

延胡索樟帮传统软化法的科学表征

张新瑞¹, 杨婧², 张尧², 张爱玲², 袁翰丰¹, 曹钟明³, 罗晓健^{1,2}, 王峰^{4*}, 饶小勇^{1,2*}

(1. 江西中医药大学中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330004;

2. 江西本草天工科技有限责任公司, 南昌 330004;

3. 江西江中中药饮片有限公司, 江西九江 332300;

4. 石药集团江西金芙蓉药业股份有限公司, 江西九江 332701)

[摘要] 目的:采用现代科学方法与技术对延胡索的传统樟帮软化工艺进行科学表征,以明晰传统工艺的的科学性和合理性,为科学传承传统中药炮制方法与经验提供参考。方法:运用低频核磁共振与成像(LF-NMR/MRI)技术对延胡索软化过程中的水分类型及分布状况进行表征;将软化过程中的延胡索样品切制成厚片并用体视显微镜对其切面状况进行观察;采用高效液相色谱法(HPLC)研究软化过程中延胡索乙素的含量变化,流动相流动相甲醇-0.1%磷酸水溶液(60:40,用三乙胺调节pH 6.5),检测波长280 nm;使用质构仪模拟延胡索软化终点判断方法(手捏法),在优化相关参数后测定延胡索软化成品的软化程度。结果:LF-NMR/MRI显示,经传统樟帮法软化的延胡索,水分能够透心且均匀分布,水分先以自由水的形式在浸泡阶段由表皮与茎痕处进入药材内部,后在闷润阶段向内芯渗入实现再分布;体视显微镜观察到经传统樟帮法软化完成的延胡索恰能较好切片,软化时间不足则易出现“炸心”片,延胡索变软是由其角质样吸水粉化造成的;HPLC测定显示,传统樟帮法软化时延胡索乙素的损失较小,浸泡过程中延胡索乙素含量下降约5%,闷润过程中延胡索乙素含量几乎不变;质构仪可以很好地量化延胡索的软化程度,最佳测定参数为测试前速度、测试速度和测试后速度均为 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,触发力20 g,压缩度20%,软化合格的延胡索压缩力介于12.75~15.69 N,相对标准偏差(RSD)6.8%。结论:现代科学方法与技术可以较好地表征传统炮制方法的科学性与合理性,证实传统樟帮软化法软化延胡索药材具有高效、便捷、指标成分损失小等优点。质构仪能够模拟软化终点判断方法(手捏法),实现从主观经验判断到客观技术量化这一目标,对传统炮制技术现代化传承具有较好的示范作用。

[关键词] 延胡索; 低频核磁共振与成像(LF-NMR/MRI); 樟帮; 质构仪; 延胡索乙素; 高效液相色谱法(HPLC); 中药炮制

[中图分类号] R22;R28;R943.1;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2022)18-0108-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20212151 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211116.1401.002.html>

[网络出版日期] 2021-11-16 17:09

Scientific Characterization of Traditional Softening Method of Corydalis Rhizoma

ZHANG Xinrui¹, YANG Jing², ZHANG Yao², ZHANG Ailing², YUAN Hanfeng¹, CAO Zhongming³,
LUO Xiaojian^{1,2}, WANG Feng^{4*}, RAO Xiaoyong^{1,2*}

(1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine,
Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Jiangxi Bencao Tiangong Technology Co. Ltd., Nanchang 330004, China;

3. Jiangxi Jiangzhong Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces Co. Ltd., Jiujiang 332300, China;

4. Jiangxi Jinfurong Pharmaceutical Co. Ltd.,

CSPC Pharmaceutical Group Co. Ltd., Jiujiang 332701, China)

[收稿日期] 2021-09-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82060715);江西省中医药中青年骨干人才(第一批)培养计划项目(赣中医药科教字[2020]2号);江西省主要学科和技术带头人培养计划-领军人才项目(20204BCJ22032);江西省自然科学基金项目(20212BAB206080)

[第一作者] 张新瑞, 硕士, 从事中药炮制与制剂研究, E-mail: 474037447@qq.com

[通信作者] * 饶小勇, 博士, 副教授, 从事中药固体制剂技术研究, Tel: 0791-87119662, E-mail: rxy1014@163.com;

