

# 基于HPLC-DAD-CAD的恒制咳喘胶囊质量均一性分析

马倩<sup>1,2</sup>, 刘安<sup>2</sup>, 许青霞<sup>2</sup>, 郭丛<sup>2</sup>, 章军<sup>2</sup>, 王茂青<sup>1,2</sup>, 寇晓娣<sup>1\*</sup>, 刘艳<sup>2\*</sup>

(1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 建立15批次恒制咳喘胶囊的指纹图谱, 对其中10种指标性成分进行定量分析, 并评价恒制咳喘胶囊不同批次产品的质量均一性。方法: 采用高效液相色谱-二极管阵列检测器-电喷雾检测器联用法(HPLC-DAD-CAD)建立恒制咳喘胶囊指纹图谱及含量测定方法; 选择腺苷、鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸共10种成分作为质量属性指标, 对来自2022—2024年共15批(每批3盒)45份恒制咳喘胶囊样品进行定性和定量分析; 以批内均一性差异参数( $P_A$ )和批间均一性差异参数( $P_B$ )表征厂家质量均一性水平; 采用聚类热分析表征不同年份样品质量属性指标的同质性和差异性。结果: 建立了恒制咳喘胶囊HPLC指纹图谱及定量方法, 经方法学考证, 方法稳定可靠, 可用于该制剂的定性、定量分析; 15批样品的指纹图谱相似度0.887~0.975, 共标定共有峰13个, 指定10个共有峰, 均为质量属性指标成分。定量分析结果显示, 样品中的腺苷、鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸的质量分数分别为0.038~0.078、0.115~0.251、0.007~0.018、0.291~0.673、0.122~0.257、0.887~1.905、1.841~3.364、1.412~2.450、2.207~3.112、0.650~1.161 mg·g<sup>-1</sup>, 其中人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸均符合2020年版《中华人民共和国药典》对该制剂的限度要求; 15个批次10种指标成分的 $P_A$ 均<10%, 表明批内均一性良好,  $P_B$ 为33.86%~92.97%, 表明批间均一性较差; 聚类热分析显示, 不同年份的样品各聚为一类, 其中腺苷、鸟苷、羟基红花色素A、柚皮苷、橙皮苷、沉香四醇等6种成分为主要差异性成分。结论: 恒制咳喘胶囊的年内质量均一性较好, 年间质量均一性不足, 可能与法半夏、红花、佛手、陈皮、沉香、香橼等药味的质量差异有关。该研究建立了恒制咳喘胶囊的指纹图谱和多指标含量测定方法, 可用于更准确、高效的质量控制和标准提升。

**[关键词]** 恒制咳喘胶囊; 高效液相色谱法(HPLC); 二极管阵列检测器(DAD); 电喷雾检测器(CAD); 质量均一性; 指纹图谱

[中图分类号] R284;R943;O657 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2025)03-0168-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251163 [增强出版附件] 内容详见 <http://www.syfjxz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20241217.1514.001>

[网络出版日期] 2024-12-17 16:28:10

## Analysis of Quality Uniformity of Hengzhi Kechuan Capsules Based on HPLC-DAD-CAD

MA Qian<sup>1,2</sup>, LIU An<sup>2</sup>, XU Qingxia<sup>2</sup>, GUO Cong<sup>2</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>, WANG Maoqing<sup>1,2</sup>,  
KOU Xiaodi<sup>1\*</sup>, LIU Yan<sup>2\*</sup>

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the fingerprints of 15 batches of Hengzhi Kechuan capsules, to quantitatively analyze 10 index components, and to evaluate the quality uniformity of samples from different batches. **Methods:** The fingerprints and quantitative analysis of Hengzhi Kechuan capsules were established by a combination method of high performance liquid chromatography coupled with diode array detector and charged aerosol detector (HPLC-DAD-CAD), adenosine, guanosine, vanillic acid, safflomin A, agarotretol, naringin, hesperidin, militarine, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, and glycyrrhizic acid were selected as quality attribute indexes. A total of 15 batches of Hengzhi Kechuan capsules from 2022 to 2024 (3 boxes per batch) were

[收稿日期] 2024-11-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82374179); 中国中医科学院国家自然科学基金培育项目(ZXKT23010)

[第一作者] 马倩, 在读硕士, 从事中成药质量均一性评价研究, E-mail: 3320158301@qq.com

[通信作者] \* 寇晓娣, 博士, 研究员, 从事中药化学研究, E-mail: xiaodikou2013@163.com;

