

DOI: 10.16305/j.1007-1334.2026.z20250513006

# 基于黄芪皂苷类成分药代动力学特征解析 黄芪皂苷 I 的质控合理性

刘 伟<sup>1,2,3</sup>, 李春晖<sup>1,2\*</sup>, 张霖璋<sup>1,2</sup>, 陈佳美<sup>1,2</sup>, 刘 平<sup>1,2,4</sup>

1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所(上海 201203); 2. 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海市中医临床重点实验室(上海 201203); 3. 上海中医药大学附属曙光医院药学部, 国家中医药管理局中药制剂三级实验室(上海 201203); 4. 上海中医药大学交叉科学研究院, 上海市中医药化学生物学前沿基地(上海 201203)

**【摘要】** 目的 针对环黄芪醇是黄芪皂苷类成分在体内代谢发挥药效的主要活性成分, 解析黄芪皂苷类成分的质量控制指标问题。方法 采用高效液相色谱(HPLC)法检测黄芪水提取物及总皂苷中主要成分的含量, 并分别开展黄芪总皂苷、黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 与环黄芪醇小鼠体内药代动力学研究。将 C57BL/6J 雄性小鼠随机分为黄芪总皂苷组、黄芪皂苷 I 组、黄芪皂苷 IV 组、环黄芪醇组与空白组, 除空白组外, 其余各组灌胃给药剂量均为  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 空白组灌胃等体积的 0.9% 氯化钠溶液, 各组于给药 10、30、90、180、300、480、960、1 440 min 后分别取 5 只小鼠进行处理, 收集血清、肝组织及肠内容物, 采用超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱联用系统(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS)法测定黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪皂苷 IV、异黄芪皂苷 I、异黄芪皂苷 II、环黄芪醇在各组血清、肝脏、肠内容物样品中的浓度, 计算主要药代动力学参数; 收集小鼠新鲜粪便, 制备肠菌液及灭活肠菌液, 开展黄芪皂苷 I 与黄芪皂苷 IV 体外肠菌孵育实验, 分别收集孵育 0、1、3、8、24 h 的样本, 采用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS 分析样本中环黄芪醇及主要皂苷成分的含量。结果 黄芪皂苷 I 在黄芪水提取物和总皂苷中的含量均远高于黄芪皂苷 IV, 小鼠经口灌胃黄芪总皂苷后血清及肝组织中环黄芪醇暴露量约是黄芪皂苷 IV 的 2.6 倍与 10.4 倍; 黄芪皂苷 I 在体内外代谢转化为环黄芪醇的效率及总量显著高于黄芪皂苷 IV (7.3 倍、5.9 倍)。结论 黄芪皂苷 I 较黄芪皂苷 IV 更适合作为黄芪皂苷类成分的质量控制指标成分。

**【关键词】** 黄芪皂苷类成分; 黄芪皂苷 I; 黄芪皂苷 IV; 环黄芪醇; 中药; 质量控制

## Analysis of rationality of quality control for astragaloside I based on pharmacokinetic characteristics of *Astragalus saponins*

LIU Wei<sup>1,2,3</sup>, LI Chunhui<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Linzhang<sup>1,2</sup>, CHEN Jiamei<sup>1,2</sup>, LIU Ping<sup>1,2,4</sup>

[基金项目] 上海市科委科技启明星项目(24QA2709200); 上海市东方英才计划青年项目(QNWS2024054); 上海市“科技创新行动计划”自然科学基金项目(24ZR1467100); 上海市超级博士后激励计划(2024530); 上海市自然科学基金青年基金项目(25ZR1402483); 中国博士后基金面上项目(2025M773981); 国家资助博士后研究人员计划C档资助项目(GZC20252641)

[作者简介] 刘伟, 男, 博士, 研究员, 硕士研究生导师, 主要从事中药复方药效物质基础及体内过程研究工作。\*李春晖为共同第一作者

[通信作者] 刘平, 教授, 博士研究生导师; E-mail: liuliver@vip.sina.com。刘伟, 研究员, 硕士研究生导师; E-mail: lwhzayl@shutcm.edu.cn

1. Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases (Ministry of Education)/Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Department of Pharmacy, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine/The SATCM Third Grade Laboratory of Traditional Chinese Medicine Preparations, Shanghai 201203, China; 4. Institute of Interdisciplinary Integrative Medicine Research, Shanghai University of

Traditional Chinese Medicine/Shanghai Chemical Biology of Frontier Base of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

**Abstract: Objective** Given that cycloastragenol is the primary active *in vivo* metabolite of astragaloside compounds, this study aimed to evaluate the suitability of quality control markers for *Astragalus* saponins. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to quantify the main components in *Astragalus* aqueous extract and total *Astragalus* saponins. Pharmacokinetic studies were conducted in male C57BL/6J mice, which were randomly divided into five groups: total *Astragalus* saponins group, astragaloside I group, astragaloside IV group, cycloastragenol group, and control group. Each treatment group was administered 50 mg·kg<sup>-1</sup> body weight of the corresponding agent via gavage, while the control group received physiological saline. Serum, liver tissue, and intestinal contents were collected at 10, 30, 90, 180, 300, 480, 960, and 1 440 minutes post-administration. Concentrations of astragalosides I-IV, isoastragalosides I-II, and cycloastragenol were determined using UHPLC-Q-Exactive Orbitrap high-resolution mass spectrometry (HRMS), and pharmacokinetic parameters were subsequently calculated. Additionally, *in vitro* fecal microbiota incubation assays were performed with astragalosides I and IV; concentrations of cycloastragenol and the major saponins were measured at 0, 1, 3, 8, and 24 hours using UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HRMS. **Results** In both *Astragalus* aqueous extract and total *Astragalus* saponins, the content of astragaloside I was significantly higher than that of astragaloside IV. After oral administration, the exposure of cycloastragenol in serum and liver tissue in the total *Astragalus* saponins group was 2.6-fold and 10.4-fold higher, respectively, compared with that in the astragaloside IV group. Astragaloside I exhibited a higher metabolic efficiency to cycloastragenol than astragaloside IV; *in vitro*, its metabolic efficiency was 7.3-fold higher, and *in vivo*, its total conversion rate was 5.9-fold greater. **Conclusion** Compared with astragaloside IV, astragaloside I is a more appropriate quality control marker for *Astragalus* saponins.

