

柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱的建立及多指标性成分含量测定

杨新雪,梁进京,董蕊*

吉林农业大学中药材学院,长春 130118

摘要:建立柴胡-白芍药对配方颗粒的 HPLC 指纹图谱、化学模式识别及多指标成分含量测定方法。采用 COSMO-SIL 5C₁₈-MS-II (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;乙腈-0.1% 磷酸水为流动相,梯度洗脱;体积流量 1.0 mL/min;检测波长分别为 210、230 nm;柱温 30 °C。建立 HPLC 指纹图谱,利用相似度评价、聚类分析 (clustering analysis, CA) 以及主成分分析 (principal component analysis, PCA) 对 15 批柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱进行研究,同时测定 4 种指标性成分含量。本研究建立的指纹图谱共确定 15 个共有峰,并指认了其中的 4 种成分;15 批柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱与对照指纹图谱的相似度均 >0.90;CA 和 PCA 均可将 15 批柴胡-白芍药对配方颗粒大致分为 2 类;多指标成分含量测定方法符合方法学考察要求,4 种成分的含量均有不同程度的差异。所建方法简单易行,可为柴胡-白芍药对配方颗粒的质量控制和临床用药提供参考。

关键词:柴胡-白芍;配方颗粒;指纹图谱;化学模式识别;含量测定

中图分类号:R283.6

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)4-0572-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.4.003

Establishment of fingerprint of Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba formula granules and determination of multi-index components

YANG Xin-xue, LIANG Jin-jing, DONG Rui*

College of Chinese Materia Medica, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: To establish a method for HPLC fingerprint, chemical pattern recognition and multi-index component determination of Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba (BR-PR) formula granules. The chromatography was performed on COSMOSIL 5C₁₈-MS-II (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. Acetonitrile-0.1% phosphoric acid water was mobile phase and gradient elution; Volume flow rate was 1.0 mL/min; The detection wavelengths were 210 nm and 230 nm; Column temperature was 30 °C. The HPLC fingerprint was established, and the similarity evaluation, clustering analysis (CA) and principal component analysis (PCA) were used to study the fingerprint of 15 batches of BR-PR formula granules. The contents of four index components were determined simultaneously. The fingerprint established in this study identified 15 common peaks and identified four components of them. The similarity between the fingerprint of 15 batches of BR-PR formula granules medicine and the control fingerprint was all >0.90. Both CA and PCA could divide 15 batches of BR-PR formula granules into two categories. The multi-index component content determination method meets the requirements of methodological investigation, and the contents of four components are different in different degrees. The established method is simple and feasible, and can provide reference for the quality control and clinical use of BR-PR formula granules.

Key words: Bupleurum Radix-Paeoniae Radix Alba; formula granule; fingerprints; chemical pattern recognition; content determination

柴胡,首载于《神农本草经》,为狭叶柴胡 *Bup-*

leorum scorzonerifolium Willd. 或伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的全草或干燥根^[1],味苦、辛,微寒,归肝、胆、肺经,具有疏肝解郁、疏散退热、升举阳气的功效^[2]。随着现代天然药物化学的发展,多种有价值的和重要的功效,如抗炎、抗肿瘤、抗

收稿日期:2023-12-21 接受日期:2024-03-15

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-ZL-25)

* 通信作者 E-mail: drjlau@126.com

抑郁、抗病毒、免疫调节和神经调节等在柴胡中被发现^[3-5]。白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根,味苦、酸,性微寒,主要产于山东、湖南等地,现有以亳州白芍产量最大^[6],是我国著名的传统中药,具有平肝止痛,养血调经和敛阴止汗的功效^[7]。现代药理研究表明,白芍具有抗炎、镇痛、抗肿瘤以及抗氧化等作用^[8]。柴胡-白芍药对作为疏肝解郁方的基础药对,最早见于汉代的《伤寒论》,如四逆散、逍遥散、柴胡疏肝散和安神解郁汤等此类方剂均以柴胡为君药,白芍为臣药,二药配伍使用,一散一敛,符合中医理论中肝脏用药特性^[9]。

