

125-126.

[2] 许 文, 傅志勤, 林 婧, 等. UPHC-Q-TOF-MS 和 UPLC-QQQ-MS 的三叶青主要成分定性定量研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4365-4372.

[3] 李 荣, 蒋英蓝, 曾敬怀, 等. 中药注射剂发生不良反应的相关性研究进展[J]. 中成药, 2013, 35(5): 1059-1061.

[4] 李明潞, 王玉丽, 郭春宏, 等. UPLC-Q-TOF-MS 法同时测定平消片中 7 种成分[J]. 中草药, 2015, 46(11): 1625-1628.

[5] 刘 廷, 狄留庆, 彭琳秀, 等. UPLC-MS/MS 同时测定双黄连口服液液中 17 种有效成分[J]. 中草药, 2015, 46(22): 3357-3363.

[6] 韩 亮, 石忠峰, 林华庆. UPLC/Q-TOF-MS/MS 法分析厚朴化学成分[J]. 中成药, 2013, 35(4): 766-769.

[7] 胡 峻, 齐梦蝶, 张 权, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析石吊兰全草化学成分[J]. 中国现代中药, 2016, 18(5): 547-553, 572.

[8] Zhang J L, Cui M, He Y, *et al.* Chemical fingerprint and meta-bolic fingerprint analysis of Danshen injection by HPLC-UV and HPLC-MS methods[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2005, 36(5): 1029-1035.

[9] Yang D Z, An Y Q, Jiang X L, *et al.* Development of a novel method combining HPLC fingerprint and multi-ingredients quantitative analysis for quality evaluation of traditional chinese medicine preparation[J]. *Talanta*, 2011, 85(2): 885-890.

[10] Yin Q W, Wang P, Zhang A H, *et al.* Ultra-performance LC-ESI/quadrupole-TOF MS for rapid analysis of chemical constituents of Shaoyao-Gancao decoction[J]. *J Sep Sci*, 2013, 36(7): 1238-1246.

[11] Zhang Q Q, Dong X, Liu X G, *et al.* Rapid separation and identification of multiple constituents in Danhong Injection by ultra-high performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry[J]. *Chin J Nat Med*, 2016, 14(2): 147-160.

[12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 4-6.

北豆根配方颗粒质量标准的研究

胡 辉¹, 刘源才², 龚华梦^{3*}

(1. 劲牌生物医药有限公司, 湖北 黄石 435100; 2. 劲牌研究院, 湖北 黄石 435100; 3. 中药保健食品质量与安全湖北省重点实验室, 湖北 大冶 435100)

摘要: **目的** 建立北豆根配方颗粒(北豆根)的质量标准。**方法** TLC 法进行定性鉴别, 热浸法测定醇浸出物含量, HPLC 法测定蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱含量, 并建立 10 批样品指纹图谱。**结果** TLC 斑点清晰, 专属性强。醇浸出物平均含量为 42.70%。蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱分别在 13.23~211.68 mg/L ($R^2=0.999\ 85$)、21.67~346.72 mg/L ($R^2=0.999\ 16$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为 104.19% (RSD=0.98%)、98.29% (RSD=2.78%)。10 批样品指纹图谱相似度均大于 0.927。**结论** 该方法简便可行, 重复性好, 可用于北豆根配方颗粒的质量控制。

关键词: 北豆根配方颗粒; 醇浸出物; 蝙蝠葛苏林碱; 蝙蝠葛碱; 指纹图谱; TLC; 热浸法; HPLC
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)01-0038-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.01.009

Quality standard for Beidougen Formula Granules

HU Hui¹, LIU Yuan-cai², GONG Hua-meng^{3*}

(1. Jing Brand Bio-medicine Co., Ltd., Huangshi 435100, China; 2. Jing Brand Research Institute, Huangshi 435100, China; 3. Hubei Provincial Key Laboratory for Quality and Safety of Traditional Chinese Medicine Health Food, Daye 435100, China)

收稿日期: 2018-02-27
基金项目: 湖北省技术创新专项重大项目 (2016ACA142)
作者简介: 胡 辉(1983—), 男, 医药工程师, 从事中药资源与制剂研究。Tel: (0714) 3188791, 15972368370, E-mail: 95252631@qq.com
***通信作者:** 龚华梦 (1991—), 女, 硕士, 从事中药制剂研究。Tel: (0714) 3188791, 18971786109, E-mail: 764661453@qq.com

