

## 中药特色临方炮制品种挖掘——胆黄连饮片的炮制工艺及质量标准研究

王苗苗<sup>1,2</sup>, 周雅倩<sup>1,2</sup>, 顾 滢<sup>1</sup>, 牟丽燕<sup>1,2</sup>, 刘 俏<sup>1,2</sup>, 陈丹妮<sup>1,2</sup>, 刘 逊<sup>3</sup>, 李伟东<sup>1,2</sup>, 殷放宙<sup>1,2\*</sup>

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药炮制重点实验室, 江苏 南京 210023

3. 苏州卫生职业技术学院, 江苏 苏州 215009

**摘要:** 目的 优选胆黄连 bile processed *Coptidis Rhizoma* 的炮制工艺并建立胆黄连饮片的质量标准。方法 以 5 种生物碱类成分(盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱)及醇浸出物的总评归一值(OD)为评价指标,运用 Box-Behnken 设计-响应面法试验考察胆汁用量、炒制温度、炒药时间对胆黄连炮制工艺的影响,建立 OD 值与各自变量的多元二次回归方程的数学模型,通过响应面法确定工艺参数。并通过对 10 批样品的水分、总灰分、醇浸出物及生物碱成分的分析建立了胆黄连的质量标准。**结果** 胆黄连最佳炮制工艺是黄连片加入 9%胆汁拌匀,闷润至干,置炒制容器内,控制炒制温度为 142 ℃,炒制 22 min,取出晾凉。3 次验证试验所得 OD 值分别为 0.721 9、0.745 4、0.753 4,接近于预测值,RSD 为 2.23%,说明该炮制工艺稳定、可行。建议规定胆黄连饮片的水分不得过 15.0%,总灰分不得过 3.0%,醇浸出物不得少于 12.0%,盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱的质量分数分别不得少于 6.0%、1.3%、1.6%、1.1%、0.34%。**结论** 采用响应面法优化的胆黄连炮制工艺简单可行,质量标准可控性强。

**关键词:** 胆黄连; Box-Behnken 设计-响应面法; 炮制工艺; 质量标准; 小檗碱; 巴马汀; 黄连碱; 表小檗碱; 药根碱

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)22-7421-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.22.018

## Processing technology and quality standard of bile processed *Coptidis Rhizoma* decoction pieces-excavating processing varieties of Chinese medicine characteristic clinical prescription

WANG Miao-miao<sup>1,2</sup>, ZHOU Ya-qian<sup>1,2</sup>, GU Yu<sup>1</sup>, MU Li-yan<sup>1,2</sup>, LIU Qiao<sup>1,2</sup>, CHEN Dan-ni<sup>1,2</sup>, LIU Xun<sup>3</sup>, LI Wei-dong<sup>1,2</sup>, YIN Fang-zhou<sup>1,2</sup>

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Key Laboratory of Chinese Medicine Processing, Nanjing 210023, China

3. Suzhou Vocational Health College, Suzhou 215009, China

**Abstract: Objective** To optimize the processing technology of bile processed *Coptidis Rhizoma* (bpCR) and establish its quality standard. **Methods** The overall desirability value (OD) of the contents of five alkaloid components (berberine hydrochloride, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine) and extract were used as evaluation index, and the Box Behnken design-response surface method (BBD-RSM) was applied to investigate the effects of bile dosage, frying temperature and frying time on the processing technology. A mathematical model of multiple quadratic regression equations of OD and respective variables was established, and the process parameters were determined by response surface method. Then, the quality standard of bpCR was established based on the moisture, total ash, extracts and alkaloid components of 10 batches samples. **Results** The best technological processing conditions was to add 9% of bile to the slices until dry and control the frying temperature of 142 ℃ and frying time of 22 min. Three validation tests yielded OD of 0.721 9, 0.745 4 and 0.753 4, which were close to the predicted value with RSD of 2.23%, indicating that the processing technology was stable and feasible. The standards were set as follows: the content of moisture and total ash should not exceed 15.0% and 3.0%, respectively, and the content of alcohol soluble extracts should not be

收稿日期: 2023-04-21

基金项目: 2022 年中央财政转移支付地方项目“基于重点研究室研究领域的中医药多学科研究能力提升项目—中药炮制标准”

作者简介: 王苗苗(1996—),女,硕士研究生,研究方向为中药学。E-mail: wmm970614@163.com

\*通信作者: 殷放宙,女,硕士生导师,研究方向为中药炮制机制与饮片质量标准研究。E-mail: yinfangzhou@njucm.edu.cn

less than 12.0%. The content of berberine hydrochloride, palmatine, coptisine, epiberberine and jatrorrhizine should not be less than 6.0%, 1.3%, 1.6%, 1.1% and 0.34%, respectively. **Conclusion** The processing technology of bpCR optimized by response surface methodology is simple and feasible, and the quality standard is controllable.