**Keywords:** *Astragalus* saponins; astragaloside I; astragaloside IV; cycloastragenol; Chinese materia medica; quality control

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,是中医临床中最常见的处方药物之一,其质量优劣直接影响着临床药效的发挥。黄芪的化学成分主要有皂苷类、黄酮类和多糖类,20世纪80年代,人们成功从黄芪中分离出黄芪皂苷 I~IV 等成分<sup>[1]</sup>,并进一步证明了其药理作用<sup>[2-4]</sup>,其中的黄芪皂苷 IV(黄芪甲苷)一度被认为是黄芪皂苷类成分中最具潜力的成分之一。《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)自 1990 年版<sup>[5]</sup>加入了对黄芪甲苷的定性检测,至 1995 年版<sup>[6]</sup>加入了对黄芪甲苷的定量检测,以不少于 0.04% 为合格品,至 2020 年版<sup>[7]</sup>该标准提升至 0.08%。研究<sup>[8-10]</sup>显示,皂苷的原型成分在肠道中经过肠道菌代谢、转化产生的皂苷元或次生苷生物利用度相对较高,且同时具有与皂苷原型成分相似的药理活性。健康志愿者体内药代动力学研究<sup>[11]</sup>发现,环黄芪醇是口服黄芪汤后在血液中暴露量最高的皂苷类成分代谢物,单次给药后环黄芪醇的暴露量是黄芪皂苷 IV 的 10.9 倍,连续给药 7 d 后环黄芪醇的暴露量是黄芪皂苷 IV 的 15.7 倍。因此,本研究拟通过比较分析黄芪主要皂苷成分在小鼠体内(肠道内容物、血、肝脏)及体外肠菌液中代谢为环黄芪醇的过程,在“属性-效

应-成分”筛选质量标志物理论的指导下<sup>[12]</sup>,评估其转化为主要效应物质环黄芪醇的效率,以期黄芪质量标准的修订提供可靠的实验数据。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 180 只,体重 18~22 g,购自北京维通利华实验动物有限公司。动物生产合格证号:SCXK(沪)2021-0006。分 4 批进行实验,每批 45 只。动物使用合格证号:SCXK(沪)2021-0006。动物饲养于上海中医药大学实验动物中心,饲养室温度 22~26 °C,12 h/12 h 的光照/黑暗交替,动物适应性饲养 1 周后开始实验。本实验方案通过上海中医药大学实验动物伦理委员会审查(伦理批准号:PZSHUTCM2302280002)。

1.2 药物与试剂 黄芪皂苷 I(批号:PRF10040342)、黄芪皂苷 II(批号:PRF9102745)、异黄芪皂苷 I(批号:PRF9062941)、异黄芪皂苷 II(批号:PRF9050228)、环黄芪醇(批号:PRF21030322),成都普瑞法科技开发有限公司(纯度均>98%);黄芪皂苷 III(批号:AF21111401),成都埃法生物科技有限公司,纯度>98%;黄芪皂苷 IV(批号:DSTDH001501),成都乐美天医药科技有限公司,纯度>98%;乙腈、甲醇(色谱级,批号:F24OAV203、F24OBB211),美国 Thermo Fisher Scientific 公司;GAM 厌氧培养基(批号:20220109)、维生素 K1(批

号:20220617)、氯化血红素(批号:20220825),青岛海博生物技术有限公司;黄芪(批号:20190620),甘肃渭水源药业科技有限公司;黄芪总皂苷由课题组自制<sup>[13]</sup>。

1.3 主要仪器 超高效液相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱联用系统(型号:Dionex Ultimate 3000),美国 Thermo Fisher Scientific 公司;冷冻干燥仪(型号:ALPHA1-4),德国 Christ 公司;磁力搅拌器(型号:RHB25),德国 IKA 公司;纯水净化系统(型号:Milli-Q),美国 Millipore 公司;分析天平(型号:XMTD-8222),美国 Thermo Fisher Scientific 公司;厌氧培养箱(型号:HYQX-III-Z),上海跃进医疗器械有限公司;高压蒸汽灭菌仪(型号:XFS-280CB),新丰医疗器械有限公司。

## 2 方法

### 2.1 黄芪水提物及黄芪总皂苷中主要成分的含量分析

2.1.1 黄芪水提物及总皂苷供试品制备 取 100 g 黄芪,加 10 倍量双蒸水,煎煮 1 h,无纺纱布过滤,再加 8 倍量双蒸水煎煮 1 h,过滤后合并滤液,减压浓缩至  $0.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$  待用。

取黄芪放入粉碎机粉碎,过 60 目筛,得到黄芪粉末;取 1 kg 黄芪粉放入提取罐中,以 8 L 体积分数 75% 乙醇回流加热提取 2 h,趁热过滤并收集滤液,滤渣中加入 8 L 体积分数 75% 乙醇同法再进行 2 次提取,合并 3 次滤液减压浓缩至无醇味;随后采用大孔树脂参照课题组建立的方法完成黄芪总皂苷的制备<sup>[13]</sup>。

2.1.2 混合对照品的配制 精密称取黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II、黄芪皂苷 III、黄芪皂苷 IV、异黄芪皂苷 I、异黄芪皂苷 II、环黄芪醇标准品适量,加入甲醇以制备  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的单一标准品储存液,再以体积分数 20% 甲醇稀释为质量浓度为  $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的单一标准品溶液。同时从以上各单一标准品中取适量制备混合标准品储存液,混合后加入体积分数 20% 甲醇稀释,制备质量浓度为  $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 7 种标准品混合溶液。

2.1.3 高效液相色谱(HPLC)条件 采用 Diamonsil  $\text{C}_{18}$  色谱柱(4.6×250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相为乙腈(A)-0.01% 甲酸(B),梯度洗脱(0~4 min, 76% B; 4~22 min, 76%~74% B; 22~28 min, 74%~67% B; 28~40 min, 67%~65% B; 40~50 min, 65%~40% B; 50~60 min, 40%~5% B),流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,进样

