

# 斑马鱼模型在中药活性物质血脑屏障渗透研究中的应用进展

毕文杰，李梦娇，胡晓辉，韩利文\*

山东第一医科大学药学院（药物研究所），济南 250117

**摘要：**血脑屏障（blood-brain barrier, BBB）是构成大脑的一道关键生理防线，控制着血液与大脑之间物质的转运过程，有效阻隔外源性异物，保护中枢神经系统（central nervous system, CNS）不受损害。同时，BBB的存在也使得外源性药物如中药来源的活性成分难以透过进入脑区，对于CNS的治疗带来不利影响。因此，准确、简便的动物BBB模型对于脑病治疗药物开发至关重要。文章综述了模式动物斑马鱼的BBB结构与功能特点，以及中药活性成分在BBB渗透研究中的进展，以期中药在CNS疾病治疗研究中提供新的思路与方法。

**关键词：**斑马鱼；中药；活性物质；血脑屏障；脑内递送

**中图分类号：**R285 **文献标识码：**A

## Advances in the application of zebrafish models in the study of blood-brain barrier penetration of active substances in traditional Chinese medicine

BI Wen-jie, LI Meng-jiao, HU Xiao-hui, HAN Li-wen\*

*School of Pharmaceutical Sciences (Institute of Materia Medica), Shandong First Medical University, Jinan 250117, China*

**Abstract:** The blood-brain barrier (BBB) is a key physiological defense of the brain, which controls the transport process between the blood and the brain, effectively blocks exogenous foreign bodies, and protects the central nervous system from damage. Meanwhile, the presence of BBB also makes it difficult for exogenous drugs such as active substances derived from traditional Chinese medicine to penetrate into the brain, which hinders the treatment of the CNS diseases. Therefore, accurate and simple animal BBB evaluation models are essential for the development of drugs for the treatment of encephalopathy. In this paper, a systematic review was summarized about the structure and function of the BBB of model animal zebrafish and the progress of active substances of traditional Chinese medicine in the penetration of BBB, in order to provide a new research method for the exploration of traditional Chinese medicine in the treatment of CNS diseases.

**Key words:** zebrafish; traditional Chinese medicine; active substance; blood-brain barrier; intracerebral delivery

血脑屏障（blood-brain barrier, BBB）是由中枢神经系统（central nervous system, CNS）的脑微血管内皮细胞构成的一种特殊屏障。它严格控制着外源性异物向大脑的转运，维持脑组织内环境的稳定性以及保障神经元功能区域的正常运作<sup>[1]</sup>。外源性药物受到BBB的阻隔，通常难以渗透进入大脑。在中枢疾病药物开发与评价中，主要采用的BBB研究模型分为体外和体内两类<sup>[2]</sup>。体外细胞模型具有操作简单、可控性强、不使用实验动物或使用样品量较少等优点。而整体哺乳动物能准确地模拟药物在脑内真实渗透情况，但是对实验技术、周期、成本均有较高要求。因此，快速、简便、准确的实验模型对于药物的BBB渗透性评价及药物研发意义重大。

斑马鱼（*danio rerio*, zebrafish），作为一种国际上广泛认可的新型模式生物，其遗传学和细胞生物学特征与高等脊椎动物高度保守，使其成为模拟人类疾病的理想动物模型之一<sup>[3]</sup>。斑马鱼在受

精后仅 3 天内（3 days post-fertilization, dpf）就能基本发育形成功能完整的 BBB，且该屏障在结构与功能上与人类 BBB 非常相似，这使斑马鱼成为研究药物脑渗透和递送的理想模型<sup>[4]</sup>。因此，本文对斑马鱼 BBB 模型的特征以及中药脑渗透和递送应用等方面的研究进行综述，旨在为探索中药脑病治疗及药物开发提供新的视角和思路。

## 1 斑马鱼 BBB 的发育及特征

斑马鱼脑毛细血管紧邻神经元分布，在维持大脑 BBB 功能方面扮演着至关重要的角色。在斑马鱼胚胎发育的大约 20 小时后（20 hours post-fertilization, hpf），可以观察到位于后脑腹侧的前后轴上有两条平行的原始后脑通道（primordial hindbrain channels, PHBC）<sup>[5]</sup>。当胚胎发育至 28~32 hpf，第一个血管芽从两条 PHBC 的内侧出现并迁移到垂直于前后轴的中线，进而形成基底动脉。32~36 hpf，中央动脉开始从每个 PHBC 的背壁发芽，形成拱状结构。到 48 hpf 时，围绕脑基底动脉的复杂血管网络初步完成。在 3 dpf 时，斑马鱼的 BBB 基本形成<sup>[1,6,7]</sup>。内皮细胞与大脑微环境中的周细胞、胶质细胞、神经元等相互作用，共同构成了 BBB 的结构域，亦称作神经血管单位<sup>[8-10]</sup>。周细胞（如周细胞和平滑肌细胞）紧密包裹在血管壁周围，有助于维护屏障的完整性<sup>[11]</sup>。从 60 hpf 开始，斑马鱼的周细胞开始接触脑血管。与哺乳动物类似，周细胞的损伤也可能导致 BBB 的屏障功能受损<sup>[12,13]</sup>。同时斑马鱼的神经胶质细胞与周细胞和内皮细胞相邻，为 BBB 提供了额外的保护<sup>[14,15]</sup>。

