

成分分析

基于指纹图谱、多成分含量测定及化学模式识别的
柴胡郁金香颗粒质量评价方法研究*姜春风¹, 孔雪¹, 周星宇¹, 车雪颜¹, 罗文杰¹, 沈星云¹, 高颖^{2**}, 高陆^{2,3**}

(1. 吉林农业科技学院, 吉林 132109; 2. 长春中医药大学, 长春 130117; 3. 吉林省现代中药工程研究中心有限公司, 长春 130000)

摘要 目的: 基于指纹图谱、多成分含量测定及化学模式识别方式建立柴胡郁金香颗粒的质量评价方法, 为其质量控制提供重要依据。方法: 运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立 10 批柴胡郁金香颗粒的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱, 指认共有峰, 并进行相似度评价; 建立样品中芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素 4 个有效成分的 HPLC 含量测定方法, 并进行含量测定; 采用 SPSS 26.0、SIMCA 14.1 软件对柴胡郁金香颗粒进行聚类分析以及正交偏最小二乘判别分析, 以变量重要性投影(VIP)值 > 1.0 为标准筛选影响柴胡郁金香颗粒质量的差异性成分。结果: 建立的指纹图谱、多成分含量测定方法经方法学考察均取得满意的结果。10 批柴胡郁金香颗粒的指纹图谱相似度为 0.953~0.977, 共有 11 个共有峰, 指认了其中 4 个共有峰。10 批柴胡郁金香颗粒中有效成分芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的平均含量分别为 2.71、10.17、2.47、1.86 mg·g⁻¹。聚类分析和主成分分析结果表明, 10 批柴胡郁金香颗粒可聚为 2 类, 其中 S3、S6、S8 为一类, 其余为一类, 峰 2、9、7、3 的 VIP 值 > 1.0。结论: 建立的指纹图谱和含量测定方法稳定, 可靠, 结合化学模式识别技术可用于评价柴胡郁金香颗粒的整体质量, 峰 2、9、7、3 是影响柴胡郁金香颗粒质量的差异性成分。
关键词: 柴胡郁金香颗粒; 高效液相色谱法(HPLC); 指纹图谱; 多成分含量测定; 聚类分析(CA); 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA); 差异标志物

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2025)02-0201-08
doi: 10.16155/j.0254-1793.2024-0497

Research on quality evaluation method of Chaihu Yujinxiang granules
based on fingerprint, multi-component determination and
chemical pattern recognition*JIANG Chun-feng¹, KONG Xue¹, ZHOU Xing-yu¹, CHE Xue-yan¹,
LUO Wen-jie¹, SHEN Xing-yun¹, GAO Ying^{2**}, GAO Lu^{2,3**}

(1. Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin 132109, China; 2. Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 3. Jilin Modern Chinese Medicine Engineering Research Center Co., Ltd., Changchun 130000, China)

Abstract Objective: To establish a quality evaluation method for Chaihu Yujinxiang granules based on

* 吉林省教育厅科学研究项目资助(JJKH20240512KJ)

** 通信作者 高颖 Tel: 13756068680; E-mail: 821494784@qq.com

高陆 Tel: 13756098393; E-mail: bxgl@163.com

第一作者 Tel: 18844183321; E-mail: 731417522@qq.com

fingerprint, multi-component content determination, and chemical pattern recognition, providing important basis for its quality control. **Method:** The “Chinese Medicine Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System (2012 Edition)” was used to establish HPLC fingerprints of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules, identify common peaks, and perform similarity evaluation. HPLC method for determining the content of four active ingredients, namely liquiritin apioside, liquiritin, liquiritigenin, and isoliquiritigenin was established. Cluster analysis and orthogonal partial least squares discriminant analysis were conducted on Chaihu Yujinxiang granules using SPSS 26.0 and SIMCA 14.1 software. Differential components affecting the quality of Chaihu Yujinxiang granules were screened based on the criterion of variable importance projection (VIP) value > 1.0 . **Result:** The established fingerprint and multi-component content determination method achieved satisfactory results after methodological investigation. The similarity of the fingerprint of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules ranges from 0.953 to 0.977, with a total of 11 common peaks, 4 of which were identified. The average contents of active ingredients such as liquiritin apioside, liquiritin, liquiritigenin, and isoliquiritigenin in 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules were $2.71 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $10.17 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.47 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, and $1.86 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, respectively. The results of cluster analysis and principal component analysis indicates that 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules could be clustered into two categories, with S3, S6, and S8 in one category and the rest in another category. The VIP values of peaks 2, 9, 7, and 3 were above 1.0. **Conclusion:** The established fingerprint and content determination method are stable and reliable. Combined with chemical pattern recognition technology, they can be used to evaluate the overall quality of Chaihu Yujinxiang granules. Peaks 2, 9, 7, and 3 are differential components that affect the quality of Chaihu Yujinxiang granules.

