

高效液相色谱指纹图谱结合化学模式识别评价伤风停胶囊的质量

何艳¹, 刘冠琼², 胡小祥² (1. 湘南学院药学院, 湖南 郴州 423099; 2. 郴州市食品药品检验检测中心, 湖南 郴州 423002)

摘要: **目的** 建立伤风停胶囊高效液相色谱(HPLC)指纹图谱, 并结合化学模式识别技术对其进行质量评价。**方法** 采用 Thermo Acclaim C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸溶液(含 0.1% NH₄Cl)为流动相进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 30 ℃, 检测波长为 210、254 nm, 进样量: 10 μL, 建立伤风停胶囊的 HPLC 指纹图谱。采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012.130723 版)建立指纹图谱共有模式和计算相似度, 结合聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)以及正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)对伤风停胶囊进行质量评价和差异分析。**结果** 建立了伤风停胶囊的 HPLC 指纹图谱, 共确定 23 个共有峰, 指认了盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷、甘草酸、欧前胡素和异欧前胡素 6 个共有峰; 14 批样品相似度均大于 0.988, CA、PCA 和 OPLS-DA 结果显示 14 批样品按照生产年份分为 2 类, 并筛选出 5 个质量差异性标志物。**结论** 所建立的方法简单、准确, 可用于伤风停胶囊批次间稳定性控制和质量评价。

关键词: 伤风停胶囊; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 化学模式识别; 差异性标志物

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)10-1513-06

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.10.14

Quality Evaluation of *Shangfengting* Capsules by HPLC Fingerprint and Chemical Pattern Recognition

HE Yan¹, LIU Guanqiong², HU Xiaoxiang² (1. School of Pharmacy, Xiangnan University, Chenzhou 423099 Hunan, China; 2. Chenzhou Institute Center for Food and Drug Control, Chenzhou 423002 Hunan, China)

Abstract: **Objective** To establish the high performance liquid chromatography(HPLC) fingerprint for *Shangfengting* capsules and evaluate the drug combining with chemical pattern recognition. **Methods** The HPLC fingerprint analysis was performed on a 30 ℃ thermostatic Thermo Acclaim C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase consisting of acetonitrile(0.1% phosphoric acid solution containing 0.1% NH₄Cl) flowing at 1.0 mL·min⁻¹ in a gradient elution manner. The detection wavelengths were set at 210 nm and 254 nm, and the injection volume was 10 μL. The common pattern and similarity of fingerprint were established and calculated using Traditional Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System (2012.130723 edition). Cluster analysis(CA), principal component analysis(PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis(OPLS-DA) were used to evaluate the quality and analyze the differences of *Shangfengting* capsules from different batches. **Results** The HPLC fingerprint of *Shangfengting* capsules was established and 23 common peaks were found. Six common peaks (ephedrine hydrochloride, pseudoephedrine hydrochloride, hesperidin, glycyrrhizic acid, imperatorin and isoimperatorin) were identified. The similarities of 14 batches of samples were all above 0.988. 14 batches of samples were divided into two categories according to year of production by CA, PCA and OPLS(DA), and five differential markers were found. **Conclusion** The method was simple and accurate, which can be used for the stability control between different batches and quality evaluation of *Shangfengting* capsules.

Keywords: *Shangfengting* capsules; high performance liquid chromatography; fingerprint; chemical pattern recognition; differential marker

收稿日期: 2021-04-21

作者简介: 何艳, 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 中药制剂与质量分析。Email: 526378710@qq.com。通信作者: 胡小祥, 男, 硕士, 主管技师, 研究方向: 中药质量分析与标准研究。Email: hxx3318@126.com。