量 10  $\mu\text{L}$ ,检测波长 254 nm,柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ,蒸发光散射检测器(ELSD)增益值 6,漂移管温度 65  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.2 小鼠口服黄芪总皂苷、黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 和环黄芪醇后血清、肠内容物和肝脏中主要成分的体内变化研究

2.2.1 样品采集 (1)黄芪总皂苷灌胃后小鼠血清、肝脏、肠内容物的采集。取正常 C57BL/6J 雄性小鼠 45 只,适应性饲养 1 周后禁食 12 h,随机抽取 40 只为总皂苷组,5 只为空白组。总皂苷组小鼠灌胃给予  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  黄芪总皂苷,在灌胃后 10 min、30 min、90 min、180 min、300 min、480 min、960 min、1 440 min 时,每个时间点分别取 5 只,麻醉后下腔静脉取全血,并收集全部肠内容物和肝组织。空白组小鼠灌胃等体积纯净水,以相同方法收集空白全血、肠内容物和肝组织。全血置于室温 3 h 后,  $3 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,获得血清;全部肠内容物用 0.9% 氯化钠溶液冲洗并定容至 50 mL,超声、振荡混匀,取 1 mL 混合液用作后续实验,肝组织置  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  保存待处理。

(2)黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 和环黄芪醇灌胃后小鼠血清、肝脏、肠内容物的采集。取正常 C57BL/6J 雄性小鼠 135 只,分 3 批进行实验,每批 45 只。小鼠适应性饲养 1 周后禁食 12 h,3 批小鼠分别随机抽取 40 只灌胃  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  黄芪皂苷 I、 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  黄芪皂苷 IV、 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  环黄芪醇,每批有 5 只小鼠为空白组。在灌胃后 10 min、30 min、90 min、180 min、300 min、480 min、960 min、1 440 min 时,每个时间点分别取 5 只小鼠,麻醉后,下腔静脉取全血,并收集全部肠内容物和肝组织。空白组小鼠灌胃等体积纯净水,以相同方法收集空白全血、肠内容物和肝组织。

2.2.2 样本处理 取 50  $\mu\text{L}$  肠内容物混合液,加入 200  $\mu\text{L}$  乙腈沉淀蛋白,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 150  $\mu\text{L}$ ,氮气吹干,加入 80  $\mu\text{L}$  20% 甲醇复溶,震荡混匀,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 65  $\mu\text{L}$  进样;50  $\mu\text{L}$  血清加入 150  $\mu\text{L}$  乙腈沉淀蛋白,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 160  $\mu\text{L}$ ,氮气吹干,加入 80  $\mu\text{L}$  20% 甲醇复溶,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 65  $\mu\text{L}$  进样;取 50 mg 肝组织,加入 1 000  $\mu\text{L}$  甲醇,放入 2 颗小钢珠,高速低温匀浆机 65 Hz 匀浆 3 min,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,取上清 800  $\mu\text{L}$  氮吹,加 80  $\mu\text{L}$  体积分数 20% 甲醇复溶,震荡混匀,4  $^{\circ}\text{C}$ 、 $12 700 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心

10 min, 取上清 65  $\mu\text{L}$  进样; 采用建立好的 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HMRS 方法进行含量测定<sup>[14]</sup>, 获得主要化学成分体内药时曲线, 并使用 PK Solutions 软件计算获得相应的药代动力学参数。

### 2.3 黄芪皂苷 I 和黄芪皂苷 IV 体外肠菌孵育实验

2.3.1 菌液及灭菌液的配制 用灭菌的 50 mL 离心管收集小鼠肛门处的新鲜粪便; 取 49 g 培养基粉末并将其溶解在 1 000 mL 双蒸水中, 随后加热至 121  $^{\circ}\text{C}$  进行高压灭菌。待温度降至 50  $^{\circ}\text{C}$  后, 每 200 mL 培养基中添加 2 mg 维生素 K1 和 1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  氯化血红素, 并充分混合以制备 GAM 培养基溶液。

称取 1.5 g 小鼠粪便置于干燥灭菌的离心管中, 加入 3 mL 0.9% 氯化钠溶液混匀, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 700  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 吸取上清 2.5 mL, 加入 5 mL GAM 培养基溶液, 滤过得肠菌液。高温高压灭菌 15 min 即得灭菌肠菌液, 置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。

2.3.2 药液的配制 精密称取适量的黄芪皂苷 I 和黄芪皂苷 IV, 加入二甲基亚砜 (DMSO) 配制得 80  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  黄芪皂苷 I 溶液和黄芪皂苷 IV 母液, 使用 GAM 培养基稀释得 2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  黄芪皂苷 I 和黄芪皂苷 IV 工作液。

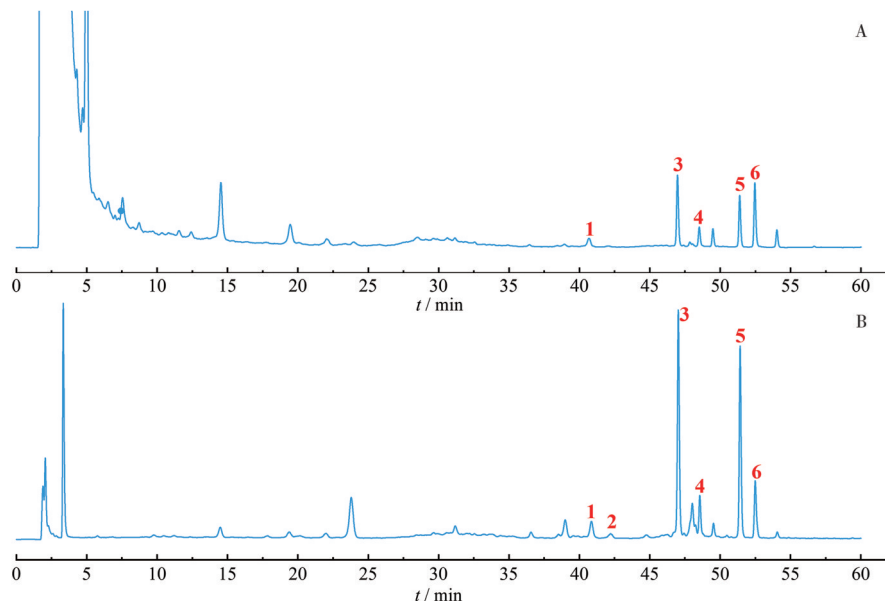
2.3.3 药液与肠菌共孵育 在厌氧条件下进行实验, 将样品分别加入 48 孔板中, 每个孔代表 1 个时间点, 每个时间点有 3 个平行样品, 在 48 孔板周围加适量双蒸水防止药液蒸发, 在培养 0 h、1 h、3 h、8 h、24 h 后取出 50  $\mu\text{L}$  样品, 加入 250  $\mu\text{L}$  乙腈, 混

