

分类号:

学 号: 20202115017

密 级: 内部★1 年

单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



古代经典名方买朱尼努加制剂工艺及质量标准研究

学 位 申 请 人

王楠

指 导 教 师

马芹 正高级工程师

陈伟 副高级工程师

申请学位类别

药 学 硕 士

专 业 名 称

药 学

研 究 领 域

药物制备及质量控制

所 在 学 院

药学院

中国·新疆·石河子

2023 年 5 月

分类号:

学 号: 20202115017

密 级: 内部★1 年

单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



古代经典名方买朱尼努加制剂工艺及质量标准研究

学 位 申 请 人

王楠

指 导 教 师

马芹 正高级工程师

陈伟 副高级工程师

申请学位类别

药 学 硕 士

专 业 名 称

药 学

研 究 领 域

药物制备及质量控制

所 在 学 院

药学院

中国·新疆·石河子

2023 年 5 月

Study on the technology and quality standard of "Maizhuninujia"
preparation of ancient famous prescription

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Pharmacy

By

Wang Nan

(Pharmacy)

Dissertation Supervisor: Senior engineer. Ma Qin
Deputy senior engineer. Chen Wei

May, 2023

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：王楠

时间：2023年5月18日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：王楠

时间：2023年5月18日

导师签名：马芹

时间：2023年5月18日

摘要

目的：买朱尼努加为我国维药经典名方遴选目录入选处方，该方出自明代晚期经典民族药物古籍《拜地依药书》，处方由西青果、余甘子、菟丝草、薰衣草及水龙骨等组成，具有清除机体异常脾液质，通阻益脑的作用，用于治疗异常脾液质引起的神经衰弱，健忘症和抑郁证（麻力胡利亚），具有明显特色与优势。本课题通过对所收集到的药材或饮片进行质量评价，筛选出合格批次；然后根据由维药古籍得来的两味药材炮制工艺建立 10 批次的质量研究；根据买朱尼努加处方中各药味粉碎特性及混合特性总结出中间体粉末工艺，根据传统维医炼蜜过程复现炼蜜工艺，设计单因素实验及正交试验将中间体粉末与炼蜜混合得到制剂工艺，开展买朱尼努加对慢性不可预知温和应激模型药效研究，为维药经典名方买朱尼努加临床上市提供科学依据。

方法：（1）依据 2020 年版《中国药典》四部通则与《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》及现有维药部颁标准，对买朱尼努加组方中收集到的所有批次药材进行鉴别、杂质、水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物、含量测定等检查项进行质量检查，对照标准判定药材是否合格；（2）对余甘子西青果炮制工艺进行优化，并进行 10 批次质量研究，对药材性状、水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物、含量测定等进行测定，同时对余甘子炮制用辅料牛奶进行 10 批次质量检查；（3）实验先进行单独粉碎确定买朱尼努加处方中各药味粉碎特性，后进行部分粉碎，全方粉碎，确定出最佳粉碎工艺，制定其药材前处理方法，后利用高效混合机比较不同混合时间下中间体粉末中没食子酸、金丝桃苷及迷迭香酸含量的 RSD 值，选择出最佳混合工艺。（4）参考维药传统工艺中关于炼蜜的文字描述，以产率、相对密度、5-羟甲基糠醛含量为指标，分别考察炼蜜温度、炼蜜时间等因素获得最佳工艺，经三批验证后确认炼蜜工艺；（5）设计单因素及正交实验进行制剂工艺研究，以没食子酸、5-羟甲基糠醛、金丝桃苷含量、相对密度及均一性为指标，依次考察 A、B、C、D 等因素，并进行验证确定最佳工艺。（6）开展买朱尼努加对慢性不可预知温和应激小鼠模型药效学研究，进行体重监测，行为学考察，细胞因子及 HE 染色测定及分析，初步建立药效评价。

结果：（1）药材质量检查：组方五味药材共收集到 64 批次，其中收集余甘子药材 16 批、西青果 16 批、菟丝草 10 批、水龙骨 9 批，薰衣草药材 13 批，经质量检查 61 批合格，余甘子 1 批次药材含量测定不符合要求，薰衣草有 2 批次酸不溶性灰分检查项不符合要求。（2）对实验室余甘子炮制工艺优化改变料液比，建立 10 批次炮制品质量检查研究并讨论，对炮制用辅料牛奶进行 10 批次质量检查，均合格；（3）根据买朱尼努加处方中各药味粉碎特性总结出粉碎工艺，制定其药材前处理方法，根据出粉率综合考虑选择全方粉碎；后比较不同混合时间中间体粉末中没食子酸、金丝桃苷及迷迭香酸含量的 RSD 值，选择使用高效混合机混合 45 min 为优，得到中间体粉末制备工艺；（4）炼蜜研究：最佳炼蜜工艺 80℃加热，炼蜜时间 30 min，炼蜜较生蜜颜色加深，5-羟甲基糠醛含量符

合标准 ($<40\ \mu\text{g/g}$)。(5) 买朱尼努加制剂工艺研究: 最佳工艺为 A 100, B 40, C 0.25, D 1:5 冷却至室温即得。(6) 药效学结果: 买朱尼努加中、高剂量组对慢性不可预知温和应激小鼠模型具有一定抗抑郁治疗效果, 可改善小鼠行为, 其抗抑郁作用与上调单胺类神经递质 5-HT、DA 和 BDNF 的含量有关。

结论: 买朱尼努加组方药材合格率高; 余甘子与西青果经炮制后毒性明显减弱, 炮制工艺、中间体制备工艺、炼蜜工艺及制剂工艺稳定; 买朱尼努加具有抗抑郁作用; 可为买朱尼努加后续标准提供基础。

关键词: 经典名方; 蜜膏剂; 制剂工艺; 维药; 质量标准

Abstract

Object: Maizhuninujia as the selection list of Chinese classic prescription of uyghur medicine. This prescription comes from the classic ancient book of national medicine of the late Ming Dynasty, Baidiyi Medicinal Book. The prescription consists of *Phyllanthus emblica*, *Terminalia chebula* Retz, *Cuscuta chinensis*, *Lavandula angustifolia* Mill, *Rhizoma Polypodioidis Nipponicae*, which has the role of clearing abnormal splenic fluid quality, blocking and invigorating brain, and is used to treat neurasthenia caused by abnormal splenic fluid quality. The syndrome of amnesia and depression (Malihuria) has obvious characteristics and advantages. The subject through the quality evaluation of collected medicinal materials or decoction pieces, screened out qualified batches; Then, according to the processing technology of two kinds of medicinal materials obtained from ancient books of uyghur medicine, the quality study of 10 batches was established. The intermediate powder process was summarized according to the smashing characteristics and mixing characteristics of each medicine flavor in Maizhuninujia prescription, and the honey refining process was reperformed according to the traditional honey refining process of TCM. The single factor experiment and orthogonal experiment were designed to mix the intermediate powder and honey to obtain the preparation process, To study the effect of Maizhuninujia on chronic unpredictable mild stress mode, lwhich provided scientific basis for the classic famous prescription of Maizhuninujia prescription to buy the clinical market.

Method: (1) According to the four General rules of the 2020 edition of Chinese Pharmacopoeia, the Processing Standards of Xinjiang Uygur Autonomous Region for Chinese Herbal Medicine Decoction Pieces and the existing standards of the Department of Herbal Medicine, quality inspection was conducted on the identification, impurities, moisture, total ash, acid insoluble ash, extract, content determination and other inspection items of all batches of medicinal materials collected from Maizhuninujia a prescriptions. Check the standard to determine whether the medicine is qualified; (2) The processing technology of P. embalm was optimized, and the quality of 10 batches of P. embalm was studied, and the characters, moisture, total ash, acid insoluble ash, extract and content of the medicinal materials were determined. At the same time, the quality of 10 batches of auxiliary milk used for processing P. embalm was checked. (3) In the experiment, the grinding characteristics of each flavor in Maizhuninujia prescription were determined by individual crushing, followed by partial crushing and whole crushing to determine the optimal grinding process and formulate the pretreatment method of the medicinal materials. After that, the

RSDS of the contents of gallic acid, hypericin and rosmarinic acid in the intermediate powder under different mixing times were compared by an efficient mixer to select the optimal mixing process. (4) According to the text description of honey refining in traditional process of uyghur medicine, the yield, relative density and 5-hydroxymethylfurfural content were used as indicators to investigate the honey refining temperature, honey refining time and other factors to obtain the best process, and the honey refining process was confirmed after three batches of verification; (5) Single factor and orthogonal experiments were designed to study the preparation technology. The content, relative density and uniformity of gallic acid, 5-hydroxymethylfurfural and hypericin were taken as indexes, followed by A, B, C, D and other factors, and the optimal process was verified. (6) To conduct pharmacodynamic study of Maizhuninujia on chronic unpredictable mild stress mice model, conduct weight monitoring, behavioral investigation, cytokine and HE staining determination and analysis, and preliminarily establish efficacy evaluation.

Results: (1) Quality inspection of medicinal materials: A total of 64 batches of five medicinal materials of the formulation were collected, including 16 batches of *Radix embalmiae*, 16 batches of *Xanthophylla*, 10 batches of tiger herb, 9 batches of aqua keel, and 13 batches of lavender medicinal materials. Sixty-one batches were qualified through quality inspection, the content determination of *Radix embalmiae* in one batch did not meet the requirements, and the inspection items of acid insoluble ash in two batches of lavender did not meet the requirements. (2) Optimize the processing technology of *Camellia japonicum* in the laboratory to change the ratio of material to liquid, establish and discuss the quality inspection of 10 batches of gun products, and carry out the quality inspection of 10 batches of auxiliary milk for processing, all qualified; (3) According to the grinding characteristics of each flavor in Maizhuninujia prescription, the grinding process was summarized, the pretreatment method of the medicinal materials was formulated, and the whole method of grinding was selected according to the powder yield. After comparing the RSDS of gallic acid, hypericin and rosmarinic acid in the intermediate powder with different mixing time, the optimal mixing time was 45 minutes in the high efficiency mixer. The preparation process of the intermediate powder was obtained. (4) Honey refining research: The best honey refining process was heated at 80°C for 30 minutes. The color of honey was darker than that of raw honey. The content of 5-hydroxymethylfurfural met the standard ($< 40 \mu\text{g/g}$). (5) Study on the process of Maizhuninujia preparation: the best process is A 100, B 40, C 0.25, D 1:5 cooling to room temperature. (6) Pharmacodynamic results: Maizhuninujia medium and high dose groups have certain antidepressant treatment effect on the chronic unpredictable mild stress mouse model, and can improve the behavior of mice. The antidepressant effect is related to the upregulation of monoamine neurotransmitters 5-HT, DA and neurotrophic factors.

Conclusion: The qualified rate of Maizhuninujia formula is high. After processing, the toxicity of *Phyllanthus emblica* and *Terminalia chebula* Retz was significantly reduced, and the processing technology, intermediate preparation technology, honey refining technology and preparation technology were stable, Maizhuninujia has antidepressant effects; Can provide the basis for the purchase of subsequent Maizhuninujia standards.

Key words: Classic famous formula; Honey paste; Preparation technology; Uyghur medicine; Quality standard

目录

摘 要	I
Abstract	III
前 言	1
第 1 章 文献综述	2
1.1 抑郁症现状分析	2
1.2 抑郁症中西医治疗特点	2
1.3 抑郁症发病机制	3
1.3.1 单胺类神经递质及其受体假说	3
1.3.2 神经细胞可塑性及神经营养因子假说	3
1.3.3 下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴功能失常假说	3
1.3.4 炎症与细胞因子假说	4
1.4 抑郁症中医治疗抑郁症机理	4
1.5 抗抑郁药物研究现状	4
1.5.1 抗抑郁药物中化药研究现状	4
1.5.2 抗抑郁药物中药研究现状	5
1.5.3 抗抑郁药物维药研究现状	6
第 2 章 买朱尼努加组方药材质量研究及提升	7
2.1 实验材料	7
2.1.1 仪器设备	7
2.1.2 实验试剂	7
2.1.3 对照品与药材	7
2.2 方法	8
2.2.1 药材性状鉴别	8
2.2.2 药材薄层分析	8
2.2.3 药材质量检查	9
2.2.4 药材浸出物	10
2.2.5 药材含量测定	10
2.2.6 西青果指纹图谱	13
2.3 实验结果	14
2.3.1 药材性状鉴别	14

2.3.2 药材薄层分析	17
2.3.3 药材质量检查	18
2.3.4 药材浸出物	19
2.3.5 药材含量测定	19
2.3.6 西青果指纹图谱	27
2.4 讨论与结果	28
2.4.1 药材性状	28
2.4.2 药材薄层分析	29
2.4.3 药材 HPLC 检测方法建立	29
2.4.4 实验结果	29
第 3 章 炮制工艺优化及质量标准研究	30
3.1 实验材料	30
3.1.1 仪器设备	30
3.1.2 药材与试剂	30
3.2 实验方法	31
3.2.1 余甘子炮制工艺质量标准	31
3.2.2 西青果炮制工艺质量标准	32
3.2.3 牛奶质量标准研究	33
3.3 实验结果	34
3.3.1 余甘子炮制品质量标准建立	34
3.3.2 西青果炮制品质量标准建立	36
3.3.3 牛奶质量标准研究	38
3.4 讨论与结果	39
第 4 章 买朱尼努加中间体制备工艺	40
4.1 实验材料	40
4.1.1 仪器设备	40
4.1.2 药材与试剂	40
4.2 药材粉碎工艺研究	40
4.2.1 单独粉碎特性研究	40
4.2.2 部分粉碎特性研究	41
4.2.3 全方粉碎特性研究	43
4.2.4 粉碎验证试验	43
4.3 混合工艺研究	44
4.3.1 实验方法	44

4.3.2 实验结果	44
4.3.3 混合工艺验证	45
4.4 讨论与结果	46
4.4.1 粉碎过筛目数选择	46
4.4.2 粉碎工艺确认	46
4.4.3 混合工艺确定	46
4.4.4 实验结果	47
第 5 章 买朱尼努加炼蜜工艺研究	48
5.1 实验材料	48
5.1.1 仪器设备	48
5.1.2 试剂	48
5.1.3 对照品与药材	48
5.2 炼蜜工艺研究	49
5.2.1 实验方法	49
5.2.2 实验结果	50
5.2.3 小结	51
5.3 炼蜜质量标准研究	51
5.3.1 实验方法	52
5.3.2 实验结果	52
5.3.3 小结	54
5.4 讨论与结果	54
第 6 章 买朱尼努加蜜膏工艺研究	55
6.1 实验材料	55
6.1.1 仪器设备	55
6.1.2 药材与试剂	55
6.2 实验内容	55
6.2.1 蜜膏制备工艺	55
6.2.2 买朱尼努加蜜膏工艺单因素试验设计	56
6.2.3 A 影响因素考察	56
6.2.4 B 影响因素考察	56
6.2.5 C 影响因素考察	56
6.2.6 D 影响因素考察	56
6.2.7 蜜膏正交实验设计	57
6.2.8 蜜膏制备工艺验证	57

6.2.9 考察指标方法	57
6.3 实验结果	58
6.3.1 A 考察	58
6.3.2 B 考察	59
6.3.3 C 考察	59
6.3.4 D 考察	60
6.3.5 正交试验工艺	60
6.3.6 蜜膏工艺验证	61
6.4 讨论与结果	61
第 7 章 买朱尼努加对慢性不可预知温和应激模型研究	62
7.1 实验材料	62
7.1.1 仪器设备	62
7.1.2 实验试剂	62
7.1.3 实验动物	63
7.2 实验方法	63
7.2.1 实验分组及给药	63
7.2.2 造模方法	63
7.2.3 行为学观察指标	64
7.2.4 买朱尼努加小鼠血清中细胞因子变化影响	65
7.2.5 小鼠海马区 HE 染色	66
7.3 实验结果	67
7.3.1 买朱尼努加对小鼠 CUMS 模型体重影响	67
7.3.2 买朱尼努加对小鼠糖水偏好影响	67
7.3.3 买朱尼努加对 CUMS 小鼠抑郁样行为影响	68
7.3.4 买朱尼努加对 CUMS 小鼠空间学习记忆能力的影响	68
7.3.5 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中单胺类递质影响	69
7.3.6 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中 BDNF 影响	69
7.3.7 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中 IL-10 影响	70
7.3.8 买朱尼努加对 CUMS 小鼠海马组织形态结构的影响	70
7.4 讨论与结果	71
第 8 章 总结	73
参考文献	74
致谢	74
作者简介	79

石河子大学硕士研究生学位论文导师评阅表	80
---------------------------	----

前 言

中药古代经典名方为目前仍广泛应用、疗效确切、具有明显特色与优势的清代及清代以前医籍所记载的方剂。第一批经典名方已公开 100 个，第二批已公布 25 首方剂经典名方信息表，其余还处在遴选阶段，其中包含少数民族临床经验丰富，仍沿用至今的经典名方，自古代经典名方提出以来，不少科研院所已开展物质基准与现代制剂研究，但相关研究成果已公开发表的仍在少数，经典名方特点优势明显，认可度高，同时具有创新性、传承性，开发经典名方在中医药领域有着重要地位。

抑郁症是当今社会中广泛存在的一类心理疾病，主要表现为长期的心情低落、消沉、疲惫无精神、不安绝望、同时患有躯体化症状、胸闷、气短等症状，且有约 15% 的自杀率，严重影响患者的工作生活。抑郁症在维吾尔医学中又称为麻力胡利亚，主要用于治疗抑郁症早期症状，多见于异常脾液质性的中年人，以思虑难眠、惊慌忧虑等思维障碍类疾病为主要特点，而原发于脑部的病证。

抑郁症在维药中属于优势病种，维药中有很多沿用至今的经典名方仍在作为院内制剂使用，如麻吾利加比、高孜班蜜膏、欧斯提胡都斯糖浆等，买朱尼努加为古代维药经典名方又称养脑诃子膏，来源出自阿吉再努勒·艾塔尔编著的《拜地依药书》（1368），由余甘子、西青果、薰衣草、菟丝草、水龙骨等药材组成，古籍记载可用于“清除异常脾液质，用于麻力胡利亚，症见苦思、惊慌、忧郁”，属于维药传统制剂中的蜜膏剂，指将药材细粉与炼蜜制成的半流体制剂。

本论文主要对其制剂工艺进行研究，包括五味药材药味收集与质量评价，对现有批次按已有标准进行质量检查及提升；优化药材炮制工艺并进行余甘子、西青果炮制品、牛奶 10 批次质量标准研究；制剂工艺部分，首先对药材中间体进行粉碎工艺与混合工艺研究，通过考察五位药材粉碎特性、单独粉碎、部分粉碎、全方粉碎出粉率与粉碎时间，不同混合时间对粉末均匀度的影响，确定中间体工艺；第二根据传统维医炼蜜工艺，设计单因素实验，考察加热温度、加热时间对炼蜜中 5-羟甲基糠醛含量、产率、相对密度的影响确定炼蜜工艺，蜜膏混合工艺通过单因素与正交试验考察 A、B、C、D 四个影响因素对其主成分含量、均一性、相对密度和性状的影响确定最佳工艺；同时进行买朱尼努加初步药效学研究，建立慢性不可预知温和应激小鼠模型，分析小鼠体重、糖水偏好度、抑郁样行为、细胞因子水平、海马组织 HE 染色，最终初步确定买朱尼努加药效；最后获得成果可为买朱尼努加临床上市提供研究数据。

第1章 文献综述

1.1 抑郁症现状分析

抑郁症（Depression）又称抑郁障碍，以显著而持久的心境低落为主要临床特征，是心境障碍的主要类型^[1]。临床常见：自我评估能力低下、快感缺失、睡眠障碍、精神萎靡等^[1,2]；它呈现高发病率与高复发率，且日益严重，根据世界卫生组织的研究报告：全球约4.4%的人患有抑郁症状，受影响人数超过3亿^[3]，其中青少年因为学业压力与身心发展不成熟已成为抑郁症高发群体，抑郁症占中国疾病负担的第2位，抑郁症不仅使患者健康受到损害，生活质量下降，而且给家庭、社会造成极大负担，已经成为一个严重的社会和医疗问题^[4,5,6]。

而目前我国公布的经典名方目录中并无针对抑郁症治疗的处方，针对我国抗抑郁原研药物匮乏局面及习近平主席对中药发展—守正创新的殷切期望，本课题研究的经典抗抑郁名方买朱尼努加蜜膏，其独特的治疗作用及悠久确切的临床使用历史，值得我们对其进行进一步开发研究。

1.2 抑郁症中西医治疗特点

通过抑郁症及其与其他疾病（尤其是慢性疾病）的关联研究表明，抑郁症不仅会增加患其他疾病的风险，还会使预后恶化并增加死亡率。来自多个临床样本和流行病学调查的现有数据表明，抑郁症是导致高血压、糖尿病、心血管疾病等慢性躯体疾病的重要危险因素^[7]。“抑郁症”病名为西医常用名，中医通常将其称为“郁证”、“脏躁”、“梅核气”等范畴。目前市面上西医治疗抑郁症的药物种类繁多，但服药后存在副作用多、价格高昂、依从性差等问题，使患者治疗效果受到限制^[8]。

西医通常采用抗抑郁药物配合心理疏导来治疗抑郁症，起到长期稳定性治疗效果同时改善单独药物治疗时的局限性，但存在周期长，易使患者产生依赖性。而中医治疗立足于患者本身，以心身一体，整体调节，通过多途径多层次治疗进行个体化治疗方案，同时具有副作用少、具有疗效稳定、易接受等优点^[9]。

抑郁症的常见中医证候分为：肝郁脾虚型、脾肾阳虚型、肝郁痰阻型、肝郁气滞型、气滞血瘀型、心肾不交型、心脾两虚型^[10]。对抑郁症有治疗作用的单味药有柴胡、

丹参、钩藤、桔梗、杜仲、五味子、远志；复方经方包含柴胡疏肝散、逍遥散、越鞠丸、半夏白术天麻汤、开心散、四逆散及复方自拟方剂含复方柴归方、解郁安神汤、醒脾解郁方、枳菊解郁汤、化浊解毒疏肝方、柴桂温胆定志汤。

1.3 抑郁症发病机制

现代医学对抑郁症内在的发病机制研究较为完善，目前较为完善的发病机制假，产生原因包括4个方面。

1.3.1 单胺类神经递质及其受体假说

单胺类神经递质是中枢神经系统内重要的一类神经递质，主要包括5-羟色胺、去甲肾上腺素和多巴胺等，其含量的变化能明显改善抑郁情绪，在大脑发育、情绪调节、应激反应等方面发挥核心作用^[11]。研究表明这与5-HT受体，NE受体，DA受体的数量下降或相关受体对神经递质的敏感性发生改变有关^[12]。

1.3.2 神经细胞可塑性及神经营养因子假说

研究表明海马是脑内负责机体学习记忆的重要组织，参与神经因子的分泌和情绪调节，其结构的改变，神经元凋亡与抑郁症息息相关^[13]，脑源性神经营养因子（BDNF）是脑中最重要神经营养因子，其表达与功能的改变影响神经元的生长、发育、存活、突触传递和突触重塑^[14]。研究发现，抑郁症会使患者脑内海马中BDNF水平显著下降，导致海马、前额叶以及杏仁核等脑边缘区的神经元萎缩和丢失^[15]。

1.3.3 下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴功能失常假说

HPA由下丘脑、垂体、肾上腺及下游相应靶器官构成，是一种可以维持内稳态具有重要调节功能的内分泌轴^[16]，它主要调控应激系统，控制着多种调节肽及激素的分泌，感受到外界刺激压力后通过维持其激素分泌水平稳态，达到抗抑郁效果，若机体长时间受持续性应激，就会导致HPA轴功能持续亢奋，导致抑郁产生^[17]。同时HPA功能异常活跃，会引起体内皮质醇分泌过量，造成海马神经元组织的损伤，而损伤的海马不能够较好地抑制HPA功能的异常活跃，因此形成一个恶性循环，最终诱发抑郁症。HPA轴功能亢进不仅是抑郁症患者的突出特征，也是抑郁症发病进展的关键因素之一^[18,19]。

1.3.4 炎症与细胞因子假说

研究发现, 抑郁症患者后期身体大多处于炎症状态, 将其与抑郁症类神经免疫性失调联系, 认为当机体处于炎症状态时, 促炎性细胞因子(如肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β)分泌增加, 而抗炎性细胞因子水平降低, 导致免疫系统被过度激活, 进而引起神经内分泌以及免疫系统功能紊乱, 炎症出现, 最终引发抑郁症^[20,21]。因此抑郁症不单与神经系统相关, 由多系统、多因素共同作用的结果。

1.4 抑郁症中医治疗抑郁症机理

中医治疗抑郁症主要根据其病因病机, 实证与虚证结合情况, 通过辨证分型、中药复方治疗, 如柴胡加龙骨牡蛎汤^[22]、归脾汤^[23]等、单味中药治疗^[24]、针灸治疗^[25], 其治疗机理主要包括升高糖皮质激素受体含量, 研究发现, 解郁安神汤通过调控 5-羟色胺发挥镇静作用^[26]; 增加中枢单胺类神经递质水平, 研究发现开心散可以显著增加 5-HT 在大脑和突触间隙的含量, 从而产生了抗抑郁作用^[27]; 上调 BDNF 水平, 黄连解毒汤可减少海马小胶质细胞和促炎性细胞因子的数量起到显著改善抑郁行为^[28]; 调节免疫系统炎性介质, 小补心汤能够阻断细胞因子诱导剂引起的炎性细胞因子表达升高以及动物抑郁行为; 调节脑-肠-微生物轴功能, 逍遥散可能通过调节肠道微生物起到预防和治疗抑郁症的作用^[29], 具有重大意义和临床应用前景。

