

黄连-苦参不同配比中特征性成分的量-质变化相关性研究

罗浩睿¹, 庄雪菲¹, 李曦东¹, 李惠芬¹, 李婷婷¹, 潘林梅^{1,2*}, 范旻旻^{3,4}, 程海波^{3,4*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省经典名方工程研究中心, 江苏 南京 210023

3. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210023

4. 江苏省中医药防治肿瘤协同创新中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 分析不同配比“黄连-苦参”药对的特征性成分量-质变化相关性, 为该药对的量-效相关性及临床应用提供合理的用量比例参考。方法 采用 HPLC 法, 建立不同配比 9 批“黄连-苦参”药对 (5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5), 建立药对 HPLC 特征指纹图谱及其特征性成分含量测定方法, 分析 9 组样品成分的差异性与相关性。结果 9 种配比的黄连-苦参药对共确定 16 个共有峰, 指认苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱共 10 个共有峰。含量测定结果显示, 黄连-苦参配对后相比黄连药材及苦参药材, 特征性成分均有显著性差异。黄连-苦参 (5:1) 时苦参碱、槐定碱、木兰花碱含量为各比例最高, 相比单药材提取具有显著性差异; 黄连-苦参 (4:1) 时, 非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱含量为各比例最高, 相比单药材提取具有显著性差异, 且黄连总生物碱溶出最高; 黄连-苦参 (1:1) 时苦参总生物碱含量最高, 且药根碱含量为各比例最高; 黄连-苦参 (1:3) 时氧化苦参碱含量为各比例最高。结论 黄连-苦参不同配比时, 以特征性成分个数与含量为标示的“质”与配伍用“量”之间的相关差异性较明显, 显示出一定的成分相互促溶作用。苦参中 3 种成分的溶出量随黄连比例的降低呈现“U”型分布, 而黄连中 7 种成分溶出量随黄连比例的降低整体呈现降低趋势。与黄连、苦参各药材单提相比, 各比例下苦参中总生物碱类成分的溶出均有不同程度的提升, 黄连中总生物碱类成分在黄连-苦参 (5:1) 及 (4:1) 比例下溶出表现为提升, 其他比例表现为降低。药对中生物碱类成分的溶出规律与临床验方中药对的使用配比成正相关。为进一步开展该药对的量-效关联性分析确定了物质基础, 也为临床潜方时确定适宜用量提供参考。

关键词: 黄连-苦参; 药对配比; 量-质关系; 指纹图谱; 物质基础; 苦参碱; 槐定碱; 氧化苦参碱; 木兰花碱; 非洲防己碱; 表小檗碱; 药根碱; 黄连碱; 巴马汀; 小檗碱

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)12-3977-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.12.006

Correlation between quantity-quality changes of characteristic components in different ratios of *Coptidis Rhizoma-Sophrae Flavescentis Radix*

LUO Haorui¹, ZHUANG Xuefei¹, LI Xidong¹, LI Huifen¹, LI Tingting¹, PAN Linmei^{1, 2}, FAN Minmin^{3, 4}, CHENG Haibo^{3, 4}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Province Classic Famous Prescriptions Engineering Research Center, Nanjing 210023, China

3. First Clinical School of Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

4. Jiangsu Province Traditional Chinese Medicine for Cancer Prevention and Treatment Collaborative Innovation Center, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective Based on the classic prescriptions and the commonly used Huanglian (*Coptidis Rhizoma*, CR)-Kushen (*Sophrae Flavescentis Radix*, SFR) herb pair in the clinical prescriptions of masters of traditional Chinese medicine (TCM), the

收稿日期: 2023-10-12

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1700602)

作者简介: 罗浩睿, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂与产品开发。Tel: 18994091175 E-mail: lhr18994091175@163.com

*通信作者: 潘林梅, 女, 教授, 主要从事中药制剂新方法研究。E-mail: linmeipan@njucm.edu.cn

程海波, 男, 教授, 主要从事中医药防治肿瘤的研究。E-mail: hbcheng@njucm.edu.cn

quantity-quality change correlation of the characteristic components of the herb pair with different ratios was analyzed, and the quantity-effect correlation of the herb pair was analyzed. and clinical application to provide a reasonable dosage ratio reference. **Methods** HPLC method was used to establish nine batches of CR-SFR herb pairs with different ratios (5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5), establish the HPLC characteristic fingerprint of the herb pair and the content determination method of its characteristic components, and analyze the differences and correlations of the components of the nine groups of samples. **Results** A total of 16 common peaks were determined in the CR-SFR herb pair of nine ratios, and ten common peaks were identified for matrine, sophoridine, oxymatrine, magnoflorine, columbamine, epiberberine, jatrorrhizine, coptisine, palmatine and berberine. The content measurement results showed that after the pairing of CR and SFR, there were significant differences in the characteristic components compared with CR and SFR. CR-SFR (5:1) has the highest content of matrine, sophoridine and magnolinine in each ratio, and there is a significant difference compared with the extraction of single medicinal materials; CR-SFR (4:1). At that time, the contents of African fanghepine, epiberberine, coptisine, palmatine, and berberine were the highest in each ratio. Compared with the extraction of single medicinal materials, there was a significant difference, and the total alkaloids of CR had the highest dissolution; CR-SFR (1:1), the total alkaloid content of SFR is the highest, and the content of jatrorrhizine is the highest among all ratios; the CR-SFR (1:3) condition is the highest oxymatrine content among all ratios. **Conclusion** When CR-SFR is mixed in different proportions, the correlation between the quality indicated by the number and content of characteristic ingredients and the quantity used for compatibility is more obvious, showing a certain mutual solubility-promoting effect of the ingredients. The dissolution amounts of the three components in SFR showed a “U”-shaped distribution as the proportion of CR decreased, while the dissolution amounts of the seven components in CR showed an overall decreasing trend as the proportion of CR decreased. Compared with CR and SFR alone, the dissolution of total alkaloids in SFR was improved to varying degrees at each ratio. The total alkaloids in CR were in CR-SFR (5:1) and (4:1) ratio showed an increase in dissolution, while other ratios showed a decrease. The dissolution pattern of alkaloid components in the drug pair is positively correlated with the ratio of the herb pair used in clinical prescriptions. This study determines the material basis for further carrying out the “dose-effect” correlation analysis of this drug pair, and also provides a reference for determining the appropriate dosage when preparing clinical prescriptions.