在 BBB 结构特征中，斑马鱼与哺乳动物的一个主要区别是前者尚未鉴定出真正的星形胶质细胞<sup>[16]</sup>；然而，研究表明斑马鱼的放射状胶质细胞在功能上与哺乳动物的星形胶质细胞相似<sup>[16,17]</sup>，例如，它们在维持 CNS 的渗透平衡及其与神经元和 BBB 的相互联系方面<sup>[15]</sup>。紧密连接蛋白-5（claudin-5）和闭锁小带蛋白-1（zonula occluden-1, ZO-1）都是哺乳动物 BBB 完整性所必需的紧密连接蛋白，在 3 dpf 及成年的斑马鱼大脑的内皮血管细胞中也发现了这两种紧密连接蛋白的表达<sup>[4,18]</sup>。P-糖蛋白（P-glycoprotein, P-gp）是一种膜结合的特异性转运蛋白，其主要功能是将外源性物质从 BBB 中排出。人类 P-gp 的同源物可以在 2 dpf 斑马鱼脑内检测到，并在此后持续表达<sup>[3]</sup>。当向 5 dpf 的斑马鱼幼鱼注射埃文斯蓝时，该化合物可以被 BBB 保留在血管系统内。而向 8~10 dpf 斑马鱼胚胎注射罗丹明 123（Rhodamine 123, R123）时，这种染料依然被保留在脑血管中。然而，当 P-gp 抑制剂维拉帕米存在时，R123 则能够穿过大脑，说明斑马鱼与哺乳动物的 BBB 具有高度的相似性<sup>[18]</sup>。

## 2 斑马鱼 BBB 模型的特点

斑马鱼已被视为研究 BBB 功能的合适模型<sup>[9]</sup>。斑马鱼胚胎和幼鱼期身体是透明的，因此研究者能够借助显微镜观察到脑组织结构的发育过程，并能以单细胞分辨率进行活体成像和识别突变体。斑马鱼早期大脑结构与包括鸡、大鼠和人类在内的其他脊椎动物高度相似<sup>[19]</sup>，使其成为研究大脑功能的理想工具。Xie 等<sup>[20]</sup>构建了一种新型转基因斑马鱼模型，通过注射荧光染料并借助显微镜观察其在视网膜及脑部的分布，从而有效检测 BBB 的通透性，快速评估药物穿越 BBB 的能力。此外，还有研究表明，在已知 CNS 药物渗透性方面，斑马鱼 BBB 展现出与小鼠 BBB 相似的通透特性

[21]。这进一步证实了斑马鱼模型在解析 BBB 的病理生理学特征及预测药物渗透性方面的潜在应用价值。

### 3 斑马鱼模型在中药活性物质 BBB 渗透研究中的应用

近年来，随着中药在脑部疾病治疗中的研究不断深入，斑马鱼 BBB 模型已成为中药在 BBB 渗透性及中枢递送方面的关键工具（图 1）。现有数据表明，大多数药物对斑马鱼 BBB 的响应与小鼠十分相似，这凸显出斑马鱼 BBB 模型在中药活性成分研究领域广阔的应用前景。