**Key words:** bile processed *Coptidis Rhizoma*; Box-Behnken design-response surface methodology; processing technology; quality standard; berberine; palmatine; coptisine; epiberberine; jatrorrhizine

黄连 *Coptidis Rhizoma* 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, 主要分布于我国四川、云南、湖北等地, 其味苦、性寒, 归心、脾、胃、肝、胆、大肠经, 具有清热燥湿、泻火解毒的功效<sup>[1]</sup>。黄连所含的成分以小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱等小檗碱型生物碱为主<sup>[2]</sup>, 具有抗菌<sup>[3]</sup>、抗病毒<sup>[4-5]</sup>、抗动脉粥样硬化<sup>[6]</sup>、抗糖尿病<sup>[7]</sup>、抗炎<sup>[8]</sup>、抗氧化和抗肿瘤<sup>[9]</sup>等作用。

“饮片入药, 生熟异治”是中医用药的鲜明特色和优势。黄连经炮制后, 其成分发生不同程度的变化, 进而导致药性的改变。黄连尽管寒性偏盛, 但当临床上遇有大热之症时, 仍嫌其寒性不足, 可用苦寒的胆汁来炮制, 通过增强其苦寒之性, 增强其清热泻火之力, 胆黄连是通过炮制达到“寒者益寒”的典型炮制品种。宋《圣济总录》<sup>[10]</sup>中首次记录了胆黄连的炮制方法: “黄连末, 用猪胆一枚, 入末在内, 以好醋煮十余沸, 取出挂候干, 研为末”; 明《本草纲目》中提到“治肝胆之实火, 则用猪胆汁浸炒”。明《炮炙大法》<sup>[11]</sup>及清《本草述钩元》<sup>[12]</sup>均引用了《本草纲目》中的观点。目前, 除《上海市中药饮片炮制规范》对胆黄连有记载外, 其他的各级炮制规范及药品标准均未收载该品种。胆黄连作为具有特色的中药炮制品种, 使用时多为临方炮制, 由于没有较多的研究资料参考, 导致其在炮制时工艺差异较大, 无法确保其质量并稳定的发挥药效。为有效地挖掘、传承特色中药炮制品种, 有必要对胆黄连进行相应的工艺及质量标准研究。

目前, 关于胆黄连的相关研究较少, 有研究曾以胆黄连饮片的醇浸出物和少量种生物碱或总生物碱为指标, 运用正交试验等考察确定了胆黄连炮制工艺的炮制工艺<sup>[13-14]</sup>, 但这些研究在考察方式和考察指标上还不够全面。炮制工艺的不稳定不利于对其进行有效的质量控制及发挥稳定的药效。同时, 迄今为止, 尚未有文献对胆黄连进行有效的质量评价研究。因此, 本实验以胆黄连中含量较高的 5 种生物碱类成分 (盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表

小檗碱、药根碱) 及醇浸出物含量的归一值 (OD) 为评价指标, 采用单因素试验结合 Box-Behnken 设计-响应面法 (Box-Behnken design-response surface method, BBD-RSM) 优化胆黄连的炮制工艺, 并建立其质量标准, 以保证其临床用药有效。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters 2998 型高效液相色谱仪, 美国 Waters 公司; FA1104 型万分之一分析天平, 上海良平仪器仪表有限公司; SQP 型十万分之一分析天平, 德国 Sartorius 公司; KQ-500E 型超声清洗器, 江苏昆山超声仪器有限公司; AS309 型红外测温仪, 东莞万创电子制品有限公司。

### 1.2 药材与试剂

实验所需黄连药材经南京中医药大学李伟东教授鉴定, 均为毛茛科植物黄连 *C. chinensis* Franch. 的干燥根茎。其中, 样品 S01~S02 采自四川省彭州市, S03~S06 采自重庆市黄水镇, S07~S10 采自湖北省恩施市。猪胆汁购买于湖南省长沙市。对照品盐酸小檗碱 (批号 RFS-Y03511811015, 质量分数 >98%)、表小檗碱 (批号 RFS-B06402103016, 质量分数 >98%)、药根碱 (批号 RFS-Y05202007027, 质量分数 >98%)、黄连碱 (批号 RFS-H08501910006, 质量分数 >98%) 购自成都瑞芬思生物科技有限公司, 巴马汀 (批号 ST78600120, 质量分数 ≥98%) 购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。试验用甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 胆黄连饮片的炮制工艺

取净黄连片 200 g, 加入一定量的胆汁 (胆汁加水稀释至药材量的 40%), 拌匀, 待胆汁液吸尽后, 置炒制容器内, 控制炒制温度, 炒制一定的时间, 取出, 晾凉。

