

• XXXX •

大血藤调控BDNF/TrkB/CaMK II /CREB信号通路缓解神经病理性疼痛的机制

王方芳¹, 胡琪琪¹, 梁大毅², 吴静¹, 王龙³, 唐挺^{4*}, 陈鹏^{1*}

(1. 贵州中医药大学, 贵阳 550025; 2. 黑龙江中医药大学第二临床医学院, 哈尔滨 150006;
3. 西南医科大学药学院, 四川 泸州 646099; 4. 贵州中医药大学第一附属医院, 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 基于网络药理学、分子对接结合动物实验, 探究大血藤缓解神经病理性疼痛(NP)的作用机制。方法: 采用超高效液相色谱-四极杆-轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q-Orbitrap HRMS)技术鉴定大血藤的化学成分。通过网络药理学预测大血藤干预NP的核心靶点及相关通路。将48只SD大鼠随机分为假手术组, 模型组, 大血藤低、中、高剂量组(1.35、2.7、5.4 g·kg⁻¹), 普瑞巴林组(30 mg·kg⁻¹)。制备NP慢性压迫性损伤(CCI)模型, 分别于术前、术后3、5 d和药物干预后3、7、11、14 d测定各组大鼠机械缩足反射阈值(MWT)、热缩足反射阈值(TWL)。免疫荧光(IF)检测神经元兴奋性标志物细胞原癌基因 fos (c-Fos)及中枢敏化所必需的神经激肽1受体(NK-1R)的表达。蛋白免疫印迹法(Western blot)检测脊髓组织中脑源性神经生长因子(BDNF)、原肌球蛋白受体激酶B(TrkB)、磷脂酶C γ (PLC γ)、钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II α (CaMK II α)、cAMP反应元件结合蛋白(CREB)蛋白表达及磷酸化水平。IF检测脊髓组织磷酸化(p)-TrkB、p-PLC γ 、p-CaMK II α 、p-CREB表达。结果: 大血藤含有138个化合物, 经网络药理学研究发现其干预NP潜在作用靶点共409个, 包括神经酪氨酸激酶受体2(NTRK2)、前列腺素过氧化物合酶2(PTGS2)、雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、蛋白激酶1(Akt1)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)等74核心靶点。分子对接结果显示, NTRK2(编码TrkB蛋白的基因)与红景天苷、青藤碱、葛根素、槲皮素、柚皮素、姜黄素等结合能力良好。动物行为学结果显示, 与假手术组比较, 模型组大鼠MWT、TWL均显著降低($P<0.01$)。IF结果显示, 与假手术组比较, 模型组脊髓组织中c-Fos与NK-1R表达显著增加($P<0.01$); 与模型组比较, 大血藤高剂量组脊髓组织中c-Fos与NK-1R表达显著降低($P<0.01$)。Western blot及IF荧光结果显示, 与假手术组比较, 模型组脊髓组织中BDNF、TrkB、p-TrkB、PLC γ 、p-PLC γ 、CaMK II α 、p-CaMK II α 、CREB、p-CREB表达显著升高($P<0.01$); 与模型组比较, 大血藤高剂量组脊髓组织中以上蛋白表达显著降低($P<0.01$)。结论: 大血藤通过下调BDNF/TrkB/CaMK II /CREB信号通路抑制神经元兴奋性及中枢敏化缓解神经病理性疼痛。

[关键词] 大血藤; 神经病理性疼痛; 神经元兴奋性; 中枢敏化; 脑源性神经生长因子(BDNF)/原肌球蛋白受体激酶B(TrkB)/钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶II α (CaMK II α)/cAMP反应元件结合蛋白(CREB)信号通路

[中图分类号] R277;R285;R289 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(XXXX)XX-0001-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251939

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



Mechanisms of Sargentodoxae Caulis in Alleviating Neuropathic Pain via Regulation of BDNF/TrkB/CaMK II /CREB Signaling Pathway

WANG Fangfang¹, HU Qiqi¹, LIANG Dayi², WU Jing¹, WANG Long³, TANG Ting^{4*}, CHEN Peng^{1*}

(1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China;

2. Second Clinical Medical College, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150006, China;

[收稿日期] 2025-08-07

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82360894, 82104658, 82060869); 贵州省苗医药全省重点实验室项目(黔科合平台[2025]018); 贵州中医药大学“青年英才”计划项目(GZY-QNYC[2025]02); 贵州中医药大学博士启动基金项目[2017]

[第一作者] 王方芳, 在读硕士, 从事中医诊治皮肤科疾病研究, E-mail: 1916498564@qq.com

[通信作者] *唐挺, 主任医师, 博士, 博士生导师, 从事中医药防治神经痛研究, E-mail: tangting0851@163.com;

*陈鹏, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事中医药防治脑病研究, E-mail: 740466982@qq.com;

3. School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646099, China; 4. The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanisms of Sargentodoxae Caulis in relieving neuropathic pain (NP) based on network pharmacology, molecular docking, and animal experiments. **Methods:** Ultra-performance liquid chromatography-quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) was used to identify the chemical constituents of Sargentodoxae Caulis. Network pharmacology was applied to predict the core targets and related pathways of Sargentodoxae Caulis in the intervention of NP. Forty-eight Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, low-, medium-, and high-dose Sargentodoxae Caulis groups ($1.35, 2.7, \text{ and } 5.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), and a pregabalin group ($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). A NP model was established using chronic constriction injury (CCI). The mechanical withdrawal threshold (MWT) and thermal withdrawal latency (TWL) were measured before surgery, on days 3 and 5 after surgery, and on days 3, 7, 11, and 14 after drug intervention. Immunofluorescence (IF) was used to detect the expression of neuronal excitability marker c-Fos and the neurokinin-1 receptor (NK-1R), which is essential for central sensitization. Western blot (WB) was used to detect the protein expression and phosphorylation levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), tropomyosin receptor kinase B (TrkB), phospholipase C- γ (PLC γ), calcium/calmodulin-dependent protein kinase II α (CaMK II α), and cAMP-response element-binding protein (CREB) in spinal cord tissue. IF was further used to detect the expression of phosphorylated TrkB (p-TrkB), p-PLC γ , p-CaMK II α , and p-CREB in spinal cord tissue. **Results:** A total of 138 compounds were identified in Sargentodoxae Caulis. Network pharmacology analysis revealed 409 potential targets for NP intervention, including 74 core targets such as neurotrophic tyrosine kinase receptor type 2 (NTRK2), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), mammalian target of rapamycin (mTOR), serine/threonine kinase 1 (Akt1), and mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1). Molecular docking results showed that NTRK2 (encoding TrkB) exhibited good binding affinity with salidroside, sinomenine, puerarin, quercetin, naringenin, and curcumin. Behavioral results showed that, compared with the sham group, MWT and TWL were significantly decreased in the model group ($P<0.01$). IF results showed that c-Fos and NK-1R expression in spinal cord tissue was significantly increased in the model group compared with the sham group ($P<0.01$), while these expression levels were significantly decreased in the high-dose Sargentodoxae Caulis group compared with the model group ($P<0.01$). WB and IF results showed that, compared with the sham group, the expression levels of BDNF, TrkB, p-TrkB, PLC γ , p-PLC γ , CaMK II α , p-CaMK II α , CREB, and p-CREB were significantly increased in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, these protein expression levels were significantly decreased in the high-dose Sargentodoxae Caulis group ($P<0.01$). **Conclusion:** Sargentodoxae Caulis alleviates NP by downregulating the BDNF/TrkB/CaMK II/CREB signaling pathway, thereby inhibiting neuronal excitability and central sensitization.

