

- [17] 王炳岐. 步长丹红注射液获中国中药首个专利金奖[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2010, 2(4): 187.
- [18] Li X C, Yu C, Lu Y L, et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, metabolism, and excretion of deposite salts from *Salvia miltiorrhiza* in rats[J]. *Drug Metab Dispos*, 2006, 34(2): 234-239.
- [19] 董鹏欣, 樊迪, 韩晟, 等. 注射用丹参多酚酸盐治疗不稳定型心绞痛的循证药物经济学研究[J]. 药品评价, 2016, 13(20): 18-21; 30.
- [20] 石亚飞, 闫荟, 孙世光, 等. 两种丹参类中药注射剂治疗冠心病心绞痛的系统评价及其药物经济学分析[J]. 中国循证医学杂志, 2014, 14(3): 287-291.
- [21] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家基本药物目录(2018年版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2018.
- [22] 国家医疗保障局, 人力资源社会保障部. 国家基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录(2024年) [M]. 2024.

## 基于 UPLC-Q-Exactive orbitriap MS 分析益气养阴活血方入血成分及其对糖尿病肾病的作用

高焕芝<sup>1,2</sup>, 左振宇<sup>1</sup>, 姜亦松<sup>3</sup>, 化敏<sup>2</sup>, 徐东川<sup>2</sup>, 周蒙<sup>4\*</sup>, 周倩<sup>2\*</sup>

(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 3. 昌邑市石埠经济发展区卫生院, 山东 潍坊 261315; 4. 山东大学齐鲁第二医院药学部, 山东 济南 250033)

**摘要:** 目的 分析益气养阴活血方入血成分, 并研究该方对糖尿病肾病(DKD)的作用。方法 制备含药血清, 分析采用 ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈-0.05% 甲酸, 梯度洗脱; 柱温 40 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 电喷雾离子源; 正、负离子扫描。大鼠随机分为空白组、模型组及益气养阴活血方低、高剂量组(9.82、19.64 g/kg), 每组 12 只, 除空白组外, 其余各组注射链脲佐菌素建立 DKD 大鼠模型, 给予相应剂量药物, 持续 12 周。观察大鼠一般状态; 检测血肌酐(SCr)、血尿素氮(BUN)水平; HE 染色观察肾组织病理学变化, 透射电镜观察肾组织超微结构变化; RT-qPCR 法检测肾组织 *IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达。结果 共鉴别出 53 种原型成分, 17 种代谢产物, 主要为黄酮类、有机酸类, 代谢途径包括葡萄糖醛酸化、硫酸化等。与模型组比较, 各给药组大鼠体质量增加, 肾组织病理损伤改善, 血清 SCr、BUN 水平及肾组织 *IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$ )。结论 本研究实现了益气养阴活血方入血成分的快速表征和鉴定, 证实该方可减轻 DKD 大鼠肾损伤, 降低炎症反应, 可为后续深入阐明其药效物质基础及作用机制提供参考。

**关键词:** 益气养阴活血方; 入血成分; 糖尿病肾病; 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(UPLC-Q-Exactive orbitriap MS)

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)06-2078-10

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.043

糖尿病肾病(DKD)是由糖尿病患者长期高血糖引起的肾脏损伤, 早期临床症状表现为微量蛋白尿<sup>[1]</sup>, 若不及时治疗, 将会发展为终末期肾病、肾衰竭, 严重者甚至死亡<sup>[2]</sup>。目前, DKD 临床治疗方法包括药物干预、透析、肾移植等, 虽能延缓病程进展, 但仍面临致残致死率高、整体预后差等问题, 因此探索安全有效的 DKD 防治策略是目前临床亟待解决的关键问题。中医理论将 DKD 归属于水肿、消渴、尿浊等范畴<sup>[3]</sup>, 其承袭原发病

“燥热伤津耗气”的基本病机, 全程关键在于气阴两虚, 而瘀血阻络贯穿始终<sup>[4]</sup>。因此, 益气养阴活血法是本病立法的根本<sup>[5]</sup>, 单独或联合应用可有效控制患者临床症状, 改善动脉血流动力学、尿蛋白、凝血功能等相关病理指标, 减少肾小球硬化以延缓肾损伤的发展<sup>[6]</sup>。

《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》明确了中医药在糖尿病防治中的重要地位, 特别对 DKD 等缺乏特效药物且中医药表现出独特优势的

收稿日期: 2026-03-03

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2023LZY001)

作者简介: 高焕芝(2000—), 女, 硕士在读, 从事中药药效物质基础和作用机制研究。E-mail: ghuanzhi@163.com

\*通信作者: 周蒙(1989—), 男, 博士, 副主任药师, 从事中药药效物质和作用机制研究。E-mail: zhoumeng006@163.com

周倩(1982—), 女, 博士, 研究员, 从事中药炮制规范、药效物质和作用机制研究。E-mail: zhouqian0126@126.com

糖尿病并发症作了重点推荐。DKD 发病机制复杂,涉及糖代谢紊乱、肾脏血流动力学异常、氧化应激等多种病理生理环节<sup>[7]</sup>。益气养阴活血方作为临床常用方剂,其干预 DKD 的药效物质基础及系统作用机制尚未完全阐明,严重制约了该方剂的现代化开发与临床推广应用。因此,本研究采用高分辨质谱全面解析益气养阴活血方的入血成分,并结合 DKD 大鼠模型综合评价其肾脏保护作用,初步探索其可能的作用机制,以期揭示益气养阴活血方治疗 DKD 的药效物质基础及多靶点作用模式提供实验依据,也为该方的二次开发及新型抗 DKD 药物的发现奠定基础。

## 1 材料

1.1 仪器 超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪、超微量紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号 Q Exactive PLUS、NanoDrop OneC);电子分析天平(德国 Sartorius 公司,十万分之一,型号 Quintix-125D);台式冷冻型高速离心机(德国 Eppendorf 公司,型号 Centrifuge 5430R);研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司,型号 531CM-Y43);荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司,型号 CFX 96Touch);恒温氮气吹干仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司,型号 MTN-2800W)。

1.2 药物与试剂 黄芪、菟丝子、积雪草、生地、大黄、水蛭、甘草饮片(批号 230709、231001、220701、230502、230501、230201、230505)均购于山东百味堂中药饮片公司,经山东省中医药研究院中药资源研究所管仁伟研究员鉴定为 2025 年版《中国药典》收载品种。没食子酸对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号 G823163-1009)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;异甘草素对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号 PRF20060943)购自成都普瑞法科技开发有限公司;甘草素、甘草苷、异甘草苷、芒柄花苷对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号 RFS-G03611805007、RFS-G00911812016、RFS-Y12002111012、RDD-M01301904002)均购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司;5-羟甲基糠醛、木犀草苷、黄嘌呤、腺嘌呤、原儿茶酸、香草酸对照品(纯度 $\geq 98\%$ ,批号 PS020460、PS000708、PS020191、PS020156、PS012560、PS010559)均购自成都普思生物科技股份有限公司。链脲佐菌素(STZ)、一水柠檬酸、二水合柠檬酸钠(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号 GC301002-1g、

GC108003-100g、GC108004-100g);尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号 C011-2-1、C013-2-1)。甲酸、甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Thermo Fisher Scientific 公司);蒸馏水(北京屈臣氏蒸馏水有限公司)。SPARKeasy 改良组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒(含 DNA 清除柱)、SPARK-script II All-in-one RT SuperMix for qPCR、2 $\times$ SYBR Green qPCR Mix(山东思科捷生物技术有限公司,批号 AC0202-B、AG0305-C、AH0104-C)。