Key words: *Coptidis Rhizoma-Sophrae Flavescentis Radix*; drug pairing ratio; quantity-quality relationship; fingerprint; material basis; matrine; sophoridine; oxymatrine; magnoflorine; columbamine; epiberberine; jatrorrhizine; coptisine; palmatine; berberine

黄连味苦性寒，具有清热燥湿、泻火解毒的功效。《中国药典》2020年版规定黄连为毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *C. teeta* Wall. 的干燥根茎。以上3种分别习称“味连”“雅连”“云连”，经课题组前期调研以味连产量最多，主产于我国重庆、湖北、四川等地^[1]。现代研究表明，黄连含有多种活性成分，可发挥多种药理作用^[2]，包括抗炎、抗病毒、抗菌、抗癌、镇痛、抗抑郁、降血糖等作用，临床应用极广^[3]。苦参性寒、味苦，为豆科苦参属植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根，主产于我国内蒙古、河南、山东、安徽等地^[1]，具有抗菌、抗肿瘤、镇痛、抗炎、防治心力衰竭、心律失常及心肌缺血等多种功效^[4-5]。

现代研究表明，生物碱类化合物是黄连及苦参的主要活性成分。苦参碱、氧化苦参碱可发挥抗炎、镇痛效果^[6-7]，其机制可能与降低促炎因子，升高抗炎因子有关；氧化苦参碱、苦参碱也可发挥抗肿瘤作用，其机制可能与抑制癌症基因表达，促进肿瘤细胞凋亡，抑制肿瘤细胞生长有关^[8]；而苦参碱、氧

化苦参碱、槐定碱也可对多种菌株具有一定的抑菌作用^[9]。木兰花碱可通过活性氧（reactive oxygen species, ROS）/鼠类肉瘤病毒癌基因（Kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS）/单磷酸腺苷活化蛋白激酶（adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK）通路抑制结直肠癌 SW480 细胞的增殖和有氧糖酵解，从而发挥对结直肠癌的治疗效果^[10]；药根碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱、小檗碱可联合发挥降糖作用^[11]，其效果可能与调控丝氨酸-苏氨酸激酶 1（serine/threonine kinase 1, LKB1）/AMPK/CREB 分子调节转录共激活剂 2（CREB-regulated transcription coactivator 2, TORC2）信号通路抑制肝脏糖异生等有关^[12]；小檗碱具有抗炎作用，可保护螺旋神经节细胞免受巨细胞病毒诱导的凋亡作用，其机制与通过途径抑制线粒体活性氧的产生有关^[13]。

除此之外，小檗碱、表小檗碱、巴马汀等生物碱类成分也可联合发挥抗心律失常作用^[14]。基于此，选择苦参中苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱及黄连中木兰花碱、非洲防己碱、药根碱、表小檗碱、

黄连碱、巴马汀、小檗碱来作为黄连-苦参药对的代表性药效成分,用于研究该类成分溶出量与药对配比的关系。药对作为中药配伍的最小单元,是复方研究的重要组成部分之一^[15]。用于不同疾病的治疗时,不同量的配比会有不同效果的相关呈现,因此,首先需要对黄连-苦参药对配比的不同物质基础,即量-质^[16]相关性进行剖析比较,为进行量-效^[17]相关性提供依据,为临床合理配比提供参考^[18]。

1 仪器与试药

1.1 主要仪器

Waters e2695型高效液相色谱系统, Waters 2998型二极管阵列检测器(PDA),美国 Waters 公司; BBA224S-CW型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; TGL-16C型离心机,上海安亭科学仪器厂; EPED-E2-20TS型超纯水一体机系统,南京易普易达科技发展有限公司; GM-0.5B型真空泵,天津市津腾实验设备有限公司; KH-500V型超声器,昆山禾创超声仪器有限公司。

1.2 药品及试剂

1.2.1 药材与饮片 本研究所选择黄连(产地重庆石柱黄水,批号 20230411)及苦参(产地内蒙古赤峰市,批号 2020121604)药材,均经南京中医药大学药学院刘圣金教授鉴定,分别为毛茛科黄连属植物黄连 *C. chinensis* Franch.的干燥根茎和豆科苦参属植物苦参 *S. flavescens* Ait.的干燥根。

1.2.2 对照品 表小檗碱(批号 J24HB186173)、盐酸小檗碱(批号 S01A10K94340)、盐酸黄连碱(批号 T21S11C125202)、药根碱(批号 D18GB171805)、盐酸巴马汀(批号 Z16J10X79792)、非洲防己碱(批号 W14J8Z37548)、木兰花碱(批号 R21M9F61834)、苦参碱(批号 M14GB141405)、氧化苦参碱(批号 G14N11KL130769)、槐定碱(批号 F18F7S9784), HPLC 质量分数均 $\geq 98\%$,均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2.3 试剂 乙腈、甲醇,色谱纯,安徽天地高纯溶剂有限公司;磷酸、盐酸、无水乙醇,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;纯净水,屈臣氏集团(香港)有限公司;磷酸二氢钾,分析纯,南京化学试剂股份有限公司。

2 方法与结果

2.1 不同配比黄连-苦参药对指纹图谱的建立

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Venusil XBP C₁₈ (2) (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 柱温 30 $^{\circ}$ C; 体积流量

0.8 mL/min; 流动相为乙腈-3 g/L 磷酸二氢钾溶液(加入 200 μ L 磷酸调节 pH 值), 梯度洗脱: 0~10 min, 10%乙腈; 10~25 min, 10%~24%乙腈; 25~35 min, 24%乙腈; 35~60 min, 24%~35%乙腈; 60~62 min, 35%~60%乙腈; 62~65 min, 60%~10%乙腈; 65~70 min, 10%乙腈; 分析时间 70 min, 进样量 10 μ L; 检测波长 220 nm。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 取非洲防己碱、药根碱、表小檗碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、木兰花碱、苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱对照品各适量,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得各对照品储备液。分别取适量上述 11 种对照品储备液,置于同一 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释并定容,制得上述成分质量浓度分别为 0.20、0.16、0.24、0.25、0.25、0.44、0.26、0.21、0.80、0.36 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 制备黄连药材粉末(过二号筛)及苦参药材粉末(过三号筛),将上述黄连及苦参依照 5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5 共 9 个质量比例,进行称取后分别充分混合,并称取单一黄连药材粉末及单一苦参药材粉末作为对照药材,各比例药对总质量及单一药材质量均为 12 g。每个比例平行称取各药对 3 份,将药对以 10 倍量水浸泡 0.5 h 后,煎煮 1.5 h,取 1 次滤液;将滤渣加入 8 倍量水煎煮 1.5 h,取 2 次滤液。将 2 次滤液混合后抽滤,12 000 r/min 离心(离心半径 10.4 cm) 10 min,取上清液,取 1 mL 上清液加入 4 mL 甲醇,以 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.1.4 精密度试验 依照黄连与苦参比例 1:3,精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定 6 次,考察特征峰的保留时间和峰面积一致性。以盐酸小檗碱的保留时间和峰面积为参照分别计算相对保留时间及相对峰面积。计算得各共有峰相对保留时间的 RSD $<0.20\%$,相对峰面积的 RSD $<2.13\%$,结果表明仪器精密度良好。

