

牛蒡根茯苓方纳米制剂对马兜铃酸所致肾损伤的保护作用研究

周宁^{1*}, 朱翔¹, 史小方¹, 彭家伟², 宋存峰³

¹北京煦堂生物科技有限公司 北京

²纳米技术及应用国家工程研究中心 上海

³上海交通大学 上海

【摘要】目的 探讨牛蒡根茯苓方纳米制剂对马兜铃酸诱导的斑马鱼肾功能损伤模型的保护作用。**方法** 采用水溶给予 90 nmol/L 马兜铃酸建立斑马鱼肾功能损伤模型。设置正常对照组、模型对照组、阳性对照组（地塞米松，9.81 μg/mL）及牛蒡根茯苓方纳米制剂低、中、高剂量组（500，1000，2000 μg/mL）。通过测定斑马鱼全身荧光强度评价肾小球滤过功能，并检测肌酐（Cr）含量评估肾脏排泄功能。**结果** 与正常对照组相比，模型对照组斑马鱼全身荧光强度与肌酐含量均极显著升高（ $P < 0.001$ ）。经牛蒡根茯苓方纳米制剂干预后，各剂量组斑马鱼全身荧光强度显著降低（500 μg/mL 组 $P < 0.05$ ，1000、2000 μg/mL 组 $P < 0.001$ ），肌酐含量亦呈剂量依赖性极显著降低（ $P < 0.001$ ）。**结论** 牛蒡根茯苓方纳米制剂可通过促进肾小球滤过和降低肌酐含量，有效改善马兜铃酸诱导的斑马鱼肾功能损伤，具备良好的肾保护应用潜力。

【关键词】 中药复方纳米制剂；牛蒡根茯苓方；肾损伤；动物实验

【收稿日期】2025 年 11 月 16 日 **【出刊日期】**2025 年 12 月 15 日 **【DOI】**10.12208/j.ircm.20250038

Study on the protective effect of Burdock Root and Poria Cocos Nano-formulations against Aristolochic acid-induced renal injury

Ning Zhou^{1*}, Xiang Zhu¹, Xiaofang Shi¹, Jiawei Peng², Cunfeng Song³

¹Beijing Xutang Biotechnology Co., Ltd., Beijing

²National Engineering Research Center for Nanotechnology and Its Applications, Shanghai

³Shanghai Jiao Tong University, Shanghai

【Abstract】Objective To investigate the protective effect of Burdock Root and Poria Cocos Compound Nanopreparation on aristolochic acid-induced renal function injury in a zebrafish model. **Methods** A renal injury model was established by exposing zebrafish to 90 nmol/L aristolochic acid in water. The zebrafish were randomly divided into a normal control group, a model control group, a positive control group (dexamethasone, 9.81 μg/mL), and low-, medium-, and high-dose groups of the Burdock Root and Poria Cocos Compound Nanopreparation (500, 1000, 2000 μg/mL). Glomerular filtration function was evaluated by measuring the systemic fluorescence intensity of the zebrafish, and renal excretory function was assessed by detecting creatinine (Cr) content. **Results** Compared with the normal control group, the model control group showed a highly significant increase in both systemic fluorescence intensity and creatinine content ($P < 0.001$). After intervention with the Burdock Root and Poria Cocos Compound Nanopreparation, all dose groups exhibited a significant reduction in systemic fluorescence intensity (500 μg/mL group, $P < 0.05$; 1000 and 2000 μg/mL groups, $P < 0.001$). Creatinine content also showed a dose-dependent and highly significant decrease ($P < 0.001$). **Conclusion** The Burdock Root and Poria Cocos Compound Nanopreparation can effectively ameliorate aristolochic acid-induced renal function injury in zebrafish by promoting glomerular filtration and reducing creatinine content, demonstrating good potential for renal protection applications.