1.3 动物 48 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购于山东朋悦实验动物科技有限公司[实验动物生产许可证号 SCXK(鲁)20220006],饲养于山东省中医药研究院(实验动物使用许可证号 SYXK(鲁)20230004),环境温度(23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,相对湿度 55% $\pm$ 5%,12 h/12 h 光暗循环。本研究动物实验获得山东大学第二医院科研伦理委员会批准(批准号 KYLL-2023-336)。

## 2 方法

### 2.1 益气养阴活血方入血成分分析

2.1.1 水煎液制备 取黄芪 30 g、菟丝子 30 g、积雪草 30 g、生地 10 g、大黄 4 g、水蛭 3 g 和甘草 3 g,加入 10 倍量蒸馏水,煎煮 1 h,过滤,滤渣再加入 8 倍量蒸馏水,煎煮 1 h,过滤,合并 2 次滤液,浓缩至 0.982 g/mL(含生药量)。

2.1.2 含药血清制备 SD 大鼠适应性饲养 7 d,随机分为空白组和给药组,每组 12 只。给药组灌胃给予益气养阴活血方 9.82 g/kg,每天 2 次,连续 3 d。第 3 天禁食不禁水 12 h,麻醉后腹主动脉取血,静置 30 min 后,4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。取冻存的含药血清,4 $^{\circ}$ C 下融化,取 200  $\mu$ L,加入 4 倍量预冷甲醇,涡旋混合 2 min,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,N<sub>2</sub>吹干,残渣用 200  $\mu$ L 甲醇复溶,涡旋混匀,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,即得。

2.1.3 对照品溶液制备 取腺嘌呤、黄嘌呤、原儿茶酸、没食子酸、5-羟甲基糠醛、香草酸、甘草苷、木犀草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素、18- $\alpha$ -甘草次酸对照品适量,加甲醇溶解,制得每 1 mL 分别含 13.5、10、20、20、20、20、20、20、20、10、10、20  $\mu$ g 对照品的溶液,4 $^{\circ}$ C 保存备用。

2.1.4 分析条件 色谱:ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm,1.7  $\mu$ m);流动相乙腈

(A) -0.05% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~5 min, 95.0% B; 5~6 min, 95.0%~70.0% B; 6~9 min, 70.0%~50.0% B; 9~15 min, 50.0%~30.0% B; 15~19 min, 30.0%~25.0% B; 19~25 min, 25.0%~10.0% B; 25~26.5 min, 10%~0% B; 26.5~28 min, 0% B; 28~30 min, 0%~95.0% B); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 2 μL。

质谱: 电喷雾离子源; 正、负离子扫描; 雾化气高纯度 N<sub>2</sub>; 碰撞气高纯度 He; 扫描范围 *m/z* 80~1 200; 鞘气压力 40 psi (1 psi = 6.895 kPa); 辅助气压力 5 psi; 喷雾电压 3.0 kV; 离子传输管温度 300 °C; 辅助气加热温度 320 °C; 透镜电压 50 V; 分辨率 70 000 (一级质谱)、17 500 (二级质谱)。采用一级全扫描-数据依赖性二级质谱扫描模式。

## 2.2 益气养阴活血方对 DKD 大鼠的作用

2.2.1 供试品溶液制备 制备方法同“2.1.1”项下。

2.2.2 分组、造模及给药 48 只雄性 SD 大鼠, 适应性饲养 1 周后, 随机分为空白组、模型组及益气养阴活血方低、高剂量组 (9.82、19.64 g/kg), 每组 12 只, 空白组给予普通饲料, 其余各组给予高脂高糖饲料, 连续喂养 6 周。6 周后, 大鼠禁食不禁水 12 h, 模型组和给药组大鼠单次腹腔注射 STZ 溶液 (30 mg/kg), 空白组注射等量柠檬酸钠缓冲液, 于注射后第 3、7、14 天检测血糖, 最终以第 14 天大鼠血糖值 ≥ 16.6 mmol/L, 且出现多饮、多食、多尿症状作为造模成功的标准。造模成功后, 给药组灌胃给予相应剂量药物, 空白组和模型组灌胃等量生理盐水, 连续 12 周。

2.2.3 样本采集 末次给药后, 采用异氟烷麻醉大鼠, 腹主动脉取血, 室温静置 30 min, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 分离上清, -80 °C 冰箱保存备用。采血结束后, 心脏灌流至组织大部分变白无血丝, 摘取大鼠两侧肾脏, 取右肾纵切, 一半置于 4% 多聚甲醛中固定, 用于病理学检查, 另一部分置于 2.5% 戊二醛中固定, 用于透射电镜观察; 左肾组织经切碎、分装、液氮速冻后于 -80 °C 冰箱保存。

2.2.4 一般状态观察 实验期间记录大鼠饮食、饮水、尿量、体质量, 并观察毛色、活动度、精神状态等状况。

2.2.5 生化指标检测 取冻存的血清样本, 4 °C

解冻, 照试剂盒说明书操作, 检测血清 SCr、BUN 水平。

2.2.6 大鼠肾组织病理形态观察 取 4% 多聚甲醛固定的肾组织, 经石蜡包埋、切片后进行 HE 染色, 于光学显微镜下观察并拍照。取 2.5% 戊二醛固定的肾组织, 制备超薄切片, 于透射电镜下观察肾脏细胞超微结构并拍照。

2.2.7 RT-qPCR 法检测肾组织 *IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达 取 -80 °C 冰箱保存的肾组织, 4 °C 解冻, 利用 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒提取总 RNA, 反转录得到 cDNA, 以 cDNA 为模板, 采用两步法进行 RT-qPCR (反应体系 20 μL), 扩增反应程序为 94 °C 预变性 2~3 min; 94 °C 变性 5~10 s, 60 °C 退火/延伸 30 s, 40 个循环。引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司设计合成, 序列见表 1。以 *β-actin* 为内参基因, 采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算目的基因相对表达量。

表 1 引物序列

基因	序列 (5'→3')
<i>IL-1β</i>	正向 ATGCCTCGTGCTGTCTGACC
	反向 TTTGTGCTTGCTTGTCTCTCCTTG
<i>MCP-1</i>	正向 CACCTGCTGCTACTCATTCACCTGG
	反向 CTTCTTTGGGACACCTGCTGCTG
<i>β-actin</i>	正向 TGCTGACAGGATGCAGAAGG
	反向 CGGACTCATCGTACTCTCTGC

