

引用本文:李德林,任路路,李小伟,等.金桑颗粒的质量标准研究[J].安徽医药,2021,25(4):669-672.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.04.008.



◇ 药物分析 ◇

## 金桑颗粒的质量标准研究

李德林,任路路,李小伟,韩双

作者单位:太和县中医院中药制剂室,安徽 阜阳 236600

**摘要:** 目的 建立金桑颗粒的质量标准。方法 2016年1—5月,采用薄层色谱法(TLC)对金桑颗粒处方中连翘及黄芩进行定性鉴别研究;高效液相色谱法(HPLC)对金桑颗粒中黄芩苷进行含量测定研究,以依利特 Hypersil ODS2(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为色谱柱;以甲醇-0.1%磷酸(47:53)为流动相;检测波长 280 nm;流速设置 1.0 mL/min;柱温设置 30 ℃。结果 连翘及黄芩薄层鉴别专属性强,斑点清晰,阴性对照无干扰,可作为定性鉴别。黄芩苷在 0.067 3~0.157 0 mg 范围内与峰面积呈良好的线性关系,回归方程为  $Y=0.0571X+0.0812$  ( $r=0.9999$ ),平均回收率为 96.72%,RSD=0.35% ( $n=6$ )。结论 该法操作简便、专属性强、稳定性及重复性良好,可作为金桑颗粒的质量控制方法。

**关键词:** 植物制剂; 颗粒物; 质量控制; 金桑颗粒; 质量标准; 色谱法,高压液相; 黄芩苷

### Quality standard study of *Jinsang* granules

LI Delin, REN Lulu, LI Xiaowei, HAN Shuang

Author Affiliation:TCM Preparation Room, Taihe Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuyang, Anhui 236600, China

**Abstract: Objective** To establish the quality standard for *Jinsang* granules.**Methods** From January 2016 to May 2016, the contents of Fructus Forsythiae and Scutellaria baicalensis in *Jinsang* granules were identified by thin layer chromatography (TLC) method. The contents of baicalin in *Jinsang* granules were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) method. This method was employed on an Yilite Hypersil ODS2 column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) at 30 degrees Celsius with a mobile phase consisting of methanol-0.1% phosphoric acid (47:53) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 280 nm.**Results** TLC spots of Fructus Forsythiae and Scutellaria baicalensis were clear and negative without interference, which can be used as qualitative method. The contents of baicalin had good linearity within the range of 0.067 3~0.157 0 mg and the equation of regression was  $Y=0.0571X+0.0812$  ( $r=0.9999$ ). The average recovery rate of baicalin was 96.72% and RSD was 0.35% ( $n=6$ ).**Conclusion** The method is simple, accurate, with good specificity and reproducibility, which can be used for the quality control of *Jinsang* granules.

**Key words:** Plant preparations; Particulate matter; Quality control; *Jinsang* granules; Quality standard; Chromatography, high pressure liquid; Baicalin

小儿外感发热常见于急性上下呼吸道感染、肺炎、支气管炎等疾病,是儿科最常见的疾病<sup>[1]</sup>。故深入研究有效治疗小儿外感发热的药物尤为重要。目前国内外治疗小儿外感发热主要以合成药物为主,虽有肯定的临床疗效,但只是对症治疗,无病因性的治疗作用,使其临床应用受到极大限制<sup>[2]</sup>。因此,寻找有效、新型、低毒的治疗小儿外感发热药十分必要。近年来现代基础及临床研究表明中医药在治疗小儿外感发热上不仅疗效显著,且毒副作用小,适合长期服用<sup>[3]</sup>。

金桑颗粒处方系太和县中医院名老中医依据清代医学名家吴鞠通温病理论,采取辨病与辨证的方法,对桑菊饮、银翘散、清营汤等经典方剂进行化裁,并结合多年临床经验及幼儿发病特点,针对小儿外感发热、咳嗽所总结的经验方。本处方由金银

花、水牛角、桑叶、黄芩、连翘等十味药配伍组合而成。方中金银花疏散风热,清热解毒,用于各种热病;水牛角清热凉血,解毒定惊,以上二药,共为君药。桑叶清上焦风热,善走肺络,宣肺热而止咳嗽;连翘气味芳香,既能疏散风热、清热解毒,又可辟秽化浊;黄芩清热燥湿,善清上焦之火;荆芥解表散邪,配入辛凉解表药中,增强辛散透表之力,是为去性取用之法,四药合用,助君药发散表邪,透邪外出,俱为臣药。蝉蜕既疏散肺经风热而利咽透疹止痒,又长于疏散肝经风热而凉肝息风止痉;白茅根清肺胃热而利尿,又能凉血止血;热易伤津,玄参滋阴降火解毒,淡豆豉解表除烦,上述四药为佐药。诸药合用有止咳化痰兼疏风清热之功。临床常用于小儿外感疾病如感冒、慢性肺炎或支气管炎引发的发热、咳嗽等。该方原以汤剂形式在本院应用十

