

基于多成分含量测定结合化学计量学考察延胡索不同加工方法对成分稳定性的影响

范天慈¹, 窦志英^{1*}, 宋洪伟², 任晓亮^{1*}, 李 捷¹, 温英丽¹, 刘丽婷¹

1. 天津中医药大学, 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 301637

2. 徐州市中医院, 江苏 徐州 221000

摘要: 目的 考察不同加工方法对延胡索 *Corydalis yanhusuo* 药材、饮片长期贮存中成分稳定性的影响, 进而选择合理的加工方法, 确保药材质量。方法 将新鲜延胡索分为大个延胡索 (直径 > 1 cm) 和小个延胡索 (直径 < 1 cm), 分别进行个、子货烘干、晒干, 切片烘干、切片晒干, 水煮、水蒸、醋煮及采用最优工艺醋蒸。通过超高效液相色谱 (UPLC) 同时测定四氢非洲防己碱、原阿片碱、四氢黄连碱、非洲防己碱、延胡索乙素、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、去氢紫堇碱 8 种生物碱含量, 结合化学计量学评价不同加工方法对延胡索成分稳定性影响。结果 延胡索药材及饮片经过 18 个月贮存后, 所测指标性成分延胡索乙素均符合《中国药典》2015 年版规定。烘干、晒干法处理药材、饮片成分在储藏过程中下降率大, 稳定性差。醋制和蒸煮处理有利于增加延胡索药材贮藏的稳定性。醋蒸法样品稳定性好, 干燥时间短、效率高, 有利于长期贮藏。结论 制备延胡索药材时宜选用水蒸后烘干, 制备醋延胡索饮片时选用鲜品切片后醋蒸法。

关键词: 延胡索; 稳定性; 加工方法; 四氢非洲防己碱; 原阿片碱; 四氢黄连碱; 非洲防己碱; 延胡索乙素; 盐酸小檗碱; 盐酸巴马汀; 去氢紫堇碱; 化学计量学

中图分类号: R286

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)13-4047-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.13.028

Study on effects of different processing methods of *Corydalis Rhizoma* on stability of components based on multi-component content determination and chemometrics

FAN Tian-ci¹, DOU Zhi-ying¹, SONG Hong-wei², REN Xiao-liang¹, LI Jie¹, WEN Ying-li¹, LIU Li-ting¹

1. Tianjin Key Laboratory of Traditional Chinese Medicinal Chemistry and Analytical Chemistry, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301637, China

2. Xuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xuzhou 221000, China

Abstract: Objective To explore the effects of different processing methods on the changes of medicinal materials and cut pieces of *Corydalis Rhizoma* in the long-term storage of various medicinal substances, and to select a reasonable processing method to ensure the quality of medicinal materials. **Methods** Fresh *Corydalis Rhizoma* were divided into large *Corydalis Rhizoma* (diameter > 1 cm) and small *Corydalis Rhizoma* (diameter < 1 cm). *Corydalis* dried goods, sun dried goods, dried slices, sun dried slices, boiled, steamed, boiled vinegar and steamed using optimum vinegar carried out separately. The content of eight alkaloids, including tetrahydrocolumbamine, protopine, tetrahydrocoptisine, columbamine, tetrahydropalmatine, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride, and dehydrocorydaline were determined by UPLC, and the effects of different processing methods on the stability of *Corydalis Rhizoma* were evaluated by chemometrics. **Results** After 18 months of storage, the index components of *Corydalis Rhizoma* were in accordance with the regulations of the 2015 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. The components of medicinal materials treated by drying and sun drying decreased greatly in the process of storage, and the stability was poor. Vinegar and cooking treatments are beneficial to increase the storage stability of *Corydalis Rhizoma*. The vinegar steaming method has good stability, short drying time and high efficiency, which is most beneficial to long-term storage. **Conclusion** The preparation of *Corydalis Rhizoma* should be steamed with water and dried, and the vinegar-processed pieces of *Corydalis Rhizoma* should be prepared by slicing and steaming with vinegar.

收稿日期: 2020-10-09

基金项目: 中医药行业科研专项 (201107007)

作者简介: 范天慈 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制与质量控制。E-mail: ftc01910@163.com

*通信作者: 窦志英, 教授, 主要从事中药炮制与质量控制研究。E-mail: zhiyingdou@163.com

任晓亮, 教授, 主要从事中药分析研究。E-mail: renxiaoliang@tjctcm.edu.cn

Key words: *Corydalis Rhizoma*; stability; processing methods; tetrahydrocolumbamine; protopine; tetrahydrocoptisine; columbamine; tetrahydropalmatine; berberine hydrochloride; palmatine hydrochloride; dehydrocorydaline; stoichiometry

延胡索为罂粟科 (Papaveraceae) 紫堇属 *Corydalis* DC. 植物延胡索 *C. yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。其性温, 味辛、苦, 归心、肝、脾经。具有活血、散瘀、行气、止痛的功效。临床常使用炮制品, 用于治疗脘腹疼痛、胸痹心痛和跌打肿痛等^[1]。主产于浙江东阳、磐安等地, 陕西、河北、山东、江苏等地亦有栽培^[2]。现代药理学研究表明, 延胡索具有镇痛、保护心血管系统、抗肿瘤、抗菌抗炎等多种作用^[3-11]。延胡索传统的产地加工方法多为采挖后, 洗净置沸水中“煮至恰无白心”时, 取出并晒干后进行炮制^[12]。《中国药典》2015 年版也沿用此法, 《中国药典》2015 年版收载了延胡索净制法、醋炙法和醋煮法 3 种炮制方法。延胡索临床用药形式主要为醋制品。目前的研究多针对醋制对延胡索成分、药效等方面^[13-15], 产地加工对延胡索质量和药效的影响也有一些, 但是尚未见针对延胡索不同加工方法对其贮存稳定性影响的报道。中药材、中药饮片作为一种特殊的商品, 在应用于临床之前可能会贮存一定时间或较长时间, 贮存期间其质量和药效可能会受到多种因素的影响而发生变化。因此, 有必要对中药材、中药饮片的贮存药效物质稳定性进行考察, 并寻找影响其稳定性的产地加工和炮制工序中的影响因素。

