

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.01.017

## 解热颗粒质量标准研究\*

翟巧利<sup>1</sup>, 麦格皮热提·阿不力米提<sup>2</sup>, 李媛<sup>1</sup>, 刘娟<sup>1</sup>, 范伟<sup>1</sup>, 时扣荣<sup>1△</sup>

(1. 上海中医药大学附属第七人民医院, 上海 200137; 2. 新疆维吾尔自治区莎车县维吾尔医医院, 新疆 喀什 844700)

**摘要:**目的 建立解热颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中大青叶和四季青进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中长梗冬青苷的含量,色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为 10% 异丙醇甲醇-10% 异丙醇水溶液(梯度洗脱),流速为 1.0 mL/min,柱温为 30℃,进样量为 10 μL 和 20 μL。结果 大青叶及四季青薄层色谱鉴别专属性强,斑点清晰,阴性对照无干扰。长梗冬青苷的进样量在 0.715 4~3.557 5 μg 范围内与峰面积线性关系良好( $r=0.999\ 7, n=5$ );精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%;平均加样回收率为 106.20%, RSD 为 1.20% ( $n=6$ )。3 批样品中长梗冬青苷的含量分别为 7.90, 7.60, 7.40 mg/g ( $n=2$ )。结论 所建立的标准操作简便、专属性强、准确度高、重复性好,可用于解热颗粒的质量控制。

**关键词:**解热颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;大青叶;四季青;长梗冬青苷;质量标准

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2023)01-0072-04

### Quality Standard of Jiere Granules

ZHAI Qiaoli<sup>1</sup>, Magpyghetti ABEREMITE<sup>2</sup>, LI Yuan<sup>1</sup>, LIU Juan<sup>1</sup>, FAN Wei<sup>1</sup>, SHI Kourong<sup>1</sup>

(1. The Seventh People's Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, China 200137; 2. Shache Uygur Medical Hospital, Kashgar, Xinjiang, China 844700)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of Jiere Granules. **Methods** Isatidis Folium and Ilicis Chinensis Folium in the preparations were identified qualitatively by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of pedunculoside in the preparations was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method. The chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol containing 10% isopropyl alcohol-aqueous solution containing 10% isopropyl alcohol (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 30℃, and the injection volumes were 10 μL and 20 μL. **Results** The TLC chromatograms of Isatidis Folium and Ilicis Chinensis Folium had strong specificity and clear spots, and the negative reference had no interference. The linear range of pedunculoside was 0.715 4-3.557 5 μg ( $r=0.999\ 7, n=5$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery of pedunculoside was 106.20% with an RSD of 1.20% ( $n=6$ ). The contents of pedunculoside in the three batches of samples were 7.90, 7.60 and 7.40 mg/g ( $n=2$ ), respectively. **Conclusion** The established standard is simple, specific, accurate and repeatable, which can be used for the quality control of Jiere Granules.

**Key words:** Jiere Granules; TLC; HPLC; Isatidis Folium; Ilicis Chinensis Folium; pedunculoside; quality standard

解热方为上海中医药大学附属第七人民医院老中医唐英的临床经验方,以疏风清热解毒为法遣药组方,由鸭跖草、大青叶、四季青、荆芥、紫苏叶5味中药材组方。方中,鸭跖草为君药,味甘,性寒,有清热解毒、利水消肿的功效。大青叶为臣药,味苦,性寒,有清热解毒、凉血消斑的功效。四季青味苦,性凉,有清热解毒、消肿祛瘀的功效;荆芥性平温,有疏风解表、透疹消疮的功效,共为佐药。紫苏叶为使药,味辛,性温,有解表、散寒、行气、和胃的功效。诸药合用,共奏疏风解表、清热解毒功效,用于治疗属外感风热表证的上呼吸道感染。全方组方严密,君臣佐使配伍合理,药味简练,功效专著,临床疗效明显。解热方的临床使用剂型为汤剂,存