余年,临床疗效显著且安全可靠。为更好地发挥其疗效,便于病人服用及携带,本研究在前期工作的基础上,开发了金桑颗粒制剂。然而尚缺乏有效的质量控制方法,故为了更好的保证制剂质量及临床用药的安全性和有效性,2016年1—5月,本研究采用TLC法对方中连翘及黄芩进行定性鉴别研究,同时采用HPLC法对金桑颗粒中黄芩苷含量进行测定。该法操作简便、专属性强、稳定性及重复性良好,可有效控制金桑颗粒的质量。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** XSE105DU型十万分之一电子天平(梅特勒-托利多);Ultimate 3000型高效液相色谱仪(赛默飞);ZF-2型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂);KQ-300DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);聚酰胺薄膜(国药集团化学试剂有限公司);硅胶G板(青岛海洋化工厂分厂);DHG-9055A型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);HH数显恒温水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司)等。

**1.2 试药** 黄芩苷对照品(批号110715-201317,供含量测定用)及连翘对照药材(批号20908-201216,供薄层鉴别用)均来自中国食品药品检定研究院;金桑颗粒(批次20160328,20160329,20160330)、金桑颗粒缺连翘阴性样品(批次20160412)、金桑颗粒缺黄芩阴性样品(批次20160413),均为太和县中医院制剂室自制;甲醇为色谱纯,水为纯化水,乙醇、乙酸乙酯及甲酸等其他试剂均为分析纯。

## 2 薄层色谱鉴别

**2.1 连翘的薄层色谱鉴别**<sup>[4]1233,[5]</sup> 取金桑颗粒样品10 g,研细,加乙醇30 mL,超声30 min,滤过,滤液浓缩至1 mL,加中性氧化铝1 g,在水浴上拌匀,干燥,加在中性氧化铝柱(100~200目,2 g,内径为15 mm)上,加无水乙醇50 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加无水乙醇1 mL使溶解,即得供试品溶液。另取连翘对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。再按金桑颗粒制备工艺生产不含连翘的样品,同法制得缺连翘阴性对照溶液。照TLC法(中国药典2015年版四部通则0502)试验,吸取上述对照药材溶液5  $\mu$ L、三批供试品溶液及阴性对照溶液各10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(9:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛乙醇溶液与硫酸的混合溶液(18:1),在105  $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱中,在与连翘对照药材溶液色谱相应位置上,显相同颜色的黄褐色主斑点,斑点清晰可见,分离效果较好,且阴性对照无干扰,专属性较好,三批金桑颗粒均检出连翘。

**2.2 黄芩的薄层色谱鉴别**<sup>[4]435-436,[6]</sup> 取金桑颗粒样品5 g,研细,加入甲醇50 mL,超声30 min,过滤,滤

液蒸干,残渣加水30 mL使溶解,用盐酸调节pH至1.0~2.0,乙酸乙酯振摇提取2次,每次30 mL,分取乙酸乙酯层,水浴蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,即得供试品溶液;另取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液;再按金桑颗粒制备工艺生产不含黄芩的样品,同法制得缺黄芩阴性对照溶液。照TLC法(中国药典2015年版四部通则0502)试验,吸取上述三种溶液各5  $\mu$ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铁乙醇溶液。结果供试品溶液色谱中,在与黄芩苷对照品溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的绿色斑点,斑点清晰可见,分离效果较好,且阴性对照无干扰,专属性较好,三批金桑颗粒均检出黄芩。

## 3 黄芩苷HPLC含量测定

**3.1 色谱条件**<sup>[7-8]</sup> 色谱柱为依利特Hypersil ODS2柱(4.6 mm $\times$ 250 mm,5  $\mu$ m);流动相:甲醇-0.1%磷酸(47:53);流速设置为1.0 mL/min;柱温设置为30  $^{\circ}$ C;检测波长为280 nm;理论塔板数按黄芩苷峰计应不得低于2 500,进样量设置为5  $\mu$ L。

