

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.1.5

板青颗粒质量标准提升研究

熊 玥, 刘建晖, 石慧慧, 汪云花, 孙 瑶

(江苏省兽药饲料质量检验所, 南京 210036)

[收稿日期] 2020-06-30 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 01-0025-10 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为了提高和完善板青颗粒的质量标准。改进精氨酸的薄层鉴别, 新增亮氨酸、脯氨酸、靛玉红的薄层鉴别, 采用高效液相色谱法, 以尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷作为指标性成分进行定性定量测定。建立的薄层方法, 斑点清晰, 分离度好, 专属性强; 供试品色谱图中在与混合对照品溶液中尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷保留时间相同的位置有吸收光谱图一致的色谱峰, 4 种对照品分别在 $1.08 \sim 32.42 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$)、 $1.01 \sim 30.33 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$)、 $0.39 \sim 9.43 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.9999$) 和 $1.05 \sim 31.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$) 的浓度范围内与峰面积呈现良好的线性关系。尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷的平均加样回收率 ($n = 9$) 分别为 98.6%、100.5%、98.5% 和 99.8%。对 20 批样品数据综合分析, 建议每 1 g 板青颗粒含尿苷、鸟苷和腺苷的总量不得少于 0.46 mg, (R,S)-告依春不得少于 0.075 mg。

[关键词] 板青颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

Improvement of the Quality Standard for Banqing Granules

XIONG Yue, LIU Jian-hui, SHI Hui-hui, WANG Yun-hua, SUN Yao

(Jiangsu Testing Institute of Veterinary Drug and Feed, Nanjing 210036, China)

Abstract: To improve quality standard for Banqing Granules. Improve the TLC identification of arginine. Proline, leucine, and indirubin as index components were qualitative identified by TLC. Uridine, guanosine, (R,S)-goitrin and adenosine as index components were simultaneously determined by HPLC. TLC spots were clear and separated nicely. Retention time and peak spectral similarity were helped to identify the four kinds of target analytes. The linear ranges of uridine, guanosine, (R,S)-goitrin and adenosine were $1.08 \sim 32.42 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$), $1.01 \sim 30.33 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$), $0.39 \sim 9.43 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 0.9999$), $1.05 \sim 31.56 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r = 1.0000$), respectively. The average recoveries ($n = 9$) of the four compounds were 98.6%, 100.5%, 98.5% and 99.8%, respectively. From comprehensive data analysis, the suggestion was that the total contents of uridine, guanosine and adenosine were no less than 0.46 mg, (R,S)-goitrin content 0.075 mg in Banqing Granules (1 g).

Key words: Banqing Granules; TLC; HPLC; quality standard

板青颗粒收载于《中国兽药典》2015 年版二部,由板蓝根、大青叶两味中药煎煮浓缩后,与适量蔗糖、糊精混合制粒而成^[1]。方中板蓝根、大青叶均可清热解毒,板蓝根重在凉血利咽,大青叶偏于凉血消斑,二药合用,共奏清热解毒、凉血之功。临床上广泛用于畜禽风热感冒、咽喉肿痛、热病发斑等温热性疾病的防治^[2]。目前板青颗粒的质量标准相对滞后,仅有理化显色鉴别及精氨酸的薄层鉴别,专属性不强,无指标性成分的定性鉴别及定量测定,且精氨酸的薄层鉴别方法在实际检验中存在一定的问题,很难对板青颗粒质量的优劣进行全面评价,导致市场上的板青颗粒质量参差不齐,也给假劣产品混入提供了可乘之机。本研究参考文献报道^[3-9]及《中国兽药典》2015 年版二部中板蓝根和大青叶药材质量标准项下的有关方法^[1],以精氨酸、脯氨酸、亮氨酸、靛玉红为专属性成分,建立薄层色谱鉴别方法;以尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷为指标性成分,建立高效液相色谱定性及定量测定方法,完善板青颗粒的质量标准,并利用新建的方法对市售的 17 批次样品进行了评价性研究,为《中国兽药典》2020 年二部中板青颗粒质量标准提升提供了实验数据。

1 仪器与材药

1.1 仪器 半自动点样器(Linomat 5 型,瑞士 Camag 公司);薄层色谱数码成像系统(TLC Visualizer 型,瑞士 Camag 公司);高效液相色谱仪(ACQUITY Arc 型,美国 Waters 公司,配 PDA 检测器和 Empower 3 工作站);电子天平(XA105DU 型,瑞士 Mettler Toledo 公司);数控超声波清洗器(KQ-500DV 型,昆山市超声仪器有限公司)。

