

黄连软化与切制工艺优选

沈晓庆, 曲胜军, 张凡, 周远征, 贾天柱*
(辽宁中医药大学 国家中医药管理局中药炮制重点实验室
辽宁省中药炮制工程技术研究中心, 辽宁 大连 116600)

[摘要] 目的:优化黄连的软化与切制工艺。方法:以盐酸表小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀和盐酸小檗碱含量为指标,采用单因素试验和正交试验优选黄连的软化和切制工艺,HPLC 测定指标成分含量。结果:黄连的最佳软化方法为淋法,一般在室温下,每 100 kg 药材用 60 L 水软化 48 h。黄连的最佳切制工艺为切成 1~2 mm 的顶头片。结论:优选的软化和切制工艺切实可行,可推广使用。

[关键词] 黄连; 软化; 切制; 高效液相色谱法; 正交试验

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)18-0052-04

Optimization of Softening and Cutting Process for *Coptis chinensis*

SHEN Xiao-qing, QU Sheng-jun, ZHANG Fan, ZHOU Yuan-zheng, JIA Tian-zhu*
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Traditional Chinese
Medicine Processing Technology and Principle, Liaoning Processed Engineering Research
Center of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] Objective: To optimize softening and cutting technology of *Coptis chinensis*. Method: With the content of epiberberine, coptisine, palmatine and berberine as indexes, which were determined by HPLC, softening and cutting technology of *C. chinensis* was optimized by single-factor test and orthogonal test. Result: Spraying was the best softening method, *C. chinensis* was sprayed in 48 h with 60 L water per 100 kg at room temperature medicinal herbs. Optimum cutting technology was: cutted *C. chinensis* into 1-2 mm piece. Conclusion: These optimized process were feasible, and could be promoted in industrial production.

[Key words] *Coptis chinensis*; softening; cutting; HPLC; orthogonal test

黄连味苦、性寒,归心、脾、肝、胆、大肠经,具有清热燥湿、泻火解毒的功效^[1]。黄连为根茎类中药,需软化后切制成黄连片入药。张广利等^[2]介绍了一种切制黄连的小经验,但未对黄连中指标进行量化。黄连体小,在直线往复式切药机切完后有顺刀片及斜片 2 种片形,目前关于两者有无区别尚无文献报道。黄连润透后切薄片^[3],但厚度不同对生物碱溶出率有无影响未见报道。为优选黄连的软化

和切制工艺,本文以黄连中小檗碱、巴马汀,盐酸黄连碱和表小檗碱 4 种生物碱含量为指标,优选黄连的软化和切制工艺,为实际黄连饮片的制备提供试验依据。

1 材料

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),SPD-10AVP 型紫外检测器(日本岛津公司),METTLER AE240 型 1/10 万分析天平(瑞士 METTLER),QRZG-300 型直线往复式切药机(杭州海善制药设备有限公司),ALPA11-4/LD 型冷冻干燥器(德国 CHAIST 公司),乙腈为色谱纯,水为纯净水,其余试剂均为分析纯,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 0713-9906,110732-200506),黄连碱、表小檗碱对照品(中国中医科学院中药研究所质量分析中心提

[收稿日期] 20120507(006)

[第一作者] 沈晓庆,在读硕士,从事中药炮制工艺原理研究,
Tel: 0411-87586115, E-mail: xiaqingshen1987@163.com

