

鲜元胡加工炮制一体化工艺正交试验研究

康立¹, 徐建中^{2*}, 俞旭平², 孙乙铭²(1.慈溪市中医医院, 浙江 宁波 315300; 2.浙江省中药研究所, 杭州 310023)

摘要: 目的 研究鲜元胡初加工与炮制结合的一体化加工炮制技术。方法 通过3因素3水平正交试验, 并与传统炮制进行对比, 测定各样品中原阿片碱和延胡索乙素含量。结果 以元胡4 mm鲜切片、在含4.6%醋酸的米醋中减压抽真空放气2次和元胡4 mm鲜切片、干燥至含水量约30%、加入15%鲜元胡质量的米醋充分浸润2种工艺最佳, 均能充分保留延胡索乙素含量, 从而达到炮制的效果。结论 鲜元胡可以直接进行一体化加工和炮制。

关键词: 元胡; 一体化; 加工炮制; 正交试验

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)10-1252-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.10.023

Study on the Orthogonal Test of Concocted Processing Integration in Fresh *Corydalis Rhizoma*

KANG Li¹, XU Jianzhong^{2*}, YU Xuping², SUN Yiming²(1.Cixi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ningbo 315300, China; 2.Zhengjiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the technologies of concocted processing integration in fresh *Corydalis Rhizoma*. **METHODS** The orthogonal test of three factors at three different levels was used. The effective constituents content was determined contrast with the traditional processing. **RESULTS** The two methods of 4 mm slice, 4.6% acetic acid, vacuum pumping for twice and 4 mm slice, about 30% water content after drying, soaking in rice vinegar were optimal process, and can improve the concentration of tetrahydropalmatine and achieve the effect of processing. **CONCLUSION** The study provides the feasibility of concocting processing integration in fresh *Corydalis Rhizoma*.

KEY WORDS: *Corydalis Rhizoma*; integration; processing; orthogonal

延胡索(*Corydalis Rhizoma*)为罂粟科植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)的干燥块茎, 又名元胡, 是常用理气止痛药, 具活血化瘀, 行气止痛功效^[1], 临床常用于胸胁、脘腹疼痛, 经闭痛经, 产后淤阻, 跌打肿痛等症^[2-3]。

目前中医临床上常用的元胡一般为醋制片, 饮片厂家生产时一般采用醋炒或醋煮法。醋炒时一般是将市场上买来的质地坚硬的生元胡用水进行湿润, 切片后再用醋炒。由于炒的温度较高, 容易造成醋的挥发, 使醋很难渗透进元胡片内, 同时高温下也容易造成有效成分的破坏。醋煮炮制时一般用20%醋煮生元胡4~6 h, 再干燥, 由于煮的时间过长, 在长时间的醋煮炮制过程中可能造成有效成分的破坏或流失, 如元胡中季铵碱类水溶性生物碱经长时间醋煮会大量流失。笔者前期研究显示, 加工炮制一体化的延胡索饮片镇痛作用优于传统加工炮制延胡索^[4]。

本研究设计鲜元胡在米醋中进行减压抽真空试验, 在减压抽真空后, 较短时间内使米醋在负

压状态下充分渗透进元胡组织内, 从而达到炮制的目的。由于与醋酸接触时间较短, 不至于使生物碱成分溶解, 或者将半干后的元胡鲜切片浸润在米醋中。初步开展的试验结果^[5]表明, 上述2种工艺制作的醋元胡片质量均优于传统炮制元胡片。在上述初步试验的基础上, 分别对上述2种一体化加工炮制工艺的技术参数进行优化, 即在米醋中减压抽真空工艺中分别设置切片厚度、醋酸浓度和抽真空与放气次数3个因素及水平, 在切片干燥后米醋浸润工艺中分别设置切片厚度、米醋浸润前切片含水量和米醋用量3个因素及水平。分别开展3因素3水平正交试验, 并与传统加工炮制的元胡饮片进行质量对比研究, 比较各种方法所得元胡饮片质量的差异性, 筛选出优于传统加工炮制工艺的元胡加工炮制一体化技术。

1 材料与仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪及 Agilent 化学工作站, DAD 检测器(美国 Agilent 公司); 循环水式多用真空泵(河南省太康科教器材厂); 去离子

基金项目: 浙江省重大科技专项(2008C13035-1)

作者简介: 康立, 男, 硕士, 主管中药师 Tel: (0574)63976640
(0571)85229563 E-mail: xxjz61@sohu.com

E-mail: 41168904@qq.com *通信作者: 徐建中, 男, 高工 Tel:

水;乙醇(分析纯);三乙胺(分析纯);乙腈(色谱纯,天津四友精细化工);延胡索乙素(批号:110726-201011,含量>98%)、原阿片碱(批号:110853-200402)、盐酸小檗碱(批号:110713-200911)均购自中国药品生物制品检定所。本实验所用的新鲜元胡来自于浙江磐安县,经浙江省中药研究所徐建中高级工程师鉴定为罂粟科植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)的成熟块茎。

2 方法与结果

2.1 加工炮制方法

2.1.1 米醋中减压抽真空法 在室温下取同批大小均匀的鲜元胡(2.0 kg),将元胡鲜切片后分别放在质量比为1:1的不同醋酸含量米醋中减压抽真空,在2~3 min内真空度达到-0.095~-0.1 MPa时再缓慢放气,2 min内恢复常压。设置切片厚度、醋酸含量和抽真空与放气次数三因素三水平进行正交实验,因素水平表见表1。

表1 鲜切片在醋中减压抽真空正交试验因素水平表

Tab. 1 The levels and factors of orthogonal test for about vacuum force technology test in rice vinegar

水平	因素		
	切片厚度/mm	醋酸含量/%	抽真空与放气次数/次
1	3	3.5	1
2	4	4.6	2
3	5	5.8	3

2.1.2 切片干燥后醋浸润法 在室温下取同批大小均匀的鲜元胡(2.0 kg),设置切片厚度、米醋浸润前切片含水量和米醋用量3因素3水平进行正交实验,因素水平表见表2。浸润时按加工前鲜元胡质量百分比折算成需添加的米醋用量,将元胡鲜切片后70℃热风条件下烘至不同含水量,用与鲜元胡质量比为1:1的米醋充分浸润。

表2 鲜切片干燥后米醋浸润正交试验因素水平表

Tab. 2 The levels of factors of orthogonal test about soaking test in rice vinegar

水平	因素		
	切片厚度/mm	醋浸润前切片含水量/%	加米醋量/%(按鲜品计算)
1	3	45	5.0
2	4	30	10.0
3	5	15	15.0

2.1.3 传统加工炮制法 按中国药典2010年版一部延胡索项下的内容进行加工炮制。

2.2 元胡中延胡索乙素和原阿片碱含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱为伊利特公司 Hypersil ODS2 C₁₈分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.3%三乙胺溶液(B)(用乙酸调pH至6.0),采用梯度洗脱,流动相A为0~8 min,10%~13%;8~25 min,13%~35%;20~50 min,35%~65%;50~53 min,65%~95%;53~63 min,95%;63~66 min,95%~10%;66~80 min,10%,总分析时间为80 min。理论板数按延胡索乙素和原阿片碱峰计算应≥3 000。流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:280 nm;柱温:38℃;进样量:10 μL。理论板数按延胡索乙素峰计算应≥3 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称定延胡索乙素和原阿片碱样品适量,乙腈溶解并稀释,配成每1 mL含58 μg延胡索乙素和原阿片碱0.124 mg的标准溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约1.0 g,精密称定,置平底烧瓶中,精密加入70%乙醇溶液50 mL,称定重量,冷浸1 h,加热回流2 h,放冷,再称定重量,用70%乙醇溶液补足减失重量,摇匀,滤过。精密吸取续滤液30 mL,蒸干,残渣用流动相溶解,转移至10 mL量瓶,稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系的考察 精密吸取该对照品溶液2, 4, 6, 8, 10, 20, 30 μL,按“2.2.1”项下色谱条件测定峰面积,分别以峰面积为纵座标(Y),对照品进样量为横座标(X),绘制标准曲线,并计算回归方程,延胡索乙素回归方程为 $Y=907.503 3X+0.002 612 7$,相关系数 $r=0.999 9$,线性范围为0.116~1.74 μg。原阿片碱回归方程为 $Y=755.128 4X+0.617 71$,相关系数 $r=0.999 7$,线性范围:0.248~3.72 μg。混合对照品和元胡样品的色谱图见图1。

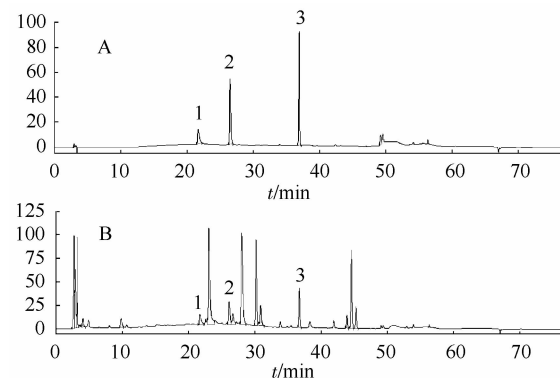


图1 高效液相色谱图

A-混合对照品; B-元胡样品; 1-原阿片碱对照品峰; 2-盐酸小檗碱对照品峰; 3-延胡索乙素对照品峰。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-mixture standard solution; B-sample solution; 1-standard of protopine; 2-standard of berberine; 3-standard of tetrahydropalmatine.