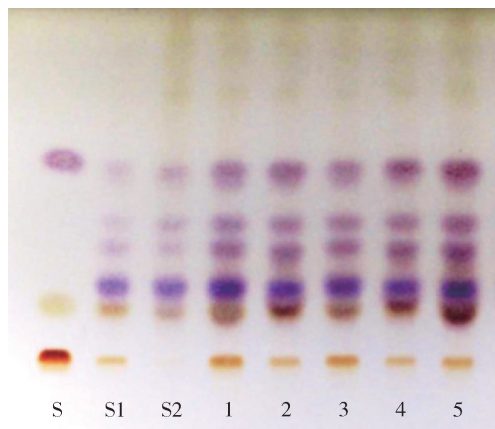
1.2 材料 甲醇(色谱级,德国 Merck 公司);水为超纯水;其他试剂均为分析纯(南京化学试剂有限公司);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工有限公司)。精氨酸对照品(批号 140685-201707,含量 99.9%)、亮氨酸对照品(批号 140687-201905,含量 99.9%)、脯氨酸(批号 140677-201808,含量 99.9%)、靛玉红对照品(批号 110717-201805,含量 99.6%)、尿苷对照品(批号 110887-201803,含

量 99.5%)、鸟苷对照品(批号 111977-201501,含量 93.6%)、(R,S)-告依春对照品(批号 111753-201706,含量 100.0%)、腺苷对照品(批号 110879-201703,含量 99.7%)均购自中国食品药品检定研究院;除自制的 3 批板青颗粒(批号:20200223、20200304、20200325)外,另收集市售样品 17 批次(来源批号等信息见表 6)。

2 方法及结果

2.1 鉴别

2.1.1 氨基酸的薄层色谱鉴别 取本品研细的粉末 1 g,加乙醇 10 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液自然挥发至约 2 mL,作为供试品溶液。另取精氨酸对照品、脯氨酸对照品、亮氨酸对照品适量,加乙醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的溶液,作为混合对照品溶液。照薄层色谱法(《中国兽药典》2015 年版二部附录 0502)试验,吸取上述混合对照品溶液 2 μ L、供试品溶液 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(19:7:5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茚三酮试液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,结果见图 1。

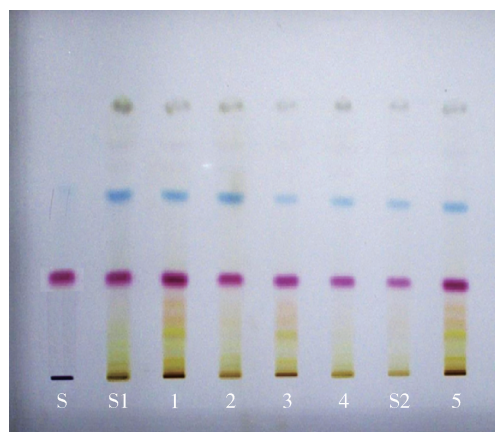


S. 亮氨酸、脯氨酸、精氨酸(从上至下) S1. 大青叶阴性对照
S2. 板蓝根阴性对照 1~5. 板青颗粒
S. arginine, proline and leucine reference substances (from top to down)
S1. *Isatis Folium* negative sample
S2. *Isatis Radix* negative sample 1~5. samples

图 1 板青颗粒中氨基酸的薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatogram of amino acids in Banqing Granules

2.1.2 靛玉红的薄层色谱鉴别 取本品研细的粉末 10 g, 加二氯甲烷 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液浓缩至约 1 mL, 作为供试品溶液。另取靛玉红对照品适量, 加二氯甲烷制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国兽药典》2015 年版二部 附录 0502) 试验, 吸取上述对照品溶液 5 μ L、供试品溶液 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷 - 二氯甲烷 - 丙酮 (5:4:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。结果见图 2。



S. 靛玉红 S1. 板蓝根阴性对照

S2. 大青叶阴性对照 1~5. 板青颗粒

S. indirubin reference substance

S1. *Isatidis Radix* negative sample

S2. *Isatidis Folium* negative sample 1~5. samples

图 2 板青颗粒中靛玉红的薄层色谱图

Fig 2 TLC chromatograms of indirubin in Banqing Granules

2.1.3 尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷的高效液相色谱定性鉴别 取“2.2.3”项下制备的溶液, 作为供试品溶液。另取“2.2.2”项下制备的溶液, 作为混合对照品溶液。按“2.2.1”项下的色谱条件试验, 采用二极管阵列检测器 (PDA) 进行全波长扫描, 记录混合对照品溶液及供试品溶液在 210 ~ 400 nm 的吸收光谱图, 提取 245 nm 波长处的色谱图。结果, 在供试品色谱中, 呈现与 4 种对照品色谱峰保留时间一致的色谱峰, 且各峰的吸收光谱图

与相应对照品一致, 见图 3。

2.2 4 种指标性成分的定量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 SHISEIDO Capcell Pak C18 MG 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 甲醇 (A) - 水 (B) 为流动相, 梯度洗脱 (0 ~ 15 min, 3% ~ 5% A; 15 ~ 20 min, 5% ~ 10% A; 20 ~ 23, 10% ~ 13% A; 23 ~ 38 min, 13% A); 流速为 0.8 min $\cdot$ mL⁻¹; 柱温为 30 $^{\circ}$ C; 检测波长为 245 nm; 进样量为 10 μ L; 理论板数按 (R,S) - 告依春计算应不低于 5000, 供试品图谱中尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春、腺苷与其他组分均能达到基线分离, 见图 4。

