

• 药剂与工艺 •

黄芩-炙甘草配伍合煎液不同相态的体外释放及药动学研究

张双辰^{1,2}, 何沂灿^{3,4}, 张年战^{1,2}, 陈芳雯^{1,2}, 魏欣玲^{1,4}, 沈成英⁴, 岳鹏飞^{1,2}, 申宝德^{1,2*}

1. 江西中医药大学, 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004
2. 经典名方现代中药创制全国重点实验室, 江西 南昌 330004
3. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137
4. 江西省人民医院(南昌医学院第一附属医院)药学部, 江西 南昌 330006

摘要: 目的 研究黄芩 *Scutellariae Radix*-炙甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* 配伍合煎液不同相态的成分分布、体外释放及药动学行为, 揭示两者配伍缓性增效的物理结构基础。方法 采用离心结合透析法拆分黄芩-炙甘草配伍合煎液不同相态, 并进行粒径和形态表征; 采用 HPLC 法测定不同相态中主要有效成分黄芩苷、汉黄芩苷、芹糖甘草苷、甘草酸的含量, 并考察其体外释放情况; 采用 LC-MS/MS 法测定大鼠 ig 不同相态后黄芩苷的血药浓度, 并计算药动学参数。结果 黄芩-炙甘草配伍合煎液不同相态的粒径和形态存在明显差异; 各相态中芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸质量分数排序为纳米相态>真溶液相态>沉淀相态; 4种成分在纳米相态中释放最好, 其次是真溶液相态, 沉淀相态最差; 全浸膏及不同相态 ig 给药后, 黄芩苷的最大血药浓度 (C_{max}) 和血药浓度-时间曲线下面积 (AUC_{0-t}) 顺序均为纳米相态>全浸膏>真溶液相态>沉淀相态。结论 黄芩-炙甘草合煎液复杂相态体系的形成, 显著影响有效成分的空间分布、体外释放及药动学行为, 可能是其发挥配伍缓性增效作用的物理结构基础。

关键词: 配伍; 黄芩; 炙甘草; 相态差异; 成分分布; 体外释放; 药动学

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3720-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.005

Study on *in vitro* release and pharmacokinetic of different phases of co-decoction of *Scutellariae Radix* and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*

ZHANG Shuangchen^{1, 2}, HE Yican^{3, 4}, ZHANG Nianzhan^{1, 2}, CHEN Fangwen^{1, 2}, WEI Xinling^{1, 4}, SHEN Chengying⁴, YUE Pengfei^{1, 2}, SHEN Baode^{1, 2}

1. Key Laboratory of Modern Preparation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
2. State Key Laboratory for the Modernization of Classical and Famous Prescriptions of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China
3. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
4. Department of Pharmacy, Jiangxi Provincial People's Hospital, the First Affiliated Hospital of Nanchang Medical College, Nanchang 330006, China

Abstract: Objective To investigate the compositional distribution, *in vitro* release, and pharmacokinetic behavior of different phases in the Huangqin (*Scutellariae Radix*, SR)-Zhigancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*, GRRPM) decoction, and to elucidate the physical structural basis for the delayed and enhanced efficacy mediated by herb compatibility. **Methods** The decoction was separated into nanoparticulate, true solution, and precipitate phases by centrifugation combined with dialysis. The

收稿日期: 2025-11-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82460852); 江西省自然科学基金资助项目(20232BAB216139); 江西中医药大学校级科技创新团队发展计划项目(CXTD22006)

作者简介: 张双辰, 硕士研究生, 研究方向为中药制剂学。E-mail: 18864687568@163.com

*通信作者: 申宝德, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药新型给药系统及传统汤剂纳米自组装解析与应用。E-mail: shenbaode@163.com

particle size and morphology of these phases were characterized. The contents of major active components baicalin, wogonoside, liquiritin apioside, glycyrrhizic acid, and others were determined by HPLC, and their *in vitro* release profiles were evaluated. The plasma concentration of baicalin in rats after oral administration of different phases was measured using LC-MS/MS, and pharmacokinetic parameters were calculated. **Results** Significant differences in particle size and morphology were observed among the phases. The mass fractions of liquiritin apioside, baicalin, wogonoside, and glycyrrhizic acid in each phase decreased in the order: nanoparticulate phase > true solution phase > precipitate phase. All four components showed the highest release from the nanoparticulate phase, followed by the true solution phase, and the lowest release from the precipitate phase. After oral administration of the whole extract and the different phases, the C_{max} and AUC_{0-t} of baicalin ranked as follows: nanoparticulate phase > whole extract > true solution phase > precipitate phase. **Conclusion** The formation of a complex multiphase system in the SR-GRRPM decoction significantly affects the spatial distribution, *in vitro* release, and pharmacokinetic behavior of the active constituents. This may represent the physical structural basis underlying the delayed and enhanced efficacy resulting from the combination of the two herbs.

Key words: compatibility; *Scutellariae Radix*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle*; phase difference; component distribution; *in vitro* release; pharmacokinetics

黄芩为唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,其味苦性寒,具有清热燥湿、泻火解毒等功效,临床组方常用于各种胃肠炎症疾病的治疗,如黄芩汤、葛根芩连汤、半夏泻心汤等^[1]。然而,苦寒药多具有“苦寒伤胃”的不良反应,误服过服易引起食欲降低、腹胀、腹泻、便秘等消化道症状^[2]。甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat. 或光果甘草 *G. glabra* L. 的干燥根和根茎,具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效^[3]。中医药理论认为,甘草味甘性平,能够缓和黄芩的苦寒之性,而其清热解毒之功可协同黄芩清热解毒之力,发挥增效作用^[4-5]。然而,两者配伍缓性增效的机制尚不清楚。

现代研究表明,甘草配伍合煎液特定相态的形成,可影响配伍药味中效应成分的溶解溶出、吸收分布及药理毒理活性等,是甘草配伍作用的外在体现^[6]。例如,甘草与马钱子配伍合煎形成的沉积相态可富集马钱子近 80% 的毒效物质,且主要毒效成分的宁呈现出难溶性骨架材料缓释制剂的释放特性而减毒,是两者配伍减毒的有效形式^[7]。甘草与芫花配伍合煎形成的纳米粒可以增加毒性成分芫花酯甲的溶出,并增强细胞毒性,是两者配伍增毒(禁忌)的物理结构基础^[8]。另有研究表明,甘草-黄连配伍增效缓性作用,与两者合煎形成的超分子纳米粒密切相关^[9-10]。课题组前期研究也发现,甘草与白芍配伍(芍药甘草汤)合煎液能够形成不同相态,其中,纳米相态可显著促进芍药苷、甘草酸等成分的吸收,从而发挥配伍增效作用^[11-13]。