Keywords: Chaihu Yujinxiang granules; high performance liquid chromatography (HPLC); fingerprint; multi component determination; cluster analysis (CA); orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA); differential markers

柴胡郁金香颗粒 (Chaihu Yujinxiang granules) 是在中医理论指导下,由柴胡疏肝散进行演变而得到的中药方剂,由柴胡提取物、甘草提取物、炙香附提取物、郁金提取物和牡蛎超微粉组成。本课题组前期对其药效物质基础及代谢产物进行了大量的研究,明确其具有较好的抗抑郁作用^[1-2]。研究表明,柴胡中柴胡皂苷 a 和 d^[3] 以及甘草中甘草苷^[4-5]、异甘草素^[6]、甘草次酸^[7]、甘草酸^[8-9] 在抗抑郁及肝脏保护方面具有显著作用,可能为柴胡郁金香颗粒发挥药理作用的物质基础。但是,柴胡郁金香颗粒中成分复杂,目前尚缺乏对其质量控制的全面研究。

中医药具有系统性、复杂性的特点,建立中药质量评价体系是中药迈向现代化的重要基础,特别是中药复方制剂的质量评价,目前正向着科学化、多元化、可控化方向发展^[10]。指纹图谱是中药复方制剂质量评价的常用方法,一种量化的综合性鉴定手段,在评价和控制中药材及复方的质量方面上具有独特的优势,能较全面地反映中药内在化学成分的种类与

数量^[11];多成分含量测定通过量效关系可以反映制剂的质量,是许多中药复方制剂质量控制的主要形式^[12-13]。化学模式识别技术可通过对指纹图谱中的多维数据信息进行分类、降维等处理,筛选出其中的质量差异标志物,可以最大限度地保留样本的原始信息并对样本做出整体性评价^[14]。为了更加精准控制复方中药制剂柴胡郁金香颗粒的质量,本研究通过高效液相色谱 (HPLC) 分析技术建立柴胡郁金香颗粒的指纹图谱、检测多种药效成分的含量,以及结合化学模式识别技术建立其整体质量的评价方法,建立其质量标准,为该制剂的质量控制及相关研究提供重要参考,为中药新药的开发提供重要依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪 (默飞世尔科技公司); MS205DU 型十万分之一天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); SB1200DT 超声波清洗机 (宁波新芝生物科技有限公司); Milli-Q 超纯水系统

(Millipore 公司)。

1.2 试药

对照品甘草苷(批号 111610-201908,纯度 95.0%)购自中国食品药品检定研究院;甘草素(20112401,纯度 94.8%)、异甘草素(批号 G10000218,纯度 94.8%)均购自成都格利普生物科技有限公司;蔗糖甘草苷(批号 6217,纯度 98%)购自上海诗丹德生物技术有限公司。甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

10 批柴胡郁金香颗粒编号为 S1~S10,批号分别为 190315、190401、190402、190407、190408、180903、180906、180910、180911、180917),由吉林省现代中药工程研究中心有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素和异甘草素的对照品适量,用甲醇配制成单一对照品储备液。再精密量取各对照品储备液适量,用甲醇稀释,得到质量浓度分别为蔗糖甘草苷 $0.48 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甘草苷 $0.51 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、甘草素 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、异甘草素 $0.041 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液 精密称取柴胡郁金香颗粒 0.5 g,置于具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇水 25 mL,称量,超声(功率 200 W,频率 40 kHz)提取 30 min,冷却至室温后,再次称量,用 70% 乙醇水补足减失的量,摇匀,0.22 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.1.3 阴性样品溶液 不加入柴胡郁金香颗粒,按照“2.1.2”项步骤操作,得到阴性样品溶液。

2.2 色谱条件

采用 ACE 5 C₁₈-HL 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以乙腈(A)-水(B)为流动相,梯度洗脱(0~12 min, 10%A → 29%A; 12~25 min, 29%A → 31%A; 25~28 min, 31%A → 43%A; 28~40 min, 43%A → 46%A; 40~46 min, 46%A → 51%A; 46~49 min, 51%A → 63%A; 49~80 min, 63%A),流速 $0.8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 230 nm,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,进样体积 5 μL 。

2.3 HPLC 指纹图谱

2.3.1 精密度试验 精密吸取“2.1.2”项下编号为 S1 的供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,以 2 号峰甘草苷为参照峰(S),计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD ($n=6$) 为 0.062%~0.60%,相对

