

DOI:CNKI:11-3495/R.20110303.1347.003

RP-HPLC 测定板蓝根制剂中 *R,S*-告依春

石燕红¹, 谢志勇¹, 吴迎春¹, 李医明¹, 王瑞^{1,2*}, 王峥涛^{1,2}

(1. 上海中医药大学 中药学院 中药研究所 教育部中药标准化重点实验室, 上海 201203;

2. 上海中药标准化研究中心, 上海 201203)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法测定板蓝根制剂中 *R,S*-告依春的含量。方法:采用 Shiseido C₁₈ MG(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-0.02% 磷酸溶液(7:93), 检测波长 245 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果:*R,S*-告依春在 0.004 9~0.312 0 g·L⁻¹ 内呈良好线性, $r = 1.000 0$, 平均回收率 99.0% (RSD 2.04%)。结论:通过对市售 15 批板蓝根颗粒, 8 批复方板蓝根颗粒和 3 批板蓝根茶的含量测定, 证明方法简单, 准确可靠, 重复性好。

[关键词] *R,S*-告依春; 板蓝根制剂; 反相高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0128-03

Determination of *R,S*-goitrin of Banlangen Preparations by RP-HPLC

SHI Yan-hong¹, XIE Zhi-yong¹, WU Ying-chun¹, LI Yi-ming¹, WANG Rui^{1,2*}, WANG Zheng-Tao^{1,2}

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China;

2. Shanghai R&D Center for Standardization of Traditional Chinese Medicines, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a quantitative reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of *R,S*-goitrin in Banlangen preparations. **Method:** The samples were separated at 30 °C on a Shiseido C₁₈ MG(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column eluted with methanol-0.02% phosphate(7:93) as the mobile phase. Flow rate was set at 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set at 245 nm. **Result:** The calibration curve of *R,S*-goitrin was linear within the range from 0.004 9 to 0.312 0 g·L⁻¹ ($r = 1.000 0$) and the average recovery was 99.0% (RSD 2.04%). **Conclusion:** The developed method was proved to be simple, reliable and useful by analysis of 26 batches of the samples purchased from different areas.

[Key words] *R,S*-goitrin; banlangen preparations; RP-HPLC

板蓝根为十字花科菘蓝属植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 为传统抗病毒中药之一,

具有清热解毒, 凉血利咽之功效。2010 年版《中国药典》采用 RP-HPLC 测定板蓝根中 *R,S*-告依春的含量对其进行质量控制^[1]。

《中国药典》收载的板蓝根制剂为板蓝根颗粒和板蓝根茶, 此外复方板蓝根颗粒也是常用的中成药。目前包括现行版《中国药典》在内, 板蓝根制剂均以氨基酸定性鉴别进行质量控制, 无专属性指标成分用于质量标准研究。

本研究在前期工作的基础上^[2], 结合《中国药典》2010 年版一部板蓝根含量测定项下的有关方法, 以抗病毒活性成分 *R,S*-告依春作为指标性成分对市售板蓝根制剂进行定量分析, 为提高其质量控

[收稿日期] 20101231(003)

[基金项目] “重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003), 上海市教育委员会科研创新项目(11YZ70), 上海市教育委员会预算内项目(08CZ07)

[第一作者] 石燕红, 硕士研究生, 从事中药活性成分与质量标准研究, Tel: 021-51322181, E-mail: yhs_lucky@163.com

[通讯作者] *王瑞, 副教授, Tel: 021-51322181, E-mail: ellewangtcm@gmail.com

[网络出版时间] 2011-03-03 13:47

制方法提供了实验数据,对保证其质量具有重要意义。

1 仪器与试药

Waters alliance(e2695 Separation Module, e2998 Photodiode Array Detector) 高效液相色谱仪,AE200 电子分析天平(Mettler),KQ-250DB 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。甲醇、磷酸(色谱纯,Merck 公司),水为 Milli Q 超纯水(Millipore, Bedford, USA);其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司,上海)。*R,S*-告依春对照品(购自上海中药标准化研究中心,批号 13-1012,经 HPLC

检测,面积归一化法计算,纯度 >98%)。市售板蓝根制剂 26 批,其中板蓝根颗粒 15 批,板蓝根茶 3 批,复方板蓝根颗粒 8 批,由上海中医药大学石燕红收集。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1] Shiseido C₁₈ MG 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.02% 磷酸溶液(7:93),色谱峰检测波长 190 ~ 400 nm;检测波长 245 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 °C,进样量 10 ~ 20 μL。理论板数按 *R,S*-告依春峰计应不低于 5 000。见图 1。

