

黄柏炮制前后生物碱和柠檬苦素类成分的变化研究

刘蓬蓬^{1,2}, 徐 珊^{1,2}, 张 凡^{1,2*}, 贾天柱^{1,2}

1. 辽宁中医药大学 药学院, 辽宁 大连 116600

2. 辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600

摘 要: **目的** 分析黄柏在不同温度下进行模拟炮制后, 不同炮制品中主要化学成分的变化情况, 为解析黄柏不同炮制品的科学内涵提供依据。**方法** 采用高效液相色谱法检测黄柏不同炮制品中生物碱类成分小檗碱、小檗红碱、黄柏碱、药根碱、巴马汀和柠檬苦素类成分黄柏内酯、黄柏酮。生物碱类成分检测的色谱条件为 Ecosil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸水(50:50)(每100 mL 0.1%磷酸水加十二烷基硫酸钠0.4 g); 检测波长: 284 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 3 μL。柠檬苦素类成分检测的色谱条件为 Ecosil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸(45:55:0.2); 检测波长: 210 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 10 μL。**结果** 直接烘制品、水润烘制品、酒润烘制品、盐水润烘制品在最佳炮制温度 160 ℃下, 总生物碱的质量分数分别为 3.009 6%、2.993 1%、3.989 6%、4.537 9%, 其中酒润烘制品和盐水润烘制品均较生品 3.528 2%高, 提示黄柏经辅料炮制后有利于生物碱类成分的溶出, 且增加溶出率的是辅料盐和酒, 而非水。当炮制温度达到 160 ℃以上时, 在相应炮制温度下的直接烘制品和水润烘制品中柠檬苦素类成分质量分数未见明显差异, 酒润烘制品和盐水润烘制品随着温度的升高其质量分数相差较大, 提示水对黄柏炮制过程中的柠檬苦素类成分基本没有影响, 酒、盐炮制具有影响。**结论** 黄柏经炮制后生物碱类和柠檬苦素类成分会发生量变和质变, 辅料和温度对其成分的变化有直接的影响, 本研究可为黄柏炮制后药性发生改变与其化学成分的变化具有相关性提供依据。

关键词: 黄柏; 炮制; 生物碱; 小檗碱; 小檗红碱; 黄柏碱; 药根碱; 巴马汀; 柠檬苦素; 黄柏内酯; 黄柏酮; 高效液相色谱
中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2015)01-0018-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2015.01.004

Change of alkaloids and limonoids in *Phellodendri Cortex* products before and after processing

LIU Peng-peng^{1,2}, XU Shan^{1,2}, ZHANG Fan^{1,2}, JIA Tian-zhu^{1,2}

1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China

2. Chinese Materia Medica Processing Engineering Center of Liaoning Province, Dalian 116600, China

Abstract: Objective To study the variation of the main components in *Phellodendri Cortex* processed with different methods and temperature, and to provide scientific references for processing principle. **Methods** The contents of alkaloids (berberine, berberrubine, phellodendrine, jatrorrhizine, and palmatine) and limonoids (obaculactone and obacunone) from different processed products were determined by HPLC method. Alkaloids determination were carried out on an Ecosil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile - 0.1% phosphoric acid water (50 : 50) (added 0.4 g SDS to 0.1% phosphoric acid water per 100 mL) as mobile phase. The detection wavelength was 284 nm and injection volume was 3 μL at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was set for 35 ℃. An Ecosil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used for determination of limonoids. Mobile phase was consisted of acetonitrile - water - phosphoric acid (45 : 55 : 0.2), and it was monitored at a wavelength of 210 nm. The column temperature was 35 ℃, and the injection volume was 10 μL at a flow rate of 1.0 mL/min. **Results** At the optimal temperature 160 ℃, the total alkaloids in *Phellodendri Cortex* direct drying product, processed products with water, rice-wine, and salt-water were 3.009 6%, 2.993 1%, 3.989 6%, and 4.537 9%, respectively. Contents of the total alkaloids in processed products with rice-wine and

