

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.03.009

板蓝根饮片、板蓝根颗粒中(*R, S*)-告依春的含量测定

王宁莉¹, 周振旗¹, 贾万仓²

(1. 陕西省铜川市食品药品检验检测中心, 陕西 铜川 727031; 2. 陕西省铜川市宜君县人民医院, 陕西 铜川 727200)

摘要:目的 建立测定板蓝根饮片与颗粒中(*R, S*)-告依春含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 采用超声提取进行样品处理,以HPLC法测定指标成分(*R, S*)-告依春的含量。色谱柱采用 Agilent C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),柱温为 35℃,检测波长为 245 nm,流动相为甲醇-水(15:85),流速为 1.0 mL/min。结果 用水作为溶剂超声(功率 250 W,频率 30 kHz)1 h 为提取方法较煎煮法高效、环保;(*R, S*)-告依春质量浓度在 0.003 1~0.043 4 g/L 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 94$);饮片和颗粒中(*R, S*)-告依春平均回收率分别为 98.08% 和 97.86%,RSD 分别为 0.79% 和 0.55% ($n=6$)。结论 该方法易于掌握、准确度高、重复性好,适用于板蓝根饮片、板蓝根颗粒中指标成分(*R, S*)-告依春的含量测定。

关键词:板蓝根;高效液相色谱法;(*R, S*)-告依春;含量测定

中图分类号:R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)03-0030-03

Content Determination of (*R, S*)-Epigotrin in Banangen Granules and *Radix Isatidis*

Wang Ningli¹, Zhou Zhenqi¹, Jia Wancang²

(1. Tongchuan Food and Drug Inspection and Testing Center, Tongchuan, Shaanxi, China 727031; 2. Yijun County People's Hospital, Tongchuan, Shaanxi, China 727200)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for content determination of (*R, S*)-epigotrin in Banangen Granules and *Radix isatidis*. **Methods** The sample was processed by ultrasonic extraction, the content of (*R, S*)-epigotrin was determined by HPLC method. Agilent C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was adopted, the column temperature was 35℃, the detection wavelength was 245 nm, the mobile phase was methanol-water(15:85), and the flow rate was 1.0 mL/min. **Results** Ultrasonic extraction method by using water as solvent to extract in 1 h (power 250 W, frequency 30 kHz) was more environment-friendly and high efficient than the method of decoction extraction, and (*R, S*)-epigotrin had good linear relationship in the range of 0.003 1~0.043 4 g/L($r=0.999\ 94$). The average recovery rates of (*R, S*)-epigotrin in Banangen Granules and *Radix isatidis* were 98.08% and 97.86%, and RSDs were 0.79% and 0.55% ($n=6$). **Conclusion** The method is easy to grasp, it has high accuracy and good reproducibility, which is suitable for the content determination of (*R, S*)-epigotrin in Banangen Granules and *Radix isatidis*.

Key words: *Radix isatidis*; HPLC; (*R, S*)-epigotrin; content determination

板蓝根,又名靛青根、蓝靛根、大青根,十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根^[1],性寒,味先微甜后苦涩,具有清热解毒、预防感冒、利咽之功效,主要用于温毒发斑、舌绛紫暗、烂喉丹痧等。药理研究表明,板蓝根饮片的功效主要为抗病毒、抗炎、抗菌、抗氧化和免疫调节等^[2-10]。板蓝根颗粒的唯一组方是板蓝根,其功效主要为清热解毒、凉血利咽、消肿,用于由肺胃热盛所引起的咽喉肿痛、腮部肿胀及口咽干燥^[1],收载于 2015 年版《中国药典(一部)》。相较于饮片,其标准中仅对其进行薄层色谱鉴别,而无指标成分的含量测定,质控标准较单一,制剂质量难以保证。其指标成分(*R, S*)-告依春含量测定见 2015 年版《中国药典(一部)》。参考文献[11-20],本研究中优化了测定板蓝根饮片和板蓝根颗粒中指征成分(*R, S*)-告依春含量的高效液相色谱(HPLC)法,简单易行,准确度高。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-2030 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); LC-2030UV 型检测器(日本岛津公司);MS-105 型电