\* 刘艳, 博士, 研究员, 从事中药品质评价及经典名方开发研究, E-mail: yliu1980@icmm.ac.cn

qualitatively and quantitatively analyzed, and the quality uniformity level of the manufacturers was characterized by parameters of intra-batch consistency( $P_A$ ) and inter-batch consistency( $P_B$ ). The homogeneity and difference of quality attribute indexes of samples from different years were analyzed by heatmap clustering analysis. **Results:** HPLC fingerprints and quantitative method of Hengzhi Kechuan capsules were established, and the methods could be used for qualitative and quantitative analysis of this preparation, which was found to be stable and reliable by method validation. The similarity of fingerprints of 15 batches of samples was 0.887-0.975, a total of 13 common peaks were calibrated, and 10 common peaks were designated, all of which were quality attribute index components. The results of quantitative analysis showed that the contents of the above 10 ingredients in the samples were 0.038-0.078, 0.115-0.251, 0.007-0.018, 0.291-0.673, 0.122-0.257, 0.887-1.905, 1.841-3.364, 1.412-2.450, 2.207-3.112, 0.650-1.161, respectively. And the contents of ginsenoside Rb<sub>1</sub> and glycyrrhizic acid met the limit requirements in the 2020 edition of *Chinese Pharmacopoeia*. For the samples from 15 batches, the  $P_A$  values of the 10 index components were all <10%, indicating good intra-batch homogeneity, and the  $P_B$  values ranged from 33.86% to 92.97%, suggesting that the inter-batch homogeneity was poor. Heatmap clustering analysis showed that the samples from different years were clustered into separate categories, and adenosine, guanosine, safflomin A, naringin, hesperidin and agarotretol were the main differential components. **Conclusion:** The intra-annual quality uniformity of Hengzhi Kechuan capsules is good and the inter-annual quality uniformity is insufficient, which may be related to the quality difference of Pinellinae Rhizoma Praeparatum, Carthami Flos, Citri Sarcodactylis Fructus, Citri Reticulatae Pericarpium, Aquilariae Lignum Resinatum, Citri Fructus, etc. In this study, the fingerprint and multi-indicator determination method of Hengzhi Kechuan capsules was established, which can be used for more accurate and efficient quality control and standardization enhancement.

**[Keywords]** Hengzhi Kechuan capsules; high performance liquid chromatography(HPLC); diode array detector(DAD); charged aerosol detector(CAD); quality uniformity; fingerprint

恒制咳喘胶囊是由安徽张恒春药业股份有限公司自主研发的浓缩胶囊制剂,为药品标准《中药成方制剂》收载品种,具有益脾健肺、纳气平喘、镇咳化痰的功效,用于气阴两虚、阳虚痰阻所致的咳嗽痰喘,临床常用于治疗慢性支气管炎及慢性哮喘急性发作的患者<sup>[1]</sup>,尤其适用于虚寒性支气管型疾病患者。组方包括法半夏、红花、生姜、白及、佛手、甘草、紫苏叶、薄荷等18味药材,目前其质量检测和评价研究报道较少,以1~2种指标成分的含量测定为主<sup>[2-3]</sup>。在2020年版《中华人民共和国药典》<sup>[4]</sup>(以下简称《中国药典》)中,仅采用高效液相色谱法(HPLC)检测人参皂苷Rb<sub>1</sub>和甘草酸的含量,质量评价标准相对薄弱,较难有效控制该制剂的整体质量。

为了更加深入了解恒制咳喘胶囊的质量现状,本文拟通过利用HPLC串联二级管阵列检测器(DAD)和电雾式检测器(CAD),同时兼顾有紫外吸收、无紫外吸收和处于末端紫外吸收的化合物<sup>[5-8]</sup>,建立恒制咳喘胶囊多指标成分指纹图谱和含量测定方法,实现同时对10个质量属性成分的含量监测,并结合均一性评价方法评估不同年份多批次产品的质量状况,以期为恒制咳喘胶囊的质量控制及标准提升提供科学参考。

## 1 材料

Vanquish core型液相色谱仪,包括VC-D40-A型可变波长检测器、VH-D20-A型电喷雾检测器(美国赛默飞公司),ME204T/02型万分之一电子天平、

XSR105/A型十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司),TGL20型高温低速离心机(长沙英泰仪器有限公司)。

