

“两步法”探索黄连饮片等级的划分标准

欧小群, 杨秀梅, 王瑾, 韩丽, 黄勤挽*, 张玉莉, 陈蓉
(成都中医药大学, 成都 611137)

[摘要] **目的:**结合黄连外在质量和内在品质,为黄连饮片的等级划分提供方法依据。**方法:**以18批味连饮片为分析对象,第一步测量各批味连片的水分、总灰分、浸出物、含量(表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱),剔除不合格者,采用SPSS聚类分析软件分类,定部分统货,第二步测大小(长度、宽度、厚度和质量)、颜色(外部颜色、内部颜色),综合分类结果确定优级和统货。**结果:**所有在《中国药典》2010年版黄连项下合格的饮片分为优级和统货两个等级。**结论:**该方法为黄连饮片的等级划分提供可操作性。

[关键词] “两步法”; 黄连饮片; 外在质量; 内在品质; 等级标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0062-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014200062

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140829.1402.003.html>

[网络出版时间] 2014-08-29 14:02

‘Two-step’ Method to Explore Coptis Rhizoma Pieces’s Classification

OU Xiao-qun, YANG Xiu-mei, WANG Jin, HAN Li, HUANG Qin-wan*, ZHANG Yu-li, CHEN Rong
(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this article was to provide basis for grading of Coptis Rhizoma pieces through with the inner quality and appearance features of Coptis Rhizoma pieces. **Method:** Eighteen batches of Coptis Rhizoma pieces were selected as analysis object, subjected to measurement of the size (length, width, thickness and weight), color (external color, internal color), and content (table of berberine, hydrastis, martin, berberine). Then SPSS cluster analysis was conducted based on the measurement results. **Result:** Qualified ones were divided into two grades: superior class and ordinary class. **Conclusion:** Inner quality evaluation and appearance feature quantification can be used to classify Coptis Rhizoma pieces through the mathematical statistics analysis.

[Key words] Two-step method; Coptis Rhizoma pieces; appearance property features; inner quality evaluation quantification; classification

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,分别习称“味连”、“雅连”和“云连”^[1]。雅连濒临灭绝,云连产量很小,目前主流商品是味连,因此本课题以味连为研究对象。味连主要分布于重庆石柱、湖北利

川、四川洪雅、峨眉,彭州、大邑等地,其中重庆石柱和湖北利川为味连的道地产区。黄连为中医临床上常用品。饮片的质量决定成药的品质,所以对中药材进行等级划分是必要的,其重要性主要体现在中药的疗效与中药饮片的质量密切相关;患者可以根据自己的经济情况选择不同等级的药材;药材分等

[收稿日期] 20130628(008)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药行业专项(201007012-3-5);成都中医药大学校基金项目(ZRMS201256)

[第一作者] 欧小群,硕士生,从事中药新制剂、新技术、新剂型研究,Tel:15928808953,E-mail:979545385@qq.com

[通讯作者] *黄勤挽,博士,副教授,从事中药炮制与中药制剂研究,Tel:13982199974,E-mail:36190587@qq.com

后有利于优质优价,促进中药饮片的健康发展。黄连药材依靠外观等划分商品等级有初步分类,进一步对黄连饮片质量等级划分研究较少,因此黄连饮片的等级划分方法值得探讨。

参阅和梳理众多古今本草专著,课题组发现所有专著几乎都是从饮片外部和断面的形状大小以及颜色等方面进行描述的,并没有系统地对饮片的质量进行评价。临床上饮片的价值更重要的是取决于内在品质的好坏,市场上以次充好的现象令中药饮片的质量下降^[2],所以中药饮片如果仅从外观来区分优劣是不足的。本课题组探索“两步法”,第一步测定各批次的水分、灰分、浸出物和生物碱含量并研究指纹图谱,对各含量(表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱)测定结果进行聚类分析,剔除不合格者,定部分统货;第二步测定饮片的大小、内外部颜色和药屑百分比,聚类分析,筛选出优级,余下的均为统货,结合实际确定饮片的划分标准,按照定性、定量描述指标归类,将具有等级区分度的定量描述指标最终分出两个等级:优级和统货^[3]。

1 材料

共收集饮片样品 18 批次,12 批来自不同饮片厂生产销售,每批次 2~5 kg,6 批委托加工生产饮片,经成都中医药大学中药标本中心卢先明教授鉴定均为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 的干燥根茎加工品(切片)。见表 1。

