

基于超滤分离和微观分析研究甘草酸-芫花素配伍的自组装行为

陆琳奕¹, 黄鹿鹿¹, 彭国平^{1,2,3}, 李存玉^{1,2,3}, 支兴蕾^{1*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

3. 江苏省经典名方研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: 目的 探究甘草酸与芫花素配伍后的自组装行为及分子缔合规律, 从微观层面分析甘草 *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*-芫花 *Genkwa Flos* 配伍禁忌与成分状态的相关性。方法 通过动态光散射 (dynamic light scattering, DLS)、扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM) 和超滤分离, 分析甘草酸-芫花素配伍溶液中微粒的粒径、形貌和超滤分离行为。结果 甘草酸与芫花素以 55:1 和 45:1 的质量浓度比配伍后, 粒径由相应质量浓度的甘草酸单体溶液的 100~150 nm 显著减小至约 50 nm, 且配伍后 DLS 在 10~100 nm 出现了单体溶液没有的光强信号。SEM 观察到甘草酸-芫花素配伍溶液形成了规整的立方体颗粒, 与单体的球状、长针状完全不同。使用截留相对分子质量分别为 3 000、10 000、30 000、50 000、100 000 的超滤膜进行分离时发现, 随着甘草酸质量浓度升高, 甘草酸透过率逐渐下降, 透过率 10% 时的截留相对分子质量 (T_{10}) 与缔合系数 (N) 逐渐增大。在同质量浓度条件下, 配伍体系中甘草酸透过率大于甘草酸单体体系, T_{10} 和 N 小于单体体系。此外芫花素在含甘草酸体系中透过率显著提高。药材饮片煎煮体系与单体体系规律一致。对比单煎液与合煎液的 SEM, 甘草单煎液的颗粒结构规则, 尺寸相对均一, 芫花单煎液颗粒尺寸差异大。合煎液未能重现单体配伍的规整立方体, 但颗粒均一性介于 2 种单煎液之间。结论 甘草酸与芫花素在水溶液中并非简单共存, 芫花素以分子替换的形式进入甘草酸胶束, 自组装形成新的缔合物, 为研究甘草-芫花药对“反”的机制提供了新思路。

关键词: 甘草酸; 芫花素; 自组装; 胶束; 超滤分离; 微观分析; 透过率; 缔合系数; 甘草; 芫花; 配伍禁忌; 动态光散射
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)13-5034-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.13.008

Study on self-assembly behavior of glycyrrhizic acid-genkwanin combination based on ultrafiltration separation and microscopic analysis

LU Linyi¹, HUANG Lulu¹, PENG Guoping^{1,2,3}, LI Cunyu^{1,2,3}, ZHI Xinglei¹

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China

3. Jiangsu Province Engineering Research Center of Classical Prescription, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To explore the self-assembly behavior and molecular association patterns of glycyrrhizic acid (GA) and genkwanin (Gen) after combination, and to analyze the correlation between the incompatibility and the molecular state of Gancao (*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*)-Yuanhua (*Genkwa Flos*) from the microscopic perspective. **Methods** Employ dynamic light scattering (DLS), scanning electron microscopy (SEM), and ultrafiltration to characterize the particle size, morphology and ultrafiltration behavior of GA-Gen mixed solutions. **Results** When GA and Gen were combined at mass ratios of 55:1 and 45:1, the particle size decreased significantly from 100—150 nm (GA monomer solutions) to approximately 50 nm. After combination, DLS showed a light intensity signal that was not present in the monomer solution at 10—100 nm. SEM images showed that the GA-Gen compatible solutions formed well-defined cubic particles, distinctly different from the globular and long needle-like morphologies of the individual components. When ultrafiltration membranes with molecular weight cut-off (M_w) of 3 000, 10 000, 30 000, 50 000 and

收稿日期: 2026-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82274106); 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室创新项目 (NZYSKL240207); 南京中医药大学中药学一流学科科学研究培育项目 (ZYXPY2024-006)

作者简介: 陆琳奕 (2002—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药化学与分析学。E-mail: 18367604710@163.com

*通信作者: 支兴蕾 (1981—), 女, 博士, 副教授, 主要从事膜分离原理研究。E-mail: 13601588491@163.com

100 000 were used for separation, it was found that with the increase of GA concentration, the transmittance of GA gradually decreased, and the molecular weight at 10% transmittance (T_{10}) and the association coefficient (N) also gradually increased. At the same concentration, the transmittance of GA in the compatibility system was higher than that in the GA monomer system, and T_{10} and N were lower than those in the monomer system. In addition, the transmittance of Gen in GA-containing system was significantly improved. The decoction system of medicinal materials is consistent with the trends of monomer system. Comparing the SEM of single decoction and co-decoction, the particle size of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* single decoction was regular and the size was relatively uniform, and the particle size of *Genkwa Flos* single decoction was greatly different. The co-decoction failed to reproduce the regular cube of monomer compatibility, but the particle uniformity was between the two single decoctions. **Conclusion** GA and Gen do not simply coexist in aqueous solution. Instead, Gen is incorporated into GA micelles via molecular substitution, leading to the formation of new self-assembled associates. These findings provide a novel perspective for understanding the mechanism of “reverse” of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-Genkwa Flos* herb pair.

Key words: glycyrrhizic acid; genkwanin; self-assembly; micelle; ultrafiltration separation; microscopic analysis; permeability; association coefficient; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; *Genkwa Flos*; incompatibility; dynamic light scattering

“十八反”作为中药传统配伍禁忌，其物质基础、作用机制的探索一直是现代中医药研究的重点与难点^[1]。其中，甘草与芫花是典型的反药组合，前期研究多从成分溶出变化的角度进行药对配伍禁忌的解释，陈艳琰等^[2]发现两者合煎后，芫花中二萜类毒性成分与黄酮类成分的溶出均显著增加。杨玉琴等^[3]将甘草酸与芫花醋酸乙酯部分共煎，结果显示芫花酯甲的溶出率高达 55%，而芫花单煎液中并未在 HPLC 检测到芫花酯甲的色谱峰；扫描电子显微镜（scanning electron microscope, SEM）显示，甘草酸能将芫花中的脂溶性成分均匀分散成纳米级颗粒，从而显著增加其溶解度。此外，针对同属“十八反”的甘草-甘遂药对，Wang 等^[4]从分子机制层面揭示了其配伍禁忌原理，发现甘草酸可通过靶向结合高迁移率族蛋白 B1（high mobility group protein B1, HMGB1）蛋白拮抗甘遂活性成分 3-*O*-苯甲酰基-20-脱氧巨大戟醇的药理作用。目前，关于甘草与芫花的研究，主要集中在成分分析与药理活性评价方面^[5-7]，在一定程度上揭示了甘草与芫花合煎后减效增毒的内涵，但对于配伍后引起的成分存在状态变化的分析尚处于初步阶段。

