

## 质量分析

基于对照制剂的板蓝根颗粒指纹图谱和  
多成分含量测定研究及质量等级初评价\*钱秀玉<sup>1</sup>, 聂黎行<sup>2</sup>, 原文鹏<sup>3</sup>, 胡新华<sup>3</sup>, 常艳<sup>2\*\*</sup>, 于健东<sup>2</sup>, 魏锋<sup>2</sup>, 马双成<sup>4\*\*</sup>

(1. 中国药学会, 北京 100050; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 102629; 3. 深圳市人民医院(暨南大学第二临床医学院, 南方科技大学第一附属医院), 深圳 518020; 4. 国家药典委员会, 北京 100061)

**摘要 目的:**以对照制剂为随行对照,分别建立指纹图谱和多成分指标含量测定方法,对55个厂家103批板蓝根颗粒质量进行分级评价。**方法:**采用超高效液相色谱法,建立板蓝根颗粒指纹图谱,同时测定7个成分(尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、紫丁香酚苷、直铁线连宁B)含量。采用Waters ACQUITY UPLC HSS T<sub>3</sub>(100 mm×2.1 mm,1.8 μm)色谱柱,以甲醇-水为流动相,梯度洗脱,流速0.2 mL·min<sup>-1</sup>,进样量2 μL,柱温30℃,采用多波长检测模式。与对照品比较,确定特征峰及其化合物归属。以对照制剂为参照,计算样品指纹图谱相似度及成分含量,并初步分级评价其质量。**结果:**建立了板蓝根颗粒特征指纹图谱,共指认10个特征峰,样品指纹图谱相似度在0.541~0.993范围,101批制剂相似度>0.75,达到二级限度,81批制剂相似度≥0.90,达到一级限度。7个成分在各自范围内线性关系良好,平均回收率(n=9)为97.0%~104.7%(RSD均<3%),精密度、稳定性、重复性良好(RSD均<3%)。以5 g·袋<sup>-1</sup>计,7个成分总含量范围为0.189~10.347 mg·袋<sup>-1</sup>。结果显示,75批次样品的含量达到二级限度,59批次样品的含量达到一级限度。**结论:**建立的方法简便、准确、快速,可用于板蓝根颗粒的质量控制和等级评价,也可为其他中成药质量等级评价研究提供参考。

**关键词:**板蓝根颗粒;对照制剂;指纹图谱;超高效液相色谱法;含量测定;质量等级

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2024)10-1795-12

doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0064

Research of chromatographic fingerprint and the determination of multiple  
constituents and the primary evaluation of the quality grade of  
Banlangen granules based on the reference drug\*QIAN Xiu-yu<sup>1</sup>, NIE Li-xing<sup>2</sup>, YUAN Wen-peng<sup>3</sup>, HU Xin-hua<sup>3</sup>,  
CHANG Yan<sup>2\*\*</sup>, YU Jian-dong<sup>2</sup>, WEI Feng<sup>2</sup>, MA Shuang-cheng<sup>4\*\*</sup>

(1. Chinese Pharmaceutical Association, Beijing, 100050, China; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 102629, China; 3. Shenzhen People's Hospital (The Second Clinical Medical College, Jinan University; The First Affiliated Hospital, Southern University of Science and Technology), Shenzhen 518020, China; 4. Chinese Pharmacopoeia Commission, Beijing 100061, China)

**Abstract Objective:** To establish the determination methods for chromatographic fingerprint and multiple

\* 国家重点研发计划中医药现代化专项(2023YFC3504100)

\*\* 通信作者 常艳 Tel:(010)53851492;E-mail:changyan@nifdc.org.cn

马双成 Tel:(010)53852076;E-mail:masc@nifdc.org.cn

第一作者 钱秀玉 Tel:(010)67095728;E-mail:qianxiuyu@163.com

聂黎行 Tel:(010)53852100;E-mail:nielixing@163.com

constituents, and then evaluate the quality grade of 103 batches of Banlangen granules that were from 55 manufacturers based on the reference drug. **Methods:** Ultra-high-performance liquid chromatography (UPLC) analysis was used to establish the fingerprint of Banlangen granules and quantitate the contents of 7 components – uridine, adenine, vernine, (*R,S*) – goitrin, adenosine, syringin and clemastanin B. The test was performed on the Waters ACQUITY UPLC HSS T<sub>3</sub> (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) column with gradient elution using methanol – water at a flow rate of 0.2 mL · min<sup>-1</sup>. The injection volume was 2 μL, and the column temperature was constant at 30 °C. Then, the results were detected using adopting a multi-wavelength detection mode. Next, the characteristic peaks and their belonging were clarified by comparing them with the reference drug. The sample fingerprint similarity and determination of contents were finally calculated, and the quality grades of Banlangen granules in each item were evaluated by using the reference drug. **Results:** The fingerprint was established, and 10 main characteristic peaks were identified. The similarities of the sample's fingerprints ranged from 0.541 to 0.993, of which 101 batches were over 0.75 that were reached the second level, and 81 batches were over 0.90 that were reached the first level. The linear ranges of 7 components had good linear relationships within their respective ranges. The average recoveries (*n* = 9) were 97.0% – 104.7% with RSDs all below 3%. The precision, stability, and repeatability of methods were all good with RSDs all below 3%. Unified the sample specification to 5 g per bag, the content range of Banlangen granules samples was between 0.189 – 10.347 mg per bag. As a result, the content of 75 batches of samples reached the second level, and the content of 59 batches of samples reached the first level. **Conclusion:** The established methods are simple, accurate and rapid, which can be used for the quality control and grade evaluation of Banlangen granules, as well as the research paradigm of other traditional Chinese medicine preparations.

**Keywords:** Banlangen granules; reference drug; chromatographic fingerprint; content determination; quality grade

板蓝根颗粒现行标准收载于2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)一部<sup>[1]</sup>,是由板蓝根单味药材制成的中药成方制剂,具有清热解毒、凉血利咽的功效,用于肺胃热盛所致的咽喉肿痛、口咽干燥、腮部肿胀、急性扁桃体炎、腮腺炎等症<sup>[2-6]</sup>。板蓝根颗粒临床用药需求大,市面上不同厂家的板蓝根颗粒,仅从外观色泽就存在着很大差异,提示产品质量间的差异值得关注。板蓝根颗粒现行标准以尿苷、鸟苷和腺苷3个成分含量为定量指标,是需要满足的最低标准,但难以全面反映板蓝根颗粒整体质量。板蓝根颗粒具有多成分、多靶点的特点<sup>[7-9]</sup>,化学质量指标应尽可能体现中药专属性、有效性与安全性。此外,因缺少绝对的质量优劣评价标准或者相对的质量参照物,板蓝根颗粒质量分级评价困难,需要进一步深入研究。为了更加全面评价其质量,区分质量优劣,需建立新的质量评价方法,创新质量等级评价模式。指纹图谱技术及其相似度评价方法可以呈现中药色谱或光谱等性质的图像信息<sup>[10-13]</sup>,更加整体性反映中药化学信息,描绘

出更加全面的“化学轮廓”,较单一的或指标成分的质控方法,更能体现整体性特征,是控制中药质量的有效手段之一。在指纹图谱定性分析基础上,选择分离度好、质量相关的指标成分,同时进行含量测定,即实现“定量指纹图谱”,可增加质量分析维度,有效提高检验效率<sup>[14]</sup>。

