

姜半夏产地加工炮制一体化方法及工艺研究

梁君, 刘小鸣, 张振凌*, 沈莎莎, 吴瑞环

河南中医学院, 河南 郑州 450008

摘要: 目的 对姜半夏产地加工炮制一体化方法和工艺进行客观评价和优化。方法 以草酸钙针晶质量分数为指标筛选加姜方式和加热方法, 以草酸钙针晶质量分数、水溶性浸出物得率及白矾残留量为指标, 采用正交设计法和综合评分法优选鲜半夏的炮制工艺。结果 优选出的炮制方法及工艺为每 100 g 鲜半夏, 加白矾 10 g、生姜(捣烂) 20 g, 共同加热至沸腾 30 min 后浸泡 3 d, 再以 120 °C 加压蒸煮 40 min, 清水洗净, 晾干, 切片后干燥。结论 优选的姜半夏产地加工炮制一体化方法和工艺降低刺激性毒性成分草酸钙针晶质量分数, 提高饮片质量。

关键词: 半夏; 姜半夏; 产地加工炮制一体化; 炮制工艺; 草酸钙针晶; 白矾残留量; 正交设计

中图分类号: R283.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)09-1302-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.09.009

Study on processing of origin integration method and technology of *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine*

LIANG Jun, LIU Xiao-ming, ZHANG Zhen-ling, SHEN Sha-sha, WU Rui-huan

Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China

Abstract: Objective To evaluate and optimize the origin integration method and process of *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine* (PRPZA). **Methods** Taking the content of calcium oxalate crystal as an index to screen the way of adding ginger and heating method, taking the content of calcium oxalate crystal, the content of water-soluble extracts, and amount of alum residue as the indexes, with the method of orthogonal design and the comprehensive scoring to optimize the processing technology of fresh *Pinelliae Rhizoma*. **Results** The optimized processing method and technology was for per 100 g fresh *Pinelliae Rhizoma*, plus alum 10 g, mashed ginger 20 g, the common heating to boil after 30 min, soaking for 3 d, and then to 120 °C pressure cooking 40 min, rinsing to semi dry, being sliced and dried. **Conclusion** The selected origin integration method and technology could not only reduces the content irritant toxic components of calcium oxalate crystal, also avoids the losses of active ingredients, and improve the quality of decoction pieces.

Key words: *Pinelliae Rhizoma*; *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine*; origin integration; processing technology; calcium oxalate crystal; alum residual amount; orthogonal design

半夏 *Pinelliae Rhizoma* 为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 是临床常用的中药, 有毒。半夏生品的毒性主要表现为刺激性毒性, 半夏中所含的针晶是半夏的刺激性成分之一, 而且确证了生半夏的刺激性来自于半夏中所含有的特殊晶形的草酸钙针晶^[1]。对毒针晶的化学组成研究显示毒针晶中均含有蛋白类成分^[2], 具有显著的致炎作用, 且经过炮制后针晶刺激性显著下降^[3]。2010年版《中国药典》记载其产地加工方法

是除去外皮和须根, 晒干。日晒至干燥时间较长, 而且容易腐烂、变质。但在姜半夏 *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine* 炮制过程中存在经水处理又重复干燥的过程, 势必会损失其中的有效成分的量。本研究直接对鲜半夏进行产地加工炮制, 以草酸钙针晶质量分数、水溶性浸出物得率及白矾残留量为指标, 设计和优选姜半夏的产地加工炮制一体化方法和工艺。不仅避免因为复杂的加工炮制造成的中药材损耗和质量下降, 同时还能

收稿日期: 2014-12-17

基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项——全国中药炮制技术规范研究(201207004-8)

作者简介: 梁君(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药饮片及新药研发。Tel: 13623863036 E-mail: liangj3036@163.com

*通信作者 张振凌(1957—), 女, 教授, 从事中药饮片及新药研究。Tel: (0371)65680970 E-mail: zhangz6758@163.com

