

不同产地黄连差异苦味活性成分挖掘及质量控制

解泽阳¹, 张美琪¹, 牛丽颖^{1,2,3}, 钱琪^{1,2,3*}, 王鑫国^{1,2,3*}

1. 河北中医药大学, 河北 石家庄 050200

2. 河北省中药配方颗粒技术创新中心, 河北 石家庄 050091

3. 中药材品质评价与标准化河北省工程研究中心, 河北 石家庄 050091

摘要: 目的 基于电子感官、超高效液相色谱-四极杆-飞行时间串联质谱法 (UPLC-Q-TOF-MS/MS) 与分子对接技术, 探讨黄连苦味与抗氧化活性的关联, 系统表征其苦味活性成分并建立质量控制方法。方法 采用电子舌技术与体外抗氧化测试量化 3 个产地黄连的苦味与抗氧化能力, 并进行相关性分析; 通过液质联用技术鉴定黄连中的化学成分, 结合植物代谢组学及成分与苦味的相关性分析, 筛选不同产地黄连的差异性成分及潜在苦味呈味物质; 通过分子对接技术进一步筛选出 18 个与苦味受体 (TAS2R1、TAS2R7、TAS2R8 及 TAS2R14) 结合能力较强的成分, 同时总结其结合方式; 结合 2 部分结果确认黄连中呈苦且发挥抗氧化作用的苦味活性成分; 基于上述结果建立同时测定 7 个关键苦味活性成分 (格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱) 的 HPLC 质量控制方法。结果 相关性分析证实, 3 个产地黄连的苦味强度与抗氧化能力呈正相关; 液质联用技术共鉴定出黄连中 87 个化学成分, 筛选得到 3 个产地间的差异性成分及潜在苦味呈味物质; 分子对接筛选出 18 个与目标苦味受体结合能力较强的成分, 明确了各成分与受体的结合方式, 并整合分析确定了黄连中兼具苦味呈味作用与抗氧化活性的苦味活性成分; 建立了可同时测定 7 个关键苦味活性成分的 HPLC 质量控制方法。结论 研究明确了黄连中的苦味活性成分, 并建立了基于苦味活性成分的质量控制方法, 为阐释黄连“苦味-功效”关联及其质量控制提供了理论依据与实践参考。

关键词: 黄连; 苦味活性成分; 味-效关系; 植物代谢组学; 质量控制; 格兰地新; 药根碱; 非洲防己碱; 表小檗碱; 黄连碱; 巴马汀; 小檗碱

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)09-3548-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.09.023

Exploration of bitter bioactive components and quality control of *Coptis chinensis* from various origins

XIE Zeyang¹, ZHANG Meiqi¹, NIU Liying^{1,2,3}, QIAN Qi^{1,2,3}, WANG Xinguo^{1,2,3}

1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China

2. Hebei Provincial Technology Innovation Center of Chinese Medicine Formula Granules, Shijiazhuang 050091, China

3. Hebei Provincial Engineering Research Center for Quality Evaluation and Standardization of Chinese Medicinal Materials, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: Objective This study aimed to investigate the correlation between bitterness and antioxidant activity in *Coptis chinensis*, systematically characterize its bitter-active compounds, and establish a corresponding quality control method, using an integration of electronic sensory techniques, UPLC-Q-TOF-MS/MS, and molecular docking. **Methods** The bitterness intensity and antioxidant capacity of *C. chinensis* from three geographical origins were quantified via an electronic tongue and in vitro antioxidant assays, and a subsequent correlation analysis was conducted to explore their relationship. Chemical constituents were identified by UPLC-Q-TOF-MS/MS, and differential components and potential bitter compounds were screened by integrating plant metabolomics and correlation

收稿日期: 2026-01-02

基金项目: 国家中医药管理局科技项目: 优质中药材品质评价方法的构建及示范应用 (GZY-KJS-2023-030); 河北省自然科学基金资助项目 (H2023423072); 河北省中医药管理局项目 (2024095)

作者简介: 解泽阳, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: Yjs20232123@hebcm.edu.cn

*通信作者: 王鑫国, 教授, 博士生导师, 从事中药药理研究。E-mail: wangxinguo@hebcm.edu.cn

钱琪, 讲师, 硕士生导师, 从事中药分析研究。E-mail: qianqi@hebcm.edu.cn

analysis between chemical components and bitterness. Molecular docking was performed to further screen components with strong binding affinity to the bitter taste receptors TAS2R1, TAS2R7, TAS2R8, and TAS2R14, and their binding modes were summarized. By integrating these results, the bitter-active compounds responsible for both taste and antioxidant effects were identified. Subsequently, a high-performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for the simultaneous quantification of seven key bitter-active compounds (groenlandicine, jatrorrhizine, columbamine, epiberberine, coptisine, palmatine, and berberine) for quality control. **Results** Correlation analysis confirmed a positive relationship between bitterness intensity and antioxidant capacity across the three origins. UPLC-Q-TOF-MS/MS analysis led to the identification of 87 chemical constituents, from which origin-specific differential components and potential bitter-tasting substances were screened. Molecular docking identified 18 components with high binding affinity to the target bitter receptors, and their specific binding modes were elucidated. Integrated analysis pinpointed the bitter-active compounds in *C. chinensis* that contribute to both taste perception and antioxidant activity. A reliable HPLC method for the simultaneous quantification of the seven key bitter-active compounds was successfully established. **Conclusion** This study clarified the bitter-active compounds in *C. chinensis* and developed a quality control method based on these components. The findings provide a theoretical foundation and practical reference for elucidating the “bitter taste-efficacy” relationship and for optimizing the quality control system of *C. chinensis*.

Key words: *Coptis chinensis* Franch.; bitter bioactive components; taste-effect relationship; plant metabolomics; quality control; groenlandicine; jatrorrhizine; columbamine; epiberberine; coptisine; palmatine; berberine

中药五味之“味”最初源于口尝药物的真实滋味。由于药物的滋味与药效密切相关，后逐渐演变为以“味”来解释和归纳药物的功效^[1]。在中医理论中，素有“良药苦口”之说。苦味作为中药五味理论的重要组成部分，是指导中医临床用药的关键依据^[2]。黄连 *Coptidis Rhizoma* 是毛茛科黄连属多年生草本植物黄连 *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，气微，味极苦^[3]。黄连作为“大苦大寒”之代表性药物，其清热燥湿、泻火解毒功效正与其强烈的苦味特征密不可分^[4]。传统中医认为苦味药中呈苦物质即为药效物质^[5]。然而，目前关于黄连呈苦物质与苦味功效之间的关系尚不明确。

本研究围绕不同产地间黄连的苦味与药效关系、苦味活性成分挖掘与其质量控制展开系统研究。首先，采用电子舌技术定量表征重庆、湖北和湖南 3 个产地共 15 批黄连的苦味特征，结合主成分分析 (principal component analysis, PCA) 与正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 模型区分产地间味觉差异，同步开展抗氧化活性测试，通过相关性分析建立黄连苦味与抗氧化药效的关联，为传统苦味关联药效的认知提供现代科学佐证；其次采用 UPLC-Q-TOF MS/MS 技术全面鉴定黄连化学成分，结合植物代谢组学的 PCA、OPLS-DA 及双向方差分析筛选产地间差异成分，再通过 Pearson 相关性分析将化学成分与电子舌苦味数据关联，预测

黄连苦味呈味物质；结合分子对接模拟潜在苦味成分与苦味受体的相互作用，结合结合能及作用位点分析筛选核心苦味成分，阐明其呈苦机制。综合以上部分研究确认黄连能够产生苦味并发挥抗氧化药效的苦味活性成分；最后建立 HPLC 定量分析方法，对筛选出的 7 种苦味活性成分进行含量测定，实现基于苦味活性成分的黄连质量控制。本研究为探究中药性味物质基础的真实药味与功效关系提供研究思路与参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters ACQUITY H-Class 型超高效液相色谱仪 (包括四元溶剂管理器、自动进样器、二极管阵列检测器、高温柱温箱, 美国沃特世公司); Waters e2695 型高效液相色谱仪 (美国沃特世公司); Triple TOFTM 6600+型四极杆串联飞行时间高分辨质谱仪 (配有 ESI 离子源)、Analyst TF 1.8.1 数据采集软件、PeakView[®]1.2 数据处理软件 (美国 SCIEX 公司); SA402B 型电子舌系统 (日本 Insent 公司); TDZ5-WS 型低速离心机 (中国湖南湘仪实验仪器开发有限公司)。

BSA224S-CW 型万分之一、CPA225D 型十万分之一电子分析天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); KQ-250 型超声波清洗器 (功率 250 W, 频率 40 kHz, 昆山市超声仪器有限公司); YB-150 型多功能粉碎机 (永康市速锋工贸有限公司); UPR-11-20L 型优普系列超纯水机 (四川优普超纯科技有限公司)。

1.2 试剂与材料

对照品非洲防己碱(批号 PS021029)、盐酸巴马汀(批号 PS012545)、木兰花碱(批号 PS012478)、盐酸表小檗碱(批号 PS012485)、盐酸药根碱(批号 PS011990)、格兰地新(批号 PS012483)及小檗红碱(批号 PS0020365)购自成都普斯生物科技股份有限公司,质量分数均为 98.0%;对照品盐酸黄连碱(批号 112026-201601,质量分数 99.3%)、盐酸小檗碱(批号 110713-201212,质量分数 98.0%)及阿魏酸(批号 111698-201904,质量分数 99.3%)购自中国食品药品检定研究院;对照品绿原酸(批号 MUST-16031610,质量分数 98.0%)购自成都曼斯特生物科技有限公司。乙腈、甲醇(色谱纯, Merck, 德国),甲酸(色谱纯, Dikma 公司, 美国),其他试剂均为分析纯,实验用水为屈臣氏蒸馏水。

