

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.20.021

羌藿蒲蓝胶囊质量标准的建立*

彭艺飞, 李佳霖, 周 蔚

(四川省乐山市中医医院, 四川 乐山 614000)

摘要:目的 建立羌藿蒲蓝胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中板蓝根、蒲公英、羌活、广藿香进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中(R,S)-告依春的含量,色谱柱为 Waters Symmetry Shield C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(15:85, 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。结果 板蓝根、蒲公英、羌活、广藿香的 TLC 图斑点清晰,分离度好,且阴性对照无干扰。(R,S)-告依春质量浓度在 0.64~12.80 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 5$, $n=6$);精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0% ($n=6$);平均加样回收率为 100.86%, RSD 为 1.55% ($n=6$)。结论 所建立的标准可用于羌藿蒲蓝胶囊的质量控制。

关键词:羌藿蒲蓝胶囊;薄层色谱法;高效液相色谱法;(R,S)-告依春;质量控制

中图分类号:R917;R927

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)20-0080-04

Establishment of Quality Standard of Qianghuopulan Capsules

PENG Yifei, LI Jialin, ZHOU Wei

(Leshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Leshan, Sichuan, China 614000)

Abstract: Objective To establish a quality standard of Qianghuopulan Capsules. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was adopted for the qualitative identification of Isatidis Radix, Taraxaci Herba, Notopterygii Rhizoma et Radix, and Pogostemonis Herba in the preparation. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was adopted for the content determination of (R,S)-goitrin in the preparation. The chromatographic column was Waters Symmetry Shield C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (15:85, 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. **Results** The TLC spots of Isatidis Radix, Taraxaci Herba, Notopterygii Rhizoma et Radix, and Pogostemonis Herba were clear and well separated, and the negative control had no interference. The linear range of (R,S)-goitrin was 0.64-12.80 μg/mL ($r=0.999\ 5$, $n=6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.0% ($n=6$). The average recovery of (R,S)-goitrin was 100.86% with an RSD of 1.55% ($n=6$). **Conclusion** The established standard can be used for the quality control of Qianghuopulan Capsules.

Key words: Qianghuopulan Capsules; TLC; HPLC; (R,S)-goitrin; quality control

羌藿蒲蓝胶囊主要由羌活、广藿香、蒲公英、板蓝根等药材组方,方中羌活辛温解表^[1],祛风除湿止痛,常用于治疗外感风寒湿邪;蒲公英味苦,可消肿散结^[2];板

蓝根清热解毒,常用于抗病毒及抗菌^[3];广藿香化湿和胃^[4]、祛暑解表,适用于感冒引起的消化不良、食欲不振。感冒可表现出恶寒发热、头痛身痛、食欲不振等,羌

*基金项目:四川省乐山市科技局重点研究项目[20ZDYJ0123]。

第一作者:彭艺飞,男,硕士研究生,主管药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)84953939@qq.com。

- 察[J]. 海峡药学,2017,29(12):192-193.
- [5] 杜宝静,陈素萍,王志东. 开喉剑喷雾剂(儿童型)联合热炎宁合剂治疗普通型手足口病的疗效观察[J]. 中国当代医药,2013,20(13):120-121.
- [6] 王 冬,雷勇胜,王 晨. 超高效液相色谱法测定热炎宁颗粒中大黄素、咖啡酸、绿原酸、野黄芩苷、木犀草素和虎杖苷[J]. 现代药物与临床,2014,29(12):1365-1368.
- [7] 包 蕾,时宇静,耿子涵,等. 热炎宁合剂在评价人冠状病毒肺炎疫毒袭肺证中的应用[J]. 中国中药杂志,2020,45(7):1465-1472.
- [8] 苏永健,刘红娜,杜 鑫,等. 热炎宁合剂 HPLC 指纹图谱研究[J]. 现代中医药,2021,41(3):29-33.
- [9] 杨明博,党双锁,黄 胜,等. 热炎宁合剂治疗新型冠状病毒肺炎的多中心临床观察[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(14):7-12.
- [10] 马战平,阴智敏,魏耕树,等. 陕西省新型冠状病毒感染的肺炎中医药治疗方案(试行第二版)[J]. 陕西中医,2020,41(3):275-277.
- [11] 聂文佳,徐帅师,张咏梅. 蒲公英有效成分及其药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2020,22(7):140-145.
- [12] 张云婷,黄 晓,陈运中,等. 虎杖主要化学成分及其生物合成机制研究进展[J]. 中国中药杂志,2020,45(18):4364-4372.
- [13] 孙晓春,雷莉妍,黄文静,等. 败酱草提取物的化学成分与抗氧化活性相关性的研究[J]. 中国药师,2018,21(12):2111-2113.
- [14] 宋彤昕,贺明帅,吕佳霖,等. 半枝莲化学成分及抗肿瘤作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2020,22(10):126-133.