收稿日期: 2014-09-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81274083)

作者简介: 刘蓬蓬, 硕士, 从事中药炮制原理研究。Tel: (0411) 85890153 E-mail: 849128666@qq.com

*通信作者 张 凡, 讲师, 硕士, 从事中药炮制方向研究。Tel: (0411) 85890153 E-mail: zhangfan11123@163.com

salt-water were above that of raw product with 3.528 2%. It was suggested that it was rice-wine and salt-water, not water which improved dissolution of total alkaloids in *Phellodendri Cortex*. When the temperature is above 160 °C, the total contents of limonoids in processed products with water and direct drying products were similar, but the processed products with rice-wine and salt-water were large difference with the increase of temperature. It was also suggested that it was accessories rice-wine and salt-water, not water which improved dissolution of the total contents of limonoids in *Phellodendri Cortex*. **Conclusion** After procession, alkaloids and limonoids have qualitative and quantitative change, and the accessories and temperature have directly influence on the change of their contents. It would provide reference and basis to the correlation between the properties change and the chemical components variation from *Phellodendri Cortex* after processing.

Key words: *Phellodendri Cortex*; procession; alkaloid; berberine; berberrubine; phellodendrine; jatrorrhizine; palmatine; limonoid; obaculactone; obacunone HPLC

黄柏为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 习称川黄柏^[1], 临床多用于热痢、泄泻、消渴、黄疸等证。黄柏中主要含有小檗碱、巴马汀、药根碱、黄柏碱等生物碱, 以及黄柏内酯、黄柏酮等柠檬苦素类成分。黄柏经炮制后其药性可改变, 且在炮制过程中化学成分发生变化^[2-3], 而化学成分的变化与药性的改变是否具有一定的相关性的研究鲜有报道。本研究通过比较黄柏不同模拟炮制品在不同温度烘制后的生物碱和柠檬苦素类成分的变化, 旨在为解析黄柏“一药二制(盐制和酒制)”后药性发生变化的实质提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters E2695 型高效液相色谱仪, Waters 2998 PDA 检测器; Mettler AE240 型十万分之一分析天平(瑞士 Mettler 公司); FA1004B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司); YP5102 型电子天平(上海光正医疗仪器有限公司); KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

盐酸小檗碱、黄柏碱、黄柏内酯、黄柏酮对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司, 批号分别为 MUST-10090303、MUST-12062401、MUST-13021606、MUST-13062401, 质量分数均 $\geq 98\%$; 盐酸巴马汀对照品购自中国食品药品检定研究院, 批号 110732-200506; 小檗红碱、盐酸药根碱对照品均购自四川省维克奇生物科技有限公司, 批号分别为 130726、130218, 质量分数均 $\geq 98\%$; 美雕牌黄酒购自浙江古泉酿酒有限公司; 美康达牌加碘精制盐(大连盐业有限公司); 乙腈、甲醇为色谱纯; 水为纯水。

1.3 药材

黄柏药材购于四川省药材公司, 经辽宁中医药

大学药学院王冰教授鉴定为芸香科植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 直接烘制品的制备 取净制黄柏 7 份, 每份 20 g, 分别在 100、120、140、160、180、200、216 °C 温度下烘制 20 min, 取出, 放凉, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

2.1.2 水润烘制品的制备 取净制黄柏 7 份, 每份 20 g, 加清水闷润, 待清水被吸尽后, 分别在 100、120、140、160、180、200、216 °C 温度下烘制 20 min, 取出, 放凉, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

2.1.3 酒润烘制品的制备 取净制黄柏 7 份, 每份 20 g, 加入黄酒闷润, 待药透汤尽, 分别在 100、120、140、160、180、200、216 °C 温度下烘制 20 min, 取出, 放凉, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

