

黄芪多糖-皂苷纳米聚集体对心肾共损伤小鼠心肾功能的保护作用

魏闪闪^{1,2}, 张晓宇^{1,2}, 卢凯^{1,2}, 李科^{1,2}, 李爱平^{1,2*}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 地产中药功效物质研究与利用山西省重点实验室, 山西 太原 030006

摘要: **目的** 制备并表征黄芪多糖-皂苷纳米聚集体 (APS-AST-NPs), 探究其对心肾共损伤模型小鼠的保护作用。方法采用 37 °C 恒温水浴制备 APS-AST-NPs, 通过粒径、紫外-可见光谱 (UV-Vis)、傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 和透射电子显微镜 (TEM) 进行理化表征; 采用高效液相-质谱 (HPLC-MS) 联用技术鉴定皂苷类成分, 通过酸水解结合 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP) 柱前衍生化, 利用 HPLC 分析多糖单糖组成。通过心肾共损伤模型小鼠干预实验进行药效评价: 采用 ELISA 法检测血清氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP)、胱抑素 C (Cys-C)、血清尿素氮 (BUN) 及微量白蛋白 (mALB) 水平; 利用小动物心脏超声仪评估心脏功能相关参数, 包括左室射血分数 (LVEF)、左心室缩短分数 (LVFS)、心率 (HR)、心输出量 (CO)、左心室前后壁舒张/收缩末期厚度 (LVAWd、LVAWs、LVPWd、LVPWs) 及左心室舒张末期容积 (LVEDV)、左心室收缩末期容积 (LVESV)。**结果** 综合表征结果证实, APS 与 AST 可自组装形成 APS-AST-NPs; HPLC-MS 分析鉴定出 19 种皂苷类成分; APS-AST-NPs 的单糖组成包括葡萄糖 (81.09%)、鼠李糖 (7.48%)、葡萄糖醛酸 (6.37%)、半乳糖 (1.53%) 和阿拉伯糖 (3.53%)。药效结果显示, 与模型组相比, APS-AST-NPs 可显著增加小鼠体质量 ($P < 0.05$), 并有效改善心脏功能: LVEF、LVFS、HR、CO 显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 而 LVAWs 和 LVAWd 显著降低 ($P < 0.05$); 同时, 血清中心肾损伤标志物 NT-proBNP、Cys-C 及 BUN 水平显著降低, 肾功能保护指标 mALB 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.001), 提示 APS-AST-NPs 对心肾损伤均具有显著改善作用。**结论** 证实 APS-AST-NPs 对心肾共损伤小鼠的心肾功能具有明确的保护作用, 为心肾共损伤的临床治疗策略优化及相关纳米制剂研发提供了重要实验依据。

关键词: 心肾共损; 黄芪; 黄芪多糖; 黄芪皂苷; 黄芪多糖-皂苷纳米聚集体

中图分类号: R944.9 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)10-2863-16

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.10.014

Protective effect of *Astragalus* polysaccharide-saponin nanocomplexes on cardiac and renal functions in mice with co-injury of heart and kidney

WEI Shanshan^{1,2}, ZHANG Xiaoyu^{1,2}, LU Kai^{1,2}, LI Ke^{1,2}, LI Aiping^{1,2}

1. Modern Research Center of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Shanxi Key Laboratory of Active Constituents Research and Utilization of TCM, Taiyuan 030006, China

Abstract: Objective To prepare and characterize *Astragalus* polysaccharide-saponins nanocomplexes (APS-AST-NPs) and explore its protective effects on mice with co-injury of heart and kidney. **Methods** APS-AST-NPs were prepared by a 37 °C constant temperature water bath. Multi-scale physicochemical characterization was conducted by particle size, UV-Vis, FT-IR and TEM. Saponin components were identified by HPLC-MS. The monosaccharide composition of polysaccharides was analyzed by HPLC after acid hydrolysis combined with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) pre-column derivatization. The efficacy was evaluated by intervention experiments in mice with co-injury of heart and kidney: serum levels of N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP), cystatin C (Cys-C), blood urea nitrogen (BUN) and microalbumin (mALB) were detected by ELISA; cardiac function parameters including left ventricular ejection fraction (LVEF), left ventricular fractional shortening (LVFS), heart rate (HR), cardiac

收稿日期: 2025-07-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204595); 国家自然科学基金项目联合基金资助项目 (U23A20517); 山西省基础研究计划资助项目 (202303021221070); 中国博士后基金资助项目 (340903); 山西省中医药科技创新工程资助项目 (2025kjzy006); 山西省“三晋英才”科技创新领域青年拔尖人才项目

作者简介: 魏闪闪 (2001—), 女, 硕士研究生, 从事中药药理学研究。E-mail: w2918429341@163.com

*通信作者: 李爱平 (1988—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事中药质量评价及肾病药理研究。E-mail: aipingli@sxu.edu.cn

output (CO), left ventricular anterior and posterior wall thickness at end-diastole and end-systole (LVAWd, LVAWs, LVPWd, LVPWs), left ventricular end-diastolic volume (LVEDV) and left ventricular end-systolic volume (LVESV) were evaluated by small animal echocardiography. **Results** Comprehensive characterization results confirmed that APS and AST could self-assemble to form APS-AST-NPs; 19 saponin components were identified by HPLC-MS; the monosaccharide composition of APS-AST-NPs included glucose (81.09%), rhamnose (7.48%), glucuronic acid (6.37%), galactose (1.53%) and arabinose (3.53%). Efficacy results showed that compared with the model group, APS-AST-NPs significantly increased the body weight of mice ($P < 0.05$), and effectively improved cardiac function: LVEF, LVFS, HR and CO significantly increased ($P < 0.01, 0.001$), while LVAWs, LVAWd significantly decreases ($P < 0.05$); at the same time, the levels of serum markers of heart and kidney injury NT-proBNP, Cys-C and BUN significantly decreased, and the level of renal function protection index mALB significantly increased ($P < 0.05, 0.001$), suggesting that APS-AST-NPs have significant improvement effects on heart and kidney injury. **Conclusion** It was confirmed that APS-AST-NPs have a clear synergistic protective effect on the heart and kidney function of mice with co-injury of heart and kidney, providing important experimental basis for the optimization of clinical treatment strategies for co-injury of heart and kidney and the development of related nanomedicines.

Key words: cardiac and renal co-injury; *Astragali Radix*; *Astragalus* polysaccharides; *Astragalus* saponins; APS-AST-nanocomplexes

中医学认为, 心属火, 肾属水, 二者通过“水火既济”维持机体生理平衡。生理状态下, 心火下温肾水, 使肾水不寒; 肾水上济心火, 使心火不亢, 此即“心肾相交”。若肾阴亏虚或心火亢盛, 可导致心肾水火失济, 形成“心肾不交”的病理状态^[1], 其临床表现为失眠、心悸、腰膝酸软、水肿等症状。此病理状态及其临床特征, 与现代医学中的心肾综合征 (CRS) 的临床症状相似。CRS 指心或肾任一器官先发生功能损伤, 继而引发另一个器官功能障碍, 最终导致心肾功能共同衰竭的临床综合征^[2]。尽管心脏与肾脏在解剖结构上无直接联系, 但二者可通过血流动力学调节、神经内分泌调控及体液平衡等机制密切互动, 共同维持机体的循环及代谢稳态。

黄芪是豆科黄芪属植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 或蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根, 具有补气升阳、利水消肿、生津养血等功效。现代化学成分研究表明, 其主要活性成分可分为 4 类, 即黄芪多糖 (APS)、黄芪皂苷 (AST)、黄芪黄酮和黄芪蛋白。课题组前期研究发现, 采用系统溶剂萃取法得到的黄芪正丁醇部位富含 AST, 该部位在阿霉素诱导的肾病模型中发挥显著的利水消肿作用, 证实 AST 为黄芪药效物质基础的重要活性组分^[3-4]。同时, 剩余水部位 (主要含 APS) 的药效仅次于正丁醇部位, 而两者单用效果均不及黄芪全药, 提示 APS 同样是黄芪的关键活性成分, 且 AST 与 APS 可能存在协同作用。由于多糖结构解析的复杂性, 前期未对 APS 进行深入分

析。此外, 课题组已证实, 黄芪水提物具有明确的抗心力衰竭作用^[5]。文献报道亦显示^[6-9], AST 与 APS 均可抑制心衰大鼠心肌细胞凋亡并改善心功能, 进一步支持二者在心肾保护中潜在的协同机制。

值得注意的是, 中药在煎煮和制剂制备过程中, 其活性成分可以通过氢键、疏水作用、 π - π 堆积、静电作用等非共价键相互作用, 自发组装形成聚集体^[10]。这种现象已在多种单味药 (如黄芪、人参)、经典药对 (如甘草-附子、黄芪-当归、黄芩-黄连) 及中药复方 (如白虎汤、黄连解毒汤) 中被证实^[11]。研究发现, 此类中药自组装聚集体可完整保留中药多组分协同作用特征, 更符合中医药“整体观”理论, 同时还能改善药物递送性能、提高药物生物利用度。例如, 黄连中的活性成分小檗碱与厚朴酚可通过自组装成聚集体, 对小鼠的溃疡性结肠炎产生协同作用^[12]。

尤为相关的是, 现有研究已证实, APS 在水溶液中可通过自组装形成纳米聚集体, 并借助氢键等分子间作用力有效装载黄酮类成分, 进而显著提高黄酮类成分的溶解性、膜渗透性及生物利用度^[13]。

基于此, 并结合 AST 与 APS 在心肾保护中潜在的协同作用以及 APS 的自组装特性, 本研究以超分子化学理论为指导^[14], 将 AST 作为组装主体、APS 作为客体, 通过非共价相互作用构建黄芪多糖-皂苷纳米聚集体 (APS-AST-NPs), 以阿霉素诱导的 CRS 动物模型为研究对象, 旨在系统评价 APS-AST-NPs 对心肾共损伤小鼠心肾功能的保护作用。研究结果有望为临床心肾共损伤的防治提供新的治疗策略

和理论依据,同时也为基于天然活性成分的纳米制剂研究奠定实验基础。

1 材料

1.1 仪器

SC-3610 型低速离心机,安徽中科中佳科学仪器有限公司;Neofuge 1600R 型台式高速离心机,力康生物医疗科技控股有限公司;Zetasizer Nano ZS 90 型马尔文粒度仪,英国 Malvern 仪器有限公司;JEOL JEM-F200 透射电子显微镜(TEM),日本电子株式会社;ZX-LGJ-18A 冷冻干燥机,上海知信实验仪器技术有限公司;UV-8000 紫外分光光度计,上海通微分析技术有限公司;Nicolet iS50 FTIR 光谱仪,赛默飞世尔科技有限公司;LC-20AD 超高压液相色谱仪,日本 SHIMADZU 公司;5600+Q-TOF 高分辨质谱,美国 AB SCIEX 公司;ULTIMUS 9 LAB 小动物超声成像系统,飞依诺科技股份有限公司。

