

盐黄柏饮片与易黄汤的特征图谱与主要成分测定研究

付媛媛¹, 蒋玉兰¹, 单鸣秋^{1*}, 张丽¹, 程建明¹, 陈家进², 周勤文²

1. 南京中医药大学 江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023

2. 南京同仁堂药业有限责任公司, 江苏 南京 210012

摘要: **目的** 建立盐黄柏饮片和易黄汤的特征图谱与主要成分测定方法。**方法** 采用 HPLC 法建立盐黄柏饮片和易黄汤的特征图谱, 并同时测定 4 种主要成分(盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱)的含量。**结果** 以 10 批盐黄柏饮片及易黄汤为研究对象, 建立了相应的 HPLC 特征图谱, 确定了 5 个共有峰, 并对其中的 4 个共有峰(盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱)进行了化学成分的确认和含量测定, 发现盐黄柏饮片中盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱的质量分数分别在 0.841%~1.314%、0.358%~1.841%、2.495%~5.498%、4.259%~7.007%; 易黄汤中盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸、盐酸小檗碱的质量浓度分别在 69.71~117.80、107.85~165.79、252.96~348.20、213.61~361.45 $\mu\text{g/mL}$, 易黄汤中以盐黄柏饮片的质量为基准折算后的盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱的质量分数分别为 0.509%~0.865%、0.788%~1.212%、1.849%~2.545%、1.561%~2.655%。**结论** 建立的测定方法不仅为盐黄柏饮片和易黄汤的质量控制提供了更加完善的参考和依据, 也为盐黄柏饮片和易黄汤的效应物质基础研究提供了一定的基础。

关键词: 盐黄柏饮片; 易黄汤; HPLC; 特征图谱; 含量测定; 质量控制; 盐酸黄柏碱; 4-*O*-阿魏酰奎尼酸; 5-*O*-阿魏酰奎尼酸; 盐酸小檗碱; 物质基础

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)10-2790-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.10.021

Study on characteristic chromatogram and determination of indicative components of salt-fried *Phellodendri Chinensis Cortex* and Yihuang Decoction

FU Yuan-yuan¹, JIANG Yu-lan¹, SHAN Ming-qiu¹, ZHANG Li¹, CHENG Jian-ming¹, CHEN Jia-jin², ZHOU Qin-wen²

1. Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of TCM Formulae, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Nanjing Tongrentang Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210012, China

Abstract: **Objective** To establish a method for the characteristic chromatogram and determination of indicative components of salt-fried *Phellodendri Chinensis Cortex* (SPCC) and Yihuang Decoction (YHD). **Methods** An HPLC was established for characteristic chromatogram analysis and determination of four indicative components (phellodendrine, 4-*O*-feruloylquinic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid and berberine) of SPCC and YHD. **Results** The characteristic chromatogram of SPCC and YHD were established by HPLC from 10 batches. Among five common peaks, four indicative components (phellodendrine, 4-*O*-feruloylquinic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid and berberine) were identified and determined. The mass fraction of phellodendrine, 4-*O*-feruloylquinic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid and berberine in SPCC ranged from 0.841%—1.314%, 0.358%—1.841%, 2.495%—5.498%, and 4.259%—7.007%, respectively; The mass concentration of phellodendrine, 4-*O*-feruloylquinic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid and berberine in YHD ranged from 69.71—117.80, 107.85—165.79, 252.96—348.20, and 213.61—361.45 $\mu\text{g/mL}$, respectively; and the mass fraction of phellodendrine, 4-*O*-feruloylquinic acid, 5-*O*-feruloylquinic acid and berberine converted from YHD based on the mass of SPCC ranged from 0.509%—0.865%, 0.788%—1.212%, 1.849%—2.545%, and 1.561%—2.655%, respectively. **Conclusion**

收稿日期: 2020-01-01

基金项目: 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心项目(ZDXM-1-3); 江苏高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)

作者简介: 付媛媛(1995—), 女, 江苏南京人, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制学。Tel: 18251878790 E-mail: 18251878790@163.com

*通信作者 单鸣秋(1978—), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师。Tel: 15951802806 E-mail: shanmingqiu@163.com

The established method not only provides more complete reference and basis for the quality control, but also provides a certain basis for the research of effect substance basis of sPCC and YHD.