1.5 抗抑郁药物研究现状

1.5.1 抗抑郁药物中化药研究现状

近年来抗抑郁症药物研究取得了飞速的进展, 主要分为一代、二代抗抑郁药物与抗抑郁新药。

一代药物包括三环类抗抑郁药(TCAs), 如丙咪嗪、阿米替林、去甲替林, 主要通过抑制神经末梢突触前膜对单胺类神经递质(如 5-HT、NE 等的再摄取), 使得人体内 5-HT、NE 等神经递质增多, 从而达到抗抑郁的作用^[30]。四环类抗抑郁药(TTeCAs), 如米安舍林、司普替林, 其具有疗效快, 副作用少等优点, 适用于焦虑性抑郁症患者。但此类药物的安全性远低于新型抗抑郁药物, 临床上已经不使用此类药物。

第二代抗抑郁药物主要包括选择性 5-HT 再摄取抑制剂（SSRIs），如氟西汀、舍曲林和帕罗西汀^[31]。该类药物具有口服吸收容易，与血浆蛋白结合率高，见效迅速等优势^[32]。选择性 NE 再摄取抑制剂，如他培多、维洛沙嗪。此类药物治疗重症抑郁效果很好，但是耐受性不如 SSRIs^[33]。选择性 5-HT 及 NE 再摄取抑制剂如米那普仑、度洛西汀^[34]。

抗抑郁新药为 21 世纪科学家研发的更安全更高效类抗抑郁药物，包括 N-甲基-D-天冬氨酸受体拮抗剂，如氯胺酮^[35]。5-HT_{1A} 受体部分激动和选择性 5-HT 再摄取抑制剂，如盐酸羟哌吡酮，具有强效、起效快、自杀率低、不良反应发生率等特点^[36]。GABAA 受体拮抗剂，如别孕烯醇酮，可以调节位于神经突触内和突触外的 GABAA 受体的功能，恢复大脑抑制性受体和兴奋性受体之间的平衡。

1.5.2 抗抑郁药物中药研究现状

在抑郁症治疗中，中医通过辨证论治，整体调节，同步调治抑郁周边症状等发挥积极的防治作用，而中药具有作用温和，多靶点多组分作用，成为研究热点。根据其主要的抗抑郁活性成分分为四类，临床治疗分为六类。

抗抑郁活性成分主要包括黄酮类，如黄花菜、酸枣仁、枸杞叶、鱼腥草、罗布麻叶等植物，黄酮类天然药物的抗抑郁作用都与脑内的单胺类递质的功能有关^[37,38]。生物碱类：如地骨皮^[39]、胡椒、茶叶、附子、钩藤等茎叶类植物。皂苷类：如知母、柴胡、刺五加、百合、人参等^[40]。挥发油类集中在肉豆蔻^[41]、细辛、甘松、藏红花等茜草科、伞形科、豆蔻科植物。

临床治疗分为肝气郁结型、痰气郁结型、心阴亏虚型、血行淤滞型、气郁化火型、心脾两虚型六类，根据不同症状表现采用不同中药复方进行对症治疗，如肝气郁结型常采用四逆散、逍遥散及小柴胡汤等方剂进行加减治疗。对痰气郁结型郁证患者多应用温胆汤、滚痰丸及半夏厚朴汤等方剂加减进行治疗。心阴亏虚型多应用黄连阿胶汤加减进行治疗，血行淤滞型多用桃核承气汤、血府逐瘀汤及通窍活血汤等方剂加减治疗。气郁化火型常用方药有小承气汤、大承气汤及栀子豉汤等方剂。心脾两虚型常用的方药有归脾汤、甘麦大枣汤等方剂^[42,43]。

中药复方中治疗抑郁症种类较多，但无针对心脑异常所致抑郁症，补益类药物复方进行治疗。

1.5.3 抗抑郁药物维药研究现状

维医诊治疾病，是依其独特理论和诊法，诊断和鉴别疾病，它不同于中医，更有异于西医，此为其第一大特点。在应用的药物方面，有诸多不同于中医的药品，此为其第二特点。在药物的制剂方面，虽也有汤剂，但较少用，多以成品为主，以蜜膏剂为多。此膏的制法有别于中西药的制法。此为第三特点。

在维医学中按照体液辨证将抑郁症分为异常脾液质型、异常血液质型、异常胆液质型、异常黏液质型四种分型。其中异常脾液质型是抑郁症的主要证型^[44]。脾液质的主要生理功能是参与感觉、情绪、思维、记忆等神经系统活动。而异常脾液质可致疯狂病。

异常脾液质病证的治疗中首先使用异常脾液质成熟剂，使异常脾液质“成熟和堆积”排出体外，使气质复原、体液平衡。由牛舌草、甘草、水龙骨、玫瑰花等草药共煎所制，特别适合脑部疾病^[45]。维药中有通过改善脑细胞代谢，增强支配脏器功能达到治疗抑郁症的药物^[46]，如高孜班密膏、养心达瓦依米西克蜜膏、醒脑库克亚片，对抑郁症有代表性治疗效果的药物包括牛舌草、薰衣草、欧蜜蜂花、菟丝草、甘松、余甘子、苦艾、薰鲁香、西青果、药西瓜等。

目前维药中部分治疗抑郁症药物，虽有疗效确切的处方选择，但部分药材无标准，或含有珍贵药材，无法大规模投入研究生产，买朱尼努加蜜膏为维药经典名方选自经典民族药物古籍《拜地依药书》，对麻力胡利亚（苦思、惊慌、忧郁）Ⅱ型轻中度抑郁症有良好的治疗作用，治疗中无显著副作用和依赖性，具有悠久的临床使用经验；处方中五味药材均有药材标准，对后续研究提供基础。

第2章 买朱尼努加组方药材质量研究及提升

中药材质量对中药成方制剂的疗效有着重要意义，目前我国中药材及饮片存在同名异物，以假充真，形态相似误采误收的情况^[47,48]，所以在制剂工艺开展前对中药材及饮片进行质量控制具有重要意义。

买朱尼努加五味药材中的余甘子与西青果收载于2020年版《中国药典》，薰衣草、菟丝草、水龙骨收载于2020年版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》，所有药味的检查项均按《中国药典》2020年版四部通则进行质量检查，同时对缺少含量检查的药材新建HPLC检测方法，其中西青果建立指纹图谱检测，并进行方法学验证，用于制剂的质量一致性评价。

2.1 实验材料

2.1.1 仪器设备

FA1004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）、CH-500A 高速多功能粉碎机（永康市辰禾盛丰工贸有限公司）、KQ2500DE 型数据超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、WFH-203B 暗箱式三用紫外分析仪（上海米青科实业有限公司）、CS101-3ABN 电热鼓风干燥箱（重庆市永生实验仪器厂）、FP-40 马弗炉（北京市永光明医疗仪器有限公司）、LC-20AD 高效液相色谱仪（日本岛津）等。

2.1.2 实验试剂

色谱甲醇（S62104ME02H，厂家 SIMARK）、色谱乙腈（CAS75-05-8，厂家：Fisher）、色谱磷酸（天津市福晨化学试剂厂）、硅胶 G 薄层板（青岛海洋化工厂分厂），其余试剂甲醇、乙酸乙酯、甲酸、乙醇等均为分析纯。

2.1.3 对照品与药材

余甘子对照药材（批号 121289-201804）、西青果对照药材（批号 120946-201706）、没食子酸（批号 110831-201906）、槲皮素（批号 100081-201610）、 β -谷甾

醇（批号 110851-201909）、绿原酸（批号 110753-201314）、迷迭香酸（批号 111871-201706）、咖啡酸（批号 110885-201703）、金丝桃苷（批号 111503-201302）、山奈素（批号 110861-201611）以上对照品均来自中国食品药品检定研究院。收集到的组方药材余甘子、西青果、薰衣草、菟丝草、水龙骨共 64 批次，详细信息如表 2-1：

表 2-1 买朱尼努加组方药材信息表

Table 2-1 Information of Maizhuninujia prescription

药材名称	批号	产地	来源
余甘子	1~9	海南	新疆麦迪森维药药业有限公司
	10~14	云南丽江、云南楚雄	安徽新盛中药饮片有限公司
	15	四川	四川皓博药业有限公司
	16	云南	河北嘉恒冷背药业有限公司
西青果	1~9	广东	新疆麦迪森维药药业有限公司
	10~11	西藏	河北安国振宇药业有限公司
	12~13	广西玉林	安徽新盛中药饮片有限公司
	14	广西	安国市荣华本草中药材有限公司
	15	广西桂林	河北康派中药材有限公司
	16	广西	安国润德药业有限公司
薰衣草	1~11	新疆伊犁	新疆麦迪森维药药业有限公司
	12	新疆伊犁	安徽新盛中药饮片有限公司
	13	新疆吉木萨尔	新疆新宇药业集团有限公司
菟丝草	1~10	新疆	新疆麦迪森维药药业有限公司
水龙骨	1~9	四川成都	新疆麦迪森维药药业有限公司

2.2 方法

2.2.1 药材性状鉴别

参照 2020 年版《中国药典》或其他规范对药材的外观形态、颜色、气味、大小、质地、断面等特征进行描述，以区分药材真伪优劣。

2.2.2 药材薄层分析

余甘子与西青果两味药材有药典薄层鉴别标准，按其药典中规定方法进行鉴别，供试品与对照药材应在色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。

除药典规定外，五味药材薄层各提升 2 种特征性成分，分别为余甘子（没食子酸，绿原酸）、西青果（金丝桃苷，槲皮素）、薰衣草（迷迭香酸， β -谷甾醇）、菟丝草（金丝桃苷，咖啡酸）、水龙骨（山奈素， β -谷甾醇），薄层分析方法如下：

（1）供试品配制：取药材粉末（过 3 号筛），约 0.1 g 加入 3 mL 甲醇，静置 30 min 后，超声 30 min（180 w），过滤，即得。

(2) 对照品配制：分别称取没食子酸、绿原酸、金丝桃苷、槲皮素、迷迭香酸、 β -谷甾醇、咖啡酸、迷山奈素对照品适量，加适量甲醇，超声 30 min，过滤得浓度分别为 99 $\mu\text{g/mL}$ 、175 $\mu\text{g/mL}$ 、111 $\mu\text{g/mL}$ 、124 $\mu\text{g/mL}$ 、149 $\mu\text{g/mL}$ 、105 $\mu\text{g/mL}$ 、132 $\mu\text{g/mL}$ 、127 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

(3) 鉴别方法：照薄层色谱法（通则 0502）试验，精密吸取供试品溶液 4 μL 和对照品溶液 3 μL ，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，每批次药材单独点板。没食子酸展开剂为环己烷：乙酸乙酯：甲酸（6：5：1），显色剂为 1%三氯化铁溶液，于日光下检视，对照品与样品在同一位置显蓝黑色清晰斑点；绿原酸展开剂为乙酸乙酯-甲酸-水（14：1：1），显色剂为 10%硫酸乙醇，紫外检视波长 365 nm，对照品与样品在相同水平位置显蓝色光斑；金丝桃苷展开剂为三氯甲烷-甲醇-冰乙酸-水（12：4：3：1），显色剂为 10%硫酸乙醇，紫外检视波长 365 nm，可见黄绿色清晰光斑；槲皮素展开剂为环己烷：乙酸乙酯：甲酸（5：10：1），显色剂为 1%三氯化铝溶液，紫外检视波长 365 nm，对照品和样品显同样蓝色荧光点；迷迭香酸展开剂为环己烷-乙酸乙酯-甲酸（6：5：1），紫外检视波长 365 nm，对照品与样品在相同水平位置显蓝色光斑； β -谷甾醇展开剂为三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇（12：5：2），显色剂为 10%硫酸乙醇，紫外检视波长 365 nm，对照品与样品在相同位置显粉紫色清晰光斑；咖啡酸展开剂为环己烷-乙酸乙酯-甲酸（3：3：1），紫外检视波长 365 nm，对照品与样品在同一水平位置显蓝色光斑；山奈素展开剂为环己烷-乙酸乙酯-甲酸（6：5：1），显色剂为 1%三氯化铝，紫外检视波长 365 nm，对照品与样品在同一水平位置显荧光光斑。

2.2.3 药材质量检查

2.2.3.1 杂质

《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》规定薰衣草、菟丝草及水龙骨杂质检查，薰衣草不得过 3%、菟丝草不得过 3%、水龙骨不得过 2%、检查方法按 2020 年版《中国药典》四部通则 2301 杂质检查法试验。

2.2.3.2 水分

《中国药典》2020 版及其他规范规定余甘子水分不得过 13.0%、西青果水分不得过 12.0%、菟丝草水分不得过 8.0%、薰衣草不得过 9.0%、水龙骨无水分规定项现进行提升，检查方法按 2020 年版《中国药典》四部通则 0832 水分测定法第二法。

2.2.3.3 灰分

《中国药典》2020 版及其他规范灰分规定余甘子不得过 5.0%、薰衣草不得过 11.0%、菟丝草不得过 13.0%、西青果与龙骨无灰分限度现进行提升，检查方法按 2020 年版《中国药典》四部通则 2302 灰分测定法项下总灰分测定法测定。

2.2.3.4 酸不溶性灰分

《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》规定酸不溶性灰分薰衣草不得过 2.0%、菟丝草不得过 4.0%、其余药材无要求现进行提升，检查方法按 2020 年版《中国药典》四部通则 2302 中酸不溶性灰分测定法测定。

2.2.4 药材浸出物

《中国药典》2020 版要求浸出物余甘子不得少于 30.0%、西青果不得少于 48.5%，检查方法按 2020 年版《中国药典》四部通则 2201 中水溶性浸出物测定法项下的冷浸法测定。薰衣草、龙骨、菟丝草无浸出物检查项，实验室提升选用热浸法测定。其中菟丝草选用 30%乙醇提取。

2.2.5 药材含量测定

五味药材中仅《中国药典》2020 版中收录余甘子没食子酸含量测定，其余四位现均进行含量测定提升，西青果提升成分为诃黎勒酸，鞣花酸；薰衣草提升成分为迷迭香酸；菟丝草提升成分为金丝桃苷；龙骨提升成分为鞣花酸。

2.2.5.1 余甘子没食子酸含量测定

《中国药典》2020 版规定余甘子按干燥品计算，含没食子酸 ($C_7H_6O_5$) 不得少于 1.2%。检查方法药典规定方法测定。

2.2.5.2 西青果诃黎勒酸、鞣花酸含量测定

(1) 溶液制备：称取西青果粉末（过三号筛）约 0.1 g，置 100 mL 容量瓶中，精密加入 100%甲醇溶液定容，超声 30 min 后，取上清液过 0.22 μm 滤膜，即得。精密称取诃黎勒酸对照品适量，用纯甲醇溶解定容至 50 mL 容量瓶，即得浓度约为 398.70 $\mu\text{g/mL}$ 对照品储备液。称取鞣花酸对照品适量，用纯甲醇溶解定容至 50 mL 容量瓶，即得浓度为约为 193.41 $\mu\text{g/mL}$ 对照品储备液。

(2) 色谱条件：色谱柱 (Spursil C18, 250×4.6 mm, 5 μm)，流动相：甲醇 A-

0.1%磷酸盐；检测波长：258 nm；柱温：35℃；流速：1 mL/min；进样量：5 μ L；洗脱程序，0~10 min，5%→15%；10~26 min，15%→30%；26~36 min，30%→50%；36~45 min，50%→83%；45~50 min，83%→50%；50~60 min，50%→5%。

(3) 线性关系考察：分别精密量取诃黎勒酸、鞣花酸储备液适量，加入甲醇稀释为7个不同浓度溶液，各浓度对照品进样两针，记录峰面积，以峰面积为纵坐标 Y，对照品浓度为横坐标 X，绘制标准曲线，并进行线性回归。

(4) 精密度试验：精密吸取诃黎勒酸浓度为 99.68 μ g/mL，鞣花酸浓度为 38.68 μ g/mL 的混合对照品溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(5) 重复性试验：精密称取 6 份西青果制成供试品溶液，分别进样 5 μ L，记录峰面积，计算没食子酸含量与含量的 RSD 值。

(6) 稳定性试验：取同一份供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 内取 5 μ L 进样测定，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(7) 加样回收率试验：取已知含量的西青果溶液，平行制样共 6 份，吸取每份样品 5 mL 至 10 mL 容量瓶，精密加入诃黎勒酸储备液 1.3 mL，鞣花酸 1 mL，100% 甲醇定容，按色谱条件进样测定，记录峰面积并计算加样回收率，及回收率的 RSD 值。

(8) 含量测定：精密称取西青果药粉，按溶液配制方法制备供试品溶液，精密吸取 5 μ L 进样测定，计算诃黎勒酸含量和鞣花酸含量。

2.2.5.3 薰衣草迷迭香酸含量测定

(1) 溶液制备：取薰衣草粉末（过三号筛）约 0.5 g，置于 50 mL 容量瓶中，加入 80% 的甲醇定容，超声提取 1 h，滤过，取续滤液作为供试品溶液。精密称定迷迭香酸对照品适量于 50 mL 容量瓶中，甲醇定容，配制成 84.51 mg/mL 的迷迭香酸对照品溶液，封存。

(2) 色谱条件：色谱柱（Spursil C18，250×4.6 mm，5 μ m），选用甲醇-0.2% 甲酸水溶液 45：55 为流动相，波长 330 nm，流速 1.0 mL/min，温度 35℃，进样量 10 μ L。

(3) 线性关系考察：精密吸取对照品储备液适量，加甲醇依次稀释浓度为 21.84 μ g/mL、43.68 μ g/mL、87.36 μ g/mL、124.80 μ g/mL、166.40 μ g/mL、208.00 μ g/mL 的对照品溶液，精密吸取对照品溶液 10 μ L 进样测定。以进样分析浓度 X 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线。

(4) 精密度试验：精密吸取迷迭香酸对照品溶液浓度为 84 mg/mL，连续进样 6 次，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(5) 重复性试验：精密称取 6 份薰衣草药材制成供试品溶液，分别进样 10 μ L，

记录峰面积，计算没食子酸含量与含量的 RSD 值。

(6) 稳定性试验：取同一份供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 内进样 10 μL 进样测定，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(7) 加样回收率试验：取已知含量样品加入已知浓度对照品，制成 6 份供试品溶液，计算迷迭香酸的平均回收率，RSD 值。

(8) 含量测定：精密称取薰衣草粉末，加甲醇制备成供试品溶液，精密吸取 10 μL 进样测定，计算迷迭香酸含量。

2.2.5.4 菟丝草金丝桃苷含量测定

(1) 溶液制备：精密称取菟丝草粉末（过三号筛）约 2.0 g，置于 25 mL 容量瓶中，加入甲醇定容，称定质量，超声提取 30 min，放冷称重，用甲醇补足减失重量，取滤液做供试液。精密称取 13.24 mg 金丝桃苷对照品置 50 mL 容量量瓶中，用甲醇定容至刻度，摇匀，即得浓度为 251.37 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。

(2) 色谱条件：选用 Agilent Eclipse XDB- C18 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱，乙腈-0.1%磷酸(17:83) 为流动相，流速 1.0 mL/min，检测波长为 360 nm，柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量 10 μL 。

(3) 线性关系考察：精密称取储备液 0.4, 1.0, 1.6, 2.0, 2.4, 3.0, 4.0 mL 至 10 mL 容量瓶中，甲醇定容至刻度。精密吸取对照品溶液 10 μL 进样测定。以进样分析浓度 X 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线。

(4) 精密度试验：精密吸取金丝桃苷对照品浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 溶液 10 μL ，连续进样测定 6 次，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(5) 重复性试验：精密称取 6 份菟丝草制成供试品溶液，分别进样 10 μL ，记录峰面积，计算金丝桃苷含量与含量的 RSD 值。

(6) 稳定性试验：取同一份供试品溶液，分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 内取 10 μL 进样测定，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(7) 加样回收率试验：取已知含量的菟丝草批次，分别加入高、中、低浓度的金丝桃苷对照品，制成 9 份供试品溶液，进样测定，根据外标法测定金丝桃苷含量，然后计算加样回收率及回收率的 RSD 值。

(8) 含量测定：精密称取菟丝草粉末，制备为供试品溶液，精密吸取 10 μL 进样测定，计算金丝桃苷含量。

2.2.5.5 水龙骨科花酸含量测定

(1) 溶液制备：精密称取水龙骨科药材粉末（过三号筛）约 1.25 g，置 50 mL 容量瓶，甲醇定容，称定质量，超声处理 30 min，加甲醇补足减失重量，取滤液即得；

精密称取鞣花酸对照品适量至 25 mL 棕色容量瓶内，甲醇定容得 3.472 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液，封存备用。

(2) 色谱条件：流动相：甲醇-0.1%磷酸水溶液，梯度洗脱；流速 1.0 mL/min；柱温 30°C；检测波长 255 nm；进样量 10 μL 。洗脱程序：0~12 min，25%→40%；12~20 min，40%→37%；20~30 min，37%→25%。

(3) 线性关系考察：取鞣花酸对照品溶液，分别注入 2.0 μL 、4.0 μL 、6.0 μL 、8.0 μL 、10.0 μL 、12.0 μL 鞣花酸对照品溶液于高效液相色谱仪内分析测定。以对照品进样浓度 X 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线并计算线性范围。

(4) 精密度试验：取鞣花酸对照品浓度为 8.0 μL 溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(5) 重复性试验：精密称取 6 份水龙骨药材制成供试品溶液，分别进样，记录峰面积，计算没食子酸含量与含量的 RSD 值。

(6) 稳定性试验：取同一份供试品溶液，分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 内进样测定，记录峰面积，计算峰面积的 RSD 值。

(7) 加样回收率试验：取已知含量的水龙骨药材，制备成对照品溶液，分别加入高、中、低浓度的鞣花酸对照品，制成 9 份供试品溶液，进样测定，计算鞣花酸含量，然后计算加样回收率及回收率的 RSD 值。

(8) 含量测定：精密称取水龙骨药粉，制备成供试品溶液，精密吸取 10 μL 进样测定，计算鞣花酸含量。

2.2.6 西青果指纹图谱

2.2.6.1 样品溶液的制备

供试品溶液：称取西青果粉末约 0.1 g 过三号筛，置 20 mL 容量瓶中，精密加入甲醇溶液定容至刻度线，超声 30 min 后，取上清液过 0.22 μm 滤膜，既得。

2.2.6.2 混合对照品溶液的制备

精密吸取咖啡酸、柯里拉京、没食子酸、诃黎勒酸、鞣花酸对照品各适量，加甲醇溶解制成上述质量浓度依次为 0.294、0.452、0.200、0.366、0.078 mg/mL 的对照品储备液，分别精密量取 0.5、2、3、4、4 mL 至同一 20 mL 容量瓶种，甲醇定容至刻度线，超声混合均匀既得质量浓度依次为 7.35、45.21、30、73.2、15.6 $\mu\text{g/mL}$ 混合对照品溶液。

2.2.6.3 色谱条件

色谱柱 Agilent5TC-C18 (250×4.6 mm; 5 μm); 流动相为甲醇(A)-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱; 检测波长 330 nm; 柱温 35℃; 流速 0.9 mL/min; 进样量 5 μL; 洗脱梯度: 0~13 min, 5% A→20% A; 13~44.5 min, 20% A→40% A; 44.5~50 min, 40% A→50% A; 50~55.5 min, 50% A→5% A, 55.5~60 min, 5% A→5% A。

2.2.6.4 精密度试验

取同一供试品溶液, 按色谱条件连续进样 6 次, 以鞣花酸色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间 RSD 值, 相对峰面积 RSD 值。

2.2.6.5 稳定性试验

取同一西青果药材供试品溶液, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 进样, 以鞣花酸色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间 RSD 值, 相对峰面积 RSD 值。

2.2.6.6 重复性实验

取同一批次样品, 平行制备 6 份供试品溶液, 按色谱条件进样测定, 以鞣花酸色谱峰为参照峰, 计算得到各共有峰相对保留时间 RSD 值, 相对峰面积 RSD 值。

2.2.6.7 指纹图谱建立和相似度评价

将各批次西青果药材按供试品方法配置成溶液, 注入液相色谱仪进行测定, 将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)”软件, 以 R 号样品色谱图为参照图谱, 生成叠加图谱。

2.3 实验结果

2.3.1 药材性状鉴别

2.3.1.1 余甘子

本品为大戟科植物余甘子的干燥成熟果实。药材性状见图 2-1, 其直径 1.25~1.81 cm。表面棕褐色或墨绿色, 有颗粒状突起, 具皱纹, 质硬而脆。内果皮黄白色, 硬核样, 气微, 味酸涩, 回甜。



