

# 补阳还五汤吸收入脑及入血成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析

沈晓, 郑华珠, 孟英姣, 闫向丽, 王圣鑫, 余爱明, 王利胜\*  
(广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 对大鼠灌胃补阳还五汤提取物后的吸收入脑及入血成分进行分析, 为该复方的临床应用提供参考。方法: 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 对正常大鼠脑组织、血浆和脑缺血再灌注大鼠脑组织、血浆进行分析, 色谱条件为流动相甲醇-0.1% 甲酸水溶液梯度洗脱, 流速  $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 进样量  $3 \mu\text{L}$ ; 质谱条件为电喷雾离子源, 正、负离子模式扫描, 扫描范围  $m/z$   $50 \sim 1\ 000$ 。根据保留时间、精确相对分子质量、一级和二级质谱数据等鉴定补阳还五汤中的原型成分。结果: 补阳还五汤提取物给药后, 发现 5 个化合物能透过血脑屏障进入正常脑组织, 鉴定为毛蕊异黄酮苷、芍药内酯苷、芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"- $O$ -乙酰基、红花黄色素 C 和黄芪甲苷; 2 个化合物能透过血脑屏障进入造模脑组织, 鉴定为毛蕊异黄酮苷和芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"- $O$ -乙酰基; 7 个化合物进入正常血浆中, 经鉴定为毛蕊异黄酮苷、芍药内酯苷、羟基红花黄色素 A 等; 3 个化合物进入造模血浆中, 鉴定为毛蕊异黄酮-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"- $O$ -乙酰基, 6"- $O$ -乙酰基-(6 $\alpha$ R, 11 $\alpha$ R)-9, 10-二甲氧基紫檀烷-3- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷和芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"- $O$ -乙酰基。结论: 补阳还五汤在正常与脑缺血损伤大鼠中的药效物质基础不尽相同, 可为该复方的作用机制研究奠定基础。

**[关键词]** 补阳还五汤; 毛蕊异黄酮苷; 芍药内酯苷; 脑匀浆; 芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"- $O$ -乙酰基; 血浆; 原型成分

**[中图分类号]** R22; R945; R28; O657. 6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)02-0008-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182309

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180911.1316.036.html>

**[网络出版时间]** 2018-9-12 16:22

## UPLC-Q-TOF-MS/MS Analysis of Brain and Blood Absorption Components of Buyang Huanwu Tang After Intragastric Administration

SHEN Xiao, ZHENG Hua-zhu, MENG Ying-jiao, YAN Xiang-li, WANG Sheng-xin,  
YU Ai-ming, WANG Li-sheng\*

(School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze and identify the brain and blood absorption components of rats after intragastric administration of Buyang Huanwu Tang (BYHWT). **Method:** The brain tissue, plasma of normal rats and the cerebral ischemia-reperfusion rats were analyzed by UPLC-Q-TOF-MS/MS. The prototype components in BYHWT were identified according to retention time, accurate relative molecular weight, primary and secondary mass spectrometry data. **Result:** After the administration of BYHWT, five compounds were found to enter the normal brain tissue through the blood-brain barrier and identified as calycosin-7-glucoside, albiflorin, formononetin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucoside-6"- $O$ -acetyl, safflower yellow A and astragaloside A; two compounds penetrated the blood-brain barrier and entered modeling brain tissue, and they were identified as calycosin-7-glucoside and formononetin-7- $O$ - $\beta$ -D-glucoside-6"- $O$ -acetyl; seven compounds entered normal plasma and were identified as calycosin-7-glucoside, albiflorin, hydroxysafflor yellow A, et al; three compounds entered model plasma and

**[收稿日期]** 20180225(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81573872);广东省省级科技计划项目(2017KZDXM018)

**[第一作者]** 沈晓, 硕士, 从事药物制剂新剂型与新技术研究, E-mail: 2277327378@qq.com

**[通信作者]** \*王利胜, 教授, 博士, 从事药物新剂型与新技术研究, Tel: 020-39358043, E-mail: wlis68@126.com

identified as calycosin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside-6''-*O*-acetyl, 6''-*O*-acetyl- (6 $\alpha$ R, 11 $\alpha$ R) -9, 10-dimethoxypterocarpan-3-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside and formononetin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside-6''-*O*-acetyl. **Conclusion:** BYHWT has different pharmacological material basis in normal and cerebral ischemia-reperfusion rats.

