

“药效-靶标-成分-药动”多维关联模式下的如意珍宝丸 药效物质基础辨识

胥明珠^{1,2}, 李怀平³, 马兆臣^{2*}, 李涛², 刘毓东², 肖自青², 张楚², 陈可点²,
马卫华⁴, 黄丰¹, 林娜², 张彦琼^{1,2*}

(1. 云南中医药大学 中药学院, 昆明 650500; 2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;
3. 金诃藏药股份有限公司, 西宁 810003; 4. 滕州市中医医院, 山东 滕州 277500)

[摘要] 目的:通过整合生物网络邻近度计算与药代动力学表征,辨识如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的效应物质基础。方法:利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“方药候选靶标-疾病相关基因”相互作用网络,采用 Pesca 3.8.0 工具计算如意珍宝丸候选靶标在该网络中作用于神经病理性疼痛相关基因的平均最短路径值,用以评价二者之间的网络邻近度,筛选对疾病具有强干预效能的方药候选靶标及其对应的潜在效应成分。于设置的时间点收集灌胃给予如意珍宝丸后的大鼠血浆与脑脊液样品,采用超高效液相色谱-四极杆离子阱质谱法(UPLC-Q-TRAP/MS)定量检测各样品中潜在效应成分的含量,并绘制药-时曲线。采用 DAS 2.1.1 软件计算各效应成分的药代动力学参数。结果:通过对“方药候选靶标-疾病相关基因”相互作用网络中如意珍宝丸候选靶标与神经病理性疼痛相关基因之间的网络邻近度评价,筛选出雌激素受体 1(ESR1)、环磷酸腺苷(cAMP)依赖性蛋白激酶催化亚基 α (PRKACA)、蛋白激酶 B1(Akt1)等 40 个对神经病理性疼痛相关基因具有强干预效能的如意珍宝丸候选靶标,及其对应的甘草酸、白桦脂酸等 10 个潜在效应成分。药代动力学表征结果显示,10 个潜在效应成分中,没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素和甘草酸在血浆与脑脊液中均有较好的吸收、代谢特征,起效时间较长、生物利用度较好。结论:该研究从“药效-靶标-成分-药动”多维关联视角,指出甘草酸、没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素可能是如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的主要效应物质,可为如意珍宝丸效应物质基础的明晰及其质量标准的制定提供可靠的实验证据。

[关键词] 如意珍宝丸; 神经病理性疼痛; 效应物质基础; 网络药理学; 药代动力学; 超高效液相色谱-四极杆离子阱质谱法(UPLC-Q-TRAP/MS); 血浆; 脑脊液

[中图分类号] R22;R28;O657;R969.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2024)24-0068-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250261 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20240704.1122.004>

[网络出版日期] 2024-07-05 07:11:10

Identification of Pharmacodynamic Material Basis of Ruyi Zhenbaowan by Multidimensional Correlation Model of "Pharmacodynamic-target-component-pharmacokinetic"

XU Mingzhu^{1,2}, LI Huaiping³, MA Zhaochen^{2*}, LI Tao², LIU Yudong², XIAO Ziqing², ZHANG Chu²,
CHEN Kedian², MA Weihua⁴, HUANG Feng¹, LIN Na², ZHANG Yanqiong^{1,2*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine (TCM),

Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences,
Beijing 100700, China; 3. Arura Tibetan Medicine Co. Ltd., Xining 810003, China;

4. Tengzhou TCM Hospital, Tengzhou 277500, China)

[收稿日期] 2024-05-11

[基金项目] 青海省中央引导地方科技发展资金项目(2023ZY025)

[第一作者] 胥明珠,在读硕士,从事临床中药学研究,E-mail:mzx1145637@163.com

[通信作者] *张彦琼,研究员,博士生导师,从事临床中药学研究,E-mail:yqzhang@icmm.ac.cn;

*马兆臣,博士,从事临床中药学与中药化学研究,E-mail:mazaoc@163.com

[Abstract] **Objective:** To identify the pharmacodynamic material basis of Ruyi Zhenbaowan in relieving neuropathic pain by integrating the calculation of biological network proximity and pharmacokinetic characterization. **Method:** The interaction network of "drug candidate target-related gene of disease" was constructed by Cytoscape 3.8.2, and the average shortest path value of each drug putative target acting on neuropathic pain-related genes in this network was calculated by Pesca 3.8.0 tool so as to evaluate the network proximity between them, and screen prescription candidate targets with strong intervention efficiency and their corresponding potential effect components. After that, plasma and cerebrospinal fluid samples were collected from rats after administration of Ruyi Zhenbaowan at set time points, and the contents of potential effect components in samples was quantified by ultra performance liquid chromatography-quadrupole-ion trap mass spectrometry(UPLC-Q-TRAP/MS), and drug concentration-time curves were plotted, then the pharmacokinetic parameters were calculated by DAS 2.1.1. **Result:** By evaluating the network proximity between candidate targets and neuropathic pain-related genes in the interaction network, a total of 40 putative targets of Ruyi Zhenbaowan with strong intervention effects on neuropathic pain-related genes, such as estrogen receptor 1 (ESR1), cyclic adenosine monophosphate(cAMP)-dependent protein kinase catalytic subunit alpha(PRKACA) and protein kinase B1 (Akt1), and 10 corresponding potential effect components, such as glycyrrhizic acid and betulinic acid, were obtained. Pharmacokinetic characterization showed that among the 10 potential effect components, gallic acid, apigenin-7-O-glucuronide, glycyrrhizic acid and apigenin were well absorbed and metabolized in plasma and cerebrospinal fluid, with long onset time and good bioavailability. **Conclusion:** From the perspective of efficacy-target-constituent-pharmacokinetic, this study analyzes the main effective materials of Ruyi Zhenbaowan, such as glycyrrhizic acid, gallic acid, apigenin-7-O-glucuronide and apigenin, which have a high exposure in plasma or cerebrospinal fluid and have a strong intervention effect on neuropathic pain. The related results provide reliable experimental evidences for clarifying the material basis and developing quality standards of Ruyi Zhenbaowan.

