

经典名方保元汤相态拆分及其对大鼠运动性疲劳缓解作用的有效相态筛选

李春雨, 柴渊鲲, 韩欣燃, 郝鑫洋, 李军鸽, 邱智东*, 贾艾玲*

长春中医药大学药学院, 吉林 长春 130117

摘要:目的 对经典名方保元汤进行相态拆分, 研究不同相态对大鼠运动性疲劳的缓解作用, 筛选其有效相态。方法 采用梯度离心-透析法将保元汤拆分为纳米相态 (BD nano phase, BD-N)、沉淀相态 (BD precipitation phase, BD-P) 及真溶液相态 (BD solution phase, BD-S), 对其外观进行物理学表征, 并进行含量测定。建立大鼠游泳疲劳模型, 设置对照组、模型组、阳性对照 (大株红景天胶囊) 组、保元汤组、BD-N 组和 BD-P 组, 通过测定行为学指标、脏器指数、血清生化指标及肝组织、肌肉组织病理学变化筛选活性相态。基于肠道微生物组学、代谢组学、转录组学联合分析探讨保元汤及有效相态缓解大鼠运动性疲劳的潜在作用机制, 并随机选取其中 4 个差异表达基因 (*Gck*, *Ackr3*, *Pde4b*, *Ppp1r3b*) 进行 qRT-PCR 验证。**结果** BD-N 粒子形态呈圆球形且丁达尔效应明显, 粒径排序为 BD-P>保元汤>BD-N; 各相态的多分散指数 (polydispersity index, PDI) 排序为保元汤>BD-N>BD-P; 各相态 ζ 电位绝对值排序为 BD-P>BD-N>保元汤。人参皂苷 Rb₁、毛蕊异黄酮-7-O-葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、肉桂酸、桂皮醛及 6-姜酚均主要分布于 BD-N 中, 综合药效排序为保元汤≈阳性对照药>BD-N>BD-P。BD-N 调节肠道菌群丰度并增加乳杆菌属水平及其对与疲劳相关的 45 个差异代谢物的调控能力与保元汤相近; qRT-PCR 结果显示, BD-N 与保元汤对 4 个基因的调控趋势与转录组测序结果一致。**结论** 从物理-化学-药效角度筛选保元汤缓解疲劳作用的有效相态, BD-N 为保元汤缓解疲劳的有效相态。

关键词: 保元汤; 相态; 运动性疲劳; 肠道菌群; 代谢组学; 转录组学; 人参皂苷 Rb₁; 毛蕊异黄酮-7-O-葡萄糖苷; 甘草苷; 甘草酸铵; 肉桂酸; 桂皮醛; 6-姜酚

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3831-17

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.014

Phase separation of classic prescription Baoyuan Decoction and screening of effective phases for alleviating exercise-induced fatigue in rats

LI Chunyu, CHAI Yuankun, HAN Xinran, HAO Xinyang, LI Junge, QIU Zhidong, JIA Ailing

College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To split the classic prescription Baoyuan Decoction (保元汤) into different phases, study the relieving effects of different phases on exercise fatigue in rats, and screen for their effective phases. **Methods** The gradient centrifugation dialysis method was used to separate Baoyuan Decoction into the nano phase (BD nano phase, BD-N), precipitation phase (BD-P) and solution phase (BD-S). The appearance was physically characterized and contents of main ingredients was determined. A rat swimming fatigue model was established, control group, model group, positive control (Dazhu Hongjingtian Capsule) group, Baoyuan Decoction group, BD-N group and BD-P group were set up, active phases was screened by measuring behavioral indicators, organ indices, serum biochemical indicators, and pathological changes in liver and muscle tissues. Based on combined analysis of gut microbiome, metabolomics and transcriptomics, the potential mechanism of Baoyuan Decoction and its effective phase in alleviating exercise fatigue in rats was explored. Four differentially expressed genes (*Gck*, *Ackr3*, *Pde4b*, *Ppp1r3b*) were randomly selected for qRT-PCR validation. **Results** The particle morphology of BD-N was spherical and Tyndall effect was significant. The particle size was in the order of BD-P > Baoyuan Decoction > BD-N. The polydispersity index (PDI) of each phase was in the order of Baoyuan Decoction > BD-N > BD-P. The absolute value of zeta potential for each phase was BD-P > BD-N > Baoyuan Decoction. Ginsenoside Rb₁,

收稿日期: 2026-01-13

基金项目: 吉林省发改委项目 (2022C41-7); 吉林省科技发展计划项目 (YDZJ202402034CXJD)

作者简介: 李春雨 (2001—), 女, 硕士研究生, 从事中药制剂与新药开发研究。E-mail: 13766011812@163.com

*通信作者: 贾艾玲 (1986—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药制剂与新药开发研究。E-mail: cczyyj@163.com

邱智东 (1965—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药基础研究与新药研发。E-mail: qzdczy@163.com

calycosin-7-O- β -D-glucoside, liquiritin, ammonium glycyrrhizinate, cinnamic acid, cinnamaldehyde and 6-gingerol were mainly distributed in BD-N. The comprehensive efficacy ranking was Baoyuan Decoction \approx positive control drug > BD-N > BD-P. The ability of BD-N in regulating the abundance of gut microbiota, increasing the level of *Lactobacillus* genus and regulating 45 differential metabolites related to fatigue was similar to Baoyuan Decoction. The qRT-PCR results showed that the regulatory trends of BD-N and Baoyuan Decoction on four genes were consistent with the transcriptome sequencing results. **Conclusion** From the perspective of physics, chemistry and pharmacological effects, the effective phase of Baoyuan Decoction in relieving fatigue is screened, and BD-N is the effective phase of Baoyuan Decoction in relieving fatigue.

Key words: Baoyuan Decoction; phase state; exercise-induced fatigue; gut microbiota; metabolomics; transcriptomics; ginsenoside Rb₁; calycosin-7-O- β -D-glucoside; liquiritin; ammonium glycyrrhizinate; cinnamic acid; cinnamaldehyde; 6-gingerol

疲劳在中医称之为“虚劳”“倦怠”，是一种疲惫乏力和虚弱的不适感觉，临床表现为虚弱、无力、焦虑等症状。中医认为，疲劳为元气耗伤之虚证所致，涉及五脏六腑^[1]，主要以脾、肝、肾为主^[2]，“补虚固元，滋养机体，虚得补，正则旺，疲劳自除”^[3]。经典名方保元汤源于明代医家孙志宏所著《简明医彙》，由人参、黄芪、甘草、肉桂、生姜 5 味中药组成，是治疗元气虚弱的经典方剂^[4-5]。现代研究表明，其具有抗疲劳、抗氧化和提高免疫功能的作用^[6-7]，用于治疗气虚、疲劳血瘀证和慢性心力衰竭等^[8]。目前的研究为了阐释中药药效物质基础，多进行中药化学成分的测定、药理活性测试等，而忽略了煎煮过程中成分间物理结构的改变。中药汤剂煎煮时，受热力、煎煮方式等因素影响，大量化学成分煎出后可能发生水解、降解、氧化等化学反应^[9]，也可能受氢键、 π - π 堆积、范德华力等非共价键相互作用产生超分子，形成复杂多相态体系^[9-12]。有学者^[13]在 84 种中药煎液中均观察到了不同相态，并根据粒径大小分为沉淀相、悬浮相、纳米相和真溶液相^[14]。补阳还五汤煎煮过程研究说明热力学过程是驱动其成分自组装形成不同相态的关键因素^[15]，气血双补方炮制增效的机制可能与其有效成分发生自组装形成纳米相态有关^[16]，防己黄芪汤沉淀相为干预脾虚肾性水肿小鼠的活性相态^[17]，黄芪汤纳米相抗菌作用最强^[18]，金银花-蒲公英提取液纳米相态是其治疗痤疮的关键^[19]。一方面，成分间可能因分子间氢键、静电作用、疏水作用等非共价键相互作用^[20]，形成微/纳米颗粒；另一方面，在煎煮受热过程中可能发生聚合、酸碱中和等反应生成不溶性分子复合物或沉淀。保元汤成分组成复杂，课题组研究发现，煎煮放置一定时间后出现自沉淀现象。而关于保元汤是否存在不同相态、相态变化与物质基础的关系以及汤液合煎过程中产生的聚集体缓解运动性疲劳的作用机制目前均尚未阐明。

本研究基于“汤液相态”理论、从结构中药学角度出发，在明确保元汤整体药效基础上，进一步通过拆分保元汤相态并结合肠道微生物组、代谢组学和转录组学的角度探讨保元汤及活性相态发挥抗疲劳作用的机制，筛选出保元汤缓解运动型疲劳的有效相态，为经方开发提供理论科学依据，也为中药复方的应用合理性奠定了理论基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠，体质量 180~220 g，购自辽宁长生生物技术股份有限公司，许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。大鼠饲养在 SPF 级动物饲养室，环境温度 (24 \pm 2) $^{\circ}$ C，相对湿度 (55 \pm 5) %，12 h/12 h 明暗循环照明。实验过程中，大鼠自由进食标准饲料和饮水。正式实验前，大鼠适应性喂养及适应性游泳 1 周。动物实验经长春中医药大学动物伦理委员会批准 (批准号 2025221)。

1.2 药材

人参 (产地吉林省长白县，批号 JF20190416-06)、黄芪 (产地内蒙古赤峰市，批号 SXT-HQ-12)、甘草 (产地内蒙古赤峰市，批号 NCN20190217-03)、肉桂 (产地广西省玉林市，批号 GYY20180824-06) 均购自吉林省北药集团有限公司，生姜购自当地农贸市场，由长春中医药大学中药鉴定教研室翁丽丽教授分别鉴定为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎、豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 的干燥根、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的新鲜根茎。

1.3 药品与试剂

大株红景天胶囊 (国药准字 Z20040223，批号 240903) 购自江苏康缘药业股份有限公司；对照品人

参皂苷 Rb₁ (批号 110704-202028, 质量分数为 93.1%)、毛蕊异黄酮-7-*O*-葡萄糖苷 (批号 111920-201606, 质量分数为 97.6%)、甘草苷 (批号 111610-201607, 质量分数为 93.1%)、甘草酸铵 (批号 110731-202423, 质量分数为 93.2%) 购自中国食品药品检定研究院; 对照品肉桂酸 (批号 B21082, 质量分数为 98.00%)、桂皮醛 (批号 B21081, 质量分数为 98.00%)、6-姜酚 (批号 21838, 质量分数为 98.00%) 购自上海源叶生物科技有限公司; 乙腈 (批号 I1098029022, 色谱纯)、甲醇 (批号 I1144135113, 色谱纯) 购自德国 Merck 公司; 磷酸 (批号 20241008, 色谱纯) 购自天津市光复精细化工研究所; 甲酸 (批号 20241008, 色谱纯) 购自西亚化学科技 (山东) 有限公司; 甲醇 (批号 20231219, 分析纯) 购自广东光华科技股份有限公司; 纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司; 2-氯苯丙氨酸为色谱纯 (批号 B25643, 色谱纯) 购自上海源叶生物科技有限公司; Agarose 琼脂糖凝胶试剂 (批号 75510-019) 购自美国 Invitrogen 公司; DL2000 Marker 购自日本 Takara 公司; 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (批号 A001-1-2)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (批号 A003-1-2)、*L*-乳酸 (lactic acid, LD) 试剂盒 (批号 A019-2-1)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 试剂盒 (批号 A020-2-2)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 试剂盒 (批号 C013-2-1)、肌酸激酶 (creatin kinase, CK) 试剂盒 (批号 A032-1-1)、肝糖原 (liver glycogen, LG) 试剂盒及肌糖原 (muscle glycogen, MG) 试剂盒 (批号 A043-1-1) 购自南京建成生物科技有限公司; 血清肌钙蛋白 (cardiac troponin I, cTnI) 试剂盒 (批号 MM-0767R2) 购自武汉酶兔生物科技有限公司。

