

综 述

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2025.z20250414005

黄芪皂苷类成分的生物合成、体内外转化、药理作用及质量控制研究进展

扫码获取更多
论文拓展信息

蒋 惠, 王长虹

上海中医药大学中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室(上海 201203)

【摘要】 对黄芪皂苷类成分的化学结构、生物合成、体内外转化、药理作用以及质量分析方法等方面的研究进展进行汇总分析。从黄芪中发现 160 余种黄芪皂苷类成分, 主要是以环黄芪醇为皂苷元的四环三萜环阿屯醇型皂苷。黄芪皂苷在体内外主要经脱乙酰基、脱糖基和脱氢反应形成以环黄芪醇为主的一系列降解产物和代谢产物。黄芪皂苷类成分具有抗炎、调节免疫功能、抗氧化、抗细胞凋亡、调节代谢、抗纤维化和抗肿瘤等作用。现行的黄芪质量标准主要以黄芪甲苷为指标成分进行质量控制, 忽略了其他黄芪皂苷类成分的重要性。结合黄芪皂苷类成分在药材中的含量、体内外转化规律和药效贡献度, 制定更加科学的黄芪皂苷类成分质量控制标准具有重要意义。

【关键词】 黄芪; 黄芪皂苷; 环黄芪醇; 生物合成; 化学成分; 药理作用; 质量控制

Research progress on biosynthesis, *in vivo* and *in vitro* transformation, pharmacological effects, and quality control of astragalus saponins components

JIANG Hui, WANG Changhong

Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, The MOE Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicines, Shanghai 201203, China

Abstract: The research progress on the chemical structure, biosynthesis, *in vivo* and *in vitro* transformation, pharmacological effects, and quality control methods of astragalus saponins components are summarized and analyzed in this paper. More than 160 types of astragalus saponins components have been discovered from Huangqi (*Astragali Radix*), primarily consisting of four-ring triterpenoid saponins with cycloastragenol as the aglycone. Astragalus saponins components undergo deacetylation, deglycosylation, and dehydrogenation reactions *in vivo* and *in vitro*, resulting in a series of degradation and metabolic products, primarily cycloastragenol. The astragalus saponins components exhibit various pharmacological activities, including anti-inflammation, immune modulation, antioxidant, anti-apoptosis, metabolic regulation, antifibrosis, and anti-tumor effects. The current quality control standard for Huangqi (*Astragali Radix*) primarily uses astragaloside IV as an index component, potentially overlooking the importance of other astragalus saponins components. It is significant to develop a more scientifically rigorous quality control standard for astragalus saponins components, based on their content in Huangqi (*Astragali Radix*), *in vivo* and *in vitro* transformation, and pharmacological contribution.

Keywords: Huangqi (*Astragali Radix*); astragalus saponins; cycloastragenol; biosynthesis; chemical components; pharmacological effects; quality control

中药黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.

的干燥根, 具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、行滞通痹、托毒排脓、敛疮生肌等功效^[1]。黄芪富含黄酮类、多糖类、氨基酸类以及皂苷类等多种有效成分, 而黄芪皂苷类成分具有抗炎、调节免疫功能、抗氧化、抗细胞凋亡、调节代谢、抗纤维化、抗肿瘤等作用^[2], 是黄芪药材中的一类重要药效物质。现行的《中华人民共和国药典(2020 年版): 一部》中采用毛蕊异黄酮苷和黄芪甲苷作为黄芪的质量控制指标^[1], 但黄芪甲苷在药材中含量低, 需利用氨试液使其他黄芪皂苷脱乙酰

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2022YFC3501701)

[作者简介] 蒋惠, 女, 硕士研究生, 主要从事中药药效物质基础与体内过程研究工作

[通信作者] 王长虹, 研究员, 博士研究生导师; E-mail: wchcxm@163.com

基化的方式增加其含量,这种方法操作较繁琐耗时,且黄芪甲苷含量的高低并不能完全反映药材质量。因此,本团队对黄芪皂苷类成分的生物合成与转化、药理作用以及质量控制研究方面的文献进行总结,以期对黄芪质量标准的改进和提高提供依据。

1 黄芪中的皂苷类化合物

黄芪作为大宗中药材,关于其化学成分和结构的研究较为充分,其中皂苷类成分是黄芪中的代表性成分之一。目前,从黄芪中分离得到皂苷类成分共 161 种,包括 142 种环阿屯烷型四环三萜和 19 种齐墩果烷型五环三萜^[3]。环阿屯烷型三萜皂苷为四环三萜,具有环戊烷骈多氢菲的四环母核,其结构特点是 C-10 位上的甲基与 C-9 发生脱氢反应形成三元环,皂苷元主要有环黄芪醇(CA)、Cyclocanthogenin、Cyclogalegigenin 等;其中最重要的药效物质黄芪皂苷类成分的皂苷元均为 CA(结构如图 1 所示,见 OSID 码中),主要的取代基为葡萄糖、木糖、乙酰基,包含黄芪皂苷(AS) I~VII 和乙酰基黄芪皂苷(AAS),ASIV 也称为黄芪甲苷。齐墩果烷型三萜皂苷为五环三萜,具有 5 个六元环化学结构,皂苷元主要为大豆皂苷元,其也具有较好的活性,广泛存在于豆科植物中。

2 AS 的生物合成途径

2.1 上游合成途径 AS 是三萜皂苷,其皂苷元在植物甾醇合成代谢中,由 2,3-氧化角鲨烯环化成环阿屯醇。异戊烯基焦磷酸(IPP)和二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)生物合成在高等植物中遵循非甲羟戊酸(MEP/DOXP)和甲羟戊酸(MVA)途径,后者在根和茎中是首选。以乙酰辅酶 A(Acetyl CoA)为原料,由乙酰辅酶 A 乙酰基转移酶(ACAT1)合成乙酰乙酰辅酶 A(Acetoacetyl CoA),再由 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合酶(HMGS2)、3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)分别合成羟甲基戊二酰辅酶 A(HMG-CoA)和 MVA,被甲羟戊酸激酶(MVK)和甲羟戊酸磷酸激酶(PMK)磷酸化后得到 5-甲羟戊酸磷酸(MVAP)和 5-甲羟戊酸焦磷酸(MVAPP),由甲羟戊酸焦磷酸脱羧酶(MVD)不可逆地生成可以相互转化的 IPP 及其异构体 DMAPP。二者经法尼基焦磷酸合酶(FPS)、角鲨烯合酶(SS)、角鲨烯环氧酶(SQLE)转化为 2,3-氧化角鲨烯,形成三萜皂苷骨架,其为甾醇生物合成过程中的中心代谢物。2,3-氧化角鲨烯经各种特异性氧化角鲨烯环化酶(OSC)作用形成不同种类的皂苷^[4-5]。其中 AS 的形成需经环阿屯醇合成酶(CAS)的作用形成环阿屯醇骨架。

2.2 下游合成途径 通过克隆和测序在蒙古黄芪中检测到了一种 OSC 基因 *AmCAS*,通过 *AmCAS* 催化 2,3-氧

化角鲨烯的环化可能形成环阿屯醇。有研究^[6]通过在烟草和酵母中的异源表达,从膜荚黄芪中筛选得到了参与 AS 合成首步次生代谢反应的 OSC 基因,鉴定 *AmOSC3*(别称 *AmCAS1*)和 *AmOSC2* 分别为环阿屯醇合酶和 β -香树脂醇合酶。实验^[6]证实底物 2,3-氧化角鲨烯经 *AmOSC3* 酶作用生成环阿屯醇,特异性 CYP450 酶中 CYP71、CYP72、CYP85 氏族可能会催化环阿屯醇转化为 CA,糖基转移酶(GT)将活化的糖基转移到糖苷配基底物上,促使 CA 进一步向 AS 转化。

环阿屯醇在 C-6、C-16、C-25 位经历了一系列氧化反应才最终生成了 CA,而细胞色素 CYP450 酶通常是负责这些反应的主要生物酶。转录组表达数据、系统发育树分析和体内外酶分析结果表明氧化酶 *AmCYP88D25* 和糖基转移酶 *AmGT11* 参与 AS 生物合成的下游途径,而由 *AmCYP88D25* 催化产生的新产物鉴定为 16-羟基环芳烯醇^[7]。因此,*AmCYP88D25* 被确认为 AS 生物合成途径中负责环阿屯醇 C-16 羟基化的氧化酶。在发现 *AmCYP88D25* 的 1 号染色体附近区域找到了 2 个 CYP450 酶 *AmCYP88D7* 和 *AmCYP71D756*,这两者对环阿屯醇没有催化活性,但 *AmCYP88D7* 能对环阿屯醇 C-16 羟基化产物进一步进行 C-6 位羟基化,*AmCYP71D756* 又在此基础之上继续催化 24、25-环氧化。在黄芪的生物合成基因簇中还寻找到了一个高组织特异性的生物基因酶 *AmOGD1*,该酶能够进一步负责 C-20 位的氧化,推断 C-20 位羟基形成后分子自发形成了四氢呋喃环,最终形成 CA^[7]。

部分尿苷二磷酸-糖基转移酶(UGT)能催化 CA 不同位点(3-OH、6-OH、25-OH 和 2'-OH)的糖基化^[8]。在获得的 UGT73 基因成员中进行筛选,体外酶活性测定结果显示,*AmGT11* 和 *AmGT72* 都能催化 CA 的 3-O-糖基化;*AmGT11* 对尿苷二磷酸木糖(UDP-Xyl)的催化效率显著高于尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-Glc),而 *AmGT72* 的催化性能则相反。^[8]因此,*AmGT11* 是最有可能负责 CA 的 3-O-木糖基化的 UGT。*AmGT11* 所在基因也位于 1 号染色体附近,在该位置相邻的染色体区域又找到了 2 个 UGT 酶 *AmGT36*、*AmGT37*,这两者属于 UGT93 家族,*AmGT36* 能催化 C-6 位糖基化。利用 *AmGT11* 和 *AmGT36* 对不同底物进行催化,发现两种酶的催化反应顺序存在交叉的情况,在生物合成途径中通过两条平行途径完成 3-O-木糖基化和 6-O-葡萄糖基化,即 *AmGT11* 能催化 CA 和脱除 C-3 位木糖的单糖苷(Bra B),*AmGT36* 能催化 CA 和脱除 C-6 葡萄糖的单糖苷(Cyc B)且优先底物为 Cyc B。

有研究^[9]后续又从黄芪中鉴定出一种多功能糖基转移酶 *AmGT8* 催化 3-/6-/2'-O-位糖基化。在 *AmGT8* 的基础上,有研究^[10]从黄芪中继续筛选得到多个糖基转

移酶:AmGT1 可催化 CA 的 C3-OH 糖基化,对 UDP-Xyl 有较好的选择性;AmGT5 可催化 CA 的 C3-OH 糖基化,但其对 UDP-Glc 选择性更高;AmGT9 可催化 CA 的 C25-OH 糖基化,是第一个催化环阿屯醇型三萜侧链羟基的糖基转移酶。

继续对 AS 生物合成所需糖基转移酶进行深入研究,挖掘出 AmUGT15、AmUGT14、AmUGT13 和 AmUGT7 4 种糖基转移酶^[11],AmUGT7 是一种 2'-O-葡萄糖基转移酶,在 C-3 位点对木糖基部分的 2'-OH 具有区域选择性,能够合成 ASⅢ。在 AS 的生物合成过程中,AmUGT13 主要负责 ASⅢ 的 25-O-葡萄糖基化并形成 ASV,也能对 ASⅣ 进行 25-O-葡萄糖基化并形成 ASⅦ^[12]。

