

金菊五花茶颗粒中山银花检查方法的研究

潘志文, 郭海滨, 陈艺华



广东省佛山市食品药品检验检测中心 (广东佛山 528051)

【摘要】目的 建立超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱 (UPLC-MS/MS) 分析方法, 以灰毡毛忍冬皂苷乙为指标成分, 对金菊五花茶颗粒中可能存在的山银花掺伪行为进行有效鉴别。**方法** 采用 Waters BEH C₁₈ 色谱柱 (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), 以水-乙腈 (均含 0.1% 甲酸) 为流动相梯度洗脱, 流速: 0.3 mL/min, 柱温: 30 °C, 进样量: 2 μL; 采用电喷雾离子源质谱, 负离子扫描多反应监测模式测定。**结果** 灰毡毛忍冬皂苷乙在 0.10~10.00 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r=0.999\ 5$); 加样回收率为 101.31%, RSD 为 2.94% ($n=6$)。30 批样品中, 有 15 批样品检出了灰毡毛忍冬皂苷乙, 其中 4 批的掺伪量超过 3%。**结论** 建立的检查方法灵敏度高、专属性强、快速准确, 可为金菊五花茶颗粒掺伪山银花投料检查提供参考。

【关键词】 金菊五花茶颗粒; 山银花; 灰毡毛忍冬皂苷乙; 超高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法

【中图分类号】 R286.0

【文献标识码】 A

Study on the inspection method of *Lonicerae flos* in Jinju Wuhuacha granules

PAN Zhiwen, GUO Haibin, CHEN Yihua

Foshan Food and Drug Inspection and Testing Center, Foshan 528051, Guangdong Province, China

Corresponding author: CHEN Yihua, Email: 78897486@qq.com

【Abstract】Objective An ultra performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was established to effectively identify the possible adulteration of *Lonicerae Flos* in Jinju Wuhuacha granules with macranthoidin B as the index component. **Methods** The analysis was performed on a 30 °C thermostatic Waters BEH C₁₈ column (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm), with the mobile phase comprising of water-acetonitrile (both containing 0.1% formic acid) flowing at 0.3 mL/min in a gradient elution manner, and the injection volume was 2 μL, and electrospray ionization source was adopted in negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. **Results** Macranthoidin B exhibited a good linear relationship within the concentration range of 0.10 to 10.00 μg/mL, with a correlation coefficient of 0.999 5. The recovery rate was 101.31%, and the RSD was 2.94% ($n=6$). Among the 30 batches of samples, macranthoidin B was detected in 15 batches, and the adulteration level of 4 batches exceeded 3%. **Conclusion** The method is highly sensitive, specific, rapid and accurate, and can provide reference for the inspection of adulterated *Lonicerae Flos* in Jinju Wuhuacha granules.

【Keywords】 Jinju Wuhuacha granules; *Lonicerae Flos*; Macranthoidin B; UPLC-MS/MS

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202606018

基金项目: 广东省药品监督管理局 2025 年药品抽检探索性研究品种 (粤药监办执法〔2024〕260 号)