基于此,本研究从相态角度探究黄芩-炙甘草配伍缓性增效的可能机制,以黄芩汤和葛根芩连汤中

黄芩-炙甘草比例(3:2)制备两者的合煎液,采用高速离心联合透析的方法进行黄芩-炙甘草合煎液的相态拆分,HPLC 测定各相态中黄芩苷、汉黄芩苷、芹糖甘草苷、甘草酸等成分含量及体外释放差异,LC-MS/MS 测定大鼠 ig 不同相态后黄芩苷的血药浓度,并计算药动学参数,研究甘草配伍汤液相态对效应成分空间分布、释放及药动学的影响;从相态形成与有效成分的释放和吸收角度,解析甘草配伍黄芩缓性增效的药剂学基础,为进一步揭示甘草配伍黄芩缓性增效的现代科学内涵奠定基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器

LC-2010A 型高效液相色谱仪,日本岛津公司; Triple Quad™ 4500MD 型液相色谱-质谱联用仪,配置离子源(ESI),日本岛津公司; MS-H280-PRO 型数显磁力搅拌器,大龙兴创实验仪器(北京)股份公司; 360 ES225SM-DR(E)型号电子天平,普利赛斯称重设备有限公司; SCIENTZ-18N/A 型冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司; CSB23054 型金尼克超声波清洗器,合肥金尼克医疗科技有限公司; 98-1-B 型电子调温电热套,天津市泰斯特仪器有限公司; BY-R20 型高速离心机,北京白洋医疗器械有限公司; RC807DP 型溶出试验仪,天津市天大天发科技有限公司; Mastersizer 2000 型激光粒度仪、Zetasizer Pro 型纳米粒度电位仪,马尔文帕纳科科技公司。

1.2 药物与试剂

黄芩饮片(批号 24032511,产地山西)、炙甘草饮片(批号 24122406,产地甘肃定西),所有饮片均购自江西彭氏国药堂饮片有限公司;黄芩饮片和炙甘草饮片,均经江西省人民医院沈成英副主任

中药师鉴定,分别为唇形科黄芩属植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根,豆科甘草属植物甘草 *G. uralensis* Fisch.的干燥根和根茎。

对照品芹糖苷草苷(批号 HR1718W9)、黄芩苷(批号 HS81115B1)、汉黄芩苷(批号 HR5125S1)、甘草酸(批号 HG4398S3),质量分数 $\geq 98.0\%$,均购自宝鸡市辰光生物科技有限公司。磷酸(批号 20210701)、磷酸二氢钾(批号 2206161)、氢氧化钠(批号 2110281)、冰醋酸(批号 2312131),分析纯,均购自西陇科学股份有限公司。染料木素对照品(批号 M22GB142479,质量分数 $\geq 98.0\%$)、纤维素透析袋(截留相对分子质量 8 000~10 000)均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.3 动物

健康雄性 SPF 级 SD 雄性大鼠,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,许可证号为 SCXK(豫)2025-0005,动物实验环境:所有大鼠均饲养于恒温恒湿的动物房[温度(25 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度 40%~60%,每 12 h 昼夜节律]内,自由饮食饲养 1 周后进行实验。动物实验经南昌医学院实验动物伦理委员会批准,批准号为 NYLLSC2025090401。

2 方法与结果

2.1 黄芩-炙甘草合煎液相态拆分

2.1.1 黄芩-炙甘草总提取液的制备 称取黄芩 30 g、炙甘草 20 g,置于圆底烧瓶中,加入 10 倍量水浸泡 30 min,回流提取 1 h,趁热滤过;药渣加入 8 倍量的水回流提取 1 h,趁热滤过;将 2 次提取液合并,浓缩至生药量 1 g/mL,即得黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏。

2.1.2 沉淀相态的制备 将“2.1.1”项下的浓缩液倒入离心管中,12 000 r/min 离心(离心半径 9.8 cm) 30 min,取出沉淀,即得黄芩-炙甘草配伍合煎液沉淀相态。

2.1.3 纳米相态的制备 将“2.1.2”项下离心后的上清液装入透析袋中(截留相对分子质量 8 000~10 000),随后将透析袋放置于装有 400 mL 纯净水的烧杯中,以 200 r/min 透析 30 min,取出透析袋中样品,以 12 000 r/min 高速离心 30 min,离心产生的微量沉淀合并至沉淀相态,上述透析-离心过程重复 2 次,收集透析袋内离心后上层液体即为黄芩-炙甘草配伍合煎液纳米相态。

2.1.4 真溶液相态的制备 取“2.1.3”项下袋外的液体,即为黄芩-炙甘草配伍合煎液真溶液相态。

2.1.5 冻干粉的制备 将上述制备的黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏及各个相态,分别真空冷冻干燥 24 h,即得黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏、纳米相态、沉淀相态、真溶液相态冻干粉,各相态冻干粉的得率(合煎液浸膏粉的质量占比)分别约为 59.81%、5.29%、30.79%。

2.2 粒径分析

取黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏、沉淀相态及纳米相态冻干粉适量,加纯水超声分散后,采用激光粒度仪测定粒径,结果见表 1,其中 $d_{0.1}$ 表示 10% 的粒子粒径小于此值, $d_{0.5}$ 表示 50% 的粒子粒径小于此值, $d_{0.9}$ 表示 90% 的粒子粒径小于此值,粒径分布(span) = $(d_{0.9} - d_{0.1}) / d_{0.5}$,各相态 $d_{0.9}$ 值为黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏 > 沉淀相态 > 纳米相态。

表 1 黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏、沉淀相态及纳米相态粒径分析结果($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Analysis results of the extract, precipitated phase and nano-phase particle size of the combined decoction of *Scutellariae Radix* (SR) and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Praeparata cum Melle* (GRRPM) ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	$d_{0.1}/\mu\text{m}$	$d_{0.5}/\mu\text{m}$	$d_{0.9}/\mu\text{m}$	span
浸膏	3.37 \pm 0.49	11.17 \pm 1.91	32.49 \pm 7.59	2.60 \pm 0.54
沉淀相态	3.12 \pm 0.10	11.30 \pm 0.60	28.49 \pm 5.48	2.23 \pm 0.37
纳米相态	0.08 \pm 0.02	0.66 \pm 0.74	2.62 \pm 3.34	3.10 \pm 1.11