2.1.5 稳定性试验 依照黄连与苦参比例 1:3,精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件每隔 4 h 进样 1 次,共测定 24 h,考察特征峰保留时间和峰面积的一致性。以盐酸小檗碱的保留时间和峰面积为参照分别计算相对保留时间

及相对峰面积。计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.21%、相对峰面积的 RSD<2.46%，结果表明该供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定性良好。

2.1.6 重复性试验 依照黄连与苦参比例 1:3，精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g，平行制 6 份，按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，分别按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，考察特征峰保留时间和峰面积的一致性。以盐酸小檗碱的保留时间和峰面积为参照分别计算相对保留时间及相对峰面积。计算得各共有峰相对保留时间的 RSD<0.18%、相对峰面积的 RSD<1.57%，表明该方法重复性较好。

2.1.7 黄连-苦参药对指纹图谱的建立及相似度评价分析 将黄连及苦参药材依照“2.1.3”项下方法制备成供试品溶液(S1~S9 依次为黄连-苦参比例为 5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:

4、1:5)，再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录色谱图。将图谱输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》，设置编号 S7 的样品(黄连-苦参为 1:3)图谱为参照，采取中位数法^[19]，将时间窗宽度设置为 0.1 s，进行多点校正，建立黄连-苦参药对的 HPLC 指纹图谱和对照指纹图谱(R，图 1)，指认 9 批黄连-苦参药对的 16 个共有峰。采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》对 9 批黄连-苦参药对进行相似度评价^[20]。结果显示，9 批黄连-苦参药对和 R 之间的相似度均大于 0.95，这表明各批次黄连-苦参药对的相似性较好，整体质量稳定，可以用于考察黄连-苦参药对水煎液。以分离度较好、峰面积较大的小檗碱(峰 16)为参照峰(S)，得到 9 批黄连-苦参药对 16 个共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.175%~0.894%，提示各批次黄连-苦参药对共有峰的保留时间稳定，结果见表 1。

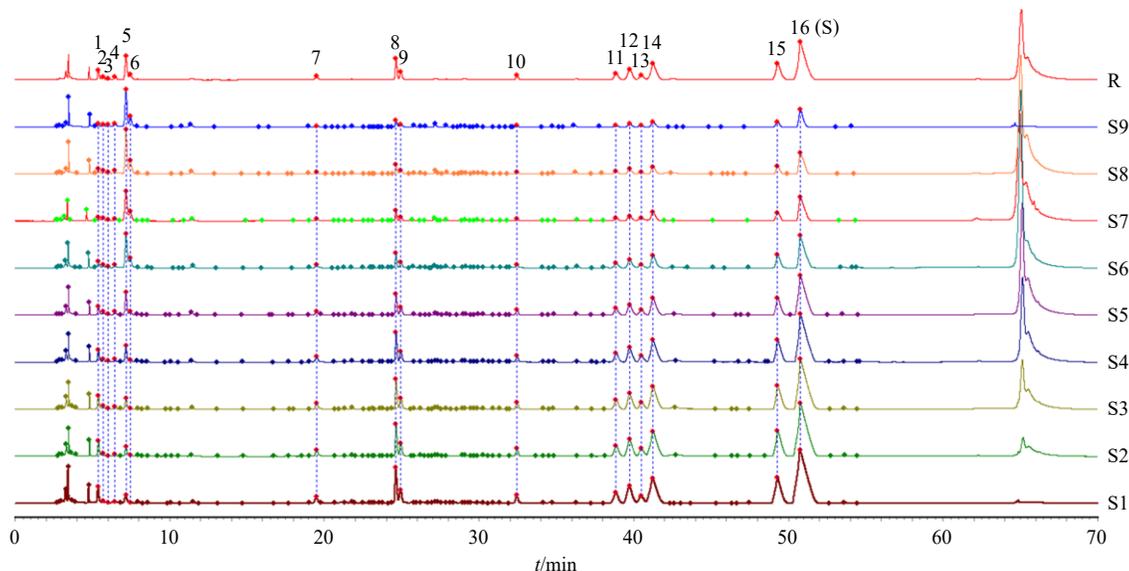


图 1 9 批次黄连-苦参药对 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 HPLC fingerprints of nine batches of *Coptidis Rhizoma* (CR)-*Sophrae Flavescens Radix* (SFR) and control fingerprints (R)

2.1.8 黄连-苦参药对指纹图谱色谱峰归属认定 通过比对单味药的色谱峰^[21]，不同比例配伍黄连-苦参药对 HPLC 指纹图谱 16 个共有峰中峰 2~6 号共 5 个峰均来源于单味药苦参，峰 1、7~16 号共 11 个峰来源于单味药黄连(图 1)。通过对比混合对照品溶液色谱图(图 2)及黄连、苦参及样品 HPLC 叠加图(图 2)对各样品指纹图谱的各峰进行定性认证^[22]，得到 2、3、6 号峰分别为苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱，属于单味药苦参；8、11~16 号峰分别为木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄

连碱、巴马汀、小檗碱，属于单味药黄连。

2.1.9 黄连-苦参药对各共有峰相对峰面积差异分析 将各比例药对中黄连-苦参药对生药量以黄连、苦参单煎样品的生药量为标准，换算成一致的量，并以黄连及苦参单煎样品峰面积作为参比，比较不同配比黄连-苦参药对的共有峰相对峰面积，结果见表 2。可知在不同程度配比下，各共有峰相对峰面积均有不同程度的变化，绝大部分表现出显著性差异。除属黄连药材的 10、13 号峰各相对峰面积相比药材单提均有所下降外，其余峰均表现为升高，表明