[ **Key words** ] Buyang Huanwu Tang; calycosin-7-glucoside; albiflorin; cerebral homogenate; formononetin-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside-6''-*O*-acetyl; plasma; prototype components

补阳还五汤是清代名医王清任创立的益气活血名方,对中风后遗症的疗效显著。临床资料表明<sup>[1-4]</sup>,补阳还五汤能够降低脑梗死患者的神经功能缺损积分和中医证候积分,提高日常生活能力指数评分。近年来,研究者不仅对补阳还五汤中的化学成分进行了鉴定,还开展了对其药物代谢动力学的研究,并通过动物实验对该复方治疗缺血性脑中风的药理作用机制进行了深入的探索,但尚未见关于补阳还五汤入脑、入血成分的报道<sup>[5-8]</sup>。

本课题组前期研究发现补阳还五汤可减少脑缺血再灌注大鼠的脑梗死体积及脑组织含水量,提高低灌注期间的脑血流量,具有一定的抗脑缺血再灌注作用,研究该复方入脑、入血成分可更好地阐明其治疗中风的药效物质基础及作用机制<sup>[9]</sup>。本实验拟分析并鉴定灌胃补阳还五汤提取物后吸收进入大鼠脑组织及血液中的化学成分,为阐明该复方治疗中风的药效物质基础提供实验依据。

## 1 材料

LC-30AD 型超高效液相仪, AUW120D 型 1/10 万电子分析天平和 ELB200 型电子天平(日本岛津公司); Triple TOF™ 5600 型质谱仪(美国 AB Sciex 公司), TGL-16A 型医用离心机(湖南平凡科技有限公司)。黄芪(批号 60401), 红花(批号 160401), 川芎(批号 141101), 赤芍(批号 160401), 当归(批号 160501), 地龙(批号 160401), 桃仁(批号 151001) 均购自广州至信中药饮片有限公司, 经广州中医药大学张丹雁教授鉴定, 均符合 2015 年版《中国药典》(一部)的相关要求; 毛蕊异黄酮苷、芍药内酯苷对照品(成都普菲德生物技术有限公司, 批号分别为 130226, 17022404, 纯度均  $\geq 98\%$ ), 水为超纯水, 甲酸、甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

雄性 SPF 级 SD 大鼠, 体质量 230 ~ 250 g, 许可证号 SCXK(粤)2015-0020, 由广州中医药大学实验动物中心提供。本实验动物经广州中医药大学动物伦理委员会批准, 批准号 B2015-051-03。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱和质谱条件** Kinetex C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1 mm  $\times$  50 mm, 2.6  $\mu$ m), 柱温 35  $^{\circ}$ C, 流动相

甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B) 梯度洗脱(0 ~ 5 min, 10% ~ 40% A; 5 ~ 10 min, 40% ~ 60% A; 10 ~ 15 min, 60% ~ 10% A; 15 ~ 16 min, 10% A), 流速 0.3 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 进样量 3  $\mu$ L。质谱条件为电喷雾离子源(ESI), 正、负离子模式扫描, 扫描范围设定  $m/z$  50 ~ 1 000, 雾化器压力和辅助气压力均设置为 379.2 kPa, 气帘气压力 241.3 kPa, 离子源温度设定 500  $^{\circ}$ C, 喷雾电压 4.5 kV。

**2.2 补阳还五汤的制备** 按照补阳还五汤处方要求(黄芪 60 g, 当归尾 9 g, 赤芍 9 g, 桃仁 9 g, 川芎 6 g, 红花 9 g, 地龙 9 g, 共 111 g) 称取处方量药材, 浸泡 30 min, 分别加 8, 6 倍量水回流提取 2 次, 每次 1 h, 滤过, 合并 2 次滤液并减压浓缩至 75 mL, 加入无水乙醇至含乙醇体积分数 85%, 置冰箱中 -4  $^{\circ}$ C 静置 24 h, 抽滤, 滤液减压回收乙醇至无醇味, 加水定容于 50 mL 量瓶中, 得生药质量浓度为 2.22 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的补阳还五汤。

