

The Effects of Processing the *Coptis chinensis* Using Different Types of Wine on the Main Components of Alkaloids

Kai Chen, Jianyong Yuan*

College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing
Email: chen kai1212@126.com, *enediyne90@163.com

Received: Jan. 30th, 2016; accepted: Feb. 22nd, 2016; published: Feb. 25th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Objective: To compare the effect of different types of wine on the main compositions and contents of the alkaloids of *Coptis chinensis*. **Methods:** the main components of Wine rhizoma coptidis alkaloids and the contents of coptisine, jatrorrhizine, palmatine and berberine are determined by HPLC. **Results:** After HPLC detection, peak number and retention time are consistent, but the content of total alkaloids varies in different degrees. After sorghum liquor 60° processing, the total alkaloids increase most significantly. But after Jingjiu 35° processing, the total alkaloids reduce. **Conclusion:** The research finds that after sorghum processing, the content of total alkaloids increases most significantly and that the sorghum processing can provide evidence for choosing the auxiliary wine.

Keywords

HPLC, Alkaloids, Alcohol Coptis, Sorghum Liquor, Yellow Wine

不同种类酒炮制黄连对生物碱类主要成分的影响

陈 凯, 袁建勇*

重庆医科大学药学院, 重庆

*通讯作者。

Email: chen kai1212@126.com, *enediyne90@163.com

收稿日期: 2016年1月30日; 录用日期: 2016年2月22日; 发布日期: 2016年2月25日

摘要

目的: 比较不同种类酒对黄连生物碱类主要成分及含量的影响。方法: 采用HPLC法测定酒黄连生物碱类主要成分及其中黄连碱、药根碱、巴马汀、小檗碱的含量。结果: 不同酒炮制的酒黄连经HPLC检测, 主峰数量和保留时间一致, 总生物碱含量存在不同程度的变化。五种生物碱总含量变化, 经高粱酒60°炮制增加最为明显, 但经过劲酒35°炮制含量反而降低。结论: 本研究发经过高粱酒炮制能使生物碱类含量增加最为显著, 为辅料酒的种类选择提供一定依据。

关键词

HPLC, 生物碱, 酒黄连, 高粱酒, 黄酒

1. 引言

黄连为毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeter* Wall.的干燥根茎[1]。具清热燥湿、泻火解毒之功效。黄连的炮制品有生黄连、姜黄连、萸黄连、酒黄连、盐黄连、醋黄连。酒黄连为黄连的主要炮制品之一。具有泻火解毒,燥湿,消炎,杀菌,健胃的功效。临床主治热盛心烦、痞满、消渴、吐血、衄血、目赤口疮、疮疥、细菌性痢疾、肠炎、上呼吸道感染等[2]。用酒炮制黄连,能使黄连长于上行,籍酒力上升也,善清头目之火[3]。本文考察了不同酒对酒黄连生物碱类主要成分的影响。

2. 仪器与试药

2.1. 试验仪器试剂

超声清洗仪(SB25-12DTN, 宁波新艺生物科技股份有限公司), 纯水净化仪器(GWA-UN, 普析通用), 十万分之一天平(FA2104S, 上海舜宇恒平科技仪器有限公司), 自动测定仪(MODEL 828, ORION), 色谱柱(WondaSil C₁₈ 5 μ m, 4.6 mm \times 150 mm), SHIMADZU LC-15C 高效液相色谱仪, 紫外检测器 SPD-15C。

乙腈(AS1134-001), 甲醇(MS1922-001), 乙腈(Merck 公司, 色谱纯), 磷酸二氢钾, 十二烷基硫酸钠为分析纯。实验用水为纯水净化仪器制取的 RO 水, 液相用水为制取的 UP 水。

2.2. 试验用药

黄连药材购自于重庆万和大药房(重庆康迪制药有限公司), 重庆医药高等专科学校冯婧鉴定为黄连 *Coptis chinensis* Franch.; 对照品: 盐酸小檗碱(EG9H-8M3F) (批号)、盐酸巴马汀(8H3K-SQ30) (批号)购于中国食品药品检定研究院。盐酸药根碱(14022411) (批号)、表小檗碱(13092410)黄连碱(13032301)(批号)购于成都市药物检定所。

