

基于有效成分含量测定探讨中药青黛的合理服用方法[△]

郭丹丹*, 徐静, 郝永彪, 李隽, 陈爱芳(北京王府中西医结合医院药剂科, 北京 102209)

中图分类号 R932;R927.2

文献标志码 A

文章编号 1672-2124(2021)12-1490-04

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2021.12.016

摘要 目的:基于中药青黛、青黛包煎液和不同厂家青黛配方颗粒中有效成分(靛蓝和靛玉红)的含量测定,以及其含量差异的分析,探讨青黛的临床合理服用方法。方法:采用液相检测,色谱柱为 Waters XBridge C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);进样量为 10 μl;以甲醇-水(V:V=70:30)为流动相进行洗脱,流速为 1.0 ml/min;柱温为 35 ℃;PDA 检测器检测波长为 606 nm(靛蓝)、292 nm(靛玉红),同时测定青黛饮片、包煎液和颗粒中靛蓝和靛玉红的含量。结果:青黛饮片中靛蓝、靛玉红的含量为 15.5%、0.18%,青黛颗粒 1 中靛蓝、靛玉红的含量为 4.9%、0.14%,青黛颗粒 2 中靛蓝、靛玉红的含量为 8.8%、0.13%,均符合《中华人民共和国药典:一部》(2020 年版)的要求(靛蓝含量不得少于 2%,靛玉红含量不得少于 0.13%)。在青黛饮片、青黛包煎液和青黛配方颗粒中,青黛饮片中靛蓝、靛玉红含量最高。结论:根据实验结果,推荐临床上使用青黛饮片时直接冲服或入丸剂、散剂,效果较好,不建议采用青黛布包后入煎剂的方式。

关键词 青黛;颗粒;靛蓝;靛玉红

Exploration on Rational Administration of Traditional Chinese Medicine Indigo Naturalis Based on Effective Content Determination[△]

GUO Dandan, XU Jing, HAO Yongbiao, LI Jun, CHEN Aifang (1. Dept. of Pharmacy, Beijing Royal Integrative Medicine Hospital, Beijing 102209, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To determine the content (indigo and indirubin) in indigo naturalis, indigo naturalis decoction and indigo naturalis formula granules from different manufacturers, and to analyze the content difference, so as to explore the rational clinical administration of indigo naturalis. **METHODS:** The separation was performed on the Waters XBridge C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm) by using liquid phase detection, with sample size of 10 μl. The mobile phase was methanol-water (V:V=70:30), and the flow rate was 1.0 ml/min. The column temperature was 35 ℃. The detection wavelength of PDA detector was 606 nm(indigo) and 292 nm(indirubin), the contents of indigo and indirubin in indigo naturalis decoction pieces, decoction and granules were determined. **RESULTS:** The contents of indigo and indirubin in indigo naturalis decoction pieces were 15.5% and 0.18%, the contents of indigo and indirubin in indigo naturalis granules 1 were 4.9% and 0.14%, and the contents of indigo and indirubin in indigo naturalis granules 2 were 8.8% and 0.13%, all of which met the requirements of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China(Part I, 2020 edition) (the range of indigo was no less than 2%, the range of indirubin was no less than 0.13%). Among the indigo naturalis decoction pieces, decoction and granules, the content of indigo and indirubin was the highest in indigo naturalis decoction pieces. **CONCLUSIONS:** According to the experimental results, it is clinically recommended to use indigo naturalis decoction pieces for direct brewing or into pills and dispersal, which is more effective, rather than indigo naturalis packet decoction.

KEYWORDS Indigo naturalis; Granules; Indigo; Indirubin

青黛是爵床科植物马蓝、蓼科植物蓼蓝或十字花科植物菘蓝的叶或茎叶加工品,具有清热解毒、凉血消斑和泻火定惊之功效,是临床较常用的中药^[1]。研究结果表明,靛蓝、靛玉红等吡啶类成分被认为是青黛的主要活性成分,具有保肝、消炎和抗肿瘤等多种药理作用^[2-6]。青黛的炮制加工主要在原产地进行。在炮制加工的过程中,原植物茎叶中的物质会进行转化,变为靛蓝和靛玉红。现行青黛的炮制加工多采用水飞法,该方法成本较低、便于操作,而且可以除去青黛中含有

