

基于多指标含量测定及 HPLC 特征图谱结合 化学计量学的解郁安神颗粒质量综合评价*

燕霞, 朱韬, 何颂华**, 罗轶**

(广西壮族自治区药品检验研究院 国家药品监督管理局中药材质量监测与评价重点实验室, 南宁 530021)

摘要 目的: 建立解郁安神颗粒的多组分含量测定及特征图谱方法与化学计量学结合, 对解郁安神颗粒质量进行整体评价。方法: 采用 CAPCELL PAK MG II C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液为流动相, 梯度洗脱, 流速 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长在 237 nm (栀子苷、甘草苷、甘草酸铵) 和 335 nm (斯皮诺素及 3,6' - 二芥子酰基蔗糖) 5 个成分进行含量测定并进行方法学验证。基于多组分含量测定方法, 建立样品的特征图谱, 并通过化学计量学对样品进行分析评价, 找出影响样品质量的主要因素。结果: 建立了解郁安神颗粒的多组分含量测定方法, 5 个成分在各自范围内线性关系良好, 回收率在 95.6% ~ 100.0%, 对 145 批次样品进行测定, 不合格样品共 54 批, 总不合格率为 37.2%; 建立了解郁安神颗粒的特征图谱, 标定了 12 个特征峰分别归属于 6 味药材, 通过化学计量学软件分析, 10 个厂家样品质量存在一定差异, 炒栀子与炙甘草质量的优劣是影响样品质量的关键因素。结论: 建立的解郁安神颗粒多组分含量测定方法及特征图谱方法便捷可靠, 可用于解郁安神颗粒品质的综合评价。

关键词: 解郁安神颗粒; 含量测定; 栀子苷; 甘草苷; 甘草酸铵; 斯皮诺素; 3,6' - 二芥子酰基蔗糖; 特征图谱; 质量评价

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793 (2024) 09 - 1567 - 11

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024 - 0230

Comprehensive quality evaluation of Jieyu Anshen granules based on multi - indicator content determination and HPLC characteristic chromatogram combined with chemometrics*

YAN Xia, ZHU Tao, HE Song - hua**, LUO Yi**

(Guangxi Institute for Food and Drug Control NMPA Key Laboratory for Quality Monitoring and Evaluation of Traditional Chinese Medicine, Chinese Materia Medica, Nanning 530021, China)

Abstract Objective: To establish a multi - component content determination and characteristic chromatogram method for Jieyu Anshen granules, combined with chemometrics, to comprehensively evaluate the quality of Jieyu Anshen granules. **Methods:** The separation was performed on a CAPCELL PAK MG II C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column using acetonitrile (A) and 0.1% phosphoric acid aqueous solution (B) as the mobile phases with

* 2023 国家药品抽检品种项目(序号 26)

** 通信作者 何颂华 Tel:(0771)5828468;E - mail:hshua3@sina.com

罗轶 Tel:(0771)5719722;E - mail:luoyi20010211@163.com

第一作者 Tel:(0771)5828468;E - mail:357833410@qq.com

gradient elution at a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The column temperature was $30 \text{ }^\circ\text{C}$ and the detection wavelengths were set at 237 nm and 335 nm. The analysis method was validated. Based on the multi-component content determination method, characteristic chromatogram was established. The samples were analyzed and evaluated through chemometrics to identify the main factors affecting their quality. **Results:** A multi-component content determination method was established for Jieyu Anshen granules. The five components had good linear relationships within their respective ranges, with recovery rates ranging from 95.6% to 100.0%. And 145 batches of samples were tested, and a total of 54 batches were found to be unqualified, with a total unqualified rate of 37.2%. Establishing a characteristic chromatogram of Anshen granules, 12 characteristic peaks were attributed to 6 medicinal herbs. Through chemometric analysis, it was found that there were certain differences in the quality of samples from 10 manufacturers. The quality of fried gardenia and stir-baked licorice was the key factor. **Conclusion:** The established multi-component content determination method and characteristic chromatogram method for Jieyu Anshen granules are convenient and reliable, and can be used for comprehensive evaluation of the quality of Jieyu Anshen granules.

Keywords: Jieyu Anshen granules; content determination; gardenoside; liquiritin; glycyrrhizic acid; spinosol; 3, 6'-bisuccinoyl sucrose; characteristic chromatogram; quality evaluation

解郁安神颗粒为临床经验方,由四平康乐制药厂与北京中医研究院西苑医院联合研制,收载于2020年版《中华人民共和国药典》一部,具有舒肝解郁、安神定志的功效,用于情志不畅、肝郁气滞所致的失眠、心烦、焦虑、健忘,神经官能症、更年期综合征见上述证候者。本品由柴胡、大枣、石菖蒲、姜半夏、炒白术、浮小麦、制远志、炙甘草、炒栀子、百合、胆南星、郁金、龙齿、炒酸枣仁、茯苓、当归16味药组成,经临床研究发现,解郁安神颗粒对中风后抑郁^[1]、脑卒中后抑郁^[2]、更年期抑郁症^[3]等各种抑郁症及盆腔炎清栓治疗慢性盆腔痛^[4]等均有显著疗效,其联合西药还有治疗老年失眠伴抑郁^[5]、老年冠心病稳定型心绞痛伴抑郁^[6]、提高精神分裂症伴抑郁认知功能^[7]等功效。

现行解郁安神颗粒法定标准仅定量了栀子苷,定性了制远志、柴胡和炙甘草3味药材,而现有文献^[8-12]也仅针对其中单一药味进行研究。解郁安神颗粒由16味药组成,成分复杂,仅依靠单一成分测定难以控制其整体的质量,通过多组分含测及化学计量学多元统计等方法,可以较全面地控制制剂的内在质量。中药特征图谱具有信息量大,特征性强,整体性和模糊性等特点,是公认的现代中药质量评价最为实用的分析方法之一,可宏观反映中药化学信息的整体状况,实现中药内在质量的有效表征,从整体上提高中药质量控制水平^[13-14]。为

实现从整体控制产品质量,本实验建立多组分含量测定方法同时对3,6'-二芥子酰基蔗糖、斯皮诺素、甘草苷、甘草酸、栀子苷的含量进行测定,以考察解郁安神颗粒中制远志、炒酸枣仁、甘草与炒栀子的质量情况,并建立解郁安神颗粒的特征图谱,结合多元统计的分析方法找出影响产品质量的关键因素,为解郁安神颗粒质量标准的建立提供参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪(Waters 公司);ML204型万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);XP26型百万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。Milli-Q超纯水系统(Millipore 公司)。

1.2 试剂

对照品栀子苷(批号110749-201919,含量97.1%)、甘草酸铵(批号110731-202122,含量94.4%)、甘草苷(批号111610-201908,含量95.0%)、斯皮诺素(批号111869-202005,含量94.8%)和3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号111848-202006,含量96.5%)购于中国食品药品检定研究院提供,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

145批次解郁安神颗粒均为2023年国家药品抽检的样品。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