基金项目: 湖南省教育厅科学研究优秀青年项目(20B543); 湖南省“双一流”药学应用特色学科基金(湘教通[2018]469号)。

伤风停胶囊由麻黄、荆芥、白芷、苍术(炒)、陈皮和甘草 6 味中药组成,具有发散风寒之功效,临床上用于治疗外感风寒,恶寒发热,肢体酸重和上呼吸道感染等症。伤风停胶囊疗效确切,临床应用广泛。该制剂现行质量标准为《卫生部药品标准中药成方制剂》第十三册和药典业发(2002)第 004 号^[1],标准中质量控制项仅为性状、鉴别(显色反应、麻黄和白芷的薄层鉴别)、胶囊剂检查项,质控指标简单;且现有相关研究^[1-6]主要针对该制剂单个或几个成分进行含量测定,无法全面反映该制剂的质量。中药及其制剂指纹图谱能反映其所含化学成分的整体信息,可真实、全面地评价中药的质量,而高效液相色谱(HPLC)指纹图谱法具有操作简单、重复性好等特点,已成为中药制剂的主要分析方法^[7-9]。化学模式识别方法可对指纹图谱大量信息进行降维处理、挖掘和综合分析,能真实、客观地反映中药及其制剂批次间质量差异,已广泛应用于中药及其制剂的质量控制^[10-12]。因此,本研究采用 HPLC 法建立伤风停胶囊指纹图谱,结合聚类分析(CA)、主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)等化学模式识别方法对所得的指纹图谱进行分析,以期对伤风停胶囊批次间稳定性控制和质量评价提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1260 高效液相色谱仪,配有 DAD 型检测器(美国 Agilent 公司);XSE-205 十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),KQ-500DE 超声清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药 对照品盐酸麻黄碱(批号:171241-201809,纯度:100.0%)、盐酸伪麻黄碱(批号:171237-201510,纯度:99.8%)、橙皮苷(批号:110721-201617,纯度:96.1%)、甘草酸铵(批号:110731-202021,纯度:96.2%,甘草酸质量=甘草酸铵质量/1.0207)、欧前胡素(批号:110826-201918,纯度:99.0%)和异欧前胡素(批号:110827-201812,纯度:99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯(德国默克公司);磷酸、氯化铵均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);水为怡宝纯净水。伤风停胶囊 14 批,云南白药集团股份有限公司,批号分别为 ZAA2104(S1)、ZAA2105(S2)、ZLA2007(S3)、ZLC2004(S4)、ZLC2003(S5)、ZCC2001(S6)、ZMA1906(S7)、ZMA1905(S8)、ZMA1904(S9)、ZMA1903(S10)、

ZMA1902(S11)、ZHA1904(S12)、ZHA1903(S13)、ZGA1904(S14)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Thermo Acclaim C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸(含 0.1% NH₄Cl, B),梯度洗脱(0~20 min, 4% A; 20~30 min, 4% A→8% A; 30~45 min, 8% A→20% A; 45~65 min, 20% A→35% A; 65~80 min, 35% A→55% A; 80~90 min, 55% A→70% A; 90~95 min, 70% A; 95~96 min, 70% A→4% A; 96~100 min, 4% A);流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:30 ℃;检测波长:210 nm(0~35 min)、254 nm(35~100 min);进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、橙皮苷、甘草酸、欧前胡素和异欧前胡素对照品适量,分别置 50 mL 容量瓶中,以 70%甲醇溶解,并稀释至刻度,得各对照品储备液(质量浓度依次为 0.1241、0.1025、0.1156、0.1223、0.1168、0.1029 mg·mL⁻¹)。分别精密量取上述各对照品储备液 1 mL 置同一 10 mL 容量瓶中,振摇,加 70%甲醇定容至刻度,摇匀,即得含盐酸麻黄碱 12.41 μg·mL⁻¹、盐酸伪麻黄碱 10.25 μg·mL⁻¹、橙皮苷 11.56 μg·mL⁻¹、甘草酸 12.23 μg·mL⁻¹、欧前胡素 11.68 μg·mL⁻¹、异欧前胡素 10.29 μg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取伤风停胶囊 10 粒,倾出内容物,研细,取约 1.5 g,精密称定,置锥形瓶中;精密加入 70%甲醇 50 mL,称定质量,超声(功率 500 W,频率 40 kHz)30 min,放冷;再次称定质量,用 70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,滤液用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 单味药材样品溶液 按伤风停胶囊处方组成,分别称取麻黄、荆芥、白芷、苍术(炒)、陈皮和甘草各药材适量,根据生产工艺分别制备各单味药材样品;取各单味药材样品适量,按“2.2.2”项下方法制备单味药材供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取伤风停胶囊(批号:ZLC2004)样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件,连续进样测定 6 次,记录色谱图;以 15 号峰(甘草酸)作为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果 23 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.8%,相对峰面积的