2.3 形态观察

取黄芩-炙甘草配伍合煎液浸膏、纳米相态、沉淀相态以及真溶液相态的冻干粉适量,涂抹于黏有导电胶铜制样品台上,表面减压喷金后,于扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)下观察形态并拍照^[14]。结果见图 1,纳米粒冻干粉可观察到类球形纳米粒,大小约 200 nm;黄芩-炙甘草浸膏、沉淀呈不规则的片状,表面偶见颗粒,真溶液呈现出复杂的纹理结构。

2.4 黄芩-炙甘草合煎液不同相态中主要成分含量测定

2.4.1 混合对照品溶液的制备 分别称取芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸对照品适量,精密称定,分别置于 50 mL 量瓶中,加甲醇超声溶解并定容,即得质量浓度分别为芹糖甘草苷 251 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、黄芩苷 535 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、汉黄芩苷 413 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、甘草酸 143 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品储备液。分别取上述对照品储备液适量,置于同一个 10 mL 量瓶内,加甲醇稀释并定容,即得芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘

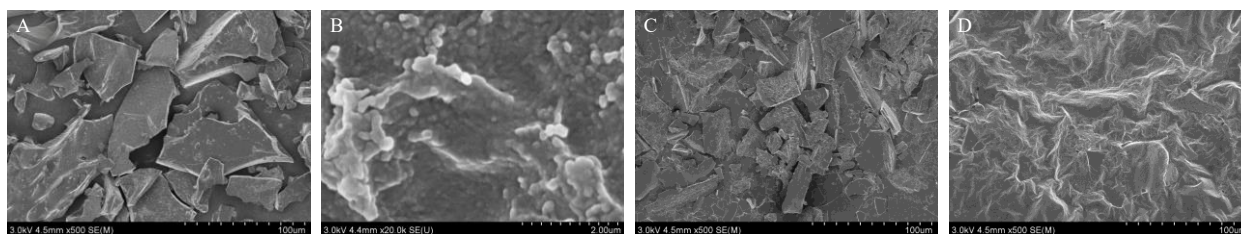


图1 黄芩-炙甘草浸膏 (A)、纳米相态 (B)、沉淀相态 (C)、真溶液相态 (D) 的 SEM 图

Fig. 1 SEM images of SR-GRRPM extract (A), nano-phase state (B), precipitated phase state (C), and true solution phase state (D)

草酸质量浓度分别为 25.1、53.5、41.3、14.3 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷藏，备用。

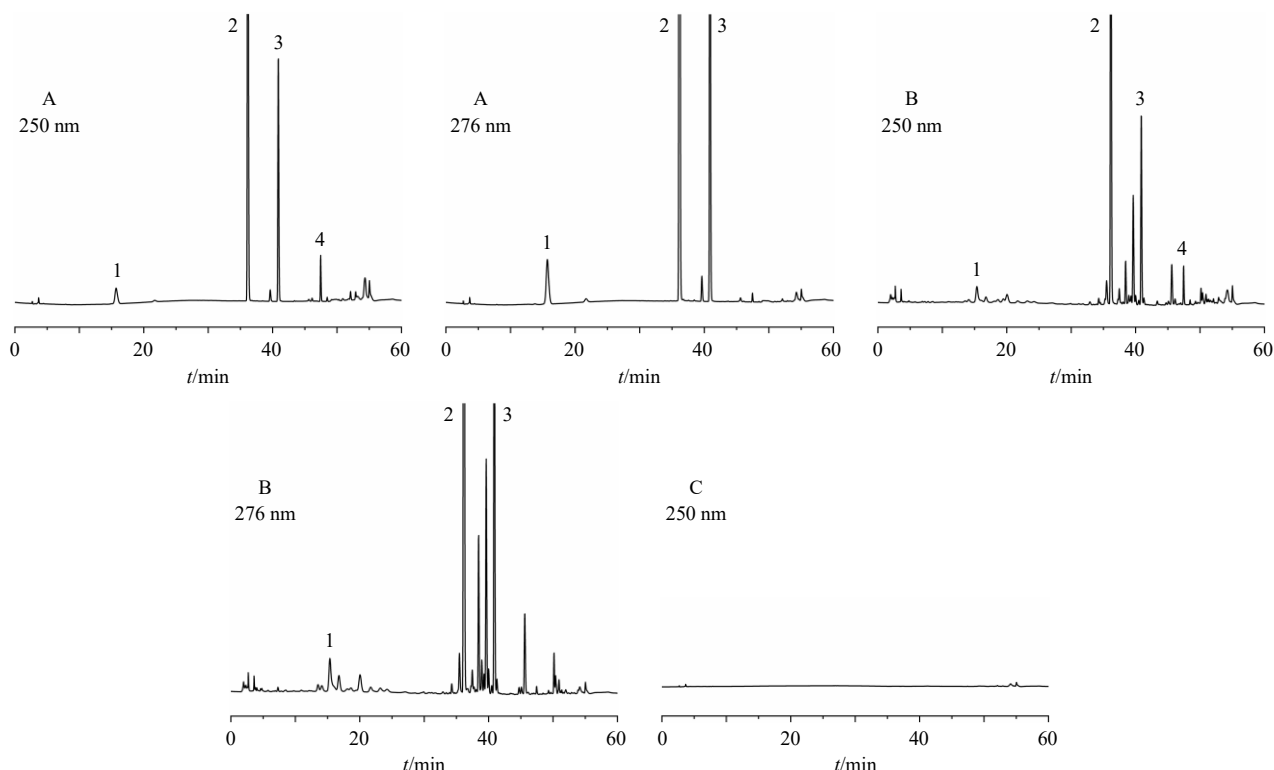
2.4.2 供试品溶液的制备 称取“2.1.5”项下的浸膏、沉淀相态、纳米相态、真溶液相态冻干粉各 50 mg，精密称定，置于 25 mL 量瓶中，加甲醇超声（功率 50 W、频率 40 kHz）溶解，定容至刻度线，摇匀，静置，取上清，过 0.45 μm 微孔滤膜，即得各供试品溶液。

2.4.3 色谱条件 Shim-pack GIS C_{18} 色谱柱（250 mm \times 4.6 mm，5 μm ）；流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液，进行梯度洗脱：0~17 min，19%~30%乙腈；17~27 min，30%~42%乙腈；27~37 min，42%~

30%乙腈；37~47 min，30%~19%乙腈；47~50 min，19%乙腈；进样量 10 μL ；检测波长为 276 nm（芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷）、250 nm（甘草酸）；柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ ；体积流量 1.0 mL/min。

2.4.4 专属性考察 取“2.4.1”“2.4.2”项下的混合对照品溶液和黄芩-炙甘草浸膏溶液适量，在“2.4.3”项下色谱条件进样测定，并记录色谱图，结果见图 2。根据图 2 可以看出，4 种成分分离良好，且无阴性干扰，说明方法专属性良好。

2.4.5 线性关系考察 取“2.4.1”项下芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸对照品储备液适量，加甲醇溶解，逐级稀释制成系列质量浓度梯度的混合



1-芹糖甘草苷；2-黄芩苷；3-汉黄芩苷；4-甘草酸。

1-liquiritin apioside; 2-baicalin; 3-wogonoside; 4-glycyrrhizic acid.