2.2.2 对照品溶液的制备 取尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷对照品适量, 精密称定, 加 5% 甲醇溶液制成每 1 mL 含尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷分别为 10 μ g、10 μ g、3 μ g 和 10 μ g 的混合对照品溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加 5% 甲醇溶液 70 mL, 超声处理 (功率 500 W, 频率 40 kHz) 20 min, 放冷, 用 5% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别取尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷对照品适量, 精密称定, 用 5% 甲醇溶液溶解并稀释制成含尿苷为 108.06 μ g $\cdot$ mL⁻¹、鸟苷为 101.09 μ g $\cdot$ mL⁻¹、(R,S) - 告依春为 31.44 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 和腺苷为 105.18 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的混合对照品贮备溶液。精密吸取对照品贮备液适量, 加 5% 甲醇溶液分别稀释制成含尿苷 32.42、21.61、10.81、5.40、2.16、1.08 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 含鸟苷 30.33、20.22、10.11、5.05、2.02、1.01 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 含 (R,S) - 告依春 9.43、6.29、3.14、1.57、0.79、0.39 μ g $\cdot$ mL⁻¹, 含腺苷 31.56、21.04、10.52、5.26、2.10、1.05 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的系列溶液, 按拟定色谱条件进行测定, 记录峰面积, 以对照品的浓度为横坐标 (x), 以峰面积积分值为纵坐标 (y), 绘制标准曲线, 见表 1。

2.2.5 检测限和定量限 精密量取已知质量浓度

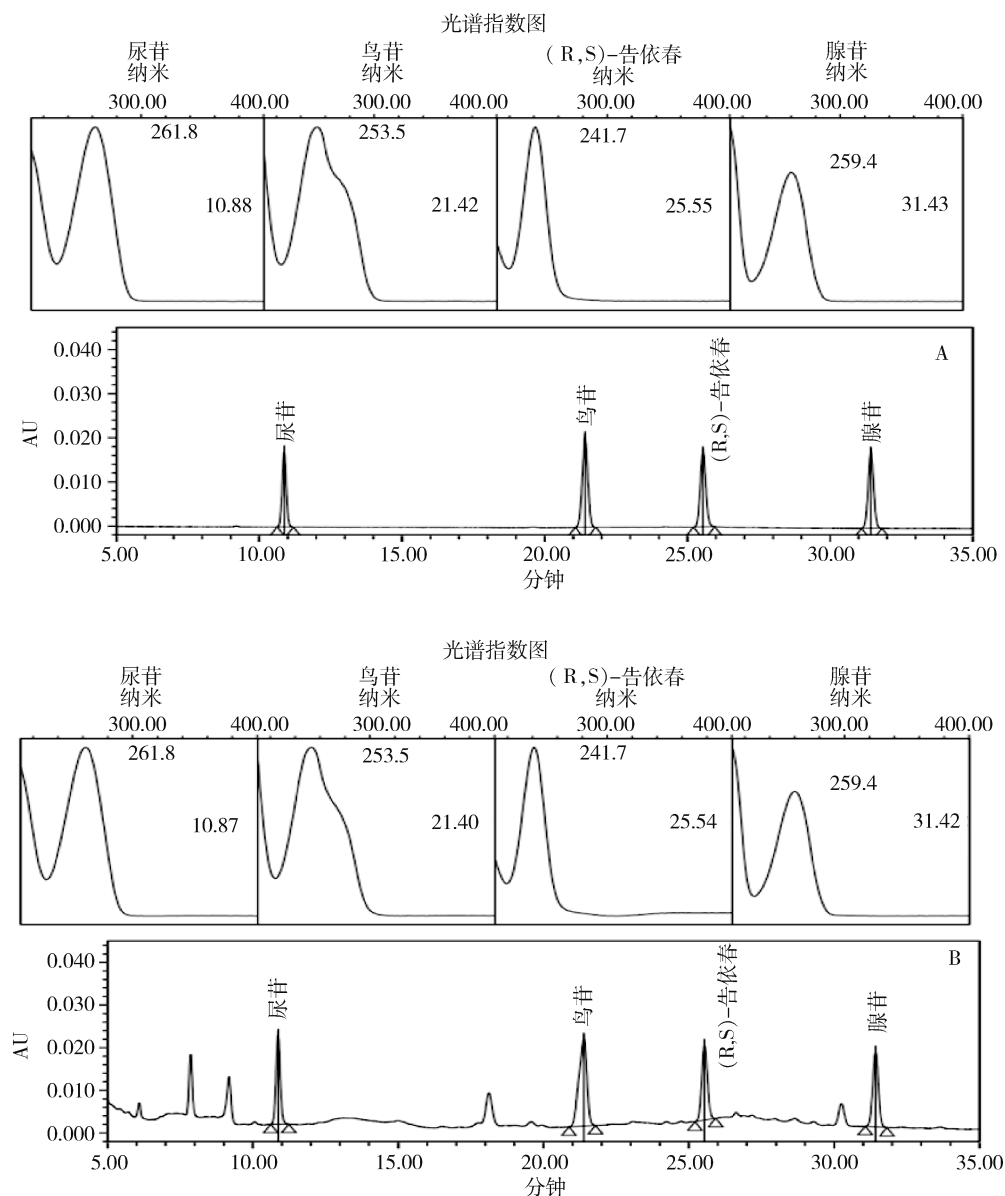


图 3 混合对照品(A)和板青颗粒(B)的高效液相色谱定性鉴别光谱指数图

Fig 3 HPLC chromatograms and spectrogram of reference substances(A) and Banqing Granules(B)

