

论著·中药研究

延胡索炮制工艺规范化研究*

王萍, 窦志英, 孙巍, 曹柳, 周悦正, 万琴

摘要: [目的] 优选延胡索的最佳炮制工艺, 为规范延胡索的炮制工艺提供技术参数。 [方法] 采用正交实验法, 以延胡索乙素、去氢紫堇碱的含量为考察指标, 对破碎度、辅料用量、拌润时间、炒制温度(或加水量)等影响因素进行研究。 [结果] 延胡索的最佳醋炙工艺为破碎粒度 0.4 ~ 0.5 cm, 加醋 40%, 拌润 2 h, 炒温 150 ℃; 最佳酒炙工艺为破碎粒度 0.4 ~ 0.5 cm, 加酒 20%, 拌润 6 h, 炒温 120 ℃; 最佳醋煮工艺为破碎粒度 0.2 ~ 0.3 cm, 加醋 20%, 拌润 4 h, 加水量 80% ~ 120%。 [结论] 这 3 种方法简单, 稳定, 重现性良好, 对实现延胡索炮制的规范化具有积极意义。

关键词: 延胡索; 延胡索乙素; 去氢紫堇碱; 高效液相色谱法; 炮制工艺; 正交实验

中图分类号: R541.61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-9043(2009)01-0027-03

Study on processing techniques of Corydalis

WANG Ping, DOU Zhi-ying, SUN Wei, et al

(Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] To choose the most suitable processing conditions for Corydalis and to provide a standard processing procedure. [Methods] Orthogonal design was adopted to optimize the processing methods. The content of Tetrahydropalmatine and Dehydrocorydaline were the evaluation indexes. [Results] The optimized conditions of vinegar-fried Corydalis were fragmenting to 0.4 ~ 0.5 cm, adding the vinegar quality ratio of 40%, mixing run for 2 hours and frying at the temperature of 150 ℃; The optimized conditions of liquor-fried Corydalis were fragmenting to 0.4 ~ 0.5 cm, adding the liquor quality ratio of 20%, mixing run for 6 hours, and frying at the temperature of 120 ℃; The optimized conditions of vinegar-sauted Corydalis were fragmenting to 0.2 ~ 0.3 cm, adding the vinegar quality ratio of 20% and the water ratio of 80% ~ 120% and mixing run for 2 hours. [Conclusion] This three methods are reliable, simple, and have a good repeatability, there are positive meanings for Corydalis standardization.

Key words: corydalis; tetrahydropalmatine; dehydrocorydaline; HPLC; processing technology; orthogonal design

延胡索为罂粟科植物 (*Corydalis yanhusuo* W.T. Wang) 干燥块茎。具有活血化瘀, 行气止痛功效。历代对延胡索的炮制有研究生用、炒醋炙、酒炙、醋煮、盐炙等, 现多采用醋炙、醋煮法, 部分地区用酒炙和盐炙等。2005 版《中国药典》^[1] 载有生延胡索和醋延胡索。延胡索的炮制工艺在全国范围很不统一, 2005 版《中国药典》和各地中药炮制规范中对炮制过程中破碎度、用醋量、拌润时间、炒制温度等都

未有明确量化规定, 饮片加工企业也缺乏客观的技术参数作依据, 难以保证饮片质量和药效的相对稳定。因此, 本研究拟采用正交实验对破碎度、辅料用量、拌润时间、炒制温度等因素进行考察, 因延胡索乙素具有明显的止痛作用, 去氢紫堇碱可提高心肌耐缺氧能力, 故以延胡索乙素、去氢紫堇碱的含量为指标, 采用加权法进行综合评价, 比单一以延胡索乙素作评价指标^[2] 更科学合理, 从而制订出统一的炮制工艺技术参数, 确立最佳炮制方案。

1 仪器与试药

美国 Waters-2695 型高效液相色谱仪, Waters-2487 检测器, Empower 工作站, 超声波清洗器 KQ-250E (昆山市超声洗器有限公司); 延胡索乙素 (批

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (30672664), 天津市高等学校科技发展基金项目 (20040309)。

作者单位: 300193 天津中医药大学。

作者简介: 王萍 (1981-), 女, 2006 级硕士, 主要从事中药药代动力学研究。

号:0726-200208)(中国药品生物制品检定所提供)、去氢紫堇碱(批号:046-29541)(日本和光纯药工业株式会社);延胡索药材,产地为浙江,购于中新药业,经本校中药鉴定教研室马琳副教授鉴定为罂粟科植物延胡索的干燥块茎。甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 正交实验法优选醋炙、酒炙、醋煮延胡索炮制工艺 选用L18(37)因素水平表,以延胡索乙素、去氢紫堇碱含量为指标,结合实际生产选择破碎度、用醋量、拌润时间、炒制温度为考察因素,进行醋炙、酒炙、醋煮工艺考察,各因素水平表见表1、2。