图2 混合对照品 (A)、黄芩-炙甘草浸膏样品 (B) 和溶剂甲醇 (C) 的专属性 HPLC 图

Fig. 2 Specific HPLC diagrams of mixed reference substances (A), SR-GRRPM extract sample (B) and solvent methanol (C)

对照品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件进样测定,以对照品质量浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,建立线性回归方程分别为芹糖甘草苷 $Y=12\,478.0X+5\,331.0$, $R^2=0.999\,6$,线性范围 $2.51\sim 50.20\ \mu\text{g/mL}$;黄芩苷 $Y=39\,857.0X-50\,574.0$, $R^2=0.999\,7$,线性范围 $16.07\sim 240.98\ \mu\text{g/mL}$;汉黄芩苷 $Y=4\,4671.0X-10\,284.0$, $R^2=0.999\,7$,线性范围 $4.16\sim 62.40\ \mu\text{g/mL}$;甘草酸 $Y=5\,918.3X+1\,927.3$, $R^2=0.999\,8$,线性范围 $1.44\sim 21.66\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.4.6 精密度考察 取“2.4.1”项下的混合对照品溶液适量,在“2.4.3”项下色谱条件连续进样6次,测定峰面积,计算芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸峰面积的RSD分别为4.12%、4.27%、4.17%、2.93%,结果表明该仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性考察 取同一批黄芩-炙甘草浸膏适量,按照“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,分别在制备后0、2、4、6、8、12、24 h,按照“2.4.3”项下色谱条件进样,测定峰面积,计算得芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸峰面积的RSD分别为1.00%、0.63%、0.68%、2.28%,结果表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.8 重复性考察 取同一批黄芩-炙甘草浸膏适量,按照“2.4.2”项下方法制备6份供试品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件对各成分进行测定,计算得到芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸质量分数的RSD分别为2.56%、1.24%、1.26%、1.02%,结果表明此方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率考察 取已测知4种指标成分含量的同一批黄芩-炙甘草浸膏样品6份,每份25 mg,精密称定,按1:1的比例精密加入各单一对照品溶液(25.1 $\mu\text{g/mL}$ 的芹糖甘草苷 250 μL , 160.65 $\mu\text{g/mL}$ 的黄芩苷 1 575 μL , 41.6 $\mu\text{g/mL}$ 的汉黄芩苷 400 μL , 14.44 $\mu\text{g/mL}$ 的甘草酸 145 μL),加适量甲醇溶解,并定容至10 mL,摇匀过0.45 μm 滤膜,按照“2.4.3”项下色谱条件进行测定,记录峰面积,计算加样回收率。结果显示芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸的平均加样回收率分别为95.70%、96.16%、92.69%、103.90%,RSD分别为4.73%、1.65%、6.55%、2.34%,结果表明该方法的准确度良好。

2.4.10 主要成分含量测定 取黄芩-炙甘草浸膏及各个相态的冻干粉各3份,按照“2.4.2”项下方法

制备供试品溶液,按照“2.4.3”项下色谱条件进样测定峰面积,并计算4种主要成分在黄芩-炙甘草浸膏及各个相态中的含量,测定结果见表2。各相态中芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸质量分数[质量分数=目标成分(黄芩苷、汉黄芩苷、芹糖甘草苷、甘草酸)在黄芩-炙甘草浸膏或各相态中的质量/投料时黄芩与炙甘草混合饮片的总质量]排序为纳米相态>真溶液相态>沉淀相态;由此可知,黄芩-炙甘草合煎液中纳米相态的主要成分含量最高。

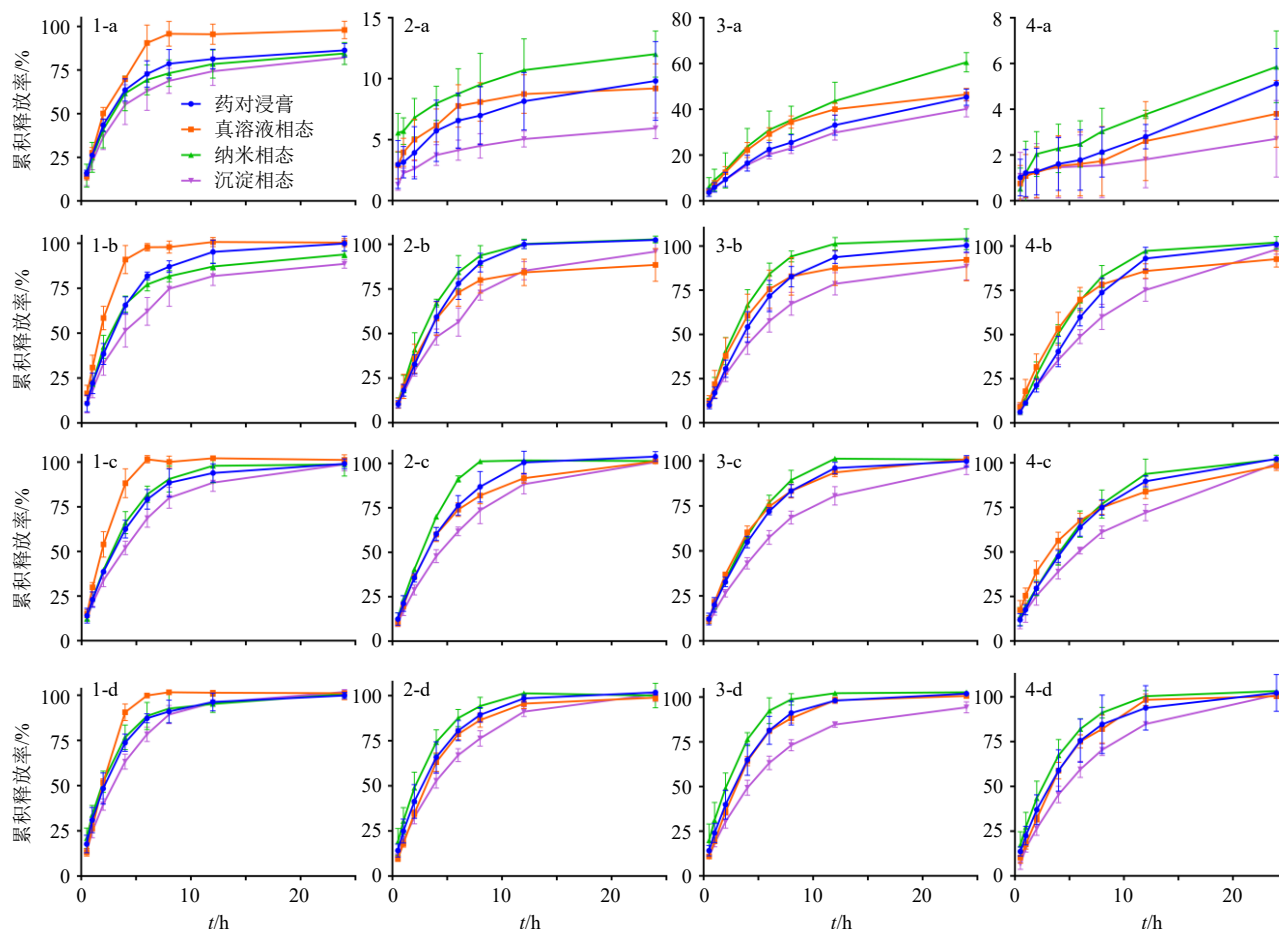
表2 黄芩-炙甘草浸膏及不同相态中主要成分含量测定结果 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Determination results of contents of SR-GRRPM extract and its main components in different phases ($\bar{x}\pm s, n=3$)