AmAT7-3 是通过逐步基因挖掘方法发现的,能催化 ASⅣ 中木糖结构 C3'/C4'-O 位乙酰化,生成 iso-ASⅡ (C-3'-O-Ac)、环黄芪苷Ⅱ (C-4'-O-Ac) 以及 C-3'-C-4'-O-Ac 化合物,但是该酶无催化 C-2' 位乙酰化活性,因此由黄芪甲苷乙酰化得到 ASⅠ、iso-ASⅠ、ASⅡ、AAS 等化合物的酶仍需进一步挖掘,以完善黄芪皂苷类成分合成总路径的最后一步^[13]。

AS 的生物合成路径图如图 2^[7,10] 所示(见 OSID 码中)。

3 黄芪皂苷类成分的体外转化研究

3.1 不同 pH 环境对皂苷转化的影响 黄芪皂苷类成分在不同 pH 条件下稳定性差异较大。有文献^[14]报道不同 pH 和温度下各 AS 在酸性、中性和碱性条件下的转化规律,得知丙二酰基黄芪皂苷Ⅰ(MASI)在中性条件下就会转化为 ASⅠ,其他 AS 比较稳定;AS 在含 0.4% 甲酸溶液的酸性环境下稳定,而在 pH 为 2 的磷酸盐缓冲溶液中,ASⅠ 转化为 ASⅣ 的转化率随着温度升高而增高,证明在酸性环境下 ASⅠ 会发生酸催化的酯水解反应;在含 0.4% 氨溶液的碱性条件下,含乙酰基的皂苷均可部分转化为 ASⅣ。有研究^[14]观察黄芪总皂苷和 ASⅣ 在人工胃液(0.1 mol/L 氯化氢溶液)及氨试液中的含量变化情况,发现黄芪总皂苷在经酸水解处理后,ASⅣ 减少,单独对 ASⅣ 进行酸水解,ASⅣ 含量也显著下降;先经酸水解再经 4 mL 8% 氨试液处理后黄芪总皂苷中的 ASⅣ 含量相较单独进行酸水解时却有所提高,推测其他 AS 能在碱性条件下转化为 ASⅣ。大部分 AS 在中性环境中较稳定,而在酸性、碱性条件下 MASI、AAS、ASⅠ~Ⅱ 和 iso-ASⅠ~Ⅱ 都会不同程度地转化为 ASⅣ。黄芪皂苷类成分发生相互转化的规律如图 3 所示(见 OSID 码中)。

3.2 黄芪皂苷类成分在肠道菌群和微生物中的代谢转化 黄芪皂苷类成分经口服后最先抵达肠胃,因此肠

道菌群对皂苷类化合物转化产生的影响尤为重要。有研究^[15]将 AS 与人源、鼠源肠道菌群体外孵育,或者通过大鼠灌胃后收集代谢物的方式,采用液相色谱-质谱联用(LC-MS)的技术手段检测代谢产物,总结出 AS 在肠道菌群中的代谢方式为:脱乙酰基、脱糖基和脱氢反应,主要产生 Cyc B、Bra B、CA、CA 的异构体(iso-CA)、CA 的脱氢产物(CA-2H)等 5 种代谢产物。

研究^[16]发现,孵育后可立即检测到 Bra B,在 8 h 达到最大值,而 Cyc B 在 24 h 时达到最大值,随后缓慢消除,在 96 h 孵育结束时仍可检测到,推测水解去除 C-6 位葡萄糖是形成 CA 及其衍生物的限速步骤。通过对肠道菌群中不同种类菌株的筛选,乳酸菌和双歧杆菌是将 ASⅣ 转化为 CA 的主要菌株,乳酸菌优先作用于 C-6 位葡萄糖形成 Cyc B,终产物以 CA-2H 为主;而双歧杆菌优先脱除 C-3 位木糖形成 Bra B,终产物以 CA 为主;这两种菌代谢过程中所形成的中间体唯一且不交叉,双歧杆菌代谢的速度和转化率都远高于乳酸菌,进一步证明脱 C-6 是转化为 CA 的限速步骤。^[16]

孟欣桐等^[17]研究了 ASⅠ~Ⅳ 在人源肠道菌群中的生物转化特征,发现它们的共同代谢产物为 CA,生物转化率可达 50% 以上。以各时间点 CA 所占总代谢物峰面积的比值作为 CA 的相对含量百分比,发现相较于 ASⅡ 和 ASⅣ,ASⅠ 和 ASⅢ 转化速率更快,推测由于 ASⅠ 和 ASⅢ 等 C-3 位上取代基更复杂,脱糖基速度更快,因此转化速率更快^[17],如图 4 所示(见 OSID 码中)。

研究^[18-19]表明,黄芪经不同的微生物或酶处理,也能使其中的黄芪皂苷类成分发生转化,采用真菌如灵芝、香菇、桑黄和姬松茸进行固体发酵,ASⅣ 会转化为 iso-ASⅣ,灵芝发酵黄芪的过程中还生成了 Bra B;采用侧耳菌对黄芪进行发酵,ASⅣ 含量明显降低且有新的化合物产生,推测 ASⅣ 转化为更适合人体吸收的次级苷元;伞枝犁头菌可将黄芪总皂苷作为底物转化得到含量高于原药材三倍的 ASⅣ。研究^[18-19]显示,多种真菌如黑曲霉、米曲霉、白腐菌等能将 AS 转化为 ASⅣ,其中黑曲霉的转化率最高;蝉拟青霉菌在发酵黄芪的过程中也能将 AS 转化为 ASⅣ 和 iso-ASⅣ;菌株 *Absidia* spAr3 和 sp.00* 能脱去 C-3 位二糖上的葡萄糖,将三糖基黄芪皂苷转化为 ASⅣ。 β -葡萄糖苷酶能水解 ASⅣ 上的葡萄糖,但非特异性水解酶,对 ASⅣ 的亲合力并不高。研究^[20]显示,从土壤中分离得到的微生物芽孢杆菌属 LG-502 菌株体内含有葡萄糖苷酶和木糖苷酶,能将 ASⅣ 发酵转化为 Cyc B、CA 和 CA-2H,转化为 CA 的转化率高达 84%。

综上所述,黄芪皂苷类成分可以被肠道菌群、真菌、微生物和酶代谢转化,主要发生脱乙酰基、脱糖基和脱氢反应并产生代谢产物 Cyc B、Bra B、CA、iso-CA、

CA-2H、iso-ASⅣ等。肠道菌群中发挥重要作用的是双歧杆菌和乳酸菌,脱除AS的C-6位葡萄糖基为限速步骤。根据化学结构判断,ASⅠ和ASⅢ转化为CA的速率比ASⅡ和ASⅣ更快。

4 黄芪皂苷类成分的体内过程研究

4.1 黄芪皂苷类成分的药代动力学特征

4.1.1 总提取物的药代动力学研究 Xu等^[21]研究了葛参黄芪汤提取物中ASⅡ、ASⅣ的药代动力学,发现提取物中ASⅡ、ASⅣ的含量分别为131.20、68.60 mg/L,大鼠口服后ASⅡ、ASⅣ的 $C_{\max}$ 分别为29.83、44.10 $\mu\text{g/L}$, $T_{\max}$ 分别为0.17、0.17 h, $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 分别为111.08、137.30 $\text{ng}\cdot\text{h/L}$, ASⅡ的 $C_{\max}$ 和 $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 低于ASⅣ。由于ASⅣ在体内暴露水平较高,在一定程度上为《中华人民共和国药典(2020年版):一部》标准中将ASⅣ作为指标成分控制黄芪质量的合理性和科学性提供了支撑。

有研究^[22]在大鼠口服黄芪超细粉末水提取物后对6种生物活性化合物进行定量和药代动力学研究,发现超细粉黄芪提取物中ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ的含量分别为22.34、92.12、60.92 mg/L。ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ的 $C_{\max}$ 分别为394.31、1985.85、1215.30 $\mu\text{g/L}$, $T_{\max}$ 分别为0.89、0.73、0.89 h, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为993.77、6245.08、2284.24 $\text{ng}\cdot\text{h/L}$, ASⅡ的 $C_{\max}$ 和 $\text{AUC}_{(0-t)}$ 都远高于ASⅠ、ASⅣ,在这项研究中ASⅡ进入血液循环的浓度高,消除代谢速度慢。

另一项研究^[23]分别给大鼠腹腔注射黄芪总皂苷(含有ASⅣ 20 mg/kg)和单体ASⅣ(20 mg/kg),对比各时间点的ASⅣ血药浓度,黄芪总皂苷组的ASⅣ血药浓度显著高于ASⅣ组,最高点甚至相差3.5倍,推测给予黄芪总皂苷后其他皂苷转化为了ASⅣ,而仅以ASⅣ为指标,服用黄芪总皂苷的吸收效果比单用ASⅣ更好。该研究^[23]还探究了黄芪总皂苷提取物在大鼠体内的药代动力学情况和组织分布,测得ASⅣ在体内的 $C_{\max}$ 为343.46 mg/L, $T_{\max}$ 为1.00 h, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 为243.49 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$,说明ASⅣ在体内的吸收和消除速率都较快,ASⅣ除消化器官外,在肝、肺和脾中分布较多。

部分研究^[21-22]中AS的血浆药物浓度-时间曲线是常规单峰吸收,推测化合物未经转化就被吸收进入血液循环,药物的血药浓度与给药剂量呈正相关;而研究显示ASⅡ、ASⅣ均出现了双峰现象,提示化合物之间可能发生了转化,因此含量高的ASⅡ血药浓度反而低于ASⅣ。黄芪总皂苷给药后ASⅣ的吸收效果比给予ASⅣ单体更佳,也提示化合物之间会发生转化。多成分给药后动物体内的表现有差异,体内代谢所需时间也不一致,研究结果提示ASⅡ等其他皂苷类成分可在体内转化为ASⅣ。

4.1.2 AS单体的药代动力学和组织分布研究 复方补

阳还五汤中含有ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ,给予大鼠口服的药物中ASⅠ含量最高,但药代动力学研究^[24]结果显示ASⅣ的 $C_{\max}$ 和AUC均高于ASⅠ和ASⅡ。ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ的血浆浓度-时间曲线都出现了双峰现象,推测ASⅠ在体内转化为了ASⅡ、ASⅣ。该研究^[24]进一步对ASⅡ单体进行了药代动力学研究,发现ASⅡ口服的生物利用度非常低,仅0.79%,表明其体内吸收较差或代谢较强;该研究中ASⅡ的药-时曲线显示单峰吸收,判断在复方给药时ASⅠ在体内转化为ASⅡ,得出ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ之间存在转化关系这一结论。

针对大鼠口服和静脉注射ASⅢ单体后的药物动力学行为,有研究^[25]测得其口服绝对生物利用度为4.15%,ASⅢ在体内吸收较差或者代谢能力强,ASⅢ的药-时曲线也出现了微弱的双峰吸收现象,推测可能是肠肝循环作用的结果。

大鼠静脉注射ASⅣ后其主要分布在肝、肺中,肝和肺是主要靶器官;分别通过静脉注射和口服给药对ASⅣ单体进行药代动力学研究,并对静脉注射后大鼠的粪便、胆汁、尿液样品进行了检测,口服ASⅣ的 $C_{\max}$ 为1.04 mg/L, $T_{\max}$ 为0.75 h, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 为3.21 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$,绝对生物利用度为3.66%,24 h内尿液和粪便中的累计回收率达到52.14%,约50%的ASⅣ在体内被代谢,而ASⅣ在2型糖尿病大鼠体内药代动力学特征未发生变化。^[15]