本实验拟考察个子货烘干、个子货晒干、切片烘干、切片晒干、鲜品水煮、鲜品水蒸 6 种产地加工方法以及鲜品醋煮、鲜品醋蒸产地加工和炮制一体化的炮制方法对延胡索质量稳定性的影响。通过检测延胡索乙素、四氢非洲防己碱、去氢紫堇碱、四氢黄连碱、原阿片碱、非洲防己碱、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀 8 种生物碱的含量, 将多组分含量和化学计量学方法相结合综合评价延胡索不同加工方法制备的延胡索药材和延胡索饮片贮存 18 个月的变化规律, 寻找加工方法对延胡索药效物质基础稳定性的影响规律。

1 仪器与材料

UPLC 超高效液相色谱仪 (安捷伦 1290), ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); FW100 高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); FA2004 电子分析天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); 数显恒温水浴锅 (金坛市科析仪器有限公司); 超声波清洗器 KQ-

250E (昆山市超声仪器有限公司); DHG-9245 型鼓风干燥箱 (上海跃进医疗器械有限公司); 离心机 (北京时代北利离心机有限公司); FW100 高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司)。

四氢非洲防己碱 (批号 W12N7Z24780)、四氢黄连碱 (批号 R18A6F2)、非洲防己碱 (批号 W30M7Z15501)、盐酸小檗碱 (批号 Y21A7S13543) 均购自上海源叶生物科技有限供公司, 盐酸巴马汀 (批号 110732-201611) 购自中国食品药品检定研究院, 延胡索乙素 (批号 W05-5-8)、去氢紫堇碱 (批号 W14-2-4)、原阿片碱 (批号 W14-2-6) 均购自 Zhongxin Innova Laboratories, 所有对照品质量分数均大于 98%。醋 (天津市天立独流老醋股份有限公司); 乙腈 (默克股份两合公司); 甲醇 (分析纯/天津市化学试剂供销公司); 氨水 (分析纯/天津市风船化学试剂科技有限公司); 蒸馏水 (广州屈臣氏食品饮料有限公司), 延胡索购于浙江省台州市仙居县朱溪镇, 经天津中医药大学中药鉴定教研室马琳教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。

2 方法

2.1 延胡索样品制备

实验选用产自浙江的新鲜延胡索作为研究对象, 对鲜延胡索进行大小分档, 分为 2 类: 大个延胡索 (直径 > 1 cm) 和小个延胡索 (直径 < 1 cm)。具体见表 1。

表 1 延胡索不同加工方法样品信息

Table 1 Sample information of different processing methods of *Corydalis Rhizoma*

编号	样品	编号	样品
S1	烘干大个	S9	水煮大个
S2	烘干小个	S10	水煮小个
S3	晒干大个	S11	水蒸大个
S4	晒干小个	S12	水蒸小个
S5	烘干大片	S13	醋煮大个
S6	烘干小片	S14	醋煮小个
S7	晒干大片	S15	醋蒸大个
S8	晒干小片	S16	醋蒸小个

2.1.1 个子货烘干 取鲜品延胡索除去杂质, 洗净, 75 °C 烘干。

2.1.2 个子货晒干 取鲜品延胡索除去杂质, 洗净, 晒干。

2.1.3 切片烘干 取鲜品延胡索除去杂质, 洗净,

切厚片，75℃烘干。

2.1.4 切片晒干 取鲜品延胡索除去杂质，洗净，切厚片，晒干。

2.1.5 水煮 取鲜品延胡索除去杂质，洗净，加水煮至内无白心，取出，略晾干，切厚片，75℃烘干。

2.1.6 水蒸 取鲜品延胡索除去杂质，洗净，置笼屉中蒸至无白心，取出，略晾干，切厚片，75℃烘干。

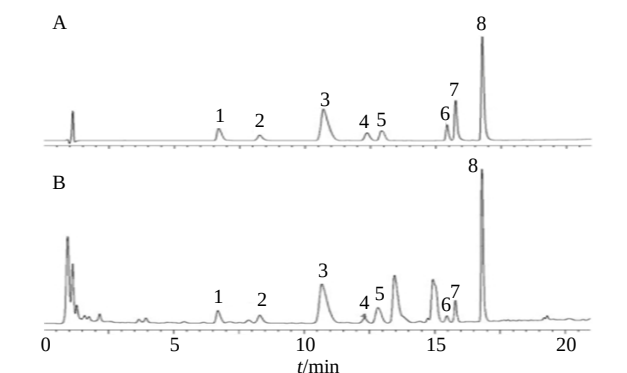
2.1.7 醋煮 取鲜品延胡索除去杂质，洗净，切厚片，每 100 公斤药材，加入 20 kg 醋，拌润，待醋吸尽后，加水煮至内无白心，75℃烘干。

2.1.8 醋蒸 依据本实验组前期实验筛选出的延胡索产地加工和炮制一体化最优工艺进行制备。取鲜品延胡索除去杂质，洗净，切厚片，用醋量为 10%，拌润，待醋吸尽后，置笼屉中隔水蒸制至内无白心，75℃烘干。

将延胡索药材、饮片及炮制品密封于小包装袋内，放置室温条件下贮藏，分别于 0、3、6、9、12、18 个月取样。

2.2 色谱条件

ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm)，0.2% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B) 溶液，体积流量 0.3 mL/min，柱温 55℃，检测波长 280 nm，进样量 1 μL；梯度洗脱：0~10 min，12%~14% B；10~14 min，14%~25% B；14~17 min，25%~40% B；17~20 min，40%~45% B；20~21 min，45%~12% B。见图 1。