[Keywords] Ruyi Zhenbaowan; neuropathic pain; material basis of pharmacodynamics; network pharmacology; pharmacokinetics; ultra performance liquid chromatography-quadrupole-ion trap mass spectrometry(UPLC-Q-TRAP/MS); plasma; cerebrospinal fluid

如意珍宝丸源自第司·桑结嘉措著的《藏医医诀补遗》,为藏族药经典名方,由珍珠母、红花、沉香、诃子、余甘子、人工牛黄等30多味药材组成^[1-2],具有清热、醒脑开窍、舒筋通络、干黄水的功效,是治疗神经经络疾病(白脉病)的主要药物^[3-4]。临床研究表明,如意珍宝丸对于三叉神经痛、坐骨神经痛、根性神经痛、疱疹后神经痛、糖尿病性神经末梢炎、眶上神经痛等各种神经病理性疼痛均具有良好的药效,临床总有效率>88%,且治疗期间患者无明显不良反应^[5-6]。目前,针对如意珍宝丸的研究多集中于阐释其作用机制,对其物质基础方面的研究则较为薄弱,仅有对该方中少数成分的含量测定^[7-8],而上述成分对于神经病理性疼痛相关基因的干预作用及其在体内的吸收、代谢特征均未可知。因此,为了对如意珍宝丸进行更加科学的质量控制并指导其临床合理用药,有必要对上述问题进行探索。

方药所含化学成分对疾病相关基因的干预效

能是识别方药效应成分的核心要素^[9],药代动力学研究可以帮助阐明方药的吸收、代谢过程及在体内高暴露量的化学成分^[10]。因此,本研究拟构建“方药候选靶标-疾病相关基因”相互作用网络,分析对疾病具有强干预效能的方药候选靶标及其对应的潜在效应成分;采用超高效液相色谱-四极杆离子阱质谱法(UPLC-Q-TRAP/MS)检测大鼠血浆与脑脊液样品中潜在效应成分的暴露量及药代动力学特征,以期为如意珍宝丸效应物质基础的辨识、质量控制指标的选择提供实验证据,并为指导其临床合理用药提供参考。

1 材料

1200型超高效液相色谱仪(美国Agilent公司), Xevo TQ Absolute型三重四极杆质谱仪、MassLynx 4.2 SCN1040数据分析系统(美国Waters公司),NA-5L型氮气-空气一体机(北京中兴汇利科技有限公司),Sigma 3K15型台式高速冷冻离心机(德国Sigma

公司), QL-901型旋涡混合器(江苏海门市麒麟医用仪器有限公司), Secura225D-1CN型十万分之一分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。

如意珍宝丸(金诃藏药股份有限公司, 批号01230301), 甘草酸、甘草苷、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、没食子酸对照品(成都乐美天医药科技有限公司, 批号分别为DSTDGQ000603、DSTDG000902、DSTDQ002602、DSTDQ009001、DSTDM000802, 纯度均>99%), 淫羊藿苷对照品(上海源叶生物技术有限公司, 批号B21576, 纯度>98%), 乙腈为质谱纯, 甲酸、甲醇为色谱纯, 水为屈臣氏蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

SPF级雄性SD大鼠84只, 体质量(220±20) g, 购自北京维通利华实验动物有限公司, 合格证号SCXK(京)2021-0006。大鼠统一在中国中医科学院中药研究所实验动物室饲养, 使用许可证号SYXK(京)2019-0003。室温(20±2) °C, 相对湿度55%±5%, 大鼠自由进食饮水。本实验通过了中国中医科学院中药研究所实验动物福利伦理委员会审查, 伦理编号2024B075。

2 方法

2.1 网络邻近度评价

2.1.1 “方药候选靶标-疾病相关基因”相互作用网络构建 利用课题组前期鉴定的如意珍宝丸入血和入脑成分, 采用中医药整合药理学研究平台(TCMIP v2.0, <http://www.tcmip.cn/>)数据库中“化学成分候选靶标预测”工具预测化学成分候选靶标, 将化学成分结构相似性评分阈值>0.7的靶标作为方药候选靶标。通过DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)、人类表型术语集(HPO, <http://www.human-phenotype-ontology.org/>)、治疗靶标数据库(TTD, <https://db.idrblab.net/ttd/>)收集“神经病理性疼痛”相关基因。将方药候选靶标与疾病相关基因输入STRING(<https://cn.string-db.org/>)数据库, 以最低相互作用得分(Minimum required interaction score)≥0.7为筛选条件生成蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络; 利用Cytoscape 3.8.2软件计算网络拓扑特征值, 将同时满足中间性中心性(Betweenness Centrality)≥0.000 730 702, 接近中心性(Closeness Centrality)≥0.302 545 774, 度中心性(Degree Centrality)≥9的靶标作为核心靶标, 并构建核心靶标相互作用网络。

2.1.2 方药候选靶标与疾病相关基因的网络邻近度评价 利用Cytoscape 3.8.2的“Pesca 3.8.0”工具

中“Multi Shortest Paths Tree”功能模块, 计算核心靶标相互作用网络中方药候选靶标到疾病相关基因的最短路径数量和最短路径值, 以及各个方药候选靶标最短路径值之和与各自最短路径数量的比值, 即得到各个方药候选靶标的平均最短路径值。方药候选靶标的平均最短路径值越小, 说明该方药候选靶标与疾病相关基因网络的整体网络邻近度越近, 对疾病相关基因的干预作用越强。以方药候选靶标雌激素受体1(ESR1)为例, ESR1到成纤维细胞生长因子23(FGF23)的最短路径包括ESR1>非受体型蛋白酪氨酸磷酸酶11(PTPN11)>FGF23和ESR1>丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)>FGF23, 最短路径值均为2。按照“最短路径优效”原则, 数值最小的前25%靶标为强干预效能靶标, 中间50%的靶标为中等干预效能靶标, 数值最大的25%靶标为弱干预效能靶标。

2.2 生物样品的采集与处理 12只大鼠适应性饲养1周后, 于实验前12 h禁食不禁水, 灌胃如意珍宝丸1.8 g·kg⁻¹(4倍临床等效剂量), 分别于给药后0、0.08、0.25、0.5、0.75、1、2、4、6、8、12、24 h经眼球后静脉丛采血约0.5 mL, 置肝素化离心管中, 4 °C、4 000 r·min⁻¹离心10 min(离心半径7 cm, 下同), 分取上清, 置于-80 °C保存。另取72只大鼠饲养、给药及采样时间同上, 麻醉动物, 剪去头颈部毛发, 75%乙醇消毒后, 沿纵轴切一约2 cm的纵行切口, 将微量输液针从枕骨大孔刺入小脑延髓池, 抽取脑脊液于预冷的离心管中, 抽取完毕立即处死大鼠。脑脊液4 °C、4 000 r·min⁻¹离心10 min, 分取上清, -80 °C保存。分别取血浆样品及脑脊液样品50 μL, 均加入内标溶液2.5 μL、冷乙腈147.5 μL, 涡旋3 min, 充分混匀, 静置5 min, 4 °C、13 500 r·min⁻¹离心10 min, 取上清液待测。