2.2.5 仪器精密度试验 精密吸取含延胡索乙素和原阿片碱的对照品溶液，重复进样 5 次，每次 10 μL ，考察测定的精密度，延胡索乙素峰面积 RSD 为 0.361 1%，原阿片碱峰面积 RSD 为 0.581 2%。

2.2.6 稳定性试验 取同一对照品溶液，室温下放置，分别在 0, 12, 24, 96 h 进样 10 μL 测定，延胡索乙素峰面积 RSD 为 0.531 6%，原阿片碱峰面积 RSD 为 0.622 8%，表明对照品溶液在室温下比较稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批号的元胡 6 份，按“2.2.1”项下色谱条件测定延胡索乙素、原阿片碱含量，样品延胡索乙素含量分别为 0.085 7%，0.085 2%，0.088 5%，0.087 5%，0.089 3%，0.091 7%，RSD 为 2.75%；原阿片碱含量为 0.052 4%，0.051 9%，0.053 4%，0.054 9%，0.055 3%，0.054 6%，RSD 为 2.63%，表明该方法重复性较好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的元胡样品，分别添加延胡索乙素和原阿片碱对照品后，按“2.2.1”项下色谱条件进行测定，结果分别见表 3 和表 4。

表 3 延胡索乙素加样回收率结果

Tab. 3 Result of tetrahydropalmatine recovery test

样品	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	RSD/ %
1	0.338 5	0.29	0.614 1	95.05	97.10	2.18
2	0.337 9	0.29	0.613 3	94.96		
3	0.341 2	0.29	0.619 6	96.01		
4	0.340 4	0.29	0.628 1	99.24		
5	0.340 6	0.29	0.630 8	99.89		
6	0.338 8	0.29	0.621 4	97.44		

表 4 原阿片碱加样回收率结果

Tab. 4 Result of protopine recovery test

样品	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %	RSD/ %
1	0.237 5	0.17	0.415 1	104.49	100.93	3.49
2	0.232 0	0.17	0.411 0	105.31		
3	0.238 4	0.17	0.401 7	96.01		
4	0.232 1	0.17	0.404 5	101.37		
5	0.232 5	0.17	0.400 6	98.92		
6	0.232 1	0.17	0.401 1	99.39		

2.3 正交试验结果与分析

2.3.1 元胡鲜切片减压抽真空正交试验结果 元胡鲜切片减压抽真空不同正交处理条件下的原阿

片碱含量均较传统加工炮制的方法高，增加幅度为 0.49%~11.54%，而延胡索乙素含量也均较传统炮制的高，增加幅度在 34.79%~49.36%之间，可见采用减压抽真空措施，在较短时间内使米醋在负压状态下充分渗透进元胡组织内，能达到炮制的目的。由于与醋酸接触时间较短，不至于使生物碱成分溶解，因此减少了延胡索乙素的流失，从而间接提高了其含量。结果见表 5。

表 5 元胡鲜切片减压抽真空正交试验结果表(n=2)

Tab. 5 Results of orthogonal test about vacuum force technology test(n=2)

处理序号	原阿片碱/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/ %	延胡索乙素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/ %
1	0.537 5	1.05	1.2573	0.81
2	0.530 2	1.51	1.2821	0.91
3	0.535 5	1.96	1.1821	2.06
4	0.485 1	2.40	1.2210	2.34
5	0.526 1	3.14	1.1571	2.46
6	0.486 1	2.03	1.2020	1.31
7	0.522 9	2.06	1.2595	1.84
8	0.525 1	2.53	1.2163	1.54
9	0.484 3	2.69	1.2626	2.07
传统加工 炮制	0.481 9	3.41	0.8584	0.63

对其各处理间结果进行方差分析，表明差异不显著。因此采用延胡索乙素含量最高的处理序号 2 作为验证，以验证试验结果的可靠性。验证结果显示，以元胡鲜切片厚度为 4 mm，在含 4.6% 醋酸的米醋中减压抽真空与放气 2 次即能保留延胡索乙素含量，从而达到炮制的效果。结果见表 6。

表 6 元胡减压抽真空正交试验验证表(n=3)

Tab. 6 Result of orthogonal test about vacuum verified test(n=3)

验证	原阿片碱/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	延胡索乙素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
验证 1	0.504 9	1.26	1.202 6	1.50
验证 2	0.480 5	1.35	1.253 1	0.71

2.3.1 元胡鲜切片干燥后醋浸润正交试验结果 元胡鲜切片干燥后醋浸润处理的原阿片碱含量均较传统加工炮制的元胡高，增加幅度不多，而延胡索乙素含量也均较传统炮制的高，增加幅度在 32.70%~43.92%之间，可见采用鲜切片干燥失去部分水份后直接醋浸润能大大减少延胡索乙素的流失，从而提高其含量，结果见表 7。

