常规治疗的对照组相比,接受含有依达拉奉治疗的试验组在第30日PSD的发病率、患者健康问卷评分(PHQ-9)和汉密尔顿抑郁量表(HAMD)评分都显著降低<sup>[39]</sup>。

**2.1.8 孤独症** 孤独症是一种多发于儿童的神经发育障碍,病症通常表现为异常的语言能力、交往能力及固执的行为模式。动物实验中,通过大鼠孕期暴露丙戊酸建立孤独症模型,给予依达拉奉后,血液和大脑中氧化应激标志物显著减少,抗氧化能力显著提高,以剂量依赖性的形式缓解孤独症大鼠包括重复刻板行为和受损的社交互动等在内的核心症状<sup>[40]</sup>。目前,用于治疗青少年和儿童孤独症的依达拉奉口服片剂TTYP01的II期的临床试验正在进行,旨在评估TTYP01片剂在患有孤独症的青少年和儿童中的安全性、PK特征和初步疗效。

## 2.2 心血管系统疾病的防治

**2.2.1 缺血性心脏病** 在急性心肌梗死小鼠模型中,给予依达拉奉可降低心肌梗死面积,改善血流动力学,其机制涉及抑制Janus激酶2(JAK2)/信号转导及转录激活因子3(STAT3)信号通路,减轻心肌梗死诱导的心肌细胞凋亡,而这一过程可以被JAK2抑制剂(AG490)逆转<sup>[41]</sup>。

在大鼠心肌缺血/再灌注损伤模型中,再灌注前给予依达拉奉可抑制脂质过氧化并清除氧自



由基, 预防因再灌注诱发的致死性室性快速心律失常和心功能恶化<sup>[12]</sup>。依达拉奉还可减轻大鼠心肌缺血/再灌注后引起的肺损伤, 伴随血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平、肺通透性指数(PPI)的显著降低<sup>[42]</sup>。

**2.2.2 免疫性心肌炎** 实验性自身免疫性心肌炎(EAM)是由分泌炎性细胞因子的肌球蛋白特异性T细胞浸润心肌所致。给予依达拉奉可剂量依赖性地改善左室功能, 伴随左室射血分数和缩短分数明显升高, 同时下调左室TNF- $\alpha$ 、磷酸化的p38丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)和磷酸化的c-Jun氨基末端激酶(p-JNK)水平, 伴随TUNEL阳性细胞数下降, 其机制涉及抑制氧化应激和内质网应激<sup>[43]</sup>。此外, 装载依达拉奉的纳米颗粒能有效靶向炎症刺激的CD4<sup>+</sup>T细胞和受损的心肌细胞, 释放依达拉奉清除氧自由基, 进一步抑制CD4<sup>+</sup>T细胞活化并缓解心肌细胞损伤, 减少小鼠心肌细胞凋亡并改善心脏功能<sup>[44]</sup>。

**2.2.3 糖尿病并发症** 依达拉奉可以改善糖尿病并发症如糖尿病心肌病的病理症状。口服依达拉奉通过抑制转化生长因子 $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )/Smad信号通路及其下游纤维化关键因子Ⅲ型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链(Col3a1)和 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)减轻心肌纤维化<sup>[45]</sup>; 依达拉奉还可抑制高血糖诱导的血管内皮功能障碍<sup>[46]</sup>。

目前, 有关依达拉奉用于心血管系统疾病的研究主要集中在动物模型, 能否推广到临床还有待观察。

## 2.3 化疗药物器官损害的防治

环磷酰胺常在器官移植或系统性红斑狼疮中使用, 发挥抗肿瘤和免疫抑制的作用, 但也会引起心脏等组织器官毒性, 这与ROS水平升高密切相关。依达拉奉可保护器官免受化疗药物产生的氧自由基造成的损伤。研究表明, 依达拉奉通过降低大鼠体内Kelch样ECH相关蛋白1(Keap1)的mRNA水平, 进而上调Nrf2和靶向PI3K/Akt/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路, 降低ROS水平, 减轻组织器官的氧化损伤, 在化疗中发挥心脏等组织器官保护作用<sup>[47-48]</sup>。

阿霉素(DOX)为广谱的抗肿瘤化疗药物, 因其心脏毒性使用受限。经依达拉奉预处理后, 能显著降低内源性酶活性和大鼠心脏生物标志物的水平, 减轻DOX诱导的心脏毒性; 通过降低肿瘤抑制蛋白p53升高p-Akt水平, 依达拉奉可减轻化疗药物甲氨蝶呤诱导的睾丸损伤<sup>[49]</sup>。依

达拉奉的乳液制剂可抑制化疗诱导的大鼠脱发症(CIA), 有望应用于临床提高肿瘤患者的生活质量和接受治疗的意愿<sup>[50]</sup>。依达拉奉对化疗药物损伤的防治作用研究目前仅限于动物实验。

## 2.4 其他疾病的防治

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种呼吸系统疾病, 与烟草烟雾/生物质燃料诱导的氧化或醛/羰基应激密切相关, 依达拉奉通过抑制脂质过氧化和蛋白质羰基化提高肺部抗氧化水平, 发挥有益作用<sup>[51]</sup>; 依达拉奉可用作铜绿假单胞菌引发的急性呼吸窘迫综合征的辅助治疗<sup>[52]</sup>, 其机制涉及靶向TLR4/髓系分化主要反应基因88(MyD88)/NF- $\kappa$ B信号通路, 抑制肺脏细胞促炎因子的转录和分泌; 在机体的发育早期, 暴露于特定剂量的电离辐射会导致包括神经毒性在内的发育毒性, 依达拉奉可能通过神经活性配体-受体相互作用途径参与其中, 缓解辐射诱导的神经毒性<sup>[53]</sup>。

## 3 药代动力学特点与安全性评估

依达拉奉口服迅速吸收, 体内分布广泛。在急性缺血性脑卒中的治疗中, 依达拉奉表现出显著的靶向效应, 得益于其分子量小且亲脂性强的特点, 依达拉奉能够有效渗透血脑屏障并富集于受损组织, 发挥神经保护作用。由于其在体内主要通过肝脏代谢、肾脏排泄, 且半衰期相对较短, 因此其疗效依赖于持续给药, 在肝肾功能不全的患者中应谨慎使用, 密切监测肝肾功能状况, 并合理调整使用剂量。依达拉奉与细胞色素P450(CYP3A4)抑制剂或诱导剂合用会影响肝脏代谢酶活性, 从而影响其血药浓度, 改变疗效或引发不良反应; 与影响肾排泄的药物(如头孢唑啉钠等抗菌药物)合用可能导致或加重肾衰竭, 合并用药前需进行肾功能检测。一项关于静脉注射依达拉奉治疗急性缺血性脑卒中的安全性研究表明, 依达拉奉具有较好的耐受性, 其使用14 d内的持续监测未发现严重不良事件, 轻度不良事件如头痛、头晕发生率低(< 5%), 药物总体安全性良好<sup>[54]</sup>。

## 4 当前研究热点与未来方向

临床使用的依达拉奉常规剂型为注射剂。由于依达拉奉的半衰期较短、溶解性较差, 用于非急性损伤以外的慢性疾病时, 实际生物利用度可能会受限。因此, 目前的研究聚焦依达拉奉新型制剂的开发, 旨在提高生物利用度。Luo等<sup>[55]</sup>以MPEG-2000-DSPE(MDE)为载体, 通过溶剂蒸发法制备了载药量为17.6%、包封率为92.8%的MPEG-2000-DSEE-依达拉奉胶束, 结果表明

MDE 能够将依达拉奉靶向递送到 PC12 细胞中, 提升了依达拉奉的水溶性、稳定性和抗氧化作用。Xu 等<sup>[56]</sup>设计了一种具有异步释放能力的分层生物活性水凝胶, 使依达拉奉与咖啡酸、成纤维细胞生长因子 21 组成水凝胶的不同纳米结构, 将三重负载的水凝胶注射到 PD 大鼠的大脑中, 能有效提供即时神经保护。Parikh 等<sup>[57]</sup>开发了一种装载依达拉奉的脂质纳米系统, 该系统显著提高了药物的生物利用度, 并增强了其神经保护作用, 该系统通过将依达拉奉包封在脂质体或固体脂质纳米粒中, 药物被保护从而免于快速降解, 允许在其靶点持续释放。一项对术后脑出血患者治疗临床研究发现, 接受纳米颗粒制剂治疗的患者比接受依达拉奉标准治疗的患者具有更好的疗效, 减轻脑水肿效果更明显<sup>[58]</sup>。上述报道表明依达拉奉的新型制剂的开发具有广泛的应用前景。

依达拉奉的联合用药是当前备受关注的热点, 旨在通过多机制发挥协同效应。依达拉奉主要通过清除氧自由基发挥抗氧化损伤, 若与抗炎药物、抗神经兴奋性毒性药物联用, 对缺血性脑卒中的治疗可能会发挥协同效应。(+) - 冰片, 又名右莰醇, 一种天然存在的萜烯和双环有机化合物, 可抑制炎症因子发挥抗炎作用。目前, 临床广泛应用于治疗脑卒中的药物依达拉奉右莰醇注射液, 是我国自主研发的依达拉奉和右莰醇配比为 4:1 的新药。在一项随机对照研究中, 与依达拉奉组相比, 依达拉奉右莰醇组在第 90 日出现良好恢复效果患者的比例显著提高<sup>[59]</sup>。奥拉西坦是一种 N-甲基-D-天门冬氨酸 (NMDA) 受体拮抗剂, 主要通过抑制谷氨酸能神经元的兴奋性, 减少钙离子内流, 从而保护神经元免受兴奋性毒性损伤, 与依达拉奉联合使用可以靶向沉默信息调节因子 2 同源蛋白 1 (SIRT1) /NF- $\kappa$ B 炎症通路抑制脑梗死大鼠神经元凋亡, 发挥神经保护作用<sup>[60]</sup>。

此外, 依达拉奉对 AD、脊髓损伤等具有表观遗传调控作用。通过精准医学策略分析脑出血患者基因多态性与依达拉奉疗效之间的关系, 发现 IL-6 和 WNK 赖氨酸缺陷型蛋白激酶 2 (WNK2) 可能是依达拉奉治疗期间预后的有效生物标志物, 单核苷酸多态性分析, 为依达拉奉在临床个体化用药提供了依据<sup>[61]</sup>, 可能成为依达拉奉应用的未来研究方向。

## 5 结语

依达拉奉主要用于脑梗死急性发作和 ALS 的治疗。清除氧自由基是其主要的的作用机制, 抗炎

作用也得到证明。由于氧化应激和炎症反应涉及多种疾病的病理机制, 理论上, 依达拉奉的适应证应该远不止脑卒中和渐冻症。随着研究的深入, 特别是依达拉奉新剂型和新复方的开发, 依达拉奉的适用证将进一步拓展, 疗效也将进一步提高。目前, 对依达拉奉作用机制的探讨仍在继续, 随着新靶点和新通路的挖掘, 依达拉奉的临床应用将更广泛, 为患者带来益处。此外, 深入探讨依达拉奉在基因组学、药物代谢组学等方面的个体差异, 可为其精准用药提供科学依据。

## 参考文献

- [1] Pérez-González A, Galano A. OH radical scavenging activity of edaravone: mechanism and kinetics [J]. J Phys Chem B, 2010, 115 (5): 1306-1314.
- [2] Tokumaru O, Shuto Y, Ogata K, et al. Dose-dependency of multiple free radical-scavenging activity of edaravone [J]. J Surg Res, 2018, 228: 147-153.
- [3] Zhao HX, Yang P, Zhang M, et al. ROS-responsive dextran-benzenboronic acid pinacol ester micelles encapsulating edaravone for the treatment and mechanism of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Metab Brain Dis, 2025, 40 (5): 202.
- [4] Zeng YY, Zhu GP, Zhu MC, et al. Edaravone attenuated particulate matter-induced lung inflammation by inhibiting ROS-NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022 (1): 6908884.
- [5] Liu JC, Zhao N, Su SH, et al. Anti-arthritic effect of edaravone against complete freund adjuvant induced arthritis via osteoclast differentiation and HIF-1 $\alpha$ -VEGF-ANG-1 axis [J]. Drug Des Devel Ther, 2023, 17: 519-534.
- [6] Zheng ZP, Liang SS, Sun SS, et al. Clinical observation of salvianolic acid combined with panax notoginseng saponins combined with basic nursing intervention on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. J Healthc Eng, 2022, 2022: 8706730.
- [7] Dong XL, Li CP, Yao YY, et al. Xingnaojing injection alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury through regulating endoplasmic reticulum stress in vivo and in vitro [J]. Heliyon, 2024, 10 (3): e25267.
- [8] 章蕾, 王凌峰, 胡培豪, 等. 马尾松松针提取物调节 JNK3/caspase-3 信号转导减轻大鼠脑缺血再灌注后氧化应激损伤 [J]. 浙江大学学报 (医学版), 2022, 51 (5): 563-572.
- [9] Xu B, Fang JQ, Wang JG, et al. Inhibition of autophagy and RIP1/RIP3/MLKL-mediated necroptosis by edaravone attenuates blood spinal cord barrier disruption following spinal cord injury [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 165: 115165.
- [10] Motafeghi F, Bagheri A, Seyedabadi M, et al. Antidepressant-like effects of edaravone and minocycline: investigation of oxidative stress, neuroinflammation, neurotrophic, and apoptotic pathways [J]. Neurotox Res, 2022, 40 (6):

- 1838-1858.
- [11] Wu LZ, Luo ZW, Luo FL, et al. Edaravone inhibits neuronal ferroptosis and alleviates acute central nervous system injury induced by diquat enhancement of METTL14-mediated m6A methylation of Aldh1l1 [J]. *Free Radic Res*, 2025, 59 (3): 274-288.
- [12] Yagi H, Horinaka S, Matsuoka H. Edaravone prevented deteriorated cardiac function after myocardial ischemia-reperfusion via inhibiting lipid peroxidation in rat [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 46 (1): 46-51.
- [13] Liu WP, Wang LL, Liu CW, et al. Edaravone ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury by downregulating ferroptosis the Nrf2/FPN pathway in rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2022, 45 (9): 1269-1275.
- [14] Yang L, Duan ZD, Xu DY, et al. Edaravone alleviates BV-2 microglia-mediated neuroinflammation through the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Adv Biol (Weinh)*, 2025, 9 (7): e2400501.
- [15] Xiao P, Huang HY, Zhao HS, et al. Edaravone dextroboenol protects against cerebral ischemia/ reperfusion-induced blood-brain barrier damage by inhibiting ferroptosis via activation of Nrf2/HO-1/GPX4 signaling [J]. *Free Radic Res*, 2024, 217: 116-125.
- [16] Li XS, Ma DZ, Sun GZ. Effects of edaravone on neurological function and tumor necrosis factor alpha and interleukin 8 levels in patients with cerebral infarction [J]. *Eur Neurol*, 2020, 83 (1): 73-79.
- [17] Li XX, Liu SH, Zhuang SJ, et al. Effects of intravenous thrombolysis with alteplase combined with edaravone on cerebral hemodynamics and T lymphocyte level in patients with acute cerebral infarction [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99 (50): e23414.
- [18] Cao SH, Wei JT, Cai YG, et al. Network pharmacology prediction and experimental verification for anti-ferroptosis of edaravone after experimental intracerebral hemorrhage [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60 (7): 3633-3649.
- [19] Wang ZH, Li Y, Wang ZX, et al. Edaravone maintains AQP4 polarity via OS/MMP9/ $\beta$ -DG pathway in an experimental intracerebral hemorrhage mouse model [J]. *Mol Neurobiol*, 2024, 61 (10): 7639-7658.
- [20] Yang J, Liu M, Zhou JS, et al. Edaravone for acute intracerebral haemorrhage [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011 (2): CD007755.
- [21] Qin MZ, Feng LD, Yang CY, et al. Edaravone use in acute intracerebral hemorrhage: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 935198.
- [22] Munakata A, Ohkuma H, Nakano T, et al. Effect of a free radical scavenger, edaravone, in the treatment of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurosurgery*, 2009, 64 (3): 423-428.
- [23] Ai J, Ido K, Kurogi R, et al. Effect of treatment modality and cerebral vasospasm agent on patient outcomes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage in the elderly aged 75 years and older [J]. *PLOS One*, 2020, 15 (4): e0230953.
- [24] Tzeplaeff L, Wilfling S, Requardt MV, et al. Current state and future directions in the therapy of ALS [J]. *Cells-Basel*, 2023, 12 (11): 1523.
- [25] Witzel S, Maier A, Steinbach R, et al. Safety and effectiveness of long-term intravenous administration of edaravone for treatment of patients with amyotrophic lateral sclerosis [J]. *JAMA Neurol*, 2022, 79 (2): 121-130.
- [26] Soares P, Silva C, Chavarria D, et al. Drug discovery and amyotrophic lateral sclerosis: emerging challenges and therapeutic opportunities [J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 83: 101790.
- [27] Zhang GL, Zhang L, Guo YY, et al. Protective effect of edaravone against a  $\beta_{25-35}$ -induced mitochondrial oxidative damage in SH-SY5Y cells [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2017, 63 (5): 36-42.
- [28] Jiao SS, Yao XQ, Liu YH, et al. Edaravone alleviates Alzheimer's disease-type pathologies and cognitive deficits [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112 (16): 5225-5230.
- [29] Feng T, Yamashita T, Shang JW, et al. Clinical and pathological benefits of edaravone for Alzheimer's disease with chronic cerebral hypoperfusion in a novel mouse model [J]. *J Alzheimers Dis*, 2019, 71 (1): 327-339.
- [30] Zondagh LS, Malan SF, Joubert J. Design, synthesis and biological evaluation of edaravone derivatives bearing the *N*-benzyl pyridinium moiety as multifunctional anti-Alzheimer's agents [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2020, 35 (1): 1596-1605.
- [31] Li X, Lu F, Li W, et al. Edaravone injection reverses learning and memory deficits in a rat model of vascular dementia [J]. *Acta Bioch Bioph Sin*, 2017, 49 (1): 83-89.
- [32] Meftahi GH, Bayat M, Zarifkar AH, et al. Treatment with edaravone improves the structure and functional changes in the hippocampus after chronic cerebral hypoperfusion in rat [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 174: 122-130.
- [33] Dang C, Wang QX, Zhuang YJ, et al. Pharmacological treatments for vascular dementia: a systematic review and bayesian network meta-analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1451032.
- [34] Shokrzadeh M, Javanmard H, Golmohammad Zadeh G, et al. Evaluation of the anti-apoptotic and anti-cytotoxic effect of epicatechin gallate and edaravone on SH-SY5Y neuroblastoma cells [J]. *Basic Clin Neurosci*, 2019, 10 (6): 619-630.
- [35] Gotsbacher MP, Telfer TJ, Witting PK, et al. Analogues of desferrioxamine B designed to attenuate iron-mediated neurodegeneration: synthesis, characterisation and activity in the mPTP-mouse model of Parkinson's disease [J]. *Metallomics*, 2017, 9 (7): 852-864.
- [36] Bhatt S, Nagappa AN, Patil CR. Role of oxidative stress in depression [J]. *Drug Discov Today*, 2020, 25 (7): 1270-1276.
- [37] Dang RZ, Wang MY, Li XH, et al. Edaravone ameliorates depressive and anxiety-like behaviors via Sirt1/Nrf2/HO-1/Gpx4 pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2022, 19 (1): 41.
- [38] Kong ZH, Jiang J, Deng M, et al. Edaravone reduces depression severity in patients with symptomatic intracranial stenosis and is associated with the serum expression of sex hor-



- mones [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99 (8): e19316.
- [39] Xu MY, Li L, Xu B, et al. Observations on the efficacy of edaravone dextroboresol in preventing post-stroke depression and its inflammatory mechanism: a prospective, randomized, control trial [J]. *Front Neurosci*, 2024, 18: 1451060.
- [40] Lu XY, Li MQ, Li YT, et al. Oral edaravone ameliorates behavioral deficits and pathologies in a valproic acid-induced rat model of autism spectrum disorder [J]. *Neuropharmacology*, 2024, 258: 110089.
- [41] Chen H, Chen YJ, Wang X, et al. Edaravone attenuates myocyte apoptosis through the JAK2/STAT3 pathway in acute myocardial infarction [J]. *Free Radic Res*, 2020, 54 (5): 351-359.
- [42] Zhang WW, Guo YQ, Yu SZ, et al. Effects of edaravone on the expression of  $\beta$ -defensin-2 mRNA in lung tissue of rats with myocardial ischemia reperfusion [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7 (5): 1683-1687.
- [43] Shimazaki H, Watanabe K, Veeraveedu PT, et al. The antioxidant edaravone attenuates ER-stress-mediated cardiac apoptosis and dysfunction in rats with autoimmune myocarditis [J]. *Free Radic Res*, 2010, 44 (9): 1082-1090.
- [44] Ye Z, Zhu MM, Li SJ, et al. Multifunctional nanoparticles for immune regulation and oxidative stress alleviation in myocarditis [J]. *J Control Release*, 2025, 381: 113607.
- [45] Zhang XY, Xu YX, Xue SQ, et al. Oral edaravone ameliorates myocardial fibrosis in type 2 diabetic rats by TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway [J]. *J Diabetes Complications*, 2025, 39 (3): 108976.
- [46] Kikuchi K, Tancharoen S, Takeshige N, et al. The efficacy of edaravone (radicut), a free radical scavenger, for cardiovascular disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14 (7): 13909-13930.
- [47] Hassanein EHM, Abd El-Ghaffar OAM, Ahmed MA, et al. Edaravone and acetovanillone upregulate Nrf2 and PI3k/Akt/mTOR signaling and prevent cyclophosphamide cardiotoxicity in rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 5275-5288.
- [48] Hassanein EHM, Ahmed MA, Sayed AM, et al. Edaravone mitigates hemorrhagic cystitis by modulating Nrf2, TLR-4/NK- $\kappa$ B, and JAK1/STAT3 signaling in cyclophosphamide-intoxicated rats [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35 (11): e22889.
- [49] Hassanein EHM, Mohamed WR, Hussein RM, et al. Edaravone alleviates methotrexate-induced testicular injury in rats: implications on inflammation, steroidogenesis, and Akt/p53 signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 117: 109969.
- [50] Tsuji T, Yoneda K, Igawa Y, et al. Preventive effect of free radical scavenger edaravone lotion on cyclophosphamide chemotherapy-induced alopecia [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2024, 94 (3): 467-473.
- [51] Biswas S, Hwang JW, Kirkham PA, et al. Pharmacological and dietary antioxidant therapies for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20 (12): 1496-1530.
- [52] Song J, Tong L, Xu J, et al. Edaravone alleviates associated acute lung injury by inhibiting inflammation and promoting anti-microbial peptide production [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 154: 114511.
- [53] Hou Y, Shang Y, Xu FF, et al. Ionizing radiation induces neurotoxicity in embryos through neuroactive ligand-receptor interaction pathway [J]. *Environ Res*, 2024, 256: 119237.
- [54] Batino LKJ, Escabillas CG, Navarro JC. Edaravone's safety profile in acute ischemic stroke [J]. *Brain Behav*, 2024, 14 (12): e70158.
- [55] Luo X, Luo LS, Lai R, et al. Synthesis and antioxidant effects of edaravone-loaded MPEG-2000-DSPE micelles in rotenone-induced PC12 cell model of Parkinson's disease [J]. *Nanomaterials-Basel*, 2024, 14 (23): 1962.
- [56] Xu JP, Dai P, Zhang C, et al. Injectable hierarchical bioactive hydrogels with fibroblast growth factor 21/edaravone/caffeic acid asynchronous delivery for treating Parkinson's disease [J]. *Adv Sci*, 2025, 12 (4): e2412020.
- [57] Parikh A, Kathawala K, Tan CC, et al. Lipid-based nanosystem of edaravone: development, optimization, characterization and evaluation [J]. *Drug Deliv*, 2017, 24 (1): 962-978.
- [58] Al-Thani AN, Jan AG, Abbas M, et al. Nanoparticles in cancer theragnostic and drug delivery: a comprehensive review [J]. *Life Sci*, 2024, 352: 122899.
- [59] Xu J, Wang AX, Meng X, et al. Edaravone dextroboresol versus edaravone alone for the treatment of acute ischemic stroke a phase III, randomized, double-blind, comparative trial [J]. *Stroke*, 2021, 52 (3): 772-780.
- [60] Cui XP, Ye JX, Lin H, et al. Effects of edaravone combined with oxiracetam on neuronal apoptosis in rats with cerebral infarction through targeting SIRT1/NF- $\kappa$ B inflammatory pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2022, 26 (1): 218-224.
- [61] Zhang YP, Wang S, Yao TX, et al. IL6 and WNK2 polymorphisms and prognosis in patients with intracerebral hemorrhage receiving edaravone [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2025, 34 (1): 108095.

(收稿日期: 2025-06-23; 修回日期: 2025-08-23)

# 黄芪治疗高血压的临床应用及其活性成分和药理作用研究进展

裴静怡, 孔玲, 曹博铭, 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, 哈尔滨 150040)

**摘要:** 高血压作为一种全球高发的慢性疾病, 长期血压控制不良可导致心、脑、肾等重要靶器官损伤。黄芪作为传统补气中药, 具有健脾补中、利水消肿等功效, 临床研究表明, 含黄芪的治疗方案在原发性高血压、难治性高血压及部分特殊人群中均显示出良好的临床疗效与安全性, 其在高血压综合管理中的整体调节优势日益凸显。现代药理研究证实, 黄芪及其活性成分可通过调节血管功能稳态、抑制炎症反应与氧化应激、减轻靶器官损伤等多种途径, 参与高血压相关病理过程的调控, 体现了多成分、多靶点协同作用的特点。本文对黄芪在高血压治疗中的临床应用及其活性成分与药理作用机制进行全面综述, 以期为该药物的深入研究和临床转化提供依据与思路。

**关键词:** 黄芪; 高血压; 临床应用; 活性成分; 药理作用

中图分类号: R544.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-189-09

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.027

## Clinical application, active components, and pharmacological effects of *Astragalus membranaceus* for hypertension

PEI Jingyi, KONG Ling, CAO Boming, YAN Guangli\*, WANG Xijun\* (State Key Laboratory of Integration and Innovation of Classic Formulas and Modern Chinese Medicine, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

**Abstract:** Hypertension is a prevalent chronic disease worldwide. Persistent inadequate blood pressure control may lead to progressive damage to major target organs, including the heart, brain, and kidneys. *Astragalus membranaceus* (Huangqi), a classical Qi-tonifying herb in traditional Chinese medicine, has long been used to support systemic vitality and regulate fluid metabolism. Accumulating clinical evidence indicates that *Astragalus membranaceus*-containing therapeutic regimens demonstrate favorable antihypertensive efficacy and safety in essential hypertension, resistant hypertension, and certain special populations, highlighting its potential value as an adjunctive strategy in comprehensive hypertension management. Modern pharmacological studies further suggest that *Astragalus membranaceus* and its bioactive constituents participate in the regulation of hypertension-related pathological processes through multiple pathways, including maintenance of vascular functional homeostasis, suppression of inflammatory responses and oxidative stress, and attenuation of target-organ injury. These effects display a multi-component and multi-target feature. This review summarizes the clinical applications of *Astragalus membranaceus* for hypertension, its principal active components and pharmacological mechanisms, to provide a scientific foundation and translational for future research.

**Key words:** *Astragalus membranaceus*; hypertension; clinical application; active component; pharmacological action

**基金项目:** 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No.82304709); 黑龙江省重点研发计划 (No.2022ZX02C04)。

**作者简介:** 裴静怡, 女, 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: mayday5525p@163.com

\***通信作者:** 闫广利, 男, 副研究员, 主要从事中药血清药物化学及中医方证代谢组学研究, email: gancaosuan@163.com; 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

高血压是临床常见的全球高发慢性疾病,已成为世界范围内的重要公共卫生问题。世界卫生组织 2023 年《全球高血压报告》数据显示,1990—2019 年间全球高血压患病人数几乎翻倍,而在 30~79 岁成人患者中,仅约 21% 实现了有效血压控制<sup>[1]</sup>。高血压的发生发展机制复杂,涉及神经体液调节失衡、血管结构与功能重塑、代谢紊乱及持续性低度炎症等多个病理环节,长期血压升高可导致心、脑、肾等重要靶器官损伤,是心脑血管疾病的重要病因和危险因素<sup>[2]</sup>。当前临床常用的利尿剂、血管紧张素 II 受体阻滞剂、钙通道阻滞剂及血管紧张素转换酶抑制剂等降压药物在血压控制方面具有明确疗效,仍是高血压治疗的一线用药选择。然而,在长期管理过程中,部分患者可能出现不良反应、个体疗效差异或依从性下降等问题<sup>[3]</sup>。因此,从多病理环节角度,在循证医学框架下、在充分关注安全性与个体差异的前提下,探索作为现有治疗方案补充的辅助干预策略,对于优化高血压的综合管理具有重要现实意义。

黄芪为豆科黄芪属植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,味甘、性微温,归脾、肺经,具有健脾补中、升阳举陷、益卫固表、利尿消肿、托毒生肌等功效,在传统中医理论中被誉为“补药之长”<sup>[4]</sup>。中医理论多从“气虚”“血瘀”“痰湿”等病机角度认识高血压相关证候,认为其发生发展与气血运行失调、水湿内停等病理状态密切相关。黄芪因其补气活血、利尿消肿等特性,在心血管疾病的辨证施治中应用广泛<sup>[5]</sup>。现代药理学研究证实,黄芪含皂苷类、黄芪多糖、黄酮类等多种活性成分,具有保护心血管、抗肿瘤、抗衰老、免疫调节等生物活性<sup>[6]</sup>。值得注意的是,黄芪通过调节血管功能障碍、炎症反应、代谢紊乱及靶器官损伤等多个相关病理环节,干预高血压的发生发展<sup>[7-8]</sup>。

随着中医药现代化研究的不断深入,黄芪及其活性成分在高血压辅助治疗及病程调控中的作用逐渐受到关注。本文系统梳理黄芪在高血压临床应用中的研究进展,并综述其活性成分参与高血压相关病理调控与药理作用的研究,以期黄芪及其活性成分在高血压综合管理中的潜在价值提供新思路,为后续临床研究及相关新药研发提供理论参考。

## 1 黄芪治疗高血压的临床应用

### 1.1 原发性高血压 (essential hypertension, EH)

EH 是以体循环动脉血压增高 (收缩压  $\geq 140$  mmHg 和 / 或舒张压  $\geq 90$  mmHg) 为主要特征,可伴有心、脑、肾等器官的功能或器质性损害的临床综合征<sup>[9]</sup>。黄芪在 EH 中的临床应用以联合标准降压药物为主,其并非替代或显著增强西药直

接降压效应。有研究表明,对于痰瘀互结型 EH 患者,在缬沙坦氢氯噻嗪片治疗基础上联合应用黄芪降压汤,能够显著提高临床总有效率,降低收缩压和舒张压,同时改善头痛、眩晕等中医证候。并能上调血清一氧化氮 (NO) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 水平,下调内皮素-1 (ET-1) 及晚期氧化蛋白产物水平,从而促进血管内皮修复并抑制氧化损伤<sup>[10]</sup>。李勇等<sup>[11]</sup>针对气虚血瘀型 EH 早期肾损伤患者的研究发现,在沙库巴曲缬沙坦治疗基础上联合黄芪当归合剂,可显著改善血肌酐 (Scr)、尿微量白蛋白 / 肌酐比值 (UACR) 及血清胱抑素 C (Cys C) 等肾功能指标,并有效降低炎症因子水平。以黄芪为核心的纯中药干预亦显示出综合调控作用。有学者对 1 级 EH 患者开展研究,结果显示,单用天芪降压方干预 8 周后,患者降压总有效率可达 85%。同时,该方对血脂代谢亦具有一定调节作用,能够降低总胆固醇及三酰甘油水平,并在一定程度上改善患者生活质量评分<sup>[12]</sup>。

### 1.2 难治性高血压 (resistant hypertension, RH)

RH 是指在健康生活方式干预基础上,同时规范应用 3 种不同机制的降压药物 (包含噻嗪类利尿剂),疗程  $\geq 4$  周,且已达到推荐最大剂量,血压仍未达标的状态<sup>[13]</sup>。现有研究多将黄芪作为复方关键成分,与常规西药联合用于 RH 治疗,研究重点并非单纯强化降压,而在于多靶点调控及整体治疗获益的提升。赵国勇<sup>[14]</sup>给予患者当归黄芪饮联合常规西药治疗 15 d 后,其血压控制总有效率显著高于单纯西药组,且在改善肾功能指标、血脂水平及血流动力学参数方面具有优势,表明含黄芪复方在控制血压的同时,可积极改善伴随的代谢及肾脏功能异常。冯婷婷等<sup>[15]</sup>在血液灌流的基础上加用黄芪注射液治疗维持性血液透析合并 RH,结果显示黄芪注射液显著提高血压控制率并抑制氧化应激与神经内分泌紊乱,为黄芪参与 RH 的中西医结合治疗提供了新路径。

### 1.3 特殊人群高血压

妊娠期高血压 (hypertensive disorders of pregnancy, HDP) 指妊娠 20 周后出现的高血压,是导致全球孕产妇及围生儿死亡的重要原因<sup>[16]</sup>。王雁<sup>[17]</sup>的临床研究表明,与单纯应用硫酸镁注射液相比,黄芪党参葛根汤联合硫酸镁治疗妊娠期高血压可显著提高总体疗效,改善孕妇凝血功能,减轻器官功能损伤等,且显示出较好的妊娠期用药安全性。另有学者观察到,黄芪注射液联合硫酸镁较单用硫酸镁,可显著降低收缩压、舒张压、平均动脉压及 24 h 尿蛋白含量,减少剖宫产、早产、新生儿窘迫等不良妊娠结局,在协同



降压、改善肾脏受累表现及优化母婴预后方面更具优势<sup>[18]</sup>。李忆凡<sup>[19]</sup>则从血清生物标志物层面展开分析,黄芪注射液联合硝苯地平可降低同型半胱氨酸(Hcy)及Cys C水平,对血管内皮功能及早期肾损伤具有潜在改善作用。

H型高血压以血压升高合并血浆同型半胱氨酸水平异常增高为典型特征,以黄芪为主药配伍的中药复方可有效下调血浆Hcy、协同平稳降压,在该特殊高血压亚型防治中具有明确干预作用<sup>[20]</sup>。耿银龙<sup>[21]</sup>发现黄芪补血汤联合常规治疗可同步降低血压、Hcy浓度水平及改善血液流变学指标,同时减轻神经功能缺损症状。冯永锋等<sup>[22]</sup>研究发现,在厄贝沙坦治疗基础上加用黄芪补血汤可提高NO水平并降低ET-1浓度,表明其可通过改善内皮功能,与肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)阻断治疗形成互补。

肥胖相关性高血压通常伴随慢性低度炎症、瘦素抵抗及交感神经系统过度激活。马度芳<sup>[23]</sup>从基础与临床层面对黄芪在肥胖相关性高血压中的作用进行了系统探讨。动物实验结果显示,黄芪甲苷可通过上调 $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱( $\alpha 7nAChR$ )受体表达并抑制炎症相关信号通路,减轻中枢及外周炎症反应,改善瘦素抵抗并抑制交感神经系统过度兴奋,从而降低血压及脂肪堆积,且该作用具有明确的通路依赖性。临床研究进一步指出,以黄芪为君药的疏肝运脾方不仅能有效调控血压,还可调节多项代谢指标并减轻炎症负荷,充分体现了黄芪活性成分通路靶向性及中医辨证施治优势。

#### 1.4 合并并发症的高血压

高血压合并2型糖尿病患者多伴胰岛素抵抗、糖脂代谢紊乱,易因高血糖与高血压双重作用引发肝肾功能靶器官损害,黄芪生脉散加味联合利格列汀可显著降低患者血压、血糖及血脂水平,降低肝酶、血肌酐等指标,在协同降糖降压的同时保护肝肾功能靶器官<sup>[24]</sup>。对于高血压合并代谢综合征人群,李宁荫等<sup>[25]</sup>研究发现,黄芪浸膏胶囊在一定剂量范围内呈剂量依赖性效应,其中10 g/d剂量在改善患者心脏舒张功能、减少尿微量白蛋白方面优于5 g/d,填补了黄芪在代谢异常相关高血压早期靶器官保护中的剂量研究空白,为临床干预提供了科学依据。血管病变是高血压常见并发症,陈位东<sup>[26]</sup>在高血压合并颈动脉斑块患者中观察到,以黄芪为君药配伍化痰逐瘀类方药联合常规西药,可降低颈动脉内膜中层厚度,同步改善血压及Hcy水平。陆微<sup>[27]</sup>针对气虚血瘀证稳定型心绞痛合并高血压患者,在常规西医治疗基础上加用黄芪配伍养心通脉饮,结果显示该方案在有效降压的同时,显著提高了心电图改善率与硝酸甘油停减率,提示黄芪与西医降压药物具备协同增效作用,能够减少

心绞痛发作频次,减轻患者对西药的用药依赖。范飞<sup>[28]</sup>以高血压合并慢性心力衰竭患者为研究对象,采用以黄芪为君药的芪参益气滴丸联合沙库巴曲缬沙坦等标准方案治疗,不仅有助于改善昼夜血压节律,还可通过提升左心室射血分数、降低N末端脑钠肽前体(NT-pro BNP)水平,改善心功能及生活质量,为心血管重症合并高血压的综合管理提供新思路。景云佳<sup>[29]</sup>将黄芪养心汤与氯沙坦钾片联用,可优化高血压合并房颤患者的血压控制与心率变异性指标,改善其心脏自主神经功能。

综合现有临床研究可见,黄芪联合降压药物在EH、RH、特殊人群高血压及合并并发症的高血压治疗中均展现出良好的疗效与安全性(见表1)。

## 2 黄芪中参与高血压相关病理调控的主要活性成分

随着黄芪化学成分分离及机制研究的深入,其活性成分在高血压相关病理过程中的调控作用逐渐受到重视。目前研究尚不能证明黄芪的单一活性成分具有稳定而明确的直接降压作用,主要聚焦于血管内皮功能障碍、炎症反应、氧化应激、RAAS异常及代谢紊乱等高血压相关病理环节,且多采用相应的病理模型开展,而非经典高血压动物模型。此类研究通过探索黄芪活性成分在高血压发生发展过程中可能参与调控的关键病理环节及作用靶点,为其在明确高血压模型中的系统性验证提供机制线索与理论基础。

### 2.1 皂苷类成分

皂苷类为黄芪中研究较为系统的一类活性成分,目前已分离鉴定50余种。其中,黄芪甲苷(astragaloside IV, AS-IV)作为典型羊毛甾烷型四环三萜皂苷,被认为是黄芪发挥心血管保护作用的重要物质基础之一。

血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)介导的血管内皮功能障碍、氧化应激及炎症反应,是高血压发生发展的关键分子环节。多项基于Ang II诱导内皮损伤模型的研究表明,AS-IV可通过恢复线粒体膜电位、提升三磷酸腺苷(ATP)合成效率及改善呼吸链复合体活性,改善线粒体功能紊乱,同时抑制线粒体来源活性氧(ROS)生成、上调锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)活性以减轻氧化应激,并抑制核因子 $\kappa B$ (NF- $\kappa B$ )介导的炎症因子表达及单核细胞黏附反应,有效改善Ang II诱导的血管内皮炎症与功能损伤,从抑制血管炎症、保护内皮功能层面参与高血压血管病理进程的调控<sup>[30]</sup>。此外,AS-IV可通过调控钙离子/磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/内皮型一氧化氮合酶/一氧化氮( $Ca^{2+}$ /PI3K/Akt/eNOS/NO)信号通路促进NO生成,缓解肾素-血管紧张素系统过度激活所致的血管舒缩功能

表 1 黄芪及其活性成分治疗高血压的临床研究

Tab 1 Clinical studies of *Astragalus* and its active ingredients in the treatment of hypertension

| 研究类型               | 研究对象                                      | 药物                                                                                                                 | 疗程    | 作用机制                                            | 文献   |
|--------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------|------|
| 原发性高血压             | 对照组 (41 例)<br>观察组 (41 例)                  | 对照组: 缬沙坦氢氯噻嗪片 (80 mg 缬沙坦+ 12.5 mg 氢氯噻嗪), 1 片 /d;<br>观察组: 黄芪降压汤 150 mL/ 次 bid + 西药治疗 (同对照组)                         | 28 d  | 血压显著降低, NO/SOD 升高、ET-1 降低, 证候积分改善, 安全性良好        | [10] |
| 原发性高血压             | 对照组 (63 例)<br>观察组 (67 例)                  | 对照组: 沙库巴曲缬沙坦 100 mg bid; 观察组: 黄芪当归合剂 150 mL/ 次 bid + 西药治疗 (同对照组)                                                   | 84 d  | 改善肾功能指标及证候积分, 调节炎症因子水平                          | [11] |
| 原发性高血压             | 观察组 (20 例)                                | 对照组: 基础治疗;<br>观察组: 天芪降压方 200 mL/ 次 bid                                                                             | 56 d  | 血压控制显著且持久, 中医证候改善明显, 生活质量评分提升                   | [12] |
| 难治性高血压             | 对照组 (45 例)<br>观察组 (45 例)                  | 对照组: 美托洛尔 50 mg bid + 贝那普利 10 mg bid + 氢氯噻嗪 20 ~ 50 mg qd + 硝苯地平 30 ~ 60 mg qd;<br>观察组: 当归黄芪饮 1 剂 /d + 西药治疗 (同对照组) | 15 d  | 总有效率升高, 改善肾功能指标、血脂水平                            | [14] |
| 难治性高血压             | 对照组 (45 例)<br>观察组 (45 例)                  | 对照组: 血液透析+血液灌流;<br>观察组: 黄芪注射液 90 mL + 常规治疗 (同对照组)                                                                  | 84 d  | 改善临床症状、血压水平, 调控氧化应激及神经内分泌激素指标                   | [15] |
| 妊娠高血压              | 对照组 (64 例)<br>观察组 (64 例)                  | 对照组: 25% 硫酸镁注射液 60 mL + 5% 葡萄糖溶液 500 mL;<br>观察组: 黄芪党参葛根汤, 1 剂 /d + 西药治疗 (同对照组)                                     | 7 d   | 提升总有效率, 改善产前产后相关指标, 提高胎儿存活率, 优化新生儿健康状况          | [17] |
| 妊娠高血压              | 对照组 (38 例)<br>观察组 (38 例)                  | 对照组: 25% 硫酸镁注射液 60 mL + 5% 葡萄糖溶液至 500 mL 静脉滴注 qd;<br>观察组: 黄芪注射液 60 mL + 5% 葡萄糖溶液至 250 mL 静脉滴注 qd + 西药治疗 (同对照组)     | 7 d   | 收缩压、舒张压及 24 h 尿蛋白量降低, 改善妊娠状态                    | [18] |
| 妊娠高血压              | 对照组 (56 例)<br>观察组 (56 例)                  | 对照组: 硝苯地平 30 mg qd; 观察组: 黄芪注射液 30 mL 静脉滴注 qd + 西药治疗 (同对照组)                                                         | 10 d  | 血压降低, 血清 Hcy、Cys C 水平显著下调                       | [19] |
| H 型高血压 (合并急性脑梗死)   | 对照组 (65 例)<br>观察组 (66 例)                  | 对照组: 丹参川芎嗪注射液 1 支 / 次 qd + 常规治疗;<br>观察组: 黄芪补血汤 1 剂 /d + 常规治疗 (同对照组)                                                | 28 d  | 血压及 Hcy 水平降低, 血液流变学改善, 卒中量表评分降低                 | [21] |
| H 型高血压 (合并脑梗死)     | 对照组 (30 例)<br>观察组 (30 例)                  | 对照组: 厄贝沙坦 0.15 ~ 0.3 g qd<br>观察组: 黄芪补血汤 1 剂 /d + 西药治疗 (同对照组)                                                       | 28 d  | NO 升高、ET-1 降低, 血管内皮功能修复                         | [22] |
| 肥胖相关性高血压           | 观察组 (41 例)                                | 疏肝运脾方 100 mL/ 次 bid                                                                                                | 42 d  | 体重降低, 收缩压显著下降, 代谢紊乱及炎症状态改善                      | [23] |
| 高血压合并 2 型糖尿病       | 对照组 (68 例)<br>观察组 (68 例)                  | 对照组: 利格列汀 5mg qd; 观察组: 黄芪生脉散加味 150 mL/ 次 bid + 西药治疗 (同对照组)                                                         | 84 d  | 降低血压、血糖、血脂及肝肾功能指标, 提升葡萄糖目标范围内时间                 | [24] |
| 高血压合并代谢综合征患者       | 对照组 (76 例);<br>观察组 (低剂量组 76 例; 高剂量组 74 例) | 对照组: 常规治疗;<br>观察组: 黄芪浸膏胶囊 (低剂量 5 g/d; 高剂量 10 g/d) + 常规治疗 (同对照组)                                                    | 12 个月 | 改善心脏舒张功能, 减少尿微量白蛋白, 呈现剂量依赖性靶器官保护效应              | [25] |
| 痰瘀互结型高血压合并颈动脉斑块    | 对照组 (33 例)<br>观察组 (33 例)                  | 对照组: 苯磺酸氨氯地平片 5 mg qd + 阿托伐他汀钙片 20 mg qd;<br>观察组: 化痰逐瘀汤 200 mL/ 次 bid, + 西药治疗 (同对照组)                               | 84 d  | 降低颈动脉内膜中层厚度及斑块评分, 改善血压、Hcy 及血脂水平                | [26] |
| 气虚血瘀证稳定型心绞痛合并高血压患者 | 对照组 (36 例)<br>观察组 (36 例)                  | 对照组: 氨氯地平 5 mg qd + 阿托伐他汀 20 mg qd + 阿司匹林 100 mg qd + 美托洛尔 23.75 mg qd;<br>观察组: 养心通脉饮 200 mL/ 次 bid + 西药治疗 (同对照组)  | 28 d  | 显著降压, 改善心电图及硝酸甘油停减率, 缓解心肌缺血, 降低西药依赖             | [27] |
| 气虚血瘀型高血压合并慢性心力衰竭患者 | 对照组 (30 例)<br>观察组 (30 例)                  | 对照组: 沙库巴曲缬沙坦 + $\beta$ 受体阻滞剂 + 钙离子拮抗剂;<br>观察组: 芪参益气滴丸 0.5 g/ 袋, 3 袋 /d + 西药治疗 (同对照组)                               | 56 d  | 改善昼夜血压节律, 提升左心室射血分数, 降低 NT-pro BNP, 改善生活质量及运动耐力 | [28] |
| 高血压合并阵发性房颤         | 对照组 (30 例)<br>观察组 (30 例)                  | 对照组: 氯沙坦钾片 50 mg qd;<br>观察组: 黄芪养心汤 200 mL/ 次 bid + 西药治疗同对照组                                                        | 84 d  | 收缩压、舒张压显著降低, 改善心率变异性                            | [29] |

失衡<sup>[31]</sup>。熊朝刚等<sup>[32]</sup>研究发现 Ang II 可显著诱导心肌细胞肥大、升高 ROS 水平并下调 Sirt3 表达, 而 AS-IV 干预可逆转上述病理改变, 丰富了 AS-IV 心血管保护作用的分子靶点研究。高血压长期病程中, 持续血流动力学负荷及神经体液因

子异常激活易诱发心肌肥厚、炎症及纤维化等靶器官损伤。AS-IV 通过调控蛋白酶 1/ 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (CAPN1/mTOR) 信号通路, 维持自噬-凋亡平衡, 减轻炎症反应, 进而改善心肌损伤<sup>[33]</sup>; 多组学研究进一步证实, 其可通过 p53/



p21/p16 信号轴抑制细胞衰老、减少胶原沉积, 延缓心肌纤维化进展<sup>[34]</sup>。高血压是动脉粥样硬化及外周血管病变的重要危险因素, AS-IV 可通过微小 RNA-33a/ATP 结合盒转运体 A1 (miR-33a/ABCA1) 通路促进胆固醇外排、改善脂质代谢紊乱, 并通过激活巨噬细胞自噬、抑制炎症反应减缓动脉粥样硬化进展<sup>[35-36]</sup>。同时, AS-IV 在改善能量代谢失衡、减轻外周血管炎症方面亦显示出一定的保护潜力<sup>[37]</sup>。

## 2.2 多糖类

黄芪多糖 (astragalus polysaccharides, APS) 是黄芪中含量较高的杂多糖类活性成分, 在改善心肌细胞功能、调控病理性心肌肥厚、纠正脂质代谢紊乱及抑制炎症反应等方面具有较明确的生物学活性, 为其调控高血压相关病理过程提供了理论依据<sup>[38]</sup>。

长期高血压所致的压力超负荷及神经体液异常激活, 是心肌肥厚、纤维化及心功能障碍发生发展的重要病理基础。APS 具有一定的抗氧化能力, 可减轻缺血再灌注或药物诱导的心肌损伤<sup>[39]</sup>。Cao 等<sup>[40]</sup>发现, APS 通过调控腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (AMPK/mTOR) 信号通路恢复自噬稳态, 抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 激活并减少心肌细胞凋亡, 从而发挥心肌保护作用。在横向主动脉缩窄及 Ang II 诱导的心肌肥厚模型中, APS 可改善心脏收缩功能, 并通过抑制转化生长因子  $\beta$ 1/Smad 家族蛋白 3 (TGF- $\beta$ 1/Smad3) 通路降低 I 型胶原表达, 减轻心肌纤维化<sup>[41]</sup>。此外, Sun 等<sup>[42]</sup>研究证实 APS 可通过抑制骨形态发生蛋白 10 (BMP10) 及其下游 Smad1/5/8 信号通路, 减轻高糖诱导的心肌肥厚。有学者进一步指出, APS 通过抑制 m6A 甲基转移酶 Wilms 肿瘤 1 结合蛋白 (WTAP), 阻断 NF- $\kappa$ B p65 核转位进一步减轻炎症转录激活<sup>[43]</sup>。同时, APS 可调节树突状细胞表型, 促进免疫耐受分化, 增强动脉粥样硬化斑块稳定性。在脂质代谢与内皮保护方面, APS 可上调 ABCA1 表达, 促进巨噬细胞胆固醇外排、减少泡沫细胞形成及血管脂质沉积<sup>[44]</sup>。同时, 其可通过激活 AMPK 信号通路, 上调 eNOS 并抑制 NADPH 氧化酶 4 (NOX4) 表达, 改善内皮依赖性舒张功能并减轻氧化应激损伤<sup>[45]</sup>。

## 2.3 黄酮类成分

黄芪中已鉴定的黄酮类化合物主要包括异黄酮与黄酮醇两类。前者以毛蕊异黄酮葡萄糖苷、芒柄花苷、芒柄花素为代表, 后者主要包括鼠李柠檬素、槲皮素、山柰酚等。现有研究显示, 黄芪总黄酮 (total flavonoids of astragalus, TFA) 及其单体成分在血管内皮功能障碍、动脉粥样硬化及微血管损伤等高血压相关病理环节中受到较多关注。

TFA 可通过下调 miR-33 表达、抑制 NF- $\kappa$ B 通路, 改善脂质代谢紊乱与炎症反应, 减小动脉粥样硬化斑块体积并增强斑块稳定性; 还可通过调控巨噬细胞胆固醇代谢、肝脏脂质合成与脂肪酸氧化, 改善胰岛素抵抗<sup>[46]</sup>。毛蕊异黄酮可上调 Kruppel 样因子 2 (KLF2) 表达并抑制混合激酶样蛋白 (MLKL) 活性, 增强巨噬细胞自噬, 减少泡沫细胞堆积并提高斑块稳定性<sup>[47]</sup>。芒柄花素作为异黄酮类的重要成分, 可通过激活过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 通路发挥抗炎、抗氧化及抗凋亡作用, 并上调 eNOS 表达以维持内皮功能稳态<sup>[48]</sup>。同时, 芒柄花素经细胞外信号调节激酶 1/2 (Erk1/2) 与 Akt 通路促进 eNOS 磷酸化及 NO 生成, 增强内皮细胞增殖、迁移与管腔形成能力, 有助于血管损伤修复<sup>[49]</sup>。槲皮素的研究则更多集中于微血管保护, 其可上调心肌 telocytes 中缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 表达, 促进 miRNA-126 旁分泌释放, 作用于冠状动脉内皮细胞, 下调线粒体通透性转换孔相关蛋白表达, 稳定线粒体膜电位并抑制内皮细胞凋亡, 从而改善微血管功能, 为高血压靶器官微循环保护提供了新思路<sup>[50]</sup>。

## 3 黄芪及其活性成分治疗高血压的药理作用研究进展

在前述围绕高血压相关病理过程开展的机制研究基础上, 近年来部分研究进一步借助经典高血压动物模型, 系统性考察黄芪及其活性成分在高血压状态下的整体干预效应。相关研究不仅关注血压水平的动态变化, 还从多系统调控角度整合分析其作用机制, 有助于深化对黄芪及其活性成分在高血压病理状态中作用特征的理解。

### 3.1 调控血管功能稳态

血管功能异常是高血压发生发展的重要病理基础之一, 黄芪及其活性成分主要通过靶向修复血管内皮损伤, 调控平滑肌细胞重构, 维持血管生理稳态。在血管平滑肌细胞调控中, AS-IV 展现出较为明确的病理干预效应。秦迎春<sup>[51]</sup>在肾动脉狭窄模型中的研究表明, 该成分通过调控 DNA 甲基转移酶 1/十一易位甲基胞嘧啶双加氧酶 2 (DNMT1/TET2) 轴平衡, 可抑制血管平滑肌细胞表型转换及细胞外基质异常沉积。AS-IV 对缺氧性肺动脉高压亦具有一定的调控作用。Ding 等<sup>[52]</sup>通过观察缺氧性肺动脉高压动物模型, 探究到 AS-IV 能够剂量依赖性降低缺氧小鼠的右心室收缩压, 减轻右心室肥厚, 并显著抑制缺氧诱导的抵抗素样分子  $\beta$  (RELM- $\beta$ ) 高表达, 从而改善缺氧所致的肺血管重构。Jing 等<sup>[53]</sup>研究发现, AS-IV 可显著改善高血压心脏病小鼠的内皮功能障碍及心肌损伤, 其通过促进维甲酸 X 受体  $\alpha$  (RXRA) 与



过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPARG) 形成异二聚体, 进而上调沉默信息调节因子 3 (SIRT3) 的转录水平。进一步实验验证发现, 沉默 RXRA 会使 AS-IV 的保护作用消失, 而过表达 PPARG 或 SIRT3 可部分逆转该效应, 提示 RXRA/PPARG/SIRT3 信号通路在 AS-IV 的心血管保护作用中发挥关键作用。此外, 黄芪水提物及其中活性肽 AM-1 的相关研究, 从蛋白类活性成分调控角度, 进一步拓展了黄芪参与血压调控的分子通路: 黄芪水提物在实验中呈剂量依赖性抑制血管紧张素转化酶 (ACE) 活性, 而 AM-1 则凭借其抗酶解的 Pro-Pro 结构嵌入 ACE 活性位点, 干预 Ang II 生成<sup>[54]</sup>。

### 3.2 调节肾素-血管紧张素-醛固酮系统活性

RAAS 失衡在高血压的发生发展中发挥关键作用, 其中血管紧张素转换酶 2 (ACE2) 作为关键调节因子, 可将促升压的 Ang II 水解为具有舒血管作用的血管紧张素 1-7 (Ang1-7), 通过拮抗 ACE/Ang II 通路维持血压稳态。杨丽丽等<sup>[55]</sup>在“两肾一夹”高血压大鼠模型中观察到, 黄芪可上调肾脏组织 ACE2 表达, 促进 Ang II 水解转化为舒血管活性的 Ang1-7, 降低局部 Ang II 蓄积, 并发挥降压作用。

### 3.3 抑制炎症反应与氧化应激损伤

在炎症与氧化应激调控方面, 黄芪及其活性成分亦发挥重要作用。Jin 等<sup>[56]</sup>基于野百合碱诱导的大鼠肺动脉高压模型及体外细胞损伤模型研究发现, AS-IV 可显著降低大鼠血清炎症因子水平, 并抑制肺组织中肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的基因表达, 同时在细胞实验中呈浓度依赖性抑制缺氧诱导的细胞模型释放 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ , 从而减轻内皮细胞介导的炎症反应。此外, 魏龙威等<sup>[57]</sup>以噪声诱导的高血压小鼠模型为研究对象, 结果显示, AS-IV 能够抑制 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素 6 (IL-6) 等炎症因子水平升高, 并在一定程度上缓解血压升高。研究表明, 黄芪及其活性成分的降压效应可能与炎症反应调控有关, 通过免疫调节及抗氧化应激作用减轻血管内皮炎性损伤, 从而发挥血压改善作用<sup>[58]</sup>。

### 3.4 保护高血压相关靶器官

靶器官损伤是长期高血压诱发心血管不良事件的关键病理环节, 黄芪及其活性成分可在心脏、肾脏等关键器官层面发挥多通路保护作用。APS 对自发性高血压大鼠 (SHR) 心功能有明显改善作用, 通过下调 TGF- $\beta$ 1、上调 PPAR- $\gamma$  表达, 抑制心肌胶原沉积并减轻左心室肥厚<sup>[59]</sup>。巩莎等<sup>[60]</sup>进一步指出, AS-IV 通过阻断细胞内氯离子通道蛋白 4/ADP 核糖基化因子 6 (CLIC4/Arf6) 信号通路, 可减少 Ang II 诱导的心肌细胞凋亡。Dai 等<sup>[61]</sup>在去卵巢 SHR 模型中观察到, 高剂量黄芪通过上调雌激素

受体  $\alpha$  (ESR1) 表达、抑制 RhoA-ROCK 通路激活, 实现对心肌肥厚与炎症反应的综合调控。TFA 通过调控 TGF- $\beta$ 1/Smad 通路抑制肾脏纤维化进程<sup>[62]</sup>。此外, 黄芪-丹参有效单体药对中的毛蕊异黄酮-丹参酮 II A 成分在改善肾血管内皮功能、减轻间质纤维化方面表现出协同优势<sup>[63]</sup>。黄芪-当归药对通过调控 miR-21-5p/Smad7 通路, 抑制高血压大鼠左心房成纤维细胞增殖、减少胶原沉积, 进一步拓展了黄芪在高血压相关靶器官保护中的应用场景<sup>[64]</sup>。

### 3.5 调节代谢及肠道菌群

黄芪及其活性成分还可通过干预代谢通路及肠道菌群结构, 调控高血压, 体现了中药多系统调控的独特优势。研究证实, APS 可通过抑制 TGF- $\beta$ 1-ILK 及 NF- $\kappa$ B 信号通路发挥降压效应<sup>[65]</sup>。同时, 其能够上调肝脏成纤维细胞生长因子 21 (FGF21) 表达, 减轻 Ang II 诱导的血压升高及血管、肾脏损伤, 提示代谢相关因子可能是介导 APS 发挥整体保护作用的重要靶点<sup>[66]</sup>。黄芪-丹参药对则以重塑肠道菌群结构为重要调控途径, 通过降低厚壁菌门/拟杆菌门比值, 富集阿克曼菌属、乳杆菌属等有益菌, 并调控花生四烯酸代谢、色氨酸代谢及类固醇激素合成等通路, 减少促炎介质与缩血管活性物质生成, 从而建立肠道变化与血压之间的调控关联, 为基于微生物-宿主互作的高血压防治提供了新思路<sup>[67-68]</sup>。

### 3.6 特殊类型高血压干预

对于肺动脉高压的治疗干预, Xi 等<sup>[69]</sup>通过 MCT 诱导模型证实, AS-IV 通过上调脯氨酸羟化酶 2 (PHD2) 表达促进缺氧诱导因子 1 $\alpha$  (HIF1 $\alpha$ ) 降解, 抑制 NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 介导的肺动脉平滑肌细胞焦亡及肺血管重构。其他研究进一步表明, 该成分可通过抑制 NLRP3/钙蛋白酶-1 通路减轻肺血管炎症, 从缺氧-HIF1 $\alpha$  激活-炎症-纤维化这一连续病理过程的多个节点加以干预, 并明确了 PHD2 作为潜在治疗靶点的价值<sup>[70]</sup>。在高血压脑出血并发症研究中, AS-IV 通过抑制氧化应激、调控 Bcl-2 相关 X 蛋白/B 细胞淋巴瘤/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (Bax/Bcl-2/Caspase-3) 凋亡通路, 减轻神经细胞损伤及脑组织水肿, 改善神经功能缺损<sup>[71]</sup>。此外, 在肥胖相关高血压模型中, AS-IV 通过激活  $\alpha$ 7nAChR 抑制激酶  $\beta$  (IKK $\beta$ )/NF- $\kappa$ B 通路, 减轻中枢与外周炎症交互作用, 同时改善瘦素抵抗、抑制交感神经兴奋<sup>[72]</sup>。Zhang 等<sup>[73]</sup>在高果糖诱导的代谢综合征高血压模型中观察到, 其通过激活 NO-环磷酸鸟苷 (cGMP) 通路修复血管内皮舒张功能, 同时抑制氧化应激减少 NO 灭活, 形成双重血管保护效应, 为代谢相关高血压的精准干预提供了实验支撑。

综上所述，黄芪及其活性成分可通过调控血管功能、神经体液平衡、炎症与氧化应激状态、靶器官结构重塑以及代谢等多个病理环节，参与高血压

病理过程的综合调控，其对血压表型的影响更可能体现为多通路协同干预的整体结果（见表 2）。

表 2 黄芪及其活性成分治疗高血压的药理作用

| Tab 2 Pharmacological effect of Astragalus and its active ingredients in the treatment of hypertension |                                      |                                                                            |                                                      |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------|
| 作用类别                                                                                                   | 关键活性成分                               | 主要作用靶点及通路                                                                  | 药理作用                                                 | 文献      |
| 调控血管功能<br>稳态                                                                                           | 黄芪甲苷、黄芪水提物、活性肽 AM-1                  | DNMT1/TET2 轴、RELM-β、RXRA/PPARG/SIRT3、ACE                                   | 调控血管平滑肌表型转换及基质沉积，改善血管重构，抑制 ACE 活性阻断 Ang II 生成，保护血管内皮 | [51-54] |
| 调节 RAAS 活性                                                                                             | 黄芪                                   | ACE2                                                                       | 上调 ACE2，促进 Ang II 水解转化 Ang1-7                        | [55]    |
| 抑制炎症与氧化应激                                                                                              | 黄芪甲苷                                 | TNF-α、IL-1β、IL-6                                                           | 抑制炎症因子水平，减轻炎症反应及氧化应激作用，减轻血管内皮损伤                      | [56-58] |
| 保护高血压相关靶器官                                                                                             | 黄芪、黄芪甲苷、黄芪多糖、黄芪总黄酮、毛蕊异黄酮-丹参酮 II A 药对 | TGF-β1、PPAR-γ、CLIC4/Arf6 通路、RhoA-ROCK 通路、TGF-β1/Smad 通路、miR-21-5p/Smad7 通路 | 抑制心肌肥厚与凋亡，减轻肾纤维化，改善胎盘缺血缺氧，抑制心房纤维化                    | [59-64] |
| 调节代谢及肠道菌群                                                                                              | 黄芪多糖、黄芪-丹参药对                         | TGF-β1-ILK/NF-κB 通路、肠道菌群（厚壁菌门/拟杆菌门）                                        | 上调 FGF21 调控代谢，重塑肠道菌群                                 | [65-68] |
| 特殊类型高血压干预                                                                                              | 黄芪甲苷                                 | PHD2/HIF1α、NLRP3、Bax/Bcl-2/Caspase-3、α7nAChR                               | 干预肺动脉高压病理进展；减轻脑出血神经损伤；改善肥胖相关高血压炎症与代谢紊乱               | [69-73] |

#### 4 总结与展望

本文系统梳理了黄芪在高血压的临床应用、主要活性成分及药理调控机制的研究进展。临床研究表明，含黄芪方剂或黄芪联合常规降压药，在 EH、RH 及合并并发症的高血压中具有辅助治疗价值，可提升血压控制稳定性、改善血管功能并发挥心肾保护作用，联合用药有助于增强整体疗效，提高患者耐受性，为高血压中西医结合治疗提供了重要补充。黄芪中的皂苷类、多糖类及黄酮类成分是参与高血压相关病理过程调控的重要活性物质，可通过调节血管舒缩、抑制炎症与氧化应激、改善代谢紊乱及减轻靶器官损害等多重途径干预疾病发生发展，体现了中药多成分、多靶点协同作用的优势。

总体而言，黄芪及其活性成分在高血压辅助治疗领域的研究已取得一定进展，但仍存在亟待完善之处。当前研究多集中于皂苷、多糖等优势成分，对黄酮类亚型及其他潜在活性物质探索相对薄弱。机制研究以单一成分或单通路为主，多成分协同调控网络的系统解析仍有待深化。而在临床研究方面，黄芪以联合治疗为主，其对照研究仍较为有限，相关临床研究证据尚不足以支持其单独发挥主导降压作用，高质量、大样本、多中心随机对照试验相对匮乏，研究设计及疗效评价标准尚缺乏统一规范，一定程度上影响了研究证据的推广与转化。

未来研究应从多个层面系统推进，提高基础发现向临床应用转化的可行性。在成分及配伍机制方面，可开展黄芪复方拆方研究，通过单味药、药对

及核心药组的分层干预，明确配伍协同机制，并结合体内外药效与多靶点关联分析，界定“增效-减毒-稳效”的成分组合及量效关系。此外，针对活性成分生物利用度低、代谢快等问题，可借助纳米载药、微囊化等新型制剂技术优化剂型，改善药代动力学特征以提升靶向降压效果。在此基础上，进一步扩大活性成分研究范围，结合转录组、代谢组等多组学技术与系统生物学方法，深入阐释其多成分、多靶点协同调控机制。临床层面需优化研究设计，开展更多高质量随机对照试验，明确黄芪在不同高血压亚型中的适用人群与疗效差异，建立标准化疗效评价体系。未来应加强基础与临床的衔接，推动机制明确、剂型优化的黄芪制剂实现临床转化，以期黄芪在高血压综合管理中的合理应用及相关新药研发提供更加坚实的科学依据。

#### 参考文献

- [1] 孙芹, 田伟帆, 罗婷婷, 等. 2023 年世界卫生组织《全球高血压报告》解读[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2024, 31 (2): 203-208.
- [2] Kitt J, Fox R, Tucker KL, et al. New approaches in hypertension management: a review of current and developing technologies and their potential impact on hypertension care [J]. Curr Hypertens Rep, 2019, 21 (6): 44.
- [3] 李远, 吴秋惠, 陈燕华, 等. 高血压病药物治疗管理实践综述[J]. 中南药学, 2019, 17 (11): 1894-1897.
- [4] 赵佳琛, 王艺涵, 金艳, 等. 经典名方中黄芪的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (10): 337-346.
- [5] 潘金萍, 杨小英, 伍燕宏, 等. 黄芪防治心血管疾病研究进展[J]. 河南中医, 2025, 45 (10): 1612-1620.
- [6] 陈大勇, 张凤先, 侯丹阳, 等. 黄芪化学成分及药理作用研



- 究进展[J]. 人参研究, 2025, 37(5): 92-96.
- [7] Li M, Han B, Zhao H, et al. Biological active ingredients of Astragali Radix and its mechanisms in treating cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. *Phytomedicine*, 2022, 98: 153918.
  - [8] 张尚祖, 刘永琦, 李洋洋, 等. 黄芪防治心血管疾病的作用机制研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(10): 115-124.
  - [9] 国家基层高血压防治管理指南 2025 版[J]. *中国循环杂志*, 2025, 40(9): 836-850.
  - [10] 李勤勤. 黄芪降压汤对原发性高血压患者血管内皮功能及氧化应激的影响[J]. *慢性病学杂志*, 2026, 27(2): 220-222, 226.
  - [11] 李勇, 苏亚坤, 张宏博, 等. 沙库巴曲缬沙坦联合黄芪当归合剂对原发性高血压早期肾损伤病人肾功能及血清 HMGB1、IL-6 水平的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2025, 23(4): 601-605.
  - [12] 李琳轩. 天芪降压方治疗正常高值血压及 1 级原发性高血压的临床观察[D]. 北京: 中国中医科学院, 2025.
  - [13] 陈纪烨, 滑振, 朱羽硕, 等. 难治性高血压中西医结合诊疗专家共识[J/OL]. *中国实验方剂学杂志*, <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20260393>.
  - [14] 赵国勇. 当归黄芪饮联合西药辨治难治性高血压随机平行对照研究[J]. *实用中医内科杂志*, 2016, 30(10): 59-61.
  - [15] 冯婷婷, 孙绘, 吴晓霞, 等. 血液灌流联合黄芪注射液对维持性血液透析合并难治性高血压患者氧化应激、神经内分泌激素及生活质量的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(17): 1864-1867.
  - [16] 田秀娟, 杨恩亮, 全慧, 等. 妊娠期高血压疾病患者血清 PECAM-1、NO 水平及临床意义[J]. *转化医学杂志*, 2025, 14(7): 111-116.
  - [17] 王雁. 黄芪党参葛根汤加减联合硫酸镁治疗妊娠期高血压 64 例[J]. *西部中医药*, 2018, 31(6): 96-98.
  - [18] 阚长利, 李久民, 侯敬, 等. 黄芪注射液联合硫酸镁注射液治疗妊娠高血压的临床研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(8): 737-739.
  - [19] 李忆凡. 黄芪注射液对妊娠期高血压疾病患者血压及血清 Hcy、CysC 水平的影响[J]. *微量元素与健康研究*, 2019, 36(3): 39-40.
  - [20] 石若玉, 李东东. 基于数据挖掘探讨中医药治疗 H 型高血压病的用药规律[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(9): 2522-2531.
  - [21] 耿银龙. 黄芪补血汤联合丹参川芎嗪注射液治疗老年 H 型高血压合并急性脑梗死患者疗效观察[J]. *实用临床医药杂志*, 2020, 24(15): 28-31.
  - [22] 冯永锋, 王振贤, 杨玮薇, 等. 黄芪补血汤联合厄贝沙坦治疗伴脑梗死老年 H 型高血压病患者代谢紊乱的影响研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2025, 52(5): 104-107.
  - [23] 马度芳. 疏肝运脾方治疗肥胖相关性高血压的自身前后对照研究及黄芪甲苷的作用机制[D]. 济南: 山东中医药大学, 2018.
  - [24] 李文霞, 李珍, 黎珊珊, 等. 黄芪生脉散加味联合利格列汀对 2 型糖尿病合并高血压患者的 TIR 及肝肾功能影响[J/OL]. *辽宁中医杂志*, <https://link.cnki.net/urlid/21.1128.R.20250715.1752.016>.
  - [25] 李宁荫, 李秀丽, 翟晓萍, 等. 黄芪对高血压病合并代谢综合征患者早期心肾保护的临床研究[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(21): 4051-4059.
  - [26] 陈位东. 化痰逐瘀汤治疗痰瘀互结型高血压合并颈动脉斑块的临床研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2023.
  - [27] 陆微. 养心通脉饮治疗气虚血瘀证稳定型心绞痛合并高血压患者的疗效观察[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2025.
  - [28] 范飞. 芪参益气滴丸联合沙库巴曲缬沙坦治疗高血压合并慢性心力衰竭的临床研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2023.
  - [29] 景云佳. 黄芪养心汤联合氯沙坦钾片治疗高血压合并阵发性房颤的临床效果[J]. *心血管病防治知识*, 2022, 12(1): 17-19.
  - [30] Zhang SY, Li SJ, Cui L, et al. Astragaloside IV attenuates angiotensin II-induced inflammatory responses in endothelial cells: involvement of mitochondria[J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 3951-3967.
  - [31] Zhang SY, Li SJ, Xie SY, et al. The role of  $Ca^{2+}$ /PI3K/Akt/eNOS/NO pathway in astragaloside iv-induced inhibition of endothelial inflammation triggered by angiotensin II[J]. *Mediators Inflamm*, 2024, 2024: 3193950.
  - [32] 熊朝刚, 周俊, 吕小会, 等. 黄芪甲苷通过激活 Sirt3 抑制血管紧张素 II 诱导的心肌肥大及氧化应激[J]. *中南药学*, 2019, 17(1): 34-37.
  - [33] Zhang JL, Lu ML, Li C, et al. Astragaloside IV mitigates hypoxia-induced cardiac hypertrophy through calpain-1-mediated mTOR activation[J]. *Phytomedicine*, 2024, 125: 155250.
  - [34] Shi LP, Deng JW, He J, et al. Integrative transcriptomics and proteomics analysis reveal the protection of astragaloside IV against myocardial fibrosis by regulating senescence[J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 975: 176632.
  - [35] 秦合伟, 李彦杰, 张志鑫, 等. 黄芪甲苷通过调控 miR-33a 及 ABCA1 信号发挥抗动脉粥样硬化作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(12): 2120-2126.
  - [36] 张志鑫, 李彦杰, 秦合伟, 等. 基于 PI3K/Akt/mTOR 信号通路调控巨噬细胞自噬探讨黄芪甲苷抗动脉粥样硬化的作用机制[J]. *中草药*, 2017, 48(17): 3575-3581.
  - [37] 吕美君, 闵冬雨, 贾连群, 等. 基于能量代谢重编程途径探讨黄芪甲苷干预 ApoE<sup>-/-</sup> 动脉粥样硬化小鼠内皮-间质转化的作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(20): 5864-5872.
  - [38] Tian HY, An LZ, Wang PW, et al. Review of Astragalus membranaceus polysaccharides: extraction process, structural features, bioactivities and applications[J]. *Chin Herb Med*, 2024, 17(1): 56-69.
  - [39] Wang SL, Peng Y, Zhuang YX, et al. Purification, structural analysis and cardio-protective activity of polysaccharides from radix astragali[J]. *Molecules*, 2023, 28(10): 4167.
  - [40] Cao Y, Shen T, Huang XQ, et al. Astragalus polysaccharide restores autophagic flux and improves cardiomyocyte function in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4837-4848.
  - [41] Qin NN, Wu WJ, Li BY. Astragalus polysaccharide improves myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy through the TGF- $\beta$ 1/Smad3 signal pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2025, 30(10): 45595.
  - [42] Sun SQ, Yang S, Zhang NN, et al. Astragalus polysaccharides alleviates cardiac hypertrophy in diabetic cardiomyopathy via inhibiting the BMP10-mediated signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2023, 109: 154543.



- [43] 郑攀. 黄芪多糖通过抑制 WTAP 表达抗巨噬细胞炎症 [D]. 桂林: 桂林医学院, 2023.
- [44] 郭静, 王治平, 高小花, 等. 黄芪多糖对上调 ABCA1 表达与泡沫细胞内胆固醇含量的关系分析 [J]. 长治医学院学报, 2017, 31 (4): 244-246.
- [45] 禹博威, 潘晓琼, 陈君第霞, 等. 黄芪多糖对糖尿病动脉粥样硬化大鼠糖脂代谢的影响及血管内皮保护机制 [J]. 浙江中医药大学学报, 2021, 45 (5): 447-453.
- [46] 张径. 基于调控巨噬细胞胆固醇代谢和炎症探讨黄芪总黄酮抑制动脉粥样硬化的作用机制 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2021.
- [47] 胡乃华. 毛蕊异黄酮通过调节 KLF2 和 MLKL 相互作用增强自噬来改善动脉粥样硬化 [J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33 (12): 2058.
- [48] Zhang BH, Hao ZW, Zhou WL, et al. Formononetin protects against ox-LDL-induced endothelial dysfunction by activating PPAR- $\gamma$  signaling based on network pharmacology and experimental validation [J]. Bioengineered, 2021, 12 (1): 4887-4898.
- [49] Wu JJ, Kong MY, Lou YM, et al. Simultaneous activation of Erk1/2 and Akt signaling is critical for formononetin-induced promotion of endothelial function [J]. Front Pharmacol, 2021, 11: 608518.
- [50] Hugang J, Ai L, Zeao G, et al. Mechanistic investigation of quercetin (an active component of RAS-RH) in modulating radiation-induced coronary microvascular dysfunction via the TCs-ECs crosstalk pathway [J]. Microvasc Res, 2026, 163: 104883.
- [51] 秦迎春. 黄芪甲苷在改善高血压大鼠血管重构中的作用及机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [52] Ding RZ, Xie HP, Sang SL, et al. Astragaloside IV alleviates hypoxic pulmonary hypertension by inhibiting RELM- $\beta$  to reduce PINK1/parkin-mediated mitophagy in pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs) [J]. Br J Pharmacol, 2025, 182 (24): 5933-5952.
- [53] Jing HR, Cai WJ, Li XX, et al. Astragaloside IV inhibits the progression of hypertensive heart disease via the RXRA/PPARG/SIRT3 axis [J]. J Mol Med (Berl), 2025, 104 (1): 6.
- [54] Wu JS, Li JM, Lo HY, et al. Anti-hypertensive and angiotensin-converting enzyme inhibitory effects of Radix Astragali and its bioactive peptide AM-1 [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 254: 112724.
- [55] 杨丽丽, 张正义. 黄芪对两肾一夹高血压大鼠肾脏 Ang II 水平及血压的影响 [J]. 甘肃科技, 2014, 30 (14): 120-121, 141.
- [56] Jin HF, Jiao Y, Guo LN, et al. Astragaloside IV blocks monocrotaline induced pulmonary arterial hypertension by improving inflammation and pulmonary artery remodeling [J]. Int J Mol Med, 2021, 47 (2): 595-606.
- [57] 魏龙威, 李俊毅, 杨键, 等. 黄芪甲苷抑制噪声诱导小鼠血压升高的作用机制 [J]. 中国工业医学杂志, 2025, 38 (4): 438-441.
- [58] 张慧丹, 孟璐, 龙涛, 等. 氧化应激诱导高血压的分子遗传学机制研究进展 [J]. 中南药学, 2023, 21 (6): 1599-1604.
- [59] 蒋征奎, 李晓, 田锋奇, 等. 黄芪多糖对自发性高血压大鼠心功能和心肌纤维化的影响及其机制研究 [J]. 中国药房, 2016, 27 (25): 3505-3508.
- [60] 巩莎, 可海霞. 黄芪甲苷通过抑制氯化物细胞内通道蛋白 4/ADP 核糖基化因子 6 信号通路改善血管紧张素 II 诱导的高血压大鼠模型的心肌损伤 [J]. 中华高血压杂志, 2024, 32 (1): 43-50.
- [61] Dai HL, Tao SM, Guan YX, et al. Astragalus (Astragalus mongholicus) improves ventricular remodeling via ESR1 down regulation RhoA/ROCK pathway [J]. Int Heart J, 2023, 64 (6): 1148-1156.
- [62] 戴国梁, 朱立静, 李长印, 等. 黄芪总黄酮对高血压大鼠肾脏 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路的影响 [J]. 药学与临床研究, 2016, 24 (6): 433-436.
- [63] 刘瑶, 姜月华, 李伟. 毛蕊异黄酮-丹参酮 II A 调控内皮细胞功能参与高血压肾损害的机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35 (9): 4598-4601.
- [64] 靳乐. 基于 miR-21-5p/Smad7 通路探讨黄芪-当归对高血压大鼠心房纤维化的作用及机制 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2024.
- [65] Zheng W, Huang T, Tang QZ, et al. Astragalus polysaccharide reduces blood pressure, renal damage, and dysfunction through the TGF- $\beta$ 1-ILK pathway [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 706617.
- [66] 吴帆. 黄芪多糖对血管紧张素 II 诱导小鼠高血压及血管、肾脏损伤的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2018.
- [67] Han C, Jiang YH, Li W, et al. Study on the antihypertensive mechanism of Astragalus membranaceus and Salvia miltiorrhiza based on intestinal flora-host metabolism [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 5418796.
- [68] 陈慧青, 罗建权, 龚金玉, 等. 肠道菌群在高血压及其药物治疗中的作用研究进展 [J]. 中南药学, 2022, 20 (1): 140-145.
- [69] Xi J, Ma Y, Liu DM, et al. Astragaloside IV restrains pyroptosis and fibrotic development of pulmonary artery smooth muscle cells to ameliorate pulmonary artery hypertension through the PHD2/HIF1 $\alpha$  signaling pathway [J]. BMC Pulm Med, 2023, 23 (1): 386.
- [70] Sun Y, Lu ML, Sun TR, et al. Astragaloside IV attenuates inflammatory response mediated by NLRP-3/calpain-1 is involved in the development of pulmonary hypertension [J]. J Cell Mol Med, 2021, 25 (1): 586-590.
- [71] 潘冬梅, 田青, 黄天韬, 等. 黄芪甲苷对高血压脑出血模型大鼠神经细胞凋亡及相关蛋白表达的影响 [J]. 西部医学, 2019, 31 (9): 1344-1349.
- [72] Jiang P, Ma DF, Wang X, et al. Astragaloside IV prevents obesity-associated hypertension by improving pro-inflammatory reaction and leptin resistance [J]. Mol Cells, 2018, 41 (3): 244-255.
- [73] Zhang N, Wang XH, Mao SL, et al. Astragaloside IV improves metabolic syndrome and endothelium dysfunction in fructose-fed rats [J]. Molecules, 2011, 16 (5): 3896-3907.

(收稿日期: 2025-11-27; 修回日期: 2026-03-01)

# 丁香叶的化学成分及药理作用研究进展

郭键<sup>1</sup>, 窦金金<sup>1, 2</sup>, 张喜武<sup>3\*</sup> (1. 黑龙江中医药大学研究生院, 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第四医院, 哈尔滨 150077; 3. 黑龙江中医药大学实验实训中心, 哈尔滨 150040)

**摘要:** 丁香叶是一种极具应用价值的传统药用资源, 迄今已从中分离鉴定出了挥发油类、黄酮类、有机酸类、苷类及微量元素等多种化合物。丁香叶具有广泛的药理活性, 主要通过调控 MAPK、NF- $\kappa$ B、Nrf2、ARE、TLR4 等多条信号通路, 发挥抗炎、抗菌、抗氧化、抗肿瘤等作用。本文系统归纳了近年来国内外关于丁香叶的研究报道, 梳理其化学成分与药理作用的现状, 并对其发展前景进行了展望, 旨在为丁香叶作为药用资源的开发与利用提供参考。

**关键词:** 丁香叶; 药理作用; 化学成分; 作用机制; 信号通路

中图分类号: R283, R285 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2026)05-198-08  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.028

## Research progress in the chemical constituents and pharmacological effect of *Folium Syringae*

GUO Jian<sup>1</sup>, DOU Jinjin<sup>1, 2</sup>, ZHANG Xiwu<sup>3\*</sup> (1. School of Graduate, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040; 2. the Fourth Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150077; 3. Experimental Training Center of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

**Abstract:** *Folium Syringae* are a traditional medicinal resource with great application value. Various compounds such as volatile components, flavonoids, organic acids, glycosides and trace elements have been isolated and identified. Their extensive pharmacological activities included anti-inflammatory, antibacterial, antioxidant, anti-tumor and other effects by regulating signaling pathways such as mitogen-activated protein kinase (MAPK), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), antioxidant response element (ARE), and Toll-like receptor 4 (TLR4). This study summarized the research reports on *Folium Syringae* in recent years at home and abroad, and also analyzed chemical components and pharmacological activities. Moreover, we analyzed its development prospects to provide reference for the utilization of *Folium Syringae* as a medicinal resource.

**Key words:** *Folium Syringae*; pharmacological action; chemical composition; mechanism; signal pathway

丁香叶为木犀科丁香属植物紫丁香、洋丁香、朝鲜丁香等多种丁香的干燥叶<sup>[1]</sup>。据 2019 年版《吉林省中药材标准》记载, 丁香叶味苦性寒, 归肝、肺、大肠经, 药用历史悠久且药用价值显著, 具有清热、燥湿、解毒、止咳、止痢之功效<sup>[2]</sup>。在现代医学中, 丁香叶常用于治疗急性痢疾、乙型肝炎、黄疸型肝炎、结膜炎等疾病<sup>[3]</sup>。通过查阅文献发现, 丁香叶化学成分丰富多样, 药理活性广泛, 已被证实具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、保护肠胃、镇咳平喘等

多种作用<sup>[4]</sup>, 在呼吸、循环及消化系统疾病的防治中亦展现出显著生物活性, 具有巨大的临床应用潜力。目前, 以丁香叶为原料的药用制剂已经实现多样化开发, 包括片剂、胶囊剂、滴丸剂等多种剂型<sup>[5]</sup>。尽管当前对于丁香叶的研究已积累了一定的基础, 但也存在一些不足: 首先, 化学成分研究多集中于挥发油、有机酸等已知成分<sup>[5]</sup>, 对苷类、黄酮类等其他成分的系统性报道和研究相对较少且缺乏系统总结<sup>[6]</sup>; 其次, 部分已发现的药理作用, 其作用机制尚未明

**基金项目:** 黑龙江省“优秀青年教师基础研究支持计划”(No.YQJH2023150)。

**作者简介:** 郭键, 男, 硕士研究生, 主要从事中药新药开发研究, email: 2221595947@qq.com \* **通信作者:** 张喜武, 男, 研究员, 主要从事纳米靶向给药研究, email: 149772105@qq.com

确阐明, 基于上述原因, 本文系统梳理了近年来丁香叶化学成分及药理作用的研究进展, 旨在为其临床合理应用及新制剂开发提供理论支撑。

## 1 丁香叶化学成分

目前, 关于丁香叶化学成分的研究, 主要聚焦于挥发油类、黄酮类、有机酸类、苷类及微量元素等<sup>[7]</sup>。各类成分不仅是丁香叶药理活性的物质基础, 还是针对其药用价值开发的重要研究内容, 现将各类成分的研究进展分述如下。

### 1.1 挥发性油类

挥发油是植物体内一类具有芳香气味、可随水蒸气蒸馏提取、常温下呈挥发性的油状液体总称<sup>[1]</sup>。丁香叶挥发油多为无色或淡黄色液体, 其主要活性成分是丁香酚, 该成分是丁香叶发挥抗菌、抗炎等药理作用的关键物质基础, 其化学结构为邻甲氧基苯酚的烯丙基链取代衍生物<sup>[8]</sup>。有研究显示, 丁香酚可减少类风湿关节炎患者的淋巴细胞与外周血单核细胞中肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6 (IL-6) 分泌<sup>[9]</sup>, 提升细胞内谷胱甘肽 (GSH) 水平, 以改善免疫细胞氧化应激状态, 在免疫细胞调节与脂质代谢方面发挥着重要的作用。

左邀勋等<sup>[10]</sup>采用气相色谱-质谱联用技术, 对丁香不同部位的挥发油进行系统分析, 结果显示丁香叶中挥发油的含量为 2.8%。另有研究以紫丁香叶为原料, 通过挥发油提取器提取鉴定出 90 种化合物, 主要包括不饱和化合物、芳香醇、醛、芳杂环化合物及高级脂肪烷烃等类型。通过与标准图谱比对, 明确了丁香叶挥发油中 25 种化学成分, 其总量占挥发油总含量的 48.24%, 其中丁香酚相对含量为 12.14%, 是挥发油中含量最高的成分<sup>[11]</sup>。其余主要成分还包括芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、突厥酮、2, 3-二氢-1, 1, 5, 6-四甲基-1H-茚、棕榈酸及邻苯二甲酸二丁酯等<sup>[12]</sup>。刘同新<sup>[13]</sup>采用气相色谱-质谱联用技术对关东丁香叶挥发油进行分析, 共分离得到 62 个色谱峰, 鉴定出 39 种化合物, 其总相对含量占挥发油总量的 78.51%。

此外, 相关研究也证实, 丁香叶挥发油的成分组成及含量受采收月份影响大<sup>[8]</sup>: 4—8 月份采收的紫丁香叶挥发油中, 分别鉴别出 11、12、12、14、8 种化学成分, 主要为青叶醇、 $\alpha$ -绿叶烯及芳樟醇, 这类成分均具有很强的杀菌、防腐活性<sup>[13]</sup>。丁香叶中部分挥发油类成分的详细信息如表 1 所示。

### 1.2 黄酮类化合物

黄酮类化合物多以能与糖类相结合的黄酮糖苷

形式存在, 仅有少数呈游离态。该类化合物因分子结构中含羰基氧, 可与强酸反应生成盐, 提取后显黄色, 故又称黄碱素<sup>[14]</sup>。研究表明, 黄酮类化合物具有增加冠状动脉及心肌血流量、抑制血小板聚集<sup>[15]</sup>等作用, 在抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抗菌、抗炎镇痛及降血脂等方面亦展现出良好活性<sup>[16]</sup>。因此成为国内外天然药物开发与利用的研究热点。

丁香叶富含黄酮类化合物, 其主要包括芦丁、山柰酚、槲皮素、柚皮素、异槲皮苷、5, 7-二甲氧基黄酮、木犀草苷以及 3 位、7 位的鼠李糖苷和葡萄糖苷<sup>[17]</sup>。多种成分共同发挥保护心血管、抗肿瘤等作用。在保护心血管过程中, 黄酮类化合物通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 和转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), 抑制核因子  $\kappa$ B p65 亚基 (NF- $\kappa$ B p65)、核因子  $\kappa$ B 抑制激酶  $\beta$  (IKK- $\beta$ ) 及 TNF- $\alpha$  表达水平, 改善心血管异常情况, 最终实现对心血管的保护作用<sup>[18]</sup>。此外, 黄酮类化合物在抗肿瘤方面亦具有重要作用, 对人三阴性乳腺癌细胞 (MDA-MB-231) 的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ ) 为 372.59  $\mu$ g/mL, 抑制作用良好。除此之外, 并通过调控磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt)<sup>[19]</sup> 等信号通路, 显著下调 B 细胞淋巴瘤因子 2 (Bcl-2) 的表达, 抑制肿瘤细胞的生存信号传导, 进而诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[20]</sup>。

目前, 关于丁香叶黄酮类化合物单一成分的研究相对较少, 主要集中于多种成分的提取工艺研究<sup>[21]</sup>。李菁等<sup>[22]</sup>采用响应面法优化超声提取技术, 测得紫丁香叶总黄酮质量分数为 (106.50 $\pm$ 1.21) mg/g。另有研究表明, 当筛网规格为 60 目、料液比为 1:15、乙醇浓度为 80%、超声时间为 40 min 时, 暴马丁香叶总黄酮的提取含量为 26.158 mg/g<sup>[23]</sup>。国外研究显示, 以槲皮素为对照品, 通过 UV-Vis 分光光度法测得丁香叶提取物的总黄酮含量平均值为 6.158 mg/L<sup>[24]</sup>。

此外, 丁香叶总黄酮含量随采收期呈现规律性变化: 3—10 月出现两次含量高峰, 其中 3 月含量最高, 4 月起逐渐下降, 9 月降至最低值, 10 月中旬再次回升。因此, 基于这一规律, 3 月和 10 月被确定为丁香叶的最佳采收时期<sup>[25]</sup>。

### 1.3 有机酸类

有机酸是一类具有酸性的有机化合物, 其中最常见的是羧酸 (R-COOH), 磺酸 (R-SO<sub>3</sub>H)、亚磺酸 (R-SOOH)、巯基酸 (R-SH) 等也归属于有机酸范畴<sup>[26]</sup>。此类成分通过激活 PI3K/Akt 等信号通路发挥抗炎、抗氧化应激损伤等作用。有机酸首先



表 1 丁香叶挥发油中部分成分鉴定结果  
Tab 1 Identification of partial components in the essential oil of *Folium Syringae*

| 序号 | 化合物                                                           | 分子式                                              | 相对含量 /%      | 文献   |
|----|---------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------|------|
| 1  | 丁香酚                                                           | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>   | 12.14        | [12] |
| 2  | 芳樟醇                                                           | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                | 8.31         | [12] |
| 3  | $\alpha$ -松油醇                                                 | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                | 3.85         | [12] |
| 4  | 突厥酮                                                           | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O                | 2.88         | [12] |
| 5  | 2, 3-二氢 -1, 1, 5, 6-四甲基 -1H-茚                                 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub>                  | 3.71         | [12] |
| 6  | 棕榈酸                                                           | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>   | 10.32        | [12] |
| 7  | 邻苯二甲酸二丁酯                                                      | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>   | 15.29        | [12] |
| 8  | 叶绿醇                                                           | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O                | 2.06         | [12] |
| 9  | 二十七烷                                                          | C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>                  | 6.64         | [12] |
| 10 | 2-戊醇                                                          | C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O                 | 5.14 ~ 7.62  | [8]  |
| 11 | 己酸                                                            | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>    | 16.91        | [8]  |
| 12 | 苯乙醛                                                           | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O                  | 3.17         | [8]  |
| 13 | 十七烷                                                           | C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>                  | 2.86 ~ 10.76 | [8]  |
| 14 | 2-甲基 -1-苯基 -3-丁烯 -1-醇                                         | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O                | 0.25         | [13] |
| 15 | 顺 - $\alpha$ , $\alpha$ -5-三甲基 -5-乙烯基四氢化呋喃 -2-甲醇              | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>   | 0.68         | [13] |
| 16 | 特丁基环己烷                                                        | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>                  | 0.43         | [13] |
| 17 | 苯乙醇                                                           | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O                 | 0.34         | [13] |
| 18 | 4, 5-二氢 -5-甲基 -4, 4-环戊烷 -2-苯基 -1, 3-噁 -6 酮                    | C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>    | 0.37         | [13] |
| 19 | 1, 1, 3, 3-四甲基丁基异腈                                            | C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> N                 | 0.27         | [13] |
| 20 | 水杨酸甲酯                                                         | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>     | 0.17         | [13] |
| 21 | 4-乙基 -2, 2, 6, 6-四甲基庚烷                                        | C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>                  | 0.48         | [13] |
| 22 | 1-氯庚烷                                                         | C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> Cl                | 0.20         | [13] |
| 23 | $\beta$ -月桂烯                                                  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                  | 0.83         | [13] |
| 24 | 4-乙酰基 -2-甲氧基苯酚                                                | C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>   | 0.19         | [13] |
| 25 | 1, 2-二甲基 -1, 5-环辛二烯                                           | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                  | 0.68         | [13] |
| 26 | 2-(三甲基硅烷基)乙炔                                                  | C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> Si               | 0.17         | [13] |
| 27 | 1, 2, 3, 4-四氢 -2, 2, 6-三甲基萘                                   | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub>                  | 0.26         | [13] |
| 28 | 2-甲基 -3-硝基 - $\beta$ -苯丙酸                                     | C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>  | 0.44         | [13] |
| 29 | 2-(溴甲基)-2-金刚烷醇                                                | C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> BrO              | 0.20         | [13] |
| 30 | 3, 4-二甲基 -1, 5-己二烯                                            | C <sub>8</sub> H <sub>14</sub>                   | 0.18         | [13] |
| 31 | 1-亚甲基 -2b-羟甲基 -3, 3-二甲基 -4b-(3-甲基丁 -2-烯基)环己烷                  | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O                | 0.24         | [13] |
| 32 | 2, 3-二氢 -1, 1, 4, 7-四甲基 -1H-茚                                 | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub>                  | 0.29         | [13] |
| 33 | 4-亚环己基 -n-丁醇                                                  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                | 0.65         | [13] |
| 34 | 1-氯十二烷                                                        | C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> Cl               | 0.32         | [13] |
| 35 | 氯代十四烷                                                         | C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> Cl               | 2.33         | [13] |
| 36 | 4 $\alpha$ , 8 $\alpha$ -二甲基 -3, 4, 5, 6, 7, 8-六氢基 -2-酮       | C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O                | 6.07         | [13] |
| 37 | 9-亚甲基 -9-蒎                                                    | C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>                  | 0.84         | [13] |
| 38 | 甲基二十四烷                                                        | C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>                  | 1.56         | [13] |
| 39 | 十六烷基环氧乙烷                                                      | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O                | 1.15         | [13] |
| 40 | (1 $\alpha$ , 2 $\beta$ , 5 $\alpha$ )-(+/-)-5-甲基-(1-甲基乙基)环己醇 | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O                | 0.36         | [13] |
| 41 | N-糠基-环己酰胺                                                     | C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>  | 0.86         | [13] |
| 42 | 十八炔                                                           | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub>                  | 1.62         | [13] |
| 43 | 十八烷基磺酰氯                                                       | C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> ClO <sub>2</sub> | 1.65         | [13] |

修饰 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Keap1) 的半胱氨酸残基, 破坏 Keap1 与核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 的结合稳定性, 同时诱导 Nrf2 发生磷酸化, 使 Nrf2 从复合物中释放, 游离的磷酸化 Nrf2 进入

细胞核, 与小 Maf 蛋白形成异二聚体, 并启动下游靶基因转录, 核心靶基因包括血红素氧合酶 -1 (HO-1), HO-1 作为核心效应分子, 将血红素分解为一氧化碳、胆红素和 Fe<sup>2+</sup>, 三者共同发挥抗氧化、抗炎、

抗凋亡作用<sup>[27]</sup>。目前,已有研究在丁香叶中分离鉴别出多种有机酸成分,包括丁香酸、香草酸、反式对羟基肉桂酸、丁二酸、呋喃甲酸、3-甲基-4-羟基苯甲酸、儿茶酸、3,4-二羟基苯甲酸(见图1)<sup>[28]</sup>。

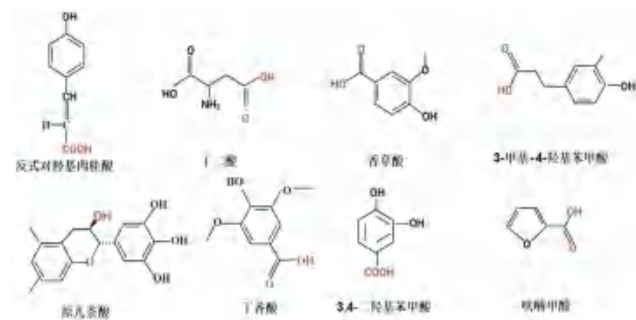


图1 丁香叶中部分有机酸类成分结构式(绘图软件为 KingDraw)  
Fig 1 Chemical structures of partial organic acids in *Folium Syringae* (drawn by KingDraw)

#### 1.4 苷类化合物

丁香叶富含苷类化合物,其中以环烯醚萜苷类为主要成分,该类成分中以丁香苦苷为代表,其含量达1.1%,是丁香叶中含量最高的物质<sup>[29]</sup>。丁香苦苷具有抗氧化、抗病毒、抗炎镇痛及保肝利胆等多重药理活性<sup>[30]</sup>。有研究指出,丁香叶抗氧化活性与分子结构中邻二羟基基团密切相关<sup>[31]</sup>,其在体内可代谢为多种衍生物,代谢产物通过 Nrf2 通路激活抗氧化防御系统,即通过促进 Akt 磷酸化和 Nrf2 核转位,上调下游抗氧化酶表达水平,抑制线粒体膜电位下降和细胞色素 C 释放等途径,以减少氧化应激诱导的凋亡<sup>[32]</sup>。除丁香苦苷外,丁香叶中的环烯醚萜苷类成分还包括橄榄苦苷,虽然其含量低于丁香苦苷,但作为丁香叶中的核心成分,通过调节多种通路发挥抗氧化、抗炎等功效<sup>[33]</sup>,具有重要的研究价值。近年来,从丁香叶中还分析鉴定出多种苷类成分,包括毛蕊花糖苷、木犀草素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、芹菜素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、松脂素-4-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、落叶松脂醇-4-O- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖苷、3,4-二羟基苯乙醇葡萄糖苷、对羟基苯乙醇葡萄糖苷、胡萝卜苷<sup>[34-35]</sup>等。丁香叶中含有丰富的苷类成分,这是其相关药理活性的重要物质基础,为丁香叶的药用开发与综合利用提供了重要的药理学依据。

#### 1.5 微量元素

微量元素是维持人体正常发育及生命活动的关键物质,它们可通过激活多种酶活性,直接或间接参与核酸、蛋白质的合成代谢及免疫调节过程<sup>[11]</sup>。以锌(Zn)和铜(Cu)为例,两者均参与抗氧化、血管内皮功能维持及脂质代谢调节等多种生理过程。正常人体的 Zn/Cu 比值相对稳定,为1.2~2.0<sup>[36]</sup>,这

种平衡状态对心血管健康具有重要保护作用。研究发现,紫丁香叶中含量较高的元素为钙(Ca)、镁(Mg)、磷(P)、铁(Fe)、钡(Ba)等,其含量分别为21050.00、4438.50、3068.00、318.55、110.10  $\mu\text{g/g}$ <sup>[33]</sup>。

## 2 丁香叶药理作用

### 2.1 抗菌作用

现代研究证实,丁香叶具有很广的抑菌谱,对24种致病菌均有显著的抑制作用,其抑菌活性与青霉素、庆大霉素、呋喃唑酮等药物相当<sup>[36]</sup>。同时,依托多种成分的复合作用,丁香叶还具有拮抗细菌耐药性的特点<sup>[37]</sup>。体内抑菌实验证实,其对金黄色葡萄球菌、痢疾杆菌感染的小鼠具有显著的保护作用<sup>[38]</sup>。体外实验进一步显示,丁香叶水煎液的最低抑菌浓度(MIC)范围为0.25~2 mg/mL,杀菌效果良好,与其他抗菌药物联用时,尤其与氯己定、氟哌噻吨组合,其抑菌浓度指数(FICI)为0.375~0.5,呈现出良好的协同抗菌作用<sup>[39]</sup>。

研究发现,丁香叶的抗菌机制与丁香酚的亲脂性有关<sup>[40]</sup>。丁香酚可渗入细菌膜脂质双分子层的脂肪酰基链间,改变膜结构的流动性与通透性,进而导致细菌细胞形态发生改变<sup>[37]</sup>,该作用能够干扰细菌对宿主细胞的黏附与侵染过程,从而降低细菌致病性,这一机制对于防治细菌侵袭具有重要意义。

### 2.2 抗炎作用

炎症是活体组织应对病原体侵袭或免疫损伤时产生的防御性局部反应,涵盖修复、损伤与重建等核心过程<sup>[41]</sup>。该过程主要表现为免疫系统释放前列腺素<sup>[42]</sup>、白细胞介素(IL)、肿瘤坏死因子(TNF)<sup>[43]</sup>等化学介质,进而引发血管扩张及受影响区域的血流动力学变化。

在炎症反应中,脂多糖(LPS)是诱导巨噬细胞分泌炎症因子的关键诱发因素<sup>[41]</sup>。LPS可通过激活 Toll 样受体4(TLR4)、核因子 $\kappa\text{B}$ (NF- $\kappa\text{B}$ )及丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)等信号通路,最终促使 TNF- $\alpha$ 、一氧化氮(NO)、IL-6 及前列腺素 $\text{E}_2$ (PGE<sub>2</sub>)等炎症因子大量释放<sup>[44]</sup>。这些炎症因子在生理状态下具有重要的免疫防御功能,如 TNF- $\alpha$  能杀伤肿瘤细胞,NO 可预防血栓形成。然而,当这些因子在病理条件下异常过量产生时,会通过正反馈机制激活炎症通路,最终导致心血管疾病、关节炎等炎症相关疾病的发生<sup>[42]</sup>。丁香叶具有清热解毒、消炎止痢的功效,临床上可用于治疗肠炎、上呼吸道感染及急性慢性扁桃体炎等细菌感染性疾病<sup>[45]</sup>。其主要活性成分丁香苦苷的抗炎活性可与阿司匹林媲美<sup>[30]</sup>。马瑾煜等<sup>[46]</sup>的研究表明,丁香苦苷可通过

抑制中性粒细胞释放白细胞介素-8 (IL-8), 减少炎症趋化效应, 发挥抗炎作用。丁香叶中另一苷类成分橄榄苦苷, 则可通过抑制 TLR4 受体激活, 阻断下游 TAK1-IKK 信号轴: 一方面降低 I $\kappa$ B $\alpha$  的磷酸化水平, 抑制 I $\kappa$ B $\alpha$  泛素化降解, 减少 NF- $\kappa$ Bp65 亚基的核转位; 另一方面下调 ERK、JNK、p38 (MAPK 通路) 的磷酸化活化, 最终抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等促炎因子的转录与释放, 发挥抗炎活性<sup>[47]</sup>。其具体过程如图 2 所示。

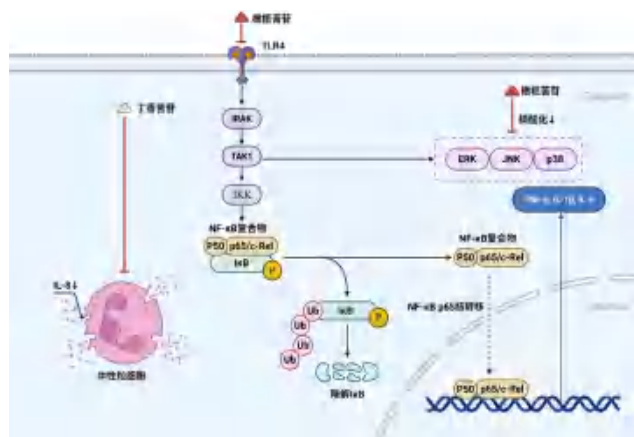


图 2 丁香叶抗炎作用机制图 (绘图软件为 BioRender)

Fig 2 *Folium Syringae* anti-inflammatory mechanism diagram (drawn by BioRender)

## 2.3 抗氧化作用

**2.3.1 激活 Nrf2、ARE 通路** 丁香叶中的橄榄苦苷、毛蕊花糖苷、松果菊苷等成分, 可通过分子结构中的邻苯二酚或酚羟基基团等结构与 Keap1 结合, 进而解除 Keap1 对 Nrf2 的抑制作用。Nrf2 随后进入细胞核, 与小蛋白形成异二聚体, 该异二聚体可结合抗氧化反应元件 (ARE), 从而实现抗氧化靶基因的激活<sup>[47]</sup>。其具体作用机制如图 3 所示。其中, 松果菊苷因分子结构中含有的邻苯二酚基团数量更多, 与 Keap1 的结合亲和力显著增强, 其激活该抗氧化通路的效率也显著高于橄榄苦苷和毛蕊花糖苷。

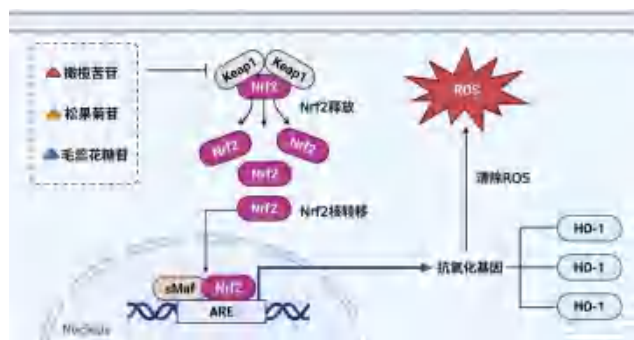


图 3 丁香叶通过 Nrf2、ARE 通路抗氧化机制图 (绘图软件为 BioRender)

Fig 3 The antioxidant mechanism of *Folium Syringae* via Nrf2 and ARE pathway (drawn by BioRender)

**2.3.2 保护抗氧化酶** 过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及 GSH 是体内重要的抗氧化剂<sup>[48]</sup>。研究表明, 这些抗氧化分子易受氧化应激攻击而丧失活性, 而丁香叶可通过多重机制维持机体抗氧化系统稳态。例如, 在皮肤组织层面, 丁香叶能使 CAT、SOD 及 GSH 的活性维持在相对正常水平<sup>[48]</sup>; 在体液层面, 其可显著提高血清中 SOD 与 CAT 的分泌; 在分子层面, 其能够上调皮肤及肝脏组织中 *SOD1*、*SOD2*、*CAT* 及 *GSH* 的 mRNA 转录水平<sup>[49]</sup>。

**2.3.3 清除羟基自由基 ( $\cdot\text{OH}$ )** 在所有脱氧自由基中,  $\cdot\text{OH}$  的活性最强, 可破坏多种生物分子。研究表明, 丁香叶的抗氧化作用与其较高的  $\cdot\text{OH}$  清除活性密切相关: 其挥发油中的酚类成分凭借酚羟基结构, 能直接清除如 DPPH $\cdot$ 、 $\text{O}_2^{\cdot-}$  等自由基<sup>[47]</sup>, 并抑制脂质过氧化, 相关结果显示当酚类成分质量浓度为 865  $\mu\text{g/mL}$  时, 其清除率达 90%, 且清除能力随浓度升高而增强<sup>[50]</sup>。同时, 丁香叶挥发油在去氧核糖降解体系中表现出最强的金属螯合能力, 说明其在抑制羟基自由基生成方面亦具有潜在作用<sup>[47]</sup>。另有研究指出, 丁香叶挥发油在 MDCK 细胞模型中对 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 流感病毒具有抑制作用。其半数细胞毒性浓度为 120.5  $\mu\text{g/mL}$ , 半数病毒抑制浓度为 15.3  $\mu\text{g/mL}$ , 治疗指数达 7.8。在 100  $\mu\text{g/mL}$  的质量浓度下, 挥发油对 H<sub>1</sub>N<sub>1</sub> 病毒的抑制率可达 80% ~ 95%<sup>[51]</sup>。

目前, 抗氧化剂在食品领域中的应用日益广泛, 其核心作用是通过减缓或阻止氧化进程, 延长产品保质期并减少营养成分流失。食品工业中最常用的抗氧化剂为合成酚类物质, 如丁基羟基甲苯 (BHT) 和丁基羟基苯酚 (BHA)<sup>[52]</sup>。但这类食品抗氧化剂的安全性尚未完全得到证实, 因此开发安全有效的天然替代品已成为行业需求。丁香叶具备良好的抗氧化性能, 有望替代合成抗氧化剂应用于食品与化妆品领域, 未来具有良好的市场前景和应用价值<sup>[50]</sup>。

## 2.4 抗肿瘤作用

癌症为当前全球范围内最具挑战的重大疾病之一, 基于现有流行趋势的预测显示, 到 2050 年全球每年新发癌症病例数将攀升至 3500 万例<sup>[53]</sup>。

研究表明, 丁香叶对结肠癌、乳腺癌、肝癌、胃癌等多种人体肿瘤细胞的增殖具有显著抑制作用<sup>[53]</sup>, 其抗肿瘤机制主要体现在以下方面。首先, 通过抑制肿瘤细胞增殖发挥抗肿瘤效应<sup>[54]</sup>; 丁香叶中的橄榄苦苷、毛蕊花糖苷等有效



成分,可下调细胞周期蛋白(Cyclin)D1/D2、周期蛋白依赖性激酶(CDK)4/6通路,阻滞肿瘤细胞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期<sup>[55]</sup>,进而抑制SW480结肠癌细胞、MCF-7乳腺癌细胞等肿瘤细胞的增殖。其次,通过诱导肿瘤细胞凋亡实现抗肿瘤作用,该过程主要由MAPK、NF-κB通路和线粒体凋亡通路共同介导:毛蕊花糖苷可抑制MAPK通路中的p38

亚基,降低NF-κB p65的核转位水平,最终下调Bcl-2等抗凋亡基因表达<sup>[56-57]</sup>。在线粒体通路中,松果菊苷能够降低线粒体膜电位<sup>[47]</sup>,促进细胞色素C释放,最终激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3),启动肿瘤细胞的凋亡<sup>[58]</sup>。其具体过程如图4所示。

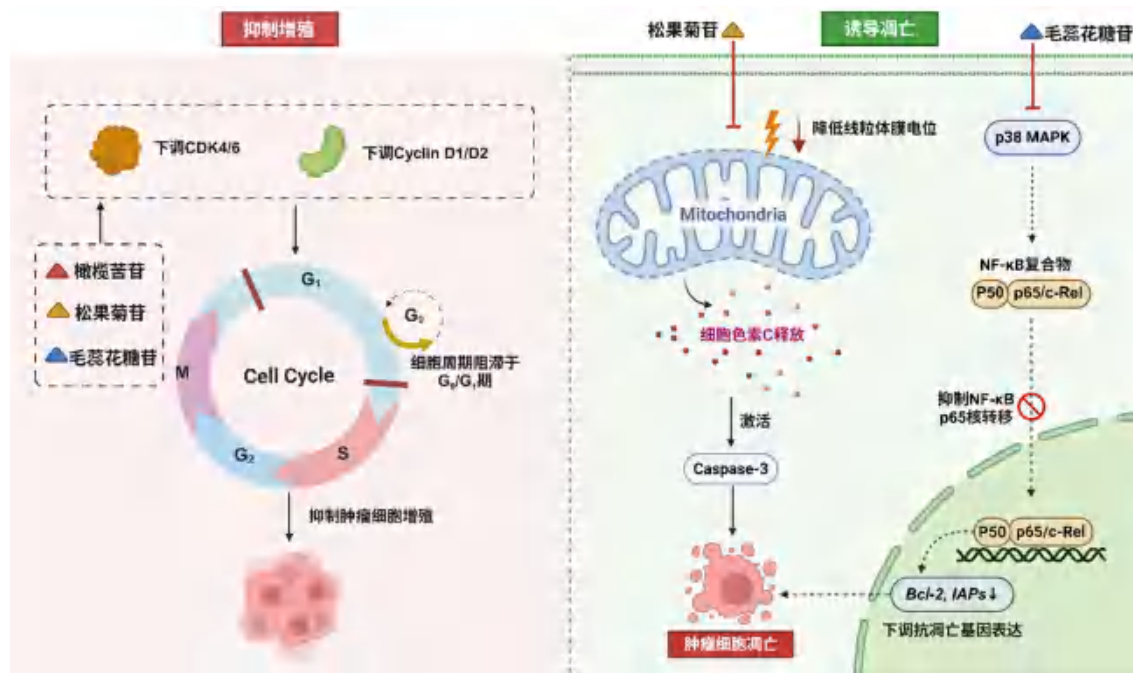


图4 丁香叶抗肿瘤机制图(绘图软件为BioRender)

Fig 4 Diagram of the anticancer mechanism of *Folium Syringae* (drawn by BioRender)

丁香叶不仅在肿瘤治疗方面展现出积极效用,在肿瘤预防领域亦具有潜在应用价值。小鼠皮肤乳头状瘤模型研究已证实,丁香叶水提物可显著降低其乳头状瘤的发生率<sup>[59]</sup>。

未来研究可进一步探索丁香在其他肿瘤模型中的应用及其作用机制,为肿瘤预防提供新思路与新方法。然而,当前的相关研究仍存在局限性,需通过更多临床试验与深入研究,明确丁香叶在肿瘤治疗中的实际价值、有效剂量、给药方式及安全性等关键问题,为其在抗肿瘤领域的应用提供更坚实的科学依据。

### 3 小结

丁香叶是我国一种常用中药,具有悠久的药用历史,已开发出炎立消片、炎立消胶囊、炎立消丸等多种丁香叶制剂,其主要药效为清热解毒、抗炎,临床上多用于辅助治疗细菌感染引发的各类炎症性疾病,具有显著的临床应用潜力。本文系统梳理了近年来丁香叶化学成分及药理作用的相关研究文献,发现丁香酚、橄榄苦苷、丁

香苦苷、毛蕊花糖苷、松果菊苷等成分作为丁香叶中的核心成分,通过调控NF-κB、MAPK等多种通路,发挥抗菌、抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理作用;但目前研究仍存在一些局限:一是分子机制研究尚不深入,存在分子靶点不明确、成分协同效应不清晰等问题,例如丁香酚、芦丁、山柰酚的抗炎抗菌作用已得到证实,但其在体内的具体作用受体,以及PI3K、Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白等信号通路的调控机制尚未完全阐明;二是协同作用研究缺乏系统性,如挥发油与有机酸类成分的协同作用机制、丁香苦苷与黄酮类成分的抗菌增效效应等,均缺乏深入系统的探究,这些问题在一定程度上限制了丁香叶的临床应用效果。综上所述,未来的研究应聚焦上述薄弱环节,加强丁香叶中各单一成分的药理作用及机制研究,结合现代分子生物学技术明确其疾病作用靶点,综合、客观地评估丁香叶的药理作用及临床价值,为其临床合理应用提供理论指导。

## 参考文献

- [1] 李莎莎, 李凡, 李芳, 等. 丁香的化学成分与药理作用研究进展[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(5): 863-868.
- [2] 张树军, 时志春, 王丹, 等. 紫丁香树叶化学成分研究[J]. 中草药, 2018, 49(16): 3747-3757.
- [3] 殷翔. 丁香叶提取物贴片成型工艺及质量控制研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2010.
- [4] 于陶钧, 王立波, 吴立军. 丁香属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(2): 168-170.
- [5] 卢洁, 王线中, 李晓琳, 等. 紫丁香花中黄酮-3-O-芸香糖苷的提取工艺优化及含量动态变化规律[J]. 河南大学学报(医学版), 2021, 40(2): 79-83.
- [6] 祝文博, 孙延平, 王知斌, 等. 紫丁香叶化学成分研究[J]. 中成药, 2022, 44(12): 3872-3878.
- [7] 黄磊磊. 小叶丁香叶中黄酮的提取及抗氧化活性的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024.
- [8] 邵巴达拉胡. 蒙药紫丁香结香成分及其形成机制的研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.
- [9] Aburel OM, Pavel IZ, Dănilă MD, et al. Pleiotropic effects of eugenol: the good, the bad, and the unknown[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 3165159.
- [10] 左遨勋, 刘积光, 高玉梅, 等. 丁香不同部位挥发油的 GC-MS 成分分析和抗氧化活性比较[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(8): 146-151.
- [11] 白娟. 基于色谱技术和质谱技术的丁香挥发油成分探究[J]. 聚酯工业, 2025, 38(1): 18-20.
- [12] Pandey VK, Srivastava S, Ashish, et al. Bioactive properties of clove (*syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: a comprehensive review[J]. Heliyon, 2023, 10(1): e22437.
- [13] 刘同新. 关东丁香叶挥发油化学成分的分析及抗氧化活性初步研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2016.
- [14] 李卓, 司晓慧, 孙志刚, 等. 5 种植物源黄酮类化合物对大肠杆菌性肠炎的治疗作用[J]. 中国兽医学报, 2026, 46(2): 402-411.
- [15] Zanusso JG, Massago M, Kian D, et al. Efficacy of essential oil of *syzygium aromaticum* alone and in combination with benznidazole on murine oral infection with *Trypanosoma cruzi* IV[J]. Exp Parasitol, 2018, 185: 92-97.
- [16] 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.
- [17] 周伟, 于笛, 迟治平, 等. 超声微波协同萃取紫丁香叶总黄酮工艺及其稳定性研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(8): 111-119.
- [18] 赵二劳, 刘乐, 杨洁, 等. 丁香黄酮提取工艺及其生物活性研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(3): 195-197.
- [19] Rodríguez-Landa JF, German-Ponciano LJ, Puga-Olguín A, et al. Pharmacological, neurochemical, and behavioral mechanisms underlying the anxiolytic-and antidepressant-like effects of flavonoid chrysin[J]. Molecules, 2022, 27(11): 3551.
- [20] Shen J, Hu MY, Tan W, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *coreopsis tinctoria* nutt: a review[J]. Ethnopharmacol, 2021, 269: 113690.
- [21] 王硕, 申雨沐, 俞天奇, 等. 探究暴马丁香叶中总黄酮的超声提取工艺[J]. 人参研究, 2020, 32(2): 49-51.
- [22] 李菁, 杜少兵, 杨蕾, 等. 响应面法优化紫丁香叶总黄酮超声提取工艺[J]. 广东药科大学学报, 2022, 38(4): 52-57.
- [23] 赵常伟, 刘芳萍, 左咏梅, 等. 丁香叶黄酮对小鼠药物性肝损伤的保护作用研究[J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(2): 90-92, 121.
- [24] Manuahe C, Samuel MY, Adil EH, et al. Mosquito larvicides of partial and combinations extract of ethnobotanical plant from north sulawesi, indonesia[J]. Pak J Biol Sci, 2022, 25(10): 911-921.
- [25] 姜虹. 关东丁香叶抗炎活性组分及作用机制的初步探究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2018.
- [26] 顾志荣, 刘菁, 郭燕, 等. 中药有机酸类成分的提取与分离纯化研究进展[J]. 中草药, 2025, 56(8): 2954-2968.
- [27] Zhang Q, Liu J, Duan HXY, et al. Activation of Nrf2/HO-1 signaling: an important molecular mechanism of herbal medicine in the treatment of atherosclerosis via the protection of vascular endothelial cells from oxidative stress[J]. J Adv Res, 2021, 34: 43-63.
- [28] 李玉兰, 刘忠思. 丁香叶油脂提取工艺优化及脂肪酸成分分析[J]. 食品工业, 2020, 41(6): 80-82.
- [29] 张喜武, 张丽丽, 李永吉, 等. 炎立消胶囊及其有效成分丁香苦苷的抗炎作用比较[J]. 中国药师, 2019, 22(8): 1381-1383.
- [30] 张喜武, 杨斯棋, 李永吉, 等. 基于丁香苦苷抗菌药效研究的丁香叶质量标志物指认[J]. 中医药学报, 2020, 48(11): 23-27.
- [31] Zhou ZY, Han N, Liu ZH, et al. The antibacterial activity of syringopicroside, its metabolites and natural analogues from *syringae folium*[J]. Fitoterapia, 2016, 110: 20-25.
- [32] El-Far AH, Elghaity MM, Mohamed SA, et al. Diosgenin alleviates D-galactose-induced oxidative stress in rats' brain and liver targeting aging and apoptotic marker genes[J]. Front Mol Biosci, 2024, 11: 1303379.
- [33] 张好琳, 沈晔. HPLC 法同时测定炎立消胶囊中 5 种成分的含量[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(5): 642-646.
- [34] 冯小涛, 孙延平, 黎冠兰, 等. 紫丁香叶化学成分研究[J]. 中南药学, 2024, 22(12): 3206-3214.
- [35] 刘积光, 刘平怀. 药食同源植物丁香各部位全营养成分分析及评价[J]. 生物资源, 2021, 43(4): 357-362.