2.1.4 盐水润烘制品的制备 取净制黄柏 7 份, 每份 20 g, 加入盐水闷润, 待药透汤尽, 分别在 100、120、140、160、180、200、216 °C 温度下烘制 20 min, 取出, 放凉, 粉碎, 过 60 目筛, 备用。

2.2 生物碱成分的 HPLC 法测定

2.2.1 对照品溶液的配制 精密称取黄柏碱 5.38 mg、盐酸药根碱 2.06 mg、小檗红碱 2.62 mg、盐酸巴马汀 3.28 mg、盐酸小檗碱 5.26 mg, 均置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 制成质量浓度分别为 107.6、41.2、52.4、65.6、105.2 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取不同温度下模拟炮制的直接烘制品、水润烘制品、酒润烘制品、盐水润烘制品和生黄柏粉末约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入醋酸-甲醇(1:100)溶液 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 用醋酸-甲醇(1:100)溶

液补足减少的质量, 摇匀, 静置过夜, 滤过, 取续滤液, 即得^[4]。

2.2.3 色谱条件 Ecosil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸水 (50:50) (每 100 mL 0.1%磷酸水加十二烷基硫酸钠 0.4 g); 检测波长: 284 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样量: 3 μL。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取各生物碱对照品溶液适量, 注入液相色谱仪, 测定, 并记录峰面积。以进样质量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程。黄柏碱: $Y=1\,305\,718.340\,5X+11\,957.574\,7$ ($r=0.999\,7$), 结果表明黄柏碱在 0.107 6~2.152 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。药根碱: $Y=2\,841\,663.724\,1X-1\,755.920\,4$ ($r=0.999\,8$), 结果表明药根碱在 0.005 2~0.104 0 μg 与峰面积线性关系良好。小檗红碱: $Y=2\,589\,814.899\,X+7\,890.483\,3$ ($r=0.999\,9$), 结果表明小檗红碱在 0.052 4~1.048 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。小檗碱: $Y=3\,438\,105.432\,3X+35\,687.831\,7$ ($r=1.000\,0$), 结果表明小檗碱在 0.105 2~3.156 0 μg 与峰面积线性关系良好。巴马汀: $Y=7\,765\,274.390\,2X-12\,955.9$ ($r=0.999\,9$), 结果表明巴马汀在 0.003 28~0.016 40 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 3 μL, 重复进样 6 次, 计算得黄柏碱、药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 值分别为 1.3%、1.1%、2.1%、1.8%、1.5%。

2.2.6 稳定性试验 取同一 100 °C 直接烘制品供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、10、24 h 进样, 计算得黄柏碱、药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱峰面积的 RSD 值分别为 1.5%、1.2%、2.0%、1.6%、1.9%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批 100 °C 直接烘制品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得黄柏碱、药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱质量分数的 RSD 值分别为 0.7%、1.2%、2.4%、1.4%、2.1%。

2.2.8 加样回收率试验 取 100 °C 直接烘制品样品 0.5 g, 平行 6 份, 精密称定, 分别精密加入 107.6 μg/mL 黄柏碱、5.2 μg/mL 药根碱、52.4 μg/mL 小檗红碱、3.3 μg/mL 巴马汀、105.2 μg/mL 小檗碱对照品溶液 6、6、12、8、8 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。结果黄柏碱、药根碱、小檗红碱、巴马汀、小檗碱的平均回收率分别为 98.8%、