表 1 9批黄连-苦参药对相对保留时间

Table 1 Relative retention time of nine batches of CR-SFR drug pair

黄连- 苦参	相对保留时间															
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14	峰 15	峰 16 (S)
5 : 1	0.106	0.113	0.119	0.128	0.141	0.147	0.383	0.484	0.490	0.638	0.763	0.779	0.795	0.809	0.968	1.000
4 : 1	0.105	0.112	0.118	0.127	0.140	0.146	0.384	0.486	0.492	0.640	0.765	0.781	0.797	0.810	0.969	1.000
3 : 1	0.106	0.113	0.119	0.127	0.141	0.146	0.384	0.485	0.491	0.640	0.766	0.782	0.798	0.812	0.971	1.000
2 : 1	0.106	0.113	0.119	0.127	0.141	0.147	0.383	0.485	0.491	0.639	0.765	0.782	0.797	0.811	0.970	1.000
1 : 1	0.106	0.112	0.118	0.127	0.141	0.147	0.382	0.484	0.490	0.638	0.764	0.781	0.796	0.811	0.972	1.000
1 : 2	0.107	0.113	0.119	0.128	0.143	0.147	0.385	0.485	0.492	0.639	0.764	0.782	0.796	0.812	0.970	1.000
1 : 3	0.107	0.115	0.121	0.129	0.144	0.150	0.388	0.488	0.495	0.641	0.768	0.786	0.800	0.816	0.974	1.000
1 : 4	0.106	0.111	0.118	0.127	0.141	0.146	0.382	0.485	0.491	0.638	0.764	0.782	0.796	0.813	0.972	1.000
1 : 5	0.105	0.112	0.118	0.127	0.140	0.146	0.384	0.486	0.492	0.641	0.770	0.788	0.802	0.819	0.977	1.000
均值	0.106	0.113	0.119	0.127	0.141	0.147	0.384	0.485	0.491	0.639	0.765	0.783	0.797	0.812	0.971	1.000
RSD/%	0.570	0.765	0.733	0.666	0.894	0.854	0.432	0.212	0.271	0.175	0.260	0.314	0.258	0.380	0.287	0.000

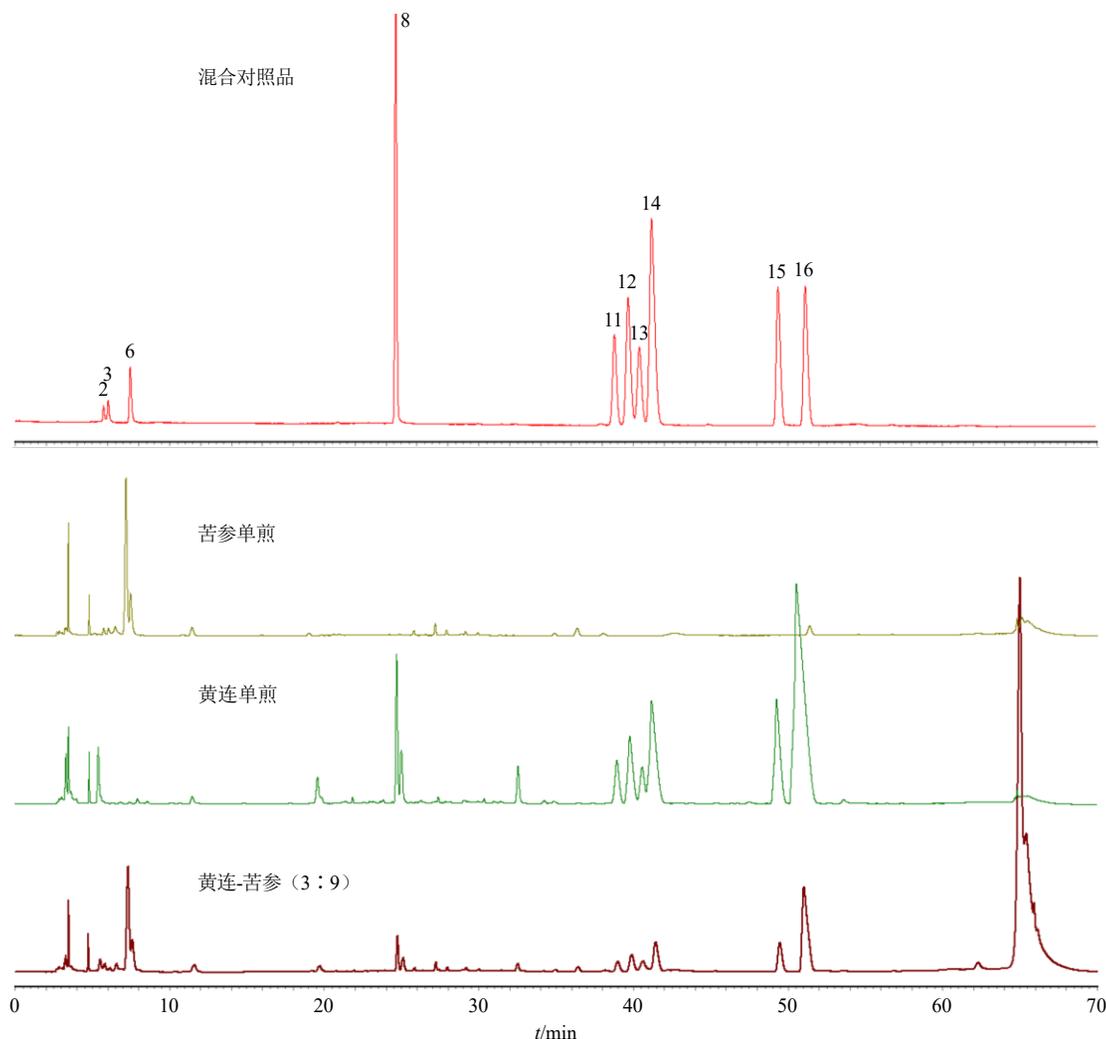


图 2 混合对照品 HPLC 图谱和苦参单煎、黄连单煎及黄连-苦参 (1 : 3) 样品 HPLC 叠加图

Fig. 2 HPLC profile of mixed reference substances and HPLC overlay of SFR single decoction, CR single decoction and CR-SFR (1:3) sample

表 2 9 批黄连-苦参药对共有峰及黄连、苦参单药材相对峰面积 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Common peak of 9 batches of CR-SFR and relative peak area of single CR and SFR were observed ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

