

[制剂工艺]

清咽止痛颗粒成型工艺优化及其质量控制

刘 菁¹, 顾志荣^{2*}, 张 锐¹, 葛 斌^{2*}
(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省人民医院药剂科, 甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 优化清咽止痛颗粒成型工艺, 并对其进行质量控制。**方法** 在 Plackett-Burman 设计基础上, 以药辅比、乙醇体积分数、乙醇用量、干燥温度为影响因素, 成型率、溶化率、吸湿率、休止角的综合评分为评价指标, Box-Behnken 响应面法结合熵权法优化成型工艺。建立物理指纹图谱、HPLC 指纹图谱, TLC 法定性鉴别金银花、连翘、牛蒡子、夏枯草, HPLC 法测定绿原酸、甘草苷、连翘酯苷 A、迷迭香酸、牛蒡子苷、连翘苷、黄芩苷的含量。**结果** 最佳条件为药辅比 1 : 1, 乙醇体积分数 95%, 乙醇用量 3.75 mL, 干燥温度 67.5 ℃, 干燥时间 10 min, 综合评分为 97.717 8 分。TLC 斑点清晰, 重复性好, 阴性无干扰。每 1 g 制剂中绿原酸、牛蒡子苷、黄芩苷含量分别不得少于 6、5、3 mg。5 批样品物理指纹图谱相似度均大于 0.99。15 批样品 HPLC 指纹图谱中有 23 个共有峰, 相似度均大于 0.98, 并鉴定出 7 个。**结论** 该方法稳定可行, 可为清咽止痛颗粒工业化生产及质量评价提供依据。**关键词:** 清咽止痛颗粒; 成型工艺; 质量控制; Box-Behnken 响应面法; 熵权法; 指纹图谱; TLC; HPLC
中图分类号: R944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)10-3200-13
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.005

Formulation process optimization and quality control of Qingyan Zhitong Granules

LIU Jing¹, GU Zhi-rong^{2*}, ZHANG Rui¹, GE Bin^{2*}
(1. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Department of Pharmacy, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: **AIM** To optimize the formulation process for Qingyan Zhitong Granules, and to conduct quality control. **METHODS** With drug-excipient ratio, ethanol concentration, ethanol consumption and drying temperature as influencing factors, comprehensive score for molding rate, dissolution rate, moisture absorption rate and repose angle as an evaluation index, the formulation process was optimized by Box-Behnken response surface method combined with entropy weighting method on the basis of Plackett-Burman design. The physical fingerprints and HPLC fingerprints were established, after which TLC was adopted in the qualitative identification of *Lonicerae japonicae Flos*, *Forsythiae Fructus*, *Arctii Fructus* and *Prunellae Spica*, HPLC was used for the content determination of chlorogenic acid, glycyrrhizin, luteoloside A, rosmarinic acid, arctiin, forsythoside and baicalin. **RESULTS** The optimal conditions were determined to be 1 : 1 for drug-excipient ratio, 95% for ethanol concentration, 3.75 mL for ethanol consumption, 67.5 ℃ for drying temperature, and 10 min for drying time, the comprehensive score was 97.717 8. The clear TLC spots demonstrated good reproducible without negative interference. The contents of chlorogenic acid, arctiin and baicalin were not less than 6, 5 and 3 mg in 1 g preparation. The physical fingerprints for 5 batches of samples displayed the similarities of more than 0.99. There

收稿日期: 2025-05-15
基金项目: 甘肃省人民医院中西医结合优势病种科技专项 (23GSSYE-7)
作者简介: 刘 菁 (1999—), 女, 硕士生, 研究方向为中药炮制、制药工艺。Tel: 18660996779, E-mail: liujing990911@163.com
* 通信作者: 顾志荣 (1988—), 男, 硕士, 副主任中药师, 硕士生导师, 研究方向为中药及其复方临床应用。Tel: 13519311935, E-mail: guzr8817@163.com
葛 斌 (1965—), 男, 主任药师, 硕士生导师, 研究方向为中药制药工艺及其质量控制。Tel: 13309314868, E-mail: gjy0630@163.com

were 23 common peaks in the fingerprints for 15 batches of samples with the similarities of more than 0.98, 7 of which were identified. **CONCLUSION** This stable and feasible method can provide basis for the industrial production and quality evaluation of Qingyan Zhitong Granules.

KEY WORDS: Qingyan Zhitong Granules; formulation process; quality control; Box-Behnken response surface method; entropy weighting method; fingerprints; TLC; HPLC

清咽止痛方是甘肃省人民医院研发的中药复方协定处方,对咽喉炎、腮腺炎、淋巴结炎等上呼吸道感染疾病疗效显著^[1]。流行病学显示,成人急性咽喉炎年发病率为 5%~15%^[2],细菌性咽炎占比 10%~30%^[3],并且约 25% 的 A 族链球菌对红霉素耐药^[4];腮腺炎在疫苗覆盖率不足地区儿童中的发生率仍超过 60%;免疫功能低下人群易并发细菌性腮腺炎及颌下腺脓肿^[5-6]。淋巴结炎大多由邻近感染扩散引发^[7-8],而中药复方可多靶点抑制病原体,调节炎症,增强黏膜免疫,为相关制剂开发提供了科学依据^[9]。

清咽止痛方由金银花、连翘、牛蒡子等 10 味中药组成,日服生药量达 88 g,故需选用高载药量的颗粒剂。本实验在 Plackett-Burman 设计基础上,采用 Box-Behnken 响应面法与熵权法优化清咽止痛颗粒成型工艺,TLC 法对金银花、连翘、牛蒡子、夏枯草进行定性鉴别,HPLC 法测定绿原酸、甘草苷、连翘酯苷 A、迷迭香酸、牛蒡子苷、连翘苷、黄芩苷的含量,并建立物理指纹图谱、HPLC 指纹图谱,形成“定性-定量-图谱”三级质控标准,以期为该制剂工业化生产和质量评价提供理论依据和技术支持。

1 材料

1.1 仪器 LHH-250GSP-UV 型综合药品稳定性试验箱、DHG-9140A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);AL204 型电子天平(万分之一,瑞士梅特勒-托利多公司);BT125D 型电子天平(十万分之一,德国 Sartorius 公司);YC-1000 型实验室喷雾制粒包衣机(上海雅程仪器设备有限公司);DD-5M 型低速大容量离心机(湘仪离心机仪器有限公司);SB25-12DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);HH-6 型恒温水浴锅(西安超杰仪器有限公司);ZF-8D 型暗箱四用紫外线分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);LC-16 型高效液相色谱仪,配有 SPD-16 型紫外-可见检测器[岛津仪器(苏州)有限公司]。

1.2 试剂与药材 淀粉(河南鸿鑫食化有限公司);麦芽糊精(辽宁东源药业有限公司);微晶

纤维素(湖州展望药业有限公司);聚维酮甘露醇(广西南宁化学制药有限责任公司);甲基纤维素(山东聊城阿华制药有限公司);羧甲基纤维素钠(安徽山河药用辅料股份有限公司);糊精(广东新如荣生物科技有限公司)。绿原酸(批号 CHB-L-071)、连翘苷(批号 CHB-L-022)、连翘酯苷 A(批号 CHB-L-023)、牛蒡子苷(批号 CHB-N-017)、迷迭香酸(批号 CHB-M-043)、黄芩苷(批号 CHB-H-089)、甘草苷(批号 CHB-G-006)对照品及连翘(批号 120908-201817)、牛蒡子(批号 120903-201811)对照药材均购自成都克洛玛生物科技有限公司。金银花、连翘、牛蒡子、薄荷、夏枯草、僵蚕、玄参、黄芩、桔梗、甘草均购自甘肃陇脉药材有限公司,经甘肃省人民医院郑修丽主任中药师鉴定为正品,符合 2020 年版《中国药典》一部规定。甲醇、磷酸均为色谱纯(天津大茂化学试剂厂);环己烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、甲酸、无水乙醇、甲醇、石油醚(30~60℃)均为分析纯(天津大茂化学试剂厂);乙酸丁酯为分析纯(上海广诺化学科技有限公司);异丙醇、硫酸均为分析纯(天津北辰方正试剂厂);水为纯化水。

2 成型工艺优化

2.1 颗粒制备 精密称取处方量饮片,加 17 倍量纯化水浸泡,加热煎煮 3 次,每次 30 min,收集合并滤液,浓缩至终体积 250 mL,在喷液转速 10 r/min、雾化压力 0.2 MPa、进风温度 150℃条件下进行喷雾干燥,将浓缩液转化为符合粉体工程学要求的浸膏粉体,与辅料混合均匀,以乙醇为润湿剂制软材(判断标准为“握之成团,触之即散”),过 20 目筛,挤压制粒法制备湿颗粒,在 65℃下烘干,整粒,即得,同法制备 5 批(编号 S1~S5)。