100.5%、99.9%、101.4%、99.7%, RSD 值分别为 1.5%、2.1%、1.9%、2.3%、1.6%。

2.2.9 样品测定 分别吸取各供试品溶液适量, 进样测定, 外标法计算各炮制品中 5 种生物碱的质量分数, 色谱图见图 1, 结果见表 1。

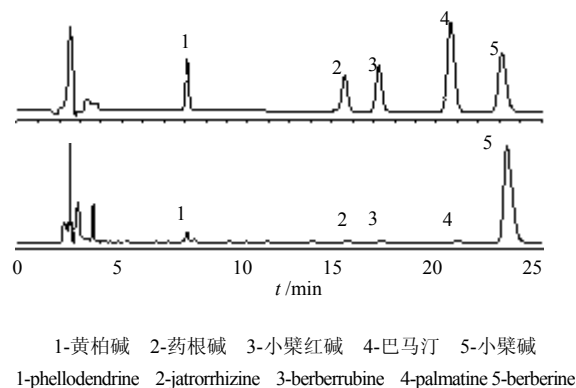


图 1 生物碱对照品 (A) 和 180 °C 下黄柏水润烘制品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of alkaloid reference substances (A) and *Phellodendri Cortex* processed with water under 180 °C (B)

可以看出, 直接烘制品、水润烘制品、酒润烘制品、盐水润烘制品在最佳炮制温度 160 °C 下, 总生物碱的质量分数分别为 3.009 6%、2.993 1%、3.989 6%、4.537 9%, 其中酒润烘制品和盐水润烘制品均较生品 3.528 2% 高。不同温度下模拟炮制的直接烘制品和水润烘制品中黄柏碱、小檗碱的质量分数组间比较接近; 盐水润烘制品和酒润烘制品中黄柏碱、小檗碱质量分数的组间差异亦相差不大。但盐水润烘制品和酒润烘制品明显较直接烘制品、水润烘制品、生黄柏中含有黄柏碱、小檗碱的量多。因此黄柏经辅料炮制后有利于生物碱类成分的溶出, 且增加溶出率的是辅料盐和酒, 而非水。

黄柏经炮制后小檗碱和巴马汀均会发生转化, 且质量分数呈现随着炮制温度的升高而降低。小檗碱和巴马汀分别转化生成小檗红碱和巴马红汀^[5-6], 但直接烘制品和盐水润烘制品中小檗红碱质量分数较高, 说明盐有助于小檗红碱的生成, 其中温度是生成小檗红碱的主要因素; 盐水润烘制品和酒润烘制品中小檗碱质量分数较水润烘制品高, 说明辅料既可以促进质变的发生, 又可使得小檗碱留存。综上所述, 辅料和温度均影响黄柏中生物碱类成分的变化, 而温度则是影响量变和质变的主要因素。

表 1 黄柏不同炮制品不同烘制温度下生物碱的测定结果

Table 1 Determination of alkaloids in various *Phellodendri Cortex* processed products under different temperatures

样品	温度/℃	黄柏碱/%	药根碱/%	巴马汀/%	小檗碱/%	小檗红碱/%	总和/%
生黄柏		0.294 7	0.041 9	0.039 8	3.528 2	—	3.904 6
直接烘制品	100	0.229 4	0.029 0	0.012 5	2.871 0	0.001 9	3.143 8
	120	0.230 5	0.030 0	0.013 0	2.784 2	0.014 6	3.072 3
	140	0.226 7	0.025 8	0.010 6	2.788 0	0.021 9	3.073 0
	160	0.217 4	0.027 5	0.014 8	2.671 7	0.078 2	3.009 6
	180	0.221 6	0.026 7	0.012 7	2.458 6	0.139 8	2.859 4
	200	0.197 9	0.022 1	0.010 2	1.714 5	0.621 2	2.565 9
	216	0.212 0	0.026 9	0.008 7	1.665 6	0.710 5	2.623 7
水润烘制品	100	0.226 1	0.034 6	0.021 0	2.640 6	0.000 3	2.922 6
	120	0.226 2	0.023 9	0.013 2	2.624 6	0.000 4	2.888 3
	140	0.222 4	0.030 1	0.017 1	2.656 4	0.000 6	2.926 6
	160	0.221 9	0.029 8	0.017 4	2.717 6	0.006 4	2.993 1
	180	0.205 1	0.025 7	0.013 3	2.478 4	0.025 4	2.747 9
	200	0.221 9	0.032 7	0.016 8	2.428 4	0.205 0	2.904 8
	216	0.174 5	0.016 8	0.008 9	1.518 0	0.559 6	2.277 8
酒润烘制品	100	0.346 0	0.010 9	—	3.783 3	0.002 7	4.142 9
	120	0.344 1	0.011 6	—	3.741 4	0.000 5	4.097 6
	140	0.431 0	0.011 0	—	3.618 2	0.002 9	4.063 1
	160	0.324 3	0.010 5	—	3.647 7	0.007 1	3.989 6
	180	0.241 8	0.028 0	—	2.700 7	0.021 7	2.992 2
	200	0.319 8	0.016 2	—	3.580 1	0.026 8	3.942 9
	216	0.252 5	0.023 9	—	2.579 7	0.177 3	3.033 4
盐水润烘制品	100	0.396 1	0.013 0	—	4.231 6	0.177 3	4.818 0
	120	0.335 9	0.010 0	—	3.667 1	0.002 6	4.015 6
	140	0.424 1	0.027 2	—	3.897 9	0.011 8	4.361 0
	160	0.375 8	0.014 8	—	4.099 6	0.047 7	4.537 9
	180	0.347 1	0.011 1	0.016 0	3.306 3	0.333 5	4.014 0
	200	0.364 7	0.010 0	—	2.906 9	1.011 1	4.292 7
	216	0.318 7	0.011 5	0.011 4	2.347 9	1.096 4	3.785 9

