

湖北利川及邻区产黄连的质量评价

钟一文¹ 万定荣¹ 吴漫¹ 唐吉慧¹ 徐泽刚² 刘虹^{3*}

(1.中南民族大学药学院 湖北武汉 430074;2.湖北省利川市箭竹溪黄连专业合作社;3.中南民族大学生命科学院)

摘要 本文以主要药效物质生物碱类成分的含量为依据,对产于湖北利川市与邻近的重庆石柱县产黄连的品质进行初步的质量评价,采用高效液相色谱法对 8 份来源于不同产地(湖北利川、重庆石柱)的黄连样品中小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱 4 种生物碱类成分进行含量测定,综合评价其品质。结果显示,产于湖北利川市的 5 份黄连样品中小檗碱的平均含量为 8.83%,巴马汀、表小檗碱和黄连碱 3 种生物碱的平均总含量为 6.93%;产于重庆石柱的 3 份黄连样品中小檗碱的平均含量为 8.25%,巴马汀、表小檗碱和黄连碱 3 种生物碱的平均总含量为 6.31%。2 个地区黄连样品中有关成分的含量均远高于中国药典规定的最低含量限度,且利川黄连含量更高,可见湖北利川黄连与重庆石柱黄连均为上等品,初步认为利川黄连的品质更为优异。

关键词 利川黄连;石柱黄连;生物碱;含量测定;质量评价

中图分类号 R932

Quality Evaluation of *Coptidis Rhizoma* Produced in Lichuan ,Hubei Province and Its Adjacent Area

ZHONG Yiwen¹, Wan Dingrong¹, WU Man¹, TANG Jihui¹, XU Zegang², LIU Hong^{3*}

(1.School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan Hubei, 430074, China;

2.Hubei Lichuan Jianzhuxi *Coptidis Rhizoma* Professional Cooperative;

3.College of Life Sciences, South-Central Minzu University)

Abstract: Based on the content of alkaloids in the main pharmacodynamic substances. The quality of *Coptidis Rhizoma* produced in Lichuan City of Hubei Province and its adjacent area-Shizhu of Chongqing city were evaluated and analyzed. The contents of berberine, palmatine, epiberberine and coptidine in 8 samples of *Coptidis Rhizoma* from different areas (Lichuan, Hubei and Shizhu, Chongqing) were determined by HPLC for further comprehensive evaluation. The results show that, the average content of berberine in six *Coptidis Rhizoma* samples from Lichuan, Hubei Province was 8.83%, the average total content of palmatine and other three alkaloids was 6.93%; The average content of berberine was 8.25% in three *Coptidis Rhizoma chinensis* samples from Shizhu, Chongqing, The average total content of palmatine and other three alkaloids was 6.31%. The contents of the related components in *Rhizoma Coptidis* from the two regions were far higher than the minimum content limit stipulated in the Chinese Pharmacopoeia, and the content of *Rhizoma Coptidis* from Lichuan was higher. The quality of Hubei Lichuan *Coptis chinensis* and Chongqing Shizhu *Coptis chinensis* is good, and the quality of Lichuan *Coptidis Rhizoma* is better.

Key Words: *Coptidis Rhizoma* in Lichuan; *Coptidis Rhizoma* in Shizhu; Alkaloids; Content Determination; Quality Evaluation

