

• 药剂与工艺 •

不同煎煮时间山豆根功效物质动态变化及其抗炎与免疫活性研究

朱庭华^{1,2}, 郭媛媛³, 邓云鹰¹, 蒋小华², 颜小捷², 卢凤来², 李典鹏^{2,4}, 海洪¹, 陈月圆^{2*}, 柏兆方^{3*}

1. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西 桂林 541006

2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室, 广西 桂林 541006

3. 解放军总医院 第五医学中心, 北京 100039

4. 广西科学院, 广西 南宁 530003

摘要: **目的** 探究不同煎煮时间对山豆根 *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* 功效物质的动态变化及其抗炎与免疫活性的影响, 为山豆根临床合理煎煮工艺优化提供科学依据。 **方法** 采用 HPLC 法, 对不同煎煮时间 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h) 山豆根样品构建指纹图谱, 并对其 7 种指标性成分进行定量分析, 探究山豆根功效物质随煎煮时间变化的动态规律。同时, 采用环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 试剂盒测定不同煎煮时间山豆根样品的抗炎作用; 此外, 运用蛋白质印迹法 (Western blotting) 分析不同煎煮时间山豆根样品对小鼠骨髓来源巨噬细胞 (bone-marrow-derived macrophages, BMDMs) 中干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 及干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 蛋白磷酸化水平的影响。 **结果** 不同煎煮时间山豆根样品指纹图谱共确定了 15 个共有峰, 指认了 7 种成分, 分别为金雀花碱 (峰 1)、氧化苦参碱 (峰 2)、氧化槐果碱 (峰 3)、苦参碱 (峰 8)、槐果碱 (峰 9)、三叶豆紫檀苷 (峰 10) 和高丽槐素 (峰 14)。7 种功效物质含量随煎煮时间呈现 3 种变化趋势: 其一, 先增后减——氧化苦参碱 (2.5 h 达峰值)、氧化槐果碱 (1.0 h 达峰值) 及高丽槐素 (2.5 h 达峰值) 均在特定时间点达到峰值后随煎煮时间延长而逐渐降低; 其二, 持续增加——苦参碱、槐果碱及三叶豆紫檀苷的含量随煎煮时间延长呈稳定上升趋势; 其三, 金雀花碱的含量在整个煎煮过程中含量波动较小, 基本保持稳定。体外抗炎活性测定结果表明, 随着煎煮时间的延长, 半数抑制浓度 (50% inhibitory concentration, IC₅₀) 呈下降趋势, 且 IC₅₀ 与三叶豆紫檀苷、苦参碱、槐果碱的含量均呈现显著负相关关系。Western blotting 结果显示, 山豆根提取物对 cGAS-STING 通路的调控作用呈现明显的煎煮时间依赖性。 **结论** 山豆根中 7 个指标成分 (金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素) 含量及抗炎、免疫活性与煎煮时间呈现显著关联; 研究揭示了其“煎煮时间-成分-活性”的动态关联规律, 为山豆根临床合理应用提供科学依据。

关键词: 山豆根; 煎煮时间; HPLC; 指纹图谱; 抗炎活性; 免疫活性; 环氧合酶-2; 蛋白质印迹法; 干扰素调节因子 3; 干扰素基因刺激因子; 金雀花碱; 氧化苦参碱; 氧化槐果碱; 苦参碱; 槐果碱; 三叶豆紫檀苷; 高丽槐素

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)23-8499-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.23.004

Study on dynamic changes of functional substances in *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* under different decoction times and their anti-inflammatory and immunomodulatory activities

ZHU Tinghua^{1, 2}, GUO Yuanyuan³, DENG Yunying¹, JIANG Xiaohua², YAN Xiaojie², LU Fenglai², LI Dianpeng^{2, 4}, HAI Hong¹, CHEN Yueyuan², BAI Zhaofang³

1. College of Chemical and Biological Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China

2. Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi

收稿日期: 2025-08-14

基金项目: 国家重点研发计划 (2022YFD1600302); 国家自然科学基金联合基金项目 (U23A20519); 广西岐黄学者资助项目 (GXQH202401)

作者简介: 朱庭华 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物功效物质研究与应用。E-mail: 3506009354@qq.com

*通信作者: 陈月圆 (1978—), 女, 硕士, 副研究员, 主要从事植物化学研究工作。E-mail: 279491680@qq.com

柏兆方 (1982—), 男, 博士, 副研究员, 主要从事中药药理与毒理研究。E-mail: baizf2008@hotmail.com

Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China

3. Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

4. Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530003, China

Abstract: Objective To investigate the dynamic changes of functional substances in Shandougen (*Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma*, STRR) under different decoction times and their effects on anti-inflammatory and immunomodulatory activities, so as to provide a scientific basis for optimizing the clinical decoction process of STRR. **Methods** This study employed HPLC to establish fingerprints and quantitative analysis of its seven indicator components of STRR samples at different decoction times (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0 h), so as to investigate the dynamic changes of STRR functional substances with decoction time. The anti-inflammatory effects of the STRR samples were determined using a cyclooxygenase-2 (COX-2) kit. Additionally, Western blotting was used to analyze the effects of STRR samples on the phosphorylation levels of interferon regulatory factor 3 (IRF3) and stimulator of interferon genes (STING) in mouse bone-marrow-derived macrophages (BMDMs). **Results** A total of 15 common peaks were identified in the fingerprints of STRR samples under different decoction times, among which seven components were identified: cytosine (peak 1), oxymatrine (peak 2), oxysophocarpine (peak 3), matrine (peak 8), sophocarpine (peak 9), trifolirhizin (peak 10), and maackiain (peak 14). The contents of the seven functional substances exhibited three changing trends with the extension of decoction time. Firstly, an initial increase followed by a decrease—oxymatrine (peaking at 2.5 h), oxysophocarpine (peaking at 1.0 h), and maackiain (peaking at 2.5 h) all reached their peak values at specific time points and then gradually decreased as the decoction time prolonged; Secondly, a continuous increase—the contents of matrine, sophocarpine, and trifolirhizin showed a steady upward trend with the extension of decoction time; Thirdly, cytosine exhibited minimal fluctuations in content throughout the decoction process, remaining relatively stable. *In vitro* anti-inflammatory activity assays showed that the 50% inhibitory concentration (IC₅₀) decreased with prolonged decoction time, and IC₅₀ was significantly negatively correlated with the contents of trifolirhizin, matrine, and sophocarpine. Western blotting results showed that the regulation of the cGAS-STING pathway by STRR extracts was significantly dependent on the decoction time. **Conclusion** The contents of the seven indicator components (cytosine, oxymatrine, oxysophocarpine, matrine, sophocarpine, trifolirhizin, and maackiain), along with the anti-inflammatory and immunomodulatory activities of STRR exhibited a significant correlation with decoction time. This study reveals the dynamic correlation rule of ‘decoction time-component-activity’, which provides a scientific basis for the rational clinical application of STRR.