图 2-1 16 批次余甘子药材性状

Figure 2-1 16 batches of Fructus phyllanthus emblica

2.3.1.2 西青果

本品为使君子科植物诃子的干燥幼果。呈长卵形，略扁，长 1.64~2.89 cm，直径 0.52~1.20 cm 见图 2-2。表面呈黑褐色，具有明显的纵皱纹，下部有果梗痕。质坚硬。断面褐色，小者黑褐色，无空心。气微，味苦涩，微甘。



图 2-2 16 批次西青果药材性状

Figure 2-2 16 batches of Characters of terminallia chebula retz

2.3.1.3 薰衣草

本品为唇形科植物狭叶薰衣草的干燥地上部分。段状，茎方形，密被白色茸毛见图 2-3，折断面淡黄色或灰白色，有时可见中央有细小的空腔；纯花批次药材花呈灰紫色，蓝色。气芳香，味辛凉。



图 2-3 13 批次薰衣草药材性状

Figure 2-3 Characters of 13 batches of lavender

2.3.1.4 菟丝草

本品为旋花科植物菟丝子的干燥地上部分。茎多缠绕成团，棕黄色，柔细见图 2-4。叶退化成鳞片状，细小。常有圆形或扁球形的果实，棕黄色。气微，味苦。



图 2-4 10 批次菟丝草药材性状

Figure 2-4 Characters of 10 batches of Cuscuta australis

2.3.1.5 水龙骨

本品为水龙骨科植物欧亚多足蕨的干燥根茎。呈短段，茎细圆柱状，直径 3~4 mm，稍弯曲，有的有分枝见图 2-5。表面棕黄色至棕褐色，有纵皱纹，一侧有须根痕或少数残留的须根。质硬而脆，易折断，断面较平滑，黄色至黄绿色。气味微，味甜。



图 2-5 9 批次水龙骨药材性状

Figure 2-5 Characters of 9 batches of *Polypodium vulgare* L

2.3.2 药材薄层分析

药典中记载了余甘子与西青果的薄层色谱鉴别方法，本课题将其与对照药材进行对比，所购批次余甘子与西青果薄层色谱图均符合药典要求；实验对药材提升成分进行薄层分析，其对照品颜色及位置均与供试品药材在相同位置保持一致，符合薄层鉴别提升要求；五味药材均完成规定薄层鉴别与双成分提升鉴别，薄层鉴别图见 2-6。

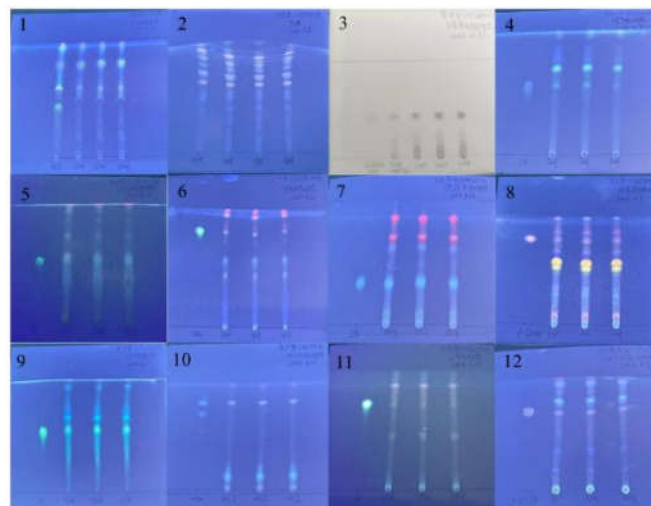


图 2-6 五味药材药典规定薄层鉴别与双成分薄层提升鉴别

Figure 2-6 Thin-layer identification and two-component thin-layer lifting identification as prescribed in the Pharmacopoeia of five medicinal materials

注：1.余甘子药典；2.西青果药典；3-4 余甘子没食子酸、绿原酸；5-6 西青果金丝桃苷、槲皮素；7-8.薰衣草迷迭香酸、 β -谷甾醇；9-10.菟丝草金丝桃苷、咖啡酸；11-12.水龙骨山奈素、 β -谷甾醇

Notes: 1. *Euonymus* pharmacopoeia; 2. Pharmacopoeia of *Xiqing* Fruit; 3-4 *phyllanthus* gallic acid, chlorogenic acid; 5-6 *Cephaloside*, quercetin; 7-8. *Lavender rosemary* acid, β -sitosterol; 9-10. *Eridin*, caffeic acid; 11-12. *Siderinol*, β -sitosterol

2.3.3 药材质量检查

五味药材共收集到 64 批次，各味药材间有不同和相同的检查项及提升项，故五味药材检查结果分表显示，见表 2-2 至表 2-6。

2.3.3.1 杂质检查

经检查，13 批薰衣草杂质在 0.2%~1.9% 范围内，现行标准规定薰衣草药材的杂质不得过 3%，均合格；10 批菟丝草杂质在 0.2%~2.4% 范围内，现行标准规定薰衣草药材的杂质不得过 3%，均合格；9 批水龙骨杂质在 0%~0.4% 范围内，现行标准规定水龙骨药材的杂质不得过 2%，均合格，见表 2-4 至表 2-6。

2.3.3.2 水分检查

经检查，16 批余甘子水分在 5.81%~7.61% 范围内，现行药典规定余甘子药材或饮片水分不得过 13.0%，均合格；16 批西青果水分在 6.74%~9.36% 范围内，现行药典规定西青果药材或饮片水分不得过 12.0%，均合格；10 批菟丝草水分在 5.45%~7.52% 范围内，现行标准规定菟丝草水分不得过 8.0%，均合格；13 批薰衣草水分在 6.30%~8.99% 范围内，现行标准规定薰衣草水分不得过 9.0%，均合格；9 批水龙骨水分在 6.84%~7.08% 范围内，现行标准无规定，见表 2-2 至表 2-6。

2.3.3.3 总灰分检查

经检查，16 批余甘子总灰分在 1.84%~4.06% 之间，现行药典规定余甘子药材或饮片总灰分不得过 5.0%，均合格；13 批薰衣草总灰分在 6.29%~11.06% 之间，现行标准规定薰衣草总灰分不得过 11.0%，一批次药材总灰分不合格，其余均合格；10 批菟丝草总灰分在 6.63%~9.61% 之间，现行标准规定菟丝草总灰分不得过 13.0%，均合格；16 批西青果总灰分在 2.32%~5.87% 之间，9 批水龙骨总灰分在 4.00%~5.34% 之间，现行标准无规定，见表 2-2 至表 2-6。

2.3.3.4 酸不溶性灰分检查

经检查，13 批薰衣草酸不溶性灰分为 0.18%~3.13%，现行标准规定薰衣草酸不溶性灰分不得过 2.0%，13 批薰衣草中 11 批符合标准，2 批不符合标准，批号分别为 M30099410、M30186005；10 批菟丝草酸不溶性灰分在 0.12%~0.54% 间，现行标准规定菟丝草酸不溶性灰分不得过 4.0%，均合格；16 批余甘子酸不溶性灰分在 0.04%~0.61% 之间，16 批西青果酸不溶性灰分在 0.05%~0.25% 之间，9 批水龙骨酸不溶性灰分在 0.05%~0.39% 之间。现行标准无规定，见表 2-2 至表 2-6。

2.3.4 药材浸出物

经检查，16批余甘子水溶性浸出物在35.63%~70.80%之间，现行药典规定余甘子浸出物不得少于30.0%，均合格；16批西青果水溶性浸出物在51.03%~73.23%之间，现行药典规定西青果浸出物不得少于48.5%，均合格；13批薰衣草水溶性浸出物在27.37%~38.16%之间，10批菟丝草醇溶性浸出物在35.73%~50.40%之间，9批水龙骨水溶性浸出物在27.38%~56.41%之间，见表2-2至表2-6。

2.3.5 药材含量测定

2.3.5.1 余甘子含量测定

16批余甘子中没食子酸含量按干燥品算在1.10%~3.46%范围内，现行药典规定余甘子含没食子酸不得少于1.2%，批次M30275013不合格，其余均合格，见表2-2。

表2-2 16批余甘子药材检查结果

Table 2-2 Results of 16 batches of Fructus mongolica phyllanthus emblica

名称	药材批号	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	浸出物/%	没食子酸含量/%
余甘子	1	6.81	3.29	0.04	56.18	1.68
	2	6.77	3.37	0.05	64.57	1.20
	3	6.57	3.57	0.06	70.80	2.12
	4	6.87	3.57	0.26	52.63	1.63
	5	6.83	3.63	0.30	52.84	1.56
	6	6.88	3.53	0.17	53.86	1.65
	7	6.39	4.06	0.61	45.18	2.38
	8	7.42	2.77	0.03	65.39	1.10
	9	7.20	2.97	0.02	65.09	1.30
	10	7.24	2.86	0.03	51.28	1.96
	11	6.83	2.63	0.30	39.73	2.15
	12	6.14	3.22	0.28	38.07	2.68
	13	7.61	3.13	0.05	41.23	2.76
	14	5.81	2.58	0.04	37.27	3.46
	15	5.85	1.84	0.06	35.63	2.22
	16	6.50	2.65	0.04	35.84	1.53

2.3.5.2 西青果含量测定

(1) 对照品溶液与供试品溶液色谱图，见图2-7。

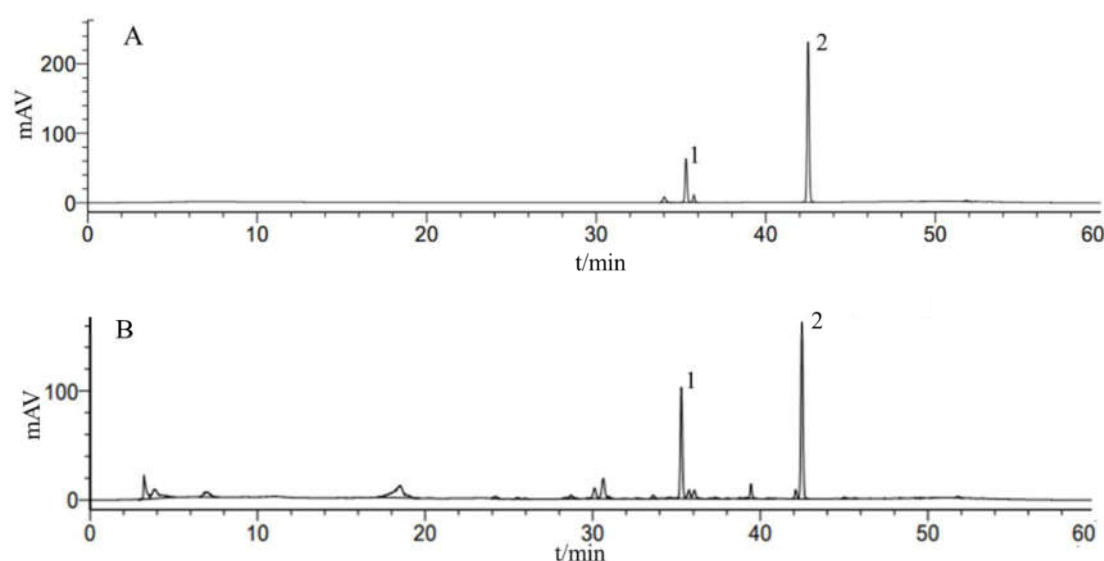


图 2-7 对照品溶液和供试品溶液的 HPLC 图

Figure 2-7 HPLC diagram of control solution and test solution

注：A.对照品；B.供试品；1.诃黎勒酸；2.鞣花酸

Note: A. reference product; B. Test product; 1. Harillic acid; 2. Ellagic acid.

(2) 线性关系考察：以对照品进样分析浓度 X ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线（图 2-8），得诃黎勒酸，鞣花酸的回归方程分别为 $y = 6769.5x - 80408$ ($R^2 = 0.9992$)， $y = 51122x + 56123$ ($R^2 = 0.9991$)。结果显示上述两种成分质量浓度分别在 19.94~199.35，7.74~96.70 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与各自峰面积成良好的线性关系。

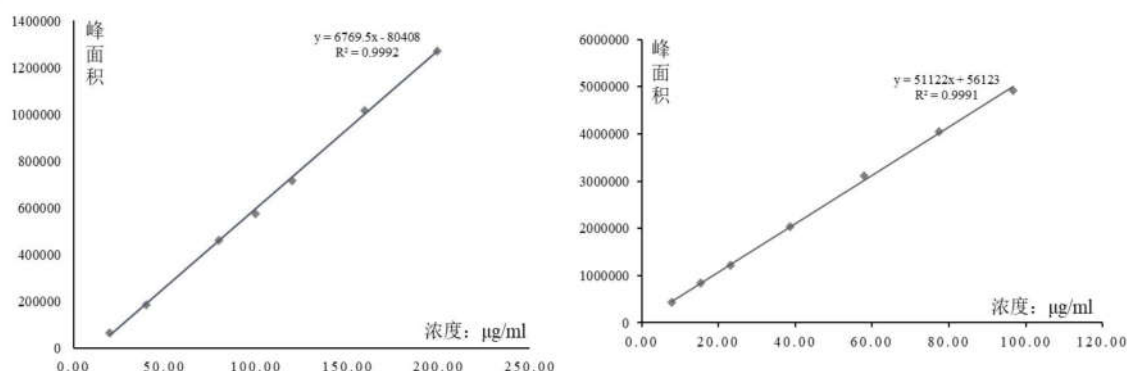


图 2-8 诃黎勒酸（左）鞣花酸（右）标曲图

Figure 2-8 Harollic acid (left) ellagic acid (right) chart

(3) 精密度试验：同一浓度的对照品溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示，诃黎勒酸，鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.29%，0.30% ($n=6$)，表明该方法精密度良好。

(4) 重复性试验：6 份供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算样品含量。结果显示，诃黎勒酸，鞣花酸含量的 RSD 分别为 1.76%、0.99% ($n=6$)，表明该方

法重复性良好。

(5) 稳定性试验：用同一份供试品溶液，进样分析，结果显示，诃黎勒酸和鞣花酸峰面积的 RSD 分别为 0.37%，0.34% (n=6)，表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

(6) 加样回收率试验：6 份供试品溶液，分别进样测定，采用外标法计算含量，结果见表 2-3，诃黎勒酸回收率为 100.84%，鞣花酸回收率为 94.55%，RSD 值分别为 0.95%，0.93%。

表 2-3 诃黎勒酸和鞣花酸的加样回收率试验结果 (n=6)

Table 2-3 Experimental results of recovery rates of Harillic acid and ellagic acid (n = 6)

待测成分	称样量 /g	已知量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	加样回收率 /%	平均加样回收率 /%	RSD/ %
诃黎勒酸	0.1020	68.85	51.83	121.77	102.09	100.84	0.95
	0.1019	68.87	51.83	120.40	99.41		
	0.1012	65.58	51.83	118.12	101.36		
	0.1011	66.41	51.83	118.85	101.17		
	0.1006	66.38	51.83	118.24	100.05		
	0.1012	67.13	51.83	119.45	100.93		
鞣花酸	0.1020	12.27	19.34	30.41	93.78	94.55	0.93
	0.1019	12.10	19.34	30.37	94.45		
	0.1012	11.46	19.34	30.04	96.07		
	0.1011	11.74	19.34	30.13	95.08		
	0.1006	11.61	19.34	29.76	93.86		
	0.1012	11.29	19.34	29.48	94.06		

(7) 含量测定：16 批次西青果供试品溶液，采用外标法计算含量，结果见下表 2-4。

表 2-4 16 批西青果药材检查结果

Table 2-4 Test results of 16 batches of terminallia chebulata

名称	药材批号	水分/%	总灰分/%	酸不溶性 灰分/%	浸出物/%	诃黎勒酸 mg/g	鞣花酸 mg/g
西青果	1	7.22	5.87	0.19	66.25	157.95	24.68
	2	7.31	2.31	0.19	64.20	173.57	27.05
	3	7.07	2.38	0.22	61.43	202.81	20.53
	4	7.25	2.77	0.14	64.85	182.19	28.02
	5	7.39	2.75	0.09	62.45	181.17	20.03
	6	7.38	2.88	0.12	66.36	175.40	19.32
	7	7.33	3.05	0.12	68.83	168.30	37.54
	8	7.88	2.88	0.50	64.88	183.19	28.70
	9	7.46	3.11	0.61	64.44	122.56	63.60
	10	8.19	2.41	0.14	70.82	129.59	34.60
	11	7.80	2.41	0.19	73.23	157.49	30.66
	12	6.74	2.52	0.05	58.95	189.42	31.55
	13	9.36	2.39	0.20	60.74	224.37	22.62
	14	8.44	2.82	0.23	63.43	189.36	34.93
	15	8.08	2.71	0.25	51.03	204.45	31.94
	16	7.74	2.87	0.13	60.89	174.33	32.12

2.3.5.3 薰衣草含量测定

(1) 对照品溶液与供试品溶液色谱图，见图 2-9。

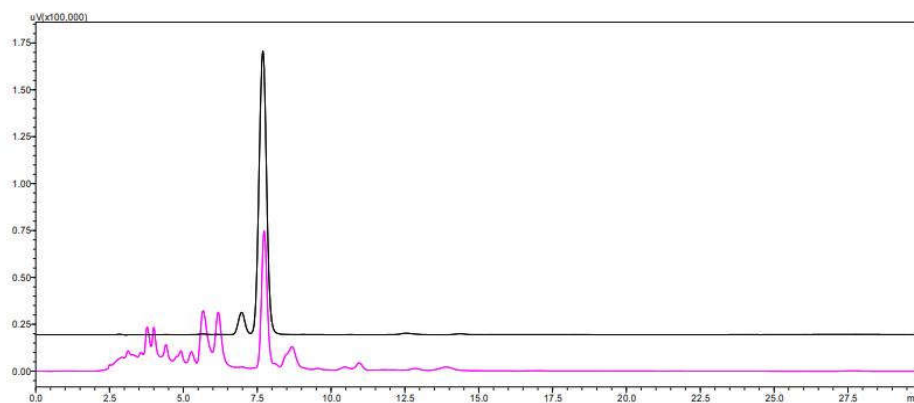


图 2-9 迷迭香酸对照品溶液（上）和供试品溶液（下）HPLC 图

Figure 2-9 HPLC images of control solution (up) and test solution (down) of rosmarinic acid

(2) 线性关系考察：以对照品进样分析浓度 X ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线（图 2-8），得迷迭香酸的回归方程分别为 $y = 3E+07X - 130755$ ($R^2 = 0.9991$)。结果显示迷迭香酸质量浓度分别在 $21.84 \sim 208.00 \mu\text{g/mL}$ 范围内与各自峰面积成良好的线性关系。

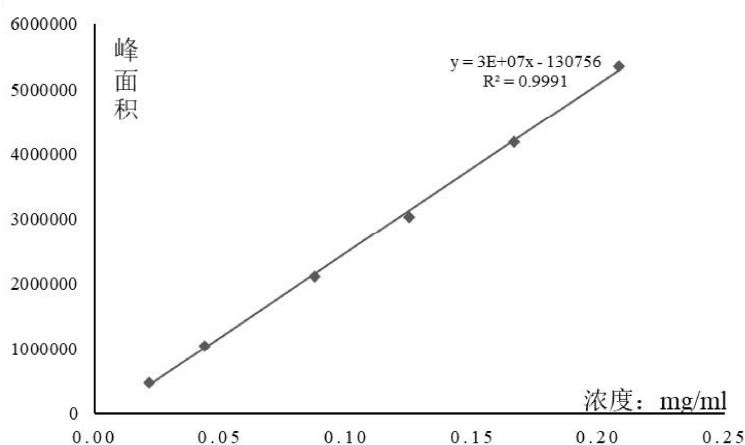


图 2-10 薰衣草迷迭香酸标曲

Figure 2-10 Lavender rosmarinic acid label

(3) 精密度试验：同一浓度的对照品溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示，迷迭香酸峰面积的 $RSD = 0.56\%$ ($n = 6$)，表明该方法精密度良好。

(4) 重复性试验：6 份供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算样品含量。结果显示，迷迭香酸含量的 $RSD = 0.87\%$ ($n = 6$)，表明该方法重复性良好。

(5) 稳定性试验：用同一份供试品溶液，进样分析，结果显示，迷迭香酸峰面积的 $RSD = 0.61$ ($n = 6$)，表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

(6) 加样回收率试验：6 份供试品溶液，分别进样测定，采用外标法计算含量，

结果见表 2-5，迷迭香酸回收率为 103.07，RSD 值为 1.43%。

表 2-5 迷迭香酸加样回收率试验结果（n=6）

Table 2-5 Experimental results of recovery rate of rosmarinic acid addition (n = 6)

编号	样品量 (μg)	对照品量 (μg)	加样后量 (μg)	回收率%	平均回收率%	RSD%
1	310.70	294.00	610.73	102.05	103.07	1.43
2	313.24		612.15	101.67		
3	313.63		614.12	102.21		
4	298.87		600.64	102.64		
5	303.23		612.22	105.10		
6	301.41		609.31	104.73		

（7）含量测定：13 批次薰衣草供试品溶液，采用外标法计算含量，结果见下表 2-6。

表 2-6 13 批薰衣草药材检查结果

Table 2-6 Test results of 13 batches of lavender

名称	药材批号	杂质/%	水分/%	总灰分/%	酸不溶性 灰分/%	浸出物/%	迷迭香酸含量/%
薰衣草	1	0.60	7.47	7.31	0.18	28.60	0.25
	2	0.20	6.62	11.06	3.13	27.37	0.22
	3	1.90	7.12	8.60	0.71	28.83	0.60
	4	1.80	7.03	10.32	2.56	29.76	0.56
	5	0.40	7.34	9.19	1.61	31.34	0.60
	6	1.40	7.33	9.40	1.17	27.78	0.10
	7	0.70	8.65	7.98	0.68	38.16	0.39
	8	1.10	7.66	8.59	1.17	36.30	0.64
	9	0.30	7.04	7.50	0.21	34.98	0.41
	10	0.60	6.90	7.67	0.58	32.52	0.54
	11	0.90	6.30	6.75	0.88	30.03	0.27
	12	1.00	8.99	6.29	0.71	31.50	0.24
	13	0.60	8.60	9.09	0.46	34.00	0.43

2.3.5.4 菟丝草含量测定

（1）对照品溶液与供试品溶液色谱图，见图 2-11。

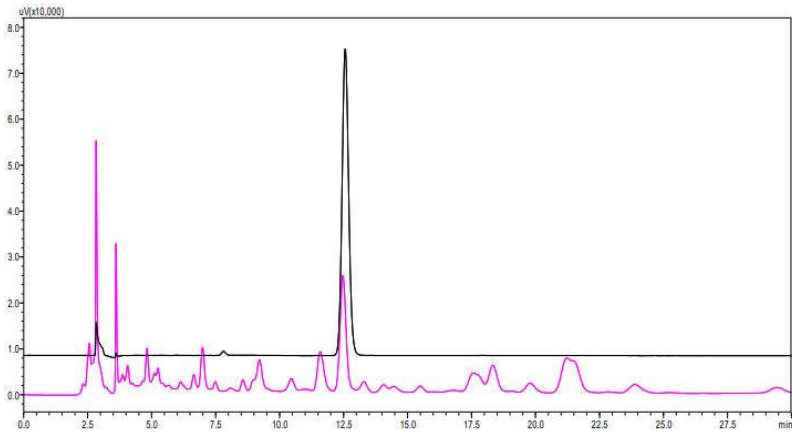


图 2-11 金丝桃苷对照品溶液（上）和供试品溶液（下）HPLC 图

Figure 2-11 HPLC images of hypericin control solution (up) and test solution (down)

(2) 线性关系考察：以对照品进样分析浓度 X ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线，见图 2-12，得金丝桃苷的回归方程分别为 $y = 22977x - 12234$ ($R^2 = 0.9998$)。结果显示迷迭香酸质量浓度分别在 $10.05 \sim 100 \mu\text{g/mL}$ 范围内与各自峰面积成良好的线性关系。

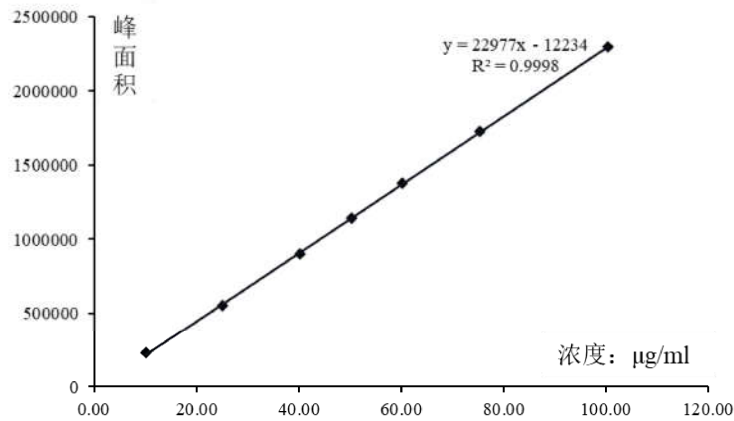


图 2-12 菟丝草金丝桃苷线性标曲

Figure 2-12 Linear curve of hypericin dodder

(3) 精密度试验：同一浓度的对照品溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示，金丝桃苷峰面积的 $RSD = 0.20\%$ ($n = 6$)，表明该方法精密度良好。

(4) 重复性试验：6 份供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算样品含量。结果显示，金丝桃苷含量的 $RSD = 1.26\%$ ($n = 6$)，表明该方法重复性良好。