- [36] 王小榛. 紫丁香叶治疗金黄色葡萄球菌子宫内膜炎的活性成分及作用机制研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2022.
- [37] 王萍, 汪镇朝, 刘英孟, 等. 丁香挥发油的化学成分与药理作用研究进展[J]. 中成药, 2022, 44 (3): 871-878.
- [38] 赵永田, 王兴娥, 黄煜, 等. 丁香化学成分及生物活性研究进展[J]. 热带农业科技, 2022, 45 (4): 41-46.
- [39] Biernasiuk A, Baj T, Malm A, et al. Clove essential oil and its main constituent, eugenol, as potential natural antifungals against candida spp. alone or in combination with other antimycotics due to synergistic interactions[J]. Molecules, 2022, 28 (1): 215.
- [40] Afrendi E, Prastya ME, Astuti RI, et al. Bioactivity of the ethanol extract of clove ( *syzygium aromaticum* ) as antitoxin[J]. Int J Food Sci, 2023, 21: 3245210.
- [41] 朴俊杰. 暴马丁香茎皮化学成分及其抗炎活性研究[D]. 延边: 延边大学, 2022.
- [42] 汪正宜, 郭朝瑞. 心血管疾病相关的氧化应激生物标志物的研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23 (11): 3289-3297.
- [43] 王菲, 袁冲, 杨艳芳, 等. 紫丁香苷的植物资源、体内代谢途径及药理作用研究进展[J]. 中国药师, 2021, 24 (11): 2073-2076.
- [44] 赵静涵, 朱正望, 王琳琳, 等. 药食同源保肝中药的抗炎抗氧化作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31 (7): 293-301.
- [45] Gao X, Luo FL, Zhao HG, et al. Cloves regulate Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase to exert antioxidant effect and inhibit UVB light-induced skin damage in mice[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 5197919.
- [46] 马瑾煜, 刘珊瑚, 焦顺刚, 等. 丁香属植物的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45 (8): 1833-1843.
- [47] Yang D, Li JY, Liang CY, et al. Syringa microphylla diels: a comprehensive review of its phytochemical, pharmacological, pharmacokinetic, and toxicological characteristics and an investigation into its potential health benefits[J]. Phytomedicine, 2021, 93: 153770.
- [48] Shojaeifard MB, Hojjati S, Vojdani S, et al. Protective effect of hydroalcoholic extract of clove on thioacetamide-induced hepatotoxicity animal model: effects hydroalcoholic extract of clove against hepatotoxicity[J]. Galen Med J, 2022, 11: e1603.
- [49] 刘佳怡, 黄磊磊, 王天怡, 等. 超声协同低共熔溶剂提取紫丁香花多酚工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45 (4): 171-179.
- [50] Hanganu D, Niculae M, Ielciu I, et al. Chemical profile, cytotoxic activity and oxidative stress reduction of different *Syringa vulgaris* L. extracts[J]. Molecules, 2021, 26 (11): 3104.
- [51] Zhang SL, Zhu EL, Wang ZB, et al. Simultaneous determination of six compounds by UHPLC-MS/MS: comparison of pharmacokinetics of *Syringa oblata* lindl. leaf extract in normal and ulcerative colitis rats after oral administration[J]. Biomed Chromatogr, 2025, 39 (12): e70245.
- [52] 刘积光. 药食同源植物丁香的综合利用价值研究[D]. 海口: 海南大学, 2020.
- [53] 陈秀会, 郑裕彤, 叶卫军, 等. NLRP3 炎症小体在肿瘤中的作用及其抑制剂研究进展[J]. 中南药学, 2023, 21 (7): 1897-1906.
- [54] Do MH, Choi J, Kim Y, et al. Syzygium aromaticum reduces diabetes-induced glucotoxicity via the NRF2/Glo1 pathway[J]. Planta Med, 2020, 86 (12): 876-883.
- [55] Vicidomini C, Roviello V, Roviello GN, et al. Molecular basis of the therapeutical potential of clove ( *Syzygium aromaticum* L. ) and clues to its anti-COVID-19 utility[J]. Molecules, 2021, 26 (7): 1880.
- [56] Zari AT, Zari TA, Hakeem KR, et al. Anticancer properties of eugenol: a review[J]. Molecules, 2021, 26 (23): 7407.
- [57] Ibrahim EH, Alshahrani MY, Ghramh HA, et al. Immunomodulatory and anti-cancer potential of cloves ( *Syzygium aromaticum* ) bud extract and its phytochemical silver nanoparticles[J]. J Physiol Pharmacol, 2023, 74 (5): 577-586.
- [58] Liu MH, Zhao G, Zhang D, et al. Active fraction of clove induces apoptosis via PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy in human colorectal cancer HCT-116 cells[J]. Int J Oncol, 2018, 53 (3): 1363-1373.
- [59] De Guzman GQ, Cagayan MSFS, Bagaoisan DA, et al. Cytotoxic and apoptotic properties of the flavonoid-rich ethyl acetate fraction of the crude methanol leaf extract of *Syzygium samarangense* ( blume ) Merr. ( Myrtaceae ) against MCF-7 breast cancer cells[J]. Acta Med Philipp, 2023, 57 (11): 41-50.

( 收稿日期: 2025-12-12; 修回日期: 2026-02-11 )



# 氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的研究进展

龙玉<sup>1</sup>, 崔玉霞<sup>1, 2\*</sup> (1. 贵州医科大学临床医学院, 贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院儿童呼吸科, 贵阳 550002)

**摘要:** 小儿过敏性鼻炎是一种由免疫球蛋白 E 介导的鼻黏膜慢性炎症, 其特征是 Th2 型炎症细胞浸润及组胺、白三烯等介质的释放, 从而引起阵发性打喷嚏、清水样涕、鼻塞、鼻痒及睡眠障碍等临床症状。氯雷他定作为第二代抗组胺药的典型代表, 在过敏性疾病治疗中具有广泛的应用价值。基于此, 本文首先阐述了现代医学对小儿过敏性鼻炎的认知, 在此基础上分析氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的作用机制, 最后总结氯雷他定在小儿过敏性鼻炎治疗中的实际应用效果, 以期为临床使用氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎提供有益借鉴。

**关键词:** 小儿过敏性鼻炎; 氯雷他定; 作用机制

**中图分类号:** R969.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-206-05

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.029

## Research progress in loratadine for pediatric allergic rhinitis

LONG Yu<sup>1</sup>, CUI Yuxia<sup>1, 2\*</sup> (1. *Clinical Medical College, Guizhou Medical University, Guiyang 550004*; 2. *Department of Pediatric Respiratory Medicine, Guizhou People's Hospital, Guiyang 550002*)

**Abstract:** Pediatric allergic rhinitis is a chronic inflammatory disease of the nasal mucosa mediated by immunoglobulin E. It is characterized by the infiltration of T-helper type 2 inflammatory cells and the release of mediators such as histamine and leukotrienes, which may collectively lead to clinical symptoms including paroxysmal sneezing, watery rhinorrhea, nasal congestion, nasal itching, and sleep disturbance. As a second-generation antihistamine, it is widely used for allergic conditions in the pediatric population. This article reviewed the current understanding of pediatric allergic rhinitis from a clinical perspective, examined the mechanism of loratadine, and summarized its real-world treatment outcomes, to provide evidence-based references for its rational use in pediatric practice.

**Key words:** pediatric allergic rhinitis; loratadine; mechanism

小儿过敏性鼻炎是在全世界范围内多发的一种过敏性疾病, 2023 年, 一项涵盖全球近十年数据的系统性评价与 Meta 分析为此提供了量化整合证据: 该研究指出, 依据最严格的“医生诊断”标准, 小儿过敏性鼻炎的全球汇总患病率为 10.48%; 而基于症状报告的“过去 12 个月内自报患病率”与“终身自报患病率”分别为 18.12% 与 19.93%。国内患病率同样不容忽视<sup>[1]</sup>。一项基于 2001—2021 年研究的系统综述与 Meta 分析显示, 我国儿童过敏性鼻炎的汇总患病率为 18.46% (95%CI: 14.34% ~ 22.59%), 且呈现显著上升趋势, 2012—2021 年期间的患病率 (19.75%) 明显高于 2001—2011 年期间 (14.81%)。近些年, 受

生活方式与环境变化的影响, 国内患病人数呈现出持续增长的趋势<sup>[2]</sup>。小儿过敏性鼻炎, 亦称小儿变应性鼻炎, 主要是因为生活中与相关变应原进行接触后引起变态反应, 从而导致鼻黏膜炎症反应<sup>[3]</sup>。小儿是临床过敏性鼻炎的高发群体, 临床表现主要包括鼻塞、鼻痒、喷嚏等症状。小儿过敏性鼻炎的病理机制主要涉及免疫系统的异常反应, 是主要由免疫球蛋白 E (IgE) 介导的 I 型变态反应, 其中免疫反应异常、炎症介质分泌、黏膜屏障被破坏是发病的核心病理机制。现阶段临床治疗小儿过敏性鼻炎常用的治疗措施包括鼻腔冲洗、药物治疗、隔绝过敏原、免疫治疗。然而, 部分药物长期使用可能引发不良反应, 鼻用

**基金项目:** 贵州省卫生健康委员会科学技术基金 (No.2021XMSB00030620); 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心临床医学研究一般项目 (No.NCRCCHD-2022-GP-0X)。

**作者简介:** 龙玉, 女, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事儿童呼吸与免疫研究, email: 1760185003@qq.com \* **通信作者:** 崔玉霞, 女, 主任医师, 主要从事儿童呼吸与免疫研究, email: cuiyuxia1969@163.com

糖皮质激素等也会对患儿生长发育带来一定影响,免疫治疗由于持续时间较长,患儿难以长期配合。氯雷他定作为临床常用的第二代抗组胺药具备强效抗过敏、抗炎作用,能快速起效<sup>[4]</sup>。同时,氯雷他定的剂型多样,可以满足不同年龄段儿童的需求,其镇静作用较弱,对患儿认知与日常活动影响较小。另外,可将氯雷他定联合其他措施治疗(如鼻用糖皮质激素、鼻腔冲洗等),进一步增强疗效。尽管目前小儿过敏性鼻炎的临床治疗策略多样(如抗组胺药、鼻用激素、免疫疗法等),但在保证安全性的前提下提高疗效、实现个体化治疗仍是当前临床实践中的关键挑战。氯雷他定作为第二代抗组胺药的代表,其单用及联合治疗方案在小儿过敏性鼻炎中具有重要地位,系统评估其机制、疗效与安全性具有重要临床意义。基于此,本文主要综述氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的研究进展。

## 1 氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的作用机制

### 1.1 拮抗 $H_1$ 受体

相比于其他普通抗组胺药,氯雷他定对于组胺  $H_1$  受体(histamine  $H_1$  receptor)的亲和力明显更好,具有更高的选择性<sup>[5]</sup>。氯雷他定经口服给药进入机体后,能够持续与  $H_1$  受体结合发挥作用,即使 6 h 之后仍有 60% 左右药物成分作用于  $H_1$  受体<sup>[6]</sup>。氯雷他定所具有的独特药理特性使其能够持久、高效地拮抗  $H_1$  受体,减少组胺所导致的相关炎性介质分泌,从而有效减轻过敏性鼻炎鼻痒、喷嚏等症状<sup>[7]</sup>。近年来研究发现,氯雷他定还可通过抑制核因子  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ) 信号通路,下调白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等炎症因子的表达,发挥抗炎作用。

### 1.2 抑制细胞因子和炎症介质释放

在 IgE 引起的变态反应中,肥大细胞、嗜碱性粒细胞发挥关键作用<sup>[8]</sup>。肥大细胞、嗜碱性粒细胞不仅能够释放一系列炎症因子,还会促进 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等的分泌<sup>[9]</sup>。既往临床报道,氯雷他定可以抑制体内肥大细胞,减少 IL-8、GM-CSF 等细胞因子的释放<sup>[10]</sup>。同时氯雷他定还可以阻断 IgE 引起的肥大细胞和嗜碱性粒细胞分泌<sup>[11]</sup>。除此之外,研究发现氯雷他定可以减少体内刺激物质所导致的嗜碱性粒细胞组胺分泌,并且呈剂量依赖性,其用药剂量越大则抑制效应越强<sup>[12]</sup>。氯雷他定可抑制肥大细胞、嗜碱性粒细胞释放组胺、IL-8、GM-CSF 等,并呈剂量依赖性,其机制涉及对丝裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(MAPK/ERK)通路的调控,进而影响细胞脱颗粒过程。

嗜酸性粒细胞是慢性过敏性炎症的关键效应细胞,其浸润和活化可导致组织持续性损伤与高反应性,从而参与并加重过敏性鼻炎、哮喘等疾病的病理过程。所以在使用抗组胺药治疗过敏性鼻炎的过程中,调节嗜酸性粒细胞是其中一项重要的作用机制,能够减轻鼻黏膜症状,缓解鼻塞、流涕等过敏表现。临床研究发现,氯雷他定可以降低血小板活化因子(PAF)所引起的嗜酸性粒细胞趋化性<sup>[13]</sup>。同时还有研究发现,氯雷他定可剂量依赖性地抑制 TNF- $\alpha$  诱发的嗜酸性粒细胞黏附,血药浓度越高其抑制效应越强<sup>[14]</sup>。过敏性鼻炎患儿发病后,体内嗜酸性粒细胞持续向鼻黏膜组织浸润,造成血液循环中的嗜酸性粒细胞数量减少。氯雷他定治疗能够抑制嗜酸性粒细胞浸润,减轻鼻黏膜炎症反应<sup>[15]</sup>。

辅助性 T 细胞 1 型(Th1)细胞因子可以对巨噬细胞进行活化,加快 B 细胞释放相关补体成分,对病原体感染症状起到抑制效应。辅助性 T 细胞 2 型(Th2)细胞因子可以加快嗜酸性粒细胞的活化进程,使 B 细胞快速释放 IgE 抗体并促进肥大细胞增殖,并对 Th1 细胞生长发育进行阻断。所以 Th2 细胞在过敏性鼻炎的发病中发挥关键作用。临床研究发现,氯雷他定可以降低 Th2 细胞因子分泌<sup>[16]</sup>。同时氯雷他定还可以减少抗-IgE 刺激的人嗜碱性粒细胞 IL-4 等的分泌。相较于其他抗组胺药(如西替利嗪等),氯雷他定抑制上述细胞因子分泌的效果更为显著,可以对一系列参与过敏反应的细胞因子和免疫介质进行调控,从而快速缓解过敏性鼻炎相关症状。氯雷他定能抑制 Th2 型细胞因子(如 IL-4、IL-13)的分泌,维持 Th1/Th2 平衡状态,其机制可能是通过干扰 T 细胞活化信号通路(如 Janus 激酶-信号转导和转录激活因子 JAK-STAT)间接影响嗜酸性粒细胞的趋化与黏附。

总而言之,氯雷他定能持久阻断组胺介导的炎症反应,抑制肥大细胞、嗜碱性粒细胞释放组胺、IL-8、GM-CSF 等,抑制 Th2 型细胞因子分泌,调节 Th1/Th2 平衡,调节免疫功能。氯雷他定通过多靶点、多通路发挥抗组胺与抗炎双重作用,这为其单用或联合其他药物(如激素、白三烯拮抗剂、中药等)提供了坚实的药理学基础。

## 2 氯雷他定在小儿过敏性鼻炎治疗中的临床应用

目前,临床在使用氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的过程中,通常将其和其他药物联合治疗,如白三烯受体拮抗剂、鼻用类固醇激素、免疫药物、中药等,通过不同作用机制的协同,显著提升临床疗效。

### 2.1 氯雷他定联合白三烯受体拮抗剂



氯雷他定特异性拮抗  $H_1$  受体,减轻组胺等过敏介质引起的过敏反应,缓解组织水肿症状,加快过敏性鼻炎症状的改善。白三烯受体拮抗剂通过阻断白三烯受体,可以抑制白三烯所诱发的炎症反应,缓解气道高反应性状态。目前临床上许多研究将氯雷他定和白三烯受体拮抗剂联合用于治疗小儿过敏性鼻炎,能够发挥协同增效的作用,减少体内炎症介质释放,减轻炎症反应,增强抗过敏作用。氯雷他定联合白三烯受体拮抗剂适用于伴有气道高反应性或轻度哮喘的过敏性鼻炎患儿,可抑制组胺与白三烯双重通路。靳佳慧等<sup>[17]</sup>研究中纳入 100 例小儿过敏性鼻炎患儿,其中 50 例作为对照组采用常规孟鲁司特钠治疗,另外 50 例作为观察组在此基础上联合氯雷他定治疗,结果显示,与对照组比较,观察组治疗后临床症状(鼻塞、鼻痒、打喷嚏、流涕)评分下降,总有效率明显提高,可见氯雷他定联合孟鲁司特钠治疗小儿过敏性鼻炎能够进一步提升治疗效果。杨洪娟<sup>[18]</sup>研究显示,过敏性鼻炎患儿采用氯雷他定联合孟鲁司特钠方案治疗总有效率达到 97.50%,相比单一药物治疗(80.00%)明显提高,同时治疗后 IL-4、IL-13、TNF- $\alpha$  水平显著下降。林立彩<sup>[19]</sup>研究了对儿童过敏性鼻炎患儿采用单一孟鲁司特钠以及孟鲁司特钠+氯雷他定的治疗效果,结果发现联用组鼻塞、流涕、鼻痒症状消失时间短于单药组,总有效率(97.50%)高于单药组(82.50%)。现阶段临床相关研究多集中于氯雷他定联合孟鲁司特钠,对于联合其他类型白三烯受体拮抗剂的报道仍然较少,尚需进一步研究探讨。然而,在肯定氯雷他定与孟鲁司特钠联合疗效的同时,必须审慎关注其安全性。孟鲁司特钠存在导致神经精神不良反应的风险,包括但不限于失眠、焦虑、攻击性行为、抑郁及自杀意念等。基于此,国家药品监督管理局(NMPA)已于 2025 年 12 月发布公告(2025 年第 120 号),要求在所有孟鲁司特钠制剂的说明书中增加黑框警示,以突出强调此类风险。因此,临床采用该联合方案时,应在充分评估患儿获益与风险(尤其是有无精神神经疾病个人史或家族史)后,于家长知情同意并承诺密切监测患儿情绪行为变化的前提下谨慎使用。

## 2.2 氯雷他定联合鼻用类固醇激素

鼻用类固醇激素能起到较好的抗炎作用,可有效减少局部炎症介质分泌,抑制嗜酸性粒细胞浸润,控制炎症发展,从而有效缓解过敏性鼻炎症状。氯雷他定可以选择性拮抗  $H_1$  受体,抑制组胺等过敏介质作用,短时间减轻患儿鼻炎表现,缓解临床症状,两者联合用药实现作用机制互补,

进一步提升临床治疗效果。氯雷他定联合鼻用类固醇激素适用于中重度、症状持续或鼻塞显著的过敏性鼻炎患儿,实现快速控制症状与长效抗炎。周玉萍等<sup>[20]</sup>将糠酸莫米松鼻喷雾剂(每次鼻孔 1 喷,1 次/d)与氯雷他定片(每次口服 5 mg,1 次/d)联合治疗设为观察组,以单用糠酸莫米松鼻喷雾剂(用法用量相同)设为对照组,治疗小儿季节性过敏性鼻炎,经过 2 周治疗后,观察组总有效率为 97.50%,显著高于对照组(82.50%);同时观察组治疗后相关细胞因子[IL-2、 $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、IgE]有更明显的改善。张麦叶等<sup>[21]</sup>的研究得出相似的结论,糠酸莫米松鼻喷雾剂联合地氯雷他定(联合组)相较于单用地氯雷他定(单药组,剂量相同)明显提升临床疗效(联合组 96.5% vs 单药组 86.0%),并且降低嗜酸性粒细胞水平。史晓梅<sup>[22]</sup>的研究中重点探究了氯雷他定与糖皮质激素鼻喷雾剂(糠酸莫米松鼻喷雾剂)联合治疗对过敏性鼻炎患儿炎症因子指标的改善作用,结果显示持续治疗 5 周后研究组 IL-4、IL-5、IL-12 等炎症因子相比对照组明显下降。这得益于糠酸莫米松鼻喷雾剂吸入后通过结合靶细胞内的糖皮质激素受体,降低黏附分子浓度,加快炎性细胞凋亡,进而减轻局部炎症反应;同时配合氯雷他定能减少组胺等过敏介质介导的血管扩张现象,促进毛细血管通透性下降,减少免疫性炎症介质分泌,提升肥大细胞稳定程度,进而有助于减轻过敏性鼻炎炎症反应。付高尚等<sup>[23]</sup>纳入 70 例过敏性鼻炎患儿为研究对象,观察氯雷他定+布地奈德联合方案与布地奈德鼻喷雾剂单药治疗的效果,结果显示联合组治疗 1 个月后临床症状积分、IL4、IL-10 水平均低于单药组。目前临床在对小儿过敏性鼻炎的治疗中普遍将氯雷他定和鼻用类固醇激素联合使用,其疗效已获临床广泛认可。

## 2.3 氯雷他定联合免疫药物

过敏性鼻炎患儿存在异常免疫现象,Th1 类细胞因子含量下降,Th2 细胞因子含量升高,Th2/Th1 细胞平衡被破坏后导致免疫应答异常,从而引起局部炎症反应。免疫治疗是临床治疗过敏性鼻炎的一项重要手段,能够对过敏原免疫应答进行调节,加快在体内形成免疫耐受的过程,从而延缓过敏性鼻炎的发展进程。近年来,临床逐渐将氯雷他定与免疫治疗进行联合,以期提升临床治疗效果。氯雷他定联合免疫调节剂适用于免疫功能紊乱、反复发作或伴有其他过敏性疾病(如特应性皮炎)的患儿。侯盼盼等<sup>[24]</sup>进行的一项随机对照试验纳入 100 例过敏性鼻炎患儿,分别采取氯雷他定和匹多莫德+氯雷他定治疗,结果显示联合用药能明显降低症状评分,改善炎症因子



水平,调节 T 细胞亚群水平。缪陶林<sup>[25]</sup>研究中对过敏性鼻炎患儿实施舌下特异性免疫治疗联合氯雷他定,其中氯雷他定每次口服剂量为 3 mg,1 次/d;舌下特异性免疫治疗在每日早餐前滴在舌下,等待 2 min 后再将其吞下,1 次/d。治疗 1 年后进行效果评估,结果显示氯雷他定联合舌下特异性免疫治疗能有效减轻过敏性鼻炎患儿病情,调节 T 淋巴细胞亚群指标。免疫治疗对于过敏性鼻炎具有较好的临床应用价值,但现阶段有关氯雷他定联合免疫治疗小儿过敏性鼻炎的报道仍相对较少,未来有必要开展更多临床研究来探讨氯雷他定联合免疫治疗的效果和潜在机制。

#### 2.4 氯雷他定联合中医治疗

中西医结合治疗具备辨证施治、疗效好、不良反应少、成本低等优势,近年来在临床小儿过敏性鼻炎的治疗中愈发受到重视。氯雷他定联合中医治疗适用于体质虚弱、肺脾气虚证型患儿,常用玉屏风颗粒、散风通窍滴丸等,联合氯雷他定可增强扶正祛邪之效。江莲英等<sup>[26]</sup>在儿童过敏性鼻炎临床治疗中采用散风通窍滴丸联合氯雷他定,根据治疗效果评估发现治疗组总有效率高于对照组(88.00% vs 80.00%),同时治疗组鼻炎症状评分、免疫细胞因子、炎症因子相比对照组改善幅度更大。陈爽等<sup>[27]</sup>在研究中制订氯雷他定联合耳穴“三序”疗法、玉屏风颗粒治疗方案,以 90 例肺脾气虚证过敏性鼻炎患儿为研究对象,经过 2 个疗程治疗后发现上述联合治疗方案能明显改善免疫功能,有效减轻患儿体内炎症反应和临床症状。王蓓等<sup>[28]</sup>研究纳入 60 例过敏性鼻炎患儿,对其实施为期 2 周的氯雷他定+穴位贴敷+中药敷鼻治疗,结果显示患儿免疫球蛋白 A(IgA)水平明显升高,IgE 水平明显下降。尽管近些年临床有关氯雷他定联合中医治疗的报道逐渐增多,并展现出良好的治疗价值,但中医治疗方法多样,现阶段有关氯雷他定联合中医治疗仍无统一的规范和标准,并未形成确切的指导意见,仍有待进一步规范与完善。

#### 2.5 联合治疗优势及注意事项

氯雷他定作为临床常用的抗组胺药在现阶段对小儿过敏性鼻炎的联合治疗中具有明显优势。例如,其与鼻用糖皮质激素联合使用能起到协同抗炎作用,有效减轻炎症反应。同时氯雷他定联合其他类型药物治疗增强疗效,快速缓解过敏性鼻炎症状。另外,氯雷他定联合治疗可发挥靶向调节免疫的作用,调节免疫细胞释放。针对单一药物治疗效果不理想的过敏性鼻炎患儿,可以将氯雷他定联合其他药物治疗,需要根据患儿实际年龄动态调整用药剂量。同时对于中重度过敏性

鼻炎患儿,使用氯雷他定不能控制流涕、鼻塞等症状时,需要联合其他药物治疗。在氯雷他定联合治疗中需要注意的是,尽管氯雷他定经过细胞色素 P450 3A4(CYP3A4)和细胞色素 P450 2D6(CYP2D6)酶进行代谢,与其他药物很少出现相互作用,但考虑患儿年龄较小,需要关注多种药物叠加带来的总体负担。

#### 2.6 临床用药指导建议

在临床治疗过敏性鼻炎患儿的实践中,需要根据患儿临床表现、症状严重程度、合并症及体质特点选择联合方案,如轻中度、季节性过敏性鼻炎患儿,可以单用氯雷他定或联合孟鲁司特钠;对于中重度、常年性过敏性鼻炎患儿,可以氯雷他定联合鼻用激素;对于免疫功能低下过敏性鼻炎患儿,可用氯雷他定联合免疫调节剂或中药扶正疗法。

#### 3 氯雷他定的安全性

氯雷他定在与大环内酯类抗菌药物联合使用时,易引起心血管系统不良反应。因此对于合并心血管疾病的过敏性鼻炎患儿,在治疗过程中需密切监测。同时,氯雷他定在推荐剂量用药时也存在嗜睡等潜在风险<sup>[29]</sup>。氯雷他定用药过程中潜在的不良反应见表 1。为确保过敏性鼻炎患儿使用氯雷他定的安全性,需要严格按照医嘱剂量用药,避免和大环内酯类抗菌药物联合用药,对于合并肝功能受损、低镁血症患儿需要谨慎用药<sup>[30]</sup>。Yang 等<sup>[31]</sup>观察过敏性鼻炎患儿使用氯雷他定的效果及安全性,研究发现治疗期间仅出现轻微不良反应,如乏力、口干等。Wang 等<sup>[32]</sup>研究发现,氯雷他定治疗过敏性鼻炎患儿虽有一定风险,但在推荐剂量下用药对心脏而言是安全的。

表 1 氯雷他定不良反应情况

Tab 1 Adverse reactions of loratadine

| 不良反应类型 | 发生率/% | 备注                  |
|--------|-------|---------------------|
| 乏力/嗜睡  | 2~5   | 轻度、多可耐受             |
| 头痛     | 1~3   | 短暂性                 |
| 口干     | 1~2   | 多见于高剂量              |
| 心脏事件   | <0.1  | 与 CYP3A4 抑制剂联用时风险升高 |

#### 4 结语和展望

氯雷他定通过多机制发挥抗过敏与抗炎作用,在单用或联合治疗中均显示出良好疗效与安全性,目前临床通常将其与鼻用类固醇激素、白三烯受体拮抗剂、中药等联合使用,展现出理想的临床疗效。未来研究应聚焦于以下几方面:如氯雷他定在特殊人群(如低龄、合并肝肾功能异常)中的药代动力学;氯雷他定基于生物标志物的个体化用药策略制订;氯雷他定相关新型制剂(如纳米载

药、口腔膜剂)的研发与临床应用;中西医结合治疗的标准化与机制探索。随着临床对过敏性鼻炎发病机制的研究持续深入,以及新一代氯雷他定研发和逐步临床应用,临床治疗方法将更丰富,为更多过敏性鼻炎患儿提供更优治疗选择。

## 参考文献

- [1] 王睿坤,梁洁琼,韩伟,等. 2001—2021 年中国儿童青少年过敏性鼻炎患病率的 Meta 分析[J]. 中华预防医学杂志, 2022, 56(6): 784-793.
- [2] Licari A, Magri P, De Silvestri A, et al. Epidemiology of allergic rhinitis in children: a systematic review and meta-analysis[J]. J Allergy Clin Immunol Pract, 2023, 11(8): 2547-2556.
- [3] 王文伟,李锦霞. 氯雷他定与糖皮质激素联合治疗对过敏性鼻炎合并哮喘患儿呼吸状态的影响[J]. 临床医学研究与实践, 2024, 9(27): 90-93.
- [4] 商雨朦,张方,李明如,等. 脾氨肽口服溶液联合氯雷他定和等渗洗鼻盐水治疗儿童过敏性鼻炎合并腺样体肥大的成本-效果[J]. 中国药物经济学, 2024, 19(12): 5-10.
- [5] 张彩艳. 消风通窍汤联合氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的效果[J]. 中外医学研究, 2023, 21(31): 139-143.
- [6] 马圣洁,叶卫东,徐建宏. 糠酸莫米松联合氯雷他定和孟鲁司特钠对过敏性鼻炎合并哮喘患儿炎症因子及肺功能的影响[J]. 中国妇幼保健, 2024, 39(12): 2178-2181.
- [7] 田翠玲,连刚,李维,等. 复合益生菌联合氯雷他定、糠酸莫米松喷雾剂对过敏性鼻炎患儿的治疗效果及其作用机制分析[J]. 川北医学院学报, 2024, 39(6): 787-790.
- [8] 孙漫漫,刘利敏. 布地奈德鼻喷雾剂联合氯雷他定对过敏性鼻炎患者的疗效观察[J]. 上海医药, 2025, 46(1): 31-34.
- [9] 徐亿民,臧艳姿,贺松坡. 消风宣窍汤联合氯雷他定片治疗过敏性鼻炎临床研究[J]. 新中医, 2024, 56(5): 138-141.
- [10] 米淑娜,姚辉,刘强. 益气温阳通窍汤联合氯雷他定治疗过敏性鼻炎的疗效分析[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2023, 29(1): 144-147.
- [11] 王丽娜,潘利平,李红娟. 鼻渊通窍颗粒联合氯雷他定片治疗过敏性鼻炎的效果[J]. 河南医学研究, 2023, 32(16): 3026-3030.
- [12] 阮伏龙. 探讨糖皮质激素鼻喷雾剂联合地氯雷他定治疗过敏性鼻炎的效果[J]. 中国现代药物应用, 2025, 19(13): 110-113.
- [13] 龚骞,卢秋爽,马俊. 氮斯汀联合地氯雷他定治疗过敏性鼻炎的临床效果[J]. 临床合理用药, 2025, 18(10): 121-124.
- [14] 葛源,马佐鹏,赵慧珍. 色甘萘甲那敏联合氯雷他定治疗成人过敏性鼻炎的效果及对患者鼻通气、睡眠质量、负性情绪和生活质量的影响[J]. 贵州医药, 2025, 49(9): 1417-1419.
- [15] 刘延飞,郭明刚,杨延娜,等. 麻黄附子细辛汤加减联合氯雷他定片治疗过敏性鼻炎疗效观察[J]. 广西中医药大学学报, 2024, 27(5): 12-15.
- [16] 张泽林. 枸地氯雷他定联合糠酸莫米松鼻喷雾剂对过敏性鼻炎患者免疫功能的影响[J]. 现代诊断与治疗, 2023, 34(23): 3511-3513.
- [17] 靳佳慧,刘广平. 应用氯雷他定治疗小儿过敏性鼻炎的效果分析[J]. 中外医药研究, 2024, 3(32): 61-63.
- [18] 杨洪娟. 孟鲁司特钠与地氯雷他定治疗过敏性鼻炎患儿的效果及安全性评价[J]. 黑龙江医药科学, 2024, 47(6): 124-126.
- [19] 林立彩. 孟鲁司特钠联合地氯雷他定治疗儿童过敏性鼻炎的临床疗效观察[J]. 糖尿病天地, 2021, 18(11): 91.
- [20] 周玉萍,张卫海,吴红波. 糠酸莫米松鼻喷雾剂联合地氯雷他定片治疗小儿季节性过敏性鼻炎的效果[J]. 中国医学创新, 2025, 22(6): 5-9.
- [21] 张麦叶,楼高忠,严杨艳,等. 糠酸莫米松鼻喷雾剂联合地氯雷他定治疗小儿季节性过敏性鼻炎的临床疗效评价[J]. 中国药物应用与监测, 2024, 21(4): 423-426.
- [22] 史晓梅. 氯雷他定与糖皮质激素鼻喷雾剂治疗小儿过敏性鼻炎效果及对炎症因子水平的影响[J]. 基层医学论坛, 2021, 25(10): 1403-1404.
- [23] 付高尚,魏艳艳,徐艳霞,等. 地氯雷他定联合布地奈德治疗小儿过敏性鼻炎的观察[J]. 实用中西医结合临床, 2020, 20(14): 43-44, 53.
- [24] 侯盼盼,雷大宇,王贝贝. 匹多莫德联合氯雷他定治疗对小儿过敏性鼻炎症状评分、炎症因子及 T 细胞亚群的影响[J]. 实用医院临床杂志, 2021, 18(5): 71-74.
- [25] 缪陶林. 舌下特异性免疫治疗联合氯雷他定对过敏性鼻炎患儿血液指标、诱导痰指标的影响[J]. 吉林医学, 2022, 43(10): 2751-2754.
- [26] 江莲英,华晓星,梁景熙. 散风通窍滴丸联合氯雷他定治疗儿童过敏性鼻炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(10): 2500-2505.
- [27] 陈爽,陈林芯,林响,等. 耳穴“三序”疗法联合玉屏风颗粒对肺脾气虚证儿童过敏性鼻炎的临床疗效观察[J]. 青岛医药卫生, 2025, 57(3): 237-240.
- [28] 王蓓,李妙媛. 穴位贴敷联合中药敷鼻治疗儿童过敏性鼻炎的临床观察及对患儿免疫球蛋白 A、免疫球蛋白 E 的影响[J]. 现代医学与健康研究, 2024, 8(14): 74-76.
- [29] Zhang J, Kan D. Evaluation of efficiency and safety of combined loratadine and budesonide in patients with anaphylactic rhinitis: a protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2022, 101(17): e28851.
- [30] Yamprasert R, Chanvimalueng W, Mukkasombut N, et al. Ginger extract versus Loratadine in the treatment of allergic rhinitis: a randomized controlled trial[J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 119.
- [31] Yang HJ, Mao HY, Wang F, et al. Clinical efficacy and safety study of Loratadine combined with glucocorticoid nasal spray in the treatment of pediatric bronchial asthma with seasonal allergic rhinitis[J]. J Asthma, 2024, 61(12): 1698-1705.
- [32] Wang H, Ji Q, Liao C, et al. A systematic review and meta-analysis of loratadine combined with montelukast for the treatment of allergic rhinitis[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1287320.

(收稿日期: 2025-10-13; 修回日期: 2025-12-04)

# 灯盏花乙素治疗神经系统疾病的作用机制 及纳米制剂的研究进展

李漫<sup>1</sup>, 金黎明<sup>3</sup>, 陈亚飞<sup>1, 2</sup>, 张梦洁<sup>1</sup>, 姚琳<sup>1, 2\*</sup> (1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东中医药大学, 山东省中医药基础理论创新与应用研究重点实验室, 济南 250355; 3. 大连民族大学, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 辽宁大连 116600)

**摘要:** 灯盏花乙素为黄芩、半枝莲及短葶飞蓬等植物中的一种黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化等药理作用, 对神经系统疾病有保护作用。药理研究表明, 灯盏花乙素具有治疗阿尔茨海默病、帕金森病、抑郁、脑缺血等疾病的潜力, 然而, 现临床所使用片剂、注射液等生物半衰期短、生物利用度低。因此, 本研究对灯盏花乙素治疗神经系统疾病的潜在作用机制及其纳米剂型进行综述, 旨在为灯盏花乙素及其纳米剂型治疗神经系统疾病提供新思路。

**关键词:** 灯盏花乙素; 药理机制; 神经系统疾病; 脑缺血; 纳米剂型

**中图分类号:** R285, R741 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-211-08  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.030

## Research progress in scutellarin and its nanoformulations for neurological disorders

LI Man<sup>1</sup>, JIN Liming<sup>3</sup>, CHEN Yafei<sup>1, 2</sup>, ZHANG Mengjie<sup>1</sup>, YAO Lin<sup>1, 2\*</sup> (1. *Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355*; 2. *Shandong Key Laboratory of Innovation and Application of Basic Theory of Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355*; 3. *Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization of Ministry of Education, College of Life Science, Dalian Minzu University, Dalian Liaoning 116600*)

**Abstract:** Scutellarin (Scu) is a flavonoid isolated from *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria barbata*, and *Erigeron breviscapus*. It possesses multiple pharmacological actions, including anti-inflammatory, antioxidant, and neuroprotective effects on neurological disorders. Many pharmacological studies have demonstrated its potential for Alzheimer's disease, Parkinson's disease, depression, cerebral ischemia, and other neurological disorders. However, both the tablets and injections of scutellarin have limited application due to their poor aqueous solubility and low bioavailability. This review summarized the mechanism of the therapeutic effect of scutellarin on neurological disorders, and current scutellarin nanoformulations to provide insights for future scutellarin-based therapies.

**Key words:** scutellarin; pharmacological mechanism; neurological disorder; cerebral ischemia; nanoformulation

神经系统疾病 (neurological diseases, ND) 是指在神经系统内, 以感觉、运动、意识功能障碍为主要表现的疾病<sup>[1]</sup>, 主要包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森病 (Parkinson's disease, PD)、抑郁症、脑缺血等。目前, 大多数药物治疗 ND 只能通过单一靶点或

通路缓解症状, 较难彻底治疗发病机制复杂的 ND<sup>[2]</sup>。但是一些从中草药中提取的天然化合物可以通过多靶点、多通路表现出广泛的药理活性<sup>[3]</sup>, 被认为在 ND 治疗中具有巨大的应用潜力。

灯盏花乙素 (scutellarin, Scu) 是黄芩、半枝莲及短葶飞蓬中的一种黄酮类化合物, 具有抗炎、

**基金项目:** 国家自然科学基金面上项目 (No.82274128); 生物技术与资源利用教育部重点实验室开放课题 (No.2024-MS-019)。

**作者简介:** 李漫, 女, 硕士研究生, 主要从事中药药理学研究, email: 18398820402@139.com \***通信作者:** 姚琳, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事中药药理学研究, email: yaolin@sduatcm.edu.cn



抗氧化等作用<sup>[4]</sup>，近年来研究发现，Scu在ND中展现出良好的应用前景，能够通过多靶点、多通路、多途径发挥治疗和保护作用<sup>[5]</sup>。目前，Scu已被开发为注射液、片剂等剂型，临床上主要用于治疗心脑血管疾病<sup>[6-7]</sup>。已有研究显示，在临床I/II期试验中，灯盏花素注射液具有良好的药代动力学特性，在脑缺血患者中显示出良好的耐受性与治疗效果，并在联合用药中表现出较好的协同作用<sup>[8-9]</sup>。然而，Scu水溶性差、生物半衰期短<sup>[10]</sup>，导致其片剂生物利用度较低，影响药效发挥。此外，其注射剂型可能引起局部刺激反应和中老年人过敏反应，限制其更广泛的临床应用<sup>[11]</sup>。现有研究表明，纳米递药系统有助于提高Scu的生物利用度，从而增强其药效发挥<sup>[10]</sup>。当前，关于Scu防治ND的作用机制、纳米递药系统研究的综述鲜有报道，因此本文对其最新研究进展进行综述，以期为其进一步研究和应用提供参考。

## 1 Scu神经保护的作用机制

### 1.1 抑制炎症反应

**1.1.1 抑制MAPK信号通路** MAPK是经典的炎症反应通路，主要由p38、c-Jun氨基末端激酶（JNK）和胞外信号调节激酶（ERK1/2）构成，在炎症反应中发挥重要作用<sup>[12]</sup>。小胶质细胞表面受体过度刺激后，将引发p38、JNK和ERK1/2磷酸化激活，进而调节与炎症反应相关因子的基因表达<sup>[13]</sup>。已有研究表明，Scu可抑制氨酰tRNA合成酶复合体相互作用多功能蛋白1（AIMP1）诱导的小胶质细胞中p38、JNK的磷酸化，降低肿瘤坏死因子- $\alpha$ （TNF- $\alpha$ ）、白细胞介素-6（IL-6）和白细胞介素-1 $\beta$ （IL-1 $\beta$ ）的表达<sup>[14]</sup>。在大脑中动脉闭塞（middle cerebral artery occlusion, MCAO）大鼠模型中，Scu可增强ERK1/2的磷酸化水平，促进M2小胶质细胞的极化，增加IL-4和IL-10的释放，减轻炎症反应<sup>[15]</sup>。

**1.1.2 抑制NF- $\kappa$ B信号通路** 核因子 $\kappa$ B（NF- $\kappa$ B）是炎症发生和发展的另一条重要途径，当机体受到外部刺激时，I $\kappa$ B激酶（IKK）复合物磷酸化核因子 $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ （I $\kappa$ B $\alpha$ ），与NF- $\kappa$ B解离，NF- $\kappa$ B随之发生核转位，启动炎症相关基因的转录<sup>[16]</sup>。研究显示，Scu通过抑制小胶质细胞中IKK $\alpha/\beta$ 、阻断I $\kappa$ B $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B解离，限制NF- $\kappa$ B的核转位，使得IL-6和TNF- $\alpha$ 含量降低，发挥抗炎作用<sup>[14]</sup>。PI3K/AKT通路的激活同样能够增强I $\kappa$ B $\alpha$ 激酶的磷酸化，使NF- $\kappa$ B活化，促进炎症反应。研究发现，Scu既可以直接抑制MCAO大鼠脑内IKK $\alpha$ 磷酸化，也可以通过PI3K/AKT通路间接调控该过程，阻止NF- $\kappa$ B核转位，最终使得炎症因子表达减少，减少炎症反应<sup>[17]</sup>。

**1.1.3 抑制NLRP3炎症小体** NLRP3炎症小体是多蛋白复合物，能够激活半胱天冬酶-1（Caspase-1）的蛋白水解，促进成熟IL-1 $\beta$ 的加工和释放，参与ND的炎症反应。在大鼠双侧颈总动脉持久性结扎（two-vessel occlusion, 2VO）所造成的慢性前脑低灌注大鼠模型中，Scu可通过抑制小胶质细胞中NLRP3炎症小体活化，使得Caspase-1和IL-1 $\beta$ 蛋白表达减少，从而减少炎性损伤<sup>[18]</sup>。

上述研究显示，Scu能通过双向调控多种信号通路、阻断炎症小体的激活、减少炎症介质产生等发挥抗炎作用，在炎症调控中具有潜在的干预价值（见图1）。

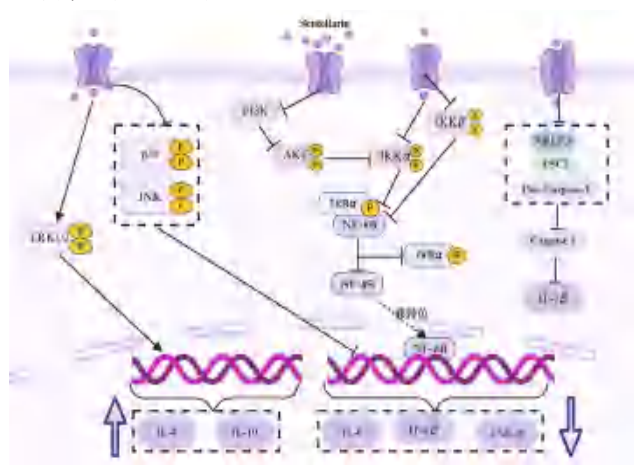


图1 灯盏花乙素抗神经炎症机制（绘图软件 Biorender）

Fig 1 Anti-neuroinflammation mechanism of scutellarin (drawn by Biorender)

### 1.2 改善氧化应激损伤

氧化应激是指活性氧（ROS）过度积累与抗氧化系统受损，所致的氧化还原失衡状态<sup>[19]</sup>，已被证实是ND的核心发病机制之一。核因子E2相关因子2（Nrf2）作为维持氧化还原稳态的核心转录因子，可通过激活血红素加氧酶-1（HO-1），提高谷胱甘肽（GSH）、超氧化物歧化酶（SOD）和过氧化氢酶（CAT）等抗氧化酶的表达，增强抗氧化能力<sup>[20]</sup>。多项研究显示，Scu可通过激活Nrf2/HO-1通路，提高GSH、CAT和SOD等抗氧化酶的活性，降低ROS和丙二醛（MDA）水平，在ND中发挥抗氧化作用<sup>[21-22]</sup>。另外，NADPH氧化酶2（NOX2）介导的氧化应激增强已被证明在多种ND中发挥关键作用，Scu通过调节MCAO大鼠星形胶质细胞中的AR-NOX信号通路，特异性抑制NOX2的活性，减少ROS生成，从而缓解氧化应激损伤<sup>[23]</sup>。这些研究揭示了Scu通过调控多条通路发挥抗氧化作用，突显其作为天然抗氧化剂的潜力（见图2）。

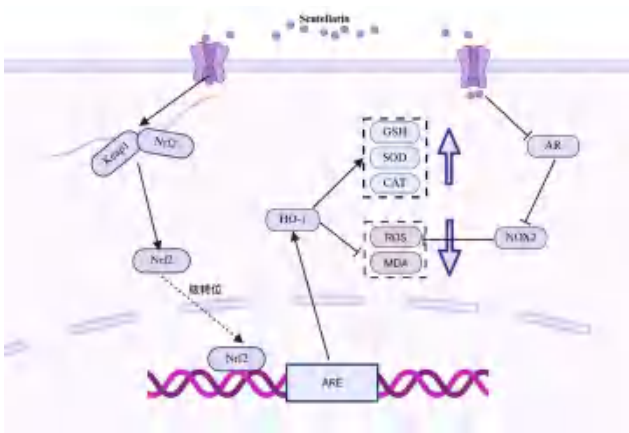


图 2 灯盏花乙素抗氧化应激机制 (绘图软件 Biorender)  
Fig 2 Antioxidant stress mechanism of scutellarin (drawn by Biorender)

注 (Note): Keap1. Kelch 样 ECH 关联蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein 1); ARE. 抗氧化反应元件 (antioxidant response element); AR. 醛糖还原酶 (aldose reductase)。

### 1.3 调节神经递质

谷氨酸 (Glu)、5-羟色胺 (5-HT) 及多巴胺等神经递质和 ND 的病理进程密切相关, 这些神经递质及其受体失调被认为是导致 ND 的重要因素<sup>[24]</sup>。Glu 及其受体失调可引发兴奋性毒性, 导致神经元细胞死亡, Scu 可在多种动物模型中抑制  $\alpha$ -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异噻唑丙酸受体 (AMPA) 和 *N*-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDA) 受体的异常表达, 减弱 Glu 能信号传导, 缓解兴奋性毒性, 进而保护神经元损伤<sup>[25-26]</sup>。5-HT 及其受体在情绪

调节中发挥关键作用, 抑郁症患者常表现出大脑中 5-HT 水平下降及其受体表达减少, Scu 可增强抑郁小鼠前额叶皮层中 5-羟色胺 1A 受体 (5-HT<sub>1A</sub>) 的表达, 从而降低神经元兴奋性, 发挥抗抑郁作用<sup>[27]</sup>。以上研究表明 Scu 通过调节 Glu 及其受体异常激活、上调 5-HT 及其受体的表达, 从而改善神经递质失调, 发挥治疗 ND 的作用 (见图 3)。

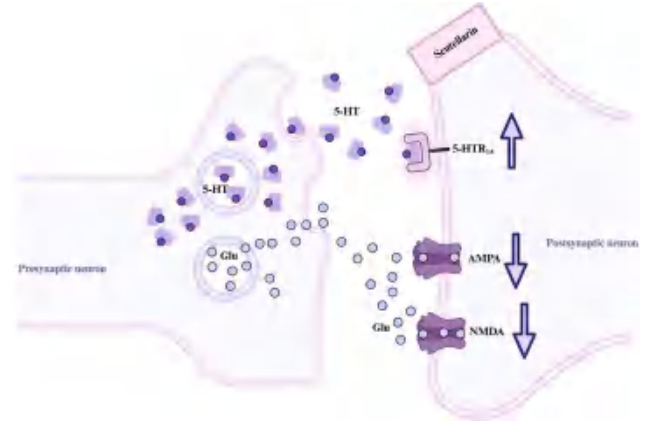


图 3 灯盏花乙素调节神经递质的作用机制 (绘图软件 biorender)  
Fig 3 Mechanism of scutellarin in regulating neurotransmitters (drawn by Biorender)

## 2 Scu 在 ND 中的作用研究

研究证实, Scu 对阿尔茨海默病、帕金森、抑郁症和脑缺血等神经系统疾病具有神经保护作用。因此, 对其在神经系统疾病的机制进行详细总结, 结果如图 4 所示, 以期进一步探索 Scu 对神经系统疾病的防治潜能, 深度挖掘其药用价值。

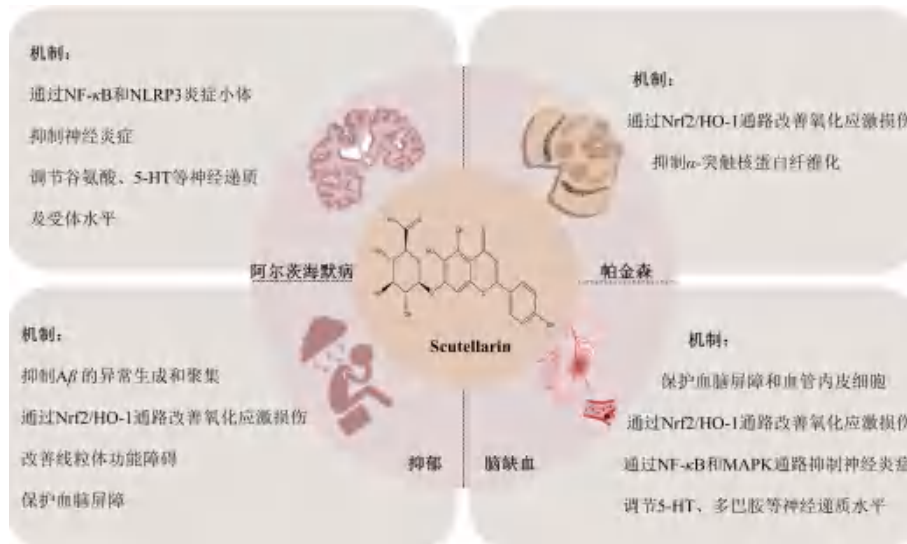


图 4 灯盏花乙素在神经系统疾病中的作用机制 (绘图软件为 PowerPoint)  
Fig 4 Mechanism of scutellarin in the treatment of neurological disorders (drawn by PowerPoint)

### 2.1 Scu 对 AD 的影响

AD 是一种以神经元丢失和突触退化为病理特征的 ND, 表现为进行性记忆衰退及认知功能损伤, 其核心病理机制涉及  $A\beta$  的异常生成和聚

集、氧化应激、血脑屏障损伤和线粒体功能障碍<sup>[28]</sup>。研究表明 Scu 通过多靶点调节 AD 的多个病理环节发挥神经保护作用。

$A\beta$  的异常生成主要由  $\beta$ -分泌酶 (BACE1) 和  $\gamma$ -



分泌酶对淀粉样前体蛋白 (APP) 水解产生<sup>[29]</sup>, 研究显示, Scu 可下调 APP 与 BACE1 的表达, 抑制  $A\beta_{42}$  生成, 改善 AD 小鼠认知功能<sup>[30-31]</sup>。在因  $A\beta$  聚集导致的神经毒性与突触功能障碍的 AD 小鼠模型中, Scu 通过靶向  $A\beta_{42}$  的  $\beta$ -片层, 抑制  $A\beta$  聚集成寡聚体, 减轻神经毒性<sup>[32]</sup>。这些研究表明, Scu 能够抑制  $A\beta$  的生成和聚集, 改善 AD 认知功能。

$A\beta$  斑块在 AD 海马区域沉积, 可诱发氧化应激, 造成神经元损伤, 与痴呆发展程度密切相关。研究发现, Scu 通过激活 Nrf2/HO-1 通路, 增强 AD 大鼠海马 SOD 和 GSH 的活性, 降低 MDA 含量<sup>[33]</sup>, 减轻 AD 的氧化应激损伤。线粒体功能障碍亦会干扰突触的正常功能发挥, 引发认知障碍, 丙酮酸脱氢酶复合体 (PDC) 的磷酸化与 AD 大鼠线粒体功能障碍密切相关, Scu 可以结合丙酮酸脱氢酶激酶 (PDK) 的多个关键结构域, 磷酸化 PDC, 恢复 AD 大鼠海马 CA1 区线粒体能量代谢<sup>[34]</sup>。此外, 血脑屏障完整性的破坏亦会导致认知功能损伤, Scu 可上调 AD 大鼠血脑屏障中紧密连接蛋白 -5 (Claudin-5), 下调基质金属蛋白酶 -9 (MMP-9), 提高  $A\beta_{42}$  的清除率, 从而改善 AD 大鼠学习和记忆能力<sup>[35]</sup>。以上研究表明 Scu 通过减轻氧化应激损伤、改善线粒体功能和减轻血脑屏障损伤, 从而改善 AD 大鼠认知功能障碍。

## 2.2 Scu 对 PD 的影响

PD 是一种以运动迟缓和肌强直为主要表现的 ND, 其核心病理机制涉及氧化应激介导的多巴胺能神经元损伤<sup>[36]</sup>。神经毒素 1-甲基-4-苯基吡啶离子 ( $MPP^+$ ) 可抑制线粒体复合物 I, 引发 ROS 过量和氧化应激, 模拟多巴胺能神经元损伤, 常被用于构建 PD 体外模型<sup>[37]</sup>。研究表明, 在  $MPP^+$  诱导的 PD 细胞模型 (PC12 和 SH-SY5Y 细胞) 中, Scu 通过激活 Nrf2/HO-1 通路, 提高 SOD 和 GSH 水平, 降低 ROS 生成, 缓解氧化应激损伤并发挥神经保护作用<sup>[38-39]</sup>。此外,  $\alpha$ -突触核蛋白 ( $\alpha$ -Syn) 的聚集是 PD 的核心病理特征之一<sup>[36]</sup>, Scu 通过与  $\alpha$ -Syn NAC 区及 C 端结合, 抑制其纤维化并解聚已形成的纤维, 转变为无毒的聚集体, 从而降低 SH-SY5Y 细胞模型中  $\alpha$ -Syn 聚集体的细胞毒性, 改善该模型模拟的多巴胺能神经元损伤<sup>[40]</sup>。这表明 Scu 在 PD 相关细胞模型中可能通过抗氧化和减轻  $\alpha$ -Syn 聚集毒性发挥神经保护作用。

## 2.3 Scu 对抑郁症的影响

抑郁症是一种以愉悦感缺失为核心, 并伴随认知、行为及自主神经功能异常的 ND<sup>[41]</sup>。在抑郁动物模型中, 海马区小胶质细胞激活可释放炎症因子, 诱发神经炎症, Scu 通过抑制小胶质细胞中 NF- $\kappa$ B 通路, 降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6

及 NLRP3 的表达, 提高星形胶质细胞中 IL-4 水平, 减轻神经炎症, 改善抑郁样行为<sup>[42-43]</sup>。5-HT 及其受体失调同样会导致抑郁行为, Scu 可通过上调 HTR<sub>1A</sub> 受体表达, 提高 5-HT 含量, 改善皮质酮诱发的抑郁样行为学表现<sup>[27]</sup>。此外, 下调过度激活的 Glu 受体对 Glu 引起的兴奋性毒性具有抑制作用, Scu 通过抑制 AMPA 受体亚单位 1 (GluA1)、NMDA 受体亚单位 2A (GluN2A) 和 NMDA 受体亚单位 2B (GluN2B) 等 Glu 受体亚基异常表达, 对抗 Glu 引起的兴奋性毒性, 发挥抗抑郁作用<sup>[44]</sup>。综上, Scu 通过调节 5-HT、Glu 及其受体平衡治疗抑郁症。

## 2.4 Scu 对脑缺血的影响

缺血性卒中是由脑血流中断引发的 ND, 小胶质细胞介导的炎症反应为其关键病理环节<sup>[45]</sup>, Scu 可通过抑制 MCAO 大鼠小胶质细胞中 NF- $\kappa$ B 的磷酸化, 减少炎症因子生成, 发挥脑保护作用<sup>[46]</sup>。在脂多糖诱导的小胶质细胞中, Scu 通过激活 MAPK 通路, 促进 IL-4 和 IL-10 释放, 缓解缺血性脑损伤<sup>[15]</sup>, 表明 Scu 通过激活 MAPK 通路、抑制 NF- $\kappa$ B 通路发挥抗炎作用, 减轻脑梗死引起的组织损伤和功能障碍。临床研究表明, 灯盏花素注射液联合依达拉奉可降低缺血性脑卒中患者血清 IL-6 水平, 减轻炎症反应, 并改善神经功能及脑血流动力学状态<sup>[47]</sup>。此外, 缺血性脑卒中中以血管内皮功能障碍和血脑屏障破坏为关键病理特征, 灯盏花素注射液联合参麦注射液可促进一氧化氮 (NO) 的生成, 减少内皮素 -1 的产生, 保护血管内皮细胞和血脑屏障, 从而修复患者受损的神经细胞<sup>[48]</sup>。可见, 灯盏花素注射液联合多种药物通过减轻炎症反应、保护血脑屏障等多种途径治疗缺血性卒中患者。

缺血性脑卒中常采用再灌注疗法恢复脑血流, 但再灌注本身可诱发神经炎症加重脑损伤, 形成缺血再灌注损伤<sup>[49]</sup>, Scu 可通过抑制 NF- $\kappa$ B 通路, 降低缺血再灌注大鼠脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 的表达, 减轻脑组织病理损伤<sup>[50]</sup>。有研究表明, 在不同再灌注时间点, Scu 对脑出血的保护作用与抗氧化有关, Scu 通过激活 Nrf2 通路, 促进其核转位并结合 ARE, 上调 HO-1 表达, 降低 ROS 水平, 发挥抗氧化作用并减少脑梗死面积<sup>[51]</sup>。5-HT 和多巴胺含量在脑缺血患者脑中异常降低, 导致脑梗死体积扩大和神经元损伤增加。临床研究表明, 灯盏花素注射液与阿托伐他汀联合使用可调节患者 5-HT 和多巴胺水平, 减轻患者脑水肿和神经功能缺损<sup>[52]</sup>。Scu 通过多环节、多靶点发挥对缺血再灌注损伤的脑保护作用, 其机制主要涉及抑制炎症反应、抗氧化应激损伤以及



调节神经递质平衡等，由此可知 Scu 对缺血再灌注损伤的脑保护作用具有重要临床意义。

### 3 Scu 纳米制剂在 ND 中的应用

Scu 具有显著的神经保护作用，在 ND 中发挥重要作用，然而，其稳定性差、生物利用度低及生物半衰期短，导致现有 Scu 制剂的临床疗效不理想<sup>[53]</sup>。近年来，研究者通过纳米技术优化

Scu 的递送效率，以克服这些局限性。特别是聚乳酸-羟基乙酸共聚物（PLGA）纳米颗粒、纳米混悬剂和二氧化硅（SiO<sub>2</sub>）纳米颗粒，因其能够显著提高 Scu 的生物利用度并增强脑部靶向能力，成为构建 Scu 递送体系的主要载体。因此，本综述对 Scu 纳米制剂在神经系统疾病中的应用进行了详细总结，见表 1。

表 1 Scu 纳米制剂在 ND 中应用的剂量、给药方式与作用特点

| Tab 1 Dosage, drug delivery modalities, and therapeutic characteristics of scutellarin nanoformulations in neurological disorders |                          |          |                           |       |            |                                                   |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|----------|---------------------------|-------|------------|---------------------------------------------------|------|
| 纳米制剂类型                                                                                                                            | 给药剂量                     | 提高的生物利用度 | 脑靶向性效率提升                  | 给药方式  | 动物 / 细胞模型  | 作用特点                                              | 文献   |
| PLGA 纳米颗粒                                                                                                                         | 2 mL/kg                  | 2.9 倍    | 1.2 倍                     | 静脉给药  | MCAO 大鼠模型  | 提高 Scu 生物利用度，延长其半衰期，提高脑中 Scu 含量，减少脑梗死面积，抑制神经元凋亡   | [55] |
| PLGA 纳米颗粒+磁性纳米颗粒                                                                                                                  | 5 mg/kg                  | 2 倍      | 2.8 倍                     | 静脉给药  | MCAO 大鼠模型  | 通过磁靶向作用促进 Scu 向脑缺血区域富集，提高生物利用度，增强抗炎和抗氧化能力，减少脑梗死面积 | [56] |
| 纳米混悬剂                                                                                                                             | 25、50、100、200、400 μmol/L | —        | —                         | 加入培养基 | PC12 细胞    | 提高 Scu 稳定性、溶解度，降低细胞毒性                             | [58] |
| 纳米混悬剂+原位凝胶技术                                                                                                                      | 20 mg/kg                 | 142 倍    | 大脑皮质：40 倍，小脑：10 倍，嗅球：33 倍 | 鼻腔给药  | BCCAO 大鼠模型 | 提高 Scu 生物利用度和各脑区靶向效率，减少炎症反应及脑组织损伤                 | [59] |
| SiO <sub>2</sub> 纳米颗粒                                                                                                             | 5.3 mg/kg                | 1.6 倍    | —                         | 口服给药  | MCAO 大鼠模型  | 提高 Scu 溶解度、稳定性及口服生物利用度，减少脑梗死面积、脑水肿及氧化损伤           | [61] |
| SiO <sub>2</sub> 纳米颗粒+超临界二氧化碳流体技术                                                                                                 | 20 μmol/L                | —        | —                         | 加入培养基 | Caco-2 细胞  | 降低残留有机溶剂含量，降低细胞毒性                                 | [62] |

注 (Note)：“—”表示相关文献无具体参数 (“—” Indicates that the relevant literature lacks specific parameters )。

#### 3.1 PLGA 纳米颗粒

PLGA 纳米颗粒集高稳定性、可控缓释、长生物半衰期及脑部靶向潜力于一体，是黄酮类化合物的理想递送载体<sup>[54]</sup>。研究发现，将 Scu 包载至 PLGA 纳米颗粒制备 Scu-PLGA 纳米制剂，在 MCAO 大鼠中静脉注射后 12 h 内，其生物利用度和生物半衰期与单纯注射游离 Scu 相比，分别提升 2.9 倍与 1.5 倍，脑靶向效率提高 1.2 倍。Scu-PLGA 在脑内实现更高的药物富集<sup>[55]</sup>。为进一步提高脑部靶向效率，将 PLGA 纳米颗粒负载至磁性纳米颗粒，在外加磁场的引导下实现药物定向富集。Wang 等<sup>[56]</sup>采用纳米沉淀法将 Scu 和四氧化三铁（Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>）共载于 PLGA 纳米颗粒中，制备了兼具磁靶向与缓释功能的复合纳米系统，结果表明，该系统在外加磁场作用下增加血脑屏障通透性，促进 Scu 在脑缺血区富集，使脑靶向效率和生物利用度分别提高 2.8 倍和 2 倍；此外，该纳米系统显著提高 SOD 活性，提升抗氧化能力，同时降低 IL-6、TNF-α 水平，抑制神经炎症，从而改善脑缺血再灌注损伤并保护神经元。这表明 PLGA 纳米颗粒及其复合系统通过优化 Scu 的生物利用度与脑部靶向输送效率。

#### 3.2 纳米混悬剂

纳米混悬剂是一种将药物纳米颗粒稳定分散于适宜的聚合物或表面活性剂体系中的分散体，该制剂可显著提高难溶性药物的溶解度和稳定性<sup>[57]</sup>。Zhang 等<sup>[58]</sup>使用超声辅助反溶剂沉淀法构建 Scu 纳米混悬剂，研究表明，该制剂不仅显著提高 Scu 的溶解度，且在高浓度下对 PC12 细胞的毒性明显低于 Scu 注射液，表现出良好的生物相容性和安全性，为神经功能相关研究提供依据。鼻腔给药作为一种有效的药物输送途径，能够显著改善药物的吸收和生物利用度，且展现出优异的脑部靶向递送潜力，Chen 等<sup>[59]</sup>结合原位凝胶技术，构建 Scu 纳米混悬原位凝胶系统，并基于双侧颈总动脉结扎术（bilateral common carotid artery occlusion, BCCAO）大鼠模型，评估其鼻腔给药后的生物利用度和脑靶向效果，结果显示，该系统的生物利用度提高 142 倍，在大脑皮质、小脑和嗅球的靶向效率分别提高 40、10 和 33 倍；且该系统经嗅神经 / 三叉神经通路实现高效入脑，有效减少炎症细胞浸润及脑组织损伤。综上所述，纳米混悬剂结合鼻腔给药途径和

原位凝胶技术, 不仅能显著提高 Scu 的溶解度、稳定性、生物利用度和脑靶向效能, 还能降低细胞毒性、抑制炎症细胞浸润和减轻脑组织损伤, 为治疗 ND 提供了有效的药物递送策略。

### 3.3 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒

SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒是一类常用于药物或基因传递系统的载体分子, 作为药物递送载体时, 可显著提高药物的溶解度和生物利用度<sup>[60]</sup>。Hao 等<sup>[61]</sup>通过真空旋转蒸发法将 Scu 负载到 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒, 结果显示与传统的 Scu 片剂相比, 该制剂中 Scu 的溶解度和口服生物利用度分别提高 1.5 倍和 1.6 倍, 并在 MCAO 大鼠模型中显著减少脑梗死面积、脑水肿及氧化损伤, 显示出优于市售 Scu 片剂的神经保护作用。为了减少药物加载到 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒过程中可能残留的有机溶剂, Yang 等<sup>[62]</sup>采用超临界二氧化碳流体技术将 Scu 负载至 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒, 该方法不仅能有效降低残留甲醇量, 还使该载体对 Caco-2 细胞的毒性显著低于传统的 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒, 为 Scu 口服纳米制剂在 ND 治疗中的研究奠定基础。这些研究表明, SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒在 Scu 递送中具有显著的优势, 能够有效提高 Scu 的溶解度和生物利用度, 并减轻脑缺血损伤, 发挥神经保护作用。

## 4 结论与展望

本文对 Scu 及其纳米制剂在 ND 治疗领域的研究进展进行综述, 发现 Scu 主要通过抗炎、抗氧化及调节神经递质水平, 在 AD、PD、抑郁症及脑缺血等多种模型中改善病理与功能指标, 其作用机制主要涉及 MAPK、NF- $\kappa$ B 以及 Nrf2/HO-1 等关键信号通路。现有研究表明, 利用 PLGA、纳米混悬剂及 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒等纳米制剂对 Scu 进行包载, 不仅显著提高了其在脑组织中的靶向输送效率, 还增强了其化学稳定性和生物利用度, 从而进一步提升其治疗潜力, 这为 Scu 的纳米制剂开发与运用提供了新的思路。

然而, 现有研究仍存在诸多局限, 主要体现在以下四个方面:

① 动物及细胞模型研究深度不足, 尤其是在 PD 和抑郁症相关模型中, 针对 Scu 的研究较为有限。Scu 具有双向调控特性, 对同一靶点或信号通路在不同疾病状态下可能产生激活或抑制的状态, 具体机制因病理背景而异。目前仅鉴定出少数潜在靶点和通路, 尚难以构建涵盖靶点与通路相互作用的完整机制网络。② 临床转化研究不足, 尽管灯盏花素片及注射液在脑缺血治疗中已有一定应用, 但注射液中含有致敏成分, 易引发中老年人群过敏反应, 且常与活血化瘀类中药联用, 缺乏是否增加出血风险的临床数据。此外,

对于抑郁症、PD 等其他 ND, 目前尚缺乏 I/II 期临床研究, 尤其药代动力学、生物利用度、安全性及疗效等方面的高质量证据。③ 纳米载体设计仍需创新。目前, Scu 纳米制剂的研究主要集中在 PLGA 等传统载体, 其他类型的新型纳米系统开发相对滞后。如外泌体作为一种天然纳米级细胞外囊泡, 除了在 ND 的早期诊断应用广泛, 还因其天然生物相容性、低免疫原性和良好的穿越血脑屏障能力, 已成为一种极具潜力的新型载体。膜仿生纳米颗粒通过细胞膜包覆纳米载体, 在保留其理化特性的同时具有良好的生物相容性与靶向能力, 该新型递药平台在 ND 治疗中潜力显著。并且相比于基于疾病病理生理特征、将修饰药物整合至功能互补型纳米平台以实现精准靶向治疗的前沿策略, 现有研究在设计理念与技术路径上仍显不足。④ 联合用药机制尚不明确, Scu 与其他药物联合使用效果良好, 但其协同机制尚未明晰, 需进一步深入研究以优化联合用药剂量。

综上所述, Scu 在 ND 的治疗中展现出良好前景, 未来可进一步结合人工智能、多组学与系统生物学等前沿技术, 深入解析 Scu 的作用靶点与信号通路。借助 AI 算法进行高通量虚拟筛选, 加快 Scu 衍生物的设计及其与其他药物的协同作用机制预测。借助人工智能和机器学习技术, 预测和优化纳米载体的性能, 并根据不同的疾病和个体患者的差异设计个性化的纳米递送系统。

## 参考文献

- [1] Yang P, Zhang QY, Shen HY, et al. Research progress on the protective effects of aucubin in neurological diseases [J]. Pharm Biol, 2022, 60 (1): 1088-1094.
- [2] Zhang QQ, Jiang QH, Sa K, et al. Research progress of plant-derived natural alkaloids in central nervous system diseases [J]. Phytother Res, 2023, 37 (11): 4885-4907.
- [3] Li ZB, Zhang Y, Liu K, et al. Lignans as multi-targeted natural products in neurodegenerative diseases and depression: recent perspectives [J]. Phytother Res, 2023, 37 (12): 5599-5621.
- [4] Xie YF, Sun GT, Tao Y, et al. Current advances on the therapeutic potential of scutellarin: an updated review [J]. Nat Prod Bioprospect, 2024, 14 (1): 20.
- [5] Zhou Y, Gu CL, Zhu Y, et al. Pharmacological effects and the related mechanism of scutellarin on inflammation-related diseases: a review [J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1463140.
- [6] 李鑫, 张蔚, 王睿韬, 等. 依达拉奉右莰醇注射用浓溶液联合灯盏细辛注射液治疗急性缺血性脑卒中的临床效果 [J]. 中国临床医生杂志, 2024, 52 (3): 299-302.
- [7] 包闯, 徐荣玉. 灯盏花素片联合倍他司汀治疗脑动脉硬化性眩晕的临床效果观察 [J]. 实用中西医结合临床, 2024, 24 (18): 27-30.

- [8] Zhao YY, Miao ZM, Jiang MZ, et al. Effects of breviscapine and C3435T MDR1 gene polymorphism on the pharmacokinetics of fexofenadine, a p-glycoprotein substrate, in healthy volunteers [J]. *Xenobiotica*, 2021, 51 (3): 366-372.
- [9] 李鹏, 李婧, 武能坤, 等. 注射用灯盏花素联合丁苯酞氯化钠注射液治疗急性脑梗死的疗效观察及其对血清 SAA、Hcy、Chemerin 水平的影响 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44 (8): 1712-1716.
- [10] 林慧, 徐天瑞, 郭晓汐, 等. 灯盏乙素生物利用度影响因素研究进展 [J]. *中成药*, 2022, 44 (10): 3234-3238.
- [11] 黎元元, 郭蓉娟, 谢雁鸣, 等. 注射用灯盏花素临床应用专家共识 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45 (10): 2296-2299.
- [12] Biswas K. Microglia mediated neuroinflammation in neurodegenerative diseases; a review on the cell signaling pathways involved in microglial activation [J]. *J Neuroimmunol*, 2023, 383: 578180.
- [13] Li TY, Chen JX, Xie ZY, et al. Ginsenoside ro ameliorates cognitive impairment and neuroinflammation in APP/PS1 mice via the IBA1/GFAP-MAPK signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1528590.
- [14] Oh Y, Jung HJ, Hong S, et al. Aminoacyl transfer ribonucleic acid synthetase complex-interacting multifunctional protein 1 induces microglial activation and M1 polarization via the mitogen-activated protein kinase/nuclear factor-kappa B signaling pathway [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 977205.
- [15] Chen HL, Yang L, Zhang XL, et al. Scutellarin acts via MAPK pathway to promote M2 polarization of microglial cells [J]. *Mol Neurobiol*, 2023, 60 (8): 4304-4323.
- [16] Sun E, Motolani A, Campos L, et al. The pivotal role of NF- $\kappa$ B in the pathogenesis and therapeutics of Alzheimer's disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (16): 8972.
- [17] Duan ZD, Chen HL, Miao W, et al. Scutellarin alleviates microglia-mediated neuroinflammation and apoptosis after ischemic stroke through the PI3K/AKT/GSK3 $\beta$  signaling pathway [J]. *J Cell Commun Signal*, 2024, 18 (2): e12023.
- [18] 王少华, 孙凡凡, 薛威, 等. 灯盏花素调控 NLRP3 炎症小体活化抑制慢性脑缺血大鼠神经元细胞焦亡与凋亡作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2020, 55 (9): 1321-1326.
- [19] Scarian E, Viola C, Dragoni F, et al. New insights into oxidative stress and inflammatory response in neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (5): 2698.
- [20] Cui J, Li HN, Zhang TY, et al. Research progress on the mechanism of curcumin anti-oxidative stress based on signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1548073.
- [21] Han T, Zhang S, Wei RY, et al. Synthesis and biological evaluation of scutellarein derivatives as neuroprotective agents via activating Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Fitoterapia*, 2022, 160: 105207.
- [22] Zhang X, Dong ZC, Fan H, et al. Scutellarin prevents acute alcohol-induced liver injury via inhibiting oxidative stress by regulating the Nrf2/HO-1 pathway and inhibiting inflammation by regulating the AKT, p38 MAPK/NF- $\kappa$ B pathways [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24 (7): 617-631.
- [23] Deng MZ, Sun JB, Peng LL, et al. Scutellarin acts on the AR-NOX axis to remediate oxidative stress injury in a mouse model of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Phytomedicine*, 2022, 103: 154214.
- [24] Davis SE, Cirncione AB, Jimenez AC, et al. The impact of neurotransmitters on the neurobiology of neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (20): 15340.
- [25] Wang CG, Liu YY, Liu X, et al. Scutellarin alleviates ischemic brain injury in the acute phase by affecting the activity of neurotransmitters in neurons [J]. *Molecules*, 2023, 28 (7): 3181.
- [26] Sheng N, Zheng H, Li M, et al. 4, 5 caffeoylquinic acid and scutellarin identified by integrated metabolomics and proteomics approach as the active ingredients of Dengzhan Shengmai, act against chronic cerebral hypoperfusion by regulating glutamatergic and GABAergic synapses [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 152: 104636.
- [27] Sun YL, Chen QL, Cui W, et al. Six-compound combo remedy ameliorates corticosterone-induced depressive behaviors in mice via targeting 5-hydroxytryptamine receptor 1A signaling [J]. *J Leukoc Biol*, 2025, 117 (2): 1-13.
- [28] Tang J, Yousaf M, Wu YP, et al. Mechanisms and structure-activity relationships of polysaccharides in the intervention of Alzheimer's disease: a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 254 (Pt 1): 127553.
- [29] Liu JY, Guo HY, Quan ZS, et al. Research progress of natural products and their derivatives against Alzheimer's disease [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2023, 38 (1): 2171026.
- [30] Li Z, Zhang XB, Gu JH, et al. Breviscapine exerts neuroprotective effects through multiple mechanisms in APP/PS1 transgenic mice [J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 468 (1-2): 1-11.
- [31] Sun FQ, Zhang YL, Wu XR, et al. Breviscapine combined with BMSCs Reduces A $\beta$  deposition in rat with Alzheimer's disease by regulating circular RNA circ-7 [J]. *Curr Mol Med*, 2023, 23 (1): 76-86.
- [32] Zhang SJ, Zhang JX, Wei DF, et al. Dengzhan Shengmai capsules and their active component scutellarin prevent cognitive decline in APP/PS1 mice by accelerating A $\beta$  aggregation and reducing oligomers formation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121: 109682.
- [33] 孙延鹏, 丁力, 刘璐, 等. 野黄芩苷通过刺激 Sirtuin1/Nrf2/HO-1 信号通路改善阿尔茨海默症大鼠学习记忆能力 [J]. *徐州医科大学学报*, 2023, 43 (1): 20-26.
- [34] Sheng N, Zhang ZH, Zheng H, et al. Scutellarin rescued mitochondrial damage through ameliorating mitochondrial glucose oxidation via the Pdk-Pdc axis [J]. *Adv Sci*, 2023, 10 (32): e2303584.
- [35] 李可, 苗果, 柳秋, 等. 灯盏乙素通过细胞转运途径对阿尔茨海默病大鼠  $\beta$ -淀粉样蛋白跨血脑屏障的影响 [J]. *中西*



- 医结合心脑血管病杂志, 2024, 22 (10): 1782-1786.
- [36] Xie LL, Hu LD. Research progress in the early diagnosis of Parkinson's disease [J]. *Neurol Sci*, 2022, 43 (11): 6225-6231.
- [37] Hassani S, Esmacili A. The neuroprotective effects of ferulic acid in toxin-induced models of Parkinson's disease: a review [J]. *Ageing Res Rev*, 2024, 97: 102299.
- [38] Wei W, Wu J, Zhang DD, et al. The synergetic effect of edaravone and scutellarin in the MPP<sup>+</sup>-induced cell model of Parkinson's disease [J]. *Histol Histopathol*, 2025, 40 (9): 1457-1466.
- [39] Li DZ, Tan XP, Tu Q, et al. Breviscapine alleviates MPP<sup>+</sup>-induced damage and apoptosis of SH-SY5Y cells by activating Nrf2 pathway [J]. *Trop J Pharm Res*, 2022, 21 (3): 465-470.
- [40] Zaidi FK, Deep S. Scutellarin inhibits the uninduced and metal-induced aggregation of  $\alpha$ -synuclein and disaggregates preformed fibrils: implications for Parkinson's disease [J]. *Biochem J*, 2020, 477 (3): 645-670.
- [41] Wang Y, Peng M. Research progress on classical traditional chinese medicine jieyu pills in the treatment of depression [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2020, 16: 3023-3033.
- [42] Lu L, Yang LK, Yue J, et al. Scutellarin alleviates depression-like behaviors induced by LPS in mice partially through inhibition of astrocyte-mediated neuroinflammation [J]. *Neurosci Lett*, 2021, 765: 136284.
- [43] Bian HT, Wang GH, Huang JJ, et al. Scutellarin protects against lipopolysaccharide-induced behavioral deficits by inhibiting neuroinflammation and microglia activation in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106943.
- [44] Guo YY, Zhou Y, Li YJ, et al. Scutellarin ameliorates the stress-induced anxiety-like behaviors in mice by regulating neurotransmitters [J]. *Phytother Res*, 2021, 35 (7): 3936-3944.
- [45] Guan X, Zhu ST, Song JQ, et al. Microglial CMPK2 promotes neuroinflammation and brain injury after ischemic stroke [J]. *Cell Rep Med*, 2024, 5 (5): 101522.
- [46] 徐冬垚, 段兆达, 杨毓甲, 等. 灯盏乙素对脑缺血大鼠小胶质细胞 SIRT1/NF- $\kappa$ B 通路的影响 [J]. *神经解剖学杂志*, 2024, 40 (5): 581-587.
- [47] 李辰, 谭燕萍, 毛振林, 等. 灯盏花素注射液联合依达拉奉注射液对未溶栓急性脑梗死患者神经功能、脑血流动力学和血清炎症细胞因子的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22 (24): 4691-4694, 4685.
- [48] 张富慧, 张富全, 郭娟, 等. 参麦注射液联合灯盏花素注射液治疗急性缺血性脑卒中的临床研究 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18 (13): 2150-2153.
- [49] Zhuang H, Lei W, Wu Q, et al. Overexpressed CD73 attenuates GSDMD-mediated astrocyte pyroptosis induced by cerebral ischemia-reperfusion injury through the A2B/NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Exp Neurol*, 2025, 386: 115152.
- [50] Zhang YM, Zhang Z, Wang J, et al. Scutellarin alleviates cerebral ischemia/reperfusion by suppressing oxidative stress and inflammatory responses via MAPK/NF- $\kappa$ B pathways in rats [J]. *Environ Toxicol*, 2022, 37 (12): 2889-2896.
- [51] Xie XH, Wang F, Ge WX, et al. Scutellarin attenuates oxidative stress and neuroinflammation in cerebral ischemia/reperfusion injury through PI3K/Akt-mediated Nrf2 signaling pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 957: 175979.
- [52] 安学雷, 邵宇飞, 张庆博, 等. 灯盏花素注射液结合阿托伐他汀对急性脑梗死 5-HT、DA 水平的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39 (9): 233-236.
- [53] Shi JX, Sun CP, Huang HL, et al.  $\beta$ -glucuronidase-and OATP2B1-mediated drug interaction of scutellarin in deng-zhan xixin injection: a formulation aspect [J]. *Drug Dev Res*, 2020, 81 (5): 609-619.
- [54] You TJ, Zhang SM. Recent advances in PLGA polymer nanocarriers for ovarian cancer therapy [J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1526718.
- [55] Yang C, Zhao Q, Yang SS, et al. Intravenous administration of scutellarin nanoparticles augments the protective effect against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Mol Pharm*, 2022, 19 (5): 1410-1421.
- [56] Wang LB, Yang SS, Li LS, et al. A low-intensity repetitive transcranial magnetic stimulation coupled to magnetic nanoparticles loaded with scutellarin enhances brain protection against cerebral ischemia reperfusion injury [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2022, 74: 103606.
- [57] Jacob S, Nair AB, Shah J. Emerging role of nanosuspensions in drug delivery systems [J]. *Biomater Res*, 2020, 24: 3.
- [58] Zhang T, Li XX, Xu JW, et al. Preparation, characterization, and evaluation of breviscapine nanosuspension and its freeze-dried powder [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14 (5): 923.
- [59] Chen YC, Liu YL, Xie J, et al. Nose-to-brain delivery by nanosuspensions-based in situ gel for breviscapine [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 10435-10451.
- [60] Zhang H, Zuo FJ, Wang BY, et al. Preparation, characterization, and evaluation of mesoporous silica nanoparticles in enhancing oral bioavailability of poorly water-soluble drugs [J]. *Curr Drug Deliv*, 2024, 21 (11): 1529-1536.
- [61] Hao TT, Jiang GW, Lin CT, et al. Advanced oral breviscapine sustained-release tablets for improved ischemic stroke treatment [J]. *Biomaterials*, 2025, 316: 123030.
- [62] Yang G, Li Z, Wu FH, et al. Improving solubility and bioavailability of breviscapine with mesoporous silica nanoparticles prepared using ultrasound-assisted solution-enhanced dispersion by supercritical fluids method [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 1661-1675.

(收稿日期: 2025-06-24; 修回日期: 2025-09-10)

# 槲皮素抗肺癌的作用机制研究进展

滕欢<sup>1</sup>, 王卓溪<sup>1</sup>, 孟天伟<sup>1</sup>, 张钰<sup>1</sup>, 客蕊<sup>2\*</sup> (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, 哈尔滨 150040)

**摘要:** 肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因, 现有治疗手段面临耐药性与毒副作用等挑战。槲皮素是一种来源广泛、易于提取的天然活性成分, 具有多靶点、多通路的作用特点, 在抗肺癌研究中显示出重要潜力。本文系统综述了槲皮素抗肺癌的作用机制, 包括诱导细胞凋亡、自噬和铁死亡, 抑制细胞增殖与转移, 调节肿瘤免疫微环境及代谢重编程等。此外, 槲皮素可增强放化疗敏感性、减轻毒副作用并逆转靶向药物耐药, 体现其在中西医结合治疗中的协同价值。本文旨在为槲皮素的深入机制研究及临床转化提供理论依据与思路。

**关键词:** 槲皮素; 肺癌; 免疫微环境; 增敏减毒

中图分类号: R286

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-219-09

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.031

## Research progress in the mechanism of quercetin against lung cancer

TENG Huan<sup>1</sup>, WANG Zhuoxi<sup>1</sup>, MENG Tianwei<sup>1</sup>, ZHANG Yu<sup>1</sup>, QIE Rui<sup>2\*</sup> (1. Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040; 2. First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040)

**Abstract:** Lung cancer is the main cause of cancer-related death in the world. The existing treatment faces challenges such as drug resistance and side effects. Quercetin is a natural active ingredient with wide sources and easy extraction. It has multi-target and multi-channel effects, and shows important potential against lung cancer. This paper reviewed the mechanism of quercetin in the treatment of lung cancer, including inducing apoptosis, autophagy and iron death, inhibiting cell proliferation and metastasis, regulating tumor immune microenvironment and metabolic reprogramming. In addition, quercetin may enhance the sensitivity of radiotherapy and chemotherapy, reduce toxic effects and reverse the resistance of target drugs, reflecting its synergistic value in integrated traditional Chinese and Western medicine. This paper aims to provide a theoretical basis for its in-depth mechanism and clinical transformation.

**Key words:** quercetin; lung cancer; immune microenvironment; sensitivity enhancement and toxicity reduction

肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因。根据美国癌症协会最新统计数据, 其死亡率高居各类癌症之首, 5 年相对生存率仅为 27%<sup>[1]</sup>。目前, 手术治疗对于早期肺癌效果较好, 但对多数中晚期患者疗效受限。随着化疗药物的使用, 肿瘤细胞适应性突变引起的耐药性是阻碍临床疗效的主要原因<sup>[2-3]</sup>。因此, 开发新型有效药物成为临床研究的紧迫任务。近年来, 中医药在肿瘤治疗中

的价值日益受到重视。中医药整体观念及多成分、多靶点、多通路的作用特点, 为肺癌的防治提供了独特的思路与研究方向<sup>[4]</sup>, 从中药中筛选和开发活性成分已成为一种有效的策略。槲皮素是一种广泛存在于多种中药中的黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗增殖及诱导凋亡等多种药理活性, 在肺癌现代研究中显示出潜在的治疗价值。

槲皮素 (quercetin) 是一种天然黄酮类化合

**基金项目:** 黑龙江省应用技术与开发计划 (No. GY2019YF)。

**作者简介:** 滕欢, 女, 硕士研究生, 主要从事中医药治疗肿瘤相关疾病的机制与临床研究, email: 18883851693@163.com \*通信作者:

客蕊, 女, 主任医师, 教授, 主要从事中医药治疗肿瘤及心血管相关疾病的机制与临床研究, email: qr1521090321@163.com

物, 分子式为  $C_{15}H_{10}O_7$ , 具有高脂溶性与低生物利用度的理化特性, 广泛存在于多种中药 (如黄芪、桑叶)、蔬菜、水果及谷物中<sup>[5]</sup>。现代药理研究表明, 槲皮素具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多重生物活性, 在肺癌、乳腺癌、前列腺癌等恶性肿瘤的防治中显示出潜在的应用价值。研究表明, 槲皮素可通过调控磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt)、核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 等信号通路, 抑制肿瘤细胞生长、侵袭与转移<sup>[6]</sup>。此外, 槲皮素可通过调控细胞代谢重编程、表观遗传修饰等分子机制增强其抗肿瘤效应, 有望成为低毒、高效的抗肿瘤辅助或替代药物候选分子<sup>[7-8]</sup>。尽管槲皮素的抗肿瘤作用已获得较多关注, 但尚未见其在肺癌中的具体作用机制及与现有疗法的协同效应的系统总结。基于此, 本文从中药活性成分与现代药理学结合的角度, 系统综述槲皮素抑制肺癌的作用机制, 包括诱导肿瘤细胞死亡、抑制增殖与转移、调节肿瘤微环境及代谢调控等方面, 并探讨其在放化疗中增敏减毒的潜在应用, 以期对槲皮素的深入开发与临床转化提供理论依据与研究思路。

## 1 诱导肺癌细胞死亡

### 1.1 诱导细胞凋亡

细胞凋亡, 即程序性细胞死亡, 是在基因调控下通过内源性或外源性凋亡途径激活半胱天冬酶 (Caspase) 家族蛋白酶而主动实施的细胞死亡过程<sup>[9]</sup>。槲皮素作为天然黄酮类化合物, 可通过上述两种途径诱导肺癌细胞凋亡。在外源性凋亡途径中, 肿瘤坏死因子 (TNF) 相关凋亡诱导配体 (TRAIL) 与细胞膜表面死亡受体 TRAIL-R1/R2 结合后, 促使死亡诱导信号复合物形成, 进而激活 Caspase-8, 启动凋亡程序<sup>[10]</sup>。研究表明, 槲皮素能以剂量依赖方式增强 TRAIL 介导的 A549 细胞凋亡, 其机制可能与抑制 Akt 通路活化有关<sup>[11]</sup>。在内源性凋亡途径中, B 细胞淋巴瘤 -2 (Bcl-2) 蛋白家族发挥关键调控作用, 其中抗凋亡蛋白 Bcl-2 与促凋亡蛋白 Bax 的平衡状态影响肺癌的进展与预后<sup>[12]</sup>。研究表明, 槲皮素可显著降低 Bcl-2/Bax 的蛋白表达比值, 从而诱导内源性途径的细胞凋亡, 进而抑制非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) A549 和 H1299 细胞的增殖<sup>[13]</sup>。此外, 刘涛等<sup>[14]</sup>研究发现, 槲皮素也能通过调控 Bax、Bcl-2 和肿瘤蛋白 p53 等表达, 促进人小细胞肺癌 H446 细胞的凋亡。槲皮素还可通过 PI3K/Akt 通路诱导细胞凋亡。网络药理学分析提示, TP53、Akt1、TNF 等可能为槲皮素诱导细胞凋亡的关键靶点, 体外实验则进一步证实, 槲皮素能调控 PI3K/Akt/p53 信号通路, 进而诱导 A549 细胞凋亡<sup>[15]</sup>。糖原合成酶激酶 -3 $\beta$  (glycogen

synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ ) 作为参与 DNA 修复并抑制凋亡的蛋白, 是克服肿瘤耐药的潜在靶点<sup>[16]</sup>。槲皮素亦可通过 PI3K/Akt 信号通路介导 GSK-3 $\beta$  失活, 促进细胞凋亡<sup>[17]</sup>。Zhou 等<sup>[18]</sup>研究则发现, 槲皮素通过激活上游分子 SIRT5 来抑制 PI3K/Akt 信号通路, 同时激活内源性凋亡途径, 促进肺癌细胞凋亡。槲皮素通过内、外源性双重死亡途径, 调控 PI3K/Akt/p53、GSK-3 $\beta$  等多条信号通路, 诱导肺癌细胞凋亡, 体现了中药活性成分多靶点、多途径的作用特征。目前研究仍以体外实验为主, 未来在不断深化机制网络的同时, 应着力于开展体内实验或类器官模型研究及临床转化试验, 以揭示其在肺癌临床治疗中的价值。

### 1.2 调控细胞自噬

细胞自噬作为一项关键的分解代谢程序, 通过溶酶体降解胞质成分以维持细胞内稳态, 同时也是诱导细胞死亡的重要机制<sup>[19]</sup>。在自噬调控网络中, AMP 依赖的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) / 雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 信号通路处于核心地位: AMPK 可直接磷酸化 UNC-51 样自噬激活激酶 1 (ULK1), 亦可通过抑制 mTOR 复合物 1 间接激活 ULK1, 进而启动自噬过程。鉴于该通路在自噬调控中的关键作用, 靶向 AMPK/mTOR/ULK1 轴已成为肺癌治疗中一种具有前景的策略<sup>[20]</sup>。值得注意的是, 去乙酰化酶 SIRT1 (sirtuin 1, SIRT1) 作为  $NAD^+$  依赖的调控蛋白, 可通过去乙酰化修饰增强上游激酶肝激酶 B1 (LKB1) 的活性及其与支架蛋白的结合能力, 从而促进 LKB1 对 AMPK 的磷酸化与激活<sup>[21]</sup>。既往研究提示, 槲皮素能够以剂量依赖方式降低整合体 1 (p62) 蛋白表达并提高绿色荧光蛋白 - 微管相关蛋白 1 轻链 3 $\beta$  (GFP-LC3 $\beta$ ) 水平, 表明其具有调控自噬通量的作用<sup>[11]</sup>。文兰香等<sup>[22]</sup>研究进一步证实, 槲皮素可上调 AMPK 通路相关蛋白 (LC3-II/LC3-I、beclin-1、p-AMPK/AMPK), 同时下调 mTOR 通路蛋白 (p-mTOR/mTOR、p-S6K/S6K), 从而诱导肺癌 A549 细胞发生自噬。Guo 等<sup>[23]</sup>研究亦发现, 经不同浓度 (0、12.5、25、50、100  $\mu$ mol/L) 槲皮素处理 A549 及 H1299 细胞 24 h 后, 细胞内自噬相关基因 (LC3-II、beclin-1、Atg5、Atg7 及 Atg12) 的 mRNA 水平显著上调, 同时伴随 SIRT1/AMPK 通路蛋白表达升高及 p62 蛋白水平下降。总之, 槲皮素调控自噬关键标志分子的表达, 并可能通过 SIRT1-AMPK/mTOR 信号轴调控肺癌细胞自噬。为系统阐明槲皮素在肺癌治疗中的价值, 后续研究亟须从单纯的通路验证, 转向体内模型、细胞死亡模式交互及肿瘤免疫微环境等多维度的整合性探索。



### 1.3 诱导细胞铁死亡

铁死亡作为一种调节性细胞死亡方式,其核心机制涉及铁依赖性膜脂质过氧化,进而破坏细胞膜完整性、流动性与功能,最终导致细胞死亡<sup>[24]</sup>。脂质过氧化物(lipid peroxides, LPO)是该过程的关键代谢产物。研究表明,槲皮素可诱导雄性 Balb/c 小鼠肿瘤组织内氢过氧化物与脂质过氧化物水平升高,从而延缓肿瘤进展<sup>[25]</sup>,在分子机制上,谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 与溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 是细胞内重要的抗氧化蛋白,已有多项研究证实,GPX4/SLC7A11 信号通路对铁死亡发挥核心抑制作用<sup>[26-28]</sup>。李畅等<sup>[29]</sup>研究发现,槲皮素能够显著抑制该通路,并伴随线粒体活性氧(mtROS)及 LPO 水平的上调,提示其诱导铁死亡的作用可能与线粒体氧化应激密切相关。为提高槲皮素的稳定性与递送效率,研究者构建了槲皮素-锰离子( $Mn^{2+}$ )共包载纳米颗粒<sup>[30]</sup>,该纳米体系具有类过氧化物酶活性,可催化内源性过氧化氢消耗谷胱甘肽(GSH),促进线粒体与内质网中活性氧(ROS)的生成,并诱导铁代谢紊乱,从而协同增强铁死亡效应。总之,槲皮素可通过作用于 GPX4/SLC7A11 通路,加剧线粒体脂质过氧化与铁代谢紊乱,从而诱导肺癌细胞铁死亡。现有研究缺乏其在肺癌发展不同阶段(如癌前病变、转移、耐药复发)中铁死亡调控作用的系统评估,虽已开发纳米递送系统以改善槲皮素稳定性,但其体内生物分布、靶向效率及长期安全性仍需进一步验证。

## 2 抑制细胞增殖与转移

### 2.1 抑制细胞增殖

槲皮素抑制肿瘤细胞增殖的关键机制之一,是通过干预细胞周期进程实现的。一项研究基于生物信息学方法筛选槲皮素在肺腺癌中的潜在作用靶点,结果发现其关键靶点包括 NIMA 相关激酶 2 (NEK2)、拓扑异构酶 II $\alpha$  (TOP2 $\alpha$ )、Polo 样激酶 (PLK1) 和极光激酶 B (AURKB)<sup>[31]</sup>。NEK2、TOP2 $\alpha$ 、PLK1、AURKB 基因均参与有丝分裂调控和 DNA 稳定性维持,提示槲皮素可能通过诱导 DNA 损伤进而抑制细胞增殖。DNA 损伤可进一步激活细胞周期检查点信号通路,其中共济失调毛细血管扩张突变激酶/检查点激酶 2/p53 (ATM/CHK2/p53) 通路主要引起 S 期阻滞,而共济失调毛细血管扩张与 Rad3 相关激酶/检查点激酶 1/WEE1 G<sub>2</sub> 检查点激酶 (ATR/CHK1/WEE1) 通路则主要导致 G<sub>2</sub>/M 期阻滞<sup>[32]</sup>。Yang 等<sup>[33]</sup>研究显示,在经砷(As)处理的肺腺癌 A549 和 CL1 细胞中,槲皮素干预 48 h 后能诱导 ROS 生成,并

激活 Caspase3,进而引起 DNA 损伤;同时伴随 ATM mRNA 及蛋白表达上调,最终导致细胞周期阻滞于 S 期。此外,微小 RNA-16-5p (miR-16-5p) 已被报道可通过下调 WEE1 和 CHK1 表达促进细胞增殖<sup>[34-35]</sup>。而槲皮素能够下调 miR-16-5p,上调 WEE1 的表达,从而诱导细胞周期停滞于 G<sub>2</sub>/M 期<sup>[36]</sup>。综上所述,槲皮素通过靶向有丝分裂关键基因并激活 DNA 损伤应答网络,协同阻滞肺癌细胞周期于 S 期或 G<sub>2</sub>/M 期。但现有研究对槲皮素在肿瘤复杂微环境中的周期调控的动态性认识仍显薄弱,需系统解析其周期干预网络的特异性,并探索基于周期重编程的协同治疗新策略。

### 2.2 抑制细胞转移

肺癌转移是导致患者死亡的主要原因,其机制涉及上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)及细胞外基质(ECM)降解酶等多种因素<sup>[37]</sup>。槲皮素可通过多靶点、多通路抑制肺癌转移。Wnt/ $\beta$ -连环蛋白途径(Wnt/ $\beta$ -catenin)信号通路是调控 EMT 的关键通路之一。靳莉等<sup>[38]</sup>采用肺癌移植瘤小鼠模型,给予不同浓度的槲皮素干预 10 d,发现槲皮素能够上调 Runt 相关转录因子 3 (Runx3) mRNA 的表达,从而抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,并降低 A549 细胞的侵袭与转移能力。此外,转化生长因子- $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)被认为是促进肺癌细胞侵袭的关键驱动因子,可诱导 EMT 进程<sup>[39]</sup>。研究显示,槲皮素衍生物能抑制 TGF- $\beta$ 1 表达,调节过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 活性,显著下调间充质标志物、上调上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin),进而抑制 EMT<sup>[40]</sup>。在细胞外基质降解方面,基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)可通过降解 ECM 促进肿瘤转移<sup>[41]</sup>。槲皮素代谢物则能以剂量依赖方式抑制 MMP-2 的表达<sup>[42]</sup>。另外,受体酪氨酸激酶 (AXL) 可通过 Janus 激酶/信号转导与转录激活因子 3 (JAK/STAT3) 信号通路促进细胞转移,导致肿瘤细胞增殖、转移及炎症反应发生<sup>[43]</sup>。Huang 等<sup>[44]</sup>研究表明,槲皮素可抑制 AXL 表达,通过调节 STAT3 磷酸化诱导细胞凋亡与自噬,从而抑制 NSCLC 细胞生长。上述实验说明,槲皮素通过靶向 Wnt/ $\beta$ -catenin、TGF- $\beta$ 、JAK/STAT 等关键信号通路,调控 EMT 进程及 ECM 降解酶活性,在多环节抑制肺癌细胞的侵袭与转移能力。基于肿瘤转移依赖于高度异质性的微环境,现有模型未能充分模拟体内 ECM 的物理化学复杂性及基质细胞参与的交互作用,这可能是突破该领域研究的关键之一。

## 3 肿瘤微环境与代谢的表观调控

### 3.1 调控肺癌肿瘤免疫微环境

肿瘤细胞可通过分泌多种免疫抑制因子来抑

制免疫细胞功能,从而实现免疫逃逸<sup>[45]</sup>。槲皮素可作用于多种免疫细胞,调控肿瘤免疫微环境(见图1)。树突状细胞(dendritic cells, DCs)作为关键的抗原呈递细胞,在肿瘤微环境中具有双重作用:一方面可通过提呈肿瘤抗原激活T细胞,启动特异性抗肿瘤免疫应答;另一方面也能分泌大量炎症因子,促进炎症反应<sup>[46-47]</sup>。研究表明,槲皮素能够重编程DCs的功能,使其由促炎表型向免疫调节表型转变<sup>[48]</sup>。在T细胞免疫调控方面,阻断程序性死亡蛋白-1(programmed death-1, PD-1)与细胞程序性死亡-配体1(PD-L1)的相互作用是激活T细胞免疫效应的关键通路,也是当前肿瘤免疫治疗的重要靶点<sup>[49]</sup>。Jing等<sup>[50]</sup>研究发现,槲皮素二水合物可通过阻断PD-1/PD-L1轴,增强T细胞对NCI-H460肺癌细胞的免疫反应,提示槲皮素可能通过激活T细胞功能增强机体抗肿瘤免疫。此外,槲皮素还可调节巨噬细胞表型。M1型巨噬细胞具有抗肿瘤作用,能够分泌促炎因子并激活免疫应答;而M2型巨噬细胞则可能通过介导免疫抑制微环境促进肺癌进展与转移<sup>[51]</sup>。吴璐璐等<sup>[52]</sup>研究显示,槲皮素能够通过抑制分泌型磷酸蛋白1(SPP1)的表达,有效阻止巨噬细胞向M2型极化,进而抑制NSCLC细胞的增殖、迁移和侵袭。在纳米递药系统研究方面,有学者开发了一种兼具双阶段巨噬细胞重编程与磁共振成像(MRI)功能的槲皮素纳米颗粒,该策略实现了诊断与治疗的结合,并能更精准地调控巨噬细胞重编程过程,从而改善肿瘤免疫微环境<sup>[53]</sup>。综上,槲皮素可通过调控DC、T细胞及巨噬细胞等多种免疫细胞的功能,从而改善肿瘤免疫微环境。然而,现有研究多聚焦于槲皮素对单一类型免疫细胞的作用,缺乏其在整体上重塑肿瘤免疫微环境的系统评估,尤其未能深入揭示其对免疫细胞间交互、细胞因子网络、代谢重编程及神经内分泌信号等多维机制的整合调控作用。从现代医学视角看,肿瘤免疫微环境与中医寒热辨证相关,探究槲皮素调控肿瘤免疫微环境的作用机制,可为槲皮素治疗不同中医证型肺癌提供依据,也为将其开发为肿瘤免疫辅助治疗药物奠定重要的理论基石。

### 3.2 调节肿瘤糖代谢

葡萄糖代谢异常是高度异质性肿瘤的典型特征之一,其与肿瘤微环境及免疫逃逸之间的关联已成为当前研究热点<sup>[54]</sup>。瓦博格效应是肿瘤细胞葡萄糖代谢的重要环节,指在氧气充足条件下,肿瘤细胞仍优先通过糖酵解代谢葡萄糖并产生乳酸的现象。在糖酵解途径中,果糖二磷酸醛缩酶A(aldehyde aldolase A, ALDOA)催化果糖-1,6-二磷酸可

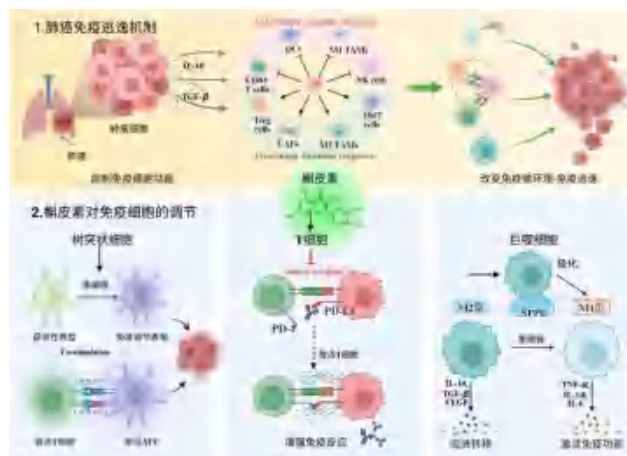


图1 槲皮素调控免疫细胞机制图(由BioRender软件绘制)

Fig 1 Mechanism of quercetin in regulating immune cells (drawn by BioRender)

逆裂解为甘油醛-3-磷酸和磷酸二羟丙酮,此为糖酵解过程中的关键步骤之一<sup>[55]</sup>。李丽芳等<sup>[56]</sup>研究发现,槲皮素能够与ALDOA蛋白特异性结合,并影响其结构稳定性,提示槲皮素可能通过干扰肿瘤细胞的糖代谢过程,进而激活凋亡相关信号通路。

此外,戊糖磷酸途径(PPP)作为葡萄糖代谢的另一重要途径,主要通过葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)的激活来调控,对肺癌细胞生长具有重要作用<sup>[57]</sup>。研究证实,槲皮素可直接抑制G6PD活性,减少还原型辅酶II的生成,从而进一步抑制蛋氨酸亚砷还原酶A(MsrA)的活性<sup>[58]</sup>。这使得MsrA无法修复EGFR<sup>T790M</sup>突变蛋白上被氧化的关键蛋氨酸(M790),最终逆转酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)吉非替尼的耐药性。上述研究表明,槲皮素能够通过调节糖代谢过程中的多个关键酶(如ALDOA与G6PD)影响肺癌细胞的代谢重编程,进而抑制其增殖并逆转耐药。肿瘤代谢与免疫微环境相互调控是当前研究热点。肿瘤细胞的糖代谢通过耗竭营养、积累免疫抑制性代谢物等方式,抑制T细胞、自然杀伤细胞(NK细胞)等免疫效应细胞的功能,从而促进免疫逃逸。目前,槲皮素对肿瘤细胞代谢的重编程作用,是否能够通过改善代谢微环境来逆转免疫抑制、重塑抗肿瘤免疫应答,尚属研究空白。

### 3.3 调控表观遗传修饰

表观遗传调控网络涵盖DNA甲基化、组蛋白修饰及非编码RNA转录等可逆性过程。在肿瘤演进中,肿瘤细胞常利用DNA高甲基化与组蛋白修饰异常沉默肿瘤抗原及相关抗原呈递基因,从而逃避免疫监视<sup>[59]</sup>。除可调控miR-16-5p的表达外<sup>[36]</sup>,槲皮素还可通过干预DNA甲基化与组蛋白修饰途径重塑肿瘤免疫微环境。目前,DNA甲基化状态



的检测已为肺癌的早期诊断、预后评估及靶向治疗提供了潜在的临床辅助策略<sup>[60]</sup>。在分子层面,槲皮素能够通过上调 A549 细胞中 DNA 甲基转移酶 DNMT3A 与 DNMT3B 的表达,显著增强白细胞介素-15 (IL-15) 启动子区域的甲基化水平,从而抑制 IL-15 的表达并进一步抑制细胞增殖<sup>[61]</sup>。作为一类依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD<sup>+</sup>) 的组蛋白去乙酰化酶, SIRT1 通过介导染色质重塑和调控多基因表达,发挥重要的表观遗传修饰功能。此外,它还参与调节炎症、代谢及氧化应激等细胞过程,并与乳腺癌、肝癌、肺癌等多种疾病的发生发展密切相关<sup>[62]</sup>。槲皮素已被证实可通过 SIRT1/AMPK 信号通路诱导细胞凋亡<sup>[23]</sup>,但其是否通过影响 SIRT1 介导的表观遗传修饰发挥作用,仍有待进一步研究。上述实验结果表明,槲皮素可通过表观遗传重塑多种路径抑制肺癌进展。值得注意的是,代谢重塑与表观遗传重塑之间存在密切关系,两者共同参与肿瘤免疫微环境的调控(见图 2)。目前研究机制尚不够深入,例如槲皮素对 SIRT 家族等特定表观遗传修饰酶的作用及其下游靶点尚未系统阐明;且现有证据多基于细胞实验,其在活体内能否稳定逆转肿瘤相关表观遗传沉默并重塑免疫微环境,尚缺乏充足的依据。关注代谢与表观遗传如何协同调控肿瘤免疫原性及免疫细胞功能,可能是研究肿瘤微环境的另一个方向。

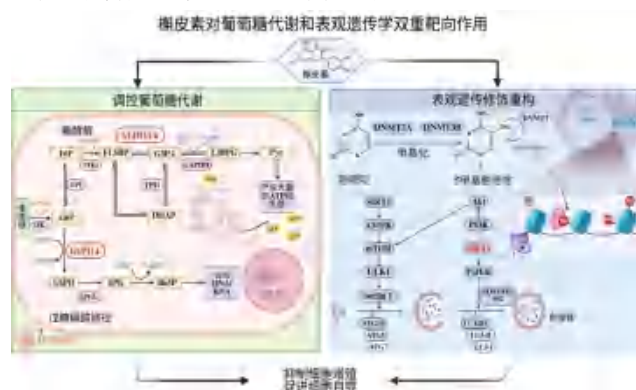


图 2 槲皮素抗肺癌的代谢与表观遗传调控机制图(由 BioRender 软件绘制)

Fig 2 Metabolic and epigenetic regulation mechanism of quercetin against lung cancer (drawn by BioRender)

#### 4 槲皮素在肺癌联合治疗中的应用

放化疗引起的毒副作用及其多机制耐药性,是当前肿瘤临床治疗中的核心挑战之一<sup>[63]</sup>。槲皮素因其多靶点、多途径与多通路的调控特性,在改善肿瘤放化疗耐药方面展现出潜在优势。在放疗增敏方面,槲皮素可通过诱导 ROS 释放及 DNA 双链断裂,增强 NSCLC 细胞对放射治疗的敏感性<sup>[64]</sup>。同时,槲皮素还能抑制高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) /Toll 样受体 4 (TLR4) /NF- $\kappa$ B/ROS 信

号轴,减轻重离子辐射引发的旁观者效应,从而保护正常肺上皮细胞并降低放射相关毒性<sup>[65]</sup>。此外,表皮生长因子受体 (EGFR) 突变是 NSCLC 耐药的重要机制,槲皮素可通过下调丝氨酸蛋白酶抑制剂 Kazal 型 6 (SPINK6) 抑制 EGFR 活化,进而提升肺癌细胞对放疗的反应<sup>[66]</sup>。近年来,基于纳米载药系统的研究进一步拓展了槲皮素的应用潜力,为实现其高效靶向递送和功能强化提供了新策略。例如,负载槲皮素的氧化铈纳米酶体系不仅能强化其对肿瘤细胞增殖的直接抑制活性,还可通过改善肿瘤微环境中的缺氧状态,协同增强放疗诱导的 DNA 损伤,从而在多层次上提升放疗的敏感性<sup>[67]</sup>。