3. 方法与结果

3.1. HPLC 条件

色谱柱: WondaSil C₁₈, 4.6 mm \times 150 mm, 流动相: 乙腈-50 mmol/L 磷酸二氢钾溶液(50:50)(混合液

中加 15 mmol/L 十二烷基硫酸钠,再以磷酸调节 PH 为 4.0);柱温: 30°C;进样量 20 μ L;流速: 1.0 ml/min;检测波长 345 nm。

3.2. 供试品溶液的制备

取生黄连及各种酒黄连粉末(酒黄连制备详见(2))过 40 目 0.2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇-盐酸(100:1)的混合液 50 ml, 密塞,称定重量,超声处理(600 w, 40 KHz, 30 min),放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 滤膜过滤,取滤液 2 ml 至 10 ml 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。平行做 3 份。

3.3. 对照品溶液的制备

取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 900 μ g 的溶液,作为盐酸小檗碱标准储备液;取盐酸表小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 170 μ g 的溶液,作为盐酸表小檗碱标准储备液;取黄连碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 360 μ g 的溶液,作为黄连碱标准储备液;取药根碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 150 μ g 的溶液,作为药根碱标准储备液;取巴马汀对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 265 μ g 的溶液,作为巴马汀标准储备液;分别精密吸取上述标准储备液各 2 ml,置同一 10 ml 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得盐酸小檗碱、盐酸表小檗碱、黄连碱、药根碱、巴马汀混合对照品。

3.4. 方法学考察

3.4.1. 标准曲线的绘制

精密吸取上述混合对照品溶液 1、2、5、10、20 μ l。依次注入高效液相色谱仪,进行分析,并以进样量为横坐标(X),3 次测得的峰面积的平均值为纵坐标(Y),峰面积对相应进样量进行线性回归计算,得药根碱、盐酸表小檗碱、黄连碱、巴马汀、盐酸小檗碱的回归方程分别为,见表 1。

3.4.2. 稳定性试验

取酒制黄连药材粉末,精密称定,按 3.2 项下的方法制备供试液,分别于 0、4、8、16、24、34、48 h 进样 20 μ L,记录 HPLC 图谱。计算盐酸药根碱、黄连碱、巴马汀、盐酸小檗碱的峰面积 RSD 分别为 0.77%、0.69%、0.65%、0.45%表明,供试品在 48 h 内基本稳定。

3.4.3. 精密度试验

取酒黄连制品粉末,精密称定,按 3.2 项下方法制备供试液,重复进样 6 次,记录 PHLC 图谱。结果表明,各主要色谱峰相对保留时间以及相对峰面积值无明显变化。各主要色谱峰相对保留时间 RSD 分别为: 0.09%, 0.12%, 0.13%, 0.17%, 0.18%。各主要色谱峰相对峰面积 RSD 分别为: 1.37%, 1.38%, 1.27%, 1.27%, 1.30%。

3.4.4. 重现性试验

取同一批样品 5 份,分别按 3.2 项下方法制备供试液,按上述液相色谱条件测定,以盐酸小檗碱为参照峰,计算相对保留时间和相对峰面积。该色谱峰相对保留时间 RSD 为 0.18%,峰面积的 RSD 为 2.5%

3.4.5. 加样回收率试验

分别取 5 份已测知这 5 种生物碱含量的黄连药材各约 0.2000 g,精密称定,分别精密加入对照品(盐酸表小檗碱、巴马汀、小檗碱),按供试液制备和含量测定方法进行操作,结果该法测定黄连药材中的小檗碱、巴马汀、药根碱,回收率分别为 100%、100.34%、95.98% (RSD 分别为 3.98%、2.61%、5.17%, n = 5)。结果见表 2。

Table 1. Linear relationship between the study of various alkaloids

表 1. 各生物碱的线性关系考察

对照品	线性方程	相关系数 r	线性范围/ μg
药根碱	$Y = 12271X - 379.80$	$r = 0.9991$	0.0024~0.048
表小檗碱	$Y = 11100X - 550.27$	$r = 0.9992$	0.0032~0.064
黄连碱	$Y = 27410X - 1602.4$	$r = 0.9995$	0.0056~0.112
巴马汀	$Y = 20026X - 943.15$	$r = 0.9992$	0.0045~0.090
小檗碱	$Y = 68180X - 560.20$	$r = 0.9994$	0.017~0.340