采用 CAPCELL PAK MG II C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈(A)和0.1%磷酸水溶液(B)为流动相, 梯度洗脱(0~34 min, 3% A→21% A; 34~40 min, 21% A→25% A; 40~41 min, 25% A→28% A; 41~85 min, 28% A→53% A), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 栀子苷、甘草酸、甘草苷检测波长为 237 nm; 3,6'-二芥子酰基蔗糖和斯皮诺素检测波长为 335 nm, 进样量 10 μL。理论板数以栀子苷峰计算应不得低于 5 000。

2.1.2 溶液的制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取对照品栀子苷、甘草苷、甘草酸铵、3,6'-二芥子酰基蔗糖适量, 加 70% 甲醇水制成每 1 mL 含栀子苷 100 μg、甘草苷 20 μg、甘草酸铵 50 μg (甘草酸质量 = 甘草酸铵质

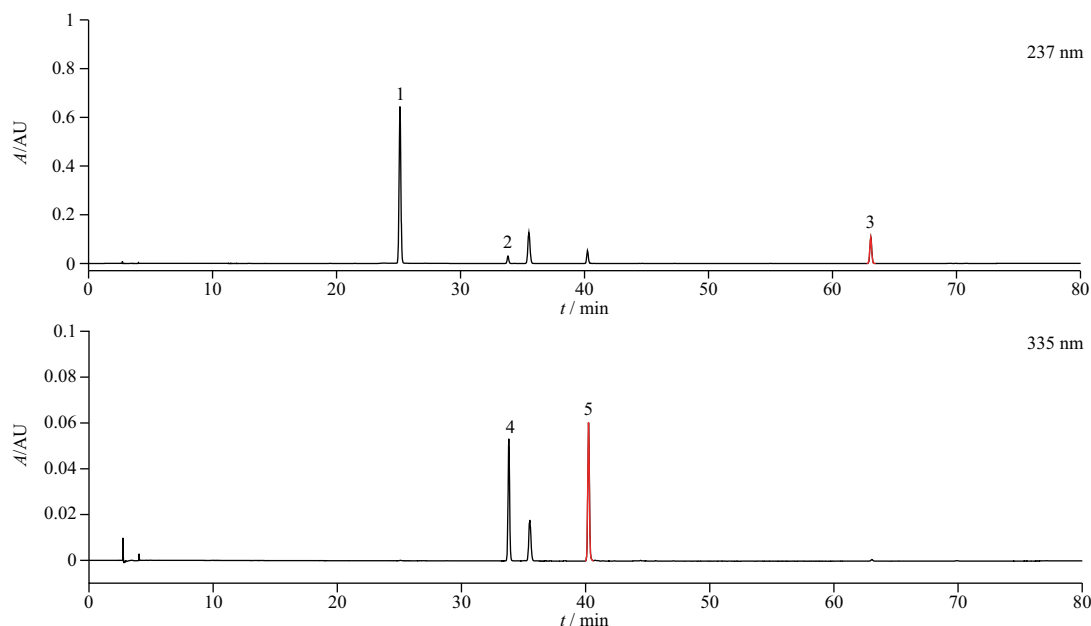
量/1.0207)、3,6'-二芥子酰基蔗糖 5 μg 的混合对照品溶液。

2.1.2.2 供试品溶液 取样品(编号样 1)适量, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇水 20 mL, 称量, 超声(功率 600 W, 频率 40 kHz)处理 30 min, 放冷, 再称量, 用 70% 甲醇水补足减失的量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.2.3 阴性样品溶液 阴性样品溶液按照 2020 年版《中华人民共和国药典》一部中解郁安神颗粒的处方工艺, 分别制备缺炒栀子、缺炙甘草、缺制远志和缺酸枣仁的阴性样品, 按照“2.1.2.2”项方法制备, 阴性样品溶液。

2.1.3 专属性考察

分别吸取混合对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μL, 按照“2.1.1”项下色谱条件测定, 结果阴性样品在供试品待测成分色谱峰相应位置无对应色谱峰, 表明阴性无干扰, 本法专属性良好。见图 1~3。



1. 栀子苷(gardenoside) 2. 甘草苷(liquiritin) 3. 甘草酸(glycyrrhizic acid) 4. 斯皮诺素(spinosin) 5. 3,6'-二芥子酰基蔗糖(3,6'-dimustard sucrose)

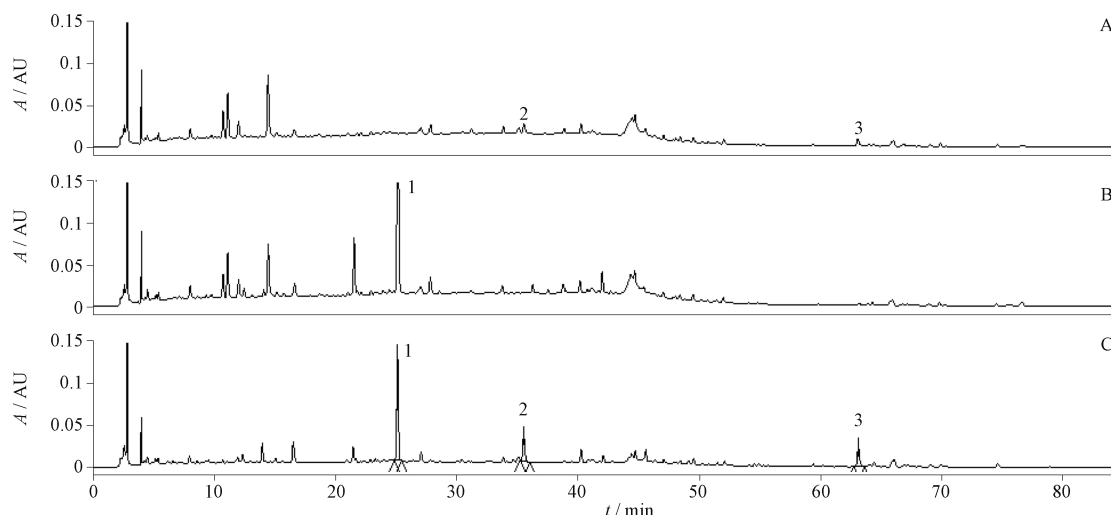
图 1 解郁安神颗粒混合对照品图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of mix reference standards for Jieyu Anshen granules

2.1.4 线性关系考察

2.1.4.1 对照品储备液制备 精密称取对照品栀子苷 5.501 mg、甘草苷 5.121 mg 分别置 5 mL 量瓶中, 对照品甘草酸铵 5.174 mg、斯皮诺素 5.538 mg、3,6'-二芥子酰基蔗糖 5.716 mg 分别置 10