RSD 均小于 3.5%，表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取同一批号伤风停胶囊(批号：ZLC2004)样品，按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，按“2.1”项下的色谱条件测定分析，记录色谱图；以 15 号峰(甘草酸)作为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果 23 个共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 0.7%，相对峰面积的 RSD 均小于 3.8%，表明方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 取伤风停胶囊(批号：ZLC2004)样品，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，分别在 0、5、10、15、20、30 h 时按“2.1”项下的色谱条件，进样分析，记录色谱图。以 15 号峰(甘草酸)作为参照峰，计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果共有峰相对保留时间的 RSD 均小于 1.5%，相对峰面积的 RSD 均小于 3.9%，表明供试品在 30 h 内稳定。

2.4 伤风停胶囊指纹图谱建立及相似度评价 取 14 批伤风停胶囊样品(编号 S1~S14)，照“2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进样测定，记录色谱图。将所得的 14 批伤风停胶囊 HPLC 色谱图以 AIA 格式导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.130723 版)”，以 S1 号样品色谱图作为参照图谱，采用中位数法，时间窗宽度设为 0.3 min，多点校正，全谱峰自动匹配后生成对照指纹图谱(R)，见图 1。共确定 23 个共有峰。以对照指纹图谱为参照计算相似度。结果见表 1。14 批伤风停胶囊的相似度在 0.988~0.997，表明各批次样

品化学成分组成较为一致，批间质量稳定性较好。

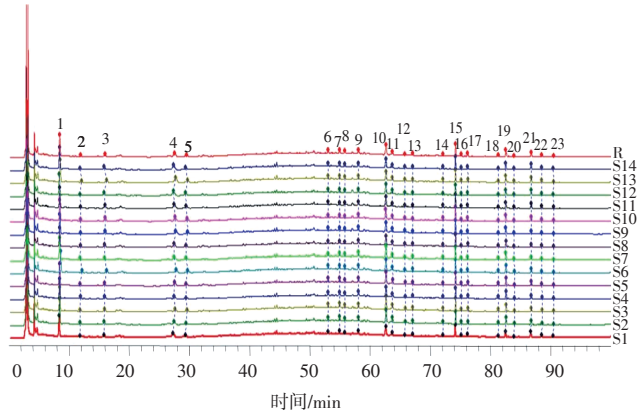


图 1 14 批伤风停胶囊高效液相指纹图谱和对照指纹图谱(R)
Figure 1 HPLC fingerprint and control fingerprint (R) of 14 batches of *Shangfengting* capsules

2.5 共有峰的指认、归属及相对峰面积的计算 取混合对照品溶液、供试品溶液和各单味药材样品溶液，按“2.1”项下色谱条件分别进样测定，记录色谱图，见图 2。通过与对照品出峰保留时间和紫外光谱图信息比对，最终确认了 6 个色谱峰，分别为 4 号峰(盐酸麻黄碱)、5 号峰(盐酸伪麻黄碱)、7 号峰(橙皮苷)、15 号峰(甘草酸)、21 号峰(欧前胡素)、23 号峰(异欧前胡素)。通过将单味药材的 HPLC 色谱图与供试品色谱图比对，得各共有峰的归属：峰 4、5、12 来源于麻黄，峰 3、7、20 来源于荆芥，峰 9、10、11、16、17、18、19、21、22、23 来源于白芷，峰 2、3 来源于苍术，峰 1、6、7、8、13 来源于陈皮，峰 14、15 来源于甘草。其中 15 号