(5) 稳定性试验：用同一份供试品溶液，进样分析，结果显示，金丝桃苷峰面积的 $RSD = 1.50$ ($n = 6$)，表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

(6) 加样回收率试验：9 份供试品溶液，分别进样测定，采用外标法计算含量，结果见表 2-7，金丝桃苷回收率 100.46% ， RSD 值为 0.99% 。

表 2-7 金丝桃苷加样回收率试验结果 ($n = 6$)

Table 2-7 Results of hypericin recovery test ($n = 6$)

编号	加标量 μg	加样量 μg	测得量 μg	回收率/%	平均回收 率/%	$RSD\%$
1	125.65	174.74	301.88	100.86	100.46	0.99
2	125.65	174.74	299.15	99.29		
3	125.65	174.74	298.67	99.02		
4	251.30	174.74	428.16	101.21		
5	251.30	174.74	428.31	101.30		
6	251.30	174.74	427.59	100.89		
7	376.94	174.74	550.84	99.52		
8	376.94	174.74	552.02	100.20		
9	376.94	174.74	554.91	101.85		

(7) 含量测定：10 批次菟丝草供试品溶液，采用外标法计算含量，结果见下表 2-8。

表 2-8 10 批菟丝草药材检查结果

Table 2-8 Examination results of 10 batches of *Cuscuta australis*

名称	药材批号	杂质/%	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	浸出物/%	金丝桃苷含量(μg/g)
菟丝草	1	0.20	7.49	6.63	0.12	42.28	117.63
	2	0.60	7.52	6.63	0.12	35.73	221.81
	3	0.60	6.89	7.33	0.13	38.41	84.21
	4	2.40	6.90	9.31	0.42	47.52	256.01
	5	2.40	6.83	9.47	0.45	49.85	288.62
	6	0.20	6.90	9.04	0.38	46.82	490.46
	7	0.40	7.00	9.61	0.12	50.40	226.21
	8	0.30	7.32	9.05	0.25	44.69	245.99
	9	0.80	7.42	9.00	0.12	43.44	175.10
	10	1.10	5.45	8.05	0.54	36.95	166.32

2.3.5.5 水龙骨含量测定

(1) 对照品溶液与供试品溶液色谱图，见图 2-13。

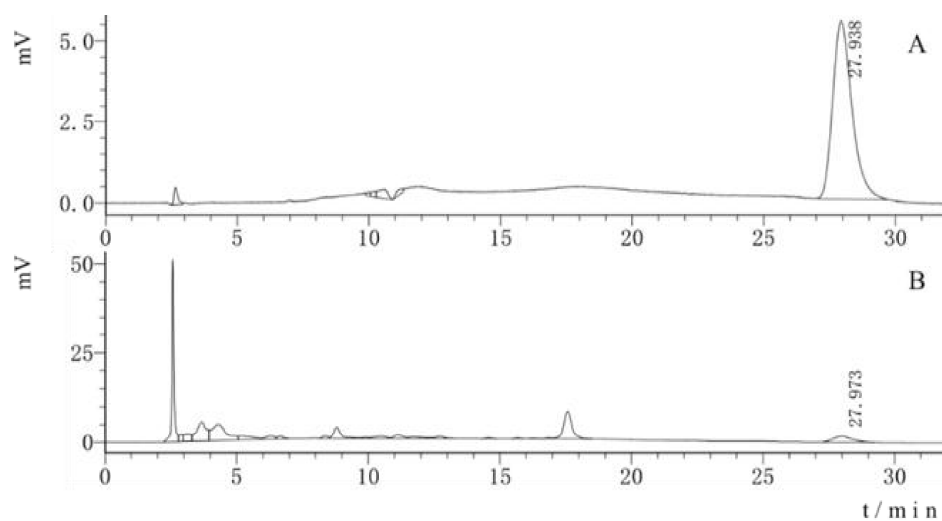


图 2-13 对照品溶液 (A) 和供试品溶液 (B) 的 HPLC 图

Figure 2-13 HPLC diagram of control solution (A) and test solution (B)

(2) 线性关系考察：以对照品进样分析浓度 X ($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标，峰面积 Y 为纵坐标，绘制标准曲线，见图 2-14，得金丝桃苷的回归方程分别为 $y = 8403.4x - 6446.8$ ($R^2 = 0.9997$)。结果显示迷迭香酸质量浓度分别在 $6.94 \sim 69.44 \mu\text{g/mL}$ 范围内与各自峰面积成良好的线性关系。

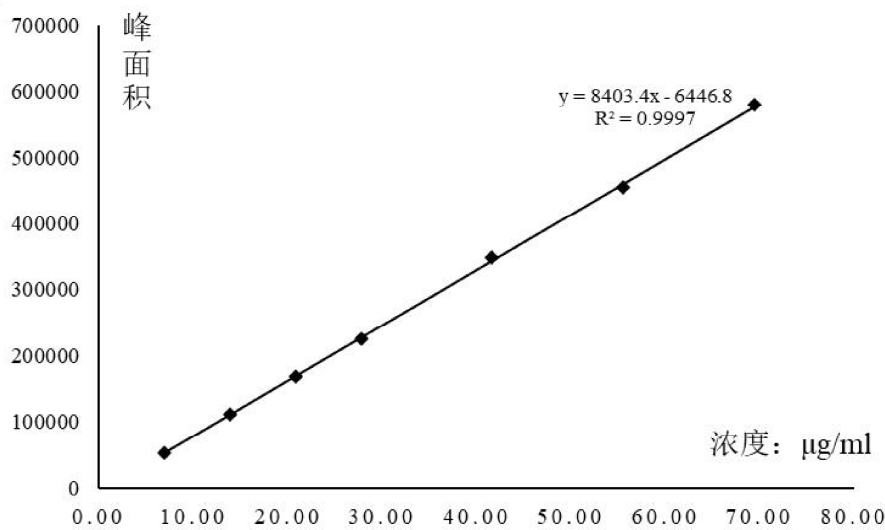


图 2-14 水龙骨鞣花酸线性标曲

Figure 2-14 Polypodium vulgare L of aqua keel ellagic acid

(3) 精密度试验：同一浓度的对照品溶液，连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果显示，鞣花酸峰面积的 RSD=1.40% (n=6)，表明该方法精密度良好。

(4) 重复性试验：6 份供试品溶液，进样分析，记录峰面积并计算样品含量。结果显示，鞣花酸含量的 RSD=1.87% (n=6)，表明该方法重复性良好。

(5) 稳定性试验：用同一份供试品溶液，进样分析，结果显示，鞣花酸峰面积的 RSD=1.50 (n=6)，表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内稳定性良好。

(6) 加样回收率试验：6 份供试品溶液，分别进样测定，采用外标法计算含量，结果见表 2-9，鞣花酸回收率为 101.52%，RSD 值为 3.83%。

表 2-9 鞣花酸加样回收率试验结果 (n=6)

Table 2-9 Experimental results of ellagic acid recovery (n = 6)

编号	加标量/μg	样品含量/μg	实测总量/μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.3854	0.7851	1.1748	101.13	101.52	3.83
2	0.3854	0.9070	1.2850	98.08		
3	0.7708	0.8568	1.6243	99.57		
4	0.7708	0.8793	1.6803	103.91		
5	1.1562	0.9649	2.2152	108.14		
6	1.1562	0.8845	2.0211	98.30		

(7) 含量测定：9 批次水龙骨供试品溶液，采用外标法计算含量，结果见下表 2-10。

表 2-10 9 批水龙骨药材检查结果

Table 2-10 Test results of 9 batches of Polypodium vulgare L

名称	药材批号	杂质/%	水分/%	总灰分/%	酸不溶性灰分/%	浸出物/%	鞣花酸含量/($\mu\text{g/g}$)
水龙骨	1	0.00	6.86	5.34	0.39	27.38	13.58
	2	0.40	6.86	5.14	0.25	27.98	47.76
	3	0.20	7.06	4.79	0.13	27.77	66.71
	4	0.00	7.00	4.62	0.14	40.93	315.60
	5	0.00	6.93	4.36	0.12	41.28	5.00
	6	0.40	6.84	4.74	0.10	42.54	3.14
	7	0.30	6.94	4.42	0.05	54.99	1.76
	8	0.40	6.96	4.55	0.07	56.41	43.21
	9	0.10	7.08	4.00	0.09	41.34	16.88

2.3.6 西青果指纹图谱

2.3.6.1 精密度试验

同一供试品溶液，连续进样 6 次，以鞣花酸色谱峰为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间 $\text{RSD}=0.02\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD}=1.4\%$ ，表明仪器精密度良好。

2.3.6.2 稳定性试验

同一批次供试品溶液，分别于 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样，以鞣花酸色谱峰为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间 $\text{RSD}=0.19\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD}=1.01\%$ ，表明仪器稳定性良好。

2.3.6.3 重复性实验

取同一批次样品，平行制备 6 份供试品溶液进样测定，以鞣花酸色谱峰为参照峰，计算得到各共有峰相对保留时间 $\text{RSD}=0.02\%$ ，相对峰面积 $\text{RSD}=1.49\%$ ，表明仪器重复性良好。

2.3.6.4 指纹图谱建立和相似度评价

将各批次西青果药材进行测定后，将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012 版）”软件，以 X1 号样品色谱图作为参照图谱，生成叠加图谱及对照图谱，共确定 11 个共有峰，通过与对照品比对，指认了 5 个成分，见图 2-15。15 批西青果药材与对照图谱的相似度分别为 0.985、0.994、0.972、0.99、0.995、0.978、0.934、

0.99、0.993、0.982、0.977、0.993、0.989、0.988、0.99 均在 0.970 以上，表明 15 批西青果药材质量较稳定，建立的指纹图谱具有一定的代表性。

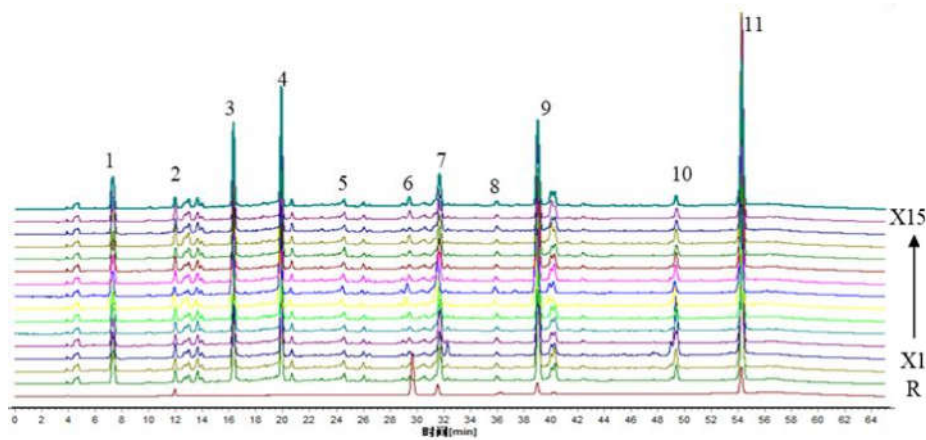


图 2-15 15 批西青果药材 HPLC 叠加图谱

Figure 2-15 HPLC superimposition of 15 batches of terminallia chebula

注：2.没食子酸；6.咖啡酸；7.柯里拉京；9.诃黎勒酸；11.鞣花酸

Note: 2. Gallic acid; Caffeic acid; 6. 7. Corragine; Harillic acid; 9. 11. Ellagic acid

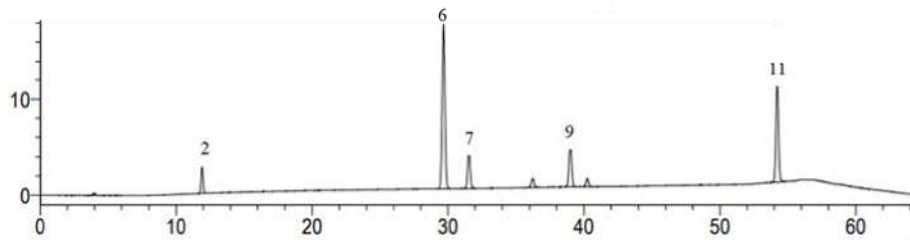


图 2-16 混合对照品 R 的 HPLC 色谱图

Figure 2-16 HPLC chromatogram of mixed reference R

注：2.没食子酸；6.咖啡酸；7.柯里拉京；9.诃黎勒酸；11.鞣花酸

Note: 2. Gallic acid; Caffeic acid; 6. 7. Corragine; Harillic acid; 9. 11. Ellagic acid

2.4 讨论与结果

2.4.1 药材性状

同一味药材不同产地，在外观性状，如外形、颜色、质地等方面会存在明显差异；还有的在药用部位上有区别，如余甘子为成熟果实，实验室购买 16 批次余甘子分为两种，一类包含果皮、果肉共 12 批次，一类包含果皮、果肉和果核共 4 批次；薰衣草药材也分两类，一类地上全草包含花、茎和叶部分共 10 批次，一类为全花共 3 批

次。通过药材质量检查，可见全花类薰衣草中迷迭香酸含量远低于地上全草类药材，其质量检查均符合要求，但与古籍记载薰衣草药用部位不同，后续实验室会继续购买合格薰衣草进行补充检查。

2.4.2 药材薄层分析

五味药材中仅余甘子和西青果有药典标准，实验室根据每味药材主要特征性成分，进行大量筛选试验，最终选择每位药材提升两种特征成分。在薄层成分选择过程中，如水龙骨药材，实验室还进行如绿原酸，咖啡酸，没食子酸等成分的鉴别，但因批次间含量差异较大，这些成分无法在所有批次中显现，可为同类药材提供参考与帮助；通过药材薄层鉴别分析可以清晰分辨批次间的差异，根据斑点的位置和颜色也可以体现批次的稳定和差异。

2.4.3 药材 HPLC 检测方法建立

根据现有标准和炮制规范，本组方药材并没有包含全部检查项，即使检查项目最多的余甘子，也未包含杂质、酸不溶性灰分、指纹图谱等检查，因此，实验室对现有药材统一进行质量提升研究，严格控制质量，为后续标准建立提供参考；如西青果药材中选择建立双成分含测方法及指纹图谱，除诃黎勒酸与鞣花酸成分在成方中占比较大，且西青果在买朱尼努加处方组成中也为主药，实验在前期对西青果成分摸索时，发现除没食子酸，咖啡酸，柯里拉京，诃黎勒酸，鞣花酸外，部分批次还含有绿原酸及金丝桃苷，但含量都偏低，且批次难达到一致。

2.4.4 实验结果

按 2020 年版《中国药典》、2020 年版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》及《卫生部药品标准》维吾尔药分册对方中五味药材共计 64 批药材或饮片进行检查，结果有 61 批均符合标准，可用于买朱尼努加制剂工艺研究同时对缺少含量检查的四味药材新建 HPLC 检测方法，并对西青果建立指纹图谱检测，均进行方法学验证，用于制剂的质量一致性评价。

第3章 炮制工艺优化及质量标准研究

中药炮制方法由古代捣碎、切制、洗净、泡水软化、煅烧发展为近代洗净、切制、晒干、炒制、煅烧、榨油、泡牛奶、炙、搓磨等方法，再到现代净选、切制、燥法、炒法、洗法、炙法、炼法、取油法、乳浸法、蒸馏法、取汁法及研磨等常用炮制方法来达到治疗用药，满足处方、生产、加工、调剂、运输等需要^[49-52]。

买朱尼努加中余甘子与西青果均属于加辅料炮制，炮制以辅助不同作用的辅料，可减少或消除药物的毒性或副作用，改变或缓和药性，提高药物疗效，同时达到矫臭矫味等作用。余甘子炮制辅料牛奶，具有减毒、润燥作用，其主要成分是乳酸，常用来炮制有毒药物^[53]。西青果炮制用巴旦仁油是从植物巴旦仁压榨所得，富含不饱和脂肪酸和蛋白质，具有润肠通便，常烫炒使用^[54,55]。

3.1 实验材料

3.1.1 仪器设备

FA1004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）、XSR105 电子分析天平（梅特勒托利多上海有限公司）、XMTD-7000 电热恒温水浴锅（北京市永光明医疗仪器有限公司）、KQ2500DE 型数据超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、BIORAD 680 型酶标仪（美国伯乐）、LC-20AD 高效液相色谱仪（日本岛津）、AZ-B301 家用榨油机（青岛澳柯玛生活电器有限公司）。

3.1.2 药材与试剂

没食子酸（批号 110831-201906，中国食品药品检定研究院）、磷钼钨酸试液：（批号 202109131，成都博瑞特化学技术有限公司）、无水碳酸钠（批号 20180106，天津市红岩化学试剂厂），牛奶（批号 20220613、20220627、20220628、20220629、20220704、20220705、20220706、20220707、20220717、20220718，新疆天润生物科技股份有限公司）。

3.2 实验方法

3.2.1 余甘子炮制工艺质量标准

余甘子中含有大量酚酸类物质^[56]，在《中国药典》中余甘子项下含量测定项为没食子酸，且“按干燥品计算没食子酸含量不得低于1.2%”。没食子酸对神经系统类疾病具有保护多巴胺神经元和抗氧化的作用^[57]，对线粒体氧化应激具有保护作用^[58]，随着研究的深入有部分研究显示没食子酸在一定浓度范围内具细胞毒性^[59-61]。而《药物之园》记载余甘子经牛奶浸渍后会改变余甘子干寒性，达到减轻或消除毒性。

3.2.1.1 余甘子炮制工艺

维药古籍《药物之园》载“余甘子采用牛奶浸泡过夜，洗净，晾干，余甘子由二级寒、三级初干炮制后药性变为一级寒、二级干”，实验室进行前期进行单因素试验，设计浸泡温度及浸泡时间等因素对炮制后余甘子中没食子酸含量的影响。初步炮制工艺为称取余甘子药材于烧杯内，加入牛奶，余甘子与牛奶比例（1：20）用保鲜膜封口，将烧杯至已恒温45℃水浴锅内浸泡12 h（水浴锅内水的高度高于烧杯内液面），到时间后取出，及时淋洗，洗净多余奶渍后放报纸上自然风干。

3.2.1.2 余甘子炮制工艺优化

在原有实验基础上考察料液比对余甘子炮制工艺的影响，设置料液比1：5、1：10、1：15、1：20，在炮制结束后，优化晾晒工艺，进行水分控制，将炮制后余甘子低温50℃分别干燥6、12、18、24 h，控余甘子水分<6%时即为合适。

3.2.1.3 性状鉴别

参照2020年版《中国药典》四部通则对药材的形态、颜色、气味、大小、质地、断面等特征进行描述，以区分药材真伪优劣。

3.2.1.4 薄层鉴别

按2020年版《中国药典》四部通则0502中薄层色谱法试验，供试品与对照药材在色谱相应的位置上应显相同颜色的荧光斑点。

3.2.1.5 检查

(1) 水分

按 2020 年版《中国药典》四部通则 0832 中水分测定法第二法，测定余甘子炮制品水分。

(2) 灰分

按 2020 年版《中国药典》四部通则灰分测定法 2302 中总灰分测定法和酸不溶性灰分测定法测定，测定余甘子炮制品灰分。

3.2.1.6 浸出物

按 2020 年版《中国药典》四部通则 2201 中水溶性浸出物测定法项下的冷浸法测定，余甘子炮制品浸出物含量。

3.2.1.7 含量测定

按 2020 年版《中国药典》四部通则中高效液相色谱法（通则 0512）测定，供试品溶液制备：分别精密称取余甘子炮制品药粉（过三号筛）约 0.1 g 于锥形瓶内，加入 20 mL 50% 甲醇，超声 30 min，过滤，得余甘子供试品溶液。精密称取没食子酸对照品适量，加 50% 甲醇制成浓度 25 $\mu\text{g/mL}$ 的没食子酸对照品溶液。

色谱条件：色谱柱（Spursil C18，250 $\times$ 4.6 mm，5 μm ），以甲醇（A）-0.1% 磷酸为流动相梯度洗脱，检测波长 254 nm，流速 1.0 mL/min，柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ，进样量 10 mL。洗脱程序，0~5 min，5% $\rightarrow$ 10%；5~20 min，10% $\rightarrow$ 30%；20~25 min，30% $\rightarrow$ 60%；25~34 min，60% $\rightarrow$ 30%；34~36 min，30% $\rightarrow$ 5%。

3.2.2 西青果炮制工艺质量标准

3.2.2.1 西青果炮制工艺

维药西青果古代炮制方法：采用巴旦木油微火炒黄，晾干。西青果为维药常用药材，维医常用巴旦仁油对其毒性进行矫正。实验室前期以鞣质含量为考察指标优选西青果用巴旦仁油炒的炮制工艺，设计察药材加入顺序、炒制温度、炒制时间及辅料与药材质量比等，最终确定西青果炮制工艺为取西青果药材 0.6 倍的巴旦仁油于锅内，加热至 100~120 $^{\circ}\text{C}$ ，加入西青果，翻炒 30 min，取出，除去多于辅料，晾干即可。

3.2.2.2 性状鉴别

参照 2020 年版《中国药典》对药材的形态、颜色、气味、大小、质地、断面等特征进行描述，以区分药材真伪优劣。

3.2.2.3 薄层鉴别

按 2020 年版《中国药典》四部通则 0502 中薄层色谱法试验，供试品与对照药材应相应的位置上显相同颜色的荧光斑点。

3.2.2.4 检查

(1) 水分

按 2020 年版《中国药典》四部通则 0832 中水分测定法第二法，测定西青果炮制品水分。

(2) 灰分

按 2020 年版《中国药典》四部通则 2302 灰分测定法中总灰分测定法和酸不溶性灰分测定法测定，测定西青果炮制品灰分。

3.2.2.5 浸出物

按 2020 年版《中国药典》四部通则 2201 中水溶性浸出物测定项下的冷浸法，测定西青果炮制品浸出物值。

3.2.2.6 鞣质测定

参照中国药典 2020 通则 2202 鞣质含量测定法，建立鞣质紫外标曲。同时测定 10 批次西青果炮制品中鞣质含量。

3.2.3 牛奶质量标准研究

3.2.3.1 性状鉴别

参照《GB19645-2010》对牛奶色泽、滋味、气味、组织状态等特征进行描述，以辨别牛奶是否符合感官要求。

3.2.3.2 理化鉴别

(1) 脂肪

检验方法参照 GB5413.3，牛奶中脂肪量应 ≥ 3.1 。

(2) 蛋白质

检验方法参照 GB5009.5，牛奶中蛋白质量量应 ≥ 2.9 。

(3) 非脂乳固体

检验方法参照 GB5413.39，牛奶中非脂乳固体应 ≥ 8.1 。

(4) 酸度

检验方法参照 GB5413.34，牛奶中酸度应在 12~18。

3.3 实验结果

3.3.1 余甘子炮制品质量标准建立

3.3.1.1 余甘子奶制工艺优化

同批次余甘子采取不同比例料液比炮制后，其没食子酸含量变化如下图 3-1，没食子酸含量随着料液比增加先降低后升高，比例 1：15 时没食子酸含量最低；余甘子晾干时间考察结果，洗净后低温干燥 24 h，水分 < 6%。

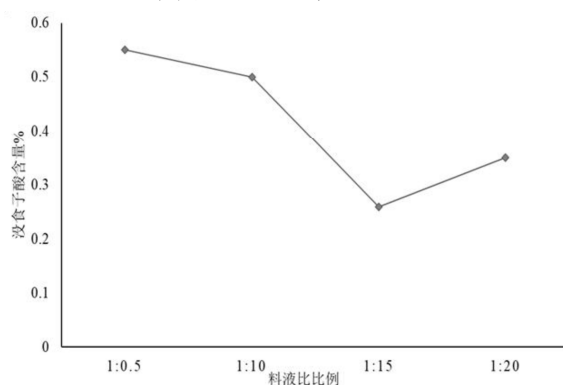


图 3-1 没食子酸含量随料液比变化趋势图

Figure 3-1 Trend of gallic acid content with the ratio of solid to liquid

3.3.1.2 性状鉴别

本品为大戟科植物余甘子的干燥成熟果实经牛奶炮制所得。本品呈扁球形见图 3-2，表面灰棕色或灰白色，质松而脆。内果皮黄白色，硬核样，气微，味酸涩，回甜。



图 3-2 10 批次余甘子炮制品性状

Figure 3-2 Characters of 10 batches of phyllanthus emblica

3.3.1.3 薄层鉴别

按药典中记载的余甘子薄层色谱鉴别方法，分别以对照药材为对照，10批次余甘子薄层色谱图见图 3-3，对照药材与供试品在相同位置显颜色相同的荧光斑点。

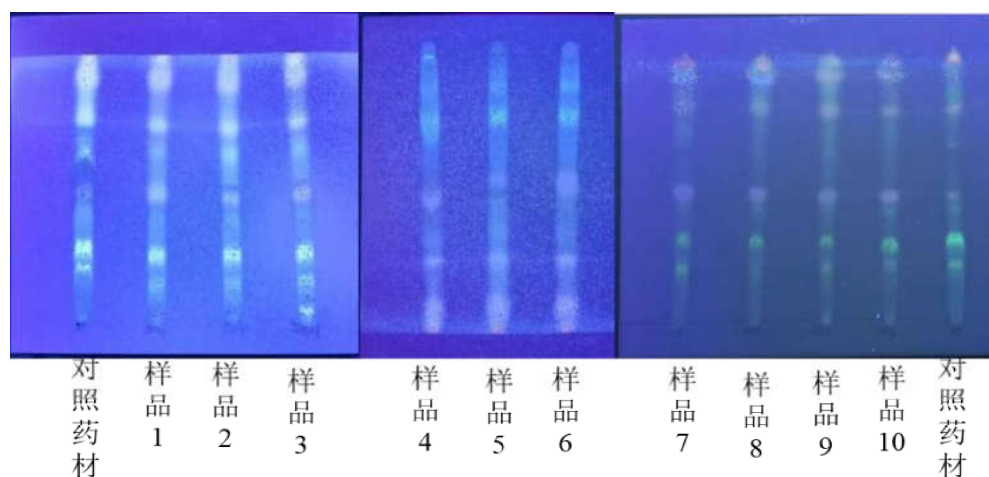


图 3-3 10 批次余甘子薄层色谱鉴别图（紫外 365 nm）

Figure 3-3 TLC identification of 10 batches of *Phyllanthus emblica* (UV 365 nm)