表1 醋炙、酒炙延胡索正交实验因素和水平表

水平	破碎度(cm)	辅料用量(%)	拌润时间(h)	炒制温度(°C)
1	a(0.2~0.3)	10	2	80
2	b(0.4~0.5)	20	4	120
3	c(0.6~0.7)	40	6	150

表2 醋煮延胡索正交实验因素和水平表

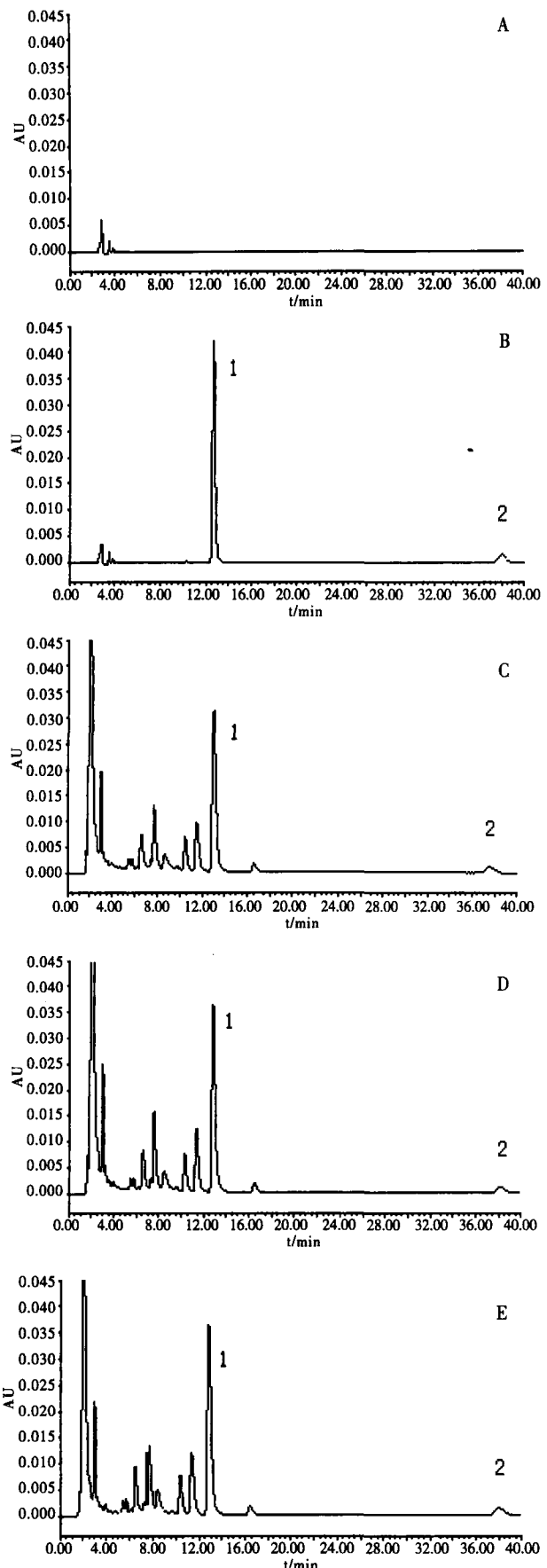
水平	破碎度(cm)	辅料用量(%)	拌润时间(h)	加水量(%)
1	a(0.2~0.3)	10	2	80
2	b(0.4~0.5)	20	4	120
3	c(0.6~0.7)	40	6	160

2.2 醋炙、酒炙、醋煮延胡索中延胡索乙素和去氢紫堇碱含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性实验 色谱柱:Kromasil ODS C18柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相:乙腈—醋酸盐缓冲液(1%醋酸溶液,三乙胺调pH 6.0)(30:70);检测波长:280 nm;流速:1 mL/min;柱温:35 °C。在此条件下,理论塔板数按延胡索乙素峰和去氢紫堇碱峰计算均不低于6 000。空白溶剂色谱图中在与延胡索乙素、去氢紫堇碱色谱峰相应位置上无峰,说明此系统条件无干扰。空白对照、混合对照品及各供试品色谱图见图1。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取去氢紫堇碱对照品4.97 mg,置5 mL量瓶中,延胡索乙素对照品3.58 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,再分别吸取去氢紫堇碱、延胡索乙素对照品溶液各1 mL于同一25 mL量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,制成去氢紫堇碱为0.039 76 g/L、延胡索乙素为0.014 32 g/L的混合对照品储备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 净延胡索粉碎,过60目筛,于80 °C烘箱中干燥2 h,取出放凉备用。精密称取0.25 g,精密加水25 mL,称质量,超声提取45 min,混



A-空白对照 B-混合对照品 C-醋炙延胡索 D-酒炙延胡索 E-醋煮延胡索 1-去氢紫堇碱 2-延胡索乙素

图1 HPLC 色谱图

匀,放冷,称质量补足减失的质量,过滤(0.45 μm),取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液,以甲醇稀释成浓度分别为:去氢紫堇碱 0.039 76、0.031 81、0.023 86、0.015 90、0.007 95、0.001 99 g/L,延胡索乙素 0.014 32、0.011 46、0.008 59、0.005 73、0.002 86、0.000 72 g/L。吸取 10 μL 注入高效液相色谱仪,测定峰面积。以进样量为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线。去氢紫堇碱的回归方程: $Y=4.02 \times 10^6 X - 7.09 \times 10^3$, $r=0.999 9$, 线性范围:0.019 9~0.397 6 μg。延胡索乙素的回归方程: $Y=1.10 \times 10^6 X - 3.98 \times 10^3$, $r=0.999 8$, 线性范围:0.007 2~0.143 2 μg。