[Keywords] Sargentodoxae Caulis; neuropathic pain; neuronal excitability; central sensitization; brain-derived neurotrophic factor (BDNF)/tropomyosin receptor kinase B (TrkB)/calmodulin-dependent protein kinase II α (CaMK II α)/cAMP response element binding protein (CREB) signaling pathway

神经病理性疼痛(NP)是由躯体感觉神经系统损伤或疾病引起的疼痛,主要临床特征包括自发性痛、痛觉过敏及感觉异常等,常继发于带状疱疹、糖尿病、癌症及自身免疫力缺陷性等一系列疾病^[1]。流行病学研究表明 NP 在一般人群中的患病率达 7%~8%,占慢性疼痛患者的 20%~25%^[2]。目前常用的疼痛治疗药物,例如三环类抗抑郁药、加巴喷丁、普瑞巴林及 5-羟色胺-去甲肾上腺素再摄取抑制剂等,虽可暂时缓解疼痛,但药效常因耐药性、心理依赖及神经毒性等不良反应而受到严重限制^[3]。

“久痛入络”由清代医家叶天士提出,是中医学对慢性疼痛类疾病发病机制的理论概括,而通络止痛是该类疾病中医治疗的基本大法^[4]。中医学认为藤类药物多具有理气活血、通络散结的功效,正如《本草便读》所言:“凡藤蔓之属,皆可通经入络”。大血藤,又名红藤,性味苦平,主归肝、大肠经,是贵州特色苗医

药方“四大血”的组成药材之一,具有活血止痛、清热解毒的功效,常用于多种慢性疼痛的临床治疗^[5-6]。当前关于大血藤治疗 NP 的药效物质基础及相关机制尚不明确。本研究基于 NP 慢性压迫性损伤(CCI)模型,通过网络药理学、分子对接及实验验证探讨大血藤治疗 NP 的药效物质基础及相关分子机制。

1 材料

1.1 药物与试剂 大血藤颗粒剂由贵州中医药大学第一附属医院购买,批号 AB46B562。普瑞巴林(PGB)胶囊,规格:每粒 75 mg,批号 M57973,美国辉瑞公司生产。兔源抗体一抗脑源性神经营养因子(BDNF)、原肌球蛋白受体激酶 B(TrkB)、磷酸化 cAMP 反应元件结合蛋白(p-CREB)、CREB、鼠源抗体一抗磷酸甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为 28205-1-AP、13129-1-AP、28792-1-AP、12208-1-AP、60004-1-Ig);

兔源抗体一抗 p-TrkB、细胞原癌基因 fos(c-Fos)(北京博奥森生物技术有限公司,货号分别为 bsm-52213R、bs-23042R);兔源抗体一抗钙/钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II α (CaMK II α)、神经激肽 1 受体(NK-1R)[艾比玛特医药科技(上海)有限公司,货号分别为 T56778S、PA4268S];兔源抗体一抗 p-CaMK II α 、鼠源抗体一抗磷脂酶 C γ (PLC γ)(英国 Abcam 公司,货号分别为 Ab5683、Ab302940);兔源抗体一抗 p-PLC γ (英国 Affinity 公司,货号 AF3210);辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗小鼠二抗、HRP 标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司,货号分别为 BA1051、BA1054);Cy3 羊抗兔二抗免疫球蛋白 G(IgG)(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,货号 A10520)。

1.2 仪器 2390 型 Von Frey 电子测痛仪(美国 IITC-Life Science 公司);37570-001 型足底热辐射测痛仪(美国 Ugo Basile srl 公司);KQ3200D 型超声波提取仪(昆山市超声仪器有限公司);ACQUITY UPLC HSS T3 型反相色谱柱(美国 Waters Corporation 公司,2.1 mm \times 100 mm,1.8 μ m);Vanquish Flex UHPLC 型超高效液相色谱、Q Exactive 型四极杆轨道离子阱质谱、1410101 Multiskan FC 型酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);LF-600S 型电泳仪电源(北京龙方科技有限公司);DYCZ-24DN 型垂直电泳槽(北京六一仪器厂);L00686C eBlot™ L1 型快速湿转仪(金斯瑞生物科技股份有限公司);2018C132-11 型 pH 计(赛多利斯科学仪器北京有限公司);FA 型分析天平(常州市幸运电子设备有限公司);SH-523 型化学发光成像系统(杭州申花科技有限公司)。

1.3 动物 7 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠,体质量 180~200 g,购于北京斯贝福生物技术有限公司,实验动物合格证号 SCXK(京)2024-0001,动物质量合格证编号 No.110324251101248673。饲养于贵州中医药大学花溪校区动物研究所 SPF 级动物实验室,室温控制在(23 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度为 40%~60%,采用 12 h 明暗交替周期,普通饲料喂养,自由饮水,适应性喂养 3 d 后进行实验。

1.4 伦理 所有动物实验程序均经过贵州中医药大学实验动物伦理审查委员会审核(伦理批准号 20240924003)。

2 方法

2.1 大血藤成分分析

2.1.1 药液配置 取上述大血藤颗粒 1.0 g,置于

50 mL 离心管中,加入 80% 甲醇 40 mL,超声 30 min。取 1 mL 溶液,置于 1.5 mL 离心管中,于 4 $^{\circ}$ C、12 000 r \cdot min $^{-1}$ 离心 10 min(离心半径 8.5 cm)。取溶液 100 μ L,置于进样瓶中,待测。