腺苷、鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸对照品(江西佰草源生物科技股份有限公司,批号分别为BCY-231116、BCY-231212、BCY-230909、BCY-231116、BCY-240108、BCY-230819、BCY-231115、BCY-230321、BCY-231014、BCY-230815,纯度均≥98%)。水为屈臣氏饮用水,甲酸、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯。15批恒制咳喘胶囊(安徽张恒春药业股份有限公司,分别编号为L1~L15,批号分别为2307072、2408021、2405141、2307071、2306192、2312192、2307102、2402072、2308192、2312061、2303021、2210181、2204041、2207121、2206071),每个批次各3盒。

## 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液的制备** 分别取10种对照品适量,70%甲醇溶解,配制成每1 mL含腺苷50.0 μg、鸟苷50.0 μg、香草酸6.3 μg、沉香四醇50.0 μg、羟基红花色素A 25.0 μg、柚皮苷200.0 μg、橙皮苷312.5 μg、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯400.0 μg、人参皂苷Rb<sub>1</sub> 200.0 μg、甘草酸100.0 μg的混合对照品溶液,过0.22 μm滤膜,备用。

**2.2 供试品溶液的制备** 取恒制咳喘胶囊4粒,倾出内容物,研细,取约0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶

中,精密加入70%乙醇10 mL,超声40 min(功率600 W,频率40 kHz),放冷,用70%乙醇补足减失质量,4 °C、4 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min(离心半径9.9 cm,下同),经0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,即得。

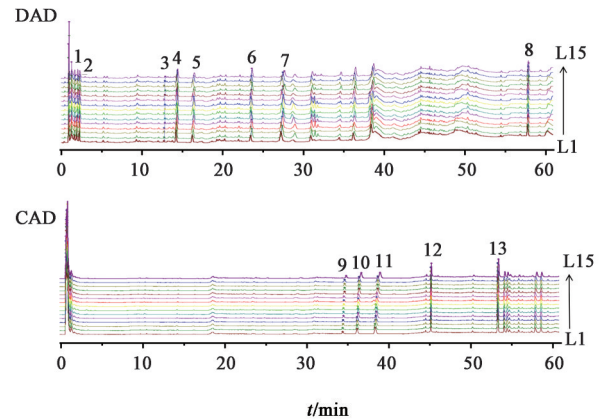
**2.3 色谱条件** Waters ACQUITY UPLC® BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B)梯度洗脱(0~4 min,99%A;4~4.1 min,99%~94%A;4.1~14 min,94%A;14~14.1 min,94%~89%A;14.1~26 min,89%A;26~26.1 min,89%~84%A;26.1~38 min,84%A;38~38.1 min,84%~80%A;38.1~40 min,80%~73%A;40~62 min,73%~60%A),流速0.3 mL·min<sup>-1</sup>,进样量1 μL,DAD检测波长254 nm,CAD雾化器温度35 °C,采集频率20 Hz,气压62.2 psi(1 psi≈6.895 kPa)。按该法检测所得混合对照品、恒制哮喘胶囊样品及空白样品的色谱图见增强出版附加材料。

#### 2.4 恒制哮喘胶囊 HPLC 指纹图谱的建立

**2.4.1 方法学考察** 取样品 L1,按 2.2 项下方法制备样品,按 2.3 项下方法连续进样检测6次,以甘草酸作为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间与相对峰面积的相对标准偏差(RSD)。结果所有共有峰相对保留时间 RSD 均<1.0%,相对峰面积 RSD 均<5.0%,表明该仪器精密度良好。取样品 L1,按 2.2 项下方法制备样品,按 2.3 项下方法分别于室温下放置0、2、4、8、16、24 h进样检测,以甘草酸作为参照峰,计算共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD。结果所有共有峰相对保留时间 RSD 均<2.0%,相对峰面积 RSD 均<4.0%,表明供试品溶液在室温24 h内稳定。取样品 L1,按 2.2 项下方法平行制备6份样品,按 2.3 项下方法检测,以甘草酸作为参照峰,计算共有峰相对保留时间与相对峰面积的 RSD。结果所有共有峰相对保留时间 RSD 均<1.0%,相对峰面积 RSD 均<5.0%,表明方法重复性良好。

**2.4.2 指纹图谱的建立与共有峰的指认** 取样品 L1~L15,分别按 2.2 项下方法制备样品,按 2.3 项下方法检测,记录色谱图。将15批样品的色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012年版),以 L1 为参照图谱进行全峰匹配,采用中位数法经多点校正生成共有模式指纹图谱,共标定出13个共有峰,经对照品保留时间及色谱峰光谱信息指认出10个共有峰,其中峰1为腺苷、峰2为鸟苷、峰3为香草酸、峰5为羟基红花色素 A、峰6为沉香四醇、峰8为甘草酸、峰10为柚皮苷、峰11为橙皮苷、峰12为