的石灰、重金属等杂质,能够提高青黛的质量^[7]。

随着科学的进步和近年来中医药事业的发展,目前中药材不局限于传统的中药饮片,还出现了小包装、单味药配方颗粒等多种形式的中药。不同形式的中药因其特有的优势在中药市场上占据着不同的地位。其中,配方颗粒近年来发展较快,其是单味中药饮片经过水提、分离、浓缩、干燥和制粒而成,因服用方便、便携和保存期长,在临床上受到了更多患者的接受。2021年2月10日,中药配方颗粒结束试点工作,质量监管正式纳入中药饮片范畴^[5,8-11]。

青黛宜入丸剂、散剂,外用适量,但临床上常采用布包后入煎剂的方法。《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)规定,中药青黛按干燥品计算,含靛玉红(C₁₆H₁₀N₂O₂)不得少于

△基金项目:2017年昌平区卫生科技发展专项(中医药)课题(No.昌卫科2017-5-02)

*副主任药师。研究方向:中药临床药学。E-mail:guodandan-313@163.com

0.13%,含靛蓝($C_{16}H_{10}N_2O_2$)不得少于2.0%^[1]。但对于包煎后的青黛煎液和青黛颗粒中有效成分的含量并未作出更加明确的说明。因此,为明确中药青黛的临床合理服用方法,本研究收集了3种不同形式的中药青黛,分别为青黛饮片、布包后的煎煮液(包煎液)和配方颗粒剂,采用液相法,在相同色谱条件下对不同形式的中药青黛同时测定其有效成分靛蓝、靛玉红的含量。通过实验结果对比,可进一步明确不同形式中药对有效成分含量的影响,可为提高中药青黛临床服用方法的合理性提供参考。

1 材料

1.1 仪器

JA1003B型电子天平(上海越平科学仪器有限公司);YJD20D-L型煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司);LC-20AT型液相色谱仪(日本岛津公司)。

1.2 药品与试剂

青黛饮片(北京本草方源药业有限公司,批号为20161125);青黛颗粒1(广东一方制药有限公司,批号为10050513);青黛颗粒2(北京康仁堂药业有限公司,批号为19044811);青黛包煎液(青黛饮片由北京王府中西医结合医院(以下简称“我院”)代煎,批号为20191125);靛蓝(中国食品药品检定研究院,批号为110716-201612);靛玉红(中国食品药品检定研究院,批号为110717-201805);三氯甲烷(北京化学试剂公司,分析纯);无水硫酸钠(北京化学试剂公司,分析纯);水合氯醛(北京化学试剂公司,分析纯);N,N-二甲基甲酰胺(北京化学试剂公司,分析纯);甲醇(美国Fisher公司,色谱纯)。

2 方法

2.1 色谱条件

参考相关文献^[12-17],对靛蓝和靛玉红进行色谱分析。色谱柱为Waters XBridge C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm,5 μ m)。进样量为10 μ l;以甲醇-水(V:V=70:30)为流动相进行洗脱,流速为1.0 ml/min;柱温为35 $^{\circ}$ C;PDA检测器检测波长为606 nm(靛蓝)、292 nm(靛玉红),对应分析时间为15、30 min,各测试样品平行测定2次,最终结果取平均值。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:(1)精密称取靛蓝标准品2.5 mg,置于250 ml容量瓶中,加2%水合氯醛的三氯甲烷溶液(取干燥24 h后的水合氯醛2.0 g,加三氯甲烷至100 ml,静置至出现浑浊,以无水硫酸钠脱水,滤过,即得)溶解,超声处理(功率250 W,频率33 kHz)1.5 h,冷却至室温(25 $^{\circ}$ C),定容,摇匀,即得每1 ml中含靛蓝10 μ g的靛蓝对照品溶液。(2)精密称取靛玉红对照品2.5 mg,置于50 ml容量瓶中,加N,N-二甲基甲酰胺适量,超声处理(功率250 W,频率33 kHz)使溶解,冷却至室温,定容,摇匀。精密量取上述溶液10 ml,置于100 ml容量瓶中,加N,N-二甲基甲酰胺至刻度,摇匀,即得每1 ml中含靛玉红5 μ g的靛玉红对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:(1)青黛包煎液。采用临床常用的服用方法和相应剂量获得,即用青黛饮片10 g煎煮30 min,煎煮液过滤,最后浓缩成100 ml即得,称重109 g。(2)靛蓝供试品溶液。取样品(A-1为青黛饮片;B-1为青黛颗粒1;C-1为青黛颗粒2)40 mg,精密称定细粉置于200 ml容量瓶中,加