* 王峰, 硕士, 工程师, 从事中药产业化研究, E-mail: biowf@163.com

[Abstract] **Objective:** Modern scientific methods and techniques were used to scientifically characterize the traditional softening process of *Corydalis Rhizoma*, so as to clarify the scientificity and rationality of the traditional process, and provide reference for inheriting the processing methods and experience of traditional Chinese medicine. **Method:** Low-field nuclear magnetic resonance imaging (LF-NMR/MRI) was used to characterize the water types and distribution in the softening process of *Corydalis Rhizoma*. Samples during the softening process was cut into thick slices and its section was observed by stereoscopic microscope. High performance liquid chromatography (HPLC) was employed to determine the content change of tetrahydropalmatine during the softening process with the mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid solution (60:40, triethylamine regulated to pH 6.5) and detection wavelength at 280 nm. The determination method of softening endpoint of *Corydalis Rhizoma* was simulated by texture analyzer (hand pinch method), and the softening degree of the finished products was determined after optimizing the relevant parameters. **Result:** LF-NMR/MRI showed that the water could penetrate through the core and distribute evenly in *Corydalis Rhizoma* softened by Zhangbang method. The water first entered into the medicinal material from the epidermis and stem marks in the soaking stage as the form of free water, and then penetrated into the inner core to achieve redistribution in the moistening stage. Under stereoscopic microscope, it was observed that *Corydalis Rhizoma* softened by the Zhangbang method could be sliced well, but the core bursting slices were easy to appear if the softening time was not enough, and the softening of samples was caused by the keratine-like powder after absorbing water. HPLC measurement showed that the loss of tetrahydropalmatine in the softening method was small, its content decreased about 5% in the soaking process, and its content was almost unchanged during the moistening process. The softening degree of *Corydalis Rhizoma* could be quantified by the texture analyzer, and the optimum parameters were $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ of speed before test, test speed and speed after test, 20 g of the trigger force, 20% of compression degree. The compressive force of the qualified softened *Corydalis Rhizoma* was 12.75-15.69 N with the relative standard deviation (RSD) of 6.8%. **Conclusion:** Modern scientific methods and techniques can characterize the scientificity and rationality of the traditional processing methods, and confirm that the Zhangbang softening method has the advantages of high efficiency, convenience and small loss of index components. The texture analyzer can simulate the softening endpoint judgment method (hand pinch method), and realize the goal from subjective experience judgment to objective technology quantification, which has a good demonstration role for the modern inheritance of traditional processing technology.

[Keywords] *Corydalis Rhizoma*; low-field nuclear magnetic resonance imaging (LF-NMR/MRI); Zhangbang; texture analyzer; tetrahydropalmatine; high performance liquid chromatography (HPLC); traditional Chinese medicine processing

继承传统炮制经验技术并守正创新,用以满足临床用药与制剂生产需求是中药炮制学发展的重要任务^[1]。樟帮作为全国中药炮制的主要流派之一,素有“药不到樟树不齐,药不过樟树不灵”之美誉^[2-3],但目前部分樟帮炮制技术濒临失传,加快传统炮制技术的现代化传承已迫在眉睫。传统樟帮炮制多依赖于老药工的炮制经验,具有判断主观化、操作经验化等特点,因而使用现代科学方法阐明或表征传统炮制技术的科学含义对规范中药炮制工艺、提升中药炮制质量具有重要意义。

延胡索具有活血、行气、止痛之功效,据2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)

收载,延胡索饮片需切制成厚片或破碎后使用^[4],但延胡索药材质地坚硬不易破碎且破碎易产生大量粉尘,故通常采用软化切片的方式处理。恰当的软化工艺对延胡索切片尤为重要,据樟帮老药工曹钟明口授,传统樟帮延胡索软化方法是将延胡索药材浸泡后闷润直至“手握无吱吱响声或无坚硬感时为宜”,此樟帮炮制经验与教材记载一致^[5],但该方法炮制机制不明,软化程度也由老药工经验判断,存在主观性强、规范性差的问题。查阅相关文献后发现,目前关于延胡索的炮制研究多以其醋制法、酒制法、微波炮制及饮片质量为主^[6-8],而关于其切制前的软化研究却鲜有报道。同时,关于中药软化的

研究多选择以化学成分含量为指标来优化软化工艺^[9-12],并未对传统方法的科学性与合理性进行深层次阐释。

本课题组前期研究采用低场核磁共振与成像(LF-NMR/MRI)技术表征了白芍润药过程中水分迁移规律,采用质构仪研究白芍润药过程中质构特性的变化,结果表明 LF-NMR/MRI 和质构仪可以科学、客观、数据化表征白芍软化“看水头”传统经验,表征方法已获得发明专利授权^[13-14]。基于此,本实验拟采用 LF-NMR/MRI 表征延胡索软化过程中的水分类型与水分状态,结合体视显微镜观察延胡索软化过程中的切面状况,利用质构仪的压缩特性客观量化延胡索的软化程度,以高效液相色谱法(HPLC)测定延胡索软化过程中延胡索乙素的含量变化,从水分分布、切面状况、质构性质及指标成分含量变化等不同角度表征传统樟帮延胡索软化工艺的的科学性,为老药工经验的科学传承与传统樟帮饮片炮制方法的科学研究提供有益借鉴。

1 材料

NMI20-025V-I 型核磁共振成像分析仪(苏州纽迈分析仪器股份有限公司),1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),ML3002E/02 型 1/1 万电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),TA-HD plus 型质构仪(英国 Stable Micro System 公司),SMZ745T 型体视显微镜(日本 Nikon 公司)。延胡索乙素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110726-202020,纯度 $\geq 98\%$),甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。延胡索药材购自亳州市中信中药饮片公司,经江西中医药大学刘勇教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* 的干燥块茎。