在化疗辅助方面,铂类药物尤其是顺铂仍是肺癌化疗的基石。研究表明,槲皮素与顺铂联用可协同增强抗肿瘤活性,其机制可能与槲皮素下调谷胱甘肽 S-转移酶 P1 (GSTP1) 与 JAK/STAT 信号通路有关<sup>[68]</sup>。环磷酰胺作为广谱化疗药物,通过引起 DNA 损伤发挥疗效,但常伴随显著毒副作用。实验证实,槲皮素能够减轻环磷酰胺诱导的肺毒性,其作用表现为丙二醛 (MDA) 水平降低、超氧化物歧化酶 (SOD) 上调和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 表达升高,提示槲皮素可能通过调节氧化应激途径缓解化疗相关损伤<sup>[69]</sup>。此外,槲皮素纳米制剂亦可提升肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性<sup>[70]</sup>。除传统放化疗外,槲皮素在逆转靶向药物耐药方面亦具有价值。研究显示,槲皮素可恢复肿瘤细胞对 TKIs 的敏感性<sup>[44, 58]</sup>,并通过调控线粒体自噬相关信号通路,如蛋白酪氨酸磷酸酶 (SHP2) /ROS/AMPK/X 盒结合蛋白 1 (XBP-1) /PARK7 基因编码的蛋白质 (DJ-1) 通路减轻吉非替尼所致的心肌细胞损伤<sup>[71]</sup>。由此可见,槲皮素通过调控线粒体自噬、氧化还原和缺氧微环境等参与放化疗增敏、毒副作用缓解及耐药逆转,表现出显著的辅助治疗潜力。目前,关于槲皮素的临床研究主要集中于慢性炎性肺病领域,初步证实了其在患者群体中的短期耐受性与安全性基础<sup>[72-74]</sup>。将其能否直接应用于肺癌治疗,最佳剂量、给药方案、治疗窗口以及与现有疗法的联合应用,均有待严谨的临床试验予以验证。

#### 5 总结与展望

本文系统梳理了槲皮素通过诱导不同形式的细胞死亡、抑制增殖转移、调节肿瘤微环境与代谢等多重机制(见表 1 及图 3),在肺癌防治中展现出的巨大潜力。这些发现不仅印证了中药活性成分多靶点、多通路的整体作用特点,体现中医“整体观念”治疗疾病理念,也为将槲皮素开发为一种低毒、高效的肺癌辅助或替代治疗策略



表 1 槲皮素抗肺癌核心机制

Tab 1 Quercetin anti-lung cancer core mechanism

| 中药成分     | 细胞系 / 模型                            | 用法用量                                                                       | 主要作用机制                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 文献   |
|----------|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 槲皮素      | A549 细胞株                            | 20 ~ 80 $\mu\text{mol/L}$ , 12 h                                           | LC3- II 转化 $\uparrow$ , p62 蛋白 $\downarrow$ , 促进自噬体形成与降解; p-Akt 磷酸化 $\downarrow$ , Caspase-3 切割 $\uparrow$ , 促进细胞凋亡                                                                                                                                                                                                                          | [11] |
|          | H446 细胞                             | 20 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 12 ~ 72 h                                     | p53、Bax 蛋白 $\uparrow$ , Bcl-2 蛋白 $\downarrow$ , 细胞周期阻滞于 G <sub>2</sub> /M 期                                                                                                                                                                                                                                                                  | [14] |
|          | A549、BEAS-2B 细胞                     | 20 ~ 40 $\mu\text{g/mL}$ , 24 h                                            | 显著抑制 A549 细胞活力, 但对正常 BEAS-2B 细胞活力无显著影响; Bcl-2 蛋白 $\downarrow$ , Bax 蛋白 $\uparrow$ , p-PI3K 和 p-Akt $\downarrow$ , p-p53 $\uparrow$                                                                                                                                                                                                           | [15] |
|          | A549 细胞株                            | 10 ~ 40 $\mu\text{mol/mL}$ , 24 ~ 72 h                                     | 呈时间-剂量依赖性抑制 A549 细胞的增殖活力; <i>PI3K</i> 、 <i>Akt</i> 、 <i>GSK-3<math>\beta</math></i> mRNA $\downarrow$ ; p-PI3K、p-Akt、p-GSK-3 $\beta$ $\downarrow$                                                                                                                                                                                            | [17] |
|          | A549、H1299、BEAS-2B 细胞, Lewis 荷瘤小鼠模型 | 5 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 6 ~ 48 h; 灌胃 200 mg/kg, 3 周                    | A549 和 H1299 细胞: G <sub>2</sub> /M 期延长, 抑制其增殖和转移; Caspase-3、Bax 蛋白 $\uparrow$ , Bcl-2 蛋白 $\downarrow$ , DNA 双链断裂 $\uparrow$ , 诱导细胞凋亡; SIRT5 $\uparrow$ , p-PI3K、p-Akt $\downarrow$ ; 肿瘤组织: 磷酸化组蛋白 H2AX ( $\gamma$ -H2AX)、SIRT5、Caspase-3、Bax 阳性细胞 $\uparrow$ ; p-PI3K、p-Akt、磷酸化 DNA-PK 催化亚基 (p-DNA-PKcs)、p-ATR、p-ATM、Bcl-2 阳性细胞 $\downarrow$ | [18] |
|          | A549 细胞株                            | 100 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 24 ~ 72 h                                    | LC3- II /LC3- I 比值、beclin-1 蛋白 $\uparrow$ , 诱导细胞自噬; p-AMPK/AMPK 蛋白 $\uparrow$ , p-mTOR/mTOR、p-S6K/S6K 蛋白 $\downarrow$                                                                                                                                                                                                                        | [22] |
|          | A549、H1299 细胞                       | 12.5 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ , 24 h                                        | Bcl-2/Bax $\downarrow$ , cleaved Caspase-3、LC3- II /LC3- I 比值、beclin-1 $\uparrow$ , p62 $\downarrow$ , <i>LC3-II</i> 、 <i>beclin-1</i> 、 <i>Atg5</i> 、 <i>Atg7</i> 和 <i>Atg12</i> 的 mRNA $\uparrow$ ; SIRT1、p-AMPK/AMPK 比值 $\uparrow$                                                                                                        | [23] |
|          | A549 细胞株                            | 50 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$ , 24 ~ 72 h                                     | GSH、GPX4 和 SLC7A11 蛋白 $\downarrow$ , p53 蛋白 $\uparrow$ , mtROS、LPO 和 Fe <sup>2+</sup> 含量 $\uparrow$ , Caspase-3、Caspase-9、细胞色素 C (Cyt C)、Bax $\uparrow$ , Bcl-2 $\downarrow$                                                                                                                                                                 | [29] |
|          | A549、CL-1 细胞                        | 10 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 24 h                                          | 抑制肺癌细胞增殖, 诱导 DNA 双链断裂, <i>ATM</i> mRNA 及蛋白 $\uparrow$ , 诱导 S 期细胞周期阻滞, ROS、Caspase-3 $\uparrow$                                                                                                                                                                                                                                               | [33] |
|          | GLC-82、HTB-182 等细胞                  | 0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 0 ~ 72 h                                       | 抑制细胞活力, 增强放射敏感性; miR-16-5p $\uparrow$ , <i>WEE1</i> $\downarrow$ , Bax、p53 $\uparrow$ , Bcl-2、CHK1 $\downarrow$ , 增强放射诱导的凋亡                                                                                                                                                                                                                  | [36] |
|          | A549 细胞及其裸鼠移植瘤模型                    | 12.5 ~ 50.0 mg/kg 腹腔注射, 治疗 10 d                                            | 抑制肿瘤增殖、侵袭与转移; <i>Runx3</i> mRNA 及蛋白表达 $\uparrow$ , Wnt3a、 $\beta$ -catenin、MMP-2、MMP-9 蛋白表达 $\downarrow$                                                                                                                                                                                                                                     | [38] |
|          | A549、H1975、H1975-MS35 细胞, 裸鼠移植瘤模型   | 0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 24 ~ 48 h; 腹腔注射 50 mg/kg $\cdot$ d, 治疗 20 d    | 抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡、自噬, AXL、p-AXL、p-STAT3 $\downarrow$ , cleaved Caspase-3 $\downarrow$                                                                                                                                                                                                                                                           | [44] |
|          | A549 细胞株, M2-TAMs 模型等               | 20 ~ 100 $\mu\text{mol/L}$ , 24 h                                          | 抑制 TAMs 向 M2 型极化: 甘露糖受体 (CD206) 免疫荧光阳性率 $\downarrow$ , 甘露糖受体 C1 型 ( <i>MRC1</i> )、精氨酸酶 1 ( <i>Arg1</i> )、类几丁质酶蛋白 3 ( <i>Ym1</i> ) mRNA $\downarrow$ , IL-10、转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ ) $\downarrow$ , IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ $\uparrow$ , SPP1 蛋白表达 $\downarrow$                                                                    | [52] |
|          | A549 细胞株                            | 0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 48 h                                           | 抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡; 与 ALDOA 存在特异性结合, 并改变其蛋白结构稳定性                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | [56] |
|          | A549、H2228 等细胞, 皮下移植瘤, 原位肺癌模型       | 0 ~ 40 $\mu\text{mol/L}$ , 24 ~ 48 h; 腹腔注射 40 mg/(kg $\cdot$ d), 20 ~ 60 d | G6PD 酶活性 $\downarrow$ , NADPH $\downarrow$ , MsrA 酶功能下降, 逆转吉非替尼耐药                                                                                                                                                                                                                                                                            | [58] |
|          | A549 细胞株                            | 20 ~ 60 $\mu\text{mol/L}$ , 24 h                                           | 抑制细胞增殖, IL-15 $\downarrow$ , DNMT3A、DNMT3B $\uparrow$ , 增加 IL-15 启动子甲基化                                                                                                                                                                                                                                                                      | [61] |
|          | A549、H1650 细胞                       | 5 ~ 60 $\mu\text{mol/L}$ , 48 h                                            | 磷酸化细胞分裂周期蛋白 25C (p-Cdc25c)、p-Cdc2 $\uparrow$ , 细胞周期蛋白 B1 (Cyclin B1) $\downarrow$ , G <sub>2</sub> /M 期细胞比例 $\uparrow$ , 联合处理后 DNA 双链断裂程度、ROS 水平及细胞凋亡率显著 $\uparrow$                                                                                                                                                                          | [64] |
|          | A549、A549-R 细胞                      | 5 ~ 15 $\mu\text{mol/L}$                                                   | 增强放射敏感性, 抑制 A549-R 细胞的增殖, A549-R 细胞的凋亡率 $\uparrow$ , SPINK6、p-EGFR $\downarrow$                                                                                                                                                                                                                                                              | [66] |
|          | A549、A549/DDP 细胞                    | 0 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ , 48 h                                           | GSTP1、p-JAK1、p-STAT3 蛋白 $\downarrow$ , 增强顺铂抗肿瘤活性                                                                                                                                                                                                                                                                                             | [68] |
|          | A549、H69、W138 细胞, 环磷酸腺苷诱导的肺毒性模型     | 6.25 ~ 100 $\mu\text{g/mL}$ , 24 ~ 72 h 腹腔注射 100 mg/(kg $\cdot$ d), 15 d   | 抗细胞活性, Bax $\uparrow$ , Bcl-2 $\downarrow$ , 激活 Caspase-3; MDA $\downarrow$ , 影响 SOD 和 GSH-Px 水平, 抑制氧化应激, 改善肺损伤                                                                                                                                                                                                                              | [69] |
|          | NSCLC 异种移植瘤模型                       | 腹腔注射 50 mg/(kg $\cdot$ d), 2 周                                             | 激活 SHP2 蛋白, XBP-1 和 p-STING 表达 $\downarrow$ , NOX4 (NADPH 氧化酶 4)、XBP-1/DJ-1 和凋亡相关蛋白表达 $\uparrow$ , p-AMPK $\downarrow$ , 抑制 ROS 产生, 缓解心脏纤维化                                                                                                                                                                                                  | [71] |
| 槲皮素+百里香酚 | A549、H1299 细胞                       | 5 ~ 160 $\mu\text{mol/L}$ , 24 h                                           | 增强细胞毒性, Bax $\uparrow$ , Bcl-2 $\downarrow$                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | [13] |

续表 1

| 中药成分    | 细胞系 / 模型                                | 用法用量                                                 | 主要作用机制                                                                                  | 文献   |
|---------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 槲皮素代谢物  | A549 细胞株                                | 血浆中总槲皮素平均浓度约为 13.9 μmol/L, 24 h                      | 抑制细胞侵袭和迁移, MMP-2↓, nm23-H1、金属蛋白酶组织抑制因子-2 (TIMP-2)、PPAR-γ↑                               | [42] |
| 槲皮素纳米颗粒 | Lewis 和 A549 细胞, Lewis 荷瘤小鼠模型           | 0 ~ 5 μg/mL, 48 h 静脉注射 10 mg/kg, 观察 12 d             | Bax↑, Bcl-2↓, 激活 Caspase, 增强肿瘤细胞凋亡率; 消耗 GSH, 促进 ROS 积累, 导致线粒体和内质网破裂, 促进脂质过氧化, 诱导肿瘤细胞铁死亡 | [30] |
| 槲皮素纳米酶  | A549、NHBE 细胞, Balb/c 裸鼠皮下移植瘤模型          | 0 ~ 100 μmol/L, 12 ~ 24 h; 静脉注射 0.5 mg/(kg · d), 2 周 | 增强 A549 细胞的摄取, 细胞凋亡率↑, HIF-1α↓; 抑制肿瘤生长, γ-H2AX、多聚 ADP 核糖聚合酶切割产物 (cleaved PARP)、ROS 显著↑  | [67] |
| 槲皮素纳米颗粒 | A549、A549/Taxol 细胞, 紫杉醇 (PTX) 耐药异种移植瘤模型 | 16 μg/mL, 48 h; 48 h 腹腔注射 80 mg/kg, 4 周              | 增强对 A549 及 A549/Taxol 细胞的细胞毒性, 与 PTX 联合处理后, p-Akt 和磷酸化细胞外调节蛋白激酶 (p-ERK) 显著↓             | [70] |

提供了坚实的理论依据。

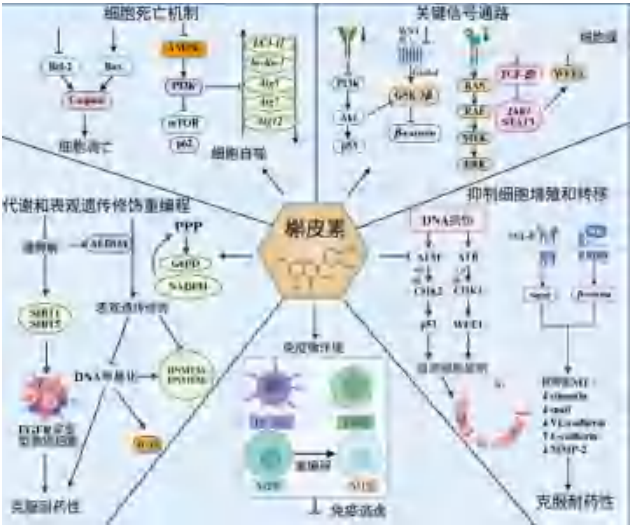


图 3 槲皮素抗肺癌机制图 (由 BioRender 软件绘制)  
Fig 3 Anti-lung cancer mechanism of quercetin ( drawn by BioRender )

然而，当前研究仍存在明显的局限性。大多研究针对 NSCLC，缺乏对小细胞肺癌这一高侵袭性亚型的特异性研究。机制研究多停留在细胞层面，动物实验及临床试验极度匮乏，研究内容也多为单一机制或通路的验证，对槲皮素如何系统整合“免疫调节-代谢重塑-表观遗传”网络从而最终重塑肿瘤微环境的整体认识不足。此外，槲皮素水溶性差、生物利用度低的问题尚未得到解决，虽有纳米递送等新策略出现，但其靶向效率及体内代谢过程仍需深入评估。而槲皮素在中药复方中的作用有待进一步研究。因此，未来研究应聚焦于以下方向以推动其临床转化：

- ① 深化机制的系统性研究：利用蛋白质组学、代谢组学、单细胞测序及空间转录组等前沿技术，阐明槲皮素核心靶点与调控网络，及其在复杂机体环境中的药代动力学、生物利用度、组织分布及长期安全性。
- ② 加强转化研究与联合治疗探索：评估槲皮素单用或与放疗、靶向治疗、免疫检查点抑制剂联用

的安全性、耐受性与初步疗效。例如，探索槲皮素能否通过重塑免疫微环境成为免疫治疗的“增敏剂”，或通过调控铁死亡逆转靶向耐药。

③ 创新制剂技术与中医理论融合研究：基于结构修饰或新型递送系统改善槲皮素的成药性，从“方证对应”角度构建不同肺癌证型模型。或研究其在中药复方中的配伍贡献及与“辨证论治”结合的精准应用策略。探究其在不同方剂中作为“君”“臣”“佐使药”成分的主要作用，以利于其向临床转化。

总之，槲皮素作为源自中药的天然活性分子，其深度开发有望为肺癌的综合治疗体系提供新的思路。

### 参考文献

- [1] Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, et al. Cancer statistics, 2025 [J]. CA Cancer J Clin, 2025, 75 (1): 10-45.
- [2] Jeon H, Wang S, Song JM, et al. Update 2025: management of non-small-cell lung cancer [J]. Lung, 2025, 203 (1): 53.
- [3] Wagle NS, Nogueira L, Devasia TP, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2025 [J]. CA Cancer J Clin, 2025, 75 (4): 308-340.
- [4] Xi ZC, Dai RC, Ze YF, et al. Traditional Chinese medicine in lung cancer treatment [J]. Mol Cancer, 2025, 24 (1): 57.
- [5] Carrillo-Martinez EJ, Flores-Hernández FY, Salazar-Montes AM, et al. Quercetin, a flavonoid with great pharmacological capacity [J]. Molecules, 2024, 29 (5): 1000.
- [6] Rajesh UR, Sangeetha D. Therapeutic potentials and targeting strategies of quercetin on cancer cells: challenges and future prospects [J]. Phytomedicine, 2024, 133: 155902.
- [7] Reyes-Farias M, Carrasco-Pozo C. The anti-cancer effect of quercetin: molecular implications in cancer metabolism [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (13): 3177.
- [8] Zhu JF, Cheng XJ, Naumovski N, et al. Epigenetic regulation by quercetin: a comprehensive review focused on its biological mechanisms [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2025, 65 (4): 627-646.
- [9] Moyer A, Tanaka K, Cheng EH. Apoptosis in cancer biology and therapy [J]. Annu Rev Pathol: Mech Dis, 2025, 20 (1): 303-328.

- [10] Boccellato C, Rehm M. TRAIL-induced apoptosis and proteasomal activity-mechanisms, signalling and interplay [J]. *Biochim Biophys Acta-Mol Cell Res*, 2024, 1871 (4): 119688.
- [11] Moon JH, Eo SK, Lee JH, et al. Quercetin-induced autophagy flux enhances TRAIL-mediated tumor cell death [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34 (1): 375-381.
- [12] Alam M, Alam S, Shamsi A, et al. Bax/Bcl-2 cascade is regulated by the EGFR pathway: therapeutic targeting of non-small cell lung cancer [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 869672.
- [13] Alam S, Mohammad T, Padder RA, et al. Thymoquinone and quercetin induce enhanced apoptosis in non-small cell lung cancer in combination through the Bax/Bcl-2 cascade [J]. *J Cell Biochem*, 2022, 123 (2): 259-274.
- [14] 刘涛, 张雅雅, 许英艺, 等. 槲皮素对人小细胞肺癌 H446 细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2014, 21 (2): 169-174.
- [15] Ye BB, Chen P, Lin C, et al. To reveal the potential mechanism of quercetin against NSCLC based on network pharmacology and experimental validation [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2025, 28 (16): 2917-2932.
- [16] Lin JT, Song T, Li C, et al. GSK-3 $\beta$  in DNA repair, apoptosis, and resistance of chemotherapy, radiotherapy of cancer [J]. *BBA-Mol Cell Res*, 2020, 1867 (5): 118659.
- [17] 王翊, 蒲晓芳. 槲皮素治疗非小细胞肺癌的网络药理学分析及细胞实验验证 [J]. *食品工业科技*, 2025, 46 (2): 334-342.
- [18] Zhou BC, Yang Y, Pang XM, et al. Quercetin inhibits DNA damage responses to induce apoptosis via SIRT5/PI3K/Akt pathway in non-small cell lung cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115071.
- [19] Liu SZ, Yao SJ, Yang H, et al. Autophagy: regulator of cell death [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14 (10): 648.
- [20] Chun Y, Kim J. AMPK-mTOR signaling and cellular adaptations in hypoxia [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (18): 9765.
- [21] Ruderman NB, Xu XJ, Nelson L, et al. AMPK and SIRT1: a long-standing partnership? [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 298 (4): E751-760.
- [22] 文兰香, 覃世运, 陈丽君. 槲皮素调控 AMPK/mTOR 通路对肺癌 A549 细胞自噬的影响 [J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36 (19): 2375-2379.
- [23] Guo HJ, Ding H, Tang X, et al. Quercetin induces pro-apoptotic autophagy via SIRT1/AMPK signaling pathway in human lung cancer cell lines A549 and H1299 in vitro [J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12 (9): 1415-1422.
- [24] Zhou Q, Meng Y, Li DS, et al. Ferroptosis in cancer: from molecular mechanisms to therapeutic strategies [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1): 55.
- [25] Albrecht C, Cittadini MC, Soria EA. Pharmacological activity of quercetin and 5 caffeoylquinic acid oral intake in male Balb/c mice with lung adenocarcinoma [J]. *Arch Med Res*, 2020, 51 (1): 8-12.
- [26] Zhang H, Pan JN, Huang SY, et al. Hydrogen sulfide protects cardiomyocytes from doxorubicin-induced ferroptosis through the SLC7A11/GSH/GPx4 pathway by Keap1 S-sulphydration and Nrf2 activation [J]. *Redox Biol*, 2024, 70: 103066.
- [27] Li QJ, Peng F, Yan XY, et al. Inhibition of SLC7A11-GPX4 signal pathway is involved in aconitine-induced ferroptosis in vivo and in vitro [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 116029.
- [28] He R, Wei YC, Peng ZY, et al.  $\alpha$ -Ketoglutarate alleviates osteoarthritis by inhibiting ferroptosis via the ETV4/SLC7A11/GPX4 signaling pathway [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29 (1): 88.
- [29] 李畅, 王浩, 贺千羽, 等. 槲皮素通过诱导铁死亡抑制 A549 细胞增殖的作用及机制研究 [J]. *中草药*, 2022, 53 (22): 7112-7120.
- [30] Qiu C, Xia F, Tu QC, et al. Multimodal lung cancer theranostics via manganese phosphate/quercetin particle [J]. *Mol Cancer*, 2025, 24 (1): 43.
- [31] Zhang YQ, Li K, Guo Q, et al. A new risk model based on 7 quercetin-related target genes for predicting the prognosis of patients with lung adenocarcinoma [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 890079.
- [32] Li SY, Wang LL, Wang YY, et al. The synthetic lethality of targeting cell cycle checkpoints and PARPs in cancer treatment [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15 (1): 147.
- [33] Yang P, Li XP, Wen QH, et al. Quercetin attenuates the proliferation of arsenic-related lung cancer cells via a caspase-dependent DNA damage signaling [J]. *Mol Carcinog*, 2022, 61 (7): 655-663.
- [34] Wang ZM, Hu SY, Li XY, et al. MiR-16-5p suppresses breast cancer proliferation by targeting ANLN [J]. *BMC Cancer*, 2021, 21 (1): 1188.
- [35] Krell A, Wolter M, Stojcheva N, et al. MiR-16-5p is frequently down-regulated in astrocytic gliomas and modulates glioma cell proliferation, apoptosis and response to cytotoxic therapy [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2019, 45 (5): 441-458.
- [36] Wang Q, Chen YK, Lu HJ, et al. Quercetin radiosensitizes non-small cell lung cancer cells through the regulation of miR-16-5p/WEE1 axis [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72 (5): 1012-1022.
- [37] Wang KL, Chen Q, Shao YY, et al. Anticancer activities of TCM and their active components against tumor metastasis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 133: 111044.
- [38] 靳莉, 张小红, 胡朝阳, 等. 槲皮素对人肺癌 A549 细胞移植瘤模型小鼠移植瘤生长和肺转移及细胞侵袭和迁移的影响及其机制 [J]. *吉林大学学报 (医学版)*, 2023, 49 (4): 1018-1026.
- [39] Deb VK, Chauhan N, Jain U. Deciphering TGF- $\beta$ 1's role in drug resistance and leveraging plant bioactives for cancer therapy [J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 988: 177218.
- [40] Ballav S, Ranjan A, Basu S. Partial activation of PPAR- $\gamma$  by synthesized quercetin derivatives modulates TGF- $\beta$ 1-induced EMT in lung cancer cells [J]. *Adv Biol*, 2023, 7 (10): e2300037.
- [41] Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. The complex role of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (24): 13691.
- [42] Chuang CH, Yeh CL, Yeh SL, et al. Quercetin metabolites inhibit MMP-2 expression in A549 lung cancer cells by PPAR- $\gamma$  associated mechanisms [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 33: 45-53.
- [43] Tang YX, Zang HJ, Wen QY, et al. AXL in cancer: a modulator of drug resistance and therapeutic target [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42 (1): 148.



- [44] Huang KY, Wang TH, Chen CC, et al. Growth suppression in lung cancer cells harboring EGFR-C797S mutation by quercetin [J]. *Biomolecules*, 2021, 11 (9): 1271.
- [45] Kumagai S, Momoi Y, Nishikawa H. Immunogenomic cancer evolution: a framework to understand cancer immunosuppression [J]. *Sci Immunol*, 2025, 10 (105): eabo5570.
- [46] Stevens D, Ingels J, Van Lint S, et al. Dendritic cell-based immunotherapy in lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2021, 11: 620374.
- [47] Lu Y, Xu WL, Gu YL, et al. Non-small cell lung cancer cells modulate the development of human CD1c<sup>+</sup> conventional dendritic cell subsets mediated by CD103 and CD205 [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2829.
- [48] Michalski J, Deinzer A, Stich L, et al. Quercetin induces an immunoregulatory phenotype in maturing human dendritic cells [J]. *Immunobiology*, 2020, 225 (4): 151929.
- [49] Yi M, Zheng XL, Niu MK, et al. Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21 (1): 28.
- [50] Jing L, Lin JR, Yang Y, et al. Quercetin inhibiting the PD-1/PD-L1 interaction for immune-enhancing cancer chemopreventive agent [J]. *Phytother Res*, 2021, 35 (11): 6441-6451.
- [51] Lei X, Lei Y, Li JK, et al. Immune cells within the tumor microenvironment: biological functions and roles in cancer immunotherapy [J]. *Cancer Lett*, 2020, 470: 126-133.
- [52] 吴璐璐, 贺文煜. 槲皮素调控 SPP1 抑制肿瘤相关巨噬细胞极化对非小细胞肺癌细胞活性的影响 [J/OL]. *中国免疫学杂志*, <https://link.cnki.net/urlid/22.1126.R.20250722.1619.002>.
- [53] Sui MJ, Xie KR, Luo YY, et al. Programmable macrophage-polarizing nanoparticles for MRI-guided early detection and treatment of pulmonary metastases [J]. *J Nanobiotechnol*, 2025, 23 (1): 675.
- [54] Wang CS, Wang CJ, Zhang JG, et al. Development and validation of a radiogenomics prognostic model integrating PET/CT radiomics and glucose metabolism-related gene signatures for non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2025, 52 (13): 4924-4938.
- [55] Chang YC, Chiou J, Yang YF, et al. Therapeutic targeting of aldolase a interactions inhibits lung cancer metastasis and prolongs survival [J]. *Cancer Res*, 2019, 79 (18): 4754-4766.
- [56] 李丽芳, 徐伟, 吴树才, 等. 槲皮素通过靶向结合 ALDOA 抑制肺癌细胞增长并促进凋亡 [J]. *重庆医科大学学报*, 2024, 49 (12): 1588-1593.
- [57] Jin L, Zhou YH. Crucial role of the pentose phosphate pathway in malignant tumors [J]. *Oncol Lett*, 2019, 17 (5): 4213-4221.
- [58] Ge ZH, Xu M, Ge YQ, et al. Inhibiting G6PD by quercetin promotes degradation of EGFR T790M mutation [J]. *Cell Rep*, 2023, 42 (11): 113417.
- [59] Hogg SJ, Beavis PA, Dawson MA, et al. Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19 (11): 776-800.
- [60] Duan J, Zhong BY, Fan ZH, et al. DNA methylation in pulmonary fibrosis and lung cancer [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2022, 16 (5): 519-528.
- [61] Zhang M, Lu A, Wang H, et al. Quercetin downregulates the expression of IL-15 in cancer cells through DNA methylation [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2023, 27 (6): 2580-2590.
- [62] Wu QJ, Zhang TN, Chen HH, et al. The sirtuin family in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7 (1): 402.
- [63] Riely GJ, Wood DE, Ettinger DS, et al. Non-small cell lung cancer, version 4.2024, NCCN clinical practice guidelines in oncology [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2024, 22 (4): 249-274.
- [64] 李怡, 陈其章, 范临夏, 等. 槲皮素协同影响 DNA 修复和 ROS 水平提高 NSCLC 细胞的放疗敏感性 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39 (11): 62-67.
- [65] Hong T, Li J, Su M, et al. Protective effect of quercetin on lung epithelial cell bystander-effect in the conditioned medium model of lung cancer metastasis induced by radiation [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2023, 69 (3): 156-162.
- [66] 杨瑞, 曹旭, 明健. 槲皮素介导 SPINK6/EGFR 信号通路增加非小细胞肺癌细胞的放射敏感性 [J]. *解剖科学进展*, 2025, 31 (1): 25-28, 32.
- [67] Liu J, Liu CX, Tang JH, et al. Synergistic cerium oxide nanozymes: targeting DNA damage and alleviating tumor hypoxia for improved NSCLC radiotherapy efficiency [J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22 (1): 25.
- [68] 邹长鹏, 郭燕, 张长旺, 等. 补中益气汤中的有效成分槲皮素通过 GSTP1-JAK-STAT 途径增强肺腺癌耐药细胞株 A549/DDP 对顺铂的敏感性 [J]. *广州中医药大学学报*, 2023, 40 (10): 2606-2614.
- [69] Zhaorigetu, Farrag IM, Belal A, et al. Antiproliferative, apoptotic effects and suppression of oxidative stress of quercetin against induced toxicity in lung cancer cells of rats: in vitro and in vivo Study [J]. *J Cancer*, 2021, 12 (17): 5249-5259.
- [70] Wang YH, Yu HL, Wang SS, et al. Targeted delivery of quercetin by nanoparticles based on chitosan sensitizing paclitaxel-resistant lung cancer cells to paclitaxel [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 119: 111442.
- [71] Zhang J, Qi SS, Du YY, et al. Effect of quercetin on inhibiting gefitinib-activated non-small cell lung cancer-induced cell pyroptosis in cardiomyocytes via modulating mitochondrial autophagy mediated by the SHP2/ROS/AMPK/XBP-1/DJ-1 signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2025, 53 (5): 57.
- [72] Nambiar A, Kellogg D 3rd, Justice J, et al. Senolytics dasatinib and quercetin in idiopathic pulmonary fibrosis: results of a phase I, single-blind, single-center, randomized, placebo-controlled pilot trial on feasibility and tolerability [J]. *EBio-Medicine*, 2023, 90: 104481.
- [73] Han MK, Barreto TA, Martinez FJ, et al. Randomised clinical trial to determine the safety of quercetin supplementation in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *BMJ Open Respir Res*, 2020, 7 (1): e000392.
- [74] Wu DS, Dong Y, Zhang DY, et al. Efficacy and safety of dietary polyphenol supplements for COPD: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1617694.

(收稿日期: 2025-12-26; 修回日期: 2026-03-19)

# 免疫检查点抑制剂引起的无菌性脑膜炎：病例分析及文献综述

王笑颖, 徐志娅, 余馨怡, 罗佳, 李慧兰, 张赞玲\* (中南大学湘雅医院, 长沙 410008)

**摘要:** 近年来, 免疫检查点抑制剂 (ICIs) 的临床应用愈加广泛, 逐渐成为许多实体瘤以及血液肿瘤标准治疗的重要组成部分。随着接受 ICIs 治疗的患者的大幅增加, 其带来的免疫相关不良事件 (irAEs) 也不容忽视。与其他系统的免疫相关不良事件相比, 以无菌性脑膜炎为代表的中枢神经系统不良事件 (NAEs) 虽然较为罕见, 但是会成为患者恢复 ICIs 治疗的障碍, 甚至可能会导致永久性的后遗症甚至死亡。本研究系统检索并收集了截至 2025 年 9 月在 PubMed、Web of Science、中国知网、维普、万方等公共数据库中发表的 ICIs 引起的无菌性脑膜炎的病例报告, 收集并分析其临床特征、治疗策略及预后情况。本文共纳入了 22 例患者, 全面总结 ICIs 相关无菌性脑膜炎的现有信息, 旨在为 ICIs 相关的无菌性脑膜炎的识别、诊断、治疗以及 ICIs 的重启提供参考。

**关键词:** 免疫检查点抑制剂; 无菌性脑膜炎; 免疫相关不良事件

中图分类号: R969.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-228-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.032

## Immune checkpoint inhibitors induced aseptic meningitis: a literature review and case analysis

WANG Xiaoying, XU Zhiya, YU Xinyi, LUO Jia, LI Huilan, ZHANG Zanling\* (*Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008*)

**Abstract:** In recent years, the clinical application of immune checkpoint inhibitors (ICIs) has become increasingly widespread and emerged as a crucial component of standard treatment for many solid tumors and hematological malignancies. With a significant increase in the number of patients receiving ICI therapy, the immune-related adverse events (irAEs) associated with ICIs cannot be overlooked. Compared with irAEs affecting other systems, neurologic adverse events (NAEs) represented by aseptic meningitis are relatively rare. However, they may pose an obstacle to patients' resumption of immunotherapy and may even lead to permanent sequelae or death. In this study, we collected case reports of ICI-induced aseptic meningitis from PubMed, Web of Science, CNKI, VIP, and Wanfang databases, up to September 2025. Their clinical characteristics, treatment modalities, and prognosis were analyzed. Totally 22 patients with ICI-related aseptic meningitis were included. By comprehensively summarizing the existing information, this study aims to provide references for the identification, diagnosis, and treatment of ICI-related aseptic meningitis, as well as their rechallenge.

**Key words:** immune checkpoint inhibitor; aseptic meningitis; immune-related adverse event

免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 通过抑制免疫检查点蛋白重新激活体内免疫系统应答, 从而发挥抗肿瘤作用。包括程序性细胞死亡受体 1 (PD-1) 及其配体 (PD-L1) 和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4) 抑制剂在内的 ICIs, 已被批准用于各

类晚期恶性肿瘤的治疗<sup>[1-6]</sup>。ICIs 的出现, 改进了许多实体瘤以及血液恶性肿瘤的治疗策略, 并显著改善了患者的生存及预后。2018 年, 中国首个国产 PD-1 药物特瑞普利单抗注射液获国家药品监督管理局 (NMPA) 批准上市。2023 年 10 月, 该药获美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用

作者简介: 王笑颖, 女, 在读硕士研究生, 主要从事临床药学研究, email: w15033290457@163.com \*通信作者: 张赞玲, 女, 主任药师, 硕士研究生导师, 主要从事临床合理用药、药物流行病学、抗菌药物的合理使用等方面的研究, email: zanlingzhang2015@126.com

于治疗鼻咽癌,成为首个获得FDA批准的中国本土创新生物药。值得关注的是,在最新的中国临床肿瘤学会(CSCO)免疫检查点抑制剂临床应用指南附录中,绝大多数新获批的免疫检查点抑制剂为中国原研药物。这不仅体现了中国在肿瘤免疫治疗领域的快速发展和科研实力,更为重要的是,这些中国原研药可以在第一时间惠及本国患者,显著提升了我国抗肿瘤药物的可及性以及抗肿瘤治疗的整体水平。

然而,ICIs的作用不仅局限于肿瘤微环境。PD-1/PD-L1和CTLA-4在各种组织类型中广泛表达,其表达下调可引发广泛的自身免疫毒性,从而发生免疫相关不良事件(immune-related adverse events, irAEs)。irAEs可表现为轻微症状,也可能诱发严重病变,其中,肺炎、肝毒性、胃肠道以及皮肤irAEs的发生率较高且症状较为多样,而肾脏、呼吸系统及神经系统irAEs的发生率相对较低<sup>[7]</sup>。尽管神经系统不良事件(neurologic adverse events, NAEs)较为罕见,发生率只有1%<sup>[8-10]</sup>,但是其可能会导致永久性的后遗症甚至死亡。更加值得注意的是,NAEs的症状通常为非特异性的,在临床上通常难以识别和诊断,所以其真实的发病率可能更高。目前,关于ICIs相关神经毒性的发病机制尚未完全清楚,也缺少与其诊断和治疗相关的大规模随机对照试验。关于其临床特征和长期预后的数据大多来源于孤立的研究(如病例报告)等。

ICIs引起的NAEs具有广泛性,可累及中枢神经系统、周围神经系统及神经内分泌系统<sup>[11-13]</sup>,其中以肌炎(myositis)、重症肌无力(myasthenia gravis, MG)以及吉兰-巴雷综合征(Guillain Barré syndrome, GBS)为代表的神经肌肉疾病发生率较高,约占所有NAEs的75%<sup>[14]</sup>。部分患者同时存在多个ICIs相关的NAEs,例如,Suzuki等<sup>[15]</sup>的研究表明,纳武利尤单抗导致的重症肌无力患者中约有30%同时发生了肌炎。ICIs相关的无菌性脑膜炎占有NAEs的6%~15%<sup>[16-17]</sup>,在临床上常导致较为严重的症状和不良的预后。此外,无菌性脑膜炎发病时的症状具有非特异性,其在临床上很难迅速而准确地诊断。因此,了解其临床特征,以便在最初的诊断中加以考虑并迅速启动相应的治疗显得尤为重要,这极可能改善患者预后并降低发病率。因此,本研究对已发表的由ICIs引起的无菌性脑膜炎的病例进行收集,分析其临床特征、治疗方法及预后,总结其共同的临床特征和有效的治疗策略,旨在为ICIs引起的无菌性脑膜炎的识别、诊断与治疗提供参考。

## 1 方法

中文以“无菌性脑膜炎”或“免疫检查点抑制剂”或“纳武利尤单抗”或“伊匹木单抗”或“阿替利珠单抗”或“帕博利珠单抗”为检索词;英文以“aseptic meningitis” or “immune checkpoint inhibitor” or “ipilimumab” or “nivolumab” or “pembrolizumab” or “atezolizumab” or “pembrolizumab” or “induced” or “associated” or “caused”为检索词,在PubMed、Web of Science、中国知网、维普、万方数据库中进行检索,收集与ICIs引起的无菌性脑膜炎相关的病例报告、病例系列与临床研究。排除指南、机制研究、无法获取全文及数据不完整的研究,并剔除重复的病例,提取并收集患者信息,包括年龄、性别、国籍、既往史、肿瘤类型、免疫检查点抑制剂用药方案、发病时间、临床症状、实验室检查、经验性用药、治疗策略以及是否重启ICIs治疗等信息。检索时间到2025年9月截止。

## 2 结果

### 2.1 患者一般资料

共选取并收集到ICIs引起的无菌性脑膜炎22例,患者的一般资料如表1所示。其中男性患者14例(63.6%),女性患者8例(36.4%);患者的年龄在44~80岁,中位年龄为57岁;涉及的肿瘤类型包括肺癌10例(45.5%),肾细胞癌、黑色素瘤各4例(18.2%),肝细胞癌、子宫内膜癌、结直肠癌、膀胱尿路上皮细胞癌各1例(4.55%)。接受PD-1抑制剂纳武利尤单抗或帕博利珠单抗单药治疗的患者共8例(36.4%),接受PD-L1抑制剂阿替利珠单抗单药治疗的患者共7例(31.8%),接受CTLA-4抑制剂伊匹木单抗单药治疗的患者共4例(18.2%),还有3例(13.6%)患者接受了伊匹木单抗和纳武利尤单抗的联合治疗。患者国籍以日本居多(54.5%),其次为美国(27.3%)。

### 2.2 诊断、治疗与转归

纳入本研究的22例ICIs引起的无菌性脑膜炎患者中:ICIs引起的无菌性脑膜炎的中位诊断时间为4周,患者出现相关症状的最短时间为首次给药后第2日,最长为接受ICIs治疗后4年。大多数患者的最初症状为发热(68.2%)和精神状态下降(68.2%),超过半数的患者在发病期间报告了头痛(54.5%)的症状。其他症状包括恶心、呕吐(27.3%),意识障碍(27.3%),肌肉酸痛或阵挛(13.6%),构音障碍(13.6%),颈项强直(9.09%),视觉或听觉障碍(9.09%)。50%(11/22)的患者在首次应用ICIs时就出现了上述症状。详见表2。

患者脑脊液检查结果表明,22例患者均表现为不同程度的淋巴细胞增多或(和)蛋白质升



表 1 22 例患者的基本特征

Tab 1 Basic characteristics of the 22 patients included

| 编号 | 性别 | 年龄 / 岁 | 国家 | 肿瘤类型      | ICIs 用药      | 参考文献                                |
|----|----|--------|----|-----------|--------------|-------------------------------------|
| 1  | 女  | 52     | 德国 | 黑色素瘤      | 伊匹木单抗        | Voskens 等 (2013) <sup>[18]</sup>    |
| 2  | 男  | 51     | 美国 | 黑色素瘤      | 伊匹木单抗        | Stein 等 (2015) <sup>[19]</sup>      |
| 3  | 男  | 61     | 日本 | 肺癌        | 帕博利珠单抗       | Yonenobu 等 (2019) <sup>[20]</sup>   |
| 4  | 女  | 70     | 日本 | 肾细胞癌      | 伊匹木单抗、纳武利尤单抗 | Takamatsu 等 (2019) <sup>[21]</sup>  |
| 5  | 男  | 55     | 美国 | 肺癌        | 帕博利珠单抗       | Lima 等 (2019) <sup>[22]</sup>       |
| 6  | 女  | 71     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Toyozawa 等 (2020) <sup>[23]</sup>   |
| 7  | 男  | 55     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Toyozawa 等 (2020) <sup>[23]</sup>   |
| 8  | 男  | 50     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Toyozawa (2020) 等 <sup>[23]</sup>   |
| 9  | 男  | 56     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Ogawa 等 (2020) <sup>[24]</sup>      |
| 10 | 男  | 58     | 美国 | 膀胱尿路上皮细胞癌 | 纳武利尤单抗       | Cordes 等 (2020) <sup>[25]</sup>     |
| 11 | 男  | 66     | 美国 | 肾细胞癌      | 纳武利尤单抗       | Shields 等 (2021) <sup>[26]</sup>    |
| 12 | 男  | 58     | 日本 | 黑色素瘤      | 伊匹木单抗、纳武利尤单抗 | Katakura 等 (2021) <sup>[27]</sup>   |
| 13 | 女  | 56     | 日本 | 子宫内膜癌     | 帕博利珠单抗       | Noguchi 等 (2021) <sup>[28]</sup>    |
| 14 | 女  | 46     | 瑞士 | 黑色素瘤      | 伊匹木单抗        | Thouvenin 等 (2021) <sup>[29]</sup>  |
| 15 | 女  | 44     | 瑞士 | 结直肠癌      | 伊匹木单抗、纳武利尤单抗 | Thouvenin 等 (2021) <sup>[29]</sup>  |
| 16 | 男  | 67     | 日本 | 肺癌        | 帕博利珠单抗       | Inui 等 (2022) <sup>[30]</sup>       |
| 17 | 男  | 56     | 希腊 | 肺癌        | 帕博利珠单抗       | Amylidi 等 (2023) <sup>[31]</sup>    |
| 18 | 男  | 46     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Kuroda 等 (2023) <sup>[32]</sup>     |
| 19 | 女  | 74     | 日本 | 肝细胞癌      | 阿替利珠单抗       | Kawanaka 等 (2024) <sup>[33]</sup>   |
| 20 | 男  | 60     | 美国 | 肾细胞癌      | 纳武利尤单抗       | Al-Khateeb 等 (2024) <sup>[34]</sup> |
| 21 | 男  | 80     | 日本 | 肺癌        | 阿替利珠单抗       | Ota 等 (2024) <sup>[35]</sup>        |
| 22 | 女  | 67     | 美国 | 肾细胞癌      | 伊匹木单抗        | Bleik 等 (2025) <sup>[36]</sup>      |

表 2 ICIs 引起的无菌性脑膜炎患者临床信息 (n = 22)

Tab 2 Clinical information with aseptic meningitis induced by ICIs (n = 22)

| 临床特征       |            | 病例 [n ( % ) ] | 临床特征           |                | 病例 [n ( % ) ] |
|------------|------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| 既往史        | 高血压        | 6 (27.3)      | CT 和 MRI 结果    | 无异常            | 10 (45.5)     |
|            | 2 型糖尿病     | 4 (18.2)      |                | 有表现            | 9 (40.9)      |
|            | 高脂血症       | 4 (18.2)      |                | 未描述            | 3 (13.6)      |
|            | 慢性阻塞性肺炎    | 2 (9.09)      | 抗菌药物经验性治疗      | 是              | 10 (45.5)     |
|            | 甲状腺功能减退症   | 1 (4.55)      |                | 否              | 12 (54.5)     |
| 无菌性脑膜炎出现时间 | 首次应用       | 11 (50.0)     | 治疗策略           | 糖皮质激素逐渐减量      | 13 (59.1)     |
|            | 非首次应用      | 11 (50.0)     |                | 糖皮质激素大剂量冲击     | 7 (31.8)      |
| 临床症状       | 发热         | 15 (68.2)     |                | 免疫球蛋白+糖皮质激素    | 1 (4.55)      |
|            | 精神状态下降     | 15 (68.2)     |                | 自行好转           | 1 (4.55)      |
|            | 头痛         | 12 (54.5)     | 不良事件分级         | ≥ 3            | 7 (31.8)      |
|            | 恶心、呕吐      | 6 (27.3)      |                | 是否复发           | 是             |
|            | 意识障碍       | 6 (27.3)      |                | 否              | 20 (90.9)     |
|            | 肌肉酸痛或阵挛    | 3 (13.6)      | ICIs 引起的其他不良事件 | 孤立性肾上腺皮质激素缺乏症  | 2 (9.09)      |
|            | 构音障碍       | 3 (13.6)      |                | 垂体炎            | 2 (9.09)      |
|            | 颈项强直       | 2 (9.09)      |                | 嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症 | 1 (4.55)      |
|            | 视觉或听觉障碍    | 2 (9.09)      |                | 破坏性甲状腺炎        | 1 (4.55)      |
|            |            |               |                | 自身免疫性肝炎        | 1 (4.55)      |
| 脑脊液表现      | 淋巴细胞及蛋白质增多 | 17 (77.3)     | 是否重新启用 ICIs    | 是              | 5 (22.7)      |
|            | 仅淋巴细胞增多    | 3 (13.6)      |                | 否              | 12 (54.5)     |
|            | 仅蛋白质增多     | 2 (9.09)      |                | 未描述            | 5 (22.7)      |

高。19 例 (86.4%) 患者行头颅 CT 或 MRI 检查, 其中 9 例 (40.9%) 患者显示脑影像学异常, 表现为软脑膜强化 3 例 (13.6%), 弥漫性硬脑膜增厚伴强化 1 例 (4.55%), 垂体轻度弥漫性增大 1 例 (4.55%), 左侧额叶及脑桥高信号病灶 1 例 (4.55%), 胼胝体沿线增强 1 例 (4.55%), 脑沟线状强化 1 例 (4.55%), FLAIR 序列图像额叶和

枕叶脑膜上散在高信号结节性病变 1 例 (4.55%)。

10 例 (45.5%) 患者在被确诊为 ICIs 引起的无菌性脑膜炎前接受了抗菌药物经验性治疗。在被确诊为 ICIs 引起的无菌性脑膜炎后, 除 1 例患者自行好转外, 其余 9 例患者均接受了糖皮质激素的系统治疗。

除 2 例患者复发 ICIs 引起的无菌性脑膜炎外,

其余 20 例患者在随访期间均未复发。7 例 (31.8%) 患者在 ICI 治疗期间还出现了其他 irAEs, 其中孤立性促肾上腺皮质激素缺乏症 2 例 (9.09%), 垂体炎 2 例 (9.09%), 嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症 (HLH) 1 例 (4.55%), 破坏性甲状腺炎 1 例 (4.55%), 自身免疫性肝炎 1 例 (4.55%)。5 例 (22.7%) 患者最终重启了免疫治疗, 12 例 (54.5%) 患者永久停用了 ICI 治疗, 还有 5 例 (22.7%) 患者未提及后续治疗方案。

### 3 讨论

#### 3.1 临床特征

在已知的所有 irAEs 中, NAEs 并不常见, 在接受 ICI 单药治疗的患者中有 2% ~ 6% 的患者会发生 NAEs。然而, 如果联合使用 PD-1 和 CTLA-4 抑制剂, 则 NAEs 的发生率会提升至 12%<sup>[37]</sup>。对于单独使用 PD-1 抑制剂的患者, 其神经系统症状通常出现在治疗后的几天内, 但也有少部分在治疗后数周才出现症状<sup>[38]</sup>。在临床使用免疫检查点抑制剂进行抗肿瘤治疗的过程中, NAEs 可表现为多种症状<sup>[39]</sup>, 其中中枢神经系统的症状因其强度较低而容易被忽略。此外, 当使用 ICI 治疗的患者出现神经系统异常表现时, 由于症状的非特异性, 医师需对患者进行大量的检查, 以排除其他病因, 如肿瘤进展、癫痫发作、细菌或病毒感染、代谢紊乱等<sup>[40]</sup>。

ICIs 引起的无菌性脑膜炎的发生率低于 1%, 占有 NAEs 的 6% ~ 15%<sup>[16-17]</sup>, 尽管不同患者的个体差异较大, 但早期症状通常出现在给药后的一周内。在本研究收集到的病例中, 相关症状通常发生在治疗开始后的 2 个疗程内, 仅有 3 例患者在长期使用 ICI 治疗后才出现。这提示我们, 预防和管理 ICI 引起的无菌性脑膜炎的关键在于早期识别和干预。ICIs 引起的无菌性脑膜炎的临床症状较为多变, 绝大多数患者在最初出现了发热、头痛、恶心、呕吐以及精神状态下降的非特异性症状, 部分患者后续出现了肌肉酸痛或阵挛、构音障碍、颈项强直、异常步态及意识障碍等症状, 1 例患者甚至表现出了攻击性行为<sup>[18]</sup>。由于 ICI 引起的无菌性脑膜炎与感染性脑膜炎的症状较为相似, 难以辨别和诊断, 所以患者最初出现高热、意识障碍等症状时, 医师可能会启用经验性抗感染方案, 如氨苄西林、美罗培南、阿昔洛韦等, 直至获得患者腰椎穿刺的确切结果。ICIs 引起的无菌性脑膜炎患者的 MRI 结果通常显示正常或者软脑膜强化, 脑脊液检查结果通常显示淋巴细胞增多伴蛋白质升高。此外, 患者的脑脊液培养均未检测到任何微生物。尽早识别并诊断 ICI 引起的无菌性脑膜炎可极大程度地降低

患者产生后遗症的可能性, 对于控制风险至关重要。因此, 当患者在使用 ICI 时产生了精神状态下降、恶心、呕吐、头痛、发热以及各种形式的肌阵挛时, 应怀疑药物引起的无菌性脑膜炎, 并尽快进行脑脊液和 MRI 检查。

此外, 在本研究纳入的 22 例 ICI 引起的无菌性脑膜炎患者中, 有 12 例 (54.5%) 患者为日本患者。由于 ICI 相关神经毒性的发病机制尚未完全清楚, 且目前已发表的 ICI 引起的无菌性脑膜炎病例较少, 无法判断这类 irAEs 与种族之间的关系。研究者推测, 出现这种现象的原因可能与日本头颅 CT 和 MRI 检查较为普及, 使得 ICI 引起的无菌性脑膜炎更容易被诊断有关。

#### 3.2 治疗与转归

在本研究纳入的 22 例患者中, 有 21 例患者在确诊后立即中断了 ICI 并接受了糖皮质激素的系统治疗。在接受甲泼尼龙大剂量冲击疗法治疗的 7 例患者中, 5 例患者的症状在给药第 2 日便出现了明显改善; 1 例患者在给药 4 d 后再次行 MRI 检查, 发现其胼胝体沿线的异常增强消失; 1 例患者 FLAIR 序列图像显示, 额叶和枕叶脑膜上散在高信号结节性病变异常增强在给药 11 d 后消失。在 14 例使用糖皮质激素逐渐减量法治疗的患者中, 仅有 1 例确诊为 4 级无菌性脑膜炎的患者的症状在试图减少甲泼尼龙的剂量时加重, 因此, 该患者在使用甲泼尼龙系统治疗的同时进行了免疫球蛋白 G 的输注。尽管患者症状有所改善, 但出院时仍未达到完全缓解。Al-Khateeb 等<sup>[34]</sup>报道的 1 例肾细胞癌患者的无菌性脑膜炎在没有使用糖皮质激素治疗的情况下自行消退。值得关注的是, 这位患者在接受纳武利尤单抗维持治疗 4 年后才出现颈项强直等无菌性脑膜炎相关症状, 这提示我们其自限性可能与延迟发病相关。

在接受糖皮质激素系统治疗后, 大多数患者的症状在较短的时间内得到了显著改善, 除非重启 ICI 治疗, 否则大多数病例不会发生脑膜炎复发。然而, 在 Noguchi 等<sup>[28]</sup>报道的 1 例由帕博利珠单抗引起的无菌性脑膜炎病例中, 患者在首次出现无菌性脑膜炎后接受了糖皮质激素脉冲治疗, 考虑到其症状经过 3 d 的脉冲治疗已完全改善, 再加上长期使用糖皮质激素可能会为肿瘤患者带来血栓形成的风险<sup>[41]</sup>, 医师决定停药而非逐渐减少糖皮质激素的量。随后, 患者在停止糖皮质激素治疗的 1 周内, 复发了两次无菌性脑膜炎, 并且在进行多次糖皮质激素脉冲治疗后出现了肺气肿。值得庆幸的是, 该患者肿瘤学结局良好, 经帕博利珠单抗治疗后其复发灶消失, 患者因 irAEs 中断 ICI 治疗后, 进行了 4 个周期的多柔比星和顺铂的联合化疗, 在

随访的 19 个月内, 没有出现肿瘤复发。从这个角度来看, 有效管理 irAEs 可能会带来有利的肿瘤学结局<sup>[42-44]</sup>。因此, 在确诊 ICIs 引起的无菌性脑膜炎后应及时进行不良反应分级评估, 尽早引入糖皮质激素进行系统治疗, 并根据病情逐渐减少糖皮质激素的剂量, 优化治疗方案, 降低复发的可能性。

### 3.3 ICIs 再挑战

关于是否应对发生过 irAEs 的患者重新启用 ICIs 目前尚无定论。美国国立综合癌症网络 (NCCN) 以及美国临床肿瘤学会 (ASCO) 建议仅在 1 级或 2 级 irAEs 的情况下重新引入 ICIs<sup>[45-46]</sup>。事实上, 有文献表明在发生过 irAEs 的患者中, 超过半数再次引入 ICIs 后会复发或出现其他 irAEs<sup>[47]</sup>。Takamatsu 等<sup>[21]</sup>报道的病例显示, 患者在应用伊匹木单抗和纳武利尤单抗联合治疗肾细胞癌的第 2 个疗程的第 2 周发生了 ICIs 引起的无菌性脑膜炎, 在经过静脉注射泼尼松龙 1 mg/(kg·d) 数日后, 其临床症状及脑脊液相关指标得到迅速改善。在与患者充分沟通获益与风险后, 医师尝试启动了第 3 个疗程的联合治疗, 结果这位患者不仅再次出现了无菌性脑膜炎复发, 还发生了孤立性肾上腺皮质激素缺乏症, 且出现肝功能障碍, 随后永久停用 ICIs。

然而, 有研究表明, 与改变治疗方案的患者相比, 发生 irAEs 的患者在重新启用 ICIs 治疗后的无进展生存期 (PFS) 和总生存期 (OS) 结局可能更好<sup>[48-49]</sup>。本研究中, 有 5 例患者最终选择了重启 ICIs 的治疗。Thouvenin 等<sup>[29]</sup>报道的 1 例黑色素瘤患者, 在发生伊匹木单抗引起的 3 级无菌性脑膜炎后, 永久停用了伊匹木单抗, 但是在肿瘤进展后接受了帕博利珠单抗的治疗且未发生 NAEs。这提示我们在考虑重启 ICIs 治疗时, 可以结合患者自身特征更换一种药物进行尝试。当患者的 irAEs 症状较轻时, 虽然存在复发的风险, 但考虑到潜在的治疗益处超过了风险, 应尝试重启 ICIs 治疗。

## 4 结论

以无菌性脑膜炎为代表的 NAEs 是罕见且严重的, 其发生率虽低于肺炎、肝毒性、胃肠道或皮肤 irAEs, 但如果未能及时诊断, 可能导致严重的后遗症甚至死亡。并且, 部分发生无菌性脑膜炎的患者会出现持续的神经系统症状。深入了解 ICIs 引起的无菌性脑膜炎的临床表现对于揭示新的生物标志物以及早期识别高风险患者具有重要意义。综上所述, 临床医师在使用 ICIs 治疗肿瘤患者时, 对于不常见但严重的 irAEs 应保持高度怀疑, 尽早识别、诊断并及时启动糖皮质激素系统治疗, 对于改善患者结局和最大程度降低长期后遗症风险至关重要。

## 参考文献

- [1] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375 (19): 1823-1833.
- [2] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373 (19): 1803-1813.
- [3] El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial [J]. *Lancet*, 2017, 389 (10088): 2492-2502.
- [4] Nanda R, Chow LQM, Dees EC, et al. Pembrolizumab in patients with advanced triple-negative breast cancer: phase Ib KEY-NOTE-012 study [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34 (21): 2460-2467.
- [5] Tang BX, Yan XQ, Sheng XN, et al. Safety and clinical activity with an anti-PD-1 antibody JS001 in advanced melanoma or urologic cancer patients [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12 (1): 7.
- [6] Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (26): 2521-2532.
- [7] Haugh AM, Probasco JC, Johnson DB. Neurologic complications of immune checkpoint inhibitors [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2020, 19 (4): 479-488.
- [8] Cuzzubbo S, Javeri F, Tissier M, et al. Neurological adverse events associated with immune checkpoint inhibitors: review of the literature [J]. *Eur J Cancer*, 2017, 73: 1-8.
- [9] Dubey D, David WS, Reynolds KL, et al. Severe neurological toxicity of immune checkpoint inhibitors: growing spectrum [J]. *Ann Neurol*, 2020, 87 (5): 659-669.
- [10] Vogrig A, Muñoz-Castrillo S, Desestret V, et al. Pathophysiology of paraneoplastic and autoimmune encephalitis: genes, infections, and checkpoint inhibitors [J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2020, 13: 1756286420932797.
- [11] Makarios D, Horwood K, Coward JIG. Myasthenia gravis: an emerging toxicity of immune checkpoint inhibitors [J]. *Eur J Cancer*, 2017, 82: 128-136.
- [12] Touat M, Talmasov D, Ricard D, et al. Neurological toxicities associated with immune-checkpoint inhibitors [J]. *Curr Opin Neurol*, 2017, 30 (6): 659-668.
- [13] Barroso-Sousa R, Barry WT, Garrido-Castro AC, et al. Incidence of endocrine dysfunction following the use of different immune checkpoint inhibitor regimens: a systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4 (2): 173-182.
- [14] Marini A, Bernardini A, Gigli GL, et al. Neurologic adverse events of immune checkpoint inhibitors: a systematic review [J]. *Neurology*, 2021, 96 (16): 754-766.
- [15] Suzuki S, Ishikawa N, Konoeda F, et al. Nivolumab-related myasthenia gravis with myositis and myocarditis in Japan [J]. *Neurology*, 2017, 89 (11): 1127-1134.
- [16] Duong SL, Barbiero FJ, Nowak RJ, et al. Neurotoxicities associated with immune checkpoint inhibitor therapy [J]. *J Neurooncol*, 2021, 152 (2): 265-277.
- [17] Dalakas MC. Neurological complications of immune checkpoint inhibitors: what happens when you 'take the brakes off' the immune system [J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2018, 11:



- 1756286418799864.
- [18] Voskens CJ, Goldinger SM, Loquai C, et al. The price of tumor control: an analysis of rare side effects of anti-CTLA-4 therapy in metastatic melanoma from the ipilimumab network [J]. *PLOS One*, 2013, 8 (1): e53745.
- [19] Stein MK, Summers BB, Wong CA, et al. Meningoencephalitis following ipilimumab administration in metastatic melanoma [J]. *Am J Med Sci*, 2015, 350 (6): 512-513.
- [20] Yonenobu Y, Ishijima M, Toyooka K, et al. A case of meningoencephalitis associated with pembrolizumab treated for squamous cell lung cancer [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2019, 59 (2): 105-108.
- [21] Takamatsu D, Furubayashi N, Negishi T, et al. Relapse of aseptic meningitis induced by ipilimumab and nivolumab therapy for metastatic renal cell carcinoma: a case report [J]. *Mol Clin Oncol*, 2019, 11 (6): 590-594.
- [22] Lima G, Kahn A, Sama S, et al. Aseptic meningitis as an immune-related adverse event after pembrolizumab [J]. *Case Rep Oncol Med*, 2019, 2019 (1): 7183747.
- [23] Toyozawa R, Haratake N, Toyokawa G, et al. Atezolizumab-induced aseptic meningitis in patients with NSCLC [J]. *JTO Clin Res Rep*, 2020, 1 (1): 100012.
- [24] Ogawa K, Kaneda H, Kawamoto T, et al. Early-onset meningitis associated with atezolizumab treatment for non-small cell lung cancer: case report and literature review [J]. *Invest New Drugs*, 2020, 38 (6): 1901-1905.
- [25] Cordes LM, Davarpanah NN, Reoma LB, et al. Neurotoxicities associated with checkpoint inhibitors: two case reports and a review of the literature [J]. *Clin Case Rep*, 2020, 8 (1): 24-32.
- [26] Shields LBE, Alsorogi MS, Mar N, et al. Immune-related meningoencephalitis following nivolumab in metastatic renal cell carcinoma [J]. *Case Rep Oncol*, 2021, 14 (2): 1051-1058.
- [27] Katakura Y, Kimura T, Kusano T, et al. Case report: a variety of immune-related adverse events triggered by immune checkpoint inhibitors in a subject with malignant melanoma: destructive thyroiditis, aseptic meningitis and isolated ACTH deficiency [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 12: 722586.
- [28] Noguchi D, Seki T, Kubonoya Y, et al. A case of relapsing aseptic meningitis under excellent tumor response to pembrolizumab in microsatellite instability-high recurrent endometrial cancer [J]. *Gynecol Oncol Rep*, 2021, 38: 100885.
- [29] Thouvenin L, Olivier T, Banna G, et al. Immune checkpoint inhibitor-induced aseptic meningitis and encephalitis: a case-series and narrative review [J]. *Ther Adv Drug Saf*, 2021, 12: 20420986211004745.
- [30] Inui G, Funaki Y, Makino H, et al. Pembrolizumab-induced aseptic meningitis in a patient with non-small cell lung cancer: a case report and literature review of aseptic meningitis as an immune-related adverse event [J]. *Mol Clin Oncol*, 2022, 17 (1): 120.
- [31] Amylidi AL, Gogadis A, Yerolatsite M, et al. Exploring a rarity: incidence of and therapeutic approaches for neurological complications and hypophysitis in cancer patients on immune checkpoint inhibitors—a single-center study [J]. *Curr Oncol*, 2023, 30 (12): 10509-10518.
- [32] Kuroda R, Nakagawa H, Uchida Y, et al. Immune-related aseptic meningitis diagnosed by Cube FLAIR on enhanced magnetic resonance imaging for a lung cancer patient administered atezolizumab: a case report [J]. *Respirol Case Rep*, 2023, 11 (2): e01076.
- [33] Kawanaka H, Tajiri K, Muraishi N, et al. A case of immune-related aseptic meningitis during atezolizumab plus bevacizumab for hepatocellular carcinoma [J]. *Case Rep Gastroenterol*, 2024, 18 (1): 8-13.
- [34] Al-Khateeb W, Jarad J, Kim Y, et al. Long-term nivolumab treatment possibly associated with aseptic meningitis [J]. *BMJ Case Rep*, 2024, 17 (2): e258141.
- [35] Ota H, Munechika M, Tobino K, et al. A case report of hemophagocytic lymphohistiocytosis and meningitis due to atezolizumab treatment for lung adenocarcinoma [J]. *Cureus*, 2024, 16 (4): e58253.
- [36] Bleik P, Fangsaard P, Yuklyaeva N. Immune checkpoint inhibitor-mediated aseptic meningitis and hypophysitis [J]. *Case Rep Oncol Med*, 2025, 2025 (1): 3517328.
- [37] Schadendorf D, Wolchok JD, Hodi FS, et al. Efficacy and safety outcomes in patients with advanced melanoma who discontinued treatment with nivolumab and ipilimumab because of adverse events: a pooled analysis of randomized phase II and III trials [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35 (34): 3807-3814.
- [38] Zafar Z, Vogler C, Hudali T, et al. Nivolumab-associated acute demyelinating encephalitis: a case report and literature review [J]. *Clin Med Res*, 2019, 17 (1-2): 29-33.
- [39] Hottinger AF. Neurologic complications of immune checkpoint inhibitors [J]. *Curr Opin Neurol*, 2016, 29 (6): 806-812.
- [40] Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline [J]. *J Oncol Pract*, 2018, 36 (17): 1714-1768.
- [41] Johannesdottir SA, Horváth-Puhó E, Dekkers OM, et al. Use of glucocorticoids and risk of venous thromboembolism: a nationwide population-based case-control study [J]. *JAMA Intern Med*, 2013, 173 (9): 743-752.
- [42] Freeman-Keller M, Kim Y, Cronin H, et al. Nivolumab in resected and unresectable metastatic melanoma: characteristics of immune-related adverse events and association with outcomes [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22 (4): 886-894.
- [43] Kobayashi T, Iwama S, Yasuda Y, et al. Pituitary dysfunction induced by immune checkpoint inhibitors is associated with better overall survival in both malignant melanoma and non-small cell lung carcinoma: a prospective study [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8 (2): e000779.
- [44] Osorio JC, Ni A, Chaft JE, et al. Antibody-mediated thyroid dysfunction during T-cell checkpoint blockade in patients with non-small-cell lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28 (3): 583-589.
- [45] Schneider BJ, Naidoo J, Santomaso BD, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: ASCO guideline update [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39 (36): 4073-4126.
- [46] Thompson JA, Schneider BJ, Brahmer J, et al. NCCN guide-

- lines<sup>®</sup> insights: Management of Immunotherapy-Related Toxicities, version 2.2024; Featured updates to the NCCN guidelines [J]. Natl Compr Canc Netw, 2024, 22 (9): 582-592.
- [47] Simonaggio A, Michot JM, Voisin AL, et al. Evaluation of readministration of immune checkpoint inhibitors after immune-related adverse events in patients with cancer [J]. JAMA Oncol, 2019, 5 (9): 1310-1317.
- [48] Santini FC, Rizvi H, Plodkowski AJ, et al. Safety and efficacy of re-treating with immunotherapy after immune-related adverse events in patients with NSCLC [J]. Cancer Immunol Res, 2018, 6 (9): 1093-1099.
- [49] Albandar HJ, Fuqua J, Albandar JM, et al. Immune-related adverse events (irAE) in cancer immune checkpoint inhibitors (ICI) and survival outcomes correlation: to rechallenge or not? [J]. Cancers (Basel), 2021, 13 (5): 989.
- (收稿日期: 2025-11-10; 修回日期: 2025-12-10)

## 虫草素调节常见代谢性疾病的药理作用研究进展

徐草梅<sup>1, 3</sup>, 蒋敬庭<sup>2</sup>, 胡楠<sup>1, 2\*</sup> (1. 常州市第一人民医院 (苏州大学附属第三医院) 药学部, 江苏 常州 213000; 2. 常州市第一人民医院 (苏州大学附属第三医院) 肿瘤生物诊疗中心, 江苏 常州 213000; 3. 杭州协合医疗用品有限公司, 杭州 310000)

**摘要:** 代谢性疾病, 如糖尿病、肥胖、高脂血症、动脉粥样硬化和非酒精性脂肪性肝病等在全球范围内的发病率不断增加, 给公共卫生和医疗系统带来了巨大的负担。因此, 寻找新的治疗策略和药物成为当前的研究热点。虫草素作为一种天然草药成分, 近年来引起了代谢性疾病研究领域的广泛关注。本文综述了虫草素在代谢性疾病中的研究进展, 包括其对糖尿病、肥胖、高脂血症、动脉粥样硬化和非酒精性脂肪性肝病的影响和机制研究, 以及其潜在的临床应用前景。

**关键词:** 虫草素; 糖尿病; 肥胖; 高脂血症; 动脉粥样硬化; 非酒精性脂肪性肝病

**中图分类号:** R96

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-234-07

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.033

## Pharmacological effect of cordycepin on common metabolic diseases

XU Caomei<sup>1, 3</sup>, JIANG Jingting<sup>2</sup>, HU Nan<sup>1, 2\*</sup> (1. Department of Pharmacy, The First People's Hospital of Changzhou (The Third Affiliated Hospital of Soochow University), Changzhou Jiangsu 213000; 2. Cancer Biology Diagnosis and Treatment Center, The First People's Hospital of Changzhou (The Third Affiliated Hospital of Soochow University), Changzhou Jiangsu 213000; 3. Hangzhou Singclean Medical Products Co., Ltd., Hangzhou 310000)

**Abstract:** The incidence of metabolic diseases, such as diabetes, obesity, hyperlipidemia, atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease, is increasing worldwide, imposing a huge burden on public health and the medical system. Therefore, seeking new treatment strategies and drugs has become the current research focus. Cordycepin, as a natural herbal component, has attracted extensive attention in the research of metabolic diseases recently. This article reviewed the research progress in the effect of cordycepin on metabolic diseases, including its effects and mechanism studies on diabetes, obesity, hyperlipidemia, atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease, as well as its potential clinical prospects.

**Key words:** cordycepin; diabetes; obesity; hyperlipidemia; atherosclerosis; non-alcoholic fatty liver disease

**基金项目:** 常州市科技基础设施建设计划 (No.CM20223005); 2024 年常州市第十一批科技计划 (No.CJ20245020)。

**作者简介:** 徐草梅, 女, 硕士研究生, 主要从事临床药学研究, email: xcm37218@163.com \*通信作者: 胡楠, 女, 博士, 主任药师, 主要从事药代动力学与临床药学研究, email: hn\_324@163.com

代谢性疾病主要是指机体的物质代谢或能量代谢异常而表现出的代谢性紊乱状态,累及全身多个系统,主要包括糖尿病、肥胖、高脂血症、动脉粥样硬化和非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 等<sup>[1]</sup>。代谢性疾病的发展通常与现代化生活方式的改变密切相关,包括不良的饮食习惯、缺乏运动、精神压力等。这些因素导致了体内物质代谢和能量平衡的紊乱,进而引发一系列病理变化<sup>[2]</sup>。2023 年一项全球疾病负担研究报告显示,2000 年至 2019 年,所有代谢性疾病的患病率均有所上升;2019 年,全球有 500 万人死亡与肥胖有关,其次是高脂血症 (430 万人) 和 2 型糖尿病 (140 万人),代谢性疾病已经成为全球负担最重的疾病之一,严重威胁着人类健康<sup>[3]</sup>。目前,代谢性疾病的治疗包括传统生活方式干预及药物治疗,其中药物治疗主要通过降糖、减重及保护代谢相关器官等改善疾病进程<sup>[4]</sup>。然而,这些药物仍存在一些毒副作用,如部分药物可能导致泌尿生殖道感染或增加低血糖发生风险等<sup>[5]</sup>,并且对部分并发症疗效有限,难以满足代谢性疾病患者的实际需求<sup>[6]</sup>。因此,寻找预防和治疗代谢性疾病的新药的研究已经引起了广泛的关注。

虫草素 (cordycepin), 又称 3'-脱氧腺苷, 是蛹虫草和冬虫夏草的活性成分之一, 与腺苷结构相似<sup>[7]</sup>。虫草素已被证明具有降血糖、调节血脂异常、减轻炎症、减轻氧化应激、促进免疫调节、抗肿瘤和抗肾纤维化等多种药理作用<sup>[8]</sup>。近年来, 虫草素作为一种天然产物, 被广泛研究用于代谢性疾病的治疗。本文综述了虫草素在糖尿病、肥胖、高脂血症、动脉粥样硬化和 NAFLD 等代谢性疾病的治疗作用及机制研究, 以期为治疗代谢性疾病提供参考。

## 1 虫草素的特性和药理作用

虫草素于 1950 年首次从蛹虫草中分离得到, 是一种腺苷衍生物<sup>[9]</sup>, 分子式为  $C_{10}H_{13}N_5O_3$ , 结构为 3'-脱氧腺苷, 与腺苷相似, 仅在腺苷的核糖片段 3' 位缺少一个羟基 (见图 1)。目前, 虫草素已被证明具有多种药理作用, 如抗炎、抗氧化、免疫调节、降血脂、抗肿瘤、抗菌、抗病毒和降糖等<sup>[10]</sup>。虫草素的结构特性与抗肿瘤作用密切相关, 研究表明, 虫草素结构中的游离醇基可掺入细胞的 DNA 中发挥作用; 其与腺苷相似的结构能够抑制核苷或核苷酸的磷酸化而生成二磷酸盐和三磷酸盐的衍生物, 从而抑制肿瘤细胞核酸的合成<sup>[11]</sup>。另有研究表明虫草素能够竞争性地抑制 DNA 和 RNA 的合成和代谢过程, 并激活腺苷酸环化酶, 同时影响 mTOR 信号通路的活性<sup>[12]</sup>。

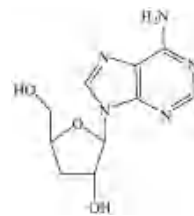


图 1 虫草素的结构式

Fig 1 Structure of cordycepin

## 2 虫草素与常见代谢性疾病

### 2.1 虫草素与糖尿病及其并发症

糖尿病是一种由胰岛素绝对或相对分泌不足及利用障碍引发的以高血糖为标志的慢性疾病。糖尿病患者常伴有心血管疾病、视网膜病变、肾病、高脂血症和神经病变等并发症<sup>[13]</sup>, 严重影响患者生存率。据报道, 给予有效剂量虫草素后, 糖尿病小鼠体重显著降低, 血糖水平降低 47%, 肝糖原含量增加 214%, 口服葡萄糖耐量显著改善; 同时能够减轻肾脏和脾脏损伤<sup>[14]</sup>。因此, 虫草素被认为是治疗糖尿病及其并发症的药物。

目前, 虫草素抗糖尿病活性的具体分子机制尚未完全阐明, 但已有研究表明, 虫草素改善糖尿病及其并发症的机制涉及抗氧化应激、减轻炎症、抑制细胞凋亡以及改善肝脏代谢等, 具体涉及 ROS/JNK 线粒体凋亡通路、SIRT3 信号通路、AMPK/Mfn2 依赖的线粒体融合通路和 SIRT1/Foxo3a 信号通路等。研究发现, 虫草素可能通过降低细胞内活性氧 (ROS), 增加细胞内三磷酸腺苷 (ATP) 含量, 引起细胞膜去极化, 平衡  $Ca^{2+}$  浓度, 抑制细胞凋亡来提高大鼠胰岛细胞瘤细胞 (INS-1) 的活力, 改善细胞能量代谢, 促进胰岛素合成和分泌; 并通过下调 ROS/JNK 线粒体凋亡通路抑制细胞凋亡, 保护 INS-1 细胞数量, 从而改善胰岛细胞功能<sup>[15]</sup>。同时, 有研究报道虫草素对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠肝脏糖代谢有调节作用, 并且在糖尿病期间使用虫草素可以通过调节体内葡萄糖吸收来改善一些代谢综合征<sup>[14]</sup>。此外, 研究还发现虫草素可能通过减少细胞内 ROS 水平、增强线粒体膜电位 (MMP)、提高超氧化物歧化酶 (SOD) 活性以及上调关键基因和蛋白的表达来促进正常胰岛  $\beta$  细胞胰岛素的合成和分泌, 并改善胰岛  $\beta$  细胞的氧化损伤<sup>[16]</sup>。

糖尿病相关心血管并发症 (如动脉粥样硬化、心肌梗死和中风) 是患者死亡的主要原因。有报道称, 虫草素可能通过去乙酰化酶 3 (SIRT3) 信号通路来逆转 2 型糖尿病大鼠胸主动脉环内皮依赖性松弛降低, 并对人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 线粒体具有保护作用<sup>[17]</sup>。另一报道称蛹虫草提



取物虫草素能够降低高糖诱导的 HUVECs 细胞中 ROS 和活性氮 (RNS) 的生成, 通过直接清除 ROS 和一氧化氮 (NO) 发挥抗氧化应激作用, 并调节 Bcl-2 家族蛋白的表达、半胱天冬酶 (caspase) 活性和线粒体功能<sup>[18]</sup>。此外, 在糖尿病小鼠模型中, 虫草素通过促进线粒体融合并上调线粒体融合蛋白 2 (Mfn2) 的表达来保护糖尿病心脏免受缺血/再灌注损伤, 敲除 *Mfn2* 后可显著阻断虫草素对糖尿病小鼠的心脏保护作用, 虫草素通过腺苷酸活化蛋白激酶 (AMPK) 依赖通路上调了 Mfn2 的表达, 表明虫草素通过 AMPK/Mfn2 依赖的线粒体融合保护糖尿病心脏<sup>[19]</sup>。

糖尿病肾病 (DN) 是一种在糖尿病患者中发生的慢性肾脏疾病。研究表明, 虫草素在 DN 细胞凋亡、纤维化和自噬诱导中具有调节作用<sup>[20]</sup>, 并且其通过增加 DN 中 miR-193b-5p 表达使下游髓样细胞白血病 1 蛋白 (MCL-1) 失活来抑制氧化应激和炎症<sup>[21]</sup>。

此外, 对于糖尿病所致的脑功能受损, 虫草素通过激活 AMPK 和自噬途径, 上调认知功能相关的蛋白 (ULK1 亚型 2) 的表达, 从而改善糖尿病小鼠相关的氧化应激和认知能力下降<sup>[22]</sup>。糖尿病引起的男性勃起功能障碍被认为是一个世界性的挑战, 研究发现虫草素可以通过 SIRT1/Foxo3a 信号通路调节下游抗氧化酶活性, 从而改善高血糖诱导的睾丸损伤<sup>[23]</sup>; 通过激活睾酮分泌和抑制氧化应激来增强糖尿病大鼠的勃起功能<sup>[24]</sup>。此外, 虫草素还能够调节能量相关蛋白和泛素蛋白酶体系统的表达来调节肝脏代谢, 维持细胞存活, 进而改善肝脏代谢途径, 减轻糖尿病引起的肝损伤<sup>[25]</sup>。

线粒体作为细胞的能量代谢中心, 其功能障碍与糖尿病的发生、发展及并发症密切相关。胰岛  $\beta$  细胞依赖线粒体氧化磷酸化产生 ATP, 触发胰岛素分泌, 线粒体功能障碍导致 ATP 合成减少, 胰岛素分泌不足, 影响胰岛素信号传导, 并引起足细胞损伤和肾小球滤过率下降, 从而引发糖尿病肾病等<sup>[26-28]</sup>。同时, 高血糖诱导的线粒体 ROS 生成增加可引发内皮细胞炎症和氧化应激, 导致动脉粥样硬化。已有研究发现虫草素治疗能够在体外改善异常的线粒体动力学<sup>[29]</sup>。基于上述研究发现, 虫草素可通过 ROS/JNK 线粒体凋亡通路, SIRT3 信号通路和 AMPK/Mfn2 依赖的线粒体融合通路改善线粒体功能障碍发挥改善糖尿病及其并发症的作用。

虫草素改善糖尿病及其并发症的作用机制见表 1。

## 2.2 虫草素与肥胖

肥胖是一种因脂肪过量沉积而损害健康的慢

性复杂疾病。研究发现, 虫草素能够通过脂肪细胞转化、调控脂滴 (LD) 相关基因表达、AMPK 依赖途径与增加产热基因表达、调节腺苷 A1 受体及调控肠道菌群等途径发挥抗肥胖作用。据报道, 虫草素能够促进白色脂肪细胞向米色和棕色脂肪细胞转化, 下调脂滴相关基因 *Fsp27*、*perilipin 1*、*perilipin 2*、*Rab5*、*Rab11* 和 *perilipin 3* 的表达及上调脂肪组织三酰甘油水解酶 (ATGL) 的表达进而阻断脂滴形成和促进脂滴降解来调节体重<sup>[30]</sup>。虫草素还可能通过 AMPK 依赖性途径促进白色脂肪组织褐变, 增加能量消耗, 抑制体重增加, 改善代谢谱, 提高葡萄糖耐量, 减少白色脂肪组织质量和脂肪细胞大小, 增强正常和高脂肪饮食小鼠的耐寒性; 并且可增加白色脂肪组织和小鼠胚胎成纤维细胞 (3T3-L1) 分化脂肪细胞中解偶联蛋白 1 (UCP1) 等产热基因的表达<sup>[31]</sup>。在高脂饮食诱导的肥胖大鼠中, 虫草素可以显著降低其血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT) 和丙二醛 (MDA) 水平, 显著升高高密度脂蛋白 (HDL-C) 水平, 并提高 SOD 水平来调节脂肪代谢<sup>[32]</sup>。此外, 在体外研究中发现虫草素可通过上调腺苷 A1 受体的表达抑制大鼠垂体瘤细胞 (GH3) 泌乳素分泌, 下调催乳素受体 (PRLR) 的表达, 提示虫草素可能通过调节腺苷 A1 受体减少催乳素的释放来调节体重<sup>[32]</sup>。

据报道, 虫草素能够抑制高脂饲料喂养大鼠的体重增加, 并减少附睾和肾脏周围脂肪堆积<sup>[33]</sup>; 通过对高脂肪饮食诱导的肥胖大鼠的肠道内容物进行 16S rDNA 测序结果显示, 虫草素治疗在门、纲、目、科、属、种水平上改变了高脂肪饮食诱导的肥胖大鼠肠道菌群的相对丰度, 并且显著逆转了高脂肪饮食诱导的肥胖大鼠中两种优势菌门 (拟杆菌门和厚壁菌门) 的相对丰度<sup>[33]</sup>。除此之外, 虫草素还可以选择性增加嗜黏液阿克曼菌 (*Akkermansia muciniphila*) 的丰度, 并减少粪便中脂多糖 (LPS) 的生成<sup>[34]</sup>。同时, 虫草素能够显著减轻西方饮食喂养小鼠的体重增加, 减轻全身性炎症反应和代谢紊乱, 其作用机制包括抑制肠道炎症和氧化应激损伤, 减少肠道上皮细胞的凋亡和焦亡, 从而显著改善肠道屏障功能, 降低 LPS 向血液中的渗漏<sup>[34]</sup>。

虫草素改善肥胖的作用机制见表 2。

## 2.3 虫草素与高脂血症

高脂血症, 也称高血脂或血脂异常, 通常指血浆中 TG 和 / 或 TC 升高, LDL-C 升高和 HDL-C 降低。近年来, 针对有效降低和调节脂质水平的

表 1 虫草素改善糖尿病及其并发症的作用机制  
Tab 1 Action of cordycepin in improving diabetes mellitus and its complications

| 实验对象 / 模型                                            | 造模方式                                        | 给药方式  | 给药时长 | 主要结果 / 指标                                                                    | 影响                                      | 文献   |
|------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------|------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|------|
| Wistar 大鼠                                            | 腹腔注射单剂量 150 mg/kg 链脲佐菌素                     | 灌胃    | 20 周 | 总胆固醇 ↓、血糖 ↓、三酰甘油 ↓、肌酐 ↓、尿蛋白水平 ↓                                              | 减轻组织损伤，可抑制细胞凋亡和肾纤维化，挽救细胞自噬              | [20] |
| SD 大鼠                                                | 高脂肪饮食 1 个月后腹腔注射 30 mg/kg 链脲佐菌素              | 灌胃    | 4 周  | SIRT3 ↑                                                                      | 保护血管功能，逆转线粒体损伤                          | [17] |
| 昆明小鼠                                                 | 单次腹腔注射四氧嘧啶 (200 mg/kg)                      | 腹腔注射  | 21 d | 血糖水平 ↓、肝糖原含量 ↑、口服葡萄糖耐量 ↑                                                     | 调节体内葡萄糖吸收，保护肾脏和脾脏损伤                     | [14] |
| C57BL/6 小鼠                                           | 单次腹膜内注射链脲佐菌素 (200 mg/kg)                    | 腹膜内给药 | 14 d | 体重 ↓、食物摄入量 ↓、饮水量 ↓、草酰乙酸 ↑、柠檬酸盐水平 ↑                                           | 调节能量相关蛋白和泛素 - 蛋白酶体系统的表达来维持细胞存活，预防肝脏代谢紊乱 | [25] |
| C57BL/6Miac 小鼠                                       | 单次腹腔注射链脲佐菌素 (200 mg/kg)                     | 腹腔注射  | 14 d | 体重 ↓、食物摄入量 ↓、饮水量 ↓、ULK1 亚型 2 表达 ↑                                            | 逆转认知能力下降，改善氧化应激                         | [22] |
| C57BL/6 小鼠                                           | 高脂肪饮食 6 周，注射链脲佐菌素 25 mg/kg 连续 2 d           | 灌胃    | 1 周  | 线粒体融合 ↑、Mfn2 表达 ↑                                                            | 保护糖尿病心脏病免受心肌缺血 / 再灌注损伤，改善线粒体功能，减少心肌细胞凋亡 | [19] |
| C57BL/6 小鼠                                           | 高脂肪饮食 4 周，并连续 5 d 腹腔注射 50 mg/(kg · d) 链脲佐菌素 | 灌胃    | 8 周  | SIRT1 表达 ↑、Foxo3a 的活性 ↑、Mn-SOD ↑、CAT ↑                                       | 抗凋亡，抗氧化，恢复血 - 睾屏障的破坏，改善精子生成功能           | [23] |
| 临床样本 / C57BLKS/J db/db 和 C57BLKS/J db/m 小鼠 / HK-2 细胞 |                                             | 灌胃    | 12 周 | miR-193b-5p ↓，MCL-1 ↑                                                        | 减轻细胞损伤、炎症和异常能量代谢                        | [21] |
| INS-1 细胞                                             | 2.8 mmol/L 或 16.7 mmol/L 葡萄糖刺激              |       | 24 h | 胰岛素 ↑、ATP 含量 ↑、Ca <sup>2+</sup> ↑、胰腺十二指肠同源盒 1 (PDX-1) ↑、GLUT ↑、Akt ↑、P-Akt ↑ | 抗氧化，促进胰岛素合成 / 分泌                        | [16] |
| INS 细胞                                               | 20 mmol/L 高糖 / 0.2 mmol/L 棕榈酸诱导的糖脂毒性损伤      |       | 24 h | ROS ↓、ATP 含量 ↑、Ca <sup>2+</sup> ↑、JNK 磷酸化 ↑、Cyt-c ↑、Capase-3 ↑、JNK ↑、PDX-1 ↑ | 抑制细胞凋亡、保护细胞数量、改善胰岛细胞的功能                 | [15] |

表 2 虫草素改善肥胖的作用机制  
Tab 2 Mechanism of action of cordycepin in improving obesity

| 实验对象 / 模型  | 造模方式      | 给药方式 | 给药时长 / 周 | 主要结果 / 指标                                                                                                                                      | 影响                                                    | 文献   |
|------------|-----------|------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------|
| SD 大鼠      | 高脂肪饮食 4 周 | 灌胃   | 4        | 体重 ↓、肥胖指数 ↓、拟杆菌门 ↑、厚壁菌门 ↓                                                                                                                      | 改善肥胖，调节肠道菌群的构成                                        | [33] |
| SD 大鼠      | 高脂肪饮食 5 周 | 灌胃   | 5        | 血清和肝脏脂质水平 ↓、腺苷 A1 受体 ↑、GH3 细胞催乳素 ↓、PRLR ↓                                                                                                      | 保护脂肪细胞，保护肝细胞、减轻炎症，调节体重                                | [32] |
| SD 大鼠      | 高脂肪饮食 8 周 | 灌胃   | 8        | Fsp27 ↓、perilipin 3 ↓、perilipin 2 ↓、Rab5 ↓、Rab11 ↓、perilipin 1 ↓、ATGL ↑                                                                        | 促进白色脂肪细胞向米色和棕色脂肪细胞转化，阻断脂滴形成，促进脂滴降解                    | [30] |
| C57BL/6 小鼠 | 高脂肪饮食 4 周 | 灌胃   | 3        | TC ↓、TG ↓、LDL-C ↓、白色脂肪组织 (WAT) ↓、UCP1 ↑、葡萄糖耐量 ↑、脂肪细胞大小 ↓                                                                                       | 增加能量消耗，抑制体重增加，改善代谢谱，增强耐寒性，提高腹股沟 WAT 周围的表面温度，使腹股沟脂肪呈褐色 | [31] |
| C57BL/6 小鼠 | 高脂肪饮食 7 周 | 灌胃   | 7        | 肿瘤坏死因子 -α (TNF-α) ↓、MCP-1 ↓、白细胞介素 -6 (IL-6) ↓、IL-12p70 ↓、IL-1α ↓、IL-27 ↓、干扰素 -β (IFN-β) ↓和 IFN-γ ↓、体重 ↓、代谢紊乱 ↓、Akkermansia muciniphila ↑、LPS ↓ | 改善肠道屏障功能，调节肠道菌群稳态，改善代谢性炎症和肥胖                          | [34] |

抗高血脂药物的研究逐渐增多。在这些研究中，包括虫草素在内的多种天然药物被报道具有减少 TC、TG 和 LDL-C 的积累等调节血脂异常的活性，并且不良反应较少。

目前，虫草素在抗高脂血症方面的研究较少。有研究表明，虫草素能够激活 AMPK 来有效减少 TC、TG 和 LDL-C 的积累，抑制高脂饮食引起的腹膜后脂肪增加，并提高肝脏和腹膜后脂肪



组织中 AMPK 和磷酸乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC) 的水平; 在人肝癌细胞 (HepG2) 中, 虫草素呈浓度和时间依赖性地激活 AMPK, 这与 ACC 的激活和脂质生物合成的抑制相关<sup>[35]</sup>。这一结果在另一研究中得到验证, 该研究发现虫草素治疗可显著降低 HepG2 细胞内总脂质、TC 和 TG 水平, 刺激脂质氧化和减少脂质生物合成, 并显著减少细胞内脂质沉积的主要位点——LD 的大小。同时以剂量依赖的方式增加了 AMPK 及其下游靶点 ACC 的磷酸化水平, 提示其可能通过与  $\gamma$ 1 亚基的相互作用激活 AMPK 发挥调节血脂异常的作用<sup>[36]</sup>。在一项基于核磁共振 (NMR) 波谱的代谢组学研究发现, 虫草素可以调节高脂血症仓鼠血浆和肝脏样品中的脂质 (TG 和 TC)、乳酸、乙酸、丙氨酸、谷氨酰胺以及含胆碱化合物 (如磷脂胆碱、磷脂酰胆碱和甘油磷脂胆碱)、葡萄糖和糖原水平, 表明虫草素不仅能调节高脂血症仓鼠血浆中的血脂水平, 而且能保护肝脏组织<sup>[37]</sup>。此外, 研究还报道了虫草素能够降低高脂血症叙利亚金仓鼠和 Wistar 大鼠血清中 TC、TG、LDL-C、极低密度脂蛋白胆固醇 (VLDL-C) 含量及 LDL-C/HDL-C 和 TC/HDL-C 的比值, 推测虫草素可能通过升高动物体内脂蛋白脂肪酶 (LPL) 和肝脂酶 (HL) 活性来调节血脂水平<sup>[38]</sup>。

## 2.4 虫草素与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是指中等动脉或大动脉的动脉壁形成脂质斑片状沉积物 (即粥样斑或粥样硬化斑块), 导致血流量减少或阻塞血液流出的一种疾病, 是全球范围内死亡率和发病率升高的主要原因之一<sup>[39-40]</sup>。动脉粥样硬化的病理过程复杂, 涉及脂质代谢紊乱、炎症反应、氧化应激等。由于脂质代谢紊乱和炎症均为动脉粥样硬化发生的危险因素, 虫草素抗炎和改善血脂异常的作用使其成为预防和治疗动脉粥样硬化具有前景的药物。

研究发现, 虫草素可以调节细胞内胆固醇稳态, 有效地阻止巨噬细胞泡沫细胞的形成, 激活巨噬细胞的自噬活性, 对高脂肪饮食喂养的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠具有抗动脉粥样硬化作用<sup>[41]</sup>。另一研究发现, 虫草素可抑制大鼠主动脉平滑肌细胞 (RaoSMCs) 的增殖, 减少球囊损伤所致的大鼠颈动脉内膜增生, 其机制可能是虫草素通过调节血管壁的重塑和/或内膜细胞及细胞外基质 (ECM) 的积累来减少动脉粥样硬化病变进展<sup>[42]</sup>。此外, 虫草素可通过下调血管平滑肌细胞 (VSMCs) 中丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) / 蛋白激酶 B (Akt) / 核因子  $\kappa$ B 信号通路抑制 TNF- $\alpha$

诱导的黏附分子表达来预防动脉粥样硬化病变进展<sup>[43-44]</sup>。虫草素还可能通过干扰腺苷受体介导的一氧化氮合酶 (NOS) 通路, 对血小板衍生生长因子 -BB (PDGF-BB) 诱导的 RaoSMCs 细胞迁移和增殖产生抑制作用, 从而减弱新生内膜的形成而发挥其抗动脉粥样硬化的作用<sup>[45]</sup>。

## 2.5 虫草素与 NAFLD

NAFLD 指除酒精及其他明确肝损伤因素外引起的以肝细胞内脂质过度沉积为主要特征的肝脏代谢综合征, 与血脂代谢紊乱、腹型肥胖、2 型糖尿病密切相关<sup>[46]</sup>。近年来, 随着生活方式的快速转变, 全球成人 NAFLD 的患病率约为 25%<sup>[47]</sup>, NAFLD 的发病率呈上升趋势, 且呈年轻化, 严重危害人类健康<sup>[48]</sup>。研究表明, 虫草素能够降低体重, 减轻脂肪和肝脏的重量, 同时降低血清 AST、ALT、TG、TC、LDL-C 水平并增加 HDL-C 水平, 来减轻肝损伤; 此外, 虫草素治疗显著减轻了炎症因子 (TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$ ) 和巨噬细胞标志物 (MCP1、MIP2、mKC 和 VCAM1) 的表达以及显著下调脂质合成代谢相关蛋白 (SREBP1-c、ACC、SCD-1、LXR $\alpha$  和 CD36) 和上调  $\beta$  氧化相关蛋白 (p-AMPK、AMPK、CPT-1 和 PPAR- $\alpha$ ), 提示虫草素可能通过调节脂质代谢和炎症反应改善与饮食诱发的肥胖相关的 NAFLD<sup>[49]</sup>。这一结果与另一研究一致, 该研究发现虫草素可显著降低 ob/ob 小鼠血脂水平, 改善肝功能, 减少肝脏脂质累积, 减轻炎症反应, 其机制可能与其抑制脂质合成和炎症相关基因表达有关<sup>[50]</sup>。据报道, 虫草素可能通过激活 AMPK 信号通路, 对代谢应激小鼠肝脂肪变性、炎症、肝损伤和纤维化具有显著的保护作用<sup>[51]</sup>。此外, 虫草素还可能通过激活 PKA/mTOR 通路, 显著增加 P-PKA 的表达, 降低 P-mTOR 的表达, 从而促进 HepG2 细胞系的自噬来防止棕榈酸 (PA) 诱导的肝脂质积累<sup>[52]</sup>。

## 3 总结与展望

随着全球经济的变化, 人们的生产生活方式也改变, 形成了久坐不动的生活模式以及过度的热量摄入, 导致代谢性疾病的发病率持续攀升, 已然成为公众高度关注的健康问题。虫草素是一种具有多种生物活性和药理特性的天然产物。研究发现, 虫草素可能通过 ROS/JNK 线粒体凋亡通路、SIRT3 信号通路、AMPK/Mfn2 依赖的线粒体融合通路和 SIRT1/Foxo3a 信号通路、脂肪细胞转化与调控 LD 相关基因表达、AMPK 依赖途径与增加产热基因表达、调节腺苷 A1 受体、调控肠道菌群, 此外, 还涉及激活 PKA/mTOR 通路等机制对糖尿病、肥胖、血脂异常、动脉粥样



硬化以及 NAFLD 等常见代谢性疾病发挥潜在的治疗和预防作用, 这为未来虫草素的研究及临床应用提供了有力的科学依据。然而, 目前虫草素在代谢性疾病领域的研究仍处于起步阶段, 其发挥作用的具体分子机制还不清楚, 仍需更深入的临床前基础研究来阐明; 在此基础上, 进一步的临床研究对于评估其安全性和有效性至关重要。此外, 虫草素的药理特性和潜在不良反应也需要深入研究。尽管如此, 虫草素作为一种天然产物, 具有成为代谢性疾病治疗和预防的新型药物或营养补充剂的潜力, 有望为代谢性疾病患者提供新的治疗选择。

## 参考文献

- [1] Li D, Li YJ, Yang S, et al. Diet-gut microbiota-epigenetics in metabolic diseases: from mechanisms to therapeutics [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113290.
- [2] 吴晓宇, 关方旭, 苏畅, 等. 2009—2023 年中国十省 (自治区) 成年居民主要慢性代谢性疾病现状及流行趋势 [J]. 卫生研究, 2024, 53 (6): 880-886, 913.
- [3] Chew NWS, Ng CH, Tan DJH, et al. The global burden of metabolic disease: data from 2000 to 2019 [J]. Cell Metab, 2023, 35 (3): 414-428.e3.
- [4] 张艳苹, 黄彬, 卢金森, 等. 首个 GIP/GLP-1 双重受体激动剂: 替尔泊肽 [J]. 中国临床药学杂志, 2025, 34 (7): 533-539.
- [5] 谷昱琦. 达格列净治疗 2 型糖尿病的临床疗效、不良反应以及药物经济学的研究进展 [J]. 中国实用医药, 2022, 17 (5): 205-208.
- [6] 刘英英, 刘秋美, 于雪婷, 等. 糖尿病药物不良反应研究进展 [J]. 中国医药科学, 2022, 12 (6): 52-56.
- [7] Lennon MB, Suhadolnik RJ. Biosynthesis of 3'-deoxyadenosine by cordyceps militaris. Mechanism of reduction [J]. Biochim Biophys Acta, 1976, 425 (4): 532-536.
- [8] 刘娟, 胡爽, 孙浩铭, 等. 虫草素的功能研究进展 [J]. 农业灾害研究, 2025, 15 (4): 16-18.
- [9] Cunningham KG, Manson W, Spring FS, et al. Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link [J]. Nature, 1950, 166 (4231): 949.
- [10] Cao CQ, Yang ST, Zhou ZG. The potential application of cordyceps in metabolic-related disorders [J]. Phytother Res, 2020, 34 (2): 295-305.
- [11] Xia YL, Luo FF, Shang YF, et al. Fungal cordycepin biosynthesis is coupled with the production of the safeguard molecule pentostatin [J]. Cell Chem Biol, 2017, 24 (12): 1479-1489.e4.
- [12] He R, Zhou WC. Application and research progress of cordycepin in the treatment of tumours (review) [J]. Mol Med Rep, 2024, 30 (3): 161.
- [13] Harreiter J, Roden M. Diabetes mellitus: definition, classification, diagnosis, screening and prevention (update 2023) [J]. Wien Klin Wochenschr, 2023, 135 (Suppl 1): 7-17.
- [14] Ma L, Zhang S, Du M. Cordycepin from cordyceps militaris prevents hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice [J]. Nutr Res, 2015, 35 (5): 431-439.
- [15] Yan BY, Gong YC, Meng W, et al. Cordycepin protects islet beta-cells against glucotoxicity and lipotoxicity via modulating related proteins of ROS/JNK signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 163: 114776.
- [16] Sun HZ, Zhang AY, Gong YC, et al. Improving effect of cordycepin on insulin synthesis and secretion in normal and oxidative-damaged INS-1 cells [J]. Eur J Pharmacol, 2022, 920: 174843.
- [17] Xue B, Li L, Gu XD, et al. Protective effect of cordycepin on impairment of endothelial function in type 2 diabetes mellitus [J]. Int J Med Mushrooms, 2022, 24 (3): 65-75.
- [18] Chu HL, Chien JC, Duh PD. Protective effect of cordyceps militaris against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells [J]. Food Chem, 2011, 129 (3): 871-876.
- [19] Yu HY, Hong X, Liu LH, et al. Cordycepin decreases ischemia/reperfusion injury in diabetic hearts via upregulating AMPK/Mfn2-dependent mitochondrial fusion [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 754005.
- [20] Cao T, Xu RC, Xu Y, et al. The protective effect of cordycepin on diabetic nephropathy through autophagy induction in vivo and in vitro [J]. Int Urol Nephrol, 2019, 51 (10): 1883-1892.
- [21] Zheng R, Zhang WJ, Song JF, et al. Cordycepin from cordyceps militaris ameliorates diabetic nephropathy via the miR-193b-5p/MCL-1 axis [J]. Chin Med, 2023, 18 (1): 134.
- [22] Srisuksai K, Parunyakul K, Phaonakrop N, et al. The effect of cordycepin on brain oxidative stress and protein expression in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. J Vet Med Sci, 2021, 83 (9): 1425-1434.
- [23] Huang T, Zhou YF, Lu XZ, et al. Cordycepin, a major bioactive component of cordyceps militaris, ameliorates diabetes-induced testicular damage through the Sirt1/Foxo3a pathway [J]. Andrologia, 2022, 54 (1): e14294.
- [24] Pohsa S, Hanchang W, Singpoonga N, et al. Effects of cultured cordyceps militaris on sexual performance and erectile function in streptozotocin-induced diabetic male rats [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 4198397.
- [25] Parunyakul K, Srisuksai K, Charoenlappan S, et al. Metabolic impacts of cordycepin on hepatic proteomic expression in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice [J]. PLOS One, 2021, 16 (8): e0256140.
- [26] Ding SC, Zhang H, Song LX, et al. Bibliometric analysis of research hotspots and emerging trends in mitophagy and atherosclerosis (2004—2024) [J]. Front Med (Lausanne), 2025, 12: 1621079.

- [27] Yau B, Ghislain J, Kebede MA, et al. The role of the beta cell in type 2 diabetes: new findings from the last 5 years [J]. *Diabetologia*, 2025, 68 (10): 2092-2103.
- [28] Audzeyenka I, Rachubik P, Rogacka D, et al. Insulin induces bioenergetic changes and alters mitochondrial dynamics in podocytes [J]. *J Endocrinol*, 2024, 261 (3): e230357.
- [29] Zhang XL, Huang WM, Tang PC, et al. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of natural cordycepin in rotenone-induced PD models through inhibiting Drp1-mediated mitochondrial fission [J]. *Neurotoxicology*, 2021, 84: 1-13.
- [30] Xu HY, Wu BJ, Wang XY, et al. Cordycepin regulates body weight by inhibiting lipid droplet formation, promoting lipolysis and recruiting beige adipocytes [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2019, 71 (9): 1429-1439.
- [31] Qi GH, Zhou Y, Zhang XP, et al. Cordycepin promotes browning of white adipose tissue through an AMP-activated protein kinase (AMPK)-dependent pathway [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, 9 (1): 135-143.
- [32] Li Y, Li Y, Wang XY, et al. Cordycepin modulates body weight by reducing prolactin via an adenosine A1 receptor [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24 (27): 3240-3249.
- [33] An YN, Li Y, Wang XY, et al. Cordycepin reduces weight through regulating gut microbiota in high-fat diet-induced obese rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17 (1): 276.
- [34] Chen JM, Wang MC, Zhang P, et al. Cordycepin alleviated metabolic inflammation in Western diet-fed mice by targeting intestinal barrier integrity and intestinal flora [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 178: 106191.
- [35] Guo P, Kai Q, Gao J, et al. Cordycepin prevents hyperlipidemia in hamsters fed a high-fat diet via activation of AMP-activated protein kinase [J]. *J Pharmacol Sci*, 2010, 113 (4): 395-403.
- [36] Wu CM, Guo YS, Su Y, et al. Cordycepin activates AMP-activated protein kinase (AMPK) via interaction with the gamma1 subunit [J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18 (2): 293-304.
- [37] Sun Y, Wang YH, Qu K, et al. Beneficial effects of cordycepin on metabolic profiles of liver and plasma from hyperlipidemic hamsters [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13 (6): 534-546.
- [38] Gao J, Lian ZQ, Zhu P, et al. Lipid-lowering effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) from cordyceps militaris on hyperlipidemic hamsters and rats [J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2011, 46 (6): 669-676.
- [39] Tangeten C, Zouaoui Boudjeltia KZ, Delporte C, et al. Unexpected role of MPO-oxidized LDLs in atherosclerosis: In between inflammation and its resolution [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11 (5): 874.
- [40] Bhattacharya P, Kanagasooriyan R, Subramanian M. Tackling inflammation in atherosclerosis: are we there yet and what lies beyond? [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2022, 66: 102283.
- [41] Li X, Zhou Y, Zhang X, et al. Cordycepin stimulates autophagy in macrophages and prevents atherosclerotic plaque formation in ApoE<sup>-/-</sup> mice [J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (55): 94726-94737.
- [42] 罗雨, 税晓容, 陈伟杰, 等. 虫草素抑制血管平滑肌细胞增殖的可能机制 [J]. *牡丹江医学院学报*, 2016, 37 (4): 110-112, 22.
- [43] Yan LJ, Yang HT, Duan HY, et al. Cordycepin inhibits vascular adhesion molecule expression in TNF-alpha-stimulated vascular muscle cells [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14 (3): 2335-2340.
- [44] 许托, 罗雨, 税晓容, 等. 虫草素对动脉硬化闭塞患者血管平滑肌细胞增殖及 ERK1/2 蛋白表达的影响 [J]. *广东医学*, 2018, 39 (5): 705-709.
- [45] Won KJ, Lee SC, Lee CK, et al. Cordycepin attenuates neointimal formation by inhibiting reactive oxygen species-mediated responses in vascular smooth muscle cells in rats [J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 109 (3): 403-412.
- [46] Pouwels S, Sakran N, Graham Y, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): a review of pathophysiology, clinical management and effects of weight loss [J]. *BMC Endocr Disord*, 2022, 22 (1): 63.
- [47] Guo XY, Yin XZ, Liu ZJ, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) pathogenesis and natural products for prevention and treatment [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (24): 15489.
- [48] 范建高, 杨荣. 全球非酒精性脂肪性肝病的流行趋势与疾病负担 [J]. *中华消化杂志*, 2023, 43 (4): 248-252.
- [49] Gong XB, Li TJ, Wan RZ, et al. Cordycepin attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease via down-regulation of lipid metabolism and inflammatory responses [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91: 107173.
- [50] Zhong LP, Li J, Wang FZ, et al. Protective effect and underlying mechanism of cordycepin on non-alcoholic fatty liver in ob/ob mice [J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2017, 52 (1): 106-112.
- [51] Lan T, Yu Y, Zhang J, et al. Cordycepin ameliorates non-alcoholic steatohepatitis by activation of the AMP-activated protein kinase signaling pathway [J]. *Hepatology*, 2021, 74 (2): 686-703.
- [52] Li TJ, Wen LK, Cheng BJ. Cordycepin alleviates hepatic lipid accumulation by inducing protective autophagy via PKA/mTOR pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516 (3): 632-638.

(收稿日期: 2025-06-23; 修回日期: 2025-10-13)

# 白花蛇舌草抗肿瘤作用机制研究进展

刘春梅<sup>1</sup>, 曾元宁<sup>1</sup>, 匡海学<sup>1</sup>, 王秋红<sup>1, 2\*</sup> (1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 2. 广东药科大学中药学院, 广州 510006)

**摘要:** 白花蛇舌草是传统中医中广泛用于治疗痈肿、咽痛、毒蛇咬伤及多种炎症性疾病的常用草药。近年来, 其显著的抗肿瘤活性引起了广泛关注。大量体内外研究表明, 白花蛇舌草及其活性成分通过多途径、多靶点发挥抗肿瘤作用。本文旨在系统综述白花蛇舌草的抗肿瘤作用机制, 主要涉及诱导肿瘤细胞凋亡、增强免疫应答、抑制血管生成、抑制肿瘤细胞迁移与侵袭、增强抗肿瘤药物敏感性、干扰 DNA 合成与复制等方面, 并对其研究前景进行展望, 以为后续深入研究和临床开发提供参考。

**关键词:** 白花蛇舌草; 癌症; 作用机制; 抗肿瘤

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-241-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.034

## Research progress in anti-tumor mechanism of *Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang

LIU Chunmei<sup>1</sup>, ZENG Yuanning<sup>1</sup>, KUANG Haixue<sup>1</sup>, WANG Qihong<sup>1, 2\*</sup> (1. College of Pharmacy, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006)

**Abstract:** *Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang is a traditional Chinese medicinal herb widely used for boils, sore throat, snake bites, and various inflammatory diseases. In recent years, its remarkable antitumor activity has attracted much attention. Extensive in vivo and in vitro studies have demonstrated that *Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang and its active components exert anticancer effects through multiple pathways and targets. This review summarized the mechanism of the anti-tumor actions of *Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang, mainly the induction of cancer cell apoptosis, enhancement of immune responses, inhibition of angiogenesis, suppression of cancer cell migration and invasion, improvement of sensitivity to anti-tumor drugs, and interference with DNA synthesis and replication. Furthermore, research prospects are discussed to provide a reference for in-depth investigations and clinical development.