减少人力资源和能源的消耗, 加快饮片上市时间, 达到降低中药材加工成本和提高中药饮片质量的目的。

1 仪器与材料

岛津 LC-20AT 高效液相色谱分析仪, 岛津企业管理有限公司; LZDX-75KB 立式压力蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; BS224S 型电子天平, 北京塞多利斯仪器系统有限公司; TGL-16gR 台式离心机, 上海安亭科学仪器厂; PHs-3c 型精密 pH 计, 上海雷磁分析仪器有限公司; 高速万能粉碎机, 北京中兴伟业仪器有限公司; 恒温培养振荡器, 天津欧诺仪器仪表公司。

草酸 ($H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$) 对照品, 北京化工厂, 批号 120915; 磷酸二氢钾, 广州化学试剂厂, 批号 910310-3; 10% 四丁基氢氧化铵, 天津市光复精细化工研究所; 甲醇, 天津四友精细化学品有限公司; 磷酸、硫酸锌, 天津市登科化学试剂有限公司; 盐酸, 烟台市双双化工有限公司; 乙二醇四乙酸二钠, 天津市凯通化学试剂有限公司; 水为纯水。

半夏鲜品由郑州瑞龙制药股份有限公司提供, 经河南中医学院陈随清教授鉴定为天南星科植物半

夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的块茎。

雄性新西兰兔, 清洁级, 许可证号 SCXK 鲁 20B0001。

2 方法与结果

2.1 半夏产地加工炮制一体化方法的考察

为使炮制后姜半夏的刺激性毒性最大程度地降低, 以口尝麻舌感及草酸钙针晶质量分数为指标筛选鲜半夏的炮制方法, 草酸钙针晶定量测定方法见“2.2.1”项。

2.1.1 生姜用量的考察 采用不同的生姜(煎汤)用量对鲜半夏进行炮制, 平行 3 次, 测定草酸钙针晶质量分数, 结果见表 1。实验结果表明, 生姜用量为 4、6 g 对草酸钙针晶质量分数影响很小, 为经济考虑选择用生姜 4 g。

2.1.2 加姜方式的考察 采用生姜煎汤、生姜榨汁、生姜捣烂等不同的加姜方式对鲜半夏进行炮制, 平行 3 次, 测定草酸钙针晶质量分数, 结果见表 2。实验结果表明, 生姜加入方式可影响草酸钙针晶质量分数, 以生姜捣烂的方式加入比较好。

2.1.3 不同加热方法的比较 采用常压煮、中低火

表 1 生姜用量的比较

Table 1 Comparison on amount of ginger

生姜用量/g	样品质量/g	白矾用量/g	加水量/mL	加热时间/h	口尝结果	草酸钙针晶/%
2	20	1.6	20	4	麻舌感	1.573 2
4	20	1.6	20	4	麻舌感	1.244 3
6	20	1.6	20	4	麻舌感	1.236 1

表 2 不同加姜方式的比较

Table 2 Comparison on adding ginger by different methods

加姜方式	样品质量/g	生姜用量/g	白矾用量/g	加水量/mL	加热时间/h	口尝结果	草酸钙针晶/%
生姜煎汤	20	4	1.6	20	4	麻舌感	1.261 2
生姜榨汁	20	4	1.6	20	4	麻舌感	1.340 9
生姜捣烂	20	4	1.6	20	4	稍麻舌感	1.157 5

微波煮、120 °C 加压蒸煮等不同的加热方法对鲜半夏进行炮制, 平行 3 次, 测定草酸钙针晶质量分数, 结果见表 3。实验结果表明, 常压煮 4 h 与加压蒸 0.5 h 效果相当, 但鲜半夏煮 4 h 容易煮烂, 考虑采用加压方法以节省时间; 直接对鲜半夏的的块茎进行加压, 表面有白矾析出, 不易渗入药材内部, 考虑加压前浸泡。