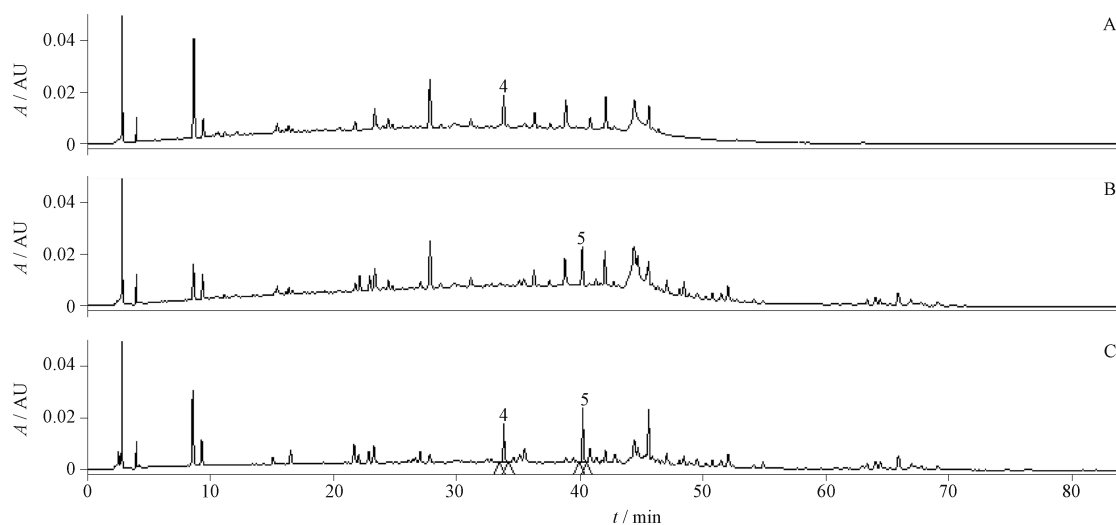
mL 量瓶中, 加 70% 甲醇水稀释至刻度, 摇匀, 即得(栀子苷 1.068 3 mg·mL⁻¹、甘草苷 0.973 0 mg·mL⁻¹、甘草酸 0.4785 mg·mL⁻¹、斯皮诺素 0.525 0 mg·mL⁻¹、3,6'-二芥子酰基蔗糖 0.551 6 mg·mL⁻¹)。



1. 栀子苷(gardenoside) 2. 甘草苷(liquiritin) 3. 甘草酸(glycyrrhizic acid)

图2 缺炒栀子(A)、缺炙甘草阴性样品(B)和解郁安神颗粒(C)色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of negative sample without fried gardenia (A), negative sample without stir-baked licorice (B) and Jieyu Anshen granules (C)



4. 斯皮诺素(spinosol) 5. 3,6'-二芥子酰基蔗糖(dimustard sucrose)

图3 缺制远志(A)、缺炒酸枣仁阴性样品(B)和解郁安神颗粒(C)色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of negative sample without processed Radix Polygalae (A), negative sample without fried sour jujube kernels (B) and Jieyu Anshen granules (C)

2.1.4.2 混合对照品溶液制备 精密量取栀子苷对照品储备液 1.00 mL、甘草苷对照品储备液 200 μL、甘草酸铵对照品储备液 500 μL、斯皮诺素对照品储备液及 3,6'-二芥子酰基蔗糖对照品储备液各 100 μL 置同一 5 mL 量瓶中,加 70% 甲醇水稀释至刻度,作为混合对照品溶液①。精密量取混合对照品溶液① 1.00 mL,置 2 mL 量瓶,加 70% 甲醇水稀释至刻度,作为混合对照品溶液②。精密量取混合

对照品溶液② 1.00 mL,置 2 mL 量瓶中,加 70% 甲醇水稀释至刻度,作为混合对照品溶液③。

分别精密吸取对照品混合溶液① 2、10 和 20 μL;混合对照品溶液② 1、2 和 10 μL;混合对照品溶液③ 1 μL,注入液相色谱仪、测定,以峰面积 *Y* 为纵坐标,对照品进样量对数值 *X* 为横坐标,绘制标准曲线,结果见表 1,表中各成分在各自范围内线性关系良好。

表1 5种成分含量测定回归方程、相关系数以及线性范围

Tab.1 Regression equations, coefficients and linear ranges of five constituents

成分(component)	回归方程(regression equation)	r	线性范围(linear range)/ng
栀子苷(gardenoside)	$Y = 1\ 500X + 32\ 364$	1.000	53.41 ~ 4 273.17
甘草苷(liquiritin)	$Y = 2\ 000X + 1\ 360$	1.000	9.73 ~ 778.39
甘草酸(glycyrrhizinic acid)	$Y = 589.6X + 4\ 661$	1.000	11.96 ~ 957.04
斯皮诺素(spinosin)	$Y = 2\ 291X + 406.7$	1.000	2.63 ~ 210.00
3,6'-二芥子酰基蔗糖(3,6'-dimustard sucrose)	$Y = 2\ 551X - 139.9$	1.000	2.76 ~ 220.64

2.1.5 精密度试验

取样品(样1),按照“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项下色谱条件连续进样6次,计算各成分含量,计算RSD,结果栀子苷、甘草苷、甘草酸、斯皮诺素和3,6'-二芥子酰基蔗糖的RSD分别为0.25%、0.33%、0.22%、0.25%和0.51%,表明该法精密度良好。

2.1.6 稳定性试验

取样品(样1),按照“2.1.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1.1”项色谱条件下分别于0、3、8、13、17和24h进样测定,计算各成分含量,计算RSD,结果栀子苷、甘草苷、甘草酸、斯皮诺素和3,6'-二芥子酰基蔗糖的RSD分别为0.47%、2.6%、1.6%、0.38%和0.36%,表明该法稳定性良好,供试品溶液在24h内稳定。

2.1.7 重复性试验

取样品(样1)6份,按照“2.1.2.2”项方法,平行制备供试品溶液6份,在“2.1.1”项色谱条件下进样,测定峰面积,计算各成分含量,栀子苷、甘草苷、甘草酸、斯皮诺素和3,6'-二芥子酰基蔗糖的平均含量分别为4.3575、1.0025、1.2359、0.1940和0.2903 mg·袋⁻¹。计算RSD,结果栀子苷、甘草苷、甘草酸、斯皮诺素和3,6'-二芥子酰基蔗糖的RSD值分别为1.66%、0.74%、0.64%、0.22%和0.43%,表明该法重复性良好。

2.1.8 加样回收试验

取已知含量解郁安神颗粒(样1)研碎,取约1g,精密称定,分别精密加入根据样品含量另行制备的加样用对照品溶液(栀子苷50.39 μg·mL⁻¹、甘草苷9.73 μg·mL⁻¹、甘草酸23.92 μg·mL⁻¹、斯皮诺素1.95 μg·mL⁻¹、3,6'-二芥子酰基蔗糖3.47 μg·mL⁻¹)20 mL,称量,按“2.1.2.2”项制成加样样品溶液,并按上述色谱条件测定,计算加样回收率。结果样品中栀子苷、甘草苷、甘草酸、斯皮诺素、3,6'-二

芥子酰基蔗糖的回收率分别为100.0%、97.0%、96.0%、97.6%和99.7%,RSD分别为0.50%、1.3%、1.2%、0.63%和0.57%。表明该方法准确度良好,符合方法学要求。

2.1.9 样品含量测定

按照“2.1.2.2”项方法对10家生产企业去重批号后的145批样品进行制备,在“2.1.1”项色谱条件下进行测定,结果甘草含量45批不符合规定,不合格率为31.03%;制远志含量29批不符合规定,不合格率为20%。不合格样品共54批,总不合格率为37.2%。

