

金振口服液 HPLC-UVD-ELSD 特征指纹图谱及 13 个成分同时定量的整体质量控制研究

李海波¹, 王团结¹, 杨群³, 刘苓嫻², 马森菊², 曹亮¹, 王振中¹, 姚新生², 于洋^{2*}, 肖伟^{1*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

2. 暨南大学, 药学院, 广东 广州 510632

3. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

摘要:目的 建立金振口服液(Jinzen Oral Liquid, JOL)高效液相色谱-紫外真空波-蒸发光散射检测器(HPLC-UVD-ELSD)特征指纹图谱, 结合 13 个主要代表性成分(没食子酸、甘草苷、芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、甘草素、黄芩苷、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、千层纸苷、汉黄芩苷、大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷、甘草酸、猪去氧胆酸、胆酸)同时定量的方法, 对市售制剂进行整体质量控制。方法 采用 Cosmosil-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长为 254 nm; ELSD 漂移管温度 115 °C; 载气体积流量 2.0 L/min; 以甲醇-水(含 0.1%甲酸)为流动相进行梯度洗脱, 建立 JOL 的 HPLC-UVD-ELSD 特征指纹图谱, 对主要特征峰进行明确化学指认并确定组方中药来源, 运用相似度软件对 15 批市售制剂进行相似度评价, 同时在市售制剂批间差异小的前提下测定主要代表性成分的含量。结果 建立了 JOL 的 HPLC-UVD-ELSD 指纹图谱结合 13 个代表性成分同时定量的方法; 覆盖该复方 4 味组方中药的 15 个主要特征峰得到明确化学指认, 分别为没食子酸(1 号峰)、甘草苷(5 号峰)、芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷(7 号峰)、甘草素(11 号峰)、黄芩苷(13 号峰)、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸(16 号峰)、千层纸苷(17 号峰)、汉黄芩苷(18 号峰)、大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷(19 号峰)、大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷(20 号峰)、大黄酸(24 号峰)、甘草酸(26 号峰)、(18β,20α)-甘草酸(27 号峰)、猪去氧胆酸(28 号峰)、胆酸(29 号峰), 并初步确定了 29 个特征峰的组方中药来源分别为 8、12、13、15~18 号峰归属于黄芩, 3~5、10、11、25~27 号峰归属于甘草, 1、6、7、9、14、19、20、24 号峰归属于大黄, 2 号峰归属于平贝母, 28、29 号峰归属于人工牛黄, 21~23 号峰归属于辅料; 15 批市售制剂的指纹图谱与对照指纹图谱的相似度值在 0.968~1.000; 13 个定量成分线性关系良好($R^2=0.999\ 0\sim0.999\ 9$), 且平均回收率为 96.90%~102.84%, 15 批市售制剂定量成分的质量浓度分别为没食子酸 51.82~148.27 μg/mL、甘草苷 75.04~130.00 μg/mL、芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 31.72~39.84 μg/mL、甘草素 14.24~43.65 μg/mL、黄芩苷 610.37~867.40 μg/mL、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸 12.87~34.09 μg/mL、千层纸苷 62.45~101.48 μg/mL、汉黄芩苷 155.41~205.86 μg/mL、大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷 11.56~23.72 μg/mL、大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷 16.14~36.87 μg/mL、甘草酸 222.97~310.32 μg/mL、猪去氧胆酸 177.48~239.70 μg/mL、胆酸 98.54~132.85 μg/mL。结论 所建立的金振口服液 HPLC-UVD-ELSD 特征图谱和定量测定分析方法为进一步提升制剂整体质量标准提供了重要证据。

关键词: 金振口服液; 高效液相色谱-紫外真空波-蒸发光散射检测器; 指纹图谱; 整体质量控制; 没食子酸; 甘草苷; 芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷; 甘草素; 黄芩苷; 白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸; 千层纸苷; 汉黄芩苷; 大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷; 大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷; 大黄酸; 甘草酸; 猪去氧胆酸; 胆酸; 黄芩; 甘草; 大黄; 平贝母; 人工牛黄

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)22-5737-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.22.010

Overall quality control of Jinzhen Oral Liquid based on HPLC-UVD-ELSD fingerprint and simultaneous determination of 13 main representative components

LI Hai-bo¹, WANG Tuan-jie¹, YANG Qun³, LIU Ling-xian², MA Sen-ju², CAO Liang¹, WANG Zhen-zhong¹, YAO Xin-sheng², YU Yang², XIAO Wei¹

收稿日期: 2020-06-10

项目基金: 国家自然科学基金重点项目(81630097); 现代中药创新集群与数字制药技术平台“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

作者简介: 李海波, 女, 福建省宁德市人, 高级工程师, 博士, 研究方向为中药及天然药物的活性成分研究。

E-mail: lihaibo1985124@sina.com

*通信作者 于洋, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药及天然药物活性成分研究。Tel: (020) 5225849 E-mail: 1018yuyang@163.com

肖伟, 研究员级高级工程师, 博士生导师, 研究方向为中药新剂型的研究与开发。

Tel: (0518) 85521956 E-mail: xw_kanion@163.com

1. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China
2. College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China
3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To establish the fingerprint of Jinzhen Oral Liquid (JOL) by HPLC-UVD-ELSD and determine the main 13 representative components (gallic acid, liquiritin, aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside, liquiritigenin, baicalin, chrysin-7-*O*- β -*D*-glucuronide, oroxyloside, wogonoside, chrysophal-1-*O*- β -*D*-glucopyranoside, chrysophal-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside, rhein, glycyrrhizic acid, hyodeoxycholic acid and cholic acid) simultaneously, in order to provide reference for the overall quality control of JOL. **Methods** The separation was developed on Cosmosil-C₁₈ column (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) by gradient elution with methanol-water [containing 0.1% formic acid] at 254 nm, the temperature of drift tube was maintained at 115 $^{\circ}$ C and the carrier gas flow rate was 2.0 L/min. An HPLC-UVD-ELSD fingerprint of JOL was set up, and 15 batches of JOL were evaluated by similarity assay. Furthermore, the contents of the main 13 representative components were determined on the premise of small disparities among batches. **Results** The HPLC-UVD-ELSD fingerprint of JOL was established with good separation, and 13 chemical components were determined simultaneously. Fifteen main characteristic peaks [gallic acid (peak 1), liquiritin (peak 5), aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside (peak 7), liquiritigenin (peak 11), baicalin (peak 13), chrysin-7-*O*- β -*D*-glucuronide (peak 16), oroxyloside (peak 17), wogonoside (peak 18), chrysophal-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside (peak 19), chrysophal-1-*O*- β -*D*-glucopyranoside (peak 20), rhein (peak 24), glycyrrhizic acid (peak 26), (18 β ,20 α)-glycyrrhizic acid (peak 27), hyodeoxycholic acid (peak 28), cholic acid (peak 29)] from four formula of JOL were chemically identified and 29 main characteristic peaks were assigned to individual herbs (peaks 8, 12, 13, 15—18 originate from *Scutellariae Radix*, peaks 3—5, 10, 11, 25—27 originate from *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, peaks 1, 6, 7, 9, 14, 19, 20, 24 originate from *Rhei Radix et Rhizoma*, peak 2 originates from *Fritillariae Ussuriensis Bulbus*, peaks 28, 29 originate from *Bovis Calculus Artificatus*, peaks 21—23 originate from auxiliary materials). The similarity of 15 batches of JOL was about 0.968 to 1.000. Moreover, good linear relationships were found ($R^2=0.999\ 0\text{—}0.999\ 9$), and the average recovery rates were 96.90%—102.84%. The content range of quantitative components in 15 batches of JOL (gallic acid 51.82—148.27 μ g/mL, liquiritin 75.04—130.00 μ g/mL, aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside 31.72—39.84 μ g/mL, liquiritigenin 14.24—43.65 μ g/mL, baicalin 610.37—867.40 μ g/mL, chrysin-7-*O*- β -*D*-glucuronide 12.87—34.09 μ g/mL, oroxyloside 62.45—101.48 μ g/mL, wogonoside 155.41—205.86 μ g/mL, chrysophal-1-*O*- β -*D*-glucopyranoside 11.56—23.72 μ g/mL, chrysophal-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside 16.14—36.87 μ g/mL, glycyrrhizic acid 222.97—310.32 μ g/mL, hyodeoxycholic acid 177.48—239.70 μ g/mL, cholic acid 98.54—132.85 μ g/mL) was determined. **Conclusion** The qualitative and quantitative methods of HPLC-UVD-ELSD mentioned above provided important evidence for further improving the overall quality standard of JOL.