子天平(感量 0.000 01 g,梅特勒-托利多公司)。

1.2 试剂

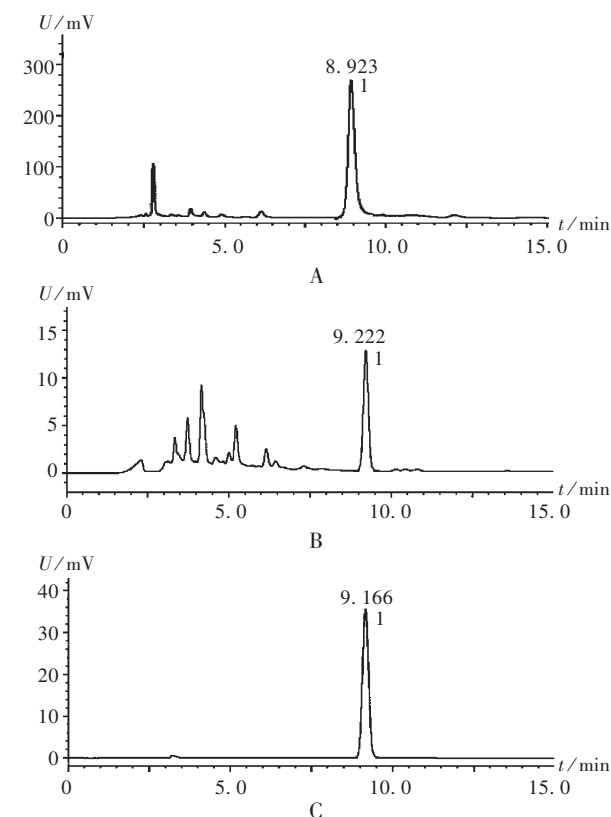
(*R, S*)-告依春标准品(中国食品药品检定研究院,批号为 111753-201506,含量以 99.9% 计);甲醇为色谱纯,水为纯化水。板蓝根饮片(以下简称饮片)为自购样品,经铜川市食品药品检验检测中心检定合格;板蓝根颗粒(以下简称颗粒,葵花药业有限公司,批号为 170426;云南维和药业股份有限公司,批号为 1610053;吉林吉春制药有限公司,批号为 161201;甘肃众友药业制药有限公司,批号为 161026;修正药业集团有限公司,批号为 150426;山西万辉制药有限公司,批号为 170313)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Agilent C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以十八烷基硅胶键合硅胶为填充剂;柱温:35℃;检测波长:245 nm;流动相:甲醇-水(15:85)^[3];流速:1.0 mL/min。理论板数按(*R, S*)-告依春峰计算应不低于 6 000。色谱图见图 1。

第一作者:王宁莉,女,大学本科,主要从事中药饮片及中成药的质量检验工作,(电话)0919-3192835(电子信箱)250538501@qq.com。



1. (R,S)-告依春
A. 供试品溶液 1 B. 供试品溶液 2 C. 对照品溶液
图 1 高效液相色谱图

2.2 溶液制备

取(R,S)-告依春对照品 0.012 40 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入甲醇 100 mL,制得质量浓度为 0.124 0 g/L 的(R,S)-告依春标准品溶液,作为对照品贮备液。取饮片检品,粉碎,粉末过 4 号筛,精密称取 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入水 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 30 kHz)提取 1 h,放至室温,称定质量,用水补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,得供试品溶液 1。取颗粒粉末,研细,称取样品 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入水 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 30 kHz)提取 1 h,放至室温,称定质量,用水补足减失的质量,摇匀,过滤,取续滤液,得供试品溶液 2。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密吸取标准品贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL, 分别置 20 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度定容,分别制成质量浓度为 0.003 1, 0.006 2, 0.012 4, 0.018 6, 0.024 8, 0.031 0, 0.037 2, 0.043 4 g/L 的溶液,摇匀,过滤,取续滤液,精密吸取 10 μ L,测定。以进样量为纵坐标(Y)、峰面积为横坐标(X)进行线性回归,得回归方程 $Y = 3.3 \times 10^{-4} X + 1.68$, $r = 0.999\ 94$ ($n = 8$)。结果表明,(R,S)-告依春质量浓度在 0.003 1~0.043 4 g/L 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:取一定浓度的对照品溶液,精密吸取 10 μ L,连续进样 6 次。结果峰面积分别为 1 820 191, 1 843 843, 1 836 956, 1 865 214, 1 844 302, 1 855 412, RSD 为 0.8% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液 1,于 1,3,5,8,12,16,21,24 h 时进样。结果峰面积分别为 632 901, 632 570, 631 856, 626 051, 624 612, 612 999, 613 953, 617 411, 平均值为 624 044, RSD 为 0.5% ($n = 8$),表明供试品溶液 1 在 24 h 内稳定性良好。取同一供试品溶液 2,分别于 1,3,5,8,12,16,21,24 h 时进样。结果峰面积分别为 283 796, 284 044, 274 484, 278 936, 288 318, 279 460, 278 506, 279 651, 平均值为 280 899, RSD 为 1.5% ($n = 8$),表明供试品溶液 2 在 24 h 内稳定性良好。