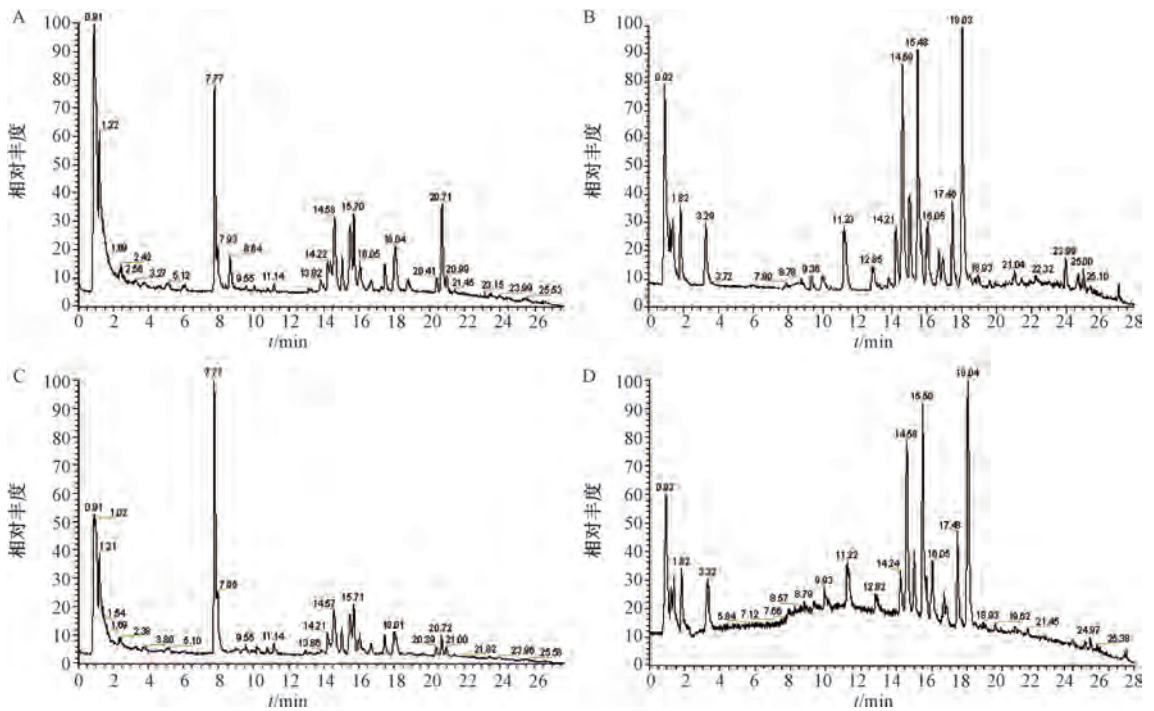
2.2.8 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9 软件进行处理, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 益气养阴活血方入血成分分析 基于 Xcalibur3.2 质谱鉴别软件, 依据化合物保留时间、相对分子质量及二级碎片离子等信息并与对照品对比, 结合 PubChem、HMDB 数据库及相关文献自拟的化学成分数据库对未知成分进行鉴别, 共得到 53 种入血原型成分, 17 种代谢成分, 包括黄酮类 21 种, 有机酸类 22 种、萜类 4 种、香豆素类 4 种、生物碱类 3 种、蒽类 3 种、氨基酸类 3 种及其他类 10 种。益气养阴活血方空白血清、含药血清的总离子流色谱图 (TIC) 见图 1, 对照品在负离子模式下的 TIC 图及对照品出峰时间见图 2, 入血成分鉴定结果见表 2。

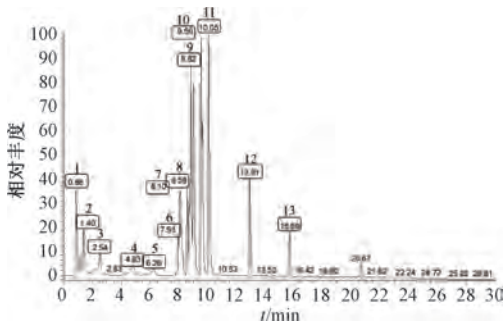
### 3.2 入血原型成分裂解规律分析

3.2.1 黄酮类 黄酮泛指 2 个苯环通过 3 个碳原子相互连接而成的一系列化合物的总称, 即具有



注：A~B 分别为负、正离子模式含药血清，C~D 分别为负、正离子模式空白血清。

图1 益气养阴活血方含药血清、空白血清总离子流色谱图



1. 腺嘌呤 2. 黄嘌呤 3. 原儿茶酸 4. 没食子酸 5. 羟甲基糠醛
6. 木犀草苷 7. 香草酸 8. 甘草苷 9. 异甘草苷 10. 甘草素
11. 异甘草素 12. 18- $\alpha$ -甘草次酸 13. 甘草酸 (未检出)

图2 对照品在负离子模式下的总离子流色谱图

$C_6-C_3-C_6$  结构<sup>[8]</sup>，主要来源于黄芪，具有免疫调节、抗氧化与抗衰老作用<sup>[9]</sup>。黄酮类成分在质谱裂解过程中易在 C 环发生逆狄尔斯-阿尔德反应 (RDA 裂解)，其裂解规律如下。

在正离子模式下，化合物 **35** 的准分子离子峰为  $m/z$  431.136 9  $[M+H]^+$ ，其脱去一分子葡萄糖得到化合物 **52**，准分子离子峰为  $m/z$  269.080 9  $[M+H]^+$ ，一方面其继续脱去一分子  $CH_3$  得碎片离子  $m/z$  254.057 4  $[M+H-CH_3]^+$ ，再脱去一分子 OH，得  $m/z$  237.054 6  $[M+H-CH_3-OH]^+$ ，继续脱去一分子  $C_7H_3O_2$ ，得  $m/z$  118.041 6  $[M+H-CH_3-OH-C_7H_3O_2]^+$ ；另一方面，化合物 **52** 脱去  $C_2O_2$  得

碎片离子  $m/z$  213.091 0  $[M+H-C_2O_2]^+$ ，脱去一分子  $C_9H_6O_3$  得  $m/z$  107.049 7  $[M+H-C_9H_6O_3]^+$ 。与对照品对比，推测化合物 **35** 为芒柄花苷，结合文献<sup>[10]</sup> 推测化合物 **52** 为芒柄花素，裂解途径见图 3。

3.2.2 有机酸类 有机酸是黄芪和菟丝子的主要化学成分，具有抗菌、抗病毒、抗炎、抗氧化、调节代谢与消化的作用。化合物 **8** 在负离子模式下，分子离子峰  $m/z$  153.016 8  $[M-H]^-$  失去一分子  $CO_2$ ，得到碎片离子  $m/z$  109.028 2  $[M-H-CO_2]^-$ ，继续失去一分子  $H_2O$  得到碎片离子  $m/z$  91.017 6  $[M-H-CO_2-H_2O]^-$ ，与对照品对比，结合文献<sup>[11]</sup>，推测该化合物 **8** 为原儿茶酸。化合物 **17** 在负离子模式下，分子离子峰  $m/z$  167.133 9  $[M-H]^-$  一方面失去一分子  $H_2O$  得到碎片离子  $m/z$  152.015 0  $[M-H-H_2O]^-$ ；另一方面失去一分子  $CO_2$  得到碎片离子  $m/z$  121.014 1  $[M-H-CO_2]^-$ ，继续失去一分子  $CH_3$  得到  $m/z$  108.020 6  $[M-H-CO_2-CH_3]^-$ ，与对照品对比并结合文献<sup>[12]</sup>，推测化合物 **17** 为香草酸。

3.2.3 蒽醌类 蒽醌是大黄的主要化学成分，具有导泻、抗菌、抗氧化、抗肿瘤作用，其酚羟基上的 O 原子和苯环之间存在 p- $\pi$  共轭体系，决定了其结构的稳定性<sup>[13]</sup>。在负离子模式下，共轭体系裂解是主要裂解途径，在二级质谱中裂解易失去母