2.1.2 色谱条件 采用 UHPLC 超高效液相色谱系统进行分离,色谱柱:ACQUITY UPLC HSS T3(1.8 μ m,2.1 mm \times 100 mm)流动相由 A 相(水+0.1% 甲酸)和 B 相(乙腈)组成,梯度洗脱:0~1 min,2%A;1~41 min,2%A \rightarrow 100%A;41~50 min,100%A;50.1~52 min,2%A;流速为 0.3 mL \cdot min $^{-1}$ 。色谱柱温度为 40 $^{\circ}$ C。进样量为 6.0 μ L。

2.1.3 质谱条件 采用配备热电喷雾离子源的四极杆轨道离子阱质谱仪进行质谱分析。正、负离子的离子源电压分别为 3.7、3.5 kV;毛细管加热温度为 320 $^{\circ}$ C;鞘气压力为 30 psi,辅助气压力为 10 psi;溶剂加热蒸发温度为 300 $^{\circ}$ C;鞘气和辅助气均为氮气;碰撞气为氮气,压力为 1.5 mTorr。采用 Full scan/dd-MS 2 模式采集数据,Full scan 参数:分辨率 70 000,自动增益控制目标 1×10^6 ,最大隔离时间 50 ms,质荷比扫描范围 100~1 500;dd-MS 2 参数:分辨率 17 500,自动增益控制目标 1×10^5 ,最大隔离时间 50 ms,质量分离窗口 2,碰撞能 10 V、30 V、60 V,强度限定 1×10^5 。

2.1.4 数据分析 采用 Progenesis QI 3.0 软件处理采集的质谱数据。搜索对照品数据库(TCM Pro 2.0)、天然产物数据库(<https://www.waters.com/>)、herb 本草组鉴数据库(<http://herb.ac.cn/>)和相关文献对化合物进行鉴定。通过对照品保留时间误差、母离子质量误差、二级碎片匹配、同位素分布、峰强度等对鉴定结果进行多维综合判断分析,得到最终结果。

2.2 网络药理学研究 将大血藤的鉴定成分通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP,<https://tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>)查找对应成分的 smile 号,并分别将其导入 SwissADME(<http://www.swissadme.ch/>)数据库,筛选出可能性大于 0 的成分靶点,去除重复项得到大血藤潜在作用靶点。以“Neuropathic pain”为关键词从 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)和在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM,<https://www.omim.org/>)中检索与 NP 相关的靶点。使用 Venny 2.1(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)在线工具绘制韦恩图,获得大血藤活性成分和 NP 的交集靶点,即为大血藤治疗 NP 的潜在作用靶点。将上述交集基因导入

STRING12.0数据库(<https://cn.string-db.org/>)进行蛋白-蛋白互作(PPI)分析,选择“MultipleProteins”进行分析,物种设置为“Homo sapiens”,置信水平 ≥ 0.400 ,隐藏自由节点,下载tsv数据文件,并将数据导入Cytoscape3.9.1进行进一步网络拓扑分析。使用CentiScape插件分析degree、betweenness、closeness 3个网络拓扑参数,选择参数全部大于平均值的靶点作为核心靶点,并对其进行可视化。选择参数全部大于平均值的靶点作为核心靶点,利用DAVID数据库(<https://davidbioinformatics.nih.gov>)对潜在靶点进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析,并利用微生信平台进行可视化分析。利用AutoDock 4.2.6基于人类蛋白质将大血藤化学成分与NP对应靶点进行分子对接。使用Vina和PyMOL工具可视化分子对接结果。

2.3 动物实验

2.3.1 模型制备及评估 根据之前的描述建立CCI模型^[7-8]。具体而言:腹腔注射戊巴比妥钠待对大鼠实施麻醉。深度麻醉后,备皮,左股骨中段后方切开皮肤,钝性分离肌肉,充分暴露并分离坐骨神经,采用4-0丝线对分离出来的坐骨神经主干作4道结扎,力度以左后肢肌肉短暂的颤动为宜,结扎间隔约1 mm。结扎完毕后逐层缝合肌肉及皮肤,消毒。对假手术组进行除结扎外的其余操作。造模后左下肢畸形并伴有疼痛阈值的显著下降作为造模成功的判定标准^[9]。

2.3.2 动物分组及给药 适应性喂养3 d后将48只SD大鼠随机分为6组,假手术组、CCI模型组、大血藤低剂量(大血藤-L)组、大血藤中剂量(大血藤-M)组、大血藤高剂量(大血藤-H)组、PGB组,每组各8只。根据2020年版《中华人民共和国药典》中大血藤用药剂量^[10],按照人和大鼠等效剂量折算后大血藤低、中、高剂量组给药量分别为1.35、2.7、5.4 g·kg⁻¹。参照文献^[11]PGB按照30 mg·kg⁻¹的剂量给大鼠灌胃。于CCI模型术后5 d开始连续灌胃给药14 d,日1次。末次给药后,麻醉处死所有大鼠,取L₄₋₆脊髓段并检测各项指标。

2.3.3 行为学检测 分别于造模前及造模后3、5 d,给药后3、7、11、14 d对各组大鼠进行疼痛行为学机械缩足反射阈值、热缩足反射阈值测试。

2.3.3.1 机械缩足反射阈值 参照文献^[7-8]的方法,使用Von Frey电子测痛仪进行机械缩足反射阈值(MWT)测定。每只大鼠左侧后足底中部区域测试5

次,间隔5 min。当大鼠出现阳性疼痛反应,例如足部抬起或舔舐时,记录数值并计算均值,即为MWT值。

2.3.3.2 热缩足反射阈值 采用足底热辐射测痛仪进行热缩足反射阈值(TWL)测定,测试前将大鼠置于透明有机玻璃箱中适应30 min,热辐射源对左侧后足底中部进行5次照射,每次照射间隔5 min^[7-8]。记录出现抬足或舔足现象时的热缩足潜伏期并计算平均值,即为TWL值。

2.3.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测BDNF/TrkB/CaMK II/CREB通路相关蛋白表达 在脊髓组织中加入放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液充分裂解,然后在4 °C下12 000 r·min⁻¹离心5 min(补充离心半径),收集上清液。将上清液稀释并变性后,取蛋白质样品40 μg后电泳至溴酚蓝到凝胶底部。电泳结束后,将蛋白质转移到聚偏二氟乙烯膜上。用含5%脱脂奶粉的TBST(封闭液)浸泡聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,室温摇床封闭2 h。磷酸化蛋白用1%的牛血清白蛋白封闭。用封闭液稀释相应一抗: GAPDH(1: 10 000),BDNF、p-CREB(1: 5 000), p-TrkB、p-PLCγ、PLCγ、p-CaMK II(1: 1 000),TrkB(1: 4 000),CaMK II(1: 3 000),CREB(1: 8 000)。使PVDF膜浸泡于一抗孵育液中,4 °C孵育过夜。用TBST稀释相应的HRP标记二抗(1: 10 000),使PVDF膜浸泡于二抗孵育液中,室温摇床孵育2 h。最后用IPP分析条带灰度值。