**2.3 脑组织样品的处理** 用 10% 水合氯醛 (0.003 mL  $\cdot$  g<sup>-1</sup>) 麻醉大鼠后断头, 迅速开颅取出脑组织并精密称定质量, 加入 3 倍量生理盐水, 在冰浴中采用玻璃匀浆器制备成脑组织匀浆。取脑组织匀浆 200  $\mu$ L, 加入甲醇 800  $\mu$ L, 涡旋振荡 3 min, 以 8 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液 600  $\mu$ L 氮气吹干, 加甲醇 200  $\mu$ L 使溶解, 旋涡振荡 3 min, 于 13 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液进样测定。

**2.4 血浆样品的处理** 用 10% 水合氯醛 (0.003 mL  $\cdot$  g<sup>-1</sup>) 麻醉大鼠后腹主动脉取血, 将血浆样品置于肝素化的离心管中, 于 4 000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取血浆 200  $\mu$ L, 按 2.3 项下自“加入甲醇 800  $\mu$ L”开始操作, 取上清液进样测定。

**2.5 大脑中动脉阻塞(MCAO)大鼠模型的制备** 取 SD 大鼠, 实验前禁食不禁水 24 h。采用改良线栓法制备 MCAO 大鼠模型。大鼠用 10% 水合氯醛麻醉后在颈正中偏右侧做切口, 细线结扎右侧颈总动脉和颈外动脉, 止血夹夹住颈内动脉远心端, 并在近心端挂以细线, 于颈总动脉分叉部下方剪一小口, 将栓线插入颈内动脉后将细线扎紧, 打开止血夹, 将栓线向上轻轻推送至遇到轻微阻力为止, 此时, 栓线

插入的深度距离颈总动脉分叉部应约 18 mm。术后缝合伤口,缺血 2 h 后回抽线栓 10 mm 并将其剪断,放回笼内休息,进行再灌注 22 h。采用 Longa 5 级制评分。评分标准为①无神经缺损体征(0 分);②不能充分屈曲对侧前爪(1 分);③向麻痹侧转(2 分);④向麻痹侧倾倒(3 分);⑤不能自发行走,丧失意识(4 分)。评分为 2~3 分的大鼠将用于补阳还五汤的药动学研究。

**2.6 动物分组与给药** SD 大鼠 16 只,适应性饲养 1 周后于手术前随机分为 4 组,即正常大鼠给药后 2 h,正常大鼠给药后 4 h,脑缺血再灌注大鼠给药后

2 h,脑缺血再灌注大鼠给药后 4 h,各组均按生药量  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  给药,实验前 12 h 禁食不禁水。分别于给药后 2,4 h 按 2.3 和 2.4 项下方法操作。

**2.7 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析**

**2.7.1 脑组织**<sup>[10-17]</sup> 采用 2.1 项下条件对正常脑匀浆和造模脑匀浆进行分析,结果发现正常组脑匀浆中相对于造模组脑匀浆中,多了 3 个化合物,说明脑缺血再灌注可影响补阳还五汤吸收入脑,其中正常组脑组织中具体成分见表 1,二级质谱图见图 1;造模组脑组织中具体成分见表 2,二级质谱图见图 2。