4.1.3 CA的药代动力学研究 He等^[26]对CA进行了药代动力学和代谢研究,大鼠分别灌胃10、20、40 mg/kg或静脉注射10 mg/kg CA后计算其药代动力学参数,灌胃组的 $C_{\max}$ 分别为180.95、284.19、566.67 $\mu\text{g/L}$, $T_{\max}$ 分别为2.06、1.48、2.35 h, $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 分别为1 290.17、2 980.40、4 987.35 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$,静脉注射组的 $\text{AUC}_{(0-\infty)}$ 为5 020.17 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$,CA生物利用度为25.70%,远高于ASⅣ,可能是由于其分子量比较低且亲脂性较好。对灌胃后24 h、静脉注射12 h后的大鼠粪便、胆汁和尿液进行检测,发现CA和iso-CA主要存在于粪便和胆汁中,口服CA时,CA通过粪便排出(10.6%),静脉注射后主要通过胆汁排泄(1.73%),结果表明大鼠体内可能存在CA的肠肝循环,且CA在肠道或肝脏中广泛代谢^[26]。

Zhou等^[27]经灌胃给予大鼠40 mg/kg ASⅣ后,测定CA、iso-CA、ASⅣ的药代动力学参数, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为88、179、452 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$, $C_{\max}$ 分别为11、18、66 mg/L, $T_{\max}$ 分别为3.66、8.00、8.00 h;将CA、iso-CA相加并按1:1进行换算,ASⅣ的转化率约为59%,证明ASⅣ高效转化为CA和iso-CA并进入血液循环,推测口服ASⅣ发挥药效的物质为CA和iso-CA。He等^[28]对小鼠灌胃给药ASⅣ30 mg/kg,ASⅣ和CA的 $C_{\max}$ 分别为59.20、474.90 $\mu\text{g/L}$, $T_{\max}$ 分别为4.00、8.00 h, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为289.80、2299.90 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$,表明ASⅣ在体内的生物利用度较低,

ASIV 发挥药效的方式可能是通过在体内转化为 CA。

Xiang 等^[29]测定了大鼠口服黄芪提取物后血浆中 ASIV 和 CA 的药代动力学参数,药物中 ASIV 含量为 0.14 g/L,未检测到 CA,ASIV 和 CA 的 $C_{\max}$ 分别为 19.41、12.96 $\mu\text{g/L}$, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为 242.90、171.33 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$,推测进入血液循环的 CA 是由黄芪提取物中含有的 ASIV 在体内转化而来。有研究^[30]对大鼠口服黄芪汤后中 14 种生物活性成分进行药代动力学研究,包括 ASIV 和 CA, $C_{\max}$ 分别为 3.60、10.60 $\mu\text{g/L}$, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为 25.70、68.10 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$,并在此基础上测定了人口服黄芪汤后的药代动力学参数(ASIV 的剂量为 6.87 mg/kg,不含 CA),发现单剂量给药组 ASIV 和 CA 的 $C_{\max}$ 分别为 0.70、4.10 $\mu\text{g/L}$, $\text{AUC}_{(0-t)}$ 分别为 9.32、111.61 $\mu\text{g}\cdot\text{h/L}$,推测 ASIV 由黄芪汤中其他 AS 转化而来,CA 由 ASIV 进一步水解所得;相对其他成分,CA 的 $T_{\max}$ 较长,且 $\text{AUC}_{(0-t)}$ 较高,有助于服用黄芪汤后维持药效。

黄芪皂苷类成分分子量大,被动扩散,膜渗透性差,难以被肠道吸收,几乎不被肝脏代谢。有研究^[30]在大鼠口服含黄芪的复方后测定各 AS 单体的药代动力学参数,虽然 AS I 的药物含量更高,但其 $C_{\max}$ 和 $\text{AUC}_{(0-t)}$ 远低于 ASIV,推测 AS I 在胃肠道大量水解转化为 ASIV。但是,复方或者黄芪总皂苷给药时,有多种药效物质同时发挥作用,具体入血成分以及体内转化情况还需更多研究证实。ASIV 血药浓度相对较高,但 ASIV 单体给药的生物利用率很低,并不能得出 ASIV 在体内发挥药效更有优势的结论。AS 会在体内转化为 CA 和 iso-CA,还没有系统研究分析对比各个单体化合物在体内转化为 CA 的表现,哪个单体能更快速地发挥药效尚不明确。因此,还需深入探索,挖掘快速入血发挥药效的物质。

4.1.4 组织分布研究 研究^[31]显示,狗口服 ASIV 后,ASIV 在肺和肝脏组织中浓度最高,而在大脑中分布极少,证明 ASIV 主要靶器官为肺和肝脏,无法穿透血脑屏障。王鑫等^[23]在大鼠口服黄芪总皂苷提取物后检测各组织中的 ASIV,给药 0.5 h 后胃、小肠、大肠、肝中浓度最高,1 h 后小肠、肝脏、肺脏、心脏中浓度高,2 h 时,肾脏、肝脏中含量高,证明除了消化器官和药物代谢器官,肺脏可能是 ASIV 的药效靶点,符合黄芪的归经。

崔文博^[32]研究大鼠口服防己黄芪汤后 4 个黄芪皂苷类成分 AS I ~ IV 的组织分布,只在心脏和肾脏中检测到了 AS I,在肾脏中的含量较高,而 AS II、AS III、ASIV 在各组织中广泛分布,均在肝脏和胸腺中含量最高,推测黄芪皂苷类成分在免疫器官中聚集是黄芪增强机体免疫功能的基础。

以上研究表明,除了胃肠道和代谢器官肝脏,黄芪皂苷类成分在体内主要分布于肺、胸腺等免疫器官,支

撑了黄芪归肺经、具有增强免疫功能的观点。但目前文献尚缺乏 CA 在动物体内组织分布的相关研究。

4.2 黄芪皂苷类成分的体内药物代谢研究 黄晶^[33]研究了大鼠口服蜜炙黄芪水提取物后血清和尿液中的原型化合物和代谢产物,在尿液中唯一检测到的皂苷类成分是 ASIV,血清中含有少量 AS II、ASIV,推测 AS I、AS II 都在体内发生了水解,转化成了 ASIV。

Zhang 等^[34]分析了嘌呤霉素诱导的肾损伤模型大鼠胃内给药 ASIV 后的代谢产物,建立 ASIV、ASIV+氨基核苷嘌呤霉素(PAN)两个给药组,粪便中共检测到 25 种代谢物,发现去糖基化、脱氧和甲基氧化是 ASIV 的主要代谢途径,PAN+ASIV 组的代谢物丰度低于 ASIV 组。

Song 等^[35]研究大鼠口服黄芪总皂苷后的粪便、尿液、血浆中的原型化合物和代谢产物,粪便中发现了 17 个原型化合物(主要是 AS I、iso-AS I、AS II、iso-AS II、AS III、ASIV)和 107 个相关代谢产物(11 种是单糖苷类代谢物,21 种为 CA 脱氢和氢化代谢物及 CA 的异构体,61 种是单羟基化至四羟基化代谢物,14 种是羧基取代代谢物),尿液中检测到了 6 个原型化合物(AS II、iso-AS II、AS III、ASIV、Cyclocephalosite II、Bra B),血浆中检测到了一个原型化合物(ASIV);推测 AS I、iso-AS I、AS II、iso-AS II 都转化为 ASIV,ASIV 又进一步脱糖苷转化为 CA,CA 到达肝脏后经多种酶广泛代谢生成多种代谢物,CA 的主要代谢位点为 9,19-环丙烷环(E 环)和 20,24-呋喃环(F 环)。

Kong 等^[36]检测了大鼠口服 6 种 AS 后血浆、尿液、粪便中的代谢产物,分别检测出 80、89、90 种代谢产物,包含原型化合物和 I、II 相代谢物,AS 的代谢主要涉及脱水、脱乙酰、二羟基化、去糖基化、甲基化反应等;其中 ASIV 在胆汁中的累积回收率达到 30.8%,在尿液和粪便中的累积回收率为 52.14%,说明仅有约 50% 的 ASIV 在体内参与代谢;粪便样本中未测到 Cyc B 和 Bra B 单糖苷,证明这两种中间体是在肠道中形成的中间产物;CA 和 iso-CA 是血浆中的主要成分,而 CA-2H 只在粪便中检测到,在尿液和血浆中未检测到。

金艺^[37]通过对大鼠灌胃给药、生物基质混合、肠道菌群代谢等方式,研究 ASIV 的代谢产物和代谢途径,粪便中检测到 6 个代谢物(ASIV、Cyc B、Bra B、CA、iso-CA 和 CA-2H),尿液中检测到 ASIV 和 CA 的两种葡萄糖醛酸结合物,胆汁中检测到 ASIV、Cyc B 和 Bra B,血浆中检测到 ASIV、CA 和 iso-CA;通过肝脏 S9、肠道 S9 和肠道微生物群对 ASIV 和 CA 的代谢进行补充验证,ASIV 在肝脏 S9、肠道 S9 组分中较稳定,25% CA 在大鼠肝脏 S9 组分中经历羟基化和脱氢等,6% 转化为 iso-CA,而 CA 在肠道 S9 组分中较稳定;ASIV 在肠道微生物群中孵育 4 h 后,Bra B、Cyc B、CA 和 CA-2H 的生成率分别为

3.47%、1.87%、1.69% 和 0.59%, 表明 ASⅣ 被肠道菌群代谢为 Bra B 的速度快于其他代谢产物; 24 h 后, 约 72% 的 ASⅣ 被肠道细菌代谢, 其中 36% 转化为 CA, 35% 转化为 CA-2H, 1% 转化为 iso-CA, 而 iso-CA 是在 CA-2H 氧化过程中生成的, 且肝脏中生成 iso-CA 的速率比肠道菌群更快; CA 与肠道菌群孵育后, 除 CA-2H 和 iso-CA 外, 未发现其他代谢物。

有研究^[26]对 CA 的代谢进行了研究, 口服时 CA 通过粪便排泄, 静脉注射时 CA 通过胆汁排泄, CA 可能参与了肝肠循环, 绝对生物利用度 29.8%。分别在粪便、尿液和胆汁样本中发现了 CA 的 I 相代谢物 7、6、1 个, 包括 CA、iso-CA、CA 的单羟基化、氧化羟基化、氧化和二去甲基化产物, 未发现 II 相代谢物(如图 5 所示, 见 OSID 码中)^[38]。这些代谢物反映了 CA 的代谢途径, 尿液和粪便代谢物基本相同, 说明其代谢主要发生在胃肠道和肝脏。

黄芪皂苷类成分在动物体内发生代谢的主要部位为胃肠道, 代谢途径主要是脱糖、甲基化、去乙酰化、硫酸化、还原反应等。CA 的主要代谢器官是肝脏, 代谢方式为氧化、脱氢、去羟基化、脱水等, 代谢位点主要是 9, 19-环丙烷环和 20, 24-呋喃环。根据现有复方或黄芪总皂苷给药后的实验结论推测 AS I、iso-AS I、AS II、iso-AS II 在体内转化为 ASⅣ, ASⅣ 再进一步脱糖苷转化为 CA, CA 到达肝脏后经多种酶广泛代谢生成多种代谢物。而 AS I、AS III 分别在肠道菌群中转化为 CA 的速率和效率快于 AS II、AS IV, 与这个结论不符, 还需更多体内外转化的研究进行论证。CA 在血浆中的浓度和生物利用度均高于其皂苷单体, 推测 CA 是黄芪皂苷类成分发挥药效的物质基础。