1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、峰13为人参皂苷 Rb<sub>1</sub>。相似度为0.887~0.975,表明不同批次样品各化学成分相似度较好,见图1。



注:1.腺苷;2.鸟苷;3.香草酸;5.羟基红花色素 A;6.沉香四醇;8.甘草酸;10.柚皮苷;11.橙皮苷;12.1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯;13.人参皂苷 Rb<sub>1</sub>。

图1 15批恒制哮喘胶囊的 HPLC 指纹谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 15 batches of Hengzhi Kechuan capsules

#### 2.5 恒制哮喘胶囊中指标成分的定量分析

**2.5.1 方法学考察** 取样品 L1,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,与混合对照品溶液,空白样品溶液一同按 2.3 项下方法进样检测并进行比较,结果发现供试品色谱中10种指标成分与混合对照品的保留时间( $t_R$ )一致,目标成分的分离度均>1.5,表明该方法专属性良好。精密吸取混合对照品溶液,梯度稀释为系列对照品溶液,按 2.3 项下方法检测,以峰面积为纵坐标、质量浓度为横坐标绘制标准曲线,并计算线性回归方程,分别以信噪比3和10作为标准,测得各成分的最低检测限(LOD)及最低定量限(LOQ),结果表明,在相应的质量浓度范围内,10个成分线性关系良好,各成分回归方程见表1。精密吸取混合对照品溶液,按 2.3 项下方法检测,连续进样6次,考察精密度。结果显示,10种指标成分峰面积的 RSD 均<3%,表明仪器精密度良好。取样品 L1,按 2.2 项下方法平行制备6份供试品溶液,按 2.3 项下方法检测。结果显示,腺苷、鸟苷、香草酸、沉香四醇、羟基红花色素 A、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷 Rb<sub>1</sub>、甘草酸的平均质量分数分别为0.061、0.137、0.018、0.439、0.124、1.505、2.829、1.538、2.742、0.847 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 均<3.0%,表明该方法重复性良好。取样品 L1,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.3 项下方法检测,在0、2、4、8、16、24 h进样。结果

显示,10种指标性成分峰面积的RSD均<3.0%,表明该供试品溶液24h内稳定性良好。取样品L8,按样品中各目标成分含量加入等量对照品,按2.2项

下方法制备供试品溶液,平行6份,按2.3项下方法检测,计算10种成分的加样回收率为99.2%~100.3%,RSD均<1.0%,见增强出版附加材料。

表1 恒制咳喘胶囊中10种指标成分的线性关系考察

Table 1 Investigation on linear relationship of 10 index components in Hengzhi Kechuan capsules

成分	线性方程	r	线性范围/mg·L <sup>-1</sup>	LOD/mg·L <sup>-1</sup>	LOQ/mg·L <sup>-1</sup>
腺苷	Y=10.297X+5.673 8	1.000 0	1.6~50.0	0.07	0.22
鸟苷	Y=9.362 8X+1.002 4	0.999 9	1.6~50.0	0.12	0.38
香草酸	Y=13.106X+0.320 6	0.999 5	0.2~6.3	0.01	0.03
沉香四醇	Y=3.908 3X+0.157 2	0.999 0	1.6~50.0	0.49	1.60
羟基红花色素A	Y=9.483 6X+2.134 4	0.999 3	0.8~25.0	0.50	0.18
柚皮苷	Y=2.478X+0.658 1	1.000 0	1.6~100.0	0.05	0.15
橙皮苷	Y=0.527 7X+0.841 3	0.999 6	1.6~200.0	0.15	0.47
1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯	Y=0.392 9X+2.877 9	0.999 2	19.5~312.5	0.21	0.68
人参皂苷Rb <sub>1</sub>	Y=0.724 2X+0.900 9	0.999 9	1.6~400.0	0.63	0.20
甘草酸	Y=0.478 1X+0.961 5	0.999 4	1.6~200.0	0.61	0.20

2.5.2 样品测定 按2.2项下方法制备样品,按2.3项下方法检测,并计算10种成分的质量分数。结果显示,样品中腺苷、鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸的质量分数分别为0.038~0.078、0.115~0.251、0.007~

0.018、0.291~0.673、0.122~0.257、0.887~1.905、1.841~3.364、1.412~2.450、2.207~3.112、0.650~1.161 mg·g<sup>-1</sup>。结果显示,人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸均符合《中国药典》2020年版对该制剂的限度要求,15批恒制咳喘胶囊总含药量为8.696~11.586 mg·g<sup>-1</sup>,总含药量在均值的±10%之内,差异较小。见表2。