峰面积的 RSD ($n=6$) 为 0.20%~2.9%,表明方法精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取编号为 S1 的柴胡郁金香颗粒适量,按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以 2 号峰甘草苷为参照峰(S),计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.022%~0.10%,相对峰面积的 RSD 为 0.17%~3.6%,表明该方法重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取“2.1.2”项下编号为 S1 的供试品溶液,分别于制备后 0、2、4、6、8、12、24 h 进样测定,以 2 号峰甘草苷为参照峰(S),计算得到各共有峰相对保留时间的 RSD 为 0.023%~0.83%,相对峰面积的 RSD 为 0.25%~2.3%,表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

2.3.4 指纹图谱的建立 精密称定 10 批柴胡郁金香颗粒 0.5 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。将 10 批柴胡郁金香颗粒色谱图导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,选择 S2 号样品色谱图为参照图谱,采用中位数法,通过多点校正进行 Marker 峰匹配,生成 10 批柴胡郁金香颗粒的 HPLC 叠加图谱及对对照图谱,见图 1、2。共确定 11 个共有峰。按相同色谱条件进样混合对照品,得到混合对照品色谱图,见图 3。与混合对照品比对,指认了其中 4 个成分,分别为 1 号峰为蔗糖甘草苷,2 号峰为甘草苷,5 号峰为甘草素,6 号峰为异甘草素。

2.3.5 相似度评价 运用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)》对 10 批柴胡郁金香颗粒样品的图谱进行相似度评价。结果 10 批样品图谱与对照指纹图谱的相似度分别为 0.964、0.953、0.966、0.975、0.968、0.977、0.969、0.973、0.961 和 0.976,表明 10 批供试品的化学成分一致性较好,柴胡郁金香颗粒的整体质量稳定。

2.4 多成分含量测定

2.4.1 专属性分析 精密吸取“2.1.1”项下的混合对照品溶液、“2.1.2”项下供试品溶液以及“2.1.3”项下缺少柴胡郁金香颗粒的阴性对照溶液各 1 mL 于进样瓶中,按照“2.2”项下色谱条件进行检测,结果(图 1、3)表明,柴胡郁金香颗粒中蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素检测无阴性干扰,方法专属性良好。

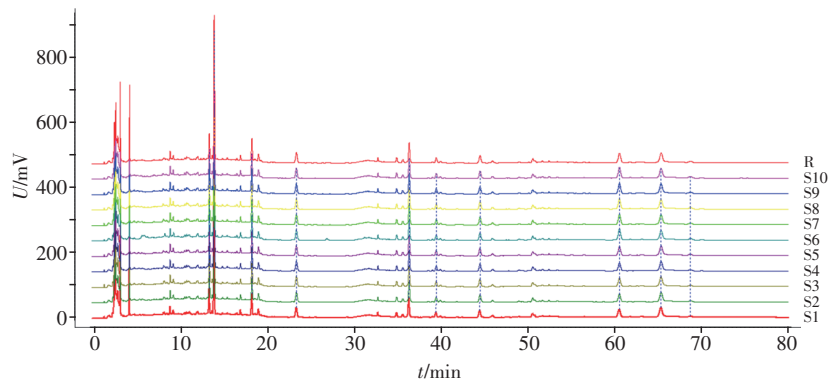


图 1 10 批柴胡郁金颗粒指纹图谱叠加图

Fig. 1 Overlay fingerprint of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules

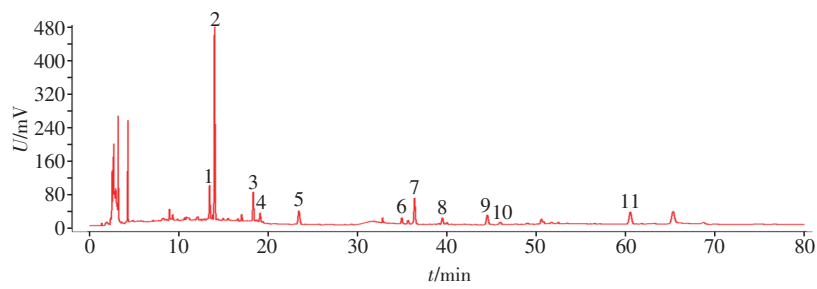
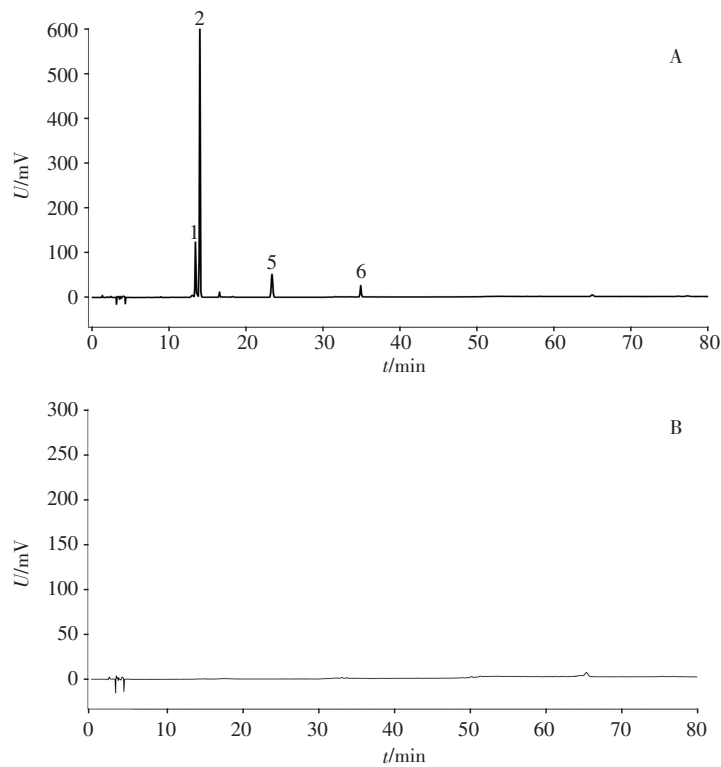