中药对照制剂是指采用道地、优质、规范加工的原料药材(饮片)和辅料,严格按照制法和生产工艺规程并遵循药品生产质量管理规范制备的实物参照,是中药对照物质的创新形式<sup>[15-23]</sup>。将其引入质量评价体系中,可提供丰富的化学信息,消除因仪器、色谱柱等实验条件引起的误差,提高方法的重现性<sup>[22]</sup>,并且作为“标尺”比对未知样品质量,为质量等级划分提供客观依据,为判断中成药质量优劣提供了可行模式。目前,基于对照制剂的中药制剂质量评价还处于探索阶段。据文献报道<sup>[23-26]</sup>,已有将对照制剂应用于牛黄清胃丸、复方鲜竹沥液、大七厘丸等多个中成药质量评价的报道,但未见板蓝根颗粒有关的研究报道。

本研究研制了板蓝根颗粒对照制剂,创新性地将其引入质量评价研究中,建立了指纹图谱和多成分指标含量测定评价方法,并以对照制剂为实物参照,对板蓝根颗粒质量进行了初步分级评价,也可与其他中成药质量等级评价研究提供参考。

## 1 仪器与试剂

Waters ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪(配有 PDA 检测器、Empower 色谱工作站),AE-240 电子分析天平(万分之一, Mettler 公司)、XPE105 电子分析天平(十万分之一, Mettler 公司)、Mili-Q 纯水仪(Millipore 公司)、KQ-300DA 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)、Allegra 25R 离心机(贝克曼公司)。

对照品尿苷(批号 110887-201803, 含量 99.5%)、腺嘌呤(批号 110886-201102, 含量 99.4%)、鸟苷(批号 111977-201501, 含量 93.6%)、(R,S)-告依春(批号 111753-201706, 含量 100.0%)、腺苷(批号 110879-201703, 含量 99.7%)和次黄嘌呤(批号 140661-201704, 含量 99.4%)来自中国食品药品检定研究院,对照品紫丁香酚苷(批号 111760-201502, 含量 98%)、落叶松树脂醇(批号 T27A11Z122494, 含量 98%)和吡啶乙酸(批号 S26N9Y75964, 含量 98%)购于上海源叶生物科技有限公司。对照品直铁线连宁 B(批号 STC6500105, 含量 98%)购于上海诗丹德标准技术服务有限公司。蔗糖购自广州市华侨糖厂,糊精购自天津华盛化学试剂有限公司。乙醇(国药集团化学试剂有限公司)为分析纯,甲醇(Thermo Fisher 公司)、甲酸(Merck 公司)、乙酸(北京迪马科技有限公司)和醋酸铵(Sigma-Aldrich 公司)均为色谱纯,水为超纯水。

试验共收集 55 个生产企业的 103 批板蓝根颗粒样品,为省/市药检所(安徽、江西、广西、广州、青海、云南、湖南)药品监督抽样药品或市售药品。3 批对照制剂(批号为 F20F035、F20F036、F20F037)采用课题组前期板蓝根药材质量评价研究被判定为优质的原料药材(产地甘肃,批号为 B-59、B60、B61),按《中国药典》规定的处方制法委托某板蓝根颗粒厂家以实际生产规模制成。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T<sub>3</sub>(100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱,以甲醇(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱(0~7 min, 0%A→5%A; 7~15 min, 5%A→8%A; 15~20 min, 8%A→20%A; 20~25 min, 20%A→30%A; 25~30 min, 30%A→40%A),柱温 30 °C,流速 0.2 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 2 μL。指纹图谱检测波长 254 nm;含量测定采用多波长扫描,分别在 220 nm 波长下检测紫丁香酚苷,240 nm 波长下检测(R,S)-告依春,250 nm 波长下检测鸟苷,260 nm 波长下检测尿苷、腺嘌呤和腺苷,275 nm 波长下检测直铁线连宁 B。

### 2.2 溶液制备

**2.2.1 对照品储备液** 取尿苷、次黄嘌呤、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、吡啶乙酸、紫丁香酚苷、直铁线连宁 B、落叶松树脂醇的对照品适量,精密称定,用 5% 甲醇溶解,分别制备得质量浓度为 0.180 6、0.133 3、0.103 1、0.4 02 8、1.014 4、0.546 0、0.113 3、0.156 4、0.090 0、0.557 5 mg·mL<sup>-1</sup> 的单一对照品储备液。取适量单一对照品储备液,用 5% 甲醇制备得 6 个系列稀释浓度的混合对照品溶液(表 1)。

表 1 不同浓度梯度混合对照品溶液中 7 个对照品的浓度

Tab. 1 Concentrations of 7 references standards in the mixture standard solution with different concentration grades

编号 (No.)	浓度(concentration)/(mg·mL <sup>-1</sup> )						
	尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (vermine)	(R,S)-告依春 [(R,S)-goitrin]	腺苷 (adenosine)	紫丁香酚苷 (syringin)	直铁线连宁 B (clemastanin B)
1	0.002 2	0.000 5	0.002 0	0.000 3	0.002 7	0.000 3	0.000 9
2	0.004 5	0.001 0	0.004 0	0.000 6	0.005 5	0.000 6	0.001 8
3	0.011 3	0.002 6	0.010 1	0.001 6	0.013 7	0.001 6	0.004 5
4	0.022 6	0.005 2	0.020 1	0.003 1	0.027 3	0.003 1	0.009 0
5	0.112 9	0.025 8	0.100 7	0.015 6	0.136 5	0.015 6	0.045 0
6	0.180 6	0.103 1	0.161 1	0.031 3	0.273 0	0.156 4	0.090 0

**2.2.2 供试品溶液** 取装量差异项下的本品,研细,称取 5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 5% 甲醇 10 mL,密塞,称量,超声(功率 300 W,频率 100 kHz)处理 5 min,放冷,再称量,用 5% 甲醇补足减失的量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.3 阴性对照溶液** 精密称取蔗糖 0.737 g 及糊精 0.041 g(相当于 1 g 板蓝根颗粒的辅料量),混匀,即得阴性样品;同“2.2.2”项下方法操作,制备阴性对照溶液。

### 2.3 对照制剂的制备和确定

**2.3.1 对照制剂的制备** 根据课题组前期建立的板蓝根药材质量评价综合指数模型,采用性状特征、显微特征、成分含量及生物活性 4 个维度指标评价板蓝根药材质量,达到一级质量限度的板蓝根药材被认定为优质药材。选择 3 批次板蓝根优质药材(产地甘肃,批号为 B-59、B60、B61)作为 3 批对照制剂原料药材,严格按照《中国药典》规定的投料量和制法,在生产车间以实际规模分别制备得 3 批对照制剂(批号为 F20F035、F20F036、F20F037)。

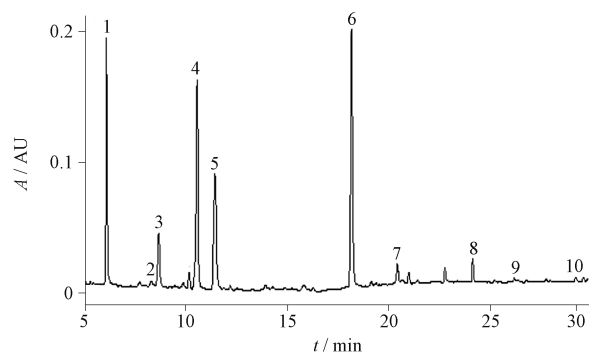
**2.3.2 对照制剂的选择** 取制备的 3 批对照制剂,采用本试验建立的方法标定指纹图谱和成分含量,比较以不同批次对照制剂为参照指纹图谱相似度结果差异,并且比较 3 批对照制剂含量测定值。结果表明,分别采用不同批次对照制剂为参照图谱评价同一批次样品,相似度结果接近;选定同一批次对照制剂为参照图谱评价其余对照制剂,相似度结果接近,且均  $>0.90$ ;3 批对照制剂成分含量均符合《中国药典》板蓝根颗粒含量测定项下要求,且测定的成分总含量接近,其中 F20F036 号对照制剂的成分总含量最接近 3 批对照制剂总含量测定结果平均值。综上,选择 F20F036 号对照制剂为本试验实物对照制剂。