Key words: *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma*; decoction time; HPLC; fingerprint; anti-inflammatory activity; immunomodulatory activity; cyclooxygenase-2; Western blotting; interferon regulatory factor 3; stimulator of interferon genes; cytosine; oxymatrine; oxysophocarpine; matrine; sophocarpine; trifolirhizin; maackiain

山豆根 *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* (STRR) 系豆科槐属植物越南槐 *Sophora tonkinensis* Gagnep. 的干燥根及根茎^[1], 始载于宋代《开宝本草》, 为“桂十味”道地药材之一。该药材主产于我国广西、贵州及广东等地区, 又名广豆根、苦豆根、山大豆根等, 其性寒味苦, 归肺、胃二经, 具有清热解毒、利咽消肿的功效, 临床常用于咽喉肿痛、火毒蕴结、齿龈肿痛、肠炎痢疾和口舌生疮等症的治疗^[2-3]。现代研究证实, 山豆根中含有黄酮类、生物碱类、皂苷类及多糖等活性成分。其中, 生物碱类成分(氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱和槐果碱等)为其主要药效成分, 已被《中国药典》2025 年版及多数文献作为质控指标^[4-6]。黄酮类则以高丽槐素、芒柄花素、三叶豆紫檀苷等为代表^[7-8]。药理学研究结果显示, 山豆根具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节、肝脏保护、心血管系统保护及降血糖等多重

药理活性^[9-12]。

临床上, 山豆根常以水煎方式入药, 其化学成分复杂, 煎煮过程中生物碱类成分的氧化型(如氧化苦参碱和氧化槐果碱)与还原型(如苦参碱和槐果碱)存在动态转化关系, 同时黄酮类亦伴随着转化^[13-14], 从而引起功效成分的含量产生变化, 而含量的变化直接影响其药效和毒性的发挥, 提示煎煮时间对山豆根中有效成分的含量和药理活性有显著影响。值得注意的是, 山豆根存在显著的双向药理特性。山豆根在临床应用中常见因超剂量使用(超过《中国药典》2025 年版规定的 3~6 g 剂量范围)、煎煮时间过长及配伍不当等导致的毒性事件频发^[15-17]。其毒性机制与生物碱类成分对神经系统的抑制作用密切相关, 具体表现为头晕、恶心、共济失调等神经系统症状, 严重时可引发呼吸抑制^[18]。这一毒性特征提示临床需严格遵循用药规范, 确保

用药安全。现行《中国药典》2025 年版虽规定日用量为 3~6 g, 但未明确煎煮工艺参数。

目前, 对山豆根药材的研究多集中在成分提取、分离、含量测定及药理药效等方面^[19-22], 然而其在煎煮过程中功效成分的动态变化与抗炎及免疫活性之间的关联尚未得到阐释。山豆根的体外抗炎活性主要通过抑制炎症介质的产生来实现, 如抑制环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的活性, 减少前列腺素的合成^[23]。其免疫活性可能与调节免疫细胞的功能、影响免疫信号通路有关, 如 cGAS-STING 信号通路。鉴于煎煮时间直接影响成分转化、药效及毒性, 系统研究不同煎煮时间下功效成分的动态变化与活性关联具有重要意义。因此, 本实验通过 HPLC 技术, 建立不同煎煮时间 (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h) 下的山豆根样品的指纹图谱, 并选取氧化苦参碱、苦参碱、氧化槐果碱、槐果碱、金雀花碱、三叶豆紫檀苷及高丽槐素 7 种成分为指标成分进行定量分析。这些指标成分的选择基于其明确的药效/毒性关联、煎煮过程中的转化特性、成分结构多样性和代表性。通过监测这些核心成分, 可全面反映山豆根煎煮过程中的成分的协同/拮抗作用机制。

在活性评价方面, 采用 COX-2 试剂盒测定不同煎煮时间山豆根水提物的抗炎活性作用; 并运用蛋白质印迹法 (Western blotting) 分析不同煎煮时间山豆根样品对小鼠骨髓巨噬细胞 (bone-marrow-derived macrophages, BMDMs) 中干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 及干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 蛋白磷酸化水平的影响。从炎症关键酶及天然免疫信号通路 2 个层面综合评价其免疫调节潜力。本研究旨在构建山豆根“时间-成分-活性”三维关联的煎煮工艺评价体系, 明确不同煎煮时长下功效物质动态变化及其抗炎与免疫活性, 尤其关注煎煮过程中还原型生物碱/氧化型生物碱的转化比例、高丽槐素的热稳定性等关键质量属性, 为山豆根临床“减毒存效”的合理应用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

PHS-2F 型 pH 计, 上海仪电科学仪器股份有限公司; LC-2030C 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; XS225A-SCS 型电子分析天平, 普利赛斯国际贸易有限公司; FA2204B 型电子天平, 上海天美天平仪

器有限公司; JP-040S 型超声波清洗机, 深圳洁盟清洗设备有限公司; OSB-2200 型水浴锅、EVELAN-1300 型旋转蒸发仪, 上海爱朗仪器有限公司; DHG-9240A 型电热鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; SP-Max 3500FL 型多功能酶标仪, 上海闪谱生物科技有限公司; TGL-12R 型医用离心机, 山东百欧医疗科技有限公司; Agilent Zorbax Bonus-RP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 安捷伦科技有限公司; HERA cell vios 160i 型恒温二氧化碳培养箱, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Spectra Max ID5 型酶标仪, 美国 Promega 公司; JJT1300 型生物超净工作台, 北京冠鹏净化设备有限公司; Vortex-Genie2T 型多功能漩涡混合器, 美国 Scientific Industries 公司。

1.2 药材与试剂

山豆根样品采收于广西壮族自治区百色市那坡县城厢镇弄底村弄力屯, 经广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所唐辉研究员鉴定为豆科槐属植物越南槐 *S. tonkinensis* Gagnep. 的干燥根和根茎。

对照品金雀花碱 (批号 MUST-24111516)、氧化苦参碱 (批号 MUST-24052712)、氧化槐果碱 (批号 MUST-24052804)、三叶豆紫檀苷 (批号 MUST-24091410)、苦参碱 (批号 MUST-24051706)、槐果碱 (批号 MUST-24090724)、高丽槐素 (批号 MUST-24032428), HPLC 测定质量分数均≥98.0%, 购自成都曼斯特生物科技有限公司。山豆根配方颗粒, 批号 22302083, 购自北京春风一方制药有限公司。

乙腈、甲醇, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 其他试剂均为分析纯; 娃哈哈纯净水, 杭州娃哈哈集团有限公司; COX-2 抑制剂筛选试剂盒 (编号 S0168), 上海碧云天生物技术股份有限公司; pIRF3 兔单克隆抗体, 美国 Genetex 公司; TMEM173/STING 单克隆抗体、HSP90 单克隆抗体, 美国 Proteintech 公司; DMEM 培养基、胎牛血清、Opti-mem 培养基, 批号分别为 11965092、C0232、2427634, 美国 Gibco 公司。

1.3 实验动物及细胞

6~8 周雄性 C57BL/6J 小鼠, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司。饲养于 SPF 环境中, 小鼠可以自由采食及饮水, 实验动物房有固定的 12 h/12 h 白天与黑夜循环交替。本实验中使用的巨噬细胞 (BMDMs), 分离自 8~10 周雄性 C57BL/6J 小鼠股骨骨髓, 于 DMEM 培养基 (含有

10%胎牛血清及 1%青霉素-链霉素双抗)中加入 50 ng/mL 小鼠巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF),置于 37 ℃、5% CO₂、湿度 95%的培养箱内进行培养。动物实验经中国人民解放军总医院第五医学中心批准,符合《实验动物管理条例》要求,动物实验伦理批准号为 IACUC-2024-0006。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 供试品溶液的制备 称取山豆根粉末(过 60 目筛)20 g,置于电炖盅中,加入 600 mL 纯水,分别煎煮 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h 后,室温下静置冷却,5 000 r/min 离心(离心半径为 12.92 cm)10 min,上清液移至 1 000 mL 分液漏斗中,加入二氯甲烷-氨水溶液(100:1),萃取,静置 1 h,取二氯甲烷层,萃取 2 次,合并 2 次二氯甲烷层溶液,将其旋转蒸发浓缩至一定浓度,60 ℃烘箱中烘干,置于干燥箱中,储藏备用。精密称取适量山豆根水提取物,加甲醇溶解,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,收集滤液,制得 6.67 mg/mL 供试品溶液,4 ℃储藏备用。