5 黄芪皂苷类成分的药理作用研究

5.1 黄芪总皂苷 黄芪总皂苷有抗炎、调节免疫功能、抗氧化、抗细胞凋亡、调节代谢、抗纤维化、抗肿瘤等作用^[39]。

5.1.1 抗肝损伤 黄芪总皂苷可以减轻肝中毒引起的病变, 也可促进肝细胞白蛋白合成, 抑制间质细胞合成, 增强巨噬细胞吞噬功能, 提高淋巴细胞转化率, 诱导干扰素生成, 防止肝糖原减少^[40]。黄芪总皂苷治疗胆汁淤积致肝纤维化(CLD)小鼠模型后, 肝组织中蛋白表达有显著改善; 黄芪总皂苷各单体化合物治疗 CLD 小鼠后, AS I 和 CA 显著改善了肝组织中细胞角蛋白 19(CK19)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的蛋白和 mRNA 表达, 减轻肾导管反应和肝纤维化, 证明 AS I 和 CA 是黄芪治疗胆汁淤积性肝病的关键物质。^[40]

5.1.2 改善血管功能 黄芪总皂苷可通过调节血管张力、血压及细胞间相互作用, 抑制血小板聚集、白细胞

黏附和平滑肌细胞增殖, 调节血管自身稳定性而增强机体非特异性免疫功能, 抑制或减缓血栓形成; 预先口服黄芪总皂苷可能通过保护血管内皮细胞、增强纤溶功能从而抑制血栓形成, 还能显著改善血管性痴呆大鼠的认知功能。^[41-42]

5.1.3 抗肿瘤 黄芪总皂苷具有体内抗肿瘤活性。肿瘤细胞中的血管内皮生长因子(VEGF)可促进肿瘤血管生成, 而基质金属蛋白酶(MMP)-2 和 MMP-9 可以促进肿瘤组织入侵和新陈代谢; AS 能显著干预胃癌细胞迁移, 通过抑制原有 VEGF 的作用而降低癌细胞的恶性增殖, 还可诱导 SHG44 肿瘤细胞凋亡, 对神经胶质瘤细胞产生抑制作用。^[43]可见, 黄芪总皂苷能通过抑制肿瘤细胞迁移和增殖等途径发挥抗肿瘤功效。

5.1.4 抗疲劳 黄芪总皂苷具有明显的抗疲劳作用, 其机制可能与调控能量消耗、代谢过程, 减轻氧化应激损伤以及调控中枢神经递质含量的变化相关。黄芪总皂苷能延长动物力竭总时间和力竭间隔时间, 提高超氧化物歧化酶活性和血糖含量, 降低血液中乳酸脱氢酶、肌酸激酶活性以及乳酸、丙二醛和尿素氮等代谢产物含量来缓解外周疲劳的发生; 还可以改善运动疲劳小鼠中枢神经递质的分泌组成以及海马神经元结构形态。^[44]黄芪总皂苷能降低肌酸激酶活性和脂质过氧化物水平、调节免疫功能, 对气虚模型大鼠起到补气作用^[45]。

5.1.5 抗炎和调节免疫 研究黄芪总皂苷治疗骨关节炎模型大鼠发现, 炎症相关蛋白表达量减少, 黄芪总皂苷发挥抗炎作用以保护软骨组织^[46]。黄芪总皂苷能通过提高机体免疫功能和抑制脂质过氧化作用抑制脾虚大鼠黏膜损伤, 改善黏膜血流量; 通过透射电镜观察发现, 黄芪总皂苷处理可以使巨噬细胞表面突起增多、内质网和溶酶体增多, Ca^{+} 浓度和一氧化氮(NO)释放量增加, 从而发挥调节免疫功能。^[45]阿尔茨海默病通过脑肠轴与胃肠道系统紧密联系, 而黄芪总皂苷可以通过对脑肠轴的治疗实现对脑、肠系统的控制, 发挥调控免疫和抗炎作用, 保护胃肠道以及影响阿尔茨海默病的发展; 黄芪总皂苷还可能通过调节磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(AKT)和细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路对阿尔茨海默病的治疗产生积极影响。^[47]

通过网络药理学的方法, 查找数据库进行比对和条件筛选, 我们发现黄芪总皂苷中的 AS I~IV 都是重要网络节点, 推测黄芪皂苷类成分是黄芪中重要抗衰老物质基础^[48]。

5.2 AS I AS I 能通过抗炎功效治疗各种炎症疾病。AS I 能促进细胞向成骨细胞分化以及相关基因表达, 抑制骨吸收的发生, 缓解骨质疏松症^[49]。AS 提取物对糖尿病大鼠具有肾脏保护作用, AS I 治疗糖尿病肾损

伤的研究^[50]结果表明,AS I 能抑制足细胞焦亡、改善足细胞损伤从而改善糖尿病肾损伤。AS I、iso-AS I 能够通过抑制 PI3K/AKT/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路抑制脂多糖(LPS)诱导 BV-2 细胞的大量激活^[51]。AS I 还具有脂质调节功效,通过调节 AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/转录因子 EB(TFEB)通路促进脂肪吞噬和线粒体生物发生以改善高脂血症,可能是治疗高脂血症的潜在有效药物和食品添加剂^[52]。

以上研究结果表明 AS I 能通过调节细胞分化、抑制细胞焦亡、减轻细胞损伤、抗炎和脂质调节的作用有效治疗相关疾病,证明 AS I 是黄芪皂苷类成分中发挥药效的物质基础之一,具有较好的药理活性。

5.3 AS II AS II 具有抗肿瘤作用,能有效缓解多种肿瘤相关疾病。AS II 能下调磷酸化丝裂原活化蛋白激酶表达,增强 5-氟尿嘧啶对肝癌细胞的杀伤作用;另外 AS II 还能通过下调肝癌细胞多药耐药基因,抑制 P-糖蛋白表达,增强肝癌细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感性。^[53]在肾透明细胞癌细胞 786-O 中加入 AS II,观察细胞的迁移、侵袭能力和相关蛋白的表达情况,发现 AS II 能抑制细胞上皮间质转化实现对肾透明细胞癌细胞的抑制作用^[54]。此外,AS II 能降低糖尿病模型大鼠的尿蛋白,对糖尿病肾损伤起到保护作用^[55]。

5.4 AS III 有研究^[56]通过缺氧和 LPS 构建了巨噬细胞 RAW264.7 的炎症模型,发现 AS III 能改善巨噬细胞免疫功能,发挥免疫抑制活性。在 CT26 荷瘤小鼠模型研究^[57]中,发现 AS III 可有效增加自然杀伤细胞在肿瘤内部浸润,刺激 NK 细胞表面因子受体凝集素样同型二聚体的表达以及淋巴细胞因子 γ 干扰素(IFN- γ)的生成,有效抑制肿瘤发展。Sun 等^[58]研究表明 AS III 通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路抑制巨噬细胞 M2 和诱导 M1 表型转化,在体外和体内抑制肺癌的转移、血管生成和诱导肺癌凋亡;此外,研究还发现 AS III 的肿瘤抑制作用是由 AKT/mTOR 通路介导的。

对 AS III 药理作用的相关报道主要强调和研究了其免疫调节、抗肿瘤的作用,表明 AS III 能够调控淋巴细胞和炎症因子水平,是 AS 免疫调节作用的药效物质基础之一。

5.5 AS IV

5.5.1 调节肠道菌群 联合应用 ASIV 治疗前列腺癌肿瘤(PCa)小鼠,可维持肠道微生物群和代谢物的稳定,辅助抑制 PCa 小鼠的肿瘤生长^[59]。ASIV 可改善肠道屏障功能,提高肠道通透性,重新平衡肠道微生物群使部分菌群丰度升高,有效地拮抗肾功能和肠黏膜屏障功能障碍^[60]。

5.5.2 治疗神经损伤与脑损伤疾病 研究^[61]表明,ASIV 能通过调节免疫、抗氧化、抗炎、抗凋亡和保护神经等

途径治疗或缓解多发性硬化、帕金森病、阿尔茨海默病和缺血性脑卒中等多种神经系统疾病。ASIV 可能通过抑制钙感受体激活诱导的细胞凋亡、缺血再灌注诱导的关键因子激活来缓解脑缺血再灌注^[62]。镧示踪的结果显示 ASIV 还能减弱血脑屏障的通透性,发挥抗炎作用治疗脑缺血再灌注脑损伤^[63]。

星状胶质细胞增生能修复受伤的中枢神经系统,ASIV 在体外能促进骨髓间充质干细胞(BMSCs)增殖并向神经元及星形胶质细胞分化^[64]。小胶质细胞是中枢神经系统(CNS)中的主要免疫防线,但过度激活时会释放大量免疫因子损伤神经,ASIV 可调节 BV-2 小胶质细胞 NF- κ B、核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)水平和核转移作用,从而抑制核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白炎性小体的激活,减轻东莨菪碱所致小鼠记忆障碍行为^[65]。小胶质细胞活化和神经炎症在阿尔茨海默病的发病机制中具有关键作用^[66],ASIV 能抑制小胶质细胞活化、预防记忆损伤和海马神经元凋亡以治疗阿尔茨海默病^[67-68]。ASIV 对其他神经系统相关疾病也具有一定药效,如通过 ASIV 治疗还能有效预防放射治疗诱导产生的神经损伤,缓解实验性蛛网膜下腔出血产生的早期脑损伤,提高小鼠坐骨神经纤维的数量和直径,帮助小鼠坐骨神经再生和功能恢复等^[69]。

5.5.3 抗氧化 氧化应激会损害线粒体功能,而线粒体功能障碍会促使活性氧簇自身降解,最终导致细胞死亡,其中大脑消耗氧气多,容易发生氧化应激。ASIV 能缓解细胞氧化损伤,有效阻止线粒体断裂,发挥细胞保护作用^[70]。ASIV 预处理后可提高细胞活力并修复其形态学损伤,对氧化损伤的多巴胺能神经细胞 SH-SY5Y 具有显著保护作用^[71]。

5.5.4 治疗心血管疾病 ASIV 具有改善心肌肥大、缓解心肌缺血、逆转心肌纤维化以及扩张心血管等治疗心血管疾病的功效^[62]。ASIV 能显著改善心功能,减少心肌梗死面积,显著抑制线粒体肿胀,保护心肌线粒体,抑制细胞凋亡的线粒体信号转导等,对心肌缺血再灌注损伤有保护作用^[72]。ASIV 能提高心肌细胞代谢率和存活率,保护心肌细胞,抑制 MMP-2、MMP-9 表达及活性,有效逆转心室重构,改善心功能,于心衰早期或心功能代偿期抑制异丙肾上腺素引起的心肌肥厚,调节炎症因子在病毒性心肌炎中的表达,减轻心肌损伤^[73]。Shi 等^[74]研究表明,ASIV 通过抑制 I 型和 III 型胶原蛋白的沉积和调节心肌羟脯氨酸水平来缓解大鼠的血流动力学异常,通过抑制相关信号通路预防急性心肌梗死。在大鼠心肌缺血再灌注模型中,ASIV 可激活 PI3K/AKT/糖原合酶激酶-3 β (GSK-3 β)信号通路以保护心肌细胞免受心肌缺血再灌注产生的凋亡损伤,显著改善左心室收缩压等,同时降低左心室舒张末期