2%水合氯醛的三氯甲烷溶液180 ml超声(功率11 W,频率100 kHz)30 min使其溶解,冷却至室温,定容,摇匀,用0.45 μ m尼龙滤膜过滤,取续滤液,即得。包煎液粉末标记为D-1样本,称取包煎液粉末185 mg(青黛包煎液冷冻干燥得)于200 ml容量瓶中,加2%水合氯醛的三氯甲烷溶液180 ml超声(功率11 W,频率100 kHz)溶解30 min,放至室温,用2%水合氯醛的三氯甲烷溶液定容至刻度,混匀,过0.45 μ m尼龙滤膜过滤,取续滤液,上机备用。(3)靛玉红供试品溶液。取样品(A-2为青黛粉末;B-2为青黛颗粒1;C-2为青黛颗粒2)50 mg精密称定,细粉置于25 ml容量瓶中,加N,N-二甲基甲酰胺20 ml超声(功率11 W,频率100 kHz)30 min使其溶解,定容,摇匀,用0.45 μ m尼龙滤膜过滤,取续滤液,即得。包煎液粉末标记为D-2样本,称取包煎液粉末185 mg(青黛包煎液冷冻干燥得)于25 ml容量瓶中,加N,N-二甲基甲酰胺20 ml超声(功率11 W,频率100 kHz)溶解30 min,放至室温,用N,N-二甲基甲酰胺定容至刻度,混匀,过0.45 μ m尼龙滤膜,上机备用。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取靛蓝和靛玉红的对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、5.0和7.0 ml,分别置于10 ml容量瓶中,用50%甲醇定容至刻度。分别精密吸取上述各浓度的对照品溶液10 μ l进样,按“2.1”项下所述色谱条件测定,记录峰面积。以进样量(X)为横坐标,色谱峰峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线。

2.4 青黛含量测定

取青黛饮片、青黛包煎液和青黛颗粒,按照“2.2.2”项下方法配制所需溶液,并照“2.1”中所述条件进行测定,并计算各样品中靛蓝、靛玉红的含量。

3 结果

3.1 线性关系考察结果

通过线性关系考察,得到靛蓝标准品的回归方程 $Y=27.739X-2.015$ ($r=0.9998$),靛玉红标准品的回归方程为 $Y=15.508X-0.0584$ ($r=0.9997$)。表明靛蓝在18.66~261.24 μ g范围内,靛玉红在1.04~14.57 μ g范围内,与峰面积呈良好的线性关系。标准品的液相图见图1—2。

3.2 靛蓝和靛玉红供试品的色谱结果分析

按照“2.1”项下色谱方法,将制作好的供试品A、B、C和D 4个样品进行液相分析,每个样品进行2次平行实验,所得结果见表1—2,液相色谱图见图3—4。由表1可知,青黛饮片、配方颗粒中靛蓝的含量均符合《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)标准。其中,青黛饮片样品中靛蓝的含量最高,为15.5%;包煎液中靛蓝的含量低于下限值,未检出。由表2可知,青黛饮片、配方颗粒中靛玉红的含量均符合《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)标准。其中,青黛饮片中靛玉红的含量较颗粒剂、包煎液高,为0.18%;包煎液中靛玉红的含量低于下限值,未检出。

4 讨论

4.1 布包存在不影响煎煮效果

包煎液中靛蓝、靛玉红的含量低于下限值,未检出,考虑到可能是由于布包存在造成青黛没有煎透的原因,为了验证是否有此种因素干扰结果,采用“2.2.2”中相同的方法,煎煮