2.2 评价指标测定

2.2.1 成型率 称定整粒后的颗粒质量(m_1),收集能通过 1 号筛但不能通过 5 号筛者作为合格颗粒,称定质量(m_2),计算成型率,公式为成型

$$\text{率} = \left(\frac{m_2}{m_1} \right) \times 100\%。$$

2.2.2 吸湿率 取 1 个干燥至恒重的带塞量瓶,

打开瓶盖，置于下部装有饱和 NaCl 溶液的干燥器中饱和 24 h，称定质量（ m_0 ）。取合格颗粒 2 g，平放在饱和量瓶中，称定质量，置于干燥器（ m_1 ）中，24 h 后取出，称定质量（ m_2 ），计算吸湿率，

公式为吸湿率= $(\frac{m_2-m_1}{m_1-m_0}) \times 100\%$ 。

2.2.3 溶化率 准确称取合格颗粒 1 g，置于 50 mL 恒重离心管中，加入 20 mL 沸水，振摇 5 min，4 000 r/min（半径 10 cm）离心 5 min，残渣在 60 ℃下烘干至恒重，称定质量，计算溶化率，公

式为溶化率= $(\frac{\text{溶化颗粒质量}}{\text{颗粒总质量}}) \times 100\%$ 。

2.2.4 休止角 采用固定漏斗法，将 3 只漏斗串联固定在铁架平台上，使底部距坐标纸1 cm，缓慢倒入合格颗粒，直至坐标纸上颗粒圆锥体顶部接触漏斗口为止，测量底部半径 r ，计算休止角 α ，公式为 $\alpha = \arctan (H/r)$ （ $H = 1$ cm），重复 3 次，取平均值。

2.2.5 松密度 取合格颗粒 5 g，置于 10 mL 量筒中，轻摇至表面平整，记录体积，计算松密度，公式为松密度= $\frac{\text{颗粒质量}}{\text{体积}}$ 。

2.2.6 振实密度 取合格颗粒 5 g，置于 10 mL 量筒中，上下振荡至体积不再减小，记录体积，计算振实密度，公式为振实密度= $\frac{\text{颗粒质量}}{\text{体积}}$ 。

2.2.7 豪斯纳比 公式为豪斯纳比=振实密度/松密度。

2.2.8 相对均齐度指数 将合格颗粒依次通过 2~4、7~9 号筛，摇动 3 min，分别称定每个筛保留的颗粒质量，计算相对均齐度指数，公式为相对均齐度指数= $\frac{F_m}{[100+ (d_m-d_{m-1}) F_{m-1}+ (d_{m+1}-d_m) F_{m+1}+ \cdots + (d_m-d_{m-2}) F_{m-2} \cdots + (d_{m+n}-d_m) F_{m+n}]}$ ，参数意义见表 1。

2.3 辅料种类筛选 取干燥至恒重的浸膏粉末适量，分别以淀粉、糊精、甘露醇、微晶纤维素、聚维酮 K₃₀、甲基纤维素、麦芽糊精、羧甲基纤维素钠为稀释剂，95% 乙醇为润湿剂，浸膏粉与辅料比例为 1：1，过 20 目筛，制粒，在 65 ℃下烘干，测定成型率和溶化率，结果见表 2。由此可知，淀粉、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、淀粉+甘露醇作为稀释剂时，颗粒溶化性不符合 2020 年版《中

表 1 相对均齐度指数参数意义

Tab. 1 Parameter significances for relative homogeneity index	
参数	意义
F_m	颗粒粒径在多数范围的质量百分比
F_{m+1}	多数粒径范围上一层筛子截留颗粒的质量百分比
F_{m-1}	多数粒径范围下一层筛子截留颗粒的质量百分比
d_m	多数粒径范围的颗粒平均粒径
d_{m+1}	多数粒径范围上一层筛子截留的颗粒平均粒径
d_{m-1}	多数粒径范围下一层筛子截留的颗粒平均粒径
n	确定的粒径范围个数

国药典》规定；聚维酮 K₃₀作为稀释剂时，不易制粒，难以成型；微晶纤维素作为稀释剂时，颗粒成型率和溶化率较低，不符合药典规定；淀粉+麦芽糊精作为稀释剂时，颗粒成型率和溶化率符合药典规定。最终，选择淀粉+麦芽糊精作为辅料。

表 2 辅料种类筛选结果

Tab. 2 Results for excipient type screening			
稀释剂	成型率/%	溶化率/%	性状
淀粉	89.79	不合格	颗粒大小均匀,浅褐色
糊精	89.84	97.33	颗粒大小较均匀,深褐色
甘露醇	89.14	95.34	颗粒大小均匀,浅褐色
微晶纤维素	59.75	23.27	颗粒较小,浅褐色
聚维酮 K ₃₀	—	—	—
甲基纤维素	57.70	不合格	颗粒较小,浅褐色
麦芽糊精	82.67	97.12	颗粒大小均匀,深褐色
羧甲基纤维素钠	73.99	不合格	颗粒大小较均匀,浅褐色
淀粉+糊精	86.35	32.29	颗粒大小较均匀,深褐色
淀粉+甘露醇	89.00	不合格	颗粒大小较均匀,深褐色
甘露醇+糊精	83.71	96.99	颗粒大小均匀,浅褐色
淀粉+麦芽糊精	90.84	98.16	颗粒大小均匀,深褐色
糊精+麦芽糊精	84.79	97.20	颗粒较小,浅褐色
甘露醇+麦芽糊精	85.43	96.93	颗粒大小较均匀,深褐色

2.4 工艺评价指标筛选 成型率作为颗粒剂质量评价中的关键指标，可检测成型工艺是否满足要求；溶化率是检验颗粒剂制备工艺水平的关键质量属性，其大小与制剂有效成分溶出性和临床有效性密切相关；吸湿性作为影响颗粒剂质量与稳定性的重要指标，其大小直接关系到制剂产量与贮存；休止角是颗粒剂重要参数之一，其大小与制剂质量、分装准确度有关^[10]。本实验结合实际生产经验与预实验结果，最终选择成型率、溶化率、吸湿率、休止角作为关键工艺评价指标，筛选关键工艺参数（CPPs）。

2.5 Plackett-Burman 设计 在查阅前期相关文献及预实验基础上，选择药辅比（A）、乙醇体积分数（B）、乙醇用量（C）、干燥温度（D）、干燥时

间 (E) 作为潜在 CPPs, 成型率 (Y_1)、溶化率 (Y_2)、吸湿率 (Y_3)、休止角 (Y_4) 作为响应值, 采用 Design-Expert 8.0.6 软件设计 12 组实验, 因素水平见表 3, 结果见表 4。

表 3 Plackett-Burman 设计因素水平

Tab. 3 Factors and levels for Plackett-Burman design

水平	A 药辅比	B 乙醇体积分数/%	C 乙醇用量/mL	D 干燥温度/℃	E 干燥时间/min
-1	1 : 0.5	90	2.5	60	10
1	1 : 1.5	100	5	75	20

表 4 Plackett-Burman 设计结果

Tab. 4 Results for Plackett-Burman design

试验号	A 药辅比	B 乙醇体积分数/%	C 乙醇用量/mL	D 干燥温度/℃	E 干燥时间/min	Y_1 成型率/%	Y_2 溶化率/%	Y_3 吸湿率/%	Y_4 休止角/(°)
1	1 : 1.5	90	5	60	10	87.091 1	61.582 9	11.139 3	29.74
2	1 : 1.5	100	2.5	75	10	40.145 3	42.069 9	13.159 0	33.17
3	1 : 0.5	100	5	60	20	81.778 4	52.311 5	14.605 7	32.01
4	1 : 1.5	90	5	75	10	82.363 8	38.587 1	13.510 3	29.33
5	1 : 1.5	100	2.5	75	20	46.635 9	37.322 7	13.506 6	33.34
6	1 : 1.5	100	5	60	20	47.842 4	58.667 2	14.806 3	32.83
7	1 : 0.5	100	5	75	10	90.533 6	56.199 9	13.000 3	32.49
8	1 : 0.5	90	5	75	20	94.502 2	45.141 4	11.663 5	29.74
9	1 : 0.5	90	2.5	75	20	87.280 7	39.747 1	11.714 5	29.47
10	1 : 1.5	90	2.5	60	20	77.680 9	45.106 9	12.579 8	28.65
11	1 : 0.5	100	2.5	60	10	69.452 5	54.074 7	12.507 6	30.76
12	1 : 0.5	90	2.5	60	10	85.335 2	53.668 1	10.161 0	28.65

