

板蓝根颗粒质量控制方法的研究

钟海娟¹, 曹珍年^{1,2}, 俞阳², 罗维²

(1. 华南理工大学化学科学学院, 广东 广州 510640) (2. 华南理工大学分析测试中心, 广东 广州 510640)

摘要: 用傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 结合核磁共振氢谱 (¹H-NMR) 研究了传统中成药板蓝根颗粒的质量控制方法。对其所含主要成分进行了测试与研究, 定量分析了其蔗糖的含量, 并对不同厂家板蓝根颗粒的甲醇和无水乙醇提取物红外谱图进行了光谱特征的分析。结果表明: 醇提可以有效减少板蓝根颗粒中蔗糖等辅料的干扰, 使原料的红外谱图特征明显; 通过比较不同厂家板蓝根颗粒醇提物红外谱图与板蓝根水提物红外谱图的相似度, 可以客观反映板蓝根颗粒的质量; 不同厂家的板蓝根颗粒蔗糖含量差异是明显的。因此红外光谱技术结合溶剂提取分析板蓝根颗粒的光谱特征, 能够更有效与直观反应出不同生产厂家产品质量的差别。

关键词: 板蓝根颗粒; 质量控制; 傅里叶变换红外光谱; 提取物; 定量分析

中图分类号: TS207.7; **文献标识码:** A; **文章编号:** 1673-9078(2008)07-0714-05

Studies on Quality Control of Banlangen Granules

ZHONG Hai-juan¹, CAO Zhen-nian^{1,2}, YU Yang², LUO Wei²

(1. Department of Chemistry, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Analytical and Testing Center, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Fourier transform infrared spectrometry (FT-IR) and nuclear magnetic resonance hydrogen spectrum (¹H-NMR) were used for quality control of a chinese traditional patent medicine, Banlangen granules. The main components and sucrose content of Banlangen granules were studied by FTIR spectroscopy. Results showed that alcohol extraction of Banlangen granules can effectively reduce the interference from sucrose on IR characters of Banlangen granules, which was more suitable for the further characterization of Banlangen granules than H₂O extraction. Obvious differences in the sucrose content were found in Banlangen granules from different manufactures. This research provided a direct and effective technique for examining the quality of Banlangen granules.

Key words: banlangen granules; quality control; fourier transform infrared spectrometry; extract; quantitative analysis

近年来, 红外光谱技术得到飞速发展, 在中药产地鉴别、真伪鉴别、质量控制、工艺监控和成分分析等各方面应用也越来越广泛^[1-7]。与传统药材“四大鉴别法”相比较, 该方法在某些方面和一定程度上更具准确性和客观性; 与色谱分析方法相比较, 更容易反映原药材的整体性特征。

板蓝根为中国传统中药, 《中华人民共和国药典》(2005 版) 规定为十字花科植物菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort) 的干燥根^[8], 临床上常用于病毒性疾病及细菌性感染疾病。板蓝根颗粒为板蓝根成药的主要剂型, 一直为中国药典所收载, 主要用于防治流感和病毒性感染。由于板蓝根颗粒生产厂家繁多, 质量标准不统一, 以至于近年来在市场上出现了规格形态不一的混乱现象, 也有制成凉茶饮料出售, 有的甚至借此掺劣制假, 给消费者造成了巨大的损失。众所周知, 中药作用的

基础是其化学物质组成, 我们利用 FT-IR 技术对其所含物质成分进行了研究, 并对不同品种板蓝根颗粒在甲醇和无水乙醇中提取物的红外谱图进行了光谱特征的分析, 并测定了板蓝根颗粒中蔗糖含量, 以期能够为其整体质量控制提供一定的依据。

1 实验部分

1.1 样品及试剂

样品如表 1 所示, 实验所用甲醇和无水乙醇皆为天津市富宇精细化工有限公司生产, 分析纯。

1.2 样品制备

样品制备所用仪器为: 超声波清洗器 (美国 CREST, 2800D) 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂, RE52CS-2)、循环水真空泵 (巩义市英峪予华仪器厂, SHZ-D)。