1.2 药物与试剂

对照品黄芪甲苷(批号 102618,质量分数 > 99%),江苏永健制药科技有限公司;无水葡萄糖(批号 20231007,质量分数 > 99%),天津市永大化学试剂有限公司;分析纯无水乙醇、正丁醇、醋酸乙酯、石油醚,天津市大茂化学试剂厂;三氯乙酸、木瓜蛋白酶、盐酸阿霉素,北京索莱宝科技有限公司;质谱级乙腈、甲酸,赛默飞世尔科技有限公司;茈菑试剂,上海麦克林生化科技股份有限公司;小鼠微量白蛋白 ELISA 试剂盒(mALB,货号 JYM0656Mo)、小鼠氨基末端脑钠肽前体 ELISA 试剂盒(NT-proBNP,货号 JYM0404Mo)、小鼠胱抑素 C ELISA 试剂盒(Cys-C,货号 JYM0425Mo)武汉基因美生物科技有限公司;小鼠尿素氮含量检测试剂盒(BUN,货号 BC1535),北京索莱宝科技有限公司;黄芪药材购自甘肃陇西(移栽芪,批号 20231018),经山西大学秦雪梅教授鉴定为 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根。

1.3 动物

SPF 级 BALB/c 小鼠,体质量(20±2)g,购自北京维通利华实验动物有限公司。许可证号 SCXK(京)2021-0006,在温度 20~25℃、湿度 40%~70% 的 SPF 环境中适应性饲养 1 周,标准饲料、蒸馏水进行饲养。本动物实验方案经过山西大学实验动物伦理委员会审核并批准,符合国家实验动物福利伦理的相关规定,动物伦理号

SXULL2025045。

2 方法与结果

2.1 APS-AST-NPs 的制备

2.1.1 APS、AST 的提取和分离 参照课题组前期建立的黄芪提取方法^[1],称取黄芪 10 g,蒸馏水浸泡过夜;次日首次加入 10 倍体积蒸馏水,采用回流提取法提取 2 h,真空抽滤。滤渣继续以 8 倍体积蒸馏水回流提取 2 h,再次抽滤,合并 2 次滤液,得到黄芪提取液。而后加入 200 U 木瓜蛋白酶,置于 45℃ 水浴中搅拌 6 h 进行酶解;酶解结束后,将溶液升温至 90℃ 加热 5 min 以灭活酶活性,随后冷却至室温。

为去除溶液中的蛋白质杂质,向上述冷却后的溶液加入 30% 三氯乙酸(每 100 mL 溶液加 30 mL 三氯乙酸),冰水浴搅拌 15 min,之后在室温静置 30 min,于 3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,收集上清液。向上清液中加入 9 倍体积的无水乙醇进行醇沉^[15],于 4℃ 下静置过夜;随后以 3 500 r·min⁻¹ 离心,收集沉淀,冷冻干燥即得 APS 粉末质量为 0.396 g,计算收率为 3.96%。

将上述醇沉离心后的上清液置于旋转蒸发仪上旋蒸至无醇味,得到浓缩液。依次用 2 倍体积的石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取 2 次,合并所有正丁醇萃取液,减压浓缩除去溶剂,得到浸膏,经冷冻干燥后即得 AST 粉末 0.181 g,收率为 1.81%。

2.1.2 APS-AST-NPs 与 APS+AST 混合溶液的制备 参照“2.1.1”项中 APS 与 AST 的实际收率,确定二者的混合比例(APS:AST=2:1)以模拟黄芪中活性成分的天然配比。依据文献报道^[13],称取 APS 和 AST 粉末溶于纯水中,37℃ 恒温水浴加热孵育 24 h,孵育结束后,以 13 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清即得 APS-AST-NPs。

为构建物理混合对照体系,按上述相同比例称取 APS 与 AST 粉末,直接溶于纯水中并快速搅拌至均匀混合(全程不预留组分自发组装的反应时间,以排除非共价相互作用对检测结果的干扰)。

2.2 临界聚集浓度(CMC)的测定

依据“2.1.1”项中 APS 和 AST 的得率比例混合,称取 2 种粉末,混合后溶于纯水,配制成质量浓度为 20 mg·mL⁻¹ 的母液。将母液稀释成质量浓度为 0.01、0.09、0.10、0.30、0.50、1.00、2.00、4.00、7.00、9.00、10.00、12.00、15.00、20.00 mg·mL⁻¹ 的系列水溶液。

精确称取 10 mg 茈菑置于 25 mL 量瓶中,用甲醇溶

解并定容至刻度线,得到浓度为 $2 \times 10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 苾储备液。移取 80 μL 苾储备液分别置于 15 支 10 mL 离心管中,静置至待甲醇完全挥发。向每支含干燥苾的离心管中分别加入 8 mL 上述不同质量浓度的 APS 和 AST 溶液。超声处理 40 min,确保苾完全溶解。随后将离心管置于 37°C 下恒温水浴反应 24 h,使体系达到热力学平衡。

采用荧光分光光度计测定各样品溶液的荧光光谱,设定激发波长为 335 nm,扫描发射范围为 340~450 nm。通过计算荧光光谱中第 1 个特征峰 (I_1 , 发射波长 373 nm) 和第 3 个特征峰 (I_3 , 384 nm) 的荧光强度比值 (I_1/I_3),结合比值随质量浓度的变化趋势确定体系的 CMC 值。

通过 I_1/I_3 曲线可知 (图 1), APS 与 AST 混合体系的 CMC 为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 值得注意的是,当体系质量浓度升高至 $9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, I_1/I_3 曲线出现新的特征性拐点,这表明随着质量浓度升高,组装体系的聚集行为发生显著结构转变。结合上述实验结果推测,该拐点的出现源于质量浓度升高时 APS 与 AST 间分子间相互作用显著增强,促使形成结构更为紧密的新型复合聚集体;这一现象同时表明,聚集体的形成是动态变化的过程,其微观结构随体系质量浓度变化而调整,而这种结构动态性可能对后续药物递送效率 (如载药能力、释放行为) 产生重要影响。

2.3 丁达尔效应观察

根据“2.2”项下测定的 CMC,为确保聚集体在 $9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 后形成的稳定结合态得以维持,将 APS、AST、APS-AST-NPs 及 APS+AST 溶液的质量浓度设定为 $13.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。按照“2.1.2”项方法制备 APS-AST-NPs、APS+AST 溶液。此外,称取 APS 与 AST

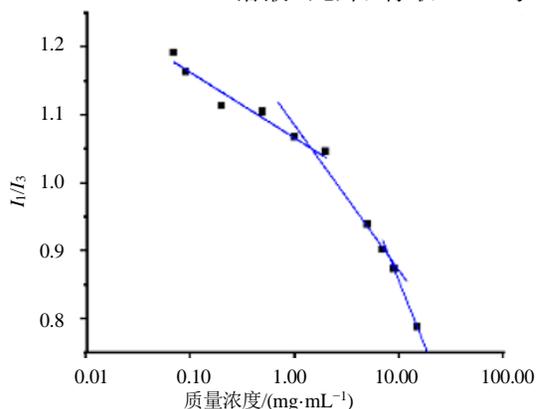


图 1 I_1/I_3 曲线
Fig. 1 I_1/I_3 Curve

粉末 27 mg 溶于 2 mL 纯水中,室温静置 24 h,得到 APS 与 AST 溶液。分别吸取上述溶液,至洁净比色皿中,用激光笔沿水平方向照射,观察并记录两种溶液是否出现丁达尔效应,初步验证 APS-AST-NPs 的胶体特性。

结果见图 2, APS 溶液、AST 溶液及 APS-AST-NPs 溶液均能呈现明显的丁达尔效应,表明单独的 APS、AST 及二者组装形成的 APS-AST-NPs 均存在自组装行为,且形成的聚集体具备胶体颗粒特征;相比之下,APS+AST 物理混合溶液的丁达尔效应十分微弱,提示该条件下 APS 与 AST 未发生有效自组装,未能形成稳定的纳米聚集体。

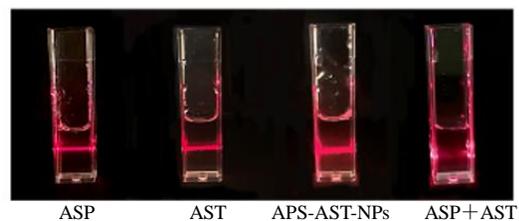


图 2 丁达尔效应图

Fig. 2 Tyndall effect diagram

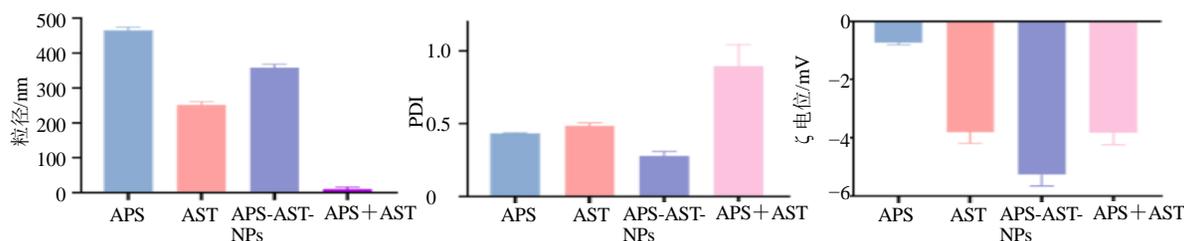
2.4 APS-AST-NPs 的物理表征

2.4.1 粒径、多分散指数 (PDI)、 ζ 电位 精密移取“2.3”项下 4 种溶液 (质量浓度均为 $13.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 各 1 mL,分别置于样品池中。检测各体系的粒径、PDI 和 ζ 电位,每个样品平行检测 3 次,取平均值。

结果如图 3 所示,APS-AST-NPs 的平均粒径为 $(353.00 \pm 10.18) \text{ nm}$,介于 AST ($254.00 \pm 5.02) \text{ nm}$ 和 APS ($459.00 \pm 2.26) \text{ nm}$ 之间,显著区别于 APS+AST 物理混合物。更重要的是,APS-AST-NPs 的 PDI 更小,表明 APS 与 AST 通过自组装形成的聚集体粒径分布更均一,体系分散性更稳定;同时其 ζ 电位值明显降低,进一步证实自组装过程增强了聚集体的胶体稳定性,减少了颗粒间团聚的风险。