表 1 补阳还五汤在正常大鼠脑组织中化学成分的上层液-气相色谱-质谱联用(UPLC-Q-TOF-MS/MS)鉴定

Table 1 Identification of chemical constituents of Buyang Huanwu Tang (BYHWT) in brain tissue of normal rats by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	分子式	$t_R/\text{min}$	分子离子峰 $m/z$	误差 /ppm	二级碎片离子 $m/z$	鉴定
1	$\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$	10.605	473.144 5 $[\text{M} + \text{H}]^+$	0.5	153.066 1 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_2\text{O} - \text{glc} - \text{C}_2\text{O}_2 - \text{CH}_3\text{OH} - \text{CO}]$ , 237.074 0 $[\text{M} + \text{H} - \text{C}_2\text{H}_2\text{O} - \text{glc} - \text{CH}_3\text{OH}]$	芒柄花素-7- $\beta$ -D-葡萄糖苷-6"-O-乙酰基
2	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$	3.702	503.151 8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$	-1.2	219.063 5 $[\text{M} + \text{Na} - \text{C}_6\text{H}_4\text{O}_5 - \text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]$ , 341.095 5 $[\text{M} + \text{Na} - \text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5]$ , 381.113 1 $[\text{M} + \text{Na} - \text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2]$	芍药内酯苷
3	$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$	9.229	469.109 8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$	-2.0	149.023 3 [发生 Retro-Diels-Alder (RAD) 裂解]	毛蕊异黄酮苷
4	$\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$	0.544	637.150 3 $[\text{M} + \text{Na}]^+$	-3.9	-	红花黄色素 C
5	$\text{C}_{41}\text{H}_{68}\text{O}_{14}$	12.757	807.443 2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$	-2.4	-	黄芪甲苷

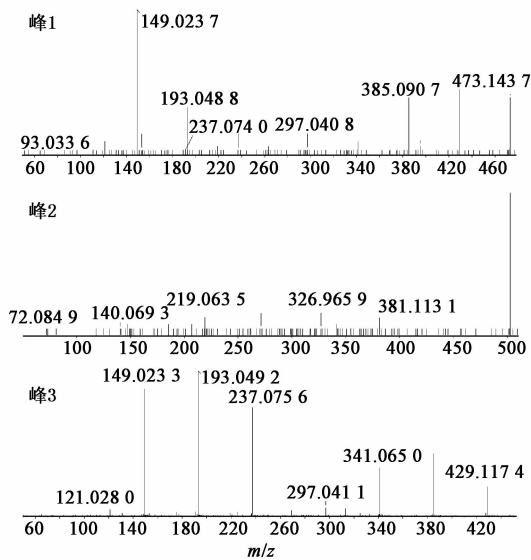


图 1 正常大鼠脑组织中补阳还五汤化学成分的二级质谱  
Fig.1 Secondary mass spectra of chemical constituents of BYHWT in brain tissue of normal rats

**2.7.2 血浆**<sup>[10-17]</sup> 采用 2.1 项下条件对正常血浆

和造模组血浆进行分析,结果发现正常组血浆中相对于造模组血浆,多了 4 个化合物,说明脑缺血再灌注可影响补阳还五汤吸收入血,其中正常组血浆的成分分析见表 3,二级质谱图见图 3;造模组血浆的成分成分见表 4,二级质谱图见图 4。

**3 讨论**

线栓法是制备脑缺血再灌注模型常用的方法,但由于栓线需在颈外动脉进线,操作难度较大,且血流再灌注时由颈总动脉直接进行灌注,造成损伤大、动物死亡率高,因此采用改良线栓法,通过颈总动脉进线,降低操作难度,并通过 Willis 环实现较缓的再灌注,模型成功率较高<sup>[18-20]</sup>。研究发现补阳还五汤的有效部位生物碱、多糖、苷及苷元均能减少脑梗死体积,改善脑缺血后神经行为症状,且生物碱及苷类抗脑缺血作用较强,提示苷类与生物碱可能是补阳还五汤发挥抗缺血再灌注损伤的药效部位<sup>[21-23]</sup>。由于水提醇沉法可降低制剂的服用量及增加制剂的稳定性和澄明度,并且还可有效保留生物碱盐类、

表 2 补阳还五汤在脑缺血大鼠脑组织中化学成分的上 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

Table 2 Identification of chemical constituents of BYHWT in brain tissue of cerebral ischemia rats by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	分子式	$t_R$ /min	分子离子峰 $m/z$	误差 /ppm	二级碎片离子 $m/z$	鉴定
1	$C_{24}H_{24}O_{10}$	10.604	495.125 0 [M + Na] <sup>+</sup>	-3.1	80.947 7, 223.067 6, 493.507 1	芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -乙酰基
2	$C_{22}H_{22}O_{10}$	9.229	447.128 0 [M + H] <sup>+</sup>	-1.4	269.047 9, 149.023 5 (发生 RAD 裂解)	毛蕊异黄酮苷