Key words: Jinzhen Oral Liquid; HPLC-UVD-ELSD; fingerprint; overall quality control; gallic acid; liquiritin, aloe-emodin-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside; liquiritigenin; baicalin; chrysin-7-*O*- β -*D*-glucuronide; oroxyloside; wogonoside; chrysophal-1-*O*- β -*D*-glucopyranoside; chrysophal-8-*O*- β -*D*-glucopyranoside; rhein; glycyrrhizic acid; hyodeoxycholic acid; cholic acid; *Scutellariae Radix*; *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Fritillariae Ussuriensis Bulbus*; *Bovis Calculus Artificatus*

金振口服液 (Jinzhen Oral Liquid, JOL) 为江苏康缘药业股份有限公司独家产品, 由山羊角、黄芩、平贝母、甘草、大黄、石膏、人工牛黄及青礞石 8 味中药配伍而成, 方中, 山羊角清热泻火, 解毒, 以宁肺金; 黄芩入血分, 清热燥湿, 泻火解毒; 平贝母清热散结, 化痰止咳, 三者为君药; 大黄泻热通腑, 使肺之痰热由下而解, 石膏清泻肺热, 人工牛黄清热豁痰, 为臣药; 青礞石具有坠痰下气, 平肝定惊的作用, 为佐药; 甘草化痰止咳, 调和诸药, 为方中使药, 全方共奏清热解毒、祛痰止咳之功^[1]。临床上主要用于治疗小儿急性支气管炎^[2-5]、手足口病^[6-8]、肺炎^[9]和流感^[10-11]等。其疗效确切、

安全性好、依从性高, 是我国儿童医疗保险品种, 被誉为治疗小儿肺热咳嗽的妙药。

目前, 关于 JOL 化学成分的报道多集中在各单味药材上, 而对复方整体研究则较少, 且目前该制剂的质量标准也较低。现行《中国药典》2015 年版采用 HPLC 对单一指标黄芩苷进行含量测定 (不少于 0.25 mg/mL) 来控制制剂质量^[1]。刘晓秋等^[12]对药典方法进行优化, 除黄芩苷以外, 增加了另 1 个指标成分甘草酸的含量测定。含量测定方面, 曹云飞等^[13]利用 HPLC 测定 JOL 中大黄素和大黄酚的含量。杨超慧等^[14]利用 HPLC 对 JOL 中的黄芩苷、甘草酸、大黄素、大黄酚、大黄酸、芦荟大黄素 6 个

成分进行含量测定。但未见该复方更多成分同时测定的研究报道,且大黄中的蒽醌苷元类成分并非指纹图谱上的主要色谱峰。胡军华等^[15]建立了 JOL 的 HPLC-UV 指纹图谱,标定 17 个共有峰,但是仅明确指认了 1 个色谱峰。由于人工牛黄中的胆汁酸类成分无紫外吸收而难以呈现,未能覆盖该复方的整体化学轮廓。

本研究选取 JOL 中组方药味的特征成分和活性成分(甘草苷、甘草酸、猪去氧胆酸、胆酸、千层纸苷、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸、甘草素、黄芩苷、汉黄芩苷、芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和没食子酸)为考察指标,建立反映该复方化学成分整体轮廓的 HPLC-UV-ELSD 指纹图谱,并对 15 批市售制剂进行相似度评价,通过比对对照品的保留时间对主要特征峰进行明确化学指认及组方药材来源归属,同时在市售制剂批间差异小的前提下,结合 13 个主要代表性成分的定量分析,实现 JOL 快速便捷的整体质量控制,保证临床用药的有效性和安全性,同时为全面评价 JOL 的质量控制提供借鉴与参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

岛津高效液相色谱仪分析型:进样器: SIL-20A prominence Auto Sampler; 泵: LC20AB Prominence Liquid Chromatograph; 检测器: SPD-M20A prominence Diode Array Aetector; 柱温箱: AT-330 Column Heater; 工作站: LC solution; Alltech ELSD 2000ES 检测器; Sartorius BP211D 十万分之一电子天平,德国 Sartorius 公司; 昆山 KQ3200E 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。中药指纹图谱相似度评价系统 2004 A 版,中国药典委员会。乙腈、甲醇,色谱纯, Fisher 公司; 甲酸,分析纯,南京化学试剂有限公司; 水,屈臣氏蒸馏水,北京市屈臣氏蒸馏水有限公司。

1.2 对照品和对照药材

对照品甘草苷(批号 111610-201607)、猪去氧胆酸(批号 100087-201411)、胆酸(批号 100078-201415)、黄芩苷(批号 110715-201720)、汉黄芩苷(批号 112002-201702)、大黄酸(批号 110757-201607)和没食子酸(批号 110831-201605)均购自中国食品药品检定研究院,各对照品质量分数均 $\geq 98\%$ 。对照品千层纸苷(批号 PRF10081603)、白杨

素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸(批号 PRF10080201)、18 β , 20 α -甘草酸(批号 PRF9031201)和大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(批号 PRF10040201)购自四川成都曼思特对照品有限公司,质量分数均 $\geq 98\%$ 。对照品甘草素(批号 DST190920-010,质量分数 $\geq 98\%$)购自德斯特生物有限公司。对照品芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(批号 X20J9X66041)、甘草酸(批号 P24J10F91300)和大黄酚 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷(批号 P19J9S66043)购自源叶生物有限公司,质量分数均 $\geq 98\%$ 。