1-四氢非洲防己碱 2-原阿片碱 3-四氢黄连碱 4-非洲防己碱
5-延胡索乙素 6-盐酸小檗碱 7-盐酸巴马汀 8-去氢紫堇碱

1-tetrahydrocolumbamine 2-protopine 3-tetrahydrocoptisine 4-columbamine
5-tetrahydropalmatine 6-berberine hydrochloride 7-palmatine hydrochloride 8-dehydrocorydaline

图 1 对照品溶液 (A) 和延胡索样品 (B) UPLC 色谱图
Fig. 1 UPLC of reference solution (A) and *Corydalis Rhizoma* sample (B)

2.3 对照品溶液的制备

精密称定四氢非洲防己碱、原阿片碱、四氢黄连碱、非洲防己碱、延胡索乙素、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、去氢紫堇碱分别置于 10 mL 量瓶中，用甲醇溶解定容至刻度，得到质量浓度分别为 988、1002、990、988、1004、990、996、1000 μg/mL 的对照品溶液。量取上述四氢非洲防己碱对照品溶液 0.5 mL，原阿片碱对照品溶液 0.2 mL，四氢黄连碱对照品溶液 1.5 mL，非洲防己碱对照品溶液 0.1 mL，延胡索乙素对照品溶液 0.5 mL，盐酸小檗碱对照品溶液 0.1 mL，盐酸巴马汀对照品溶液 0.2 mL，去氢紫堇碱对照品溶液 0.5 mL，加甲醇定容至 10 mL 量瓶中，配成四氢非洲防己碱、原阿片碱、四氢黄连碱、非洲防己碱、延胡索乙素、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、去氢紫堇碱质量浓度分别为 49.4、20.0、148.5、9.9、50.2、9.9、19.9、50.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

精密称取延胡索样品粉末约 0.500 g，置平底烧瓶中，精密加入浓氨试液-甲醇 (1:20) 溶液 50 mL，称定质量。冷浸 1 h 后加热回流 1 h，放冷，再称定质量。用浓氨试液-甲醇 (1:20) 溶液补足减失质量，摇匀，4000 r/min 离心 15 min。精密量取上清液 25 mL，蒸干，残渣加甲醇溶解。转移至 5 mL 量瓶中，并稀释至刻度，摇匀，滤过，取续滤液即得。

2.5 方法学考察

本课题组前期建立了检测方法的方法学考察，具体参考宋洪伟等^[16]方法，结果均符合含量测定要求，表明精密性、重复性、稳定性良好。

2.6 样品测定

将延胡索生品及炮制品按“2.4”项下方法制备样品，按“2.2”项下色谱条件进行含量测定，计算各成分含量。

2.7 统计方法

采用 SPSS 23.0 和 SIMCA-P 14.1 统计软件对数据进行分析

3 结果与分析

3.1 延胡索贮藏 18 个月过程中生物碱含量及稳定性

样品储藏 18 个月间成分含量见表 2，起始含量和储藏 18 个月后成分含量的下降率见表 3。延胡索药材及饮片经过 18 个月稳定性观察，各成分含量出现不同程度地下降。药效指标性成分延胡索

表 2 不同延胡索样品中 8 种生物碱含量 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)Table 2 Contents of eight alkaloids in different samples of *Corydalis Rhizoma* ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