压力^[75]。

5.5.5 抗肿瘤 ASIV能重塑肿瘤相关巨噬细胞的极化,减少结直肠癌细胞的侵袭和迁移,下调肿瘤细胞肝转移期间nSMase2和Rab27a蛋白的表达,抑制肿瘤来源的细胞外囊泡产生和分泌,从而抑制肿瘤继续发展^[76]。ASIV能够抑制胃癌细胞的侵袭、调控胃黏膜上皮细胞程序性细胞死亡、下调多药耐药基因的表达,延缓胃癌前病变向肿瘤继续恶化的趋势;ASIV在抑制肿瘤细胞侵袭、增殖、耐药性等方面都具有可靠的功效。^[77-78]

5.5.6 治疗组织纤维化 ASIV能通过抑制胶原合成和肝星状细胞增生以减缓肝细胞纤维化^[79]。使用ASIV干预可减轻肾脏病理损伤,通过抑制肾小管上皮细胞焦亡减轻肾纤维化^[80]。ASIV可在体内通过介导circ_0008898/miR-211-5p/高迁移率族蛋白B1(HMGB1)通路阻碍肺纤维化发展^[81]。ASIV治疗可显著减轻异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化所致心肌损伤和氧化应激。此外,ASIV还可调节p53信号通路而抑制衰老相关分泌表型(SASP)的释放,证明ASIV能从抑制氧化应激、调节衰老两个方向发挥其抗心肌纤维化作用^[82]。ASIV能降低心肌纤维化小鼠心肌细胞中线粒体活性氧的能力,抑制相关炎性小体激活,下调炎症因子的表达和胱天蛋白酶(Caspase)-1调节剂,改变细胞焦亡中GSDMD-N关键结构区域的表达,从而有效改善心肌纤维化诱导的心脏肥大和纤维化^[83]。此外,Chen等^[84]发现ASIV可以激活核因子E2相关因子-2(Nrf-2)/血红素氧合酶-1(HO-1)信号通路,抑制炎症因子表达,并减轻心肌纤维化的程度。

5.5.7 调节免疫功能、抗炎症疾病 静脉注射ASIV能促进小鼠T、B淋巴细胞增殖,同时能抑制腹腔巨噬细胞分泌炎症因子,增强体液免疫功能;ASIV能通过调节STING/NF- κ B信号通路,抑制巨噬细胞衰老并刺激BMSCs向成骨细胞分化,从而发挥抗骨质疏松作用。^[85]

ASIV能抑制肠道病毒71感染的GES-1细胞焦亡^[86]。采用ASIV治疗肠道炎症模型大鼠后,发现其可显著降低肠道溃疡指数,改善小肠黏膜表面形态和微观结构,增加黏膜血流量,减轻大鼠肠道炎症^[87]。ASIV能通过抑制NF- κ B和MAPKs信号通路减轻实验性自身免疫性脑脊髓炎^[88],还能降低细胞活性氧簇水平、调节T淋巴细胞分化和浸润等防止实验性自身免疫性脑脊髓炎持续恶化,表明ASIV可能对多发性硬化的临床治疗/预防有效^[89]。

5.5.8 其他 另外,ASIV可通过抑制MAPK通路活性,减少肾小管上皮细胞凋亡,为治疗糖尿病肾病提供科学依据^[90]。ASIV还能通过AKT/NF- κ B等通路调节相关蛋白治疗糖尿病^[91-92]。ASIV还是黄芪促进正性肌力

作用的主要活性成分,其可抑制心肌细胞内磷酸二酯酶的活性,使离体豚鼠乳头肌标本产生正性肌力作用^[93]。

5.6 CA

5.6.1 激活端粒酶 端粒酶是一种延长端粒的核糖核蛋白复合物,由催化逆转录酶(TERT)和端粒酶RNA(TERC)组成。端粒的一个关键功能是通过覆盖染色体末端来保护染色体末端免受融合和降解。细胞将极短的端粒识别为DNA损伤,因此最短的端粒对细胞活力和染色体稳定性至关重要^[94]。

CA激活端粒酶和增强增殖活性的能力已经被证实,其能激活体内体外各种类型细胞的端粒酶。CA处理可显著改善牛卵母细胞、胚胎卵裂、囊胚孵化和胚胎植入潜力,使线粒体膜电位显著升高,原代牛卵丘细胞的端粒酶活性显著增强^[95]。CA能通过上调端粒酶逆转录酶水平促进成骨细胞分化,抑制糖皮质激素诱导的骨质疏松^[96]。ASIV与CA的二肽复合物对端粒长度和端粒酶活性变化的影响大于单成分的单独作用,复合物有助于增加端粒长度及增殖活性^[97]。有研究^[98]阐明了CA在Nrf/AGE、端粒酶活性以及蛋白酶体活性三者之间发挥的作用,发现CA可增加Nrf-2活性、上调细胞保护酶并下调氧化应激诱导的活性氧水平,增强端粒酶活性和hTERT的表达,增加蛋白酶体活性和组装,表明CA介导的神经保护需要通过诱导Nrf-2和hTERT实现;CA还可能通过激活Janus激酶(JAK)/信号转导及转录激活蛋白(STAT)和cAMP反应元件结合蛋白(CREB)等通路来激活端粒酶和其他细胞。故而本团队初步判断CA激活端粒酶与CREB、MAPK、JAK/STAT等通路相关。

5.6.2 调节脂质代谢 CA能通过改善相关的各种生物标志物改善脂质代谢。在3T3-L1细胞的脂肪生成过程中,CA可抑制脂质积累和关键成脂因子、增殖因子激活受体 γ 和CCAAT增强子结合蛋白 α 的表达,并增加Hedgehog信号传导的关键介质Gli1的表达,还具有特异性靶向抑制白色脂肪组织形成的作用^[99]。CA还可通过降低氧化应激标志物和活性氧清除剂水平激活PI3K/AKT和胰岛素信号通路,促进肝脏再生,同时还能促进肝细胞甘油摄取、促进脂肪分解,保证肝脏再生所需的能量供应^[100]。研究^[99]表明,CA可以改善非酒精性脂肪性肝炎,降低肝脏脂质积累和糖耐量,能通过多种途径改善脂质代谢,是一种多靶点单体,与多种受体结合并发挥作用。

5.6.3 抗氧化应激 氧化应激是端粒磨损的主要原因,CA的端粒保护作用可能与其抗氧化和端粒酶激活特性有关。抗氧化功能是CA作为抗衰老潜在候选药物的特性之一。银屑病的特征是表皮角质形成细胞的

炎症和过度增殖,CA 可通过调节银屑病中的 miR-145/斯钙素 1(STC1)/跨膜受体蛋白 1(Notch1)轴增强自噬来减轻角质形成细胞增殖^[38]。此外,CA 还可以通过抗 MMP 表达、抗氧化活性和增加胶原蛋白的生成治疗户外紫外线诱导的光老化,并通过增加皮肤水分含量来预防银屑病^[101]。

5.6.4 调节免疫功能 免疫系统随着机体衰老而老化,而免疫功能与淋巴细胞息息相关。体外研究^[102]表明,CA 能增强 CD8⁺和 CD4⁺ T 淋巴细胞端粒酶活性和增殖能力,CA 通过 ERK/MAPK 通路治疗人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的 CD8⁺ T 淋巴细胞,可使细胞端粒酶活性增加,端粒磨损迟缓,抗病毒潜力增强;程序性死亡受体-1(PD-1)/程序性死亡受体-1 配体(PD-L1)通路引起的肿瘤抗原缺失和 CD8⁺ T 淋巴细胞耗竭是肿瘤免疫逃逸的重要因素,CA 能促进肿瘤抗原的呈递,同时与 PD-1 抗体的组合有效增强了结直肠癌类器官中 CD8⁺ T 细胞的肿瘤杀伤能力。

CA 在激活的免疫系统中也能发挥抑制作用。CA 可显著下调 Con A 激活的 CD3⁺ T 细胞表面的 CD69 和 CD25 表达,抑制淋巴细胞的活性与增殖^[103]。可见,CA 可激活免疫系统,又可抑制过度激活的免疫功能,这种双向调节作用类似于反馈抑制。

5.6.5 治疗炎症疾病 体表外伤、感染、常见脏器疾病都与炎症有关。神经炎症方面,CA 对小鼠缺血性脑损伤具有神经保护作用,其作用机制可能与沉默信息调节因子 1(SIRT1)上调以及抑制细胞凋亡和神经炎症有关^[104]。有研究^[105]证实 CA 治疗后通过上调 SIRT1 通路,可显著抑制蛛网膜下腔出血触发的氧化损伤、炎症介质的产生、小胶质细胞活化和大脑中性粒细胞浸润。CA 可改善阿尔茨海默病大鼠的海马结构,降低大脑中乙酰胆碱酯酶(AChE)的浓度,并发挥抗氧化、抗炎作用以及抗凋亡作用,使大鼠的认知功能、记忆和行为得到显著改善^[106]。活化的小胶质细胞分为促炎 M1 和抗炎 M2 两种表型,Chen 等^[107]研究表明 CA 分别通过激活 Nrf2 和抑制 NF- κ B 促进小胶质细胞 M2 和抑制 M1 极化从而改善小鼠神经炎症。CA 通过下调平面细胞极性蛋白和病理性 α -突触核蛋白、增强细胞自噬和线粒体保护来减少氧化应激和炎症小体激活,减轻小胶质细胞诱导的神经炎症,改善帕金森小鼠的行为指标^[108]。此外,CA 可以靶向激活甲酰胺受体 2(Fpr2)的表达,从而调节 Toll 样受体 4(TLR4)/NF- κ B 信号通路,促进帕金森所致炎症消退^[109]。

CA 对其他炎症也同样有效,CA 降低与 B 淋巴细胞瘤-2 基因蛋白(Bcl2)和 miR-143 过表达相关的鞘氨醇激酶(SphK)、巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α)等炎症因子的表达水平,通过调节 SphK/MIP-1 α /miR-143 来预防

溃疡性结肠炎^[110]。CA 可以抑制 ERK/JNK 信号通路的激活,下调 MAPK 信号通路治疗腹主动脉瘤^[111]。交感神经应激导致心肌细胞焦亡,从而诱发心脏炎症和损伤,最终导致心脏纤维化,CA 能够抑制 TGF- α /Smads 信号通路、阻断炎症小体介导的细胞焦亡从而抑制异丙肾上腺素诱导的心脏纤维化^[112]。CA 可通过抑制 TLR4 表达引起的 MAPK 和 NF- κ B 通路激活而抑制炎症因子的产生来发挥其抗炎活性,从而治疗脓毒症引起的心肺损伤^[113]。

目前关于 CA 的研究发现,在一定剂量范围内,并未发现动物乃至人体应用 CA 后产生任何不良反应。在 4 周恢复期和 3 次遗传毒性测定的大鼠中进行的 13 周亚慢性重复口服剂量研究^[114]的结果表明,大鼠每天服用 CA 的耐受性良好,没有诱导任何毒性或遗传毒性作用。

6 黄芪皂苷类成分在黄芪药材及制剂质量控制中的研究

AS 的质量标准研究主要集中体现在对 ASIV 的含量控制。黄芪中 AS 种类繁多,部分皂苷的含量远高于 ASIV,并且近十年的研究表明,这些皂苷均具有较好的药理作用。故而,只选择 ASIV 作为黄芪的皂苷质量控制指标值得进一步商榷。

6.1 ASIV 的质量控制方法沿革 在 1985 年首次从膜荚黄芪药材中分离并鉴定得到的新化合物被命名为 ASIV,随即对该化合物进行了一系列药理实验,得知该化合物具有抗炎、降压和镇静等功效,是黄芪药材的药效物质基础之一,便开发了 ASIV 最早期的含量测定方法^[115]。在 1990 年版《中华人民共和国药典》中,采用加热回流的方式提取药材,提取液过中性氧化铝柱并以甲醇洗脱,蒸干水分并以水溶解残渣,再以水饱和正丁醇萃取即可分离出 AS^[115]。由于多种皂苷结构相近,还需要多种层析方法配合、反复洗脱分离才能得到 ASIV 单体。该阶段 ASIV 的提取方法复杂,且得率很低。