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取氧化苦参碱、苦参碱、金雀花碱、槐果碱、氧化槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素对照品适量,溶于甲醇中,配制成含氧化苦参碱 1.00 mg/mL、苦参碱 1.20 mg/mL、金雀花碱 1.00 mg/mL、槐果碱 0.10 mg/mL、氧化槐果碱 0.20 mg/mL、三叶豆紫檀苷 0.50 mg/mL、高丽槐素 0.25 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2 色谱条件

采用 Agilent Zorbax Bonus-RP C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为乙腈-0.1%磷酸-0.1%三乙胺(三乙胺调 pH 值 7),梯度洗脱:0~21 min, 5%~22%乙腈;21~26 min, 22%~26%乙腈;26~39 min, 26%~41%乙腈;39~45 min, 41%~46%乙腈;45~55 min, 46%~58%乙腈;55~60 min, 58%~80%乙腈;体积流量 0.8 mL/min;检测波长 220 nm;柱温 35 ℃;进样量 10 μL。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 精密吸取“2.1.2”项下混合对照品溶液 2、5、10、15、20、25 μL,按照“2.2”项下色谱条件分别进样测定,记录 7 种指标成分色谱峰的峰面积,以各化合物的进样量为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,进行线性回归,得到回归方程:金雀花碱 $Y=1\,759\,254X+292\,431$,

$R^2=0.999\,7$,线性范围 2.0~25.0 μg;氧化苦参碱 $Y=839\,251X+207\,150$, $R^2=0.999\,5$,线性范围 2.0~25.0 μg;氧化槐果碱 $Y=1\,786\,711X-22\,455$, $R^2=0.996\,0$,线性范围 0.4~5.0 μg;苦参碱 $Y=710\,483X+491\,822$, $R^2=0.999\,0$,线性范围 2.4~30.0 μg;槐果碱 $Y=964\,557X-19\,826$, $R^2=0.999\,5$,线性范围 0.2~2.5 μg;三叶豆紫檀苷 $Y=1\,159\,042X+85\,599$, $R^2=0.999\,6$,线性范围 1.0~12.5 μg;高丽槐素 $Y=3\,646\,760X+76\,081$, $R^2=0.999\,8$,线性范围 0.50~6.25 μg;7 种指标成分相关性系数均大于 0.996 0,表明各成分线性关系良好。

2.3.2 精密度考察 取山豆根样品,按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,按照“2.2”项下色谱条件连续进样检测 6 次,记录 7 种指标成分金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素色谱峰的峰面积,计算各成分峰面积的 RSD 值分别为 0.5%、0.3%、0.2%、0.1%、0.2%、0.6%、0.9%,7 种指标成分峰面积的 RSD 值均小于 0.9%,结果表明该仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性考察 取山豆根样品,按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,室温下分别于制备后 0、4、8、12、16、24 h,按照“2.2”项下色谱条件进样检测,并记录 7 种成分金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素色谱峰的峰面积,计算得到各成分峰面积的 RSD 值分别为 0.2%、0.1%、0.2%、0.1%、0.3%、0.8%、0.3%,结果供试品溶液在 24 h 内各成分峰面积 RSD 值均小于 0.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 重复性考察 取山豆根样品,按照“2.1.1”项下方法制备 6 份样品溶液,按照“2.2”项下色谱条件分别进样检测,并记录 7 种成分金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素色谱峰的峰面积,计算各成分峰面积的 RSD 值分别为 1.5%、0.6%、0.4%、0.4%、0.3%、0.9%、0.6%,结果 6 份平行样品各成分峰面积 RSD 值均低于 1.5%,表明该实验重复性良好。

2.3.5 加样回收率考察 取 7 种指标成分含量已测知的山豆根样品粉末约 10 g,称取 6 份,精密称定,分别加入与样品中金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷和高丽槐素含量相等的对照品,按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液,然后按照“2.2”项下色谱条件进样检测,

记录 7 种指标成分金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素色谱峰的峰面积，分别计算各成分的平均加样回收率及 RSD 值，结果 7 种指标成分的平均加样回收率分别为 99.2%、98.3%、98.9%、105.6%、103.6%、100.3%、100.1%，RSD 值分别为 1.6%、0.7%、1.4%、0.3%、0.6%、1.2%、0.9%，各成分平均回收率均大于 98.0%，且 RSD 值均小于 1.6%，表明该方法准确度良好。

2.4 不同煎煮时间山豆根样品的 HPLC 指纹图谱研究

2.4.1 不同煎煮时间山豆根样品指纹图谱的建立 称取 20 g 山豆根粉末（过 60 目筛），按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样检测，记录色谱图。将不同煎煮时间山豆根样品色谱数据输入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012）》，设置煎煮 5.0 h 山豆根样品的图谱为参照，采取中位数法，将时间窗宽度设置为 0.1 s，进行多点校正，建立不同煎煮时间山豆根样品的 HPLC 指纹图谱和对照指纹图谱（图 1-A），确认不同煎煮时间山豆根样品的 15 个共有峰。

2.4.2 共有峰的指认 取“2.1.2”项下混合对照品

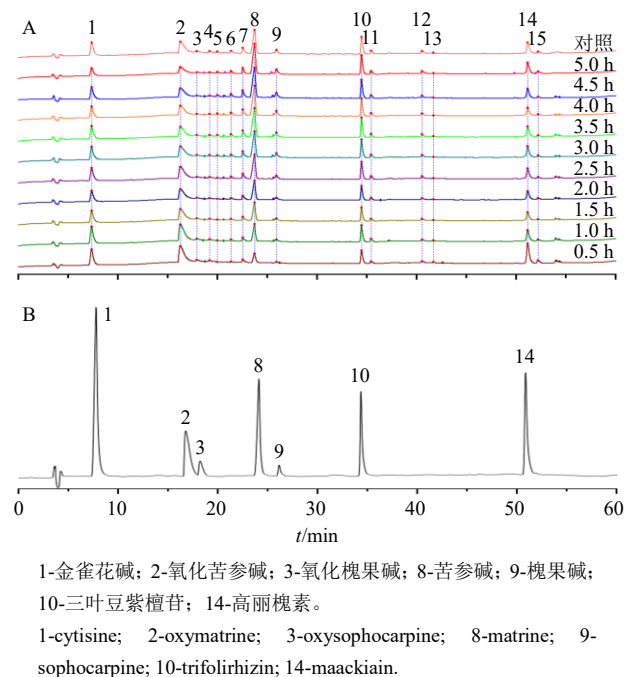


图 1 不同煎煮时间山豆根样品 HPLC 指纹图谱及其对照指纹图谱 (A) 和混合对照品 HPLC 图 (B)

Fig. 1 HPLC fingerprints of STRR samples with different decoction times, along with control fingerprint (A) and HPLC of mixed reference substances (B)

溶液，按照“2.2”项下色谱条件进样测定，得混合对照品溶液色谱图（图 1-B）。通过与供试品溶液出峰的保留时间比对，可指认不同煎煮时间山豆根样品共有峰 1~3、8~10、14 分别为金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素。