Key words: salt-fried *Phellodendri Chinensis* Cortex; Yihuang Decoction; HPLC; characteristic chromatogram; determination; quality control; phellodendrine; 4-*O*-feruloylquinic acid; 5-*O*-feruloylquinic acid; berberine; material basis

黄柏为芸香科黄檗属植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 味苦且性寒, 具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮的作用^[1]。相关研究表明, 黄柏中主要含有生物碱类^[2-4]、柠檬苦素类^[5-6]、酚酸类^[7]、苯丙素类^[7-8]等有效成分, 除此之外还含有挥发性成分^[7]、甾醇类成分^[9]以及微量元素。多种有效成分使得黄柏具有抗菌、抗炎、抗癌、抗氧化、抗肿瘤、降血压、降血糖、免疫调节、保护心血管系统等药理作用^[7,10-14]。

易黄汤是国家中医药管理局发布的首批 100 首古代经典名方之一, 该方出自明末清初著名医家傅山所著《傅青主女科》, 由山药(炒)、芡实(炒)、车前子(酒炒)、黄柏(盐水炒)和白果组成, 主治肾虚湿热带下, 以带下黏稠、色如黄茶、气味腥秽为主要辨证依据^[15]。目前, 临床上易黄汤不仅用来治疗带下病, 还用于治疗神经性皮炎、尿路感染、慢性肾炎、慢性结肠炎、慢性前列腺炎、婴儿腹泻等^[16]。盐黄柏是黄柏药材的炮制品, 作为常见的中药饮片, 关于其质量的研究已有较多报道^[17]。程中琴等^[18]通过一测多评法对盐黄柏进行质量控制; 吴琦等^[19]通过 HPLC 法建立了盐黄柏的指纹图谱。《中国药典》2015 年版也对其含有的黄柏碱和小檗碱的含量进行了规定, 但指标多集中于生物碱类成分, 且关于易黄汤中盐黄柏的相关研究少之又少。因此, 本实验采用 HPLC 法建立了盐黄柏饮片和易黄汤的特征图谱并对其中 4 种主要成分(盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱)进行含量测定, 进一步完善盐黄柏饮片和易黄汤的质量控制指标。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 2695 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; MS-105DV 型电子天平, 0.01 mg, 瑞士 Mettler Toledo 公司; AY 220 型电子分析天平, 0.1 mg, 日本 Shimadzu 公司; TGL-16C 型高速台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; KH-500DB 型数控超声波清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; XFB-200 型高速中药粉碎机, 中国吉首市中诚制药机械厂; 超纯水, Milli-Q DIRECT 8 纯水仪制备, 美国 Millipore

公司。

1.2 试药

对照品盐酸小檗碱(批号 110713-201613, 质量分数为 86.8%)、盐酸黄柏碱(批号 111895-201504, 质量分数为 94.9%), 购自于中国食品药品检定研究院; 对照品 4-*O*-阿魏酰奎尼酸(批号 JBZ-1752)和 5-*O*-阿魏酰奎尼酸(批号 JBZ-1753)购自于南京金益柏生物科技有限公司, 质量分数均大于 98%; 乙腈(批号 19025117)、甲醇(批号 16105056), 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 磷酸, 分析纯, C1801089, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 二乙胺, 分析纯, 批号 C10497845, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 超纯水, 自制。

1.3 饮片

经南京中医药大学巢建国教授鉴定, 本研究所用山药药材为薯蓣科薯蓣属植物薯蓣 *Dioscorea opposita* Thunb. 的干燥根茎, 芡实药材为睡莲科芡属植物芡 *Euryale ferox* Salisb. 的干燥成熟种仁, 黄柏药材为芸香科黄檗属植物黄皮树 *Phellodendron chinense* Schneid. 的干燥树皮, 车前子药材为车前科车前属植物车前 *Plantago asiatica* L. 的干燥成熟种子, 白果药材为银杏科银杏属植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥成熟种子。上述药材根据处方需要, 炮制成相应的炒山药饮片(山东甄城, 批号 2017111501)、炒芡实饮片(江苏高邮, 批号 2018092001)、盐黄柏饮片(表 1)、酒车前子饮片(四川隐峰, 批号 2018061401)和白果饮片(江苏邳州新沂草桥, 批号 2018102201)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Hanbon Sci &Tech Megres C₁₈ 柱(250

表 1 盐黄柏饮片信息

Table 1 Information of sPCC

编号	产地	批号	编号	产地	批号
H1	四川大邑	2018071502	H6	四川雅安	2017072403
H2	四川大邑	2018071503	H7	四川雅安	2017072404
H3	四川大邑	2017072001	H8	四川虹口乡	2017072601
H4	四川大邑	2017072002	H9	四川虹口乡	2017072602
H5	四川雅安	2017072401	H10	四川龙池	2017072601

mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(含0.3%磷酸和0.3%二乙胺), 洗脱梯度: 0~5 min, 10%~15%乙腈; 5~20 min, 15%~25%乙腈; 20~25 min, 25%乙腈; 25~30 min, 25%~65%乙腈; 30~35 min, 65%~70%乙腈; 35~37 min, 70%~100%乙腈; 37~40 min, 100%~10%乙腈; 40~45 min, 10%乙腈; 检测波长 284 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量 5 μL。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取盐酸小檗碱、盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸和 5-*O*-阿魏酰奎尼酸对照品适量于棕色量瓶中, 加入 60%甲醇水制成分别含盐酸小檗碱 5.40 mg/mL、盐酸黄柏碱 1.08 mg/mL、4-*O*-阿魏酰奎尼酸 1.21 mg/mL 和 5-*O*-阿魏酰奎尼酸 2.37 mg/mL 的对照品溶液。再分别取上述 4 种对照品溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 用 60%甲醇水溶液定容至刻度, 混合均匀即得分别含有盐酸小檗碱 468.80 μg/mL、盐酸黄柏碱 102.50 μg/mL、4-*O*-阿魏酰奎尼酸 121.00 μg/mL 和 5-*O*-阿魏酰奎尼酸 237.00 μg/mL 的 1 号混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 盐黄柏供试品溶液的制备 取盐黄柏粉末(过三号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 圆底烧瓶内, 精密加 50 mL 50%甲醇水溶液, 称定质量, 加热回流 2 h, 放冷后再称定质量, 用 50%甲醇补足减失的质量, 摇匀后滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.2 易黄汤的制备 取炒山药、炒芡实各 37.5 g, 盐黄柏 7.5 g、酒车前子 3.75 g 和白果 10 枚(9.0 g), 精密称定, 先加 1 200 mL 水煎煮 30 min, 滤过, 滤渣再加 1 000 mL 水煎煮 20 min, 滤过, 合并 2 次滤液, 浓缩并用水定容至 500 mL, 摇匀即得。共制备 10 批易黄汤, 其中各批炒山药、炒芡实、酒车前子和白果均相同, 盐黄柏批次不同。易黄汤编号为 Y1~Y10, 与盐黄柏编号(H1~H10)相对应。

2.3.3 易黄汤供试品溶液的制备 精密移取上述易黄汤 1 mL 于 10 mL 量瓶内并定容至刻度, 即得。进样前用 0.22 μm 微孔滤膜滤过。

2.3.4 阴性溶液的制备 取炒山药、炒芡实各 37.5 g, 酒车前子 3.75 g 和白果 10 枚, 精密称定, 照“2.3.2”项和“2.3.3”项方法制备阴性溶液。

2.4 特征图谱研究方法学考察

2.4.1 专属性试验 取上述混合对照品溶液及盐黄

柏和易黄汤供试品溶液以及阴性溶液, 按照“2.1”项色谱条件进样分析。结果表明, 盐黄柏和易黄汤供试品溶液中的主要成分与上述对照品在相同保留时间出峰, 阴性溶液中无上述成分, 对测定不构成干扰, 见图 1。

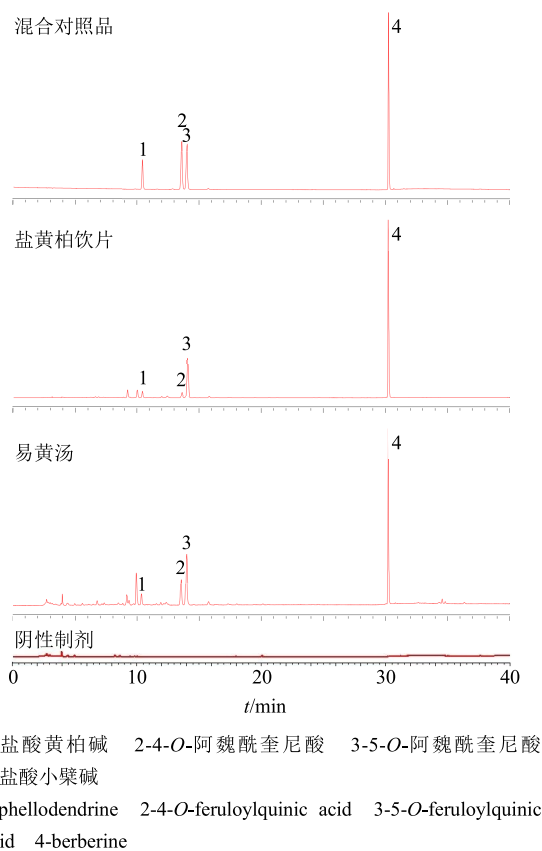


图 1 混合对照品和供试品溶液的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of mixed reference substances and samples