板蓝根提取物: 根据 2005 版《中国药典》一部板蓝根颗粒制法项制备。

板蓝根颗粒甲醇提取物: 将各种板蓝根颗粒分别

收稿日期: 2008-04-05

作者简介: 钟海娟 (1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事药物分析和光谱分析方面的研究

研磨粉碎,各取 10 g 分别加入 30 mL 甲醇,常温下超声提取 1 h,静置后倒出上层清液,重复 3 次,上清液合并过滤后减压回收溶剂至一定浓度,然后真空干燥除去残余溶剂,得到甲醇提取物以供红外光谱和 $^1\text{H-NMR}$ 测试。

板蓝根颗粒无水乙醇提取物:具体方法与以上板蓝根颗粒甲醇提取物相似。

表 1 板蓝根样品主要成分和生产厂家

Table 1 The main components and manufacturers of the examined Banlangen granules

编号	名称	主要成分	生产厂家
1	板蓝根颗粒	板蓝根、蔗糖、糊精	广州 A 公司
2	板蓝根颗粒	板蓝根、蔗糖、糊精	广州 B 公司
3	板蓝根颗粒	板蓝根、蔗糖、糊精	德阳 C 公司
4	复方板蓝根颗粒	板蓝根、大青叶	桂林 D 公司
5	板蓝根原药材	——	广州 A 公司
6	板蓝根颗粒(无糖型)	板蓝根、蛋白糖、糊精	广州 A 公司

1.3 分析仪器及测试条件

傅里叶变换红外光谱仪(德国 BRUKER 公司, VECTOR-33 型),DTGS 检测器,测量范围 $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,光谱分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描信号累加 32 次。

核磁共振波谱仪(德国 BRUKER 公司, AVANCE-400 型)。 $^1\text{H-NMR}$ 测试条件:溶剂 D_2O ,内标 TMS,样品管直径 5 mm,谱宽为 8012.820 HZ,采样时间 2.045 sec,累加次数 32,采样脉冲程序 zg30。

2 结果与讨论

2.1 板蓝根颗粒红外光谱分析

板蓝根有糖颗粒 1 和板蓝根无糖颗粒 6 红外谱图如下图 1 所示。由图可见,二者红外谱图差别较大,在 $3600\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 范围内,无糖型在 3405, 3349, 3290 cm^{-1} 等处出现了强峰,而有糖型在 3563 cm^{-1} 处出现了蔗糖的特征吸收峰,并在 3387, 3335 cm^{-1} 有两个强尖峰;在 $1200\sim 950\text{ cm}^{-1}$ 范围内,二者差别更加大,无糖型在 1084, 1022 cm^{-1} 处有两个强尖峰,在 1047 cm^{-1} 处有一个较强峰,而有糖型则在 1069, 1053, 991 cm^{-1} 处有三个强尖峰。造成这些差别主要是其中添加的辅料不同造成的,板蓝根有糖颗粒主要辅料为蔗糖和糊精,而无糖颗粒主要辅料为蛋白糖和糊精。可见红外光谱法可以直接鉴别板蓝根有糖和无糖颗粒。把板蓝根有糖颗粒谱图和蔗糖 a、糊精 b 的标准谱图(如图 2)