的对照品溶液,用 5% 甲醇溶液依次稀释制成浓度由高到低的系列溶液,测得尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷的检测限($S/N=3$)和定量限($S/N=10$),用质量单位表示,见表 1。

2.2.6 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL ,连续进样 6 次,测得各峰相对保留时间的 $RSD(n=6) < 0.1\%$,尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷各峰面积的 $RSD(n=6)$ 分别为 0.4%、0.3%、0.4% 和 0.4%,方法精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取样品(批号 20200223)按“2.2.3 供试品溶液的制备”项下操作,平行制备 6 份,按上述色谱条件进样测定,测得每 1 g 供试品中尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷的平均含量分别为 583、599、150、449 μg , $RSD(n=6)$ 分别为 0.4%、0.6%、1.0% 和 0.5%,表明该方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一份供试品(批号 20200223)溶液,分别在 0、2、4、8、12、24、48、72 h 按

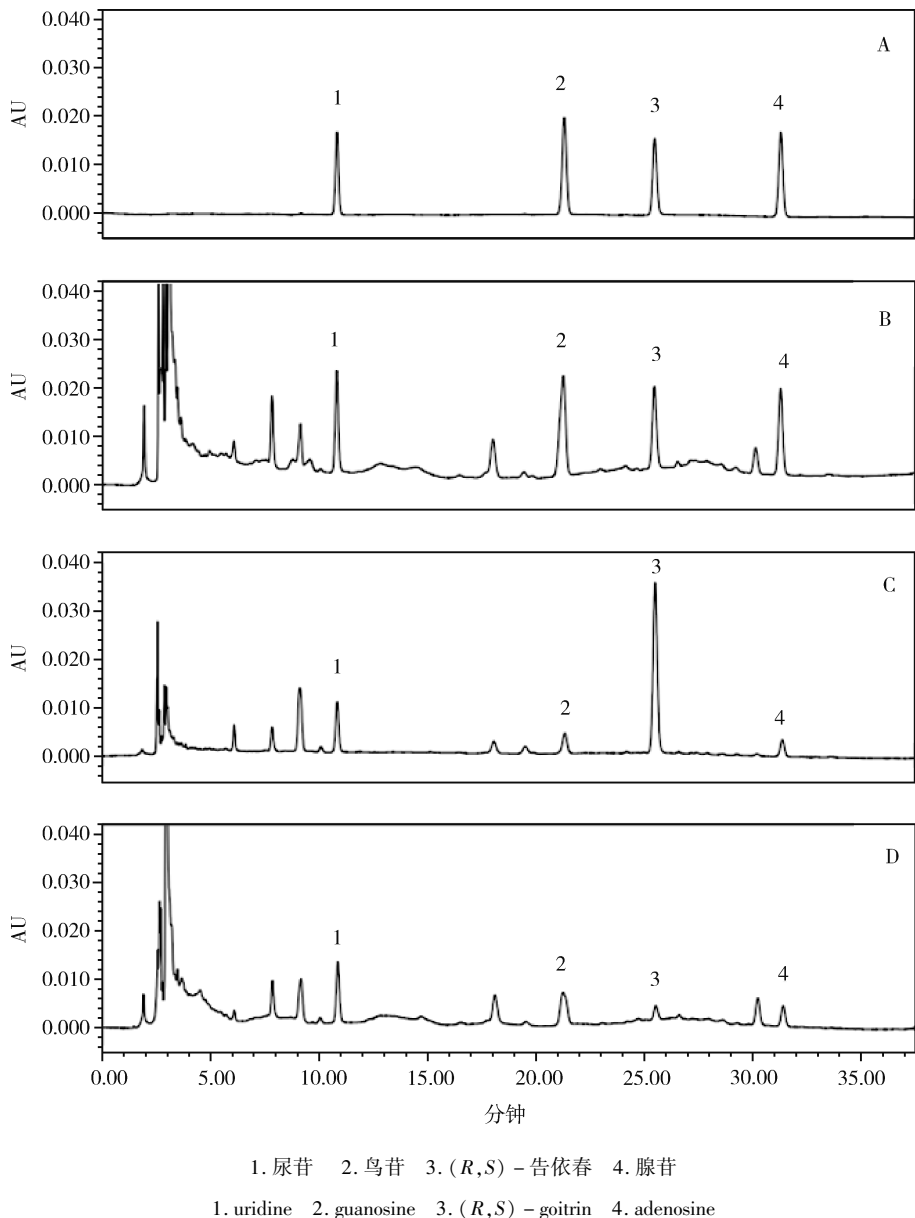


图 4 混合对照品(A),板青颗粒(B),大青叶阴性对照(C)和板蓝根阴性对照(D)的高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms of reference substance(A) , Banqing Granules(B) ,
Isatidis Folium negative sample(C) and *Isatidis Radix* negative sample(D)