采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 4 数据进行处理, 得到回归方程分别为 $Y_1 = 74.22 - 10.59A - 11.49B + 6.47C - 0.64D - 1.60E$, $r_1 = 0.941\ 4$, $r_{1\text{adj}} = 0.889\ 6$; $Y_2 = 48.71 - 1.48A + 1.40B + 3.38C - 5.53D - 2.32E$, $r_2 = 0.896\ 3$, $r_{2\text{adj}} = 0.799\ 7$; $Y_3 = 12.70 + 0.42A + 0.90B + 0.42C + 0.063D + 0.45E$, $r_3 = 0.894\ 2$, $r_{3\text{adj}} = 0.795\ 4$; $Y_4 = 30.85 + 0.33A + 1.58B + 0.18C +$

$0.41D + 0.16E$, $r_4 = 0.974\ 7$, $r_{4\text{adj}} = 0.953\ 0$, 表明模型拟合程度良好, 预测结果与实际过程相吻合。再进行显著性检验, 结果见表 5, 可知因素 A 、 B 、 C 对 Y_1 有显著影响 ($P < 0.05$), D 对 Y_2 有显著影响 ($P < 0.05$), B 对 Y_3 有显著影响 ($P < 0.05$), B 、 D 对 Y_4 有显著影响 ($P < 0.05$), 故最终确定 A 、 B 、 C 、 D 作为 CPPs, 并在后续实验中固定 E 为 10 min。

表 5 显著性检验结果

Tab. 5 Results for significance tests

因素	成型率		溶化率		吸湿率		休止角	
	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
模型	9.34	0.008 5	4.90	0.039 3	4.79	0.041 4	22.79	0.000 8
A	18.14	0.005 3	1.05	0.345 5	3.08	0.129 8	4.32	0.082 8
B	21.34	0.003 6	0.93	0.371 2	14.13	0.009 4	100.73	<0.000 1
C	6.76	0.040 7	5.42	0.058 8	3.14	0.126 9	1.23	0.310 2
D	0.067	0.804 6	14.54	0.008 8	0.069	0.801 9	6.69	0.041 5
E	0.41	0.543 8	2.57	0.160 1	3.52	0.109 7	1.01	0.354 8

2.6 Box-Behnken 响应面法 在 Plackett-Burman 设计基础上, 以药辅比 (A)、乙醇体积分数 (B)、乙醇用量 (C)、干燥温度 (D) 为影响因素, 成型率 (Y_1)、溶化率 (Y_2)、吸湿率 (Y_3)、休止角 (Y_4) 的综合评分 (Y) 为评价指标, 因素水平见表 6。

2.6.1 权重确定 采用熵权法。

表 6 Box-Behnken 响应面法因素水平

Tab. 6 Factors and levels for Box-Behnken response surface method

水平	因素			
	A 药辅比	B 乙醇体积分数/%	C 乙醇用量/mL	D 干燥温度/℃
-1	1 : 0.5	90	2.5	60
0	1 : 1	95	3.75	67.5
1	1 : 1.5	100	5	75

(1) 设 m 个评价指标 n 个对象的原始数据矩阵为 $A = (a_{ij})_{mn}$ ，再按照下列公式进行归一化，得到矩阵 $X = (x_{ij})_{mn}$ 。其中， x_{ij} 表示第 j 次试验时第 i 个评价指标， $i = 1, 2, 3, \cdots, m; j = 1, 2, 3, \cdots, n$ 。

评价指标越大越好时， $x_{ij} = (a_{ij} - a_{i_{\min}})/(a_{i_{\max}} - a_{i_{\min}})$ ；评价指标越小越好时， $x_{ij} = (a_{i_{\max}} - a_{ij})/(a_{i_{\max}} - a_{i_{\min}})$ 。

(2) 将原始矩阵 $(X_{ij})_{mn}$ 进行归一化，转为“概率”矩阵 $(P_{ij})_{mn}$ ，公式为 $P_{ij} = X_{ij}/(\sum_{j=1}^n X_{ij})$ 。其中， P_i 代表某个信息的概率，满足 $0 \leq P_i \leq 1$ 。

(3) 计算第 i 个评价指标信息熵 (H_i)，公式

为 $H_i = -k \sum_{j=1}^n P_{ij} \ln P_{ij}$ ， $k = 1/\ln n$ 。

(4) 计算评价指标熵权系数 (W)，公式为 $W_i = (1 - H_i)/[\sum_{i=1}^m (1 - H_i)]$ 。

熵值越小，熵权系数越大，表明指标传递的信息量越多，其权重值越大，见表 7。再计算综合评分 Y ，结果见表 8。

表 7 各评价指标权重值

Tab. 7 Weighting values for various evaluation indices		
评价指标	H_i	W_j
成型率	0.940 5	0.246 5
溶化率	0.915 8	0.349 0
吸湿率	0.950 3	0.206 1
休止角	0.952 1	0.198 4

表 8 Box-Behnken 响应面法设计及结果

Tab. 8 Design and results for Box-Behnken response surface method

试验号	A	B	C	D	Y ₁ 成型率/%	Y ₂ 溶化率/%	Y ₃ 吸湿率/%	Y ₄ 休止角/(°)	Y 综合评分/分
1	0	0	-1	-1	95.460 5	94.673 8	5.690 4	28.51	86.931 7
2	0	0	0	0	94.019 1	95.285 8	3.178 9	25.73	97.768 8
3	0	0	0	0	95.260 7	94.983 0	3.266 6	26.53	96.837 4
4	0	0	0	0	96.515 7	94.672 9	3.314 0	25.05	97.862 5
5	0	-1	0	-1	93.924 8	94.297 5	4.389 6	29.76	89.090 0
6	-1	0	0	1	93.394 7	95.396 8	5.490 0	26.34	88.526 5
7	1	0	-1	0	95.876 9	97.389 4	4.815 5	27.17	90.961 6
8	-1	0	1	0	94.651 3	96.206 5	5.106 6	27.78	89.051 5
9	1	-1	0	0	94.018 8	96.290 6	3.925 5	29.03	92.012 7
10	1	0	0	-1	95.767 9	96.674 8	6.342 6	27.01	87.510 2
11	0	1	0	1	94.422 4	96.106 4	5.951 4	27.97	87.014 9
12	-1	-1	0	0	94.511 0	95.648 9	3.883 6	30.87	91.066 5
13	1	0	1	0	97.800 4	97.284 7	6.555 0	27.33	87.690 8
14	0	-1	-1	0	94.425 4	96.376 5	5.494 9	30.03	86.808 3
15	0	0	0	0	95.075 5	96.284 6	3.656 4	25.76	95.678 6
16	0	-1	1	0	95.777 5	94.478 9	3.801 4	30.13	91.726 7
17	1	1	0	0	93.731 3	95.637 8	3.862 2	29.15	91.909 4
18	0	0	1	-1	95.605 6	94.729 4	5.101 4	27.22	89.143 9
19	0	1	-1	0	94.481 3	95.386 2	5.200 1	28.34	88.130 5
20	-1	1	0	0	95.080 5	94.695 3	5.132 0	29.17	87.702 2
21	0	1	0	-1	94.692 3	95.487 3	5.604 1	27.91	87.581 7
22	0	0	1	1	94.876 4	94.764 2	5.157 2	28.61	87.946 5
23	0	0	0	0	95.116 8	95.698 4	3.246 0	25.34	98.064 5
24	1	0	0	1	93.144 6	95.376 5	5.576 8	29.33	86.347 0
25	0	0	-1	1	94.128 7	94.589 0	3.217 8	28.67	95.316 9
26	0	1	1	0	96.346 8	94.375 9	5.228 6	29.87	87.271 7
27	0	-1	0	1	95.991 1	94.387 5	4.637 8	28.65	89.491 2
28	-1	0	0	-1	94.297 5	95.983 6	4.635 4	29.01	89.428 3
29	-1	0	-1	0	93.217 9	96.387 5	5.754 6	28.69	86.742 7

2.6.2 模型拟合与方差分析 采用 Design-Expert 8.0.6 软件对表 8 数据进行处理，得回归方程为 $Y = 97.242\ 36 + 0.326\ 17A - 0.882\ 09B - 0.171\ 70C + 0.413\ 11D + 0.815\ 26AB - 1.394\ 90AC - 0.065\ 355$

$AD - 1.444\ 30BC - 0.241\ 98BD - 2.395\ 63CD - 3.977\ 66A^2 - 3.870\ 60B^2 - 4.130\ 98C^2 - 4.555\ 22D^2$ ，方差分析见表 9。