2.3.5 免疫荧光检测BDNF/TrkB/CaMK II/CREB通路相关蛋白表达 脊髓经脱水、透明、浸蜡后包埋,切成4 μm厚片,60 °C烤片3 h。切片脱蜡、热修复、封闭后,4 °C孵育p-CREB(1: 200),抗CaMK II α、p-TrkB、p-PLCγ、c-Fos、NK-1R(1: 100)等一抗过夜; Cy3二抗显色,DAPI复染核,抗淬灭封片。荧光显微镜下采集背角图像,使用IPP6.0软件对免疫荧光照片进行光密度分析,每张切片选取2张400倍照片分析各指标阳性表达。

2.4 统计学分析 采用SPSS 26.0软件进行统计分析,用单因素方差分析(One-way ANOVA)处理。方差齐时各组间比较采用最小显著性差异法(LSD)检验,方差不齐时组间比较采用塔姆黑尼检验。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示; $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大血藤成分分析 正、负离子模式下的质谱总离子流图(增强出版附加材料)。搜索对照品数据库(TCM Pro 2.0)、天然产物数据库、herb本草组鉴数据库和相关文献对化合物进行鉴定。从大血藤中共鉴定

出138个化学成分(部分见表1),主要包括黄酮类、异黄酮类、有机氧化合物、香豆素、酚类等多种化合物。

表1 大血藤活性成分鉴定

Table 1 Identification of active components of *Sargentodoxae Caulis*

No.	化合物	t_R /min	预测值 m/z	实测值 m/z	离子模式	分子式	误差值/ δ ppm
1	精氨酸	0.787 1	175.119 0	175.118 9	M+H	$C_6H_{14}N_4O_2$	-0.11
2	麦芽糖	0.822 7	381.079 4	381.079 1	M+K	$C_{12}H_{22}O_{11}$	-0.74
3	左旋肉碱	0.840 5	162.112 5	162.112 4	M+H	$C_7H_{15}NO_3$	-0.61
4	蔗糖	0.845 1	387.114 4	387.113 8	M+FA-H	$C_{12}H_{22}O_{11}$	-1.66
5	甘露三糖	0.858 3	487.165 7	487.165 8	M+H-H ₂ O	$C_{18}H_{32}O_{16}$	0.11
6	D-(-)-奎宁酸	0.894 7	193.070 7	193.070 8	M+H	$C_7H_{12}O_6$	0.71
7	纽甜	0.912 5	705.185 1	705.184 8	M+K	$C_{24}H_{42}O_{21}$	-0.29
8	水苏糖	1.238 6	711.220 1	711.219 8	M+FA-H	$C_{24}H_{42}O_{21}$	-0.46
9	烟酰胺	1.273 5	123.055 3	123.055 7	M+H	$C_6H_6N_2O$	3.18
10	尿苷	1.386 1	243.062 2	243.061 3	M-H	$C_9H_{12}N_2O_6$	-3.77

3.2 网络药理学研究 通过 Swiss Target Prediction 数据库预测得到大血藤的138种化学成分对应靶点813个。从 GeneCards、OMIM 数据库中共获取 NP 相关的靶点3257个。使用 Venny 2.1 在线工具获得大血藤治疗 NP 的潜在作用靶点409个。将大血藤作用于 NP 的409个潜在作用靶点输入 STRING 后将得到408个节点10127条边的 PPI 网络。根据 centiscape 的拓扑参数 degree: 429.245 1、betweenness: 0.001 2、closeness: 49.642 2, 共筛选出74个核心靶点,包括神经酪氨酸激酶受体2(NTRK2)、前列腺素过氧化物合酶2(PTGS2)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、蛋白激酶B1(Akt1)、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)等。GO 生物功能富集分析显示大血藤作用靶点主要涉及对异源性刺激的反应、基因表达的负调控、蛋白质磷酸化的正调控、RNA 聚合酶 II 转录正调控等585条生物过程(BP),细胞质的核周区域、细胞质、含蛋白质的复合物、细胞溶胶等87条细胞成分(CC),酶结合、同源蛋白质结合、蛋白酪氨酸激酶活性、泛素蛋白连接酶结合等169条分子功能(MF)。分别对前

10条进行可视化分析。KEGG 富集分析结果显示大血藤治疗 NP 的潜在靶点富集了165条通路,选取与疼痛密切相关的10条信号通路进行可视化,主要包括神经营养因子信号传导通路、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/Akt 信号通路、MAPK 信号通路、Ras 信号通路、钙信号通路等。见增强出版附加材料。

3.3 大血藤对 CCI 大鼠的 WMT、TWL 的影响 为评估大血藤对 CCI 大鼠的镇痛作用,于 CCI 术前,术后3、5 d 及药物干预第3、7、11、14 d 对各组大鼠进行 MWT 及 TWL 测定。术前与假手术组比较,模型组大鼠 MWT 及 TWL 值比较差异无统计学意义。术后第5天,与假手术组比较,模型组大鼠 MWT 及 TWL 值均显著降低($P<0.01$)。药物干预后7 d 开始,与模型组比较 PGB 组及大血藤低、中、高剂量组大鼠 MWT 显著升高($P<0.01$)。药物干预后11 d 开始,与模型组比较 PGB 组及大血藤中、高剂量组大鼠 TWL 显著升高($P<0.01$)。见表2、表3。说明大血藤能够显著改善 CCI 模型引发的机械痛觉过敏和热痛觉过敏,且尤以大血藤高剂量组镇痛效果最为明显。

表2 大血藤对 CCI 大鼠 MWT 的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of *Sargentodoxae Caulis* on MWT in CCI rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g\cdot kg^{-1}$	术前	术后3 d	术后5 d	给药3 d	给药7 d	给药11 d	给药14 d
假手术组		63.50±1.11	64.00±1.25	64.30±1.25	64.52±1.91	64.74±1.39	65.96±2.21	65.64±1.95
模型组		61.97±1.85	33.51±2.55 ²⁾	33.98±1.47 ²⁾	32.02±2.46 ²⁾	30.78±3.41 ²⁾	31.26±2.80 ²⁾	29.62±3.49 ²⁾
PGB 组	0.03	62.62±1.78	34.97±1.74 ²⁾	32.98±1.78 ²⁾	35.45±1.19 ^{2,4)}	39.18±1.26 ^{2,4)}	41.38±1.08 ^{2,4)}	44.03±1.19 ^{2,4)}
大血藤-L 组	1.35	62.33±0.59	33.79±4.89 ²⁾	34.03±2.37 ²⁾	33.60±0.96 ²⁾	36.63±1.39 ^{2,4)}	40.02±1.52 ^{2,4)}	40.57±1.77 ^{2,4)}
大血藤-M 组	2.7	62.18±1.64	35.07±3.93 ²⁾	33.47±1.81 ²⁾	33.59±0.70 ²⁾	38.44±1.11 ^{2,4)}	41.43±1.80 ^{2,4)}	41.95±1.01 ^{2,4)}
大血藤-H 组	5.4	61.94±1.81	34.62±2.73 ²⁾	32.38±1.54 ²⁾	35.63±1.59 ^{2,4)}	40.01±0.99 ^{2,4)}	43.04±0.97 ^{2,4)}	47.60±1.03 ^{2,4)}