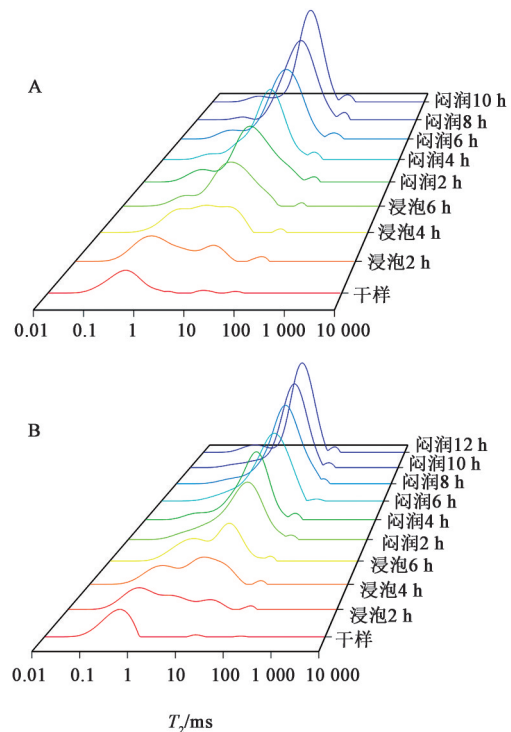
2 方法与结果

2.1 延胡索樟帮软化样品的制备 随机取延胡索 40 粒,分成两档[直径(7.5 \pm 2.5) mm 为小档,直径(12.5 \pm 2.5) mm 为大档],除去杂质,洗净。根据曹钟明老药工提供的经验参数,小档延胡索药材加入 5 倍量水(常温)润透(浸泡 6 h 后闷润 10 h),得小档软化样品;取大档延胡索药材,加入 5 倍量水(常温)润透(浸泡 6 h 后闷润 12 h),得大档软化样品。

2.2 延胡索软化过程的水分变化 LF-NMR/MRI 是利用氢原子核在磁场中的自旋弛豫特性,通过检测弛豫时间的变化情况,从质子层面解释样品中水分的分布变化和迁移情况。因其快速、准确、非侵入性、可视化等优点成为了新兴的水分研究方法,已在农业、材料、石油化工、食品等诸多领域得到广

泛应用^[15-16]。

2.2.1 低场核磁共振横向弛豫时间(T_2)测定 随机取大、小档延胡索药材,按 2.1 项下方法制备样品,分别于浸泡 2、4、6 h,闷润 2、4、6、8、10、12 h 取样,用滤纸快速吸干样品表面水分,待测。测量时将上述样品放入永久磁场中心位置的直径为 25 mm 的玻璃管中,采用 CPMG 多脉冲回波序列测定样品 T_2 后,利用同时迭代重建技术(SIRT)算法,以迭代数为 10 万次进行反演得到 T_2 图谱,见图 1。 T_2 图谱主要检测参数设定为主频(SF)20 MHz,偏移频率(O1)678 kHz,90°脉宽(P1)6.52 μ s,180°脉宽(P2)12 μ s,采集数(NS)8 次,回波时间(TE)0.2 ms,采样频率(SW)200 kHz,重复采样等待时间(TW)6 s,回波个数(NECH)4 000 个。



注:A.小档;B.大档(图2和图3同)

图1 延胡索软化过程中样品的 T_2 谱

Fig. 1 T_2 spectrum of samples during softening process of *Corydalis Rhizoma*

T_2 图谱是测量氢质子弛豫时间与信号幅度得到的图谱,横坐标轴代表水分的自由度,氢质子受束缚力越大或自由度越小, T_2 越短;束缚力越小或自由度越大, T_2 越长。延胡索 T_2 图谱上主要存在 2 种相态的水,其中质子池 T_{21} (T_2 在 0.01~1 ms) 代表结合水,质子池 T_{22} (T_2 在 1~100 ms) 代表自由水,质子池 T_{23} ($T_2 > 100$ ms) 则推测为挥发油^[17]。由图 1 可知,在浸泡前,延胡索中 T_2 图谱主要呈现的是 T_{21} 峰, T_{22} 峰

面积远小于 T_{21} 峰面积,表明此时延胡索中以结合水为主;在浸泡过程中, T_{22} 峰面积快速增加且与 T_{21} 峰黏连,表明此阶段主要增加的是自由水;闷润阶段, T_{21} 峰与 T_{22} 峰呈逐渐区分开趋势,表明闷润过程实质是水分转化平衡的过程,延胡索内水分状态逐渐稳定且以自由水为主。总峰面积可以反映延胡索中水分含量的变化,延胡索在浸泡过程中,总峰面积随着浸泡时间呈上升趋势,表明延胡索内的水分含

量在快速增加;闷润过程中的总峰面积基本不变,表明此阶段延胡索内部水分含量基本无变化,仅是内部自由水分的扩散过程。表1记录了延胡索的切片情况,干样状态下的延胡索药材整体角质化,质地坚硬,不能切片;浸泡阶段,大量水分渗入延胡索外表皮,外层角质样吸水粉化,延胡索药材外软内硬,切片易“炸心”;闷润阶段,外表皮水分向内芯扩散,中心角质样逐渐软化,切片逐渐容易且规整。

表1 延胡索软化过程中的总峰面积变化及切片情况

Table 1 Change of total peak area and section of *Corydalis Rhizoma* during softening

样品	总峰面积		切片情况表征	
	小档	大档	小档	大档
干样	1 642.38	3 935.52	不能切片,断面不平,整体角质样	不能切片,断面不平,整体角质样
浸泡 2 h	3 286.48	6 851.58	不能切片,断面不平,外层微粉化	不能切片,断面不平,外层微粉化
浸泡 4 h	4 253.53	9 573.98	不能切片,断面炸心,微粉化向中心扩散	不能切片,断面炸心,微粉化向中心扩散
浸泡 6 h	5 354.79	10 934.26	不易切片,断面炸心,中心处角质样	不易切片,断面炸心,中心处角质样
闷润 2 h	5 358.77	11 001.14	不易切片,断面炸心,角质样消失,整体粉状	不易切片,断面炸心,角质样消失,整体粉状
闷润 4 h	5 360.66	11 011.76	容易切片,断面粉状,中心处有大裂痕	容易切片,断面粉状,中心处有大裂痕
闷润 6 h	5 408.83	11 083.71	容易切片,断面粉状,中心处裂痕缩小	容易切片,断面粉状,中心处裂痕缩小
闷润 8 h	5 390.81	11 100.70	容易切片,断面粉状,中心处裂痕基本消失	容易切片,断面粉状,中心处有少量裂痕
闷润 10 h	5 408.95	11 195.65	片形完整,断面平整	容易切片,断面粉状,中心处裂痕基本消失
闷润 12 h	-	11 200.54	-	片形完整,断面整齐