### 2.2 生物碱类成分的测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-30 mmol/L 碳酸氢铵溶液 (含 0.1% 三乙胺和 0.7% 氨水), 进行梯

度洗脱: 0~15 min, 10%~25%乙腈; 15~25 min, 25%~30%乙腈; 25~40 min, 30%~45%乙腈; 40~45 min, 45%乙腈; 体积流量 1 mL/min; 检测波长 345 nm; 柱温 30 °C; 进样体积 10 μL。

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 分别取各对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解、混合、稀释, 配制成含盐酸小檗碱 624 μg/mL、巴马汀 188 μg/mL、黄连碱 148 μg/mL、表小檗碱 116 μg/mL、药根碱 72 μg/mL 的混合对照品溶液, 混匀, 备用。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取胆黄连粉末(过二号筛)约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 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, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 滤液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

**2.2.4 专属性考察** 分别精密进样 10 μL 混合对照品溶液、胆黄连供试品溶液。结果见图 1, 在本实验的色谱条件下, 5 种成分的分度良好 ( $R > 1.5$ ), 表明试验专属性良好。

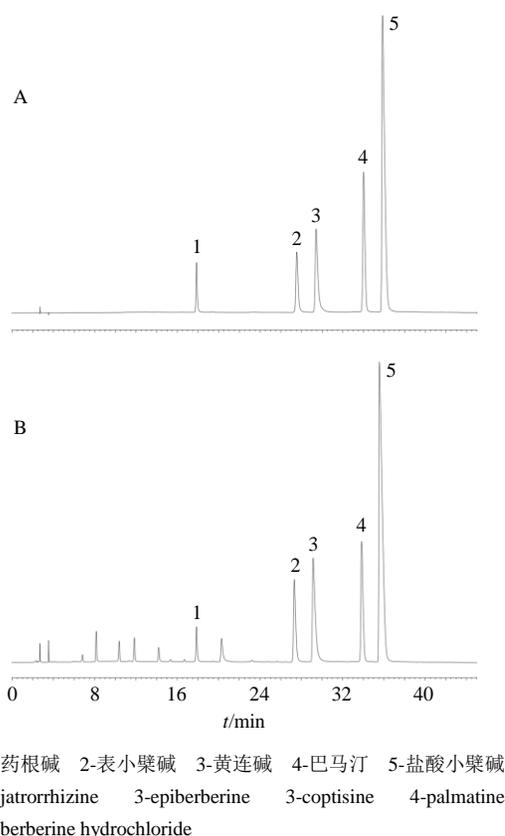


图 1 混合对照品 (A) 和胆黄连供试品 (B) 的 HPLC 图  
Fig. 1 HPLC of mixed reference substances (A) and bile processed *Coptidis Rhizoma* sample (B)

**2.2.5 线性关系考察** 取混合对照品溶液, 梯度稀释为 5 个不同的质量浓度, 分别进样测定。以峰面积为纵坐标 (Y), 进样质量浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 计算回归方程, 结果分别为盐酸小檗碱  $Y=3.6676 \times 10^7 X + 1.6209 \times 10^5$ ,  $r=1.0000$ , 线性范围 39.00~624.00 μg/mL; 巴马汀  $Y=2.9410 \times 10^7 X + 1.0997 \times 10^5$ ,  $r=0.9999$ , 线性范围 11.75~188.00 μg/mL; 黄连碱  $Y=3.5424 \times 10^7 X - 3.5652 \times 10^4$ ,  $r=0.9997$ , 线性范围 9.25~148.00 μg/mL; 表小檗碱  $Y=3.0851 \times 10^7 X - 2.0721 \times 10^4$ ,  $r=0.9992$ , 线性范围 7.25~116.00 μg/mL; 药根碱  $Y=1.9357 \times 10^7 X + 7.8550 \times 10^3$ ,  $r=0.9998$ , 线性范围 4.50~72.00 μg/mL; 可见, 各成分在相应质量浓度间线性范围良好。

**2.2.6 精密度考察** 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 连续进样测定 6 次, 记录各成分的峰面积, 计算盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱峰面积的 RSD 分别为 0.85%、0.71%、2.54%、1.53%、2.53%, 结果表明仪器精密度良好。

**2.2.7 稳定性考察** 取胆黄连供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、18、24 h 进样测定, 记录各成分的峰面积, 计算盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱峰面积的 RSD 分别为 1.58%、1.98%、2.43%、1.59%、1.87%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内的稳定性良好。

**2.2.8 重复性考察** 取胆黄连粉末 6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 分别制备成供试品溶液, 进样测定, 记录各成分的峰面积, 计算盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱质量分数的 RSD 分别为 1.86%、2.56%、2.22%、1.87%、2.00%, 结果表明该方法重复性良好。