在口感欠佳、保质期短、不便贮存和运输等缺点。应用现代化技术将汤剂优化为颗粒剂,可更好地发挥疗效,方便患者服用及携带。本研究中建立了解热颗粒的质量标准,采用薄层色谱(TLC)法对制剂中大青叶和四季青进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中长梗冬青苷的含量。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),配有蒸发光散射检测器;BSA124S 型电子天平(德国赛多利斯公司,精度为万分之一);KQ-300DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为

\*基金项目:上海市浦东新区卫生健康委员会学科建设计划项目[PWXx2020-04];上海中医药大学附属第七人民医院“七院新星(中医类)”人才培养计划项目[XX2021-19]。

第一作者:翟巧利,女,硕士研究生,主管药师,研究方向为中药制剂学,(电子信箱)839285070@qq.com。

△通信作者:时扣荣,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为中药学,(电子信箱)shikourong@163.com。

500 W, 频率为 50 kHz); 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)。

1.2 试药

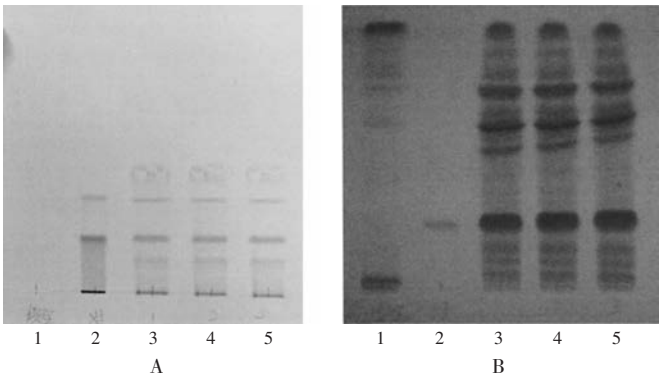
长梗冬青苷对照品(批号为 111868-201202), 靛蓝对照品(批号为 110716-201612), 靛玉红对照品(批号为 110717-200204), 均购于中国食品药品检定研究院, 含量均不低于 98%; 解热颗粒(医院制剂, 沪药制备字 Z20210046000, 批号分别为 201001, 201002, 201003); 缺大青叶、四季青阴性样品均由上海万仕诚药业有限公司制剂室自制; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为超纯水; 鸭跖草(批号为 20200526-1), 大青叶(批号为 20200710-1), 四季青(批号为 191123-1), 荆芥(批号为 20200714-1), 紫苏叶(批号为 20200804-1), 均购于上海万仕诚药业有限公司, 经上海中医药大学附属第七人民医院药学部副主任中药师公丕君鉴定为正品。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

大青叶<sup>[1-3]</sup>: 取样品适量, 研细, 取 5 g, 加三氯甲烷 20 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 1 mL, 作为供试品溶液。另取靛蓝对照品和靛玉红对照品, 加三氯甲烷制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合对照品溶液。按解热颗粒制备工艺制备不含大青叶的阴性样品, 依法制备缺大青叶的阴性对照品溶液。照 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-三氯甲烷-丙酮(5:4:2, V/V/V) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干。供试品溶液色谱中, 在与靛蓝和靛玉红混合对照品溶液色谱相应位置分别显相同的蓝色斑点和浅紫红色斑点, 斑点清晰, 分离效果较好, 且阴性对照无干扰。色谱图见图 1 A。

四季青<sup>[4]</sup>: 取样品适量, 研细, 取 5 g, 加乙酸乙酯 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取长梗冬青苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。按解热颗粒制备工艺制备不含四季青的阴性样品, 依法制备缺四季青的阴性对照品溶液。照 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法试验, 吸取上述 3 种溶液各 4  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-甲酸(7:1:0.2, V/V/V) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中, 在与长梗冬青苷对照品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点, 斑点清晰, 分离效果较好,