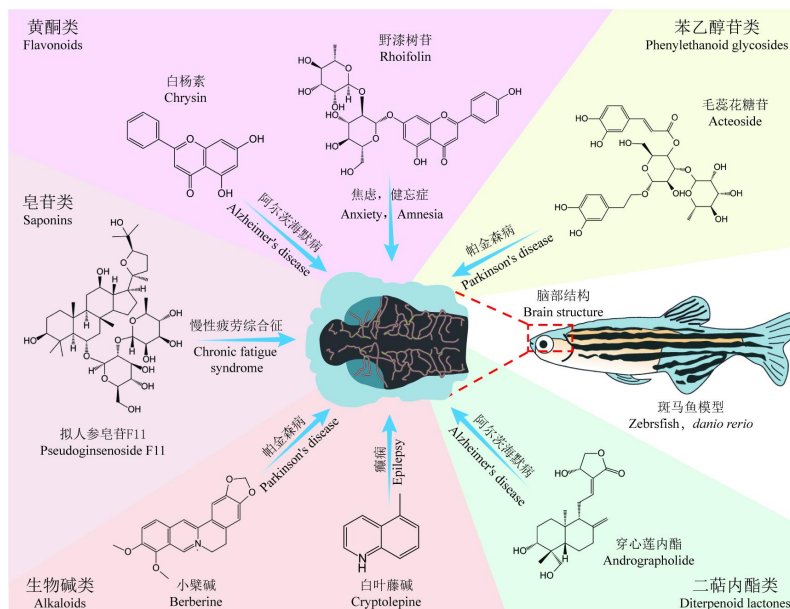


图 1 斑马鱼模型在中药活性成分 BBB 渗透性及作用机制研究中的应用

Fig. 1 Application of zebrafish model in investigation of permeability and mechanism of active substances in traditional Chinese medicine

#### 3.1 中药复方

中药复方由两味及两味以上药味组成，是在辨证施治后，选择合适的药物酌定用量，按照特定的配伍原则巧妙搭配而成的一组药物。中药复方在中国具有悠久的历史，体现了中药用药的独特风格和显著优势。清代陈士铎所著《石室秘录》中记载的安寐丹，是代表培元固本、安神法治疗失眠的经典方剂。Ye 等[22]通过持续光照建立斑马鱼失眠模型，观察安寐丹体外给药对睡眠剥夺斑马鱼的学习记忆的影响，结果证明安寐丹可能通过调控 OXA/P38 MAPK/ERK1/2 信号通路减轻睡眠剥夺斑马鱼神经损伤。Wang 等[23]在实验中通过利用自动视频跟踪系统监测 4 dpf 斑马鱼睡眠/觉醒行为的方法对七种经典处方（柴胡疏肝散，甘麦大枣汤，桂皮汤，温胆汤，桃红四物汤，杞菊地黄丸，六君子汤）的抗抑郁作用进行研究。

#### 3.2 单味中药提取物

中药提取物是通过特定的工艺方法从中药中提取的具有明确药效的物质。植物精油是从植物中提取出的挥发性成分，具有亲脂性高、易透过 BBB 等特点。Shi 等[24]采用戊四唑诱导斑马鱼发生癫痫，并对其所在课题组建立的 300 多种植物精油库进行了抗癫痫活性的表型筛选。金盏菊作为一种芳香草本植物，其提取物中含有黄酮、挥发油、萜类和皂苷类等多种化合物[25]。Ren 等[26]对金盏菊

进行蒸馏提纯得到金盏菊提取物，并构建了斑马鱼幼鱼阿尔茨海默病（Alzheimer's disease, AD）模型。结果发现金盏菊提取物处理后斑马鱼 AD 模型的脑区病理性 $\beta$ -淀粉样蛋白（amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ）斑块数量显著减少，并推测其改善 AD 症状与抗氧化和抗凋亡机制密切相关。酸枣仁是鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子，在中国广泛用于治疗失眠、焦虑等症状。Wang 等<sup>[27]</sup>将酸枣仁进行粉碎后进行提取，并对其提取物进行斑马鱼睡眠剥夺实验。结果显示酸枣仁提取物可明显促进斑马鱼幼鱼的睡眠，同时提取的皂苷分子中发现酸枣仁皂苷元具有更高 BBB 渗透性。杜仲（*Eucommia ulmoides*, EUO）是一种被广泛用作治疗各种神经退行性疾病的传统中草药。Sun 等<sup>[28]</sup>从采用斑马鱼 AD 模型对 EUO 雄花提取物进行研究，结果发现 EUO 雄花提取物能显著改善斑马鱼的运动障碍，有效抑制 AICl<sub>3</sub> 诱导的 A $\beta$  在斑马鱼脑部的沉积，并减少细胞凋亡。

### 3.3 中药单体成分

我国拥有宝贵的中草药资源，许多研究表明，从传统中药提取的一些活性成分如小檗碱<sup>[29]</sup>、槲皮素<sup>[30]</sup>和拟人参皂苷 F11<sup>[31]</sup>等在斑马鱼模型实验中显示出了潜在的神经保护作用，进而干预各种脑部疾病（见表 1）。

表 1 中药单体成分在斑马鱼 BBB 渗透性的应用

Table 1 Application of Chinese herbal monomer components in BBB permeability of zebrafish

