

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.04.021

市售葛根配方颗粒与标准汤剂质量比较*

盛晓静, 廖立英, 张晓云

(江西省九江市食品药品检验所, 江西 九江 332000)

摘要:目的 探讨葛根配方颗粒替代相应饮片存在的质量问题。方法 采用薄层色谱法对葛根配方颗粒、葛根饮片进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定葛根素的含量,色谱柱为 ACES C₁₈ AQ Plus 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(22:78, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 250 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μL;测定、计算并比较标准汤剂与配方颗粒的干浸膏出膏率。结果 葛根配方颗粒及标准汤剂均能在薄层色谱鉴别中检出葛根素及葛根药材的特征斑点;葛根素进样量在 0.085 10~2.127 00 μg 范围内与峰面积线性关系良好,精密度、重复性试验结果的 RSD 均小于 1.0%,相同葛根当量下 10 批配方颗粒的葛根素含量均明显低于标准汤剂;10 批配方颗粒中有 8 批的干浸膏出膏率不及标准汤剂的 40%。结论 市售葛根配方颗粒的生产工艺有待进一步规范,质量亟待提升。

关键词: 葛根;配方颗粒;标准汤剂;薄层色谱法;高效液相色谱法;葛根素;出膏率

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)04-0086-04

Quality Comparison Between Commercial Formula Granules and Standard Decoction of Puerariae Lobatae Radix

SHENG Xiaojing, LIAO Lying, ZHANG Xiaoyun

(Jiujiang Institute for Food and Drug Control, Jiujiang, Jiangxi, China 332000)

Abstract: Objective To investigate the quality problems of formula granules of Puerariae Lobatae Radix instead of corresponding decoction pieces. **Methods** The formula granules and decoction pieces of Puerariae Lobatae Radix were qualitatively identified by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of puerarin was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, the chromatographic column was ACES C₁₈ AQ Plus column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (22:78, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 250 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. The dry extract yield of standard decoction and preparation

*基金项目:2020年度江西省中医药标准化技术委员会标准化项目[2020A11]。

第一作者:盛晓静,女,硕士,副主任中药师,研究方向为中药质量分析,(电话)0792-8157328(电子信箱)981397232@qq.com。

谱峰分离度较好,因此选择 10 μL 作为进样量。

3.4 提取方式和提取时间考察

预试验中考察了提取溶剂为 70% 甲醇时,加热回流和超声处理 2 种提取方式对结果的影响,结果上述 2 种提取方式所得结果无明显差异,但超声处理更方便快捷,故选择超声处理。

对供试品溶液的提取时间进行了考察,分别超声处理 30, 45, 60 min。结果超声处理 45 min 后,4 种有效成分基本提取完全,故选择 45 min。

综上所述,本研究中建立的方法准确、专属性强,可用于同时测定沈阳红药胶囊中 4 种有效成分的含量。

参考文献

- [1] 范竹雯,杨建宇,李 杨,等. 道地药材三七的研究近况[J]. 光明中医,2019,34(24):3847-3849.
- [2] 姚 莉. 高效液相色谱法测定三七中三七皂苷 R₁ 含量及意义[J]. 中国临床研究,2019,11(26):125-127.
- [3] 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,2020:42,109,1059.
- [4] 张 培,赵林华,张海宇,等. 川芎临床应用及其用量[J].

吉林中医药,2019,39(3):309-312.

- [5] 李万红,陈 玲. 中药川芎的鉴定及临床用药安全分析[J]. 数理医药学杂志,2019,32(6):896-897.
- [6] 张翠英. 丹参川芎对药及其组方冠心宁制剂治疗心脑血管疾病的研究进展[J]. 中成药,2017,39(5):1018-1024.
- [7] 杜旌畅,谢晓芳,熊 亮,等. 川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2016,41(23):4328-4333.
- [8] 李伟霞,张 辉,唐进法,等. 基于真实世界的当归-川芎药对中医临床应用特征分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(7):1338-1341.
- [9] 何冬梅,林婵春,严铸云,等. 川芎内生放线菌的分离及根腐病拮抗菌株的筛选[J]. 中药材,2016,39(2):265-269.
- [10] 赵 静,夏晓培. 当归的化学成分及药理作用研究现状[J]. 临床合理用药,2020,13(2C):172-174.
- [11] 赵雪娇,王海峰,赵丹奇,等. 当归化学成分的分离与鉴别[J]. 沈阳药科大学学报,2013,30(3):182-185.
- [12] 董培良,李 慧,韩 华. 当归及其药对的研究进展[J]. 中医药信息,2019,36(2):127-130.
- [13] 张富强,聂 红,韦 艺,等. 白芷的化学与药理研究进展[J]. 南京中医药大学学报(自然科学版),2002,18(3):190-192.