样品时间/月		质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		四氢非洲防己碱	原阿片碱	四氢黄连碱	非洲防己碱	延胡索乙素	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	去氢紫堇碱
S1	0	0.782±0.014	0.396±0.014	2.189±0.070	0.249±0.012	0.715±0.026	0.117±0.005	0.383±0.015	1.831±0.058
	3	0.661±0.019	0.298±0.008	1.999±0.043	0.245±0.012	0.453±0.019	0.104±0.005	0.316±0.014	1.762±0.081
	6	0.658±0.022	0.328±0.009	2.009±0.101	0.202±0.009	0.475±0.023	0.124±0.002	0.293±0.006	1.805±0.044
	9	0.674±0.024	0.302±0.012	1.700±0.053	0.208±0.008	0.469±0.017	0.342±0.006	0.113±0.004	1.706±0.045
	12	0.662±0.016	0.361±0.012	1.897±0.084	0.200±0.011	0.457±0.023	0.112±0.003	0.312±0.007	1.599±0.070
	18	0.531±0.019	0.332±0.010	1.703±0.064	0.174±0.006	0.427±0.018	0.103±0.005	0.288±0.006	1.418±0.024
S2	0	0.742±0.010	0.448±0.013	2.812±0.072	0.361±0.010	0.920±0.010	0.121±0.005	0.390±0.010	1.932±0.008
	3	0.582±0.027	0.355±0.012	2.290±0.029	0.380±0.014	0.790±0.030	0.110±0.003	0.317±0.013	1.901±0.034
	6	0.601±0.030	0.375±0.013	2.312±0.067	0.327±0.011	0.745±0.031	0.123±0.004	0.349±0.006	2.006±0.010
	9	0.571±0.021	0.316±0.004	2.042±0.045	0.311±0.005	0.781±0.031	0.112±0.004	0.377±0.008	1.904±0.018
	12	0.548±0.025	0.379±0.012	2.388±0.027	0.262±0.008	0.768±0.026	0.101±0.005	0.364±0.013	1.877±0.050
	18	0.525±0.016	0.342±0.009	2.095±0.073	0.204±0.009	0.740±0.034	0.107±0.002	0.307±0.006	1.637±0.049
S3	0	0.599±0.012	0.332±0.012	2.046±0.061	0.392±0.005	0.564±0.022	0.159±0.007	0.456±0.014	2.560±0.036
	3	0.589±0.018	0.241±0.006	1.695±0.056	0.221±0.008	0.483±0.012	0.098±0.002	0.279±0.009	1.684±0.008
	6	0.611±0.022	0.274±0.008	1.714±0.084	0.236±0.009	0.452±0.013	0.110±0.004	0.315±0.010	1.631±0.026
	9	0.499±0.017	0.231±0.005	1.588±0.057	0.220±0.005	0.446±0.016	0.108±0.004	0.320±0.009	1.651±0.023
	12	0.512±0.022	0.217±0.005	1.544±0.055	0.236±0.010	0.427±0.014	0.087±0.003	0.333±0.008	1.642±0.008
	18	0.421±0.018	0.216±0.002	1.524±0.067	0.205±0.010	0.412±0.020	0.152±0.067	0.250±0.009	1.613±0.016
S4	0	0.558±0.020	0.377±0.006	2.530±0.021	0.425±0.010	0.727±0.019	0.192±0.005	0.564±0.009	3.251±0.038
	3	0.563±0.014	0.320±0.014	2.196±0.047	0.310±0.015	0.704±0.015	0.107±0.004	0.295±0.006	2.420±0.062
	6	0.542±0.018	0.248±0.010	2.107±0.067	0.348±0.007	0.671±0.026	0.134±0.006	0.358±0.005	2.240±0.012
	9	0.517±0.019	0.225±0.006	1.926±0.036	0.314±0.005	0.574±0.014	0.119±0.005	0.391±0.014	2.172±0.101
	12	0.485±0.019	0.274±0.009	1.902±0.024	0.346±0.007	0.537±0.028	0.098±0.003	0.348±0.009	2.205±0.037
	18	0.457±0.012	0.252±0.010	1.869±0.031	0.321±0.005	0.442±0.006	0.095±0.005	0.337±0.009	1.947±0.058
S5	0	0.877±0.013	0.444±0.014	2.222±0.042	0.192±0.003	0.950±0.028	0.089±0.002	0.208±0.005	1.792±0.008
	3	0.720±0.017	0.342±0.015	1.849±0.093	0.117±0.002	0.846±0.006	0.065±0.003	0.207±0.008	1.089±0.005
	6	0.794±0.032	0.384±0.023	2.105±0.097	0.152±0.005	0.949±0.032	0.070±0.003	0.244±0.008	1.252±0.027
	9	0.722±0.021	0.308±0.011	1.778±0.038	0.136±0.007	0.633±0.019	0.067±0.004	0.197±0.009	1.170±0.016
	12	0.637±0.016	0.340±0.006	2.095±0.025	0.117±0.005	0.621±0.006	0.056±0.002	0.171±0.003	1.109±0.025
	18	0.614±0.030	0.331±0.028	1.729±0.080	0.098±0.009	0.616±0.030	0.042±0.002	0.143±0.005	1.088±0.025
S6	0	0.848±0.022	0.446±0.013	2.840±0.016	0.210±0.007	1.221±0.025	0.109±0.002	0.235±0.008	1.801±0.009
	3	0.709±0.029	0.320±0.012	2.439±0.049	0.132±0.009	0.900±0.019	0.084±0.003	0.271±0.011	1.339±0.046
	6	0.839±0.021	0.410±0.018	2.603±0.057	0.150±0.005	1.123±0.039	0.089±0.003	0.295±0.008	1.488±0.015
	9	0.709±0.019	0.351±0.012	2.230±0.043	0.144±0.006	0.795±0.014	0.081±0.002	0.232±0.009	1.382±0.013
	12	0.679±0.023	0.371±0.008	2.350±0.026	0.142±0.006	0.717±0.022	0.079±0.002	0.216±0.008	1.314±0.042
	18	0.600±0.030	0.327±0.002	2.113±0.040	0.135±0.007	0.692±0.011	0.067±0.003	0.179±0.009	1.183±0.016
S7	0	0.658±0.016	0.382±0.013	2.173±0.029	0.351±0.004	0.629±0.021	0.145±0.004	0.431±0.008	2.479±0.013
	3	0.694±0.037	0.287±0.014	1.750±0.080	0.251±0.011	0.676±0.030	0.099±0.004	0.286±0.008	1.456±0.069
	6	0.793±0.015	0.347±0.035	2.005±0.053	0.225±0.006	0.639±0.027	0.103±0.005	0.295±0.007	1.340±0.014
	9	0.659±0.029	0.282±0.003	1.569±0.039	0.219±0.008	0.554±0.012	0.093±0.002	0.292±0.005	1.314±0.030
	12	0.502±0.024	0.307±0.003	1.694±0.029	0.241±0.010	0.519±0.012	0.080±0.003	0.262±0.008	1.479±0.026
	18	0.408±0.018	0.301±0.012	1.168±0.029	0.238±0.009	0.483±0.018	0.080±0.002	0.257±0.006	1.460±0.052
S8	0	0.635±0.007	0.439±0.005	2.668±0.086	0.392±0.005	0.859±0.030	0.179±0.007	0.538±0.010	2.557±0.054
	3	0.673±0.022	0.314±0.014	2.394±0.064	0.328±0.005	0.771±0.021	0.116±0.004	0.373±0.003	2.026±0.004
	6	0.694±0.026	0.394±0.022	2.519±0.107	0.305±0.010	0.758±0.027	0.133±0.005	0.411±0.014	1.855±0.019
	9	0.631±0.027	0.289±0.009	1.974±0.028	0.252±0.006	0.623±0.023	0.409±0.008	0.114±0.003	1.608±0.007
	12	0.490±0.025	0.310±0.006	2.060±0.058	0.271±0.008	0.611±0.012	0.100±0.003	0.378±0.007	1.805±0.035
	18	0.457±0.021	0.303±0.008	1.849±0.047	0.241±0.004	0.522±0.022	0.091±0.002	0.343±0.007	1.727±0.025
S9	0	0.924±0.016	0.464±0.018	2.292±0.068	0.078±0.004	1.108±0.022	0.062±0.002	0.137±0.006	1.234±0.083
	3	0.853±0.020	0.341±0.011	2.330±0.054	0.089±0.001	0.875±0.021	0.110±0.003	0.045±0.003	1.143±0.018
	6	0.943±0.020	0.405±0.010	2.420±0.090	0.095±0.002	0.960±0.031	0.054±0.002	0.137±0.005	1.237±0.025
	9	0.850±0.029	0.334±0.016	1.859±0.069	0.073±0.002	0.823±0.018	0.128±0.005	0.050±0.002	1.126±0.010
	12	0.771±0.020	0.380±0.006	2.279±0.051	0.084±0.003	0.720±0.015	0.056±0.003	0.164±0.005	1.204±0.041
	18	0.812±0.033	0.355±0.017	1.670±0.046	0.064±0.002	0.788±0.041	0.054±0.001	0.091±0.005	1.032±0.018
S10	0	0.883±0.012	0.487±0.017	2.905±0.095	0.096±0.002	1.352±0.013	0.073±0.001	0.177±0.008	1.536±0.015
	3	0.781±0.025	0.349±0.012	3.090±0.153	0.090±0.002	1.059±0.053	0.054±0.001	0.143±0.002	1.300±0.055
	6	0.897±0.032	0.406±0.010	3.251±0.138	0.106±0.001	1.137±0.014	0.066±0.002	0.177±0.004	1.483±0.021
	9	0.822±0.018	0.343±0.014	2.647±0.037	0.082±0.003	1.066±0.019	0.066±0.003	0.166±0.004	1.427±0.019
	12	0.738±0.033	0.382±0.009	3.078±0.123	0.092±0.002	0.929±0.015	0.068±0.002	0.174±0.007	1.473±0.030
	18	0.757±0.024	0.366±0.005	2.348±0.017	0.080±0.003	0.972±0.012	0.067±0.006	0.141±0.004	1.351±0.033