种类	活性成分	疾病	研究模型	主要作用及其机制	文献
Category	Active constituent	Disease	Research model	Main action and mechanism	Ref.
生物碱类 Alkaloids	小檗碱 Berberine	帕金森病	3 dpf 斑马鱼	荧光标记的小檗碱衍生物能迅速透过斑马鱼的 BBB，缓解斑马鱼帕金森样行为和增加多巴胺能神经元的丢失。	29
生物碱类 Alkaloids	白叶藤碱 Cryptolepine	癫痫	4 月龄斑马鱼	固体脂纳米颗粒制剂增强了白叶藤碱在斑马鱼 BBB 中的渗透性，并推测白叶藤碱-固体脂纳米颗粒的抗癫痫活性可能与 Sigma 2 拮抗作用有关。	32
黄酮类 Flavonoids	白杨素 Chrysin	阿尔茨海默病	3 月龄斑马鱼	包被在壳聚糖纳米颗粒中的白杨素可以有效透过 BBB，提高斑马鱼学习和记忆障碍，增强神经保护的作用。	33
黄酮类 Flavonoids	野漆树苷 Rhoifolin	焦虑，健忘症	成年斑马鱼	野漆树苷可以通过恢复胆碱能活性和改善大脑氧化应激来有效干预东莨菪碱诱导的斑马鱼模型记忆障碍。	34

皂苷类 Saponins	拟人参皂苷 F11 Pseudoginsenoside F11	慢性疲劳综 合征	成年斑马鱼	拟人参皂苷 F11 可以有效改善斑马 鱼脑损伤, 缓解慢性疲劳导致的记 忆障碍。	31
苯乙醇苷类 Phenylethan -oid glycosides	毛蕊花糖苷 Acteoside	帕金森病	3 dpf 斑马鱼	毛蕊花糖苷是通过增强机体抗氧化 应激能力和维持 BBB 完整性预防 斑马鱼帕金森病的发生。	35
二萜内酯类 Diterpenoid lactones	穿心莲内酯 Andrographolide	阿尔茨海默 病	24 hpf 斑马鱼	穿心莲内酯可以通过提高 BBB 紧 密连接蛋白表达, 实现保护阿托伐 他汀介导的斑马鱼脑损伤模型。	36

#### 4 增加中药活性成分在 BBB 递送的技术与方法

中药成分透过斑马鱼 BBB 的方式一般分为主动方式和被动方式<sup>[37]</sup>。主动方式是一些小分子或水溶性较好的物质, 它们利用浓度梯度通过相邻细胞间隙被动扩散从而通过 BBB 进入大脑, 如川芎内酯 I、天麻苷元等。而被动方式包括不同的跨膜转运机制, 如主动扩散、转运蛋白和胞吞胞吐等<sup>[38]</sup>。一些现代药物递送策略也为增加药物分子跨越 BBB 进入 CNS 提供了多种可能性。

##### 4.1 改变 BBB 的通透性

BBB 是一种高度选择性的屏障, 其通透性在药物转运过程中扮演着至关重要的角色。冰片是著名的引经类佐使药, 可以引药上行、开窍醒神。现代研究发现, 当冰片与其他中药配伍时, 可以抑制 P-gp、降低 ZO-1 的表达, 从而增加 BBB 的通透性, 促进药物在脑内的运输传递<sup>[37,39]</sup>。Chen 等<sup>[40,41]</sup>以斑马鱼为研究对象, 发现冰片和麝香酮能够使紧密连接蛋白的表达下调或者诱导基膜结构的破坏内皮细胞的皱缩, 细胞间隙增大, 致使 BBB 的屏障作用减弱, 从而开启 BBB 为脑内疾病的治疗提供了有效的药物干预手段。石菖蒲首次记载于《神农本草经》, 被认为具有化湿、醒神和开窍的功效, 其中 $\beta$ -细辛醚和 $\alpha$ -细辛醚是石菖蒲挥发油中的主要成分<sup>[42]</sup>。Shang 等<sup>[43]</sup>在实验中发现 $\alpha$ -细辛醚具有开启斑马鱼 BBB 的能力, 透过能够帮助大分子荧光物质进入脑内, 同时该研究还观察到 $\alpha$ -细辛醚能显著降低紧密连接蛋白 claudin 家族成员的基因表达, 致使紧密连接结构疏松, 从而发挥了其开窍的作用。Zhao 等<sup>[44]</sup>发现在斑马鱼癫痫模型中,  $\alpha$ -细辛醚展现出了显著的保护作用。