**2.3.3 对照制剂溶液制备** 对照制剂溶液制备方法同“2.2.2”项下方法。

### 2.4 HPLC 指纹谱的建立

**2.4.1 特征峰的确定和归属** 取“2.2.2”项下供试品溶液(厂家 1,样品批号 20190402),按“2.1”项下条件进样测定,得板蓝根颗粒样品色谱图。观察色谱图(图 1),选择信号较强,分离较好的色谱峰进行归属,经与对照品溶液色谱图和 PDA 光谱图比对,指出 10 个色谱峰为主要特征峰,化合物归属见图 1。

其中腺苷色谱峰(峰 6)分离度好,保留时间适中,相对峰面积大,故选择腺苷色谱峰为参照峰。



1. 尿苷(uridine) 2. 次黄嘌呤(hypoxanthine) 3. 腺嘌呤(adenine)
4. 鸟苷(vermine) 5. (R,S)-告依春[(R,S)-goitrin] 6. 腺苷(adenosine)
7. 吲哚乙酸(3-indoleacetic acid) 8. 紫丁香酚苷(syringin)
9. 直铁线莲宁 B(clemastanin B) 10. 落叶松树脂醇(lariciresinol)

图 1 板蓝根颗粒指纹图谱及主要特征峰

Fig. 1 UPLC fingerprint and its main characteristic peaks of Banlangen granules

**2.4.2 精密度试验** 取供试品溶液(厂家 1,样品批号 20190402)连续进样 6 次,计算腺苷色谱峰峰面积和保留时间的 RSD 分别为 0.76% 和 0.10%,表明仪器精密度良好。

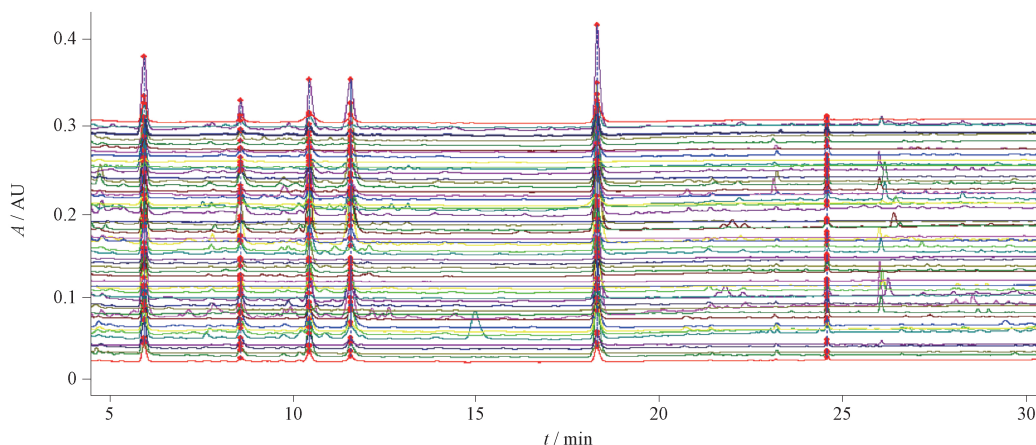
**2.4.3 稳定性试验** 取同一供试品溶液(厂家 1,样品批号 20190402),分别于溶液制备后 0、2、4、8、12 和 24 h 测定其指纹图谱,计算得各特征峰峰面积的 RSD  $<5\%$ ,保留时间的 RSD  $<1\%$ ,表明供试品溶液在试验温度下 24 h 内稳定。

**2.4.4 重复性试验** 取同一批样品(厂家 1,样品批号 20190402),平行制备 6 份供试品溶液,分别测定其指纹图谱,以腺苷色谱峰为参照峰,计算得各特征峰峰面积的 RSD  $<5\%$ ,保留时间的 RSD  $<1\%$ ,表明该方法重复性良好。

**2.4.5 指纹图谱的建立与分析** 对 103 批次样品和对照制剂的色谱图进行分析(其中 55 个厂家与对照制剂的色谱图见图 2),直观分析结果表明,除厂家 4、5、6、26 外,其余厂家不同批次的样品指纹图谱整体轮廓基本一致,说明批间一致性良好。对全部图谱进行聚类热图二维分析(见图 3),其中横向聚类样品,纵向聚类色谱峰,热图颜色代表归一化峰面积百分比。色谱峰聚类结果表明,尿苷、腺苷色谱峰单独聚为一类,提示样品不同,二者峰面积差异较大,因

此二者是强特征峰。直观分析和聚类分析均表明,在不同样品中鸟苷色谱峰和(*R,S*)-告依春色谱峰

峰面积差异明显,也是样品指纹图谱的主要差异色谱峰,在进行质量控制时需重点关注。



由下至上依次为对照制剂、厂家1~55样品 (from bottom to top, chromatograms belong to the reference drug and samples of manufacturers 1-55, respectively)

图2 对照制剂及55个厂家板蓝根颗粒的UPLC图谱

Fig. 2 UPLC chromatograms of reference drug and 55 batches of Banlangen granules

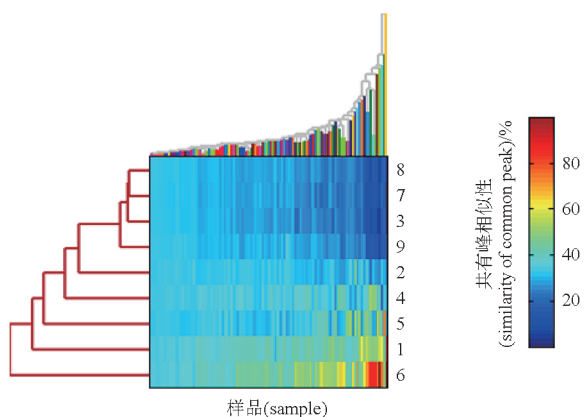


图3 103批板蓝根颗粒样品二维聚类热图

Fig. 3 Two dimensional clustering heatmap of 103 batches of Banlangen granules

**2.4.6 相似度评价** 以腺苷色谱峰为参照峰,对保留时间在5~30 min,相对峰面积>0.1%的色谱峰进行积分。将各积分后的色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价软件(2012版)”,以对照制剂色谱图为参照图谱,多点校正,计算样品相似度,结果见图4。在“2.4.5”项下,结合样品指纹图谱比较分析,拟定相似度0.75为二等制剂限度,相似度0.90为一等制剂限度。结果101批制剂相似度>0.75,达到二级限度;81批制剂相似度 $\geq$ 0.90,达到一级限度。

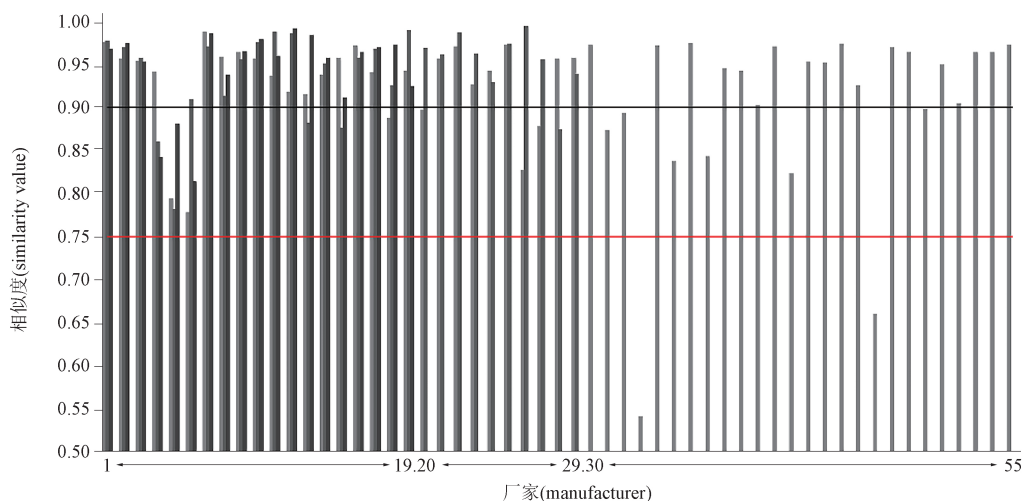
## 2.5 含量测定

**2.5.1 系统适用性及专属性试验** 取“2.2.1”项下混合对照品溶液、供试品溶液(厂家1,样品批号20190402)和阴性对照溶液,分别按照“2.1”项下方法测定。结果表明,以各成分色谱峰计,理论塔板数>5000,分离度>1.5,且阴性无干扰,方法专属性好。对照品及阴性色谱图见图5。