处方药材大黄、平贝母、甘草和黄芩购自主产区或道地产区,由暨南大学药学院中药鉴定研究室周光雄教授鉴定,分别为蓼科大黄属植物药用大黄 *Rheum officinale* Baill. 的干燥根和根茎、百合科贝母属多年生植物平贝母 *Fritillaria ussuriensis* Maxim. 的干燥鳞茎、豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎、唇形科黄芩属植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根。

1.3 制剂

15 批市售 JOL 制剂,江苏康缘药业股份有限公司,批号分别为 200209、200214、200238、200409、200444、200509、200510、200511、200512、200513、200514、200519、200520、200521、200522,分别编号为 S1~S15。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Cosmosil-C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5.0 μ m); 流动相为甲醇-含 0.1% 甲酸水溶液,梯度洗脱: 0~15 min, 10~40% 甲醇; 15~70 min, 40%~70% 甲醇; 70~90 min, 70%~100% 甲醇; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}$ C; 检测波长 254 nm。

ELSD 气体体积流量 2.0 L/min; 漂移管温度 115 $^{\circ}$ C; 增益值 4.0; 进样体积 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备

2.2.1 含量测定对照品溶液制备

(1) 单一对照品溶液的配制: 分别精密称定甘草苷 8.39 mg、甘草酸 6.89 mg、猪去氧胆酸 10.8 mg、胆酸 4.24 mg、千层纸苷 4.49 mg、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸 2.36 mg、甘草素 6.00 mg 和没食子酸 9.40 mg, 置 5.0 mL 量瓶内, 加入甲醇约 3.0 mL, 超声溶解后, 用甲醇定容至 5.0 mL, 得到质量浓度分别为甘草苷 1.678 mg/mL、甘草酸 1.378 mg/mL、猪去氧胆酸 2.160 mg/mL、胆酸 848 μ g/mL、千层纸

苷 898 $\mu\text{g/mL}$ 、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸 472 $\mu\text{g/mL}$ 、甘草素 1.200 mg/mL 和没食子酸 1.880 mg/mL 的对照品溶液；分别精密称定黄芩苷和汉黄芩苷 12.08 mg 和 5.54 mg ，置 10.0 mL 量瓶内，加入甲醇约 7.0 mL ，超声溶解后，用甲醇定容至 10.0 mL ，得到质量浓度分别为黄芩苷 1.208 mg/mL 和汉黄芩苷 554 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液；分别精密称定芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 2.08 mg 、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 4.51 mg 、大黄酚 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 4.71 mg ，置 20.0 mL 量瓶内，加入甲醇约 17.0 mL ，超声溶解后，用甲醇定容至 20.0 mL ，得到质量浓度分别为芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 104.0 $\mu\text{g/mL}$ 、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 225.5 $\mu\text{g/mL}$ 、大黄酚 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 235.5 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

(2) 混合对照品溶液 1 的配制：精密吸取不同体积的各单体对照品溶液（甘草苷、猪去氧胆酸、千层纸苷、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸各 1.0 mL ；没食子酸、甘草素各 0.5 mL ；黄芩苷 5.0 mL ，芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 4.0 mL ；汉黄芩苷 2.0 mL ；甘草酸 2.5 mL ；大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 3.0 mL ；胆酸、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷各 1.5 mL ）置 25 mL 量瓶中，甲醇定容至刻度，即得混合对照品溶液 1。

2.2.2 指纹图谱对照品溶液制备 分别精密称定大黄酸 1.3 mg 及 (18 β ,20 α)-甘草酸 8.7 mg ，置 10.0 mL 量瓶中，超声溶解混匀，甲醇定容至刻度，即得混合对照品溶液 2。精密吸取混合对照品溶液 1 和 2 各 1.0 mL ，置 5.0 mL 量瓶中，超声溶解混匀，纯甲醇定容至刻度，即得。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 JOL 供试品溶液的制备 精密吸取 JOL 1.0 mL ，置于 5.0 mL 量瓶内，加入蒸馏水约 4.0 mL ，超声混匀后，用蒸馏水定容至 5.0 mL ，取 1.0 mL ，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得 JOL 供试品溶液。

2.3.2 人工牛黄供试品溶液的制备 按照 JOL 生产工艺，取人工牛黄 2.0 g ，加入 5 倍 70%乙醇，超声 30 min ，离心取上清液，浓缩后用甲醇配制成 10 mg/mL 药材供试品溶液，取 1.0 mL ，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得人工牛黄供试品溶液。

2.3.3 黄芩供试品溶液的制备 按照 JOL 生产工艺，取黄芩药材 2.0 g ，加入 10 倍蒸馏水超声 2 次，每次 30 min ，离心，合并上清液浓缩至一定体积，再加入 4 倍量的 95%乙醇，醇沉 24 h ，离心，取上

清，浓缩后配制成质量浓度为 10 mg/mL 的黄芩药材的供试品溶液，取 1.0 mL ，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得黄芩供试品溶液。

2.3.4 甘草供试品溶液的制备 按照 JOL 生产工艺，取甘草药材 2.0 g ，加入 10 倍蒸馏水超声 2 次，每次 30 min ，离心，合并上清液浓缩至一定体积，再加入 4 倍量的 95%乙醇，醇沉 24 h ，离心，取上清，浓缩后配制成质量浓度为 10 mg/mL 的甘草药材的供试品溶液，取 1.0 mL ，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得甘草供试品溶液。

2.3.5 平贝母供试品溶液的制备 按照 JOL 生产工艺，取黄芩药材 2.0 g ，加入 10 倍蒸馏水超声 2 次，每次 30 min ，离心，合并上清液浓缩至一定体积，再加入 4 倍量的 95%乙醇，醇沉 24 h ，离心，取上清，浓缩后配制成质量浓度为 10 mg/mL 的平贝母药材的供试品溶液，取 1.0 mL ，过 0.45 μm 微孔滤膜，取续滤液，即得平贝母供试品溶液。

2.4 指纹图谱的建立

2.4.1 专属性实验 取批号为 200209 的 JOL，按“2.3.1”项下方法制备 JOL 供试品溶液，并取 1 份空白溶剂（蒸馏水）按“2.1”项下 HPLC 色谱条件分别进行检测。经考察，空白溶剂对供试品溶液的测试不存在干扰，专属性良好。

2.4.2 精密度实验 取批号为 200209 的 JOL，按“2.3.1”项下方法制备 JOL 供试品溶液，按“2.1”项下 HPLC 色谱条件进行检测，连续进样 6 针，记录所得色谱图。以黄芩苷为参照峰（分离良好，峰面积较大且为所有样品共有），计算主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积并计算相应的 RSD。结果显示，254 nm HPLC-UV 指纹图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.28%，相对峰面积的 RSD 不高于 2.00%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 1.000；HPLC-ELSD 指纹图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.36%，相对峰面积的 RSD 不高于 2.41%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 1.000，表明仪器精密度良好，符合指纹图谱的技术要求。