注:与假手术组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表3-表6同)

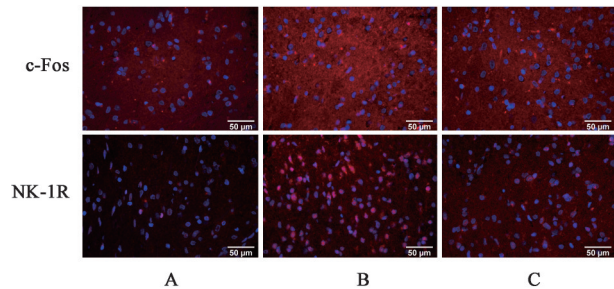
表3 大血藤对CCI大鼠TWL的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 Effect of Sargentodoxae Caulis on TWL of CCI rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	术前	术后3 d	术后5 d	给药3 d	给药7 d	给药11 d	给药14 d
假手术组		16.68±0.87	16.59±0.10	16.67±0.83	16.41±0.81	16.41±0.92	16.65±0.86	16.83±1.05
模型组		16.74±0.10	11.26±1.11 ²⁾	10.60±1.37 ²⁾	10.49±1.31 ²⁾	11.10±1.13 ²⁾	11.10±0.54 ²⁾	11.67±1.02 ²⁾
PGB组	0.03	16.73±2.26	10.43±1.01 ²⁾	9.63±1.44 ²⁾	10.80±0.85 ²⁾	11.74±0.68 ²⁾	12.44±0.81 ^{2,4)}	14.52±0.86 ^{2,4)}
大血藤-L组	1.35	17.10±0.54	11.04±0.96 ²⁾	10.64±0.74 ²⁾	11.13±1.03 ²⁾	11.67±0.69 ²⁾	11.62±1.34 ²⁾	12.32±1.31 ²⁾
大血藤-M组	2.7	16.96±1.32	10.84±0.34 ²⁾	10.72±0.38 ²⁾	11.73±0.91 ²⁾	12.10±0.75 ^{2,3)}	13.02±0.74 ^{2,4)}	13.69±0.66 ^{2,4)}
大血藤-H组	5.4	16.95±1.29	10.99±0.72 ²⁾	10.33±1.54 ²⁾	12.32±0.78 ^{2,4)}	12.43±1.11 ^{2,4)}	13.42±0.80 ^{2,4)}	14.21±1.00 ^{2,4)}

3.4 大血藤对CCI大鼠脊髓组织c-Fos及NK-1R表达的影响 研究表明c-Fos是神经元兴奋性的标志物;而NK-1R的转录和表达变化则参与了疼痛中枢敏化的发展与维持,是急性损害向慢性疼痛转变的神经生物学基础^[12-14]。本研究采用免疫荧光检测CCI术侧L₄₋₆脊髓组织中c-Fos及NK-1R表达。结果显示,与假手术组比较,模型组脊髓组织中c-Fos与NK-1R表达均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,大血藤-H组模型组中c-Fos与NK-1R表达显著降低($P<0.01$)。见图1、表4。以上结果一定程度上提示大血藤能够抑制脊髓神经元兴奋性及中枢敏化。

3.5 大血藤对CCI大鼠BDNF/TrkB/CaMK II/CREB通路相关蛋白表达影响 与假手术组比较,模型组大



注:A.假手术组;B.模型组;C.大血藤-H组(图2、图3同)

图1 大血藤对CCI大鼠脊髓c-Fos、NK-1R蛋白表达的影响(免疫荧光,×400)

Fig. 1 Effect of Sargentodoxae Caulis on c-Fos, NK-1R protein expression in spinal cord of CCI rats (IF, ×400)

表5 大血藤对CCI大鼠脊髓BDNF/TrkB/CaMK II/CREB通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Sargentodoxae Caulis on expression of proteins related to BDNF/TrkB/CaMK II/CREB pathway in CCI rat spinal cord ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	BDNF/GAPDH	p-TrkB/GAPDH	p-PLCγ/GAPDH	p-CaMKIIα/GAPDH	p-CREB/GAPDH
假手术组		0.314±0.045	0.072±0.009	0.098±0.019	0.231±0.007	0.195±0.011
模型组		0.661±0.048 ²⁾	0.315±0.028 ²⁾	0.459±0.019 ²⁾	0.596±0.029 ²⁾	0.658±0.007 ²⁾
大血藤-H组	5.4	0.504±0.024 ⁴⁾	0.181±0.017 ⁴⁾	0.284±0.007 ⁴⁾	0.406±0.016 ⁴⁾	0.399±0.021 ⁴⁾

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TrkB/GAPDH	PLCγ/GAPDH	CaMKIIα/GAPDH	CREB/GAPDH
假手术组		0.403±0.034	0.297±0.026	0.420±0.030	0.421±0.056
模型组		0.691±0.043 ²⁾	0.569±0.030 ²⁾	0.702±0.024 ²⁾	0.792±0.045 ²⁾
大血藤-H组	5.4	0.503±0.032 ⁴⁾	0.399±0.009 ⁴⁾	0.542±0.008 ⁴⁾	0.586±0.038 ⁴⁾

表4 大血藤对CCI大鼠脊髓c-Fos、NK-1R蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Sargentodoxae Caulis on c-Fos, NK-1R proteins expression in spinal cord of CCI rats ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	c-Fos	NK-1R
假手术组		0.001 1±0.000 1	0.001 8±0.000 4
模型组		0.002 6±0.000 2 ²⁾	0.011 5±0.000 7 ²⁾
大血藤-H组	5.4	0.001 6±0.000 1 ⁴⁾	0.005 6±0.001 1 ⁴⁾