(收稿日期:2021-12-14;修回日期:2022-03-24)

活发散解表以治其标,蒲公英、板蓝根清热解毒以治其本,广藿香调节水湿运化,治疗各种感冒的头痛、身痛、恶寒发热等症状临床疗效较好。本研究中采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的板蓝根、蒲公英、羌活、广藿香进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法对板蓝根的主要有效成分(*R,S*)-告依春进行定量分析,以期进一步提升质量标准,为后续制剂的深度开发提供依据。现报道如下。

1 仪器与试药

仪器:Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);MD-300GDV 型超声波清洗机(苏州美达超声仪器厂);EX1035-A 型电子天平(厦门莱斯德科学仪器有限公司,精度为十万分之一);HW-601A 型智能恒温水浴锅(北京易净科学仪器设备有限公司);KQ12DT 型真空干燥箱(合肥斯莱干燥设备有限公司);EK-400D-20ZK 型超纯水制造设备(深圳中科赛斯科技有限公司);硅胶 GF254 薄层板(青岛海洋化工厂)。

试药:羌活蒲蓝胶囊(医院制剂室,批号分别为 20211101, 20211102, 20211103);百秋李醇对照品(批号为 PS0932-0030)、(*R,S*)-告依春对照品(批号为 PS0664-0025)、咖啡酸对照品(批号为 PS1331-0050)、紫花前胡苷对照品(批号为 PS0385-0025),均购于成都普思生物科技股份有限公司,供含量测定用;板蓝根对照药材(批号为 121177-201608)、广藿香对照药材(批号为 121136-202007)、蒲公英对照药材(批号为 121195-202004)、羌活对照药材(批号为 120935-201809),均购于中国食品药品检定研究院;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 TLC 鉴别

板蓝根:称取样品内容物 1 g,精密称定,置锥形瓶

中,加水 4 mL,浸泡 1 h,加甲醇 16 mL,室温下超声(功率 300 W,频率 40 kHz,下同)处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液^[5]。取(*R,S*)-告依春对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液^[6]。取板蓝根对照药材适量,粉碎处理,称取 1 g,精密称定,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按样品处方及工艺制备缺板蓝根的阴性样品(胶囊内容物,下同)1 g,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各 10 μ L,点样于同一硅胶 G 板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(1:1, *V/V*)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光(波长 254 nm)灯下检视^[7]。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图 1A。

蒲公英:称取样品内容物 1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密称定,加 5% 甲酸-甲醇溶液 20 mL,室温下超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,剩余残渣加水 10 mL 使溶解,然后加入 20 mL 乙酸乙酯萃取 2 次,合并萃取液,水浴蒸干,残渣加 1 mL 甲醇使溶解,作为供试品溶液^[8]。取咖啡酸对照品适量,加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液^[9]。取蒲公英对照药材适量,粉碎处理,称取 1 g,精密称定,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按样品处方及工艺制备缺蒲公英的阴性样品 1 g,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各 10 μ L,点样于同一硅胶 G 板上,以乙酸丁酯-甲酸-水(7:2.5:2.5, *V/V/V*)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光(波长 365 nm)灯下检视^[10]。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图 1B。

