

# 一测多评法优选黄连最佳提取工艺

汪坤,张振凌\*,贾秀梅  
(河南中医学院,郑州 450008)

[摘要] 目的:优选黄连的最佳提取工艺。方法:应用一测多评法测定黄连中表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的含量,通过正交试验设计,以黄连中表小檗碱、黄连碱、巴马汀及小檗碱含量之和为指标优选黄连最佳提取工艺。结果:最佳工艺条件为 10 倍量 70% 乙醇提取 3 次,每次 1.5 h。结论:该提取工艺可以有效提取黄连中小檗碱等多种生物碱。

[关键词] 一测多评法;黄连;提取工艺;高效液相色谱法;生物碱

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)24-0009-03

## Optimization of Extraction Technology of *Coptis chinensis* with Multi-components Quantitation by One Marker

WANG Kun, ZHANG Zhen-ling\*, JIA Xiu-mei  
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of *Coptis chinensis*. **Method:** Determined the content of epiberberine, coptisine, berberine and palmatine with multi-components quantitation by one marker, orthogonal design was used to optimize extraction technology of *C. chinensis* with total content of epiberberine, coptisine, berberine and palmatine. **Result:** The best extracting condition was as follows: extracted 3 times with 10 times the amount of 70% ethanol for 1.5 h each time. **Conclusion:** Optimum extraction technology was effective for extracting

[收稿日期] 20110724(007)

[基金项目] 中医药行业科研专项(201007010)

[第一作者] 汪坤,在读研究生,从事中药饮片与新药研究, Tel:13592533250, E-mail:china33333wang@126.com

[通讯作者] \*张振凌,教授,从事中药炮制学教学与研究, Tel:0371-65680970, E-mail:zhangz6758@163.com

差不多,微波工艺提取率均优于传统提取法,且具有时间短、工序简单、溶剂消耗量小、节省提取和浓缩能耗等优点, $A_2B_2C_1$  与  $A_2B_3C_1$  相比较,提取时间更短,更适于工业化生产,最终确定工艺为  $A_2B_2C_1$ 。

### 3 结论

微波技术应用于中药提取具有穿透力强、选择性高等显著特点,但应用于工业化提取的设备应用尚不广泛,其应用也仅局限于以水为提取溶媒的提取工艺,用于有机溶剂提取的安全性还有待研究。本研究采用 Minitab15 软件进行实验设计,采用中药提取工艺研究正交试验中较为常见的  $L_9(3^4)$ , 其方差分析时误差变异来源于空列,与 SAS, SPSS 等常

用统计软件相比,具有兼容性好,结果导入导出方便、简单易懂、结果可靠等优点,大大减少了数据处理计算量<sup>[3]</sup>。

### [参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局注册. 乳块消质量标准[S]. 标准编号 YBZ08402008.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:附录 36.
- [3] 邴韶妮,彭杰,向毅,等. 田口试验设计的改进及其应用研究[J]. 电子工艺技术,2010,31(1):20.
- [4] 施月芹,练富林,胡育筑. 田口方法及其在药学相关领域的应用[J]. 药学进展,2008,32(8):363.

[责任编辑 全燕]

multiphasic alkaloid from *C. chinensis*.

[ **Key words** ] multi-components quantitation by one marker; *Coptis chinensis*; extraction technology; HPLC; alkaloid

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *C. teeta* Wall. 的干燥根茎,具清热燥湿、泻火解毒等功效,其主要有效成分是以盐酸小檗碱为代表的生物碱类化合物。目前多以 HPLC 测定小檗碱含量或紫外分光光度计测定总生物碱含量为指标考察黄连的提取工艺。本文参照 2010 年版《中国药典》,运用一测多评法 HPLC 同时测定黄连中表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的含量,综合评价优选黄连的最佳提取工艺,简便快捷、经济有效。

### 1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪 (CLASS-VP 数据处理系统,二极管阵列检测器,日本岛津),BS 210S 型电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司),AE240 型 1/10 万电子天平 (瑞士 METTLER),DHG-9076A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司),SZ-93 型自动双重纯水蒸馏器 (上海亚荣生化仪器厂)。

盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所,批号 110713-200911),甲醇为色谱纯,磷酸二氢钾 (广州化学试剂厂),十二烷基硫酸钠 (天津永大化学试剂有限公司),乙腈为色谱纯。

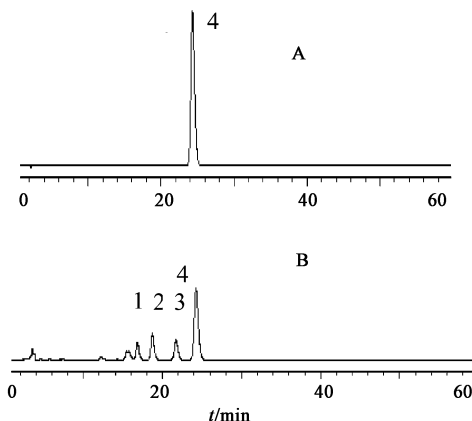
黄连购自郑州瑞龙制药股份有限公司 (批号 20110216),经河南中医学院董诚明教授鉴定为黄连 *C. chinensis* Franch 的干燥根茎,自行净制加工成的黄连饮片。

### 2 方法与结果

#### 2.1 黄连中黄连碱、巴马汀、表小檗碱、小檗碱含量测定方法

**2.1.1 色谱条件** Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾溶液 (50:50) (每 100 mL 中加十二烷基硫酸钠 0.4 g,磷酸调 pH 4.0),检测波长 345 nm,柱温 25 °C,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,理论塔板数以盐酸小檗碱计 > 2 000。