ABSTRACT: AIM To establish the quality standard for Beidougen Formula Granules (*Menisperm Rhizoma*). **METHODS** TLC was used for qualitative determination, hot dipping method and HPLC were adopted in the content determination of ethanol extract and daurisolone, dauricine, respectively, and the fingerprints of ten batches of samples were established. **RESULTS** The TLC spots were clear with strong specificity. The average content of ethanol extract was 42.70%. Daurisolone and dauricine showed good linear relationships within the ranges of 13.23–211.68 mg/L ($R^2=0.999\ 85$) and 21.67–346.72 mg/L ($R^2=0.999\ 16$), whose average recoveries were 104.19% (RSD=0.98%) and 98.29% (RSD=2.78%), respectively. The fingerprints of ten batches of samples all exhibited the similarites of more than 0.927. **CONCLUSION** This simple, feasible and reproducible method can be used for the quality control of Beidougen Formula Granules.

KEY WORDS: Beidougen Formula Granules; ethanol extract; daurisolone; dauricine; fingerprints; TLC; hot dipping method; HPLC

北豆根系防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 的干燥根茎，始载于《中国药用植物志》，原名蝙蝠葛根^[1]，主产于东北、华北、陕西等地，具有清热解毒、祛风止痛的功效，常用于咽喉肿痛、热毒泻痢、风湿痹痛等^[2]，现代药理研究表明其具有良好的抗炎^[3]、抑菌^[4]、抗心律失常^[5]、抗高血压^[6]、抗肿瘤^[7]作用，其中生物碱类成分蝙蝠葛苏林碱和蝙蝠葛碱是其主要的有效成分^[8]。随着中药现代化发展，近几年来对北豆根制剂的研究比较深入，在北豆根片、胶囊之后，又开发出了北豆根分散片、咀嚼片、口腔崩解片、软胶囊、气雾剂、粉针剂、滴丸、缓控制剂，临床上主要用于口腔及咽部的炎症治疗^[9]，但尚无用于中医辨证论治的北豆根配方颗粒报道。

北豆根配方颗粒作为中药现代剂型，配方后使用时只需加水冲服即可，因此相较于传统汤剂具有便捷、高效、易贮存等特点，并且该制剂以《中国药典》规定的北豆根饮片为原料，通过水煎煮、过滤、浓缩、干燥、制粒等流程制成，其性味归经、功能主治与原药材相同，规范其质量对临床应用具有十分重要的意义^[10]。因此，本实验以 2015 版《中国药典》中北豆根项下相关内容为参考，建立北豆根配方颗粒质量标准，为其质量控制提供依据。

1 材料

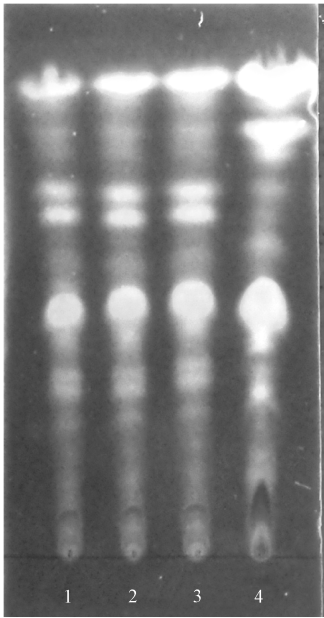
1.1 仪器 Thermo Fisher UltiMate 3000 系列高效液相色谱仪（配置 LPG-3400SDN 四元梯度泵、WPS-3000SL 自动进样器、TCC-3000RS 柱温箱、VWD-3100 检测器、DAD-3000 检测器）；Quintix125D-1CN 电子天平（十万分之一，德国 Sartorius 公司）；PURELAB Classic 纯水机（英国 ELGA 公司）。