2.6.3 响应面分析 结果见图 1。由此可知，模

表 9 方差分析结果

Tab. 9 Results for analysis of variance

来源	SS	f	MS	F 值	P 值
模型	339.99	14	24.29	5.85	0.001 1
A	1.28	1	1.28	0.31	0.587 8
B	9.34	1	9.34	2.25	0.155 7
C	0.35	1	0.35	0.085	0.774 5
D	2.05	1	2.05	0.49	0.493 8
AB	2.66	1	2.66	0.64	0.436 7
AC	7.78	1	7.78	1.88	0.192 3
AD	0.017	1	0.017	0.004 119	0.949 7
BC	8.34	1	8.34	2.21	0.178 0
BD	0.23	1	0.23	0.056	0.815 6
CD	22.96	1	22.96	5.53	0.033 8
A ²	102.63	1	102.63	24.74	0.000 2
B ²	97.18	1	97.18	23.43	0.000 3
C ²	110.69	1	110.69	26.69	0.000 1
D ²	134.60	1	134.60	32.45	<0.000 1
残差	58.07	14	4.15	—	—
失拟项	54.12	10	5.41	5.48	0.057 7
纯误差	3.95	4	0.99	—	—
总误差	398.06	28	—	—	—

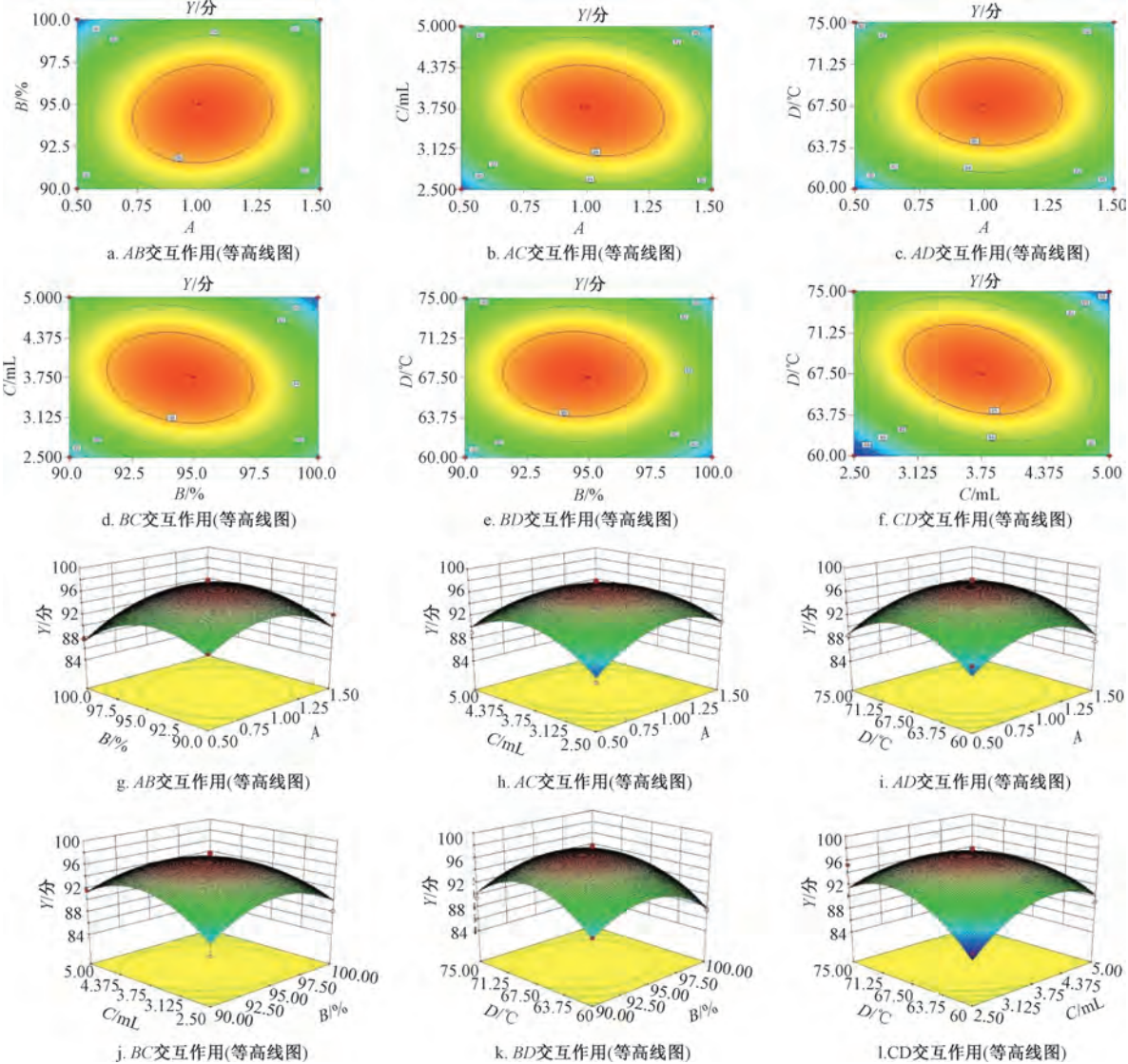
型最大值点为 95% 乙醇用量 3.75 mL，药辅比 1：1，干燥温度 67.5 ℃，综合评分为 97.308 5 分，即为最优工艺（干燥时间为 10 min）。

2.7 验证试验 按“2.6”项下优化工艺制备 5 批样品，进行验证试验，结果见表 10。由此可知，模型预测性良好（平均综合评分 97.72 分与预测值 97.308 5 分的相对偏差为 0.42%），可用于工艺优化。

表 10 验证试验结果 (n=5)

Tab. 10 Results for verification tests (n=5)

试验号	成型率/%	溶化率/%	吸湿率/%	休止角/(°)	综合评分/分
1	94.06	95.37	4.23	27.36	96.61
2	95.24	94.27	4.19	26.23	97.98
3	96.61	94.48	4.01	26.55	99.11
4	95.42	96.69	4.25	26.94	97.69
5	95.26	95.26	4.16	27.36	97.29
平均值	95.32	95.21	4.17	26.89	97.72
RSD/%	0.95	1.01	2.23	1.86	0.95



注：A、B、C、D、Y 分别为药辅比、乙醇体积分数、乙醇用量、干燥温度、综合评分。

图 1 各因素响应面图

Fig. 1 Response surface plots for various factors

2.8 临界相对湿度测定 在棕色玻璃干燥器中分别制备 7 种饱和盐溶液，放置 48 h 以平衡内部湿度。取颗粒 2 g，置于恒重量瓶中，均匀摊铺，置于不同相对湿度的干燥器中 48 h，称定质量，计算吸湿率，结果见表 11、图 2。由此可知，曲线前切线为 $Y=0.137\ 4X+2.654\ 7$ ，后切线为 $Y=0.441\ 3X+17.253\ 2$ （ X 为相对湿度， Y 为吸湿率），临界相对湿度为 66.05%。

表 11 吸湿率测定结果

饱和盐溶液	相对湿度(25℃)/%	吸湿率/%
CH ₃ COOK	22.50	6.44
MgCl ₂	33.00	7.19
K ₂ CO ₃	43.50	9.02
NaBr	57.80	11.87
NaCl	75.40	16.40
KCl	84.30	19.95
K ₂ SO ₄	97.30	26.40

2.9 物理指纹图谱建立

2.9.1 指标确定及标准化转换 根据制剂物理、粉体学性质，本实验将其物理质量属性分为堆积性、流动性、均一性、稳定性，作为一级指标，并选择松密度、振实密度、休止角、豪斯纳比、相对均齐度指数、吸湿率作为二级指标。再将二级指标实测值标准化转换至 0~10 之间，转换方法见表

表 13 二级指标测定结果

二级指标		S1	S2	S3	S4	S5
松密度	测定值	0.317 4 g/mL	0.307 6 g/mL	0.291 1 g/mL	0.295 9 g/mL	0.311 0 g/mL
	转换值	3.174 0	3.076 0	2.911 0	2.959 0	3.110 0
振实密度	测定值	0.360 6 g/mL	0.355 5 g/mL	0.348 9 g/mL	0.354 6 g/mL	0.358 9 g/mL
	转换值	3.606 0	3.555 0	3.489 0	3.546 0	3.589 0
休止角	测定值	31.690 0°	32.010 0°	31.250 0°	30.690 0°	30.470 0°
	转换值	3.662 0	3.598 0	3.750 0	3.862 0	3.906 0
豪斯纳比	测定值	1.136 1	1.155 7	1.198 6	1.198 4	1.154 0
	转换值	9.319 5	9.221 4	9.007 2	9.008 1	9.229 9
相对均齐度指数	测定值	0.015 7×10 ⁻³	0.015 2×10 ⁻³	0.015 1×10 ⁻³	0.015 7×10 ⁻³	0.015 3×10 ⁻³
	转换值	7.850 0	7.600 0	7.550 0	7.850 0	7.650 0
吸湿率	测定值	4.183 7%	4.102 7%	4.273 8%	4.063 5%	4.562 8%
	转换值	7.908 2	7.948 7	7.863 1	7.968 3	7.718 6