续表 2

样品月数		质量分数/(mg·g ⁻¹)							
		四氢非洲防己碱	原阿片碱	四氢黄连碱	非洲防己碱	延胡索乙素	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	去氢紫堇碱
S11	0	0.932±0.033	0.474±0.024	2.346±0.101	0.085±0.003	1.111±0.048	0.072±0.003	0.140±0.006	1.257±0.031
	3	0.890±0.035	0.360±0.003	2.138±0.048	0.096±0.004	0.945±0.028	0.048±0.001	0.125±0.005	1.237±0.004
	6	1.009±0.026	0.405±0.018	1.909±0.066	0.090±0.001	1.031±0.028	0.062±0.001	0.148±0.006	1.284±0.018
	9	0.988±0.020	0.342±0.003	2.247±0.104	0.076±0.003	0.912±0.027	0.059±0.004	0.155±0.005	1.212±0.026
	12	0.816±0.015	0.382±0.012	2.157±0.023	0.095±0.004	0.860±0.013	0.069±0.002	0.179±0.003	1.359±0.023
S12	18	0.863±0.021	0.342±0.006	2.002±0.082	0.076±0.003	0.874±0.028	0.052±0.002	0.110±0.003	1.123±0.017
	0	0.903±0.031	0.500±0.006	2.991±0.088	0.101±0.003	1.408±0.056	0.080±0.004	0.183±0.004	1.559±0.016
	3	0.849±0.026	0.433±0.016	3.175±0.105	0.098±0.004	1.089±0.025	0.056±0.002	0.154±0.006	1.350±0.022
	6	0.950±0.037	0.412±0.010	2.950±0.067	0.106±0.002	1.218±0.053	0.075±0.003	0.182±0.005	1.541±0.077
	9	0.934±0.011	0.344±0.016	2.755±0.082	0.087±0.004	1.082±0.030	0.070±0.003	0.179±0.006	1.434±0.065
S13	12	0.750±0.018	0.368±0.006	3.133±0.086	0.100±0.005	0.990±0.009	0.073±0.004	0.188±0.004	1.485±0.063
	18	0.795±0.026	0.357±0.010	2.784±0.034	0.082±0.004	1.089±0.036	0.067±0.001	0.139±0.004	1.347±0.016
	0	0.973±0.005	0.482±0.006	2.395±0.115	0.092±0.004	1.178±0.031	0.080±0.002	0.141±0.004	1.261±0.044
	3	0.780±0.024	0.335±0.008	2.213±0.052	0.075±0.001	0.953±0.016	0.049±0.002	0.118±0.005	1.191±0.037
	6	0.946±0.035	0.458±0.023	2.466±0.082	0.086±0.002	1.072±0.036	0.051±0.002	0.125±0.004	1.327±0.048
S14	9	1.005±0.020	0.386±0.053	2.353±0.036	0.067±0.003	0.992±0.026	0.051±0.001	0.122±0.004	1.241±0.012
	12	0.791±0.024	0.417±0.019	2.399±0.034	0.093±0.003	0.965±0.042	0.057±0.003	0.139±0.002	1.252±0.052
	18	0.892±0.027	0.370±0.014	1.959±0.046	0.072±0.003	0.953±0.036	0.048±0.001	0.126±0.002	1.004±0.009
	0	0.917±0.063	0.504±0.022	3.110±0.030	0.109±0.003	1.431±0.037	0.084±0.003	0.192±0.003	1.634±0.052
	3	0.837±0.025	0.412±0.014	2.947±0.069	0.098±0.003	1.282±0.007	0.060±0.003	0.175±0.007	1.605±0.021
S15	6	0.871±0.013	0.486±0.014	3.060±0.046	0.104±0.004	1.313±0.036	0.072±0.002	0.187±0.009	1.622±0.022
	9	0.884±0.037	0.406±0.017	2.685±0.049	0.072±0.005	1.193±0.019	0.060±0.002	0.174±0.006	1.534±0.051
	12	0.762±0.014	0.420±0.017	2.746±0.068	0.100±0.005	1.160±0.029	0.071±0.002	0.185±0.006	1.609±0.010
	18	0.865±0.028	0.399±0.008	2.687±0.033	0.087±0.002	1.159±0.017	0.063±0.002	0.176±0.007	1.471±0.056
	0	0.995±0.012	0.519±0.026	2.411±0.092	0.104±0.004	1.225±0.061	0.084±0.002	0.155±0.005	1.352±0.04
S16	3	0.917±0.034	0.435±0.017	2.407±0.072	0.082±0.002	1.122±0.034	0.059±0.003	0.139±0.006	1.319±0.044
	6	0.984±0.028	0.483±0.016	2.414±0.116	0.096±0.003	1.174±0.039	0.065±0.003	0.141±0.005	1.348±0.052
	9	1.037±0.036	0.399±0.018	2.373±0.070	0.070±0.003	1.115±0.029	0.054±0.001	0.138±0.006	1.237±0.055
	12	0.950±0.015	0.438±0.005	2.425±0.055	0.087±0.004	1.068±0.038	0.058±0.003	0.140±0.003	1.255±0.069
	18	0.922±0.031	0.405±0.017	2.281±0.049	0.082±0.004	1.045±0.036	0.055±0.002	0.138±0.006	1.237±0.023
S16	0	0.949±0.008	0.522±0.008	3.338±0.115	0.110±0.004	1.508±0.031	0.089±0.003	0.211±0.007	1.661±0.040
	3	0.921±0.025	0.509±0.019	3.298±0.161	0.093±0.004	1.456±0.064	0.071±0.002	0.191±0.009	1.659±0.003
	6	0.933±0.032	0.499±0.010	3.315±0.046	0.099±0.004	1.395±0.029	0.080±0.003	0.205±0.002	1.673±0.001
	9	0.930±0.034	0.399±0.022	3.203±0.100	0.082±0.003	1.381±0.033	0.072±0.003	0.192±0.007	1.483±0.020
	12	0.811±0.023	0.430±0.019	3.237±0.025	0.092±0.005	1.343±0.038	0.069±0.003	0.200±0.005	1.684±0.061
	18	0.903±0.032	0.403±0.019	2.994±0.067	0.088±0.004	1.322±0.054	0.065±0.002	0.198±0.006	1.565±0.026