羌活:称取样品内容物 1 g,精密称定,置锥形瓶中,加甲醇 10 mL,室温下超声处理 30 min,静置 30 min,吸

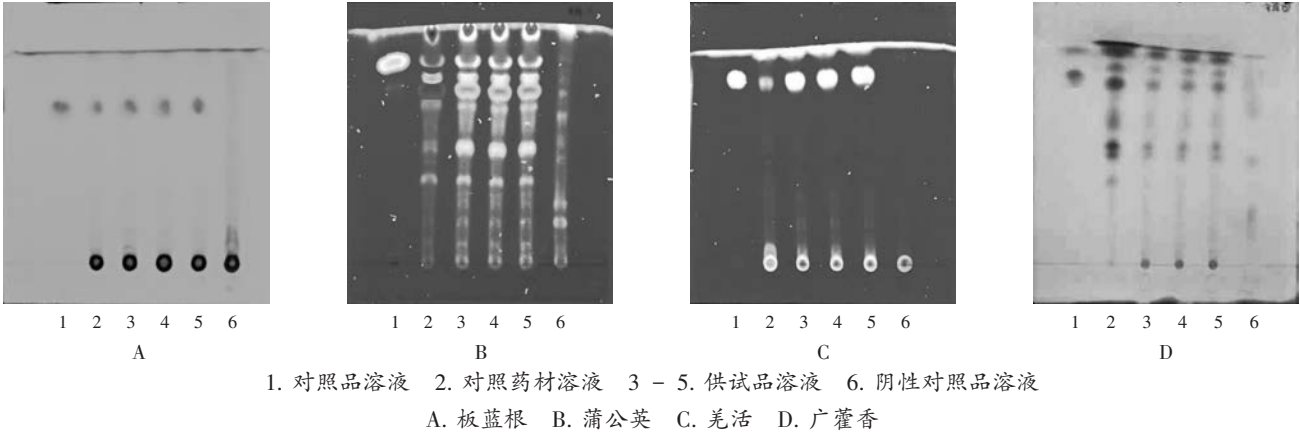


图1 薄层色谱图

1. Reference solution 2. Reference material solution 3-5. Test solution 6. Negative reference solution
A. Isatidis Radix B. Taraxaci Herba C. Notopterygii Rhizoma et Radix D. Pogostemonis Herba

Fig. 1 TLC chromatograms

取上清液,作为供试品溶液^[11]。取紫花前胡苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液^[12]。取羌活对照药材适量,粉碎处理,称取1 g,精密称定,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按样品处方及工艺制备缺羌活的阴性样品1 g,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各10 μ L,点样于同一硅胶G板(喷适量3%醋酸钠溶液)上,以三氯甲烷-甲醇(8:2, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光(波长365 nm)灯下检视^[13]。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1 C。

广藿香:称取样品内容物5 g,精密称定,置500 mL圆底烧瓶中,加入沸石数粒,加水100 mL,并加入乙酸乙酯1 mL,连接挥发油测定器,上端加水定容,连接回流冷凝管,电热套加热提取3 h,分离乙酸乙酯层,即得供试品溶液^[14]。取百秋李醇对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含1 mg的对照品溶液^[15]。取广藿香对照药材适量,粉碎处理,称取5 g,精密称定,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按样品处方及工艺制备缺广藿香的阴性样品1 g,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各2 μ L,点样于同一硅胶G板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-冰醋酸(95:5:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,105 $^{\circ}$ C烘箱加热直至斑点显色清晰,随后置日光灯下检视^[16]。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1 D。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Waters Symmetry Shield C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相: 甲醇-水(15:85, V/V);流速: 1.0 mL/min;检测波长: 250 nm;柱温: 30 $^{\circ}$ C;进样量: 10 μ L。

2.2.2 溶液制备

取(R,S)-告依春对照品适量,精密称定,加甲醇溶解,制成质量浓度为32 μ g/mL的对照品溶液。取样品内容物适量,精密称定,加水50 mL后称定质量,超声处理30 min,放冷后再次称定质量,用水补足减失的质量,经0.45 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,作为供试品溶液。按羌藿蒲蓝胶囊处方及工艺制备不含板蓝根的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2.2项下3种溶液各10 μ L,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液在与对照品溶液相同保留时间处有相应色谱峰,阴性对照无干扰。理论板数按(R,S)-告依春峰计应不低于3 000,分离度>1.5。详见图2。