相比较发现,厂家 A 在板蓝根有糖颗粒中添加的主要辅料为蔗糖。

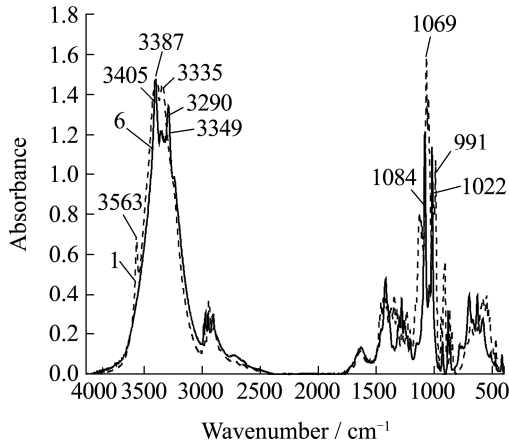


图 1 不同辅料板蓝根颗粒的红外光谱图

Fig.1 FTIR spectra of Banlangen granules with different excipients

注:虚线-板蓝根有糖颗粒样品 1;实线-板蓝根无糖颗粒样品 6。

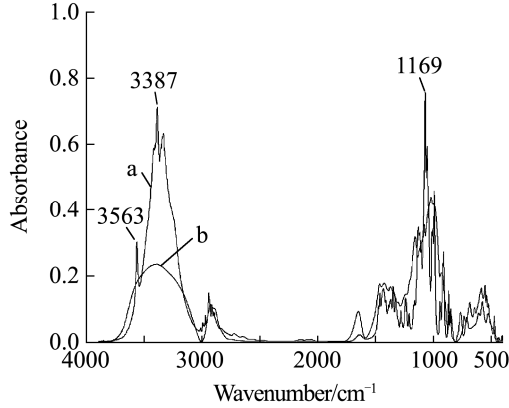


图 2 蔗糖(a)和糊精(b)的红外光谱图

Fig.2 FTIR spectra of Sucrose(a) and Dextrin(b)

2.2 不同厂家板蓝根颗粒的红外谱图分析

不同厂家的板蓝根颗粒样品 1、2、3、4 的红外谱图(如图 3 所示)进行比较,它们的光谱特征基本相同。四种样品均在 3563 cm^{-1} 处出现了蔗糖的特征峰。在 $3500\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 范围内,样品 1 和 3 的峰形基本一致,而样品 2 和 4 峰形也相似,在 3387 cm^{-1} 附近的峰均发生了分裂。在 $1200\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内,四种样品的峰形基本一致。同时从四个不同厂家板蓝根颗粒二阶导数谱图(如图 4)可以看出,样品 1 和样品 3 的峰形大致一致,而样品 2、4 的峰形在 $3500\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ 处有细微差别,样品 2 在 3423 cm^{-1} 处为尖锐峰,且有 3412 cm^{-1} 明显的肩峰,样品 4 在 3423 处为一个单峰;样品 4 在 3390、3382 cm^{-1} 处有明显的两个峰,而样品 2 只在 3390 cm^{-1} 处有一个单峰。

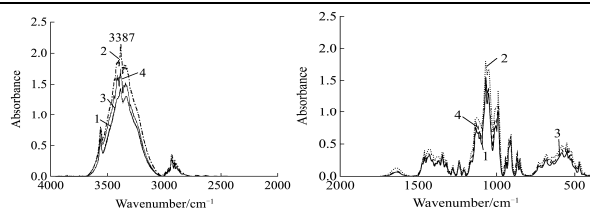


图3 不同厂家板蓝根颗粒红外光谱图

Fig.3 FTIR spectra of Banlangen granules from different manufacturers

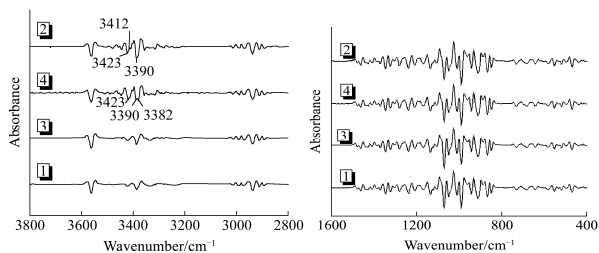


图4 不同厂家板蓝根颗粒二阶导数红外光谱图

Fig.4 Second derivative spectra of Banlangen granules

2.3 板蓝根颗粒极性溶剂提取物的研究

不同厂家板蓝根颗粒的红外谱图非常相似,且与主要辅料蔗糖的红外光谱也非常相似,无法准确辨别出配方颗粒药物成分的光谱特征,而按照药典中板蓝根颗粒制备的方法可知板蓝根的有效成分溶于水 and 醇,为此本研究用醇对板蓝根颗粒进行提取,使其红外光谱的特征性得到大幅度的提高。