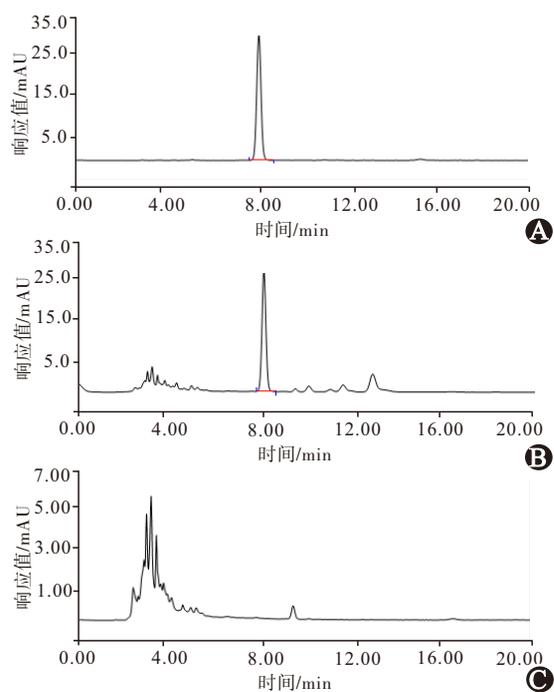
**3.2 对照品溶液的制备** 称取黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含22.44  $\mu$ g的黄芩苷对照品溶液,摇匀,即得。

**3.3 供试品溶液的制备** 取金桑颗粒约0.5 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇50 mL,称定重量,超声处理30 min(功率250 W,频率20 kHz),取出,放冷,再称定重量,用50%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密移取续滤液2 mL置10 mL容量瓶中,加50%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**3.4 阴性对照溶液的制备** 按金桑颗粒处方和制备工艺制备缺黄芩的阴性样品,再按“3.3”项下方法制备缺黄芩阴性对照溶液。

**3.5 专属性试验** 按“3.1”项下色谱条件,分别吸取上述供试品溶液、黄芩苷对照品溶液和阴性对照溶液各5  $\mu$ L,注入液相色谱仪中,记录各自色谱图。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相同的保留时间内出现黄芩苷色谱峰,且黄芩苷分离度及拖尾因子均符合要求,而阴性对照无干扰,故该法专属性良好。见图1。

**3.6 线性关系考察** 取“3.2”项下的黄芩苷对照品溶液适量,置自动进样器中,分别吸取3  $\mu$ L、4  $\mu$ L、5  $\mu$ L、6  $\mu$ L、7  $\mu$ L于液相色谱仪中,再按上述“3.1”项下色谱条件进样,并记录峰面积。并以黄芩苷对照品进样量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,进行线性回归。结果得黄芩苷的回归方程为: $Y=0.0571X+0.0812$ ( $r=0.9999$ ),以上结果表明黄芩苷在进样量为0.0673 mg~0.1570 mg范围内呈现良好的线性关系。



注:1—黄芩苷色谱峰。

图1 供试品和对照品HPLC图:A为黄芩苷对照品;B为金桑颗粒样品;C为阴性对照

**3.7 精密度试验** 取“3.2”项下黄芩苷对照品溶液适量,置自动进样器中,按“3.1”下的色谱条件,连续进样6针,测定黄芩苷峰面积。结果黄芩苷平均峰面积为6.600,RSD为0.28%( $n=6$ ),说明该仪器精密度良好。

**3.8 稳定性试验** 取金桑颗粒0.5 g,按“3.3”项下制备方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件,将供试品溶液置于自动进样器中,分别于0 h、2 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、24 h进样测定,并记录黄芩苷峰面积,结果黄芩苷平均峰面积为6.000。RSD为0.33%( $n=8$ ),表明金桑颗粒供试品溶液在室温放置24 h内较为稳定。

**3.9 重复性试验** 精密称取同一批次的金桑颗粒6份,每份约0.5 g,精密称定,按上述“3.3”项下供试品溶液制备方法平行制备6份供试品溶液,置于自动进样器中,再按上述“3.1”项下色谱条件进样,测定黄芩苷峰面积并计算其黄芩苷含量。结果显示6份样品的黄芩苷平均含量为9.86 mg/g,RSD为1.20%。表明该法重复性较好。

**3.10 加样回收率试验** 取已知含量的同一批金桑颗粒样品6份(批号:20160328)适量,分别精密加入浓度为2.891 4 mg/mL的黄芩苷对照品溶液1 mL,挥干溶剂后,按上述“3.3”项下方法制备供试品溶液,置于自动进样器中,再按上述“3.1”项下色谱条件,测定黄芩苷峰面积并计算其黄芩苷加样回收率。结果6份样品的平均回收率为96.72%,RSD为0.35%。表明样品回收率良好,该法准确度较高。见表1。

