

• 药剂与工艺 •

基于相态变化探讨煎煮方式对黄芩-黄连超分子物质基础及配伍“和合”机制的影响

魏吉昌, 林晓钰, 张景怡, 蒋恺烨, 卢继辉, 王智威, 黄雪梅*, 王鹏龙*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要:目的 从相态变化的角度探究煎煮方式(单煎与共煎)对黄芩 *Scutellariae Radix*-黄连 *Coptidis Rhizoma* 超分子物质基础的影响, 对其单煎液和共煎液进行形貌、化学及生物活性表征, 揭示中药配伍理论的科学内涵。方法 通过马尔文粒度仪、浊度仪及扫描电子显微镜(SEM)对单煎液和共煎液进行形态学表征, 应用紫外-可见吸收光谱(UV-vis)、红外光谱(IR)表征单煎液和共煎液的光谱学差异, 并借助 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术分析单煎液与共煎液的化学成分变化, 最后利用苦味感官评价和体外抑菌模型(大肠杆菌 *Escherichia coli*, 屎肠球菌 *Enterococcus faecium* 与枯草杆菌 *Bacillus subtilis*)评价单煎液与共煎液生物活性差异。结果 共煎液表现为与澄清单煎液明显不同的浑浊相态, SEM 下可见粒径在 600~800 nm 的球形超分子, 且较单煎液更加稳定; 光谱表征结合 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析的结果表明, 相态变化的发生是两药对间成分相互作用形成超分子导致; 进一步结合生物学评价发现, 共煎后单味药的苦寒之性得到明显缓和, 表现为苦度的下降和对肠道菌损伤的减轻。结论 相态变化产生(即超分子体系的形成)推测为两药对间成分相互作用的结果, 对缓和单味药的苦寒之性发挥重要作用, 为黄芩-黄连配伍机制的科学阐释提供新思路。

关键词: 相态变化; 黄芩; 黄连; 配伍; 苦寒; 药性; 煎煮; 和合; 超分子物质基础; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; 苦度; 肠道菌
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)24-8366-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.006

Exploring effects of decoction methods on supramolecular material basis and compatibility mechanism of herb pair of *Scutellariae Radix*-*Coptidis Rhizoma*

WEI Jichang, LIN Xiaoyu, ZHANG Jingyi, JIANG Kaiye, LU Jihui, WANG Zhiwei, HUANG Xuemei, WANG Penglong

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To explore the influence of decoction methods (single decoction and co-decoction) on the supramolecular material base of the herb pair of Huangqin (*Scutellariae Radix*, SR)-Huanglian (*Coptidis Rhizoma*, CR) from the perspective of phase transition, and to characterize the morphology, chemistry and biological activity of the single decoction and co-decoction, so as to reveal the scientific connotation of the traditional Chinese medicine compatibility theory. **Methods** The morphology of the single decoction and the co-decoction was characterized by Mastersizer, turbidity meter and scanning electron microscope (SEM). UV-vis and IR were used to characterize the spectroscopic differences between the single decoction and the co-decoction, and chemical composition changes of the single decoction and the co-decoction were analyzed by UPLC-Q-Orbitrap HRMS. Finally, the bitter taste sensory evaluation and antibacterial model *in vitro* (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecium* and *Bacillus subtilis*) were used to evaluate the differences in biological activities between single decoction and co-decoction. **Results** The co-decoction showed a turbid

收稿日期: 2024-06-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82073974); 中央高校基金科研业务项目(2023-JYB-JBZD-049); 中央高校基金科研业务项目(2024-JYB-XJSJ004); 中央高校基金科研业务项目(2022-XJ-KYQD-008); 2023年度北京中医药大学研究生自主科研课题(ZJKT2023050); 国家级高层次青年人才支持计划; 2023年度北京中医药大学本博贯通学生科学研究课题(XBB23004)

作者简介: 魏吉昌(2001—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药复方物质基础研究。E-mail: sddzwei2001@163.com

***通信作者:** 王鹏龙, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药复方物质基础及配伍机制研究。Tel: (010)53910100 E-mail: wpl581@126.com
黄雪梅, 女, 讲师, 研究方向为中药复方物质基础研究。Tel: (010)53910100 E-mail: hxm3928@163.com

precipitate phase, which differed from the single decoction. Spherical supramolecules could be seen under SEM measuring 600—800 nm in diameter, and additionally the co-decoction was more stable than the single decoction. Spectroscopic characterization results and UPLC-Q-Orbitrap HRMS results indicated that the phase transition was caused by the interaction of components between the herbs to form supramolecules. After co-decoction, the bitter and cold properties of the single herb were significantly alleviated, which was manifested as the decrease of bitter taste and alleviation of damage to intestinal bacteria. **Conclusion** The phase transition (the formation of supramolecular system) was the result of the interaction between SR and CR, which played an important role in alleviating the bitter and cold properties of the single drug, and provided new ideas for the exploration of the compatibility mechanism of SR and CR.

Key words: phase transition; *Scutellariae Radix*; *Coptidis Rhizoma*; compatibility; bitter-cold; drug properties; decoction; harmony; supramolecular material basis; UPLC-Q-Orbitrap HRMS; bitter taste; intestinal bacteria

中药的配伍共煎不是化学成分之间的简单加和,而是发生了复杂的物理、化学变化,使得汤剂形成沉淀相、混悬相、真溶液相和胶体相等“复杂多相态”^[1]。而相态变化与中药发挥临床疗效密切相关,不同的相态会对中药复方的药性或药效产生影响^[2]。“苦寒败胃”是指因久服、过服、误服苦寒中药,引起食欲降低、腹胀、腹泻、便秘等消化道症状的一种现象,这是几千年来中医药临床实践的经验总结,是对苦寒类中药使用中共有不良反应的概括性认识^[3]。黄芩-黄连是临床使用的经典药对,具有清热燥湿、泻火解毒之效^[4]。黄芩味苦性寒,黄连大苦大寒,久用久服会导致“苦寒败胃”^[3,5]。但现有研究表明,药对配伍使用可“和合”单味药的苦寒之性^[6-7]。

本课题组前期发现,黄芩与黄连配伍共煎后会产生明显的“自沉淀”现象,出现了与单煎液不同的相态,该现象主要是由于黄酮类成分和生物碱类成分发生弱相互作用形成了超分子体系^[8],并且发现,共同煎煮形成的超分子物质基础,不仅对金黄色葡萄球菌等致病菌的抑制作用明显强于单煎混合物^[9],而且对肠道非致病菌呈现选择性作用,抑制作用表现出降低趋势^[10]。但单煎与共煎的相态变化与超分子物质基础有何关系?相态变化与黄芩-黄连药对配伍“和合”苦寒之性有何联系?均尚未阐明。因此,本研究从相态变化的角度出发,运用形貌、化学与生物表征相结合的研究方法,构建起相态变化与配伍机制研究的桥梁,为中药复方药效物质基础的研究提供新思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

ME55/02 型电子分析天平,梅特勒-托利多仪器有限公司; PILot5-8M 型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司; Zetasizer Nano ZEN3700 型马尔

文粒度仪,英国马尔文仪器有限公司; YKM-FZD 型浊度仪,上海佑科仪器仪表有限公司; Hitachi SU-8020 型扫描电子显微镜 (SEM)、UH5300 型分光光度计,日本日立公司; Ensor27 型衰减全反射红外光谱仪,美国 Bruker 公司; IQ 7005 型默克 Milli-Q 纯水仪,德国默克公司; Ultimate 3000 型超高效液相色谱,戴安公司; UPLC-Q-Exactive 型四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱,赛默飞世尔科技公司; ASTREE 型电子舌,法国 Alpha MOS 公司; YXQ-LS-75SII 型立式压力蒸汽灭菌锅,上海博讯实业有限公司; HFease1800 型生物安全柜,上海力康精密科技有限公司; LRH-250 型恒温生化培养箱,广州瑞明仪器有限公司; Leica TCSSP8 型激光扫描共聚焦显微镜,德国 Leica 公司。

1.2 药物

黄芩与黄连分别购于北京泰仁康药业发展有限公司 (批号 20061401) 和中国北京同仁堂 (集团) 有限责任公司 (批号 200301001),经北京中医药大学任广喜副教授鉴定分别为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根与毛茛科黄连属植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。

1.3 菌种

大肠杆菌 *Escherichia coli*, 北京中医药大学生命科学学院; 枯草杆菌二联活菌颗粒 (含屎肠球菌 *Enterococcus faecium* 和枯草杆菌 *Bacillus subtilis*), 北京韩美药品有限公司。

1.4 试剂

超纯水,实验室提供; 乙腈、甲酸,美国 Fisher 公司; 营养肉汤 (批号 20230318)、营养琼脂 (批号 20231117),北京索莱宝生物科技有限公司; 盐酸小檗碱,质量分数 95%,批号 O04HS196746,上海源叶生物科技有限公司; Live/Dead Bac Light™ 试剂,批号 2270247,美国赛默飞世尔科技公司。

2 方法与结果

2.1 黄芩-黄连共煎液 (*Scutellariae Radix-Coptidis Rhizoma* co-decoction, SR-CR) 及黄芩单煎液 (*Scutellariae Radix* single decoction, SR)、黄连单煎液 (*Coptidis Rhizoma* single decoction, CR) 的制备与其形貌学表征

2.1.1 样品制备与出膏量统计 按照黄芩-黄连 1 : 1 称取 10 g 完整药材饮片, 加入 8 倍量水后浸泡 20 min 进行回流提取, 大火煮沸后保持微沸 15 min, 滤除药渣, 得到 SR-CR, 同方法可制得 SR、CR。