2.4.2 精密度试验 取盐黄柏(H7)供试品溶液和易黄汤(Y7)供试品溶液, 分别连续进样 6 次, 计算各待测化合物的相对保留时间(RRT)和相对峰面积(RA)的 RSD 值, 结果见表 2, 表明仪器的精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取盐黄柏(H7)供试品溶液和易黄汤(Y7)供试品溶液, 分别在 0、1、2、4、6、8、10 h 进样, 计算各待测化合物的 RRT 和 RA 的 RSD 值, 结果见表 2, 表明上述 2 种供试品溶液在 10 h 内具有良好的稳定性。

2.4.4 重复性试验 取盐黄柏(H7)和易黄汤(Y7), 分别制备 6 份盐黄柏供试品溶液和易黄汤供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件进样分析, 计算各待测化合物的 RRT 和 RA 的 RSD 值, 结果见表 2, 说明重复性良好。

表 2 特征图谱精密度、稳定性和重复性试验结果

Table 2 Results of precision, stability and repeatability of characteristic chromatogram

共有峰号	精密度 RSD/%		盐黄柏饮片稳定性 RSD/%		盐黄柏饮片重复性 RSD/%		易黄汤稳定性 RSD/%		易黄汤重复性 RSD/%	
	RRT	RA	RRT	RA	RRT	RA	RRT	RA	RRT	RA
1	0.09	1.18	0.10	1.38	0.13	1.89	0.11	1.07	0.21	2.57
2	0.12	0.78	0.12	0.63	0.08	1.44	0.13	1.35	0.15	2.66
3	0.09	0.50	0.10	0.50	0.09	1.11	0.17	0.81	0.18	2.21
4	0.11	0.44	0.11	0.87	0.09	1.57	0.09	0.94	0.12	1.99
5	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

2.5 含量测定方法学考察

2.5.1 线性关系考察 将上述 1 号混合对照品溶液, 用 60% 甲醇水溶液倍比稀释至原质量浓度的 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32, 制成 2~6 号混合对照品溶液。分别吸取 1~6 号混合对照品溶液进样, 以各待测化合物的峰面积为纵坐标 (Y), 质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 进行线性关系考察, 结果回归方程分别为盐酸黄柏碱 $Y=3\ 569.8 X-697.5$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 3.20~102.50 $\mu\text{g/mL}$; 4- O -阿魏酰奎尼酸 $Y=5\ 882.2 X-2\ 730.5$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 3.78~121.00 $\mu\text{g/mL}$; 5- O -阿魏酰奎尼酸 $Y=6\ 042.5 X-8\ 109.9$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 7.41~237.00 $\mu\text{g/mL}$; 盐酸小檗碱 $Y=13\ 367.9 X-38\ 990.3$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 14.65~468.80 $\mu\text{g/mL}$, 结果显示各待测化合物的相关系数均大于 0.999 5, 表明线性关系良好。

2.5.2 精密度试验 取盐黄柏 (H7) 供试品溶液和易黄汤 (Y7) 供试品溶液, 分别连续进样 6 次, 分别记录各待测化合物的峰面积并计算其 RSD 值, 结果见表 3, 表明仪器的精密度良好。

2.5.3 稳定性试验 取盐黄柏 (H7) 供试品溶液和易黄汤 (Y7) 供试品溶液, 分别在 0、1、2、4、6、8、10 h 进样, 分别记录各待测化合物的峰面积并计算其 RSD 值, 结果见表 3, 表明上述 2 种供试品溶液在 10 h 内具有良好的稳定性。

2.5.4 重复性试验 取盐黄柏 (H7) 和易黄汤 (Y7), 分别制备 6 份盐黄柏饮片和易黄汤供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件进样分析, 分别记录各待测化合物的峰面积并计算其 RSD 值, 结果见表 3, 说明重复性良好。

2.5.5 加样回收率试验 取盐黄柏饮片 (H7) 0.1 g 加入与各待测成分含量近似的对照品按“2.3.1”项方法制备 6 份盐黄柏饮片供试品溶液, 另取炒山药 18.75 g、炒芡实 18.75 g、车前子 1.88 g、盐黄柏饮片 (H7) 3.75 g 和白果 5 枚 (4.50 g) 加入与各待测成分含量近似的对照品按“2.3.2”项方法制备 6 份易黄汤供试品溶液, 按“2.1”项色谱条件进样分析, 分别记录各待测化合物的峰面积并计算其加样回收率和 RSD 值, 结果见表 4, 说明回收率良好。

