

藿香正气胶囊质量评价

杨小平
(漳州片仔癀药业股份有限公司, 福建省片仔癀天然医药研发企业重点实验室, 福建 漳州 363000)

摘要: **目的** 评价藿香正气胶囊质量。**方法** 建立 HPLC 指纹图谱, 分析采用 Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.2% 甲酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 260 nm, 再进行正交偏最小二乘方判别分析 (OPLS-DA)。**结果** 12 批样品指纹图谱中有 7 个共有峰, 相似度 0.695~0.996, 不同企业生产的样品质量存在一定差异, 2 个主要差异的特征峰为 4 号峰 (甘草酸铵) 和 2 号峰 (陈皮)。**结论** 该方法简便、稳定、准确, 可用于藿香正气胶囊的质量控制。

关键词: 藿香正气胶囊; 质量评价; HPLC 指纹图谱; 正交偏最小二乘方判别分析 (OPLS-DA)

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)06-1982-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.034

藿香正气胶囊由广藿香、紫苏叶、白芷、炒白术、陈皮、法半夏、姜厚朴、茯苓、桔梗、甘草等 13 味药材组成^[1], 具有理气和中、解表化湿之功效, 可用于治疗感冒、呕吐、泄泻和中暑, 被列入《新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第四版)》医学观察期推荐用药^[2], 目前关于该制剂中指标成分检测方法的报道较多, 但尚无指纹图谱相关报道^[3-9]。为了更全面地反映藿香正气胶囊所含成分的种类, 弥补检测单一成分在质量控制方面的不足, 本实验建立该制剂 HPLC 指纹图谱, 并结合化学计量学对其进行检测, 以期为其质量控制与评价提供参考^[10]。

1 材料

1.1 仪器 Waters e2695 型高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); XS204 型电子天平 (万分之一)、XPR205/A 型电子天平 (十万分之一) [梅特勒-托利多 (上海) 有限公司]; KQ5200E 型台式超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Direct-Q5 UV kit 型自动纯水机 (美国 Millipore 公司)。

1.2 试剂与药物 橙皮苷 (批号 110721-202220, 纯度 97.2%)、甘草酸铵 (批号 110731-202122, 纯度 94.4%)、欧前胡素 (批号 110826-202219, 纯度 99.0%)、厚朴酚 (批号 110729-202015, 纯度 99.0%)、和厚朴酚 (批号 110730-201915, 纯度 99.8%) 对照品均购于中国食品药品检定研究院。藿香正气胶囊来源于 12 家生产企业 (编号 A1~A36), 具体见表 1。乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱 (5 μm, 4.6 mm×250 mm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相乙腈 (A) -0.2% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~10 min,

表 1 样品信息

编号	企业	编号	企业	编号	企业
A1	药企 A	A13	药企 A	A25	药企 B
A2	药企 A	A14	药企 A	A26	药企 A
A3	药企 A	A15	药企 A	A27	药企 C
A4	药企 A	A16	药企 A	A28	药企 D
A5	药企 A	A17	药企 A	A29	药企 E
A6	药企 A	A18	药企 A	A30	药企 F
A7	药企 A	A19	药企 A	A31	药企 G
A8	药企 A	A20	药企 A	A32	药企 H
A9	药企 A	A21	药企 A	A33	药企 I
A10	药企 A	A22	药企 A	A34	药企 J
A11	药企 A	A23	药企 A	A35	药企 K
A12	药企 A	A24	药企 A	A36	药企 L

5%~10% A; 10~20 min, 10%~15% A; 20~30 min, 15% A; 30~35 min, 15%~20% A; 40~60 min, 20%~55% A; 60~80 min, 55% A; 80~85 min, 55%~100% A); 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 260 nm。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 称取各对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含橙皮苷、甘草酸铵、欧前胡素、厚朴酚、和厚朴酚各 200 μg 的溶液, 即得^[11]。

2.2.2 供试品溶液 称取本品粉末约 1.0 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 20 mL 80% 甲醇, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 80% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得^[12-13]。