2.5 不同煎煮时间山豆根样品的化学指标成分含量测定

2.5.1 不同煎煮时间山豆根样品中各指标成分含量及其提取率 取山豆根粉末（过 60 目筛），按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液，每个样品平行制备 5 份，然后按照“2.2”项下色谱条件进样测定，记录各指标成分的峰面积，根据回归方程计算金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素的含量，结果见表 1，可以观察到提取率与成分转化之间的显著规律。总体而言，提取率呈现先上升后趋于平稳的趋势，在 2.5 h 时达到最高值 25.972%，随后维持在 25.202%~25.977%的稳定区间。这一变化趋势与各成分的溶出和转化规律密切相关。具体而言，氧化型生物碱（氧化苦参碱、氧化槐果碱）在 0.5~2.5 h 阶段随提取率上升而增加，其中，氧化苦参碱质量分数从 2.035 mg/g 升至 2.262 mg/g，氧化槐果碱质量分数从 0.130 mg/g 增至 0.145 mg/g；但在 2.5 h 后，随着提取率趋于稳定，氧化型生物碱质量分数显著下降，至 5.0 h 时，氧化苦参碱和氧化槐果碱分别降至 1.627 mg/g 和 0.113 mg/g。与之形成鲜明对比的是，其还原产物（苦参碱、槐果碱）在整个煎煮过程中持续积累，苦参碱从 0.389 mg/g 增至 3.467 mg/g，槐果碱从 0.040 mg/g 增至 0.306 mg/g。这种反向变化关系证实了长时间煎煮促进了氧化型生物碱（C=N 键）向还原型（C-N 键）的热力学驱动转化。对于黄酮类成分，三叶豆紫檀苷含量随提取率上升呈线性增长，从 0.401 mg/g 增至 0.953 mg/g，这与其糖苷键的保护作用密切相关。而高丽槐素在 2.5 h 时达到峰值 0.315 mg/g 后逐渐下降，至 5.0 h 时降至 0.129 mg/g，这与其 B 环的热解过程有关。值得注意的是，金雀花碱由于结构稳定性较高，其质量分数在 0.480~0.513 mg/g 波动，受煎煮时间影响最小。上述结果表明，山豆根煎煮过程中的提取率变化不仅反映了成分的溶出规律，更揭示了其化学成分的动态转化机制。氧化型生物碱的还原转化、黄酮类成分的溶出与热解等过程共同构成了山豆根煎

表 1 不同煎煮时间山豆根样品中 7 种指标成分的含量及其提取率 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Contents of seven indicator components in STRR samples with different decoction times and their extraction yields ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

煎煮 时间/h	质量分数/(mg·g ⁻¹)							提取率/%
	金雀花碱	氧化苦参碱	苦参碱	氧化槐果碱	槐果碱	三叶豆紫檀苷	高丽槐素	
0.5	0.480±0.007 ^a	2.035±0.021 ^{cd}	0.389±0.074 ^j	0.130±0.008 ^c	0.040±0.008 ^g	0.401±0.027 ^f	0.140±0.037 ^{de}	21.928±1.148 ^b
1.0	0.493±0.033 ^a	2.135±0.055 ^{bc}	0.942±0.043 ⁱ	0.162±0.004 ^a	0.084±0.008 ^f	0.518±0.026 ^e	0.158±0.004 ^{de}	23.947±1.658 ^{ab}
1.5	0.476±0.050 ^a	2.195±0.074 ^{ab}	1.407±0.186 ^h	0.138±0.003 ^{bc}	0.122±0.007 ^e	0.664±0.076 ^d	0.230±0.063 ^{bc}	23.970±1.631 ^{ab}
2.0	0.505±0.049 ^a	2.215±0.155 ^{ab}	1.897±0.011 ^g	0.142±0.007 ^{bc}	0.169±0.018 ^d	0.708±0.031 ^{cd}	0.264±0.040 ^b	24.712±1.255 ^a
2.5	0.489±0.040 ^a	2.262±0.059 ^a	2.334±0.174 ^f	0.145±0.011 ^b	0.202±0.019 ^c	0.780±0.049 ^c	0.315±0.028 ^a	25.972±1.364 ^a
3.0	0.513±0.039 ^a	1.978±0.103 ^d	2.756±0.202 ^e	0.143±0.005 ^{bc}	0.255±0.016 ^b	0.861±0.031 ^b	0.191±0.044 ^{cd}	25.977±0.794 ^a
3.5	0.483±0.044 ^a	1.672±0.042 ^c	3.071±0.002 ^d	0.114±0.009 ^d	0.292±0.006 ^a	0.914±0.040 ^{ab}	0.179±0.045 ^{cde}	25.412±0.867 ^a
4.0	0.496±0.020 ^a	1.676±0.163 ^c	3.252±0.123 ^c	0.113±0.011 ^d	0.293±0.018 ^a	0.915±0.069 ^{ab}	0.173±0.042 ^{de}	25.319±0.528 ^a
4.5	0.498±0.040 ^a	1.677±0.112 ^c	3.347±0.005 ^{ab}	0.108±0.014 ^d	0.291±0.016 ^a	0.951±0.071 ^a	0.156±0.040 ^{de}	25.752±0.433 ^a
5.0	0.478±0.032 ^a	1.627±0.020 ^c	3.467±0.074 ^a	0.113±0.018 ^d	0.306±0.021 ^a	0.953±0.064 ^a	0.129±0.016 ^e	25.202±1.337 ^a

同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 下同。

Data in the same column with different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$); Same as below.

煮过程中的化学物质基础,为阐明其“减毒存效”的科学内涵提供了重要依据。

2.5.2 聚类分析 将金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷和高丽槐素 7 个指标性成分含量经归一化处理后作为评价指标,采用 Hiplot Pro (<https://hiplot.com.cn/>) 中的聚类热图工具进行分析,结果见图 2。结果表明,不同煎煮时间的山豆根样品可分为 2 类,煎煮 3.5、4.0、4.5、5.0 h 山豆根样品为第 I 类,该类样品中苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷的含量较高,提示煎煮 3.5~5.0 h 期间可以有效促进山豆根中苦参碱、

槐果碱、三叶豆紫檀苷的提取;煎煮 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 山豆根样品为第 II 类,该类样品中金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、高丽槐素的含量较高,表明煎煮 0.5~3.0 h 期间有利于山豆根中金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、高丽槐素的溶出;从 2 类样品的热图颜色深浅可以看出,山豆根样品在水煎提取过程中成分的含量发生了变化,可能与这些成分在煎煮过程发生降解、转化或稳定性下降有关。