2.4.3 重复性实验 取批号为 200209 的 JOL，按“2.3.1”项下方法平行制备 6 份 JOL 供试品溶液，按“2.1”项下 HPLC 色谱条件进行检测，每份样品进样 1 针，记录所得色谱图。以黄芩苷为参照峰，计算主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积并计算相应的 RSD。结果显示，254 nm HPLC-UV 指纹

图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.38%，相对峰面积的 RSD 不高于 2.99%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 0.995；HPLC-ELSD 指纹图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.11%，相对峰面积的 RSD 不高于 3.17%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 0.995，表明方法重复性良好，符合指纹图谱的技术要求。

2.4.4 稳定性实验 取批号为 200209 的 JOL，按“2.3.1”项下方法制备 1 份 JOL 供试品溶液，按“2.1”项下 HPLC 色谱条件分别于制备后 0、4、8、12、18、24 h 进行检测，每个时间点进样 1 针进行检测，记录所得色谱图。以黄芩苷为参照峰，计算主要色谱峰相对保留时间和相对峰面积并计算相应的 RSD。结果显示，254 nm HPLC-UVD 指纹图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.10%，相对峰面积的 RSD 不高于 2.99%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 0.999；HPLC-ELSD 指纹图谱各共有峰相对保留时间的 RSD 不高于 0.11%，相对峰面积的 RSD 不高于 3.01%，各指纹图谱与其所得共有模式图谱的相似度不低于 0.999，表明供试品溶液常温下在 24 h 内性质稳定，符合指纹图谱的技术要求。

2.4.5 15 批市售 JOL 的相似度分析 取收集到的各批次 JOL，按“2.3.1”项下方法制备各批次 JOL 供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进行检测，并记录生成的 HPLC-UVD-ELSD 指纹图谱。将生成的 15 批 HPLC-UVD 和 HPLC-ELSD 指纹图谱分别导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统软件(2004 A 版)”，生成对照图谱 (R) 并计算各批次 JOL 指纹图谱的相似度值。结果显示，254 nm HPLC-UVD 指纹图谱中 15 批市售制剂指纹图谱之间的相似度在 0.993~1.000；HPLC-ELSD 指纹图谱中 15 批市售制剂指纹图谱之间的相似度在 0.933~0.998，结果见图 1 和表 1，说明市售 JOL 各批次间相似度良好、批间差异小、质量较稳定。

2.4.6 特征峰的化学指认和组方药味相关性研究 取“2.2.2”项下指纹图谱色谱峰指认用混合对照品溶液，取批号为 200209 的 JOL，按“2.3.1”项下方法制备 JOL 供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进行检测。按照保留时间先后，JOL 254 nm HPLC-UVD 指纹图谱指认的依次为没食子酸 (1 号峰)、甘草苷 (5 号峰)、芦荟大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄

糖苷 (7 号峰)、甘草素 (11 号峰)、黄芩苷 (13 号峰)、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸 (16 号峰)、千层纸苷 (17 号峰)、汉黄芩苷 (18 号峰)、大黄酚-8- β -*D*-葡萄糖苷 (19 号峰)、大黄酚 1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (20 号峰)、大黄酸 (24 号峰)、甘草酸 (26 号峰)、(18 β ,20 α)-甘草酸 (27 号峰)，结果见图 2。JOL 的 HPLC-ELSD 指纹图谱中指认的 5 个主要色谱峰的化学成分依次为甘草苷 (5 号峰)、黄芩苷 (13 号峰)、甘草酸 (26 号峰)、猪去氧胆酸 (28 号峰)、胆酸 (29 号峰)，结果见图 3。

根据 15 批 JOL 样品特征图谱的对比分析，确定了 29 个共有特征峰，将样品与对照药材的色谱图进行归属验证，结果见图 4，可确定 8、12、13、15~18 号峰归属于黄芩，3~5、10、11、25~27 号峰归属于甘草，1、6、7、9、14、19、20、24 号峰归属于大黄，2 号峰归属于平贝母，28、29 号峰归属于人工牛黄，21~23 号峰归属于辅料。

2.5 13 个主要代表性成分的含量测定

2.5.1 专属性试验 取空白溶剂、对照品溶液和供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别测定。结果表明，空白溶剂 HPLC 色谱图中在 13 个对照品色谱峰相应位置上，无干扰峰，方法专属性良好，结果见图 5。

2.5.2 精密度试验 精密吸取批号为 200209 的 JOL 1.0 mL，按“2.3.1”项下方法制得供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 针。结果显示，样品中没食子酸、甘草苷、芦荟大黄素 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、甘草素、黄芩苷、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸、千层纸苷、汉黄芩苷、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚 8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、甘草酸、猪去氧胆酸和胆酸的峰面积 RSD 分别为 1.28%、2.89%、1.11%、1.35%、0.09%、1.43%、1.10%、1.24%、1.58%、2.12%、1.31%、1.36%、1.65%，表明仪器的精密度良好，符合分析测试规范。

2.5.3 线性范围考察 分别将“2.2.1”项下混合对照品溶液逐步等倍稀释成 7 个系列质量浓度，制成系列对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进样分析并记录上述 13 个定量成分的峰面积，其中甘草苷、猪去氧胆酸和胆酸以质量浓度的自然对数为横坐标 (*X*)、峰面积的自然对数为纵坐标 (*Y*) 进行线性回归计算，其余 11 个成分均以质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，对定量成分进行线性回归计算。结果表明 13 个定量成分在线性范围内线性