DPPH 自由基清除能力检测试剂盒(批号 2511008001,货号 BC4750)、ABTS 自由基清除能力检测试剂盒(批号 2511008001,货号 BC4770)、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒(FRAP 法)(批号 2510006003,货号 BC1310)均购自北京索莱宝科技有限公司。样品经石家庄市中医院主任中药师郑倩鉴定为毛茛科植物黄连 *C. chinensis* Franch. 的干燥根茎,具体信息见表 1。

2 方法

2.1 电子舌评价黄连苦味

2.1.1 样品的制备 取黄连药材粉末(过 4 号筛)约 0.4 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入纯水 100 mL,密塞,超声处理(功率 250 W、频率 40

kHz) 30 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 10 mL 加入 90 mL 纯水,置于电子舌专用样品杯上机测试。

2.1.2 测试条件 鲜味、咸味、酸味、涩味使用 Foodstaff 测试方法测试,苦味使用 BTO 测试方法测试。每一测试循环的过程为正、负极电极分别放入正、负极清洗液中清洗 90 s;参比液清洗 2 次,每次 120 s;传感器在参比液中平衡归零 30 s;达到平衡条件后开始测试,测试时间为 30 s;在另外 2 组参比液中各清洗 3 s;传感器插入新的参比液中测试回味 30 s。电子舌传感器信息见表 2。

表 2 传感器信息

Table 2 Sensor information

编号	传感器名称	测试味觉
1	CT0	咸味
2	CA0	酸味
3	AAE	鲜味及鲜味回味
4	AE1	涩味及涩味回味
5	BTO	苦味

2.2 黄连抗氧化能力评价

采用 DPPH 自由基清除法、ABTS 自由基清除法、总抗氧化能力(T-AOC)3 种体外抗氧化测试,所有操作步骤及计算方法均严格按照北京索莱宝科技有限公司对应试剂盒说明书执行。均称取对应量黄连粉末(DPPH/ABTS 自由基清除 50.0 mg, T-AOC 5 mg),加入 1 mL 试剂盒配套提取液,40 °C 水浴浸提 30 min 后,室温 10 000 r/min 离心 10 min,取上清置冰上待测。

2.3 UPLC-Q-TOF-MS/MS 方法定性鉴定

2.3.1 对照品溶液的制备

(1) 生物碱类混合对照品溶液:分别吸取非洲防己碱、盐酸黄连碱、盐酸小檗碱、木兰花碱、盐酸表小檗碱、盐酸药根碱、格兰地新、盐酸巴马汀、小檗红碱对照品适量,精密称定,置于量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得各成分质量浓度均为 20 μg/mL 的混合对照品溶液。

(2) 酸性成分混合对照品溶液:分别吸取绿原酸、阿魏酸对照品适量,精密称定,置于量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,即得各成分质量浓度均为 20 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取黄连药材粉末(过 4 号筛)约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入

表 1 黄连药材信息

Table 1 Information of *Coptis chinensis* medicinal materials

编号	来源	批号
S1	重庆	202401131
S2	重庆	202401132
S3	重庆	202401133
S4	湖北	202401134
S5	湖北	202401135
S6	湖北	202401136
S7	湖南	202401137
S8	湖南	202401138
S9	湖南	202401139
S10	重庆	202403061
S11	重庆	202403062
S12	湖北	202403063
S13	湖北	202403064
S14	湖南	202403065
S15	湖南	202403066

甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 用于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析。

2.3.3 色谱条件 Waters Acquity UPLC BEH C_{18} 色谱柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸乙腈(A)-0.1% 甲酸水溶液(B); 梯度洗脱 (0~2.5 min, 80% B; 2.5~10 min, 80%~75% B; 10~15 min, 75%~50% B; 15~19 min, 50%~20% B; 19~23 min, 20%~80% B); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 体积流量 0.3 mL/min; 进样体积 1 μL 。

2.3.4 质谱条件 TOF-MS 扫描模式参数设置为: 相对分子质量扫描范围 m/z 50~1 000; 累积时间 0.1500 s; 离子化温度(TEM)550 $^{\circ}\text{C}$; 雾化气(GS1): 345 kPa; 辅助加热气(GS2)345 kPa; 气帘气(CUR)241 kPa; 去簇电压(DP)80 V; 碰撞能量(CE)30 eV; 正、负离子模式下喷雾电压(ISVF)分别为 5 500、-4 500 V。子离子扫描模式的相对分子质量扫描范围为 m/z 50~1 000; 碰撞扩展能量为 15 eV, 其他主要参数同 TOF-MS 模式。采用 AB 公司的调谐液传递系统(CDS)对相对分子质量准确度进行自动校准。信息依赖采集(information dependent acquisition, IDA): 对超过 50 cps 的 10 个响应最强峰进行 MS2 采集, 开启动态背景扣除(dynamic background subtraction, DBS); 累积时间 200 ms; 每 5 个样品采取自动校准(calibration delivery system, CDS)。

2.3.5 成分鉴定及植物代谢组学分析方法 通过 CNKI、万方、Pubmed、ScienceDirect 等数据库进行黄连相关文献的检索, 结合 Chemspider、ChemicalBook 系列梳理黄连化学成分相关信息, 创建包含中英文学名称、分子式、CAS 号、检测离子模式、二级质谱碎片等信息的自建数据库, 并保存结构式的“.mol”文件。将自建数据库中的化学成分分子式输入到 PeakView[®]1.2 软件中进行峰提取, 对于有对照品的化学成分, 将样品与对照品进行保留时间、一级二级质谱的比对, 对其质谱裂解特征进行总结。对于无对照品的化学成分, 允许一级质量误差为 $\pm 5 \times 10^{-6}$, 利用 Fragments Pane 功能预测理论碎片, 再根据裂解规律与实测二级碎片推导化合物的结构。利用 PeakView[®]1.2 软件的 Graph Selection Info 功能提取目标峰面积, 用于后续植物

代谢组学的 PCA、OPLS-DA 分析。

2.4 黄连呈苦物质筛选

采用 SPSS v27.0.1 统计软件 (IBM 公司) 筛选不同产地黄连的差异性成分; 通过 MetaboAnalyst 5.0 平台 (<https://www.metaboanalyst.ca>) 计算变量投影重要性(variable importance projection, VIP)值; 采用 Microsoft Excel 2019 计算 P 值 (t 检验) 和倍数变化 (fold change, FC) 值。差异性成分的筛选标准为 $\text{VIP} > 1$ 、 $P < 0.05$ 、 $\text{FC} \geq 1.2$ 或 $\text{FC} \leq 0.8$ 。采用 SPSS v27.0.1 和 GraphPad Prism 9.5 进行化学成分与苦味值的 Pearson 相关性分析和双向方差分析; 使用 Excel 2019、GraphPad Prism 9.5 进行数据处理与可视化。

2.5 黄连呈苦物质的分子对接筛选

选取 TAS2R1、TAS2R7、TAS2R8 和 TAS2R14 作为分子靶点, 以验证潜在苦味化合物与味觉受体之间的结合相互作用。分子对接在 PubChem 数据库中下载目标化合物 2D 结构作为配体, 储存为“.sdf”格式; 同时在 Uniprot 和 Alphafold 数据库中筛选苦味相关蛋白 PDB, 保存为“.PDB”格式; 使用在线分子对接软件 CB-Dock2 评估化合物与靶基因的结合活性^[6-7], 分子对接结果中, 若结合能小于 -5 kcal/mol 表示具有较好的结合活性, 若结合能小于 -7 kcal/mol 表明具有强烈的结合活性^[8-9]。

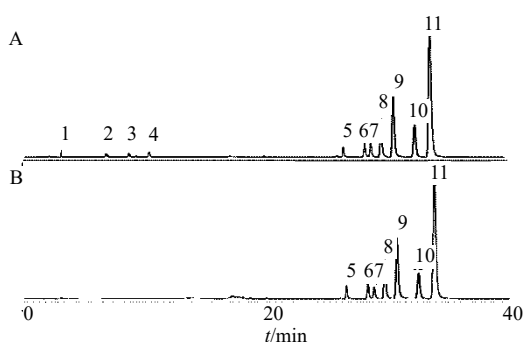
2.6 基于黄连核心苦味药效成分的定量测定

2.6.1 供试品溶液的制备 取黄连药材粉末 (过 4 号筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸 (100:1) 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W、频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 甲醇-盐酸 (100:1) 补足减失质量, 摇匀, 滤过, 续滤液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.6.2 对照品溶液的制备 分别取盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸表小檗碱、盐酸巴马汀、非洲防己碱、盐酸药根碱、格兰地新对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解, 制成质量浓度分别为 1.018 0、1.000 0、1.000 8、1.012 0、1.010 0、1.000 0、1.010 0 mg/mL 的对照品储备液; 精密吸取上述各储备液适量, 加甲醇稀释, 即得质量浓度分别为 0.012 9、0.013 1、0.016 4、0.037 2、0.073 8、0.047 7、0.200 8 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.6.3 色谱条件 色谱柱: Waters Symmetry C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈为流动相 A, [25 mmol/L 乙酸铵+8 mmol/L 十二烷基硫酸钠 (氨水调 pH 9.4)] 溶液为流动相 B, 梯度洗脱 (0~8 min,

15%~25% A; 8~12 min, 25%~40% A; 12~24 min, 40%~50% A; 24~38 min, 50% A); 柱温 30 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 365 nm; 进样体积 10 μL。供试品溶液和对照品溶液 HPLC 图见图 1。



5-格兰地新; 6-药根碱; 7-非洲防己碱; 8-表小檗碱; 9-黄连碱; 10-巴马汀; 11-小檗碱。
5-groenlandicine; 6-jatrorrhizine; 7-columbamine; 8-epiberberine; 9-coptisine; 10-palmatine; 11-berberine.