通信作者: 陈艺华, 主管药师, Email: 78897486@qq.com

<https://yxqy.whuznhmedj.com>

金菊五花茶颗粒收载于原《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第10册^[1],其处方由金银花、木棉花、葛花、野菊花、槐花五味花类中药和一味根茎类中药甘草组成。方中的主药金银花为我国药典收载品种,该品种曾经包含山银花,然而自《中国药典》2005年版起,金银花和山银花2个品种分列,金银花只有忍冬科植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunb.)一种来源,山银花则来源于忍冬科植物灰毡毛忍冬(*Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.)、红腺忍冬(*Lonicera hypoglaucha* Miq.)、华南忍冬(*Lonicera confusa* DC.)及黄褐毛忍冬(*Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng)^[2]。2种药材的形态特征有一定相似度,但山银花的市场价仅约为金银花的一半,故市场上存在将山银花掺入金银花药材中销售以牟利的现象。《中国药典》2025年版一部^[2]已有清开灵注射液、银黄颗粒(丸、片、口服液)、莲花清瘟颗粒(片、胶囊)、双黄连胶囊(滴眼剂)等多个品种收载了以灰毡毛忍冬皂苷乙为指标成分的山银花检查项,国家药品监督管理局亦先后发布了银柴颗粒、小儿咽扁颗粒、清热解毒口服液中灰毡毛忍冬皂苷乙检查项补充检验方法^[3-5],用以加强制剂中金银花投料合规性的检查。上述检验方法均为以蒸发光散射检测器为核心的液相色谱法,补充检验方法则增加了必要时可采用液质联用法对液相色谱测定结果进行验证的文字描述。基于金菊五花茶颗粒处方中金银花的占比不高,单位制剂中金银花原药材含量低的特点(每1 g制剂中约含金银花0.04 g),为考察金菊五花茶颗粒中金银花的投料是否存在掺伪山银花的情况,本研究采用灵敏度和专属性更强的液质联用法对山银花的特征性成分测定开展研究,现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 主要仪器

Xevo-TQ超高效液相色谱-三重四级杆质谱联用仪(美国沃特世公司);XPR10百万分之一微量天平和ME204T万分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-400GKDV超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:160~400 W,频率:40 kHz);H1750台式高速离心机(湘仪离心机仪器有限公司)。

1.2 主要药品与试剂

灰毡毛忍冬皂苷乙对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111814-202106,纯度96.1%);乙腈(批号:F2407M202,色谱级)、甲酸(批号:244337,质谱级)均购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司;水为超纯水;其余试剂为分析纯。

采用来自监督抽样且按现行标准^[1]全项检验合格的各处方药味中药饮片及山银花中药饮片,同时按标准^[2]中金菊五花茶颗粒的处方和制法制备1份金菊五花茶颗粒全方模拟样(代号:S-ql)和2份分别掺入3%、5%山银花的金菊五花茶颗粒掺伪模拟样(代号:S-3%、S-5%);金菊五花茶颗粒样品共30批,样品信息见表1,均为指定品种评价性抽检样品,按标准^[1]检验均合格。

2 方法与结果

2.1 分析条件

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Waters BEH C₁₈色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相A为水,流动相B为乙腈,均含0.1%甲酸,按表2进行梯度洗脱;流速:0.3 mL/min;柱温:30 °C;进样量:2 μL。

2.1.2 质谱条件

离子源:电喷雾离子源;离子源温度:150 °C;毛细管电压:2 kV;脱溶剂气(氮气)流量:800 L/h、温度:500 °C;锥孔气(氮气)流量:50 L/h;碰撞气(氩气)流量:0.15 mL/min;测定模式:负离子扫描;监测模式:多反应监测,母离子(*m/z*)1397.8、定量离子(*m/z*)1073.5,定性离子(*m/z*)603.4和471.4,锥孔电压20 V,碰撞能量依次为30、75、80 eV。

2.2 溶液的制备

2.2.1 系列对照品溶液

精密称取灰毡毛忍冬皂苷乙对照品,用甲醇溶解制成浓度为500 μg/mL的溶液,作为贮备液。精密量取贮备液,用70%乙醇稀释制成0.10、0.50、1.50、2.50、5.00、7.50、10.00 μg/mL的系列对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液