2.2.2 MRI检测 随机取大、小档延胡索药材,按2.1项下方法制备样品,分别于浸泡2、4、6 h,闷润2、4、6、8、10、12 h取样,用滤纸快速吸干样品表面水分,待测。测量时将上述样品放入永久磁场中心位置的直径为25 mm的玻璃管中,采用多层自旋回波序列(MSE)对样品进行成像,通过调整MSE中的选层梯度、相位编码梯度和频率编码梯度等参数,获取样品成像数据,见图2。MRI成像参数设定为层数1层,层厚0.9 mm,层间隙1.6 mm,采集数16次,重复时间260 ms,视野100 mm×100 mm,频率方向256,编码数192步。MRI可以直观观察到样品的水分信息,氢质子数量代表样品中的水分含量,而所成图像的颜色表示氢质子密度的高低,随着成像颜色由蓝色向绿色再向红色的转变,表示该处水分含量呈增加状态,颜色越蓝含水量越低,颜色越红含水量越高。由图2可知,干样状态的延胡索水分含量较低,几乎不能被检识;在浸泡过程中,随着水分由表皮和茎痕处向内渗透,成像越来越清晰并出现红色区域,此现象类似于水稻浸种过程^[18];在闷润阶段,由于样品表面残留有部分水分,所以开始时仍会观察到绿色面积增多,随着时间的延长,水分

分布继续向内层延伸,直至透心,颜色也趋向均匀,此阶段现象类似白芍闷润过程^[13]。说明采用传统樟帮法软化延胡索药材可以使其软化透心,这在一定程度上佐证了该方法的合理性。

2.3 延胡素断面及横截面观察 擦干样品表面水分,用中药铡刀沿样品中部进行横切,将切制样品置于体视显微镜的载物台,调节放大倍数至4.6倍后对切片断面进行观察,见图3。结果发现干样状态的延胡索,切面角质样,断面凹凸不平且易碎片,无法切制成平滑完整的片形;浸泡过程中的样品外层切面微粉化,中心处仍呈角质样,断面凹凸不平且易裂片,无法切制成平滑完整的片形;闷润过程中的样品外层切面平滑,中部角质样逐渐变小,此时样品因内外软硬程度不同,切片易“炸心”;闷润至透心后的样品切面光滑无角质样且断面平整。提示延胡索软化的实质是其角质样吸水粉化的过程,樟帮软化法合理,软化完成的延胡索药材易切制成片且片型完整,与MRI观察得到的结论一致。