2.6 特征图谱的建立与分析

把 10 批盐黄柏饮片和易黄汤的色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统” (2012 版) 软件中, 设置参照图谱 (中位数法) 并采用多点校正对全部色谱峰进行自动匹配, 最终生成各对照图谱与叠加图谱, 见图 2、3。通过盐黄柏饮片叠加色谱图可知, 盐酸小檗碱 (峰 5) 的分离效果好且含量较高, 故以其保留时间所对应的色谱峰为 S 峰, 在相对保留时间为 0.332 (峰 1)、0.345 (峰 2)、0.450 (峰 3)、0.464 (峰 4) 和 1.000 (峰 5) 处有 5 个峰形较好的共有峰。10 批盐黄柏饮片和易黄汤的共有

表 3 含量测定精密度、稳定性和重复性试验结果

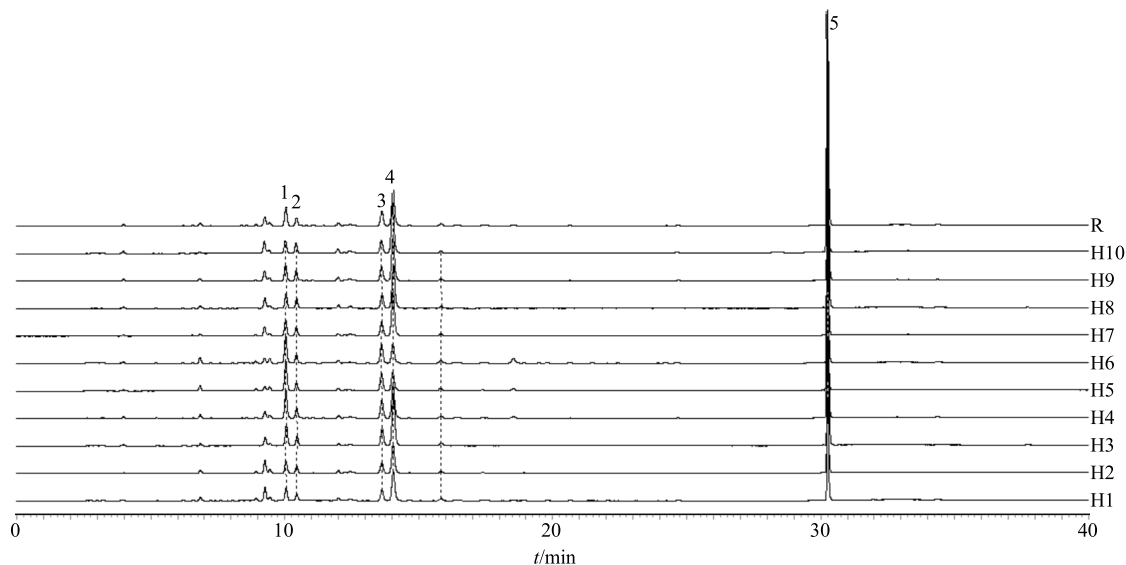
Table 3 Results of precision, stability and repeatability of determination

待测化合物	RSD/%				
	精密度	盐黄柏饮片稳定性	易黄汤稳定性	盐黄柏饮片重复性	易黄汤重复性
盐酸黄柏碱	0.75	1.59	1.79	2.11	2.30
4- O -阿魏酰奎尼酸	0.32	1.18	2.37	1.78	1.96
5- O -阿魏酰奎尼酸	0.47	0.93	2.04	1.92	2.52
盐酸小檗碱	0.39	1.27	1.81	2.38	2.85

表 4 加样回收率试验结果

Table 4 Results of recovery

化合物	加入量/mg		盐黄柏饮片		易黄汤	
	盐黄柏饮片中	易黄汤中	回收率/%	RSD/%	回收率%	RSD%
盐酸黄柏碱	0.96	0.24	99.91	2.55	101.34	2.21
4- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	0.57	0.38	100.46	2.34	98.70	2.13
5- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	4.23	0.75	98.03	2.48	99.97	2.07
盐酸小檗碱	5.68	0.72	97.67	1.23	100.96	2.82



2-盐酸黄柏碱 3-4-*O*-阿魏酰奎尼酸 4-5-*O*-阿魏酰奎尼酸 5-盐酸小檗碱, 图 3 同
2-phellodendrine 3-4-*O*-feruloylquinic acid 4-5-*O*-feruloylquinic acid 5-berberine, same as figure 3

图 2 10 批盐黄柏饮片的特征图谱 (H1~H10) 及其对照图谱 (R)

Fig. 2 Characteristic chromatogram of 10 batches of sPCC (H1—H10) and its reference chromatogram (R)