近年来，结构中药学和中药超分子研究受到越来越多的关注^[8-10]。乔宏志等^[11]认为中药的药效与其结构密切相关，活性成分在适宜的存在状态下才能更好地发挥药效。在中药的煎煮过程中，药物成分不仅是简单溶出，还会发生成分间的相互作用，引起不同结构的自组装化合物的形成^[12]。目前，粒径分析、SEM 等检测技术，可以定性分析成分间的组装行为，但是难以解析甘草-芫花配伍后溶液中的胶束状态和组装结构。甘草酸是甘草中的主要活性成分，具有典型的两亲性结构，在达到临界胶束浓

度时，可在水中自组装形成胶束，发挥增溶作用^[13]。芫花素是芫花中的代表性黄酮类苷元，具有较高的生物活性和低毒性等特点，但水溶性极差^[14]。超滤可以通过分子筛分效应对溶液中成分进行定向分析，也可以间接表征溶液中物质的分子团尺寸，为甘草酸、芫花素的自组装超分子的解析提供了研究思路。为探究甘草-芫花配伍后引起的自组装行为，并进一步分析配伍禁忌之间与成分状态的相关性，采用动态光散射（dynamic light scattering, DLS）和 SEM 技术，对甘草酸与芫花素的配伍溶液进行了表征，并结合超滤分离，解析了缔合物的透过行为与分子缔合系数（association coefficient, N ），为研究中药“十八反”配伍禁忌内涵提供研究思路。

1 仪器与材料

1.1 仪器

MS105 型电子分析天平，（十万分之一），梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；PB-10 型酸度计，德国赛多利斯科学仪器有限公司；Waters e2695 型高效液相色谱仪，PDA 检测器，美国 Waters 公司；日立 SU8600 型扫描电子显微镜，日本日立公司；KH-250B 型超声波清洗器，昆山禾创超声仪器有限公司；TGL-16C 型高速台式离心机，上海安亭科学仪器厂；Millipore Direct-Q5 型超纯水机，德国 Merck Millipore 公司；Zetasizer Nano ZS90 型马尔文激光粒度仪，英国马尔文帕纳科有限公司；Amicon Ultraclear 15 型超滤离心管，5 mL（15 mL 外管），膜截留相对分子质量（molecular weight cut-off, M_w ）3 000、10 000、30 000、50 000、100 000，有效膜面积 3.0 cm²，美国 Millipore 公司。

1.2 材料

甘草（批号 220930）、芫花（批号 240313）饮

片均购自苏州市春晖堂药业有限公司,经南京中医药大学严辉教授进行鉴定,甘草为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.的干燥根和根茎,芫花为瑞香科瑞香属植物芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc.的干燥花蕾。

芫花素对照品,批号 JZ24110408,质量分数 $\geq 98.0\%$,南京景竹生物科技有限公司;甘草酸对照品,批号 E100747,质量分数 95.0% ,萨恩化学技术有限公司上海有限公司。甲醇、乙腈为色谱纯,上海艾巨酷生物科技有限公司;水为纯化水,由 DirectQ-5 型超纯水仪制备;其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 单体溶液 精密称取适量芫花素,先以少量乙醇溶解,再加超纯水稀释,超声处理 10 min,配制成质量浓度为 0.015 mg/mL 的芫花素单体溶液。

精密称取适量甘草酸,加超纯水溶解,超声处理 10 min,配制成质量浓度分别为 0.825 、 0.675 、 0.525 mg/mL 的甘草酸单体溶液。

2.1.2 单体配伍溶液 按照“2.1.1”项下方法制备芫花素单体溶液 (0.015 mg/mL)。固定芫花素质量浓度为 0.015 mg/mL ,通过调整甘草酸的加入量,加热回流 1 h,配制得到甘草酸与芫花素质量浓度比(甘草酸-芫花素)分别为 $75:1$ 、 $65:1$ 、 $55:1$ 、 $45:1$ 、 $35:1$ 、 $25:1$ 的系列单体配伍溶液。

2.1.3 药材单煎液 称取甘草饮片 100.0 g ,加入 5 倍量水回流提取 1 h,静置后抽滤,得甘草提取液;称取芫花饮片 100.0 g ,加入 5 倍量水回流提取 1 h,静置后抽滤,得芫花提取液。

2.1.4 药材合煎液 分别称取甘草与芫花饮片各 50.0 g ,加入 5 倍量水回流提取 1 h,静置后抽滤,得甘草-芫花合煎液。

2.2 超滤实验

将制备好的各样品溶液,分别置于不同孔径的 Millipore 超滤离心管中,于转速 8000 r/min 、旋转半径 9.5 cm 下离心 20 min,平行实验 3 次。

收集离心后超滤管外管中的超滤液和离心前的原液,注入高效液相色谱仪进行甘草酸和芫花素的含量测定,根据公式(1)计算各成分透过率(T)。

$$T = C_1 / C_0 \quad (1)$$

C_1 、 C_0 分别为超滤液、原液中成分的质量浓度

2.3 样品检测

2.3.1 色谱条件^[15] 色谱柱为 Heder ODS-2 柱

($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); 流动相为乙腈- 0.1% 甲酸水溶液,梯度洗脱: $0 \sim 5 \text{ min}$, $28\% \sim 39\%$ 乙腈; $5 \sim 15 \text{ min}$, $39\% \sim 50\%$ 乙腈; $15 \sim 25 \text{ min}$, 50% 乙腈; 检测波长为 248 、 270 nm ; 柱温为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 体积流量为 1.0 mL/min ; 进样量为 $10 \mu\text{L}$ 。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称定甘草酸对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成甘草酸质量浓度为 0.997 mg/mL 的对照品溶液。