1 前言

中药材黄连是毛茛科植物黄连(*Coptis chinensis* Franch.)、三角叶黄连(*Coptis deltoidea* C.Y.Cheng

et Hsiao)或云连(*Coptis teeta* Wall.)的干燥根茎。

以上 3 种基源的黄连分别习称“味连”“雅连”“云连”,其中“味连”是黄连的主要商品,主产于湖北利

第一作者:钟一文(1996-),女,硕士,研究方向为生物资源和中药材质量检测,E-mail:1582768603@qq.com

通信作者:刘虹(1977-),女,博士,教授,研究方向为植物资源学,E-mail:240228429@qq.com

收稿日期:2021-11-28

川和重庆石柱。该两大产区均有“黄连之乡”之称,合计产量占全国黄连产量的80%以上。重庆石柱县拥有全国最大的黄连交易市场。利川与石柱同处武陵山脉,种植的黄连也为同一基源,两地虽归属不同省市,但互为邻区,自然条件、生态环境都十分相似^[1]。在历史上,利川在春秋时属巴国,后又归古“四川”管辖,其所产黄连与石柱黄连统称川黄连^[2]。许多利川黄连的生产商为了迎合市场,将利川黄连运到重庆石柱^[3],对外以“石柱黄连”的名义进行销售,故有必要对利川黄连和石柱黄连的质量进行评价研究。

小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱等生物碱类成分是黄连的主要有效活性成分,本文主要分析利川黄连与石柱黄连中这4种生物碱的含量,对两者的质量状况进行初步研究^[4-8]。

2 材料、仪器与试药

2.1 实验材料

利川黄连不同产地样品(5份)由湖北利川市箭竹溪黄连专业合作社的徐泽刚收集;重庆石柱黄连(3份)由重庆石柱县枫木乡莲花村的刘学生采集。样品收集地点信息见表1。

表1 样品采集点信息

样品编号	采集地点	海拔高度(m)
1	利川谋道镇	1 450
2	利川汪营镇	1 340
3	利川凉雾乡	1 360
4	利川小河乡	不确定
5	利川建南镇箭竹溪	1 400
6	石柱沙子镇沙子村	1 380
7	石柱枫木镇石鱼村	1 450
8	石柱枫木镇昌平村	1 400

2.2 仪器

高效液相色谱仪(戴安3000,在线脱气机、二元泵、自动进样器、柱温箱、VWD检测器、Chromeleon色谱工作站);电子天平(BP211D型,德国);超声波清洗器(KQ-500E型,昆山市超声仪器有限公司);0.45 μm微孔滤膜(天津津腾实验设备有限公司);色谱柱(Hypersil C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm));万分之一分析天平(CP214,奥豪斯仪器有限公司)。

2.3 试药

甲醇(分析纯)、磷酸(优级纯)、磷酸二氢钾(分析纯)、十二烷基硫酸钠(化学纯)(国药集团化学试剂有限公司);乙腈(色谱纯)(西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司);小檗碱对照品(归一化法检测其纯度为98.7%);表小檗碱对照品(归一化法检测其纯度为98.88%);巴马汀对照品(归一化法检测其纯度为98.53%);黄连碱对照品(归一化法检测其纯

度为98.17%)(上海源叶生物科技有限公司);实验用水为超纯水。

3 方法

3.1 混合对照品溶液的制备

精密称取表小檗碱对照品、巴马汀对照品、黄连碱对照品和小檗碱对照品适量,均加入甲醇,分别制成每1 mL含表小檗碱53.3 μg、巴马汀33.3 μg、黄连碱40.0 μg和小檗碱33.3 μg的混合对照品溶液。

3.2 供试品溶液制备

取各样品粉末(过2号筛)约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)的混合溶液50 mL,密塞;称定重量,超声处理(功率250 W,频率40 kHz)30 min;放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过;精密量取续滤液2 mL,置于10 mL量瓶中;加入甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.3 色谱条件

采用HPLC色谱法测定。填充剂:十八烷基硅烷键合硅胶;流动相:乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(50:50)(每100 mL中加十二烷基硫酸钠0.4 g,再以磷酸调节pH值为4.0);检测波长:345 nm;流速:1 mL/min;柱温:30℃;进样量:10 μL。理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算,不低于5 000。

