



分类号 R927.11 密 级 公 开
学 号 2002009541 学校代码 90031

第三軍醫大學

硕士学位论文

气滞胃痛颗粒质量控制指标体系研究

董 媛

指 导 教 师 董兆君 教授

导 师 组 成 员

培 养 单 位 第三军医大学军事预防医学院
公共卫生

申请学位类别 硕士专业学位 专 业 名 称 公共卫生

论文提交日期 2012 年 10 月 论文答辩日期 2012 年 11 月

答 辩 委 员 会 主 席 刘 毅

评 阅 人 王四旺 张正东 张遵真

二〇一二年十一月

第三军医大学研究生学位论文独创性声明

秉承学校严谨的校风和科研作风，本人申明所呈交的论文是我本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得我校或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料，与我同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名： 董振 日期： 2012.11.26

第三军医大学研究生学位论文授权使用授权书

本人完全了解第三军医大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在攻读学位期间论文工作的知识产权单位属第三军医大学。本人保证毕业离校后，发表论文或使用论文工作成果时署名单位为第三军医大学。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。学校可以公布学位论文的全部或部分内容（保密内容除外），可以采用影印、缩印或其他手段保存论文。

论文作者签名： 董振
指导教师签名： 王
日 期： 2012.11.26

目 录

缩略语表	1
英文摘要	2
中文摘要	5
论文正文 气滞胃痛颗粒质量控制指标体系研究	7
前 言	7
第一章 气滞胃痛颗粒药学基本表征研究	9
1.1 引 言	9
1.2 实验材料与方法	9
1.2.1 供试品	9
1.2.2 对照品和试剂	9
1.2.3 对照品溶液的配制	9
1.2.4 仪器与色谱条件	9
1.3 结 果	11
1.3.1 性状	11
1.3.2 鉴别	11
1.3.3 检查	12
1.3.4 含量测定	13
1.4 小 结	14
第二章 气滞胃痛颗粒有效成分的分离与检测	15
2.1 引 言	15
2.2 气滞胃痛颗粒有效成分的定性检测	15
2.2.1 柴胡的薄层色谱	15
2.2.2 香附的薄层色谱	17
2.2.3 枳壳的薄层色谱	19
2.2.4 甘草的薄层色谱	20
2.3 气滞胃痛颗粒有效成分的定量检测	22
2.3.1 HPLC-DAD 法同时测定气滞胃痛颗粒中白芍、甘草、枳壳的含量	22
2.3.2 HPLC 法同时测定气滞胃痛颗粒中延胡索的含量	42
2.3.3 气滞胃痛颗粒稳定性研究	47
第三章 气滞胃痛颗粒非法添加成分及有害物质检测	51

3.1	引 言	51
3.2	硫酸阿托品的 HPLC 法检测	51
3.2.1	实验材料与方法	51
3.2.2	结果	52
3.2.3	结论	53
3.3	布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC 法检测及 LC-MS 验证	53
3.3.1	布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC 法检测	54
3.3.2	布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC-MS 验证	56
3.3.3	结论	57
3.4	诺氟沙星的 HPLC 法检测	57
3.4.1	实验材料与方法	57
3.4.2	结果	58
3.4.3	结论	59
3.5	氢氧化铝、三硅酸镁的检测	59
3.5.1	实验材料与方法	60
3.5.2	结果及分析	60
3.5.3	结论	62
3.6	工业染料金胺 O 的非法添加研究	62
3.6.1	薄层色谱法检测金胺 O 的非法添加情况-	62
3.6.2	HPLC 检测金胺 O 的非法添加情况	63
3.6.3	HPLC-DAD 检测金胺 O 的非法添加情况	67
3.6.4	HPLC-MS 验证	70
3.6.5	小结	71
3.7	气滞胃痛颗粒中铅、镉、砷、汞、铜的检测	71
3.7.1	As、Hg 检测方法	72
3.7.2	Pb、Cd、Cu 的检测方法	73
3.7.3	结果与结论	73
	全文结论	76
	参考文献	79
	文献综述	83
	攻读学位期间发表的论文	94
	致 谢	95

缩略语表

英文缩写	英文全称	中文对照
QWP	Qizhi Weitong Particles	气滞胃痛颗粒
HPLC	High performance liquid chromatography	高效液相色谱法
HPLC-DAD	high-performance liquid chromatography and diode array detector	高效液相色谱法和二极管阵列检测器
HPLC-MS	High performance liquid chromatography-mass spectrometry	高效液相色谱-质谱联用
TLC	Thin layer chromatography	薄层色谱法
ICP-AES	inductively coupled plasma atomic emission spectrometry	电感耦合等离子体原子发射光谱法
AFS	atomic fluorescence spectrometer	原子荧光光谱法

Study On The Parameter System For The Product Quality Control Of Chinese Medicine Qizhi Weitong Particles

Abstract

Aim:

27 batch of Qizhi Weitong Particles (QWPs) were analyzed in order to establish a system of identifying the multi components and quality control parameters of the non standard Chinese materials.

Method:

According to the official standard, detection of QWPs properties, volume difference, moisture, particle size, solubility, TLC method for identification of tetrahydropalmatine, paeoniflorin, using high performance liquid chromatography method for the determination of paeoniflorin.

Using thin layer chromatography of QWPs of bupleurum, Fructus aurantii, cyperus and Radix Glycyrrhizae were identified; using high-performance liquid chromatography and diode array detector (HPLC-DAD) for simultaneous determination of Radix Paeoniae Alba medicine glycosides, paeoniflorin, licorice glycoside, naringin and neohesperidin 5 component content, and method verification; using high performance liquid chromatography (HPLC) determine the content of tetrahydropalmatine, and methodological validation; taking a type of sugar and sugar free all 2 batches of samples were accelerated stability test (temperature: $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humidity is $70\% \pm 5\%$), placed 0, 1, 2, 3 month after determination.

Using HPLC to QWPs for atropine sulfate, sodium diclofenac, ibuprofen 3 chemicals and antibiotic norfloxacin 1 illegal check; using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) for magnesium, aluminum ion determination. Establishment of TLC, HPLC, step by step (sensitivity, accuracy and continuously improve) detection method, to study in a sample of Corydalis medicinal raw materials the

existence of auramine O industrial dye residues. Application of atomic fluorescence spectrometer (AFS) for lead, cadmium, arsenic, mercury, copper determination of harmful elements.

Result:

1. All of the physical parameters, appearance, content uniformity, moisture, granularity and solubility, of the 27 batch of QWPs were coincide with the provisions of SFDA. Tetrahydropalmatine and paeoniflorin could be detected by thin layer chromatography. The contents of paeoniflorin and sugar free paeoniflorin were 15.52~24.71 mg/bag and 18.07~24.90 mg/bag, respectively.

2. The thin-layer chromatogram of QWPs showed obvious principal spots correspond to the control of radix bupleuri, rhizoma cyperi, α -cyperus ketone, fructus aurantii, naringin, neohesperidin, liquiritin and so on.

Results from HPLC-DAD indicated that the contents of albiflorin, paeoniflorin, liquiritin, naringin and neohesperidin were 5.29~13.27 mg/bag, 16.15~24.56 mg/bag, 1.74~4.25 mg/bag, 8.75~16.78 mg/bag, and 5.84~10.48 mg/bag, respectively. However, contents of the sugar free type glycosides were 4.80~9.94 mg/bag, 17.49~24.81 mg/bag, 1.72~3.10mg/bag, 5.68~13.54 mg/bag and 3.98~8.43 mg/bag, respectively.

Results form HPLC analysis indicated that the content of tetrahydropalmatine in the 27 batch of product were 0.12~0.26 mg/bag (0.12~0.23mg/bag in sugar free type)。

Accelerated stability was tested at the special time points of 0.0, 1.0, 2.0, 3.0 months. No specific difference was demonstrated between the drug concentrations.

3. The chemicals of atropine sulphate, diclofenac sodium, ibuprofen and norfloxacin were not detectable in all of the 27 batch of QWPs. By the Step checking test, no amishdriving instructorne was found.

Conclusion:

1. All of the 27 batch of QWPs tested with the drug administration regulations and are acceptable products with higher quality .

2. The methods established in the present study to identify and test the components were simple, practicable, stable, reliable and repeatable. These methods can be regarded as standard test of the tetrahydropalmatine, paeoniflorin, radix bupleuri, fructus aurantii, rhizoma cyperi and liquorice in the products of QWPs.

3. The 27 batch of QWPs did not join the functional chemicals. Magnesium and aluminum ions for raw materials into, non-human add. Products are the detection of heavy metal and harmful elements, but all did not exceed the standard. Tips and preparation process control good quality of Chinese medicinal materials.

Key word:

Qizi Weitong Particles, standard, production standard, radix bupleuri, rhizoma cyperi, fructus aurantii, corydalis tuber, radix paeoniae alba, liquorice, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography

气滞胃痛颗粒质量控制指标体系研究

摘 要

目的:

通过对 27 批气滞胃痛颗粒的检测, 建立法定标准外药材成分的分离、测定方法, 健全该产品的质量控制指标体系。

方法:

1. 按照法定质量标准, 检测气滞胃痛颗粒的性状、装量差异、水分、粒度、溶化性, 采用薄层色谱方法鉴别延胡索乙素、芍药苷, 采用高效液相色谱法测定芍药苷。

2. 采用薄层色谱法对气滞胃痛颗粒中的柴胡、枳壳、香附和甘草进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法-二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 同时测定的白芍药苷、芍药苷、甘草苷、柚皮苷和新橙皮苷 5 个成分的含量, 并进行方法学验证; 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定延胡索乙素的含量, 并进行方法学验证; 取有糖型和无糖型各 2 批样品进行加速稳定性试验 (温度: $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $70\%\pm 5\%$), 放置 0、1、2、3 个月后进行测定。

3. 采用 HPLC 对气滞胃痛颗粒进行硫酸阿托品、双氯芬酸钠、布洛芬 3 个化学药品和诺氟沙星 1 个抗生素非法添加检查; 运用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-AES) 进行镁离子、铝离子的测定。建立了 TLC、HPLC、HPLC-DAD、HPLC-MS 的逐级 (灵敏度、准确率不断提高) 检测方法, 以考察样品中延胡索药材原料是否存在金胺 O 工业染色剂残留情况。运用原子荧光光谱仪 (AFS) 进行铅、镉、砷、汞、铜的有害元素测定。

结果:

1. 27 批气滞胃痛颗粒的性状、装量差异、水分、粒度、溶化性全部符合规定。薄层色谱鉴别中均能检出延胡索乙素、芍药苷。含量测定中芍药苷的含量为 $15.52\sim 24.71\text{ mg/袋}$, 无糖型含量为 $18.07\sim 23.80\text{ mg/袋}$, 均符合规定。

2. 在薄层色谱图中, 气滞胃痛颗粒与柴胡对照药材有相同颜色的主斑点对应; 与香附对照药材、 α -香附酮对照品、枳壳对照药材、柚皮苷对照品、新橙皮苷对照品、甘草对照药材和甘草苷对照品, 均有相同颜色的斑点对应。

HPLC-DAD 测定 27 批气滞胃痛颗粒中 5 个成分的含量, 其中白芍药苷的含量为 5.29~13.27 mg/袋 (有糖型)、4.80~9.94 mg/袋 (无糖型); 芍药苷的含量为 16.15~24.56 mg/袋 (有糖型)、15.00~21.81 mg/袋 (无糖型); 甘草苷的含量为 1.74~4.25 mg/袋 (有糖型)、1.72~3.10mg/袋 (无糖型); 柚皮苷的含量为 8.75~16.78 mg/袋 (有糖型)、5.68~13.54 mg/袋 (无糖型); 新橙皮苷的含量为 5.84~10.48 mg/袋 (有糖型)、3.98~8.43 mg/袋 (无糖型)。

HPLC 测定 27 批气滞胃痛颗粒中延胡索乙素的含量为 0.12~0.26 mg/袋 (有糖型)、0.12~0.23mg/袋 (无糖型)。

加速稳定性试验 0、1、2、3 月的测定结果比较, 没有显著性差异。

3. 在 27 批气滞胃痛颗粒中均未检出硫酸阿托品、双氯芬酸钠、布洛芬和诺氟沙星。通过 TLC、HPLC 逐级检查, 也未检出金胺 O。制剂中含铝离子 0.1~0.2mg/袋、镁离子 4.0~5.1mg/袋, 经分析为药材本身带入。在铅、镉、砷、汞、铜的有害元素测定中, 均未超标。

结论:

1. 27 批气滞胃痛颗粒均符合规定, 合格率 100%。说明产品质量较好。
2. 建立的柴胡、枳壳、香附和甘草的薄层色谱鉴别方法; 建立了白芍药苷、芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、甘草苷和延胡索乙素的含量测定方法。这些方法简便易行、稳定可靠、重复性好, 可作为该类产品的质量控制指标。
3. 27 批气滞胃痛颗粒中未加入功能性化学药品。镁离子和铝离子为原料药材中带入, 非人为添加。各产品均检出重金属及有害元素, 但均未超标。提示药材质量及制剂过程控制较好。

关键词: 气滞胃痛颗粒; 法定标准; 柴胡; 香附; 枳壳; 延胡索; 白芍; 甘草; 非法添加; 有害元素; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

气滞胃痛颗粒质量控制指标体系研究

前 言

气滞胃痛颗粒为辽宁本溪三药有限公司的独家品种。本品组方以东汉末年中医经典临床著作《伤寒论》中治疗肝郁气滞、脾胃不和、脘腹疼痛的四逆散为主方^[1]，添加理气止痛的香附和延胡索，并结合现代研究成果和 30 多位中医专家多年的临床经验协定而成，以病为单元，以证为基础，将汤剂制成剂量小、口感佳、使用方便又能辩证用药的现代化药品，1983 年 8 月确定了处方，同年 10 月开始研究，1984 年 11 月通过国家级鉴定，获提批文。该品种先后获得国家级新药，全国中医院急诊室必备中成药等荣誉称号，并获得辽宁省科技进步奖多项。

批准文号变更情况：

1984 年批文辽卫药准字（84）-1457-65 号，规格为 10g，有糖型

1994 年减糖型批文辽卫药准字（94）-1457-65 号，规格为 5g

1998 年换发文号 ZZ-5024-辽卫药准字（1998）-65 号，规格为 5g

2002 年申请注册批准文号 Z21021522，规格为 5g

2004 年 2 月注册批准文号 Z21021522，规格为 2.5g，无糖型

气滞胃痛颗粒有糖型原收载于卫生部部颁标准中药成方制剂第 16 册（WS3-B-3040-98），后收载于《中国药典》2005 年版一部^[2]，规格为 5g/袋。无糖型为国家食品药品监督管理局标准 YBZ01602004，规格为 2.5g/袋。

气滞胃痛颗粒由柴胡、延胡索（炙）、枳壳、香附（炙）、白芍、甘草（炙）6 味药制成，分为有糖型（规格 5g/袋）和无糖型（规格 2.5g/袋），具有舒肝理气，和胃止痛的作用，用于肝郁气滞，胸痞胀满，胃脘疼痛^[3-5]。两剂型主要区别是无糖型中挥发油用 β -环糊精包合后再合并制粒。

在现行法定标准中，对气滞胃痛颗粒中的白芍、延胡索进行了定性鉴别，对白芍中的芍药苷进行定量测定。本课题首先对气滞胃痛颗粒进行法定标准检测，保证其最基本的质量要求。

气滞胃痛颗粒中共有六味药材，法定标准仅仅对其两味药材进行控制显得很单薄。课题中首先利用简便快速的薄层色谱法对方中的所有药材进行检测，使得制剂中

100%的药材得以定性控制。再运用 HPLC-DAD 检测方法同时一次对制剂中的三味药材进行定量检测，同时也建立了延胡索乙素的含量测定方法，使处方中 67%的药材得以定量控制。以上检测对更好的控制制剂质量，药材筛选，工艺优化等工作奠定基础。

在安全性研究方面也选取了四种常见的解痉、消炎、镇痛类的药物进行检查，考察制剂中是否存在非法添加。检测胃药中常见的镁铝是否超标。同时也对处方中延胡索是否存在非法染色剂金胺 O 进行检测。对中药中的有害金属元素铅、镉、砷、汞、铜进行检测。为这一制剂的安全使用提供了进一步的保证。

第一章 气滞胃痛颗粒药理学基本表征研究

1.1 引言

《药品管理法》规定“药品必须符合国家药品标准”，所有生产、销售和使用的药品必须是符合法定标准的。因此药品是否符合法定标准，是所有标准外研究的必要前提。气滞胃痛颗粒的标准收载于《中国药典》2005 年版一部第 389 页。无糖型的标准为国家食品药品监督管理局标准 YBZ01602004。两个标准均包括性状，鉴别（白芍薄层色谱、延胡索薄层色谱），检查（装量差异、水分、粒度、溶化性、微生物限度），含量测定。其中无糖型标准的鉴别项多考察一个化学反应实验。现依照法定标准，对 27 批气滞胃痛颗粒进行检测。

1.2 实验材料与方法

1.2.1 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

1.2.2 对照品和试剂

对照品：芍药苷对照品（批号：10736-200934，含量 95.7%，供含量测定用），延胡索乙素对照品（批号：110726-200610），均购自中国药品生物制品检定所。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

1.2.3 对照品溶液的配制

取延胡索乙素对照品，加甲醇制成每 ml 含 0.1mg 的对照品溶液。作为标准中[鉴别]项下的薄层色谱检测用。

取芍药苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 2mg 的对照品溶液。作为标准中[鉴别]项下的薄层色谱检测用。

取芍药苷对照品，精密称定，加甲醇制成每 ml 含 0.1058mg 的对照品溶液。作为标准中[含量测定]项检测用。

1.2.4 仪器与色谱条件

1.2.4.1 薄层色谱条件和方法

A. 白芍的薄层色谱

取本品 15g (有糖型), 7.5g (无糖型), 加乙醇 40ml, 浸渍 1 小时, 时时振摇, 滤过, 滤液蒸干, 残渣用水 5ml 使溶解, 用水饱和的正丁醇 30ml 提取, 正丁醇液用水洗涤 3 次, 每次 20ml, 取正丁醇液蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取芍药甙对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 4 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇(4:1)为展开剂, 展开 9cm, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。

B. 延胡索的薄层色谱

取本品 15g (有糖型), 7.5g (无糖型), 加甲醇 50ml, 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣用 2% 盐酸溶液 10ml 使溶解, 用乙醚提取 2 次, 每次 15ml, 分取水层, 用氨试液调 pH 值至 9, 再用乙醚提取 2 次, 每次 15ml, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣用三氯甲烷 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品, 加三氯甲烷制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验, 吸取供试品溶液 10 μ l、对照品溶液 5 μ l, 分别点于同一用 2% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-三氯甲烷-甲醇(10:6:1)为展开剂, 展开 9cm, 取出, 晾干, 置碘蒸气中熏至斑点显色清晰。

1.2.4.2 液相色谱条件

A. 仪器和检测条件

仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪 (自动进样器、紫外检测器)。

色谱柱: 依利特 C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)。

流动相: 甲醇-0.02mol/L 磷酸二氢钾溶液 (28: 72)

检测波长: 230nm

柱温: 30℃

流速: 1.0mL·min⁻¹

进样量: 各 10 μ L

B. 供试品溶液的配制

取装量差异项下的本品, 研细, 取约 2g (有糖型), 1g (无糖型), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加水 50ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 50kHz) 60 分钟, 放冷, 再称定重量, 用水补足减失的重量, 摇匀, 用 0.45 μ m 的微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

1.3 结 果

1.3.1 性状

1.3.1.1 气滞胃痛颗粒（有糖型）：

标准规定：本品为淡棕色至棕黄色的颗粒；具特异香气，味甜、微苦辛。

检验结果：20 批次均符合规定。

1.3.1.2 气滞胃痛颗粒（无糖型）：

标准规定：本品为黄棕色至棕色颗粒；味苦辛、微甜；热水溶解具特殊香气。

检验结果：7 批样品均符合规定。

1.3.2 鉴别

1.3.2.1 气滞胃痛颗粒（有糖型）：

A. 白芍薄层色谱

检验结果：20 批样品均检出芍药苷，符合规定。

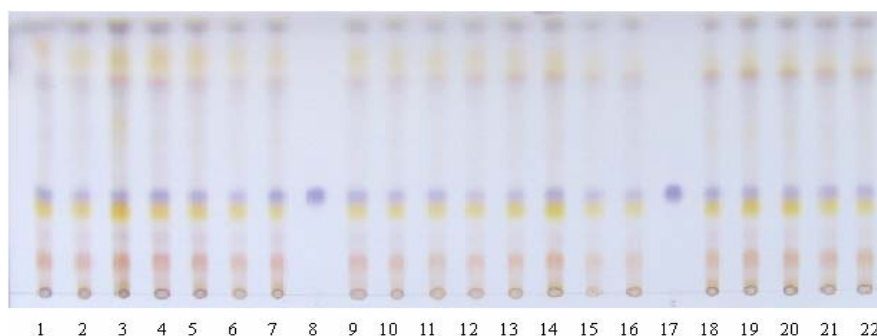


图 1-1 气滞胃痛颗粒白芍 TLC 图

1~7, 9~16, 18~22 为不同批次的有糖型样品；8、17 为芍药苷对照品

B. 延胡索薄层色谱

检验结果：20 批样品均检出延胡索乙素，符合规定。

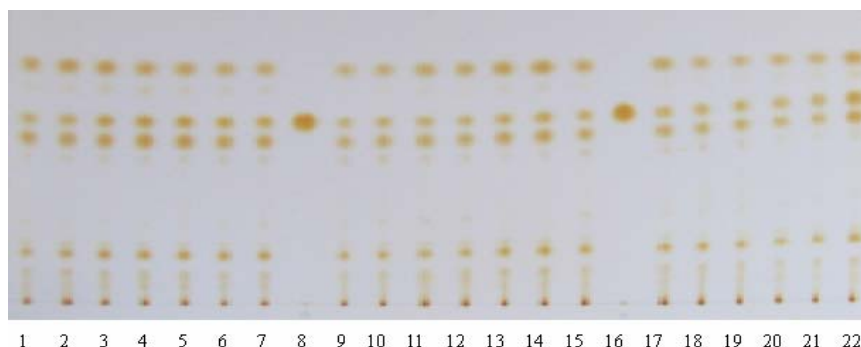


图 1-2 气滞胃痛颗粒（有糖型）中白芍 TLC 图

1~7, 9~15, 17~22 为不同批次的有糖型样品；8、16 为延胡索乙素对照品

1.3.2.2 气滞胃痛颗粒（无糖型）：

A. 化学反应

检验结果：7 批样品均呈正反应，符合规定。

B. 白芍薄层色谱

检验结果：7 批样品均检出芍药苷，符合规定。

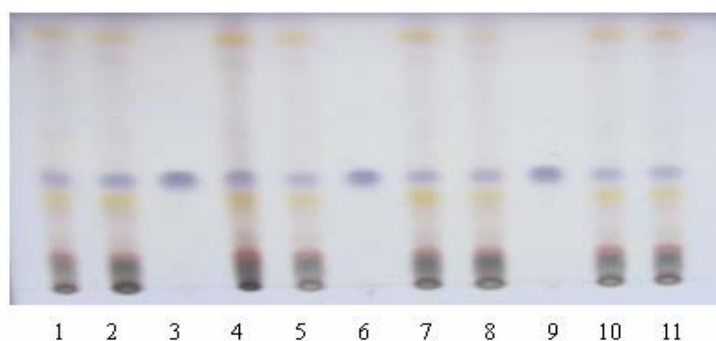


图 1-3 气滞胃痛颗粒（无糖型）白芍 TLC 图

1、2、4、5、7、8、10、11 为不同批次的无糖型样品；3、6、9 为芍药苷对照品

C. 延胡索薄层色谱

检验结果：7 批样品均检出延胡索乙素，符合规定。

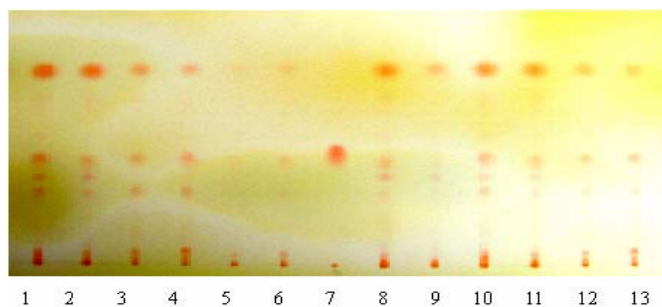


图 1-4 气滞胃痛颗粒（无糖型）延胡索 TLC 图

1~6、8~13 为不同批次的无糖型样品；7 为延胡索乙素对照品

1.3.3 检查

1.3.3.1 装量差异（限度 $\pm 7\%$ ）

检验结果：27 批样品均符合规定。

1.3.3.2 水分

检验结果：有糖型（限度 6.0%）：2.76%~4.41%

无糖型（限度 8.0%）：3.77%~5.02%

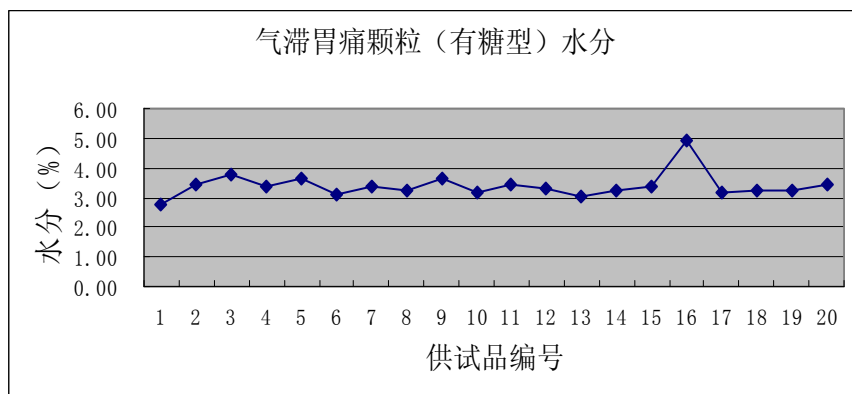


图 1-5 气滞胃痛颗粒（有糖型）水分测定结果

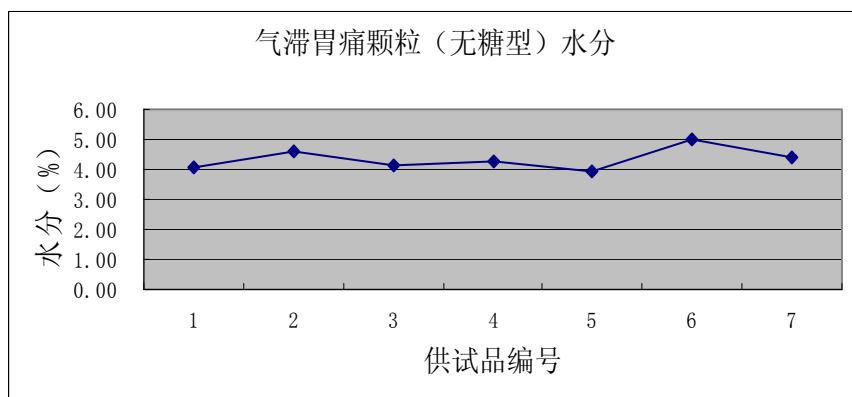


图 1-6 气滞胃痛颗粒（无糖型）水分测定结果

1.3.3.3 粒度（限度 15%）

检验结果：有糖型：0.33%-0.99%

无糖型：0.17%-0.78%

1.3.3.4 溶化性

检验结果：27 批次均符合规定。

1.3.3.5 微生物限度

检验结果：27 批样品均符合规定。

1.3.4 含量测定

HPLC 法测定芍药苷含量：

标准规定：本品每袋含白芍以芍药苷计，不得少于 7.5mg。

检验结果：有糖型 20 批次，含量在 15.52~24.71 mg，符合规定。

无糖型 7 批次，含量在 18.07~23.80 mg，均符合规定。

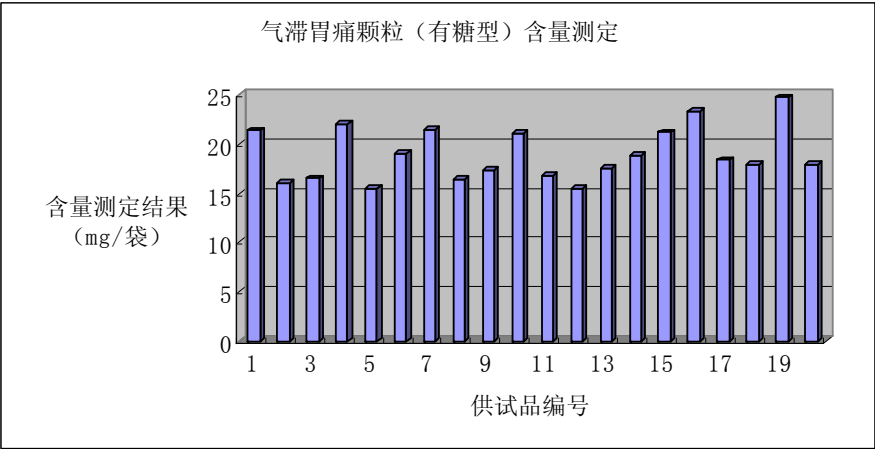


图 1-7 气滞胃痛颗粒（有糖型）含量测定结果

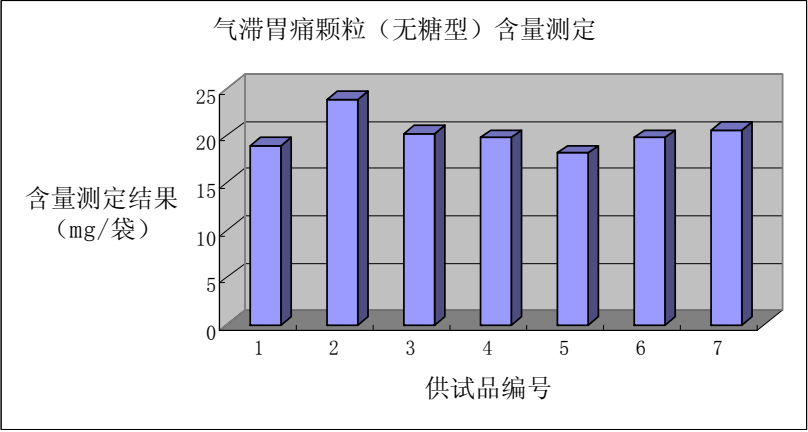


图 1-8 气滞胃痛颗粒（无糖型）含量测定结果

1.4 小 结

气滞胃痛颗粒按现行法定标准检验，无不合格批次。

第二章 气滞胃痛颗粒有效成分的分离与检测

2.1 引言

药物的有效性是药物的重要属性，药物对某种疾病治疗有效，是药物存在的重要依据，也是其存在和应用的重要保证。中药的有效性是通过人们的长期实践取得的，古代有“神农尝百草，一日而遇七十毒”的传说，李时珍通过数十年钻研，写出了本草纲目，为后代留下了宝贵的中药资源宝库，现代药物制剂更是经过研究人员的不断钻研，多次进行动物、人体试验，最终得到了疗效确切的药品。