中药配方颗粒,由单味中药饮片,采用现代制药技术,经过水加热提取、分离、浓缩、干燥、制粒而成的^[10],服用量少、携带方便、随症加减等优势赋予了中药配方颗粒广阔的发展前景^[11]。而中药配方颗粒已经不仅仅局限于单味饮片的开发,如金银花-连翘^[12]、麻黄-杏仁^[13]、麻黄-桂枝^[14]、丹参-红花^[15]、黄连-吴茱萸^[16]等药对配方颗粒在临床配伍应用上也逐渐广泛。柴胡单味配方颗粒出膏率较低,同时,白芍和柴胡配伍后可增加芍药苷的煎出量,降低有毒成分苯甲酸煎出量^[17],可使药效成分增溶而增效,消除或降低毒副作用,确保临床用药剂量的准确。目前,暂无柴胡-白芍药对配方颗粒的报道,故本研究建立柴胡-白芍药对配方颗粒的 HPLC 指纹图谱、化学模式识别技术及 4 种成分的含量同时测

定的方法,以期完善柴胡-白芍药对配方颗粒的质量评价体系,为中药临床药对用药提供一定的参考。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);KQ-700DB 型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司);RE5298A 旋转蒸发仪搭配 SHZ-III 型循环水浴真空泵(上海亚荣生化仪器厂);YP10001 电子天平(上海衡际科学仪器有限公司);电磁炉(苏泊尔 SDHCB8E45-210)。

1.2 试剂

柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、氧化芍药苷(纯度均 $\geq 98\%$,批号分别为:AF21041007、AF22041901、AF21112354、AF21021504,成都埃法生物科技有限公司);甲醇和乙腈(色谱纯,北京迈瑞达科技有限公司);氨水(分析纯,批号 20200911,国药集团化学试剂有限公司);磷酸(色谱级,上海阿拉丁试剂有限公司);纯净水(批号 20231005,杭州娃哈哈饮料有限公司)。

1.3 药材

15 批北柴胡及白芍的来源信息(见表 1、表 2),经吉林农业大学杨世海教授鉴定为伞形科植物柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)的干燥根、毛茛科植物芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)的干燥根。上述柴胡与白芍随机配对,得到柴胡-白芍药对。

表 1 北柴胡的来源

Table 1 The source of *Bupleurum Radix*

编号 Number	批号 Lot number	产地 Place of origin
B1	210902	安国市安兴中药材饮片有限公司
B2	220305	安国市安兴中药材饮片有限公司
B3	220806	安国市安兴中药材饮片有限公司
B4	211126	河北省安国市十方中药饮片有限公司
B5	200608	河北省安国市十方中药饮片有限公司
B6	210309	内蒙古泰润药业有限公司
B7	210506	内蒙古泰润药业有限公司
B8	210704	内蒙古泰润药业有限公司
B9	220204	安徽省亳州市康美中药城
B10	220503	安徽省亳州市康美中药城
B11	230102	内蒙古亿利甘草有限公司
B12	230408	内蒙古亿利甘草有限公司
B13	211218	国药集团新疆新特药业有限公司
B14	221024	国药集团新疆新特药业有限公司
B15	221209	国药集团新疆新特药业有限公司

表 2 白芍的来源

Table 2 The source of Paeoniae Radix Alba

编号 Number	批号 Lot number	产地 Place of origin
P1	220303	安国市安兴中药材饮片有限公司
P2	220803	安国市安兴中药材饮片有限公司
P3	220503	安国市安兴中药材饮片有限公司
P4	230800029	康美(亳州)世纪国药有限公司
P5	231100029	康美(亳州)世纪国药有限公司
P6	230902751	康美(亳州)世纪国药有限公司
P7	20220301	江西康齐乐中药材有限公司
P8	20200701	江西康齐乐中药材有限公司
P9	20230801	江西康齐乐中药材有限公司
P10	B23081402-01	河北楚风中药饮片有限公司
P11	B23071001-01	河北楚风中药饮片有限公司
P12	20221001	江西国翔中药饮片有限公司
P13	223230201	安国市远光药业有限公司
P14	220901	安徽惠州市泛生中药饮片有限公司
P15	221001	安徽惠州市泛生中药饮片有限公司

2 方法与结果

2.1 柴胡-白芍药对配方颗粒的制备

据课题组前期成分及药效筛选,确为柴胡与白芍最佳配伍比例为 1:2^[18]。精密称取柴胡饮片 50 g,白芍饮片 100 g,按照前期正交试验最佳提取工艺即以药材量加 8 倍蒸馏水,提取 3 次,每次 60 min,浓缩,干燥,得柴胡-白芍浸膏粉,根据前期的辅料筛选及最佳成型工艺,取柴胡-白芍浸膏粉:糊精 = 1:0.5 均匀混合,以主药量:90%乙醇 = 1:0.4 制软材,以“手捏成团,轻压即散”为度,将软材挤压通过 14 目网筛,制粒,于 65 °C 通风干燥,干燥,整粒,即得。各批柴胡-白芍药对配方颗粒及对应的饮片量见表 3。为统一用量,本试验均称取相当于 5 g 柴胡-白芍饮片量。