鼠BDNF、p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB、TrkB、PLCγ、CaMK II α、CREB的蛋白表达水平显著增加($P<0.01$);大血藤干预14 d后,与模型组比较,大血藤高剂量组大鼠BDNF、p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB、TrkB、PLCγ、CaMK II α、CREB蛋白水平显著降低($P<0.01$)。见表5、图2。

3.6 大血藤对大鼠脊髓p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB表达的影响 免疫荧光结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB蛋白表达水平显著增加($P<0.01$);给药14 d后与模型组大鼠比较,大血藤高剂量p-TrkB、p-CaMK II α、p-PLCγ、p-CREB蛋白表达水平显著降低($P<0.01$)。见图3、表6。

3.7 分子对接 为验证大血藤活性成分与NTRK2间的直接作用,采用分子对接揭示活性成分与NTRK2间的作用强度,结果显示红景天苷、青藤碱、葛根素、槲皮素、柚皮素、姜黄素和NTRK2具有较好的结合力,结

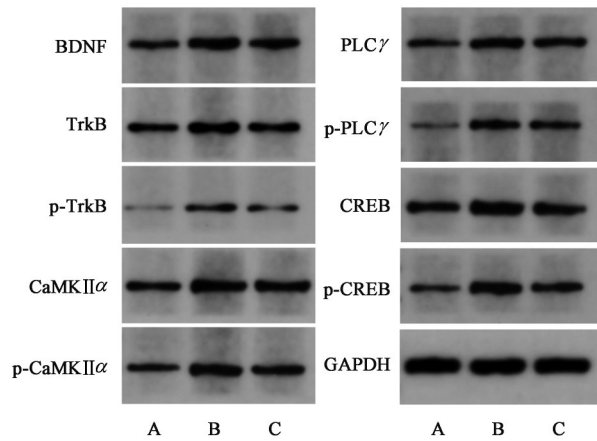


图2 CCI大鼠脊髓BDNF/TrkB/CaMK II/CREB通路相关蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of expression of proteins related to BDNF/TrkB/CaMK II/CREB pathway in CCI rat spinal cord

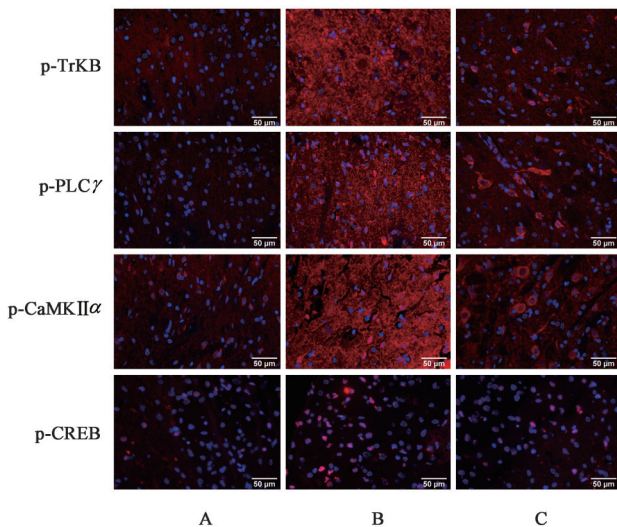


图3 大血藤对CCI大鼠脊髓p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB蛋白表达的影响(免疫荧光, ×400)

Fig. 3 Effect of Sargentodoxae Caulis on expression levels of p-TrkB, p-CaMKIIα, p-PLCγ, p-CREB proteins in spinal cord of CCI rats (IF, ×400)

合能均低于 $-6 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。见增强出版附加材料。

4 讨论

神经病理性疼痛由累及外周或中枢神经系统的多种病变及损伤引发,而中枢敏化被认为是疼痛产生并持续的关键机制^[15]。现阶段临床常用的NP一线药

物不仅镇痛作用效果有限,且常伴有较多不良反应。大血藤是贵州特色苗医药方“四大血”的组成药材之一,具有活血止痛、清热解毒的功效。大血藤主要含有苯乙醇类、酚类、苯甲酸类、苯丙素类、黄酮类、蒽醌类、萜类等活性成分,具有抗炎、镇痛、抗氧化、抗菌及抗肿瘤等多重药理活性^[16]。例如,俞云等^[17]发现大血藤抑制核转录因子- κB (NF- κB)/NOD样受体蛋白3(NLRP3)介导的炎症反应,显著改善胶原诱导型关节炎大鼠的关节肿胀及疼痛等相关症状。基于此可深入研究开发大血藤相关抗炎、镇痛作用。

为评估大血藤对CCI大鼠的镇痛效果,于CCI术前,术后3、5 d及药物干预第3、7、11、14天对各组大鼠进行MWT及TWL测定。结果表明大血藤能明显地改善NP大鼠的疼痛阈值,缓解痛觉过敏。为明确大血藤干预NP的药效物质基础,使用UHPLC-Q-Orbitrap HRMS技术对大血藤化学成分进行鉴定,共检测出138个成分,包括红景天苷、青藤碱、葛根素、槲皮素、柚皮素、姜黄素等多种化学成分。诸多研究表明以上大血藤所鉴定出的多种活性成分具有显著镇痛及抗炎作用,为大血藤在NP中的治疗提供了物质基础。例如, HU等^[18]发现红景天苷能够抑制CCI模型术侧脊髓组织硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)/NLRP3轴的激活及神经元的凋亡,发挥镇痛作用。在多种不同的NP动物模型中,葛根素通过抑制神经炎显著抑制了NP的发生与进展^[19-20]。槲皮素是大血藤中含有的黄酮类化合物其可以抑制中枢敏化,缓解紫杉醇诱导的神经病理性疼痛^[21-22]。柚皮素及其衍生物Y-X能够抑制胶质细胞激活及肽能神经元兴奋,从而缓解紫杉醇神经病理性疼痛^[23]。研究表明,姜黄素通过抗凋亡、抗炎和抗氧化作用缓解大鼠神经病理性疼痛^[24]。青藤碱通过抑制组胺、前列腺素 E_2 等内源性炎性介质、致痛介质达到镇痛、抗炎作用^[25]。以上结果提示,大血藤可能通过以上活性成分缓解CCI大鼠神经病理性疼痛。