精密称定芫花素对照品适量,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成芫花素质量浓度为 0.297 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 在溶液超滤离心过程中收集原液、滤液作为各供试品溶液。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项中制备的甘草酸对照品溶液 0.10 、 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.50 、 4.50 mL ,分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测,以甘草酸峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y = 3454.2X - 30839.0$, $R^2 = 0.9997$,结果表明甘草酸在 $10.94 \sim 897.30 \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

精密吸取“2.3.2”项中制备的芫花素对照品溶液 0.05 、 0.10 、 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.50 mL ,分别置于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测,以芫花素峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程 $Y = 28531.0X - 76388.0$, $R^2 = 0.9993$,结果表明芫花素在 $2.97 \sim 148.50 \mu\text{g/mL}$ 线性关系良好。

2.3.5 专属性考察 按照“2.3.1”项下色谱条件,分别精密吸取空白溶剂、甘草酸对照品溶液、芫花素对照品溶液及甘草酸与芫花素质量浓度比(甘草酸-芫花素)为 $55:1$ 的配伍溶液各 $10 \mu\text{L}$,依次注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果如图 1 所示。空白溶剂对主成分无干扰;对照品溶液与供试品溶液的主峰保留时间一致,且供试品溶液中各成分分离度良好,说明该方法专属性良好。

2.3.6 精密度试验 精密吸取“2.3.2”项下制备的甘草酸对照品溶液、芫花素对照品溶液各 $10 \mu\text{L}$,分别重复进样 6 次,按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测,结果甘草酸、芫花素峰面积的 RSD 分别为 1.69% 、 0.89% 。

2.3.7 稳定性试验 精密吸取按照“2.1.2”项下方法制备的供试品溶液 $10 \mu\text{L}$,分别于制备后 0 、 2 、

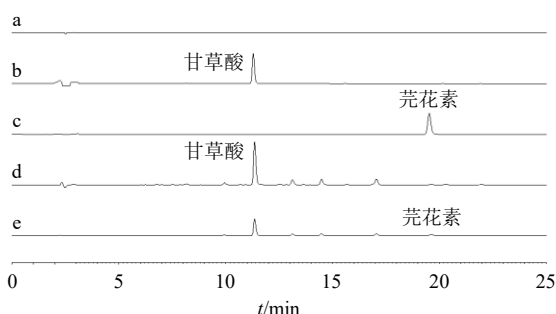


图1 空白溶剂 (a)、甘草酸对照品 (248 nm, b)、芫花素对照品 (270 nm, c) 和供试品溶液 (248 nm, d; 270 nm, e) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of blank solvent (a), glycyrrhizic acid reference standard (248 nm, b), genkwanin reference standard (270 nm, c), and test solution (248 nm, d; 270 nm, e)

4、8、12、24 h, 按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测, 结果甘草酸、芫花素峰面积的 RSD 分别为 1.67%、1.96%。

2.3.8 重复性试验 按照“2.1.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测, 结果甘草酸、芫花素质量浓度的 RSD 分别为 0.81%、1.16%。

2.3.9 加样回收率试验 精密吸取按照“2.1.2”项下方法制备的供试品溶液 6 份, 分别精密加入供试品溶液中含量 100% 的甘草酸、芫花素对照品, 按照“2.3.1”项下色谱条件进样检测, 计算得甘草酸、芫花素的平均加样回收率分别为 98.17%、100.30%, RSD 分别为 2.37%、1.98%。

2.4 甘草酸-芫花素自组装体系表征

2.4.1 丁达尔效应 将 75 : 1、65 : 1、55 : 1、45 : 1、35 : 1 及 25 : 1 的甘草酸-芫花素配伍溶液分别加

入比色皿中, 通过激光照射观察丁达尔效应, 结果见图 2。各比例溶液在激光照射下, 均显示出清晰的光路, 但同时存在明显的散射现象, 说明甘草酸-芫花素溶液体系中含有胶体颗粒, 并提示体系中颗粒尺寸可能不均一。

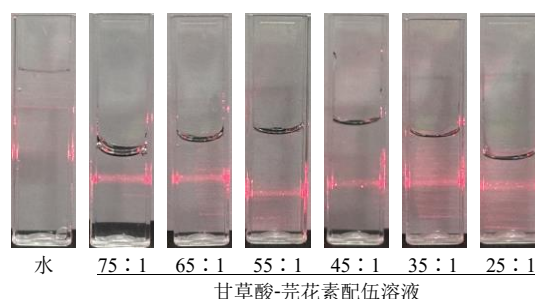


图2 不同比例甘草酸-芫花素配伍溶液的丁达尔效应
Fig. 2 Tyndall effect of GA-Gen mixed solutions at different ratios

2.4.2 粒径、ζ 电位、多分散指数 (polydispersity index, PDI) 的测定 制备甘草酸-芫花素配伍溶液 (55 : 1、45 : 1) 及对应质量浓度分别为 0.825、0.675 mg/mL 的甘草酸单体溶液, 于室温下避光放置, 并于制备后立即加入样品池中, 使用马尔文激光粒度仪测定其平均粒径、ζ 电位及 PDI, 每组样品平行测定 3 次, 取平均值, 结果见表 1 和图 3。如表 1 所示, 甘草酸单体溶液的平均粒径主要分布在 100~150 nm, 而甘草酸-芫花素配伍溶液的平均粒径集中在 50 nm。图 3 结果显示, 甘草酸单体溶液 (图 3-a、b) 在 10~100 nm 无明显光强信号, 而和芫花素配伍后的溶液 (图 3-c、d) 在该区间出现明显峰形 (图中标记处), 说明配伍后溶液在 10~100 nm 自组装形成了具有强散射信号的颗粒群。

PDI 和 ζ 电位是评价纳米分散体系均匀性和稳

表 1 各组样品的平均粒径、PDI、ζ 电位 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Average particle size, PDI, and ζ potential of samples in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