黄芩-黄连药对配伍共煎之后, 水煎液呈明显浑浊状态 (图 1); 同时, 单独煎煮的汤液状态相对澄清 (图 1)。

各水煎液样品经冷冻干燥后得到冻干粉末, 平

表 1 SR、CR、SR-CR 的出膏量、粒径、PDI、ζ 电位和浊度测定结果及其志愿者口尝苦味评价结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Amount of paste, particle size, PDI, ζ potential and turbidity determination results of SR, CR, SR-CR and their bitter sensory evaluation of volunteers ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	出膏量/mg	平均粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	浊度/NTU	苦味评分
SR	2 355.45 ± 58.92	483.8 ± 39.8	0.548 ± 0.088	-10.6 ± 0.3	29.08 ± 0.14	0.2 ± 0.6
CR	1 294.77 ± 26.08	302.5 ± 12.6	0.399 ± 0.006	-8.7 ± 0.4	54.03 ± 0.93	8.2 ± 1.7
SR-CR	3 881.54 ± 43.39 ^{****##}	631.9 ± 63.4	0.568 ± 0.033	-14.6 ± 1.2	230.40 ± 5.93 ^{****##}	4.2 ± 2.4 ^{****##}

与 SR 比较: ^{***} $P < 0.001$; 与 CR 比较: ^{###} $P < 0.001$ 。

^{****} $P < 0.001$ vs SR; ^{###} $P < 0.001$ vs CR.

2.1.2 动态光散射表征与浊度表征 将单煎液冻干粉分别用去离子水稀释至相同的质量浓度, 而共煎液中含等量黄连。分别将 SR、CR、SR-CR 样品液转移至比色皿中, 在马尔文粒度仪上测定样品的平均粒径、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 和

行重复 3 次, 取平均值统计出膏量。出膏量统计的结果 (表 1) 显示, SR 的出膏量为 (2 355.45 ± 58.92) mg, CR 的出膏量为 (1 294.77 ± 26.08) mg, SR-CR 的出膏量为 (3 881.54 ± 43.39) mg, SR-CR 的出膏量高于各单煎液之和, 且均具有显著性差异 ($P < 0.001$), 提示共同煎煮的过程中存在着成分相互促进溶出^[11-12], 进而表现为出膏量的增大。

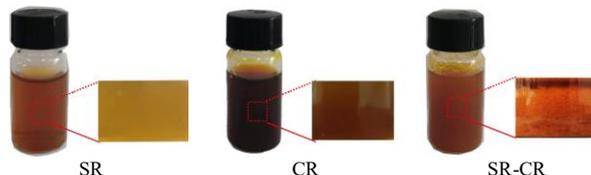


图 1 SR、CR、SR-CR 水煎液的表现现象

Fig. 1 Apparent phenomenon of SR, CR, SR-CR water decoction

ζ 电位; 以去离子水为空白溶剂, 在浊度仪上测定水煎液样品的浊度值。平行重复 3 次, 取平均值。动态光散射表征的结果 (表 1 和图 2) 显示, 黄芩-黄连经过共煎后, 分散体系的平均粒径相较于 CR (302.5 ± 12.6) nm 和 SR (483.8 ± 39.8) nm 增大,

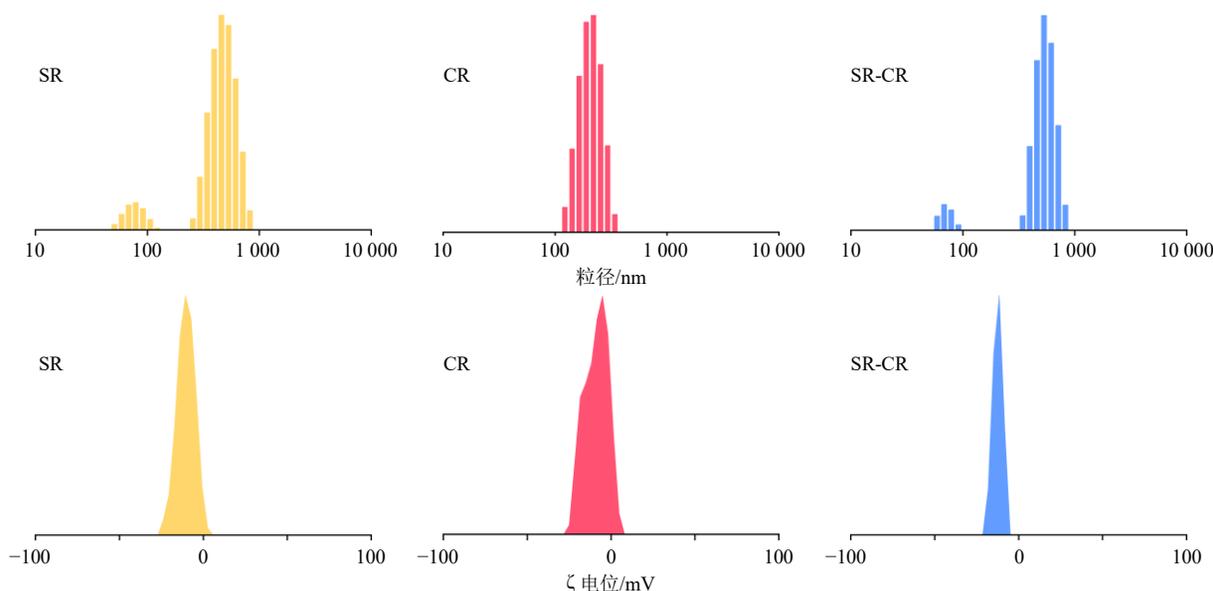


图 2 SR、CR、SR-CR 的动态光散射表征

Fig. 2 Dynamic light scattering characterization of SR, CR, SR-CR

平均粒径为 (631.9 ± 63.4) nm; 且相态稳定性增强, ζ 电位为 (-14.6 ± 1.2) mV, 大于 CR (-8.7 ± 0.4) mV 和 SR (-10.6 ± 0.3) mV。经浊度仪测定结果(表 1) 显示, SR 与 CR 的浊度值分别为 (29.08 ± 0.14) 、 (54.03 ± 0.93) NTU, 配伍共煎后汤液体系的浊度提升至 (230.40 ± 5.93) NTU, 与各单煎液相比均存在显著性差异 ($P < 0.001$), 该结果与水煎液表观现象的观察结果相符合。

2.1.3 SEM 表征 将各样品按“2.1.2”项下方法用

去离子水分散至相同浓度后, 用移液器吸取 $2 \mu\text{L}$ 滴于硅片上, 于室温自然干燥。硅片进行喷金处理后置于 SEM (工作电压 15.0 kV) 下, 观察样品的微观形貌特征并拍照保存。通过 SEM 观察样品的微观形貌, 结果(图 3) 显示, SR 在 SEM 下无明显的聚集态形貌; CR 可以观察到形状不规则的团簇; SR-CR 在 SEM 下主要以球形超分子的形式存在, 粒径分布在 $600 \sim 800 \text{ nm}$ 。

共煎液与单煎液在 ζ 电位、浊度与微观形貌上

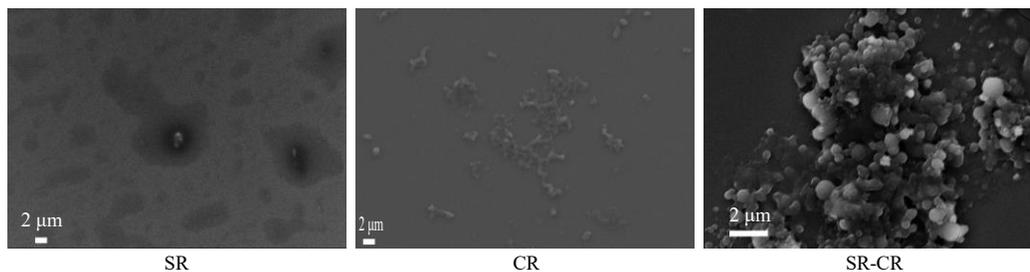


图 3 SR、CR、SR-CR 的 SEM 表征

Fig. 3 SEM characterization of SR, CR, SR-CR

均存在明显的差异, 表明黄芩与黄连在配伍共煎的过程中, 发生了复杂的物理、化学变化, 最终导致了一系列的相态差异。

2.2 SR、CR、SR-CR 的化学表征

紫外-可见吸收光谱 (UV-vis)、红外光谱 (IR) 以及液质联用 3 大分析技术, 作为当代化学研究的重要工具, 是解析复杂化学成分组成及其相互作用的常用分析手段。

2.2.1 UV-vis 分析 紫外吸收图谱可表征中药配伍前后化学成分的整体变化, 通过分析紫外图谱中吸收峰形、数目及峰值等信息的变化, 可以用来探讨中药的配伍规律^[13]。使用去离子水将两单煎液冻干粉复溶至 0.01 mg/mL , 共煎液中含等量黄连 (0.02 mg/mL), 过 $0.22 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜后转移至比色皿中, 同时以去离子水为参比溶液, 将检测波长设为 $200 \sim 600 \text{ nm}$, 利用紫外-可见分光光度计进行全波长扫描, 结果见图 4。SR 在 275 、 315 nm 处有 2 个吸收峰; CR 在 226 、 265 、 345 、 425 nm 处有 4 个吸收峰; SR-CR 在 275 、 315 nm 处有 2 个吸收峰, 均与文献报道的吸收峰相一致^[13-14]。共煎液主要表现出 SR 的吸收峰, 推测原因可能为共煎液中黄芩黄酮类化合物因强共轭体系主导吸收峰, 黄连生物碱类因吸收弱而被掩盖。