上述色谱条件进样,记录供试品溶液中尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷的色谱峰保留时间及峰面积,各峰保留时间 $RSD(n=8) < 0.1\%$,峰面积 $RSD(n=8)$ 分别为 0.9%、1.0%、1.6% 和 0.6%,表明供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.2.2.9 回收率试验 取已知含量的板青颗粒(批号 20200223)细粉约 1.0 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,按供试品已知成分含量的 50%、100%、150%

三个水平分别加入浓度为尿苷 $54.03\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、鸟苷 $50.54\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、(R,S) - 告依春 $15.72\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和腺苷 $52.59\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液 5、10、15 mL。按“2.2.3”项下操作并进样测定,计算加样回收率。结果样品中尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷的平均回收率分别为 98.6%、100.5%、98.5% 和 99.8%, $RSD(n=9)$ 分别为 1.0%、1.3%、1.1% 和 1.4%。见表 2 ~ 表 5。

表 1 回归方程、线性范围、定量限和检测限

Tab 1 Linearity data and quantitation ranges obtained for four compounds					
名称	回归方程	相关系数 r	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	检测限/ng	定量限/ng
尿苷	$y = 16804x - 2098.7$	1.0000	1.08 ~ 32.42	1.8	5.4
鸟苷	$y = 28761x - 1723.9$	1.0000	1.01 ~ 30.33	1.1	3.4
(R,S) - 告依春	$y = 81235x - 4695.5$	0.9999	0.39 ~ 9.43	0.9	2.6
腺苷	$y = 23456x - 674.03$	1.0000	1.05 ~ 31.56	1.5	4.5

表 2 板青颗粒中尿苷加样回收率

Tab 2 Results of recovery tests for uridine in Banqing Granules						
取样量/g	样品中所含尿苷的量/ μg	加入的尿苷的量/ μg	测的量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.9990	582.77	270.15	853.27	100.13	98.6	1.0
1.0243	597.53	270.15	864.42	98.79		
1.0423	608.03	270.15	876.74	99.47		
1.0086	588.37	540.30	1118.01	98.03		
1.0179	593.79	540.30	1121.05	97.59		
1.0390	606.10	540.30	1138.99	98.63		
0.9984	582.42	810.45	1370.66	97.26		
1.0194	594.67	810.45	1398.41	99.17		
1.0053	586.44	810.45	1381.93	98.15		

表 3 板青颗粒中鸟苷加样回收率

Tab 3 Results of recovery tests for guanosine in Banqing Granules						
取样量/g	样品中所含鸟苷的量/ μg	加入的鸟苷的量/ μg	测的量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.9990	598.54	252.70	854.78	101.40	100.5	1.3
1.0243	613.70	252.70	868.25	100.73		
1.0423	624.48	252.70	883.48	102.49		
1.0086	604.29	505.40	1109.10	99.88		
1.0179	609.86	505.40	1110.18	98.99		
1.0390	622.50	505.40	1120.43	98.52		
0.9984	598.18	758.10	1364.12	101.03		
1.0194	610.76	758.10	1379.91	101.46		
1.0053	602.31	758.10	1361.80	100.18		

表 4 板青颗粒中(R,S) - 告依春加样回收率

Tab 4 Results of recovery tests for (R,S) - goitrin in Banqing Granules						
取样量/g	样品中所含(R,S) - 告依春的量/ μg	加入的(R,S) - 告依春的量/ μg	测的量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.9990	150.08	78.60	227.46	98.45	98.5	1.1
1.0243	153.88	78.60	229.81	96.61		
1.0423	156.58	78.60	233.55	97.93		
1.0086	151.52	157.20	309.12	100.26		
1.0179	152.92	157.20	308.84	99.19		
1.0390	156.09	157.20	311.86	99.09		
0.9984	149.99	235.80	380.65	97.82		
1.0194	153.14	235.80	385.58	98.57		
1.0053	151.02	235.80	382.71	98.26		

表 5 板青颗粒中腺苷加样回收率

Tab 5 Results of recovery tests for adenosine in Banqing Granules						
取样量/g	样品中所含腺苷的量/ μg	加入的腺苷的量/ μg	测的量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.9990	448.88	262.95	717.92	102.32	99.8	1.4
1.0243	460.25	262.95	724.57	100.52		
1.0423	468.34	262.95	733.35	100.78		
1.0086	453.20	525.90	980.32	100.23		
1.0179	457.38	525.90	976.54	98.72		
1.0390	466.86	525.90	992.15	99.88		
0.9984	448.61	788.85	1222.10	98.05		
1.0194	458.05	788.85	1238.08	98.88		
1.0053	451.71	788.85	1229.14	98.55		