1200 系列高效液相色谱仪(含四元泵、DAD 检测器、柱温箱、自动进样器,美国安捷伦公司),Diamonsil(钻石二代)色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。游标卡尺(量程 0~150 mm,精度 0.02 mm),BSA224S 型精密电子天平(北京赛多利斯天平有限公司, d=0.1 mg, max 220 g),CR-410 型色彩色差计(北京科美瑞达仪器设备有限公司)。

色谱乙腈,甲醇、盐酸、磷酸二氢钾、十二烷基硫酸钠、三乙胺、乙醇等均为分析纯,由成都市科龙化工试剂厂生产。盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200208)、黄连对照药材(批号 913-8902)均购自中国食品药品检定研究院。

2 方法与结果

2.1 第一步:定统货

2.1.1 水分、总灰分、浸出物的测定 参照《中国药典》2010 年版一部附录 IX H 水分测定第一法测定,附录 IX K 项下测定总灰分,附录 X A 项下热浸法测定浸出物。结果见表 2。

2.1.2 含量测定 参考《中国药典》2010 年版一部

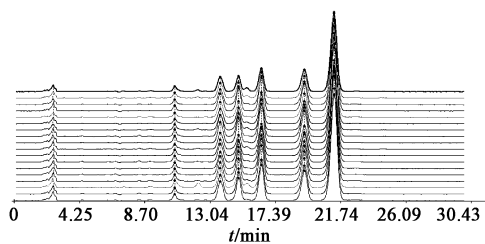
表 1 18 批黄连饮片样品

饮片编号	生产厂家	样品量/kg
YP-1	重庆石柱县黄水镇枫木乡石印组地方药材,委托四川某公司加工	7.24
YP-2	重庆石柱县黄水镇枫木乡石印组地方药材,委托四川某公司加工	8.35
YP-3	重庆石柱县冷水乡八龙村双坝组地方药材,委托四川某公司加工	7.39
YP-4	重庆石柱县冷水乡八龙村双坝组地方药材,委托四川某公司加工	7.74
YP-5	湖北利川市汪营镇王家寨村八组地方药材,委托四川某公司加工	6.46
YP-6	四川彭州市白鹿镇红华村十组地方药材,委托四川某公司加工	6.98
YP-7	四川某公司	5
YP-8	四川某公司	5
YP-9	四川某公司	5
YP-10	四川某公司	2
YP-11	四川某公司	2
YP-12	四川某公司	2
YP-13	四川某公司	2
YP-14	广东某公司	2
YP-15	北京某公司	2
YP-16	安徽某公司	2
YP-17	北京某公司	2
YP-18	四川某公司	2

注:等级均为统货。

黄连项下规定,测定各批次药材中表小檗碱、黄连碱、巴马汀和小檗碱的含量。结果见表 2。

2.1.3 黄连饮片特征图谱的研究 参照文献[4]进行 HPLC 指纹图谱研究,确定样品道地性。使用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价软件 2004A 版”进行分析,结果见图 1。



由下至上为 1~18 批样品

图 1 18 批黄连饮片特征谱

2.1.4 聚类分析 测定结果显示,18 批黄连饮片

表 2 黄连饮片内在品质和外在质量测定结果及等级确定

饮片 编号	长度 (n=50) /mm	宽度 (n=50) /mm	厚度 (n=50) /mm	药屑杂质 (n=6)/%	水分 (n=3) /%	总灰分 (n=3)/%	浸出物 (n=3)/%	表+黄+ 巴总量 (n=3)/%	小檗碱 (n=3) /%	确定 等级
YP-1	23.90	6.54	2.37	0.47	8.71	2.27	29.14	3.88	5.88	优级
YP-2	21.86	5.87	2.57	0.43	9.41	2.12	28.77	3.89	5.79	优级
YP-3	24.86	5.52	2.87	0.59	8.96	2.20	30.94	3.57	5.70	统货
YP-4	20.84	5.26	2.85	2.26	9.41	1.97	28.71	3.80	5.89	统货
YP-5	23.77	5.90	3.46	3.23	9.51	2.37	32.02	3.83	6.07	统货
YP-6	24.21	7.13	2.24	0.39	10.15	1.77	27.27	3.72	5.57	优级
YP-7	34.87	6.88	2.74	0.53	9.46	2.37	28.53	3.70	5.92	优级
YP-8	27.62	6.41	2.62	1.47	9.25	2.30	24.43	3.43	5.16	统货
YP-9	25.61	6.76	3.19	1.97	9.26	2.53	27.33	3.35	5.10	统货
YP-10	39.22	6.56	2.29	1.20	10.34	2.57	29.56	4.06	6.15	统货
YP-11	19.36	5.98	2.69	1.24	7.34	2.82	32.59	4.18	6.33	统货
YP-12	35.93	6.85	3.19	1.50	10.54	2.50	24.59	3.24	4.83	不合格
YP-13	28.25	7.35	2.64	0.84	10.12	2.57	25.70	2.89	4.74	不合格
YP-14	21.79	5.81	1.96	0.68	9.68	2.20	28.66	3.44	5.13	统货
YP-15	24.75	6.54	2.13	0.45	10.29	2.40	27.90	4.01	5.83	优级
YP-16	28.56	6.46	2.38	1.39	8.87	2.30	26.26	2.99	4.40	不合格
YP-17	18.37	5.52	2.38	1.06	10.51	1.70	28.33	3.40	5.20	统货
YP-18	30.06	7.15	2.45	0.51	10.28	2.42	29.59	3.15	4.65	不合格