1.2 试药 蝙蝠葛苏林碱对照品（含量 98%，批号 AP154D，天津一方科技有限公司）；蝙蝠葛碱对照品（含量 98.5%，批号 111867-201503）、北豆根对照药材（批号 120977-201404）（中国食品药品检定研究院）。硅胶 G 薄层板（青岛海洋化工厂分厂）。乙腈（批号 172009，美国 Fisher 公司）、三乙胺（批号 P1238512，上海阿达玛斯试剂有限公司）为色谱纯；其他试剂均为分析纯；水为超纯水。北豆根饮片（湖北正光九资河药业有限公司，批号 160801），经中国医学科学院药用植物研究所郭宝林教授鉴定为防己科植物蝙蝠葛 *Menispermum dauricum* DC. 的干燥根茎。北豆根配方颗粒（劲牌生物医药有限公司，批号 P20170225、P20170226、P20170227、P20170229、P20170301、P20170302、P20170304、P20170305、P20170307、P20170309，1 g/袋，相当于饮片 7.1 g）。

2 方法与结果

2.1 TLC 定性鉴别 取配方颗粒（批号 P20170225、P20170226、P20170227）适量，研细，取 0.5 g，加乙酸乙酯 15 mL、浓氨试液 0.5 mL，加热回流 30 min，滤过，滤液蒸干，残渣加 1 mL 乙酸乙酯溶解，作为供试品溶液；另取对照药材 0.5 g，同法制成相应溶液。按照 2015 版《中国药典》一部通则 0502，吸取上述 2 种溶液各 2 μ L，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液（9：1：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置于紫外光灯（365 nm）下检视，结果见图 1。由图可知，供试品色谱在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色荧光斑点，表明该方法简便灵敏，专属性强，可用于 TLC 定性鉴别。

2.2 醇浸出物含量测定 取各批次配方颗粒，



注：1 ~ 3 为配方颗粒（批号 P20170225、P20170226、P20170227），4 为对照药材（批号 120977-201404）

图 1 样品 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of samples

研细，过 4 号筛 [孔径 (250±9.9) μm]，取 2 ~ 4 g，按 2015 版《中国药典》醇溶性浸出物测定法项下热浸法测定，以乙醇为溶剂。结果，醇浸出物含有量在 38.75% ~ 45.36% 之间，平均 42.70%，RSD 5.43%，表明配方颗粒稳定性良好。

2.3 指纹图谱建立

2.3.1 色谱条件 Waters T3 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)，以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；流动相乙腈 (A) -0.05% 三乙胺 (B)，梯度洗脱，程序见表 1；检测波长 290 nm；进样量 10 μL。

表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs

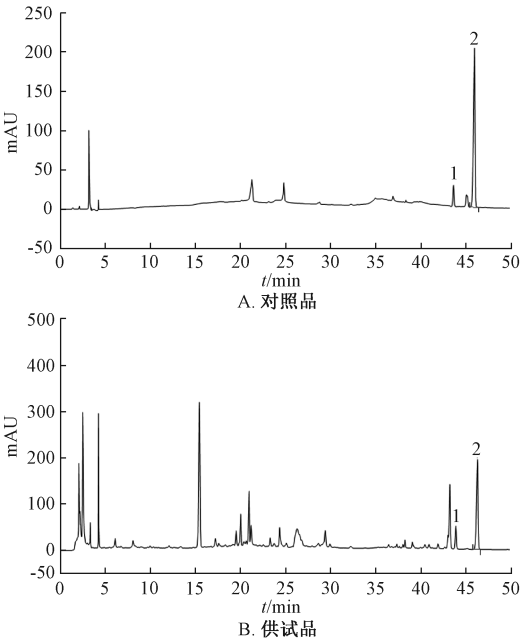
时间/min	A 乙腈/%	B 0.05% 三乙胺/%
0	5	95
10	10	90
20	20	80
30	25	75
40	60	40
50	60	40

2.3.2 溶液制备

2.3.2.1 对照品溶液 精密称取蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱对照品适量，置于棕色量瓶中，加甲醇制成每 1 mL 分别含两者 0.2、0.3 mg 的溶液，摇匀，即得。

2.3.2.2 供试品溶液 精密称取本品粉末约 0.1 g，20% 甲醇定容至 10 mL，超声 30 min 后混匀，0.22 μm 针头过滤器过滤，即得。

2.3.3 专属性试验 取对照品、供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 2。由图可知，2 种溶液在相同保留时间上都有色谱峰，表明该方法专属性良好。