2.2.3 阴性样品溶液 根据处方比例和工艺, 分别去除陈皮、甘草和法半夏、厚朴和白芷, 制成相应阴性样品, 按“2.2.2”项下方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

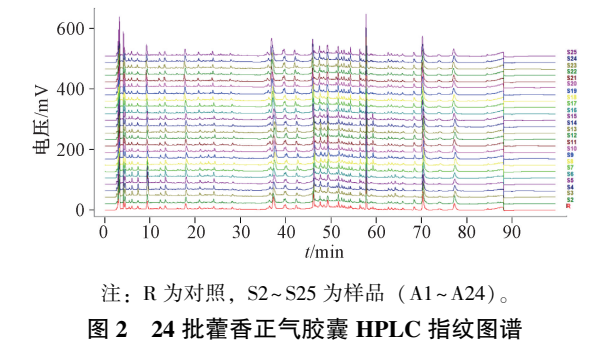
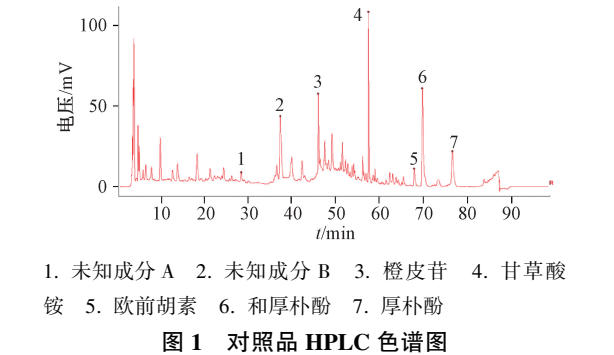
2.3.1 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液, 在

“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，每次 10 μ L，测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积 RSD 均小于 2.0%，表明仪器精密度良好^[14]。

2.3.2 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积 RSD 均小于 2.0%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

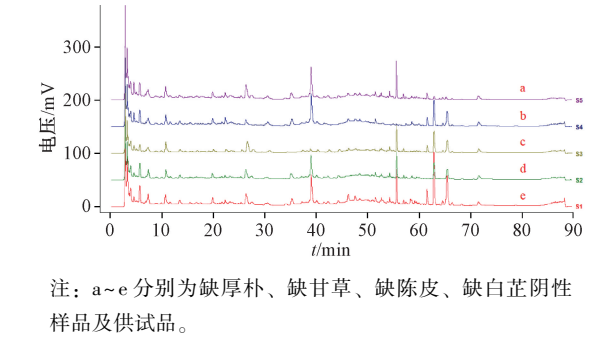
2.3.3 重复性试验 取本品 6 份，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得各共有峰相对保留时间 RSD 均小于 1.0%，相对峰面积 RSD 均小于 2.0%，表明该方法重复性良好。

2.4 图谱生成 将 24 批样品 (A1~A24) 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，将相关数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”，以 S1 为参照图谱，设定时间窗宽度为 0.50 min，采用多点校正法自动进行 Mark 峰匹配，中位数法生成图谱^[15-16]，见图 1~2。



2.5 共有峰归属 取“2.2.1”至“2.2.3”项下的对照品、供试品 (A1)、阴性样品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 3，根据“2.4”项下结果共标定 7 个共有峰，其中 3 号峰为橙皮苷，4 号峰为甘草酸铵，5 号峰为欧前胡素，6 号峰为和厚朴酚，7 号峰为厚朴酚，2 号峰来源于陈皮。再按“2.2.2”项下方法制备水提取供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，经阴性样品及 HPLC 指纹图谱比对，发现 1 号峰来源于水提药材成分^[17]。