2.2 供试品溶液的制备

取柴胡-白芍药对配方颗粒,研细,精密称取相当于 5 g 柴胡-白芍饮片的重量,置于具塞锥形瓶中,精密加入 5% 浓氨甲醇溶液 25 mL,密塞,称重,30 °C (360 W, 40 kHz) 超声处理 30 min,冷却至室温,再次称重,用甲醇补足重量,摇匀,滤过,过微孔滤膜(0.22 μm),即得。

2.3 混合对照品溶液的制备

取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷适量,精密称定,加甲醇定容至 5 mL 容量瓶中,配成浓度分别为 0.294、0.260、0.220、0.244 mg/mL

的混合对照品溶液,储存,备用。

表 3 柴胡-白芍药对配方颗粒重量与饮片量换算

Table 3 Conversion of BR-PR formula granule and decoction piece amount

编号 No.	颗粒重量 Weight of granule (g)	饮片量 Decoction piece amount (g)
S1	1	5.00
S2	1	5.76
S3	1	6.24
T1	1	6.61
T2	1	6.87
X1	1	3.56
X2	1	3.81
X3	1	3.44
Y1	1	5.43
Y2	1	2.76
K1	1	2.88
K2	1	2.97
R1	1	4.51
R2	1	4.86
R3	1	5.05

2.4 色谱条件

色谱柱: COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 (A)-0.1% 磷酸水

(B);检测双波长(λ):210 nm(28~55 min,柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d)、230 nm(0~28 min,芍药苷和氧化芍药苷),观测波长:210 nm;流量:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μ L,梯度洗脱(0~9 min,12% A;9~17 min,12% (21% A;17~28min,21% (36% A;28~46 min,36% (62% A;46~55 min,62% (12% A)。

2.5 指纹图谱研究

2.5.1 精密度试验

精密称取柴胡-白芍药对配方颗粒(S1),按“2.2”项下制备供试品溶液,按照“2.4”项下色谱条件连续进样6次,以2号芍药苷色谱峰为参照峰(S),测定,计算各共有峰相对保留时间的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均 \leq 1.4%,相对峰面积 RSD 均 \leq 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.5.2 稳定性试验

精密称取柴胡-白芍药对配方颗粒(S1),按“2.2”项下制备供试品溶液,分别于0、4、8、16、20、

24 h,按照“2.4”项下色谱条件进行检测,以2号芍药苷色谱峰为参照峰(S),记录色谱图,计算得各共有峰相对保留时间 RSD 均 \leq 1.2%,相对峰面积 RSD 均 \leq 2.0%,表明室温下,供试品溶液在24 h内稳定。

2.5.3 重复性试验

取柴胡-白芍药对配方颗粒(S1),精密称定,按照“2.2”项下方法平行制备6份,按照“2.4”项下色谱条件进样测定,以2号芍药苷色谱峰为参照峰(S),记录色谱图,计算得各共有峰相对保留时间 RSD 均 \leq 1.6%,相对峰面积 RSD 均 \leq 1.8%,表明该方法重复性良好。

2.5.4 指纹图谱建立及相似度评价

采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”软件进行数据处理,以S1号样品色谱图为参照图谱,时间窗宽度为0.1 min,采用中位数法经过多点校正后生成指纹图谱(见图1)。通过与混合对照品色谱图(见图2)对比确定:2号峰为芍药