图1 供试品溶液(A)和对照品溶液(B) HPLC图
Fig. 1 HPLC of test sample solution (A) and reference standard solution (B)

2.6.4 线性范围与检测限、定量限考察 精密吸取混合对照品溶液适量, 加提取溶剂逐级稀释制备标准曲线的工作溶液, 分别精密吸取 10 μL, 按色谱条件进样分析。以对照品质量浓度为横坐标 (X), 以峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 计算得到各成分的回归方程和线性范围: 格兰地新 $Y=2.72 \times 10^7 X+8.27 \times 10^3$, $r=0.999 1$, 线性范围 1.018~61.080 μg/mL; 药根碱 $Y=3.99 \times 10^7 X+1.42 \times 10^4$, $r=0.999 1$, 线性范围 1.000~60.000 μg/mL; 非洲防己碱 $Y=3.22 \times 10^7 X+9.49 \times 10^3$, $r=0.999 0$, 线性范围 1.0008~60.0480 μg/mL; 表小檗碱 $Y=4.54 \times 10^7 X+4.35 \times 10^4$, $r=0.999 3$, 线性范围 2.530~151.800 μg/mL; 黄连碱 $Y=4.22 \times 10^7 X+8.07 \times 10^4$, $r=0.999 0$, 线性范围 5.050~303.000 μg/mL; 巴马汀 $Y=3.75 \times 10^7 X+3.62 \times 10^4$, $r=0.999 9$, 线性范围 2.500~150.000 μg/mL; 小檗碱 $Y=4.07 \times 10^7 X+2.44 \times 10^5$, $r=0.999 4$, 线性范围 12.625~757.500 μg/mL; 以 $S/N \approx 3$ 计算 7 个待测组分的检测限 (LOD), 以 $S/N \approx 10$ 计算定量限 (LOQ), 确定格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的检测限分别为 0.408、0.313、0.280、0.316、0.253、0.333、0.270 μg/mL, 定量限分别为 0.884、0.913、0.932、0.843、0.843、0.833、0.899

μg/mL。

2.6.5 精密度试验 取同一批 (S1) 样品粉末约 0.2 g, 依照“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.6.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算各共有峰峰面积的 RSD 值。结果格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 分别为 0.38%、0.32%、0.28%、0.44%、0.40%、0.30%、0.41%, 表明该仪器精密度良好。

2.6.6 稳定性试验 取同一批 (S1) 样品粉末约 0.2 g, 依照“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.6.3”项下色谱条件分别在 0、6、10、14、20、24 h 进样, 计算各共有峰峰面积的 RSD 值。结果格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 分别为 1.37%、1.64%、1.06%、1.62%、1.73%、1.61%、2.07%, 表明该方法所得供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.7 重复性试验 取同一批 (S1) 样品粉末约 0.2 g, 依照“2.6.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.6.3”项下色谱条件测定, 计算各共有峰质量分数的 RSD 值。结果格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱质量分数的 RSD 分别为 3.44%、2.68%、3.78%、3.22%、3.61%、2.54%、2.55%, 结果表明, 该方法重复性良好。

2.6.8 加样回收率试验 取同一批已测定含量的黄连样品 (S1) 9 份, 每份 0.1 g, 精密称定, 分为低、中、高 3 组, 每组精密加入对照品盐酸小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸表小檗碱、盐酸巴马汀、非洲防己碱、盐酸药根碱、格兰地新的量相当于黄连样品中各对照品质量分数的 50%、100%、150%, 按“2.6.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.6.3”项下进样分析, 记录各成分峰面积, 计算平均加样回收率及 RSD 值。结果显示格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的平均加样回收率分别为 100.87%、100.75%、100.74%、100.24%、100.26%、99.76%、100.68%, RSD 分别为 1.62%、1.44%、1.19%、1.34%、1.07%、0.92%、1.27%, 结果表明该方法准确度良好。

3 结果与分析

3.1 黄连苦味与抗氧化评价

3.1.1 黄连苦味表征 为探究不同产地黄连的味觉差异, 采用 SA402B 型电子舌对 15 批黄连中的 7 项味觉指标进行数字化定量分析, 数据均以模拟人

体口腔唾液状态的人工唾液（参比液）绝对输出值为标准。参比液是由氯化钾和酒石酸按一定比例配成，本实验将参比溶液（Reference）的检测结果设为味觉零点，因此酸味和咸味的味觉零点分别为-13和-6，其他味道味觉零点均为0。

图 2-A 雷达图显示，相较于味觉零点，所有样品对苦味（BTO）、鲜味（AAE）及涩味（AE1）的响应较强，其中苦味值显著突出，其余味觉指标响应较低且无明显差异。对 4 项关键味觉指标进行 PCA，结果显示前 2 个主成分共解释了 97.8% 的总方差（PC1: 92.5%; PC2: 5.3%），几乎涵盖了数据集集中所有的变异信息（图 2-B），且重庆、湖北产黄连的味觉特征与湖南产黄连相比，呈现出显著的地

域差异；对 3 种产地黄连样品的 OPLS-DA 结果显示，仅苦味指标的 VIP 值大于 1，提示苦味是不同产地黄连核心差异味觉；进一步双向方差分析显示（图 2-C），重庆、湖北产黄连与湖南产黄连的苦味存在极显著差异（ $P < 0.001$ ），其差异性显著高于鲜味、酸味、涩味等其他味觉指标。综上，明确苦味为区分不同产地黄连的关键味觉指标。

现代化学认为，味觉是一种感官属性，其多样性由多种化合物间的复杂相互作用产生。因此味觉感知可通过与化学分析结合实现客观评价，进而为相关化合物的评估提供依据。古籍文献及现代研究证实，黄连具有强烈苦味，且该苦味主要由其生物碱成分引起，因此针对黄连的苦味进行更深一步研究。

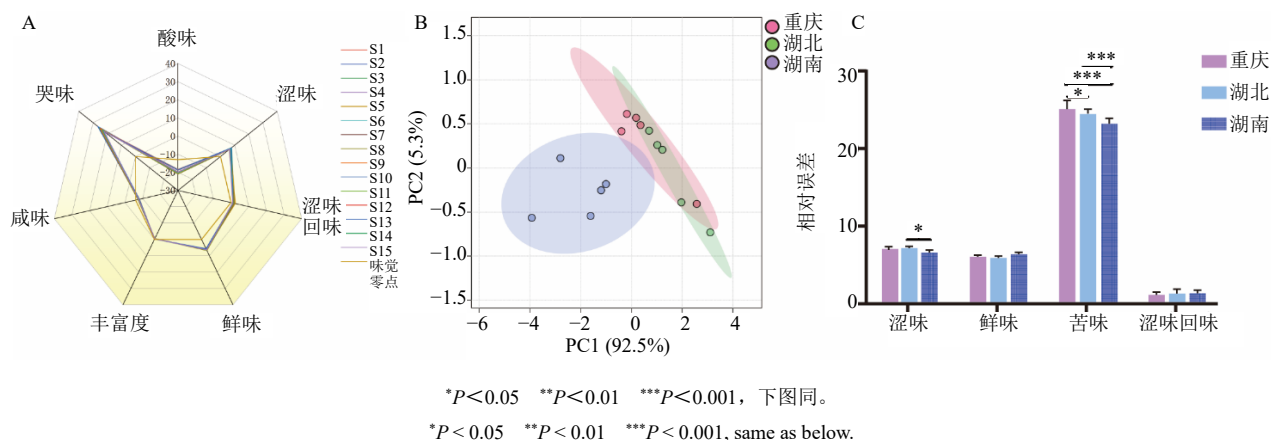


图 2 电子舌雷达图 (A)、PCA 图 (B) 及组内误差柱状图 (C)

Fig. 2 E-tongue radar plot (A), PCA (B) and group error histogram (C)

3.1.2 不同产地间抗氧化能力及与苦味关联研究 图 3-A 显示 3 个产地供试样品在 DPPH 自由基清除率、ABTS 自由基清除率、总抗氧化能力 (T-AOC) 3 项抗氧化指标中存在显著活性差异，且样品的抗氧化活性存在显著地域依赖性，重庆产地样品在 3 项指标中均表现出相对较强的抗氧化能力，湖北产地

次之，湖南产地最弱，提示产地环境对于黄连抗氧化活性存在较大影响。相关性分析结果（图 3-B）显示，黄连苦味与 ABTS 自由基清除率及 DPPH 自由基清除率存在显著相关性（ $P < 0.05$ ）。这一结果表明，黄连中的苦味物质可能是其自由基清除活性的重要贡献组分，也是黄连发挥药效的生物活性成分。

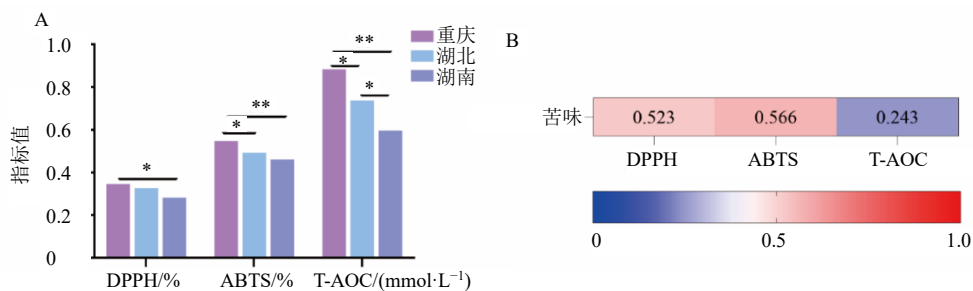


图 3 不同产地抗氧化能力 (A) 与苦味与抗氧化能力相关性分析 (B)

Fig. 3 Antioxidant capacities of samples from different producing areas (A) and correlation analysis between bitterness and antioxidant capacity (B)