2.6 不同煎煮时间指标成分的煎煮动态变化

山豆根煎煮过程中 7 种指标成分的含量呈现显

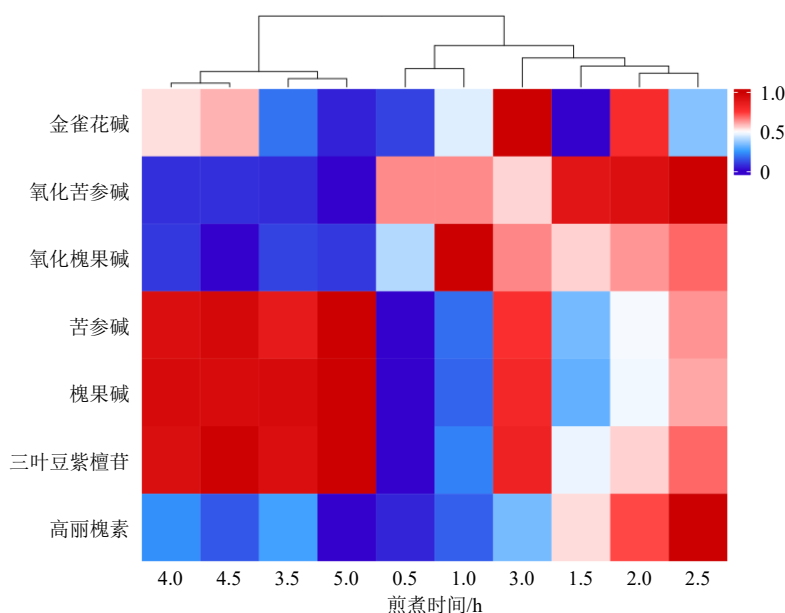


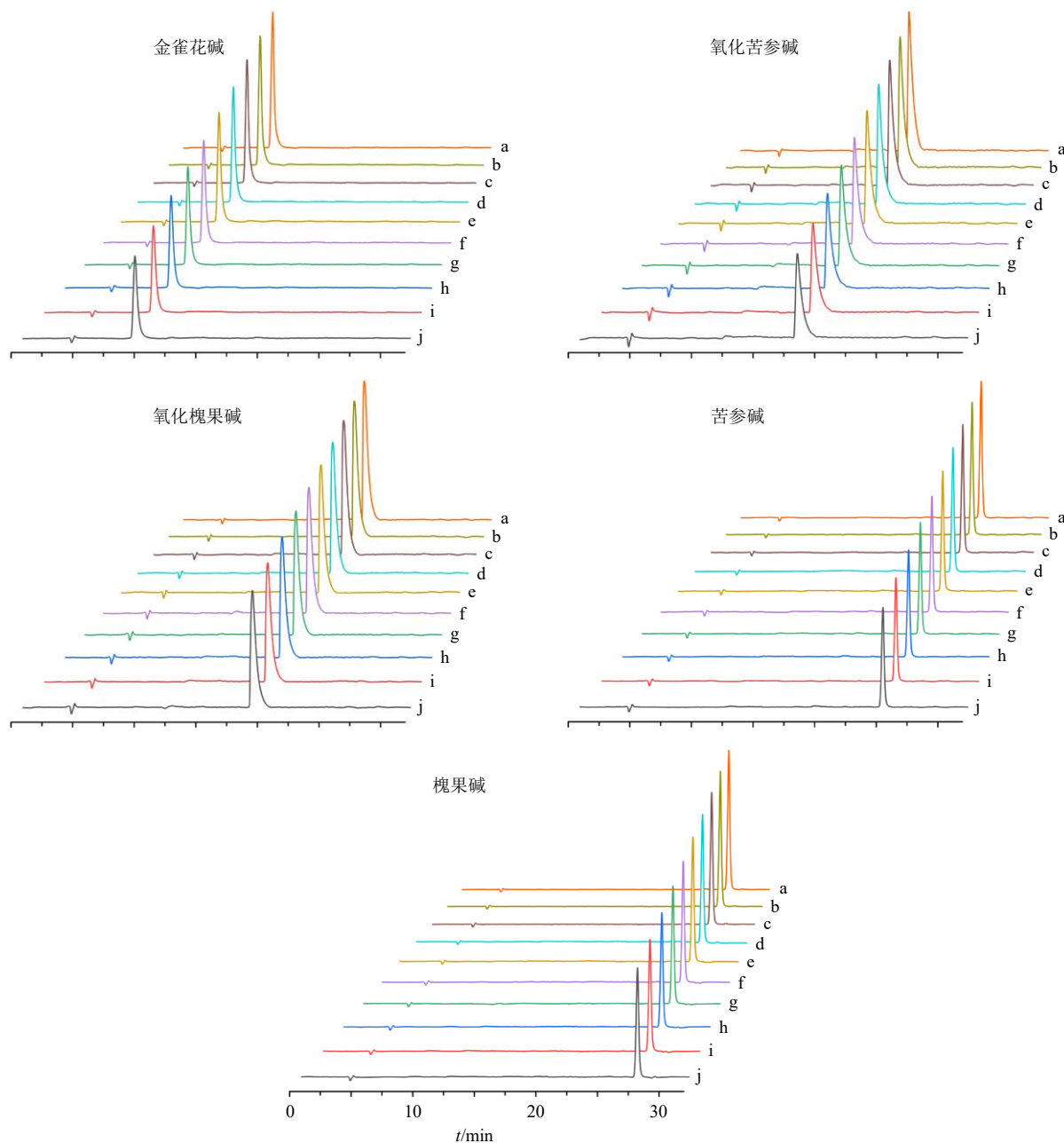
图 2 不同煎煮时间山豆根样品中 7 个指标成分聚类热图

Fig. 2 Cluster heat map of seven indicator components in STRR samples under different decoction times

著的动态变化。为深入探究其转化机制，本实验开展了相应单体成分的煎煮实验。精密称取氧化苦参碱、苦参碱、金雀花碱、槐果碱和氧化槐果碱对照品各适量，分别以纯水溶解，制备成质量浓度均为 1.00 mg/mL 的单一对照品溶液。将各对照品溶液分别置于电炖盅中进行独立煎煮，分别于煎煮 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h 时间点精密量取 1 mL 样本，作为高效液相色谱分析样品，并于每次取样后立即补加 1 mL 纯水以维持体系体积

恒定。由于三叶豆紫檀苷和高丽槐素在水中的溶解度较差，未将其纳入本次煎煮动态变化研究。取不同煎煮时间单体成分溶液，按照“2.2”项下的色谱条件进样测定，结果见图 3。

随着煎煮时间的延长，各单体成分仅因取样补水平行操作导致浓度稀释而出现含量下降，而并未出现新的色谱峰或保留时间偏移，提示无新生成分或结构转化现象发生，表明单一指标成分在单纯长时间煎煮条件下无法独立发生转化。结合“2.5.1”



a~j-对照品分别煎煮 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 h 样品。

a~j-reference substance samples decocted for 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 and 5.0 h respectively.

图 3 不同煎煮时间 5 种指标成分的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of five indicator components with different decoction times

项下提取率变化趋势——提取率在 2.5 h 达到峰值 (25.972%) 后趋于稳定, 可以看出成分的溶出与转化过程与整体提取行为密切相关。综上可知, 山豆根煎煮过程中发生的成分转化现象依赖于药材中多组分共存体系及热效应的协同作用, 体现了药材整体煎煮体系的复杂性与特异性。

2.7 不同煎煮时间山豆根样品体外抗炎活性

2.7.1 供试品溶液的配制 取不同煎煮时间山豆根样品, 按照“2.1.1”项下方法制备供试品溶液, 所得提取物于 60 °C 烘箱中烘干, 置于干燥箱中储藏备用。针对煎煮 0.5~2.0 h 的样品, 采用 DMSO 水溶液 (20% DMSO) 作为溶剂, 将其溶解并配制为 18.96 mg/mL 的储备液, 再依次稀释为 14.22、10.67、8.00、6.00、4.50、3.38 mg/mL 的供试品溶液, 置于 4 °C 保存备用; 对于煎煮 2.5~5.0 h 的样品, 由于其溶解性较好, 直接采用 COX-2 试剂盒中的缓冲液作为溶剂, 配制 7.11 mg/mL 储备液, 并进一步稀释为 5.33、4.00、3.00、2.25、1.69 mg/mL 的供试品溶液。为确保实验结果的准确性, 本研究特别设置了 DMSO 空白对照组, 并在计算抑制率时扣除空白对照孔的荧光值, 有效消除了 DMSO 对检测体系的潜在干扰。

2.7.2 不同煎煮时间山豆根样品抗炎活性测定 根据 COX-2 抑制剂筛选试剂盒说明书方法测定, 每个样品重复 3 次, 记录每个样品孔和空白对照孔的平均荧光值 (relative fluorescence unit, RFU), 依据公式计算每个样品不同浓度的抑制率, 并拟合回归曲线, 计算得到半数抑制浓度 (50% inhibitory concentration, IC₅₀)。不同煎煮时间山豆根样品对 COX-2 的 IC₅₀ 见表 2。山豆根样品的 IC₅₀ 随着煎煮时间的延长而下降, 其中煎煮 5.0 h 山豆根样品的 IC₅₀ 最低, 煎煮 0.5 h 山豆根样品的 IC₅₀ 最高。

抑制率 = (RFU_{100%酶活性对照} - RFU_{样品}) / (RFU_{100%酶活性对照} - RFU_{空白对照})