2.3 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₁₈色谱柱(2.1 mm×150 mm, 1.7 μm), 以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~1 min, 5%~30%B; 1~5 min, 30%~80%B; 5~6 min, 80%~95%B; 6~8 min, 95%B; 8~9 min, 95%~5%B; 9~12 min, 5%B), 柱温40 °C, 进样量2 μL, 流速0.30 mL·min⁻¹。

2.4 质谱条件 电喷雾离子源(ESI), 负离子模式检测, 毛细管电压2 kV, 锥孔电压30 V, 离子源电压30 V, 离子源温度150 °C, 锥孔气流量150 L·h⁻¹, 脱溶剂气温度450 °C, 脱溶剂气流量1 000 L·h⁻¹, 动态多反应监测模式(dMRM)监测。具体参数见表1。

2.5 内标及混合对照品溶液的制备 精密称量淫羊

表 1 如意珍宝丸中 5 种化合物及内标在 dMRM 模式下的质谱参数
Table 1 MS parameters of five compounds in Ruyi Zhenbaowan and internal standard under dMRM mode

成分	t _R /min	母离子 m/z	子离子 m/z	碎裂电压/V	碰撞能/eV
甘草酸	3.41	821.396 0	100.300 0	50	80
			113.000 0	50	80
			175.000 0	50	80
			193.000 0	50	75
			351.000 0	50	65
甘草苷	2.42	417.300 0	255.100 0	46	40
芹菜素	3.34	269.045 0	107.000 0	20	40
			117.000 0	20	45
			148.800 0	20	35
			150.800 0	20	35
芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	2.59	445.090 0	268.763 0	38	36
没食子酸	1.16	168.935 9	61.868 0	28	28
			78.847 5	28	28
			125.421 8	28	16
淫羊藿苷(内标)	2.94	720.226 5	367.000 0	40	60
			409.000 0	40	40
			513.000 0	40	30
			529.000 0	40	30

藿苷对照品,加甲醇配制成质量浓度为 100 μg·L⁻¹的内标溶液。精密称取甘草酸、甘草苷、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、没食子酸对照品,加甲醇配制成各成分质量浓度均为 200 μg·L⁻¹的混合对照品溶液。甲醇梯度稀释混合对照品溶液,得甘草酸、甘草苷、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、没食子酸质量浓度为 1.587 5、3.175、6.25、12.5、25、50、100、200 μg·L⁻¹的系列混合对照品溶液。

2.6 系列基质标准曲线样品和质控样品制备 取空白血浆或空白脑脊液分别加入 2.5 项下系列混合对照品溶液得系列基质标准曲线样品。取大鼠空白血浆或空白脑脊液 50 μL,分别加入质量浓度为 6.25、25、100 μg·L⁻¹的混合对照品溶液 12.5 μL、内标溶液 2.5 μL、乙腈 135 μL,涡旋 3 min,充分混匀,静置 5 min 后,4 ℃、13 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清即低、中、高质量浓度(0.390 7、1.562 5、6.25 μg·L⁻¹)的质控样品。

2.7 方法学考察

2.7.1 专属性考察 取空白血浆、空白血浆+混合对照品+内标、给药血浆+内标各 50 μL,按 2.2 项下方法处理后,与 100 μg·L⁻¹混合对照品溶液一同按

2.3 项和 2.4 项下条件进样分析。脑脊液样品处理同上。

2.7.2 线性关系考察 取空白血浆 50 μL,分别加入系列浓度的混合对照品溶液 12.5 μL、内标溶液 2.5 μL 和乙腈 135 μL 后,沉淀蛋白后,配制成系列浓度的血浆样品,按 2.3 项和 2.4 项下条件进样分析。脑脊液样品处理同上。以各成分质量浓度为横坐标(X),相应样品峰面积与内标峰面积比值为纵坐标(Y),采用加权最小二乘法进行回归运算,权重为 1/X²,绘制标准曲线;以信噪比为 3 作为检测限(LOD),信噪比为 10 作为定量限(LOQ)。

2.7.3 准确度和精密度考察 取 2.6 项下低、中、高质量浓度质控样品按 2.3 项和 2.4 项下条件进样分析,同日内连续进样 6 次,计算日内精密度;连续测定 3 d,计算日间精密度。

2.7.4 稳定性考察 取 2.6 项下低、中、高质控样品,室温放置 12 h,考察样品的稳定性。每个浓度平行 6 份样本,计算结果以相对标准偏差(RSD)表示。

2.7.5 提取回收率和基质效应考察 取空白血浆 50 μL,平行 3 份,分别加入 6.25、25、100 μg·L⁻¹混合对照品溶液 12.5 μL、内标溶液 2.5 μL 和乙腈 135 μL,各浓度平行配制 6 份,沉淀蛋白后,按 2.3 项和 2.4 项下条件进样分析,记录成分峰面积与内标峰面积比值(A);取空白血浆 50 μL,平行 3 份,加入乙腈 135 μL,沉淀蛋白后,分别加入 6.25、25、100 μg·L⁻¹混合对照品溶液 12.5 μL、内标溶液 2.5 μL,每一浓度平行配制 6 份,按 2.3 项和 2.4 项下条件进样分析,记录成分峰面积与内标峰面积比值(B);取甲醇 50 μL,平行 3 份,代替空白血浆,分别加入 6.25、25、100 μg·L⁻¹混合对照品溶液 12.5 μL、内标溶液 2.5 μL 和乙腈 135 μL,每一浓度平行配制 6 份,沉淀蛋白后,按 2.3 项和 2.4 项下条件进样分析,记录成分峰面积与内标峰面积比值(C)。以 A/B×100% 计算提取回收率,A/C×100% 计算基质效应。脑脊液样品处理同上。

2.8 数据处理 取 2.2 项下大鼠各时间点血浆及脑脊液样品按 2.3 项和 2.4 项下方法进样检测,按各成分标准曲线计算血药浓度,将血药浓度数据导入 DAS 2.1.1 软件,选择非房室模型进行药动学参数统计处理。