**3.11 样品含量测定及含量限度的确定** 通过投料

表1 金桑颗粒黄芩苷加样回收率结果( $n=6$ )

样品称量/g	黄芩苷含量/mg	黄芩苷加量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.250 3	2.468	2.89	5.281	97.29	96.72	0.35
0.250 2	2.467	2.89	5.262	96.65		
0.250 5	2.470	2.89	5.269	96.81		
0.250 6	2.471	2.89	5.259	96.43		
0.249 8	2.463	2.89	5.249	96.35		
0.249 4	2.459	2.89	5.257	96.76		

前对方中黄芩饮片及三批金桑颗粒样品中黄芩苷含量的测定,计算得到黄芩苷的转移率。结果表明,不同批次的黄芩饮片中黄芩苷的含量分别为13.67%、13.46%、13.08%,三批金桑颗粒中黄芩苷的含量分别为9.63 mg/g、9.70 mg/g、9.70 mg/g。因处方中每1 g颗粒含黄芩饮片0.12 g,则制剂中理论每1 g含黄芩苷分别为16.40 mg、16.15 mg、15.70 mg,最低转移率为58.72%。根据2015年版《中国药典》一部规定:黄芩饮片中黄芩苷的含量不得少于8.0%(80 mg/g),则制成制剂后相当于每1 g含黄芩苷不得少于9.6 mg,此工艺中黄芩苷转移率在58.72%~61.78%之间,制成制剂后最低应为:5.637~5.931 mg/g,则装量差异项下的本品每袋应为56.37~59.31 mg。结合多批制剂含量测定结果及生产实际,故本标准将黄芩苷的限度暂定为不少于每袋55.0 mg。见表2。

表2 黄芩苷含量和转移率考察结果

黄芩饮片批号	黄芩苷含量/%	制剂理论含量/(mg/g)	制剂批号	实测含量/(mg/g)	转移率/%
20150415	13.67	16.40	20160328	9.63	58.72
20150521	13.46	16.15	20160329	9.70	60.06
20150913	13.08	15.70	20160330	9.70	61.78

## 4 讨论

**4.1 薄层鉴别** 在对制剂中的连翘薄层鉴别时,曾参考相关文献,试以乙醇超声提取点样,但所含杂质多,日光下检视不清楚,故增加对提取液过大孔吸附树脂柱或中性氧化铝柱纯化过程,结果发现中性氧化铝柱分离效果更好,斑点清晰,专属性更强。此外,本研究还参考相关文献<sup>[4]232-233,[9-14]</sup>对方中其他药味如金银花、桑叶等进行了薄层鉴别研究,结果发现金银花、桑叶、淡豆豉及玄参阴性对照有干扰,荆芥及白茅根分离效果较差且斑点较不清晰,故暂未列入质量标准中,有待于进一步研究。

**4.2 提取方法的优化** 本研究前期曾对方中君药金银花主要成分绿原酸和木犀草苷进行含量测定,结果发现金银花阴性对照中绿原酸存在干扰,且样品中木犀草苷含量极低,故本研究选择臣药黄芩的主要成分黄芩苷作为含量测定指标,为了充分提取样品中的黄芩苷,本研究考察了超声提取和回流提

取两种方法, 研究表明二者黄芩苷含量无显著性差异, 但超声提取更为简便, 故选择超声提取。同时参考相关文献, 考察了30% 甲醇、50% 甲醇、70% 甲醇等不同比例的甲醇和超声时间20 min、30 min及40 min对提取效果的影响。结果表明以50% 甲醇为溶剂, 超声处理30 min, 黄芩苷提取效果最佳。

**4.3 流动相和色谱柱的考察** 金桑颗粒为中药复方制剂, 方中干扰成分较多, 故流动相的优化和色谱柱的选择对样品的分离有着重要的影响。本实验考察了甲醇-水溶液及甲醇-磷酸水溶液。结果发现试验中以甲醇-水为流动相时, 峰形拖尾, 而加入0.1% 磷酸后, 拖尾现象得到改善, 且分离度符合要求。此外, 本研究对不同品牌的色谱柱(Thermo Syncronis C18、Wonda Cract ODS2、Hypersil ODS2)进行比较, 结果发现Thermo Syncronis C18柱上黄芩苷分离度较差, Hypersil ODS2较Wonda Cract ODS2出峰时间短且分离效果较好。故本研究选择以甲醇-0.1% 磷酸水溶液和Hypersil ODS2柱作为最佳流动相和色谱柱。

综上所述, 本研究建立的连翘、黄芩的TLC鉴别阴性对照无干扰、斑点清晰且专属性较强。黄芩苷的含量测定方法简便易行, 重现性较好, 为控制和评价金桑颗粒的质量提供科学依据。

### 参考文献

[1] 黄捷, 张小利. 小儿反复呼吸道感染的中医治疗研究进展[J].