*通讯作者：周宁

【Keywords】 Traditional Chinese medicine compound nanopreparation; Burdock Root and Poria Cocos Formula; Renal injury; Animal experimentation

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 是一种肾脏结构或功能异常超过 3 个月, 或不明原因导致的肾小球滤过率低于 60 mL/min 持续三个月或更长时间的疾病^[1]。CKD 持续进展将发展为终末期肾衰竭, 需要透析或肾移植来维持和改善患者生命质量^[2]。据 2019 数据显示, 全球慢性肾脏病患者约有 6.97 亿, 占全球人口的近 10%, 其中需要肾脏替代治疗的终末期肾病患者约为 490.2~708.3 万^[3,4]。目前 CKD 的治疗以西医为主, 主要通过控制高血压、降低高血糖等危险因素来延缓疾病的进程, 但存在无法根治原发病因、病程长、费用高、伴随不良反应等局限性^[5]。因此, 开发能够早期干预、延缓 CKD 进展的安全有效制剂, 具有重要的临床意义。

中医认为肾乃先天之本, 主藏精、主水液代谢, 将肾损伤的病机归为“癃闭、水肿、关格、溺毒、肾风、虚劳”范畴, 治疗当以通腑化浊、清热解毒、活血化瘀为基本法则^[6]。中医药在治疗肾损伤方面具有独特优势, 可以通过科学配伍实现“多途径、多靶点、多机制”的协同增效、标本兼治的治疗目的。牛蒡根具有疏散风热、消毒肿的功效, 茯苓可利水渗湿、健脾、宁心安神, 两者共为君药对肾损伤的关键病理环节发挥核心治疗作用。另外辅以黄芪的“补气升阳、益卫固表、利水消肿”, 山药的“益气养阴, 补脾肺肾、涩精止带”、香菜的“发表透疹、健胃”之效有望实现全面、高效的肾损伤治疗目的。

然而, 传统中药制剂存在有效成分难崩解吸收、肾脏靶向差、全身不良反应大等问题, 严重阻碍其临床应用^[7-9]。纳米技术的引入为中药现代化提供了新的契机。中药纳米制剂通过设计药物的粒径大小、电荷及密度, 可以使其被动靶向肾脏, 减少脱靶的不良反应, 并提高 CKD 患者的耐受性^[10]。研究表明, 具有肾脏靶向的纳米颗粒一般需要满足尺寸 <5.5 nm、携带正电荷及高颗粒密度等特征, 从而通过肾小球滤过屏障; 不完全满足上述条件的纳米颗粒还可通过转运蛋白介导的肾小管分泌途径或偶联具有靶向功能的配体靶向肾脏^[11]。鉴于此, 将牛蒡根、茯苓、黄芪、山药、香菜科学配伍, 借助中药纳米制剂技术, 构建一种新型中药纳米制剂 (牛蒡根茯苓方纳米制剂)。本研究旨在基于斑马鱼构建马

兜铃酸诱导的肾损伤模型, 评价牛蒡根茯苓方纳米制剂肾损伤的改善作用, 为其开发与应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

野生型 AB 品系斑马鱼购自杭州环特生物科技股份有限公司 (实验动物使用许可证号: SYXK (浙) 2022-0004), 饲养于 28 °C 的养鱼用水中 (反渗透水加入速溶海盐, 电导率 450~550 $\mu\text{S}/\text{cm}$, pH 6.5~8.5, 硬度 50~100 mg/L CaCO_3); 桴皇丹牛蒡根茯苓方纳米制剂 (简称: 牛蒡根茯苓方纳米制剂, 批号: 20241102, 北京煦堂生物科技有限公司); 甲基纤维素 (批号 C2004046)、地塞米松 (批号 C2110208)、马兜铃酸 (批号 K1308005) 均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 二甲基亚砜 (批号 BCCD8942, 瑞士 Sigma 公司); Dextran tetramethylrhodamine (批号 923446, 美国 molecular probes 公司); 肌酐 (Cr) 测定试剂盒 (批号 20241106, 南京建成生物工程研究所有限公司)。

