

延胡索质量控制的研究进展

林武霖¹, 王如伟^{2*}, 孙柳燕²

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

2. 浙江现代中药与天然药物研究院, 浙江 杭州 310052

摘要: 延胡索行气止痛, 主要有效成分为生物碱类, 作为一种重要的中药在中医药的应用历史已超过数百年。由于延胡索国内外市场需求量持续加大, 加之其生长环境的特殊性, 产量一直不多, 价格大幅上涨, 导致伪劣混杂, 加强对延胡索的质量控制对于保证临床疗效具有十分重要的意义。综述了近年来延胡索药材鉴别与质量控制方法的研究概况, 为保证临床合理用药提供一定的依据。

关键词: 延胡索; 质量控制; 显微鉴别; HPLC; 指纹图谱

中图分类号: R282.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)02-0409-04

Advances in studies on quality control of *Corydalis yanhusuo*

LIN Wu-lin¹, WANG Ru-wei², SUN Liu-yan²

1. Pharmaceutical College, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China

2. Zhejiang Institute of Modern Chinese Materia Medica and Natural Medicine, Hangzhou 310052, China

Key words: *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang; quality control; microscopical identification; HPLC; fingerprint

延胡索又名玄胡、元胡, 为罂粟科紫堇属植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎^[1]。生于低海拔的旷野草丛或缓坡林缘, 分布于河南、陕西南部以及江苏、安徽、浙江、湖北等地。始载于《本草拾遗》, 历代本草均有记载。延胡索为常用中药材品种, 能活血、利气、止痛, 是著名的“浙八味”之一。

中药鉴定是中药质量控制的基础与关键, 也是中药生产、资源开发和利用的依据。由于延胡索国内外市场需求量持续加大, 加之其生长环境的特殊性, 产量一直不多, 价格大幅上涨, 导致伪劣混杂, 不法商人以次充好, 以假冒真, 牟取暴利, 对患者造成极大的损失与伤害。延胡索的质量控制有利于临床的准确应用。目前以延胡索为名的药材有很多种, 同科的有非正品齿瓣元胡、东北延胡索、全叶延胡索、苏延胡索(土胡索)、灰叶元胡、夏天无; 冒充延胡索药材的有姜黄块^[2]、天南星科植物鞭檐犁头尖的块茎、黄色染料染色后的薯蓣科植物山药的珠芽(零余子)^[3]、板栗种仁^[4]等。

延胡索的鉴别方法很多, 如常规的性状、显微鉴别。随着科学技术的发展, 出现了众多新技术和方法, 如色谱技术与光谱技术在中药有效成分的定

性与定量方面的应用, 中药指纹图谱的不断发展为从整体上表征中药的内在特征提供了有利的手段。

延胡索的主要成分为生物碱, 包括紫堇碱、去氢紫堇碱、延胡索乙素、原阿片碱、*L*-四氢黄连碱等^[5]。其中延胡索乙素具有镇静催眠、镇痛作用, 去氢紫堇碱与原阿片碱对消化系统有保护作用。此外, 延胡索对心血管的作用与其有效成分的量有着密切的关系。而其混淆品在化学成分上差异较大, 如东北延胡索不含延胡索乙素, 齿瓣延胡索延胡索乙素的量低于延胡索^[6]。

1 定性鉴别

定性鉴别有薄层色谱法、紫外光谱法、红外光谱法、傅里叶变换红外光谱法(FT-IR)等。定量分析目前主要还是 HPLC 法。HPLC 法经过多年发展已趋于完善, 其稳定性、可操作性、准确性、灵敏度均有了较大的提高, 成为色谱法的代表, 已逐渐成为中药质量控制的主要方法。该类方法是主要用于鉴别与延胡索同科的植物, 如夏天无、全叶延胡索等。

1.1 薄层色谱法

薄层色谱法操作简便、重现性好, 是延胡索药材鉴别的一种较为普遍的方法。王海英^[7]采用薄层色谱法, 鉴别延胡索及其混淆品。结果只有延胡索

供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,而伪品的供试品色谱中则没有此特征现象。张佳佳等^[8]用正己烷-氯仿-甲醇(8:5:2)为展开剂进行薄层分离,快速简单地鉴别夏天无和延胡索药材,本法处理效果较好,可减少背景干扰,分离斑点圆整、荧光清晰,色谱斑点多,特征性较强,且专属性强、灵敏度高。孙爱萍等^[9]采用两次展开薄层色谱法,建立一种可以同时鉴别延胡索药材中延胡索乙素、小檗碱、巴马汀3种有效成分的方法。

1.2 红外光谱法

利用红外光谱技术对中药进行“无损、快速”检测,既能客观反映中药内在物质基础,又能在宏观上有效控制中药整体质量。红外光谱法具有定性与定量的优势。可以根据延胡索与混淆品之间不同的特征峰进行快速的鉴别。魏凤环等^[10]采用红外光谱鉴别延胡索与夏天无。田进国等^[11]采用红外光谱对延胡索与全叶延胡索进行鉴别,从光谱上看两者提取物的成分差异是相当明显的。

红外光谱法在很大程度上主要依赖于分析者的经验对图形、图貌和特征峰进行直观分析和判断,而 FTIR 可以排除一般红外制样的不确定因素,并可直接鉴别延胡索的伪品^[12-13]。成则丰等^[14]采用 FTIR 对不同品种的大叶、小叶延胡索及伪品延胡索进行了直接鉴定,并用 FTIR 聚类分析并结合差热分析法(DTA)对延胡索的不同品种及与伪品的亲缘关系进行了研究,与伪品的差热分析谱图则体现出相当大的差别。由此可见,该方法可有效地鉴别亲缘关系相近的中药材。程存归等^[15]采用单次反射傅里叶变换红外光谱法直接、快速、准确地测定延胡索及其伪品的不同部位的红外光谱,通过二阶导数转换后进行峰位的一致率检验。此分析方法还可能运用于其他类似药物真伪的鉴别。从二阶导数所得到的数据能直接判断出中药材延胡索的真伪,将导数光度法与统计学方法结合,可进一步提高分析方法准确性和选择性,从而达到质量控制的目的。

2 质量控制

2.1 有效成分的分析

延胡索中主要生物碱的测定方法 HPLC 法因具有操作简便、快速、准确可靠、重现性好和专属性强等特点,而得到广泛应用,目前主要是以测定延胡索乙素的量为主。除 HPLC 法外还有化学发光法、紫外分光光度法等。

房方等^[16]采用 RP-HPLC 法测定了延胡索药材中延胡索乙素的量,以乙腈-2%冰醋酸溶液(三乙胺调 pH 5.0)(25:75)为流动相,检测波长为 282 nm。结果延胡索乙素在 1.004~50.20 $\mu\text{g/mL}$ 线性良好,平均回收率为 98.63%,RSD 为 1.95%。姚建标等^[17]采用 HPLC 测定延胡索药材的脱氢延胡索碱量。色谱柱为 ODS- C_{18} 柱,以 0.05 mol/L 磷酸盐溶液-乙腈(61:39)为流动相,检测波长为 340 nm,结果脱氢延胡索碱质量浓度在 25~100 $\mu\text{g/mL}$ 内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均回收率为 98.95%,RSD 为 1.53%。刘泓等^[18]在同一色谱条件下同时测定延胡索药材中原阿片碱及延胡索乙素的量,采用 C_{18} 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),流动相为 0.6%冰醋酸水溶液(含 0.06%三乙胺)-乙腈(81:19),检测波长为 280 nm,体积流量为 1.0 mL/min,延胡索乙素在 0.2~1.0 μg 呈线性关系($r=0.999\ 5$);原阿片碱在 0.2~1.0 μg 呈线性关系($r=0.999\ 97$),为进一步提高延胡索药材的质量标准提供了科学依据。李丽清等^[19]采用流动注射技术,建立了流动注射化学发光法测定延胡索乙素的新方法,其检出限为 3×10^{-8} g/mL,线性范围为 $1.0\times 10^{-7}\sim 8.0\times 10^{-5}$ g/mL。该法与 HPLC 法、薄层扫描法等相比简单、灵敏、快速、方便,已成功应用于药剂中延胡索乙素的测定,结果与《中国药典》标准方法测得值一致。王捷等^[20]采用紫外分光光度法测定了延胡索乙素的量,检测波长为 281 nm,结果延胡索乙素进样量线性范围是 16~40 μg ,平均回收率为 96.64%,RSD 为 1.81%。

此外,侯鹏飞等^[21]采用 HPLC-ESI-TOF/MS 分析鉴定了延胡索水提液中的叔铵碱类和季铵碱类成分,根据所测得的各个组分分子离子峰的 m/z 值,鉴定出非洲防己碱、原托品碱、延胡索碱等 11 个生物碱类成分,为分析延胡索中的生物碱类成分及其质量控制提供了可行的方法。Cheng 等^[22]使用 MALDI-MS 的新方法鉴定了延胡索中 10 个成分,并定量了小檗碱和巴马汀。

2.2 中药指纹图谱

整体性”和“模糊性”构成了中药指纹图谱的两大基本属性^[23]。由于其在评价中药质量方面的优越性,已越来越为国际社会所接受。中药指纹图谱特点首先通过指纹图谱的特征性,能有效鉴别样品真伪,其次通过其主要特征峰的面积和比例,有效控制样品质量,保证质量相对稳定。目前已开始用

于中药材基源鉴别、制剂工艺稳定性考察及中药注射剂质量控制等多个方面。对延胡索的化学指纹图谱的研究主要包括 HPLC、薄层色谱、红外光谱指纹图谱 3 个方面。

薄层色谱指纹图谱是目前用于中药质量控制最普遍的方法。聂孝平等^[24]通过全程扫描建立制剂的薄层色谱指纹图谱,通过与延胡索、夏天无药材薄层指纹图谱对比,确定制剂薄层色谱指纹图谱中延胡索和夏天无各自的特征峰归属,以特征峰有无来鉴别延胡索、夏天无。

高效液相色谱指纹图谱已经成功应用于同一药材不同品种、不同产地、不同部位以及不同的生产工艺研究中,为中药质量控制提供了技术支持。范捷^[25]建立浙产延胡索和不同产地延胡索 HPLC 指纹图谱,发现不同产地延胡索存在着微小差异。同时还对采用不同加工方法的延胡索进行研究,发现它们存在着显著差异,这些差异说明不同加工方法会影响药材的成分。孟舒等^[26]提出一种简便、准确的方法鉴别延胡索与夏天无药材,以延胡索乙素和原阿片碱对照品为参照,建立延胡索真伪品的指纹图谱。结果不同来源的延胡索 HPLC 指纹图谱十分相似,而与易混品相比则显示出完全不同的指纹图谱特征。刘梅等^[27]通过 HPLC 建立夏天无和延胡索的指纹图谱,表明利用二者指纹图谱可以快速、准确鉴别夏天无和延胡索药材,且专属性强、灵敏度高。詹汉英等^[28]建立延胡索药材的 RP-HPLC 指纹图谱,采用“中药色谱指纹图谱相似度评价 2004A”版软件比较不同产地炮制与未炮制延胡索药材指纹图谱的相似度,利用对照药材指纹图谱对 21 批样品进行聚类分析,结果显示不同产地炮制和未炮制延胡索药材指纹图谱稍有不同,分别建立共有模式,相似度较好,聚类分析结果表明个别药材质量较差。李先端等^[29]同时对不同品种的延胡索经醋炮制后的样品指纹峰进行了比较,发现醋制后除延胡索乙素的量较生品有所增加外,还有一系列峰面积也较生品有不同程度的增高,为醋制延胡索增效机制提供了有力的证据。程星烨等^[30]运用 LC-MS 技术,建立了延胡索抗心肌缺血活性部位指纹图谱,确立了指纹图谱中的 12 个共有峰,根据所检测到化合物的色谱保留时间及多级质谱信息,与对照品比较,对其中 8 个色谱峰进行了指认,为延胡索抗心肌缺血活性部位的质量控制提供了依据。罗文等^[31]建立的山楂药材 HPLC 指纹图谱,具有精密、稳定、重现

性好的特点,可用于山楂药材的质量控制。

3 延胡索质量控制发展趋势

质量控制方法的落后已经成为阻碍中药走出国门,与世界接轨的严重障碍。中药的药效不是来自单一活性成分,而是多种活性成分之间的协同作用的结果,对中药质量的评价和控制要真正反映其“内在”、“整体”的质量。以色谱指纹图谱为核心对中药质量进行综合评价将是中药质量控制研究的热点,包括中药各化学成分信息的获取、药效的相关性研究、中药的安全性评价。用单一的方法很难全面反映出这些信息,而每一种质量控制方法都有其局限性,因此可以通过建立多维多息的质量控制方法,完善中药质量评价、品种鉴定等方面的作用。肖小河^[32-33]提出构建基于道地药材和生物效价检测的中药质量控制与评价新模式,借鉴生物制品生产质量管理模式,建立基于道地药材和生物效价检测的中药质量控制与评价模式和方法,从常规、化学和生物双重角度共同把关中药质量,以期进一步补充和完善现行中药生产质量控制管理体系。

4 结语

中药鉴定除了传统方法外观鉴别、显微鉴别、理化鉴别,发展出了众多新技术和方法,并在不断地完善。现今药材来源除了部分来自种植基地外,大量原药材仍收购于松散农户,生产条件的不规范导致质量参差不齐,品种间可能存在相当的混杂度。通过中药指纹图谱控制中药整体质量,可指导药材 GAP 标准化生产,从源头上保证药材的质量,也是中药生产标准化(GMP)的准绳。目前,符合中医理论的中药质量控制方法正在深入研究,中药指纹图谱的研究正是目前研究的热点^[34-35],而色谱指纹图谱质控技术将会是牵动行业全面进步的关键技术。在建立原药材的指纹图谱同时,还应重视对中药饮片(炮制品)的质量控制,通过将炮制品与原药材进行指纹图谱比较,找出差异。

参考文献

- [1] 中国药典 [M]. 一部. 2010.
- [2] 中国药品生物制品检定所,广东省药品检定所. 中国中药材真伪鉴别图典 ii [M]. 广州: 广东科技出版社, 1997.
- [3] 曹谷珍,倪 萍. 延胡索与其伪品的鉴定 [J]. 中草药, 1997, 28(10): 626.
- [4] 杨成俊. 延胡索与其伪品板栗的鉴别 [J]. 中国药师, 2008, 11(2): 230.
- [5] 黄康泰. 常用中药成分于药理手册 [M]. 北京: 中国医

- 药科技出版社, 1994.
- [6] 王凤珍. 延胡索的真伪优劣检定 [J]. 中草药, 2002, 33(10): 952-953.
- [7] 王海英. 延胡索与同属其他植物的鉴别 [J]. 传统医药, 2009, 18(20): 70.
- [8] 张佳佳, 戴静波. TLC 法鉴别夏天无和延胡索药材 [J]. 江西中医学院学报, 2006, 18(6): 25.
- [9] 孙爱萍, 谢晓梅, 周瑾. 延胡索的薄层色谱鉴别研究 [J]. 安徽医药, 2008, 12(3): 224-225.
- [10] 魏凤环, 张佳佳, 张璐. 夏天无与延胡索的红外光谱法鉴别 [J]. 中药材, 2005, 29(5): 439-440.
- [11] 田进国, 陈永林, 任健, 等. 延胡索与全叶延胡索的红外光谱鉴别 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(6): 327-328.
- [12] 程存归, 孙跃. 延胡索及其伪品的 FTIR 直接鉴别 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1125-1128.
- [13] 金文英, 谢云龙, 程存归. 直接鉴别延胡索及其伪品的 FTIR-主要成分分析法研究 [J]. 分析实验室, 2003, 22(11): 241-243.
- [14] 成则丰, 李丹婷, 李花琼, 等. FTIR 聚类分析结合差热分析法应用于中药材延胡索表征的研究 [J]. 理化检验: 化学分册, 2006, 42(8): 601-603.
- [15] 程存归, 应桃开. 导数 FTIR 结合统计学法应用于中药延胡索质量控制的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(1): 36-38.
- [16] 房方, 丁选胜. 延胡索药材中延胡索乙素的含量测定 [J]. 现代中药研究与实践, 2005, 19(1): 54-56.
- [17] 姚建标, 叶伟峰, 王如伟. 延胡索中脱氢延胡索碱的含量测定方法研究 [J]. 药物研究, 2008, 17(24): 18.
- [18] 刘泓, 杨亚莉, 范斌. 高效液相色谱法测定延胡索药材中原阿片碱及延胡索乙素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(7): 9-10.
- [19] 李丽清, 周艳梅, 封满良, 等. 高锰酸钾-硫代硫酸钠-延胡索乙素化学发光体系的研究 [J]. 山东大学学报, 2002, 37(1): 78-83.
- [20] 王捷, 刘宗河, 焦爱军, 等. 紫外分光光度法测定复方金蒲片中延胡索乙素含量 [J]. 广西医学, 2004, 26(12): 1770-1772.
- [21] 侯鹏飞, 宿树兰, 段金殿, 等. 液质联用技术分析延胡索中的生物碱类成分 [J]. 药物研究, 2008, 5(11): 48-49.
- [22] Cheng Z H, Guo Y L, Wang H Y, et al. Qualitative and quantitative analysis of quaternary ammonium alkaloids from *Rhizoma Fourier* transform mass spectrometry coupled with a selective precipitation reaction using reinecke salt [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 555: 269-227.
- [23] 王海南. 中药有效成分研究与中药新药研发 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(5): 268-270.
- [24] 聂孝平, 向大雄, 李焕德, 等. 薄层扫描指纹图谱法对克瘾宁胶囊中延胡索和夏天无的鉴别 [J]. 湖南中医学院学报, 2002, 22(1): 34-35.
- [25] 范捷. “磐五味”药材元胡、浙贝母的化学指纹图谱研究 [D]. 浙江: 浙江大学生命科学院, 2007.
- [26] 孟舒, 胡东梅, 刘丹华, 等. 不同产地延胡索及其易混品夏天无指纹图谱鉴别 [J]. 中国药师, 2009, 12(11): 1512-1513.
- [27] 刘梅, 汤树良, 张文惠. HPLC 色谱指纹图谱鉴别夏天无和延胡索药材 [J]. 中药材, 2003, 26(9): 629-631.
- [28] 詹汉英, 谢彩娟, 杨龙梅, 等. 不同产地延胡索药材 RP-HPLC 指纹图谱及质量研究 [J]. 药物分析杂志, 2008, 28(6): 884-887.
- [29] 李先端, 马志静, 毛淑杰. 不同品种醋制延胡索指纹图谱的比较研究 [J]. 中药材, 2007, 30(2): 144-146.
- [30] 程星烨, 石茂. 建立了延胡索抗心肌缺血活性部位指纹图谱中化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1717-1719.
- [31] 罗文, 刘斌, 王伟, 等. 山楂药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 39-42.
- [32] 肖小河, 金城, 赵中振. 论中药质量控制与评价模式的创新与发展 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(14): 1377-1381.
- [33] 肖小河, 金城, 鄢丹, 等. 中药大质量观及实践 [J]. 中草药, 2010, 41(4): 505-508.
- [34] 王文燕, 赵强, 张铁军, 等. 牛黄降压丸的高效液相指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 56-57.
- [35] 张伟, 宋洪涛, 张倩, 等. 指纹图谱评价雷公藤胃漂浮缓释制剂的体外释放度研究 [J]. 中草药, 2010, 41(3): 376-380.