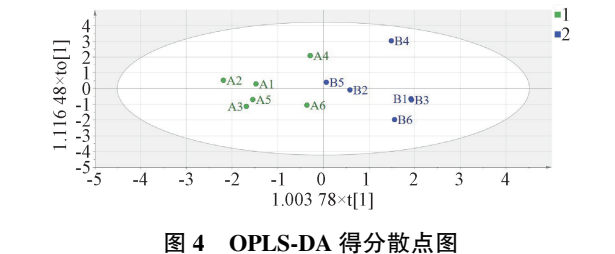
2.6 相似度分析 将 12 批样品 (A25~A36) 相关数据和图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”，计算其



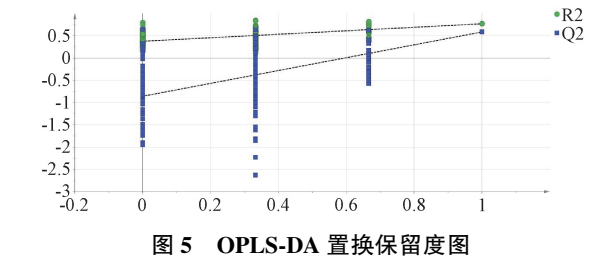
与对照图谱的相似度，结果见表 2。由此可知，各批样品相似度在 0.695~0.996 范围内，其中 6 批大于 0.90，6 批小于 0.90，表明不同企业生产的制剂质量存在一定差异^[18]。

表 2 相似度测定结果					
编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
A25	0.953	A29	0.936	A33	0.930
A26	0.996	A30	0.695	A34	0.968
A27	0.704	A31	0.788	A35	0.755
A28	0.832	A32	0.893	A36	0.903

2.7 化学计量学研究 将“2.6”项下相似度大于 0.9 的样品分为 A 组，相似度小于 0.9 的样品分为 B 组，以共有峰峰面积为因变量，采用 SIMCA14.1 软件进行正交偏最小二乘方判别分析 (OPLS-DA)，结果见图 4。由此可知，模型解释率参数 R^2X 为 0.604， R^2Y 为 0.764，预测参数 Q^2 为 0.581，均满足软件模型拟合结果可接受值 (>0.5) 要求，表明模型稳定可靠。



为了避免模型过度拟合而出现的假阳性结果，本实验通过 200 次置换检验对模型进行验证，结果见图 5。由此可知，纵轴与 Q^2 回归线相交值在 0 以下，表明该模型有效，无过度拟合^[19]。



模型中变量投影重要度 (VIP) 能直观反映差异标志物，而且其数值越大，组间差异影响权重越大。本实验以

VIP 值>1 为标准,筛选出造成组间差异的主要色谱峰为 4 号峰(甘草酸铵)和 2 号峰(陈皮),见图 6。

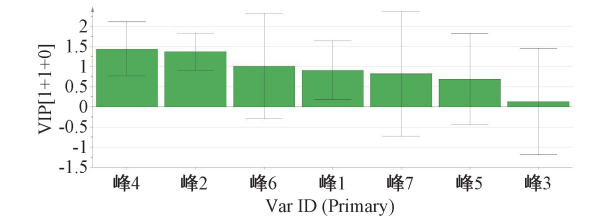


图 6 OPLS-DA VIP 值图

3 讨论与结论

为了充分获取藿香正气胶囊中的有效成分,全面反映该制剂质量,本实验以甘草酸铵为参照峰,不同条件下有效成分峰个数及总峰面积为评价指标,对提取方法、提取溶剂、提取溶剂用量、提取时间进行考察,最终确定为“2.2.2”项下供试品溶液制备方法^[20]。

目前,藿香正气胶囊生产批文(共 38 个)和生产企业较多,但关于该制剂质量方面的研究较少,而且集中在指标成分检测,指纹图谱仍是空白^[3-9]。因此,本实验收集了 12 家企业共 36 批藿香正气胶囊,建立该制剂 HPLC 指纹图谱,并对其进行相似度分析,发现不同企业生产的样品质量存在差异,再通过 OPLS-DA 分析筛选出质量差异差异标志物,分别为 4 号峰(甘草酸铵)和 2 号峰(陈皮)^[21],即主要来源于甘草、陈皮加水提取,提示不同企业生产过程中可能存在生产工艺、药材质量不一致等问题,故建议应严格把控药材质量和生产工艺,以期保证产品质量^[22]。

另外,藿香正气胶囊组方药材多,成分复杂,其中 3 味采用醇提取,9 味采用水提取。本实验所指认的 5 个特征峰中来自醇提药味的占比较大,今后可对水提药味所含成分作进一步研究,以期更全面地反映该制剂的质量。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第十一册)[S]. 1996: 212.