2.2.2 IR 分析 称取各样品的冻干粉末, 在 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$, 先以空气为背景进行单通道扫描, 后将样

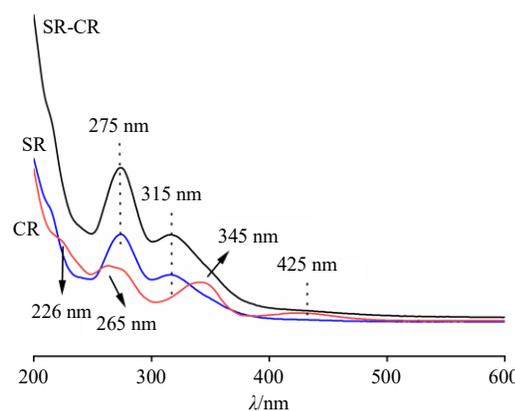


图 4 SR、CR、SR-CR 的 UV-vis

Fig. 4 UV-vis of SR, CR, SR-CR

品置于测样区内进行测量, 得到 IR (图 5)。IR 中, SR 的冻干粉在 3247 cm^{-1} 附近存在羟基峰, 来源于黄酮苷元及葡萄糖醛酸^[15-16], 由于黄芩中黄酮类化合物众多且吸收范围较宽, 所以在 $3200 \sim 3600 \text{ cm}^{-1}$ 整合为大峰; 2920 cm^{-1} 处为亚甲基 C-H 的反对称伸缩振动吸收峰^[17], 来源于黄芩中的糖苷类; 1607 cm^{-1} 处为芳环的骨架振动^[18], 主要来源于黄酮类化合物的芳环; 1354 、 1290 、 1044 、 767 cm^{-1} 处分别为 C-H 对称弯曲、C-O-R 反对称伸缩振动、C-O-C 伸缩振动和 C-H 弯曲振动的吸收峰^[17-18], 主要来源于黄芩中的糖苷类化合物。黄连富含生物碱类化合物, CR 的冻干粉在 3315 cm^{-1} 处的吸收峰为 N-H 伸缩振动^[19], 是黄连中生物碱类成分的特征吸

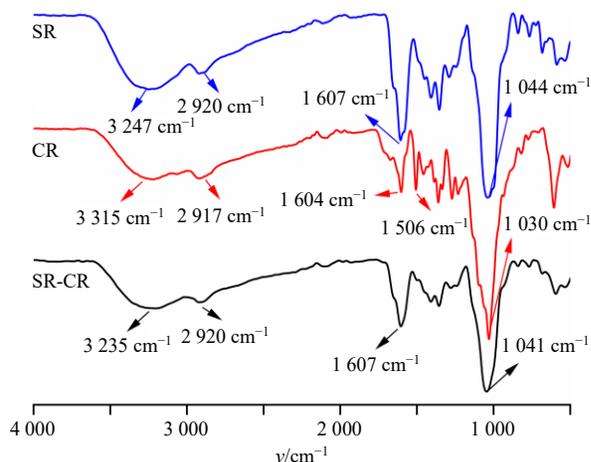


图 5 SR、CR、SR-CR 的 IR
Fig. 5 IR of SR, CR, SR-CR

收峰; 2917 cm^{-1} 处为饱和 C-H 伸缩振动^[19-20]; 1604 cm^{-1} 和 1506 cm^{-1} 处为芳环的骨架振动峰^[19-20], 主要来源于黄连中含量较多的生物碱类化合物; 1360 cm^{-1} 为 NC-H 的弯曲振动; 1272、1228、1030 cm^{-1} 处为 C-O-C 伸缩振动峰^[20]。共煎液具有单煎液的特征吸收峰, 在 3235、2920、1607、1356、1280、1041 cm^{-1} 处具有吸收峰, 会发生轻微变化但无新的特征峰产生。

2.2.3 UPLC-Q-Exactive 型四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱分析

(1) 供试品溶液的制备: 精密称取各单煎液冻干粉, 用超纯水稀释至 0.4 mg/mL (共煎液为 0.8 mg/mL), 0.22 μm 微孔滤膜滤过后待测。

(2) 色谱条件: 色谱柱为 TC-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈,

梯度洗脱: 0~30 min, 4%~98% 乙腈; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 5 μL 。

(3) 质谱条件: 实验中采用了电喷雾离子源, 并选择正、负离子模式进行检测; 喷雾电压 ± 3.5 kV; 透镜电压 50 V; 鞘气 (N_2) 及辅助气 (N_2) 压力分别调整为 40 arb 和 0 arb; 离子传输管温度 320 $^{\circ}\text{C}$; 辅助器温度 350 $^{\circ}\text{C}$; 扫描模式为 Full MS, 分辨率为 10 000, 扫描范围 m/z 150~1 500。

(4) 数据处理: 使用 Thermo Scientific 科技有限公司的 Xcalibur 4.1 软件对质谱数据进行分析。

(5) 分析结果: 为了探究黄芩-黄连配伍共煎煮形成的浑浊多相态的化学物质基础差异, 通过 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术分析 SR、CR 和共煎液在正、负离子模式下的化学成分异同 (图 6、7)。

在 SR-CR 中共鉴定出 60 种化合物 (表 2), 其中生物碱类成分 17 种, 黄酮类成分 19 种, 有机酸类成分 14 种, 氨基酸类成分 6 种, 其他类成分 4 种。共煎液中来源于黄芩、黄连的成分分别有 40 种、41 种, 其中 21 种成分为 SR 与 CR 所共有, 主要为有机酸类化合物。

从 SR-CR 中共鉴定出 19 种黄酮类化合物, 主要包括黄酮苷及其苷元。结合现有文献报道, 黄酮苷元类的裂解规律主要包括 3 种: 母核 C 环 X^{1,3} 发生 Retro-Diels-Alder (RDA) 裂解, 母核 C 环 X^{1,4} 发生 cross-ring cleavage 和中性片段的丢失^[21-22]。

黄酮氧苷类成分, 第 1 步通常是脱去糖基形成黄酮苷元, 其裂解规律与相应苷元的准分子离子裂解规律一致^[23]。以黄酮苷类化合物黄芩苷 (51) 为

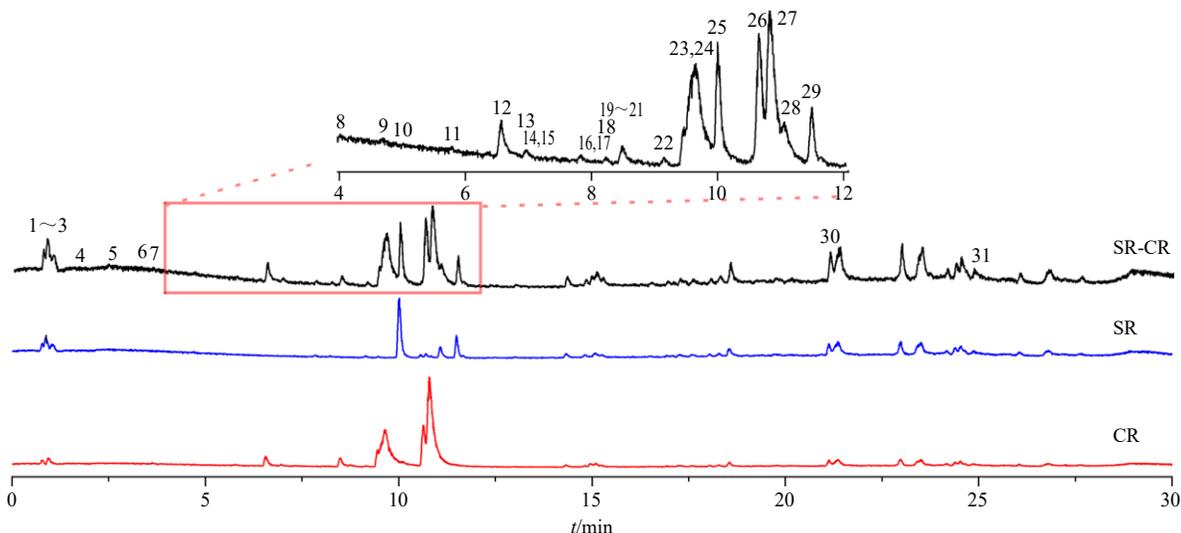


图 6 SR、CR、SR-CR 的总离子流图 (正离子模式)