法定标准是保证药品有效的最基本质量控制依据，而对药物制剂进行除法定标准外的研究，通过从制剂的所用药材、制法工艺等方面进行研究，寻求新的质量控制手段，通过法定标准所忽略的方面，以及时发现制剂是否存在问题。

在实验中所用的 27 批气滞胃痛颗粒均符合法定标准的前提下，现寻求新的质量控制手段，以更好的反映其质量。在研究中我们尽量寻找简便快捷，涵盖面广的方法。在定性研究中，主要针对法定标准中未涉及的柴胡、枳壳、香附、甘草 4 味药进行，力求处方药材的全覆盖。在定量研究中，用 HPLC-DAD 法一次检测出制剂中三味药材的主要成分，方法准确、高效、经济、实用。通过全面的定性定量研究，可以更好的评价制剂的质量，为下一步完善质量标准作准备。

2.2 气滞胃痛颗粒有效成分的定性检测

薄层色谱（TLC）鉴别为中药质量标准的研究内容之一，具有简便，快速，重复性好，专属性强的特点。运用 TLC 鉴别能直观反映制剂中药材质量及药材中主要成分的情况。

气滞胃痛颗粒现行标准中采用 TLC 法鉴别了方中白芍和延胡索，未对柴胡、枳壳、香附、甘草进行有效鉴别，故对此 4 味药进行 TLC 鉴别研究。

2.2.1 柴胡的薄层色谱

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. 的干燥根。按性状不同，分别习称北柴胡及南柴胡。具有和解表里，疏肝，升阳的作用。现对制剂中的柴胡进行定性鉴别。

2.2.1.1 实验材料与方法

薄层板：硅胶 G 预制板（德国 MERCK 公司）。

试剂：所用试剂均为分析纯。

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

对照品与对照药材：均购自中国药品生物制品检定所。柴胡对照药材（批号：120992-200705），柴胡皂苷 a（批号：110777-200908），柴胡皂苷 d（批号：110778-200908）。

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

方法：取供试品（有糖 10g，无糖型 5g），加热水 30ml 溶解，放冷，用正丁醇萃取 2 次，每次 25ml，合并正丁醇液，依次用氢氧化钠试液 15ml、氨试液 20ml 分别洗涤 1 次，弃去洗液，取正丁醇液蒸干，残渣加甲醇 1ml 溶解即得供试品溶液。另根据处方量，取缺柴胡的其余药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法制成阴性供试品溶液。另取柴胡对照药材加水适量，煎煮 2 小时，滤过，滤液浓缩至干，再加水 20ml 溶解，同供试品溶液制备方法自“用正丁醇萃取 2 次”起，同法制成对照药材溶液。再取柴胡皂苷 a，柴胡皂苷 d 对照品，分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液。取上述溶液各 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 板上，以氯仿-甲醇-水（30：10：1）展开剂。展开 9cm，取出，晾干，喷以 2%对二甲氨基苯甲醛的 40%硫酸溶液显色，在 105℃加热至斑点显色清晰，日光及紫外光灯（365nm）下观察。

2.2.1.2 实验结果

供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，显相同颜色的一个主斑点（日光下为红色，紫外光灯下为黄色）。阴性样品中未见与之对应的斑点。（见图 2-1、图 2-2）

日光下：

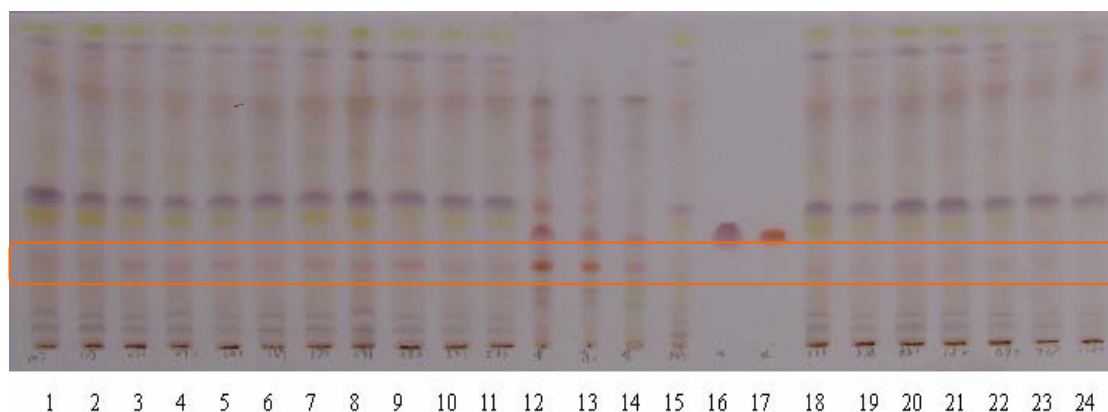


图 2-1 气滞胃痛颗粒中柴胡 TLC 图（日光下）

紫外光灯（365nm）下：

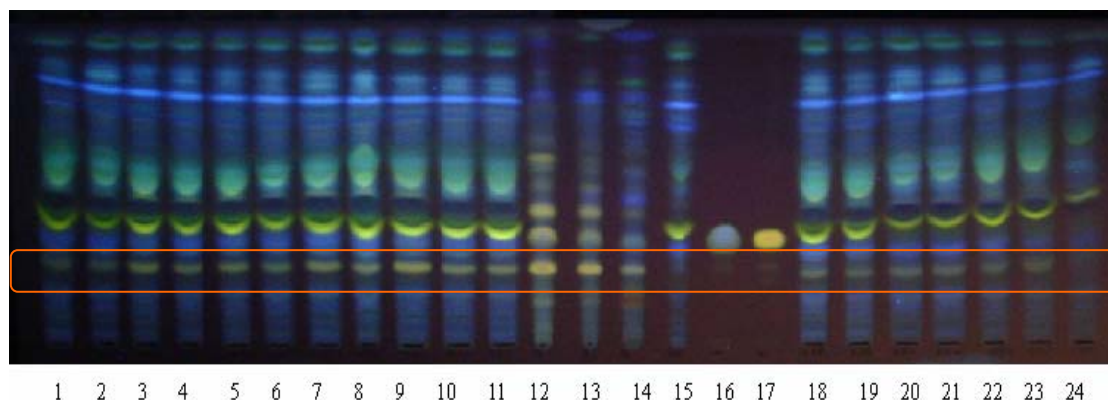


图 2-2 气滞胃痛颗粒中柴胡 TLC 图（紫外光灯下）

1~11 为不同批次的有糖型样品，12.柴胡（中检所），13.柴胡（企业提供），14.柴胡（市场样品），15. 阴性样品（缺柴胡），16.柴胡皂苷 a，17.柴胡皂苷 d，18~24 为不同批次的无糖型样品

2.2.1.3 检验结论

气滞胃痛颗粒和对照药材在薄层板上均能得到较好的分离，并且有一个主斑点相互对应。检测 27 批次样品，均与对照药材在 TLC 上具有相对应的主斑点。为气滞胃痛颗粒中柴胡的评价提供了定性依据。

制剂中柴胡皂苷 a、d 则难以提取出来，因此在薄层板上没有与对照品相对应斑点。柴胡药材化学成分不稳定，不同产地、不同工艺提取的柴胡成分含量差异很大。柴胡皂苷 a 和 d 在一定条件下易水解开环成共轭体系，转化为柴胡皂苷 b1、b2，该转换为一动态过程，影响因素极多。在气滞胃痛颗粒这一制剂中，柴胡经水煮浓缩后成分变化情况复杂，现有技术手段难以对其进行准确检测。故柴胡 TLC 鉴别中仅保留对照药材部分较为合理。

2.2.2 香附的薄层色谱

香附（*Rhizoma Cyperi*）为莎草科植物莎草（*Cyperus rotundus* L.）的干燥根茎，具行气解郁、调经止痛之功效。其活性成分香附挥发油中含有多种单萜、倍半萜及其氧化物，是香附的主要有效成分，而 α -香附酮在总挥发油中占的比例较高，是挥发油的主要成分之一。文献报道测定香附中香附酮含量的方法有气相色谱法、薄层色谱紫外分光光度法、气质联用法、高效液相色谱法等^[7]。但不同产地香附药材中的 α -香附酮含量相差较大^[8]，检测其含量的意义不大，故采用薄层色谱法对其进行定性鉴别。

2.2.2.1 实验材料与方法

薄层板：硅胶 G 预制板（德国 MERCK 公司）

试剂：所用试剂均为分析纯

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

对照品与对照药材：均购自中国药品生物制品检定所。香附对照药材（批号：121059-200706）， α -香附酮（批号：110748-200608）

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

方法：取供试品（有糖型 20g，无糖型 10g），置挥发油提取器中，加水 100ml，提取器刻度管中加 2ml 石油醚（60~90℃）作溶剂，提取 2 小时，放冷，取石油醚（60~90℃）部分作为供试品溶液。另根据处方量，取缺香附的其余药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法制成阴性供试品溶液。再取香附对照药材 2g，同法制成对照药材溶液，作为对照药材溶液。再取 α -香附酮对照品，用乙酸乙酯制成每 1ml 含 1 μ l 的溶液，作为对照品溶液。取以上溶液各 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯（9:1）为展开剂，展开 9cm，取出，晾干，喷以 2,4-二硝基苯肼试液。

2.2.2.2 实验结果

供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。阴性样品中未见与之对应的斑点。（见图 2-3）

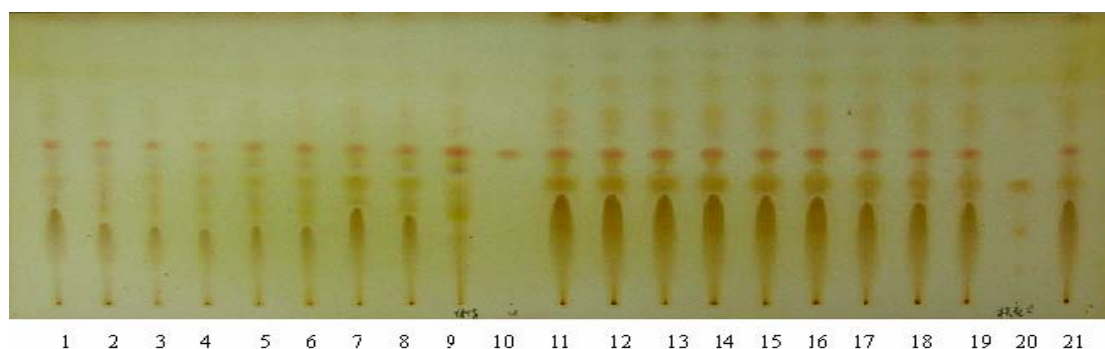


图 2-3 气滞胃痛颗粒中香附的 TLC 图

1~8, 21 为不同批次的有糖型样品； 11~19 为不同批次的无糖型样品； 9.香附对照药材； 10. α -香附酮对照品； 20.阴性样品（缺香附）

2.2.2.3 实验结论

气滞胃痛颗粒和香附对照药材在薄层板上均能得到较好的分离并相互对应，在 α -香附酮对照品位置上均有斑点；检测 27 批次样品，均与对照药材和对照品在 TLC 上

具有相对应的斑点。为气滞胃痛颗粒中香附的评价提供了定性依据。

2.2.3 枳壳的薄层色谱

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实。具有理气宽中，行滞消胀之功效。枳壳生物碱类成分如辛弗林和 N-甲基酪胺，具有升压和抗休克作用，在本制剂中未应用该作用，故未考察该类成分。主要考察枳壳中的黄酮类成分。

2.2.3.1 实验材料与方法

薄层板：硅胶 G 预制板（德国 MERCK 公司）

试剂：所用试剂均为分析纯

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

对照品与对照药材：均购自中国药品生物制品检定所。枳壳对照药材（批号：120981-200403），柚皮苷对照品（批号：110722-200610），新橙皮苷对照品（中检所待发）。

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

方法：取供试品（有糖 10g，无糖型 5g），加乙醚 50ml，加热回流 1h，弃醚液，药渣用甲醇回流 1h，滤过，滤液蒸干，残渣加水 20ml 溶解，用正丁醇萃取 3 次，每次 25ml，正丁醇液用水洗 3 次，每次 25ml，取正丁醇液蒸干，残渣加甲醇 1ml 溶解即得供试品溶液。另根据处方量，取缺枳壳的其余药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法制成阴性供试品溶液。再取枳壳对照药材 1g，同法制成对照药材溶液。再取柚皮苷、新橙皮苷对照品，分别用甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液，作为对照品溶液。取以上溶液各 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以氯仿-甲醇-水（13：6：2）的下层溶液展开剂，展开，取出，晾干。喷以 5%三氯化铝乙醇溶液，置紫外光灯（365nm）下观察。

2.2.3.2 实验结果

供试品色谱中，在与对照药材和对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。阴性样品中未见与之对应的斑点。（见图 2-4）

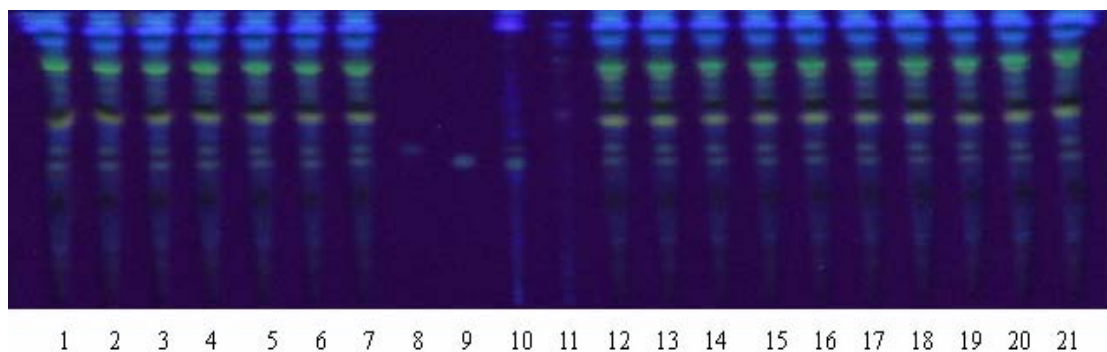


图 2-4 气滞胃痛颗粒中枳壳 TLC 图

1~7 为不同批次的无糖型样品，12~21 为不同批次的有糖型样品；8.新橙皮苷；9.柚皮苷；10.枳壳对照药材；11.阴性样品（缺枳壳）

2.2.3.3 实验结论

气滞胃痛颗粒和枳壳对照药材在薄层板上均能得到较好的分离并相互对应，在柚皮苷、新橙皮苷对照品位置上均有斑点；检测 27 批次样品，均与对照药材和对照品在 TLC 上具有相对应的斑点。为气滞胃痛颗粒中枳壳的评价提供了定性依据。

2.2.4 甘草的薄层色谱

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎。具有补脾益气，清热解毒，祛痰止咳，调和诸药之功效。

2.2.4.1 实验材料与方法

薄层板：硅胶 G 预制板（德国 MERCK 公司）

试剂：所用试剂均为分析纯

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

对照药材：购自中国药品生物制品检定所。甘草对照药材（批号：120904-200602）。

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

方法：取供试品（有糖 5g，无糖型 2.5g），加乙醚 50ml 加热回流 1h，弃醚液，药渣用甲醇回流 1h，滤过，滤液蒸干，残渣加水 20ml 溶解，用正丁醇萃取 3 次，每次 25ml，正丁醇液用水洗 3 次，每次 25ml，取正丁醇液蒸干，残渣加甲醇 1ml 溶解即得供试品溶液。另根据处方量，取缺甘草的其余药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法制成阴性供试品溶液。再取甘草对照药材 1g，同法制成对照药材溶液。取

以上溶液各 5 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸（2：2：0.1）为展开剂，展开，取出，晾干。喷以 10%硫酸乙醇溶液.在 105℃加热至斑点显色清晰，分别置日光下和紫外光灯（365nm）下观察。

2.2.4.2 实验结果

供试品色谱中，在与对照药材色谱相应的位置上，日光下显相同颜色的斑点，紫外光灯（365nm）下显相同颜色的荧光斑点。（见图 2-5、图 2-6）

日光下：

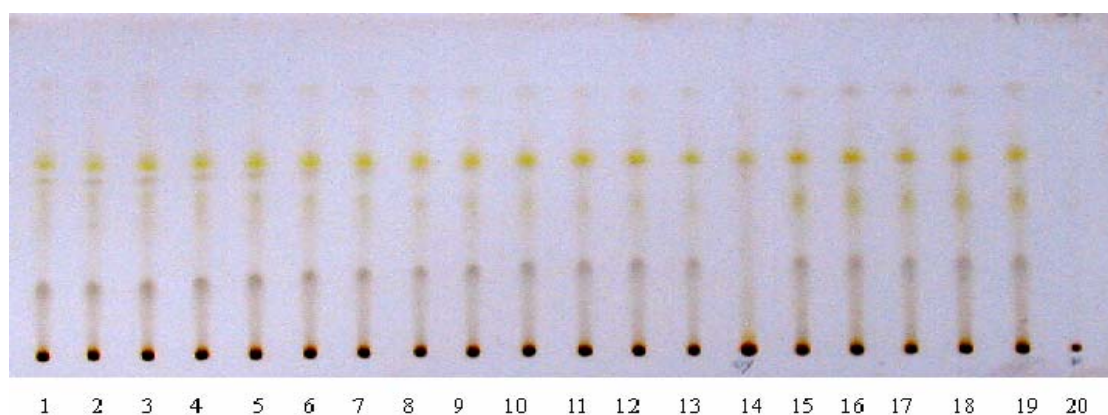


图 2-5 气滞胃痛颗粒中甘草 TLC 图

紫外光灯（365nm）下：

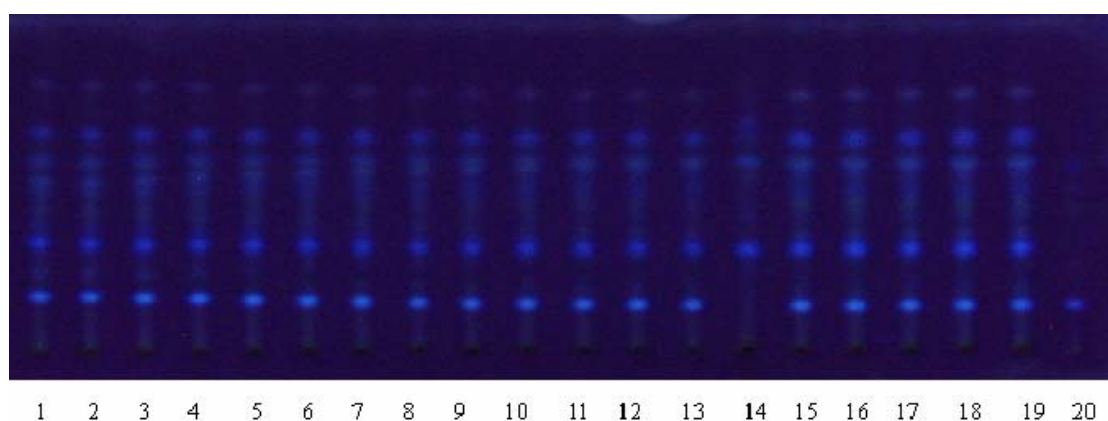


图 2-6 气滞胃痛颗粒中甘草 TLC 图

1~13: 不同批次的有糖型样品 15~19: 不同批次的无糖型样品；14: 甘草对照药材；20: 阴性样品（缺甘草）

2.2.4.3 实验结论

气滞胃痛颗粒和甘草对照药材在薄层板上均能得到较好的分离并相互对应；检测 27 批次样品，均与对照药材在 TLC 上具有相对应的斑点。为气滞胃痛颗粒中甘草的评价提供了定性依据。

2.3 气滞胃痛颗粒有效成分的定量检测

2.3.1 HPLC-DAD 法同时测定气滞胃痛颗粒中白芍、甘草、枳壳的含量

2.3.1.1 引言

在现行法定标准中【含量测定】项下是测定芍药苷的含量，现利用 HPLC-DAD 法同时一次测定，通过调用不同波长测定白芍、甘草、枳壳中白芍药苷、芍药苷、甘草苷、柚皮苷和新橙皮苷的含量。

2.3.1.2 实验材料与方法

A. 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

B. 对照品和试剂

对照品：白芍药苷对照品（批号：ASB-00001513-005），购自于美国 ChromaDex 公司（经 HPLC 峰面积归一化法测得纯度>98%）。其余对照品均购自中国药品生物制品检定所。芍药苷对照品（批号：10736-200934，含量 95.7%，供含量测定用）；甘草苷对照品（批号：111610-200604，供含量测定用）；柚皮苷对照品（批号：110722-200610，供含量测定用）；新橙皮苷对照品（中检所待发，经 HPLC 峰面积归一化法测得纯度>98%）。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

C. 仪器与色谱条件

仪器：岛津 LC20A，DAD 检测器。

色谱柱：依利特 C18 色谱柱（4.6mm×150mm，5μm）

流动相：乙腈(A)-水(B)为流动相梯度洗脱(0~45min, 10%→28%A, 90%→72%B; 45~50min, 28%→95%A, 72%→5%B)

检测波长：200—400nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 10μL

D. 对照品溶液的配制

取白芍药苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 1.228mg、0.1228mg、0.0614mg 的对照品溶液。

取芍药苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 0.49496mg、0.0495mg 的对照品溶液。

取甘草苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 0.1272mg、0.0636mg、0.0318mg 的对照品溶液。

取柚皮苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 0.3936mg、0.1968mg、0.0984mg 的对照品溶液。

取新橙皮苷对照品，加甲醇制成每 ml 含 0.4092mg、0.1637mg、0.0818mg 的对照品溶液。

E. 供试品溶液的配制

供试品溶液：取有糖型 2g 或无糖型 1g，精密称定，置锥形瓶中，精密加甲醇 50ml，称定重量，超声处理 30 分钟，放冷，再称定重量，用甲醇补足减失的重量，摇匀，摇匀，用 0.45μm 滤膜滤过，取续滤液，即得。

阴性供试品溶液：根据处方量，取缺待测药材的其余 5 味药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法，分别制成缺白芍、缺甘草、缺枳壳的阴性供试品溶液。

2.3.1.3 气滞胃痛颗粒中白芍的测定

白芍为毛茛科植物白芍 *Paeonia lactiflora* Pall 的去皮干燥根。具平肝止痛、养血调经、敛阴止汗之功效。白芍包含芍药苷、白芍药苷、4-O-没食子酰白芍苷、没食子酰芍药苷等化学成分^[9]，测定药材或制剂中白芍主要成分含量已有多篇报道^[10-13]，本文采用 HPLC-DAD 测定法同时测定处方中 3 味药材的含量，较大地提高了分析效率，节省分析时间和分析成本。现参照《中国药典》2005 年版一部“白芍”含量测定项下，提取波长 230nm 处色谱图进行计算。

A. 白芍药苷的方法学研究

由于标准中已收载芍药苷的含量测定，故此处主要进行白芍药苷的方法学研究。

a. 专属性验证

取供试品溶液，对照品溶液和缺白芍的阴性供试品溶液分别测定。结果在阴性供试品色谱图中，未见与白芍药苷对照品保留时间相同的色谱峰。（见图 2-7～图 2-9）

说明此方法阴性无干扰，具有专属性。

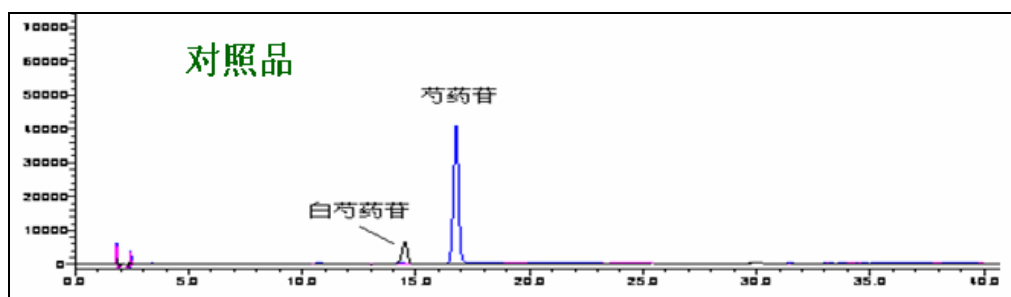


图 2-7 白芍药苷、芍药苷对照品色谱图

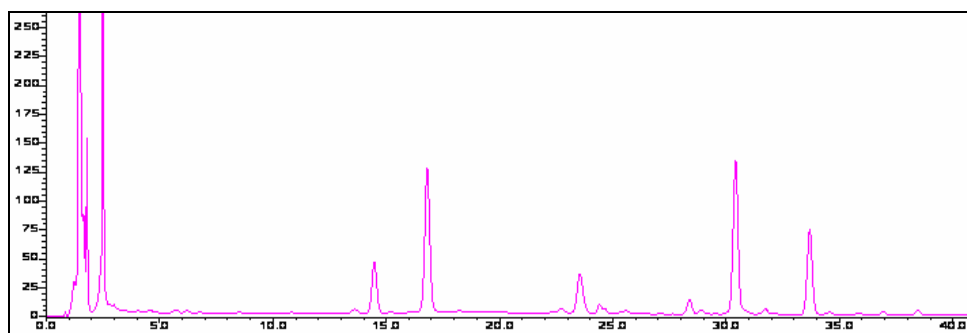


图 2-8 气滞胃痛颗粒供试品色谱图

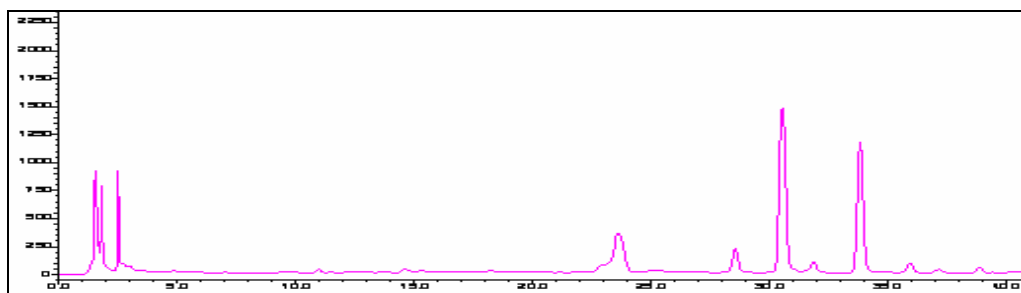


图 2-9 阴性样品（缺白芍）色谱图

b. 白芍药苷线性关系考察

取 2 个浓度的白芍药苷对照品溶液以不同进样量分别进样，在确定色谱条件下记录峰面积，以进样量和峰面积计算回归方程为 $Y=978433X-699.67$ ， $r=0.9999$ ，结果表明白芍药苷在进样量 $0.0614\sim 3.07\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系。