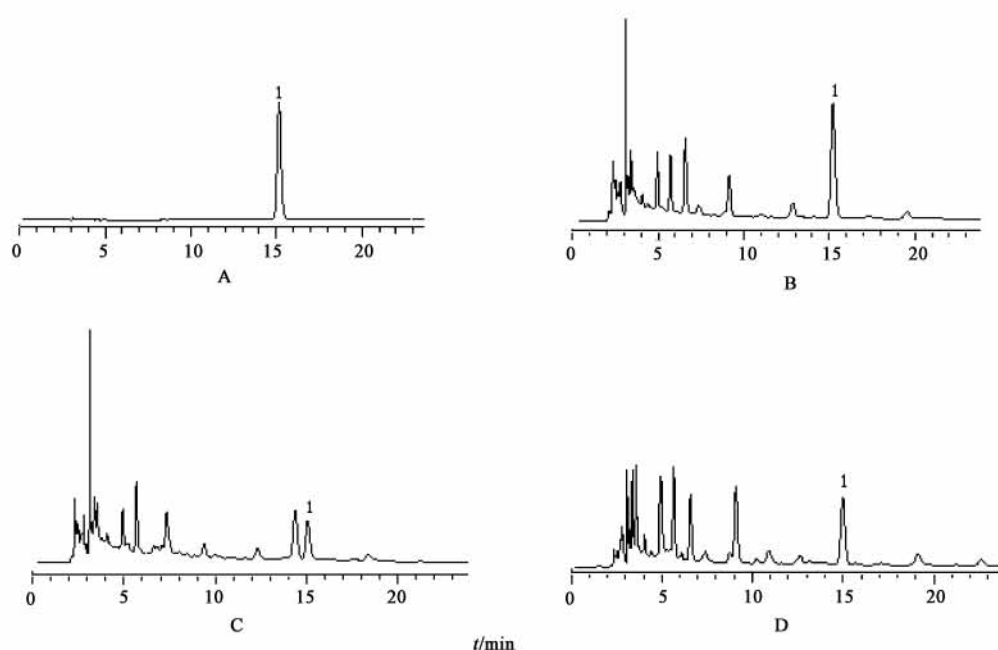


图1 对照品及样品的 HPLC

A. 对照品;B. 板蓝根颗粒;C. 板蓝根茶;D. 复方板蓝根颗粒;1. *R,S*-告依春

2.2 对照品溶液的制备 精密称取 *R,S*-告依春对照品适量,精密称定,加水制成每 1 mL 含 60 μg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取板蓝根制剂样品适量,研细,混匀,取约 2.0 g(含蔗糖)或 1.0 g(无蔗糖),精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入 20 mL 水,称定质量,水浴加热并振摇使其溶解,放冷,再称定质量,用水补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系考察 取 *R,S*-告依春对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含 *R,S*-告依春 0.312 0 g·L⁻¹ 对照品贮备溶液。分别精密吸取不同体积的对照品储备溶液,制成质量浓度为 0.004 9, 0.009 8, 0.019 5, 0.039 0, 0.078 0,

0.156 0, 0.312 0 g·L⁻¹ 溶液,按上述色谱条件测定,进样 10 μL,分别以对照品的浓度(*X*)为横座标,峰面积积分值(*Y*)为纵座标,得 *R,S*-告依春的回归方程为 $Y = 63\ 125 X - 0.548\ 6$ ($r = 1.000\ 0$),线性范围为 0.004 9 ~ 0.312 0 g·L⁻¹,呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取板蓝根颗粒(090921),按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下连续进样 6 次,测得颗粒剂中 *R,S*-告依春色谱峰面积的 RSD 0.20%,精密度良好。

2.6 重复性试验 取板蓝根颗粒(090921)6 份,按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下进样测定,测得该颗粒剂中 *R,S*-告依春的含量为 0.047 mg·g⁻¹,RSD 0.72%,表明该方法重复性好。