2.4 延胡素软化程度的数据化表征 延胡素软化程度评价方法为手捏法,以手握无吱吱响声或者无坚硬感时为宜^[5,19],而质构仪可通过多种测试模式

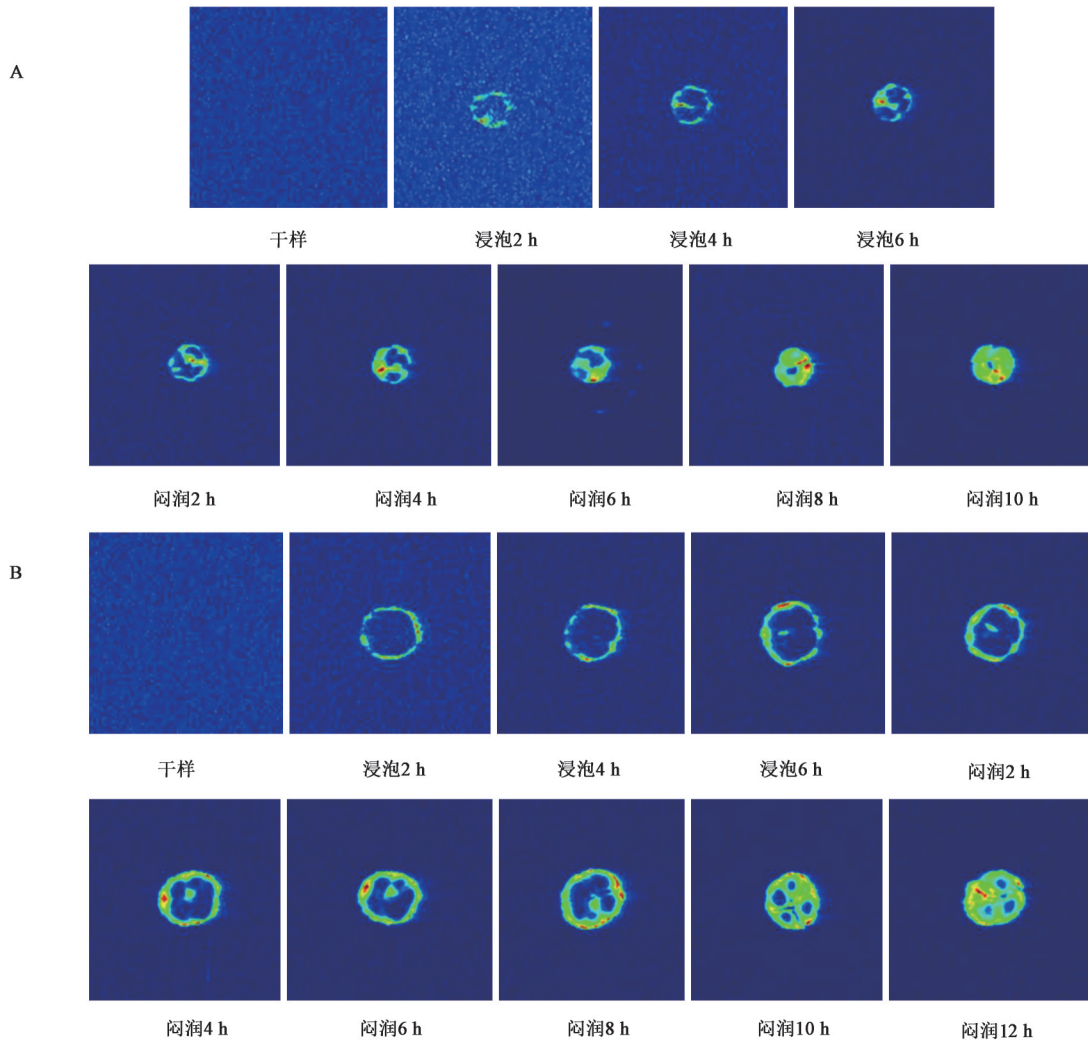


图2 延胡索软化过程中样品的MRI

Fig. 2 MRI of *Corydalis Rhizoma* during softening process

表征硬度、黏附性、弹性、内聚性等物性特征参数,结果客观、灵敏、准确^[20],故选择质构仪表征延胡索的软化程度。质构仪具有压缩、穿刺、剪切及拉伸等多种模式,并可根据所测物体的直径大小来选择P25、P36、P36R等测试探头。根据研究目的与预试验结果,选择压缩模式与P36R探头对延胡索软化程度进行研究。预试验中发现触发力、测试速度和压缩度为主要影响因素,故分别对其进行单因素试验考察,质构仪装置见增强出版附加材料。

2.4.1 触发力考察 触发力是判定探头是否与样品接触的控制参数,当质构仪探头所受阻力达到设定触发力时,仪器开始记录测量数据并作图^[21]。设定下降速度与提升速度均为 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,固定测试速度 $1.5\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 与压缩度20%,触发力水平选择5、10、15、20、25 g,各水平重复测定6次,结果平均压缩力分别为7.96、8.40、9.86、10.60、11.24 N,相对标准偏差(RSD)依次为11.0%、2.5%、6.7%、0.8%、3.2%。

说明不同参数水平的触发力对压缩力影响较小,平均压缩力随触发力的增加呈轻微升高趋势。触发力水平较小时,测量过程易受测试环境波动的影响,触发力水平较大时,探头在下压一定深度后才会达到触发力,2种情况都不能反映样品实际测量状况^[22],故触发力选择20 g。

2.4.2 测试速度考察 测试速度是探头从接触测试样品到探头运行距离达到设定值时的运行速度^[23]。设定下降速度与提升速度均为 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,固定触发力20 g与压缩度20%,测试速度水平选择0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$,各水平重复测定6次,结果平均压缩力分别为9.50、11.49、12.85、13.54、13.26 N, RSD依次为14.3%、4.5%、3.1%、2.5%、7.4%。说明测试速度对压缩力影响不大,平均压缩力随测试速度的增加呈轻微升高趋势。测试速度为1.0~2.0 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,测量结果的RSD相差不大,但考虑到测试速度与测前速度相差太大易造成探头