(收稿日期:2021-05-20;修回日期:2021-08-20)

was determined, calculated and compared. **Results** The characteristic spots of puerarin and Puerariae Lobatae Radix in the formula granules and standard decoction of Puerariae Lobatae Radix could be detected by the TLC. The injection volume of puerarin showed a good linear relationship with the peak area in the range of 0.085 10 – 2.127 00 μg , and the *RSDs* of precision and repeatability tests were less than 1.0%, the average content of puerarin in 10 batches of formula granules was significantly lower than that in standard decoction. Among the ten batches of formula granules, the dry extract yield of eight batches was less than 40% of that of the standard decoction. **Conclusion** The production process of commercial formula granules of Puerariae Lobatae Radix needs to be further standardized, and the quality needs to be improved.

Key words: Puerariae Lobatae Radix; formula granules; standard decoction; TLC; HPLC; puerarin; dry extract yield

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 的干燥根, 有解肌退热、生津止渴、透疹、升阳止泻、通经活络、解酒毒等功效^[1]。本研究中拟考察不同厂家葛根配方颗粒的质量, 并与标准汤剂比较, 探讨市售葛根配方颗粒代替饮片配方的可行性。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

AG285 型电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司); 2550 型紫外 – 可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); KQ – 600DE 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 1200 Series 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司)。

1.2 试药

高效预制硅胶 G 薄层板 (德国 Merck 公司, 规格为 10 cm × 20 cm); 葛根对照药材 (批号为 121551 – 201805), 葛根素对照品 (批号为 110752 – 201816, 含量为 95.4%), 均购自中国食品药品检定研究院; 样品信息见表 1 (配方颗粒的规格是指每 1 g 含药量对应的饮片质量); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

取配方颗粒样品 0.2 g, 研细, 加甲醇 10 mL, 超声 (频率为 40 kHz, 功率为 600 W) 处理 2 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 即得配方颗粒供试品溶液; 取葛根饮片 1.0 g, 加水 30 mL, 煮沸 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 10 mL, 同法制成标准汤剂供试品溶液; 取葛根素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液; 取葛根对照药材 1 g, 与葛根饮片同法制成对照药材溶液。按 2020 年版《中国药典 (四部)》通则 0502 薄层色谱法试验, 吸取上述 4 种溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷 – 甲醇 – 水 (14 : 5 : 0.5, *V/V/V*) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱及对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 详见图 1。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件^[2-3]

色谱柱: ACES AQ Plus C_{18} 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm);

表 1 葛根配方颗粒及葛根饮片信息

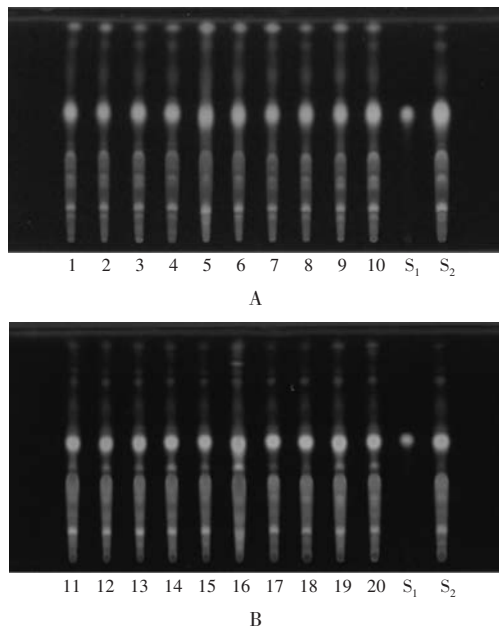
Tab. 1 Information of formula granules and decoction pieces of Puerariae Lobatae Radix