[通讯作者] * 贾天柱,硕士,教授,从事中药炮制原理研究,
Tel: 0411-87586499, E-mail: jiatz@lnutcm.edu.cn

供),黄连药材购自四川省药材公司,经辽宁中医药大学翟延君教授鉴定为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水[45:55, 内含 3.4 g·L⁻¹ KH₂PO₄, 1.7 g·L⁻¹ 十二烷基硫酸钠(SDS)], 以磷酸调节 pH 3.0, 检测波长 345 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 40 °C, 进样量 10 μL, 理论塔板数按盐酸小檗碱计不小于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、黄连碱、表小檗碱对照品适量, 加甲醇-盐酸(100:1)溶解, 依次制成质量浓度为 1.315, 0.952, 0.636, 0.680 g·L⁻¹ 的对照品贮备液, 备用。精密吸取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、表小檗碱对照品贮备液 1.2, 0.5, 1.0, 0.7 mL, 置同一 10 mL 量瓶中, 加甲醇-盐酸(100:1)稀释至刻度, 摇匀, 制得混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 软化工艺考察供试品溶液的制备 取各样品粉末约 0.1 g(过 60 目筛), 精密称定, 置 150 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸(100:1)混合液 50 mL, 称重, 超声(250 W, 40 kHz)30 min, 放冷, 称定质量, 用甲醇-盐酸(100:1)混合液补足减失质量, 过滤, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.2 切制工艺考察供试品溶液的制备 取各样品 10 g, 精密称定, 置于 250 mL 圆底烧瓶中, 加 10 倍量水回流提取 3 次, 每次 1 h, 过滤, 合并滤液于已干燥至恒重并称定质量的蒸发皿中, 水浴蒸干, 冷冻干燥 12 h, 称定质量, 将干膏粉碎, 精密称取 0.1 g, 置 150 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸(100:1)混合液 50 mL, 称重, 超声(250 W, 40 kHz)30 min, 放冷, 称定质量, 用甲醇-盐酸(100:1)混合液补足减失质量, 过滤, 精密吸取 8 mL 于 25 mL 量瓶中, 定容, 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性范围考察 精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8, 10 μL 注入高效液相色谱仪, 测定色谱峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱和盐酸表小檗碱的回归方程 $Y = 2.36 \times 10^6 X - 1.07 \times 10^5$ ($r = 0.9996$); $Y = 3.18 \times 10^6 X - 4.15 \times 10^4$ ($r = 0.9997$); $Y = 2.14 \times 10^6 X - 2389.44$ ($r = 0.9995$); $Y = 2.15 \times 10^6 X - 2.79 \times 10^4$ ($r = 0.9996$)。结果表明盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱和盐酸表小

檗碱分别在 0.1578 ~ 1.578, 0.0476 ~ 0.476, 0.0636 ~ 0.636, 0.0416 ~ 0.416 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 按 2.1 项下操作重复进样 6 次, 结果盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、盐酸表小檗碱峰面积 RSD 分别为 2.4%, 2.1%, 1.9%, 1.0%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一生黄连供试品溶液, 室温下放置, 于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 分别进样测定, 按 2.1 项下操作测定盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、盐酸表小檗碱峰面积 RSD 分别为 0.6%, 1.5%, 0.5%, 0.7%, 表明供试品溶液于室温下在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 精密称取同一生黄连样品 6 份, 按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下方法进行测定, 结果各样品中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、盐酸黄连碱、盐酸表小檗碱 RSD 分别为 1.1%, 0.6%, 1.6%, 1.1%, 说明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称定已知含量的生黄连粉末 0.05 g, 分别精密加入表小檗碱对照品贮备液(0.680 g·L⁻¹)0.50 mL, 黄连碱对照品贮备液(0.636 g·L⁻¹)1.00 mL, 盐酸巴马汀对照品贮备液(0.9520 g·L⁻¹)0.30 mL, 盐酸小檗碱对照品贮备液(1.315 g·L⁻¹)2.00 mL 于具塞锥形瓶中, 按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液并进样分析。计算求得平均加样回收率分别为 99.72%, 100.31%, 99.97%, 99.63%; RSD 分别为 1.78%, 2.17%, 1.91%, 1.64%。

2.9 黄连的软化工艺

2.9.1 不同软化方法的考察 考察黄连淋法和泡法 2 种软化方法的差异。

2.9.1.1 泡法 取搓去须根的黄连约 50 g, 置于可密闭容器中, 加水 30 mL, 室温浸泡 48 h, 取出, 用切药机切成 1.5 mm 的顶头片, 阴干。按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下方法进行测定, 结果综合评分为 99.76。