Table 2. Recovery results berberine wine samples measured (n = 5)

表 2. 酒黄连样品测定的回收率实验结果(n = 5)

	组分	样品含量/mg	加对照品量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	平均 RSD/%
盐酸表小檗碱	1	2.98	1.7	4.626	96.8	100	3.98
	2	2.97	1.9	5.000	106.8		
	3	2.97	1.5	4.435	97.6		
	4	2.99	1.5	4.692	113		
	5	3.01	2.1	5.086	98.8		
盐酸巴马汀	1	3.89	2.6	6.444	98.2	100.34	2.61
	2	3.87	2.5	6.299	97.1		
	3	3.87	1.9	5.825	102.9		
	4	3.90	3.2	7.188	102.7		
	5	3.92	2.7	6.644	100.8		
盐酸小檗碱	1	15.05	7.8	22.250	92.3	95.98	5.17
	2	15.04	8.0	22.262	90.3		
	3	15.04	8.5	23.585	100.5		
	4	15.06	7.5	22.202	95.2		
	5	15.09	7.4	22.610	101.6		

4. 样品的制备和测定

1) 生黄连, 取净黄连, 除去须根, 杂质。

2) 酒黄连, 取净黄连片, 除去须根, 杂质。称取黄连片约 20.0 g, 按照加入 12.5% 酒焖润, 待煎液被吸尽后, 置于 120℃, 烘箱中烘制 30 min, 取出, 放凉[4]。

3) 样品含量测定

分别精密吸取各供试品溶液 20 μL , 注入高效液相色谱仪(岛津 LC-15C), 测定峰面积, 根据回归方程计算药根碱、黄连碱、巴马汀、盐酸小檗碱的含量。

4) 不同种类酒对黄连生物碱成分含量的影响, 按照 2)项下制备酒黄连样品, 按照 3)项下进行含量测定。结果见图 1, 表 3。

由表 3 可见, 黄连经过酒炮制后其主要成分大部分都得到不同程度的增加, 影响程度小檗碱 > 黄连碱 > 巴马汀 > 药根碱。高粱酒 60°炮制黄连对黄连的 4 种生物碱总量增加最为明显, 增加了 10.04%。

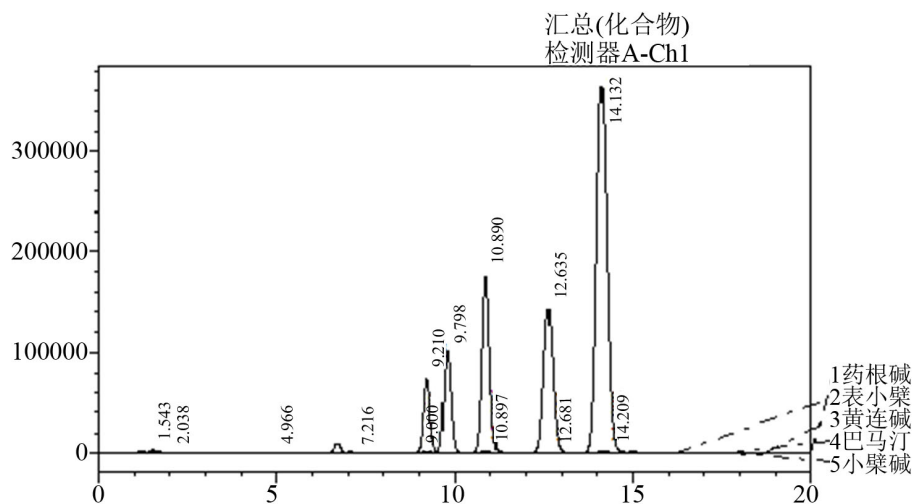


Figure 1. Berberine standard products chromatogram
图 1. 黄连标品色谱图

Table 3. 4 kinds of alkaloid content after different wine concocted
表 3. 不同酒炮制的 4 种生物碱含量