2.2 特征图谱

2.2.1 色谱条件

检测波长为210 nm,其余同“2.1.1”项下。

2.2.2 溶液的制备

2.2.2.1 混合对照药材溶液

根据处方按样品取样量为2g时计算出各药材用量,故取对照药材石菖蒲0.16g、甘草0.12g、远志0.16g、栀子0.16g、百合0.4g、酸枣仁0.2g,照“2.1.2.2”项方法制备供试品溶液,即得。

2.2.2.2 混合对照品溶液

除不加甘草酸铵外,其余对照品同“2.1.2.1”项方法制备混合对照品溶液。

2.2.2.3 供试品溶液

同“2.1.2.2”项方法。

2.2.2.4 阴性样品溶液

按处方比例称取一定量的缺百合和缺石菖蒲的阴性样品,并按“2.1.2.2”项方法制备缺百合阴性样品溶液和缺石菖蒲阴性样品溶液,其余同“2.1.2.3”项方法。

2.2.3 特征峰确认

本研究对解郁安神颗粒中的炒栀子、炒酸枣仁、百合、炙甘草、制远志、石菖蒲等6味药材的特征峰进行研究(图4、5)。其中炒栀子中栀子苷(2号峰)、炒酸枣仁中斯皮诺素(5号峰)、炙甘草中甘草苷(6号峰)、制远志中的3,6'-二芥子酰基蔗糖(8号峰)均为2020年版《中华人民共和国药典》中各药材所规定的指标成份。

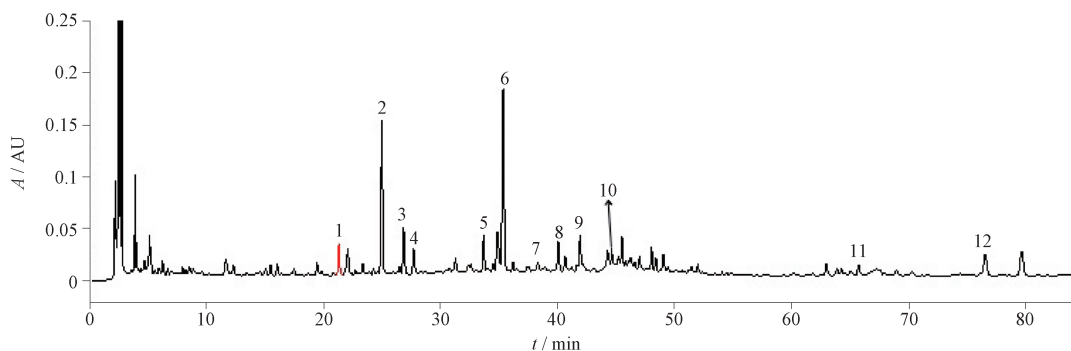


图4 混合对照药材溶液色谱图

Fig.4 Chromatogram of mixed reference drugs

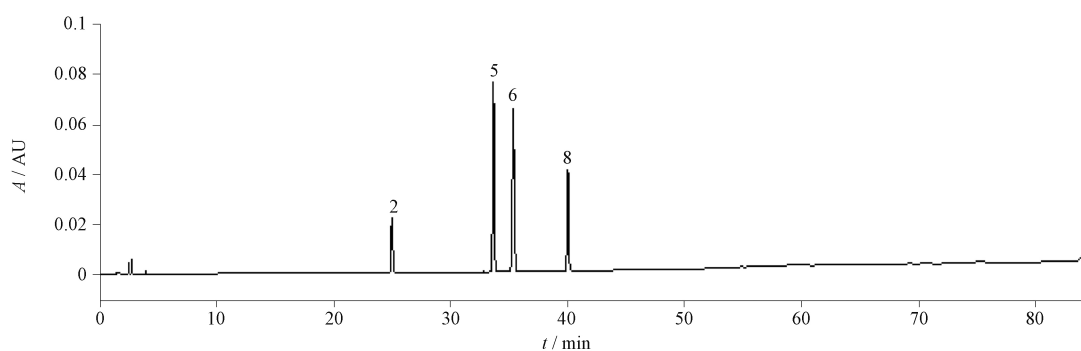


图5 混合对照品溶液色谱图

Fig.5 Chromatogram of mixed reference solution

对收集的药材3批炒栀子、10批炒酸枣仁、3批百合、19批炙甘草、10批制远志、19批石菖蒲与各自对照药材按“2.2.2.3”项下方法制备成供试品溶液并进样分析。将各单味药材样品溶液与供试品溶液色谱图(图6)比对分析,明确样品中1号特征峰(未知)来源于制栀子药材,3号特征峰(未知)来自于酸枣仁药材,4、7号特征峰(未知)来自于百合药材,9号特征峰(未

知)来源于甘草药材,10、11号特征峰(未知)来自于制远志药材,12号特征峰(未知)来自于石菖蒲药材。

2.2.4 专属性试验

取“2.2.2.4”项下阴性样品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样分析,各阴性样品溶液的色谱中均不呈现与各自对照药材溶液保留时间相同的谱峰,表明该方法的专属性良好,见图7。