1.4 仪器

Thermo Vanquish UHPLC 超高效液相色谱仪、Q-Exactive HF 高分辨质谱 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; TGL-16M 型离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司); LC-20AG 型高效液相色谱仪、AUW120D 型天平 (日本岛津公司); TG328A 型十万分之一分析天平 (上海精科分析仪器厂); FA-1004 型电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); 纤维素透析袋 (截留相对分子质量 3 500, 上海源叶生物科技有限公司); 光学显微镜 (日本尼康株式会社); SCIENTZ-1LS 型真空浓缩仪、SB-800D 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公

司); DYY-6C 型电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); BG-gdsAUTO (130) 型凝胶成像系统 (北京百晶生物技术有限公司); AM9870 型 TAE (美国 Invitrogen 公司); Tissuelyser-48 型研磨仪器 (上海净信实业发展有限公司); 5430R 型冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); Epsilon 2-4 LSCplus 型冷冻干燥机 (德国 Martin Christ 公司)。

2 方法

2.1 保元汤的制备

称取人参 3.73 g、黄芪 7.46 g、甘草 1.87 g、肉桂 0.75 g (最粗粉)、生姜 3 g, 置于砂锅中, 加入 400 mL 水, 煎至 160 mL, 滤过, 得滤液; 滤渣加入 300 mL 水, 煎至 140 mL, 滤过; 合并 2 次滤液, 即得。

2.2 单味药材饮片供试品溶液的制备

分别称取“2.1”项下各药材, 按照保元汤煎煮方法进行制备, 得到 5 种单味药材饮片供试品溶液。

2.3 混合对照品溶液的制备

精密称取人参皂苷 Rb₁、毛蕊异黄酮-7-*O*-葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵 (甘草酸质量 = 甘草酸铵质量/1.020 7)、肉桂酸、桂皮醛及 6-姜辣素对照品适量, 加甲醇制成人参皂苷 Rb₁、毛蕊异黄酮-7-*O*-葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、肉桂酸、桂皮醛及 6-姜辣素质量浓度分别为 21.7、9.0、120.8、263.8、0.9、19.5、5.1 μg/mL 的混合对照品溶液, 经 0.22 μm 膜滤过, 保存。

2.4 保元汤相态拆分与表征

采用离心-透析等方法, 选择相对分子质量为 3 500 的透析袋 (孔径为 1~2 nm), 能拆分出符合粒径范围的真溶液相态, 同时能够完全截留纳米相态。将保元汤全溶液拆分为纳米相态 (BD nano phase, BD-N)、沉淀相态 (BD precipitation phase, BD-P) 及真溶液相态 (BD solution phase, BD-S), 经前期预实验结果及文献方法^[21], 以微粒粒径、丁达尔现象及透射电镜 (transmission electron microscope, TEM) 表征等为评价指标, 并对离心转速及样品透析离心次数等进行考察, 确立保元汤的相态拆分方法。

将保元汤经 4 500 r/min 离心 30 min, 得到 BD-P, 将上清液加入透析袋 1/2 处, 随即将透析袋装入加有 200 mL 水的烧杯中, 于水浴恒温振荡器 120 r/min 振荡 30 min。取出透析袋中保元汤样品, 于 10 000 r/min 离心 30 min, 上述透析-超速离心操作

重复 4 次, 烧杯中液体为 BD-S, 透析袋中液体即为 BD-N。

对保元汤及拆分后的样品 (BD-N、BD-P、BD-S) 进行物理和化学表征。利用激光笔观察丁达尔效应; 采用粒径仪测定各样品粒径、 ζ 电位及多分散指数 (polydispersity index, PDI); 利用 TEM 观察微观形貌。将保元汤及各相态进行冷冻干燥, 并于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。将保元汤、各单味药材饮片供试品溶液及各相态滤过后, 采用 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 进行化学成分分析^[22], 对保元汤与各相态 LC-MS 结果进行聚类分析 (cluster analysis, CA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA), 采用正交偏最小二乘法-判别分析 (orthogonal partial least squares method-discriminant analysis, OPLS-DA) 多元统计分析, 筛选出差异性指标成分分类群。

按照课题组前期建立的高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 含量测定方法对保元汤及不同相态中人参皂苷 Rb_1 、毛蕊异黄酮-7-*O*-葡萄糖苷、甘草苷、甘草酸铵、肉桂酸、桂皮醛及 6-姜酚进行含量测定。采用 Agilent 5 TC- C_{18} 色谱柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 柱温为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 254、203、290 nm; 流动相由乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水溶液 (B), 梯度洗脱: 0~13 min, 90%~79% B; 13~35 min, 79%~78% B; 35~51 min, 78%~70% B; 51~71 min, 70%~67% B; 71~91 min, 67%~65% B; 91~101 min, 65%~62% B; 101~111 min, 62%~90% B; 111~136 min, 90% B。体积流量 1.0 mL/min; 进样量 10 μL 。

2.5 游泳疲劳模型建立及保元汤与各相态的药效评价

结合对 BD-S 的物理-化学表征并参考已发表研究^[23], 动物实验不对 BD-S 的药效贡献进行考察。SD 大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组、保元汤组、BD-N 组和 BD-P 组, 每组 6 只。参考文献方法^[24], 采用过度疲劳造模法, 将大鼠尾部固定相当于其体质量 8% 的负重, 放置在游池中进行游泳, 水温 (23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 以大鼠游泳范围逐渐减小, 后肢行动迟缓, 在水界面上下频繁游动多次, 头部下沉水面 7 s 内不上浮为疲劳的标准, 认为模型复制成功。除对照组外其余大鼠连续造模 28 d; 造模同时 ig 给药, 1 次/d。保元汤给药剂量参考课题组前期通过预实验确定的最佳给药剂量^[25], 根据推荐的每日人体剂量, 折算为 1.51 g/kg。大株红景天胶囊给

药剂量依据临床剂量折算为 0.4 g/kg。BD-N、BD-P 组给药剂量按照得率进行折算。

实验期间, 定期记录大鼠体质量变化; 末次给药 30 min 后, 进行负重力竭游泳实验 (8% 体质量负荷, 四肢、铅皮无法接触缸底) 测定耐力时间 ($\leq 30\text{ min}$), 以大鼠连续淹没口鼻为标准。实验终点采集血清、腓肠肌及五脏组织样本, 计算脏器指数, 采用试剂盒进行生化指标检测, 将大鼠腓肠肌及肝脏, 经石蜡包埋、切片进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 以评估组织学变化。

脏器指数 = 脏器质量/体质量

2.6 肠道菌群分析

为了避免个体差异而导致的实验偏差, 将每组 6 个样品两两合并为 3 个待测样本, 进行肠道菌群测序分析^[26]。

2.7 代谢组学分析

利用 Acquity HSS T3 色谱柱 (100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B), 梯度洗脱: 0~1 min, 5% B; 1~7 min, 5%~95% B; 7~8 min, 95% B; 8~8.1 min, 95%~5% B; 8.1~12 min, 5% B。进样体积 2 μL ; 体积流量 0.4 mL/min。

使用 HESI 源, 喷雾电压 3.5 kV/-3.0 kV, 鞘气体积流量 40 arb, 辅助气体积流量 15 arb, 毛细管温度 $325\text{ }^{\circ}\text{C}$, 辅助气温度 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$, 一级分辨率 60 000, 扫描范围 m/z 100~1 000, 筛选响应前 4 的离子进行二级碎裂, 动态排除时间为 8 s, 二级分辨率 15 000, HCD 碰撞能 30%。

2.8 转录组学分析

采用 Illumina Nova Seq6000 平台进行双端高通量测序。原始数据经 fastp 软件 (<https://github.com/OpenGene/fastp>)^[27] 过滤, 获得 Clean Data, 并用于后续数据分析。使用 HISAT2 (v2.1.0, <http://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml>) 构建参考基因组^[28], 使用 HTSeq (v0.9.1) 统计比对到每个基因上 read count 值, 作为基因的原始表达量。使用 DESeq (v1.38.3) 软件进行组间的差异表达分析。采用 DESeq 对基因表达进行差异分析, 以 $|\log_2$ 差异倍数 (fold change, FC) > 1 、 $P < 0.05$ 为筛选条件, 筛选差异表达基因。使用 topGO (v2.50.0) 进行基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析, 通过超几何分布方法计算 P 值, 找出差异基因 (all/up/down) 显著富集的 GO term。使用 clusterProfiler (v4.6.0)

软件进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。

2.9 qRT-PCR 验证肝脏组织相关基因表达

按照试剂盒说明书提取肝脏组织中总 RNA 并合成 cDNA, 进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	序列 (5'-3')
<i>Pde4b</i>	F: GGAACATTGCGACATCTT R: CTTGGACATATCAGTTGCTAA
<i>Ackr3</i>	F: CAAGAATGTGCTGCTGTAT R: ACGGAGTTGGCAATCATA
<i>Gck</i>	F: TTGCAATTATCCCCGCTGC R: TTCATGTGCCCGTTGTGAGT
<i>Ppp1r3b</i>	F: TTCAGACAGGGACACATT R: GTTACTACTCGTAGCACAC
<i>GAPDH</i>	F: AGGTCGGTGTGAACGGATTTG R: GGGGTCGTTGATGGCAACA

2.10 统计学分析

实验数据经系统整理后进行统计分析。利用 SIMCA 14.1 软件进行 LC-MS 数据处理与分析。采用 GraphPad 10.1.2 统计软件分析行为变化、生化指标。使用 Genescloud 平台 (<https://www.genescloud.cn/home>) 对肠道微生物群、代谢组学、转录组学进行生物信息学分析。数据分析和图形绘制采用 Origin 2021 软件完成。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间显著性检验采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 保元汤及各相态表征结果

丁达尔效应 (图 1) 显示, 保元汤呈土黄色, 液体较浑浊, 采用激光笔照射, 丁达尔效应较弱; BD-P 为棕褐色, 液体浑浊, 静置后有沉淀产生; BD-S 澄清透明, 激光笔照射无丁达尔效应出现; BD-N 呈黄色较澄清, 且丁达尔效应较强。粒径、PDI 及电位结果 (表 2、图 2) 表明, 各相态粒径的大小排列顺序为 BD-P > 保元汤 > BD-N (BD-S 中未测到粒径及 PDI 值), 与外观观察结果一致。PDI 大小排列顺序为保元汤 > BD-N > BD-P, PDI 值越小, 表明体系内部粒子分散越均匀, BD-N 组 PDI 表明其粒径分布不均匀, 其体系内可能出现了团聚现象。各相态 ζ 电位值绝对值的大小排列顺序为 BD-P > BD-N > 保元汤, ζ 电位绝对值越大, 体系中各个粒子间斥力越大, 状态越稳定。以上结果相互

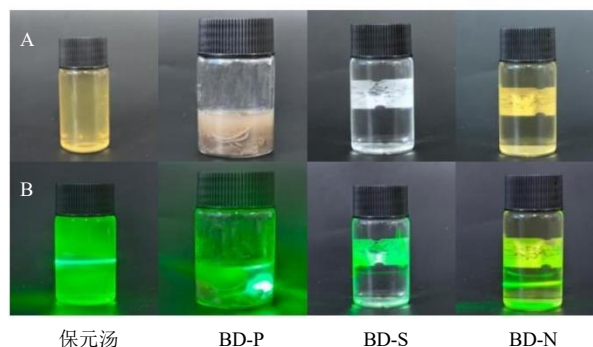


图 1 保元汤及不同相态外观形态 (A) 及丁达尔效应 (B)
Fig. 1 Appearance (A) and Tyndall effect (B) of Baoyuan Decoction and samples with different phase states