水分为 7.34% ~ 10.51%，总灰分为 1.70% ~ 2.82%，浸出物为 24.43% ~ 32.59%，按干燥品计算，以盐酸小檗碱 (C₂₀H₁₈ClNO₄) 计，含小檗碱 (C₂₀H₁₇NO₄) 为 4.40% ~ 6.33%，含表小檗碱 (C₂₀H₁₇NO₄)、黄连碱 (C₁₉H₁₃NO₄) 和巴马汀的总量为 2.89% ~ 4.18%。其中 YP-12, YP-13, YP-16, YP-18 为不合格样品，剔除，指纹图谱显示，18 批次黄连饮片均来自道地产区，无明显差异，因此不作为分等标准。采用 SPSS 17.0 聚类分析软件对测定结果进行聚类分析，结果见图 2 ~ 5。

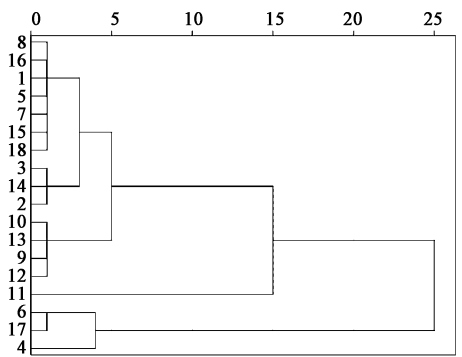


图 3 黄连饮片总灰分聚类分析

若将 18 批黄连饮片按水分含量聚类，则 YP-11 是第 1 类；其余是第 2 类；若将 18 批黄连饮片按总灰分聚类，则 YP-6, YP-4, YP-17 是第 1 类；其余是第 2 类；若将 18 批黄连饮片按浸出物聚类，则 YP-3, YP-5, YP-11 是第 1 类；其余是第 2 类；若将 18 批黄连饮片按小檗碱及 3 种生物碱含量聚类，则 YP-5, YP-10, YP-11, YP-1, YP-2, YP-3, YP-4, YP-6, YP-7, YP-15 是第 1 类；其余是第 2 类。综合结果，将 YP-8, YP-9, YP-10, YP-14 确定为统货，其余暂定为优级。

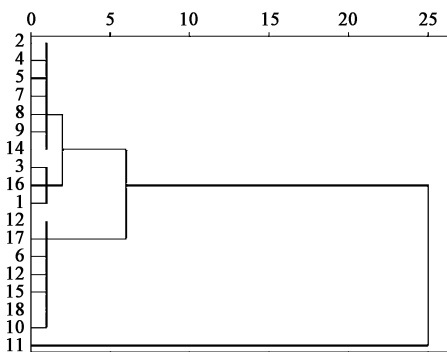


图 2 黄连饮片水分含量聚类分析

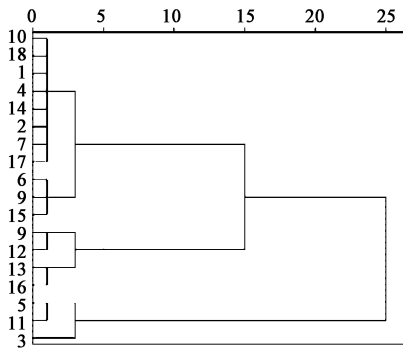


图4 黄连饮片浸出物聚类分析

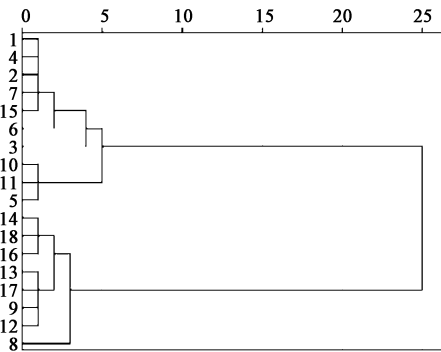


图5 黄连饮片小檗碱及3种生物碱含量聚类分析

2.2 第二步:定优级

2.2.1 大小测量 从每批黄连饮片中,随机抽取50个样本,用游标卡尺测量样本的总长度、总宽度(样本平放投影至平面最宽处)、片厚(饮片最厚处),并称取每片片重。对总长度、总宽度、片厚数据进行标准化处理后,计算平均值,用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,将均值进行聚类分析,结果见表2。