[2] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)[R]. 2020.

[3] 吴丽璇. 反相高效液相色谱法测定藿香正气胶囊中厚朴酚及和厚朴酚的含量[J]. 海峡药学, 2005, 17(6): 92-94.

[4] 吴春敏,刘洪旭,康国森. 藿香正气胶囊质量标准研究[J]. 海峡药学, 2004, 16(4): 82-86.

[5] 翁雪萍,李惠敏. 藿香正气胶囊的质量标准研究[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 17(2): 121-124.

[6] 谷海玲. 高效液相色谱法测定藿香正气胶囊中橙皮苷含量

的分析[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(11): 246-247.

[7] 罗文敏,白 杨,陈会明,等. HPLC 法同时测定藿香正气胶囊中 8 个主要成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(9): 1776-1780.

[8] 王建光,王旭文,王潞娜. HPLC 法测定藿香正气胶囊中橙皮苷含量[J]. 世界中西医结合杂志, 2013, 8(9): 886-888.

[9] 王 婧. 可见分光光度法测定藿香正气胶囊中白术总黄酮的含量研究[J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(9): 25-27.

[10] 程 伟,薛文静,陈新梅,等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的不同产地雪菊质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(11): 1444-1449.

[11] 杨增亮,刘学良,苏 媛,等. “蒂达”类藏药川西獐牙菜的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中南药学, 2023, 21(6): 1625-1629.

[12] 祝 磊,郑 佳,黄浩洲,等. HPLC 法同时测定双辛鼻窦炎颗粒中 4 种有效成分的含量[J]. 广东化工, 2023, 50(12): 210-212; 215.

[13] 郭 威,孙 蓉,王 亮,等. 基于指纹图谱和 OPLS-DA 的越南和国产土茯苓差异性化合物探索[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 62-67.

[14] 张金秋,边 雨,曹玉春,等. 刺五加标准汤剂制备及质量标准研究[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(1): 56-61.

[15] 陈宗良,张妍妍,沈子博,等. 藿香正气水 UPLC 指纹图谱及相关性研究[J]. 中国药师, 2022, 25(7): 1255-1259.

[16] 穆开朗,刘育辰,刘 刚,等. 基于指纹图谱-化学计量分析-网络药理学的白及饮片质量标志物研究[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(3): 404-413.

[17] 颜瑞琪,周珈宇,栗建明,等. 基于聚类分析和主成分分析的罗汉果 HPLC 指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(10): 49-55.

[18] 陈文莉,李 蕊,陈瑞鑫,等. 基于 UPLC 指纹图谱和化学计量学的不同熏硫程度白芷质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2943-2949.

[19] 邵淑贤,徐梦婷,林燕萍,等. 基于电子鼻与 HS-SPME-GC-MS 技术对不同产地黄观音乌龙茶香气差异分析[J]. 食品科学, 2023, 44(4): 232-239.

[20] 李 妍,何文媛,王康宇,等. 基于 HPLC 多指标成分测定及指纹图谱多模式识别方法的北细辛质量分析[J]. 中草药, 2022, 53(1): 238-243.

[21] 元晓静. 基于指纹图谱结合化学计量学的香砂胃肾颗粒质量评价[J]. 中国药业, 2022, 31(23): 88-91.

[22] 肖琳婧,秦雪玲,龙 琴,等. 高效液相色谱指纹图谱结合化学计量学评价上清丸的质量[J]. 中南药学, 2023, 21(8): 2163-2169.