表 2 益气养阴活血方入血成分鉴定结果

编号	化学式	$t_R$ /min	离子模式	$m/z$ 理论值	$m/z$ 实测值	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子 $m/z$	名称	归属	类型
1	$C_5H_{11}NO_2$	0.89	$[M+H]^+$	118.0863	118.0867	4.02	118.0867, 109.9823, 90.1658, 71.9822, 59.0739	甜菜碱	b	生物碱类
2	$C_5H_{10}N_2O_5$	0.94	$[M+H]^+$	147.0764	147.0767	2.05	147.0767	DL-谷氨酰胺	a, b, g	其他类
3	$C_5H_7NO_3$	0.97	$[M-H]^-$	128.0353	128.0341	-1.25	128.0341, 112.4347, 98.6026, 82.0282	4-氧代脯氨酸*	f	氨基酸类
4	$C_8H_{17}NO_2$	0.98	$[M+H]^+$	160.1332	160.1335	1.72	160.1335, 143.0453, 114.0667, 101.0603, 83.0499, 72.0452	5-氨基戊酸甜菜碱	b	生物碱类
5	$C_{11}H_{20}N_2O_3$	0.99	$[M+H]^+$	229.1547	229.1552	2.10	229.1552, 142.0866, 132.0662, 116.0710, 70.0660	L-problyl-L-leucine*	f	氨基酸类
6	$C_3H_5N_5$	1.16	$[M+H]^+$	136.0617	136.0759	-	136.0759, 119.0495, 107.0496, 91.0549	腺嘌呤#	a, f, g	其他类
7	$C_8H_8O_7$	1.20	$[M-H]^-$	191.0197	191.0190	0.90	191.0190, 176.0105, 148.0152, 129.0170, 7.111.0074, 87.0073	柠檬酸	a, b, c, d, e, g	有机酸类
8	$C_5H_4N_4O_2$	1.44	$[M-H]^-$	151.0261	151.0254	2.04	151.0254, 136.0155, 107.0491, 92.0267	黄嘌呤*	a, f, g	其他类
9	$C_7H_6O_4$	2.53	$[M-H]^-$	153.0193	153.0168	-1.39	153.0182, 135.0076, 109.0282, 91.0176	原儿茶酸#	c	有机酸类
10	$C_9H_7NO$	3.34	$[M+H]^+$	146.0600	146.0604	2.19	146.0604, 118.0656, 91.0549	3-甲咪唑-甲脞	d, e	其他类
11	$C_8H_6O_3$	3.43	$[M+H]^+$	127.0390	127.0394	3.14	127.0394, 109.0289, 81.0343	麦芽酚	a, b, g	有机酸类
12	$C_7H_6O_5$	4.21	$[M-H]^-$	169.0142	169.0134	1.72	169.0134, 151.0755, 125.8720, 97.0647	没食子酸#	e	有机酸类
13	$C_7H_6O_3$	4.39	$[M-H]^-$	137.0244	137.0243	-0.95	137.0243, 109.0280, 93.0331	对羟基苯甲酸	c, d, e, g	有机酸类
14	$C_{15}H_{16}O_{10}$	5.23	$[M-H]^-$	355.0671	355.0665	1.48	355.0665, 337.0565, 311.0760, 179.0341, 175.0233, 135.0440, 113.0231	咖啡酸 4-O-葡萄糖醛酸*	b, d	有机酸类
15	$C_8H_6O_3$	6.80	$[M+H]^+$	127.0390	127.0393	2.75	127.0393, 109.0290, 97.1258, 81.0343, 53.0395	5-羟甲基糠醛**	a, b, c, d, e, g	其他类
16	$C_{10}H_{10}O_7$	7.05	$[M-H]^-$	273.0074	273.0071	2.68	273.0071, 199.6228, 193.0497, 173.0263	硫酸阿魏酸*	a, b, d	有机酸类
17	$C_8H_8O_4$	7.21	$[M-H]^-$	167.0350	167.0339	0.15	167.0339, 152.0105, 124.0141, 108.0206	香草酸#	d, e	有机酸类
18	$C_9H_{16}O_4$	7.36	$[M-H]^-$	187.0976	187.0970	2.64	187.0970, 141.8669, 125.0960	壬二酸	b	有机酸类
19	$C_{21}H_{30}O_9$	7.90	$[M+H]^+$	417.1180	417.1180	0.08	417.1180, 255.2316, 237.0199, 227.1754, 147.0654, 137.0962	大豆苷	a	黄酮类
20	$C_{21}H_{18}O_{10}$	7.93	$[M-H]^-$	429.0827	429.0847	4.29	429.0847, 384.8800, 330.0924, 253.0503, 225.0550, 175.0239, 113.0231	大豆苷元-7-O-葡萄糖醛酸苷*	a	黄酮类
21	$C_9H_8O_3$	8.06	$[M-H]^-$	163.0401	163.0390	0.00	163.0390, 142.9916, 119.0489	4-羟基肉桂酸	b, c	有机酸类
22	$C_{10}H_{12}O_5$	8.07	$[M+H]^+$	285.0758	285.0761	1.37	270.0528, 261.8947, 242.0576	melanettin	d	其他类
23	$C_{10}H_{16}O_3$	8.16	$[M-H]^-$	183.1027	183.1017	0.98	139.1116	地黄苦苷元	d	萜类
24	$C_{21}H_{18}O_{11}$	8.21	$[M+H]^+$	447.0922	447.0909	-2.86	447.0909, 285.0750, 271.0603, 153.0184	金雀异黄素 4-O-葡萄糖醛酸*	a	有机酸类
25	$C_{10}H_{18}O_9$	8.22	$[M-H]^-$	353.0878	353.0882	4.14	353.0882, 335.1714, 191.0344, 179.0553, 135.0440	新绿原酸/绿原酸/绿原酸	c	有机酸类
26	$C_{30}H_{22}O_9$	8.25	$[M-H]^-$	405.1191	405.1190	2.57	405.1190, 243.8992, 225.8968	羟白藜芦醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷*	e	黄酮类
27	$C_{21}H_{18}O_{12}$	8.27	$[M-H]^-$	461.0725	461.0736	4.75	461.0736, 285.0003, 175.0966, 151.0388	山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖醛酸苷*	b	黄酮类
28	$C_{10}H_{18}O_9$	8.30	$[M-H]^-$	353.0878	353.0876	2.67	353.0876, 353.0876, 191.0342, 179.0553, 173.0811, 135.0440	新绿原酸/绿原酸/绿原酸	c	有机酸类
29	$C_{21}H_{22}O_9$	8.41	$[M-H]^-$	417.1191	417.1190	2.21	417.1190, 255.0661, 153.0183, 135.0076, 119.0490	甘草苷#	g	黄酮类
30	$C_{10}H_{18}O_9$	8.45	$[M-H]^-$	353.0878	353.0883	4.56	353.0883, 191.0342, 179.0553, 135.0440	新绿原酸/绿原酸/绿原酸	c	有机酸类
31	$C_{21}H_{20}O_{11}$	8.46	$[M-H]^-$	447.0933	447.0912	-2.17	447.0912, 271.0614, 151.0025, 119.0480, 113.0231	木犀草苷#	a, b, c	黄酮类
32	$C_{10}H_{12}O_6$	8.58	$[M+H]^+$	301.0707	301.0709	0.65	301.0709, 153.0912	红车轴草素	a, g	黄酮类
33	$C_{21}H_{22}O_9$	8.64	$[M-H]^-$	417.1191	417.1197	3.96	417.1197, 255.0665, 241.0866, 175.0240, 119.0487	异甘草苷#	g	黄酮类
34	$C_7H_6O_3$	8.77	$[M-H]^-$	137.0244	137.0233	-0.15	137.0233, 113.3647, 95.8945, 93.0331	水杨酸	d, e, g	有机酸类
35	$C_{22}H_{22}O_9$	8.80	$[M+H]^+$	431.1337	431.1342	1.30	431.1342, 268.1331, 255.0652, 237.0546, 215.1024, 137.0235	芒柄花苷#	a, g	黄酮类
36	$C_{22}H_{20}O_{10}$	8.82	$[M-H]^-$	443.0984	443.0987	3.13	443.0987	芒柄花素-7-O-葡萄糖醛酸苷*	a	黄酮类
37	$C_{15}H_{10}O_4$	8.93	$[M-H]^-$	253.0506	253.0503	2.86	253.0503, 225.0553, 224.0473, 209.0603, 180.0573	大萘酚	e	萜醌类
38	$C_{15}H_{10}O_4$	8.95	$[M+H]^+$	255.0652	255.0654	0.65	255.0654, 199.0757, 181.0652, 137.0235	大豆苷元	a	黄酮类