##### 4.2 采用纳米系统增加药物向脑内的递送

通过将药物包裹在纳米粒子或纳米脂质体中, 或对药物表面进行修饰, 能够显著提高药物的生物利用度和特异性<sup>[45]</sup>。在斑马鱼模型中, 这些纳米技术在毒性研究和神经特异性药物递送方面引起了研究者的极大兴趣<sup>[46]</sup>。姜黄素已知具有保护大脑免受氧化应激和治疗神经退行性疾病的作用, 但由于其具有高度疏水性的特征, 导致药物利用度差。为了克服或减少这些限制, Fernandes 等<sup>[47]</sup>将姜黄素用新型的外泌体样脂质体包裹, 使它们能够穿过斑马鱼的 BBB 并将其递送到细胞质上起到神经保护作用。在 Saleem 的实验中<sup>[33]</sup>, 研究团队合成了一种负载白杨素的壳聚糖纳米颗粒, 以期

对  $A\beta_{1-42}$  诱导的斑马鱼神经退行性疾病发挥保护作用。研究发现，这些纳米颗粒具有高度稳定性，并能够透过 BBB，且表现出良好的细胞摄取和生物相容性。Campelo 等<sup>[48]</sup>通过成年斑马鱼实验模型，评估了游离和纳米胶囊形式的丁香挥发油在抗焦虑方面的疗效，并观察到其抗焦虑活性可能与 GABA 能神经调控有关。Liang 等<sup>[49]</sup>研究显示天然纳米级药物递送平台（T7 peptide ligand, T7-LDL）能够穿透 BBB，并特异性地靶向神经胶质瘤细胞，负载了硫酸长春新碱的 T7-LDL 可有效地增强体外和体内的抗神经胶质瘤疗效，为脑部肿瘤治疗提供了新的思路。Mante 等<sup>[32]</sup>通过戊烯四唑诱导的斑马鱼癫痫模型发现，白叶藤碱的固体脂质纳米颗粒制剂提高了其 BBB 通透性，从而提高了抗癫痫活性。

#### 4.3 采用细胞外囊泡作为药物递送载体透过 BBB

细胞外囊泡（extracellular vesicles, EVs）是细胞释放的膜结构囊泡，具有穿透生物屏障的自然能力，可以模拟体内存在的生物分子，同时具有较低的免疫原性，在特定配体的表面修饰下，可以通过与细胞膜的黏附和内吞作用递送药物。紫杉醇是从太平洋红豆杉树的树皮中分离出来的一种广泛用于癌症治疗的药物<sup>[50]</sup>。然而，尽管其疗效显著，但在大脑中的药物浓度却相对较低。Yang 等<sup>[51]</sup>制备了一种脑内皮细胞衍生的外泌体，并评估了该递送系统在 5 dpf 的转基因斑马鱼胚胎中的递送效率。结果发现单纯的紫杉醇无法穿过 BBB 在大脑中分布，但利用外泌体装载后的紫杉醇，可以显著透过斑马鱼 BBB，并广泛分布于大脑，从而提高对脑肿瘤的治疗效果。Oliveira 等<sup>[52]</sup>基于斑马鱼模型发现与游离多奈哌齐相比，聚乳酸-聚乙二醇基纳米颗粒包裹的多奈哌齐与细胞外囊泡携带的多奈哌齐在确保安全性的同时能够显著提高药物在大脑中的生物利用度。但在斑马鱼运动测试中，与细胞外囊泡组相比，聚合物纳米颗粒组和游离多奈哌齐组均观察到了多动症现象。此外，研究还发现细胞外囊泡-多奈哌齐主要存在于斑马鱼幼鱼脑实质中，而聚合物纳米颗粒-多奈哌齐则主要分布于血液中。因此，作者推测在治疗 AD 时，细胞外囊泡组可能比聚合物纳米颗粒组具有更优的疗效。Wang 等<sup>[53]</sup>在研究中提出了一种用于神经胶质瘤治疗策略，即利用类中性粒细胞-外泌体系统作为药物载体。这种新型的外泌体递送平台能够有效携带药物快速透过 BBB，进而靶向脑肿瘤区域。同时有研究发现，靶向中枢并且包裹 circDYM（mm9\_circ\_0007509）的细胞外囊泡系统，能够有效地将 circDYM 递送到大脑，从而对重度抑郁症发挥治疗效果<sup>[54]</sup>。

## 5 总结

越来越多研究表明，中药及其活性成分（丹参酮 IIA<sup>[55]</sup>、羟基红花黄 A<sup>[56]</sup>、松果菊苷<sup>[57,58]</sup>、金银花多糖<sup>[59]</sup>等）在脑卒中及急性神经损伤性疾病治疗中展现出独特的优势。然而，对于大多数中药而言，是否能透过 BBB、如何透过 BBB 以及透过 BBB 的药物利用度依然是未知的。斑马鱼不仅具备完整的 BBB 结构及环境完整性，还具有透明可视的优势，这使得它们可以更方便观察到药物在 BBB 的跨膜转运。此外，斑马鱼无需开颅或解剖的特点，更加适合于大规模筛选和评估治疗脑部疾病的药物。