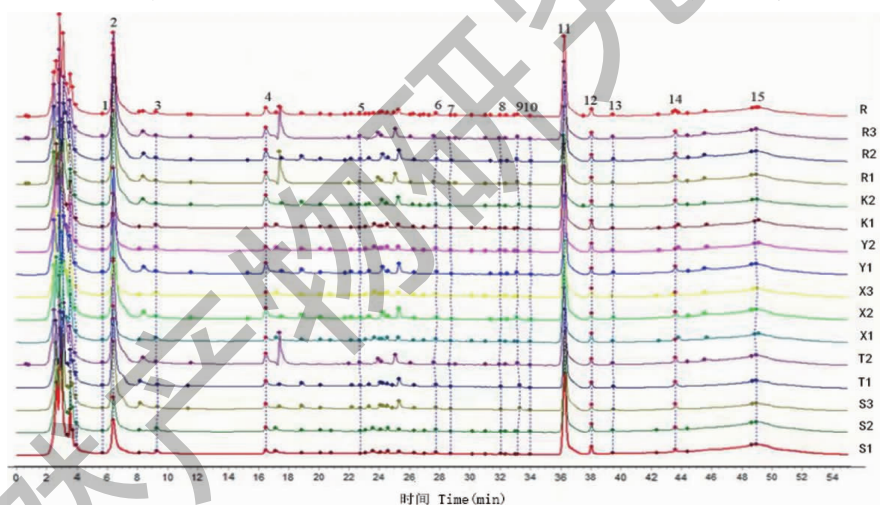


图1 15批柴胡-白芍药对配方颗粒 HPLC 叠加图谱与对照图谱(R)

Fig.1 HPLC superposition chromatograms and control chromatograms (R) of 15 batches of BR-PR formula granules

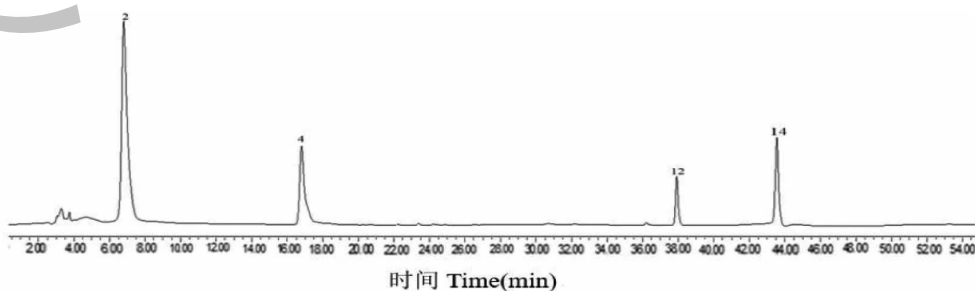


图2 混合对照品溶液的 HPLC 图谱

Fig.2 HPLC chromatogram of mixed control solution

注:2.芍药苷;4.氧化芍药苷;12.柴胡皂苷 a;14.柴胡皂苷 d。Note:2. Paeoniflorin;4. Paeoniflorin oxide;12. Saikosaponin a;14. Saikosaponin d.

苷,4号峰为氧化芍药苷,12号峰为柴胡皂苷a,14号峰为柴胡皂苷d。根据对照图谱R和样品指纹图谱计算相似度评价结果(见表4):15批柴胡-白芍药

对配方颗粒与对照指纹图谱R的相似度为0.918~0.998,说明柴胡-白芍药对配方颗粒的总体质量较稳定。

表4 15批柴胡-白芍药对配方颗粒HPLC指纹图谱相似度评价结果

Table 4 HPLC fingerprint similarity evaluation results of 15 batches of BR-PR formula granules

编号 Number	相似度 Similarity	编号 Number	相似度 Similarity	编号 Number	相似度 Similarity
S1	0.995	X1	0.991	K1	0.998
S2	0.990	X2	0.996	K2	0.992
S3	0.993	X3	0.994	R1	0.988
T1	0.995	Y1	0.918	R2	0.987
T2	0.997	Y2	0.924	R3	0.989

2.5.5 化学模式识别研究

2.5.5.1 聚类分析

将15批柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱共有峰的相对峰面积作为变量,导入SPSS 26软件,采用组间平均联接法,以平方欧氏距离作为度量区间,对样品进行CA分析。结果如图3所示,当平方欧氏距离为10时,样品被分为两大类:Y1和Y2聚为1类,其余样品聚为1类;当类间距为5时,S1~X3和K1、K2聚为1类,R1~R3聚为1类,Y1、Y2聚为1类。从大类结果分析,不同产地不同批号的柴胡-白芍药对配方颗粒的指纹图谱总体较相似;小类结果显示,即使同一产地的柴胡或者白芍饮片所制得的配方颗粒质量也会有所区别。

2.5.5.2 主成分分析

以15批次柴胡-白芍药对配方颗粒样品的共有

峰的相对峰面积为变量,导入SIMCA 14.1软件建立主成分分析模型。以特征值>1为标准,筛选得到5个主成分,说明这5个成分可以反映柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱整体的96.752%的信息(见表5)。同法绘制主成分分析得分图(见图4),可以看出R1~R3聚为1类,Y1、Y2聚为1类,其余聚为1类,两个模型相互印证也表明本研究可为柴胡-白芍药对配方颗粒质量的整体控制提供参考方法。