表 2 保元汤及各相态 PDI、 ζ 电位测定结果
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 PDI, ζ -potential measurement results for Baoyuan Decoction and each phase state ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	PDI	电位/mV
保元汤	0.54 ± 0.01	-7.35 ± 0.38
BD-S	—	—
BD-N	0.46 ± 0.04	-10.28 ± 0.53
BD-P	0.23 ± 0.06	-25.10 ± 3.27

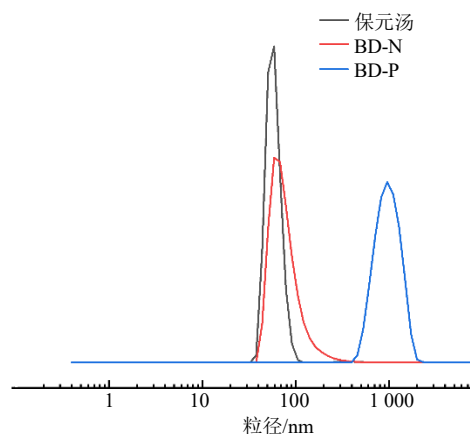


图 2 保元汤及各相态粒径分布

Fig. 2 Particle size distribution of Baoyuan Decoction and each phase

印证, 说明 BD-N 易出现团聚现象, 沉淀相态相对较为稳定。

显微结构表征进一步表明, BD-N 为球形纳米颗粒, 粒径在 100 nm 左右; BD-P 中存在大片模糊未知物、大小颗粒混存、颗粒间黏附聚集等形态; 保元汤为球形颗粒与模糊未知物共存形态 (图 3)。

LC-MS 结果显示, 正、负离子模式下共鉴定出 336 个化合物, 主要包括黄酮类、萜类、有机酸类、糖类、生物碱类等 (图 4、5), 这些化合物在不同

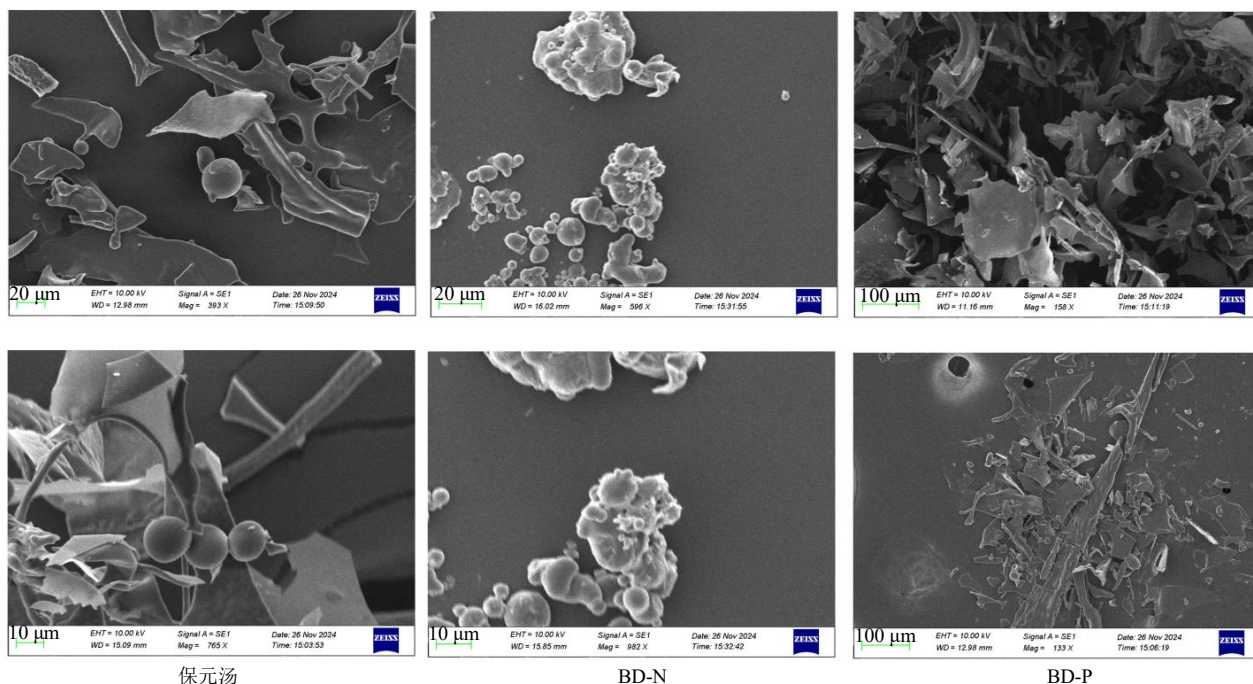


图3 保元汤及各相态 TEM 图

Fig. 3 TEM images of Baoyuan Decoction and various phase states

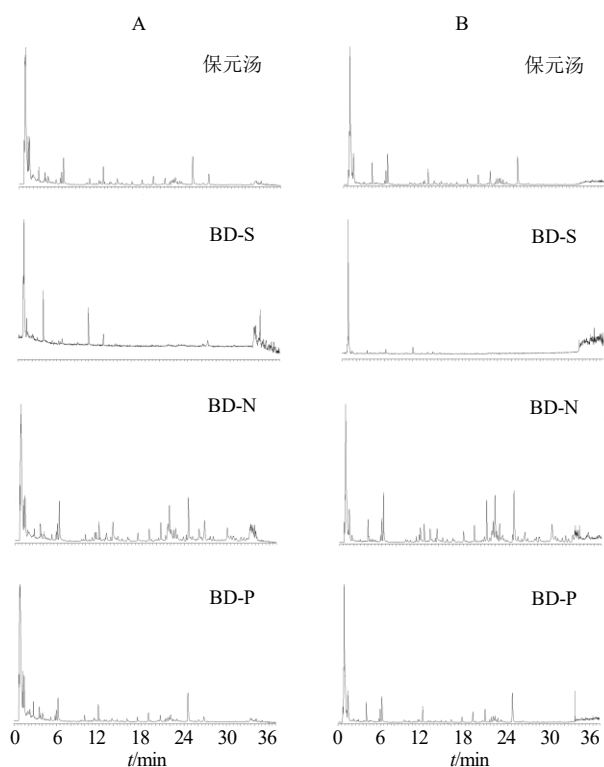


图4 正 (A)、负 (B) 离子模式下保元汤及其各相态总离子色谱

Fig. 4 Total ion chromatograms of Baoyuan Decoction and its various phases in positive (A) and negative (B) ion modes

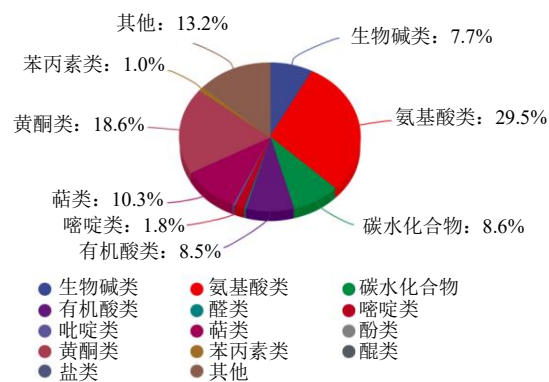


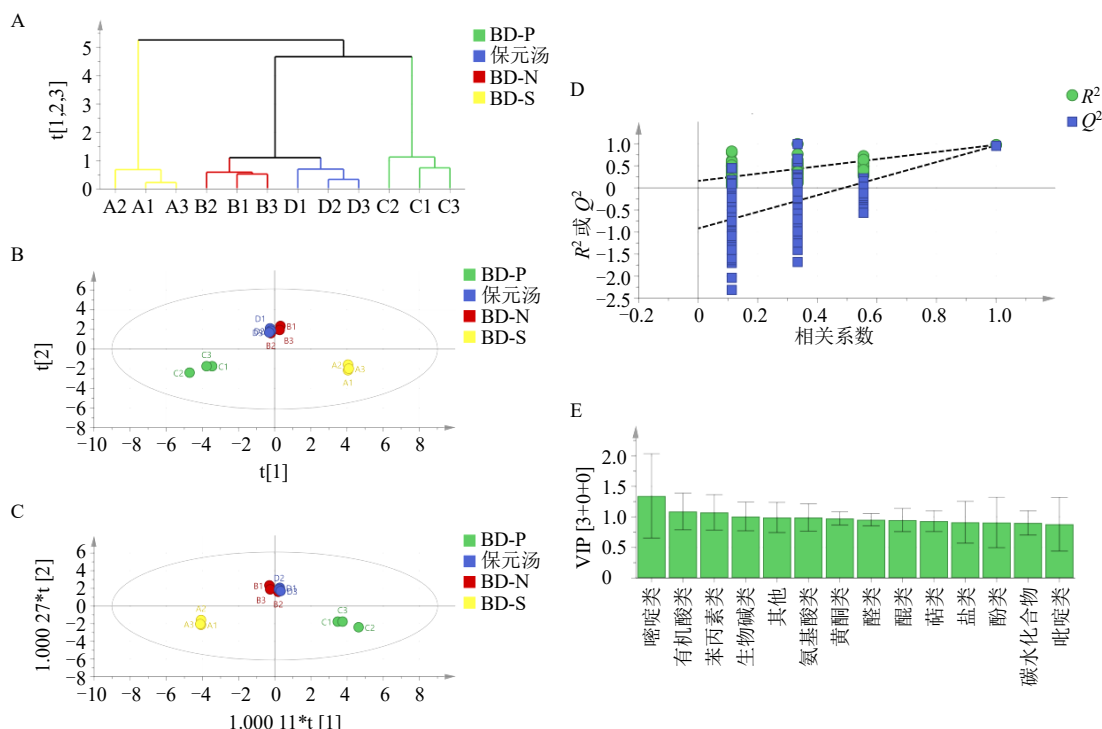
图5 保元汤及其相态化合物种类占比

Fig. 5 Baoyuan Decoction and proportion of its phase-transition compounds

相态中的分布存在差异。糖类、氨基酸类及生物碱类成分在 BD-P 中种类更丰富。大分子物质（如多糖、蛋白）是造成该相态富集的原因之一；同时，生物碱在 BD-P 中富集可能与酸碱反应有关。CA 结果可知，样品大致聚为 3 类，第 1 类为 A1~A3 号样品，第 2 类为 B1~B3 和 D1~D3 号样品，第 3 类为 C1~C3 号样品，说明 BD-N 与保元汤在化学成分类别上大致相同，保元汤中主要化学成分分布于 BD-N 中。PCA 结果表明保元汤、BD-P、BD-S、BD-N 分布在 *t* 轴两侧及中部，可以明显区分，在空

间分布上可分为3类，与CA一致，表明保元汤、BD-N 成分群相似，与其他相态化学成分差异性较大。OPLS-DA 结果表明模型不存在过拟合，有效可行。以上分析结果相互印证说明 BD-N 与保元汤在化学成分类别上大致相同，保元汤中主要化学成

分分布于 BD-N 中（图 6-A~D）；变量重要性投影（variable importance projection, VIP）值表明有机酸类、苯丙素类、生物碱类化合物为主要成分差异类别（图 6-E）。HPLC 结果（表 3）表明，保元汤及 BD-N 各成分含量相近，与 UPLC-MS 结果相符。



A-保元汤及其各相态 CA 结果；B-PCA 得分图；C-OPLS-DA 得分图；D-OPLS-DA 置换检验图；E-共有峰 VIP 值。

A-CA result of Baoyuan Decoction and its phase states; B-PCA score plot; C-OPLS-DA score plot; D-OPLS-DA permutation test plot; E-VIP values for shared peaks.