解剖显微镜 (SZX7, 日本 OLYMPUS 公司); CCD 相机 (VertA1, 上海土森视觉科技有限公司); 电动聚焦连续变倍荧光显微镜 (AZ100, 日本 Nikon 公司); 显微注射仪 (IM300, 日本 Narishige 公司); 精密电子天平 (CP214, 美国 OHAUS 公司); 全自动样品快速研磨仪 (JXFSTPRP-24L, 上海净信实验设备科技部); 高速冷冻离心机 (Heraeus Fresco17, 德国 ThermoFisher 公司); 多功能酶标 (SPARK, 奥地利 TECAN 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 最大耐受浓度 (MTC) 测定

随机选取受精后 2 天 (2 dpf) 的野生型 AB 品系斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 30 尾。设置正常对照组、模型对照组及牛蒡根茯苓方纳米制剂不同浓度组 (125, 250, 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。除正常对照组外, 其余各组均水溶给予 90 nmol/L 马兜铃酸建立肾功能损伤模型。28 °C 处理 2 天后, 观察斑马鱼死亡情况及表型, 确定样品的 MTC。

1.2.2 肾保护功效评价 (肾小球滤过)

随机选取 2 dpf 斑马鱼于 6 孔板中, 每孔 30 尾。

分组如下: 正常对照组、模型对照组、阳性对照组(地塞米松, 9.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、牛蒡根茯苓方纳米制剂低、中、高剂量组(500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。除正常对照组外, 其余各组均水溶给予 90 nmol/L 马兜铃酸。28 $^{\circ}\text{C}$ 处理 1 天后, 每尾斑马鱼静脉注射 12.5 ng Dextran tetramethylrhodamine。继续处理 1 天后, 每组随机选取 10 尾斑马鱼, 于荧光显微镜下拍照, 使用 NIS-Elements D 3.20 软件分析全身荧光强度, 以此评价肾小球滤过功能。

1.2.3 肾保护功效评价(肌酐含量)

分组及造模方法同 1.2.2。28 $^{\circ}\text{C}$ 处理 2 天后, 收集各组斑马鱼样本, 按照肌酐测定试剂盒说明书操作, 检测各组肌酐含量。

1.3 数据处理

采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析, 实验数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 经正态性检验符合正态分布, 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。

2 结果

2.1 MTC

MTC 用于评估牛蒡根茯苓方对正常斑马鱼的

安全性, 为后续肾保护功效评价实验药物浓度设置提供了重要参考。表 1 结果显示, 牛蒡根茯苓方纳米制剂各浓度组(125~2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)斑马鱼均无死亡, 死亡率均为 0%。模型对照组出现肾性水肿表型, 样品各浓度组斑马鱼状态与模型对照组相似。确定其肾保护功效评价的 MTC 为 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.2 肾小球滤过功能评价

如图 1 和表 2 所示, 与正常对照组相比, 模型对照组斑马鱼全身荧光强度极显著升高($P<0.001$), 表明肾小球滤过功能受损。阳性药地塞米松及牛蒡根茯苓方纳米制剂各剂量组均能显著降低全身荧光强度(与模型组比较, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组 $P<0.05$, 1000、2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 组 $P<0.001$), 且高剂量组效果与地塞米松相近, 表明该纳米制剂能有效促进肾小球滤过, 改善肾功能。

2.3 肾排泄功能评价

如表 3 所示, 与正常对照组相比, 模型对照组斑马鱼肌酐含量极显著升高($P<0.001$)。牛蒡根茯苓方纳米制剂各剂量组均能极显著降低斑马鱼肌酐含量(与模型组比较, $P<0.001$), 并呈现剂量依赖性, 进一步证实了其肾保护作用。

表 1 样品肾保护功效浓度摸索实验结果 (n=30)