表 1 14 批伤风停胶囊供试品与对照指纹图谱的相似度

Table 1 Similarity results of 14 batches of samples and control fingerprints

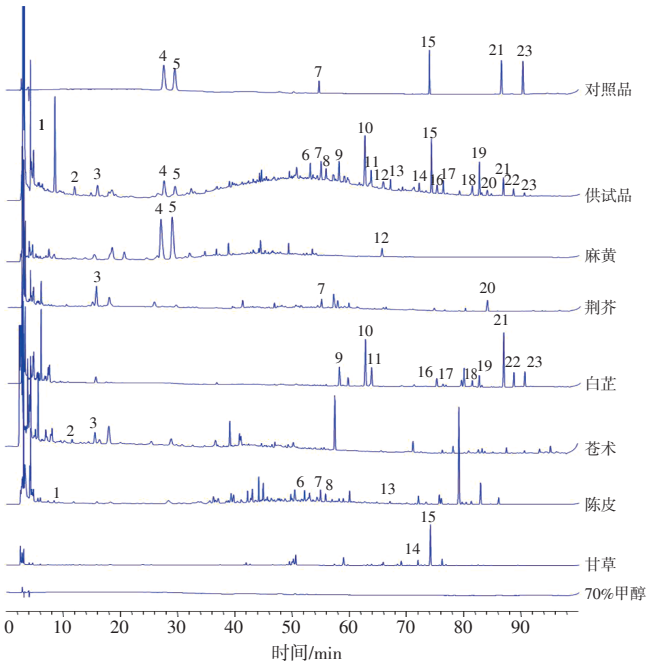
样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	对照
S1	1	0.998	0.995	0.989	0.992	0.995	0.981	0.984	0.975	0.972	0.967	0.966	0.980	0.971	0.990
S2	0.998	1	0.994	0.988	0.992	0.991	0.979	0.983	0.972	0.969	0.962	0.961	0.975	0.966	0.988
S3	0.995	0.994	1	0.991	0.995	0.992	0.980	0.983	0.971	0.970	0.960	0.961	0.975	0.967	0.988
S4	0.989	0.988	0.991	1	0.997	0.994	0.993	0.993	0.987	0.987	0.981	0.981	0.989	0.984	0.996
S5	0.992	0.992	0.995	0.997	1	0.994	0.990	0.992	0.985	0.985	0.977	0.975	0.986	0.979	0.995
S6	0.995	0.991	0.992	0.994	0.994	1	0.991	0.992	0.987	0.984	0.976	0.976	0.986	0.980	0.995
S7	0.981	0.979	0.980	0.993	0.990	0.991	1	0.999	0.997	0.995	0.987	0.989	0.993	0.991	0.997
S8	0.984	0.983	0.983	0.993	0.992	0.992	0.999	1	0.996	0.994	0.983	0.985	0.991	0.987	0.997
S9	0.975	0.972	0.971	0.987	0.985	0.987	0.997	0.996	1	0.999	0.992	0.992	0.996	0.994	0.995
S10	0.972	0.969	0.970	0.987	0.985	0.984	0.995	0.994	0.999	1	0.993	0.994	0.996	0.995	0.995
S11	0.967	0.962	0.960	0.981	0.977	0.976	0.987	0.983	0.992	0.993	1	0.995	0.995	0.995	0.990
S12	0.966	0.961	0.961	0.981	0.975	0.976	0.989	0.985	0.992	0.994	0.995	1	0.997	0.998	0.990
S13	0.980	0.975	0.975	0.989	0.986	0.986	0.993	0.991	0.996	0.996	0.995	0.997	1	0.999	0.996
S14	0.971	0.966	0.967	0.984	0.979	0.980	0.991	0.987	0.994	0.995	0.995	0.998	0.999	1	0.993
对照	0.990	0.988	0.988	0.996	0.995	0.995	0.997	0.997	0.995	0.995	0.990	0.990	0.996	0.993	1

峰分离度良好，色谱峰保留时间适中，峰面积较大且为所有样品共有，故以其作为参考峰，计算其他共有峰相对峰面积。结果各共有峰相对峰面积的RSD为2.97%~31.34%，表明伤风停胶囊不同批次间共有峰含量存在一定差异，见表2。

2.6 化学模式识别分析 为了更加全面而准确地评价伤风停胶囊不同批次间质量的差异，本研究采用化学模式识别技术对指纹图谱中涵盖的大量化学信息进行提取、挖掘和分析，寻找质量差异性成分。

2.6.1 聚类分析(CA) 以14批伤风停胶囊指纹图谱中23个共有峰峰面积与样品取样量的比值作为变量，得14×23阶原始数据矩阵，导入SPSS 19.0软件中，采用组间连接法，以平方欧氏距离作为度量标准，进行聚类分析，见图3。结果显示14批样品可按生产年份分为2大类，其中第Ⅰ类为S7~S14(2020年生产)，第Ⅱ类为S1~S6(2019年生产)。这可能与车间生产状况(年份)、原药材采收季节和来源不同有关。