APS+AST 物理混合物的粒径小于 APS-AST-NPs,其原因可从两方面解释:一方面,尽管该体系质量浓度与其他体系一致,但 APS 与 AST 仅为物理分散,分子间有效碰撞频率低、相互作用弱^[6];另一方面,实验未预留充分的自组装反应时间,导致观测时段内二者仍处于高度分散的分子状态,未能有效形成尺寸较大的稳定聚集体。

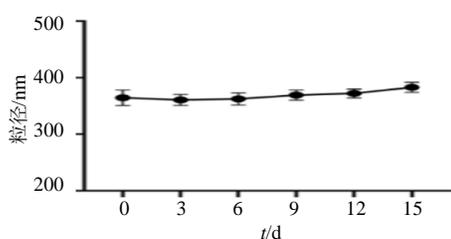
与之相反,APS-AST-NPs 是通过氢键、疏水作

图 3 粒径、PDI、 ζ 电位 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 3 Particle size, PDI, and ζ potential ($\bar{x} \pm s, n=3$)

用等非共价相互作用有序自组装形成的纳米颗粒，具有更完整的包覆结构，因此呈现更大粒径。这种粒径差异本质上反映了“物理混合”与“自组装纳米技术”在中药制剂中的核心区别，自组装形成的有序结构可减少药物在体内非靶组织的分布，同时提升靶部位药物浓度，这也是 APS-AST-NPs 有望实现“增效减毒”的重要机制之一。

2.4.2 储存稳定性 为进一步评估 APS-AST-NPs 的储存稳定性，将其置于室温避光条件下储存，连续 2 周，每周固定时间取样，监测粒径变化。

APS-AST-NPs 的稳定性监测结果 (图 4) 显示，在连续 2 周的室温避光储存期间，其粒径未发生统计学意义上的变化，说明该纳米聚集体具有良好的长期储存稳定性，为后续体内实验及制剂开发提供了可行性基础。

图 4 储存稳定性考察 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Fig. 4 Storage stability ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.4.3 紫外光谱分析 取质量浓度为 $13.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 APS、AST、APS-AST-NPs 溶液。使用可见光-紫外光谱进行全波长扫描。观察并比较光谱的变化，分析是否存在相互作用引起的吸收峰位移或强度变化。

如图 5 所示，APS 在 300 nm 处有明显的吸收峰，AST 在 318 nm 和 323 nm 处有明显吸收峰，APS-AST-NPs 在 301、308、313 nm 处有紫外吸收，包含了 APS 和 AST 的紫外吸收，但峰值发生蓝移，

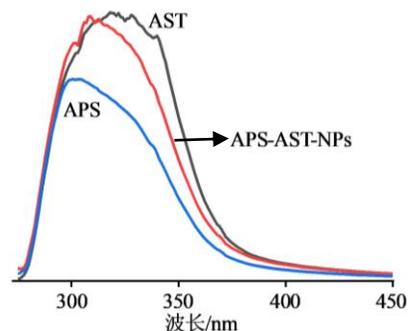


图 5 紫外-可见吸收光谱图

Fig. 5 Ultraviolet-visible absorption spectra graph

进一步证明 APS 和 AST 可自组装形成聚集体。

2.4.4 傅里叶红外光谱 (FT-IR) 分析 分别制备质量浓度为 $13.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 APS、AST、APS-AST-NPs 溶液，经冷冻干燥后研磨成为粉末。设置分辨率 4 cm^{-1} ，扫描次数 32 次，记录样品的红外光谱。通过分析分子间相互作用导致的化学键变化，确定自组装过程中官能团的参与情况。

如图 6 所示，APS 羟基在 3310 cm^{-1} 处存在伸缩振动峰， 1078 cm^{-1} 和 1039 cm^{-1} 处为糖苷键 C-O 伸缩振动， 858 cm^{-1} 处为糖骨架的振动。AST 羟基在 3292 cm^{-1} 处存在伸缩振动峰，皂苷元特征振动峰 (1664 cm^{-1} ，归属于 C=O 伸缩振动)， 1415 cm^{-1} 和 1325 cm^{-1} 处为 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-$ 的变形振动，以及较弱的糖苷键 C-O-C 伸缩振动峰 (1044 cm^{-1} ， 985 cm^{-1})。在 APS-AST-NPs 中，羟基伸缩振动峰由 3292 cm^{-1} 向低波数方向位移至 3287 cm^{-1} ，这一特征性的红移 (向低波数移动) 表明 APS 与 AST 分子间发生了氢键相互作用，导致羟基基团的电子云密度和键强度发生变化。

2.4.5 TEM 观察 分别取适量平衡后的 APS、AST、APS-AST-NPs 溶液，滴在碳膜覆盖的铜网上，滴加质量分数为 1%~2% 磷钨酸溶液进行负染色，静置 20 min。染色完成后，用滤纸吸去多余染液，样品

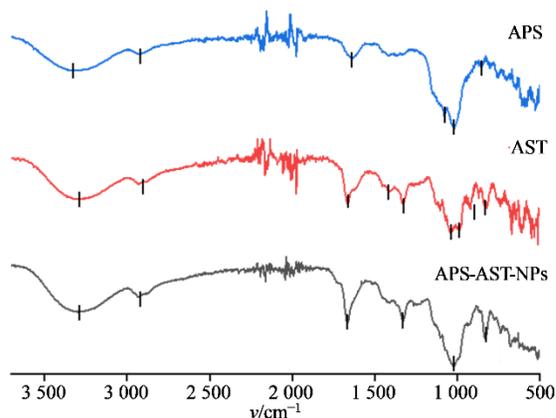


图 6 FT-IR 曲线
Fig. 6 FT-IR curves

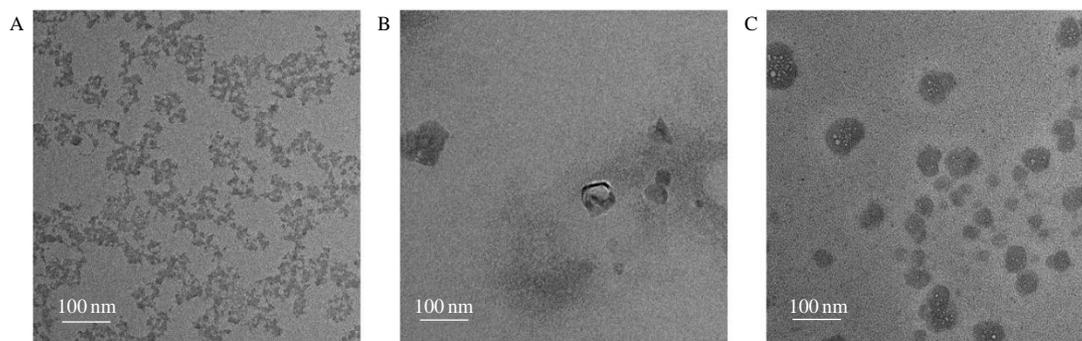


图 7 APS (A)、AST (B)、APS-AST-NPs (C) 的 TEM 图
Fig. 7 TEM images of APS(A), AST(B), APS-AST-NPs (C)

2.5 APS-AST-NPs 的化学表征

2.5.1 APS-AST-NPs 总多糖定量分析 采用苯酚-硫酸法检测总多糖含量。精密称取 10.0 mg 的无水葡萄糖，置于 10 mL 量瓶中，用蒸馏水溶解并定容，配制质量浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的葡萄糖标准储备液。精密量取不同体积的标准储备液于试管中，补加蒸馏水至相同体积；向每支试管中迅速加入 5% 的苯酚 1 mL 和浓硫酸 5 mL，充分混匀后，置于沸水浴中反应 15 min；取出试管，自然冷却至室温，采用紫外-可见分光光度法测定各管在 488 nm 处的吸光度。以葡萄糖的质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，拟合总多糖标准曲线为 $Y=4.1393X+0.3414$ ， $r=0.9914$ 。将待测 APS-AST-NPs 配制质量浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，精确吸取 1 mL 加入试管中，按照上述测定标准液的方法，平行测定 3 次，计算平均值；将平均值代入标准曲线回归方程，计算得到 APS-AST-NPs 中总多糖的质量分数为 $620 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。

2.5.2 APS-AST-NPs 总皂苷定量分析 采用香草

于室温下初步干燥后，再转移至真空中进一步干燥 12 h。在 200 kV 加速电压下观察各体系自组装的微观形态。

TEM 结果显示 (图 7)，APS 单独存在时，易形成不规则的颗粒、团簇或链状聚集结构 (图 7-A)；AST 则倾向于自组装为粒径在 100~200 nm 形成纳米聚集体 (图 7-B)。而当 APS 与 AST 相互作用后，体系可形成具有明确结构的球形聚集体，且形态大小不均一 (图 7-C)。进一步分析可知，随着体系质量浓度从 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 升高至 $9 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，聚集体由单分散的小型颗粒逐步转变为多分散的较大颗粒，这一现象直观反映出 APS 与 AST 在组装过程中存在动态演变过程。

醛冰醋酸-高氯酸法检测总皂苷含量。精密称取黄芪甲苷对照品 4 mg，置于 2 mL 量瓶中，用甲醇溶解并定容，配制质量浓度为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的黄芪甲苷标准储备液。精密量取不同体积的标准液于试管中，60 °C 水浴中加热蒸干；向每支试管中加入相同体积的 5% 香草醛冰醋酸溶液和高氯酸溶液，摇匀后置于 60 °C 水浴加热 15 min；迅速取出试管，转移至冰水浴中冷却至室温以终止反应。随后加入等体积的甲醇混匀；采用可见分光光度计在最大吸收波长下测定各管吸光度值。以黄芪甲苷的质量浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线为 $Y=0.0015X+0.0576$ ， $r=0.9967$ 。将待测 APS-AST-NPs 配制质量浓度为 $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液，精确吸取 1 mL 加入试管中，按照上述测定标准液的方法，平行测定 3 次，计算平均值；将平均值代入标准曲线回归方程，计算得到 APS-AST-NPs 中总皂苷的质量分数为 $320 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 。

2.5.3 APS-AST-NPs 的定性分析

(1) 样本制备: 将 APS-AST-NPs 用 50% 甲醇水溶液溶解, 配制成质量浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的分散液; 将此分散液以 $13\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液; 将上清液置于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷藏静置过夜, 次日经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