表 7 元胡鲜切片干燥后醋浸润正交试验结果($n=2$)

Tab. 7 Result of orthogonal test about soaking test in rice vinegar($n=2$)

处理序号	原阿片碱/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	延胡索乙素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
1	0.499 9	3.05	1.212 7	1.01
2	0.480 6	2.98	1.191 8	2.00
3	0.487 5	1.40	1.139 1	0.54
4	0.524 3	2.23	1.204 5	1.45
5	0.523 3	1.62	1.235 4	0.50
6	0.523 9	1.57	1.188 3	0.73
7	0.477 8	1.68	1.139 2	2.22
8	0.497 9	2.36	1.191 4	1.78
9	0.548 1	1.39	1.154 5	1.87
传统加工炮制	0.481 9	1.56	0.858 4	1.20

对其各处理间结果进行方差分析,表明差异不显著。因此采用延胡索乙素含量最高的处理序号 5 作为验证,以验证试验结果的可靠性。验证结果显示,元胡鲜切片以 4 mm、干燥至含水量 30% 左右、加入 15% 鲜元胡质量的米醋并充分浸润(约需 2.0 h)即能充分保留延胡索乙素含量,从而达到炮制的效果。结果见表 8。

表 8 元胡鲜切片干燥后醋浸润正交试验验证表($n=3$)

Tab. 8 Result of orthogonal test about soaking verified test($n=3$)

验证	原阿片碱/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	延胡索乙素/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
验证 1	0.477 8	2.42	1.134 6	1.90
验证 2	0.460 0	2.69	1.181 4	1.79

3 讨论

曾开展用甲醇+氨水、甲醇、95%乙醇和 70%乙醇等溶剂进行热回流提取试验,结果表明以 70%乙醇提取所得各组分较完全。通过不同提取时间(1, 2, 3, 4 h)的比较试验表明,2 h 各成分基本提取完全。按中国药典 2010 年版的方法,流动相为甲醇-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0),原阿片碱、延胡索乙素与其他成分不能很好的分离,

用不同比例的乙腈-0.3%三乙胺溶液实验,原阿片碱和延胡索乙素与其他成分分离度较好。曾用 4 种不同 pH 值(pH 值为 5.75, 6.0, 6.2, 7.0)考察延胡索乙素与其他成分的分离,结果仍以 6.0 为好。

实验结果表明,鲜元胡一体化加工炮制工艺以鲜元胡米醋中减压抽真空最佳,即以 4 mm 元胡鲜切片、在含 4.6%醋酸的米醋中减压抽真空排气 2 次;其次是鲜元胡干燥醋浸工艺,即以 4 mm 元胡鲜切片、干燥至含水量 30%左右、加入 15%鲜元胡质量的米醋充分浸润(约需 2.0 h),上述 2 种工艺均能减少延胡索乙素的流失,从而提高其含量。

目前市场元胡饮片质量参差不齐,因此将产地药材进行产地一体化加工炮制显得十分必要。一体化加工还可减少中间储藏环节,避免因贮藏造成的中药材质量下降和损耗。同时还减少了中间的加工环节,不需要重复建设仓库,省去原来必要的厂房、设备等方面的投入,减少人力资源和能源的消耗。本实验为中药材生产企业降低中药材加工成本,减少能源消耗,增加企业效益提供了帮助^[6]。

REFERENCES

- [1] LIU Q, HUANG X, JING J L, et al. Comparison of products from *Corydalis Rhizama* and *Angelica Dahuricae Radix* with different extraction methods on active components and analgesic effects [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(5): 415-418.
- [2] Ch. P(2010). Vol I (中国药典 2010 版.一部) [S]. 2010: 130.
- [3] XIAO L, HOU J J, NIE J, et al. Study on the featureprints of Yuanhuzhitong series preparations by LC-MS [J]. *Chin J Hosp Pharm*(中国医院药学杂志), 2012, 32(8): 574-579.
- [4] YANG Y, SUN Y M, XU J Z, et al. Comparison of analgesic effect of *Corydalis yanhusuo* decoction pieces by processing integration and traditional processing [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2013, 30(10): 1074-1077.
- [5] XU J Z, SUN Y M, YU X P, et al. Study on the orthogonal test of *Yanhusuo* producing and concocting integration processing [J] *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2011, 36(18): 2484-2488.
- [6] YANG J J, ZANG Z L. Study on the relationship between the processing of Chinese traditional medicinal crops in the producing area and the processing of Chinese traditional medicine [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2005, 16(9): 817-818.

收稿日期: 2014-01-02