2.3.1 板蓝根水提物光谱特征分析

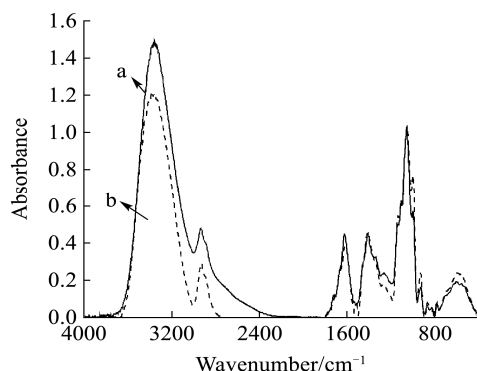


图5 板蓝根水提物(a)和板蓝根颗粒甲醇提取物(b)的红外光谱图

Fig.5 FTIR spectra of water extracts (a) and CH₃OH extracts (b) of Banlangen granules

根据文献可知,板蓝根水提物化学成分有:3-[2'-(5'-羟甲基)呋喃基]-1(2H)-异喹啉酮-7-O-β-D-葡萄糖苷、落叶松树脂醇-4,4'-二-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、落叶松树脂醇-4-O-β-D-吡喃葡萄糖苷、2-羟基-1,4-苯二甲酸、甘露醇、丁香苷、吡啶-3-乙腈-6-O-β-D-葡萄糖苷、(+)-异落叶松树脂醇、腺苷、棕榈酸、棕榈酸 α,α'-双甘油酯、棕榈酸-单甘油酯、青黛酮、靛玉红、β-谷甾醇等

[9~12]。由图5可见板蓝根水提物的特征吸收峰为:3371 cm⁻¹、2934 cm⁻¹、1770 cm⁻¹、1723 cm⁻¹、1623 cm⁻¹、1410 cm⁻¹、1337 cm⁻¹、1260 cm⁻¹、1101 cm⁻¹、1053 cm⁻¹、996 cm⁻¹、925 cm⁻¹。其中3371 cm⁻¹为O-H的伸缩振动吸收;1053 cm⁻¹可归属为C-O的伸缩振动吸收;1410 cm⁻¹为O-H弯曲振动;1723 cm⁻¹附近的吸收峰为羰基的吸收峰。

2.3.2 板蓝根颗粒醇提取物分析

由于蔗糖在醇中的溶解度远比在水中小,因而尝试用醇作为提取剂提取板蓝根颗粒中的有效成分。

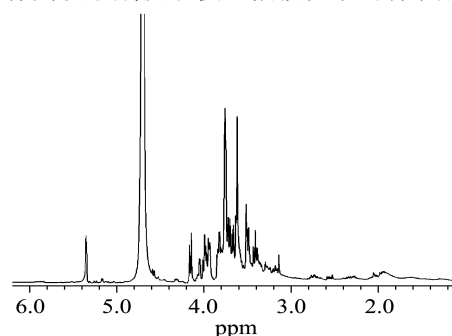


图6 板蓝根水提物的1H-NMR谱图

Fig.6 1H-NMR spectra of water extracts of Banlangen

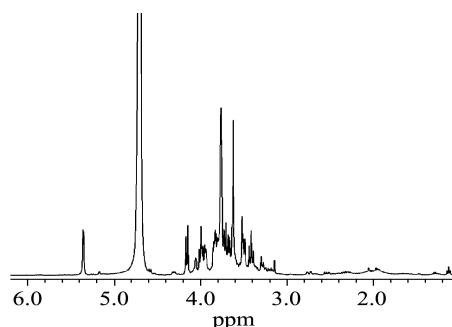


图7 板蓝根颗粒甲醇提取物的1H-NMR谱图

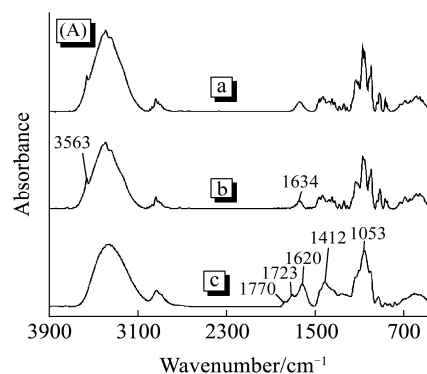
Fig.7 1H-NMR spectra of CH₃OH extracts of Banlangen