取本品,研细,取约1 g粉末,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇50 mL,称

表 1 金菊五花茶颗粒样品信息
Table 1. Sample information of Jinju Wuhuacha granules

序号	企业所在地	代号	编号	批号	序号	企业所在地	代号	编号	批号
1	广东	A	A1	20240604	16	广东	C	C1	L24C161
2			A2	20241202	17			C2	L24E271
3			A3	20241203	18			C3	L24L081
4			A4	20241206	19			C4	L24L101
5			A5	20250103	20		D	D1	YH0401
6			A6	20250104	21			D2	YH0402
7			A7	20250204	22			D3	YJ0402
8	广东	B	B1	20240501	23			D4	YJ0403
9			B2	20240509	24			D5	ZA0402
10			B3	20240514	25			D6	ZB0401
11			B4	20240516	26	广东	E	E1	2404007
12			B5	20240701	27			E2	2404008
13			B6	20240704	28	广西	F	F1	240304
14			B7	20240807	29	广西	G	G1	240601
15			B8	20240812	30			G2	250103

表 2 梯度洗脱程序
Table 2. Gradient elution program

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0~6	90→55	10→45
6~6.5	55→5	45→95
6.5~8	5	95
8~8.5	5→90	95→10
8.5~10	90	10

定质量，超声处理（功率：400 W，频率：40 kHz）45 min，放冷，再称定质量，用提取溶剂补足减失的质量，摇匀，离心（6 873 × g）10 min，用0.22 μm滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 基质效应和线性关系考察

取金菊五花茶颗粒全方模拟样，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，作为基质溶液。取灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液贮备液，分别用基质溶液和70%乙醇按“2.2.1”项下方法制成系列浓度对照品溶液，并一同按“2.1”项下条件进行测定，以对照品溶液的质量浓度为横坐标（X，μg/mL），相应定量离子对的峰面积为纵坐标（Y）绘制标准曲线。溶剂标准曲线的方程为 $Y=5.178\ 8\times 10^3X-2.189\ 4\times 10^2$ ，基质标准曲线的方程为 $Y=5.141\ 0\times 10^3X-4.6991\times 10^2$ 。2条标准曲线几乎重合，斜率的相对平均偏差为0.37%，各浓度点的基质效应因子最小为0.93，最大为1.02，可视为

无显著基质效应。2条标准曲线的相关系数均为0.999 5，表明线性关系良好。

2.3.2 检测限、定量限考察

取“2.2.1”项下制备的最低浓度点的对照品溶液，逐级稀释，按“2.1”项下条件进样测定，以信噪比3：1对应的浓度作为检测限浓度，以信噪比10：1对应的浓度作为定量限浓度，分别为0.002 μg/mL和0.008 μg/mL。

2.3.3 专属性试验

取金菊五花茶颗粒全方模拟样（灰毡毛忍冬皂苷乙阴性样品）及样品编号为D1的金菊五花茶颗粒（灰毡毛忍冬皂苷乙阳性样品），按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，与“2.2.1”项下制备的对照品溶液一同按“2.1”项下条件进行测定，色谱图见图1，提示金菊五花茶颗粒的本底不含灰毡毛忍冬皂苷乙，附近也无干扰峰。

2.3.4 精密度试验

取“2.2.1”项下制备的系列对照品溶液的中间浓度点对照品溶液，按“2.1”项下的条件连续进样6次，测得灰毡毛忍冬皂苷乙定量离子对峰面积的RSD为1.68%（n=6），表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验