样品	平均粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV	样品	平均粒径/nm	PDI	ζ 电位/mV
甘草酸 0.675 mg·mL ⁻¹ 单体溶液	122.99 ± 81.47	0.60 ± 0.24	-14.17 ± 0.58	甘草酸-芫花素 (45 : 1) 配伍溶液	55.31 ± 3.63	1.00 ± 0.00	-11.75 ± 8.11
甘草酸 0.825 mg·mL ⁻¹ 单体溶液	148.43 ± 9.18	0.77 ± 0.05	-5.80 ± 2.47	甘草酸-芫花素 (55 : 1) 配伍溶液	52.98 ± 2.66	0.88 ± 0.12	-11.40 ± 1.25

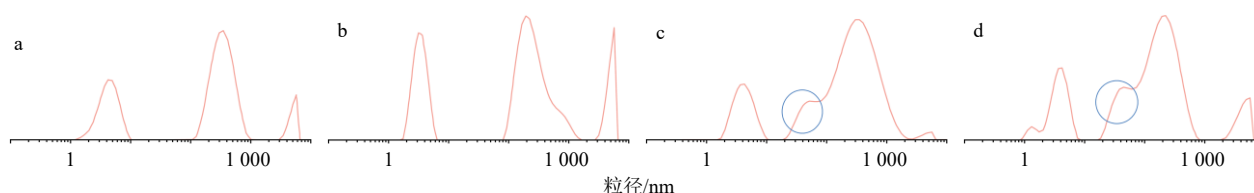


图3 甘草酸单体溶液 (0.675 mg·mL⁻¹, a; 0.825 mg·mL⁻¹, b)、甘草酸-芫花素配伍溶液 (45 : 1, c; 55 : 1, d) 的粒径分布
Fig. 3 Particle size distribution diagram of glycyrrhizic acid monomer solutions (0.675 mg·mL⁻¹, a; 0.825 mg·mL⁻¹, b), and GA-Gen combination solutions (45 : 1, c; 55 : 1, d)

定性的重要指标。PDI 低，表示粒径分布较窄，体系均一性良好^[16]。4 组溶液的 PDI 均高于 0.5，说明各体系均为高度多分散体系，粒径分布较宽。其中，甘草酸单体溶液的 PDI，低于甘草酸-芫花素配伍溶液的 PDI，说明芫花素的加入使配伍溶液的均一性降低。 ζ 电位绝对值越大，颗粒间的静电排斥力越强，越能克服范德华力，体系越稳定^[17]。4 组溶液 ζ 电位均较低，说明体系易发生聚集与沉降。

2.4.3 SEM 表征 为进一步探究甘草酸与芫花素在体系中的存在状态，分别制备以下 2 组对比样品进行形貌分析：按照质量比 55 : 1，精密称取甘草酸与芫花素对照品粉末，充分混合，得物理混合粉末；按照相同比例称取二者粉末后，加超纯水溶解，超声处理 10 min，再经冷冻干燥，得溶液冻干粉末。

同时以甘草酸对照品和芫花素对照品的单体粉末作为对照。各组粉末喷金处理后，置于 SEM 下观察，测试电压 3.00 kV，放大倍数分别为 2 000、20 000 倍，结果见图 4。甘草酸单体粉末呈球状或不规则块状颗粒，芫花素单体粉末为细长的针状或棒状结晶。两者物理混合后，其形貌表现为甘草酸的球状、块状晶体和芫花素的针状晶体相互混杂，颗粒间边界分明，说明简单的机械混合，并不能引起 2 种成分结构的改变。与物理混合组相比，溶液冻干后的粉末呈现出完全不同的形态，原有的块状、针状结构完全消失，样品中形成形态均一、边缘圆钝的立方体颗粒，且尺寸分布相对集中。该形貌差异说明，2 种成分只有在溶液环境中才能通过分子间相互作用形成新的缔合结构。

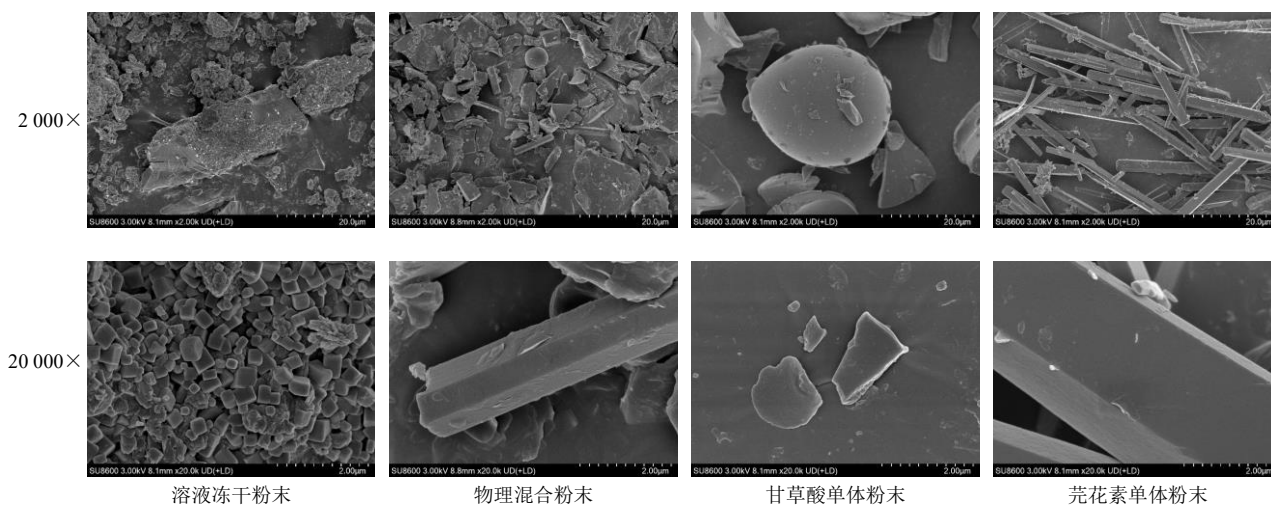


图 4 溶液冻干粉末、物理混合粉末、甘草酸单体粉末及芫花素单体粉末的 SEM 图

Fig. 4 SEM images of lyophilized powders from solutions, physically mixed powders, glycyrrhizic acid monomer powder, and genkwanin monomer powder