样品名称	编号	药材产地	生产企业	批号	规格
葛根配方颗粒	1	不详	广东一方制药有限公司	8116753	10 g
葛根配方颗粒	2	不详	江西百神药业股份有限公司	20190501	10 g
葛根配方颗粒	3	不详	华润三九医药股份有限公司	1909002W	10 g
葛根配方颗粒	4	不详	北京康仁堂药业有限公司	19018791	10 g
葛根配方颗粒	5	不详	四川新绿色药业科技发展有限公司	18120190	12.5 g
葛根配方颗粒	6	不详	江阴天江药业有限公司	19110433	10 g
葛根配方颗粒	7	不详	浙江贝尼菲特药业有限公司	1803098	10 g
葛根配方颗粒	8	不详	浙江景岳堂药业有限公司	-	10 g
葛根配方颗粒	9	不详	培力 (南宁) 药业有限公司	A190111010	2.75 g
葛根配方颗粒	10	不详	北京康仁堂药业有限公司	19041911	2.94 g
葛根饮片	11	安徽	安徽人民中药饮片有限公司	190702	统
葛根饮片	12	安徽	亳州市永刚饮片厂有限公司	200107	统
葛根饮片	13	湖北	江西樟树国康中药饮片有限公司	180501	统丁
葛根饮片	14	江西	江西樟树天齐堂中药饮片有限公司	191201	每小包 15 g
葛根饮片	15	湖北	湖北金贵中药饮片有限公司	A190801	统块
葛根饮片	16	湖北	江西樟树国康中药饮片有限公司	200401	统丁
葛根饮片	17	湖南	江西樟树庆仁中药饮片有限公司	201903305	统
葛根饮片	18	广西	江西彭氏国药堂饮片有限公司	20022503	统
葛根饮片	19	安徽	亳州金芍堂中药饮片有限公司	190601	统
葛根饮片	20	广西	江西彭氏国药堂饮片有限公司	19100812	统

流动相: 甲醇 – 水 (22 : 78, *V/V*); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μL 。

2.2.2 溶液制备

取葛根素对照品适量, 精密称定, 加 30% 乙醇制成每 1 mL 含 40 μg 的溶液, 即得对照品溶液。取葛根配方颗粒样品 10 g, 研细, 取约相当于葛根饮片 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加入 30% 乙醇 30 mL, 振摇提取 5 min, 加 30% 乙醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液 I。取葛根饮片 100 g, 精密称定, 置 2 000 mL 烧杯中, 煎煮 2 次, 第 1 次加水 900 mL, 浸泡 30 min, 煮沸后煎煮 1 h, 第 2 次加水 700 mL, 煮沸后煎煮 30 min, 合并 2 次的煎煮液, 浓缩至约 800 mL, 转移至 1 000 mL 容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 精密吸取 2 mL 置蒸发皿中, 蒸干, 残渣用



1 - 20. 供试品溶液 S₁. 对照品溶液 S₂. 对照药材溶液

A. 配方颗粒 B. 标准汤剂

图1 葛根薄层色谱图

1 - 20. Test solution S₁. Reference solution S₂. Reference medicinal material solution

A. Formula granules B. Standard decoction

Fig. 1 TLC chromatograms of Puerariae Lobatae Radix

30% 乙醇 30 mL 转移至 50 mL 容量瓶中,振摇提取 5 min,加 30% 乙醇定容,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液Ⅱ^[4]。取 30% 甲醇,作为阴性对照溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取 2.2.2 项下供试品溶液Ⅰ、对照品溶液、阴性对照溶液各 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液Ⅰ色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应吸收峰,阴性对照无干扰。理论板数按葛根素峰计应不低于 3 000,分离度大于 1.5,基线分离良好。详见图 2。

线性关系考察:称取葛根素对照品 11.15 mg,精密

称定,置 50 mL 容量瓶中,加 30% 乙醇溶解并定容,摇匀,作为对照品贮备液,精密吸取 2,2,2,5,5 mL,分别置 50,25,10,10,5 mL 容量瓶中,其中前 4 管加 30% 乙醇定容,第 5 管直接使用,制得系列对照品溶液。吸取 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。以葛根素对照品的峰面积(Y)为纵坐标、进样量(X, μg)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 4\,713X + 2.629$, $r = 0.999\,9$ ($n = 5$)。结果表明,葛根素进样量在 0.085 10~2.127 00 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取对照品溶液(42.55 μg/mL) 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 5 次。结果的 RSD 为 0.072% ($n = 5$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取按 2.2.2 项下方法制备的供试品溶液Ⅰ,室温下分别于 0,1,2,4,8,12,24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,结果的 RSD 为 0.56% ($n = 7$),表明供试品溶液室温下放置 24 h 内稳定。