**Key words:** *Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang; cancer; mechanism; anti-tumor

据世界卫生组织 (WHO) 2022 年的统计数据, 全球新发癌症病例数接近 2000 万<sup>[1]</sup>, 每年因癌症死亡的人数近 1000 万人, 约占全球死亡人数的 1/6, 是仅次于心血管疾病的第二大死亡原因。目前临床上主要通过手术、放疗、化疗、靶向治疗和免疫治疗等方式治疗癌症, 但在治疗癌

症的同时, 这些方法往往使患者出现多种并发症及严重不良反应, 给患者身体造成负担, 降低患者的生存质量<sup>[2]</sup>。癌症分为先天性癌症和后天性癌症两种。现有研究表明, 先天性癌症主要与基因、遗传因素<sup>[3]</sup>以及自身免疫缺陷有关, 很多癌症与基因突变和遗传基因缺陷直接相关。后天性

**基金项目:** 全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (国中医药人教函〔2022〕75 号); 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程—岐黄工程首席科学家支持项目 (国中医药人教函〔2021〕7 号); 全国老药工传承工作室建设项目 (国中医药人教函〔2024〕255 号); 广东省科技厅粤澳科技创新联合资助项目《古法胆南星炮制内涵研究及开发应用》(No.2024A0505090022)。

**作者简介:** 刘春梅, 女, 在读硕士研究生, 主要从事中药炮制方面的研究, email: 2791561360@qq.com \*通信作者: 王秋红, 女, 教授, 博士研究生导师, 主要从事生药学、中药炮制方面的研究, email: qhwang668@sina.com



癌症由多种因素共同作用导致, 生活环境<sup>[4]</sup>、致癌物质、细菌或病毒感染、不良生活方式<sup>[5]</sup>以及肥胖都可能引发癌症。

中药是中医药理论体系的重要组成部分, 是中国传统文化的瑰宝, 有着上千年的历史, 其资源广泛, 成本低廉, 不良反应少, 不仅可对已有病症进行治疗, 还可用于“治未病”, 适合长期调理。白花蛇舌草 [*Scleromitron diffusum* (Willd.) R. J. Wang] 属于茜草科耳草属, 始载于《广西中药志》, 以其干燥全草入药<sup>[6]</sup>。其性寒、味微苦、甘, 归胃、大肠、小肠经, 具有清热解毒、消肿解痛、利尿渗湿之功<sup>[7]</sup>。在《中西医学比观》(第1集)<sup>[8]</sup>中, 首次记载了白花蛇舌草的应用。该草药源自广东潮州地区, 属于当地民间药材, 在当时主要用于治疗盲肠炎。此后,《潮州志·物产志》中对白花蛇舌草的描述为:“茎叶榨汁饮服治盲肠炎有特效, 又可治一切肠病”<sup>[9]</sup>。其后, 人们对白花蛇舌草的使用逐渐增加, 并发现其治疗癌肿效果良好。叶觉淦<sup>[10]</sup>《本草推陈》(续篇)首次正式记载白花蛇舌草可用于治疗癌症, 并记录了白花蛇舌草在海外的治疗案例。《中草药汇集》<sup>[11]</sup>中提及白花蛇舌草可治疗癌肿、急性阑尾炎、毒蛇咬伤;《中草药单验方手册》<sup>[12]</sup>中收录了白花蛇舌草治疗癌症的处方;现代药理研究也验证了其抗肿瘤功效以及作用机制<sup>[13]</sup>。在现代药理学研究中, 其抗肿瘤作用成为最突出的亮点<sup>[14]</sup>, 其研究成果已深入分子生物学层面, 揭示了白花蛇舌草的抗肿瘤作用并非通过单一途径, 而是体现了中药“多成分、多靶点、整体调节”的特点。白花蛇舌草在现代中药抗肿瘤研究中处于较高地位, Meng等<sup>[15]</sup>通过检索 PubMed 和 SciFinder 数据库, 发现了 199 种抗肿瘤草药;随后, 他们根据出现频率对每种草药进行了排名, 发现白花蛇舌草位列前五。白花蛇舌草也是许多清热和解毒抗肿瘤草药的代表, 其抗肿瘤活性仅次于紫杉醇<sup>[16]</sup>。有学者对国医大师潘敏求、周仲瑛, 名老中医荣远明、徐荷芬、张念志、赵英杰等治疗非小细胞肺癌 (NSCLC) 用药规律进行分析, 发现均善用“清热解毒”之法, 白花蛇舌草为核心药物之一<sup>[17]</sup>。作为一种广谱抗肿瘤草药, 白花蛇舌草及其提取物被广泛用于治疗肠癌、胃癌、肝癌和胰腺癌等<sup>[18]</sup>。相比斑蝥、山豆根等具有毒性的抗肿瘤中药, 白花蛇舌草安全性较高, 适合长期调理<sup>[19-20]</sup>。目前, 白花蛇舌草中已从 58 种抗肿瘤活性成分, 其中, 蒽醌、环烯醚萜、类黄酮、三萜、香豆素、生物碱和环状肽是主要的抗肿瘤活性成分<sup>[21]</sup>。且多项体内实验表明, 白花蛇舌草提取物对肿瘤细胞有抑制作用, 与传统民间抗肿瘤应用一致。本文对白花蛇舌草在抗肿瘤作用机制方面的研究进展进行系统梳理, 为其进一步开发利用提供思路。

## 1 抗肿瘤作用机制研究

本文主要对诱导肿瘤细胞凋亡、增强免疫应答、抑制血管生成、抑制肿瘤细胞迁移与侵袭、增强抗肿瘤药物敏感性及干扰脱氧核糖核酸 (DNA) 合成与复制等机制进行总结。

### 1.1 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡是一种程序性细胞死亡形式, 是生物体在生理或病理条件下主动清除多余、受损或危险细胞的重要机制, 是一个高度有序的过程。癌症发展往往与细胞凋亡成分的失调有关<sup>[22-23]</sup>。诱导细胞凋亡的途径主要有内源性凋亡途径 (线粒体通路)、外源性凋亡途径 (受体死亡通路)。研究发现, 半胱氨酸蛋白酶 (Caspase) 在细胞凋亡中起到一定作用, 此外, 参与细胞凋亡的通路主要包括 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK), 磷脂酰肌醇 3-激酶 / 蛋白激酶 B/p53 信号轴 (PI3K/Akt/p53) 通路。

林久茂等<sup>[24]</sup>发现白花蛇舌草提取物可诱导线粒体膜电位显著下降, 使线粒体功能受损, 进而促使细胞色素 C (cytochrome C) 释放到细胞质中, 激活 Caspase 级联反应, 导致结肠癌 HT-29 细胞凋亡。这表明白花蛇舌草可通过内源性线粒体凋亡途径激活下游凋亡执行分子引起肿瘤细胞凋亡。汪增秀等<sup>[25]</sup>的研究进一步揭示, 白花蛇舌草有效成分 2-羟基-3-甲基蒽醌在该凋亡途径中发挥关键作用。赵恬等<sup>[26]</sup>随后通过体内外实验显示白花蛇舌草外泌体能上调钙蛋白酶 (calpain) 表达并激活 Caspase-4, 显著抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖并诱导凋亡, 其效果优于游离提取物与甲基蒽醌, 且未引起明显不良反应。肿瘤蛋白 p53 基因是一种关键的人体抑癌基因, 超过 50% 的恶性肿瘤与 p53 基因突变有关。白花蛇舌草乙酸乙酯部位可通过上调 p53, 同步激活线粒体与死亡受体两条凋亡通路。线粒体凋亡通路通过提高 Bax/Bcl-2 比值, 释放 cytochrome C, 进而激活 Caspase-9; 死亡受体凋亡通路通过上调死亡因子 / 死亡因子受体 (FasL/Fas) 比值, 形成死亡诱导信号复合体以激活 Caspase-8。两条通路最终共同激活 Caspase-3, 导致 HepG2 细胞凋亡<sup>[27]</sup>。

JNK 是一种丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路成员之一, 它在细胞应激反应、细胞周期调控、炎症反应及肿瘤发生中发挥关键作用<sup>[28]</sup>。在细胞核中, 孤儿核受体 Nur77 是促进细胞存活的因子; 但转移到线粒体后, Nur77 与 Bcl-2 蛋白结合, 改变其构象, 使其从保护者变为杀手, 最终触发细胞凋亡程序。Ning 等<sup>[29]</sup>发现, 不同极性的白花蛇舌草提取物能够激活斑马鱼体内的 JNK, 使 Nur77 蛋白磷酸化, 引起 Nur77 从细胞核向线

粒体转移,从而引发肝肿瘤细胞凋亡。

磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路为细胞信号转导通路之一,不仅可以影响正常细胞的发育和分化,还可影响肿瘤细胞的凋亡、转录、翻译、代谢,抑制该通路活化可直接促进乳腺癌细胞的凋亡<sup>[30]</sup>。肿瘤蛋白 p53 是重要的肿瘤抑制因子,能够诱导细胞凋亡。研究发现,白花蛇舌草乙酸乙酯提取物能够明显下调大鼠蛋白激酶 B (Akt)、磷酸化 Akt 蛋白 (p-Akt)、鼠双微体基因 2 蛋白 (MDM2)、磷酸化 MDM2 (p-MDM2) 表达,上调 p53 表达,通过抑制 PI3K/Akt/p53 信号通路,最终诱导 Kasumi-1 细胞凋亡<sup>[31]</sup>。

## 1.2 增强免疫应答

癌症免疫治疗是一种通过激活或调节患者自身免疫系统来识别、攻击肿瘤细胞的治疗方法,其核心在于恢复免疫系统对肿瘤的监视和清除能力。免疫治疗整体不良反应较传统化疗更少,严重不良反应发生率更低。

白花蛇舌草中具有免疫调节作用的活性成分主要是多糖。研究发现,中、高剂量白花蛇舌草多糖可显著提高脾脏系数和胸腺系数,各剂量组均可显著增强环磷酰胺诱导的 T 淋巴细胞增殖;中、高剂量组能显著增强脂多糖 (LPS) 诱导的 B 淋巴细胞增殖,表明白花蛇舌草多糖能增强细胞免疫与体液免疫的核心环节<sup>[32]</sup>。干扰素和白细胞介素 (IL) 等细胞因子与肿瘤的发生、发展、转移及预后存在着紧密联系,在肿瘤免疫治疗中发挥重要作用。根据以往研究,多糖能够增加 CD3<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup> 和细胞因子诱导的杀伤细胞 (CIK 细胞) 的表达,从而增强 CIK 细胞对肿瘤细胞的体外细胞溶解活性。多糖处理的 CIK 细胞还具有更高的干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ),并且比非多糖处理的 CIK 细胞更具杀伤肿瘤细胞的能力<sup>[33]</sup>。Bai 等<sup>[34]</sup>从白花蛇舌草中鉴定出一种多糖,该多糖通过上调 IL-2 的产生及其受体亚基的表达来激活 IL-2/IL-2 受体轴 (IL-2R),从而促进 T 细胞的增殖,以增强小鼠的全身免疫,从而达到治疗结肠癌的效果。贾羲等<sup>[35]</sup>研究发现,白花蛇舌草多糖一方面能够提升小鼠血清中促炎细胞因子 IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  的水平,这些因子能激活免疫细胞,增强对肺癌 Lewis 细胞的杀伤作用;另一方面能够降低抑炎因子 IL-10 的水平,减轻肿瘤微环境中的免疫抑制状态,改善小鼠的整体免疫功能,从而抑制 Lewis 细胞生长。在此模型基础上,李燕华<sup>[36]</sup>随后的研究不仅验证了该机制在肺癌模型中的可重复性,还进一步将这一机制关联到对肿瘤细胞凋亡的调控上,发现该多糖能显著

上调 Bcl-2/Bax 比值,促进肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤生长,从而深化了我们对白花蛇舌草多糖多靶点作用机制的理解。张林超<sup>[37]</sup>发现,高、低剂量的白花蛇舌草多糖可增加小鼠外周血 T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> 细胞百分比及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值,表明白花蛇舌草多糖可以改善肿瘤微环境中的免疫抑制状态,从而达到抗肿瘤效果。

自然杀伤细胞 (NK 细胞) 是抗肿瘤的第一道防线,能够不依赖抗原直接杀伤肿瘤细胞。有学者发现,白花蛇舌草总黄酮能显著增强 NK 细胞的增殖能力和细胞毒性,在 U14 荷瘤小鼠模型中,给予白花蛇舌草治疗后,不仅能够显著增强小鼠脾脏和肿瘤浸润的 NK 细胞活性,提高对肿瘤细胞的直接杀伤能力,还能增强脾淋巴细胞活性,增强细胞免疫应答,导致肿瘤生长受到明显抑制<sup>[38]</sup>。

调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 是介导免疫耐受、抑制抗肿瘤免疫的关键细胞,研究发现,Treg 细胞可以使肿瘤细胞进行免疫逃逸从而快速生长<sup>[39]</sup>。活性氧 (ROS) 是机体氧化应激和信号传导的重要介质,ROS 会通过低氧诱导因子 -1 (HIF-1) 信号通路,介导缺氧应激反应,诱导多种蛋白表达,促进肿瘤生长。有学者发现,白花蛇舌草多糖可显著提高肿瘤组织中 ROS 含量,抑制 Treg 细胞减少,诱导肿瘤细胞凋亡,并影响 T 细胞功能,从而抑制鼻咽癌小鼠模型肿瘤组织生长<sup>[40]</sup>。

## 1.3 抑制血管生成

现代药理学研究表明,白花蛇舌草抗肿瘤作用机制多样,其中抑制肿瘤血管生成是一个至关重要的环节。在肿瘤的无血管期 (直径 < 3 mm),肿瘤从周围组织中汲取营养并进行简单浸润,当达到血管期 (直径  $\geq$  3 mm) 后,其生长速度加快,迁移率和侵袭力迅速提高<sup>[41]</sup>。肿瘤血管生成成为肿瘤的生长和转移提供营养和通道,抑制该过程能有效抑制肿瘤生长。白花蛇舌草及其活性成分可以通过干预血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路、调控相关蛋白表达、诱导血管内皮细胞凋亡等多种途径抑制血管生成。

有学者发现,在人结肠癌 HT-29 模型中,白花蛇舌草提取物通过降低肿瘤内 VEGF、血管表皮生长因子 A (VEGF-A) 的表达,来抑制血管生成,从而实现抗肿瘤效果<sup>[42]</sup>。进一步研究表明,白花蛇舌草提取物通过调控 Sonic hedgehog 信号通路降低其下游靶基因 VEGF-A、血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 的表达,显著降低肿瘤内的微血管密度,从而发挥抗结直肠癌肿瘤细胞血管生成的作用<sup>[43]</sup>。基质金属蛋白酶 (MMPs) 是一类参与细胞外基质降解和组织重塑的蛋白水解酶,与炎症、肿瘤转移、关节炎等多种疾病密切相关。MMP-2



和 MMP-9 能够降解细胞外基质, 促进新生血管的形成。刘岩等<sup>[44]</sup>研究发现, 白花蛇舌草提取物通过抑制基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达, 降低 MMPs 活性, 阻断细胞外基质降解和新生血管形成, 从而抑制肾癌细胞 GRC-1 侵袭与转移。在此研究基础上, 周兴波等<sup>[45]</sup>随后在肾癌 786-O 模型中证实了该机制。现有研究表明, 肿瘤组织血管以及淋巴管的生成与肿瘤的生长、侵袭、转移、复发和肿瘤患者的预后密切相关<sup>[46]</sup>, 而白花蛇舌草对肿瘤组织血管、淋巴管的生成具有明显抑制作用。白花蛇舌草乙醇提取物具有抑制 PI3K、蛋白激酶 B (PKB) 通路活化, 抑制血管及淋巴管形成的作用, 减缓人大肠肿瘤细胞的生长<sup>[47]</sup>。

#### 1.4 抑制肿瘤细胞迁移与侵袭

肿瘤细胞可以通过血液或淋巴系统扩散到身体其他部位, 形成新的肿瘤。目前常见的转移部位包括骨骼、肺、肝脏和大脑。这些新肿瘤会进一步损害这些器官的正常功能, 从而对身体造成危害, 加重患者的身体负担。

上皮-间质转化 (EMT) 是肿瘤细胞获得侵袭和迁移能力的关键过程<sup>[48]</sup>。E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达水平与 EMT 呈负相关。肺腺瘤细胞 HCC827 中 E-cadherin 表达最高, 且对白花蛇舌草乙醇提取物最敏感, 提示白花蛇舌草乙醇提取物可能通过促进 E-cadherin 表达, 抑制 EMT 过程, 从而抑制肿瘤生长和转移<sup>[49]</sup>。转化生长因子- $\beta$ /Smad 信号通路 (TGF- $\beta$ /Smad) 是细胞内重要的信号通路, 在多种肿瘤中均发挥重要作用, 与肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移、转移、免疫密切相关。官尚威等<sup>[50]</sup>研究发现白花蛇舌草可以抑制肾癌 Renca 细胞增殖, 其机制可能与抑制 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路活化有关。PI3K/Akt 通路是调控细胞存活、增殖和凋亡的关键通路, 抑制该通路会导致凋亡蛋白活性增强, 从而抑制细胞增殖。周林水等<sup>[51]</sup>研究显示, 白花蛇舌草能显著降低 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 比值, 即抑制 PI3K 和 Akt 蛋白的磷酸化水平, 进而抑制非小细胞肺癌细胞的迁移能力。陈晴等<sup>[52]</sup>在肾癌研究中进一步证实, 白花蛇舌草在体外可降低 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白表达, 在体内则下调移植瘤中表皮生长因子基因 (EGF)、磷脂酰肌醇 3-激酶基因 (PI3K)、蛋白激酶 B 基因 (AKT)、鼠双微体基因 2 (MDM2) 表达, 整体抑制 EGF-PI3K-AKT-MDM2 信号轴, 阻碍肾肿瘤细胞增殖与存活。此外, 廖德贵等<sup>[53]</sup>研究进一步发现该提取物还通过抑制河马信号通路 (Hippo) 核心分子 Yes 相关蛋白 (YAP) 的核转位及与 TEAD 结构域转录因子的结合, 阻断其转录活性, 从而抑制结肠癌 HCT-8 细胞增殖并促进凋亡。

除上述机制外, 白花蛇舌草还通过调控

Janus 激酶 2/ 信号转导与转录激活因子 3 信号通路 (JAK2/STAT3) 等关键信号通路发挥作用。研究发现神经纤毛蛋白和托洛样蛋白 2 (NETO2) 在肺腺癌组织中高表达, 白花蛇舌草总三萜通过干扰抗体 NETO2 进而抑制 JAK2/STAT3 信号通路, 最终抑制肺腺瘤细胞的增殖和转移<sup>[54]</sup>。秦瑞等<sup>[55]</sup>研究发现, 白花蛇舌草总黄酮通过下调 JAK2/STAT3 信号通路, 抑制烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (NOX4) 表达, 进而抑制前列腺癌 pc-3 细胞的增殖, 降低其侵袭、转移。彭亚楠等<sup>[56]</sup>研究发现, 白花蛇舌草提取物能够显著上调肝癌细胞中的内源性非编码小分子 RNA (miR-340) 的表达, miR-340 过表达能增强高浓度白花蛇舌草提取物对肝肿瘤细胞活性、增殖及迁移、侵袭能力的抑制作用。

此外, 白花蛇舌草抗肿瘤作用还呈现浓度依赖性。郭洪梅等<sup>[57]</sup>通过 MTT 实验证实, 白花蛇舌草水提物对肺腺癌细胞株 A549 和 PC-9 具有显著的剂量依赖性抑制作用, 且在质量浓度达到 600  $\mu\text{g/mL}$  时, 抑制率超过 95%。崔宏等<sup>[58]</sup>发现, 50  $\mu\text{g/mL}$  和 100  $\mu\text{g/mL}$  质量浓度下的白花蛇舌草注射剂能够调控 Bcl-2 调控的线粒体细胞色素 C 释放通路 (Bcl-2/CytC), 显著抑制人肝癌 HepG2 细胞的增殖, 在 25  $\mu\text{g/mL}$  质量浓度下, 反而有促进肿瘤细胞增殖的趋势, 表明该机制具有剂量依赖性, 在较高浓度下效果显著。

#### 1.5 增强抗肿瘤药物敏感性

抗肿瘤药物敏感性降低会导致肿瘤细胞内药物浓度下降, 影响药物作用于靶标分子, 使肿瘤细胞存活下来, 降低治疗效果。

研究表明, 肿瘤对化疗药物产生耐药性主要与细胞凋亡抵抗及 PI3K/Akt 信号通路激活有关, 白花蛇舌草乙醇提取物通过促进耐药细胞凋亡和抑制 PI3K/Akt 通路激活, 克服人类结直肠癌肿瘤细胞的耐药性<sup>[59]</sup>。李纪鹏等<sup>[60]</sup>后续研究证实了该机制, 白花蛇舌草乙醇提取物能够抑制 PI3K/Akt 信号通路, 逆转多西他赛诱导的 EMT 和化疗耐药性。白花蛇舌草活性成分与紫杉醇联用可抑制耐紫杉醇 A549/T 细胞增殖, 并有效降低其对多种化疗药物的耐药性, 在体内实验中发现两药联用不仅可显著提高紫杉醇在耐药肿瘤模型中的疗效, 还可增加肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性<sup>[61]</sup>。

#### 1.6 干扰 DNA 合成与复制

细胞周期由  $G_0 \sim G_1$ 、S、 $G_2$  和 M 期四个阶段组成, 其过程复杂, 受多种基因调控, 任一阶段受干扰都会导致细胞周期失调, 恶性肿瘤细胞的无限增殖与这种细胞周期的失调密切相关<sup>[62]</sup>。复制叉是 DNA 复制的执行单元, 复制叉前进产



生拓扑应力，这种阻力会干扰 DNA 复制，而拓扑异构酶能够解除这种阻力，保证 DNA 复制的正常进行。干扰 DNA 拓扑异构酶是对 DNA 复制最致命、最直接的干扰方式。白花蛇舌草可通过阻滞肿瘤细胞的细胞周期发挥抗肿瘤作用。

王秋兰等<sup>[63]</sup>研究显示，白花蛇舌草中总黄酮可增加 G<sub>1</sub> 期细胞比例，减少 S 期细胞比例，能显著影响胃癌 BGC-823 的周期分布，从而达到治疗胃癌的目的。细胞周期蛋白 A（CyclinA）和周期蛋白依赖性激酶 2（CDK2）是 G<sub>1</sub> 向 S 阶段转变的关键调控因子，并促进 DNA 复制。Yang 等<sup>[64]</sup>

研究发现白花蛇舌草通过下调 CyclinA 和 CDK2，阻止宫颈癌 SiHa 和 CaSki 细胞进入 S 期，导致宫颈肿瘤细胞的 S 期停滞。张宇灵等<sup>[65]</sup>在研究中发现，白花蛇舌草乙醇提取物可能通过阻滞肝癌 MHCC97-H、MHCC97-L 细胞周期于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期，诱导其凋亡，抑制细胞自我更新，从而抑制肝肿瘤细胞增殖。

白花蛇舌草具有多靶点、多通路的抗肿瘤特性，其作用机制广泛，为系统呈现其多层面的作用机制及相关的信号通路网络，本文对涉及的相关抗肿瘤作用机制及作用通路进行归纳，见表 1、2。

表 1 白花蛇舌草抗肿瘤作用机制  
Tab 1 Anti tumor mechanism of *Scleromitron diffusum* ( Willd. ) R. J. Wang

| 肿瘤   | 相关细胞              | 作用机制                                           | 参考文献 |
|------|-------------------|------------------------------------------------|------|
| 结肠癌  | HT-29             | 内源性线粒体凋亡，激活 Caspase 级联反应                       | [24] |
|      | HT-29             | 上调 IL-2 的产生及其受体亚基的表达→激活 IL-2/IL-2R 轴→促进 T 细胞增殖 | [34] |
|      | HT-29             | 干预 VEGF 信号通路，抑制血管生成                            | [42] |
|      | HT-29             | 降低 SHH 信号靶基因 VEGF-A 及特异性受体 VEGFR2 的表达，抑制血管生成   | [43] |
|      | HCT-8             | 抑制 Hippo 通路核心分子 YAP 的核转位及与 TEAD 的结合            | [53] |
|      | HCT-8/5-FU        | 减少肿瘤细胞耐药性                                      | [59] |
| 肝癌   | HepG2             | 升高 Bax/Bcl-2 比值，激活 Caspase 级联反应                | [25] |
|      | HepG2             | 内源性线粒体凋亡，激活 Caspase 级联反应                       | [27] |
|      | Hep3B             | Nur77 蛋白磷酸化，从细胞核向细胞质转移，使细胞凋亡                   | [29] |
|      | HCC-7721          | 上调 miR-340 表达，抑制肿瘤细胞增殖与迁移                      | [56] |
|      | HepG2             | 调控 Bcl-2/Cyt 通路，抑制细胞增殖                         | [58] |
|      | MHCC97-H、MHCC97-L | 干扰 DNA 的复制与合成                                  | [65] |
| 白血病  | Kasumi-1          | 抑制 PI3K/Akt/p53 通路                             | [31] |
| 大肠癌  | HCT-8/5-Fu        | 抑制 PI3K/Akt 通路，抑制血管及淋巴管生成                      | [47] |
| 肾癌   | Renca             | 减轻免疫抑制                                         | [37] |
|      | GRC-1             | 抑制基质金属酶 MMPs 的表达，抑制血管生成                        | [44] |
|      | 786-0             | 抑制基质金属酶 MMPs 的表达，抑制血管生成                        | [45] |
|      | Renca             | 抑制 TGF-β/Smad 信号通路，抑制肿瘤细胞增殖                    | [50] |
| 乳腺癌  | Renca             | 抑制 ECF-PI3K-Akt-MDM2 信号轴                       | [52] |
|      | MCF-7             | 激活 Caspase 级联反应，诱导细胞凋亡                         | [26] |
| 肺癌   | Lewis             | 减轻免疫抑制                                         | [35] |
|      | Lewis             | 逆转 Th1/Th2 向 Th2 漂移及肿瘤微血管形成                    | [36] |
|      | HCC827            | 抑制肿瘤细胞迁移能力                                     | [49] |
|      | A549              | 抑制肿瘤细胞迁移                                       | [51] |
|      | A549              | 干扰 NETO2 表达，抑制 JAK2/STAT3 通路                   | [54] |
|      | A549, PC-9        | 调控 Bcl-2/Cyt 通路，抑制细胞增殖                         | [57] |
|      | A549              | 逆转肿瘤细胞耐药性                                      | [60] |
|      | A549              | 逆转肿瘤细胞耐药性                                      | [61] |
| 宫颈癌  | U14               | 促进 UK 细胞增殖，增强细胞免疫应答                            | [38] |
|      | SiHa、CaSki        | 干扰 DNA 的复制与合成                                  | [64] |
| 鼻咽癌  | CNE-2             | 增加 ROS 含量，抑制 Treg 细胞减少，增强 T 细胞功能               | [40] |
| 前列腺癌 | pc-3              | 干扰 NOX4 表达，抑制 JAK2/STAT3 通路                    | [55] |
| 胃癌   | BGC-823           | 干扰 DNA 的合成与复制                                  | [63] |

## 2 小结与展望

白花蛇舌草作为我国传统中医常用药，具有

良好的临床应用价值，在肿瘤治疗过程中尤为突出。综上所述，白花蛇舌草通过多成分、多靶

表 2 白花蛇舌草通过干预细胞通路的抗肿瘤作用

| Tab 2 Antitumor effect of <i>Scleromitrion diffusum</i> ( Willd. ) R. J. Wang by intervening in cellular pathways |                |                                                             |         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------|---------|
| 信号通路                                                                                                              | 作用             | 相关因子                                                        | 参考文献    |
| FasL/Fas                                                                                                          | 诱导凋亡           | Caspase-9、Caspase-8、Caspase-3                               | [27]    |
| JNK                                                                                                               | 诱导凋亡           | Nur77                                                       | [29]    |
| PI3K/Akt/p53                                                                                                      | 诱导凋亡           | Akt、p-Akt、MDM2、p-MDM2、p53                                   | [31]    |
|                                                                                                                   | 增强药物敏感性        | PTEN、PI3K、p-AKT                                             | [59]    |
|                                                                                                                   | 抑制 EMT，增强药物敏感性 | E-cadherin、vimentin                                         | [60]    |
| IL-2/IL-2R                                                                                                        | 增强免疫           | IL-2                                                        | [34]    |
|                                                                                                                   | 增强免疫           | IL-2、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-10                    | [35]    |
| Bcl-2/Bax                                                                                                         | 增强免疫、促进凋亡      | IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-4、IL-10、VEGF          | [36]    |
| HIF-1                                                                                                             | 增强免疫、促进凋亡      | Treg                                                        | [40]    |
| Sonic hedgehog                                                                                                    | 抑制肿瘤血管生成       | VEGF-A、VEGFR2                                               | [43]    |
| MMPS                                                                                                              | 抑制肿瘤血管生成       | MMP-2、MMP-9                                                 | [44-45] |
| VEGF-C/PI3K/AKT                                                                                                   | 抑制肿瘤血管生成       | p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、VEGFR-3、MMP-2、MMP-9                   | [47]    |
| TGF- $\beta$ /Smad                                                                                                | 抑制肿瘤细胞增殖       | TGF- $\beta$ 1、p-Smad2、p-Smad3、Bcl-xl、Bad、cleaved-caspase-3 | [50]    |
| PI3K/Akt                                                                                                          | 抑制增殖           | PI3K、Akt                                                    | [51]    |
|                                                                                                                   | 抑制增殖           | EGF、PI3K、AKT、MDM2                                           | [52]    |
| Hippo                                                                                                             | 抑制肿瘤细胞增殖、促进凋亡  | YAP                                                         | [53]    |
| JAK2/STAT3                                                                                                        | 抑制肿瘤细胞增殖和迁移    | NETO2、JAK2、p-JAK2、STAT3 和 p-STAT3                           | [54]    |
|                                                                                                                   | 抑制肿瘤细胞增殖和迁移    | NOX4                                                        | [55]    |
| Bcl-2/CytC                                                                                                        | 抑制肿瘤细胞增殖和迁移    | Bax、Bcl-2、Caspase-3、CytC                                    | [58]    |

点、多通路的方式发挥其抗肿瘤作用，涵盖了从抑制肿瘤发生、发展到克服治疗耐药性的多个环节。其作用机制不仅包括直接杀伤肿瘤细胞（诱导凋亡、周期阻滞），还包括间接的免疫调节以及抑制肿瘤血管生成。尽管白花蛇舌草化学成分丰富、药理作用多样且沿用至今，但由于成分复杂，其药理作用及机制仍有待深入研究。因此，我们应该深入研究以下问题：① 结合人工智能筛选活性成分、开展多中心临床试验，拓展该药在其他治疗领域的研究；② 利用基因组学、蛋白质组学、代谢组学等系统生物学方法，全面绘制白花蛇舌草在肿瘤细胞内的作用网络图谱，发现其关键分子靶点，明确抗肿瘤活性的核心成分，并揭示这些成分之间是协同增效还是简单叠加，为复方配伍提供现代科学依据；③ 尝试将白花蛇舌草与西药联合使用，以中西医结合的方式，达到“1 + 1 > 2”的效果。

后续应深入对白花蛇舌草的研究，包括有效成分在生物体内的生物转化过程、药物作用的量效关系以及在其他疾病治疗领域发挥的疗效等方面，以提高白花蛇舌草的安全性及有效性，以期指导其临床应用与开发。

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, 74 (3): 229-263.

[2] Xu WC, Li BL, Xu MC, et al. Traditional Chinese medicine for precancerous lesions of gastric cancer: a review [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 146: 112542.

[3] 刘宇飞, 蒋义国. 环境有害暴露致肺癌的遗传学及表观遗传学机制研究进展 [J]. 兰州大学学报 (医学版), 2023, 49 (7): 1-7.

[4] 李纪宾, 邹小农. 全球癌症流行现状及环境致癌因素解析 [J]. 环境卫生学杂志, 2023, 13 (11): 795-803.

[5] 黄华. 癌症不传染, 传染的是致癌因素 [J]. 江苏卫生保健, 2022, 24 (3): 19.

[6] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 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, 82-83.

[7] 李梓盟, 张佳彦, 李菲, 等. 白花蛇舌草抗肿瘤化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2021, 38 (2): 74-79.

[8] 张公让. 中西医结合比观. 第一集 [M]. 梅县: 广东梅县松口张公让诊所, 1943: 34.

[9] 饶宗颐. 潮州志·物产志 [M]. 潮州: 潮州市地方志办公室编印, 2005: 589.

[10] 叶觉谿. 本草推陈 (续篇) [M]. 南京: 江苏人民出版社, 1963: 39.

[11] 中草药汇集 [Z]. 韶关: 南雄县革命委员会, 1969: 185.

[12] 中草药单验方手册 [Z]. 南平: 福建省邵武县生产指挥组卫生科, 1970: 175.

[13] 王骁, 范焕芳, 李德辉, 等. 白花蛇舌草的抗癌作用研究进展 [J]. 中国药房, 2019, 30 (10): 1428-1431.

[14] 王英杰, 胡恢权, 吴倩, 等. 白花蛇舌草化学成分、药理作用、质量标志物预测的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40 (15): 2296-2300.

[15] Meng QX, Roubin RH, Hanrahan JR. Ethnopharmacological and bioactivity guided investigation of five TCM anticancer

- cer herbs [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 148 (1): 229-238.
- [16] Song YN, Wang HY, Pan YJ, et al. Investigating the multi-target pharmacological mechanism of *Hedyotis diffusa* willd acting on prostate cancer: a network pharmacology approach [J]. Biomolecules, 2019, 9 (10): 591.
- [17] 彭蓓, 李仁廷, 严强东, 等. 白花蛇舌草治疗非小细胞肺癌的药理机制及研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26 (10): 174-179.
- [18] 曾沙, 赵晖, 高景莘, 等. 白花蛇舌草抗消化系统肿瘤活性成分及其作用机制的最新研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2025, 1-19.
- [19] 刘璟贤. 基于功能代谢组学的斑蝥素致肾毒性研究 [D]. 遵义: 遵义医科大学, 2022.
- [20] 何青青. 山豆根中三种黄酮化合物的 UGT 代谢及其介导的体外毒性作用研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2021.
- [21] Wu ZH, Yin B, You FM. Molecular mechanism of anti-colorectal cancer effect of *Hedyotis diffusa* willd and its extracts [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 820474.
- [22] Kashyap D, Garg VK, Goel N. Intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis: role in cancer development and prognosis [J]. Adv Protein Chem, 2021, 125: 73-120.
- [23] 李帅, 张炳东. 细胞凋亡途径的研究进展 [J]. 山东医药, 2017, 57 (37): 103-106.
- [24] 林久茂, 彭军, 魏丽慧, 等. 白花蛇舌草提取物诱导结肠癌 HT-29 细胞凋亡的机制研究 [J]. 福建中医药, 2010, 41 (5): 49-51, 64.
- [25] 汪增秀, 吴卫锋. 白花蛇舌草有效成分对人肝肿瘤细胞生长影响及相关机制 [J]. 中国老年学杂志, 2021, 41 (21): 4838-4841.
- [26] 赵恬, 杨昭颖, 邢华. 白花蛇舌草外泌体治疗乳腺癌的机制研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2025, 41 (12): 1342-1346.
- [27] Li YL, Zhang JL, Min D, et al. Anticancer effects of 1, 3-dihydroxy-2-methylanthraquinone and the ethyl acetate fraction of *hedyotis diffusa* willd against HepG2 carcinoma cells mediated via apoptosis [J]. PLOS One, 2016, 11 (4): e0151502.
- [28] Wang J, Tai GX. Role of C-Jun N-terminal kinase in hepatocellular carcinoma development [J]. Targeted Oncol, 2016, 11 (6): 723-738.
- [29] Ning WM, Xu NS, Zhou CH, et al. Ethyl acetate fraction of *hedyotis diffusa* willd induces apoptosis via JNK/Nur77 pathway in hepatocellular carcinoma cells [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022 (1): 1932777.
- [30] Yan LX, Liu YH, Xiang JW, et al. PIK3R1 targeting by miR-21 suppresses tumor cell migration and invasion by reducing PI3K/AKT signaling and reversing EMT, and predicts clinical outcome of breast cancer [J]. Int J Oncol, 2015, 48 (2): 471-484.
- [31] 陈智, 林圣云, 熊昊, 等. 基于 PI3K/Akt/p53 信号通路探讨白花蛇舌草乙酸乙酯萃取物诱导急性髓系白血病细胞凋亡的作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2024, 33 (3): 329-334.
- [32] 瞿俊勇, 田梦, 贺建华, 等. 白花蛇舌草多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究 [J]. 中药材, 2015, 38 (9): 1942-1945.
- [33] Ma CJ, Wei YL, Liu Q, et al. Polysaccharides from *Hedyotis diffusa* enhance the antitumor activities of cytokine-induced killer cells [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 117: 109167.
- [34] Bai LL, Liu XX, Yuan Z, et al. Activation of IL-2/IL-2R pathway by *Hedyotis diffusa* polysaccharide improves immunotherapy in colorectal cancer [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 306: 141013.
- [35] 贾羲, 王娟, 贾文瑞, 等. 白花蛇舌草多糖对 Lewis 肺癌小鼠肿瘤抑制作用及机制研究 [J]. 中医学报, 2021, 36 (1): 143-147.
- [36] 李燕华, 李丛元, 赵方允, 等. 白花蛇舌草多糖对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 Th1/Th2 漂移及肿瘤微血管形成的影响 [J]. 中药材, 2023, 46 (3): 747-752.
- [37] 张林超. 白花蛇舌草多糖对肾癌荷瘤小鼠肿瘤生长及免疫调节作用的影响 [J]. 中成药, 2021, 43 (3): 765-769.
- [38] 李美, 张红艳, 邵海鸥. 白花蛇舌草总黄酮对宫颈癌 U14 荷瘤小鼠免疫及抗氧化能力的影响 [J]. 中药材, 2019, 42 (6): 1417-1420.
- [39] Wei T, Zhong WJ, Li QS. Role of heterogeneous regulatory T cells in the tumor microenvironment [J]. Pharmacol Res, 2020, 153: 104659.
- [40] 钟伦坤, 周兴玮, 朱佳丽, 等. 基于 ROS/HIF-1 通路探讨白花蛇舌草多糖对鼻咽癌裸小鼠肿瘤的抑制作用及机制 [J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30 (15): 2698-2706.
- [41] Qi SY, Deng SL, Lian ZX, et al. Novel drugs with high efficacy against tumor angiogenesis [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (13): 6934.
- [42] Lin JM, Wei LH, Xu W, et al. Effect of *Hedyotis Diffusa* Willd extract on tumor angiogenesis [J]. Mol Med Rep, 2011, 4 (6): 1283-1288.
- [43] Lin JM, Wei LH, Shen AL, et al. *Hedyotis diffusa* Willd extract suppresses Sonic hedgehog signaling leading to the inhibition of colorectal cancer angiogenesis [J]. Int J Oncol, 2013, 42 (2): 651-656.
- [44] 刘岩, 张春阳, 张大田, 等. 白花蛇舌草提取物诱导人肾癌 GRC-1 细胞凋亡及抑制血管生成的实验研究 [J]. 山东医药, 2011, 51 (8): 97-98.
- [45] 周兴波, 李慕刚, 蒋峰, 等. 白花蛇舌草提取物对肾癌 786-O 细胞移植瘤的生长及血管生成的研究 [J]. 四川中医, 2021, 39 (7): 52-55.
- [46] 赵川, 李俊萱, 刘雪梅, 等. 肿瘤血管生成机制的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35 (1): 130-132.
- [47] 赖子君. 基于 VEGF-C/PI3K/AKT 信号通路研究白花蛇舌草抑制大肠癌淋巴管新生的作用机制 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2017.
- [48] Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis [J]. Trends Cell Biol, 2019, 29 (3): 212-226.
- [49] 吕昕, 朱渊红, 周林水, 等. 白花蛇舌草乙醇提取物对不



- 同上皮-间质表型的肺腺肿瘤细胞体外作用的研究[J]. 现代实用医学, 2015, 27(2): 257-258, 278.
- [50] 尚官威, 王兵, 王佳鑫, 等. 白花蛇舌草提取物调控 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路对肾癌细胞增殖、凋亡的影响[J]. 中华中医药学刊, 2026, 44(4): 242-247, 295-297.
- [51] 周林水, 吕昕, 郑苏群. 基于 PI3K/Akt 通路探讨白花蛇舌草对 EGFR-TKIs 抵抗的 A549 细胞的增殖抑制作用[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(11): 1931-1939.
- [52] 陈晴, 张林超, 潘世杰, 等. 白花蛇舌草对肾癌 Renca 细胞体外增殖侵袭及小鼠体内移植瘤生长影响机制的探讨[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(7): 1603-1607.
- [53] 廖德贵, 曾嘉敏, 赖妙玲, 等. 白花蛇舌草提取物通过下调 Hippo-YAP 信号通路促进结肠肿瘤细胞凋亡[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(2): 248-251, 284-286.
- [54] 文礼. 白花蛇舌草总三萜通过干扰 NETO2 调控 JAK2/STAT3 信号通路抑制肺腺肿瘤细胞增殖和转移能力的研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2025.
- [55] 秦瑞, 施晓星. 白花蛇舌草总黄酮通过下调 NOX4 表达对前列腺肿瘤细胞侵袭、迁移、EMT 的影响[J]. 安徽医药, 2021, 25(10): 1929-1933.
- [56] 彭亚楠, 单丽芳, 姜俊玲, 等. 白花蛇舌草提取物调控微小 RNA-340 对肝肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭的影响[J]. 河北中医, 2024, 46(12): 2035-2042.
- [57] 郭洪梅, 赵丹, 曹琳, 等. 白花蛇舌草水提物通过抑制 MAPK 通路致肺肿瘤细胞的凋亡[J]. 药学与临床研究, 2019, 27(1): 5-9.
- [58] 崔宏, 高琴琴, 王效谦, 等. 白花蛇舌草注射剂调节 Bcl-2/CytC 信号通路诱导线粒体凋亡抑制肝肿瘤细胞增殖的研究[J]. 陕西中医, 2019, 40(4): 418-420.
- [59] Li QY, Lai ZJ, Yan ZK, et al. Hedyotis diffusa Willd inhibits proliferation and induces apoptosis of 5-FU resistant colorectal cancer cells by regulating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 358-365.
- [60] 李纪鹏, 陈丽萍, 俞万钧. 白花蛇舌草乙醇提取物逆转肺肿瘤细胞化疗耐药作用研究[J]. 浙江中西医结合杂志, 2020, 30(7): 535-538, 610.
- [61] 成雨竹. 白花蛇舌草活性物联合紫杉醇逆转 A549 耐药的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2020.
- [62] 张嘉轩, 吴泽浩, 苏秋琳, 等. 白花蛇舌草治疗肝癌的临床应用及作用机制的研究进展[J]. 实用中医内科杂志, 2025, 39(3): 76-80.
- [63] 王秋兰, 薛永杰, 韩涛. 白花蛇舌草总黄酮的提取及其对 BGC-823 胃肿瘤细胞增殖周期与凋亡的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2015, 23(11): 760-763.
- [64] Yang SY, Zeng LZ, Deng CY, et al. Anti-tumor effects of Hedyotis diffusa Willd on cervical cancer: inhibition of proliferation, migration, and induction of apoptosis[J]. Iran J Pharm Res, 2025, 24(1): e159390.
- [65] 张宇灵, 张树辉. 白花蛇舌草乙醇提取物 MHCC97-H、MHCC97-L 肝肿瘤细胞体内外增殖的影响[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(8): 77-83.

(收稿日期: 2025-10-16; 修回日期: 2025-12-19)

## 中药干预治疗糖尿病视网膜病变作用机制的研究进展

杨婧莹<sup>1</sup>, 张珂蒙<sup>1</sup>, 李世伟<sup>2, 3</sup>, 刘雪倩<sup>1</sup>, 龚苏晓<sup>2, 3\*</sup>, 周福军<sup>2, 3\*</sup> (1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 天津药物研究院 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300462; 3. 和光中药科技(天津)有限公司, 天津 300462)

**摘要:** 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病严重的微血管并发症, 以视网膜缺氧、炎症、新生血管生成及神经元退行性改变为特征, 最终导致不可逆性视力损害。DR 发病机制复杂, 涉及高血糖诱导的代谢异常、氧化应激、微循环障碍、炎症因子网络失衡及表观遗传调控等多维度病理过程。现代医学虽能通过控制血糖、抗血管内皮生长因子治疗及手术干预延缓病情, 但存在疗效短暂、难以根治等局限。中医药以“瘀血阻络”为核心病机, 通过多靶点作用展现独特优势, 抑制氧化应激与炎症, 改善微循环并抑制病理性血管生成。本文系统综述 DR 的多维度发病机制及单味中药、中药复方对 DR 的干预机制, 以期后续中药防治 DR 提供理论依据与新思路。

**关键词:** 糖尿病视网膜病变; 中药; 有效成分; 中药复方; 辨证论治; 新生血管生成

**中图分类号:** R286

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-248-09

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.035

**基金项目:** 国家重点研发计划“中医药现代化”重点专项(No.2024YFC3505905)。

**作者简介:** 杨婧莹, 女, 硕士研究生, 主要从事中药新药研发, email: jxyang12138@163.com \***通信作者:** 周福军, 女, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药新药研发, email: fujun\_zhou@126.com; 龚苏晓, 女, 研究员, 主要从事中药新药研发, email: gongsx@tjipr.com.cn

## Mechanism of traditional Chinese medicine intervention for diabetic retinopathy

YANG Jingxuan<sup>1</sup>, ZHANG Kemeng<sup>1</sup>, LI Shiwei<sup>2,3</sup>, LIU Xueqian<sup>1</sup>, GONG Suxiao<sup>2,3\*</sup>, ZHOU Fujun<sup>2,3\*</sup>  
(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617; 2. State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462; 3. Heguang TCM Technology (Tianjin) Co., Ltd., Tianjin 300462)

**Abstract:** Diabetic retinopathy (DR), a severe microvascular complication of diabetes, is characterized by retinal hypoxia, inflammation, pathological neovascularization, and neuronal degeneration, ultimately leading to irreversible vision loss. The pathogenesis of DR is multifactorial, encompassing hyperglycemia-induced metabolic disturbances, oxidative stress, microcirculatory dysfunction, dysregulated inflammatory signaling, and both genetic and epigenetic regulation. Current medical approaches, can delay disease progression by glycemic control, anti-VEGF (vascular endothelial growth factor) therapy, and surgical intervention, but remain limited by transient efficacy and the inability to achieve a definitive cure. Traditional Chinese medicine, based on the core pathological concept of “blood stasis obstructing the meridians”, demonstrates unique advantages via its multi-target actions, such as alleviating oxidative stress and inflammation, improving microcirculation, and inhibiting pathological angiogenesis. This paper reviewed the multidimensional mechanism underlying DR and highlighted the therapeutic effect of single herbs and classical formulas, to provide theoretical insights and new perspectives for the prevention and treatment of DR with TCM.

**Key words:** diabetic retinopathy; traditional Chinese medicine; effective component; traditional Chinese medicine compound; treatment based on syndrome differentiation; neovascularization

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 作为糖尿病最常见的微血管并发症之一, 以视网膜缺氧缺血、炎症反应、病理性新生血管生成及神经退行性变为核心特征, 其病程进展可从早期非增殖性糖尿病视网膜病变 (NPDR) 逐步发展为增殖性糖尿病视网膜病变 (PDR), 最终导致不可逆性视力丧失甚至失明<sup>[1]</sup>, 是一种进行性的致盲性眼病。据统计, 近 1/3 的糖尿病患者会发生 DR, 其中近 1/10 的患者面临严重视力威胁<sup>[2]</sup>, 其高发性与致盲性已成为全球公共卫生领域的重大挑战。

现代医学对 DR 的发病机制已形成多维度认知, 涉及高血糖诱导的代谢异常、氧化应激与炎症、微循环障碍及缺氧诱导因子 (HIF-1 $\alpha$ ) / 血管内皮生长因子 (VEGF) 轴驱动的新生血管生成等级联反应。尽管临床采用血糖控制、抗 VEGF 药物及激光治疗等手段可延缓病程, 但存在疗效短暂、无法阻断病理进程及不良反应等局限, 难以满足临床需求<sup>[3-4]</sup>。中医学将 DR 归为“消渴目病”“视瞻昏渺”等范畴, 其病机以“本虚标实、虚实夹杂”为核心, 常兼夹痰浊、湿热等病理产物。中医治疗强调辨证

论治与分期施治,《国家糖尿病基层中医防治指南 (2022)》明确推荐芪明颗粒、复方丹参滴丸等用于轻中度 NPDR<sup>[5]</sup>, 肯定了中药在改善微血管病变和减轻黄斑水肿及保护视功能方面的独特优势。

目前, 关于中药干预 DR 的研究已积累大量证据, 单味药 (如黄芪、丹参) 的活性成分 (黄芪甲苷、丹参酮 II A) 及经典复方 (如六味地黄丸、达明饮) 通过抗氧化、抗炎、调节微循环及抑制血管新生等途径发挥作用。然而, 现有研究多聚焦单一机制或药物, 缺乏对“中医病机 - 现代病理 - 中药干预”三者关联的系统整合, 且对中药在 DR 不同分期 (NPDR 与 PDR) 的特异性作用机制阐述不足。鉴于此, 本文拟系统梳理 DR 的现代医学病理机制 (从代谢异常到新生血管生成的级联反应), 结合中医“消渴目病”的核心病机与辨证分型, 重点总结单味中药活性成分及复方通过多靶点、多通路干预 DR 的作用机制, 尤其关注中药在改善氧化应激、炎症微环境、微循环障碍及抑制病理性血管生成中的协同效应, 并结合名医经验方与经典复方的临床应用作为依据。

旨在为中医药防治 DR 的基础研究提供“成分-靶点-通路-证候”的整合思路,为临床分期辨证用药及中西医结合治疗提供理论参考与实践指导。

## 1 现代医学角度分析 DR 的发病机制

目前,DR 发病主要与氧化应激、炎症反应、

眼底微循环与 VEGF 因子等多种机制密切相关,涉及多种途径及信号因子调控。早期 DR 通过以上信号通路及途径相互作用,触发视网膜发生病理性改变形成 NPDR,若未及时进行干预、控制,则病变持续加重,最终导致 PDR 形成(见图 1)。

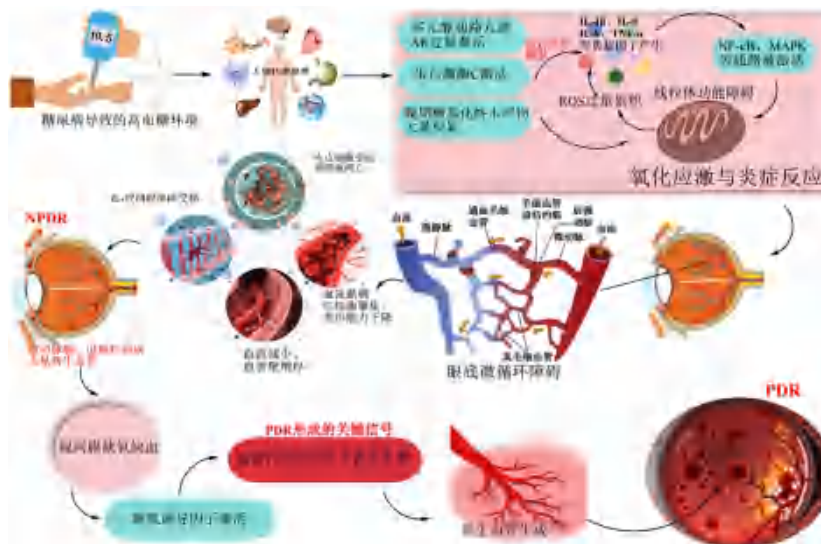


图 1 DR 的发病机制(绘制软件: ChemDraw 20.0、Microsoft PowerPoint、Adobe Illustrator 2024)

Fig 1 Pathogenesis of DR (drawn by ChemDraw 20.0, Microsoft PowerPoint and Adobe Illustrator 2024)

注 (Note): IL-1 $\beta$ . 白细胞介素-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ); IL-6. 白细胞介素-6 (interleukin-6); IL-8. 白细胞介素-8 (interleukin-8); TNF- $\alpha$ . 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ).

### 1.1 高血糖引发的代谢异常与氧化应激

**1.1.1 多元醇通路激活** 长期高血糖状态下己糖激酶代谢饱和,大量葡萄糖进入多元醇通路,醛糖还原酶(AR)被大量激活,使葡萄糖转化为山梨醇并在细胞内蓄积<sup>[6]</sup>,最终导致周细胞凋亡。AR的激活大量消耗烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH),抑制谷胱甘肽(GSH)生成,降低活性氧(ROS)清除能力,导致ROS累积,加剧视网膜组织氧化损伤<sup>[7]</sup>。

**1.1.2 蛋白激酶C激活** 高血糖状态下会激活蛋白激酶C(PKC)。PKC通过增加NADPH氧化酶活性促进ROS生成和氧化应激,损伤内皮细胞功能<sup>[8]</sup>;PKC还关联核因子kappa B(NF- $\kappa$ B)的激活,参与氧化应激与炎症反应<sup>[9]</sup>。刘强等<sup>[10]</sup>揭示了PKC通路参与人视网膜血管内皮细胞高糖损伤过程,可作为治疗靶点减缓DR的发展。

**1.1.3 晚期糖基化终末产物累积** 在糖尿病患者中,长期高血糖显著加速晚期糖基化终末产物(AGEs)的形成,大量AGEs在视网膜血管细胞蓄积,阻塞血管,上调VEGF mRNA表达,诱导周细胞凋亡<sup>[11]</sup>,还通过p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)通路促进细胞凋亡。AGEs与其他代谢通路协同,减少GSH,加剧氧化应激<sup>[12]</sup>。

**1.1.4 线粒体功能障碍** 高血糖导致视网膜细胞

代谢负荷过重,线粒体呼吸链功能异常,ROS过量生成,打破氧化还原平衡<sup>[13]</sup>;线粒体功能障碍激活半胱天冬酶(Caspase),促进细胞凋亡,导致视网膜细胞功能的受损<sup>[14]</sup>。

### 1.2 炎症-氧化应激-HIF-1 $\alpha$ /VEGF交互作用

上述代谢异常产生的ROS是激活NF- $\kappa$ B和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体、MAPK通路的关键触发器,同时诱导视网膜组织释放IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8和TNF- $\alpha$ 等炎症因子<sup>[15]</sup>;反之,炎症因子也可促进氧化应激。TNF- $\alpha$ 加重线粒体损伤,增加ROS释放<sup>[16]</sup>,形成正反馈,使视网膜处于持续的高氧化和高炎症状态,导致视网膜微循环受损。同时,视网膜的高氧化高炎状态释放的相关因子与缺氧环境共同激活HIF-1 $\alpha$ 表达,直接促进VEGF的转录与释放<sup>[17]</sup>。VEGF的过表达是PDR形成的关键因素,通过活化磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)通路及NF- $\kappa$ B等信号通路,促进新生血管生成<sup>[18]</sup>,最终引发牵拉性视网膜脱离,导致视力受损。新生血管生成是DR进展至PDR的核心病理特征。此外,VEGF也能招募炎症细胞,加剧血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)损害,白细胞黏附和血管内皮损伤<sup>[9]</sup>,进一步放大氧化应激与炎症损伤。



### 1.3 微循环障碍的核心作用

微循环障碍是指微血管的异常改变致使视网膜缺血缺氧而发生一系列病变的过程，是 DR 临床表现的病理基础。氧化应激与炎症协同作用，直接导致周细胞凋亡和 BRB 受损，引发视网膜缺血缺氧、血浆渗漏和水肿。炎症因子上调黏附分子（如 ICAM-1）表达，激活 caspase-3 通路，引起白细胞黏附、毛细血管闭塞及无灌注区形成<sup>[19]</sup>。同时，血液呈现高凝、高黏状态（红细胞变形性下降、血小板聚集性增加），进一步加重视网膜缺血缺氧，最终形成“代谢异常→氧化应激/炎症→微循环障碍→缺氧”的恶性循环。

可见，代谢异常、氧化应激、炎症与血管新生之间存在密集的交叉调控。这一复杂的网络化机制也解释了为何单一靶点药物（如抗 VEGF）疗效存在局限性，而具有多靶点特性的中药在干预 DR 中展现出独特潜力。

### 1.4 全身性因素与遗传调控的影响

高血脂、高血压及胰岛素抵抗等全身性因素，通过加剧氧化损伤、炎症反应和内皮功能失调，共同促进 DR 发生发展。遗传易感性（如 *ALR2*、*VEGF* 基因多态性<sup>[20]</sup>）及表观遗传调控（如 miR-146、miR-126 等非编码 RNA）通过调控 VEGF 和 HIF-1 $\alpha$  等关键分子，在 DR 中扮演着重要角色<sup>[21-22]</sup>。

## 2 中医对 DR 的认识

### 2.1 基于中医理论分析 DR 病因病机

中医学认为，目能视物有赖于肝血供养、脾气运化及肾精上承。若肝肾阴亏，阴不制阳，则虚火内生，上灼目络，致络损血溢；若脾虚气弱，失于统摄，则血不循经而外溢，失于运化则水湿内停，上泛目窍，结于视衣，发为黄斑水肿、视网膜渗出及视物昏渺，诸症由是而生，发为本病<sup>[23]</sup>。从整体来看，DR 主要因素体阴虚、情志失衡、劳累过度等造成运化失司，久病及肾，水火不济，则气阴两亏，虚火伤络运血，或气虚统摄无力，从而造成微血管病变。其演变的过程大多为郁久化热、气阴两伤、阴损及阳、阴阳两虚，可夹热、夹痰、夹湿、夹瘀等，致目络损伤。病机总体归纳为“本虚标实，虚实夹杂，寒热并见”<sup>[24]</sup>。“本虚”始于阴虚燥热，渐至气阴两虚、肝肾亏虚，终致阴阳两虚。“标实”即脉络瘀阻、痰浊凝滞。瘀血是贯穿 DR 发生发展全过程的核心病机与重要病理因素，与 DR 密切相关。

### 2.2 中医对 DR 的分型论治

中医治疗 DR 的核心在于辨证论治，结合辨证分期论治，针对各证候病因病机的不同而采取不同治法。根据《糖尿病视网膜病变病证结合诊疗指南》，结合现代中医药的辨证论治思维<sup>[25-26]</sup>，将 DR 的中医分型总结归纳如下（见表 1）。

表 1 DR 的中医辨证分型及特征

Tab 1 TCM syndrome differentiation patterns and characteristics of DR

| 分期 | 中医特征                                  | 眼底症状                                                 | 辨证分型                  | 核心病机                                            | 治法                     |
|----|---------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|------------------------|
| 早期 | 视物模糊，目睛干涩，神疲乏力，口干咽燥，舌胖嫩或暗，脉沉细无力       | 视网膜少许微血管瘤、散在出血和渗出，多为 NPDR 轻中度改变                      | 阴虚燥热，目络不利证；<br>气阴两虚，脉 | 阴津亏虚，燥热内生，气阴耗伤，目失濡养<br>气虚血行迟滞，瘀血阻络，血不荣目         | 清热滋阴，活血通络<br>益气养阴，活血化痰 |
| 中期 | 视物模糊或变形，目睛干涩，或视力骤降，伴头晕耳鸣或急躁目赤，舌暗红，脉细涩 | 视网膜广泛出血、渗出及棉绒斑，或见静脉串珠和视网膜内微血管异常，或伴黄斑水肿，多为 NPDR 中重度改变 | 肝肾亏虚，目络失养证；<br>肝阳上亢，热 | 消渴日久，累及肝肾，精血不足，目失所养<br>肝阴不足，阳气上亢，化火生热，灼伤目络，迫血妄行 | 滋补肝肾，润燥通络<br>平肝明目，清热凉血 |
| 晚期 | 视力严重障碍，神疲腰酸，五心烦热或肢冷便溏，舌淡胖或紫暗，脉沉细      | 可见新生血管、机化灶、增生条带及牵拉性视网膜脱离，或玻璃体积血致眼底无法窥及，多为 PDR 改变     | 阴阳两虚，血瘀痰凝证            | 阴损及阳，脾肾阳虚，痰浊内生，与瘀互结，目窍闭阻                        | 阴阳双补，化痰祛瘀              |

## 3 中药对 DR 的干预治疗

### 3.1 单味中药中有效成分治疗 DR 的作用机制

日常应用中，中药治疗 DR 多用补虚药、清热药、活血化瘀药<sup>[27]</sup>，以补虚药为主，同时配合活血化瘀、清热滋阴等功效的药物，整体治法呈现补虚与祛实并重的特点。常用的中药包括黄芪、丹参、生地黄、枸杞子、当归等（见表 2）。通过益气养阴、健脾补肾、清热祛瘀等作用改善视网膜损伤。中医治疗需结合患者具体证型，灵活调整用药，以达到标本兼治的效果。

#### 3.1.1 补虚药 黄芪主要活性成分为黄芪甲苷、黄

芪多糖。黄芪甲苷可从多维度治疗 DR 及糖尿病相关并发症，亦可用来治疗眼科疾病。核因子 E2 相关因子 2（Nrf2）/抗氧化反应元件（ARE）通路激活抗氧化酶基因转录，包括超氧化物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）、血红素加氧酶-1（HO-1），增强 GSH 合成，中和 ROS；磷脂酰肌醇 3 激酶（PI3K）/蛋白激酶 B（AKT）通路抑制高血糖诱导的视网膜细胞凋亡，从而减轻氧化应激。黄芪甲苷可激活 PI3K/AKT/Nrf2 通路上调 SOD、GSH-Px 等抗氧化酶，减轻高糖氧化损伤<sup>[28-29]</sup>；抑制线粒体膜通透性增加以保护线粒体，

表 2 中药化学成分对 DR 的作用机制  
Tab 2 Action mechanism of chemical components of TCM on DR

| 中药类别  | 药材名  | 化学成分     | 作用机制       | 对 DR 的治疗作用                                                                                                               |
|-------|------|----------|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 补虚药   | 黄芪   | 黄芪甲苷     | 抗氧化应激      | 激活 PI3K/AKT/Nrf2 通路, 上调 SOD、GSH-Px, 抑制线粒体膜通透性增加, 减少 Caspase 活化, 保护视网膜细胞线粒体完整性 <sup>[28-29]</sup>                         |
|       |      |          | 抑制细胞凋亡     | 上调 miR-128 表达 <sup>[30]</sup>                                                                                            |
|       |      | 黄芪多糖     | 改善微循环      | 降低血液黏度, 抑制血小板聚集, 缓解毛细血管基底膜增厚, 改善视网膜血流灌注                                                                                  |
|       |      | 当归       | 抗氧化应激      | 清除 ROS, 抑制 NADPH 活性, 提高 Nrf2 表达 <sup>[31]</sup>                                                                          |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路, 降低 IL-1 $\beta$ 、IL-18 等炎症因子表达 <sup>[31]</sup>                                          |
|       | 枸杞子  | 当归多糖     | 调节肠道菌群     | 调节肠道菌群结构, 改善肠道屏障功能, 减少循环炎症因子对视网膜的间接损伤                                                                                    |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 阻滞 AKT/GSK-3 $\beta$ 通路, 提高 Nrf2 表达水平, 阻断 AGEs 受体, 减少 AGEs 积累 <sup>[32]</sup>                                            |
|       |      | 枸杞多糖     | 抗炎         | 干预 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路, 下调 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 Caspase-1 表达并抑制细胞焦亡 <sup>[33]</sup>                                 |
|       |      |          | 改善微循环      | 抑制 NLRP3/Caspase-1 通路, 减少视网膜微血管内皮细胞焦亡, 保护内皮细胞功能, 维持血管稳定性 <sup>[34]</sup>                                                 |
|       |      |          | 抑制新生血管生成   | 激活 SIRT6, 抑制 HIF-1 $\alpha$ /VEGF <sup>[35]</sup>                                                                        |
| 活血化瘀药 | 丹参   | 丹参酮 II A | 抗氧化应激      | 激活 Nrf2 通路, 抑制线粒体功能障碍 <sup>[36]</sup>                                                                                    |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路, 减少促炎因子释放 <sup>[37]</sup>                                                                      |
|       |      |          | 抑制新生血管生成   | 阻断 VEGF、HIF-1 及 PI3K/AKT 通路 <sup>[38]</sup>                                                                              |
|       |      | 益母草      | 改善微循环      | 扩张血管, 改善血管内皮功能, 增加血流速度及血流量, 缓解视网膜缺血缺氧 <sup>[39]</sup>                                                                    |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 激活 Nrf2 通路, 上调抗氧化酶表达, 激活 p38 MAPK, 保护线粒体功能 <sup>[40]</sup>                                                               |
|       | 地黄   | 益母草碱     | 抗炎         | 抑制 NF- $\kappa$ B 通路, 减少 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等表达 <sup>[40]</sup>                                                         |
|       |      |          | 改善微循环      | 抗凝血、抗血栓, 下调血栓相关基因的 mRNA 表达, 抑制血小板聚集, 改善血液流变学, 减轻视网膜微血管堵塞 <sup>[41]</sup>                                                 |
|       |      | 盐酸水苏碱    | 抗氧化应激      | 抑制细胞过度自噬及 NADPH 氧化酶 2 活性, 保护线粒体功能 <sup>[42]</sup>                                                                        |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路, 调控炎症因子释放 <sup>[42]</sup>                                                                         |
|       |      |          | 改善微循环      | 调节水盐代谢, 减轻水肿, 改善血液瘀堵, 舒张血管                                                                                               |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 清除自由基阳离子 ABTS 和 DPPH 自由基 <sup>[43]</sup>                                                                                 |
|       |      | 生地黄      | 抗氧化应激      | 上调 SOD、GSH 活性, 抑制 oxLDL/LOX-1 通路, 改善血管内皮氧化损伤与血管舒张 <sup>[44]</sup>                                                        |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 炎症通路 <sup>[44]</sup>                                                                              |
|       |      | 地黄多糖     | 抑制新生血管生成   | 阻断 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 轴, 减少 VEGF 表达                                                                                    |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 降低体内的 ROS 水平, 抑制了 Caspase-1 活化 <sup>[45]</sup>                                                                           |
|       |      |          | 抗炎         | 下调 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 等炎症因子水平 <sup>[45]</sup>                                                              |
| 温里药   | 肉桂   | 肉桂醛      | 改善微循环      | 修复血管内皮细胞损伤, 进而抑制血小板聚集和血管收缩, 减少血液黏稠度 <sup>[45]</sup>                                                                      |
|       |      |          | 改善胰岛素抵抗    | 促进胰岛素分泌, 改善胰岛 $\beta$ 细胞功能                                                                                               |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 激活 Nrf2、PI3K/AKT 通路, 抑制 ROS 生成, 改善视网膜缺血缺氧, 提高血浆 GSH、SOD 水平 <sup>[46]</sup>                                               |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 MAPK/GSK-3 $\beta$ 信号通路, 抑制 NF- $\kappa$ B, 减少促炎因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 表达, 阻断 JAK1/STAT3 <sup>[47]</sup> |
|       |      |          | 改善胰岛素抵抗、降糖 | 激活 PPAR $\gamma$ /AKT2 通路, 提高胰岛素敏感性, 降血糖, 改善胰岛素抵抗 <sup>[49]</sup>                                                        |
|       | 肉桂多酚 |          | 抑制新生血管生成   | 下调 VEGF <sup>[48]</sup>                                                                                                  |
|       |      |          | 抗氧化应激      | 抑制 AGEs 受体通路, 减少 AGEs 积累 <sup>[50]</sup>                                                                                 |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 NLRP3 炎症小体, 下调 Caspase-1、IL-1 $\beta$ 的蛋白水平, 改善炎性损伤 <sup>[51]</sup>                                                   |
|       |      |          | 抑制新生血管生成   | 抑制 VEGF 释放 <sup>[8]</sup>                                                                                                |
| 止血药   | 蒲黄   | 蒲黄总黄酮    | 改善微循环      | 降低血浆黏度, 降低红细胞压积、血沉, 抑制血小板聚集, 改善眼底淤血 <sup>[52]</sup>                                                                      |
|       |      | 异鼠李素     | 抗氧化应激      | 激活 PI3K/AKT 通路, 抑制 MAPK/NF- $\kappa$ B 通路, 减少 ROS 产生和 Caspase-3 表达 <sup>[53]</sup>                                       |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制炎症因子释放, 阻断 TLR4/MAPK/NF- $\kappa$ B 通路 <sup>[54]</sup>                                                                 |
|       | 槲皮素  |          | 抗氧化应激      | 调节抗氧化酶活性, 激活 Nrf2、SIRT1/AMPK 通路 <sup>[55-56]</sup>                                                                       |
|       |      |          | 抗炎         | 抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路, 阻断 PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路, 减少促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 等表达 <sup>[57]</sup>                |
|       |      |          | 抑制新生血管生成   | 抑制人视网膜血管内皮细胞增殖、迁移和管腔形成, 高糖环境下可依赖性降低 VEGF、ICAM-1 的表达 <sup>[58]</sup>                                                      |
|       |      |          |            |                                                                                                                          |

还能上调 miR-128, 抑制视网膜色素上皮细胞凋亡<sup>[30]</sup>。黄芪多糖可降低血液黏度、抑制血小板聚集, 缓解毛细血管基底膜增厚, 改善视网膜血流灌注。当归的主要成分是阿魏酸和当归多糖。高糖环境下, TLR4、MyD88 和 NF- $\kappa$ B 的蛋白表达水平增加, 阿魏酸能清除 ROS, 抑制 NADPH 氧化酶

活性, 通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 通路减少炎症因子, 减轻视网膜炎症反应, 还可调节肠道菌群减少间接损伤<sup>[31]</sup>。当归多糖能抑制 AKT/GSK-3 $\beta$  通路、减少 AGEs 累积, 并干预 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路, 下调 IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 Caspase-1 表达, 减轻炎症与细胞焦亡<sup>[32-33]</sup>。



枸杞子的主要活性成分为枸杞多糖,可抑制 NLRP3/Caspase-1 通路,减少视网膜微血管内皮细胞焦亡,保护血管<sup>[34]</sup>;还能通过下调 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 通路,抑制新生血管生成<sup>[35]</sup>。在杞菊地黄丸中,菊花与枸杞子配伍,清补兼施,治疗 DR。

**3.1.2 活血化癥药** 丹参及其复方(如复方丹参滴丸、复方血栓通等)常用于心脑血管疾病的治疗。丹参酮 II A 是其核心成分,可激活 Nrf2 通路抑制 AGEs 导致的线粒体功能障碍,增强抗氧化能力<sup>[36]</sup>;通过抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路减少促炎因子<sup>[37]</sup>,阻断 VEGF、HIF-1 及 PI3K/AKT 通路抑制病理性血管生成,延缓 PDR 进展<sup>[38]</sup>,同时扩张血管、改善血管内皮功能,缓解视网膜缺血缺氧<sup>[39]</sup>。

益母草含益母草碱、盐酸水苏碱、良姜素。益母草碱保护线粒体,抑制 NF- $\kappa$ B 通路,减少 TNF- $\alpha$ 、IL-6 表达<sup>[40]</sup>,还能抗凝血、改善血液流变学<sup>[41]</sup>;盐酸水苏碱可抑制细胞过度自噬与 NADPH 氧化酶 2 活性,调节水盐代谢减轻水肿<sup>[42]</sup>;良姜素能清除自由基,减轻氧化损伤<sup>[43]</sup>。益母草既能活血化癥,又能利水消肿,防止血瘀与水湿互结,其可能作为一种潜在的辅助治疗药物用于 DR 的治疗,未来需要进一步的临床研究来验证其在 DR 患者中的安全性和有效性。

生地黄中梓醇和地黄多糖为主要活性成分。梓醇上调 SOD、GSH 活性,抑制 NF- $\kappa$ B 相关通路,阻断 HIF-1 $\alpha$ /VEGF 轴<sup>[44]</sup>;地黄多糖可降低 ROS 水平,体现抗氧化能力,下调炎症因子,修复血管内皮细胞,同时促进胰岛素分泌,改善胰岛素抵抗<sup>[45]</sup>。

**3.1.3 温里药** 肉桂是中医常用的温里药,具有温阳散寒、活血通络的功效,主要含肉桂醛、肉桂多酚。肉桂醛可通过激活 Nrf2、PI3K/AKT 通路抑制 ROS 生成,提高血浆中的 GSH、SOD 水平<sup>[46]</sup>;抑制 MAPK/GSK-3 $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 及 JAK1/STAT3 通路,减少炎症因子释放<sup>[47]</sup>;下调 VEGF,抑制新血管生成<sup>[48]</sup>;激活 AKT2 通路,改善胰岛素抵抗<sup>[49]</sup>。肉桂多酚可减少 AGEs 累积,抑制 AGEs 与 NLRP3 炎症小体<sup>[50-51]</sup>,减少 VEGF 释放<sup>[8]</sup>。

**3.1.4 止血药** 蒲黄中主要有效成分包括蒲黄总黄酮、异鼠李素、槲皮素。蒲黄总黄酮能降低血浆黏度与红细胞压积,抑制血小板聚集<sup>[52]</sup>;异鼠李素激活 PI3K/AKT 通路,阻断 TLR4/MAPK/NF- $\kappa$ B 通路,减少 ROS,抑制炎症因子释放<sup>[53-54]</sup>,改善 DR 大鼠氧化损伤与细胞凋亡;槲皮素可调节抗氧化酶活性,激活 Nrf2、SIRT1/AMPK 通路,从而发挥抗氧化作用<sup>[55-56]</sup>,阻断 NF- $\kappa$ B 相关通路抑制炎症反应<sup>[57]</sup>,抑制视网膜血管内皮细胞增殖迁移,降低高糖环境下 VEGF、ICAM-1 表达<sup>[58]</sup>。在临床应用上,生蒲黄汤也是传统中医治疗眼底出血的经典汤方,化癥活络,

改善眼部的血液循环,促进瘀浊的代谢。

可见,诸多中药在治疗 DR 上疗效可观。然而,当前关于单味中药机制的研究多为细胞或动物实验研究,临床转化效果及人用剂量需进一步验证,部分中药成分在使用安全上仍有潜在风险。如黄芪甲苷生物利用度较低、靶向性不足等<sup>[59]</sup>;丹参酮 II A 水溶性差,在临床应用上易降解,对药品的质量及其疗效的发挥产生较大的影响<sup>[60]</sup>;益母草有小毒,益母草碱、盐酸水苏碱的安全性及长期用药效应尚需更多临床数据支持;肉桂醛在高浓度时对黏膜具有刺激性,高剂量可能诱发细胞毒性;有些中药有效成分(如梓醇)尚未直接应用于 DR 的治疗,其真实药效动力学特征仍需明确。因此,各中药应用时需遵循中医辨证原则,关注临床用药的安全性,避免盲目使用。

### 3.2 中药复方对 DR 的治疗

**3.2.1 名医治疗经验方** 当代名医在传承中医经典理论的基础上,结合 DR 的现代病理认知,创立了诸多疗效确切的治疗方剂,体现了辨证论治的精髓。

全小林院士以“益气温阳、活血化癥通络”为治法,创立了以黄芪、桂枝、大黄、三七等为核心药物的经验方。该方紧扣“络脉损伤”之病机,重在益气通络、破血消癥<sup>[61]</sup>。现代研究表明,该方可通过抑制 VEGF 表达、调控 NF- $\kappa$ B 通路以改善血管内皮功能,并减轻氧化应激与炎症反应,体现了“态靶结合”的辨治策略<sup>[62]</sup>。

高健生等<sup>[63]</sup>以“益气养阴、温阳化气、活血散瘀”为法,创立了由黄芪、乌梅、黄连、肉桂、密蒙花等组成的密蒙花方。该方以“心肾论治”为指导,方中交泰丸(黄连、肉桂)交通心肾,配伍益母草、女贞子等共益肝肾之阴。药理研究证实,密蒙花方能有效下调 VEGF,改善视网膜微循环,并对早期糖尿病大鼠的视网膜神经细胞损伤具有防护作用,临床与激光联合应用可显著改善患者视力<sup>[64-65]</sup>。

**3.2.2 中药经典复方** 中药复方治疗 DR 以辨证论治为核心,表 3 所列方剂分别体现了滋阴润燥、益气养阴、活血化癥、滋补肝肾及清热活血等主要治法,其作用机制涵盖调节糖脂代谢、改善微循环、抑制氧化应激与炎症反应、保护 BRB 及调控新生血管生成等多个关键环节。

### 4 小结与展望

DR 作为糖尿病严重的微血管并发症,发病机制涉及代谢紊乱、氧化应激、炎症微环境、微循环障碍及病理性新生血管生成等多维度病理过程。中医药以血瘀阻络为核心病机,以滋阴润燥、益气养阴、活血化癥、滋补肝肾为核心治法,凭



表 3 中药经典复方对 DR 的治疗作用机制

| Tab 3 Therapeutic mechanism of classic prescriptions of TCM on DR |       |                                       |                                   |                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------|-------|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 分类                                                                | 名称    | 主要药物组成                                | 功效                                | 治疗 DR 的作用机制                                                                                                                                                                                                                           |
| 滋阴润燥类                                                             | 葛根芩连汤 | 葛根、黄芩、黄连、甘草                           | 清热泻火，生津润燥，多对应早期燥热伤津，耗气灼阴，胃肠热盛型 DR | 改善胰岛素抵抗，下调 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达，改善缺氧缺血状态 <sup>[66]</sup> ；降低 ICAM-1、凋亡相关蛋白含量，抑制 NF- $\kappa$ B 通路，减少 IL-6、TNF- $\alpha$ 等炎症因子释放，抑制炎症反应 <sup>[67]</sup>                                                                             |
| 益气养阴类                                                             | 达明饮   | 生蒲黄、三七、黄芪、生地黄、黄精、川芎、柴胡等               | 滋养肝肾之阴，活血化痰，用于气阴两虚、瘀血阻络证型 DR      | 有效降低 TNF- $\alpha$ 含量，毛细血管内皮细胞损伤，降低血液黏度，改善缺血缺氧环境、血流与视网膜微循环，修复 BRB 完整性 <sup>[68]</sup> ；方中槲皮素、山柰酚等成分可抑制 NF- $\kappa$ B 通路，下调 IL-6、TNF- $\alpha$ 炎症因子和 VEGF <sup>[57-69]</sup> ，抑制新生血管生成；升高 SOD 水平，发挥抗氧化作用 <sup>[70]</sup> ；黄芪甲苷抗炎、抗氧化等 |
| 活血化瘀类                                                             | 凉血散瘀汤 | 夏枯草、天花粉、赤芍、玄参、生地黄、麦冬、牡丹皮、丹参、天冬、川芎、三七等 | 散瘀消肿、清热散结，改善瘀热阻络                  | 该方能降低血糖、血液黏度，改善视网膜微循环；降低 IL-6、TNF- $\alpha$ 水平，抗炎抗氧化，下调 VEGF 的表达，抑制新生血管及内皮细胞损伤 <sup>[71-72]</sup>                                                                                                                                     |
|                                                                   | 桃红四物汤 | 桃仁、红花、当归、熟地、川芎、赤芍                     | 养血活血，祛瘀明目，适用于气滞血瘀型 DR             | 下调 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达，减轻视网膜微血管内皮细胞损伤 <sup>[73]</sup> 。方中多种有效成分减少促炎细胞因 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 上调，增强 SOD 活性，减少 ROS 释放，改善视网膜组织氧化应激损伤和炎症反应，抑制 ICAM-1 表达，减轻早期视网膜组织结构损害 <sup>[74-75]</sup>                                       |
| 滋补肝肾类                                                             | 六味地黄丸 | 熟地、山茱萸、山药、泽泻、丹皮、茯苓                    | 滋补肝肾，健脾益气，适用于早期肝肾阴虚型 DR           | 调控 PI3K/AKT、AGEs、HIF-1 和 MAPK 等通路，下调 TNF- $\alpha$ 等促炎因子表达，降低 VEGF 表达，抑制新生血管生成，改善视网膜氧化应激和内皮细胞损伤 <sup>[76]</sup> ，调节糖脂代谢，改善胰岛素抵抗                                                                                                       |
|                                                                   | 杞菊地黄丸 | 六味地黄丸加枸杞子、菊花                          | 滋补肝肾，清肝明目                         | 提高视网膜内 SOD 和 GSH-Px 活性，抑制 AR 激活，改善视网膜氧化损伤 <sup>[77]</sup> ；激活 PI3K/AKT 通路发挥抗凋亡效应 <sup>[78]</sup> ；降低 VEGF 水平，抑制新生血管的生成，调控炎症信号通路，下调 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等因子，发挥抗炎作用 <sup>[79]</sup>                                                     |

借多成分、多靶点、整体调节优势，在延缓 DR 进展、改善临床症状方面潜力显著：单味药活性成分（如黄芪甲苷、丹参酮 II A、枸杞多糖）可调控 Nrf2/ARE、PI3K/AKT、NF- $\kappa$ B、HIF-1 $\alpha$ /VEGF 等关键信号通路，发挥抗氧化、抗炎、保护血管内皮及神经细胞的作用；中药复方（如六味地黄丸、密蒙花方、达明饮）遵循辨证论治，通过“君臣佐使”配伍协同发挥综合效应，契合中医整体观与系统生物学内涵。但当前研究存在核心瓶颈：一是机制研究多停留于细胞或动物模型，聚焦单一成分与孤立靶点，缺乏“中药-病机-病理-药效”网络的系统阐释，复方药效物质基础及成分协同与拮抗作用研究浅显，临床证据强度不足；二是临床研究样本量小、设计不严谨，缺乏高质量多中心随机对照试验，疗效评价体系不统一，未融合中医证候与患者报告结局；三是中药材基原、产地、炮制及制剂质量标准差异导致成分波动，影响疗效稳定性，中医辨证客观化与质量标志物全程质控体系尚待建立。

未来应深化中药及复方干预 DR 的多维通路交叉网络与整体调节机制研究；构建融合微观影像、血清标志物、中医证候评分及患者报告结局

的复合评价指标，验证其长期疗效与安全性；探索中药与抗 VEGF 药物、激光光凝等西医方案的联用策略；建立“药材-成分-药效”关联及质量标志物质控体系，结合人工智能辅助治疗，形成分期、辨证、联合的精准治疗策略，为 DR 防治提供更有效安全的方案。相信通过不断的努力和创新，中药将在 DR 的防治中发挥更加重要的作用，为患者带来新的希望。

**参考文献**

[1] 王芳. 糖网明目颗粒通过阻断 RBP3/Glut1 介导的葡萄糖摄取逆转非增殖性糖尿病视网膜病变[D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.

[2] 王婧祎, 温凯, 袁立明, 等. 基于胶囊网络和图神经网络的糖尿病视网膜病变图像分级[J]. 天津理工大学学报, 2025, 41(1): 97-103.

[3] 《中成药治疗优势病种临床应用指南》标准化项目组. 中成药治疗糖尿病视网膜病变临床应用指南(2024年)[J/OL]. 中国中西医结合杂志, 2025, 45(8): 901-909.

[4] 刘矫连, 左慧懿, 袁昕. 康柏西普玻璃体腔注射联合全视网膜光凝治疗合并黄斑水肿的重度非增殖性糖尿病视网膜病变[J]. 山东医药, 2020, 60(30): 89-91.

[5] 杨叔禹. 国家糖尿病基层中医防治管理指南(2022)[J]. 中医杂志, 2022, 63(24): 2397-2414.

[6] 许加伟, 何劲松. 新型降糖药在糖尿病肾病治疗中的应

- 用[J]. 中国现代医生, 2021, 59 (23): 189-192.
- [7] Garg SS, Gupta J. Polyol pathway and redox balance in diabetes[J]. Pharmacol Res, 2022, 182: 106326.
- [8] Wan TT, Li XF, Sun YM, et al. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy[J]. Biomed Pharmacother, 2015, 74: 145-147.
- [9] 祝悦, 王泽, 唐月瑶, 等. 中医药调控 NF- $\kappa$ B 信号通路干预糖尿病视网膜病变的研究现状[J/OL]. 中国实验方剂学杂志. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20252494>.
- [10] 刘强, 俞华, 董立红, 等. 基于 IP3-蛋白激酶 C 通路探讨视网膜血管内皮细胞高糖性损伤的作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59 (12): 2112-2116.
- [11] Maeda S, Matsui T, Ojima A, et al. Sulforaphane inhibits advanced glycation end product-induced pericyte damage by reducing expression of receptor for advanced glycation end products[J]. Nutr Res, 2014, 34 (9): 807-813.
- [12] 杨彩霞, 夏利. 血清晚期糖基化终末产物和血管内皮生长因子水平与 2 型糖尿病患者视网膜病变的关系[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2023, 37 (7): 711-715.
- [13] 桑智慧, 李慧红, 周丽娟. 中药治疗糖尿病视网膜病变的疗效及机制研究进展[J]. 中国药房, 2023, 34 (12): 1532-1536.
- [14] 胡锦涛, 孙贵炎, 申鑫惠, 等. 中药治疗糖尿病视网膜病变作用机制研究现状[J]. 辽宁中医药大学学报, 2025, 27 (2): 175-184.
- [15] 刘爽. 炎症细胞因子在糖尿病视网膜病变发病中的作用[J]. 国际眼科纵览, 2022, 46 (4): 327-332.
- [16] Roca FJ, Whitworth LJ, Prag HA, et al. Tumor necrosis factor induces pathogenic mitochondrial ROS in tuberculosis through reverse electron transport[J]. Science, 2022, 376 (6600): eabh2841.
- [17] 剡晓波, 华宝来, 何斌, 等. 低氧诱导因子 1 $\alpha$  及血管内皮生长因子在血友病关节病发病中的意义探讨[J]. 血栓与止血学, 2025, 31 (2): 63-68.
- [18] Callan A, Heckman J, Tah G, et al. VEGF in diabetic retinopathy and age-related macular degeneration[J]. Int J Mol Sci, 2025, 26 (11): 4992.
- [19] 李秀, 刘畅. 炎症在糖尿病视网膜病变中的作用[J]. 国际眼科杂志, 2021, 21 (8): 1368-1372.
- [20] 冯怡, 李社莉. DR 的危险因素在 DR 发生和发展中的关系研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14 (1): 855-859.
- [21] Ye PP, Liu J, He FY, et al. Hypoxia-induced deregulation of miR-126 and its regulative effect on VEGF and MMP-9 expression[J]. Int J Med Sci, 2014, 11 (1): 17-23.
- [22] Zhuang Z, Qin X, Hu H, et al. Down-regulation of microRNA-155 attenuates retinal neovascularization via the PI3K/AKT pathway[J]. Mol Vis, 2015, 21: 1173-1184.
- [23] 贾菊红, 钟舒阳, 杜沅沁. 糖尿病性视网膜病变的中西医诊疗进展[J]. 中国民间疗法, 2025, 33 (15): 113-118.
- [24] 熊萌, 曾梅艳, 宋厚盼, 等. 基于现代文献分析的糖尿病视网膜病变中医证型及证素分布探讨[J]. 广州中医药大学学报, 2023, 40 (3): 761-768.
- [25] 陈秋, 倪青, 刘桢. 糖尿病视网膜病变病证结合诊疗指南(2021-09-24)[J]. 世界中医药, 2021, 16 (22): 3270-3277.
- [26] 接传红. 构建病、证、症结合模式下糖尿病视网膜病变辨证论治思维[J]. 中国中医眼科杂志, 2022, 32 (11): 841-845.
- [27] 晏鑫, 邢凯, 关瑞娟, 等. 基于数据挖掘的中医药治疗糖尿病视网膜病变的用药规律分析[J]. 中国中医眼科杂志, 2022, 32 (8): 601-605.
- [28] 由亚非, 林春盛, 赵楷, 等. 黄芪甲苷抗糖尿病肾病药理作用研究进展[J]. 中成药, 2025, 47 (8): 2624-2631.
- [29] 于乃馨, 李国琼, 李标, 许扬. 基于网络药理学和分子对接探讨黄芪甲苷治疗糖尿病视网膜病变的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (13): 209-216.
- [30] Wang T, Zhang ZW, Song CP, et al. Astragaloside IV protects retinal pigment epithelial cells from apoptosis by upregulating miR-128 expression in diabetic rats[J]. Int J Mol Med, 2020, 46 (1): 340-350.
- [31] 朱德军, 王潇飞, 陆钊罡, 等. 阿魏酸改善高糖诱导的视网膜色素上皮细胞损伤的研究[J]. 宁夏医学杂志, 2024, 46 (6): 477-481, 456, 460.
- [32] 李能, 来坚. 当归多糖通过促进 lncRNA MEG3 表达改善糖尿病视网膜病变[J]. 眼科新进展, 2025, 45 (2): 102-107.
- [33] 白宇, 杨丽霞, 贺云, 等. 当归多糖通过 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对糖尿病肾病大鼠的影响[J]. 中成药, 2021, 43 (3): 755-760.
- [34] 张乐颖, 王苏涵, 秦婷婷, 等. 枸杞多糖通过调控 NLRP3/Caspase-1 通路在抑制高糖诱导的 HRMEC 损伤中的作用[J]. 眼科新进展, 2024, 44 (11): 857-862.
- [35] 郭玉. 枸杞多糖通过调控 SIRT6/HIF-1 $\alpha$  信号通路改善糖尿病视网膜病变的机制研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2025.
- [36] Qian SH, Qian YJ, Huo DX, et al. Tanshinone II a protects retinal endothelial cells against mitochondrial fission induced by methylglyoxal through glyoxalase 1[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 857: 172419.
- [37] 张金锋, 徐志龙, 吴梦, 等. 丹参酮 II A 通过抑制信号通路延缓膝关节炎大鼠软骨退变及抑制局部炎症的研究[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56 (23): 1918-1926.
- [38] 包宋羽, 李思铭. 基于网络药理学和分子对接探讨丹参酮 II A 干预血管新生的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2025, 23 (5): 649-656.
- [39] 符杰, 邓红艳, 李玉凯, 等. 丹参酮 II A 对 2 型糖尿病合并冠心病患者的临床疗效及 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2025, 53 (1): 53-57.
- [40] 王琴, 南洋, 赵昱, 等. 益母草碱的药理作用和临床应用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2025, 40 (9): 2383-2390.
- [41] 孙国结. 益母草碱对大鼠血液学和免疫功能的影响[D]. 石河子: 石河子大学, 2022.
- [42] Liao L, Tang Y, Li B, et al. Stachydrine, a potential drug for the treatment of cardiovascular system and central nervous system diseases[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 161: 114489.
- [43] 彭芳, 熊亮, 何育霖, 等. 益母草化学成分及其抗氧化活性研究[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55 (21): 1775-1779.
- [44] 罗传超, 王佳星, 朱勤伟. 梓醇对 T2DM 大鼠大血管病变的保护作用及与 oxLDL/LDL 和 NF- $\kappa$ B 信号通路的关系[J]. 河北医药, 2023, 45 (24): 3708-3711, 3716.
- [45] 王清泉, 宋景, 李亚男, 等. 地黄多糖的提取纯化及药理

- 作用研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(11): 3734-3744.
- [46] 褚鹿鹿, 郭智慧, 侯婧悦, 等. 肉桂醛防治糖尿病的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2023, 38(2): 483-487.
- [47] 李泽源. 肉桂醛激活 TRPA1 通过 MAPK/GSK3 $\beta$  通路调节子宫内膜上皮细胞炎症反应的作用研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2025.
- [48] 王清泉, 李亚男, 刘国飞, 等. 肉桂醛药理作用及相关作用机制研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(12): 6646-6652.
- [49] Urasaki Y, Le TT. Cinnamaldehyde and curcumin prime AKT2 for insulin-stimulated activation[J]. *Nutrients*, 2022, 14(16): 3301.
- [50] 黄国栋, 尹日风, 覃田田, 等. 肉桂多酚抑制 AGEs/RAGE 预防糖尿病大鼠肾损伤的作用[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(8): 168-172, 279.
- [51] 黄凤, 覃田田, 黄国栋, 等. 肉桂多酚抑制炎症小体并改善糖尿病大鼠的肾损伤[J]. 世界中医药, 2025, 20(6): 932-937.
- [52] 杨慧玲, 李军. 蒲黄总黄酮对家兔血液流变学参数和血小板聚集的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(17): 244-246.
- [53] 王卉, 苏宪, 张赢赢, 等. 异鼠李素减轻糖尿病视网膜病变大鼠视网膜细胞凋亡[J]. 基础医学与临床, 2023, 43(2): 265-270.
- [54] Kim SY, Jin CY, Kim CH, et al. Isorhamnetin alleviates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in BV2 microglia by inactivating NF- $\kappa$ B, blocking the TLR4 pathway and reducing ROS generation[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(2): 682-692.
- [55] Sang AM, Wang Y, Wang S, et al. Quercetin attenuates sepsis-induced acute lung injury via suppressing oxidative stress-mediated ER stress through activation of SIRT1/AMPK pathways[J]. *Cell Signal*, 2022, 96: 110363.
- [56] Yousefi Zardak M, Keshavarz F, Mahyaei A, et al. Quercetin as a therapeutic agent activate the Nrf2/Keap1 pathway to alleviate lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 23074.
- [57] Jia XL, Gu MD, Dai JQ, et al. Quercetin attenuates *Pseudomonas aeruginosa*-induced acute lung inflammation by inhibiting PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Inflammopharmacology*, 2024, 32(2): 1059-1076.
- [58] 王子恒, 刘娟, 杨玉畅, 等. 槲皮素在年龄相关性黄斑变性中的作用机制及其纳米制剂研究进展[J]. 中南药学, 2025, 23(8): 2358-2365.
- [59] 罗开沛, 江英杰, 徐梦涵, 等. 黄芪甲苷新型给药系统的研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(18): 6118-6127.
- [60] 佟煜, 张萌, 王安琪, 等. 丹参及其相关制剂有效成分稳定性的研究进展[J]. 中成药, 2024, 46(3): 860-865.
- [61] 全小林. 糖尿病血管并发症中医研究的策略[J]. 中国临床医生, 2013, 41(10): 1-3, 83.
- [62] 李烁, 李敏, 安心怡, 等. 全小林“态靶结合”辨治糖尿病视网膜病变经验[J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(11): 24-26.
- [63] 李媛媛, 接传红, 王建伟, 等. 基于《脏腑标本药式》探讨密蒙花方从肝论治 NPDR[J]. 中国中医眼科杂志, 2024, 34(1): 46-49.
- [64] 严京, 严华, 王谦, 等. 密蒙花方防护糖尿病大鼠早期视网膜神经细胞损伤机制探讨[J]. 眼科新进展, 2018, 38(12): 1109-1113.
- [65] 陈杨磊, 夏伟, 朱剑峰, 等. 全视网膜激光光凝术联合密蒙花方治疗糖尿病视网膜病变临床观察[J]. 光明中医, 2021, 36(10): 1683-1685.
- [66] 袁有才, 张效科, 高碧峰, 等. 新葛根芩连汤对糖尿病大鼠海马 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 的影响[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(2): 269-271.
- [67] 宋顺丰, 王永彬, 胡金. 葛根芩连汤通过 NF- $\kappa$ B 信号通路对放射性结直肠炎小鼠炎症反应的改善作用[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(17): 4198-4202.
- [68] 田梓廷, 何才姑, 孙河, 等. 达明饮所含主要有效成分对糖尿病视网膜病变治疗的作用机制[J]. 世界中医药, 2023, 18(13): 1912-1917.
- [69] 李艳峰, 王慧敏. 山柰酚调控 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路介导的细胞焦亡途径对变应性鼻炎大鼠的影响[J]. 中医药信息, 2025, 42(5): 21-28, 44.
- [70] 刘芸, 张宁, 魏守瑞. 山柰酚激活 Nrf2/HO-1 通路对多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2025, 33(5): 1069-1075.
- [71] 佟甜, 张聪, 姜秀, 等. 凉血散瘀汤加加减联合羟苯磺酸钙治疗糖尿病视网膜病变患者的临床疗效症状积分及 VEGF 的影响[J]. 河北医学, 2020, 26(12): 2094-2098.
- [72] 宋艳, 王世娟, 王予, 等. 凉血散瘀汤联合胰激肽原酶治疗糖尿病视网膜病变临床研究[J]. 新中医, 2024, 56(1): 88-93.
- [73] 王磊, 俞莹, 陆萍, 等. 桃红四物汤对糖尿病视网膜病变引起的细胞损伤及 HIF-1 $\alpha$  表达的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(21): 2921-2929.
- [74] 师珍珍. 黄芩素对糖尿病大鼠血清及视网膜 RAGE/ICAM-1/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2022.
- [75] 朱素华, 张曼, 徐圣秋. 槲皮素对糖尿病视网膜病变小鼠氧化应激损伤和炎症反应的影响[J]. 药学与临床研究, 2023, 31(1): 48-52.
- [76] 罗颖琳, 黄发义, 滕月, 等. 六味地黄丸治疗糖尿病视网膜病变网络药理学与分子对接分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(1): 57-65, 221.
- [77] 王雨晴, 张招德, 李晓清, 等. 杞菊地黄丸联合抗 VEGF 通过调控 cAMP/PKA 信号通路治疗增殖性糖尿病视网膜病变的作用机制[J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(12): 126-128.
- [78] 赵春林. 基于 PI3K/AKT 通路探讨杞菊地黄丸抗凋亡延缓糖尿病视网膜病变进展的实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2024.
- [79] 赵春林, 马广成, 陶思翰, 等. 杞菊地黄丸调控 Raf/MEK/ERK 通路改善糖尿病视网膜病变小鼠炎症反应实验研究[J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(1): 152-156, 287-289.

(收稿日期: 2025-07-20; 修回日期: 2025-10-23)



药物分析与检验

# HPLC 法测定救必应药材中地榆皂苷 II 的含量

王娟<sup>1</sup>, 徐佳慧<sup>1</sup>, 魏文颖<sup>1</sup>, 张萌萌<sup>1</sup>, 卫培峰<sup>2</sup>, 李敏<sup>1</sup>, 王四旺<sup>3</sup>, 肖会敏<sup>4</sup>, 李瑶<sup>1</sup> (1. 陕西中医药大学药学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学第二附属医院, 陕西 咸阳 712099; 3. 西北大学, 西安 710069; 4. 西北农林科技大学化学与药学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** **目的** 建立救必应中地榆皂苷 II 的 HPLC 含量测定方法, 为救必应药材质量控制提供参考。**方法** 采用 Diamonsil C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈 (A) -0.1% 磷酸水 (B) 为流动相, 流速 0.8 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 203 nm, 梯度洗脱 (0 ~ 10 min, 35% ~ 40%A; 10 ~ 45 min, 40% ~ 46%A)。检测 10 批不同产地救必应中地榆皂苷 II 的含量。**结果** 地榆皂苷 II 分离度好, 且在 0.0126 ~ 0.2012 mg/mL 内与峰面积线性关系良好 ( $r = 0.9999$ ), 低、中、高水平的平均加样回收率分别为 98.17%、99.80%、101.99%,  $RSD$  均小于 3%。不同产地的救必应中地榆皂苷 II 含量差异明显, 整体产于广西的救必应中地榆皂苷 II 含量高于广东, 广西玉林的救必应中地榆皂苷 II 含量最高, 而广东梅州的救必应中地榆皂苷 II 含量最低。**结论** 建立的 HPLC 方法测定地榆皂苷 II 准确度高, 重复性好, 可为救必应药材及其制剂的质量控制提供参考。

**关键词:** 救必应; 地榆皂苷 II; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-257-04

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.036

## Content determination of ziyuglycoside II in *Ilex rotunda* Thunb. by HPLC

WANG Juan<sup>1</sup>, XU Jiahui<sup>1</sup>, WEI Wenying<sup>1</sup>, ZHANG Mengmeng<sup>1</sup>, WEI Peifeng<sup>2</sup>, LI Min<sup>1</sup>, WANG Siwang<sup>3</sup>, XIAO Huimin<sup>4</sup>, LI Yao<sup>1</sup> (1. College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712046; 2. The Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang Shaanxi 712099; 3. Northwest University, Xi'an 710069; 4. College of Chemistry and Pharmacy, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling Shaanxi 712100)

**Abstract: Objective** To establish an HPLC method to determine ziyuglycoside II in *Ilex rotunda* Thunb. and provide a reference for its quality control. **Methods** The analysis was performed on a Diamonsil C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid aqueous solution (B) as the mobile phase with gradient elution at 0.8 mL/min. The column temperature was 30 ℃, the detection wavelength was 203 nm. The gradient elution involved 0 ~ 10 min, 35% ~ 40%A, and 10 ~ 45 min, 40% ~ 46%A. The gradient elution method was used to quantify the content of ziyuglycoside II in 10 batches of *Ilex rotunda* Thunb. from different sources. **Results** The content of ziyuglycoside II separated well with a good linearity at 0.0126 ~ 0.2012 mg/mL ( $r = 0.9999$ ). The average recovery of the low, medium and high concentration samples was 98.17%, 99.80%, and 101.99%, and the  $RSD$ s were all less than 3%. Ziyuglycoside II content in *Ilex rotunda* Thunb. exhibited geographical variation, and was obviously higher in Guangxi than in Guangdong. The highest concent of ziyuglycoside II was found in *Ilex rotunda* Thunb. from Yulin, Guangxi, while the lowest in Meizhou, Guangdong. **Conclusion** The

**基金项目:** 国家自然科学基金 (No.82304865); 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (No.L2024-QCY-ZYYJJQ-X65, No.L2024-QCY-ZYYJJQ-X221); 陕西省中医药科技创新提质扩能计划 (No.TZKN-CXPT-03); 陕西中医药大学青年科技新星 (No.2024-KJXX-07)。

**作者简介:** 王娟, 女, 硕士, 主要从事中药药效物质及作用机制研究, email: 15389667931@163.com \*通信作者: 李瑶, 女, 讲师, 主要从事中药药效物质及作用机制研究, email: 18792768149@163.com

established method is highly accurate and repeatable, and provides a reliable reference for the quality control of medicinal herbs and formulations of *Ilex rotunda* Thunb.

**Key words:** *Ilex rotunda* Thunb.; ziyuglycoside II; HPLC; content determination

地榆皂苷Ⅱ最早是从地榆(*Sanguisorba officinalis* L.)中提取分离得到的一种乌苏烷型三萜皂苷类化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗轮状病毒、抗血管生成及升高白细胞等多种药理活性<sup>[1-6]</sup>。含有地榆皂苷Ⅱ的药用植物鲜有报道,除地榆外,目前仅在冬青科药用植物铁冬青、大叶冬青叶及枸骨中发现含有地榆皂苷Ⅱ<sup>[7-10]</sup>。救必应属冬青科植物铁冬青(*Ilex rotunda* Thunb.)的干燥树皮,具有清热解毒、利湿止痛之效,常用于治疗胃及十二指肠溃疡、急性肠胃炎等胃肠系统疾病<sup>[11-12]</sup>。本课题组前期研究发现,地榆皂苷Ⅱ是救必应改善肠黏膜屏障损伤治疗溃疡性结肠炎的主要药效成分,是救必应开发为治疗溃疡性结肠炎创新药物的重要质量控制成分<sup>[13]</sup>。然而,目前尚无救必应中地榆皂苷Ⅱ的HPLC检测方法,因此,本研究建立了救必应药材中地榆皂苷Ⅱ的HPLC检测方法,并检测不同产地救必应药材中地榆皂苷Ⅱ含量,以期对救必应药材及其制剂的质量控制提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

K2025 高效液相色谱仪,配二极管阵列检测器、四元泵、自动进样器(山东悟空仪器有限公司);KQ-300DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HH-S2 恒温水浴锅(江苏正基仪器有限公司);AUW220D 型 1/10 电子天平(日本岛津仪器公司)。

### 1.2 试药

救必应药材(蕉岭县远胜南药专业合作社),经陕西省食品药品检验研究院抽检符合 2025 年版《中国药典》标准;10 批不同产地救必应药材为本实验室实地采样,经广西中医药大学朱意麟实验师鉴定冬青科植物铁冬青(*Ilex rotunda* Thunb.)的干燥树皮;地榆皂苷Ⅱ(批号:35286-59-0,成都普思生物科技股份有限公司,纯度>98%);甲醇、乙腈(色谱级,谱锐达生物科技有限公司);无水乙醇(分析级,天津市富宇精细化工有限公司);磷酸(色谱级,天津市大茂化学试剂厂);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件优化

**2.1.1 柱温考察** 采用 Diamonsil C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以 40% 乙腈为流动相,

等度洗脱,检测波长 203 nm,进样量 20 μL。考察柱温分别为 30、35 和 40℃时救必应中地榆皂苷Ⅱ的分离度,结果发现当柱温为 40℃时地榆皂苷Ⅱ未检出,因此地榆皂苷Ⅱ的检测柱温宜选择 30~35℃。

**2.1.2 检测波长考察** 其他条件同“2.1.1”项下,分别考察 195 nm、203 nm、210 nm 三种检测波长对地榆皂苷Ⅱ色谱峰响应、基线平稳度与分离效果的影响,结果发现波长 195、203 和 210 nm 时均可检测到地榆皂苷Ⅱ。210 nm 时地榆皂苷Ⅱ峰面积较小;203 nm 时地榆皂苷Ⅱ响应较高,且基线更加平稳,干扰小,分离好;195 nm 时地榆皂苷Ⅱ响应较高。考虑到基线以及干扰因素问题,地榆皂苷Ⅱ检测波长宜选择 203 nm。

**2.1.3 不同洗脱梯度考察** 其他条件同“2.1.1”项下,分别考察三个等度洗脱条件(45% 乙腈、40% 乙腈、38% 乙腈)及两个梯度洗脱条件[以乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B)为流动相。梯度洗脱条件①:0~10 min, 35%~40%A;10~45 min, 40%~46%A。梯度洗脱条件②:0~10 min, 35%~40%A;10~60 min, 40%~50%A]对救必应中地榆皂苷Ⅱ的峰面积及分离度的影响。结果显示采用 45% 乙腈等度洗脱时地榆皂苷Ⅱ未能与前峰分离,采用 40% 和 38% 乙腈进行等度洗脱时,地榆皂苷Ⅱ分离度较好,但分析时间较长。采用梯度洗脱条件①时,地榆皂苷Ⅱ分离度为 3.5,峰形改善明显,且分析时间显著缩短,因此综合考虑地榆皂苷Ⅱ的峰形和出峰时间,选定该梯度洗脱条件。

**2.1.4 色谱条件** 采用 Diamonsil C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-0.1% 磷酸水(B)为流动相,柱温 30℃,检测波长为 203 nm,梯度洗脱(0~10 min, 35%~40%A;10~45 min, 40%~46%A)。

### 2.2 溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取地榆皂苷Ⅱ对照品适量,精密称定,加入甲醇制成每 1 mL 含地榆皂苷Ⅱ 0.2012 mg 的对照品储备液。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 称取救必应粉末(过三号筛)约 0.5 g,精密称定,甲醇 25 mL,称重,超声 60 min (功率 300 W,频率 45 kHz),放冷,再称定重量,甲醇补足失重,0.22 μm 滤膜滤过,即得供试品溶液。

## 2.3 方法学考察

**2.3.1 专属性考察** 将空白溶液(甲醇)、对照品溶液和供试品溶液,按照“2.1.4”项下色谱条件进行检测,其色谱图如图 1 所示,空白溶液无干扰峰,供试品溶液与对照品溶液出峰时间一致,目标峰分离度大于 1.5,说明该方法的专属性良好。

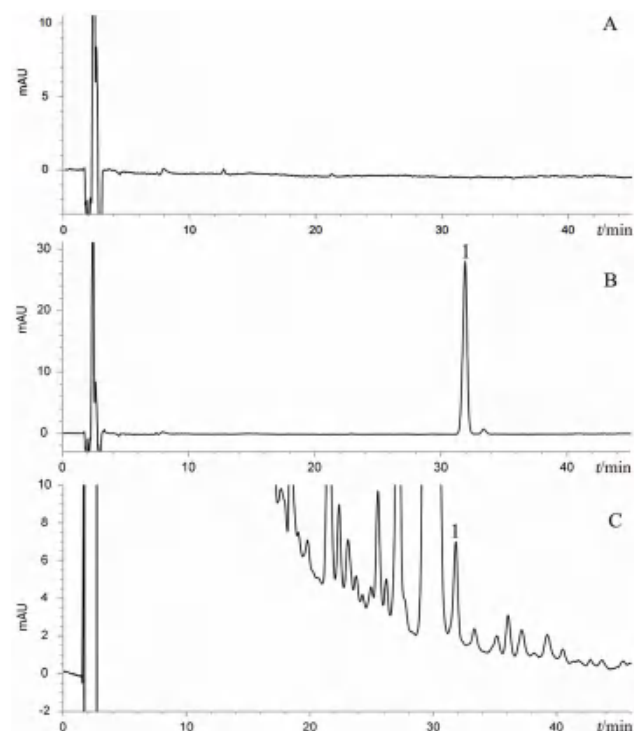


图 1 空白溶液(A)、对照品溶液(B)及救必应供试品溶液(C) HPLC 图

Fig 1 HPLC chromatograms of blank solution (A), reference solution (B), and *Ilex rotunda* Thunb. sample solution (C)

1. 地榆皂苷 II (ziyuglycoside II)

**2.3.2 线性关系考察** 精密吸取“2.2.1”项下地榆皂苷 II 对照品储备液,用甲醇稀释为 0.2012、0.1006、0.0805、0.0503、0.0252、0.0126 mg/mL 对照品溶液,按照“2.1.4”项下色谱条件进行检测,以峰面积( $Y$ )为纵坐标,质量浓度( $X$ )为横坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程。地榆皂苷 II 在 0.0126 ~ 0.2012 mg/mL 内与峰面积线性关系良好,其回归方程为  $Y = 3378.3X + 2.7602$ ,  $R = 0.9999$ 。

**2.3.3 精密度试验** 精密吸取地榆皂苷 II 对照品溶液(0.496  $\mu\text{g/mL}$ ),按照“2.1.4”项下色谱条件测定,连续进样 6 次,记录峰面积,并计算相对标准偏差( $RSD$ )。结果地榆皂苷 II 的峰面积  $RSD$  为 1.5%,表明仪器精密度良好。

**2.3.4 稳定性试验** 取供试品溶液,放置 0、2、6、8、18、24 h 后按照“2.1.4”项下色谱条件测定,记录地榆皂苷 II 的峰面积。结果地榆皂苷 II 的峰面

积  $RSD$  为 1.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.3.5 重复性试验** 取 6 份同一批次救必应,按照“2.2”项下方法制备成救必应供试品溶液,按照“2.1.4”项下色谱条件测定,记录峰面积,结果地榆皂苷 II 的峰面积  $RSD$  为 1.5%,表明方法重复性良好。

**2.3.6 加样回收试验** 精密称取已知含量的救必应药材,分别按照已知地榆皂苷 II 含量的 80%、100%、120% 精密加入地榆皂苷 II 对照品溶液,按照“2.2.2”项下方法制备成救必应供试品溶液,进样测定,计算得低、中、高水平的平均加样回收率分别为 98.17%、99.80%、101.99%,  $RSD$  均小于 3.0%。

## 2.4 样品含量测定

称取 10 批不同产地的救必应药材粉末适量,按照“2.2”项下方法制备供试品溶液,并按照“2.1.4”项下色谱条件测定,计算各产地救必应药材中地榆皂苷 II 的含量。结果显示不同产地的救必应药材中地榆皂苷 II 含量差别较大,以广西岑溪和广西玉林产救必应中的含量高,广东梅州救必应中的含量最低,结果见表 1。

表 1 不同产地救必应中地榆皂苷 II 的含量(mg/g,  $n = 3$ )

Tab 1 Content of ziyuglycoside II in *Ilex rotunda* Thunb. from different geographical origins (mg/g,  $n = 3$ )

| 编号 | 产地    | 地榆皂苷 II 含量        |
|----|-------|-------------------|
| 1  | 广西岑溪  | 0.313 $\pm$ 0.012 |
| 2  | 广西南宁  | 0.198 $\pm$ 0.006 |
| 3  | 广西防城港 | 0.273 $\pm$ 0.019 |
| 4  | 广西柳州  | 0.150 $\pm$ 0.007 |
| 5  | 广西玉林  | 0.385 $\pm$ 0.010 |
| 6  | 广东清远  | 0.266 $\pm$ 0.009 |
| 7  | 广东清远  | 0.117 $\pm$ 0.006 |
| 8  | 广东深圳  | 0.134 $\pm$ 0.007 |
| 9  | 广东惠州  | 0.173 $\pm$ 0.017 |
| 10 | 广东梅州  | 0.074 $\pm$ 0.006 |

## 3 讨论

地榆皂苷 II 为地榆发挥升白、抗肿瘤及抗炎等作用的主要活性成分,且为免疫调控关键靶标干扰素基因刺激因子的激动剂<sup>[14-15]</sup>,但目前仍少有报道地榆皂苷 II 成分的检测方法,2025 年版《中国药典》中尚无地榆皂苷 II 的含量测定方法。有文献报道 HPLC-ELSD 和 HPLC-UV 法测定地榆中地榆皂苷 I 和地榆皂苷 II 的含量<sup>[16-18]</sup>,而随着提取分离及 LC-MS/MS 技术的发展,研究者发现冬青科药用植物救必应中也含有少量地榆皂苷 II,且本课题组前期研究发现地榆皂苷 II 为救必应治疗溃疡性结肠炎的核心药效成分<sup>[13]</sup>。然而,救必应中与地榆皂苷 II 结构相近的乌苏烷型三萜皂苷元铁冬青酸含量较高,导致地榆皂苷 II 的分离难度增大<sup>[19]</sup>。



地榆皂苷Ⅱ为低极性化合物,可溶于甲醇,难溶于水,而救必应中地榆皂苷Ⅱ的含量较低,如供试品制备时无法充分提取则严重影响地榆皂苷Ⅱ含量检测准确度<sup>[20-21]</sup>。因此,本研究对供试品的制备条件进行优化,通过比较超声提取与回流提取时救必应中地榆皂苷Ⅱ的检出,发现超声提取和回流提取均能充分提取救必应中地榆皂苷Ⅱ,考虑到操作简便性优先选择超声提取。进一步对救必应超声 30、40、50、60 min 进行考察,发现当超声提取时间>40 min,救必应中地榆皂苷Ⅱ充分溶出。对提取溶剂进行考察,发现不同提取溶剂对地榆皂苷Ⅱ影响较大,当提取溶剂为乙醇时地榆皂苷Ⅱ峰形受到显著影响,无法与对照品比对确认,而 30% 和 50% 甲醇为提取溶剂时地榆皂苷Ⅱ的溶解度较低,难以检出或含量极低,相比之下,纯甲醇作为提取溶剂能充分且稳定提取救必应中的地榆皂苷Ⅱ,因此确定其为最佳提取溶剂。

本研究采用所建立的梯度洗脱 HPLC 方法对 10 批采自不同产地的救必应中地榆皂苷Ⅱ含量进行检测,结果发现不同产地的救必应药材中地榆皂苷Ⅱ含量差别较大,整体广西产的救必应中地榆皂苷Ⅱ含量高于广东,广西玉林产救必应中地榆皂苷Ⅱ含量高,而广东梅州产救必应中地榆皂苷Ⅱ含量最低。值得注意的是,即使来自广东清远的两个生长条件基本接近的样本,由于生长年限的不同,地榆皂苷Ⅱ含量差异显著,生长年限较长的救必应药材其地榆皂苷Ⅱ的累计含量却下降,因此后续还需进一步研究生长环境以及年份对救必应地榆皂苷Ⅱ含量的影响,为其科学种植提供依据。

## 参考文献

- [1] Deng ZW, Yuan JT, Ma BT, et al. Ziyuglycoside II, a triterpene glycoside compound in *Sanguisorbae officinalis* L. extract, suppresses metastasis in osteosarcoma via CBX4-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathway [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155716.
- [2] Fang HH, Xie XX, Liu P, et al. Ziyuglycoside II alleviates cyclophosphamide-induced leukopenia in mice via regulation of HSPC proliferation and differentiation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 132: 110862.
- [3] Zhong Y, Li XY, Zhou F, et al. Ziyuglycoside II inhibits the growth of digestive system cancer cells through multiple mechanisms [J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19 (5): 351-363.
- [4] Zhou YL, Zhang YT, Qian YF, et al. Ziyuglycoside II attenuated OVX mice bone loss via inflammatory responses and regulation of gut microbiota and SCFAs [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 132: 112027.
- [5] Chen XL, Liu L, Chen W, et al. Ziyuglycoside II inhibits rotavirus induced diarrhea possibly via TLR4/NF- $\kappa$ B pathways [J]. *Biol Pharm Bull*, 2020, 43 (6): 932-937.
- [6] Nam SH, Lkhagvasuren K, Seo HW, et al. Antiangiogenic effects of ziyuglycoside II, a major active compound of *Sanguisorba officinalis* L. [J]. *Phytother Res*, 2017, 31 (9): 1449-1456.
- [7] Chen G, Han YQ, Feng Y, et al. Extract of *Ilex rotunda* Thunb alleviates experimental colitis-associated cancer via suppressing inflammation-induced miR-31-5p/YAP overexpression [J]. *Phytomedicine*, 2019, 62: 152941.
- [8] 罗华锋,林朝展,赵钟祥,等.铁冬青茎皮五环三萜类化学成分的研究(I)[J].*中草药*, 2011, 42 (10): 1945-1947.
- [9] 王存琴,陈颖,汪雷,等.HPLC法同时测定大叶冬青叶中 6 种有效成分的含量[J].*中药新药与临床药理*, 2019, 30 (4): 466-471.
- [10] 冯海燕.枸骨叶中抑制脂肪酶活性成分的快速识别与分离、鉴定[D].上海:上海中医药大学,2019.
- [11] 中国药典 2025 年版.一部[S].2025: 334-335.
- [12] 江西药科学学校革命委员会.草药手册[M].南昌:江西新华印刷厂,1970: 882-884.
- [13] Li Y, Tian YY, Wang J, et al. Main active components of *Ilex rotunda* Thunb. protect against ulcerative colitis by restoring the intestinal mucosal barrier and modulating the cytokine-cytokine interaction pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318 (Pt B): 116961.
- [14] Cui XL, Xie YL, Zhang M, et al. Identification of ziyuglycoside II from a natural products library as a STING agonist [J]. *Chem Med Chem*, 2022, 17 (11): e202100719.
- [15] 李光云,周霖,李鹏,等.地榆皂苷Ⅱ通过 PI3K/Akt/mTOR 通路在体内外减轻糖尿病视网膜病变的作用机制研究[J].*现代药物与临床*, 2024, 39 (10): 2470-2476.
- [16] 杨桂燕,代良敏,熊永爱,等.HPLC-ELSD法测定地榆药材中地榆皂苷-I 和地榆皂苷-II 的含量[J].*中华中医药杂志*, 2016, 31 (8): 3340-3343.
- [17] 范奎,代良敏,熊永爱,等.HPLC-ELSD法测定地榆总皂苷中地榆皂苷-I 和地榆皂苷-II 的含量[J].*中华中医药杂志*, 2017, 32 (6): 2639-2642.
- [18] 王雪,戴衍朋,徐波,等.不同产地地榆饮片在地榆皂苷 I 和地榆皂苷 II 的含量测定及比较分析[J].*中南药学*, 2018, 16 (3): 400-404.
- [19] 刘振杰,高红伟,孙雪萍,等.基于 HPLC-MS 的救必应多指标成分的含量测定[J].*药物分析杂志*, 2021, 41 (11): 1868-1874.
- [20] Zhang HW, Wang SW, Slimani S, et al. Solid-state screening and dry powder inhaler development of ziyuglycoside II sodium salt for enhanced bioavailability [J]. *Int J Pharm*, 2025, 681: 125868.
- [21] 吴杰,谢开勇,袁丽,等.近五年地榆的药理作用机制研究进展[J].*环球中医药*, 2024, 17 (8): 1669-1678.

(收稿日期: 2025-10-20; 修回日期: 2025-12-20)

# 高效液相色谱 - 蒸发光散射检测法测定知母中 知母皂苷 B II 含量的能力验证结果分析

康荣, 郭晓晗, 常艳, 余坤子, 李明华, 郭琳, 陈佳, 程显隆\*, 魏锋\* (中国食品药品检定研究院, 北京 102629)

**摘要:** **目的** 通过能力验证研究评估药品检验检测实验室测定知母药材中知母皂苷 B II 含量的能力, 提升相关实验室采用高效液相色谱 - 蒸发光散射检测法含量测定的质量控制水平。**方法** 依据 CNAS-RL02: 2023《能力验证规则》和 ISO/IEC 17043: 2023《合格评定能力验证的通用要求》开展活动。按照 CNAS-GL003: 2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》制备考核样品, 通过考核样与干扰样双轨设计、稳健统计法科学评估, 以 Z 比分数评价能力验证结果(满意、可疑、不满意)。**结果** 共 123 家实验室报送了有效数据并纳入本次统计评价。其中, 110 家实验室获得满意结果(满意率: 89.43%), 10 家实验室获得可疑结果(可疑率: 8.13%), 3 家实验室获得不满意结果(不满意率: 2.44%)。**结论** NIFDC-PT-457 能力验证项目成功实施, 为实验室提供了有效的外部质控手段, 并为监管机构掌握全国药品实验室高效液相色谱 - 蒸发光散射检测能力现状提供了数据支撑。结果表明, 地市级药品检验机构和制药企业的检测能力仍有提升空间, 后续需针对性加强技术培训与能力建设。

**关键词:** 高效液相色谱 - 蒸发光散射检测法; 知母皂苷 B II; 含量测定; 均匀性; 稳定性; 能力验证; 稳健统计

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-261-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.037

## Proficiency testing for the content determination of timosaponin B II in Anemarrhenae rhizoma by HPLC-ELSD

KANG Rong, GUO Xiaohan, CHANG Yan, YU Kunzi, LI Minghua, GUO Lin, CHEN Jia, CHENG Xianlong\*, WEI Feng\* (National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the capability of pharmaceutical laboratories in determining the content of timosaponin B II in Anemarrhena rhizome through proficiency testing, to enhance the quality control of laboratories in the content determination with high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection (HPLC-ELSD). **Methods** The testing was conducted in accordance with CNAS-RL02: 2023 *Proficiency Testing Rules* and ISO/IEC 17043: 2023 *Conformity assessment—General requirements for proficiency testing*. Test samples were prepared following CNAS-GL003: 2018 *Guidance on Evaluating the Homogeneity and Stability of Samples Used for Proficiency Testing*. Through a dual-group design of test samples and interference samples, along with scientific evaluation by robust statistical methods, the proficiency testing results were assessed by Z-scores (satisfactory, questionable, or unsatisfactory). **Results** Totally 123 laboratories that submitted results were evaluated: 110 (89.43%) laboratories achieved satisfactory results, 10 (8.13%) obtained questionable results, and 3 (2.44%) were unsatisfactory. **Conclusion** The NIFDC-PT-457 proficiency testing project was successfully implemented. It provides laboratories with an effective quality control tool and provides data for regulatory authorities to understand the current status of HPLC-ELSD capabilities in pharmaceutical laboratories nationwide. There is still room for improvement in the testing

**基金项目:** 中国食品药品检定研究院学科带头人培养基金 (No.2023X10)。

**作者简介:** 康荣, 女, 博士, 讲师, 主要从事中药质量控制与分析, email: kangrong@nifdc.org.cn \* **通信作者:** 程显隆, 男, 研究员, 主要从事中药质量控制与分析, email: cxl@nifdc.org.cn; 魏锋, 男, 研究员, 主要从事中药质量控制与分析, email: weifeng@nifdc.org.cn

capabilities of municipal-level drug testing institutions and pharmaceutical manufacturers. Targeted enhancement of technical training and capability building is required in follow-up actions.