混合对照品溶液色谱图见图1,代表性样品利川市汪营镇黄连样品色谱图见图2,石柱县沙子镇沙子村黄连样品色谱图见图3。

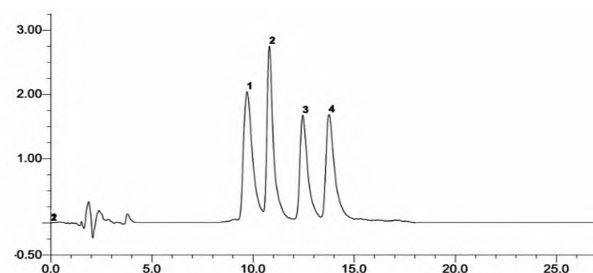


图1 混合对照品溶液 HPLC 色谱图

注:1.表小檗碱;2.黄连碱;3.巴马汀;4.小檗碱。

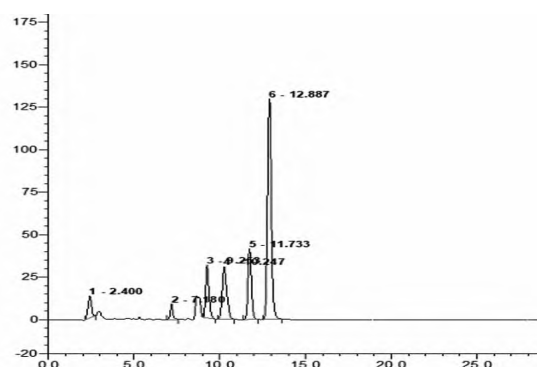


图2 利川汪营镇黄连样品 HPLC 色谱图

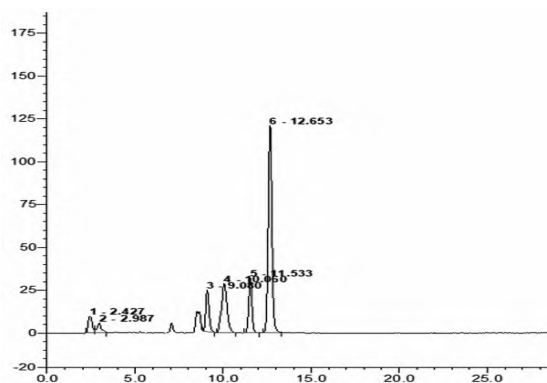


图 3 石柱沙子镇沙子村黄连样品 HPLC 色谱图

3.4 标准曲线

配制表小檗碱对照品溶液系列浓度($\mu\text{g/mL}$)为10.6、21.2、42.4、84.8、169.6、339.2,采用高效液相色谱法,在波长345 nm处分别测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液的浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。计算得回归方程: $Y=0.0205X+0.0094$ ($r^2=0.9994$),表明在10.6~339.2 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,小檗碱浓度与峰面积呈良好的线性关系。

配制黄连碱对照品溶液系列浓度 ($\mu\text{g/mL}$) 为 4.0、8.0、16.0、32.0、64.0、128.0, 采用高效液相色谱法, 在波长 345 nm 处分别测定, 以色谱峰的峰面积为纵坐标 (Y), 对照品溶液的浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线。计算得回归方程: $Y=0.0221X+0.007$ ($r^2=0.9998$), 表明在 4.0~128.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 黄连碱浓度与峰面积呈良好的线性关系。

配制小檗碱对照品溶液系列浓度 ($\mu\text{g/mL}$) 为 8.7、17.4、34.8、69.6、139.2、278.4, 采用高效液相色谱法, 在波长 345 nm 处分别测定, 以色谱峰的峰面积为纵坐标 (Y), 对照品溶液的浓度为横坐标 (X), 绘制标准曲线。计算得回归方程: $Y=0.0204X+0.0037$ ($r^2=0.9998$), 表明在 8.7~278.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 小檗碱浓度与峰面积呈良好的线性关系。