表 2-1 白芍药苷线性考察结果

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
1	0.0614	0.0614	60012
2	0.0614	0.1228	120001
10	0.0614	0.614	600123
10	0.1228	1.228	1200591
15	0.1228	1.842	1800069
20	0.1228	2.456	2400001
25	0.1228	3.07	3005897

得出线性回归方程：

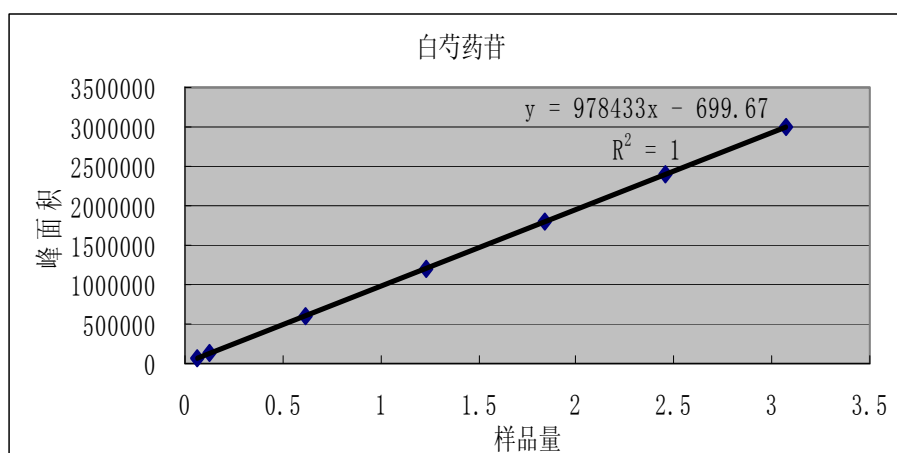


图 2-10 白芍药苷线性图

c. 精密度试验

精密吸取白芍药苷对照品溶液（0.1228mg/ml）10 μ l，注入液相色谱仪，重复进样 5 次，在确定色谱条件下记录峰面积，结果见表 2-2。

表 2-2 白芍药苷对照品精密度试验结果

进样次数	1	2	3	4	5	平均	RSD
峰面积	1184703	1203771	1210359	1200591	1200982	1200081.2	0.79%

d. 白芍药苷重现性验证:

精密称取样品 6 份, 按 3.1.1.2.3 项下处理, 在确定色谱条件下进行 HPLC 分析, 结果见表 2-3。实验结果表明所测得的白芍药苷含量的 RSD 均小于 2.0%。

表 2-3 白芍药苷重现性实验结果 (样品批号: 20091120)

取样量 (g)	峰面积	白芍药苷含量 (mg/g)	白芍药苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
2.0235	531285	1.34	6.72	6.75	0.34
2.0112	531023	1.35	6.76		
2.0035	530282	1.35	6.77		
2.0004	530096	1.36	6.78		
2.0169	531138	1.35	6.74		
2.0135	531112	1.35	6.75		

e. 白芍药苷准确度 (回收率试验) 验证:

回收率测定采用加样回收法。精密称取已知含量的样品 6 份, 加入一定量的各种对照品, 测定含量, 计算回收率, 平均回收率为 98.1%, RSD 为 0.63%, 结果见表 2-4。

表 2-4 回收率试验

取样量 (g)	样品中含白芍药苷量 (mg)	对照品加入量 (mg)	峰面积	测得总量 (mg)	测得总量 -样品	回收率 (%)
1.0023	1.3531	1.228	501065	2.5636	1.2105	98.57
1.0006	1.3508	1.228	500023	2.5583	1.2075	98.33
1.0069	1.3593	1.228	500001	2.5582	1.1988	97.63
1.0158	1.3713	1.228	501069	2.5636	1.1923	97.09
1.0067	1.3590	1.228	500998	2.5633	1.2042	98.06
1.0003	1.3504	1.228	500963	2.5631	1.2127	98.75

B. 样品中白芍药苷、芍药苷的含量测定

取 27 批样品 (有糖型 20 批, 无糖型 7 批) 进行测定, 结果见表 2-5。

表 2-5-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）白芍药苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	1.34	6.72	20091114	1.64	8.19
20091109	1.09	5.47	20091107	1.34	6.70
20091205	1.53	7.67	20091119	1.67	8.35
20100106	1.31	6.55	20090506	2.19	10.97
20100114	1.23	6.14	20080410	2.64	13.21
20091013	1.77	8.83	20091117	1.41	7.06
20091113	1.22	6.12	20100207	1.85	9.24
20100112	1.55	7.77	20090621	1.59	7.93
20091207	1.96	9.80	20100616	1.32	6.23
20100107	1.21	6.04	20100515	1.50	6.14

表 2-5-b 气滞胃痛颗粒（有糖型）白芍药苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091203	1.92	4.80
20090917	3.98	9.94
20091202	2.32	5.80
20091102	2.04	5.10
20090606	3.14	7.85
20091204	2.38	5.94
20090316	3.47	8.68

结果显示：有糖型样品的白芍药苷含量在 5.29~13.27 mg/袋之间。

无糖型样品的白芍药苷含量在 4.80~9.94 mg/袋之间。（见图 2-11）

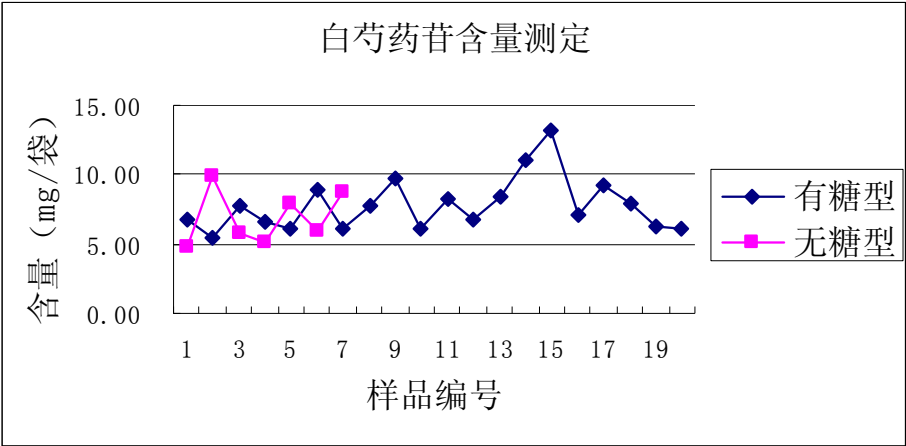


图 2-11 气滞胃痛颗粒中白芍药苷含量测定结果

C. 样品中芍药苷的含量测定

取 27 批样品（有糖型 20 批，无糖型 7 批）进行测定，结果见表 2-6。

表 2-6-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）芍药苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	4.49	22.44	20091114	3.23	16.15
20091109	3.39	16.96	20091107	3.47	17.33
20091205	4.48	22.40	20091119	3.95	19.73
20100106	3.28	16.40	20090506	4.24	21.21
20100114	3.84	19.20	20080410	4.91	24.56
20091013	4.37	21.86	20091117	3.85	19.27
20091113	3.36	16.79	20100207	4.81	24.04
20100112	3.52	17.62	20090621	4.27	21.34
20091207	4.24	21.22	20100616	3.41	17.03
20100107	3.38	16.91	20100515	3.73	18.64

表 2-6-b 气滞胃痛颗粒（无糖型）芍药苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091203	6.00	15.00
20090917	8.93	22.32
20091202	6.47	16.18
20091102	6.60	16.49
20090606	7.41	18.53
20091204	6.86	17.16
20090316	8.72	21.81

结果显示：有糖型样品的芍药苷含量在 16.15~24.56 mg/袋之间。
无糖型样品的芍药苷含量在 15.00~21.81 mg/袋之间。（见图 2-12）

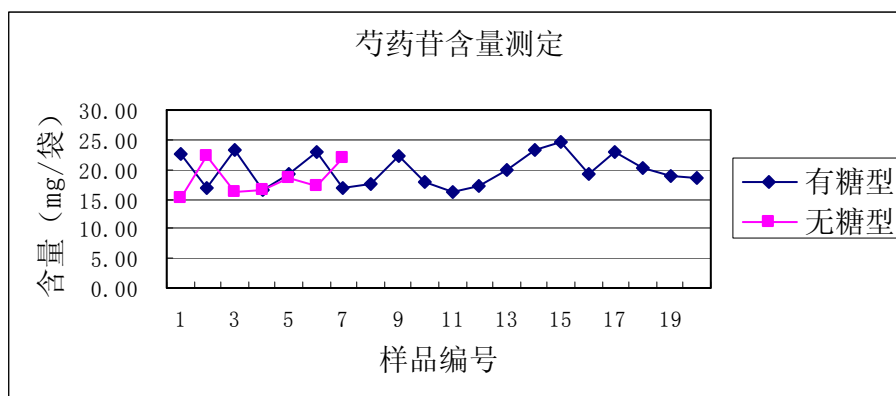


图 2-12 气滞胃痛颗粒中芍药苷含量测定结果（非法定标准方法）

2.3.1.4 气滞胃痛颗粒中甘草的测定

参照《中国药典》2005 年版一部“甘草”含量测定项下，提取波长 237nm 处色谱图进行计算。

A. 甘草苷的方法学研究

a. 专属性验证

取供试品溶液，对照品溶液和缺甘草的阴性供试品溶液分别测定。结果在阴性供试品色谱图中，未见与甘草苷对照品保留时间相同的色谱峰。（见图 2-13~图 2-15）

说明此方法阴性无干扰，具有专属性。

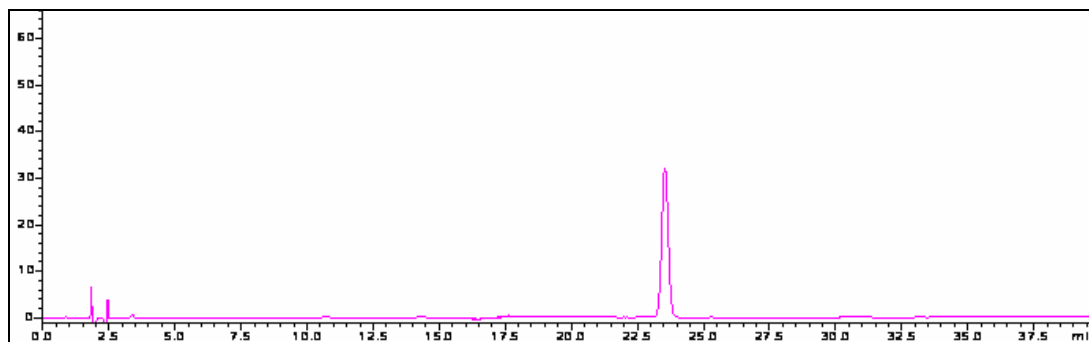


图 2-13 甘草苷对照品色谱图

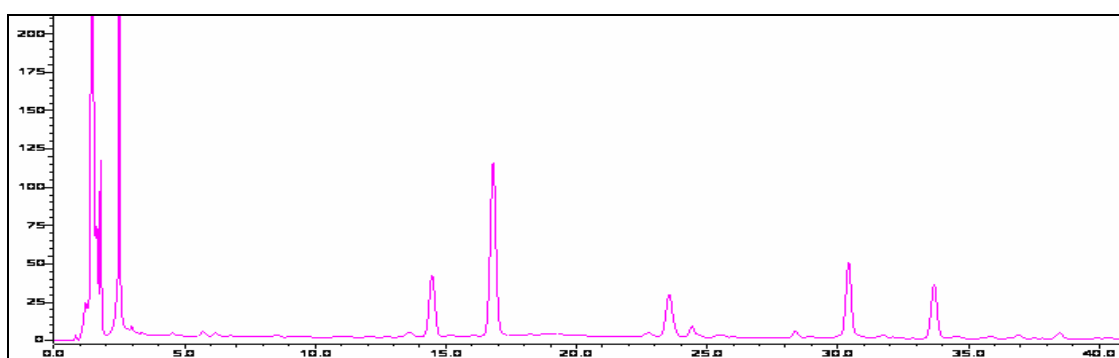


图 2-14 气滞胃痛颗粒供试品色谱图

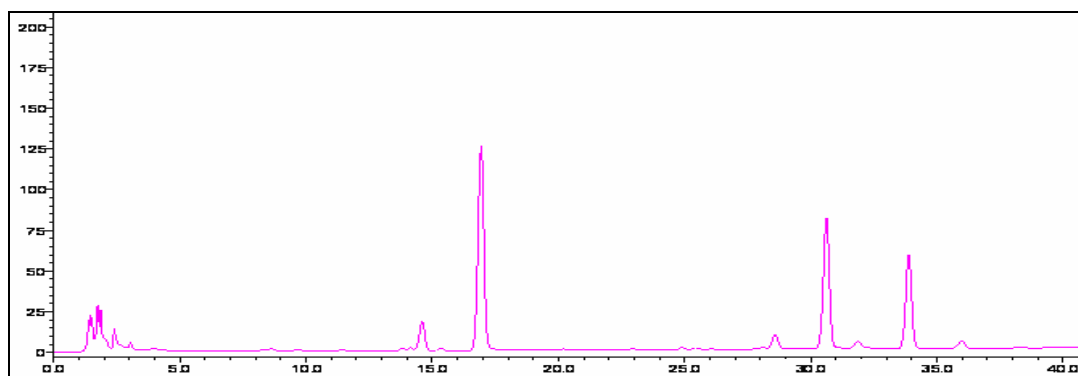


图 2-15 阴性样品（缺甘草）色谱图

b. 甘草苷线性关系考察

取 2 个浓度的甘草苷对照品溶液以不同进样量分别进样，在确定色谱条件下记录峰面积，以进样量和峰面积计算回归方程为 $Y=2115360X+14627$ ， $r=0.9999$ ，结果表明芍药苷在进样量 $0.0636\sim 3.18\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系。

表 2-7 甘草苷线性考察结果

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
1	0.0636	0.0636	108930
2	0.0636	0.1272	219279
10	0.0636	0.636	1117851
10	0.1272	1.272	2186620
15	0.1272	1.908	3288304
20	0.1272	2.544	4361801
25	0.1272	3.18	5441617

得出线性回归方程：

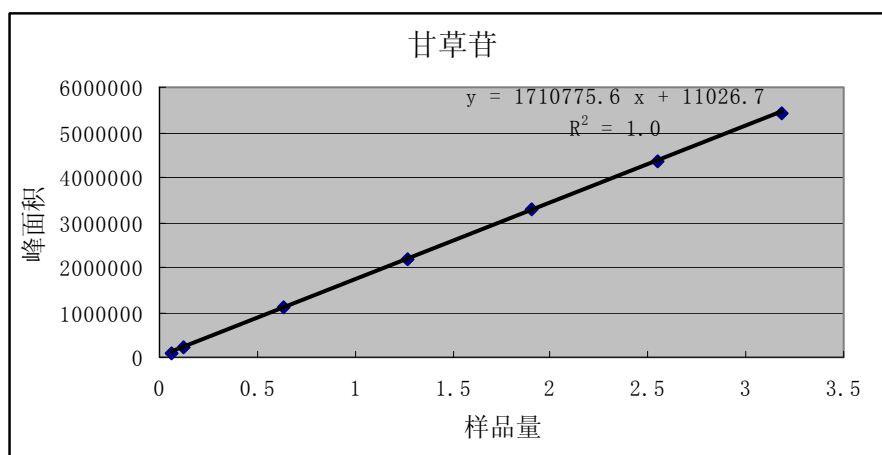


图 2-16 甘草苷线性

c. 甘草苷精密度试验

精密吸取甘草苷对照品溶液（0.0318mg/ml）10 μ l，注入液相色谱仪，重复进样 5 次，在确定色谱条件下记录峰面积，结果见表 2-8。

表 2-8 甘草苷对照品精密度试验结果

进样次数	1	2	3	4	5	平均	RSD
峰面积	551123	555226	561194	561329	560612	557896.8	0.82%

d. 甘草苷重现性验证:

精密称取样品 6 份, 按 3.1.1.2.3 项下处理, 在确定色谱条件下进行 HPLC 分析, 结果见表 2-9。实验结果表明所测得的甘草苷含量的 RSD 均小于 2.0%。

表 2-9 甘草苷重现性实验结果 (样品批号: 20091120)

取样量 (g)	峰面积	甘草苷含量 (mg/g)	甘草苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
2.0235	442124	0.62	3.11	3.12	0.31
2.0112	441056	0.63	3.13		
2.0035	440096	0.63	3.13		
2.0004	440002	0.63	3.13		
2.0169	440223	0.62	3.11		
2.0135	440385	0.62	3.12		

e. 甘草苷准确度 (回收率试验) 验证:

回收率测定采用加样回收法。精密称取已知含量的样品 6 份, 加入一定量的各种对照品, 测定含量, 计算回收率, 平均回收率为 98.9%, RSD 为 0.63%, 结果见表 2-10。

表 2-10 甘草苷回收率试验结果

取样量 (g)	样品中甘草苷量 (mg)	对照品加入量 (mg)	峰面积	测得总量 (mg)	测得总量- 样品	回收率 (%)
1.0023	0.6214	0.636	440892	1.2565	0.6351	99.86
1.0006	0.6204	0.636	436892	1.2451	0.6248	98.23
1.0069	0.6243	0.636	440019	1.2541	0.6298	99.02
1.0158	0.6298	0.636	439987	1.2540	0.6242	98.14
1.0067	0.6242	0.636	439768	1.2533	0.6292	98.93
1.0003	0.6202	0.636	437865	1.2479	0.6277	98.70

B 样品的甘草苷测定结果

取 27 批样品 (有糖型 20 批, 无糖型 7 批) 进行测定, 结果见表 2-11。

表 2-11-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）甘草苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	0.62	3.11	20091114	0.59	2.97
20091109	0.59	2.95	20091107	0.85	4.25
20091205	0.51	2.57	20091119	0.64	3.18
20100106	0.49	2.43	20090506	0.50	2.52
20100114	0.52	2.62	20080410	0.67	3.33
20091013	0.39	1.97	20091117	0.59	2.95
20091113	0.71	3.53	20100207	0.35	1.74
20100112	0.44	2.19	20090621	0.47	2.36
20091207	0.54	2.68	20100616	0.58	2.91
20100107	0.57	2.84	20100515	0.60	3.02

表 2-11-b 气滞胃痛颗粒（无糖型）甘草苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091203	0.70	1.76
20090917	1.03	2.57
20091202	0.69	2.59
20091102	1.24	3.10
20090606	0.78	1.94
20091204	0.87	2.18
20090316	1.04	1.72

结果显示：有糖型样品的甘草苷含量在 1.74~4.25 mg/袋之间。

无糖型样品的甘草苷含量在 1.72~3.10 mg/袋之间。（见图 11）

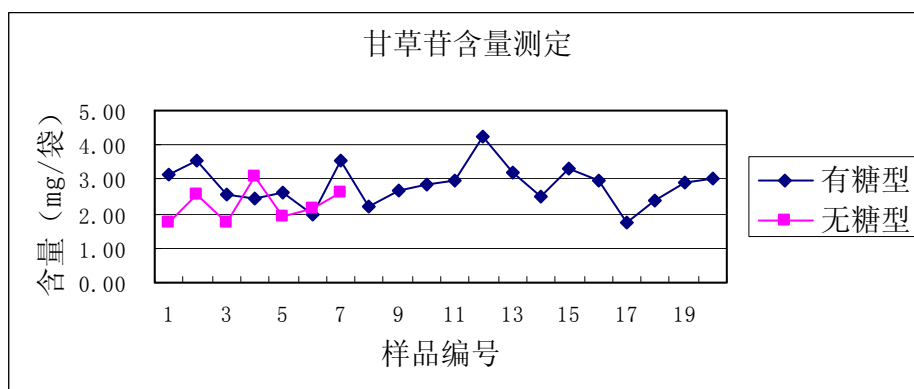


图 2-17 气滞胃痛颗粒中甘草苷含量测定结果

2.3.1.5 气滞胃痛颗粒中枳壳的测定

枳壳中黄酮类成分的含量丰富, 约占 20%, 主要为新橙皮苷(neohesperidin)、橙皮苷(hesperidin)和柚皮苷(naringin), 其中新橙皮苷经氢化处理后形成的新橙皮苷二氢查耳酮, 是一种无毒、低能量、高甜度的新一代甜味剂, 其甜度是蔗糖的 1000 倍。目前, 新橙皮苷在欧美一些国家已开始应用, 具有很大的市场前景^[14-15]。测定药材或制剂中白芍主要的成分含量已有多篇报道^[16-18], 本文采用 HPLC-DAD 测定法同时测定处方中 3 味药材的含量, 方法简单、快捷、准确。

现参照《中国药典》2005 年版一部“枳壳”含量测定项下, 提取波长 283nm 处色谱图, 计算柚皮苷和新橙皮苷的含量。

A. 柚皮苷和新橙皮苷的方法学研究

a. 专属性验证

取供试品溶液, 对照品溶液和缺枳壳的阴性供试品溶液分别测定。结果在阴性供试品色谱图中, 未见与柚皮苷和新橙皮苷对照品保留时间相同的色谱峰。(见图 2-18~图 2-20) 说明此方法阴性无干扰, 具有专属性。



图 2-18 柚皮苷、新橙皮苷对照品色谱图

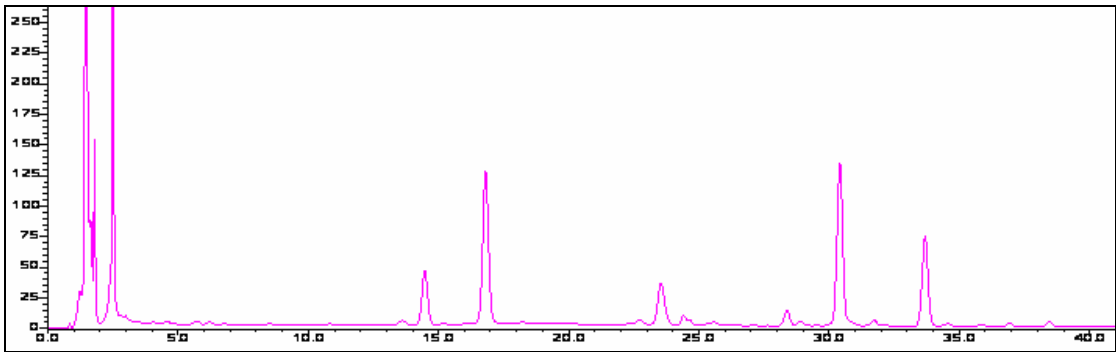


图 2-19 气滞胃痛颗粒供试品色谱图

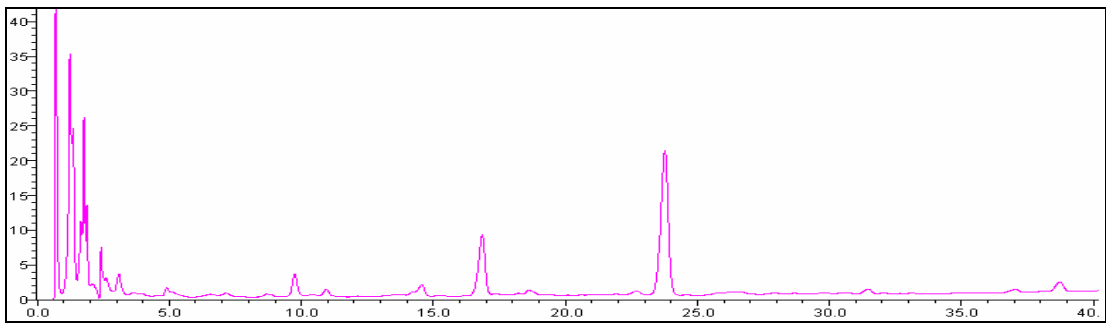


图 2-20 阴性样品（缺枳壳）色谱图

b. 柚皮苷、新橙皮苷线性关系考察

取 2 个浓度的柚皮苷和新橙皮苷对照品溶液以不同进样量分别进样，在确定色谱条件下记录峰面积，以进样量和峰面积计算回归方程柚皮苷为 $Y=1556225X+65887$ ， $r=1.000$.结果表明柚皮苷在进样量 $0.1968\sim9.84\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系（见表 2-12）。以进样量和峰面积计算回归方程新橙皮苷为 $Y=1497901X-46540$ ， $r=0.9999$.结果表明新橙皮苷在进样量 $0.1637\sim8.184\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系（见表 2-13）。

表 2-12 柚皮苷线性考察结果

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
1	0.1968	0.1968	312327
2	0.1968	0.3936	628452
10	0.1968	1.968	3189027
10	0.3936	3.936	6221243
15	0.3936	5.904	9329974

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
20	0.3936	7.872	12365077
25	0.3936	9.84	15273670

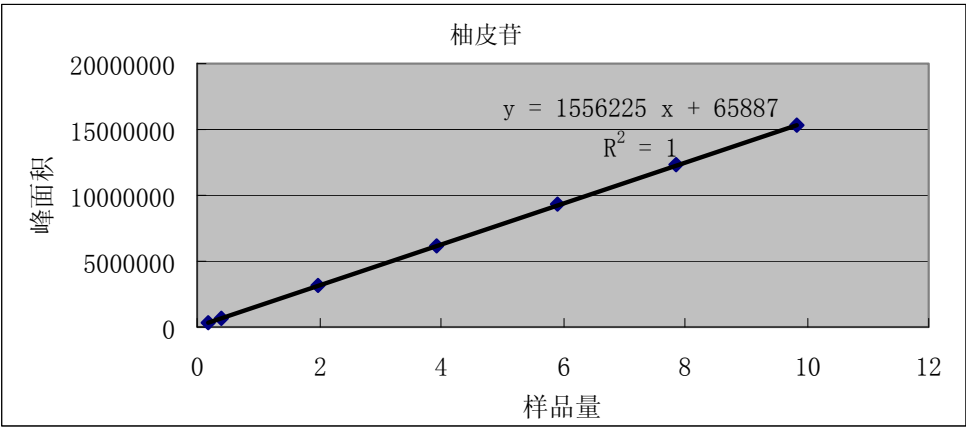


图 2-21 柚皮苷线性图

表 2-13 新橙皮苷线性考察

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
1	0.1637	0.1637	229320
2	0.1637	0.3274	462152
5	0.1637	0.8185	1187923
5	0.4092	2.046	2954766
10	0.4092	4.092	6044743
15	0.4092	6.138	9111606
20	0.4092	8.184	12204624

