

部颁药品标准抗生素生化药品注释（第一册 1989）[S]. 1990: 43-45.

[13] 于兹东, 杨桂明, 高 华, 等. 唑啉分光光度法测定硫酸软骨素[J]. 青岛大学学报（自然科学版）, 2005, 18(3): 41-44.

[14] The United States Pharmacopeial Convention. United States Pharmacopoeia（USP37-NF32）and First Supplement to USP37-NF32[S]. 2014: 6529-6532.

[15] European Directorate for the Quality of Medicines &Health-Care. European Pharmacopoeia 8. 0[S]. 2009: 1876-1878.

[16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1340-1341.

[17] 姜欣悦, 张辉珍, 高 华. HPLC 法测定软骨素复合胶囊中硫酸软骨素的含量[J]. 青岛大学学报（工程技术版）, 2015, 30(2): 80-82; 113.

[18] 王敏娟, 聂晓玲, 胡佳薇, 等. 亲水作用色谱法同时测定保健品中的硫酸软骨素和氨基葡萄糖[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(17): 2475-2477.

[19] 林燕飞, 孙静芸. HPLC-ELSD 法测定复方氨基葡萄糖片中硫酸软骨素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(5): 388-390.

[20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 20365-2006 硫酸软骨素和盐酸氨基葡萄糖含量的测定 液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

[21] 曹邦静, 苏 娟, 叶 霁, 等. 蒸发光散射检测器在中药分析中的应用[J]. 药学实践杂志, 2015, 33(1): 13-16.

基于延胡索投料情况研究宫炎康颗粒质量现状

曹 欢, 袁 杨, 林 林, 笔雪艳*
(黑龙江省药品检验研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150088)

摘要:目的 对延胡索投料情况进行全面分析, 以进一步反映宫炎康颗粒质量现状。方法 参照 2015 年版《中国药典》通则相关方法及要求, 首先建立异性有机物法, 其次优化统一延胡索薄层色谱法、金胺 O 染色检查法, 再采用 HPLC 法测定延胡索乙素含量。**结果** 显微鉴别可快速检视成药中延胡索及非原粉投料药材中相应植物的组织特征。TLC 斑点清晰, 分离度良好, 阴性无干扰, 可快速鉴别延胡索, 筛查金胺 O 染色情况。延胡索乙素在 23. 26~2 325. 68 ng 范围内线性关系良好 ($r=1.000\ 0$), 平均加样回收率为 95. 4%, RSD 为 3. 6%。金胺 O 检查法分离效果好, 阴性无干扰。**结论** 该方法简便可靠, 结果稳定, 重复性好, 可从安全性、有效性、可控性等多方面综合控制宫炎康颗粒质量。

关键词: 宫炎康颗粒; 延胡索; 显微鉴别; TLC; HPLC

中图分类号: R927. 2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2020)06-1592-04

doi: 10. 3969/j. issn. 1001-1528. 2020. 06. 039

延胡索又名元胡, 为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎, 能活血、行气、止痛, 用于胸胁、脘腹疼痛等症。如今其市场需求量较大, 逐渐出现不法商贩以次充好、以假冒真、牟取暴利等现象, 其常见伪品有薯蓣珠牙、天南星等, 经金胺 O 染色加工后使用, 对成药质量及消费者健康安全均有极大影响^[1-5]。

宫炎康颗粒由当归、醋香附、川芎、海藻、赤芍、炮姜、红花、盐车前子、北败酱、泽兰、柴胡、延胡索 12 味药材组成^[6], 具有活血化瘀、解毒消肿的功效, 临床上用于治疗慢性盆腔炎^[7-8], 尚无不良反应报道。本品共 2 个规格, 规格一每袋装 9 g (无蔗糖), 规格二每袋装 9 g, 对近

20 个生产企业的调研发现, 方中延胡索均是粉碎后, 原粉入药, 其他药材则为提取后的挥发油及清膏入药。现有标准中, 宫炎康颗粒及其他系列制剂的含有量测定指标大多为芍药苷^[9-10], 很少涉及阿魏酸^[11-12], 也尚无延胡索含有量控制的方法^[13]。因此, 本实验基于延胡索现状, 以及宫炎康颗粒工艺特点、标准缺陷等因素, 对方中该药材投料情况进行全面质量研究, 以期为其相关标准的完善提供依据, 保障人民用药安全。

1 材料

1.1 仪器 DM2500 Leica 荧光显微镜; Linomat5 半自动点样仪; Agilent 1100 液相色谱仪; Waters e2695 液相色谱仪;

收稿日期: 2018-12-07

基金项目: 2016 年国家药品抽验计划 (2016)

作者简介: 曹 欢 (1989—), 女, 硕士, 主管药师, 从事中药质量标准研究。Tel: (0451) 53638792-2704, E-mail: 996307262@qq.com

* 通信作者: 笔雪艳 (1973—), 女, 博士, 主任药师, 硕士生导师, 从事中药质量标准研究。Tel: (0451) 53638792-2601, E-mail: 65554629@qq.com

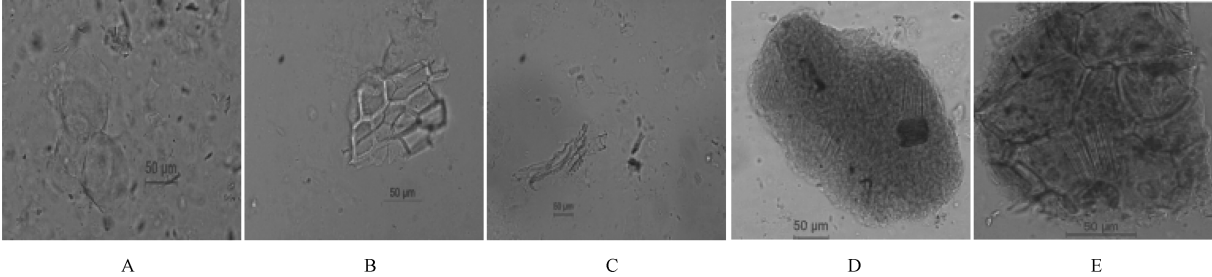
TW-20 水浴锅；SK2510LHC 超声仪。

1.2 试剂与药物 延胡索乙素（批号 110736-201438，纯度 99.9%）、金胺 O（批号 111770-200701）对照品均购自中国食品药品检定研究院；宫炎康颗粒为国家评价抽验样品。乙腈、甲醇为色谱纯（美国霍尼韦尔公司）；磷酸为色谱纯（美国 Sigma 公司）；二氯甲烷（上海试一化学试剂有限公司）；三乙胺（分析纯）、醋酸铵、氨水（氢氧化

铵）、乙酸乙酯、甲酸均购自国药集团化学试剂有限公司。预制板硅胶 G 板、进口 MN 板。

2 方法与结果

2.1 异性有机物 取颗粒 9 g，加 50 mL 水超声 30 min，放冷，滤过，滤渣中加入适量水合氯醛试液，装片，判定视野中不得检出除延胡索以外其他药材植物组织特征，见图 1。

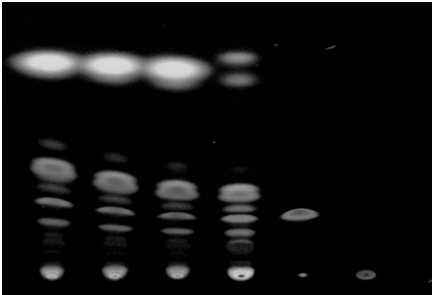


注：A~E 分别为延胡索-糊化淀粉粒、延胡索-下皮厚壁细胞、延胡索-螺旋导管、薯蓣珠牙-草酸钙针晶（企业 6）、薯蓣珠牙-草酸钙针晶（企业 4）。

图 1 植物组织特征

2.2 TLC 鉴别及金胺 O 检查

2.2.1 TLC 鉴别（延胡索） 取颗粒（规格一）约 4.5 g 或（规格二）约 9 g，研细，加 5 mL 浓氨润湿，再加 30 mL 三氯甲烷超声处理 40 min，滤过，滤液蒸干，残渣加 1 mL 甲醇溶解，作为供试品溶液；取缺药材阴性样品，同法制备阴性样品溶液；取对照药材 0.5 g，同法制备对照药材溶液；取延胡索乙素对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 该成分的对照品溶液。按照 2015 年版《中国药典》四部通则 0502（薄层色谱法），吸取上述溶液各 5 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以正己烷-氯仿-甲醇（7.5：4：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置碘蒸气中熏至斑点清晰，紫外灯（365 nm）下检视，结果见图 2。由此可知，供试品色谱在与对照药材、对照品相应位置上显相同颜色的斑点。



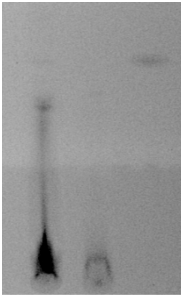
1~3. 供试品（企业 2） 4. 对照药材 5. 延胡索乙素 6. 阴性样品

图 2 颗粒 TLC 色谱图

2.2.2 金胺 O 检查

2.2.2.1 TLC 法 取颗粒 9 g，研细，加 0.1% 甲酸甲醇溶液 50 mL，密塞，超声处理 30 min，放冷，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 2 mL 溶解，作为供试品溶液；取金胺 O 对

照试剂适量，加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 该成分的溶液，作为对照试剂溶液。按照 2015 年版《中国药典》通则 0502（薄层色谱法），取供试品溶液 5 μL、对照试剂溶液 2 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-氨水（4：5：1：1）下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，日光下检视，结果见图 3。按规定，供试品色谱在与对照试剂相应位置上不得显示相同颜色的斑点，若出现，则采用 HPLC 法验证。



1. 供试品（企业 4） 2. 供试品（企业 2） 3. 金胺 O

图 3 颗粒金胺 O 检查结果（预制板）

2.2.2.2 HPLC 法 按照 2015 年版《中国药典》0512（高效液相色谱法）测定。

色谱条件与系统适应性试验：以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相甲醇（A）-0.05 mol/L 醋酸铵（B），梯度洗脱，程序见表 1；检测波长为 432 nm。理论塔板数按金胺 O 对照试剂色谱中的主峰计算，应不低于 2 000。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 甲醇/%	B 0.05 mol/L 醋酸铵/%
0~12	10~45	90~55
12~20	45~70	55~30
20~40	70~80	30~20

对照试剂溶液制备：取金胺 O 对照试剂适量，加甲醇制成每 1 mL 含 8 μg 该成分的溶液，即得。供试品溶液制备：取“2.2.2.1”项下的供试品溶液，上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，即得。

取对照试剂、供试品溶液各 10 μL，在上述色谱条件下进样测定，结果见图 4。按规定，供试品色谱在与金胺 O 对照试剂保留时间相应位置不得出现相同色谱峰，若出现，则采用二极管阵列检测器比较其在 320~450 nm 波长范围的紫外-可见吸收光谱，而且应不相同。

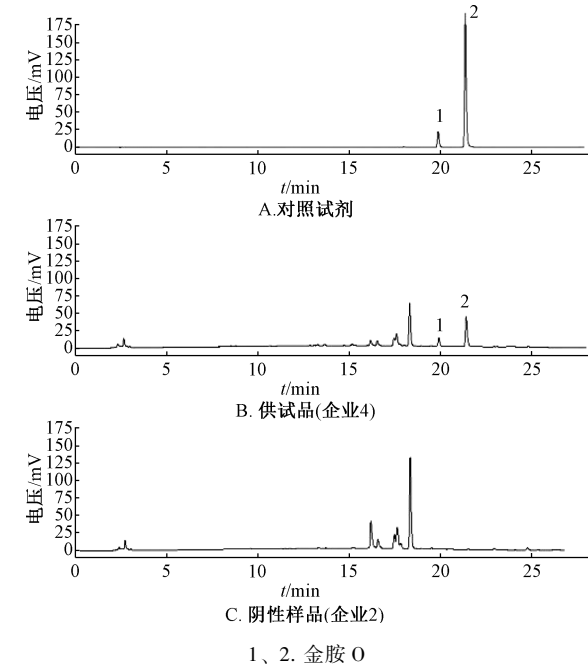


图 4 金胺 O HPLC 色谱图

检测限：取金胺 O 对照试剂适量，配制成 1.566 μg/mL，在上述色谱条件下进样 1 μL 测定，测得信噪比为 12.7（主峰），仪器检出限（进样量×3/信噪比）为 0.37 ng，方法检出限 [仪器检出限×样品稀释倍数/（样品取样量×样品进样体积）] 为 8.2 mg/kg；

耐用性：采用 Kromasil、Thermo C₁₈、Ultimate LP-C₁₈ 十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱，取供试品、对照试剂溶液，上述色谱条件下进样测定，发现色谱峰分离度、理论塔板数均满足要求，耐用性良好。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件及系统适应性试验 Agilent TC-C₁₈₍₂₎ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈-0.1%磷酸（三乙胺调 pH 值至 6.0）（40：60）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30℃；检测波长 280 nm，理论塔板数按延胡索乙素峰计算应不低于 3 000。精密取供试品溶液 20 μL、对照试剂溶液 10~20 μL，在上述色谱条件下进样测定，结果见图 5。由此可知，供试品色谱图在与对照品相应位置上有相同保留时间的色谱峰，阴性无干扰。

2.3.2 对照品溶液制备 精密称取延胡索乙素对照品适量，甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 该成分的溶液，即得。

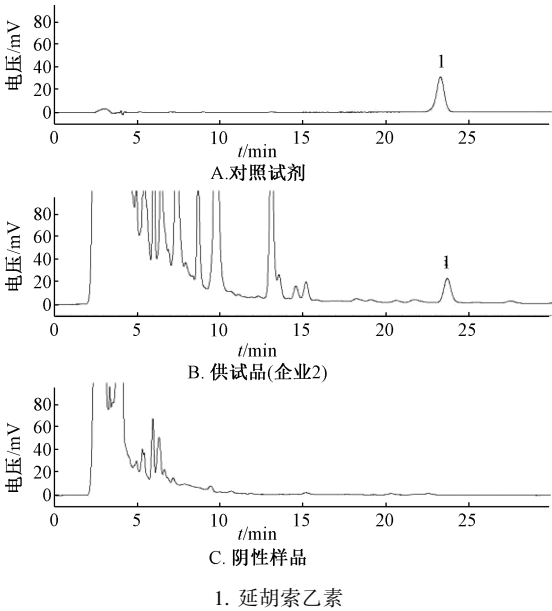


图 5 延胡索乙素 HPLC 色谱图

2.3.3 供试品溶液制备 取颗粒（规格一）约 4.5 g 或（规格二）约 9 g，精密称定，置于锥形瓶中，精密加入浓氨试液-甲醇（1：20）混合溶液 50 mL，称定质量，加热回流 1 h，放冷，浓氨试液-甲醇（1：20）混合溶液补足减失的质量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 25 mL，蒸至近干，50% 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。

2.3.4 线性关系考察 精密称取延胡索乙素对照品适量，加甲醇分别制成每 1 mL 含 1.163、5.814、11.628、29.071、116.284 μg 该成分的溶液，在“2.3.1”项色谱条件下各进样 20 μL 测定。以进样量为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，得方程为 $Y=18.1195X+3.5612$ （ $r=1.0000$ ），在 23.26~2 325.68 ng 范围内线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 取对照品溶液适量，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定 5 次，测得延胡索乙素峰面积 RSD 为 0.1%，表明仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液（企业 2，批号 150326），于 0、2、6、10、16 h 在“2.3.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定，测得延胡索乙素含量 RSD 为 1.8%，表明溶液在 16 h 内稳定性良好。

2.3.7 重复性试验 取同一批颗粒 6 份，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得延胡索乙素含量 RSD 为 2.9%，表明该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 精密称取延胡索乙素含量已知（0.051 mg/g）的颗粒（企业 2，批号 150326）9 份，每份约 4.5 g，精密加入已知量对照品溶液，按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样 20 μL 测定，计算回收率，结果见表 2。

2.3.9 耐用性试验 采用不同仪器（Agilent 1100、Waters e2695）、色谱柱 [Agilent TC-C₁₈₍₂₎、WelchUltimate LP-C₁₈、

表 2 延胡索乙素加样回收率试验结果 (n=9)					
称样量/g	原有 量/mg	加入 量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/% (RSD/%)
4.501 8	0.230	0.178	0.403	97.2	95.4 (3.6)
4.492 1	0.229	0.178	0.401	96.6	
4.498 6	0.229	0.178	0.397	94.4	
4.522 8	0.231	0.267	0.505	102.6	
4.502 0	0.230	0.267	0.476	92.1	
4.512 5	0.233	0.267	0.481	92.9	
4.520 7	0.231	0.445	0.663	97.1	
4.517 4	0.231	0.445	0.643	92.6	
4.500 2	0.230	0.445	0.645	93.3	

Kromasil 100-5C₁₈], 取供试品、对照试剂溶液, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定。结果, 色谱峰分离度、理论塔板数均能满足要求, 表明该方法耐用性良好。

2.3.10 样品含有量测定 精密吸取供试品溶液 20 μL, 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定, 计算含有量, 结果见表 3。

表 3 延胡索乙素含有量测定结果		
生产厂家	生产批号	延胡索乙素/(mg·g ⁻¹)
企业 1	150614	0.085
企业 2	150326	0.039
企业 2	150908	0.039
企业 2	160412	0.040
企业 3	1505293	0.035
企业 4	151204	0.022
企业 5	20140901	0.001
企业 6	151106	0.011
企业 7	150701	0.008
企业 7	160201	0.008

注:企业 1 为规格一(无蔗糖),其他企业均为规格二。

3 讨论

本实验采用异性有机物检查法对 7 个企业宫炎康颗粒进行测定, 发现企业 4、6 检出草酸钙针晶, 不属于方中任一药味, 可能为延胡索常见伪品薯蓣珠牙, 表明上述企业可能存在掺伪投料情况; 采用 TLC、HPLC 法, 发现企业 4 检出金胺 O 斑点及色谱峰, 进一步印证了该现象。

现行标准及文献中有 3 种延胡索鉴别方法, 提取方法分别为 (1) 浓氨湿润, 氯仿提取; (2) 甲醇提取后溶液蒸干, 残渣水溶调碱性后乙醚提取^[14]; (3) 甲醇提取后溶液蒸干, 残渣加 5% 醋酸溶解, 调碱性后乙醚提取, 发现方法 (1) 操作简便, 提取充分, 延胡索药材及延胡索乙素荧光斑点较强, 而展开方法分别为正己烷-氯仿-甲醇 (7.5 : 4 : 1)、正己烷-氯仿-乙酸乙酯-丙酮 (8 : 1 : 2 : 1)、正己烷-乙酸乙酯-氨水 (6 : 4 : 0.2), 发现正己烷-氯仿-甲醇 (7.5 : 4 : 1) 展开时, 样品与对照药材对应荧光斑点更多, R_f 值适宜, 分离效果较好, 阴性无干扰。

延胡索为原粉入药, 占整个处方的 6.7%。2015 年版

《中国药典》一部^[15] 规定, 延胡索乙素含有量不低于 0.050%, 按该限度折算后宫炎康颗粒中其应不低于 0.034 mg/g, 结合实际生产可能由于粉碎、运输、加工等造成的损失, 按 50% 转移率规定含有量限度为每 1 g 含延胡索以延胡索乙素 (C₂₁H₂₅NO₄) 计不得少于 0.017 mg, 本实验发现 10 批样品中其最低值 0.001 mg/g, 最高值 0.085 mg/g, 低于限度的共有 4 批。由此可知, 不同企业生产的宫炎康颗粒中延胡索质量存在较大差异, 部分可能存在少投料情况。

综上所述, 本实验检验结果均反映宫炎康颗粒中延胡索的质量, 可全面控制其是否掺伪, 定性定量控制其是否存在投料不实、药材质量差等情况, 通过综合手段保证用药安全, 也可为后续质量标准的建立奠定基础。

参考文献:

[1] 刘宏明, 张 继. 延胡索与其伪品薯蓣零余子和黄独零余子的鉴别[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(5): 841-844.

[2] 林武霖, 王如伟, 孙柳燕. 延胡索质量控制的研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(2): 409-412.

[3] 杨洁瑜, 陈家仪, 熊 颖, 等. 延胡索药材及饮片的掺伪鉴别研究[J]. 今日药学, 2017, 27(2): 76-79.

[4] 赵君颖. 延胡索及其伪品薯蓣零余子的鉴别[J]. 光明中医, 2008, 23(10): 1610.

[5] 张晓利, 孙 毅. 延胡索的古今应用[J]. 中国中医药咨讯, 2012, 2(29): 161.

[6] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 (中药成方制剂 第二十册) [S]. 1998: 228.

[7] 王俊霞. 宫炎康颗粒治疗慢性盆腔炎 50 例[J]. 现代中医, 2009, 29(3): 13-14.

[8] 薛小荣, 胡 斌, 王惠川, 等. 腾药热敷联合宫炎康颗粒治疗慢性盆腔炎的临床观察[J]. 中国药房, 2017, 28(26): 3657-3659.

[9] 李 辉. 宫炎康颗粒质量标准研究[J]. 黑龙江医药, 2005, 18(3): 171-173.

[10] 杨毅生, 王 栋. 宫炎康胶囊质量标准的修订[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(12): 1971-1973.

[11] WS₃-B-3921-98-46, 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].

[12] WS₃-B-3921-98-23, 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].

[13] 王 彬, 吴 参, 赵 颖. TCL 色谱法对宫炎康颗粒中赤芍、延胡索和当归的定性鉴别[J]. 国际中医中药杂志, 2009, 31(6): 550; 557.

[14] 耿小秀, 高 海. 宫炎康颗粒质量标准的研究[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(5): 296-298.

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 139.