**2.2.9 加样回收率试验** 取胆黄连粉末 6 份, 每份 0.1 g, 精密称定, 分别加入等量的混合对照品溶液, 制备供试品溶液, 进样测定, 记录各成分的峰面积, 计算盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱的平均加样回收率分别为 97.46%、95.41%、95.61%、95.45%、103.29%, RSD 分别为 2.20%、1.73%、1.40%、1.51%、1.76%, 结果表明该方法回收率良好。

**2.2.10 样品测定** 取胆黄连粉末(过二号筛)约 0.2 g, 精密称定, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行测定盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱的含量。

### 2.3 醇浸出物的测定

称取胆黄连粉末(过二号筛)约 4.0 g, 精密称定, 置 250 mL 的锥形瓶中, 精密加稀乙醇 100 mL, 按《中国药典》2020 年版通则 2201 醇溶性浸出物测定法项下的热浸法测定。

### 2.4 总评归一值的计算

利用 Hassan 法对各效应值(盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱和醇浸出物含量)进行归一化, 以效应值越大越好。因此, 归一值( $d_i$ ) =  $(Y_i - Y_{\min}) / (Y_{\max} - Y_{\min})$ , 其中  $Y_{\max}$  为指标中最大值,  $Y_{\min}$  为指标中最小值。再对归一值求几何平均值, 得总评归一值(OD), 即  $OD = (d_1 d_2 \cdots d_n)^{1/n}$  ( $n$  为指标数)。

### 2.5 单因素试验优化炮制因素考察

**2.5.1 胆汁用量的考察** 取 S07 批净黄连片 5 份(200 g/份), 分别加入不同量的胆汁(4%、6%、8%、10%、12%, 胆汁加水稀释至药材量的 40%), 拌匀,

待胆汁液吸尽后, 置炒制容器内, 控制炒制温度 100 °C, 炒制 10 min, 取出, 晾凉, 考察不同胆汁用量对 5 种生物碱类成分及醇浸出物的 OD 的影响。结果见表 1, 随着胆汁用量的增加, OD 呈现出先增加后降低的趋势, 因此, 选择 8%、10%、12% 3 个水平进行后续优化实验。

**2.5.2 炒制温度的考察** 取 S07 批净黄连片 5 份(200 g/份), 分别加入 10% 胆汁(胆汁加水稀释至药材量的 40%) 拌匀, 待胆汁液吸尽后, 置炒制容器内, 控制不同的炒制温度(80、100、120、140、160 °C), 炒制 10 min, 取出, 晾凉, 考察不同炒制温度对 5 种生物碱类成分及醇浸出物的 OD 的影响。结果见表 2, 随着炒制温度的增加, OD 呈现出先增加后降低的趋势, 因此, 选择 120、140、160 °C 3 个水平进行后续优化实验。

**2.5.3 炒制时间的考察** 取 S07 批净黄连片 5 份(200 g/份), 分别加入 10% 胆汁(胆汁加水稀释至

表 1 胆汁用量考察结果

Table 1 Investigation of bile dosage

胆汁用量/%	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )					醇浸出物/%	OD
	盐酸小檗碱	巴马汀	黄连碱	表小檗碱	药根碱		
4	56.09	11.37	16.65	9.72	3.60	13.69	0.163 0
6	64.28	12.94	18.61	10.14	3.98	14.48	0.539 2
8	61.62	12.97	19.49	10.96	4.14	15.28	0.653 7
10	64.55	12.92	20.55	11.90	3.86	15.40	0.782 1
12	61.98	12.49	19.32	10.94	3.94	16.00	0.617 2

表 2 炒制温度考察结果

Table 2 Investigation of frying temperature

炒制温度/°C	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )					醇浸出物/%	OD
	盐酸小檗碱	巴马汀	黄连碱	表小檗碱	药根碱		
80	61.24	13.65	19.01	10.55	3.80	15.96	0.124 7
100	65.19	12.55	20.29	11.42	3.74	16.46	0.274 0
120	65.79	13.47	20.32	11.44	4.23	17.01	0.535 1
140	67.72	14.33	21.32	11.62	4.81	17.26	0.829 6
160	68.63	13.95	21.17	11.59	4.29	17.70	0.747 3

药材量的 40%) 拌匀, 待胆汁液吸尽后, 置炒制容器内, 控制炒制温度 140 °C, 炒制不同的时间(5、10、15、20、25 min), 取出, 晾凉, 考察不同炒制时间对 5 种生物碱类成分及醇浸出物的 OD 的影响。结果见表 3, 随着炒制时间的增加, OD 呈现出先增加后降低的趋势, 因此, 选择 15、20、25 min 这 3 个水平进行后续优化实验。

