

中图分类号: R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2026)08-0102-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.08.019



清心安神颗粒质量标准提升研究

申晓婷¹, 王红芳^{1△}, 张海春¹, 李英¹, 郭晋斌², 霍燕²

(1. 山西振东制药股份有限公司, 山西 长治 047100; 2. 山西省长治市中医研究所附属医院, 山西 长治 046000)
摘要:目的 建立清心安神颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对陈皮、生甘草、夏枯草进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定橙皮苷含量,色谱柱为 ChromCore 120 C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(22:78, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 283 nm,柱温为 25 °C,进样量为 5 μL。结果 陈皮、生甘草、夏枯草的 TLC 图斑点清晰,分离度好,且阴性对照无干扰。橙皮苷质量浓度在 37.5~300 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9997, n=6$);精密性、重复性、稳定性试验结果的 RSD 均小于 5.0%;平均加样回收率为 96.00%, RSD 为 0.56% ($n=6$);改变流速、柱温、波长、流动相比比例、色谱柱后,橙皮苷含量均无显著变化,相对偏差均小于 5.0%,耐用性良好。3 批样品中橙皮苷的含量分别为 4.75, 4.93, 4.93 mg/g。限定剂中橙皮苷含量应不低于 2.62 mg/g。结论 所建方法操作简便,结果稳定可靠,可用于清心安神颗粒的质量控制。

关键词:清心安神颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;橙皮苷;质量控制

Study on the Quality Standard Improvement of Qingxin Anshen Granules

SHEN Xiaoting¹, WANG Hongfang^{1△}, ZHANG Haichun¹, LI Ying¹, GUO Jinbin², HUO Yan²

(1. Shanxi Zhendong Pharmaceutical Co., Ltd., Changzhi, Shanxi 047100, China; 2. Affiliated Hospital of Changzhi Institute of Traditional Chinese Medicine, Changzhi, Shanxi 046000, China)

Abstract: Objective To establish the quality standard for Qingxin Anshen Granules. Methods Thin-layer chromatography (TLC) method was used for the qualitative identification of Citri Reticulatae Pericarpium, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Prunellae Spica. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used to determine the content of hesperidin. The chromatographic column was ChromCore 120 C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water (22:78, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 283 nm, the column temperature was 25 °C, the injection volume was 5 μL. Results The spots in the TLC chromatograms of Citri Reticulatae Pericarpium, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Prunellae Spica were clear with good resolution, and no interference from the negative control. The linear range of hesperidin was 37.5-300 μg/mL ($r=0.9997, n=6$). The RSDs of precision, repeatability and stability test results were all lower than 5.0%. The average recovery rate was 96.00%, with an RSD of 0.56% ($n=6$). After changing the flow rate, column temperature, detection wavelength, mobile phase ratio and chromatographic column, there were no significant changes in the content of hesperidin, and the relative deviations were all lower than 5.0%, indicating good robustness. The contents of hesperidin in three batches of samples were 4.75, 4.93 and 4.93 mg/g, respectively. The content of hesperidin in the preparation was specified to be not lower than 2.62 mg/g. Conclusion The established method is simple to operate, stable and reliable, which can be used for the quality control of Qingxin Anshen Granules.

Key words: Qingxin Anshen Granules; TLC; HPLC; hesperidin; quality control

清心安神颗粒是以长治市中医研究所临床经验方为基础研发的制剂,由姜半夏^[1-3]、陈皮^[4-5]、茯神^[6]、夏枯草^[7-8]、生龙骨、生牡蛎^[9]、合欢皮^[10]、甘草^[11-12] 8味药材组方,具有化痰解郁、清心安神功效,主治忧思郁结、心怀不畅所致痰气郁滞、化热扰神失眠。相比传统汤剂,该制剂具有携带方便,储存时间长,治疗依从性好等优点^[13]。但因未建立标准的质量标准,无法对方中有效成分进行质量控制,影响制剂疗效。为此,本研究中参考2020年版《中国药典》对制剂中陈皮、生甘草、夏枯草进行了薄层色谱(TLC)鉴别,并建立了测定