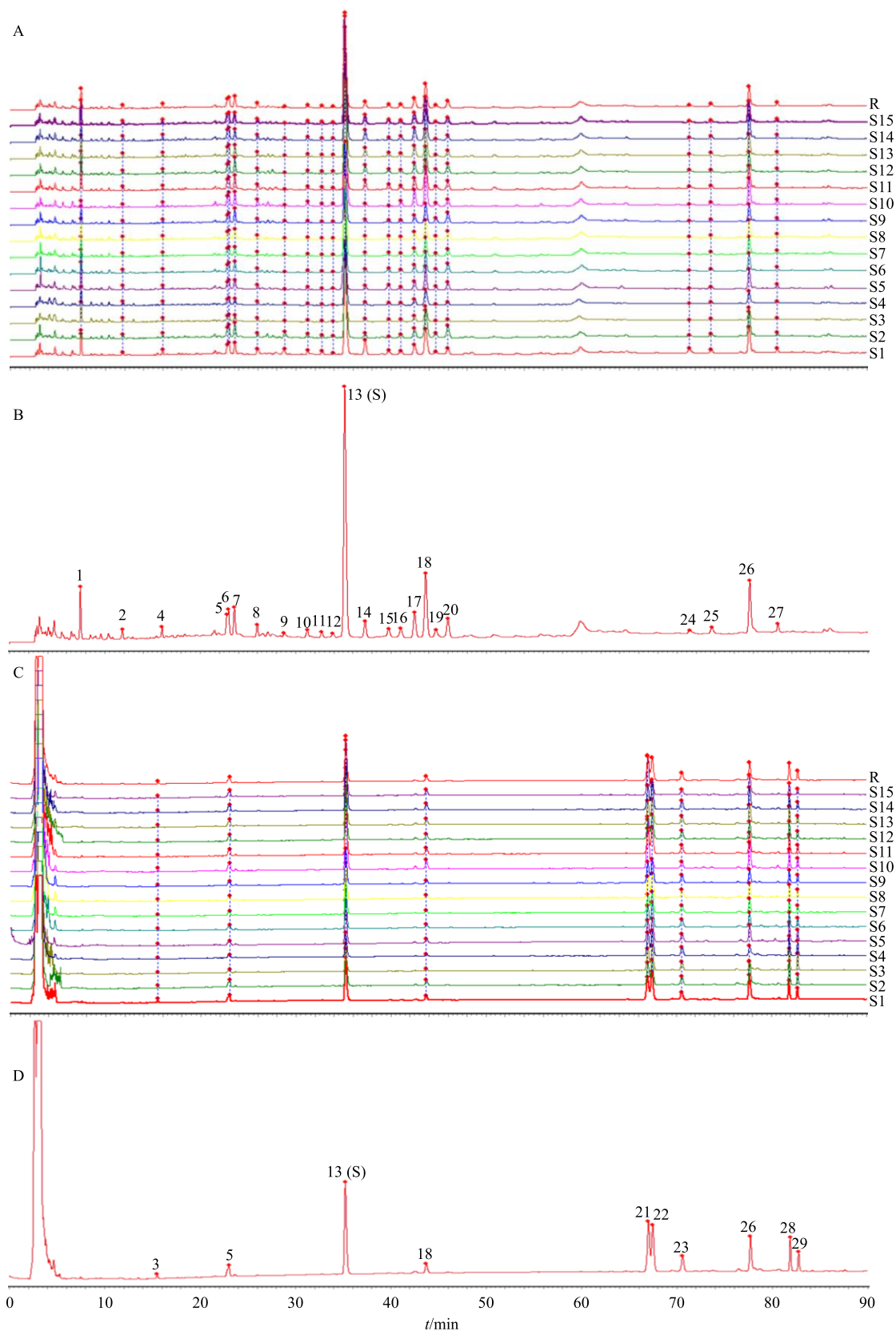


图 1 15 批市售 JOL 的 254 nm HPLC-UVD 指纹图谱 (A) 及其对照指纹图谱 (B)、HPLC-ELSD 指纹图谱 (C) 及其对照指纹图谱 (D)

Fig. 1 HPLC-UVD fingerprints at 254 nm (A), HPLC-UVD reference fingerprint at 254 nm (B), HPLC-ELSD fingerprints (C), and HPLC-ELSD reference fingerprint (D) of 15 batches of JOL

表 1 15 批 JOL 的相似度值

Table 1 Similarities of 15 batches of JOL

样品	相似度		样品	相似度	
	254 nm	ELSD		254 nm	ELSD
S1	0.995	0.982	S9	0.997	0.990
S2	0.994	0.991	S10	0.993	0.935
S3	0.997	0.933	S11	1.000	0.992
S4	0.997	0.940	S12	0.999	0.994
S5	0.996	0.998	S13	0.999	0.994
S6	0.998	0.995	S14	0.998	0.990
S7	0.999	0.996	S15	0.999	0.968
S8	0.999	0.994			

良好, 见表 2。

2.5.4 稳定性试验 精密吸取同一批次 JOL 制剂 (批号 200209) 1.0 mL, 按“2.3.1”项下方法制得供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 测定。结果显示, 13 个定量成分峰面积的 RSD 分别为 1.38%、1.56%、1.21%、0.35%、0.11%、1.43%、1.00%、1.14%、1.18%、1.12%、1.31%、1.46%、1.55%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 重复性试验 精密吸取同一批次 JOL 制剂 (批号 200209) 1.0 mL, 按“2.3.1”项下方法平行制得 6 份供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行

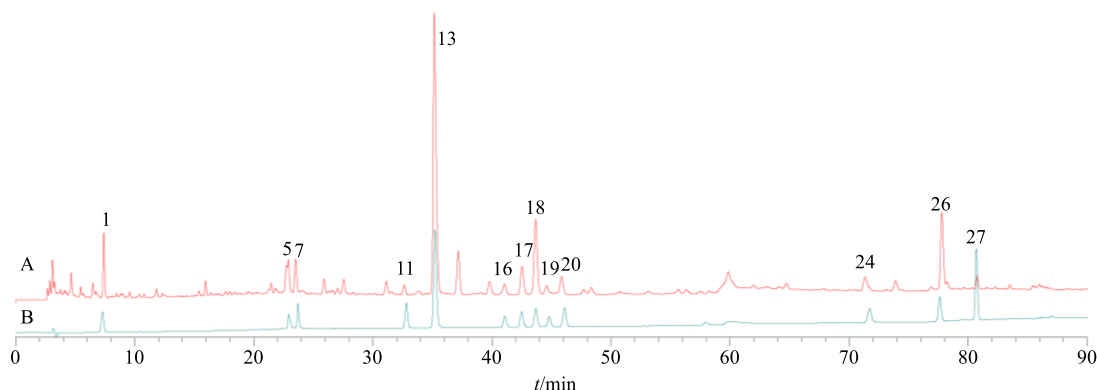


图 2 JOL (A) 及混合对照品溶液 (B) 的 254 nm HPLC-UVD 色谱图

Fig. 2 HPLC-UVD chromatograms of JOL (A) and mixed reference substances (B) at 254 nm

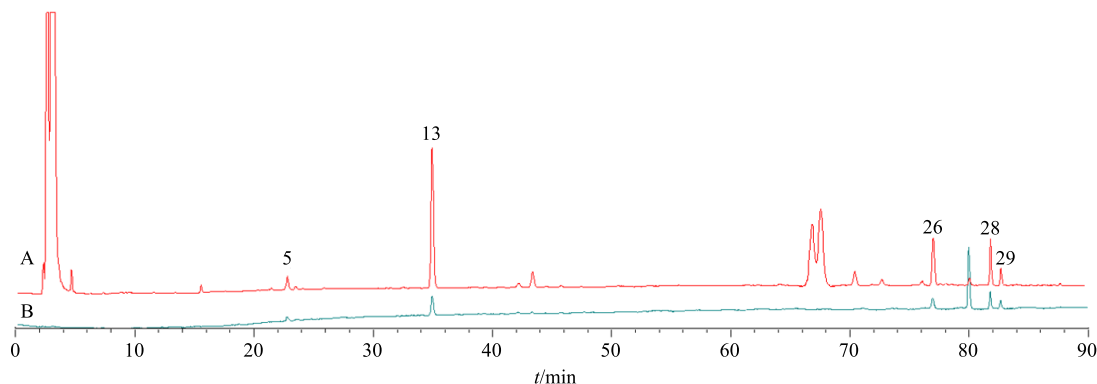


图 3 JOL (A) 及混合对照品溶液 (B) 的 HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 3 HPLC-ELSD chromatograms of JOL (A) and mixed reference substances (B)