2.9.1.2 淋法 取搓去须根的黄连约 50 g, 置于可密闭容器中, 每次喷淋约 3 mL 水, 隔 4 h 喷 1 次。共喷水 30 mL, 48 h 后取出, 用切药机切成 1.5 mm 的顶头片, 阴干。按 2.3.1 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下方法进行测定, 结果综合评分为 91.12。

结果表明黄连的软化方法以淋法为佳。

综合评分 = A × 25/盐酸表小檗碱最高含量 + B × 25/盐

酸黄连碱最高含量 + C × 25/盐酸巴马汀最高含量 + D × 25 盐酸小檗碱最高含量(A. 盐酸表小檗碱含量;B. 盐酸黄连碱的含量;C. 盐酸巴马汀含量;D. 盐酸小檗碱的含量)。

2.9.2 正交试验法优选黄连的软化工艺 在上述试验基础上,以淋法为黄连的软化方法,选用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,选取软化加水量、软化时间、软化温度为考察因素,以盐酸表小檗碱、盐酸黄连碱、盐酸巴马汀、盐酸小檗碱含量的综合评分为考察

指标,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 黄连软化工艺优选正交试验因素水平

水平	A 加水量 /L·kg ⁻¹	B 软化温度 /°C	C 软化时间 /h
1	0.4	10	36
2	0.6	20	48
3	0.8	30	60

表 2 黄连软化工艺优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	表小檗碱 /%	黄连碱 /%	巴马汀 /%	小檗碱 /%	综合评分
1	1	1	1	1	8.6	17.91	12.34	62.34	81.07
2	1	2	2	2	9.35	18.76	15.9	70.32	92.07
3	1	3	3	3	8.78	18.73	12.92	68.63	85.52
4	2	1	2	3	11.42	20.97	14.51	72.54	97.81
5	2	2	3	1	9.79	19.41	14.71	69.49	91.65
6	2	3	1	2	8.78	17.58	14.13	65.92	85.11
7	3	1	3	2	8.55	18.01	13.06	65.35	83.24
8	3	2	1	3	8.47	16.56	11.39	59.31	76.63
9	3	3	2	1	9.32	16.6	12.41	61.31	80.84
K_1	86.220	87.373	80.937	84.520					
K_2	91.523	86.783	90.240	86.807					
K_3	80.237	83.823	86.803	86.653					
R	11.286	3.550	9.303	2.287					

表 3 综合评分方差分析

方差来源	SS	MS	f	F	P
A	191.314	95.657	2	19.516	<0.05
B	21.712	10.856	2	2.215	
C	132.780	66.390	2	13.545	
D(误差)	9.80	4.90	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由表 2,3 结果可知,各因素影响顺序为 A(软化加水量) > C(软化时间) > B(软化温度),其中 A 是影响软化黄连质量的显著性因素,B,C 因素作用不显著,结合直观分析表确定用淋法软化黄连的工艺 $A_2B_1C_2$ 。考虑到生产实际中温度不为显著因素,故最终确定淋法软化黄连的工艺为每 100 kg 药材加 60 L 水于室温下软化 48 h。

2.10 黄连的切制工艺考察

2.10.1 切制片形的考察 将黄连按优选的软化工

艺进行软化,用切药机分别切制成厚度 1.5 mm 的顶头片和斜片,阴干。结果顶头片中 4 种成分的质量分数均高于斜片,综合评分分别为 99.84,96.20,故采用顶头片。

2.10.2 切制厚度的考察 将黄连按优选的软化工工艺进行软化,用切药机分别切制成厚度为 0.7,1.5,3.0 mm 的顶头片,结果综合评分分别为 99.78,96.66,88.28。说明切制厚度为 0.7,1.5 mm 时,黄连中生物碱的含量差别不大,综合考虑,黄连的切制厚度以薄片(1~2 mm)^[1] 为佳,结论与 2010 年版《中国药典》一致。