2000 年前后,随着对黄芪中黄芪皂苷类成分的了解越来越深入,开始逐步尝试在提取 ASIV 时加入碳酸氢钠、氢氧化钠、氨水等各种碱性试剂处理样品,采用薄层扫描、分光光度计等方式进行检测,高效液相色谱法(HPLC)以及蒸发光散射检测器在 ASIV 检测中的应用才刚刚得以崭露头角^[115]。这种样品处理方法应用于 2000 年版至 2015 年版《中华人民共和国药典》的 ASIV 提取中,其采用索氏提取法提取,提取液冷浸过夜后进行加热回流,蒸干提取液,再用正丁醇萃取 4 次,氨试液洗涤 2 次,最后用 D101 型大孔吸附树脂富集^[115]。该方法的目的是尽可能提高 AS I、AS II 和 iso-AS I、iso-AS II 等皂苷转化为 ASIV 的转化率,区别在于 2000 年版采用

薄层色谱扫描法,而后续版本均改用 HPLC。

由于 ASⅣ 的提取方法过于复杂繁琐且所耗时间极长,众多学者在数十年间一直致力于改进优化提取步骤、提高 ASⅣ 的提取率。2020 年版《中华人民共和国药典》对提取方法进行了大改动,省略了正丁醇萃取、氨试液洗涤和大孔树脂吸附等步骤,改为采用含氨的甲醇水溶液进行加热回流^[1],大幅降低了检测的时间成本。

ASⅣ 作为一种具有多种药理作用且同类型的多种环阿屯醇型皂苷都能向其转化的化合物,在过去 40 年间一直被作为黄芪质量控制的指标来评价黄芪质量。但是,其样品制备方法虽然经过不断优化和改善,仍然复杂繁琐、费时。

6.2 黄芪皂苷类成分的含量测定研究 近年来,人们还在不断挖掘、探索黄芪真正发挥药效的机制,发现黄芪的药效物质基础丰富,注意到该药材的药效并不能以单个化合物简单评判,开始考虑以多指标来全面衡量黄芪药材的质量,同时精简前处理方法。黎晶晶等^[116]采用 HPLC-CAD 法对 6 个化合物进行联测,采取甲醇超声的方法进行提取测定,结果表明不同产地的黄芪药材中 ASⅠ 含量最高,ASⅣ 含量最低。王亚鹏^[117]采用 UPLC-ELSD 法对不同生长模式及生长年限的黄芪进行了系统研究,无论是按生长年限还是按生长模式进行评价,各皂苷含量高低情况均为 ASⅠ>ASⅡ>ASⅣ>ASⅢ,即不对黄芪药材进行碱处理的情况下,ASⅣ 含量远低于 ASⅠ 和 ASⅡ。提取过程中在经氨试液洗涤后 ASⅠ、ASⅡ 发生了量变与质变转化为 ASⅣ,但 ASⅠ 和 ASⅡ 无法实现完全转化,因此,采用氨试液转化而来的 ASⅣ 数据结果难以客观、真实反映黄芪质量^[118]。

我们对 ASⅣ 有史以来的质量控制方法进行了回溯,将 ASⅣ 如何成为质量控制指标及其制备检测方法的更新迭代进行了总结。近十年经过不断优化与试验,ASⅣ 的制备与检测方法仍是痛点,尤其是 ASⅣ 在药材或制剂中含量很低,还需要靠其他 AS 向其转化增加它的含量,这既无法保证 100% 转化率,繁琐的制样方法又反而阻碍了质量评价,因而选择合理的指标成分进行质量控制仍然是一个值得关注和深入研究的问题。

6.3 CA 的质量控制研究 根据前文总结我们得知,黄芪皂苷类成分的苷元为 CA,AS 经胃肠道给药在体内可能都会转化为 CA 而发挥药效,且 CA 的药理作用备受关注,因此对 CA 的质量控制研究受到重点关注。杜以晴等^[119]研究黄芪发酵前后化合物的含量变化,其中 CA 的 ELSD 检测信号良好,说明 CA 也能通过 ELSD 检测器检测到。虽然 AS 能通过酸水解、乙酰水解、酶解法和 Smith 法降解糖苷转化为 CA,但实验过程中难免出现

降解不完全的中间产物和未知杂质,如何提高转化率是目前需要解决的问题。Zhu 等^[120]则采用 Smith 降解法实现了 CA 的大量生产,并对生产过程中出现的中间产物和杂质进行了分析。但 Smith 降解法非常复杂,涉及的试剂、步骤繁多,反复萃取浓缩需要的时间冗长。Li 等^[121]利用 β -葡萄糖苷酶和 β -木糖苷酶对 ASⅣ 进行降解,发现在 75 °C、pH5.5 时 1U β -葡萄糖苷酶和 0.3U β -木糖苷酶的转化效果最佳,摩尔转化率高达 94.5%,可在既环保又经济的条件下实现 CA 高效生产,但是仍无法避免步骤繁琐的问题。

虽然 CA 的药理作用研究较为丰富,但是 CA 在药材中含量微乎其微,还没有研究将 CA 纳入质量控制指标,更没有将黄芪总皂苷均转化为 CA 对黄芪质量进行评价的方法,这些值得进一步思考和探索。

6.4 基于人工智能技术的黄芪药材 Q-Marker 预测 Wu 等^[122]使用机器学习的方法预测可区分黄芪药材等级的 5 个质量标志物:精氨酸、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素、ASⅣ;其中精氨酸、毛蕊异黄酮、芒柄花苷、芒柄花素的含量随着等级越高而增加,但 ASⅣ 随着等级升高而下降,明显与等级划分的规律相违背。Yu 等^[123]也采用机器学习方式,挖掘出 4 个化合物在同时区分产地、物种、等级、生长模式上具有重要作用,其中包含芒柄花苷和 ASⅡ;从质量标志物可测性和有效性的原则出发,结合药效学实验、指纹图谱、网络药理学、分子对接技术,将黄芪传统功效与现代疾病紧密联系对应,初步预测毛蕊异黄酮葡萄糖苷、ASⅣ、ASⅡ、ASⅢ、iso-ASⅠ 这 5 种成分为黄芪发挥“补气升阳”功效的质量标志物。张艳僊等^[124]对黄芪资源分布、化学成分和药理作用进行梳理总结,围绕传统药性、功效、化学成分和不同配伍等方面对黄芪质量标志物进行了预测分析,最终预测出黄芪多糖、芒柄花苷、毛蕊异黄酮、芒柄花素、ASⅠ、ASⅡ、ASⅣ 等成分可为黄芪质量控制提供科学依据。

综上所述,黄芪皂苷类成分中 ASⅠ~ASⅣ 以及 CA 均可能是黄芪发挥药效的物质基础。首先,根据 AS 在动物体内外的代谢途径和代谢产物,我们清楚地得知黄芪皂苷类成分会在胃肠道经肠道菌群作用脱糖基、脱乙酰基并高效转化为 CA,CA 经肝脏代谢得到其异构体;其次,黄芪皂苷类成分的药代动力学特征显示皂苷元 CA 的生物利用度和血药浓度均高于 AS 单体,且大鼠口服黄芪总提取物或复方的研究结论发现 CA 完全是由 AS 转化而来;最后,再根据各 AS 单体在肠道菌群中转化为 CA 的效率,发现转化速率 ASⅢ>ASⅠ>ASⅡ>ASⅣ。故而,CA 及其异构体可能是黄芪皂苷类成分在体内真正发挥药效的物质形式。黄芪的质量评价方法仍需进一步深入研究,综合药效、含量以及操作简便性和检测成本等因素,可制订更为科学合理的质量标准。

直接以黄芪药材中含量较高的原型皂苷 ASⅢ、ASⅠ和 ASⅡ等为指标成分进行质量控制不失为一种更为可行的策略。

7 总结与展望

黄芪皂苷类成分是黄芪中种类丰富、药理作用多样的一类功效物质,作为黄芪药材的重要成分,其在植物体内的生物合成途径基本清晰。黄芪皂苷类成分可在体内外发生降解和代谢,主要发生脱乙酰基、脱糖基和脱氢反应形成以 CA 为主的一系列降解和代谢产物,但具体的药效物质基础仍需要进一步深入研究和挖掘。现行黄芪质量标准中主要以 ASⅣ为指标成分进行质量控制,其含量测定方法依赖于将其他 AS 通过碱处理转化为 ASⅣ,转化率的稳定性和重复性及方法的简化等问题需要进一步研究。综合黄芪药材中其他皂苷的含量差异情况、药理作用及体内暴露和相互转化规律,可为选择含量相对较高的皂苷类成分如 ASⅠ、ASⅡ、ASⅢ等作为质量控制指标提供一定的参考依据,使建立黄芪药材中皂苷类成分更加科学、合理、适用的含量测定方法成为可能。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020年版):一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:315.
- [2] 曾雯,周胜强,黄佳,等. 黄芪免疫调节活性成分及其药理作用进展[J]. 上海中医药杂志, 2025, 59(1): 80-88.
- [3] PENG Y, DENG X, YANG S, et al. Progress in mechanism of *Astragalus membranaceus* and its chemical constituents on multiple sclerosis[J]. *Chin J Integr Med*, 2023, 29(1): 89-95.
- [4] 李佩蓉. 根际细菌群落促进黄芪抵抗干旱胁迫机制探究[D]. 咸阳:西北农林科技大学, 2023.
- [5] YAO L, LU J, WANG J, et al. Advances in biosynthesis of triterpenoid saponins in medicinal plants[J]. *Chin J Nat Med*, 2020, 18(6): 417-424.
- [6] CHEN K, ZHANG M, XU L, et al. Identification of oxidosqualene cyclases associated with saponin biosynthesis from *Astragalus membranaceus* reveals a conserved motif important for catalytic function[J]. *J Adv Res*, 2023, 43: 247-257.
- [7] XU B, HUANG J, PENG G, et al. Total biosynthesis of the medicinal triterpenoid saponin astragalosides[J]. *Nat Plants*, 2024, 10(11): 1826-1837.
- [8] ZHANG S, PENG Y, XIANG G, et al. Functional characterization of genes related to triterpene and flavonoid biosynthesis in *cyclocarya paliurus*[J]. *Planta*, 2024, 259(2): 50.
- [9] ZHANG M, YI Y, GAO B, et al. Functional characterization and protein engineering of a triterpene 3-/6-/2'-O-glycosyltransferase reveal a conserved residue critical for the regioselectivity[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, 61(8): e202113587.
- [10] CHEN K, ZHANG M, GAO B, et al. Characterization and protein engineering of glycosyltransferases for the biosynthesis of diverse hepatoprotective cycloartane-type saponins in *Astragalus membranaceus* [J]. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21(4): 698-710.
- [11] DUAN Y, DU W, SONG Z, et al. Functional characterization of a cycloartenol synthase and four glycosyltransferases in the biosynthesis of cycloastragenol-type astragalosides from *Astragalus membranaceus* [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(1): 271-283.
- [12] DONG M, LI J, YANG D, et al. Biosynthesis and pharmacological activities of flavonoids, triterpene saponins and polysaccharides derived from *Astragalus membranaceus* [J]. *Molecules*, 2023, 28(13): 5018.
- [13] WANG L, JIANG Z, ZHANG J, et al. Characterization and structure-based protein engineering of a regiospecific saponin acetyltransferase from *Astragalus membranaceus*[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5969.
- [14] MEI X, WANG Y, LIU Z, et al. The chemical transformations for radix *Astragali* via different alkaline wash conditions by quantitative and qualitative analyses [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 185: 113164.
- [15] 张焱,杨春静,孟琦,等. 肠道菌群变化对黄芪甲苷的药代动力学影响[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(12): 3144-3149.
- [16] TAKEUCHI D M, KISHINO S, OZEKI Y, et al. Analysis of astragaloside IV metabolism to cycloastragenol in human gut microorganism, bifidobacteria, and lactic acid bacteria [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2022, 86(10): 1467-1475.
- [17] 孟欣桐,乐世俊,杨智睿,等. 黄芪皂苷类成分在人源肠道菌群中生物转化特征研究[J]. 食品与药品, 2018, 20(3): 161-167.
- [18] WANG Y, MEI X, LIU Z, et al. Chemical constituent profiling of *Paecilomyces cicadae* liquid fermentation for *Astragali radix* [J]. *Molecules*, 2019, 24(16): 2948.
- [19] 李倩,于丹,国立东,等. 微生物发酵转化皂苷类化合物机制的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(22): 7264-7278.
- [20] 李忆红,梁雨璐,解嘉琪,等. 中药皂苷类化合物生物转化研究进展[J]. 中草药, 2024, 55(3): 989-1003.
- [21] XU Z, WANG L, LIU H, et al. Analysis of herbal constituents and *in vivo* pharmacokinetics of gegen-huangqi decoction in rat plasma using HPLC-Q-TOF-MS/MS and HPLC-QQQ-MS/MS[J]. *Biomed Chromatogr*, 2025, 39(1): e6046.
- [22] SUN S, WANG Y, WU A, et al. Influence factors of the pharmacokinetics of herbal resourced compounds in clinical practice [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 1983780.
- [23] 王鑫,张振秋. 黄芪总皂苷提取物在大鼠体内的药代动力学和组织分布研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(5): 1035-1037.
- [24] DU Y, LI C, XU S, et al. LC-MS/MS combined with blood-brain dual channel microdialysis for simultaneous determination of active components of *Astragali radix-safflower* combination and neurotransmitters in rats with cerebral ischemia reperfusion injury: application in pharmacokinetic and pharmacodynamic study [J]. *Phytomedicine*, 2022, 106: 154432.
- [25] HE Y, HU Z, LI A, et al. Recent advances in biotransformation of saponins[J]. *Molecules*, 2019, 24(13): 2365.
- [26] HE M, WANG K, CHE H, et al. A comprehensive review of cycloastragenol: biological activity, mechanism of action and structural modifications [J]. *Euro J Med Chem Reports*, 2022, 5: 100060.
- [27] ZHOU R N, SONG Y L, RUAN J Q, et al. Pharmacokinetic evidence on the contribution of intestinal bacterial conversion to beneficial