2.5 基于系列孔径超滤的分子缔合模式分析

上述实验结果表明，甘草酸与芫花素在溶液中可自组装形成纳米尺度的缔合物。为进一步分析缔合物的透过行为，采用超滤分离实验结合 HPLC 的定量分析方法。通过计算溶液在不同 M_w 超滤膜下的 T ，构建以 M_w 为 x 轴、 T 为 y 轴的 M_w - T 拟合曲线，用于计算 T 为 10% 时的 M_w 。定义当 T 达到 10% 时对应的超滤膜 M_w 为 T_{10} ，将其与单体分子的相对分子质量 (M) 相比，计算得出 N ，即胶束中单体分子个数，如式 (2)。比较各组溶液的 N 变化，推测缔合物分子的结合模式^[18]。

$$N = T_{10} / M \quad (2)$$

2.5.1 单体配伍体系 制备质量比分别为 55 : 1、45 : 1、35 : 1 的甘草酸-芫花素配伍溶液及对应质

量浓度分别为 0.825、0.675、0.525 mg/mL 的甘草酸单体溶液，选择 M_w 3 000、10 000、30 000、50 000、100 000 的超滤管，按照“2.2”项下超滤实验方法进行试验，计算不同孔径下的 T 、 T_{10} 及 N 。 M_w - T 拟合曲线见图 5，曲线拟合方程见表 2，甘草酸 T 及 N 见表 3。由表 3 可知，随着甘草酸质量浓度由 0.525 mg/mL 升高至 0.825 mg/mL，甘草酸单体溶液组在 M_w 3 000 下甘草酸 T 由 8.9% 降至 4.5%，在 M_w 10 000 下甘草酸 T 由 9.9% 降至 7.6%，在 M_w 30 000 下甘草酸 T 由 16.9% 降至 12.5%，在 M_w 50 000 下甘草酸 T 由 27.3% 降至 20.2%，在 M_w 100 000 下甘草酸 T 由 82.6% 降至 64.5%；甘草酸-芫花素配伍溶液组在 M_w 3 000 下甘草酸 T 由 9.8% 降至 7.4%，在 M_w 10 000 下甘草酸 T 由 18.6% 降至 10.6%，在 M_w 30 000 下甘

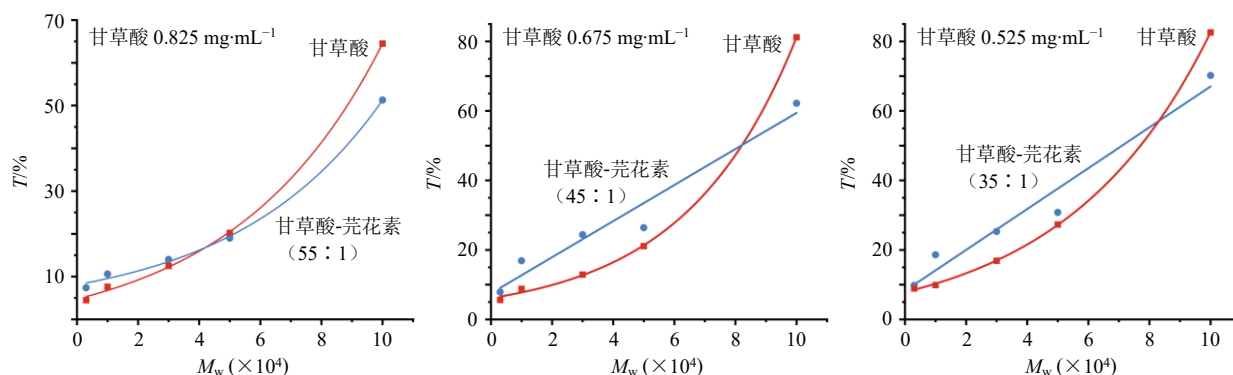


图5 不同质量浓度甘草酸单体与甘草酸-芫花素配伍溶液的 M_w - T 拟合曲线

Fig. 5 M_w - T fitting curves of glycyrrhizic acid monomer solutions and GA-Gen combination solutions at different mass concentrations

表2 各组样品中甘草酸 M_w - T 拟合方程及 R^2

Table 2 M_w - T fitting equations and R^2 of glycyrrhizic acid in each sample group

样品	回归方程	R^2	样品	回归方程	R^2
甘草酸单体溶液 0.825 mg·mL ⁻¹	$T=5.1914 e^{3 \times 10^{-5} M_w}$	0.9800	甘草酸-芫花素 (55:1) 配伍溶液	$T=7.7779 e^{2 \times 10^{-5} M_w}$	0.9867
甘草酸单体溶液 0.675 mg·mL ⁻¹	$T=5.8470 e^{3 \times 10^{-5} M_w}$	0.9912	甘草酸-芫花素 (45:1) 配伍溶液	$T=0.0005 M_w + 7.5209$	0.9542
甘草酸单体溶液 0.525 mg·mL ⁻¹	$T=8.2238 e^{2 \times 10^{-5} M_w}$	0.9986	甘草酸-芫花素 (35:1) 配伍溶液	$T=0.0006 M_w + 8.2421$	0.9645

配伍溶液以甘草酸为对象计算回归方程及 R^2 。

The regression equation and R^2 for the combination solution were calculated using glycyrrhizic acid as the reference.

表3 各组样品中甘草酸的 T 与 N

Table 3 T and N of glycyrrhizic acid in each sample group

样品	M_w	$T/\%$	T_{10}	N	样品	M_w	$T/\%$	T_{10}	N	样品	M_w	$T/\%$	T_{10}	N		
甘草酸-芫花素 (55:1) 配伍溶液	3 000	7.4	12 582	15.3	甘草酸-芫花素 (45:1) 配伍溶液	3 000	7.9	4 958	6.0	甘草酸-芫花素 (35:1) 配伍溶液	3 000	9.8	2 930	3.6		
	10 000	10.6				(45:1)	10 000	16.9				(35:1)	10 000	18.6		
	30 000	14.0				配伍溶液	30 000	24.4				配伍溶液	30 000	25.3		
	50 000	19.0					50 000	26.4					50 000	30.8		
	100 000	51.3				100 000	62.2				100 000	70.2				
甘草酸单体溶液 0.825 mg·mL ⁻¹	3 000	4.5	21 848	26.5	甘草酸单体溶液 0.675 mg·mL ⁻¹	3 000	5.6	17 890	21.7	甘草酸单体溶液 0.525 mg·mL ⁻¹	3 000	8.9	9 806	11.9		
	10 000	7.6				10 000	8.8				10 000	9.9				
	30 000	12.5				30 000	12.9				30 000	16.9				
	50 000	20.2				50 000	21.1				50 000	27.3				
	100 000	64.5				100 000	81.2				100 000	82.6				