重复性试验:取葛根配方颗粒样品(编号 4)约 0.02 g,平行 6 份,分别依法制备供试品溶液Ⅰ,按 2.2.1 项下色谱条件进样,记录峰面积并计算样品含量。结果配方颗粒供试品平均含量为 7.074%,RSD 为 0.25% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

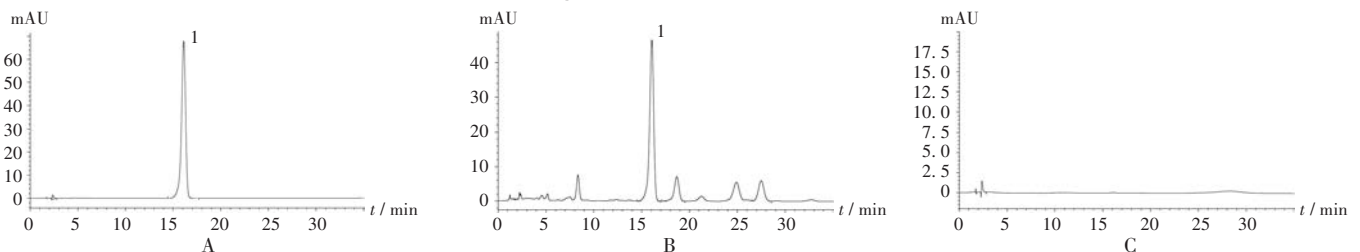
加样回收试验:称取已知含量的葛根配方颗粒样品 6 份,精密称定,分别精密添加葛根素对照品适量,按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液Ⅰ,精密吸取 10 μL,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,并计算回收率,结果见表 2。

2.2.4 样品含量测定

取各批葛根配方颗粒、标准汤剂,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定葛根素的含量[以相当于 1 g 葛根药材(干燥品)计算]。结果配方颗粒及标准汤剂中葛根素平均含量分别为 11.27 mg/g 和 33.90 mg/g,详见表 3。

2.3 干浸膏出膏率考察^[5]

精密吸取 2.2.2 项下供试品溶液Ⅱ制备过程中“定



1. 葛根素

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液Ⅰ C. 阴性对照溶液

图2 高效液相色谱图

1. Puerarin

A. Reference solution B. Test solution I C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

表2 加样回收试验结果($n=6$)
Tab. 2 Results of the recovery test ($n=6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.928 1	0.973 0	1.901	99.99	99.77	1.26
1.005 0	0.973 0	1.980	100.21		
0.829 1	0.973 0	1.783	98.04		
1.012 0	0.973 0	2.002	101.75		
0.858 1	0.973 0	1.828	99.68		
0.845 3	0.973 0	1.808	98.94		

表3 样品中葛根素含量测定结果(mg/g)
Tab. 3 Results of content determination of puerarin in the samples (mg/g)

编号	葛根素	编号	葛根素	编号	葛根素	编号	葛根素
1	10.66	6	9.548	11	34.00	16	29.70
2	8.768	7	9.266	12	37.95	17	37.21
3	7.460	8	8.872	13	39.54	18	29.02
4	7.233	9	18.46	14	31.32	19	32.96
5	6.221	10	26.25	15	34.98	20	32.36

容至1 000 mL的水煎液”20 mL,置已预先干燥至恒重的蒸发皿中蒸干,在105℃条件下干燥至恒重,计算饮片(干燥品)的干浸膏出膏率,与配方颗粒按规格换算的出膏率进行比较,结果配方颗粒与标准汤剂的平均出膏率分别为14.84%和32.87%,详见表4。

表4 样品中葛根干浸膏出膏率(%)
Tab. 4 Dry extract yield of Puerariae Lobatae Radix samples (%)

编号	出膏率	编号	出膏率	编号	出膏率	编号	出膏率
1	10.00	6	10.00	11	30.64	16	29.82
2	10.00	7	10.00	12	36.54	17	30.98
3	10.00	8	10.00	13	33.29	18	32.13
4	10.00	9	36.36	14	27.57	19	32.08
5	8.00	10	34.01	15	44.60	20	31.03