**2.5.2 线性和范围** 取“2.2.1”项下对照品储备液适量,用5%甲醇制备为6个系列稀释浓度的混合对照品溶液。精密吸取混合对照品溶液1  $\mu$ L,按照“2.1”项下方法测定,记录峰面积。以对照品质量浓度( $X$ ,  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )为横坐标,峰面积( $Y$ )为纵坐标,绘制标准曲线,并进行线性回归。结果见表2,表明7个成分在各自浓度范围内线性关系良好。

**2.5.3 精密度试验** 取同一份板蓝根颗粒供试品溶液(厂家1,样品批号20190402),按照“2.1”项下条件连续进样6次,记录峰面积并计算RSD。结果表明,尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(*R,S*)-告依春、腺苷、紫丁香酚苷、直铁线莲宁B峰面积的RSD均<2%,表明方法精密度良好。

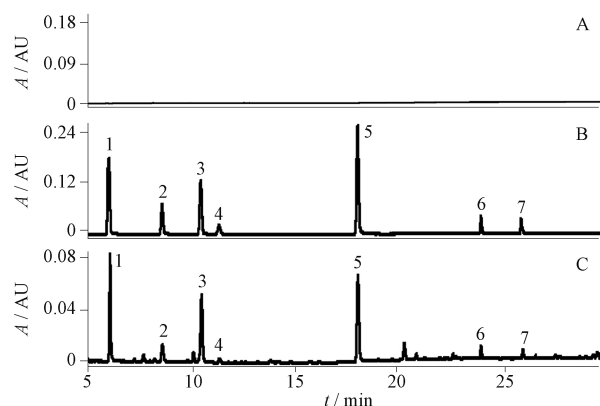
**2.5.4 稳定性试验** 取一份板蓝根颗粒供试品溶液(厂家1,样品批号20190402),分别于溶液制备



厂家 1~19 各收集了 3 批次样品, 厂家 20~29 各收集了 2 批次样品, 厂家 30~55 各收集了 1 批次样品 (3 different batches of samples were collected from each manufacturer of manufacturers 1-19, 2 different batches of samples were collected from each manufacturer of manufacturers 20-29, and 1 batch of samples were collected from each manufacturer of manufacturers 30-55)

图 4 55 批板蓝根颗粒相似度直方图

Fig. 4 Histogram of similarity values of 55 batches of Banlangen granules



1. 尿苷(uridine) 2. 腺嘌呤(adenine) 3. 鸟苷(vermine) 4. (R,S)-告依春[(R,S)-goitrin] 5. 腺苷(adenosine) 6. 紫丁香酚苷(syringin) 7. 直铁线莲宁 B(clemastanin B)

图 5 阴性对照品(A)、混合对照品(B)和板蓝根颗粒样品(C)色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of negative sample (A), mixed reference substances (B) and Banlangen granules sample (C)

后 0、2、4、8、12 和 24 h 按“2.1”项下谱条件进样测定, 记录峰面积并计算各成分含量的 RSD。结果表明, 尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、紫丁香酚苷、直铁线莲宁 B 的含量的 RSD 均 < 3%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**2.5.5 重复性试验** 取同一批号板蓝根颗粒样品(厂家 1, 样品批号 20190402), 按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下条件进样, 记录峰面积并计算各待测物的含量及 RSD。结果表明, 尿苷、腺嘌呤、鸟苷、(R,S)-告依春、腺苷、紫丁香酚苷、直铁线莲宁 B 的平均含量分别为 0.18、0.02、0.17、0.16、0.18、0.02、0.06 mg · g<sup>-1</sup>, RSD 均 < 3%, 表明方法的重复性良好。

**2.5.6 加样回收率试验** 取同一批已测知含量的板蓝根颗粒样品(厂家 1, 样品批号 20190402),

表 2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear regressions of various components

化合物(component)	回归方程(regression equation)	线性范围(linear range)/μg	r
尿苷(uridine)	$Y = 1.11 \times 10^7 X + 2.95 \times 10^7$	0.002 3 ~ 0.180 6	1.000
腺嘌呤(adenine)	$Y = 2.81 \times 10^7 X + 2.58 \times 10^3$	0.000 5 ~ 0.103 1	0.999 9
鸟苷(vermine)	$Y = 1.07 \times 10^7 X + 2.74 \times 10^4$	0.002 0 ~ 0.161 1	0.999 5
(R,S)-告依春[(R,S)-goitrin]	$Y = 3.72 \times 10^7 X + 2.09 \times 10^4$	0.000 3 ~ 0.031 3	1.000
腺苷(adenosine)	$Y = 3.72 \times 10^7 X + 2.09 \times 10^4$	0.002 7 ~ 0.273 0	0.999 8
紫丁香酚苷(syringin)	$Y = 2.17 \times 10^7 X + 1.86 \times 10^4$	0.000 3 ~ 0.156 4	0.999 7
直铁线莲宁 B(clemastanin B)	$Y = 1.90 \times 10^6 X + 6.88 \times 10^2$	0.000 9 ~ 0.090 0	0.999 8

研细,称取 5 g,精密称定,共称取 9 份,每 3 份为 1 组。分别向上述 9 份样品中精密加入混合对照品溶液 0.8、1.0、1.2 mL,各平行 3 份,制得加标量为低、中、高水平的样品,按“2.2.2”项下方法制备供试溶液,按“2.1”项下条件进样测定,计算加样回收率。7

个成分的加样回收率在 97.0%~104.7%,RSD 均 < 3%,表明方法的准确度良好。

**2.5.7 样品含量测定** 取样品按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并在“2.1”项色谱条件下进样测定,外标法计算含量,每批样品平行测定 2 次,结果见表 3。

表 3 7 个成分含量测定的结果 ( $n=2$ )