### 2.6 BBD-RSM 优化炮制工艺

**2.6.1 BBD 试验设计及结果** 以 5 种生物碱及醇浸出物的 OD 为响应值, 依据 Design Expert 10.0.1 软件, 采用 BBD 试验设计 3 因素 3 水平的响应面分析法对工艺参数进行优化。选取 S07 批净黄连片 17 份, 每份 200 g, 按照 BBD 试验设计方法炮制胆黄连饮片。BBD 因素水平、试验设计及结果见表 4。

表3 炒制时间考察结果

Table 3 Investigation of frying time

炒制时间/min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )					醇浸出物/%	OD
	盐酸小檗碱	巴马汀	黄连碱	表小檗碱	药根碱		
5	69.63	14.04	19.45	11.27	3.48	17.68	0.202 7
10	73.45	14.85	22.15	12.17	4.18	19.06	0.556 7
15	73.21	14.73	23.20	13.13	4.28	18.16	0.539 1
20	78.11	15.73	23.82	12.78	4.34	20.12	0.840 8
25	74.02	14.16	20.48	10.82	3.88	18.24	0.316 0

表4 BBD 试验设计及结果

Table 4 Box-Behnken test design and results

序号	X <sub>1</sub> /%	X <sub>2</sub> /°C	X <sub>3</sub> /min	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )					醇浸出物/%	OD
				盐酸小檗碱	巴马汀	黄连碱	表小檗碱	药根碱		
1	10 (0)	120 (-1)	15 (-1)	51.17	12.81	15.47	9.08	2.92	17.55	0.253 9
2	10	140 (0)	20 (0)	59.50	15.28	18.21	10.30	4.19	18.70	0.730 9
3	10	140	20	57.19	14.93	17.26	10.39	4.33	19.09	0.677 8
4	10	120	25 (+1)	51.62	13.75	15.65	9.50	3.17	17.47	0.322 5
5	12 (+1)	140	25	52.94	13.77	16.14	9.30	3.02	18.33	0.387 8
6	12	160 (+1)	20	55.68	12.83	16.48	8.84	2.91	18.23	0.346 3
7	12	140	15	52.31	14.22	16.47	9.45	3.36	18.18	0.407 3
8	8 (-1)	120	20	48.80	11.11	14.61	8.56	3.18	16.16	0.039 0
9	10	140	20	62.15	16.27	19.30	10.58	4.21	20.52	0.880 7
10	8	160	20	55.19	12.97	17.02	9.88	2.51	18.29	0.404 9
11	10	160	25	52.36	12.67	16.53	8.97	2.98	18.10	0.322 0
12	10	160	15	53.66	12.39	16.48	9.05	2.60	17.54	0.034 0
13	8	140	15	55.35	14.22	18.14	9.94	3.54	17.04	0.491 3
14	8	140	25	59.29	15.25	18.94	10.79	4.13	18.36	0.745 3
15	10	140	20	57.34	15.82	18.45	11.56	3.83	17.44	0.684 8
16	12	120	20	48.45	11.24	15.51	8.53	2.24	16.15	0.304 0
17	10	140	20	59.74	14.68	18.29	11.01	3.57	18.30	0.701 7

**2.6.2 模型拟合与方差分析** 应用 Design Expert 10.0.1 软件,以总评 OD 值为响应值,分别对 3 个因素胆汁用量 (X<sub>1</sub>)、炒制温度 (X<sub>2</sub>)、炒制时间 (X<sub>3</sub>) 进行数据拟合分析,得到二元回归方程:  $OD = 0.740 - 0.063 X_1 + 0.091 X_2 + 0.040 X_3 - 0.013 X_1 X_2 - 0.068 X_1 X_3 - 0.013 X_2 X_3 - 0.160 X_1^2 - 0.370 X_2^2 - 0.066 X_3^2$ 。方差分析结果见表 5,该模型  $P = 0.009 0 < 0.01$ ,说明所采用的回归模型具有统计学意义,失拟项  $P = 0.138 6 > 0.05$ ,失拟项不显著,说明所建立的模型与实际情况能吻合,误差较小,拟合度较高。此外,模型中的 X<sub>1</sub><sup>2</sup>、X<sub>2</sub><sup>2</sup> 的 P 值均小于 0.05,具有显著性,且比较 X<sub>1</sub> (胆汁用量)、X<sub>2</sub> (炒制温度)、X<sub>3</sub> (炒制

时间) 3 个因素的 F 值可知,对炮制工艺影响的重要的顺序为 X<sub>2</sub> > X<sub>1</sub> > X<sub>3</sub>。综上,可认为该回归模型拟合充分,可用来对炮制工艺进行预测。

