

中药四性的生物热动力学研究 ——黄连不同炮制品药性的微量热学比较

周韶华^{1,2}, 潘五九^{1,2}, 肖小河^{1*}, 赵艳玲¹, 刘 义^{3*}

(1. 解放军 302 医院药学部, 北京 100039; 2. 军事医学科学院, 北京 100850; 3. 武汉大学化学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:目的 从生物物理化学的角度, 探讨黄连及其不同炮制品药性的客观真实性。方法 利用微量热法, 测定了大肠杆菌在黄连不同炮制品总生物碱作用下的生长热谱曲线, 得到了相应的生物热动力学参数, 结合本草文献报道, 综合分析不同炮制方法对黄连药性的影响。结果 黄连不同炮制品总生物碱均能不同程度地抑制大肠杆菌的生长, 偏温性药姜制黄连、酒制黄连、吴茱萸黄连使大肠杆菌指数生长期的生长速率常数显著减小, 生长代谢过程中热量释放显著增加。偏寒性药生黄连、醋制黄连、胆汁黄连也使生长速率常数减少, 却使热量释放略增加, 两者存在较稳定的差异。结论 微量热法可作为刻划中药药性的有效的新方法。

关键词: 黄连; 炮制; 微量热法

中图分类号: R 283. 1; R 286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2670(2004)11 - 1230 - 03

Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese materia medica — Comparison of different preparation properties of *Coptidis Rhizoma* by microcalorimetry

ZHOU Shao-hua¹, PAN Wu-jiu, XIAO Xiao-he, ZHAO Yan-ling¹, LIU Yi³

(1. Department of Pharmacy of No. 302 Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100039, China;

2. Academy of Military Medical Sciences of People's Liberation Army, Beijing 100850, China;

3. Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072, China.)

Abstract: **Object** To probe into the objectivity and authenticity of four properties (cold, heat, warm, and cool) of raw *Coptidis Rhizoma* (RCR) and their preparations from biophysics and biochemistry. **Methods** Microcalorimetry was used to obtain the metabolic growth power-time curve of bacteria affected by the total alkaloid in different preparations of RCR and biothermokinetic parameters. Combined with the records of ancient herbal literatures, the influence of properties by different preparations to RCR were synthetically evaluated. **Results** All the effective total alkaloid in different preparations of RCR can restrain the *Escherichia coli* growth and metabolism in different level. Drugs, such as *Coptidis Rhizoma* Stir-fried with ginger juice (CRGJ), *Coptidis Rhizoma* stir-fried with wine (CRW), and *Coptidis Rhizoma* stir-fried with *Fructus Evodiae* (CRFE), with a little Warm Property can decrease the multiplication rate constants of *E. coli* index and increase heat output in growth metabolism remarkably, while the drugs, such as RCR, *Coptidis Rhizoma* stir-fried with vinegar (CRV), and *Coptidis Rhizoma* stir-fried with gallbladder juice (CRGBJ), with a little Cold Property can decrease the multiplication rate constants and increase heat output a little. There was a stable difference between them. **Conclusion** Microcalorimetry is a new and useful mean for the study of the properties of traditional Chinese medicine.

Key words: *Coptidis Rhizoma*; processing; microcalorimetry

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的干燥根茎。味苦, 性寒, 归心、胃、肝、胆、大肠经。功效清热燥湿、清热泻火、泻火解毒。临床上用名有生黄连(CR)、酒制黄连(CRW)、姜制黄连(CRGJ)、吴茱萸制黄连、醋制黄连(CRV)和胆汁制黄连(CRGBJ)等。生黄连苦寒

之性颇盛, 善清心火; 经反制即以热制寒, 药性偏温; 酒制黄连借酒力引药上行, 缓其寒性, 善清头目之火; 姜制黄连能缓和过于苦寒之性, 并增强其止呕作用; 吴茱萸黄连抑制其苦寒之性, 散肝胆郁火; 经从制即寒者益寒, 药性更寒; 醋炒或胆汁炒黄连使其寒性增加, 则去肝胆之火^[1,2]。黄连经不同炮制药性偏胜发生了改变, 本实验以黄连及其不同炮制品作为研