Fig. 6 Total ion flow diagram (positive ion mode) of SR, CR, SR-CR

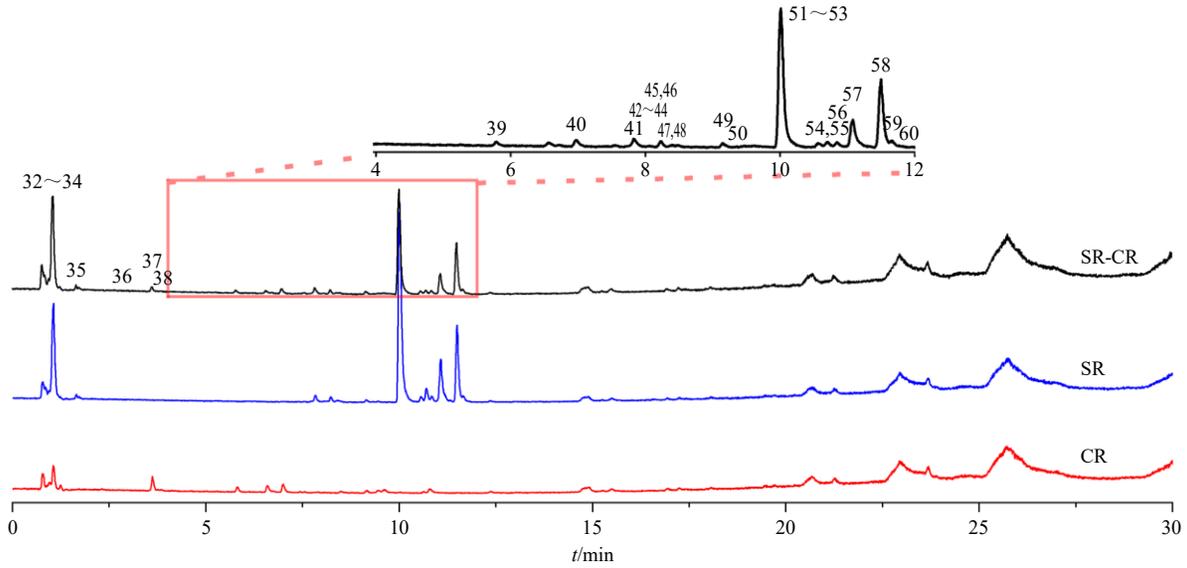


图 7 SR、CR、SR-CR 的总离子流图 (负离子模式)

Fig. 7 Total ion flow diagram (negative ion mode) of SR, CR, SR-CR

表 2 SR、CR、SR-CR 化学成分的 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析

Table 2 UPLC-Q-Orbitrap HRMS analysis of SR, CR, SR-CR chemical compositions

编号	t_R / min	名称	分子式	母离子	理论值	实际值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	来源
1	0.86	精氨酸	$C_6H_{14}N_4O_2$	$[M+H]^+$	175.119 0	175.119 1	0.57	116.071 0	CR、SR、SR-CR
2	0.92	γ -氨基丁酸	$C_4H_9NO_2$	$[M+H]^+$	104.070 6	104.071 1	4.80	-	CR、SR、SR-CR
3	1.02	脯氨酸	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.070 6	116.070 9	2.58	-	CR、SR、SR-CR
4	1.75	酪氨酸	$C_9H_{11}NO_3$	$[M+H]^+$	182.081 2	182.081 0	1.10	165.053 5, 136.075 8	CR、SR、SR-CR
5	2.46	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	$[M+H]^+$	268.104 0	268.104 0	0.00	136.061 7	CR、SR、SR-CR
6	3.35	苯丙氨酸	$C_9H_{11}NO_2$	$[M+H]^+$	166.086 3	166.086 2	0.60	120.081 1, 149.060 0	CR、SR、SR-CR
7	3.62	丹参素	$C_9H_{10}O_5$	$[M+H]^+$	199.060 1	199.060 1	0.00	181.049 4, 163.009 8	CR、SR-CR
8	3.84	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	$[M+H]^+$	181.049 5	181.048 6	4.97	163.039 1	CR、SR、SR-CR
9	4.69	色氨酸	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	$[M+H]^+$	205.097 2	205.097 4	0.98	161.096 2	CR、SR、SR-CR
10	5.03	异阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M+H]^+$	195.065 2	195.065 7	2.56	177.054 6	CR、SR、SR-CR
11	5.77	二氢-11-羟基-千金藤定碱-葡萄糖苷	$C_{25}H_{31}NO_{10}$	$[M+H]^+$	506.202 1	506.202 5	0.79	344.149 1, 208.096 5, 190.086 2	CR、SR-CR
12	6.56	木兰花碱	$C_{20}H_{24}NO_4^+$	$[M]^+$	342.170 5	342.170 1	1.17	297.111 8, 282.088 3, 265.085 6, 237.090 9	CR、SR-CR
13	6.96	11-羟基-千金藤定碱-葡萄糖苷	$C_{25}H_{29}NO_{10}$	$[M+H]^+$	504.186 4	504.186 4	0.00	342.133 3, 188.070 4	CR、SR-CR
14	7.19	木兰花碱葡萄糖苷	$C_{26}H_{34}NO_9^+$	$[M]^+$	504.223 4	504.222 6	1.59	342.170 0	CR、SR-CR
15	7.32	8,9-二去甲基表小檗碱	$C_{18}H_{14}NO_4^+$	$[M]^+$	308.092 3	308.091 7	1.95	280.096 4, 278.080 6, 265.073 2	CR、SR-CR
16	8.01	去亚甲基小檗碱葡萄糖苷	$C_{25}H_{28}NO_9^+$	$[M]^+$	486.176 4	486.175 8	1.23	308.091 8	CR、SR-CR
17	8.05	红花素	$C_{15}H_{12}O_6$	$[M+H]^+$	289.070 7	289.070 7	0.00	271.059 9	SR、SR-CR
18	8.21	去甲氧白毛茛分碱	$C_{10}H_9NO_3$	$[M+H]^+$	192.065 5	192.065 4	0.52	149.059 7	CR、SR-CR
19	8.48	去亚甲基表小檗碱	$C_{19}H_{18}NO_4^+$	$[M]^+$	324.123 6	324.123 3	0.93	266.081 4	CR、SR-CR
20	8.49	小檗红碱	$C_{19}H_{16}NO_4^+$	$[M]^+$	322.107 9	322.107 4	1.55	309.098 6, 294.075 1, 266.080 7	CR、SR-CR
21	8.58	去亚甲基小檗碱	$C_{19}H_{18}NO_4^+$	$[M]^+$	324.123 6	324.123 7	0.31	266.081 0	CR、SR-CR
22	9.35	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	$[M+H]^+$	195.065 2	195.065 4	1.03	177.054 4	CR、SR-CR
23	9.47	药根碱	$C_{20}H_{20}NO_4^+$	$[M]^+$	338.139 2	338.138 3	2.66	322.107 0, 294.111 6, 308.091 3, 306.111 9, 294.111 6	CR、SR-CR
24	9.68	黄连碱	$C_{19}H_{14}NO_4^+$	$[M]^+$	320.092 3	320.091 9	1.25	292.096 4	CR、SR-CR
25	10.39	甲基黄连碱	$C_{20}H_{16}NO_4^+$	$[M]^+$	334.107 9	334.107 5	1.20	319.082 8	CR、SR-CR

表 2 (续)

编号	t_R / min	名称	分子式	母离子	理论值	实际值	误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子	来源
26	10.65	巴马汀	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄ ⁺	[M] ⁺	352.154 9	352.154 3	1.70	336.122 6, 322.107 1, 308.127 8	CR、SR-CR
27	10.83	小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄ ⁺	[M] ⁺	336.123 6	336.123 0	1.79	321.097 9, 320.091 7, 306.075 1, 292.095 2	CR、SR-CR
28	11.19	脱氢紫堇碱	C ₂₂ H ₂₄ NO ₄ ⁺	[M] ⁺	366.170 5	366.170 1	1.09	350.139 0, 336.123 0	CR、SR-CR
29	11.47	13-甲基小檗碱	C ₂₁ H ₂₀ NO ₄ ⁺	[M] ⁺	350.139 2	350.138 7	1.43	334.107 0, 320.091 8	CR、SR-CR
30	20.93	桐酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M+H] ⁺	279.231 9	279.231 9	0.00	261.221 4	CR、SR、SR-CR
31	24.65	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	[M+H] ⁺	257.247 5	257.247 7	0.78	239.237 7	CR、SR、SR-CR
32	0.98	葡萄糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	179.056 1	179.055 3	4.47	161.044 6	CR、SR、SR-CR
33	1.05	奎宁酸	C ₇ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	191.056 1	191.055 3	4.19	173.044 6, 127.038 8	CR、SR、SR-CR
34	1.06	蔗糖	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	341.108 9	341.108 8	0.29	179.055 3, 161.044 5, 113.023 3	CR、SR、SR-CR
35	1.66	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	191.019 7	191.019 1	3.14	-	CR、SR、SR-CR
36	2.88	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	169.014 2	169.014 5	1.77	125.023 3	CR、SR、SR-CR
37	3.77	泛酸	C ₉ H ₁₇ NO ₅	[M-H] ⁻	218.103 4	218.102 9	2.29	-	CR、SR、SR-CR
38	3.91	3-羟基-4-甲氧基苯甲酸 3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	[M-H] ⁻	329.087 8	329.088 2	1.22	167.034 2	CR、SR、SR-CR
39	5.79	3-O-阿魏酰奎尼酸	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.103 5	367.103 7	0.54	193.049 9, 191.055 9, 173.045 0, 149.059 7, 134.036 2	CR、SR、SR-CR
40	6.97	4-O-阿魏酰奎尼酸	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	[M-H] ⁻	367.103 5	367.103 7	0.54	193.049 6, 191.055 3, 173.044 8, 149.059 6, 134.036 1	CR、SR、SR-CR
41	7.84	白杨素 6-C-阿拉伯糖 8-C-葡萄糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.145 7	547.146 1	0.73	529.134 7, 457.114 3, 427.103 7, 367.082 4, 337.072 2	SR、SR-CR
42	8.01	红花素 7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.088 2	463.088 7	1.08	287.056 4, 269.045 2, 153.018 5	SR、SR-CR
43	8.04	野黄芩苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₂	[M-H] ⁻	461.072 5	461.072 6	0.22	285.040 2	SR、SR-CR
44	8.09	毛蕊花糖苷	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	[M-H] ⁻	623.198 1	623.199 5	2.25	135.044 1	SR、SR-CR
45	8.22	粘毛黄芩素 III-2'-O-葡萄糖苷	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₃	[M-H] ⁻	507.114 4	507.114 5	0.20	345.062 0, 330.038 2, 315.014 8	SR、SR-CR
46	8.22	白杨素 6-C-葡萄糖 8-C-阿拉伯糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	[M-H] ⁻	547.145 7	547.146 2	0.91	529.136 0, 427.103 5	SR、SR-CR
47	8.41	三羟基二氢查尔酮-3'-C-葡萄糖苷-6'-O-葡萄糖苷或异构体	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₄	[M-H] ⁻	581.187 6	581.188 2	1.03	461.144 2, 167.034 1	SR、SR-CR
48	8.43	红花素 7-O-葡萄糖醛酸苷异构体	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	463.088 2	463.088 7	1.08	287.056 4, 269.045 6, 153.018 6	SR、SR-CR
49	9.35	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	[M-H] ⁻	187.097 5	187.097 0	2.67	125.096 1	CR、SR、SR-CR
50	9.45	5,7,2'-三羟基-6-甲氧基黄酮-7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	475.088 2	475.088 5	0.63	299.056 1, 284.032 7	SR、SR-CR
51	10.01	黄芩苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	[M-H] ⁻	445.077 6	445.077 7	0.22	269.045 6, 251.033 1, 223.040 0, 169.065 0	SR、SR-CR
52	10.03	黄芩素-7-O-葡萄糖苷或异构体	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	[M-H] ⁻	431.098 4	431.097 2	-2.78	269.045 7	SR、SR-CR
53	10.22	地黄苷	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₅	[M-H] ⁻	651.229 4	651.230 0	0.92	475.181 2	SR、SR-CR
54	10.57	二氢黄芩素	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	447.093 3	447.093 7	0.89	271.061 1, 243.066 6, 175.024 0	SR、SR-CR
55	10.59	木蝴蝶素 A-7-O-葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M-H] ⁻	445.114 0	445.114 3	0.67	283.061 5, 268.033 7	SR、SR-CR
56	10.84	三羟基二甲氧基黄酮葡萄糖醛酸苷	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₂	[M-H] ⁻	475.088 2	475.088 5	0.63	299.056 1, 284.032 7	SR、SR-CR
57	11.09	白杨素-7-O-葡萄糖醛酸苷	C ₂₁ H ₁₈ O ₁₀	[M-H] ⁻	429.082 7	429.082 6	-0.23	253.050 4	SR、SR-CR
58	11.50	汉黄芩苷	C ₂₂ H ₂₀ O ₁₁	[M-H] ⁻	459.093 3	459.093 6	0.65	283.061 1, 268.037 8, 175.024 0	SR、SR-CR
59	11.66	2-肉桂酰-1-没食子酰葡萄糖	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	461.108 9	461.109 2	0.65	169.014 6, 147.044 2	CR、SR-CR
60	11.79	千层纸素 A	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	283.061 2	283.061 3	0.35	268.031 7, 239.031 7, 163.002 8	SR、SR-CR