制剂中橙皮苷含量的高效液相色谱(HPLC)法,以提升其质量标准,促进临床安全用药。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);SECURA224-1CN型、TB-215D型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司,精度分别为0.01 mg、0.1 mg);KQ-500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);MilliQ-IQ7000型超纯水机(德国Merck公司)。

第一作者:申晓婷,女,硕士研究生,工程师,研究方向为药品研发与质量研究,(电子信箱)shenxiaoting@zjdt.com。

△通信作者:王红芳,女,硕士研究生,工程师,研究方向为药品研发与质量研究,(电子信箱)wanghongfang@zjdt.com。

1.2 试药

清心安神颗粒(山西振东五和堂制药有限公司,批号分别为20240701,20240702,20240703);对照品橙皮苷(批号为110721-702220,含量97.2%)、迷迭香酸(批号为111871-202007,含量98.1%),对照药材甘草(批号为120904-202021),均购于中国食品药品检定研究院;(1%氢氧化钠)硅胶G板、硅胶H板(青岛海洋化工有限公司);硅胶G板(烟台新城硅胶材料有限公司);甲醇、乙腈、乙醇、冰醋酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

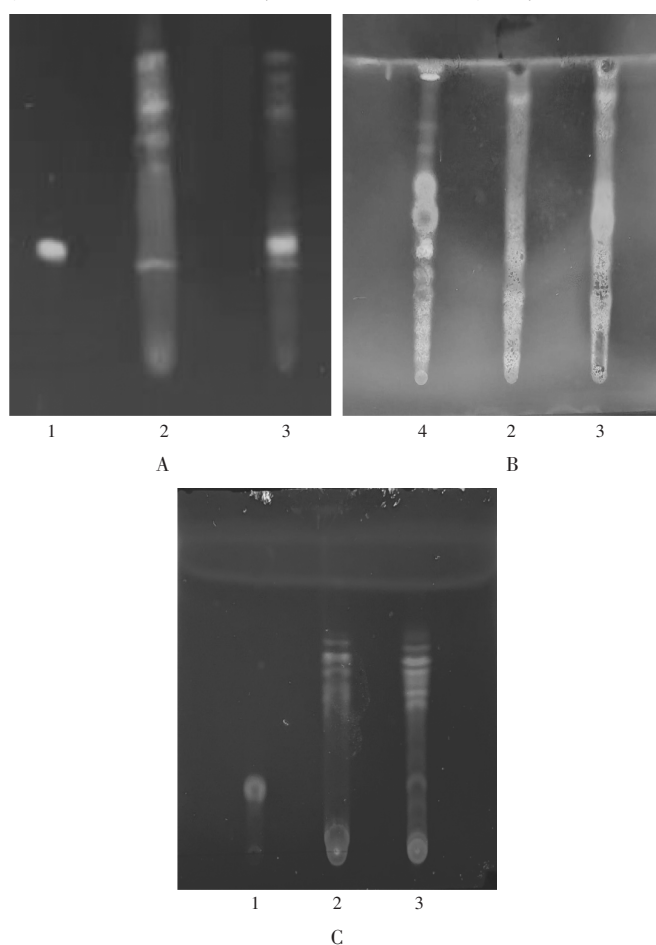
2.1 TLC鉴别

陈皮^{[14]199}:取样品4g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇10mL,超声(功率500W,频率40kHz)处理20min,过滤,取滤液,作为供试品溶液。取橙皮苷对照品适量,加甲醇1mL,制成饱和溶液,取上清液,作为对照品溶液。按清心安神颗粒处方与工艺制备缺陈皮的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各2 μ L,分别点于同一硅胶G板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13,V:V:V)为展开剂,展至约3cm,取出,晾干,再以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1,V/V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置紫外光灯(365nm)下检视。结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1A。