**Key words:** HPLC-ELSD; timosaponin B II; content determination; homogeneity; stability; proficiency testing; robust statistics

能力验证作为国际公认的实验室质量评价核心机制，通过标准化、系统化的实验室间比对活动，依据规范的技术准则对参与机构的检测能力进行客观、量化评估<sup>[1-2]</sup>。相较于传统现场评审受时空条件制约的局限性，能力验证的量化结果能够为监管部门实施精准的风险分级管理提供科学依据，同时也为实验室误差溯源、检测流程优化及质量控制体系完善提供有效驱动力，进而实现技术能力与管理效能的协同提升<sup>[3-6]</sup>。

在中药质量控制领域，对于缺乏紫外特征吸收的活性成分（如皂苷、生物碱、糖类、脂类等）的准确检测，一直是技术难点。高效液相色谱-蒸发光散射检测法（HPLC-ELSD）的广泛应用，为解决此类弱紫外吸收物质检测难题提供了重要手段<sup>[7]</sup>。《中国药典》2020 年版已明确规定 HPLC-ELSD 技术用于多种中药代表性成分的含量测定（见表 1），充分彰显了该技术在此领域不可替代的作用。

表 1 《中国药典》2020 年版采用 HPLC-ELSD 法检测的药材及其指标成分

| Tab 1 Medicinal materials and their marker components analyzed by HPLC-ELSD in Chinese Pharmacopoeia (2020 Edition) |                      |                                                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|--------------------------------------------------------|
| 成分类别                                                                                                                | 药材（标志性成分）            | 固定相的类型和流动相体系                                           |
| 皂苷类                                                                                                                 | 黄芪（黄芪甲苷）             | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                      |
|                                                                                                                     | 通关藤（通关藤苷 H）          | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                      |
|                                                                                                                     | 四季青（长梗冬青苷）           | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇（10% 异丙醇）- 水（10% 异丙醇）                     |
|                                                                                                                     | 瓜子金（瓜子金皂苷）           | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                      |
|                                                                                                                     | 地肤子（地肤子皂苷 IC）        | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 - 水 - 乙酸                                 |
|                                                                                                                     | 知母（知母皂苷 B II）        | 辛烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                       |
|                                                                                                                     | 急性子（凤仙菇四醇皂苷 A/K）     | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                      |
|                                                                                                                     | 桔梗（桔梗皂苷 D）           | 十八烷基硅烷键合硅胶（YMC-Pack ODS-A 柱，5 μm，4.6 mm×250 mm）；乙腈 - 水 |
|                                                                                                                     | 商陆（商陆皂苷甲）            | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 -0.4% 乙酸溶液                               |
|                                                                                                                     | 酸枣仁（酸枣仁皂苷 A）         | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水                                      |
| 生物碱类                                                                                                                | 山银花（灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙） | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 -0.4% 乙酸                                 |
|                                                                                                                     | 浙贝母（贝母素甲）            | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水 - 二乙胺                                |
|                                                                                                                     | 湖北贝母（贝母素乙）           | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 -0.02% 二乙胺溶液                             |
|                                                                                                                     | 伊贝母（西贝母碱苷、西贝母碱）      | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 水 - 二乙胺                                |
|                                                                                                                     | 益母草（盐酸水苏碱）           | 丙基酰胺键合硅胶；乙腈 -0.2% 乙酸                                   |
| 糖类                                                                                                                  | 巴戟天（耐斯糖）             | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 - 水                                      |
| 甘油三酯类                                                                                                               | 薏苡仁（甘油三油酸酯）          | 十八烷基硅烷键合硅胶；乙腈 - 二氯甲烷                                   |
| 萜类内酯                                                                                                                | 银杏叶（白果内酯、银杏内酯 A/B/C） | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 - 四氢呋喃 - 水                               |
| 五环三萜类有机酸                                                                                                            | 路路通（路路通酸）            | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 - 水 - 乙酸                                 |
|                                                                                                                     | 马鞭草（齐墩果酸、熊果酸）        | 十八烷基硅烷键合硅胶；甲醇 -0.2% 乙酸溶液                               |

然而，尽管 HPLC-ELSD 技术在中药成分检测中展现出显著优势，但在实际应用过程中，不同实验室间检测结果的准确性与一致性仍面临挑战。以常用药材知母为例，其主要药效成分知母皂苷 B II 是药典质量控制的关键指标，其含量的准确测定直接关系到知母药材及其制剂的质量与疗效<sup>[8]</sup>。但现有检测方法在实际操作中可能因多种因素（如样品前处理、色谱条件优化、仪器参数设置等）导致结果出现偏差，影响判定的可靠性。

为系统探究并解决上述问题，提升中药 ELSD 检测的整体水平，本研究首次在中药检验领域组织并实施了以 ELSD 为核心手段的能力验证项目（项

目编号：NIFDC-PT-457），重点针对知母中知母皂苷 B II 的含量测定开展能力评价。代码 NIFDC-PT-457 能力验证计划严格遵循 ISO/IEC 17043：2023《合格评定能力验证的通用要求》开展组织与实施工作。检验依据为按照《中国药典》2020 年版一部知母项下方法进行试验。检验结论统一表述为以“本品按干燥品计算，知母皂苷 B II（C<sub>45</sub>H<sub>76</sub>O<sub>19</sub>）含量为\_\_%”。本项目将系统研究并优化样品制备策略，严格验证样品的均匀性与稳定性，构建科学的数据统计评价模型，创新性地增设干扰样品组，并深入剖析离群结果产生的技术根源，提出针对性的改进方案，旨在为相关实验室提供客观、科学的



自检依据和能力提升路径,深入剖析检测环节的关键控制点,推动中药 HPLC 法含量测定(尤其是基于 ELSD 技术)检验技术的标准化与规范化进程,最终为提升中药质量控制的整体水平与结果可靠性提供有力支撑。

## 1 仪器与试药

参加本项目各实验室使用的仪器型号不同,以下仅列出本实验室使用的仪器:Waters Alliance e2695 高效液相色谱仪(美国沃特世科技有限公司),XPE105 电子天平(梅特勒-托利多仪器公司,精度:0.01 mg),KQ-500DE 超声仪(昆山市超声仪器有限公司),DGG-9070A 电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

知母皂苷 B II 对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111839-202308,含量:93.2%);乙腈(质谱纯,DiKMA 公司,批号:R142428),丙酮(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号:20150917);水为 Milli-Q 纯水(实验室自制);能力验证样品:本计划样品采用塑料瓶塑封包装,每瓶约 15 g,阴凉干燥处存储。知母样品均采集自种植基地或中药材市场,经中国食品药品检定研究院中药民族药检定所程显隆研究员鉴定确认。

## 2 方法与结果

### 2.1 评价方法

本项目依据 CNAS-RL02:2023《能力验证规则》和 ISO/IEC 17043:2023《合格评定能力验证的通用要求》开展活动<sup>[1,9]</sup>。向参加者发放两组样品(编号 1、2),均为粉末,编号 1 为考核样(A 或 B),编号 2 为干扰样(C 或 D)。其中,考核样 A 和 B 依据 CNAS-GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》,进行了严格的均匀性和稳定性评估<sup>[10]</sup>。在数据处理阶段,采用 CNAS-GL002:2018《能力验证结果的统计处理和能力评价指南》中规定的稳健统计方法,通过 Z 比分数客观评价各实验室检测结果的准确性与可靠性,以此判定实验室能力是否达标<sup>[11-12]</sup>。共有 124 家实验室报名参加,其中 123 家实验室按时报送检验结果。本研究对 123 家实验室的结果进行了统计分析,同时对 124 家实验室进行了能力评价<sup>[13-14]</sup>。

### 2.2 参加实验室情况

共有 124 家实验室报名参加本能力验证项目,其中 1 家因超期能力评价为不满意,其他 123 家完成样品确认并反馈结果。参与的实验室覆盖全国 30 个省(自治区)、直辖市和特别行政区,以广东(15 家)和北京(9 家)数量最多。参与机构类型包括省级检验机构 16 家(占 13.01%),地市级检验机构 44 家(占 35.77%),药品生产企业 42 家(占 34.15%),其他检验检测机构及企业 16

家(占 13.01%),其他科研单位 5 家(占 4.07%)。

### 2.3 均匀性检测评估结果

以样品中知母皂苷 B II 含量(%)为统计指标进行方差分析。A、B 两组样品的  $F$  值(1.20 和 2.28)均小于临界值  $F < F_{0.05}(9, 10) = (3.02)$ ,表明在  $\alpha = 0.05$  的检验水准下,两组样品的总体方差差异无统计学意义,可以认为两组样品均匀,样品均匀性检测统计结果见表 2。

表 2 均匀性检测统计结果  
Tab 2 Homogeneity of proficiency testing samples

| 组别  | 指标 | 平方和    | 自由度 | 均方                | $F$  |
|-----|----|--------|-----|-------------------|------|
| A 组 | 组间 | 0.0359 | 9   | 0.0040 ( $MS_1$ ) | 1.20 |
|     | 组内 | 0.0332 | 10  | 0.0033 ( $MS_2$ ) |      |
| B 组 | 组间 | 0.0871 | 9   | 0.0097 ( $MS_1$ ) | 2.28 |
|     | 组内 | 0.0418 | 10  | 0.0042 ( $MS_2$ ) |      |

基于实验室检测数据的统计分析进一步确认了样品均匀性。将样品不均匀性标准偏差  $S_s$  与能力评定标准差( $\sigma$ )比较,结果符合  $S_s \leq 0.3\sigma$  的标准。因此,样品不均匀性不影响后续实验室能力评价,可忽略不计。A 组:组间标准差  $S_s = \sqrt{(MS_1 - MS_2)/n} = 0.0058$ ,满足  $S_s < 0.3\sigma$  (0.0706%) 的标准,样品均匀性良好(+). B 组:组间标准差  $S_s = \sqrt{(MS_1 - MS_2)/n} = 0.0166$ ,满足  $S_s < 0.3\sigma$  (0.0745%) 的标准,样品均匀性良好(+).

### 2.4 稳定性检测评估结果

如表 3 所示,经夏皮罗-威尔克检验与  $F$  检验,所有组别数据均符合正态分布且方差齐( $P > 0.05$ )。随后进行的非配对  $t$  检验显示,在模拟运输和长期稳定性条件下,样品中知母皂苷 B II 含量与零点含量无显著差异( $P > 0.05$ )。因此,A、B 两组样品在储存及运输条件下稳定。

从实际变化幅度来看,各条件下含量变化的绝对差值均小于 0.3 倍标准差( $0.3\sigma$ )(模拟运输稳定性: A 组  $0.0163\% < 0.0706\%$ , B 组  $0.0718\% < 0.0745\%$ ; 长期稳定性: A 组  $0.0429\% < 0.0706\%$ , B 组  $0.0382\% < 0.0745\%$ )。综合统计检验结果与实际变化幅度均表明, A 组和 B 组样品在储存及运输条件下稳定性良好,其含量变化对后续能力评定的影响可忽略不计。

### 2.5 参加实验室统计结果与评价

123 家提交结果的实验室纳入本次能力验证统计分析,以 Z 比分数评价参加实验室结果的满意情况,公式如下:  $Z_i = (x_i - x_{pt})/\sigma_{pt}$ , 式中  $x_i$  为各参加实验室的测定结果,  $x_{pt}$  为指定值,即稳健统计的中位值,  $\sigma_{pt}$  为能力评定标准差,即 NIQR, A 组和 B 组样品检验结果的统计量汇总见表 4。

表 3 知母 A 组和 B 组样品稳定性检测结果及评估

Tab 3 Evaluation of the stability of group A and B samples of Anemarrhena rhizoma

| 对比组                | 组别  | 夏皮罗-威尔克检验 |        | F 检验比较方差 | 非配对 t 检验 |        | 差值 95% 置信区间 |          |
|--------------------|-----|-----------|--------|----------|----------|--------|-------------|----------|
|                    |     | W 值       | P 值    | P 值      | t 值      | P 值    | 下限          | 上限       |
| 模拟运输稳定性含量 vs. 零点含量 | A 组 | 0.8777    | 0.3287 | 0.8483   | 0.5110   | 0.6144 | -0.083 46   | 0.050 46 |
|                    | B 组 | 0.9621    | 0.7918 | 0.3905   | 1.6430   | 0.1147 | -0.018 25   | 0.157 30 |
| 长期稳定性含量 vs. 零点含量   | A 组 | 0.8207    | 0.1447 | 0.9307   | 1.3400   | 0.1939 | -0.023 81   | 0.110 80 |
|                    | B 组 | 0.8146    | 0.1310 | 0.2386   | 0.7927   | 0.4364 | -0.137 40   | 0.061 42 |

注：夏皮罗-威尔克检验， $P > 0.05$ ，符合正态分布；F 检验比较方差， $P > 0.05$ ，方差齐性；差值 95% 置信区间是指模拟运输或长期存储后含量与零点含量的总体差值真实均值的范围。

Note: Shapiro-Wilk test,  $P > 0.05$ , follows a normal distribution; F-test for comparing variances,  $P > 0.05$ , homogeneity of variance; The 95% confidence interval for the difference refers to the range of the true mean of the population difference between the content after simulated transport or long-term storage and the content at the initial point.

表 4 知母 A 组和 B 组样品的检验结果及统计量

Tab 4 Test results and statistics of group A and B of Anemarrhena rhizoma

| 组别  | NIQR/% | 中位值 /% | 变异系数 CV | 最大值 / (% , g/g) | 最小值 / (% , g/g) | 极差 / (% , g/g) |
|-----|--------|--------|---------|-----------------|-----------------|----------------|
| A 组 | 0.2354 | 5.53   | 4.26    | 6.23            | 4.87            | 1.36           |
| B 组 | 0.2483 | 4.95   | 5.02    | 6.05            | 4.38            | 1.67           |

从整体情况来看，参与统计分析的 123 家实验室中，能力验证结果为满意的有 110 家，占比 89.43%；结果可疑的有 10 家，占比 8.13%；结果不满意的有 3 家，占比 2.44%。

按实验室类型分别统计后显示（见表 5）：16 家省级食药检机构的满意率为 100.00%；44 家地市级食品药品检验机构中，38 家结果满意，满意率为 86.36%；42 家药品生产企业中，37 家结果满意，满意率为 88.10%；16 家其他检验检测机构及企业中，14 家结果满意，满意率为 87.50%；5 家科研单位所属实验室均结果满意，满意率为 100.00%。

表 5 知母 A 组和 B 组样品的满意率结果

Tab 5 Satisfaction rate results of Anemarrhena rhizoma in group A and B

| 实验室类型       | 满意 | 可疑 | 不满意 | 合计 | 满意率 /% |
|-------------|----|----|-----|----|--------|
| 省级检验机构      | 16 | 0  | 0   | 16 | 100.00 |
| 地市级检验机构     | 38 | 6  | 0   | 44 | 86.36  |
| 药品生产企业      | 37 | 3  | 2   | 42 | 88.10  |
| 其他检验检测机构及企业 | 14 | 1  | 1   | 16 | 87.50  |
| 其他科研单位      | 5  | 0  | 0   | 5  | 100.00 |

### 3 技术分析和建议

#### 3.1 样品前处理

在样品提取环节，超声处理过程的参数控制对结果准确性影响显著。实验室超声仪功率、频率及超声时间的差异，可能导致样品中目标成分提取效率不一致。

前期考察条件时，当超声功率波动超过 10% 时，知母皂苷 B II 的提取效率波动范围可达  $\pm 5.2\%$ 。因此，建议建立超声仪器定期校准与性能验证制度，确保实验条件的稳定性<sup>[15]</sup>。此外，本实验采用 30% 丙酮作为提取溶剂，由于丙酮沸点仅 56.5℃，在常

温环境下易挥发，若提取后样品放置时间过长，溶剂体积缩减将导致测定结果偏高。研究显示，4℃ 冰箱放置 7 d 后，测定值可较即时检测结果高出 15.9%，故需严格控制提取后样品的分析时限。

#### 3.2 对照品的使用

在参与能力验证结果统计分析的 123 家实验室中，10 家仅进行单份对照品称量，未遵循平行称量原则，无法通过多次测量降低偶然误差<sup>[16]</sup>。对照品称量环节作为定量分析的关键步骤，其误差直接影响测定结果的准确性，采用单样单针进样方式比双样双针进样结果相对标准偏差要高。此外，部分实验室虽使用 0.01 mg 精度天平，但是没有达到《中国药典》“精密称定”中“所称重量应准确至所取重量的千分之一”的要求，而实际使用前需查验天平的校准证书，按实测重复性调整最小称样量。建议加强天平操作规范培训，确保称量准确性。此外，知母皂苷 B II 对照品具有较强引湿性，易吸收环境水分导致实际含量降低。本单位作为对照品标定机构，已建立最新批次对照品定期质量监测机制。值得注意的是，代码 382 实验室在本单位 2020 年 11 月 9 日停用知母皂苷 B II（111839-201706）后仍继续使用，导致测定结果与中位值偏差达 11.75%，充分说明规范使用有效期内对照品的重要性。

#### 3.3 系统适用性考察

对结果非“满意”的实验室数据进行分析发现，样品数据采集前系统适用性考察不严谨是普遍存在的问题。部分实验室在色谱峰形拖尾因子在 0.95 ~ 1.05 之外，分离度 < 1.5 的情况下仍进行数据采集，导致积分误差增大<sup>[8]</sup>。建议实验室在样品分析前，严格按照药典要求进行系统适用



性实验,通过优化流动相比例、筛选合适色谱柱等措施,确保色谱条件满足分析要求,从源头上保障数据质量。代码 013 的实验室未遵循药典规定,使用 C18 色谱柱替代以辛烷基硅烷键合硅胶为填充剂的 C8 色谱柱。由于两种色谱柱固定相性质存在差异,导致知母皂苷 B II 的保留行为改变,直接影响定量准确性。

### 3.4 外标两点法

本实验采用外标两点法对数方程进行含量计算,经对实验室原始记录中对照品与样品峰面积数据进行溯源核查,发现部分实验室因计算公式误用、单位换算错误或数据输入失误,导致检测结果出现系统性偏差。代码 912 实验室在含量计算过程中错误套用公式,致使测定值偏离中位值达 12.66%。此类错误不仅反映出操作人员对计算原理掌握不扎实,也暴露出实验室数据复核机制存在漏洞。

同时,外标两点法要求待测物浓度必须处于两个标准点浓度构成的线性区间内,以保证线性响应的准确性。尽管本次能力验证对区间外数据的干扰样不纳入评定,但仍有多家实验室在标准曲线线性范围外进行计算,导致测定结果偏差显著增大。统计显示,超出线性区间计算的结果与中位值偏差可超过  $\pm 25\%$ 。因此,建议实验室在样品测定前,务必通过预实验确定样品浓度范围,若待测样品浓度超出标准曲线范围,应采用稀释或浓缩等手段调整至合适区间,确保定量分析的准确性。

### 3.5 干扰样品的增设

关于干扰样品增设的目的主要包含以下两方面:①考察外标两点法线性区间的技术把控能力;②构建多维度防数据串通机制,采用 4 种随机发样模式,通过动态化、差异化的样本分配策略,有效防范数据串通风险。数据统计显示,97.6% 的回收数据呈现 Z 值同增或同减的一致性趋势,充分验证了该干扰样设计在项目数据真实性管控中的有效性,为后续掌握全国检测真实能力提供了可复制的样板。

## 4 结论

本次能力验证项目共有 124 家实验室参加能力验证结果评价,总体满意率为 88.71% (110/124),表明当前各实验室在采用 HPLC-ELSD 技术测定中药活性成分方面已具备较为扎实的技术基础。

从实验室类型对比来看,省级检验机构和科研单位表现出优良的检测技术水平和质量控制能力,有力支撑了药品监管的权威性与公信力。然

而,地市级检验机构及药品生产企业的满意率相对较低,主要存在操作标准化不足、对照品使用欠规范、分析方法应用偏差三类共性问题。建议相关实验室以常态化能力验证为抓手,精准提升技术水平,完善质量管理体系。

本次能力验证通过系统、标准的评估,客观反映了各级药检机构、药品生产企业和科研单位在检测技术及质量管理方面的现状,为国家药品监管部门把握行业质量状况提供了重要依据。监管部门可据此组织开展针对性培训项目,制定科学监管策略,推动医药检测技术持续进步与高质量发展,为保障公众用药安全构建坚实技术屏障。

## 参考文献

- [1] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-RL02: 2023《能力验证规则》[S]. 2023.
- [2] 陆继伟, 范一灵, 陈祝康, 等. 三项国家药品监督管理局微生物能力验证结果分析[J]. 中国药学杂志, 2025, 60(3): 308-312.
- [3] 刘雅丹, 王迪, 赵萌, 等. 基于内外审结果对比的药品领域能力验证体系内审有效性评价探析[J]. 中国药事, 2025, 39(3): 293-299.
- [4] 刘雅丹, 王菲菲, 赵萌, 等. 我国药品领域能力验证活动的现状研究及建议[J]. 中国药事, 2021, 35(8): 899-907.
- [5] 黄翠薇, 席静, 梁瑞婷. 浅析实验室参加能力验证活动的过程及意义[J]. 中国检验检测, 2017, 25(6): 59-60.
- [6] 毛燕, 闫林. 实验室参加能力验证活动的意义分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(9): 2958-2961.
- [7] 霍秦秦, 孙立丽, 秦丽娜, 等. 蒸发光散射检测器在中药成分分析中的应用研究[J]. 中国医药指南, 2020, 18(9): 205-206.
- [8] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 222.
- [9] 中国合格评定国家认可委员会. ISO/IEC 17043: 2023《合格评定能力验证的通用要求》[S]. 2023.
- [10] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003: 2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 2018.
- [11] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL002: 2018 能力验证结果的统计处理和评价指南[S]. 2018.
- [12] 中国合格评定国家认可中心, 公安部第三研究所, 国家卫生健康委员会临床检验中心, 等. 能力验证结果技术分析指南[S]. 2023.
- [13] 常艳, 杨晓莉, 王朔威, 等. 正确利用参加者结果对药品检测领域能力验证项目进行合理评价[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(14): 2472-2482.
- [14] 常艳, 杨晓莉, 王朔威, 等. 药品检测领域能力验证计划中统计量的确定[J]. 中国药事, 2025, 39(1): 66-74.
- [15] 郭晓晗, 常艳, 张佳婷, 等. HPLC 法测定栀子药材中栀子苷含量的能力验证研究[J]. 药物流行病学杂志, 2024, 33(10): 1115-1123.
- [16] 中国药品检验总所. 中国药品检验标准操作规范[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.

(收稿日期: 2025-07-14; 修回日期: 2025-08-14)



# 八味獐牙菜胶囊指纹图谱及多指标成分含量研究

胡紫怡<sup>1</sup>, 陆国敏<sup>1</sup>, 张雪菊<sup>1, 2\*</sup>, 马蓉<sup>1, 3</sup>, 柳海霞<sup>3</sup>, 乔婧<sup>3</sup> (1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 西藏藏药集团股份有限公司, 拉萨 850000; 3. 甘肃奇正藏药有限公司, 兰州 730100)

**摘要:** **目的** 系统性构建八味獐牙菜胶囊的 HPLC 指纹图谱, 并建立其中獐牙菜苦苷、芒果苷与盐酸小檗碱的含量测定方法。**方法** 以乙腈-0.2% 磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 采用 Agilent Eclipse XDB-C18 (5  $\mu$ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm) 色谱柱, 柱温 25  $^{\circ}$ C, 流速 1.0 mL/min, 检测波长 254 nm。对 10 批样品进行指纹图谱相似度评价及獐牙菜苦苷、芒果苷与盐酸小檗碱的含量测定。**结果** 10 批八味獐牙菜胶囊相似度均高于 0.90, 并共标定出 20 个共有峰。所建立的方法经验证, 在指纹图谱定性分析与多指标成分定量测定方面均符合相关要求。**结论** 该研究方法可靠有效, 可作为八味獐牙菜胶囊整体质量控制的科学依据。

**关键词:** 八味獐牙菜胶囊; HPLC 法; 指纹图谱; 含量测定; 獐牙菜苦苷; 芒果苷; 盐酸小檗碱  
**中图分类号:** R284 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-266-06  
**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.038

## Fingerprints and multi-component quantification of Bawei Zhangyacao capsules

HU Ziyi<sup>1</sup>, LU Guomin<sup>1</sup>, ZHANG Xueju<sup>1, 2\*</sup>, MA Rong<sup>1, 3</sup>, LIU Haixia<sup>3</sup>, QIAO Jing<sup>3</sup> (1. *Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000*; 2. *Tibet Tibetan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Lhasa 850000*; 3. *Gansu Qizheng Tibetan Medicine Co., Ltd., Lanzhou 730100*)

**Abstract:** **Objective** To establish the HPLC fingerprint of Bawei Zhangyacao capsules and simultaneously develop a method to determine the content of swertiamarin, mangiferin, and berberine hydrochloride. **Methods** Chromatographic separation was performed on an Agilent Eclipse XDB-C18 column (5  $\mu$ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm) with a mobile phase of acetonitrile and 0.2% phosphoric acid solution with gradient elution. The column temperature was maintained at 25  $^{\circ}$ C, the flow rate was 1.0 mL/min, and the detection wavelength was 254 nm. Fingerprint similarity was evaluated on 10 batches of samples, and the content of swertiamarin, mangiferin, and berberine hydrochloride was determined. **Results** The similarity of the 10 batches of Bawei Zhangyacao capsules were all greater than 0.90, and 20 common peaks were identified. The method was validated and met all relevant requirements for both qualitative fingerprint analysis and multi-component quantitative determination. **Conclusion** The developed method is reliable and effective, and can serve as a scientific basis for the overall quality control of Bawei Zhangyacao capsules.

**Key words:** Bawei Zhangyacao capsule; HPLC; fingerprint; content determination; swertiamarin; mangiferin; berberine hydrochloride

胆囊炎是一种常见的消化系统疾病, 多由胆囊结石等因素引发, 临床表现为急性或慢性炎症过程<sup>[1]</sup>。近年来, 中医药在胆囊炎治疗中的应用日益广泛, 如清热利胆颗粒可用于急性胆囊炎治疗,

八宝丹胶囊能显著改善急性胆囊炎患者临床症状, 胆舒胶囊则对慢性胆囊炎具有良好疗效<sup>[2-4]</sup>。

藏药复方八味獐牙菜散(蒂达杰巴)源自《四部医典》, 由獐牙菜、兔耳草、木香等八味药材

**基金项目:** 工业与信息化部中药资源项目 (No.ZB2417)。

**作者简介:** 胡紫怡, 女, 在读硕士研究生, 主要从事药物化学与工业药学研究, email: 291924190@qq.com \* **通信作者:** 张雪菊, 女, 正高级工程师, 主要从事药品研发、质量管理及改进等研究, email: zxj@qzh.cn

组成,功效以清热消炎为主,临床上多用于胆囊炎及早期黄疸型肝炎的治疗,疗效显著<sup>[5-6]</sup>。该方于 1995 年被列入《卫生部药品标准》(藏药分册),但现行标准仅收载定性鉴别,缺乏定量控制项目<sup>[7]</sup>。该散剂在实际使用中存在便携性差、服用不便、质量稳定性低以及可控性较弱等问题,故拟将其改进为胶囊剂,以提高服药便利性和质量控制水平。

指纹图谱结合多指标含量测定是系统评价中药质量的有效策略,可实现复杂体系中多成分的定性定量分析,有助于提升产品质量控制水平<sup>[8]</sup>。本研究拟采用指纹图谱与多指标含量测定相结合的方法,全面评价该制剂质量,以期为其提升其质量标准奠定基础。

## 1 材料

### 1.1 仪器

PekinElmer Atlas A-10 型高效液相色谱仪(珀金埃尔默仪器有限公司);SK8200LHC 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司);XS204 型万分之一电子天平(梅特勒托利多仪器有限公司);MSA125P-1CE-DU 型十万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.2 试药

獐牙菜苷(批号:111742-200501,纯度:100%)、毛蕊花糖苷(批号:111530-201713,纯度:92.5%)、獐牙菜苦苷(批号:110785-202205,纯度:97.2%)、盐酸小檗碱(批号:110713-202316,纯度:91.0%)、木犀草素(批号:111520-202107,纯度:96.3%)、芒果苷(批号:111607-201704,纯度:98.1%)(中国食品药品检定研究院)。獐牙菜(批号:211101、2209021、2304001,四川省中药材有限责任公司中药分公司),岩参(批号:211101、2304001、2305001)、唐古特乌头(批号:210701、2301161、2305001)、兔耳草(批号:210901、2302081、2304001)(化隆县蓝琉璃藏中药种植专业合作社),木香(批号:211101、2302171、2305001)、角茴香(批号:2203001、2301021、2304001)、小檗皮(批号:211101、2305001、2506261)、波棱瓜子(批号:211101、2304001、2506261)(安徽贺林中药饮片科技有限公司);上述药材均经甘肃奇正藏药有限公司柳海霞中级工程师鉴定为正品。10 批八味獐牙菜胶囊(S1~S10)来源于甘肃奇正藏药有限公司实验室小试产品,规格为 0.3 g/粒。甲醇、乙腈为色谱纯(美国 Fisher 公

司),磷酸为分析纯(天津市百世化工有限公司),水为屈臣氏蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C18 (5  $\mu$ m, 4.6 mm $\times$ 250 mm);检测波长:254 nm;柱温:25  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ L;流速:1.0 mL/min;流动相:A 相为乙腈、B 相为 0.2% 磷酸溶液,梯度洗脱(0~5 min, 10% $\rightarrow$ 13%A;5~13 min, 13%A;13~25 min, 13% $\rightarrow$ 16%A;25~41 min, 16% $\rightarrow$ 40%A;41~45 min, 40% $\rightarrow$ 10%A)。

### 2.2 八味獐牙菜胶囊的制备工艺

按处方准确称取八味中药材:獐牙菜 63 g,兔耳草、木香、唐古特乌头、角茴香各 42 g,小檗皮 34 g,波棱瓜子 17 g,岩参 51 g,总重为 333 g。首次用 12 倍量的 40% 乙醇回流提取 1 h,药渣续以 4 倍量 40% 乙醇回流提取 1 h,合并滤液,浓缩成浸膏(相对密度 1.10~1.15),冻干 36 h,粉碎,冻干粉与糊精按 2:1 混匀,加入适量 75% 乙醇润湿后制粒,80  $^{\circ}$ C 下干燥 1 h,整粒,填充 0 号胶囊,即得。

### 2.3 溶液的制备

**2.3.1 对照品溶液** 精密称取各对照品獐牙菜苦苷、盐酸小檗碱、獐牙菜苷、毛蕊花糖苷、木犀草素和芒果苷适量,用甲醇溶解并定容,制成混合对照品溶液,各对照品的质量浓度分别为 52.8380、65.4654、54.2400、43.9400、23.3750、15.5390  $\mu$ g/mL。

**2.3.2 供试品溶液** 取适量胶囊内容物,研磨后过二号筛,精密称定 0.25 g 粉末,置锥形瓶内,精密加入 25 mL 甲醇,立即密塞称重,超声(35 kHz, 250 W)处理 30 min,冷却后用甲醇补足失重,经 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,即得。

**2.3.3 单味饮片溶液** 取各单味药饮片适量,按“2.3.2”项下方法分别制备相应的单味饮片溶液。

**2.3.4 阴性样品溶液** 按“2.2”“2.3.2”项下方法分别制成缺獐牙菜、兔耳草、小檗皮、角茴香、唐古特乌头、波棱瓜子、木香、岩参的阴性样品溶液。

### 2.4 指纹图谱的建立

**2.4.1 精密度试验** 取八味獐牙菜胶囊(S1)制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样 6 次检测,以峰 18(盐酸小檗碱)为参照峰(峰面积最大且分离度好),计算得到各共有峰的相对保留时间  $RSD < 0.47\%$ ,相对峰面积  $RSD < 2.1\%$ ,

表明该方法仪器精密度良好。

**2.4.2 稳定性试验** 取八味獐牙菜胶囊 (S1) 制备供试品溶液, 于室温下放置 0、2、4、8、12、24 h, 按“2.1”项下色谱条件进样检测, 以峰 18 (盐酸小檗碱) 为参照峰, 计算得到各共有峰的相对保留时间  $RSD < 0.71\%$ , 相对峰面积  $RSD < 2.6\%$ , 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.4.3 重复性试验** 取八味獐牙菜胶囊 (S1), 平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样检测, 以峰 18 (盐酸小檗碱) 为参照峰, 计算得到各共有峰的相对保留时间  $RSD < 0.88\%$ , 相对峰面积  $RSD < 2.3\%$ , 表明方法重复性良好。

**2.4.4 指纹图谱的建立和相似度评价** 为系统评价 10 批八味獐牙菜胶囊 (S1 ~ S10) 质量的一致性, 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》, 指定 S1 的色谱图为参照图谱, 对

10 批 (批号: S1 ~ S10) 八味獐牙菜胶囊样品的色谱图进行多点校正和 Mark 峰匹配 (时间窗: 0.1 min), 采用平均数法生成对照指纹图谱与叠加图谱 (见图 1), 并确定了 20 个共有峰。10 批八味獐牙菜胶囊的相似度均大于 0.90 (见表 1), 表明各批次间的一致性良好。

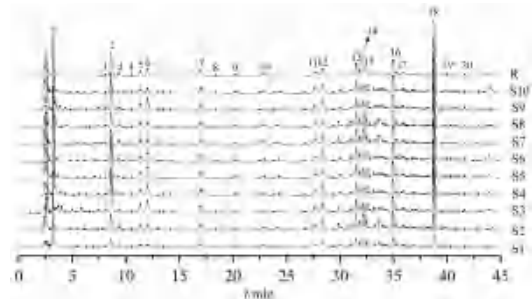


图 1 10 批八味獐牙菜胶囊 HPLC 指纹图谱及对照图谱 (R)  
Fig 1 HPLC fingerprint of 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules and reference fingerprint (R)

表 1 10 批八味獐牙菜胶囊相似度评价结果  
Tab 1 Similarity of 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules

| 编号  | S1    | S2    | S3    | S4    | S5    | S6    | S7    | S8    | S9    | S10   | R     |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| S1  | 1     | 0.999 | 0.914 | 0.969 | 0.930 | 0.979 | 0.999 | 0.998 | 0.917 | 0.992 | 0.981 |
| S2  | 0.999 | 1     | 0.922 | 0.973 | 0.937 | 0.982 | 1     | 0.999 | 0.925 | 0.991 | 0.984 |
| S3  | 0.914 | 0.922 | 1     | 0.984 | 0.998 | 0.974 | 0.922 | 0.923 | 1     | 0.919 | 0.975 |
| S4  | 0.969 | 0.973 | 0.984 | 1     | 0.989 | 0.998 | 0.972 | 0.973 | 0.985 | 0.975 | 0.998 |
| S5  | 0.930 | 0.937 | 0.998 | 0.989 | 1     | 0.983 | 0.937 | 0.936 | 0.999 | 0.934 | 0.983 |
| S6  | 0.979 | 0.982 | 0.974 | 0.998 | 0.983 | 1     | 0.982 | 0.980 | 0.976 | 0.984 | 0.999 |
| S7  | 0.999 | 1     | 0.922 | 0.972 | 0.937 | 0.982 | 1     | 0.998 | 0.924 | 0.991 | 0.984 |
| S8  | 0.998 | 0.999 | 0.923 | 0.973 | 0.936 | 0.980 | 0.998 | 1     | 0.925 | 0.989 | 0.984 |
| S9  | 0.917 | 0.925 | 1     | 0.985 | 0.999 | 0.976 | 0.924 | 0.925 | 1     | 0.922 | 0.976 |
| S10 | 0.992 | 0.991 | 0.919 | 0.975 | 0.934 | 0.984 | 0.991 | 0.989 | 0.922 | 1     | 0.982 |
| R   | 0.981 | 0.984 | 0.975 | 0.998 | 0.983 | 0.999 | 0.984 | 0.984 | 0.976 | 0.982 | 1     |

**2.4.5 色谱峰指认及归属** 通过对比混合对照品、样品、单味饮片及阴性样品溶液 (见图 2 ~ 4), 指出 6 种成分: 峰 2 为獐牙菜苦苷, 峰 5 为芒果苷, 峰 6 为獐牙菜苷, 峰 13 为毛蕊花糖苷, 峰 18 为盐酸小檗碱, 峰 19 为木犀草素。峰 1 归属于岩参; 峰 2、5、6、9、16、20 归属于獐牙菜; 峰 3 同时归属于小檗皮和角茴香; 峰 4、12 同时归属于角茴香和兔耳草; 峰 7、18 归属于小檗皮; 峰 8 归属于唐古特乌头; 峰 10、19 同时归属于兔耳草和岩参; 峰 11 归属于角茴香; 峰 13、14、15 同时归属于兔耳草和唐古特乌头; 峰 17 同时归属于獐牙菜、木香和岩参。

**2.5 含量测定**

**2.5.1 专属性试验** 分别取混合对照品、供试品及阴性样品溶液 (缺獐牙菜、缺小檗皮), 按“2.1”项下色谱条件进样检测。结果显示, 3 种目标成分的色谱峰均得以有效分离, 与相邻峰间

的分离度均大于 1.5 (见图 5), 表明该方法具有良好的专属性。

**2.5.2 线性关系考察** 精密称取獐牙菜苦苷、芒果苷和盐酸小檗碱对照品, 以甲醇为溶剂, 制备成质量浓度分别为 127.3320、16.2072、112.7490  $\mu\text{g/mL}$  的混合对照品溶液。分别精密吸取混合对照品溶液 200、400、600、800、1000、2000  $\mu\text{L}$ , 置于 2 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。以各成分质量浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) 为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 进行线性回归, 结果见表 2。

**2.5.3 精密度试验** 将同一混合对照品溶液按“2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次。测得獐牙菜苦苷、芒果苷和盐酸小檗碱峰面积的  $RSD$  依次为 0.13%、0.19%、0.040%, 表明该方法仪器精密度良好。



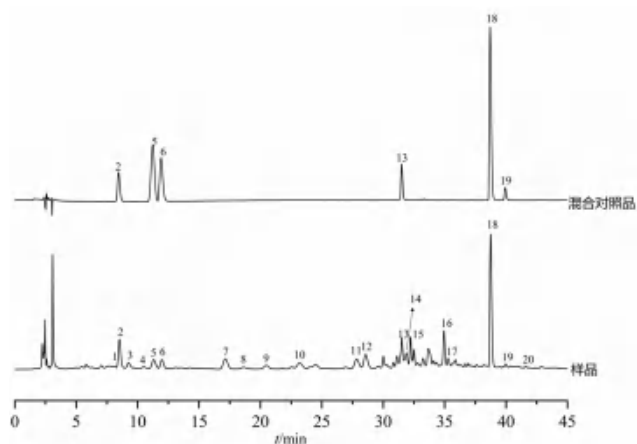


图 2 八味獐牙菜胶囊样品与混合对照品溶液 HPLC 图

Fig 2 HPLC chromatograms of Bawei Zhangyiacai capsules and mixed reference standards

注 (Note): 2. 獐牙菜苦苷 (swertiamarin); 5. 芒果苷 (mangiferin); 6. 獐牙菜苷 (sweroside); 13. 毛蕊花糖苷 (verbascoside); 18 盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride); 19. 木犀草素 (luteolin)。

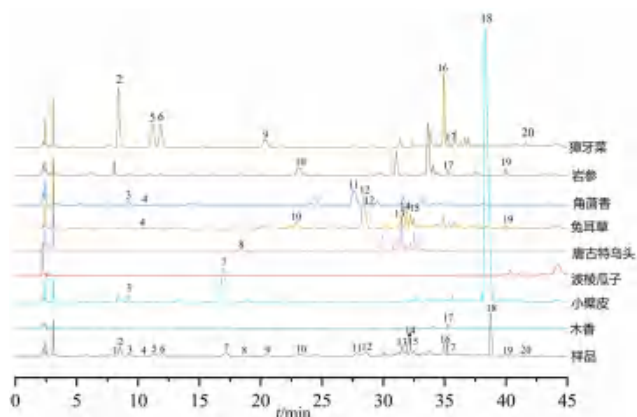


图 3 八味獐牙菜胶囊样品与单味饮片溶液 HPLC 图

Fig 3 HPLC chromatograms of Bawei Zhangyiacai capsules and individual herbal extracts

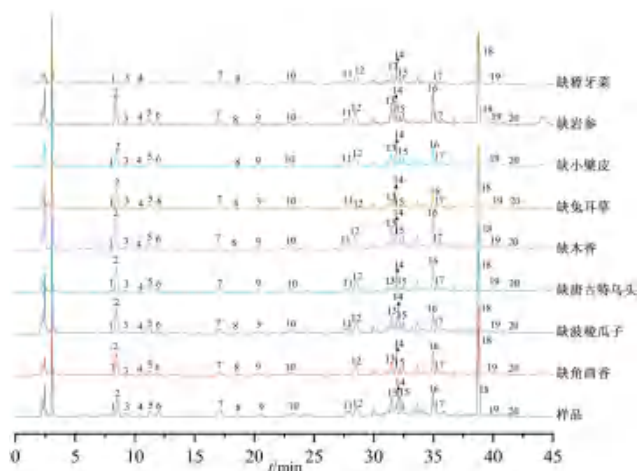


图 4 八味獐牙菜胶囊样品与阴性样品溶液 HPLC 图

Fig 4 HPLC chromatograms of Bawei Zhangyiacai capsules and negative solution

**2.5.4 稳定性试验** 将同一样品溶液 (S1) 于 0、

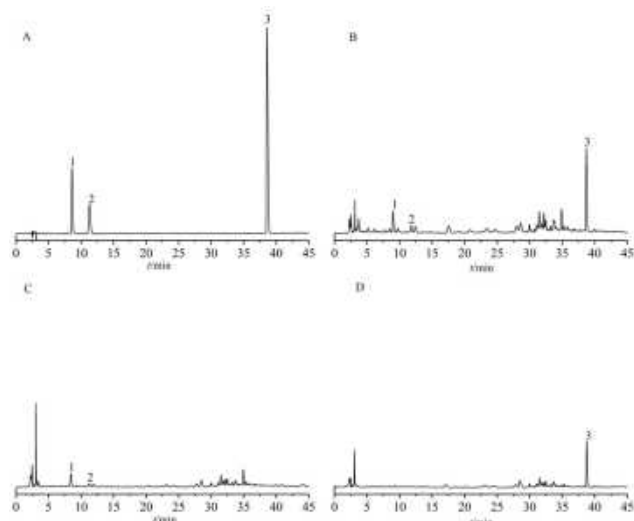


图 5 混合对照溶液 (A)、供试品溶液 (B)、缺少小檗皮阴性样品溶液 (C) 和缺獐牙菜阴性样品溶液 (D) 的 HPLC 图

Fig 5 HPLC chromatograms of mixed reference solution (A), sample solution (B), negative sample without Berberis (C), and negative sample without Swertia (D)

注 (Note): 1. 獐牙菜苦苷 (swertiamarin); 2. 芒果苷 (mangiferin); 3. 盐酸小檗碱 (berberine hydrochloride)

2、4、8、12、24 h 各时间点进样检测。测得獐牙菜苦苷、芒果苷和盐酸小檗碱峰面积的 *RSD* 依次为 0.56%、0.93%、0.59%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.5.5 重复性试验** 同一份样品 (S1) 共 6 份，平行操作制备成供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样检测，结果表明，獐牙菜苦苷、芒果苷和盐酸小檗碱含量的 *RSD* 依次为 1.9%、2.5%、1.8%，表明该方法重复性良好。

**2.5.6 加样回收试验** 取 6 份已知含量的八味獐牙菜胶囊样品 (S1)，每份约 0.125 g，精密称定后，按 100% 的比例加入各对照品，按“2.3.2”项下方法处理与测定，计算加样回收率，结果獐牙菜苦苷、芒果苷和盐酸小檗碱的平均加样回收率分别为 98.21%、101.21% 和 101.00%，*RSD* 分别为 1.1%、1.3% 和 1.9%。

**2.5.7 含量测定** 按“2.3.2”项下方法，测定 10 批八味獐牙菜胶囊，并计算其 3 种待测成分的含量 (见表 3)。结果表明 10 批八味獐牙菜胶囊中均能定量检测，獐牙菜苦苷、芒果苷、盐酸小檗碱的含量分别为  $(7.96 \pm 3.40)$  mg/g、 $(0.50 \pm 0.11)$  mg/g、 $(3.94 \pm 0.24)$  mg/g；变异系数 (*CV*) 分别为 56.50%、25.52%、6.13%。

## 2.6 化学模式分析

**2.6.1 聚类分析 (HCA)** 以 10 批样品的共有峰峰面积为变量，将其导入 SIMCA 14.1 软件进行

表 2 3 种成分的线性关系考察结果  
Tab 2 Linearity of the three components

| 成分    | 回归方程                                          | <i>r</i> | 线性范围 / ( μg/mL )   |
|-------|-----------------------------------------------|----------|--------------------|
| 獐牙菜苦苷 | $Y = 8.604 \times 10^3 X + 4.342 \times 10^4$ | 0.9992   | 12.7332 ~ 127.3320 |
| 芒果苷   | $Y = 4.454 \times 10^4 X - 5.637 \times 10^3$ | 0.9993   | 1.6207 ~ 16.2072   |
| 盐酸小檗碱 | $Y = 3.394 \times 10^4 X + 1.914 \times 10^5$ | 0.9992   | 11.2749 ~ 112.7490 |

表 3 10 批八味獐牙菜胶囊 3 种成分的含量测定结果 (mg/g)  
Tab 3 Content of three components in 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules (mg/g)

| 批次  | 獐牙菜苦苷       | 芒果苷         | 盐酸小檗碱       |
|-----|-------------|-------------|-------------|
| S1  | 4.0239      | 0.3671      | 3.5477      |
| S2  | 4.2173      | 0.4453      | 4.0419      |
| S3  | 11.6536     | 0.6170      | 3.7203      |
| S4  | 8.2974      | 0.5388      | 3.9217      |
| S5  | 11.7095     | 0.6114      | 3.7181      |
| S6  | 8.3634      | 0.5845      | 4.2921      |
| S7  | 4.3506      | 0.4102      | 3.9415      |
| S8  | 4.3216      | 0.3579      | 3.8454      |
| S9  | 11.9429     | 0.6578      | 4.0420      |
| S10 | 4.5574      | 0.4512      | 4.2837      |
| 均值  | 7.96 ± 3.40 | 0.50 ± 0.11 | 3.94 ± 0.24 |

HCA, 见图 6。当平方欧氏距离为 35 时, S1、S7、S8 为第一类, S2、S4、S6、S10 为第二类, S3、S5、S9 为第三类, 提示三类样品在各成分的含量上存在一定的差异, 可能与药材批次间差异有关。

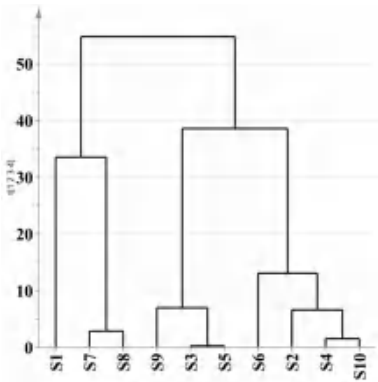


图 6 10 批八味獐牙菜胶囊的 HCA 结果  
Fig 6 HCA for 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules

**2.6.2 主成分分析 (PCA)** 以 10 批样品的共有峰峰面积为变量, 将其导入 SIMCA 14.1 软件进行 PCA。由表 4 可知, 特征值 > 1 的主成分有 4 个, 累计方差贡献率为 90.671%, 可反映 10 批样品的主要信息, 可用于评价其质量。主成分 1 主要反映峰 2 (獐牙菜苦苷)、4、5 (芒果苷)、6 (獐牙菜苷)、7、9、13 (毛蕊花糖苷)、14、16、20 的信息; 主成分 2 主要反映峰 3、10 ~ 12、18 (盐酸小檗碱)、19 (木犀草素) 的信息; 主成分 3 主要反映峰 8、15、17 的信息; 主成分 4 主要反映峰 1 的信息 (见表 5)。PCA 得分

图 (见图 7) 与 HCA 所得结论基本一致, 进一步佐证了 10 批样品质量差异可能源于药材批次间差异。

表 4 10 批八味獐牙菜胶囊的 PCA 结果  
Tab 4 PCA for 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules

| 成分 | 初始特征值 |        |        | 提取载荷平方和 |        |        |
|----|-------|--------|--------|---------|--------|--------|
|    | 总计    | 方差百分比  | 累计 / % | 总计      | 方差百分比  | 累计 / % |
| 1  | 7.270 | 36.349 | 36.349 | 7.270   | 36.349 | 36.349 |
| 2  | 4.973 | 24.866 | 61.215 | 4.973   | 24.866 | 61.215 |
| 3  | 4.414 | 22.070 | 83.285 | 4.414   | 22.070 | 83.285 |
| 4  | 1.477 | 7.386  | 90.671 | 1.477   | 7.386  | 90.671 |

表 5 主成分因子载荷矩阵  
Tab 5 Component loading matrix

| 峰号 | 主成分 1   | 主成分 2   | 主成分 3   | 主成分 4   |
|----|---------|---------|---------|---------|
| 1  | - 0.240 | - 0.300 | - 0.069 | 0.850   |
| 2  | 0.668   | 0.493   | - 0.524 | - 0.042 |
| 3  | - 0.121 | 0.943   | 0.034   | 0.055   |
| 4  | 0.733   | 0.117   | 0.237   | 0.322   |
| 5  | 0.808   | 0.254   | - 0.490 | - 0.033 |
| 6  | 0.757   | 0.293   | - 0.558 | 0.024   |
| 7  | 0.917   | - 0.018 | - 0.202 | - 0.002 |
| 8  | 0.086   | - 0.155 | 0.833   | - 0.494 |
| 9  | 0.702   | - 0.371 | 0.549   | - 0.227 |
| 10 | - 0.288 | 0.823   | 0.399   | 0.090   |
| 11 | 0.642   | - 0.668 | 0.262   | - 0.056 |
| 12 | 0.377   | 0.871   | - 0.209 | - 0.052 |
| 13 | 0.736   | 0.149   | 0.621   | 0.121   |
| 14 | 0.892   | - 0.392 | - 0.138 | - 0.156 |
| 15 | 0.112   | 0.523   | 0.727   | 0.308   |
| 16 | 0.766   | - 0.076 | 0.578   | 0.075   |
| 17 | 0.503   | 0.148   | 0.695   | 0.282   |
| 18 | 0.459   | - 0.701 | - 0.210 | 0.314   |
| 19 | 0.095   | 0.686   | 0.377   | - 0.126 |
| 20 | 0.775   | 0.320   | - 0.530 | - 0.025 |

3 讨论

在色谱条件优化中, 本研究系统筛选了多种流动相体系, 结果表明乙腈 -0.2% 磷酸溶液能实现最佳的色谱分离, 故被确定为最终方案。检测波长 (254 nm) 的选定, 则综合考量了全波长扫描图谱与相关文献报道<sup>[9]</sup>。在样品前处理环节, 通过系统比较不同提取溶剂 (包括无水乙醇及不同比例甲醇) 与提取方式 (如回流与超声) 对提取效率的影响, 从而确立了最优方法。

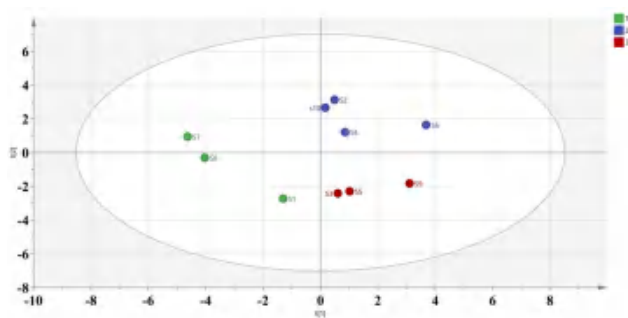


图 7 10 批八味獐牙菜胶囊的 PCA 得分图

Fig 7 PCA score plot for 10 batches of Bawei Zhangyacai capsules

10 批样品的指纹图谱相似度均在 0.90 以上, 表明不同批次样品的整体质量较稳定。共标定了 20 个共有峰, 通过与混合对照品溶液图谱比对认出 6 种成分: 獐牙菜苦苷, 芒果苷, 獐牙菜苷, 毛蕊花糖苷, 盐酸小檗碱, 木犀草素。

本研究选定獐牙菜苦苷、芒果苷与盐酸小檗碱作为八味獐牙菜制剂的质量控制指标, 三者均为其核心活性成分。獐牙菜苦苷主要具有保肝、镇痛及免疫调节活性<sup>[10]</sup>; 芒果苷展现出抗病毒、抗肿瘤以及防治代谢性疾病的广谱生物学作用<sup>[11]</sup>; 盐酸小檗碱则以调节脂代谢和改善线粒体功能等多重功效著称<sup>[12-13]</sup>。这些明确的药理活性共同支撑了其作为指标成分的科学依据。上述 3 种成分在 10 批样品中的含量存在一定波动, 初步分析其差异可能与药材产地、生长环境、储存条件或各批次间的生产工艺条件等因素有关。建议厂家固定药材供应商、建立科学的药材储存管理体系、严格把控原料质量及生产工艺参数, 以确保成品安全、有效、稳定。

本研究建立的分析方法简便准确, 对八味獐牙菜胶囊的质控标准建设具有参考价值。但需指出, 当前基于少数成分的定量分析对其整体质量的表征能力仍显不足。未来工作应优先考虑采用多波长检测法, 以同时监控(如木犀草素、齐墩果酸等)在单一波长下响应不佳的其他关键活性成分, 或通过共有峰的结构解析, 从而极大提升评价的覆盖面和科学性。

## 参考文献

- [1] 吴宇, 孔晓宇, 张海宏, 等. 早期腹腔镜胆囊切除术治疗重症急性胆囊炎的安全性和有效性[J]. 腹部外科, 2024, 37(2): 130-134.
- [2] 马婧嫒, 万星, 刘航宇, 等. 清热利胆颗粒辅助治疗胆囊穿刺引流术后腹腔镜胆囊切除术疗效观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(11): 1314-1319.
- [3] 任军帮, 沈有秀, 张永刚, 等. 八宝丹胶囊治疗急性胆囊炎患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(12): 1689-1693.
- [4] 彭雪莲, 徐小青, 曹勤. 胆舒胶囊治疗慢性胆囊炎和胆结石的临床效果及安全性[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(9): 2084-2090.
- [5] 汪海英. 八味獐牙菜散加减治疗慢性胆囊炎 80 例[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(7): 537.
- [6] 更藏东智, 傲见多杰. 藏药治疗慢性胆囊炎疗效观察[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(87): 157-158.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准(藏药第一册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 1718.
- [8] 叶喜德, 冯小龙, 邵明国, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及一测多评法的心通颗粒质量评价[J]. 中国药房, 2025, 36(15): 1866-1870.
- [9] 李维业, 刘学良, 刘安平, 等. 藏药抱茎獐牙菜 HPLC 指纹图谱及 10 个成分含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2023, 43(2): 209-218.
- [10] Shi MG, Tang J, Zhang T, et al. Swertiamarin, an active iridoid glycoside from *Swertia pseudochinensis* H. Hara, protects against alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestasis by activating the farnesoid X receptor and bile acid excretion pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 291: 115164.
- [11] Dutta T, Das T, Gopalakrishnan AV, et al. Mangiferin: the miraculous xanthone with diverse pharmacological properties[J]. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2023, 396(5): 851-863.
- [12] 曲柄衡, 童晓鹏. 小檗碱保护糖尿病肾病肾脏作用机制研究进展[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2024, 45(3): 354-360.
- [13] 王敏, 李习平, 邱梅, 等. 小檗碱通过调节脂质代谢防治动脉粥样硬化的机制研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2025, 27(8): 1106-1109.

(收稿日期: 2025-10-15; 修回日期: 2026-01-05)



# 基于超高效液相色谱指纹图谱结合化学模式识别和多成分定量的不同产地花椒质量评价

陈祥祥<sup>1</sup>, 高松<sup>2\*</sup>, 陈娜娜<sup>2</sup>, 左静静<sup>2</sup>, 王瑞娜<sup>2</sup>, 刘胜艺<sup>1</sup> (1.河南中医药大学, 郑州 450003; 2.仲景宛西制药股份有限公司, 郑州 450000)

**摘要:** **目的** 建立不同产地花椒指纹图谱和多成分含量测定方法, 并结合化学模式识别法综合评价不同产地花椒药材的质量。**方法** 采用超高效液相色谱 (UPLC) 法建立 6 个产地 18 批花椒指纹图谱, 同时对 4 个成分进行含量测定。结合相似度评价、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) 等化学模式识别法对花椒进行质量评价。**结果** 18 批花椒样品指纹图谱共标定 15 个共有峰, 指认了金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素。指纹图谱相似度为 0.975 ~ 0.999。含量测定结果显示, 金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素的含量分别为 1.287 ~ 3.428、0.389 ~ 1.553、21.118 ~ 57.141、4.954 ~ 23.256 mg/g。HCA 将 18 批花椒分为两类, PCA 和 OPLS-DA 分析结果一致, 可将样品分为两组, 并筛选出羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素为主要差异性成分。**结论** 本研究利用 UPLC 指纹图谱结合化学模式识别方法建立一种简便可靠的花椒药材质量评价方法, 可为不同产地之间的区分鉴别及其质量控制提供依据。

**关键词:** 花椒; 指纹图谱; 含量测定; 化学模式识别法; 超高效液相色谱

**中图分类号:** R284.1, R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-272-06  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.039

## Quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* from different areas based on UPLC fingerprint combined with chemical pattern recognition and multi-component quantification

CHEN Xiangxiang<sup>1</sup>, GAO Song<sup>2\*</sup>, CHEN Nana<sup>2</sup>, ZUO Jingjing<sup>2</sup>, WANG Ruina<sup>2</sup>, LIU Shengyi<sup>1</sup> (1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450003; 2. Zhongjing Wanxi Pharmaceutical Co., Zhengzhou 450000)

**Abstract: Objective** To establish fingerprint chromatograms and multi-component content determination methods for *Zanthoxylum bungeanum* from different origins, and to evaluate their quality by combining chemical pattern recognition methods. **Methods** UPLC was used to establish fingerprint chromatograms of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* from 6 origins, and the content of 2 components was simultaneously determined. Chemical pattern recognition methods such as similarity evaluation, hierarchical cluster analysis (HCA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to evaluate the quality of *Zanthoxylum bungeanum*. **Results** Totally 15 common peaks were identified in the fingerprint chromatograms of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum*. Hyperoside, isorhamnetin, hydroxy- $\alpha$ -zanthoxylum, and hydroxy- $\beta$ -zanthoxylum were identified. The similarity of the fingerprint chromatograms was 0.975 ~ 0.999. The content of hyperoside, isorhamnetin, hydroxy- $\alpha$ -shikimic acid, and hydroxy- $\beta$ -shikimic acid, was 1.287 ~ 3.428, 0.389 ~ 1.553, 21.118 ~ 57.141, and 4.954 ~ 23.256 mg/g respectively. HCA divided the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* into 2 categories, and the results of PCA and OPLS-DA were consistent, which could divide the samples into 2 groups. Hydroxy- $\alpha$ -zanthoxylum and hydroxy-

**基金项目:** 道地宛药全产业链关键技术研究及应用 (No.221100310400)。

**作者简介:** 陈祥祥, 男, 在读硕士研究生, 主要从事中药分析与质量评价, email: cxx18855265957@163.com \*通信作者: 高松, 男, 正高级工程师, 主要从事中药分析与质量评价, email: gs958@163.com

$\beta$ -zanthoxylum were screened as the main differential components. **Conclusion** A simple and reliable method for the quality evaluation of *Zanthoxylum bungeanum* is established by combining UPLC fingerprinting with chemical pattern recognition techniques, which can provide a scientific basis for the differentiation of samples from different geographical origins and their quality control.

**Key words:** *Zanthoxylum bungeanum*; fingerprint chromatogram; content determination; chemical pattern recognition; UPLC

花椒为芸香科植物青椒 *Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc. 或 花椒 *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. 的干燥成熟果皮, 性温, 味辛, 具有温中止痛、杀虫止痒的功效<sup>[1]</sup>, 主要含有挥发油类、生物碱类、酰胺类、黄酮类、香豆素、木质素等成分, 具有抗炎镇痛、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性<sup>[2-3]</sup>。目前, 我国花椒种植广泛, 主要分布在四川、贵州、甘肃、陕西等地<sup>[4]</sup>。由于中药材化学成分复杂, 药材品质受诸多因素影响, 产地是影响药材品质的重要因素之一<sup>[5]</sup>。2025 年版《中国药典》及各地方花椒药材质量标准中仅对挥发油含量作出规定, 而花椒中的金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素具有抗菌、抗肿瘤等多种药理作用, 故仅以挥发油含量为评价标准, 无法全面反映药材品质。现有研究多以花椒中活性成分的药理作用为主, 鲜有研究建立比较全面的定性与定量相结合的检测方法对花椒进行质量评价。本研究收集来自 6 个产地 18 批花椒样品, 通过超高效液相色谱 (UPLC) 法建立不同产地花椒的指纹图谱, 对金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素进行含量测定, 利用相似度评价、聚类分析 (HCA)、主成分分析 (PCA) 以及正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等对其进行质量评估, 以期完善花椒的产地特性及质量控制体系提供参考。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Agilent 1290 II 型超高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); MS105 十万分之一型电子天平、AL104 万分之一型电子天平 (梅特勒托利多仪器有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试药

金丝桃苷对照品 (批号: 111521-202310, 含量: 94.7%)、异槲皮苷对照品 (批号: 111809-202205, 含量: 96.3%) (中国食品药品检定研究院); 羟基- $\alpha$ -山椒素对照品 (批号: 19502-240901, 含量: 98.0%)、羟基- $\beta$ -山椒素对照品 (批号: 19821-G241101, 含量: 98.0%) (上海诗丹德标准技术服务有限公司)。磷酸

(色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇、乙腈 (色谱纯, 默克股份两合公司); 甲醇 (分析纯, 天津致远化学试剂有限公司)。本研究用花椒药材基原为花椒, 来源信息见表 1。

表 1 18 批花椒样品来源信息表

Tab 1 Source information of 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples

| 样品编号 | 来源      | 样品编号 | 来源     |
|------|---------|------|--------|
| S1   | 甘肃陇南武都区 | S10  | 甘肃定西岷县 |
| S2   | 甘肃陇南武都区 | S11  | 甘肃定西岷县 |
| S3   | 甘肃陇南武都区 | S12  | 甘肃定西岷县 |
| S4   | 甘肃陇南文县  | S13  | 四川汉源   |
| S5   | 甘肃陇南文县  | S14  | 四川汉源   |
| S6   | 甘肃陇南文县  | S15  | 四川汉源   |
| S7   | 甘肃陇南宕昌县 | S16  | 陕西渭南   |
| S8   | 甘肃陇南宕昌县 | S17  | 陕西渭南   |
| S9   | 甘肃陇南宕昌县 | S18  | 陕西渭南   |

## 2 方法与结果

### 2.1 供试品溶液的制备

取本品粉末 (过三号筛) 约 0.4 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 300 W, 频率 40 kHz) 20 min, 取出, 放冷, 补足减失重量, 摇匀, 以 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

### 2.2 对照品溶液的制备

取对照品金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 分别含 60.08、30.66、675.19、119.64  $\mu$ g 的对照品溶液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱为 YCM-Triart C18 (150 mm $\times$ 2.1 mm, 1.9  $\mu$ m); 以乙腈-甲醇 (4:3) 为流动相 A, 0.1% 磷酸溶液为流动相 B, 流速 0.3 mL/min, 柱温 30  $^{\circ}$ C, 检测波长 240 nm, 进样量 2  $\mu$ L, 梯度洗脱程序见表 2。

### 2.4 指纹图谱研究

**2.4.1 专属性** 取花椒供试品溶液、混合对照品溶液及空白溶剂 (甲醇) 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 结果见图 1, 空白溶剂对测定结果无干扰。

**2.4.2 精密度试验** 取花椒供试品溶液, 按“2.3”

表 2 梯度洗脱程序

| Tab 2 Gradient elution program |         |         |
|--------------------------------|---------|---------|
| 时间 /min                        | 流动相 A/% | 流动相 B/% |
| 0 ~ 3                          | 17 ~ 23 | 83 ~ 77 |
| 3 ~ 13                         | 23 ~ 30 | 77 ~ 70 |
| 13 ~ 20                        | 30      | 70      |
| 20 ~ 25                        | 30 ~ 40 | 70 ~ 60 |
| 25 ~ 30                        | 40      | 60      |
| 30 ~ 45                        | 40 ~ 75 | 60 ~ 25 |
| 45 ~ 47                        | 75      | 25      |

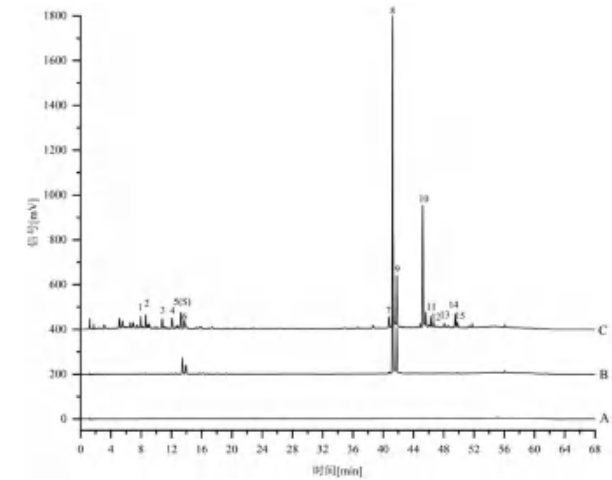


图 1 花椒专属性考察色谱图

Fig 1 Chromatogram for specificity of *Zanthoxylum bungeanum*

A. 甲醇 (methanol); B. 混合对照品 (mixed reference); C. 供试品 (sample); 5. 金丝桃苷 (hyperoside); 6. 异槲皮苷 (isorhamnetin); 8. 羟基- $\alpha$ -山椒素 (hydroxyl- $\alpha$ -capsaicin); 9. 羟基- $\beta$ -山椒素 (hydroxyl- $\beta$ -capsaicin)

项下色谱条件连续进样 6 次, 以 5 号色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间  $RSD$  值为 0.054% ~ 0.64%, 相对峰面积  $RSD$  值为 0.21% ~ 1.5%, 均小于 2.0%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取花椒供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件, 分别在 0、3、6、9、12、15、18、21、24、36 h 进行测定, 以 5 号色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间  $RSD$  值为 0.51% ~ 1.0%, 相对峰面积  $RSD$  值为 0.92% ~ 1.9%, 均小于 2.0%, 表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

**2.4.4 重复性试验** 取花椒样品, 按照“2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进行测定, 以 5 号色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间  $RSD$  值为 0.21% ~ 0.92%, 相对峰面积  $RSD$  值为 1.5% ~ 1.8%, 均小于 2.0%, 表明该方法的重复性良好。

**2.4.5 指纹图谱的建立及相似度评价** 取 18 批花椒样品按照“2.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件进样测定, 将 18 批花椒药材指纹图谱 CDF 文件导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 年版本)》软件, 时间窗宽度

设置为 0.1 min, 以编号为 S1 样品的指纹图谱为参照图谱进行多点校正和 Mark 峰匹配, 共标识出 15 个共有峰, 以中位数法生成对照指纹图谱, 并进行相似度评价, 结果见图 2 和表 3。其中甘肃陇南各区县产花椒 (S1 ~ S9) 相似度一致, 均为 0.999; 产自甘肃定西、四川汉源、陕西渭南花椒 (S10 ~ S18) 的相似度为 0.975 ~ 0.994, 表明这 18 批样品的质量相对稳定, 但各成分的含量存在较大差异。通过与对照品对比, 确认峰 5 为金丝桃苷、峰 6 为异槲皮苷、峰 8 为羟基- $\alpha$ -山椒素、峰 9 为羟基- $\beta$ -山椒素, 结果见图 3。

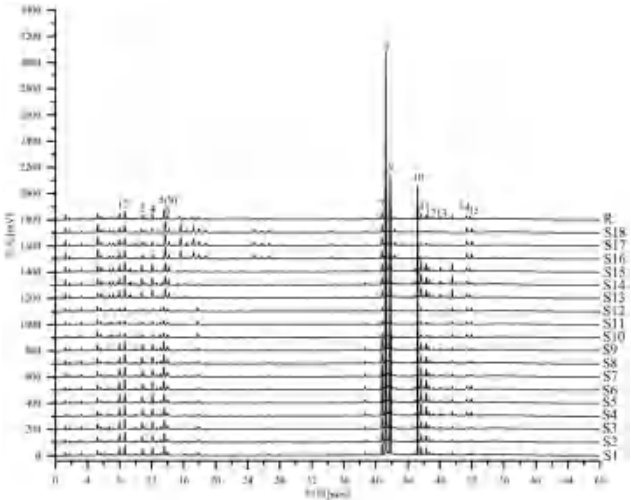


图 2 18 批花椒指纹图谱叠加图

Fig 2 Superimposed fingerprint spectra of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum*

S1 ~ S18. 花椒样品 (*Zanthoxylum bungeanum* samples); R. 对照指纹图谱 (reference fingerprint)

表 3 18 批花椒样品相似度评价

| Tab 3 Similarity evaluation of 18 batches of <i>Zanthoxylum bungeanum</i> samples |       |     |       |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|-----|-------|
| 编号                                                                                | 相似度   | 编号  | 相似度   |
| S1                                                                                | 0.999 | S10 | 0.994 |
| S2                                                                                | 0.999 | S11 | 0.994 |
| S3                                                                                | 0.999 | S12 | 0.994 |
| S4                                                                                | 0.999 | S13 | 0.982 |
| S5                                                                                | 0.999 | S14 | 0.983 |
| S6                                                                                | 0.999 | S15 | 0.983 |
| S7                                                                                | 0.999 | S16 | 0.976 |
| S8                                                                                | 0.999 | S17 | 0.976 |
| S9                                                                                | 0.999 | S18 | 0.975 |

## 2.5 化学计量学分析

**2.5.1 HCA** 以 15 个共有峰的峰面积为变量导入 SPSS 27.0 软件, 选择平方欧氏距离法进行 HCA, 结果见图 4。当类间距离为 15 时, 18 批花椒可被分为两类, S1 ~ S9 与 S13 ~ S15 聚为一类, S10 ~ S12 与 S16 ~ S18 聚为一类。

**2.5.2 PCA** 采用 SIMCA 14.1 软件以 18 批花椒



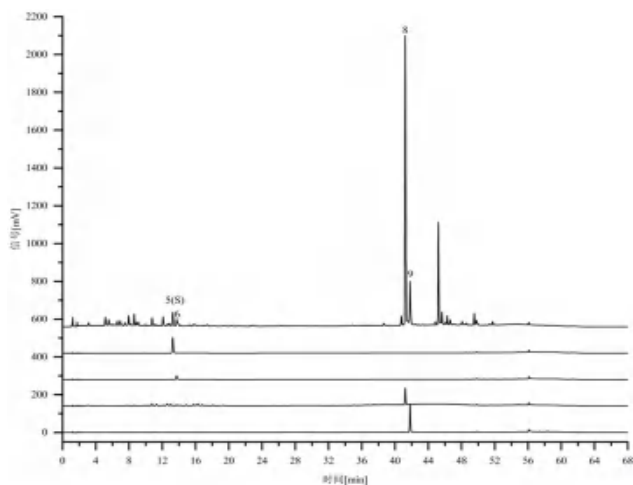


图 3 金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素对照品和花椒供试品叠加图谱

Fig 3 Superimposed chromatograms of reference standards (hyperoside, isoquercitrin, hydroxy- $\alpha$ -sanshool, and hydroxy- $\beta$ -sanshool) and *Zanthoxylum bungeanum* sample

5. 金丝桃苷 (hyperoside); 6. 异槲皮苷 (isorhamnetin); 8. 羟基- $\alpha$ -山椒素 (hydroxyl- $\alpha$ -capsaicin); 9. 羟基- $\beta$ -山椒素 (hydroxyl- $\beta$ -capsaicin)

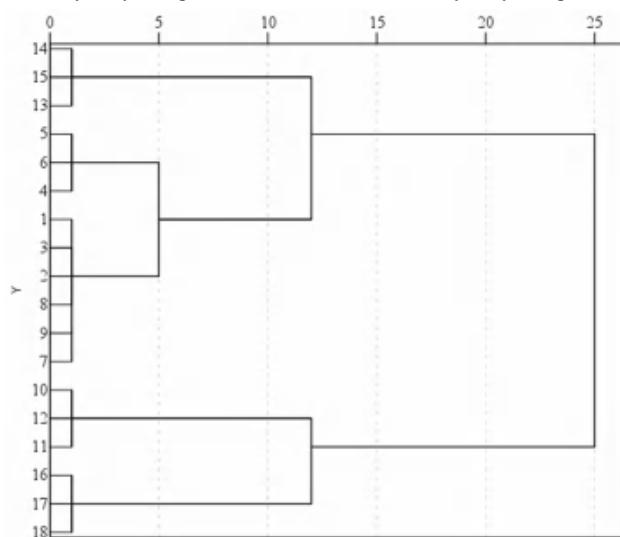


图 4 18 批花椒样品 HCA 图

Fig 4 HCA diagram of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples

样品中 15 个共有峰的峰面积为变量进行 PCA。第 1 主成分的方差贡献率为 76.9%，第 2 主成分的方差贡献率为 18.1%，2 个主成分累计方差贡献率为 95.0%，且其特征值  $> 1$ ，可代表共有峰的大部分信息。PCA 得分图见图 5，S1 ~ S9 与 S13 ~ S15 聚为一类，S10 ~ S12 与 S16 ~ S18 聚为一类，这与 HCA 结果相符。

**2.5.3 OPLS-DA** 结合 HCA 和 PCA 结果，为进一步探究不同产地花椒样品的差异性成分，采用 SIMCA 14.1 软件，以 18 批花椒样品中 15 个共有峰的峰面积为变量进行 OPLS-DA，以变量重要性投影 (VIP)  $> 1$  为标准，得出区分不同产地花

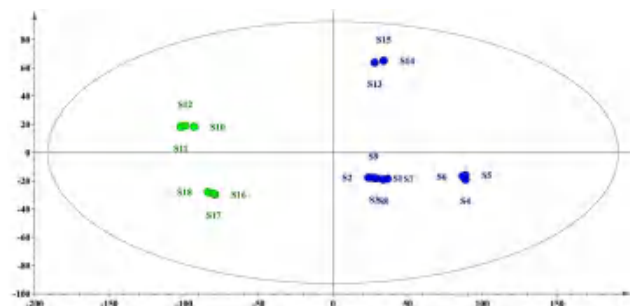


图 5 18 批花椒样品 PCA 得分图

Fig 5 PCA score plot of 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples

椒贡献较大的变量分别为峰 8 (羟基- $\alpha$ -山椒素)、峰 9 (羟基- $\beta$ -山椒素)，表明这两种成分是导致不同批次花椒差异的标志性成分，在不同产地花椒质量评价中应重点关注，见图 6、7。

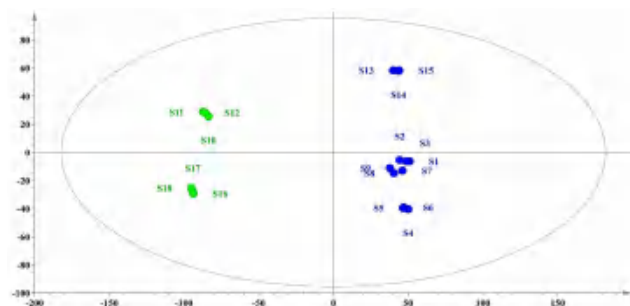


图 6 18 批花椒样品 OPLS-DA 得分图

Fig 6 OPLS-DA score chart of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples

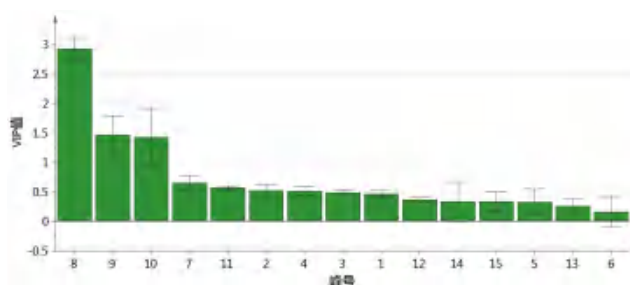


图 7 18 批花椒样品 VIP 值图

Fig 7 VIP value chart of the 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples

## 2.6 含量测定

**2.6.1 线性关系考察** 分别精密吸取金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素混合对照品母液，稀释制成一系列不同浓度的对照品溶液，按“2.3”项下色谱条件进行测定，以对照品溶液的质量浓度为横坐标 ( $X$ )，峰面积为纵坐标 ( $Y$ )，进行线性拟合，结果见表 4，在一定浓度范围内，所有校正曲线均表现出良好的线性关系 ( $R^2 > 0.999$ )。

**2.6.2 精密度试验** 取花椒供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件连续进样测定 6 次，计算得到金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -

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

| 成分                | 回归方程                    | $R^2$  | 线性范围 /<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-------------------|-------------------------|--------|--------------------------------|
| 金丝桃苷              | $Y = 11.681X + 12.710$  | 0.9994 | 10.07 ~ 644.48                 |
| 异槲皮苷              | $Y = 11.308X - 5.719$   | 0.9998 | 3.01 ~ 199.04                  |
| 羟基- $\alpha$ -山椒素 | $Y = 11.015X + 179.857$ | 0.9996 | 30.11 ~ 1927.04                |
| 羟基- $\beta$ -山椒素  | $Y = 17.991X + 103.800$ | 0.9992 | 11.05 ~ 707.40                 |

山椒素峰面积的  $RSD$  值分别为 0.98%、0.72%、1.6%、1.2%，表明仪器精密度良好。

**2.6.3 稳定性试验** 取花椒供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件，分别在 0、3、6、9、12、15、18、21、24、36 h 进行测定，计算得到金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素峰面积的  $RSD$  值分别为 1.3%、1.4%、1.1%、2.0%，表明供试品溶液在 36 h 内稳定性良好。

**2.6.4 重复性试验** 取同一批次花椒样品，按“2.1”项下方法制备 6 份供试品溶液，进样测定，计算得到金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素平均质量分数分别为 0.254%、0.148%、

4.601%、0.968%，含量的  $RSD$  值分别为 0.94%、1.6%、1.1%、1.4%，表明该方法重复性良好。

**2.6.5 加样回收试验** 取已知含量的花椒样品 9 份，每份约 0.2 g，分为 3 组，精密称定，置具塞锥形瓶中，分别按各成分的 50%、100%、150% 精密加入混合对照品溶液，进样测定，计算平均加样回收率，结果金丝桃苷、异槲皮苷、羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素低、中、高浓度的平均回收率分别为 97.16%、97.95%、98.12%；99.99%、99.54%、100.33%；96.47%、97.01%、97.43%；97.78%、97.79%、98.11%； $RSD$  值分别为 1.4%、0.81%、0.18%；2.3%、1.7%、1.8%；1.2%、1.4%、0.91%；1.2%、1.2%、1.9%；表明该方法回收率良好。

**2.6.6 样品含量测定** 取 18 批花椒样品，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.3”项下色谱条件进行测定，结果见表 5。金丝桃苷、异槲皮苷含量较高的产地分别为陕西渭南和四川汉源，羟基- $\alpha$ -山椒素及羟基- $\beta$ -山椒素的含量较高的产地为甘肃陇南文县。

表 5 18 批花椒样品含量测定结果 (mg/g)

Tab 5 Content of 18 batches of *Zanthoxylum bungeanum* samples (mg/g)

| 编号  | 金丝桃苷  | 均值    | 异槲皮苷  | 均值    | 羟基- $\alpha$ -山椒素 | 均值     | 羟基- $\beta$ -山椒素 | 均值     |
|-----|-------|-------|-------|-------|-------------------|--------|------------------|--------|
| S1  | 2.999 | 2.946 | 0.858 | 0.815 | 43.791            | 43.352 | 17.630           | 17.382 |
| S2  | 2.889 |       | 0.780 |       | 42.827            |        | 17.098           |        |
| S3  | 2.949 |       | 0.806 |       | 43.438            |        | 17.418           |        |
| S4  | 2.891 | 2.988 | 0.772 | 0.785 | 56.583            | 56.745 | 23.256           | 23.053 |
| S5  | 3.069 |       | 0.814 |       | 57.141            |        | 23.010           |        |
| S6  | 3.003 |       | 0.768 |       | 56.510            |        | 22.892           |        |
| S7  | 3.203 | 3.068 | 0.949 | 0.901 | 45.443            | 45.246 | 18.181           | 17.971 |
| S8  | 2.972 |       | 0.863 |       | 45.640            |        | 17.997           |        |
| S9  | 3.030 |       | 0.891 |       | 44.655            |        | 17.734           |        |
| S10 | 1.421 | 1.368 | 0.435 | 0.448 | 22.767            | 22.190 | 5.306            | 5.093  |
| S11 | 1.287 |       | 0.389 |       | 21.604            |        | 5.019            |        |
| S12 | 1.397 |       | 0.520 |       | 22.200            |        | 4.954            |        |
| S13 | 2.685 | 2.564 | 1.553 | 1.509 | 45.276            | 45.652 | 9.446            | 9.600  |
| S14 | 2.479 |       | 1.464 |       | 45.325            |        | 9.575            |        |
| S15 | 2.529 |       | 1.509 |       | 46.356            |        | 9.780            |        |
| S16 | 3.428 | 3.295 | 1.204 | 1.161 | 21.421            | 21.457 | 13.142           | 13.214 |
| S17 | 3.313 |       | 1.182 |       | 21.832            |        | 13.373           |        |
| S18 | 3.144 |       | 1.097 |       | 21.118            |        | 13.126           |        |

3 讨论

试验对供试品溶液的提取溶剂（甲醇、30% 甲醇、60% 甲醇、水）、提取溶剂用量（15、25、50 mL）及提取时间（10、20、30 min）进行单因素考察，确定用甲醇 25 mL 超声处理 30 min 的提取方法。通过考察流动相系统乙腈-甲醇（4：3）-0.08% 磷酸溶液、乙腈-甲醇（4：3）-0.1% 磷酸

溶液、乙腈-甲醇（4：3）-0.12% 磷酸溶液、柱温（28、30、32  $^{\circ}\text{C}$ ）以及流速（0.28、0.30、0.32 mL/min），确定在本文色谱条件下，指纹图谱的整体效果较佳，可满足研究要求。

不同产地花椒药材指纹图谱整体相似度较高，相似度值均在 0.9 以上。HCA 和 PCA 将 18 批样品分成两类，说明不同产地的样品既有相似性又具

有一定的产地差异性。OPLS-DA 对差异成分进行分析,发现羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素是区分不同产地花椒贡献较大的变量。现代研究表明,羟基- $\alpha$ -山椒素具有抗氧化、抗肿瘤等生物活性,能有效抑制多种炎症因子的表达,发挥抗炎作用<sup>[6-9]</sup>。羟基- $\beta$ -山椒素可以通过抵抗结肠损伤、调节肠道屏障功能障碍和肠道菌群失调来改善结肠炎,还可以在细胞水平上缩短昼夜节律<sup>[10-11]</sup>。花椒中的黄酮类成分金丝桃苷具有抗肿瘤、保护心肌、修复黏膜、镇痛、抗抑郁等生物活性;异槲皮苷具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、降血压、降血糖等生物活性<sup>[12-16]</sup>。

不同产地的花椒药材质量存在差异,主要由温度、光照、海拔、土壤等诸多因素影响。昼夜温差大的环境能减少白天光合产物的呼吸消耗,促进羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素的合成。光照充足可为花椒提供充足的碳水化合物前体,能促进黄酮类成分的生物合成。山地褐土透气性好、保水保肥能力适中,利于根系吸收磷、钾等元素,磷是核酸与能量代谢的关键,钾能促进光合产物运输,两者共同支撑山椒素类成分的高效合成<sup>[17]</sup>。此外,花椒的采收期对花椒的品质同样存在影响,采收期不同,花椒中总黄酮、挥发性成分、麻味物质的含量相应随之改变<sup>[18]</sup>。目前,随着花椒需求量的增加,其品质问题也越来越突出,包括品种、原产地、生产过程、原料掺伪等<sup>[19]</sup>,花椒的质量评价体系的完善越发重要。本研究所辨识的花椒关键质量标志物经现代研究证明具有显著的药理活性,已有学者将羟基- $\alpha$ -山椒素、羟基- $\beta$ -山椒素等作为评价花椒药材质量的重要指标<sup>[20]</sup>,在部分省市的花椒配方颗粒质量标准中,已将金丝桃苷作为花椒的指标性成分。本研究阐明了不同产地花椒在整体化学组成与关键成分含量上的特征差异,建立的综合评价方法能够相对全面反映花椒的质量。指纹图谱能够直观呈现不同产地花椒的化学组成全貌,为花椒质量的宏观把控提供客观依据。多成分定量与化学模式识别的结合对花椒的产地鉴别、质量标准完善等方面具有一定参考价值。但本研究对花椒中的化学组成及相应活性成分的系统性研究仍较为有限,后续研究建议采用高效液相色谱-质谱或气相色谱-质谱联用等技术探明花椒中活性物质组成,进一步完善花椒药材的质量评价体系。

## 参考文献

- [1] 中国药典 2025 年版.一部[S]. 2025: 166-167.
- [2] 贺梦媛,张兵,徐桐,等.花椒化学成分、药理作用研究

- 进展及质量标志物预测分析[J]. 山东中医杂志, 2022, 41(12): 1351-1358.
- [3] 张蕾,王友峰,杨乐,等.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法和水蒸气蒸馏法提取的花椒精油成分分析及其抑菌活性、抗氧化活性的比较[J]. 中南药学, 2025, 23(8): 2187-2192.
- [4] 周杰,刘璐,邱盛敏,等.不同产地花椒精油的化学成分分析及花椒精油固体制剂的抗真菌作用考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(2): 153-160.
- [5] 曾凡琳,温美佳,王欢,等.道地药材气候生态位研究[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(5): 1227-1230.
- [6] 刘秀琼,陈鹏泽,何阳森,等.羟基- $\alpha$ -山椒素药理学作用及其作用机制研究进展[J]. 中国药业, 2025, 34(14): 122-127.
- [7] 叶倩女,石晓峰,杨军丽.花椒属植物中酰胺类成分的结构与功能研究进展[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(9): 2406-2418.
- [8] Zhu YP, Yang P, Ren TY, et al. Integrated metabolomics and transcriptomics reveal the potential of hydroxy- $\alpha$ -sanshool in alleviating insulin resistance [J]. Mol Med, 2025, 31(1): 76.
- [9] Chen ZJ, Wang H, Tan LL, et al. Protective effects of four structurally distinct sanshools ameliorate dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis by restoring intestinal barrier function and modulating the gut microbiota [J]. Antioxidants, 2024, 13(2) 153-171.
- [10] Zhou XY, Su YX, Wang H, et al. Hydroxy- $\alpha$ -sanshool has anti-inflammatory and antioxidant effects and affects the NF- $\kappa$ B/STAT3 pathway via TRPV1 in acne [J]. Food Funct, 2023, 14(22) 10525-10536
- [11] Tomita T, Kawano Y, Kassai M, et al. Hydroxy- $\beta$ -sanshool isolated from *Zanthoxylum piperitum* (Japanese pepper) shortens the period of the circadian clock [J]. Food Funct, 2022, 13(18): 9407-9418.
- [12] 梁惠芬,马恩耀,周劲松,等.不同产地花椒药材的质量评价[J]. 农业与技术, 2024, 44(21): 32-35.
- [13] 唐飞飞,丁昊玥,方丹纯,等.一测多评法同时测定花椒和竹叶花椒中 4 个黄酮成分[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(8): 1320-1330.
- [14] 王红,张红瑞,张毅,等.金丝桃苷的生物活性、液相色谱分析测试技术及应用研究进展[J]. 精细化工中间体, 2025, 55(3): 8-11, 19.
- [15] 邱金玲,刘朋,熊维政,等.金花葵中金丝桃苷的含量测定[J]. 中医学报, 2015, 30(12): 1793-1795.
- [16] 陈燕,詹羽姣,李晨阳,等.异槲皮苷的生物活性研究进展[J]. 中国现代中药, 2018, 20(12): 1579-1582, 1592.
- [17] 郑涛.花椒表型性状和有效成分的区域差异及气候驱动因子研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2022.
- [18] 姚嘉.采收期及贮藏条件对韩城大红袍花椒果皮品质的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2024.
- [19] 胡航伟,朱玲,陈拾昉,等.花椒产地溯源技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 110-116.
- [20] 王文君,刘继华,侯志华,等.河南花椒主产区花椒质量评价[J]. 河南林业科技, 2023, 43(3): 5-8.

(收稿日期: 2025-11-06; 修回日期: 2026-01-12)



# 基于标准汤剂的海风藤配方颗粒质量评价研究

顾芹英, 翟燕娟, 顾超, 张云天, 孟璐, 何雪霞, 李松, 张宇静\* (江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434)

**摘要:** **目的** 以标准汤剂为参照基础, 构建海风藤配方颗粒的质量标准评价体系。**方法** 本研究采用 UPLC 法对饮片、标准汤剂和配方颗粒中墙草碱的含量进行测定, 并计算转移率。针对标准汤剂和配方颗粒, 进一步建立了高效液相特征图谱分析方法及薄层色谱 (TLC) 鉴别方法。**结果** 测定 17 批海风藤标准汤剂, 墙草碱的含量为 0.51 ~ 0.93 mg/g, 转移率为 3.75% ~ 5.86%, 3 批海风藤配方颗粒墙草碱的含量分别为 0.56、0.46、0.53 mg/g, 转移率分别为 4.38%、5.10%、4.15%; 17 批标准汤剂特征图谱中呈现 12 个共有峰, 经鉴定确认萆薢宁、墙草碱 2 种成分, 特征图谱相似度均 > 0.90, 可聚为 4 类, 4 种主成分统计的累计方差贡献率达 93.8%, 3 批海风藤配方颗粒特征图谱呈现 12 个共有峰, 相似度分别为 0.966、0.959、0.970; 薄层色谱 (TLC) 信息丰富, 斑点清晰可辨, 分离良好。**结论** 本研究建立的方法稳定可行, 可用于全面评价海风藤配方颗粒的质量, 为海风藤配方颗粒的质量控制提供参考。

**关键词:** 海风藤; 标准汤剂; 配方颗粒; 墙草碱; 特征图谱; 薄层色谱

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-278-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.040

## Quality evaluation of Piperis Kadsurae Caulis formula granules based on standard decoction

GU Qinying, ZHAI Yanjuan, GU Chao, ZHANG Yuntian, MENG Lu, HE Xuexia, LI Song, ZHANG Yujing\* (Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangyin Jiangsu 214434)

**Abstract: Objective** To establish a quality standard for Piperis Kadsurae Caulis formula granules with the standard decoction as a reference. **Methods** The content of pellitorine in the decoction pieces, standard decoction and formula granules was determined by UPLC, and the transfer rate was calculated. HPLC chromatographic analysis and TLC identification methods were established for the standard decoction and formula granules. **Results** By measuring the mass fraction of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis, the content of pellitorine in the standard decoction was 0.51 ~ 0.93 mg/g, and the transfer rate was 3.75% ~ 5.86%, which in the three batches of formula granules was 0.56, 0.46, and 0.53 mg/g, and the transfer rates were 4.38%, 5.10%, and 4.15%. There were 12 common peaks in the chromatograms of 17 batches of standard decoction, and 2 components were identified as piperlonguminine and pellitorine. The similarity of chromatograms was greater than 0.90, being clustered into 4 categories. The cumulative variance contribution rate of the 4 principal components reached 93.8%. There were 12 common peaks in the HPLC characteristics chromatogram of the three batches of formula particles, and the similarity was 0.966, 0.959, and 0.970, respectively. TLC showed rich information, clearly discernible spots and satisfactory separation. **Conclusion** The established methods are stable and feasible, which can be used to evaluate the quality of Piperis Kadsurae Caulis formula granules, and provide reference for their quality control.

**Key words:** Piperis Kadsurae Caulis; standard decoction; formula granule; pellitorine; characteristic chromatogram; TLC

基金项目: 中药全产业链质量技术服务平台 (No.2022-230-221)。

作者简介: 顾芹英, 女, 硕士, 主要从事中药及中药配方颗粒研究, email: guqinying1014@tianjiang.com \*通信作者: 张宇静, 女, 硕士, 主要从事中药及中药配方颗粒研究, email: zhangyujing1013@tianjiang.com

海风藤为胡椒科植物风藤 *Piper kadsura* (Choisy) Ohwi 的干燥藤茎。夏、秋二季采割，除去根、叶，晒干<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明海风藤具有抗炎、镇痛、抗氧化、抗肿瘤等作用<sup>[2-5]</sup>。海风藤中主要的化学成分有木脂素、酰胺类生物碱、挥发油、黄酮类化合物及其他类化合物<sup>[2]</sup>。生物碱类化合物墙草碱不仅具有抑制巨噬细胞通过激活炎性体分泌白细胞介素 (IL)-1 $\beta$  的作用，而且具有抑制 T 细胞的增殖和 T 细胞分泌细胞因子的活性<sup>[6-7]</sup>；Oláh 等<sup>[8]</sup> 认为墙草碱可以抑制外源性引起的疼痛，是离子通道辣椒素受体 (TRPV1) 的拮抗剂，与镇痛作用相关，这与海风藤的传统功效较为一致。

标准汤剂是中药饮片按照现代标准工艺制备的中药饮片水煎剂，既可以作为衡量中药配方颗粒工艺制定及质量控制是否合理的依据，又可以通过其合格率反推饮片质量；标准汤剂可以体现从整体上控制中药配方颗粒的思路，符合中药古代唯物论及辩证法思想<sup>[9]</sup>。

近年来海风藤的研究多局限于药材，且多集中在药理及化学成分研究<sup>[11-12]</sup>，对标准汤剂及配方颗粒的研究较少。本研究选取市售的 5 个主要产区共 17 批海风藤饮片，依据标准汤剂制备规范，制备标准汤剂冻干粉，测定其出膏率。同时选取含量较高的生物碱成分墙草碱作为指标成分，探究其在标准汤剂中的转移率情况。此外，本研究成功构建了标准汤剂及配方颗粒的特征图谱分析方法及薄层色谱法 (TLC) 检测方法，旨在为海风藤配方颗粒的质量把控和标准的制定提供准确可靠的依据。

## 1 仪器与试药

Waters-ACQUIYT-UPLC-H-Class 超高效液相色谱系统、Waters-Quaternary-Solvent-Manager-四元泵、Sample-manager-FTN 自动进样器、Waters-UPLC-PDA 检测器、Empower-3 色谱工作站 (沃特世科技公司)；ThermoVanquish 超高效液相色谱仪、变色龙 7.2 工作站 (赛默飞世尔科技公司)；安捷伦 6530 系列超高压液相色谱-四极杆-飞行时间质谱联用仪、MassHunterWorkstation Data Acquisition 采集工作站、MassHunterQualitative Analysis B.07.00 分析工作站 (美国安捷伦公司)；PL-J100 超声清洗机 (康士洁超声波有限公司)；METTLER TOLEDO XP6 百万分之一天平、ME204E/02 万分之一电子分析天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]；GKC114 控温水浴锅 (华泰实验仪器有限公司)；HY-4 多用振荡器 (金坛科兴仪器厂)。

海风藤对照药材 (批号：121635-202104，中国食品药品检定研究院)。对照品墙草碱 (批号：17094，含量：98%)、萆薢宁 (批号：Y03S11W123356，含

量：99.4%) (上海源叶生物有限公司)。液相用甲醇、乙腈为色谱纯 (Thermo Fisher 公司)；其他试剂均为分析纯。

17 批海风藤药材分别来源于 5 个不同产地 (见表 1)，并经江阴天江药业有限公司检测中心检定合格。参照 2020 年版《中国药典》海风藤药材炮制方法制成饮片。

表 1 17 批海风藤样品的信息

| Tab1 Information of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis |       |        |       |
|-----------------------------------------------------------|-------|--------|-------|
| 药材批号                                                      | 产地    | 标准汤剂批号 | 颗粒批号  |
| YC01                                                      | 湖北来凤县 | BT01   |       |
| YC02                                                      | 四川平昌县 | BT02   |       |
| YC03                                                      | 四川平昌县 | BT03   |       |
| YC04                                                      | 四川平昌县 | BT04   |       |
| YC05                                                      | 湖北鹤峰县 | BT05   |       |
| YC06                                                      | 湖北鹤峰县 | BT06   |       |
| YC07                                                      | 湖北鹤峰县 | BT07   |       |
| YC08                                                      | 四川三里坪 | BT08   |       |
| YC09                                                      | 四川三里坪 | BT09   |       |
| YC10                                                      | 云南文山市 | BT10   |       |
| YC11                                                      | 云南文山市 | BT11   |       |
| YC12                                                      | 云南文山市 | BT12   |       |
| YC13                                                      | 四川三里坪 | BT13   |       |
| YC14                                                      | 四川三里坪 | BT14   |       |
| YC15                                                      | 湖北来凤县 | BT15   | HKL01 |
| YC16                                                      | 湖北来凤县 | BT16   | HKL02 |
| YC17                                                      | 湖北来凤县 | BT17   | HKL03 |

## 2 方法与结果

### 2.1 海风藤标准汤剂及配方颗粒的制备

依据相关文献及《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》的相关规范与流程<sup>[13-14]</sup>，开展海风藤标准汤剂的制备，并按照配方颗粒制备工艺，制备海风藤配方颗粒。

**2.1.1 海风藤标准汤剂的制备方法** 分两次煎煮，一煎：取海风藤饮片 150 g，置砂锅中，加入水 (饮片：水为 1 : 10 g/mL) 浸泡 30 min 后，先武火煮沸，再转文火煎煮 30 min，350 目标准筛趁热过滤；二煎：加水 (饮片：水为 1 : 7 g/mL)，武火煮沸后，文火煎煮 25 min，350 目过滤。合并两次滤液，在 (65±5)℃ 条件下进行减压浓缩成浸膏，冷冻干燥 (-40℃，预冻时间 3~5 h，干燥 48 h)，即得海风藤标准汤剂。

**2.1.2 海风藤配方颗粒的制备方法** 取海风藤饮片 6500 g，加水煎煮 (第一次 15~18 倍水，第二次 10~8 倍水)，滤过，合并两次滤液，浓缩成浸膏 (干浸膏出膏率为 7%~13%)，加辅料 (麦芽糊精) 适量，喷雾干燥 (或干燥，粉碎)，再加入辅料 (二氧化硅和硬脂酸镁) 适量，混匀，干法制粒得 1000 g 颗粒。

### 2.2 墙草碱的含量测定

**2.2.1 色谱条件** 以 BEH Shield RP18 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 为色谱柱, 甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (58:42) 为流动相, 检测波长 261 nm, 流速 0.30 mL/min, 柱温 30 ℃, 进样量 1 μL, 按墙草碱峰计算理论板数, 应不低于 5000。

**2.2.2 墙草碱对照品溶液的配制** 精密称取墙草碱对照品适量, 置 25 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇溶解并定容, 制得 60 μg/mL 墙草碱对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 精密称定样品 (海风藤饮片粉末约 0.5 g 或研细后的标准汤剂/配方颗粒约 0.3 g), 置于锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 15 mL, 称量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 45 min, 取出, 放冷, 称量, 用 70% 甲醇补量, 滤过, 收集续滤液, 即得。

**2.2.4 精密度试验** 取同一样品 (批号: BT01) 的海风藤标准汤剂供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 测得墙草碱峰面积的 RSD 值为 0.24%, 12 个特征峰的相对保留时间及相对峰面积的 RSD 均小于 3%, 说明仪器精密符合要求。

**2.2.5 重复性试验** 取同一批 (批号: BT01) 海风藤标准汤剂, 平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 对 6 份样品进行测定, 结果墙草碱的平均含量为 0.53 mg/g, 其 RSD 值为 1.5%, 12 个特征峰的相对保留时间及相对峰面积 RSD 均小于 3%, 表明方法重复性良好。

**2.2.6 稳定性试验** 取同一批 (批号: BT01) 海风藤标准汤剂供试品溶液, 分别于 0、4、10、12、20、24 h, 按“2.2.1”项下色谱条件, 进样分析, 测得墙草碱峰面积的 RSD 值为 1.1%, 12 个特征峰的相对保留时间及相对峰面积 RSD 均小于 3%, 说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.7 线性试验** 精密吸取对照品溶液, 配制一系列浓度梯度的对照品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录墙草碱色谱峰面积, 以对照品质量浓度 (X) 对峰面积 (Y) 绘制标准曲线, 求得回归方程  $Y = 2.068 \times 10^7 X - 8.258 \times 10^4$  ( $R^2 = 0.9992$ ), 结果表明, 墙草碱对照品质量浓度在 0.0121~0.1697 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

**2.2.8 准确度试验** 取已知含量的样品 (批号: BT01, 墙草碱含量: 0.53 mg/g) 0.15 g 粉末 9 份, 精密称定, 分别按照样品中待测成分的量与对照品 1:0.5、1:1、1:1.5 的量加入对照品, 按“2.2.3”项下方法制备, 各重复 3 份, 进样测定样品, 记录墙草碱的峰面积, 计算回收率。结果显示, 供试品溶液中墙草碱低、中、高水平的平均加样回收率分别为 100.4%、101.9%、99.60%, RSD 分别为 1.9%、0.62%、0.37%, 表示该方法准确度较好。

**2.2.9 专属性试验** 按“2.2.1”项下色谱条件, 精密吸取“2.2.2”项下墙草碱对照品溶液、“2.2.3”项下供试品溶液及空白溶剂 (70% 甲醇) 各 1 μL, 依次进样分析, 如图 1 所示, 墙草碱与邻近色谱峰实现基线分离, 且阴性样品未见其他色谱峰干扰。结果表明该方法专属性较好。

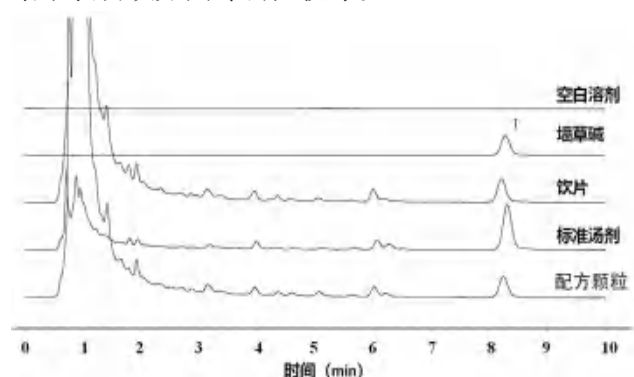


图 1 海风藤配方颗粒、饮片及标准汤剂中墙草碱色谱图

Fig 1 Chromatogram for pellitorine quantification in processed Piperis Kadsurae Caulis, standard decoctions, and formula granules  
1. 墙草碱 (pellitorine)

## 2.3 指标成分墙草碱的测定及结果分析

对 17 批海风藤饮片、17 批标准汤剂与 3 批配方颗粒中的墙草碱含量和转移率进行测定, 按“2.2.1”项下色谱条件, 进样分析, 计算含量及转移率。转移率计算公式为: 标准汤剂转移率 (%) = 标准汤剂冻干粉墙草碱含量 × 标准汤剂出膏率量 / 饮片墙草碱含量。结果见表 2。

依据本公司以往生产经验, 并参考《征求意见稿》中关于配方颗粒生产时辅料用量与中间体比例不得超过 1:1 的技术要求, 同时结合标准汤剂的出膏率数据及实际生产情况, 确定海风藤配方颗粒的大生产制成品量为 13.3%。根据标准汤剂中的墙草碱含量及出膏率, 以 13.3% 的制成品量折算, 确定标准汤剂多批次对应配方颗粒的含量, 折算公式为: 配方颗粒中墙草碱含量 (%) = (标准汤剂中墙草碱含量 × 出膏率 / 制成品量) × 100%, 结果见表 2。

结果显示, 海风藤配方颗粒中墙草碱折算含量分布于 0.33~0.76 mg/g, 平均值为 0.50 mg/g, 均值 ±30% 为 0.35~0.65 mg/g。最终确定海风藤配方颗粒墙草碱的含量为 0.33~0.76 mg/g, 在平均值 ±3SD 范围之内 (0.13~0.88 mg/g); 17 批标准汤剂中墙草碱转移率范围为 3.75%~5.86%, 均值 4.70%, 均值 ±30% 范围为 3.29%~6.11%, 修约调整后, 最终确定海风藤配方颗粒中墙草碱转移率范围为 3.2%~6.2%。

对 3 批配方颗粒样品进行验证, 墙草碱实测含量为 0.56、0.46、0.53 mg/g, 对应转移率分别为 4.38%、5.10%、4.15%, 结果均在上述规定的相关



表 2 海风藤标准汤剂中墙草碱含量及转移率结果

Tab 2 Content of pellitorine and its transfer rate in Piperis

| Kadsurae Caulis standard decoction |                        |                 |             |             |                     |
|------------------------------------|------------------------|-----------------|-------------|-------------|---------------------|
| 标准汤剂<br>编号                         | 标准汤剂墙草碱<br>含量 / (mg/g) | 饮片墙草碱<br>含量 / % | 出膏<br>率 / % | 转移<br>率 / % | 配方颗粒含<br>量 / (mg/g) |
| BT01                               | 0.53                   | 0.11            | 9.01        | 4.30        | 0.36                |
| BT02                               | 0.51                   | 0.12            | 11.91       | 4.87        | 0.45                |
| BT03                               | 0.62                   | 0.16            | 12.36       | 4.77        | 0.58                |
| BT04                               | 0.65                   | 0.16            | 12.66       | 5.02        | 0.62                |
| BT05                               | 0.74                   | 0.14            | 10.29       | 5.61        | 0.58                |
| BT06                               | 0.93                   | 0.17            | 10.86       | 5.86        | 0.76                |
| BT07                               | 0.91                   | 0.19            | 10.65       | 5.20        | 0.73                |
| BT08                               | 0.68                   | 0.14            | 10.52       | 5.06        | 0.54                |
| BT09                               | 0.60                   | 0.17            | 11.03       | 3.85        | 0.50                |
| BT10                               | 0.53                   | 0.12            | 8.28        | 3.75        | 0.33                |
| BT11                               | 0.63                   | 0.12            | 8.25        | 4.45        | 0.39                |
| BT12                               | 0.69                   | 0.13            | 7.94        | 4.31        | 0.41                |
| BT13                               | 0.60                   | 0.10            | 7.65        | 4.41        | 0.34                |
| BT14                               | 0.82                   | 0.11            | 7.54        | 5.64        | 0.47                |
| BT15                               | 0.75                   | 0.17            | 9.51        | 4.25        | 0.54                |
| BT16                               | 0.58                   | 0.12            | 9.86        | 4.60        | 0.43                |
| BT17                               | 0.66                   | 0.17            | 9.96        | 3.91        | 0.50                |

范围内。此外，3 批海风藤配方颗粒的出膏率、墙草碱含量及转移率与对应批次的标准汤剂冻干粉高度吻合，表明所采用的制备工艺参数及设定的质量范围合理可靠。

## 2.4 特征图谱的测定及结果分析

**2.4.1 色谱条件** 以 ZORBAX SB C18 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱，以乙腈 (A) -0.2% 磷酸水溶液 (B) 的混合溶液为流动相，梯度洗脱程序为 (0 ~ 20 min, 40% → 41%A; 20 ~ 23 min, 41% → 50%A; 23 ~ 30 min, 50% → 53%A; 30 ~ 40 min, 53% → 65%A)，检测波长 240 nm，柱温 30 ℃，流速 1.0 mL/min，进样量为 5 μL，按墙草碱峰计算理论板数，应不低于 5000。

**2.4.2 茛菪宁对照品溶液的制备** 取茛菪宁对照品，置于 25 mL 量瓶中，用 70% 甲醇溶解，制成每 1 mL 含 5 μg 的溶液，即得。

**2.4.3 特征峰的指认** 参照“2.4.1”项下色谱条件，利用对照品进行指认，确认峰 5 为茛菪宁，峰 12 为墙草碱，结果见图 2。利用高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF/MS) 对其他峰进行指认 (见表 3)。

**2.4.4 特征图谱的建立** 依据“2.1”项下方法，制备 17 批海风藤标准汤剂，并同步制备 3 批海风藤配方颗粒。按“2.2.3”项下方法制备各批次供试液，并参照“2.4.1”项下色谱条件进行色谱分析。用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)”对所得色谱峰进行分析，将各色谱峰匹配 (Mark 峰) 后，构建对照特征图谱 (结果见图 3 ~ 4)，结果显示，17 批海风藤标准汤剂共包

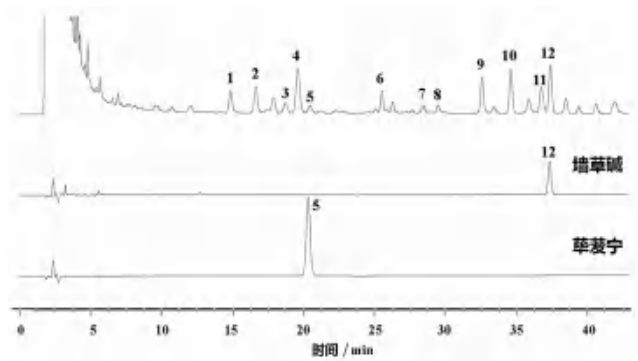


图 2 海风藤对照品指认色谱图

Fig 2 Reference standard of Piperis Kadsurae Caulis

含 12 个共有特征峰。根据色谱峰响应值，最终选取以峰 5 (茛菪宁) 作为参照峰 S1，计算峰 1 ~ 4 与 S1 峰的相对保留时间，选取峰 12 (墙草碱) 作为参照峰 S2，计算峰 6 ~ 11 与 S2 峰的相对保留时间，相对保留规定值 (允许范围 ±10%)，分别为: 0.72 (峰 1)、0.82 (峰 2)、0.92 (峰 3)、0.96 (峰 4)、0.68 (峰 6)、0.76 (峰 7)、0.79 (峰 8)、0.93 (峰 9)、0.96 (峰 10)、0.98 (峰 11)。

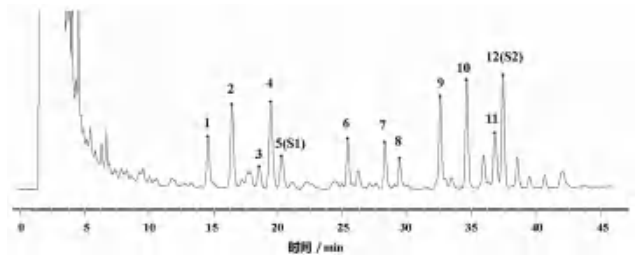


图 3 海风藤标准汤剂对照图谱

Fig 3 Reference fingerprints of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction

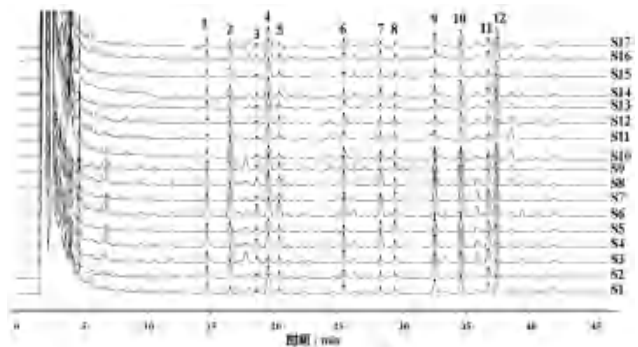


图 4 17 批海风藤标准汤剂特征图谱

Fig 4 Characteristic chromatograms of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction

**2.4.5 相似度结果评价** 测定 17 批海风藤标准汤剂的相对峰面积及相对保留时间，经计算，各批次海风藤标准汤剂与对照图谱的相似度均 > 0.9 (见表 4)，相似度较高，这表明 17 批海风藤标准汤剂的化学成分构成较为相近。对 3 批海风藤配方颗粒进行分析，相似度分别为 0.966、0.959、0.970，进一步证实了配方颗粒与标准汤剂之间的一致性较好。

表 3 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术分析海风藤标准汤剂中化学成分  
Tab 3 Chemical constituents in the standard decoction of Piperis Kadsurae Caulis by UPLC-Q-TOF/MS

| 峰号 | 化合物名称      | 分子式                | 正离子模式 ( $m/z$ )      |
|----|------------|--------------------|----------------------|
| 1  | 海风藤酮       | $C_{21}H_{24}O_5$  | $357.1703[M + H]^+$  |
| 2  | 细叶青藤素      | $C_{18}H_{18}O_8$  | $385.0900[M + Na]^+$ |
| 3  | (-)-白玉兰亭 B | $C_{21}H_{24}O_5$  | $357.1704[M + H]^+$  |
| 4  | 二氢荜茇明宁碱    | $C_{16}H_{21}NO_3$ | $276.1604[M + H]^+$  |
| 5  | 荜茇宁        | $C_{16}H_{19}NO_3$ | $274.1451[M + H]^+$  |
| 6  | 风藤酮        | $C_{20}H_{20}O_5$  | $341.1378[M + H]^+$  |
| 7  | 山蒯素        | $C_{20}H_{20}O_5$  | $341.1393[M + H]^+$  |
| 8  | 细叶青藤酰胺     | $C_{18}H_{23}NO_3$ | $302.1721[M + H]^+$  |
| 9  | futoquino  | $C_{21}H_{24}O_5$  | $357.1701[M + H]^+$  |
| 10 | 盖尔格拉文      | $C_{22}H_{28}O_5$  | $373.1986[M + H]^+$  |
| 11 | 细叶青藤醌醇     | $C_{21}H_{22}O_5$  | $357.1701[M + H]^+$  |
| 12 | 墙草碱        | $C_{14}H_{25}NO$   | $224.2002[M + H]^+$  |

表 4 17 批海风藤标准汤剂相似度  
Tab 4 Similarity of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction

| 批号   | 相似度   | 批号   | 相似度   |
|------|-------|------|-------|
| BT01 | 0.946 | BT10 | 0.939 |
| BT02 | 0.967 | BT11 | 0.932 |
| BT03 | 0.915 | BT12 | 0.913 |
| BT04 | 0.965 | BT13 | 0.982 |
| BT05 | 0.958 | BT14 | 0.982 |
| BT06 | 0.956 | BT15 | 0.976 |
| BT07 | 0.948 | BT16 | 0.956 |
| BT08 | 0.966 | BT17 | 0.978 |
| BT09 | 0.945 |      |       |

2.4.6 聚类分析 采用 MetaboAnalyst 6.0 软件, 以 17 批海风藤标准汤剂的共有峰的峰面积为变量进行聚类分析 (见图 5)。结果显示, 在欧氏距离小于 5 时, 可聚为 4 类: 第 1 类 仅含 BT06; 第 2 类 包括 BT04、BT08、BT02、BT03; 第 3 类 包括 BT09、BT13、BT14、BT10、BT11; 第 4 类 涵盖 BT05、BT16、BT15、BT17、BT12、BT07、BT01。该结果提示, 共有峰的峰面积大小与样品产地分布关联性较弱。考虑到特征峰峰面积可在一定程度上表征标准汤剂中对应特征成分的含量高低, 上述结果也间接表明, 海风藤标准汤剂所含化学成分的种类与含量高低, 与其产地来源的关联性亦不显著。

2.4.7 主成分分析 基于 12 个共有峰的峰面积数据, 采用 MetaboAnalyst 6.0 软件, 进行主成分分析 (见图 6)。由此可知, 17 批海风藤标准汤剂分为 4 组, 其贡献率分别为: 主成分 1 (PC1) 为 64.7%, 主成分 2 (PC2) 为 16.1%, 主成分 3 (PC3) 为 9.68%, 主成分 4 (PC4) 为 3.3%, 累计贡献率达 93.8%。其中峰 1、2、7、11 对 PC1 的影响力较大; 峰 2 对 PC2 的影响力较大; 峰 9 是影

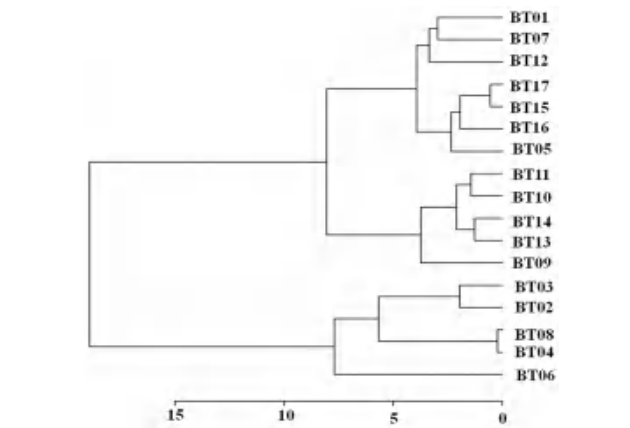


图 5 17 批海风藤标准汤剂系统聚类分析  
Fig 5 Systematic cluster analysis of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction

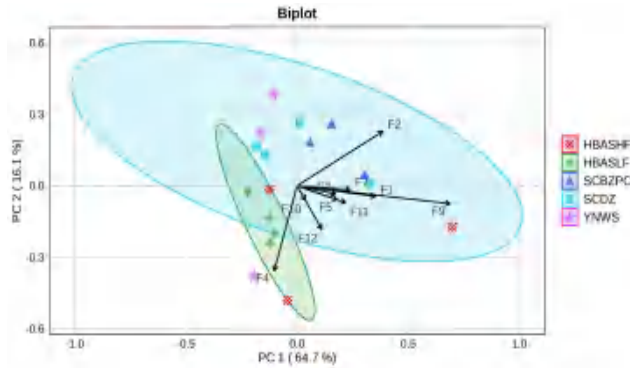


图 6 17 批海风藤标准汤剂主成分分析  
Fig 6 Principal component analysis of 17 batches of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction

响 PC3 的主要峰; 峰 6 和峰 11 则对 PC3 贡献较大。由图 6 可知, 17 批标准汤剂在主成分分析得分图上分布较为分散, 未观察到显著的地域聚集现象, 与前述聚类分析结果相似。

2.5 TLC 鉴别

取研细后的海风藤标准汤剂冻干粉或配方颗粒约 0.2 g, 加水 20 mL 溶解后, 用 20 mL 乙酸乙酯振摇提取, 重复两次, 合并两次提取得到的乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣用甲醇 1 mL 溶解, 得供试液。另取海风藤对照药材约 1 g, 加水 25 mL, 煮沸 30 min, 冷却后过滤, 所得滤液浓缩至约 20 mL, 依据上述供试液的制备方法, 制备对照药材溶液。参照《中国药典》2020 年版通则 0502 薄层色谱法, 分别吸取供试品溶液 5  $\mu$ L、对照药材溶液 10  $\mu$ L, 点于同一硅胶薄层板 (G 板), 以二氯甲烷-丙酮-甲醇 (9:1:0.5) 为展开剂, 展开后, 室温下晾干, 在 365 nm 波长紫外光灯下观察色谱斑点。由图 7 可知, 17 批海风藤标准汤剂供试品色谱中, 在紫外灯光下, 与海风藤对照药材色谱相应的位置上, 均呈现相同颜色的荧光主斑点。对 3 批海风藤配方颗粒进行

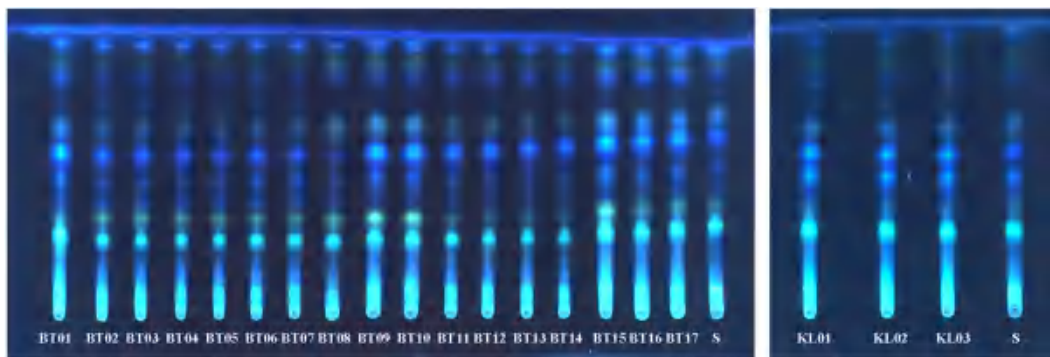


图 7 海风藤标准汤剂 (BT01 ~ BT17)、颗粒 (KL01 ~ KL03)、海风藤对照药材 (S) 的 TLC 图

Fig 7 TLC of Piperis Kadsurae Caulis standard decoction (BT01 ~ BT17), Piperis Kadsurae Caulis formula granules (KL01 ~ KL03) and Piperis Kadsurae reference material (S)

TLC 分析, 结果显示, 配方颗粒的斑点色谱信息与标准汤剂基本一致, 这证明了该方法能够对失去饮片形态特征的海风藤配方颗粒和标准汤剂实现有效的定性鉴别。

### 3 讨论

本研究在 2020 年版《中国药典》饮片标准基础上, 增加了含量测定研究。在供试品制备方法考察过程中, 考察不同提取溶剂 (水、30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇、乙醇), 提取方式 (加热回流、振摇提取、超声处理), 提取体积 (15、25、50 mL), 提取时间 (15、30、45、60 min) 对提取效率的影响, 为了节约时间和溶剂, 且考虑到操作便利性, 最终确定供试品制备的方法为: 使用 70% 甲醇 15 mL, 超声处理 45 min。

同时, 建立 HPLC 特征图谱方法, 分别进行相似度分析、聚类分析、主成分分析, 为海风藤配方颗粒产地的明确提供参考。并对 TLC 部分进行修订, 将有毒的展开剂三氯甲烷-丙酮-甲醇 (7 : 1 : 0.5) 替换为无毒的展开剂二氯甲烷-丙酮-甲醇 (9 : 1 : 0.5), 并将供试液的制备由需硅胶柱洗脱纯化修订为简单的直接萃取, 所建立的方法可用于海风藤配方颗粒的质量监控。

本研究亦存在一定局限性。第一, 在含量测定方面仅选择单一生物碱类成分墙草碱为含量指标, 难以全面反映药材的整体质量; 在复杂制备流程中可能无法同步反映其他关键成分的变化。第二, 未对指纹图谱极性大的成分进行控制。

综上所述, 本研究围绕海风藤标准汤剂的质量评价, 对出膏率、指标成分含量及转移率进行测定, 对 HPLC 特征图谱的建立以及 TLC 鉴别方法进行考察, 成功建立了海风藤标准汤剂的质量控制标准, 同时验证了海风藤配方颗粒与标准汤剂的一致性。本研究所建立的方法可较为全面地

反映海风藤的质量, 为后续海风藤的相关质量控制及临床的合理应用奠定必要的基础。

### 参考文献

- [1] 中国药典 2020 年版. 一部 [S]. 2020: 306.
- [2] 宋敬丽, 袁林, 刘艳菊, 等. 海风藤化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9 (3): 70-72.
- [3] 李彬, 王琼芬, 刘祖望, 等. 基于 UHPLC 指纹图谱和多成分定量的海风藤、浙海风藤基源与质量分析 [J]. 中国现代应用药学, 2024, 41 (19): 2672-2678.
- [4] 袁林. 海风藤抗炎活性成分研究 [D]. 武汉: 湖北中医学院, 2008.
- [5] 林少丹, 陈丽萍, 潘永晨, 等. 海风藤化学成分及其抗菌活性和抗冠状病毒活性研究 [J]. 中草药, 2024, 55 (15): 5024-5032.
- [6] 李民远, 林鍾淳, 徐成俊, 等. 以墙草碱作为有效成份含有的接触性皮炎改善用组合物 [P]. 韩国: CN104434889B, 2019-06-21.
- [7] 肖萌, 刘宗洋, 吴霞, 等. HPLC 同时测定葶苈草中 6 种主要成分的含量 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45 (9): 2138-2143.
- [8] Oláh Z, Rédei D, Pecze L, et al. Pellitorine, an extract of *Tetradium daniellii*, is an antagonist of the ion channel TRPV1 [J]. Phytomedsicine, 2017, 34 (15): 44-49.
- [9] 张清波, 笔雪艳, 曲范娜. 中药配方颗粒质量控制概况与思考 [J]. 中国食品药品监管, 2022 (3): 42-46.
- [10] 陈涛, 徐浩, 施杞, 等. 海风藤治疗类风湿关节炎的网络药理学研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31 (2): 192-198.
- [11] 吕双双, 马志欢, 张洪, 等. 海风藤总黄酮提取工艺及抗氧化活性研究 [J]. 化工设计通讯, 2024, 50 (12): 159-161.
- [12] 徐瑞雯, 范雨欣, 朱莹, 等. 海风藤化学成分及神经保护活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54 (24): 7959-7966.
- [13] 叶娇燕. 免煎中药配方颗粒在临床应用中的优势与问题 [J]. 中医药管理杂志, 2023, 31 (12): 88-90.
- [14] 周蔚昕, 刘涛, 徐玉玲, 等. 对《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》(征求意见稿) 部分内容的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28 (10): 2491-2493.