- effects of astragaloside IV, a marker compound of *Astragali radix*, in traditional oral use of the herb[J]. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2012, 27(6): 586-597.
- [28] HE B, WANG Z, CHEN L, et al. A rapid, sensitive, and selective liquid chromatography-mass spectrometry method for simultaneous quantification of astragaloside IV and cycloastragenol in mouse plasma and its application to a pharmacokinetic study [J]. *Int J Mass Spectrom*, 2018, 434: 130-135.
- [29] XIANG L, FENG M, GUO X, et al. Studying the effects of *Saposhnikovia* radix on the pharmacokinetic profiles of 10 bioactive compounds originating from *Astragali radix* in rat plasma by UHPLC-QTRAP-MS/MS[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 337(Pt 1): 118813.
- [30] WANG Y, LI Y, ZHANG H, et al. Pharmacokinetics-based comprehensive strategy to identify multiple effective components in huangqi decoction against liver fibrosis [J]. *Phytomedicine*, 2021, 84: 153513.
- [31] GUO Z, LOU Y, KONG M, et al. A systematic review of phytochemistry, pharmacology and pharmacokinetics on *Astragali radix*: implications for *Astragali radix* as a personalized medicine[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1463.
- [32] 崔文博. 防己黄芪汤的整合药物代谢动力学及其组织分布研究[D]. 太原:山西大学, 2021.
- [33] 黄晶. 基于 UPLC/Q-TOF-MS 技术的蜜炙黄芪大鼠体内代谢成分分析[D]. 广州:广东药科大学, 2017.
- [34] ZHANG B, HUANG S, LIU Z, et al. Investigation of the metabolism of astragaloside in a puromycin-damaged rat model by UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis[J]. *Planta Med*, 2024, 90(2): 154-165.
- [35] SONG S, LI Y, LIU X, et al. Study on the biotransformation and activities of astragalosides from *Astragali radix* *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(46): 17924-17946.
- [36] KONG S, OU S, LIU Y, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy analysis of *Astragalus* saponins and identification of metabolites after oral administration in rats by ultrahigh-performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 828449.
- [37] 金艺. 黄芪甲苷生物转化与生物利用影响因素研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2015.
- [38] XIA J, ZHANG Y, WANG Q, et al. Cycloastragenol restrains keratinocyte hyperproliferation by promoting autophagy via the miR-145/STC1/Notch1 axis in psoriasis [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2024, 46(2): 229-239.
- [39] 王祯, 张俊令, 焦宏基, 等. 黄芪有效成分的药理作用与质量控制研究进展[J]. *药物评价研究*, 2023, 46(4): 917-924.
- [40] ZHANG L, HU Y, QI S, et al. *Astragalus* saponins and its main constituents ameliorate ductular reaction and liver fibrosis in a mouse model of ddc-induced cholestatic liver disease [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 965914.
- [41] 张娟利, 刘清, 王菲. 黄芪总皂苷改善血管性痴呆大鼠的认知功能[J]. *神经损伤与功能重建*, 2022, 17(5): 281-284.
- [42] SU H, SHAKER S, KUANG Y, et al. Phytochemistry and cardiovascular protective effects of huang-qi (*Astragali radix*) [J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(4): 1999-2038.
- [43] SHENG F, YANG S, LI M, et al. Research progress on the anti-cancer effects of *Astragalus membranaceus* saponins and their mechanisms of action[J]. *Molecules*, 2024, 29(14): 3388.
- [44] 田沙沙. 黄芪总皂苷抗小鼠运动疲劳作用及机制研究[D]. 南昌:江西科技师范大学, 2021.
- [45] 张丹丹, 王天合, 余意, 等. 黄芪总皂苷对气虚模型大鼠的补气作用及机制研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(24): 3020-3025.
- [46] 郑宇翔, 刘德国, 徐天波, 等. 黄芪皂苷改善膝关节骨性关节炎大鼠模型炎症及其机制研究[J]. *浙江医学*, 2022, 44(9): 919-925.
- [47] 邓宇, 潘广涛, 陈朝俊. 黄芪皂苷治疗阿尔茨海默病研究进展[J]. *中医学报*, 2023, 38(5): 921-926.
- [48] 张婷, 王宏雅, 魏桂杰, 等. 黄芪活性成分抗衰老作用机制的网络药理学研究[J]. *中国现代中药*, 2021, 23(5): 807-814.
- [49] UPMANYU V, SAPRA L, SRIVASTAVA R K. Chapter 5-employment of selective pharmacologically active natural compounds in treatment and management of osteoporosis [M]//Atta-ur-Rahman. *Studies in Natural Products Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 2022: 161-241.
- [50] 段亚飞, 石贤聪, 赵靓, 等. 黄芪皂苷 I 通过抑制足细胞焦亡干预糖尿病肾脏疾病的机制研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2024, 47(10): 1408-1415.
- [51] AN J, CHEN B, KANG X, et al. Neuroprotective effects of natural compounds on lps-induced inflammatory responses in microglia [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(6): 2353-2378.
- [52] ZHAO J, GAO G, DING J, et al. Astragaloside I promotes lipophagy and mitochondrial biogenesis to improve hyperlipidemia by regulating Akt/mTOR/TFEB pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2024, 72(39): 21548-21559.
- [53] 陈泽山, 邓鑫, 朱文琳, 等. 黄芪对肝癌的影响及潜在机制[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(11): 157-160.
- [54] 赵凯. 黄芪皂苷 II 对肾透明细胞癌凋亡、迁移和侵袭的作用和机制研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2023.
- [55] 高崇婷. 黄芪皂苷 II 对糖尿病大鼠的肾脏保护作用研究[D]. 上海:上海交通大学, 2020.
- [56] HE Y, AMER H M, XU Z, et al. Exploration of the underlying mechanism of astragaloside III in attenuating immunosuppression via network pharmacology and vitro/vivo pharmacological validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 330: 118235.
- [57] 陈星濛. 黄芪皂苷 III 及其纳米协同治疗系统抗结肠癌作用机制初探[D]. 天津:天津大学, 2019.
- [58] SUN Y, LIU J, CHEN W, et al. Astragaloside III inhibits MAPK-mediated M2 tumor-associated macrophages to suppress the progression of lung cancer cells via Akt/mTOR signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 154: 114546.
- [59] YOU X, QIU J, LI Q, et al. Astragaloside IV-PESV inhibits prostate cancer tumor growth by restoring gut microbiota and microbial metabolic homeostasis via the AGE-RAGE pathway [J]. *BMC Cancer*, 2024, 24(1): 472.
- [60] LYU X, ZHANG T, YE Z, et al. Astragaloside IV mitigated diabetic nephropathy by restructuring intestinal microflora and ferroptosis [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2024, 68(6): e2300734.
- [61] 徐锴, 吴晓俊. 黄芪皂苷对神经系统疾病的药理作用研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(18): 4674-4682.
- [62] YIN F, ZHOU H, FANG Y, et al. Astragaloside IV alleviates ischemia reperfusion-induced apoptosis by inhibiting the activation of key factors in death receptor pathway and mitochondrial pathway [J]. *J*