3.2 黄连苦味呈味物质筛选

3.2.1 黄连化学成分分析 按照“2.3.1”项下色谱、质谱条件,将混合对照品、15批供试品溶液分别在正、负离子模式下进行UPLC-Q-TOF-MS/MS分析。以S1样品为例,总离子流图见图4。最终在正、负

离子模式下共鉴定出87个化合物(表3),其中11个化合物经对照品指认确定,分别为非洲防己碱、盐酸黄连碱、盐酸小檗碱、木兰花碱、盐酸表小檗碱、盐酸药根碱、格兰地新、盐酸巴马汀、小檗红碱、绿原酸、阿魏酸。

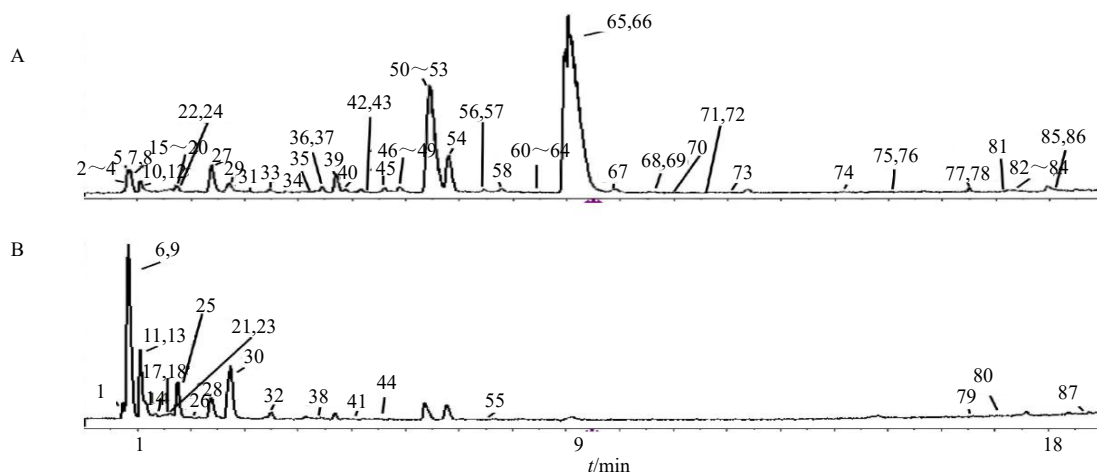


图4 黄连正(A)和负(B)模式下总离子流图

Fig. 4 Total ion current chromatograms of *C. chinensis* under positive (A) and negative(B) modes

表3 正、负离子模式下黄连化学成分鉴定结果

Table 3 Identification results of chemical components in *C. chinensis* under positive and negative ion modes

编号	化合物名称	分子式	t_R /min	误差($\times 10^{-6}$)	理论值(m/z)	实测值(m/z)	加和离子	碎片离子(m/z)
1	水苏糖	$C_{24}H_{42}O_{21}$	0.80	-0.9	665.214 6	665.214 4	$[M-H]^-$	179.055 8, 341.108 9, 383.120 1, 485.153 4, 665.217 4
2	胆碱	$C_5H_{14}NO$	0.81	-0.8	104.107 0	104.106 5	$[M]^+$	103.788 7, 104.106 4
3	棉籽糖	$C_{18}H_{32}O_{16}$	0.81	1.0	522.202 9	522.202 4	$[M+NH_4]^+$	85.027 8, 145.048 4, 163.059 8, 325.114 1, 343.123 5, 522.195 3
4	1-deoxy-1-D-fructose	$C_{10}H_{19}NO_7$	0.82	1.0	266.123 4	266.123 4	$[M+H]^+$	98.059 4, 230.102 9, 248.113 6, 266.123 6
5	葫芦巴碱	$C_7H_7NO_2$	0.84	-4.8	138.055 0	138.054 3	$[M+H]^+$	92.049 0, 136.039 2, 138.054 8
6	D-(-)-奎宁酸	$C_7H_{12}O_6$	0.84	0.9	191.056 1	191.056 4	$[M-H]^-$	93.035 0, 173.046 2, 191.057 1
7	腺苷	$C_{10}H_{13}N_5O_4$	0.85	-1.7	268.104 0	268.103 6	$[M+H]^+$	119.035 1, 136.061 2
8	半乳糖-1-磷酸	$C_6H_{13}O_9P$	0.86	-3.0	261.037 0	261.036 2	$[M+H]^+$	98.983 6, 127.038 4, 215.081 2, 261.091 5
9	柠檬酸	$C_6H_8O_7$	0.89	1.0	191.019 7	191.020 3	$[M-H]^-$	85.029 1, 93.034 7, 111.008 7, 191.056 2
10	丹参素	$C_9H_{10}O_5$	1.05	0.7	199.060 1	199.059 5	$[M+H]^+$	134.036 8, 135.045 0, 179.107 9, 197.044 8
11	香草酸	$C_8H_8O_4$	1.09	-0.3	167.035 0	167.034 9	$[M-H]^-$	108.021 4
12	原儿茶酸	$C_7H_6O_4$	1.11	-4.8	155.033 9	155.033 1	$[M+H]^+$	109.028 0, 137.021 9, 155.071 2
13	3,4-二羟基苯乙醇	$C_8H_{10}O_3$	1.15	-1.0	153.055 8	153.055 6	$[M-H]^-$	108.021 1, 123.045 5
14*	绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	1.22	-0.6	353.087 8	353.087 5	$[M-H]^-$	135.045 0, 179.034 7, 191.055 8
15	去甲乌药碱	$C_{16}H_{17}NO_3$	1.25	-1.6	272.128 1	272.127 7	$[M+H]^+$	107.047 9, 123.042 3, 137.060 2, 161.057 1, 255.101 9, 272.090 8
16	tryptophan N-glucoside	$C_{17}H_{22}N_2O_7$	1.28	-0.6	367.150 0	367.151 6	$[M+H]^+$	146.059 0, 188.069 6, 229.096 5, 276.123 3, 349.140 0, 367.151 6
17	红景天苷	$C_{14}H_{20}O_7$	1.29	-2.3	299.113 6	299.113 3	$[M-H]^-$	137.026 7
18	DARENDOSIDE A	$C_{19}H_{28}O_{11}$	1.33	-1.8	431.155 9	431.155 5	$[M-H]^-$	89.024 5, 119.050 2, 191.054 9, 299.111 4, 431.154 8
19	melicopidine	$C_{17}H_{15}NO_5$	1.36	-0.3	314.102 3	314.067 3	$[M+H]^+$	177.076 7, 192.102 2, 270.075 9, 314.067 3
20	L-色氨酸	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	1.44	-3.8	205.097 2	205.140 3	$[M+H]^+$	146.058 9, 188.068 5, 205.140 3
21	隐绿原酸	$C_{16}H_{18}O_9$	1.52	-1.9	353.087 8	353.087 6	$[M-H]^-$	191.056 3
22*	阿魏酸	$C_{10}H_{10}O_4$	1.71	-0.7	195.065 2	195.064 4	$[M+H]^+$	145.028 2, 163.039 3, 177.055 0
23	4-O-阿魏酰奎尼酸	$C_{17}H_{20}O_9$	1.74	1.2	367.103 5	367.103 8	$[M-H]^-$	134.037 9, 191.056 3, 193.051 7, 367.104 9
24	松脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	$C_{26}H_{32}O_{11}$	1.86	3.6	521.201 7	521.219 3	$[M+H]^+$	103.052 7, 131.048 4, 161.059 5, 163.074 4, 187.075 7, 341.135 4, 521.219 3
25	原儿茶醛	$C_7H_6O_3$	1.89	-1.4	137.024 4	137.024 1	$[M-H]^-$	108.021 6, 137.024 0
26	咖啡酸	$C_9H_8O_4$	2.11	-2.8	179.035 0	179.034 5	$[M-H]^-$	134.037 2, 135.045 6, 178.832 6

表3 (续)