生甘草^{[14]88}:取样品15g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,加乙醚40mL,超声处理20min,过滤,弃去乙醚液,残渣挥干,加水40mL使溶解,用水饱和正丁醇振摇提取2次,每次30mL,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的水洗涤2次,每次20mL,分取正丁醇液,回收溶液,残渣加甲醇10mL使溶解,作为供试品溶液。取生甘草对照药材1g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按清心安神颗粒处方与工艺制备缺生甘草的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取上述3种溶液各2 μ L,分别点于同一硅胶G板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2,V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365nm)下检视。结果供试品溶液色谱在与对照药材色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1B。

夏枯草^{[14]292}:取样品1g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,加70%甲醇30mL,超声处理30min,过滤,滤

液蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。取迷迭香酸对照品0.1mg,精密称定,加乙醇1mL溶解,制成对照品溶液。按清心安神颗粒处方与工艺制备缺夏枯草的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法试验,吸取对照品溶液5 μ L,供试品溶液、阴性对照品溶液各10 μ L,点于同一硅胶G板上,以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲酸(15:3:3.5:0.5,V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相应的位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1C。



1. 对照品溶液 2. 阴性对照品溶液 3. 供试品溶液 4. 对照药材溶液
A. 陈皮 B. 生甘草 C. 夏枯草

图1 薄层色谱图

1. Reference solution 2. Negative reference solution 3. Test solution
4. Reference medicinal material solution
A. Citri Reticulatae Pericarpium B. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
C. Prunellae Spica

Fig.1 TLC chromatograms

2.2 橙皮苷含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:ChromCore 120C₁₈柱(250mm \times 4.6mm,5 μ m);
流动相:乙腈-水(22:78,V/V);流速:1.0mL/min;检

测波长: 283 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 5 μL。

2.2.2 溶液制备

取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每1 mL含0.15 mg的对照品溶液。取样品0.5 g, 精密称定, 研磨成粉, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理45 min, 取出, 放冷, 再次称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 过滤, 取续滤液, 即得供试品溶液。按清心安神颗粒处方与工艺制备缺陈皮的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验与专属性试验: 取2.2.2项下3种溶液各5 μL, 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。结果供试品溶液色谱在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰, 且阴性对照无干扰, 表明专属性良好。理论板数按橙皮苷峰计应大于2 000, 分离度 > 1.5, 分离效果良好。详见图2。

线性关系考察: 取橙皮苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度约为0.5 mg/mL的溶液, 作为对照品贮备液, 量取适量, 用甲醇稀释成质量浓度分别为37.5, 75, 150, 225, 300 μg/mL的系列对照品溶液, 按2.2.1项下色谱条件分别进样测定, 记录峰面积。以橙皮苷质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 0.1139X - 0.1121$ ($r = 0.9997$, $n = 6$)。结果表明, 橙皮苷质量浓度在37.5 ~ 300 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取2.2.2项下对照品溶液5 μL, 按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果的RSD为0.77% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 精密吸取2.2.2项下供试品溶液(批号为20240701)和对照品溶液各5 μL, 分别于室温放置0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 40, 48 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果的RSD均小于5.0% ($n = 10$), 表明对照品溶液和供试品溶液室温放置48 h

内基本稳定。

重复性试验: 取2.2.2项下供试品溶液(批号为20240701)6份, 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果橙皮苷平均含量为4.75 mg/g, RSD为1.38% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收率试验: 取已知含量样品(批号为20240701)0.25 g, 精密称定, 共6份, 置具塞锥形瓶中, 分别加入0.4897 mg/mL的对照品贮备液7.5 mL及甲醇17.5 mL, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果见表1。