匀, 取 100  $\mu\text{L}$  加入 400  $\mu\text{L}$  超纯水稀释, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取 100  $\mu\text{L}$  上机检测, 用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap HMRS 检测环黄芪醇及其主要皂苷成分的代谢变化情况。

2.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 统计软件分析数据, 借助 Graphpad Pism9.5 制作统计图表。计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析。以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

3.1 黄芪水提物及黄芪总皂苷中主要成分的含量检测 HPLC 含量测定结果表明, 黄芪水提物中不同皂苷类成分的含量存在显著差异 (图 1), 其中黄芪皂苷 I (0.165 8  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )、黄芪皂苷 II (0.163 5  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 及异黄芪皂苷 I (0.325 1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 含量较高, 而黄芪皂苷 IV (0.129 3  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 与异黄芪皂苷 II (0.141 1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 含量较低; 在制备的黄芪总皂苷中, 黄芪皂苷 I (38.29  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 与黄芪皂苷 II (31.31  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 含量较高, 而黄芪皂苷 IV (17.12  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 含量仅为黄芪皂苷 I 的 1/2, 黄芪皂苷 III (3.22  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )、异黄芪皂苷 I (19.89  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 及异黄芪皂苷 II (17.29  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 的含量均显著低于黄芪皂苷 I。以上结果与前人<sup>[15-17]</sup>测定的黄芪原药材及饮片皂苷类成分含量黄芪皂苷 II > 黄芪皂苷 I > 黄芪皂苷 IV > 黄芪皂苷 III 的趋势基本吻合, 表明在黄芪原药材、饮片、水提物、总皂苷提取物中黄芪皂苷 I 的含量均显著高于黄芪皂苷 IV, 且 HPLC 法均未直接检出环黄芪醇。



注: A 为黄芪水提物高效液相色谱联用蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 色谱图, B 为黄芪总皂苷 HPLC-ELSD 色谱图, 1 为黄芪皂苷 IV, 2 为黄芪皂苷 III, 3 为黄芪皂苷 II, 4 为异黄芪皂苷 II, 5 为黄芪皂苷 I, 6 为异黄芪皂苷 I。

图 1 黄芪水提物及黄芪总皂苷中主要皂苷成分的含量

3.2 黄芪总皂苷主要成分在小鼠体内的暴露规律 为了解黄芪皂苷类成分在体内的代谢转化,本研究检测了口服黄芪总皂苷后小鼠肠内容物、血清及肝脏中黄芪皂苷类主要成分的暴露情况。由图 2 可知,黄芪总皂苷 IV 在肠内容物中的皂苷 IV 经时暴露量较高 ( $AUC_{0-t}=373\ 671.7\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ),在血清 ( $AUC_{0-t}=63\ 895.3\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和肝脏 ( $AUC_{0-t}=47\ 222.1\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 中暴露量均较低,且黄芪皂苷 IV 在肝脏中达峰迅速 ( $T_{\text{max}}$  为 30 min),但达峰浓度较低 ( $C_{\text{max}}$  为  $59.6\ \text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ );在血清  $T_{\text{max}}$  为 180 min 时,  $C_{\text{max}}$  为  $119.0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;而在肠内容物  $T_{\text{max}}$  为 300 min 时,达峰

浓度较高,  $C_{\text{max}}$  为  $567.9\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;以上结果提示在体内存在多种皂苷成分向黄芪皂苷 IV 转化,且吸收入血入肝水平较低。黄芪总皂苷代谢产物环黄芪醇的体内经时暴露规律为:在肠内容物中的暴露量较低 ( $AUC_{0-t}=44\ 876.4\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ),而在血清 ( $AUC_{0-t}=166\ 797.7\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 及肝脏 ( $AUC_{0-t}=489\ 244.6\ \text{ng}\cdot\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) 中的暴露量均较高,分别为黄芪皂苷 IV 在血清和肝脏暴露量的 2.6 倍、10.4 倍,提示黄芪总皂苷代谢产物环黄芪醇能够被快速吸收入血和入肝。