黄连-		相对峰面积							
苦参	1 号峰	2 号峰	3 号峰	4 号峰	5 号峰	6 号峰	7 号峰	8 号峰	
1 : 0	1.000	—	—	—	—	—	1.000	1.000	
5 : 1	1.236 ± 0.017*	8.952 ± 0.141#	2.172 ± 0.015#	3.795 ± 0.010#	1.444 ± 0.131#	0.401 ± 0.008#	0.971 ± 0.004*	1.020 ± 0.013*	
4 : 1	1.197 ± 0.010*	7.567 ± 0.050#	1.931 ± 0.013#	3.219 ± 0.007#	1.388 ± 0.061#	0.443 ± 0.007#	0.980 ± 0.005*	0.996 ± 0.008	
3 : 1	1.016 ± 0.014	6.597 ± 0.107#	1.619 ± 0.015#	2.301 ± 0.005#	1.137 ± 0.103	0.369 ± 0.007#	0.872 ± 0.009*	0.915 ± 0.007*	
2 : 1	1.426 ± 0.010*	5.163 ± 0.063#	1.543 ± 0.011#	2.888 ± 0.006#	1.651 ± 0.059#	0.573 ± 0.012#	1.229 ± 0.006*	0.953 ± 0.007*	
1 : 1	0.983 ± 0.011	5.445 ± 0.058#	2.003 ± 0.012#	1.672 ± 0.019#	1.173 ± 0.053#	1.035 ± 0.006#	0.922 ± 0.007*	0.978 ± 0.015	
1 : 2	1.085 ± 0.005*	3.066 ± 0.005#	1.326 ± 0.004#	1.692 ± 0.010#	1.297 ± 0.006#	1.297 ± 0.009#	0.927 ± 0.006*	0.958 ± 0.009*	
1 : 3	0.982 ± 0.007*	2.456 ± 0.043#	1.158 ± 0.002#	0.989 ± 0.013	1.331 ± 0.039#	1.402 ± 0.011#	1.063 ± 0.005*	0.958 ± 0.011*	
1 : 4	1.300 ± 0.010*	1.604 ± 0.006#	1.333 ± 0.014#	1.482 ± 0.008#	1.407 ± 0.008#	1.226 ± 0.009#	1.056 ± 0.008*	1.017 ± 0.009*	
1 : 5	1.008 ± 0.010	1.527 ± 0.006#	1.270 ± 0.010#	1.352 ± 0.008#	1.126 ± 0.004#	1.167 ± 0.010#	0.919 ± 0.005*	0.862 ± 0.010*	
0 : 1	—	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—	
黄连-		相对峰面积							
苦参	9 号峰	10 号峰	11 号峰	12 号峰	13 号峰	14 号峰	15 号峰	16 号峰	
1 : 0	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	
5 : 1	1.051 ± 0.006*	0.833 ± 0.013*	1.087 ± 0.017*	1.143 ± 0.006*	0.937 ± 0.007*	1.030 ± 0.008*	1.093 ± 0.009*	1.014 ± 0.005*	
4 : 1	1.095 ± 0.010*	0.716 ± 0.016*	1.125 ± 0.005*	1.186 ± 0.005*	0.968 ± 0.007*	1.077 ± 0.007*	1.113 ± 0.009*	1.037 ± 0.005*	
3 : 1	1.776 ± 0.008*	0.670 ± 0.009*	0.955 ± 0.006*	0.996 ± 0.007	0.824 ± 0.007*	0.906 ± 0.008*	0.960 ± 0.007*	0.911 ± 0.005*	
2 : 1	1.394 ± 0.016*	0.647 ± 0.014*	0.949 ± 0.008*	0.974 ± 0.006*	0.810 ± 0.006*	0.904 ± 0.008*	0.927 ± 0.005*	0.883 ± 0.006*	
1 : 1	1.054 ± 0.009*	0.544 ± 0.004*	0.984 ± 0.012	0.945 ± 0.006*	0.997 ± 0.021	0.912 ± 0.007*	0.952 ± 0.007*	0.931 ± 0.007*	
1 : 2	1.109 ± 0.005*	0.333 ± 0.009*	1.008 ± 0.016	0.993 ± 0.007*	0.842 ± 0.005*	0.867 ± 0.006*	0.956 ± 0.006*	0.862 ± 0.006*	
1 : 3	1.033 ± 0.004*	0.222 ± 0.007*	0.950 ± 0.016*	0.891 ± 0.005*	0.919 ± 0.012*	0.832 ± 0.006*	0.871 ± 0.008*	0.850 ± 0.009*	
1 : 4	1.220 ± 0.008*	0.188 ± 0.012*	1.056 ± 0.016*	1.020 ± 0.006*	0.825 ± 0.005*	0.841 ± 0.006*	0.935 ± 0.008*	0.844 ± 0.006*	
1 : 5	1.076 ± 0.010*	0.117 ± 0.005*	0.879 ± 0.016*	0.803 ± 0.005*	0.682 ± 0.011*	0.698 ± 0.005*	0.710 ± 0.005*	0.673 ± 0.007*	
0 : 1	—	—	—	—	—	—	—	—	

同黄连药材比较: * $P < 0.05$; 同苦参药材比较: # $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs CR; # $P < 0.05$ vs SFR.

配比后成分的溶出对苦参总体表现为促进作用, 而对黄连的不同成分表现为促进和抑制的不同作用。

1、5、7 号峰在黄连-苦参为 2 : 1 时相对峰面积最大; 2~4、8、10 号峰在黄连-苦参为 5 : 1 时相对峰面积最大; 11~16 号峰在黄连-苦参为 4 : 1 时相对峰面积最大; 6 号峰在黄连-苦参为 1 : 3 时相对峰面积最大; 9 号峰在黄连-苦参为 3 : 1 时相对峰面积最大, 提示在方剂中使用不同配比黄连-苦参药对治疗疾病, 可能与不同配比下药对中成分的溶出变化有关^[23]。

2.2 不同配比黄连-苦参药对中差异性成分含量测定

2.2.1 色谱条件 按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定。设定在波长为 205 nm 时, 对苦参碱、槐定

碱、氧化苦参碱进行测定; 在波长为 220 nm 时, 对木兰花碱进行测定; 345 nm 时, 对非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱进行测定。此时各指标性成分均为最大吸收波长。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 依照“2.1.2”项下方法制备混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 依照“2.1.3”项下方法制备 9 个比例的黄连-苦参药对供试品溶液, 每个比例制备 3 个供试品溶液作为平行对照。