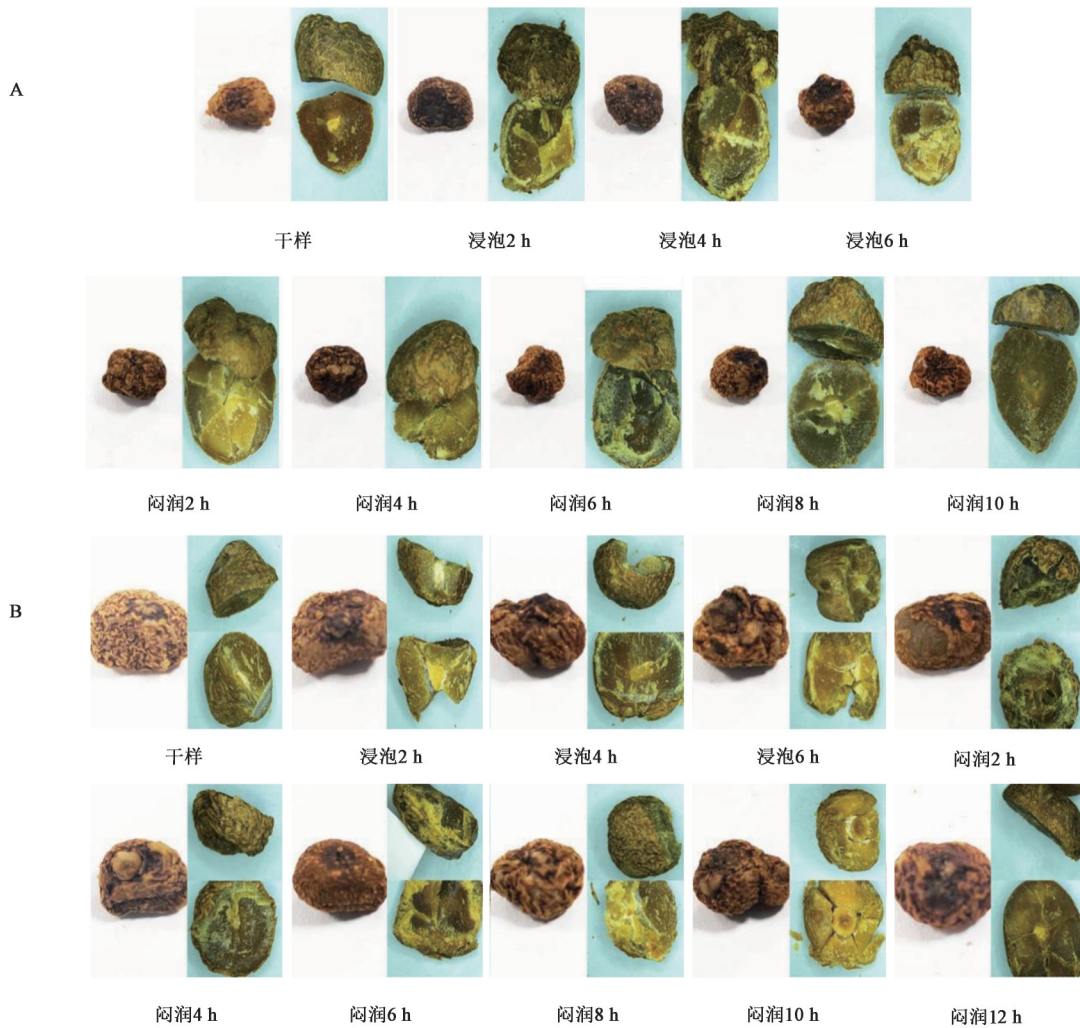


图3 延胡索软化过程样品切面的显微观察($\times 4.6$)

Fig. 3 Microscopic observation of sample section of *Corydalis Rhizoma* during softening process ($\times 4.6$)

感知不充分,且探头速度变化不及时也会对测量结果造成影响^[22],故测试速度选择 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

2.4.3 压缩度考察 压缩度为探头接触样品后下压距离的控制参数^[24]。大小不一的延胡索高度差距明显,以固定压缩距离作为压缩终点并不合理,故选择压缩度为下压参数。下降速度与提升速度均设 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,固定触发力 20 g 、测试速度 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,压缩度水平选择5%、10%、15%、20%、25%,各水平重复测定6次,结果平均压缩力分别为2.02、4.99、8.16、15.17、23.48 N, RSD依次为4.5%、7.4%、11.3%、2.7%、8.8%。说明压缩度对压缩力影响较大,压缩度的增大使得延胡索力学阻力增大,从而表现为延胡索的压缩力增大;RSD存在先增大后减小的趋势,较小的压缩度不能很好地区分样品的软化程度,较大的压缩度则会损坏样品与机器^[25]。综合以上观点与测量结果的RSD,压缩度选择20%。

2.4.4 压缩特征曲线的采集 随机取50粒大小不

同且表面无破损的延胡索样品按照樟帮法软化,对软化成品进行软化程度测定后切厚片统计。测定时将待测样品置于操作台,用P36R压缩探头进行中心下压,参数设置为测前速度 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,测试速度 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,测后速度 $2\text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$,触发力 20 g ,压缩度20%,结果见图4和图5;软化成品切片状况见表2。由图4可知,压缩曲线呈尖峰型,压缩力随压缩时间升高直至顶点又下降,曲线顶点即探头压缩样品时所受最大阻力,因随机取样的延胡索样品大小不同,故测试时下压高度与下压时间不同,但仍能发现所得测量曲线图压缩力相对集中,表明该方法不会受到样品规格的限制,能够量化不同规格样品的软化程度。结合图5与表2可知,整条曲线存在明显的数据集中区间与拐点,软化适宜成品测量值相对集中,压缩力介于 $12.75\sim 15.69\text{ N}$, RSD 6.8% ($n=35$),软化不足及软化太过成品的测量值则明显偏高或偏低,提示所建方法可模拟手捏法量化延胡索

药材的软化程度。

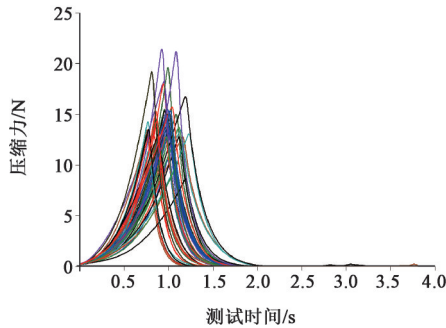


图4 延胡索软化成品压缩试验曲线

Fig. 4 Compression test curve of *Corydalis Rhizoma* softened products

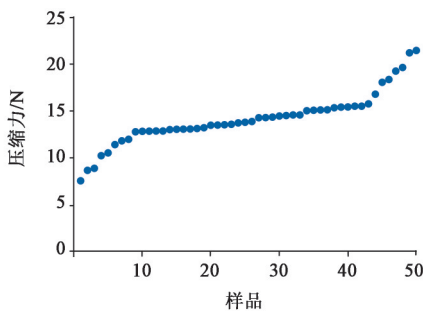


图5 延胡索软化成品的压缩力分布

Fig. 5 Distribution of compression force of *Corydalis Rhizoma* softened products