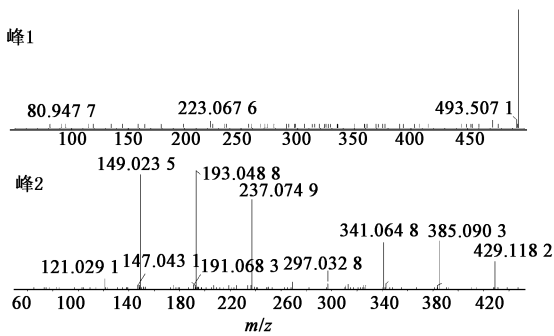


图 2 脑缺血大鼠脑组织中补阳还五汤化学成分的二级质谱

Fig. 2 Secondary mass spectra of chemical constituents of BYHWT in brain tissue of cerebral ischemia rats

苷类等有效成分,故本文采用水提醇沉法制备补阳还五汤。比较脑缺血大鼠与正常大鼠脑匀浆及血浆中补阳还五汤的原型成分后发现,脑缺血大鼠脑匀浆及血浆中的原型成分均比正常大鼠少,说明大鼠脑缺血再灌注可能破坏了血脑屏障或影响了机体代谢功能,从而影响了补阳还五汤在脑缺血大鼠体内的分布与代谢。

通过本实验结果可知,毛蕊异黄酮苷,芍药内酯苷,芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -乙酰基,6''- $O$ -乙酰基-(6 $\alpha$ R, 11 $\alpha$ R)-9, 10-二甲氧基紫檀烷-3- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷,芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -丙二

表 3 补阳还五汤在正常大鼠血浆中化学成分的上 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

Table 3 Identification of chemical constituents of BYHWT in plasma of normal rats by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	分子式	$t_R$ /min	分子离子峰 $m/z$	误差 /ppm	二级碎片离子 $m/z$	鉴定
1	$C_{27}H_{32}O_{16}$	12.259	613.174 0 [M + H] <sup>+</sup>	-3.7	-	羟基红花黄色素 A
2	$C_{23}H_{28}O_{11}$	3.652	503.150 5 [M + Na] <sup>+</sup>	-3.6	147.063 9, 185.038 8, 219.062 4, 277.096 6, 307.064 6, 381.123 1	芍药内酯苷
3	$C_{22}H_{22}O_{10}$	9.202	447.127 9 [M + H] <sup>+</sup>	-1.6	269.042 4 [M + H - glc - CH <sub>3</sub> ], 149.023 1 [发生 RAD 裂解], 193.048 9, 237.075 1	毛蕊异黄酮苷
4	$C_{25}H_{24}O_{12}$	11.857	471.129 0 [M-HCOO] <sup>+</sup>	0.9	-	芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -丙二酰基
5	$C_{24}H_{24}O_{10}$	10.570	495.125 8 [M + Na] <sup>+</sup>	-1.4	223.072 2, 371.792 8, 395.229 6, 449.224 1, 495.324 6	芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -乙酰基
6	$C_{25}H_{28}O_{11}$	10.428	527.151 9 [M + Na] <sup>+</sup>	-0.9	82.944 1, 249.164 9, 353.187 1, 445.215 0, 509.240 2	6''- $O$ -乙酰基-(6 $\alpha$ R, 11 $\alpha$ R)-9, 10-二甲氧基紫檀烷-3- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷
7	$C_{12}H_{14}O_2$	15.310	191.106 5 [M + H] <sup>+</sup>	-0.6	-	藁本内酯

酰基,羟基红花黄色素 A 及藁本内酯均能进入血浆,与文献 [8] 报道的基本一致。即补阳还五汤口服给药后,黄芪皂苷 I, 黄芪皂苷 II, 黄芪甲苷, 藁本内酯, 芒柄花素, 芒柄花苷, 毛蕊异黄酮, 川芎嗪, 毛蕊异黄酮葡萄糖苷和芍药苷均能以原型形式被检测到。但样本量较小、研究环境的差异等均可能导致检测结果具有一定的差异性。苷类成分由苷元与