表2 15批次恒制咳喘胶囊10种指标成分的平均质量分数(n=3)

Table 2 Average contents of 10 index components in 15 batches of Hengzhi Kechuan capsules (n=3)

批次	成分1	成分2	成分3	成分4	成分5	成分6	成分7	成分8	成分9	成分10	总量
L1	0.061	0.137	0.018	0.439	0.124	0.847	1.505	2.829	1.538	2.742	10.240
L2	0.058	0.174	0.014	0.530	0.243	0.691	1.116	3.032	1.453	2.769	10.080
L3	0.042	0.170	0.015	0.368	0.249	0.701	0.896	2.602	1.428	2.224	8.696
L4	0.054	0.118	0.015	0.291	0.193	0.790	1.885	2.944	1.913	2.669	10.872
L5	0.047	0.162	0.011	0.463	0.130	1.008	1.259	2.835	2.026	2.543	10.484
L6	0.055	0.139	0.010	0.364	0.138	0.952	1.732	3.322	2.049	2.571	11.332
L7	0.053	0.120	0.008	0.354	0.135	0.900	1.808	2.321	2.053	2.709	10.461
L8	0.041	0.166	0.010	0.434	0.249	0.922	0.968	3.311	1.452	2.725	10.278
L9	0.040	0.152	0.011	0.342	0.231	0.924	1.834	2.316	2.094	2.611	10.555
L10	0.057	0.132	0.007	0.352	0.158	0.858	1.567	2.050	2.311	3.059	10.551
L11	0.048	0.142	0.010	0.537	0.156	1.017	1.037	2.844	2.400	2.594	10.785
L12	0.072	0.247	0.009	0.584	0.167	1.131	1.698	2.935	1.961	2.782	11.586
L13	0.077	0.241	0.012	0.670	0.160	1.156	1.458	2.399	2.350	3.056	11.579
L14	0.064	0.211	0.014	0.574	0.142	1.085	1.597	1.902	2.354	2.531	10.474
L15	0.062	0.206	0.014	0.572	0.142	1.088	1.615	2.007	2.294	2.509	10.509
均值	0.055	0.168	0.012	0.458	0.174	0.938	1.465	2.643	1.978	2.673	10.564

注:成分1.腺苷;成分2.鸟苷;成分3.香草酸;成分4.羟基红花色素A;成分5.沉香四醇;成分6.甘草酸;成分7.柚皮苷;成分8.橙皮苷;成分9.1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯;成分10.人参皂苷Rb<sub>1</sub>

**2.6 15批恒制咳喘胶囊的质量均一性分析** 为考察质量属性指标之间均一性情况,本研究引用批内均一性差异参数( $P_A$ )和批间均一性差异参数( $P_B$ )<sup>[9-10]</sup>。 $P_A$ 为同批号3个样品相同指标成分含量的极差与均值之比; $P_B$ 为15个不同批号样品相同指标成分平均含量的极差与均值之比。15批次腺苷、鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸 $P_A$ 均值分别为4.55%、4.37%、7.98%、3.48%、3.54%、5.05%、9.28%、3.86%、2.57%、4.93%,均在10%以内,批内均一性较好。鸟苷、香草酸、羟基红花色素A、沉香四醇、柚皮苷、橙皮苷、1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯、人参皂苷Rb<sub>1</sub>、甘草酸 $P_B$ 值分别为66.79%、76.88%、92.70%、82.70%、71.65%、67.51%、53.72%、49.13%、31.24%、49.57%,相对较大。

**2.7 不同批次样品中9种指标成分含量差异的聚类热图分析** 样品中香草酸含量过低,故去掉此指标,对其余9种成分进行量化,通过Origin 2021软件中的Heat Map Dendrogram.opx插件对其进行聚类分析。结果显示,2022年的样品(L12、L13、L14、L15)聚为一类,2023年的样品(L1、L4、L5、L6、L7、L9、L10、L11)聚为一类,2024年的样品(L2、L3、L8)聚为一类。此外,2022年的样品中以腺苷、鸟苷及红羟基红花色素A含量较高;2023年的样品以柚皮苷含量较高;2024年的样品以沉香四醇和橙皮苷含量较高。表明厂家应重点关注法半夏、红花、佛手、陈皮、沉香、香橼这6味原药材的质量稳定性。而白及、人参、红参、西洋参及甘草在不同年份差异较小,原料质量相对稳定。见增强出版附加材料。