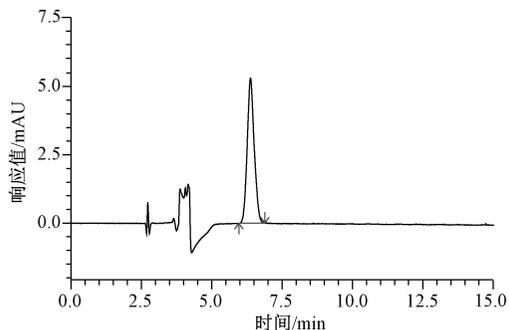


图1 标准品液相色谱图(靛蓝) [606 nm, 4 nm (1.00)]
Fig 1 Liquid chromatogram (indigo) [606 nm, 4 nm (1.00)]

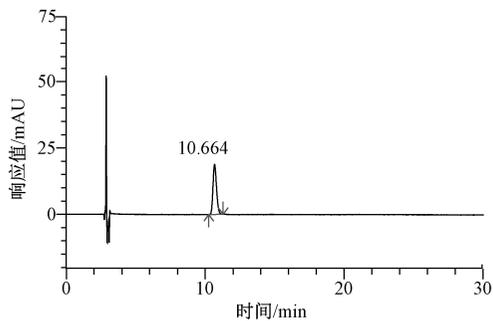


图2 标准品液相色谱图(靛玉红) [292 nm, 4 nm (1.00)]
Fig 2 Liquid chromatogram (indirubin) [292 nm, 4 nm (1.00)]

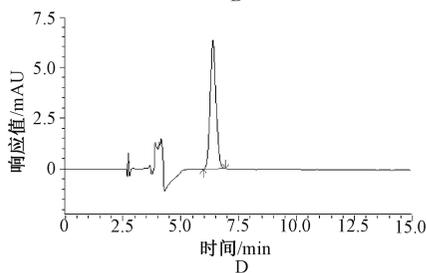
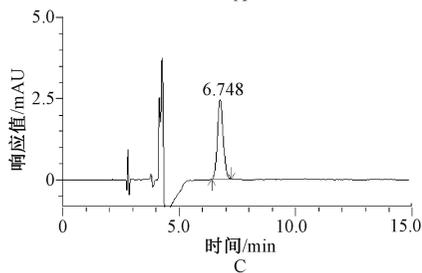
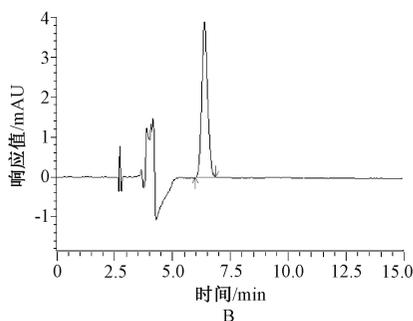
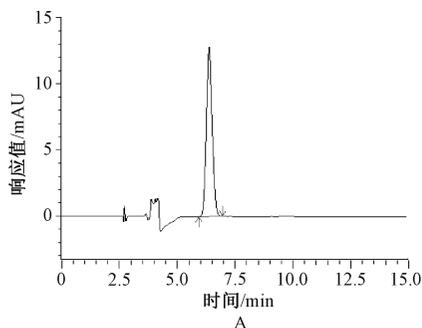
表1 样品中靛蓝目标物检测结果

Tab 1 Detection results of indigo target in samples

样品编号	称样量/mg	定容体积/ml	峰面积	浓度/(mg/ml)	含量/%	平均含量/%
青黛饮片-平行1	46.15	200	222 511	0.036	15.41	15.50
青黛饮片-平行2	43.38	200	210 881	0.034	15.53	
青黛颗粒1-平行1	44.95	200	68 208	0.011	4.85	4.90
青黛颗粒1-平行2	44.47	200	68 078	0.011	4.89	
青黛颗粒2-平行1	42.62	200	117 837	0.019	8.84	8.80
青黛颗粒2-平行2	40.38	200	111 022	0.018	8.79	
包煎液-平行1	185.00	200	41 287	—	—	—
包煎液-平行2	185.00	200	41 432	—	—	—

注:从中药饮片换算为颗粒时会有当量的转换,即1g颗粒折算饮片的剂量;青黛饮片和颗粒剂会有出入,其中颗粒1与饮片的当量为1:2,颗粒2为1:1;“—”表示含量低于下限值,未检出