3 结果

3.1 如意珍宝丸干预神经病理性疼痛潜在效应物质辨识 共预测得到 22 个人血、入脑成分对应的 679 个候选靶标;经数据库检索得到 426 个疾病相关

基因;根据基因-基因间相互作用信息,构建“方药候选靶标-疾病相关基因”关联网络,并通过网络拓扑特征值计算,筛选出 244 个网络核心靶标,其中包含 162 个方药候选靶标和 104 个疾病相关基因。采用 Multi Shortest Paths Tree 计算得到方药候选靶标到疾病相关基因的 137 933 条最短路径。以方药候选靶标 ESR1 为例,在网络中 ESR1 到其余节点及所有疾病相关基因的最短路径数量分别有 4 620、561 条,到所有疾病相关基因的最短路径之和为 1 267、平均最短路径为 2.26。平均最短路径值最小,即 ESR1 与疾病相关基因的整体网络邻近度最小,提示其所对应的化学成分在干预疾病失衡网络中的作用最重要。按照“最短路径优效”原则对方药候选靶标干预神经病理性疼痛失衡网络的效能进行分级划分,得到包括 ESR1、环磷酸腺苷(cAMP)依赖性蛋白激酶催化亚基 α (PRKACA)、蛋白激酶 B1 (Akt1)在内的 40 个“强干预效能方药候选靶标”,热休克蛋白 5 (HSPA5)、生长素反应因子 682 (ARF682)在内的 82 个中等干预效能靶标,钙电压门控通道亚基 A1G (CACNA1G)、烯醇化酶 1 (ENO1)在内的 40 个弱干预效能靶标。如意珍宝丸所含的甘草酸、白桦脂酸、3,3'-O-二甲基鞣花酸、没

食子酸、高良姜素、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、甘草苷等化学成分,其所作用的强干预效能靶标数目(分别为 18、15、12、12、12、10、11、10)较该品种所含其他化学成分多,提示可能是如意珍宝丸干预神经病理性疼痛的潜在效应成分群。结果见增强出版附加材料^[11-36]。

3.2 如意珍宝丸干预神经病理性疼痛潜在效应物质的药代动力学分析

3.2.1 方法学考察 血浆与脑脊液的待测化合物和内标化合物均不受内源性物质的干扰,方法专属性良好,适用于待测成分的含量测定;待测化合物的标准曲线均在其线性范围内呈现良好的线性关系, R^2 均>0.99,回归方程见表 2、表 3;待测化合物的日内、日间精密度的 RSD 均<13.68%,准确度均>90.45%,表明该方法精密性与准确度良好;低、中、高浓度质控样品在室温放置 12 h 后,各条件下指标成分的 RSD 和相对误差(RE)均<15%,表明样品稳定性良好;待测化合物的基质效应为 75.11%~114.11%,提取回收率为 77.73%~110.84%,且在各浓度下二者的 RSD 均<13.37%,表明该提取方法稳定,无基质干扰,基本符合生物样品分析方法的要求。具体方法学考察结果见增强出版附加材料。

表 2 血浆中 5 种化合物的线性关系考察 (n=6)

Table 2 Liner relationship of five compounds in plasma (n=6)

分析物	回归方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
芹菜素	$Y=1.503\ 9X+0.014\ 2$	0.995\ 1	0.099\ 2~12.5	0.008\ 7	0.029\ 0
甘草苷	$Y=1.122\ 5X+0.311\ 0$	0.990\ 3	0.099\ 2~12.5	0.020\ 0	0.066\ 8
甘草酸	$Y=0.423\ 4X+0.046\ 4$	0.993\ 0	0.099\ 2~12.5	0.021\ 6	0.072\ 1
芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	$Y=1.433\ 1X+0.037\ 6$	0.993\ 6	0.099\ 2~12.5	0.014\ 6	0.048\ 7
没食子酸	$Y=1.880\ 2X+0.015\ 7$	0.998\ 7	0.099\ 2~12.5	0.008\ 7	0.029\ 1

表 3 脑脊液中 4 种化合物的线性关系考察 (n=6)

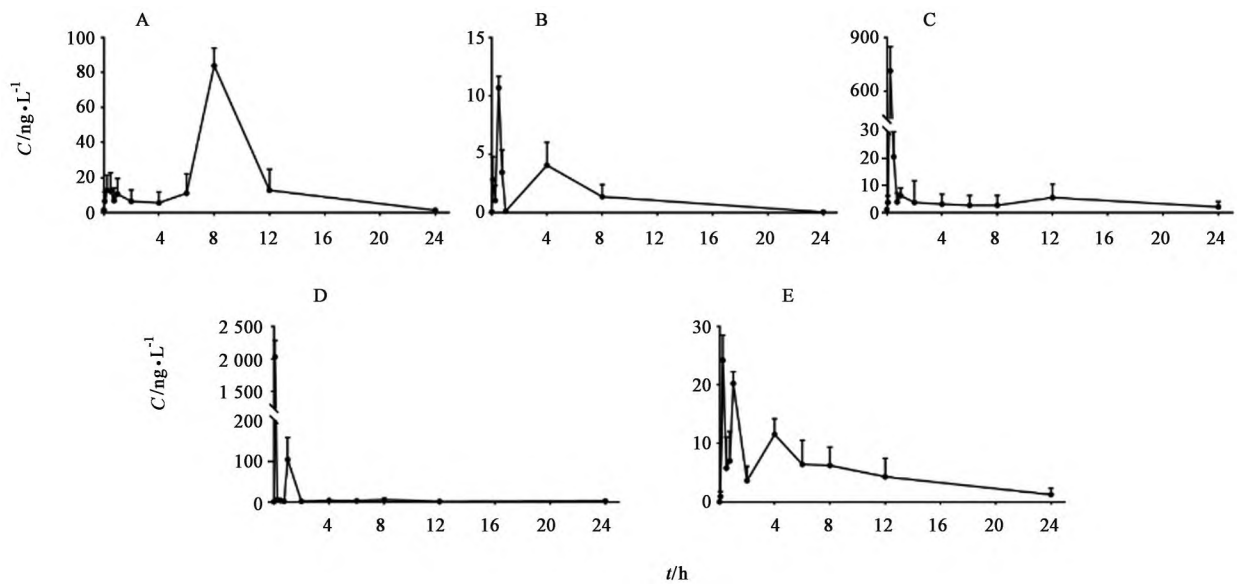
Table 3 Liner relationship of four compounds in cerebrospinal fluid (n=6)