(2) 色谱条件: 采用 ACQUITY UPLC HSS T₃ 色谱柱 ($100 \text{ mm} \times 2.4 \text{ mm}$, $1.8 \mu\text{m}$); 流动相为乙腈 (A) -0.1% 甲酸水 (B), 梯度洗脱 0~10 min, 95%~90% B; 10~15 min, 90%~85% B; 15~21 min, 85%~75% B; 21~24 min, 75%~70% B; 24~27 min, 70%~65% B; 27~30 min, 65%~60% B; 30~32 min, 60%~30% B; 32~35 min, 30%~1% B; 35~45 min, 1% B; 45~47 min, 1%~95% B; 体积流量 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量 $3 \mu\text{L}$; 检测波长 254 nm 。

(3) 质谱条件: 采用 HESI 离子源, 碰撞能量

为 12.5、25、37.5 eV。加热器温度 $300 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 毛细管温度 $320 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 鞘气体积流量 35 arb, 辅助气体积流量 10 arb。扫描模式为 Full Scan, 采集模式为正、负离子切换, 采集范围 m/z 100~1 500。

(4) 数据分析: 建立黄芪化学成分本地数据库, 将采集到的高分辨质谱数据导入 SCIEX OS 软件, 将本地数据库中收录的对照品的化学名称、分子式导入 Analytics 功能下的搜索列表, 并设置质量误差、同位素丰度比、数据库匹配得分等关键参数, 建立标准化搜索方法; 通过与数据库的二级碎片离子峰、二级质谱图进行对比鉴定 APS-AST-NPs 的化学成分。

APS-AST-NPs 的 HPLC-MS 基峰强度色谱 (BPC) 图如图 8 所示。通过与黄芪本地数据库中化学成分的对标分析, 共鉴定出 39 种化合物, 其中包含 19 种皂苷类成分, 具体信息见表 1。

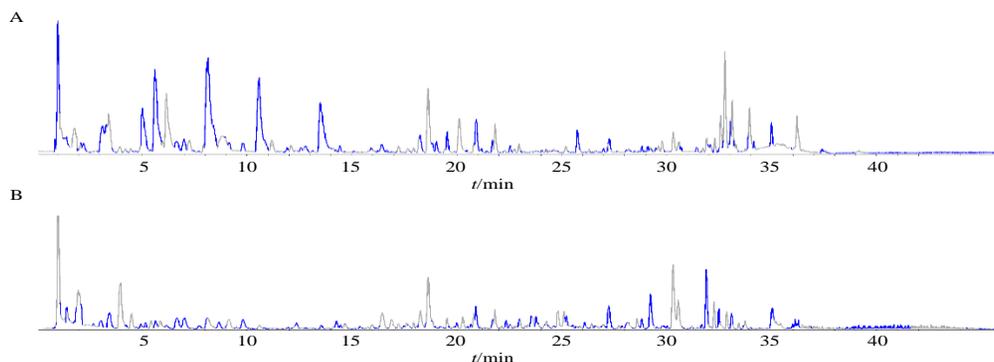


图 8 APS-AST-NPs 的正离子模式 (A)、负离子模式 (B) BPC 图

Fig. 8 BPC plots of APS-AST-NPs in positive ion mode (A) and negative ion mode (B)

表 1 APS-AST-NPs 的 HPLC-MS 鉴定结果

Table 1 HPLC-MS identification results of APS-AST-NPs

| 序号 | 英文名称 | 中文名称 | 分子式 | <i>t</i> /min | <i>m/z</i> | 碎片离子 | 误差 ($\times 10^{-6}$) | 模式 |
|----|----------------------------------|-------------------------|---|---------------|------------|---|----------------------------|---------------------------|
| 1 | syringaresinol | 丁香脂素 | $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_8$ | 20.813 | 417.155 5 | 166.024 8、137.027 6 | 1.4 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |
| 2 | astrapterocarpan and isomer | 黄芪紫橐烷苷和同分异构体 | $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$ | 24.272 | 299.092 5 | 284.063 9、269.046 7、 241.049 3 | 2.5 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |
| 3 | pratensein-7- <i>O</i> -Glc | 红车轴草素-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 | $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_{11}$ | 15.965 | 461.109 8 | 299.056 6、284.032 8 | 0.0 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |
| 4 | isomucronulatol | 异芒果柄花素 | $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_5$ | 24.908 | 301.108 1 | 286.083 1、271.064 4 | 0.1 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |
| 5 | isomucronulatol-7- <i>O</i> -Glc | 异芒果柄花-7- <i>O</i> -葡萄糖苷 | $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ | 24.910 | 463.161 0 | 301.107 3、271.063 2、 179.070 0、135.045 3、 121.029 0 | 0.7 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |
| 6 | calycosin | 毛蕊异黄酮 | $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$ | 18.640 | 283.061 2 | 268.038 4、251.036 3、 239.036 4、184.054 4、 148.016 1、135.010 7、 120.027 7 | 1.8 | $[\text{M}-\text{H}]^{-}$ |

表 1 (续)

| 序号 | 英文名称 | 中文名称 | 分子式 | <i>t</i> /min | <i>m/z</i> | 碎片离子 | 误差 ($\times 10^{-6}$) | 模式 |
|----|-------------------------------|----------------------|---|---------------|------------|---|----------------------------|------------------------|
| 6 | calycosin | 毛蕊异黄酮 | C ₁₆ H ₁₂ O ₅ | 18.638 | 285.075 7 | 270.053 1、253.049 5、 225.055 4、213.056 5、 137.024 2 | 0.8 | [M+H] ⁺ |
| 7 | fomononetin | 芒柄花素 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 22.984 | 267.066 3 | 252.042 5、251.036 6、 224.048 9、223.040 6、 195.049 4、132.022 5 | 2.7 | [M-H] ⁻ |
| | | | | 22.973 | 269.080 8 | 237.054 6、213.091 5、 197.061 8、118.040 9 | 0.9 | [M+H] ⁺ |
| 8 | pratensein | 红车轴草素 | C ₁₆ H ₁₂ O ₆ | 21.324 | 299.056 1 | 284.032 9、227.038 1 | 0.1 | [M-H] ⁻ |
| 9 | astragaloside VIII | 黄芪皂苷 VIII | C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇ | 31.926 | 911.501 0 | 911.511 0、908.623 5 | 5.9 | [M-H] ⁻ |
| 10 | soyasaponin I | 大豆皂苷 I | C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈ | 31.940 | 941.511 5 | 923.529 9、615.408 6、 205.071 9 | 4.9 | [M-H] ⁻ |
| 11 | astragaloside IV | 黄芪皂苷IV | C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄ | 30.309 | 783.453 6 | 605.402 8、587.392 7、 473.361 9、455.351 4、 437.341 5、419.331 0、 297.221 3 | 0.7 | [M+H] ⁺ |
| 12 | askenoside G | — | C ₁₇ H ₁₀ O ₁₈ | 27.608 | 931.527 2 | 769.497 7、769.480 6 | 4.9 | [M-H] ⁻ |
| 13 | cyclolehmanside C | — | C ₁₈ H ₁₀ O ₂₀ | 28.171 | 975.517 0 | 975.513 9、813.469 0 | 4.4 | [M-H] ⁻ |
| 14 | astragaloside V、 VI、VII | 黄芪皂苷 V、 VI、VII | C ₄₇ H ₇₈ O ₁₉ | 27.222 | 945.506 5 | 783.461 5、621.398 7 | 4.9 | [M-H] ⁻ |
| | | | | 29.224 | 991.511 9 | 945.517 6、783.462 5 | 4.7 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 15 | astragaloside III | 黄芪皂苷 III | C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄ | 30.555 | 783.453 6 | 783.391 7、783.459 6、 621.416 0、489.359 1 | 2.4 | [M-H] ⁻ |
| | | | | 30.309 | 785.468 2 | 455.351 4、437.341 5、 419.331 0 | 0.7 | [M+H] ⁺ |
| 16 | hydroxy-methoxy isoflavone | 羟基-甲氧基异黄 酮 | C ₁₆ H ₁₂ O ₄ | 22.984 | 267.066 3 | 252.042 5、223.040 6、 195.049 4、132.022 5 | 4.9 | [M-H] ⁻ |
| 17 | soyasaponin I-Rha | 大豆皂苷 I-鼠李 糖苷 | C ₄₂ H ₆₈ O ₁₄ | 32.867 | 795.451 3 | 615.390 5、457.368 4 | 2.0 | [M-H] ⁻ |
| 18 | calycosin-7-O-Glc | 毛蕊异黄酮-7-O- 葡萄糖苷 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀ | 18.635 | 447.128 6 | 285.076 0、270.052 5、 253.049 7、225.054 7 | 1.4 | [M+H] ⁺ |
| 19 | 6-methoxycoumarin | 6-甲氧基香豆素 | C ₁₀ H ₈ O ₃ | 14.662 | 177.054 6 | 149.040 5、145.027 6、 117.036 1 | 0.7 | [M+H] ⁺ |
| 20 | fomononetin-7-O- Glc-Xyl | 芒柄花素-7-O-葡 萄糖基木糖苷 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₃ | 22.303 | 561.158 7 | 267.063 5、252.042 8、 195.040 7、132.021 2 | 0.9 | [M-H] ⁺ |
| 21 | agroastragaloside IV | 黄芪甲苷IV | C ₄₉ H ₈₀ O ₂₀ | 28.82 | 989.531 5 | 437.343 7、455.353 9、 419.331 8、175.060 4 | 4.6 | [M+H] ⁺ |
| 22 | soyasapogenol E | 大豆皂苷元 E | C ₃₀ H ₄₈ O ₃ | 23.282 | 457.367 6 | 439.357 2、421.339 6 | 0.9 | [M+H] ⁺ |
| 23 | astragaloside II | 黄芪皂苷II | C ₄₃ H ₇₀ O ₁₅ | 31.88 | 827.478 7 | 455.352 9、437.341 7、 419.332 0、143.108 4 | 3.1 | [M+H] ⁺ |
| | | | | 31.881 | 871.469 7 | 825.473 2、765.450 7 | 6.7 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 24 | ononin | 芒柄花苷 | C ₂₂ H ₂₂ O ₉ | 22.983 | 475.124 6 | 267.067 3、252.043 2 | 1.5 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 25 | astramembranoside B | 膜荚黄芪皂苷 B | C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄ | 28.586 | 831.474 8 | 785.476 2、623.421 4、 491.378 8 | 4.4 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 26 | cyclocanthoside E | — | C ₄₁ H ₇₀ O ₁₄ | 28.378 | 831.476 2 | 785.462 5、653.401 7、 491.370 7 | 6.0 | [M+HCOOH] ⁻ |