—: 未检测出

—: undetected

2.3 柠檬苦素类成分的 HPLC 法测定

2.3.1 对照品溶液的配制 精密称取黄柏内酯 3.51 mg、黄柏酮 3.37 mg，置于同一 50 mL 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度，制成质量浓度分别为 70.2、67.4 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备 取不同温度下模拟炮制的直接烘制品、水润烘制品、酒润烘制品、盐水润烘制品和生黄柏粉末约 1.0 g，精密称定，分别置索氏提取器中，加入氯仿 100 mL，加热回流提取 5 h，

提取液滤过，浓缩，用乙腈转溶至 10 mL 量瓶中，少量乙腈溶液清洗滤渣及滤器 3 次，合并滤液，稀释至刻度，摇匀，即得^[7]。

2.3.3 色谱条件 Ecosil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-磷酸 (45:55:0.2); 检测波长: 210 nm; 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 35 ℃; 进样量: 10 μL。

2.3.4 线性关系考察 精密吸取黄柏内酯、黄柏酮对照品溶液适量，注入液相色谱仪，进样测定，并

记录峰面积。以进样质量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程。黄柏内酯: $Y=732\ 762.069\ 8X-14\ 046.164\ 9$ ($r=0.999\ 6$), 结果表明黄柏内酯在 $0.210\ 6\sim 1.755\ 0\ \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。黄柏酮: $Y=1\ 732\ 714.616\ X-32\ 015.337\ 2$ ($r=0.999\ 6$), 结果表明黄柏酮在 $0.067\ 4\sim 0.674\ 0\ \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 重复进样 6 次, 计算得黄柏内酯、黄柏酮峰面积的 RSD 值分别 1.1%、0.7%。

2.3.6 稳定性试验 取同一 $100\ ^\circ\text{C}$ 直接烘制品供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、10、24 h 进样测定, 计算得黄柏内酯、黄柏酮峰面积的 RSD 值分别 1.7%、2.1%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一批 $100\ ^\circ\text{C}$ 直接烘制品样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得各样品中黄柏内酯、黄柏酮质量分数的 RSD 值分别 1.9%、2.3%。

2.3.8 加样回收率试验 取 $100\ ^\circ\text{C}$ 直接烘制品样品 $1.0\ \text{g}$, 平行 6 份, 精密称定, 分别精密加入 $70.2\ \mu\text{g/mL}$ 黄柏内酯、 $67.4\ \mu\text{g/mL}$ 黄柏酮对照品溶液 5、2 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。结果黄柏内酯、黄柏酮的平均回收率分别为 101.3%、100.6%, RSD 值分别为 2.3%、1.5%。

