

复方板蓝根颗粒抽检检测及探索性研究

张继红, 郑露盼, 屈婷婷, 方文超, 何亚芬*, 江锐

(上饶市检验检测认证院, 上饶 334000)

摘要:目的 分析复方板蓝根颗粒整体质量现状及存在的问题。方法 按照复方板蓝根颗粒现行质量标准, 对市售的30批次样品进行检验, 并对其有效性、安全性和甜味剂筛查进行探索性研究, 同时结合化学计量学方法对其有效性成分进行分析评价。结果 10家生产企业的30批次复方板蓝根颗粒按法定标准检验均符合规定。从探索性研究结果来看, 薄层色谱法(thin-layer chromatography, TLC)能对板蓝根进行定性鉴别; 复方板蓝根颗粒不同生产企业及相同生产企业不同批次间的(*R,S*)-告依春、核苷类成分总量的测定结果差异明显; 化学计量学方法将30批次样品分为3大类, 表明样品质量存在明显差异。结论 本探索性研究建立的TLC法可用于定性鉴别, 采用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定多指标成分含量可全面、准确评价复方板蓝根颗粒的内在质量, 为进一步完善和提升药品质量提供依据。

关键词: 复方板蓝根颗粒; 探索性研究; HPLC; 化学计量学; 质量分析

0 引言

复方板蓝根颗粒是非处方药, 具有清热解毒, 凉血之功效^[1], 其标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂第十二册, WS3-B-2377-97)。复方板蓝根颗粒由板蓝根和大青叶两味药组成, 经水提醇沉法制得^[2]。该制剂标准仅有性状、化学鉴别和颗粒剂的有关检查, 项目简单, 无薄层色谱法、含量测定等专属性及定量指标, 难以全面反映复方板蓝根颗粒的整体质量。为进一步评价其整体质量, 本次研究共收集到30批次样品, 在法定标准检测的基础上进行探索性研究, 重点围绕有效性[薄层色谱, 胞苷、尿苷、鸟苷、(*R,S*)-告依春和腺苷含量测定]、安全性(残留溶剂和重金属有害元素是否超标)和甜味剂筛查(安赛蜜、糖精钠、阿司帕坦和甜菊糖的筛查)开展探索性研究^[3-7]。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔公司), NexIONTM 350X ICP-MS(PE公司), BP211D 分析天平(德国 Sartorius 公司)。

胞苷(wkq22021607, 98.0%, 四川省维克奇生物科

技有限公司), 板蓝根对照药材(121177-202109)、大青叶对照药材(121367-202204)、尿苷(110887-202104, 99.60%)、鸟苷(111977-202202, 88.60%)、(*R,S*)-告依春(111753-202007, 100%)和腺苷(110879-202204, 99.4%)均购自中国食品药品检定研究院; 复方板蓝根颗粒共30批, 购自药品零售环节, 涉及10家企业; 甲醇、乙腈为色谱纯(德国默克公司), 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

30批样品法定检验采用标准《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂第十二册, WS3-B-2377-97)中规定的检验方法, 探索性研究参照《中华人民共和国药典》2020年版(以下简称《中国药典》)一部^[8]中板蓝根颗粒和相关文献^[9-10]的检测方法。

1.2.1 板蓝根 TLC 定性鉴别方法

取本品10g, 研细, 加80%的甲醇50mL, 超声处理30min, 放冷, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加甲醇1mL溶解, 作为供试品溶液。另取(*R,S*)-告依春对照品, 加甲醇制成每1mL含0.5mg的溶液, 作为对照品溶液。再取板蓝根对照药材1g、大青叶对照药材1g和缺板蓝根的阴性样品10g, 照供试品溶液的制备方法同法制得板蓝根对照药材溶液、大青叶对照药材溶液和缺板蓝根的阴性样品溶液。分别吸取上述供试品、对照品和阴性对照溶液