* 收稿日期: 2003-12-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(C03030208, 39970911)

* 通讯作者 Tel: (010) 66933322 E-mail: xiaoxh@hotmail.com

究对象,采用微量热仪测定了 37℃条件下大肠杆菌正常生长条件及给药后的生长热谱图,通过对黄连不同炮制品影响大肠杆菌代谢产热的分析,探讨黄连药性的客观真实性以及黄连炮制前后的药性变化。

1 仪器与材料

瑞典 Themometric 公司 TAM Air Isothermal Calorimeter 进行大肠杆菌生长热谱图测定,实验时系统控温于 37℃。

大肠杆菌菌株 *Escherichia coli* CCTCC AB91112 由中国典型培养物保藏中心提供。培养基为 LB 培养基(取 10 g 蛋白胨,5 g 酵母膏,10 g NaCl,溶于 1 000 mL 蒸馏水中,调 pH = 7.2 后分装,121℃高压蒸气灭菌 20 min,冰箱中放置备用)。盐酸小檗碱购于中国药品生物制品检定所,黄连为解放军 302 医院中药房提供,并经肖小河研究员鉴定;配制药用无菌水,所有试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄连不同炮制品的制备^[3]

2.1.1 姜制黄连:生姜 50 g,加适量水,压榨取汁,姜渣再加水适量重复压榨 1 次,合并姜汁,与 500 g 净黄连拌匀,置锅内,用文火炒至姜汁被吸尽,取出,晾干。

2.1.2 醋制黄连:取净黄连 500 g,用醋(93.75 g)拌匀,至醋渗入后,晒干,置锅内,微炒,取出,晾干。

2.1.3 胆汁黄连:取净黄连 500 g,用鲜猪胆汁(30 mL)拌匀,使之吸尽,炒干,放凉。

2.1.4 吴茱萸黄连:取吴茱萸 50 g,加适量水煎煮,煎液与 500 g 净黄连拌匀,待液吸尽,炒干,放凉。

2.1.5 酒制黄连:取净黄连 500 g,加黄酒 62.5 g,闷透,置锅内,用文火炒干,取出,放凉。

2.2 供试品溶液的制备

2.2.1 色谱条件:色谱柱:μ-Bondapak C₁₈柱(300 mm×3.9 mm);流动相:乙腈-水(42:58,每 1 000 mL 含磷酸二氢钾 3.4 g,十二烷基磺酸钠 1.7 g);检测波长:345 nm;体积流量:1 mL/min;柱温:室温。理论塔板数按盐酸小檗碱计算,应不低于 5 000。

2.2.2 黄连不同炮制品总生物碱制备:90%乙醇 10 倍量回流 3 次,每次 2 h,挥去乙醇,静置,离心,得沉淀和滤液。滤液用浓 HCl 调 pH 值 1~2,放置过夜,滤过,水洗至中性,得沉淀。合并沉淀,真空干燥,得黄连不同炮制品总生物碱。

以上黄连不同炮制品总生物碱以高效液相色谱法进行测定,以盐酸小檗碱计,黄连总生物碱质量分

数均在 50% 以上。

2.2.3 总生物碱溶液制备:溶剂为无菌水,配制成混悬液,其中盐酸小檗碱对照品溶液为 25 mg/mL,生黄连、姜制黄连、醋制黄连、胆汁黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连总生物碱溶液相当于生药 250 mg/mL。

2.3 生长热谱曲线的制备:采用安瓿法。每个安瓿瓶精确加入 5 mL 培养基,接种大肠杆菌,菌接种量为 1×10^6 /mL,加入一定量药液,加盖瓶塞,密封。上述均为无菌操作。放入微量热仪中跟踪记录 37℃细菌生长热谱曲线(*P*-*t* 曲线)。结果见图 1。