2.1.4 浸泡前处理方法的比较 鲜半夏质地坚硬, 单纯的浸泡效果可能不太明显, 为使辅料能更多地渗入药材内部, 浸泡前对鲜半夏进行不同方法处理,

浸泡 1 d, 再进行加压炮制, 平行 3 次, 测定草酸钙针晶质量分数, 结果见表 4。实验结果表明, 加压前煮沸 0.5 h 与煮沸 1 h 的结果差异不明显, 为经济考虑常压煮沸 0.5 h 即可。

2.2 半夏产地加工炮制一体化工艺的优选

2.2.1 草酸钙针晶质量分数的定量测定

(1) 色谱条件: 色谱柱为 SymmetryShield RP₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为磷酸二氢钾-10% 四丁基氢氧化铵 (pH 2.0) - 甲醇 (92 : 8), 体积流量 0.6 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温 30 °C,

表 3 不同加热方法的比较

Table 3 Comparison on different heating methods

加热方法	样品质量/g	生姜用量/g	白矾用量/g	加水量/mL	加热温度/°C	加热时间/h	口尝结果	草酸钙针晶/%
常压煮	20	4	0	20	100	4.0	强烈麻舌感	1.633 8
常压煮	20	4	1.6	20	100	4.0	稍麻舌感	1.157 5
常压蒸煮	20	4	1.6	20	100	0.5	麻舌感	1.356 7
加压蒸煮	20	4	1.6	20	120	0.5	稍麻舌感	1.105 0
微波煮	20	4	1.6	20	中低火	0.5	麻舌感	1.423 2

表 4 浸泡前处理方法的比较

Table 4 Comparison on pretreatment methods of immersion

样品质量/g	生姜用量/g	加水量/mL	白矾用量/g	浸泡前处理方法	加压温度/°C	加压时间/h	口尝结果	草酸钙针晶/%
20	4	20	1.6	未处理	120	/	稍麻舌感	1.103 0
20	4	20	1.6	煮至沸	120	0.5	微麻舌感	0.756 2
20	4	20	1.6	煮沸 0.5 h	120	0.5	微麻舌感	0.674 0
20	4	20	1.6	煮沸 1 h	120	0.5	微麻舌感	0.696 3

进样量 5 μL。

(2) 对照品溶液的制备：精密称取草酸对照品 13.95 mg，置于 50 mL 量瓶中，纯水定容至刻度，摇匀。吸取 2 mL，定容至 10 mL 量瓶中，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，备用。

(3) 供试品溶液的制备^[4]：精密称取半夏样品粉末 0.1 g (50 目)，置 10 mL 离心管中，加入 3 mL 纯水混匀，振荡 5 min，然后置 60 °C 水浴加热并搅拌 10 min，5 000 r/min 离心 8 min，残渣加 60 °C 热纯水 2 mL，洗涤 2 次，同上混匀离心，弃去上清液，在药材残渣中加 0.2 mL HCl (1 : 1) 溶液及 2.0 mL 纯水混匀，置 70 °C 水浴中 10 min，不断搅拌，离心，吸取上清液，残渣用 0.1 mol/L HCl 同上法处理 2 次，每次 2 mL，离心，合并上清液，置 10 mL 量瓶中，纯水定容至刻度，用 0.45 μm 微孔滤膜滤过，

备用。

(4) 线性关系考察：精密吸取草酸对照品溶液 2、4、6、8、10、12、16、20 μL，按上述色谱条件分别重复进样，测定峰面积，以对照品进样量为横坐标 (X)，色谱峰面积平均积分值为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线，进行线性回归，得回归方程为 $Y=684\ 704.921\ 0X-5\ 942.420\ 0$ ， $r=0.999\ 6$ ，结果表明草酸在 0.08~0.80 μg 线性关系良好。

(5) 样品定量测定：分别精密吸取各供试品溶液 5 μL 注入液相色谱仪，按上述色谱条件测定草酸峰面积，根据回归曲线计算草酸的量，并计算草酸钙针晶的质量分数。草酸基准试剂相对分子质量为 126，草酸钙针晶的相对分子质量为 146，按此换算成草酸钙针晶质量分数，即草酸钙针晶质量分数 = 草酸质量分数 × 146/126。色谱图见图 1。