合煎液组分	质量分数/(mg·g ⁻¹)			
	芹糖甘草苷	黄芩苷	汉黄芩苷	甘草酸
浸膏	7.71±0.22	58.18±1.79	12.21±0.39	3.84±0.28
纳米相态	6.39±0.23	39.61±2.43	9.21±0.27	3.04±0.20
沉淀相态	0.29±0.04	2.38±0.17	0.51±0.03	0.20±0.01
真溶液相态	0.58±0.05	5.22±0.46	0.96±0.10	0.26±0.09

2.5 黄芩-炙甘草合煎液不同相态的体外释放

分别以盐酸(HCl, pH 1.2)、醋酸-醋酸钠缓冲液(ABS, pH 4.5)、磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 6.8)和水作为释放介质,采用透析袋法考察黄芩-炙甘草合煎液的不同相态在4种不同释放介质中的释放情况。取黄芩-炙甘草合煎液浸膏冻干粉200 mg及各相态冻干粉适量(以主要成分含量折算近似投药量),分别加2 mL蒸馏水分散后加入到透析袋中,将透析袋固定到搅拌桨上,浸没于具有200 mL释放介质的烧杯内,并设置转速为50 r/min、温度为37 $^{\circ}\text{C}$ 。按设定时间间隔(0.5、1、2、4、6、8、12、24 h),各取样1 mL,同时补加同体积的释放介质,样品经0.45 μm 的滤膜滤过后,按照“2.4.3”项下色谱条件进行测定,记录芹糖甘草苷、黄芩苷、汉黄芩苷、甘草酸4种成分的峰面积,计算累积溶出率,结果见图3。结果显示,在不同pH值的介质中,黄芩-炙甘草合煎液中各相态的主要成分释放度存在差异,表明不同介质的pH值能够影响成分的释放。在大多数介质中纳米相态和真溶液相态以及浸膏释放度普遍高于沉淀相态,说明纳米相态和真溶液相态成分更容易释放,且释放度与成分含量成正相关。从主要成分来看,芹糖甘草苷在4种介质



1-芹糖甘草苷; 2-黄芩苷; 3-汉黄芩苷; 4-甘草酸; a-HCl pH 1.2; b-ABS pH 4.5; c-水; d-PBS pH 6.8。

1-licuritin apioside; 2-baicalin; 3-wogonoside; 4-glycyrrhizic acid; a-HCl pH 1.2; b-ABS pH 4.5; C-water; d-PBS pH 6.8。

图3 不同相态中各主要成分在不同介质中的体外释放曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 *In vitro* release curves of main components in different phases in different media ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

中释放均较高,且释放完全,黄芩苷和汉黄芩苷的释放度在不同的介质中差异明显,尤其是在酸性介质中释放度较低,而甘草酸在4种介质中释放度均较低,表明其释放缓慢且不完全。

2.6 药动学研究

2.6.1 给药及采血方案 将26只雄性SD大鼠适应性饲养1周后,随机分为黄芩-炙甘草浸膏组、纳米相态组、沉淀组和真溶液组(每组6只)。实验前12h禁食不禁水,以黄芩苷200 mg/kg(以黄芩苷含量折算)的剂量ig给药,在ig后0.083、0.16、0.25、0.5、1、2、4、6、8、12、24h,每只大鼠经眼眶取血方式取血0.5 mL,置于肝素钠抗凝管中混匀,4000 r/min离心10 min后取出血浆,并放置在-80 °C条件下冷冻保存,备用。将未给药的小鼠采用上述方法取血并离心后取出空白血浆,放置在-80 °C条件下冷冻保存,备用。

2.6.2 血浆样品的处理 用甲醇配制内标为4.112

μg/mL的染料木素溶液。取100 μL血浆样品于2 mL离心管中,加入10 μL内标溶液和290 μL甲醇,涡旋3 min,13 000 r/min离心10 min,取200 μL上清,使用LC-MS/MS进行测定。

2.6.3 大鼠血浆中黄芩苷LC-MS/MS检测方法建立

(1)色谱条件:色谱柱为岛津Shim-pack Scepter C₁₈柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm);流动相为0.1%甲酸水溶液-甲醇,梯度洗脱:0~1.10 min, 5%甲醇;1.10~2.00 min, 5%~95%甲醇;2.00~4.50 min, 95%甲醇;4.50~4.51 min, 95%~5%甲醇;4.51~6.00 min, 5%甲醇;体积流量0.3 mL/min;柱温40 °C;进样量5 μL。

(2)质谱条件:离子源为电喷雾离子源(ESI),离子源喷雾电压-4.5 kV,扫描模式为多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM),负离子模式测定,离子源温度550 °C,喷雾气压力275.790 kPa(40 psi),辅助加热气压力344.74 kPa(50 psi),气

帘气压力 172.37 kPa (25 psi)。

各目标化合物的离子对及电压参数：黄芩苷的母离子 (Q1) 质荷比为 445.1, 子离子 (Q3) 质荷比为 268.9, 去簇电压 (DP) -108 V, 碰撞能量 (CE) -24 V, 碰撞室出口电压 (CXP) -20 V, 入口电压 (EP) -10 V; 染料木素的母离子 (Q1) 质荷比为 269.1, 子离子 (Q3) 质荷比为 133.0, 去簇电压 (DP) -120 V, 碰撞能量 (CE) -35 V, 碰撞室出口电压 (CXP) -20 V, 入口电压 (EP) -10 V。