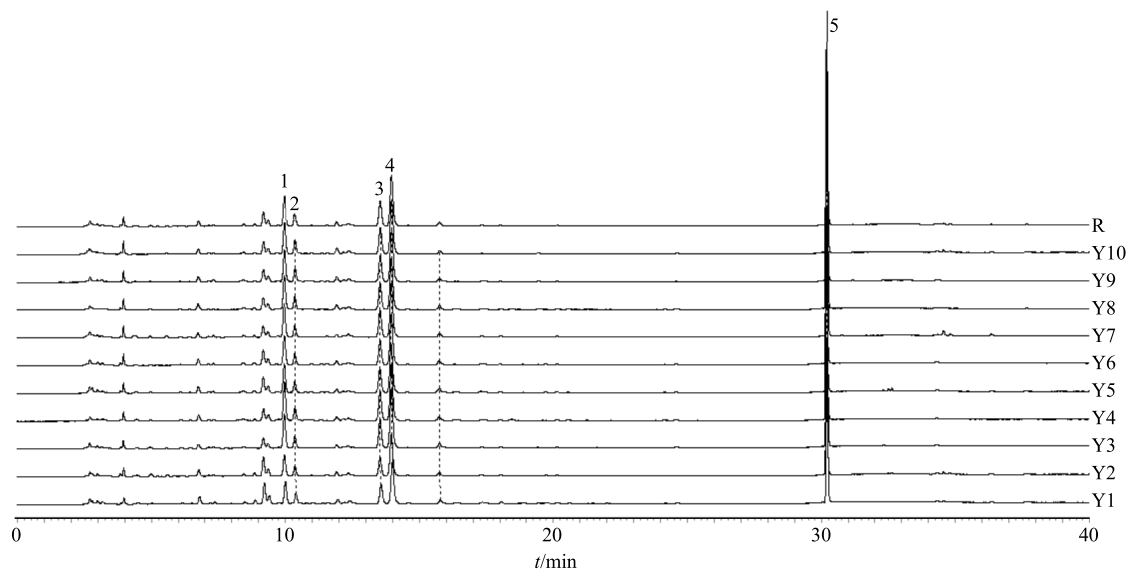


图 3 10 批易黄汤的特征图谱 (Y1~Y10) 及其对照图谱 (R)

Fig. 3 Characteristic chromatogram of 10 batches of YHD (Y1—Y10) and its reference chromatogram (R)

峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 结果见表 5、6。盐黄柏饮片和易黄汤中各共有成分的相对峰

面积的 RSD 值均较大, 表明不同产地、不同批次各饮片的质量相差较大。

表 5 10 批盐黄柏饮片共有峰的相对保留时间和相对峰面积

Table 5 Relative retention time and relative peak area of common peaks of 10 batches of sPCC

编号	相对保留时间					相对峰面积				
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5 (S)	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5 (S)
H1	0.332	0.345	0.449	0.463	1.000	0.035	0.053	0.036	0.363	1.000
H2	0.331	0.345	0.449	0.462	1.000	0.037	0.057	0.038	0.370	1.000
H3	0.331	0.345	0.449	0.463	1.000	0.056	0.050	0.050	0.397	1.000
H4	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.061	0.051	0.052	0.357	1.000
H5	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.049	0.052	0.045	0.376	1.000
H6	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.049	0.052	0.044	0.381	1.000
H7	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.058	0.049	0.050	0.379	1.000
H8	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.043	0.051	0.039	0.348	1.000
H9	0.331	0.344	0.450	0.464	1.000	0.041	0.050	0.037	0.329	1.000
H10	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.114	0.051	0.118	0.163	1.000
平均值	0.332	0.345	0.450	0.464	1.000	0.054	0.052	0.051	0.346	1.000
RSD/%	0.106	0.099	0.121	0.129	0.000	42.017	3.915	47.583	19.398	0.000

表 6 10 批易黄汤共有峰的相对保留时间和相对峰面积

Table 6 Relative retention time and relative peak area of common peaks of 10 batches of YHD

编号	相对保留时间					相对峰面积				
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5 (S)	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5 (S)
Y1	0.331	0.344	0.449	0.463	1.000	0.225	0.110	0.236	0.554	1.000
Y2	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.235	0.098	0.246	0.587	1.000
Y3	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.259	0.090	0.256	0.556	1.000
Y4	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.335	0.114	0.305	0.623	1.000
Y5	0.330	0.342	0.448	0.461	1.000	0.294	0.107	0.293	0.633	1.000
Y6	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.287	0.114	0.272	0.612	1.000
Y7	0.329	0.342	0.448	0.462	1.000	0.268	0.093	0.259	0.548	1.000
Y8	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.232	0.091	0.209	0.451	1.000
Y9	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.208	0.091	0.204	0.438	1.000
Y10	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.197	0.093	0.193	0.428	1.000
平均值	0.330	0.343	0.448	0.462	1.000	0.254	0.100	0.247	0.543	1.000
RSD/%	0.113	0.110	0.077	0.077	0.000	16.909	9.875	15.148	14.315	0.000