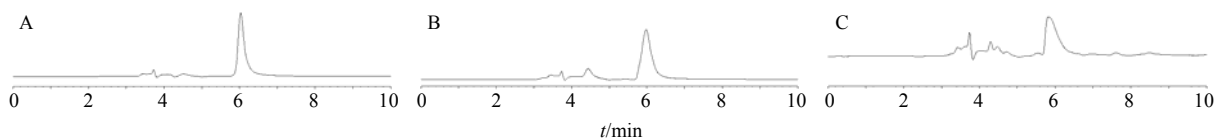


图 1 草酸对照品 (A)、生半夏 (B) 和姜半夏 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of oxalic acid reference substance (A), raw *Pinelliae Rhizoma* (B), and *Pinelliae Rhizoma Praeparatum cum Zingibere et Alumine* (C)

2.2.2 水溶性浸出物测定^[5] 按《中国药典》2010 年版附录水浸出物测定项下的冷浸法测定。

2.2.3 白矾残留量测定^[5] 按《中国药典》2010 年版清半夏项下白矾残留量测定方法测定。

2.2.4 正交试验优化姜半夏炮制工艺 取 100 g 鲜

半夏，洗净，去皮；生姜 20 g，加水 100 mL，按上述筛选的炮制方法对鲜半夏进行炮制，以草酸钙针晶质量分数、水溶性浸出物得率、白矾残留量为指标，选取白矾用量 (A)、浸泡时间 (B)、加热温度 (C)、加热时间 (D) 4 个因素的 3 个水平，采用 $L_9(3^4)$

进行正交设计, 优选产地加工炮制一体化姜半夏的炮制工艺。正交试验设计与结果见表 5。

2.2.5 结果分析 正交试验结果以草酸钙针晶、水溶性浸出物及白矾残留量 3 个指标进行评价, 用综合指标评分法对实验结果进行分析, 故设计一个综合指标“隶属度”^[6]。对于欲达到最大值的指标(如水溶性浸出物得率), 其指标隶属度=(指标值-指标最小值)/(指标最大值-指标最小值); 对于要求最

小化的指标(如草酸钙针晶质量分数、白矾残留量), 其指标隶属度=(指标最大值-指标值)/(指标最大值-指标最小值)。根据文献报道^[7]综合分数=草酸钙针晶质量分数隶属度×50%+水溶性浸出物得率隶属度×20%+白矾残留量隶属度×30%, 满分为 1, 评分结果以综合分数作为总指标进行方差分析, 结果见表 6。

由分析结果可知, 各个因素对产地加工炮制一

表 5 正交试验设计与结果

Table 5 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B/d	C/°C	D/min	草酸钙针晶 质量分数/%	隶属度	水浸出物 得率/%	隶属度	白矾残 留量/%	隶属度	综合分数
1	8 : 100 (1)	1 (1)	110 (1)	20 (1)	0.628 8	0.000 0	15.32	0.000 0	7.37	1.000 0	0.300 0
2	8 : 100 (1)	2 (2)	120 (2)	30 (2)	0.567 9	0.296 8	17.04	0.147 6	7.55	0.857 1	0.435 1
3	8 : 100 (1)	3 (3)	130 (3)	40 (3)	0.501 1	0.622 3	16.93	0.138 2	7.55	0.857 1	0.595 9
4	10 : 100 (2)	1 (1)	120 (2)	40 (3)	0.460 8	0.818 7	26.97	1.000 0	7.72	0.714 3	0.823 6
5	10 : 100 (2)	2 (2)	130 (3)	20 (1)	0.498 0	0.637 4	20.36	0.432 6	8.08	0.428 6	0.533 8
6	10 : 100 (2)	3 (3)	110 (1)	30 (2)	0.479 2	0.641 3	20.31	0.428 1	7.72	0.714 3	0.620 5
7	12 : 100 (3)	1 (1)	130 (3)	30 (2)	0.423 6	1.000 0	23.37	0.690 9	8.33	0.219 5	0.704 0
8	12 : 100 (3)	2 (2)	110 (1)	40 (3)	0.433 2	0.953 2	22.35	0.603 4	8.60	0.000 0	0.597 3
9	12 : 100 (3)	3 (3)	120 (2)	20 (1)	0.425 7	0.989 7	23.07	0.665 2	8.25	0.285 7	0.713 6
K_1	1.331 0	1.827 6	1.517 8	1.547 4							
K_2	1.977 9	1.566 2	1.972 3	1.759 6							
K_3	2.014 9	1.930 0	1.833 7	2.016 8							
R	0.683 9	0.363 8	0.454 5	0.469 4							