**2.1.2 对照品溶液制备** 精密称取盐酸小檗碱对照品 1.20 mg,用甲醇定容至 10 mL,0.22 μm 微孔滤膜过滤,进样 10 μL。见图 1。



A. 对照品; B. 黄连样品; 1. 表小檗碱; 2. 黄连碱; 3. 巴马汀; 4. 小檗碱

图 1 盐酸小檗碱 HPLC

**2.1.3 供试品溶液制备** 精密称取黄连饮片粉末 0.2 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇-盐酸 (100:1) 的混合溶液 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 (功率 250 W,频率 40 kHz) 30 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 2 mL,移置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液即得。0.22 μm 微孔滤膜过滤,进样 10 μL。计算得表小檗碱、黄连碱、巴马汀、小檗碱的质量分数分别为 1.32%、2.19%、1.86%、7.60%。

#### 2.2 正交试验筛选黄连提取工艺

**2.2.1 正交试验设计** 选用 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交试验表,小檗碱、表小檗碱、黄连碱及巴马汀含量之和为指标,考察醇体积分数、溶剂用量、提取时间、提取次数对指标性成分含量的影响。因素水平见表 1。

表 1 黄连提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积分数 /%	B 溶剂量 /倍	C 提取时间 /h	D 提取次数 /次
1	50	8	1	1
2	70	10	1.5	2
3	90	12	2	3

**2.2.2 正交试验结果** 取 9 份样品,每份 30 g,按照正交试验设计表中的方法提取,按 2.1.1 项下方法测定小檗碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀含量,以 4 种生物碱含量之和为指标,分析乙醇体积分数、乙醇

用量、提取时间、提取次数对结果的影响,以确定最佳提取工艺。结果见表2,方差分析见表3。

表2 黄连提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	表小檗碱 /%	黄连碱 /%	巴马汀 /%	小檗碱 /%	生物碱和 /%
1	50	8	1	1	1.64	2.45	2.36	8.48	14.93
2	50	10	1.5	2	1.90	3.03	2.65	10.77	18.35
3	50	12	2	3	1.81	3.04	2.73	10.84	18.42
4	70	8	1.5	3	1.89	3.20	2.85	11.42	19.36
5	70	10	2	1	1.63	2.50	2.35	9.16	15.64
6	70	12	1	2	2.01	3.26	2.84	10.82	18.93
7	90	8	2	2	1.47	2.23	2.54	9.81	16.05
8	90	10	1	3	1.56	2.37	2.66	10.31	16.90
9	90	12	1.5	1	1.04	1.53	1.98	8.58	13.13
$K_1$	17.233	16.780	16.920	14.567					
$K_2$	17.977	16.963	16.947	17.777					
$K_3$	15.360	16.827	16.703	18.277					
R	2.617	0.183	0.244	3.660					

表3 黄连提取工艺生物碱和方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.482	2	0.241	202.019	<0.01
B(误差)	0.023	2	0.017	1.000	
C	0.106	2	0.053	1.981	
D	3.026	2	1.513	442.630	<0.01

注: $F_{0.01}(2,2) = 99.000, F_{0.05}(2,2) = 19.000$ 。

由表2,3可知,乙醇体积分数、提取次数对黄连提取工艺指标有极显著差异;直观分析,结合实际生产,为降低成本,最终确定最佳提取工艺为 $A_2B_2C_1D_3$ ,即10倍量70%乙醇提取,提取3次,每次1h。

**2.2.3 验证试验** 取黄连粉末,按照试验得到的最佳提取工艺制备样品,测得样品中小檗碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀平均质量分数分别为11.11%,2.80%,1.98%,3.22%,4种生物碱含量之和分别为19.37%,18.77%,19.18%。

### 3 讨论

对黄连的提取工艺进行研究,席国萍等<sup>[1]</sup>以HPLC测定盐酸小檗碱含量为指标;齐宁利等<sup>[2]</sup>以HPLC测定盐酸小檗碱含量、紫外分光光度计测得总生物碱含量为指标;本研究以HPLC测定小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱含量及4种生物碱含量之

和为指标,同时可以控制黄连中主要成分小檗碱含量,还可以较为清楚地控制主要生物碱巴马汀、黄连碱、表小檗碱含量,只需要盐酸小檗碱一种对照品,方便快捷,节约成本。

匡艳辉等<sup>[3]</sup>报道盐酸小檗碱对小檗碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀的相对较正因子均接近1.0。本文参考2010年版《中国药典》<sup>[4]</sup>,盐酸小檗碱对小檗碱、表小檗碱、黄连碱、巴马汀的相对较正因子以1.0计,以盐酸小檗碱对照品的峰面积为对照,计算表小檗碱、黄连碱、巴马汀的含量。

### [参考文献]

- [1] 席国萍,何照范. 黄连中小檗碱的提取工艺[J]. 山地农业生物学报,2004,24(6):502.
- [2] 齐宁利,朱卫丰,廖正根,等. 正交设计优选黄连中盐酸小檗碱的提取工艺[J]. 江西中医学院学报,2009,19(2):59.
- [3] 匡艳辉,朱晶晶,张启伟,等. 一测多评法测定黄连中小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱含量[J]. 中国药学杂志,2009,44(5):390.
- [4] 中国药典.一部[S]. 2010:285.

[责任编辑 仝燕]