表 1 (续)

| 序号 | 英文名称 | 中文名称 | 分子式 | <i>t</i> /min | <i>m/z</i> | 碎片离子 | 误差 ($\times 10^6$) | 模式 |
|----|---|--|---|---------------|-------------|---|-------------------------|------------------------|
| 27 | 9, 10-dimethoxy ptercarpan-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> - glucoside | 9,10-二甲氧基紫 檀烷-3- <i>O</i> - β - <i>D</i> - 葡萄糖苷 | C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀ | 24.272 | 507.150 8 | 461.145 5、299.092 8、 284.069 8、269.045 5、 241.050 7 | 0.9 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 28 | asemestioside A | 梭果萤芪花 A | C ₄₇ H ₇₈ O ₁₈ | 28.171 | 975.517 0 | 929.513 9、767.498 4 | 4.4 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 29 | astralanosaponin A ₂ | — | C ₄₄ H ₇₂ O ₁₆ | 31.427 | 901.480 2 | 855.490 8、813.479 7、 795.462 3 | 4.1 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 30 | agroastragalosides II | 黄芪甲苷II | C ₄₃ H ₇₂ O ₁₅ | 30.375 | 873.485 3 | 827.484 9、767.465 2 | 4.3 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 31 | agroastragalosides III | 黄芪甲苷III | C ₅₁ H ₈₂ O ₂₁ | 32.311 | 1 075.533 1 | 1 029.543 1、945.513 5 | 5.9 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 32 | astragaloside I | 黄芪皂苷I | C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆ | 32.858 | 913.480 2 | 867.485 4 | 5.6 | [M+HCOOH] ⁻ |
| 33 | formononetin-Glc- Glc | 芒柄花素二葡 萄糖苷 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄ | 22.281 | 593.186 5 | 269.081 6、237.056 6 | 0.0 | [M+H] ⁺ |
| 34 | Calycosin-7- <i>O</i> -Glc-6''- <i>O</i> -acetate | 毛蕊异黄酮-7- <i>O</i> -葡萄糖苷- 6''-乙酸酯 | C ₂₄ H ₂₄ O ₁₁ | 21.945 | 489.139 9 | 285.074 1、253.047 8、 225.052 1、137.022 9 | 0.8 | [M+H] ⁺ |
| 35 | formononetin-7- <i>O</i> - Glc-6''- <i>O</i> -malonate | 芒柄花素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖-6''- <i>O</i> -丙二酸酯 | C ₂₈ H ₂₄ O ₁₂ | 27.288 | 517.133 1 | 269.081 5、254.071 9、 213.100 9、143.104 0 | -0.2 | [M+H] ⁺ |
| 36 | lauryldiethanolamine | 月桂酸二乙醇 酰胺 | C ₁₈ H ₃₅ NO ₂ | 32.029 | 274.274 1 | 256.263 7、230.252 1、 212.238 0、106.089 8 | 1.2 | [M+H] ⁺ |
| 37 | astramembrannin II | 黄芪膜荚苷 II | C ₃₅ H ₅₈ O ₉ | 30.563 | 623.415 4 | 473.369 4、437.341 2、 419.332 1、243.182 1 | 1.3 | [M+H] ⁺ |
| 38 | cycloastragenol | 环黄芪醇 | C ₃₀ H ₅₀ O ₅ | 22.332 | 491.373 1 | 473.364 9、455.352 6、 437.365 9 | 0.0 | [M+H] ⁺ |
| 39 | cycloastragenol-H ₂ O | 环黄芪醇脱水 | C ₃₀ H ₄₈ O ₄ | 30.311 | 473.362 5 | 437.340 2、419.330 8、 401.312 6 | 0.8 | [M+H] ⁺ |

2.5.4 APS-AST-NPs 单糖组成考察 参考文献报道^[17-18]方法,对样品进行酸水解和衍生化,并采用 HPLC 分析单糖组成。

(1) 对照品溶液的制备: 分别精密称取 1 mg 甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、岩藻糖,置于同一 2 mL 离心管中,加入 1 mL 超纯水充分溶解并混匀,制得各单糖质量浓度均为 1 mg·mL⁻¹ 的混合对照品储备液。取上述混合对照品储备液 0.2 mL 至 2 mL EP 管中,依次加入 0.24 mL 0.5 mol·L⁻¹ 1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮 (PMP) 溶液与 0.2 mL 0.3 mol·L⁻¹ 氢氧化钠 (NaOH) 溶液,剧烈振摇使混合均匀后,置于恒温金属浴中,在 70 °C 条件下反应 120 min。反应结束后冷却至室温,加入 0.2 mL 0.3 mol·L⁻¹ 盐酸 (HCl) 溶液中和至中性;随后加入 1 mL 氯仿进行萃取,离心分层后弃去下层有机相,重复此萃取操

作 3 次以去除过量 PMP;收集上层水相,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得混合对照品溶液。

(2) 样品溶液的制备: 首先,按照“2.1.2”项方法制备 APS-AST-NPs 溶液 (13.5 mg·mL⁻¹),冷冻干燥后得到 APS-AST-NPs 冻干粉。精密称 APS、APS-AST-NPs 冻干粉各 10 mg,分别置于 2 mL EP 管中,各加入 3 mL 2 mol·L⁻¹ 三氟乙酸 (TFA) 溶液,振荡使样品充分溶解后密封管口,置于 120 °C 烘箱中恒温加热水解 2 h。水解完成后取出 EP 管,冷却至室温,将管内溶液全部转移至圆底烧瓶中;在减压蒸馏条件下,向烧瓶中反复加入少量甲醇并蒸干,以彻底去除残留的 TFA (直至烧瓶内无酸味残留)。

(3) 色谱条件: 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 型色谱柱;流动相为 50 mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钾缓冲液 (pH 7.0) (A) -乙

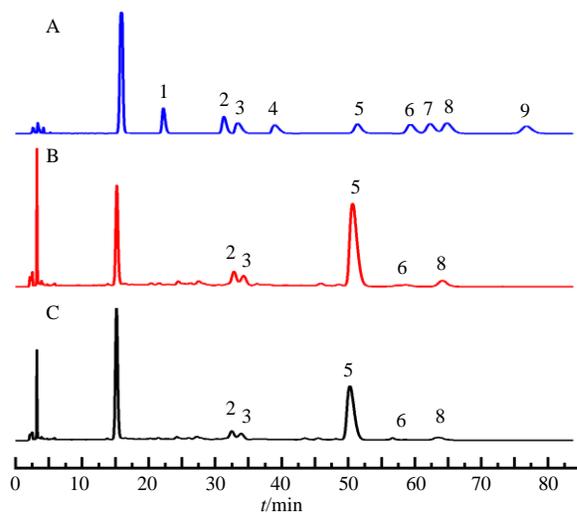
睛 (B); 体积流量为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$; 检测波长 250 nm ; 进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ 。

(4) 数据处理: 以混合对照品待测液的 HPLC 色谱图为参照, 确定各单糖衍生物的保留时间; 采用外标法, 以峰面积 (A) 计算样品中各单糖的物质的量 (n)。

$$n_{\text{样品}} = A_{\text{样品}} / A_{\text{标品}} \times n_{\text{标品}}$$

$n_{\text{样品}}$ 为样品中目标单糖的物质的量, $A_{\text{样品}}$ 为样品中目标单糖衍生物的峰面积, $A_{\text{标品}}$ 为对照品中目标单糖衍生物的峰面积, $n_{\text{标品}}$ 为对照品中目标单糖的物质的量

图 9-A 为 9 种标准单糖对照品衍生物的 HPLC 色谱图, 各单糖峰分离度良好, 可作为定性与定量参照。图 9-B、C 分别为 APS 和 APS-AST-NPs 样品待测液的 HPLC 色谱图。结果表明: APS 与 APS-AST-NPs 的单糖组成一致, 均由葡萄糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖 5 种单糖构成, 未检测到甘露糖、半乳糖醛酸、木糖、岩藻糖, 符合典型黄芪多糖的单糖组成特征; 定量结果显示, APS 中 5 种单糖的物质的量占比分别为葡萄糖 79.32%、鼠李糖 8.20%、葡萄糖醛酸 6.36%、半乳糖 1.68%、阿拉伯糖 4.44%; APS-AST-NPs 中 5 种单糖的物质的量占比分别为: 葡萄糖 81.09%、鼠李糖 7.48%、葡萄糖醛酸 6.37%、半乳糖 1.53%、阿拉伯糖 3.53%。



1-甘露糖; 2-鼠李糖; 3-葡萄糖醛酸; 4-半乳糖醛酸; 5-葡萄糖; 6-半乳糖; 7-木糖; 8-阿拉伯糖; 9-岩藻糖。
1-mannose; 2-rhamnose; 3-glucuronic acid; 4-galacturonic acid; 5-glucose; 6-galactose; 7-xylose; 8-arabinose; 9-fucose.

图 9 混合对照品 (A)、APS (B)、APS-AST-NPs 溶液 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 9 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A), APS (B), and APS-AST-NPs solution (C)

与 APS 相比, APS-AST-NPs 中葡萄糖的物质的量占比略有升高, 而鼠李糖、阿拉伯糖的占比略有下降, 半乳糖占比无明显变化。推测该差异可能源于两方面: 一是 AST 与 APS 在形成纳米聚集体的过程中发生相互作用, 可能掩盖了部分鼠李糖、阿拉伯糖残基, 导致其在酸水解过程中难以完全释放; 二是 AST 的存在可能对部分单糖的 PMP 衍生化效率或色谱保留行为产生轻微影响, 进而导致检测结果出现波动。

2.6 APS-AST-NPs 对心肾共损伤小鼠心肾功能的考察

2.6.1 动物分组与给药

将 30 只 SPF 级 BALB/c 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 5 组, 分别为对照组、模型组、APS+AST 组 [$0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (依据提取率 APS、AST 分别为 0.18 、 $0.09\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)]、APS-AST-NPs 组 ($0.27\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、黄芪组 [“2.1.1”项下黄芪提取液 $4.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (2 倍临床等效剂量)]^[3], 每组 6 只。除对照组 (ip 等体积 0.9% 氯化钠溶液) 外, 各给药组均通过 ip 阿霉素 ($1.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每周 2 次, 持续 6 周) 建立心肾综合征模型^[19]。造模结束 1 周后 (第 8 周), 连续 ig 给药 4 周。对照组和模型组给予等体积 0.9% 氯化钠溶液。处死前 1 d 进行心脏超声检测, 采集小鼠心脏、肾脏、血清样本冻存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。每组随机选取 3 只心脏和肾脏样本于多聚甲醛固定液中用于组织病理学分析。