1. 蝙蝠葛苏林碱 2. 蝙蝠葛碱
1. daurisorline 2. dauricine

图 2 各成分 HPLC 色谱图 (I)

Fig. 2 HPLC chromatograms of various constituents (I)

2.3.4 精密度试验 取同一供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得指纹图谱相似度均大于 0.872，表明仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液，于 1、3、5、11、17、23 h 在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得指纹图谱相似度均大于 0.923，表明溶液在 23 h 内稳定性良好。

2.3.6 重复性试验 取同一批号配方颗粒，按“2.3.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，测得指纹图谱相似度均大于 0.978，表明该方法重复性良好。

2.3.7 建立方法 按“2.3.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3.1”项色谱条件下进样测定，指纹图谱见图 3，再将其导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件 (2012.130723 版本)，测得 10 批配方颗粒的相似度均在 0.927 以上，显示出良好的稳定性和特征性。

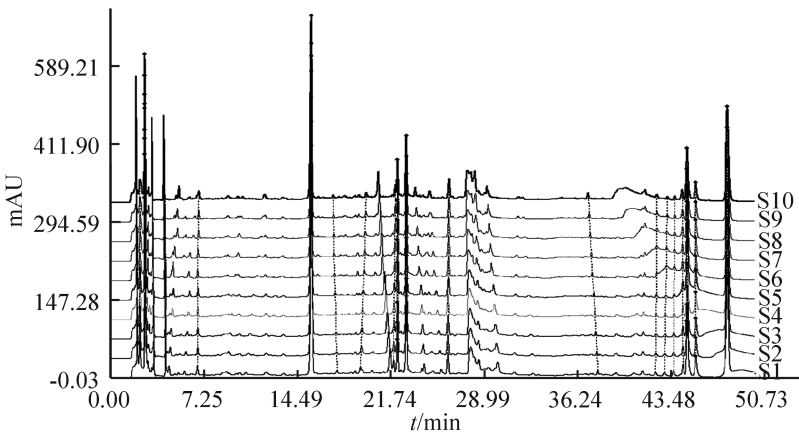


图3 10批样品 HPLC 指纹图谱
Fig. 3 HPLC fingerprints of ten batches of samples

2.4 含有量测定

2.4.1 色谱条件 Waters T3 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相 乙腈-0.05% 三乙胺, 等度洗脱 (45 : 55); 检测波长 284 nm; 柱温 20 ℃; 进样量 10 μL。理论塔板数按蝙蝠葛碱峰计算, 应不低于 6 000。

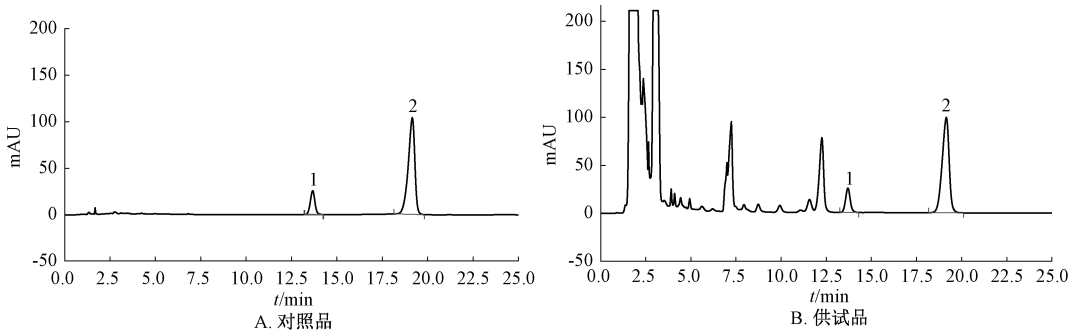
2.4.2 溶液制备

2.4.2.1 对照品溶液 精密称取蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱对照品适量, 置于棕色量瓶中, 加甲醇制

成每 1 mL 分别含两者 0.2、0.3 mg 的溶液, 摇匀, 即得。

2.4.2.2 供试品溶液 精密称取本品粉末约 0.1 g, 20% 甲醇超声 30 min, 定容至 10 mL, 混匀, 0.22 μm 针头过滤器过滤, 即得。