表 2 不同煎煮时间山豆根样品对 COX-2 的 IC₅₀ 值

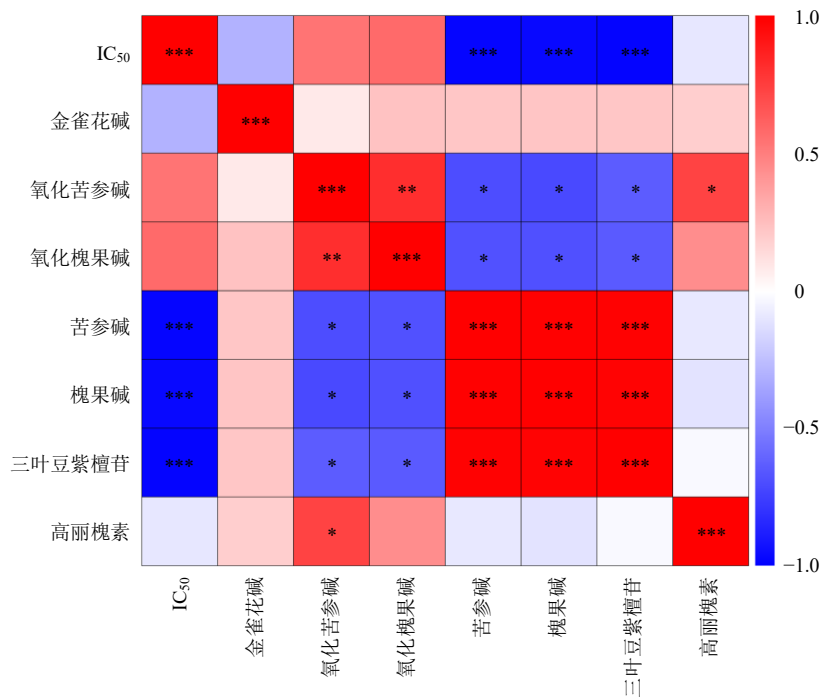
Table 2 IC₅₀ of STRR samples with different decoction times on COX-2

煎煮时间/h	IC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)	煎煮时间/h	IC ₅₀ /(mg·mL ⁻¹)
0.5	0.660±0.005 ^a	3.0	0.334±0.009 ^d
1.0	0.594±0.010 ^b	3.5	0.323±0.002 ^e
1.5	0.429±0.020 ^c	4.0	0.297±0.004 ^f
2.0	0.424±0.001 ^c	4.5	0.269±0.007 ^g
2.5	0.344±0.002 ^d	5.0	0.262±0.010 ^g

2.7.3 不同煎煮时间山豆根主要成分含量与抗炎药效之间的相关性分析 采用 Pearson 相关性分析评估 IC₅₀ 值与不同煎煮时间山豆根主要成分含量的相互依赖性, 结果见图 4。由图 4 可知, 相关系数介于 -1.0~1.0, 其绝对值与颜色深浅相关, 颜色越红表示相关系数越接近 1, 越蓝则越接近 -1; *P* 值代表相关性的显著程度, *P* 值越小, 表明相关性越显著。分析结果表明, IC₅₀ 与苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素、金雀花碱的含量均呈负相关, 表明这些成分的含量越高, 抑制效果越好, 其中 IC₅₀ 与三叶豆紫檀苷 (-0.983) 相关性最好, 其次是苦参碱 (-0.979)、槐果碱 (-0.969)、金雀花碱 (-0.303), 与高丽槐素相关性最差, 仅 -0.093; IC₅₀ 与氧化苦参碱、氧化槐果碱含量均呈正相关, 表明该类成分的含量越高, 抑制效果越差。

2.8 不同煎煮时间山豆根样品对 cGAS-STING 信号通路的影响

2.8.1 不同煎煮时间山豆根样品对小鼠 BMDMs 细胞活力的影响 将小鼠 BMDMs 细胞以 1.1×10⁶ 个细胞/mL 的密度接种至 96 孔板, 0.1 mL/孔, 置于细胞培养箱中过夜培养至完全贴壁。随后, 分别加入 0、0.125、0.250、0.500、1.000、2.000 mg/mL 的含山豆根样品的培养基, 每组设 3 个复孔。继续培养 12 h 后, 采用 ATP 生物发光法 (Promega, G7572) 检测细胞活性。其检测流程如下: 每孔加入 0.1 mL ATP 检测试剂, 轻柔振荡 96 孔板使溶液充分混匀, 室温避光孵育 10 min; 随后, 每孔吸取 0.1 mL 反应上清液转移至不透光白色 96 孔板中, 使用酶标仪测定样品的发光强度, 计算细胞相对活力。实验结果见表 3。结果表明, 在 0.500 mg/mL 的质量浓度下, 山豆根样品开始对小鼠 BMDMs 细胞产生毒性反应; 当质量浓度升至 2.000 mg/mL 时, 细胞全部死亡。特别地, 观察到在质量浓度为 0.500 mg/mL 时, 1.0 h 时间点的细胞活性显著下降, 分析原因可能是由于煎煮初期 (1.0 h 时) 山豆根中的生物碱等毒性成分快速溶出且尚未充分分解, 导致煎煮物中活性毒性成分相对含量较高, 对细胞活力产生明显抑制作用; 同时, 此时间点煎煮液中的某些成分可能转化生成细胞毒性更强的中间产物, 进一步加剧了对细胞的毒性影响; 而随着煎煮时间延长, 样品中具有保护作用的成分逐渐释放并发挥效应, 或高毒性中间产物继续分解、转化为低毒物质, 从而使得在 0.500 mg/mL 的给药质量浓度下, 1.0 h 成为细



* $P<0.05$ ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

图 4 相关系数热图

Fig. 4 Thermal diagram of correlation coefficient

表 3 ATP 法测定不同煎煮时间山豆根样品各质量浓度作用于 BMDMs 细胞的毒性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 ATP assay for evaluating cytotoxicity of different concentrations of STRR samples with different decoction times in BMDMs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

煎煮 时间/h	细胞相对活力/%					
	0 mg·mL ⁻¹	0.125 mg·mL ⁻¹	0.250 mg·mL ⁻¹	0.500 mg·mL ⁻¹	1.000 mg·mL ⁻¹	2.000 mg·mL ⁻¹
0.5	100.00±3.67	100.95±3.60	99.94±3.40	76.26±2.77***	0.60±0.02***	0.09±0.01***
1.0	100.00±1.82	99.19±1.82	94.11±3.89	48.74±2.14***	0.20±0.02***	0.08±0.02***
1.5	100.00±3.52	103.11±1.37	98.75±1.15	77.85±3.01***	2.01±0.38***	0.08±0.01***
2.0	100.00±3.44	101.14±2.32	99.39±1.69	97.08±3.57	33.81±1.59***	0.11±0.01***
2.5	100.00±3.49	100.25±3.28	100.06±2.52	94.80±3.09	27.62±8.31***	0.13±0.01***
3.0	100.00±1.20	101.40±2.89	98.67±3.73	95.68±2.63	27.96±1.50***	0.15±0.02***
3.5	100.00±3.58	102.30±3.03	101.68±1.27	92.03±3.13	58.54±2.11***	0.40±0.11***
4.0	100.00±1.01	98.69±2.63	101.56±1.65	96.09±1.87	60.32±1.54***	0.28±0.07***
4.5	100.00±3.32	98.10±2.00	95.31±2.12	88.11±2.52**	25.94±2.95***	0.14±0.02***
5.0	100.00±2.36	97.70±2.29	95.78±1.27	83.09±3.35***	59.60±3.86***	0.40±0.11***

与相同煎煮时间下的 0 mg·mL⁻¹ 比较: ** $P<0.01$ *** $P<0.001$ 。

** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs 0 mg·mL⁻¹ at the same decocting time.

胞活性显著下降的特定时间点。因此，在后续相关细胞实验中，将给药质量浓度设置为 0.250 mg/mL。

细胞相对活力=(给药孔发光强度-空白对照孔发光强度)/(对照孔发光强度-空白对照孔发光强度)

2.8.2 不同煎煮时间山豆根样品对小鼠 BMDMs 细胞 cGAS-STING 信号通路相关蛋白磷酸化水平的影响 将 BMDMs 细胞以 1.1×10^6 个细胞/mL 的密