Tab. 3 Determination results of 7 components

序号 (sample No.)	厂家 (manufacturer)	批号 (batches No.)	各成分含量(content of 7 components)/(mg · g <sup>-1</sup> )							总含量(total content)(mg · 袋 <sup>-1</sup> ,以 5 g · 袋 <sup>-1</sup> 计)(mg per bag, unified as 5 g per bag)
			尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (guanine)	(R,S)-告依春 [(R,S)-goitrin]	腺苷 (adenosine)	紫丁香酚苷 (syringin)	直铁线连宁 B (clemastanin B)	
1	1	20190402	0.247	0.027	0.131	0.110	0.290	0.014	0.126	4.726
2		20190403	0.258	0.027	0.144	0.116	0.328	0.005	0.144	5.113
3		20190401	0.176	0.023	0.111	0.086	0.209	0.005	0.086	3.477
4	2	K18A018	0.097	0.016	0.040	0.040	0.101	0.012	0.048	1.774
5		G20A013	0.110	0.010	0.048	0.048	0.068	0.013	0.022	1.597
6		G20A020	0.137	0.016	0.052	0.081	0.077	0.019	0.015	1.984
7	3	1812002	0.181	0.031	0.061	0.090	0.081	0.030	0.031	2.519
8		1903001	0.089	0.016	0.029	0.037	0.060	0.006	0.016	1.266
9		1812002	0.100	0.020	0.043	0.092	0.058	0.006	0.016	1.681
10	4	200402	0.017	0.001	0.010	-	0.017	0.005	0.011	0.302
11		200503	0.019	0.001	0.005	-	0.022	0.002	0.020	0.344
12		200404	0.011	0.001	0.002	0.006	0.012	0.002	0.011	0.224
13	5	2008031	0.231	0.028	0.143	0.103	0.180	0.040	0.196	4.608
14		1811031	0.153	0.012	0.003	-	0.066	0.005	0.032	1.355
15		1812032	0.176	0.010	0.013	-	0.077	0.011	0.062	1.742
16	6	190301	0.144	0.043	0.022	0.276	0.125	0.031	0.095	3.671
17		190401	0.222	0.030	0.026	0.176	0.182	0.028	0.116	3.893
18		190302	0.093	0.033	0.020	0.149	0.068	0.017	0.060	2.200
19	7	2019015	0.200	0.017	0.090	0.079	0.170	0.039	0.079	3.366
20		2020020	0.139	0.019	0.048	0.074	0.086	0.024	0.027	2.079
21		2019012	0.287	0.025	0.153	0.089	0.248	0.039	0.096	4.683
22	8	2001202	0.239	0.042	0.097	0.225	0.226	0.035	0.070	4.674
23		2006012	0.207	0.027	0.080	0.274	0.197	0.034	0.086	4.522
24		2002049	0.219	0.031	0.113	0.222	0.281	0.111	0.126	5.516
25	9	19112319	0.350	0.041	0.091	0.135	0.275	0.069	0.079	5.196
26		19112899	0.142	0.018	0.075	0.085	0.187	0.032	0.103	3.213
27		19112381	0.222	0.023	0.152	0.091	0.261	0.081	0.068	4.487
28	10	200408	0.086	0.015	0.056	0.086	0.105	0.035	0.103	2.431
29		200151	0.074	0.009	0.035	0.032	0.055	0.003	0.016	1.119
30		200143	0.153	0.024	0.071	0.069	0.116	0.009	0.031	2.365
31	11	6200308	0.054	0.008	0.019	0.013	0.040	0.022	0.024	0.899
32		6190104	0.043	0.004	0.017	0.012	0.037	0.008	0.015	0.678
33		6200308	0.043	0.006	0.013	0.010	0.037	0.019	0.018	0.726
34	12	19011143	0.089	0.002	0.015	0.007	0.055	0.008	0.032	1.037
35		200215	0.059	0.005	0.018	0.045	0.051	0.005	0.029	1.059

表 3(续)

序号 (sample No.)	厂家 (manufacturer)	批号 (batches No.)	各成分含量(content of 7 components)/(mg · g <sup>-1</sup> )							总含量(total content)(mg · 袋 <sup>-1</sup> ,以 5 g · 袋 <sup>-1</sup> 计)(mg per bag, unified as 5 g per bag)
			尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (vermine)	(R,S)-告依春 [(R, S)-goitrin]	腺苷 (adenosine)	紫丁香酚苷 (syringin)	直铁线连宁 B (clemastanin B)	
36		200502	0.095	0.008	0.030	0.037	0.061	0.005	0.028	1.320
37	13	19040103	0.133	0.015	0.040	0.135	0.070	0.008	0.019	2.105
38		19010903	0.196	0.030	0.071	0.120	0.119	0.017	0.030	2.913
39		20020601	0.171	0.019	0.067	0.112	0.136	0.026	0.050	2.908
40	14	WXFB1962	0.246	0.033	0.158	0.124	0.388	0.091	0.212	6.260
41		ZEB1708	0.175	0.027	0.104	0.085	0.213	0.016	0.086	3.520
42		WXMB1907	0.215	0.020	0.059	0.191	0.217	0.046	0.106	4.269
43	15	20180611	0.063	0.008	0.018	0.002	0.043	0.009	0.046	0.944
44		20200411	0.053	0.009	0.015	0.002	0.030	0.025	0.005	0.697
45		20200411	0.057	0.010	0.014	0.002	0.036	0.023	0.006	0.744
46	16	200331	0.103	0.015	0.047	0.049	0.082	0.028	0.034	1.787
47		200222	0.131	0.020	0.034	0.100	-	0.029	0.058	1.858
48		200606	0.096	0.016	0.031	0.039	0.081	0.006	0.024	1.468
49	17	20200301	0.059	0.009	0.022	0.011	0.060	0.008	0.030	0.987
50		20200102	0.122	0.023	0.033	0.049	0.134	0.018	0.069	2.242
51		20200602	0.075	0.009	0.015	0.029	0.136	0.004	0.010	1.387
52	18	181110	0.178	0.000	0.000	0.0002	0.002	0.000	-	0.900
53		200270	0.016	0.008	0.008	0.016	0.022	0.007	0.011	0.443
54		200503	0.037	0.006	0.014	0.019	0.021	0.006	0.006	0.548
55	19	20200281	0.015	0.004	0.009	0.014	0.013	0.005	0.156	1.075
56		20200301	0.032	0.002	0.006	0.005	0.022	0.003	0.010	0.406
57		20200208	0.031	0.003	0.003	0.007	0.014	0.002	0.004	0.321
58	20	190403	0.109	0.007	0.008	-	0.097	0.016	0.073	1.547
59		191202	0.065	0.013	0.031	0.109	0.058	0.007	0.052	1.672
60	21	20200314	0.062	0.005	0.016	0.010	0.049	0.015	0.016	0.856
61		20200305	0.061	0.005	0.015	0.011	0.052	0.028	0.019	0.947
62	22	20200606	0.065	0.010	0.038	0.032	0.048	0.015	0.014	1.103
63		20200222	0.052	0.007	0.033	0.032	0.000	0.043	0.032	0.992
64	23	180636	0.039	0.001	0.004	0.008	0.039	0.004	0.039	0.670
65		190168	0.033	0.002	0.011	0.007	0.030	0.006	0.017	0.532
66	24	2006202	0.110	0.009	0.018	0.015	0.082	0.006	0.026	1.328
67		2004203	0.139	0.008	0.012	0.013	-	0.017	0.042	1.154
68	25	202005908	0.092	0.010	0.048	0.050	0.087	0.017	0.042	1.732
69		202005901	0.137	0.021	0.067	0.081	0.156	0.015	0.047	2.618
70	26	180102	0.096	0.002	0.006	0.002	0.031	0.002	0.040	0.891
71		200202	0.128	0.012	0.049	0.049	0.100	0.013	0.026	1.882
72	27	201903001	0.238	0.031	0.102	0.197	0.261	0.015	0.080	4.611
73		202004002	0.158	0.019	0.057	0.189	0.180	0.033	0.070	3.535
74	28	S1904019	0.141	0.019	0.067	0.103	0.081	0.011	0.030	2.260
75		S1912060	0.146	0.013	0.030	0.090	0.051	0.008	0.014	1.765
76	29	191115	0.103	0.017	0.033	0.014	0.061	0.018	0.012	1.292
77		200213-1	0.107	0.021	0.026	0.015	0.060	0.015	0.012	1.278
78	30	4180801	0.472	0.056	0.311	0.397	0.543	0.070	0.221	10.347

表 3(续)