图 6 差异化合物种类分析

Fig. 6 Analysis of differentiated compound types

表 3 保元汤、BD-N 及 BD-P 各组成成分含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

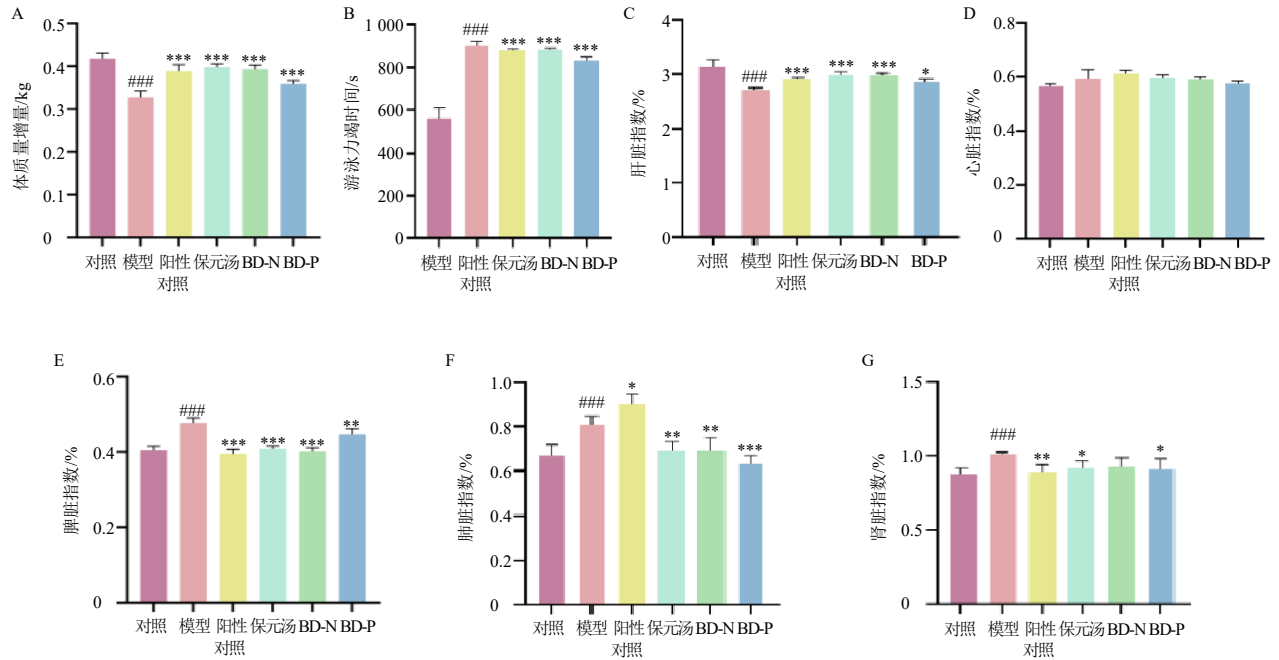
Table 3 Component contents of Baoyuan Decoction, BD-N and BD-P ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	人参皂苷Rb ₁ / (mg·g ⁻¹)	毛蕊异黄酮葡萄糖苷/ (mg·g ⁻¹)	甘草苷/ (mg·g ⁻¹)	甘草酸/ (mg·g ⁻¹)	肉桂酸/ (mg·g ⁻¹)	桂皮醛/ (mg·g ⁻¹)	6-姜辣素/ (mg·g ⁻¹)
保元汤	1.14±0.02	0.27±0.16	5.09±0.13	6.21±0.07	0.59±0.05	0.13±0.01	0.82±0.04
BD-N	1.05±0.25	0.27±0.09	5.20±0.28	6.25±0.06	0.68±0.02	0.13±0.01	0.94±0.06
BD-P	0.04±0.21	0.00±0.00	0.07±0.04	0.18±0.06	0.01±0.00	0.00±0.00	0.01±0.03

3.2 保元汤及各相态抗疲劳药效评价

与对照组比较，模型组大鼠出现明显疲劳表型，包括掉毛严重，毛发发黄、枯燥。行为学指标和脏器指数结果显示，模型组大鼠体重、负重力、游泳时间、肝脏指数均显著降低 ($P < 0.001$ ，图 7-A~C)，提示疲劳导致运动能力及肝功能下降；虽然各组心脏指数均无显著性差异（图 7-D），但结合 LDH、CK 及 cTnI 指标水平（图 8-B、C、E），各给药组均能不同程度地改善模型大鼠的心功能异常。模型组脾脏、

肺脏、肾脏指数显著升高 ($P < 0.001$ ，图 7-E~G)，而各给药组能不同程度回调脾脏、肺脏、肾脏指数。生化指标分析显示，各给药组均能改善模型大鼠的氧化应激及能量代谢异常 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$ ，图 8-A、D、F~I)。进一步比较发现，在降低 MDA、LD、BUN 及提高 SOD、LG、MG 水平方面，保元汤 \approx BD-N $>$ BD-P。以上结果表明，保元汤、BD-N 和 BD-P 均能有效保护肝功能、减轻组织损伤、调节氧化应激及能量代谢，但保元汤与 BD-N 效果最优。

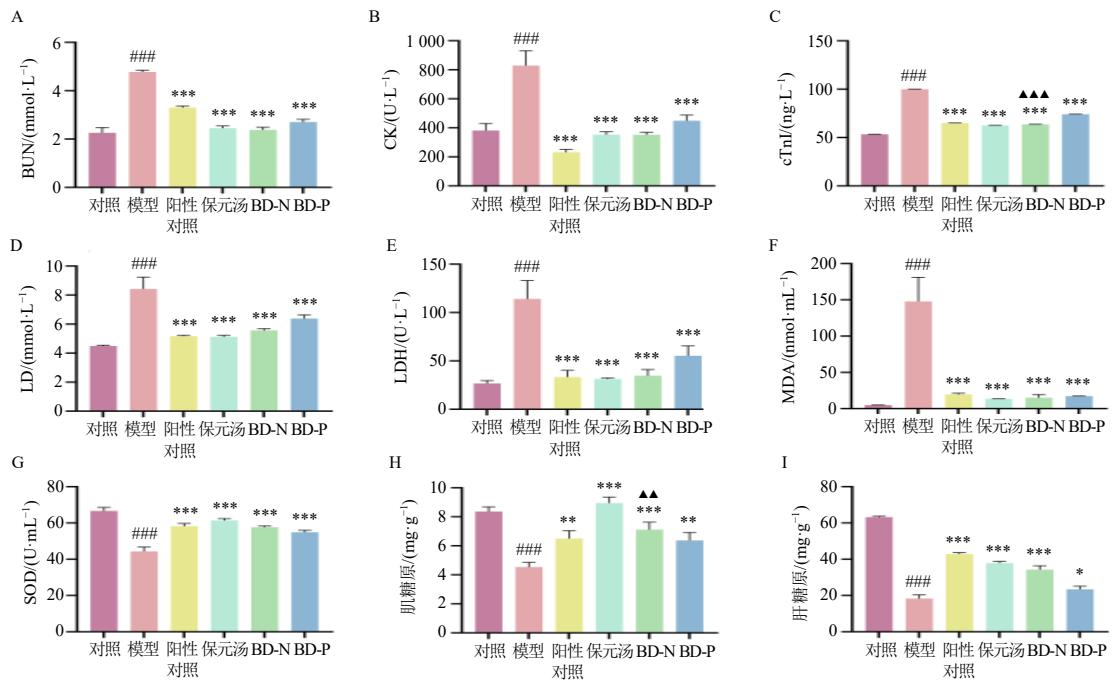


A-体重增量; B-游泳力竭时间; C-肝脏指数; D-心脏指数; E-脾脏指数; F-肺脏指数; G-肾脏指数; 与对照组比较: ###*P*<0.001; 与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001, 图 8、16 同。

A-body weight gain; B-exhaustive swimming time; C-liver index; D-heart index; E-spleen index; F-lung index; G-kidney index; ###*P*<0.001 vs control group; **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001 vs model group, same as Figs. 8, 16.

图 7 大鼠体重、力竭时间和内脏指数测定结果 (x̄ ± s, n = 6)

Fig. 7 Measurement results of body weight, time to exhaustion and visceral index of rats (x̄ ± s, n = 6)



A-BUN 水平; B-CK 水平; C-cTnI 水平; D-LD 水平; E-LDH 水平; F-MDA 水平; G-SOD 水平; H-肌糖原含量; I-肝糖原含量; 与保元汤组比较: ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001。

A-BUN level; B-CK level; C-cTnI level; D-LD level; E-LDH level; F-MDA level; G-SOD level; H-muscle glycogen content; I-hepatic glycogen content; ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001 vs Baoyuan Decoction group.

图 8 大鼠肌肉、肝脏及血清生化指标测定结果 (x̄ ± s, n = 6)

Fig. 8 Measurement results of biochemical indicators in muscle, liver and serum of rats (x̄ ± s, n = 6)

腓肠肌组织 HE 染色结果 (图 9-A) 显示, 模型组肌肉组织纵切面偶见肌原纤维缺失, 少量肌原纤维排列疏松、着色减退, 偶见肌细胞肌膜与肌原纤维分离, 多量肌细胞间距增宽, 表明机体在处于剧烈运动的疲劳状态时会引起肌纤维形态发生改变。与模型组相比, 保元汤组及 BD-N 组肌原纤维排列规则, 未见异常。BD-P 组偶见胞核增加, 偶见肌原纤维缺失, 多量肌细胞间距增宽。表明保元汤及其相态对运动性疲劳有缓解作用, 但 BD-P 组效果较弱。

肝脏组织 HE 染色结果 (图 9-B) 显示, 模型组大量肝细胞脂肪变性, 胞质内可见大小不一的圆形空泡; 较多的血管淤血, 可见淋巴细胞浸润, 偶

见嗜碱性细胞点状聚集。给药组相比较于模型组情况有所改善, 而保元汤及 BD-N 组改善最为明显。

3.3 肠道菌群研究结果

16S rDNA 结果 (图 10-A、B) 表明, 样品的整体丰度和均一性良好, 测序量充足。通过 Venn 图评估操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU) 的相似性和一致性, 结果见图 10-C, 对照组与保元汤组共有的 OTU 91 个, 稍高于对照组和模型组, 提示保元汤干预的肠道菌群结构更接近对照组。相似性分析 (图 10-D) 表明, 组间差异大于组内差异, 表明对照组、模型组和给药组之间具有良好的分离度。所有样品在 OTU 水平的主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 结果 (图 10-E) 显示,

