

黄连片炮制工艺的研究

胡 荣¹, 冉继春¹, 瞿显友¹, 赵 燕², 杨荣平^{1*}

¹重庆市中药研究院中药资源学(重庆)重点实验室, 重庆 400065; ²重庆康迪药业有限公司, 重庆 402660

摘要:针对目前黄连片炮制方法和过程不规范而导致的黄连片品质差异性较大的问题, 本文进行了黄连片炮制关键性步骤“水洗、浸润和干燥”的研究, 采用单因素与正交试验法, 以黄连总生物碱为评价指标, 筛选出了最佳炮制工艺条件: 加入 2 倍量水, 水洗 1 次, 150 s, 润 60 s (在 125 °C 和压力 0.10 MPa 条件下), 切薄片, 60 °C 干燥 3.0 h。由该工艺制备的黄连片总生物碱含量为 11.03%。实验结果表明, 该黄连片炮制工艺合理、稳定、可行、高效。

关键词: 黄连片; 炮制工艺; 生物碱

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.040

Preparation Procedure of *Rhizoma coptidis* Pieces

HU Rong¹, RAN Ji-chun¹, QU Xian-you¹, ZHAO Yan², YANG Rong-ping^{1*}

¹Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Key Laboratory of Chinese materia medica resources

(Chongqing), Chongqing 400065, China; ²Chongqing Kangdi Medicine Industry Co., Ltd, Chongqing 402660, China

Abstract: In order to improve the quality of *Rhizoma coptidis* pieces resulted by irregular processing method, procedure the influences of washing, infiltrating and drying were investigated to optimize the preparing procedures of *R. coptidis* pieces. Using single factor experiments and orthogonal test method with total alkaloids as evaluation index, the optimal preparation method of *R. coptidis* pieces was determined as follows: adding 2 times of water, washing once for 150 s, embellishing 60 s (under the condition of 125 °C and 0.10 MPa), slicing and drying at 60 °C for 3.0 h. The preparing procedure is effective, stable and reliable.

Key words: *Rhizoma coptidis* pieces; preparation procedures; alkaloids

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。以上三种分别均称“味连”、“雅连”、“云连”^[1]。黄连的药用始载于《神农本草经》, 列为上品, 能清热燥湿、泻火解毒, 中医常用于主治温病热甚心烦, 湿热痞满, 湿热下痢等。该药物的活性成分生物碱研究已进行得较为深入^[2-5], 但研究其炮制方法的文献尚未见报道。本研究针对目前黄连片炮制方法和过程不规范而导致的黄连片品质差异性较大的问题^[6-8], 结合传统炮制工艺及中药炮制规范所收录的炮制工艺^[9-11], 进行黄连片炮制关键性步骤“水洗、浸润和干燥”的研究, 确定黄连片的最佳炮制工艺, 为黄连片炮制工艺的规范化和标准化奠定理论基础。

1 仪器与试剂

超声提取器 (SK3300H 上海科导超声仪器有限公司); 岛津 LC-20A 型液相色谱仪 (Class VP6. 1-sp1 色谱系统); KQ250DB 型数控超声波清洗器 (巩义市予华仪器有限责任公司); AUW220D 型电子天平 (十万分之一, 日本岛津公司); BS224S 型电子天平 (万分之一, 德国赛多利斯公司); 气压立式调频切片机 (QYJ-440 上海南崛中药机械制造有限公司); 润药机 (GI₇C₅-3 型周口制药机械厂有限公司); 热风循环烘箱 (RXH 上海南崛中药机械制造有限公司)。

盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110713-200609), 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 黄连总生物碱含量的测定

收稿日期: 2014-06-25 接受日期: 2014-12-02

基金项目: 国家科技支撑计划 (2011BAI13B02-1)

* 通讯作者 Tel: 86-2389029056; E-mail: yangrp@cqaucmm.com

2.1.1 色谱条件

测定方法参照《中国药典》2010年版。色谱柱: Welchrom C₁₈(4.6 × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液(50:50)(每100 mL中加十二烷基硫酸钠0.4 g, 再以磷酸调节pH为4.0); 检测波长: 345 nm; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备