**2.6.3 响应面图分析及炮制工艺预测** 根据模型回归方程,绘制响应面,由胆汁用量、炒制温度及炒制时间等各因素交互影响构成三维空间曲面图和等高线图,能直观反映各试验因素的交互作用。响应面曲面越陡,表明 2 个因素的交互作用越大,对响应值的影响越大,反之影响越小;等高线图为椭圆形,表明两因素之间的交互作用显著。如图 2 所示,胆汁用量与炒制温度、炒制温度与炒制时间的交互作用较强,对所考察指标的含影响显著。经 Design

表 5 回归模型方差分析结果

Table 5 Variance analysis results of regression model

误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	误差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	0.880	9	0.100	6.960	0.009 0	$X_1^2$	0.110	1	0.110	7.780	0.027 0
$X_1$	0.032	1	0.032	2.280	0.175 2	$X_2^2$	0.570	1	0.570	40.730	0.000 4
$X_2$	0.066	1	0.066	4.720	0.066 3	$X_3^2$	0.019	1	0.019	1.320	0.287 9
$X_3$	0.013	1	0.013	0.920	0.369 6	残差	0.100	7	0.014		
$X_1X_2$	$7.180 \times 10^{-4}$	1	$7.180 \times 10^{-4}$	0.051	0.827 4	失拟项	0.070	3	0.023	3.310	0.138 6
$X_1X_3$	0.019	1	0.019	1.330	0.286 0	误差	0.028	4	$7.036 \times 10^{-3}$		
$X_2X_3$	$6.400 \times 10^{-4}$	1	$6.400 \times 10^{-4}$	0.046	0.836 9	总离差	0.980	16			

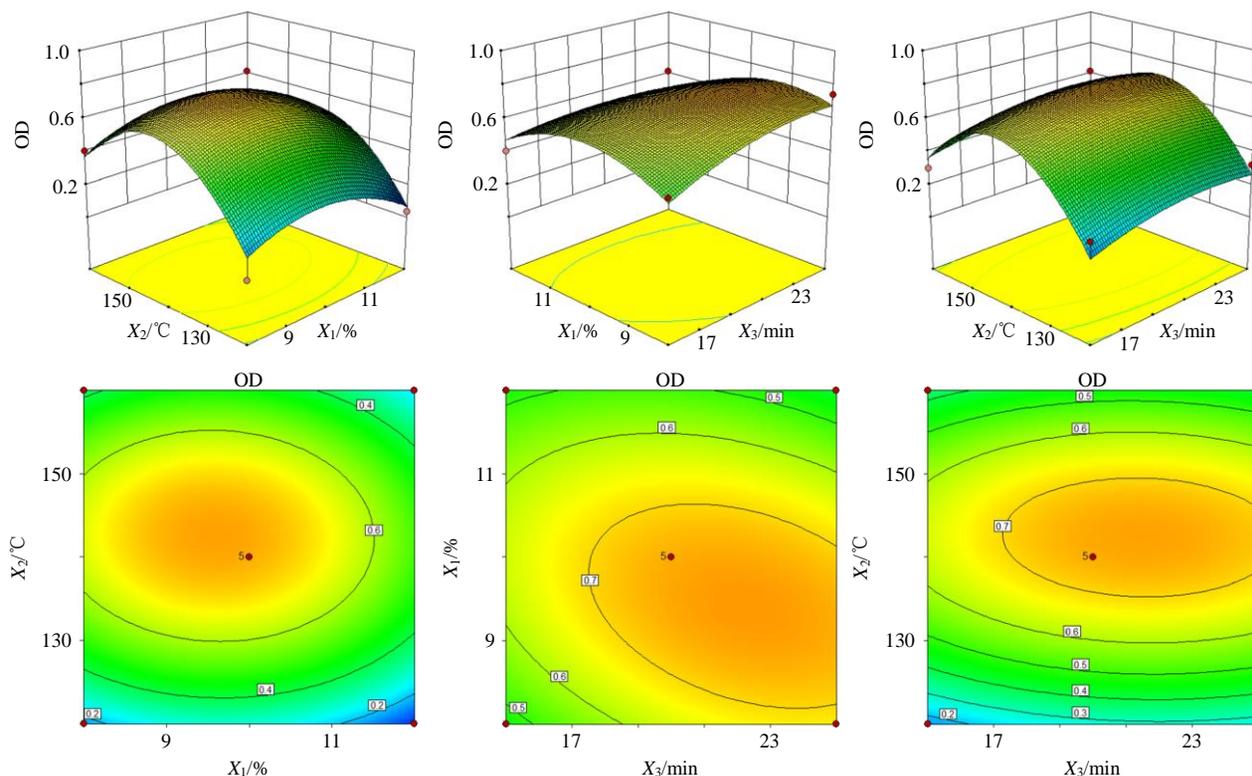


图 2 胆汁用量 ( $X_1$ )、炒制温度 ( $X_2$ ) 和炒制时间 ( $X_3$ ) 交互作用的 3D 响应面图和等高线图

Fig. 2 3D response surface and contour chart of bile dosage ( $X_1$ ), frying temperature ( $X_2$ ), and frying time ( $X_3$ ) for their mutual interaction