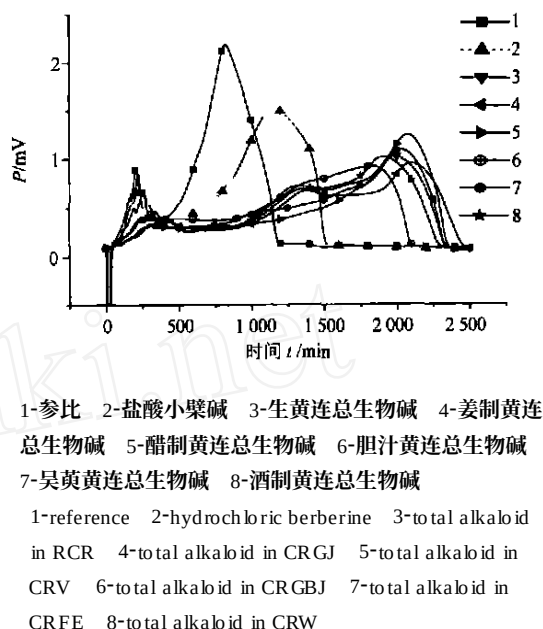


图 1 黄连不同炮制品中总生物碱作用于大肠杆菌的热谱曲线

Fig. 1 Metabolic growth power-time curve of *E. coli* affected by total alkaloid in different preparations of CR

2.4 大肠杆菌生长速率常数的确定:在细菌的指数生长期中,有 $P_t = P_0 \exp(kt)$ 或 $\ln P_t = \ln P_0 + kt$ (P_0 、 P_t 分别是细菌在指数生长的起始点和 *t* 时的热功率)。将热谱曲线上指数生长期的 P_0 、*t* 值代入 Origin 软件,线性拟合可得大肠杆菌指数生长期的生长速率常数 k ^[4]。同时由 $t_g = (\ln 2)/k$,可得到不同条件下的细菌传代时间 t_g ,并且从肠杆菌的热谱曲线可以直观地得到指数生长期的最大发热功率 P_{max} 。肠杆菌在不同药物作用下的生长速率常数 k ,传代时间 t_g 和指数生长期的热焓 ΔH ,最大发热功率 P_{max} 见表 1。

2.5 细菌生长抑制率和半抑制率浓度的确定:细菌生长抑制率 *I* 定义为^[5,6] $I = (k_1 - k_2)/k_1 \times 100\%$ (k_1 为空白对照组细菌的生长速率常数, k_2 为试药组的

生长速率常数), 不同的药物对大肠杆菌的生长抑制率 I 见表 1。

表 1 大肠杆菌在黄连不同炮制品作用下的热力学参数

Table 1 Biothermokinetic parameters of *E. coli* affected in different preparations of CR

样 品	$C/(\text{mg} \cdot \text{mL})^{-1}$	k/min^{-1}	t_G/min	$\Delta H/\text{J}$	$I/\%$	P_{max}/mW
参比	0	0.016 5	42.01	3.177 2	0	0.817 0
盐酸小檗碱	3.5	0.010 6	65.39	3.379 2	35.76	0.780 0
生黄连总生物碱	3.5	0.005 0	138.63	3.841 3	69.70	0.336 6
姜制黄连总生物碱	3.5	0.003 1	223.60	3.334 8	81.21	0.293 6
醋制黄连总生物碱	3.5	0.005 5	126.03	3.496 2	66.67	0.408 4
胆汁黄连总生物碱	3.5	0.012 4	55.90	3.315 4	24.85	0.596 0
吴茱萸黄连总生物碱	3.5	0.002 0	346.57	3.978 5	87.88	0.399 8
酒制黄连总生物碱	3.5	0.003 5	198.04	4.004 2	78.79	0.313 0