表 3 不同延胡索样品储藏 18 个月 8 种生物碱含量下降率

Table 3 Content decline rate of eight alkaloids in different *Corydalis Rhizoma* samples stored for 18 months

样品	含量下降率/%							
	四氢非洲防己碱	原阿片碱	四氢黄连碱	非洲防己碱	延胡索乙素	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	去氢紫堇碱
S1	32.10	16.16	22.20	30.12	40.28	11.97	24.80	22.56
S2	29.25	23.66	25.50	43.49	19.57	11.57	21.28	15.27
S3	29.72	34.94	25.51	47.70	26.95	49.06	45.18	36.99
S4	18.10	33.16	26.13	24.47	39.20	50.52	40.25	40.11
S5	29.99	25.45	22.19	48.96	35.16	52.81	31.25	39.29
S6	29.25	26.68	25.60	35.71	43.33	38.53	23.83	34.31
S7	37.99	21.20	46.25	32.19	23.21	44.83	40.37	41.11
S8	28.03	30.98	30.70	38.52	39.23	49.16	36.25	32.46
S9	12.12	23.49	27.14	17.95	28.88	12.90	33.58	16.37
S10	14.27	24.85	19.17	16.67	28.11	8.22	20.34	12.04
S11	7.40	27.85	14.66	10.59	21.33	27.78	21.43	10.66
S12	11.96	28.60	6.92	18.81	22.66	16.25	24.04	13.60
S13	8.32	23.24	18.20	21.74	19.10	40.00	10.64	20.38
S14	5.67	20.83	13.60	20.18	19.01	25.00	8.33	9.98
S15	7.34	21.97	5.39	21.15	14.69	34.52	10.97	8.51
S16	4.85	22.80	10.31	20.00	12.33	26.97	6.16	5.78

乙素均符合《中国药典》2015 年版规定。在药材样品中,直接烘干和晒干对延胡索乙素影响大,成分下降率大,稳定性差,说明了传统水煮加工的必要性。在饮片的加工和炮制样品中,平均下降率大小顺序为切片烘干>切片晒干>水煮>水蒸>醋煮>醋蒸。饮片经醋煮、醋蒸炮制后储藏 18 个月,延胡索乙素含量和储藏过程中稳定性明显高于未经炮制样品,醋蒸法优于传统醋煮法。

去氢紫堇碱和四氢黄连碱作为延胡索中主要的药效成分^[17-19],且含量均较高,变化趋势明显。去氢紫堇碱属于季胺碱,易溶于水,可能在水煮、水蒸、醋煮、醋蒸过程中溶出或分解、破坏。由表 2 和图 2 可见,晒干、烘干样品贮存起始含量高, S1~S8 样品去氢紫堇碱起始含量在 1.792~3.251 mg/g,而 S9~S10 样品去氢紫堇碱起始含量在 1.234~1.661 mg/g。但晒干、烘干样品贮藏过程

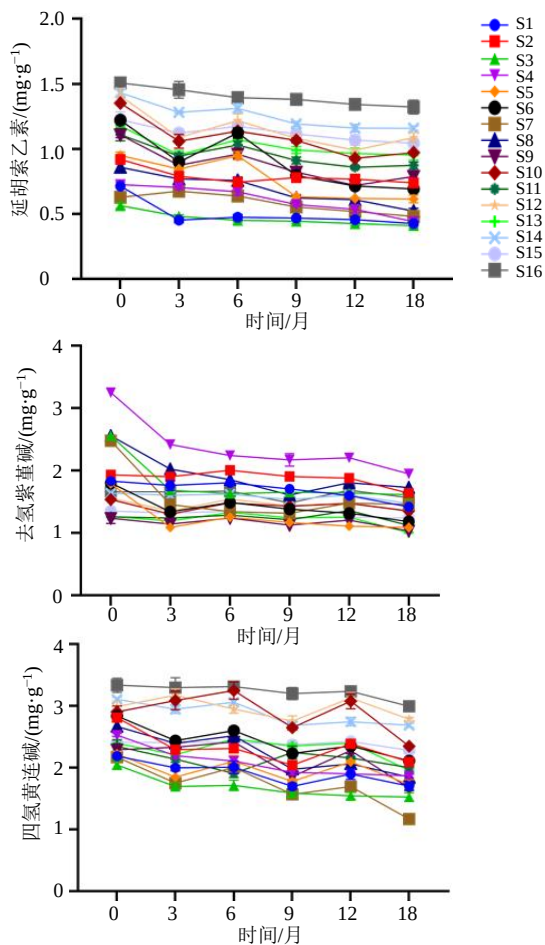


图 2 不同样品中延胡索乙素、去氢紫堇碱、四氢黄连碱 18 个月含量变化

Fig. 2 Content changes of tetrahydropalmatine, dehydrocorydaline, and tetrahydroberberine in different samples for 18 months