例阐述黄酮类化合物的质谱裂解规律(图 8-A), 化合物 51 ($t_R=10.01$ min) 在负离子模式下准分子离子峰 m/z 445.077 7 [M-H]⁻, 推测分子式为 C₂₁H₁₈O₁₁

且误差为 2.20×10^{-7} 。分子离子丢失 1 分子葡萄糖醛酸得到碎片离子 m/z 269.045 6, 该碎片进一步失去 1 分子 H₂O 得到 m/z 251.033 1, 再失去 1 分子 CO

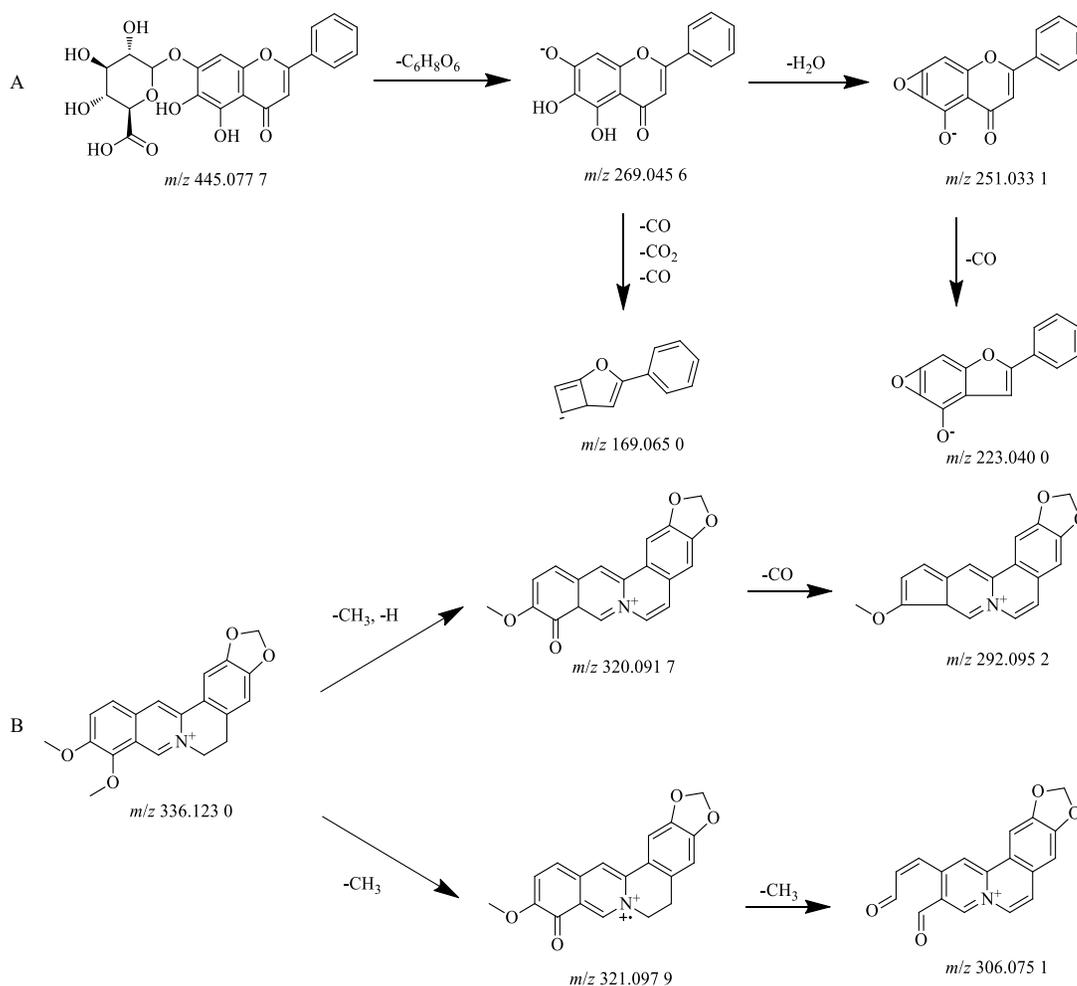


图 8 黄芩苷 (A) 和小檗碱 (B) 的质谱裂解途径

Fig. 8 MS fragmentation pathway of baicalin (A) and berberine (B)

得到碎片离子 m/z 223.0400, 碎片离子 m/z 269.0456 失去 1 分子 CO 后再失去 1 分子 CO_2 和 1 分子 CO 得到 m/z 169.0650。

SR-CR 中的生物碱类成分主要源自于黄连, 由于黄连中所含生物碱多属于季铵碱, N 原子上有正电荷, 所以在正离子模式下响应良好^[24]。以小檗碱 (27) 为例阐述裂解规律 (图 8-B), 化合物 27 ($t_R = 10.83$ min) 在正离子模式下准分子离子峰为 m/z 336.1230 $[\text{M}]^+$, 分子式可能是 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_4^+$, 误差为 1.79×10^{-6} 。分子离子丢失 1 分子 CH_3 得到碎片离子 m/z 321.0979, 分子离子丢失 1 分子 CH_3 和 1 个 H 得到碎片离子 m/z 320.0917, m/z 321.0979 再失去 1 分子 CH_3 得到碎片离子 m/z 306.0751, m/z 320.0917 再失去 1 分子 CO 得到碎片离子 m/z 292.0952。

综上, SR-CR 的光谱学表征结合 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 结果可知, 黄芩-黄连共煎后未检测

出新的化合物, 配伍共煎后产生的相态变化 (超分子体系的形成) 可能是药对间成分相互作用的结果。

2.3 SR、CR、SR-CR 的苦寒之性变化

2.3.1 苦味感官评价 苦味是中药五味之一, 具有广泛的生物学意义, 狭义的苦味即为口尝苦味^[6]。苦味受体分布于口腔、胃、肠管等消化系统, 介导哺乳动物的苦味觉, 影响消化吸收及能量调控, 在呼吸系统和心血管系统也发挥作用^[25]。现有研究统计, 组方配伍后方剂含有多种苦味饮片^[26], 且在一项针对于中药饮片的苦度叠加规律研究中发现黄连在不同的饮片叠加组合中贡献最大^[27]。对黄芩-黄连药对进行苦味感官评价有助于揭示其配伍前后的药性变化。将 SR 与 CR 样品冻干粉复溶至 1 mg/mL, 共煎样品按等量黄连换算。配制 0、0.01、0.05、0.10、0.50 g/L 的盐酸小檗碱溶液作为参比溶液。