测定。结果显示, 6 份样品中没食子酸、甘草苷、芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、甘草素、黄芩苷、白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸、千层纸苷、汉黄芩苷、大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷、大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷、甘草酸、猪去氧胆酸、胆酸的平均质量浓度分别为 12.088、22.463、7.549、4.401、133.219、3.269、12.510、31.924、3.325、6.159、54.854、45.149、23.807 μg/mL, RSD 分别为 1.79%、1.08%、1.02%、1.98%、

0.76%、2.41%、2.32%、1.21%、1.81%、1.13%、1.03%、2.11%、2.65%, 结果表明方法重复性较好。

2.5.6 加样回收率试验 精密吸取已知含量的同一批次 JOL 制剂 (批号 200209) 1.0 mL, 共 6 份, 置 5.0 mL 量瓶内, 分别精密加入已知质量浓度的混合对照品溶液 1.0 mL, 超声混匀后, 用蒸馏水定容, 取 1.0 mL, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 记录色谱图, 计算加样回收率。

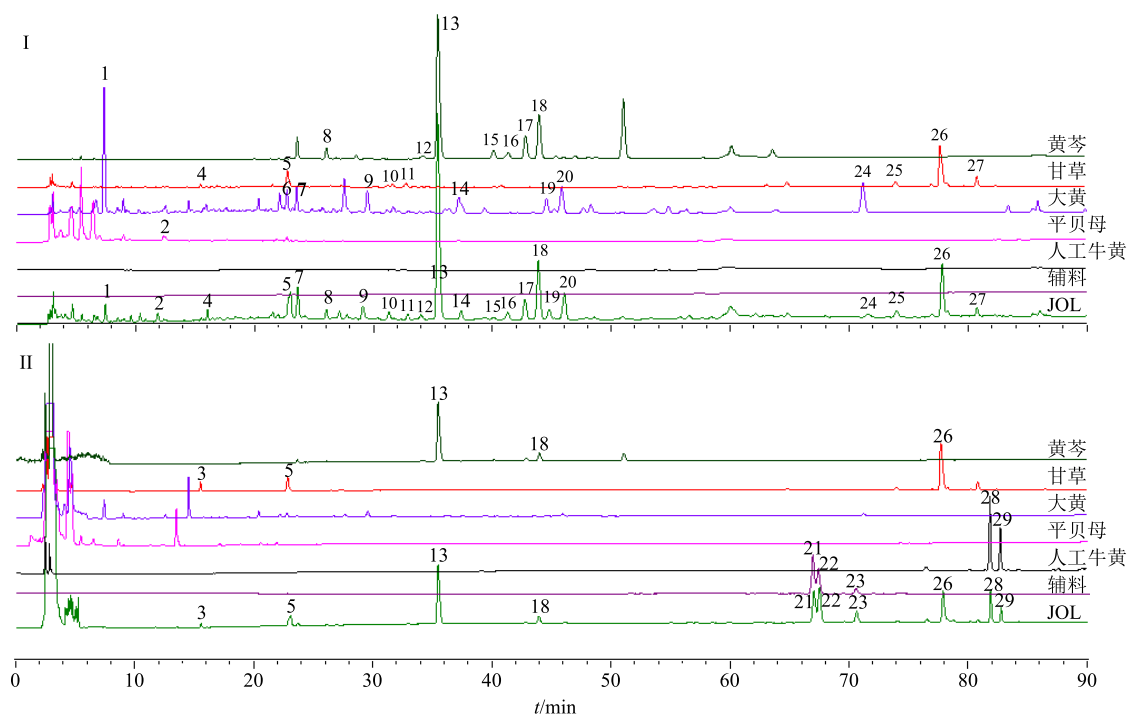
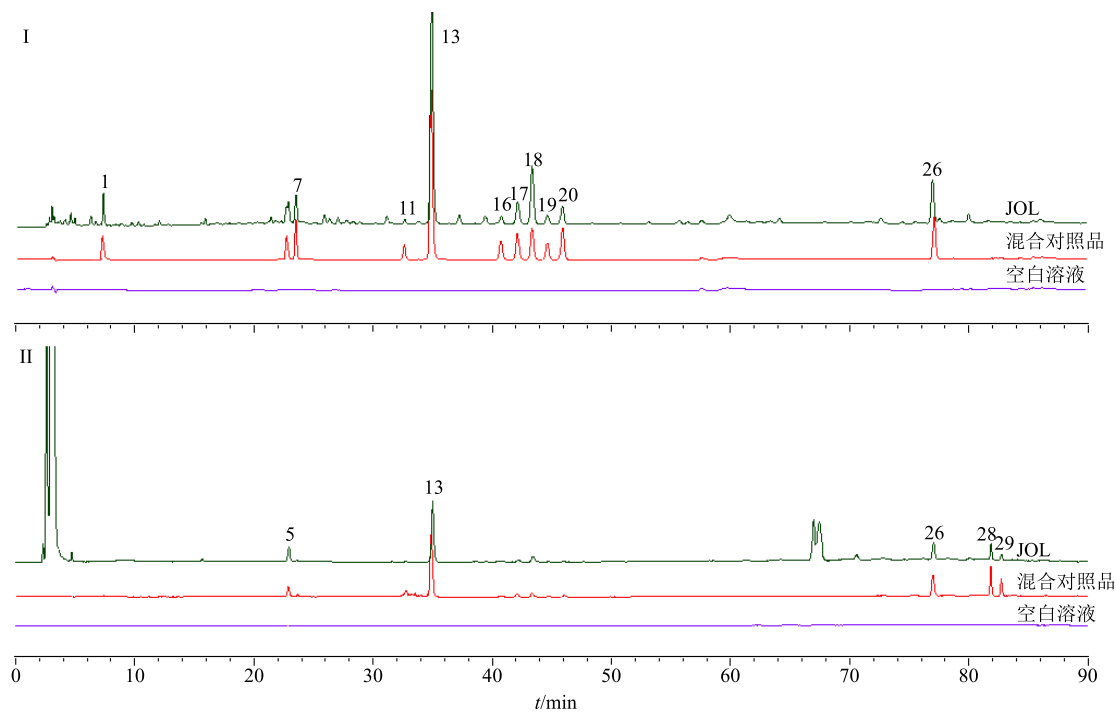


图 4 JOL 与组方药材的 254 nm HPLC-UV 色谱图 (I) 以及 HPLC-ELSD 色谱图 (II)