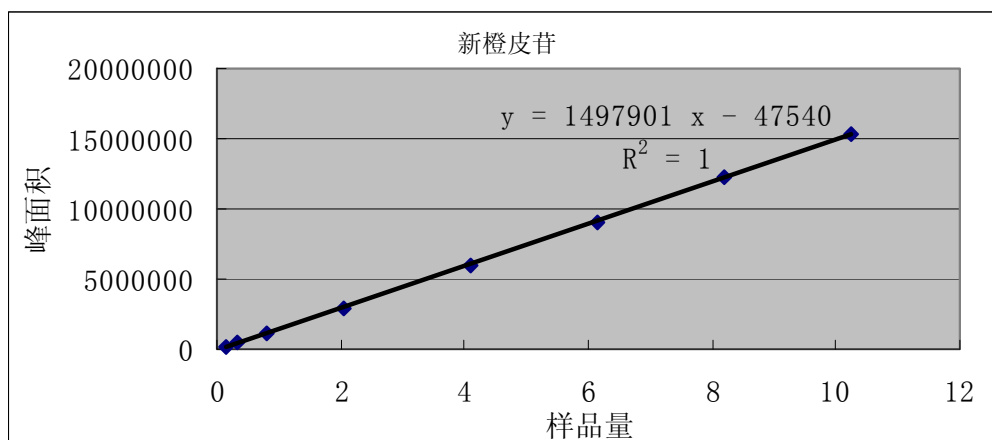


图 2-22 新橙皮苷线性图

c. 柚皮苷、新橙皮苷精密度试验

精密吸取柚皮苷对照品溶液(0.0984mg/ml)、新橙皮苷对照品溶液(0.0819mg/ml) 10 μ l, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 在确定色谱条件下记录峰面积, 结果见表 2-14。

表 2-14 柚皮苷、新橙皮苷对照品精密度试验结果

进样次数	1	2	3	4	5	平均	RSD
柚皮苷峰面积	1549205	1554654	1578331	1576785	1575660	1566927	0.88%
新橙皮苷峰面积	1187910	1187408	1189635	1184877	1184080	1186782	0.19%

d. 柚皮苷、新橙皮苷重现性验证:

精密称取样品 6 份, 按 3.1.1.2.3 项下处理, 在确定色谱条件下进行 HPLC 分析, 结果见表 2-15, 2-16。实验结果表明所测得的柚皮苷和新橙皮苷含量的 RSD 均小于 2.0%。

表 2-15 柚皮苷含量测定重现性实验结果(样品批号: 20091120)

取样量 (g)	峰面积 平均值	柚皮苷含量 (mg/g)	柚皮苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
2.0235	1417674	2.20	11.00	11.22	1.17
2.0112	1435121	2.24	11.20		
2.0035	1445767	2.27	11.33		

取样量 (g)	峰面积 平均值	柚皮苷含量 (mg/g)	柚皮苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
2.0004	1441676	2.26	11.31		
2.0169	1456378	2.27	11.34		
2.0135	1431542	2.23	11.16		

表 2-16 新橙皮苷重现性实验结果（样品批号：20091120）

取样量 (g)	峰面积 平均值	新橙皮苷含量 (mg/g)	新橙皮苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
2.0235	808197	1.38	6.89		
2.0062	813486	1.40	6.98		
2.0035	818704	1.41	7.05	6.95	1.01
2.0004	806972	1.39	6.96		
2.0169	800984	1.37	6.85		
2.0115	814387	1.40	6.98		

e. 柚皮苷、新橙皮苷准确度（回收率试验）验证：

回收率测定采用加样回收法。精密称取已知含量的样品 6 份，加入一定量的各种对照品，测定含量，计算回收率，柚皮苷平均回收率为 99.0%，RSD 为 0.38%，结果见表 2-17。新橙皮苷平均回收率为 98.31%，RSD 为 1.14%，结果见表 2-18。

表 2-17 柚皮苷含量测定回收率实验结果

取样量 (g)	样品中含柚皮苷量 (mg)	对照品加入量 (mg)	峰面积	测得总量 (mg)	测得总量- 样品	回收率 (%)
1.0765	2.4114	1.968	1389070	4.3615	1.9501	99.09
1.0549	2.3630	1.968	1370107	4.3020	1.9390	98.53
1.0341	2.3164	1.968	1361021	4.2735	1.9571	99.45
1.1007	2.4656	1.968	1404279	4.4093	1.9437	98.77
1.0956	2.4541	1.968	1400978	4.3989	1.9448	98.82
1.0313	2.3101	1.968	1359084	4.2674	1.9573	99.46

表 2-18 新橙皮苷含量测定回收率实验结果

取样量 (g)	样品中含新橙皮苷量 (mg)	对照品加入量 (mg)	峰面积	测得总量 (mg)	测得总量- 样品	回收率 (%)
1.0698	1.4870	1.2276	778705	2.6869	1.1999	97.47
1.0467	1.4549	1.2276	776132	2.6780	1.2231	99.64
1.0299	1.4316	1.2276	767951	2.6466	1.2183	99.24
1.0997	1.5286	1.2276	792863	2.7358	1.2072	98.34
1.0897	1.5147	1.2276	790865	2.7289	1.2142	98.91
1.0401	1.4457	1.2276	762534	2.6311	1.1854	96.56

B. 样品的柚皮苷、新橙皮苷测定结果

取 27 批样品（有糖型 20 批，无糖型 7 批）进行测定，结果见表 2-19，2-20。

表 2-19-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）柚皮苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	2.20	11.00	20091114	2.32	11.60
20091109	2.99	14.96	20091107	2.64	13.21
20091205	2.91	14.53	20091119	2.01	10.05
20100106	2.57	12.87	20090506	2.78	13.89
20100114	1.83	9.13	20080410	2.32	11.62
20091013	2.56	12.79	20091117	2.50	12.51
20091113	2.71	13.55	20100207	1.75	8.75
20100112	2.71	13.53	20090621	1.81	9.04
20091207	3.36	16.78	20100616	2.13	10.63
20100107	2.31	10.57	20100515	2.28	11.41

表 2-19-b 气滞胃痛颗粒（无糖型）柚皮苷含量测定结果

批号	含量（mg/g）	含量（mg/袋）
20091203	4.49	11.22
20090917	3.63	9.06
20091202	5.41	13.54
20091102	3.75	9.37
20090606	4.77	11.94
20091204	4.88	12.20
20090316	2.27	5.68

结果显示：有糖型样品的柚皮苷含量在 8.75~16.78 mg/袋之间。
无糖型样品的柚皮苷含量在 5.68~13.54 mg/袋之间。

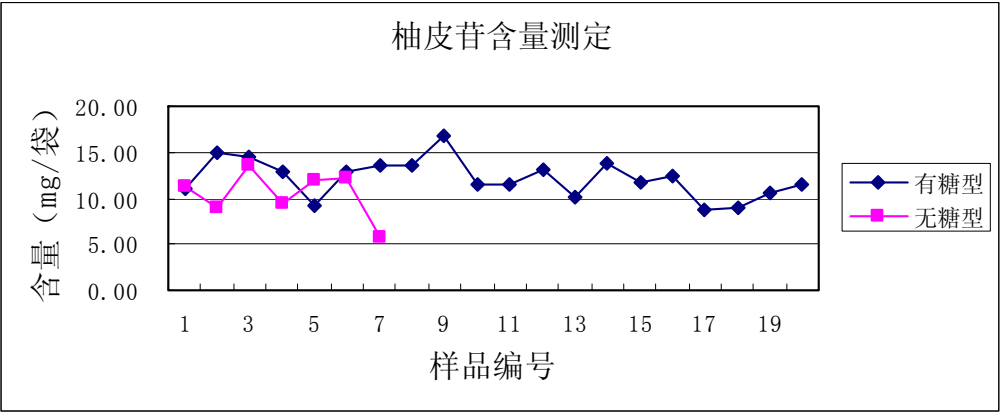


图 2-23 柚皮苷含量测定结果

表 2-20-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）新橙皮苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	1.38	6.89	20091114	1.56	7.81
20091109	2.04	10.20	20091107	1.60	7.98
20091205	1.80	9.02	20091119	1.38	6.90
20100106	1.75	8.73	20090506	1.73	8.63
20100114	1.24	6.21	20080410	1.43	7.17
20091013	1.59	7.97	20091117	1.75	8.75
20091113	1.85	9.25	20100207	1.25	6.27
20100112	1.89	9.47	20090621	1.17	5.84
20091207	2.10	10.48	20100616	1.35	6.74
20100107	1.52	7.62	20100515	1.37	6.85

表 2-20-b 气滞胃痛颗粒（无糖型）新橙皮苷含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091203	2.82	7.05
20090917	2.26	5.64
20091202	3.37	8.43
20091102	2.40	5.99
20090606	3.01	7.53
20091204	3.06	7.64
20090316	1.59	3.98

结果显示：有糖型样品的新橙皮苷含量在 5.84~10.48 mg/袋之间。

无糖型样品的新橙皮苷含量在 3.98~8.43 mg/袋之间。

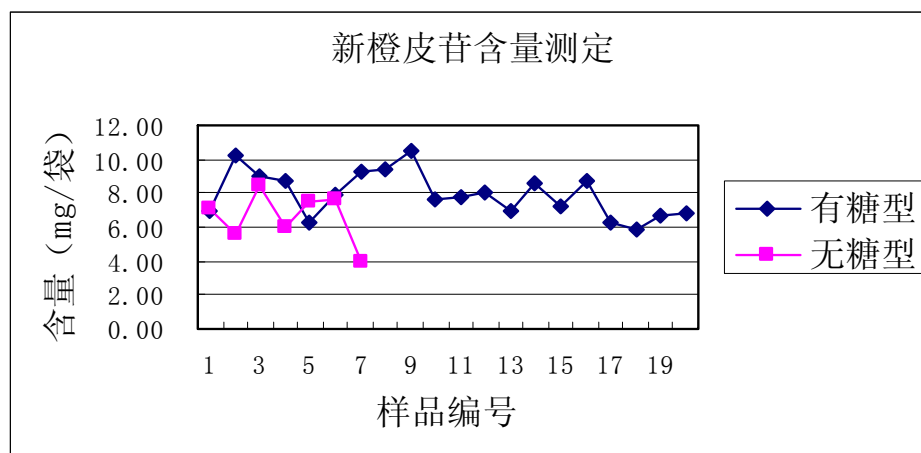


图 2-24 气滞胃痛颗粒中新橙皮苷含量测定结果

2.3.2 HPLC 法同时测定气滞胃痛颗粒中延胡索的含量

2.3.2.1 引言

延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。具有活血散瘀、理气止痛之功效。药效物质为延胡索的生物碱类成分^[19]。延胡索使用前多经醋制，炮制后延胡索乙素的含量明显高于炮制前，更有利于发挥引药入肝，疏肝止痛的作用^[20]。文献中多采用 HPLC 法测定延胡索乙素的含量^[21-24]。鉴于气滞胃痛颗粒中延胡索的重要作用，现在也利用 HPLC 法测定延胡索乙素的含量。

2.3.2.2 实验材料与方法

A. 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。用于方法学研究的为批号：20091109；规格：5g/袋。

药材：制备阴性样品所用药材均由辽宁本溪三药有限公司提供。

B. 对照品和试剂

对照品：延胡索乙素对照品（批号：110726-200610），购自中国药品生物制品检定所。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

C. 仪器与色谱条件

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱仪（自动进样器、紫外检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m); Inertsil ODS-SP (4.6 x 150 mm;

5 μ m)。

流动相：乙腈—0.1%磷酸溶液（用三乙胺调 PH 值至 6）（41:59）

检测波长：280nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 10 μ L

D. 对照品溶液的配制

取延胡索乙素对照品加甲醇制成每 1ml 含 0.1002mg、0.0501mg 的对照品溶液。

E. 供试品溶液的配制

取有糖型 10g 或无糖型 5g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 50ml，称定重量，超声处理 30 分钟，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 25ml，置水浴上蒸干，残渣加甲醇适量使溶解，转移至 5ml 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

阴性供试品溶液：根据处方量，取缺延胡索药材的其余 5 味药材，模拟制剂工艺，再同供试品溶液制备法，制成阴性供试品溶液。

2.3.2.3 延胡索乙素的方法学研究

A. 专属性验证

取供试品溶液，对照品溶液和缺延胡索的阴性供试品溶液分别测定。结果在阴性供试品色谱图中，未见与延胡索乙素对照品保留时间相同的色谱峰。（见图 2-25～图 2-27）说明此方法阴性无干扰，具有专属性。

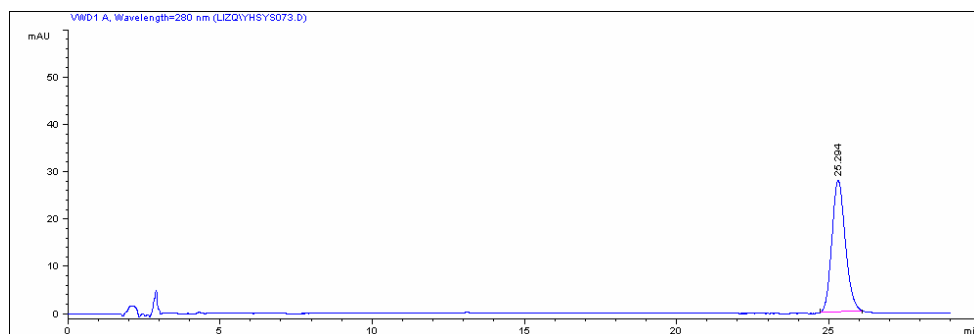


图 2-25 延胡索乙素对照品色谱图

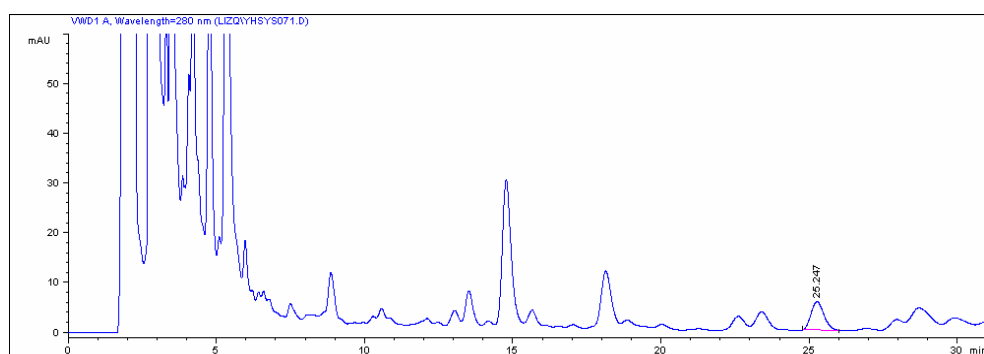


图 2-26 气滞胃痛颗粒供试品色谱图

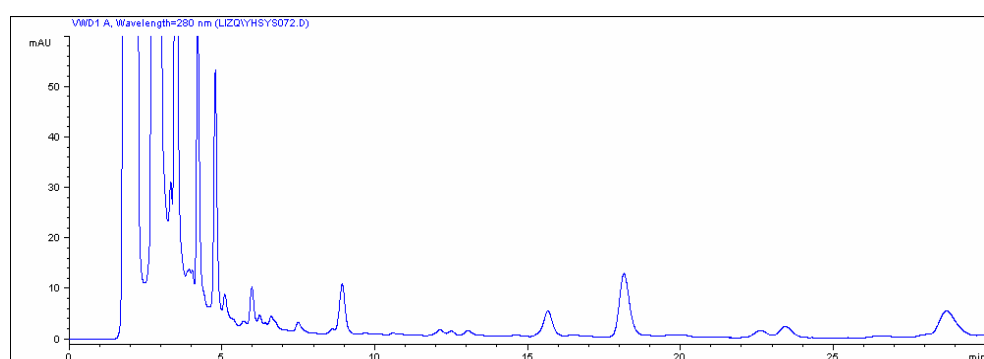


图 2-28 阴性供试品（缺延胡索）色谱图

B. 线性关系考察

取延胡索乙素对照品溶液以不同进样量分别进样,在确定色谱条件下记录峰面积,以进样量和峰面积计算回归方程延胡索乙素为 $Y=868.87X-11.475$, $r=0.9999$,结果表明延胡索乙素在 $0.0501\sim 1.002\mu\text{g}$ 范围内呈良好的线性关系(见表 2-21)。

表 2-21 延胡索乙素线性考察结果

进样量(ul)	浓度(mg/ml)	进样量(ug)	峰面积
0.5	0.1002	0.0501	35.91
1	0.1002	0.1002	76.95
2	0.1002	0.2004	161.96
3	0.1002	0.3006	247.22
5	0.1002	0.501	417.02
7	0.1002	0.7014	600.65
10	0.1002	1.002	861.21

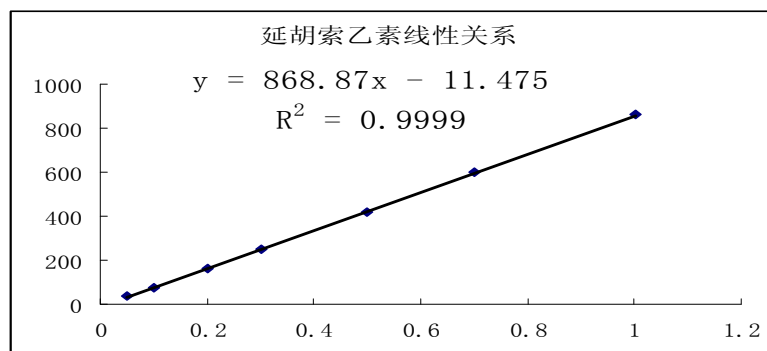


图 2-29 延胡索乙素线性关系图

C. 精密度试验

精密吸取延胡索乙素对照品溶液 (0.0501mg/ml) 5 μ l, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 在确定色谱条件下记录峰面积, 结果见表 2-22, 平均峰面积为 205.61, RSD=0.88%。

表 2-22 延胡索乙素对照品精密度试验结果

进样次数	1	2	3	4	5	平均	RSD
峰面积	206.13	207.03	203.06	204.46	207.38	205.61	0.88%

D. 延胡索乙素重现性验证

精密称取样品 6 份, 按 3.2.2.3 项下处理, 在确定色谱条件下进行 HPLC 分析, 结果见表 2-23。实验结果表明所测得的延胡索乙素含量的 RSD 均小于 2.0%。

表 2-23 延胡索乙素含量测定重现性实验结果 (样品批号: 20091109)

取样量 (g)	峰面积 平均值	延胡索乙素含 量 (mg/g)	延胡索乙素含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)	RSD (%)
10.4591	214.53	0.0500	0.250	0.25	1.05
10.4672	219.01	0.0510	0.255		
10.3969	216.43	0.0507	0.253		
10.4722	218.19	0.0508	0.254		
10.2586	210.41	0.0500	0.250		
10.3588	217.93	0.0513	0.256		

E. 延胡索乙素准确度（回收率试验）验证：

回收率测定采用加样回收法。精密称取已知含量的样品 6 份，加入一定量的各种对照品，测定含量，计算回收率，延胡索乙素平均回收率为 99.0%，RSD 为 0.38%，结果见表 2-24。新橙皮苷平均回收率为 99.94%，RSD 为 1.60%，结果见表 2-25。

表 2-24 延胡索乙素含量测定回收率实验结果

取样量 (g)	样品中含延胡索乙素量 (mg)	对照品加入量 (mg)	峰面积	测得总量 (mg)	测得总量- 样品	回收率 (%)
4.7662	0.2412	0.2004	180.71	0.4403	0.1991	99.38
4.7979	0.2428	0.2004	180.73	0.4404	0.1976	98.6
4.7706	0.2414	0.2004	179.55	0.4375	0.1961	97.86
4.7936	0.2426	0.2004	182.19	0.4439	0.2013	100.49
4.7879	0.2423	0.2004	182.88	0.4456	0.2033	101.47
4.8367	0.2447	0.2004	184.22	0.4489	0.2042	101.87

2.3.2.4 样品的延胡索乙素的测定结果

取 27 批样品（有糖型 20 批，无糖型 7 批）进行测定，结果见表 2-25。

表 2-22-a 气滞胃痛颗粒（有糖型）延胡索乙素含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)	批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091120	0.03	0.16	20091114	0.05	0.26
20091109	0.05	0.25	20091107	0.05	0.25
20091205	0.05	0.25	20091119	0.05	0.26
20100106	0.05	0.26	20090506	0.02	0.12
20100114	0.05	0.26	20080410	0.02	0.12
20091013	0.05	0.24	20091117	0.05	0.23
20091113	0.05	0.26	20100207	0.04	0.18
20100112	0.05	0.24	20090621	0.02	0.12
20091207	0.05	0.23	20100616	0.02	0.12
20100107	0.05	0.24	20100515	0.03	0.13

表 2-22-b 气滞胃痛颗粒（无糖型）延胡索乙素含量测定结果

批号	含量 (mg/g)	含量 (mg/袋)
20091203	0.09	0.22
20090917	0.09	0.23
20091202	0.09	0.23
20091102	0.09	0.22
20090606	0.05	0.12
20091204	0.07	0.18
20090316	0.05	0.13

结果显示：有糖型样品的延胡索乙素含量在 0.12~0.26 mg/袋之间。

无糖型样品的延胡索乙素含量在 0.12~0.23mg/袋之间。

2.3.3 气滞胃痛颗粒稳定性研究

2.3.3.1 研究方法：

取有糖型和无糖型各 2 批样品进行加速试验。试验条件：温度：40℃±2℃，湿度 70%±5%，放置 0、1、2、3 个月后进行测定，测定 5 个指标含量：柚皮苷、新橙皮苷、芍药苷、白芍药苷、甘草苷。

进样量：对照品溶液各 10μL；供试品溶液 10μL。

2.3.3.2 测定结果

结果：0、1、2、3 月的测定结果比较，没有显著性差异（见图 2-30~图 2-34），说明制剂的稳定性较好。（详细测定结果见表 2-23）

气滞胃痛颗粒：有糖型批号：20090506（图中 651），20091109（图中 802）

无糖型批号：20090917（图中 342），20090606（图中 700）

表 2-23 气滞胃痛颗粒稳定性试验结果

剂型及批号	时间 (月)	白芍药苷 230nm (mg/袋)	芍药苷 230nm (mg/袋)	甘草苷 237nm (mg/袋)	柚皮苷 283nm (mg/袋)	新橙皮苷 283nm (mg/袋)
有糖型 (批号：20090506)	0	10.97	23.53	2.52	13.89	8.63
	1	10.38	21.85	2.27	13.19	8.10
	2	10.44	21.68	2.31	12.69	7.12
	3	10.53	21.82	2.32	12.67	7.33
有糖型 (批号：20091109)	0	5.03	17.14	3.65	13.71	9.15
	1	5.32	17.37	3.74	14.48	9.36
	2	5.63	16.71	3.75	13.84	7.59
	3	5.59	16.73	3.75	13.81	8.00
无糖型 (批号：20090917)	0	9.94	22.63	2.57	9.06	5.63
	1	10.06	22.3	2.55	9.07	5.72
	2	10.99	21.98	2.53	8.79	4.75
	3	10.73	21.64	2.51	8.63	5.14
无糖型 (批号：20090606)	0	7.85	18.78	1.94	11.94	7.53
	1	6.63	18.28	1.88	11.57	7.40
	2	7.19	18.26	1.99	11.45	7.02
	3	7.45	18.77	2.02	11.61	7.04

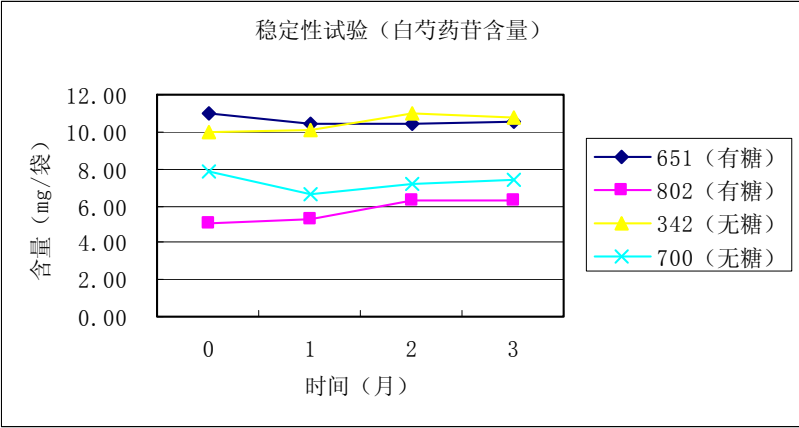


图 2-30 气滞胃痛颗粒稳定性试验-白芍药苷含量

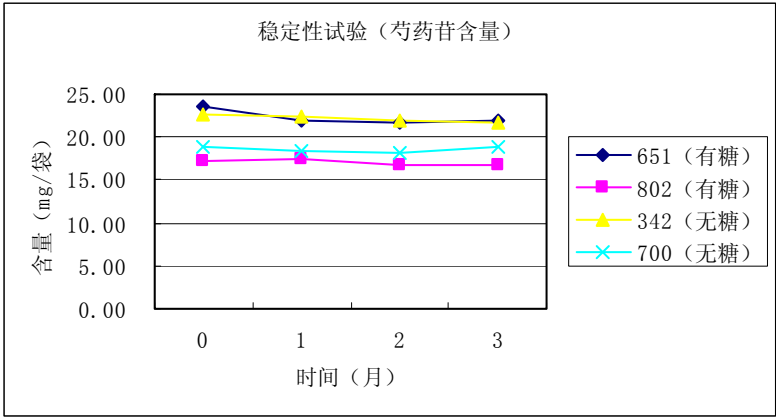


图 2-31 气滞胃痛颗粒稳定性试验-芍药苷含量

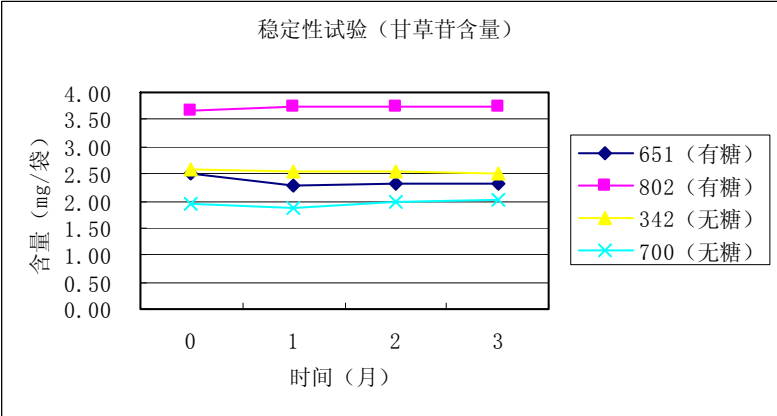


图 2-32 气滞胃痛颗粒稳定性试验-甘草苷含量

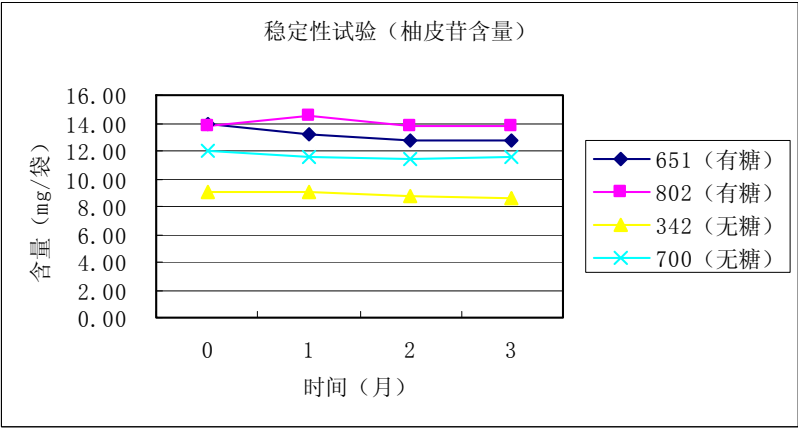


图 2-33 气滞胃痛颗粒稳定性试验-柚皮苷含量

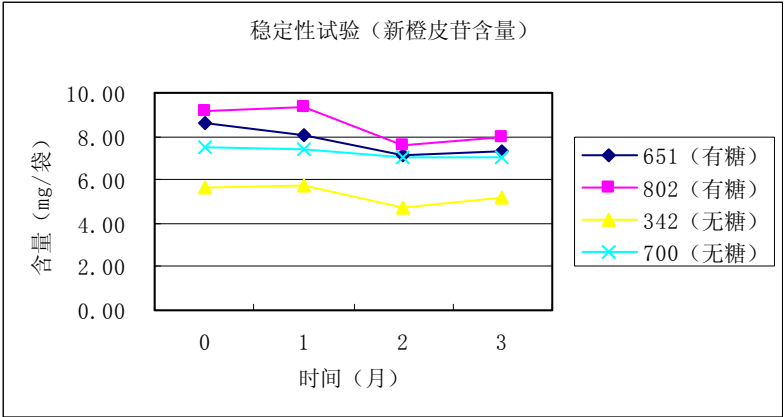


图 2-34 气滞胃痛颗粒稳定性试验-新橙皮苷含量

2.3.3.3 小结

气滞胃痛颗粒的稳定性较好。

第三章 气滞胃痛颗粒非法添加成分及有害物质检测

3.1 引言

目前中药制剂中非法添加功能性化学成分的现象较为严重，给人民群众的用药安全带来一定隐患。气滞胃痛颗粒具有舒肝理气，和胃止痛的功效，用于治疗消化系统疾病，对其是否添加解痉止痛类等化学成分进行检测，以考察该制剂的安全性，为客观评价其质量提供依据。