Note: when converting from traditional Chinese medicine decoction pieces to granules, there is a conversion of equivalent amount, 1 g of granules is converted to the dose of decoction pieces. There will be a difference between decoction pieces and granules of indigo naturalis, where the equivalent amount of granules 1 and decoction pieces is 1:2, and granules 2 is 1:1; “—” indicates that the content is below the lower limit and not detected



A. 饮片; B. 颗粒剂1; C. 包煎液; D. 颗粒剂2

A. decoction pieces; B. granules 1; C. decoction; D. granules 2

图3 样品中靛蓝目标物检测液相图[606 nm, 4 nm (1.00)]

Fig 3 Liquid chromatogram of indigo target in samples [606 nm, 4 nm (1.00)]

完成后,撕开布包观察,青黛粉末充分浸润煎透,排除了因存在布包未煎透造成靛蓝、靛玉红未检出的因素。

4.2 中药青黛在处方中使用,不宜包煎入药

结合本研究测定的靛蓝和靛玉红含量结果可知,中药青黛几乎不溶于水,与直接冲服饮片和配方颗粒剂相比,包煎入药时有效成分煎出量极少,影响临床疗效。另外,临床工作中发现,含有青黛的中药处方在我院代煎时,如果采用包煎入药,当

煎煮不充分时,发生过代煎液酸败胀袋现象,考虑可能是青黛加工过程中残存的石灰在代煎过程中发生再熟化反应。因此,中药青黛合理服用方法宜冲服或入丸剂、散剂,不宜包煎入药。

4.3 青黛的配方颗粒剂在内服处方中可直接冲服使用

结合本研究结果可知,中药青黛的配方颗粒剂中靛蓝、靛玉红含量均符合《中华人民共和国药典:一部》(2020年版)规定,临床在内服处方中可参考青黛饮片服用方法,直接冲服使用。

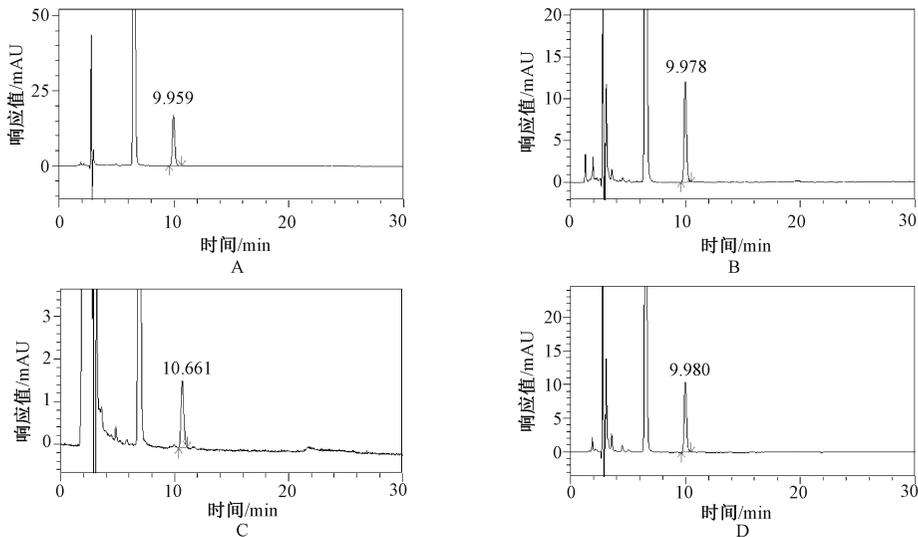
表2 样品中靛玉红目标物检测结果

Tab 2 Detection results of indirubin target in samples

样品编号	称样量/mg	定容体积/ml	峰面积	浓度/($\mu\text{g}/\text{ml}$)	含量/%	平均含量/%
青黛饮片-平行1	54.97	25	248 561	3.964	0.18	0.18
青黛饮片-平行2	55.40	25	248 762	3.967	0.18	
青黛颗粒1-平行1	52.07	25	179 399	2.861	0.14	0.14
青黛颗粒1-平行2	55.73	25	191 906	3.060	0.14	
青黛颗粒2-平行1	49.17	25	156 337	2.493	0.13	0.13
青黛颗粒2-平行2	52.84	25	174 897	2.789	0.13	
包煎液-平行1	185.00	25	26 576	—	—	—
包煎液-平行2	185.00	25	26 520	—	—	—