3 讨论

由大肠杆菌的生长热谱曲线可以看到, 盐酸小檗碱、生黄连、姜制黄连、醋制黄连、胆汁黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连都对大肠杆菌有不同程度的抑制作用。姜制黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连对大肠杆菌抑制相对强, 其指数生长期生长速率常数降低幅度大, 传代时间延长多, 产热量较大; 盐酸小檗碱、生黄连、醋制黄连、胆汁黄连对大肠杆菌抑制相对弱, 其指数生长期生长速率常数降低幅度小, 传代时间延长少, 产热量较少^[7]。黄连性寒凉, 经不同炮制后, 药性改变不同, 即所谓的反制——以热制寒、从制——寒者益寒。姜制黄连、吴茱萸黄连、酒制黄连药性偏温, 而醋制黄连、胆汁黄连药性偏寒, 微量热法测定结果与本草

文献一致。

另外, 因黄连是典型的清热消炎抗菌药, 据生长抑制率的大小不同, 可以作为评价黄连不同炮制品药效的一种有效方法, 即吴茱萸黄连、姜制黄连、酒制黄连抗菌活性强于醋制黄连与生黄连^[8,9]。

References

- [1] Gao X S. *Theory of Properties of Traditional Chinese Medicine* (中药药性论) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1992.
- [2] Gao X M. *The Chinese Materia Medica* (中药学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [3] Ye D J. *Preparation of Traditional Chinese Medicine* (中药炮制学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [4] Xie C L, Tang H K, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of bacterial growth [J]. *Thermochim Acta*, 1988, (123): 33.
- [5] Liu Y, Liang H G, Qu S S, et al. Kinetics of the action of Na_2SeO_3 on *Bacillus subtilis* growth as studied by microcalorimetry [J]. *Chin J Chem*, 2002, 20: 117.
- [6] Zhao R M, Liu Y, Qu S S, et al. Microcalorimetric study of the action of $\text{Ce}(\text{III})$ ions on the growth of *E. coli* [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2002, 86: 167.
- [7] Shen X S, Liu Y, Zhou C P, et al. Thermochemical studies on the metabolism of microorganism [J]. *J Wuhan Univ - Nat Sci* (武汉大学学报·自然科学版), 2000, 46(4): 429-432.
- [8] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine — Comparison of properties of qin-seng and gen-seng by microcalorimetry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(10): 910.
- [9] Yu H M, Xiao X H, Liu T S, et al. Biothermokinetic studies on four properties of traditional Chinese medicine — Comparison of properties of Shengshaishen and Hongshen by microcalorimetry [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27(5): 393.

β -细辛醚体外皮肤渗透动力学研究

方永奇, 陈振权, 吴启端*

(广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405)

摘要: 目的 考察 β -细辛醚在不同溶剂体系中的体外皮肤渗透情况。方法 采用大鼠离体皮肤作为屏障进行体外透皮试验, 采用 HPLC 法测定在不同冰片、水性氮酮的溶剂中 β -细辛醚的含量, 计算 24 h 累积渗透量和稳态渗透速率。结果 0.1% 冰片对 β -细辛醚没有促透皮作用; 水性氮酮有降低 β -细辛醚透皮的作用; β -细辛醚在 20% 乙醇中, 24 h 累积渗透量和稳态渗透速率分别为 $(352.624 \pm 87.049) \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、 $(18.902 \pm 4.840) \mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ 。结论 不加促渗剂的 β -细辛醚溶剂体系, 透皮吸收情况最好。

关键词: β -细辛醚; 透皮吸收; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)11-1232-04

* 收稿日期: 2004-02-19

基金项目: 广东省教育厅基金资助项目(K2020037)

作者简介: 方永奇(1957—), 男, 广东省惠来县人, 研究员, 博士研究生导师, 实验中心主任, 主要从事中药新药开发研究。

Tel: (020) 36591450 E-mail: fangyq2@163.com