2.2.10 含量测定 取研磨后的板青颗粒细粉约 2 g,精密称定,按“2.2.3”项下操作,制成供试品溶液。分别精密吸取混合对照品溶液与供试品溶液

各 10 μL ,注入液相色谱仪,测定,按外标法以峰面积计算供试品中尿苷、鸟苷、(R,S) - 告依春和腺苷的量,结果见表 6。

表 6 板青颗粒 4 种成分含量测定结果 (n=3)

Tab 6 Test results of samples (n=3)							
编号	厂家代号	来源	批号	各成分含量/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)			
				尿苷	鸟苷	(R,S) - 告依春	腺苷
1	本所	自制	20200223	583.4	599.1	150.2	449.3
2	本所	自制	20200304	609.2	673.2	174.3	520.5
3	本所	自制	20200325	545.1	511.0	127.0	476.8
4	A	江苏	200105	613.2	336.1	538.2	386.9
5	A	江苏	200220	611.4	331.4	497.9	378.6
6	B	江苏	201812005	402.3	508.1	152.5	243.4
7	C	山东	20200402	555.6	89.3	115.7	60.7
8	D	河北	C1M200304	137.9	112.0	43.2	70.6
9	E	江西	2020041001	171.0	24.2	36.4	23.9
10	F	江苏	20200403	99.1	45.0	21.4	24.2
11	E	江西	2019071101	60.0	21.6	13.5	33.2
12	G	山东	20041601	244.4	165.3	6.8	82.1
13	H	江苏	20190509	56.1	43.7	5.8	30.5
14	I	山东	20200104	55.4	45.0	5.3	28.8
15	J	山东	2019061503	99.1	88.4	—	49.2
16	K	江苏	201905091	42.2	31.1	—	26.9
17	L	河南	19091802	35.0	30.7	—	15.3
18	M	江苏	20190926	37.2	15.5	—	13.7
19	N	山东	200103	10.7	17.0	—	8.0
20	O	江西	19072901	70.1	—	—	—

—:未检测到或低于检测限

3 讨论与结论

3.1 指标性成分的选择 方中板蓝根为十字花科菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根,主要含有生物碱类、核苷类、氨基酸类等化学成分^[10-12]。《中国兽药典》2015 年版二部中板蓝根质量标准选择精氨酸进行薄层色谱鉴别,以(*R,S*) - 告依春为指标成分进行薄层色谱鉴别和高效液相色谱定量测定,可实现与南板蓝根的快速鉴别。大青叶与板蓝根同出一源,为菘蓝的干燥叶,与板蓝根所含化学成分基本一致^[13-14],但不同化学成分在两者中含量差距较大。大青叶现行质量标准以靛蓝、靛玉红为指标成分进行薄层色谱鉴别,并采用高效液相色谱法对靛玉红进行定量测定。本研究结合板青颗粒的临床功效,建立以靛玉红为代表的吲哚类成分薄层色谱鉴别方法;建立以(*R,S*) - 告依春为代表的生物碱及以尿苷、鸟苷和腺苷为代表的核苷类成分的高效液相色谱定性定量测定方法。上述几种化合物在热水中溶解性好,用水煎煮提取时能够很好的溶出,且具有较强的抗菌、抗病毒活性^[15-16],故可作为指标性成分来控制该制剂的质量。

3.2 精氨酸薄层鉴别的改进 按照现行标准的鉴别 2 进行精氨酸薄层鉴别时,经常会出现供试品溶液的精氨酸斑点相比精氨酸对照品的斑点滞后的现象,严重影响结果的判定。杨新等研究表明^[17],板青颗粒的辅料蔗糖易溶于提取液稀乙醇,后在加热蒸干过程中被水解成还原糖,还原糖会进一步与供试品中的氨基酸或蛋白质发生美拉德反应(Mailard Reaction),形成大分子物质类黑精,导致薄层板上斑点滞后。本研究利用蔗糖在乙醇中溶解度很低特性,采用乙醇做提取液,用自然挥发代替加热蒸干进行供试品溶液的制备,减少了供试品溶液中蔗糖的含量及还原糖的产生,有效解决了斑点滞后问题。

3.3 HPLC 法定性及定量实验条件的选择 参考文献考察多种流动相,选择甲醇和水梯度洗脱,各峰分离度好。比较了 Shim-pack VP-ODS 柱, Capcell Pak C18 MG 柱、Waters Atlantis T3 柱等,样品溶液中(*R,S*) - 告依春、尿苷、鸟苷和腺苷均可

达到基线分离,选择 245 nm 作为检测波长时,各被测色谱峰均有较好的响应值。本研究预实验表明 4 种被测组分可使用不同的提取方法及展开条件进行 TLC 鉴别,但考虑到 HPLC 测定含量时,一针进样可同时检测 4 种成分,使用 PDA 检测器采集光谱图,将保留时间及光谱匹配度作为判定指标,亦可对 4 种成分进行定性鉴别,相比薄层色谱法前处理简单,受其他因素影响小。