2.2.4 线性关系考察及检测限、定量限 对照品母液的配制: 取苦参碱、槐定碱、氧化槐果碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱对照品各适量, 分别置于 10 mL 量

瓶中，加甲醇溶解并定容，制得上述成分质量浓度分别为 0.98、0.40、0.85、0.35、0.31、0.35、0.36、0.36、0.35、0.81 mg/mL 的对照品溶液。

取各对照品母液，逐级稀释 0、2、4、8、16、32、64 倍，按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定。

以各差异性成分的质量浓度为横坐标 (X)、峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程，结果见表 3，表明各成分线性关系良好。

依照信噪比，即 S/N 为 3 : 1 及 S/N 为 10 : 1 对各成分的检测限及定量限进行检测，结果见表 3。

表 3 线性关系考察及定量限、检测限检测结果

Table 3 Investigation of linear relationship and limit of quantitation and detection test results

成分	线性曲线	r^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
苦参碱	$Y=16\ 886\ 826.560\ 4\ X+10\ 004.577\ 1$	0.999 9	1.5~980.0	0.341	0.116
槐定碱	$Y=16\ 348\ 470.267\ 7\ X+4\ 056.049\ 5$	0.999 9	6.3~400.0	0.683	0.192
氧化苦参碱	$Y=10\ 641\ 413.082\ 1\ X-30\ 872.855\ 7$	0.999 8	13.0~850.0	0.536	0.153
木兰花碱	$Y=56\ 710\ 506.995\ 6\ X+20\ 302.396\ 6$	0.999 9	5.5~350.0	0.544	0.185
非洲防己碱	$Y=46\ 667\ 712.106\ 2\ X-70\ 859.293\ 1$	0.999 9	4.8~310.0	0.372	0.131
表小檗碱	$Y=20\ 765\ 321.994\ 1\ X-23\ 687.781\ 1$	0.999 9	5.5~350.0	0.675	0.201
药根碱	$Y=49\ 936\ 729.542\ 1\ X+15\ 238.833\ 3$	0.999 9	5.6~360.0	0.488	0.147
黄连碱	$Y=44\ 851\ 208.381\ 9\ X-74\ 294.448\ 3$	0.999 9	5.6~360.0	0.451	0.159
巴马汀	$Y=47\ 666\ 723.217\ 5\ X+50\ 583.945\ 3$	0.999 8	5.5~350.0	0.417	0.166
小檗碱	$Y=44\ 826\ 532.136\ 1\ X-104\ 334.551\ 7$	0.999 9	13.0~810.0	0.756	0.220

2.2.5 精密度试验 依照黄连与苦参比例 1 : 3，精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g，按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次，记录各差异性成分的峰面积。结果显示，苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 分别为 1.40%、2.13%、1.37%、2.11%、0.91%、0.69%、1.25%、1.19%、0.17%、0.14%，结果表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 依照黄连与苦参比例 1 : 3，精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g，按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，于室温放置 0、4、8、12、16、20、24 h，按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录各差异性成分的峰面积。结果显示，苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 分别为 1.57%、2.24%、2.22%、2.46%、0.22%、0.16%、0.65%、0.05%、0.14%、0.20%，表明各差异性成分在室温放置 24 h 内稳定性较好。

2.2.7 重复性试验 依照黄连与苦参比例 1 : 3，精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g，按照“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录各差异性成分的峰面积，并根据标准曲线计算含量。结果显示，

苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱质量分数的 RSD 分别为 1.16%、1.24%、1.33%、1.57%、1.05%、1.19%、1.42%、1.30%、1.21%、1.22%，表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 依照黄连与苦参比例 1 : 3，精密称取黄连药材粉末 3 g 及苦参药材粉末 9 g，平行称取 6 份，分别加入含有苦参碱 0.31 mg、槐定碱 0.20 mg、氧化苦参碱 1.52 mg、木兰花碱 0.07 mg、非洲防己碱 0.08 mg、表小檗碱 0.27 mg、药根碱 0.06 mg、黄连碱 0.22 mg、巴马汀 0.21 mg、小檗碱 0.79 mg 的对照品溶液 5 mL，按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析，记录各标志性成分的峰面积，并计算平均加样回收率。结果显示，苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的平均加样回收率分别为 100.2%、100.1%、100.3%、100.2%、101.2%、100.7%、99.8%、101.1%、100.60%、101.0%，RSD 分别为 0.67%、0.97%、0.89%、0.97%、0.56%、0.70%、0.57%、0.71%、0.99%、0.85%，表明该方法准确度良好。

2.2.9 不同配比黄连-苦参药对水煎液成分含量测定及比较 取 9 个不同比例的黄连-苦参药对药材粉末，精密称定，按照“2.1.3”项下方法制备供试

品溶液, 再按“2.1.1”项下色谱条件进样分析, 记录各差异性成分的峰面积, 并根据标准曲线计算苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱、木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的含量。将各比例药对中黄连-苦参药对生药量以黄连、苦参单煎样品的生药量为标准, 换算成一致的量, 计算各特征性成分的含量。通过 SPSS 27.0 软件, 对数据进行单因子方差分析和显著性检验^[24], 结果见表 4。

对含量测定结果进行系统分析。黄连-苦参比例为 4:1 时, 所得非洲防己碱、表小檗碱、巴马汀、小檗碱含量为各比例最高, 且黄连总生物碱含量最

高, 与单药材提取具有显著性差异 ($P < 0.05$); 黄连-苦参比例为 5:1 时, 所得苦参碱、槐定碱、木兰花碱含量为各比例最高, 与单药材提取具有显著性差异 ($P < 0.05$); 黄连-苦参比例为 1:3 时, 氧化苦参碱含量为各比例最高, 与单药材提取具有显著性差异 ($P < 0.05$); 黄连-苦参比例为 1:1 时, 苦参总生物碱含量为各比例最高。与黄连、苦参各药材单提相比, 各比例下苦参中总生物碱类成分的溶出均有不同程度的提升, 黄连中总生物碱类成分在黄连-苦参 5:1 及 4:1 比例下溶出表现为提升, 其他比例表现为降低。随着药对中黄连比例的降低, 黄连中整体生物碱类成分呈现下降趋势。对苦参中

表 4 9 批黄连-苦参药对及黄连、苦参单药材中 10 种特征性成分的含量测定结果 (以对应药材计, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Determination of ten different components in nine batches of CR and SFR (according to corresponding medicinal materials, $\bar{x} \pm s, n = 3$)