2.6.2 主成分分析(PCA) 以14批伤风停胶囊指纹图谱中23个共有峰峰面积与样品取样量的比值作为变



注：4. 盐酸麻黄碱；5. 盐酸伪麻黄碱；7. 橙皮苷；15. 甘草酸；21. 欧前胡素；23. 异欧前胡素

图2 伤风停胶囊混合对照品、供试品和各单味药材高效液相色谱图

Figure 2 HPLC chromatograms of mixed reference substances, sample and crude drugs

表2 14批伤风停胶囊样品共有峰相对峰面积

Table 2 The relative peak areas of 14 batches of samples

峰号	样品														RSD/%
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	
1	2.606	2.422	2.472	2.261	2.282	2.222	1.950	1.931	1.944	2.031	2.667	2.390	2.299	2.241	10.49
2	0.297	0.282	0.313	0.265	0.286	0.255	0.187	0.191	0.156	0.159	0.183	0.170	0.153	0.149	28.24
3	0.494	0.481	0.512	0.473	0.521	0.426	0.547	0.538	0.559	0.584	0.766	0.597	0.546	0.529	14.57
4	0.749	0.588	0.687	0.895	0.733	0.845	0.906	0.769	0.950	1.024	1.482	1.363	1.135	1.223	27.65
5	0.422	0.423	0.425	0.639	0.634	0.532	0.564	0.556	0.627	0.670	0.947	0.626	0.595	0.568	22.63
6	0.344	0.361	0.332	0.416	0.329	0.270	0.244	0.242	0.205	0.222	0.335	0.380	0.279	0.254	21.39
7	0.489	0.475	0.465	0.482	0.466	0.379	0.350	0.323	0.268	0.303	0.514	0.393	0.396	0.398	18.89
8	0.281	0.278	0.432	0.262	0.394	0.241	0.235	0.229	0.208	0.280	0.258	0.230	0.220	0.206	24.91
9	0.445	0.439	0.614	0.641	0.523	0.523	0.564	0.555	0.474	0.505	0.501	0.499	0.458	0.466	11.88
10	1.751	1.543	1.704	1.463	1.456	1.603	1.179	1.158	1.151	1.124	1.500	1.164	1.286	1.162	16.35
11	0.531	0.618	0.500	0.423	0.424	0.357	0.341	0.324	0.309	0.328	0.497	0.357	0.356	0.367	22.81
12	0.273	0.264	0.220	0.243	0.269	0.327	0.258	0.254	0.243	0.257	0.332	0.283	0.233	0.251	12.01
13	0.235	0.225	0.236	0.317	0.246	0.204	0.145	0.147	0.133	0.142	0.215	0.183	0.180	0.160	26.25
14	0.170	0.169	0.165	0.168	0.166	0.160	0.157	0.159	0.158	0.159	0.162	0.158	0.157	0.157	2.97
15	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.00
16	0.265	0.251	0.309	0.249	0.247	0.200	0.222	0.173	0.164	0.176	0.269	0.228	0.229	0.231	17.72
17	0.284	0.279	0.362	0.306	0.306	0.255	0.265	0.261	0.247	0.250	0.277	0.258	0.264	0.266	10.98
18	0.362	0.331	0.442	0.370	0.368	0.301	0.191	0.187	0.197	0.314	0.265	0.247	0.247	0.233	27.09
19	0.784	0.743	1.005	0.868	0.865	0.751	0.663	0.650	0.549	0.570	0.722	0.681	0.679	0.682	16.69
20	0.121	0.116	0.144	0.159	0.170	0.110	0.128	0.102	0.131	0.118	0.179	0.135	0.130	0.106	17.73
21	0.376	0.317	0.439	0.436	0.438	0.326	0.295	0.296	0.409	0.437	0.670	0.540	0.575	0.580	26.52
22	0.159	0.138	0.179	0.172	0.172	0.136	0.138	0.138	0.173	0.183	0.259	0.209	0.216	0.219	20.71
23	0.076	0.063	0.072	0.079	0.080	0.060	0.058	0.059	0.094	0.100	0.149	0.109	0.118	0.120	31.34