配制巴马汀对照品溶液系列浓度($\mu\text{g/mL}$)为8.7、17.4、34.8、69.6、139.2、278.4,采用高效液相色谱法,

在波长 345 nm 处分别测定,以色谱峰的峰面积为纵坐标(Y),对照品溶液的浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。计算得回归方程: $Y=0.0235X+0.0015$ ($r^2=0.9998$),表明在 8.7~278.4 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,巴马汀浓度与峰面积呈良好的线性关系。

3.5 精密度考察

取 2 号供试品溶液在“3.3”项色谱条件下连续进样 6 次,测定峰面积。结果显示,小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱峰面积的 RSD 依次为 0.33%、0.52%、0.25%和 1.21%,表明仪器的精密度良好。

3.6 重复性实验

精密称取 2 号黄连样品粗粉 0.2 g 共 6 份,按照前述方法分别制备供试品溶液,依法进样,分别记录小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱的峰面积。结果显示,峰面积的 RSD 依次为 0.80%、1.19%、1.03% 和 1.95%,表明测定结果的重复性良好。

3.7 稳定性试验

精密称取 2 号黄连样品粗粉 0.2 g,按照前述方法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进样,分别记录小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱的峰面积。结果显示,峰面积的 RSD 依次为 0.64%、0.93%、1.27%和 1.26%,表明黄连供试品溶液中各有关成分的含量在 24 h 内稳定。

3.8 加样回收率试验

精密称取 2 号黄连样品粗粉 0.2 g, 共 6 份, 分别加入与样品中各成分量等量的对照品, 按照前述方法制备供试品溶液并进样分析, 计算回收率。结果显示, 小檗碱、巴马汀、表小檗碱、黄连碱的平均回收率分别为 104.41%、98.33%、100.54% 和 101.17%, 表明样品中各成分测定的准确度高。

4 结果与分析

按照上述方法对不同产地的黄连样品进行 4 种生物碱含量的测定,检测结果均按干燥品计,检测数据见表 2。

表2 不同产地的黄连样品有关物质的含量测定结果

样品编号	产地	小檗碱(%)	黄连碱(%)	巴马汀(%)	表小檗碱(%)	后三项总量(%)
1	利川市汪营镇	9.72	2.88	2.73	2.12	7.73
2	利川市凉雾乡	8.10	2.40	2.23	1.80	6.43
3	利川市谋道镇	8.25	2.54	2.26	1.82	6.62
5	利川市建南镇箭竹溪	9.50	2.67	2.59	1.95	7.21
4	利川市小河乡	8.58	2.45	2.40	1.79	6.64
以上湖北利川 5 地样品平均值		8.83	2.59	2.44	1.90	6.93
5	石柱县沙子镇沙子村	8.53	2.94	2.05	1.57	6.56
7	石柱县枫木镇石鱼村	8.30	2.71	1.85	1.85	6.41
8	石柱县枫木镇昌平村	7.91	2.54	1.91	1.52	5.97
以上重庆石柱 3 地样品平均值		8.25	2.73	1.94	1.65	6.31

由表中检测数据可知,8批黄连样品中小檫碱含量为7.91%~9.72%,均高于中国药典规定最低5.5%的含量限度;黄连碱含量为2.40%~2.94%,均高于中国药典规定最低1.6%的含量限度;巴马汀含量为1.85%~2.73%,均高于中国药典规定最低1.5%的含量限度;表小檫碱含量为1.52%~2.12%,均高于中国药典规定最低0.80%的含量限度。说明产于湖北利川及重庆石柱的黄连质量均为良好。

湖北利川黄连5个地区的小檫碱、巴马汀、表小檫碱的平均含量分别为8.83%、2.44%和1.90%,明显高于重庆石柱黄连3个地区的平均含量8.25%、1.94%和1.65%,但利川黄连黄连碱含量为2.59%,低于石柱黄连黄连碱含量2.73%。按含量最高的主要生物碱成分小檫碱以及黄连碱、巴马汀、表小檫碱三者的总量平均值来看,湖北利川黄连的平均含量分布为8.83%和6.93%,显著高于重庆石柱的8.25%和6.31%,说明利川黄连的品质在总体上优于重庆石柱黄连。