- Ethnopharmacol, 2020, 248: 112319.
- [63] KANG X, SU S, HONG W, et al. Research progress on the ability of astragaloside IV to protect the brain against ischemia-reperfusion injury[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 755902.
- [64] 刘晓丹, 丁煌, 邓常清. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对 OGD/R 大鼠骨髓间充质干细胞增殖、凋亡、迁移及神经分化的影响[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5795-5801.
- [65] STEPNIK K, KUKULA-KOCH W, BOGUSZEWSKA-CZUBARA A, et al. Astragaloside IV as a memory-enhancing agent: in silico studies with in vivo analysis and post mortem adme-tox profiling in mice[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(7): 4021.
- [66] HE L, SUN J, MIAO Z, et al. Astragaloside IV attenuates neuroinflammation and ameliorates cognitive impairment in Alzheimer's disease via inhibiting NF- κ B signaling pathway [J]. Heliyon, 2023, 9(2): e13411.
- [67] XU Z, YANG D, HUANG X, et al. Astragaloside IV protects 6-hydroxydopamine-induced cell model of Parkinson's disease via activating the pathway[J]. Front Neurosci, 2021, 15: 631501.
- [68] CHEN F, YANG D, CHENG X, et al. Astragaloside ameliorates cognitive impairment and neuroinflammation in an oligomeric A β induced Alzheimer's disease mouse model via inhibition of microglial activation and NADPH oxidase expression [J]. Biol Pharm Bull, 2021, 44(11): 1688-1696.
- [69] LIU X, DING Y, JIANG C, et al. Astragaloside IV mediates radiation-induced neuronal damage through activation of BDNF-TrkB signaling[J]. Phytomedicine, 2024, 132: 155803.
- [70] QIN S, YIN J, HUANG S, et al. Astragaloside IV protects ethanol-induced gastric mucosal injury by preventing mitochondrial oxidative stress and the activation of mitochondrial pathway apoptosis in rats[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 894.
- [71] YAO J, PENG T, SHAO C, et al. The antioxidant action of *Astragali radix*: its active components and molecular basis [J]. Molecules, 2024, 29(8): 1691.
- [72] XU Z, ZHOU H, ZHANG Y, et al. Recent pharmacological advances in the treatment of cardiovascular events with Astragaloside IV [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 168: 115752.
- [73] ZANG Y, WAN J, ZHANG Z, et al. An updated role of astragaloside IV in heart failure[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 126: 110012.
- [74] SHI H, ZHOU P, GAO G, et al. Astragaloside IV prevents acute myocardial infarction by inhibiting the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. J Food Biochem, 2021, 45(7): e13757.
- [75] WEI D, XU H, GAI X, et al. Astragaloside IV alleviates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats through regulating PI3K/AKT/GSK-3 β signaling pathways[J]. Acta Cir Bras, 2019, 34(7): e201900708.
- [76] ZHOU J, LI L, PU Y, et al. Astragaloside IV inhibits colorectal cancer metastasis by reducing extracellular vesicles release and suppressing M2-type TAMs activation [J]. Heliyon, 2024, 10(10): e31450.
- [77] 彭剑岚, 朱永苹, 林寿宁, 等. 黄芪及其活性成分治疗胃癌的作用机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(4): 196-201.
- [78] ZHOU R, GUO T, LI J. Research progress on the antitumor effects of astragaloside[J]. Eur J Pharmacol, 2023, 938: 11.
- [79] GONG F, QU R, LI Y, et al. *Astragalus mongholicus*: a review of its anti-fibrosis properties[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 976561.
- [80] ZHANG L, LIU W, LI S, et al. Astragaloside IV alleviates renal fibrosis by inhibiting renal tubular epithelial cell pyroptosis induced by urotensin II through regulating the cAMP/PKA signaling pathway [J]. PLoS One, 2024, 19(5): e0304365.
- [81] ZHU M, ZHAO L, ZHANG X, et al. Astragaloside IV restrains pulmonary fibrosis progression via the circ_0008898/miR-211-5p/HMGB1 axis[J]. Chem Biol Drug Des, 2024, 103(3): e14508.
- [82] SHI L, DENG J, HE J, et al. Integrative transcriptomics and proteomics analysis reveal the protection of astragaloside IV against myocardial fibrosis by regulating senescence [J]. Eur J Pharmacol, 2024, 975: 176632.
- [83] ZHANG X, QU H, YANG T, et al. Astragaloside IV attenuate MI-induced myocardial fibrosis and cardiac remodeling by inhibiting ROS/caspase-1/GSDMD signaling pathway[J]. Cell Cycle, 2022, 21(21): 2309-2322.
- [84] CHEN X, TIAN C, ZHANG Z, et al. Astragaloside inhibits NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via activation of NRF-2/HO-1 signaling pathway and protects against doxorubicin-induced cardiac dysfunction[J]. Front Biosci (Landmark Ed), 2023, 28(3): 45.
- [85] LI M, NIU Y, TIAN L, et al. Astragaloside IV alleviates macrophage senescence and d-galactose-induced bone loss in mice through STING/NF- κ B pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 129: 111588.
- [86] OZDEMIR K, BARAK T H, CELEP I K, et al. Evaluation of phytochemistry and antidiabetic potential of an Astragalus species (*Astragalus kurdicus* boiss .) [J]. Chem Biodivers, 2024, 21(8): e202400699.
- [87] SUN Q, HU M, YUAN C, et al. Astragaloside IV ameliorates indomethacin-induced intestinal inflammation in rats through inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 135: 112281.
- [88] YANG L, HAN X, YUAN J, et al. Early astragaloside IV administration attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis in mice by suppressing the maturation and function of dendritic cells [J]. Life Sci, 2020, 249: 117448.
- [89] YANG L, XING F, HAN X, et al. Astragaloside IV regulates differentiation and induces apoptosis of activated CD4⁺ T cells in the pathogenesis of experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2019, 362: 105-115.
- [90] GAO Y, SU X, XUE T, et al. The beneficial effects of astragaloside IV on ameliorating diabetic kidney disease[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 163: 114598.
- [91] WANG E, WANG L, DING R, et al. Astragaloside IV acts through multi-scale mechanisms to effectively reduce diabetic nephropathy[J]. Pharmacol Res, 2020, 157: 104831.
- [92] 栾仲秋. 异黄芪皂苷 IV 对高糖诱导的肾小球系膜细胞活性的影响 [J]. 北华大学学报(自然科学版), 2020, 21(2): 179-183.
- [93] GUO J, ZHAO N, JIN P, et al. Effect of Astragalus injection on inflammatory mediators in patients with viral myocarditis: a systematic review and meta-analysis[J]. Phytomedicine, 2022, 107: 154436.
- [94] TSOUKALAS D, FRAGKIADAKI P, DOCEA A O, et al. Discovery of potent telomerase activators: unfolding new therapeutic and anti-aging perspectives[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(4): 3701-3708.
- [95] KHAN A M, IDREES M, PERERA C D, et al. The effects of

- cycloastragenol on bovine embryo development, implantation potential and telomerase activity [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2023, 35 (10) : 527-538.
- [96] WU J, ZENG Z, LI Y, et al. Cycloastragenol protects against glucocorticoid-induced osteogenic differentiation inhibition by activating telomerase[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(4): 2034-2044.
- [97] ENUKASHVILY N I, SKAZINA M A, CHUBAR A V, et al. The effect of the geroprotectors astragaloside, cycloastragenol, and timoval - epival peptide complex on telomere length and telomerase activity in human mesenchymal stromal cells and senescent fibroblasts [J]. *Cell and Tissue Biology*, 2020, 14: 83-90.
- [98] YILMAZ S, BEDIR E, KIRMIZIBAYRAK P B. The role of cycloastragenol at the intersection of NRF2/ARE, telomerase, and proteasome activity[J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 188: 105-116.
- [99] KIM J T, CHEN J, ZHOU Y, et al. Cycloastragenol inhibits adipogenesis and fat accumulation *in vitro* and *in vivo* through activating Hedgehog signaling [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2024, 33 (3): 711-720.
- [100] LI Y, YANG X, LI X, et al. Astragaloside and cycloastragenol promote liver regeneration through regulation of hepatic oxidative homeostasis and glucose/lipid metabolism[J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156165.
- [101] YANG M H, HWANG S T, UM J, et al. Cycloastragenol exerts protective effects against UVB irradiation in human dermal fibroblasts and HaCaT keratinocytes [J]. *J Dermatol Sci*, 2023, 111 (2): 60-67.
- [102] DENG G, ZHOU L, WANG B, et al. Targeting cathepsin B by cycloastragenol enhances antitumor immunity of CD8 T cells via inhibiting MHC-I degradation [J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10 (10): e004874.
- [103] IBRAHIM S, SIRWI A, EID B G, et al. Summary of natural products ameliorate concanavalin A-induced liver injury: structures, sources, pharmacological effects, and mechanisms of action [J]. *Plants (Basel)*, 2021, 10(2):228.
- [104] LI M, LI S, DOU B, et al. Cycloastragenol upregulates expression, attenuates apoptosis and suppresses neuroinflammation after brain ischemia[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(8): 1025-1032.
- [105] LIN W, YAO H, LAI J, et al. Cycloastragenol confers cerebral protection after subarachnoid hemorrhage by suppressing oxidative insults and neuroinflammation via the signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 3099409.
- [106] ALHARBI K M, ALSHEHRI S A, ALMARWANI W A, et al. Effects of cycloastragenol on Alzheimer's disease in rats by reducing oxidative stress, inflammation, and apoptosis [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2024, 21(2): 141-154.
- [107] CHEN T, LI Z, LI S, et al. Cycloastragenol suppresses M1 and promotes M2 polarization in LPS-stimulated BV-2 cells and ischemic stroke mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 113(Pt A): 109290.
- [108] FENG L, LO H, ZHENG J, et al. Cycloastragenol reduces microglial NLRP3 inflammasome activation in Parkinson's disease models by promoting autophagy and reducing Scrib-driven ROS[J]. *Phytomedicine*, 2024, 135: 156210.
- [109] XIAO S, LIU L, QIN X, et al. Cycloastragenol targets Fpr2 to inhibit the TLR4/NF- κ B signaling pathway and alleviate neuroinflammation in Parkinson's disease[J]. *Phytomedicine*, 2025, 139: 156462.
- [110] BAGALAGEL A, DIRI R, NOOR A, et al. The therapeutic effects of cycloastragenol in ulcerative colitis by modulating signalling [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2022, 131(5): 406-419.
- [111] WANG Y, CHEN C, WANG Q, et al. Inhibitory effects of cycloastragenol on abdominal aortic aneurysm and its related mechanisms[J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(2): 282-296.
- [112] QI R. Cycloastragenol alleviates cardiac fibrosis through inhibiting pyroptosis activated by NLRP3 inflammasome[J]. *Circ Res*, 2024, 135: 95.
- [113] CHEN G, WANG W, GUAN B, et al. Cycloastragenol reduces inflammation in clp-induced septic mice by suppressing TLR4 signaling pathways[J]. *Phytomedicine*, 2025, 142:156645.
- [114] GUO J, HUANG X, DOU L, et al. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 391.
- [115] 张雪. 黄芪甲苷提取纯化研究进展[J]. *农业科技与装备*, 2016 (9):36-38.
- [116] 黎晶晶, 范三微, 于瑞莲. 高效液相串联电喷雾检测器一测多评法测定黄芪中 6 个成分的含量[J]. *中药材*, 2024, 47(7): 1754-1759.
- [117] 王亚鹏. 不同生产模式及生长年限黄芪的品质评价及其差异形成的分子机制研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2024.
- [118] 刘蓬蓬, 鞠成国, 林桂梅, 等. HPLC-CAD 分析黄芪甲苷提取过程中黄芪皂苷类成分动态变化[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(11): 92-96.
- [119] 杜以晴, 于钦辉, 文冉, 等. HPLC-DAD-ELSD 法测定黄芪经九州虫草双向固体发酵前后 8 种成分的含量[J]. *中国药房*, 2020, 31 (23): 2841-2846.
- [120] ZHU F, ZHANG X, DU B, et al. Using UPLC-LTQ-Orbitrap-MS and HPLC-CAD to identify impurities in cycloastragenol, which is a pre-clinical candidate for COPD [J]. *Molecules*, 2023, 28 (17) : 6382.
- [121] LI Q, WU T, ZHAO L, et al. Highly efficient biotransformation of astragaloside IV to cycloastragenol by sugar-stimulated β -glucosidase and β -xylosidase from *dictyoglomus thermophilum* [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2019, 29(12): 1882-1893.
- [122] WU J, DENG S, YU X, et al. Identify production area, growth mode, species, and grade of Astragali radix using metabolomics "big data" and machine learning[J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155201.
- [123] YU X, NAI J, GUO H, et al. Predicting the grades of Astragali radix using mass spectrometry-based metabolomics and machine learning [J]. *J Pharm Anal*, 2021, 11(5): 611-616.
- [124] 张梅僊, 刘海龙, 王瑞琼, 等. 黄芪化学成分和药理作用及 Q-marker 预测分析[J]. *中国新药杂志*, 2023, 32(4): 410-419.

编辑:黄博韬

收稿日期:2025-04-14