表 6 显著性检验

Table 6 Significant test

方差来源	离均差平方和	自由度	F 值	显著性
A	98.62×10^{-3}	2	4.204	无
C	36.17×10^{-3}	2	1.542	无
D	36.84×10^{-3}	2	1.570	无
B (误差)	23.46×10^{-3}	2		

$F_{0.05(2,2)}=19.00$

体化姜半夏饮片的影响顺序是 A>D>C>B, 各因素均无显著影响。 $L_9(3^4)$ 实验直观分析结果为 $A_3B_3C_2D_3$, 但白矾用量为 12:100 时白矾残留量可能超过《中国药典》标准, 故最佳工艺应为 $A_2B_3C_2D_3$, 具体工艺: 取鲜半夏 100 g, 洗净, 去皮; 另取白矾 10 g 捣碎, 少量温水搅拌至溶化, 生姜 20 g 捣烂, 共置容器中加水 100 mL, 加热至沸腾 30 min 后浸泡 3 d, 再以 120 °C 加压蒸煮 40 min, 闷润放凉后清水冲洗干净, 取出。晾至半干, 切片, 干燥。

2.2.6 工艺验证 取鲜半夏 1 kg, 按照上述优选的工艺条件进行炮制, 验证工艺的可行性。结果见表 7。以上结果表明, 测定的草酸钙针晶质量分数、水溶性浸出物得率与白矾残留量结果与最佳工艺一致, 证明优选的最佳工艺稳定可行。

2.3 产地加工炮制一体化方法与药典法比较

2.3.1 草酸钙针晶质量分数比较 对生半夏、药典法姜半夏、一体化法姜半夏按上述方法进行草酸钙针晶质量分数测定, 结果见表 8。

表 7 工艺验证结果

Table 7 Validation results of processing

试验号	草酸钙针晶 质量分数/%	水浸出物 得率/%	白矾残 留量/%	综合分数
1	0.462 7	25.75	7.68	0.808 2
2	0.459 0	26.36	7.72	0.817 6
3	0.461 9	26.80	7.72	0.818 1
平均	0.461 2	26.30	7.52	0.814 6

表 8 草酸钙针晶质量分数测定结果

Table 8 Determination of calcium oxalate crystal

样品	草酸钙针晶/%		
	生半夏	药典法姜半夏	一体化方法姜半夏
1 号	2.80	0.45	0.46
2 号	2.75	0.46	0.45
3 号	2.76	0.44	0.45
平均	2.77	0.45	0.45

2.3.2 家兔眼结膜刺激性试验比较

(1) 样品制备：半夏混悬液：分别称取生半夏、药典法姜半夏、一体化方法姜半夏粉末（过 200 目筛）1 g，用生理盐水配制成 20% 的混悬液。淀粉混悬液：取过 200 目筛的药用淀粉以生理盐水配制成 20% 的混悬液。上述各样品溶液均调节 pH 值，使其呈中性（pH 7）。