2.5.6 多指标成分含量测定

2.5.6.1 线性关系考察

精密吸取0.1、0.3、0.5、1.0、2.0 mL的对照品溶液置于5 mL容量瓶中,加甲醇定容,按“2.4”项下的色谱条件进行HPLC检测,以对照品溶液浓度(X)为横坐标,色谱峰面积(Y)为纵坐标做线性回归方程,结果见表6。

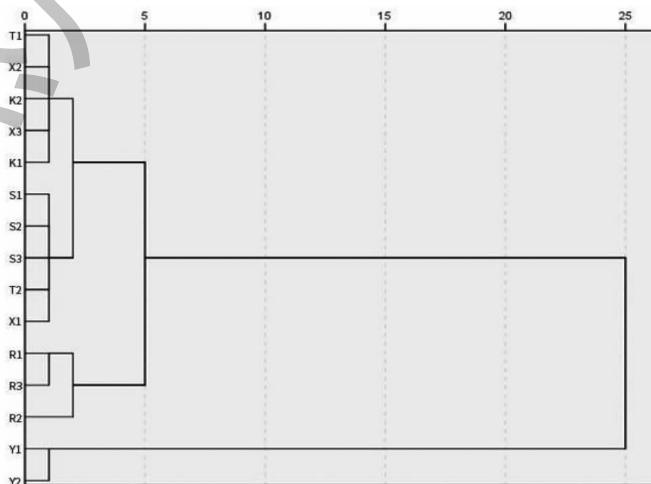


图3 15批柴胡-白芍药对配方颗粒聚类分析图

Fig. 3 Cluster analysis of 15 batches of BR-PR formula granules

表5 柴胡-白芍药对配方颗粒主成分特征值及方差贡献率

Table 5 The contribution rates of principal component characteristic values and variance of BR-PR formula granules

主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue	方差贡献率 Variance contribution rate (%)	累计方差贡献率 Cumulative variance contribution rate (%)
1	10.453	80.844	82.158
2	9.304	74.031	88.443
3	8.570	68.902	91.910
4	7.051	53.074	93.894
5	6.022	41.109	96.752

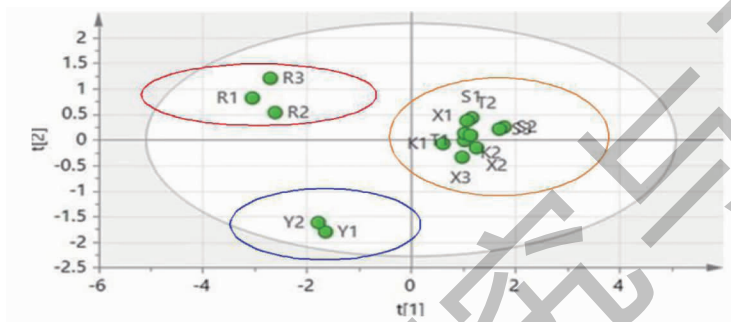


图4 15批柴胡-白芍药对配方颗粒主成分分析得分图

Fig. 4 Principal component analysis score plot of 15 batches of BR-PR formula granules

表6 各成分线性考察结果

Table 6 Linear relationship results of various constituents

成分 Constituent	回归方程 Regression equation	R^2	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/mL}$)
柴胡皂苷 a Saikosaponin a	$Y = 456\ 684 X - 10\ 244$	0.999 4	5.88 ~ 117.6
柴胡皂苷 d Saikosaponin d	$Y = 352\ 362 X - 1\ 749.7$	0.999 1	5.20 ~ 104.0
芍药苷 Paeoniflorin	$Y = 1\text{E} + 06 X - 22\ 131$	0.999 3	4.40 ~ 88.0
氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide	$Y = 282\ 384 X - 68\ 09.3$	0.999 5	4.88 ~ 97.6

2.5.6.2 精密度试验

根据“2.5.1”项下精密度试验,计算得柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷的峰面积 RSD 值分别为 1.4%、1.5%、0.72%、0.94%,表明仪器精密度良好。

2.5.6.3 稳定性试验

根据“2.5.2”项下稳定性试验,计算得柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷的峰面积 RSD 值分别为 1.2%、1.3%、1.0%、0.89%,表明供试品溶液在室温 24 h 下稳定。