### 3 讨论

在质量属性指标的选择方面,恒制咳喘胶囊含法半夏、红花、生姜、白及、佛手、甘草、紫苏叶、薄荷、香橼、陈皮、红参、西洋参、砂仁、沉香、丁香、豆蔻、肉桂、煅赭石共18味中药,2020年版《中国药典》仅有人参皂苷Rb<sub>1</sub>和甘草酸2种成分的含量测定,且人参皂苷Rb<sub>1</sub>的含量测定步骤较复杂繁琐,不利于实施,同时仅检测2种成分较难反映产品的整体质量情况。法半夏为方中君药,选择腺苷和鸟苷作为定量指标,现代研究表明,核苷类成分在抗炎、抗病毒感染治疗具有重要作用,是其发挥抗支气管炎的药效物质基础<sup>[11]</sup>;红参、西洋参中的人参皂苷Rb<sub>1</sub>,甘草中的甘草酸为2020年版《中国药典》规定的质量控制成分,人参皂苷Rb<sub>1</sub>所具有的调节机体免疫

及器官保护作用与恒制咳喘益气养阴的疗效密切相关<sup>[12-13]</sup>,并可能通过抗炎作用减轻慢性支气管炎<sup>[14]</sup>;1,4-二[4-(葡萄糖氧)苄基]-2-异丁基苹果酸酯是白及药材的主要成分<sup>[15]</sup>,可定量地进入炎症细胞并降低炎症因子水平,以发挥抗炎作用<sup>[16-17]</sup>;红花中羟基红花色素A能够通过抑制炎症减轻哮喘症状,且对肺纤维化有明显的保护作用<sup>[18]</sup>;沉香四醇为2020年版《中国药典》对沉香药材的质量控制成分<sup>[19]</sup>,有研究表明,沉香醇类化合物能够通过抗炎抗凋亡机制发挥平喘的药理作用<sup>[20]</sup>;砂仁中的香草酸具有胃肠保护、抗菌等作用,与药物改善机体虚弱状态、增强机体抵抗力药效相关<sup>[21-22]</sup>。柚皮苷和橙皮苷为香橼、佛手、陈皮的共有成分,在研究过程中曾尝试寻找每味药味特有的成分,但是药味复杂,每味药在胶囊中占比较低,且杂峰多,其特异性成分含量无法检出。虽然橙皮苷、柚皮苷为香橼、佛手、陈皮共有成分<sup>[23]</sup>,分别通过抑制肺部炎症及肠道菌群生物转化发挥抗急性肺损伤药理活性<sup>[24-26]</sup>,因此被选为恒制咳喘胶囊质控成分。综上所述,以上10种成分与恒制咳喘胶囊药效相关且在样品中含量较高,作为评价恒制咳喘胶囊的质量属性指标。

本研究结果显示,依据2020年版《中国药典》对人参皂苷Rb<sub>1</sub>及甘草酸指标成分含量要求,15批样品均合格,但在产品均一性方面存在一定差异。如香草酸和橙皮苷批内差异稍大,推测分别与香草酸含量过低、橙皮苷来源于陈皮、佛手及香橼3味药材,以致其质量不稳定有关。其余8种成分批内均一性较好,说明厂家生产工艺质量整体稳定。在10个成分批间一致性结果中,人参皂苷Rb<sub>1</sub>和甘草酸的批间均一性相对较好,可能与二者是2020年版《中国药典》的质控成分相关。收集到的样品年份在2022—2024年间,样品跨度较大,聚类分析结果表明相同年份成分含量更加接近,推测可能与同年度产品使用的原料药质量相对均一有关。

质量均一性关系到用药人群的健康安全,本研究以探究恒制咳喘胶囊质量均一性为目标,遵从质量优先为原则,对恒制咳喘胶囊建立指纹图谱及10种质量属性指标可靠的HPLC-DAD-CAD检测方法,同时结合质量一致性方法<sup>[27-28]</sup>评估厂家批内及批间均一性,实现对该产品质量较全面的评估,其复杂药味及成分是质量均一性控制的关键和难点,研究为促进厂家产品质量提升,保障中成药质量稳定提供数据参考。本研究仍存在一些局限之处,如

目前建立的方法侧重检测药物中非挥发性成分,且由于其完整的制备工艺和原料复杂,若用市面上购买的药材制备阴性样品不能完全代表其原本的阴性质量,故未进行阴性对照试验研究。期望后期研究能采用气相色谱法(GC)或气相色谱-质谱法(GC-MS)等检测方法,以及细胞和动物实验等角度进行相应的挥发性成分、生物利用度、药代动力学、药效学等综合评价,为该产品高质量发展提供更全面的科学依据。