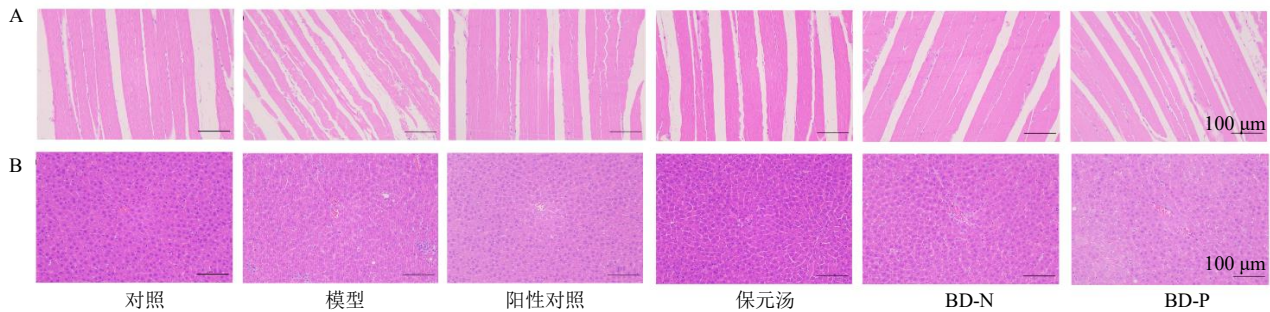
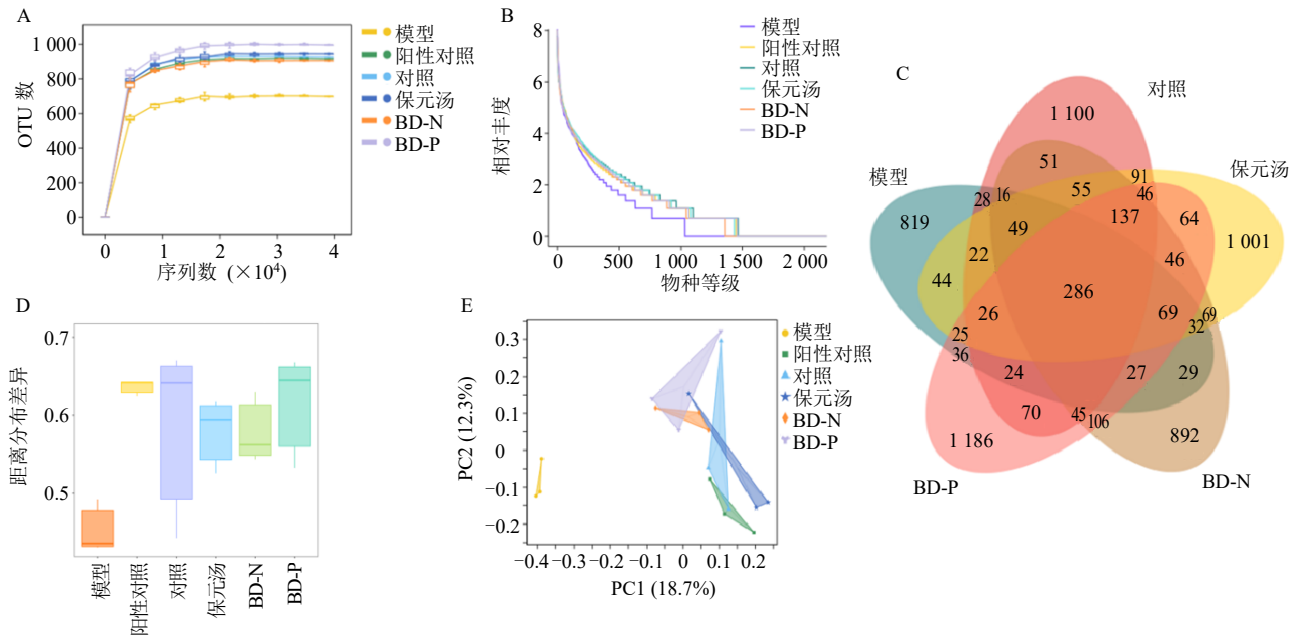


图 9 各组大鼠肌肉 (A)、肝脏 (B) 组织的 HE 染色结果 (×200)

Fig. 9 HE staining results of muscle (A) and liver (B) tissues of rats in each group (× 200)



A-稀疏曲线; B-丰度等级曲线; C-Venn 图; D-各组间差异分析; E-不同细菌类群在 OTU 水平的 PCoA 结果。

A-sparse curve; B-abundance rank curve; C-Venn diagram; D-differences analysis among each group; E-PCoA results of different bacterial clusters at OTU level.

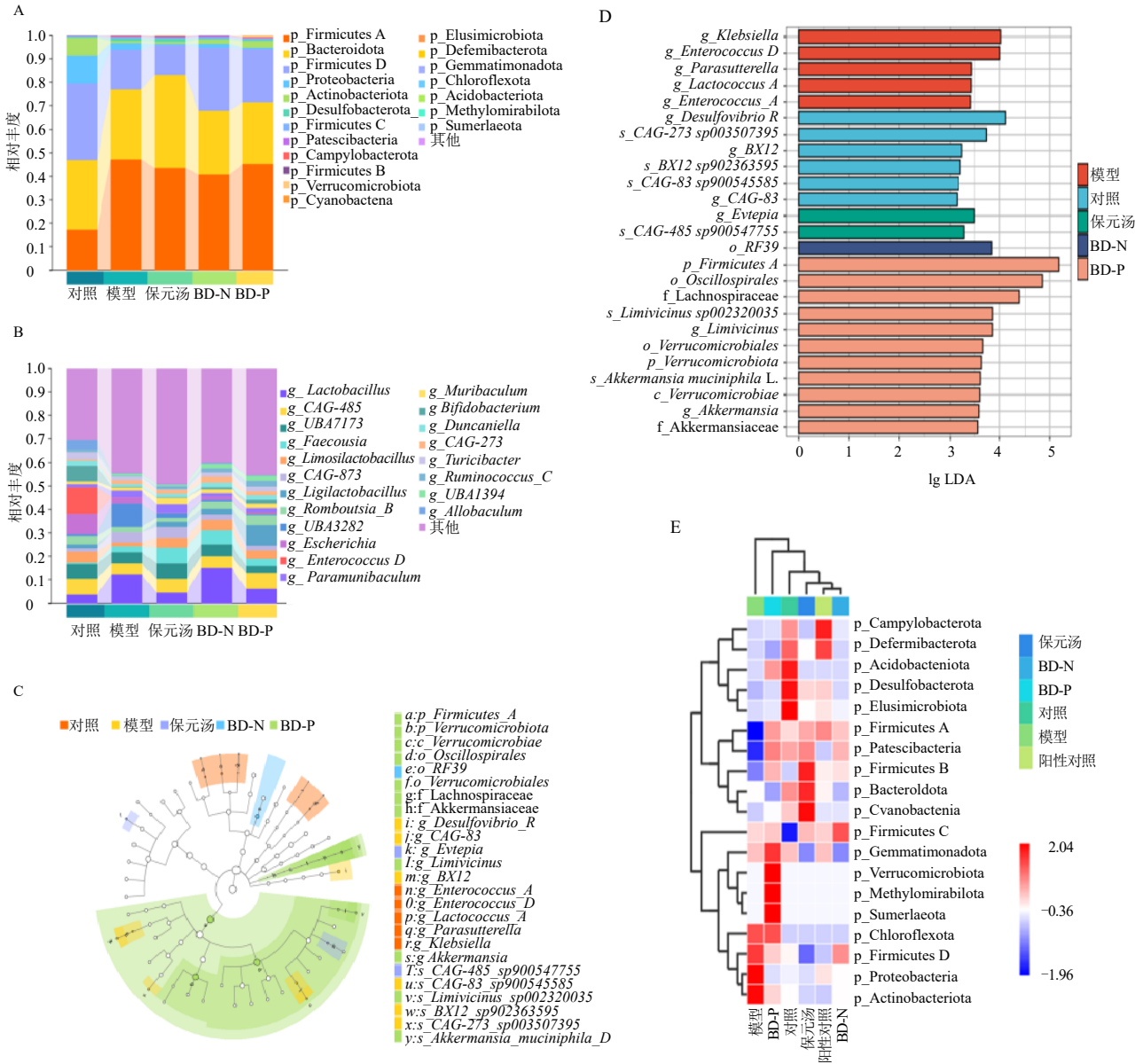
图 10 保元汤及各相态改变疲劳大鼠的肠道微生物群组成

Fig. 10 Baoyuan Decoction and different phases alter gut microbiota composition of fatigued rats

模型和保元汤处理显著改变了微生物群落结构。其中，模型组与对照组和给药组分布较远，而对照组与给药组（尤其是保元汤组与BD-N组）分布较近。

如图 11-A 所示，在门水平上，各组大鼠肠道微生物排序前 6 位菌群为厚壁菌门 A (Firmicutes A)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、厚壁菌门 D (Firmicutes D)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线杆菌门 (Actinobacteria) 和脱硫杆菌门 (Desulfobacterota)。与对照组相比，模型组厚壁菌

门相对丰度增加，拟杆菌门相对丰度降低；而给药组趋势相反。此外，强迫运动后厚壁菌门/拟杆菌门 (F/B) 值较对照组呈上升趋势，在保元汤及其各相态组中 F/B 值呈下降趋势。如图 11-B 所示，在属水平上，模型组乳杆菌属 *Lactobacillus* 相对丰度显著降低，保元汤及其各相态处理后显著恢复其水平，其中保元汤及 BD-N 作用最佳。乳杆菌属的减少可能与炎症或能量供应不足相关，提示保元汤及其相态给药能通过调节肠道菌群改善疲劳。



A-门水平肠道微生物群的相对丰度；B-属水平肠道微生物群的相对丰度；C-LefSe 分析物种进化分枝图；D-LDA 值分布柱状图；E-肠道微生物差异 OTU 的热图。

A-relative abundance of gut microbiota at phylum level; B-relative abundance of gut microbiota at genus level; C-LefSe species evolutionary branch diagram; D-bar chart of LDA value distribution; E-heatmap of differentially abundant OTUs in gut microbiota.

图 11 大鼠肠道微生物的物种组成及 LefSe 分析

Fig. 11 Species composition and LefSe analysis of gut microbiota in rats

分析对照组、模型组和给药组 Alpha 多样性(图 12), 与模型组比较, 各给药组 Chao1 指数及 Observed species 指数上升, 表明保元汤及相态可以恢复运动疲劳大鼠肠道微生物 OTU 水平上的物种总数; 与模型组比较, 保元汤及其相态均增加了大鼠肠道菌群的 Shannon 指数, 说明保元汤及其相态给药使大鼠肠道菌群多样性增加。

Beta 多样性 (图 11-C) 表明, 与对照组比较, 模型组大鼠的肠道菌群出现明显偏离, 说明运动性疲劳会改变大鼠肠道菌群的组成。与模型组比较, ig 阳性药和保元汤及其相态后的大鼠肠道菌群组成存在一定偏离, 同样说明保元汤的干预对疲劳大鼠的肠道菌群结构和组成产生了影响。

采用线性判别分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 方法对组间微生物物种的富集情况进行对比。在保元汤及相态组中显著富集的物种为 *Evtapia*、*Akkermansia* 等。此外, 基于 OTU 的热图显示, 给药组的菌群结构更接近对照组, 而模型组的菌群组成与其他组不同 (图 11-C~E)。表明保元汤和 BD-N 改变了疲劳大鼠的肠道菌群。

3.4 代谢组学分析结果

火山图显示保元汤给药显著改变了模型组的代谢特征, 保元汤组与 BD-N 组干预效果相似。此外, 采用 PCA 将代谢物变量转换成新的特征变量, 并以 R^2_X (模型的可解释度) 为参数对模型进行交叉验证, R^2_X 均高于 0.5 (图 13)。