基金项目: 江西省药品监督管理局科研项目(编号: 2022JS22)。

第一作者: 张继红, 硕士, 副主任药师。研究方向为食品药品质量标准研究。

* 通信作者: 何亚芬, 硕士, 工程师。研究方向为食品药品质量分析。E-mail: 619635776@qq.com

各 10 μL , 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯(1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (254 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 斑点分离度较好, 阴性无干扰。

1.2.2 复方板蓝根颗粒含量测定方法

本研究含量测定采用高 HPLC 对胞苷、尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷同时进行含量测定, 对提取方法(提取方式、提取溶剂和提取时间)、色谱条件(不同的流动相系统、不同柱温、不同的流速、不同的进样量、不同厂家的色谱柱以及不同的检测波长)等条件进行优化, 使各成分达到更好的分离。经方法学验证, 该方法精密度、重复性、稳定性、加样回收、线性关系等均能满足要求。

2 结果与分析

2.1 法定检验结果

2.1.1 性状

30 批次复方板蓝根颗粒均为棕色的颗粒; 味甜、微苦。均符合标准规定。

2.1.2 鉴别

紫外光谱: 30 批次复方板蓝根颗粒均在紫外光灯 (365 nm) 下显蓝色荧光。均符合标准规定。

化学鉴别: 30 批次复方板蓝根颗粒均与茛三酮显蓝色现象。均符合标准规定。

2.1.3 检查

按照《中国药典》四部粒度和粒度分布测定法(通则 0982)测定, 30 批样品均符合规定。粒度分布正态图如图 1, 30 批样品粒度分布在 0.2%~3.4%, 粒度在 3.0% 以下占 95%, 均低于限度要求(15%), 但在检查过程中发现有一批次样品略微潮湿, 提示该企业生产工艺或贮存条件存在一定问题, 需进一步提升。

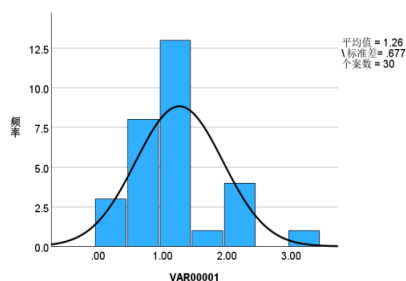


图 1 样品粒度测定结果正态分布图

按照《中国药典》2020 年版四部水分测定法(通则 0832)测定, 30 批样品均符合规定。水分正态分布图如图 2 所示, 30 批样品水分分布在 0.5%~3.2%, 水分在 3.0% 以下占 95%, 均低于限度要求(8.0%)。其他检查项目均符

合规定。

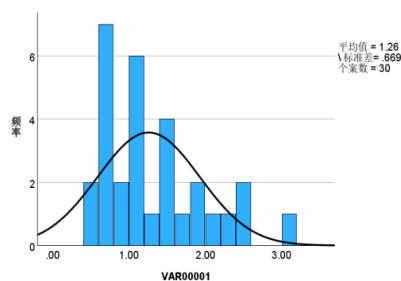


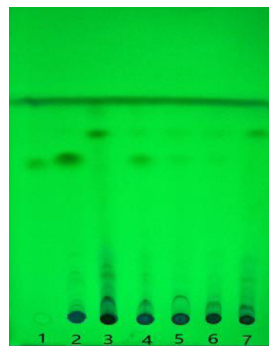
图 2 样品水分测定结果正态分布图

2.2 探索性研究

本次探索性研究从有效性、安全性和非法添加甜味剂等方面进行考察, 探索性研究项目主要包括薄层色谱, 胞苷、尿苷、鸟苷、(R,S)-告依春和腺苷含量测定, 残留溶剂、重金属及有害元素、甜味剂的筛查(安赛蜜、糖精钠、阿司帕坦和甜菊糖)等, 同时结合聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)等化学计量学分析方法, 对不同企业的 30 批样品进行分析, 以期为复方板蓝根颗粒进行科学的质量评价分析。