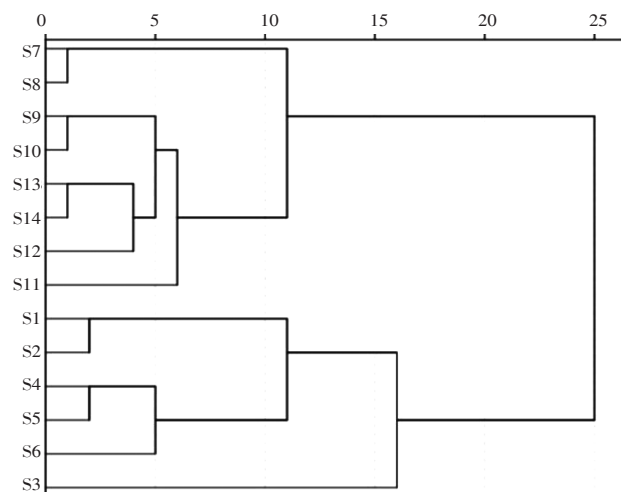


图 3 14 批伤风停胶囊样品聚类分析图

Figure 3 Dendrogram of cluster analysis of 14 batches of *Shangfengting* capsules

量, 得 14×23 阶原始数据矩阵, 导入 SIMCA 14.1 软件中进行 PCA 分析。结果共提取了 2 个主成分, 累计贡献率为 79.1%, 说明模型中 2 个主成分能较好地代表伤风停胶囊中 23 个分析变量的大部分信息^[13]; 且 PCA 模型中 R^2_x 值(累计解释能力参数)为 0.791, Q^2 值(预测能力参数)为 0.522, 均大于 0.5, 说明该模型稳定性和预测性良好, 能较为全面地反映样品间的差异^[14], PCA 得分图见图 4。在得分图中, 每个点代表一个样品, 点与点之间的距离代表样品之间差异的大小, 14 批样品中 S1 ~ S6(2019 年生产)聚集在左侧区域, S7 ~ S14(2020 年生产)聚集在右侧区域, 与聚类分析结果一致。图 5 为 PCA 载荷图, 表示每个变量(色谱峰)对样品分布贡献的大小, 每个点代表一个色谱峰, 距离载荷图原点越远的变量, 权重越大, 代表该色谱峰对样品分类所起作用就越大, 图中 1、4、10 号色谱峰距离原点较远, 表明其对该制剂整体质量的影响起主要作用。