2.5.6.4 重复性试验

根据“2.5.3”项下重复性试验,计算得柴胡皂

苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷和氧化芍药苷含量的峰面积 RSD 值分别为 1.2%、1.6%、0.98%、1.0%,表明该方法重复性良好。

2.5.6.5 加样回收率试验

精密称定已知含量的柴胡-白芍药对配方颗粒(S1)6份,分别精密加入一定量的混合对照品溶液,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,根据“2.4”项下色谱条件测定,结果见下表7。柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷、氧化芍药苷平均加样回收率分别为 97.17%、96.74%、99.63%、99.36% ($n = 6$), RSD 值分别为 0.64%、1.4%、0.13%、0.26%。

表 7 各成分加样回收率测定结果 ($n=6$)Table 7 Determination results of recovery rate of each component ($n=6$)

成分 Constituent	样品含量 Sample content(mg)	对照品加入量 Amount of control substance added(mg)	测得总量 Measured total (mg)	回收率 Recovery(%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD(%)
柴胡皂苷 a Saikosaponin a	0.320	0.300	0.610	96.67	97.17	0.64
	0.324	0.300	0.615	97.00		
	0.323	0.300	0.612	96.33		
	0.325	0.300	0.617	97.33		
	0.327	0.300	0.620	97.67		
	0.328	0.300	0.622	98.00		
柴胡皂苷 d Saikosaponin d	0.234	0.225	0.448	95.11	96.74	1.4
	0.233	0.225	0.450	96.44		
	0.235	0.225	0.455	97.78		
	0.233	0.225	0.451	96.89		
	0.234	0.225	0.456	98.67		
	0.231	0.225	0.446	95.56		
芍药苷 Paeoniflorin	1.082	1.075	2.154	99.72	99.63	0.13
	1.080	1.075	2.150	99.53		
	1.087	1.075	2.158	99.63		
	1.085	1.075	2.156	99.63		
	1.089	1.075	2.162	99.81		
	1.084	1.075	2.153	99.44		
氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide	0.668	0.654	1.318	99.39	99.36	0.26
	0.666	0.654	1.317	99.54		
	0.663	0.654	1.315	99.69		
	0.661	0.654	1.311	99.39		
	0.658	0.654	1.307	99.24		
	0.662	0.654	1.309	98.93		

2.5.6.6 含量测定

精密称定 15 批柴胡-白芍药对配方颗粒(相当于 5 g 饮片),按“2.2”项下制备供试品溶液,按照“2.4”项下色谱条件进样,测定,结果见表 8。15 批

柴胡-白芍药对配方颗粒中 4 种成分的平均含量分别为 1.321、0.967、5.583、3.249 mg/g,说明各批次指标性含量存在差异,但总体含量比较稳定。

表 8 15 批柴胡-白芍药对配方颗粒中 4 种成分的含量测定结果

Table 8 Content of four components in 15 batches of BR-PR formula granules

编号 No.	含量 Content(mg/g)			
	柴胡皂苷 a Saikosaponin a	柴胡皂苷 d Saikosaponin d	芍药苷 Paeoniflorin	氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide
S1	1.520	0.988	5.816	3.332
S2	1.483	0.965	5.853	3.240
S3	1.504	0.991	5.711	3.309
T1	1.277	0.933	5.230	3.216
T2	1.198	0.945	5.104	3.118

续表 8(Continued Tab. 8)

编号 No.	含量 Content(mg/g)			
	柴胡皂苷 a Saikosaponin a	柴胡皂苷 d Saikosaponin d	芍药苷 Paeoniflorin	氧化芍药苷 Paeoniflorin oxide
X1	1.363	0.982	5.348	3.223
X2	1.431	0.977	5.447	3.315
X3	1.444	0.969	5.560	3.237
Y1	1.219	0.954	5.604	3.199
Y2	1.107	0.962	5.487	3.234
K1	1.396	0.974	5.503	3.310
K2	1.256	0.983	5.660	3.303
R1	1.168	0.967	5.841	3.233
R2	1.200	0.950	5.779	3.239
R3	1.249	0.958	5.805	3.226