图 2 对照指纹图谱

Fig. 2 Reference fingerprint



1. 芹糖甘草苷 (liquiritin apioside) 2. 甘草苷 (liquiritin) 5. 甘草素 (liquiritigenin) 6. 异甘草素 (isoliquiritigenin)

图 3 混合对照品溶液 (A) 及阴性对照溶液 (B) 图谱

Fig. 3 Chromatograms of mixed reference solution (A) and negative solution (B)

2.4.2 线性关系考察 精密吸取“2.1.1”项下单一对照品储备液,用甲醇稀释成系列浓度的对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,以对照品的质量浓

度 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标绘制标准曲线,线性关系考察结果见表 1,结果表明在线性范围内各成分的线性关系良好,可用于含量计算。

表 1 柴胡郁金香颗粒 4 个有效成分线性关系考察结果

Tab. 1 Results of linear relationship investigation of four active ingredients in Chaihu Yujinxiang granules

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	r	线性范围 (linear range)/(mg·mL ⁻¹)
异甘草素 (isoliquiritigenin)	$Y=0.21X+0.61$	0.999 5	0.02~0.12
甘草苷 (liquiritin)	$Y=0.32X+0.89$	0.999 7	0.10~1.02
甘草素 (liquiritigenin)	$Y=0.27X+0.29$	0.999 5	0.05~0.30
蔗糖甘草苷 (liquiritin apioside)	$Y=0.43X+0.73$	0.999 6	0.16~1.44

2.4.3 精密度试验 精密吸取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积,计算得到蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素峰面积的 RSD 分别为 0.92%、0.96%、1.7% 和 1.7%,结果表明仪器精密度良好。

2.4.4 稳定性试验 精密称取编号为 S1 的柴胡郁金香颗粒供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件分别在 0、2、4、6、12、24 h 进样测定,记录峰面积,计算得到蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素峰面积的 RSD 分别为 0.62%、0.75%、1.2% 和 1.5%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.5 重复性试验 精密称取编号为 S4 的柴胡郁金香颗粒供试品 6 份,每份 0.5 g,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,采用外标法计算得到蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的平均含量为 2.7、10.1、2.5、

1.8 mg·g⁻¹, RSD 分别为 2.0%、2.5%、2.4% 和 1.7%。结果表明该方法重复性良好。

2.4.6 加样回收率试验 取已知成分含量的柴胡郁金香颗粒供试品 (编号为 S4) 0.25 g,共 9 份,精密称定,分别按 1:0.5、1:1、1:1.5 的质量比加入各对照品,每个比例 3 份,按“2.1.2”项下方法制备供试溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,计算得到蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的平均加样回收率在 96.9%~100.9%,RSD 在 1.9%~2.9%。结果表明方法准确度良好。

2.4.7 样品含量测定 取 10 批柴胡郁金香颗粒样品溶液,按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,运用标准曲线计算 4 个成分的含量,测定 3 次,取平均值,结果见表 2。10 批柴胡郁金香颗粒中蔗糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的平均含量分别为 2.71、10.17、2.47 和 1.86 mg·g⁻¹。

表 2 10 批柴胡郁金香颗粒中 4 个成分的含量测定结果 ($n=3$)

Tab. 2 Content determination results of 4 components in 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules

批次 (batch)	含量 (content)/(mg·g ⁻¹)			
	蔗糖甘草苷 (liquiritin apioside)	甘草苷 ((liquiritin)	甘草素 (liquiritigenin)	异甘草素 (isoliquiritigenin)
S1	2.73	10.12	2.48	1.87
S2	2.76	10.20	2.51	1.89
S3	2.81	10.41	2.56	1.93
S4	2.68	9.97	2.43	1.84
S5	2.62	10.05	2.39	1.81
S6	2.83	10.52	2.54	1.95
S7	2.54	9.93	2.37	1.76
S8	2.77	10.28	2.52	1.90
S9	2.65	10.16	2.43	1.81
S10	2.69	10.06	2.47	1.85
均值 (average)/(mg·g ⁻¹)	2.71	10.17	2.47	1.86

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 聚类分析 聚类分析 (CA) 法是利用研究对

象的内在联系规律和要求进行分类的一种方法^[15]。以 10 批柴胡郁金香颗粒中 11 个共有峰峰面积为变

量,导入 SPSS 26.0 软件,采用组间聚类,以平方欧式距离为依据进行聚类分析,结果见图 4。当平方欧式距离为 15 时,10 批样品聚为 2 类,S3、S6、S8 号样品聚为一类,其余样品聚为一类。结果表明不同批次样品间质量存在一定差异。

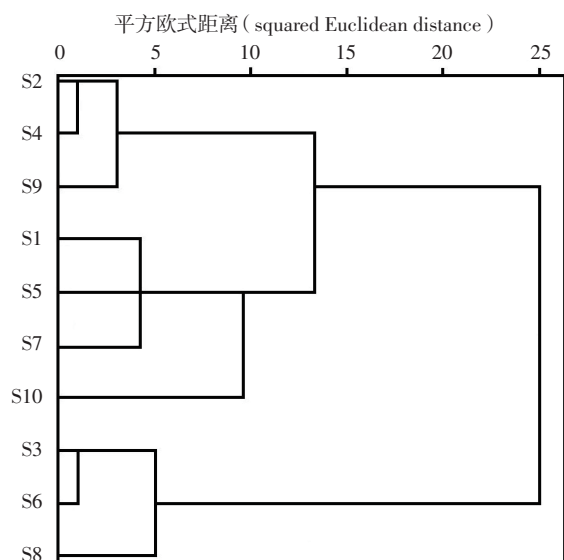


图 4 10 批柴胡郁金香颗粒聚类分析树状图
Fig. 4 Tree diagram of cluster analysis of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules

2.5.2 正交偏最小二乘判别分析 正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA)是一种有监督的判别分析方法^[16]。为了进一步分析 10 批柴胡郁金香颗粒的差异和分类,通过 SIMCA 14.1 软件对 10 批柴胡郁金香颗粒样品进行 OPLS-DA 分析。OPLS-DA 得分图见图 5,结果表明该分类结果与 CA 结果一致,10 批样品可明显分为 2 类,S3、S6、S8 号样品为一类,其余样品为一类。

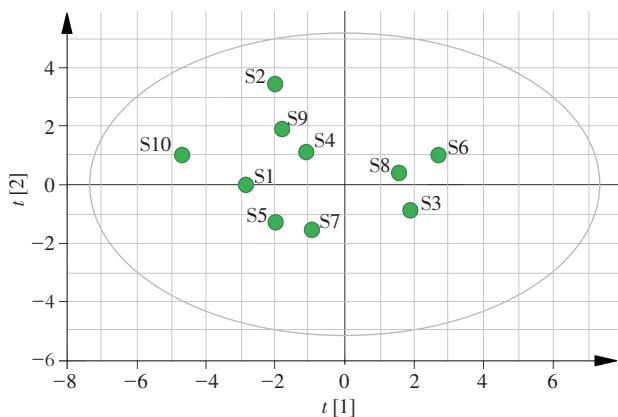


图 5 10 批柴胡郁金香颗粒 OPLS-DA 结果
Fig. 5 OPLS-DA results of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules

变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)值越大,表示对应成分对样品的分类贡献越大,VIP 值是筛选差异性化合物的重要指标^[17]。以 VIP 值 > 1 为标准,筛选影响柴胡郁金香颗粒质量的差异标志物。结果如图 6 所示,结果表明 4 个共有峰对样品质量影响较大,分别为峰 2(甘草苷)、9、7 和 3。