2.7 含量测定

10 批盐黄柏饮片和易黄汤,按照“2.3”项下方法制备各供试品溶液,按“2.1”项色谱条件进样分析,结果见表 7~9。表 9 显示的是易黄汤中以盐黄柏饮片计各成分折算结果,计算公式为质量分数 = $CV/[M(1-S) \times 10^6]$,其中 C 为易黄汤中各成分的质量浓度, V 为易黄汤的体积 (500 mL), M 为盐黄柏饮片的投料量, S 为盐黄柏饮片的含水量。

从表 7~9 可知,不同产地甚至同一产地不同批次的盐黄柏饮片以及易黄汤中的 4 种主要化学成分

含量存在一定的差异。盐黄柏饮片中盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸、盐酸小檗碱的质量分数分别在 0.841%~1.314%、0.358%~1.841%、2.495%~5.498%、4.259%~7.007%;易黄汤中盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸、盐酸小檗碱的质量浓度分别在 69.71~117.80、107.85~165.79、252.96~348.20、213.61~361.45 $\mu\text{g/mL}$;易黄汤中以盐黄柏饮片的质量为基准折算后的盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸、盐酸小檗碱的质量分数分别在

表7 盐黄柏饮片中成分测定结果

Table 7 Result of determination of ingredients in sPCC

编号	质量分数/%			
	黄柏碱	4- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	5- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	小檗碱
H1	0.841	0.358	3.388	4.259
H2	0.901	0.376	3.493	4.302
H3	1.178	0.719	5.498	6.293
H4	1.220	0.763	5.020	6.394
H5	0.920	0.496	3.955	4.794
H6	0.962	0.509	4.180	4.989
H7	1.046	0.646	4.752	5.703
H8	1.166	0.550	4.727	6.170
H9	1.314	0.599	5.083	7.007
H10	1.309	1.841	2.495	6.897

表8 易黄汤中成分测定结果

Table 8 Result of determination of ingredients in YHD

编号	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)			
	黄柏碱	4- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	5- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	小檗碱
Y1	83.64	110.88	256.43	227.31
Y2	69.71	107.85	252.96	213.61
Y3	94.11	162.94	348.20	301.15
Y4	101.14	165.79	334.50	262.03
Y5	82.02	138.20	294.59	229.86
Y6	92.51	136.34	301.57	241.87
Y7	91.51	155.57	324.63	285.82
Y8	103.40	146.47	310.34	327.08
Y9	106.48	147.09	311.95	337.09
Y10	117.80	150.27	328.11	361.45

表9 易黄汤中以盐黄柏饮片计各成分折算结果

Table 9 The conversion result of various ingredients in YHD based on sPCC

编号	质量分数/%			
	黄柏碱	4- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	5- <i>O</i> -阿魏酰奎尼酸	小檗碱
Y1	0.610	0.808	1.869	1.657
Y2	0.509	0.788	1.849	1.561
Y3	0.688	1.191	2.545	2.201
Y4	0.739	1.212	2.445	1.915
Y5	0.599	1.010	2.153	1.680
Y6	0.677	0.997	2.206	1.769
Y7	0.666	1.132	2.362	2.079
Y8	0.756	1.071	2.268	2.391
Y9	0.780	1.078	2.286	2.470
Y10	0.865	1.104	2.410	2.655

0.509%~0.865%、0.788%~1.212%、1.849%~2.545%、1.561%~2.655%。相关化学成分含量差异较大的原因可能为①栽培条件即天气、温度、土壤湿度存在差异；②采收时期存在差异；③个体间存在差异。

此外通过表7与表9分析发现，与盐黄柏饮片相比，易黄汤中以盐黄柏饮片为基准计算的盐酸黄柏碱、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱的质量分数降低，而4-*O*-阿魏酰奎尼酸的质量分数整体呈现增加，可能与下列原因有关：（1）提取溶剂，盐黄柏饮片的提取溶剂为50%甲醇水溶液，而易黄汤的提取溶剂为水；（2）在煎煮过程中易黄汤中其他成分可能发生化学反应生成了4-*O*-阿魏酰奎尼酸。具体原因尚需进一步研究。

3 讨论

由于现有的盐黄柏饮片质量标准中仅规定有性状、鉴别、检查（水分和总灰分）、浸出物以及盐酸黄柏碱和盐酸小檗碱含量限定，无特征图谱规定，指标较为单一且操作不够简便，无法全面系统地评价盐黄柏饮片质量的优劣，也直接影响易黄汤的质量控制。因此本研究利用HPLC法建立盐黄柏饮片以及易黄汤的特征图谱并对其中的4种主要化学成分（盐酸黄柏碱、4-*O*-阿魏酰奎尼酸、5-*O*-阿魏酰奎尼酸和盐酸小檗碱）进行含量测定。