目前，斑马鱼在心血管<sup>[60]</sup>、肿瘤<sup>[61,62]</sup>、免疫<sup>[63,64]</sup>、行为学<sup>[65]</sup>等药物筛选评价方面已经取得了长足进展，但关于 BBB 渗透性领域的探索仍然处于起步状态，对于预测人类 BBB 的渗透性依然是一

个复杂而艰巨的任务。传统啮齿类动物具有多种给药方式，如饲喂、灌胃、静脉注射等，但斑马鱼大多使用浸泡给药，对于溶解度较低的中药，难以达到最佳给药浓度<sup>[66]</sup>。此外，当前对斑马鱼 BBB 的结构和功能了解仍然有限，围绕其开展的实验技术较少，药物跨越 BBB 的具体分子机制尚需要深入探索。同时斑马鱼模型获得的数据难以直接应用于临床的预测和转化，这也为相关研究带来了挑战。

尽管如此，斑马鱼模型在用于快速筛选和评估中药药效物质在 BBB 渗透性及中枢递送方面具有独到之处，并且值得更多专家学者展开更广泛深入的研究。本文通过系统的总结归纳，希望能够为 BBB 渗透性提供新模型，以期中药活性成分用于中枢系统疾病治疗提供新思路。

#### 参考文献

- 1 Quiñonez-Silvero C, et al. Development of the brain vasculature and the blood-brain barrier in zebrafish[J]. *Dev Biol*, 2020, 457: 181-190.
- 2 Huang HH, et al. Research progress of blood-brain barrier model applied to drug evaluation[J]. *Drug Eval Res* (药物评价研究), 2022, 45: 568-574.
- 3 Umans R A, et al. Zebrafish as a model to study drug transporters at the blood-brain barrier[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2012, 92: 567-570.
- 4 Jeong J Y, et al. Functional and developmental analysis of the blood-brain barrier in zebrafish[J]. *Brain Res Bull*, 2008, 75: 619-628.
- 5 Isogai S, et al. The vascular anatomy of the developing zebrafish: an atlas of embryonic and early larval development[J]. *Dev Biol*, 2001, 230: 278-301.
- 6 Jackson S, et al. Model systems for studying the blood-brain barrier: applications and challenges[J]. *Biomaterials*, 2019, 214: 119217.
- 7 Ulrich F, et al. Neurovascular development in the embryonic zebrafish hindbrain[J]. *Dev Biol*, 2011, 357: 134-151.
- 8 Blanchette M, et al. Formation and maintenance of the BBB[J]. *Mech Dev*, 2015, 138: 8-16.
- 9 Eliceiri Brian P, et al. Zebrafish model of the blood-brain barrier: morphological and permeability studies[J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 686: 371-378.
- 10 Mäe M, et al. Getting to know the cell-cell interactions and signaling at the neurovascular unit[J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17: 2750-2754.
- 11 Hellström M, et al. Role of PDGF-B and PDGFR-beta in recruitment of vascular smooth muscle cells and pericytes during embryonic blood vessel formation in the mouse[J]. *Development*, 1999, 126: 3047-3055.
- 12 Armulik A, et al. Pericytes regulate the blood-brain barrier[J]. *Nature*, 2010, 468: 557-561.
- 13 Daneman R, et al. Pericytes are required for blood-brain barrier integrity during embryogenesis[J]. *Nature*, 2010, 468: 562-566.
- 14 Abbott N J, et al. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7: 41-53.
- 15 Lyons D A, et al. Glial cell development and function in zebrafish[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2014, 7: a020586.
- 16 Chen J, et al. Live-imaging of astrocyte morphogenesis and function in zebrafish neural circuits[J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23: 1297-1306.
- 17 Jurisch-Yaksi N, et al. Radial glia in the zebrafish brain: functional, structural, and physiological comparison with the mammalian glia[J]. *Glia*, 2020, 68: 2451-2470.
- 18 Fleming A, et al. Functional characterisation of the maturation of the blood-brain barrier in larval zebrafish[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e77548.
- 19 Lowery L A, et al. Characterization and classification of zebrafish brain morphology mutants[J]. *Anat Rec*