2.4.3 专属性试验 取对照品、供试品溶液, 在“2.4.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 4。由图可知, 2 种溶液在相同保留时间上都有色谱峰, 表明该方法专属性良好。



1. 蝙蝠葛苏林碱 2. 蝙蝠葛碱
1. daurisolone 2. dauricine

图4 各成分 HPLC 色谱图 (II)

Fig. 4 HPLC chromatograms of various constituents (II)

2.4.4 线性关系考察 分别精密称取蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱对照品 5.4、8.8 mg, 甲醇溶解并定容至 25 mL, 摇匀, 得 211.68、346.72 mg/L 贮备液, 各取 5 mL 置于同一 10 mL 量瓶中, 得 105.84、173.36 mg/L 溶液, 依次稀释 2 倍, 制得含 13.23、26.46、52.92、105.84、211.68 mg/L 蝙蝠葛苏林碱, 以及 21.67、43.34、86.68、

173.36、346.72 mg/L 蝙蝠葛碱的溶液, 命名为 DZ-1、DZ-2、DZ-3、DZ-4、DZ-5, 各取 10 μL, 在“2.4.1”项色谱条件下进样测定。以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归, 得方程分别为蝙蝠葛苏林碱 $Y=0.111\ 58X-0.157\ 42$ ($R^2=0.999\ 85$)、蝙蝠葛碱 $Y=0.158\ 94X-0.613\ 92$ ($R^2=0.999\ 16$), 分别在 13.23~211.68、21.67~

346.72 mg/L 范围内线性关系良好。

2.4.5 重复性试验 取同一批配方颗粒（批号 P20170225），按“2.4.2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，测得蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱含有量 RSD 分别为 2.78%、2.33%，表明该方法重复性良好。

2.4.6 精密度试验 取“2.4.4”项下 DZ-5 溶液，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱峰面积 RSD 分别为 0.74%、0.25%，表明仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性试验 取“2.4.4”项下 DZ-5 溶

液，于 6、8、12、20、30、32 h 在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，测得蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱峰面积 RSD 分别为 2.62%、0.53%，表明溶液在 32 h 内稳定性良好。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取含有量已知的同一批配方颗粒（批号 P20170225，蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱含有量分别为 0.595 0%、2.608 7%）9 份，精密加入各对照品溶液适量，按“2.4.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，结果见表 2。

表 2 各成分加样回收率试验结果（n=9）

Tab. 2 Results of recovery tests for various constituents (n=9)

成分	取样量/mg	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/% (RSD/%)
蝙蝠葛苏林碱	59.90	0.356 4	0.740 9	1.125 4	103.79	104.19 (0.98)
	62.00	0.368 9	0.740 9	1.141 6	104.28	
	62.35	0.371 0	0.740 9	1.154 4	105.74	
	56.30	0.335 0	0.952 6	1.334 4	104.91	
	57.02	0.339 3	0.952 6	1.336 9	104.72	
	58.23	0.346 5	0.952 6	1.345 7	104.89	
	58.00	0.345 1	1.016 1	1.386 9	102.53	
	55.60	0.330 8	1.016 1	1.386 8	103.92	
	57.50	0.342 1	1.016 1	1.387 6	102.89	
蝙蝠葛碱	59.90	1.562 6	1.109 5	2.636 5	96.79	98.29 (2.78)
	62.00	1.617 4	1.109 5	2.677 1	95.52	
	62.35	1.626 5	1.109 5	2.681 9	95.12	
	56.30	1.468 7	1.386 9	2.892 5	102.66	
	57.02	1.487 5	1.386 9	2.895 2	101.50	
	58.23	1.519 0	1.386 9	2.891 5	98.96	
	58.00	1.513 0	1.386 9	2.850 3	96.42	
	55.60	1.450 4	1.386 9	2.845 0	100.56	
	57.50	1.500 0	1.386 9	2.847 0	97.13	

2.4.9 样品含有量测定 取 10 批配方颗粒，按“2.4.2.2”项下方法制备供试品溶液，各精密吸取 10 μL，在“2.4.1”项色谱条件下进样测定，计算含有量，结果见表 3。