2.2.2 颜色测量 从每批黄连饮片中,随机抽取干燥样品数个,直接测定外部的色度值;内部颜色是粉碎后90%以上过30目筛,未过筛的与已过筛的粉末合并,混合均匀,测定。仪器参数:光源 D_{65} ,标准观察角度 2° ,照明口径 50 mm;大于光源口径的烧杯装盛样品,样品装盛厚度不低于 2 cm,室温下测定。数据用 $L^* a^* b^*$ 色空间法表示,其中 L^* 为亮度值, a^* 为红绿色度坐标, b^* 为黄蓝色度坐标, $E^* ab$ 为总色值,计算 $E^* ab = \sqrt{L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}}$ 。对 $L^* a^* b^*$ 值进行聚类分析。

2.2.3 药屑质量百分比 黄连饮片的杂质主要有4种类型①外源性杂质(泥沙、异物等),②非药用部位(脱落的残留须根),③加工过程产生[碎屑(药材粉末)],④存贮过程产生(霉烂品、虫蛀品)。必须对其饮片中混有的灰屑、药渣及可见异物进行测定。

每批黄连饮片均匀取样,每次取样 100 g,测定

6次。通过捡选、过一号筛后杂质称重方法,测定其中所含杂质质量。结果见表2。

2.2.4 聚类分析外 黄连饮片颜色的差异主要由干燥时间引起,如果时间过长,则颜色加深偏于棕褐色,总色值数值将减少,因颜色大多仍是以描述性语言为主,本身存在一定的差异,暂不从颜色上对黄连饮片2个等级进行区别;黄连饮片中药屑杂质(可见异物+未通过一号筛灰屑)在 0.43% ~ 3.23%。同 2.1.4,结果见图6~7。

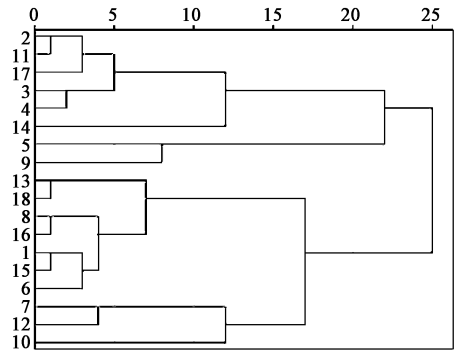


图6 片长、宽、厚数据聚类分析

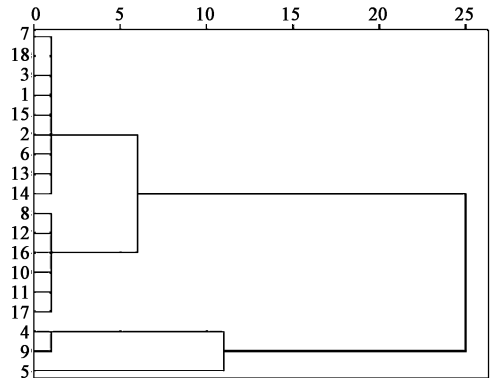


图7 片药屑杂质质量聚类分析

上图显示,若将18批黄连饮片按大小聚类,则 YP-2, YP-11, YP-17, YP-3, YP-4, YP-14, YP-5, YP-9 是第1类;其余是第2类,结合聚类分析数据和生产实际,黄连饮片片厚、片型的均匀性是影响外在质量特征的最大因素;若将18批黄连饮片按药屑杂质质量聚类,则 YP-4, YP-5, YP-9 是第1类;其余是第2类。

2.3 黄连饮片等级划分 将黄连饮片质量标准研究中所有参考数据进行汇总,结合聚类分析结果,18批次饮片定量描述指标和等级见表2。

表2显示,18批次饮片中 YP-1, YP-2, YP-6, YP-7, YP-15 为优级, YP-3, YP-4, YP-5, YP-8, YP-9, YP-10, YP-11, YP-14, YP-17 为统货,其余不合格。