编号	化合物名称	分子式	t _R /min	误差 (×10 ⁻⁶)	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	加和离子	碎片离子 (m/z)
27 [*]	木兰花碱	C ₂₀ H ₂₄ NO ₄	2.39	0.0	342.170 0	342.171 9	[M] ⁺	191.085 5, 207.0803, 237.091 6, 265.087 2, 297.113 6, 342.171 9
28	松脂醇二葡萄糖苷	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₆	2.43	0.6	681.240 0	681.240 5	[M-H] ⁻	357.132 8, 519.193 5
29	反式阿魏酸	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	2.61	0.3	177.054 6	177.053 5	[M+H-H ₂ O] ⁺	117.032 4, 145.028 1, 149.058 6, 177.053 5
30	5-O-阿魏酰奎尼酸	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	2.73	0.8	367.103 5	367.103 6	[M-H] ⁻	134.037 5, 173.046 0, 191.056 7, 193.050 7, 367.103 8
31	thalifoline	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	3.39	-3.5	208.096 7	208.096 1	[M+H] ⁺	119.048 1, 151.074 4, 208.096 1
32	落叶松树脂醇-4'-O-葡萄糖苷	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	3.51	-0.6	521.202 9	521.202 4	[M-H] ⁻	158.035 9, 178.064 3, 329.141 1, 359.152 0, 521.203 8
33	6,7-二甲氧基-3,4-二氢-异喹啉-1-酮	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	3.59	-4.2	208.096 7	208.094 4	[M+H] ⁺	103.051 6, 118.039 3, 150.068 7, 165.090 2, 208.094 4
34	四氢小檗碱	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄	3.78	-0.3	340.154 3	340.154 7	[M+H] ⁺	309.099 7, 324.123 5, 340.154 7
35	桔皮素	C ₂₀ H ₂₀ O ₇	4.05	-3.4	373.128 2	373.127 3	[M+H] ⁺	312.102 7, 343.081 0, 357.100 3, 373.127 3
36	降氧化北美黄连次碱	C ₁₀ H ₉ NO ₃	4.26	-2.4	192.065 5	192.064 0	[M+H] ⁺	119.047 6, 149.058 1, 186.448 2, 192.064 0
37	四氢巴马汀	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	4.32	-0.6	356.185 6	356.186 2	[M+H] ⁺	190.085 2, 206.117 1, 356.186 2
38	四氢黄连碱	C ₁₉ H ₁₇ NO ₄	4.69	-0.3	322.108 5	322.108 2	[M-H] ⁻	248.073 1, 288.066 6, 289.075 8, 322.109 5
39 [*]	格兰地新	C ₁₉ H ₁₆ NO ₄	4.70	0.0	322.107 4	322.109 5	[M] ⁺	279.089 8, 307.085 0, 322.109 5
40	去亚甲基小檗碱	C ₁₉ H ₁₈ NO ₄	4.87	0.9	324.123 0	324.123 9	[M] ⁺	280.096 9, 294.075 2, 308.091 5, 324.123 9
41	3-吡啶甲醛	C ₆ H ₇ NO	5.04	-2.8	144.046 0	144.045 1	[M-H] ⁻	115.041 6, 126.034 8, 144.044 9
42	氧海蓄粟碱	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	5.15	0.7	352.118 0	352.118 5	[M+H] ⁺	294.077 5, 306.078 6, 308.092 8, 336.0877, 352.1185
43	methyl 4-O-feruloylquinatate	C ₁₈ H ₂₂ O ₉	5.41	-1.2	383.133 7	383.133 2	[M+H] ⁺	117.032 9, 145.028 3, 177.053 8
44	longifloroside A	C ₂₇ H ₃₄ O ₁₁	5.56	-1.8	579.207 2	579.177 0	[M+HCOO] ⁻	335.107 0, 387.143 5, 417.156 2, 579.177 0
45	去氢海蓄粟碱	C ₂₁ H ₂₃ NO ₄	5.58	0.1	354.170 0	354.170 9	[M+H] ⁺	294.149 2, 323.115 6, 324.122 7, 338.139 7, 339.147 7, 354.170 9
46	番荔枝宁	C ₂₁ H ₂₅ NO ₄	5.84	-0.3	356.186 6	356.186 4	[M+H] ⁺	165.086 9, 190.085 7, 206.117 4, 356.186 4
47	北美黄连碱	C ₂₁ H ₂₁ NO ₆	5.93	-1.9	384.144 2	384.143 1	[M+H] ⁺	308.055 1, 310.107 7, 368.109 4, 384.143 1
48	二氢小檗碱	C ₂₀ H ₁₉ NO ₄	5.99	2.0	338.138 7	338.141 2	[M+H] ⁺	294.113 5, 308.092 8, 322.108 7, 323.116 3, 338.141 2
49	berbithine	C ₁₉ H ₁₇ NO ₅	6.01	-0.3	340.118 0	340.118 1	[M+H] ⁺	186.054 6, 279.088 2, 310.071 7, 340.118 1
50 [*]	非洲防己碱	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	6.35	1.0	338.139 0	338.141 2	[M] ⁺	250.085 1, 265.073 5, 279.090 2, 280.096 1, 323.116 3, 338.141 2
51 [*]	黄连碱	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄	6.42	0.5	320.091 7	320.101 0	[M] ⁺	249.078 9, 262.086 9, 277.074 0, 292.097 9, 305.068 6, 318.076 7, 320.101 0
52	异黄连碱	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄	6.47	-0.2	320.091 7	320.101 3	[M] ⁺	262.086 9, 292.097 8, 320.101 3
53 [*]	表小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	6.49	1.7	336.123 0	336.129 4	[M] ⁺	292.097 8, 320.094 0, 336.129 4
54 [*]	药根碱	C ₂₀ H ₂₀ NO ₄	6.79	0.8	338.138 7	338.143 4	[M] ⁺	265.074 0, 279.089 7, 322.108 8, 338.143 4
55	二氢脱氢二松柏醇	C ₂₀ H ₂₄ O ₆	7.36	-0.3	359.150 0	359.149 9	[M-H] ⁻	159.044 2, 178.064 4, 192.078 7, 329.138 8
56	延胡索甲素	C ₂₂ H ₂₇ NO ₄	7.38	-1.3	370.201 3	370.200 9	[M+H] ⁺	190.086 2, 206.117 2, 370.200 9
57	5,5'-二甲氧基落叶松脂素	C ₂₂ H ₂₈ O ₈	7.42	-2.4	465.175 5	465.173 6	[M+HCOO] ⁺	320.085 1, 334.113 4, 335.109 4, 465.173 6
58	(+)-8-甲氧基异落叶松脂素	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	7.54	-3.6	435.165 0	435.164 6	[M+HCOO] ⁺	238.897 0, 336.124 2, 337.126 8, 435.164 6
59 [*]	小檗红碱	C ₁₉ H ₁₆ NO ₄	7.78	0.6	322.107 4	322.107 8	[M] ⁺	250.086 0, 279.088 5, 307.084 3, 322.107 8
60	5'-甲氧基落叶松树脂醇	C ₂₁ H ₂₆ O ₇	8.04	-4.4	435.165 0	435.163 4	[M+HCOO] ⁺	238.899 6, 322.105 2, 336.124 6, 435.163 4
61	阿魏酰酰胺	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	8.11	-1.6	314.138 7	314.136 3	[M+H] ⁺	121.06 3, 145.027 8, 177.053 8, 314.136 3
62	13-甲基表小檗碱	C ₂₁ H ₂₀ NO ₄	8.25	-1.4	350.138 7	350.139 2	[M] ⁺	292.098 3, 306.113 1, 334.107 7, 350.139 2
63	去甲白屈菜红碱	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	8.51	-0.9	334.107 4	334.108 6	[M+H] ⁺	276.066 0, 290.081 7, 304.061 2, 319.084 8, 334.108 6
64	13-methylberberrubine	C ₂₀ H ₁₇ NO ₄	8.66	-2.8	336.123 0	336.131 4	[M+H] ⁺	275.093 6, 278.081 3, 292.099 7, 306.076 0, 320.096 7, 336.131 4
65 [*]	小檗碱	C ₂₀ H ₁₈ NO ₄	8.99	0.5	336.123 0	336.127 4	[M] ⁺	278.084 5, 292.1004, 304.096 3, 306.076 1, 321.098 5, 336.127 4
66 [*]	巴马汀	C ₂₁ H ₂₂ NO ₄	9.20	0.7	352.154 3	352.158 1	[M] ⁺	278.081 7, 279.089 5, 292.097 2, 294.112 7, 308.128 7, 336.123 8, 352.158 1
67	甲基黄连碱	C ₂₀ H ₁₆ NO ₄	9.91	0.1	334.107 4	334.108 6	[M] ⁺	276.066 0, 290.081 7, 304.061 2, 319.084 8, 334.108 6
68	蒙花苷	C ₂₈ H ₃₂ O ₁₄	10.59	-2.4	593.186 5	593.186 3	[M+H] ⁺	285.075 1, 447.127 5, 593.186 3
69	邻苯二甲酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	10.60	-4.5	195.065 2	195.064 4	[M+H] ⁺	77.037 3, 133.028 0, 135.042 5, 163.038 4
70	二氢白屈菜红碱	C ₂₁ H ₁₉ NO ₄	10.90	-4.1	350.138 7	350.138 2	[M+H] ⁺	306.108 8, 320.092 0, 335.116 8, 350.138 2
71	去氢紫堇碱	C ₂₂ H ₂₄ NO ₄	11.29	-1.7	366.170 0	366.169 9	[M] ⁺	249.872 0, 308.053 7, 322.143 5, 350.136 7, 351.144 5, 366.169 9
72	13-甲基小檗碱	C ₂₁ H ₂₀ NO ₄	11.69	-1.9	350.138 7	350.137 5	[M] ⁺	292.096 0, 306.111 5, 335.114 4, 350.137 5
73	chilenine	C ₂₀ H ₁₇ NO ₇	12.03	-1.8	384.107 8	384.107 1	[M+H] ⁺	149.058 6, 165.053 1, 323.078 2, 338.102 7, 366.098 0, 384.107 9
74	13-羟基氧化小檗碱	C ₂₀ H ₁₇ NO ₆	13.98	-1.7	368.112 9	368.113 4	[M+H] ⁺	292.060 6, 320.055 1, 335.079 1, 338.065 0, 350.102 4, 368.113 4

表 3 (续)

编号	化合物名称	分子式	t _R /min	误差 (×10 ⁻⁶)	理论值 (m/z)	实测值 (m/z)	加和离子模式	碎片离子 (m/z)
75	樱花素	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	14.84	-0.5	287.091 4	287.091 3	[M+H] ⁺	167.032 7, 245.877 8, 287.091 3
76	Tataramide B	C ₃₆ H ₃₆ N ₂ O ₈	15.08	-2.3	625.254 4	625.253 0	[M+H] ⁺	121.063 7, 462.192 3, 488.169 4, 625.253 0
77	6-([1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinoline-5-carbonyl)-2,3-dimethoxy-benzoic acid methyl ester	C ₂₁ H ₁₇ NO ₇	16.17	-1.3	396.107 8	396.108 4	[M+H] ⁺	172.039 2, 190.046 7, 292.059 5, 320.056 0, 364.082 0, 396.108 4
78	8-氧化小檗碱	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅	16.52	0.8	352.118 0	352.119 4	[M+H] ⁺	279.053 4, 294.077 4, 322.072 4, 337.095 7, 352.119 4
79	高良姜素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	16.61	-1.6	269.045 6	269.045 3	[M-H] ⁻	169.065 1, 269.045 2
80	姜酚	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	17.01	-0.9	293.175 8	293.175 7	[M-H] ⁻	177.093 5, 205.123 7, 220.146 9, 221.155 5, 236.105 7
81	N-月桂基二乙醇胺	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	17.20	-0.5	274.274 1	274.273 9	[M+H] ⁺	106.085 8, 256.263 1, 274.273 9
82	6-丙酮基二氢血根碱	C ₂₃ H ₁₉ NO ₅	17.48	-1.1	390.133 6	390.134 9	[M+H] ⁺	232.867 9, 245.875 2, 250.878 4, 260.872 3, 343.852 6, 390.134 9
83	山姜素	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	17.53	-0.2	271.096 5	271.095 9	[M+H] ⁺	167.033 3, 271.095 9
84	汉黄芩素	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	17.58	0.7	285.075 8	285.075 7	[M+H] ⁺	179.031 0, 285.075 7
85	邻苯二甲酸二乙酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	18.05	-3.2	223.096 5	223.041 9	[M+H] ⁺	121.028 2, 149.022 6, 207.032 3, 223.041 9
86	dillapiol	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	18.07	-3.2	222.088 7	222.085 0	[M] ⁺	177.054 7, 207.065 5, 222.085 0
87	13-HOTfE®	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	18.90	-2.2	293.212 2	293.211 8	[M-H] ⁻	121.103 1, 171.102 5, 183.137 6, 235.168 0, 275.200 7

*为对照品指认。

* reference substance identification.