糖基连接而成,苷元与糖基结合后,水溶性增加,相应地脂溶性下降,因此生物膜透过性较差,血脑屏障透过能力也较差,使得苷类成分在体内的吸收较差,大多数苷类成分无法在脑中检测到。本研究结果显示,芒柄花素-7- $O$ - $\beta$ -D-葡萄糖苷-6''- $O$ -乙酰基、芍药内酯苷和毛蕊异黄酮苷均能在脑中检测到,而脑缺血大鼠脑匀浆中药物原型成分较正常大鼠脑匀浆的

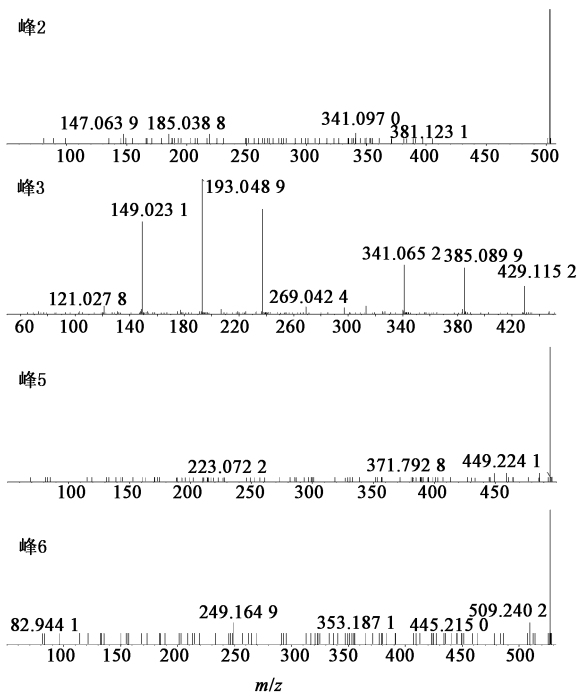


图 3 正常大鼠血浆中补阳还五汤化学成分的二级质谱  
Fig. 3 Secondary mass spectra of chemical constituents of BYHWT in plasma of normal rats

表 4 补阳还五汤在脑缺血大鼠血浆中化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定

Table 4 Identification of chemical constituents of BYHWT in plasma of cerebral ischemia rats by UPLC-Q-TOF-MS/MS

峰号	分子式	$t_R$ /min	分子离子峰 $m/z$	误差 /ppm	二级碎片离子 $m/z$	鉴定
1	$C_{24}H_{24}O_{11}$	9.930	443.133 0 [M - HCOO] <sup>+</sup>	-1.0	239.069 0 [M - HCOO - C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O - glc], 207.064 0, 193.048 8, 149.023 4, 121.028 9, 355.084 6	毛蕊异黄酮-7-O-β-D-葡萄糖苷-6"-O-乙酰基
2	$C_{25}H_{28}O_{11}$	10.283	527.152 3 [M + Na] <sup>+</sup>	-0.1	135.010 6, 249.166 2, 365.110 7, 481.234 7	6"-O-乙酰基-(6αR, 11αR)-9, 10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷
3	$C_{24}H_{24}O_{10}$	10.561	495.125 4 [M + Na] <sup>+</sup>	-1.5	80.949 2, 223.072 7, 493.536 1	芒柄花素-7-O-β-D-葡萄糖苷-6"-O-乙酰基

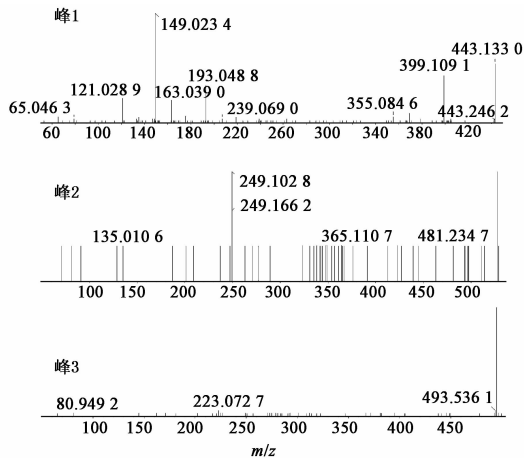


图 4 补阳还五汤在脑缺血大鼠血浆中化学成分的二级质谱  
Fig. 4 Secondary mass spectra of chemical constituents of BYHWT in plasma of cerebral ischemia rats