样品	含量(%)				总生物碱/变化率(%)
	药根碱	黄连碱	巴马汀	小檗碱	
生黄连	1.246	2.211	1.873	7.298	--
黄酒黄连	1.260	2.460	1.916	7.638	+5.12
高粱酒 60°黄连	1.225	2.591	1.944	8.136	+10.04
红星酒 56°黄连	1.283	2.275	1.928	7.512	+2.92
江津白酒 50°	1.223	2.325	1.817	7.565	+2.39
郎酒 45°黄连	1.264	2.372	1.927	7.541	+3.77
劲酒 35°黄连	1.230	2.300	1.747	6.924	-3.38

用劲酒炮制黄连的 4 种生物碱总含量比原药材含量都低。用高粱酒 60°炮制黄连能使总生物碱含量增加达到最大化。

5) 不同乙醇浓度对生物碱含量的影响。按照 2)项下制备酒黄连样品, 按照 3)项下进行含量测定。结果见表 4。

由表 4 可见, 随着乙醇浓度增加, 4 种总生物碱含量在呈非线性的增加, 对比表 2 不同种类的酒炮制, 可以看出只有经高粱酒 60°炮制的生物碱含量比用相同浓度乙醇勾兑的生物碱含量高。

5. 讨论与小结

1) 在选取酒黄连的炮制方法上选取了对酒黄连炮制的烘干温度和时间条件可控的方法, 以达到在同等炮制条件下做出标准酒黄连样品, 减少在炮制实验过程中造成的误差。

2) 本实验结果表明, 黄连经酒炮制后, 主要成分生物碱种类没有发生明显的质的变化。高效液相色谱法含量测定结果表明 4 种生物碱总含量经炮制后均有不同程度增加, 采用高粱酒 60°炮制增加幅度最明显。4 种主要的生物碱类成分经过炮制后均有不同程度的增加, 其中增加最明显的是盐酸小檗碱。黄连碱、巴马汀都略有增加, 但是, 经酒炮制后盐酸药根碱的含量增加不明显, 与报道[5]一致。黄连经酒炮

Table 4. Different ethanol concentration concocted four kinds of alkaloid content
表 4. 不同乙醇浓度炮制的 4 种生物碱含量

样品	含量(%)				总生物碱/变化率(%)
	药根碱	黄连碱	巴马汀	小檗碱	
生黄连	1.246	2.211	1.873	7.298	--
黄酒黄连	1.260	2.460	1.916	7.638	+5.12
60%乙醇	1.326	2.544	2.038	7.903	+9.37
56%乙醇	1.326	2.448	2.020	7.761	+7.34
50%乙醇	1.334	2.333	2.020	7.669	+5.76
45%乙醇	1.320	2.343	1.979	7.483	+3.94
35%乙醇	1.320	2.339	1.976	7.408	+3.29

制后生物碱含量增加可能通过与乙醇作用, 使溶剂能够较容易地进入药材组织细胞中, 发挥溶解作用, 促进置换和扩散, 利于提高生物碱类的浸出速度和浸出效果。相同酒精浓度下, 高粱酒的 4 种总生物碱含量高于乙醇勾兑, 可能跟高粱酒属于粮食作物酿造, 里面含有利于生物碱溶出的有机酸和糖类, 劲酒炮制后生物碱类低于未用酒炮制的黄连, 可能跟劲酒属于药酒类, 里面成分复杂, 影响黄连生物碱的溶出, 具体原因及影响机制有待进一步进行深入研究。

3) 酒黄连在现行《中国药典》中收录的辅料是用黄酒, 但本实验表明, 高粱酒 60°炮制黄连主要生物碱含量增加最为显著。有需要用酒制提取生物碱类的, 可以考虑用高粱酒炮制。

基金项目

重庆道地药材饮片规范化炮制关键工艺及质量标准化示范应用(cstc2013jcsf10015)。

参考文献 (References)

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 285-286.
- [2] 郑虎占. 中药饮片应用标准化研究 [M]. 北京: 学苑出版社, 2004: 1, 110.
- [3] 李时珍. 本草纲目[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1975.
- [4] 康大力, 张洪利, 黄艳萍. 酒黄连饮片炮制工艺研究[J]. 海峡药学, 2008, 20(4): 21-22.
- [5] 傅华荣, 杨金梅, 龚千锋, 钟凌云. 正交试验优选酒黄连最佳炮制工艺[J]. 中成药, 2009, 31(12): 1887-1890.