2.9.2 图谱生成及相似度分析 采用 Excel 软件对二级指标标准化数据进行处理，绘制雷达图，同时将 5 批样品二级指标的平均值整理后绘制标准指纹图谱（R），见图 3，再采用 SPSS 25.0 软件测定相似度。结果，各批样品物理指纹图谱相似度均大于 0.99，并且与标准指纹图谱的相似度也均大于 0.99，表明 5 批颗粒在物理质量方面具有较高的一致性。

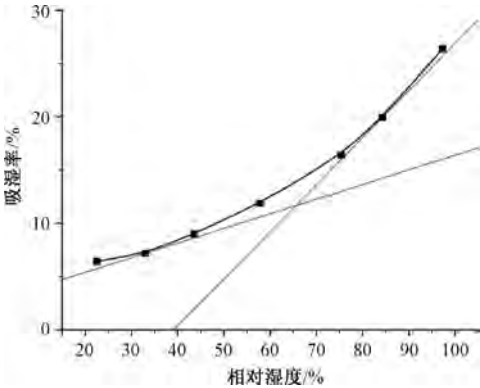


图 2 不同相对湿度下吸湿曲线

Fig. 2 Moisture adsorption curves at different relative humidities

12，结果见表 13。

表 12 二级指标标准化转换方法

一级指标	二级指标	取值范围	转换公式
堆积性	松密度	0~1 g/mL	10x
	振实密度	0~1 g/mL	10x
流动性	休止角	0°~50°	10-(x/5)
	豪斯纳比	1~3	(30-10x)/2
均一性	相对均齐度指数	0~0.02	500x
稳定性	吸湿率	0~20%	10-(x/2)

注：x 表示取值范围内某一数值。

3 TLC 定性鉴别

3.1 金银花

3.1.1 供试品溶液制备 取本品 1 g，加 25 mL 甲醇，置于 50 mL 离心管中，密塞，放置 12 h，过滤，即得。

3.1.2 阴性样品溶液制备 按照处方比例，称取除金银花以外的其他药材，按优化工艺制成阴性样品，按“3.1.1”项下方法制备，即得。

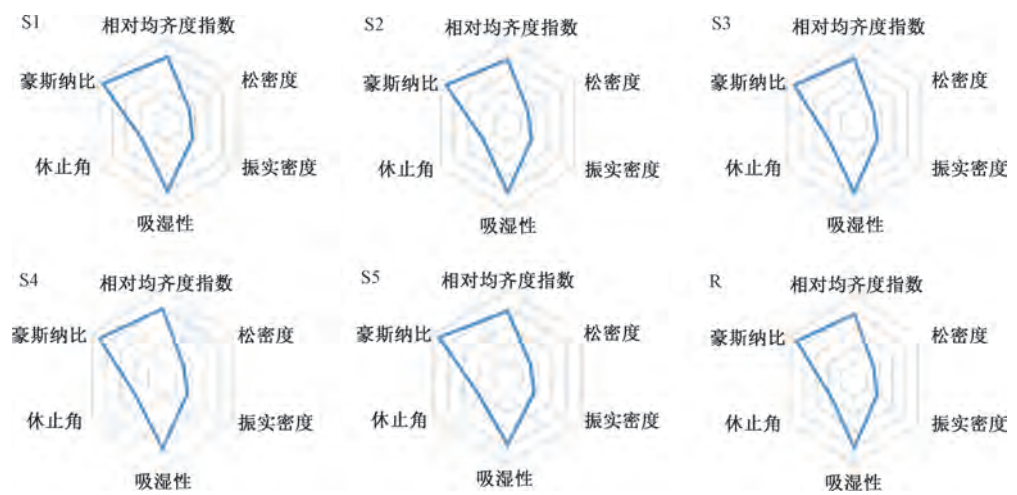
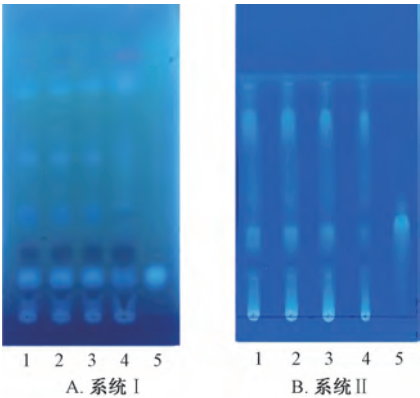


图 3 5 批清咽止痛颗粒物理指纹图谱

Fig. 3 Physical fingerprints for 5 batches of Qingyan Zhitong Granules

3.1.3 对照品溶液制备 取绿原酸对照品适量，1 mL 甲醇溶解，制成 1 mg/mL 溶液，即得。

3.1.4 操作过程 展开系统 I：吸取上述 3 种溶液各 5~10 μL，点于硅胶 G 薄层板上，在乙酸丁酯-甲酸-水（7：2.5：2.5）上层溶液中展开，晾干，紫外光灯（365 nm）下检视；展开系统 II：吸取上述 3 种溶液各 5~10 μL，点于硅胶 G 薄层板上，在异丙醇-乙酸乙酯-冰醋酸-水（4：3：0.5：1）混合溶液中展开，晾干，紫外光灯（365 nm）下检视，结果见图 4。由此可知，供试品、对照品溶液相应位置上有相同斑点，阴性无干扰。



注：1~3 为供试品，4 为缺金银花阴性样品，5 为绿原酸对照品。

图 4 金银花 TLC 色谱图

Fig. 4 TLC chromatograms of *Lonicerae japonicae* Flos

3.2 连翘

3.2.1 供试品溶液制备 取本品 2 g，加 30 mL 石油醚（30~60℃），超声处理 25 min，残渣加 20 mL 甲醇，超声处理 20 min，过滤，滤液浓缩至 2 mL，即得^[11]。

3.2.2 阴性样品溶液制备 按照处方比例，称取

除连翘以外的其他药材，按优化工艺制成阴性样品，按“3.2.1”项下方法制备，即得。

3.2.3 对照品溶液制备 取连翘苷对照品适量，1 mL 甲醇溶解，制成 1 mg/mL 溶液，即得。

3.2.4 对照药材溶液制备 取连翘对照药材 0.5 g，按“3.2.1”项下方法制备，即得。

3.2.5 操作过程 展开系统 I：吸取上述 4 种溶液各 3~6 μL，点于硅胶 G 薄层板上，在三氯甲烷-甲醇（8：1）混合溶液中展开，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105℃ 下加热至斑点清晰，日光、紫外灯（365 nm）下检视；展开系统 II：吸取上述 4 种溶液各 3~10 μL，点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-甲酸（9：1：0.1）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105℃ 下加热至斑点显色清晰，日光下检视，结果见图 5。由此可知，供试品溶液在对照药材、对照品溶液相应位置上有相同斑点，阴性无干扰。

3.3 牛蒡子

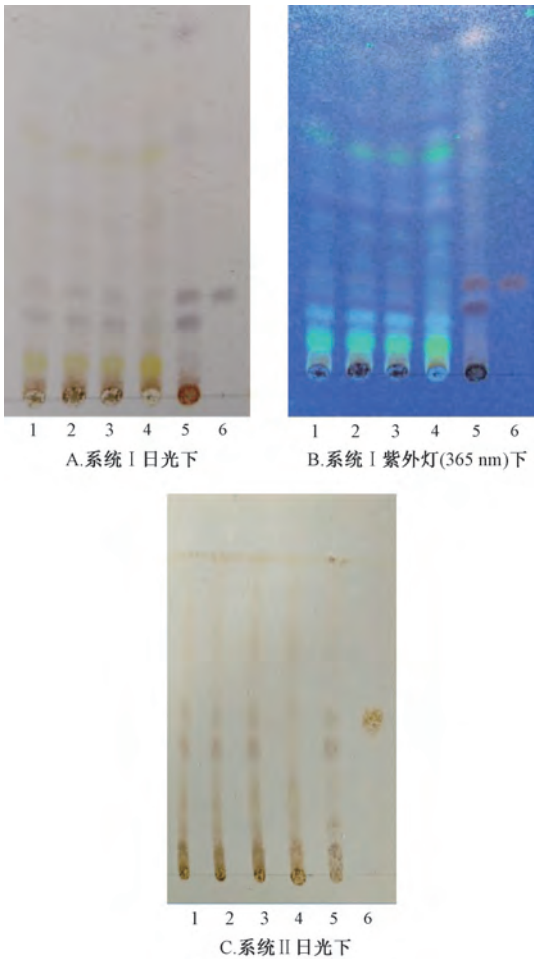
3.3.1 供试品溶液制备 取本品 2 g，加 50 mL 乙醇，超声处理 30 min，过滤，残渣加 2 mL 乙醇，即得。