检测中选取了用于胃肠道、胆绞痛的抗胆碱药硫酸阿托品；具广谱抗菌作用的氟喹诺酮类抗菌药诺氟沙星；消炎镇痛药中较常用的双氯芬酸钠和布洛芬作为对照，检测气滞胃痛颗粒中是否添加了以上成分以增强疗效。

在抗胃溃疡药中多含氢氧化铝、三硅酸镁，通过检测其中铝离子、镁离子的含量，以考察该制剂的安全性。

中药材染色问题近年来时有发生，金胺 O 为一种黄色工业染料，近年来有用此染料对中药材如延胡索、蒲黄等进行染色的情况，由于该染料属高毒物质，对肝肾损伤较大，故对含延胡索的制剂——气滞胃痛颗粒进行金胺 O 检测对保证制剂的安全性显得很有必要。

中药中重金属及有害元素残留问题也越来越为人们所关注。通过对气滞胃痛颗粒中铅、镉、砷、汞、铜的进行检测，进一步保证制剂的安全使用。

3.2 硫酸阿托品的 HPLC 法检测

颠茄片、颠茄流浸膏，苍术都出现过非法添加阿托品以增强治疗胃脘痛、泄泻的功效^[25-27]。考虑到气滞胃痛颗粒具有舒肝理气，和胃止痛的作用，现考察其是否非法添加硫酸阿托品。

3.2.1 实验材料与方法

3.2.1.1 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

3.2.1.2 对照品和试剂

对照品：硫酸阿托品对照品（批号：100040—200510，供含量测定用），购自中国

药品生物制品检定所。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

3.2.1.3 仪器与色谱条件

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱仪（紫外检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)

流动相：乙腈—0.025mol/L 磷酸二氢钾（含 0.2%三乙胺，并用磷酸调 PH 值至 3.0）
(15:85)

检测波长：225nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 5 μ L

3.2.1.4 对照品溶液的配制

取硫酸阿托品对照品适量，加甲醇制成每 1ml 含 0.02mg 的溶液，即得。

3.2.1.5 供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加甲醇 20ml，超声处理 20 分钟，放冷，取上清用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

3.2.1.6 阳性供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加硫酸阿托品对照品适量(约 0.4mg,1 次口服量 0.3-0.6mg)，加甲醇 20ml，超声处理 20 分钟，放冷，取上清液用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液作为阳性供试品溶液。

3.2.2 结果

阳性供试品色谱图中，出现与硫酸阿托品对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-2）。供试品色谱图中，则未出现与硫酸阿托品对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-3）。检测 27 批样品，均未出现与硫酸阿托品对照品保留时间相同的色谱峰。

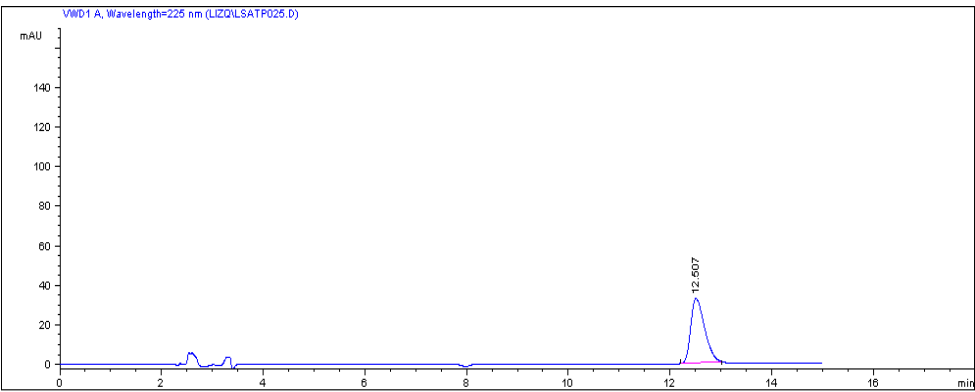


图 3-1 硫酸阿托品对照品

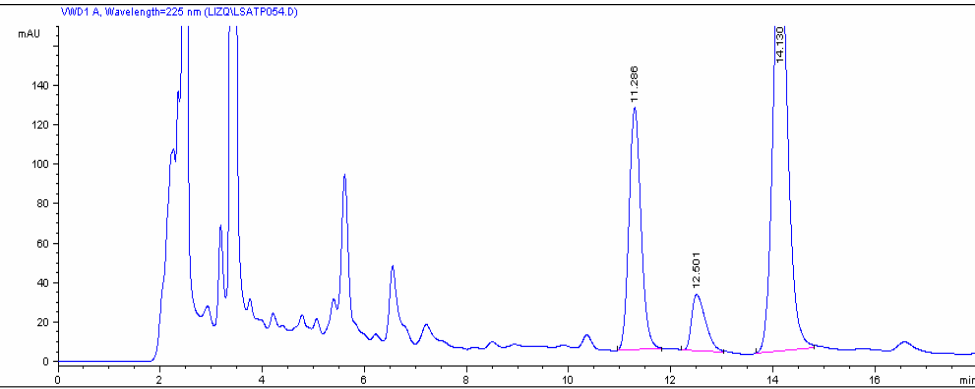


图 3-2 阳性供试品（气滞胃痛颗粒加硫酸阿托品对照品）

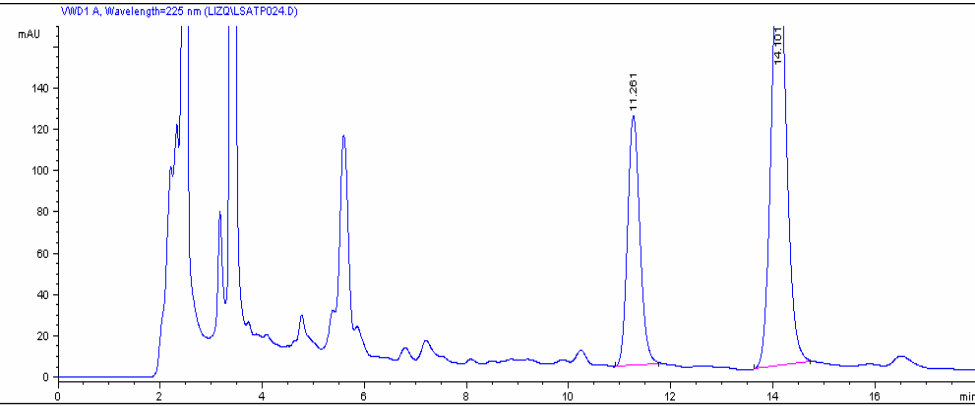


图 3-3 气滞胃痛颗粒样品

3.2.3 结论

气滞胃痛颗粒中未添加硫酸阿托品。

3.3 布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC 法检测及 LC-MS 验证

在众多非甾体类抗炎药中，布洛芬（Ibuprofen）以其抗炎、解热和镇痛效果确切、

不良反应小等优点被广泛应用，成为全球最畅销的非处方药物之一，并在 20 世纪 80 年代被列入我国《国家基本药物目录》。布洛芬镇痛作用比阿司匹林强 16~32 倍^[28]。有报道显示布洛芬与胃肠道用药组合，可用于治疗胃肠道阵发性疼痛。右旋布洛芬与抗酸剂如氢氧化铝和氢氧化镁组成的复方制剂，在镇痛消炎的同时，兼顾治疗多种胃不适症状^[29]。双氯芬酸钠也具有镇痛抗炎的功效。文献中多采用液质联用同时测定中成药中添加双氯酚酸钠及布洛芬的含量^[30-31]。故试验中对气滞胃痛颗粒中是否非法添加布洛芬和双氯芬酸钠进行了检测。

3.3.1 布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC 法检测

3.3.1.1 实验材料与方法

A. 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

B. 对照品和试剂

对照品：布洛芬对照品（批号：100179—200510，供含量测定用），双氯芬酸钠对照品（批号：100334—200302，供含量测定用）均购自中国药品生物制品检定所。

试剂：甲醇、乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

C. 仪器与色谱条件

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱仪（紫外检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)

流动相：甲醇—0.12%冰醋酸溶液（69:31）

检测波长：263nm

柱温：25℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 5 μ L

D. 对照品溶液的配制

取布洛芬与双氯芬酸钠对照品适量，加甲醇制成每 1ml 含布洛芬 0.2mg、含双氯芬酸钠 0.1 mg 的混合溶液，即得。

E. 供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加甲醇 20ml，超声处理 20 分钟，放冷，取上清用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

F. 阳性供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加入对照品适量（布洛芬约 4mg，双氯芬酸钠约 2mg），加甲醇 20ml，超声处理 20 分钟，放冷，取上清用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液作为阳性供试品溶液。

3.3.1.2 结果

阳性供试品色谱图中，出现与布洛芬、双氯芬酸钠对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-6）。供试品色谱图中，则未出现与布洛芬、双氯芬酸钠对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-7）。检测 27 批样品，均未出现与布洛芬、双氯芬酸钠对照品保留时间相同的色谱峰。

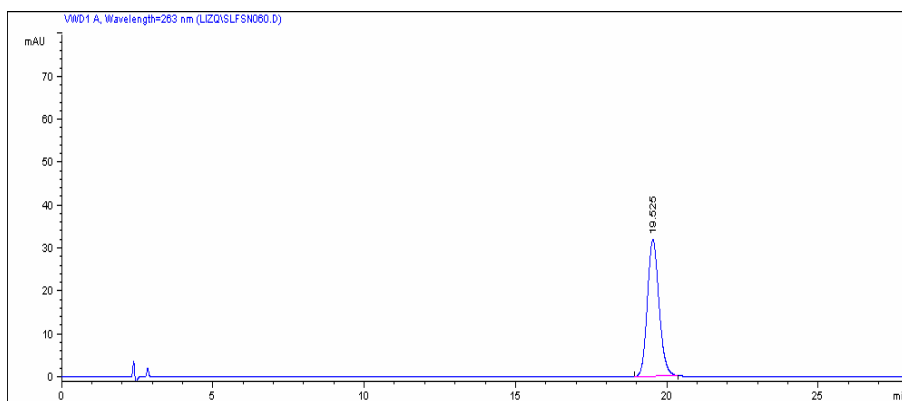


图 3-4 双氯芬酸钠对照品

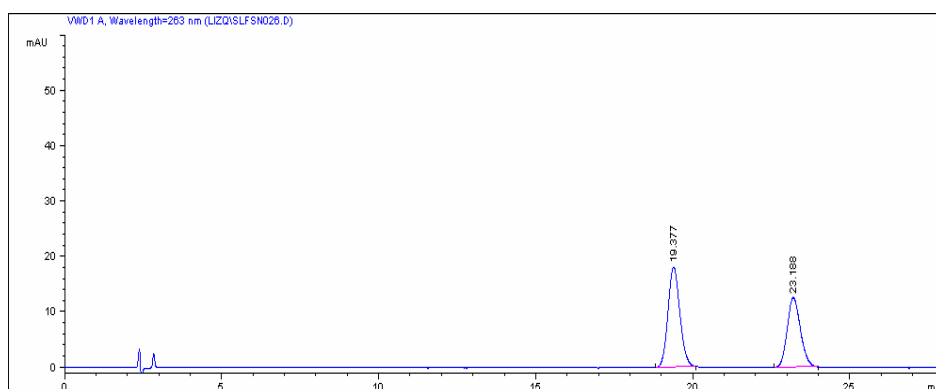


图 3-5 双氯芬酸钠与布洛芬对照品

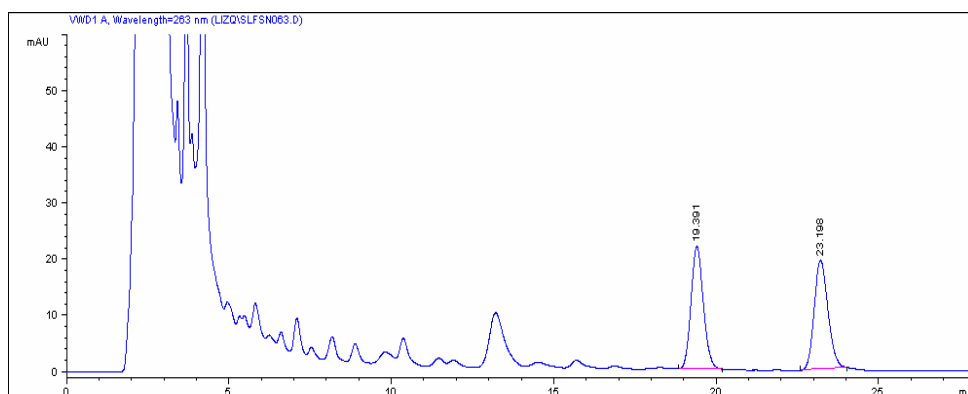


图 3-6 阳性供试品（气滞胃痛颗粒加布洛芬及双氯芬酸钠对照品）

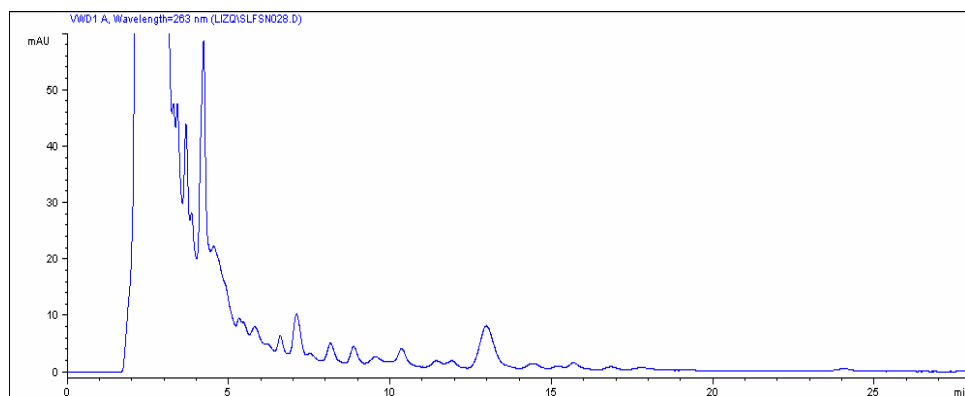


图 3-7 气滞胃痛颗粒样品

3.3.2 布洛芬与双氯芬酸钠的 HPLC-MS 验证

3.3.2.1 实验条件与方法

仪器：Waters ACQUITY UPLC/Quattro Micro MS/MS system

色谱柱：ACQUITY BEH C18(2.1 mm x 50 mm , 1.7 μ m)

流动相：乙腈—0.02mol/L 醋酸铵,梯度洗脱；

检测波长 200-400nm

质谱条件：电喷雾电离源（ESI），毛细管电压 3.0kV，孔电 20 V，萃取电压 2.0V，透镜电压 1.0V，源温 120℃，脱溶剂温度 350℃，脱溶剂气体流速 500L/h，孔气体流速 50L/h。正、负离子同时检测，扫描方式采用全扫描一级质谱、全扫描二级质谱（MS/MS），质量采集范围 100-500。

测定法：分别精密吸取“2.1”项下对照品溶液与供试品溶液各 1 μ l，进样检测。

3.3.2.2 结果：样品中未检出布洛芬与双氯芬酸钠。（见图 3-8~3-9）

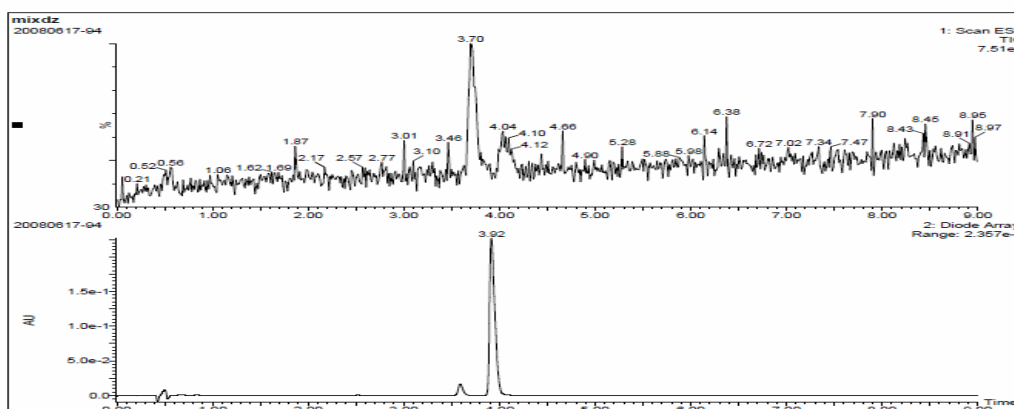


图 3-8 双氯芬酸钠与布洛芬对照品 HPLC 图及总离子流图

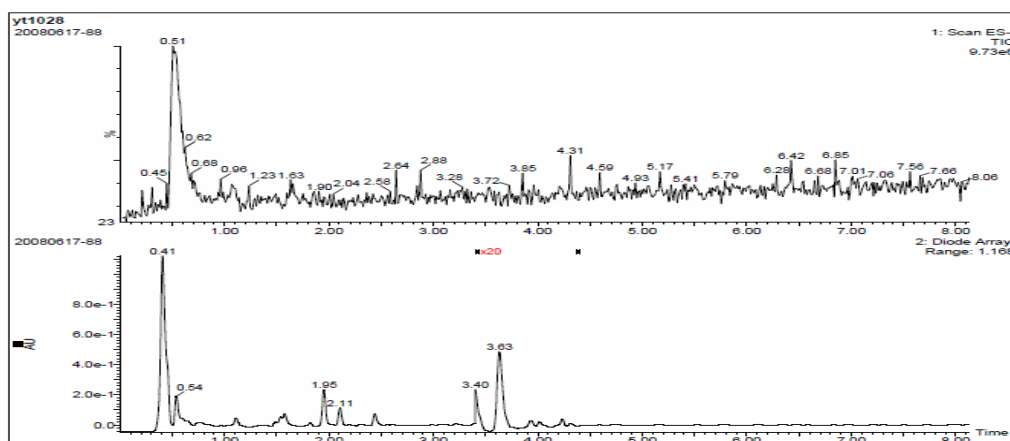


图 3-9 气滞胃痛颗粒样品 HPLC 图 (X20) 及总离子流图

3.3.3 结论

气滞胃痛颗粒中未添加布洛芬和双氯芬酸钠。

3.4 诺氟沙星的 HPLC 法检测

诺氟沙星抗菌谱广，对革兰氏阳性与阴性菌的作用明显优于第一、二代喹诺酮，口服吸收迅速，在体内不易被代谢。临床试验中对泌尿系统、消化系统的感染治疗均有满意的效果^[32-33]。在肠道感染（44 例）有效率达到 86.6%^[34]。因此选用诺氟沙星为阳性对照，检测在气滞胃痛颗粒中是否非法添加诺氟沙星。

3.4.1 实验材料与方法

3.4.1.1 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

3.4.1.2 对照品和试剂

对照品：诺氟沙星对照品（批号：130450—200510，供含量测定用），购自中国药品生物制品检定所。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

3.4.1.3 仪器与色谱条件

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱仪（紫外检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)

流动相：乙腈—0.025mol/L 磷酸溶液（并用三乙胺调 PH 值至 3.0）（13:87）

检测波长：278nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 5 μ L

3.4.1.4 对照品溶液的配制

取诺氟沙星对照品适量，加甲醇制成每 1ml 含 0.1mg 的溶液，即得。

3.4.1.5 供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加三氯甲烷-甲醇（1:1）30ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加 0.05mol/L 盐酸溶液 1ml，超声处理 5 分钟使溶解，转移至 50ml 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

3.4.1.6 阳性供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加诺氟沙星对照品适量(0.0051g)，加三氯甲烷-甲醇（1:1）30ml，超声处理 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加 0.05mol/L 盐酸溶液 1ml，超声处理 5 分钟使溶解，转移至 50ml 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液作为阳性供试品溶液，

3.4.2 结果

阳性供试品色谱图中，出现与诺氟沙星对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-11）。供试品色谱图中，则未出现与诺氟沙星对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-12）。检测 27 批样品，均未出现与诺氟沙星对照品保留时间相同的色谱峰。

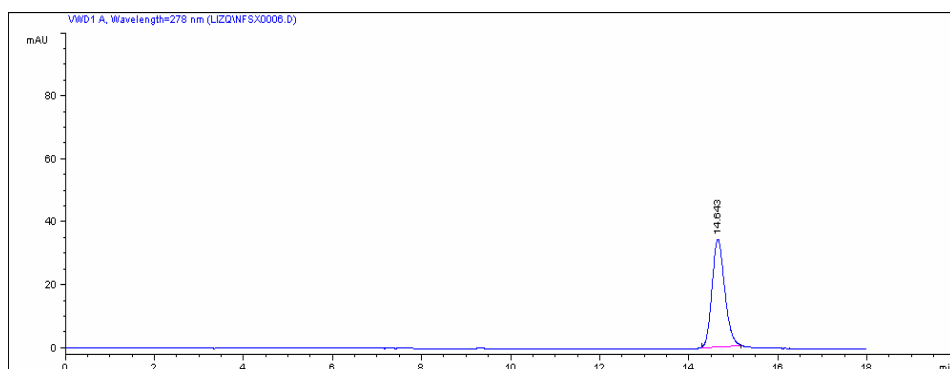


图 3-10 诺氟沙星对照品

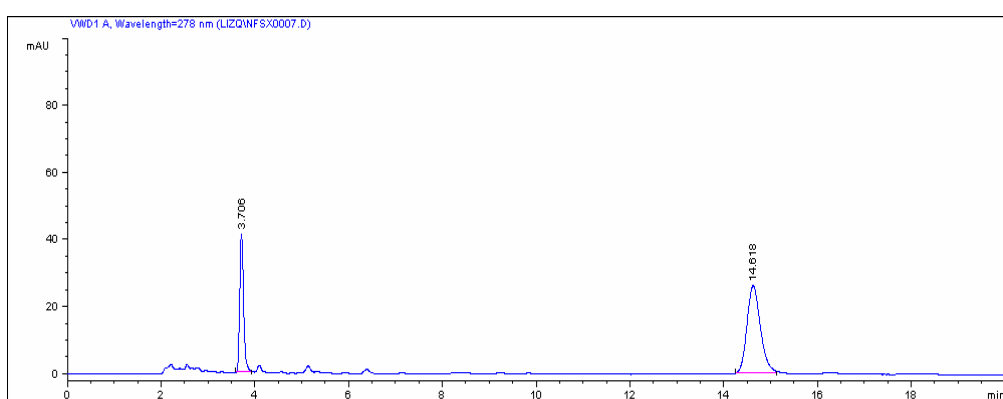


图 3-11 阳性供试品（气滞胃痛颗粒加诺氟沙星对照品）

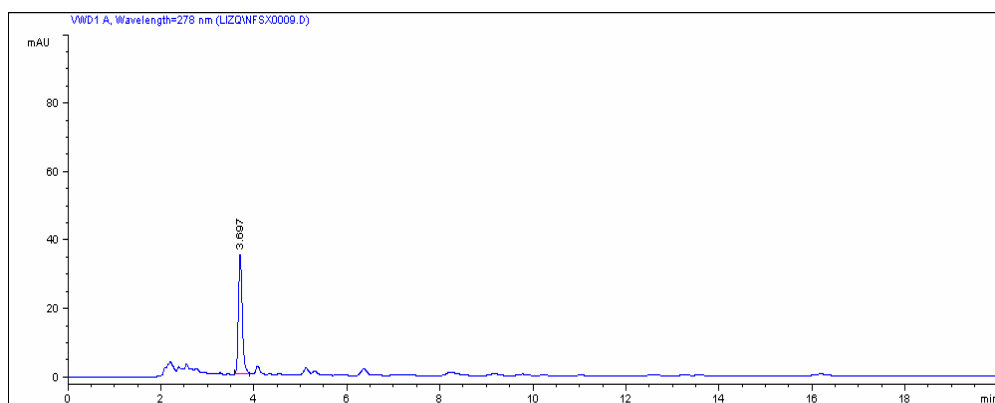


图 3-12 气滞胃痛颗粒样品

3.4.3 结论

气滞胃痛颗粒中未添加诺氟沙星。

3.5 氢氧化铝、三硅酸镁的检测

抗胃溃疡药中多含氢氧化铝、三硅酸镁，通过检测其中铝离子、镁离子的含量，

以考察该制剂的安全性。

3.5.1 实验材料与方法

3.5.1.1 供试品

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

3.5.1.2 仪器与色谱条件

仪器：电感耦合等离子体发射光谱仪（ICP-AES）仪器

工作条件：PS1000（美国利曼-来伯斯公司），频率 40.68MHzRF 发生器。

功率：1.0KW，冷却气：16L/min，辅助气：0.5L/min

雾化器压力：276KPa，样品提升量：1.0ml/min。

观测高度：采用 Mn10 μ g/ml 的标准溶液 257.610nm 进行最佳观测位置调整。

元素测定波长：铝 308.215nm 镁 285.213nm

3.5.1.3 供试品溶液的配制

精密称取样品 4g（精确至 0.0001g），置于瓷坩埚中，于可控温电热板上碳化至无烟后，移入 500℃马弗炉中灰化至白色或灰白色（若灰化不完全，加适量硝酸，于可控温电热板低温加热处理后再灰化），取出冷却至室温，加入少许水润湿，沿坩埚壁加 1ml 硝酸，滴加 3 滴盐酸，加热溶解残留物，取下冷却，定容 10ml 比色管中，电感耦合等离子体发射光谱仪（ICP-AES）直接测定 Al、稀释 10 倍后 ICP-AES 测定 Mg。随同试剂做空白试验。

3.5.2 结果及分析

样品中铝离子含量为 0.1~0.2mg/袋、镁离子为 4.0~5.1mg/袋，经分析系为原料药材中带入（见表 3-1），非人为添加（未达抗溃疡药的有效剂量，维 U 颠茄铝镁片 II，一次口服量铝为 42.6~85.2mg，镁为 9.8~19.6mg）。

详细检测结果见表 3-2,3-3。

经查阅有关文献^[35-42]，柴胡、延胡索、白芍、香附、枳壳、甘草中均含有镁，延胡索、香附、枳壳中均含铝（见表 3-1，表中每袋的量是按照处方量、理论值折算而得），气滞胃痛颗粒由此 6 味药制成，故制剂中可带入镁、铝。

表 3-1 气滞胃痛颗粒原料药材含镁、铝文献数据

	柴胡	延胡索	白芍	香附	枳壳	甘草	总量
镁 $\mu\text{g/g}$	1823	234	1281	934	1516	2087	---
铝 $\mu\text{g/g}$	---	3.9	---	88.8	62	---	---
镁 $\mu\text{g/袋}$	3281	468	3074	1868	3032	2087	13810
铝 $\mu\text{g/袋}$	---	7.8	---	177.6	124	---	309.4

表 3-2 气滞胃痛颗粒（有糖型）中镁、铝的检测结果

样品批号	Al (mg/kg)	Mg (mg/kg)	样品批号	Al (mg/kg)	Mg (mg/kg)
20091120	32.1	720.1	20091114	26.8	880.3
20091109	34.9	1019.4	20091107	28.8	977.0
20091205	27.4	989.9	20091119	37.4	993.0
20100106	34.3	891.1	20090506	40.8	920.8
20100114	31.2	912.5	20080410	30.6	869.1
20091013	40.2	950.6	20091117	30.5	904.7
20091113	28.3	852.2	20100207	19.8	854.2
20100112	29.1	897.9	20090621	36.3	908.3
20091207	31.0	904.6	20100616	26.2	931.7
20100107	29.4	915.0	20100515	27.4	847.8

表 3-3 气滞胃痛颗粒（无糖型）中镁、铝的检测结果

样品批号	Al (mg/kg)	Mg (mg/kg)
20091203	60.1	1807.6
20090917	44.7	1592.6
20091202	57.1	1838.4
20091102	64.7	1760.3
20090606	48.0	1885.8
20091204	54.8	1813.4
20090316	44.4	1814.4