线性关系考察:精密吸取对照品溶液0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释并定容,摇匀,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以(R,S)-告依春质量浓度(X, μ g/mL)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 47\,050X + 3\,785$ ($r = 0.999\,5$, $n = 6$)。结果表明,(R,S)-告依春质量浓度在0.64~12.8 μ g/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果(R,S)-告依春峰面积的RSD为1.29% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取供试品溶液(批号20211102)适量,分别于室温下放置0, 2, 4, 6, 8, 12 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果(R,S)-告依春峰面积的RSD为1.87% ($n = 6$),表明供试品溶液室温下放置12 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号20211103)适量,精密称定,共6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按

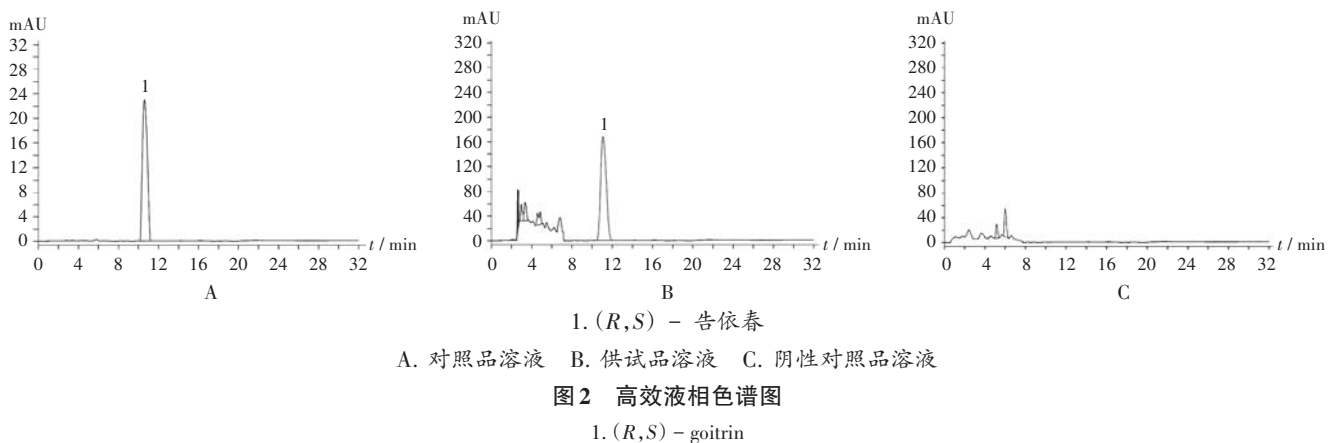


Fig. 2 HPLC chromatograms

2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果(R, S) - 告依春含量平均值为 $10.23 \mu\text{g/g}$, RSD 为 0.93% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号20211103)6份,精密称定,置锥形瓶中,精密量取(R, S) - 告依春对照品溶液,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)
Tab.1 Results of the recovery test ($n=6$)

取样量(g)	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
2.0015	20.4753	32	53.2597	102.45	100.86	1.55
2.0103	20.5654	32	52.7146	100.47		
2.0056	20.5173	32	52.3381	99.44		
2.0041	20.5019	32	53.2349	102.29		
2.0112	20.5746	32	52.1634	98.72		
2.0082	20.5439	32	53.1215	101.80		

2.2.4 样品含量测定

取3批样品各适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果批号为20211101,20211102,20211103的样品中(R, S) - 告依春含量分别为 10.45 , 10.19 , $10.32 \mu\text{g/g}$, 平均 $10.32 \mu\text{g/g}$ 。

3 讨论

羌藿蒲蓝胶囊为我院中药复方制剂验方,可用于各种感冒引起的头痛、身痛、恶寒、发热、流鼻涕、轻微咳嗽、食欲不振或呕吐等症状,临床疗效较好。预试验中,采用2020年版《中国药典(一部)》板蓝根鉴别方法(3)进行TLC鉴别^{[17]214-215},但发现对照药材TLC图斑点不明显,后检索相关文献^[6],按文献方法进行鉴别,结果显示,TLC图显色清晰,表明该方法效果良好;由于广藿香的主要有效成分为挥发油,参考2020年版《中国药典(一部)》^{[17]46-47}和文献^[18],最终选用挥发油提取法来处理样品并进行TLC鉴别,效果较好;2020年版《中国药典(一部)》板蓝根含量测定项提示用甲醇-0.02%磷酸溶液作为流动相,但多次试验结果显示,供试品以甲醇-水(15:85, V/V)为流动相时,测定的(R, S) - 告依春提取率最高,且色谱峰形较好,其原因可能为制剂辅料均为水溶性材料(蔗糖和糊精)。在对蒲公英对照药材进行TLC鉴别过程中,曾比较超声法和冷浸法提取有效成分,结果超声提取效果较好。在对羌活进行TLC鉴别时,曾对展开剂为三氯甲烷-甲醇(8:2, V/V)和正己烷-乙酸乙酯(8:2, V/V)两种溶剂系统进行比较,结果显示以前者为展开剂时效果较好。