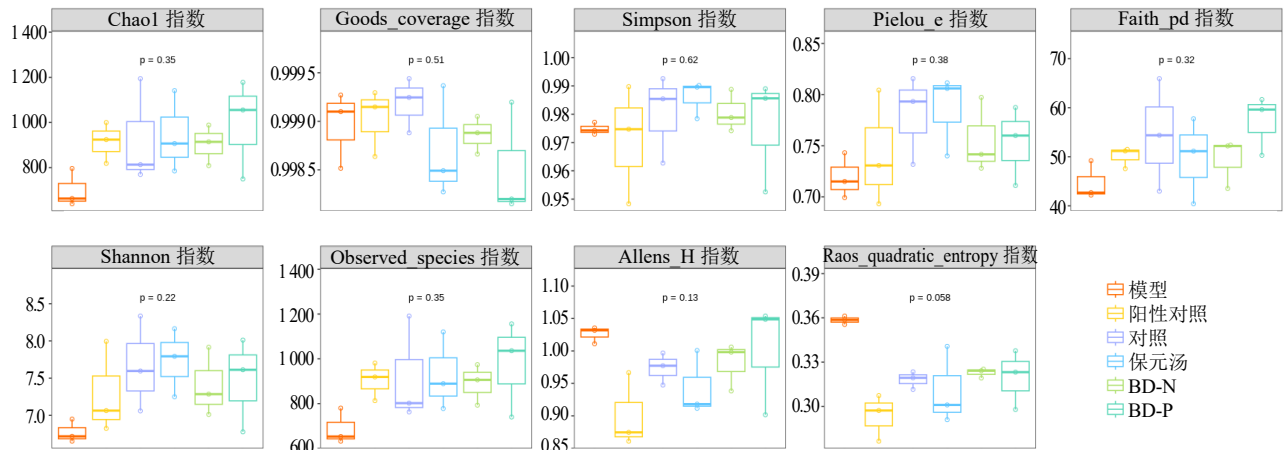


图 12 Alpha 多样性
Fig. 12 Alpha diversity

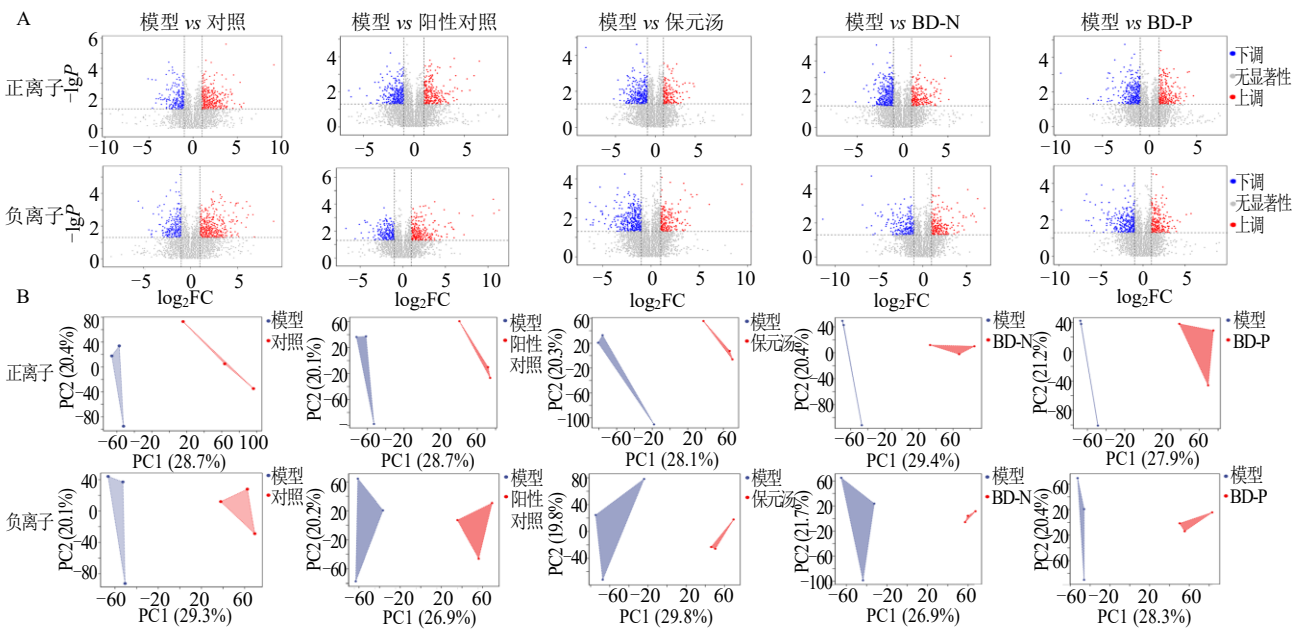


图 13 正、负离子模式下大鼠血清代谢组火山图 (A) 和 PCA 评分图 (B) (n = 3)

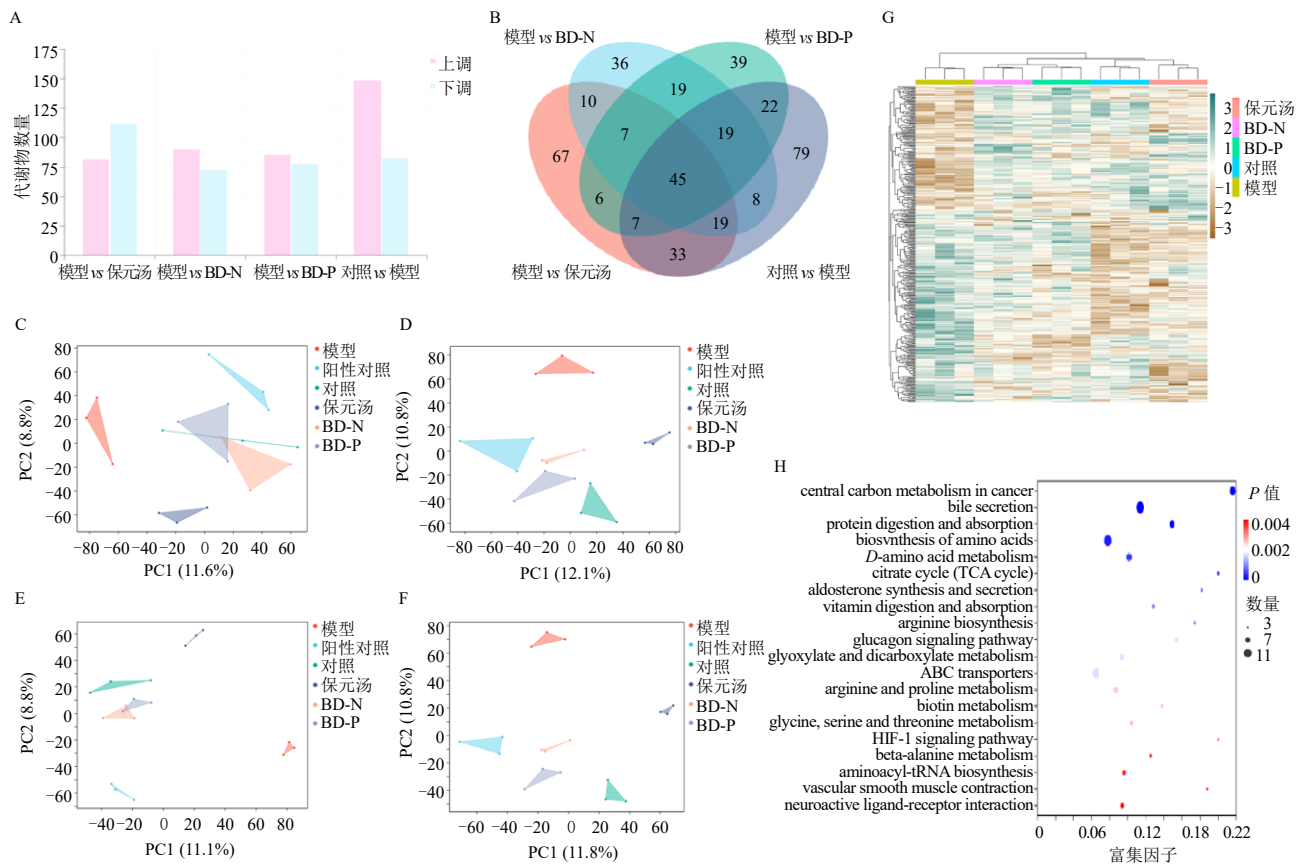
Fig. 13 Volcano plot (A) and PCA score plot (B) of serum metabolites in rats in positive and negative ion modes (n = 3)

如图 14-A 所示,模型组 vs 对照组共鉴定出 232 个差异代谢物,其中 149 个上调,83 个下调。根据差异物质筛选结果,对各组之间的差异物质数量进行统计分析和可视化,如图 14-B 所示,正、负离子模式下共有 45 个代谢物为各组共有差异物质。与对照组比较,模型组血清中 LysoPC(22 : 6(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)/0 : 0)、LysoPC(22 : 4(7Z,10Z,13Z,16Z)/0 : 0)、LysoPC(20 : 2(11Z,14Z)/0 : 0) 水平明显下降, *L*-乙酰肉碱、2-羟基-5-辛烯酰肉碱、硬脂酰-*L*-肉碱水平显著增加;经保元汤及 BD-N 干预后,以上差异代谢物水平均显著回调,趋近于或恢复到对照组水平。PCA 和 PLS-DA 结果(图 14-C~F)显示,模型组与对照组及给药组分离良好,对照组更接近给药组。图 14-G 显示了对照组和模型组中不同代谢物的相反趋势。KEGG 通路富集分析(图 14-H)显示,涉及的代谢途径包括花生四烯

酸代谢途径、胆汁分泌、氨基酸生物合成、ABC 转运体、维生素的消化和吸收、脂肪酸 β -氧化等信号通路。以上结果表明,保元汤可能通过花生四烯酸代谢途径缓解疲劳,显著的差异血清代谢物可能是保元汤改善疲劳的潜在生物标志物。

3.5 转录组学分析结果

如图 15-A~D 所示,与对照组比较,模型组共鉴定出 1 588 个差异表达基因(上调 785 个,下调 803 个);与模型组比较,保元汤组、BD-N 组和 BD-P 组分别筛选出 1 511 个(上调 805、下调 706),714 个(上调 396、下调 318)和 756 个(上调 445、下调 311)差异基因。PCA 与 CA 热图(图 15-E、F)显示,各组基因表达差异显著,组间区分良好。对对照组 vs 模型组、模型组 vs 保元汤组、模型组 vs BD-N 组及模型组 vs BD-P 组的差异表达基因分别进行叠加分析并绘制 Venn 图(图 15-G),发现共

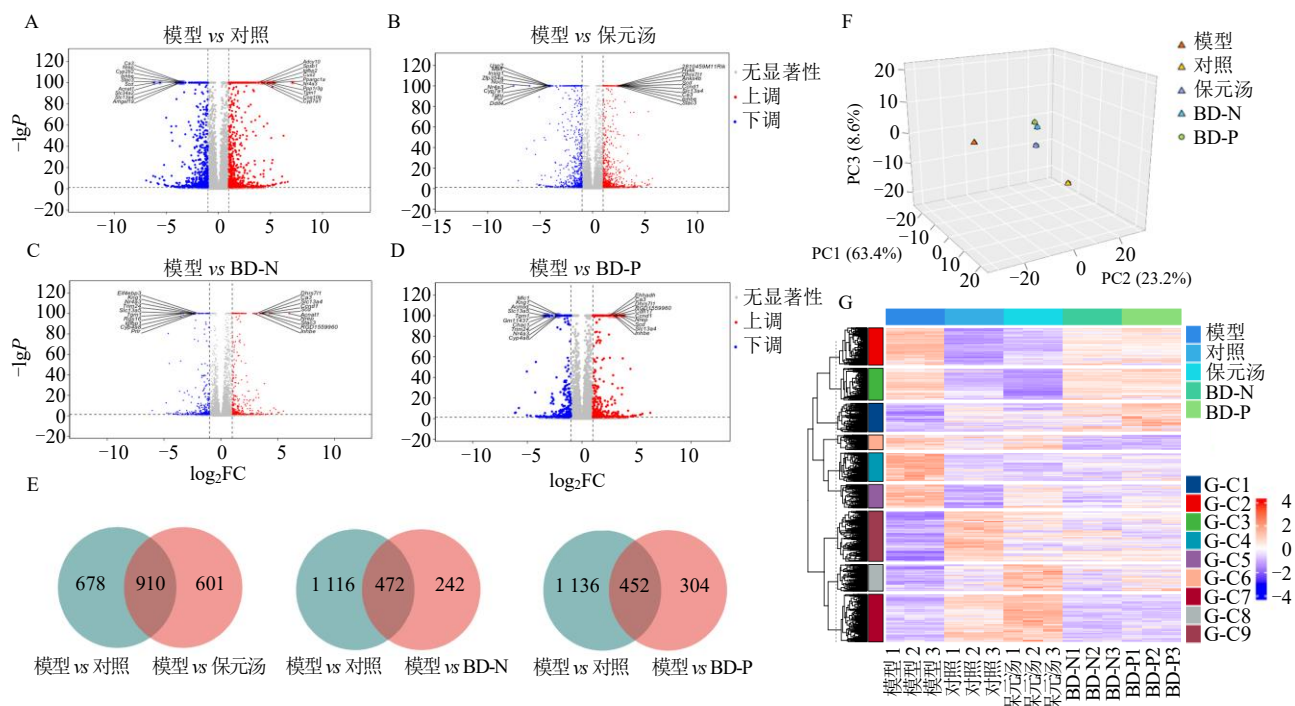


A-各组差异代谢物图; B-各组共有差异物 Venn 图; C-正离子模式下 PCA 图; D-负离子模式下 PCA 图; E-正离子模式下 PLS-DA 图; F-负离子模式下 PLS-DA 图; G-差异物质聚类分析图; H-KEGG 富集分析气泡图。

A-differential metabolite map for each group; B-Venn diagram of common differential metabolites for each group; C-PCA diagram in positive ion mode; D-PCA diagram in negative ion mode; E-PLS-DA diagram in positive ion mode; F-PLS-DA diagram in negative ion mode; G-cluster analysis diagram of differential metabolites; H-KEGG enrichment analysis bubble chart.