Expert 10.0.1 软件分析, 得到胆黄连炮制的最佳工艺条件为胆汁用量 9.409 2%, 炒制温度 142.422 °C, 炒制时间 22.212 3 min, 理论计算得分 0.758 9。

**2.6.4 最佳工艺条件的验证试验** 为方便实验操作, 对优选出的胆黄连最佳炮制工艺进行调整, 将最佳工艺参数调整为胆汁用量 9%, 炒制温度 142 °C, 炒制时间 22 min。为验证所建模型的正确性, 按调整后的炮制工艺进行 3 次验证试验, 测得 OD 值分别为 0.721 9、0.745 4、0.753 4, 接近于预测值, 平均值为 0.740 1, RSD 为 2.23%, 说明该炮制工艺合理、稳定。

### 2.7 胆黄连的质量标准研究

将收集到的 10 批黄连片按最佳工艺条件进行炮制, 备用, 编号分别为 S01~S10。

**2.7.1 性状考察** 观察 10 批胆黄连, 其均为不规则的切片, 类似黄连片, 直径 2~10 mm。表面棕色, 切面木部红棕色, 有的可见焦斑。微具焦香气及腥臭味。

**2.7.2 检查** 分别按《中国药典》2020 年版通则 0832 水分测定法 (第二法) 及 2302 灰分测定法, 对 10 批胆黄连样品进行水分及总灰分测定, 结果见表 6, 水分的质量分数为 8.97%~13.85%, 总灰分

的质量分数为 2.12%~2.73%，按平均质量分数上浮 30%制定标准，确定胆黄连中水分不得过 15.0%，总灰分不得过 3.0%。

**2.7.3 醇浸出物** 按《中国药典》2020 年版通则 2201 醇溶性浸出物测定法项下的热浸法测定 10 批胆黄连样品的醇浸出物含量，结果见表 6，醇浸出物的质量分数为 14.60%~18.63%，按平均质量分数下调 30%制定标准，确定胆黄连中醇浸出物不得少于 12.0%。

**2.7.4 生物碱成分的含量测定** 同“2.2”项下方法，测定 10 批胆黄连中盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱的含量。结果见表 7，10 批胆黄

连中盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱的质量分数分别为 8.21%~8.96%、1.83%~2.03%、2.06%~2.29%、1.31%~1.70%、0.46%~0.51%，按平均质量分数下调 30%制定标准，确定胆黄连中盐酸小檗碱不得少于 6.0%、巴马汀不得少于 1.3%，黄连碱不得少于 1.6%，表小檗碱不得少于 1.1%，药根碱不得少于 0.34%。

### 3 讨论

目前，国家非常重视中医药的传承与创新，大力支持中药特色炮制技术及品种的挖掘，《中医药发展战略规划纲要（2016—2030 年）》《中共中央、国务院关于促进中医药传承创新发展的意见》《关于加快中医药特色发展的若干政策措施》等的发布促进了中药临方炮制的发展<sup>[15]</sup>。临方炮制是中药用于临床时的一道重要加工工序，不仅可以满足中医临床用药的灵活变化，还可以发挥中医辨证施治的特色，提高中药临床疗效。而胆黄连是吴门医派代表性的临方特色炮制品，临床上用量较少，故目前未有企业对其进行生产，由医院药房根据用药的需要直接来进行炮制，为了保证临床用药的有效性和安全性，同样有必要对其进行工艺及质量标准的研究。而同时，在规范化炮制工艺及可控的质量标准的基础上才利于进一步阐述胆黄连炮制的科学内涵。

中药炮制工艺多采用正交试验设计法、均匀设计法、BBD-RSM 等模型进行优化，其中正交和均匀试验法实验次数较少，精度较低，而响应面法虽试验次数多，但所建立的非线性数学模型，预测性好，试验精度高，结果直观，适用于多因素、多水平的试验，克服了正交试验预测性差等缺点<sup>[16-17]</sup>。

基于此，本实验以 5 种生物碱（盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱）及醇浸出物的 OD 值为评价指标，采用 BBD-RSM 筛选出的胆黄连炮制工艺参数明确、稳定性好，可提高胆黄连饮片的内在质量，保证质量均一性和临床有效性。通过测定 3 个产地 10 批胆黄连样品的水分、总灰分、醇浸出物，以及盐酸小檗碱、巴马汀、黄连碱、表小檗碱、药根碱等主要活性成分，并在此基础上拟定了相应的限度，可为胆黄连质量标准建立提供方法和数据参考。相较于 2018 年版《上海市中药饮片炮制规范》中仅规定了胆黄连的炮制方法及“性状”质控指标，本实验不仅确定了胆黄连的具体工艺参数，所建立的质量标准又增加了水分、总灰分、浸出物及生物碱的含量测定，为其临方炮制品的加工