含量下降明显。药材经蒸、煮和醋制处理后,会损失部分去氢紫堇碱含量,但能显著提高成分贮藏稳定性。其中醋制样品含量下降率低于未炮制样品,更利于去氢紫堇碱的保存。四氢黄连碱为叔胺碱,属于水难溶性成分。烘晒样品在贮藏前期含量显著下降,呈多次下降、上升的反复趋势。蒸、煮样品四氢黄连碱比较稳定,在整个过程缓慢下降,延长了贮藏期。以前 9 个月储藏含量变化为例, S1~S8 样品含量下降率在 19.98%~27.79%, S9~S16 下降率在 1.58%~18.89%。其中醋蒸、醋煮法对其稳定性的提升效果优于水蒸、水煮法。仅凭单一成分分析难以全面评价药材质量,进一步通过多组分结合化学计量学进行综合考察。

3.2 聚类分析

聚类分析可将具有相似特点的样品归类^[20]。运用 SPSS 23.0 软件对延胡索样品进行系统聚类分析,以贮藏 18 个月后 8 种成分下降率为指标,采用组间连接法和欧式距离对数据进行处理,结果见图 3。

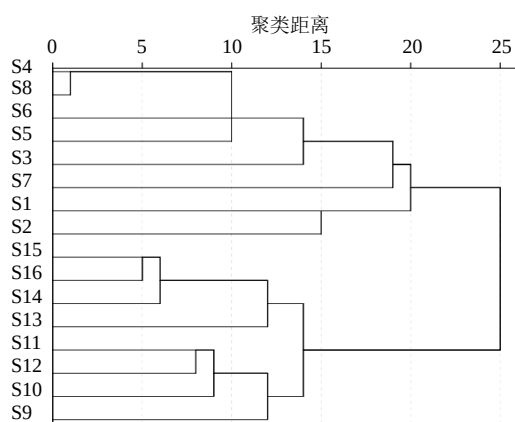


图 3 不同加工方法的延胡索样品聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of *Corydalis Rhizoma* samples with different processing methods

经聚类分析可分为 2 大类:水蒸、水煮、醋煮、醋蒸为第一类,烘干、晒干样品为另一类,提示经过煮、蒸炮制方法与简单烘、晒对样品质量影响差异明显。再进行具体划分,水蒸、水煮和醋蒸、醋煮 2 类,说明了醋对延胡索炮制的重要作用,晒干和烘干区分不理想。

3.3 主成分分析

在聚类分析基础上,以 18 个月 8 种生物碱的下降率为变量,导入 SIMCA-P 14 统计软件进行主成分分析,见图 4。其中第 1 主成分贡献率为

61.7%，第 2 主成分贡献率为 13.4%。经过水煮、水蒸、醋煮、醋蒸炮制方法样品与晒干、烘干初加工样品之间有区分，前者分布在左侧，后者聚集在了右侧。说明煮、蒸法与直接烘、晒对延胡索药材储藏稳定性影响有差异。烘干晒干样品之间分散错乱，无法进一步具体区分。水煮、水蒸和醋煮、醋蒸样品之间有差异，但不明显。因此，对水煮、水蒸、醋煮、醋蒸样品进一步主成分分析，挖掘有用信息，见图 5。不同炮制方法得到样品实现了很好的区分。提示水和醋的不同以及煮、蒸 2 种不同加工炮制方法对样品中多组分下降率有显著差异。主成分分析与聚类分析结果一致。

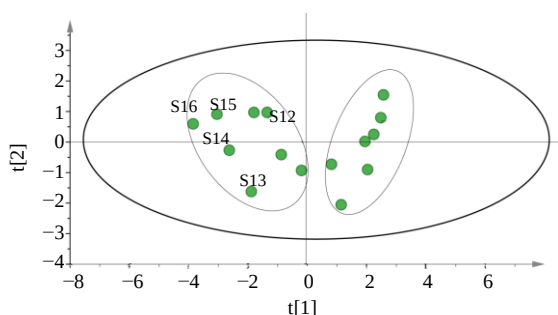


图 4 不同加工方法的延胡索样品主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of *Corydalis Rhizoma* samples with different processing methods

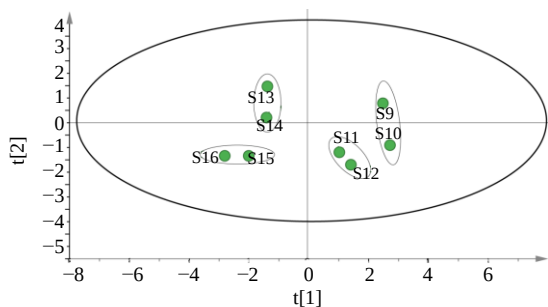


图 5 延胡索煮、蒸样品主成分分析

Fig. 5 Principal component analysis of boiled and steamed samples of *Corydalis Rhizoma*

通过药效指标性成分延胡索乙素和多组分结合化学计量学综合考察，发现不同加工方法对延胡索稳定性有显著影响。其中药材及饮片直接晒干和烘干贮藏后成分损失多，下降率大，药材质量差。考虑可控性和效率等问题，延胡索产地加工中宜先水蒸，取出后烘干。醋制有利于增加延胡索药材贮藏的稳定性。采用蒸制处理的药材及饮片下降率较其他加工炮制方法小，稳定性最好，利于长期贮存。