3 讨论

北豆根成分复杂，除了含有大量生物碱外，还含有挥发性成分、多糖、醌类、强心苷、内酯、皂苷、鞣质、蛋白质、树脂等成分^[11]，将其制成配方颗粒时，不仅可保留原药材性味、主要有效成分、功效作用，还能提高用药便捷性和药方调配灵

活性。本实验测得 10 批配方颗粒中醇浸出物平均含有量为 42.70%，按测定结果平均值的 80% 计算，暂定其含有量不得低于 34.16%。

与传统药材饮片相比，配方颗粒失去了外观性状特征，指纹图谱相当于为其贴上了“化学条形码”^[12]，使其有了独有质量控制标准。本实验发现，10 批配方颗粒指纹图谱相似度较高，并具有良好的稳定性和特征性，暂定其相似度不得低于 90%。

由于蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱是北豆根主要有

表 3 各成分含有量测定结果

Tab. 3 Results of content determination of various constituents

批号	蝙蝠葛苏林碱/%	蝙蝠葛碱/%
P20170225	0.595 0	2.608 7
P20170226	0.584 1	2.548 2
P20170227	0.602 7	2.558 2
P20170229	0.596 7	2.550 5
P20170301	0.581 6	2.544 4
P20170302	0.562 4	2.578 7
P20170304	0.614 5	2.562 8
P20170305	0.609 8	2.566 0
P20170307	0.630 0	2.581 7
P20170309	0.578 0	2.550 6
平均值	0.595 5	2.565 0
RSD/%	3.33	0.77

效成分，故本实验建立 HPLC 法测定两者含有量。结果，两者总含有量平均值为 3.160 5%，按测定结果平均值的 80% 计算，暂定其总含有量不得低于 2.528 4%。

4 结论

本实验建立了北豆根配方颗粒质量标准，发现 TLC 法简便灵敏，专属性强；醇浸出物含有量限度设置合理；HPLC 指纹图谱精密度、稳定性、重复性良好；主要有效成分蝙蝠葛苏林碱、蝙蝠葛碱含有量测定方法简便准确，专属性强，含有量限度设置合理，可用于该制剂的质量控制。

参考文献：

[1] 徐兵勇, 富志军. 北豆根的研究概况[J]. 海峡药学, 2008, 20(11): 1-4.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 99-100.

[3] 杜佐华, 刘汉官, 蔡从咏, 等. 北豆根粗总碱、北豆根多酚羟基碱和北豆根非酚性总碱的抗炎作用[J]. 中药通报, 1987, 12(8): 43-45.

[4] 李 晶, 毕红艳, 杜保同, 等. 北豆根生物碱抑菌作用的微量热法研究[J]. 曲阜师范大学学报 (自然科学版), 2010, 36(4): 96-98, 102.

[5] 杜佐华, 曾晚成, 龚培力, 等. 蝙蝠葛苏林碱抗实验性心律失常作用[J]. 中药药理与临床, 1996(4): 21-23.

[6] 李 铭, 单保恩. 北豆根的研究现状[J]. 国外医学 (中医中药分册), 2005, 27(5): 267-271.

[7] 单保恩, 梁文杰, 任凤芝, 等. 中药北豆根抗肿瘤活性的体外实验[J]. 癌变·畸变·突变, 2004, 16(5): 293-295, 304.

[8] 刘 威, 张振秋, 洪 涛, 等. HPLC 法测定北豆根中蝙蝠葛碱和蝙蝠葛苏林碱的含量[J]. 中药材, 2005, 28(9): 783-784.

[9] 郑艳春, 秦 婷, 崔雅慧, 等. 北豆根化学成分及其药理作用的研究进展[J]. 中国医药导报, 2011, 8(13): 9-10, 33.

[10] 胡 辉, 龙 林, 刘重阳, 等. 盐杜仲配方颗粒的质量标准[J]. 医药导报, 2018, 37(2): 219-222.

[11] 王安平, 郝 彧, 张师愚. 北豆根研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(2): 194-196.

[12] 刘军红, 廖国玲. 中药指纹图谱的研究综述[J]. 农业科学研究, 2009, 30(2): 32-34.