组别	浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	死亡数 (尾)	死亡率 (%)	表型
正常对照组	—	0	0	未见明显异常
模型对照组	—	0	0	肾性水肿
牛蒡根茯苓方纳米制剂	125	0	0	与模型对照组状态相似
	250	0	0	与模型对照组状态相似
	500	0	0	与模型对照组状态相似
	1000	0	0	与模型对照组状态相似
	2000	0	0	与模型对照组状态相似

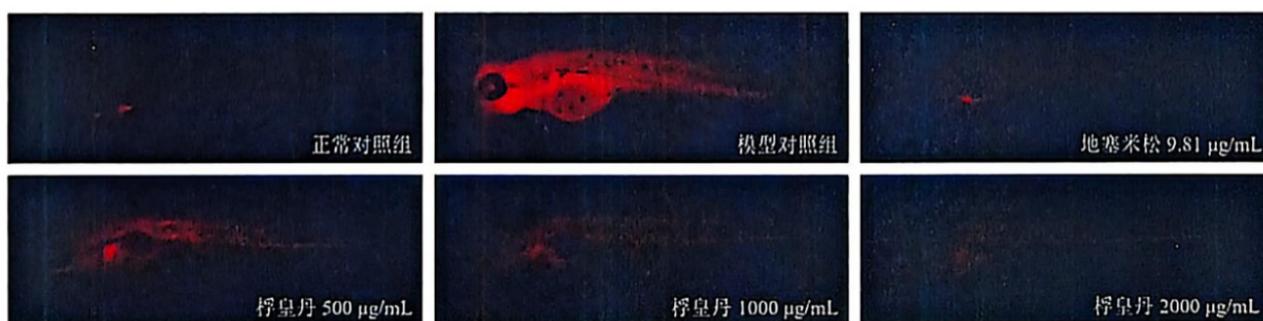


图 1 样品处理后斑马鱼全身荧光强度典型图

表 2 样品肾保护功效评价(肾小球滤过)实验结果($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	全身荧光强度
正常对照组	—	2863556 \pm 152025***
模型对照组	—	5583641 \pm 279309
阳性药对照组	9.81	2981524 \pm 154333***
牛蒡根茯苓方纳米制剂	500	3641259 \pm 131199*
	1000	3245475 \pm 80364***
	2000	3196122 \pm 147422***

注: 与模型对照组比较, * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

表 3 样品肾保护功效评价(肌酐含量)实验结果($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	浓度 ($\mu\text{g/mL}$)	肌酐含量 ($\mu\text{mol/gprot}$)
正常对照组	—	1.69 \pm 0.152***
模型对照组	—	3.37 \pm 0.034
阳性药对照组	9.81	1.90 \pm 0.047***
牛蒡根茯苓方纳米制剂	500	2.49 \pm 0.122***
	1000	2.34 \pm 0.063***
	2000	2.09 \pm 0.028***

注: 与模型对照组比较, *** $p < 0.001$

3 讨论

马兜铃酸可诱导肾小管上皮细胞损伤、凋亡, 进而导致肾功能障碍, 引发马兜铃酸肾病, 严重时可为肾衰竭^[12]。Dextran Tetramethylrhodamine 是一种荧光标记的葡聚糖探针, 无法穿透细胞膜, 能够被肾脏快速滤过, 通过测定其在生物体内荧光强度评估肾小球滤过功能。肌酐是肌肉代谢产生的废物, 是评估肾脏排泄功能的关键性生物标志物。本研究以马兜铃酸诱导的斑马鱼肾损伤为模型, 评价牛蒡根茯苓方纳米制剂的肾保护功效。结果显示, 与正常对照组相比, 模型对照组斑马鱼全身荧光强度大幅升高、肌酐含量显著提高, 说明斑马鱼肾损伤模型成功构建。而经牛蒡根茯苓方纳米制剂治疗的实验组斑马鱼荧光强度和肌酐含量均显著降低, 且呈现出剂量依赖性, 该结果有力地证明了纳米制剂能够有效促进肾小球滤过, 改善肾脏的排泄功能, 从而对肾脏起到了良好的保护作用。