(3) 线性关系考察：使用空白血浆将黄芩苷质量浓度依次配制为 24.3、48.6、121.5、243.0、486.0、972.0、1 944.0 ng/mL 的血浆对照品溶液，按照“2.6.2”项下方法处理并进样分析，以黄芩苷质量浓度为横坐标 (X)，黄芩苷和染料木素的峰面积之比为纵坐标 (Y)，采用加权法进行线性回归运算，得标准曲线回归方程为 $Y=0.002\ 4\ X+0.050\ 9$, $R^2=0.999\ 3$, 结果表明黄芩苷在血浆质量浓度为 24.3~1 944 ng/mL 线性关系良好。

(4) 专属性考察：取空白血浆、血浆对照品溶液和给药后血浆样品，按照“2.6.2”项下方法处理后按照“2.6.3”项色谱、质谱条件下进样分析，LC-MS/MS 图谱见图 4，结果表明该方法专属性良好。

(5) 精密度考察：取“2.6.3”项下线性关系考

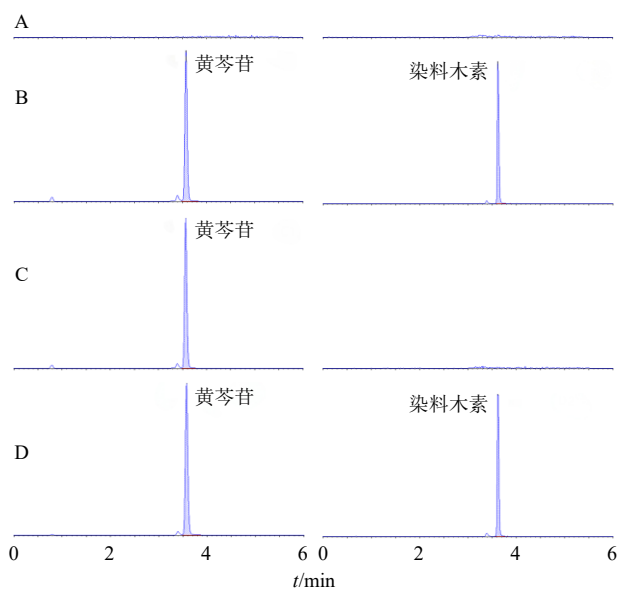


图 4 空白血浆 (A)、含有黄芩苷和染料木素的空白血浆 (B)、含有黄芩苷的空白血浆 (C)、血浆样品 (D) 的 LC-MS/MS 图谱

Fig. 4 LC-MS/MS chromatograms of blank plasma (A), blank plasma containing baicalein and genistein (B), blank plasma containing baicalein (C), and plasma samples (D)

察中 48.6、243.0、972.0 ng/mL 血浆对照品溶液作为低、中、高 3 个质量浓度的质量控制样品 ($n=6$), 连续进样 3 d 并记录黄芩苷和染料木素的峰面积之比, 计算日内精密度的 RSD 分别为 4.01%、1.15%、2.39%, 日间精密度的 RSD 为 2.85%、2.12%、2.25%, 均小于 15%, 满足生物样本精密度的分析要求。

(6) 提取回收率考察：取低、中、高 3 个质量浓度的质量控制样品 ($n=6$) 进样分析, 计算黄芩苷和染料木素的峰面积之比 (A_1); 然后分别配制相同质量浓度的黄芩苷对照品溶液进样分析, 计算黄芩苷与染料木素的峰面积之比 (A_2), 则提取回收率计算公式为提取回收率 = A_1/A_2 。结果显示该方法的提取回收率在 86.22%~99.80%, $RSD < 15\%$, 符合生物样品的测定要求。

(7) 稳定性考察考察：按照“2.6.3 (5)”项下方法分别制备低、中、高 3 个质量浓度的血浆样品 ($n=6$), 先将空白血浆置于 -20 °C 冻存 12 h、-80 °C 条件下反复冻融 3 次; 再分别制备低、中、高 3 个质量浓度的血浆样品于常温放置 8 h、4 °C 冷藏放置 8 h 后立即测定 ($n=6$); 记录黄芩苷与染料木素的峰面积之比, 计算 RSD 值, 结果见表 3。

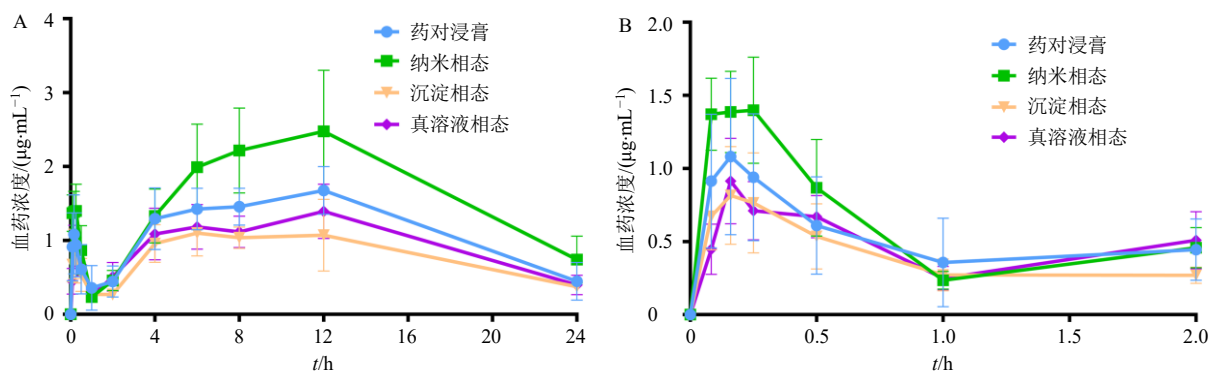
表 3 血浆样品的稳定性结果

Table 3 Stability results of plasma samples

质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	稳定性RSD/%			
	-20 °C短期	冻融	常温短期	4 °C短期
低	2.93	2.36	2.78	2.61
中	3.59	3.03	1.41	0.58
高	2.45	2.07	0.44	2.75

2.6.4 药动学考察结果 按照已建立的“2.6.3”项下建立的血样分析方法测定血药浓度, 绘制血药浓度-时间曲线, 采用 DAS 2.0 软件对大鼠血浆中黄芩苷的药动学参数进行分析, 采用 SPSS 25 软件进行显著性分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结果见图 5 和表 4, 其中, C_{max} 为最大血药浓度, t_{max} 为达峰时间, AUC_{0-t} 、 $AUC_{0-\infty}$ 分别为 0~ t 、0~ ∞ 时间内血药浓度-时间曲线下面积, CL_z/F 为表观清除率, $t_{1/2}$ 为吸收半衰期, MRT_{0-t} 、 $MRT_{0-\infty}$ 为 0~ t 、0~ ∞ 平均滞留时间。从表 4 中可以看出, 浸膏及各相态中黄芩苷的 C_{max} 和 AUC_{0-t} 顺序均为 纳米相态 > 全浸膏 > 真溶液相态 > 沉淀相态, 其中 纳米相态组的 C_{max} 和 AUC_{0-t} 显著高于沉淀相态, 而真溶液相态和沉淀相态的 C_{max} 和 AUC_{0-t} 略低于



A 为 0~24 h 药-时曲线; B 为 0~2 h 药-时曲线。

A is 0—24 h concentration-time curves; B is 0—2 h concentration-time curves.