3.2.2 不同产地黄连样品差异性成分分析 为确认不同产地间黄连致苦味的差异性成分, 研究采用 PCA、OPLS-DA 和 *t* 检验筛选对产地鉴别有贡献的潜在差异性成分。如图 5-A 所示, PCA 结果显示成分变量 53.9%的方差和产地变量 22.5%的方差, 表明所建立的 PCA 模型具有良好的拟合度与预测性; 聚类分布可见, 重庆与湖北产黄连样品呈现聚集趋势, 而湖南产黄连样品多分布在 PC2 负方向区域, 显示重庆、湖北与湖南产黄连在化学成分组成上存在差异。为明确重庆、湖北、湖南产地黄连的差异性成分, 对 15 批样品进行了 OPLS-DA 分析, 通过

1 000 次置换检验验证模型有效性, 结果显示模型具有显著的统计可靠性 ($P < 0.001$) 与预测能力 ($Q^2 > 0.5$)。从 OPLS-DA 得分图 (图 5-B、C、D) 可见, 不同产地样品呈现明显的聚类分离趋势, 表明该模型可有效区分不同产地的黄连。以 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 、 $FC \geq 1.2$ 或 $FC \leq 0.8$ 为标准筛选 3 个产地黄连样品的差异性成分。

从重庆与湖北已鉴定的共有成分中筛选出差异成分 23 个, 如 Longifloroside A、二氢脱氢二松柏醇、四氢小檗碱、降氧化北美黄连次碱、小檗红碱等; 从重庆与湖南已鉴定的共有成分中筛选出符

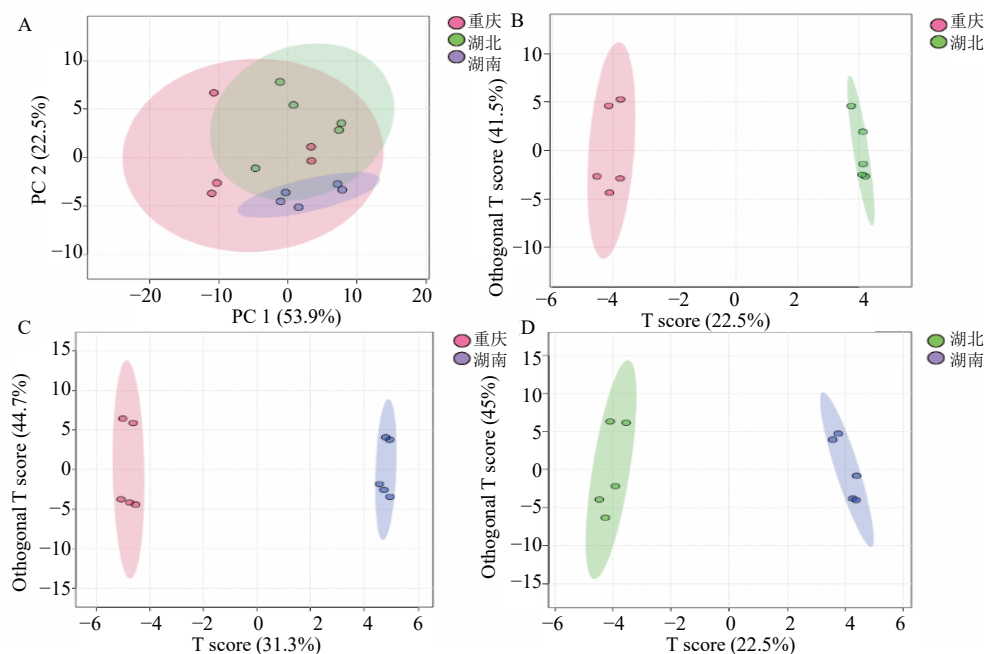


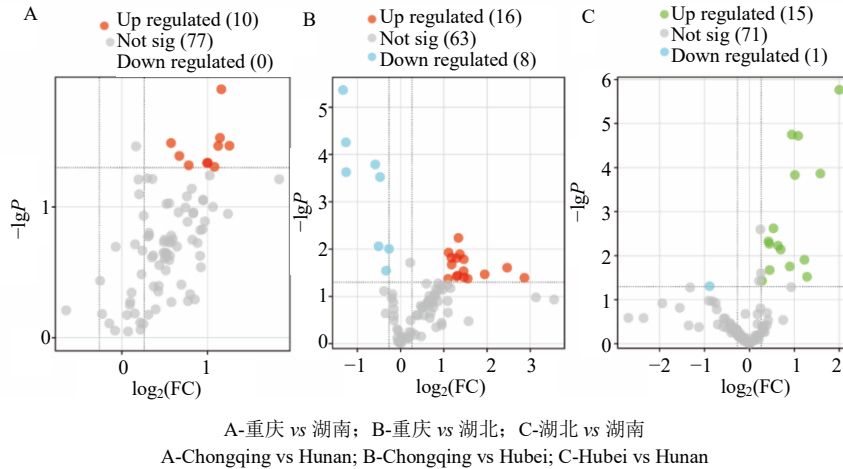
图 5 不同产地黄连的 PCA 得分图 (A) 和 OPLS-DA 得分图 (B, C, D)

Fig. 5 PCA score plots (A) and OPLS-DA score plots (B, C, D) for *C. chinensis* from different producing areas

合标准的成分 10 个，分别为 longifloroside A、二氢脱氢二松柏醇、氧海罂粟碱、13-羟基氧化小檗碱、8-氧化小檗碱等；从湖北与湖南已鉴定的共有成分中筛选出符合标准的成分 16 个，如四氢黄连碱、3-吡啶甲醛、longifloroside A、二氢脱氢二松柏醇、葫芦巴碱等。因此采用火山图可视化差异性成分，

如四氢小檗碱、降氧化北美黄连次碱、小檗红碱等共 16 个；重庆与湖南中上调差异性成分如氧海罂粟碱、13-羟基氧化小檗碱、8-氧化小檗碱等共 10 个；湖北与湖南中上调差异性成分如四氢黄连碱、4-O-阿魏酰奎尼酸、longifloroside A 等共 15 个。以上成分变化趋势与黄连苦味值结果一致，提示该 34 种差异性成分可能是导致其苦味差异的成分。

图 6 结果显示在重庆与湖北中上调差异性成分



A-重庆 vs 湖南; B-重庆 vs 湖北; C-湖北 vs 湖南

A-Chongqing vs Hunan; B-Chongqing vs Hubei; C-Hubei vs Hunan

图 6 不同产地黄连的差异性成分火山图

Fig. 6 Volcano plot of differential components of *C. chinensis* from different producing areas

3.2.3 黄连苦味呈味物质筛选 为明确黄连苦味呈味物质，使用 SPSS 27.0.1 软件对黄连的苦味和化学成分进行 Pearson 相关性分析初步筛选；采用分子对接技术将成分与苦味靶点进行验证筛选。

味值为因变量 (Y)，如图 7 所示，在黄连中的小檗碱、黄连碱、表小檗碱等 20 种成分与其苦味存在正相关性。其中，黄连苦味与小檗碱、黄连碱、巴马汀等呈现显著相关性 ($r \geq 0.7$)，与隐绿原酸、原儿茶醛呈现相关性 ($0.5 > r > 0.7$)。初步筛选出黄连中

首先，以化学成分的峰面积为自变量 (X)，苦

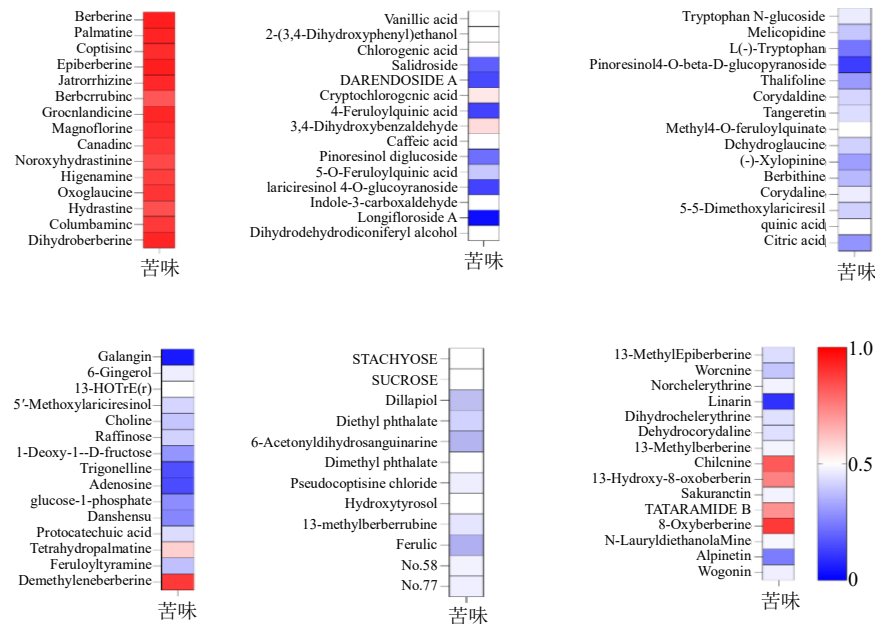


图 7 黄连成分与电子舌苦度 Pearson 相关性分析热图

Fig. 7 Heatmap of Pearson correlation analysis between *C. chinensis* components and E-tongue bitterness intensity