表 6 水分、总灰分及醇浸出物测定结果

Table 6 Determination of moisture, total ash and ethanol-soluble extracts

样品编号	水分/%	总灰分/%	醇浸出物/%
S01	9.78	2.39	17.86
S02	10.25	2.73	18.56
S03	8.97	2.52	16.55
S04	9.61	2.45	18.63
S05	12.25	2.39	17.79
S06	12.50	2.12	17.20
S07	13.85	2.34	16.62
S08	13.08	2.37	14.60
S09	12.27	2.48	17.40
S10	11.97	2.33	18.06
平均值	11.45	2.41	17.33

表 7 生物碱的含量测定结果

Table 7 Determination of alkaloids

样品编号	质量分数/%				
	盐酸小檗碱	巴马汀	黄连碱	表小檗碱	药根碱
S01	8.77	1.99	2.06	1.31	0.50
S02	8.96	2.03	2.14	1.50	0.51
S03	8.77	1.92	2.29	1.67	0.48
S04	8.39	1.85	2.21	1.70	0.46
S05	8.63	1.86	2.22	1.65	0.50
S06	8.51	1.86	2.29	1.63	0.48
S07	8.21	1.88	2.19	1.54	0.48
S08	8.43	1.85	2.23	1.54	0.47
S09	8.35	1.83	2.24	1.51	0.50
S10	8.36	1.83	2.23	1.50	0.48
平均值	8.54	1.89	2.21	1.46	0.49

与质量控制建立奠定了基础,使其更好地服务于中医临床。

**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. 2020: 316.
- [2] 黄玲. 黄连化学成分及有效成分药理活性的研究进展 [J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(17): 136-137.
- [3] Peng L C, Kang S, Yin Z Q, *et al.* Antibacterial activity and mechanism of berberine against *Streptococcus agalactiae* [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(5): 5217-5223.
- [4] Jia F, Zou G, Fan J J, *et al.* Identification of palmatine as an inhibitor of West Nile virus [J]. *Arch Virol*, 2010, 155(8): 1325-1329.
- [5] Zhou X L, Li H T, Shi Z L, *et al.* Inhibition activity of a traditional Chinese herbal formula Huang-Lian-Jie-Du-Tang and its major components found in its plasma profile on neuraminidase-1 [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15549.
- [6] Tan W X, Wang Y, Wang K Y, *et al.* Improvement of endothelial dysfunction of berberine in atherosclerotic mice and mechanism exploring through TMT-based proteomics [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8683404.
- [7] An W R, Huang Y Q, Chen S Q, *et al.* Mechanisms of *Rhizoma Coptidis* against type 2 diabetes mellitus explored by network pharmacology combined with molecular docking and experimental validation [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 20849.
- [8] Xie Q, Li H Y, Ma R, *et al.* Effect of *Coptis chinensis* franch and *Magnolia officinalis* on intestinal flora and intestinal barrier in a TNBS-induced ulcerative colitis rats model [J]. *Phytomedicine*, 2022, 97: 153927.
- [9] He L Y, Zhong Z F, Chen M, *et al.* Current advances in *Coptidis Rhizoma* for gastrointestinal and other cancers [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 775084.
- [10] 宋·赵佶敕编. 圣济总录 (200 卷) [M]. 影印版. 重庆: 西南师范大学出版社, 2011: 2850.
- [11] 明·缪希雍著. 成莉校注. 炮炙大法 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2012: 36.
- [12] 清·杨时泰. 本草述钩元 (32 卷) [M]. 新1版. 上海: 科技卫生出版社, 1958: 122.
- [13] 钟凌云, 杨金梅, 龚千锋, 等. 正交试验法优选胆黄连炮制工艺的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(8): 1296-1298.
- [14] 王静, 陈悦, 袁子民, 等. 响应面法优化胆黄连的炮制工艺 [J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(6): 1298-1300.
- [15] 牛晓静, 鲁静, 马彦江, 等. 中药临方炮制的临床意义 [J]. 中医药管理杂志, 2021, 29(22): 99-101.
- [16] 张玖捌, 张伟, 王彬, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法的白芍产地加工与炮制生产一体化工艺研究 [J]. 中草药, 2022, 53(18): 5657-5662.
- [17] 王伶俐, 应泽茜, 孙贝贝, 等. 基于 Box-Behnken 设计-响应面法优化蜜麦麸的制备工艺 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3538-3543.

[责任编辑 郑礼胜]