3.3.1.4 检查

余甘子炮制品 10 批次检查项，合并为一个表显示，见表 3-1。

（1）水分检查

经检查，10 批余甘子炮制品水分在 3.76~5.70% 范围内，见表 3-1。

（2）总灰分检查

经检查，10 批余甘子炮制品总灰分在 1.23%~3.10% 之间，见表 3-1。

（3）酸不溶性灰分检查

经检查，10 批余甘子炮制品总灰分在 0.01%~0.06% 之间，见表 3-1。

3.3.1.5 浸出物

经检查，10 批余甘子炮制品水溶性浸出物在 13.85%~36.03% 之间，见表 3-1。

3.3.1.6 含量测定

经检查，10 批余甘子炮制品没食子酸含量在 0.27%~0.94% 之间，见表 3-1。

表 3-1 10 批余甘子炮制品药材检查结果

Table 3-1 Test results of 10 batches of *Phyllanthus emblica* products

药材批号	水分 (%)	浸出物 (%)	总灰分 (%)	酸不溶性灰分 (%)	没食子酸含量 (%)
1	5.11	36.03	3.10	0.05	0.94
2	3.76	32.15	2.79	0.03	0.55
3	5.26	13.85	2.77	0.02	0.27
4	5.15	14.54	1.23	0.01	0.45
5	4.64	18.07	1.45	0.03	0.40
6	4.48	22.43	1.78	0.04	0.43
7	4.67	24.87	2.11	0.03	0.68
8	4.12	19.98	1.76	0.05	0.46
9	4.18	22.25	1.42	0.06	0.72
10	5.70	19.97	1.37	0.05	0.60
平均值	4.71	22.41	2.17	0.05	0.55

3.3.2 西青果炮制品质量标准建立

3.3.2.1 性状鉴别

本品为使君子科植物诃子的干燥幼果经巴旦仁油炒制产物。呈长卵形，膨胀，质地脆，见图 3-4。表面黑褐色或黄褐色，纵皱纹不明显，下部有果梗痕。断面褐色，有胶质光泽，果核不明显，常有空心。气微，味苦涩，微甘。



图 3-4 10 批次西青果炮制品性状

Figure 3-4 Characteristics of 10 batches of *terminalia chebula* retz

3.3.2.2 薄层鉴别

按药典中记载的西青果薄层色谱鉴别方法，分别以对照药材为对照，10 批次西青果薄层色谱图见图 3-4，对照药材与供试品在相同位置显颜色相同的荧光斑点。

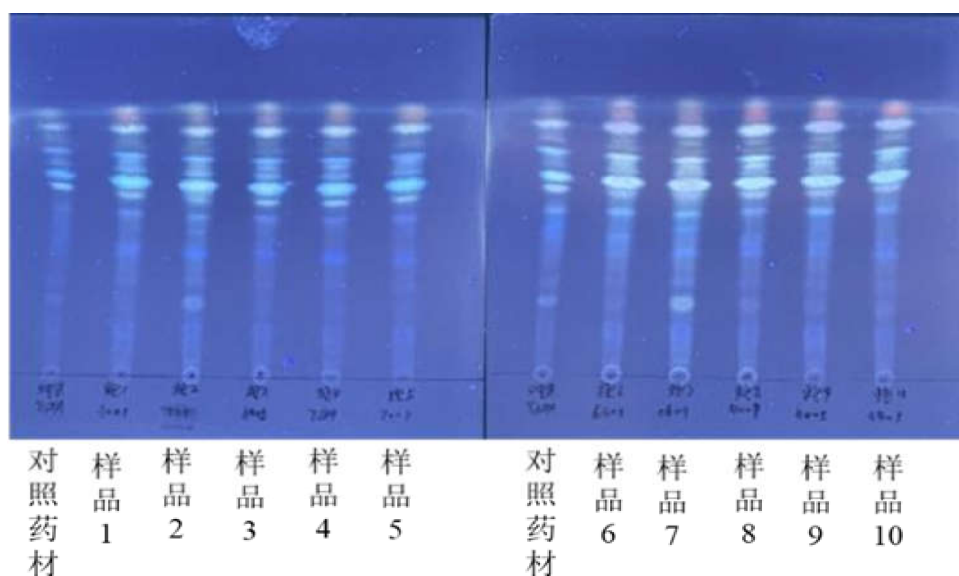


图 3-5 10 批次西青果薄层色谱鉴别图（紫外 365 nm）

Figure 3-5 TLC identification of 10 batches of terminallia chebula retz (UV 365 nm)

3.3.2.3 检查

西青果炮制品 10 批次检查项，合并为一个表显示，见表 3-2。

（1）水分检查

经检查，10 批西青果炮制品水分在 5.70%~7.01%范围内，见表 3-2。

（2）总灰分检查

经检查，10 批西青果炮制品总灰分在 2.25%~2.79%范围内，见表 3-2。

（3）酸不溶性灰分检查

经检查，10 批西青果炮制品酸不溶性灰分在 0.03%~0.14%范围内，见表 3-2。

3.3.2.4 浸出物

经检查，10 批西青果炮制品浸出物在 63.54%~69.94%范围内，见表 3-2。

3.3.2.5 鞣质测定

鞣质的标准曲线为： $y=0.0943830x-0.0390093$ ； $R^2=0.99953$ ，鞣质图见 3-6，鞣质含量见表 3-2。

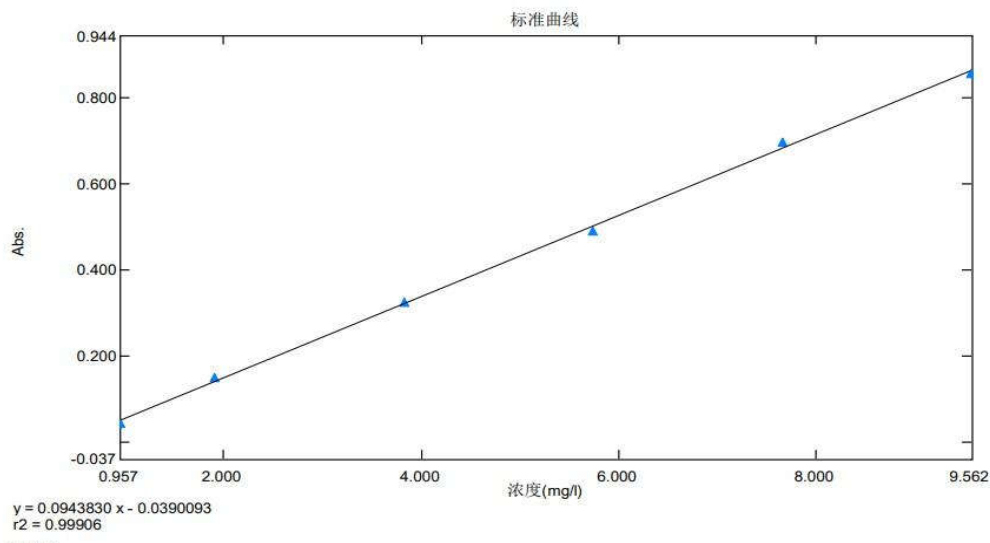


图 3-6 西青果炮制品鞣质标准曲线

Figure 3-6 Standard tannin curve of terminallia chebula retz

表 3-2 10 批西青果炮制品药材检查结果

Table 3-2 Test results of 10 batches of Fructus sibilis products

药材批号	水分 (%)	浸出物 (%)	总灰分 (%)	酸不溶性灰分 (%)	鞣质含量 (mg/g)
1	6.35	65.23	2.68	0.03	363.05
2	6.49	64.92	2.62	0.05	305.70
3	6.13	63.54	2.59	0.04	282.46
4	6.06	66.03	2.50	0.04	359.42
5	6.56	65.51	2.42	0.05	290.25
6	6.65	68.94	2.60	0.04	309.10
7	6.39	67.99	2.57	0.07	362.93
8	6.66	66.62	2.79	0.14	354.89
9	7.01	67.72	2.25	0.04	303.40
10	5.70	67.31	2.71	0.07	364.32
平均值	6.40	66.38	2.57	0.06	329.55

3.3.3 牛奶质量标准研究

3.3.3.1 性状鉴别

10批牛奶呈乳白色或微黄色，具有乳固有的香味，无异味。加温后又澄清。呈均匀一致液体，无凝块、无沉淀、无正常视力可见异物。

3.3.3.2 理化鉴别

(1) 脂肪

经检查，10 批牛奶脂肪在 3.87~4.13 范围内，现行标准规定牛奶中脂肪量应≥3.1，均合格，结果见表 3-3。

(2) 蛋白质

经检查, 10批牛奶蛋白质含量在 3.124~3.895 范围内, 现行标准规定牛奶中蛋白质含量应 ≥ 2.9 , 均合格, 结果见表 3-3。

(3) 非脂乳固体

经检查, 10批牛奶非脂乳固体含量在 9.28~10.34 范围内, 现行标准规定牛奶中非脂乳固体应 ≥ 8.1 , 均合格, 结果见表 3-3。

(4) 酸度

经检查, 10批牛奶酸度值在 12.98~14.98 范围内, 现行标准规定牛奶中酸度应在 12~18, 均合格, 结果见表 3-3。

表 3-3 10 批次牛奶理化鉴别

Table 3-3 physicochemical identification of 10 batches of milk

序号	牛奶批号	脂肪含量 (g/100 g)	非脂乳固体(g/100 g)	酸度	蛋白质含量 (g/100 g)
1	20220613	4.05	9.55	13.39	3.136
2	20220627	4.13	9.59	12.98	3.319
3	20220628	3.87	10.19	14.98	3.190
4	20220629	4.06	9.82	12.98	3.428
5	20220704	3.96	10.34	15.97	3.895
6	20220705	3.87	10.08	13.98	3.394
7	20220706	4.04	9.80	13.98	3.129
8	20220707	4.11	9.93	14.95	3.263
9	20220717	4.17	9.28	14.93	3.124
10	20220718	4.06	9.48	13.97	3.587

3.4 讨论与结果

余甘子奶制工艺的完善进一步缩短了炮制时间, 同时牛奶用量的降低也起到经济成本控制作用; 余甘子炮制品各批次差异较大, 浸出物范围在 13.85%~36.03%, 没食子酸含量范围在 0.27%~0.94%, 考虑炮制后放置时间不同, 较早炮制批次没食子酸含量远大于新炮制批次, 为建立炮制品质量标准, 后续考虑增加储存时间考察。

对余甘子、西青果进行十批次质量标准研究, 为后续质量标准建立提供实验支撑; 对炮制用辅料牛奶进行十批次质量标准研究, 结果表明均符合氏杀菌乳要求

第4章 买朱尼努加中间体制备工艺

中间体粉末制备时根据选择的不同粉碎工艺，其粉体的物理性质、粒径、营养成分的溶出率也会发生改变^[62,63]。不同药材的粉碎特性差异较大，如油脂含量、硬度和水分、入药部位、成分含量均会对其造成影响，使用粉碎硬度等指标以表征不同原料的粉碎特性，研究原料粉碎特性的差异性，可有针对性的调整粉碎工艺参数^[64,65]。

买朱尼努加是由西青果、余甘子、薰衣草、菟丝草、水龙骨等五味药材组成的维吾尔药蜜膏剂，其药用部位包括果实、根茎、全草三类，蜜膏剂以原药材细粉入药，因此药粉细度及对后续制剂质量及疗效影响较大，根据其性质的复杂多样，故对各药味进行单独粉碎特性考察后。现代粉碎以粉碎机为工具，粉碎特点与传统粉碎方式可能有较大的不同。本实验以出粉率为指标，考察现代粉碎工具下的粉碎特性，确定买朱尼努加的现代粉碎工艺。

4.1 实验材料

4.1.1 仪器设备

仪器设备同上 2.1.1。

4.1.2 药材与试剂

药材批次同上 2.1.3。

4.2 药材粉碎工艺研究

4.2.1 单独粉碎特性研究

五味药材分别称取 50 g 进行粉碎，每 2 min 过一次 100 目药典筛，计算出粉率，出粉率>95%后停止粉碎，记下累计时间，10 min 为上限；或记下累计时间达 10 min 后的出粉率，平行三次（根茎类需提前处理成 1-2 cm 的小段再粉碎；各药材粉碎前

控制水分<5%)。结果见表 4-1、4-2。

出粉率(%)=(药材质量-未过筛颗粒质量)/药材质量×100%

表 4-1 五味药材单独粉碎出粉率

Table 4-1 individual crushing yield of five medicinal herbs

药材名称	原药重 (g)	细粉重 (g)	出粉率(%)	平均出粉率 (%)	粉碎时间 (min)
水龙骨	50.06	47.97	95.83	96.00	6
	50.05	48.60	97.10		
	50.02	47.55	95.06		
	50.08	48.19	96.23		
薰衣草	50.01	47.90	95.78	96.04	4
	50.02	48.07	96.10		
	50.01	47.74	95.46		
	50.00	47.94	95.88		
菟丝草	50.04	47.93	95.78	95.71	4
	50.02	47.74	95.44		
	50.05	47.73	95.36		
	50.01	47.76	95.50		
余甘子	49.97	48.6	97.26	95.44	6
	50.07	48.54	96.94		
	50.02	48.64	97.24		
西青果				97.15	2

表 4-2 五味药材单独粉碎特性

Table 4-2 individual crushing characteristics of five medicinal herbs

药材名称	药用部位	药材质地	粉碎时间	粉碎特点			
				粉碎难易	粘壁情况	过筛情况	粉尘大小
薰衣草	地上全草	质松	4 min	中等	中等	困难（堵筛孔）	粉尘大，易结块
菟丝草	地上全草	质松	4 min	易	易粘壁	中等	粉尘小
水龙骨	根茎	质密，坚硬	6 min	难	中等	易过筛	粉尘小
西青果（炮）	柯子幼果	质硬，脆	2 min	易	易粘壁	易粘筛	粉尘中等，结块严重
余甘子（炮）	果实	质硬，酥韧	6 min	难	不粘壁	易	粉尘小

讨论：薰衣草药材质松，粉碎时间适中，但过筛时会吸附在筛网表面，粉末结块堵塞筛孔，故不考虑单独粉碎。西青果药材单独粉碎时易粉碎，但因炮制后药材油性过大，粉碎后粘壁、粘筛和结块情况严重，故也不考虑单独粉碎。

4.2.2 部分粉碎特性研究

本处方部分药材油性物质含量相对较多，故单独粉碎到一定粒度后，粉体容易产生集聚现象，当不同药材进行混合粉碎时，可以根据粉末表面能的减少而降低粉末结块粘壁现象，更有利于粉碎。故依据药味的单独粉碎性质和组成，拟分为两大类进行

粉碎研究。基于药材单独粉碎特性及处方量，最佳装药量考虑，设计部分粉碎组合：

1组：薰衣草、水龙骨；2组：菟丝草、西青果、余甘子，进行部分粉碎工艺考察。

4.2.2.1 第一组药材粉碎特性研究

方法：按照处方比例称取薰衣草药材 27 g，水龙骨药材 27 g，混合后进行粉碎，每 2 min 过一次 100 目药典筛，计算出粉率，出粉率>95%后停止粉碎，记下累计时间，10 min 为上限；或记下累计时间达 10 min 后的出粉率，平行三次。结果见表 2-3。

注：水龙骨需提前处理成 1-2 cm 的小段再粉碎；各药材粉碎前控制水分<5%。

$$\text{出粉率}(\%) = (\text{药材质量} - \text{未过筛颗粒质量}) / \text{药材质量} \times 100\%$$

表 4-3 第一组药材粉碎特性

Table 4-3 Crushing characteristics of the first group of medicinal materials

	薰衣草 (g)	水龙骨 (g)	总重 (g)	细粉重 (g)	出粉率(%)	粉碎时间(min)	粉碎特点
1	27.06	27.01	54.13	51.98	96.03	4	几不粘壁，粘筛中等，粉尘较小
2	27.02	27.01	54.03	52.82	97.76		
3	27.02	27.05	54.07	52.40	96.91		

4.2.2.2 第二组药材粉碎特性研究

方法：按照处方比例称取菟丝草药材 27 g，余甘子药材 3.5 g，西青果药材 3.5 g，混合后进行粉碎，每 2 min 过一次 100 目药典筛，计算出粉率，出粉率>95%后停止粉碎，记下累计时间，10 min 为上限；或记下累计时间达 10 min 后的出粉率，平行三次。结果见表 2-4。注：各药材粉碎前控制水分<5%。

$$\text{出粉率}(\%) = (\text{药材质量} - \text{未过筛颗粒质量}) / \text{药材质量} \times 100\%$$

表 4-4 第二组药材粉碎特性

Table 4-4 Crushing characteristics of the second group of medicinal materials

	菟丝草 (g)	西青果 (g)	余甘子 (g)	总重 (g)	细粉重 (g)	出粉率 (%)	粉碎时间(min)	粉碎特点
1	27.04	3.51	3.53	34.08	32.63	95.75	6	难粉碎，不易粘筛粘壁，粉尘小
2	27.01	3.49	3.52	34.02	32.36	95.12		
3	27.02	3.51	3.52	34.05	32.57	95.65		

讨论：第一组粉碎特性：薰衣草和水龙骨混合粉碎 4 min 后出粉率可达 96.9%，混合后粉碎时间缩短，提高了粉碎效率。且过程中改善了薰衣草单独粉碎易粘筛，堵塞筛孔的情况，过筛相对容易且粉尘中等。第二组粉碎特性：余甘子，西青果和菟丝草三味药材混合粉碎后粉碎时间无明显改善，6 min 后出粉率可达 95.51%，其中菟丝草较难粉碎，西青果单独粉碎时粘壁粘筛情况大为改善。

4.2.3 全方粉碎特性研究

买朱尼努加两组部分混合粉碎均优于单味药材粉碎，在此基础上，进一步考虑全方粉碎工艺。

方法：根据处方比例称取各味药材进行粉碎，每 2 min 过一次 100 目药典筛，计算出粉率，出粉率>95%后停止粉碎，记下累计时间，10 min 为上限；或记下累计时间达 10 min 后的出粉率，平行三次。注：水龙骨需提前处理成 1-2 cm 的小段再粉碎；各药材粉碎前控制水分<5%。结果见表 2-5。注：水龙骨需提前处理成 1-2 cm 的小段再粉碎；各药材粉碎前控制水分<5%。

出粉率(%)=(药材质量-未过筛颗粒质量)/药材质量×100%

表 4-5 全方粉碎粉碎特性

Table 4-5 Full square crushing Crushing characteristics

	全方 (g)	细粉 (g)	出粉率 (%)	平均出粉率 (%)	粉碎时间 (min)	粉碎特点
1	88.09	84.97	96.46			
2	88.06	85.32	96.89	96.69	4	易粉碎，微粘壁 粘筛，粉尘小
3	88.05	85.17	96.73			

由以上实验结果可知，买朱尼努加 5 味药材混合粉碎，粉碎效率高，易于过筛，粉碎程可操作性强，优于单味药材粉碎和部分混合粉碎。因此买朱尼努加的制剂工艺粉碎方式定称取处方量的各味药材，置于粉碎机内粉碎，4 min 后过 100 目药典筛，收集细粉即可。

4.2.4 粉碎验证试验

按照处方量称取各味药材进行粉碎，粉碎 4 min，平行三次，验证试验平行批次应不相同。结果见表 4-6。注：水龙骨需提前处理成 1-2 cm 的小段再粉碎；各药材粉碎前控制水分<5%。

表 4-6 粉碎工艺验证结果

Table 4-6 grinding process verification results

序号	全方重 (g)	细粉重 (g)	出粉率(%)	平均出粉率 (%)
1	88.03	84.89	96.43	
2	87.99	84.2	95.69	95.75
3	88.07	83.78	95.13	

讨论：买朱尼努加粉碎工艺采取全方粉碎， 3 批次平均出粉率达到 95.75%，RSD 值 0.68%，表明该粉碎工艺稳定可行。

4.3 混合工艺研究

药物粉末混合均匀度与物料性质、混合设备、混合工艺条件有关。买朱尼努加项目中，需要将五味药材粉碎后的粉末进行混合工艺考察，参考药审中心发布的《化药口服固体制剂混合均匀度和中控剂量单位均匀度研究技术指导原则（试行）》，通过考察比较多种混合设备的性能及适用性及考虑实际生产，选择V型高效混合机用于买朱尼努加原料药粉末混合。

4.3.1 实验方法

将买朱尼努加药材混合粉碎过120目筛后，装入V型系列高效混合机（混筒体转速15r.m.p，装料系数50%），分别在混合0 min，15 min，45 min，75 min时停机取样检测。取样方法参考化药均匀度和研究技术指导原则，共计十个点（如下图4-1所示），每个点取样3份，每份1 g，一份用于检测，另外两份封存备用。取样样品按照已确定的含量检测方法，对主成分没食子酸、金丝桃苷、迷迭香酸进行均匀度测定，计算含量RSD。

4.3.1.1 多成分含量测定方法

（1）对照品溶液的制备：取没食子酸、迷迭香酸、金丝桃苷对照品适量，分别加50%甲醇配制成每1 mL含没食子酸20 μg、迷迭香酸50 μg、金丝桃苷25 μg的对照品溶液。

（2）供试品溶液的制备：称取1 g粉末，加入25 mL50%甲醇，摇匀，超声30 min，放冷，过滤，即得。

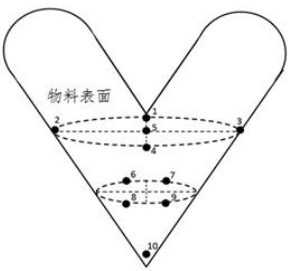
（3）色谱条件与系统适用性实验：流动相乙腈A-0.1%磷酸溶液，梯度洗脱；检测波长分别为270 nm（0~10 min）、360 nm（10~37 min）、325 nm（37~59 min）；柱温为35℃；流速为1.0 mL/min；进样量10 μL。理论塔板数按金丝桃苷峰计算应不低于5000。洗脱程序：0~9 min，4%~5% A；9~10 min，5%~15% A；10~37 min，15%~15% A；37~59 min，15%~20% A。

4.3.2 实验结果

4.3.2.1 混合工艺取样点

混合取样点分布如图4-1，V型混合器共取样10点，其中上层5个取样点，中层

4 个取样点，下层 1 个取样点。



2、V-型混合机：分别从混合机上部（1，2，3，4，5）、中间（6，7，8，9）和下部（10）共10个位置取样。

图 4-1 V 型混合机取样模型图

Figure 4-1 Sampling model of V-type mixer

4.3.2.2 混合工艺实验结果

混合时间分别 0 min、15 min、45 min、75 min 的中间体粉末，其没食子酸、金丝桃苷和迷迭香酸含量与 RSD 值结果见表 2-6，RSD 值<5 则表明混合均匀，定为混合终点。

表 4-7 不同混合时间中间体粉末混合均匀度结果

Table 4-7 Results of mixing uniformity of intermediate powder at different mixing times

时间 min	没食子酸 含量%	金丝桃苷 含量%	迷迭香酸 含量%	没食子酸 RSD%	金丝桃苷 RSD%	迷迭香酸 RSD%
0	0.048	0.027	0.375	20.28	18.49	14.81
15	0.049	0.028	0.390	13.69	15.91	14.07
45	0.055	0.032	0.434	1.57	2.21	1.12
75	0.054	0.031	0.426	3.68	6.85	4.73

由上表结果可知，经过实验室落地式中药材粉碎机混合粉碎的买朱尼努加药材粉末不均匀，可见虽然是全方混合粉碎，但药材仅有粉碎前的粗混状态并不能使粉末均一，需要进行混合工艺操作。中间体粉末混合机混合 15 min 对均匀度改善不大，混合 45 min 时已经混合均匀，三个主成分含量的 RSD 值均小于 5%。混合 75 min 后，相比混合 45 min，粉末有分离趋势，均匀度有所下降。因此，买朱尼努加使用该混合机混合的最佳时间为 45 min。

4.3.3 混合工艺验证

经混合时间考察，确定了最佳混合时间为 45 min，更换 3 个批次的买朱尼努加中间体，分别使用混合机混合 45 min，进行混合工艺验证，结果如下表 4-8 所示。