2.2.1 板蓝根的 TLC 定性鉴别研究

30 批样品中, 10 批次样品斑点清晰明显, 15 批次样品斑点很弱, 5 批次样品加大点样量仍看不出斑点, 测定结果见图 3。



注: 1—(R,S)-告依春对照品; 2—板蓝根对照药材; 3—大青叶对照药材; 4、5、6—供试品; 7—缺板蓝根阴性样品

图 3 部分复方板蓝根颗粒的 TLC 图谱

2.2.2 含量测定

对 30 批样品进行测定, 样品含量测定结果详见表 1, 对照品系统性试验见图 4, 供试品溶液典型图谱见图 5。

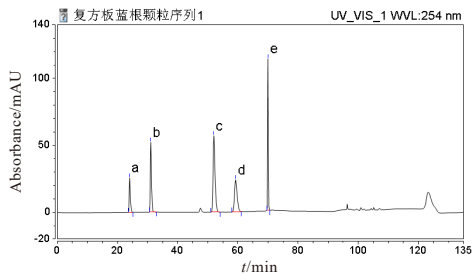
采用 HPLC 检测, 10 家生产企业 30 批样品中各成分含量范围胞苷为 0.2141~1.2145 mg/袋, 尿苷为 0.3894~6.5145 mg/袋, 鸟苷为 0.4123~2.1047 mg/袋, (R,S)-告依春为 0~0.7748 mg/袋, 腺苷为 0.2415~1.247 mg/袋, 5 种指标成分不同企业或相同企业不同批次间含量测定结果存在明显差异, 30 批样品含量测定箱式图, 见图 6。通过综合分析, 各指标成分差异明显, 提示可能存

在处方投料药材、投料量、投料比例及工艺流程等问题。

表 1 样品含量测定结果

编号	厂家	胞苷、尿苷、鸟苷、腺苷 总量/(mg/袋)	(R,S)-告依春/(mg/袋)
1	A	2.4615	0.3581
2	A	2.3645	0.3421
3	A	2.8362	0.4546
4	A	2.3586	0.4412
5	A	2.3574	0.3889
6	B	1.8651	0.1699
7	B	2.0145	—
8	B	1.9491	—
9	C	5.7221	0.3812
10	C	5.7774	0.3512
11	D	4.4264	0.0454
12	D	4.3553	0.0251
13	D	4.5421	0.0935
14	D	4.331	0.0678
15	D	4.5476	0.0584
16	E	4.8961	0.1894
17	E	3.6486	0.0989
18	E	3.6025	0.0951
19	E	3.1071	0.0769
20	F	2.3896	0.0989
21	F	2.2748	0.0895
22	F	2.1263	—
23	F	1.4793	0.0802
24	F	1.7628	—
25	G	5.6492	0.3548
26	G	6.0498	0.3458
27	H	11.9584	0.7748
28	I	2.3788	0.2145
29	I	2.496	0.2236
30	J	2.9989	0.3689