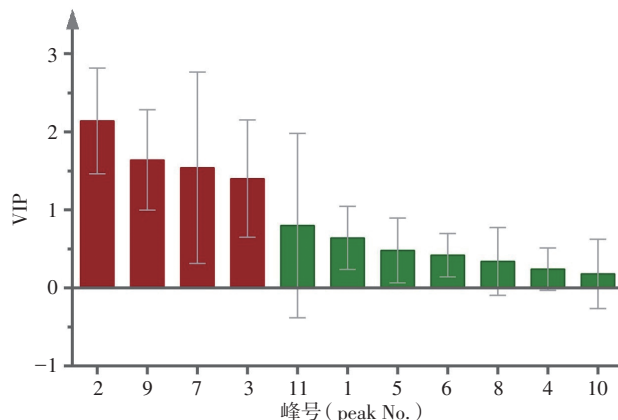


图 6 10 批柴胡郁金香颗粒共有峰的 VIP 图
Fig. 6 VIP plot of common peaks of 10 batches of Chaihu Yujinxiang granules

3 讨论

3.1 色谱条件与提取方法的考察

本研究首先运用 DAD 检测器筛选各波长下各成分的出峰情况,结果发现,在 230 nm 波长处,11 个共有峰的峰面积最大,响应最好,因此选择 230 nm 作为检测器的检测波长。而后比较了不同流动相(乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 甲酸溶液)对供试品分离效果的影响。结果表明,当以乙腈-水为流动相洗脱时,11 个共有峰的色谱峰峰形和分离度均较好,因此选择乙腈-水作为流动相。同时考察了不同流速(0.8、1.0、1.2 mL·min⁻¹)对供试品分离效果的影响,结果表明,以流速为 0.8 mL·min⁻¹ 进行洗脱时,11 个共有峰的色谱峰峰形和分离度均较好,因此选择洗脱流速为 0.8 mL·min⁻¹。此外,还考察了不同柱温(25、30、35 °C)对供试品分离效果的影响,结果发现,柱温为 30 °C 时检测效果最好。考察了不同厂家的色谱柱 [ACE 5 C₁₈-HL (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Agilent ZORBAX SB-Aq (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Welch Ultimate XB-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)] 对供试品分离效果的影响,结果表明,ACE 5 C₁₈-HL 色谱柱(250 × 4.6 mm, 5 μm)对供试品的分离效

果最好。

另外,本研究还考察了不同提取方式(加热回流、超声)、不同提取溶剂(乙醇、70%乙醇水、甲醇、70%甲醇水、水)、不同提取时间(20、30、40 min)、不同料液比(1:10、1:25、1:50)对样品的提取效果影响,结果发现超声提取法和加热回流提取方法的提取效果相差不多,考虑到加热回流操作烦琐,因此,选择超声提取法为本研究的供试品提取方法。此外,研究发现70%乙醇水的提取方式最佳,提取时间30 min最佳,料液比1:25最佳。因此,确定提取溶剂为70%乙醇水,提取时间为30 min,料液比为1:25。

3.2 指纹图谱与含量测定结果分析

本研究选择中位数法建立10批柴胡郁金香颗粒样品的HPLC指纹图谱,10批样品与对照指纹图谱的相似度为0.953~0.977,均大于0.95,表明柴胡郁金香颗粒制剂的批与批之间相似性较好,制剂稳定性高;10批柴胡郁金香颗粒共有11个共有峰,共指出了4个共有峰,分别为1号峰为芹糖甘草苷,2号峰为甘草苷,5号峰为甘草素,6号峰为异甘草素。这4个成分均为甘草的药效成分,其中甘草苷为2020年版《中华人民共和国药典》一部甘草药材含量测定的指标成分^[18]。研究表明,甘草的化学成分对神经具有显著的保护作用^[19],甘草苷可以显著提高抑郁症大鼠的BDNF的含量,提高抗氧化酶的活性,抑制脂质过氧化,减少慢性应激引起的大脑氧化损伤^[20]。甘草素能够改善焦虑大鼠前额叶皮层中屏障蛋白的变化从而改善焦虑大鼠的焦虑状态^[21]。异甘草素可通过磷酸化降低糖原合成酶激酶-3 β 活性,增强核因子E2相关因子2的表达,降低NF- κ B响应,抑制神经炎症,对认知损伤和神经元损伤进行保护^[22]。这4个成分对于柴胡郁金香颗粒药效的发挥起着重要作用,对这4个成分的指认具有重要意义。此外,本研究前期对柴胡郁金香颗粒的11个峰进行归属分析,11个峰均来自柴胡郁金香颗粒处方的不同组分,其中峰7、8、9归属于柴胡,峰1、2、3、4、5、6、10归属于甘草,峰11归属于炙香附。

10批柴胡郁金香颗粒的含量测定结果显示,芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的含量分别为2.54~2.83、9.93~10.52、2.37~2.56、1.76~1.95 mg·g⁻¹,表明不同批次样品间各成分含量存在差异,其中甘草苷的含量偏差最大,这可能与原料药的差异以及生