3.5.3 结论

经分析，样品中铝离子、镁离子系为原料药材中带入，非人为添加。

3.6 工业染料金胺 O 的非法添加研究

金胺 O (auramine O) 为一种黄色工业染料，又名碱性嫩黄、碱性荧光黄、金丝雀黄、盐酸氨基四甲基二氨基苯甲烷，据报道属于接触性致癌物，在国外早已被列为禁用染料^[43-45]。近年来有用此染料对中药材如延胡索、蒲黄等进行染色的情况^[46-47]，由于该染料属高毒物质，故对含延胡索的制剂—气滞胃痛颗粒进行金胺 O 检测，以考察该制剂的安全性。

3.6.1 薄层色谱法检测金胺 O 的非法添加情况-

3.6.1.1 实验材料与方法

薄层板：硅胶 G 预制板（青岛海洋化工厂分厂）。

试剂：所用试剂均为分析纯。

气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

对照试剂：金胺 O 对照试剂，Sigma-Aldrich(Shanghai) Trading Co.Ltd, Product Number 861030-25G. 10912EC, Dye content $\geq 80\%$ 。

方法：取本品 1 袋，研细，加 70%乙醇 20ml，超声处理 20 分钟，滤过，滤液作为供试品溶液。另取金胺 O 对照试剂适量，加 70%的乙醇制成 0.1mg/ml 的溶液，作为对照溶液。分别吸取供试品溶液与金胺 O 对照溶液各 10 μ l，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）的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，立即于可见光下检视。

3.6.1.2 实验结果

供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，未见与之对应的斑点。检测 27 批样品，均未出现与金胺 O 对照试剂相应的斑点。（见图 3-13）

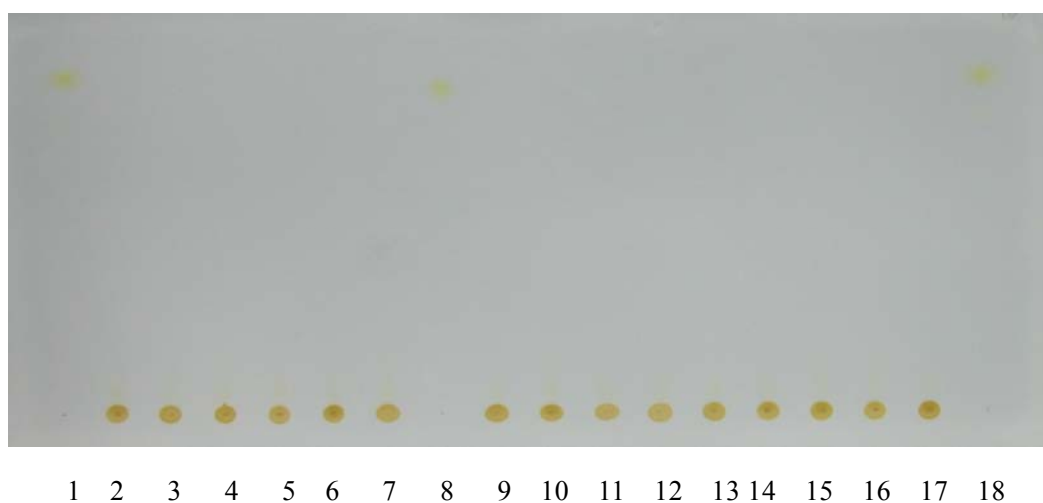


图 3-13 金胺 O 检测 TLC 图

(1, 8, 18 为金胺 O 对照, 其余为含糖型样品)

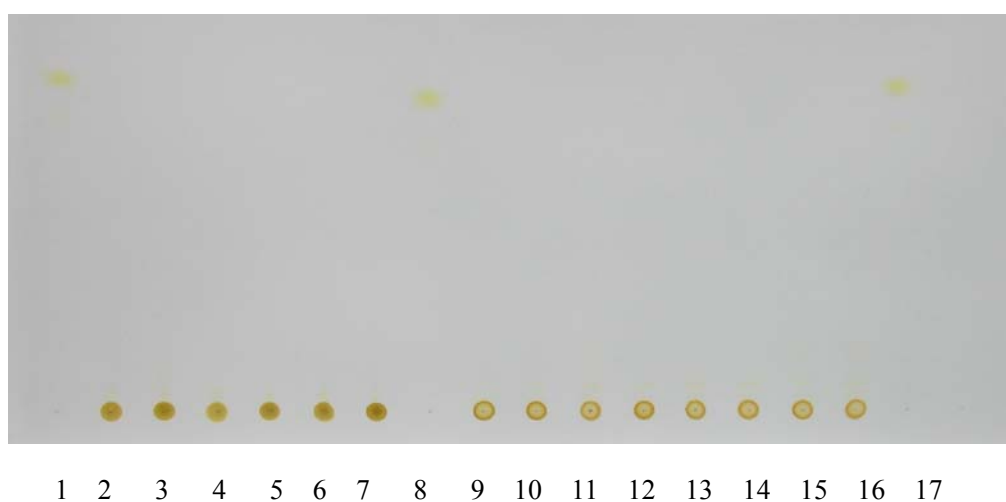


图 3-13 金胺 O 检测 TLC 图

(1, 8, 17 为金胺 O 对照, 2~7 为有糖型样品, 9~17 为无糖型样品)

3.6.1.3 实验结论

从薄层色谱实验中, 未发现金胺 O 添加于气滞胃痛颗粒中。

3.6.2 HPLC 检测金胺 O 的非法添加情况

由于金胺 O 毒性大, 危害严重, 继续采用更为精确的 HPLC 法检测制剂中是否存在非法添加。

3.6.2.1 实验材料与方法

A. 供试品

气滞胃痛颗粒样品: 共 27 批 (有糖型 20 批, 无糖型 7 批), 均为辽宁本溪三药有

限公司生产。

B. 对照品和试剂

对照试剂：金胺 O 对照试剂，Sigma-Aldrich(Shanghai) Trading Co.Ltd， Product Number 861030-25G. 10912EC， Dye content $\geq 80\%$ 。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

C. 仪器与色谱条件

仪器：Agilent 1100 高效液相色谱仪（紫外检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)

流动相：乙腈—0.025mol/L 磷酸二氢钾（含 0.2%三乙胺，并用磷酸调 PH 值至 3.0）（35:65）

检测波长：432nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 10 μ L

D. 对照品溶液的配制

取金胺 O 对照试剂适量，加 70%乙醇制成每 1ml 含 50 μ g 的溶液，即得。

E. 供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加 70%乙醇 20ml，超声处理 20 分钟，放冷，取上清用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

F. 阳性供试品溶液的配制

取本品 1 袋，研细，加金胺 O 对照试剂适量，加 70%乙醇 20ml，超声处理 20 分钟，取上清用 0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

3.6.2.2 结果

阳性供试品色谱图中，出现与金胺 O 对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-15）。供试品色谱图中，24 批未出现与金胺 O 对照品保留时间相同的色谱峰（见图 3-18、3-19）；3 批出现与金胺 O 对照试剂主峰保留时间近相同的色谱峰。（见图 3-20）

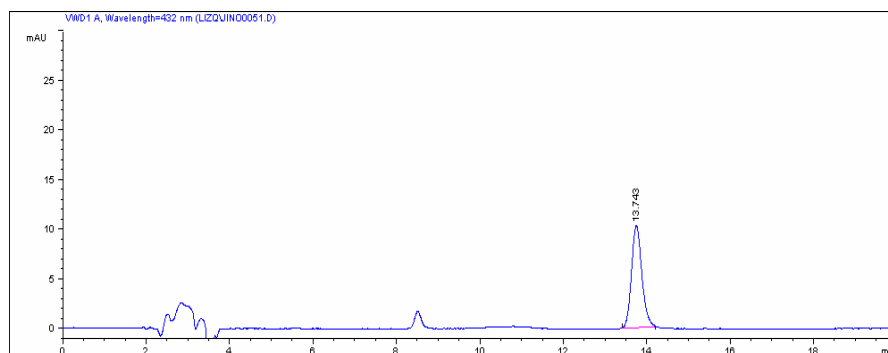


图 3-14 金胺 O 对照试剂 HPLC 图

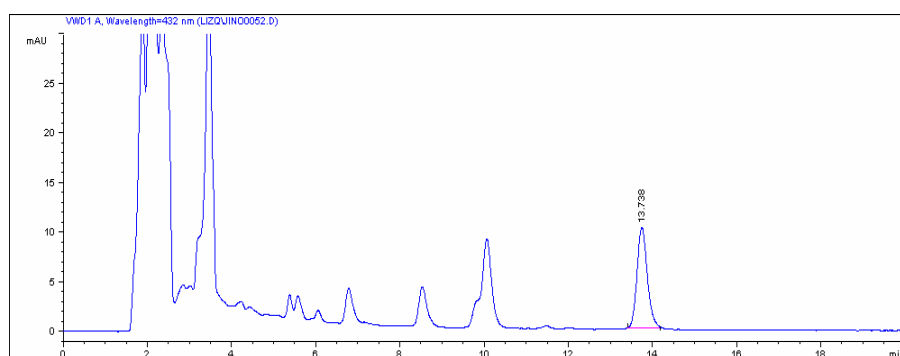


图 3-15 气滞胃痛颗粒（批号 20100515，5g/袋）中加金胺 O 对照试剂 HPLC 图

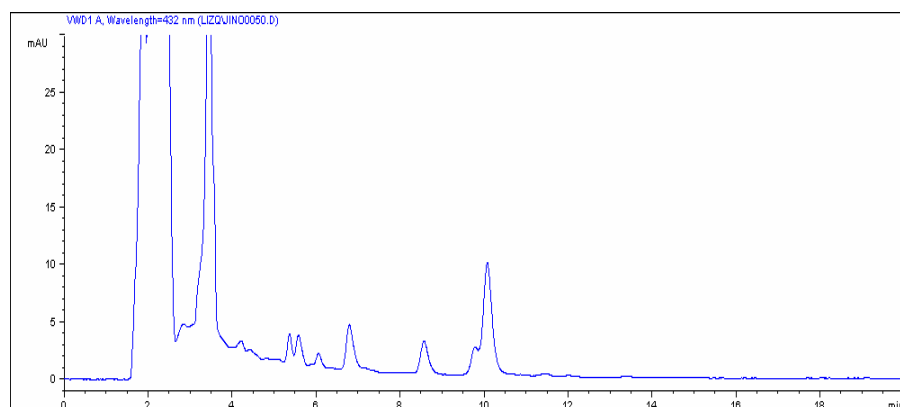


图 3-16 气滞胃痛颗粒样品（批号 20100515，5g/袋）HPLC 图

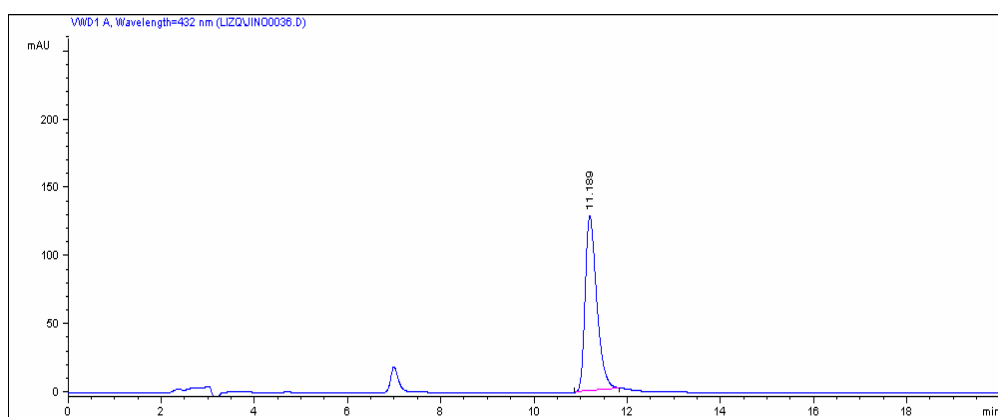


图 3-17 金胺 O 对照试剂 HPLC 图

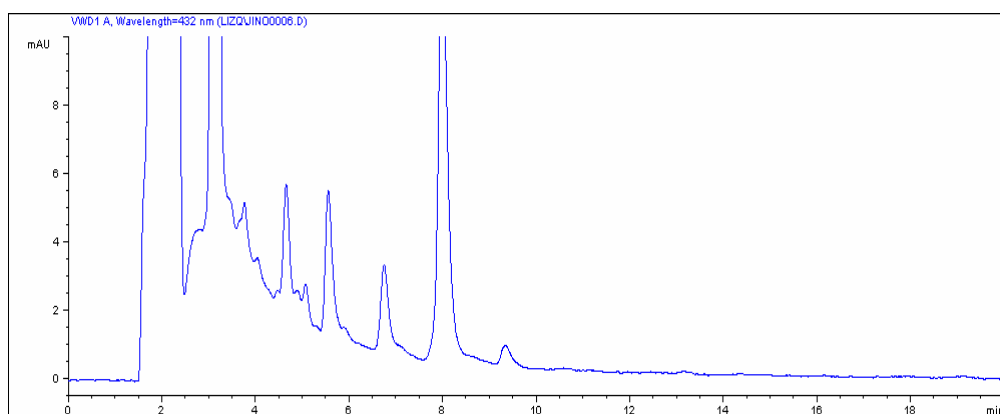


图 3-18 气滞胃痛颗粒样品（批号 20091109，5g/袋）HPLC 图

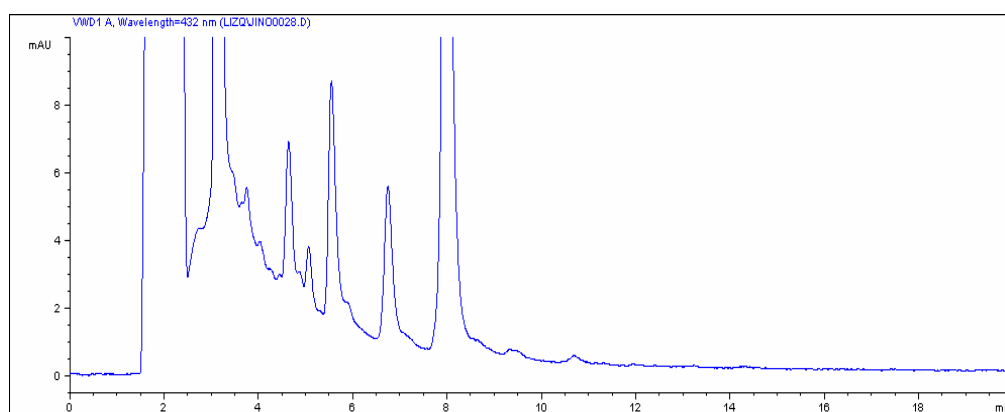


图 3-19 气滞胃痛颗粒样品（批号 20091203，2.5g/袋）HPLC 图

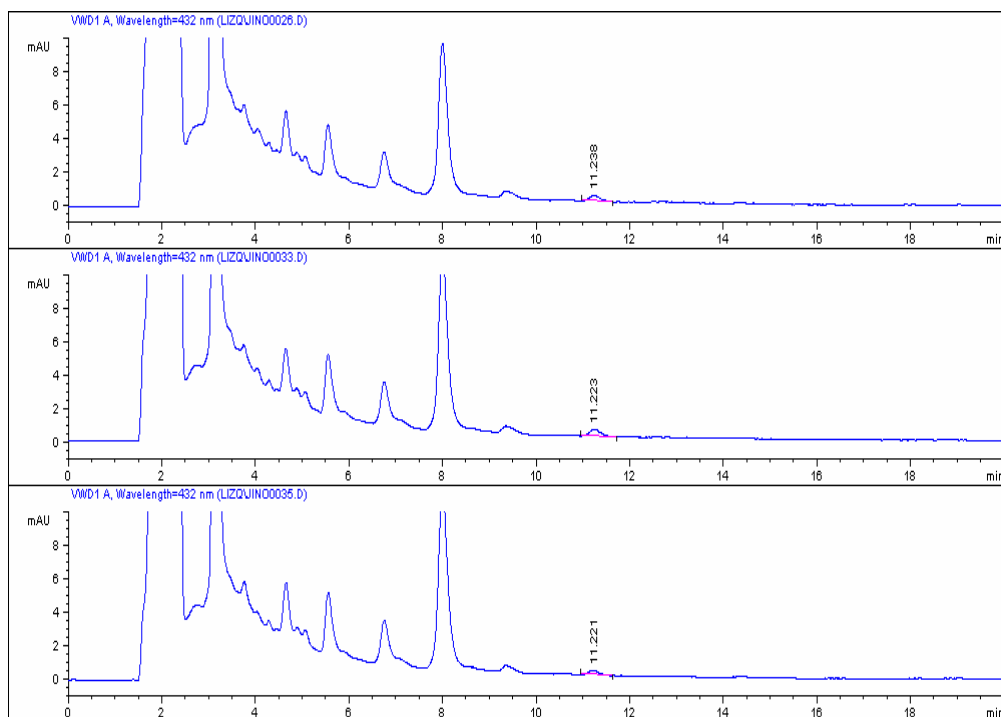


图 3-20 气滞胃痛颗粒（批号 20090621、20090606、20090316）HPLC 图

3.6.2.3 结论

利用 HPLC 紫外检测器检测 27 批气滞胃痛颗粒，其中 24 批未检测到金胺 O；有 3 批疑似存在金胺 O，将进行下一步验证。

3.6.3 HPLC-DAD 检测金胺 O 的非法添加情况

3.6.3.1 实验材料与方法

A. 供试品

取“3.6.2”项下疑似存在金胺 O 的 3 批气滞胃痛颗粒样品（批号 20090621、20090606、20090316），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

B. 对照品和试剂

对照试剂：金胺 O 对照试剂，Sigma-Aldrich(Shanghai) Trading Co.Ltd, Product Number 861030-25G. 10912EC, Dye content $\geq 80\%$ 。

试剂：乙腈为色谱纯（德国 MERCK 公司），其余试剂均为分析纯，水为重蒸去离子水。

C. 仪器与色谱条件

仪器：岛津 LC-1200 高效液相色谱仪（DAD 检测器）。

色谱柱：Alltima C18 (4.6 x 250 mm; 5 μ m)

流动相：乙腈-0.025mol/L 磷酸二氢钾（含 0.2%三乙胺，并用磷酸调 PH 值至 3.0）
(34:66)

检测波长：200-600nm

柱温：30℃

流速：1.0mL·min⁻¹

进样量：各 10μL

D. 对照品溶液的配制

取“3.6.2.1”项下对照品溶液。

E. 供试品溶液的配制

取“3.6.2.1”项下供试品溶液。

3.6.3.2 结果

3 批均出现与金胺 O 对照试剂保留时间近相同的色谱峰，但未显示与金胺 O 对照试剂主峰相同的最大吸收（金胺 O 在 252、372、436nm 处显示最大吸收）。（见图 3-21～3-24）

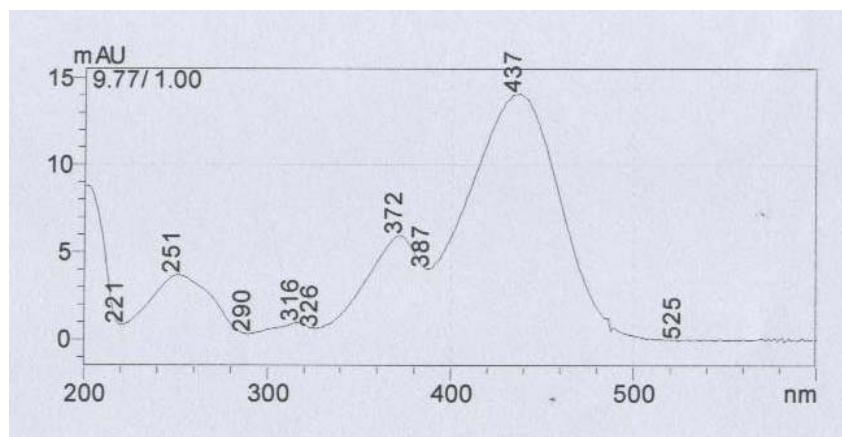


图 3-21 金胺 O 对照试剂吸收光谱

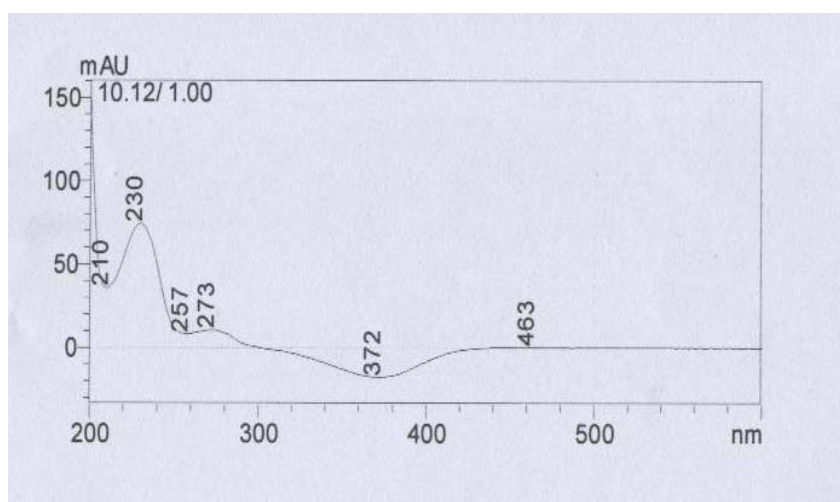


图 3-22 气滞胃痛颗粒样品（批号 20090621，有糖）吸收光谱

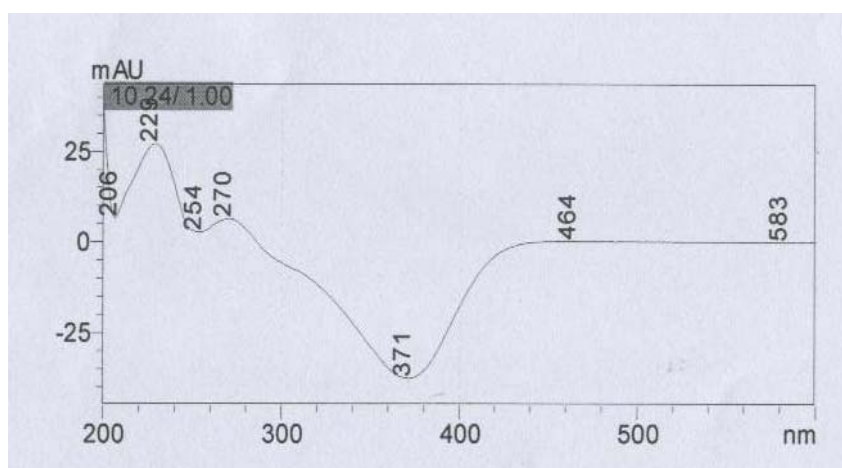


图 3-23 气滞胃痛颗粒样品（批号 20090606，无糖）吸收光谱

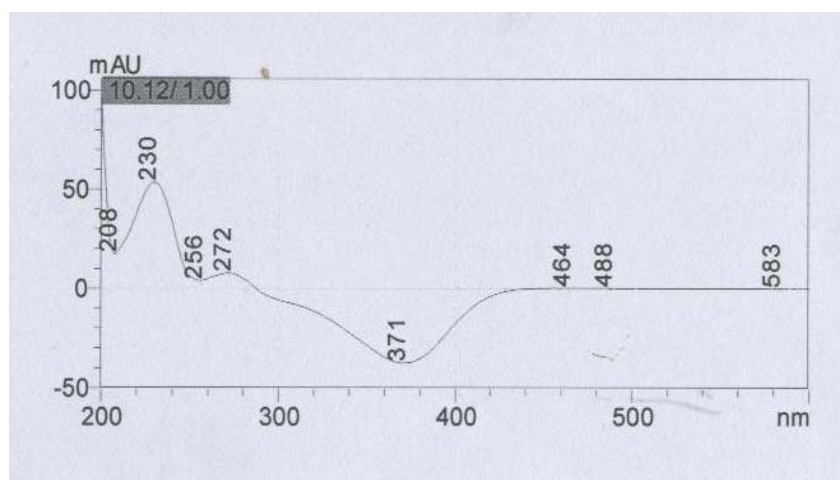


图 3-24 气滞胃痛颗粒样品（批号 20090316，无糖）吸收光谱

3.6.3.3 结论

经 HPLC-DAD 法检测验证, 在 HPLC 紫外检测器下疑似检出金胺 O 的 3 批气滞胃痛颗粒样品均未检出金胺 O。

3.6.4 HPLC-MS 验证

对 3 批出现与金胺 O 对照试剂保留时间近相同色谱峰的样品采用 HPLC-MS 进行验证。

3.6.4.1 实验材料与方法

仪器: Waters ACQUITY UPLC/Quattro Micro MS/MS system

色谱柱: ACQUITY BEH C18(2.1 mm x 50 mm, 1.7 μ m)

流动相为乙腈—0.05mol/L 醋酸铵 (35:65)。

质谱条件: 电喷雾电离源 (ESI), 毛细管电压 3.0kV, 孔电 20 V, 萃取电压 2.0V, 透镜电压 1.0V, 源温 120 $^{\circ}$ C, 脱溶剂温度 350 $^{\circ}$ C, 脱溶剂气体流速 500L/h, 孔气体流速 50L/h。正、负离子同时检测, 扫描方式采用全扫描一级质谱、全扫描二级质谱 (MS/MS), 质量采集范围 100-500。

测定法: 分别精密吸取对照试剂溶液、阳性供试品溶液与供试品溶液各 1 μ l, 进样检测。

3.6.4.2 结果

3 批样品均未出现与金胺 O 相同质荷比的离子峰。(见图 3-25~3-26)

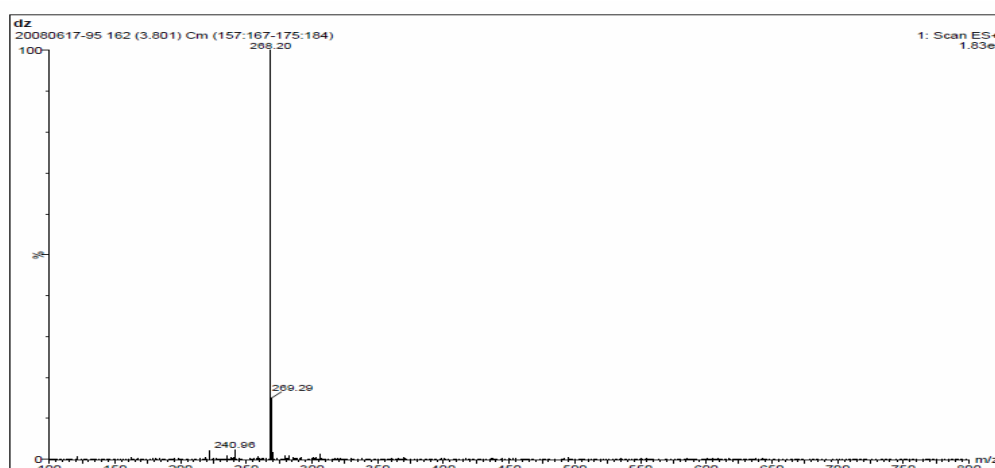


图 3-25 金胺 O 对照试剂 MS 图 (268.20)