续表2

编号	化学式	$t_R/\text{min}$	离子模式	$m/z$ 理论值	$m/z$ 实测值	误差 ( $\times 10^{-6}$ )	碎片离子 $m/z$	名称	归属	类型
39	$C_9H_8O_4$	8.96	$[M-H]^-$	179.0350	179.0342	1.70	179.054 2, 161.875 1, 151.075 0, 143.864 1, 135.080 3, 104.926 6, 89.022 9	咖啡酸	b, d	有机酸类
40	$C_{15}H_{12}O_4$	8.99	$[M-H]^-$	255.0663	255.0663	5.57	255.066 3, 153.018 4, 135.007 8, 119.049 1, 91.017 6	甘草素*	g	黄酮类
41	$C_{15}H_{14}N_2O_3$	9.03	$[M+H]^+$	269.0932	269.0934	4.87	269.093 4, 225.102 6, 156.080 7	菟丝子胺	b	生物碱类
42	$C_{16}H_{12}O_5$	9.04	$[M+H]^+$	285.0752	285.0761	1.26	285.076 1, 270.052 6, 257.080 5, 253.048 7, 225.054 8, 148.025 2, 137.023 5	毛蕊异黄酮	a	黄酮类
43	$C_{22}H_{18}O_{11}$	9.11	$[M-H]^-$	445.0776	445.0782	3.71	445.078 2, 269.045 9, 225.055 4, 213.055 1, 175.024 7, 113.023 2	芹菜素-7-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸苷*	e, g	黄酮类
44	$C_{10}H_{10}O_4$	9.20	$[M-H]^-$	193.0506	193.0501	2.72	193.050 1, 178.026 4, 175.075 4, 149.095 5, 146.862 3, 134.036 4	阿魏酸	a, b, d	有机酸类
45	$C_{15}H_{10}O_5$	9.59	$[M-H]^-$	269.0455	269.0456	4.13	269.045 6, 241.050 8, 225.056 0, 224.047 5, 207.134 2, 181.065 0	大黄素	e	黄酮类
46	$C_{15}H_{10}O_5$	9.64	$[M-H]^-$	269.0455	269.0457	4.46	269.045 7, 241.050 9, 222.820 2, 116.994 4	芹菜素	e, g	黄酮类
47	$C_9H_6O_3$	9.79	$[M+H]^+$	163.0390	163.0386	-2.46	163.038 5, 145.039 3, 135.043 9, 117.069 9, 107.049 4	7-羟基香豆素/4-羟基香豆素	b	苯丙素类
48	$C_{15}H_{10}O_5$	9.80	$[M-H]^-$	269.0455	269.0457	4.46	269.045 7, 241.050 5, 225.055 4, 197.060 2, 181.064 8	芦荟大黄素	e	黄酮类
49	$C_9H_6O_3$	10.04	$[M+H]^+$	163.0390	163.0386	-2.15	163.038 6, 145.064 5, 135.044 1, 117.069 9, 107.085 6	7-羟基香豆素/4-羟基香豆素	b	苯丙素类
50	$C_{15}H_{12}O_4$	10.06	$[M-H]^-$	255.0663	255.0662	4.14	255.066 2, 153.018 4, 135.007 6, 119.049 0, 91.017 6	异甘草素*	g	黄酮类
51	$C_{15}H_{12}O_4$	10.07	$[M+H]^+$	257.0808	257.0811	1.11	257.081 1, 211.075 6, 147.044 2, 137.023 5, 119.049 5	毛蕊异黄酮葡萄糖苷*	a	黄酮类
52	$C_{22}H_{22}O_{10}$	10.07	$[M+H]^+$	447.1286	447.0924	1.36	447.092 4, 285.057 0, 271.060 3, 253.049 6, 225.054 9, 215.070 3, 137.023 3	芒柄花素	a	黄酮类
53	$C_{16}H_{12}O_4$	10.39	$[M-H]^-$	267.0663	267.0663	2.42	267.066 3, 252.042 5, 223.039 7, 195.044 9, 178.991 6, 132.020 4	3-羟基香豆素	b	苯丙素类
54	$C_{16}H_{12}O_4$	10.39	$[M+H]^+$	269.0808	269.0813	-0.31	269.081 3, 254.057 8, 253.049 8, 237.055 3, 213.091 8, 197.060 2, 184.099 8	孕酮	b	其他类
55	$C_{16}H_{12}O_4$	11.03	$[M-H]^-$	283.0762	283.0614	4.49	283.061 4, 268.038 6, 257.045 2, 255.029 3, 239.034 1, 219.844 3, 211.039 4, 183.044 3	18- $\alpha$ -甘草次酸*#	a	萜类
56	$C_{15}H_8O_6$	11.13	$[M-H]^-$	283.0248	283.0250	4.40	283.025 0, 257.045 2, 239.034 6, 211.039 4, 183.044 2	环莨菪醇*	a	其他类
57	$C_{16}H_{12}O_6$	11.29	$[M+H]^+$	301.0707	301.2854	—	301.285 4, 240.232 4	大豆素	b	苯丙素类
58	$C_9H_6O_3$	12.79	$[M+H]^+$	163.0390	163.0386	-2.27	163.038 6, 145.039 6, 135.044 0, 117.069 9, 107.085 7, 95.049 5	山柰酚	b	黄酮类
59	$C_{21}H_{30}O_2$	13.40	$[M+H]^+$	315.2319	315.2322	1.22	315.232 2, 297.221 6, 109.065 3, 97.065 5	3-羟基香豆素	b	苯丙素类
60	$C_{30}H_{46}O_4$	15.78	$[M+H]^+$	471.3469	471.3479	1.30	471.347 9, 453.338 6, 425.344 5, 317.212 0, 271.206 9, 189.164 3	18- $\alpha$ -甘草次酸*#	g	萜类
61	$C_{30}H_{50}O_5$	17.17	$[M+H]^+$	491.3731	491.3741	1.02	491.374 1, 125.071 4	环莨菪醇*	a	其他类
62	$C_9H_6O_3$	17.32	$[M+H]^+$	147.0441	147.0443	0.19	147.044 3, 123.964 8, 119.086 4, 91.054 9	香豆素	b	苯丙素类
63	$C_{25}H_{43}N_3O_6$	17.96	$[M-H]^-$	480.3079	480.3099	7.01	480.309 9, 449.542 3, 283.263 3, 196.037 1	棕榈酰 Ara-C*	b, e, f	其他类
64	$C_{18}H_{35}NO_3$	19.08	$[M-H]^-$	312.2544	312.2546	4.03	312.254 6, 268.263 9, 183.010 9	棕榈酰甘氨酸*	b, e, f	氨基酸类
65	$C_{16}H_{30}O_2$	19.54	$[M-H]^-$	277.2173	277.2173	4.12	277.217 3, 255.032 1, 161.898 3, 121.028 5	亚麻酸	b, e	有机酸类
66	$C_{16}H_{33}NO$	20.02	$[M+H]^+$	256.2635	256.2636	0.58	256.263 6, 229.304 4, 186.185 5, 130.122 8, 102.092 0	棕榈酰胺	f	其他类
67	$C_{18}H_{35}NO$	20.74	$[M+H]^+$	282.2791	282.2795	1.31	282.279 5, 265.253 0, 247.242 0, 97.101 8, 83.086 2, 69.070 7	油酸酰胺	f	其他类
68	$C_{20}H_{32}O_2$	20.92	$[M+H]^+$	305.2477	305.2477	0.67	305.247 7, 287.237 0, 269.226 6, 245.226 6, 207.138 3	花生四烯酸	f	有机酸类
69	$C_{18}H_{32}O_2$	21.35	$[M-H]^-$	279.2330	279.2330	4.09	279.233 0, 253.029 2, 165.435 3	亚油酸	b, e	有机酸类
70	$C_{20}H_{41}NO_2$	22.40	$[M+H]^+$	328.3210	328.3214	1.23	328.321 4, 311.295 6, 252.606 5, 161.627 5	硬脂酰乙醇胺	f	其他类
71	$C_{18}H_{34}O_2$	23.86	$[M-H]^-$	281.2486	281.2489	4.95	281.248 9, 252.855 2, 112.333 0	油酸	b, e, f	有机酸类
72	$C_{16}H_{32}O_2$	24.87	$[M-H]^-$	255.2330	255.2327	3.42	255.233 0	棕榈酸	b, e, f	有机酸类