为系统研究大血藤在CCI模型中的镇痛机制,本研究基于网络药理学筛选出了NTRK2(编码TrkB蛋白的基因)是干预NP的核心靶点之一。研

表6 大血藤对CCI大鼠脊髓p-TrkB、p-PLCγ、p-CaMK II α、p-CREB蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Sargentodoxae Caulis on expression of p-TrkB, p-PLCγ, p-CaMK II α, and p-CREB proteins in spinal cord of CCI rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	p-TrkB	p-PLCγ	p-CaMKIIα	p-CREB
假手术组		0.003 1±0.000 24	0.002 5±0.000 40	0.013 5±0.001 89	0.001 0±0.000 13
模型组		0.009 8±0.000 59 ²⁾	0.006 8±0.000 17 ²⁾	0.028 5±0.001 27 ²⁾	0.003 9±0.000 14 ²⁾
大血藤-H组	5.4	0.005 4±0.000 38 ⁴⁾	0.003 7±0.000 18 ⁴⁾	0.019 4±0.001 17 ⁴⁾	0.002 1±0.000 31 ⁴⁾

究证实BDNF/TrkB信号通路是NP中枢敏化的关键启动者^[26]。外周神经损伤后导致BDNF释放进入脊髓背角浅层,与突触后膜上TrkB受体结合,增加对疼痛的敏感性^[27-28]。BDNF与TrkB的结合促进其二聚化和自磷酸化^[29]。活化的TrkB随即招募并磷酸化PLC γ ,促使其转位至质膜,将磷脂酰肌醇4,5-二磷酸[PI(4,5)P₂]裂解成甘油二酯(DAG)和肌醇1,4,5-三磷酸(IP₃)^[30]。IP₃通过与IP₃受体(IP₃Rs)结合触发胞内Ca²⁺释放。胞内Ca²⁺浓度增加,进而激活钙调素,随后钙离子/钙调蛋白(Ca²⁺/CaM)与CaMK II的亚单位结合,触发CaMK II作用底物的磷酸化反应,同时促进其发生自身磷酸化^[31-32]。p-CaMK II α 促使CREB再磷酸化从而活化CREB。p-CREB与启动子结合,使c-Fos等表达增加,从而引发疼痛反应^[33]。CREB可调控多种疼痛相关基因c-Fos、细胞Jun蛋白(c-Jun)、NK-1R、环氧合酶-2(COX-2)等的转录,这些CREB介导的基因转录和表达变化参与了疼痛中枢敏化的发展维持,是急性损害向慢性疼痛转变的神经生物学基础^[13-14]。IF结果显示,模型组模型脊髓组织中c-Fos、NK-1R表达显著增加,大血藤高剂量干预显著降低脊髓组织中c-Fos、NK-1R的表达。Western blot及IF荧光结果显示,与假手术组比较,模型组脊髓组织中BDNF、TrkB、p-TrkB、PLC γ 、p-PLC γ 、CaMK II α 、p-CaMK II α 、CREB、p-CREB表达显著升高;与模型组比较,大血藤高剂量组脊髓组织中以上蛋白表达显著降低。以上结果提示大血藤可能通过调控NTRK2以抑制BDNF/TrkB/CaMK II /CREB信号通路进一步降低神经元兴奋性及中枢敏化达到缓解NP的作用。

综上所述,本研究表明大血藤能明显地改善NP大鼠的疼痛阈值。其药效物质基础可能为红景天苷、青藤碱、葛根素、槲皮素、柚皮素、姜黄素等相关化学成分。其机制可能是通过抑制BDNF/TrkB/CaMK II /CREB信号通路进而降低神经元兴奋性及中枢敏化达到缓解NP的效果。本研究存在一定的局限性,目前只针对BDNF/TrkB/CaMK II /CREB一条通路进行了验证,对于中药通过多途径多靶点的治疗方式的开发机制研究仍有不足,其次,未将分子对接预测的活性成分对NP的作用机制进行验证。因此大血藤的潜在作用机制仍需进一步挖掘与探索。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] CAO B, XU Q, SHI Y, et al. Pathology of pain and its

implications for therapeutic interventions[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 155.

[2] AMBE N F, BOBGA T P, TOUKAM TATSINKOU L L, et al. Ameliorative effects of probiotic *Limosilactobacillus fermentum* and *Enterococcus lactis* isolated from cameroonian traditionally processed milk and palm wine against chronic constriction injury induced neuropathic pain in mice[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 334: 118560.

[3] FINNERUP N B, KUNER R, JENSEN T S. Neuropathic pain: From mechanisms to treatment[J]. Physiol Rev, 2021, 101(1): 259-301.

[4] 赵禧, 施国善, 杨舒雯, 等. 基于“久痛入络”理论探讨神经病理性疼痛的中医诊疗思路[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(13): 197-202. ZHAO X, SHI G S, YANG S W, et al. Traditional Chinese medicine diagnosis and treatment of neuropathic pain from theory of chronic pain entering collaterals[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(13): 197-202.

[5] 李如, 姚澜, 胡玉馨, 等. 基于“络以通为用”理论探讨藤类药物在治疗类风湿关节炎中的运用[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(8): 128-131. LI R, YAO L, HU Y X, et al. Discussion on application of rattan drugs in treatment of rheumatoid arthritis based on theory of "unobstructed collateral being normal"[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2024, 42(8): 128-131.

[6] 李华, 黄淑凤, 邓翀, 等. 大血藤镇痛作用和抗炎作用研究[J]. 陕西中医, 2013, 34(10): 1427-1428. LI H, HUANG S F, DENG C, et al. Studies on the analgesic and anti-inflammatory effects of *Sargentodoxa cuneata*[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2013, 34(10): 1427-1428.

[7] CHEN P, HUANG N Y, PANG B, et al. Proteomic and metabolomic approaches elucidate the molecular mechanism of emodin against neuropathic pain through modulating the gamma-aminobutyric acid (GABA)-ergic pathway and PI3K/Akt/NF- κ B pathway[J]. Phytother Res, 2023, 37(5): 1883-1899.

[8] CHEN P, WANG C, GONG Q, et al. Alterations of endogenous pain-modulatory system of the cerebral cortex in the neuropathic pain[J]. iScience, 2023, 26(5): 106668.

[9] 韦宗波, 龙炳材, 王雄将, 等. 枢经推拿对神经病理性疼痛大鼠TLR8/ERK信号通路及LncRNA-GAS5的影响及作用机制研究[J]. 中国全科医学, 2023, 26(36): 4565-4574, 4580.

WEI Z B, LONG B C, WANG X J, et al. Effect and mechanism of pivot meridian massage on TLR8/ERK signaling pathway and Lnc RNA-GAS5 in rats with neuropathic pain[J]. Chin Gen Pract, 2023, 26(36): 4565-4574, 4580.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典·二部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume II [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.

[11] 吴丹, 张俊红, 付璐, 等. 基于广泛靶向代谢组学技术探究延胡索乙素对慢性疼痛大鼠脊髓代谢谱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(23): 187-194.