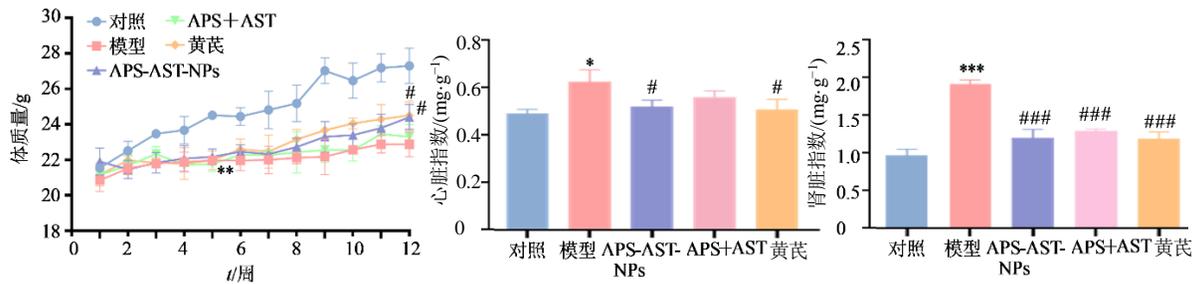
2.6.2 一般状态、体质量及心肾指数考察

对 Balb/c 小鼠进行一般情况检测, 每周称 BALB/c 小鼠体质量。对处死后采集的心脏和肾脏称质量, 计算心脏和肾脏指数。

$$\text{心脏指数} = \text{心脏质量} / \text{体质量}$$

$$\text{肾脏指数} = \text{肾脏质量} / \text{体质量}$$

实验期间, 对照组小鼠状态良好, 表现为活力正常、被毛光亮, 体质量呈稳定增长。造模后, 模型组小鼠出现聚集蜷缩及体质量减轻现象。适应期 (第 1 周) 各组小鼠体质量基线一致, 无显著差异。自第 2 周 ip 阿霉素起, 各组体质量虽均有所增加, 但模型组自第 5 周起体质量增长率低于对照组。至第 7 周造模结束时, 模型组体质量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 药物干预后, 与模型组相比, 各给药组小鼠体质量均有不同程度改善, 且 APS-AST-NPs 组回调效果优于 APS+AST 组, 与黄芪组相当 ($P > 0.05$)。结果见图 10。与对照组相比, 模型组小鼠心脏指数显著升高 ($P < 0.05$), 提示其可能存在心肌



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 10 小鼠体质量变化、心脏指数、肾脏指数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 10 Changes in mouse body weight, heart index, and kidney index ($\bar{x} \pm s, n=6$)

细胞肥大;肾脏指数亦显著升高 ($P < 0.001$), 推测可能与心输出量下降导致肾灌注不足, 进而引起肾小管上皮细胞肿胀、坏死及炎性渗出, 最终导致肾脏水肿相关。给药结束后, 与模型组比较, 各组小鼠均有不同程度改善, APS-AST-NPs 组心脏和肾脏指数显著降低 ($P < 0.05, 0.001$), 且其作用效果与黄芪组相当 ($P > 0.05$)。

2.6.3 心功能评价指标考察 采用心脏超声检测小鼠心功能指标, 包括左室射血分数 (LVEF)、左心室缩短分数 (LVFS)、心率 (HR)、心输出量 (CO) 和左心室前后壁舒张末期厚度 (LVAWd, LVPWd)、左心室前后壁收缩末期厚度 (LVAWs, LVPWs)、左心室舒张末期容积 (LVEDV) 左心室收缩末期容积 (LVESV), 结果见表 2。与对照组相比, 模型组小鼠呈现明显心功能异常: LVFS 和 LVEF 显著性降低 ($P < 0.001$), 提示心脏泵血能

力及心室收缩功能受损; HR 和 CO 亦显著下降 ($P < 0.001$), 反映全身血流灌注不足和血流动力学稳态失衡; LVPW 和 LVAW 显著变薄 ($P < 0.01, 0.001$), 提示长期心脏负荷可能导致心肌萎缩; LVESV 和 LVEDV 增大, 进一步印证左心室收缩功能减退, 上述心脏指标异常化, 提示造模成功。与模型组相比, 各给药组小鼠心功能指标均有改善, 表现为 CO、HR、LVEF、LVFS 显著升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), LVESV 和 LVEDV 减小。其中, APS-AST-NPs 组效果较优, 仅次于黄芪组, 提示 APS-AST-NPs 可能通过增强心肌收缩、减轻心室重构改善心功能。

为进一步验证心功能状态, 对小鼠血液样本进行血清学分析。将血液以 $5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min , 取上清, 采用 ELISA 试剂盒检测血清中心衰标志物 NT-proBNP 的含量。结果见图 11, 与模型组相比,

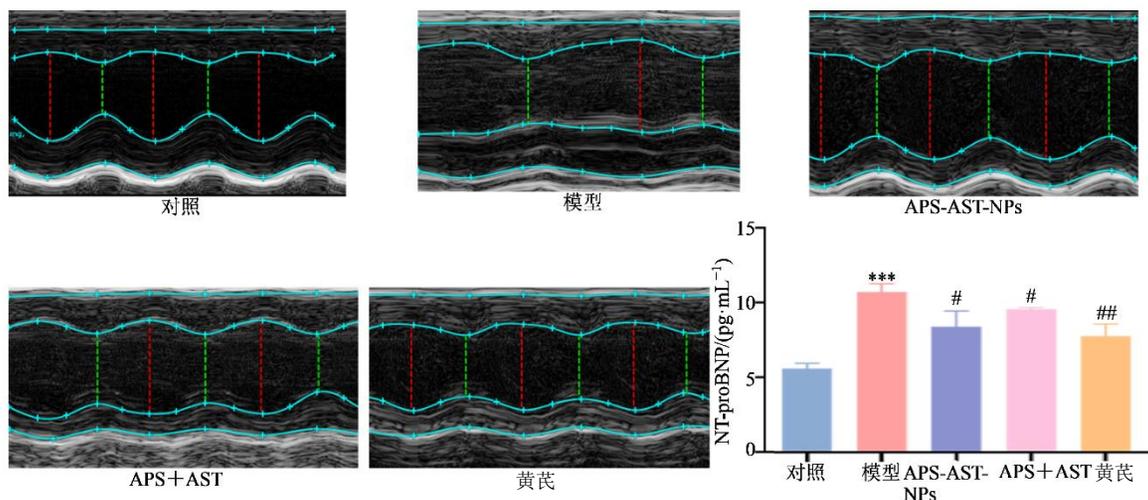
表 2 各组小鼠心电图超声检测结果

Table 2 Results of electrocardiogram and ultrasound examinations of each group of mice

| 组别 | HR/(次·min ⁻¹) | LVEF/% | LVFS/% | CO/(mL·min ⁻¹) | LVAWs/mm |
|-------------|---------------------------|-----------------|-----------------|----------------------------|---------------|
| 对照 | 439.82 ± 25.44 | 74.49 ± 1.32 | 40.88 ± 2.39 | 12.39 ± 0.86 | 0.12 ± 0.13 |
| 模型 | 285.36 ± 32.18*** | 40.30 ± 0.29*** | 20.83 ± 1.68*** | 4.85 ± 1.07*** | 0.14 ± 0.18** |
| APS-AST-NPs | 391.68 ± 8.67## | 62.41 ± 3.93### | 32.84 ± 2.72### | 11.56 ± 0.99### | 0.10 ± 0.12# |
| APS+AST | 375.22 ± 16.36## | 59.20 ± 2.47### | 30.69 ± 1.56## | 9.14 ± 1.48# | 0.12 ± 0.14# |
| 黄芪 | 424.63 ± 4.10## | 67.43 ± 8.54# | 39.91 ± 4.32## | 12.35 ± 1.72### | 0.07 ± 0.09# |
| 组别 | LVAWd/mm | LVPWs/mm | LVPWd/mm | LVESV/μL | LVEDV/μL |
| 对照 | 1.08 ± 0.10 | 1.57 ± 0.16 | 1.30 ± 0.09 | 12.31 ± 2.30 | 42.74 ± 1.60 |
| 模型 | 0.63 ± 0.04*** | 0.87 ± 0.11** | 0.79 ± 0.06*** | 19.59 ± 1.59* | 49.56 ± 7.29 |
| APS-AST-NPs | 0.96 ± 0.08# | 1.15 ± 0.19 | 0.95 ± 0.14 | 16.54 ± 2.25 | 46.90 ± 4.65 |
| APS+AST | 0.83 ± 0.14 | 1.03 ± 0.08 | 0.75 ± 0.08 | 19.12 ± 3.03 | 47.06 ± 5.07 |
| 黄芪 | 0.91 ± 0.10# | 1.20 ± 0.24 | 0.93 ± 0.12 | 11.75 ± 4.32 | 34.43 ± 7.83 |

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ 。
 *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group.

图 11 各组小鼠的心脏超声图和血清 NT-proBNP 含量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 11 Cardiac ultrasound images and serum NT-proBNP levels of each group of mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

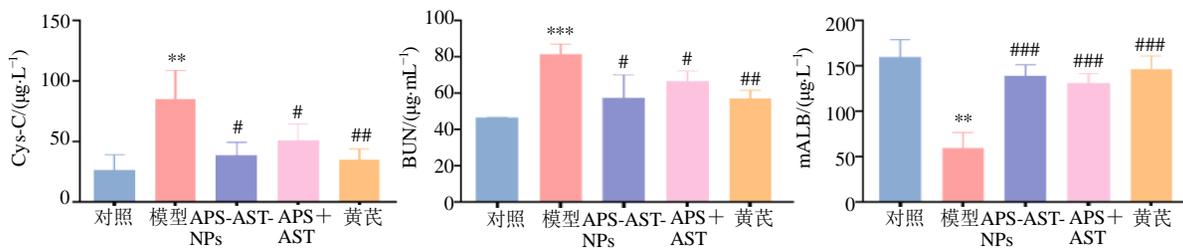
各给药组 NT-proBNP 含量均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且 APS-AST-NPs 组的降低幅度大于 APS+AST 组, 推测该差异与其更高的生物利用度及更优异的药学特性相关。

2.6.4 肾功能评价指标考察 小鼠血液样本以 $5\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清, 通过 ELISA 试剂盒检测生化指标检测 mALB、Cys-C、BUN 含量, 结果见图 12。