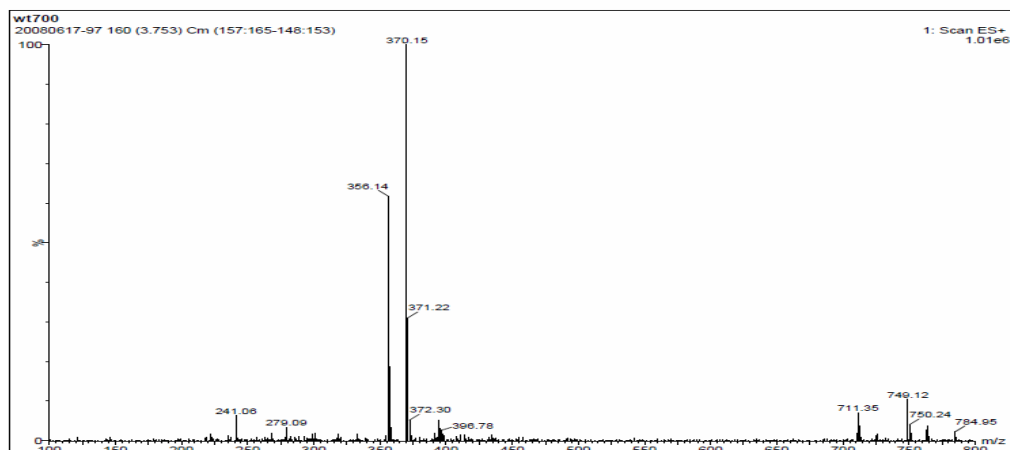


图 3-26 气滞胃痛颗粒样品（批号 20090606，无糖）MS 图（279.09、356.14 、370.15）

3.6.4.3 结论

经 HPLC-MS 法检测验证，在 HPLC 紫外检测器下疑似检出金胺 O 的 3 批气滞胃痛颗粒样品均未检出金胺 O。

3.6.5 小结

经用 TLC 法、HPLC 法和 HPLC-MS 法进行逐级检测并验证，结果 27 批气滞胃痛颗粒样品均未检出金胺 O。

3.7 气滞胃痛颗粒中铅、镉、砷、汞、铜的检测

中药来源于天然，植物药占绝大部分。近年来，有害残留物问题严重影响中药的国际形象，受到各国政府和公众的关注。世界卫生组织(WHO)对包括植物药在内的传统药物则给予了充分重视，2003 年 WHO 的专家组提出了“对草药中特定污染物和残留物安全性评估的指导原则”^[48]，该文件对草药和潜在的有害残留物、污染物相关概念进行了定义,提供了重金属元素砷、铅、镉、铜、铁、镍、锌、汞的推荐检测方法和砷、铅、镉的限量标准建议，具有较强的指导意义^[49]。

中药中可能残留的重金属及有害元素主要包括：铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)、铜(Cu)等，其中前 4 种为世界各国公认的毒性元素。铅是主要损害造血系统、神经系统和肾脏。镉在自然界分布广泛，但丰度较低，在人体内消除缓慢,容易在肝、肾蓄积,长期与镉接触也可能导致肾衰竭，镉及其部分化合物已被国际癌症研究会(IARC)列为 I 类致癌物。中药中的镉自然残留量一般很低，但近来的研究发现，在个别根茎类中药中镉可能蓄积到较高含量，应引起重视。砷及其部分化合物也被 IARC 列为 I 类致

癌物，可引起皮肤癌、肺癌、肝癌等，以及神经系统、心血管系统病变。我国由于六、七十年代大量使用砷制剂作为农药，因此砷对土壤及水源的污染比较普遍，已在山西、内蒙古、吉林等 12 个省区发现了地砷病，是世界上地砷病最严重的国家之一^[49]。汞是目前已知毒性最强的元素之一，其毒性以慢性神经毒性居多，对中枢神经系统有强烈毒害作用，对肝脏、肾脏、生殖系统也可造成损伤^[50]。而铜本身为人体必须元素之一，但过量亦有害，考虑到我国在农业生产中广泛使用硫酸铜制剂作为土壤消毒剂，因此，将铜也列为重金属残留监控指标。

在试验中，我们采用原子荧光光谱法（AFS）检测砷、汞的含量。电感耦合等离子体技术对测定铅，镉，铜具有较高的准确度，能获得满意的结果^[51]。因此检测铅，镉，铜的含量时采用电感耦合等离子体发射光谱（ICP）进行测定。

3.7.1 As、Hg 检测方法

3.7.1.1 实验材料与方法

供试品：气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

试剂：硝酸、盐酸为优级纯，其余所用试剂均为分析纯。

3.7.1.2 仪器与色谱条件

仪器：AFS-2201 型原子荧光光谱仪，北京海光仪器有限公司，砷汞空心阴极灯。

仪器工作条件：

光电倍增管负高压(v)：As320、Hg290；	原子化器高度(mm)：8
炉温(℃)：As200、Hg 室温；	灯电流(mA)：As40、Hg25
载气流量(ml/min)：400；	屏蔽气流量(ml/min)：800
测量方式：标准曲线法；	读数方式：峰面积
读数时间(s)：12；	样品提升速率(r/min)：70
采样时间(s)：8	

3.7.1.3 供试品溶液的配制及测定

精密称取样品 1g（精确至 0.0001g），置于 100ml 锥形瓶中，加硝酸-高氯酸（4+1）混合酸 10ml，摇匀浸泡，放置 2 小时，加弯管漏斗，于可控温电热板上加热消解试样，冒高氯酸烟后，至消化液呈淡黄色或无色剩 0.5ml 左右，取下冷却，用水冲洗瓶壁，加盐酸 5ml，于电热板上加热溶解，取下冷却，转入 50ml 容量瓶中，加 5ml 硫脲、抗坏血酸混合溶液，用水稀释至刻度，放置 30-40min，AFS 测定 As、Hg。随同试剂做空白试验。

硫脲、抗坏血酸混合溶液：称取 10g 硫脲、10g 抗坏血酸溶解于 100ml 水中。

3.7.2 Pb、Cd、Cu 的检测方法

3.7.2.1 实验材料与方法

供试品：气滞胃痛颗粒样品：共 27 批（有糖型 20 批，无糖型 7 批），均为辽宁本溪三药有限公司生产。

试剂：硝酸、盐酸为优级纯，其余所用试剂均为分析纯。

3.7.2.2 仪器与色谱条件

仪器：电感耦合等离子体发射光谱仪 PS1000（美国利曼-来伯斯公司），频率 40.68MHzRF 发生器。

功率：1.0KW，冷却气：16L/min，辅助气：0.5L/min，雾化器压力：276KPa
样品提升量：1.0ml/min。

观测高度：采用 Mn10 μ g/ml 的标准溶液 257.610nm 进行最佳观测位置调整。

元素测定波长：

铅 220.353nm、镉 214.438nm、铜 324.754nm

3.7.2.3 供试品溶液的配制及测定

精密称取样品 4g（精确至 0.0001g）置于瓷坩埚中，于可控温电热板上碳化至无烟后，移入 500℃马弗炉中灰化至白色或灰白色（若灰化不完全，加适量硝酸，于可控温电热板低温加热处理后再灰化），取出冷却至室温，加入少许水润湿，沿坩埚壁加 1ml 硝酸，滴加 3 滴盐酸，加热溶解残留物，取下冷却，定容 10ml 比色管中，ICP-AES 直接测定 Pb、Cd、Cu。随同试剂做空白试验。

3.7.3 结果与结论

27 批样品中，铅、镉、砷、汞、铜含量结果（见表 3-3、3-4）。

表 3-3 气滞胃痛颗粒（无糖型）中金属元素检测结果（单位：mg/kg）

样品批号	Hg	As	Pb	Cd	Cu
20091203	<0.05	0.29	0.18	<0.05	1.5
20090917	<0.05	0.72	0.15	<0.05	1.7
20091202	<0.05	0.37	<0.1	<0.05	1.1
20091102	<0.05	0.65	0.18	<0.05	0.94
20090606	<0.05	0.55	0.11	<0.05	1.1

样品批号	Hg	As	Pb	Cd	Cu
20091204	<0.05	0.46	<0.1	<0.05	1.4
20090316	<0.05	0.65	0.15	<0.05	1.1

表 3-4 气滞胃痛颗粒（有糖型）中金属元素检测结果（单位：mg/kg）

样品批号	Hg	As	Pb	Cd	Cu
20091120	<0.05	0.18	0.15	<0.05	1.0
20091109	<0.05	0.20	0.11	<0.05	0.92
20091205	<0.05	0.18	<0.1	<0.05	0.85
20100106	<0.05	0.20	0.12	<0.05	0.85
20100114	<0.05	0.23	<0.1	<0.05	1.2
20091013	<0.05	0.39	0.19	<0.05	2.3
20091113	<0.05	0.20	<0.1	<0.05	1.0
20100112	<0.05	0.29	0.18	<0.05	1.1
20091207	<0.05	0.21	0.10	<0.05	1.0
20100107	<0.05	0.18	<0.1	<0.05	0.79
20091114	<0.05	0.21	0.13	<0.05	1.1
20091107	<0.05	0.27	<0.1	<0.05	1.0
20091119	<0.05	0.24	<0.1	<0.05	1.4
20090506	<0.05	0.24	0.19	<0.05	1.7
20080410	<0.05	0.20	0.15	<0.05	1.1
20091117	<0.05	0.22	0.13	<0.05	0.75
20100207	<0.05	0.19	<0.1	<0.05	1.1
20090621	<0.05	0.26	0.35	<0.05	1.5
20100616	<0.05	0.28	0.21	<0.05	0.97
20100515	<0.05	0.20	0.20	<0.05	0.86

根据美国饮食补充剂产品限量：汞 0.02mg/day，镉 0.02mg/day，铅 0.02mg/day，砷 0.01mg/day，铜未作要求。气滞胃痛颗粒中铅、镉、砷、汞、铜结果（见表 3-5）均未超标。

表 3-5 气滞胃痛颗粒中铅、镉、砷、汞、铜测定结果总结

	汞	镉	铅	砷	铜
$\mu\text{g/g}$	<0.05	<0.05	≤ 0.35	0.18 ~ 0.39(有糖) 0.29 ~ 0.72 (无糖)	≤ 2.3
$\mu\text{g/日}$	<0.75	<0.75	≤ 5.25	2.7 ~ 5.8(有糖) 2.2 ~ 5.4 (无糖)	≤ 34.5

全文结论

气滞胃痛颗粒为辽宁本溪三药有限公司的独家品种。本品组方以东汉末年中医经典临床著作《伤寒论》中治疗肝郁气滞、脾胃不和、脘腹疼痛的四逆散为主方，添加理气止痛的香附和延胡索，并结合现代研究成果和 30 多位中医专家多年的临床经验协定而成，以病为单元，以证为基础，将汤剂制成剂量小、口感佳、使用方便又能辩证用药的现代化药品。气滞胃痛颗粒由柴胡、炙延胡索、枳壳、炙香附、白芍、炙甘草 6 味药制成，分为有糖型（规格 5g/袋）和无糖型（规格 2.5g/袋），具有舒肝理气，和胃止痛的作用，用于肝郁气滞，胸痞胀满，胃脘疼痛。两剂型主要区别是无糖型中挥发油用 β -环糊精包合后再合并制粒。

气滞胃痛颗粒有糖型的法定标准收载于《中国药典》2005 年版一部，规格为 5g/袋。无糖型的法定标准为国家食品药品监督管理局标准 YBZ01602004，规格为 2.5g/袋。两个标准的相同检验项目为白芍、延胡索的薄层色谱鉴别、HPLC 测芍药苷含量测定及通则检查，无糖型多 1 项化学鉴别反应。

药品必须符合现行法定标准，否则就不能使用。本课题首先对气滞胃痛颗粒进行法定标准检测，保证其最基本的质量要求。在现行法定标准中，对气滞胃痛颗粒中的白芍、延胡索进行了定性鉴别，对白芍中的芍药苷进行定量测定。结果按现行法定标准检验全部合格。综合各项测定结果，气滞胃痛颗粒质量状况好。

中成药有效性的保障一定是基于生产中使用原料的合格和采用工艺的规范，鉴别是为了检查其是否按处方药味投料，含量测定是检查其所投原料的质量与数量。气滞胃痛颗粒中共有六味药材，现行法定标准仅仅对其两味药材进行控制显得很单薄。课题中首先利用简便快速的薄层色谱法对方中的所有药材进行检测，使得制剂中 100% 的药材得以定性控制。分别建立了以柴胡对照药材鉴别柴胡，以甘草对照药材鉴别甘草，以枳壳对照药材、新橙皮苷和柚皮苷对照品鉴别枳壳，以香附对照药材、 α -香附酮对照品鉴别香附的方法，对法定标准的鉴别进行了全面补充，使鉴别率达 100%，所有样品检测结果全部合格。再运用 HPLC-DAD 检测方法同时一次对制剂中的三味药材进行定量检测，一次进样即可测定 5 个指标的含量，方法高效、实用。结果表明该制剂批间均一性较好，说明制剂工艺较稳定，原料质量基本稳定，产品稳定性好、质量较好。同时也建立了延胡索乙素的含量测定方法，使处方中 67% 的药材得以定量控制。延胡索乙素含量测定中，含量范围为每袋 0.12~0.26mg，以平均值的 70% 为限

度, 27 批次样品有 7 批次含量低于平均含量的 70%, 最低的 5 批次含量仅为平均含量的 57%, 差异较大, 分析原因, 处方中延胡索为醋炙, 其炮制目的就是增加延胡索乙素的转化从而易于提取、提高疗效, 因此该原料的质量及其炮制的质量直接影响到这个指标, 提示生产企业应强化对此原料及炮制质量的控制。以上检测对更好的控制制剂质量, 药材筛选, 工艺优化等工作奠定基础。

采用恒温恒湿仪对样品进行加速稳定性试验, 实验条件为温度 $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $70\%\pm 5\%$, 采用 HPLC-DAD 方法测定 5 个指标含量(柚皮苷、新橙皮苷、芍药苷、白芍药苷、甘草苷)并进行结果比较, 显示 0、1、2、3 月的结果没有显著性差异, 说明独家品种的生产工艺及制剂质量的稳定性均比较好。

针对本品舒肝和胃、理气止痛的功效结合临床常用化学药品, 再根据这类中药中曾经出现的非法添加报道, 选择具解痉作用的硫酸阿托品、具止痛作用的布洛芬和双氯芬酸钠, 胃药中常加入通过保护胃粘膜而止痛的氢氧化铝和三硅酸镁, 以及报道中有可能加入的抗生素诺氟沙星作为研究目标, 考虑到非法添加的量都比较小, 因此一定要建立专属性强、抗干扰性好且灵敏度很高的分析方法才能有效而准确地检测目标化合物。经过充分研究与验证, 针对不同的化合物分别建立了 HPLC、LC-MS 和 ICP-AES 的检测方法, 并对所有样品进行检测, 结果均未检出硫酸阿托品、布洛芬、双氯芬酸钠和诺氟沙星, 样品中每袋含铝离子 $0.1\sim 0.2\text{mg}$ 、镁离子 $4.0\sim 5.1\text{mg}$, 均未达到抗溃疡药的有效剂量, 经分析, 处方中 6 味药材都含有镁离子, 延胡索、香附和枳壳中含有铝离子, 因此制剂中检出的此两离子系原料药材中带入。提示企业在生产时并未加入功能性化学药品。

处方中延胡索药材可能存在用工业色素金胺 O 染色情况, 而金胺 O 是对人体有害的物质, 制剂中不应存在, 因此研究中建立了 TLC、HPLC、LC-MS 的逐级(灵敏度、准确率不断提高)检测方法以考察样品中是否存在工业染色剂残留情况。经检测, 27 批次样品均未检出, 提示生产企业对原料的质量控制较好。因延胡索存在用工业色素金胺 O 染色的现象, 建议生产企业对此原料质量严格把关, 使用前注意清洗, 醋炙时严格按照要求进行, 以保证产品的质量。

重金属及有害元素是中药走向国际化的瓶颈之一, 本品为常用胃药, 患者可能会长期服用, 对其控制也就显得更加重要, 运用高灵敏度和高准确性的原子荧光法测定样品中砷和汞的含量, ICP-AES 测定样品中铅、镉和铜的含量。有害元素的引入主要在药材质量及制剂过程两个环节上, 药材, 特别是根类药材如果清洗过程不完全则残留土壤会带入重金属及有害元素, 生产中使用的辅料以及生产用容器出现问题也可能

引入重金属及有害元素，经对所有样品进行检测，结果均未超标，提示企业在此方面控制较好。

综合各项研究指标的测定结果，气滞胃痛颗粒质量状况好。

参考文献

1. 孙志明, 李小娜. 四逆散复方的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志. 2011, 20(25): 132-134
2. 中国药典 2010 年版. 一部[S]. 2010: 80、96、229、570.
3. 王彦云, 吴振宇, 郑君, 等. 气滞胃痛冲剂药理学实验研究[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(10): 622.
4. 裴静波. 气滞胃痛颗粒治疗气滞型胃痛 32 例[J]. 江西中医药, 2007, 38(1): 40.
5. 李晏, 陈渊源, 伊佳, 等. 气滞胃痛颗粒促进胃肠运动和镇痛作用研究[J]. 药学实践杂志, 2009, 27(2): 90.
6. 吴赛伟, 水文波, 葛志伟, 等. RP-HPLC 法测定气滞胃痛颗粒中 4 种成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(8): 1301-1304.
7. 田友清, 丁平, 香附挥发油的研究进展及其开发前景[J], 中国药业, 2010, 19(03): 1-2
8. 陈艳红, 吴秋云, 蔡佳仲, 17 批不同产地香附中有效成分的含量测定[J], 临床医学工程, 2010, 17(11): 47-48
9. 谭菁菁, 赵庆春, 杨琳, 白芍化学成分研究[J], 中草药, 2010, 41(08): 1245-1247
10. 刘文斌, 何振辉, 宾漫容, 中药白芍的 HPLC 含量测定及指纹图谱研究, 光谱实验室, 2010, 27(2): 693-698
11. 黄月纯, 魏刚, 刘翠玲等, 白芍 HPLC 特征指纹图谱的稳定性考察[J], 中药新药与临床药理, 2010, 21(3): 280-284
12. 姚令文、陈佳、王钢力等, UPLC 法测定同仁乌鸡白凤丸中芍药苷的含量, 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1522
13. 黄燕萍, 黄远飞. HPLC 法同时测定胃安胶囊中芍药苷和柚皮苷的含量[J]. 中国药事, 2011, 25(04): 379-810
14. 黄爱华、曹骋、曾元儿等 HPLC 法测定不同规格酸橙枳实中新橙皮苷和柚皮苷的含量 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1448
15. 张金莲, 何敏, 谢一辉等, 高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 68
16. 袁杰, 于江泳. HPLC 法测定健脾丸(浓缩丸)中柚皮苷和橙皮苷[J]. 中成药, 2011, 33(06): 85-87

17. 徐海燕, 金艺, 张红霞等.HPLC 同时测定胃力片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J].中成药, 2010, 32(08): 1355-1357
18. 陈永刚, 林励. 柑橘属常用中药黄酮类成分 HPLC 指纹图谱研究与比较[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(19): 2660-2665
19. 王红, 田明, 王淼等, 延胡索现代药理及临床研究进展[J], 中医药学报, 2010,38(06):108-111
20. 杨建明, 曹亮, 薛贵平等, 高效液相色谱法测定中药延胡索炮制前后延胡索乙素的含量[J], 河北北方学院学报(医学版), 2010, 27(6): 13-15
21. 李青翠、李勇军 高效液相色谱法测定复方胃宁片中延胡索乙素的含量,2002,22(4):288 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, 药物分析杂志,2008,28(6):884
22. 邓少伟, 程显隆, 马双成; 安中片的质量控制标准研究; 《药物分析杂志》; 2006; 26(8): 1065-1067
23. 李虹; 愈心痛胶囊质量标准的研究及确定; 《药物分析杂志》; 2010; 30(7): 1301-1304
24. 王云龙, 陈晓辉, 许世伟等, 高效液相色谱法同时测定元胡止痛片中欧前胡素、延胡索乙素与异欧前胡素的含量[J], 中国医药导报, 2010, 7(10):58-60
25. 黄伟, 张文婷, 赵维良, 颠茄片中非法添加阿托品的快速检查方法, 中国医药导报, 2011, 8(22): 73-74
26. 黄伟, 张文婷, 赵维良, 颠茄流浸膏真伪鉴别及含量测定方法研究, 药物分析杂志 2012, 32(01): 157-160
27. 毛谊平, 任荣军, 吴高芬, 苍术中非法添加硫酸阿托品及氢溴酸东莨菪碱的检测方法, 中国药业, 2010, 19(14): 51-53
28. 雷琪, 王莉艳, 田蜜, 布洛芬的临床应用进展, 家庭医药(医药论坛), 2010,2(9):673-674
29. 张玉洁, 罗永煌, 戈振凯等, 布洛芬复方制剂的研究概况, 中国卫生产业, 2011, 8(8): 5-6
30. 刘晓哲, 闻京伟, 液质联用检测中成药中添加的双氯酚酸钠和布洛芬, 药物分析杂志, 2011, 31(04): 169-172
31. 张西如, 姜建国, 液相色谱-质谱联用法检测药品非法添加布洛芬, 中国实用医药, 2008 3(18): 69-70

32. 洪美华, 陈伟军, 蔡诗填等, 中成药、保健食品中非法添加氟喹诺酮类抗生索的研究概况与对策, 中国医药指南, 2010, 8(30): 218-219
33. 洪美华, 陈伟军, 陈志强等, 保健食品中非法添加诺氟沙星的快速检测方法研究, 中国现代药物应用, 2010, 4(11): 10-11
34. 李维忠, 张勤, 速效止泻胶囊中非法添加诺氟沙星的快检方法, 中国药师, 2010, 13(03): 124-125
35. 刘青、薛国庆、韩玉琦等, FAAS 法测定栽培柴胡中金属元素 Ca Mg Fe Cu Zn Pb 的含量, 河西学院学报, 2005, 21 (5): 50-52
36. 殷晶玉, 刘珍叶, 高志均等, 微波消解-FAAS 法测定元胡中的镁, 广东微量元素科学, 2009, 16 (7): 30-33
37. 王兆华, 张大军, 杜桂芝等, 延胡索及水煎液中 14 种无机元素的测定, 广东微量元素科学, 1998, 5 (11): 34-35
38. 徐润生, 毛程鹏, 虞锐鹏等, 微波消解 ICP-AES 法测定不同生长年限白芍的微量元素, 光谱学与光谱分析, 2008, 28 (3): 671-674
39. 金保亮, 李飞, 阎汝南, 香附炮制前后微量元素的对比, 微量元素与健康研究, 1998, 15 (3): 47-48
40. 阎汝南, 李飞, 蔡丹昭等, 枳壳炮制前后微量元素的测定, 广东微量元素科学, 1994, 1 (5): 50-51
41. 曹红翠、吴启勋, 中药甘草中微量元素的主成分分析和系统聚类分析, 甘肃联合大学学报(自然科学版), 2010, 24 (2): 61-63
42. 王兆华, 张大军, 杜桂芝等, 延胡索及水煎液中 14 种无机元素的测定, 广东微量元素科学, 1998, 5 (11): 34-35
43. 饶伟文、蒋玲、赵纯玉等 几种染色掺假中药的化工染料鉴定, 药物分析杂志, 2007, 27(11): 1742 [01]
44. 肖聪, 饶伟文, 钟名诚, 染色延胡索中金胺 O 的检测方法研究[J], 中国药师, 2010 13(09): 17-20
45. 石思佳, 宋桂英, 张继, 中药饮片的染色鉴别, 北京中医药, 2011, 30 (09): 60-61
46. 蒋玲, 饶伟文, 中药染色掺假的研究进展, 首都医药, 2011, 18(16): 18-20
47. 马长宏, 单作刚, 齐家炜等, 中药染色掺假的研究进展, 亚太传统医药, 2011, 7(02): 159-160
48. Draft WHO Guidelines for assessing safety and quality of herbal medicines with

- reference to contaminants and residues. WHO/EDM/TRM, 2003, 11
49. 金红宇, 戴博, 田金改等, 中药中外源性有害残留物的控制, 中国药事, 2007, 21(12): 69-74
50. 许韞, 李积胜, 汞对人体健康的影响及其防治[J], 国外医学卫生学分册, 2005, 32 (5): 278
51. Martin Rose, Michael Knaggs, Linda Owen and Malcolm Baxter, A review of analytical methods for lead, cadmium, mercury, arsenic and tin determination used in proficiency testing, J. Anal. At. Spectrom., 2001, 16, 1101–1106

文献综述

气滞胃痛颗粒的研究进展

气滞胃痛颗粒由柴胡、炙延胡索、枳壳、炙香附、白芍、炙甘草六味药制成。具有舒肝理气，和胃止痛的作用，用于肝郁气滞，胸痞胀满，胃脘疼痛。

本组方是以四逆散为主方，添加香附和炙延胡索而成。四逆散是东汉末年中医经典临床著作《伤寒论》中的经典方，由柴胡、枳实、芍药、炙甘草四味药组成。方中柴胡入肝胆经，升发阳气，疏肝解郁，透邪外出为君药。白芍敛阴养血柔肝为臣，与柴胡合用，以敛阴和阳，条达肝气，可使柴胡升散而无耗伤阴血之弊。佐以枳实理气解郁，泄热破结，与柴胡为伍，一升一降，加强舒畅气机之功，并奏升清降浊之效；与白芍相配，又能理气和血，使气血调和。使以甘草，调和诸药，益脾和中。综合四药，主治阳郁厥逆证和肝脾气郁证。常用于治疗慢性肝炎、胆囊炎、胆石症、胆道蛔虫症、肋间神经痛、胃溃疡、胃炎、胃肠神经官能症、附件炎、输卵管阻塞、急性乳腺炎等属肝胆气郁，肝脾（或胆胃）不和等症^[1]。

气滞胃痛颗粒则是在四逆散基础上添加疏肝解郁、理气宽中的香附和活血、行气、止痛的炙延胡索，结合现代研究成果和 30 多位中医专家多年的临床经验协定而成。以病为单元，以证为基础，将口感极差的中药汤剂制成剂量小、口感佳、使用方便又能辨证用药的现代化药品。1983 年 8 月确定了处方，同年 10 月开始研究，1984 年 11 月通过国家级鉴定，获得批文。成为辽宁本溪三药有限公司的独家品种。该品种在 1984 年获得有糖型批文，为辽卫药准字（84）-1457-65 号，规格为 10g/袋；1994 年增加减糖型规格，批文为辽卫药准字（94）-1457-65 号，规格为 5g/袋；1998 年换发文号 ZZ-5024-辽卫药准字（1998）-65 号，规格为 5g/袋；2002 年申请注册批准文号 Z21021522，规格为 5g/袋；2004 年 2 月获得注册批准文号 Z21021522，并增加无糖型，规格为 2.5g/袋。该品种先后获得国家级新药，全国中医院急诊室必备中成药等荣誉称号，并获得辽宁省科技进步奖多项。现对这一品种近年来的研究进展做一总结归纳。

一、现行法定标准情况

气滞胃痛颗粒（有糖型）原收载于卫生部部颁标准中药成方制剂第 16 册^[2]

(WS3-B-3040-98), 现收载于《中国药典》2010 年版一部^[2], 规格为 5g/袋。所收载项目为性状、装量差异、水分、粒度、溶化性、芍药苷鉴别、延胡索乙素鉴别和芍药苷含量测定。气滞胃痛颗粒(无糖型)为国家食品药品监督管理局标准 YBZ01602004, 规格为 2.5g/袋。所收载项目比有糖型多了一项化学反应鉴别。两剂型主要区别是无糖型中挥发油用 β -环糊精包合后再合并制粒。

二、气滞胃痛颗粒中的药材研究情况

气滞胃痛颗粒的处方由柴胡、炙延胡索、枳壳、炙香附、白芍、炙甘草六味药组成。现将这六味药的来源、功效、化学成分、药理作用、制剂中与药材有关的有效成分的定量研究做一小结如下:

柴胡为方中君药, 为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd. 的干燥根。按性状不同, 分别习称北柴胡及南柴胡。中医学认为: 柴胡性味苦、微寒, 归肝胆经, 有疏散退热、疏肝解郁、升阳举气之功效, 用于治疗寒热往来, 胸满胁痛, 口苦耳聋, 头痛目眩等。具有和解表里, 疏肝, 升阳的作用。柴胡根中主要成份为柴胡皂苷, 其次含有植物甾醇、侧金盏花醇, 以及少量挥发油、多糖; 地上部分主要含黄酮类、少量皂苷类、木脂素类、香豆素类等成分^[3]。其主要有效成分为挥发油及柴胡皂苷, 其中柴胡皂苷 a、d 活性较强^[4]。文献报道柴胡皂苷对兔和小鼠模型具有抗内毒素和解热作用, 对小鼠具有抗炎作用; 柴胡总皂苷对小鼠腹腔注射醋酸引起的扭体反应具有明显的镇痛作用^[5]。另有研究发现, 柴胡能明显促进正常猫胃肠电兴奋, 使胃肠电慢波幅度增大、周期缩短, 从而促进胃肠推进功能^[6]。这些药理作用都与气滞胃痛颗粒舒肝理气, 和胃止痛的功效相符。易润青等^[7]利用毛细管电泳法测定气滞胃痛颗粒中柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的含量, 以对硝基苯甲酸为内标; 测得三批气滞胃痛颗粒中柴胡皂苷 a 的含量分别为 $0.638\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.542\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.578\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 柴胡皂苷 d 的含量分别为 $0.587\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.391\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.312\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。结果显示含量较低, 且批间差异较大。