取盐酸小檗碱对照品各适量, 精密称定, 用甲醇制成每1 mL含有100.6 μg的对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备

取样品粉末(过二号筛)约0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸(100:1)的混合液50 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率250 W, 频率40 kHz)30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液2 mL, 置10 mL量瓶中, 用甲醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.4 线性关系考察

精密量取“2.1.2”项下对照品溶液0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00 mL分别置于25 mL量瓶中, 用甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀。每个浓度进样10 μL, 记录色谱。以盐酸小檗碱的峰面积(y)为纵坐标, 进样量(x)为横坐标, 进行回归, 得到回归方程 $y = 58.35x - 12.30$ ($r = 0.9996$)。结果表明, 盐酸小檗碱在2.00 ~ 64.04 μg/mL的浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.1.5 样品的测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 以盐酸小檗碱对照品的峰面积为对照, 按照相对保留时间表1, 分别计算小檗碱、巴马汀、黄连碱和表小檗碱的含量, 并以这四种生物碱的总含量作为黄连总生物碱含量。

表1 相对保留时间表

Table 1 Relative retention schedule

待测成分(峰) Unknown component	相对保留时间 Relative Retention Time
表小檗碱 epiberberine	0.71
黄连碱 coptisine	0.78
巴马汀 palmatine	0.91
小檗碱 berberine	1.00

2.2 水洗工艺优化

2.2.1 水洗工艺筛选正交试验设计

选取影响水洗工艺的几个因素, 即加水量、水洗次数、水洗时间作为正交试验的考察因素, 按L₉(3³)正交表2设计。称取黄连药材各100 g, 共9份, 置不锈钢锅内, 按上述正交表的设计, 加水洗涤后, 取出沥干, 均放入烘箱中60 ℃烘干, 取出放凉, 粉碎过四号筛, 制得9份样品待测。以总生物碱为评价指标, 结果见表3。

表2 因素与水平

Table 2 Factors and levels of the orthogonal design test

水平 Level	因素 Factor		
	加水量(倍) Amount of water	水洗次数(次) Times of washing (n)	水洗时间(秒) Washing duration (s)
1	2	1	150
2	4	2	300
3	6	3	600

表3 正交试验设计和结果

Table 3 Experiments and results of the orthogonal design test

试验号 Number	A	B	C	总生物碱 Total alkaloids (%)
1	1	1	1	15.96
2	1	2	2	15.32
3	1	3	3	15.71
4	2	1	2	15.36
5	2	2	3	15.57
6	2	3	1	15.58
7	3	1	3	15.32
8	3	2	1	15.28
9	3	3	2	14.98
K1	46.99	46.64	46.82	
K2	46.51	46.17	45.66	
K3	45.58	46.27	46.60	
R	0.3426	0.0409	0.2531	

通过极差分析可知, 各因素对总生物碱影响大小的顺序为: A > C > B。最终得到最优水洗工艺为A₁B₁C₁, 即加水量2倍, 水洗次数1次, 150秒。

2.3 浸润工艺优化

2.3.1 正交表的设计

由于预实验采用传统浸润、减压浸润及高压灭菌锅浸润均无法进行黄连片的浸润, 因次结合实际生产, 本研究采用润药机进行黄连片的润透。先将

水洗后的黄连放入润药机中,减压、加温进行润制。结合生产实际选择润制时间(A)、润制温度(B)、润制压力(C)进行减压加温润制工艺考察,因素水平见表4。以总生物碱为评价指标,结果见表5。

表4 因素与水平

Table 4 Factors and levels of the orthogonal design test

水平 Level	因素 Factor		
	润制时间 Time (s)	润制温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	润制压力 Pressure (MPa)
1	30	115	0.10
2	60	120	0.15
3	120	125	0.20