牛蒡根茯苓方纳米制剂的科学配伍为其发挥改善肾损伤功效提供了物质基础。该制剂由牛蒡根、茯苓、黄芪、山药、香菜组成, 具有健脾补肾、利湿泄浊、活血化瘀功能, 适用于因脾肾亏虚、湿浊瘀阻所致的肾损伤, 症见腰膝酸软、神疲乏力、水肿、小便不利、面色萎黄等^[13]。现代药理研究表明, 牛蒡

根的主要活性成分牛蒡苷能增强肾组织抗氧化酶活性, 抑制炎症因子释放, 黄酮类化合物可调节肾脏细胞代谢、改善微循环^[14]。茯苓的有效成分包括多糖、三萜类化合物、脂肪酸、固醇等, 具有显著的抗肿瘤、免疫调节、抗炎、抗氧化、抗衰老、抗肝炎、抗肾病等作用^[15]。其中, 茯苓酸和茯苓素已被证实可以有效治疗肾纤维化, 延缓肾脏疾病的进展^[16]。黄芪多糖、黄芪皂苷、黄芪甲苷等有效成分可调节免疫、抗氧化、改善肾脏血流动力学发挥抗肾损伤作用, 涉及调控 TGF- β /Smad、HMGB1/NF- κ B 等信号通路^[17-19]。山药味甘性平, 归脾、肺、肾经, 益气养阴, 补脾肺肾、涩精止带, 富含的黏蛋白有助于保护组织、促进消化吸收、调节免疫的功效。此外, 香菜性温味辛, 归肺、胃经, 发表透疹、健胃, 增强脾胃运化, 调节气机, 辅助多味药协同发挥作用。

牛蒡根茯苓方纳米制剂通过多途径、多靶点、多机制的协同作用来治疗肾损伤。一方面, 其可以调节肾脏代谢和排泄功能相关的信号通路, 通过调节肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS), 降低肾小球内压力, 改善肾小球的滤过功能, 促进肌酐等代谢废物的排出^[14,20]。另一方面, 制剂中的活性成分通过抗氧化和抗炎作用, 减轻肾组织的损伤。牛蒡根和茯苓中的抗氧化成分可清除体内 ROS, 减少氧

化应激对肾脏细胞的损伤; 抗炎成分则可抑制炎症细胞的浸润和炎症因子的释放, 减轻肾脏的炎症反应, 为肾脏修复提供有利环境。

纳米技术的应用是牛蒡根茯苓方提升肾保护功效的关键。传统中药提取物分子量大、溶解性差, 难以高效到达靶部位。牛蒡根茯苓方纳米制剂利用纳米载体技术, 通过将活性成分纳米化来增加其表面积, 提高药物与生物膜的接触, 从而提高了药物的生物利用^[21]。此外, 纳米化的药物由于其微小的粒径, 更容易穿透组织屏障, 从而提高药物在肾脏的蓄积量, 为进一步放大该制剂功效奠定基础^[10]。

4 结论

本研究通过构建斑马鱼肾损伤模型, 评价了牛蒡根茯苓方纳米制剂的肾保护作用。结果表明, 该纳米制剂在高达 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度下对斑马鱼无毒性, 安全性良好; 对肾损伤具有显著的治疗作用, 能够促进肾小球滤过, 降低肌酐含量, 改善肾脏功能。其疗效源于牛蒡根、茯苓、黄芪、山药、香菜等药味通过抗氧化、抗炎、调节免疫等多靶点协同作用, 并结合纳米技术提升活性成分的生物利用度和肾脏靶向性。综上所述, 牛蒡根茯苓方纳米制剂对马兜铃所致肾损伤具有明确的改善作用, 展现出良好的开发应用前景。