因此，醋蒸法优于传统醋煮法。基于定量分析数据，综合聚类分析和主成分分析，可以实现延胡索药材及饮片稳定性控制。

4 讨论

药材晒干由于受环境、天气影响，干燥周期长且有效成分损失严重。烘干法操作简便，温度及环境比较稳定，且适合产地初加工中药材水煮或水蒸后干燥操作要求。延胡索中四氢非洲防己碱、原阿片碱、四氢黄连碱、延胡索乙素等叔胺碱经水蒸、水煮、醋蒸、醋煮加热处理后有效成分溶出量增加，其下降率小于生品，且淀粉粒糊化质地变硬且角质样，更有利于长期贮存。因此，蒸、煮处理与直接烘、晒相比能提升稳定性。采用蒸制处理的饮片及炮制品由于隔水蒸制，延胡索与水接触面积小，成分损失少，同时干燥时间短、效率高，有效成分含量比煮制高，更有利于贮藏稳定性，建议产地加工时可采用蒸法来制备延胡索药材。延胡索炮制品中由于炮制辅料醋经陈放过程中产生四甲基吡嗪（tetramethylpyrazine, TMP）等美拉德反应产物^[21]，具有抗氧化及抑菌作用，同时能与延胡索中生物碱结合成盐增大溶解度，延胡索经醋制后能增强其贮藏期间的稳定性，故延胡索醋制品较延胡索相比与水加工样品下降率低，稳定性最好。这也验证了延胡索醋炙的科学性，建议延胡索鲜品采用切片醋蒸方法制备醋制延胡索饮片，也就是将产地加工和炮制一体化。

本研究通过 UPLC 测定延胡索中 8 种生物碱含量，观察药效指标性成分延胡索乙素和多组分含量变化，结合聚类分析、主成分分析等化学计量学对不同加工方法对延胡索药材及饮片稳定性影响做了初步探究。延胡索药材及饮片经过 18 个月稳定性观察，所测指标性成分延胡索乙素均符合《中国药典》2015 年版，但实际有效期还有待进一步分析确定。本研究仅从对储藏 18 个月成分稳定性影响方面初步评判加工炮制方法，烘干、晒干过程中不同温度、湿度、时间等其他工艺因素的影响和对水分、药材外观等其他品质影响有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015: 139-140.
- [2] 秦民坚, 郭玉海. 中药材采收加工学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2008: 178-179.

- [3] 张先洪, 陆兔林, 毛春芹. 延胡索不同炮制品镇痛抗炎作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(2): 449-450.
- [4] 宫登辉, 江永祥, 郑卫红, 等. 左旋延胡索乙素对化疗痛大鼠痛阈的影响及其在脊髓水平的机理研究 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(5): 27-29.
- [5] 罗麟梅, 严小波, 刘磊鑫, 等. 中药延胡索乙素对家兔心脏舒张期与收缩期比值的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(3): 228-229.
- [6] 杨堃, 李真真, 潘丽, 等. 延胡索总生物碱对异丙肾上腺素诱导的心肌梗死大鼠的心肌保护作用 [J]. 中国临床研究, 2016, 29(8): 1057-1061.
- [7] 施婷婷, 韩丽妹, 李希, 等. 元胡止痛方有效组分不同配伍对大鼠胃溃疡的保护作用 [J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 24(3): 141-147.
- [8] 徐靖宇, 白威峰, 丘成楷, 等. 延胡索和 L-THP 对吗啡依赖大鼠胃肠多巴胺系统的影响 [J]. 中药材, 2015, 38(12): 2568-2572.
- [9] Chen J, Lu X, Lu C, et al. 13-Methyl-palmatrubine induces apoptosis and cell cycle arrest in A549 cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(5): 2526-2534.
- [10] 王桂彩, 应森林. 重用延胡索(元首汤、二胡汤)从肝论治顽固性失眠 [J]. 实用中医内科杂志, 2015, 29(8): 57-58.
- [11] Kim J H, Ryu Y B, Lee W S, et al. Neuraminidase inhibitory activities of quaternary isoquinoline alkaloids from *Corydalis turtschaninovii* rhizome [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(21): 6047-6052.
- [12] 孙铭, 俞旭平, 徐建中, 等. 延胡索产地加工的工艺研究 [J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(10): 923-926.
- [13] 刘珍珍, 白桥, 徐皓. 不同初加工方法对延胡索 5 种生物碱含量的影响 [J]. 现代农业科技, 2019(22): 173-176.
- [14] 龙全江, 张颖, 徐雪琴. 不同加工方法对延胡索 3 种生物碱含量的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(7): 90-93.
- [15] 黄小平. 不同的炮制方法对延胡索中延胡索乙素含量的影响 [J]. 当代医药论丛, 2019, 17(18): 167-168.
- [16] 宋洪伟, 毛睿, 李丽红, 等. 延胡索炮制前后多组分质量控制方法的研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2019, 38(1): 63-67.
- [17] 张凯丽, 王绩英. 去氢紫堇碱的药理作用及其相关研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(16): 120-122.
- [18] 黄慧敏, 王红梅, 张斌强, 等. 四氢黄连碱体外抗炎作用及机理研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(1): 98-104.
- [19] 黄慧敏, 柯昌虎, 陈琴华. 四氢黄连碱体内抗炎作用的研究 [J]. 实用药物与临床, 2016, 19(7): 830-834.
- [20] 苏静华, 张超, 孙磊, 等. 指纹图谱结合化学计量学用于香橼品种鉴别的可行性分析 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2318-2324.
- [21] 周逸群, 贺福元, 杨岩涛, 等. 美拉德反应研究现状及对中药炮制和制剂工艺研究方法的影响 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 125-130.

[责任编辑 时圣明]