在研究特征图谱与含量测定时，对不同的提取溶剂（甲醇、75%甲醇水溶液、50%甲醇水溶液、25%甲醇水溶液和水），不同的提取方式（超声和回流）以及不同的提取体积（25、50、100 mL）进行了比较，优化了特征图谱与含量测定的提取方法。同时还考察了系统耐用性，包括不同的柱温（38、40、42 $^{\circ}\text{C}$ ）、不同的体积流量（0.95、1.00、1.05 mL/min），不同的初始比例[磷酸-二乙胺水（0.3%）-乙腈（92:8、90:10、88:12）]，不同磷酸-二乙胺的浓度（0.25%、0.30%、0.35%）以及不同检测波长（282、284、286 nm），结果表明系统耐用性良好。

本研究发现易黄汤特征图谱中主要呈现盐黄柏中的成分，可能与下列因素有关：（1）炒山药和炒芡实中主要含有淀粉、蛋白质、氨基酸以及多糖类成分，在紫外光区吸收很弱；（2）酒车前子虽然含有京尼平苷酸、毛蕊花糖苷等活性成分，但是在整方中的用量较少，因此在易黄汤中含量亦较低；（3）白果含有大量的内酯类成分，在紫外光区吸收很弱，

而且在易黄汤水煎煮过程中溶出较少；(4) 盐黄柏中的生物碱类化学成分的紫外吸收较强。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Wang K, Chai L W, Ding L Q, *et al.* Identification of metabolites of palmatine in rats after oral administration using ultra-high performance liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rap Comm Mass Spec*, 2017, 31(6): 523-537.
- [3] 王本祥. 现代中药药理与临床 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2004.
- [4] 张 凡, 吴 琦, 鞠成国, 等. 产地加工炮制一体化与传统黄柏饮片的化学成分比较研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(20): 4748-4752.
- [5] Roberta G, Maria M C, Giovanni L, *et al.* The chemistry and pharmacology of citrus limonoids [J]. *Molecules*, 2016, 21(11): 1530-1569.
- [6] Balachandran C, Emi N, Arun Y, *et al.* *In vitro* anticancer activity of methyl caffeate isolated from *Solanum torvum* Swartz. fruit [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 242(5): 81-90.
- [7] 李先宽, 冯 杉, 郑艳超, 等. 黄柏与关黄柏的化学成分及生物活性研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2019, 42(5): 1033-1037.
- [8] 董阳阳, 钟泓玲, 钱 成, 等. 川黄柏的化学成分及药理活性研究进展 [J]. *西北药学杂志*, 2018, 33(5): 710-711.
- [9] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 上册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [10] 高 妍, 周海芳, 刘 朵, 等. 黄柏化学成分分析及其药理作用研究进展 [J]. *亚太传统医药*, 2019, 15(4): 207-209.
- [11] 李文裕, 肖候兰. 黄柏煎剂的抗炎和抗菌作用研究 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2018, 16(23): 94-95.
- [12] 闫玉鑫. 川黄柏的抗肿瘤化学成分研究 [J]. *云南师范大学学报: 自然科学版*, 2015, 35(3): 75-78.
- [13] Kim Y J, Lim H S, Kim Y, *et al.* Phytochemical quantification and the *in vitro* acetylcholinesterase inhibitory activity of *Phellodendron chinense* and its components [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 925-926.
- [14] 薛 瑞, 李 芳, 李 凡, 等. 小檗碱降血糖作用及其机制的实验研究 [J]. *陕西中医*, 2014, 35(12): 1678-1679.
- [15] 刘春生. 《傅青主女科》医方集解系列(IV)黄带下 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2017, 15(3): 53-55.
- [16] 温 静, 杨继红. 易黄汤临床新用的文献研究 [J]. *光明中医*, 2012, 27(9): 1740-1742.
- [17] 刘蓬蓬, 徐 珊, 张 凡, 等. 黄柏炮制前后生物碱和柠檬苦素类成分的变化研究 [J]. *现代药物与临床*, 2015, 30(1): 18-23.
- [18] 程中琴, 施崇精, 刘小妹, 等. 盐黄柏一测多评法色谱评价系统的建立 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(7): 1637-1640.
- [19] 吴 琦, 张 凡, 鞠成国, 等. 黄柏及其不同炮制品的指纹图谱研究 [J]. *亚太传统医药*, 2017, 13(20): 31-36.