综上所述,确定黄连的最佳软化方法为淋法,每 100 kg 药材用 60 L 水于室温下软化 48 h。切制方法为切成片形为顶头片的薄片。

2.11 验证试验 分别选取 4 批药材(来源分别为四川、北京、山东、辽宁)按优选工艺进行软化、切制,平行操作 3 份,切得的黄连片片形完整、美观,所得样品中盐酸表小檗碱质量分数分别为 9.86%,9.90%,9.83%,9.78%;盐酸黄连碱质量分数分别

掌叶大黄多糖超滤工艺优选

李芸¹, 苗小楼², 魏舒畅^{1*}, 吴平安¹, 刘峰林¹, 李秀娟³

(1. 甘肃中医学院 甘肃省高校中藏药化学与质量研究省级重点实验室, 兰州 730000;

2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 兰州 730050; 3. 甘肃省中医院, 兰州 730050)

[摘要] 目的:探讨超滤膜技术分离纯化掌叶大黄多糖的可行性工艺。方法:采用正交设计法优选超滤前离心条件;以超滤压力、料液温度及料液浓度为考察因素,以粗多糖得率和含量为考核指标,均匀设计优选超滤工艺参数。结果:最佳超滤条件为药液以3 000 r·min⁻¹离心处理12 min,用分子截留量10万的膜,超滤压力为0.05~0.09 MPa,药液温度40℃,药材与提取液质量比1:10~1:30,pH 6.0,超滤膜先用tween-80(5 g·L⁻¹)处理10 min。结论:优化所得超滤工艺与未超滤相比有较高的多糖得率和含量。超滤技术可用于纯化、富集掌叶大黄多糖,具有产业化开发前景。

[关键词] 掌叶大黄多糖;超滤;纯化工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0055-04

Optimization of Ultrafiltration Technology for Polysaccharides from *Rheum palmatum*

LI Yun¹, MIAO Xiao-lou², WEI Shu-chang^{1*}, WU Ping-an¹, LIU Feng-lin¹, LI Xiu-juan³

(1. Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of College of Gansu Province, Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Lanzhou Institute of Animal & Veterinary Pharmaceuticals Sciences, Chinese Academic of Agricultural Sciences, Lanzhou 730050, China; 3. Gansu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To study on separation and purification feasible process of polysaccharides from *R. palmatum* by ultrafiltration. **Method:** Centrifugation conditions were optimized by orthogonal test before

[收稿日期] 20111015(002)

[基金项目] 甘肃省教育厅第二批科研项目(0806B-07)

[第一作者] 李芸,硕士,副教授,从事中药材加工炮制、中药活性成分提取分离和质量标准研究,Tel:13893362959,E-mail:liyunherb@163.com

[通讯作者] *魏舒畅,硕士,教授,硕士生导师,从事中药新剂型与工艺研究,E-mail:wshch006@163.com

为14.02%,13.98%,14.07%,13.95%;盐酸巴马汀质量分数分别为10.74%,10.71%,10.81%,10.95%;盐酸小檗碱质量分数分别为50.42%,50.49%,50.58%,50.51%。可见黄连软化、切制工艺具有良好的稳定性和重复性,适合于工业化大生产。

[参考文献]

[1] 贾天柱. 中药炮制学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2008.

[2] 张广利,徐杰,徐同印. 喷润法切制黄连小经验[J]. 时

珍国医国药,1999,10(1):39.

[3] 中国药典. 一部[S]. 2010:286.

[4] 张洪利,康大力,黄艳萍,等. 多指标正交试验优化姜黄连炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(9):14.

[5] 许冬瑾,杨克义,陈华师,等. 清炒关黄柏炮制工艺的优选[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):28.

[6] 张凡,叶鹏,李峰,等. 黄柏软化和切制的工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):21.

[责任编辑 仝燕]