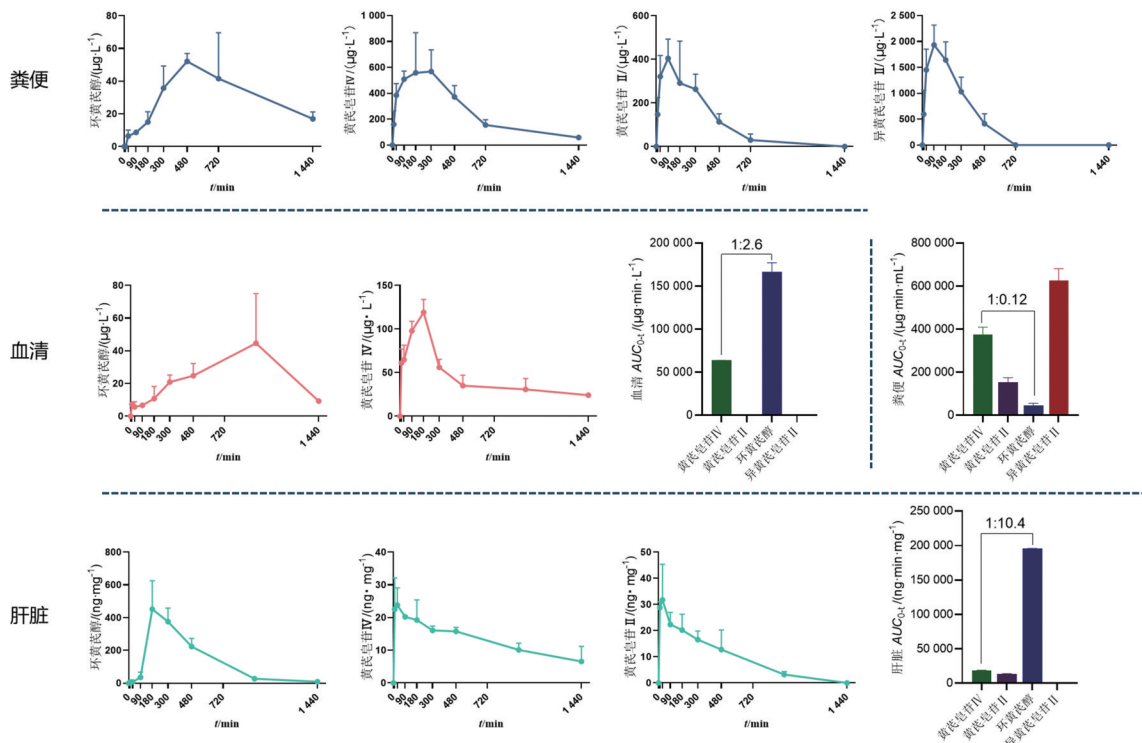


图 2 正常小鼠口服黄芪总皂苷后主要化学成分的药时曲线及暴露量统计 ( $n=5, \bar{x}\pm s$ )

3.3 黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 和环黄芪醇在小鼠体内的代谢转化研究 由上述结果可知,黄芪总皂苷中的成分在体内的代谢转化导致环黄芪醇在血清和肝脏中的暴露量极高。有学者认为,环黄芪醇由黄芪皂苷 I 经脱乙酰基、脱糖逐步代谢而来<sup>[18]</sup>,因此,我们进一步考察了黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 和环黄芪醇在小鼠体内的代谢情况。

结果表明,小鼠口服黄芪皂苷 I 后,环黄芪醇的肠内容物 ( $AUC_{0-t}=358\ 288.0\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ )、血清 ( $AUC_{0-t}=164\ 246.2\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和肝脏 ( $AUC_{0-t}=359\ 699.7\ \text{ng}\cdot\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) 暴露量分别是小鼠口服黄芪皂苷 IV 后环黄芪醇在肠内容物 ( $AUC_{0-t}=28\ 389.5\ \mu\text{g}\cdot$

$\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ )、血清 ( $AUC_{0-t}=22\ 470.6\ \mu\text{g}\cdot\text{min}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 及肝脏 ( $AUC_{0-t}=60\ 935.9\ \text{ng}\cdot\text{min}\cdot\text{mg}^{-1}$ ) 中暴露量的 12.6 倍、7.3 倍、5.9 倍(图 3、图 6);且口服黄芪皂苷 I 后,环黄芪醇在肠内容物(10 min)、血清(180 min)和肝脏(180 min)中的首次检出时间较早,达峰时间较晚 ( $T_{\text{max}}$  均为 720 min),而口服黄芪皂苷 IV 后小鼠肠内容物、血清和肝脏中环黄芪醇的首次检出时间为 180 min、480 min、300 min,但达峰时间较早 ( $T_{\text{max}}$  均为 480 min),表明黄芪皂苷 I 直接代谢为环黄芪醇的效率远高于黄芪皂苷 IV 代谢为环黄芪醇。

小鼠口服黄芪皂苷 I 后的黄芪皂苷 IV 暴露量低于直接口服等量黄芪皂苷 IV。口服黄芪皂苷 IV

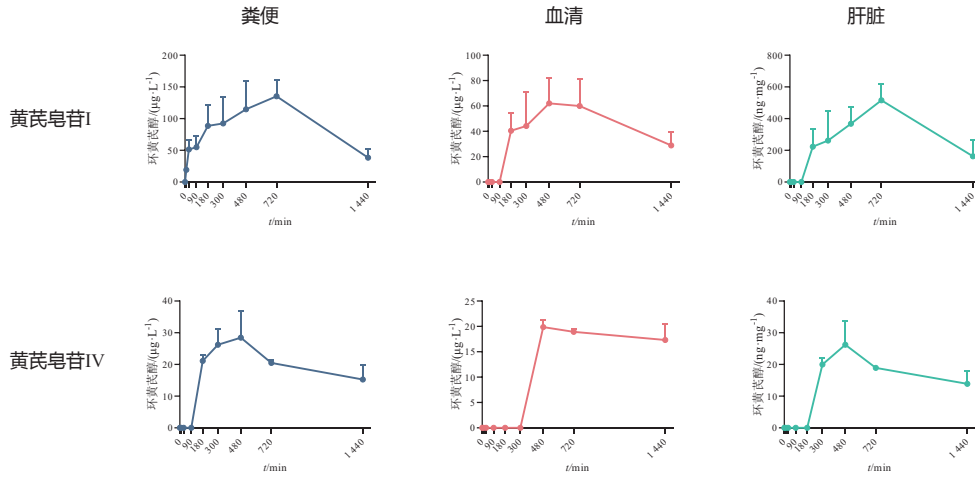


图3 正常小鼠口服黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 后环黄芪醇的药时曲线 (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

后黄芪皂苷 IV 在肠内容物 ( $AUC_{0-t} = 2\ 082\ 003.5\ \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 中的暴露量远高于在血清 ( $AUC_{0-t} = 60\ 318.8\ \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和肝脏 ( $AUC_{0-t} = 68\ 310.4\ \text{ng} \cdot \text{min} \cdot \text{mg}^{-1}$ ) 中的暴露量,说明黄芪皂苷 IV 难以被吸收利用,而黄芪皂苷 I 在体内代谢为包括黄芪皂苷

IV、环黄芪醇在内的多种成分,黄芪皂苷 I 代谢为黄芪皂苷 IV 在肠内容物 ( $AUC_{0-t} = 1\ 216\ 893.0\ \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和血清 ( $AUC_{0-t} = 49\ 742.8\ \mu\text{g} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 中的暴露量均低于口服黄芪皂苷 IV 后肠内容物和血清中的暴露量。见图 4、图 6。