首先, 招募志愿者 10 人, 先进行苦味的标准化感官记忆, 分别将参比溶液含于口中, 计时 15 s,

在口腔中进行漱口动作，使舌根及舌侧苦味的感受区域能够感知样品的苦味，根据表 3 的描述对比记忆参比溶液的苦度分级和具体苦度值，吐出后漱口至少 3 次，直至口腔中不再有苦味感受，15 min 后测定另一质量浓度的参比溶液，最终完成苦味的标准化感官记忆。待测样品组具体的口尝操作要求同标准化培训，口尝后收集志愿者对样品的苦度等级及苦度值的记录。

表 3 苦度口感描述、等级与评分

Table 3 Taste description, grade and score of bitterness

盐酸小檗碱溶液 质量浓度/(g·L ⁻¹)	口感描述	等级	评分
0	几乎无苦味	I	0
0.01	略有苦味	II	1~3
0.05	可接受的苦味	III	4~6
0.10	可忍受的苦味	IV	7~9
0.50	不能忍受的苦味	V	10

志愿者在完成标准化感官记忆后对样品的感官评价结果(表 1)显示, SR 无明显的苦味, 志愿者的苦味评分集中于 0; 黄连作为苦寒中药的代表之一, 苦味明显, 志愿者均认为其具有苦味感受, 苦味评分集中于 7~10 分; 药对配伍共煎后, 与黄连组相比苦味评分下降明显, 评分在 4 分上下浮动, 且差异显著 ($P < 0.001$)。

电子舌经预平衡与校准后开始检测, 设定实验参数: 采样时间 120 s, 取后 20 s 的数据进行分析; 每份样品采集 8 次, 取后 3 次的结果进行分析; 各样品之间用超纯水清洗 30 s; 收集 AHS (酸)、PKS (通用)、CTS (咸)、NMS (鲜)、CPS (通用)、ANS (甜)、SCS (苦) 7 根传感器的数据。

电子舌的数据分析结果(图 9)表明, CPS 与 SCS 传感器的信号强度变化与志愿者对苦味的感官评价呈现出一致的趋势, 具体表现为黄芩与黄连共煎后, 其信号强度相较于 CR 降低。

上述实验结果共同说明, 黄芩-黄连药对配伍之后能明显缓和黄连的苦度。结合本课题组前期的研究成果, 推测苦味的降低与 SR-CR 中黄连生物碱类成分的释放过程与结构变化有关, 如在与黄连配伍的诸多药对中, 大黄-黄连配伍共煎形成了超分子, 并且延缓了以小檗碱为代表的生物碱类成分的溶解释放过程^[6]。黄芩中所含有的黄芩苷、汉黄芩苷与黄连中的小檗碱, 同样会形成微观形貌不同的超分子^[10]并受到温度调控^[28], 因此推测黄芩-黄连在配

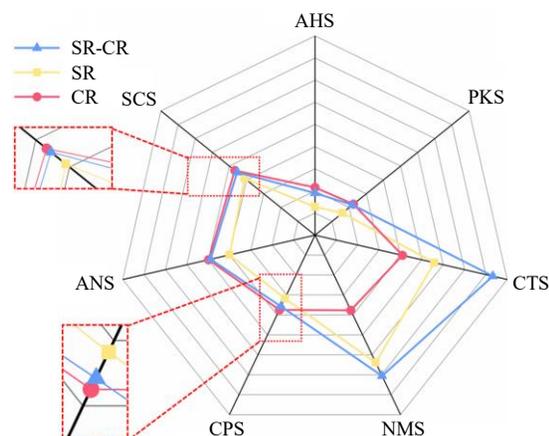


图 9 电子舌苦味评价

Fig. 9 Bitter sensory evaluation results of electronic tongue

伍共煎的过程中, 相态变化的发生导致了苦味基团的掩蔽, 最终表现为明显缓和黄连的苦度。

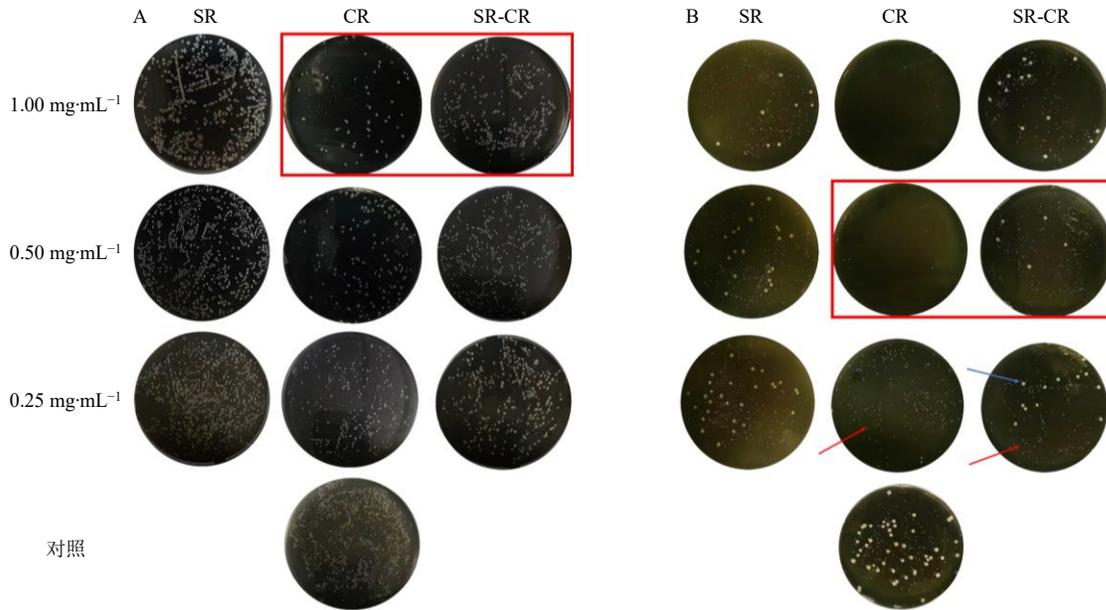
2.3.2 体外抑菌活性及细菌形态学表征 以大肠杆菌和枯草杆菌二联活菌(屎肠球菌和枯草杆菌)为例, 初步探讨黄芩-黄连药对配伍对肠道菌的影响。用无菌水将 SR 和 CR 冻干粉分散至 20 mg/mL, 用营养肉汤培养基在 48 孔板中稀释成终质量浓度分别为 1.00、0.50、0.25 mg/mL 的药物混悬液(共煎液含等量黄连, 共煎液药物混悬液终质量浓度分别为 2.00、1.00、0.50 mg/mL), 每孔的终体积为 500 μ L, 充分混匀后, 向每孔分别加入 50 μ L 大肠杆菌混悬液(2 000 CFU/mL)和 50 μ L 枯草杆菌二联活菌混悬液(含屎肠球菌 13 500 CFU/mL 和枯草杆菌 1 500 CFU/mL)。将样品在 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养 12 h 后, 用营养肉汤培养基将上述 48 孔板中细菌混悬液稀释 1×10^5 倍后, 使用涂布棒将细菌混悬液均匀地接种至营养琼脂板上。在 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中继续培养 12 h 后, 观察营养琼脂上的菌落情况。先在 12 孔板中加入 1 mL 营养肉汤培养基后, 分别加入 100 μ L 大肠杆菌混悬液(2 000 CFU/mL)和 100 μ L 枯草杆菌二联活菌混悬液(含屎肠球菌 13 500 CFU/mL 和枯草杆菌 1 500 CFU/mL), 置于 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中继续培养 12 h。按照上述药物混悬液的制备方法, 用营养肉汤培养基稀释成终质量浓度为 2 mg/mL(共煎液含等量黄连, 质量浓度为 4 mg/mL), 继续在 37 $^{\circ}$ C 恒温生化培养箱中培养 12 h。弃去培养基后, 加入 Live/Dead BacLightTM 试剂, 避光孵育 30 min 后于激光共聚焦显微镜下观察菌体染色情况。

对于大肠杆菌(图 10-A), SR 组在设置的质量

浓度条件下均有明显的菌落生长。当质量浓度为 1.00 mg/mL 时, CR 组菌落数量较少, 而 SR-CR 组的菌落数量明显多于 CR 组。结合活死菌荧光染色的结果 (图 11-A), CR 组可见明显的红色 (死菌), SR-CR 组红色 (死菌) 不明显, 说明 CR 组存在大量死菌, 菌体破坏后使得染料进入。