草酸 T 由 25.3% 降至 14.0%，在 M_w 50 000 下甘草酸 T 由 30.8% 降至 19.0%，在 M_w 100 000 下甘草酸 T 由 70.2% 降至 51.3%。如图 5 所示，随着甘草酸质量浓度升高，甘草酸单体溶液组与甘草酸-芫花素配伍溶液组的甘草酸 T 均下降，说明高质量浓度条件下更易形成高聚集结构。将同质量浓度组进行两两对比，发现在 M_w 3 000~30 000，配伍溶液中甘草酸的 T 整体高于相应的单体溶液。

由不同孔径下的甘草酸 T 拟合 M_w - T 曲线，结果见表 2。各拟合方程的 R^2 均大于 0.9，说明数据的拟合程度较好，可用于计算 T_{10} 和 N 。

随着甘草酸质量浓度的增加，甘草酸单体溶液

组 T_{10} 由 9 806 升至 21 848， N 由 11.9 升至 26.5；甘草酸-芫花素配伍溶液组 T_{10} 由 2 930 升至 12 582， N 由 3.6 升至 15.3（表 3）。对比同质量浓度下的 2 组数据可知，甘草酸-芫花素配伍溶液组甘草酸 T_{10} 小于甘草酸单体溶液组，配伍组中甘草酸 N 小于单体组，说明配伍后溶液胶束中的甘草酸分子个数减少。结合配伍后溶液粒径减小的现象，推测这可能是由于胶束结构的减小，使配伍溶液 T 高于单体溶液。但甘草酸分子个数的下降并没有影响胶束体系的形成，推测是芫花素参与了自组装过程。由于芫花素的表面活性远弱于甘草酸，所以配伍形成的胶束稳定性低于甘草酸单体所形成的胶束，进而可能

使胶束尺寸和 T 降低。据此推测，芫花素可能是以分子替换的形式进入了甘草酸胶束结构。

芫花素单体几乎不溶于水，即使适当增加其质量浓度，也很难透过超滤膜。对质量浓度分别为 0.015、0.025、0.035 mg/mL 的 3 组芫花素单体溶液进行超滤实验，发现即使在 M_w 100 000 孔径下，芫花素 T 仍为 0。但在配伍体系中，芫花素 T 明显提高，说明甘草酸对芫花素有显著增溶作用（表 4）。

表 4 各组样品中芫花素的 T

样品	M_w	$T/\%$	样品	M_w	$T/\%$
甘草酸-芫花素 (55:1)	50 000	5.0	芫花素单体溶液	50 000	/
配伍溶液	100 000	24.8	0.015 mg·mL ⁻¹	100 000	/
甘草酸-芫花素 (45:1)	50 000	5.9	芫花素单体溶液	50 000	/
配伍溶液	100 000	32.4	0.025 mg·mL ⁻¹	100 000	/
甘草酸-芫花素 (35:1)	50 000	1.9	芫花素单体溶液	50 000	/
配伍溶液	100 000	9.4	0.035 mg·mL ⁻¹	100 000	/

“/”表示质量浓度低于检测限。

“/” indicates that the mass concentration is lower than the detection limit.

2.5.2 药材煎煮体系 按照“2.1”项下方法分别制备甘草及芫花的单煎液与合煎液，进行与单体相同的系列孔径超滤实验，计算煎煮液中甘草酸与芫花素的 T 、 T_{10} 及 N 。 M_w - T 拟合曲线见图 6，曲线拟合方程见表 5，成分甘草酸和芫花素 T 及 N 见表 6。由表 6 可知，在 M_w 3 000 下，单煎甘草 T 为 6.0%，合煎甘草 T 为 10.6%；在 M_w 10 000 下，单煎甘草 T 为 12.5%，合煎甘草 T 为 19.4%；在 M_w 30 000 下，单煎甘草 T 为 17.4%，合煎甘草 T 为 25.6%；在 M_w 50 000 下，单煎甘草 T 为 21.1%，合煎甘草 T 为 34.7%；在 M_w 100 000 下，单煎甘草 T 为 36.1%，合煎甘草 T 为 39.3%；在 M_w 50 000 下，单煎芫花 T 为 8.2%，合煎芫花 T 为 29.8%；在 M_w 100 000 下，单煎芫花 T 为 14.2%，合煎芫花 T 为 30.4%。如图 6 所示，合煎液中甘草酸 T 整体高于甘草单煎组，合煎组芫花素 T 也明显高于芫花单煎组。

由不同孔径下的成分 T 拟合 M_w - T 曲线，结果见表 5。各拟合方程的 R^2 均大于 0.9，说明数据的拟合程度较好，可用于后续 T_{10} 和 N 的计算。甘草单煎液中的 T_{10} 为 8 138，大于合煎液的 3 097；甘草单煎液的 N 为 9.9，大于合煎组 3.8（表 6），这一规律与单体成分的分离结果一致。

2.6 甘草、芫花单煎液及合煎液的微观形貌对比

取适量甘草单煎液、芫花单煎液及甘草-芫花合煎液的冻干粉，经喷金处理后，在 SEM 下观察。测

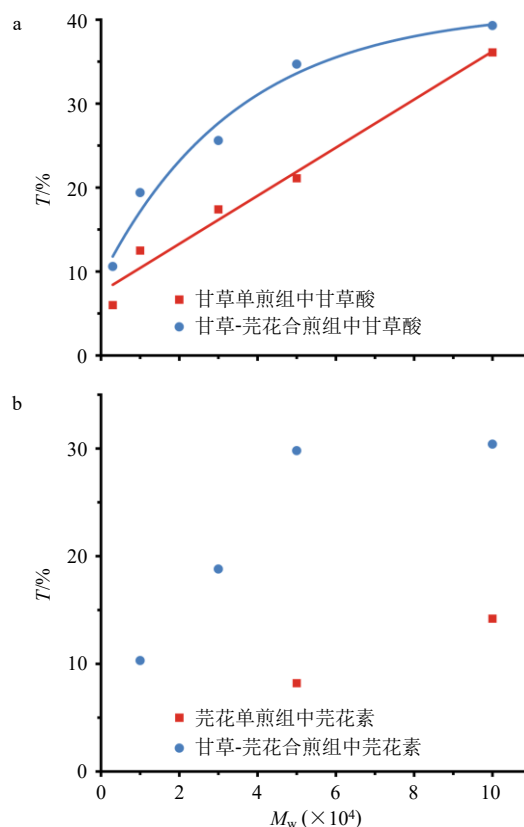


图 6 甘草单煎液及甘草-芫花合煎液的甘草酸 M_w - T 拟合曲线 (a)、芫花单煎液及甘草-芫花合煎液的芫花素 T (b)