分析物	回归方程	R^2	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LOD/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	LOQ/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
芹菜素	$Y=1.786\ 2X+0.027\ 2$	0.996\ 9	0.099\ 2~12.5	0.006\ 2	0.020\ 5
甘草酸	$Y=0.456\ 6X-0.133\ 1$	0.990\ 2	0.099\ 2~12.5	0.019\ 4	0.072\ 1
芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	$Y=1.433\ 1X+0.251\ 5$	0.993\ 6	0.099\ 2~12.5	0.012\ 0	0.054\ 1
没食子酸	$Y=0.802\ 1X+0.314\ 6$	0.998\ 7	0.099\ 2~12.5	0.077\ 4	0.191\ 3

3.2.2 药代动力学分析及效应物质确认 大鼠灌胃药物后,待测化合物在血浆与脑脊液中的平均药物浓度-时间曲线见图 1、图 2。结果显示,血浆中可检测到 5 种高暴露量成分,而脑脊液中甘草苷含量较低,无法准确测定其暴露量。入血成分中,没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素的暴露量

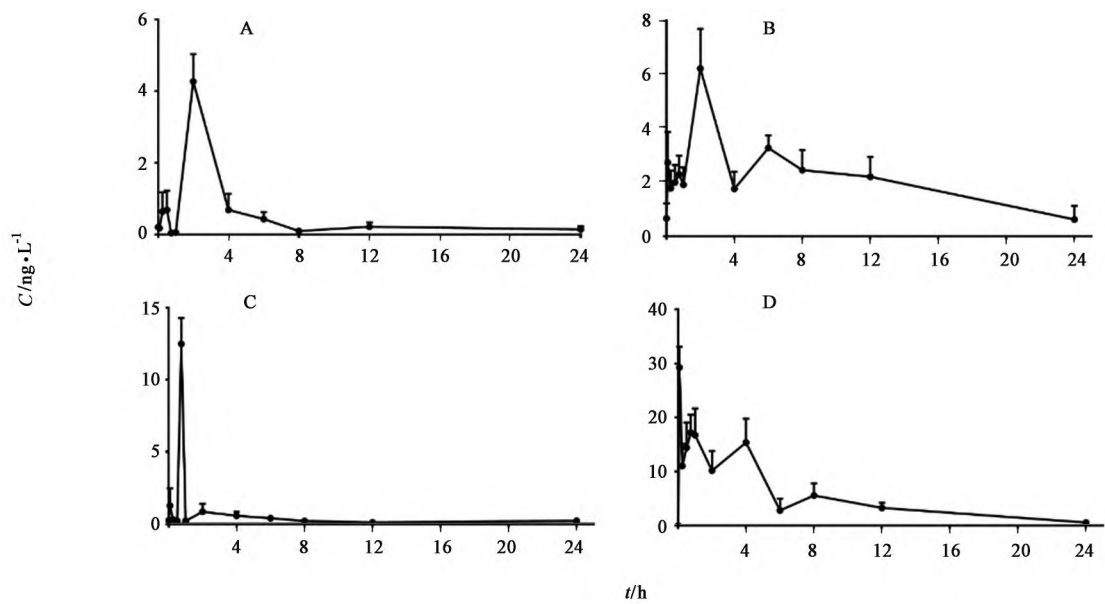
较高,甘草酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、没食子酸的半衰期($t_{1/2}$)及平均滞留时间(MRT)均较高,说明在血中暴露时间较长;4 种入脑成分均有较好的吸收、代谢特征,尤其是没食子酸、甘草酸,其药时曲线下面积($\text{AUC}_{0-\infty}$)、 $t_{1/2}$ 及 MRT 均较高。综上所述,甘草酸、没食子酸、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸

苷分别作用于 18、12、10、11 个强干预效能靶标,是如意珍宝丸作用于强干预效能靶标最多的化学成分,且在大鼠血浆或脑脊液中的暴露量较高,并具有较好的吸收及代谢特性,提示上述 4 个化学成分可能为如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的主要效应物质。见表 4、表 5。



注:A. 芹菜素;B. 甘草苷;C. 甘草酸;D. 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷;E. 没食子酸
图 1 血浆中 5 种成分的药物浓度-时间曲线

Fig. 1 Drug concentration-time curves of five components in plasma



注:A. 芹菜素;B. 甘草酸;C. 芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷;D. 没食子酸
图 2 脑脊液中 4 种成分的药物浓度-时间曲线

Fig. 2 Drug concentration-time curves of four compounds in cerebrospinal fluid

4 讨论

如意珍宝丸作为经典藏药,其以主药、王后药、太子药及大臣药进行辨证组方。方中短穗兔耳草、甘草及珍珠母醒脑开窍、疏通脉道为主药;高良姜、肉桂、荜茇温胃补肾,丁香、豆蔻、肉豆蔻调养五脏,沉香、草果、木香、藏木香调和隆病为王后药;檀香

清热凉血,红花、人工麝香镇痛活血,诃子、毛诃子及余甘子平衡三因、调和诸药为太子药;决明子、螃蟹及水牛角清热解毒、凉血通络为大臣药;诸药合用,共奏清热、醒脑开窍、舒筋通络、干黄水的功效,主治三叉神经痛、多发性神经炎等神经系统疾病^[2,37-39]。该方药材味数较多、化学成分复杂,既往

表 4 血浆中 5 种成分的药代动力学参数 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 4 Pharmacokinetic parameters of five compounds in plasma ($\bar{x}\pm s, n=6$)

药动学参数	芹菜素	甘草酸	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	没食子酸	甘草苷
$C_{\max}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	75.04±3.95	18.21±0.87	2 032.70±59.68	24.23±0.71	10.68±1.18
$t_{\max}/\text{h}$	8.00±0.00	0.25±0.00	0.08±0.00	0.25±0.00	0.50±0.00
$\text{AUC}_{0-t}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	249.74±11.80	31.47±1.80	374.49±10.99	320.09±5.23	17.26±7.24
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	250.30±11.76	32.27±1.59	375.33±11.36	744.36±8.56	19.52±9.27
$t_{1/2}/\text{h}$	2.20±0.07	4.15±0.54	4.24±0.44	12.77±0.44	3.63±0.73
MRT/h	8.13±0.03	6.93±0.04	1.87±0.13	13.14±0.18	4.44±1.49