图8 板蓝根颗粒3(a)及其甲醇提取物(c)、提取渣(b)的红外光谱图

Fig.8 FTIR spectra of Banlangen granules (a), its CH₃OH extracts (c) and the residue from its CH₃OH extraction (b)

板蓝根水提物红外谱图和板蓝根颗粒甲醇提取物的红外谱图如图 5 所示, $^1\text{H-NMR}$ 见图 6~7。比较发现二者谱图特征一致, 说明用甲醇作为提取剂, 可以分离出板蓝根颗粒的有效成分, 能有效地去除蔗糖等辅料。

图 8 为样品 3 及其甲醇提取物, 提取药渣的红外光谱图。由图可见, 板蓝根颗粒甲醇提取药渣的红外谱图有 3563 cm^{-1} 、 1070 cm^{-1} 、 991 cm^{-1} 等蔗糖特征峰, 说明板蓝根颗粒甲醇提取药渣中含有大量的蔗糖。而从样品 3 甲醇提取物的红外谱图可以看出, 图中并没有蔗糖的特征峰, 而出现了 1770 cm^{-1} 、 1723 cm^{-1} 、 1620 cm^{-1} 、 1412 cm^{-1} 、 1053 cm^{-1} 等特征峰。由此可见板蓝根颗粒经过甲醇提取浓缩后, 有效除去蔗糖的影响, 特征吸收峰强度增大, 显示出了板蓝根水提物的光谱特征。

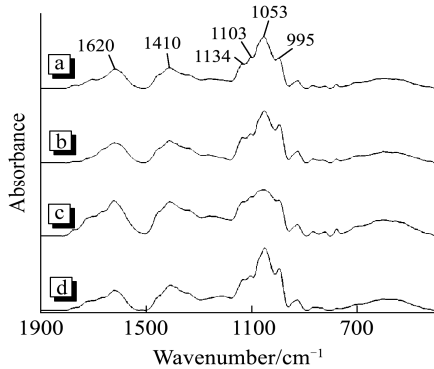


图 9 不同厂家板蓝根颗粒甲醇提取物的红外光谱图

Fig.9 FTIR spectra of CH_3OH extracts of Banlangen granules from different manufacturers

a: 样品3; b: 样品1; c: 样品2; d: 样品4

图 9 为不同厂家板蓝根颗粒的甲醇提取物红外谱图。从图可以发现, 除了 c 以外, 其余三个厂家的板蓝根颗粒的甲醇提取物红外谱图的峰形比较一致。a、b、d 均在 1053 cm^{-1} 强吸收峰处出现了 1134 cm^{-1} 、 1103 cm^{-1} 、 995 cm^{-1} 等明显的肩峰, 而 c 中则不明显。对比四个厂家的板蓝根颗粒的甲醇提取物红外谱图可发现四者共有特征峰为 1620 cm^{-1} 、 1410 cm^{-1} 、 1053 cm^{-1} 。由图可见四者在 1620 cm^{-1} 处吸收峰强度均与 1410 cm^{-1} 处相当, 而与 1053 cm^{-1} 处的吸收强度相比, 则四者差别较大。如果以 A 表示吸收强度, 吸收强度比值记为 I, 则对于 a, $I_a = A_{(1053\text{ cm}^{-1})} / A_{(1620\text{ cm}^{-1})} = 2.53$; $I_b = A_{(1053\text{ cm}^{-1})} / A_{(1620\text{ cm}^{-1})} = 2.62$; $I_c = A_{(1053\text{ cm}^{-1})} / A_{(1620\text{ cm}^{-1})} = 1.32$; $I_d = A_{(1053\text{ cm}^{-1})} / A_{(1620\text{ cm}^{-1})} = 3.11$ 。由此可见 $I_d > I_b > I_a > I_c$, 这是由于不同厂家的板蓝根颗粒的各种有效成分的相对含量不同所造成的。