Fig. 6 M_w - T fitting curves of glycyrrhizic acid in *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* single decoction and co-decoction (a), and T of genkwainin in *Genkwa Flos* single decoction and co-decoction (b)

表 5 药材煎煮液 M_w - T 拟合方程及 R^2

Table 5 M_w - T fitting equations and R^2 of herbal decoctions

样品	回归方程	R^2
甘草单煎液中甘草酸	$T=0.000 3 M_w+7.558 7$	0.975 8
甘草-芫花合煎液中甘草酸	$T=8.239 0 \ln M_w-56.236$	0.973 6
芫花单煎液中芫花素	/	/
甘草-芫花合煎液中芫花素	/	/

“/”表示因质量浓度低于检测限，无法进行后续计算。

“/” means that the subsequent calculation cannot be made because the mass concentration is lower than the detection limit.

试电压为 3.00 kV，放大倍数分别为 30 和 100 倍，结果如图 7 所示。甘草单煎液呈现较为均匀的片状或块状形态，分布相对规则，表明其主要成分在溶液中分散良好；芫花单煎液则显示出明显的颗粒聚集现象，结构分布不规则。两者共煎后，溶液微观形态呈现出介于两者之间的状态，相较于芫花单煎液，甘草-芫花合煎液的分布更为均匀、规则。甘草提取液微观形态相对规则；而芫花提取液的无序程度较高。合煎液和甘草提取液的形态更相近，表明

表 6 药材煎煮液中甘草酸和芫花素的 T 与 N
Table 6 T and N of glycyrrhizic acid and genkwanin in herbal decoctions

样品	甘草酸				样品	芫花素			
	M_w	$T/\%$	T_{10}	N		M_w	$T/\%$	T_{10}	N
甘草单煎液	3 000	6.0	8 138	9.9	芫花单煎液	3 000	/	/	/
	10 000	12.5				10 000	/		
	30 000	17.4				30 000	/		
	50 000	21.1				50 000	8.2		
	100 000	36.1				100 000	14.2		
甘草-芫花合煎液	3 000	10.6	3 097	3.8	甘草-芫花合煎液	3 000	/	/	/
	10 000	19.4				10 000	10.3		
	30 000	25.6				30 000	18.8		
	50 000	34.7				50 000	29.8		
	100 000	39.3				100 000	30.4		

“/”表示质量浓度低于检测限，无法进行后续计算。

“/” indicates that the mass concentration is lower than the detection limit, and subsequent calculation cannot be performed.

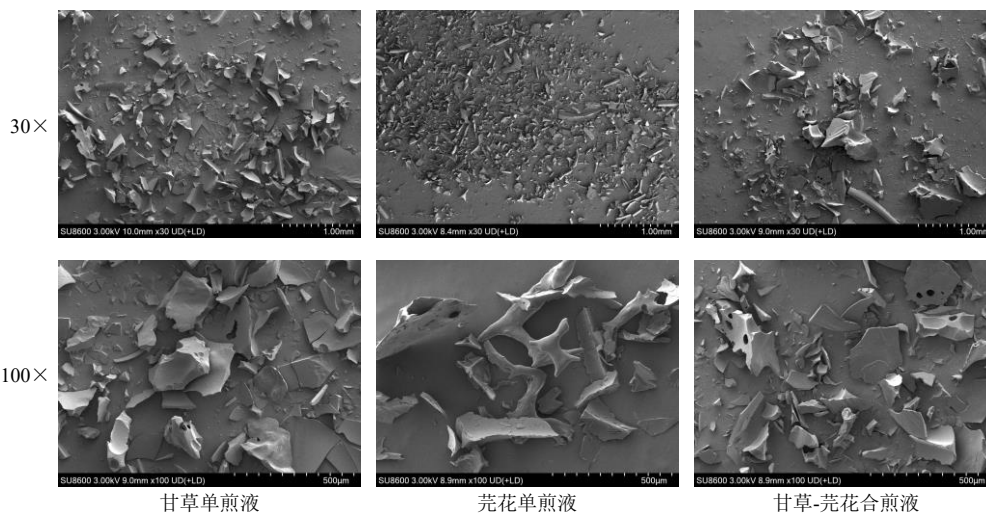


图 7 甘草单煎液、芫花单煎液及甘草-芫花合煎液的 SEM 图

Fig. 7 SEM images of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* single decoction, *Genkwa Flos* single decoction, and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma-Genkwa Flos* co-decoction

基于多种微观表征技术，证实了甘草酸与芫花素在水中并非简单的溶解、物理混合，而是通过分子间相互作用（如氢键、疏水作用等），自组装形成了纳米缔合物。DLS 结果显示，配伍后溶液中的粒径显著减小，且出现新的光强信号，这说明芫花素的加入可能促进原本疏松的甘草酸胶束转变为结构更紧密的缔合物。SEM 形貌观察进一步验证了这一转变。在甘草酸-芫花素配伍溶液中，成分的形貌发生了变化，形成了单体中未出现过的更加规整的立方体颗粒。药材合煎液虽未形成立方体颗粒，但从微观形貌的均一性上判断，合煎液的均一度处于 2 种单煎液之间，进一步佐证了在真实复杂体系中

合煎过程可能是以甘草中的成分为主导。合煎液表现出比芫花提取液更高的有序性，推测芫花中的成分也参与了成分间的相互作用。药材煎煮液作为复杂体系，其形貌受多种成分共同影响，虽未观察到对照品配伍后形成的规整立方体，但分布均匀性提高的趋势，依然表明甘草与芫花成分间可能发生了相互作用，进而使原有存在状态发生了改变。