1. 阴性对照品溶液(缺大青叶、四季青) 2. 对照品溶液(靛蓝和靛玉红、长梗冬青苷) 3-5. 供试品溶液(批号分别为 201001, 201002, 201003)  
A. 大青叶 B. 四季青

图 1 薄层色谱图

1. Negative reference solution (lacking Isatidis Folium and Ilicis Chinensis Folium, respectively) 2. Reference solution (indigo and indirubin, pedunculoside, respectively) 3-5. Test solution (batch number: 201001, 201002 and 201003)  
A. Isatidis Folium B. Ilicis Chinensis Folium

Fig. 1 TLC chromatograms

且阴性对照无干扰。色谱图见图 1 B。

2.2 含量测定<sup>[4-5]</sup>

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> 柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 10% 异丙醇甲醇(A)-10% 异丙醇水溶液(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表 1); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 进样量: 10  $\mu$ L 和 20  $\mu$ L (对照品溶液), 10  $\mu$ L (供试品溶液)。理论板数按长梗冬青苷峰计不得低于 2000。

表 1 流动相梯度洗脱程序(%)

Tab. 1 Program of gradient elution of mobile phase (%)

| 时间        | 流动相 A               | 流动相 B               | 时间        | 流动相 A               | 流动相 B               |
|-----------|---------------------|---------------------|-----------|---------------------|---------------------|
| 0~10 min  | 30 $\rightarrow$ 35 | 70 $\rightarrow$ 65 | 12~30 min | 43                  | 57                  |
| 10~12 min | 35 $\rightarrow$ 43 | 65 $\rightarrow$ 57 | 30~40 min | 43 $\rightarrow$ 57 | 57 $\rightarrow$ 43 |

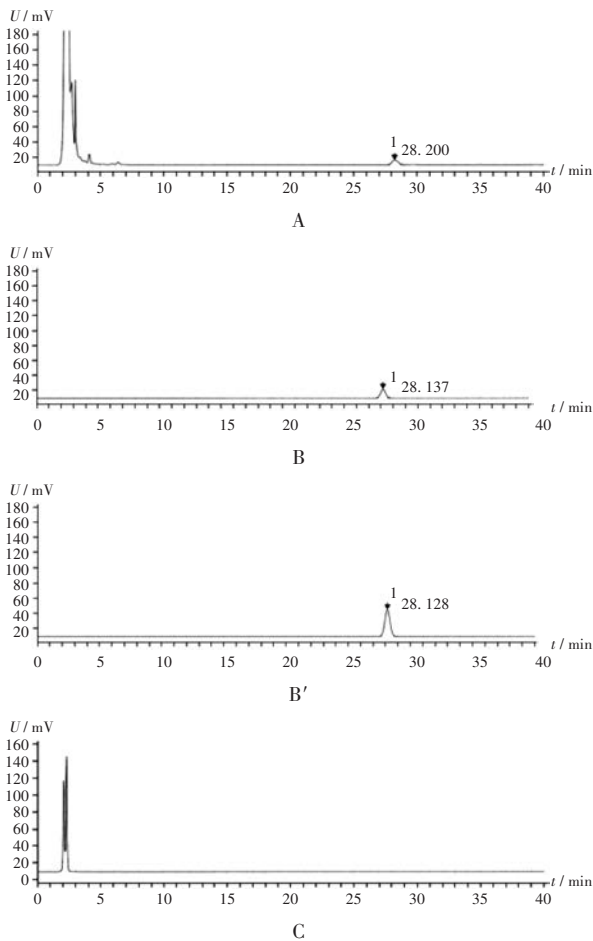
2.2.2 溶液制备

取长梗冬青苷对照品适量, 精密称定, 加 80% 甲醇制成每 1 mL 含 0.3  $\mu$ g 的对照品溶液。取样品适量, 研细, 取 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率为 300 W, 频率为 40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 再次称定质量, 用 80% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得试品溶液。按解热颗粒处方和制备工艺制备缺四季青的阴性样品, 再按供试品溶液制备方法制备缺四季青的阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验: 分别吸取 2.2.2 项下 3 种溶液各适