表 4-8 混合工艺验证结果

Table 4-8 Verification results of mixing process

批次	没食子酸 RSD%	金丝桃苷 RSD%	迷迭香酸 RSD%
1	1.39	3.17	1.82
2	1.66	3.62	1.95
3	1.09	3.82	2.12

由实验结果可知，该混合工艺可行，可作为实验室制备买朱尼努加现代制剂的混合工艺条件。

4.4 讨论与结果

4.4.1 粉碎过筛目数选择

买朱尼努加对应实物是在其物质基准对比研究而来，需要与物质基准保持工艺及质量标准的统一性。在物质基础部分，实验室根据维药古籍记载药粉过筛工具为“箩”与“丝绸筛”，与药典筛进行细度比较，根据粉末通过率，确定现代药典筛目数，使其更接近维药传统工艺标准。

4.4.2 粉碎工艺确认

买朱尼努加以全粉混合入药，故对其粉碎工艺要求较高，实验室前期根据药用部位，药材密度设计粉碎工艺，但验证结果不稳定也难以在大工艺生产中实现，后改为现工艺，为后续蜜膏剂类粉碎工艺提供参考。

4.4.3 混合工艺确定

本实验室混合机为 V 型系列高效混合机，在物料性质和设备确定的前提下，混合工艺可考察的参数有：混合时间、转速、装料系数、投料方式。对于买朱尼努加项目，粉碎工艺结果决定了投料方式只能为一次投料全方粉末，混合机转速不可调，本次研究将装料量固定在最佳范围（13 个处方量粉碎后的合格粉末，约 1 kg，装料系数约 50%），考察混合时间对混合均匀度的影响。

4.4.4 实验结果

本处方药材前处理中间体（粉碎）工艺研究最终结论全方混合粉碎为优。中间体混合工艺以高效混合机混合时间 45 min 为混合终点。

第5章 买朱尼努加炼蜜工艺研究

传统维医炼蜜工艺采取隔水加热，炼蜜过程中不加水，除去泡沫进行除杂^[66]，蜂蜜炼制可以蜂蜜作为辅料有增效、止痛、减毒、调和药性等作用，同时能够润燥，气味香甜，故能矫味矫臭，根据国家标准 GB18796—2005 蜂蜜标准中对新鲜蜂蜜中 5-HMF 含量规定不超过 40 mg/kg，在实验过程中控制 5-HMF 含量。

实验考察加热时间，加热温度，设计单因素实验，考察 5-羟甲基糠醛含量，产率，相对密度，进行权重分析得到炼蜜工艺，并进行 10 批次炼蜜工艺研究。

5.1 实验材料

5.1.1 仪器设备

PZ-D-5 韦氏比重秤（北京金工鸿泰科技有限公司）、WYA-2S 阿贝折射仪（恒利达科技发展有限公司）。

5.1.2 试剂

酚酞指示剂（20221217）、氢氧化钠滴定液（20221108）、碘试液（20220719）、甲酸（XR13-201-00146）来自天津大茂化学试剂厂、亚铁氰化钾（批号 20210416，d 津市光复精细化工研究所）、醋酸锌（批号 2020090101，成都市科隆化学品有限公司）、亚硫酸氢钠（批号 20101116，天津市河东区红岩试剂厂），甲醇、乙腈、磷酸为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

5.1.3 对照品与药材

乌昔对照品（批号 111977-201501）、5-羟甲基糠醛对照品（批号 111626-201610）均来自中国食品药品检定研究院，十批次蜂蜜批号及厂家信息见表 5-1。

表 5-1 蜂蜜信息表
Table 5-1 Honey information table

编号	批号	厂家
1	20220707	吉木萨尔县蜂天园养殖专业合作社
2	20220622-1	
3	20220624-1	
4	20220627-1	兰溪市鸿香生物科技有限公司
5	20220627-2	
6	20220702-1	
7	20220702-2	福建静蜜药业有限公司
8	2021101701	
9	2022060501	
10	20200409	伊犁尼勒克县种蜂厂

5.2 炼蜜工艺研究

5.2.1 实验方法

取已知质量干燥烧杯，称取蜂蜜 100 g，放入烘箱进行单因素实验，待温度升至实验要求时，开始计时，加热结束冷却至室温，称定总质量，计算产率，测定 5-羟甲基糠醛含量和相对密度。

5.2.1.1 炼蜜时间考察

取 100 g 蜂蜜于干净烧杯中，称定重量，放入烘箱，待温度升至 105℃，开始炼蜜，炼蜜时间分别为 0 min（原蜜）、30 min、60 min、90 min、120 min。炼蜜结束后，取出放置室温进行检测。

5.2.1.2 炼蜜温度考察

取 100 g 蜂蜜于干净烧杯中，称定重量，放入烘箱，设置温度达到后开始炼蜜，设置温度分别为 80℃、90℃、100℃、105℃、110℃、115℃、120℃。炼蜜结束后，取出放置室温进行检测。

5.2.1.3 炼蜜工艺验证

取 100 g 蜂蜜于干净烧杯中，称定重量，放入烘箱，设置温度达到后开始炼蜜，炼蜜结束后，取出放置室温进行检测，实验平行验证 3 批。

5.2.1.4 指标方法

(1) 相对密度：相对密度 = 供试品重量 / 水重量（参考 2020 版《中国药典》0601 相对密度测定法）

(2) 产率：炼蜜前后质量比，算作产率。

(3) 5-羟甲基糠醛含测：对照品溶液制备：称取 5-羟甲基糠醛适量，加入 10% 甲醇定容制成 8 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。供试品溶液制备：取蜂蜜约 10 g 至 10 mL 容量瓶，加入 10% 甲醇定容，摇匀，过 0.45 μm 滤膜备用。

色谱条件：流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液（3 : 97），流速为 1 mL/min，柱温为 30°C，检测波长为 284 nm。进样量 10 μL 。

5.2.2 实验结果

5.2.2.1 炼蜜时间考察

随着炼蜜时间的延长，蜂蜜颜色逐渐加深，产率逐渐减少，密度及 5-羟甲基糠醛含量显著增加，故根据实验结果综合评分，炼蜜时间定为 30 min，炼蜜时间单因素实验结果见表 5-2，不同炼蜜时间蜂蜜性状颜色变化见图 5-1。



图 5-1 不同炼蜜时间蜂蜜性状颜色变化

Figure 5-1 Change of honey character and color in different honey refining time

表 5-2 炼蜜时间考察

Table 5-2 Investigation of honey refining time

序号	时间 (min)	温度	产率(%)	密度	5-HM (mg/g)	评分 (%)
1	0	室温	100.00	1.302	2.694	
2	30		97.77	1.326	3.948	96.71
2	60	105	96.64	1.354	10.194	91.47
3	90		96.50	1.364	32.075	77.37
4	120		95.89	1.350	46.851	67.88

5.2.2.2 炼蜜温度考察

随着炼蜜温度的增加，炼蜜产率无规律变化且差距较小，相对密度及 5-HMF 含量均会随温度增大，综合评分比较，炼蜜实验温度选择 80°C。炼蜜温度考察结果见

表 5-3。

表 5-3 炼蜜温度考察
Table 5-3 Temperature of honey refining

实验号	时间 (min)	温度 (°C)	产率 (%)	密度	5-HMF (mg /g)	评分
1	30	80	96.62	1.305	2.998	84.32
2		90	95.43	1.309	3.418	81.69
3		100	97.69	1.309	3.355	82.41
4		105	97.73	1.313	3.734	80.90
5		110	97.27	1.392	4.458	74.21
6		115	96.89	1.403	5.185	70.64
7		120	96.71	1.401	5.922	66.57

综合评分比较后，炼蜜最佳工艺为 80℃加热，炼蜜时间为 30 min，这时炼蜜产率最高，5-羟甲基糠醛含量最少，炼蜜流动性较好。

5.2.2.3 炼蜜工艺验证结果

每批次炼蜜相对密度及 5-HMF 含量分取取三份平行样，测定结果如表 5-4 所示。

表 5-4 炼蜜工艺验证结果
Table 5-4 Verification results of honey refining process

编号	5-HMF 含量/μg	产率/%	相对密度
1	3.19	97.53	1.317
2	3.28	97.85	1.335
3	3.33	97.16	1.339
RSD%	2.17	0.35	0.88

由上表可知，炼蜜中 5-HMF 含量符合要求 (<40 μg/g)，三份炼蜜的 5-HMF 含量、产率及相对密度 RSD<2.5%，表明此炼蜜工艺稳定、可靠。

5.2.3 小结

实验参考传统炼蜜方式，考察加热温度，加热时间，炼蜜随加热温度加热时间的增加，炼蜜颜色会逐步加深，由金黄色变至深黄色；产率，相对密度逐渐降低，5-羟甲基糠醛含量逐步升高，经综合评分比较后，炼蜜最佳工艺为 80℃，加热时间为 30 min，炼蜜工艺经验证，稳定可重复性高，且符合 5-HMF 含量标准要求。

5.3 炼蜜质量标准研究

实验室对收集的 10 批次蜂蜜进行炼蜜质量标准研究，依照 2020 版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》中炼蜂蜜项下检查项进行检查。

5.3.1 实验方法

5.3.1.1 炼蜜方法

称取 100 g 各批次蜂蜜，在 80℃烘箱加热 30 min，取出放凉，即得。

5.3.1.2 性状鉴别

参照 2020 年版《中国药典》及《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》中对炼蜜的形态、颜色、气味、口味等特征进行描述。

5.3.1.3 相对密度

按 2020 年版《中国药典》四部通则 0601 中相对密度测定法项下的韦氏比重秤法测定，炼蜜相对密度应在 1.35 以上。

5.3.1.4 水分测定

按 2020 年版《中国药典》四部通则 0622 中折光率测定法，炼蜜无水分标准。

5.3.1.5 酸度检查

按 2020 年版《中国药典》一部中蜂蜜检查方法。取本品 10 g，加新沸过的冷水 50 mL，混匀，加酚酞指示液 2 滴与氢氧化钠滴定液（0.1 mol/L）约 4 mL，应显粉红色，10 秒钟内不消失。

5.3.1.6 淀粉和糊精

按 2020 年版《中国药典》一部中蜂蜜检查方法。取本品 2 g，加水 10 mL，加热煮沸，放冷，加碘试液 1 滴，不得显蓝色、绿色或红褐色。

5.3.1.7 5-羟甲基糠醛紫外测定

按 2020 版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》中炼蜂蜜测定方法，炼蜜在 284 nm 与 336 nm 波长处的吸光度差不得大于 0.34。

5.3.2 实验结果

5.3.2.1 性状鉴别

炼蜜性状为半透明、带光泽、浓稠的液体，橘黄色至黄褐色，气芳香，味极甜。十批次炼蜜均符合要求。性状图片见图 5-2。

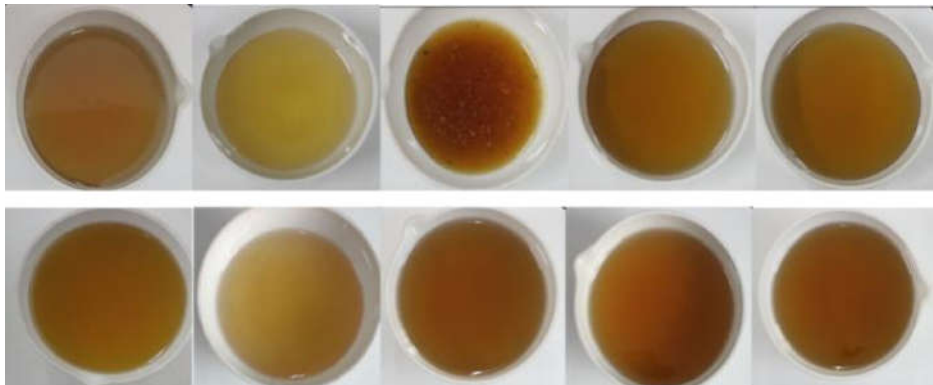


图 5-2 炼蜜性状图
Figure 5-2 Characters of honey refining

5.3.2.2 相对密度

经检查，10 批炼蜜相对密度范围为 1.3710~1.4605，炮制规范规定炼蜜相对密度应在 1.35 以上。均合格，结果见表 5-5。

5.3.2.3 水分

经检查，10 批炼蜜水分范围为 15.09~22.04，结果见表 5-5。

5.3.2.4 酸度

经检查，10 批炼蜜均显粉红色，10 秒钟内不消失，酸度均符合规定。

5.3.2.5 淀粉和糊精

经检查，10 批炼蜜均显黄色，淀粉和糊精均符合规定。

5.3.2.6 5-羟甲基糠醛测定

10 批炼蜜 5-羟甲基糠醛紫外测定范围在 0.057~0.281，炮制规范要求炼蜜 5-羟甲基糠醛在 284 nm 与 336 nm 波长处的吸光度差不得大于 0.34。均合格，结果见表 5-5。

表 5-5 10 批次蜂蜜检查结果

Table 5-5 Check results of 10 batches of honey

炼蜜批号	相对密度	水分	5-HMF 含量 (UV)
20220707	1.4605	15.09	0.281
20220622-1	1.4100	17.43	0.163
20220624-1	1.4110	17.60	0.178
20220627-1	1.4035	17.16	0.171
20220627-2	1.4265	17.45	0.184
20220702-1	1.4110	17.66	0.183
20220702-2	1.4261	17.41	0.175
2021101701	1.4205	16.94	0.150
2022060501	1.4245	15.51	0.057
20200409	1.3710	22.04	0.157

5.3.3 小结

实验进行 10 批次炼蜜质量检查，结果表明 10 批次炼蜜均符合要求。

5.4 讨论与结果

传统维药蜜膏剂根据药物的性质用蜂蜜。如果不重视这一点，会导致蜜膏过硬或过稀，实验通过炼蜜工艺研究及多产地批次炼蜜质量检查，发现蜂蜜产地，厂家，对蜂蜜性质影响较大，部分厂家蜂蜜出厂原始水分就较小，在不改变蜜膏剂比例的情况下，过稠的蜂蜜会对蜜膏剂产生影响；实验室购入蜂蜜包括食品级与药品级蜂蜜，在炼蜜过程中食品级会出现泡沫及杂质漂浮，这与维医传统炼蜜用泡沫达到除杂的目的相符合，但药品级蜂蜜品质较为纯净，在炼蜜过程中无泡沫及杂质产生；后续可通过炼蜜与买朱尼努加药粉的混合，反推确定出炼蜜质量标准草案。

第6章 买朱尼努加蜜膏工艺研究

蜜膏是维吾尔医药复方制剂中较多用的一种剂型，把一种或一种以上的药物用炮制粉碎成粉状后，加入蜂蜜、冰糖、方糖等附加成分加工^[67,68]。如果制备蜜膏过程中忽略一些细小的问题时会影响药物的作用。如：味道，稳定程度，软硬程度，储备时间。本试验研究主要对现代蜜膏混合工艺进行研究，考察 A、B、C、D 四个影响因素，设计单因素试验，并建立买朱尼努加蜜膏现代工艺正交试验，确定最佳蜜膏现代工艺，后续再与买朱尼努加传统工艺进行对比修改，做到与传统工艺物质基准保持工艺及质量标准的统一性。

6.1 实验材料

6.1.1 仪器设备

LC-20A 高效液相色谱仪（日本岛津）、XMTD-7000 电热恒温水浴锅（北京市永光明医疗仪器有限公司）、FA1004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）、KQ2500DE 型数据超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）、CS101-3ABN 电热鼓风干燥箱（重庆市永生实验仪器厂）。

6.1.2 药材与试剂

药材与试剂批号同 2.1.3。

6.2 实验内容

6.2.1 蜜膏制备工艺

将制备好的药材粉末，称取约 40.0 g 置于烧杯中，按照比例加入炼蜜，采用单转速搅拌机搅拌均匀。室温静置后进行测定，需注意：搅拌时不加热。

6.2.2 买朱尼努加蜜膏工艺单因素试验设计

以没食子酸、5-羟甲基糠醛和金丝桃苷含量，蜜膏相对密度，蜜膏均一性为指标，进行综合评分，分别考察 A（1：3、1：4、1：5）→B（70、80、90）→C（30、40、50）→D（0.25、0.5、1）四个影响因素，选出最佳工艺条件，为正交试验因素范围提供参考，单因素水平表见表 6-1。

表 6-1 单因素水平表
Table 6-1 Single factor level table

A	B	C	D	考察指标
1:3	70	30	0.25	没食子酸含量，5-羟甲基糠醛含量，金丝桃苷含量，相对密度，均一性。
1:4	80	40	0.5	
1:5	90	50	1	

6.2.3 A 影响因素考察

分别取炼蜜于烧杯中，加入制备好的中间体粉末，混合适宜时间，搅拌结束后静置即得蜜膏，考察其指标。

6.2.4 B 影响因素考察

分别取适量炼蜜于烧杯中，加入制备好的中间体粉末，混合适宜时间，考察 B，搅拌结束后静置即得蜜膏，考察其指标。

6.2.5 C 影响因素考察

分别取适量炼蜜于烧杯中，加入制备好的中间体粉末，考察 C，搅拌结束后静置即得蜜膏，考察其指标。

6.2.6 D 影响因素考察

将制备好的粉末，加入适量炼蜜，考察 D，搅拌结束后静置即得蜜膏，考察其指标。

6.2.7 蜜膏正交实验设计

根据单因素试验得出的结论，确定影响因素的取值范围，设计4因素3水平正交试验表，如下表6-2。考察指标：没食子酸含量，5-羟甲基糠醛含量，金丝桃苷含量，均一性，相对密度。

表 6-2 正交因素水平表

Table 6-2 Horizontal table of orthogonal factors

水平	A	B	C	D
1	*	30	0.25	1:3
2	*	40	0.5	1:4
3	*	50	1	1:5

6.2.8 蜜膏制备工艺验证

按正交结果所得最佳工艺条件，取不同批次中间体粉末制备三批次蜜膏，测定三批蜜膏的没食子酸，5-羟甲基糠醛，金丝桃苷含量，相对密度，均一性。

6.2.9 考察指标方法

6.2.9.1 没食子酸，5-羟甲基糠醛含量检测

供试品溶液制备：取蜜膏 0.4 g，精密称定至离心管中，加入 4 mL50%甲醇使溶解，超声 30 min 后，放入离心机，7500/min，离心 10 min 后取上清液过 0.22 μ m 滤膜备用。

色谱条件：检测波长：273 nm；柱温：35℃；流速：1.0 mL/min；进样量：10 μ L，进样时间：40 min，梯度洗脱程序：0~5 min，5%→10% A；5~20 min，10%→30% A；20~25 min，30%→60% A；25~34 min，60%→30% A；34~36 min，30%→10% A；36~40 min，10%→5% A。

6.2.9.2 金丝桃苷含量检测方法

色谱条件：色谱柱 Agilent 5HC-C18(2)250 nm $\times$ 4.6 mm，5 μ m；流动相：等度乙腈-0.1%磷酸（14：86），波长 360 nm，柱温：35℃，流速 1.0 mL/min，进样量 10 μ L，时间 45 min。

6.2.9.3 相对密度

相对密度=供试品重量/水重量（同一温度时 40℃）（参考 2020 版《中国药典》0601 相对密度测定法），按照文献记载，其相对密度应在 1.3 为最佳。

6.2.9.4 均一性

将蜜膏装入离心管中，在上中下三处分别取样，按供试品方法制备，每点平行取样三份。检测其没食子酸含量，求其 RSD 值，RSD 值越大其均一性越差。

6.3 实验结果

6.3.1 A 考察

A 考察下蜜膏性状及流动性见图 6-1 及图 6-2，其考察指标结果见表 6-3。

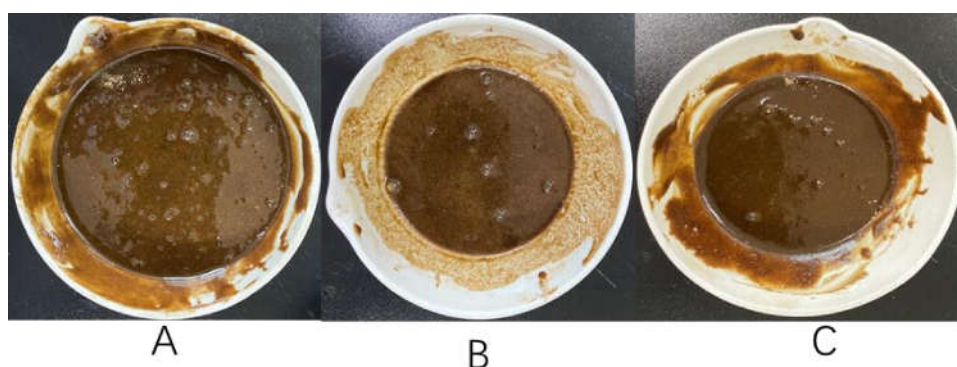


图 6-1 蜜膏不同混合比例性状图（静置 24 h 后）

Figure 6-1 Characters of different mixing ratios of honey paste (after standing for 24 hours)

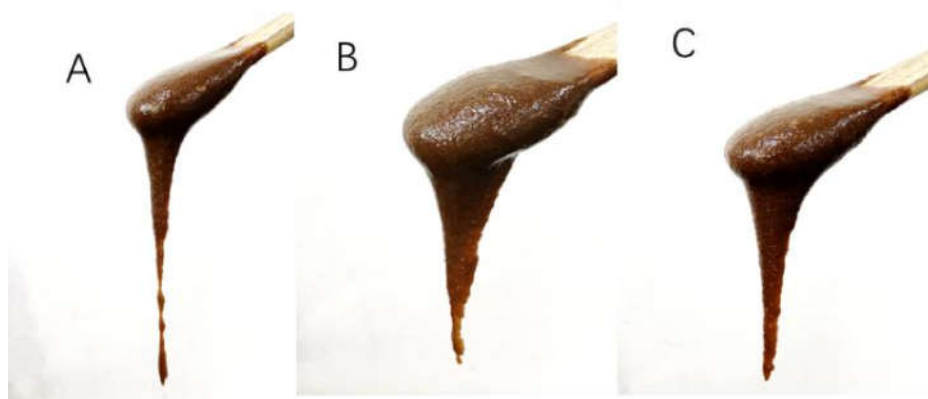


图 6-2 蜜膏不同料液比混合后流动性

Figure 6-2 Mixing fluidity of honey paste with different ratio of material to liquid

表 6-3 单因素 A 实验结果

Table 6-3 Experimental results of single factor A

序号	A	没食子酸 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	5-HMF ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	金丝桃苷 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	密度	性状	总分
1	1:3	0.87	0.127	0.092	固体	0 h 流动性较差, 12 h、24 h 流动性零	48.22
2	1:4	0.955	0.068	0.053	1.271	0 h 流动性适中、12 h、24 h 流动性较差	75.36
3	1:5	0.546	0.048	0.054	1.272	0 h 流动性较大 12 h、24 h 流动性适中	75.18

由图可知，蜜膏整体颜色呈棕褐色，不同比例混合颜色差距不大，味清香。由表可知 A 因素对没食子酸含量，金丝桃苷，5-羟甲基糠醛含量影响较小。

6.3.2 B 考察

B 因素考察，指标结果见表 6-4。

表 6-4 单因素 B 实验结果

Table 6-4 Experimental results of single factor B

序号	B	没食子酸 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	金丝桃苷 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	5-HMF ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	相对密度	性状	总分
1	70	0.320	0.084	0.038	1.2928	静置 48 h 出现较大气泡	57.79
2	80	0.357	0.081	0.037	1.3083	适中	79.10
3	90	0.461	0.094	0.055	1.2710	适中	79.42

蜜膏 B 因素可影响蜜膏混合程度，由数据可知，B 因素对没食子酸，金丝桃苷含量影响较大。

6.3.3 C 考察

C 因素考察，其考察指标结果见表 6-5。

表 6-5 单因素 C 实验结果

Table 6-5 Experimental results of single factor C

序号	C	没食子酸 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	金丝桃苷 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	5-HMF ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	相对密度	均一性	总分
1	30	1.01	0.132	0.027	1.309	0.088	58.74
2	40	1.07	0.126	0.024	1.332	0.013	77.86
3	50	1.05	0.124	0.025	1.312	0.054	67.44

由上表结果可知，C 因素对蜜膏的含量及密度影响较小，各组间差异不明显，但对均一性影响较大。

6.3.4 D 考察

D 因素考察，其指标结果见表 6-6。

表 6-6 单因素 D 实验结果

Table 6-6 Experimental results of single factor D

序号	D	没食子酸 (μg/mg)	金丝桃苷 (μg/mg)	5-HMF (μg/mg)	相对 密度	性状	总分
1	0.25	0.63	0.08	0.018	1.264	膏体有颗粒感， 混合适中	60.58
2	0.5	0.78	0.10	0.022	1.227	混合度合适	69.16
3	1	0.79	0.09	0.023	1.240	混合度优	76.80