少,可能与脑缺血再灌注后血脑屏障完整性和通透性受损有关,当然也不排除存在药物在机体病理情况下体内过程发生改变的情况。其中就芍药内酯苷而言,目前并无确切的研究发现其能通过血脑屏障进而在脑中进行分布,已有研究发现芍药内酯苷与芍药苷属于同分异构体,在一定条件下可相互转化,且芍药苷已被报道通过被动扩散及细胞旁路转运的方式通过血脑屏障,而川芎挥发油能促进其血脑屏障透过性<sup>[24-25]</sup>。综上所述,芍药内酯苷在脑中被检测到存在 2 种可能性,①芍药内酯苷可以原型药物透过血脑屏障,但其作为苷类成分透过量较少;②芍药苷透过血脑屏障后生物转化为芍药内酯苷,但含量较少。至于芍药内酯苷以何种方式进入脑中,尚有待进一步深入研究发现。

鉴于有研究发现阿魏酸及川芎嗪均能入脑<sup>[26-28]</sup>,而本课题组前期研究发现,补阳还五汤中阿魏酸及川芎嗪的含量较低,传统灌胃给药很难检测得到,因此对于其研究多采用单体,并通过静脉注射给药方式研究其药代动力学过程。研究报道

毛蕊异黄酮苷、芍药内酯苷及芒柄花素-7-O-β-D-葡萄糖苷-6"-O-乙酰基等具有多重的抗氧化、抗炎、抗损伤等作用<sup>[29-32]</sup>,提示检测到的这几种化合物是补阳还五汤抗脑缺血再灌注损伤的有效成分且能够入脑入血的药物游离型成分,可为补阳还五汤治疗中风的药效物质基础及其作用机制提供实验依据。

[参考文献]

[1] 石江伟,于涛,高秀梅.从临床药理学角度探讨中药治疗急性脑梗死研究进展[J].中草药,2015,46(14):2160-2166.  
[2] 谭涛.补阳还五汤对脑梗死急性期患者血管新生相关因子及 MCAO 小鼠蛋白芯片表达的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2012.  
[3] 李应宏.补阳还五汤配合依达拉奉治疗急性缺血性