3.4 评价性研究结果分析及建议 将自制样品及市场收集的 17 批样品按现行标准检测,均符合规定。用新建的方法进行检测,20 批样品中仅有 14 批能够进行(*R,S*) - 告依春定量测定,其余 6 批均未测得或低于检测限,含量范围在 0 ~ 538.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;尿苷的含有量范围在 10.7 ~ 613.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;鸟苷的含有量范围在 0 ~ 673.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;腺苷的含有量范围在 0 ~ 520.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果表明不同生产企业,同一生产企业的不同批次之间,4 种成分含量差异很大。分析原因,首先是不同产地药材本身的差异性^[18-21],药材中有效成分的含量直接影响制剂的质量。殷世宁等对不同产地的 18 批次板蓝根中尿苷、腺苷、(*R,S*) - 告依春 3 种成分进行测定, (*R,S*) - 告依春为 0.034 ~ 0.347%,腺苷为 0.001 ~ 0.079%,尿苷为 0.010 ~ 0.051%;其次是否按照处方足量投料也直接关系成品含量;最后不同生产企业使用的提取工艺或制剂制法的差异,亦导致某些成分转移率较低^[22]。参考《中国兽药典》中药品质量标准分析方法验证指导原则,含有量限度按照 20 批样品含量测定结果(表 6)的平均值下浮 20% 计算,建议规定本品每 1 g 含尿苷、鸟苷和腺苷的总量不得少于 0.46 mg;含(*R,S*) - 告依春不得少于 0.075 mg。

中兽药通过“多成分、多作用、多靶点”在我国兽医医疗系统中发挥了重要作用,且不易产生耐药性,是国家实施兽用抗菌药使用减量化行动可行的抗菌药替代方法之一,其主成分含量的差异会导致临床疗效的优劣。板青颗粒作为临床常用中兽药,疗效确切,但其质量控制水平还比较落后,不利于日常监管。综上所述,建议《中国兽药典》2020

版完善板青颗粒的鉴别项、增加含量测定项,为有效控制产品质量提供技术支持。

参考文献:

- [1] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2015 年版(二部)[S].
Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China (the second volume of 2015 edition) [S].
- [2] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典兽药使用指南化学药品卷 2010 年版[S].
Commission of Chinese Veterinary Pharmacopoeia Guide to Utilization of Veterinary Drug in Veterinary Pharmacopoeia of People's Republic of China, 2010, Chemical Medicine Volume [S].
- [3] 谭敏洁, 江 勋, 彭婷婷, 等. 复方板蓝根颗粒质量标准提升研究[J]. 中国药业, 2018, 27(15): 20–24.
Tan M J, Jiang X, Peng T T, *et al.* Study on Improvement of Quality Standard of Compound Banlangen Granules [J]. China Pharmaceuticals, 2018, 27(15): 20–24
- [4] 郑 程, 王 瑞, 王峥涛. 复方板蓝根颗粒质量标准的提升研究[J]. 中成药, 2015, 37(07): 1477–1482.
Zheng C, Wang R, Wang Z T. Improvement of the quality standard for Compound Banlangen Granules [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2015, 37(07): 1477–1482.
- [5] 王 卿, 张彦南, 郑艳萍, 等. 市售复方板蓝根颗粒质量对比研究[J]. 中医临床研究, 2016, 8(04): 44–46.
Wang J, Zhang Y N, Zheng Y P, *et al.* Quality comparison of commercially available compound indigowoad root granule from different companies [J]. Clinical Journal of Chinese Medicine, 2016, 8(04): 44–46.
- [6] 叶文婷, 欧阳惠芳, 李秀丽. 复方板蓝根颗粒质量标准的研究[J]. 临床医学工程, 2010, 17(04): 51–52.
Ye W T, Ou Yang H F, Li X L, *et al.* Study on Quality Standard of CO Banlangen Granules [J]. Clinical Medicine & Engineering, 2010, 17(04): 51–52.
- [7] 李 莉, 承 晨, 王倬恒. 板蓝根颗粒质量分析[J]. 海峡药学, 2017, 29(11): 79–82.
Li L, Cheng C, Wang Z X, Quality Analysis of BanLanGen Granules [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2017, 29(11): 79–82.
- [8] 刘丽娟, 陈红英, 李翠芬. 大青叶中药饮片与配方颗粒的质量研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(07): 723–725.
Liu J J, Cheng H Y, Li C F. Quality Research on Chinese Medicinal Pieces and Formula Granule of Folium Isatidis [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2017, 37(07): 723–725.
- [9] 黄 远, 董福越, 李楚源. 板蓝根中主要化学成分含量测定方法研究进展[J]. 中国药业, 2020, 29(07): 150–156.
Huang J, Dong F Y, Li C Y. Research Progress on the Determination Methods of Main Chemical Components in *Radix Isatidis* [J]. China Pharmaceuticals, 2020, 29(07): 150–156.
- [10] 杨建昕, 李 峰, 李 娜, 等. 板蓝根抗病毒活性成分研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(07): 141–143.
Yang J X, Li F, Li N, *et al.* Research Progress of Antiviral Active Ingredients of Isatidis Radix [J]. Journal Of Liaoning University of TCM [J]. 2016, 18(07): 141–143.
- [11] 林丽君, 聂黎行, 戴 忠, 等. 板蓝根的研究概况[J]. 中国药业, 2015, 24(21): 1–4.
Lin L J, Nie L X, Dai Z, *et al.* A survey of the research of *Radix Isatidis* [J]. China Pharmaceuticals, 2015, 24(21): 1–4.
- [12] 马丽娜, 章从恩, 鄢 丹, 等. 超滤质谱技术筛选板蓝根中抗流感病毒的活性成分[J]. 中国中药杂志, 2014, 9(5): 812–816.
Ma L N, Zhang C E, Yan D, *et al.* Screening bioactive compounds inhibiting influenza virus from *Isatidis Radix* by ultrafiltration mass spectrometry [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 9(5): 812–816.
- [13] 闫 峻, 顾 娟, 冯 硕, 等. 大青叶化学成分及抗氧化活性研究[J]. 质谱学报, 2019, 40(04): 381–390.
Yan J, Gu J, Feng S, *et al.* Study of Chemical Constituents and Antioxidant Activity of *Isatidis Folium* [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Societ, 2019, 40(04): 381–390.
- [14] 赵晓娟, 李 琳, 刘 雄, 高建德, 等. 大青叶的本草学研究、化学成分及药理作用研究概况[J]. 甘肃中医学院学报, 2011, 28(05): 61–64.
Zhang X J, Li L, Liu X, *et al.* Studies on the Herbal Medicine Origin, Chemical Constituents and Pharmacological Action of *Isatidis Folium* [J]. Gansu University Of Chinese Medicine, 2011, 28(05): 61–64.
- [15] 彭婷婷, 江 勋, 周 峰. 复方板蓝根颗粒及板蓝根的质量研究概况[J]. 中成药, 2017, 39(12): 2573–2575.
Peng T T, Jiang X, Zhou F. Overview on Quality Research of Compound Banlangen Granules and *Radix Isatidis* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 39(12): 2573–2575.
- [16] 陈冬金, 孙世坤, 张红云. 复方板蓝根提取工艺与靛玉红含量测定[J]. 福建畜牧兽医, 2011, 33(05): 8–10.
Chen D J, Sun S K, Zhang H Y. Determination and distill of in-