2.3.9 样品测定 分别吸取各炮制品的供试品溶液适量, 进样测定, 外标法计算黄柏内酯和黄柏酮的质量分数, 色谱图见图 2, 结果见表 2。

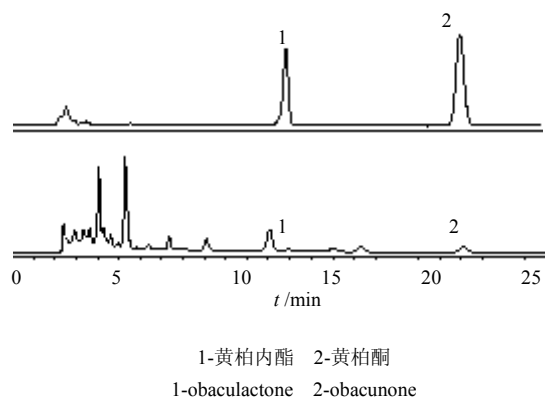


图 2 柠檬苦素类成分对照品 (A) 和 $180\ ^\circ\text{C}$ 下水润烘制品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of limonoid reference substances (A) and *Phellodendri Cortex* processed with water under $180\ ^\circ\text{C}$ (B)

表 2 黄柏不同炮制品在不同烘制温度下柠檬苦素类成分的测定结果

Table 2 Determination of limonoids in various *Phellodendri Cortex* processed products under different temperatures

样品	温度/ $^\circ\text{C}$	黄柏内酯/%	黄柏酮/%	总和/%
生黄柏		0.122 5	0.020 2	0.142 7
直接烘制品	100	0.103 9	0.009 7	0.113 6
	120	0.088 2	0.012 1	0.100 3
	140	0.115 1	0.014 5	0.129 6
	160	0.067 6	0.009 4	0.077 0
	180	0.096 1	0.012 4	0.108 5
	200	0.088 1	0.014 7	0.102 8
水润烘制品	216	0.099 6	0.017 5	0.117 1
	100	0.069 0	0.008 4	0.077 4
	120	0.100 7	0.013 3	0.114 0
	140	0.069 4	0.013 5	0.082 9
	160	0.069 6	0.010 1	0.079 7
	180	0.089 3	0.016 2	0.104 5
酒润烘制品	200	0.088 4	0.014 5	0.102 9
	216	0.096 7	0.016 3	0.113 0
	100	0.103 2	0.009 4	0.112 6
	120	0.146 3	0.014 0	0.157 6
	140	0.117 4	0.009 8	0.127 2
	160	0.082 5	0.009 2	0.091 7
盐水润烘制品	180	0.054 7	0.008 4	0.063 1
	200	0.087 9	0.016 1	0.104 0
	216	0.101 7	0.016 5	0.118 2
	100	0.080 4	0.007 4	0.087 8
	120	0.093 6	0.007 9	0.101 5
	140	0.104 1	0.010 4	0.114 5
	160	0.098 3	0.008 5	0.106 8
	180	0.119 5	0.015 3	0.134 8
	200	0.111 2	0.021 6	0.132 8
	216	0.079 2	0.011 1	0.190 6

可见当炮制温度达到 $160\ ^\circ\text{C}$ 以上时, 在相应炮制温度下的直接烘制品和水润烘制品中柠檬苦素类成分质量分数未见明显差异, 说明水对黄柏炮制过程中的柠檬苦素类成分基本没有影响; 酒润烘制品和盐水润烘制品随着温度的升高其质量分数相差较大, 说明以辅料酒、盐炮制黄柏对其中柠檬苦素类成分具有影响。