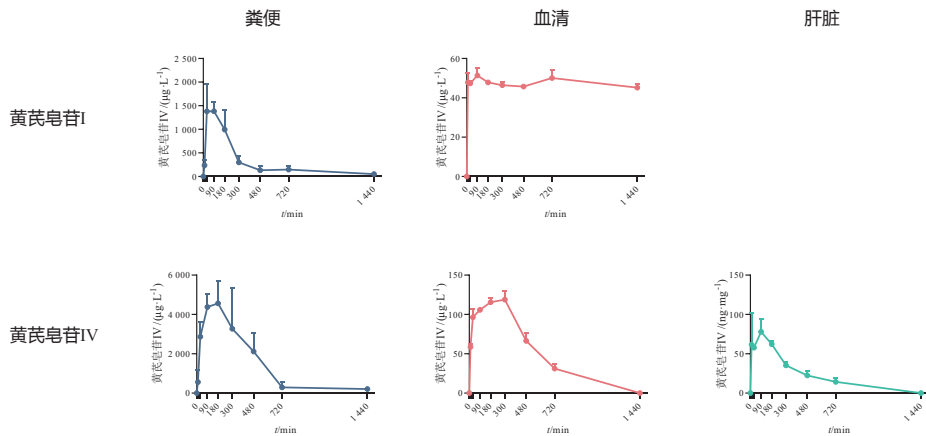


图4 正常小鼠口服黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 IV 后黄芪皂苷 IV 的药时曲线 (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

小鼠直接口服环黄芪醇后,在肠内容物 ( $T_{\text{max}}$  为 30 min)、血清 ( $T_{\text{max}}$  为 10 min) 和肝脏 ( $T_{\text{max}}$  为 10 min)

中均迅速达峰,随后被迅速清除,说明环黄芪醇的体内代谢较快。见图 5、图 6。

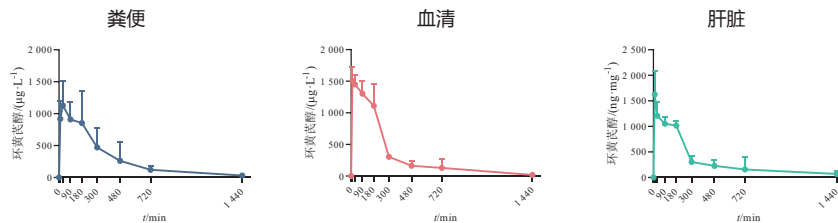


图5 正常小鼠口服环黄芪醇后环黄芪醇的药时曲线 (n=5,  $\bar{x} \pm s$ )

3.4 黄芪皂苷 I 和黄芪皂苷 IV 在小鼠肠菌孵育中的代谢转化 中药口服吸收后首先需经过肠道的代谢,由小鼠口服不同黄芪皂苷结果可知,小鼠体

内实验发现肠内容物中黄芪皂苷 I 转化为环黄芪醇的量显著高于黄芪皂苷 IV 转化为环黄芪醇的量,为进一步验证该现象,在小鼠肠菌液中孵育黄芪皂

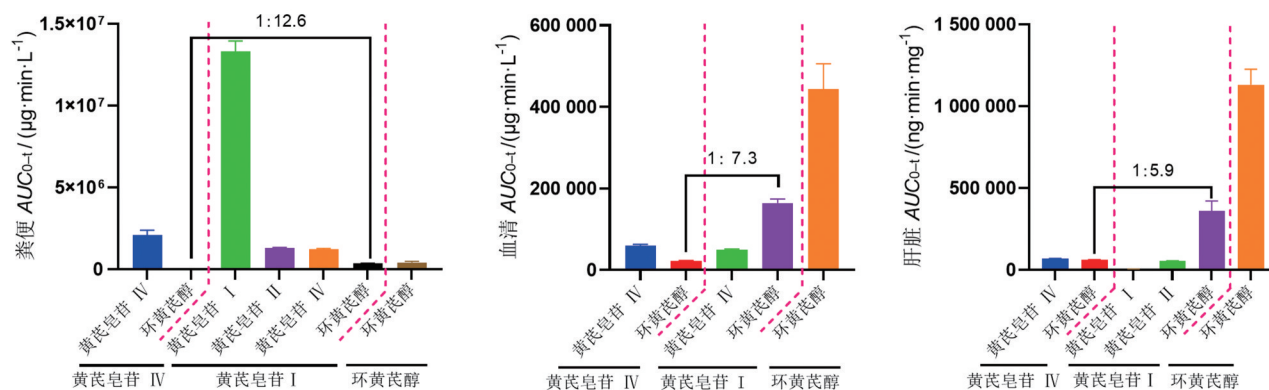
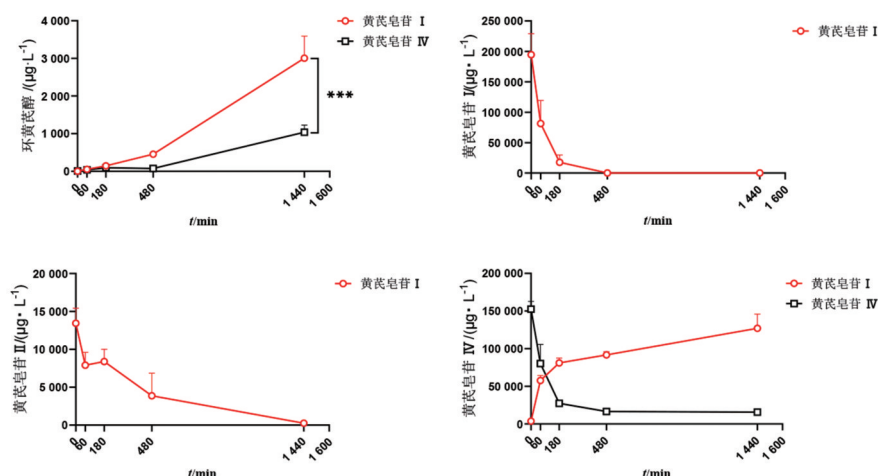