表 5 脑脊液中 4 种成分的药代动力学参数 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 5 Pharmacokinetic parameters of four compounds in cerebrospinal fluid ($\bar{x}\pm s, n=6$)

药动学参数	芹菜素	甘草酸	芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷	没食子酸
$C_{\max}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$	3.99±0.09	6.08±0.18	12.49±0.51	29.61±0.81
$t_{\max}/\text{h}$	2.00±0.00	2.00±0.00	0.75±0.00	0.08±0.00
$\text{AUC}_{0-t}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	12.89±0.70	62.25±3.32	9.58±0.20	248.52±12.41
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	13.45±0.91	359.96±79.30	9.63±0.21	504.64±4.91
$t_{1/2}/\text{h}$	6.21±0.82	17.50±2.61	3.30±0.32	11.72±1.79
MRT/h	8.15±0.29	11.17±0.19	6.41±0.25	13.14±0.44

研究仅有对该方胡椒碱、羟基红花黄色素 A、胆酸、没食子酸 4 种成分的含量测定^[7-8],但上述成分是否是该药干预神经性疼痛的效应物质尚未可知。本研究采用“药效-靶标-成分-药动”多维关联模式,首先通过网络邻近度计算和评价,获得了 ESR1、PRKACA、Akt1 等 40 个在矫正神经病理性疼痛失衡网络中具有强干预效能的如意珍宝丸候选靶标,及其对应的甘草酸、白桦脂酸等 10 个潜在效应物质。而后,通过定量检测大鼠血浆与脑脊液(疾病靶器官)中的高暴露量成分及其药代动力学表征,证实了上述强干预效能候选靶标所对应的甘草酸、没食子酸、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷在大鼠血浆或脑脊液中,均具有高暴露量和良好的吸收、代谢特性,是如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的主要效应物质。

方药所含化学成分对疾病相关基因的干预能力是识别方药效应物质的核心要素,而化学成分候选靶标与疾病相关基因之间的关联性对于成分药效的发挥起着至关重要的作用^[40]。网络邻近度评价是衡量网络节点之间的关联程度或接近程度的重要方法,即在一个网络中,最短路径指 2 个节点之间距离最短的路径,而节点的邻近度则是指 2 个节点之间的最短距离^[41]。本研究通过网络邻近度计算和评价,筛选出 ESR1、PRKACA、Akt1 等 40 个方药候选靶标到疾病相关基因的整体网络邻近度最小,是如意珍宝丸调控神经病理性疼痛失衡网络的

强干预效能靶标;而甘草酸、白桦脂酸、没食子酸等是干预上述靶标数量最多的前 10 个化学成分;既往研究已表明,上述 10 个成分均其具有神经保护作用,如甘草酸、高良姜素、甘草苷、土木香内酯、苍术内酯Ⅱ可减少大脑中炎症因子的表达,缓解神经病理性疼痛^[35-36,42-44];没食子酸及白桦脂酸具有抗氧化特性,可减少自由基的产生,从而降低神经系统的氧化应激、炎症反应及疼痛^[28,45-46];芹菜素可减轻神经慢性收缩引起的疼痛,并抑制促炎因子转录,发挥抗神经炎症的作用^[31,47];芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷作为芹菜素的衍生物,亦具有抗炎、抗氧化和抗焦虑作用^[30];3,3'-O-二甲基鞣花酸可诱导神经元分化从而改善神经退行性疾病^[48]。

根据血清药物化学和药代动力学理论,药物发挥药效的首要前提是要能够吸收入血并到达靶器官^[49];此外,药物还需要在靶器官中达到一定的暴露量,并具有良好的吸收、分布、代谢和排泄等药代动力学特征^[50]。故本研究对上述 10 个潜在效应成分进行了定量测定,其中,正离子模式下的高良姜素、土木香内酯、苍术内酯Ⅱ及负离子模式下的白桦脂酸、3,3'-O-二甲基鞣花酸在血浆及脑脊液中的暴露量较低,方法学难以通过,因此,最终仅对负离子模式下的甘草苷、甘草酸、芹菜素、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、没食子酸 5 个成分进行了定量测定。药代动力学表征结果显示,甘草苷未在脑脊液中被检测到,原因可能是其在血浆中与葡萄糖醛酸和硫

酸酯键结合后影响其透过血脑屏障^[51]。AUC_{0-∞}值越高,表明化学成分的生物利用度越好^[52],故没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素在血浆中吸收较为完全,没食子酸和甘草酸在脑脊液中吸收较为完全。此外,没食子酸和甘草酸的 $t_{1/2}$ 与MRT值最大,在24 h时仍能被检测到,提示二者在脑脊液中的驻留时间较长;二者的药-时曲线存在双峰现象,说明其吸收可能存在肝肠循环等特点,这也解释了二者驻留时间长的原因^[53-54]。综合对比化学成分在血浆与脑脊液中的药代动力学参数可见,甘草酸经血液吸收后,易通过血脑屏障进入脑组织,并维持较长时间。入脑成分的MRT均>6.41 h,说明每日3次服用药物,能保证其在脑组织中达到稳态血药浓度,从而平稳地发挥药效作用。综上,来源于主药甘草、短穗兔耳草和太子药诃子的甘草酸、没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素,可能是如意珍宝丸入血、入脑的主要效应物质,且发挥长效药效作用。既往研究将没食子酸、胡椒碱、羟基红花黄色素A、胆酸4个成分作为如意珍宝丸的质量控制指标^[7-8],通过本研究,明确了没食子酸作为质控指标的科学性,并建议将甘草酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素的含量测定也纳入该药的质量控制标准。在健康和病理状态下,如意珍宝丸化学成分的吸收、代谢特征可能有所不同^[55]。因此,后续拟利用正常动物和神经病理性疼痛疾病动物模型,考察和对比潜在药效成分在体内的吸收和代谢差异。

综上所述,本研究通过整合生物网络邻近度计算与药代动力学表征,识别出如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的强干预效能靶标及其对应的潜在效应成分群,并明确了在血浆与脑脊液中的高暴露效应成分及其药代动力学特征,并从“药效-靶标-成分-药动”多维关联视角,鉴定出甘草酸、没食子酸、芹菜素-7-O-葡萄糖醛酸苷、芹菜素是如意珍宝丸缓解神经病理性疼痛的主要效应物质,其候选靶标对疾病相关基因具有强干预潜能,且具有良好的药代动力学表征,相关结果为如意珍宝丸效应物质的阐明和质量控制的制定提供了可靠的实验证据,并有利于指导该药的临床合理用药。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

[1] 贾可欣,仲格嘉,朱春燕,等.如意珍宝丸对小鼠丘脑出血后中枢痛的干预作用[J].中国实验方剂学杂志,

2022,28(16):82-89.