注：“—”表示含量低于下限值,未检出

Note: “—” indicates that the content is below the lower limit and not detected



A. 饮片; B. 颗粒剂1; C. 包煎液; D. 颗粒剂2

A. decoction pieces; B. granules 1; C. decoction; D. granules 2

图4 样品中靛玉红目标物检测液相图[292 nm, 4 nm (1.00)]

Fig 4 Liquid chromatogram of indirubin target in samples[292 nm, 4 nm (1.00)]

本研究对我院所使用的中药青黛进行抽查,通过实验结果可使药师更加了解中药青黛饮片、青黛颗粒和青黛包煎液三者之间有效成分的差异,为今后合理指导患者用药提供了参考;同时,进一步检查了我院所用中药青黛的质量情况,以便更好地掌握我所使用中药饮片的质量问题,以期更好地为患者提供服务。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020年版. 北京:中国医药科技出版社,2020:208.
- [2] 高思雨,白彩虹,王晓波,张旭. 青黛的质量标准研究[J]. 中国医药指南,2020,18(12):35-36.
- [3] 张志国,欧阳荣,李康,等. 青黛水飞炮炙方法的研究[J]. 中成药,2002,24(3):202-204.
- [4] 毋亚男,吕冠华. 青黛的古今临床配伍应用概述[J]. 江西中医药,2018,49(5):74-76.
- [5] 高凤洋,张大方,李超英. 中药青黛炮制及药理作用的研究进展[J]. 长春中医药大学学报,2020,36(1):180-183,188.
- [6] 张金龙. 复发性口腔溃疡患者采用复方青黛贴片治疗对溃疡状况及T细胞亚群水平的干预效果[J]. 中国实用医药,2021,16(14):134-136.
- [7] 马乐乐,许润春,张定堃,等. 古今青黛饮片形式的变化:靛花与粗靛质量的系统对比研究[J]. 中国中药杂志,2021,46(13):3188-3197.

- [8] 徐小蓉,冉飞,贺亚男,等. 青黛口服起效的关键:胆汁作用的体内外验证[J]. 中国中药杂志,2021,46(13):3198-3204.
- [9] 王丽丹,吕冠华. 青黛潜在功能的考察与分析[J]. 时珍国医国药,2019,30(12):2985-2987.
- [10] 顾思臻,窦丹波. 单味青黛口服治疗溃疡性结肠炎的思考[J]. 中国中西医结合消化杂志,2020,28(3):238-242.
- [11] 赖金伦,刘玉辉,刘畅,等. 中药靛玉红作用机理及其临床应用研究进展[J]. 中兽医医药杂志,2017,36(1):76-79.
- [12] 裴玉,黄芝娟,霍志鹏,等. 多波长HPLC法同时测定青黛药材中靛蓝和靛玉红的含量[J]. 天津药学,2017,29(2):14-18.
- [13] 王巍嵩,朱贲贲,徐智宇. 高效液相色谱-质谱法测定大青叶中靛蓝和靛玉红的含量[J]. 内蒙古医科大学学报,2020,42(1):59-60,63.
- [14] 王婷婷,李玲,陈乃江. 高效液相色谱法测定双料喉风散中靛蓝和靛玉红含量[J]. 中国药业,2019,28(23):24-26.
- [15] 吴青青,黄和平,李玮,等. 高效液相色谱法同时测定青黛中色胺酮、靛蓝及靛玉红的含量[J]. 化学世界,2019,60(2):105-110.
- [16] 张勋,邢燕燕,赵韞慧,等. 基于液相色谱-串联质谱法检测多种食品中的16种合成着色剂[J]. 化学试剂,2017,39(4):385-390.
- [17] 郑新华,王乐,韩焕美,等. 液相色谱串联质谱法检测食品中4种人工合成着色剂[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(4):1412-1418.

(收稿日期:2021-07-08)