(收稿日期: 2025-06-09; 修回日期: 2025-08-06)



## 中药与临床

## 半夏与乌头类临床配伍应用情况及安全性分析

王敏慧<sup>1, 2</sup>, 吴丽丽<sup>3</sup>, 梁胜男<sup>4</sup>, 祁志荣<sup>5</sup>, 柳芳<sup>1\*</sup> (1. 中日友好医院药学部, 北京 100029; 2. 濮阳市中医医院, 河南 濮阳 457000; 3. 贵港市人民医院, 广西 贵港 537100; 4. 百色市中医医院, 广西 百色 533000; 5. 中日友好医院中西医结合肿瘤内科, 北京 100029)

**摘要:** **目的** 调查半夏与乌头类配伍的临床应用情况, 评价配伍应用安全性。**方法** 回顾性分析我院 2020 年 1 月 1 日至 2023 年 1 月 1 日使用半夏与乌头类的临床数据, 收集处方信息, 包括患者性别、年龄、使用炮制品、每剂用量、使用总时长以及安全性信息。同时分析药智数据库收录的半夏与乌头类配伍的中药方剂及中成药, 结合现代关于半夏与乌头类配伍的化学成分、药理毒理研究进行分析。**结果** 有 595 例患者共 2228 张处方存在半夏和乌头类药味配伍内服使用, 半夏炮制品包括清半夏、法半夏及姜半夏, 使用剂量 9 g 及以下占 60.7%, 乌头类饮片主要为黑顺片, 黑顺片的使用剂量 15 g 及以下占 70.6%。患者连续服用时间最长为 805 d。回顾性查看 595 例患者开始使用该配伍前一个月至用药结束后一个月的检验指标, 发现 516 例患者无检验指标, 20 例患者用药后的血常规、肝肾功能、心肌酶等指标未见异常。从药智数据库收集的中药方剂和中成药来看, 含半夏与乌头类配伍的中药方剂主要为内服方, 中成药主要为外用制剂。而两药配伍毒性成分含量与炮制品选择、用量、配伍比例, 是否与甘草、干姜等配伍, 煎煮液的 pH 值以及煎煮时间有关。**结论** 临床常见半夏与乌头类配伍应用, 不良相互作用报道较少。两药配伍应用时应注意炮制品选择、用量和配伍比例, 以及与其他药味的配伍和煎煮时间, 需注意加强应用监测。

**关键词:** 十八反; 半夏; 乌头类; 临床应用; 配伍; 安全性研究

中图分类号: R289, R994.3 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2026)05-284-06  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.041

Application and safety of *Pinellia ternata* and *Aconitum* compatibility

WANG Minhui<sup>1, 2</sup>, WU Lili<sup>3</sup>, LIANG Shengnan<sup>4</sup>, QI Zhirong<sup>5</sup>, LIU Fang<sup>1\*</sup> (1. Department of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029; 2. Chinese Medicine Hospital of Puyang, Puyang Henan 457000; 3. Guigang People's Hospital, Guigang Guangxi 537100; 4. Chinese Medicine Hospital of Baise, Baise Guangxi 533000; 5. Department of Integrative Chinese and Western Medicine for Oncology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029)

**Abstract: Objective** To determine the clinical application of compatibility of *Pinellia ternata* and *Aconitum* and evaluate their safety. **Methods** A retrospective analysis was conducted on the clinical data on *Pinelliae Rhizoma* and *Aconitum* in a hospital from January 1st, 2020 to January 1st, 2023. Prescription information was collected, including patients' gender, age, processed products used, dosage per dose, total duration of use, and safety-related information. Meanwhile, traditional Chinese medicine prescriptions and proprietary Chinese medicines containing the compatibility of *Pinelliae Rhizoma* and *Aconitum* in Yaozhi Database were analyzed. We analyzed modern research on the chemical constituents, pharmacological and toxicological studies regarding the compatibility of *Pinelliae Rhizoma* and *Aconitum*. **Results** Totally 2228 prescriptions involving 595 patients who received combined use of *Pinellia ternata* and *Aconitum* were included in this

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (No.81603383); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (No.ZYYCXTD-C-202005)。

**作者简介:** 王敏慧, 女, 主管药师, 主要从事中药临床药学方面的研究, email: 401233106@qq.com \***通信作者:** 柳芳, 女, 副主任药师, 主要从事中药临床药学方面的研究, email: tcm\_pharmacy@126.com

study. The processed products of *Pinellia ternata* being used mainly included *Pinelliae Rhizoma Praeparatum Cum Alumine*, *Pinelliae Rhizoma Praeparatum*, and *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine*, with the dosage mostly less than 9 g, accounting for 60.7% of the total prescriptions. For *Aconitum* decoction pieces, *Heishunpian* (processed *Aconitum carmichaelii*) was the primary form, with the dosage mostly less than 15 g, accounting for 70.6%. The maximum continuous administration in patients lasted 805 days. We retrospectively reviewed the test indicators in 595 patients one month before the start of using this compatibility to one month after the end of medication: 516 patients failed to show the test indicators, and 20 patients had no abnormalities in blood routine, liver and kidney function, myocardial enzymes, and other indicators after the medication. Regarding the traditional Chinese medicine prescriptions and Chinese patent medicines containing *Pinellia ternata* and *Aconitum* from the Yaozhi Database, the traditional Chinese medicine prescriptions were predominantly formulations for internal use, while the Chinese patent medicines were mainly for external use. The content of toxic components in the compatibility of these two herbs was associated with factors such as the selection of processed products, dosage, compatibility ratio, and the concurrent use of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Zingiber officinale* Rosc., etc., the pH value of the decoction, and decoction duration. **Conclusion** Clinically, the compatibility of *Pinelliae Rhizoma* and *Aconitum* species is commonly but with few reports on adverse interactions. When these two herbs are used in combination, attention should be paid to the selection of processed products, dosage, compatibility ratio, as well as combination with other medicinal flavors and decoction time.

**Key words:** eighteen incompatibilities; *Pinellia ternata*; *Aconitum*; clinical application; compatibility; safety study

半夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 辛、温, 有毒, 归脾、胃、肺经, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结的功效, 用于湿痰寒痰、咳喘痰多、痰饮眩悸、风痰眩晕、痰厥头痛、呕吐反胃、胸脘痞闷、梅核气, 外治痈肿痰核。内服一般炮制后使用, 用量 3 ~ 9 g。外用适量, 磨汁涂或研末以酒调敷患处。《中国药典》历代版本均在“注意”项下标注“不宜与川乌、制川乌、草乌、制草乌、附子同用”, 属于中药配伍禁忌“十八反”范畴。因此, 在临床实践过程中不推荐将半夏与乌头类饮片配伍使用, 临床应用时需医师双签字后才可调配。但据统计, 古代方书《普济方》及现代方书《全国中药成药处方集》含十八反的方有 411 方, 同时含有半夏与乌头类的方子占 69.83%, 远高于其他十八反药对<sup>[1]</sup>。在临床实践时两药配伍应用也取得了良好的临床疗效, 如祝瑞德<sup>[2]</sup>用乌头配伍半夏治疗风寒湿痹证获得满意疗效, 邓雅沛等<sup>[3]</sup>采用乌头配伍半夏温阳散结止痛, 未见明显不良反应。为了进一步研究半夏与乌头类临床配伍应用情况, 本研究回顾性分析了该院半夏与乌头类配伍应用数据, 现报道如下。

## 1 数据来源与方法

### 1.1 数据来源

数据来源于 2020 年 1 月 1 日至 2023 年 1 月 1

日中日友好医院含半夏与乌头类中药同方配伍的处方 (伦理批号 2019BZHYLL0301)。其中, 住院处方 101 张, 门诊处方 2127 张。同时查阅药智数据库收录的“半夏与乌头类”配伍的中药方剂及中成药。

### 1.2 方法

回顾性整理上述含半夏与乌头类配伍的 2228 张处方, 收集处方患者信息, 包括性别、年龄、使用炮制品、每剂用量、使用总时长以及安全性信息, 如用药前后检验指标对比是否有异常和病历中是否有相关不良反应记载, 无相关信息者按照缺失值分析。

## 2 结果

### 2.1 年龄及性别情况

2228 张处方涉及 595 例患者, 最少就诊 1 次, 最多就诊 67 次。其中男性 250 例, 女性 345 例, 年龄最小为 17 岁, 最大为 96 岁, 具体分布见表 1。

表 1 患者年龄及性别情况  
Tab 1 Age and gender of patients

| 年龄 / 岁  | 男   |     | 女   |     |
|---------|-----|-----|-----|-----|
|         | 例数  | 处方数 | 例数  | 处方数 |
| ≤ 20    | 1   | 2   | 0   | 0   |
| 21 ~ 60 | 107 | 413 | 166 | 603 |
| 61 ~ 80 | 111 | 406 | 146 | 534 |
| ≥ 81    | 31  | 61  | 33  | 209 |

### 2.2 半夏与乌头类炮制品、每剂用量、用药时长分析

半夏包括了清半夏、法半夏和姜半夏，乌头类包括了黑顺片、白附片、制川乌和制草乌。其中以清半夏、法半夏与黑顺片配伍多见。半夏和乌头类每剂用量在 2 ~ 60 g，配伍使用的总时长

最短为 3 d，最长 805 d，具体见表 2。处方大多为门诊处方，同一患者不同就诊次数使用半夏与乌头类饮片的种类、剂量会根据病情有所调整。

表 2 半夏与乌头类饮片配伍用量及使用时长分析  
Tab 2 Compatibility dosage and days of Pinellia ternata and Aconitum

| 项目              | 半夏用量范围 /g | 乌头类用量范围 /g              | 处方数  | 使用总时长 /d |
|-----------------|-----------|-------------------------|------|----------|
| 清半夏与黑顺片         | 5 ~ 9     | 2 ~ 18                  | 433  | 3 ~ 783  |
|                 | 10 ~ 20   | 3 ~ 30                  | 169  | 7 ~ 238  |
|                 | 30        | 6 ~ 30                  | 108  | 7 ~ 175  |
| 清半夏与制草乌、制川乌     | 60        | 各 20                    | 1    | 7        |
| 清半夏与制川乌         | 6 ~ 9     | 2 ~ 5                   | 225  | 3 ~ 618  |
|                 | 10        | 3 ~ 20                  | 47   | 5 ~ 252  |
| 法半夏与黑顺片         | 5 ~ 9     | 2 ~ 45                  | 520  | 3 ~ 546  |
|                 | 10 ~ 20   | 2 ~ 40                  | 295  | 3 ~ 472  |
|                 | 30 ~ 60   | 3 ~ 60                  | 46   | 3 ~ 75   |
| 法半夏与白附片         | 15        | 10 ~ 15                 | 3    | 30       |
|                 | 20        | 15                      | 6    | 22       |
| 法半夏与制川乌         | 6 ~ 10    | 2 ~ 4                   | 148  | 3 ~ 378  |
| 法半夏与制川乌、制草乌     | 10        | 各 6                     | 1    | 14       |
| 法半夏与白附片、黑顺片     | 10        | 各 10                    | 1    | 3 ~ 14   |
| 法半夏与黑顺片、制草乌、制川乌 | 15        | 10 ~ 40、15 ~ 30、15 ~ 30 | 20   | 308      |
|                 | 30        | 15、10、10                | 1    | 7        |
| 姜半夏与黑顺片         | 2 ~ 9     | 3 ~ 40                  | 39   | 3 ~ 63   |
|                 | 10 ~ 20   | 4 ~ 60                  | 115  | 3 ~ 70   |
|                 | 30        | 6 ~ 30                  | 13   | 7 ~ 28   |
| 姜半夏与白附片         | 10 ~ 20   | 6 ~ 30                  | 13   | 5 ~ 21   |
|                 | 30 ~ 60   | 15 ~ 25                 | 16   | 7 ~ 70   |
| 姜半夏与制川乌         | 9         | 20                      | 2    | 14       |
| 姜半夏与制草乌、制川乌     | 60        | 各 20                    | 1    | 7        |
| 姜半夏与制草乌、制川乌、白附片 | 5         | 10、10、5                 | 1    | 7        |
| 姜半夏、清半夏与黑顺片     | 各 10      | 5                       | 4    | 56       |
| 合计              |           |                         | 2228 |          |

2.3 安全性研究

查看 595 例患者开始使用半夏与乌头类饮片前一个月至用药结束后一个月在我院的检验指标，发现其中有 20 例患者做了用药后的血常规、尿常规、肝肾功能、血脂、甲状腺功能、凝血六项等检验，各项常规检验指标正常，用药时长 6 ~ 162 d，半夏用量 6 ~ 30 g，乌头类用量 3 ~ 30 g；有 59 例患者用药后出现检验指标异常，集中在血糖、尿酸和肝功能升高，未见心肌酶谱和心肌梗死四项指标异常。其中肝功能升高 9 例、血糖升高 23 例、尿酸升高 10 例。根据不良反应关联性评价，考虑 6 例患者用药前已有肝功能异常或继续用药后肝功能较前下降或停药 15 d 后才出现异常，故判断为可能无关；2 例有时间相关性判断为可能相关，但存在联合使用瑞舒伐他汀和奥沙利铂情况；1 例用药前未检测，出现肝酶升高后继续用药 2 年且未再监测肝功能。另外有 516 例患者用药过程中，未进行相关检查，最长

用药达 805 d，说明半夏与乌头类配伍用药安全性相对较好，但仍需加强监测。

2.4 历代古籍及中成药中半夏与乌头类配伍应用情况及安全性研究

为了解历代古籍及现代中成药中半夏与乌头类配伍应用情况，梳理药智数据库收录的同时含生半夏或清半夏或姜半夏或法半夏与乌头类饮片（包括草乌、制草乌、川乌、制川乌、乌头、附子、附片、黑顺片，排除白附子及香附子）的中药方剂及中成药。结果符合条件的中药方剂 348 个，其中 48 个为外用，295 个为内服，2 个既可内服，也可外用，3 个没有标明内服或者外用，内服方剂中具体应用半夏与乌头类的情况详情见表 3；符合条件的中成药 33 个，其中 12 个内服制剂，21 个外用制剂，见表 4。进一步查阅 33 个中成药说明书及相关不良反应报道，主要集中在外用制剂，表现为过敏或皮疹，涉及药品有酸痛喷雾剂、双虎镇痛宁喷雾剂、伤湿解痛膏、祛风湿止



痛散、镇痛活络酊<sup>[4]</sup>、骨增生镇痛膏<sup>[5]</sup>、金不换膏<sup>[6]</sup>，是否与半夏和乌头类配伍有关有待进一步讨论。余未见不良反应标注及文献报道。

表 3 含半夏乌头类配伍的中药方剂  
Tab 3 Chinese medicine prescriptions containing compatibility of *Pinellia ternata* and *Aconitum*

| 项目          | 内服方剂<br>个数/个 | 代表方剂         |
|-------------|--------------|--------------|
| 半夏与附片       | 7            | 理中生化汤、龙牡真武汤等 |
| 半夏曲与附子      | 5            | 参附正气散、白术沉香散等 |
| 半夏(洗)与附子    | 78           | 鳖甲柴胡汤、陈橘皮汤等  |
| 半夏与附子       | 108          | 白术陈皮汤、半夏丸等   |
| 半夏曲与川乌      | 2            | 猿肝丸、仙茅散      |
| 半夏(洗)与川乌    | 14           | 白附子丸、藿香散等    |
| 半夏与附子、川乌    | 4            | 八宝回春汤、催生丹等   |
| 半夏与川乌       | 38           | 八生饮子、大避瘟丹等   |
| 半夏(洗)与乌头    | 6            | 白荆花丸、白雪丸等    |
| 半夏与附子、乌头    | 11           | 白龙丸、六味追风散等   |
| 半夏与乌头       | 6            | 化风丸、大鳖甲汤等    |
| 半夏(洗)与草乌    | 2            | 蠲风饮子、骨碎补圆    |
| 半夏与草乌、附子    | 2            | 大建脾散、黑神丹     |
| 半夏与川乌、草乌    | 7            | 八反丸、活络丹等     |
| 半夏与附子、川乌、草乌 | 2            | 八风丹、脑麝祛风丸    |
| 半夏与乌头、草乌头   | 1            | 独圣黑龙丸        |
| 半夏与草乌       | 4            | 保命丹、九生丸等     |
| 合计          | 297          |              |

3 讨论

3.1 半夏与乌头类饮片配伍的临床应用

通过回顾性分析我院中药饮片内服处方中使用半夏与乌头类饮片配伍应用情况，以法半夏与黑顺片配伍最常用。半夏剂量主要在 9 g 以内，占 60.7%；黑顺片剂量主要在 15 g 以内，占 70.6%，说明大多数剂量符合 2025 年版《中国药典》项下半夏（3～9 g）与附子（3～15 g）的规定用量。半夏和乌头类的最大用量都为 60 g，患者未见检验指标异常。半夏与乌头类配伍比例集中在 1：1（8.5%）、2：1（29.3%）、8：3（22.8%）。王付等<sup>[7]</sup>对张仲景经典方剂分析，得出在辨证准确的基础上，半夏与乌头类的比例为 2：1 能取得良好的治疗效果且无毒副作用。其中存在不同半夏炮制品或不同乌头类炮制品在一张处方上的情况，这在历代古籍和中成药中也存在。

3.2 半夏与乌头类配伍应用安全性分析

3.2.1 从临床应用角度分析 本文通过回顾性查看 595 例患者开始使用半夏与乌头类饮片前一个月及用药结束后一个月的检验指标，发现其中 516 例患者无检验指标，另外 20 例患者指标正常。患者连续服用最长时间为 805 d，用药后指标无

表 4 含半夏与乌头类配伍的中成药  
Tab 4 Chinese patent medicines containing *Pinellia ternata* and *Aconitum*

| 项目 | 半夏用量/g    | 乌头类用量/g           | 中成药          |
|----|-----------|-------------------|--------------|
| 内服 | 半夏 30.8   | 制川乌 92.3、制草乌 92.4 | 强筋健骨片        |
|    | 半夏 60     | 制川乌 40、制草乌 40     | 追风片          |
|    | 法半夏 150   | 川乌（制）100、草乌（制）100 | 追风丸          |
|    | 半夏（制）80   | 制川乌 240、制草乌 240   | 强筋英雄丸        |
|    | 姜半夏 150   | 制川乌 104、制草乌 104   | 蛇胆追风丸        |
|    | 法半夏 187.5 | 制川乌 750           | 安阳壮骨药酒       |
|    | 半夏（制）14   | 制川乌 10            | 跌打风湿药酒       |
|    | 法半夏 450   | 川乌 225            | 透骨镇风丸（透骨镇风丹） |
|    | 姜半夏 30    | 制川乌 30            | 庆余辟瘟丹        |
|    | 法半夏 40    | 附子（制）2            | 百补增力丸        |
| 外用 | 半夏 10     | 附子（制）30           | 参茸固本还少丸      |
|    | 半夏（制）50   | 附子（制）50           | 参茸黑锡丸        |
|    | 半夏 10     | 川乌 13.5、草乌 10     | 伤筋正骨酊        |
|    | 半夏 6.6    | 川乌 6.6、草乌 6.6     | 酸痛喷雾剂        |
|    | 半夏 6.25   | 川乌 6.25、草乌 6.25   | 镇痛活络酊        |
|    | 半夏 63.3   | 川乌 63.3、草乌 63.3   | 双虎肿痛宁喷雾剂     |
|    | 半夏 3      | 草乌 3              | 通络骨质宁膏       |
|    | 生半夏 30    | 生川乌 30、生草乌 30     | 铁箍散          |
|    | 生半夏 90    | 生川乌 90、生草乌 90     | 风伤止痛膏        |
|    | 生半夏 190   | 生川乌 190、生草乌 190   | 双虎肿痛宁        |
|    | 生半夏 120   | 生川乌 120、生草乌 120   | 麝香跌打软膏       |
|    | 生半夏 5     | 生川乌 5、生草乌 5       | 风湿膏药         |
|    | 生半夏 10    | 生川乌 10、生草乌 10     | 骨增生镇痛膏       |
|    | 生半夏 288   | 生川乌 288、生草乌 288   | 金不换膏         |
|    | 生半夏 50    | 生附子 125、生草乌 50    | 祛风湿膏         |
|    | 生半夏 15    | 生附子 75、生草乌 50     | 伤湿解痛膏        |
|    | 生半夏 12    | 生附子 25、生草乌 25     | 关节解痛膏        |
|    | 半夏 50     | 生川乌 90、生草乌 90     | 祛风湿止痛散       |
|    | 半夏（一）     | 生川乌（一）、生草乌（一）     | 软坚药水         |
|    | 半夏 30     | 川乌 30             | 驳骨水          |
|    | 生半夏 30    | 生川乌 30            | 风茄平喘膏（复方风茄膏） |
|    | 生半夏（一）    | 生川乌（一）            | 外用舒筋酊        |
|    | 半夏 125    | 附子 125            | 正骨膏          |

注：“—”表示数据库中未记载用量。  
Note: “—” Indicates that there dosage is no record in the database.

异常且病例无不良反应信息。庞晓钟<sup>[8]</sup>、李安祥<sup>[9]</sup>等通过乌头类与半夏同用举例，说明两者同用可治疗寒痰凝聚、痹症等，临床疗效好且没有毒副作用，并提出可能与配伍甘草、干姜、蜂蜜等达到了解毒增效的作用<sup>[10]</sup>。药智数据库中半夏和乌头类配伍的方剂有 348 个，其中含有甘草、炙甘草的 131 个，含有干姜的 86 个，在用法中提到用姜的 117 个，另外，用法中也有用蜂蜜、黄酒、荆芥汤、橘皮汤的。文献报道的不良反应表现为口干、嗜睡、心悸、消化道反应、皮肤轻微过敏、乏力、头晕、头痛、妇女月经量减少等<sup>[11]</sup>，但均

未明确是否与半夏和乌头配伍有关。因此,有关半夏与乌头类配伍应用的安全性临床研究有待提高。在临床应用过程中,仍需要加强用药监测。

**3.2.2 从化学成分变化角度分析** 乌头类药物的主要药效成分亦是其主要毒性成分——双酯型二萜生物碱,主要包括乌头碱、中乌头碱、次乌头碱等;经过炮制或煎煮后水解成单酯型二萜生物碱,毒性大为降低;继续水解则进一步生成胺醇类生物碱,几乎没有毒性。研究表明,乌头与生半夏的合煎液中双酯型二萜生物碱显著增加,单酯型二萜生物碱含量均显著降低,提示可能是半夏中的某些成分如有机酸类与乌头碱类二萜生物碱结合形成盐,有助于合煎液中毒性成分的溶出,且由于生物碱盐的抗热破坏作用增强,稳定了毒性成分以盐的形式建立的平衡状态<sup>[12-13]</sup>。研究提示,共煎液的 pH 值是影响药液中双酯型生物碱含量的直接因素,在强酸条件下水解受抑制,毒性增加<sup>[14-15]</sup>。类似的研究表明,与生川乌单煎相比,生川乌与生半夏合煎双酯型生物碱含量有所升高,但生川乌、生附子与法半夏合煎双酯型生物碱含量明显降低,且长时间的煎煮能更有效地降低共煎液中双酯型生物碱的含量<sup>[16-19]</sup>,这可能与法半夏炮制过程中加了甘草有关。生半夏与附子炮制品(包括盐附子、白附片、黑顺片、附子皮)的共煎液中双酯型生物碱的含量要低于生半夏与生附子的共煎液,且随着半夏的比例升高,双酯型生物碱的含量升高。而制川乌与法半夏不同比例配伍后,双酯型生物碱含量下降,配伍比例为 1:1 或以上时就已经检测不到双酯型生物碱,其他类型的生物碱均随着法半夏比例的增加逐渐呈现出减少的趋势。同时发现随着法半夏比例的增加, pH 值逐渐增大,进一步表明溶液的酸碱性可能对双酯型生物碱的含量有一定的影响<sup>[20]</sup>。与“半蒺贝莖及攻乌”中其他中药相比,半夏与乌头配伍后,次乌头碱含量没有升高,这可能也与其酸性成分含量少有关<sup>[21]</sup>。由此可见,半夏与乌头类配伍的毒性成分含量主要与配伍时两个药味的炮制品选择、用量、配伍比例、是否与其他药物配伍、煎煮液的 pH 值以及煎煮时间有关。

**3.2.3 从现代药理角度分析** 半夏与乌头类配伍主要有温通散结止痛作用。乌头与半夏的配伍比例不同<sup>[22]</sup>,其镇痛效果及皮肤急性毒性不同,当乌头与生半夏比例为 1:1 时,镇痛效果佳,且毒性较小;乌头与生半夏 1:2 时,毒性较大,且随着半夏剂量增加毒性有上升趋势,小鼠出现呼吸困难、流涎等症状,不足的是研究中未设单用乌头和单用半夏组。因此不能比较乌头与乌头伍半夏的镇痛疗效以及皮肤毒性结果。当乌头类与法半夏配伍时,

其镇痛作用减弱,同时半数致死量( $LD_{50}$ )增大毒性降低<sup>[23-26]</sup>。毒理研究表明,单用乌头对小鼠的肝功能谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)有一定影响,与生半夏配伍后肝功能指标 ALT、AST、乳酸脱氢酶(LDH)、总蛋白(TP)及肾功能指标血尿素氮(BUN)均不同程度升高,说明乌头本身有毒副作用,配伍半夏后可使其毒性加剧,对肝肾的损害加重<sup>[27]</sup>。从肝细胞色素 P450(CYP)酶角度看,乌头类中药对 CYP 酶有一定抑制作用。当配伍半夏后对 CYP1A2、CYP3A1 酶的抑制作用增强,从而有可能减慢二萜类生物碱的体内代谢导致药理作用和毒性的增强。这当然也取决于乌头类用量、煎煮方法和煎煮时间<sup>[28-29]</sup>。从肠内菌代谢的角度来看,半夏与乌头汤共煎抑制了乌头汤中双酯型生物碱的肠内菌生物转化,说明半夏与乌头汤配伍有增毒作用,这可能从另一个角度揭示了中药“十八反”的科学内涵<sup>[30]</sup>。但杨坤宝等<sup>[31-33]</sup>研究发现生半夏和生川乌合用后肾毒性、肝毒性较生川乌降低,在生川乌与生半夏比例分别为 1:0.25、1:0.5、1:1 三组中,生川乌与生半夏比例为 1:1 时,其肝毒性及肾毒性都是最低的。另一项研究表明,生川乌与生半夏配伍可降低其心脏毒性<sup>[34]</sup>。乌附经方(含有乌头、制附子、姜半夏、瓜蒌)可通过减少细胞凋亡,对心肌缺血再灌注损伤产生保护作用<sup>[35]</sup>。另外,乌头-半夏 7:1 的混剂具有明显促进创面愈合的作用,其机制可能与诱导转化生长因子  $\beta 1$  (TGFF- $\beta 1$ )、表皮细胞因子(EGF)和碱性成纤维细胞因子(bFGF)的表达有关<sup>[36]</sup>。因此,现有药理研究结果存在不一致,半夏与乌头类饮片配伍是否存在“相反”作用仍有待进一步研究。再者,已有研究表明与甘草、干姜配伍可降低乌头类毒性<sup>[37-38]</sup>。

综上所述,半夏与乌头类配伍历代可见,主要具有温阳散结止痛作用,在痹症、痛症、症瘕积聚中多用。从化学成分和现代药理研究可见,生半夏和乌头类配伍后其毒性成分双酯型生物碱的溶出率增加、肝肾毒性发生率升高,但在实际临床应用中两药常配伍使用,且相关不良反应较少。分析原因可能是基础研究主要采用的是生半夏和乌头类配伍,而实际临床应用中多为炮制品,如法半夏,且用量多为 1:1,并与甘草、干姜、生姜等进行了配伍应用,而且煎煮液 pH 较高,煎煮时间较长,从而导致毒性成分双酯型生物碱含量减少。因此,对于半夏与乌头类临床配伍应用应该进行分层分类认识<sup>[39]</sup>。由于是回顾性研究,本研究只能从用药前后检验指标变化和病历记录中探讨有无安全性问题。从患者使用半夏和乌头类的用药时长,以及病历记录和检验指标看,两药配伍应用有较好的安全性。但对于半夏与乌头



类配伍仍需加强应用监测,期望后续能进一步开展大样本的前瞻性研究来明确两药配伍是否有不良反应的发生,以及不同配伍规律对安全性的影响。

## 参考文献

- [1] 陈馥馨. 782 个含十八反、十九畏内服成药方组成与主治分析[J]. 中国医药学报, 1987 (2): 26-28, 22.
- [2] 祝瑞德. 乌头伍半夏治疗风湿痹症的临床运用[J]. 浙江中医杂志, 2010, 45 (7): 530.
- [3] 邓雅沛, 李柳宁. 乌头(附子)半夏配伍治疗癌性疼痛思路探析[J]. 四川中医, 2022, 40 (11): 28-31.
- [4] 李峻辉, 罗志红, 夏伟, 等. 活血定痛酊湿巾贴敷配合腰背肌功能锻炼治疗高原条件下腰部训练伤[J]. 长春中医药大学学报, 2018, 34 (2): 328-330.
- [5] 杨业清. 骨增生镇痛膏治疗骨关节炎的临床研究[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10 (3): 138-140.
- [6] 苏国康. 中药引起的 12 例接触性皮炎[J]. 中华皮肤科杂志, 1964, 10 (5): 324.
- [7] 王付, 王帮众. 经方运用半夏配乌头(附子)的探索与实践[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (9): 284-286.
- [8] 庞晓钟, 宋炳礼. 附子配半夏临床应用体会[J]. 河北中医, 2005, 27 (1): 30-31.
- [9] 李安祥, 谢冉, 王付. 半夏配附子(乌头)辨治杂病临床应用举隅[J]. 中医药通报, 2019, 18 (3): 55-56, 28.
- [10] 成茂源, 刘天宝, 叶品良. 《伤寒杂病论》半夏与乌头(附子)同方配伍分析[J]. 中医药信息, 2014, 31 (5): 103-104.
- [11] 刘佳. 从循证医学角度对“十八反”中半夏乌头类反药组合临床同用研究文献的分析研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [12] 王超, 王宇光, 梁乾德, 等. UPLC/Q-TOFMS 分析十八反乌头半夏配伍化学成分的变化[J]. 药学学报, 2010, 45 (10): 1301-1306.
- [13] 周思思, 马增春, 梁乾德, 等. 基于 UPLC/Q-TOF-MS 分析附子半夏配伍相反的物质基础[J]. 化学学报, 2012, 70 (3): 79-85.
- [14] 董欣, 王淑敏, 李晓明, 等. HPLC 测定附子与“半蒺贝蒺及”各药材配伍前后 3 种双酯型生物碱的含量变化[J]. 中药材, 2011, 34 (12): 1891-1894.
- [15] 王勇, 刘志强, 宋凤瑞, 等. 附子配伍原则的电喷雾质谱研究[J]. 药理学, 2003, 38 (6): 451-454.
- [16] 刘文龙, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 川乌与半夏、瓜蒌、贝母、白蔹、白芨配伍禁忌的化学研究[J]. 化学学报, 2010, 68 (9): 889-896.
- [17] 李新莉, 赵华. 半夏配伍川乌产生相反作用的物质基础研究[J]. 中医药导报, 2012, 18 (2): 82-84.
- [18] 王小燕. 不同配伍比例的附子与半夏炮制品中生物碱含量及种类变化[J]. 河南中医, 2015, 35 (6): 1448-1450.
- [19] 朱日然, 李启艳, 张学顺, 等. 附子与半夏不同炮制品种配伍应用的 ESI-MS<sup>+</sup> 研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (18): 72-77.
- [20] 张鲁, 李遇伯, 李利新, 等. 制川乌与法半夏不同比例配伍组合对乌头类生物碱的影响[J]. 中草药, 2013, 44 (6): 681-685.
- [21] 翁小刚, 聂淑琴, 黄璐琦. HPLC 测“半蒺贝蒺及攻乌”中乌头与其它诸药合煎前后次乌头碱的含量变化[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39 (1): 57-59.
- [22] 龚可, 何光星, 张世俊, 等. 乌头与半夏配伍外用镇痛疗效及皮肤急性毒性研究[J]. 四川中医, 2009, 27 (4): 54-56.
- [23] 汪倩倩, 孙丹妮, 刘春芳, 等. 乌头和“半蒺贝及”配伍对甲醛致痛模型小鼠镇痛作用的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23 (4): 488-491.
- [24] 赖珍珍, 张凌, 李莹, 等. “半夏反草乌”减弱抗炎效应及其减效机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21 (17): 84-87.
- [25] 翟兴英, 金晨, 张凌, 等. 草乌与生半夏、法半夏配伍的急性毒性及其毒性成分分析[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30 (2): 210-215.
- [26] 翟兴英, 徐国良, 张凌, 等. 草乌与(生、法)半夏配伍 3 个毒性成分毒代动力学变化研究[J]. 中药药理与临床, 2018, 34 (4): 139-144.
- [27] 赵华, 李新莉. 半夏与乌头配伍对小鼠毒性作用的实验研究[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28 (1): 17-18.
- [28] 金科涛, 石苏英, 沈建幸, 等. 半夏乌头合用对大鼠肝脏 CYP450 的调节作用[J]. 中华中医药学刊, 2007, 25 (7): 1358-1361.
- [29] 程再兴, 陈红, 吴锦俊, 等. 乌头汤加半夏不同炮制品对大鼠 CYP3A 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (20): 90-95.
- [30] 辛杨, 刘志强, 刘淑莹. ESI-MS 研究反药配伍对乌头汤肠内菌代谢的影响[J]. 中药材, 2015, 38 (8): 1728-1731.
- [31] 杨坤宝, 尹长江, 赵淑敏, 等. 生川乌与不同比例生半夏配伍对大鼠肝细胞超微结构的影响[J]. 解剖学杂志, 2016, 39 (4): 406-408.
- [32] 杨坤宝, 尹长江, 赵淑敏, 等. 生川乌水浸液对大鼠肾超微结构的影响及其与配伍生半夏比例的关系[J]. 解剖学杂志, 2016, 39 (5): 557-560.
- [33] 杨坤宝, 尹长江, 佟继铭, 等. 生川乌与生半夏反药配伍水浸液对大鼠肝毒性的影响[J]. 中成药, 2015, 37 (2): 397-400.
- [34] 许柳, 佟继铭, 李平, 等. 生川乌配不同比例生半夏对乳鼠心肌细胞的毒性作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19 (14): 250-255.
- [35] 李玲, 马瑜红, 王素青. 乌附经方预处理对大鼠缺血再灌注心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33 (6): 789-794.
- [36] 夏西超, 袁国卿, 马瑜红, 等. 乌头半夏混剂促进大鼠创面愈合的研究[J]. 成都中医药大学学报, 2015, 38 (2): 21-24.
- [37] 蒋燕萍, 彭伟, 曹丽梅, 等. 配伍前后四逆汤中酯型生物碱的变化规律[J]. 华西药理学杂志, 2016, 31 (5): 483-486.
- [38] 雷波, 杜鹏, 陈勇. 附子药对配伍规律的初步研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2007, 29 (3): 280-282, 285.
- [39] 中药临床使用合理性评价与合理化改进专家组, 金锐, 李云. 十八反十九畏理论的分层分类认识及其用于临床安全风险评估的药学专家共识[J]. 医药导报, 2024, 43 (6): 841-849.

(收稿日期: 2025-06-15; 修回日期: 2025-08-14)



# 白及与乌头类配伍应用情况及临床安全性研究

吴丽丽<sup>1,2</sup>, 王敏慧<sup>1,3</sup>, 梁胜男<sup>1,4</sup>, 刘青<sup>1</sup>, 柳芳<sup>1\*</sup> (1. 中日友好医院, 北京 100029; 2. 贵港市人民医院, 广西 贵港 537100; 3. 濮阳市中医医院, 河南 濮阳 457000; 4. 百色市中医医院, 广西 百色 533000)

**摘要:** **目的** 调查白及与乌头类配伍的临床应用情况, 评价配伍应用安全性。**方法** 回顾性分析我院使用白及与乌头类的临床案例, 从医院临床药学管理系统中搜索 2017 年 1 月 1 日至 2023 年 1 月 31 日同时使用白及与乌头类中药的门诊、住院处方, 收集处方基本信息, 包括患者性别、年龄、就诊科室、处方诊断、使用炮制品、单次处方用量、使用总时长以及安全性信息。同时查阅药智数据库收录的有白及与乌头类配伍的中药方剂及中成药, 最后结合现代关于白及与乌头类配伍的化学成分研究、药理毒理研究进行讨论分析。**结果** 有 39 例患者共 86 张处方存在白及和乌头类药味配伍使用情况, 白及使用剂量主要为 10 ~ 14 g, 乌头类饮片主要为黑顺片, 单次剂量集中在 10 ~ 20 g, 占 68.6%。患者连续服用时间最长为 182 d。其中 29 例患者无安全性信息, 6 例患者用药后血常规、肝肾功能未见异常, 4 例患者血肌酐、血红蛋白异常, 但无明确用药时间相关性, 且不排除与原发疾病慢性肾功能不全有关。从药智数据库收集的中药方剂和中成药来看, 含白及与乌头类配伍的中药方剂和中成药主要为外用制剂。进一步结合现代药理毒理研究、化学成分研究分析, 两者能否相互配伍使用结论仍不一致。**结论** 白及与乌头类配伍应用情况仍存在, 目前无不良相互作用临床报道。现代药理研究、化学成分研究表明白及与乌头类饮片配伍后可能会使毒性成分含量增加、降低疗效。因此, 在临床使用中需加强应用监测。

**关键词:** 十八反; 白及; 乌头类; 临床应用; 配伍; 安全性研究

**中图分类号:** R283

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-290-05

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.042

白及为兰科植物白及 *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. 的干燥块茎。味苦、甘、涩, 性微寒, 归肺、肝、胃经, 具有收敛止血、消肿生肌的功效。白及主要用于咯血, 吐血, 外伤出血, 疮疡肿毒, 皮肤皲裂。内服推荐剂量为 6 ~ 15 g, 研末吞服 3 ~ 6 g, 外用适量<sup>[1]</sup>。《中国药典》历代版本均在“注意”项下标注“不宜与川乌、制川乌、草乌、制草乌、附子同用”, 属于中药配伍禁忌“十八反”范畴, 临床应用时需医师双签字。但对两者配伍应用后有无不良反应尚不明确, 且目前尚无不良相互作用临床报道。而且有学者报道将两药配伍应用后取得了良好的临床疗效, 如王付等<sup>[2]</sup>应用建中汤、小柴胡汤、乌头汤、黄连粉方、乌头白及汤与藜芦甘草汤合方治疗冠心病; 郑安锐等<sup>[3]</sup>用薏苡附子败酱散加味 (含附片 10 g, 白及 10 g) 联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎寒湿瘀结型。为了进一步研究“白及与乌头类”临床配伍应用情

况, 本研究回顾性分析了我院白及与乌头类配伍应用的临床数据, 现报道如下。

## 1 数据来源与方法

### 1.1 数据来源

数据来源于中日友好医院含白及与乌头类中药同方配伍的处方资料。选择 2017 年 1 月 1 日至 2023 年 1 月 31 日的门诊及住院处方, 筛选具有医师签名, 经药师调剂并签名的合格处方 (伦理批号 2019BZHYLL0301)。排除白及与乌头类中药不在同一处方, 结果符合条件的住院处方 7 张, 门诊处方 79 张。同时查阅药智数据库收录的有“白及与乌头类”配伍的中药方剂及中成药。

### 1.2 方法

回顾性整理上述含白及与乌头类配伍的 86 张处方, 分析处方基本特征信息, 包括患者性别、年龄、处方诊断、使用炮制品、单次剂量、使用总时长。同时浏览患者用药前后病历记载, 以及用药前

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (No.81603383); 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (No.ZYYCXTD-C-202005)。

**作者简介:** 吴丽丽, 女, 主管中药师, 主要从事中药临床药学方面的研究, email: 721777258@qq.com \*通信作者: 柳芳, 女, 副主任药师, 主要从事中药临床药学方面的研究, email: tcm\_pharmacy@126.com

后的血常规、肝肾功能、心肌梗死四项结果，判断有无指标异常以及不良反应的发生，记录相关安全性信息，无相关信息者按照缺失值分析。

## 2 结果

### 2.1 年龄及性别情况

纳入 86 张处方涉及 39 例患者，最少就诊 1 次，最多就诊 12 次。其中男性 19 例，女性 20 例，年龄在 25 ~ 89 岁，50 岁以上 28 例，占 71.79%。

### 2.2 白及与乌头类饮片使用炮制品、用药剂量、用药天数分析

白及临床使用的炮制品主要是生白及，剂量最小为 5 g，最大为 70 g。乌头类饮片临床使用的炮制品包括黑顺片、制川乌、制草乌，剂量最小为 3 g，最大为 105 g。其中，同时使用制川乌、制草乌的处方数为 13 张，均为内服方，用于治疗关节炎、消化不良。白及和乌头类饮片配伍剂量分布见表 1。患者连续服用白及与乌头类饮片处方最短为 7 d，最长为 182 d，由于处方大多数为门诊处方，同一患者不同就诊次数使用白及与乌头类饮片的剂量会根据病情有所调整，乌头类饮片剂量一般从小剂量开始。患者使用白及与乌头类饮片的时长分布具体见表 2。

表 1 白及与乌头类饮片配伍用量分析

| 项目         | 白及单次<br>用量范围 /g | 乌头类单次<br>用量范围 /g | 处方数 |
|------------|-----------------|------------------|-----|
| 白及与黑顺片     | 5 ~ 9           | 6 ~ 75           | 3   |
|            |                 | 10 ~ 14          | 3   |
|            |                 | 10 ~ 14          | 15  |
|            |                 | 15               | 32  |
|            |                 | 20               | 12  |
|            | 15              | 30               | 1   |
|            |                 | 9 ~ 30           | 4   |
|            |                 | 30               | 1   |
|            |                 | 70               | 1   |
|            |                 | 105              | 1   |
| 白及与制川乌     | 10              | 20               | 1   |
| 白及与制川乌、制草乌 | 10              | 6 ~ 10           | 6   |
|            |                 | 20               | 4   |
|            |                 | 40               | 3   |
| 合计         |                 |                  | 86  |

### 2.3 安全性研究

查看 39 例患者开始使用白及配伍乌头类饮片用药前一个月至用药结束后一个月在我院的检验指标，发现 29 例患者未进行任何检验，两药配伍应用最长时间为 182 d，考虑很可能是患者用药无明显不适，没有进行相关检验。10 例患者在用药过程中进行了肝功能、肾功能、血常规、

表 2 白及与乌头类饮片配伍服用天数分析

| 项目         | 使用时长 /d | 病例数 |
|------------|---------|-----|
| 白及与黑顺片     | 7 ~ 14  | 20  |
|            | 15 ~ 28 | 7   |
|            | 29 ~ 60 | 4   |
|            | 60 ~ 90 | 2   |
|            | 182     | 1   |
| 白及与制川乌     | 7       | 1   |
| 白及与制川乌、制草乌 | 7 ~ 15  | 3   |
|            | 112     | 1   |
| 合计         |         | 39  |

尿常规检查，其中 6 例患者检验结果未显示异常，4 例患者出现肌酐升高和血红蛋白下降，但是考虑用药前未进行检测，均有肾脏疾病的诊断，2 例诊断为肾功能不全，1 例诊断为肾病综合征，1 例诊断为肾衰竭，不能排除与原发疾病有关。

### 2.4 历代古籍及中成药中使用白及乌头类配伍的情况及不良反应情况

为了解历代古籍及现代中成药中同时使用白及与乌头类饮片进行配伍的情况，梳理药智数据库收录的同时含白及与乌头类饮片（包括草乌、川乌、附子）的中药方剂及中成药。结果符合条件的中药方剂 43 个，其中 10 个为内服方，33 个为外用方，外用方中白及与生川乌、生草乌多联合使用，涉及 13 个方剂。现代中成药有 14 个，除红花跌打丸可内服外，其余均为外用制剂。白及与乌头类饮片配伍后，主要起消肿散结、活血定痛、祛风散寒的功效，主要用于跌打损伤、一切痈疽疔毒、风寒湿痹等疾病。其中白及和乌头类用量大多为 1 : 1，详见表 3、4。进一步查阅 14 个中成药说明书及相关不良反应报道，伤科灵喷雾剂说明书“不良反应”项标注为“本品可能引起瘙痒、刺痛、皮疹（如红斑、丘疹、水疱）等”。任可心<sup>[4]</sup>报道使用伤科灵喷雾剂治疗带状疱疹过程中，出现轻微瘙痒、刺痛、红斑等不良反应，但未给予任何对症治疗，停药后可自行消失，与说明书内容一致。此外，朱琳等<sup>[5]</sup>报道 1 例患者因左手腕挫伤贴少林风湿跌打膏，贴后即觉患处发热，稍后心口灼热，约 2 h 开始出现全身发冷、头痛症状，约 3 h 时全身寒战、头痛欲裂，立即揭去贴膏并饮热水及热水袋取暖，12 h 后症状得到缓解，24 h 后基本恢复正常。结合患者近日未服其他药物，且既往无药品不良反应史，考虑为贴膏所致。其余 12 个中成药说明书“不良反应”项均标注为“尚不明确”，且无不良反应报道。

表 3 含白及乌头类配伍的中药方剂

| 方剂名称    | 出处               | 用法 | 白及与乌头类配伍                    | 功能主治                             |
|---------|------------------|----|-----------------------------|----------------------------------|
| 阿魏丸     | 《博济》             | 内服 | 白及三分, 附子半两                  | 男子妇人一切气攻刺疼痛, 呼吸不得, 大肠滑泄          |
| 八反丸     | 《疡科心得集·家用膏丹丸散方》  | 内服 | 白及一两, 川乌(姜汁制)一两, 草乌(姜汁制)一两  | 痰核, 瘰癧                           |
| 白龙丹     | 《丹溪心法附余》         | 内服 | 白及一两四钱, 草乌十两(生用), 川乌四两      | 男子妇人诸般风证                         |
| 分气丸     | 《鸡峰普济方》          | 内服 | 白及、附子各 30 g                 | 男子妇人脾胃虚弱; 妇人荣卫俱虚                 |
| 分气丸     | 《鸡峰》             | 内服 | 白及一两, 附子一两                  | 男子妇人脾胃虚弱; 妇人荣卫俱虚                 |
| 黑神丸     | 《永类铃方》           | 内服 | 白及四两, 川乌三两                  | 诸伤劳损, 痿折筋骨, 风湿挛拳                 |
| 黑丸子     | 《理伤续断方》          | 内服 | 白及四两, 川乌三两                  | 打扑伤损, 妇人诸般血风劳损; 外感风寒, 肢体作痛, 流注膝风 |
| 黑丸子     | 《仙授理伤续断秘方》       | 内服 | 白及 120 g, 川乌 90 g           | 和血定痛                             |
| 活血丹     | 《准绳·疡医》          | 内服 | 白及二两, 草乌二两, 川乌二两            | 跌仆伤损; 痈疽发背; 诸般风疾                 |
| 活血丹     | 《理伤续断方》          | 内服 | 白及半两, 草乌二两, 川乌半两            | 跌仆伤损; 痈疽发背; 诸般风疾                 |
| 阳和解凝膏   | 《外科全生集》          | 外用 | 白及, 附片, 生草乌, 生川乌            | 温阳化湿, 消肿散结                       |
| 八白丸     | 《医统》卷九           | 外用 | 白及一两, 草乌一两                  | 令人面色好                            |
| 巴卿膏     | 《鸡鸣录·外科》         | 外用 | 白及五钱, 川乌五钱, 草乌五钱            | 一切痈疽疔毒, 未成即消, 已成即溃               |
| 拔毒生肌膏   | 《全国中药成药处方集》(西安方) | 外用 | 白及二钱半, 生川乌二钱半, 生草乌二钱半       | 拔毒生肌, 护膜抗菌                       |
| 白玉蟾擦药   | 《解围元藪》           | 外用 | 白及, 草乌                      | 病风, 手足及遍身有肿块成疮, 或冷麻者             |
| 比天膏     | 《摄生众妙方》          | 外用 | 白及三两, 草乌一两                  | 身体疼痛, 半身不遂, 风湿及噎膈、气蛊             |
| 陈氏咳嗽膏   | 《温氏经验良方》         | 外用 | 白及六钱, 草乌六钱, 川乌六钱            | 多年咳嗽气喘                           |
| 大垂云膏    | 《圣惠》             | 外用 | 白及一分, 附子一两                  | 一切恶疮痲肿及一切虫蛇毒物咬伤                  |
| 代灸膏     | 《普济方》            | 外用 | 白及一两, 川乌一两                  | 脚气肿痛, 不可忍者                       |
| 当归膏     | 《普济方》            | 外用 | 白及, 草乌各等分                   | 诸般痈疽发背, 瘰癧恶疮                     |
| 当归续断膏   | 《圣济总录》           | 外用 | 白及一两, 附子一两                  | 辟风敛疮                             |
| 封肉散     | 《圣济总录》           | 外用 | 白及一两, 草乌头半两                 | 小儿解颅, 凶门开解                       |
| 附雄散     | 《解围元藪》           | 外用 | 白及一两, 歪附子 1 只, 草乌五钱, 川乌七钱   | 麻风, 手指、足趾皮肉麻木, 斑剥及肿块             |
| 固精保元膏   | 《理瀹》             | 外用 | 白及三钱, 附子一钱                  | 固精保元, 暖肾补腰膝, 祛寒湿, 久贴暖子宫          |
| 呼脓长肉比天膏 | 《疡科选粹》           | 外用 | 白及一两, 草乌一两                  | 诸般痈疽                             |
| 虎骨膏     | 《全国中药成药处方集》(兰州方) | 外用 | 白及一两, 生川乌一两, 生草乌一两          | 祛风散寒, 舒筋活血, 止痛                   |
| 护岩膏     | 《理瀹》             | 外用 | 白及五钱, 川乌七钱                  | 乳岩已破者                            |
| 化痞反正膏   | 《惠直堂方》           | 外用 | 白及一两, 川乌一两, 草乌一两            | 诸般痞块积聚                           |
| 活血酒     | 《中医外科学》          | 外用 | 白及 3 g, 川乌 3 g, 草乌 3 g      | 舒筋活血                             |
| 坚骨壮筋膏   | 《中医伤科学讲义》        | 外用 | 白及二两, 生草乌二两, 生川乌二两          | 强壮筋骨                             |
| 将军铁箍膏   | 《普济方》卷二七二引《德生堂方》 | 外用 | 白及五钱, 草乌三钱, 川乌五钱            | 诸疮, 恶毒疮, 红肿突起                    |
| 金不换膏药   | 《中医外科学》          | 外用 | 白及 24 g, 川乌 18 g, 草乌 18 g   | 跌打损伤, 气血凝滞, 筋骨伤痛                 |
| 金丝万应膏   | 《疮疡经验全书》         | 外用 | 白及五分, 草乌二两                  | 定痛追脓, 生肌长肉, 收敛疮口                 |
| 槿皮膏     | 《疡科选粹》           | 外用 | 白及二两, 草乌三钱                  | 风癣                               |
| 救苦膏     | 《医方类聚》           | 外用 | 白及二钱, 生川乌三钱                 | 顺气发风, 活血脉, 壮筋骨                   |
| 灵应膏     | 《杨氏家藏方》          | 外用 | 白及一两, 草乌一两                  | 消肿定痛                             |
| 龙虎膏     | 《疡医大全》           | 外用 | 白及五钱, 川乌五钱, 草乌五钱            | 一切无名痈疽大毒                         |
| 神圣膏     | 《普济方》            | 外用 | 白及 30 g, 草乌 30 g            | 治跌打损伤                            |
| 圣力散     | 《宜明论方》           | 外用 | 白及 7.5 g, 草乌头 7.5 g         | 治疗疮                              |
| 铁箍散     | 《北京市中药成方选集》      | 外用 | 白及 30 g, 生川乌 30 g, 生草乌 30 g | 消肿毒, 化坚硬                         |
| 温宫方     | 《医略六书》           | 外用 | 白及 60 g, 川乌 30 g            | 治阴中挺出, 脉紧涩者                      |
| 移险膏     | 《理瀹骈文》           | 外用 | 白及 60 g, 草乌 60 g            | 治疮疡生于险要处者                        |
| 玉容肥皂    | 《疡医大全》           | 外用 | 白及 30 g, 草乌 30 g            | 祛瘀润肤                             |



表 4 含白及与乌头类配伍的中成药

| 标准来源             | 药品名称      | 用法     | 白及与乌头类配伍                              | 功能                     |
|------------------|-----------|--------|---------------------------------------|------------------------|
| 《中国药典》2020 年版一部  | 少林风湿跌打膏   | 外用     | 白及 16 g, 生川乌 16 g, 生草乌 16 g           | 散瘀活血, 舒筋止痛, 祛风散寒       |
| 《中国药典》2020 年版一部  | 阳和解凝膏     | 外用     | 白及 20 g, 生川乌 20 g, 生草乌 20 g, 生附子 20 g | 温阳化湿, 消肿散结             |
| 《中国药典》2020 年版一部  | 安阳精制膏     | 外用     | 白及 24 g, 生川乌 24 g, 生草乌 24 g           | 消积化癥, 逐瘀止痛, 舒筋活血, 追风散寒 |
| 《国家中成药标准汇编骨伤科分册》 | 肿痛搽剂      | 外用     | 白及 18 g, 滇草乌 18 g                     | 消肿镇痛, 活血化瘀, 舒筋活络, 化痞散结 |
| 《国家中成药标准汇编骨伤科分册》 | 肿痛凝胶      | 外用     | 白及 18 g, 滇草乌 18 g                     | 消肿镇痛, 活血化瘀, 舒筋活络, 化痞散结 |
| 《国家中成药标准汇编骨伤科分册》 | 肿痛气雾剂     | 外用     | 白及 18 g, 滇草乌 18 g                     | 消肿镇痛, 活血化瘀, 舒筋活络, 化痞散结 |
| 《国家中成药标准汇编骨伤科分册》 | 少林风湿跌打巴布膏 | 外用     | 白及 40 g, 川乌 40 g, 草乌 40 g             | 散瘀活血, 舒筋止痛, 祛风散寒       |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 铁箍散       | 外用     | 白及 30 g, 生川乌 30 g, 生草乌 30 g           | 解毒消肿, 软坚止痛             |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 寒喘膏药      | 外用     | 白及 30 g, 川乌 30 g, 草乌 30 g             | 温经逐寒, 定喘止咳             |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 芙蓉散       | 外用     | 白及 50 g, 川乌 10 g, 草乌 10 g             | 解毒, 消肿, 止痛             |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 安阳膏药      | 外用     | 白及 48 g, 生川乌 48 g, 生草乌 48 g           | 消积化块, 逐瘀止痛, 舒筋活血, 追风散寒 |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 红花跌打丸     | 内服, 外用 | 白及 12 g, 制川乌 12 g                     | 活血散瘀, 消肿止痛             |
| 《卫生部药品标准中药成方制剂》  | 伤科壮骨膏     | 外用     | 白及 30 g, 川乌 30 g, 草乌 30 g             | 舒筋活血, 消肿止痛             |
| 《国家药品标准修订件》      | 伤科灵喷雾剂    | 外用     | 白及 12.2 g, 草乌 12.2 g                  | 清热凉血, 活血化瘀, 消肿止痛       |

### 3 讨论

#### 3.1 白及与乌头类饮片配伍的临床应用

通过回顾性分析我院中药饮片内服处方中使用白及与乌头类饮片配伍的使用情况,以白及与黑顺片配伍最为常用。进一步对白及与乌头类饮片配伍剂量进行分析,白及剂量主要为 10 ~ 14 g,黑顺片剂量主要为 10 ~ 20 g,占 68.6%,与高源<sup>[6]</sup>整理乌头与白及反药组合同方应用的临床用药剂量情况基本相似。再结合药智数据库收集的中药方剂及中成药情况,可见已有方药以外用为主,用于跌打损伤、一切痈疽疔毒、风寒湿痹等疾病,这与王鹏丽等<sup>[7]</sup>统计《中国药典》2015 年版一部收录“十八反、十九畏”成方制剂的情况一致。于大猛等<sup>[8]</sup>进一步对“中国中医药数据库”中含附子、白及的 27 首处方进行主治、病机、配伍规律分析,发现处方一致的病机是阳虚寒凝、瘀血阻滞,配伍规律为以川乌、草乌、附子为君,温阳散寒,开道路;白及、白芨为通用药,去腐生肌敛疮。

#### 3.2 白及与乌头类饮片配伍的安全性分析

**3.2.1 从临床角度分析** 白及与乌头类配伍应用主要具有消肿散结、活血定痛、祛风散寒的功效。已报道的 13 个有乌头与白及配伍应用的中药复方随机对照临床研究结果显示无不良反应的发生<sup>[6]</sup>。在乌头类与白及配伍应用的 29 篇病例系列

报道中,1 篇提示个别患者出现胃不适,1 篇明确提及未出现不良反应,其余文献均未说明是否有不良反应<sup>[6]</sup>。结合药智数据库收集的已有方药不良反应报道较少,且以外用为主,与患者内服白及与乌头类饮片同方配伍处方仍有所差异。本文通过回顾性对比分析 39 例患者使用白及与乌头类配伍应用前一个月至用药结束后一个月内的检验指标,通过不良反应关联性评价分析,未见白及与乌头类配伍应用的明确安全性问题。由此可见,白及与乌头类配伍应用安全性较好。

**3.2.2 从化学成分变化角度分析** 多个基础研究结果显示,生附片或生川乌与白及配伍应用后毒性成分双酯型生物碱含量升高,且随着白及用量的增加而增加<sup>[9-11]</sup>。可能是由于乌头类与白及配伍应用后煎煮液的 pH 值下降,导致乌头碱与酸性成分结合生成生物碱盐,促使生物碱从生药中溶出。当乌头类与白及配伍时随着煎煮时间的延长,药液中双酯型生物碱含量也会降低。但两药配伍应用后的血中毒性成分分析结果显示双酯型生物碱、单酯型生物碱中苯甲酰乌头原碱及醇胺型生物碱中宋果灵的相对质量分数均显著降低,认为其配伍后可能因活性成分减少、降低药效而表现“相反”<sup>[12]</sup>。

**3.2.3 从现代毒理研究分析** 已有研究表明,制川乌可使心肌细胞出现轻度空泡状变性,白及大

剂量使用时肝脏有轻度间质性肝炎、肾脏有肾盂肾炎、部分肾小管腔内有蛋白管型,而生川乌、制川乌配伍白及后则显示肝脂肪变性及糖原减少,未见心脏、肝脏、肾脏的病理学改变<sup>[13]</sup>。张腾等<sup>[14]</sup>基于“半蒺贝莖及攻乌”反药配伍进行急性毒性实验,结果表明,白及与生川乌配伍比例没有明显的毒性变化规律。此外,赖晓艺等<sup>[15]</sup>研究显示白及与制川乌配伍后镇痛作用和最佳镇痛时间明显延后。庞坦等<sup>[16]</sup>观察白及与川乌单独给药及配伍给药对卡拉胶诱导的大鼠足肿胀模型镇痛效果以及对血流速度的影响,白及与川乌配伍后,既能降低大鼠炎症足的疼痛程度,又能降低血流速度。以上研究表明,白及与生川乌或制川乌配伍毒副作用未见明显增加,且存在一定的协同作用。但是关于白及与乌头类配伍的毒理研究结果仍存在争议。如张凌等<sup>[17]</sup>研究显示,与白及配伍后草乌的半数致死量( $LD_{50}$ )(5.94 g/kg)小于单独草乌的 $LD_{50}$ (8.45 g/kg),提示草乌与白及配伍后毒性增加,且随着白及的比例增加而上升,主要表现为呼吸急促、恶心、腹泻、流涎、分泌物较多、口中吱吱作声并有吐泡沫状物、运动不协调、抽搐等反应。

#### 4 小结

白及和乌头类配伍属于配伍禁忌“十八反”范畴,原则上应避免使用,但两药联用后也可取得较好的临床效果。因此,本研究对白及与乌头类饮片配伍的安全性进行探讨,发现在传统中药方剂、中成药以及临床处方上仍可见到白及与乌头类饮片配伍应用情况。现代化学成分、药理毒理研究均可见白及与乌头类饮片配伍存在一定的“相反”作用。但在实际临床应用两药配伍时未见明确不良反应,安全性较好。主要考虑可能由于基础研究中使用的乌头类饮片均为生品,而临床实际应用中为炮制品,且通常以复方的形式使用,多配伍甘草、生姜等,且煎煮时间较长,从而使其毒性成分含量大大降低。由于该研究属于回顾性分析,且病例数较少,故仍有待进一步开展大样本前瞻性研究以明确两药配伍应用的不良反应类型及发生率。

#### 参考文献

- [1] 中国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 106.
- [2] 王付. 经方合方“十八反”配伍辨治冠心病验案举隅[J]. 中医药通报, 2023, 22(10): 6-9.
- [3] 郑安锐, 齐云, 王品发, 等. 薏苡附子败酱散加味联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎寒湿瘀结型证的临床研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(11): 2702-2704.
- [4] 任可心. 伤科灵喷雾剂联合定向药透疗法治疗带状疱疹的临床观察[J]. 首都食品与医药, 2022, 29(2): 57-58.
- [5] 朱琳, 贾超. 少林风湿跌打膏致不良反应一例[J]. 实用药物与临床, 2010, 13(6): 480.
- [6] 高源. 十八反中乌头类与瓜蒌、贝母、白蔹、白及反药组合的循证医学回顾性评价研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [7] 王鹏丽, 李筠, 范欣生, 等. 《中国药典》2015 年版一部十八反十九畏成方制剂收录情况与应用探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(1): 195-199.
- [8] 于大猛, 瞿融, 杨杰. 附子白及同方配伍规律与应用条件探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 257-260.
- [9] 翁小刚, 聂淑琴, 黄璐琦. HPLC 测“半蒺贝莖及攻乌”中乌头与其它诸药合煎前后次乌头碱的含量变化[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(1): 57-59.
- [10] 刘文龙, 宋凤瑞, 刘志强, 等. 川乌与半夏、瓜蒌、贝母、白蔹、白芨配伍禁忌的化学研究[J]. 化学学报, 2010, 68(9): 889-896.
- [11] 董欣, 王淑敏, 李晓明, 等. HPLC 测定附子与“半蒺贝莖及”各药材配伍前后 3 种双酯型生物碱的含量变化[J]. 中药材, 2011, 34(12): 1891-1894.
- [12] 许妍妍, 杜俊, 郭雪君, 等. 生川乌配伍白蔹、白及反药组合在大鼠血中移行成分的研究[J]. 现代药物与临床, 2017, 32(4): 562-566.
- [13] 罗光宇, 欧芳春, 向永臣, 等. “十八反”药物相互作用的研究——川乌反白芨的初步试验[J]. 上海中医药杂志, 1989(12): 1-3.
- [14] 张腾, 庄朋伟, 赖晓艺, 等. “半蒺贝莖及攻乌”反药配伍组合的急性毒性研究[J]. 中草药, 2013, 44(17): 2442-2445.
- [15] 赖晓艺, 庄朋伟, 卢志强, 等. “半蒺贝莖及攻乌”反药组合对制川乌镇痛作用的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(1): 32-35.
- [16] 庞坦, 李小锦, 庄朋伟. 白及与川乌配伍对大鼠卡拉胶模型血流速度和镇痛效果的影响[J]. 天津中医药大学学报, 2018, 37(1): 49-52.
- [17] 张凌, 刘长安, 李文宏, 等. 草乌与瓜蒌白及半夏配伍的急性毒性研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(11): 2616-2618.

(收稿日期: 2025-06-10; 修回日期: 2025-08-10)

# 基于数据挖掘的《甘露四部》含石榴方剂的 临床应用和配伍规律分析

萨出仁贵, 包哈申 (内蒙古医科大学蒙医药学院, 呼和浩特 010000)

**摘要:** **目的** 总结分析《甘露四部》中含石榴方剂的配伍规律, 为其临床应用与深入研究提供参考。**方法** 收集《甘露四部》中含石榴的方剂, 用 Microsoft Office 16 Excel 建立数据库, 运用频次统计、关联规则分析方法, 探讨其配伍规律和临床应用特点。**结果** 筛选出含石榴方剂 126 首, 涉及蒙药 185 味。分析得出, 该类方剂以散剂为主, 多用于痼疾与寒性胃病; 除石榴外, 用药频次排名前三位为荜茇、白豆蔻和红花; “石榴→芫荽子”“石榴→光明盐”“石榴→诃子”等药对的置信度达 100%; 治疗痼疾和寒性胃病的核心药物组合分别为“石榴、肉桂、白豆蔻、荜茇”“石榴、白豆蔻、荜茇、红花”。**结论** 《甘露四部》含石榴的方剂配伍灵活, 石榴常与祛巴达干药、镇赫依药、调补胃火药配伍使用, 广泛用于治疗痼疾、胃病、巴达干病及宝如病等。

**关键词:** 《甘露四部》; 石榴; 蒙药; 临床应用; 配伍规律

中图分类号: R283

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-295-06

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.043

## Combination patterns of *Punica granatum*-containing formulas in *Ganlu Sibü* based on data mining analysis

Sachurengui, BAO Hashen\* (College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010000)

**Abstract: Objective** To summarize the compatibility patterns of *Punica granatum*-containing formulas in *Ganlu Sibü*, and provide a reference for their clinical application. **Methods** *Punica granatum*-containing formulas were collected from *Ganlu Sibü*. A database was established with Microsoft Office 16 Excel. Frequency statistics and association rules were analyzed to determine the herb combination patterns and characteristics of clinical application. **Results** Totally 126 *Punica granatum*-containing formulas involving 185 distinct Mongolian medicinal materials were collected. These prescriptions were mostly powders, which were frequently used for chronic diseases and cold-natured gastric disorders. The most frequently used herbs, besides *Punica granatum*, included *Piper longum*, *Amomum kravanh*, and *Carthamus tinctorius*. Several herb pairs, such as *Punica granatum* → *Coriandrum sativum* Seeds, *Punica granatum* → *Halite*, and *Punica granatum* → *Terminalia chebula* achieved a confidence level of 100%. The core drug combination for chronic diseases included *Punica granatum*, *Cinnamomum cassia*, *Amomum kravanh*, *Piper longum*, while for cold-natured gastric diseases, it was *Punica granatum*, *Amomum kravanh*, *Piper longum*, *Carthamus tinctorius*. **Conclusion** The core feature of *Punica granatum*-containing formulas in *Ganlu Sibü* is flexibility. *Punica granatum* is strategically combined with herbs that resolve Badgan, suppress Heyi, and regulate stomach fire. This flexibility allows treatment for disorders, such as chronic diseases, gastric diseases, Badgan disorders, and Baoru disease.

**Key words:** *Ganlu Sibü*; *Punica granatum*; Mongolian medicine; clinical application; combination pattern

基金项目: 内蒙古自治区重点研发和成果转化项目 (No.2025YFDZ0138)。

作者简介: 萨出仁贵, 女, 博士研究生, 主要从事蒙医药方面的研究, email: 1154201593@qq.com \*通信作者: 包哈申, 女, 教授, 主要从事蒙医药方面的研究, email: 494061766@qq.com



石榴，蒙古文名音译“阿纳尔”，为石榴科植物石榴（*Punica granatum* L.）的果实或种子<sup>[1]</sup>，其药用部位在不同医药体系中有所不同：《藏药标准》<sup>[2]</sup>以干燥种子入药，而蒙医学则多用成熟果实（即全石榴）<sup>[3]</sup>。石榴味酸、甘，性热，具有助胃火、消食、止泻功能，为蒙医治疗巴达干病的重要药物。作为药食同源药材<sup>[4]</sup>，石榴在医疗与保健领域均具有重要价值。现代研究表明，其具有降血糖、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤及抗菌等作用<sup>[5]</sup>。另有研究发现，石榴皮提取物可通过抗炎与抗氧化活性改善溃疡性结肠炎<sup>[6]</sup>。

《甘露四部》<sup>[7]</sup>是蒙医学三大经典著作之一，是涵盖了基础理论、临床、疗术、方剂的综合性典籍。书中记载了内科、外科、妇科、儿科、脏腑疾病、五官科、温病以及各种零星杂症的治疗方法，详细记录了多种方剂的配伍与应用。该书中列举了多种石榴剂，因配伍不同而能治疗不同的疾病。本研究旨在梳理《甘露四部》所载含石榴方剂，进行用药频次和关联规则分析，挖掘蒙医石榴剂配伍及用药规律，以期石榴现代化研究与临床应用提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源

收集《甘露四部》中含石榴的方剂，用 Microsoft Office Excel 2016 软件建立数据库。

1.2 数据处理

方剂的名称、组成、分类、剂型等参考《中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册》<sup>[8]</sup>、《蒙医方剂学》<sup>[9]</sup>、《蒙古学百科全书·医学》<sup>[10]</sup>。其中未命名方剂如有基础方相同而加味药不同情况，则命名为基础方名称+加味药（*n*）（文中记载顺序），除上述情况则按照主药进行命名。此外，加减方进行拆分处理，如胃赫依证给予石榴、白豆蔻、荜茇，若热偏盛加味红花，若寒偏盛加味阿魏；按拆分规则计为 2 首，即石榴、白豆蔻、荜茇、红花等组成的方剂，石榴、白豆蔻、荜茇、阿魏等组成的方剂。

药名、药性、药味及药效规范：参考《中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册》《蒙医学蒙汉名词术语词典》<sup>[11]</sup>、《中国蒙药名词规范》<sup>[12]</sup>、《中华本草·蒙药卷》<sup>[3]</sup>等进行规范。① 蒙药别名或俗称统一规范为标准名称，如“干姜”又叫“姜”，规范为“干姜”；② 去除蒙药的加工或炮制方法：如制草乌、制朱砂、制寒水石等，分别统一为原药材名草乌、朱砂、寒水石；③ 拆分合写药物：如“六良药”拆分为肉豆蔻、白豆蔻、红花、笏黄、草果、丁香；④ 对于单味蒙药兼具多味及多效能的情况，

以第一记载为准，如玫瑰花味甘、微苦，效能钝、软、腻、重，最终规范为玫瑰花味甘、效能钝。

使用 Microsoft Office Excel 2016 软件对方剂类型、剂型、用药频次、药物类型、性味、药效进行频次统计分析。对高频药物（*n* ≥ 20）和常见主治疾病的用药规律，分别使用 SPSS Modeler 18.0、中医传承辅助平台 V3.5 进行关联规则分析。

2 结果

2.1 治疗疾病类型

经筛选，本研究共纳入 126 首含石榴方剂，其中以石榴为君药的方剂 54 首，所涉疾病范围广泛，涵盖儿科、妇科、脏腑、咽喉、基础证候以及传染病（如天花）等多个门类。从疾病分布来看，治疗频次最高的为痢疾（共 32 首，占比 25.4%），主要包括痞、水肿及未消化类病证；其次为寒性胃病（19 首，占比 15.1%）与宝如病（12 首，占比 9.5%）（见表 1）。

表 1 含石榴方剂治疗疾病类型  
Tab 1 Therapeutic applications of *Punica granatum* formulations

| 序号 | 疾病类型             | 方剂数量（占比/%） |
|----|------------------|------------|
| 1  | 痢疾（痞、水肿、未消化）     | 32 (25.4)  |
| 2  | 寒性胃病             | 19 (15.1)  |
| 3  | 宝如病              | 12 (9.5)   |
| 4  | 寒热相搏证            | 8 (6.3)    |
| 5  | 巴达干证             | 8 (6.3)    |
| 6  | 儿科疾病（婴儿腹泻、乳食不消化） | 7 (5.6)    |
| 7  | 寒性希拉证            | 6 (4.8)    |
| 8  | 热证（隐伏热）          | 6 (4.8)    |
| 9  | 赫依证              | 5 (4.0)    |
| 10 | 塞性肾病             | 4 (3.2)    |
| 11 | 肺病               | 3 (2.4)    |
| 12 | 小肠病              | 3 (2.4)    |
| 13 | 大肠病              | 2 (1.6)    |
| 14 | 呕吐               | 2 (1.6)    |
| 15 | 咽喉病              | 2 (1.6)    |
| 16 | 毒证               | 2 (1.6)    |
| 17 | 肝赫依病             | 2 (1.6)    |
| 18 | 虫病               | 1 (0.8)    |
| 19 | 妇科疾病（白带量多）       | 1 (0.8)    |
| 20 | 天花               | 1 (0.8)    |

2.2 剂型与常用方剂分析

在纳入分析的 126 首含石榴方剂中，共涉及散剂、丸剂、汤剂与灰剂 4 种剂型。其中散剂为核心剂型（119 首），其次依次为丸剂（5 首）、汤剂（1 首）及灰剂（1 首）。在具体应用方面，丸剂用于宝如病、热证、巴达干证及肺病；汤剂与灰剂则分别用于治疗宝如病与胃病。

进一步统计发现，共有 14 首方剂为现代蒙

医临床所常用（见表 2），其主治病证与用法用量均详载于《蒙医方剂学》《蒙医常用经典方剂》<sup>[13]</sup>

等现代著作中，弥补了《甘露四部》原书未记载具体用量的缺憾。

表 2 现代蒙医临床常用含石榴方剂

Tab 2 Commonly used *Punica granatum* formulations in modern Mongolian medicine

| 文献         | 方名       | 组成          | 主治病证       | 用法用量                      |
|------------|----------|-------------|------------|---------------------------|
| 《蒙医方剂学》    | 沉香三十五味散  | 黑沉香、红花、石榴等  | 赫依证        | 每日 1～2 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
| 《蒙医常用经典方剂》 | 金色诃子五味散  | 诃子、石榴、旋覆花等  | 寒性希拉证      | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 黑冰片十味散   | 石榴、肉桂、白豆蔻等  | 寒性希拉证      | 每日 2～3 次，每次 2.0～3 g，温开水送服 |
|            | 石榴莲花八味散  | 石榴、肉桂、白豆蔻等  | 寒性希拉证      | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 安康石榴十七味散 | 寒水石、竺黄、石榴等  | 巴达干证       | 每日 1～2 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 寒水石六味散   | 寒水石、土木香、石榴等 | 巴达干证       | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 石榴四味散    | 石榴、肉桂、荜茇等   | 巴达干证       | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 宝如石榴八味散  | 石榴、肉桂、白豆蔻等  | 宝如病        | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 寒水石二十五味散 | 寒水石、红花、石榴等  | 宝如病        | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 大汤剂      | 红花、诃子、石榴等   | 宝如病        | 每日 2～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 槟榔七味散    | 槟榔、白硼砂、高良姜等 | 寒性肾病       | 每日 1～2 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 葡萄七味散    | 葡萄、竺黄、石榴等   | 肺病（止咳、平喘）  | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 石榴十三味散   | 石榴、白豆蔻、紫硼砂等 | 大肠病（腹胀、肠鸣） | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |
|            | 塔黄二十五味散  | 塔黄、铁屑、石榴等   | 水肿         | 每日 1～3 次，每次 1.5～3 g，温开水送服 |

## 2.3 蒙药频次分析

含石榴的 126 首方剂包含蒙药 185 味，以每味药出现的次数记为用药频次，总频次达 1538 次，频次≥20 的蒙药有 18 味，总频次达 777 次。其中除石榴外，使用频次最高的单味药为荜茇（86 次，68.25%）、其次为白豆蔻（82 次，65.08%），再次为红花（64 次，50.79%），见图 1。

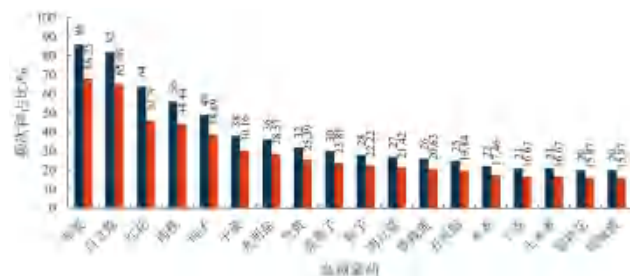


图 1 高频蒙药柱形图

Fig 1 High-frequency Mongolian medicine

## 2.4 蒙药归类分析

185 味药中涉及蒙药归类 18 种。其中参考书籍中未记载，从而未能明确蒙药归类的有 4 种（其他）。最高的是清热类蒙药（43 味），其次是祛巴达干类药（30 味），再次为清希拉类药（15 味），见图 2。

## 2.5 药味药性及效能分析

185 味蒙药的药味主要以甘味（43 味，23.24%）、苦味（57 味，30.81%）、辛味（42 味，22.70%）；药性以温性（67 味，36.22%）、凉性（57 味，30.81%）、平性（27 味，14.59%）。效能主要以钝（41 味，22.16%）、糙（15 味，8.11%）、轻（15 味，8.11%）为主。

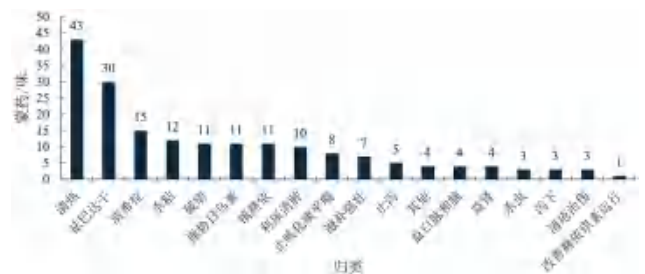


图 2 蒙药归类柱形图

Fig 2 Mongolian medicine classification

## 2.6 基于关联规则的组方规律分析

将使用频次≥20 的高频蒙药进行关联规则分析。设置其最小置信度为 0.9，最小支持度为 0.2。在上述条件下挖掘蒙药潜在常用组合，共得出 29 条关联规则。包括石榴→荜茇子、石榴→光明盐、石榴→诃子等 13 对两味药对组合以及“光明盐、荜茇”→石榴、“荜茇、白豆蔻”→石榴、“肉桂、荜茇”→石榴等 16 对三味药对，见表 3 和图 3。

## 2.7 含石榴方剂常见主治疾病的用药规律分析

从表 1 选取频次最高的痢疾和寒性胃病两类疾病进行用药规律分析。主治痢疾方剂共 32 首，包含蒙药 91 味，支持度分别设置为 30%、40%、50%，置信度为 0.9，生成药物组合网络图（见图 4）；主治寒性胃病方剂共 19 首，包含蒙药 41 味，支持度分别设置为 10%、20%、30%，置信度为 0.9，生成药物组合网络图（见图 5）。结果显示，含石榴方剂治疗痢疾的核心组合（支持度 50%）为石榴、荜茇、白豆蔻、红花；治疗寒性胃病的核心组合（支持度 30%）为石榴、肉桂、白豆蔻、荜茇。





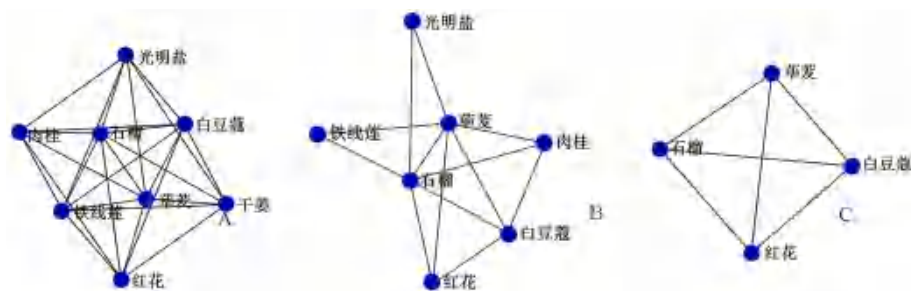


图 4 主治痼疾常用药物组合网络图

Fig 4 Network diagram of commonly used drug combinations for treating chronic diseases

A. 支持度 30% (approval rating 30%); B. 支持度 40% (approval rating 40%); C. 支持度 50% (approval rating 50%)

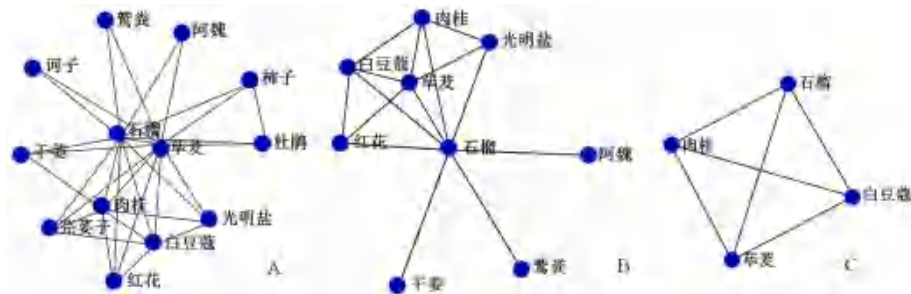


图 5 主治寒性胃病常用药物组合网络图

Fig 5 Network diagram of commonly used drug combinations for treating cold-natured gastric diseases

A. 支持度 10% (approval rating 10%); B. 支持度 20% (approval rating 20%); C. 支持度 30% (approval rating 30%)

往严格遵循“性味-化味-功效”基本规律<sup>[21]</sup>,使相关药味组合出现的条件概率极高,表现出极强的关联性与内在逻辑,即置信度高。此外,蒙医所用药物种类繁多,而单张处方所含药味数量有限,这种数据结构进一步促使了此类“低频但高效”组合的出现。因此,这些低支持度、高置信度的规则,恰恰可能反映出蒙医辨证配伍特点,具有重要的临床参考价值与理论挖掘意义。

主治疾病用药规律分析显示,两种病证在配伍方面呈现出一定的共性与差异。痼疾是指某种病症长期不愈所致的顽症,如痞、水肿及未消化等<sup>[22]</sup>。在治疗中,支持度 50% 的四味核心药物组合为蒙医常用方剂清浊五味丸的主要配伍,具有促进清浊生华、清除巴达干黏滞、疏通脉道功效。支持度 40%、30% 的药物组合中,铁线莲具有破痞、消肿、燥协日乌素及调胃火功效。寒性胃病支持度 30% 的四味药物为石榴四味散(蒙医常用胃病方剂)。而在支持度 20%、10% 的药物组合中,出现薏苡、干姜、光明盐、阿魏等药物,这些均具有助消化、开胃、调胃火功效。综上,尽管两类疾病均以石榴、薏苡、白豆蔻等助胃火药物为基础药方,但其具体配伍却因证而异。

石榴作为蒙医与中医共用药材,其“同药异治”的应用特点体现了两种医学体系在理论指导与临床实践中的差异与互补。在中医学中,主要

药用部位为石榴皮,其性温,味酸涩,具有涩肠止泻、止血、驱虫等功效,临床常配伍山楂、薏苡仁以疗泄泻、痢疾,与甘草同用可用于治疗痤疮及皮肤光损伤等<sup>[23-26]</sup>。相比之下,蒙医则以石榴全果入药,强调温中散寒、调补胃火功效,应用于巴达干寒性疾病。这一差异源于蒙医“三根平衡”与中医“脏腑辨证”的不同理论框架。基于此,围绕石榴的研究与实践,可通过深化蒙医与中医的理论对话、开展临床协作与联合科研等多维路径,进一步拓展其临床应用范围,推动其在更精准、个性化的医疗实践中发挥协同价值。

现代化学成分和药理学研究为《甘露四部》石榴制剂的临床应用提供了科学依据。研究表明,石榴皮富含多种酚类成分,尤其以鞣花酸(EA)为代表的活性物质,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、神经保护、抗病毒和抗菌作用<sup>[27]</sup>,在多种疾病的防治中展现出潜在价值。在代谢性疾病方面,石榴提取物可通过改善氧化应激和炎症反应调节糖脂代谢,从而对 2 型糖尿病发挥治疗作用<sup>[28-29]</sup>。在蒙医学理论中,2 型糖尿病归属于“未消化”范畴<sup>[30]</sup>,其病机与“精华未消化”密切相关,而“未消化”正是含石榴方剂的常见适应证。在消化系统疾病方面,李建良等<sup>[31]</sup>报道,石榴在治疗功能性胃肠病过程中涉及多种神经递质传递的调节,为阐释石榴“助胃火”治疗功能性胃肠炎的作用

用机制提供了新视角。此外,孙泽敏等<sup>[32]</sup>的研究表明,石榴皮醇提物能够有效抑制胃癌 SCG-7901 细胞增殖,其作用机制与干扰细胞 G<sub>1</sub> 期向 S 期转化相关。尽管上述研究从现代药理学角度为石榴的传统应用提供了一定支持,但目前针对成方制剂在代谢性与消化系统疾病方面的专门研究仍相对匮乏,作用机制尚未系统阐明。进一步开展深入探索,将有助于石榴制剂的研发与临床应用。

#### 4 总结与展望

本研究通过对《甘露四部》中 126 首含石榴方剂的数据挖掘,系统阐释了石榴在蒙医药中的配伍规律与临床应用特点。石榴作为核心药,基于蒙医“配伍协同”理论,通过与多味药物的协同作用,以“调补胃火”为核心机制,在巴达干病的治疗中发挥主导作用。关联分析进一步从数据层面揭示了其常用药对与核心组合,为临床精准用药与个性化治疗提供了理论依据与实践参考,也为传统医学的现代化研究提供了有益参考。未来研究应整合多源古籍文献与现代临床数据,并深入开展石榴及其复方的作用机制研究,以夯实其现代开发与临床应用的科学基础。

#### 参考文献

- [1] 代涛,陈晓芳,李光燕,等.石榴名-性-效-制考证[J].中国野生植物资源,2024,43(6):107-112.
- [2] 西藏卫生局,青海卫生局,甘肃卫生局,等.《藏药标准》[M].西宁:青海人民出版社,1979:27.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会.中华本草·蒙药卷[M].上海:上海科学技术出版社,2004:154.
- [4] 白颖慧,鲁碧楠,庞宗然.5 种药食同源维药防治 2 型糖尿病研究进展[J].天津中医药大学学报,2016,35(6):428-432.
- [5] 张晶,李论,张梅,等.石榴化学成分及药理活性研究进展[J].中国药科大学学报,2023,54(4):421-430.
- [6] 鹿欣雨,高敏,李海燕,等.石榴皮提取物通过抑制炎症和氧化应激改善小鼠结肠炎[J].山西医科大学学报,2024,55(1):50-56.
- [7] 伊希巴拉珠尔.甘露四部[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社,2015:133-632.
- [8] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册[S].上海:上海科学技术出版社,1992:1-202.
- [9] 巴根那.蒙医方剂学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2007:83,109-110.
- [10] 蒙古学百科全书编辑委员会.蒙古学百科全书·医学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2012:247.
- [11] 乌仁图雅.蒙医学蒙汉名词术语词典[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2011:11-390.
- [12] 色仁那木吉拉.中国蒙药名词规范[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2016:1-357.
- [13] 乌力吉,高敬贤.蒙医常用经典方剂[M].赤峰:内蒙古科学技术出版社,2021:68.
- [14] 晓花,朱翔慧,纪明月,等.“巴沙嘎”类药在内蒙古地区复方制剂中的应用调查[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(3):190-198.
- [15] 崔竞文,张少乾,刘苏瑾,等.蒙医常用 524 首方剂处方的用药规律[J].世界中医药,2022,17(11):1633-1639.
- [16] 春艳,布图雅,陶力,等.基于关联规则和熵聚类分析蒙医治疗胃宝如病方剂用药规律[J].疾病监测与控制,2020,14(1):5-9.
- [17] 宇妥·元丹贡布.四部医典[M].北京:人民卫生出版社,1983:101.
- [18] 巴·吉格木德.蒙医基础理论[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2011:64.
- [19] 张爱弟,其格沁,韩志强.蒙成药那如-3 味丸方源考证及现代研究进展[J].中国民族医药杂志,2024,30(1):51-56.
- [20] 包秀芳,呼日乐巴根,戴丽丽,等.红花在蒙药应用中的研究进展[J].中国药事,2024,38(8):945-960.
- [21] 吉小平,阿丽沙,于红珍,等.蒙药方剂配伍研究概况[J].中国民族民间医药,2021,30(2):55-58.
- [22] 策·苏荣扎布,其仁旺其格.蒙医内科学[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,2011:109.
- [23] 戴恒.基于数据挖掘的单兆伟教授治疗泄泻病经验研究[D].南京:南京中医药大学,2024.
- [24] 陈泽锴,苏佳雯,周易,等.石榴皮治疗溃疡性结肠炎的临床应用及研究进展[J].中西医结合研究,2025,17(6):413-417.
- [25] 邱泉源.石榴皮配伍山楂抗溃疡性结肠炎的作用及机制[D].天津:天津科技大学,2024.
- [26] 魏露,吴淑辉,张曦,等.石榴皮活性成分治疗痤疮作用机制的网络药理学预测及实验研究[J].世界科学技术-中医药现代化,2021,23(4):1129-1136.
- [27] Xiang QW, Li MF, Wen JY, et al. The bioactivity and applications of pomegranate peel extract: a review[J]. J Food Biochem, 2022, 46(7): e14105.
- [28] Okumu E, Bakkalba E. Determination of the bioaccessibility and antidiabetic properties of pomegranate peels[J]. J Food Meas Charact, 2021, 15: 3357-3366.
- [29] Hou C, Zhang WM, Li JK, et al. Front cover: beneficial effects of pomegranate on lipid metabolism in metabolic disorders[J]. Mol Nutr Food Res, 2019, 63(16): e1800773.
- [30] 刘墨翔,杜晓鹏,肖志彬,等.蒙药在糖尿病治疗中的研究进展[J].内蒙古医科大学学报,2024,46(2):204-209.
- [31] 李建良,王朝鲁,蔡淑珍,等.基于网络药理学探讨全石榴“助胃火”治疗功能性胃肠病的作用机制[J].中成药,2019,41(9):2240-2245.
- [32] 孙泽敏,徐先林,欧刚卫.石榴皮醇提物对胃癌 SCG-7901 细胞增殖的影响[J].现代医药卫生,2015,31(6):826-828.

(收稿日期:2025-09-25;修回日期:2026-01-08)

## 本草考证

## 经典名方中射干的本草考证

王嫚<sup>1</sup>, 赵法政<sup>3</sup>, 佟欣<sup>1, 2\*</sup> (1. 黑龙江中医药大学基础医学院, 哈尔滨 150040; 2. 浙江中医药大学人文与管理学院, 杭州 310053; 3. 浙江中医药大学浙江中医药文化研究院, 杭州 310053)

**摘要:** 通过查阅历代本草、医籍, 结合现代研究, 对射干 [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.] 的名称、基原、药用部位、采收时间、产地品质及性味归经功效主治的历史沿革进行系统梳理与考证, 为含射干的经典名方开发提供依据。射干药名首载于《神农本草经》, 并作为正名沿用至今。明清及以前射干基原曾与鸢尾科植物野鸢尾、鸢尾混淆, 现明确为鸢尾科植物射干的干燥根茎。射干苦寒, 归肺经, 其药性经历从“微温”至“寒”的转变, 可清热解毒、消痰、利咽, 用于热毒痰火郁结、咽喉肿痛、痰涎壅盛、咳嗽气喘。基于考证结果并依据 2025 年版《中国药典》, 建议开发经典名方射干麻黄汤时, 选用湖北产区的鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎, 单次用量建议 10.35 g, 除去杂质, 洗净润透切薄片干燥后入药。

**关键词:** 经典名方; 射干; 本草考证; 基原; 射干麻黄汤

中图分类号: R282, R283 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981(2026)05-301-08

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.044

## Herbal textual research on classic formula Shegan

WANG Man<sup>1</sup>, ZHAO Fazheng<sup>3</sup>, TONG Xin<sup>1, 2\*</sup> (1. School of Basic Medical Sciences, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040; 2. School of Humanities and Management, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053; 3. Zhejiang Institute of Chinese Medicine Culture, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053)

**Abstract:** By conducting herbal textual research on ancient materia medica and literature, combined with modern research, we reviewed the historical evolution of Shegan [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.] from multiple perspectives, including its name, botanical origin, medicinal parts, harvest time, producing regions, quality evaluation, and clinical applications. The medicinal name Shegan [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.] was first recorded in *Shennong's Herbal Classic* and its official name has been used ever since. Before the Ming and Qing dynasties, the botanical origin of Shegan was confused with *Iris dichotoma* Pall. and *Iris tectorum* Maxim., and its origin is now defined as the dried rhizome of *Belamcanda chinensis* (L.) DC.. Shegan is bitter and cold in nature, and enters the lung meridian, with its recorded property evolving from “slightly warm” to “cold”. Its functions include clearing heat and toxins, resolving phlegm, and soothing the throat. It is clinically used for syndromes such as heat-toxin and phlegm-fire stagnation, sore and swollen throat, excessive phlegm accumulation, cough and asthma. Based on textual research and the *Chinese Pharmacopoeia*, the dried rhizomes of *Belamcanda chinensis* (L.) DC. from Hubei are recommended for the classical formula Shegan Mahuangtang. The recommended single dose is 10.35 g. The recommended processing involves cleaning, moistening, slicing, and drying.