- [2] 卓玛措,顿珠,格知加,等.复方如意珍宝丸之方解及功效研究[J].中成药,2023,45(3):915-918.
- [3] 武鹏,罗远带,甄丽芳,等.如意珍宝丸药理及临床研究进展[J].中国民族民间医药,2016,25(7):31-32,34.
- [4] 李啟恩,袁发荣,窦勤,等.如意珍宝丸对KM小鼠的急毒试验研究[J].青海科技,2023,30(1):67-72.
- [5] 多杰,胡清文.如意珍宝丸治疗白脉病(神经性疼痛)219例临床观察[J].内蒙古中医药,2009,28(19):17-18.
- [6] 于晶,于桂梅,于昕航.如意珍宝丸治疗眶上神经痛临床观察[J].中国现代药物应用,2012,6(24):97-98.
- [7] 王曙,程世琼,蒲怀琼,等.藏药如意珍宝丸的鉴别和含量测定[J].华西药学杂志,2002,17(4):261-263.
- [8] 孙绪丁,任松鹏,刘玉芹.如意珍宝丸质量标准研究[J].西部中医药,2013,26(1):24-30.
- [9] WANG Z Y, LI M Z, LI W J, et al. Mechanism of action of Daqinjiao decoction in treating cerebral small vessel disease explored using network pharmacology and molecular docking technology[J]. Phytomedicine, 2023,108:154538.
- [10] REN L, LI Q, ZHANG L, et al. Integrated serum pharmacochimistry, network pharmacology and pharmacokinetics to explore bioactive components of Gushudan in the treatment of osteoporosis [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2023, 1225:123762.
- [11] NESHEIM N, ELLEM S, DANSRANJAVIN T, et al. Elevated seminal plasma estradiol and epigenetic inactivation of ESR1 and ESR2 is associated with CP/CPPS[J]. Oncotarget, 2018,9(28):19623-19639.
- [12] LUO B Y, ZHOU H S, XIAO Q X, et al. An exploratory study on the mechanism of Huangqi Guizhi Wuwu decoction in the treatment of neuropathic pain[J]. Ibrain, 2022,8(2):127-140.
- [13] GAO C, ZHAO Y, YANG T, et al. Duhuo Jisheng decoction alleviates neuroinflammation and neuropathic pain by suppressing microglial M1 polarization: A network pharmacology research [J]. J Orthop Surg Res, 2023,18(1):629.
- [14] KANNO K, NAKAYAMA K, RAZIA S, et al. Association between KRAS and PIK3CA mutations and progesterone resistance in endometriotic epithelial cell line[J]. Curr Issues Mol Biol, 2024,46(4):3579-3594.
- [15] KOBIALKA P, SABATA H, VILALTA O, et al. The onset of PI3K-related vascular malformations occurs during angiogenesis and is prevented by the Akt inhibitor miransertib [J]. EMBO Mol Med, 2022, 14

- (7):e15619.
- [16] WALDER R Y, WATTIEZ A S, WHITE S R, et al. Validation of four reference genes for quantitative mRNA expression studies in a rat model of inflammatory injury[J]. *Mol Pain*, 2014, 10:55.
- [17] LI Y, KONG C, WANG B, et al. Identification of differentially expressed genes in mouse paraspinal muscle in response to microgravity [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13:1020743.
- [18] DUNBAR E K, GREER P J, AMANN S T, et al. Pain experience in pancreatitis: Strong association of genetic risk loci for anxiety and PTSD in patients with severe, constant, and constant-severe pain [J]. *Am J Gastroenterol*, 2021, 116(10):2128-2136.
- [19] HONG S, ZHENG G, WILEY J W. Epigenetic regulation of genes that modulate chronic stress-induced visceral pain in the peripheral nervous system [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1):148-157. e7.
- [20] ZINGALE G A, BELLIA F, AHMED I M M, et al. IDE degrades nociceptin/orphanin FQ through an insulin regulated mechanism [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18):4447.
- [21] BOYLE K A, POLGAR E, GUTIERREZ-MECINAS M, et al. Neuropeptide Y-expressing dorsal horn inhibitory interneurons gate spinal pain and itch signalling[J]. *Elife*, 2023, 12:RP86633.
- [22] ZHANG Y, WANG Y H, ZHANG X H, et al. Proteomic analysis of differential proteins related to the neuropathic pain and neuroprotection in the dorsal root ganglion following its chronic compression in rats [J]. *Exp Brain Res*, 2008, 189(2):199-209.
- [23] HISAOKA-NAKASHIMA K, OHATA K, YOSHIMOTO N, et al. High-mobility group box 1-mediated hippocampal microglial activation induces cognitive impairment in mice with neuropathic pain [J]. *Exp Neurol*, 2022, 355:114146.
- [24] BELLAMPALLI S S, JI Y, MOUTAL A, et al. Betulinic acid, derived from the desert lavender *Hyptis emoryi*, attenuates paclitaxel-, HIV-, and nerve injury-associated peripheral sensory neuropathy via block of N- and T-type calcium channels [J]. *Pain*, 2019, 160(1):117-135.
- [25] LV C C, XIA M L, SHU S J, et al. Attenuation of remifentanyl-induced hyperalgesia by betulinic acid associates with inhibiting oxidative stress and inflammation in spinal dorsal horn [J]. *Pharmacology*, 2018, 102(5/6):300-306.
- [26] SGARIGLIA M A, SOBERÓN J R, CABANES A P, et al. Anti-inflammatory properties of phenolic lactones isolated from *Caesalpinia paraguariensis* stem bark [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(1):63-73.
- [27] WEN L, TANG L, ZHANG M, et al. Gallic acid alleviates visceral pain and depression via inhibition of P2X7 receptor [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11):6159.
- [28] YANG R, LI Z, ZOU Y, et al. Gallic Acid alleviates neuropathic pain behaviors in rats by inhibiting P2X7 receptor-mediated NF- κ B/STAT3 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:680139.
- [29] HUANG X, PEI W, NI B, et al. Chondroprotective and antiarthritic effects of galangin in osteoarthritis: An *in vitro* and *in vivo* study [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 906:174232.
- [30] ELANGOVA A, RAMACHANDRAN J, LAKSHMANAN D K, et al. Ethnomedical, phytochemical and pharmacological insights on an Indian medicinal plant: The balloon vine (*Cardiospermum halicacabum* Linn.) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 291:115143.
- [31] WU J Y, LI Y, LI B L, et al. Evidence for 5-HT_{1A} receptor-mediated antiallodynic and antihyperalgesic effects of apigenin in mice suffering from mononeuropathy [J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(19):4005-4025.
- [32] ZARGARAN A, BORHANI-HAGHIGHI A, SALEHI-MARZIJARANI M, et al. Evaluation of the effect of topical chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) oleogel as pain relief in migraine without aura: A randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study [J]. *Neurol Sci*, 2018, 39(8):1345-1353.
- [33] CHEN Y Y, FENG L M, XU D Q, et al. Combination of paeoniflorin and liquiritin alleviates neuropathic pain by lipid metabolism and calcium signaling coordination [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:944386.
- [34] GUO Q, MIZUNO K, OKUYAMA K, et al. Antineuropathic pain actions of Wu-tou decoction resulted from the increase of neurotrophic factor and decrease of CCR5 expression in primary rat glial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123:109812.
- [35] PEI W, HUANG X, NI B, et al. Selective STAT3 inhibitor alantolactone ameliorates osteoarthritis via regulating chondrocyte autophagy and cartilage homeostasis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:730312.
- [36] CHEN L G, JAN Y S, TSAI P W, et al. Anti-inflammatory and Antinociceptive Constituents of *Atractylodes japonica* Koidzumi [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(11):2254-2262.