图 5 黄芩-炙甘草浸膏、纳米相态、沉淀相态、真溶液相态的药-时曲线 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 5 Drug plasma concentration versus time profile of SR-GRRPM extract, nano-phase, precipitation phase and true solution phase ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表 4 各组大鼠 ig 给药后的主要药动学参数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Main pharmacokinetic parameters of rats in each group after oral administration ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

参数	单位	黄芩-炙甘草浸膏	纳米相态	沉淀相态	真溶液相态
C_{max}	$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	1 777.392 ± 282.455	2 646.737 ± 645.555**	1 345.416 ± 226.514###	1 533.884 ± 245.014###
t_{max}	h	10.667 ± 2.066	10.667 ± 2.066	8.375 ± 4.716	8.667 ± 3.724
$AUC_{0\sim t}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	27 352.569 ± 4 306.520	39 137.476 ± 10 912.543*	19 082.000 ± 5 356.807###	22 845.862 ± 4 457.344###
$AUC_{0\sim\infty}$	$\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{L}^{-1}$	45 323.310 ± 28 830.980	76 211.770 ± 39 578.549	26 170.324 ± 5 540.534#	43 913.713 ± 23 085.203
CL_z/F	$\text{L}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$	5.560 ± 2.447	3.382 ± 1.896	7.913 ± 1.551###	5.601 ± 2.499
$t_{1/2}$	h	12.546 ± 8.967	11.266 ± 4.509	12.813 ± 4.681	11.923 ± 5.040
$MRT_{0\sim t}$	h	10.559 ± 0.924	11.034 ± 0.646	10.687 ± 0.390	10.610 ± 0.459
$MRT_{0\sim\infty}$	h	16.436 ± 5.463	13.993 ± 6.203	19.978 ± 6.774	13.758 ± 5.534

与黄芩-炙甘草浸膏比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与纳米相态比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs SR-GRRPM extract; # $P < 0.05$ ### $P < 0.01$ vs nano-phase state.

浸膏, 由此可以看出纳米相态可以促进黄芩苷在大鼠体内的吸收。

3 讨论

黄芩的有效成分有黄芩苷、黄芩素、汉黄芩苷、汉黄芩素等^[15-16], 炙甘草有效成分有甘草酸、甘草苷、芹糖甘草苷、异甘草苷、甘草素、异甘草素等^[17]。结合文献研究及预实验, 课题组发现黄芩苷、汉黄芩苷及甘草酸、芹糖甘草苷分别为黄芩和甘草中含量最高的成分^[18-20], 且也是活性成分。故本研究选择黄芩苷、汉黄芩苷及甘草酸、芹糖甘草苷为指标成分进行含量分析和体外释放研究。在药动学研究中, 由于 4 种成分在不同相态中的含量占比存在显著差异, 无法同时兼顾给药时各成分剂量的一致性, 故本研究仅进行了单一成分黄芩苷药动学的对比, 后续会考虑进行更多成分的分析研究。

现代研究发现, 中药尤其复方煎煮过程中, 大量化学成分从饮片中溶出后, 因分子间相互作用

(范德华力、氢键、静电作用、 π - π 堆积等) 或化学反应(取代反应、氧化还原反应、异构化/立体选择反应、络合反应等), 产生自组装或聚集现象, 导致中药汤剂形成沉积、混悬、胶体及溶液等复杂汤液相态体系^[21-24]。汤液复杂相态体系的形成, 对中药有效成分的汤液分布、体外释放、吸收与药理活性均有影响, 可能是中药复方配伍增效减毒的关键物理结构形式。

相态成分含量分析结果显示, 各相态中黄芩苷、汉黄芩苷、芹糖甘草苷、甘草酸质量分数差异显著, 以纳米相态中各成分质量分数最高; 这可能是由于所测 4 种成分均为难溶性成分, 合煎形成纳米相态具有类似纳米药物的增溶作用, 能够有效包封难溶性成分并增加其溶解度^[25], 因而各成分质量分数均最高, 这在一定程度上也说明纳米相态是中药复方合煎增溶的物理结构基础。此外, 黄芩有效成分黄芩苷和汉黄芩苷在各相态中质量分数为纳

米相态>真溶液相态>沉淀相态,不同于芍药甘草汤中白芍有效成分芍药苷和芍药内酯苷相态分布差异(真溶液相态>纳米相态>沉淀相态)^[13];这一结果表明,甘草配伍合煎液对不同药味的有效成分分布影响不同,有效成分分布差异与相态的形成及各成分的溶解性密切相关。

在药物制剂领域,药物的释放是制剂质量评价的重要指标,也会对药物的吸收有显著影响^[26]。体外释放结果显示,黄芩-炙甘草合煎液不同相态各成分的体外释放有一定差异,与成分的溶解性及释放介质的 pH 值密切相关。

整体来看,除蔗糖甘草苷外,浸膏及不同相态各成分在介质 PBS 中释放最好,其次是水和 ABS,在 HCl 中释放最差,核心原因是甘草酸、黄芩苷与汉黄芩苷等成分的溶解度受 pH 值的影响较大,低 pH 值时溶解度较低^[27],因而释放较差;浸膏和纳米相态表现出了一定的促进释放作用,可能与其所含纳米粒增溶作用有关。药动学结果显示,浸膏及各相态黄芩苷的 C_{max} 和 AUC_{0-7} 顺序均为纳米相态>全浸膏>真溶液相态>沉淀相态,表明纳米相态中黄芩苷的吸收最好,这与纳米粒的增溶、生物黏附及整体跨膜转运特征有关^[28]。