Fig. 4 HPLC-UV at 254 nm (I) and HPLC-ELSD (II) chromatograms of JOL and its relevant herbs



1-没食子酸 5-甘草苷 7-芦荟大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷 11-甘草素 13-黄芩苷 16-白杨素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸 17-千层纸苷 18-汉黄芩苷 19-大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷 20-大黄酚-1-O-β-D-葡萄糖苷 24-大黄酸 26-甘草酸 28-猪去氧胆酸 29-胆酸
 1-gallic acid 5-liquiritin 7-aloe-emodin-8-O-β-D-glucopyranoside 11-liquiritigenin 13-baicalin 16-chrysin-7-O-β-D-glucuronide 17-oroxyloside 18-wogonoside 19-chrysophal-8-O-β-D-glucopyranoside 20-chrysophal-1-O-β-D-glucopyranoside 24-rhein 26-glycyrrhizic acid 28-hydroxycholeic acid 29-choleic acid

图 5 JOL、混合对照品和空白溶液的 254 nm HPLC-UV 色谱图 (I) 和 HPLC-ELSD 色谱图 (II)

Fig. 5 HPLC-UV chromatograms at 254 nm (I) and HPLC-ELSD chromatograms (II) of JOL, mixed reference substances and blank solution

表 2 JOL 中 13 个定量成分的回归方程

Table 2 Regression equations of 13 components of JOL

成分	回归方程	R^2	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
没食子酸	$Y=25\ 347 X-2\ 099.6$	0.999 3	0.581 5~37.600 0
甘草苷	$Y=1.147 X+8.485\ 3$	0.999 0	1.015 6~65.000 0
芦荟大黄素-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	$Y=51\ 654 X+40\ 342$	0.999 5	0.325 0~20.800 0
甘草素	$Y=23\ 107 X+8\ 169.3$	0.999 4	0.375 0~24.000 0
黄芩苷	$Y=29\ 876 X+109\ 903$	0.999 1	3.775 0~241.600 0
白杨素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸	$Y=47\ 400 X+12\ 027$	0.999 2	0.295 0~18.880 0
千层纸苷	$Y=35\ 151 X+17\ 355$	0.999 3	0.548 8~35.120 0
汉黄芩苷	$Y=33\ 795 X+22\ 429$	0.999 2	0.692 5~44.320 0
大黄酚-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	$Y=57\ 784 X+12\ 414$	0.999 2	0.211 4~13.530 0
大黄酚-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	$Y=54\ 180 X+20\ 803$	0.999 5	0.441 6~28.260 0
甘草酸	$Y=12\ 861 X+24\ 600$	0.999 9	2.153 1~137.800 0
猪去氧胆酸	$Y=1.274\ 4 X+8.836\ 7$	0.999 0	1.350 0~86.400 0
胆酸	$Y=1.055\ 9 X+9.525\ 7$	0.999 4	0.795 0~50.880 0

结果显示, 13 个定量成分没食子酸、甘草苷、芦荟大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、甘草素、黄芩苷、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸、千层纸苷、汉黄芩苷、大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、甘草酸、猪去氧胆酸和胆酸的平均加样回收率分别为 98.01%、98.42%、99.65%、98.60%、99.97%、99.07%、98.70%、100.73%、100.91%、100.96%、96.90%、101.48%、102.84%, RSD 分别为 2.12%、2.58%、2.67%、2.91%、2.28%、2.84%、0.65%、2.77%、1.81%、2.19%、2.12%、2.53%、2.25%, 结果表明方法的准确度良好。

2.5.7 样品测定 取 15 批市售制剂 JOL, 按“2.3.1”项下方法制得各批次供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果见表 3。

3 讨论

3.1 代表性定量成分的选择

依据文献报道及药典中规定的各组方药味的指标成分或特征成分及活性成分, 综合考虑课题组前期采用 UPLC-Q/TOF-MS 对 JOL 化学成分的全面表征结合数据挖掘的靶标采集和反向分子对接技术预测得到 JOL 可能的活性成分及分子机制, 体外抗炎活性。分别选择来自 JOL 组方中药黄芩中的 4 个指标性成分(黄芩苷、汉黄芩苷、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸、千层纸苷); 大黄中 4 个指标性成分(没食子酸、芦荟大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷和大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷); 甘

草中 3 个指标性成分(甘草苷、甘草素和甘草酸)以及人工牛黄中 2 个指标性成分(猪去氧胆酸和胆酸)。

3.2 实验条件的选择

研究分别考察了乙腈-水、甲醇-水、甲醇-酸水(含 0.1%甲酸) 3 种流动相系统, 结果显示, 以甲醇-酸水(含 0.1%甲酸)为本实验的流动相进行梯度洗脱时, 13 种定量成分的分离效果良好。分别考察了不同温度(30、35、40 °C)和不同体积流量(0.8、1.0、1.2 mL/min)对各液相色谱峰分离效果的影响, 结果显示, 柱温 35 °C、体积流量 1.0 mL/min 时能使基线平稳、分离度和峰形达到较好的效果。考察不同厂家和品牌的色谱柱 Cosmosil-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm); Phenomenex-Gemini-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm); Phenomenex-kinetex-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5.0 μm), 结果显示, Cosmosil-C₁₈ 色谱柱能将 13 种定量成分的色谱峰分开, 并达到良好的分离度。分别对 ELSD 漂移管不同温度(105、115、120 °C)、不同载气(N₂)体积流量(1.5、2.0、2.5 mL/min)等影响峰响应值因素进行考察, 最终确定漂移管温度 115 °C、载气体积流量 2.0 mL/min 为最优化的 ELSD 参数。

3.3 化学指认的 15 个特征峰的 UPLC-Q/TOF-MS 分析

JOL 经前处理后通过 UPLC-Q/TOF-MS 进行数据采集, 将采集到的数据导入 MassLynx V4.1 数据

表 3 15 批 JOL 中 13 个定量成分的含量
Table 3 Contents of 13 components in 15 batches of JOL