序号 (sample No.)	厂家 (manufacturer)	批号 (batches No.)	各成分含量(content of 7 components)/(mg · g <sup>-1</sup> )							总含量(total content)(mg · bag <sup>-1</sup> ,以 5 g · bag <sup>-1</sup> 计)(mg per bag, unified as 5 g per bag)
			尿昔 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟昔 (vermine)	(R,S) - 告依春 [(R, S) - goitrin]	腺昔 (adenosine)	紫丁香酚昔 (syringin)	直铁线连宁 B (clemastanin B)	
79	31	20190301	0.161	0.021	0.063	0.274	0.124	0.014	0.118	3.878
80	32	190203	0.178	0.021	0.039	0.036	0.265	0.005	0.056	2.997
81	33	180102	0.015	0.003	0.005	0.003	0.009	0.001	0.003	0.190
82	34	171201	0.465	0.073	0.217	0.367	0.479	0.024	0.117	8.712
83	35	20180501	0.156	0.015	0.046	0.013	0.127	0.034	0.156	2.735
84	36	18062341	0.263	0.031	0.082	0.192	0.197	0.043	0.088	4.477
85	37	1806109	0.035	0.006	0.009	0.003	0.028	0.003	0.019	0.514
86	38	190103	0.171	0.013	0.035	0.026	0.145	0.021	0.095	2.528
87	39	190501	0.193	0.031	0.151	0.134	0.222	0.103	0.159	4.964
88	40	20190302	0.087	0.004	0.020	0.022	0.123	0.047	0.103	2.030
89	41	19120097	0.369	0.051	0.152	0.295	0.318	0.118	0.159	7.313
90	42	200202	0.319	0.052	0.132	0.687	0.263	0.022	0.115	7.950
91	43	20200214	0.111	0.019	0.053	0.021	0.121	0.006	0.018	1.748
92	44	UC017	0.075	0.006	0.033	0.028	0.085	0.028	0.087	1.707
93	45	20200502	0.109	0.006	0.025	0.037	0.073	0.012	0.024	1.431
94	46	200310	0.020	0.002	0.005	0.006	0.017	0.004	0.012	0.334
95	47	200303	0.017	0.009	0.002	0.002	0.005	0.001	0.001	0.189
96	48	190601	0.169	0.018	0.062	0.033	0.146	0.062	0.072	2.814
97	49	200305	0.064	0.005	0.013	0.022	0.053	0.012	0.038	1.037
98	50	190901	0.023	0.001	0.004	0.003	0.014	0.004	0.010	0.291
99	51	8032921	0.141	0.010	0.043	0.032	0.124	0.031	0.086	2.332
100	52	20200121	0.102	0.026	0.015	0.034	0.100	0.014	0.062	1.764
101	53	191107	0.063	0.006	0.020	0.014	0.045	0.010	0.015	0.866
102	54	20200201	0.209	0.035	0.074	0.173	0.168	0.008	0.052	3.593
103	55	191107	0.063	0.007	0.020	0.013	0.044	0.010	0.016	0.860
	对照制剂 (reference drug)	F20F035	0.135	0.011	0.045	0.052	0.096	0.016	0.043	1.988
		F20F036	0.111	0.010	0.042	0.052	0.074	0.013	0.031	1.370
		F20F037	0.110	0.003	0.040	0.048	0.077	0.012	0.030	1.316

**2.5.8 基于对照制剂的等级限度制定** 根据《中国药典》的规定、对照制剂和样品实测含量,对 55 个厂家 103 批样品的质量进行初步分级。2020 年版《中国药典》一部中板蓝根颗粒含量测定项下规定,每袋含板蓝根以尿昔、鸟昔、腺昔的总量计,不得少于 0.70 mg(以每袋 5 g 计)。本试验方法的提取溶剂、色谱系统与《中国药典》方法一致。根据《中国药典》含量要求判定样品测定结果,共有 29 批样品 3 个分总含量低于 0.70 mg,被判定为不合格样品。这 29 批样品中,26 批样品以尿昔、腺嘌呤、鸟昔、(R,S) - 告依春、腺昔、紫丁香酚昔、直铁线连宁 B 7 个成分总含量计低于 1.0 mg。因此,根据《中国药典》规定限度和本

试验 7 个成分含量测定结果折算,以 7 个成分总含量计,拟定二级质量限度为 1.0 mg(以每袋 5 g 计)。3 批对照制剂 7 个成分总含量相近,以对照制剂测定结果的平均值为参照,拟定一级质量限度为 1.6 mg(以每袋 5 g 计)。按照上述拟定限度判断,75 批次样品达到二级质量限度,59 批次样品达到一级质量限度。

### 3 讨论

#### 3.1 指标成分的选择

板蓝根颗粒药理活性明确,具有抗菌、抗病毒(流感病毒、乙型肝炎病毒)<sup>[27-28]</sup>、抗炎<sup>[29]</sup>、免疫调节作用。板蓝根颗粒化学成分种类多样,主要化学成分有生物碱<sup>[30]</sup>、有机酸类<sup>[31]</sup>、糖类<sup>[32]</sup>、氨基酸<sup>[33]</sup>、

硫代葡萄糖苷及其代谢产物<sup>[34]</sup>、核苷<sup>[35]</sup>、苯丙素及其苷类<sup>[36]</sup>,其中生物碱<sup>[37]</sup>又包括吡啶类生物碱、喹唑酮类生物碱、喹啉类生物碱等。据文献报道,板蓝根颗粒中(*R,S*) - 告依春和直铁线莲宁 B 具有明显的抗病毒活性<sup>[38]</sup>。*(R,S)* - 告依春在体外细胞模型与体内鸡胚模型中均表现出抗病毒活性<sup>[39]</sup>,直铁线莲宁 B 对人流感病毒(甲型、乙型)多种分型( $H_1N_1$ 、 $H_7N_3$ 、 $H_3N_2$ 、 $H_6N_2$ 、 $H_9N_2$ )具有抗病毒活性<sup>[40]</sup>。现行 2020 年版《中国药典》板蓝根颗粒含量测定项下以尿苷、鸟苷、腺苷 3 个成分含量总量为质量指标,虽然 3 个成分是板蓝根颗粒中含量较高成分,但不是板蓝根颗粒专属成分,且与药效相关性小,还需考虑增加板蓝根颗粒有效成分指标,增加质量控制整体性和有效性。经课题组对板蓝根颗粒活性成分进行筛选研究,*(R,S)* - 告依春、紫丁香酚苷、直铁线莲宁 B 是板蓝根颗粒抗流感强活性组分中的 3 个差异性成分<sup>[41]</sup>,提示是板蓝根颗粒抗流感病毒活性相关的物质基础,且经含量初步考察,在制剂中上述 3 个差异性成分的含量较高,能够被 UPLC 定量检测,因此确定它们为含量测定指标。此外,腺嘌呤色谱峰相对面积较大,经含量考察,其在制剂中含量水平与紫丁香酚苷相当,因此增加腺嘌呤为含量测定指标。最终,本研究除保留《中国药典》中 3 个含量测定指标,还增加腺嘌呤、*(R,S)* - 告依春、紫丁香酚苷和直铁线莲宁 B 为含量测定指标,以 7 个成分总含量为质量评价和分级依据,增加了方法的有效性和整体性。

### 3.2 色谱条件的选择

试验考察了 Waters ACQUITY UPLC CSH  $C_{18}$  (100 mm × 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )、CORTECS UPLC  $T_3$  (100 mm × 2.1 mm, 1.6  $\mu\text{m}$ )、Atlantis Premier BEH  $C_{18}$  (100 mm × 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ )、ACQUITY UPLC HSS  $T_3$  (100 mm × 2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) 4 种不同色谱柱对供试品溶液各色谱峰分离效果,结果表明 ACQUITY UPLC HSS  $T_3$  分离效果最好;保持其他条件不变,考察在甲醇 - 水、甲醇 - 0.1% 甲酸、甲醇 - 0.15% 乙酸、含 10 mmol · L<sup>-1</sup> 醋酸铵甲醇 - 含 10 mmol · L<sup>-1</sup> 醋酸铵水 4 种流动相系统下样品图谱中各色谱峰的分离效果。结果表明,甲醇 - 水流动相系统下基线平稳,主要色谱峰分离效果较好,故选择以甲醇 - 水为流动相进行梯度洗脱。