产过程仪器偏差、工艺偏差有关。本研究中芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的含量测定均采用230 nm作为检测器的检测波长,其方法学考察均符合2020年版《中华人民共和国药典》的要求。但是为了更精准测量药物成分含量,可进行芹糖甘草苷、甘草苷、甘草素、异甘草素的检测波长考察,针对成分选择最佳检测波长。

3.3 化学模式识别结果分析

本研究将HPLC指纹图谱与化学模式识别分析方式相结合进行柴胡郁金香颗粒的质量评价。聚类分析结果显示,10批样品可聚为2类,S3、S6、S8号样品为一类,其余样品为一类。进一步运用OPLS-DA进行降维分析,得到相同的结果。表明分析结果稳定,可靠。运用变量重要性投影VIP值筛选差异性化合物,结果得到4个差异性化合物,分别为峰2(甘草苷)、9、7和3。表明这4个成分是影响10批柴胡郁金香颗粒质量的差异标志物。因此建议严格监控柴胡郁金香颗粒生产制剂过程中这四个峰峰面积的波动情况。中药复方制剂化学成分复杂,HPLC紫外检测器并不能完全测出所有成分,在本次研究中受到检出成分有限性的影响,因此在后续研究中,可使用其他更为精密的检测技术及方法对样品中的化学成分进行更为全面的检测及分析,尤其包括柴胡皂苷a、d,甘草查尔酮等经研究对疾病治疗具有贡献的成分,以期对柴胡郁金香颗粒进行更为全面、准确的质量评价。

综上所述,本研究成功地建立了柴胡郁金香颗粒的指纹图谱和含量测定方法,可用于柴胡郁金香颗粒的整体质量评价。

参考文献

- [1] 姜春风,薛光辉,张金秋,等.基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱研究柴胡郁金香颗粒的抗抑郁作用机理[J].分析化学,2023,51(4):579
JIANG CF, XUE GH, ZHANG JQ, et al. Study on the antidepressant mechanism of Chaihu Tulip granules based on ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Chin J Anal Chem, 2023, 51(4): 579
- [2] 姜春风,薛光辉,付丽娟,等.UPLC-MS/MS法分析柴胡郁金香颗粒中9个药效成分在抑郁症大鼠体内的药代动力学研究[J].质谱学报,2022,43(3):336
JIANG CF, XUE GH, FU LJ, et al. UPLC-MS/MS analysis of the pharmacokinetics of 9 active ingredients in Chaihu Tulip granules in rats with depression [J]. J Mass Spectrom, 2022, 43(3): 336