表2 延胡索软化成品切片情况

Table 2 Slices of *Corydalis Rhizoma* softened products

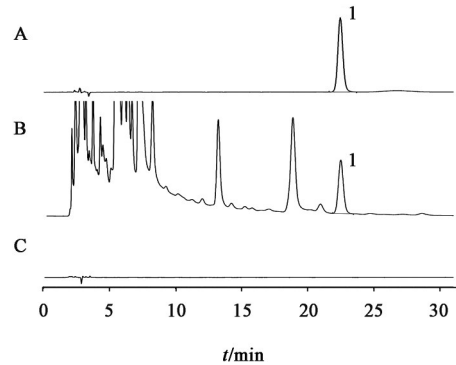
软化情况	切片情况	数量/粒
软化不足	断面炸心,片形不完整,中心处少量角质样	8
软化适宜	整体均质,片行完整,断面光滑	35
软化太过	整体伤水,片形不完整,切时易碎片	7

2.5 软化过程中延胡索乙素含量变化研究^[4]

2.5.1 色谱条件 Welch Ultimate LP-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (60:40, 用三乙胺调节 pH 6.5), 柱温 35 °C, 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。见图 6。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称取延胡索乙素对照品 11.72 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容; 精密量取 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 取延胡索粉末 (过三号筛) 约 0.5 g, 精密称定, 置平底烧瓶中, 精密加入浓氨试液-甲醇 (1:20, 下同) 混合液 50 mL, 称定质量, 冷浸 1 h 后加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用浓氨试液-甲醇混合液补足减失的质量, 摇匀, 以孔径



注: A. 对照品; B. 供试品; C. 空白溶剂; 1. 延胡索乙素

图6 延胡索样品的 HPLC

Fig. 6 HPLC of *Corydalis Rhizoma* sample

80~120 μm 的滤纸滤过。精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 以孔径 80~120 μm 的滤纸滤过, 取续滤液, 即得。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取延胡索乙素对照品溶液适量, 加甲醇稀释至质量浓度分别为 1.47、2.93、4.40、5.86、11.72、23.44、46.88 mg·L⁻¹, 按 2.5.1 项下条件测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 进行线性回归分析, 得回归方程 $Y=9.259 1X+0.058 1$ ($r=0.999 9$), 线性范围 0.014 7~0.468 8 μg。

2.5.5 精密度试验 取同一延胡索乙素对照品溶液, 按 2.5.1 项下条件连续进样 6 次, 结果延胡索乙素峰面积的 RSD 1.1%, 表明仪器精密度良好。

2.5.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、16、24 h 按 2.5.1 项下条件测定, 计算延胡索乙素峰面积的 RSD 1.4%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.7 重复性试验 取 6 份延胡索样品, 按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.5.1 项下条件测定, 计算延胡索乙素平均质量分数 6.94%, RSD 2.6%, 表明该方法重复性良好。

2.5.8 加样回收试验 称取已知延胡索乙素含量的延胡索样品 6 份, 每份约 0.25 g, 各精密加入延胡索乙素对照品溶液 (质量浓度 3.56 g·L⁻¹) 5 mL, 按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.5.1 项下条件测定, 计算平均加样回收率 99.2%, RSD 2.2%。

2.5.9 样品测定 称取大、小档延胡索各 20 g, 加入 5 倍量水浸泡, 分别在浸泡 1、2、3、4、5、6 h 时量取剩余浸泡水的体积, 并取少量浸泡液, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 得续滤液, 按 2.5.1 项下条件测定; 闷润结束 (小档延胡索闷润 10 h, 大档延胡索闷润 12 h) 后成品按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液, 按 2.5.1

项下条件测定。将测得的延胡索乙素含量与原药材中延胡索乙素含量对比,计算该成分的损失量,见表3。结果发现延胡索乙素含量随着浸泡时间的增加而逐渐下降,浸泡6 h时延胡索乙素损失量4.76%~5.91%,且延胡索规格对有效成分损失量有一定影响;闷润过程中的延胡索乙素含量几乎没有变化。说明传统樟帮法软化延胡索不会致使其延胡索乙素大量流失,具有指标成分损失小的优点。

表3 延胡索软化过程中延胡索乙素含量的损失情况

Table 3 Loss of tetrahydropalmatine in softening process of *Corydalis Rhizoma* %

软化样品	小档样品损失量	大档样品损失量
浸泡1 h	2.06	1.47
浸泡2 h	3.06	2.32
浸泡3 h	4.03	2.96
浸泡4 h	4.80	3.67
浸泡5 h	5.40	4.23
浸泡6 h	5.91	4.76
闷润结束	5.86	4.89

3 讨论

樟帮是我国中药炮制的主要流派之一,记载了关于延胡索的软化方法与软化程度评价方法,但传统的樟帮延胡索软化与评价方法多靠老药工经验来指导判断,主观性强、规范性差且较难对其科学性与合理性进行解释。本文通过多种技术对延胡索软化过程进行表征,旨在明晰延胡索不同软化阶段的变化情况,结果发现浸泡阶段为水分增加过程,水分由外表皮和茎痕向内渗透并以自由水的形式在延胡索内部存在,此阶段延胡索外部角质样会逐渐软化,但内部仍有硬心,此时切片易“炸心”,延胡索乙素损失为4.76%~5.91%;闷润阶段为水分再分配过程,延胡索内部的水分逐渐向内芯渗透实现再分配,内部硬心逐渐软化,切面逐渐规整,此阶段延胡索乙素基本没有损失。同时,本文还使用质构仪建立了新的延胡索软化程度评价方法,并发现软化合格成品测量值集中于12.75~15.69 N且稳定性良好。通过对延胡索软化过程中水分状态与分布变化、切面状况及指标成分含量变化的表征,在一定程度上应证了传统软化工艺的科学性与合理性,而软化程度评价方法的建立实现了从主观经验判断到客观技术量化的重要转换。