3.3.2 阴性样品溶液制备 按照处方比例，称取除牛蒡子以外的其他药材，按优化工艺制成阴性样品，按“3.3.1”项下方法制备，即得。

3.3.3 对照品溶液制备 取牛蒡苷对照品 1 mg，1 mL 甲醇溶解，制成 1 mg/mL 溶液，即得。

3.3.4 对照药材溶液制备 取牛蒡子对照药材 0.5 g，按“3.3.1”项下方法制备，即得。

3.3.5 操作过程 展开系统 I：吸取上述 4 种溶



注：1~3 为供试品，4 为缺连翘阴性样品，5 为连翘对照药材，6 为连翘苷对照品。

图 5 连翘 TLC 色谱图

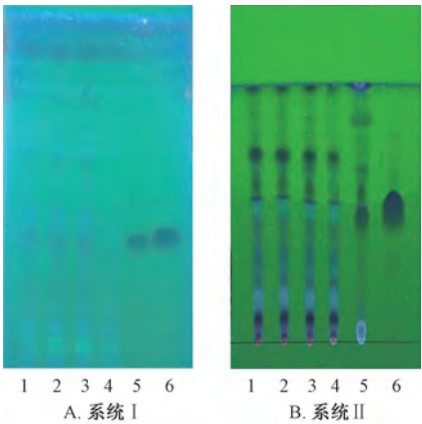
Fig. 5 TLC chromatograms of Forsythiae Fructus

液各 3~5 μL ，点于硅胶 G 薄层板上，在三氯甲烷-甲醇-水（40：8：1）下层溶液中展开，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 $^{\circ}\text{C}$ 下加热至斑点清晰，紫外光灯（254 nm）下检视；展开系统 II：吸取供试品、对照药材溶液各 3 μL ，对照品溶液 5 μL ，点于同一硅胶 G 薄层板上，在三氯甲烷-甲醇-甲酸（8：1：0.1）混合溶液中展开，取出，晾干，紫外光灯（254 nm）下检视，结果见图 6。由此可知，供试品溶液在对照药材、对照品溶液相应位置上有相同斑点，阴性无干扰。

3.4 夏枯草

3.4.1 供试品溶液制备 取本品 2.5 g，加 30 mL 70% 乙醇，超声处理 30 min，过滤，滤液蒸干，残渣加 5 mL 乙醇溶解，即得。

3.4.2 阴性样品溶液制备 按照处方比例，称取除夏枯草以外的其他药材，按优化工艺制成阴性样品，按“3.4.1”项下方法制备，即得。



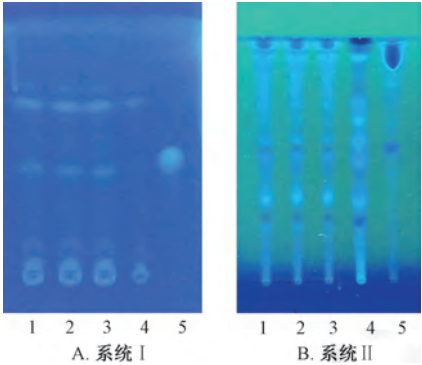
注：1~3 为供试品，4 为缺牛蒡子阴性样品，5 为牛蒡子对照药材，6 为牛蒡苷对照品。

图 6 牛蒡子 TLC 色谱图

Fig. 6 TLC chromatograms of Arctii Fructus

3.4.3 对照品溶液制备 取迷迭香酸对照品适量，乙醇溶解，制成 1 mg/mL 溶液，即得。

3.4.4 操作过程 展开系统 I：吸取上述 3 种溶液各 2~5 μL ，点于硅胶 G 薄层板上，在环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲酸（15：3：3.5：0.5）混合溶液中展开，晾干，紫外光灯（365 nm）下检视；展开系统 II：吸取上述 3 种溶液各 2~5 μL ，点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-甲酸-水（8：1：1）为展开剂，取出，晾干，紫外光灯（254 nm）下检视，结果见图 7。由此可知，供试品溶液与对照品溶液相应位置上有相同斑点，阴性无干扰。



注：1~3 为供试品，4 为缺夏枯草阴性样品，5 为迷迭香酸对照品。

图 7 夏枯草 TLC 色谱图

Fig. 7 TLC chromatograms of Prunellae Spica

4 HPLC 含量测定

4.1 色谱条件 WondaSil C₁₈-WR 色谱柱（4.6 mm×150 mm，5 μm ）；流动相甲醇（A）-0.05% 磷酸（B），梯度洗脱（0~40 min，8%~70% A）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长 220 nm；进样量 10 μL 。色谱图见图 8。

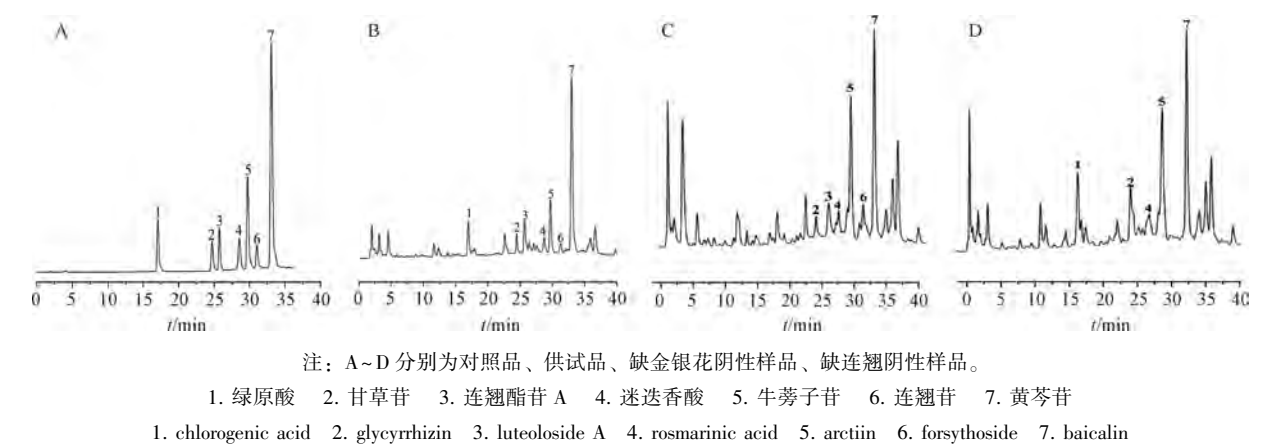


图 8 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 8 HPLC chromatograms of various constituents

4.2 对照品溶液制备 称取各对照品适量，置于 50 mL 量瓶中，甲醇溶解，定容，制成每 1 mL 分别含绿原酸 1.25 mg、连翘苷 0.75 mg、连翘酯苷 A 1.50 mg、牛蒡子苷 3.50 mg、迷迭香酸 0.50 mg、黄芩苷 5.00 mg、甘草苷 0.50 mg 的溶液，即得。

4.3 供试品溶液制备 称取本品 10 g，加 25 mL 甲醇，密塞，称定质量，超声（功率 500 W，频率 40 kHz，温度 25 ℃）提取 60 min，放冷，甲醇补足减失的质量，4 000 r/min（半径 10 cm）离心 10 min，取上清液至 25 mL 量瓶中，定容，0.45 μm 微孔滤膜过滤，即得。

4.4 阴性样品溶液制备 按照处方比例与工艺条件，分别制成缺金银花、缺连翘的阴性样品，按“4.3”项下方法制备，即得。

4.5 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“4.1”项色谱条件下进样测定。结果，对照品溶液中绿原酸、甘草苷、连翘酯苷 A、迷迭香酸、牛蒡子苷、连翘苷、黄芩苷保留时间分别为 16.892、24.577、25.602、29.225、29.656、30.945、32.898 min，而供试品溶液中的分别为 16.932、24.665、25.627、29.215、29.624、30.906、32.879 min，其他成分无干扰，表明该方法专属性良好。

4.6 线性关系考察 分别吸取“4.2”项下对照品溶液 0.4、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL，置于 10 mL 量瓶中，甲醇定容，在“4.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 14，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

4.7 精密度试验 吸取“4.2”项下对照品溶液

表 14 各成分线性关系

Tab. 14 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(mg·mL ⁻¹)
绿原酸	$Y=2.24\times10^7X-5.12\times10^5$	0.999 7	0.050 0~0.750 0
连翘苷	$Y=1.06\times10^7X-8.12\times10^4$	0.999 8	0.030 0~0.450 0
连翘酯苷A	$Y=1.73\times10^7X-1.06\times10^4$	0.999 8	0.060 0~0.900 0
牛蒡子苷	$Y=4.68\times10^7X-5.33\times10^5$	0.999 7	0.140 0~2.100 0
迷迭香酸	$Y=1.07\times10^7X-8.19\times10^5$	0.999 8	0.020 0~0.300 0
黄芩苷	$Y=1.11\times10^8X-3.85\times10^5$	0.999 8	0.200 0~3.000 0
甘草苷	$Y=1.32\times10^7X-2.80\times10^5$	0.999 8	0.020 0~0.300 0