3 讨论与结论

本研究采用 HPLC 法建立柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱,分别考察了不同流动相系统(乙腈-水、乙腈-0.1% 磷酸水、乙腈-0.1% 甲酸水和甲醇-0.1% 磷酸水),发现乙腈-0.1% 磷酸水洗脱时出峰度较好,响应值较高;提取溶剂筛选了水、甲醇、乙醇、5% 浓氨甲醇和 5% 浓氨乙醇溶液,发现当用 5% 浓氨甲醇溶液时,色谱峰出峰完整;对柴胡-白芍药对配方颗粒供试品溶液在双波长(210、230 nm)下扫描,结果显示,在 210 nm 下,指纹图谱色谱峰出峰数目较多、基线平稳;同时比较了色谱柱(COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 柱、WONDASIL C₁₈、Amethyst C₁₈-H(4.6 mm × 250 mm, 5 μm, 120 Å))、柱温(20 ℃、25 ℃、30 ℃),结果显示, COSMOSIL 5C₁₈-MS-II 柱, 30 ℃ 检测时色谱柱分离度较好。

柴胡-白芍药对配方颗粒是由柴胡-白芍药片经过提取、分离、浓缩、干燥、制粒等一系列标准化工艺制备而成的颗粒剂,其与柴胡-白芍药对在成分和药理方面具有相似性,是一种新型的饮片形式。柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、芍药苷均为 2020 版《中国药典》中控制柴胡、白芍质量的主要检测指标。研究表明,柴胡皂苷 a 和柴胡皂苷 d 均可以改善大鼠的抑郁行为,途径是通过抑制 p-CREB/BDNF 通路从而抑制海马神经元凋亡集和抑制小胶质细胞激活^[19,20]。芍药苷可以通过抑制 TRPV1 和琥珀酸/SUCNR1-HIF-1α/NLPR3 通路减轻 CFA 诱导的炎性疼痛^[21]。氧化芍药苷可通过上调过氧化物酶体增殖物 α 蛋白表达激活受体,促进 ATP 结合转运体 A1 基因的

表达从而改善脂质分布^[22]。以上均为柴胡-白芍药对配方颗粒的主要活性成分,同时测定这 4 种成分含量对柴胡-白芍药对配方颗粒的质量控制具有重要意义。此外,指纹图谱可以全面地反映中药材物质基础,故本研究将指纹图谱与含量测定结合,以期提升柴胡-白芍药对配方颗粒质量标准提供一定的参考。

在中药材、中药饮片、配方颗粒的质量评价中,指纹图谱结合化学模式识别技术被广泛应用^[23]。本研究选用此方法可以直观地衡量出不同产地柴胡-白芍药对配方颗粒样品间的指纹图谱变化模式的相似性。指纹图谱相似度评价结果显示,15 批柴胡-白芍药对配方颗粒和对照指纹图谱的相似度均大于 0.90,说明不同产地柴胡-白芍药对配方颗粒总体性较好,但指标性成分含量存在差异,分析可能因为药材产地加工、采收方法、生产工艺等导致。主成分分析和聚类分析结果相互印证,呈现出了药材产地规律性。本研究所收集的样品的产地及批次有限,还需后期进一步完善。

综上所述,本研究采用 HPLC 方法建立了 15 批柴胡-白芍药对配方颗粒指纹图谱及 4 种指标性成分同时测定的方法,并利用相似度评价、聚类分析、主成分分析对柴胡-白芍药对配方颗粒进行质量评价和分类分析。该方法操作简便,重复性好,结果准确可靠,可为全面控制和评价柴胡-白芍药对配方颗粒的质量提供科学依据。