图6 正常小鼠口服黄芪皂苷IV、黄芪皂苷I、环黄芪醇后主要成分体内暴露量(n=5,  $\bar{x}\pm s$ )

苷 I 和黄芪皂苷 IV, 测定不同时间点皂苷成分及代谢成分的含量, 结果显示, 60 min 时即可检测到黄芪皂苷 I 代谢产生的环黄芪醇, 而直至 480 min 才能检测到黄芪皂苷 IV 代谢的环黄芪醇, 且在 24 h 内,

黄芪皂苷 I 代谢为环黄芪醇的量  $[(3\ 012.6\pm 548.1)\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$  显著高于黄芪皂苷 IV 转化为环黄芪醇的量  $[(1\ 039.5\pm 189.1)\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}]$  ( $P<0.001$ ), 与体内代谢结果呈相同趋势。见图 7。



注: 与黄芪皂苷 IV 比较,  $***P<0.001$ 。

图7 黄芪皂苷IV和黄芪皂苷I在小鼠肠菌液孵育的代谢转化(n=5,  $\bar{x}\pm s$ )

#### 4 讨论

适宜的质量控制指标是保证黄芪合理用药的先决条件之一, 药效成分应当是质量控制指标重点关注的内容。研究<sup>[19]</sup>表明, 黄芪皂苷类成分在体内的吸收较差、生物利用度低, 分解为苷元后可被迅速吸收入血。苷元被认为是苷类物质发挥药理作用的最终活性成分<sup>[20]</sup>, 苷元类成分对药材质量有着重要影响<sup>[21]</sup>, 黄芪药材中环黄芪醇含量极低。因此, 考察黄芪皂苷类成分转化为环黄芪醇的贡献度, 应视为明确黄芪皂苷类成分的质量控制指标的方法之一。

4.1 环黄芪醇是黄芪皂苷类成分发挥药效的基础 黄芪皂苷 I ~ IV 是黄芪皂苷类成分中含量较

高的成分, 且被证明具有广泛的药理作用。黄芪皂苷 IV 被认为是黄芪中最重要的活性物质, 但其水溶性差、口服生物利用度低的特点已限制了其应用价值<sup>[22-24]</sup>, 多年来, 关于黄芪皂苷 I ~ III 理化特性和药效作用的研究较少, 但黄芪皂苷 I ~ IV 均以环黄芪醇为苷元, 黄芪皂苷的原型成分仅是黄芪药效表达的先决条件, 而入血成分才是产生生物效应的最终“效应物质”<sup>[25-26]</sup>。本研究结果表明, 直接口服环黄芪醇使得血液和肝脏中环黄芪醇浓度迅速达峰又快速清除, 而口服黄芪皂苷 I、IV 后肝脏中环黄芪醇的暴露量远高于原型成分, 提示环黄芪醇是黄芪皂苷成分的主要活性形式<sup>[27-28]</sup>, 原型成分转化为环黄芪醇的总量和效率是黄芪发挥药效的核心, 也是筛选质控成分的关键。

4.2 黄芪皂苷 I 是环黄芪醇生物转化的主要来源 在不同产地<sup>[15-17]</sup>、不同栽培方式<sup>[29-31]</sup>、不同生长年限<sup>[32-34]</sup>的黄芪药材及不同品规<sup>[35]</sup>的黄芪饮片样本中,黄芪皂苷 I 的含量约为黄芪皂苷 IV 的 2~13 倍,是皂苷类成分中含量较高的成分。本实验通过观察小鼠口服黄芪总皂苷后各成分在体内的暴露量发现,黄芪皂苷 I~IV 在血清和肝脏中的暴露量都较低,而环黄芪醇在血清和肝脏中大量暴露;进一步比较小鼠口服等量黄芪皂苷 I/IV 及等量黄芪皂苷 I/IV 在小鼠肠菌液中的代谢转化,发现黄芪皂苷 I 转化为环黄芪醇的量远高于黄芪皂苷 IV,体内外表现出相似的代谢特征,说明黄芪皂苷 I 是产生效应物质环黄芪醇的最主要原型成分;此外,黄芪皂苷 I 引起的环黄芪醇体内暴露远早于黄芪皂苷 IV,说明黄芪皂苷 I 较黄芪皂苷 IV 更易于代谢为环黄芪醇。这与部分学者<sup>[15]</sup>认为黄芪皂苷类成分均代谢为黄芪皂苷 IV 后再分解为环黄芪醇的观点显著有异,黄芪皂苷 I 口服后可在肠内或在肠菌液作用下直接转化为环黄芪醇,且转化效率显著高于黄芪皂苷 IV。此外,黄芪皂苷 I 代谢产生的环黄芪醇在血液和肝脏中长时间维持在较高水平,更有利于黄芪药效的持久发挥。本课题组的前期实验<sup>[13]</sup>还表明,黄芪皂苷 I 在改善胆汁淤积性肝纤维化方面表现出与环黄芪醇相当的药理作用,且优于黄芪皂苷 II、IV,与黄芪总提取物药效相当。