优级饮片与优级道地药材、精湛的加工技术两

者密不可分;YP-16,YP-18等外观好、片型大,但成分含量低,属于“先天不足”;YP-5,YP-11等外观差、片型较小、杂屑多,成分含量很高,属于“后天不足”。

2.4 确定分等标准 结合聚类分析数据和生产实际,将黄连饮片的优级和统货区别如下。

黄连优级饮片:呈不规则的薄片(片长不得少于2.0 cm、片宽不得少于0.5 cm、片厚0.1~0.3 cm);取样100 g拣出杂质,过一号筛筛出药屑,合并称重计算,不得>1.0%;水分不得>12.0%;总灰分不得>3.5%;用稀乙醇作溶剂,热浸法测定醇溶性浸出物不得<25.0%;按干燥品计算,以盐酸小檗碱计,含小檗碱不得<5.5%,含表小檗碱、黄连碱和巴马汀的总量不得<3.6%。

黄连统货饮片:呈不规则的片或碎块(对长、宽、片厚不做规定);取样100 g拣出杂质,过一号筛筛出药屑,合并称重计算,不得>4.0%;水分不得>12.0%;总灰分不得>3.5%;用稀乙醇作溶剂,热浸法测定醇溶性浸出物不得<15.0%;按干燥品计算,以盐酸小檗碱计,含小檗碱不得<5.0%,含表小檗碱、黄连碱和巴马汀的总量不得<3.3%。

3 讨论

3.1 意义 课题组首先按照2010年版《中国药典》测定黄连饮片的生物碱含量,剔除不合格的样品,减少了工作量并能有效地筛选出统货,余下的暂定为优级产品,经过大小等外在质量特征量化后,YP-3,YP-4,YP-5,YP-11,YP-17 5批次由于大小等方面的不足最终确定属于统货,“两步”方法结合内在质量和外在质量简单有效、科学合理地分出两个等级。中药饮片分等标准,仅《七十六种药材商品规格标准》,但因颁布年代久远,大部分内容已不适用。课题组结合传统经验分级和现代技术,采用统计分析提出了“两步”分等理论,避免了“辨状论质”^[5]的不足。该思路与方法可为中药饮片或药材分等级思路、技术方法提供借鉴。

3.2 缺点 实验样本采集范围局限,应扩大样本,兼顾道地产区和非道地产区的黄连饮片,使实验结果更具有代表性和实用性。课题组认为,本实验指

标不够,可纳入显微特征指标甚至生物指标,扩大适用范围,并结合药效指标制定一个评价体系,此外,化学成分总生物碱的含量指标中可添加如脱氢卡维丁、氧化小檗碱^[6]等生物碱。

3.3 展望 中药饮片存在很多质量问题,包括药材来源不清,饮片加工炮制不规范,人为掺杂,药用部位混淆,包装养护不当,检测存在制约等。为解决这些问题,首先必须要加强中药饮片的监管力度,其次需要提高中药饮片检测水平^[7]。目前,对常用饮片进行系统分析的研究报道较少,难以找出饮片划分等级的指标^[8],也缺少某一指标的内在质量依据。本研究补充了中药饮片仅从形态、性状、气味和简单的理化现象判断饮片质量优劣的不足,也填补了饮片等级划分研究的空缺,期待更多的药学工作者的深入研究,以保证药材和饮片的可持续发展。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:285.
- [2] 兰英,周瑞林. 浅谈中药材的商品规格等级[C]. 乌鲁木齐:全国中药研究暨中药房管理学术研讨会论文集汇编,2005:35.
- [3] 王瑾,黄勤挽,张玉莉,等. 中药附子典型物性特征定量化及分等研究[J]. 成都中医药大学学报,2012,35(1):52.
- [4] 霍达. 黄连黄柏指纹图谱及成分研究[D]. 北京:首都师范大学,2009.
- [5] 秦雪梅,孔增科,张丽增,等. 中药材“辨状论质”解读及商品规格标准研究思路[J]. 中草药,2012,43(11):2093.
- [6] 胡芳,陆兔林,毛春芹,等. HPLC测定岩黄连生物总碱中脱氢卡维丁、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):68.
- [7] 孙静,杨林,程蕊. 中药饮片质量存在的问题及管理对策[J]. 中国中医药现代远程教育,2011,9(7):105.
- [8] 山丽梅,赵艳玲,洪玮,等. 三七止血活性与商品规格划分的相关分析[J]. 中草药,2011,42(9):1779.

[责任编辑 顾雪竹]