注: a 为黄芪, b 为菟丝子, c 为积雪草, d 为生地黄, e 为大黄, f 为水蛭, g 为甘草, \* 为代谢成分, # 为与对照品对比。

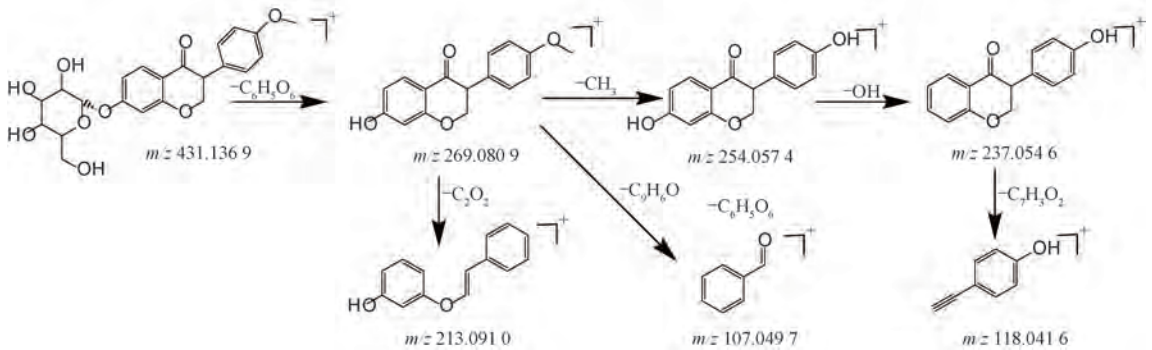
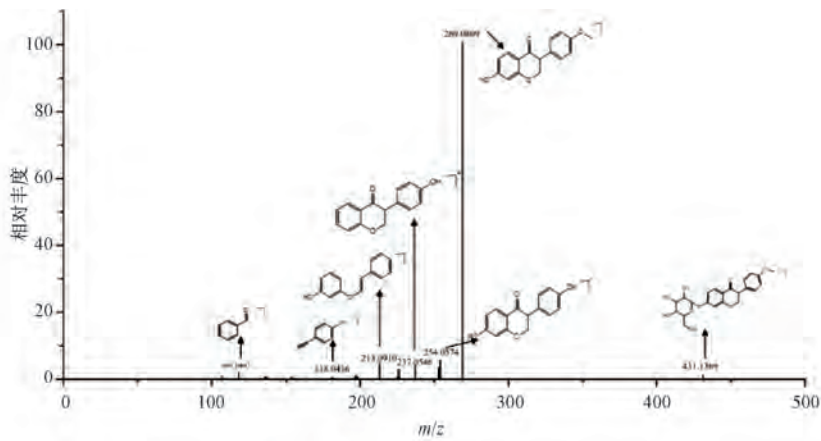


图3 芒柄花苷、芒柄花素可能的裂解途径

核基团中的CO，侧链取代基也易裂解失去<sup>[14]</sup>。大黄素、大黄酚、芦荟大黄素及大黄酸可能的裂解途径见图4。

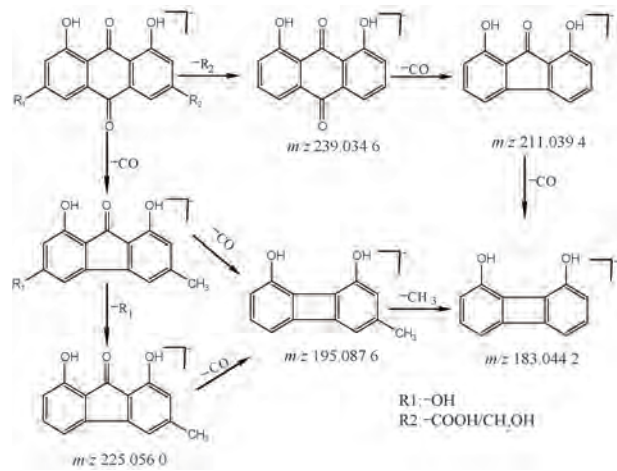


图4 蒽醌类成分可能的裂解途径

3.2.4 苯丙素类 苯丙素来源于菟丝子，具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤及保护心脑血管、神经的作用。化合物60在正离子模式下的准分子离子峰为 $m/z$  147.0443  $[M+H]^+$ ，其脱去一分子-CO得碎片离子 $m/z$  119.0860  $[M+H-CO]^+$ ，脱去一分子- $CO_2$ 得 $m/z$  103.0547  $[M+H-CO-CO_2]^+$ ，参考文献

[15]和二级质谱图推测化合物60为香豆素。

3.3 代谢产物鉴定 共鉴别出17种代谢成分，化合物在大鼠体内的代谢途径主要为葡萄糖醛酸化、硫酸化、去甲基化、水解等，如黄芪皂苷发生水解反应生成环黄芪醇<sup>[16]</sup>；咖啡酸经葡萄糖醛酸化生成咖啡酸-4-O-葡萄糖醛酸；芒柄花苷经水解生成芒柄花素，经葡萄糖醛酸化生成芒柄花素-7-O-葡萄糖醛酸；甘草酸在酶的作用下发生水解反应生成甘草次酸。咖啡酸-4-O-葡萄糖醛酸在大鼠体内可能裂解途径见图5。

3.4 益气养阴活血方对DKD大鼠一般状态及血清SCr、BUN水平的影响 空白组大鼠精神良好，实验期间体质量逐渐增长，大便成形，毛色润泽有光泽。与空白组比较，模型组大鼠形体消瘦，毛发暗淡无光泽，饮水量增多，稀软便居多，血清SCr、BUN水平升高 ( $P<0.01$ )。与模型组比较，各给药组大鼠毛色及形体逐渐改善，且体质量逐渐增长，血清SCr、BUN水平降低 ( $P<0.01$ )，见图6。

3.5 益气养阴活血方对DKD大鼠肾组织病理形态的影响 HE染色结果显示，与空白组比较，模型组大鼠肾小球结构不清晰，毛细血管团管腔闭塞，系膜基质重度增生；与模型组比较，各给药组大鼠