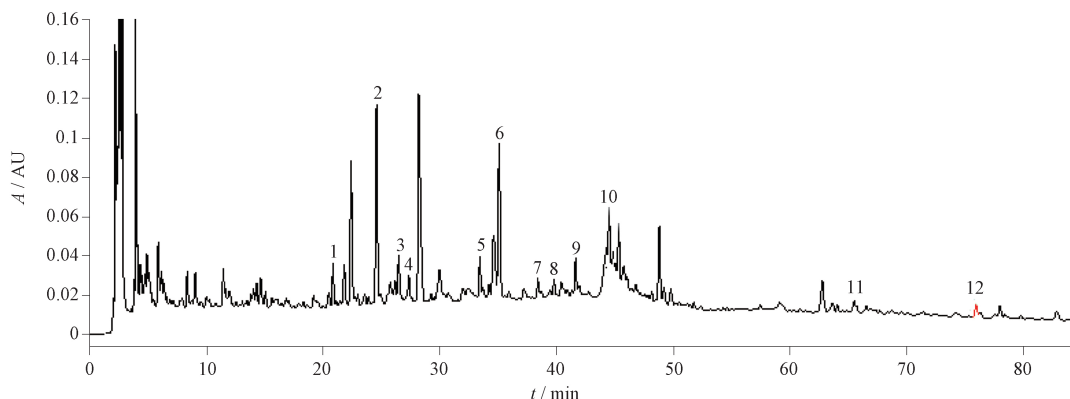
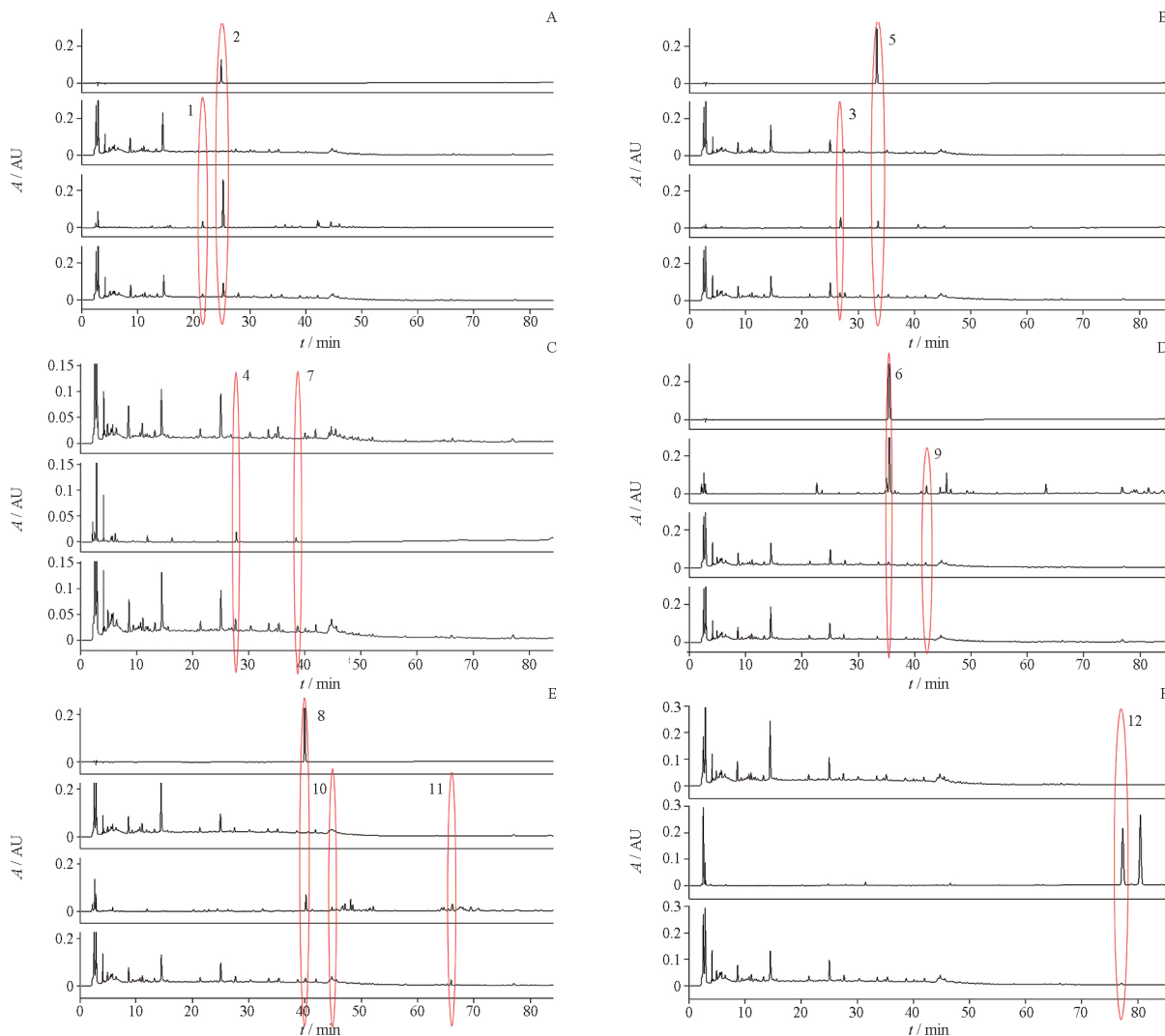


图6 解郁安神颗粒色谱图

Fig.6 Chromatogram of Jieyu Anshen granules



A. 栀子苷对照品、缺栀子阴性样品、栀子对照药材、样品 (geniposide reference substance, negative sample without Gardeniae Fructus, Gardeniae Fructus reference drug and sample) B. 斯皮诺素对照品、缺酸枣仁阴性样品、酸枣仁对照药材、样品 (spinosol reference substance, negative sample without Ziziphi Spinosae Semen, Ziziphi Spinosae Semen reference drug and sample) C. 缺百合阴性样品、百合对照药材、样品 (negative sample without Lili Bulbus, Lili Bulbus reference drug and sample) D. 甘草苷对照品、甘草对照药材、缺甘草阴性、样品 (glycyrrhizic glycoside reference substance, negative sample without Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma reference drug and sample) E. 3',6-二芥子酰蔗糖对照品、缺远志阴性样品、远志对照药材、样品 (3',6-disinapoyl sucrose reference substance, negative sample without Polygalae Radix, Polygalae Radix reference drug and sample) F. 缺石菖蒲阴性样品、石菖蒲对照药材、样品 (negative sample without Acori Tatarinowii Rhizoma, Acori Tatarinowii Rhizoma reference drug and sample)

图7 解郁安神颗粒样品、药材、阴性对照及对照品 UPLC 图

Fig. 7 HPLC Chromatograms of Jieyu Anshen granules, single herb, negative reference and reference substances

2.2.5 精密度试验

取供试品溶液(样1),按“2.2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录特征图谱,计算特征峰的保留时间。结果各特征峰保留时间的RSD在0.090%~0.23%,表明仪器精密度良好。

2.2.6 重复性试验

取样品(样1)6份,每份约2g,按照“2.1.2.2”项下方法,平行制备供试品溶液6份,按“2.2.1”项

下色谱条件,溶液注入HPLC仪,记录特征图谱,计算特征峰的保留时间,结果各特征峰的保留时间RSD在0.030%~0.16%,表明该方法的重复性良好。

2.2.7 稳定性试验

取供试品溶液(样1),按“2.2.1”项下色谱条件,分别于0、4、8、12、18和24h测定,记录特征图谱计算特征峰的保留时间,结果各特征峰的保留时间RSD在0.09%~0.26%,表明供试品溶液在24h内稳定。

2.2.8 特征图谱生成

取每个厂家2批共20批解郁安神颗粒样品,按“2.1.2.2”项方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项色谱条件进样并记录色谱图。使用《中药色谱指纹图