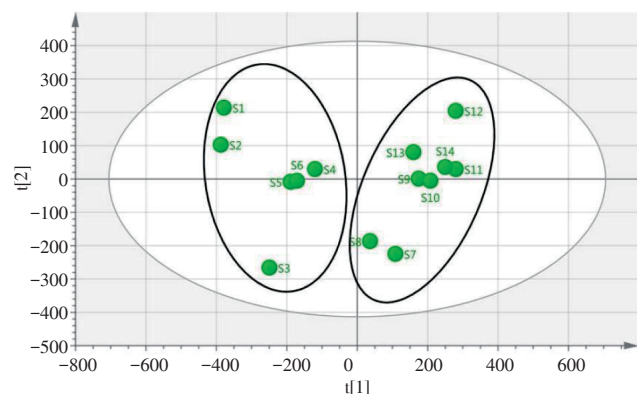


图 4 14 批伤风停胶囊样品的 PCA 得分图

Figure 4 The PCA scores Plots of 14 batches of *Shangfengting* capsules

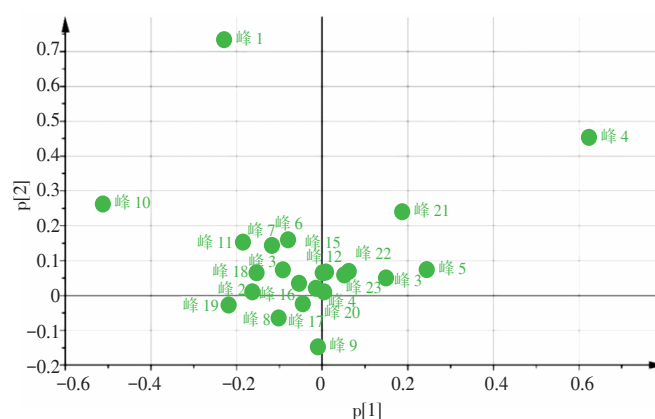


图 5 14 批伤风停胶囊样品的 PCA 载荷图

Figure 5 Loading plot of 14 batches of *Shangfengting* capsules

2.6.3 正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA) 为了更好地分析样品组间差异, 本实验在 CA 和 PCA 的基础上, 将 14×23 阶原始数据矩阵导入 SIMCA 14.1 进行判别分析, 建立 OPLS-DA 模型, OPLS-DA 得分图见图 6。该模型中 $R^2_x(\text{cum})$ (反映 X 矩阵的解释率)、 $R^2_y(\text{cum})$ (反映模型的稳定性)和 $Q^2(\text{cum})$ (反映模型的预测性)的值分别为 0.873、0.974 和 0.922, 均大于 0.5, 说明所建模型具有较好的稳定性和预测性, 可用来判别分析伤风停胶囊样品批次间质量的差异。由图 6 可知, 14 批样品可以很好地分为 2 类, 与聚类分析、主成分分析结果一致。通过变量重要性投影值(VIP)筛选出造成伤风停胶囊批次间质量差异的标志性化合物, VIP 值越大, 对样品的分类贡献越大, 即为最能导致样品间具有差异的成分, 见图 7。以 $\text{VIP} \geq 1$ 为标准, 筛选得到 5 个影响较大的峰, 从大到小依次为 4、10、1、19 和 5 号峰。企业在生产过程中应重点关注这 5 个成分的变化, 建立相关原药材内控标准, 确保制剂质量的稳定。

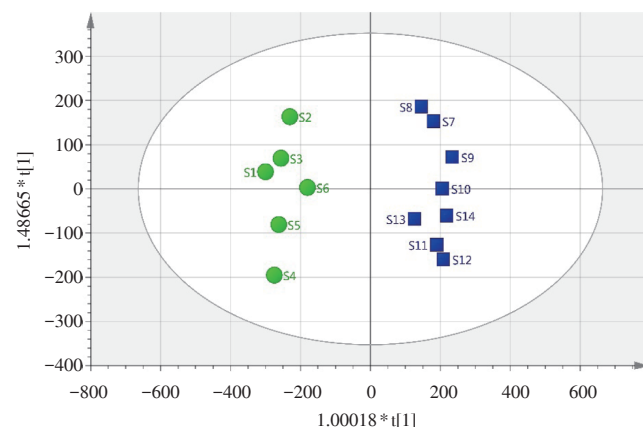


图 6 14 批伤风停胶囊样品的 OPLS-DA 得分图

Figure 6 The OPLS-DA scores plots of 14 batches of *Shangfengting* capsules

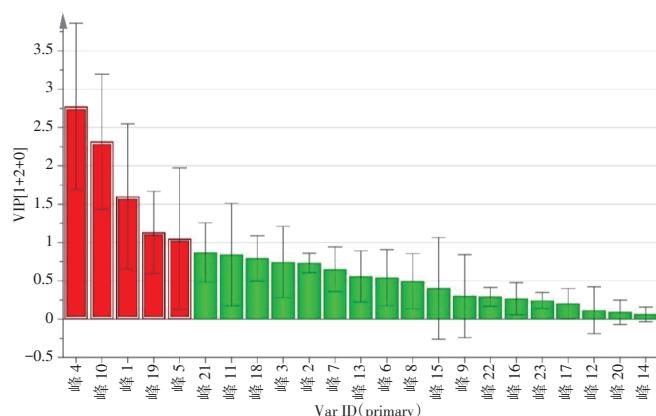


图7 OPLS-DA模型的VIP图

Figure 7 The VIP plot of OPLS-DA

3 讨论

本研究对 14 批伤风停胶囊应用高效液相指纹图谱结合化学模式识别技术进行了分析评价。

3.1 供试品溶液制备方法的考察 预试验考察了不同乙醇浓度(95%、70%、50%)、不同甲醇浓度(100%、70%、50%)、不同提取方式(超声、回流)和不同提取时间(10、20、30、40 min)制备的供试品溶液,以基线平稳性、色谱峰个数、分离度、峰形等指标进行比较。发现以 70%甲醇为溶剂,超声提取 30 min 时效果最佳。