取一批金菊五花茶颗粒（编号：D1），按“2.2.2”项下的方法平行制备6份供试品溶液，与

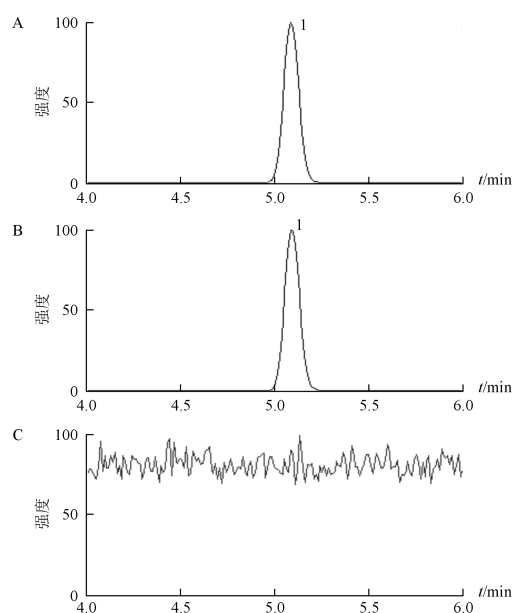


图1 灰毡毛忍冬皂苷乙总离子流色谱图

Figure 1. Total ion chromatogram of macranthoidin B

注: A. 对照品溶液; B. 阳性样品溶液; C. 阴性样品溶液; 1. 灰毡毛忍冬皂苷乙。

“2.2.1”项下制备的系列对照品溶液一同按“2.1”项下的条件依次进样,测得灰毡毛忍冬皂苷乙含量的平均值为0.082 2 mg/g, *RSD*为2.75% ($n=6$),表明方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验

取中间浓度点对照品溶液,置25℃样品仓中,按“2.1”项下的条件分别于0、2、4、6、8、10、12 h时进样,测得灰毡毛忍冬皂苷乙定量离子对峰面积的*RSD*为3.38% ($n=7$),表明对照品溶液在12 h内稳定性良好。

2.3.7 加样回收率试验

取一批金菊五花茶颗粒(编号:D1),平行取样6份,每份取样量为0.5 g,精密称定,按100%水平加入对照品,按“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液,与“2.2.1”项下制备的系列对照品溶液一同按“2.1”项下的条件进样测定,计算回收率。结果灰毡毛忍冬皂苷乙的加样回收率为101.31%,*RSD*为2.94% ($n=6$),回收率结果良好。

2.4 样品测定

取金菊五花茶颗粒全方模拟样、掺3%山银花和5%山银花的金菊五花茶颗粒掺伪模拟样,以及表1所列30批金菊五花茶颗粒抽检样品,按“2.2.2”项下的方法制备供试品溶液,与“2.2.1”项下制备的系列对照品溶液一同按“2.1”项下条件进样测定,计算含量。结果见表3。

表3 样品中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量(mg/g, $n=2$)

Table 3. The content of macranthoidin B in the samples (mg/g, $n=2$)

编号	含量	编号	含量	编号	含量
S-q f	< 0.000 1	B2	< 0.000 1	D1	0.086 7
S-3%	0.044 4	B3	< 0.000 1	D2	0.107 4
S-5%	0.095 1	B4	< 0.000 1	D3	0.028 2
A1	0.001 6	B5	< 0.000 1	D4	0.005 7
A2	0.003 6	B6	< 0.000 1	D5	< 0.000 1
A3	0.006 0	B7	< 0.000 1	D6	< 0.000 1
A4	0.003 3	B8	< 0.000 1	E1	0.000 5
A5	0.001 1	C1	< 0.000 1	E2	0.000 6
A6	0.001 8	C2	< 0.000 1	F1	< 0.000 1
A7	0.002 0	C3	< 0.000 1	G1	0.080 4
B1	< 0.000 1	C4	< 0.000 1	G2	0.116 2

3 讨论

3.1 提取参数选择

参考文献^[6-10]报道,对金菊五花茶颗粒的山银花阳性样品,分别考察了不同提取溶剂、不同提取方法和不同提取时间,根据测定数据将提取方法确定为以70%乙醇作为提取溶剂,超声提取45 min。