参考文献

- [1] Chen TK, Knicely DH, Grams ME. Chronic kidney disease diagnosis and management: A review [J]. *JAMA*, 2019, 322(13): 1294-1304.
- [2] Wang F, Yang C, Long J, et al. Executive summary for the 2015 annual data report of the china kidney disease network (ck-net) [J]. *Kidney Int*, 2019, 95(3): 501-505.
- [3] Diseases GBD, Injuries C. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: A systematic analysis for the global burden of disease study 2019 [J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
- [4] Lv JC, Zhang LX. Prevalence and disease burden of chronic kidney disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1165: 3-15.
- [5] 姬满山, 周竹. 慢性肾脏病的中西医治疗进展 [J]. *云南医药*, 2025, 46(05): 86-89.
- [6] 黄露艳. 肾损伤的中医认识与治疗 [J]. *四川中医*, 2020, 38(04): 44-47.
- [7] Teja PK, Mithiya J, Kate AS, et al. Herbal nanomedicines: Recent advancements, challenges, opportunities and regulatory overview [J]. *Phytomedicine*, 2022, 96: 153890.
- [8] Liu M, Chen X, Chen H, et al. Nanotechnology-based drug delivery system for anticancer active ingredients from traditional chinese medicines: A review [J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(8): 2011-2032.
- [9] Zhang YB, Wang JF, Wang MX, et al. Nano-based drug delivery systems for active ingredients from traditional chinese medicine: Harnessing the power of nanotechnology [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1405252.
- [10] 何语涵, 李育霏, 苏白海. 纳米药物治疗慢性肾脏病的研究进展 [J]. *临床肾脏病杂志*, 2025, 25(06): 516-520.
- [11] Huang Y, Ning X, Ahrari S, et al. Physiological principles underlying the kidney targeting of renal nanomedicines [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2024, 20(6): 354-370.
- [12] Cosyns JP. Aristolochic acid and 'chinese herbs nephropathy': A review of the evidence to date [J]. *Drug Saf*, 2003, 26(1): 33-48.
- [13] 孙梦豫, 邓清月, 孙澜彬, 等. 数据挖掘《中国药典》2020 年版肾病相关中药成方制剂的核心药对及其作用靶点预测 [J]. *中草药*, 2025, 56(01): 191-202.
- [14] Yosri N, Alsharif SM, Xiao J, et al. Arctium lappa (burdock): Insights from ethnopharmacology potential, chemical constituents, clinical studies, pharmacological utility and nanomedicine [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 158: 114104.
- [15] Nie A, Chao Y, Zhang X, et al. Phytochemistry and pharmacological activities of wolfiporia cocos (f.A. Wolf ryvardeen & gilb [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 505249.
- [16] Feng YL, Cao G, Chen DQ, et al. Microbiome-metabolomics reveals gut microbiota associated with glycine-conjugated metabolites and polyamine metabolism in chronic kidney disease [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(24): 4961-4978.
- [17] Zhang J, Wu C, Gao L, et al. Astragaloside iv derived from astragalus membranaceus: A research review on the pharmacological effects [J]. *Adv Pharmacol*, 2020, 87: 89-

112.

[18] 吕冬菊, 黄东明, 段伟静. 黄芪甲苷调控 hmgbl/nf- κ b 通路对脓毒症大鼠巨噬细胞极化和急性肾损伤的机制研究 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2025, 28(01): 1-7.

[19] 孙健, 樊卫平, 郎捷. 黄芪总皂苷对免疫球蛋白 a 肾病大鼠肾损伤的保护作用及其对 $\text{tgf-}\beta$ /smad 信号通路的影响研究 [J]. 中华中医药学刊: 1-13.

[20] Rios JL. Chemical constituents and pharmacological properties of poria cocos [J]. Planta Med, 2011, 77(7): 681-

691.

[21] Suryantoro SD, Iwanoski G, Sutanto H, et al. Resveratrol in renal health: Bridging therapeutic gaps from acute kidney injury to chronic disease prevention [J]. J Physiol, 2024, 602(10): 2165-2167.

版权声明: ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS