

规范化种植延胡索药材的质量评价

陈彩霞¹, 李艾莲^{1*}, 兰金旭¹, 杨念婉¹, 叶全裕², 谢赛萍¹

(1. 中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193; 2. 江西东伟实业有限公司, 南昌 344100)

摘要: 通过对江西红壤丘陵坡地规范化种植的延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 中延胡索乙素、重金属和农残连续 4 年跟踪检测分析, 对延胡索的药效成分和安全性进行质量评价。延胡索乙素含量采用高效液相法测定, 重金属含量采用原子吸收分光光度法测定, 农药残留采用气相色谱法测定。结果表明: 电视延胡索乙素含量为 0.066% ~0.088%, 重金属铅 0.76 mg/kg、镉 0.22 mg/kg、砷 0.0025 mg/kg、汞 0.007 mg/kg、铜 5.26 mg/kg、有机氯农药六六六 0.033 mg/kg、滴滴涕和五氯硝基苯为痕迹量。延胡索新种植区——江西红壤丘陵坡地规范化种植的延胡索符合《中华人民共和国药典》2010 年版一部及《药用植物及制剂外经贸委绿色行业标准》WM/T2-2004 的规定。

关键词: 延胡索; 规范化种植; 延胡索乙素; 重金属; 农残; 质量评价

中图分类号: S567; R282.71

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2010)05-0618-05

Quality Evaluation on Rhizoma *Corydalis* Cultivated in Compliance with Good Agricultural Practices

CHEN Cai-Xia¹, LI Ai-Lian^{1*}, LAN Jin-Xu¹, YANG Nian-Wan¹, YE Quan-Yu², XIE Sai-Ping¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. Jiangxi Dongwei Industry Co., Ltd., Nanchang 344100, China)

Abstract: Based on four years of continuous detection on the concentration of tetrahydropalmatine, heavy metal and pesticide residue, we evaluated the active ingredient and security of Rhizoma *Corydalis* cultivated by Good Agricultural Practice in red-soil slopes in Jiangxi province. The results showed that tetrahydropalmatine detected by using HPLC was between 0.066% –0.088%, while harmful elements such as Pb (0.76 mg/kg), Cd (0.22 mg/kg), As (0.0025 mg/kg), Hg (0.007 mg/kg), and Cu (5.26 mg/kg) were detected by flame atomic absorption spectrophotometer, pesticide residue determined by gas chromatography showed organic chlorine was 0.033 mg/kg, and 2,2-bis (4-chlorophenyl)-1,1,1-trichloroethane and quintozene were only at trace concentrations. All content agreed with the request by the subdivision in Pharmacopoeia of the People Republic of China (2010) and the Green standards of medicinal plants and preparations for foreign trade and economy (WM/T2-2004).

Key words: Rhizoma *Corydalis*; Tetrahydropalmatine; Heavy metal; Pesticide residue; Quality evaluation; Good agricultural practice

延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 为罂粟科植物, 其干燥块茎为常用中药, 具有活血、散瘀、理气、止痛的功效。药理研究证明, 延胡索主要化学成分——延胡索乙素 (tetrahydropalmatine) 的镇痛作用最强^[1], 是元胡止痛片 (胶囊) 等中药制剂的主要原料之一。质量稳定的原料供应, 是生产优

质中成药的物质基础。建立中药材规范化种植基地是提供优质原料的基本保证。

延胡索原主产浙江东阳、磐安一带, 为著名的“浙八味”之一。由于当地经济结构和种植模式的调整, 延胡索种植面积急剧减少^[2]。为保证中药材市场及中成药生产企业对延胡索生药的需求, 本研

收稿日期: 2009-12-25, 修回日期: 2010-03-16。

基金项目: 科技型中小企业技术创新基金 (09C2613601574)。

作者简介: 陈彩霞 (1972-), 女, 博士后, 从事药用植物栽培育种研究 (E-mail: caixiachen72@tom.com)。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: alli@implad.ac.cn)。

究将浙江磐安的延胡索种茎,引种到江西红壤丘陵坡地进行规范化种植。通过对收获的延胡索块茎中延胡索乙素含量、重金属和农药残留连续4年跟踪检测分析,对延胡索生药的药效和安全性进行质量评价,为延胡索新种植区的扩大栽培及中成药生产的质量控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

延胡索种茎引自道地产区浙江省磐安县。经中国医学科学院药用植物研究所李艾莲研究员鉴定为罂粟科植物延胡索(*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang)。种植基地位于江西省抚州市河埠乡境内,土壤为红壤土,土壤肥力为3级。

1.2 延胡索乙素含量测定

依据《中华人民共和国药典》2010年版一部^[3],对延胡索乙素含量进行测定(附录VI D)。

1.2.1 样品制备

延胡索块茎采收后,按试验设计对延胡索进行处理,按不同年份、不同加工方法、不同粒径共取12个样品(见表1)。

生药延胡索颗粒:混取延胡索块茎除去杂质,洗净。醋煮延胡索:取2种粒径(≤0.8 cm和≥0.8 cm)净延胡索块茎,加30%米醋与适量清水(以平药面为宜)共煮,煮至醋吸尽,润透;水煮延胡索:取2种粒径(≤0.8 cm和≥0.8 cm)净延胡索块茎,在沸水中煮至中心有米粒大小的白点(约3~4 min)。不同处理的延胡索块茎均采用DHG-9240型电热恒温鼓风干燥箱,在60℃条件下进行烘干处理。干燥后用FW80高速万能粉碎机进行粉碎,过

药典3号筛(孔径为355±13 μm)得干粉待用。

1.2.2 仪器与试剂

仪器:Waters 600E 高效液相色谱仪、996 多波长紫外检测器、Empower 色谱管理系统、PL203 电子天平、HHSY21-Ni4B 电热恒温水浴锅。

药品:Merck 甲醇(德国)为色谱纯,氨水、三乙胺、磷酸均为分析纯,水为去离子双蒸水。

试药:延胡索乙素对照品(批号110878-200102),中国药品生物制品检定所提供,高效液相色谱归一化法测定其纯度为99.83%。

1.2.3 色谱条件

Merck C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇:0.1%磷酸水(用三乙胺调pH值至6.00±0.03)(58:42);体积流量1.0 mL/min。检测波长280 nm;柱温25℃;进样量20 μL。色谱柱理论板数按延胡索乙素峰计算为9.676×10³,符合《中华人民共和国药典》2010年版一部要求。

1.2.4 溶液制备

(1)对照品溶液的制备:精密称取延胡索乙素对照品1.14 mg,加甲醇溶解并转移至25 mL容量瓶,定容至刻度,制成含延胡索乙素45.6 μg/mL的溶液。

(2)供试样品溶液的制备:取样品干燥粉末0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇:氨水(20:1)50 mL,密塞,称定重量,放置1 h,置水浴上加热(75~80℃)回流1 h,放冷,再称定重量,用甲醇:氨水(20:1)补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取滤液25 mL,于75~80℃浓缩干燥,残渣加甲醇分次洗涤,洗液转移至5 mL容量瓶中定容至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

表1 样品处理方法
Table 1 Sample treatment

样品编号 Sample number	样品采集时间(年) Sample collecting time (year)	样品处理 Sample treatment	备注 Remarks
1	2006	生药 Raw material	
2	2007	生药 Raw material	
3	2008	生药 Raw material	
4	2008	水煮 Boil with water	粒径≥0.8 cm Tuber diameter≥0.8 cm
5	2008	醋煮 Boil with vinegar	粒径≥0.8 cm Tuber diameter≥0.8 cm
6	2008	水煮 Boil with water	粒径≤0.8 cm Tuber diameter≤0.8 cm
7	2008	醋煮 Boil with vinegar	粒径≤0.8 cm Tuber diameter≤0.8 cm
8	2009	生药 Raw material	
9	2009	水煮 Boil with water	母延胡索 Maternal tuber
10	2009	醋煮 Boil with vinegar	母延胡索 Maternal tuber
11	2009	水煮 Boil with water	子延胡索 Filial tuber
12	2009	醋煮 Boil with vinegar	子延胡索 Filial tuber

1.2.5 方法学考察

线性关系考察：精密称取延胡索乙素对照品 3.93 mg, 甲醇定容至 50 mL。精密吸取上述对照液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 分别置于 5 mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 每个浓度平衡 2 次。分别精密吸取 20 μ L 进样分析。

精密度试验：取延胡索乙素对照品溶液, 进样 20 μ L, 重复进样 7 次测定, 记录峰面积。

稳定性试验：取 4 号样品溶液, 在 0、2、4、6、8、10、24 h 分别进样 20 μ L, 记录主峰面积。

重现性试验：取延胡索药材 4 号粉末 6 份, 每份精密称取 0.5 g, 依法制备供试品溶液, 测定每份样品中延胡索乙素的含量。

回收率试验：采用加样回收法, 取已知含量的延胡索药材 4 号干燥粉末 7 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 分别加入一定量的延胡索乙素对照品溶液, 甲醇定容, 制备供试品溶液, 进样量 20 μ L, 计算回收率。

1.2.6 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液与样品供试液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 进行含量测定。

1.3 重金属和农残检测

依据《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录及《药用植物及制剂外经贸委绿色行业标准》WM/T2-2004 的方法检测重金属和农药残留。

1.3.1 样品中重金属含量检测

采用标准加入法, 用石墨炉原子吸收分光光度法测定镉、铅的含量; 用冷原子吸收法测定汞含量; 氢化物法测定药材中砷的含量; 火焰法测定铜的含量。

1.3.2 样品中农药残留检测

延胡索中有机氯农药六六六(BHC)、滴滴涕(DDT)和五氯硝基苯(PCNB)的含量采用气相色谱法进行测定。

1.4 数据处理

运用 SAS(statistical analysis system) 软件对数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 延胡索乙素含量方法学测定

2.1.1 线性关系考察

以延胡索乙素对照品进样量(μ g)为横坐标(X), 延胡索乙素峰面积积分值为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得其回归方程为: $Y=8.296363 \times 10^5 X + 5.392364 \times 10^3$ ($r=0.9999, n=6$), 表明延胡索乙素在 0.340 ~ 1.884 μ g 之间与峰面积线性关系良好。

2.1.2 精密度试验

精密度试验结果见表 2。从表 2 可看出, RSD 为 1.5%, 表明精密度良好。

2.1.3 稳定性试验

稳定性试验结果见表 3。从表 3 可看出, 24 h 内延胡索乙素峰面积 RSD 为 0.68%, 试验结果显示样品溶液在避光、室温条件下放置 24 h 稳定。

2.1.4 重现性试验

重现性试验结果表明, 6 次测得的延胡索乙素平均含量为 0.087%, RSD 为 0.77% (见表 4)。即本试验测得的 4 号药材中延胡索乙素含量为 0.087%。

2.1.5 回收率试验

回收率试验结果表明, 回收率平均为 100.1%, RSD 为 1.5% (表 5)。

2.2 样品延胡索乙素含量测定

分别精密吸取对照品溶液与样品供试液各 20 μ L, 进行含量测定。延胡索乙素供试品溶液的延胡索乙素峰与相邻峰达到基线分离, 保留时间为 34.263 min, 对照品与供试品的色谱图见图 1, 可用

表 2 精密度考察结果(n=7)
Table 2 Precision of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo*(n=7)

重复次数 Repeated times	1	2	3	4	5	6	7	均值 Mean value	RSD(%)
峰面积 Peak area	790718	808823	785295	811666	779918	801583	791213	795602	1.5

表 3 稳定性考察结果(n=7)
Table 3 Stability of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo*(n=7)

重复次数 Repeated times	1	2	3	4	5	6	7	均值 Mean value	RSD(%)
峰面积 Peak area	825213	825906	820487	822951	822507	828332	811178	822368	0.68

表 4 重现性考察结果 (n=6)
Table 4 Repeatability of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo*(n=6)

重复次数 Repeated times	1	2	3	4	5	6	均值 Mean value	RSD(%)
延胡索乙素含量(%) Tetrahydropalmatine content	0.0873	0.0868	0.0873	0.0870	0.0876	0.0857	0.08695	0.77

表 5 回收率考察结果 (n=7)
Table 5 Recycling rate of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo*(n=7)

样号 Sample number	取样量(g) Sample quantity	样品中延胡索乙素含量(μg) Tetrahydropalmatine content in sample	加入延胡索乙素量(μg) Tetrahydropalmatine added in sample	测得量(μg) Determination value of Tetrahydropalmatine	回收率(%) Recycling rate
1	0.251	0.218119	0.2158	0.4356	100.8
2	0.247	0.214643	0.2158	0.4300	99.8
3	0.245	0.212905	0.2158	0.4225	97.1
4	0.252	0.218988	0.2158	0.4375	101.3
5	0.250	0.217250	0.2158	0.4370	101.8
6	0.252	0.218988	0.2158	0.4355	100.3
7	0.250	0.217250	0.2158	0.4320	99.5

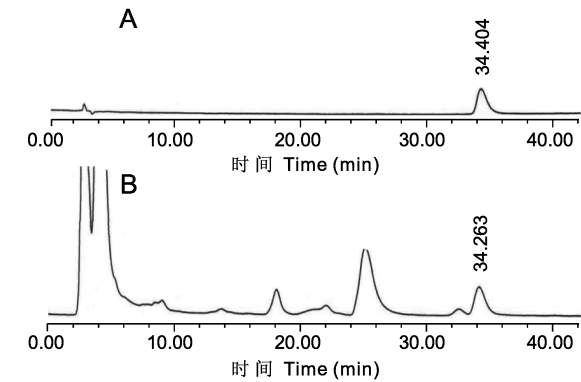


图 1 延胡索乙素对照品 (A) 与延胡索样品 (B) 的 HPLC 图

Fig.1 HPLC chromatogram of tetrahydropalmatine (A) and Rhizoma *Corydalis* tetrahydropalmatine (B)

于江西红壤丘陵坡地种植延胡索药材中延胡索乙素含量的测定。

由表 6 可知,江西红壤丘陵坡地规范化种植的延胡索中,延胡索乙素含量 4 年的测定结果在 0.066% ~0.088% 之间,均高于我国药典(2010 年版)标准(0.050%)。且 2007 ~2009 年 3 年的延胡索生药材中延胡索乙素含量没有明显差异,均在 0.086% ~0.088% 之间,说明基地生产的延胡索药材药效成分含量稳定。延胡索种类、粒径大小以及加工方法不同,延胡索乙素含量有所差异。本试验结果表明,粒径 ≤0.8 cm 的延胡索块茎中延胡索乙素含量在 0.123% ~ 0.142%,显著高于粒径 ≥0.8 cm 的延胡索,母延胡索中延胡索乙素含量高于子延胡索中延胡索乙素的含量,水煮延胡索中延胡索乙素含量普遍高于醋煮延胡索。至于延胡

索中其它药效成分含量变化是否也有类似的变化规律,还有待进一步研究。

2.3 延胡索重金属和农残检测分析

目前,中药产业的发展要求加强中药材安全性方面的检测。药材中的重金属和农药残留是否超标,直接影响中药产品的质量。对江西红壤丘陵坡地种植延胡索进行重金属和农残检测,结果见表 7。重金属铅 0.76 mg/kg、镉 0.22 mg/kg、砷 0.0025 mg/kg、汞 0.0070 mg/kg、铜 5.26 mg/kg,有机氯农药六六六的残留 0.033 mg/kg,滴滴涕和五氯硝基苯为痕迹量,均低于《药用植物及制剂外经贸委绿色行业标准》(WM/T2-2004)规定的标准。

3 讨论

随着中药的现代化、国际化,如何科学地控制中药质量已成为众多研究者关注的焦点。有效成分含量是中药材品质评价的重要指标。控制延胡索的质量,多以延胡索乙素作为首选成分^[4,5]。通过本研究发现,江西红壤丘陵坡地种植延胡索中,连续 3 年延胡索乙素含量稳定,均保持在 0.08% 以上,说明江西延胡索种植基地产延胡索药材质量稳定。在延胡索规范化栽培技术中,一般采用块茎繁殖。选择体型整齐、直径 1 ~1.4 cm 左右、无病虫害的当年新生块茎(子延胡索)作种。母延胡索因栽种后分枝少,仅长地下茎 1 ~2 支,产量低,不能用作栽种^[6]。而粒茎 ≤0.8 cm 的延胡索,则因块茎太小,茎芽少,出苗弱,抗病力差,被淘汰不用。但本试验结果

表 6 延胡索样品中延胡索乙素含量测定 (n=3)
Table 6 Determination of tetrahydropalmatine in *Corydalis yanhusuo*(n=3)

样品号 Sample number	样品类型 Sample treatment	延胡索乙素含量 (%) Tetrahydropalmatine content	RSD (%)
1	生药(2006) Raw material	0.066 ±0.0009	1.36
2	生药(2007) Raw material	0.088 ±0.0011	1.25
3	生药(2008) Raw material	0.087 ±0.0006	1.03
4	水煮(≥0.8 cm) Boil with water	0.087 ±0.0007	1.00
5	醋煮(≥0.8 cm) Boil with vinegar	0.081 ±0.0010	1.86
6	水煮(≤0.8 cm) Boil with water	0.142 ±0.0012	1.12
7	醋煮(≤0.8 cm) Boil with vinegar	0.123 ±0.0005	0.51
8	生药(2009) Raw material	0.086 ±0.0004	0.67
9	水煮(母延胡索) Boil with water(Maternal tuber)	0.109 ±0.0003	0.46
10	醋煮(母延胡索) Boil with vinegar(Maternal tuber)	0.085 ±0.0004	0.77
11	水煮(子延胡索) Boil with water (Filial tuber)	0.082 ±0.0013	2.00
12	醋煮(子延胡索) Boil with vinegar(Filial tuber)	0.076 ±0.0005	0.99

表 7 延胡索重金属含量及农残检测结果 (mg/kg)
Table 7 Results of concentration inspected of each heavy metal and pesticide residue in *Corydalis yanhusuo*(mg/kg)

检测项目 Detection item	检测结果 Detection result	标准 Standard
铅(Pb)	0.76	≤5.0
镉(Cd)	0.22	≤0.3
砷(As)	0.0025	≤2.0
汞(Hg)	0.0070	≤0.2
铜(Cu)	5.26	≤20.0
六六六(BHC)	0.033	≤0.1
滴滴涕(DDT)	0.00050	≤0.1
五氯硝基苯(PCNB)	0.00034	≤0.1

* 江西省分析测试中心。
* Jiangxi Province Research Institute of Analysis & Test.

表明,母延胡索中延胡索乙素含量要高于子延胡索中的含量,粒茎≤0.8 cm 延胡索中延胡索乙素含量显著高于粒茎≥0.8 cm 的延胡索,这在延胡索规范化栽培生产实践中具有很好的指导意义。母延胡索及粒茎≤0.8 cm 的延胡索不能作为种茎繁殖使用,却含有较高的延胡索乙素,作为生药材进行开发,能更充分地利用延胡索药材资源。

传统的延胡索炮制方法是醋制。王萍等^[7]认为,以延胡索乙素和去氢紫茛碱为评价指标,醋煮法优于醋炙法和酒炙法。本试验发现,水煮延胡索中延胡索乙素含量普遍高于醋煮延胡索,这与前人^[8,9]研究结果不同。也有研究结果表明,长时间醋煮法炮制使延胡索乙素成分含量下降^[10],可能的原因是醋煮时间过长,其生物碱已经分解或破坏,这还有待进一步的试验证实。药材中重金属和农药残留是否超标,直接影响药材的品质和质量。因此本试验还对基地产延胡索中的重金属和农残量进行了检测,以便更全面的

评价江西红壤坡地种植延胡索的药材质量。
通过对江西红壤丘陵坡地规范化种植延胡索的延胡索乙素和重金属及农残跟踪监测分析,表明基地自然地理环境适合延胡索药材的生长,延胡索乙素含量稳定,重金属、有机氯农药残留量的检查均符合食品和药品安全性要求。因此,综合评价该基地生产的延胡索符合《中华人民共和国药典》2010 年版一部,及《药用植物及制剂外经贸委绿色行业标准》(WM/T2-2004)规定的标准。

参考文献:

[1] 贺凯,高建莉,赵光树. 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 中草药,2007,38(12): 1909-1911
[2] 马国昌,张瑜华. 浙江省延胡索类药用植物资源概况[J]. 浙江省医学科学院学报,2000,(42): 39-41.
[3] 国家药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社,2010: 130.
[4] 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.
[5] 杨尚军,王晓敬,高德海,等. 高效液相色谱法测定元胡中延胡索乙素的含量[J]. 时珍国医国药,2004,15(3): 137-138.
[6] 林日长,何伟民. 元胡规范化高产栽培技术[J]. 江西农业学报,2006,18(1): 118-119.
[7] 王萍,窦志英,孙巍,等. 延胡索炮制工艺规范化研究[J]. 天津中医药大学学报,2009,28(1): 27-29.
[8] 窦志英,孙巍. 不同炮制方法对延胡索中延胡索乙素含量的影响[J]. 天津中医药大学学报,2006,25(3): 186-187.
[9] 张捷,黄荣华. HPLC 测定延胡索不同炮制品中延胡索乙素含量[J]. 西北药学杂志,2006,21(5): 209-210.
[10] 游修琪,李先端,顾雪竹,毛淑杰. 醋制增效理论实验研究 I——大剂量醋重复炮制对延胡索成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(2): 11-14.