3 讨论

预试验中,在测定葛根素含量时,分别考察了不同色谱柱的分离效果^[6-10],当流动相为甲醇-水(17:83, V/V)时,使用 Waters Symmetry Shield™ 柱可达到基线分离,相对保留时间为36.26 min,当流动相为甲醇-水(22:78, V/V)时,使用 ACES C₁₈ AQ Plus 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)可达到基线分离,相对保留时间16.58 min。在达到有效分离的条件下,选用 ACES C₁₈ AQ Plus 柱可节省测试时间。还考察了供试品加30%乙醇30 mL振摇提取2,5 min及超声(功率为600 W,频率为28 kHz)处理5 min的提取效果^[11-15],结果振摇提取5 min或超声(功率为600 W,频率为28 kHz)处理5 min均能完全提取待测成分,考虑到节能和方法的简便,选择提取方法为振摇提取5 min。

试验结果显示,配方颗粒及标准汤剂均能在薄层

色谱鉴别中检出葛根素及葛根药材的特征斑点,但按相同的葛根当量比较,配方颗粒中的葛根素含量均明显低于标准汤剂,多数配方颗粒的干浸膏出膏率不及标准汤剂的40%,反映了市售葛根配方颗粒的生产工艺有待优化,配方颗粒的质量亟待提升。

此外,经测定用于生产标准汤剂的10批葛根饮片及相应的标准汤剂的葛根素含量,计算葛根素平均转移率为71.07%。2020年版《中国药典(一部)》规定,葛根按干燥品计算,含葛根素不得少于2.4%。因此,相当于1 g葛根药材(干燥品)的葛根配方颗粒,按平均转移率的70%计算,葛根素含量应不得少于11.94 mg。10批葛根标准汤剂的干浸膏平均出膏率为32.87%,按平均出膏率的70%~130%计算出膏率的范围应为23.01%~42.73%,即每1 g配方颗粒相当于饮片2.34~4.35 g。

综上所述,市售葛根配方颗粒的生产工艺有待规范,质量亟待提升。

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, 2020: 347.

[2] 徐海波, 徐以亮, 刘秀琴. 不同厂家生产的葛根、黄连、当归配方颗粒质量比较[J]. 中成药, 2006, 28(3): 449.

[3] 邓轶渊, 高文远, 刘新桥, 等. 葛根配方颗粒的制备工艺和含量测定[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6): 542.

[4] 卫生部, 国家中医药管理局. 医疗机构中药煎药室管理规范[EB/OL]. (2009-03-16)[2021-02-20]. <http://www.satcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-25/6577.html>.

[5] 李宗伟, 秦斯民. 葛根、白芍中药配方颗粒制备工艺及质量标准研究[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(4): 30.

[6] 苏思尹, 郭菊玲. 高效液相色谱法测定保健食品中葛根素含量[J]. 中国药业, 2018, 27(12): 16-18.

[7] 蔡翔宇, 吴玉杰, 江思华, 等. 高效液相色谱指纹图谱法测定广西不同产地粉葛和葛根中9种特征成分[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(7): 1904.

[8] 陈立江, 于宝锋, 柳萌, 等. 山黄降脂片中葛根素含量测定研究[J]. 中国民族医药杂志, 2019, 25(8): 44.

[9] 陈利, 宋国红, 李卿. 大孔树脂法对益阴消渴滴丸的纯化工艺研究[J]. 中国药业, 2019, 28(5): 14-17.

[10] 何艳, 胡小祥. HPLC法同时测定小儿解表颗粒中6种成分[J]. 中成药, 2020, 42(2): 306.

[11] 崔颖, 刘馨涓, 才凤. 葛根中葛根素与大豆苷元超声提取工艺研究[J]. 中国药业, 2018, 27(20): 7-9.

[12] 蒋健. HPLC法同时测定风寒感冒颗粒中苦杏仁苷、葛根素和橙皮苷的含量[J]. 中国药品标准, 2019, 20(6): 483.

[13] 李宗民, 朱浩东, 于丹, 等. 葛根主产区药材质量研究[J]. 中医药导报, 2019, 25(14): 78.

[14] 徐桂新, 熊贤锋, 吴春燕, 等. HPLC法同时测定葛根中5种异黄酮的含量[J]. 西北药学杂志, 2020, 35(1): 31.

[15] 鄢雷娜, 吴鑫, 段和祥, 等. 高效液相色谱法同时测定抗疲劳功能食品中4种功效成分的研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(1): 171.

(收稿日期: 2021-03-04; 修回日期: 2021-10-11)