3 讨论

甘草的主要活性成分为三萜类和黄酮类，代表性成分有甘草酸、甘草次酸和甘草苷；芫花的主要活性成分以黄酮类和二萜类为主，代表性成分有芫花素、羟基芫花素和芫花酯甲。二者配伍后，有效成分含量发生显著变化：有效成分甘草酸含量明显降低，甘草苷及甘草次酸含量亦有所下降；同时毒效成分芫花酯甲含量明显增加，芫花素含量略有提高^[19]。甘草与芫花配伍总体表现为减效增毒的特征。

该结论依然成立。甘草酸-芫花素配伍溶液的高 PDI 说明该体系分布不均，可能是因为复杂溶液体系中同时存在小分子、纳米级聚集体及微米级聚集体等多种粒径分布的粒子；低 ζ 电位可能是由于天然表面活性剂通过疏水作用的自组装易受到温度、浓度等因素的影响，导致体系不稳定^[20]。

为进一步探究甘草酸与芫花素自组装的模式，基于系列孔径超滤实验拟合了 M_w - T 曲线。无论是单体配伍体系还是药材饮片合煎体系，配伍/合煎后甘草酸的 T 多数高于单体/单煎组， T_{10} 与 N 均小于单体/单煎组，说明芫花素的引入削弱了甘草酸原有的聚集程度。甘草酸作为具有两性亲性结构的三萜皂

昔, 在水溶液中达到临界胶束浓度时, 能自发形成胶束^[21]。芫花素作为高度疏水的黄酮苷元, 在含有甘草酸的水溶液体系中, T 显著增大, 再结合粒径的减小, 可以推断甘草酸-芫花素通过分子替换模式实现了自组装。由于表面吸附型自组装通常会使颗粒的平均直径适度增加^[22], 因此可以排除芫花素简单附着于胶束表面的可能。实验结果支持芫花素置换了原胶束中的部分甘草酸分子, 进入了新形成的缔合体系。甘草酸作为天然两亲性成分, 承担了自组装体系的纳米载体, 显著提升了难溶成分芫花素的溶解度, 并形成粒径更小的缔合物, 而小粒径结构可能更有利于成分透过生物膜屏障。故这种自组装行为也可能带来毒性风险, 例如导致毒性成分在靶器官积累而诱发毒性反应。这一推测有待进一步验证。这不仅为“甘草-芫花”药对的增毒现象提供了新的思路, 也为中药“十八反”理论的进一步研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 尚恺琪, 王柠柠, 刘韶. 中药十八反药物代谢动力学机制研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(2): 797-802.
- [2] 陈艳琰, 钱大玮, 尚尔鑫, 等. 基于化学成分相互作用探讨芫花与甘草配伍禁忌的机制 [J]. 药学学报, 2012, 47(8): 1043-1048.
- [3] 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.
- [4] Wang Y X, Liu Y, Zhuang Y, *et al.* Identification of HMGB1 as a target of 3-*O*-benzoyl-20-deoxyingenol in NSCLC therapy using integrated ABPP and SIP [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2026, 16(4): 2587-2592.
- [5] 李玉婷, 闫晨, 郭晓东, 等. 甘草对芫花抗小鼠肝癌腹水作用的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 107-112.
- [6] 麻智祥, 丁岩, 俞辰亚代, 等. “藻戟遂芫”与甘草合用对肠组织 P 糖蛋白转运功能的影响 [J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(4): 352-355.
- [7] Chen Y Y, Tang Y P, Shang E X, *et al.* Incompatibility assessment of *Genkwa Flos* and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* with biochemical, histopathological and metabonomic approach [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 229: 222-232.
- [8] 乔宏志, 陈熹, 陈军, 等. 基于结构中药学思维的中药研究方法探讨: 以外用中药为例 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(11): 970-975.
- [9] 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.
- [10] Qian W H, Zhang B, Gao M, *et al.* Supramolecular prodrug inspired by the *Rhizoma Coptidis-Fructus Mume* herbal pair alleviated inflammatory diseases by inhibiting pyroptosis [J]. *J Pharm Anal*, 2025, 15(2): 101056.
- [11] 乔宏志, 狄留庆, 平其能, 等. 结构中药学: 中药药效物质基础研究的新领域 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(10): 2443-2448.
- [12] 宋思宇, 傅舒, 吴学渊, 等. 三黄泻心汤主要有效成分间自组装纳米粒的构建及其抗胃溃疡作用评价 [J]. 中草药, 2025, 56(11): 3819-3830.
- [13] 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.
- [14] 陶欣, 杨云汉, 杨明坤, 等. 芫花素与水溶性磷酸盐柱 [6]芳烃包合物的制备、表征及分子模拟研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 57-67.
- [15] 王亮, 张振秋, 邓仕任, 等. 芫花甘草不同配伍比例的 HPLC 指纹图谱探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(2): 80-82.
- [16] Zhao L X, Sang L M, Zhao Q Y, *et al.* Heat-induced conformational transitions and self-assembly of millet prolamin: Multiscale structural analyses [J]. *Food Chem*, 2026, 504: 147877.
- [17] 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.
- [18] 邢丹彤, 丘燃云, 沈欣, 等. 中药复杂溶液环境中成分存在状态解析及制药控制研究 [J]. 中草药, 2026, 57(3): 1123-1137.
- [19] 安卓佳, 张可怡, 周密迦, 等. 基于物质基础探析十八反中“藻戟遂芫俱战草”配伍禁忌 [J]. 中国药物警戒, 2023, 20(12): 1435-1440.
- [20] 王炯文, 季笑遥, 陈可禧, 等. 皂苷表面活性剂在药物递送系统中的研究进展 [J]. 药学研究, 2024, 43(8): 793-797.
- [21] Tan X Y, Chen H, Ma L, *et al.* Recent advancements in the design of glycyrrhizic acid-based supramolecular self-assemblies and their versatile applications in food science [J]. *Food Res Int*, 2026, 226: 118209.
- [22] Gonzalez-Posada A H, Monsalve Y, López B L, *et al.* Preparation of self-assembled human serum albumin nanoparticles decorated with trastuzumab as a paclitaxel delivery system [J]. *Micromachines*, 2026, 17(1): 55.

[责任编辑 郑礼胜]