注：“—”代表低于检出限。



注: a—胞苷; b—尿苷; c—鸟苷; d—(R,S)-告依春; e—腺苷

图 4 混合对照品溶液的 HPLC 色谱图

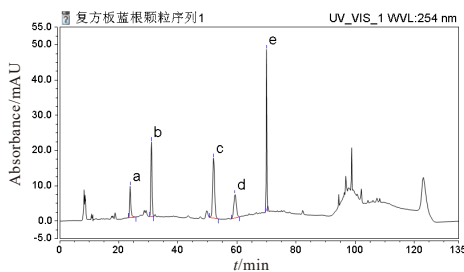


图 5 供试品溶液的 HPLC 色谱图

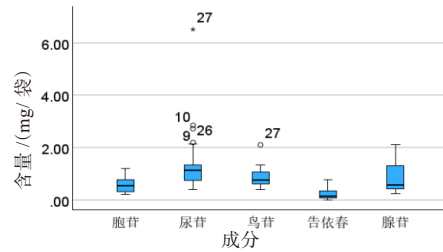
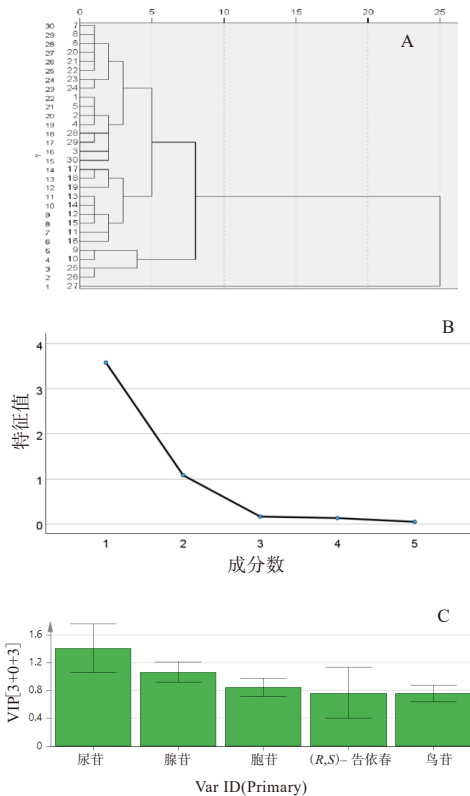


图 6 30 批样品含量测定箱式图

采用 SPSS 29.0 和 SIMCA 14.0 软件, 对 5 种指标成分进行化学计量学分析, 分别进行聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)。聚类分析和 OPLS-DA 结果显示 A、B、E、F、I、J 相对集中为一组, C、D、G 对集中为一组, H 为一组; 主成分分析的碎石图和 OPLS-DA 的 VIP 值条形图结果显示, 峰 b(尿苷)和 e(腺苷)这两种化学成分是引起复方板蓝根颗粒样品差异性的重要因素, 可考虑作为复方板蓝根颗粒质量评价的指标性成分, 化学计量学分析图见图 7。



注: A—聚类分析图; B—主成分分析碎石图; C—OPLS-DA 的 VIP 值条形图

图 7 复方板蓝根颗粒的化学计量分析图

2.2.3 重金属及有害元素

按照《中国药典》2020 版四部通则 2321 中第二法即 ICP-MS 法, 测定样品中铅、镉、砷、汞、铜重金属及有害元素残留量, 结果 5 种重金属含量均在规定范围之内, 说明复方板蓝根颗粒受重金属的污染可能性较小。

2.2.4 残留溶剂

按照《中国药典》四部 2020 版四部通则 0861 中第二法即毛细管柱顶空进样程序升温法, 测定样品中甲醇、乙醇、丙酮、甲酸乙酯、乙腈、正己烷、乙酸乙酯、四氢呋喃和正庚烷 9 种残留溶剂量, 结果 9 种残留溶剂量均在规定的范围之内, 说明复方板蓝根颗粒残留溶剂控制较好。

2.2.5 甜味剂筛查

本处方中含有蔗糖粉, 可能含有人工甜味剂。采用 HPLC 法, 考察样品中是否含有安赛蜜、糖精钠、阿司帕坦和甜菊糖等甜味剂, 结果样品中均未检出上述甜味剂。

3 讨论与结论

3.1 现行质量标准评价

30 批复方板蓝根颗粒按法定标准检验总体质量状况较好, 合格率为 100%。现行质量标准项目仅包括性状、鉴别和检查项目, 无中药质量控制专属性成分项目, 需进一步提升与产品质量相关专属性成分检验和含量测定。

3.2 发现问题

本次探索性研究结果表明, 复方板蓝根颗粒存在质量安全风险问题。TLC 法显示板蓝根专属性成分(*R,S*)-告依春检出结果差别明显, 有 5 批次样品未检出(*R,S*)-告依春; HPLC 法测定板蓝根专属性成分(*R,S*)-告依春结果差别很大, B 和 F 企业分别有两个批次未检出, 含量最高的 H 企业为 0.77 mg/袋; 板蓝根和大青叶共有核苷类成分(胞苷、尿苷、鸟苷和腺苷)测定结果差别明显; 化学计量学分析结果表明企业间差异显著, 相同企业不同批次间差异较小。