表1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

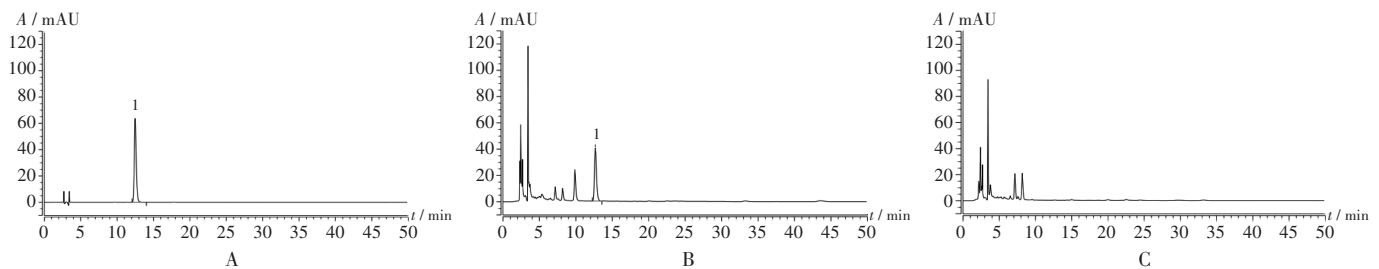
Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测定量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
1.1943	3.6727	4.6874	95.11	96.00	0.56
1.1965	3.6727	4.7461	96.65		
1.2013	3.6727	4.7254	95.95		
1.2063	3.6727	4.7231	95.76		
1.2011	3.6727	4.7310	96.11		
1.2013	3.6727	4.7426	96.42		

耐用性试验: 取同一批样品(批号为20240701)适量, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 分别采用不同流速(0.8, 1.2 mL/min)、柱温(20, 30 °C)、检测波长(281, 285 nm)、流动相比(乙腈-水, 20:80, 24:76, V/V)、色谱柱(Agilent ZORBAX Eclipse XDB - C₁₈柱), 按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算不同条件下橙皮苷含量。结果显示, 小幅改变流速、柱温、波长、流动相比、色谱柱后, 橙皮苷含量均无显著变化, 相对偏差均小于5.0%, 表明方法耐用性良好。

2.2.4 样品含量测定

取3批样品(批号分别为20240701, 20240702, 20240703)各适量, 精密称定, 按2.2.2项下方法制备供试品溶液, 再按2.2.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算样品含量。结果橙皮苷含量分别为4.75,



1. 橙皮苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Hesperidin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

4.93, 4.93 mg/g, RSD为1.19% ($n=3$)。药材陈皮中橙皮苷含量为5.20%, 结合3批产品平均含量(4.87 mg/g)及陈皮的投料量, 计算出橙皮苷转移率为18.73%, 按药典规定的“陈皮含橙皮苷不得少于3.5%”设限, 并在此基础上下浮20%, 计算出本品中橙皮苷含量限度应不得低于2.62 mg/g。计算公式及过程如下。

转移率(%) = 制剂中橙皮苷含量 / 药材中橙皮苷含量 = $(4.87 \text{ mg/g} \times 1000 \text{ g} \div 1000 \text{ mg/g}) / (500 \text{ g} \times 5.20\%) \times 100\% = 18.73\%$ 。式中, 1000 g为中试产品处方制法颗粒的质量, 500 g为中试产品处方中陈皮的投料量。

含量下限(mg/g) = 制剂中橙皮苷含量 / 制剂质量 × 含量下限比例 = $(500 \text{ g} \times 18.73\% \times 3.5\% \times 1000 \text{ mg/g}) / 1000 \text{ g} \times (1 - 20\%) = 2.62 \text{ mg/g}$ 。

3 讨论

3.1 TLC鉴别

本研究中生龙骨尚无标准鉴别方法, 预试验中对抑制其余7味药材均进行了TLC鉴别, 其中茯神、合欢皮的阴性样品存在不同程度的干扰, 姜半夏、生牡蛎的供试品无适宜的提取方法, 且供试品溶液在与对照药材溶液或对照品溶液相应位置上未显相同颜色的斑点, 故最终建立了陈皮、生甘草、夏枯草的TLC鉴别方法。预试验中还分别考察了不同厂家(1%氢氧化钠)硅胶G板、硅胶G板及不同温度、不同湿度的检测结果, 结果显示, 供试品溶液色谱中均检出与对照品溶液或对照药材溶液色谱相同颜色的斑点, 样品斑点均分离良好, 且阴性对照无干扰, 表明TLC鉴别法专属性及耐用性良好。