用 OPUS 软件中的 Quick Compare 功能通过检查

被测试谱与参考谱间的欧氏距离得到不同厂家板蓝根颗粒甲醇提取物红外谱图与板蓝根水提物红外谱图的相似度。以板蓝根水提物红外谱图为标准, 得到各谱图间的相关系数如表 2。

表 2 不同厂家板蓝根颗粒甲醇提取物和板蓝根水提物的相关系数

Table 2 Correlation coefficients of CH_3OH extracts of Banlangens from different manufacturers					
样品	板蓝根水提物	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
相关系数	1.0000	0.9791	0.9753	0.9773	0.9696

不同厂家板蓝根颗粒的无水乙醇提取物红外谱图如图 10, 四个厂家板蓝根颗粒无水乙醇提取物的红外谱图整体峰形大致一致, 说明无水乙醇也可以除去辅料蔗糖的影响, 把板蓝根颗粒中的有效成分提取出来, 使其红外特征性进一步增强。仔细比较四个厂家板蓝根颗粒在 $1800\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 波段的红外光谱, 仍可以发现其各种不同特征: a、b、d 三者峰形在此范围内峰形比较一致, 都有 1657 cm^{-1} 、 1410 cm^{-1} 、 1053 cm^{-1} 等特征峰, 且均在 1053 cm^{-1} 强吸收峰处出现了 1134 cm^{-1} 、 1103 cm^{-1} 、 995 cm^{-1} 等明显的肩峰, 而在 1053 cm^{-1} 处 c 为一单峰, 而 c 则在 1726 cm^{-1} 处出现了明显的羰基吸收峰, 其他样品均是肩带。由此可见样品 2 板蓝根颗粒有效成分和其他厂家有区别, 估计是板蓝根原药材的产地不一样或者是生产工艺上有差别所导致。

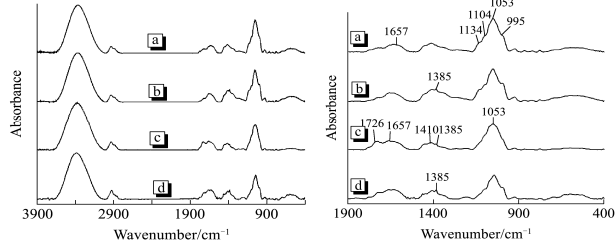


图 10 不同厂家板蓝根颗粒乙醇提取物的红外光谱图

Fig.10 FTIR spectra of $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ extracts of Banlangen granules

注: a: 样品3; b: 样品1; c: 样品2; d: 样品4

表 3 不同厂家板蓝根颗粒无水乙醇提取物和板蓝根水提物的相关系数

Table 3 Correlation coefficients of $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ extracts of Banlangen granules from different manufacturers					
样品	板蓝根水提物	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
相关系数	1.0000	0.9592	0.9435	0.9586	0.9321

比较不同厂家板蓝根颗粒无水乙醇提取物红外谱图与板蓝根水提物红外谱图的相似度, 以板蓝根水提物红外谱图为标准, 得到各谱图间的相关系数如表 3。由表 3 可见, 若以 C 表示相关系数, 二者均显示出