延胡索药材受种植模式与环境的影响,个体差异性较大^[26],据2020年版《中国药典》记载,直径为

0.5~1.5 cm的延胡索为合格药材^[4],其药材体积相差可达数十倍。在实验前期,体积差带来的个体差异成为了研究难点,在查阅相关文献及请教了曹钟明老药工后,决定对延胡索药材进行分档软化,从而降低其体积差异带来的影响。然而,分档后相同软化条件下仍有约16%的样品软化不够,盲目延长软化时间又会使药材霉变^[27-28],如何克服个体差异提高软化合格率是延胡索软化研究的另一难题。后续本课题组将在本文研究基础上应用科学统计方法缩小延胡索个体差异的影响,进一步对传统工艺进行优化,为科学传承传统中药炮制方法提供借鉴。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王玲玲,周跃华,李计萍,等. 关于中药新药饮片炮制研究的思考[J]. 中草药, 2021, 52(1): 9-13.
- [2] 钟凌云,龚千锋,杨明,传统炮制技术流派特点及发展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3405-3408.
- [3] 祝婧,袁恩,陈香玲,等. 江西特色炮制工艺对升麻挥发性成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(21): 95-105.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 145.
- [5] 龚千锋. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2016: 85.
- [6] 王斌,梁伟龙,林钦贤,等. 酒制延胡索微波炮制工艺的优化研究[J]. 中国药房, 2020, 31(20): 2503-2507.
- [7] 邱晓华,岑巧梦,石森林,等. 正交设计优化微波辅助测定延胡索叶总生物碱含量[J]. 生物资源, 2020, 42(1): 103-108.
- [8] 万超,于定荣,刘颖,等. 醋延胡索饮片颜色与其内在质量的相关性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12): 145-150.
- [9] 秦书芝,李凤,张瑶,等. 不同软化处理方法对黄芩饮片中黄芩苷含量影响[J]. 海峡药学, 2017, 29(10): 30-31.
- [10] 周劲松,张洪坤,黄玉瑶,等. 天麻不同软化方法的比较及天麻片炮制工艺优化研究[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 622-624.
- [11] 黄玉秋,贾天柱,史辑. 正交试验优选巴戟天饮片的软化和切制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(16): 5-9.
- [12] 杨彦华,周远征,赵文龙,等. 白术软化切制工艺研究[J]. 中成药, 2013, 35(10): 2225-2229.
- [13] 刘庆珊,何雁,曹秋芳,等. 基于LF-NMR/MRI的白芍闷润过程水分状态及质构相关性的研究[J]. 中国中

- 药杂志,2020,45(20):4882-4888.
- [14] 何雁,饶小勇,罗晓健,等. 基于水分分布状态及质构变化的药材润制程度检测方法:中国, CN111735739 A[P]. 2020-10-02.
- [15] YU X L, WANG Z H, ZHANG Y Q, et al. Study on the water state and distribution of Chinese dried noodles during the drying process[J]. J Food Eng, 2018, 233: 81-87.
- [16] KIRTIL E, OZTOP M H. ¹H-nuclear magnetic resonance relaxometry and magnetic resonance imaging and applications in food science and processing[J]. Food Eng Rev, 2016, 8: 1-22.
- [17] 苏莉,郭新异. 不同产地延胡索挥发油成分分析[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(33):20418-20420.
- [18] 宋平. 基于低场核磁共振技术的水稻浸种过程种子水分检测研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学, 2016.
- [19] 李慧颖. 探析基层医院中药炮制存在的问题[J]. 中国实用医药, 2010, 5(14):224-225.
- [20] 李瑶瑶,张凯旋,熊皓舒,等. 质构仪在药物制剂研究中的应用进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(21):226-234.
- [21] 黄金宝. 循环应力对牛皮鞋面革结构和力学性能的影响[D]. 郑州:郑州大学, 2017.
- [22] 吴伟都,朱慧,欧凯,等. 测试条件对搅拌型酸乳质构特性测定的影响[J]. 乳业科学与技术, 2019, 42(1): 8-12.
- [23] 张玉海,王信民,邓国栋,等. 质构仪法测定烟叶的粘附力[J]. 烟草科技, 2011(11):5-9.
- [24] 冯峰. 胡萝卜的流变特性及质地评价研究[D]. 镇江:江苏大学, 2007.
- [25] 郭风军,刘萌,冯雁丽,等. 测试参数对杏果质地多面分析的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(5):22-25.
- [26] 汪一敏,陈茜茜,俞冰,等. 不同种植模式对延胡索产量及质量形成的影响[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(9):1042-1049.
- [27] 王昌利,郝建萍,孙静,等. 延胡索产地加工水煮机理研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7):1625-1626.
- [28] 李静慧. 延胡索药材质量控制的关键技术研究[D]. 杭州:浙江大学, 2012.

[责任编辑 刘德文]