白芍为毛茛科植物白芍 *Paeonia lactiflora* Pall 的去皮干燥根。性微寒, 味苦酸。具平肝止痛、养血调经、敛阴止汗之功效。用于头痛眩晕、胁痛、腹痛、四肢挛痛, 血虚萎黄, 月经不调, 自汗, 盗汗。白芍含有单萜及其苷类化合物、三萜类化合物、黄酮类、鞣质类化合物和多糖^[8-9]。其主要有效成分芍药苷为一种单萜类糖苷化合物, 具有多种生物活性, 对心血管、中枢神经系统免疫、以及平滑肌等方面均有肯定的药理作用。具有抗自由基损伤, 抑制细胞内钙超载和抗神经毒性等活性, 体内实验证明其有降低血液黏度、抗血小板聚集、扩张血管、改善微循环、抗氧化、抗惊厥等多种

生物学效应,并且毒副作用较小^[10]。吴赛伟等^[11]采用变波长检测法(0~15 min 检测波长为 230 nm, 15~20 min 为 284 nm, 20~35 min 为 254 nm),对 4 种成分在最大紫外吸收波长下进行含量测定,在 0~15 min 色谱图处选用检测波长为 230 nm 测定芍药苷和白芍药苷的含量。测定 3 个不同批号的气滞胃痛颗粒样品,按外标法计算含量,芍药苷分别为 0.344%, 0.325%, 0.485%, 白芍药苷分别为 0.225%, 0.256%, 0.322%。此结果与本课题中运用 HPLC-DAD 检测得到的芍药苷、白芍药苷结果基本一致。

枳壳为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 及其栽培变种的干燥未成熟果实。具有理气宽中,行滞消胀之功效。枳壳药材所含成分较为复杂,主要含有挥发油、生物碱、黄酮及香豆素等成分。枳壳生物碱类成分如辛弗林和 N-甲基酪胺,具有升压和抗休克作用。黄酮类成分主要为柚皮苷(naringin)、新橙皮苷(neobhesperidin),另有少量的橙皮苷(hesperidin)、川陈皮素(nobiletin)等。柚皮苷对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、痢疾和伤寒杆菌具有抗菌作用,对水疱性口炎病毒有很强的抑制作用;也能抑制醛糖还原酶作用,此种作用可能治疗糖尿病、白内障有作用^[12]。橙皮苷对口腔癌具有一定的预防作用^[13],还能治疗胸膜炎^[14]。新橙皮苷具有抑制毛细血管脆性、对损伤所致紫斑具有康复作用^[15]。另外新橙皮苷经氢化后形成新橙皮苷二氢查耳酮,是一种特殊的甜味剂,其甜度是蔗糖的 1000 倍,据报道也是一种前景广阔的新型药用赋型剂。吴赛伟等^[11]采用变波长检测法对 4 种成分在最大紫外吸收波长下进行含量测定,在 15~20 min 色谱图处选用检测波长为 284 nm 测定柚皮苷的含量。测定 3 个不同批号的气滞胃痛颗粒样品,结果分别为 0.326%, 0.259%, 0.218%。此结果与本课题中运用 HPLC-DAD 检测得到的柚皮苷结果基本一致。刘思曼等^[16]建立了反相高效液相色谱法测定气滞胃痛颗粒中柚皮苷和橙皮苷的方法,结果 3 个不同批号的气滞胃痛颗粒样品,按外标法计算含量,柚皮苷分别为 0.82, 0.80, 0.81mg.g⁻¹, 橙皮苷分别为 0.17, 0.17, 0.16 mg.g⁻¹。

甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎。味甘,性平,归心、肺、脾、胃经。具有补脾益气,清热解毒,祛痰止咳,调和诸药之功效。甘草中共分离得到 300 多种黄酮类混合物,20 余种三萜皂苷类化合物及多糖成分。现代药理研究表明,甘草具有保肝、抗炎、抗菌、抗病毒、镇咳、抗疟,抗氧化、抗癌、免疫调解、降糖和抗血小板凝集等多种活性。除作为传统药材和现代医药原料外,甘草作为矫味剂添加到糖果、饮料、香烟中,作为美白剂添加到化妆品中,作为表面活性剂以促进难吸收药物的吸收^[17]。甘草含三萜皂苷类化合物,如甘草酸、甘草次酸;黄酮类化合物,如甘草素,甘草素是甘草中含量较高的黄酮类成分之一,为甘草苷的苷元。甘草酸是一

个最重要的甘草甜素类化合物,有显著的肾上腺皮质激素样作用,可用于人体抗衰老、抗炎、降压、增强肌体免疫力、提高生理机能、抑制癌细胞生长等^[18]。最初甘草的所有药理作用都归因于甘草三萜皂苷类成分。现已证实甘草抗溃疡的作用来源于甘草黄酮^[19]。甘草黄酮还具有抗氧化、抗炎、抗菌、保肝、激素样作用、降糖、降脂、抗癌、解痉、抗抑郁等诸多药理作用。吴赛伟等^[11]采用变波长检测法,对4种成分在最大紫外吸收波长下进行含量测定,在20~35 min 色谱图处选用检测波长为254 nm 测定甘草酸的含量。测定3个不同批号的气滞胃痛颗粒样品,按外标法计算含量,甘草酸分别为0.0882%, 0.0896%, 0.0791%。张国刚等^[20]应用高效液相色谱法测定气滞胃痛冲剂中甘草次酸的含量,结果显示制剂中含甘草次酸的平均值为0.232 mg·g⁻¹。

制剂中在四逆散基础上添加了具有活血散瘀、理气止痛之功效的延胡索以增强其止痛的疗效。延胡索作为止痛要药,被誉为中药中的“吗啡”。延胡索为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的干燥块茎。其主要成分为异喹啉型生物碱,主要为叔胺、季胺类生物碱。叔胺类生物碱在原药材中的量约为0.65%,几乎不溶或难溶于水;季胺类生物碱约为0.3%,较易溶于水,延胡索甲素、乙素均是此类^[21]。到目前为止,从延胡索中分离出并经过结构鉴定的已有40多种,其类型又分别属于原小檗碱类、阿朴菲类、原阿片碱类、异喹啉苄咪唑类、异喹啉苯并菲啶类、双苄基异喹琳类等,其中以原小檗碱类为多^[22]。除生物碱外,延胡索中尚含有大量淀粉,少量黏液质、树脂、挥发油,另含无机微量元素。还含有多糖^[23]、豆甾醇、谷甾醇等。延胡索还含有Fe、Zn、Mn等14种人体必需的元素,这些无机元素与其活血、理气、止痛的作用可能有一定的联系。现代药理研究证实延胡索具有镇痛、镇静催眠、抗溃疡、抑制胃液分泌、抗菌消炎、抗肿瘤的作用。延胡索主要药效物质基础是延胡索总碱,其中以延胡索乙素作用最强。醋延胡索及净制延胡索均具有良好的抗炎镇痛作用。但在镇痛作用方面经过炮制的醋炙延胡索要显著优于净制延胡索^[24]。这可能与经醋炙后,延胡索中的生物碱与醋酸结合成易溶于水的醋酸盐易于溶出有关。因此气滞胃痛颗粒中的延胡索使用前经醋制,炮制后延胡索乙素的含量明显高于炮制前,更有利于发挥引药入肝,疏肝止痛的作用^[25]。文献显示,测定延胡索乙素含量的方法由早期的薄层扫描法已经逐渐被更为准确、简便的高效液相色谱法替代。李健等采用Kromasil C18 色谱柱,乙腈-水(40:60,磷酸调pH6.2)为流动相,结果延胡索乙素在2.68~100.50 μg·ml⁻¹与峰面积的线性关系良好($r=0.9999$),平均加样回收率为98.90%,RSD=2.48%。3批气滞胃痛颗粒样品中每袋的延胡索乙素含量分别为119.32、119.79、120.69 mg^[26]。田金苗等^[27]则采用迪马C18 色谱柱,甲醇-0.17%磷酸溶液(每1000mL

0.7%磷酸溶液加入 1.8mL 三乙胺) (26 : 74)为流动相, 检测波长 280nm。结果延胡索乙素在 0.0506~1.2156 μ g 之间线性关系良好, $r=0.9999$, 回收率为 98.55%, RSD 为 1.09% ($n=6$)。3 批气滞胃痛胶囊样品中每粒的延胡索乙素含量分别为 26.2, 25.5, 26.0 μ g。

香附也是在四逆散基础上添加入气滞胃痛颗粒处方中的药材。香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L. 的干燥根茎。味辛、微苦、微甘, 平, 归肝、三焦经。具行气解郁、调经止痛之功效。可以治疗痛经, 月经不调等症。香附与其他草药合用可以治疗腹痛和肠道疾病^[28]。香附根茎主要成分是挥发油, 其中倍半萜类化合物占 70%, 如酮类倍半萜 (α -香附酮) 和广霍香烷倍半萜(莎草烯)。香附中还含有少量的氧化的单萜类(10%)和单萜类化合物(5%), 如蒽烷型衍生物、莰烷型衍生物(冬青油烯)^[29]。另外还含有大黄素甲醚、十六烷酸、 β -谷甾醇、豆甾醇、Catenarin、胡萝卜苷等化合物^[30]。现代药理研究证实香附具有镇静、保护胃粘膜作用, 可促进离体脂肪组织的分解, 降低血脂, 降低血糖, 抗菌消炎, 抗痢疾作用, 抗氧化和细胞凋亡作用, 抗诱变活性等功效^[29]。课题中笔者对气滞胃痛颗粒中的香附进行了定性鉴别, 采用香附及其挥发油的有效成分 α -香附酮作为对照, 检测制剂中是否存在香附药材, 结果显示 27 批气滞胃痛颗粒均能检出香附^[31]。

三、气滞胃痛颗粒中的药理研究情况

1. 镇痛和解痉作用

根据气滞胃痛颗粒舒肝理气, 和胃止痛的作用, 临床上主要用于治疗慢性胃炎和胃溃疡导致的病理性疼痛, 疗效确切。韩凌等^[32]以醋酸所致小鼠扭体反应为疼痛指标, 观察其镇痛作用, 结果气滞胃痛颗粒高、中、低剂量组小鼠的扭体次数显著减少 ($P < 0.01$), 表明气滞胃痛颗粒具有明显的镇痛和解痉作用。李晏等^[33]以醋酸所致小鼠扭体反应为疼痛指标, 观察气滞胃痛颗粒的镇痛作用。结果显示低、中、高剂量组(1.25 g/kg、2.50 g/kg、5.00 g/kg)可以显著减少醋酸引起的小鼠扭体次数。姚东等^[34]采用醋酸扭体法和甲醛致痛法, 观察气滞胃痛颗粒的镇痛效果; 结果显示气滞胃痛颗粒可以显著抑制醋酸引起的小鼠扭体反应, 并显著抑制甲醛引起的大鼠疼痛反应。采用酶联免疫法, 测定甲醛致痛大鼠血清中环磷酸腺苷(CAMP) 和前列腺素 E2(PGE₂) 的浓度; 采用紫外分光光度法, 测定大鼠炎足中的 PGE₂ 含量。结果显示气滞胃痛颗粒可以显著提高甲醛致痛大鼠血清中 CAMP 浓度, 同时显著降低血清中 PGE₂, 并显著降低大鼠炎足中的 PGE₂ 含量。说明气滞胃痛颗粒具有明显的镇痛作用^[33]。由此证明气滞胃痛颗粒具有镇痛作用。

2. 抗炎作用

韩凌等^[32]以小鼠耳二甲苯致炎模型考察气滞胃痛颗粒抗急性炎症作用。气滞胃痛颗粒在 0.975、1.95、3.9 g·kg⁻¹ 剂量下给药可抑制小鼠扭体反应及二甲苯致小鼠耳肿胀。提示气滞胃痛颗粒具有明显的抗炎作用，对炎症早期的渗出和水肿具有抑制作用。

3. 促进胃肠运动作用

王彦云^[35]等应用在体肠运动实验表明，该药对肠的蠕动次数无明显影响，但能使蠕动波幅明显增大，说明该药在不增加肠蠕动次数的情况下可明显增加肠蠕动的强度。由此表明，该药在胃肠功能亢进时可调节其功能，以达到解痉镇痛之功效。韩凌等^[32]以大鼠的离体胃、肠平滑肌条为模型，考察在正常克氏液条件下加入气滞胃痛颗粒后大鼠胃、肠平滑肌条收缩状况；结果：气滞胃痛颗粒在 20~160 mg·mL⁻¹ 浓度范围内能显著促进大鼠胃、肠平滑肌条的运动，200~280 mg·mL⁻¹ 浓度范围内可抑制大鼠胃、肠平滑肌条的运动。表明气滞胃痛颗粒对大鼠胃、肠平滑肌条的收缩具有双向调节作用。

李晏等^[33]以胃肠内标记物葡聚糖蓝-2000 在小鼠胃内色素残留及小肠内推进比为指标，观察气滞胃痛颗粒对小鼠胃排空及肠推进的影响；结果显示气滞胃痛颗粒低、中、高剂量组(1.25 g/kg、2.50 g/kg、5.00 g/kg)可以改善阿托品和多巴胺引起的小鼠胃排空障碍、以及小肠推进抑制作用；对吗啡引起的小鼠胃排空障碍和小肠推进抑制作用无显著影响；中、高剂量组可以促进正常小鼠胃排空，高剂量促进小肠推进。可见气滞胃痛颗粒具有促进小鼠胃肠动力作用。刁云鹏等^[36]以大鼠的离体肠平滑肌条为模型，考察加入气滞胃痛颗粒对大鼠肠平滑肌条收缩状况。通过给予多巴胺制作胃肠运动抑制模型，采用营养性半固体糊加活性炭法测定正常及胃肠功能抑制小鼠的胃内容物残留率和小肠推进比。结果在 20~160 mg/mL 浓度范围内气滞胃痛颗粒显著促进大鼠肠平滑肌条的运动。气滞胃痛颗粒(3.90 g / kg) 可促进正常小鼠的胃排空和小肠推进，气滞胃痛颗粒低、中、高剂量组(0.975、1.95、3.90 g/kg) 可以改善多巴胺引起的小鼠胃排空障碍以及小肠推进抑制作用。说明气滞胃痛颗粒对大鼠肠平滑肌条的收缩具有促进作用，气滞胃痛颗粒具有促进小鼠胃肠动力作用。

由于气滞胃痛颗粒具有促进胃肠运动作用，因此该制剂对消化不良也有改善作用。许丹^[37]对除器质性疾病外引起的功能性消化不良进行了研究，采用夹尾刺激法制作动物模型的研究方法，观察气滞胃痛颗粒对功能性消化不良大鼠食量、体重等指标的影响，采用酶联免疫吸附测定法检测血浆胃动素、血清胃泌素含量变化。结果显示气滞胃痛颗粒可增加功能性消化不良大鼠食量及体重，提高其血浆胃动素、血清胃泌素含量，从而改善大鼠消化不良的症状。

4. 抗胃溃疡的作用

王彦云^[35]等对气滞胃痛颗粒对大鼠幽门结扎型溃疡的作用进行实验,按 Okabe 和 Adimi 改良法评定溃疡指数,结果气滞胃痛颗粒有抗溃疡,抑制胃液分泌,降低胃酸及胃蛋白酶活性的作用。温小萍等^[38]通过建立动物模型考察气滞胃痛颗粒对胃溃疡的治疗作用,结果气滞胃痛颗粒的低、中、高 3 个剂量组均能明显减轻胃溃疡大鼠胃黏膜损伤的程度,且能明显降低幽门结扎型胃溃疡大鼠的胃蛋白酶活性和胃液量。试验证明气滞胃痛颗粒能明显保护实验性胃溃疡,并显著抑制溃疡的发生。文献也有报道气滞胃痛颗粒与胃苏颗粒合用,可以减少溃疡面积,减轻溃疡程度,促进溃疡愈合^[39]。由此可见,气滞胃痛颗粒对胃溃疡的疗效或辅助疗效是肯定的。

四、讨论

作为一种有着三十多年临床使用经验的国家基本药物,气滞胃痛颗粒以其合理的配伍,明确的疗效,赢得了广大患者的赞许。该制剂对于肝胃不和、脾胃气虚、胃阴不足引起的胃脘胀痛,有明确的疗效^[40]。本文从制剂的历史沿革开始,分析了该制剂的来源,包括四逆散的基本情况。对制剂处方的变更情况,质量标准的变更情况、收载项目内容进行了分类总结归纳。对方中的六味药材进行了化学成分,药效学小结。证明了每一味药都与制剂的功效息息相关。方中君药柴胡具有抗胆碱酯酶的作用,能促进小肠的推进运动,增强乙酰胆碱对回肠的收缩作用并能明显增强胃肠道的收缩作用。白芍主要含芍药甙、芍药内酯甙,对大鼠胃肠平滑肌呈抑制作用,抑制胃酸分泌。枳壳能明显促进小鼠胃肠推进作用,增加推进率,促进胃肠蠕动;延胡索中含有去氢紫堇碱能降低实验性动物胃酸及胃蛋白酶的含量、减少胃液分泌;香附具有抑制胃肠道平滑肌过度收缩。甘草中的有效成分能抑制胃酸分泌,缓解胃肠平滑肌痉挛[许丹、于红刚]。将这六味药进行合理配伍,就体现了镇痛,促进胃肠运动,抗消化性溃疡的药理作用,达到了气滞胃痛颗粒舒肝理气,和胃止痛的疗效。以上说明气滞胃痛颗粒的组方合理,功效明确。

通过分析上述气滞胃痛颗粒的研究情况,我们觉得还有以下问题值得进一步研究探讨:1. 治疗气滞胃痛的中西药制剂较多,如何使其合理联合用药,适应临床病症的变化,提高疗效,以及联合用药后是否会引起其他毒副作用,需要在临床使用中继续不断积累总结经验。2. 目前中药制剂的质量控制多以其中某一成分的控制为主,难以体现中医的辨证论治的整体观念,加强多味药物的联合控制是以后需要考虑的方向。在课题中,已经采用了 HPLC-DAD 法一次测定制剂中三味药材的有效成分的含量。在接下来的研究中,是否可以采用一测多评等方法进一步控制更多的药味,使质量标

准控制面广，并且经济简单有效。3.制剂中有三味药材是经过炮制入药的，特别是延胡索，醋制可以增强疗效，企业应严格遵守炮制规范，保证制剂的疗效。4. 近年来中药材市场染色、增重、以次充好的现象时有发生，这就要求企业在药材方面一定要严格控制，从源头抓起，才能保证制剂的安全有效。作为药品质量控制部门，我们应发掘出更多更简便、实用、有效的检测方法，以严格控制药材质量。5. 制剂工艺中挥发油部分仅有无糖型进行了环糊精包埋，应进一步研究包埋前后挥发油的改变情况，探讨这一步骤对制剂疗效有无影响。6. 该制剂是治疗胃肠道的疾病的药物，在保证疗效的前提下，是否能做成缓释剂型，以减少药物本身对胃肠道的刺激，延缓药物在体内的释放、吸收、分布、代谢和排泄过程，以达到延长药物作用，并达到与颗粒剂同样的治疗效果。

参考文献

1. 畅洪昇, 王庆国, 梁吉春, 《伤寒论》四逆散证治及组方研究, 北京中医药大学学报, 2004, 27 (5): 3-6
2. 国家药典委员会, 中华人民共和国药典, 一部[S]: 北京: 化学工业出版社
3. 刘永春, 丛培臣, 柴胡的化学成分及药理作用研究概况[J], 黑龙江医药, 2006, 19 (3): 216-218
4. 赵玉英, 梁鸿, 谭利, 等, 柴胡等四种柴胡属植物化学成分及生物活性[J].医学研究通讯, 2001, 30 (8): 23-24
5. 叶晓平, 宋纯清, 柴胡皂苷药理研究进展[J], 中草药, 2004, 35 (12): 143.
6. 张煌, 治肝药对胃肠道生物电及血流量的影响[J].中国医药学报, 1989, 4 (2): 26.
7. 易润青, 宋粉云, 毛细管电泳法测定气滞胃痛颗粒中柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 的含量, 广东药学院学报, 2011, (27) 6: 596-600
8. 高小荣, 田庚元, 白芍化学成分研究进展, 中国新药杂志, 2006, (15) 6: 416-418
9. 谭菁菁, 赵庆春, 杨琳, 白芍化学成分研究[J], 中草药, 2010, 41 (08): 1245-1247
10. 郑世存, 李晓宇, 欧阳兵, 等, 芍药苷药理作用研究新进展, 中国药物警戒, 2012, 9 (2): 100-103
11. 吴赛伟, 水文波, 葛志伟, 等, RP-HPLC 法测定气滞胃痛颗粒中 4 种成分的含量, 药物分析杂志, 2009, 29 (8): 1301-1304
12. 付小梅, 吴志瑰, 褚小兰等, 枳壳中黄酮类成分的研究, 中药材, 2006 (29) 11: 1187-1188
13. Takuji Tanaka, Hiroki Makita, Masami Ohnishi, et al. Chemoprevention of 4-Nitroquinoline 1-Oxide-induced Oral Carcinogenesis by Dietary Curcumin and Hesperidin: Comparison with the Protective Effect of Carotene[J]. Cancer Research, 1994, 54(1), 4653-4659.
14. Emim JA, Oliveira A B, Lapa A J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and clausquinone, in rats and mice. J Pharm Pharmacol, 1994, 46(2): 118-220.
15. 新华本草纲要·第三卷·上海:上海科技出版社, 1991.

16. 刘思曼, 唐英, 张进, 等, 气滞胃痛颗粒中橙皮苷、柚皮苷含量的测定, 绵阳师范学院学报, 2009, 28 (5): 46-48
17. 高雪岩, 王文全, 魏胜利, 等, 甘草及其活性成分的药理活性研究进展, 中国中药杂志, 2009, 34 (21): 2696-2700
18. 李斌霞, 佟杰, 甘草酸药理作用及机制的研究进展, 数理医药学杂志, 2007, 20 (2): 228-231
19. Zhongcun LH. Study on anti-ulcer constitution from Glycyrrhizauralensis[J]. NatMed, 2003, 57(5), 172-177.
20. 张国刚、徐绥绪、金凤环, 等, 高效液相色谱法测定气滞胃痛冲剂中甘草次酸的含量, 沈阳药科大学学报, 1999, 16 (1): 65-67
21. 贺凯, 高建莉, 等, 延胡索化学成分、药理作用及质量控制研究进展, 中草药, 2007, 38 (12): 1909-1912
22. 鲁春梅, 张春森, 姜立勇, 延胡索化学成分及药理作用研究进展, 中国现代药物应用, 2011, 5 (15): 126-127
23. Tao Y W, Tian G Y. Studies on the physicochemical pro-per-ties, structure and antitumor activity of polysaccharide YhPS-1 from the root ofCorydalis yanhusuoWang [J].Chin JChem(中国化学英文版), 2006, 24(2): 235-239.
24. 丘志春, 陈玉兴, 周瑞玲, 醋制延胡索与净制延胡索抗炎、镇痛作用的对比研究, 现代生物医学进展, 2009, 9 (23): 4518-4521
25. 杨建明, 曹亮, 薛贵平等, 高效液相色谱法测定中药延胡索炮制前后延胡索乙素的含量[J], 河北北方学院学报(医学版), 2010, 27 (6): 13-15
26. 李健, 杨涛, 宋毅, 等, HPLC 测定气滞胃痛颗粒中的延胡索乙素, 华西药学杂志, 2008, 23(3): 375
27. 田金苗, 李晓欣, 张满来, HPLC 法测定气滞胃痛胶囊中延胡索乙素的含量, 中国药事, 2011, 25 (5): 481-485
28. Jatap AG, Shirke SS, Phadke AS. Effect of polyherbal for mulation on experimental models of inflammatory bowel diseases[J].Ethnopharmacol, 2004, 90(2):195-204
29. 曹玫, 张洪, 张晓燕, 等, 香附的药理活性作用研究进展, 药物流行病学杂志, 2010 年, 19 (2): 111-113
30. 吴希, 夏厚林, 黄立华, 香附化学成分研究, 中药材, 2008, 31 (7): 990-992
31. 董媛, 张赟华, 刘莹莹等, 气滞胃痛颗粒质量标准研究, 中国药业, 2011, 20 (23):

24-25

32. 韩凌, 李坤, 潘英, 等, 气滞胃痛颗粒的药效学研究, 中国药房, 2010, 21 (35)
33. 李晏, 陈渊源, 伊佳, 等, 气滞胃痛颗粒促进胃肠运动和镇痛作用研究, 药学实践杂志, 2009, 27 (2): 90-93
34. 姚东, 孟宪生, 潘英, 等, 气滞胃痛颗粒镇痛作用研究及机制初探, 中成药, 2012, 34 (3): 556-558
35. 王彦云, 吴振宇, 郑君, 等, 气滞胃痛冲剂药理学实验研究, 中国中药杂志, 1997, 22 (10)
36. 刁云鹏, 韩凌, 李坤, 等, 气滞胃痛颗粒对胃肠动力作用的影响, 中成药, 2011, 33 (8): 1307-1311
37. 许丹, 于红刚, 气滞胃痛颗粒对功能性消化不良大鼠 MTL、GAS 的影响, 医学理论与实践, 2012, 25 (16): 1938-1939
38. 温小萍, 刁云鹏, 韩凌, 等, 气滞胃痛颗粒抗大鼠实验性胃溃疡作用研究, 时珍国医国药, 2011, 22 (8): 1948-1950
39. 马惠颖, 气滞胃痛颗粒联合用药分析, 中国药师, 2008, 11 (2): 234-23
40. 李晶, 李永昌, 气滞胃痛冲剂为主治疗胃脘痛 642 例, 辽宁中医杂志, 1996, 23 (6): 263

攻读学位期间发表的论文

1. 董媛, 张赞华, 刘莹莹, 等, 气滞胃痛颗粒的质量标准研究, 中国药业, 2011, 20(23): 24-25.
2. 董媛, 李忠琼, 张赞华, 等, 气滞胃痛颗粒的质量分析, 药物分析杂志, 2011, 31(12): 2340-2342.
3. 董媛, 张赞华, 董兆君* (通讯作者) 等, 气滞胃痛颗粒的高效液相特征图谱研究, 中国实验方剂学, 2013, 19(2): 110-113

致 谢

光阴荏苒，硕士研究生的学习即将结束，三年的学习生活使我受益匪浅。经历大半年时间的磨砺，论文终于完稿，回首这一思索、撰写、修改、再撰写、再修改直至最终完成的过程，我得到了许多的帮助和关怀，现在要向他们表达我最诚挚的谢意。

首先，要深深感谢我的导师董兆君教授，董教授为人谦和，平易近人。在论文写作过程中，每当我有疑问，董教授总是会放下繁忙的工作，不厌其烦的指点我。初稿完成后，董教授又在百忙之中抽出空来对我的论文认真的批改，字字句句把关。他严谨的治学态度和精益求精的工作作风将影响和激励我的一生。在此谨向董教授致以最诚挚的谢意和最崇高的敬意！

其次，我要感谢云南省食品药品检验所中药室的张雯洁主任、李忠琼副主任、张赟华副主任，正是因为有了他们严格、无私、高质量的指导，我才能在课题的实验中突破一个个难关，解决一个个疑惑，直至本文顺利完成。同时也要感谢课题完成过程中与我互勉互励的诸位同事，在各位同事的共同努力下，我们始终拥有一个良好的工作环境，使得课题得以顺利进行。

同时感谢我的家人无私的奉献和默默的支持，给予了我极大的鼓励和朴素的帮助！

同时感谢三军大的阎进老师，在整个研究生课程的学习过程中，阎老师始终无微不至的关心关怀着我们每一个同学的每一个进步，谢谢阎老师！

最后，我要衷心感谢参与我论文评审和答辩的各位老师，他们给了我一个审视几年来学习成果的机会，感谢各位老师的一切意见和建议，给了我学习提高的机会！

特别感谢第三军医大学给予了我再次学习的机会，圆了我的硕士研究生梦想！