(2) 眼结膜刺激性试验：随机取 9 只体质量约 1.5 kg 的家兔，平均分成 3 组，将半夏混悬液滴加到兔左眼中，兔右眼滴加 20% 的淀粉混悬液作为对照，每只眼给药 2 滴，轻轻闭合上下眼睑，注意不要使药液溢出，轻轻揉家兔的眼睛，使药液与整个眼结膜充分接触，3 min 后，立即用 30~40 mL 生理盐水冲洗眼睛至眼中无任何异物，随后观察 1.5~2 h 内兔眼情况，并拍照记录家兔眼睛的刺激反应情况。

(3) 评分标准：① 充血：0 分，血管正常；1 分，血管充血呈鲜红色；2 分，血管充血呈深红色，血管不易分辨；3 分，弥漫性充血呈紫红色。② 水肿：0 分，无水肿；1 分，轻微水肿；2 分，明显水肿，伴部分眼睑外翻；3 分，水肿至眼睑近半闭合；4 分，水肿至眼睑超过半闭合；③ 分泌物：0 分，无分泌物；1 分，少量分泌物；2 分，分泌物使眼睑和睫毛潮湿或黏着；3 分，分泌物使整个眼区潮湿或黏着。判定结果：0~2 分，无刺激；2~5 分，轻度刺激；5~8 分，中度刺激；8~10 分，重度刺激。

实验结果（表 9）表明，经上述优选的炮制方法和工艺得到的姜半夏饮片与药典法姜半夏饮片草酸钙针晶质量分数无明显差别，对家兔眼结膜均无刺激，进一步证明优选的工艺稳定可控。

3 讨论

《中国药典》2010 年版记载姜半夏的炮制是用

表 9 家兔眼结膜刺激结果 (n = 3)

Table 9 Results of eye conjunctival irritation in rabbit (n = 3)

样品	充血	水肿	分泌物	平均分
生半夏	7	8	9	8.0
药典法姜半夏	1	0	1	0.7
一体化方法姜半夏	1	1	0	0.7

口尝微麻舌感为指标来控制炮制程度，口尝结果因人而异，不好控制。本研究利用 HPLC 准确地测定半夏中刺激性物质草酸钙针晶的质量分数，原理是由于草酸钙针晶不溶于水及有机溶剂，通过对样品的简单预处理，先将可溶性的草酸盐去除，再通过酸处理使草酸钙转化为草酸，测定草酸的量并换算成药材中所含有草酸钙针晶的质量分数。把口尝麻舌感和草酸钙针晶质量分数共同作为筛选方法的指标，比较客观准确。

本研究通过对鲜半夏产地加工炮制一体化方法进行系统研究，优选的方法和工艺简单可行，不仅可以节工省时，提高饮片加工效率，而且产地加工炮制一体化姜半夏与药典法姜半夏饮片比较无明显差别。半夏炮制方法对其有效成分的量影响很大，不同炮制品具有不同的功能与主治，可能是因为不同的炮制方法使其中的化学成分不同程度的降低或升高，或是炮制后可能增加了其他的化学成分，这些有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 钟凌云, 吴皓, 张科卫, 等. 生半夏中草酸钙针晶的刺激性作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1706-1709.
- [2] 葛秀允, 吴皓. 天南星科有毒中药毒针晶的组成成分分析 [J]. 药物分析杂志, 2010(2): 190-194.
- [3] 郁红礼, 朱法根, 吴皓. 半夏及掌叶半夏毒针晶中共性毒蛋白的研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(5): 1037-1042.
- [4] 钟凌云, 吴皓. RP-HPLC 测定天南星科药用植物中草酸钙针晶的含量 [J]. 中成药, 2008, 30(2): 260-262.
- [5] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [6] 田源红, 张丽艳, 杨玉琴, 等. 综合评分法优化黑豆汁炖何首乌炮制工艺 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(3): 549-551.
- [7] 刘博, 李凡, 张振凌. RP-HPLC 测定白附子趁鲜加工样品中草酸钙针晶的含量 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(6): 1181-1183.