综上所述,本研究结果表明,环黄芪醇是黄芪总皂苷的主要效应物质,黄芪皂苷 I 转化为环黄芪醇是发挥药效的主要途径,以黄芪皂苷 I 作为黄芪的质量控制指标符合刘昌孝院士提出的质量标志物应具有的“五要素”<sup>[22]</sup>中有效、特有、传递与溯源、可测的特点,且能够建立专属性、针对性的质量评价方法,以黄芪皂苷 I 替代黄芪皂苷 IV 作为黄芪皂苷类成分的质量控制指标更具现实意义。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 曹正中, 俞家华, 甘立宪, 等. 膜荚黄芪苷的结构[J]. 化学学报, 1985, 53(6): 581-585.
- [ 2 ] GUO T, LIU Z L, ZHAO Q, et al. A combination of astragaloside I, levistilide A and calycosin exerts anti-liver fibrosis effects in vitro and in vivo[J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(9): 1483-1492.
- [ 3 ] KONG X H, NIU Y B, SONG X M, et al. Astragaloside II induces osteogenic activities of osteoblasts through the bone morphogenetic protein-2/MAPK and Smad1/5/8 pathways[J]. Int J Mol Med, 2012, 29(6):1090-1098.
- [ 4 ] LIANG Y, CHEN B, LIANG D, et al. Pharmacological effects of Astragaloside IV: A review[J]. Molecules, 2023, 28(16): 6118.
- [ 5 ] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(1990年版):一部[M]. 北京:人民卫生出版社, 1990: 274.
- [ 6 ] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(1995年版):一部[M]. 广州:广东科技出版社, 1995: 261.
- [ 7 ] 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.
- [ 8 ] YU K, CHEN F, LI C. Absorption, disposition, and pharmacokinetics of saponins from Chinese medicinal herbs: what do we know and what do we need to know more?[J]. Curr Drug Metab, 2012, 13(5): 577-598.
- [ 9 ] CHEN F, WEN Q, JIANG J, et al. Could the gut microbiota reconcile the oral bioavailability conundrum of traditional herbs?[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 179: 253-264.
- [ 10 ] 於李龙, 陈文华, 秦路平, 等. 中药与肠道菌群相互作用的研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2022, 32(9): 881-884.
- [ 11 ] 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.
- [ 12 ] YANG W, ZHANG Y, WU W, et al. Approaches to establish Q-markers for the quality standards of traditional Chinese medicines [J]. Acta Pharm Sin B, 2017, 7(4): 439-446.
- [ 13 ] 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.
- [ 14 ] ZHANG L, SHI J, SHEN Q, et al. Astragalus saponins protect against extrahepatic and intrahepatic cholestatic liver fibrosis models by activation of farnesoid X receptor [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318(Pt A): 116833.
- [ 15 ] 王宗权, 贾继明, 宋剑, 等. 不同产地黄芪中黄芪皂苷 I、黄芪皂苷 II 和黄芪皂苷 IV 含量测定[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(7): 1191-1194.
- [ 16 ] 李新星, 刘凤波, 王雅净, 等. 不同产地蒙古黄芪中 12 种药效成分含量差异及其与地理分布和气候因子相关性分析[J]. 中草药, 2024, 55(20): 7085-7092.
- [ 17 ] 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.
- [ 18 ] 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.
- [ 19 ] 孙艳, 李雪驼, 殷素兰. 肠道内微生态环境对中草药体内代谢的影响[J]. 中草药, 2001, 32(4): 89-91.
- [ 20 ] 张李赢, 杨轶舜, 张彤, 等. 肠道菌群对中药苷类成分的代谢研究进展[J]. 中药材, 2011, 34(7): 1155-1158.
- [ 21 ] 高慧如, 王佳慧, 孟祥才. 糖苷酶与优质药材生产[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(8): 1970-1972.
- [ 22 ] YUE Y, LIU X, PANG L, et al. Astragalus polysaccharides/PVA

- nanofiber membranes containing Astragaloside IV -loaded liposomes and their potential use for wound healing [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9716271.
- [23] QING L S, PENG S L, LIANG J, et al. Astragalosidic acid: A new water-soluble derivative of Astragaloside IV prepared using remarkably simple TEMPO-mediated oxidation [J]. Molecules, 2017, 22(8): 1275.
- [24] LI Z, YANG W, YANG Y, et al. The Astragaloside IV derivative LS-102 ameliorates obesity-related nephropathy [J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 647-664.
- [25] 张铁军, 白钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药学报, 2019, 54(2): 187-196, 206.
- [26] CHEN Z, VONG C T, ZHANG T, et al. Quality evaluation methods of Chinese medicine based on scientific supervision: recent research progress and prospects [J]. Chin Med, 2023, 18(1): 126.
- [27] OU Z J, ZHAO M, XU Y, et al. Huangqi Guizhi Wuwu decoction promotes M2 microglia polarization and synaptic plasticity via Sirt1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway in MCAO rats [J]. Aging (Albany NY), 2023, 15(19): 10031-10056.
- [28] 袁瑛姿, 钟泓卉, 杨雨潼, 等. 酵母合成环黄芪醇的研究进展 [J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2023, 50(3): 14-26.
- [29] 刘靖, 杨华, 朱雪梅, 等. 内蒙古武川县大青山地区蒙古黄芪野生品与栽培品的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(12): 1577-1581.
- [30] 但春风. 广灵黄芪质量评价及特征研究 [D]. 太原: 山西大学, 2023.
- [31] WANG Y, YUAN C, ZHAO J, et al. An evaluation of Astragali Radix with different growth patterns and years, based on a new multidimensional comparison method [J]. Front Plant Sci, 2024, 15: 1368135.
- [32] 胡明勋, 郭宝林, 周然, 等. 山西浑源仿野生栽培蒙古黄芪的质量研究 [J]. 中草药, 2012, 43(9): 1829-1834.
- [33] 董文静, 李哲, 张美, 等. 基于多指标含量测定的宁夏栽培黄芪质量研究 [J]. 宁夏医科大学学报, 2024, 46(12): 1281-1287.
- [34] 王祥, 王育朋, 安佳, 等. 不同生长年限蒙古黄芪转录组学分析及三萜皂苷合成关键基因挖掘 [J]. 中草药, 2023, 54(3): 915-925.
- [35] YIN M, YANG M, CHU S, et al. Quality analysis of different specification grades of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* (*Huangqi*) from Hunyuan, Shanxi [J]. J AOAC Int, 2019, 102(3): 734-740.

编辑:季春来

收稿日期:2025-05-13



(上接第 72 页)

- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2025年版): 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2025.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 张焯, 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 郑娜, 师亚玲, 吉艳霞, 等. 温度和酸度对黄芪皂苷 IV、III、I 稳定性和转化的影响 [J]. 中南药学, 2014, 12(11): 1062-1065.
- [21] 王亚丽, 田曼, 李江, 等. HPLC-DAD-ELSD 法同时测定黄芪中 10 个成分的含量 [J]. 中南药学, 2018, 16(9): 1268-1271.
- [22] 孙秀蕊. 道地产区蒙古黄芪质量等级评价模式的探索研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.

编辑:季春来

收稿日期:2025-09-05