**Key words:** classic formula; *Belamcanda chinensis* (L.) DC.; herbal textual research; botanical origin; Shegan Mahuangtang

**基金项目:** 浙江省哲学社会科学规划领军人才培养专项课题 (No.25QNYC014ZD); 浙江文化研究工程重大项目 (No.23WH27ZD); 浙江省浙江中医药大学研究基地课题 (No.2024ZTYB03)。

**作者简介:** 王嫚, 女, 硕士研究生, 主要从事中医药文化与文献研究, email: wm020103@163.com \*通信作者: 佟欣, 女, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中医医政医派的相关研究, email: vfriend80@163.com



射干属多年生草本植物，味苦，性寒，归肺经，可清热解毒、消痰利咽，用于热毒痰火郁结、咽喉肿痛、痰涎壅盛、咳嗽气喘。2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup> 规定其为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎，春初刚发芽或秋末茎叶枯萎时采挖，除去须根泥沙后干燥。

2023 年公布的《古代经典名方目录（第二批）》收录《金匱要略》中“射干麻黄汤”1 首，治疗“咳而上气，喉中水鸡声”。

当前研究多聚焦射干药理及化学成分，种质资源系统考证则较为匮乏。2018 年《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》要求，经典名方开发需考证药物基原、剂量等关键信息，以还原原方药效。本文通过梳理历代本草和近现代研究，考证射干的名称、基原、药用部位等历史变迁，为其科学开发利用提供参考。

1 名称考证

“射干”一词始见于战国《荀子》<sup>[2]</sup>，其作为药名使用首载于《神农本草经》<sup>[3]</sup>，并作为正名沿用至今。其别名甚多，历代本草又称乌扇、乌翼、草姜等，主要依据植物形态、颜色或药用部位命名。如因叶形似扇而称“乌扇”，因根茎形态称“草姜”，因花色而称“黄远”等。

此外，射干读音历经演变。《荀子》<sup>[2]</sup> 曰：射（音 yè）干；《本草名考》<sup>[4]</sup> 载：“射读 yè，作名词，指射人、仆射，官名”；《本草经集注》<sup>[5]</sup>、《重修政和经史证类备用本草》<sup>[6]</sup> 均作“夜音”。宋以后，随着“仆射（音 yè）”官名废止，yè 成为孤僻读音，最终归一为 shè。现代 2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>、《中华本草》<sup>[7]</sup> 均规范为“Shègan”。

射干历代别名见表 1。

2 基原考证

射干形态记载首见于《荀子》<sup>[2]</sup>：“茎长四寸”，《四部文明秦汉文明卷》<sup>[23]</sup> 中汇编的汉末《易通卦验》记载“冬至射干生”，提示射干于冬至时节开始生长。南朝的《本草经集注》<sup>[5]</sup> 载射干即乌翼根，“相似而花白茎长，似射人之执竿者”，此表述将射干与野鸢尾（白花射干）混淆。唐代《新修本草》（辑复本）<sup>[24]</sup> 指出射干“花红，抽茎长”，鸢尾“花紫碧”。《蜀本草》<sup>[25]</sup> 转引《图经》描述射干：“高二三尺，花黄实黑，根多须，皮黄黑，肉黄赤”。《本草拾遗》<sup>[10]</sup> 载：“射干叶如鸟翅，秋生红花，赤点。鸢尾……苗低于射干，夏生紫碧花”。宋代《本草图经》<sup>[26]</sup> 详载射干形态：“叶似蛮姜，而狭长横张，疏如翅羽……六月开花，黄红花色，瓣上有细纹；秋结实作房，中子黑色；根多须，皮黄黑，肉黄赤”，所附药图（见图 1B）与今日射干 *Belamcanda*

| 表 1 射干历代别名记载                                  |                               |                                       |
|-----------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|
| Tab 1 Records of historical aliases of Shegan |                               |                                       |
| 朝代                                            | 出处                            | 名称                                    |
| 魏                                             | 《吴普本草》 <sup>[8]</sup>         | 黄远                                    |
| 南朝                                            | 《本草经集注》 <sup>[5]</sup>        | 夜干                                    |
| 东汉                                            | 《神农本草经》 <sup>[3]</sup>        | 乌扇、乌蒲                                 |
| 汉末                                            | 《名医别录》 <sup>[9]</sup>         | 乌翼、乌吹、草姜                              |
| 唐                                             | 《本草拾遗》 <sup>[10]</sup> 辑释     | 凤翼                                    |
| 明                                             | 《本草纲目》 <sup>[11]</sup>        | 野萱花、扁竹、鬼扇、紫金牛                         |
| 明                                             | 《新刊药性要略大全》 <sup>[12]</sup>    | 乌扇                                    |
| 清                                             | 《本草备要》 <sup>[13]</sup>        | 扁竹花根、乌扇、乌翼                            |
| 清                                             | 《医林纂要探源》 <sup>[14]</sup>      | 扁竹、乌翼                                 |
| 现代                                            | 《中国药材学》上册 <sup>[15]</sup>     | 扁竹、山蒲扇、黄姜、铁扁担、蝴蝶花、开喉剑、老鸦扇、较剪草、马虎扇子、蒿蒿 |
| 现代                                            | 《分类草药性》 <sup>[16]</sup>       | 开喉箭、黄知母                               |
| 现代                                            | 《湖北建始民族药用植物志》 <sup>[17]</sup> | 寸干、乌扇                                 |
| 现代                                            | 《南京民间药草》 <sup>[18]</sup>      | 冷水丹、冷水花                               |
| 现代                                            | 《浙江中药手册》第二集 <sup>[19]</sup>   | 金蝴蝶、金绞剪                               |
| 现代                                            | 《江苏中药志》 <sup>[20]</sup>       | 紫良姜、铁扁担                               |
| 现代                                            | 《中药志》第 1 册 <sup>[21]</sup>    | 剪刀草、玉燕鬼子扇、寸干老鸦扇、偏竹梁                   |
| 现代                                            | 《湖南药物志》 <sup>[22]</sup>       | 老君扇、高搜山、凤凰草、一扇风、上山虎、两面子               |

*chinensis* (L.) DC. 形态高度吻合。元明时期鸢尾（川射干）、射干、野鸢尾则被混为一谈，射干被认为“花开四种，紫白红黄<sup>[27]</sup>”。至清朝《植物名实图考》<sup>[28]</sup> 区分三者，指出射干“花黄实黑”，白花射干“白花有黄点，似蝴蝶花而小，叶光滑粉披”，鸢尾“花紫碧色，根似高良姜，三月开花”，纠正前代混淆。

近现代射干基原逐步统一。《中国药物标本图影》<sup>[29]</sup> 收录其完整形态资料。《中药材手册》<sup>[30]</sup> 指出鸢尾及白花射干均为射干伪品。1990 年版《中国药典》<sup>[31]</sup> 首次规定射干为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC.，2005 年版《中国药典》<sup>[32]</sup> 将射干与川射干分别立项，从国家标准层面解决长期混淆。

综上，射干基原历经从混用到分明的过程，唐宋至明代多与鸢尾、野鸢尾混淆，清代完成系统区分，2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup> 确立其基原为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC.。

3 药用部位及采收加工考证

射干历代均以根茎入药，采收时间则略有差异。《神农本草经》<sup>[3]</sup> 载“三月三日采根，阴干”。《蜀本草》<sup>[25]</sup> 云：“二月、八月采根，去皮日干”。《日华子本草》<sup>[33]</sup> 提出“五六月八月采”，推测混杂部分成熟期稍早的近缘植物。明代《本草品汇精要》<sup>[34]</sup>、《本草纲目》<sup>[11]</sup> 等延续传统，采收期为



图 1 历代本草所附射干

Fig 1 Shegan used in traditional Chinese herbal medicine

A. 陈凤梧刻本《重修政和经史证类备用本草》(Chen Fengwu block-printed edition of the *Chongxiu Zhenghe Jingshi Zhenglei Beiyong Bencao*); B. 尚志钧辑校本《本草图经》(晦明轩本《重修政和经史证类备用本草》所附)(Shang Zhijun's critical edition of *Bencao Tujing*, appendix to the Hui Ming Xuan edition of *Chongxiu Zhenghe Jingshi Zhenglei Beiyong Bencao*); C.《本草蒙筌》(*Enlightening Primer of Materia Medica*); D.《本草原始》(*Original Materia Medica*); E.《本草便读》(*Bencao Biandu*); F.《本草备要》(*Essentials of Materia Medica*); G.《植物名实图考》(*Zhiwu Mingshi Tukao*); H.《中国药物标本图影》(*Pictures of Chinese Drug Specimens*); I.《中华本草》(*Chinese Materia Medica*); J.《湖南药物志》(*Annals of Hunan Pharmaceutics*)

二、三、八月。《药性会元》<sup>[35]</sup>载：“取三寸与生姜同煎”，明确具体使用方式。

现代采收加工及药用部位已获规范。《中药材商品规格质量鉴别》<sup>[36]</sup>、《中药材手册》<sup>[30]</sup>等均明确春秋采挖。2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>规定“春初刚发芽或秋末茎叶枯萎时采挖，除去须根及泥沙，干燥”，从国家标准层面统一要求。

综上，射干入药部位为根茎，采收以三月三为主，亦有二月及八月采收记载。现代明确为春初刚发芽或秋末茎叶枯萎时采挖，除去须根泥沙后干燥。

#### 4 生境产地及历代品质考证

《荀子》<sup>[2]</sup>曰“生于高山之上，临百仞之渊。”《神农本草经》<sup>[3]</sup>云：“生川谷”，均未明言具体产地。《史记》<sup>[37]</sup>载“楚国云梦地区产射干”。《名医别录》<sup>[9]</sup>首次明确“生南阳田野”，并于唐宋时期广泛沿用。宋代以后种植趋于普及，《本草图经》<sup>[26]</sup>载：“在处有之。人家庭院间亦多种植”，附滁州射干图暗示滁州为道地产区。明清时期扩展至江南湖广一带，并明确道地产区，《本草汇言》<sup>[38]</sup>、《本草纲目》<sup>[11]</sup>均载生江南湖广地区，《本草品汇精要》<sup>[34]</sup>载“【道地】滁州”。《炮炙大法》<sup>[39]</sup>载“不辣者良”。

近现代认为湖北产区是道地产区，习称汉射干<sup>[40]</sup>，以粗壮、质硬、断面色黄者为佳<sup>[36]</sup>，然河南、安徽等产区射干亦为合格药材，可入药使

用。不同产地对射干的成分影响显著，湖南、湖北的抗炎有效成分含量较高，安徽、湖北的止咳成分含量突出<sup>[41]</sup>。

综上，射干产地经历由南阳向江南、湖广等地的历史扩张，传统以滁州为道地产区，现代以湖北为道地产区，以肥壮、断面色黄、质坚者为佳。

#### 5 炮制考证

射干的炮制以米泔水浸法最常见，首载于《雷公炮炙论》<sup>[42]</sup>：“先以米泔水浸一宿，漉出，然后用莖竹叶煮，从午到亥，漉出，日干用之”。明代《医学入门》<sup>[43]</sup>简化为“米泔浸一宿，日干”。至清代《本草易读》<sup>[44]</sup>、《炮炙全书》<sup>[45]</sup>又回归古法。

炒法首见于宋代《伤寒总病论》<sup>[46]</sup>，虽表述为“煎”，但本质是用高温炒制改变药性。清代出现多种炒法，《本草求真》<sup>[47]</sup>载“泔浸煮熟，炒用”，《王氏医案绎注》<sup>[48]</sup>用姜炒调其药性，《类证治裁》<sup>[49]</sup>用“酒炒黑”助发散。

修治方面，汉代《华佗神方》<sup>[50]</sup>已有“捣末”记载，宋代至明清见“切”“锉”“捣散”“研末”等法<sup>[51-54]</sup>，以利成分溶出。明代《寿世保元》载醋制法用于丸剂制备<sup>[55]</sup>。

现代炮制趋于统一，2025 年版《中国药典》规定：“除去杂质，洗净，润透，切薄片，干燥”<sup>[1]</sup>。研究表明莖竹叶炮制后射干中射干苷及野鸢尾苷含量较生品射干减少 50% 左右<sup>[56-57]</sup>。米泔水炮制后射干可提高肠道内有益菌丰度，改善



脾胃功能,并抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA),增强抗炎作用<sup>[58-59]</sup>。

综上,射干炮制历代多使用米泔水浸、菖竹叶煮,还出现多种炒法及修治法。现代采取润透后切制,但传统方法具备减毒增效作用。历代医籍所载射干麻黄汤原方均未注射干炮制方法<sup>[60]</sup>,按汉代用药习惯,多直接使用生品入药,建议遵循 2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>炮制方法,即除去杂质,洗净,润透,切薄片,干燥。

## 6 性味归经功效毒性禁忌考证

### 6.1 性味考证

射干的性味记载呈现“苦微温”至“苦寒”的历史演变特征。《神农本草经》<sup>[3]</sup>载“味苦,平”,《名医别录》<sup>[9]</sup>增加“微温”,唐宋元医籍转引此说,形成“味苦,平,微温”的主流记载。元代《珍珠囊补遗药性赋》<sup>[61]</sup>虽记载“微温”,目录却归入寒性药,说明当时医家已察觉其功效禁忌与药性相悖,为后世药性转折埋下伏笔。明代《滇南本草》<sup>[62]</sup>首次提出性“微寒”,并增补“辛”味。清代《得配本草》<sup>[63]</sup>等形成“辛苦,微寒”的共识,《本草述钩元》<sup>[64]</sup>载“味辛苦,气平凉”。至现代统一为“苦寒”,形成完整演变。

关于射干药性转变,有学者认为系误传误抄导致,主张回归“辛苦微温”<sup>[65]</sup>。针对射干“寒、温”之分歧,纵观历代本草发现:

明代以前虽载“微温”,功效主治却落笔于“喉痹咽痛、饮食大热”等热证,且标注“脾胃虚寒者”禁忌,显然与其“微温”的属性相悖,结合“散结气,消瘀血,行积痰”的功效,可见此“微温”实则是其辛散之性的表述,强调行气散血、逐瘀消痰的作用,而非真正温热之性。

明代以后药性转向“微寒”或“寒”,意在强调“清热泻火”作用。缪希雍《本草经疏》<sup>[66]</sup>指出射干应为清热泻火的微寒之性,二说本质无异:“别录微温保昇微寒,二说一义并无异”。且明清方书多用射干治热证,如《普济方》<sup>[67]</sup>中记载的射干散、《医林纂要探源》<sup>[14]</sup>的山豆根汤等,均用射干清热去火消肿。同时,明清记载射干“性寒(微寒)”的文献均重视其“治疗一切热毒”“治口热秽臭”“泻火清热”功效<sup>[27, 47, 62]</sup>,并明确提出“患肿痹痛结属病无实热者,脾胃虚寒,气血两虚者禁用”,这一禁忌描述恰契合寒性药易伤脾胃的特性,也体现医家对其药性认知的深化。

综上,射干药性转变并非本身属性改变,而是医家认知深化与表述重心转移的结果。明代前的“微温”侧重其辛散走窜之效,明代以后则突出“清热泻火解毒”的功效,药性逐步被修正为“微寒”或“寒”。

综合以上考证及 2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>记载,射干应为味辛、苦,性微寒。

### 6.2 归经考证

射干归经记载始于明代《药性会元》<sup>[35]</sup>:“归脾肺肝三经”;《本草汇言》<sup>[38]</sup>称“入手少阳、少阴、厥阴经,实为肺经本药”;《雷公炮制药性解》<sup>[68]</sup>认为:“射干温能下气行血,宜入肺肝,苦能消痰,宜入脾经”;清《得配本草》<sup>[63]</sup>载“入手太阴兼足厥阴经气分”;《本草求真》<sup>[47]</sup>载“专入心肝脾”;《要药分剂》<sup>[69]</sup>云:“入心心包三焦三经。兼入脾肝脾三经”;《本草述钩元》<sup>[64]</sup>言:“入手少阳少阴厥阴经,合入足少阴少阳”;《本草便读》<sup>[70]</sup>载“入肺兼入肝”。现代文献均记载入肺经。

### 6.3 功能与主治考证

历代本草均记载射干“主咳逆上气,喉痹咽痛不得消息,散结气,腹中邪逆,饮食大热”。《名医别录》<sup>[9]</sup>增补“主治老血在心肝脾间,咳唾,言语气臭,散胸中气”。唐代《药性论》<sup>[71]</sup>补充“能通女子月闭,治疰气,消瘀血”。《日华子本草》<sup>[33]</sup>增加“消痰、镇肝明目”。明代《本草纲目》<sup>[11]</sup>定其“治喉痹咽痛要药”的地位,补充“降实火,利大肠,治疰母”的功效,因射干降厥阴相火,火降则血散肿消,痰结亦解,癥瘕自除。《滇南本草》<sup>[62]</sup>侧重清热解毒功效。《本草汇言》<sup>[38]</sup>及《本草述钩元》<sup>[64]</sup>则强调其散结下气,治疗“瘰癧、结核”。

2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>规定射干可清热解毒、消痰利咽,主治热毒痰火郁结之咽喉肿痛。药理学研究证明,射干中的野鸢尾苷等可通过降低炎性介质释放,干扰与免疫机制相关的糖蛋白表达,抑制快适应肺牵拉受体(RARs),发挥抗炎、镇咳、平喘作用<sup>[72]</sup>。

### 6.4 毒性禁忌考证

射干毒性记载始见于《名医别录》<sup>[9]</sup>:“有毒”。明代以前的毒性记载多与“久服令人虚”并见,结合其苦寒之性,推测其本质是药性偏峻导致脾胃功能损伤。至明代《本草原始》<sup>[73]</sup>载“多服泻人”,侧面印证其脾胃损伤风险。《本草汇言》<sup>[38]</sup>载“阴寒而无实热者,脾胃薄弱,藏寒气血两虚者,禁用”,方中射干用量一钱至三两不等,并用蜜调、酒煎减毒。《重楼玉钥》<sup>[74]</sup>载“妄用即哑”,提示对咽喉黏膜存在刺激;《本草经疏辑要》<sup>[75]</sup>指出其毒性禁忌是因为药性峻烈且“无益阴之性”。可见古时期医家对射干毒性认知逐步完善,临床脾胃虚寒者及孕妇需谨慎使用,妄用或刺激咽喉黏膜及胃肠道,并用蜜调、酒煎法减毒,控制在三两以内。

现代研究证实射干具有肝脾及胃肠毒性。其



毒性成分草夹竹桃苷可刺激胃肠道黏膜并激活胃肠道平滑肌收缩信号通路，引发呕吐、腹泻等症状<sup>[76]</sup>。超高剂量用药可损害红系细胞，导致红细胞计数（RBC）、血红蛋白（HB）、钾（K）等指标降低，提示服用射干提取物剂量在 15.17 g 生药/kg 以下，用药较为安全<sup>[77]</sup>（此剂量相当于临床成人用量 101 倍，成人按 60 kg，一日用量 9 g 生药计）。2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>规定射干用量 3 ~ 10 g，然临床实际用量可达 3 ~ 40 g<sup>[78]</sup>，且未见不良反应，提示其规定用量与临床应用存在差异，有待进一步考察。生品射干（3.6 g/kg）亦可致大鼠血清中谷草转氨酶（AST）、谷丙转氨酶（ALT）水平升高，提示存在肝脾损伤；菖竹叶炮制后射干可通过调控苷类成分及苷元类成分，降低 AST、ALT 水平实现减毒效果<sup>[56-57, 79]</sup>。米泔水炮制后的射干<sup>[58]</sup>可通过调控 C5 分支二元酸代谢等通路，促进胃泌素及淀粉酶分泌等途径改善

“伤脾”作用。

基于以上考证，射干毒性主要见于高剂量用药，以肝脾及胃肠毒性为主，传统炮制法可减毒增效，现代临床研究显示，生品射干在 3 ~ 40 g 内未见明显不良反应，动物实验亦表明其安全范围较宽，临床应注意脾虚者及孕妇禁忌。按照国家发布的关键信息表<sup>[80]</sup>，汉代经典名方药物一两按今 13.8 g 折算，射干麻黄汤原方记载“射干三两”，即全方射干折算剂量为 41.4 g。结合原方“以水一斗二升……煮取三升，分温三服”的煎煮法，可知本方每服药量为煎出总量的 1/3，从药物安全角度考虑，结合 2025 年版《中国药典》<sup>[1]</sup>规定剂量，建议射干每服药量为 10.35 g<sup>[60]</sup>，遵循张仲景服药法中“不必尽剂”、随证变化、灵活施用原则，日服用次数建议 1 ~ 3 次，中病即止，根据临床实际灵活加减次数<sup>[81]</sup>。历代本草对射干的性味与归经、功能与主治及注意记载见表 2。

表 2 射干性味与归经、功能与主治及注意  
Tab 2 Nature, taste, meridian, function and precautions of Shegan

| 朝代             | 出处                  | 性味与归经              | 功能与主治                                                                                                                                         | 注意    |
|----------------|---------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 东汉             | 《神农本草经》             | 味苦，平               | 主咳逆上气，喉痹咽痛不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热                                                                                                                  | —     |
| 汉末（220 年左右）    | 《名医别录》              | 微温，有毒              | 主治老血在心肝脾间，咳唾，言语气臭，散胸中气                                                                                                                        | 久服令人虚 |
| 南朝（480—498 年）  | 《本草经集注》             | 味苦平，有毒             | 主治咳逆上气，喉痹咽痛，不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热。治老血在心肝脾间，咳唾言语气臭，散胸中热气                                                                                          | 久服令人虚 |
| 唐（652 年）       | 《药性论》               | 有小毒                | 治喉痹水浆不入，通女子月闭，治疟气，消瘀血                                                                                                                         | —     |
| 唐（659 年）       | 《新修本草辑复本》           | 味苦，平，微温，有毒         | 主咳逆上气，喉痹咽痛，不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热。疗老血在心肝脾间，咳唾，言语气臭，散胸中气                                                                                           | 久服令人虚 |
| 五代（908—923 年）  | 《日华子本草辑注》           | —                  | 消痰、破癥结，胸膈满，腹胀，气喘痰癖，开胃下食，消肿毒，镇肝明目                                                                                                              | —     |
| 宋（1082—1108 年） | 《证类本草》              | 味苦平，微温，有毒          | 主咳逆上气，喉痹咽痛不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热，疗老血在心肝脾间，咳唾，言语气臭，散胸中热气                                                                                           | 久服令人虚 |
| 元              | 《珍珠囊补遗药性赋》          | 味苦平，微温，无毒          | 疗咽闭而消痈毒                                                                                                                                       | —     |
| 明（1436 年）      | 《滇南本草》              | 味苦辛，性微寒，有小毒        | 治咽喉肿痛，咽闭喉风，乳（蛾、疳）腮红肿，牙根肿烂；疗咽喉热毒，攻散疮痈，一切热毒等症                                                                                                   | —     |
| 明（1505 年）      | 《本草品汇精要》            | 味苦，性平微温泄，气之薄者，阳中之阴 | 主咳逆上气，喉痹咽痛不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热，疗老血在心脾间，咳唾，言语气臭，散胸中热气；主喉痹肿毒                                                                                      | 久服令人虚 |
| 明（1523 年）      | 陈凤梧刊本《重修政和经史证类备用本草》 | 味苦平，微温，有毒          | 主咳逆上气，喉痹咽痛不得消息，散结气，腹中邪逆，食饮大热，疗老血在心脾间，咳唾，言语气臭，散胸中热气                                                                                            | 久服令人虚 |
| 明（1545 年）      | 《新刊药性要略大全》          | 味苦，气平，微温，有毒        | 疗咽闭而消痈毒，散胸中结热气，及老血在心脾间，明目，通经消                                                                                                                 | —     |
| 明（1565 年）      | 《本草蒙筌》              | 味苦气平微温，阴中阳也；无毒     | 散结气旋平痈毒，逐瘀血竟通月经；止喉痹刺疼，驱口热秽臭。去因劳而发之湿热，溃硬肿殊功；行太阴厥阴之积痰，消痰核甚捷；仍治胸满气胀，更疗咳痰涎多                                                                       | —     |
| 明（1575 年）      | 《医学入门》              | 有小毒                | 开胃下食，除饮食大热，散胸中热气，腹中邪逆，胸腹胀满，肺气喘嗽，咳逆上气；疗老血在心脾间，咳唾言语气臭，破癥结、痰癖、瘀血，通女人月闭，治小儿疝气发时肿痛如刺，散结气，消肿毒，去胃痈，治便毒；足厥阴湿气因疲劳而发，取三寸同生姜煎服，利两三行即效。又治咽痛水浆难入，不得消息，咽汁立差 | —     |

续表 2

| 朝代          | 出处         | 性味与归经                             | 功能与主治                                                                                                                                   | 注意                              |
|-------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| 明 (1578 年)  | 《本草纲目》     | 苦平,有毒。寒                           | 咳逆上气,喉痹咽痛,不得消息;散结气,腹中邪逆,食饮大热,疗老血在心脾间,咳唾,言语气臭,散胸中热气;苦酒摩涂毒肿;治疟气,消瘀血,通女人月闭;消痰,破癥结,胸膈满腹胀,气喘痰癖,开胃下食,镇肝明目;治肺气喉痹为佳;去胃中痼疮;利积痰痼毒,消结核;降实火,利大肠,治疟母 | 多服泻人                            |
| 明 (1595 年)  | 《药性会元》     | 味苦气平微温有小毒,归脾肺肝三经                  | 主咳逆上气,喉痹咽痛,不得消息,散结气腹中邪逆,食饮大热,疗血在心脾间,咳唾,言语气臭,散胸中热气,消肿去胃痼;行脾肺肝三经之积痰,使结核自消甚捷。治胸满腹胀,通女人月水阻闭,消瘀血及便毒;肝交湿气,因劳而发                                | —                               |
| 明 (1612 年)  | 《本草原始》     | 味苦平微温有毒                           | 主咳逆上气,喉痹咽痛不得消息,散结气,腹中邪逆,食饮大热,疗老血在心脾间,咳唾,言语气臭,散胸中结气                                                                                      | 久服令人虚,多服泻人                      |
| 明 (1624 年)  | 《本草汇言》     | 味苦辛、气寒,有毒,阳中阴也,入手少阳、少阴、厥阴经,实为肺经本药 | 散结热,下结气;主咳逆上气,及喉痹咽痛,不得消息,并去胸中积热,胃中痼疮,水蛊腹大,风热客于上焦之气分,为瘰癧,为结核,为停痰积血,为痈肿赤疡,用之甚捷                                                            | 凡患肿瘰癧结,属阴寒而无实热者,脾胃薄弱,藏寒气血两虚者,禁用 |
| 明 (1629 年)  | 《雷公炮制药性解》  | 味苦,性微温有毒,入肺肝脾三经                   | 主咳逆上气,咽喉诸证,开胃进食,镇肝明目消痼毒,逐瘀血,通月经,行积痰,使结核自消;又肝经湿气,因疲劳而发便毒者,取三寸与生姜同煎,利两三行效                                                                 | 久服令人虚                           |
| 明 (1637 年)  | 《医宗必读》     | 味苦平,有毒,入肺经                        | 清咳逆热气,损喉痹咽疼                                                                                                                             | 虚者大戒                            |
| 明末清初        | 《本草易读》     | 味苦,微寒,有小毒                         | 治咳逆上气,疗咽喉痹痛;祛瘀血而通经,破癥结而消痰。涂痈肿而解疟母,降实火而利大肠                                                                                               | —                               |
| 清 (1694 年)  | 《本草备要》     | 苦寒有毒                              | 泻火,解毒,散血,消痰;能泻实火,火降则血散肿消,而痰结自解,故能消心、脾老血,行太阴(肺脾)厥阴(肝)之积痰;治喉痹咽痛为要药;治结核瘰癧,便毒疟母,通经闭,利大肠,镇肝明目                                                | —                               |
| 清 (1758 年)  | 《医林纂要探源》   | 苦寒                                | 降少阴厥阴之火,散少阳相火(喉痹要药,散血消肿,除痰结核,散疟母,通经,利大肠)                                                                                                | —                               |
| 清 (1761 年)  | 《得配本草》     | 辛苦微寒有毒。入手太阴兼足厥阴经气分                | 泻上焦实热,降厥阴相火;行肝脾之积痰,则结核自消。散心脾之老血,则症瘕自除;利大肠,除疟母,捣汁疗喉痹不通,治阴疝刺痛                                                                             | 虚者禁用                            |
| 清 (1769 年)  | 《本草求真》     | 专入心脾肝,辛苦微寒                        | 泻火清热解毒,散血消痰;是以喉痹咽痛、结核瘰癧、便毒疟母等症,因老血结于心脾,痰涎积于太阴、厥阴者,无不可以调治                                                                                | 脾胃虚寒切忌                          |
| 清 (1773 年)  | 《要药分剂》     | 味苦性平,有毒。入心心包三焦三经,兼入肺肝脾三经          | 主咳逆上气,喉痹咽痛,不得消息,散结气,腹中邪逆,食饮大热,为清火解毒,散血消痰之品                                                                                              | 凡脾胃弱,脏寒,气血虚,病无实热,均忌             |
| 清 (1809 年)  | 《本草经疏辑要》   | 味苦平微温有毒                           | 主咳逆上气,喉痹咽痛不得消息,散结气,腹中邪逆,食饮大热,疗老血在心脾间,咳唾,言语气臭,散胸中热气,降实火治疟母                                                                               | 久服令人虚。凡脾胃薄弱,脏寒气血虚人,病无实热者禁用      |
| 清 (1833 年)  | 《本草述钩元》    | 味辛苦,气平凉,阳中阴也。入手少阳少阴厥阴经,合入足少阴少阳    | 枢机之气分药也。主治咳逆上气,喉痹咽痛,不得消息,散结气,腹中邪热;利痰行瘀血,消胸膈满腹胀,利大肠,消结核,治胃痼便毒,并疗疟母                                                                       | 凡藏寒气虚,脾胃薄弱,病无实热者禁用              |
| 清 (1887 年)  | 《本草便读》     | 辛苦平,微寒微毒,入肺兼入肝                    | 泻肺胃之结邪。利咽喉之肿痛,消痰破血                                                                                                                      | —                               |
| 现代 (1959 年) | 《中药志》第 1 册 | 苦寒                                | 清热解毒,降气祛痰,散血消肿;主治咽喉肿痛,咳嗽气急,痰涎壅塞,胸胁满闷,外敷疮毒肿痛等证                                                                                           | 脾胃虚寒者不宜                         |
| 现代 (1988 年) | 《全国中药炮制规范》 | 苦寒,归肺经                            | 清热解毒,消痰利咽;用于热毒痰火郁结,咽喉肿痛,痰涎壅盛,咳嗽气喘                                                                                                       | 孕妇禁用                            |
| 现代 (1996 年) | 《中国药理学》    | 苦寒,入肺经                            | 清热解毒,祛痰利咽                                                                                                                               | 孕妇忌用或慎用                         |
| 现代 (2025 年) | 《中国药典》     | 苦寒归肺经                             | 清热解毒,消痰,利咽;用于热毒痰火郁结,咽喉肿痛,痰涎壅盛,咳嗽气喘                                                                                                      | —                               |

注 (Note): “—” 代表原文无记录 (Indicates no record in the original text)。

## 7 讨论与小结

射干用药历史悠久,其基原曾与川射干、白花射干混淆,现已明确为鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎。产地由早期南阳扩展至江南、湖广等地,今以湖北为道地产区。历代用药部位均为根茎,采收古今皆重春秋二季,2025 年版《中国药典》规定于春初刚发芽或秋末茎叶枯萎时采挖。炮制古法以米泔水浸、菹竹叶煮为主,今统一为净制、润透、切薄片、干燥。射干性味从“苦温”转向“苦寒”,2025 年版《中国药典》规定苦,寒,归肺经。历代虽有其毒性记载,然 2025 年版《中国药典》未予收录。

经典名方射干麻黄汤治疗“咳而上气,喉中水鸡声”,即咳嗽气喘伴咽喉有痰鸣声之证。历代文献记载射干“主咳逆上气,喉痹咽痛”等,其功效与手太阴肺经相关,肺主气,司呼吸,上连咽喉,开窍于鼻。邪壅肺络、肺失宣降、气道不利则发为咳嗽、气喘、胸闷、咽痛等肺系病证。射干善宣降肺气可泻肺降逆,祛痰利咽。方中射干配紫菀、款冬花降逆气,合麻黄、细辛宣肺化痰,佐大枣顾护脾胃,宣降相因,寒温并用。现代临床多用此方治疗支气管哮喘、咳嗽变异性哮喘、支气管炎等呼吸系统疾病,以“喉中痰鸣”为核心症状,凡属寒饮郁结,肺失宣降者,均可加减运用。

基于以上考证,建议射干麻黄汤中射干每次的服药量为 10.35 g,虽略高于 2025 年版《中国药典》规定的 3~10 g,但此差异源于经典名方开发与常规临床用药的不同考量,并非安全性隐患。相较于仲景方味简力专的特点,现代用药常味数多而单味药用量小,2025 年版《中国药典》规定剂量是针对现代临床随证加减的常规参考剂量,考虑了安全性、普适性及多数人群的耐受性。经典名方开发旨在把原本的汤剂转为便携的制剂形式,其治急病本质未变,故建议尊重原方配伍比例及用法。且无论是古籍依据、临床观察或药理实验,此剂量亦低于其安全上限。且原方以麻黄、细辛之辛温制约射干苦寒伤胃之弊,大枣甘缓护中,七情相合已寓减毒机制,不宜将射干孤立看待。

综上,建议开发经典名方射干麻黄汤时,选用湖北黄冈产鸢尾科植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的干燥根茎,除去杂质,洗净,润透,切薄片,干燥后入药,每服药量 10.35 g,温服,每日 1~3 次,中病即止,在临床医师指导下根据医嘱灵活用药,孕妇禁用,脾胃虚寒者慎用。

## 参考文献

- [1] 中国药典 2025 年版. 一部 [S]. 2025: 305.
- [2] 荀况. 荀子 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 2002: 2.

- [3] 吴普, 孙星衍, 孙冯翼, 等. 神农本草经 [M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2018: 38.
- [4] 赵存义. 本草名考 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2000: 481.
- [5] 陶弘景, 原坡. 本草经集注 [M]. 卷 5. 北京: 学苑出版社, 2013: 26-27.
- [6] 唐慎微. 重修政和经史证类备用本草 [M]. 卷 10. 陈凤梧, 刊. 1523: 27-28.
- [7] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 卷 8. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 256.
- [8] 吴普. 吴普本草 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 51.
- [9] 陶弘景, 尚志钧. 名医别录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 238.
- [10] 陈藏器, 尚志钧. 本草拾遗辑释 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2002: 07.
- [11] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 520.
- [12] 郑宁. 新刊药性要略大全 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 150.
- [13] 汪昂. 本草备要 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1965: 119.
- [14] 汪绂撰, 江凌圳. 医林纂要探源 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 130, 688.
- [15] 徐国钧. 中国药材学 [M]. 上册. 北京: 中国医药科技出版社, 1996: 676.
- [16] 无名氏, 刘训红. 分类草药性 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 22-23.
- [17] 李建芝, 张健, 谭洪波. 湖北建始民族药用植物志 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2021: 1868.
- [18] 周太炎, 丁志遵. 南京民间药草 [M]. 南京: 南京出版社, 2023: 28.
- [19] 浙江省卫生厅. 浙江中药手册第 3 集 [M]. 杭州: 浙江人民出版社, 1960: 16.
- [20] 陈仁寿, 刘训红. 江苏中药志 [M]. 南京: 江苏凤凰科学技术出版社, 2019: 340.
- [21] 中国医学院科学院药物研究所. 中药志 [M]. 第 1 册. 北京: 人民卫生出版社, 1959: 375.
- [22] 蔡光先. 湖南药物志 [M]. 卷 5. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2004: 12.
- [23] 文怀沙. 四部文明秦汉文明卷 [M]. 卷 38. 西安: 陕西人民出版社, 2007: 236.
- [24] 苏敬. 新修本草辑复本 [M]. 尚志钧, 辑校. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1981: 262-263.
- [25] 韩保昇. 蜀本草 [M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 2005: 403.
- [26] 苏颂. 本草图经 [M]. 尚志钧, 辑校. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994: 262.
- [27] 陈嘉谟. 本草蒙筌 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 161.
- [28] 吴其浚. 植物名实图考 [M]. 北京: 商务印书馆, 1957: 606-607.
- [29] 陈存仁. 中国药物标本图影 [M]. 上海: 世界书局出版社, 1935: 103.
- [30] 中华人民共和国卫生部药政管理局, 中国药品生物制品检定所. 中药材手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 195.
- [31] 中国药典 1990 年版. 一部 [S]. 1990: 255.



- [32] 中国药典 2005 年版. 一部[S]. 2005: 200.
- [33] 常敏毅. 日华子本草辑注[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2016: 55.
- [34] 刘文泰. 本草品汇精要[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 384.
- [35] 梅得春, 陆可行. 药性会元[M]. 卷 3. 东京: 东京皇室博物馆藏, 1595: 111-112.
- [36] 冯耀南, 苏伟文. 中药材商品规格质量鉴别[M]. 广州: 暨南大学出版社, 1995: 153-154.
- [37] 司马迁. 史记[M]. 西安: 太白文艺出版社, 2006: 552.
- [38] 倪朱谟, 郑金生, 甄雪燕, 等. 本草汇言[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2005: 222-223.
- [39] 缪希雍. 炮炙大法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1956: 38.
- [40] 胡世林, 池群, 赵中振, 等. 中国道地药材[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989: 491.
- [41] 凌悦, 陈金鹏, 叶晴, 等. 射干的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中草药, 2022, 53(5): 1595-1608.
- [42] 雷敦. 雷公炮炙论[M]. 上海: 上海中医学院出版社, 1986: 64.
- [43] 李挺. 医学入门[M]. 南昌: 江西科学技术出版社, 1988: 342.
- [44] 汪切庵. 本草易读[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 214-215.
- [45] 稻宣义. 炮炙全书[M]. 卷 4. 北京: 中医古籍出版社, 1981: 73.
- [46] 庞安时, 邹德琛, 刘华生. 伤寒总病论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 93.
- [47] 黄宫绣, 王淑民. 本草求真[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 271.
- [48] 王士雄, 石念祖. 王氏医案绎注·中[M]. 上海: 商务印刷馆, 1920: 3.
- [49] 林佩琴, 刘荅文. 类证治裁[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 273.
- [50] 汉·华佗撰, 唐·孙思邈編集. 华佗神方[M]. 北京: 中外出版社, 1979: 83.
- [51] 王焘. 外台秘要[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1955: 85.
- [52] 朱肱, 唐迎雪. 类证活人书[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2003: 138.
- [53] 丹波元坚. 杂病广要[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1958: 802.
- [54] 吴塘. 温病条辨[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 2010: 17-18.
- [55] 龚廷贤, 孙洽熙. 寿世保元[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1993: 191.
- [56] 李锁. 菖竹叶制射干炮制目的研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2017.
- [57] 邹桂欣, 孙小玲, 尤献民, 等. 射干及炮制品对大鼠血清生化指标影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(5): 8-10.
- [58] 左芳. 基于肠道菌群和代谢组学探讨射干米泔水炮制后减毒增效作用[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.
- [59] 时艳杰, 赵玥, 张颖, 等. 基于灰色关联分析方法对射干米泔水炮制品抑制耐甲氧西林金黄色葡萄球菌谱-效关系的研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(8): 1882-1885.
- [60] 罗成, 叶远航, 宁博, 等. 经典名方射干麻黄汤的关键信息考证[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(6): 180-188.
- [61] 李东恒, 李士材. 珍珠囊补遗药性赋[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1958: 1-2, 54.
- [62] 兰茂, 于乃义, 于兰馥, 等. 滇南本草[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2004: 581.
- [63] 严西亭, 施澹宁, 洪缉庵. 得配本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1958: 97.
- [64] 杨时泰. 本草述钩元[M]. 卷 37. 上海: 科技卫生出版社, 1958: 303-304.
- [65] 温子帅, 范忠星, 齐兰婷, 等. 射干性味的本草考证[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(8): 1163-1166.
- [66] 缪希雍. 本草经疏[M]. 卷 10. 扬州: 江苏广陵古籍刻印社, 1980: 43-44.
- [67] 朱橚. 普济方[M]. 卷 1 至卷 43. 北京: 人民卫生出版社, 1959: 479, 718.
- [68] 李中梓, 钱允治, 金芷君. 雷公炮制药性解[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 80.
- [69] 彭勃. 要药分剂[M]. 上海: 第二军医大学出版社, 2005: 267-268.
- [70] 张秉成. 本草便读[M]. 上海: 上海卫生出版社, 1957: 50.
- [71] 甄权. 药性论[M]. 芜湖: 皖南医学院科研科, 1983: 33.
- [72] 翟思琪, 唐雪冰, 赵利利, 等. 重构本草——射干[J]. 吉林中医药, 2025, 45(3): 353-355.
- [73] 李中立. 本草原始[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 157-159.
- [74] 郑梅洞. 重楼玉钥[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 22.
- [75] 吴世铠, 田思胜. 本草经疏辑要[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2015: 175.
- [76] 刘延吉, 吴波, 张阳, 等. 中药射干毒性成分分析[J]. 沈阳农业大学学报, 2011, 42(4): 491-493.
- [77] 孟莉, 向绍杰, 刘小虎, 等. 射干提取物对大鼠长期毒性试验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(2): 403-406.
- [78] 安珊, 王青, 王丽, 等. 射干的临床应用及其用量探究[J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(5): 871-874.
- [79] 李英娜, 张国刚, 毛德双, 等. 射干化学成分的研究[J]. 中南药学, 2007, 5(3): 222-224.
- [80] 国家中医药管理局办公室, 国家药品监督管理局综合和规划财务司. 关于发布《古代经典名方关键信息表(25 首方剂)》的通知[EB/OL]. (2022-09-27) [2025-11-25]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzuodongtai/2022-09-27/27803.html>.
- [81] 金艳, 李兵, 张卫, 等. 汉代经典名方复方制剂开发的用法用量分析与对策[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(7): 1-10.

(收稿日期: 2025-11-25; 修回日期: 2025-03-11)

## GenAI 在住院患者用药教育中的应用探索

林贤桂, 李祥, 邢贞建\* (广州市胸科医院药学部, 广州 510095)

**摘要:** **目的** 探索生成式人工智能 (GenAI) 在住院患者用药教育中的应用模式, 构建以临床药师为主导、人工智能 (AI) 技术为支撑的智能化用药教育体系, 提升药学服务的效率与质量。**方法** 通过对比主流 GenAI 模型在医药学专业的综合性能, 构建“DeepSeek-V3-0324 + 豆包 V1.62.5”双引擎协同模式; 采用组间对照试验, 比较传统手工、纯文本生成及双引擎协同 3 种模式制作用药教育单的工作效能。**结果** DeepSeek-V3-0324 在医药术语理解与知识更新方面表现突出, 适合生成高准确性文本, 而豆包 V1.62.5 在图像生成方面更具优势; 用药教育单制作耗时分析显示, 双引擎协同模式 (615.45 s) 与纯文本生成模式 (201.78 s) 的中位耗时均显著低于传统手工模式 (1024.58 s,  $P < 0.001$ ); AI 生成内容未发现原则性错误, 但在用量表述、用药时间惯例及图像细节方面仍需药师审核优化。**结论** GenAI 技术的引入为住院患者用药教育提供了高效、个性化的解决方案, 有助于实现药学服务的标准化、智能化转型。临床药师应发挥主导作用, 合理利用 AI 工具, 同时建立严格的审核与质控机制, 确保用药安全。

**关键词:** 生成式人工智能; 住院患者; 用药教育; DeepSeek; 豆包

中图分类号: R95

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-309-05

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.045

## GenAI in medication education for inpatients

LIN Xiangui, LI Xiang, XING Zhenjian\* (Department of Pharmacy, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095)

**Abstract:** **Objective** To determine the application of generative artificial intelligence (GenAI) in medication education for inpatients, and to establish an intelligent medication education system led by clinical pharmacists and supported by GenAI to improve the efficiency and quality of pharmaceutical services. **Methods** By comparing the comprehensive performance of mainstream GenAI models in medicine, a “DeepSeek-V3-0324 + Doubao V1.62.5” dual-engine collaborative model was established. A randomized controlled trial was conducted to compare the efficiency of medication education sheets, by traditional manual production, pure text generation, and dual-engine collaboration. **Results** DeepSeek-V3-0324 excelled at understanding medical terms and knowledge updating, and was suitable for generating highly accurate texts. Meanwhile, Doubao V1.62.5 had more advantage in image generation. The median time needed for the production of medication education sheets by dual-engine collaborative mode (615.45 seconds) and the pure text generation (201.78 seconds) was significantly faster than that of the traditional manual mode (1024.58 seconds,  $P < 0.001$ ). No principle errors were found in the AI-generated content, but pharmacist review and optimization were required in terms of dosage expression, medication time conventions, and image details. **Conclusion** GenAI helps efficiently personalize medication education for inpatients, facilitating the standardization and intelligence transformation of pharmaceutical services. Clinical pharmacists should play a leading role in the rational use of AI tools, and strictly review and control the quality to ensure medication safety.

**Key words:** generative artificial intelligence; inpatient; medication education; DeepSeek; Doubao

基金项目: 广州市卫生健康科技项目 (No.20251A011042)。

作者介绍: 林贤桂, 男, 硕士研究生, 主管药师, 主要从事临床药学工作, email: 351038150@qq.com \* 通信作者: 邢贞建, 男, 主任药师, 主要从事药事管理工作, email: xzjianx@sina.com

随着人工智能 (artificial intelligence, AI) 技术在医疗卫生领域的深度融合, 药学服务正经历从传统保障型向现代临床服务型的历史性转变<sup>[1]</sup>。2025 年全国两会期间, “人工智能+”行动被正式写入政府工作报告, 标志着 AI 赋能医疗高质量发展的国家战略进入新阶段<sup>[2]</sup>, 药师应积极掌握并合理运用 AI 工具, 提升工作效率和服务质量, 为患者提供更加精准、高效的健康管理体验。

在此背景下, 生成式人工智能 (generative artificial intelligence, GenAI) 凭借其强大的自然语言理解与生成能力, 正在成为变革药学服务模式的关键驱动力<sup>[3-4]</sup>。特别是在住院患者用药教育这一核心环节, 面对病情复杂、用药方案动态调整、教育时间有限以及患者个体差异显著等现实挑战, 传统依赖口头宣教或模板化材料的服务方式已难以满足日益增长的个性化需求。GenAI 能够高效整合海量药物信息、临床指南与患者个体数据, 自动生成结构清晰、语言通俗、高度个性化的用药指导材料, 不仅有助于提高患者对治疗方案的理解与依从性, 也为缓解临床药师人力资源紧张、实现药学服务标准化与精细化提供了可行路径<sup>[5-6]</sup>。因此, 探索如何将 GenAI 有效融入住院患者用药教育全过程, 既是顺应“人工智能+”发展趋势的战略选择, 也是提升药学服务质量与安全水平的重要实践方向。本研究系统比较了当前主流 GenAI 大模型在药学应用场景下的表现特征, 构建了基于 AI 辅助的即时用药教育新模式, 并对其效能进行初步评估, 旨在为临床药师在智能时代下的角色转型与服务升级提供切实可行的技术支持与决策参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 GenAI 模型用药教育应用性能评估

近年来, 大语言模型 (large language models, LLMs) 的发展已由理论探索逐步迈向临床实用阶段, 为医疗健康领域带来了前所未有的智能化解决方案<sup>[7]</sup>。在住院患者用药教育这一特定场景中, 信息处理需兼顾专业性、准确性与可读性, 而 GenAI 展现出卓越的文本解析与语义重构能力, 能够对非结构化的病历资料、复杂的医药术语及多元的患者背景进行深度理解, 最终输出通俗易懂的自然语言教育内容<sup>[8]</sup>。

目前, 国内较为活跃的 GenAI 平台包括 DeepSeek-V3-0324、腾讯元宝 V2.41.10、通义千问 Qwen2-VL、Kimi K2-0905 和豆包 V1.62.5 等。尽管这些模型均具备基础的医学问答能力, 但在实际应用中, 其在专业深度、知识更新频率、输出逻辑性及多模态支持等方面存在明显差异。本

研究通过对 7 名具有丰富实践经验的临床药师开展访谈, 并结合文献调研<sup>[9-10]</sup>与实证测试, 从多个维度对上述 GenAI 模型进行了综合评估。

### 1.2 GenAI 双引擎协同用药教育模式构建

住院患者用药教育是保障用药安全与疗效的核心环节, 要求药师在短时间内完成从药物信息整合到个性化宣教的全过程<sup>[11]</sup>。然而, 现实中常面临患者病情复杂、合并用药多、教育时间短、患者理解能力参差不齐等问题, 导致教育效果难以保证。本研究构建了一套基于 GenAI 的智能化、个性化用药教育辅助系统。基于前文各 GenAI 大模型性能对比, 本系统选择 DeepSeek-V3-0324 为主力模型, 负责生成主体文本内容; 辅以豆包 V1.62.5 的图像生成功能, 增强信息传达的直观性与可接受度。整体流程遵循“输入-生成-审核-优化-交付”的闭环模式, DeepSeek-V3-0324 生成用药教育单流程与豆包 V1.62.5 制作图片/简易视频流程见图 1。

**1.2.1 一般住院患者用药教育单生成** 收集住院患者基本信息 (年龄、性别、诊断、肝肾功能、过敏史、合并用药等), 并通过预设对话模板向 DeepSeek-V3-0324 发起请求。例如: “你是一名三甲医院结核病科的临床药师。现有一名 49 岁女性结核病患者即将出院, 带药包括异烟肼片、利福平胶囊、吡嗪酰胺片、乙胺丁醇片、五灵胶囊、厄贝沙坦片、阿司匹林肠溶片、阿普唑仑片。请根据这些信息为其设计一份用药教育单, 并以 HTML 格式输出, 确保内容科学、条理清晰、便于患者理解和执行”。模型接收到指令后, 自动调用内置知识库, 结合抗结核治疗指南及相关药品说明书, 生成包含药品名称、用法用量、服药时间、注意事项、不良反应预警等内容的结构化 HTML 文档, 运行后可生成用药教育单。临床药师应对用药教育单进行合理性审核, 若发现表述模糊或与实际医嘱不符之处 (如未明确具体剂量、服药时机不匹配等), 可将修改意见重新输入模型进行迭代优化。最终确认无误后, 教育单可通过打印纸质版或生成二维码等形式, 根据不同患者的需求交付患者, 便于随时查阅。

**1.2.2 特殊住院患者的用药教育单优化** 对于老年人、儿童、孕产妇等特殊人群, 用药教育需更加注重信息的可读性与可操作性。以老年患者为例, 其常伴有认知功能下降、视力下降、文化程度偏低、多重用药等问题, 易出现漏服、误服等现象, 严重影响用药依从性, 传统的文字宣教往往收效甚微<sup>[12]</sup>。针对特殊人群, 教育单的设计应注重可读性与实用性, 例如采用大字体、简洁排版、图文结合等形式。可在使用 DeepSeek-V3-0324 生成文本内容的基础上, 利



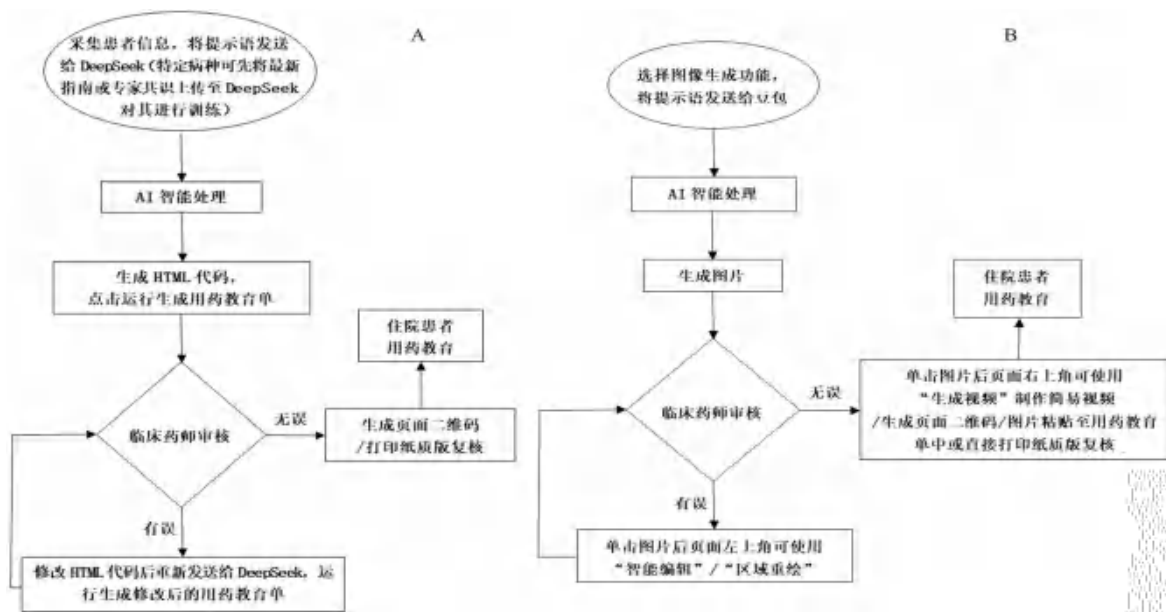


图 1 DeepSeek-V3-0324 生成用药教育单流程 (A) 及豆包 V1.62.5 制作图片 / 简易视频流程 (B)

Fig 1 DeepSeek-V3-0324 generated medication education sheets (A) and images/videos production by Doubao V1.62.5 (B)

用豆包 V1.62.5 的图像生成功能, 针对关键操作步骤 (如外用用药配制、吸入装置使用、特殊药品储存与使用等) 制作直观示意图。例如, 在指导高锰酸钾外用片使用时, 可先在豆包对话窗口上传一张高锰酸钾外用片的图片, 然后输入如下提示: “高锰酸钾外用片如参考图所示, 请生成一张关于高锰酸钾外用片使用方法的示意图: 现配现用, 溶解比例为 1 粒药片溶解于 400 mL 温水, 用消毒药棉或纱布润湿后敷于患处, 渗出液多时可直接将患处浸入溶液中药浴, 严禁口服”。模型随即生成一幅清晰明了的操作示意图, 包含水量标注、溶解过程、局部使用示意及“禁止口服”警示图标, 极大提升了患者对复杂操作的理解能力。如果图片局部需要修改, 可单击图面后, 在页面左上角使用“智能编辑”/“区域重绘”对内容进行修改补充; 页面右上角“生成视频”可将图片生成简单示意视频。

### 1.3 GenAI 输出效能评估

**1.3.1 GenAI 输出效能评估方法** 研究邀请 7 名持有临床药师资格证书, 且具有 2 年以上实践经验的临床药师参与测试, 覆盖专业包括抗感染、抗凝、心血管、内分泌、抗肿瘤及营养治疗, 确保评估视角的全面性与代表性。每位药师选取 3 名典型住院患者案例, 共 21 例, 覆盖结核病、慢性阻塞性肺疾病、泌尿系统感染、冠心病、心力衰竭、糖尿病、肺部肿瘤等常见病种, 每例患者用药品种不少于 5 种, 其中不少于 1 个特殊使用药品, 如胰岛素笔、干粉吸入剂等。

采用 3 种不同模式制作用药教育单:

① 传统手工模式: 药师完全独立完成教育单编

制; ② 纯文本生成模式: 仅使用 DeepSeek-V3-0324 生成文本内容; ③ 双引擎协同模式: 采用“DeepSeek-V3-0324 + 豆包 V1.62.5”协同工作, 生成图文结合的用药教育材料。记录各模式从开始到完成审核定稿的总耗时。

**1.3.2 统计学方法** 耗时数据以中位数和四分位间距 (IQR) 描述, 组间比较采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验, 事后两两比较采用 Bonferroni 校正。使用 SPSS 29.0 软件进行分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GenAI 模型用药教育应用性能比较

DeepSeek-V3-0324 在医药术语理解、药物相互作用分析及知识时效性方面表现尤为突出, 尤其适用于需要高准确度输出的专业药学场景; 腾讯元宝 V2.41.10 与通义千问 Qwen2-VL 在逻辑组织与结构化表达方面优势明显, 适合用于构建条理清晰的用药指导框架; Kimi K2-0905 依托其强大的中文医学文献训练基础, 在生成综合性、循证性强的报告时更具优势; 而豆包 V1.62.5 则以其卓越的图像生成能力脱颖而出, 特别适合为认知能力受限的特殊人群 (如老年患者、低文化水平者) 提供直观视觉辅助 (见表 1 及图 2)。

### 2.2 工作效率比较

用药教育单制作耗时分析结果显示, 传统手工模式中位总耗时为 1024.58 s (IQR: 845.73 ~ 1265.41 s); 纯文本生成模式中位总耗时为 201.78 s (IQR: 149.94 ~ 301.28 s); 双引擎协同模式中位总耗时为 615.45 s (IQR: 498.36 ~ 745.12 s)。经 Kruskal-Wallis  $H$  检验, 三组间耗时差异具有统计

表 1 各 GenAI 大模型在住院患者用药教育中的综合性能比较  
Tab 1 Comprehensive performance of various GenAI in medication education for inpatients

| GenAI 模型         | 评估维度                         |                                           |                                       |                               |                              |                       |
|------------------|------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|
|                  | 医疗知识时效性                      | 药学专业深度                                    | 内容生成实用性                               | 多模态能力                         | 交互与调试                        | 推荐核心场景                |
| DeepSeek-V3-0324 | • 医学知识库持续更新<br>• 支持最新临床数据接入  | • 特有医学药学优化<br>• 精准识别临床缩写<br>• 药物相互作用分析能力强 | • 输出严谨专业<br>• 支持个性化定制<br>• 平衡专业性与可读性  | • 支持文件上传解析<br>• 图像生成非核心功能     | • 支持长上下文记忆<br>• 输出稳定, 便于迭代修正 | • 生成高准确性、个性化的终版用药教育材料 |
| 腾讯元宝 V2.41.10    | • 具备持续学习机制<br>• 具体医学数据时效性需验证 | • 通用大模型<br>• 基础药学知识完整<br>• 复杂专科问题解析不足     | • 语言流畅易懂<br>• 指令跟随性强<br>• 适合快速起草      | • 支持图文识别<br>• 具备基本的图文生成能力     | • 交互体验友好<br>• 响应速度快          | • 快速查询基础用药知识或起草初稿     |
| 通义千问 Qwen2-VL    | • 知识库更新频繁<br>• 对指南变化响应较快     | • 逻辑推理能力强<br>• 能理解复杂用药方案<br>• 需详细提示词保证专业性 | • 逻辑结构极清晰<br>• 擅长分步骤、列要点<br>• 擅长清单式输出 | • 支持多模态交互<br>• 可分析简单图表        | • 支持复杂指令<br>• 可进行多轮深入探讨      | • 制作结构化、步骤化的用药清单      |
| Kimi K2-0905     | • 可解析上传文献<br>• 适合循证决策        | • 文献解读能力强<br>• 循证推荐优势突出                   | • 能生成综合性的用药材料<br>• 适合复杂病例的完整分析报告      | • 专注于文本处理<br>• 图像相关功能较弱       | • 支持超长对话<br>• 适合深度病例讨论       | • 整合最新指南生成复杂病例综合报告    |
| 豆包 V1.62.5       | • 通用知识覆盖广<br>• 专业医学时效性不突出    | • 擅长日常健康咨询<br>• 高度专业化药学术语理解有限             | • 对话感强, 口语化<br>• 生成内容亲和力高, 易于理解       | • 图像生成为核心优势<br>• 可创建用药示意图、流程图 | • 对话自然流畅<br>• 适宜模拟医患问答       | • 生成可视化配图、开展口语化互动教育   |

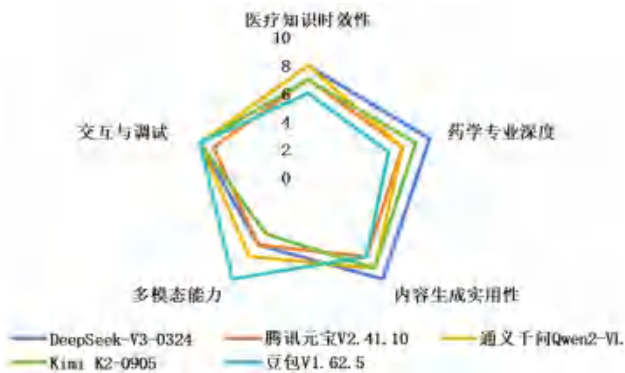


图 2 各 GenAI 大模型性能对比雷达图  
Fig 2 Performance comparison radar chart of various GenAI models

学意义 ( $H = 15.87, P < 0.001$ ); 采用 Bonferroni 校正进行两两比较, 结果显示纯文本生成模式耗时显著低于传统手工模式 ( $P < 0.001$ ), 双引擎协同模式耗时显著低于传统手工模式 ( $P < 0.001$ ), 双引擎协同模式耗时显著高于纯文本生成模式 ( $P < 0.01$ )。与纯文本生成模式相比, 双引擎协同模式因增加了图像生成与整合环节, 耗时有增加。但双引擎协同模式仅用于特殊住院患者或使用特殊药品患者的用药教育, 制作出的图片可以重复使用, 且与传统手工模式相比仍保持显著优势, 体现了 AI 辅助在药学服务中的效率提升价值。

2.3 内容质量分析

所有 GenAI 生成材料在医疗建议上未发现原则性错误, 不良反应提示与临床指南一致。但存在以下局限性: 3 份材料出现用量表述模糊 (如“1 ~ 2 片”), 与初始提示信息不明确有关; 4 份材料中药物服用时间与临床实际习惯存在偏差 (如乙胺丁醇标注“餐后服用”, 而实际常建议在无消化道不适

情况下, 与其他抗结核药餐前顿服以提高吸收和患者用药依从性), 反映模型对特定专科用药惯例的认知局限; 7 份由豆包生成的用药操作示意图存在局部内容缺失或细节不清的情况, 需通过“提示词优化”“区域重绘”功能进行二次修正。

3 讨论

3.1 住院患者用药教育现状与主要问题

当前, 我国住院患者用药教育仍处于发展阶段, 面临着资源短缺、模式单一、标准化不足等多重瓶颈<sup>[13]</sup>。一方面, 临床药师队伍总量不足、分布不均, 尤其在基层医院, 药学服务常由护士或其他医务人员代行, 缺乏专业支撑; 另一方面, 现有教育方式多依赖口头讲解或通用宣传册, 缺乏个体化、动态化的内容定制, 难以应对复杂多变的住院用药场景。

更为突出的是, 患者个体差异显著——年龄跨度大、文化背景多样、健康素养参差不齐, 使得“一刀切”的教育模式难以奏效。特别是老年患者普遍存在多重用药、认知衰退等问题, 极易发生漏服、误服或重复用药, 严重威胁用药安全<sup>[14]</sup>。此外, 住院期间的用药指导与出院后的自我管理之间常出现断层, 缺乏有效的延续性支持, 导致患者出院后用药依从性下降, 再入院率升高。传统模式在知识更新速度、信息整合效率与个性化服务能力上的局限, 已无法满足现代药学服务对精准性、及时性与可及性的要求。因此, 亟须借助新兴技术手段突破瓶颈, 推动药学服务向智能化、标准化、全程化方向转型升级。

3.2 GenAI 辅助用药教育

GenAI 技术的引入, 为住院患者用药教育提供了新的解决方案<sup>[15]</sup>。本研究通过对比主流 GenAI 模型的功能特性, 构建的“DeepSeek-V3-0324 + 豆



包 V1.62.5”双引擎协同模式,前者负责专业内容生成,后者强化视觉表达,两者协同形成完整的智能教育解决方案。实践证明,该模式不仅能显著缩短教育准备时间,还能提升材料的科学性与可读性,具备较强的临床推广价值。

此外,GenAI 支持多种输出格式(如 HTML、Markdown、PDF)与多模态融合(文本+图像),便于构建多媒体、跨平台的教育载体。例如,年轻患者可通过扫描二维码在手机端查看动态用药日历,老年患者则可获得大字号、图文并茂的纸质手册,满足不同人群的信息获取习惯。而 GenAI 并非替代药师,是作为“智能协作者”赋能药师,使其从烦琐的信息整理工作中解放出来,将更多精力投入到高阶临床决策、患者沟通与依从性干预等核心职能中,从而实现药学服务的价值跃迁。

### 3.3 运用 GenAI 提供药学服务的风险管理

尽管 GenAI 展现出巨大潜力,但其在医疗领域的应用仍面临诸多风险与挑战<sup>[16]</sup>,主要包括:

① 技术局限性:模型可能存在“幻觉”现象,生成不准确或虚构内容,其决策过程缺乏透明性,影响临床信任度;② 数据安全与隐私保护:患者健康信息的输入与存储需符合相关法规要求,防止数据泄露与滥用;③ 责任界定问题:若因 AI 生成内容导致用药错误,责任归属尚不清晰,需明确药师审核义务与 AI 工具的法律边界;④ 专业依赖风险:过度依赖 AI 可能导致药师专业能力退化,或忽视对患者个体情况的综合判断。

为应对上述风险,建议从以下几方面加强管理:① 强化模型“情境训练”,规范输入指令,建立 GenAI 输出内容的标准化审核流程,确保所有用药教育材料经药师确认后交付患者;② 制订数据安全与隐私保护规范,对模型使用过程中涉及的患者信息进行脱敏处理;③ 完善相关法律法规,明确 AI 辅助医疗中的责任主体与免责情形;④ 加强药师 GenAI 应用培训,提升其提示词设计、输出评判与风险识别能力。

## 4 结语

本研究系统探讨了 GenAI 在住院患者用药教育中的应用前景与实践路径。研究表明,以 DeepSeek-V3-0324 为代表的先进大语言模型,结合豆包 V1.62.5 等多模态工具,能够在保障内容科学性的前提下,大幅提升用药教育的效率与质量。通过构建 AI 生成、药师审核、个性化交付的协同模式,不仅缓解了人力资源压力,也推动了药学服务向智能化、精准化方向迈进。然而,AI 并非万能,其应用必须建立在严谨的专业监督与完善的风险管控基础之上。未来,应进一步深

化 AI 与临床业务的融合,探索本地化模型训练、全病程管理集成与跨机构协作机制,助力实现“以患者为中心”的高质量药学服务体系。

## 参考文献

- [1] 郑鉴凌,尹彦超,汤莹,等.数智药学——医院药学新质生产力[J].医药导报,2024,43(9):1502-1508.
- [2] 国务院.2025 年国务院政府工作报告[EB/OL].(2025-03-12)[2025-10-25].[https://www.gov.cn/yaowen/liebiao/202503/content\\_7013163.htm](https://www.gov.cn/yaowen/liebiao/202503/content_7013163.htm).
- [3] 张志玲,周鹏翔,何娜,等.基于临床实践指南,应用生成式人工智能模型编写纤维肌痛患者教育材料[J].临床药物治疗杂志,2024,22(5):7-11.
- [4] Bernstein IA, Zhang YV, Govil D, et al. Comparison of ophthalmologist and large language model Chatbot responses to online patient eye care questions[J]. JAMA Netw Open, 2023, 6(8): e2330320.
- [5] Jiang F, Jiang Y, Zhi H, et al. Artificial intelligence in healthcare: past, present and future[J]. Stroke Vasc Neurol, 2017, 2(4): 230-243.
- [6] Kung TH, Cheatham M, Medenilla A, et al. Performance of ChatGPT on USMLE: potential for AI-assisted medical education using large language models[J]. PLOS Digit Health, 2023, 2(2): e0000198.
- [7] 蔡睿,葛军,孙哲,等.AI 预训练大模型发展综述[J].小型微型计算机系统,2024,45(10):2327-2337.
- [8] 冯皓.大模型在自然语言处理中的应用方法研究[J].数字通信世界,2024(10):123-125.
- [9] 刘静,孙静,昂韦,等.人工智能大语言模型在用药咨询和用药教育中的多维度评估及与药师服务的比较研究[J].临床药物治疗杂志,2025,23(6):38-44,50.
- [10] 钱凤丹,贾婷婷,张蝶,等.DeepSeek-V3-0324 大模型在药学门诊用药教育中的应用初探[J].中国药房,2025,36(17):2192-2196.
- [11] 国家卫生健康委医院管理研究所药学信息专家委员会,中国医药教育协会老年药学专业委员会,北京整合医学学会数智化药学管理与服务分会,等.人工智能辅助药学服务专家共识[J].中国药房,2025,36(13):1553-1562.
- [12] 吴玲,王振山,谢龙.药师参与门诊老年高血压患者慢病管理的效果评价[J].药学与临床研究,2020,28(6):478-480.
- [13] 朱萍萍.个体化患者用药指导平台设计与应用[J].计算机应用文摘,2025,41(13):101-103.
- [14] 周婧,马晶晶,梁颖,等.老年住院患者药学服务工作模式的构建和信息化实践[J].今日药学,2023,33(12):939-944.
- [15] Dave M, Patel N. Artificial intelligence in healthcare and education[J]. Br Dent J, 2023, 234(10): 761-764.
- [16] 闻海荣,江瑞,张学工,等.DeepSeek 与医学大语言模型:技术创新与医疗服务模式重构[J].医学信息学杂志,2025,46(2):1-7,13.

(收稿日期:2025-11-18;修回日期:2025-12-23)



## 脊髓损伤患者尿动力学检查后尿路感染的危险因素分析及药学干预启示

曹玲娟<sup>1</sup>, 张海平<sup>1</sup>, 杨晓毅<sup>2</sup>, 钟翠红<sup>2</sup>, 吕剑豪<sup>1</sup>, 李尚<sup>1\*</sup> (1. 广东省工伤康复医院药剂科, 广州 510440; 2. 广东省工伤康复医院神经泌尿康复科, 广州 510440)

**摘要:** **目的** 探讨脊髓损伤患者尿动力学检查后尿路感染的发生率、危险因素及预防性抗菌药物使用的临床价值。**方法** 采用回顾性队列研究, 纳入 2021 年 1 月至 2023 年 12 月于广州市某医院行尿动力学检查的脊髓损伤患者 587 例, 收集临床资料, 通过单因素及多因素 Logistic 回归分析尿路感染的相关因素并绘制 ROC 曲线。**结果** 尿动力学检查后尿路感染发生率为 17.7%。多因素分析显示, 最大尿流率降低与残余尿量增加是尿路感染的独立危险因素, 而预防性抗菌药物使用是独立保护因素。但进一步构建的抗菌药物使用细节包括用药品种和疗程的扩展模型未显示出独立影响。基于上述变量构建的预测模型表现出良好的判别能力。**结论** 最大尿流率降低、残余尿量增加是脊髓损伤患者尿动力学检查后发生尿路感染的独立危险因素, 而预防性抗菌药物使用是保护因素, 临床可结合患者尿动力学参数(最大尿流率、残余尿量)综合评估感染风险, 对高危患者实施规范的短程预防用药, 并积极推行间歇性导尿等膀胱优化管理。未来仍需开展前瞻性、多中心研究以进一步验证。

**关键词:** 脊髓损伤; 尿动力学检查; 尿路感染; 危险因素; 抗菌药物预防; 合理用药

**中图分类号:** R694, R96

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-314-06

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.046

### Risk factors of urinary tract infection after urodynamic examination in patients with spinal cord injury and implications for pharmaceutical intervention

CAO Lingjuan<sup>1</sup>, ZHANG Haiping<sup>1</sup>, YANG Xiaoyi<sup>2</sup>, ZHONG Cuihong<sup>2</sup>, LYU Jianhao<sup>1</sup>, LI Shang<sup>1\*</sup> (1. Department of Pharmacy, Guangdong Work Injury Rehabilitation Hospital, Guangzhou 510440; 2. Department of Neuro-Urological Rehabilitation, Guangdong Work Injury Rehabilitation Hospital, Guangzhou 510440)

**Abstract:** **Objective** To determine the incidence and risk factors of urinary tract infections after urodynamic studies in patients with spinal cord injury and the clinical value of prophylactic antimicrobial use. **Methods** A retrospective cohort study was conducted on 587 patients with spinal cord injury who underwent urodynamic examination in a hospital in Guangzhou between January 2021 and December 2023. Clinical data were collected. Univariate and multivariate Logistic regression were conducted to identify the *r* factors associated with urinary tract infection, followed by the ROC curve. **Results** The incidence of urinary tract infection after urodynamic examination was 17.7%. Multivariate analysis showed that decreased maximum urinary flow rate and increased residual urine volume were independent risk factors for urinary tract infection, while prophylactic antimicrobial use was an independent protective factor. However, further construction of an extended model detailing the specifics of antibiotic use, including the types of drugs and the duration of treatment, did not show an independent impact. The prediction model based on the above variables demonstrated good discrimination. **Conclusion** Decreased maximum urinary flow rate and increased residual urine volume

**基金项目:** 广东省医学科研基金项目 (No. B2023304)。

**作者简介:** 曹玲娟, 女, 硕士, 副主任药师, 主要从事临床合理用药等方面的研究, email: 852072670@qq.com \* **通信作者:** 李尚, 男, 副主任药师, 主要从事医院药学和药事管理方面的研究, email: 547994951@qq.com

are independent risk factors for urinary tract infection after urodynamic examination in patients with spinal cord injury, while the preventive use of antibiotics is a protective factor. Clinical practice should integrate urodynamic parameters, such as maximum urinary flow rate and residual urine volume, to comprehensively assess infection risk. Standardized short-course prophylaxis is recommended for high-risk patients, alongside active implementation of bladder optimization strategies like intermittent catheterization. Prospective and multicenter studies are needed for further validation.

**Key words:** spinal cord injury; urodynamic examination; urinary tract infection; risk factor; antibiotic prophylaxis; rational drug use

尿动力学检查是基于病理生理学及流体力学原理,借助电生理和传感技术,对储尿与排尿过程及其导致的功能障碍进行分析,旨在探究排尿障碍的各类成因<sup>[1-2]</sup>。作为评估下尿路功能障碍的金标准,该检查广泛应用于泌尿外科、神经科及康复科等领域<sup>[3-6]</sup>,在脊髓损伤所致神经源性膀胱的精确诊断与管理中亦具有不可替代的作用<sup>[7]</sup>。然而作为一种有创操作,尿路感染是尿动力学检查常见并发症之一<sup>[8]</sup>。文献报道尿动力学检查后患者尿路感染率差异较大,为 1.5%~30%<sup>[9]</sup>。脊髓损伤患者常存在膀胱排空不全和残余尿量增多,伴随泌尿系统防御机制受损,因此在接受有创检查后更易发生感染。目前,围检查期是否预防性使用抗菌药物仍存在争议。国际指南多建议对神经源性膀胱、免疫抑制、高龄和留置导尿管等高危人群考虑预防用药,但相关证据等级有限<sup>[10-12]</sup>;国内临床实践中,预防用药指征把握不一,且缺乏针对脊髓损伤人群的具体方案,可能导致抗菌药物滥用或感染预防不足<sup>[13-14]</sup>。因此,精准识别该人群检查后感染的可干预性危险因素,并选择适宜的预防用药方案,对临床药师参与制订循证化和个体化的感染防控策略具有重要意义。为此,本研究通过一项回顾性队列分析,旨在明确脊髓损伤患者尿动力学检查后尿路感染的发生率,识别其独立危险因素,评估预防性抗菌药物使用的实际价值与合理方案,以期临床制订精准防控与用药策略提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2021 年 1 月 1 日至 2023 年 12 月 31 日于广州市某医院接受尿动力学检查的患者,纳入标准:① 年龄>18 岁;② 诊断为脊髓损伤。排除标准:① 凝血异常;② 合并恶性肿瘤;③ 检查前 4 周内临床有临床症状的尿路感染或其他系统活动性感染;④ 存在尿道狭窄或畸形。剔除标准:关键临床资料缺失者。本研究遵循赫尔辛基宣言并获得广东省工伤康复医院医学伦理委员会批准(批件号:AF/SC-07/2022.24 号)。

### 1.2 尿动力学检查

检查前 7 d 内,患者接受尿常规或清洁中段尿培养筛查,阴性标准为尿白细胞计数<15 个/ $\mu\text{L}$ 且细菌培养计数< $1\times 10^5$  CFU/mL,符合标准者直接安排检查。若筛查阳性,则根据病原学结果规范抗感染治疗,待感染控制(复查尿检达标且无尿路刺激症状)后进行检查<sup>[15-16]</sup>。采用 LABORIE DELPHIS 分析仪,由统一培训的技术人员按标准流程执行。检查后 7 d 内,再次进行尿常规或清洁中段尿培养。根据是否发生尿路感染,将患者分为感染组与非感染组。尿路感染诊断<sup>[17-18]</sup>需同时满足:① 出现新发或加重的尿路刺激症状或发热(体温>38.0℃);② 清洁中段尿培养菌落计数 $\geq 1\times 10^5$  CFU/mL。

### 1.3 数据收集

通过医院电子病历系统及实验室数据库收集资料,包括人口学资料[年龄、性别、体质指数(BMI)]、临床特征(是否留置导尿管、泌尿外科手术史、糖尿病史)、预防性抗菌药物使用情况(是否使用及具体品种、给药途径、疗程)、尿动力学参数(膀胱容量、最大尿流率、平均尿流率、残余尿量)及膀胱功能指标(膀胱出口梗阻、膀胱感觉、顺应性及逼尿肌活动度)。

### 1.4 回归模型构建与验证

首先进行单因素分析,将 $P<0.05$ 的变量作为候选变量纳入多因素二元 Logistic 回归,筛选独立危险因素,将总样本按 7:3 随机分为训练集与测试集,分别用于建模和验证。根据回归结果计算每位患者的综合预测概率(0~1),模型性能通过 ROC 曲线下面积(AUC)评估,并根据约登指数最大化确定最佳截断值。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 27.0 软件进行数据分析。符合正态分布的连续变量以均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验;非正态分布者以中位数(四分位距)表示,组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验。分类变量以例数(百分比)[ $n(\%)$ ]表示,无

序变量比较采用 $\chi^2$ 检验或 Fisher 确切概率法,有序变量采用 Mantel-Haenszel  $\chi^2$  检验(线性趋势检验)。多因素分析采用二元 Logistic 回归,以比值比(OR)及 95% 置信区间(CI)表示。所有检验均为双侧检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者临床资料的单因素分析

本研究共纳入 587 例脊髓损伤患者,尿动力学检查后尿路感染发生率为 17.7% (104/587)。单因素分析结果显示(见表 1),感染组与非感染组在年龄、性别、BMI、既往手术史、糖尿病史、膀胱容量、膀胱出口梗阻、膀胱感觉、顺应性及逼尿肌活动度等方面差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。与尿路感染相关的因素包括导尿管留置(感染组 78.8% vs 非感染组 63.8%)、预防性抗菌药物使用(感染组 53.8% vs 非感染组 69.6%)及其用品种、给药途径和用药疗程(均  $P < 0.05$ )。此外,感染组最大尿流率与平均尿流率均低于非感染组,而残余尿量更高(均  $P < 0.001$ )。

### 2.2 尿路感染危险因素的多因素二元 Logistic 回归分析

将单因素分析中  $P < 0.05$  的变量纳入多因素二元 Logistic 回归初始模型。因部分变量(最大尿流率和平均尿流率指标、预防性抗菌药物使用及用药具体细节)间存在共线性( $VIF > 8$ ),依据变量临床意义与统计诊断,最终选取留置导尿管、预防性抗菌药物使用、最大尿流率和残余尿量进入最终模型(各变量  $VIF < 3$ )。结果显示,在调整其他变量后,最大尿流率降低与残余尿量增加是尿路感染的独立危险因素(均  $P < 0.05$ ),预防性抗菌药物使用为保护因素( $P < 0.05$ ),留置导尿管在调整后不再具有独立预测作用( $P = 0.225$ )(见表 2)。

### 2.3 模型性能与验证

基于回归模型计算每位患者的感染综合预测概率,并绘制 ROC 曲线(见图 1)。模型在训练集( $n = 410$ )中 AUC 为 0.944 (95%CI: 0.910 ~ 0.978),根据约登指数最大化确定的最佳截断值为 0.097,对应敏感性 93.3%、特异性 84.8%。在测试集( $n = 177$ )中 AUC 为 0.934 (95%CI: 0.882 ~ 0.985),敏感性与特异性分别为 82.8% 和 83.1% (见表 3)。模型性能指标基于内部验证获得,外推性需进一步研究验证。

### 2.4 预防性抗菌药物使用细节对尿路感染的影响

为分析预防性抗菌药物使用对尿路感染的具体影响,本研究进一步构建了包含留置导尿管、最大尿流率、残余尿量以及预防性抗菌药物使用

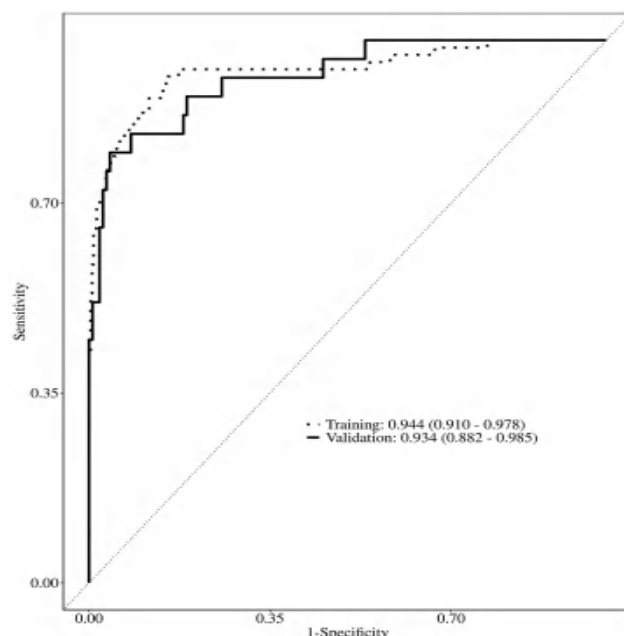


图 1 尿动力学检查后尿路感染预测模型的 ROC 曲线

Fig 1 ROC curve of the predictive model for urinary tract infection after urodynamic examination

注: 对角线为参考线 ( $AUC = 0.5$ ), 表示无判别能力。图中黑色虚折线代表训练集, 黑色实折线代表测试集。

Note: The diagonal line serves as the reference line ( $AUC = 0.5$ ), indicating no discrimination. In the figure, the black dashed line represents the training set, and the black solid line represents the testing set.

细节的扩展模型。结合共线性检验结果, 最终纳入留置导尿管、最大尿流率、残余尿量以及用品种、疗程 5 个变量。结果显示, 预防性抗菌药物使用细节未能进入最终模型, 仅最大尿流率与残余尿量保留为独立影响因素(见表 4)。提示在风险评估中, “是否预防性用药” 比用药细节更具预测意义。

## 3 讨论

本研究通过回顾性队列分析, 系统评估了脊髓损伤患者尿动力学检查后尿路感染的发生率及相关危险因素。结果显示, 检查后尿路感染发生率为 17.7%, 与既往报道范围 (1.5% ~ 30%)<sup>[9]</sup> 相符; 多因素分析识别出 3 个独立相关因素: 最大尿流率降低和残余尿量增加是感染的危险因素, 而预防性抗菌药物使用为保护因素, 为尿路感染防控提供了重要依据。基于上述变量构建的预测模型在内部验证中表现出良好的判别能力, 根据约登指数最大化确定最佳截断值为 0.097, 该相对较低的阈值表明模型在排除低风险患者方面具有一定临床价值, 而对模型判为阳性个体仍需结合临床进一步评估以明确诊断。

本研究发现尿流动力学异常(最大尿流率降



表 1 患者临床资料的单因素分析  
Tab 1 Baseline characteristics and univariate analysis of the patients

| 所有变量                         | 感染组 ( <i>n</i> = 104 ) | 非感染组 ( <i>n</i> = 483 ) | 统计值                  | <i>P</i> 值 |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------|------------|
| 人口学资料                        |                        |                         |                      |            |
| 年龄 / 岁                       | 44.5±14.3              | 43.4±12.8               | <i>t</i> = 0.731     | 0.465      |
| 男性 [ <i>n</i> ( % ) ]        | 83 (79.8)              | 375 (77.6)              | $\chi^2$ = 0.235     | 0.628      |
| BMI/ ( kg/m <sup>2</sup> )   | 23.1±5.5               | 22.4±4.9                | <i>t</i> = 1.680     | 0.093      |
| 临床特征 [ <i>n</i> ( % ) ]      |                        |                         |                      |            |
| 留置导尿管                        | 82 (78.8)              | 308 (63.8)              | $\chi^2$ = 8.725     | 0.003      |
| 既往手术史                        | 10 (9.6)               | 56 (11.6)               | $\chi^2$ = 0.336     | 0.562      |
| 糖尿病史                         | 7 (6.7)                | 25 (5.2)                | $\chi^2$ = 0.401     | 0.526      |
| 预防性抗菌药物使用 [ <i>n</i> ( % ) ] | 56 (53.8)              | 336 (69.6)              | $\chi^2$ = 9.531     | 0.002      |
| 用药品种 [ <i>n</i> ( % ) ]      |                        |                         | $\chi^2$ = 11.244    | 0.010      |
| 头孢类                          | 29 (27.9)              | 156 (32.3)              | $\chi^2$ = 10.153    | 0.006      |
| 喹诺酮类                         | 18 (17.3)              | 140 (29.0)              |                      |            |
| 其他                           | 9 (8.7)                | 40 (8.3)                |                      |            |
| 给药途径 [ <i>n</i> ( % ) ]      |                        |                         | 趋势 $\chi^2$ = 11.289 | 0.010      |
| 口服                           | 54 (51.9)              | 314 (65.0)              |                      |            |
| 静脉                           | 2 (1.9)                | 22 (4.6)                |                      |            |
| 用药疗程 [ <i>n</i> ( % ) ]      |                        |                         |                      |            |
| 1 ~ 2 d (短程)                 | 4 (3.8)                | 31 (6.4)                |                      |            |
| 3 ~ 4 d (延长)                 | 49 (47.1)              | 268 (55.5)              |                      |            |
| ≥ 5 d (长程)                   | 3 (2.9)                | 37 (7.7)                |                      |            |
| 尿动力学参数                       |                        |                         |                      |            |
| 膀胱容量 /mL                     | 306.7±117.4            | 323.9±120.7             | <i>t</i> = − 1.121   | 0.263      |
| 最大尿流率 / ( mL/s )             | 11.9±5.5               | 22.7±4.4                | <i>t</i> = − 18.959  | < 0.001    |
| 平均尿流率 / ( mL/s )             | 7.9±3.6                | 14.4±2.5                | <i>t</i> = − 17.422  | < 0.001    |
| 残余尿量 /mL                     | 156.9±87.1             | 101.1±76.2              | <i>t</i> = 6.064     | < 0.001    |
| 膀胱功能评估 [ <i>n</i> ( % ) ]    |                        |                         |                      |            |
| 膀胱出口梗阻                       | 15 (14.4)              | 90 (18.6)               | $\chi^2$ = 1.033     | 0.309      |
| 膀胱感觉 [ <i>n</i> ( % ) ]      |                        |                         | 趋势 $\chi^2$ = 0.834  | 0.841      |
| 消失                           | 28 (26.9)              | 112 (23.2)              |                      |            |
| 减退                           | 53 (51.0)              | 252 (52.2)              |                      |            |
| 正常                           | 12 (11.5)              | 58 (12.0)               |                      |            |
| 敏感                           | 11 (10.6)              | 61 (12.6)               |                      |            |
| 膀胱顺应性 [ <i>n</i> ( % ) ]     |                        |                         | 趋势 $\chi^2$ = 3.717  | 0.156      |
| 下降                           | 41 (39.4)              | 148 (30.6)              |                      |            |
| 正常                           | 63 (60.6)              | 331 (68.5)              |                      |            |
| 升高                           | 0 (0.0)                | 4 (0.8)                 |                      |            |
| 逼尿肌活动度 [ <i>n</i> ( % ) ]    |                        |                         | 趋势 $\chi^2$ = 2.991  | 0.224      |
| 储尿期亢进 / 排尿期乏力                | 94 (90.4)              | 454 (94.0)              |                      |            |
| 正常                           | 1 (1.0)                | 7 (1.4)                 |                      |            |
| 过度活动                         | 9 (8.7)                | 22 (4.6)                |                      |            |

注：有序分类变量采用 Mantel-Haenszel  $\chi^2$  检验（线性趋势检验）。  
Note：Ordinal categorical variables were analyzed using the Mantel-Haenszel  $\chi^2$  test（test for linear trend）.

表 2 尿路感染危险因素的多因素二元 Logistic 回归分析  
Tab 2 Multivariate binary Logistic regression analysis of urinary tract infection

| 变量                | 回归系数β   | 标准误 SE | Wald 卡方值 $\chi^2$ | P 值     | 比值比 OR (95%CI)        |
|-------------------|---------|--------|-------------------|---------|-----------------------|
| 留置导尿管             | 0.559   | 0.461  | 1.470             | 0.225   | 1.749 (0.709 ~ 4.315) |
| 预防性抗菌药物使用         | - 1.397 | 0.439  | 10.128            | 0.001   | 0.247 (0.105 ~ 0.585) |
| 最大尿流率（每增加 1 mL/s） | - 0.410 | 0.047  | 77.672            | < 0.001 | 0.663 (0.606 ~ 0.727) |
| 残余尿量（每增加 1 mL）    | 0.006   | 0.003  | 5.468             | 0.019   | 1.006 (1.001 ~ 1.011) |

注：结果为调整了模型中其他变量后的最终结果。  
Note：The results represent the final estimates after adjusting for other variables in the model.

表 3 尿路感染预测模型在训练集与测试集中的性能指标

| Tab 3 Performance metrics of the urinary tract infection prediction model in the training and test sets |                       |                       |                       |                       |                       |                       |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| 数据集                                                                                                     | AUC (95%CI)           | 准确率 (95%CI)           | 敏感性 (95%CI)           | 特异性 (95%CI)           | 阳性预测值 (95%CI)         | 阴性预测值 (95%CI)         | 截断值   |
| 训练集                                                                                                     | 0.944 (0.910 ~ 0.978) | 0.863 (0.826 ~ 0.895) | 0.933 (0.877 ~ 0.990) | 0.848 (0.809 ~ 0.886) | 0.579 (0.491 ~ 0.666) | 0.983 (0.968 ~ 0.998) | 0.097 |
| 测试集                                                                                                     | 0.934 (0.882 ~ 0.985) | 0.831 (0.767 ~ 0.883) | 0.828 (0.690 ~ 0.965) | 0.831 (0.771 ~ 0.891) | 0.490 (0.350 ~ 0.630) | 0.961 (0.927 ~ 0.995) | 0.097 |

表 4 抗菌药物使用细节对尿路感染影响的探索性分析

| Tab 4 Impact of antimicrobial use details on urinary tract infection |              |        |                   |         |                       |
|----------------------------------------------------------------------|--------------|--------|-------------------|---------|-----------------------|
| 变量                                                                   | 回归系数 $\beta$ | 标准误 SE | Wald 卡方值 $\chi^2$ | P 值     | OR (95%CI)            |
| 最大尿流率 (每增加 1 mL/s)                                                   | - 0.418      | 0.040  | 111.10            | < 0.001 | 0.658 (0.609 ~ 0.712) |
| 残余尿量 (每增加 1 mL)                                                      | 0.006        | 0.002  | 9.68              | 0.002   | 1.006 (1.002 ~ 1.011) |

注：结果为调整了模型中其他变量后的最终结果。  
Note: The results represent the final estimates after adjusting for other variables in the model.

低与残余尿量增加)与感染风险密切相关,此结果与前列腺增生人群研究结论一致<sup>[19]</sup>,但在脊髓损伤人群中得到进一步验证。其机制可能与尿流率减慢、膀胱冲刷作用减弱、尿液滞留易导致细菌定植与繁殖<sup>[16, 20]</sup>,以及长期尿液滞留所致膀胱过度扩张、膀胱壁变薄缺血,进而削弱机体对病原体的免疫应答有关<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,最大尿流率每增加 1 mL/s,比值比(OR)为 0.663,提示最大尿流率每降低 1 mL/s,感染风险增加约 51% ( $1/0.663 \approx 1.51$  倍);而残余尿量每增加 1 mL,OR 值为 1.006,即每增加 100 mL,感染风险增加约 82% ( $1.006^{100} \approx 1.82$  倍),与王颂扬<sup>[22]</sup>提出的残余尿量阈值( $\geq 60$  mL)观点相符,为临床识别高危患者提供了可量化的风险依据。因此,尿动力学参数如最大尿流率、残余尿量可被视为感染风险评估的关键指标,临床药师在诊疗过程中,可关注患者尿动力学检查报告,将其作为评估感染风险与推荐干预措施的客观指标之一,强化患者膀胱管理。

虽然单因素分析提示留置导尿管与感染相关,但在校正尿动力学参数及抗菌药物使用后,两者之间未再表现出明确的独立关联。这可能提示导尿管本身并非直接危险因素,其风险主要是通过影响尿流动力学或改变抗菌药物使用策略而间接体现。这进一步强调了改善膀胱排空、减少残余尿在感染防控中的重要地位。脊髓损伤患者神经源性膀胱发生率高,有效的膀胱管理是预防尿路感染的基石<sup>[23]</sup>。国内外指南均推荐间歇性导尿作为神经源性膀胱管理的首选方法<sup>[13, 24-27]</sup>,其相较于留置导尿管可显著降低尿路感染风险<sup>[28]</sup>。规范间歇性导尿不仅是有效的非药物防控手段,也是抗菌药物管理策略的重要组成部分,其通过改善膀胱排空、减少残余尿,从而降低感染风险,间接减少抗菌药物使用需求,一方面有助于延缓细菌耐药的发展,另一方面呈现更好的药物经济

学效益。临床药师可通过开展患者教育、提高间歇性导尿依从性等方式,推动膀胱管理的优化,实现从感染预防到治疗的全周期药学监护。

预防性抗菌药物使用是尿路感染的独立保护因素,表明对高危患者实施预防用药的必要性,尤其对于合并多种高危因素(如本研究识别的尿流率降低、残余尿量增加)的患者。国内外指南亦建议对神经源性膀胱、免疫缺陷等高危患者予以考虑预防性用药<sup>[10, 12, 14]</sup>。结合本研究,尿动力学参数或可作为识别高危患者、实施预防性用药决策的客观量化依据之一。然而,在进一步对预防性抗菌药物使用细节的扩展模型分析中,用药品种和疗程未显示出独立影响,提示“是否预防性用药”这一决策本身可能比具体用药细节更为关键。这也提示临床实践中预防用药方案应遵循“规范、精简”原则,结合患者个体化情况,选用覆盖常见病原菌的品种和合适的给药途径,实施短程预防,避免不必要的长疗程,以实现风险获益平衡。临床药师可在这一决策过程中参与风险评估、基于尿动力学检查等客观指标推荐预防策略,以促进抗菌药物的精准与合理使用。

本研究存在以下局限性:首先,单中心回顾性设计可能存在选择偏倚;其次,内部验证集样本量较小且阳性病例有限,可能导致模型性能的高估和不确定性增加,且训练集与验证集 AUC 接近可能部分反映了数据拆分的偶然性,未来需通过独立多中心队列进行外部验证;此外,未记录预防性抗菌药物用药时机、具体剂量等信息,可能影响对预防策略的深入评估。

综上所述,最大尿流率降低、残余尿量增加是脊髓损伤患者尿动力学检查后发生尿路感染的独立危险因素,而预防性抗菌药物使用是保护因素。基于此,笔者建议在临床决策中,应整合患者的尿动力学参数(如最大尿流率、残余尿量)进行感染风险评估,对高危个体实施规范、短程

的预防性抗菌药物治疗,并优先推行间歇性导尿等膀胱管理优化措施,从源头改善尿流动力学状态。通过多学科协作,发挥临床药师在风险评估与防控策略制订中的作用,有助于提升感染防控水平,促进抗菌药物的合理使用。

## 参考文献

- [1] 泌尿功能障碍预防和康复协作组. 下尿路及盆底功能障碍性疾病基层患者管理专家共识[J]. 中华泌尿外科杂志, 2024, 45 (10): 729-734.
- [2] Ginsberg DA, Boone TB, Cameron AP, et al. The AUA/SUFU guideline on adult neurogenic lower urinary tract dysfunction: diagnosis and evaluation [J]. J Urol, 2021, 206 (5): 1097-1105.
- [3] Abouelgreed T, Saleh D, Abdelaal M, et al. Urodynamic changes following laparoscopic versus vaginal hysterectomy [J]. Arch Ital Urol Androl, 2022, 94 (3): 315-318.
- [4] Eschlböck S, Kiss G, Krismer F, et al. Urodynamic evaluation in multiple system atrophy: a retrospective cohort study [J]. Mov Disord Clin Pract, 2021, 8 (7): 1052-1060.
- [5] 杨帅, 周钊凯, 文建国. 尿动力检查评估儿童下尿路功能障碍的研究进展[J]. 临床小儿外科杂志, 2023, 22 (6): 588-592.
- [6] Cheng Y, Xu SF, Chen J, et al. The influence of intubation on urinary flow parameters in pressure-flow study and its significance for urodynamic diagnosis [J]. Int Urogynecol J, 2022, 33 (11): 3103-3110.
- [7] Blanes L, Carmagnani MI, Ferreira LM. Health-related quality of life of primary caregivers of persons with paraplegia [J]. Spinal Cord, 2007, 45 (6): 399-403.
- [8] Nambiar AK, Lemack GE, Chapple CR, et al. The role of urodynamics in the evaluation of urinary incontinence: the European Association of urology recommendations in 2016 [J]. Eur Urol, 2017, 71 (4): 501-503.
- [9] Hirakauva EY, Bianchi-Ferraro AMHM, Zucchi EVM, et al. Incidence of bacteriuria after urodynamic study with or without antibiotic prophylaxis in women with urinary incontinence [J]. Rev Bras Ginecol Obstet, 2017, 39 (10): 534-540.
- [10] Cameron AP, Campeau L, Brucker BM, et al. Best practice policy statement on urodynamic antibiotic prophylaxis in the non-index patient [J]. Neurourol Urodyn, 2017, 36 (4): 915-926.
- [11] Fox C, Kim MJ, Kuo YH, et al. Validation of the best practice policy statement on urodynamic antibiotic prophylaxis for the high-risk patient in the era of antibiotic stewardship [J]. Neurourol Urodyn, 2020, 39 (8): 2246-2252.
- [12] Rubilotta E, Chiarulli EF, Ammirati E, et al. Antibiotic prophylaxis in invasive urodynamics, a Delphi consensus of the Italian Society of Urodynamics (SIUD) [J]. Neurourol Urodyn, 2024, 43 (5): 1192-1198.
- [13] 黄健, 张旭. 神经源性膀胱诊断治疗指南(2022版)[M]. 北京: 科学出版社, 2022: 475-522.
- [14] 《抗菌药物临床应用指导原则》修订工作组. 抗菌药物临床应用指导原则 2015 年版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [15] 项凤鸣, 张丹云, 李志家, 等. 前列腺增生症患者尿流动力学检查后尿路感染相关因素分析及预测列线图模型的构建[J]. 中国男科学杂志, 2020, 34 (2): 38-42.
- [16] Huang Z, Xiao H, Li H, et al. Analysis of the incidence and risk factors of male urinary tract infection following urodynamic study [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2017, 36 (10): 1873-1878.
- [17] 中国女医师协会肾脏病与血液净化专委会. 中国女性尿路感染诊疗专家共识[J]. 中华医学杂志, 2017, 97 (36): 2827-2832.
- [18] 尿路感染诊断与治疗中国专家共识编写组. 尿路感染诊断与治疗中国专家共识(2015版)[J]. 中华泌尿外科杂志, 2015, 36 (4): 241-244.
- [19] 杜伟, 范召应, 宋小松, 等. 前列腺增生患者尿流动力学检查后尿路感染发生率及危险因素分析[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志(电子版), 2019, 13 (1): 49-51.
- [20] 黎秀婵, 黄晓菲, 王丽如, 等. 神经外科导尿管相关性尿路感染的高危因素及预防策略[J]. 中国卫生标准管理, 2024, 15 (14): 166-170.
- [21] 胡波勇, 龚仁杰, 韩明, 等. 良性前列腺增生患者残余尿量对发生泌尿系感染的预测分析[J]. 临床外科杂志, 2017, 25 (4): 287-288.
- [22] 王颂扬. 体位对成年男性尿流率和残余尿的影响[D]. 新乡: 新乡医学院, 2024.
- [23] Han CS, Kim S, Radadia KD, et al. Comparison of urinary tract infection rates associated with transurethral catheterization, suprapubic tube and clean intermittent catheterization in the postoperative setting: a network meta-analysis [J]. J Urol, 2017, 198 (6): 1353-1358.
- [24] Ginsberg DA, Boone TB, Cameron AP, et al. The AUA/SUFU guideline on adult neurogenic lower urinary tract dysfunction: treatment and follow-up [J]. J Urol, 2021, 206 (5): 1106-1113.
- [25] Kranz J, Bartoletti R, Bruyère F, et al. European association of urology guidelines on urological infections: summary of the 2024 guidelines [J]. Eur Urol, 2024, 86 (1): 27-41.
- [26] Kavanagh A, Baverstock R, Campeau L, et al. Canadian urological association guideline: diagnosis, management, and surveillance of neurogenic lower urinary tract dysfunction-executive summary [J]. Can Urol Assoc J, 2019, 13 (6): 156-165.
- [27] Sekido N, Igawa Y, Kakizaki H, et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of lower urinary tract dysfunction in patients with spinal cord injury [J]. Int J Urol, 2020, 27 (4): 276-288.
- [28] Kinnear N, Barnett D, O'callaghan M, et al. The impact of catheter-based bladder drainage method on urinary tract infection risk in spinal cord injury and neurogenic bladder: a systematic review [J]. Neurourol Urodyn, 2020, 39 (2): 854-862.

(收稿日期: 2025-12-18; 修回日期: 2026-02-12)



# 基于 Kano 模型的药品网络零售互联网药学服务需求调查及优化策略

王洽利<sup>1</sup>, 刘佐仁<sup>1, 2\*</sup> (1. 广东药科大学, 广州 510006; 2. 国家药品监督管理局药物警戒技术与评价重点实验室, 广州 510006)

**摘要:** **目的** 调查分析药品网络零售互联网药学服务需求, 为互联网医药平台优化互联网药学服务提供参考。**方法** 将归纳整理的服务指标与 Kano 模型结合, 设计需求调查问卷, 并发放回收。运用 Kano 模型分析表与 Better-Worse 系数分析法, 对各项需求进行属性分类及优先级排序, 分析并提出优化建议。**结果** 共计回收问卷 858 份, 有效问卷 649 份, 有效率 75.64%。经统计分析, 25 个药品网络零售互联网药学服务项目中, 只有在线用药咨询 1 项为必备型需求, 医保支付、电子处方服务等 8 项为期望型需求, 在线药学门诊、居家药学服务等 5 项为魅力型需求, 用药保险、用药随访等 11 项为无差异需求。在线用药咨询为优先级最高的需求, 期望型需求里医保支付和电子处方的优先级最高, 魅力型需求里在线药学门诊和居家药学服务优先级最高。**结论** 建议互联网医药平台应将有限资源集中于提升需求敏感指数高的必备型、期望型和魅力型需求服务的质量, 优先保障在线用药咨询服务, 重点优化医保支付和电子处方服务等期望型需求, 选择性发展在线药学门诊和居家药学服务等魅力型需求。而对于大量无差异需求服务, 应审慎评估其投入价值。

**关键词:** Kano 模型; 药品网络零售; 互联网药学服务; 需求分析

**中图分类号:** R95

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2981(2026)05-320-07

**doi:** 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.047

## Demand and optimization strategies for online pharmacy services based on the Kano model

WANG Qiali<sup>1</sup>, LIU Zuoren<sup>1, 2</sup> (1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006; 2. NMPA Key Laboratory for Pharmacovigilance Technology Research and Evaluation, Guangzhou 510006)

**Abstract: Objective** To determine the demands for online pharmacy services and help e-pharmacies optimize their services. **Methods** A questionnaire based on literature-derived indicators and the Kano model was designed and distributed. The Kano table and Better-Worse coefficient analysis were used to classify demand attributes, prioritize them, and propose optimization strategies. **Results** Of the 858 collected questionnaires, 649 were valid (75.64%). Among the 25 online pharmacy services, only “online medication consultation” was a must-be demand; 8 (e.g., medical insurance payment, e-prescription services) were one-dimensional demands; 5 (e.g., online pharmacy clinics, home pharmacy services) were attractive; and 11 (e.g., medication insurance, medication follow-ups) were indifferent. “Online medication consultation” had the highest overall priority. Among one-dimensional demands, medical insurance payment and e-prescription services ranked top; among attractive demands, online pharmacy clinics and home pharmacy services ranked top. **Conclusion** Platforms should prioritize resources on must-be, one-dimensional, and attractive demands with high sensitivity indices. Specifically, they should guarantee online medication consultation, optimize one-dimensional demands like medical insurance payment and e-prescription services, selectively develop attractive demands like online pharmacy clinics, and carefully evaluate investment value in indifferent demands.

**Key words:** Kano model; online drug retail; online pharmacy service; demand analysis

**基金项目:** 广东省哲学社会科学规划项目 (No.GD23SQGL01)。

**作者简介:** 王洽利, 男, 硕士研究生, 主要从事药事管理研究, email: 1216501605@qq.com \* **通信作者:** 刘佐仁, 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事药事管理研究, email: gdpc1223@163.com

2017 年《国务院办公厅关于进一步改革完善药品生产流通使用政策的若干意见》明确指出,要鼓励有条件的地区依托现有信息系统,开展药师网上处方审核、合理用药指导等药事服务<sup>[1]</sup>;2019 年新修订的《中华人民共和国药品管理法》明令禁止毒、麻、精、放等七类特殊管理药品网售,间接为处方药网售提供了法律上的可能性,而后处方药网络零售快速涌现<sup>[2-3]</sup>;2022 年《药品网络销售监督管理办法》规定,药品网络零售企业应当建立在线药学服务制度,由依法经过资格认定的药师或者其他药学技术人员开展处方审核调配、指导合理用药等工作<sup>[4]</sup>。

米内网数据显示,2023 年我国药品网络零售总额已经超过 3000 亿元,而在 2014 年,这一数据仅为 78 亿元<sup>[5-6]</sup>。药品网络销售业态高速发展的同时,配套的互联网药学服务也不断推陈出新,如电子处方、医保在线支付、在线健康自测等服务内容,形式也不再局限于文字,如图文或网络视频直播形式的药学科普、语音形式的用药提醒等。

在网上药店药学服务多元化发展的同时,也伴随着在线药师资源不足、用药咨询回答流于形式、用药指导服务质量参差不齐等挑战。当前阶段的网上药店药学服务能否满足公众的需求?公众更需要哪些方面的药学服务?目前国内学者对互联网药学服务的研究,主要集中于互联网医疗机构<sup>[7-8]</sup>,而针对网上药店的研究较为匮乏,缺少深入的实证调查。因此,本研究以药品网络零售场景的互联网药学服务公众需求为视角,基于 Kano 模型设计并回收问卷,对互联网药学服务进行需求属性分类及优先级排序,为药品网络零售行业建立并优化互联网药学服务制度提供针对性建议。

## 1 资料与方法

### 1.1 Kano 模型

本研究选择 Kano 模型作为核心分析工具,主要基于其在医药卫生服务需求研究领域的成熟性以及在线药学服务特性的高契合性<sup>[9-11]</sup>。Kano 模型是由日本教授 Kano 提出,用于识别调查对象需求情况,将需求进行分类并按优先级排序的研究模型<sup>[12]</sup>。该模型从顾客感受角度,将需求分为五类:魅力型需求(A)、期望型需求(O)、必备型需求(M)、无差异需求(I)、反向型需求(R)<sup>[13]</sup>。Kano 问卷将每项需求都设定有正向问题和反向问题,即调查对象对每项需求的“提供”和“不提供”的感受。通过表 1 的需求属性归类方法,将问卷里每一对问题进行处理,得出对应的需求属性。

分别统计每项需求中的 A、O、M、I 的频数,计算求满意度指数 Better (SI) 和不满意度指数 Worse (DSI),公式如下<sup>[14]</sup>:

表 1 Kano 模型分类

Tab 1 Classification of Kano model

| 正向问题 | 反向问题 |    |     |      |     |
|------|------|----|-----|------|-----|
|      | 很喜欢  | 喜欢 | 无所谓 | 勉强接受 | 不喜欢 |
| 很喜欢  | Q    | A  | A   | A    | O   |
| 喜欢   | R    | I  | I   | I    | M   |
| 无所谓  | R    | I  | I   | I    | M   |
| 勉强接受 | R    | I  | I   | I    | M   |
| 不喜欢  | R    | R  | R   | R    | Q   |

$$SI = (A + O) / (A + O + M + I),$$

$$DSI = -(M + O) / (A + O + M + I)$$

其中 SI 为正数,该值越大,说明提供该服务,对公众的满意度提升越大;DSI 为负数,该值越小,说明不提供该服务,对公众的满意度下降越大。以 SI 为横坐标,|DSI| 为纵坐标绘制 Better-Worse 矩阵图,以 SI 和 |DSI| 的平均值为坐标原点,划分为四个象限,可将各项服务分为四类需求属性。第一象限为期望型属性、第二象限为魅力型属性、第三象限为无差异属性、第四象限为必备型属性<sup>[12]</sup>。对于服务提供者而言,需要加大提供或改善的需求的优先级排序为:必备型>期望型>魅力型>无差异。在同一个分类下的各服务优先级,则依据需求敏感指数(sensitivity of requirements, SR)进行判断,计算公式如下<sup>[15]</sup>:

$$SR = \sqrt{SI^2 + DSI^2}$$

SR 的值越大,即代表该服务越迫切需要被满足或改善。

### 1.2 需求指标

本研究采用文献研究法,系统梳理了来自国家及地方药品监督管理局、医药行业协会等的政策文件与权威书籍,初步形成了药学服务项目表格,见表 2。

在初步梳理出广义药学服务项目的基础上,为构建一套适用于网络销售场景、科学且可操作的指标体系,研究团队采用实地观察法,对主流线上医药平台(如 B2C 模式的京东健康、阿里健康,以及 O2O 模式的美团买药、叮当快药等)及传统连锁药店(如海王星辰、大参林等)的线上服务进行了深入观察。通过浏览各平台 APP 及小程序界面,重点查看平台首页、服务专区、用药指导及“个人中心”等功能模块,系统识别并记录平台提供的互联网药学服务项目;同时通过平台客服咨询,进一步核实平台的在线药学服务内容。

随后,研究团队通过抽样选取了四位资深专家,采用线上线下结合的方式进行半结构化访谈。受访专家包括:一位深耕药学服务领域的高校教授,硕士学历;两位来自南方医药经济研究所的专家,职称分别为中级与副高级,学历均为硕士;以及一位医药电商企业地区负责人,本科学历。四位专家在药学服务与

表 2 药学服务项目  
Tab 2 Pharmaceutical care items

| 具体内容                                                                                      | 来源                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 处方审核、处方调配、用药交代、中药代煎、用药指导、药品不良反应监测、健康宣教                                                    | 《药品零售企业执业药师药学服务指南》——国家药监局执业药师资格认证中心 <sup>[16]</sup> |
| 用药指导、处方调剂、健康生活方式指导、患者用药即时监测、患者用药清单整理、新药使用指导、健康科普、家庭急救、患者教育、居家药学服务、药膳保健指导、中药饮片临方加工、慢性病用药管理 | 《广东省社区药店药学服务体系建设指南》——广东省药监局 <sup>[17]</sup>         |
| 药物信息提供、用药咨询、处方审核、用药说明、药品安全性监测、药学科普                                                        | 《药品网络经营质量管理规范》——中国医药商业协会 <sup>[18]</sup>            |
| 处方审核、用药交代、用药咨询、用药教育、药物重整、药物治疗管理、药品安全性监测、药学科普                                              | 《互联网药学服务专家共识》——中国药师协会 <sup>[19]</sup>               |
| 处方审核、药品调剂配送、用药指导、用药咨询、药学科普                                                                | 《互联网药学服务质量管理标准》——中国卫生信息与健康医疗大数据学会 <sup>[20]</sup>   |
| 处方审核、处方调剂、治疗药物监测、不良反应监测和报告、药物利用研究和评价、药学信息研究、药学健康教育                                        | 丁选胜和张伶俐主编的《药学服务概论》 <sup>[21]</sup>                  |
| 药品调剂、个体化给药、临床药物治疗、用药风险管理、应急药品供应、特殊人群药学服务、用药咨询、健康教育                                        | 许杜娟主编的《药学服务实务》 <sup>[22]</sup>                      |

网络售药领域均拥有至少五年相关工作经验。访谈内容聚焦于指标适用性（是否属于药学服务范畴）与在线化实施的可行性。研究团队结合行业实际情况与访谈所得意见，最终形成药品网络零售药学服务需求指标共 25 个，并基于公众视角下的问卷设计原则，编撰了易于受访者理解的指标注释，见表 3。

1.3 问卷设计

本研究问卷分为两部分：第一部分是基本信息，包括年龄、是否有药品网购经历、最常用平台、购药频率及健康群体；第二部分是基于 Kano 模型的需求调查，将 25 个服务内容指标以“提供”与“不提供”的方式进行提问，测量调查对象在两种情形下的态度。

1.4 数据收集

本研究采用方便抽样方法，通过问卷星在线发放，共回收 858 份问卷，剔除填写不完整和可疑结果后，有效问卷有 649 份，有效率 75.64%。

2 结果

2.1 信效度检验

对回收的问卷进行信效度检验，正、反向问题 Cronbach's  $\alpha$  系数分别为 0.907 和 0.909，KMO 值分别为 0.909 和 0.918，Bartlett 球形检验  $P$  值均小于 0.001，说明该问卷信度和效度良好。

2.2 基本信息

本研究调查对象的基本信息如表 4 所示。

2.3 需求调查结果

结合 Kano 式问卷和需求属性归类表，得到各项服务指标的需求属性情况，见表 5。

计算得  $SI$  和  $|DSI|$  的平均值为 32.55% 和 22.36%，以 (0.2236, 0.3255) 为原点划分象限，绘制出药品网络零售互联网药学服务需求属性分析矩阵，如图 1 所示。

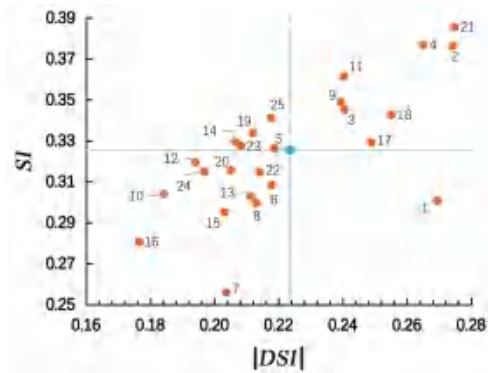


图 1 药品网络零售互联网药学服务需求属性分析矩阵

Fig 1 Demand attribute matrix for online pharmacy services in online drug retailing

由图 1 可见，医保支付、电子处方服务、用药指导等 8 项内容在第一象限，为期望型需求；在线药学门诊、居家药学服务等 5 项内容处于第二象限，为魅力型需求；用药保险、用药随访等 11 项内容处于第三象限，为无差异需求；在第四象限仅有在线用药咨询这 1 项内容，为必备型需求。根据各项服务内容的  $SR$  值，可得到服务需求优先级排序情况，如表 6 所示。

2.4 核心人群需求结果

本研究中年龄在 20 ~ 30 岁、31 ~ 45 岁的调查对象较多，分别达 53.47%、25.42%，这与实际生活中药品网络零售的主要消费人群一致。筛选合并该人群，即 20 ~ 45 岁的调查对象，进行亚组的 Kano 分析。得到该核心人群对药品网络零售互联网药学服务的需求结果，见图 2。其中与全样本的分类有区别的需求指标，即电子药历、在线中药临方加工、居家药学服务、健康生活方式指导，在图 2 中以加深、加粗标记予以突出。



表 3 药品网络零售互联网药学服务需求指标

Tab 3 Indicators of online pharmaceutical care needs in online drug retailing

| 具体内容            | 注释                                                               |
|-----------------|------------------------------------------------------------------|
| 1. 在线用药咨询       | 患者通过图文、视频、电话即时咨询药师用药问题，获得专业解答                                    |
| 2. 电子处方服务       | ① 通过互联网医院就诊，在线开具电子处方；② 将医院电子处方流转至网上药店；③ 患者上传纸质处方转化为电子处方；④ 一键续方购药 |
| 3. 用药推荐         | 针对患者具体情况，推荐更为适用或经济性更好的药品                                         |
| 4. 用药指导         | 药师向患者详细说明药物用法、用量、禁忌及注意事项等信息                                      |
| 5. 电子药历         | 患者可在线查阅、管理个人历史用药信息及健康档案                                          |
| 6. 用药随访         | 网上药店药师定期询问患者用药情况、依从性和不良反应等                                       |
| 7. 药学科普         | 平台提供易懂的疾病、药物、健康相关知识文章或视频，如科普讲座、药品百科、药品资讯报道（价格、政策、新药上市等）等         |
| 8. 用药教育         | 向患者提供用药风险防范、普及合理用药知识、药品储存、自我用药管理教育等服务，以提高患者用药安全性和依从性             |
| 9. 不良反应上报       | 提供便捷通道供患者在线报告用药后不适或疑似不良反应                                        |
| 10. 用（服）药提醒     | 通过 APP、短信等方式定时提醒患者按时服药                                           |
| 11. 用药禁忌查询      | 联合用药的搭配禁忌查询，或药物与疾病、食物的禁忌                                         |
| 12. 在线中药临方加工    | 一站式服务：在线问诊开方或上传处方、线上抓中药、中药代煎（或打粉）及配送                             |
| 13. 药膳保健指导      | 中药师结合中医药知识和养生理论，向患者提供药膳饮食调养建议                                    |
| 14. 药品拆零销售      | 药店将整盒药品拆开，根据患者需要，按粒/片/支等小单位销售                                    |
| 15. 近效期药品销售     | 网上药店将近效期药品分区，标注截至有效期，并优惠售卖                                       |
| 16. 用药监测        | 需搭配智能穿戴设备与家庭智能药箱等，实时监测患者是否定时服药，或服药后的血糖血压血脂等变化                    |
| 17. 高警示药品存放使用指导 | 平台页面显著标识提醒，且药师在线指导高危药品（如神经类、毒性大）的安全储存和使用方法                       |
| 18. 药品说明书查询     | 网上药店平台提供权威、可读性强的电子版药品说明书在线查阅功能                                   |
| 19. 居家药学服务      | 预约药师上门服务，提供普及健康知识，开展用药评估，协助用药档案建立，指导贮存和使用药品，进行家庭药箱管理等服务          |
| 20. 药品回收        | 网上药店平台有偿回收消费者的过期/特殊管理药品                                          |
| 21. 医保支付        | 使用医保卡基金抵消在线购药的部分费用                                               |
| 22. 用药保险（医保外）   | 网上药店提供专门报销指定药品的商业保险服务                                            |
| 23. 健康生活方式指导    | 根据患者的病情，提供与疾病康复、预防相关的运动、饮食等生活方式调整方案                              |
| 24. 健康自测        | 患者通过在线问卷、拍照上传等方式经平台智能程序进行初步健康判断，如测血压血氧、皮肤测评、中医测评等                |
| 25. 在线药学门诊      | 提供更深深度、预约制的药师一对一在线咨询诊疗服务，如用药评估、用药方案调整建议、个性化用药计划建议等一系列药学专业化服务     |

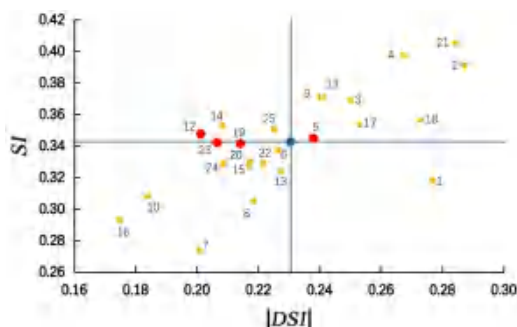


图 2 核心人群（20～45 岁）需求属性分析矩阵

Fig 2 Demand attribute analysis matrix for the core population (aged 20 ~ 45 years)

### 3 讨论与建议

#### 3.1 优先保障在线用药咨询这项必备需求

本研究表明，在线用药咨询是公众感知里唯一的必备需求。相较于医疗机构或实体药店，网上药店场景缺乏药师即时、面对面的专业指导，因此公众将在线用药咨询视为弥补该缺陷、保障用药安全的最低门槛与核心补偿机制。根据 Kano 模型理论，该需求若得不到满足，会引发极大的不满；但得到

满足则会被视为理所当然，不会显著提升满意度。药品网络零售企业应不遗余力地确保在线用药咨询的可及性和可靠性。具体而言，企业应投入资源建立高效、专业、可靠的咨询团队（如配备充足的专业药师），并在服务流程中嵌入透明度（如咨询时展示药师信息、标识区分 AI 与人工的回答）与规范性（如规定响应速率、使用礼貌用语），不断夯实这一基础性服务，筑牢公众信任的基石<sup>[23-24]</sup>。

#### 3.2 重点优化医保支付和电子处方服务等需求

医保支付、电子处方服务、用药指导等 8 项需求被识别为期望型需求。这些服务是公众显性期望的核心，其提供水平与公众满意度呈线性相关，是当前互联网药学服务的竞争焦点。其中，首要的医保支付直接关乎购药成本，其高优先级凸显了价格仍然是影响公众选择线上渠道的关键经济因素；其次是电子处方服务，是破解处方药在线销售瓶颈的枢纽，它集合了互联网医院药店衔接、处方流转与续方管理等功能，极大地简化了处方药购买流程，提升了药品的可及性，尤其

表 4 调查对象基本信息 (n = 649)

Tab 4 Survey subjects' basic information (n = 649)

| 项目     | 选项          | 人数  | 占比 /% |
|--------|-------------|-----|-------|
| 年龄     | 20 岁以下      | 52  | 8.01  |
|        | 20 ~ 30 岁   | 347 | 53.47 |
|        | 31 ~ 45 岁   | 165 | 25.42 |
|        | 46 ~ 65 岁   | 74  | 11.40 |
|        | 65 岁以上      | 11  | 1.69  |
| 药品网购经历 | 有           | 583 | 89.83 |
|        | 没有          | 66  | 10.17 |
| 常用平台   | 京东健康        | 214 | 36.71 |
|        | 阿里健康        | 254 | 43.57 |
|        | 美团买药        | 337 | 57.80 |
|        | 饿了么买药       | 193 | 33.10 |
|        | 微信小程序       | 103 | 17.67 |
|        | 药品连锁零售 APP  | 59  | 10.12 |
|        | 其他          | 35  | 6.00  |
| 药品网购频率 | 仅 1 ~ 2 次   | 21  | 3.60  |
|        | 每年 1 ~ 2 次  | 136 | 23.33 |
|        | 每季度 1 ~ 2 次 | 189 | 32.42 |
|        | 每月 1 ~ 2 次  | 129 | 22.13 |
|        | 每周 1 次左右    | 60  | 10.29 |
|        | 每周几次        | 48  | 8.23  |
| 健康群体   | 慢性病患者       | 108 | 16.64 |
|        | 老幼孕妇        | 147 | 22.65 |
|        | 残疾人         | 74  | 11.40 |
|        | 无特殊情况       | 398 | 61.33 |

满足了慢性病患者的长期用药需求; 用药指导、用药禁忌查询、药品说明书查询、不良反应上报、用药推荐和高警示药品存放使用指导, 共同构成了公众用药安全的信息保障体系, 这正契合了公众在缺乏线下监督时, 对获取专业信息的核心诉求; 用药推荐则是综合了公众对药品适用性和经济性需求的个性化服务。

目前国内网上购药医保支付处于快速推进的阶段, 北京、上海、广州、深圳等多个城市已试点开通“线上购药医保个账支付”功能, 参保人可通过美团、京东等平台在定点药店使用医保购买非处方药, 部分地区 (如深圳、青岛) 的试点还覆盖了处方药<sup>[25]</sup>。然而, 当前接入线上医保支付的药店数量仍有限, 覆盖药品种类以常见病用药为主, 且存在地域不均衡问题, 服务范围有待进一步扩大。与此同时, 电子处方服务也处于初级阶段, 仍存在若干乱象及监管挑战。不同互联网医院、医保部门与网上药店之间的信息系统尚未互联互通, 电子处方无法自由流转; 部分平台的电子处方开具与审核流程流于形式, 人工智能代替真人药师; 存在患者在未提供任何确诊凭证的情况下, 单方面申明病情即可获取处方的现象, “不得对首诊患者开展互联网诊疗活动”规定形同虚设, 公众用药安全存在隐患; 唾手可得的电子处方与医保支付叠加, 存在盗刷医保基金风险等<sup>[26]</sup>。

综上, 建议企业积极申请接入医保定点, 优化电子处方流转与接收系统。医保部门应继续扩大医保线上支付覆盖范围; 落实“三医”协同, 统一规范与数据标准, 探索建立“三医”与药品网络销售企业的四者沟通协作机制<sup>[27-28]</sup>。

**3.3 选择性发展在线药學门诊和居家药學服务等需求**

本研究显示, 在线药學门诊、居家药學服务、电子药历、药品拆零服务、健康生活方式指导, 五项服务属于魅力型需求。这类服务未能提供不会引起不满, 一旦提供则能极大地提升公众的满意度, 是打造服务差异化、培养公众忠诚度的重要手段。其中, 在线药學门诊和居家药學服务的需求迫切性最高, 都属于高级药學服务范畴。在线药學门诊是由互联网医疗机构取得相应资质的药师对患者提供用药评估、用药调整建议、用药指导、用药教育、随访计划等一系列专业化药學技术服务的服务。

药品网售企业可以“在线药學门诊”与“居家药學服务”为未来战略建设, 将其整合为核心增值模块, 在经济发达地区进行高级药學服务付费模式的试点; 大力推广“电子药历”功能, 实现网上药店用户用药信息的云端同步与智能提醒; 积极探索“药品拆零服务”的合规落地, 满足急性病患者的个性化需求。

**3.4 理性评估用药随访和健康自测等需求**

用药保险、用药随访、药品回收、健康自测和药膳保健指导等 11 项需求被识别为无差异需求。这类需求无论提供与否, 均对公众满意度无显著影响, 企业应避免在此类服务上过度投入资源。

究其原因, 可能是目前提供此类服务的网上药店较少, 实际使用频率低, 公众感知不强。基于此, 已开展此类服务的企业有必要从两个层面重新审视其价值: 一方面, 审视其实际效益, 判断是否真正契合公众的核心期待; 另一方面, 则需评估其社会价值, 即使无法直接提升满意度, 它们也可能在承担社会责任、树立良好公共形象等方面具有潜在意义。这一评估有助于企业做出更具前瞻性的战略权衡。

**3.5 针对中青年人群调整在线药學服务策略**

中青年人群 (20 ~ 45 岁) 在本研究中占主导地位, 其药學服务体验在很大程度上决定了整体服务评价。将该群体的 Kano 需求分类结果与全样本对比, 发现电子药历服务由原本的魅力型转变为期待型。可能原因在于, 中青年人群的健康管理意识更强或为家人管理健康的需求更普遍, 同时作为网购主要人群, 其对数据留存和服务连续性要求更高, 一旦缺失会直接导致不满。而在线中药临方加

表 5 药品网络零售互联网药学服务的需求属性分析

| 服务内容            | A/%   | O/%   | M/%   | I/%   | R/%  | SI/%  | DSI/%   | SR    |
|-----------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|---------|-------|
| 1. 在线用药咨询       | 17.57 | 12.17 | 14.48 | 54.70 | 1.08 | 30.06 | — 26.94 | 0.404 |
| 2. 电子处方服务       | 22.50 | 13.87 | 12.63 | 47.61 | 3.39 | 37.65 | — 27.43 | 0.466 |
| 3. 用药推荐         | 22.03 | 12.02 | 11.71 | 52.85 | 1.39 | 34.53 | — 24.06 | 0.421 |
| 4. 用药指导         | 21.73 | 15.10 | 10.79 | 50.08 | 2.31 | 37.70 | — 26.50 | 0.461 |
| 5. 电子药历         | 20.03 | 11.71 | 9.55  | 55.93 | 2.77 | 32.65 | — 21.87 | 0.393 |
| 6. 用药随访         | 20.03 | 9.86  | 11.25 | 55.78 | 3.08 | 30.84 | — 21.78 | 0.378 |
| 7. 药学科普         | 15.41 | 9.55  | 10.32 | 62.25 | 2.47 | 25.59 | — 20.37 | 0.327 |
| 8. 用药教育         | 18.18 | 11.09 | 9.71  | 58.71 | 2.31 | 29.96 | — 21.29 | 0.368 |
| 9. 不良反应上报       | 21.26 | 13.10 | 10.48 | 53.62 | 1.54 | 34.90 | — 23.95 | 0.423 |
| 10. 用（服）药提醒     | 21.73 | 8.01  | 10.02 | 58.09 | 2.16 | 30.39 | — 18.43 | 0.355 |
| 11. 用药禁忌查询      | 22.34 | 12.63 | 10.63 | 51.16 | 3.24 | 36.14 | — 24.04 | 0.434 |
| 12. 在线中药临方加工    | 21.57 | 9.40  | 9.40  | 56.55 | 3.08 | 31.95 | — 19.40 | 0.374 |
| 13. 药膳保健指导      | 20.34 | 9.24  | 11.40 | 56.70 | 2.31 | 30.28 | — 21.13 | 0.369 |
| 14. 药品拆零销售      | 21.88 | 9.86  | 10.02 | 54.55 | 3.70 | 32.96 | — 20.64 | 0.389 |
| 15. 近效期药品销售     | 18.80 | 9.86  | 9.86  | 58.55 | 2.93 | 29.53 | — 20.32 | 0.358 |
| 16. 用药监测        | 18.95 | 8.47  | 8.78  | 61.48 | 2.31 | 28.07 | — 17.66 | 0.332 |
| 17. 高警示药品存放使用指导 | 18.03 | 14.18 | 10.17 | 55.47 | 2.16 | 32.92 | — 24.89 | 0.413 |
| 18. 药品说明书查询     | 20.49 | 13.25 | 11.86 | 52.85 | 1.54 | 34.27 | — 25.51 | 0.427 |
| 19. 居家药学服务      | 21.88 | 10.63 | 10.02 | 54.85 | 2.62 | 33.38 | — 21.21 | 0.396 |
| 20. 药品回收        | 21.26 | 9.09  | 10.63 | 55.16 | 3.85 | 31.57 | — 20.51 | 0.376 |
| 21. 医保支付        | 21.73 | 15.87 | 10.94 | 49.00 | 2.47 | 38.55 | — 27.49 | 0.473 |
| 22. 用药保险（医保外）   | 19.11 | 11.25 | 9.40  | 56.70 | 3.54 | 31.47 | — 21.41 | 0.381 |
| 23. 健康生活方式指导    | 20.96 | 10.79 | 9.40  | 55.78 | 3.08 | 32.76 | — 20.83 | 0.388 |
| 24. 健康自测        | 22.34 | 8.47  | 10.79 | 56.24 | 2.16 | 31.49 | — 19.69 | 0.371 |
| 25. 在线药学科门诊     | 23.11 | 10.48 | 10.94 | 53.93 | 1.54 | 34.12 | — 21.76 | 0.405 |

表 6 需求优先级排序

| 需求属性  | 整体优先级 |                                                   | 象限内优先级 |
|-------|-------|---------------------------------------------------|--------|
| 必备型需求 | 1     | 1                                                 |        |
| 期待型需求 | 2     | 21 > 2 > 4 > 11 > 18 > 9 > 3 > 17                 |        |
| 魅力型需求 | 3     | 25 > 19 > 5 > 14 > 23                             |        |
| 无差异需求 | 4     | 22 > 6 > 20 > 12 > 24 > 13 > 8 > 15 > 10 > 16 > 7 |        |

工从无差异转为魅力型，则反映出传统中药服务与线上场景结合后，成功创造了新的用户价值。中青年用户对个性化、便捷化的在线中医药服务有潜在需求，但此前未被充分满足，此服务能显著提升用户满意度。因此应将电子药历提升至服务优化的高优先级，确保其稳定、易用，并探索家庭药历管理及健康档案等功能，将其打造为核心基础服务；在线中药加工可作为平台差异化竞争的亮点进行宣传和推广，以吸引对中医药有信任、追求便捷与定制化的年轻用户群体，并提升其留存率，从而提升用户忠诚度与平台竞争力。

居家药学服务和健康生活方式指导，这两项指标由魅力型转为无差异，可能其对于中青年人

群来说，服务形式较为宽泛或浅层，缺乏高效性。因此，建议网上药店平台采取人群差异化策略，将居家药学服务和健康生活方式指导，精准对接到非中青年群体，如老年人或慢性病群体等。

#### 4 本研究局限性

在调查数量与抽样代表性方面，本研究存在一定局限。有效样本量（ $n = 649$ ）虽可满足初步分析，但对于全面反映全国公众的多元化需求而言仍有提升空间。线上方便抽样的方法导致样本覆盖不均，其结果可能更倾向于代表经常使用互联网的年轻、高学历群体，而未能充分涵盖老年、低网络使用频率等人群，因此结论的外推性受到限制。

在数据质量与测量工具方面，本研究亦存在一定不足。如表 5 所示，各项服务的“无差异”属性占比均最高。这一结果表明，当前公众对网上药店提供的多数药学服务呈现“高容忍、低期待”的特点，需求层次不明显，采用最大频数法进行需求分类在本研究情境下敏感性不足。尽管研究采用 Better-Worse 矩阵进行分析以弥补这一不足，但这一现象可能揭示了更深层次的问题：



其一, 药品网络零售企业和第三方平台提供的互联网药学服务内容, 同质化严重, 深度不足, 因而公众感知较弱; 其二, 公众对网上药店互联网药学服务的认知较为模糊, 尚未建立明确的期望值, 较低的问卷有效率也侧面印证了这一点。因此, 受访者在填写问卷时更倾向于选择“勉强接受”和“无所谓”等中性选项。

基于上述发现, 未来研究可从以下三个方面进行深化: 其一, 在方法上可尝试采用七级李克特量表或更细致的测量工具, 以提高数据分辨力; 其二, 采用分层抽样等多阶段概率抽样方法, 适当扩大样本规模, 增强结果的代表性; 其三, 先导探析公众对网上药店药学服务的认知基础与使用意愿, 为后续研究提供参照。

## 参考文献

- [1] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于进一步改革完善药品生产流通使用政策的若干意见 [EB/OL]. (2017-02-09) [2025-10-10]. [https://www.gov.cn/zhengce/content/2017-02/09/content\\_5166743.htm](https://www.gov.cn/zhengce/content/2017-02/09/content_5166743.htm).
- [2] 全国人民代表大会常务委员会. 中华人民共和国药品管理法 [EB/OL]. (2019-08-26) [2025-10-10]. [http://www.npc.gov.cn/npc/c2/c30834/201908/t20190826\\_300489.html](http://www.npc.gov.cn/npc/c2/c30834/201908/t20190826_300489.html).
- [3] 郭丽婷. 我国网售处方药发展与实施路径研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2024.
- [4] 国家市场监督管理总局. 药品网络销售监督管理办法 [EB/OL]. (2022-08-03) [2025-10-10]. [https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/fgs/art/2023/art\\_27f2fba302ab48239dfde1a5b5095156.html](https://www.samr.gov.cn/zw/zfxxgk/fdzdgknr/fgs/art/2023/art_27f2fba302ab48239dfde1a5b5095156.html).
- [5] 数字医药网. 中国零售药店市场规模 (2014-2023 年) [EB/OL]. (2024-05-19) [2025-10-10]. <http://www.szyy.com.cn/sys-nd/1878.html>.
- [6] 米内网. 重磅! 以终端零售价计, 中国零售药店市场达 9233 亿, TOP10 畅销品牌和集团曝光了 [EB/OL]. (2024-05-20) [2025-10-10]. [https://www.menet.com.cn/info/202405/2024052010070272\\_147660.shtml](https://www.menet.com.cn/info/202405/2024052010070272_147660.shtml).
- [7] 胡扬, 陈浩, 张谦, 等. 北京协和医院互联网药学服务创新模式探索实践 [J]. 中国药事, 2023, 37 (6): 714-718.
- [8] 蒙华, 刘国源, 王冶, 等. 我国医院互联网药学服务建设现状的研究进展 [J]. 中国数字医学, 2024, 19 (2): 94-98.
- [9] 茅颜祺, 谢士钰, 田侃. 基于 Kano 理论的我国社会药房药学服务优化研究 [J]. 中国药房, 2023, 34 (2): 133-138.
- [10] 凌亚, 朱玲, 豆兴茹, 等. 基于 Kano-QFD 模型的 PIVAS 药学服务需求分析与服务模式构建 [J]. 中南药学, 2024, 22 (12): 3403-3408.
- [11] 史皓明, 杨凡. 基于 Kano 模型的急诊药学服务需求分析 [J]. 中国现代医生, 2025, 63 (6): 87-90.
- [12] Kano N, Seraku N, Takahashi F, et al. Attractive quality and must-be quality [J]. J Jpn Soc Qual Control, 1984, 14 (2): 39-48.
- [13] Matzler K, Hinterhuber HH. How to make product development projects more successful by integrating Kano's model of customer satisfaction into quality function deployment [J]. Technovation, 1998, 18 (1): 25-38.
- [14] Berger C, Blauth R, Boger D, et al. Kano's methods for understanding customer defined quality [J]. Center Qual Manage J, 1993, 2 (4): 3-36.
- [15] 郑先珍, 杨腾琪, 陈立, 等. 基于 Kano 模型的社区老年人药学服务需求调查及优化策略 [J]. 中国药房, 2025, 36 (16): 2057-2061.
- [16] 国家药监局执业药师资格认证中心. 药品零售企业执业药师药学服务指南 [EB/OL]. (2024-03-27) [2025-10-10]. <http://www.cqpl.org/info/link.aspx?id=7664&page=1>.
- [17] 广东省药监局. 广东省社区药店药学服务体系建设的指南 [EB/OL]. (2022-12-26) [2025-10-10]. <https://www.gdsrx.org.cn/index.php/portal/article/index/id/2081/cid/28.html>.
- [18] 中国医药商业协会. 药品网络经营质量管理规范 [EB/OL]. (2023-05-12) [2025-10-10]. <http://www.capc.org.cn/index.html/view-0f07100bd1c94a6e86b066e4a3d577ff-08a92f1e350246138db25313c63a8577.html>.
- [19] 中国药师协会. 互联网药学服务专家共识 [EB/OL]. (2022-04-19) [2025-10-10]. [https://mp.weixin.qq.com/s/aSEWtKnWSpZOnM\\_dv1fpQ](https://mp.weixin.qq.com/s/aSEWtKnWSpZOnM_dv1fpQ).
- [20] 中国卫生信息与健康医疗大数据学会. 互联网药学服务质量管理标准 [EB/OL]. (2024-12-31) [2025-10-10]. <https://www.ttbz.org.cn/StandardManage/Detail/129479>.
- [21] 丁选胜, 张伶俐. 药学服务概论 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2022.
- [22] 许杜娟. 药学服务实务 [M]. 2 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2021.
- [23] 孔玉洁. “互联网+”背景下药师用药咨询服务运作模式的探讨 [J]. 互联网周刊, 2024 (1): 62-64.
- [24] 王宏蕾, 李文喆, 陈占功, 等. 基于 O2O 模式的用药咨询服务实践与探讨 [J]. 中华养生保健, 2025, 43 (4): 168-171.
- [25] 央视网. [“互联网+医保”提供更多便捷医疗服务] 如何使用医保个人账户在线上平台购药 [EB/OL]. (2024-07-12) [2025-10-10]. <https://tv.cctv.com/2024/07/12/VIDEpNZI-wohq3xWYg2yCQedX240712.shtml>.
- [26] 贾洪波, 鲁佳倩. “互联网+”医疗服务医保支付的挑战及对策 [J]. 卫生经济研究, 2023, 40 (6): 54-56.
- [27] 杨胜万. 基于 SWOT 分析的网上药店电子医保支付发展策略研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2023.
- [28] 周宸棋, 熊尚华, 黄玉清, 等. 基于智慧服务的医保电子支付体系建设与思考 [J]. 医院管理论坛, 2025, 42 (5): 88-91.