表5 正交试验设计和结果

Table 5 Experiments and results of the orthogonal design test

试验号 Number	A	B	C	总生物碱 Total alkaloids (%)
1	1	1	1	9.82
2	1	2	2	10.14
3	1	3	3	8.23
4	2	1	2	10.07
5	2	2	3	8.83
6	2	3	1	11.71
7	3	1	3	9.92
8	3	2	1	9.42
9	3	3	2	9.97
K1	28.19	29.81	30.95	
K2	30.61	28.39	30.18	
K3	29.31	29.91	26.98	
R	0.9779	0.4819	2.9549	

通过极差分析可知,各因素对总生物碱影响大小的顺序为:C > A > B。最终得到最优浸润工艺为A₂B₃C₁,即润制时间60 s、润制温度125 $^{\circ}\text{C}$ 、润制压力0.10 MPa。

2.4 干燥工艺筛选

2.4.1 不同干燥温度的影响

称取切制好的黄连50 g,共三份,分别在50、60和70 $^{\circ}\text{C}$,烘箱干燥3.0 h,结果见表6。按照含量测定方法测定总生物碱含量及测定水分。

结果表明,随着干燥温度的升高,黄连片的水分在降低。在50 $^{\circ}\text{C}$ 的条件干燥下,黄连片的水分超过

表6 不同干燥温度的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)Table 6 The influence of different drying temperature($n=3, \bar{x} \pm s$)

编号 Number	温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	总生物碱 Total alkaloids (%)	水分 Moisture (%)
1	50	10.24 \pm 1.54	12.56 \pm 2.13
2	60	11.01 \pm 0.97	9.54 \pm 1.85
3	70	10.79 \pm 1.35	9.23 \pm 1.98

12%,不符合《中国药典》(2010年版)的规定,说明黄连片的干燥温度不得低于50 $^{\circ}\text{C}$ 。在60和70 $^{\circ}\text{C}$ 干燥时,水分基本一致,说明其水分已经基本干燥完全。而黄连片在60 $^{\circ}\text{C}$ 下干燥,生物碱含量最高。在70 $^{\circ}\text{C}$ 的条件干燥下,其生物碱略有降低,说明生物碱在此温度下可能发生了变化。因此,从生物碱和水分综合考虑,黄连片的最佳干燥温度为60 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2 不同干燥时间的影响

称取切制好的黄连50 g,共三份,在60 $^{\circ}\text{C}$ 下,分别烘箱干燥1.5、3.0和4.5 h。按照含量测定方法测定总生物碱含量及测定水分。

表7 不同干燥时间的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)Table 7 The influence of different drying time($n=3, \bar{x} \pm s$)

编号 Number	时间 Time (h)	总生物碱 Total alkaloids (%)	水分 Moisture (%)
1	1.5	10.31 \pm 1.56	12.13 \pm 1.75
2	3.0	11.01 \pm 1.84	9.54 \pm 1.60
3	4.5	11.03 \pm 2.03	9.01 \pm 1.72

从结果可知,随着时间的增加,黄连片的水分在降低。干燥1.5 h时,黄连片的水分超过12%,不符合《中国药典》(2010年版)的规定,说明黄连片的干燥时间不得短于1.5 h。在干燥时间为3.0和4.0 h时,黄连片的水分接近,说明其水分已经基本干燥完全;并且其生物碱含量也接近。因此,从节约能源和提高效率综合考虑,黄连片的最佳干燥时间为3.0 h。

综上所述,黄连片的最佳干燥条件为60 $^{\circ}\text{C}$,3.0 h。

2.5 黄连片最佳炮制工艺的验证试验

称取3份黄连药材样品,每份100克,加入2倍量水,水洗1次,150秒,在125 $^{\circ}\text{C}$ 和压力0.10 MPa条件下润制60 s,后切薄片,60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥3.0 h,即得。按照含量测定方法测定各黄连片的四种生物碱及总生物碱含量。

表 8 验证实验结果

Table 8 Results of verification tests

编号 Number	表小檗碱 Epiberberine (%)	黄连碱 Coptisine (%)	巴马汀 Palmatine (%)	小檗碱 Berberine (%)	总生物碱 Total alkaloids (%)	平均值 Mean	RSD%
1	1.11	1.59	1.94	6.51	11.15		
2	1.02	1.61	1.90	6.50	11.03	11.03	1.04
3	1.09	1.63	1.93	6.27	10.92		