**[利益冲突]** 本文不存在研究者、企业人员与研究成果有关的任何利益冲突。

**[致谢]** 中华全国工商业联合会医药业商会、安徽张恒春药业股份有限公司为本研究提供的样品。

#### [参考文献]

- [1] 白勇为,何礼贤,钮善福. 恒制咳嗽胶囊治疗慢性支气管炎34例疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2000, 9(5): 380-381.  
BAI Y W, HE L X, NIU S F. Clinical observation 34 cases with chronic bronchitis treated by Hengzhi Kechuan capsule [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2000, 9(5): 380-381.
- [2] 颜晓航. 恒制咳嗽胶囊质量控制研究[J]. 中国药品标准, 2006, 7(2): 55-58.  
YAN X H. Study on quality control of Hengzhi Kechuan capsules [J]. Drug Stand China, 2006, 7(2): 55-58.
- [3] 余俊,黄宗雯,陈少玲. HPLC法测定恒制咳嗽胶囊中橙皮苷含量[J]. 黑龙江医药, 2007, 20(4): 300-301.  
YU J, HUANG Z W, CHEN S L. Determination of hesperidin in Hengzhi Kechuan capsules by HPLC [J]. Heilongjiang Med, 2007, 20(4): 300-301.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1357.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of The People's Republic of China: Volume 1 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 1357.
- [5] 吴雪松,雷勇胜,张慕军,等. 电喷雾检测器的工作特点及其在药物分析中的应用进展[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(4): 420-427.  
WU X S, LEI Y S, ZHANG M J, et al. Characteristics of charged aerosol detector and its application in pharmaceutical analysis [J]. Chin J New Drugs, 2023, 32(4): 420-427.
- [6] 施磊,马宇佳,金燕. 电雾式检测器的应用进展[J]. 国际药学研究杂志, 2020, 47(7): 514-521.  
SHI L, MA Y J, JIN Y. Application progress in the charged aerosol detector [J]. J Inter Pharm Res, 2020, 47(7): 514-521.
- [7] 耿超,于现花,刘军玲,等. 大鼠体内3种形态西洋参中6种人参皂苷吸收研究[J]. 中国药业, 2024, 33(18): 38-42.  
GENG C, YU X H, LIU J L, et al. Absorption of six ginsenosides in three forms of Panacis Quinquefolii Radix in rats [J]. China Pharm, 2024, 33(18): 38-42.
- [8] 邹伟魁,严倩茹,宋伟. 液相色谱检测器联用技术在中药分析中的应用进展[J]. 中国药事, 2022, 36(5): 569-577.  
WU W K, YAN Q R, SONG W. Progress in the application of liquid chromatography detector combination technology in the analysis of chinese medicine [J]. Chin Pharm Aff, 2022, 36(5): 569-577.
- [9] 苏江敏,劳永真,陈莎,等. 市售7种养阴清肺制剂质量均一性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(18): 164-170.  
SU J M, LAO Y Z, CHEN C, et al. Quality uniformity analysis of 7 commercially available Yangyin Qingfei preparations [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(18): 164-170.
- [10] ZHAO A Y, LIU Y P, WANG L M, et al. Quality uniformity evaluation of Babao Dan capsule based on its 14 main chemical compounds and *in vitro* anti-inflammatory activity [J]. Arab J Chem, 2023, 16(72/73): 105276.
- [11] 周亚丽,杨萍,李喜香,等. 半夏化学成分与药理作用研究进展及其质量标志物(Q-Marker)预测[J]. 中草药, 2024, 55(14): 4939-4952.  
ZHOU Y L, YANG P, LI X X, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of Pinelliae Rhizoma and its quality marker prediction analysis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(14): 4939-4952.
- [12] 刘啦辣,邵缘,刘良,等. 中药皂苷类成分减轻化疗毒性的研究进展[J]. 中医临床研究, 2024, 16(25): 134-138.  
LIU L L, SHAO Y, LIU G, et al. Research progress of saponins in reducing toxicity of chemotherapeutic drugs [J]. Clin J Chin Med, 2024, 16(25): 134-138.
- [13] ZHOU P, DENG F, YANG Z, et al. Ginsenoside Rb<sub>1</sub> inhibits oxidative stress-induced ovarian granulosa cell injury through Akt-FoxO1 interaction [J]. Sci China Life Sci, 2022, 65(11): 2301-2315.
- [14] 谢佳雨,柳钰书,朱菲亚,等. 人参皂苷Rb<sub>1</sub>通过PI3K/Akt信号通路对LPS炎症小鼠的神经保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(19): 81-89.  
XIE J Y, LIU Y S, ZHU F Y, et al. Neuroprotective effect of ginsenoside Rb<sub>1</sub> on lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in mice based on PI3K/Akt signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(19): 81-89.
- [15] 段营辉,黄澜,朱樵苏,等. 基于液质联用法对白及中2-异丁基苹果酸葡萄糖氧基苯酯类成分的定性定量分析[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(9): 1009-1013.  
DUAN Y H, HUANG L, ZHU J S, et al. Qualitative and quantitative analysis of 2-isopropyl- (glucosyloxy) benzyl malate in *Bletilla striata* by UPLC-ESI-Q/TOF-MS [J]. Chin J Hosp Pharm, 2020, 40(9): 1009-1013.
- [16] LUO Y, DIAO H, XIA S, et al. A physiologically active polysaccharide hydrogel promotes wound healing [J]. J Biomed Mater Res A, 2010, 94(1): 193-204.
- [17] YUE L, WANG W, WANG Y, et al. *Bletilla striata*