$C_1>C_3>C_2>C_4$ ，因此根据相似度可以对不同厂家板蓝根颗粒的质量进行控制。

2.4 板蓝根颗粒中蔗糖含量的测定

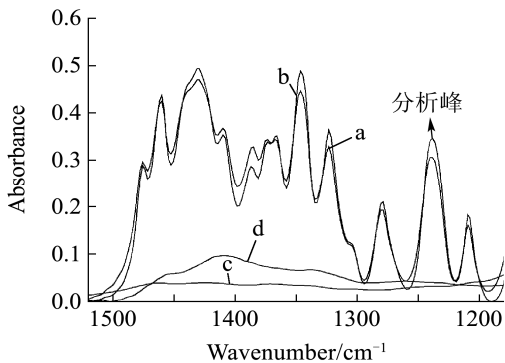


图 11 分析峰的红外光谱图

Fig.11 FTIR spectra of analysis peak

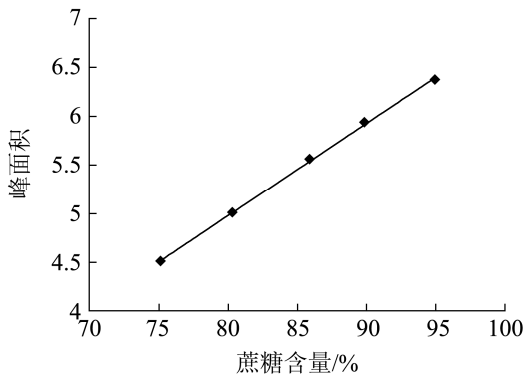


图 12 颗粒中蔗糖含量的工作曲线

Fig.12 Calibrating curve of sucrose content in samples

表 4 样品中蔗糖的测定结果

Table 4 Sucrose content in examined samples

样品名称	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4
峰面积	4.512	5.558	5.520	5.364
样品中蔗糖含量/%	75.10	86.12	85.72	84.08

图 11 将板蓝根颗粒 a、蔗糖 b、糊精 c、板蓝根水提取物 d 的红外谱图进行比较：蔗糖和板蓝根颗粒在 1238 cm^{-1} 处均为尖峰，且峰型对称，而含量较低的糊精和板蓝根水提物在该处则为宽峰，因而可以选取 1238 cm^{-1} 的尖峰作为定量分析的特征分析峰。测试蔗糖、糊精、板蓝根水提物不同配比的样品的红外谱图，并绘制其工作曲线见图 12，求得峰面积 Y 与蔗糖含量 X 的回归方程为： $Y=0.0949X-2.6154$ ，相关系数 (R^2) = 0.9988。

将待测样品的分析峰的峰面积代入回归方程，从

而计算样品中蔗糖的含量，结果如下表 4 所示。

3 结论

本文中已证实板蓝根颗粒的甲醇提取物和板蓝根水提物二者谱图特征一致，说明用甲醇作为提取剂，可以分离出板蓝根颗粒的有效成分，能有效地去除蔗糖等辅料。同时通过相似度的比较，对不同厂家的板蓝根颗粒进行了鉴别。并利用红外光谱定量测定板蓝根颗粒主要辅料蔗糖的含量，结果表明不同样品的差异是明显的。因此，红外光谱技术结合溶剂提取分析板蓝根颗粒光谱特征，能够更有效与直观地反应出不同生产厂家产品质量的差别。

参考文献

[1] 孙鹏,张小松,范琦,等.不同产地青蒿的 FTIR 指纹图谱分析[J].中成药,2007,29(12): 1721-1724

[2] 白雁,鲍红娟,王东,等.不同产地药用菊花红外光谱法的分析与与鉴定[J].中成药,2006,28(12): 1721-1724

[3] 孙素琴,周群,刘军,等.真伪半夏二维相关红外光谱法的鉴别研究[J].光谱学与光谱分析,2004,24(4):427-430

[4] 白雁,鲍红娟,陈志红,等.药用菊花不同提取部位的红外光谱分析[J].中成药,2007,29(3):401-406

[5] 白雁,孙素琴,樊克峰,等.红外二阶导数谱对地黄及其不同提取部位、炮制品的鉴定[J].中成药,2006,37(11): 1661-1663

[6] 田进国,朱文荣,任健,等.茯苓、党参、重楼等 13 种中药配方颗粒红外指纹图谱的研究[J].中成药,2004,26(7): 517-521

[7] 朱银玲,谭竹钧.杨桃中多糖成分的纯化与鉴定[J].现代食品科技,2008,24(2): 161-163

[8] 中国药典 2005 版一部[S].2005:487

[9] 何立巍,李祥,陈建伟等.板蓝根水提取液中的化学成分[J].药学学报,2006,41(12):1193-1196

[10] 何立巍,李祥,陈建伟等.板蓝根水溶性的化学成分的研究[J].中国药房,2006,17(3): 231-232

[11] 彭纛,张立平,宋华,等.板蓝根提取物化学成分研究[J].中国药物化学杂志,2005,15(6):371-372

[12] 欧明,林励,李衍文.简明中药成分手册[M].北京:中国医药科技出版社,2003