D 因素对蜜膏指标的影响主要在性状差距，1 号蜜膏其膏体存在明显颗粒感；根据单因素数据表，来选取正交范围，根据单因素评分建立四因素三水平正交工艺表。

6.3.5 正交试验工艺

(1) 按照正交试验设计表 6-2，进行试验，对试验结果进行综合评分，见表 6-7。

表 6-7 正交实验结果

Table 6-7 Orthogonal experiment results

试验号	A	B	C	D	
实验 1	1	1	1	1	78.19
实验 2	1	2	2	2	67
实验 3	1	3	3	3	67.92
实验 4	2	1	2	3	72.9
实验 5	2	2	3	1	72.6
实验 6	2	3	1	2	46.55
实验 7	3	1	3	2	47.91
实验 8	3	2	1	3	81.56
实验 9	3	3	2	1	76.18
均值 1	71.037	66.333	68.767	75.657	
均值 2	64.017	73.720	72.027	53.820	
均值 3	68.550	63.550	62.810	74.127	
极差	7.020	10.170	9.217	21.837	

讨论：由实验结果表明其综合评分比较 8 号正交结果最佳 A 3 B 2 C 1 D 3，蜜膏混合工艺为：影响因素重要性为 D>B>C>A。

(2)方差分析

用 SPSS17.0 对中间体正交实验结果进行分析，结果见表 6-8 所示。

表 6-8 正交方差分析结果
Table 6-8 Results of orthogonal analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值
A	76.015	2	0.240	4.460
B	165.739	2	0.524	4.460
C	131.056	2	0.415	4.460
D	891.542	2	2.821	4.460
误差	1264.35	8		

6.3.6 蜜膏工艺验证

三批蜜膏中各指标结果及 RSD 值见表 6-9。

表 6-9 蜜膏工艺验证结果
Table 6-9 Process verification results of honey paste

试验号	5-HMF ($\mu\text{g/g}$)	没食子酸 ($\mu\text{g/mg}$)	金丝桃苷 ($\mu\text{g/g}$)	均一性	相对密度
1	3.914	1.351	47.279	0.483	1.224
2	3.966	1.346	44.536	0.487	1.299
3	3.907	1.386	48.294	0.509	1.258
RSD(%)	0.82	1.60	4.16	2.84	2.98

由上表可知，三批次蜜膏中没食子酸含量为 1.36 $\mu\text{g/mg}$ ，金丝桃苷含量为 46.70 $\mu\text{g/g}$ ，5-HMF 含量为 3.93 $\mu\text{g/g}$ ，RSD 值分比为 1.6%、4.16%、0.82%；相对密度，均一性 RSD 值为 2.98%，2.84%。表明蜜膏制备工艺稳定。

6.4 讨论与结果

现行规定中无蜜膏剂质量标准，实验室根据买朱尼努加蜜膏特性，初步确定其性状，密度，薄层鉴别成分，蜜膏粒径，含量测定检测指标。以期为后续蜜膏剂质量标准提供参考。

该蜜膏工艺经验证稳定可行性高，可进行下一步买朱尼努加质量标准研究。

第7章 买朱尼努加对慢性不可预知温和应激模型研究

慢性不可预见温和应激（CUMS）抑郁模型常用于选择抗抑郁药和抗焦虑药机制研究^[69]，是制备抑郁症动物模型的常用造模方法，实验选取 Balb/C 小鼠，通过 CUMS 方法，连续 3 周进行持续性刺激，建立抑郁症小鼠模型，探究买朱尼努加对慢性不可预知温和应激模型的行为影响，而盐酸氟西汀具有治疗抑郁症的临床疗效^[70]，实验选择其作为阳性对照药物。

造模给药 2 周后，通过糖水偏好实验、体重监测、空场实验、悬尾试验和游泳试验表现，研究买朱尼努加对小鼠体重、自主活动及行为影响；通过分析检测脑内单胺类神经递质水平[5-羟色胺（5-hydroxytryptamine, 5-HT），多巴胺（dopamine, DA）]、炎症因子含量[白介素-10（interleukin-10, IL-10）]、神经营养因子（BDNF）等指标，探究买朱尼努加抗抑郁作用的分子机制；对小鼠海马组织进行 HE 染色，观察抑郁小鼠海马组织病理学变化。

7.1 实验材料

7.1.1 仪器设备

YD-202A 组织切片机（金华市益迪医疗设备有限公司）、TGL-16M 低温高速离心机（上海卢湘仪）、BCD-206DT-20℃冰箱（海尔）、XDS-1B 倒置显微镜（重庆重光实业有限公司）、7109P 载玻片（海门市神鹰实验器材厂）。

7.1.2 实验试剂

买朱尼努加蜜膏（实验室自制）、盐酸氟西汀胶囊（批号 211004，山西仟源医药集团股份有限公司）、蔗糖（批号 220505，河南正弘药用辅料股份有限公司）、BDNF ELSIA 试剂盒（武汉博士德生物工程有限公司）、5-HT、DA、IL-10 ELSIA 检测试剂盒（上海酶联生物技术有限公司）、生理盐水（批号 281221-03，华世丹股份有限公司）、甲醛溶液（批号 110419，四川西陇化工有限公司）、二甲苯（批号 2014021，天津市百世化工有限公司）、HE 染色试剂盒（批号 20221122，北京索莱宝

科技有限公司)、中性树胶(批号 20220708, 上海标本模型厂)。

7.1.3 实验动物

Balb/C 小鼠, 雄性, 体重 18-20 g, 购自于新疆医科大学动物实验中心; 饲养期间的温度保持在 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$ 。本实验所有的操作步骤都符合国家科技委员会对动物实验研究管理的规定。

7.2 实验方法

7.2.1 实验分组及给药

取 Balb/C 小鼠适应环境培养 5 天后, 进行随机分组将小鼠分为空白对照组、模型组、氟西汀组 (4 mg/kg)、买朱尼努加低剂量组 (4.8 g/kg)、买朱尼努加中剂量组 (9.6 g/kg)、买朱尼努加高剂量组 (19.2 g/kg), 实验以糖水偏好度作为造模成功的判定标准, 小鼠分为每组 12 只。小鼠按 0.1 mL/10 g 体重灌胃给药, 连续给药 16 天, 每日 1 次, 空白对照组和模型组给予同容积的生理盐水。

7.2.2 造模方法

实验方法及观察指标如图 7-1 所示, 其中 A 代表体重监测, B 代表糖水偏爱度, C 代表旷场实验。

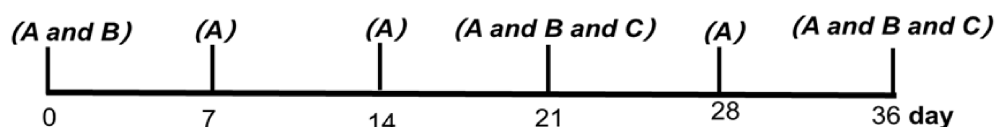


图 7-1 实验方法流程图

Figure 7-1 Flowchart of the experimental method

实验采用慢性不可预知温和应激的方法进行造模。造模时, 正常组与造模组小鼠分开饲养, 保证互不影响。空白对照组正常饲养, 不给予任何刺激。造模组采取连续慢性不可预知温和应激刺激, 具体应激有: 禁食 24 h、禁水 24 h、潮湿垫料 24 h、倾斜饲养、束缚 2 h、夹尾 5 min、闪光噪音 2 h、悬尾 5 min、 4°C 冷水游泳 4 min、 45°C 热水游泳 5 min、昼夜颠倒、水平摇晃、热板刺激, 造模组动物每 d 随机给予 1 种应激, 刺激时间不定, 每周每种应激不重复出现。

表 7-1 CUMS 操作方法
Table 7-1 CUMS operations

	方法	具体操作
1	禁食	24 h 小鼠禁食
2	禁水	24 h 小鼠禁水
3	热板	55℃5-10s 出现疼痛反应（舔后足，甩尾）30 秒截止
4	潮湿垫料	将小鼠垫料用水浸湿以制造小鼠生活的潮湿环境，24 h 后换上干净的垫料
5	倾斜饲养	将鼠笼倾斜约 45 度，持续放置 24 h
6	束缚	将小鼠置于广口瓶，使其不能自由活动，2 h 后从瓶中取出。
7	夹尾	用封口夹轻夹小鼠距离尾根 1 cm 处，时间 2 min，夹尾时力度以小鼠出现第一声哀嚎为准
8	冰水游泳	将小鼠放 4℃ 冷水水箱内，以小鼠足尖微能触碰箱底，4 min 后将其捞出，并用毛巾擦干皮毛后归笼
9	热水游泳	将小鼠放置于 45℃ 热水的水箱内，以小鼠足尖微能触碰箱底，5 min 后将其捞出，并用毛巾擦干皮毛后归笼
10	闪光噪音	将动物至于黑暗的环境当中，关闭好门窗，开闪光灯噪音器 2h
11	水平摇晃	双手持饲养箱放置于水平平面上，沿前后方向摇晃，20 min 后将小鼠放回饲养间。
12	昼夜颠倒	白天将饲养小鼠的鼠笼用黑布盖好，持续时间 12 h，夜晚将房间日光灯打开，制造白天黑暗夜晚明亮的环境
13	悬尾倒挂	提取小鼠尾部，在中末端粘贴医用胶布，固定于操作台边缘，使小鼠倒挂于空中，计时 5 min 后取下小鼠尾部胶布，送回饲养箱继续饲养。

7.2.3 行为学观察指标

7.2.3.1 小鼠体重检测

造模期间，小鼠每 7 天记录一次体重，给药期间，小鼠每天记录体重变化。

7.2.3.2 糖水消耗量

在糖水消耗实验开始前对每只小鼠给予糖水饮水训练，每笼同时放置 2 个水瓶，一个瓶内给予 1%蔗糖水，一个瓶内给予小鼠日常饮用水，让小鼠自由选择饮哪个瓶子的水。训练时间持续 24 h，训练结束后，禁食禁水 12 h，分别在实验的第 0 天、第 21 天和第 35 天进行 1%糖水消耗实验，持续 1 h，30 min 跟换一次位置。将水瓶取走称重，计算糖水偏爱度=蔗糖水消耗/（蔗糖水消耗+正常水消耗）×100%。

7.2.3.3 旷场试验

造模结束及给药第 15 天开始旷场实验，对小鼠的自主活动表现及运动情况进行检测。采用敞箱（50 cm×50 cm×50 cm），底面划分为面积相等的方格（10 cm×10 cm）。将小鼠置于旷场内，每次实验从同一位置同一方向放入，适应 3 min 后进行检

测, 观察统计小鼠在 5 min 测试期间内的自主运动情况, 包括水平运动距离、直立次数(两前肢离地 1 cm 以上的次数, 包括直立及攀附墙体)。

7.2.3.4 Morris 水迷宫实验

①定位航行实验: 连续 7 天分别对 8 组小鼠进行入水训练和测试, 每天训练 4 次, 确保 4 个象限每天用 1 次。每天固定时间训练 4 次, 每次训练间隔 3 min。训练时间设置为 60 s, 60 s 内小鼠未找到站台, 则由实验人员将其引导至站台, 并在站台上停留 10 s, 逃避潜伏期记为 60 s。

②空间探索实验: 实验时间为 1 天, 撤去隐蔽平台, 从第一象限入水点将小鼠放入水中, 测试 60 s 小鼠在恒温池中在目标象限停留时间以及穿越目标(原平台位置)的次数。

7.2.3.5 悬尾实验

给药第 16 天, 用医用胶布将小鼠尾(在距尾尖 1 cm 处)粘在工作台桌面上使其呈倒立状态, 小鼠为了克服不正常体位而挣扎活动, 但活动一段时间后出现间隙性静止, 即显示失望状态。适应 1 min 后, 记录 5 min 内小鼠的累计不动时间。(小鼠停止挣扎或静止为不动状态)。

7.2.3.6 强迫游泳实验

给药第 16 天, 将小鼠置于水温 20~25℃, 水深 10 cm 的游泳水槽中, 强迫游泳 6 min, 观察并记录后 4 min 内小鼠静止时间。当小鼠呈漂浮状态停止挣扎时记录游泳不动时间。

7.2.4 买朱尼努加小鼠血清中细胞因子变化影响

7.2.4.1 血清取样

实验结束后, 小鼠采用眼眶取血的方法收集各组小鼠外周血, 每组 5 只, 4℃放置过夜使其平衡; 再 4℃, 1000 rpm 离心 10 min, 取上清即为血清样品。

7.2.4.2 指标及检测方法

用 Elisa 方法检测小鼠血清中 5-HT、DA、BDNF、IL-10 含量, 具体步骤如下。

(1) 包被抗体: 把捕获抗体(一抗)用 PBS 溶液稀释到其工作浓度后, 在 96 孔板中每孔加入 100 μ L, 在 4℃冰箱静置过夜;

(2) 洗涤: 弃去孔内包被完成的抗液体, 加入 300 μ L 含 0.25%吐温的 PBS 缓冲液(即洗涤液), 静置 1 min 后弃去; 将 96 孔板倒置于吸水纸上, 用力拍干, 重复洗

3次;

(3) 封闭抗体: 配制 1%牛血清白蛋白, 即为封闭液。上一步 96 孔板中每孔加入 300 μL 的封闭液, 在 37°C 温育 1 h 后, 弃去液体。同上一步进行洗涤, 重复 3 次;

(4) 加入样品: 将稀释成浓度梯度的标准品和经过适量稀释倍数的待测样品, 各 100 μL /孔的量加入到 Elisa 板中, 设置三个重复孔; 37°C 孵育 2 h 后弃去; 同上方法洗涤 3 次, 拍干;

(5) 加入二抗: 每孔加入 100 μL 的按照说明书稀释度稀释好的检测抗体 (二抗 IgG), 37°C 孵育 2 h 后弃去孔内液体, 同上洗涤, 重复 3 次, 拍干;

(6) 加 HRP: 将按照 1:40 稀释好后的 HRP, 每孔 100 μL 加入到 Elisa 板中, 37°C 孵育 30 min 后弃去孔内液体, 用洗涤液洗涤 3 次, 拍干;

(7) 显色: 配制 TMB 显色底物溶液, 需要现配现用; 每孔 100 μL 加入到 Elisa 板中, 37°C 孵育 20 min, 时间可以标准品颜色适当加减;

(8) 终止显色反应: 在反应孔中加入 2 M 硫酸终止液, 每孔加入 50 μL 来终止显色反应;

(9) 测定 OD 值: 酶标仪读取 450 nm 时的 OD 值, 以标准品浓度对 OD 值做标准曲线, 并计算各个样品的浓度。

7.2.5 小鼠海马区 HE 染色

7.2.5.1 海马区取样

小鼠脱颈处死, 取小鼠完整脑组织放入提前备好的 10% 甲醛溶液中固定, 备用, 每组 3 只。

7.2.5.2 组织切片及染色

将固定的脑组织取合适大小组织块, 依次浸入 50%、80%、90% 乙醇各 15 min, 100% I、100% II、二甲苯 I、二甲苯 II 各 5 min 进行脱水及透明; 再入蜡缸 I、II 分别各浸蜡 2 h 后, 将组织用蜡液包埋制成蜡块。蜡块冷凝后放入 -20°C 冰箱 30 min 后可以开始切片。以厚度为 8 μm 用组织切片机切片。将切好的组织在温水中展开, 贴于载玻片上, 置于 65-70°C 烘箱烤片 60 min。依次浸入二甲苯 I、II 各 5 min, 浸入 100%、90%、80%、70% 乙醇及蒸馏水中各 2 min 进行脱蜡。

将处理好的切片浸入苏木精染液内染色 5 min, 蒸馏水洗去浮色, 用 1% 盐酸乙醇溶液分化透明返蓝 1 min, 自来水浸洗 3 min, 浸入伊红溶液 1 min, 蒸馏水浸洗, 然后快速脱水 75%、80%、90%、100% 各 2-3 s、100% 乙醇、二甲苯 I、二甲苯 II 溶液中各 1 min, 待晾干后, 用中性树胶封片, 置于显微镜下观察拍照。

7.3 实验结果

7.3.1 买朱尼努加对小鼠 CUMS 模型体重影响

小鼠体重改变的结果见表 7-2 和图 7-2，造模前各组小鼠的体重无显著性差异 ($P > 0.05$)。造模后，与正常组比较，造模组小鼠的体重均明显下降。给药 16 天后，与模型组比较，正常组、阳性组体重明显上升，买朱尼努加给药组体重无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 7-2 买朱尼努加对 CUMS 小鼠体重影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 7-2 Maizhuninujia added weight impact on the CUMS mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	造模前	给药前	给药后
正常组	19.82±0.51	23.21±2.78	25.23±3.78
模型组	19.54±1.12	21.38±2.76	22.98±3.52
阳性组	20.25±1.26	21.67±2.75	24.86±2.66
低剂量	20.45±1.27	21.63±1.95	20.59±2.52
中剂量	20.34±0.91	21.86±1.49	22.61±2.29
高剂量	20.78±1.10	21.82±2.74	21.94±3.17

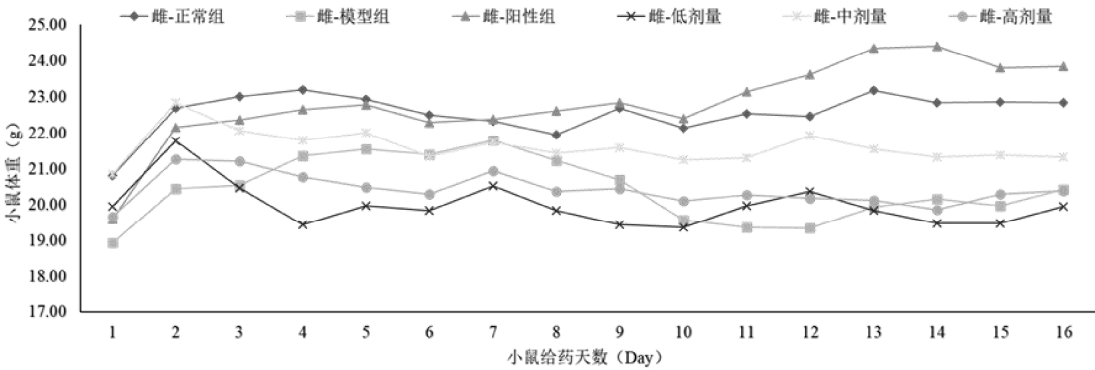


图 7-2 买朱尼努加对小鼠 CUMS 模型体重影响

Figure 7-2 Effect of Maizhuninujia on body weight of CUMS mice

7.3.2 买朱尼努加对小鼠糖水偏好影响

糖水偏好实验是考察小鼠在造模前后及给药后三个时期 (0、21、37 天) 对 1% 糖水偏好程度，结果从表 7-3 可得，造模前各组小鼠的糖水偏好度无显著性差异 ($P > 0.05$)，造模 21 天后，与正常组比较，造模组小鼠糖水偏好百分比均降低 ($P < 0.05$)，其中买朱尼努加高剂量组小鼠糖水偏好度明显下降 ($P < 0.01$)，提示造模成

功, 分组合理; 给药 16 天后, 与正常组比, 模型组糖水偏好百分比显著降低 ($P < 0.01$), 与模型组比较, 阳性对照组、买朱尼努加低、中、高剂量组糖水偏好度均明显提高。组内与造模后比较, 阳性组、买朱尼努加高剂量组糖水偏好度显著提高 ($P < 0.05$), 模型组小鼠的糖水偏好度明显降低 ($P < 0.01$)。结果表明, 买朱尼努加能够通过改善抑郁小鼠糖水偏好来起到抗抑郁的作用。

表 7-3 买朱尼努加对 CUMS 小鼠糖水偏好影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 7-3 Maizhuninujia preference of mice CUMS sugar water ($\bar{x} \pm s$)

组别	造模前	造模后	给药后
正常组	69.19 $\pm$ 1.01	79.83 $\pm$ 5.06	74.66 $\pm$ 7.79
模型组	67.74 $\pm$ 0.84	55.09 $\pm$ 3.30	43.52 $\pm$ 0.18
阳性组	67.52 $\pm$ 4.25	56.35 $\pm$ 8.97	67.42 $\pm$ 8.11
低剂量	65.88 $\pm$ 1.11	59.63 $\pm$ 6.18	61.59 $\pm$ 4.81
中剂量	66.84 $\pm$ 6.70	60.54 $\pm$ 1.59	68.55 $\pm$ 0.29
高剂量	68.92 $\pm$ 0.73	52.39 $\pm$ 1.64	66.96 $\pm$ 6.83

7.3.3 买朱尼努加对 CUMS 小鼠抑郁样行为影响

买朱尼努加对 CUMS 小鼠抑郁样行为影响指标包括旷场试验 (小鼠移动距离, 小鼠直立次数)、悬尾试验 (小鼠静止不动时间)、强迫游泳实验 (小鼠静止不动时间)。给药 16 天后, 与正常组比较, 模型组小鼠的移动距离与直立次数明显降低 ($P < 0.05$), 悬尾静止时间和强迫游泳不动时间较正常组显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 阳性组及低、中、高剂量组小鼠移动距离与直立次数均增多, 小鼠的悬尾不动时间和强迫游泳不动时间与模型组相比均降低 ($P < 0.05$), 其中买朱尼努中、高剂量组移动距离与直立次数明显增加 ($P < 0.01$), 悬尾不动时间与强迫游泳不动时间明显减少 ($P < 0.01$), 提示买朱尼努加中、高剂量组具有一定抗抑郁效果。

表 7-4 买朱尼努加对 CUMS 小鼠抑郁样行为影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 7-4 Maizhuninujia sample and depression on the CUMS mice behavior influe ($\bar{x} \pm s$)

组别	旷场移动距离/S	旷场直立次数	悬尾静止时间/S	强迫游泳不动时间/S
正常组	34.88 $\pm$ 15.89	5.38 $\pm$ 2.72	59.13 $\pm$ 28.44	44.00 $\pm$ 11.07
模型组	20.75 $\pm$ 16.77	2.25 $\pm$ 2.82	125.75 $\pm$ 11.46	82.63 $\pm$ 20.36
阳性组	29.90 $\pm$ 22.43	3.6 $\pm$ 2.50	65.44 $\pm$ 20.91	62.70 $\pm$ 40.71
低剂量	25.45 $\pm$ 20.86	3.63 $\pm$ 2.20	106.63 $\pm$ 31.12	68.63 $\pm$ 32.24
中剂量	27.60 $\pm$ 17.06	5.80 $\pm$ 4.24	92.70 $\pm$ 11.80	48.20 $\pm$ 17.10
高剂量	40.88 $\pm$ 14.51	6.00 $\pm$ 2.41	93.45 $\pm$ 27.25	51.64 $\pm$ 19.27

7.3.4 买朱尼努加对 CUMS 小鼠空间学习记忆能力的影响

与正常组比较, 模型组小鼠逃避潜伏期时间, 穿越平台次数增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 阳性组, 买朱尼努加低、中、高剂量组逃避潜伏期均有不同程度缩短,

其中买朱尼努加高剂量显著降低 ($P<0.01$), 穿越平台次数无显著性差异 ($P>0.05$), 见表 7-5。

表 7-5 买朱尼努加对 CUMS 小鼠空间学习记忆能力的影响 ($\bar{x}\pm s$)
Table 7-5 Maizhuninujia add to the effects of CUMS spatial learning and memory ability of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	逃避潜伏时间/S	穿越平台次数/次
正常组	10.44±2.12	6.50±1.93
模型组	16.47±7.91	4.75±2.71
阳性组	13.65±3.96	4.70±2.50
低剂量	14.00±7.01	4.90±3.18
中剂量	12.25±6.65	2.70±1.42
高剂量	8.77±1.15	5.28±2.76

7.3.5 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中单胺类递质影响

如图 7-3 所示, 与正常组相比, 模型组小鼠血清中 5-HT 含量显著降低 ($P<0.05$), DA 含量无显著性差异 ($P>0.05$), 与模型组相比, 买朱尼努加高剂量组小鼠血清中 5-HT 含量升高 ($P<0.05$); 阳性对照组、买朱尼努加中剂量组, 高剂量组均显著提高小鼠血清中 DA 含量 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

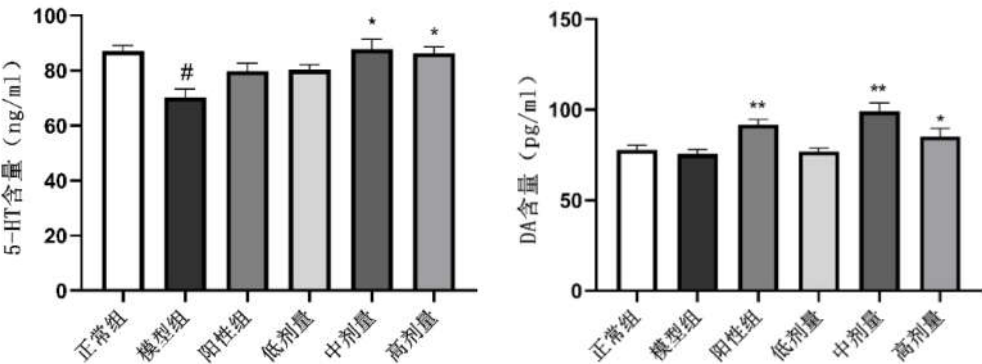


图 7-3 小鼠血清中单胺类递质含量 (左: 5-HT, 右: DA)
Figure 7-3 Contents of monoamine transmitters in serum of mice (left: 5-HT, right: DA)
注: 与空白组比较, # $P<0.05$; 与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: Compared with blank group, # $P<0.05$; Compared with model group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