黄连- 苦参	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	苦参碱	槐定碱	氧化苦参碱	木兰花碱	非洲防己碱	表小檗碱
1:0	—	—	—	4.39±0.04	4.71±0.08	17.08±0.05
5:1	21.71±0.06 [#]	7.16±0.05 [#]	8.23±0.11 [#]	4.48±0.07 [*]	5.11±0.04 [*]	19.52±0.03 [*]
4:1	18.35±0.22 [#]	6.37±0.05 [#]	9.09±0.09 [#]	4.38±0.05	5.29±0.08 [*]	20.26±0.05 [*]
3:1	16.00±0.04 [#]	5.34±0.03 [#]	7.59±0.10 [#]	4.02±0.04 [*]	4.49±0.07 [*]	17.02±0.09
2:1	12.52±0.08 [#]	5.09±0.04 [#]	11.76±0.21 [#]	4.19±0.04 [*]	4.46±0.08 [*]	16.63±0.04 [*]
1:1	13.20±0.10 [#]	6.61±0.06 [#]	21.26±0.15 [#]	4.30±0.08	4.63±0.04	16.14±0.07 [*]
1:2	7.44±0.13 [#]	4.37±0.05 [#]	26.63±0.07 [#]	4.21±0.05 [*]	4.74±0.05	16.96±0.04 [*]
1:3	5.96±0.04 [#]	3.82±0.05 [#]	28.79±0.04 [#]	4.21±0.06 [*]	4.47±0.09 [*]	15.21±0.05 [*]
1:4	3.89±0.06 [#]	4.40±0.02 [#]	25.17±0.07 [#]	4.47±0.04 [*]	4.97±0.03 [*]	17.42±0.08 [*]
1:5	3.70±0.05 [#]	4.19±0.03 [#]	23.97±0.04 [#]	3.79±0.07 [*]	4.14±0.06 [*]	13.72±0.04 [*]
0:1	2.42±0.04	3.30±0.05	20.53±0.12	—	—	—
黄连- 苦参	质量分数/(mg·g ⁻¹)					
	药根碱	黄连碱	巴马汀	小檗碱	苦参总生物碱	黄连总生物碱
1:0	3.71±0.05	14.68±0.06	13.39±0.08	52.60±0.11	—	110.56±0.46
5:1	3.47±0.05 [*]	15.13±0.03 [*]	14.63±0.03 [*]	53.32±0.12 [*]	37.10±0.22 [#]	115.67±0.36 [*]
4:1	3.59±0.04 [*]	15.81±0.04 [*]	14.91±0.03 [*]	54.55±0.11 [*]	33.81±0.36 [#]	118.80±0.41 [*]
3:1	3.06±0.05 [*]	13.30±0.09 [*]	12.85±0.10 [*]	47.91±0.08 [*]	28.92±0.16 [#]	102.65±0.45 [*]
2:1	3.00±0.04 [*]	13.27±0.08 [*]	12.41±0.07 [*]	46.46±0.17 [*]	29.36±0.32 [#]	100.42±0.47 [*]
1:1	3.70±0.11	13.39±0.03 [*]	12.74±0.04 [*]	48.96±0.19 [*]	41.06±0.31 [#]	103.86±0.52 [*]
1:2	3.12±0.04 [*]	12.73±0.04 [*]	12.81±0.06 [*]	45.36±0.15 [*]	38.44±0.25 [#]	99.93±0.38 [*]
1:3	3.41±0.02 [*]	12.21±0.03 [*]	11.66±0.03 [*]	44.69±0.31 [*]	38.56±0.10 [#]	95.86±0.52 [*]
1:4	3.06±0.04 [*]	12.35±0.06 [*]	12.53±0.04 [*]	44.41±0.12 [*]	33.45±0.14 [#]	99.21±0.39 [*]
1:5	2.33±0.09 [*]	10.25±0.05 [*]	9.51±0.05 [*]	35.41±0.19 [*]	31.86±0.12 [#]	79.14±0.36 [*]
0:1	—	—	—	—	26.04±0.21	—

同黄连药材组比较: * $P < 0.05$; 同苦参药材组比较: [#] $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs CR; [#] $P < 0.05$ vs SFR.

差异性成分进行比较,随着药对中黄连比例的降低,苦参碱、槐定碱在药液中的溶出降低,而氧化苦参碱的溶出提升,3种成分呈现“U”型分布,提示3者之间的相互影响关系。

3 讨论

本研究考虑与临床应用一致,黄连-苦参药对选择水回流提取法,选择分离效果最佳的乙腈-磷酸二氢钾溶液体系,对黄连及黄连-苦参药对的色谱条件进行优化,并在190~440 nm进行全波长扫描,于220 nm下进行指纹图谱建立以求全面对待测样品的差异性成分进行测定。结果表明,本研究建立的黄连-苦参药对指纹图谱稳定有效,可全面的测定黄连-苦参药对中的标志性成分。

大量文献研究发现,黄连-苦参药对在方剂中多采用1:5至5:1区间配比,故选择典型的9个配比进行量-质传递对比性研究。生物碱类成分作为黄连-苦参药对的主要药效成分,研究生物碱类成分在传统方剂煎煮过程中的溶出差异,可以为临床用药提供参考。故采用建立指纹图谱方式进行定性验证,确定稳定可测的生物碱类成分,并根据“2.1.8”项下结果,选择苦参中苦参碱、槐定碱、氧化苦参碱及黄连中木兰花碱、非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱进行研究^[25-26]。

本研究在最佳吸收波长下,对黄连-苦参药对不同配比中10个差异性成分进行含量测定,分析差异性成分在不同配比下的溶出变化。苦参中3种差异性成分的溶出量随黄连比例的降低呈现“U”型分布,而黄连中7种差异性成分溶出量随黄连比例的降低整体呈现降低趋势。在黄连-苦参药对中,高黄连比例更容易促进药对中差异性成分的溶出。初步分析,当黄连-苦参药对中黄连占比的降低,可能会通过改变溶液中pH值、酸碱度等性质,对二者差异性成分的溶出产生影响,也可能对其中成分的相互转化产生促进作用,其具体产生机制有待深入研究。黄连-苦参药对被应用与各类中医经典方及现代经验方剂中^[27-28],但其配伍面对临床不同疾病的合理应用仍需深入研究。