谱相似度评价系统》(2012版)进行共有峰匹配,选择重复性好、分离度较高,可归属到处方药味的12个色谱峰作为共有峰,生成20批样品的HPLC特征图谱,见图8。

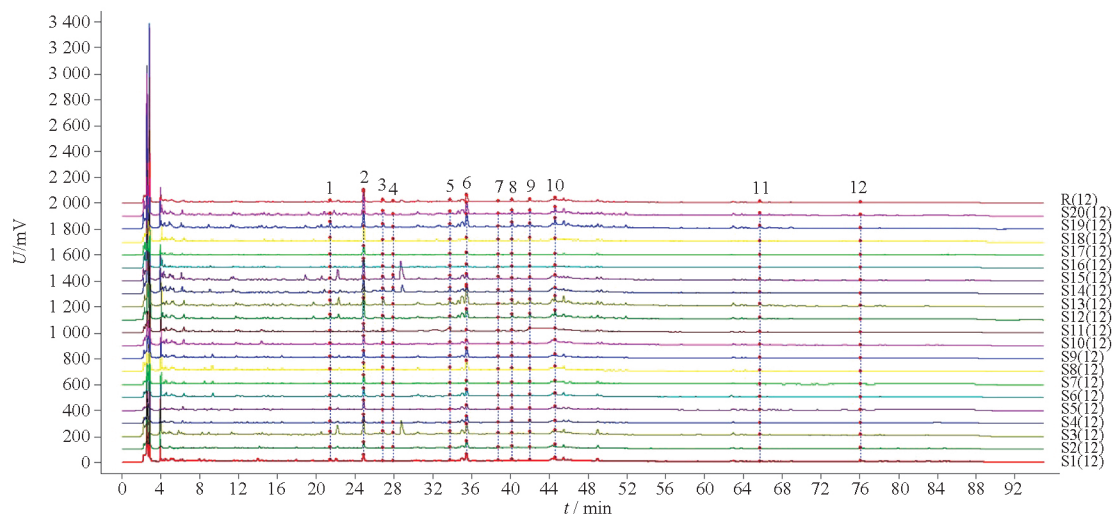


图8 20批解郁安神颗粒的特征图谱(S1~S20)和对照指纹图谱(R)

Fig.8 HPLC fingerprints of 20 batches of Jieyu Anshen granules (S1 ~ S20) and the reference fingerprint (R)

2.2.9 化学计量学分析

对本次国家药品抽检去重复批号样品共145批样品进行测定,使用科迈恩化学计量学软件对其进行主成分分析(PCA),发现相同厂家间样品较为集中,表明同企业样品质量较稳定;不同厂家间样品较为分散,其中SP企业的产品与其他企业生产的产品差异较大。从主成分得分图(图9)可知这PCA1和PCA2贡献值分别为71.41%和19.10%。

通过调研了解到,不同企业对原料药的进货渠道基本固定,相对固定的原料来源使得企业对产品的质量控制更加稳定;而SP企业与其他企业不同的是,该企业原料药材多为在产地直接收购,产地收购省去中间商环节,直接收购优质药材,更直观地把控了药材品质,实现从源头上对药品质量控制。

采用SIMCA 14.1开展SP企业特征图谱测定值与其他厂家产品样本关系的正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA),将SP企业产品与其余厂家产品分为2组,采用Par法,得到归一化数据,模式选择OPLS-DA进行自动调整建模,得到SP企业和与其他厂家样本之间的分析判别模型,该模型拟合参数

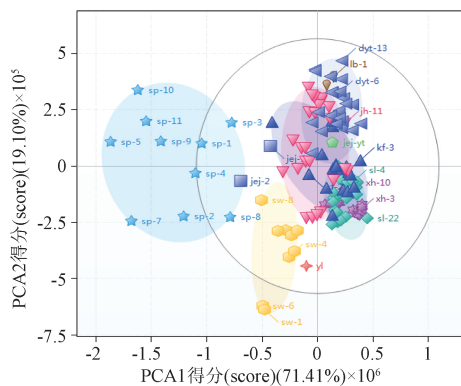


图9 各企业解郁安神颗粒特征图谱PCA得分图

Fig.9 PCA score plot of Jieyu Anshen granules

R^2X 为0.675、 R^2Y 为0.764、 Q^2 为0.722。上述参数越接近于1说明模型越优秀,一般大于0.5即认为模型稳定且预测能力较好。所有批次样本的得分图如图10所示。

采用置换检验的方法对所构建的模型进行验证,在打乱建模的分组后,进行200次数据循环,每次得到新的 R^2 和 Q^2 数据,与构建模型的参数 R^2 和 Q^2 数据进行比较,如图11所示。图中可见 Q^2 数据所形成的回归线Y轴截距小于0,表明所建立的模型为可靠的监督判别分析模型。

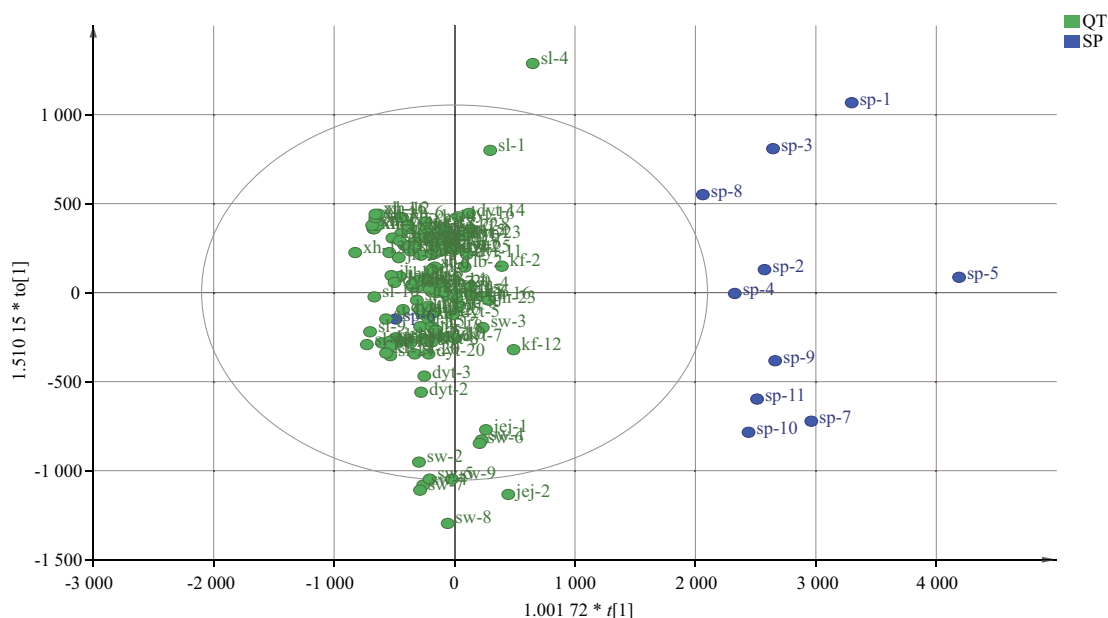


图 10 解郁安神颗粒的得分矩阵图

Fig. 10 Score matrix of Jieyu Anshen granules

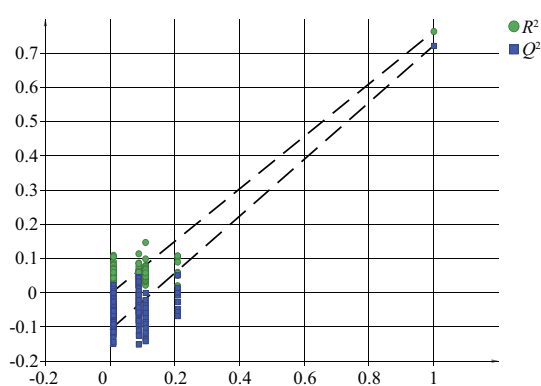


图 11 置换检验结果图

Fig. 11 Permutation test result chart

在构建的模型可行可靠的前提下,可以利用 OPLS-DA 的优点,找到最具差异性的变量,进而确定解郁安神颗粒的质量标志物。变量重要性投影值(variable importance in projection, VIP)代表每一个变量的重要性程度,一般认为该值大于 1 即对模型有较大影响。通过数据分析,得到 VIP 差异图及 VIP 值,如图 12 所示。其中,峰 2、峰 6、峰 1 的 VIP 值大于 1,峰 1、峰 2 来自炒栀子,峰 6 来自炙甘草,提示炒栀子与炙甘草的质量差异是使 SP 企业与其他厂家产品产生较大差异的主要原因。