3.2 含量测定

清心安神颗粒处方中姜半夏、陈皮为君药, 根据君臣佐使原则, 测定君药中指标性成分的含量, 2020年版《中国药典(一部)》中姜半夏无含量检测项^{[14][24]}, 故本研究中采用HPLC法测定样品中橙皮苷的含量。预试验中采用单因素变量法, 考察提取方式、超声时间、提取溶剂、供试品取样量对橙皮苷含量的影响, 甲醇超声和回流提取所得样品含量无显著差异, 因超声提取方法操作较简单, 故选择该提取法。此外, 对不同超声时间进行了考察, 结果, 随着超声时间延长, 测出的含量越高, 但当超声时间超过45 min后, 再延长超声时间对含量影响较小, 故最终选择超声时间为45 min。溶剂考察了甲醇、水, 发现水虽能将样品完全溶解, 但橙皮苷含量测定结果极低, 原因为橙皮苷结构中虽含有多个羟基, 具有较强亲水性, 但因其大分子结构和晶体性质, 导致在水中及常见溶剂中分散困难, 故选择甲醇提取样品中的橙皮苷。此外, 橙皮苷对照品在配制浓度为0.5 mg/mL以上溶液时溶解困难, 因此本方法设计时

对照品溶液质量浓度调整至0.5 mg/mL以下。通过对供试品提取量的筛选, 最终确定供试品质量浓度为0.02 g/mL时与对照品峰面积相当。

3.3 方法学评价

本研究中所建方法操作简便、重复性好、专属性高, 符合《中国药典》的通用要求及原料和产品的实际特性, 可保证检验结果的准确性^[15], 提高其临床使用的安全性和有效性^[16], 适用于清心安神颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 王婉怡, 朱志军, 李航飞, 等. 半夏化学成分、药理作用研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(3): 203-215.
- [3] 张国玉, 熊继东, 魏家艳, 等. 半夏化学成分和药理作用的研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 华西药学杂志, 2024, 39(1): 110-115.
- [4] 关徐涛, 杨鹤年, 张津铖, 等. 陈皮的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(6): 41-49.
- [5] 徐健, 曾万祥, 王晓东, 等. 陈皮的化学成分与药理学作用研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2022, 41(10): 72-76.
- [6] 戴慧, 覃欣怡, 端木彦涛, 等. 茯神的化学成分、药理作用及质量控制研究进展[J]. 江西中医药, 2022, 53(10): 68-72.
- [7] 王艳杰, 郝嘉平, 代巧妹, 等. 中药夏枯草药理作用及其分子机制研究进展[J]. 中医药导报, 2022, 28(2): 118-122.
- [8] 张金华, 邱俊娜, 王路, 等. 夏枯草化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(14): 3432-3440.
- [9] 柴士伟, 范栢爽, 宋学姣, 等. 矿物类中药治疗失眠的药理作用及临床应用研究进展[J]. 天津中医药, 2024, 41(3): 403-408.
- [10] 李冉, 田介峰, 罗学军, 等. 合欢花的化学成分及其药理作用的研究进展[J]. 天津药学, 2022, 34(2): 66-71.
- [11] 刘晓丹, 刘俊, 李云, 等. 甘草提取物及有效成分抗代谢相关脂肪性肝病的药理作用及机制研究进展[J]. 药物评价研究, 2024, 47(3): 642-649.
- [12] 邓桃妹, 彭灿, 彭代银, 等. 甘草化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的探讨[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2660-2676.
- [13] 谢俊杰, 刘国彬, 姜蕾, 等. 益气养阴颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2025, 34(12): 81-84.
- [14] 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.
- [15] 刘京津, 郜文卉, 徐晓吟, 等. 苓藜凉血颗粒质量标准研究[J]. 中国药业, 2025, 34(5): 79-83.
- [16] 张宁, 蒋波, 宋明辉, 等. 复方苦参提取物及其相关组分微生物限度检查方法及微生物质量标准的建立[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(8): 1454-1462.

(收稿日期: 2025-07-17; 修回日期: 2026-01-13)