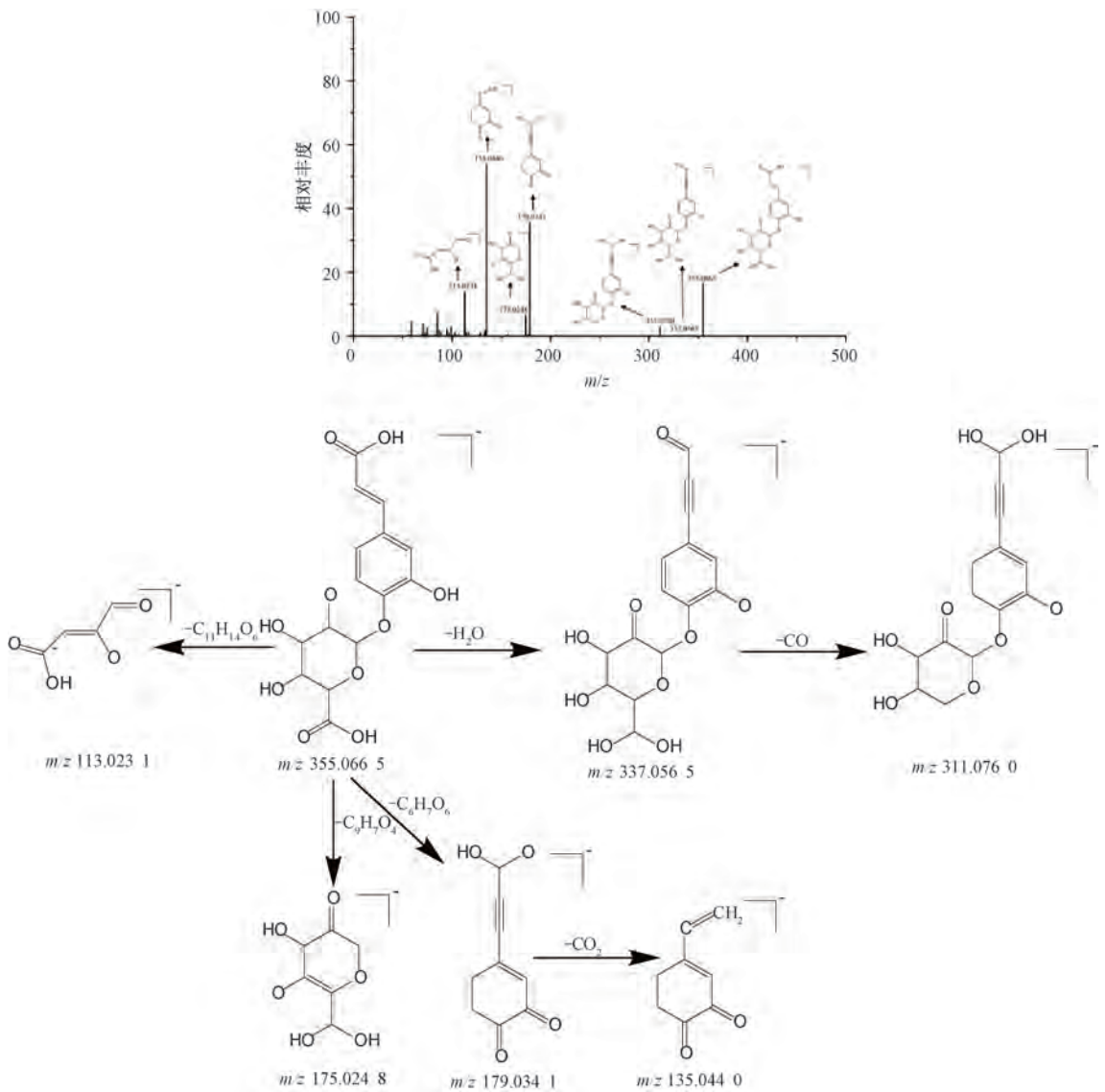
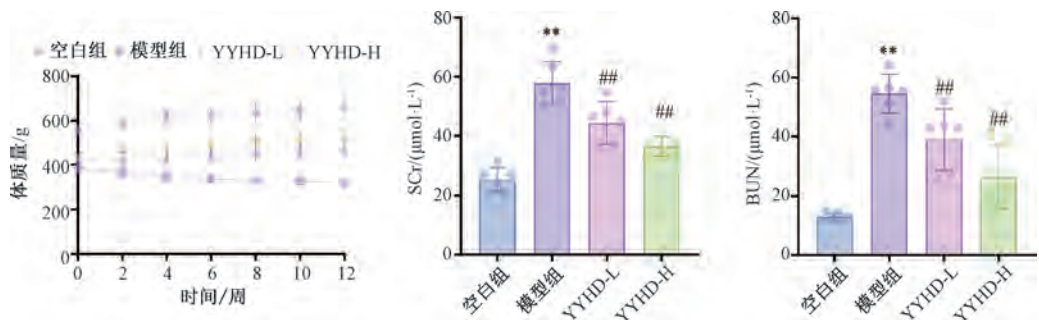


图5 咖啡酸 4-O-葡萄糖醛酸可能的裂解途径



注：YYHD-L、YYHD-H 分别为益气养阴活血方低、高剂量组。与空白组比较，\*\* $P < 0.01$ ；与模型组比较，### $P < 0.01$ 。

图6 益气养阴活血方对DKD大鼠体质量及血清SCr、BUN水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

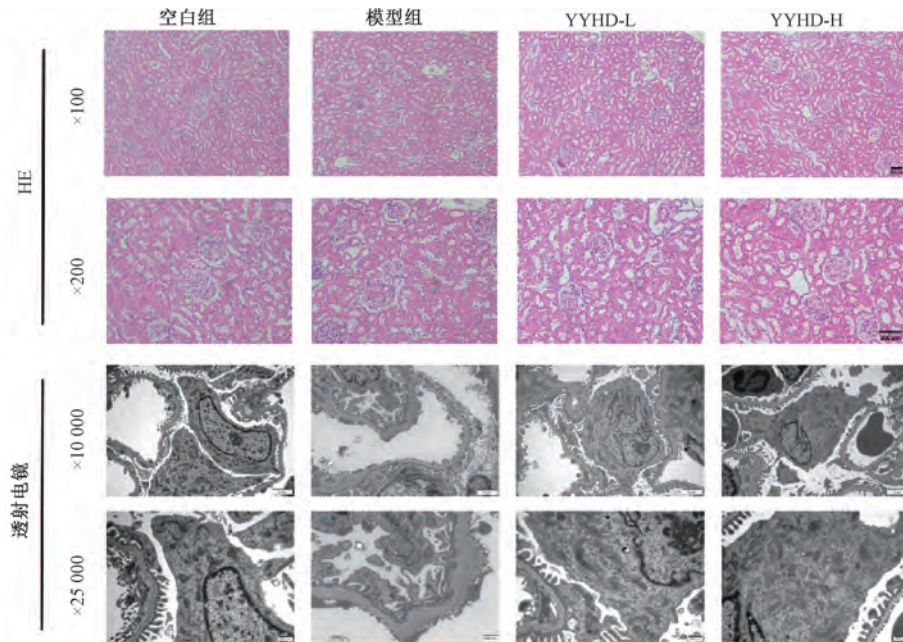
肾小球结构逐渐清晰，毛细血管团管腔逐渐清晰，系膜基质增生减少。透射电镜结果显示，空白组大鼠肾小球滤过膜各层结构清晰，足细胞排列整齐，足突明显呈梳子齿状，基底膜厚度正常；与空白组比较，模型组大鼠肾小球滤过膜破坏严重，可见足

细胞足突融合明显成线状且排列紊乱，基底膜均质增厚；与模型组比较，各给药组大鼠情况均有所改善。结果见图7。

3.6 益气养阴活血方对DKD大鼠肾组织  $IL-1\beta$ 、 $MCP-1$  mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型

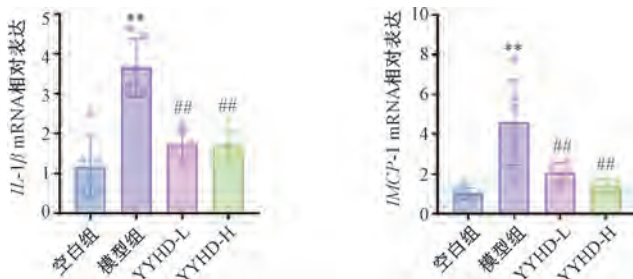
组大鼠肾组织 *IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达升高 ( $P < 0.01$ )；与模型组比较，各给药组大鼠肾组织

*IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达降低 ( $P < 0.01$ )，见图 8。



注：YYHD-L、YYHD-H 分别为益气养阴活血方低、高剂量组。

图 7 益气养阴活血方对 DKD 大鼠肾组织病理形态的影响



注：YYHD-L、YYHD-H 分别为益气养阴活血方低、高剂量组。与空白组比较，\*\*  $P < 0.01$ ；与模型组比较，##  $P < 0.01$ 。