图 14 代谢组分析结果

Fig. 14 Metabolomic analysis results



A~D-各组差异表达基因的火山图; E-PCA 图; F-差异基因聚类热图; G-Venn 图。

A—D-volcano plots of differentially expressed genes in each group; E-PCA plot; F-clustering heatmap of differentially expressed genes; G-Venn diagram.

图 15 转录组学分析结果

Fig. 15 Transcriptomic analysis results

有差异基因分别为 910、472 和 452 个。进一步交叉比对 3 组结果，分别鉴定出 341、327 和 348 个与疲劳相关的基因，这些基因可能是保元汤、BD-N 和 BD-P 抗疲劳的潜在作用靶点。

GO 富集分析结果显示，各组的差异表达基因主要表现在生物过程层面，涉及对有机物质的反应、生物过程的正调控等；KEGG 通路富集分析结果显示，各组的差异表达基因显著富集于过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator activated receptor, PPAR）信号通路（图 16）。

3.6 qRT-PCR 验证差异基因表达

利用 qRT-PCR 检测各给药组对大鼠肝脏中 4 种差异基因（*Gck*、*Ackr3*、*Pde4b*、*Ppp1r3b*）mRNA 表达的影响。如图 17 所示，与对照组比较，模型组大鼠肝脏中 *Pde4b* 的 mRNA 表达水平显著升高（ $P < 0.001$ ），*Gck*、*Ackr3*、*Ppp1r3b* 的 mRNA 表达水平呈降低趋势；与模型组比较，各给药组 *Pde4b* 的 mRNA 表达水平显著降低（ $P < 0.001$ ），BD-N 组和 BD-P 组 *Gck* 的 mRNA 表达水平显著升高（ $P < 0.001$ ），保元汤组、BD-N 组和 BD-P 组 *Ackr3* 的 mRNA 表达水平显著升高（ $P < 0.05$ 、 0.001 ），保元汤组和 BD-P 组 *Ppp1r3b* 的 mRNA 表达水平显著升

高（ $P < 0.05$ 、 0.001 ）。表明保元汤及其各相态可能通过调控疲劳基因的表达参与能量代谢、炎症损伤过程。

3.7 微生物-代谢-转录的联合分析

整合代谢组、转录组与 16S rRNA 测序数据，进行 Spearman 相关性分析，构建“肠道菌群-宿主代谢-基因调控”的通路，探讨保元汤及相态抗疲劳作用的潜在机制。如图 18 所示，硬脂酰-L-肉碱是连接肠道菌群紊乱与宿主代谢-免疫失调的关键节点，其在模型组中水平升高，与 *Afm*、*Alb* 等炎症相关基因表达呈正相关，与 *Oscillospiraceae* 等有益菌呈负相关。表明硬脂酰-L-肉碱积累导致慢性炎症，进而引发疲劳感。

4 讨论

中药复方在煎煮过程中因大量成分从饮片中溶出后存在分子剧烈运动，产生自组装或聚集现象，形成溶液、纳米、沉淀等多种相态共存的汤液。不同相态所表现出的化学组成、物理状态及药效作用均有不同。而中药汤剂在临床中多为煎煮后直接服用，对于和补益气类汤剂应温服^[29]。因此，本研究从相态角度出发，对保元汤进行不同相态拆分、成分分析、含量测定及活性评价，关联汤液相态与

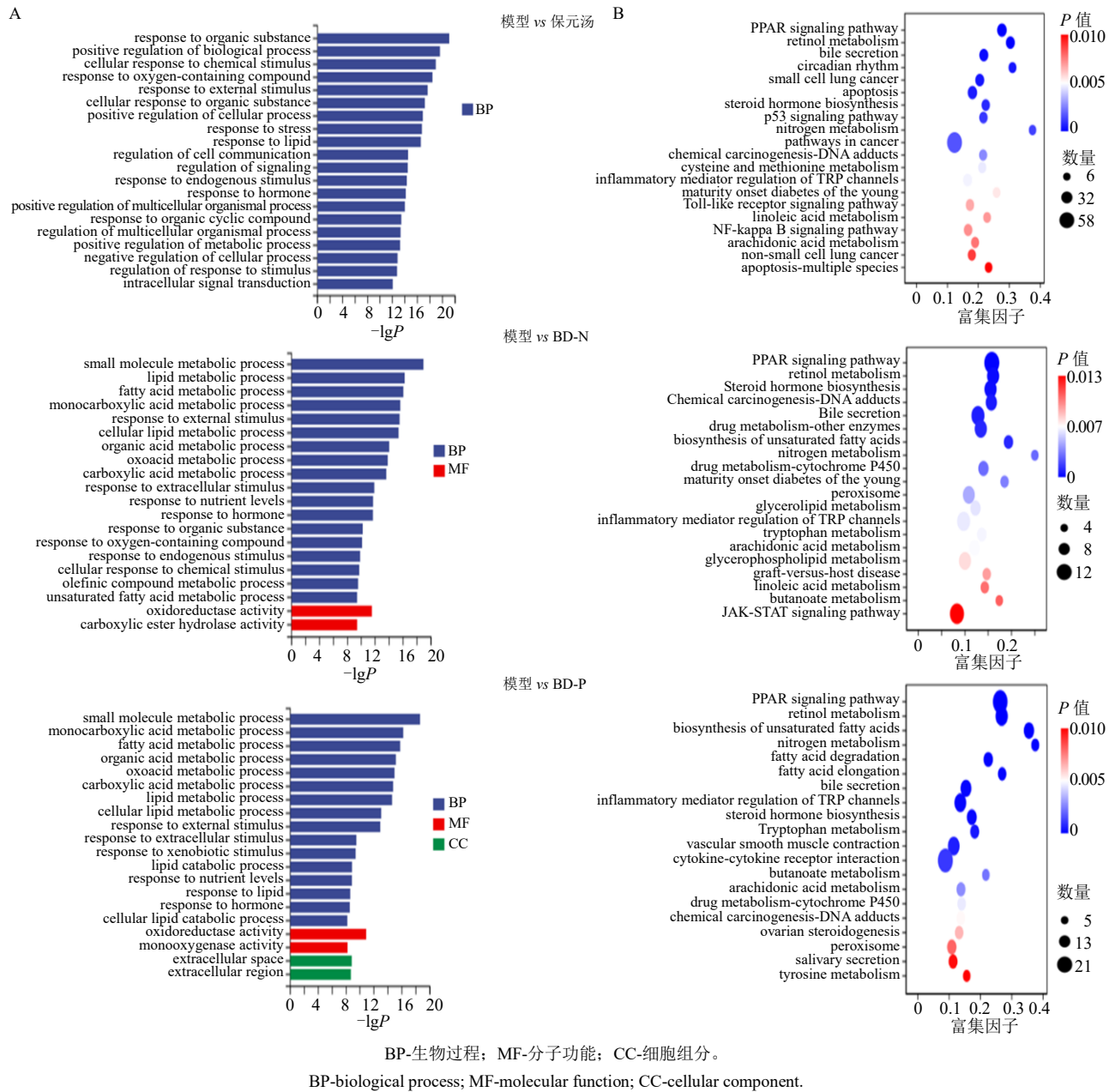


图 16 GO (A) 和 KEGG 通路 (B) 富集分析结果

Fig. 16 GO (A) analysis and KEGG pathway (B) enrichment analysis results

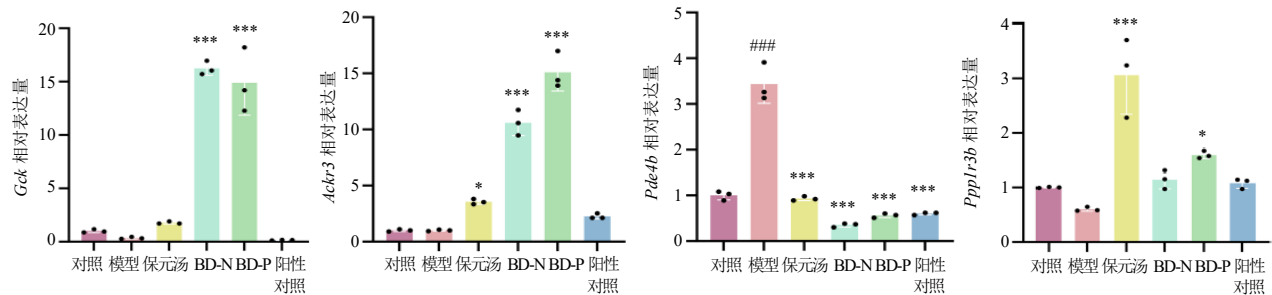
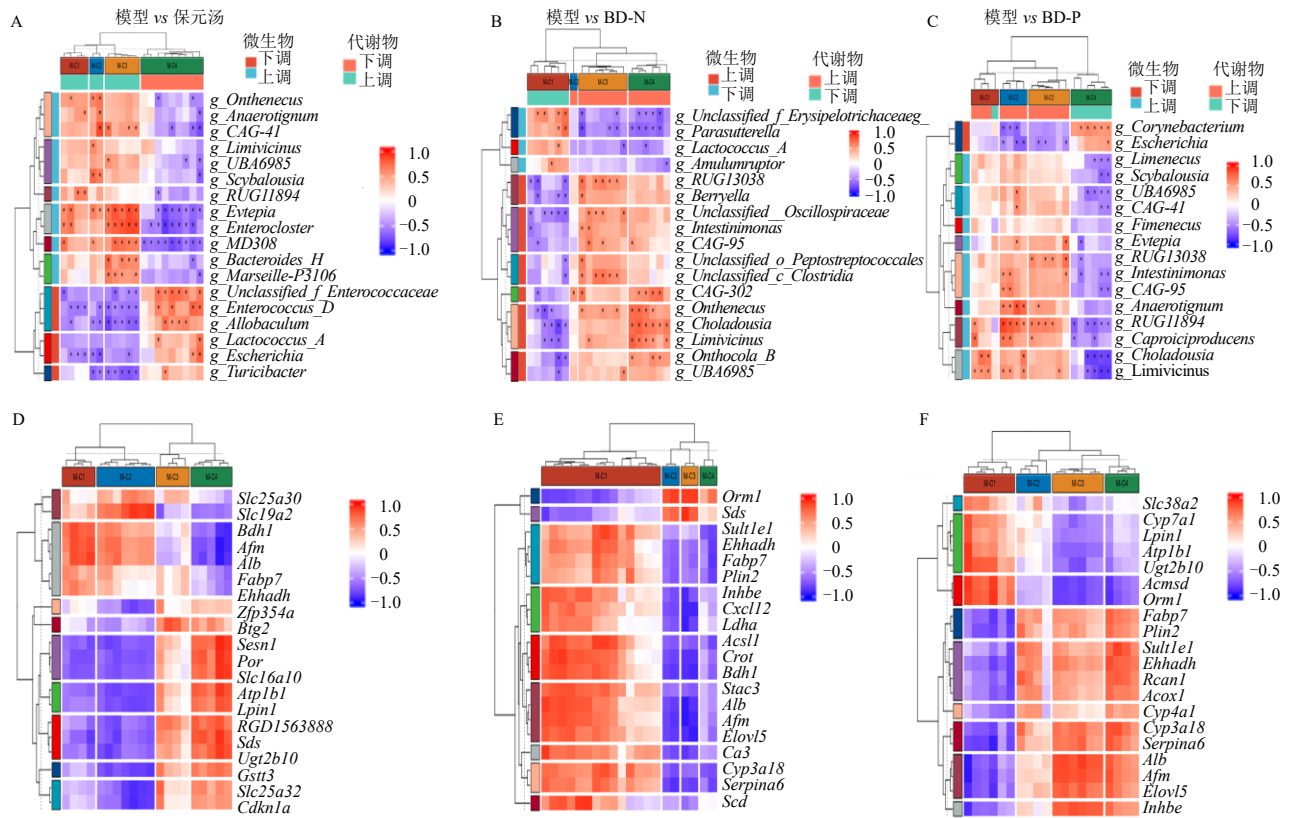


图 17 各组部分差异基因 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 17 mRNA expression levels for selected differentially expressed genes in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



A~C-肠道菌群-差异代谢物 Spearman 相关性分析; D~F-差异基因-差异代谢物 Spearman 相关性分析。

A—C-Spearman correlation analysis between gut microbiota and differential metabolites; D—F-Spearman correlation analysis between differential genes and differential metabolites.