对于枯草杆菌二联活菌 (图 10-B), SR 组在设

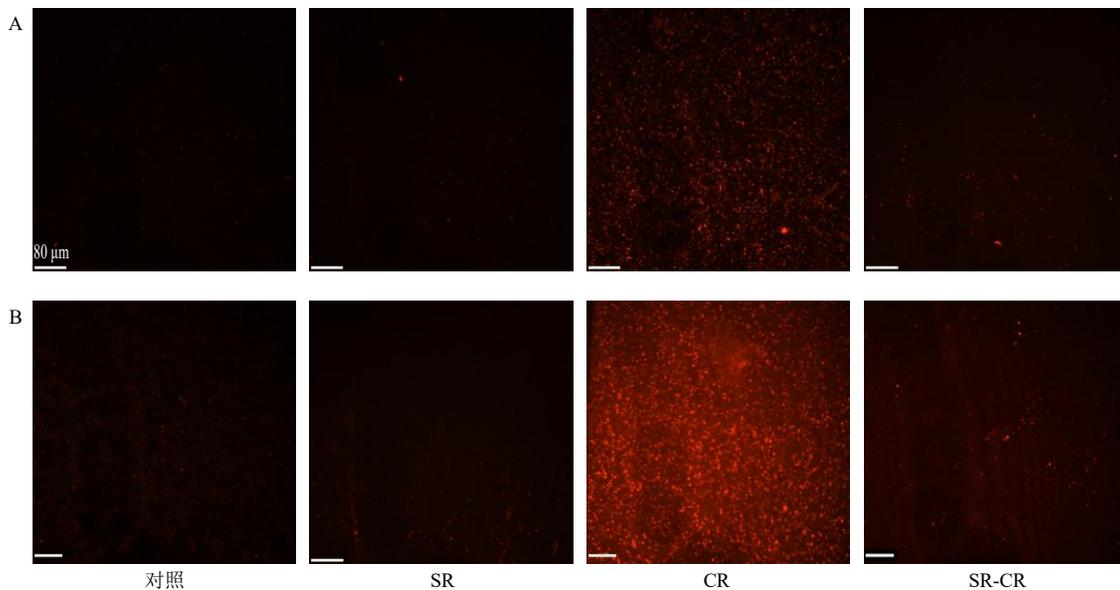
置的质量浓度条件下均有明显的菌落生长。在 0.25 mg/mL 的质量浓度条件下, SR-CR 组可见到明显的枯草杆菌菌落 (图中蓝色箭头所指) 和屎肠球菌菌落 (图中红色箭头所指), 而 CR 组仅可见数量较多的屎肠球菌菌落; 在 0.50、1.00 mg/mL 的质量浓度条件下, SR-CR 组同样可见到明显的枯草杆菌菌落和屎肠球菌菌落, 而 CR 组对枯草杆菌二联活菌的



A-大肠杆菌平板涂布; B-屎肠球菌 (红色箭头) 和枯草杆菌 (蓝色箭头) 平板涂布。
A-plate coating of *E. coli*; B-plate coating of *E. faecium* (red arrow) and *B. subtilis* (blue arrow).

图 10 SR、CR、SR-CR 的体外抑菌活性表征

Fig. 10 Antibacterial activity *in vitro* characterization of SR, CR, SR-CR



A-大肠杆菌; B-屎肠球菌和枯草杆菌二联活菌。
A-*E. coli*; B-*E. faecium* and *B. subtilis* live bacteria.

图 11 SR、CR、SR-CR 的活死菌荧光染色

Fig. 11 Staining characterization of live and dead bacteria of SR, CR, SR-CR

抑制作用明显,平板上仅可见少数的尿肠球菌菌落。

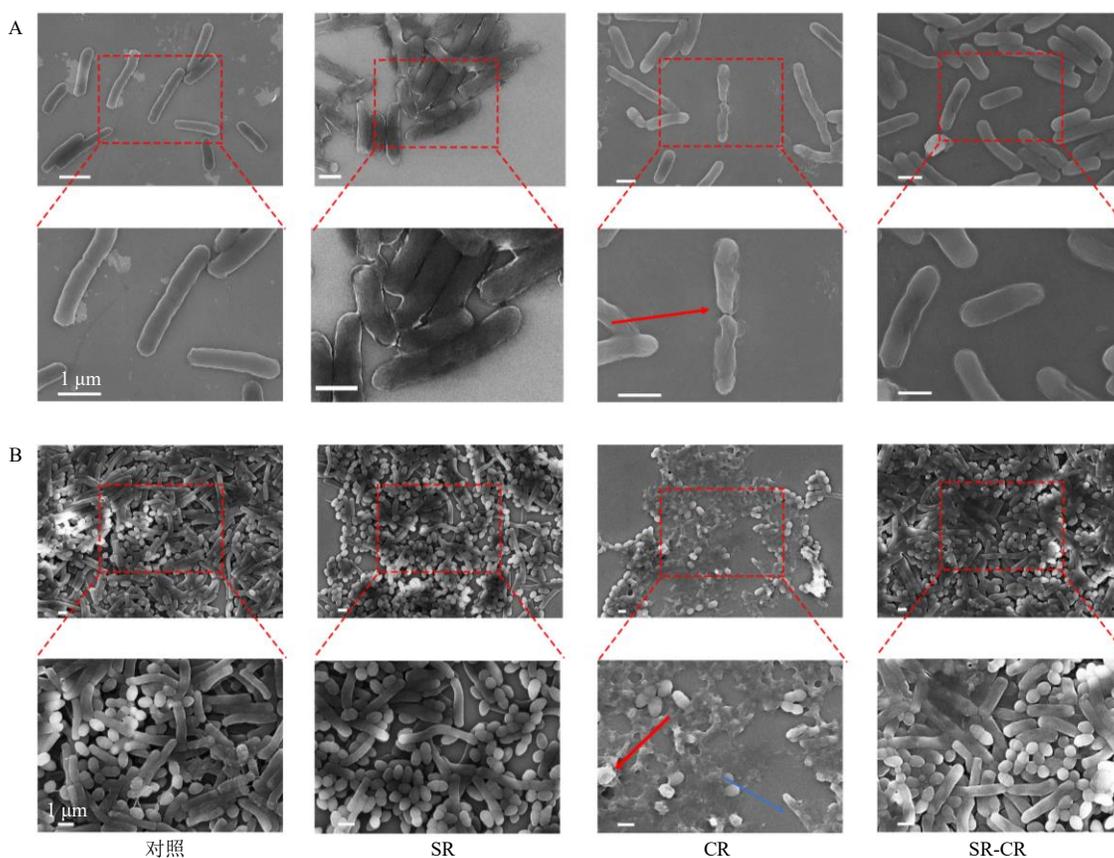
活死菌荧光染色的结果(图 11-B)同样显示,CR 组可见大量的红色(死菌),SR 组与共煎液组未见大量红色(死菌),说明 CR 组菌体破坏明显,使得染料进入,而共煎后抑菌作用缓和。

为观察样品与细菌作用之后细菌的形态学变化,按照上述细菌培养的实验方法,将 12 孔板在 37 °C 恒温箱中继续培养 12 h 后,收集细菌混悬液于离心管中,3 000 r/min 离心 5 min,收集菌体,加入 2.5%戊二醛后于 4 °C 固定 4 h。弃去戊二醛溶液,分别在 30%、50%、70%、80%、90%、100%乙醇中脱水(3 000 r/min, 10 min)。加入去离子水分散菌体,转移至硅片上,喷金后于 SEM 下观察。

通过 SEM 进一步观察各组样品对大肠杆菌的菌体破坏情况(图 12-A),发现仅 CR 组出现了明显的皱缩(图中红色箭头所指),SR 组和 SR-CR 组与模型组一致,未出现明显的菌体破坏,表明共煎液组缓和了黄连对大肠杆菌的抑制作用。

对于枯草杆菌二联活菌(图 12-B),对照组可观察到完好的枯草杆菌菌体和尿肠球菌菌体;SR 组和 SR-CR 组与对照组保持一致,未观察到明显的菌体破坏;CR 组菌体破坏作用较强,枯草杆菌菌体可以看到皱缩与凹陷(图中蓝色箭头所指),少量枯草杆菌菌体皱缩(图中红色箭头所指),这也与平板涂布的菌落生长情况相符合。

上述实验结果共同说明,黄芩-黄连经过配伍共



A-大肠杆菌(红色箭头)SEM 表征; B-屎肠球菌(红色箭头)和枯草杆菌(蓝色箭头)SEM 表征。

A-SEM characterization of *E. coli* (red arrow); B-SEM characterization of *E. faecium* (red arrow) and *B. subtilis* (blue arrow).

图 12 细菌形态学特征

Fig. 12 Morphological characterization of bacteria

煎煮后,含等量黄连组分的共煎液的苦寒之性缓和,对大肠杆菌、枯草杆菌、屎肠球菌的抑制与损伤作用减弱。

2.4 统计方法

采用 SPSS 27.0 软件对结果进行 *t* 检验,测量值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

3 讨论

基于相态变化,本研究探讨了煎煮方式(单煎和共煎)对黄芩-黄连超分子物质基础的影响,并从药性的角度初步阐释了黄芩-黄连药对配伍应用的科学内涵。黄芩与黄连配伍共煎后与单煎液(澄清态)相比具有明显的相态变化,出现浑浊现象。通

过动态光散射粒度和浊度表征的结果发现, 配伍共煎后浊度、粒径与单煎液相比明显增大, 且分散体系的相态稳定性增强, SEM下呈现为粒径600~800 nm的球形超分子。为探究这种相态变化产生的原因, 进行了紫外与红外等光谱学表征分析, 结合液质解析的结果, 共煎液由来自于黄芩与黄连的组分共同组成, 未检测出新的化合物, 可以说明这种相态变化产生(即球形超分子的形成)是两药对间成分相互作用的结果。而在生物活性方面, 黄芩与黄连配伍共煎后表现为明显的苦味下降, 对多种细菌(大肠杆菌、屎肠球菌和枯草杆菌)的抑制作用降低, 说明配伍可以“和合”黄连的苦寒之性。

肠道菌群作为一个复杂且庞大的微生态系统, 其多样性与人的健康状态紧密相连^[29]。肠道菌群的失调会引发多种疾病, 如2型糖尿病、炎症性肠病、心血管疾病^[30]等。众多研究表明, 黄芩-黄连药对及其天然活性成分可以影响肠道菌群平衡, 如黄连素-黄芩苷调节肠道菌群丰度及粪便代谢物表达, 改善湿热内蕴型2型糖尿病^[31]; 黄芩苷可以恢复林可霉素干扰的肠道形态和微生物群落平衡^[32]等。虽然苦寒中药可以通过调节肠道菌群从而祛除湿热之邪, 恢复脾胃功能, 在临床使用频率极高^[33], 但不当使用可致“苦寒败胃”, 引发腹泻等症状, 其生物学基础与肠道菌群失调相关^[34], 炮制^[35]或配伍^[36]可以“和合”苦寒之性, 从而实现苦寒中药的“祛邪不伤正”。