- (Hoboken),2009,292:94-106.
- 20 Xie J,et al.A novel transgenic zebrafish model for blood-brain and blood-retinal barrier development[J].BMC Dev Biol,2010,10:76.
  - 21 Kim SS,et al.Zebrafish as a screening model for testing the permeability of blood-brain barrier to small molecules[J].Zebrafish,2017,14:322-330.
  - 22 Ye ZJ,et al.Study on the mechanism of AMD regulating orexin signaling pathway to improve learning and memory of SD zebrafish model[J].World Sci and Technol-Mod Tradit Chin Med(世界科学技术-中医药现代化),2024,26:731-741.
  - 23 Wang Y N,et al.Behavioural screening of zebrafish using neuroactive traditional Chinese medicine prescriptions and biological targets[J].Sci Rep,2014,4:5311.
  - 24 Shi XC.Screening and mechanism study of antiepileptic active essential oil based on zebrafish behavior[D].Kunming:Kunming University of Science and Technology(昆明理工大学),2023.
  - 25 Zhao T,et al.A Survey of active components and pharmacological effects of Jinzhanju(*Calendula officinalis* L)[J].Guiding J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报),2020,26:118-121.
  - 26 Ren QY.Effects of *Calendula officinalis* L.on improving cognitive and behavioral disorders in Alzheimer's disease and mechanism exploration[D].Tangshan:North China University of Science and Technology(华北理工大学),2022.
  - 27 Wang WX.Sleep aid effect and mechanism of semen Zizyphi spinosae extract enriched with jujuboside and jujubogenin[D].Jinan:Qilu University of Technology(齐鲁工业大学),2024.
  - 28 Sun C,et al.*Eucommia ulmoides* olive male flower extracts ameliorate Alzheimer's disease-like pathology in zebrafish via regulating autophagy,acetylcholinesterase,and the dopamine transporter[J].Front Mol Neurosci,2022,15:901953.
  - 29 Wang LZ,et al.Treatment of Parkinson's disease in zebrafish model with a berberine derivative capable of crossing blood brain barrier,targeting mitochondria,and convenient for bioimaging experiments[J].Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol,2021,249:109151.
  - 30 Liu M.The effects of quercetin on anxiety and shoaling behaviors in zebrafish(*danio rerio*)and mechanisms involved[D].Luoyang:Henan University of Science and Technology(河南科技大学),2019.
  - 31 Liu HR.Multi-omics evaluation on a novel zebrafish chronic fatigue syndrome model and the key active ingredients screening of American ginseng[D].Jinan:Shandong University of Traditional Chinese Medicine(山东中医药大学),2024.
  - 32 Mante PK,et al.Solid-lipid nanoparticle formulation improves antiseizure action of cryptolepine[J].Biomed Pharmacother,2021,137:111354.
  - 33 Saleem S,et al.Chrysin-loaded chitosan nanoparticle-mediated neuroprotection in  $A\beta(1-42)$ -induced neurodegenerative conditions in zebrafish[J].ACS Chem Neurosci,2022,13:2017-2034.
  - 34 Brinza I,et al.Ameliorative effects of Rhoifolin in scopolamine-induced amnesic zebrafish(*danio rerio*)model[J].Antioxidants(Basel),2020,9:580.
  - 35 Li MQ.Neuroprotective effects and its mechanism of phenylpropanoid glycosides via Nrf2-ARE signal pathway[D].Hangzhou:Zhejiang University(浙江大学),2018.
  - 36 Zhou XB,et al.Andrographolide improves ApoE4-mediated blood-brain barrier injury by alleviating inflammation[J].Mol Neurobiol,2024;61:7950-7967.
  - 37 Qian TY,et al.Research progress on the penetration of traditional Chinese medicine through the blood-brain barrier[J].Med J Commun(交通医学),2022,36:236-239.
  - 38 Dong XW.Current strategies for brain drug delivery[J].Theranostics,2018,8:1481-1493.
  - 39 Zhao YY,et al.Advances in research on the pharmacological effects and molecular mechanisms of borneol guiding action[J].J Nanjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报),2021,37:150-155.
  - 40 Chen YJ.Resuscitative mechanism of borneol and muscone based on the regulation of claudins of blood-brain barrier and their safety assessments in zebrafish[D].Beijing:Academy of Military Medical Sciences(中国人民解放军军事学