内蒙古中医药, 2019, 38(4): 110-111.

[2] 黄凤玉, 刘依林, 郭超. 中药治疗小儿呼吸道感染的研究进展[J]. 中外医学研究, 2018, 16(26): 184-188.

[3] 吴顺忠. 用中医疗法治疗小儿外感发热的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2018, 16(6): 61-63.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[5] 陶春, 薛丹平, 黄爱文, 等. 蓝翘解毒口服液的质量标准的提高[J]. 中国药师, 2016, 19(9): 1763-1766.

[6] 赵顺, 孙辉, 丁野, 等. 龙胆泻肝丸(大蜜丸)薄层色谱鉴别方法的建立[J]. 中国药师, 2015, 18(1): 151-153.

[7] 孙芳, 景霞, 朱明媚. HPLC法测定抗601合剂中黄芩苷的含量[J]. 中国药师, 2015, 18(12): 2180-2182.

[8] 陈晓亮, 汪旭. 梔苓合剂质量控制方法的研究[J]. 安徽医药, 2017, 21(1): 38-41.

[9] 黎秀平, 黄樱华, 唐彩茵. 银翘袋泡茶的质量控制方法研究[J]. 今日药学, 2016, 26(7): 472-475.

[10] 宋宝红, 张长林. 金花消痤颗粒质量标准研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(11): 62-64.

[11] 孙录, 董莹, 尹文杰, 等. 薄层色谱法鉴别清热通淋片[J]. 吉林中医药, 2016, 36(9): 937-940.

[12] 辛晓芳, 林爱华, 梅全喜, 等. 银蒿解热合剂质量标准初步研究[J]. 中国药业, 2016, 25(5): 49-52.

[13] 吕艳, 李莉美, 张瑶, 等. 消炎利喉口服液质量标准研究[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(17): 15-17.

[14] 丁锐, 贺凯, 张海旭, 等. 金莲清热胶囊质量标准研究[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(5): 390-394.

(收稿日期: 2019-07-19, 修回日期: 2019-08-20)

### ◇ 编读往来 ◇

## 稿件插图的处置要求

作为形象语言和视觉文字, 科技期刊经常要求作者投稿时提供高清晰度的插图(线条图和照片图), 将文字无法描述的情况直观地表现得一目了然。

插图同表格一样, 都应在正文中标明“见图X。”字样。刊用人像应取得当事人授权, 遮盖可辨识个体来源及非必须的隐私部分(如病案号, 双眼, 会阴部)。病理图要注明染色方法和放大倍数。

只有一个图仍编号为图1、图号后无标点, 空一格写图题。图题应独立于正文, 含有足够的信息, 能准确得体、简短精练地表达插图含义, 富有说明性和专指性(自明性)。插图可以有分图题(序号用A、B、C···)。图注顺时针(从左下起)安排序号, 采用“阿拉伯数字编码, 加一字线”形式, 即“注: 1—XXX; 2—XXX; 3—XXX。”

除了上述的图序、图题、图注, 线条图组成还有标目、标值、坐标轴。标目是说明坐标轴物理意义的, 由物理名称(或物理量名称符号)和相应的单位组成, 以“量名称(或量符号)/单位”表示, 如“时间/小时”“压力p/MPa”。标值是坐标轴定量表达的尺度。切记不能使用不规整的实测数值直接做标值。纵横坐标轴要标明原点值。

照片图讲究两个指标: 清晰度, 对比度。码率一定时, 清晰度高低与分辨率大小呈正比。矢量图没有分辨率问题。要保证位图(栅格图)高分辨率, 必须原图就是高清晰度。

另外, 注意几点技术细节: (1)为美观计, 插图高宽比5:7为宜。又因期刊单栏(one-column)宽为8 cm。故要求插图单栏宽度小于7.5 cm。(2)要使原图缩小到30%以下图中配文仍是6号字大小(7.5磅), 则原植入字号应达25磅(一号字, 26磅; 小一号字, 24磅)[按原始字号(磅)=7.5÷缩小率, 1磅≈0.35 mm计]。(3)为减少失真、便于编辑加工, 提交插图文件格式为矢量图EPS、PDF; 彩照dpi(点/英寸)>300, TIFF、JPG; 计算机绘图dpi>1000, TIFF、JPG; 组合图dpi>500, TIFF、JPG。  
(郝希春)