WU D, ZHANG J H, FU L, et al. Exploring effect of levo-

- tetrahydropalmatine on spinal metabolic profiles of rats with chronic pain based on widely-targeted metabolomics[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(23): 187-194.
- [12] 侯理伟. 温肾健脾方干预脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠脑-肠 CREB/BDNF/TrkB 信号通路的机制研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2018. HOU L L. Mechanistic study of warming-kidney and invigorating-spleen formula on the CREB/BDNF/TrkB brain-gut signaling pathway in rats with diarrhea-predominant IBS-D of spleen-kidney yang deficiency pattern [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2018.
- [13] CROWN E D, YE Z, JOHNSON K M, et al. Increases in the activated forms of ERK 1/2, p38 MAPK, and CREB are correlated with the expression of at-level mechanical allodynia following spinal cord injury[J]. *Exp Neurol*, 2006, 199(2): 397-407.
- [14] LARSSON M, BROMAN J. Pathway-specific bidirectional regulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II at spinal nociceptive synapses after acute noxious stimulation[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(16): 4198-4205.
- [15] YEKKIRALA A S, ROBERSON D P, BEAN B P, et al. Breaking barriers to novel analgesic drug development[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(8): 545-564.
- [16] 尹子瞳, 徐浩南, 杨陇珠, 等. 大血藤化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *陕西中医药大学学报*, 2025, 48(3): 148-155. YIN Z T, XU H N, YANG L Z, et al. Progress on chemical constituents, pharmacological activities and clinical applications of *Sargentodoxa cuneata* [J]. *J Shaanxi Univ Chin Med*, 2025, 48(3): 148-155.
- [17] 俞云, 于辉, 冯旌, 等. 基于 NF-κB/NLRP3 信号轴探讨大血藤对 CIA 大鼠的治疗作用及机制[J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37(3): 396-399. YU Y, YU H, FENG J, et al. Research on the therapeutic mechanism of sargentgloryvine stem on CIA rats based on NF-κB/NLRP3 pathway[J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2021, 37(3): 396-399.
- [18] HU T, SUN Q, GOU Y, et al. Salidroside alleviates chronic constriction injury-induced neuropathic pain and inhibits of TXNIP/NLRP3 pathway[J]. *Neurochem Res*, 2022, 47(2): 493-502.
- [19] XIE H, CHEN Y, DU K, et al. Puerarin alleviates vincristine-induced neuropathic pain and neuroinflammation via inhibition of nuclear factor-κB and activation of the TGF-β/Smad pathway in rats[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89(Pt B): 107060.
- [20] XIE H T, XIA Z Y, PAN X, et al. Puerarin ameliorates allodynia and hyperalgesia in rats with peripheral nerve injury[J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(7): 1263-1268.
- [21] CARRILLO-MARTINEZ E J, FLORES-HERNÁNDEZ F Y, SALAZAR-MONTES A M, et al. Quercetin, a flavonoid with great pharmacological capacity[J]. *Molecules*, 2024, 29(5): 1000.
- [22] 金婷, 李沛奕, 聂慧敏, 等. 槲皮素缓解紫杉醇诱发外周神经病变小鼠模型的疼痛效应及其机制研究[J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(9): 1105-1113. JING T, LI P Y, NEI H M, et al. Therapeutic effects and mechanisms of quercetin on pain responses in a mouse model of paclitaxel-induced peripheral neuropathy[J]. *Acta Lab Anim Sin*, 2024, 32(9): 1105-1113.
- [23] 陈晴歌. 柚皮素衍生物在紫杉醇诱导的神经病理性疼痛中的作用及机制研究[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2022. CHEN Q G. Effects and underlying mechanisms of naringenin derivatives on the paclitaxel-induced neuropathic pain [D]. Wuhu: Wannan Medical College, 2022.
- [24] 于广东, 唐月月, 李向南. 姜黄素缓解神经性疼痛的药效学及其作用机制探索[J]. *世界中医药*, 2025, 20(11): 1843-1854. . YU G D, TANG Y Y, LI X N. Pharmacodynamics and mechanism of curcumin in relieving neuropathic pain[J]. *World Chin Med*, 2025, 20(11): 1843-1854. .
- [25] 李鑫, 魏艳霞, 谢志沂, 等. 青藤碱抗炎镇痛药效作用及其机制研究[J]. *中药材*, 2017, 40(10): 2445-2448. LI X, WEI Y X, XIE Z X, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of sinomenine: Pharmacodynamic investigation and mechanistic insights[J]. *J Chin Med Mater*, 2017, 40(10): 2445-2448.
- [26] 金博文, 李东娜, 庄朋伟, 等. 丘脑源性神经生长因子-酪氨酸激酶受体 B 信号介导脑缺血诱发的痛觉过敏[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(21): 2663-2669. JIN B W, LI D N, ZHUANG P W, et al. The thalamic BDNF-TrkB signaling pathway mediates cerebral ischemia-induced hyperalgesia[J]. *J Pract Med*, 2022, 38(21): 2663-2669.
- [27] 蒋庆, 衣增玮, 刘茂桐, 等. 神经病理性疼痛病人疼痛灾难化研究进展[J]. *中国疼痛医学杂志*, 2025, 31(5): 366-370. JIANG Q, YI Z W, LIU M T, et al. Progress on pain catastrophizing in patients with neuropathic pain[J]. *Chin J Pain Med*, 2025, 31(5): 366-370.
- [28] SMITH P A. BDNF: No gain without pain?[J]. *Neuroscience*, 2014, 283: 107-123.
- [29] CHANDÍA-CRISTIA, STUARDO N, TREJOS C, et al. C-Abl tyrosine kinase is required for BDNF-induced dendritic branching and growth[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 1944.
- [30] HU H J, GEREAU R W T. ERK integrates PKA and PKC signaling in superficial dorsal horn neurons. II. Modulation of neuronal excitability[J]. *J Neurophysiol*, 2003, 90(3): 1680-1688.
- [31] CHEN Y S, LU M J, HUANG H S, et al. Mechanosensitive transient receptor potential vanilloid type 1 channels contribute to vascular remodeling of rat fistula veins[J]. *J Vasc Surg*, 2010, 52(5): 1310-1320.
- [32] PRICE T J, JESKE N A, FLORES C M, et al. Pharmacological interactions between calcium/calmodulin-dependent kinase II alpha and TRPV1 receptors in rat trigeminal sensory neurons[J]. *Neurosci Lett*, 2005, 389(2): 94-98.
- [33] WANG D, NODA Y, ZHOU Y, et al. Effects of sodium houttuynifonate on phosphorylation of CaMK II, CREB and ERK 1/2 and expression of c-Fos in macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(8): 1083-1088.

[责任编辑 孙丛丛]