度接种于 24 孔板，0.5 mL/孔，置于细胞培养箱中过夜培养至完全贴壁。随后，分别给予质量浓度为 0.25 mg/mL 的不同煎煮时间山豆根样品进行处理，并以同质量浓度（0.25 mg/mL）的山豆根配方颗粒作为对照。药物预处理 1 h 后，所有实验组均加入干扰素刺激 DNA（interferon stimulatory DNA，ISD，2.5 μg/mL）进行刺激。刺激 2 h 后收集细胞，裂解

获得全蛋白提取物。蛋白样品经煮沸变性后，通过 Western blotting 检测细胞裂解液中磷酸化 IRF3 (p-IRF3)、磷酸化 STING (p-STING) 以及总 STING 和 IRF3 蛋白的表达水平，实验结果见图 5 和表 4。

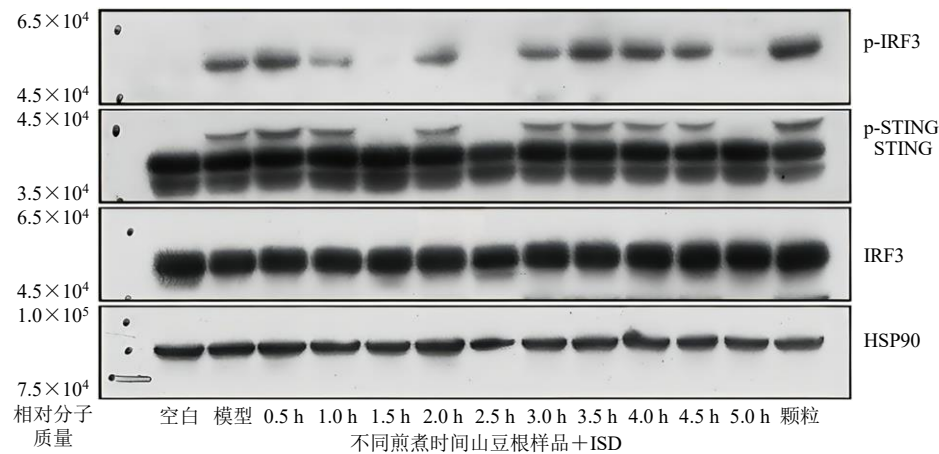


图 5 不同煎煮时间山豆根样品在 BMDMs 中对 ISD 激活的 cGAS-STING 信号通路相关蛋白磷酸化水平的影响
Fig. 5 Effects of different decoction times on phosphorylated protein expression levels related to the cGAS-STING signaling pathway activated by ISD in BMDMs

表 4 不同煎煮时间山豆根样品在 BMDMs 中对 ISD 激活的 cGAS-STING 信号通路相关磷酸化蛋白表达量的影响

Table 4 Effects of different decoction times on the expression levels of phosphorylated proteins related to the cGAS-STING signaling pathway activated by ISD in BMDMs

组别	煎煮时间/h	蛋白相对表达量	
		p-IRF3/IRF3	p-STING/STING
空白	—	0.066 ± 0.019	0.026 ± 0.008
模型	—	0.575 ± 0.071	0.231 ± 0.054
山豆根	0.5	0.845 ± 0.073**	0.498 ± 0.080***
	1.0	0.348 ± 0.141*	0.229 ± 0.071
	1.5	0.039 ± 0.009***	0.047 ± 0.016**
	2.0	0.786 ± 0.043	0.232 ± 0.044
	2.5	0.033 ± 0.006***	0.041 ± 0.012**
	3.0	0.661 ± 0.076	0.226 ± 0.029
	3.5	1.032 ± 0.015***	0.350 ± 0.024
	4.0	1.002 ± 0.101***	0.365 ± 0.075
	4.5	0.642 ± 0.119	0.343 ± 0.029
山豆根颗粒	5.0	0.038 ± 0.026***	0.081 ± 0.004*
	—	1.543 ± 0.077***	0.415 ± 0.055**

与模型组比较：* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

Western blotting 结果表明，山豆根提取物对 cGAS-STING 信号通路的调控作用呈现明显的煎煮时间依赖性。具体表现为煎煮 0.5 h 时，山豆根提取物可显著促进 cGAS-STING 通路的激活；煎煮 1.0~1.5 h 时，其作用转为抑制，且抑制效果随煎煮时间延长而增加；煎煮 2.0 h 时，无抑制效应；煎煮 2.5

h 时，抑制作用重现；煎煮 3.5 h 时，促进作用重现；煎煮 4.0~5.0 h 时，逐渐转为抑制效应。上述动态变化趋势提示，山豆根中的活性成分可能随煎煮时间延长而发生化学转化或热降解，从而影响其对 cGAS-STING 通路的调控作用。该结果为进一步研究山豆根的药效物质基础及其作用机制提供了重要线索。

3 讨论

山豆根作为典型的“药毒并存”中药材，其药效与毒性均与生物碱类、黄酮类成分密切相关^[24-25]。药理学研究表明，苦参碱和氧化苦参碱不仅是《中国药典》2025 年版规定的质量控制指标（以二者含量之和为标准）^[1]，更是其抗炎活性的核心物质基础^[26-27]；研究表明，槐果碱在体外和体内均能发挥抗炎作用，其可降低脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 内炎症因子 TNF- α 、IL-6 的表达，并减轻硫酸铜暴露下斑马鱼的炎症反应^[28]；氧化槐果碱可以通过调节 ERK1/2-COX-2-PGE2 通路改善小鼠炎性疼痛作用，抑制脂多糖诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 释放炎症因子 TNF- α ^[29]。

黄酮类化合物如高丽槐素、三叶豆紫檀苷亦被证实具有明显的抗炎作用^[8,30]。然而，此类成分在水煎煮过程中易发生动态转化——氧化型生物碱可能向还原型生物碱转化，部分黄酮类物质的结构也会发生改变，这一过程极可能对山豆根的“药效-毒性”平衡产生关键影响。

本研究通过 HPLC 指纹图谱及 7 种指标成分

(金雀花碱、氧化苦参碱、氧化槐果碱、苦参碱、槐果碱、三叶豆紫檀苷、高丽槐素)的定量分析发现,山豆根中成分含量与煎煮时间呈现显著相关性:氧化型生物碱(氧化苦参碱、氧化槐果碱)的含量分别于煎煮 2.5、1.0 h 时达峰值后下降,而还原型生物碱(苦参碱、槐果碱)的含量随煎煮时间延长持续增加;金雀花碱含量波动较小,稳定性较高;三叶豆紫檀苷含量随煎煮时间持续上升,高丽槐素则在 2.5 h 前递增、之后递减。聚类热图分析进一步将煎煮样品分为 2 类:第 I 类(3.5~5.0 h)以苦参碱、槐果碱和三叶豆紫檀苷等高含量成分为特征;第 II 类(0.5~3.0 h)则以氧化型生物碱和高丽槐素为主。结合单体对照品煎煮实验(未见转化现象),说明药材整体煎煮过程中发生的成分变化源于化合物间的相互作用或药材基质的热催化效应,而非单一成分的热不稳定性。这一现象与崔健等^[13]提出的“氧化苦参碱因含 N→O 配位键,在与醛基、羟基等化合物共煎时易还原为苦参碱”的机制一致,且与冷晓红等^[14]关于氧化槐果碱-槐果碱转化规律的研究结果高度吻合。进一步分析认为,山豆根水煎液氧化型生物碱在高温长时间煎煮中发生的 N-氧化物还原反应是其转化的关键驱动因素——该反应生成的还原型生物碱(如苦参碱)脂溶性更强,虽可能增强部分药效(如抗炎活性),但也可能因浓度过高加剧神经毒性风险,提示过度煎煮可能破坏“减毒存效”的平衡。