10 μL，在“4.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、牛蒡子苷、迷迭香酸、黄芩苷、甘草苷峰面积 RSD 分别为 1.61%、1.34%、1.38%、2.25%、2.34%、1.40%、2.39%，表明仪器精密度良好。

4.8 重复性试验 称取同一批本品 10 g，按“4.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“4.1”项色谱条件下进样测定，测得绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、牛蒡子苷、迷迭香酸、黄芩苷、甘草苷含量 RSD 分别为 1.53%、2.28%、2.68%、1.96%、2.38%、2.24%、1.92%，表明该方法重复性良好。

4.9 稳定性试验 吸取“4.3”项下同一份供试品溶液，于 0、3、6、12、18、24 h 在“4.1”项色谱条件下进样测定，测得绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、牛蒡子苷、迷迭香酸、黄芩苷、甘草苷峰面积 RSD 分别为 0.80%、0.12%、0.83%、1.22%、1.34%、0.61%、2.07%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

4.10 加样回收率试验 称取各成分含量已知的本品 6 份，每份 5 g，置于具塞锥形瓶中，加入一定量对照品，按“4.3”项下方法制备供试品溶液，在“4.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。

结果, 绿原酸、连翘苷、连翘酯苷 A、牛蒡子苷、迷迭香酸、黄芩苷、甘草苷平均加样回收率分别为 97.48%、100.85%、100.31%、101.04%、97.52%、98.92%、100.41%, RSD 分别为 1.52%、1.42%、

2.68%、2.42%、1.60%、2.77%、2.39%。
4.11 样品含量测定 取 15 批样品, 按“4.3”项下方法制备供试品溶液, 在“4.1”项色谱条件下进样测定, 计算含量, 结果见表 15。

表 15 各成分含量测定结果 (mg/g)

Tab. 15 Results for content determination of various constituents (mg/g)

编号	绿原酸	连翘苷	连翘酯苷 A	牛蒡子苷	迷迭香酸	黄芩苷	甘草苷
1	0.934 5	0.971 8	1.132 4	1.127 4	1.942 4	0.500 3	0.960 8
2	0.931 0	0.727 1	1.051 3	0.757 4	1.218 9	0.446 0	0.606 9
3	0.892 3	0.806 6	1.117 8	0.451 8	0.727 9	0.506 0	0.575 9
4	0.731 2	0.688 0	0.915 6	0.371 2	1.524 4	0.413 5	0.338 2
5	0.846 9	0.930 0	1.583 9	1.032 3	1.241 2	0.480 8	0.797 6
6	0.919 0	0.976 0	1.085 1	0.842 2	0.837 5	0.472 9	0.915 3
7	0.808 4	1.398 0	1.693 7	0.795 2	1.133 1	0.438 0	1.034 7
8	0.558 3	0.500 5	0.989 7	0.632 7	0.792 0	0.287 8	0.601 2
9	1.025 6	1.081 9	1.171 4	0.919 3	0.965 4	0.542 0	0.927 0
10	0.814 5	0.842 3	0.928 9	0.733 5	0.712 4	0.412 8	0.784 6
11	0.951 0	0.992 4	1.085 2	0.852 4	0.895 3	0.482 5	0.892 7
12	0.566 1	0.510 8	0.593 6	0.604 1	0.971 3	0.273 6	0.470 9
13	0.749 6	0.664 7	1.354 2	0.883 0	0.910 9	0.427 7	0.563 7
14	0.794 7	0.844 0	0.941 6	0.728 1	0.848 8	0.417 2	0.774 0
15	0.781 6	0.831 5	0.911 7	0.489 0	0.788 3	0.398 1	0.792 1
平均值	0.820 3	0.851 1	1.103 7	0.748 0	1.034 0	0.433 3	0.735 7

5 HPLC 指纹图谱建立

5.1 供试品溶液制备 同“4.3”项。

5.2 方法学考察

5.2.1 精密度试验 取供试品溶液 (S1) 适量, 在“4.1”项色谱条件下进样测定 5 次, 测得各共有峰峰面积 RSD 均小于 2.17%, 表明仪器精密度良好。

5.2.2 稳定性试验 取供试品溶液 (S1) 适量, 于 0、2、4、6、12、24 h 在“4.1”项色谱条件下进样测定, 测得各共有峰峰面积 RSD 均小于 2.29%, 表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

5.2.3 重复性试验 按“4.3”项下方法平行制备 5 份供试品溶液 (S1), 在“4.1”项色谱条件下进样测定, 测得各共有峰峰面积 RSD 均小于 2.36%, 表明该方法重复性良好。

5.3 图谱生成

5.3.1 共有峰确认 取 15 批样品, 按“4.3”项下方法制备供试品溶液, 在“4.1”项色谱条件下进样测定, 选择 HPLC 色谱图中 23 个分离度较好、含量较高的色谱峰作为共有峰。

5.3.2 相似度分析 将“5.3.1”项下 HPLC 色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版), 设定时间窗宽度为 0.1, S1 为参照图谱, 进行多点校正后自动匹配, 生成指纹图谱

(图 9), 并计算相似度, 结果见表 16。由此可知, 15 批样品指纹图谱与对照图谱之间的相似度均大于 0.98, 表明其所含成分一致, 制剂质量稳定。

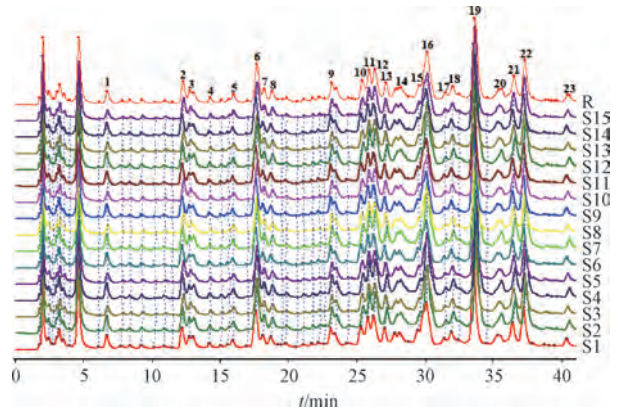


图 9 15 批清咽止痛颗粒 HPLC 指纹图谱

Fig.9 HPLC fingerprints for 15 batches of Qingyan Zhitong Granules

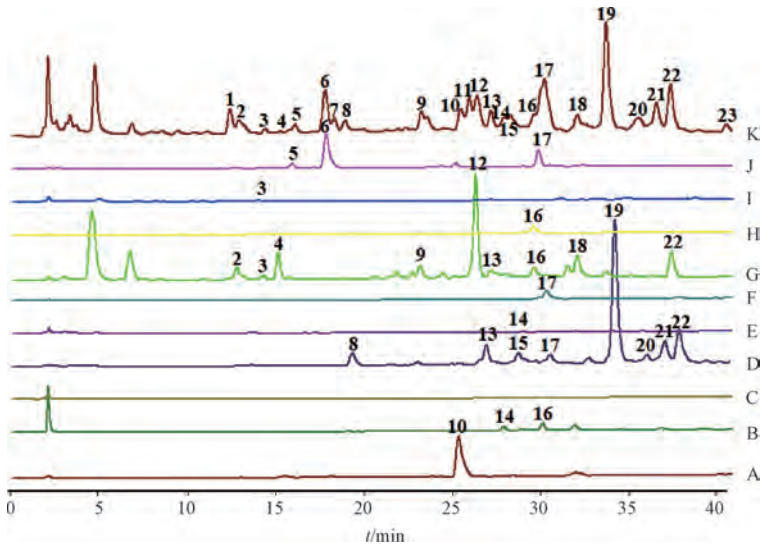
5.4 共有峰指认与归属

5.4.1 指认 通过与对照品比对, 确认 6 号峰为绿原酸, 10 号峰为甘草苷, 12 号峰为连翘酯苷 A, 16 号峰为迷迭香酸, 17 号峰为牛蒡子苷, 18 号峰为连翘苷, 19 号峰为黄芩苷。