本课题组前期的研究发现, 黄芩-黄连的共煎煮是药效成分间相互作用的过程, 存在着药效成分通过 π - π 堆积、静电引力和疏水作用等弱键诱导下自组装形成中药超分子。如黄芩苷与小檗碱在静电引力下先形成两亲性复合物, 进而以此为基础单元组装^[9]; 黄芩苷与小檗碱混合可自组装形成纳米纤维, 煎煮后, 热能促使聚集体解聚, 降温后组装单元重组为均匀的纳米球形水凝胶^[28]; 汉黄芩苷与小檗碱自组装形成纳米纤维, 超分子形态差异与黄酮苷取代基及糖基构象差异有关, 同时由于空间结构的不同进一步导致了抗菌活性的差异^[10]。这提示SR-CR与单煎液相比, 在影响肠道菌方面存在差异可能与超分子体系的形成密切相关。比如, 课题组在对大黄-黄连药对的研究中发现, 超分子形成后在与菌体作用的过程中仍保持类球形, 封闭了药效成分与肠道菌直接作用的药效基团, 且药效成分缓慢释放, 从而减轻“苦寒败胃”的副作用^[7]。

复方与配伍是中医药临床应用的特色之一, 而药对作为连接单味药与方剂的桥梁^[37-38], 符合中药的“七情和合”理论。本研究聚焦于黄芩-黄连药对配伍共煎过程中的相态变化(浑浊现象), 从一定程度上揭示了中药配伍“和合”苦寒之性的科学内涵, 即配伍共煎后产生的相态变化(形成超分子)在“和合”单味药的苦寒之性中发挥了重要作用, 说明了临床“合渣服用”^[39]的合理性。当然, 肠道菌组成复杂, 且厌氧菌占大多数^[40], 后期仍需选择更具代表性的肠道菌种进行中药配伍对肠道菌群调控的探究。同时, 黄芩-黄连配伍共煎对药效的影响也需选择与临床相关联的动物模型展开研究, 以更好对临床含黄芩-黄连药对复方的使用提供指导。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭玉岩, 高滔, 李春城, 等. 酸碱药对甘草-马钱子配伍汤液沉积相态释放特性研究 [J]. 中草药, 2022, 53(10): 3000-3005.
- [2] 管庆霞, 周小影, 吕邵娃, 等. 中药复方汤剂多成分自组装纳米相态的形成原理及现状探析 [J]. 海南医学院学报, 2023, 39(11): 872-880.
- [3] 陈昂仔, 刘轲, 王彦华, 等. “苦寒败胃”的中医内涵及生物学基础 [J]. 中医学报, 2023, 38(1): 43-47.
- [4] 林龙飞, 陈功森, 李慧, 等. 黄芩-黄连煎煮共沉淀的物质基础、形貌以及对煎煮液体内过程的影响研究 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(21): 5790-5797.
- [5] 杨红莲, 段玉红, 胡锡琴. 黄连“健胃”、“败胃”的研究进展 [J]. 陕西中医, 2016, 37(7): 934-935.
- [6] 林晓钰, 田学浩, 黄雪梅, 等. 基于中药超分子化学探究大黄-黄连配伍平和“苦-寒”之性物质基础 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(22): 6066-6075.
- [7] 林晓钰, 卢继辉, 张瑶芝, 等. 基于中药超分子与肠道菌相互作用探讨大黄-黄连配伍和合的物质基础 [J]. 药学报, 2024, 59(2): 464-475.
- [8] Chen M, Wang P L, Li T, *et al.* Comprehensive analysis of Huanglian Jiedu Decoction: Revealing the presence of a self-assembled phytochemical complex in its naturally-occurring precipitate [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 195: 113820.
- [9] Li T, Wang P L, Guo W B, *et al.* Natural berberine-based Chinese herb medicine assembled nanostructures with modified antibacterial application [J]. *ACS Nano*, 2019, 13(6): 6770-6781.
- [10] 刘小靖, 李桐, 袁枝花, 等. 基于弱键诱导的小檗碱-黄酮苷类超分子“结构-构象-形态-活性”传导关系探讨中药配伍理论科学内涵 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7001-

- 7009.
- [11] 邓丽红. 泻心汤剂量配伍变化及其药物代谢动力学研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [12] 杨霞, 梁永林, 王志刚, 等. 基于“方药量-效关系”研究大黄黄连泻心汤治疗糖尿病 [J]. 陕西中医药大学学报, 2023, 46(1): 40-43.
- [13] 严优苻, 尹永芹, 郭丽冰. 紫外谱线组图谱法研究大黄不同配伍的化学成分变化 [J]. 时珍国医国药, 2011, 22(12): 2871-2873.
- [14] Seok J K, Kwak J Y, Choi G W, *et al.* *Scutellaria Radix* extract as a natural UV protectant for human skin [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(3): 374-379.
- [15] 陈蓉. 仔猪用黄芩苷锌预混剂的制备及质量控制研究 [D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2022.
- [16] 高红莉. 高纯度黄芩素及其光催化材料的制备与应用 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2022.
- [17] 陈影, 刘慧, 李普玲, 等. 黄芩不同炮制饮片的红外光谱特征分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(22): 77-81.
- [18] 龚海燕, 雷敬卫, 陈志红, 等. 不同厂家黄芩颗粒的红外光谱鉴别分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 84-88.
- [19] 武彦文, 肖小河, 孙素琴, 等. 黄连不同提取物的红外光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(1): 93-96.
- [20] 王亚丽, 何叶丽, 纪俊玲. 真丝织物的黄连超声波染色 [J]. 印染, 2016, 42(9): 15-19.
- [21] 宋蒙蒙. 黄芩-黄连药对及主要活性成分对 AhR-CYP1A 轴的调控研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2022.
- [22] 黄李璐, 夏厚林, 冯雨萍, 等. 木芙蓉叶乙酸乙酯部位抗氧化与抗炎作用研究及 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(9): 1528-1539.
- [23] 范倩, 吴晓纯, 蔡盛康, 等. 经典名方麦门冬汤汤化学成分的 UPLC-Q-Orbitrap-MS 分析 [J]. 广东药科大学学报, 2023, 39(1): 66-78.
- [24] 王婷婷, 安靓, 梁琨, 等. 基于 UPLC-LTQ-Orbitrap 高分辨质谱的葛根芩连汤的化学成分分析 [J]. 中草药, 2020, 51(6): 1498-1507.
- [25] 戴丽, 霍海如, 隋峰, 等. 基于苦味受体挖掘苦寒(味)中药药性的现代科学内涵 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(5): 923-928.
- [26] 潘志强. 基于 2015 年版《中国药典》解析常用中药药性特征 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(11): 1846-1852.
- [27] 张璞, 张耀, 桂新景, 等. 基于经典人群口尝法和电子舌法的中药饮片水煎液苦度叠加规律研究 [J]. 中草药, 2021, 52(3): 653-668.
- [28] Huang X M, Liu X J, Lin X Y, *et al.* Thermodynamics driving phytochemical self-assembly morphological change and efficacy enhancement originated from single and co-decoction of traditional Chinese medicine [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 527.
- [29] 汤齐, 高霞, 耿婷, 等. 肠道菌群与中药相互作用的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(17): 3629-3635.
- [30] 孙鹏伟, 皇甫卫忠. 肠道菌群与高血压关系的研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2024, 23(6): 751-755.
- [31] 陈梦婕, 刘艺敏, 周云, 等. 基于肠道菌群和代谢组学研究黄连素和黄芩苷配比对湿热内蕴型 2 型糖尿病粪菌移植小鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志. (2024-06-21) [2024-07-20]. <https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20240913>.
- [32] Zhang S F, Tang S L, Liu Z Q, *et al.* Baicalin restore intestinal damage after early-life antibiotic therapy: The role of the MAPK signaling pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2024, 204: 107194.
- [33] 卢冬雪, 陈昂仔, 刘峰, 等. 基于肠道菌群论苦寒药的临床应用 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(4): 567-572.
- [34] Rhoades N S, Hendrickson S M, Prongay K, *et al.* Growth faltering regardless of chronic diarrhea is associated with mucosal immune dysfunction and microbial dysbiosis in the gut lumen [J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(5): 1113-1126.
- [35] 严林, 王云, 贾哲, 等. 黄芩的炮制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(15): 264-271.
- [36] 李文, 王志家, 林晓钰, 等. 基于弱键诱导的超分子体系探讨甘草和合黄连“性-味-效”物质基础 [J]. 药学报, 2022, 57(6): 1901-1908.
- [37] 段冬梅, 王瑾, 荆达, 等. 黄连-肉桂药对的配伍机制及临床应用研究进展 [J/OL]. 实用中医内科杂志. (2023-12-20) [2024-07-20]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1187.R.20231219.1744.008.html>.
- [38] 李晓雨, 李双凤, 刘晓美, 等. 当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1415-1426.
- [39] 梅全喜, 郑依玲, 罗容, 等. 中药煮散的古代应用与现代研究新进展 [J]. 时珍国医国药, 2023, 34(9): 2225-2228.
- [40] Goma E Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: A review [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2020, 113(12): 2019-2040.

[责任编辑 郑礼胜]