图 8 益气养阴活血方对 DKD 大鼠肾组织 *IL-1β*、*MCP-1* mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

#### 4 讨论

糖尿病肾病由消渴日久、缠绵不愈、耗气伤血、阴损及阳、脏腑虚损所致，病变脏腑主要有肝脾肾，并涉及气血水三者。益气养阴活血方由黄芪、生地、菟丝子、积雪草、制大黄、水蛭、甘草 7 味中药组成，方中黄芪归肺、脾经，味甘，性温，可补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌，菟丝子补益肝肾、固精缩尿，二者为君药；生地滋阴补肾、养血补血、凉血，可以协助菟丝子补肾精、黄芪补气，并同时制约黄芪的温性，为臣药；积雪草具有清热利湿、解毒消肿功效，大黄泻热通肠、凉血解毒、逐瘀、通经，水蛭破血、逐瘀、通经，共为佐药<sup>[17]</sup>；甘草补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药，为使药<sup>[18]</sup>。全方共奏

补气、填精、养阴、活血功效，对糖尿病早、中期病变具有较好的作用。

本研究采用 UPLC-Q-Exactive orbitrap MS 技术对益气养阴活血方的入血成分及代谢成分进行分析，根据质谱信息及参考文献，共鉴定得到 53 种原型成分和 17 种代谢产物，包括黄酮类 21 种、有机酸类 22 种、萜类 4 种、香豆素类 4 种、生物碱类 3 种、蒽类 3 种、氨基酸类 3 种、其他类 10 种。动物实验结果表明，该方对 DKD 具有明确的保护作用，能够显著降低 DKD 大鼠 SCr、BUN 水平，同时显著改善其肾组织病理损伤，包括减轻肾小管肿胀闭塞、部分空泡变性程度，缓解肾小球系膜基质增生、基底膜增厚等。RT-qPCR 结果显示，益气养阴活血方干预后，DKD 大鼠肾组织 *IL-1β*、*MCP-1*

1 mRNA 表达明显降低,提示该方可通过下调大鼠体内炎症因子表达,减轻肾组织炎症反应,进而发挥肾组织保护作用。现代研究表明,大黄素可通过调控 PERK 通路减轻内质网应激,从而改善 DKD 小鼠的足细胞凋亡<sup>[19]</sup>;此外,它还能通过调节 miR-21 介导的细胞自噬,减轻 DKD 小鼠的肾脏氧化损伤<sup>[20]</sup>。绿原酸则通过抑制 Notch1 和 Stat3 信号通路,减少 DKD 小鼠的肾脏脂质积累,进而缓解肾脏纤维化<sup>[21]</sup>。芒柄花素能够增加 2 型糖尿病大鼠肾组织中 sirt1 的表达,减轻氧化应激和胰岛素抵抗,同时降低血糖,改善肾脏损伤<sup>[22]</sup>。值得注意的是,大黄素和绿原酸分别是益气养阴活血方中大黄和积雪草的主要活性成分,而芒柄花素则为黄芪有效成分芒柄花苷的水解产物。因此,上述成分可能为益气养阴活血方改善大鼠 DKD 的重要物质基础。

本研究初步明确了益气养阴活血方发挥药效的核心入血成分,证实了其对于 DKD 大鼠保护作用,同时阐明了减轻肾脏炎症反应、发挥肾脏保护作用的关键机制,可为益气养阴活血方治疗 DKD 的临床应用提供科学依据。

#### 参考文献:

[1] 张盼. 益气养阴活血化痰方联合降糖补肾丸治疗糖尿病肾病疗效观察[J]. 实用中医药杂志, 2023, 39(12): 2305-2307.

[2] 高文雅. 经典名方清心莲子饮物质基础及其干预糖尿病肾病模型疗效评价研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2021.

[3] 邹易彤, 杨宇峰. 糖尿病肾病中医病因病机学说基础探讨[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(4): 185-189.

[4] 刘存蓉, 史晓伟, 罗向霞. 早期糖尿病肾病的证型分布及其治疗的理论研究[J]. 辽宁中医杂志, 2024, 51(7): 40-43.

[5] 韩茂志. 糖尿病肾病早期阶段应用益气养阴补肾活血方剂治疗的效果分析[J]. 医药论坛杂志, 2021, 42(8): 127-129.

[6] 叶甜. 益气养阴活血方治疗 2 型糖尿病气阴两虚兼血瘀证的临床疗效分析[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.

[7] Tang S C W, Yiu W H. Innate immunity in diabetic kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16(4): 206-222.

[8] 黄芳, 周熙, 罗辉泰, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 及化学模式识别方法对陈皮的化学成分快速鉴别及产地判别

研究[J]. 中草药, 2022, 53(20): 6361-6368.

[9] 董朋涛, 李晓羽, 张青, 等. 中药黄酮类化合物改善糖尿病肾病作用机制研究进展[J]. 中成药, 2025, 47(10): 3337-3345.

[10] Li H F, Li T, Yang P, et al. Global profiling and structural characterization of metabolites of ononin using HPLC-ESI-IT-TOF-MS<sup>n</sup> after oral administration to rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(51): 15164-15175.

[11] 谢斌, 吴学峰, 黄晓兰, 等. UHPLC-Q-TOF/MS 法鉴定补肾益智方有效部位化学成分[J]. 中成药, 2023, 45(1): 299-310.

[12] 康雨, 胡军华, 章晨峰, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法分析紫辛鼻鼈颗粒化学成分及入血成分[J]. 中成药, 2024, 46(4): 1093-1102.

[13] 陆杰, 王婷婷, 梁琨, 等. UPLC-LTQ-Orbitrap-MS 法分析大承气汤化学成分[J]. 中成药, 2020, 42(12): 3275-3280.

[14] 后亚芳, 任慧, 崔小敏, 等. 朱砂七化学成分的 UHPLC-Q Exactive Focus MS 分析[J]. 中药材, 2025, 48(5): 1186-1192.

[15] 张洪宝, 周成惠, 周天成, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和分子网络技术快速分析三金片化学成分[J]. 中成药, 2025, 47(12): 4202-4210.

[16] 胡静. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 结合诊断离子与分子网络策略解析当归补血汤的化学成分[D]. 太原: 山西大学, 2021.

[17] 季晗舒, 宋纯东, 王旭, 等. 益气养阴活血方对糖尿病肾病大鼠肾功能及 SIRT3/SOD2/GPX4 通路、铁死亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2025, 60(4): 488-492.

[18] 章美花, 陈小琴, 林基伟, 等. 益气养阴活血法治疗早期糖尿病肾病研究进展[J]. 中国民间疗法, 2022, 30(4): 114-117.

[19] Tian N X, Gao Y B, Wang X L, et al. Emodin mitigates podocytes apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress through the inhibition of the PERK pathway in diabetic nephropathy[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 2195-2211.

[20] 齐宝宁, 熊永爱, 潘艳芳, 等. 大黄素调控 miR-21 介导细胞自噬减轻糖尿病肾病小鼠肾脏氧化性损伤机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2020, 32(12): 2012-2019.

[21] Yang X Y, Jiang D, Wang Y Z, et al. Chlorogenic acid alleviates renal fibrosis by reducing lipid accumulation in diabetic kidney disease through suppressing the Notch1 and Stat3 signaling pathway[J]. *Ren Fail*, 2024, 46(2): 2371988.

[22] Oza M J, Kulkarni Y A. Formononetin attenuates kidney damage in type 2 diabetic rats[J]. *Life Sci*, 2019, 219: 109-121.