的小檗碱、黄连碱、表小檗碱等 20 种成分为其致苦味的化学成分基础。

分子对接结果显示, 由图 8 可见, 20 个候选苦味化合物均能与 TAS2Rs 结合, 其中生物碱是苦味的主要贡献物质; 而隐绿原酸与原儿茶醛与 TAS2Rs 的结合亲和力较弱, 对苦味的贡献较小。其中黄连碱的结合能力最强, 可与 TAS2R1 (Phe259、Leu250、Met77)、TAS2R7 (Leu203、Leu118、Met122)、TAS2R8 (Thr255、Tyr76、Gln82) 及 TAS2R14 (Gln266、Thr86、Phe76) 的关键氨基酸残基形成氢键; 小檗碱可与 TAS2R1 (Ile254、Leu250、Met77)、TAS2R7 (Pro261、Met260、Val160)、TAS2R8

(Tyr258、Val267、Tyr76) 及 TAS2R14 (Phe76、Thr86、Ser65) 形成氢键网络; 巴马汀则可与 TAS2R1 (Ile73、Met77、Leu250)、TAS2R7 (Pro261、Glu262、Glu264)、TAS2R8 (Thr255、Val267、Tyr258) 及 TAS2R14 (Gln266、Phe76、Ser65) 形成氢键, 具体对接位点见图 9。

综上, 明确黄连苦味呈味物质共 18 种, 其中黄连碱、巴马汀、小檗碱、表小檗碱、药根碱、格兰地新、非洲防己碱为核心呈味成分 (结合能 < -7 kcal/mol), 木兰花碱、小檗红碱等其余 11 种生物碱为重要呈味成分 (结合能介于 -6 ~ -7 kcal/mol)。

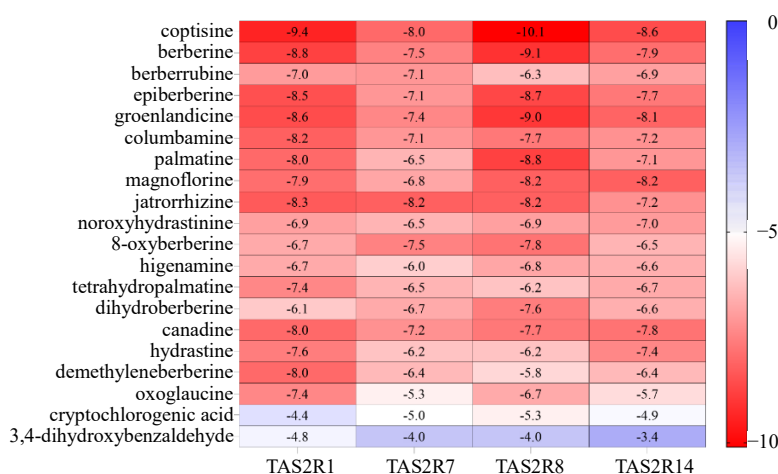


图 8 黄连成分与苦味靶点分子对接热图

Fig. 8 Heatmap of molecular docking between *C. chinensis* components and bitterness targets

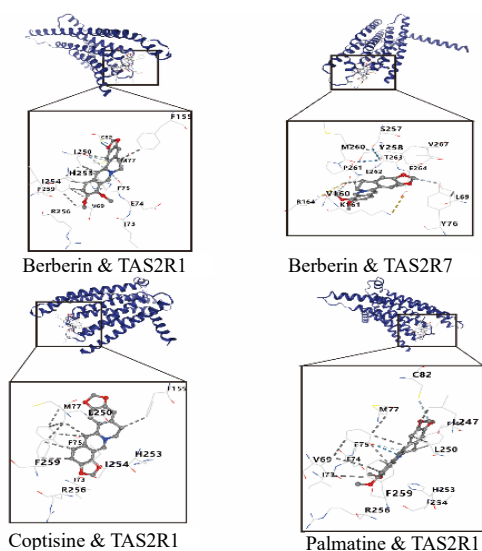


图 9 成分与苦味靶点对接位点

Fig. 9 Plots of docking sites between components and bitterness targets

3.3 黄连苦味活性成分

电子舌技术与体外抗氧化测试结果显示, 重庆、湖北、湖南 3 地黄连的苦味强度与抗氧化活性呈现显著的地域协同性, 相关性分析结果显示, 黄连苦味强度与 DPPH、ABTS 自由基清除率呈显著正相关 ($P < 0.05$), 证实黄连苦味特征与抗氧化活性存在药效关联; 进一步通过植物代谢组学结合 Pearson 相关性分析、分子对接验证, 筛选出 18 个潜在苦味呈味物质。

综合上述结果可见, 黄连中通过味觉受体介导苦味感知的呈味物质, 其分子结构中的酚羟基、共轭双键等基团既可与苦味受体结合产生苦味, 又能通过供氢作用清除自由基以发挥抗氧化活性, 且这类成分的含量分布与苦味强度、抗氧化活性的地域差异一致。由此可明确, 黄连的苦味呈味物质与发挥抗氧化作用的活性成分在物质基础上具有一致性, 即黄连中介导苦味感知的苦味呈味物质, 正是

其发挥抗氧化功效的苦味活性成分。

3.4 黄连苦味活性成分质量控制研究

3.4.1 含量测定结果 15批样品中,7种核心呈味成分格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、

黄连碱、巴马汀、小檗碱的质量分数分别为2.2710~3.7915、2.4978~3.9280、2.7945~5.8500、7.1308~10.2968、13.9043~23.2518、9.0993~13.3335、37.4410~57.8050 mg/g。具体结果见表4。

表4 15批黄连样品中7种成分的含量测定结果

Table 4 Content determination results of seven components in 15 batches of *C. chinensis* samples

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)						
	格兰地新	药根碱	非洲防己碱	表小檗碱	黄连碱	巴马汀	小檗碱
S1	3.6243	3.5375	4.7920	9.9625	20.7853	12.7945	55.5040
S2	3.7915	3.9280	5.8500	10.2968	23.2518	13.3335	57.8050
S3	3.7263	3.8023	4.8965	10.2183	22.0765	12.9045	56.1400
S4	3.7000	3.6568	4.7935	10.0238	21.2975	12.8183	55.7720
S5	3.5468	3.5025	4.7075	9.9273	19.9423	12.7005	54.2070
S6	3.4898	3.2410	4.0665	9.5125	18.4550	12.5015	50.7425
S7	2.5278	2.6733	3.1150	8.4425	13.9148	9.9523	38.1345
S8	3.0178	3.1265	3.7265	9.0618	17.3628	11.5250	49.4158
S9	2.5735	2.8565	3.3130	8.5498	15.4520	10.5200	43.6290
S10	3.5395	3.3980	4.1020	9.6860	19.2498	12.6875	53.9453
S11	3.5305	3.3150	4.0940	9.5528	18.5625	12.5385	52.3778
S12	3.2145	3.1985	3.8880	9.2168	17.5633	12.3753	50.1738
S13	3.2535	3.2365	3.9165	9.3125	17.8620	12.4490	50.3845
S14	2.7045	3.0603	3.3660	8.6775	17.0580	10.8393	47.3108
S15	2.2710	2.4978	2.7945	7.1308	13.9043	9.0993	37.4410

3.4.2 黄连苦味活性成分质量控制评价 为验证该7种成分是否能作为黄连质量控制标准,对该部分结果进行PCA及双向方差分析。如图10-A所示,PCA结果显示主成分PC1解释了95.3%的方差,PC2解释2.8%的方差,说明PCA模型对成分变量的解释能力较强,且可有效区分重庆和湖北产地与湖南产地的差异。3个产地间7种成分的双向方差分析结果显示(图10-B),在重庆与湖北产地间,除小檗碱存在显著差异外,其余6种成分均无明显差异;在重庆与湖南产地间,除药根碱无显著差异外,其余6种成分均存在显著差异,且黄连碱和小檗碱存在极显著差

异;在湖北与湖南产地间,格兰地新、表小檗碱、巴马汀存在显著差异,黄连碱、小檗碱存在明显显著差异,而药根碱、非洲防己碱无明显差异。总的来说,PCA模型有效进行了产地区;双向方差分析解释了不同产地间具体的成分含量差异。

结合PCA的有效产地区分能力与双向方差分析明确的成分含量差异特征,证实所筛选的7种苦味活性成分可作为黄连质量控制的核​​心指标,为其产地鉴别与品质评价提供了科学支撑。