- 院),2014.
- 41 Chen YJ,et al.The effect of muscone on blood brain barrier ultrastructure and expression of claudins in zebrafish[J].Int J Pharm Res(国际药学研究杂志),2020,47:1121-1128.
  - 42 Fang L,et al.Research progress on mechanism of uplink of traditional Chinese medicine and its brain targeting preparations[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2023,54:3312-3321.
  - 43 Shang YN.Study on the mechanism of  $\alpha$ -asarone regulation blood-brain barrier and biological safety in zebrafish[D].Neimenggu:Inner Mongolia Minzu University(内蒙古民族大学),2015.
  - 44 Zhao CF,et al.An integrated *in vitro* human iPSCs-derived neuron and *in vivo* animal approach for preclinical screening of anti-seizure compounds[J].J Adv Res,2024,64:249-262.
  - 45 Li W,et al.BBB pathophysiology-independent delivery of siRNA in traumatic brain injury[J].Sci Adv,2021,7:eabd6889.
  - 46 Saleem S,et al.Zebrafish:a promising real-time model system for nanotechnology-mediated neurospecific drug delivery[J].Nanoscale Res Lett,2021,16:135.
  - 47 Fernandes M,et al.Novel concept of exosome-like liposomes for the treatment of Alzheimer's disease[J].J Control Release,2021,336:130-143.
  - 48 Campelo MD,et al.Clove volatile oil-loaded nanoemulsion reduces the anxious-like behavior in adult zebrafish[J].Daru,2023,31:183-192.
  - 49 Liang M,et al.Enhanced blood-brain barrier penetration and glioma therapy mediated by T7 peptide-modified low-density lipoprotein particles[J].Drug Deliv,2018,25:1652-1663.
  - 50 Khanna C,et al.A review of paclitaxel and novel formulations including those suitable for use in dogs[J].J Vet Intern Med,2015,29:1006-1012.
  - 51 Yang TZ,et al.Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in *danio rerio*[J].Pharm Res,2015,32:2003-2014.
  - 52 Oliveira SR,et al.Donepezil-loaded nanocarriers for the treatment of Alzheimer's disease:superior efficacy of extracellular vesicles over polymeric nanoparticles[J].Int J Nanomedicine,2024,19:1077-1096.
  - 53 Wang J,et al.Inflammatory tumor microenvironment responsive neutrophil exosomes-based drug delivery system for targeted glioma therapy[J].Biomaterials,2021,273:120784.
  - 54 Yu XY,et al.Extracellular vesicle-mediated delivery of circDYM alleviates CUS-induced depressive-like behaviours[J].J Extracell Vesicles,2022,11:e12185.
  - 55 Su WB,et al.Tanshinone IIA alleviates traumatic brain injury by reducing ischemia-reperfusion via the miR-124-5p/FoxO1 Axis[J].Mediators Inflamm,2024,2024:7459054.
  - 56 Hu E,et al.Metabolomics reveals the effects of hydroxysafflor yellow A on neurogenesis and axon regeneration after experimental traumatic brain injury[J].Pharm Biol,2023,61:1054-1064.
  - 57 Yang Q,et al.Effect of echinacoside on learning-memory function and expression of BDNF and TrkB in hippocampal tissue of vascular dementia rats[J].Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol(中药新药与临床药理),2017,28:304-309.
  - 58 Liu CL,et al.Effects of echinacoside on extracellular acetylcholine and choline levels of hippocampus and striatum of cerebral ischemia rats[J].Acta Pharm Sin(药学报),2013,48:790-793.
  - 59 Su DY,et al.Structural elucidation of a polysaccharide from *Lonicera japonica* flowers,and its neuroprotective effect on cerebral ischemia-reperfusion injury in rat[J].Int J Biol Macromol,2017,99:350-357.
  - 60 Chen JJ,et al.Tributyltin-induced oxidative stress causes developmental damage in the cardiovascular system of zebrafish (*danio rerio*)[J].Environ Res,2024,252:118811.
  - 61 Xu ZH,et al.Anti-hepatocellular carcinoma activity of *Sorbaria sorbifolia* by regulating VEGFR and c-Met/apoptotic pathway[J].J Ethnopharmacol,2024,324:117758.
  - 62 Xie F,et al.Application of zebrafish in cancer research[J].China Trop Med(中国热带医学),2009,9:1161-1164.

- 63 Lv J,et al.Effect of American ginseng saponins on enhancing immunity based on zebrafish model organisms[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2020,51:3728-3733.
- 64 Speirs ZC,et al.What can we learn about fish neutrophil and macrophage response to immune challenge from studies in zebrafish[J].Fish Shellfish Immunol,2024,148:109490.
- 65 Liu HR,et al.Exploring the key anti-fatigue components of American ginseng based on metabolomics and zebrafish models[J].Acta Pharm Sin(药学报),2023,58:1024-1032.
- 66 Zhao CJ,et al.Application advances on zebrafish model in study on Chinese materia medica[J].Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2015,46:2635-2648.

收稿日期：2024-07-03 接受日期：xxxx-xx-xx

基金资助：山东省中医药高层次人才培养项目（2023GCC013）；国家中医药管理局-山东省共建中医药科技项目（GZY-KJS-SD-2023-088）；山东第一医科大学学术提升计划（2019LJ003）

\*通讯作者 Tel: 138669197581； E-mail: hanliwen08@126.com