通过调研分析, 发现 H 企业投料量是板蓝根 1200.0 kg、大青叶 1800.0 kg 和其他辅料制粒成 1000.0 kg, 部分企业是按板蓝根 600.0 kg、大青叶 900.0 kg 和其他辅料制粒成 1000.0 kg 或 1500.0 kg, 部分企业是按板蓝根 400.0 kg、大青叶 600.0 kg 和其他辅料制粒成 1000.0 kg, 所有企业都是按板蓝根和大青叶比例为 2:3 处方要求进行投料, 但制成相同重量颗粒时企业间投料量最大相差却是 3 倍, 投料量存在显著差异。指标成分含量测定结果差异较大不仅与投料量直接相关, 同时与药材质量、提取工艺和过程质量控制均有很大关系。

3.3 总体评价

市售的 10 家生产企业共 30 批次复方板蓝根颗粒 TLC 图谱显示有 5 批次未检出(*R,S*)-告依春, 不合格率为 16.7%, 不合格企业是 B 和 F。

HPLC 法测定指标成分结果显示, (*R,S*)-告依春平均含量为 0.21 mg/袋, 核苷类成分(胞苷、尿苷、鸟苷和腺

苷)平均含量为 3.62 mg/袋, 含量限度按平均值下浮 30% 计算, 建议本品每袋含(*R,S*)-告依春不得少于 0.15 mg, 胞苷、尿苷、鸟苷和腺苷总量不得少于 2.53 mg。依据上述建议, 从探索性研究结果来看, (*R,S*)-告依春不合格是 15 批次, 不合格率为 50.0%, 不合格企业分别是 B、D、E 和 F, 共 4 家企业; 胞苷、尿苷、鸟苷和腺苷总量不合格批次是 14 批次, 不合格率为 46.7%, 不合格企业分别是 A、B、F 和 I, 共 4 家企业。通过探索性研究发现市售复方板蓝根颗粒整体质量评价为“较差”。

3.4 建议

结合现行质量标准和探索性研究来看, 复方板蓝根颗粒 TLC 定性鉴别和指标成分测定结果差异明显, 说明产品质量有效性方面存在一定问题, 建议标准中处方和制法应明确规定制粒质量, 同时增加专属性检测项目, 进一步完善和提升法定检测标准; 建议生产企业在购进原药材时应严格控制药材质量, 生产过程中严格控制工艺参数如水提时间、浓缩温度、醇沉时间等, 对关键质量参数进行过程检验, 从各方面确保产品质量, 以期达到用药疗效; 建议监管部门对企业加大监管力度, 定期抽检原料和产品, 及时分布抽检结果, 保障药品安全有效。

参考文献

- [1] 贾德武. 复方板蓝根颗粒解热抗炎作用的实验研究[J]. 中医药临床杂志, 2008, 20(4): 358-359.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂: 第十二册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
- [3] 付美芳, 王劲, 赵丹彤, 等. 市售牡丹皮配方颗粒质量评价与分析[J]. 中国医药导刊, 2023, 25(11): 1104-1111.
- [4] 胡青, 程益清, 曹帅, 等. 复方板蓝根颗粒物质研究及其整体质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3194-3199.
- [5] 李柯, 戚建中, 符国成, 等. 复方板蓝根颗粒标准研究与产品评价[J]. 中医药导报, 2021, 29(9): 78-90.
- [6] 吕盼, 费毅琴, 郑丽慧, 等. 婴儿健脾散质量评价研究[J]. 亚太传统医药, 2023, 419(9): 78-82.
- [7] 刘静, 刘燕, 郑笑为, 等. 基于国家药品抽检的骨刺片质量分析[J]. 中国药物警戒, 2023, 20(3): 292-295.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1110-1111.
- [9] 胡晓茹, 党海霞, 张南平, 等. 舒筋定痛片国家药品抽检检测及探索性研究[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(13): 1091-1098.
- [10] 曹桂云, 庄雪松, 宁波, 等. 特征图谱、一测多评与模式识别相结合的茵陈【茵陈蒿(绵茵陈)】配方颗粒质量评价分析[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(4): 689-704.