- dirubin in the compound of *radix isatidis* [J]. *Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2011, 33 (05): 8 – 10.
- [17] 杨新,李硕,李亚威,等.蔗糖对板青颗粒薄层色谱鉴别影响的发现和消除[J].*畜牧兽医学报*, 2019, 50 (08): 1702 – 1708.
- Yang X, Li S, Li Y W, Chen W, *et al.* Characterization and Elimination of the Effect of Sucrose on Ban Qing Granules TLC Identification[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2019, 50 (08): 1702 – 1708.
- [18] 殷世宁,张春辉,王海英.板蓝根特征图谱及 3 种成分含量测定研究[J].*中国药业*, 2018, 27 (24): 15 – 18.
- Ying S N, Zhang C H, Wang H Y. Study on Specific Chromatograms of *Isatidis Radix* and Content Determination of Three Components in *Isatidis Radix* [J]. *China Pharmaceuticals*, 2018, 27 (24): 15 – 18.
- [19] 钟昆芮,王亚芳,张连彦,等.板蓝根指标成分分布分析及药材质量评价研究[J].*中国兽药杂志*, 2019, 53 (07): 36 – 43.
- Zhong K R, Wang Y F, Zhang L Y, *et al.* Distribution Analysis of Index Components in *Radix Isatidis* and Research of Its Medicinal Materials Quality Evaluation[J]. *Chinese Journal of Veterinary*, 2019, 53 (07): 36 – 43.
- [20] 罗文艳,段和祥,刘绪平,等. HPLC – 一测多评法同时测定大青叶中 6 种抗肿瘤活性成分的含量[J].*中国药房*, 2018, 29 (19): 2635 – 2639.
- Luo W Y, Duan X H, Liu X P, *et al.* Content Determination of 6 Antitumor Active Constituents in *Folium isatidis* by HPLC – QAMS[J]. *China Pharmacy*, 2018, 29 (19): 2635 – 2639.
- [21] 李媛,张苗苗,张鑫,等.多成分含量测定结合高效液相色谱指纹图谱评价不同产地大青叶药材质量[J].*中国药业*, 2019, 28 (17): 15 – 18.
- Li Y, Zhang M M, Zhang X, *et al.* Evaluation of the Quality of *Isatis Indigotica* from Different Origins by Multi – Component Content Determination and HPLC Fingerprint [J]., 2019, 28 (17): 15 – 18.
- [22] 范传园,杨彦平,付宁静,等.不同成型工艺对板青颗粒主要指标成分的影响[J].*中国兽药杂志*, 2010, 44 (09): 22 – 23.
- Fang C Y, Yang Y P, Fu N J, *et al.* The Influence of Different Moulding Process on Main Component Index of Banqing Granules [J]. *Chinese Journal of Veterinary*, 2010, 44 (09): 22 – 23.

(编辑:陈希)