3 分析讨论

3.1 质控指标的选择

解郁安神颗粒由 16 味药材组成,根据处方分析

功效作用及查阅相关文献发现栀子苷^[15]为炒栀子的主要成分,可通过对布鲁顿酪氨酸激酶/Janus 激酶/信号转导与转录激活因子 1 (BTK/JAK2/STAT1) 进行抑制,发挥抗抑郁功效;其还能调高血糖素样肽 1 受体/蛋白激酶 B 通路缓解抑郁。甘草始载于《神农本草经》,以甘草苷和甘草酸(质控指标为甘草酸铵)为代表的三萜类物质是甘草中的主要活性成分,研究表明其具有解毒、抗炎、抗病毒、抗肿瘤及增加免疫等作用^[16],并且甘草苷具有较好的抗抑郁作用^[17]。3,6'-二芥子酰基蔗糖作为制远志的代表性成分,具有良好的抗抑郁和神经保护作用^[18]。酸枣仁对多种精神疾病有疗效,可以改善睡眠状况、抗焦虑、抗抑郁,改善学习记忆、延缓阿尔兹海默症等,同时对心血管系统也有保护作用,对心律失常、心肌缺血缺氧等症均有疗效^[19-20],依据 2020 年版《中华人民共和国药典》酸枣仁的含量测定,选择斯皮诺素作为控制酸枣仁质量的指标性成分进行测定。故将栀子苷、甘草苷、甘草酸铵、斯皮诺素和 3,6'-二芥子酰基蔗糖作为对解郁安神颗粒整体质量进行控制的标志物。

3.2 检测方法的选择

实验中对不同溶剂(不同浓度的甲醇和乙醇)、不同提取方式(超声和加热回流)、不同提取时间(15、30、60 min)、不同提取体积(10、20、40 mL)进行考察,发现使用 70% 甲醇水 20 mL 超声提取 30 min

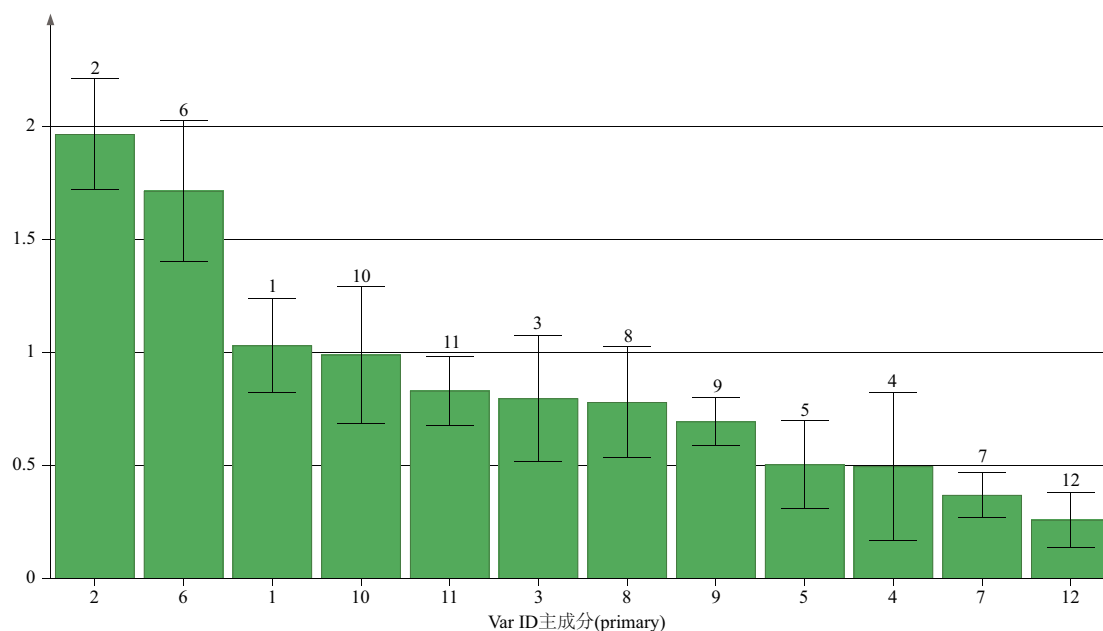


图 12 解郁安神颗粒 VIP 图

Fig. 12 VIP plot of Jieyu Anshen granules

时即可将目标成分提取完全,故使用该方法作为提取方法。同时采用 DAD 检测器对在 200 ~ 400 nm 对供试品溶液进行全波长扫描,结果发现在 210 nm 处即能反映较为丰富的色谱信息,且基线较为平整,故选择 210 nm 作为特征图谱的检测波长;对于含量测定,各成分最大吸收波长差异较大,兼顾各组分最大吸收波长、分离度、灵敏度等因素,最终选定栀子苷、甘草酸、甘草苷检测波长为 237 nm;3,6'-二芥子酰基蔗糖与斯皮诺素检测波长为 335 nm。

3.3 结果分析

本实验使用 HPLC 法同时测定炒栀子中栀子苷,炙甘草中甘草苷和甘草酸,炒酸枣仁中斯皮诺素和制远志中,3,6'-二芥子酰基蔗糖($C_{36}H_{46}O_{17}$)的含量,同时结合特征图谱对样品进行分析,与 2020 年版《中华人民共和国药典》中仅测定栀子苷含量的方法相比,能更全面地反映药品的质量。

依据 145 批次样品测定结果,除栀子苷外对其每个成分结果绘制正态分布曲线,取 95% 置信区间范围内数据求平均值,甘草苷为 $0.71 \text{ mg} \cdot \text{袋}^{-1}$,甘草酸铵为 $2.2 \text{ mg} \cdot \text{袋}^{-1}$,斯皮诺素为 $0.094 \text{ mg} \cdot \text{袋}^{-1}$,3,6'-二芥子酰基蔗糖为 $0.24 \text{ mg} \cdot \text{袋}^{-1}$,由于斯皮诺素含量的平均值在万分之一左右,含量低,故不拟定限度。其他成分按平均值的 80% 定为限度。

在收集药材与调研的过程中炒酸枣仁与制远志是处方中价格较高的 2 味药材,推测部分企业可能存在少投料或者投质量较差药材的情况。通过测定数据,制远志含量 29 批不符合规定,不合格率为 20.0%;而斯皮诺素平均含量在万分之一左右,含量较低,与预测结果较为一致。在检测中还发现,炙甘草的不合格率也比较高,这说明这部分企业对原料药的质量把控不够严格,企业为了追求经济效益而放松对法定标准未控制的药材质量的监控。望各生产企业引以为戒真正做到“好药品是生产出来的”,继续加强对药材质量的监控,严格按照处方与制法生产合格的品药品。