参考文献

- 1 Lin L, Chen J, Zhang W. Characteristics and application of

- Chaihu(*Radix Bupleuri*) regulating Qi movement[J]. *Acta Chin Med(中医学报)*, 2022, 37:1589-1592.
- 2 Zhang MY, Xu EP, Chen YH, et al. Research status of pharmacological effects of Chaihu (*Bupleuri Radix*) in treatment of depression[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊)*, 2023, 41:102-108.
 - 3 Huang HQ, Wang XH, Fu H, et al. Research progress on medicinal plant resources of *Bupleurum L*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2017, 48:2989-2996.
 - 4 Navarro P, Giner RM, Recio MC, et al. *In vivo* anti-inflammatory activity of saponins from *Bupieurum rotundifolium*[J]. *Life Sci*, 2001, 68:1199-1206.
 - 5 Mohamed LA, Michael W. Genus *Bupieurum*: a review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63:305-321.
 - 6 Zhao YY, Liang DQ, Jin CS, et al. Determination of 7 components in standard decoction of different processed products of *Paeoniae Alba Radix* in Bozhou based on HPLC fingerprint analysis[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2018, 30:404-411.
 - 7 Wei ZZ, Chen ZY, Ye CY, et al. Simultaneous quantitative determination of 9 components in crude drugs and preparations of Baishao (*Paeoniae Radix Alba*) by QAMS method [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊)*, 2023, 41:218-224.
 - 8 Du XL, Cui YH, Zhang Z, et al. Research progress on absorption, distribution, metabolism and excretion of chemical constituents in Baishao (*Paeoniae Radix Alba*) [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊)*, 2023, 41:163-168.
 - 9 Li T, Li X, Tian JS, et al. Metabolic pathways related to liver-soothing and depression-relieving effect of *Bupleuri Radix-Paeoniae Radix Alba* combination: based on ¹H-NMR metabolomics[J]. *Mod Chin Med(中国现代中药)*, 2021, 23:1380-1390.
 - 10 National Medical Products Administration. Notice of the State Food and Drug Administration on the Release of "Technical Requirements for Quality Control and Standard Formulation of Chinese Medicine Formula Granules" [EB/OL]. (2021-01-26) [2023-01-30]. <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/ypggtg/ypqgtg/20210210145453181.html>.
 - 11 Liu F, Yang L, Dong L, et al. Infrared spectroscopic analysis of insoluble ingredients and polymer compounds in traditional Chinese medicine formula granules [J]. *Mod Chin Med(中国现代中药)*, 2023, 25:1966-1972.
 - 12 Fang CZ, Gan LF, Huang XP, et al. Content determination of multi-component and establishment of fingerprint of *Flos Lonicerae-Fructus Forsythuae* formula granules [J]. *Cent South Pharm(中南药学)*, 2023, 21:1612-1620.
 - 13 Gong S, Guo YS, Ge ZH. Establishment of fingerprint of herb pair formula granules of *Herba Ephedrae* and *Semen Armeniaca Amarum* by HPLC and determination of multicomponent[J]. *J Tradit Chin Vet Med(中兽医医药杂志)*, 2023, 42:63-67.
 - 14 Xu J, Chen DY, Huang MT, et al. Study on the establishment of fingerprint of *Ephedra* and *Guizhi* Prescription granules and the content determination of index components [J]. *J Chin Med Mater(中药材)*, 2021, 44:1921-1925.
 - 15 Zhou HH, Du SB, Gao S, et al. Optimization of preparation technique, TLC identification and content determination of *Salvia miltiorrhiza-Carthus tinctorius* dispensing granules [J]. *West Chin J Pharm Sci(华西药学杂志)*, 2022, 37:292-296.
 - 16 Tan CD, Lou B, Gu WY, et al. Effect of decoction methods on the content of key components of *Coptidis Rhizome* and *Evo-diae Fructus* with different proportions [J]. *Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志)*, 2020, 40:2238-2242.
 - 17 Zhu YZ, Chen HY, Zhang GX, et al. Comparison of water decocted quantity of total glycosides of *Radix Paeoniae Alba* and benzoic acid with different compatibility of *Radix Paeoniae Alba* and *Radix Bupleuri* [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med(天津中医药)*, 2011, 28:78-79.
 - 18 Li Y. Changes of effective components of bupleurum vinegar combined with paeony before and after moxibustion and differences in antidepressant effects [D]. Changchun: Jilin Agricultural University(吉林农业大学), 2023.
 - 19 Wang AR, Mi LF, Zhang ZL, et al. Saikosaponin A improved depression-like behavior and inhibited hippocampal neuronal apoptosis after cerebral ischemia through p-CREB/BDNF pathway [J]. *Behav Brain Res*, 2021, 403:113138.
 - 20 Su J, Pan YW, Wang SQ, et al. Saikosaponin-d attenuated lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors via inhibiting microglia activation and neuroinflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 80:106181.
 - 21 Ruan YL, Ling JY, Ye F, et al. Paeoniflorin alleviates CFA-induced inflammatory pain by inhibiting TRPV1 and succinate/SUCNR1-HIF-1 α /NLPR3 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101:1567-5769.
 - 22 Tang WZ, Ma WL, Ding H, et al. Effect of oxypaeoniflora on cholesterol efflux from foam cells [J]. *China J Mod Med(中国现代医学杂志)*, 2017, 27:6-11.
 - 23 Wang M, Wan ZY, Chen H, et al. Study on quality evaluation of *Bombyx Batryticatus* by chemical pattern recognition combined with HPLC fingerprint [J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2022, 34:203-212.