7.3.6 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中 BDNF 影响

小鼠血清中 BDNF 含量结果如图 7-4 所示, 与正常组比, 模型组小鼠血清中 BDNF 含量显著降低 ($P<0.01$), 与模型组相比, 阳性组及买朱尼努加低、中、高剂量组显著提高了小鼠血中 BDNF 含量 ($P<0.05$, $P<0.01$ 或 $P<0.001$)。

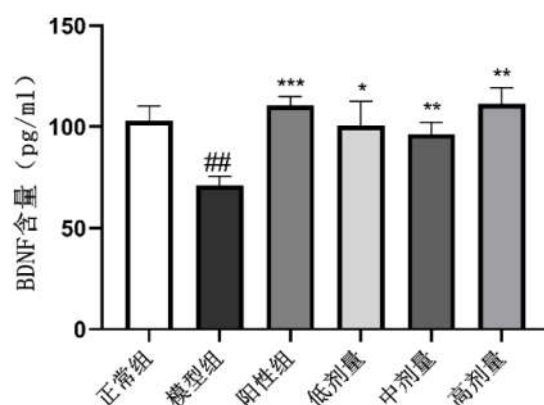


图 7-4 药物对小鼠血清中 BDNF 含量的影响

Figure 7-4 Effects of drugs on serum BDNF content in mice

注：与空白组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，*** $P < 0.001$

Note: Compared with blank group, ## $P < 0.01$; Compared with the model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

7.3.7 买朱尼努加对 CUMS 小鼠血清中 IL-10 影响

小鼠血清中炎症因子 IL-10 含量结果如图 7-5 所示，小鼠血清中炎症因子结果组间差异不明显，各组间无统计学意义。

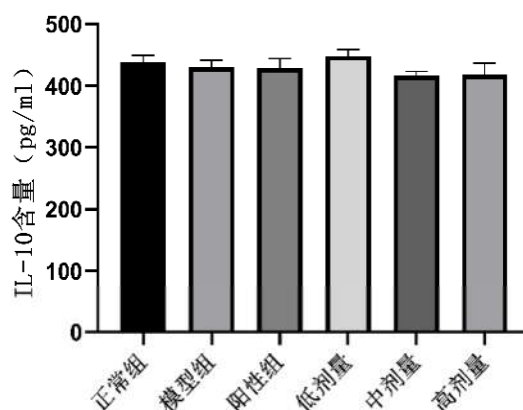


图 7-5 小鼠血清中 IL-10 含量

Figure 7-5 Serum IL-10 content in mice

7.3.8 买朱尼努加对 CUMS 小鼠海马组织形态结构的影响

HE 染色结果见图 7-6，通过观察发现，正常组海马区细胞排列整齐、细胞结构清晰、细胞核形态正常。模型组小鼠海马区损伤严重、细胞核固化萎缩并深染。与模型组相比，买朱尼努加低、中、高剂量组和阳性组受损的神经元均不同程度的减少，

且买朱尼努加高剂量组染色结果接近于正常组。可见买朱尼努加能够有效保护海马区神经元，减轻 CUMS 导致的神经细胞损伤坏死。

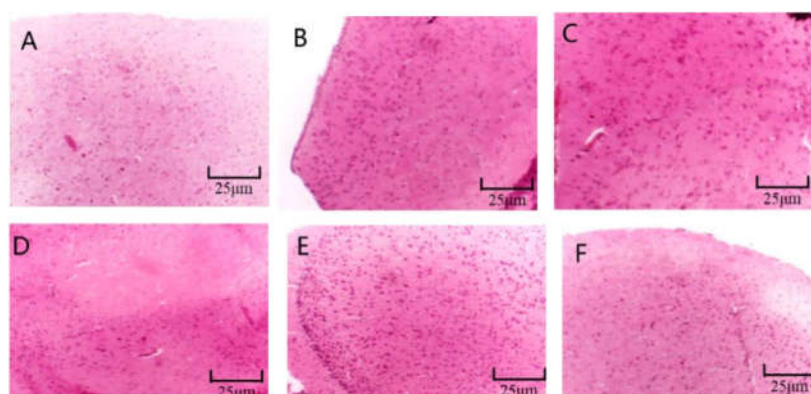


图 7-6 小鼠海马区域 HE 染色结果($\times 40$)

Figure 7-6 Results of HE staining in the hippocampus of mice ($\times 40$)

注：A:正常组 B:模型组 C:阳性组 D:买朱尼努加低剂量组 E:买朱尼努加中剂量组 F:买朱尼努加高剂量组

Note: A: Normal group B: model group C: positive group D: Maizhuninujia low-dose group

E: Maizhuninujia medium-dose group F: Maizhuninujia high-dose group

7.4 讨论与结果

CUMS 抑郁症病理模型可以模拟人类在日常生活中所遭受的长期慢性低强度应激导致产生的抑郁症，是抑郁症动物模型常用造模方法，实验通过 CUMS 造模发现，随着造模时间延长，小鼠抑郁样行为逐渐加重，表现出来快感缺失、体重减轻以及行为活动减少等表现，可对应于抑郁症的兴趣或快感丧失、消瘦和精神运动改变。实验对 CUMS 抑郁小鼠实施了 21 天的轻度应激刺激并加以观察，造模 21 天后，造模组小鼠糖水偏好度均下降，其中买朱尼努加高剂量组小鼠糖水偏好度明显下降，提示造模成功，分组合理；连续给药 16 天后，买朱尼努加低、中、高剂量组小鼠的糖水偏好度均明显提高；模型组在未给药干预情况下，小鼠状态、体重、糖水偏好持续降低；买朱尼努加中、高剂量组小鼠移动距离，直立次数均明显增加；悬尾不动时间与强迫游泳不动时间明显减少；同时买朱尼努加高剂量组逃避潜伏期明显降低，均提示买朱尼努加中、高剂量组具有一定抗抑郁效果。

实验在细胞因子水平检测指标选择时，考虑现行抑郁症三大假说，即单胺类神经递质假说，炎症因子假说，神经细胞可塑性及神经营养因子假说，选择指标 5-HT、DA、IL-10、BDNF 均与抑郁症的研究密不可分，买朱尼努加中、高剂量组可以显著提高 CUMS 小鼠血清中 5-HT、DA、BDNF 含量，提示其抗抑郁作用与调节单胺类神经递质含量，神经营养因子有关。而在对小鼠血清中炎症因子 IL-10 含量进行测量

和分析时,发现小鼠血清炎症因子结果差异不明显,无差异无统计学意义,说明买朱尼努加对于 CUMS 小鼠体内炎症因子 IL-10 的作用不明显。

HE 染色结果显示,买朱尼努加低、中、高剂量组可减少神经元不同程度受损,且买朱尼努加高剂量组染色结果接近于正常组。可见买朱尼努加能够有效保护海马区神经元,减轻 CUMS 导致的神经细胞损伤坏死。

第8章 总结

本文通过对西青果、余甘子、薰衣草、菟丝草、水龙骨五味药材共 64 批次进行质量研究与提升, 其中 61 批次药材符合 2020 版《中国药典》与 2020 年版《新疆维吾尔自治区中药维吾尔药饮片炮制规范》项下规定, 一批次余甘子没食子酸含量不符, 两批次薰衣草酸不溶性灰分不符合要求, 实验对缺少含量检查的 4 味药材新建 HPLC 检测方法并进行方法学验证, 西青果提升成分为诃黎勒酸, 鞣花酸、薰衣草提升成分为迷迭香酸、菟丝草提升成分为金丝桃苷、水龙骨提升成分为鞣花酸、并对西青果建立指纹图谱方法, 方法学均符合药典规定, 为后续制剂的质量一致性研究提供安全保障; 参照维医古籍与实验室前期工艺, 对余甘子炮制工艺进行优化, 确定牛奶料液比为 1:15, 炮制后采取低温烘干 24 h, 节约炮制成本缩短炮制周期, 并对进行西青果、余甘子及炮制用辅料牛奶进行十批次质量标准研究, 为后续炮制品质量标准建立提供数据支撑; 实验根据药材粉碎特性、买朱尼努加各药材入药部位不同、粉碎时间与出粉率, 通过单独粉碎、部分粉碎、全方粉碎确定中间体粉碎工艺为全方粉碎, 同时考察不同混合时间对中间体粉末均一性的影响, 确定中间体混合工艺为高效混合机混合 45 min 为混合终点; 炼蜜工艺通过单因素试验考察加热温度, 加热时间对产率、相对密度、5-HMF 的影响, 综合评定确定最佳工艺为 80℃加热 30 min; 买朱尼努加蜜膏工艺根据对四种影响因素不同影响范围设计单因素及正交试验, 考察蜜膏均一性, 相对密度, 主控指标含量, 最终选择最佳工艺; 药效学研究, 确定买朱尼努加中、高剂量组对慢性不可预知温和应激小鼠模型具有一定抗抑郁治疗效果, 提高糖水偏好, 改善小鼠抑郁样行为, 其抗抑郁作用与上调单胺类神经递质 5-HT、DA 和神经营养因子 BDNF 的含量有关, 同时可以减轻 CUMS 导致的神经细胞损伤坏死, 对为买朱尼努加质量标准及临床上市参考依据。

由于时间关系, 本课题还有部分实验待完善, 后续将进行 15 批次买朱尼努加质量标准研究; 同时, 实验在药效部分进行了炮制前后蜜膏对人正常肝细胞肝毒性实验, 结果表明: 炮制后蜜膏不具有肝毒性或肝毒性不明显, 生品蜜膏高剂量组存在肝毒性; 实验对体内药效部分需继续开展完善实验, 推进研究, 确认其治疗效果。

参考文献

- [1]刘振,周宁,刘通,等.基于代谢组学的抑郁症研究进展[J].中国病理生理杂志,2020,36(12):2264-2275.
- [2]潘瑾,王塘,高志礼,等.中医经典名方治疗抑郁症的研究进展[J].世界科学技术-中医药现代化,2022,24(07):2809-2816.
- [3]C. C. Liu,Y. F. Wu,G. M. Fenget al. Plasma-metabolite-biomarkers for the therapeutic response in depressed patients by the traditional Chinese medicine formula Xiaoyaosan:A (1)H NMR-based metabolomics approach[J].J Affect Disord,2015,185:156-163.
- [4]余玲,易国忠,夏君玫,等.大学生抑郁症运动处方研究进展[J].体育科技,2021,42(04):22-25.
- [5]周晗昱,李欢欢,周坤,等.抑郁特质大学生的社会适应性及其与情绪调节策略的关系[J].中国临床心理学杂志,2015,23(05):799-803.
- [6]魏宏文.运动抗抑郁作用及其分子机制研究[D].北京体育大学,2009.
- [7]抑郁症成为全世界最常见的疾病[J].世界知识,2017(08):76.
- [8]王娟.郁证和抑郁症中西医结合治疗进展综述[J].中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(27):182-185.
- [9]王颖.炙甘草汤联合常规西医治疗慢性心衰合并抑郁症的临床观察[J].湖南中医药大学学报,2019,39(12):1512-1516.
- [10]许鹏,章程鹏,周童.中医药改善抑郁症发病机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(09):244-250.
- [11]黑茂芳.慢性温和应激致郁对小鼠海马突触可塑性的影响研究[D].西北农林科技大学,2019.
- [12]许鹏,章程鹏,周童.中医药改善抑郁症发病机制的研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(09):244-250.
- [13]李艳,刘琼,黄萱,等.芦丁对慢性脑低灌注大鼠海马组织神经元损伤及RhoA/ROCK信号通路的影响[J].天津医药,2022,50(12):1270-1276.
- [14]王惠芹,王真真,林美好,等.抑郁症发病与神经营养因子异常研究进展[J].中国药理学通报,2020,36(10):1333-1337.
- [15]R. S. Duman,L. M. Monteggia. A neurotrophic model for stress-related mood disorders[J]. BiolPsychiatry,2006,59(12):1116-1127.
- [16]刘雨涵,王婕.抑郁症发病机制及5-羟色胺再摄取抑制药治疗研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(26):84-86.

- [17]P. A. Zunszain, C. Anacker, A. Cattaneo et al. Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2011,35(3):722-729.
- [18]尹一淑,刘军莲,王佳平,等.抑郁症相关发病机制研究进展[J].*医学综述*,2022,28(12):2368-2372.
- [19]K. Cherian,A. F. Schatzberg, J. Keller. HPA axis in psychotic major depression and schizophrenia spectrum disorders: Cortisol, clinical symptomatology, and cognition[J]. *Schizophr Res*,2019,213:72-79.
- [20]徐永君,盛慧,倪鑫.抑郁症发病机制研究进展[J].*安徽医科大学学报*,2012,47(03):323-326.
- [21]刘至阳,苏文君,严雯婕,等.抑郁症炎症机制研究进展[J].*临床军医杂志*,2020,48(12):1513-1516.
- [22]瞿旖妮.抗抑郁中药复方研究进展[J].*中医临床研究*,2017,9(23):140-142.
- [23]陈宝忠,王璐,刘春秋,等.归脾汤对抑郁模型大鼠脑内5-HT及NE含量的影响[J].*中医药信息*,2014,31(05):14-15.
- [24]刘勤,张兰.中药对抑郁症模型动物作用的研究近况[J].*国际中医中药杂志*,2010(06):553-554.
- [25]杨丹,翟双庆.从针灸治疗抑郁症考察经脉与神志关系[J].*中国针灸*,2013,33(04):317-320.
- [26]何世明,乐瑞,杨栋彪.调任通督针法联合解郁安神汤治疗失眠的效果观察及其对患者血清5-羟色胺和多巴胺水平的影响[J].*内科*,2022,17(05):570-573.
- [27]姚媛,周艺,周婷婷.抑郁症致病机制及中药治疗抑郁症的机制研究[J].*药学实践杂志*,2018,36(03):193-197.
- [28]Y. L. Ye,K. Zhong,D. D. Liuet al. Huanglian-Jie-Du-Tang Extract Ameliorates Depression-Like Behaviors through BDNF-TrkB-CREB Pathway in Rats with Chronic Unpredictable Stress[J].*Evid Based Complement Alternat Med*,2017,2017:7903918.
- [29]Juan-Juan Qiu, Zhe Liu,Peng Zhao et al. Gut microbial diversity analysis using Illumina sequencing for functional dyspepsia with liver depression-spleen deficiency syndrome and the interventional Xiaoyaosan in a rat model[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2017,23(05):810-816.
- [30]M. Koesters, G. Ostuzzi, G. Guaiana et al. Vortioxetine for depression in adults[J]. *Cochrane Database Syst Rev*,2017,7(7):D11520.
- [31]V. Caiaffo, B. D. Oliveira, F. B. de Sa et al. Anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant activity of fluoxetine[J]. *Pharmacol Res Perspect*,2016,4(3):e231.
- [32]R. ElMazoudy, K. El-Abd, D. Mekawy et al. Developmental effects on hypothalamic, hypophyseal, testicular and steroidogenic patterns of sertraline-exposed male rats by accumulated doses from juvenile to puberty[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020,188:109840.

- [33]王琳,张兴军,金黎明,等.抗抑郁药物的研究进展[J].化学世界,2022,63(02):83-93.
- [34]薛瑞,徐晓丹,李诺敏,等.度洛西汀抗抑郁活性评价及毒性研究[J].中国药理学通报,2010,26(11):1471-1475.
- [35]Y. Yang,Y. Cui,K. Sanget al. Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression[J]. Nature,2018,554(7692):317-322.
- [36]L. A. Dawson. The discovery and development of vilazodone for the treatment of depression: a novel antidepressant or simply another SSRI[J]. Expert Opin Drug Discov,2013,8(12):1529-1539.
- [37]王婷,孙静莹,王云,等.近10年天然药物抗抑郁研究进展[J].广东药科大学学报,2019,35(06):853-857.
- [38]翟俊乐,田欢,李孟秋等.黄花菜抗抑郁作用有效成分的筛选[J].中国食品添加剂,2015,(10):93-97.
- [39]刘长虹.雌激素介导的甜菜碱抗抑郁作用的研究[D].东北师范大学, 2016.
- [40]龚林,邱彦,刘静等.知母总皂苷对血管性抑郁小鼠抑郁行为和脑组织病理学的影响[J].中国药物应用与监测,2017,14(02):88-92.
- [41]孙婷婷.肉豆蔻挥发油抗抑郁作用及机制研究[D].河南中医学院, 2014.
- [42]李雨瞳,蔡定芳.抑郁症发病机制及其中医药治疗研究进展[J].医学理论与实践,2018,31(15):2234-2235.
- [43]朱爱华,杨承芝,余冬雨.浅述抑郁症(郁证)之肝阳虚[J].中医药通报,2017,16(02):28-30.
- [44]维妮拉·乌斯曼.异常黑胆质成熟剂对抑郁模型大鼠海马G蛋白和NRG1/ErbB4信号通路的影响[D].新疆医科大学, 2016.
- [45]麦提喀斯木·尼扎木丁Matqasim.Nizamidin.维药异常黑胆质成熟剂抗抑郁症作用的血浆和尿液代谢组学研究[D].新疆医科大学, 2016.
- [46]阿衣努尔·热合曼,安尼瓦尔·托呼提,伊力亚尔·木太里甫.维吾尔药异常黑胆质成熟剂和清除剂研究进展[J].科技视界,2014,119(32):30-46.
- [47]骆航.常用中药材与饮片混淆使用与误用情况浅析[J].甘肃中医药大学学报,2021,38(03):46-50.
- [48]梁飞.道地药材考[D].北京中医药大学,2013.
- [49]杨清杰.不同中药炮制方法对中药饮片临床疗效的影响[J].临床合理用药杂志,2022,15(01):135-137.
- [50]丁洋.维药传统炮制技艺:与现代化技术的较量[J].中医健康养生,2016,18(06):9-10.
- [51]刘霞,阿依提拉·吾甫尔,胡慧华.维药常用炮制方法概述[M].中华中医药学会中药炮制分会2011年学术年会论文集,[出版者不详],2011:5.
- [52]闫晓哲.中药炮制方法对中药饮片临床疗效的影响[J].深圳中西医结合杂志,2020,30(18):52-53.
- [53]王丽,张洪亮,朱耀东,等.浅谈马钱子在新疆的临床应用及其研究现状[J].新疆中

医药,2021,39(01):64-68.

[54]王桂玲,顾政一,贺金华,等.通阻合牙日仙拜尔颗粒巴旦仁油萃取及包合工艺研究[J].时珍国医国药,2013,24(08):1918-1920.

[55]李颖,易晓华,李庆典.新疆巴旦姆种仁高级脂肪酸与氨基酸营养评价[J].中国食品学报,2004,(04):67-73.

[56]王淑慧,程锦堂,郭丛,崔文金,石佳,刘安.余甘子化学成分研究[J].中草药,2019,50(20):4873-4878.

[57]陈晨,孙竞,傅鹤秀,等.没食子酸对线粒体氧化应激损伤的保护作用[J].国际药学研究杂志,2018,45(05):353-359.

[58]秦劭晨,王爱梅,万晓波.没食子酸对6-羟基多巴诱导帕金森模型大鼠的抗氧化作用机制研究[J].中药药理与临床,2020,36(06):86-90.

[59]郑晓媛,余志杰,王璇,等.何首乌主要成分的肝毒性及其对药物代谢酶的影响[J].中国药房,2021,32(21):2619-2623.

[60]王晨晓.基于高内涵分析技术的绒毛诃子肝毒性及毒性物质研究[D].北京中医药大学,2020.

[61]王晨晓,王志斌,马贝贝,等.用高内涵分析技术初探绒毛诃子肝毒性物质基础[J].中国药理学通报,2020,36(05):716-721.

[62]喻文丽,李佩琪,秦新政,等.不同粉碎工艺对天山雪耳营养成分溶出率及化学成分的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(18):122-127.

[63]胡慧芬.姜厚朴均匀化饮片的工艺研究[D].湖北中医药大学,2015.

[64]蛋鸡饲料的最佳粉碎粒度[J].家禽科学,2018,No.287(09):7.

[65]王红英,陈计远,金楠,等.饲料粉碎工艺高效利用技术研究[J].饲料工业,2020,41(13):1-8.

[66]希尔艾力·吐尔逊,吐鲁洪·卡地尔,斯拉甫·艾白,祖里皮亚·塔来提.维药蜜膏剂蜂蜜炼蜜工艺前后5-羟甲基糠醛的含量变化研究[J].时珍国医国药,2010,21(10):2514-2516.

[67]阿依夏木古丽·吐尔迪.关于维药蜜膏制剂的生产过程所遇到的问题及其处理[J].中国民族医药杂志,2012,18(03):30-31.

[68]李建梅,窦勤,希尔艾力·吐尔逊.维吾尔药艾克热布蜜膏与散剂溶出度比较[J].中国医药导报,2016,13(15):142-145.

[69]陈菲,敬思群,张俊艳,等.油莎草须根油树脂成分及抗抑郁作用分析[J].天然产物研究与开发,2023,35(04):612-621.

[70]吕霞,黄丽,张美琳,等.氟西汀调节TLR4/NF- κ B/NLRP3炎症体信号通路改善CUMS大鼠抑郁样行为[J].天津医药,2023,51(02):160-165.

致谢

心中千言，笔下寥寥。二十年求学路仿佛还历历在目，在家乡念完高中，到离家六小时的城市去念专科，再到离家八小时的城市去念本科，然后就是现在，在距离家乡 2400 公里的地方，对我的学生时代画上一个句号。

很幸运来到新疆渡过我的研究生三年，在石河子大学进行课程学习的时间虽短暂但也充实，孜孜不倦的老师，善良可爱的同学，美丽幽静的校园，一直印在我的心里！让初来外地的我，很快适应这个新环境，在此衷心向学习及生活上给予帮助的老师 and 同学感谢，也祝石河子大学越来越好！

不同于以往一直学校学习，在华世丹药物研究所实验的两年时间，更像是学校与社会间的象牙塔，让我有底气更好的面对接下来的生活；在这里首先最先感谢我的导师马芹老师，在您身边我学习到了很多，在科研上帮我整理思绪，在生活中教导做事要有严谨态度，在我犯错误时耐心指出问题并提供解决思路，特别感谢您在硕士课题上的悉心教导，耐心讲解；其次是要感谢课题组大师兄陈伟老师对我学业及生活上的帮助与关心，教会我很多实验方法，每次遇见困难找师兄总能迎刃而解；也要感谢所有老师、同事、同门的耐心与善意！这里良好的实验条件及浓厚的学习氛围都在激励着我不断进步，也提高了我在日后学习及工作中的能力。

最后还要感谢我的家人在我求学路中给予我的肯定及最无私的爱，他们可能不懂，但是总是无条件支持我的任何选择，也是这份爱，让我坚定的选择继续学习；同时也要感谢我的好朋友们，可乐、田旦、奶茶、孟姐、还有很多朋友，与她们分享生活里的趣事与压力，是我对抗焦虑最好的方法。

人生之路还很长，我要去经历更有趣的事情，遇见更难忘的人啦。

作者简介

王楠，女，生于1997年4月，籍贯陕西。2020年毕业于陕西国际商贸学院中药学专业，获理学学士学位。2020年9月起以专业型硕士研究生的身份，就读于石河子大学药学院药学专业，研究方向为药物制备与质量控制。实习实践单位为新疆华世丹药物研究有限责任公司，在这里度过了2年，主要研究内容有药材质量检查与标准提升、炮制工艺研究、蜜膏剂制备等。

在学期间主要参与的研究项目

1. 参与重点领域科技攻关计划项目《养脑诃子膏物质基准研究》（2021SFGC02）的研究工作。
2. 参与十四五重大科技专项《“阿胶强骨口服液”等特色大品种培育及中药民族药新药创制研究》（202203107）的研究工作。
3. 参与地州科学基金《基于NCX1-IP3- $[Ca^{2+}]_i$ 钙离子信号通路的甜巴旦仁提取物治疗儿童急性呼吸道炎症作用机制研究》（2022D01F49）的研究工作。

在学期间发表的文章

王楠，陈伟，马芹。《民族药西青果的质量标准提升和指纹图谱建立》（修稿）

在校期间获得的奖励

2020-2021 学年：石河子大学三等学业奖学金

石河子大学硕士研究生学位论文

导师评阅表

研究生姓名	王楠	学制	3 年制
专业	药学	研究方向	药物制备及质量控制

学术评语：

该生在硕士研究生阶段，思想上要求上进，认真学习，努力钻研专业知识，回顾三年来的学习、工作以及生活，做总结如下：硕士研究生王楠在学习阶段，思想上积极要求上进，在思想觉悟上始终严格要求自己，主动学习党中央的政策路线，时刻关注国际、国内要闻，积极向上，不断自我提高。同时掌握了坚实的基础理论知识和系统的专业知识，具有较强的科研创新能力，业务水平较高，在专业课程学习上，认真学习了药学专业核心课程，所选课程全部达到毕业要求。在科研实践中，广泛阅读有关博士、硕士论文和大量的外文文献，实践动手能力比较强，参与了导师多项课题的研究。

在论文撰写中所引用的资料真实可靠、研究方法正确、所得数据详实、写作规范符合要求、文章结构逻辑性强，已按学院格式要求完成修改，达到了学位论文的要求。

望其在以后的工作和学习中，将继续保持并发扬严谨治学的习惯，兢兢业业，取得更大进步。

指导教师签字: 
2023年5月18日