3.2 指标成分和监测离子的选择

灰毡毛忍冬皂苷乙是山银花的专属性成分,其作为含金银花制剂中掺伪山银花检查的指标成分已被《中国药典》2025年版一部^[2]及国家药品监督管理局发布的多个药品检查项补充检验方法^[3-5]所采用。灰毡毛忍冬皂苷乙在甲酸水-乙腈体系中主要以 $[M-H]^-$ 和 $[M+Na]^+$ 这2种离子形式存在。文献报道中,该成分监测离子对的母离子以 $[M-H]^-$ 为主^[6, 8-9, 11-12],也有采用 $[M+Na]^+$ 监测的报道^[10, 13-14],采用 $[M+H]^+$ 的较少^[7]。本研究显示,在甲酸水-乙腈体系中,以 $[M-H]^-$ 为监测对象具有较高的响应以及极弱的基质效应。若以 $[M+Na]^+$ 为监测对象,响应约为 $[M-H]^-$ 的1/7,同时基质效应十分明显,溶剂标曲和基质标曲的斜率相差近1倍, $[M+Na]^+$ 在基质中的响应约为溶剂中的一半。若在流动相中添加Na离子, $[M+Na]^+$ 的响应接近不添加Na离子的流动相中 $[M-H]^-$ 的响应,基质效应也有明显改善,但是基质效应和线性还是稍差于不添加Na离子的流动相中的 $[M-H]^-$,故最终确定负离子模式作为灰毡毛忍冬皂苷乙的测定模式。

3.3 液相色谱法可行性探讨

灰毡毛忍冬皂苷乙另一个常用的检测方法为用蒸发光散射检测器检测的液相色谱法,但是每1 g金菊五花茶颗粒中相当于金银花原药材的量仅约为0.04 g,若金银花中掺杂了3%山银花,则其中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量约为0.05 mg/g,含量极低。使用岛津LC-20AT液相色谱仪,以奥泰3300蒸发光散射检测器对灰毡毛忍冬皂苷乙进行检测,进样量为20 μ L时,检测限浓度约为5 μ g/mL,与液质联用法的0.002 μ g/mL相差较大。若采用液相色谱法检测,取样量至少需为液质联用法的5倍才能检出掺杂3%山银花中的灰毡毛忍冬皂苷乙,如需准确测定则还需增加净化浓缩的步骤。

3.4 结果分析

本项目共测定了7家生产企业的30批样品,有15批样品中检出灰毡毛忍冬皂苷乙,其中4批的含量高于掺伪3%山银花模拟样中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量,4批中的2批的含量高于掺伪5%山银花模拟样中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量,提示存在掺伪风险,具体比例需结合各企业实际转移率进一步确证(制备掺伪山银花模拟样所用山银花中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量为5.7%,转移率为80%)。

3.5 小结

综上所述,本研究采用UPLC-MS/MS法测定金菊五花茶颗粒中灰毡毛忍冬皂苷乙的含量,该方法灵敏度高、专属性强、快速准确,可为金菊五花茶颗粒中金银花掺伪山银花投料检查提供参考。

参考文献

- 1 原中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂第10册[S]. 1995: 92.
- 2 中国药典 2025 年版. 一部[S]. 2025: 33-34, 238-239, 793-796, 1043-1047, 1655-1661, 1695-1697.
- 3 国家药品监督管理局. 银柴颗粒中灰毡毛忍冬皂苷乙检查项补充检验方法(BJY201904)[S]. 2019: 7-8.
- 4 国家药品监督管理局. 小儿咽扁颗粒中灰毡毛忍冬皂苷乙检查项补充检验方法(BJY202007)[S]. 2020: 5-7.
- 5 国家药品监督管理局. 清热解毒口服液中金银花皂苷乙检查项补充检验方法(BJY202205)[S]. 2022: 11-12.
- 6 黄晓燕, 罗时, 李荣玮, 等. 银柴颗粒中山银花藤检查方法的研究[J]. 中南药学, 2019, 17(12): 2119-2122. [Huang XY, Luo S, Li RW, et al. Inspection of *Lonicerae Caulis* in Yinchai granules[J]. Central South Pharmacy, 2019, 17(12): 2119-2122.] DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2019.12.022.