3.2 色谱条件的选择 伤风停胶囊由麻黄等 6 味药材组成,各成分具有不同的吸收波长,预试验采用二极管阵列(DAD)检测器对供试品进行全波长扫描(190~400 nm),以期获得最全面的指纹图谱信息,以基线、色谱峰数、峰形、分离度等因素为波长选定标准,最终选用双波长切换法实施分段测定:0~35 min 波长为 210 nm;35~100 min 波长为 254 nm。预试验还分别以乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% NH_4Cl 溶液)、甲醇-0.1% 磷酸溶液、甲醇-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% NH_4Cl)为流动相^[5,15-16]进行梯度洗脱。结果表明,以乙腈-0.1% 磷酸溶液(含 0.1% NH_4Cl)为流动相时,各色谱峰分离效果好,峰型佳、峰数多、基线平稳。

3.3 指纹图谱和化学模式识别分析 14 批伤风停胶囊样品相似度均大于 0.9,说明各批次样品质量具有较好的一致性。CA、PCA、OPLS-DA 分析结果显示,不同批次的样品按生产年份聚集在一起,说明不同年份的样品整体质量存在一定程度的差异。并筛选得到 5 个差异性标志物,分别为 4(盐酸麻黄碱)、10、1、19 和 5(盐酸伪麻黄碱)号峰。通过与单味药材溶液比对发现上述 5 个色谱峰分别来自麻

黄、陈皮和白芷,提示厂家在生产时要重点关注这 5 个色谱峰的变化以及相对应原药材的质量。本课题组后续将采用液质联用技术对未识别的成分进行鉴定,建立相应质量标准,以期更加科学、全面地控制该制剂质量。

本研究采用指纹图谱结合化学模式识别技术对伤风停胶囊不同批次之间的质量进行了深入分析,较全面地对伤风停胶囊进行了质量评价,可为伤风停胶囊批次间稳定性控制和质量标准的提升提供依据。

参考文献:

- [1] 胡小祥,何艳,曾卫阳. HPLC同时测定伤风停胶囊中的5种成分[J]. 华西药学杂志, 2021, 36(1): 55-58.
- [2] 蔡俊安. 高效液相色谱法测定伤风停胶囊中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国药业, 2010, 19(20): 39-40.
- [3] 李子华,张伟伟. 高效液相色谱法测定伤风停胶囊中橙皮苷的含量[J]. 安徽医药, 2016, 20(7): 1281-1283.
- [4] 盛云杰,杨春兰,许家新,等. HPLC法同时测定伤风停胶囊中3种成分[J]. 中成药, 2016, 38(9): 1960-1963.
- [5] 胡小祥,何艳,张霞,等. HPLC变换波长法测定伤风停胶囊中橙皮苷、甘草酸和欧前胡素含量[J]. 中国药师, 2019, 22(10): 1925-1927.
- [6] 张杰,何艳. HPLC法测定伤风停胶囊中欧前胡素的含量[J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(5): 32-34.
- [7] 胡彩云,刘紫薇,黄圆圆,等. 儿宝颗粒HPLC指纹图谱研究[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(2): 45-49.
- [8] 何艳,胡小祥,曾卫阳,等. 裸花紫珠分散片高效液相色谱指纹图谱研究及多指标成分定量分析[J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(8): 969-974.
- [9] 王信,冯翠娟,王艳红,等. 金茵利胆口服液指纹图谱及峰归属研究[J]. 中国药师, 2021, 24(2): 270-272.
- [10] 韩晴雯,周斌,李玉平,等. HPLC指纹图谱技术结合模式识别分析评价参莲胶囊的质量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(7): 1300-1308.
- [11] 李卓伦,周霖,王肖辉,等. 基于UPLC指纹图谱结合化学模式识别的芪参益气滴丸质量控制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(14): 1755-1760.
- [12] 彭潇,朱敏汇,杨纯,等. 舒眠胶囊HPLC指纹图谱及化学模式识别研究[J]. 中药材, 2020, 43(2): 374-380.
- [13] 乐世俊,王文晓,高欢,等. HPLC同时测定不同厂家丹七片中多个有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(121): 2236-2243.
- [14] 段慧芳,吴南,朱亚莹,等. UPLC同时测定不同产地金银花中10种成分[J]. 中草药, 2019, 50(23): 5858-5863.
- [15] 瞿孝兰,林义平,田斌,等. HPLC-DAD法同时测定荆防霍朴解毒合剂(新冠3号)中14个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(11): 1952-1962.
- [16] 曾杨丽,徐菲,蔡思,等. 一测多评结合指纹图谱的肝复乐胶囊质量控制研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(4): 94-100.

(编辑:梁进权)