### 3.3 检测波长的选择

在 190 ~ 400 nm 波长范围内,对尿苷、腺嘌呤、鸟

苷、*(R,S)* - 告依春、腺苷、紫丁香酚苷、直铁线莲宁 B 7 个成分的对照品溶液进行扫描。结果显示,在 254 nm 波长下检出峰数量最多、特征明显,适用于指纹图谱分析。紫丁香酚苷在 220 nm, *(R,S)* - 告依春在 240 nm, 鸟苷在 250 nm, 尿苷、腺嘌呤和腺苷在 260 nm, 直铁线莲宁 B 在 275 nm 处有最大吸收。因此采用多波长切换测定方法,在各自最大吸收波长下测定各成分含量。

### 3.4 对照制剂的作用

对照制剂是中药对照的新形式,是采用已知地道、优质、规范加工原料药材(饮片)和辅料,严格制法和生产工艺规程并遵循药品生产质量管理规范制备,因此质量可控且相对优质。本研究研制出板蓝根颗粒对照制剂,将其分别作为指纹图谱相似度评价和多成分含量测定的参照,区分了不同厂家、不同批次板蓝根颗粒的质量差异,初步探索出基于对照制剂的质量分级评价模式。但因本研究研制的对照制剂批次有限,对照制剂的重复性、稳定性、批间一致性还需进一步深入研究和探讨。

### 3.5 板蓝根颗粒质量分级初步评价

研究结果表明,有 101 批次样品的指纹图谱相似度达二级限度,81 批次样品达一级限度;有 75 批次样品的含量达二级限度,59 批次样品达到一级限度。有 4 个厂家(厂家 4、11、15、18)的 3 批样品含量均被判为二级限度以下,说明生产厂家投料存在原料药材(饮片)以次充好、偷工减料、生产工艺不规范等质量问题。含量被判定为一级的 59 批次样品中,指纹图谱相似度达到一级限度的有 50 批次,达到二级限度的有 9 批次,说明 2 种方法判定结果具有较好的一致性,均可作为板蓝根颗粒质量等级评价的有力手段。2 个厂家(厂家 33、47)的样品指纹图谱相似度和成分含量均被判为二级以下,提示需改进生产工艺,提升其药品质量。

## 4 结论

本研究引入对照制剂作为实物参照,建立了基于对照制剂的板蓝根颗粒指纹图谱和多成分含量测定质量评价方法,提高了方法的整体性与有效性。结果表明,2 种评价方法结合对照制剂,可以有效区分不同厂家不同批次产品质量,初步实现板蓝根颗粒质量分级,为提升药品质量标准,引导厂家提升产品质量,促进优质优价提供参考。

## 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典 2020 年版. 一部[S]. 2020: 1110  
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 1110
- [2] 丁成福. 板蓝根颗粒治疗流行性感冒作用研究[J]. 中国民族民间医药杂志, 2011, 20(15):47  
DING CF. Study on the effect of Banlangen granule in treating influenza[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2011, 20(15):47
- [3] 孙建立. 板蓝根颗粒治疗急性上呼吸道感染的临床分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018(97):120  
SUN JL. Clinical analysis of Banlangen granules in the treatment of acute upper respiratory tract infections [J]. *World Latest Med Inf*, 2018(97):120
- [4] 张琼丽. 乳头瘤病毒感染患者应用外用壳聚糖抗菌膜联合口服板蓝根颗粒治疗的临床效果[J]. 中国医药科学, 2016, 6(1):94  
ZHANG QL. Clinical effect on external used chitosan antibacterial film combined oral Isatis – root granule treatment on patients with papillomavirus infection[J]. *China Med Pharm*, 2016, 6(1):94
- [5] 李金鸾. 磷酸奥司他韦颗粒联合板蓝根颗粒治疗小儿急性病毒性腮腺炎的效果分析[J]. 临床医学工程, 2018, 25(5):629  
LI JL. Analysis on the effect of phosphate oseltamivir granules combined with Banlangen granules in the treatment of children with acute viral parotitis[J]. *Clin Med Eng*, 2018, 25(5):629
- [6] 黄运柒. 磷酸奥司他韦联合板蓝根颗粒治疗甲型 H1N1 流感疗效观察与护理探讨[J]. 海峡药学, 2019, 31(1):233  
HUANG YQ. Observation on the therapeutic effect and nursing exploration of the combination of oseltamivir phosphate and Banlangen granules in the treatment of influenza A (H1N1)[J]. *Strait Pharm J*, 2019, 31(1):233
- [7] CHEN J, ZHU ZP, GAO TH, *et al.* Isatidis Radix and Isatidis Folium; a systematic review on ethnopharmacology phytochemistry and pharmacology[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 283: 114648
- [8] XIAO P, HUANG H, CHEN J, *et al.* *In vitro* antioxidant and anti – inflammatory activities of Radix Isatidis extract and bioaccessibility of six bioactive components after simulated gastro – intestinal digestion[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 157: 55
- [9] WANG X, XIE Y, HU X, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of glucosinolates and nucleosides in Radix Isatidis by HPLC and liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2013, 3(5):337
- [10] 邹华彬. 基于指纹图谱的生物体系中药内禀品质等级的数理理论判别[J]. 世界中医药, 2016, 11(9):1876  
ZOU HB. Fingerprint spectra – based mathematical theory in determining the intrinsic quality grade of biological system of Chinese medicine [J]. *World Chin Med*, 2016, 11(9):1876
- [11] TAO YI, GU XH, LI WD, *et al.* Techniques for biological fingerprinting of traditional Chinese medicine [J]. *TrAC Tre Anal Chem*, 2017, 97: 272
- [12] LIU X, JIANG W, SU M, *et al.* Quality evaluation of traditional Chinese medicines based on fingerprinting[J]. *J Sep Sci*, 2020, 43(1):6
- [13] CHEN J, GAO JY, SUN GX. Quantitative analysis combined with chromatographic fingerprint and antioxidant activities for the comprehensive evaluation of compound Danshen tablets [J]. *J Sep Sci*, 2017, 40(6):1244
- [14] 聂黎行, 吴炎培, 刘静, 等. 中成药质量标准研究有关问题思考[J]. 药学学报, 2023, 58(8):2260  
NIE LX, WU YP, LIU J, *et al.* Considerations on investigation on quality standard of Chinese patent medicine[J]. *Acta Pharm Sin*, 2023, 58(8):2260
- [15] 聂黎行, 查祎凡, 胡晓茹, 等. 基于对照制剂的牛黄清胃丸全处方鉴别研究和等级初评价[J]. 中草药, 2018, 49(22):95  
NIE LX, ZHA YF, HU XR, *et al.* Whole – ingredient identification and primary grade evaluation of Niu Huang Qingwei pills based on reference drug[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2018, 49(22):95
- [16] 陈馥, 周颖仪, 李华, 等. 基于对照制剂的沉香化气丸多组分含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(10):1771  
CHEN F, ZHOU YY, LI H, *et al.* Study on multi – component determination of Chenxiang Huaqi pills based on reference drug [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(10):1771
- [17] 林敬开, 聂黎行, 姚力, 等. 基于对照制剂的复方丹参片质量评价新模式探讨[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(10):1751  
LIN JK, NIE LX, YAO L, *et al.* Discussion on a novel quality evaluation model for compound Danshen tablets based on reference drug[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(10):1751
- [18] 邬秋萍, 许妍, 罗跃华, 等. 基于对照制剂的抗宫炎片质量评价新模式的探讨[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(10):1762  
WU QP, XU Y, LUO YH, *et al.* Discussion on a novel model for quality evaluation of Kanggongyan tablets based on reference drug [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(10):1762
- [19] 聂黎行, 查祎凡, 何风艳, 等. 牛黄清胃丸对照制剂的建立[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(10):1738  
NIE LX, ZHA YF, HE FY, *et al.* Establishment of Niu Huang Qingwei pills reference drug [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2019, 39(10):1738
- [20] 聂黎行, 查祎凡, 左甜甜, 等. 基于 ICP – MS 和对照制剂的牛黄清胃丸中重金属及有害元素残留量测定及风险评估[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(1):82  
NIE LX, ZHA YF, ZUO TT, *et al.* Determination and risk assessment of heavy metals and harmful elements residues in Niu Huang Qingwei pills based on ICP – MS [J]. *China J Chin Mater Med*, 2019, 44(1):82
- [21] 查祎凡, 聂黎行, 于健东, 等. 基于超高效液相色谱法和对照制剂的牛黄清胃丸指纹图谱研究和质量等级初评价[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(17):1438  
ZHA YF, NIE LX, YU JD, *et al.* Fingerprint study and primary quality evaluation of Niu Huang Qingwei pills based on UPLC and reference drug [J]. *Chin Pharm J*, 2019, 54(17):1438