样品	质量浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)												
	没食子酸	甘草苷	芦荟大黄素-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	甘草素	黄芩苷	白杨素-7- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖醛酸	千层纸苷	汉黄芩苷	大黄酚-1- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	大黄酚-8- <i>O</i> - β - <i>D</i> -葡萄糖苷	甘草酸	猪去氧胆酸	胆酸
S1	60.45	112.34	37.79	22.01	666.13	16.36	62.58	159.65	16.63	30.81	274.32	225.75	119.04
S2	88.89	108.32	39.84	30.12	778.14	18.27	74.96	177.31	23.72	36.87	310.32	202.25	115.60
S3	51.82	123.86	31.72	20.90	658.78	17.28	62.45	155.41	13.13	18.76	233.13	190.62	117.85
S4	106.90	112.78	36.76	34.42	840.98	34.09	101.48	205.86	12.13	16.76	233.23	210.32	118.39
S5	72.52	104.83	35.00	14.24	622.33	23.28	70.42	157.29	18.77	19.36	242.43	239.70	131.55
S6	88.32	100.34	35.02	43.65	739.79	30.64	86.50	171.66	16.05	20.38	302.50	213.64	112.32
S7	93.02	103.42	35.46	22.87	739.96	22.87	78.58	164.06	11.96	16.60	302.94	187.38	103.54
S8	96.62	101.11	34.16	39.63	707.98	27.46	81.09	162.48	15.13	20.48	286.83	177.48	99.48
S9	96.40	95.23	33.45	22.42	724.82	23.69	78.68	161.51	12.00	16.14	300.32	216.90	132.85
S10	124.62	89.46	37.84	31.53	794.62	26.78	84.25	182.26	19.99	28.06	266.02	220.31	110.20
S11	119.38	102.31	38.29	31.26	804.31	16.27	85.67	186.33	15.80	28.44	270.63	208.40	104.50
S12	79.09	78.69	32.14	23.93	739.79	14.29	78.39	164.30	14.20	21.81	240.63	218.40	106.50
S13	148.27	91.20	39.64	34.17	862.98	17.59	91.27	194.12	16.11	29.21	288.65	202.34	102.34
S14	115.25	103.12	32.62	30.60	610.37	13.35	75.10	165.42	11.56	21.78	222.97	189.36	98.54
S15	136.84	70.31	35.74	34.32	867.40	12.87	72.90	161.53	13.66	25.63	247.95	186.70	104.56
平均值	98.56	99.82	35.70	29.07	743.89	21.01	78.95	171.28	15.39	23.41	268.19	205.97	111.82

处理软件进行数据分析，通过在负离子模式下的 MS^E 高能图中抽提 15 个特征峰的精确相对分子质量（没食子酸 169.013 7、甘草苷 417.118 6、芦荟大黄素-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 431.097 8、甘草素 255.065 7、黄芩苷 445.077 1、白杨素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸 505.098 2、千层纸苷 431.097 8、汉黄芩苷 459.092 7、大黄酚-8-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 415.102 9、大黄酚-1-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 415.102 9、大黄酸 283.024 3、甘草酸 821.394 0、(18 β ,20 α)-甘草酸 821.394 0、猪去氧胆酸 391.284 8、胆酸 407.279 7)，进一步通过分析其特征碎片离子并与对照品比对进行准确鉴定。如 HPLC-UVD 上面的色谱峰 26 甘草酸 ($t_R=11.16$ min) 和 27 (18 β ,20 α)-甘草酸 ($t_R=11.85$ min) 在负离子模式下显示出相同的准分子离子峰 m/z 821.397 0 [M-H]⁻，经元素组成分析可推测其分子式为 C₄₂H₆₂O₁₆，二者负离子模式下观察到葡萄糖醛酸碎片离子 m/z 351.054 6 和 m/z 193.035 8，以此推断结构中含有 2 分子的葡萄糖醛酸；在正离子模式下同样的保留时间显示出 m/z 823.412 7 [M+H]⁺ 峰，和丢失葡萄糖醛酸后的母核碎片离子 m/z 647.379 6 [M+H-GluA]⁺ 和 m/z 453.337 2 [M+

H-2 GluA-H₂O]⁺，以及 RDA 裂解产生的碎片离子峰 m/z 263.161 8 [M+H-2 GluA-H₂O-C₁₄H₂₂]⁺ 和 191.180 9 [M+H-2 GluA-H₂O-C₁₆H₂₂O₃]⁺，符合甘草中三萜成分的裂解规律，结合对照品对比进行了准确的鉴定。类似的其余 13 个色谱峰经 UPLC-Q-TOF-MS 分析均与对照品的质谱裂解规律一致，进一步确证了 HPLC-UVD 和 HPLC-ELSD 指纹图谱中化学指认的准确性。

综上，本实验建立了 JOL HPLC-UVD-ELSD 特征指纹图谱，共定 29 个共有峰，涵盖除山羊角和矿物药外的全方药味。通过对照品比对及 UPLC-Q/TOF-MS 分析，在 HPLC-UVD 和 HPLC-ELSD 指纹图谱中分别有 13 和 5 个共有峰得到明确的化学指认。综合考虑组方药味的特征成分和活性成分，建立黄芩苷、甘草酸等 13 个代表性成分的同时定量方法，对 15 批市售制剂进行质量评价。上述建立的 HPLC-UVD-ELSD 定性定量方法为进一步提升制剂整体质量标准提供了重要证据，使得 JOL 的质量控制体系更加完善。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

- [2] 孙海军, 刘光丽, 高有桂, 等. 金振口服液治疗小儿急性支气管炎痰热内蕴证 43 例 [J]. 中医研究, 2016, 29(5): 12-14.
- [3] 舒毅芳, 牛小玲, 吴杰. 金振口服液治疗小儿支气管炎的临床疗效观察 [J]. 贵州医药, 2018, 42(1): 48-50.
- [4] 李娅凤, 平雯. 金振口服液治疗小儿支气管炎临床观察 [J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(4): 467.
- [5] 刘光磊. 金振口服液治疗小儿支气管炎的疗效观察 [J]. 中国社区医师, 2013, 15(10): 218.
- [6] 谭丽琴. 金振口服液防治手足口病的初步临床观察 [J]. 药物与临床, 2011, 19(6): 300-301.
- [7] Liu J, Zhang G L, Huang G Q, *et al*. Therapeutic effect of Jinzhen oral liquid for hand foot and mouth disease: A randomized, multi-center, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94466.
- [8] 徐航, 韩国坤, 李红芳, 等. 金振口服液治疗儿童手足口病普通型 96 例临床观察 [J]. 河北中医, 2011, 33(2): 259-260.
- [9] 季汝凤, 夏煜. 金振口服液治疗小儿支气管肺炎的疗效观察 [J]. 2017, 15(17): 195.
- [10] 杨莉颖, 陈慧, 杨红丽, 等. 金振口服液治疗风热犯卫型小儿流行性感冒的临床观察 [J]. 社区中医药, 2019, 35(23): 117-119.
- [11] Li Y H. Antiviral activities of several oral traditional Chinese medicines against influenza viruses. Evidence-based complementary and alternative medicine [J]. 2015, 38(7): 1299-1303.
- [12] 刘晓秋, 付云云, 徐佳佳, 等. 金振口服液质量标准研究 [J]. 中国现代中药, 2013, 15(11): 987-991.
- [13] 曹云飞, 吴小峰, 蔡芳, 等. HPLC 法测定金振口服液中大黄素和大黄酚含量 [J]. 现代仪器与医疗, 2013, 19(5): 69-71.
- [14] 杨智慧, 程诚, 姚青. 高效液相色谱法测定金振口服液中 6 种成分含量 [J]. 中国药业, 2017, 26(23): 22-25.
- [15] 胡军华, 苏倩倩, 李婷婷, 等. 金振口服液的 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3768-3771.