与对照组相比, 模型组小鼠血清中 Cys-C 显著升高 ($P < 0.01$), 作为评估肾小球滤过功能的敏感标志物, Cys-C 升高提示阿霉素损伤导致肾小球滤过膜通透性增加, 进而引发滤过功能下降; BUN 水平亦显著升高 ($P < 0.001$), BUN 是机体含氮代谢废物的主要成分, 需经肾脏排泄, 其水平升高表明肾功能受损后, 含氮废物排泄障碍并在血液中蓄积; 同时, mALB 水平明显降低 ($P < 0.01$), 生理状态下 mALB

可经肾小球滤过屏障进入原尿, 随后被肾小管重吸收, 血清 mALB 水平降低提示肾小球滤过屏障选择性破坏或肾小管重吸收功能受损, 导致 mALB 从尿液中异常流失增加。上述 3 项指标的协同变化, 不仅明确证实阿霉素成功诱导小鼠出现典型的肾功能损伤, 还与“2.6.3”项下所述的心功能损伤结果相互印证, 共同表明心肾共损伤模型已成功构建。

经 4 周药物干预后, 各组肾功能指标呈现差异化改善趋势。与模型组相比, APS-AST-NPs 组血清 Cys-C、BUN 显著降低 ($P < 0.05$), mALB 水平明显回升 ($P < 0.001$), 3 项指标均趋近对照组水平, 表明该组小鼠肾小球滤过功能、含氮废物排泄能力及肾小管重吸收功能均得到有效修复; APS+AST 组虽能一定程度降低 Cys-C、BUN 水平并提升 mALB 水平, 但改善幅度弱于 APS-AST-NPs 组; 黄芪组肾功能指标改善效果与 APS-AST-NPs 组无显著差异,



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ 。
 ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group.

图 12 血清 Cys-C、BUN、mALB 含量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 12 Serum levels of Cys-C, BUN, and mALB ($\bar{x} \pm s, n=6$)

证明 APS-AST-NPs 的肾保护作用已达到临床常用心肾保护药物的水平。

综合上述指标变化特征,推测 APS-AST-NPs 的肾保护作用可能通过以下途径实现:一是保护肾小球滤过屏障完整性,减少 mALB 等小分子蛋白的异常滤过与流失,维持血清 mALB 水平稳定;二是改善肾小球滤过功能,降低 Cys-C 水平,恢复肾小球对代谢废物的滤过效率;三是增强肾小管重吸收功能,促进对原尿中 mALB 等有用物质的重吸收,同时辅助含氮废物的排泄,最终实现肾功能的整体修复。

2.6.5 小鼠心、肾组织病理学形态观察 取“2.6.1”下各组心脏、肾脏组织适量,进行清洗、脱水、浸蜡、包埋、切片并贴附于载玻片上,使用苏木精-伊红染色,并于光镜下观察大鼠心脏、肾脏组织的纤

维化情况,结果如图 13 所示。

对照组心肌细胞排列紧密、形态正常,未见肿胀,间质无炎性浸润或纤维化改变,细胞核分布均匀;肾小管上皮细胞排列整齐,肾小球结构规则,基底膜厚度正常,肾间质结构清晰、无炎症浸润。模型组心肌细胞显著肥大、排列紊乱,间质明显炎性浸润及结构破坏;肾小管上皮细胞排列紊乱、部分肿胀,肾小球形态异常,肾间质见大量炎症细胞浸润,胶原纤维排列紊乱,基质分布异常。APS-AST-NPs 组心肌及肾组织结构改善显著,细胞排列较为整齐,肿胀及炎性浸润明显减轻,提示其具有良好的心肾保护作用。APS+AST 组心肾组织损伤较模型组减轻,但细胞排列仍紊乱,炎性浸润改善程度不及 APS-AST-NPs 组。

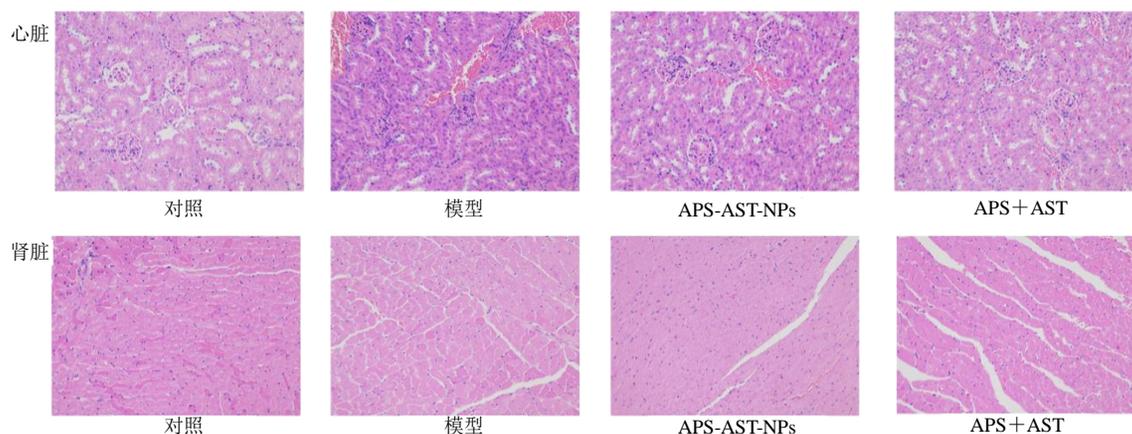


图 13 心脏组织和肾脏组织的 HE 染色图 (×200)

Fig. 13 HE staining of cardiac tissue and renal tissue (×200)

2.7 统计学处理

使用 GraphPad Prism 8 软件对上述检测指标进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 判定组间存在显著差异。

3 讨论

“心肾不交”作为中医核心病机理论^[20],深刻阐释了心(火)与肾(水)的辩证关系,生理状态下二者“水火既济”、病理状态下则“水火失济”,心肾阴阳失衡、升降失调导致的功能互用失常^[21]。黄芪作为经典补气要药,其“补气升阳、健脾益心、利水消肿”的功效与“交通心肾、调和阴阳”的治则高度契合:通过补益心脾气血以固护脏腑之本,升举阳气以调畅全身气机,助肾气化以运化水湿,从根本上改善心肾不交的病理状态。临床研究亦证实,黄芪及其复方制剂(如黄芪益肾颗粒)可有效

缓解心肾不交证的心悸、气短、水肿等核心症状,并改善相关心肾功能指标^[22-23],为黄芪治疗 CRS 提供了坚实的临床依据。

黄芪治疗心肾损伤的药效物质基础主要集中于其核心活性成分 AST 和 APS,二者在器官保护层面存在明确协同作用。其中,AST 作为黄芪发挥利水消肿功效的关键成分^[3],其作用机制主要通过调控 PI3K/Akt 等信号通路实现:一方面调节细胞自噬与凋亡平衡,显著减少肾脏足细胞凋亡^[24],保护肾小球滤过屏障完整性;另一方面抑制心肌细胞凋亡^[25],维持心肌组织结构与收缩功能^[26]。APS 则作为重要的免疫调节与器官保护成分,其作用机制体现在两方面:一是抑制铁死亡并减轻线粒体损伤,进一步保护肾足细胞^[26];二是提高细胞自噬功能,辅助减轻心肌细胞凋亡^[27-28]。此外,二者在心力衰竭模型中均被证

实可抑制心肌细胞凋亡、改善心功能^[6-9]，共同构成了黄芪改善心肾共损伤的物质基础与药理机制。

值得注意的是，中药煎煮过程中活性成分易自发组装形成纳米聚集体，这一现象被认为是中药“增效减毒”的重要现代科学内涵。此类纳米聚集体的优势主要体现在四方面：其一，可包裹疏水性成分（如 AST），提升其在水相中的溶解度，解决口服吸收率低的问题，从而提高生物利用度；其二，改变药物动力学特征，延长体内循环时间，增强药效持续性；其三，作为天然靶向递送系统，可将多成分精准递送至病变靶点，契合中药多靶点起效的复杂机制；其四，通过包裹刺激性成分，降低其对胃肠道的直接刺激，实现“减毒”效果^[13,29-30]。课题组前期研究发现，AST 虽对阿霉素诱导的肾病具有显著改善作用，但低水溶性与低口服生物利用度限制了其临床应用^[31]。基于此，本研究利用 APS 的自组装特性，以 APS 为天然载体，通过氢键等非共价相互作用包裹 AST，构建形成 APS-AST-NPs。该策略的核心优势在于：APS 的亲水性与负电荷可形成稳定凝胶体系，有效提升 AST 的溶解度与胃肠稳定性，突破其吸收障碍。动物实验结果证实，APS-AST-NPs 对阿霉素诱导的心肾共损伤小鼠的保护作用显著优于单一成分，可改善心功能指标、降低肾损伤标志物水平、提高肾小球滤过率，充分说明自组装纳米聚集体不仅是高效药物递送系统，更能通过维持 AST 与 APS 的空间邻近性、强化二者协同作用，放大治疗效应。这一过程模拟了中药煎煮中活性成分自发形成聚集体的天然现象，与中医药“多成分、多靶点、整体调节”的核心理念高度契合^[11-14]，为天然药物克服生物利用度限制、发挥更佳疗效提供了关键机制解释。

本研究的核心价值在于，通过 APS 与 AST 的非共价自组装，成功构建结构明确、可定量分析的纳米聚集体，推动中药“增效减毒”机制研究从传统“模糊经验”迈向现代“科学实证”。研究过程中，结合纳米制剂学（增溶、延长体内循环）、超分子化学（非共价相互作用）等现代学科理论，将中药煎煮过程中的“成分协同”转化为可被现代科学解析的语言体系。同时，APS-AST-NPs 以药材自身成分为载体包裹有效成分，规避了合成载体材料的毒性风险，进一步强化了中药“天然安全”的属性。动物实验亦证实，该纳米聚集体不仅比单一成分更能改善心肾损伤，还可降低刺激性成分对胃肠道的直

接刺激，用实证数据支撑了中药“增效减毒”的传统内涵。这种“天然成分自组装”的策略，将中药传统煎煮的“工艺经验”与现代新药研发技术有机结合，为解决中药“低生物利用度”等临床痛点提供了绿色、实用的制剂新范式，也为“煎煮聚集体”成为中药现代化的核心研究方向奠定了基础。