5.4.2 归属 取 15 种单味药材的供试品溶液适量, 在“4.1”项色谱条件下进样测定, 结果见图 10。再对共有峰保留时间、峰形等因素进行考察,

表 16 相似度评价结果
Tab. 16 Results for similarity evaluation

编号	相似度														
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15
S1	1.000														
S2	0.936	1.000													
S3	0.985	0.987	1.000												
S4	0.964	0.982	0.994	1.000											
S5	0.985	0.997	0.985	0.985	1.000										
S6	0.977	0.984	0.979	0.989	0.996	1.000									
S7	0.983	0.996	0.987	0.997	0.998	0.997	1.000								
S8	0.985	0.998	0.995	0.977	0.981	0.996	0.984	1.000							
S9	0.968	0.981	0.985	0.983	0.986	0.998	0.985	0.989	1.000						
S10	0.985	0.986	0.996	0.985	0.995	0.981	0.993	0.998	0.996	1.000					
S11	0.996	0.994	0.983	0.968	0.994	0.986	0.985	0.985	0.998	0.995	1.000				
S12	0.984	0.985	0.996	0.977	0.993	0.984	0.977	0.996	0.984	0.997	0.986	1.000			
S13	0.985	0.993	0.986	0.983	0.984	0.993	0.983	0.998	0.985	0.977	0.985	0.984	1.000		
S14	0.993	0.984	0.994	0.985	0.985	0.985	0.985	0.981	0.993	0.983	0.998	0.985	0.996	1.000	
S15	0.985	0.986	0.987	0.968	0.993	0.983	0.968	0.986	0.985	0.985	0.985	0.998	0.995	0.981	1.000
R	0.984	0.991	0.993	0.996	0.985	0.985	0.998	0.995	0.980	0.968	0.994	0.985	0.986	0.993	0.984



注：A~K 分别为甘草、薄荷、僵蚕、黄芩、桔梗、牛蒡子、连翘、夏枯草、玄参、金银花、清咽止痛颗粒。

图 10 单味药材 HPLC 色谱图
Fig. 10 HPLC chromatogram of single medicinal materials

确定制剂、药材指纹图谱的相关性，结果见表 17。

表 17 共有峰归属结果

Tab. 17 Results for common peak assignment	
药材	共有峰
金银花	5、6、17
连翘	2、3、4、9、12、13、16、18、22
牛蒡子	17
薄荷	14、16
夏枯草	16
药材	共有峰
僵蚕	—
玄参	3
黄芩	8、13、15、17、19、20、21、22
桔梗	14
甘草	10

6 讨论与结论

本实验发现，清咽止痛颗粒最优成型工艺为药

辅比 1：1，乙醇体积分数 95%，乙醇用量 3.75 mL，干燥温度 67.5℃，干燥时间 10 min；5 批样品物理特征图谱相似度均大于 0.99，四维评价体系（堆积性、稳定性、均一性、流动性）证实了工艺的稳定性，符合 ICH Q8/Q9、GMP 标准。在 TLC 定性鉴别中，金银花采用硅胶 G 板与双展开系统（乙酸丁酯-甲酸-水/异丙醇-乙酸乙酯-冰醋酸-水）优化绿原酸斑点，连翘通过二次展开技术（三氯甲烷-甲醇/三氯甲烷-甲醇-甲酸）提升连翘苷分离度，牛蒡子以三氯甲烷-甲醇-水与三氯甲烷-

甲醇-甲酸为展开系统，以紫外显色增强特征性，夏枯草结合双展开系统（环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲酸/乙酸乙酯-甲酸-水）验证迷迭香酸，结果阴性均无干扰。选取指标成分时，本实验融合中医传统理论与现代药效研究，建立绿原酸（抗氧化、抗菌）^[13-14]、连翘苷和连翘酯苷 A（协同抗病原）^[15-17]、牛蒡子苷（抗病毒、抗炎）^[18]、迷迭香酸（抑制 COX-2）^[19-20]、黄芩苷（调控 NF-κB 通路抗病毒）^[21-22]、甘草苷（免疫调节）^[23] 及干膏得率的多维度评价体系。HPLC 含量测定时，选择绿原酸（0.56~1.03 mg/g）、牛蒡子苷（0.37~1.13 mg/g）及黄芩苷（0.27~0.54 mg/g）作为指标成分，暂定三者含量限度为每 1 g 清咽止痛颗粒含绿原酸≥0.6 mg、牛蒡子苷≥0.5 mg、黄芩苷≥0.3 mg^[12]。15 批清咽止痛颗粒 HPLC 指纹图谱中有 23 个稳定的共有峰（迁移时间波动<3%），相似度均大于 0.98，但辅料麦芽糊精和淀粉可能会引起部分色谱峰发生偏移，故需优化检测方法，同时僵蚕因无特征峰未纳入，而其余 9 味中药关联明确。本实验通过工艺优化与“TLC-HPLC-指纹图谱”多维质控体系，解决了清咽止痛颗粒质量不稳定、检测特异性不足等问题，为该制剂工业化生产与临床精准用药提供技术支撑。

参考文献：

[1] 张 锐, 顾志荣, 吕 鑫, 等. 基于球面对称设计和 GA-BP 模型结合 CRITIC 优化清咽止痛方提取工艺[J]. 中药材, 2022, 45(7): 1683-1690.

[2] Li Z J, Zhang H Y, Ren L L, *et al.* Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5026.

[3] Mustafa Z, Ghaffari M. Diagnostic methods, clinical guidelines, and antibiotic treatment for group A streptococcal pharyngitis; a narrative review[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 563627.

[4] Rafei R, Iaali R A L, Osman M, *et al.* A global snapshot on the prevalent macrolide-resistant emm types of Group A *Streptococcus* worldwide, their phenotypes and their resistance marker genotypes during the last two decades: A systematic review[J]. *Infect Genet Evol*, 2022, 99: 105258.

[5] Wood J, Toll E C, Hall F, *et al.* Juvenile recurrent parotitis: review and proposed management algorithm[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2021, 142: 110617.

[6] Hviid A, Hansen J V, Frisch M, *et al.* Measles, mumps,

rubella vaccination and autism: a nationwide cohort study[J]. *Ann Intern Med*, 2019, 170(8): 513-520.

[7] Vassal O, Bernet C, Wallet F, *et al.* Bacterial parotitis in an immunocompromised patient in adult ICU[J]. *Ann Fr Anesth Reanim*, 2013, 32(9): 615-617.

[8] Nielsen N Ø, Nørtinger C, Greve T, *et al.* Cervical suppurative lymphadenitis in children: microbiology, primary sites of infection, and evaluation of antibiotic treatment[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2022, 279(6): 3053-3062.

[9] Zhang X Z, Gu J Y, Cao L, *et al.* Network pharmacology study on the mechanism of traditional Chinese medicine for upper respiratory tract infection[J]. *Mol Biosyst*, 2014, 10(10): 2517-2525.

[10] 陀海燕, 曾佩琴, 谭梹恩, 等. 星点效应面法优选促孕颗粒的成型工艺[J]. 中药材, 2020, 43(1): 161-164.

[11] 靳贝贝, 梁惠珍, 裴香萍, 等. 门氏护胃颗粒的薄层鉴别和含量测定研究[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2758-2761.

[12] 陈震尧, 陈金英, 姚伟生, 等. 乌芪舒筋通络片质量标准的研究[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(8): 1133-1136.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 230-232.

[14] 韦晶玥, 罗诗雯, 冯龄燃, 等. 金银花与山银花活性成分抗炎作用及机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(11): 273-281.

[15] Wang Y Z, Ma Q G, Zheng X K, *et al.* A new forsythenside from *Forsythia suspensa*[J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19(10): 1234-1236.

[16] 景奉堂, 李 峰, 张天屹, 等. 连翘的化学成分与生物活性的最新研究进展[J]. 中药材, 2023, 46(1): 242-251.

[17] 赵咏梅, 齐建红. 甲醇提取连翘苷的工艺优化研究[J]. 陕西农业科学, 2015, 61(2): 22-24.

[18] Wang G M, Ge L, Liu T Y, *et al.* The therapeutic potential of arctigenin against multiple human diseases: A mechanistic review[J]. *Phytomedicine*, 2023, 110: 154647.

[19] Zhao J C, Xu L W, Jin D, *et al.* Rosmarinic acid and related dietary supplements: Potential applications in the prevention and treatment of cancer[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(10): 1410.

[20] Luo C X, Zou L, Sun H J, *et al.* A review of the anti-inflammatory effects of rosmarinic acid on inflammatory diseases[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 153.

[21] Wang J L, Feng X J, Li Z W, *et al.* The flavonoid components of *Scutellaria baicalensis*: biopharmaceutical properties and their improvement using nanoformulation techniques[J]. *Curr Top Med Chem*, 2023, 23(1): 17-29.

[22] 李 伟, 徐 伟. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 中西医结合研究, 2022, 14(3): 193-196.

[23] 杨倩倩, 孟子盈, 王晓禹, 等. 甘草苷的提取纯化和药理作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(4): 12-17.