就黄芩苷而言,体外释放与体内药动学具有一定的相关性,体外 pH 依赖性释放特征可有效反映体内胃肠道不同区段的吸收潜力。胃内为酸性环境(pH 1.0~2.0),与体外 HCl 介质条件相近,该环境下黄芩苷溶解度低、释放缓慢,对应体内吸收量少;肠道内为中性至弱碱性环境(pH 6.8~7.4),与 PBS 介质 pH 接近,成分溶解度提升、释放充分,进而促进肠道吸收。真溶液相态各成分的体外释放及黄芩苷的药动学并不符合溶液的释放和吸收行为,主要是因为为保证相同的投药量和给药剂量,真溶液相态冻干粉再分散后并未达到溶液状态。各给药组黄芩苷药-时曲线均呈现典型的双峰现象,与其存在肝肠循环有关^[29]。

综上所述,黄芩-炙甘草配伍合煎液复杂相态体系的形成,显著影响有效成分的空间分布、体外释放及药动学行为,可能是其发挥配伍缓性增效作用的物理结构基础。推测不同相态的形成可能发挥不同的配伍作用:沉淀相态能够发挥缓释作用,防止过量黄芩成分的释放产生胃肠道刺激,即缓解苦寒之性;而纳米相态一方面维持黄芩成分的有效吸收从而发挥增效作用,另一方面,也可以吸附包封黄

芩成分,减缓对胃肠道的直接刺激,从而综合发挥缓性增效作用。下一步课题组将继续开展黄芩-炙甘草配伍合煎液不同相态的生物活性评价,从相态差异角度解释两者配伍缓性增效的机制,以期为进一步研究甘草配伍理论及科学内涵提供参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang M, Fu R J, Xu D Q, *et al.* Traditional Chinese Medicine: A promising strategy to regulate the imbalance of bacterial flora, impaired intestinal barrier and immune function attributed to ulcerative colitis through intestinal microecology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318: 116879.
- [2] 陈丽名, 屈杰, 牛锐, 等. 黄连、黄芩之“坚阴厚肠”与“苦寒伤胃” [J]. *中国民族民间医药*, 2019, 28(18): 10-11.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 91-92.
- [4] 丁琳琳, 王延吉, 吴兆亮, 等. 基于甘草配伍黄芩同时泡沫分离甘草酸和黄芩苷 [J]. *化工学报*, 2017, 68(1): 170-177.
- [5] 吕志阳, 单聪, 杨雨微, 等. 经方中黄芩-甘草不同配伍比例对黄芩苷溶出的影响 [J]. *亚太传统医药*, 2019, 15(10): 67-69.
- [6] 陈芳雯, 王凤霞, 张双辰, 等. 基于分子自组装的甘草配伍机制及其创新制剂设计与应用研究进展 [J]. *药学学报*, 2025, 60(7): 2158-2166.
- [7] 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.
- [8] 杨玉琴, 李菲菲, 陈珊, 等. 基于甘草酸增溶原理探讨中药芫花与甘草配伍增毒机制 [J]. *药学学报*, 2021, 56(9): 2561-2566.
- [9] 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]. *药学学报*, 2022, 57(6): 1901-1908.
- [10] 李文, 王志家, 刘小靖, 等. 基于弱键化学探究甘草-黄连药对水煎煮过程中甘草蛋白与黄连素相互作用机制 [J]. *药学学报*, 2021, 56(8): 2119-2126.
- [11] 沈成英, 李小芳, 朱君君, 等. 芍药甘草汤中自组装纳米粒形成对甘草主要成分体外释放和肠吸收的影响 [J]. *中国药房*, 2022, 33(3): 338-343.
- [12] 沈成英, 朱君君, 秦祉剑, 等. 芍药甘草汤相态拆分及镇痛抗炎活性评价 [J]. *解放军药学学报*, 2022, 35(3): 209-213.
- [13] 沈成英, 朱君君, 戴博, 等. 芍药甘草汤自组装纳米粒的形成及其对白芍主要成分释放和吸收的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(9): 2190-2196.
- [14] 何沂灿, 申宝德, 沈成英, 等. 黄芩汤相态拆分及其抗

- 皮肤癣菌作用研究 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3099-3108.
- [15] 阮清锋, 章丹, 王富乾, 等. 黄芩临床应用、化学成分、药理作用及其质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(8): 1534-1541.
- [16] 张少荟, 蒋鑫, 刘秋月, 等. 黄芩活性成分及其复方干预肝脏疾病作用机制研究进展 [J]. 药物评价研究, 2026, 49(4): 1405-1418.
- [17] 李娜, 张晨, 钟赣生, 等. 不同品种甘草化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物(Q-Marker)预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7680-7692.
- [18] 张欣蕊, 蒋孝峰, 张逸婷, 等. HPLC 指纹图谱、多成分定量、UFLC-Q-TOF MS/MS 表征技术相结合的黄芩药材质量评价研究 [J]. 中药材, 2024, 47(5): 1181-1189.
- [19] 李蕊, 徐荣荣, 张楚涵, 等. 基于 UPLC 指纹图谱及多成分含量测定评价不同产地黄芩质量的研究 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(12): 2278-2284.
- [20] 沈成英. 芍药甘草汤自组装纳米粒的识别及其在配伍中的作用研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2021.
- [21] 沈成英, 胡菲, 朱君君, 等. 中药自组装纳米粒的形成及应用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(19): 4875-4880.
- [22] 何朝, 浦益琼. 中药复方汤液的相态差异分析研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(15): 259-266.
- [23] 赖长江生, 陈泽炎, 邱子栋, 等. 中药煎煮的化学反应机制研究现状 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 890-899.
- [24] 高湘婷, 贺鹏, 譙茹, 等. 补阳还五汤煎煮过程 2 种相态与成分变化关系研究 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8113-8125.
- [25] 杨楚瑜, 魏建明, 龚子桢, 等. 姜黄素及其纳米制剂对脑卒中的神经保护作用机制研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2023, 39(19): 3334-3338.
- [26] 张少钰, 单识宇, 郭敏珊, 等. 难溶性药物共晶的溶出与吸收研究进展 [J]. 药学学报, 2024, 59(8): 2205-2215.
- [27] 王子禹, 刘洋, 张鑫, 等. 基于抗炎活性的葛根芩连片整体的中药生物药剂学分类系统研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(17): 3662-3671.
- [28] Hang L Y, Shen C Y, Xue Y Y, *et al.* Exploring the translocation behaviours *in vivo* of herpetrione amorphous nanoparticles via oral delivery [J]. *J Drug Target*, 2023, 31(3): 278-285.
- [29] Noh K, Kang Y, Nepal M R, *et al.* Role of intestinal microbiota in baicalin-induced drug interaction and its pharmacokinetics [J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 337.

[责任编辑 郑礼胜]