- polysaccharide inhibits angiotensin II -induced ROS and inflammation via NOX4 and TLR2 pathways[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 89:376-388.
- [18] LUAN Z H, WEI Y M, CHANG Y X. Protective effects of hydroxysafflower yellow A on pulmonary fibrosis in mice[J]. *Chin J Appl Physiol*, 2022, 38(5):555-558.
- [19] 杨慧珍, 和润莹, 李映, 等. 沉香的质量标志物预测与指纹图谱分析验证[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(3):285-293.  
YANG H Z, HE R Y, LI Y, et al. Prediction of quality markers and fingerprint analysis of *Aquilariae Lignum Resinatum* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2022, 39(3):285-293.
- [20] 王灿红, 彭德乾, 刘洋洋, 等. 沉香醇提取物对哮喘小鼠的平喘作用及其机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(16):4214-4221.  
WANG C H, PENG D Q, LIU Y Y, et al. Anti-asthmatic effect of agarwood alcohol extract in mice and its mechanism [J]. *China J Chin Mater Med*, 2021, 46(16):4214-4221.
- [21] 古远聪, 谭至豪, 吕帮玉, 等. 砂仁的化学成分、药理活性及鉴别的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(22):270-278.  
GU Y C, TAN Z H, LYU B Y, et al. Chemical constituents, pharmacological activities, and identification of *Amomi Fructus*: A review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(22):270-278.
- [22] 唐双燕, 魏家保, 刘玉华, 等. 含挥发油饮片砂仁标准汤剂的质量评价方法研究[J]. *中国现代中药*, 2024, doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20240428002.  
TANG S Y, WEI J B, LIU Y H, et al. Quality evaluation of standard decoction of *Amomi Fructus* containing volatile oil [J]. *Mod Chin Med*, 2024, doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20240428002.
- [23] 严辉, 高明亮, 查玉玲, 等. 香橼化学成分和药理作用研究进展及其质量标记物预测分析[J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(7):976-988.  
YAN H, GAO M L, CHA Y L, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Citri Fructus* and predictive analysis on its quality marker [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2022, 39(7):976-988.
- [24] 杨萍, 黄清杰, 李喜香, 等. 橙皮苷药理作用及机制的研究进展[J]. *中草药*, 2023, 54(21):7222-7231.  
YANG P, HUANG Q J, LI X X, et al. Research progress on pharmacological action and mechanism of hesperidin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2023, 54(21):7222-7231.
- [25] LIU Y, WU H, NIE Y C, et al. Naringin attenuates acute lung injury in LPS-treated mice by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(10):1606-1612.
- [26] KIM J K, PARK J H, KU H J, et al. Naringin protects acrolein-induced pulmonary injuries through modulating apoptotic signaling and inflammation signaling pathways in mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2018, 59:10-16.
- [27] ZHAO A, XIAO L, CHEN S, et al. Comprehensive quality consistency evaluation strategy and analysis of compound danshen tablet [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2022, 219:114951.
- [28] ZHAO A Y, NI F Y, CHEN P Y, et al. Current studies on quality of Chinese patent drugs with consistency as core and discussions on new high-quality evaluation model [J]. *China J Chin Mater Med*, 2020, 45(15):3740-3748.

[责任编辑 李嘉麟]