- [22] 聂黎行, 戴忠, 马双成. 中药对照制剂研制指导原则和技术要求[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19):3672  
NIE LX, DAI Z, MA SC. Guideline principle and technical requirement for preparing traditional Chinese medicine reference drug[J]. *China J Chin Mater Med*, 2017, 42(19):3672
- [23] 查祎凡, 聂黎行, 于健东, 等. 基于对照制剂和 UPLC 的牛黄清胃丸中黄柏的质量评价[J]. 食品与药品, 2020, 22(1):13  
ZHA YF, NIE LX, YU JD, *et al.* Quality evaluation of *Phellodendri Chinensis Cortex* in *Niu Huang Qingwei* pills based on reference drug and UPLC[J]. *Food Drug*, 2020, 22(1):13
- [24] 钟兰, 肖小武, 杨甲玺, 等. 基于对照制剂的复方鲜竹沥液指纹图谱和多组分含量测定研究[J]. 中国药学杂志, 2024, 58(2):178  
ZHONG L, XIAO XW, YANG JX, *et al.* Fingerprint and multi-component determination of *Fufang Xianzhuli Ye* based on reference drugs[J]. *Chin Pharm J*, 2024, 58(2):178
- [25] 吴良发, 袁铭铭, 徐菲, 等. 基于对照制剂的大七厘丸含量考察和等级初评价[J]. 中国药师, 2022, 25(4):113  
WU LF, YUAN MM, XU F, *et al.* Content determination and primary grade evaluation of *Daqili* pills based on reference preparation[J]. *China Pharm*, 2022, 25(4):113
- [26] 于新兰, 王雪, 严丽, 等. 基于对照制剂的灵芝制剂 HPLC 三萜指纹图谱化学计量学分析[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(4):298  
YU XL, WANG X, YAN L, *et al.* Chemometric analysis of HPLC fingerprint of triterpenoids in different *Ganoderma* preparations based on reference drug[J]. *Chin Pharm J*, 2020, 55(4):298
- [27] 唐慧英, 鄢丹, 张少锋, 等. 基于凝集活性检测的板蓝根颗粒质量生物测定方法研究[J]. 药学报, 2010, 45(4):479  
TANG HY, YAN D, ZHANG SF, *et al.* Agglutinated activity bioassay method for the determination of antiviral potency of *Banlangen granules*[J]. *Acta Pharm Sin*, 2010, 45(4):479
- [28] 叶军, 明安萍. 板蓝根颗粒药物血清对 HepG2. 2. 15 细胞分泌 HBsAg、HBeAg 的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(6):10  
YE J, MING AP. Effects of serum *BanLanGen* grain on secreting HBsAg and HBeAg of HepG2. 2. 15 cells[J]. *J Hubei Univ Chin Med*, 2012, 14(6):10
- [29] 令红艳. 不同板蓝根制剂腺苷含量测定及其抗炎作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11):143  
LING HY. Determination of different *Isatidis Radix* and its preparations adenosine correlation with anti-inflammatory effect[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2012, 18(11):143
- [30] 何洁英, 何洁宝, 王汝上. 板蓝根总生物碱 HPLC 指纹图谱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(12):62  
HE JY, HE JB, WANG RS. Fingerprint of total alkaloids from *Isatidis Radix* by HPLC[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2015, 21(12):62
- [31] 王建敏, 李伟. 板蓝根颗粒中有效成分的测定及药理作用研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(18):49  
WANG JM, LI W. Determination of effective components in *Banlangen granules* and research progress of pharmacological effects[J]. *Chin Med Her*, 2019, 16(18):49
- [32] 钱秀玉, 聂黎行, 戴忠, 等. UPLC-MS/ELSD 法快速检测板蓝根颗粒及组分中的糖类成分[J]. 药物评价研究, 2020, 43(7):1267  
QIAN XY, NIE LX, DAI Z, *et al.* Rapid determination of sugars in *Banlangen granule* and its fractions by UPLC-MS/ELSD[J]. *Drug Eval Res*, 2020, 43(7):1267
- [33] QIAN XY, NIE LX, DAI Z, *et al.* Determination of free amino acids in *Banlangen granule* and its fractions by solid phase extraction combined with ion-pair high performance liquid chromatography using a corona-charged aerosol detector (SPE-HPLC-CAD)[J]. *Curr Pharm Anal*, 2021, 7(17):838
- [34] SHI Y, ZZHENG C, LI J, *et al.* Separation and quantification of four main chiral glucosinolates in *Radix Isatidis* and its granules using high-performance liquid chromatography/diode array detector coupled with circular dichroism detection[J]. *Molecules*, 2018, 23(6):1305
- [35] 赵亚丽. 板蓝根药材中 3 种核苷高效液相法测定含量分析[J]. 实用中医药杂志, 2017, 33(12):1458  
ZHAO YL. Determination of three kinds of nucleosides in *Radix Isatidis* by HPLC[J]. *J Pract Trad Chin Med*, 2017, 33(12):1458
- [36] XIAO P, LI X, CHEN J, *et al.* Simultaneous quantification of three chemical types bioactive compounds in *Radix Isatidis* and its relevant pharmaceutical dosage forms by HPLC-DAD[J]. *J Brazil Chem Soc*, 2017, 28(7):1237
- [37] CHEN M, GAN L, LIN S, *et al.* Alkaloids from the root of *Isatis indigotica*[J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(6):1167
- [38] 董福越, 徐科一, 黄远. HPLC 同时测定板蓝根颗粒中 2 种关键抗病毒成分的含量[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(18):2245  
DONG FY, XU KY, HUANG Y. Simultaneous determination of two antiviral components in *Banlangen granules* by HPLC[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2019, 36(18):2245
- [39] NIE LX, WU YL, DAI Z, *et al.* Antiviral activity of *Isatidis Radix* derived glucosinolate isomers and their breakdown products against influenza A *in vitro/ovo* and mechanism of action[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 251:112550
- [40] YANG Z, WANG Y, ZHENG Z, *et al.* Antiviral activity of *Isatis indigotica* root-derived clemastanin B against human and avian influenza A and B viruses *in vitro*[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31:867
- [41] QIAN XY, NIE LX, ZHAO H, *et al.* Discovery and molecular elucidation of the anti-influenza material basis of *Banlangen granules* based on biological activities and ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap mass spectrometry[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 298:115683

(本文于 2024 年 1 月 29 日收到)