柠檬苦素是含呋喃环的三萜类化合物。1841

年,科学家首次发现柠檬苦素是柑桔中的主要苦味成分,随后又相继发现了其他具有苦味的柠檬苦素类似物^[8],因此推断黄柏中柠檬苦素类成分和生物碱类成分同为黄柏味苦的原因。黄柏在药性上味苦性寒,而苦味药多用治热证,具有清热燥湿、泻火的功效。传统炮制理论认为,黄柏经酒炙可缓和其苦寒之性,属于中药制药论中的相反为制;黄柏经盐炙可增强其苦寒之性,属于中药制药论中的相资为制。而各炮制品在最佳炮制温度 160 °C 下小檗碱和柠檬苦素类成分质量分数总和分别为生品 3.670 9%、直接烘制品 2.748 7%、水润烘制品 2.797 3%、酒润烘制品 3.737 9%、盐水润烘制品 4.206 4%。可见,酒润烘制品中小檗碱和柠檬苦素类成分总和较生品的略有升高;盐水润烘制品中小檗碱和柠檬苦素类成分总和较生品的明显增多,故盐炙黄柏可增强其苦味,清热燥湿作用较强。

3 讨论

本实验通过模拟炮制的方法来研究黄柏在炮制过程中的温度、辅料对其中生物碱和柠檬苦素类成分的变化趋势的影响,且温度的选择范围较大,以致对黄柏中化学成分的变化亦影响较大,表 1 中数据结果的信噪比(S/N)均大于 2,其中多数结果信噪比大于 3,少数信噪比小于 3 但大于 2 的数据也予以采纳,以保证黄柏中化学成分变化趋势的完整性和预见性。

黄柏经炮制后化学成分会发生量变和质变,辅料和温度对其成分的变化有直接的影响。本实验室的前期实验结果表明黄柏的最佳炮制工艺为盐黄柏加入 20%药材量的盐、25%药材量的水,酒黄柏加入 2%药材量的酒、15%药材量的水进行闷润后,在

160 °C 下,炒 6 min。故本实验在设计时以 160 °C 为中间温度分别在其前后选择了 3 个水平的温度进行考察,酒润烘制品和盐水润烘制品的溶剂闷润用量是依据上述最佳炮制工艺中辅料用量,水润烘制品是以 20%药材量的水进行闷润的。表 1、2 中的实验结果可以为说明黄柏经炮制后药性发生改变与其化学成分的变化具有相关性提供参考依据,同时也验证了本实验室所制订的黄柏炮制工艺的合理性,而为深入揭示黄柏“一药二制”的科学内涵,即黄柏的炮制与药性的变化差异,不仅要从化学成分的量变和质变的角度进行解释,还要在体内外机能变化的药效学实验加以证明。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 286.
- [2] 张 凡, 高 慧, 徐 钢, 等. 黄柏炮制过程中生物碱成分含量变化的研究 [J]. 中国医药科学, 2013, 3(1): 43-45.
- [3] 徐 珊, 张 凡, 刘蓬蓬, 等. 黄柏及其酒和盐炙品改善热证大鼠能量代谢及其机制的研究 [J]. 现代药物与临床, 2014, 29(12): 1334-1339.
- [4] 李利新, 乔 斌, 李遇伯, 等. 基于 RPLC/Q-TOF-MS 技术的黄柏炭制前后化学成分变化研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1314-1319.
- [5] 祁东利, 贾天柱, 廉 莲. 黄柏炮制后化学成分转化研究 [J]. 中成药, 2010, 32(3): 443-447.
- [6] 降 雪. 黄连相反为制原理研究 [D]. 大连: 辽宁中医药大学, 2011.
- [7] 张 凡, 史 辑, 赵佳丽, 等. HPLC 法测定两种黄柏及其炮制品中黄柏内酯和黄柏酮 [J]. 中成药, 2011, 33(4): 634-637.
- [8] 董文博, 王雪莹, 杨 洲. 柠檬苦素的性质及其生理功能的研究进展 [J]. 食品与发酵科技, 2012, 48(2): 1-4.