重复性试验:按供试品溶液的制备方法,对同一厂家饮片检品和同一厂家同一批次颗粒检品处理 6 份平行检品,分别进行测定。结果(R,S)-告依春平均含量分别为 0.620 1 mg/g 和 0.098 4 mg/g, RSD 分别为 0.9% 和 1.0% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取含量为 0.620 1 mg/g 的饮片检品共 6 份,各 0.5 g,精密称定,加入 2 mL 质量浓度为 0.124 0 g/L 的(R,S)-告依春标准品溶液,依法制备供试品溶液,进样测定,计算含量。结果见表 1。取含量为 0.098 4 mg/g 的颗粒检品共 6 份,各 2 g,精密称定,分别精密加入 1.5 mL 质量浓度为 0.124 0 g/L 的(R,S)-告依春标准品溶液,依法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果见表 1。

表 1 (R,S)-告依春加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.500 8	2.015 6	0.310 5	0.198 3	0.248 0	0.186 0	0.550 8	0.381 3	96.90	98.39	98.08	97.86	0.79	0.55
0.501 3	2.008 9	0.310 9	0.197 7	0.248 0	0.186 0	0.554 6	0.378 9	98.27	97.42				
0.500 4	2.002 3	0.310 3	0.197 0	0.248 0	0.186 0	0.552 4	0.379 6	97.62	98.17				
0.501 2	2.001 4	0.311 4	0.196 9	0.248 0	0.186 0	0.556 6	0.379 1	98.87	97.96				
0.500 9	2.011 8	0.310 6	0.198 0	0.248 0	0.186 0	0.555 9	0.380 7	98.91	98.23				
0.501 7	2.008 6	0.311 1	0.197 6	0.248 0	0.186 0	0.553 9	0.378 0	97.90	96.99				

注:A 为饮片,B 为颗粒。

2.4 样品含量测定

取饮片待测样品 12 批次,按照 2.2 项下方法制备样品溶液,进样测定,计算含量。结果见表 2。取 6 个厂家 6 批次待测颗粒样品,依法制备供试品溶液,进样测定,计算含量。结果见表 3。

表 2 饮片样品中 (R, S) - 告依春含量测定结果 (mg/g)

编号	产地	(R, S) - 告依春	编号	产地	(R, S) - 告依春
1	甘肃	0.534 6	7	甘肃	0.501 6
2	甘肃	0.620 1	8	陕西	0.802 5
3	陕西	0.670 1	9	不详	0.913 6
4	安徽	0.639 4	10	河南	0.493 1
5	陕西	0.632 0	11	陕西	0.764 9
6	河北	0.991 5	12	甘肃	0.946 8

表 3 颗粒样品中 (R, S) - 告依春含量测定结果 (mg/g)

编号	生产厂家	批号	(R, S) - 告依春
1	葵花药业有限公司	170426	0.054 4
2	云南维和药业股份有限公司	1610053	0.067 1
3	吉林吉春制药有限公司	161201	0.048 2
4	甘肃众友药业制药有限公司	161026	0.166 6
5	修正药业集团有限公司	150426	0.086 8
6	山西万辉制药有限公司	170313	0.098 4

3 讨论

3.1 样品处理

2015 年版《中国药典(一部)》中收载的板蓝根饮片的提取方法是以水为溶剂煎煮 2 h,放冷,用水补足减失的质量。但煎煮火候不易掌控,水分挥发较大,容器壁附着较多,加之煎煮时间过长,壁上附着物变焦,无法溶入溶剂,且经比对煎煮提取后 (R, S) - 告依春的含量偏低,曾比较加热回流提取和超声(功率 250 W,频率 30 kHz)提取,超声处理简便可控,且 (R, S) - 告依春高于煎煮提取。溶剂曾分别选用 50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇、70% 乙醇和水,结果不同的溶剂提取对 (R, S) - 告依春含量影响不大。提取时间选择,分别考察了 30, 60, 90, 120 min,发现在 60 min 后 (R, S) - 告依春的含量未明显增加。结合节省成本和环境保护方面考虑,最终选择用水作为溶剂,超声(功率 250 W,频率 30 kHz) 1 h 为提取方法。