(收稿日期: 2025-10-17; 修回日期: 2026-01-13)

## 药学教育

多元教学驱动的药学实习生专业分型培养模式  
构建与效果评价

袁若琚<sup>1</sup>, 吴帝容<sup>4</sup>, 张本琦<sup>2</sup>, 朱珠<sup>3</sup>, 李智<sup>3</sup>, 张婷婷<sup>1</sup>, 崔海英<sup>1</sup>, 唐琳琳<sup>2</sup>, 陈琦<sup>1, 3\*</sup> (1. 贵州中医药大学药学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550001; 3. 贵州省人民医院药剂科, 贵阳 550002; 4. 上海儿童医学中心贵州医院药剂科, 贵阳 550081)

**摘要:** **目的** 针对医院药学实习生培养与临床岗位能力需求的现实问题, 探讨基于多元教学方法的专业分型培养模式在医院药学实习生教学中的应用效果, 为提升实习教学质量提供实践依据。 **方法** 以贵州省人民医院为实践基地, 分别于 2022 年(传统模式)与 2023—2024 年(分型培养模式)纳入 112 名药学实习生, 按专业方向分为临床药学、药物制剂与分析、药事管理与药学服务三组, 按“基础夯实-临床结合-科研提升”实施差异化的培养, 并采用“理论+实践+论文+综合素质”多元考核体系进行评估, 比较两组实习生在各专业方向的核心能力指标变化。 **结果** 分型培养模式下, 临床药学实习生用药建议采纳率由 48% 提升至 82%, 复杂药物相互作用识别时间由 15.3 min/例缩短至 6.8 min/例; 药物制剂与分析方向实验报告书写准确率由 41% 提升至 73%; 药事管理与药学服务方向处方审核准确率由 76.4% 提升至 94.2%。学生能力评价结果表明, 各专业方向实习生于问题解决、沟通能力、理论知识等核心能力上均获针对性提升。 **结论** 根据医疗机构药学工作实际, 开展以“多元教学方式的专业分型培养路径”为核心的实习生培养模式, 能够有效衔接高校药学教育与医院药学实践, 为医疗机构药学人才培养提供理论与实践支持。

**关键词:** 医院药学; 实习教学; 多元教学方式; 教学效果; 专业分型

**中图分类号:** R-4, R9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2981(2026)05-327-06  
**doi:**10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.048

Construction and effect evaluation of a specialty-classified training model  
for pharmacy interns by diversified teaching methods

YUAN Ruojun<sup>1</sup>, WU Dirong<sup>4</sup>, ZHANG Benqi<sup>2</sup>, ZHU Zhu<sup>3</sup>, LI Zhi<sup>3</sup>, ZHANG Tingting<sup>1</sup>, CUI Haiying<sup>1</sup>, TANG Linlin<sup>2</sup>, CHEN Qi<sup>1, 3\*</sup> (1. School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025; 2. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550001; 3. Department of Pharmacy, Guizhou People's Hospital, Guiyang 550002; 4. Department of Pharmacy, Shanghai Children's Medical Center Guizhou Hospital, Guiyang 550081)

**Abstract:** **Objective** To address the misalignment between hospital pharmacy internship training and clinical competency requirements, to evaluate the effect of a specialty-classified training model incorporating diverse teaching methods in pharmacy intern education and provide evidence for internship quality improvement. **Methods** Guizhou People's Hospital was used as the training base, and 112 pharmacy interns were enrolled in 2022 (traditional model) and 2023—2024 (specialty-classified model). The participants were stratified into three specialty tracks: clinical pharmacy,

**基金项目:** 贵州省高层次创新型人才“千层次”人才培养 (No.GZSYQCC[2023]008)。

**作者简介:** 袁若琚, 女, 硕士研究生, 主要从事临床药学研究, email: 1124169583@qq.com \* **通信作者:** 陈琦, 女, 主任药师, 硕士研究生导师, 主要从事临床药学研究, email: 241081573@qq.com

pharmaceutical formulation and analysis, and pharmacy administration and services. A three-stage training approach (“foundation consolidation-clinical integration and research enhancement”) was implemented, coupled with a multi-dimensional assessment system encompassing theory, practice, academic paper, and comprehensive competency. The key competency metrics were compared between the two groups. **Results** The specialty-classified model group markedly improved their competency: pharmacy interns’ recommendation adoption rate increased from 48% to 82%, while their identification time for complex drug-drug interactions decreased from 15.3 to 6.8 min/case. For pharmaceutical formulation specialty group, their experimental report accuracy rate rose from 41% to 73%. For pharmacy administration and service group, their prescription review accuracy improved from 76.4% to 94.2%. The competency assessment indicated that all interns targetedly improved such core competencies as problem-solving, communication skills, and theoretical knowledge. **Conclusion** The specialty-specific training model with diversified teaching methods tailored for hospital pharmacy practice effectively bridges university pharmacy education and clinical practice, offering a quantifiable and replicable framework for cultivating pharmacy professionals.

**Key words:** hospital pharmacy; internship training; diverse teaching method; teaching effect; pharmaceutical specialized subtyping

药学实习是衔接理论教育与职业实践的关键环节, 直接关系实习生专业技能与职业素养的培养质量<sup>[1-2]</sup>。随着药学服务模式从“药品供应”转向“以患者为中心”后, 医疗机构对药学实习生的能力需求日趋多元与专业<sup>[3]</sup>。不同专业方向(如临床药学、药物制剂与分析等)实习目标差异显著<sup>[4-5]</sup>, 传统“一刀切”的培养模式缺乏针对性, 难以满足各专业核心能力培养的需求, 易导致实习生与岗位能力要求脱节。传统模式下实习生多被动参与基础操作, 难以深入专业细分领域, 不利于实现精准化人才培养, 如何提高实习生教学效果及质量, 已成为当前实习教学的重点与难点<sup>[6-7]</sup>。目前, 以目标管理为核心的多元化带教模式, 使药学带教更具针对性和个性化, 全程目标管控与反馈机制, 大幅提升了实习培养的系统性和整体效率<sup>[8]</sup>; 且目前已有研究采用案例结合多元化教学开展药学带教, 对比传统授课, 充分调动学生学习主动性, 助力学生及时掌握前沿药学知识、扩充知识面, 有效提升药学实践能力<sup>[9]</sup>。在此背景下, 本研究突破传统模式, 构建并实施了多元教学驱动的药学实习生专业分型培养路径。该模式依据学生专业方向与职业定位进行分型, 针对临床药学、药物制剂与分析、药事管理与药学服务等方向, 融合案例教学、情境模拟、轮岗实践等多种方法, 制订个性化培养方案。多元化教学模式在医学等相关领域实习带教中已显示出积极成效, 能有效提升学生的综合实践能力与岗位适应力。本研究以贵州省人民医院(国家卫健委临床药师与药师

培训基地)的 112 名实习生为研究对象, 通过对比 2022 年传统模式与 2023—2024 年分型模式培养下实习生的成绩、实践能力及反馈数据, 验证该分型培养模式的科学性与实效性。

## 1 培养模式

### 1.1 传统培养模式

当前药学教育研究普遍指出, 传统医院药学实习生培养模式长期受制于“标准化课程+固定轮转”的惯性思维, 导致培养内容与药学细分领域(如临床药学、药事管理)的岗位能力要求存在一定错位。这种传统培养模式虽在保障基础药物调剂工作上发挥了作用, 但其局限性也日益凸显, 主要体现在“以患者为中心”的临床服务结合深度不足, 且培养方式上虽引入了多种教学方法, 但整体培养模式仍较为单一, 学科交叉不深入, 未能完全形成以临床问题为核心的实践教学体系, 在药学服务转型背景下, 该模式已难以支撑行业对专业化人才的需求。

### 1.2 多元教学培养模式

基于多元教学方式的专业分型培养路径, 秉承“因材施教、精准赋能”的核心理念<sup>[10]</sup>, 它根据学生求职方向进行分型, 并融合多种教学方法制订针对性方案。该路径通过“分型适配、方法融合、场景落地”来实施, 包含问题式学习(problem based learning, PBL)-案例式学习(case based learning, CBL)/客观结构化临床考试(objective structured clinical examination, OSCE)融合教学、双导师制以及模块化与分阶段



培养等方法，具有精准化、互动性、岗位导向性的核心特征，它能有效对接药学细分岗位需求，实现培养与岗位能力精准匹配。

## 2 多元教学方式的创新与实践

通过调研 9 所院校的药学专业课程设置与实习生基础能力水平，明确各方向实习生的培养起点；对接医院临床科室、治疗药物监测（therapeutic drug monitoring, TDM）实验室、药房等部门，以及基层医疗机构岗位需求，划定了各方向在“基础-强化-实践”三个阶段需达成的核心能力目标；最终，整合上述调研结果，制订了临床药学、药物制剂与分析、药事管理与药学服务三大方向的分阶段培养目标与配套考核标准。

### 2.1 研究方法

**2.1.1 研究对象** 本研究选取 2022 年至 2024 年于贵州省人民医院实习的 112 名药学实习生作为研究对象，研究对象来源于 9 所院校，分别为贵州医科大学神奇民族医药学院、贵阳康养职业大学、贵州医科大学、贵州中医药大学时珍学院、黔南民族医学高等专科学校、天津中医药大学、遵义医科大学医学与科技学院、安顺职业技术学院和贵州职业技术学院。

**2.1.2 研究设计** 将 2022 年实习的 39 名实习生分为对照组（传统模式组），按初始兴趣分为临床药学方向 11 人、药物制剂与分析方向 15 人、药事管理与药学服务方向 13 人，采用传统培养模式。将 2023 至 2024 年实习的 73 名实习生分为试验组（多元化模式组），按分型路径分为临床药学方向 25 人、药物制剂与分析方向 24 人、药事管理与药学服务方向 24 人，实施基于多元教学方式的专业分型培养新模式。

**2.1.3 新型培养路径的前期核心工作** 为保障各方向培养路径贴合岗位需求与学生基础，贵州省人民医院前期开展了培养方案模块化定制与师资

能力专项化培育两大核心工作，具体实施如下：

首先，开展培养方案模块化定制，根据不同专业方向进行设计，将理论教学、实践操作与实习论文写作划分为独立模块。理论教学统一开设《临床药物治疗学》课程，实践部分则按专业方向分型设计，其中临床药学方向参考临床药师培养方案，设定“基于 PBL-CBL 的临床药师培养与考核”<sup>[11]</sup>；药物制剂与分析方向依靠 TDM 实验室，设定“TDM 血药浓度监测下的实验技术培训”方案<sup>[12]</sup>。药事管理与药学服务方向根据医院药学工作分组，设定为“OSCE 处方审核、调剂和用药教育模拟培训及考核”<sup>[13]</sup>。同时，将多元化模式组实习生考核成绩按照理论考核（40%）+实践技能（30%）+论文/报告书写（20%）+综合素质（10%）进行权重分配计算，得综合出科平均分。

其次，推进师资能力专项化培育，一方面，选拔师资开展基础课程试讲，统一各模块教学目标；另一方面，针对不同专业方向的带教药师进行 PBL-CBL 教学方法专项培训。同时，针对不同模块的师资开展药师审方系统、药学监护系统、临床药师工作站、实验室仪器等专项使用培训。

**2.1.4 新型培养路径下药学实习生不同方向培养内容与实施路径** 基于不同专业方向岗位需求，构建差异化多元化培养体系，各方向核心目标、培养重点及策略如下：

临床药学方向：以培养临床思维与药物治疗参与能力为核心，重点围绕临床科室轮转（呼吸内科、心内科等），通过临床药师-临床医师双导师制，结合 PBL 案例教学（引入重症感染、慢性病管理等真实病例），开展药物治疗方案制订与评估、不良反应监测等实践训练。核心目标为建立临床药物治疗思维，掌握个体化用药方案设计及循证药学工具应用能力，提升多学科协作及医患沟通能力，并完成至少 1 项临床药学实践研究，具体见表 1。

表 1 临床药学方向各阶段培养内容及方法

Tab 1 Training content and methods for each stage of clinical pharmacy specialty group

| 阶段                   | 内容                                                                                                     | PBL-CBL 实施方法                                      | 考核形式                       |
|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------|
| 1—2 月：<br>基础整合       | 核心疾病诊疗指南精读（慢性阻塞性肺疾病 / 心力衰竭 / 糖尿病）<br>药学问诊技巧、SOAP（subjective, objective, assessment, plan）病历书写与用药教育模拟训练 | 每周 2 次 CBL 教学：临床案例复盘；药品不良反应鉴别模拟及分析                | 标准化患者考核：完成 3 份 SOAP 药学监护记录 |
| 3—4 月：<br>临床实践       | 参与专科查房（呼吸 / 心血管 / 内分泌等）<br>药学监护记录——药物治疗方案优化（剂量调整 / 替代药物选择）<br>医嘱审核与干预记录                                | 每周 2 次 PBL 任务：真实住院患者用药问题追踪（如抗感染病例药物调整）；用药监护以及用药教育 | 临床干预有效性评估：≥ 5 条被采纳的用药建议    |
| 5—6 月：<br>技能专项<br>突破 | 用药数据分析（抗菌药物使用强度）<br>药物经济学评价模型构建<br>患者用药依从性改善研究（静脉输液转口服）                                                | PBL 实践：参与针对临床热点的研究（慢性病药物管理）；指导撰写系统评价 / Meta 分析    | 参与 1 项临床研究方案并书写研究报告        |

药物制剂与分析方向：由于贵州省人民医院缺少制剂室，故此类方向的实习生实习重点聚焦于血药浓度监测以及群体药代动力学研究方向，采用实验技术导师（主管药师）-临床药师双导师制，开展临床样本检测、实验技术操作及检测报

告解读等实践训练。核心目标为掌握高效液相色谱法（HPLC）、液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）等 TDM 核心实验技术及数据分析方法，理解血药浓度与临床疗效/毒性的关联性，培养科研思维与临床药学服务衔接能力，具体见表 2。

表 2 药物制剂与分析方向各阶段培养内容及方法

| Tab 2 Training content and methods for each stage of the pharmaceutical preparations and analysis specialty group |                                                          |             |                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------|-----------------------|
| 阶段                                                                                                                | 内容                                                       | 方式          | 考核指标                  |
| 1—2 月：基础夯实                                                                                                        | 1. 实验室安全规范；2. 仪器原理及操作（HPLC 预处理、质谱参数设置）；3. 标准曲线绘制与质控方法    | 导师带教+模拟操作   | 独立完成 1~2 种药物的标准品制备及检测 |
| 3—4 月：临床结合                                                                                                        | 1. 病例报告解读（癫痫/器官移植/抗感染）；2. 异常值分析（肾功能影响/药物相互作用）；3. 报告撰写与解读 | 病例讨论        | 完成 10 份含临床建议的检测报告     |
| 5—6 月：科研提升                                                                                                        | 1. 方法学验证（精密度、回收试验）；2. 数据处理（Norman 软件）；3. 论文撰写与课题设计       | 参与在研项目+论文指导 | 提交 1 篇可发表的案例分析或论文     |

药事管理与药学服务方向：紧扣药品法规及医疗机构药事管理实践需求，以调剂药师-审方药师双导师制为核心，聚焦处方审核、规范调剂及用药教育三大核心模块开展训练。核心目标为掌握处方审核核心技能（适应证、禁忌证、特殊

人群用药等审查），规范调剂操作及药品管理流程（含麻醉、精神药品管理），提升特殊人群用药指导等沟通服务能力，适配基层医疗机构岗位需求，具体见表 3。

表 3 药事管理与药学服务方向各阶段培养内容及方法

| Tab 3 Training content and methods for each stage of the pharmaceutical administration and pharmaceutical services specialty group |                                                       |                                                       |                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 阶段                                                                                                                                 | 训练模块                                                  | OSCE 考核站点设计                                           | 考核标准                        |
| 基础阶段<br>(1—2 月)                                                                                                                    | 1. 处方审核规则库建立；2. 调剂标准作业程序操作（麻醉、精一药品五专管理）；3. 基础用药教育标准语句 | 处方审核考核（10 张问题处方限时判定）<br>模拟药房调剂操作                      | 审核准确率≥90%<br>调剂差错≤1 次/百张    |
| 强化阶段<br>(3—4 月)                                                                                                                    | 1. 特殊剂型用药指导（吸入剂/胰岛素笔）；<br>2. 药物重整流程（慢性病多药管理）；3. 用药咨询  | 标准化患者沟通（哮喘患者使用吸入剂教学）<br>医嘱重整实战（5 种以上药物相互作用筛查）         | 患者满意度≥85 分<br>遗漏风险点≤2 个     |
| 实践阶段<br>(5—6 月)                                                                                                                    | 1. 处方快速审核与调剂；2. 慢性病用药教育                               | 药品调剂压力测试（5 min 完成规范的处方调剂速度）<br>标准化患者咨询（慢性病用药依从性、药品储存） | 处方审核及调剂平均时间<br>关键信息覆盖率 100% |

3 结果

3.1 三大培养方向核心能力提升分析

本研究通过对培养过程中能体现实习生实践能力的核心项目进行综合评价，将从各培养方向的核心能力提升及综合成绩变化两方面，具体呈现分型培养模式的成效。

3.1.1 临床药学方向培养 在新型（PBL-CBL）培养模式下，临床药学方向实习生的综合出科平均分达到 85.2 分，较传统模式（78.4 分）提升 8.7%，实现了整体水平的显著提升。具体到各考核维度，其核心能力进步显著，具体见图 1。

基础整合阶段（1—2 月）的考核形式为“标准化患者考核[完成 3 份 SOAP 药学监护记录]”，使实习生的患者用药教育满意度从 73.5 分提升至 89.2 分；临床实践阶段（3—4 月）通过“临床干预有效性评估（≥5 条被采纳的用药建议）”考核，呈现出用药建议被采纳率从 48% 提升至 82%、复杂药物相互作用识别时间从 15.3 min/例缩短至

6.8 min/例的显著成效；科研提升阶段（5—6 月）以“参与 1 项临床研究方案并书写研究报告”为考核形式，对应临床研究方案完整度从 54% 提升至 91%。

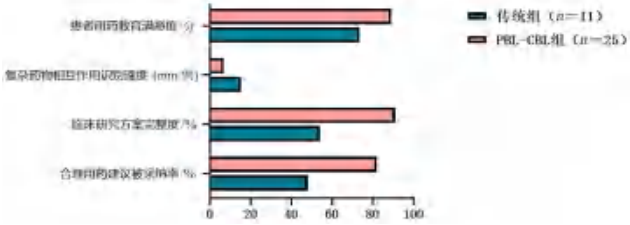


图 1 临床药学方向实习生核心能力提升对比

Fig 1 Quantitation of core competence improvement for interns of clinical pharmacy specialty group

3.1.2 药物制剂与分析方向 该方向实习生综合出科平均分从传统模式的 80.3 分提升至 88.9 分，提升幅度达 10.67%，且成绩波动显著减小，表明培养质量更稳定，具体见图 2。



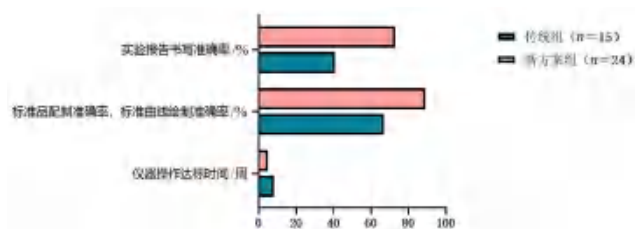


图2 药物制剂与分析方向实习生核心能力提升量化对比

Fig 2 Quantitation of core competence improvement for interns of pharmaceutical preparations and analysis specialty group

基础夯实阶段(1—2月)的考核形式为“独立完成1—2种药物的标准品制备及检测”,对应结果中仪器操作达标时间从8.2周缩短至5.1周(提升37.8%)、标准品配制与标准曲线绘制准确率从67%提升至89%,凸显导师带教结合模拟操作的教学模式,有效加速了实习生对实验室安全规范、液相色谱仪等核心仪器操作的掌握进度,夯实了实验基础技能;临床结合阶段(3—4月)以“完成10份含临床建议的检测报告”为考核形式,助力实验报告书写准确率从41%大幅提升至73%(提升78%),印证病例讨论式教学通过解读真实病例、分析实验异常值,强化了实习生将实验数据与临床场景结合的能力,提升了检测报告的规范性与临床参考价值;科研提升阶段(5—6月)的考核形式为“提交1篇可发表的案例分析或论文”,配合参与在研项目与论文指导的教学方式,进一步巩固了实习生的方法学验证能力、数据处理能力及科研写作能力。

**3.1.3 药事管理与药学服务方向** 采用OSCE模拟考核模式后,该方向实习生综合出科平均分从82.6分提升至91.5分,提升10.74%,成绩分布也更趋均衡(标准差从10.3降至5.1)。分项能力考核数据全面优化,具体见图3。

基础阶段(1—2月)以“审核准确率 $\geq 90\%$ 、调剂差错 $\leq 1$ 次/百张”为考核标准,对应OSCE考核中的处方审核限时判定与模拟药房调剂操作训练,推动处方审核准确率大幅提升(由76.4%提升至94.2%),调剂操作更趋规范,差错率有效控制标准范围内,为岗位核心技能筑牢基础;强化阶段(3—4月)围绕“患者满意度 $\geq 85$ 分、遗漏风险点 $\leq 2$ 个”的考核要求,通过标准化患者沟通、医嘱重整实战等训练,显著提升了患者对用药教育的满意度,同时将用药教育关键信息遗漏率大幅降低,风险点管控能力达到考核标准,强化了沟通服务与风险识别素养;实践阶段(5—6月)以“优化处方审核及调剂平均时间、关键信息覆盖率100%”为核心标准。借助药品调剂压力测试与慢性病用药咨询实战,实现调剂效率显著提升,用药教育关键信息全覆盖,达成考核要求。

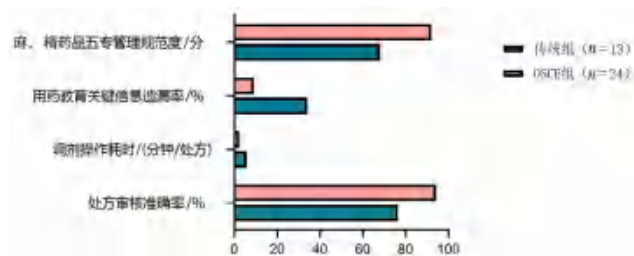


图3 药事管理与药学服务方向实习生核心能力提升量化对比

Fig 3 Quantitation of core competence improvement for interns of pharmacy administration and pharmaceutical services specialty group

### 3.2 学生反馈与能力评价

**3.2.1 学生反馈分析** 通过匿名问卷调查,给实习生发放问卷73份,剔除无效问卷11份,回收问卷62份。实习生对分型培养路径的满意度达88%,具体反馈如下:约80%实习生表示分型培养模式可避免知识过载、提升学习效率,且阶段性考核能强化学习动力、加深知识掌握;约90%实习生则认为分型培养契合不同专业需求,对提升就业竞争力有明显帮助。

**3.2.2 能力评价簇状柱形图** 基于2023年数据,绘制三大培养方向实习生核心能力簇状柱形图,指标包括理论知识、实践技能、科研创新、沟通能力、问题解决。从图4中可知,临床药学组在“问题解决”与“科研创新”表现突出;药学服务组“沟通能力”得分最高;药物制剂与分析组对理论知识最为扎实。可见各个方向的实习生经针对性安排后,在不同领域都有其提升及擅长之处,具体见图4。

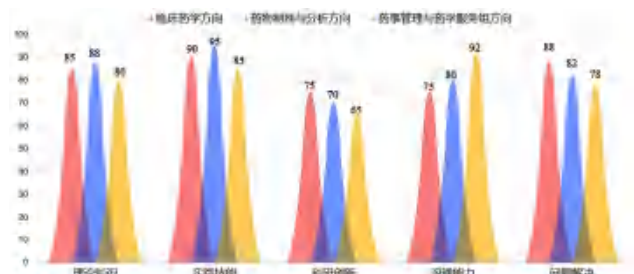


图4 三大方向能力评价簇状柱形图

Fig 4 Clustered column chart for competence evaluation of the three core specialty groups

## 4 讨论

在“以患者为中心”的药学服务模式下,传统“一刀切”的实习模式已难以承载多元化、专业化的能力培养需求。药学实习作为连接理论与实践的桥梁,其培养质量直接决定了学生的职业胜任力与行业发展潜力<sup>[14]</sup>。正如李敏等<sup>[15]</sup>所指出的,传统模式下实习生易陷入“基础操作重复化、专业能力边缘化”的困境,导致核心技能培养缺位、临床思维薄弱。在此背景下,本研究构建的专业分型培养模式不仅体现在关键指标的显著提升,更在于实现了药学实习教学从“同质化



供给”到“精准化培育”的转变。

贵州省人民医院基于多年教学实践,长期承担高校药学类实习生/研究生培养任务,于2023年突破传统实习生培养模式,构建并实施基于多元教学方式的专业分型培养路径,覆盖临床药学、药物制剂与分析、药事管理与药学服务等核心专业方向。

在临床药学方向,“双导师制+PBL-CBL融合教学”的设计,高度契合了临床药学人才“兼具临床思维与科研素养”的培养规律。研究表明,用药建议采纳率提升、复杂药物相互作用识别时长缩短等成效,说明通过引入循证药学工具与临床研究环节,将实习生从被动的“调剂者”转变为主动的“治疗参与者”。这一转变印证了多元化教学在药学带教中提升实习生综合能力的有效性<sup>[16]</sup>。

对于药物制剂与分析方向,采用以成果为导向(outcomes based education, OBE)的培养路径,有效解决了传统实习中理论与实践脱节的问题。结果显示,该方向实习生仪器操作达标时间缩短,实验报告书写准确率提升,说明该模式通过标准化考核与分层教学,显著提升了实验操作的精准度与效率,实现了“技能入门”与“科研素养培养”的同步推进<sup>[17-18]</sup>。整体来看,OSCE情景模拟考核体系下,各阶段训练均精准对标考核标准,推动该方向综合出科成绩显著提升且分布更加均衡,充分验证了培养模式对岗位胜任力的精准培育作用。

药事管理与药学服务方向则通过引入OSCE考核与模拟真实场景训练,构建了“学-练-评”一体的岗位胜任力培养闭环<sup>[9]</sup>。处方审核准确率从76.4%提升至94.2%,体现了“以岗位胜任力为导向”的教学理念,成功获得可量化的实践成果,回应了医疗机构对药学服务人才专业化、精细化的迫切需求。

本研究设计专业分型的培养方案,依据专业特性配置课程,实现了教育资源的高效利用与培养过程的科学调控。当然,本研究存在一定局限。样本均来自同一所三级甲等医院,虽具有代表性,但其结论在基层医疗机构或其他类型实习单位的普适性有待进一步验证。未来研究可拓展至多中心、多场景,并开展实习生毕业后职业发展的长期追踪,以评估培养效果的持久性与迁移性。

综上,在药学实习生的实习培养阶段通过实施基于多元教学方式的专业分型培养路径,能够显著提升药学实习生的核心能力与实习成效,也验证了分型培养模式在药学教育中的科学性与实践价值。

## 参考文献

- [1] 申俊霞. 基于微格教学法的药品调剂教学路径研究[J]. 药学教育, 2024, 40(4): 69-72.
- [2] 王幻, 张歆, 李若宁, 等. 基于迷你临床演练评估测评的循证医学-PICOS教学模式在临床药学本科实习中的应用[J]. 中国药物与临床, 2025, 25(3): 150-155.
- [3] 龚慧, 颜苗, 张毕奎, 等. BOPPPS教学模式在《临床药物治疗学》教学中的设计初探[J]. 中南药学, 2023, 21(8): 2242-2245.
- [4] 苏涌, 葛朝亮. 中西药学专业治疗药物监测实习带教工作浅析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2024, 22(17): 4-7.
- [5] 李曼, 崔占强. 药学专业实习生医院实习模式研究[J]. 中国卫生产业, 2024, 21(5): 32-35.
- [6] 殷勤, 何丽霞. 药学专业临床实习教学同质化培养模式及质量评价的探讨[J]. 牡丹江医科大学学报, 2025, 46(1): 167-170.
- [7] 盛群英, 丁军民, 苏斌, 等. 综合性教学医院临床教学管理的改进对策与思考[J]. 中国继续医学教育, 2023, 15(1): 162-166.
- [8] 纪洁, 崔占强. 目标管理带教模式在药学专业实习生中的应用效果[J]. 中国卫生产业, 2024, 21(14): 241-244.
- [9] 陈雷, 王辉, 魏琪. 多元化教学模式在药学专业带教中的教学研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7(13): 2-4.
- [10] 李俊龙, 张天保, 顾南, 等. 基于学生差异化发展的人才分类培养体系的设计和构建[J]. 中国大学教学, 2012, 28(10): 21-23.
- [11] 汤姝, 徐丽青, 李慧, 等. PBL教学法在抗感染临床药师培训中的探索与实践[J]. 医学研究杂志, 2024, 53(6): 187-191.
- [12] 刘学, 黄甫静, 范玲, 等. 基于液相色谱-质谱联用技术治疗药物监测在精准医学中的研究进展[J]. 中国药物警戒, 2026, 23(4): 476-480.
- [13] 周敏敏. 新形势下优化医院药事管理对提升临床药学服务质量的作用[J]. 中医药管理杂志, 2024, 32(23): 229-231.
- [14] 熊堉, 杜奋旗, 宁红, 等. 借鉴英美两国的经验完善我国不同类型药学专业人才培养体系[J]. 中南药学, 2025, 23(8): 2457-2463.
- [15] 李敏, 汪惠才, 李建光. 医教协同背景下地方医学院校同质化临床教学体系的实践应用[J]. 中国高等医学教育, 2021(7): 62-63.
- [16] 陈琦, 熊世娟, 胡麟方, 等. 讲座教学-案例教学结合法在临床药师培训中的实践与探索[J]. 中国药房, 2018, 29(5): 703-706.
- [17] 娄小娥, 吴昊姝, 杨波, 等. 我国药学本科专业实践教学现状分析和思考[J]. 中国大学教学, 2015, 31(11): 78-81.
- [18] 葛卓琦, 孙玉凤, 张瑞, 等. 基于成果导向教育理念的临床药师培养模式创新与实践[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(9): 1248-1252.
- [19] 李遇伯, 张亚妮, 王玉明, 等. 关于完善药学专业实践教学体系的研究[J]. 课程教育研究, 2015, 4(30): 47-48.

(收稿日期: 2026-01-03; 修回日期: 2026-03-05)

## 药事管理

## 中国短半衰期放射性药品监管体系的创新路径与智慧发展

章文霞, 徐大丽\*, 黄蕊, 冯岗, 李卓 (甘肃省药品监督管理局审核查验中心, 兰州 730000)

**摘要:** 短半衰期放射性药品 (半衰期  $< 24$  h) 作为核医学精准诊疗的核心载体, 因其快速衰变特性对传统药品监管框架构成严峻挑战。本文基于 2022—2025 年文献资料, 系统梳理中国放射性药品监管体系的创新实践与现存瓶颈。研究表明, 中国通过“边检验边出厂”政策、网络化核药中心布局及镥-177 国产化等技术突破, 初步构建了兼顾安全与时效的监管生态。然而, 新型同位素临床转化滞后、跨区域协同不足、专业人才匮乏等问题仍制约行业发展。未来需通过在安全框架下的动态豁免机制、智慧追溯平台及国际标准接轨, 推动监管体系向精准化与智能化演进。本文为优化短半衰期放射性药品监管提供理论依据, 并为全球核药管理贡献中国方案。

**关键词:** 短半衰期放射性药品; 监管科学; 核药中心; 同位素供应链; 靶向放射治疗

中图分类号: R95, R817      文献标识码: A      文章编号: 1672-2981(2026)05-333-03  
doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.049

### Innovative path and intelligent development of regulatory system for China's short-half-life radioactive drug

ZHANG Wenxia, XU Dali\*, HUANG Rui, FENG Gang, LI Zhuo (*Center for Inspection of GSMPA, Lanzhou 730000*)

**Abstract:** Short-half-life radioactive drugs (half-life  $< 24$  hours), as core agents in nuclear medicine precision diagnosis and treatment, pose significant challenges to traditional pharmaceutical regulatory frameworks due to their rapid decay characteristics. Based on literature from 2022 to 2025, this study systematically examines China's innovative practices and bottlenecks in radioactive drugs regulation. Research indicates that China has primarily established a regulatory ecosystem balancing the safety and timeliness via policy innovations like inspection-right-after-production, establishment of nuclear medicine center, and breakthroughs in domestic production of lutetium-177. However, issues such as delayed clinical translation of novel isotopes, insufficient cross-regional collaboration, and talent shortages continue to constrain related industry development. Future efforts should focus on dynamic exemption within safety a framework, a smart traceability platform, and alignment with international standards to drive the evolution of regulatory systems toward precision and intelligence. This study provides theoretical foundations for optimizing the regulation of short-half-life radioactive drugs and contributes Chinese solutions to global management of nuclear medicine.

**Key words:** short-half-life radioactive drug; regulatory science; nuclear medicine center; isotope supply chain; targeted radiation therapy

**基金项目:** 甘肃省市场监督管理局科技计划项目 (No.SSCJG-ZH-A202302)。

**作者简介:** 章文霞, 女, 高级药品检查员, 主要从事药品检查审评工作, email: 371197851@qq.com \*通信作者: 徐大丽, 女, 正高级药品检查员, 主要从事药品检查审评工作, email: 44616537@qq.com

放射性药品监管需平衡核安全与临床可及性的双重目标。短半衰期医用同位素（如氟-18 半衰期为 109.8 min、镓-67 半衰期为 6 h）在肿瘤显像与靶向治疗中具有不可替代的价值，但其快速衰变特性导致“生产-检验-使用”流程面临严峻时效矛盾，例如常规质检需 24 ~ 48 h 完成，而氟-18 标记氟代脱氧葡萄糖（ $^{18}\text{F}$ -FDG）合成后 2 h 内未使用将损失 75% 放射性活度<sup>[1]</sup>。全球癌症负担持续加剧放大临床需求，随着 2025 年新型  $\alpha$  核素（铀-211、铅-212）取得突破性进展，亟须监管框架同步创新以支撑临床转化。本文聚焦中国监管实践，结合近三年学术研究进展，系统分析短半衰期放射性药品全生命周期管理的创新路径与挑战。

### 1 短半衰期放射性药品的临床价值与技术进展

短半衰期同位素的物理特性直接决定了其临床应用逻辑。诊断类同位素中， $^{18}\text{F}$ -FDG 因其短半衰期（109.8 min），要求使用半径限于 200 公里，且必须在 2 h 内完成生产、质检与注射全流程； $^{68}\text{Ga}$ -前列腺特异性膜抗原（半衰期 68 min）则依赖回旋加速器或区域性核药中心实现就近供应<sup>[2]</sup>。同时，极端半衰期差异凸显了匹配精度的重要性，例如氧-15（半衰期 2 min）无法满足全身扫描时间需求，而镓-67（半衰期 78 h）则显著增加患者辐射负担。因此，治疗领域革新集中于靶向  $\alpha$  治疗（TAT），其优势在于高线性能量传递（LET）与短射程特性。例如铅-212/铋-212 组合通过  $\alpha$  衰变精准摧毁肿瘤细胞；南华大学 2025 年开发的钍基提取技术采用多孔二氧化硅负载型阴离子交换树脂，使吸附效率提升了 3 倍，衰变损失率降低 40%<sup>[3]</sup>；铀-211（半衰期 7.2 h）凭借与酮类分子的共价键结合能力，为微转移灶治疗开辟了新路径<sup>[4]</sup>。2025 年，秦山核电基地依托商用重水堆，通过自主研发的“和福一号”同位素生产技术，实现镭-226 规模化量产<sup>[5]</sup>，标志着中国在医用同位素供应链自主化领域迈出关键一步，成为国产化进程的里程碑式突破。

### 2 中国监管体系的适应性创新

为破解时效矛盾，中国构建了分级监管框架。一是制度层面，2022 年国家药监局第 5 号通告确立“边检验边出厂”机制，允许短半衰期药品在检验完成前流通，但需建立实时质量监控系统，该政策使镓-67 发生器配送时间压缩至 4 h，较传统模式缩短 50%<sup>[6]</sup>；二是检验流程重构方面，即时标记放射性药品的连续三批样品检验调整至企

业取得生产许可证后进行<sup>[7]</sup>，与药品生产质量管理规范（GMP）符合性检查同步开展，审批周期从 90 d 减至 30 d；三是医疗机构实施分级授权管理，省级药监部门根据设备与人员水平核发《放射性药品使用许可证》，截至 2024 年全国获证正电子药物制备中心达 127 家。

供应链管理通过地理布局与国产化双轨并进。针对  $^{18}\text{F}$ -FDG 等短半衰期药物，东诚药业沿“黑河-腾冲线”布局区域性核药中心，每个中心覆盖 150 ~ 200 km 半径，确保 2 h 内送达。长半衰期药物则采用集中化生产模式，形成“以人口密度定产能”的供应网络。同时，国产化技术突破显著降低进口依赖，铟-90 微球、碳-14 等项目落地使医用同位素进口率从 80% 降至 65%（中国同位素行业协会，2024，<https://www.cira.net.cn/news/show-2141.html>），中国核动力研究设计院医用同位素试验堆亦计划于 2028 年投产，将进一步解决钼-99 等关键同位素的供应瓶颈。

### 3 目前的监管困境

新型同位素临床转化面临多重壁垒。一是目录管理滞后导致铀-211、铅-212 等前沿核素未纳入《放射性药品管理办法》附录，缺乏国家标准制约靶向  $\alpha$  药物研发<sup>[8]</sup>；二是医疗机构辐射安全许可证核定的年最大用量限值，造成 21% 的癌症患者需等待超过 6 个月（中华医学会核医学分会，2024，<https://rs.yiigle.com/cmaid/1517693>）；三是跨区域协同不足表现为行政壁垒，核药中心跨省配送需重复申请辐射安全许可，京津冀、长三角仅 20% 设施实现跨省供应，进口通道受限（全国仅 4 个放射性物品口岸），这导致陆运成本增加，且平均延误率达 12%<sup>[9]</sup>。

人才与设施缺口制约行业可持续发展。放射性药品质量控制需兼具核物理与药学知识的复合型人才，2024 年行业人才密度仅 0.8 人/企业<sup>[10]</sup>。非临床研究资源严重不足，国内仅 1 家同时具备药物非临床研究质量管理规范（GLP）认证与辐射安全许可的实验室，无法满足治疗性放射性药物安全性评价需求。基础设施方面，钼-99/镓-67 发生器原料 80% 依赖进口，且全球主要生产堆将于 2025 年后陆续关停，威胁供应链安全<sup>[1]</sup>。

### 4 监管科学的优化路径

在确保安全的前提下，建立动态豁免机制是破解时效矛盾的关键所在。建议在“边检验边放行”基础上，建立“半衰期-运输半径-检验豁免时限”关联数据库，参考欧盟微剂量概念（EMA，



2018, <https://www.ema.europa.eu/en/homepage>), 对活度 $\leq 30$  mCi 的 $^{68}\text{Ga}$ 药物豁免无菌与细菌内毒素批检; 基于风险评级, 将追溯性检验频次从每月一次降至每季度一次。同时, 完善前体质量控制标准以助力药学研究, 建议借鉴欧洲药典总论 2902, 明确微克级前体的杂质控制阈值, 避免过度检验<sup>[9]</sup>。此外, 注册检验流程需适配短半衰期特性, 省级药检机构能力建设需进一步强化。

智慧监管平台建设在当前数字化转型的浪潮下势在必行, 全链条追溯系统应全面集成生产、物流和使用环节的数据链, 构建统一的信息平台, 实现活度异常的实时监测与预警机制, 确保问题及时发现和处理。同时, 大力推广电子签批放行模式, 通过数字化手段简化审批流程, 并试点委托合同生产组织 (CMO) 直接执行上市放行任务, 可有效压缩传统签批流程高达 40% 的时长<sup>[11]</sup>, 显著加快产品上市速度。此外, 强化数据共享和智能化分析, 可进一步提升监管精准度与响应能力。

推动区域协同发展并加快与国际标准接轨。在粤港澳大湾区率先试点实施辐射安全许可“一证通”制度, 打破地域限制, 实现跨省域互认互通, 有效简化企业审批流程、降低合规成本, 切实提升区域营商便利度。同时, 积极对标国际先进标准, 参考国际原子能机构发布的《放射性药物生产质量管理规范》(GRRP), 系统修订并完善我国医疗机构放射性制剂备案的技术要求和质量管理标准, 从生产源头严格把控产品质量, 确保用药安全, 为患者提供更可靠的放射性药物保障。

同步探索医保支付创新, 针对短半衰期同位素特性构建适配的支付体系。对于诊断类药物 [如 $^{18}\text{F}$ -FDG、镓-68 标记前列腺特异性膜抗原 ( $^{68}\text{Ga}$ -PSMA)], 推动将其费用纳入相应影像学检查 (如 PET-CT) 的“打包收费”项目, 以解决因药物快速衰变导致的单独定价滞后、医院采购报损风险高及患者自费负担重的问题, 提升药物使用效率与临床可及性; 对于高值靶向治疗类药物 (如镓-177-PSMA、镭-223), 亟须建立基于价值的风险分担机制, 探索按疗效 [如前列腺特异性抗原 (PSA) 应答率、影像学缓解率、无进展生存期]、分期付款或设置费用上限/下限等灵活支付方式, 以分摊医疗机构和患者使用创新疗法的不确定性风险, 加

速前沿治疗手段 (如 TAT) 的临床应用; 同时, 建立与国家药监局“临床急需放射性药品目录”联动的医保目录动态调整快速通道, 并考虑探索设立专项风险补偿基金支持早期临床证据生成和支付模式试点。

## 5 结论

短半衰期放射性药品的监管革新是平衡安全与效率的系统工程。中国通过政策创新 (“边检验边出厂”)、技术突破 (镓-177 国产化) 及核药中心网络化布局, 初步构建了特色监管体系。现存挑战集中于临床转化滞后、区域协同不足及人才缺口, 需通过在安全框架下的动态豁免机制、智慧监管平台及标准国际化逐一破解。未来应建立药品监管与卫生健康部门的常态化协调机制, 动态发布“临床急需放射性药品目录”, 构建“产学研监用”联动生态, 充分释放靶向放射治疗的精准潜能, 为全球核药管理提供中国智慧。

## 参考文献

- [1] 傅洁, 刘爽, 王玉坤, 等. 我国放射性药品监管法规体系研究一: 我国放射性药品发展现状及分析 [J]. 中国药事, 2025, 39 (1): 3-12.
- [2] 弗若斯特沙利文咨询公司. 2023 中国放射性药物产业蓝皮书 [R]. 上海: 弗若斯特沙利文咨询公司, 2023.
- [3] 韦悦周, 李思源, 张超. 钍基医用同位素分离技术突破 [J]. 中国核科学进展, 2025, 10 (2): 45-52.
- [4] Perera JS, Pyles JM, Srivastava AK, et al. Covalent binding of astatine-211 to ketones [J]. Inorg Chem, 2025, 64: 911.
- [5] 中核集团. 我国镓-177 同位素正式供应市场 [N]. 中国证券报, 2025-06-25.
- [6] 国家药品监督管理局. 关于进一步加强放射性药品管理有关事宜的通告 (2022 年第 5 号) [EB/OL]. (2022-01-14) [2025-09-24]. <https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqtggtg/20220114170855106.html>.
- [7] 方笑语. 放射性药物的发展状况及监管思考 [J]. 上海医药, 2023, 44 (5): 60-64.
- [8] 须星, 张晔, 刘爽, 等. 我国放射性药品监管要素与行业痛点研究 [J]. 中国药事, 2025, 39 (1): 23-33.
- [9] 马伟伟, 张晔, 刘爽, 等. 完善放射性药品监管法规体系的建议 [J]. 中国药事, 2025, 39 (1): 34-44.
- [10] 屈巧玲, 吴小艳, 柏娟, 等. 我国放射性药品监管法规体系研究二: 放射性药品各国监管体系对比研究 [J]. 中国药事, 2025, 39 (1): 13-22.
- [11] International Atomic Energy Agency. Good manufacturing practices for radiopharmaceutical products [S]. 2023.

(收稿日期: 2025-07-22; 修回日期: 2025-09-15)

# 国内外药品短缺问题的现状、成因、应对措施及挑战探究

黄雨婷<sup>1, 2</sup>, 王思斯<sup>1, 2</sup>, 刘韶<sup>1, 2\*</sup>, 周伯庭<sup>1, 2\*</sup> (1. 中南大学湘雅医院药学部, 长沙 410008; 2. 中南大学湘雅医院, 国家老年疾病临床医学研究中心, 长沙 410008)

**摘要:** 药品短缺是影响患者诊疗、社会健康水平的难题。本文通过检索国内外政府实施的管理措施、研究者开展的药品短缺研究资料, 梳理总结国内外的药品短缺现状、成因及解决措施。国内外行政管理部门、研究者均对药品短缺问题进行了深入剖析和研究, 并对药品短缺的原因及影响等方面展开了探讨。药品短缺受管理政策、生产供应、医院使用等方面的影响, 为了缓解药品短缺问题, 管理部门采取了动态储备、信息共享、政策倾斜等处置措施; 部分研究提出了加强医联体联系、强化市场监管等建议。但目前药品短缺仍是一项形势严峻亟待解决的世界性难题, 各个国家或地区需基于本区域内的短缺特征和成因不断地尝试探索行之有效的解决措施。

**关键词:** 药品短缺; 现状分析; 成因分析; 影响及策略

中图分类号: R954

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981(2026)05-336-07

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.050

## Exploration of the current situation, causes, response measures, and challenges of drug shortage in China and other countries

HUANG Yuting<sup>1, 2</sup>, WANG Sisi<sup>1, 2</sup>, LIU Shao<sup>1, 2\*</sup>, ZHOU Boting<sup>1, 2\*</sup> (1. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008; 2. National Clinical Research Center for Geriatric Disorders, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008)

**Abstract:** Drug shortage has become a critical challenge for the diagnosis and treatment of patients, as well as public health security. This paper reviewed domestic and international government administrative measures and research on drug shortage, and summarized the status, causes, and solutions both in China and abroad. Administrative departments and global researchers analyzed drug shortages in-depth, and explored possible causes, impacts, and related factors. Drug shortage is influenced by factors such as regulatory policies, production and supply chains, and hospital usage practices. To alleviate these shortages, management departments have implemented measures including dynamic reserves, information sharing, and policy preferences. Some studies have also proposed recommendations, such as strengthening medical consortia collaboration and enhancing market regulation. However, drug shortage remains a severe global issue and an urgent problem to be resolved. Each country or region must continuously explore and take effective measures based on specific characteristics and causes of shortages.

**Key words:** drug shortage; current situation analysis; cause analysis; impact and strategy

药品是疾病诊疗的重要工具之一, 但短缺问题已经成为全球面临的难题。近年来, 普遍存在的药品短缺问题给医疗系统带来了重大挑战, 也严重威胁着公众的健康。据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 声明, 药品短缺已经

对美国、澳大利亚等多个国家的卫生健康体系产生了严重影响<sup>[1]</sup>。多种药物, 如肿瘤药物、抗癌生物药物、镇痛药物、心血管药物、放射性药物等, 都曾报道过短缺<sup>[2-3]</sup>。

短缺药品的定义和纳入标准在全球不同地区

基金项目: 湖南省自然科学基金 (No. 2024JJ8215)。

作者简介: 黄雨婷, 女, 硕士, 主管药师, 主要从事药物分析及短缺药品相关研究, email: huangyutingxyyy@csu.edu.cn \*通信作者: 刘韶, 男, 教授, 主任药师, 主要从事天然药物研究和药事管理, email: liushao999@csu.edu.cn; 周伯庭, 男, 教授, 主任药师, 主要从事治疗药物监测和药事管理, email: botingzhou0918@126.com

存在差异,WHO 就短缺药品定义进行了非官方讨论,其中一些地区将药品无法满足供应 3 个月视为短缺,另一些地区需达到 6 个月才能定义为短缺<sup>[4]</sup>。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)定义短缺药品为“用于治疗或预防严重疾病的药品,没有替代品,或没有供应充足的可替代品的药品”<sup>[5]</sup>。中国定义短缺药品为“经我国药品监督管理部门批准上市,临床必需且不可替代或者不能完全替代,在一定时间或一定区域内供应不足或不稳定的药品”;定义临床必需易短缺药品为“经我国药品监督管理部门批准上市,临床必需且不可替代或不能完全替代,供应来源少,存在供给风险的药品,重点关注基本药物和急(抢)救、重大疾病、公共卫生及特殊人群等用药”<sup>[6]</sup>。明确短缺药品的定义至关重要,只有精准定义短缺药品,才能有效地管理本地区内的药品短缺问题,及时有针对性地提出解决措施,从而避免更严重的短缺发生,减少因药品短缺对患者及社会带来的影响。

为缓解药品短缺带来的影响,国内外探索了多种缓解方法。伴随医疗卫生改革的推进,我国出台了一系列保供稳价的措施:制定短缺药品清单、实施定点生产、加强市场监管、完善价格调控等,并取得了一定成效<sup>[7]</sup>。尽管上述措施有效解决了诸多地区药品短缺的问题,但在基层医疗机构,药品短缺现象仍然突出<sup>[8-9]</sup>,部分基层医院地处偏远地区,需求量小,企业难以及时配送或不愿意配送,这使得药品的可及性问题更易引发基层医疗机构药品短缺<sup>[10]</sup>。其他国家也采取了应对措施,FDA 为了缓解药品短缺问题,推出了相关法案,加快新药审批流程,根据药品的稳定性数据,在保障安全性和有效性的前提下,评估药品有效期延长的科学性,延长近效期指定药品的有效期等<sup>[11]</sup>。然而,药品短缺的问题依然频发,随着市场演变及管理策略调整,药品短缺的规律和成因不断变化,本文采用文献回顾的方法,系统分析国内外药品短缺的概况、剖析其成因及现有解决措施,旨在为解决药品短缺问题提供有益参考。

## 1 资料获取分析

### 1.1 文献纳入及排除标准

收集国内外药品相关行政管理部门或权威研究机构网站公布的药品短缺数据或报告。设定搜索关键词为“药品短缺”“短缺药品”“药品供应”“药品+短缺+中国”“短缺药品+缓解措施”。在中国知网、万方、维普、PubMed、Web of Science 中使用关键词搜索,纳入发表时间为 2010—2024 年且能获取全文的中英文文献,排除新闻、会议通知等

非研究性文献,剔除前瞻性研究、预测性数据、与药品短缺明显不相关的文献以及临床治疗疗效或经济效益对比为研究目标的文献。国内研究大多基于医院药品采购数据或其他调研数据;国外研究则主要基于药品短缺上报数据。

### 1.2 文献筛选

两名研究者根据纳入和排除标准独立筛选,分歧处讨论后由两名研究者共同确定,最终共筛选出中文文献 176 篇,英文文献 63 篇,具体情况见图 1。

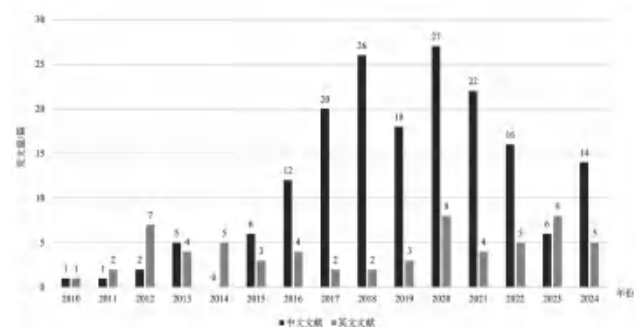


图 1 2010—2024 年药品短缺相关研究文献数量

Fig 1 Studies published about drug shortage from 2010 to 2024

### 1.3 数据分析

采用 Endnote 21 和 Excel 2021 统计分析数据。

## 2 国内外药品短缺概况

国内实施短缺药品清单管理制度,国家和省根据上报数据及核实情况发布《短缺药品清单》(简称《短缺清单》)和/或《临床必需易短缺重点监测清单》(简称《易短缺清单》)。国家卫生健康委员会于 2020 年发布了《国家短缺药品清单》(含甲氨蝶呤等 6 个品种)及《国家临床必需易短缺药品重点监测清单》(含苄星青霉素等 57 个品种),主要涉及急救药及中毒解救药。部分省份也陆续发布了清单,具体情况见表 1。

2025 年 4 月在美国 ASHP 官网查询药品短缺数据(见图 2),美国每年出现新的短缺品种;在新增短缺品种中,注射剂占 39%~73%。持续短缺品种中,超过三分之一的品种在 2022 年以前就存在短缺。活跃短缺药品数量前五的种类为:抗菌药物、化疗药物、心血管系统疾病药物、电解质/渗透压药物、激素制剂。主要短缺原因包括:制造商、飓风灾害、商业决策、供应/需求问题、原料药问题<sup>[12]</sup>。德国、意大利、英国近年来也存在显著的药品短缺现象[见图 3,该图来自《The future for health after Brexit》(2024 年 4 月版),统计的是实际短缺数据,数据统计截至 2024 年 4 月,2024 年、2025 年的数据为预测数据,非真实短缺数据]<sup>[13]</sup>。日本的短缺主要涉及抗菌药物、罕见药物、抗肿瘤药物,其中,头孢唑林



表 1 2020—2024 年国家及各省份发布的《短缺药品清单》及《临床必需易短缺重点监测清单》统计  
Tab 1 Inventory of drug shortage at national and provincial levels, including the key monitoring list for clinically essential medicine from 2020 to 2024

| 发布来源 | 年份   | 短缺药品清单 | 临床必需易短缺重点监测清单 | 发布来源 | 年份   | 短缺药品清单 | 临床必需易短缺重点监测清单 |
|------|------|--------|---------------|------|------|--------|---------------|
| 国家   | 2020 | 6      | 57            | 贵州   | 2019 | 24     | /             |
| 江苏   | 2022 | 7      | 31            |      | 2020 | 8      | 6             |
| 四川   | 2021 | 1      | 6             |      | 2021 | 6      | 7             |
| 海南   | 2020 | 6      | 17            |      | 2023 | 1      | 4             |
|      | 2021 | 2      | 17            | 湖北   | 2021 | /      | 68            |
|      | 2024 | 2      | 4             |      | 2022 | 6      | 75            |
| 湖南   | 2021 | 2      | 1             |      | 2024 | 6      | 75            |
|      | 2022 | 2      | 2             | 山东   | 2020 | 8      | 39            |
|      | 2023 | 1      | 3             |      | 2024 | /      | 17            |
|      | 2024 | 1      | 2             | 福建   | 2024 | 3      | 21            |

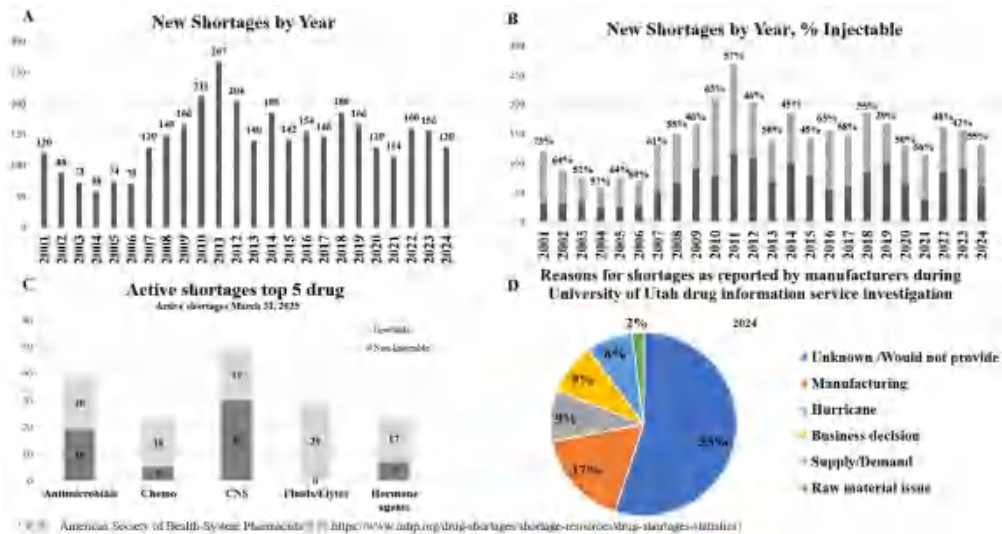


图 2 美国 ASHP 公布的药品短缺数据概况

Fig 2 Overview of drug shortage information from the American Society of Health-System Pharmacists

A. 年度新增短缺品种数 (annual entries of new drug shortage); B. 年度新增短缺药品中的注射剂占比。灰. 注射剂占比; 黑. 其他剂型 (annual percentage of injectable products amongst newly reported shortages. Gray. proportion of injections; Black. other dosage forms); C. 短缺数量前五的药品种类 (the five most frequently scarce therapeutic classes); D. 制造企业上报的短缺原因 (manufacturer-cited causes for supply disruptions)

4.1 国内外药品短缺共性原因

价格管控大幅压低药品价格, 配套的激励机制缺失, 导致企业生产和供应积极性减弱<sup>[29-31]</sup>, 财政支付的限制也会导致药品货款结算延迟<sup>[32]</sup>。儿童药、罕见病药品等小众用药, 以及上市时间久的“老药”, 因利润微薄、研发或生产维护成本高, 普遍面临供应短缺的问题<sup>[33-34]</sup>。国内企业会主动放弃低利润品种<sup>[35-37]</sup>。

药品生产、设备更新、工艺升级均需大量投入, 企业因环保改造与药品生产质量管理规范 (GMP) 认证升级增加额外成本<sup>[27]</sup>。新药审批、停产药品恢复生产的监管程序普遍严格且周期漫长, 进口药审批效率低<sup>[38-39]</sup>, 这些因素均延缓短缺后的恢复时效。原料药供应受限的问题也会进一步加剧药品短

缺研究相对较多<sup>[14]</sup>。

3 短缺的药品种类

国内的研究主要针对短缺现状、变化趋势、政策影响开展描述性研究, 涵盖低价药品<sup>[15-16]</sup>、儿童药物<sup>[17-19]</sup>、急救抢救药物等<sup>[20]</sup>, 低价药物主要指集采带量中选产品 (见图 4A)。国外研究更多针对肠外营养药物<sup>[21-23]</sup>、抗微生物药物<sup>[11, 24-26]</sup>、抗肿瘤药物<sup>[27-28]</sup> 等开展了研究 (见图 4B), 其中肠外营养药物包括单氨基酸药物、肠外综合营养剂等, 抗微生物药物包括耐药抗菌药物、万古霉素等, 抗肿瘤药物包括化疗药物等 (见图 4)。

4 药品短缺的原因

药品短缺是全球医药领域共同面临的难题, 国内外药品短缺的诱因既有相同之处, 也有一定的差异性。

缺<sup>[40]</sup>。药品招标后部分药品无企业中标<sup>[41]</sup>、中标产品产能不足、非中标产品备货不足, 一旦中标企业缩减产能, 市场难以快速补位<sup>[42]</sup>。医疗机构采购计划不合理、储备策略不科学的问题直接延长药品短缺持续时间。受人口老龄化、疾病谱变化影响, 罕见病、慢性病用药需求上升, 若企业未及时调整生产计划, 便会形成持续性供应缺口<sup>[43-44]</sup>。

4.2 国内外药品短缺原因差异性

国内采购政策“两票制”改革改变了原有供应模式, 部分药品因无法及时适配新规而加剧短缺<sup>[45]</sup>; 区域间药企数量、经济水平差异大, 导致药品供应呈现明显的地域不均衡性<sup>[46]</sup>。集采药品东部和中部地区不短缺、轻度短缺累计占比约 50%, 而西部和东北地区则超过 63%, 但东部和

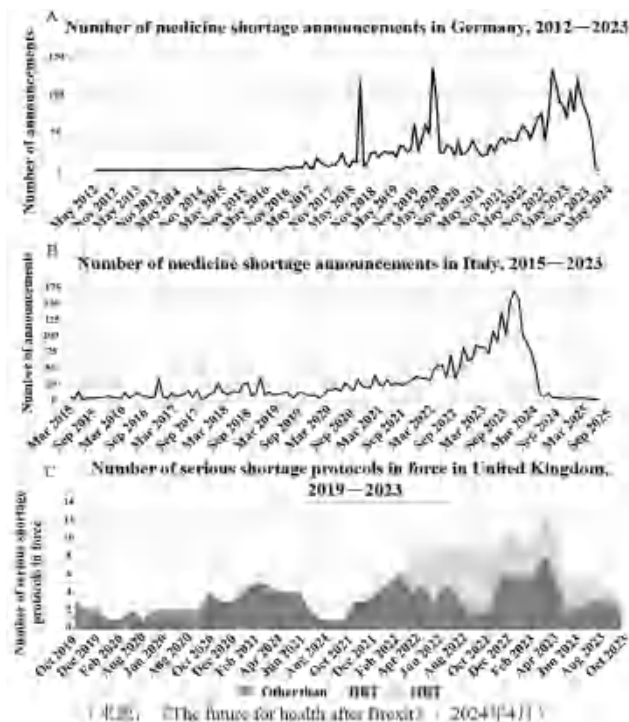


图 3 德国、意大利、英国药品短缺概况

Fig 3 Overview of drug shortage across Germany, Italy, and the United Kingdom

A. 德国 (Germany) ; B. 意大利 (Italy) ; C. 英国 (United Kingdom)

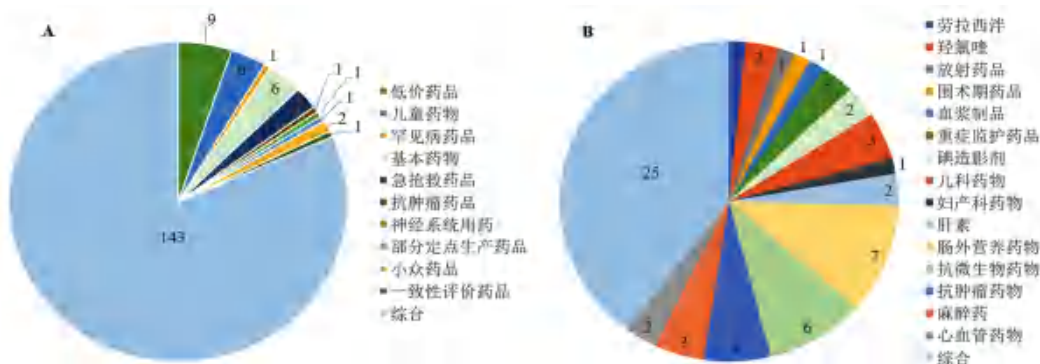


图 4 国内外研究涉及的药品短缺种类及相关研究数量

Fig 4 Categories of drug shortage and number of studies at home and abroad

A. 国内 (China) ; B. 国外 (abroad)

## 5 药品短缺的影响

### 5.1 延误患者治疗，增加医疗风险

药品短缺影响患者的治疗进程，药品短缺时医师会选用药理作用相同或相似的药品替代，频繁更换药物增加不良反应发生风险。药品短缺还易导致用药错误，威胁患者生命安全<sup>[50]</sup>。对于缺乏替代品的药物，如抗肿瘤药物短缺且无最佳替代药物时，临床调整治疗方案，患者未得到最佳治疗。患者面对药物短缺时，会通过互联网、个人经销商或其他非正规渠道购买，以上途径可能购买到假药、劣药，无效且有风险。

### 5.2 增加医院对药品和患者的管理难度

中部地区中度短缺、短缺及重度短缺占比均高于西部和东北地区<sup>[47]</sup>。集采政策推进下，中选药品临床需求量激增，供需错配问题突出；同时，中毒解救药等小需求品种因生产批次间隔长、市场流通量少，易因突发需求陷入短缺困境。

美国 67% 的药品短缺由质量问题引发<sup>[48]</sup>，且政府对特殊成分药品的限制增加了供应复杂度<sup>[27]</sup>；欧盟成员国间定价与支付政策差异大，中间商倒卖药品进一步加剧短缺；日本则侧重于企业自主上报短缺信息，其管理端问题集中于原料药供应、GMP 合规性及质量稳定性的监管衔接。欧美企业为降本普遍采用复杂的合作生产模式，供应链环环相扣，任一环节的企业业务调整都会引发短缺；欧盟大型药企凭借成本、供应链优势形成市场垄断，供应话语权高度集中，一旦垄断企业缩减产能，市场恢复供应需付出高额成本与漫长时间<sup>[42]</sup>。欧美地区特殊群体用药需求保障不足，儿童药、罕见病药因受众窄、利润低，研发与供应动力匮乏，形成持续性短缺<sup>[31]</sup>。美国受商业保险支付政策变动影响，药品需求范围与支付标准的调整会间接改变市场供应逻辑，进一步加剧供需失衡<sup>[49-50]</sup>。

医院为了防范药品严重短缺，对易短缺药品实施动态储备。在国内公立医院执行药品零加成政策后，药品储备工作进一步增加了管理成本，增加了药事风险和管理难度。药品短缺或更换药品会降低长期用药患者的依从性，甚至导致患者自行停药，不利于对慢性病的管理。若医院不能提供治疗药品，导致患者流失，最终对医疗系统的长期稳定发展产生不利影响。

### 5.3 增加财政支出与社会经济负担

为了保障药品供应、稳定价格并高效应对短缺问题，行政管理部门制定联动机制，通报或预警药品短缺相关信息，制定动态储备计划并实



施。对于部分急抢救药物或其他企业不愿意生产的药品,相关行政管理部门指定生产企业生产,并给予一定资金支持和鼓励。研究表明,美国因药品短缺每年直接额外的支出高达 2 亿美元;药品的价格增长率在短缺期间明显高于非短缺期间<sup>[51]</sup>。美国药品制造业高度集中,特别是研发难度大、生产工艺复杂的药品,药企垄断技术或专利,一旦药企提高药品定价,市场随之波动。值得注意的是,当销售价格受到严格管控时,企业会倾向于将药物分配至允许自主定价的市场,反而增加了患者和社会用药经济负担。

## 6 药品短缺的解决方法

### 6.1 建立短缺信息上报渠道

为了能及时掌握短缺情况,国内外多个国家开发了短缺药品监测系统,国内短缺药品信息由公立医疗机构上报,但上报具有一定滞后性,往往是在医院已经出现难以应对的短缺后才启动上报流程。管理部门收集与处置上报信息,定期发布省级或国家的两个清单,并重点监测清单内药品。部分省份制定了省级药品储备目录,划拨专项资金开展储备及管理。美国的药品制造商、医师、药剂师、患者均可以上报短缺信息,由 FDA 确认信息并推进后续沟通和处置工作,此外,欧洲部分国家还有邮件和电话等上报方式。与国内的周期性公告模式不同的是,美国、澳大利亚等国家实时发布短缺药品信息。

### 6.2 加强调控与沟通,推进科学管理

对低价药品的短缺问题,国内多项研究提出了一系列政策建议。管理部门建立了短缺药品预警机制和价格监测机制,完善了信息化管理制度,并加大调控力度;小众药品,实施定点生产并合理定价;建立短缺药品储备机制,加大资金投入,延长储备周期;对易短缺的儿童药品予以政策倾斜和支持;在需求迫切的情况下,适当放开价格限制并开设绿色通道。医疗机构管理方面:充分利用医联体形成联动机制,优化药品采购方式;建立标准替代流程;制定量化评价方法;分类分级管理短缺药品;药品短缺时,按照患者疾病等情况划分使用优先级,必要时限量供应与合理分配。

其他国家采用与我国相同的方法,包括加强供应链管理,加强科学库存管理,建立应急储备机制,搭建短缺药品监测系统,制定替代管理政策。此外, FDA 组建短缺药品处置小组;开发新的药品审批系统,加速仿制药生产和新上市生产审批流程;改善 FDA、制造商和利益相关者之

间的沟通,加强合作,制定风险缓解措施;要求制造商至少提前 6 个月上报短缺或潜在的供应中断<sup>[40]</sup>;加强对短缺信息的维护和宣传,要求医院制定短缺药品管理办法;若有紧急需求,临时批准符合美国质量标准的进口替代药品、延长指定批次药品的有效期。欧盟针对有短缺风险的药品,向成员国提出限制互联网销售的建议;加强医务人员合理用药培训,减少耐药菌感染出现概率;鼓励非营利机构参与新药研发,提高效率。日本推出了罕见药品生产补贴制度、抗菌药物生产补贴制度、新药研发扶持政策,从知识产权、生产补贴、定价等角度激励企业。韩国在疫情期间为缓解药品短缺问题,下达了限期的紧急生产令以保障供应。特殊药品短缺时,处置方法则有所侧重。麻醉药品短缺时,根据治疗效果、不良反应等情况不断优化麻醉方案。血液制品短缺时,通过增加血液中心数量、升级现有中心、增强与国外之间联系来扩大血液来源;提高物流效率,减少因物流造成的损失。值得关注的是,有研究关注了短缺药品管理过程中的伦理问题,为了应对药品短缺,往往会限制药品使用人群和数量,当药品恢复部分供应时,疾病治疗需求和患者身体状况应成为药品使用优先级的依据,患者的个人财力和社会地位不应该成为优先使用的前提<sup>[28]</sup>。

### 6.3 加强创新技术应用,推进智能化管理

药品供应链具有多对多、数据量庞大、数据敏感等特征。新技术需要具备安全的大批量处理、数据追溯等功能。区块链是一种基于分布式存储、点对点传输、加密算法的技术,具有去中心化、数据不可篡改、可追溯等特点,可解决供应链上下游数据在传递过程中的信任问题。区块链技术在农产品供应链中已有探索,可实现分散资源集中管理、集中资源分散服务,自动获取产品历史应用情况,实现智能化管理<sup>[52]</sup>。

短缺现象在基层医疗机构、偏远地区尤为明显。为了缓解偏远地区或基层医疗机构的药品短缺问题,国内已有部分地区由指定医院牵头,成立区域医疗中心,根据历史用药数据预测需求,统一采购并统筹管理;区域内药品资源共享,短缺药品在医共体内调剂,一定程度上缓解了药品短缺问题。此外,已有个别地区探索利用无人机配送来解决偏远地区配送问题,新技术的应用也有助于缓解药品短缺。

## 7 讨论与总结

药品短缺的本质是利润与需求的不匹配,若严



重失衡则会导致短缺现象产生。有研究表明,我国前 5 批集采中选药品中,不短缺、轻度短缺、中度短缺、短缺和重度短缺的累计次数分别为 28 075 次、47 115 次、31 273 次、15 940 次和 4015 次,占全国全年供应总体的比例分别为 17.51%、39.52%、26.23%、13.37% 和 3.37%<sup>[53]</sup>。价格越低的仿制药短缺风险越大,按价格区间划分,相对于低价格药品,中高价格的药品短缺发生比值为 0.60 和 0.72;与没有短缺的时期相比,持续 6 个月以内、6~12 个月、12~18 个月和至少 18 个月的药品短缺相应的价格上涨 6.0%、10.9%、14.2% 和 14.0%<sup>[54]</sup>,因此,利润驱动着市场供应,长久稳定的供应需利润与需求达到平衡。为了保障价格稳定和药品供应,国家对短缺药品实施保供稳价政策,监测市场供应及价格变化,该政策实施期间出现了非预期的短缺药品价格上涨、非清单内药品短缺覆盖面扩大,且品规数呈上升趋势<sup>[55]</sup>。这说明仅依赖于政策调控,无法充分保障药品供应,只有监管完善和利润合理,才能持续保障药品的供应。

为了缓解药品短缺,各国需基于短缺原因及供应需求寻求解决方案:

① 需明确短缺药品定义,以便于各国家或地区之间能精准管理和协同合作。② 短缺发生后,管理部门、生产企业、医疗机构等相关主体应协同合作,从多方面针对供应链上每一环节的短缺因素寻求解决办法。③ 开发信息共享平台,公开供应信息,减少恶意囤药造成的虚假短缺现象。④ 建立医院与制造商或配送商的信息共享平台,协助医疗机构掌握药品生产供应数据,减少沟通环节,避免因配送商或经销商为赚取中间利益而进行的囤货和控货行为。⑤ 提供政策支持,协助企业降低成本,激发企业生产动力。⑥ 为利润低的药品或运输成本高的地区提供物流支持,保障基层医疗机构的药品可及性。⑦ 生产企业应充分掌握原辅料的供应情况,制定原辅料预警策略;严格按照 GMP 要求生产药品,减少因质量问题导致的召回或供应延迟。⑧ 医疗机构按照短缺程度制定分级管理策略,对不同程度的短缺采取不同的措施;制定短缺药品替代遴选规则和流程,以便在面临无法解决的药品短缺时能保障临床治疗的需求。⑨ 积极探索智能技术和大数据的应用,充分发挥新兴科技优势,以突破现有瓶颈。

## 参考文献

- [1] Gatesman ML, Smith TJ. The shortage of essential chemotherapy drugs in the United States [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365 (18): 1653-1655.
- [2] Tucker EL, Cao Y, Fox ER, et al. The drug shortage era: a scoping review of the literature 2001—2019 [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2020, 108 (6): 1150-1155.
- [3] 蔡文芳,杨才君,沈倩,等.国内外药品短缺问题研究进展 [J]. *中国药事*, 2016, 30: 1190-1199.
- [4] 房冰.药品短缺的防范及管控策略研究 [D]. 郑州: 郑州大学, 2021.
- [5] 陈琳宁,丁锦希,姚雪芳,等.国外短缺药品定义及对我国的启示 [J]. *现代商贸工业*, 2021, 42 (36): 28-30.
- [6] 国家卫生健康委办公厅,国家发展改革委办公厅,工业和信息化部办公厅,等.关于印发国家短缺药品清单管理办法(试行)的通知 [EB/OL]. (2020-04-20) [2025-06-20]. <https://www.nhc.gov.cn/yaozs/c100098/202004/51349843a6e24e-13a7fc26f33b7d98f0.shtml>.
- [7] 国务院办公厅.国务院办公厅关于进一步做好短缺药品保供稳价工作的意见 [EB/OL]. (2019-09-25) [2025-06-20]. [https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2019-10/11/content\\_5438499.htm](https://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2019-10/11/content_5438499.htm).
- [8] 许日祥,解雪峰,李姝婷,等.基层医疗卫生机构药品供应现状及短缺因素分析——以安徽省为例 [J]. *中国卫生政策研究*, 2018, 11 (3): 78-82.
- [9] 蔡文芳,杨才君,李宗杰,等.陕西省基层医疗机构药品短缺现状、造成的影响及对策研究 [J]. *中国药事*, 2017, 31 (12): 1426-1433.
- [10] 王文杰,毛宗福,肖琳琪,等.贫困地区基层医疗机构基本药物供应保障研究 [J]. *卫生经济研究*, 2018, 2: 35-37.
- [11] Griffith MM, Gross AE, Sutton SH, et al. The impact of anti-infective drug shortages on hospitals in the United States: trends and causes [J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54 (5): 684-691.
- [12] ASHP. National drug shortages (January 2001 — March 2025) [EB/OL]. (2025-03) [2025-06-20]. <https://www.ashp.org/drug-shortages/shortage-resources/drug-shortages-statistics?loginreturnUrl=SSOCheckOnly>.
- [13] Dayan M, Hervey T, McCarey M, et al. The future for health after Brexit [EB/OL]. (2024-04) [2025-06-20]. [https://www.nuffieldtrust.org.uk/sites/default/files/2024-04/Health%20after%20Brexit\\_WEB.pdf](https://www.nuffieldtrust.org.uk/sites/default/files/2024-04/Health%20after%20Brexit_WEB.pdf).
- [14] Honda H, Murakami S, Tokuda Y, et al. Critical national shortage of cefazolin in Japan: management strategies [J]. *Clin Infect Dis*, 2020, 71 (7): 1783-1789.
- [15] 杜雯雯,徐伟,蔡功杰,等.我国低价药品可及性现状分析:来自全国 24 个省/市的实证研究 [J]. *中国卫生政策研究*, 2018, 11 (3): 72-77.
- [16] 张英,汤少梁.供应链视角下常用低价药品供应保障政策 [J]. *中国全科医学*, 2015, 18: 243-247.
- [17] 李曼,吴敏,倪明明,等.儿科医联体中基层医疗机构的儿童药品短缺问题分析与改进措施 [J]. *药学与临床研究*, 2022, 30 (2): 187-189.
- [18] 李勇,温庆辉,郭述金,等.我国儿童用药供给短缺现状、成因及对策分析 [J]. *中国药物评价*, 2023, 40 (2): 126-129.
- [19] 季兴,王倩,许静,等.江苏省三级医院儿童药品短缺现

- 状调查及建议[J]. 中国药房, 2017, 28(33): 4617-4620.
- [20] 张磊, 李浩, 康学栋, 等. 医院急救药品供应保障体系现状分析[J]. 中国老年保健医学, 2021, 19(2): 131-133.
- [21] Vanek VW, Mirtallo J, Robinson L, et al. Parenteral nutrition amino acids product shortage considerations[J]. Nutr Clin Pract, 2013, 28(4): 524-527.
- [22] Bonnes SL, Austin KE, Carnell JJ, et al. Premixed vs compounded parenteral nutrition: effects of total parenteral nutrition shortage on clinical practice[J]. Curr Nutr Rep, 2019, 8(4): 397-401.
- [23] Nystrom EM, Bergquist WJ, Wieruszewski PM, et al. Parenteral nutrition drug shortages: a single-center experience with rapid process change[J]. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2019, 43(5): 583-590.
- [24] Lőrinczy L, Turbucz B, Hankó B, et al. Managing antibiotic shortages in inpatient care—a review of recent years in comparison with the Hungarian status[J]. Antibiotics (Basel), 2023, 12(12): 1704.
- [25] Shafiq N, Pandey AK, Malhotra S, et al. Shortage of essential antimicrobials: a major challenge to global health security[J]. BMJ Glob Health, 2021, 6(11): e006961.
- [26] Griffith MM, Patel JA, Sutton SH, et al. Prospective approach to managing antimicrobial drug shortages[J]. Infect Control Hosp Epidemiol, 2012, 33(7): 745-752.
- [27] Li E, Subramanian J, Anderson S, et al. Development of biosimilars in an era of oncologic drug shortages[J]. Drug Des Devel Ther, 2015, 9: 3247-3255.
- [28] Beck JC, Smith LD, Gordon BG, et al. An ethical framework for responding to drug shortages in pediatric oncology[J]. Pediatr Blood Cancer, 2015, 62(6): 931-934.
- [29] 闫峻峰, 吴姗, 于楠, 等. 生产/流通企业视角下四川省医疗机构药品短缺原因分析及对策研究[J]. 中国药房, 2019, 30(10): 1307-1311.
- [30] 胡安琪, 马爱霞, 李勇. 生产企业视角下我国药品短缺原因分析[J]. 中国药物评价, 2017, 34(2): 150-151, 156.
- [31] Mazer-Amirshahi M, Pourmand A, Singer S, et al. Critical drug shortages: implications for emergency medicine[J]. Acad Emerg Med, 2014, 21(6): 704-711.
- [32] 马蒂亚斯·贝克, 琼·巴克利, 西莫斯·奥赖利, 等. 药品短缺管理: 欧洲和美国的应对政策综述及分类[J]. 国际行政科学评论(中文版), 2020, 86(4): 25-44.
- [33] Rosário A, Hankó B, Zelkó R. Managing drug shortages in pediatric care[J]. Front Pharmacol, 2024, 15: 1416029.
- [34] Vogel WH, Ervin RS. Oncology drug shortages in America[J]. J Adv Pract Oncol, 2012, 3(2): 96-102.
- [35] 许日祥. 国家基本药物短缺问题的文献研究及合肥市三级综合医院药品短缺的现状调查[D]. 合肥: 安徽医科大学, 2018.
- [36] 刘倩楠, 孙静, 刘远立. 应对药品短缺保障供应的国际实践及对我国的启示[J]. 中国药房, 2017, 28(18): 2452-2455.
- [37] 王广平, 石晟怡, 丁静. 基于药物短缺问题的医药产业结构调整路径研究[J]. 应用技术学报, 2020, 20(3): 242-249.
- [38] 茅宁莹, 杨秀娟, 李军. 基于供应链风险视角的我国药品短缺原因及其应对策略分析[J]. 中国医院药学杂志, 2019, 39(11): 1107-1111.
- [39] 刘双, 刘艺平, 吴斯杰, 等. 政策工具视角下我国短缺药品保障政策文本分析[J]. 中南药学, 2025, 23(11): 3450-3454.
- [40] 张自然. 我国原料药行业迈向高质量发展[N]. 中国医药报, 2021-12-22(004).
- [41] 王振, 刘戒骄. 我国当前药品短缺的经济学分析[J]. 现代经济探讨, 2017(10): 79-87, 110.
- [42] Shukar S, Zahoor F, Hayat K, et al. Drug shortage: causes, impact, and mitigation strategies[J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 693426.
- [43] Fox ER, Sweet BV, Jensen V. Drug shortages: a complex health care crisis[J]. Mayo Clin Proc, 2014, 89(3): 361-373.
- [44] Welliver M. Drug shortages are likely to continue[J]. Gastroenterol Nurs, 2012, 35(3): 231-232.
- [45] 黄润青, 段文越, 王游, 等. 医疗机构执行“两票制”政策过程中存在的问题及对策研究——以云南省为例[J]. 中国药房, 2018, 29(24): 3313-3317.
- [46] 国家药品监督管理局. 药品监督管理统计数据(2023年度)[EB/OL]. (2024-05-22) [2025-06-20]. [https://www.nmpa.gov.cn/yjzxyw/202508/t20250828\\_428405.html](https://www.nmpa.gov.cn/yjzxyw/202508/t20250828_428405.html).
- [47] 王彪, 廖鹏, 唐啸宇, 等. 国家集中带量采购中选药品的供应短缺问题研究[J]. 卫生经济研究, 2024, 41(2): 40-43.
- [48] Dill S, Ahn J. Drug shortages in developed countries—reasons, therapeutic consequences, and handling[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2014, 70(12): 1405-1412.
- [49] Dranitsaris G, Jacobs I, Kirchhoff C, et al. Drug tendering: drug supply and shortage implications for the uptake of biosimilars[J]. Clinicoecon Outcomes Res, 2017, 9: 573-584.
- [50] Said A, Goebel R, Ganso M, et al. Drug shortages may compromise patient safety: results of a survey of the reference pharmacies of the Drug Commission of German Pharmacists[J]. Health Policy, 2018, 122(12): 1302-1309.
- [51] Holcombe B, Mattox TW, Plogsted S. Drug shortages: effect on parenteral nutrition therapy[J]. Nutr Clin Pract, 2018, 33(1): 53-61.
- [52] Hu SC, Zhang JW, Li JW, et al. The impact of drug shortages on drug prices: evidence from China[J]. Front Public Health, 2023, 11: 1185356.
- [53] 梁晓贺, 周爱莲, 谢能付, 等. 区块链与现代农业产业链融合: 优势、制约与对策[J]. 中国农业科技导报, 2025, 27(2): 1-12.
- [54] Dave CV, Pawar A, Fox ER, et al. Predictors of drug shortages and association with generic drug prices: a retrospective cohort study[J]. Value Health, 2018, 21(11): 1286-1290.
- [55] 范嘉宁, 黄佳欣, 刘新颖, 等. 基于多角度的短缺药品保供稳价政策效果研究[J/OL]. 沈阳药科大学学报, <https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2022.0907>.

(收稿日期: 2025-06-04; 修回日期: 2025-11-04)

## 药品不良反应

## 1 例哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠致罕见严重粒细胞缺乏伴发热的病例分析

王萍, 任海花, 盛琼玲\* (楚雄彝族自治州人民医院临床药学科, 云南 楚雄 675000)

关键词: 哌拉西林钠他唑巴坦钠; 泮托拉唑钠; 不良反应; 严重粒细胞缺乏; 临床药师

中图分类号: R969.3

文献标识码: B

文章编号: 1672-2981(2026)05-343-04

doi:10.7539/j.issn.1672-2981.2026.05.051

哌拉西林钠他唑巴坦钠是一种广谱半合成青霉素, 对于多种革兰氏阳性和革兰氏阴性的需氧菌及厌氧菌均具有抗菌活性, 在临床抗感染治疗过程中应用广泛, 在哌拉西林钠他唑巴坦钠说明书中, 粒细胞缺乏症被标明为罕见的不良反应 ( $< 0.01\%$ )<sup>[1]</sup>。泮托拉唑钠为第一代质子泵抑制剂, 临床应用也较为广泛, 同样, 在泮托拉唑钠说明书中, 粒细胞缺乏症也被标明为罕见的不良反应 ( $0.01\% \sim 0.1\%$ )<sup>[2]</sup>。本文报道 1 例哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠引起严重粒细胞缺乏伴发热的临床案例, 以期为临床安全合理用药提供参考。

## 1 病历资料

患者男, 48 岁, 身高 165 cm, 体重 57 kg, 2024 年 6 月 21 日因“左侧舌下区疼痛 5 月余”入住楚雄彝族自治州人民医院口腔科, 6 月 28 日行左侧舌癌扩大切除术+邻近组织瓣转移修复术并送病检。病理切片报告: 左舌肌术中冷冻切片检查结果为恶性; 对切缘 (切缘前、切缘后、切缘上、切缘中、左舌下腺、左舌腹部、左舌根、左侧口底) 进行术中冷冻切片检查, 结果呈良性; 左舌神经切缘、左口底组织术中冷冻切片检查结果为良性。术后予抗感染、对症支持治疗, 病情恢复好转出院。2025 年 2 月 13 日因“左侧舌癌术后 7 月余复发”再次入住口腔科。既往有高血压病史, 30 年吸烟史, 否认食物药物过敏史。入院诊断: 左舌恶性肿瘤 (高分化鳞状细胞癌 T2N0M0 术后); 高血压。患者入院时精神、饮食可, 大小便正常, 体重无明显下降。

## 2 治疗经过

入院完善相关检查, 2025 年 2 月 13 日实验室指标: 白细胞计数 (WBC)  $5.67 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞绝对数 (NEU)  $4.00 \times 10^9/L$ , 红细胞计数 (RBC)  $4.85 \times 10^{12}/L$ , 中性粒细胞百分数 (NEU%) 70.5%, C 反应蛋白 (CRP)  $< 5.00 \text{ mg/L}$ , 降钙素原 (PCT)  $< 0.02 \text{ ng/mL}$ , 谷丙转氨酶 (ALT) 30 U/L, 谷草转氨酶 (AST) 28 U/L, 肌酐  $80.4 \mu\text{mol/L}$ 。2 月 21 日行舌部肿物切取活检术, 术中切片检查结果为恶性, 术后病检结果返回为: ① 舌部肿物高分化鳞状细胞癌; ② 免疫组化: CK5/6 (+), P40 (+), Ki-67 (20%+), P53 (-); ③ 特殊染色结果显示: V-G: 纤维 (+)。经多学科会诊后于 3 月 3 日行舌恶性肿瘤扩大切除术, 术后分期 PT4aN0M0 IV b 期。患者 3 月 4 日突然发热, 最高体温  $38.2^\circ\text{C}$ , 实验室指标: WBC  $12.96 \times 10^9/L \uparrow$ , NEU  $12.05 \times 10^9/L \uparrow$ , RBC  $3.48 \times 10^{12}/L \downarrow$ , NEU% 92.9% $\uparrow$ , CRP 20.80  $\text{mg/L} \uparrow$ , PCT 0.09  $\text{ng/mL}$ 。结合患者病情, 医师给予注射用哌拉西林钠他唑巴坦钠 (珠海联邦制药股份有限公司中山分公司, 批号: 52084104) 4.5 g tid、注射用泮托拉唑钠 (杭州中美华东制药有限公司, 批号: 25021211) 40 mg bid 治疗。3 月 8 日 (用药第 5 日), 患者颌面部肿胀稍缓解, 生命体征平稳, 体温  $37.4^\circ\text{C}$ , 实验室指标: WBC  $7.16 \times 10^9/L$ , NEU  $5.61 \times 10^9/L$ , RBC  $3.16 \times 10^{12}/L \downarrow$ , NEU% 78.4% $\uparrow$ , CRP 50.32  $\text{mg/L} \uparrow$ , PCT 0.13  $\text{ng/mL} \uparrow$ , 继续前述治疗方案。其间患者病情平稳, 体温正常。3 月 24 日 (用药第 21 日), 患者突发高热, 最高体温  $38.7^\circ\text{C}$ , 查体: 颌面部肿胀明显缓解, 双侧颈部创口皮片引流存, 敷料上少量淡黄色脓性液体污染, 较前减少, 创周稍红肿。实验室指标: CRP

作者简介: 王萍, 女, 硕士, 主管药师, 主要从事临床药学工作, email: pingwang1991@126.com \* 通信作者: 盛琼玲, 女, 主管药师, 主要从事临床药学工作, email: 1411523709@qq.com



39.03 mg/L $\uparrow$ , PCT 0.14 ng/mL $\uparrow$ 。鼻饲予对乙酰氨基酚片 0.5 g 后体温缓慢降至正常。临床药师会诊查看患者,患者颌面部感染未进展,近期末加用其余药品,会诊分析不排除目前使用药物引起的药物热,建议停用哌拉西林钠他唑巴坦钠及泮托拉唑钠,密切监测体温、复查血常规及感染指标,医师采纳。3月26日,患者症状同前,但仍有高热,最高体温 39.3 $^{\circ}\text{C}$ ,予布洛芬口服后体温未见下降,后予地塞米松磷酸钠注射液 10 mg 静脉推注后体温缓慢降至正常。实验室指标:WBC  $0.73 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , NEU  $0.01 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , RBC  $3.12 \times 10^{12}/\text{L}\downarrow$ , NEU% 1.4% $\downarrow$ , CRP 55.40 mg/L $\uparrow$ , PCT 0.13 ng/mL $\uparrow$ ,再次请临床药师会诊,患者严重粒细胞缺乏伴发热,已停用可疑药品,予人粒细胞刺激因子注射液 200  $\mu\text{g}$  bid 皮下注射刺激造血,并予注射用美罗培南 1 g q8h 抗感染治疗,医师采纳建议。3月27日,患者体温 37.5 $^{\circ}\text{C}$ ,实验室指标:WBC  $0.66 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , NEU  $0.02 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , RBC  $3.28 \times 10^{12}/\text{L}\downarrow$ , NEU% 3.0% $\downarrow$ ,继续予人粒细胞刺激因子注射液 200  $\mu\text{g}$  bid 皮下注射刺激造血。3月28日,患者体温 37.0 $^{\circ}\text{C}$ 。3月29日,患者体温 36.6 $^{\circ}\text{C}$ ,实验室指标:WBC  $3.37 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , NEU  $1.19 \times 10^9/\text{L}\downarrow$ , RBC  $3.22 \times 10^{12}/\text{L}\downarrow$ , NEU% 35.4% $\downarrow$ 。3月30日,患者体温 36.5 $^{\circ}\text{C}$ ,实验室指标:WBC  $36.21 \times 10^9/\text{L}\uparrow$ , NEU  $30.48 \times 10^9/\text{L}\uparrow$ , RBC  $3.18 \times 10^{12}/\text{L}\downarrow$ , NEU% 84.2% $\uparrow$ ,治疗有效,医师停用人粒细胞刺激因子。4月5日,颌面部稍肿胀,口内外创口愈合良好,创周无红肿,实验室指标:WBC  $5.05 \times 10^9/\text{L}$ , NEU  $3.38 \times 10^9/\text{L}$ , RBC  $3.29 \times 10^{12}/\text{L}\downarrow$ , NEU% 66.9%,停用美罗培南。4月6日患者病情好转出院。4月16日患者来院行首次放疗,5月19日再次于肿瘤科就诊行放疗,5月20日实验室指标:WBC  $4.22 \times 10^9/\text{L}$ , NEU  $3.05 \times 10^9/\text{L}$ , RBC  $4.79 \times 10^{12}/\text{L}$ , NEU% 72.3%, AST 11 U/L, ALT 17 U/L,肌酐 84  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,期间完善相关检查,一般情况可,病情平稳出院。患者住院期间及返院复诊,WBC、NEU变化趋势如图1所示。

### 3 讨论

#### 3.1 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠引起粒细胞缺乏的关联性评价

根据《中性粒细胞减少症诊治中国专家共识(2022年)》<sup>[3]</sup>,中性粒细胞减少症是外周血 NEU 低于  $1.5 \times 10^9/\text{L}$  的一组综合征。对于 1 岁以上患者,NEU 低于  $0.5 \times 10^9/\text{L}$  为重度粒细胞减少;NEU 低于  $0.2 \times 10^9/\text{L}$  为严重粒细胞缺乏<sup>[4]</sup>。

药物是导致中性粒细胞减少症常见的原

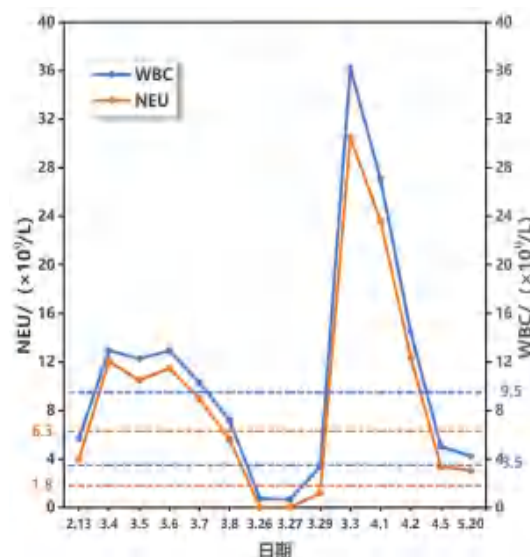


图1 患者 NEU、WBC 变化趋势图

因<sup>[5-6]</sup>,主要有抗肿瘤药物、非甾体抗炎药、抗菌药物(半合成青霉素、头孢菌素和抗结核药物等)、硫唑嘌呤、抗精神病药物(包括抗抑郁药物)、利尿剂、噻氯匹定、甲巯咪唑、抗癫痫药物、降糖药及一些中草药等。研究表明,哌拉西林钠他唑巴坦钠对血液系统的毒性是剂量依赖型,导致 WBC 和 NEU 减少与累积剂量相关,尤其是当疗程较长( $> 10\text{ d}$ )、累积剂量较高( $> 150\text{ g}$ )时发生率高<sup>[7-10]</sup>。哌拉西林钠他唑巴坦钠引起的中性粒细胞减少常伴有皮疹、发热等不适症状<sup>[11-12]</sup>,本例患者出现发热,未见皮疹。泮托拉唑为第一代质子泵抑制剂,对胃酸分泌具有强而持久的抑制作用,目前国内外对于质子泵抑制剂引起血液系统相关药品不良反应(ADR)系统性报道较少<sup>[13-17]</sup>,一般用药后 4~7 d 内 ADR 发生率最高,最快可于给药后 1 d 内发生白细胞、粒细胞减少,因此用药后 1 周是 ADR 发生最集中的时间,在此时间内应严密监测患者的血液指标<sup>[18]</sup>。本文报道的患者出现粒细胞缺乏症状与以上报道基本一致。

该患者平素身体状况良好,既往无血液系统疾病史,无放疗、化疗药物使用史,入院时 WBC、NEU、RBC、CRP、PCT 均在正常值范围内,可排除生理和病理因素。患者出现严重粒细胞缺乏伴发热,但颌面部感染未进展,近期末加用其他药物,可排除疾病或其他药物因素。其间累积使用哌拉西林钠他唑巴坦钠 283.5 g (21 d),泮托拉唑 9.6 g (21 d),停用可疑药品及升白处理后患者 WBC 和 NEU 逐渐恢复正常,体温恢复正常。依据诺氏(Naranjo's)药品不良反应评估量表<sup>[19-20]</sup>总分值 7 分,关联性评价为很可能,具体见表 1。

表 1 诺氏药品不良反应评估量表

| 相关问题                        | 问题分值 |     |    | 评价 / 分 |
|-----------------------------|------|-----|----|--------|
|                             | 是    | 否   | 未知 |        |
| 该 ADR 此前是否有结论性报告            | + 1  | 0   | 0  | 1      |
| 该 ADR 是否在使用可疑药物后发生          | + 2  | - 1 | 0  | 2      |
| 该 ADR 是否在停药后或者应用拮抗剂后得到缓解    | + 1  | 0   | 0  | 1      |
| 该 ADR 是否在再次使用可疑药物后重复出现      | + 2  | - 1 | 0  | 0      |
| 是否存在其他原因能单独引起该 ADR          | - 1  | + 2 | 0  | 2      |
| 该 ADR 是否在应用安慰剂后重复出现         | - 1  | + 1 | 0  | 0      |
| 药物在血液或其他体液中是否达到毒性浓度         | + 1  | 0   | 0  | 0      |
| 该 ADR 是否随剂量增加而加重, 或随剂量减少而缓解 | + 1  | 0   | 0  | 0      |
| 患者是否曾暴露于同种或同类药物并出现过类似反应     | + 1  | 0   | 0  | 0      |
| 是否存在任何客观证据证实该反应             | + 1  | 0   | 0  | 1      |
| 总分                          |      |     |    | 7      |

注: 总分  $\geq 9$  分, 为“肯定”; 5 ~ 8 分, 为“很可能”; 1 ~ 4 分, 为“可能”;  $\leq 0$  分, 为“可疑”。

### 3.2 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠引起粒细胞缺乏原因分析

药源性粒细胞、白细胞减少实质为血液学超敏反应, 是患者对所用药物产生的特异性反应, 往往无法预测。哌拉西林钠他唑巴坦钠致骨髓抑制产生粒细胞、白细胞减少的机制可能为: ① 长期大剂量应用, 导致药物中毒, 药物直接作用于骨髓, 使 WBC 降低, 情况严重者会出现器官感染和出血等情况; ② 药物过敏所致, 由于个体对药物的感受性不同, 对某些药物过敏的症状不明确, 对药物过敏者, 即使常规用量也会导致中性粒细胞减少症; ③ 药物是一种半抗原, 在敏感者体内与白细胞蛋白结合形成全抗原, 从而刺激机体产生抗白细胞抗体, 使白细胞破坏或溶解, 导致 WBC 降低<sup>[21-22]</sup>。

而泮托拉唑引起粒细胞、白细胞减少的机制目前不明<sup>[23-24]</sup>, 可能存在以下几种药理作用: ① 免疫机制作用, 质子泵抑制剂作为一种小分子物质, 可形成全抗原或半抗原抗体复合物进入人体产生免疫介导, 破坏粒细胞的各个阶段; ② 骨髓抑制作用 (骨髓中毒学说), 质子泵抑制剂及其代谢产物可直接损害干细胞或者影响粒细胞在骨髓中的生成<sup>[25]</sup>; ③ 混合机制作用, 免疫机制与骨髓抑制联合作用的结果, 质子泵抑制剂引起白细胞、粒细胞下降一般较明显, 多数患者可出现 WBC 降至  $4 \times 10^9/L$  以下, 部分患者可导致粒细胞缺乏症。

### 3.3 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠引起粒细胞缺乏的药物治疗及药学监护

药物诱导的粒细胞缺乏症 (drug-induced agranulocytosis, DIAG) 几乎涉及所有药品, 其中

风险较高的药物包括抗甲状腺药物、抗精神病药物和抗感染药物<sup>[26]</sup>。DIAG 的发病机制与直接细胞毒性、免疫反应以及遗传易感性密切相关。及时停止可疑药物、使用广谱抗菌药物以及考虑在高危患者中使用造血细胞生长因子对降低 DIAG 的死亡率至关重要。

该患者为抗菌药物及质子泵抑制剂联用引起的严重粒细胞缺乏, 临床药师建议停用哌拉西林钠他唑巴坦钠及泮托拉唑钠, 给予粒细胞刺激因子升白及美罗培南抗感染治疗, 医师采纳。其间临床药师密切监测患者体温、WBC、NEU 等情况, 发现停用相关药物后, 患者 WBC、NEU 慢慢趋于正常, 体温逐渐正常。患者好转出院后, 临床药师持续追踪随访, WBC、NEU 均处于正常水平。

根据文献报道<sup>[10, 18]</sup>, 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠引起粒细胞缺乏与药物累积剂量相关, 对此临床药师给出以下用药建议:

① 抗菌药物治疗一般宜用至体温正常、症状消退后 72 ~ 96 h, 有局部病灶者需用药至感染灶控制或完全消散<sup>[27]</sup>, 而注射用泮托拉唑仅短期 (一般不超过 7 ~ 10 d) 用于不宜口服药物治疗的患者<sup>[2]</sup>; 对于药物治疗疗程较长、累积剂量较高的患者临床医师需警惕 ADR, 特别关注罕见的 ADR。② 动态复查相应的检验和检查, 及时评估患者病情并调整药物治疗方案。

## 4 小结

综上所述, 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用泮托拉唑钠导致的严重粒细胞缺乏伴发热不良反应罕见, 一旦发生可危及患者生命, 尤其长疗程、累积剂量高的患者, 如有发生, 应尽早、准确判断

并采取适宜的措施,最大程度地提高治疗效果。在今后开展药学监护的过程中,临床药师应主动参与全程化药学监护,全面评估可能影响或加重患者疾病的药物因素,协助医师为患者制订更优的个体化药物治疗方案。

## 参考文献

- [1] 注射用哌拉西林钠他唑巴坦钠药品说明书[Z]. 珠海联邦制药股份有限公司中山分公司, 2022.
- [2] 注射用泮托拉唑钠药品说明书[Z]. 杭州中美华东制药有限公司. 2022.
- [3] 中华医学会血液学分会红细胞疾病(贫血)学组. 中性粒细胞减少症诊治中国专家共识[J]. 中华医学杂志, 2022, 102(40): 3167-3173.
- [4] Solomou EE, Christina SML. How to make the right diagnosis in neutropenia [J]. Clin Hematol Int, 2021, 3(2): 41-46.
- [5] Tesfa D, Keisu M, Palmblad J. Idiosyncratic drug-induced agranulocytosis: possible mechanisms and management [J]. Am J Hematol, 2009, 84(7): 428-434.
- [6] Andres E, Zimmer J, Mecili M, et al. Clinical presentation and management of drug-induced agranulocytosis [J]. Expert Rev Hematol, 2011, 4(2): 143-151.
- [7] 王娜, 文华, 胡秀萍. 哌拉西林钠他唑巴坦钠致白细胞减少[J]. 中南药学, 2018, 16(8): 1167-1168.
- [8] 杨媛, 张威, 毛璐, 等. 哌拉西林钠他唑巴坦钠致白细胞减少的临床特征分析[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(7): 550-552.
- [9] 赵天, 武迎磊. 哌拉西林钠他唑巴坦钠致白细胞减少症的调查分析[J]. 临床合理用药杂志, 2018, 11(5): 88-89.
- [10] 刘园园, 丁楠, 曹爱霖, 等. 哌拉西林钠他唑巴坦钠联用甲硝唑致白细胞、粒细胞减少一例并文献复习[J]. 实用药物与临床, 2019, 22(1): 21-26.
- [11] Uzun G, Onem Y, Hatipoglu M, et al. Piperacillin/tazobactam-induced neutropenia, thrombocytopenia, and fever during treatment of a diabetic foot infection [J]. Scand J Infect Dis, 2013, 45(1): 73-76.
- [12] 刘静, 严郁, 徐珽. 注射用哌拉西林钠他唑巴坦钠致白细胞减少及高热 1 例[J]. 中国药业, 2015, 24(13): 95.
- [13] 梁文霞. 奥美拉唑、泮托拉唑对白细胞的影响比较[J]. 中国医药导报, 2007, 4(27): 160.
- [14] 吴秀全. 泮托拉唑致粒细胞缺乏症一例报告[J]. 青海医药杂志, 2009, 39(2): 37.
- [15] 曾忠荣, 黄宗清, 王启琴. 泮托拉唑致白细胞减少的病例分析[J]. 中国药师, 2008, 11(10): 1225-1226.
- [16] 赵莲英, 黄阳, 郭莹莹. 注射用泮托拉唑钠静脉滴注致血白细胞减少 1 例[J]. 中国药业, 2013, 22(21): 63.
- [17] Hazzan R, Darawsha U, Neeman Z, et al. Association of proton pump inhibitor use with the development of febrile neutropenia in lymphoma patients [J]. Expert Rev Hematol, 2021, 14(5): 503-507.
- [18] 毛娇娇, 潘杰. 质子泵抑制剂致血液系统不良反应的特点及机制分析[J]. 中国药物警戒, 2019, 16(2): 119-122.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 胡克林. 刘霞. 哌拉西林钠他唑巴坦钠不良反应近况文献概述[J]. 世界最新医学信息文摘, 2020, 20(17): 126-127.
- [22] Benli A, Simsek-Yavuz S, Basaran S, et al. Hematologic adverse effects of prolonged piperacillin-tazobactam use in adults [J]. Turk J Haematol, 2018, 35(4): 290-295.
- [23] Dury S, Nardi J, Gozalo C, et al. Agranulocytosis induced by proton pump inhibitors [J]. J Clin Gastroenterol, 2012, 46(10): 859.
- [24] Gouraud A, Vochelle V, Descotes J, et al. Proton pump inhibitor-induced neutropenia: possible cross-reactivity between omeprazole and pantoprazole [J]. Clin Drug Investig, 2010, 30(8): 559-563.
- [25] Andres E, Maloisel F. Idiosyncratic drug-induced agranulocytosis or acute neutropenia [J]. Curr Opin Hematol, 2008, 15(1): 15-21.
- [26] 张文, 沈珊, 卢翠翠, 等. 药物诱导的粒细胞缺乏症研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(12): 1524-1528.
- [27] 《抗菌药物临床应用指导原则》修订工作组. 抗菌药物临床应用指导原则: 2015 年版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015.

(收稿日期: 2025-07-24; 修回日期: 2025-09-02)





科技期刊世界影响力指数 (WJCI) 报告 (2025)

## 收录证书

This is certificate for

中南药学

(ISSN 1672-2981 CN 43-1408/R)

to be indexed in

*World Journal Clout Index(WJCI) Report of  
Scientific and Technological  
Periodicals(2025)*

项目联合研发单位 Project Research and Development Organizations:

同方知网数字科技有限公司 Tongfang Knowledge Network Digital Technology Co.,Ltd.

中国科学技术信息研究所 Institute of Scientific and Technical Information of China

清华大学图书馆 Library of Tsinghua University

北京万方数据股份有限公司 Beijing Wanfang Data Co.,Ltd.

中国高校科技期刊研究会 Society of China University Journals

中国科学技术期刊编辑学会 China Editology Society of Science Periodicals



# 中国科技核心期刊

(中国科技论文统计源期刊)

## 收录证书

CERTIFICATE OF SOURCE JOURNAL  
FOR CHINESE SCIENTIFIC AND TECHNICAL PAPERS AND CITATIONS

中南药学

经过多项学术指标综合评定及同行专家  
评议推荐，贵刊被收录为“中国科技核心期  
刊”（中国科技论文统计源期刊）。

特颁发此证书。

中国科学技术信息研究所

Institute of Scientific and Technical Information of China

北京复兴路 15 号 100038

www.istic.ac.cn

2025年10月

证书编号: 2024-G599-2543  
有效期至: 2026年12月

国内统一刊号: CN 43-1408/R 邮发代号: 42-290 定价: 30.00元/册