量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果阴性对照品溶液色谱图中,在与长梗冬青苷对照品溶液相同保留时间处无干扰峰,表明方法专属性良好。色谱图见图2。



1. 长梗冬青苷

A. 供试品溶液 B, B'. 对照品溶液(进样量分别为10 µL和20 µL) C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Pedunculoside

A. Test solution B, B'. Reference solution (injection volumes of 10 µL and 20 µL, respectively) C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

线性关系考察:分别精密量取2.2.2项下长梗冬青苷对照品溶液4, 8, 12, 16, 20 µL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以长梗冬青苷对照品进样量( $X$ , µL)为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $\log Y = 1.5827 \log X + 2.1494$  ( $r = 0.9997$ ,  $n = 5$ )。结果表明,长梗冬青苷的进样量在0.715 4 ~ 3.557 5 µg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2.2项下长梗冬青苷对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果长梗冬青苷平均峰面积为337.40,  $RSD$ 为1.40% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0, 12, 24, 48 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果放置0, 12, 24, 48 h时长梗冬青苷的含量分别为0.901 1%, 0.913 2%, 0.919 5%, 0.905 2%,放置12, 24, 48 h时的 $RSD$ 分别为0.90%, 1.40%, 0.30%,表明供试品溶液在室温放置48 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为201001)样品适量,精密称定,共6份,依法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果样品中长梗冬青苷的平均含量为9.01 mg/g,  $RSD$ 为1.40% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取同一批(批号为201001)样品适量,精密称定,共6份,精密加入质量浓度为0.181 1 mg/mL的长梗冬青苷对照品溶液15 mL,挥干溶剂,依法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表2。

表2 加样回收试验结果( $n = 6$ )

Tab. 2 Results of the recovery test ( $n = 6$ )

| 取样量(g)  | 样品含量(mg) | 加入量(mg) | 测得量(mg) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | $RSD$ (%) |
|---------|----------|---------|---------|--------|---------------|-----------|
| 0.509 5 | 4.590 0  | 2.716 5 | 7.455 0 | 105.47 | 106.20        | 1.20      |
| 0.512 6 | 4.620 0  | 2.716 5 | 7.505 0 | 106.20 |               |           |
| 0.508 5 | 4.580 0  | 2.716 5 | 7.410 0 | 104.18 |               |           |
| 0.519 9 | 4.685 0  | 2.716 5 | 7.610 0 | 107.68 |               |           |
| 0.509 8 | 4.595 0  | 2.716 5 | 7.510 0 | 107.31 |               |           |
| 0.509 8 | 4.595 0  | 2.716 5 | 7.485 0 | 106.39 |               |           |

## 2.2.4 样品含量测定

取3批(批号分别为201001, 201002, 201003)样品各适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定2次,记录峰面积,并计算样品含量。结果3批样品中长梗冬青苷的含量分别为7.90, 7.60, 7.40 mg/g。

## 3 讨论

### 3.1 TLC鉴别

本研究中参考2020年版《中国药典(四部)》<sup>[4]</sup>和文献<sup>[1-3]</sup>,采用TLC法对制剂中大青叶和四季青进行定性鉴别,分别选用有效成分靛蓝和靛玉红、长梗冬青苷作为对照。结果显示,大青叶和四季青的TLC分离效果较好,斑点显色清晰,可有效进行鉴别。同时,参考文献<sup>[6-8]</sup>对方中鸭跖草、荆芥和紫苏叶进行了TLC鉴别,发现这3味中药材的分离效果较差,且斑点不清晰,故暂未列入质量标准,有待进一步研究。

### 3.2 含量测定

长梗冬青苷是四季青的主要有效成分,属五环三萜类化合物<sup>[9]</sup>,是四季青的指标性成分<sup>[4]</sup>。本研究中建