3.2 指标成分选择

2015 年版《中国药典(一部)》中板蓝根颗粒质量控制方法为薄层鉴别,无法有效控制板蓝根颗粒的质量,无法确保板蓝根颗粒药品安全有效。考虑 (R, S) - 告依春抗病毒作用明显,且含量较大,选择 (R, S) - 告依春作为板蓝根颗粒的质量控制成分,并建立 HPLC 法测定含量,易于掌握,可控性好,准确度高,可作为控制板蓝根饮片和板蓝根颗粒中指标成分 (R, S) - 告依春的质量标准。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 205 - 206.
- [2] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 562 - 566.
- [3] 叶未央, 李 祥, 陈建高. 板蓝根清热解毒作用机制的研究进展[J]. 中医药导报, 2010, 16(12): 107 - 110.
- [4] 黄 芳, 熊雅婷, 徐丽华, 等. 板蓝根不同提取物中抗病毒成分表告依春在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报, 2006, 37(6): 519 - 522.
- [5] 陈智伟, 吴灵威, 刘树滔, 等. 毛细管电泳法研究板蓝根水提取物抗流感病毒的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1715 - 1719.
- [6] 胡新昌, 程佳蔚, 刘士庄, 等. 板蓝根凝集素效价与抑制感冒病毒作用关系的实验研究[J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(3): 56 - 57.
- [7] 韩 光, 陈百泉, 许启泰. 板蓝根含片的抗菌作用研究[J]. 河南大学学报, 2004, 23(4): 36 - 37.
- [8] 杨元娟, 杨元梅, 夏之宁. 板蓝根注射液抗菌活性的研究[J]. 中国医药指南, 2008, 6(5): 19 - 21.
- [9] 郑 汝, 梁锦丽. 板蓝根不同提取部位抗菌活性的实验性研究[J]. 海峡药学, 2010, 22(4): 32 - 34.
- [10] 徐丽华, 曹 芳, 陈 婷, 等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物, 2005, 3(6): 359 - 361.
- [11] 王 瑞, 杨海英, 杨琪伟, 等. 板蓝根的质量标准研究[J]. 中草药, 2010, 41(3): 478 - 480.
- [12] 张 叶, 张 蕾, 王 玉. RP - HPLC 法测定板蓝根药材中腺苷和表告依春的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1848 - 1850.
- [13] 安益强, 贾晓斌, 袁海建, 等. HPLC 法测定板蓝根及制剂中表告依春的含量[J]. 中国中医药杂志, 2008, 33(18): 2074 - 2075.
- [14] 崔 田, 张祖亮. 高效液相色谱法测定板蓝根颗粒中表告依春含量[J]. 中国药业, 2014, 23(8): 50 - 51.
- [15] 张慧晔, 罗 杰, 黄亦男, 等. HPLC 法同时测定复方板蓝根颗粒中腺苷、腺苷和表告依春含量[J]. 今日药学, 2011, 21(6): 337 - 339.
- [16] 戴耀清, 薛非凡. 板蓝根颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2015, 24(3): 21 - 23.
- [17] 巩 伟, 孙 旭, 赵庆华, 等. 板蓝根配方颗粒的质量标准研究[J]. 中国药房, 2015, 26(18): 2541 - 2544.
- [18] 吴 静, 陈丽芬. 板蓝根颗粒浸膏中 (R, S) - 告依春的含量测定研究[J]. 大众科技, 2014, 16(8): 107 - 108.
- [19] 肖春霞, 黄晓婧, 文永盛, 等. HPLC 法同时测定板蓝根颗粒中腺苷和 (R, S) - 告依春的含量[J]. 中国药物评价, 2017, 34(2): 81 - 85.
- [20] 安益强, 贾晓斌, 陈 彦, 等. RP - HPLC 法测定不同厂家板蓝根颗粒中表告依春的含量[J]. 中国中医药杂志, 2009, 24(4): 529 - 531.

(收稿日期: 2017 - 11 - 12; 修回日期: 2017 - 11 - 24)