参考文献

- [1] 杜源. 解郁安神颗粒对中风后抑郁的治疗作用及其神经网络机制[D]. 济南:山东中医药大学, 2018
DU Y. The Therapeutic Effect of Jieyu Anshen Granule on Post-stroke Depression and Its Neural Network Mechanism [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine, 2018
- [2] 任芳颖. 解郁安神颗粒联合盆炎清栓治疗女性慢性盆腔痛 45 例 [J]. 航空航天医学杂志, 2014, 25 (6): 845
REN FY. Jieyu Anshen granules combined with Penyanqing supposal treating 45 cases of female chronic pelvic pain [J]. J Aerospace Med, 2014, 25 (6): 845
- [3] 夏俊博. 解郁安神颗粒对脑卒中后抑郁患者的影响及机制研究[D]. 郑州:郑州大学, 2013

- XIA JB. Effect and Mechanism of Jieyu Anshen Granule on Patients with Post - Stroke Depression [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2013
- [4] 吴华,秦爱萍,李丽. 解郁安神颗粒治疗更年期抑郁症 30 例 [J]. 陕西中医, 2006, 27(4): 442
WU H, QIN AP, LI L. Treatment of 30 cases of climacteric depression with Jieyu Anshen granules [J]. Shaanxi Chin Med, 2006, 27(4): 442
- [5] 孙洁,梁宝,杨巍. 解郁安神颗粒联合常规西药治疗老年失眠伴抑郁症的临床研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(4): 670
SUN J, LIANG B, YANG W. Clinical study of Jieyu Anshen granule combined with conventional Western medicine in the treatment of senile insomnia with depression [J]. J Cardio - cerebrovascular Dis Integr Tradit Chin West Med, 2021, 19(4): 670
- [6] 解冰,赵凤凤,陈亮. 解郁安神颗粒联合帕罗西汀治疗老年冠心病稳定型心绞痛伴抑郁的临床研究 [J]. 临床荟萃, 2021, 36(2): 121
XIE B, ZHAO FF, CHEN L. Clinical study of Jieyu Anshen Granule combined with paroxetine in treatment of stable angina pectoris with depression in elderly patients with coronary heart disease [J]. Clin Rev, 2021, 36(2): 121
- [7] 王泽凤,李倩. 解郁安神颗粒联合氟西汀对精神分裂症伴抑郁认知功能的影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(8): 114
WANG ZF, LI Q. Effects of Jieyu Anshen granule combined with fluoxetine on cognitive function of schizophrenia with depression [J]. Chin J Tradit Chin Med, 2020, 38(8): 114
- [8] 唐明悦,邹诏君,毛晶. 解郁安神颗粒中梔子苷的含量 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2020, 54(6): 602
TANG MY, ZOU ZJ, MAO J. The content of geniposide in Xieyu Anshen granule [J]. J Harbin Med Univ, 2020, 54(6): 602
- [9] 林海,惠博,韩祖成,等. 解郁颗粒治疗中轻度抑郁患者临床疗效观察 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(9): 1316
LIN H, HUI B, HAN ZC, *et al.* Clinical effect of Jieyu granules on moderate and mild depression [J]. J Guangzhou Univ Chin Med, 2019, 36(9): 1316
- [10] 林凡友,陈仁燕,罗晓倩,等. 高效液相色谱法测定解郁安神颗粒中梔子苷的含量 [J]. 中国当代医药, 2018, 25(33): 44
LIN FY, CHEN RY, LUO XQ, *et al.* Determination of geniposide in Jieyu Anshen granules by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Contemp Med, 2018, 25(33): 44
- [11] 王世清,王全豪. 解郁安神颗粒中梔子苷含量测定的比对 [J]. 光明中医, 2016, 31(21): 3113
WANG SQ, WANG QH. Comparison of contents of geniposide in Jieyu Anshen granules [J]. Guangming Chin Med, 2016, 31(21): 3113
- [12] 林华,黄兴振. 解郁安神颗粒中柴胡皂苷含量测定方法研究 [J]. 中国药业, 2018, 27(7): 14
LIN H, HUANG XZ. Study on determination method of saikosaponin in Jieyu Anshen granules [J]. China Pharm, 2018, 27(7): 14
- [13] 郑篮君,应翔,王琤帅,等. 高效液相色谱法测定解郁安神颗粒中甘草苷的含量 [J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(15): 241
ZHENG LJ, YING X, WANG ZS, *et al.* Determination of liquiritin in Jieyu Anshen granules by high performance liquid chromatography [J]. Chin J Mod Pharm Appl, 2014, 8(15): 241
- [14] 鄢海燕,邹纯才. 《中国药典》(2010 年版~2020 年版)中药指纹(特征)图谱应用进展与展望 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(1): 150
YAN HY, ZOU CC. Progress and prospects of the application of traditional Chinese medicine fingerprint (characteristic) atlas in the Chinese Pharmacopoeia (2010 - 2020 Edition) [J]. J Southern Med Univ, 2022, 42(1): 150
- [15] 李萍,刘耀. 梔子的主要药理作用及质量标志物预测研究 [J]. 中药材, 2023, 46(12): 3171
LI P, LIU Y. Prediction of main pharmacological effects and quality markers of Gardenia [J]. Tradit Chin Med, 2023, 46(12): 3171
- [16] 郭立强,李熙,刘谦,等. 一测多评法比较不同产地甘草中 6 种有效成分含量 [J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(24): 3051
GUO LQ, LI X, LIU Q, *et al.* Comparison of 6 active ingredients in Glycyrrhiza from different origin by one test and multiple evaluation [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(24): 3051
- [17] 程瑞凤,景晶,华冰,等. 甘草总黄酮提取部位抗小鼠抑郁活性可能与其增强中枢 5 - 羟色胺能神经功能有关 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2014, 28(4): 484
CEHNG FR, JING J, HUA B, *et al.* The anti - depression activity of glycyrrhiza flavonoids extract may be related to its enhancement of central 5 - hydroxytryptaminergic nerve function in mice [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2014, 28(4): 484
- [18] 沈丹萍,姜鹏,詹常森. 基于 UPLC 指纹图谱和多成分测定的天王补心丸质量控制研究 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(5): 1240
SHEN DP, JIANG P, ZAN CS. Research on quality control of Tianwang Buxin pill based on UPLC fingerprint and multi component determination [J]. Chin J Tradit Chin Med, 2024, 49(5): 1240
- [19] CHEN HL, HUANG Q, ZHANG SJ, *et al.* The Chinese herbal formula PAPZ ameliorates behavioral abnormalities in depressive mice [J]. Nutrients, 2019, 11(4): 859
- [20] 毕天琛,王劲,王素香,等. 山东省市售酸枣仁饮片质量评价 [J]. 中国药业, 2022, 31(10): 69
BI TC, WANG J, WANG SX, *et al.* Quality evaluation of sour jujube kernel decoction pieces sold in Shandong province [J]. China Pharm, 2022, 31(10): 69

(本文于 2024 年 4 月 7 日收到)