利川市汪营镇黄连样品小檫碱、巴马汀、表小檫碱3种生物碱的含量分别为9.72%、2.73%和2.12%,均为最高。利川市建南镇箭竹溪黄连样品小檫碱、巴马汀、表小檫碱3种生物碱的含量分别为9.50%、2.59%和1.95%,仅次于利川市汪营镇黄连样品。石柱县枫木镇昌平村黄连样品中小檫碱含量为7.91%,且黄连碱、巴马汀、表小檫碱三者的生物碱含量总值为5.97%,均为最低。利川黄连在性状上普遍成鸡爪状,抱团成簇,团簇直径较大,单枝粗细较均匀,而石柱黄连抱团略松散,单枝多较细较短。

5 讨论

湖北利川5个地点黄连样品的生物碱含量平均值显著高于重庆石柱3个地点黄连样品的平均值,初步推断湖北利川黄连的质量略优于重庆石柱黄连。

根据样品收集者提供的信息,湖北利川汪营、箭竹溪及重庆石柱县沙子乡的黄连样品生长期为6年,其余为5年,根据检测数据可知,生长6年者生

物碱类成分含量较高,质量优于生长5年者,这一结论已有同类文献的支持^[9]。另有文献记载,“味连”宜产地域覆盖利川各乡镇和石柱黄水镇(石柱黄连最集中地区),根据《原产地域产品保护规定》和《地理标志产品保护规定》,原国家质量监督检验检疫总局分别于2004年10月10日、2004年12月23日,宣布对石柱黄连和利川黄连实施国家地理标志产品保护^[10],说明利川和石柱均为我国黄连(味连)传统特色产区。但利川黄连品质优异,其药材运至重庆市石柱县黄水镇作“石柱黄连”销售并不适宜,不仅造成人力物力资源的浪费,也影响利川黄连的品牌建设。

此外,因为各黄连采集地的海拔高度差别不大,因此本文无法分析出海拔高度对黄连生物碱含量是否有直接影响。

参考文献

- [1] 王钰,谭均,陈大霞,等.黄连单枝连商品规格等级及生物碱含量研究[J].时珍国医国药,2020,31(3):697-701.
- [2] 张辛.重庆石柱、湖北利川、四川大邑三地互不相让 黄连开打原产地保护争夺战[J].科学咨询,2003,(11):10-11.
- [3] 冉继春,阳勇,花雷,等.川渝产黄连提取液颜色与有效成分相关性研究[J].现代中药研究与实践,2021,35(1):9-11.
- [4] 张亮,龙澜,杨永康,等.湖北利川黄连 HPLC 指纹图谱研究[J].安徽农业科学,2015,43(19):30-33.
- [5] YANGZHI G, JUAN D, MIN J, et al. Full composition granules of Huanglian (Rhizoma Coptidis) decrease the serum monocyte chemotactic protein-1 and connective tissue growth factor levels and inhibit kidney nuclear factor- κ B expression in rats with high-fat diet-induced diabete [J]. Journal of traditional Chinese medicine=Chung i tsa chih ying wen pan, 2021, 41(3):32-34.
- [6] 孙雨,苏本正,蒋海强,等.黄连中1个新型生物碱的研究[J].中成药,2020,36(24):1-4.
- [7] 张琳,陈思含,任小艳,等.不同部位镇坪黄连小檫碱、总生物碱提取与含量测定[J].山东化工,2021,50(4):116-119.
- [8] 国家药典委员会.中国药典·一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:303-305.
- [9] 曾辉,王学奎,薛翔楠,等.湖北利川黄连不同生长龄期主要生物碱的分布及变化[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(11):123-126.
- [10] 孙志国,陈志,刘成武,等.黄连类道地药材资源国家地理标志产品的保护[J].湖北农业科学,2010,49(2):491-493.