- [37] 单佳铃, 欧阳香, 程虹毓, 等. 藏药短穗兔耳草提取物对急性痛风性关节炎大鼠 TLR/MyD88/NF- κ B 和 NALP3 信号通路的影响研究[J]. 中药材, 2020, 43(3): 716-720.
- [38] 罗晓敏, 丁翼, 张博宇, 等. 珍宝类藏族药复方防治中枢神经系统疾病的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(8): 2028-2037.
- [39] 格知加, 尼玛次仁, 卓玛措, 等. 藏药如意珍宝丸的配伍特点及其治疗白脉病的核心药物[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2022, 24(10): 3728-3736.
- [40] MOSTAFAVI S, GOLDENBERG A, MORRIS Q. Labeling nodes using three degrees of propagation[J]. PLoS One, 2012, 7(12): e51947.
- [41] SUN Y, YU F, CAO W, et al. Betulinic acid alleviates neuropathic pain induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in mice[J]. Neurosci Lett, 2023, 813: 137429.
- [42] JIANG Q, LI C R, ZENG W F, et al. Inhibition of Connexin 36 attenuates HMGB1-mediated depressive-like behaviors induced by chronic unpredictable mild stress[J]. Brain Behav, 2022, 12(2): e2470.
- [43] MAZZIO E A, BAUER D, MENDONCA P, et al. Natural product HTP screening for attenuation of cytokine-induced neutrophil chemo attractants (CINC_s) and NO₂- in LPS/IFN γ activated glioma cells[J]. J Neuroimmunol, 2017, 302: 10-19.
- [44] ZHANG MT, WANG B, JIA Y N, et al. Neuroprotective effect of liquiritin against neuropathic pain induced by chronic constriction injury of the sciatic nerve in mice[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 95: 186-198.
- [45] BHUIA M S, RAHAMAN M M, IASLAM T, et al. Neurobiological effects of gallic acid: Current perspectives[J]. Chin Med, 2023, 18(1): 27.
- [46] ABRISHAMDAR M, SARKAKI A, FARBOOD Y. The effects of betulinic acid chronic administration on the motor, non-motor behaviors, and globus pallidus local field potential power in a rat model of hemiparkinsonism[J]. Iran J Basic Med Sci, 2022, 25(11): 1357-1363.
- [47] ANUSHA C, SUMATHI T, JOSEPH L D. Protective role of apigenin on rotenone induced rat model of Parkinson's disease: Suppression of neuroinflammation and oxidative stress mediated apoptosis[J]. Chem Biol Interact, 2017, 269: 67-79.
- [48] TABOPDA T K, NGOUPAYO J, LIU J W, et al. Induction of neuronal differentiation in neurosphere stem cells by ellagic acid derivatives[J]. Nat Prod Commun, 2009, 4(4): 517-520.
- [49] REN L, LI Q, ZHANG L, et al. Integrated serum pharmacochimistry, network pharmacology and pharmacokinetics to explore bioactive components of Gushudan in the treatment of osteoporosis[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2023, 1225: 123762.
- [50] SONG J, LIAO W, DENG X, et al. Analysis of the pharmacodynamic difference between Xiaojin pills taken with Chinese Baijiu and water based on serum pharmacochimistry and pharmacokinetics[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115723.
- [51] TERAJO J. Dietary flavonoids as antioxidants *in vivo*: Conjugated metabolites of (-)-epicatechin and quercetin participate in antioxidative defense in blood plasma[J]. J Med Invest, 1999, 46(3/4): 159-168.
- [52] 刘峻宇, 曹唯仪, 孙敏, 等. 附杞固本膏在中国健康受试者中的随机、双盲、安慰剂对照、连续给药的药代动力学及代谢组学分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(16): 160-169.
- [53] KIMIRA Y, TAJIMA K, OHTA A, et al. Synergistic effect of isoflavone glycosides and fructooligosaccharides on postgastrectomy osteopenia in rats[J]. J Clin Biochem Nutr, 2012, 51(2): 156-160.
- [54] QU J, GAO J, SUN J, et al. Pharmacokinetics of conjugated metabolites in rat plasma after oral administration of tectoridin[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012, 902: 61-69.
- [55] WANG X, ZHANG J, LUO L, et al. Comparative pharmacokinetics of 24 major bioactive components in normal and ARDS rats after oral administration of Xuanfei Baidu granules[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 296: 115472.

[责任编辑 李嘉麟]