由最佳炮制工艺制备的黄连片总生物碱含量为 11.03%, 显著高于《中国药典》(2010 年版)所规定的含量 8.3%。因此验证试验表明, 该黄连片最佳炮制工艺合理, 说明此工艺稳定可行。

3 讨论

润药是保证中药饮片质量的关键问题。药材润制不合格, 中药饮片的质量就会受到影响, 也给进一步炮制、调剂、制剂工作带来不便, 同时也影响临床疗效^[12,13]。本研究预实验时浸润工艺分别采用了传统浸润、减压浸润及高压灭菌锅浸润等方法, 但这些润制过程中易出现药材发黑、霉烂、发粘、发馊及发臭等现象。这些润药方法不仅润药过程难以控制, 并且耗时长, 黄连药材中的有效成份损失较大, 这将导致其饮片的质量严重下降。因此, 本研究采用润药机, 不仅可以缩短炮制时间、节省能源, 而且也保证了饮片的质量, 使生产效率显著提高^[14,15]。

本研究的黄连片炮制工艺主要以其生物碱含量为评价指标, 但是其生物碱含量与药效的相关性尚未十分明确。因此, 今后的研究还需要结合药理学及临床试验等相关研究手段才能揭示其炮制机理, 制定出更为优化的炮制工艺。

参考文献

- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I, 285-286.
- Hu Y(胡莹), Yang YF(杨雁芳), Yang WZ(杨文志), et al. In vitro studies on the multi-target anti-Alzheimer activities of berberine-like alkaloids from Coptidis Rhizoma. *J Chin Pharm Sci* (中国药科学), 2014, 6; 385-392.
- Zheng JF(郑金凤), Xia K(夏坤), Li GH(李国辉). The stability study of Coptidis Rhizoma and Huanglian Jiedu decoction. *Chin Pharm J* (中国药科学杂志) 2014, 49; 1161-1164.
- Li W(李威), Xiao YW(肖轶雯), Qiu XM(邱细敏).

Simultaneous determination of six alkaloids in Coptidis Rhizoma by 2D -HPLC coupled with trapping column. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志). 2014, 34; 654-658.

- Jiang B(江斌), Yao Xi(姚曦), Ji GH(吉国辉). Determination of alkaloids in extracts from Coptis by HPLC. *Food Drug* (食品与药品). 2013, 15; 407-409.
- Li NQ(李乃谦). The problems and suggestion of Chinese medicine yin pian. *Chin J Mod Drug Appl* (中国现代药物应用), 2012, 6; 117-118.
- Liu YQ(刘玉琴), Lin YM(林伊梅), Xu XR(徐雪荣). Retrospective analysis on unqualified prepared slices of Chinese crude drug during checking and acceptance of drug warehousing. *China Pharm* (中国药房), 2008, 19; 1668-1670.
- Jiang SY(江双园). The current problems of processed products in Chinese medicine yin pian. *Strait Pharm J* (海峡医学), 2005, 17; 216-217.
- Bureau of Drug Policy & Administration of Ministry of Public Health. The standards of Chinese medicine preparation. People's Medical Publishing House, 1988.
- Public Health Department of Jiangsu. The standards of Chinese herbal medicines of Jiangsu. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1989.
- Food and drug administration of Shandong. The standards of Chinese herbal medicines of Shandong. Jinan: Shandong Friendship Publishing House, 2002.
- Ma YG(马月光). Application of vacuum and moist medicine technology in drug moistening of Chinese herbal drug. *China Pharm* (中国药业), 2012, 21; 108.
- Liu SM(刘守明). Exploring of drug moistening and processing. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2003, 30; 154.
- Song K(宋坤), Lu TL(陆兔林), Ji D(季德). System technology research of Vacuum-heating processing of anemarrhena asphodeloides bge MAO. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2008, 39; 1670-1673.
- Jing WB(净文斌). The quickly run medicine research by the pressure and adding steam method. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1991, 16; 410-412.