综上所述,本研究中建立了羌藿蒲蓝胶囊中4种药材的定性鉴别方法和主药板蓝根的有效成分(R, S) - 告依春的含量测定方法。所建方法稳定可靠,准确度高,可用于羌藿蒲蓝胶囊的质量控制,为其进一步开发和应用提供参考。后期将进一步研究羌藿蒲蓝胶囊中其余3种中药材有效成分的HPLC含量检测法。

参考文献

- [1] 顾鸣佳, 缪志伟, 高磊平. 羌活汤探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(11): 1588 - 1589.
- [2] 孟 然, 薛志忠, 鲁雪林, 等. 蒲公英的功效成分与药理作用研究进展[J]. 江苏农业科学, 2021, 49(9): 36 - 43.
- [3] 徐 媛, 张婷婷, 张瑞涛, 等. 抗病毒感冒颗粒质量标准研究[J]. 中国医药导报, 2020, 17(12): 14 - 17.
- [4] 刘 瑶, 卢素宏, 欧阳蒲月. 广藿香对感染后肠易激综合征大鼠内脏高敏感作用及机制研究[J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(1): 72 - 76.
- [5] 张仕瑾, 兰 杨, 王娅俐, 等. 黄芪三七合剂质量标准研究[J]. 中国药业, 2021, 30(6): 58 - 61.
- [6] 郑国成, 周永妍, 张岩岩, 等. 对2015年版《中国药典》(一部)板蓝根[鉴别](3)方法的改进[J]. 中国药房, 2019, 30(5): 657 - 660.
- [7] 覃 翔, 林忆龙, 陈 壮, 等. 安肠胶囊质量标准提升研究[J]. 中国药业, 2021, 30(24): 69 - 73.
- [8] 张传平, 王 巍. 气相色谱法同时测定洁白胶囊中丁香酚、土木香内酯及异土木香内酯含量[J]. 中国药业, 2021, 30(20): 76 - 78.
- [9] 吕 敏, 王 云, 王玉霞, 等. 滴通鼻炎喷涂凝胶剂质量标准的研究[J]. 广东药科大学学报, 2020, 36(1): 33 - 38.
- [10] 梁 洁, 祁金丽, 周显杉, 等. 止咳颗粒中连翘酯苷A成分鉴定及含量测定[J]. 中国药业, 2021, 30(16): 88 - 91.
- [11] 彭 任, 王君阳, 杨爱萍, 等. 羌活薄层色谱和HPLC指纹图谱结合多成分含量测定的质量评价方法研究[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 629 - 634.
- [12] 俞 杰, 侯 静, 许豪杰, 等. 仙鹤草配方颗粒中槲皮素含量测定及指纹图谱研究[J]. 中国药业, 2022, 31(2): 83 - 87.
- [13] 曾佩琴. 复方癍痕消颗粒的制备工艺及质量标准研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2019.
- [14] 张 昱, 刘美欣, 陈鸿英, 等. 中药“洗一号”涂膜剂定性、定量质量研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2021, 38(2): 141 - 146.
- [15] 陈 健, 李洪刚. 重庆市地产药材蓼子草质量标准研究[J]. 中国药业, 2022, 31(1): 71 - 73.
- [16] 叶泰玮, 桑泽春, 宋 瑜, 等. 除湿止痒合剂质量控制研究[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(9): 831 - 836.
- [17] 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.
- [18] 马钢华, 孙礼芹, 钱 菲, 等. 不同方法提取广藿香油化学成分及其体外抑制NO活性比较[J]. 中国中医药科技, 2021, 28(1): 38 - 43.

(收稿日期: 2022 - 01 - 26; 修回日期: 2022 - 04 - 02)