4 讨论

本研究明确黄连呈苦物质是其抗氧化活性的核

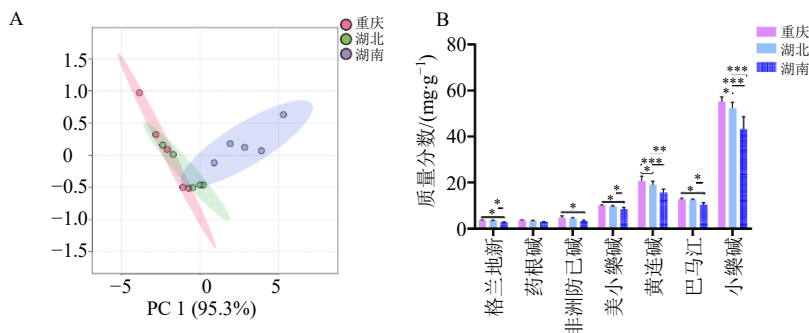


图10 不同产地黄连成分含量的主成分分析得分图(A)和双向方差分析图(B)

Fig. 10 PCA plot (A) and two-way ANOVA plot (B) of component contents in *C. chinensis* from different producing areas

心贡献者, 苦味强度与 DPPH、ABTS 自由基清除率的显著相关性, 证实了“苦味成分即药效成分^[10]”的传统认知。因黄连中的小檗碱、黄连碱等生物碱的分子结构中含有酚羟基、共轭双键等基团, 既可通过刺激味觉受体产生苦味, 又可通过供氢、清除自由基的方式发挥 DPPH 和 ABTS 自由基清除作用, 样品中该类生物碱含量越高, 其苦味强度与自由基清除活性的协同性越强; 而 FRAP 法所测总抗氧化能力的铁离子还原能力与苦味相关性较弱, 可能因部分生物碱对电子转移的贡献与含量关联度较低^[11-13]; 提示黄连的苦味与功效关联具有靶点特异性, 需结合具体药效机制进行针对性分析。

分子对接技术进一步揭示了苦味感知的分子机制。人体苦味感知源于 2 型味觉受体 (TAS2Rs), 属于 G 蛋白偶联受体 (GPCRs), 该受体主要分布在味细胞表面。当苦味化合物与这些受体结合时, 会触发一系列生理反应: 生物碱、萜类、酚类等配体与受体结合后, 会激活细胞内 G 蛋白信号通路, 引发包括胞质内钙离子 (Ca^{2+}) 浓度升高、神经递质释放在内的连锁反应^[14-17]。这些信号通过味觉神经传递至大脑味觉皮层, 不仅使人产生苦味感知, 同时还介导止血、抗炎等药理作用^[18-20]。因此选取人体主要苦味受体 TAS2R1/7/8/14 作为靶点, 结果显示 18 种生物碱类成分与受体结合能均低于 -5 kcal/mol, 其中黄连碱、小檗碱、巴马汀等 7 种原小檗碱型生物碱的平均结合能低于 -7 kcal/mol, 表现出强烈的结合活性。现有文献表明, 苦味化合物多含羟基 (-OH) 或疏水基团 (-NO₂、=N-、-S-、-S-S-、-SH、-SO₃H), 这类基团可通过与 TAS2Rs 膜结构作用或电荷吸附促进结合^[21]。本研究 20 个候选化合物均含羟基或亚胺基 (=N-) 关键药效团, 其中黄连碱等 7 种成分 (除木兰花碱外均为原小檗碱型生物碱) 与苦味靶点平均结合能 < -7 kcal/mol, 可通过 π - π 堆积或多氢键稳定结合受体; 结合能介于 -6~-7 kcal/mol 的成分因活性基团较少, 结合强度较弱^[22-23]; 隐绿原酸等酚酸类因母核简单、共轭体系小且活性基团有限, 结合能力低^[24-25], 不作为苦味贡献成分。该结果印证了生物碱为苦味中药主要呈味物质的传统认知, 明确了黄连苦味的核心成分及分子机制, 弥补了现有研究对苦味感知路径阐释的不足。

现行《中国药典》2025 年版中对黄连药材质量的评价指标较为单一, 仅以小檗碱、黄连碱、巴马

汀和表小檗碱的含量作为评价依据, 难以全面反映药材品质。本研究建立了同时测定格兰地新、药根碱、非洲防己碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱 7 种苦味活性物质的 HPLC 方法。该质量控制方法不仅可精准定量格兰地新、药根碱等 7 种苦味活性成分, 还能基于不同产地间成分含量的差异有效区分样品的道地产区与非道地产区, 为黄连道地性鉴别提供了可靠的定量分析支撑; 并且该方法实现了化学成分、感官特征和药效活性的一体化质量评价, 可为黄连药材及相关制剂的品质控制、标准化生产提供实用技术手段。相关性分析结果进一步验证了所筛选出的苦味物质基础成分。

本研究通过多维分析方法构建了感官评价、生物活性、活性成分挖掘及验证和质量控制的研究方法, 基于不同产地差异系统阐明了黄连 18 种苦味活性成分 (包括小檗碱、木兰花碱、格兰地新、非洲防己碱、黄连碱、表小檗碱、药根碱、小檗红碱、巴马汀、8-氧化小檗碱、去甲乌药碱、四氢小檗碱、降氧化北美黄连次碱、四氢巴马汀、去亚甲基小檗碱、氧海罂粟碱、北美黄连碱、二氢小檗碱) 及分子机制, 并在此基础上完善了黄连的质量控制方法, 为中药性味理论的现代科学阐释与质量标准化提供了创新性解决方案。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 彭亚倩, 唐辉, 韩彦琪, 等. 中药五味药性理论的现代研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(9): 2014-2023.
- [2] 冯心池, 张强, 姚园园, 等. 基于中药药味的化学生物学研究: 以苦味中药为例 [J]. 药学学报, 2026, 61(1): 21-28.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 365-366.
- [4] 林晓钰, 李根, 赵一航, 等. 大黄-黄连配伍“收苦寒之益, 无苦寒之弊”用药规律及内涵分析 [J]. 中草药, 2025, 56(12): 4336-4344.
- [5] 曹康宁, 彭帮柱. 牡丹籽中苦味成分的分离与鉴定 [J]. 中国食品学报, 2023, 23(6): 294-303.
- [6] Khound P, Gurumayum N, Devi R. Amelioration of atherosclerotic complications and dyslipidemia by verbascoside-enriched fraction of *Clerodendrum glandulosum* leaves targeting LDL-R and LXR-mediated reverse cholesterol transport [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(2): 352-367.
- [7] 刘海青, 薛文静, 娄家淇, 等. 基于网络药理学和实验探讨清肝益脾剂抗肝纤维化的作用机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2025, 27(8): 2418-2430.

- [8] Ran Q, Wang J, Wang L, *et al.* Rhizoma coptidis as a potential treatment agent for type 2 diabetes mellitus and the underlying mechanisms: A review [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 805.
- [9] 徐加加, 崔金忠, 胡晨松, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探究姜黄素缓解砷暴露对睾酮合成的影响 [J]. *动物医学进展*, 2025, 46(09): 79-85.
- [10] 吕佳桦, 朱婵, 唐宗湘. 中药药性中“苦味”形成机制及生物学意义 [J]. *广西师范大学学报: 自然科学版*, 2022, 40(5): 324-331.
- [11] 彭晓婷, 杨丽宏, 袁子文, 等. 黄连及黄连须、黄连茎叶体外抗氧化活性的谱效关系研究 [J]. *中兽医医药杂志*, 2021, 40(1): 25-31.
- [12] 方昕悦, 李宇, 冉亚兰, 等. 不同表型的利川鸡爪黄连的形态学和生物学活性差异研究 [J]. *华中师范大学学报: 自然科学版*, 2023, 57(6): 870-877.
- [13] 梁晓光, 吴飞, 王优杰, 等. 基于现代电子舌技术的传统苦味中药黄连的苦味物质基础研究 [J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(17): 3326-3329.
- [14] 刘勇杰, 王平, 夏婧, 等. 基于斑马鱼模型及分子对接技术探究艾叶黄酮的降尿酸作用及药效活性成分 [J]. *中草药*, 2024, 55(24): 8470-8478.
- [15] Adler E, Hoon M A, Mueller K L, *et al.* A novel family of mammalian taste receptors [J]. *Cell*, 2000, 100(6): 693-702.
- [16] Behrens M, Lang T. Extra-oral taste receptors: Function, disease, and perspectives [J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 881177.
- [17] Haraguchi T, Okuno T, Nishikawa H, *et al.* The relationship between bitter taste sensor response and physicochemical properties of 47 pediatric medicines and their biopharmaceutics classification [J]. *Chem Pharm Bull*, 2019, 67(12): 1271-1277.
- [18] Lund T C, Kobs A J, Kramer A, *et al.* Bone marrow stromal and vascular smooth muscle cells have chemosensory capacity *via* bitter taste receptor expression [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58945.
- [19] Back V, Asgari A, Franczak A, *et al.* Inhibition of platelet aggregation by activation of platelet intermediate conductance Ca^{2+} -activated potassium channels [J]. *J Thromb Haemost*, 2022, 20(11): 2587-2600.
- [20] Ogura T, Margolskee R F, Kinnamon S C. Taste receptor cell responses to the bitter stimulus denatonium involve Ca^{2+} influx *via* store-operated channels [J]. *J Neurophysiol*, 2002, 87(6): 3152-3155.
- [21] Hejaz H, Karaman R, Khamis M. Computer-assisted design for paracetamol masking bitter taste prodrugs [J]. *J Mol Model*, 2012, 18(1): 103-114.
- [22] 陈可点. 黄连与延胡索中原小檗碱型生物碱“构-效-性”关系探究(一) [D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [23] 李杨松. 中药味连“辨色论质”初步研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- [24] 魏子路, 阿丽娅·阿卜杜热依木, 孙秀岩, 等. 基于味觉信息和化学成分的“谱味”关系挖掘白术苦味物质基础 [J]. *分析测试学报*, 2023, 42(8): 952-959.
- [25] 荆文光, 赵小亮, 张权, 等. 基于电子舌和多成分定量技术的厚朴“苦味”药性物质基础研究 [J]. *中国现代中药*, 2022, 24(2): 258-264.

[责任编辑 时圣明]