图 18 各组 Spearman 相关性分析

Fig. 18 Spearman correlation analysis in each group

药效作用的关系，并为“温服”服用方法提供理论依据。同时，利用多组学手段分析各相态与全方的潜在机制关系。

在活性相态筛选的研究中，利用离心-透析的方法获得不同相态。结合各相态的理化性质，真溶液中极少量存在保元汤物质基础，并结合已发表的研究，中药复方起效部位多存在与纳米相态与沉淀相态中，故而，在本实验设计时未将真溶液相态的药效贡献考虑在内。药效评价和活性相态筛选证实，保元汤可以改善疲劳模型导致的机体异常，且纳米相为活性相态，但沉淀相并非无效杂质，它是活性成分的另一种存在形式，其形成是复方合煎过程的固有特性。另有研究表明中药复方合煎的自沉淀具有“体外沉积、体内缓释”的特点^[15]，表明沉淀相在中药汤剂的研究过程中同样应予以重视。“结构中药学”理论认为中药的化学成分和物理结构共同影响中药的药效物质基础。这一发现不仅明确了保元汤的药效，更揭示了其物质基础新的存在形式，

相较于传统药效物质基础的研究仅关注小分子化学成分，而忽略分子间相互作用形成的聚集体，本研究为后续药效物质基础的研究提供了新思路。

多组学研究中，模型组 *Oscillospiraceae* 等有益菌丰度下降，可能导致有益菌产生的短链脂肪酸减少，肠道屏障功能受损，脂肪酸代谢受阻，进而影响宿主的能量代谢，而硬脂酰-L-肉碱在血液中堆积则标志着线粒体脂肪酸β-氧化受阻，同时 *Afm*、*Alb* 等炎症基因表达上调，这一过程可能反映出肝脏正处于一种炎症反应状态。硬脂酰-L-肉碱升高不仅是代谢紊乱的直接反映，更可能是肠道-肝轴失衡的产物，肠道中有益菌的减少可能导致短链脂肪酸的不足，进而影响宿主的能量代谢和炎症状态。保元汤及纳米相态潜在机制可能为口服后调节肠道菌群，从而增加乳杆菌属等有益菌属的丰度，进一步通过 *Afm*、*Alb*、*Scd*、*Fads2*、*Plin2* 等基因调控脂质代谢改善失衡引起的能量代谢和炎症，从而提高疲劳大鼠的运动能力，相态及全方均能通过上述机制发挥

作用,推测物理相态本身可能不产生新的机制,但通过影响药效物质的含量及存在形态,最终决定药效的强弱。本研究有望为保元汤改善运动诱导的疲劳提供新的理论依据。

目前,关于中药汤液的活性相态研究多集中于药效评价阶段,而关于复方中具体如何形成聚集体的研究还鲜有报道。结合已有文献推测,保元汤中黄芪、人参多糖以及生姜中的淀粉等大分子在煎煮时溶出,使汤液成为胶体体系,在冷却静置过程中,能将产生的微细沉淀物有效地捕获、吸附并包裹,形成肉眼可见的絮状沉淀;生物碱类物质由于多芳环结构与肉桂酸及其衍生物进行自组装。黄酮类与醌类物质主要依赖于氢键作用、疏水作用和 π - π 堆积作用^[30-32];有机酸类及生物碱类成分在煎煮过程中可能发生聚合、酸碱中和等化学反应生成不溶性分子复合物或沉淀,形成本研究中沉淀相。结合不同相态的缓解疲劳作用强度及主要成分分布呈正相关关系推测,沉淀相的产生可能涉及2方面:一方面,可能与成分间发生酸碱反应,产生不可溶沉淀有关;另一方面,原本经过煎煮均匀分布在溶液中的纳米粒子可能由于温度的变化,导致溶解度改变,使其析出,产生沉淀^[33]。该发现为阐明保元汤沉淀相态的形成机制提供了新视角。同时,结合放置后沉淀相态的产生及其药理作用的研究结果,也从相态角度为和补益气类中药“温服”服用方法提供理论依据。后续将进一步筛选聚焦关键成分(如生物碱与黄芪多糖/黄酮等),并对上述关键成分的自组装形成机制进行研究,这将有助于从物相角度揭示保元汤的物质基础。

综上,保元汤能有效缓解运动性疲劳,其核心药效物质存在于纳米相。通过梯度离心-透析法成功将保元汤拆分为纳米相、沉淀相和真溶液3个相态,各相态理化性质(粒径、PDI、电位、TEM、化学成分)存在显著差异。药效学评价表明,全方汤剂疗效最优,纳米相药效显著优于其他相态及阳性药组,是发挥缓解疲劳作用的核心活性相态,沉淀相表现出的缓解作用表明,沉淀物并非无效成分,相反,其中含有一定比例的活性成分。该结果为中药复方物质基础研究、中药复方的应用合理性提供新视角。后续研究拟采用分子动力学模拟预测保元汤纳米相中活性聚集体的形成机制及沉淀相的成因,并通过实验进行验证。此外,鉴于糖类及蛋白类成分在沉淀相中占比较高,在后续研究中应纳入考虑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨言言,李惠珍,艾志福,等. 中药防治疲劳作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2309-2318.
- [2] 玄其文,沈诞,杜娟,等. 具有抗疲劳作用的补益类中药研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(2): 275-280.
- [3] 陈利平,吴整军,仝战旗,等. 慢性疲劳综合征中医病因病机及治疗探悉 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(12): 2533-2534.
- [4] 余格,梁慧慧,文雯,等. 保元汤的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(2): 567-577.
- [5] Wu Z, Wang L X, Yin Z Y, et al. Baoyuan Decoction inhibits atherosclerosis progression through suppression peroxidized fatty acid and Src/MKK4/JNK pathway-mediated CD36 expression [J]. *Phytomedicine*, 2024, 130: 155668.
- [6] 李淑慧,王雅,田军,等. 古代经典名方保元汤的药剂物质基础及其分子水平机制的研究 [J]. 中草药, 2023, 54(21): 6971-6987.
- [7] 李双钰,万博雅,杨艳,等. 保元汤的化学成分、药理作用和临床应用的研究进展 [J/OL]. 吉林医药学院学报 (2025-12-22) [2026-04-28]. <https://doi.org/10.13845/j.cnki.issn1673-2995.20251222.001>.
- [8] 李钠,刁元元,刘伟朋,等. 基于特征图谱和量值传递评价经典名方保元汤颗粒剂的关键生产工艺 [J]. 中国新药杂志, 2024, 33(14): 1472-1481.
- [9] 魏吉昌,林晓钰,张景怡,等. 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 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8366-8378.
- [10] 王琪,郭小萌,倪乾坤,等. 中药水煎液自组装聚集体系研究面临的问题初探 [J]. 药学报, 2024, 59(1): 94-104.
- [11] 张则宽,王琪,郭小萌,等. 基于相态变化探究煎煮方法与纯化工艺对经典名方吴茱萸汤药性传递的影响 [J]. 中草药, 2025, 56(2): 430-440.
- [12] 胡英还,于舒婷,李若彤,等. 基于相态特征的中药质量评价研究进展 [J]. 中草药, 2026, 57(1): 314-321.
- [13] Zhuang Y, Yan J J, Zhu W, et al. Can the aggregation be a new approach for understanding the mechanism of Traditional Chinese Medicine? [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117(2): 378-384.
- [14] Zhou J W, Gao G Z, Chu Q P, et al. Chromatographic isolation of nanoparticles from Ma-Xing-Shi-Gan-Tang decoction and their characterization [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(3): 1116-1123.
- [15] 高湘婷,贺鹏,谯茹,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.
- [16] 李华健, 叶小凤, 柯俏颖, 等. 基于成分互作-物相结构探究防己黄芪汤有效相态部位性质及其抗炎活性 [J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(11): 5164-5172.
- [17] 苏贝贝, 卢凯, 张鑫渝, 等. 防己黄芪汤干预脾虚肾性水肿小鼠的药效评价及活性相态筛选 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8175-8187.
- [18] 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.
- [19] 付佳宁, 赵氏淳, 郝凌烽, 等. 金银花-蒲公英提取液纳米相态凝胶剂制备及对大鼠痤疮模型的药效评价 [J]. 中草药, 2024, 55(24): 8416-8424.
- [20] Su H B, Lei H, Cao L, *et al.* Phase preparation of Xiao-Chai-hu Decoction and its pharmacodynamics of acute liver injury [J]. *Curr Top Med Chem*, 2024, 24(24): 2129-2140.
- [21] 朱耀萱, 陈伟, 王振中, 等. 麻杏石甘汤抗菌活性的空间异质性及其物理结构基础 [J]. 药学学报, 2021, 56(8): 2112-2118.
- [22] 高文晶, 李珊珊, 向小梅, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析经典名方保元汤的物质基础 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(22): 243-248.
- [23] 吴雪, 冒银苹, 王丹, 等. 苓桂术甘汤活性相态的物质解析及对梗阻肾的保护作用 [J]. 药学学报, 2025, 60(7): 2342-2351.
- [24] 黄保年, 车环宇, 刘雪坤, 等. 疲劳模型的建立及中药抗疲劳作用研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1805-1816.
- [25] Nair A, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. *J Basic Clin Pharma*, 2016, 7(2): 27.
- [26] 崔煦然, 刘清泉. 基于代谢组学与肠道菌群测序探讨苍麻化毒颗粒治疗呼吸道感染的潜在机制 [J]. 病毒学报, 2026, 42(1): 101-114.
- [27] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, *et al.* Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [28] Kim D, Langmead B, Salzberg S L. HISAT: A fast spliced aligner with low memory requirements [J]. *Nat Meth*, 2015, 12(4): 357-360.
- [29] 王晓婷. 服用中药汤剂有讲究 [J]. 农家之友, 2007(7): 65.
- [30] Yuan D, Wang Z L, Li B, *et al.* Complexation of apigenin and oxymatrine leading to enhanced anti-inflammatory activity [J]. *J Nat Prod*, 2023, 86(5): 1179-1188.
- [31] Tian X H, Wang P L, Li T, *et al.* Self-assembled natural phytochemicals for synergistically antibacterial application from the enlightenment of traditional Chinese medicine combination [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(9): 1784-1795.
- [32] Zheng J, Fan R, Wu H Q, *et al.* Directed self-assembly of herbal small molecules into sustained release hydrogels for treating neural inflammation [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 1604.
- [33] 林岱. 葛根芩连汤药材蛋白自组装行为的研究 [D]. 福州: 福州大学, 2013.

[责任编辑 李亚楠]