实验结果显示，相较于 APS 与 AST 的物理混合物，APS-AST-NPs 对阿霉素诱导的心肾共损伤模型小鼠展现出显著增强的治疗效果，证实纳米组装体可有效提升药物的生物利用度与药效活性。在物质基础研究层面，通过 LC-MS 技术成功鉴定出聚集体的主要皂苷类成分，并借助液相色谱技术完成聚集体的指纹图谱构建与单糖组成分析。然而，研究仍存在待深入探索的方向：一是多糖与皂苷之间具体的自组装机制（如非共价作用的类型与强度、组装过程的调控因素）需进一步解析；二是为全面评估该纳米递药系统的临床应用潜力，后续拟采用人工胃肠液模拟体系，系统考察 APS-AST-NPs 在不同消化环境中的溶解特性与稳定性。本研究结果将为阐明黄芪治疗心肾共损伤的作用机制、开发新型中药纳米药物提供重要的实验依据与理论支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张定一, 李海涛, 谢航, 等. 基于“心肾相交”探讨冠心病心力衰竭与心肾综合征的关系 [J]. 中医学报, 2025, 40(5): 976-981.
Zhang D Y, Li H T, Xie H, et al. Relationship between coronary heart failure and cardiorenal syndrome based on “heart-kidney interaction” [J]. Acta Chin Med, 2025, 40(5): 976-981.
- [2] 李彦, 周胜元, 李晴晴, 等. 从中西医结合角度探讨心肾综合征的发病机制 [J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(8): 80-83.
Li Y, Zhou S Y, Li Q Q, et al. Discussion on the pathogenesis of cardiorenal syndrome from the perspective of integrated traditional Chinese and western medicine [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2019, 40(8): 80-83.
- [3] 张王宁. 基于谱效相关辨识黄芪在防己黄芪汤干预阿霉素肾病大鼠的药效成分群 [D]. 太原: 山西大学, 2019.
Zhang W N. Identification of pharmacodynamic components of *Astragalus membranaceus* in the intervention of doxorubicin nephropathy rats in Fangji

- Huangqi Decoction based on spectral correlation [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2019.
- [4] 王哲, 马定财, 王毛毛, 等. 黄芪及其活性成分防治阿尔茨海默病机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 2094-2100.
- Wang Z, Ma D C, Wang M M, et al. Research progress on mechanism of *Astragalus Radix* and its active ingredients in prevention and treatment of Alzheimer's disease [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(6): 2094-2100.
- [5] 牛倩芸. 基于代谢组学技术的黄芪抗心衰作用机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2015.
- Niu Q Y. Study on the anti-heart failure mechanism of *Astragalus membranaceus* based on metabolomics technology [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2015.
- [6] 尤旭, 朱小芳, 胡运鹏, 等. 黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌细胞凋亡和线粒体膜电位的影响 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(9): 1218-1223.
- You X, Zhu X F, Hu Y P, et al. Effects of total astragalosides on cardiomyocyte apoptosis and mitochondrial membrane potential in rats with heart failure [J]. Basic Clin Med, 2020, 40(9): 1218-1223.
- [7] 关鹏, 徐丙元, 李亚青, 等. 黄芪多糖对阿霉素诱导的心力衰竭模型大鼠的保护作用 [J]. 解剖学报, 2013, 44(5): 685-688.
- Guan P, Xu B Y, Li Y Q, et al. Protective effect of *Astragalus* polysaccharides in model rats of doxorubicin induced cardiac injury [J]. Acta Anat Sin, 2013, 44(5): 685-688.
- [8] 闫俊元, 钟鑫勤, 赵玉翠, 等. 基于代谢组学和肠道菌群研究黄芪甲苷对心肌梗死大鼠的作用 [J]. 中草药, 2024, 55(6): 1988-2001.
- Yan J Y, Zhong X Q, Zhao Y C, et al. Effect of astragaloside IV on myocardial infarction in rats based on metabolomics and intestinal flora [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(6): 1988-2001.
- [9] 田小超, 刘玉, 方敬, 等. 黄芪甲苷通过抑制 IL-17 信号通路改善糖尿病心肌病小鼠心功能 [J]. 中草药, 2024, 55(21): 7335-7346.
- Tian X C, Liu Y, Fang J, et al. Protective effect and mechanism of astragaloside IV on diabetic cardiomyopathy by inhibiting IL-17 signaling pathway [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(21): 7335-7346.
- [10] 王琪, 郭小萌, 倪乾坤, 等. 中药水煎液自组装聚集体研究面临的问题初探 [J]. 药学报, 2024, 59(1): 94-104.
- Wang Q, Guo X M, Ni Q K, et al. Challenges in the study of self-assembled aggregates in decoction of traditional Chinese medicine: A preliminary review [J]. Acta Pharm Sin, 2024, 59(1): 94-104.
- [11] 宋金菁, 齐天昊, 岳伟胜, 等. 基于中药汤剂中超分子聚集体形成的炮制机制研究新思路 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(18): 5102-5112.
- Song J J, Qi T H, Yue W S, et al. A new idea for studying processing mechanism based on formation of supramolecular aggregates in traditional Chinese medicine decoctions [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(18): 5102-5112.
- [12] Xu Y D, Chen Z J, Hao W, et al. Berberine and magnolol exert cooperative effects on ulcerative colitis in mice by self-assembling into carrier-free nanostructures [J]. J Nanobiotechnology, 2024, 22(1): 538.
- [13] Yang B, Wu X C, Zeng J Q, et al. A multi-component nano-co-delivery system utilizing *Astragalus* polysaccharides as carriers for improving biopharmaceutical properties of *Astragalus* flavonoids [J]. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 6705-6724.
- [14] Wang Z J, Li W, Lu J H, et al. Revealing the active ingredients of the traditional Chinese medicine decoction by the supramolecular strategies and multitechnologies [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115704.
- [15] 杨乾方, 王帆, 叶婷, 等. 黄芪多糖提取工艺、化学结构及药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(12): 4069-4081.
- Yang Q F, Wang F, Ye T, et al. Research progress on extraction technology, chemical structure and pharmacological action of *Astragalus* polysaccharides [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(12): 4069-4081.
- [16] Williams H D, Trevaskis N L, Charman S A, et al. Strategies to address low drug solubility in discovery and development [J]. Pharmacol Rev, 2013, 65(1): 315-499.
- [17] 王莹, 王赵, 安锦华, 等. 黄芪多糖对照品标化方法研究 [J]. 中草药, 2017, 48(23): 4897-4903.
- Wang Y, Wang Z, An J H, et al. Study on standardization method of *Astragalus* polysaccharide reference substance [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(23): 4897-4903.
- [18] 曹宇欣. 基于多糖分子量分布和免疫活性比较的黄芪质量研究 [D]. 太原: 山西大学, 2020.
- Cao Y X. Comparison of molecular weight distribution and immune activity of polysaccharides on the quality of *Astragalus membranaceus* [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2020.
- [19] Furcea D M, Agrigoroaie L, Mihai C T, et al. 18F-FDG PET/MRI imaging in a preclinical rat model of cardiorenal syndrome-an exploratory study [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(23): 15409.
- [20] 姚涛, 胡志希, 李琳, 等. “心肾不交”理论探讨 [J].

- 中国中医药信息杂志, 2021, 28(2): 107-109.
- Yao T, Hu Z X, Li L, et al. Discussion on theory of disharmony between heart and kidney [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2021, 28(2): 107-109.
- [21] 李晓芸, 杨柏灿. 心肾相交实质探析 [J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(9): 31-34.
- Li X Y, Yang B C. Discussion on the interaction of heart and kidney [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2014, 48(9): 31-34.
- [22] 李德军, 肖根发, 李国彬, 等. 黄芪益肾颗粒对阳虚证 II 型心肾综合征的临床疗效 [J]. 中国医药科学, 2024, 14(20): 74-77, 118.
- Li D J, Xiao G F, Li G B, et al. Clinical efficacy of Huangqi Yishen Granules in treating type II cardiorenal syndrome of Yang deficiency syndrome [J]. China Med Pharm, 2024, 14(20): 74-77, 118.
- [23] 李宁荫, 李秀丽, 翟晓萍, 等. 黄芪对高血压病合并代谢综合征患者早期心肾保护的临床研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 4051-4059.
- Li N Y, Li X L, Zhai X P, et al. Effects of Mongolia *Astragalus membranaceus* in protecting early cardiac and nephritic functions of patients of hypertension with metabolic syndrome [J]. China J Chin Mater Med, 2016, 41(21): 4051-4059.
- [24] Lu R R, Chen J Q, Liu B H, et al. Protective role of Astragaloside IV in chronic glomerulonephritis by activating autophagy through PI3K/Akt/AS160 pathway [J]. Phytother Res, 2020, 34(12): 3236-3248.
- [25] 王林燕, 李超, 马明怡, 等. 基于 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路探索黄芪甲苷对慢性心力衰竭大鼠心肌肥厚的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(1): 57-61.
- Wang L Y, Li C, Ma M Y, et al. Effects of Astragaloside IV on cardiac hypertrophy in rats with chronic heart failure based on PI3K/Akt/GSK3 β signaling pathway [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2024, 40(1): 57-61.
- [26] 秦炜, 张宇. 黄芪多糖对糖尿病肾病足细胞铁死亡介导的线粒体损伤的影响 [J]. 中医学报, 2025, 40(2): 236-247.
- Qin W, Zhang Y. Effects of *Astragalus* polysaccharide on ferroptosis-mediated mitochondrial damage in diabetic nephropathic podocytes [J]. Acta Chin Med, 2025, 40(2): 236-247.
- [27] 侯赛红. 黄芪多糖通过自噬途径对糖尿病心病大鼠心肌细胞凋亡的影响 [D]. 青岛: 青岛大学, 2020.
- Hou S H. Effect of *Astragalus* polysaccharides on cardiomyocyte apoptosis in rats with diabetic cardiomyopathy through autophagy pathway [D]. Qingdao: Qingdao University, 2020.
- [28] Tian H Y, An L Z, Wang P W, et al. Review of *Astragalus membranaceus* polysaccharides: Extraction process, structural features, bioactivities and applications [J]. Chin Herb Med, 2025, 17(1): 56-69.
- [29] Putro J N, Soetaredjo F E, Lunardi V B, et al. Polysaccharides gums in drug delivery systems: A review [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 253(Pt 4): 127020.
- [30] Hu Q D, Tang X X, Long R, et al. Self-assembled nano delivery system of fenugreek polysaccharides: Effects on curcumin bioavailability and molecular mechanisms [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 286: 138294.
- [31] 崔婷. 黄芪正丁醇部位含药血清对阿霉素诱导足细胞损伤的保护作用机制 [D]. 太原: 山西大学, 2021.
- Cui T. Mechanism of protective effect of medicated serum at the site of *Astragalus n*-butanol on doxorubicin-induced podocyte injury [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2021.

[责任编辑 孙英杰]