- 7 王舒, 姚奕然, 黄赛燕, 等. HPLC-ELSD 和 UPLC-MS/MS 法考察复方金银花颗粒中金银花投料规范性[J]. 药品评价, 2022, 19(24): 1485-1489. [Wang S, Yao YR, Huang SY, et al. Research on standard feeding of *Lonicerae Japonicae Flos* in compound honeysuckle granules by HPLC-ELSD and UPLC-MS/MS[J]. Drug Evaluation, 2022, 19(24): 1485-1489.] DOI: 10.19939/j.cnki.1672-2809.2022.24.04.
- 8 胡凤, 韩志双, 钟姝霞, 等. 小儿咳喘灵颗粒中山银花检查方法的研究[J]. 中国民族民间医药, 2023, 32(23): 41-45. [Hu F, Han ZS, Zhong SX, et al. Study on the inspection method of *Lonicerae Flos* in Xiaoe Kechuanling granules[J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2023, 32(23): 41-45.] DOI: 10.3969/j.issn.1007-8517.2023.23.zgmzmjyzz202323009.
- 9 姜军华, 吴良发, 许妍, 等. 小儿咽扁颗粒中掺伪山银花检验方法研究[J]. 中国药事, 2023, 37(4): 443-449. [Jiang JH, Wu LF, Xu Y, et al. Study on the test method of adulterated *Lonicerae Flos* in Xiaoe Yanbian granule[J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2023, 37(4): 443-449.] DOI: 10.16153/j.1002-7777.2023.04.011.
- 10 潘志文, 黄婉锋, 郭海滨, 等. 基于安全监管的维 C 银翘片中银花的含量测定及投料真实性研究[J]. 中南药学, 2026, 24(3): 166-172. [Pan ZW, Huang WF, Guo HB, et al. Content determination and feedstock authenticity of *Lonicerae flos* in vitamin C Yinqiao tablets based on safety supervision[J]. Central South Pharmacy, 2026, 24(3): 166-172.] DOI: 10.7539/j.issn.1672-2981.2026.03.024.
- 11 郑文燕, 李哲, 冯启宏, 等. HPLC 和 UPLC-MS/MS 法考察清热解毒口服液中金银花投料规范性[J]. 中国药师, 2022, 25(1): 189-193. [Zheng WY, Li Z, Feng QH, et al. Research on standard feeding of *Lonicerae Japonicae Flos* in Qingre Jiedu oral solution by HPLC and UPLC-MS/MS[J]. China Pharmacist, 2022, 25(1): 189-193.] DOI: 10.19962/j.cnki.issn1008-049X.2022.01.038.
- 12 黄招光, 薛阳, 周云峰, 等. 银翘解毒片(胶囊)中灰毡毛忍冬皂苷乙的检查研究[J]. 光明中医, 2024, 39(2): 278-280, 287. [Huang ZG, Xue Y, Zhou YF, et al. Study on the Examination of honeysuckle saponin B in Yinqiao Jiedu tablets (capsules) [J]. Guangming Journal of Chinese Medicine, 2024, 39(2): 278-280, 287.] DOI: 10.3969/j.issn.1003-8914.2024.02.020.
- 13 郭娅, 王文婷, 何世新. 银翘解毒丸中山银花替代金银花投料掺假研究[J]. 海峡药学, 2022, 34(11): 44-47. [Guo Y, Wang WT, He SX. Identify research on YinQiao JieDu pills in *Lonicerae Flos* alternative *Lonicerae Japonicae Flos*[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2022, 34(11): 44-47.] DOI: 10.3969/j.issn.1006-3765.2022.11.010.
- 14 阎睿, 贺灵芝, 熊有明, 等. UPLC-MS 法鉴别银翘解毒类制剂中山银花投料情况[J]. 中成药, 2022, 44(12): 3987-3991. [Yan R, He LZ, Xiong YM, et al. Identification of *Lonicerae Flos* ingredients in Yinqiao Jiedu preparations using UPLC-MS method[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(12): 3987-3991.] DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.12.041.

收稿日期: 2026 年 06 月 05 日 修回日期: 2026 年 07 月 07 日

本文编辑: 周璐敏 洗静怡