本研究首次将黄连-苦参相须药对与中医传统经验方剂药效相结合,探究差异性成分药理作用与临床疾病治疗的联系。黄连-苦参比例为5:1时,所得苦参碱、槐定碱、木兰花碱含量为各比例最高;非洲防己碱、表小檗碱、药根碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱含量较高,相比各药材单提含量有所提升,

与单药材提取均具有显著性差异($P<0.05$),与《普济方》中“相须为用,其效益彰”的方解一致,发挥各成分共同药效,达到“清热燥湿”效果。氧化苦参碱具有抗肿瘤作用,当黄连-苦参比例为1:3时,其溶出量达到最大并与单药材提取具有显著性差异($P<0.05$),与临床上使用参白解毒方进行抗结直肠腺瘤^[29]的治疗方式一致。药根碱可发挥降糖作用,在黄连-苦参比例为1:1时含量最高,与国医大师李玉奇治疗消渴症时采用方剂中黄连-苦参药对^[30]的配比一致,证明了方剂中黄连-苦参使用该比例配比的合理性。

综上所述,本研究成果预期可为开展黄连-苦参药对的量-效关系研究提供数据支撑,为临床不同疾病采用药对适宜配比用量、开发黄连-苦参药对新方剂提供借鉴。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 211, 316.
- [2] Wang K, Feng X C, Chai L W, *et al.* The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects [J]. *Drug Metab Rev*, 2017, 49(2): 139-157.
- [3] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中草药*, 2018, 49(20): 4919-4927.
- [4] 王圳伊, 王露露, 张晶. 苦参的化学成分、药理作用及炮制方法的研究进展 [J]. *中国兽药杂志*, 2019, 53(10): 71-79.
- [5] 马雪宁, 杨素清, 张君成, 等. 苦参药理作用研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(1): 152-156.
- [6] Sun Y N, Xu L, Cai Q H, *et al.* Research progress on the pharmacological effects of matrine [J]. *Front Neurosci*, 2022, 16: 977374.
- [7] Lin Y D, He F M, Wu L, *et al.* Matrine exerts pharmacological effects through multiple signaling pathways: A comprehensive review [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2022, 16: 533-569.
- [8] Huang Y X, Zhang J, Wang G, *et al.* Oxymatrine exhibits anti-tumor activity in gastric cancer through inhibition of IL-21R-mediated JAK2/STAT3 pathway [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2018, 32: 2058738418781634.
- [9] 苏佳昇, 李晓霞, 蒋雅娴, 等. 苦参化学成分与药理作用研究进展 [J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(1): 5-9.
- [10] 张庆. 塞来昔布增强氟尿嘧啶对人结肠癌细胞 SW480 增殖与侵袭的抑制作用 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [11] 吴梦梦, 周迪夷. 黄连及其配伍在消渴病中的应用 [J/OL]. *中华中医药学刊*, 1-8 [2024-05-06]. <http://kns.cn>

- ki.net/kcms/detail/21.1546.R.20230918.1436.010.html.
- [12] 蒋丽施, 李潇彧, 罗曦, 等. 黄连的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(8): 97-109.
- [13] Zhuang W, Li T, Wang C J, *et al.* Berberine exerts antioxidant effects via protection of spiral ganglion cells against cytomegalovirus-induced apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 121: 127-135.
- [14] 刘丹, 曹广尚, 司席席, 等. 黄连中生物碱类成分抗心律失常研究概述 [J]. 山东中医杂志, 2017, 36(2): 164-166.
- [15] 陈永财, 钱江辉, 王彬辉, 等. “桂枝与白芍”药对不同比例配伍的 HPLC 指纹图谱探讨 [J]. 中国医药导报, 2017, 14(13): 29-33.
- [16] 雷璇, 汪芸兰, 魏玄, 等. 基于特征图谱的小儿消积止咳口服液量质传递相关性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(16): 5182-5195.
- [17] 付进杰, 刘馨雅, 郝征, 等. 基于 CiteSpace 知识网络图谱的中药复方量效关系可视化分析 [J]. 中草药, 2023, 54(4): 1208-1219.
- [18] 张北平, 钟彩玲, 梁宝仪, 等. 调肠消瘤方治疗结直肠腺瘤患者术后 1 年复发情况: 176 例随机对照临床观察 [J]. 中医杂志, 2020, 61(22): 1971-1976.
- [19] 褚莉, 段树卿, 宋佳, 等. 复方石韦片 HPLC 指纹图谱的建立及其在制剂过程中的应用 [J]. 中草药, 2019, 50(2): 396-401.
- [20] 李彦荣, 牛淑秀, 刘光炜, 等. HPLC-DAD/ELSD 法测定当归-黄芪药对不同配比下主要有效成分的含量 [J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2023, 32(1): 79-85.
- [21] 甘力帆, 王寿富, 崔婷, 等. 不同配伍比例金银花-连翘药对合煎颗粒与单煎颗粒混合的化学成分比较 [J]. 中国现代中药, 2023, 25(2): 382-389.
- [22] 吴学渊, 房春林, 李文, 等. 三黄泻心汤煎煮过程中 13 种指标成分动态变化与分布规律研究 [J]. 中草药, 2022, 53(9): 2659-2667.
- [23] 傅敏. 黄连-干姜药对化学成分分析及其抗胃癌药效作用研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [24] 杨丽宏, 袁子文, 纪鹏, 等. 黄连解毒汤中 13 种活性成分的 HPLC 检测及其有效部位的筛选 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3794-3801.
- [25] Meng F C, Wu Z F, Yin Z Q, *et al.* *Coptidis Rhizoma* and its main bioactive components: Recent advances in chemical investigation, quality evaluation and pharmacological activity [J]. *Chin Med*, 2018, 13: 13.
- [26] 张晓雪, 杜宇, 张泽坤, 等. 苦参不同组织中生物碱类成分的 LC-MS 分析 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2388-2397.
- [27] 黄敏, 范旻旻, 程海波, 等. 参白解毒方基于 Wnt/ β -catenin 信号通路对结直肠癌细胞增殖和迁移的抑制作用 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(2): 789-794.
- [28] 江东. 基于炎癌转化探讨参白解毒方抑制结直肠腺瘤癌变的药效及机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [29] 刘见荣, 沈卫星, 程海波, 等. 参白解毒方显著抑制小鼠结直肠腺瘤的形成及癌变: 基于 PTEN/PI3K/AKT 通路 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(10): 1452-1461.
- [30] 张会永. 国医大师李玉奇先生治疗消渴病临床经验 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(12): 2882-2884.

[责任编辑 郑礼胜]