抗炎活性评价显示,随煎煮时间延长,山豆根提取物对 COX-2 的抑制活性增强(IC₅₀ 从 0.660 mg/mL 降至 0.262 mg/mL)。Pearson 相关性分析显示,山豆根的抗炎活性与苦参碱、槐果碱及三叶豆紫檀苷含量高度相关,说明这些成分是其抗炎药效的关键贡献者。这与周沁阳等^[31]、Zhou 等^[32]关于“苦参碱类及黄酮类成分是抗炎主效物质”的结论一致,验证了本研究结果的可靠性。免疫活性方面,山豆根提取物对 cGAS-STING 信号通路的调控呈现复杂的煎煮时间依赖性:0.5 h 样品促进通路激活,1.0~1.5 h 及 2.5 h 后转为抑制,3.5 h 再次促进,4.0~5.0 h 又显抑制。这种动态波动与成分转化进程高度吻合,提示不同化学组分及其相对含量变化共同调控了免疫应答方向,也为山豆根“双向免疫调节”的传统认知提供了现代科学解释。

综上,山豆根的“药效-毒性”平衡高度依赖于煎煮时间:适度延长煎煮时间可促进氧化型生物碱

向还原型生物碱转化(增强抗炎活性)及黄酮类成分溶出(如三叶豆紫檀苷),但过度煎煮可能因还原型生物碱浓度过高增加毒性风险(如神经毒性),同时导致部分黄酮类成分(如高丽槐素)结构破坏。因此,临床应用中需针对性优化煎煮工艺,以在“提高药效成分溶出”与“降低毒性风险”间取得平衡。本研究虽揭示了山豆根“煎煮时间-成分-活性”的动态关联规律,但关于其具体毒性成分的量化阈值、cGAS-STING 通路调控的分子机制等仍需进一步深入研究,以期临床“精准用药”提供更全面的科学依据。

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. 2025: 29.
- [2] 李曦, 高健美, 龚其海. 山豆根药理作用及毒性研究进展 [J]. 世界中医药, 2022, 17(5): 743-747.
- [3] Yoo H, Kang M, Pyo S, *et al.* SKI3301, a purified herbal extract from *Sophora tonkinensis*, inhibited airway inflammation and bronchospasm in allergic asthma animal models *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 206: 298-305.
- [4] 张丽慧, 郭春艳, 张文旭, 等. 不同干燥方法对山豆根主要有效成分含量的影响 [J]. 中国药师, 2020, 23(2): 348-351.
- [5] Zhou S Y, Wu X H, Huang Y X, *et al.* Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of alkaloids from *Radix Sophorae Tonkinensis* with an ethanol/Na₂HPO₄ system: Process optimization, composition identification and quantification analysis [J]. *Ind Crops Prod*, 2018, 122: 316-328.
- [6] 何超然, 李哲, 李任, 等. HPLC 法同时测定山豆根中 4 种生物碱及其含量 [J]. 中国药物应用与监测, 2018, 15(2): 77-81.
- [7] 潘其明, 黄日镇, 潘英明, 等. 山豆根的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 96-100.
- [8] 傅月朦, 余登香, 王淑娜, 等. 山豆根黄酮类成分药理作用及机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(19): 6234-6244.
- [9] 周思雨, 陈金鹏, 刘志东, 等. 山豆根的化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(5): 1510-1521.
- [10] 张胜利, 王超众, 闫广利, 等. 山豆根抗肿瘤活性成分及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(20): 6844-6855.
- [11] Zhao Q, Wei M J, Zhang S B, *et al.* The water extract of *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* alleviates non-alcoholic fatty liver disease and its mechanism [J].

- Phytomedicine, 2020, 77: 153270.
- [12] Li Y Y, Li J, Liu X, *et al.* Antidiarrheal activity of methanol extract of *Sophora tonkinensis* in mice and spasmolytic effect on smooth muscle contraction of isolated jejunum in rabbits [J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 477-484.
- [13] 崔健, 耿惠, 刘淑杰, 等. 山豆根在复方中化学成分变化的研究 [J]. 中草药, 2001, 32(7): 613-614.
- [14] 冷晓红, 郭鸿雁, 陈海燕. 苦豆子提取过程中氧化苦参碱与苦参碱、氧化槐果碱与槐果碱的相互转化 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(6): 688-691.
- [15] 刘甜甜, 张彦丽, 马丽娜, 等. 山豆根不合理使用致中枢神经毒性的研究进展 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(9): 1149-1152.
- [16] 王震宇. 马兜铃配伍山豆根配伍导致不良反应的病例报告 [J]. 当代医药论丛, 2014, 12(21): 74.
- [17] 汪琼, 史艳平, 梁蓬勃. 儿童山豆根中毒 17 例临床报道及分析 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(8): 1934-1936.
- [18] 赵彩云, 张震中. 山豆根中毒致双侧小脑齿状核病变 1 例 [J]. 新中医, 2019, 51(11): 344-346.
- [19] 苏江, 谢彦军, 刘芳, 等. 山豆根生物碱的超声辅助酶法提取工艺优化及其抗氧化活性研究 [J]. 化学与生物工程, 2025, 42(3): 25-32.
- [20] Luo J W, Yang Z M, Huang X H, *et al.* Efficient and green ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Sophorae Tonkinensis Radix et Rhizoma* using deep eutectic solvent: Optimization and extraction mechanism [J]. *Ind Crops Prod*, 2025, 226: 120738.
- [21] 闫晓云, 秦凌峰, 张瑞, 等. 山豆根化学成分及降糖活性研究 [J]. 药学报, 2024, 59(11): 3135-3140.
- [22] 周鹏发, 李万志, 文喜艳. 山豆根有效成分与药理作用的研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2020, 39(6): 89-92.
- [23] Chae H S, Yoo H, Choi Y H, *et al.* Maackiapterocarpin B from *Sophora tonkinensis* suppresses inflammatory mediators via nuclear factor- κ B and mitogen-activated protein kinase pathways [J]. *Biol Pharm Bull*, 2016, 39(2): 259-266.
- [24] 陈影, 张倩, 韩淑娴, 等. 山豆根不同提取部位的毒性作用研究 [J]. 中国药物警戒, 2017, 14(10): 582-586.
- [25] 蔡锦源, 韦坤华, 熊建文, 等. 山豆根黄酮的提取及抗氧化抑菌活性 [J]. 精细化工, 2017, 34(3): 285-293.
- [26] 张明发, 沈雅琴. 苦参碱抗炎和免疫抑制药理作用的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(5): 737-743.
- [27] 张明发, 沈雅琴. 氧化苦参碱抗炎及其作用机制的研究进展 [J]. 抗感染药学, 2018, 15(8): 1289-1295.
- [28] He L J, Liu J S, Luo D, *et al.* Quinolizidine alkaloids from *Sophora tonkinensis* and their anti-inflammatory activities [J]. *Fitoterapia*, 2019, 139: 104391.
- [29] 黎伟华, 吴璟, 杨洋, 等. 氧化槐果碱通过调节 ERK1/2-COX-2-PGE₂ 通路改善小鼠炎性疼痛作用机制研究 [J]. 畜牧与饲料科学, 2017, 38(11): 15-19.
- [30] Jaiswal V, Lee H J. Trifolirhizin: A phytochemical with multiple pharmacological properties [J]. *Molecules*, 2025, 30(2): 383.
- [31] 周沁阳, 赵景云. 基于网络药理学的山豆根抗炎活性成分辨析与靶点预测 [J]. 云南中医中药杂志, 2022, 43(11): 37-44.
- [32] Zhou H P, Lutterodt H, Cheng Z H, *et al.* Anti-inflammatory and antiproliferative activities of trifolirhizin, a flavonoid from *Sophora flavescens* roots [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(11): 4580-4585.

[责任编辑 郑礼胜]