- [3] 贺泽慧,范荣,张春虎,等.柴胡总皂苷调控细胞色素 P450 酶发挥类似柴胡疏肝散抗抑郁作用研究[J].湖南中医药大学学报, 2019, 39(6): 693
HE ZH, FAN R, ZHANG CH, *et al.* Study on the regulation of cytochrome P450 enzyme by total saponins of *Bupleurum chinense* and its similar antidepressant effect to Chaihu Shugan san [J]. J Hunan Univ Tradit Chin Med, 2019, 39(6): 693
- [4] KIM YW, KI SH, LEE JR, *et al.* Liquiritigenin, an aglycone of liquiritin in *Glycyrrhizae Radix*, prevents acute liver injuries in rats induced by acetaminophen with or without buthionine sulfoximine [J]. Chem Biol Interact, 2006, 161(2): 125
- [5] ZHAO Z Y, WANG W X, GUO H Z, *et al.* Antidepressant-like effect of liquiritin from *Glycyrrhiza uralensis* in chronic variable stress induced depression model rats [J]. Behav Brain Res, 2008, 194(1): 108
- [6] ZHAO ZL, PARK SM, GUAN LX, *et al.* Isoliquiritigenin attenuates oxidative hepatic damage induced by carbon tetrachloride with or without buthionine sulfoximine [J]. Chem Biol Interact, 2015, 225: 13
- [7] 杨晓宇,苏秀兰.甘草次酸保肝功效的通路作用机制[J].中国组织化学与细胞化学杂志, 2019, 28(1): 66
YANG XY, SU XL. The pathway mechanism of liver protective effect of glycyrrhetic acid [J]. Chin J Biochem Cell Chem, 2019, 28(1): 66
- [8] SUN X, DUAN XP, WANG CY, *et al.* Protective effects of glycyrrhizic acid against non-alcoholic fatty liver disease in mice [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 806: 75
- [9] WANG B, LIAN Y J, DONG X, *et al.* Glycyrrhizic acid ameliorates the kynurenine pathway in association with its antidepressant effect [J]. Behav Brain Res, 2018, 353: 250
- [10] 吕响,程文倩,牛可敬,等.基于多维整合策略的中药复方制剂质量评价研究[J/OL].中草药, (2024-09-11)[2024-11-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20240909.0935.002.html>
LÜ Y, CHENG WQ, NIU KJ, *et al.* Study on quality evaluation of traditional Chinese medicine compound preparations based on multidimensional integration strategy [J/OL]. Chin Tradit Herb Drugs, (2024-09-11)[2024-11-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20240909.0935.002.html>
- [11] 梁朝锋,韩晓珂,秦亚东,等.栀子饮片及栀子配方颗粒的指纹图谱建立、含量测定及化学模式识别[J].中国药房, 2022, 33(14): 1718
LIANG CF, HAN XK, QIN YD, *et al.* Establishment of fingerprint spectra, content determination, and chemical pattern recognition of *Gardenia jasminoides* decoction pieces and *Gardenia jasminoides* formula granules [J]. China Pharm, 2022, 33(14): 1718
- [12] 郎天琼,封云倩,简进珍,等.复方胃痛胶囊 HPLC 指纹图谱建立及 5 种成分含量测定[J].中药材, 2023, 46(3): 682
LANG TQ, FENG YQ, JIAN JZ, *et al.* Establishment of HPLC fingerprint and determination of five components in compound stomach pain capsules [J]. Chin Med Mater, 2023, 46(3): 682
- [13] 李慧峰,孔祥鹏,孟霜,等.复方茵苜颗粒的指纹图谱建立、化学模式识别及多成分含量测定[J].中国药房, 2022, 33(21): 2627
LI HF, KONG XP, MENG S, *et al.* Establishment of fingerprint spectrum, chemical pattern recognition, and determination of multi-component content of compound anise granules [J]. China Pharm, 2022, 33(21): 2627
- [14] 王韵旨,郭丽,吴作敏,等.基于指纹图谱及化学模式识别的归芪通脉合剂质量评价[J].中国药房, 2022, 33(20): 2503
WANG YZ, GUO L, WU ZM, *et al.* Quality evaluation of Guiqi Tongmai mixture based on fingerprint and chemical pattern recognition [J]. China Pharm, 2022, 33(20): 2503
- [15] 陈文,余本功.一种基于多向量相似度的聚类分析方法研究[J].陇东学院学报, 2023, 34(2): 38
CHEN W, YU BG. Research on a clustering analysis method based on multi vector similarity [J]. J Longdong Univ, 2023, 34(2): 38
- [16] 李颖,马雨辰,刘萌,等.近红外光谱技术结合偏最小二乘判别分析检测三七品质[J].食品安全质量检测学报, 2022, 13(12): 3923
LI Y, MA YC, LIU M, *et al.* Detection of Panax notoginseng quality using near-infrared spectroscopy combined with partial least squares discriminant analysis [J]. J Food Saf Qual Inspec, 2022, 13(12): 3923
- [17] 段雨晴,朱田密,陈树和,等.桦褐孔菌药材的薄层色谱鉴别和 HPLC 指纹图谱建立及化学模式识别分析[J].中国药房, 2023, 34(1): 52
DUAN YQ, ZHU TM, CHEN SH, *et al.* Thin layer chromatography identification and HPLC fingerprint establishment, as well as chemical pattern recognition analysis of *Botrytis cinerea* medicinal materials [J]. China Pharm, 2023, 34(1): 52
- [18] 中华人民共和国药典 2020 年版.一部[S].2020: 88
ChP 2020. Vol I [S]. 2020: 88
- [19] 魏冠华.乌拉尔甘草化学成分及其神经保护活性研究[D].甘肃:兰州大学, 2021
WEI GH. Chemical Constituents and Neuroprotective Activity of Ural Licorice [D]. Gansu: Lanzhou University, 2021
- [20] 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
YANG QQ, MENG ZY, WANG XY, *et al.* Research progress on extraction, purification, and pharmacological effects of glycyrrhizin [J]. Chin Wild Plant Resour, 2023, 42(4): 12
- [21] MURCK H, KARAILIEV P, KARAILIEVOVA L, *et al.* Treatment with *Glycyrrhiza glabra* extract induces anxiolytic effects associated with reduced salt preference and changes in barrier protein gene expression [J]. Nutrients, 2024, 16(4): 515
- [22] 李葆林,麻景梅,田宇柔,等.甘草中新发现化学成分和药理作用的研究进展[J].中草药, 2021, 52(8): 2438
LI BL, MA JM, TIAN YR, *et al.* Research progress on newly discovered chemical components and pharmacological effects in licorice [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(8): 2438

(本文于 2024 年 7 月 31 日收到)