2.2.5 精密度实验 精密吸取供试品溶液,重复进样 6 次,测得去氢紫堇碱峰面积(RSD)=1.3%,延胡索乙素峰面积 RSD=1.5%,表明精密度良好。

2.2.6 稳定性实验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h 进样测定,测得去氢紫堇碱峰面积 RSD=2.7%,延胡索乙素峰面积 RSD=2.9%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.7 重现性实验 取同一批号样品,按照供试品溶液的制备方法,平行制备 6 份供试品溶液,测得去氢紫堇碱峰面积 RSD=1.4%、延胡索乙素峰面积 RSD=1.6%,结果表明本方法重现性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取 6 份已测知含量的样品各 0.125 g,添加各对照品溶液适量,按供试品溶液的制备方法操作,测得去氢紫堇碱、延胡索乙素平均加样回收率分别为 99.23%、99.47%,RSD 为 1.1%、0.5%。结果见表 3。

2.2.9 样品含量测定 按“2.2.3 供试品溶液的制备”项下方法制备醋炙、酒炙、醋煮延胡索正交实验样品。 $Z=100X \times 35\% / X_{max} + 100Y \times 65\% / Y_{max}$ 计算样品的相对含量作为评分标准,评价不同炮制品质量,Z 为计算出的样品相对含量,X 为去氢紫堇碱的含量(权重 35%),Y 为延胡索乙素的含量(权重 65%), X_{max} 、 Y_{max} 分别为两者的含量最大值(mg/g)。

正交实验的直观结果表明,醋炙延胡索的最佳工艺(A₂B₃C₁D₃):破碎粒度为 0.4~0.5 cm,加醋 40%,拌润 2 h,炒温 150℃;影响因素依次为破碎度>辅料用量>拌润时间>炒制温度。酒炙延胡索的最佳工艺(A₂B₂C₃D₂):破碎粒度为 0.4~0.5 cm,加酒 20%,拌润 6 h,炒温为 120℃;影响因素依次为拌润

时间>破碎度>辅料用量>炒制温度。醋煮延胡索的最佳工艺(A₁B₂C₂D₁或 A₁B₂C₂D₂):破碎粒度为 0.2~0.3 cm,加醋 20%,拌润 4 h,加水量为 80%~120%;影响因素依次为破碎度>辅料用量>加水量>拌润时间。

2.3 醋炙、酒炙、醋煮延胡索炮制工艺验证 分别按筛选出的醋炙、酒炙、醋煮延胡索的最佳工艺条件,分别平行炮制 3 份,进行含量测定,醋炙、酒炙、醋煮延胡索的 RSD 分别为 0.23%、0.41%、0.80%。结果表明优选的工艺条件比较稳定可行。

表 3 回收率试验结果(n=6)

样品中成分	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
去氢紫堇碱	0.167	0.168	0.334	99.41	99.23	1.1
	0.166	0.168	0.335	100.15		
	0.170	0.168	0.336	98.22		
	0.165	0.168	0.334	100.59		
	0.172	0.168	0.336	97.92		
	0.170	0.168	0.337	99.11		
延胡索乙素	0.061	0.055	0.116	99.55	99.47	0.5
	0.060	0.055	0.115	99.10		
	0.062	0.055	0.117	99.10		
	0.060	0.055	0.115	99.10		
	0.062	0.055	0.118	100.00		
	0.062	0.055	0.117	100.00		

3 讨论

本研究进行了延胡索醋炙、酒炙、醋煮工艺的优选,每 1 种炮制方法的工艺参数基本确定,3 种炮制方法比较,以醋煮法、醋炙法中延胡索乙素和去氢紫堇碱药效成分的含量较高,原因是延胡索中生物碱类药效成分与醋酸结合成盐,利于生物碱的溶出;醋煮延胡索中延胡索乙素和去氢紫堇碱含量比醋炙延胡索略高,可能是因为延胡索呈角质样,醋煮更有利于延胡索中生物碱与醋酸的结合。酒作为良好的有机溶媒,对延胡索中生物碱的溶出也有利,但测定结果表明酒炙延胡索中延胡索乙素和去氢紫堇碱含量低于醋炙延胡索和醋煮延胡索。因此以延胡索乙素和去氢紫堇碱为评价指标,醋煮法较优于醋炙法和酒炙法。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,2005:94-95.
- [2] 马家骅,杨明,许润春,等.醋延胡索炮制工艺的研究[J].中草药,2005,36(11):1657-1659.

(收稿日期:2008-10-22)