2.7 稳定性试验 取板蓝根颗粒(090921),按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下分别于 0,1,2,24,48 和 72 h 进样分析,测得颗粒剂中 *R,S*-告依春色谱峰面积的 RSD 2.26%,结果表明样品溶液 72 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收试验 取已知含量的取板蓝根颗粒(090921)约 1.0 g 共 9 份,精密称定。分别按已知含量的 50%,100% 和 150% 3 个水平加入 *R,S*-告依春对照品,按 2.3 项下操作,在上述色谱条件下进样测定并计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 板蓝根颗粒中 *R,S*-告依春加样回收率

| 样品中含量 /mg | 加入量 /mg | 测得量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|--------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|
| 0.047 4 | 0.024 2 | 0.069 4 | 103.2 | | |
| 0.047 4 | 0.024 2 | 0.070 2 | 100.4 | | |
| 0.047 4 | 0.024 2 | 0.070 9 | 97.1 | | |
| 0.047 4 | 0.048 4 | 0.094 3 | 96.9 | | |
| 0.047 4 | 0.048 4 | 0.094 6 | 97.5 | 99.0 | 2.04 |
| 0.047 4 | 0.048 4 | 0.094 7 | 97.7 | | |
| 0.047 4 | 0.070 2 | 0.1173 | 99.5 | | |
| 0.047 4 | 0.070 2 | 0.117 4 | 99.8 | | |
| 0.047 4 | 0.070 2 | 0.116 6 | 98.5 | | |

2.9 样品含量测定 分别取不同厂商和不同批号的市售板蓝根制剂,按 2.3 项下操作,制成供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10~20 μ L 进样分析,计算 *R,S*-告依春含量,结果见表 2。

3 结论

本研究在前期为《中国药典》2010 年版一部板蓝根药材和饮片修订标准的基础上,参照现行药典标准建立了测定板蓝根颗粒、板蓝根茶和复方板蓝根颗粒中 *R,S*-告依春含量的高效液相色谱法,方法简便,稳定可靠,重复性好。使板蓝根制剂的质量控制方法与饮片保持一致,为完善板蓝根制剂的质量标准提供了实验数据,对保证其质量具有重要意义。

为了尽可能将板蓝根制剂中的目标成分提取完全,分别考察了水、甲醇、80% 甲醇、50% 甲醇、20% 甲醇、0.02% 磷酸水 5 种溶剂,其结果表明以水为

表 2 *R,S*-告依春的含量测定 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

| 样品名称 | 来源 | 批号 | 含量 | |
|---------|----------------------|----------|---------|---------|
| 板蓝根颗粒 | 上海海虹-今辰药业 | 090921 | 0.046 8 | |
| | 上海海虹-今辰药业 | 100302 | 0.045 2 | |
| | 广州白云山和记黄埔 | AOF090 | 0.052 2 | |
| | 广州白云山和记黄埔 | L9F043 | 0.062 8 | |
| | 四川蜀中制药 | 100303 | 0.010 6 | |
| | 四川蜀中制药 | 100702 | 0.018 6 | |
| | 广西桂林桂林中族中药 | 100402 | 0.012 7 | |
| | 福建泉州罗裳山制药 | 090802 | 0.044 8 | |
| | 广西南宁维威制药 | 091114 | 0.025 8 | |
| | 广州王老吉药业 | 1001069 | 0.035 0 | |
| | 河北世济唐威 | G81116 | 0.179 3 | |
| | 广西千珍制药 ¹⁾ | 100117 | 0.037 6 | |
| | 上海静安制药 ¹⁾ | 100414-1 | 0.290 9 | |
| | 湖北虎泉药业 ¹⁾ | 091202 | 0.169 3 | |
| | 湖北虎泉药业 ¹⁾ | 100302 | 0.198 5 | |
| 复方板蓝根颗粒 | 广西南宁维威制药 | 091213 | - | |
| | 四川菲得力制药 | 100512 | - | |
| | 重庆和平制药 | 100202 | 0.018 5 | |
| | 重庆太极集团中药二厂 | 100109 | 0.031 6 | |
| | 重庆科瑞制药 | 310010 | - | |
| | 四川九寨沟天然药业 | 100701 | - | |
| | 四川蜀中制药 | 100708 | - | |
| | 四川逢春制药 | 100426 | - | |
| | 板蓝根茶 | 广东和平药业 | 091003 | 0.017 5 |
| | | 深圳新光联合 | 100314 | - |
| 桂林中族中药 | | 091202 | - | |

注:¹⁾为无糖型板蓝根颗粒。

溶剂所得供试品溶液中所提取成分均较多,故选择纯水作为提取溶剂。

市售板蓝根制剂中 *R,S*-告依春差异较大,板蓝根颗粒中 *R,S*-告依春含量在 0.010 6~0.290 9 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,3 批板蓝根茶中仅广东和平药业的产品含有 *R,S*-告依春,8 批复方板蓝根颗粒中只有重庆和平制药和重庆太极集团中药二厂的产品含有 *R,S*-告依春,可能与各生产厂家选用的板蓝根饮片原料以及制备工艺有关,因此有必要对板蓝根制剂进行质量控制。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:191.
- [2] 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.

[责任编辑 蔡仲德]