- 脑卒中48例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):304-307.
- [4] 王金树. 补阳还五汤治疗缺血性脑卒中急性期、恢复期68例[J]. 光明中医, 2014, 29(5):998-999.
- [5] 黄海艳, 祝赫, 韩彬, 等. 补阳还五汤血浆指纹图谱的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15):96-99.
- [6] 段晓鹏. 补阳还五汤抗脑缺血神经细胞损伤的谱效学研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2012.
- [7] 邓凯文, 邓俊林, 孙青辉, 等. 针刺大鼠心经神门与少海对补阳还五汤抗脑缺血作用及成分代谢的影响[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(12):3957-3961.
- [8] Shaw L H, LIN L C, Tsai T H. HPLC-MS/MS analysis of a traditional Chinese medical formulation of Bu-Yang-Huan-Wu-Tang and its pharmacokinetics after oral administration to rats [J]. PLoS One, 2012, 7(8):e43848.
- [9] 廖卫国. UPLC-MS/LSCI法补阳还五汤大鼠药动学研究及药效探索[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [10] 黄晶, 廖婧竹, 刘武平, 等. 基于UPLC/ESI-Q-TOF-MS技术的毛蕊异黄酮苷在大鼠血清中的代谢成分分析[J]. 广东化工, 2017, 44(9):50-52.
- [11] 冯超. 赤芍与白芍的药动学研究及化学成分的液质联用分析[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2010.
- [12] 尹权微, 李家春, 秦建平, 等. UPLC/Q-TOF-MS快速分析桂枝茯苓胶囊的入血成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21):83-86.
- [13] 杨芮平. 膜荚黄芪的化学成分研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [14] 李慧, 万乐人, 王弘, 等. 异黄酮同分异构体的ESI-IT-TOF质谱特征及区别[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(12):2284-2289.
- [15] 李锐, 付铁军, 及元乔, 等. 膜荚黄芪与蒙古黄芪化学成分的高效液相色谱-质谱研究[J]. 分析化学研究报告, 2005, 33(12):1676-1680.
- [16] QI L W, WEN X D, CAO J, et al. Rapid and sensitive screening and characterization of phenolic acids, phthalides, saponins and isoflavonoids in Dang gui Bu xue Tang by rapid resolution liquid chromatography/diode-array detection coupled with time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2008, 22(16):2493-2509.
- [17] LIU E H, QI L W, PENG Y B, et al. Rapid separation and identification of 54 major constituents in Buyang Huanwu decoction by ultra-fast HPLC system coupled with DAD-TOF/MS [J]. Biomed Chromatogr, 2009, 23(8):828-842.
- [18] LI Y, MEI Z, LIU S, et al. Galanin protects from caspase-8/12-initiated neuronal apoptosis in the ischemic mouse brain via GalR1 [J]. Aging Dis, 2017, 8(1):85-100.
- [19] HE H Y, GUO T, ZHANG P Y, et al. Puerarin provides a neuroprotection against transient cerebral ischemia by attenuating autophagy at the ischemic penumbra in neurons but not in astrocytes [J]. Neurosci Lett, 2017, 643:45-51.
- [20] ZHANG X, XUE X, XIAN L, et al. Potential neuroprotection of protodioscin against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through intervening inflammation and apoptosis [J]. Steroids, 2016, 113:52-63.
- [21] 吴常青, 汪春彦, 邵旭, 等. 补阳还五汤有效部位对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. 中草药, 2011, 42(1):114-117.
- [22] 唐映红, 邓常青, 刘旺华. 补阳还五汤4类有效部位对局灶性脑缺血大鼠脑梗死体积的影响[J]. 中草药, 2005, 36(2):236-239.
- [23] 史晴晴, 杜欢, 于红梅, 等. 白芍总苷对全脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. 中国中医急症, 2017, 26(7):1172-1174.
- [24] 胡鹏翼. 以体外细胞模型研究川芎活性成分调控天麻素等苷类成分透过血脑屏障的作用及机制[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [25] 施敏, 马晓彤, 曹学丽, 等. 郑积敏. 基于短刺小克银汉霉的芍药苷转化芍药内酯苷研究[J]. 中国医药生物技术, 2018, 13(2):178-184.
- [26] 左爱华, 程孟春, 王莉, 等. 川芎吸收入脑成分的UPLC-Q-TOF-MS分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23):3647-3650.
- [27] WU Y A, LIAO F Y, LIAO W G, et al. Effect of ferulic acid on the brain pharmacokinetics of tetramethylpyrazine in conscious rats [J]. Xenobiotica, 2017, 47(11):973-979.
- [28] LIAO W G, YU J Y, GUO Z L, et al. Microdialysis combined with UPLC-MS/MS method for determination of tetramethylpyrazine and ferulic acid in striatum of awake and anesthetic rats subjected to cerebral ischemia [J]. J Pharm Biomed Anal, 2016, 128:510-518.
- [29] 史晴晴, 于红梅. 白芍总苷对脑缺血再灌注后细胞凋亡抑制作用的研究[J]. 中国中医急症, 2017, 26(6):973-975.
- [30] 顾民华, 洪文, 唐传其, 等. 芒柄花素保护前脑缺血再灌注损伤中的血脑屏障并抑制神经炎症[J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2015, 36(1):34-39.
- [31] 姜华. 羟基红花黄色素A对大鼠脑缺血-再灌注损伤的保护作用及机制[J]. 中药材, 2013, 36(3):462-464.
- [32] 许航, 丁一, 刘文星, 等. 黄芪甲苷和羟基红花黄色素A配伍抗脑缺血再灌注损伤的协同作用及机制研究[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2017, 16(5):427-431.

[责任编辑 刘德文]