

中图分类号: R94 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)22-0055-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.22.012



$L_{18}(3^4)$ 正交试验法优选健脾益气膏提取工艺*

张淑玲¹, 刘文文¹, 孟令军¹, 陈煜静¹, 冯童童¹, 汪亚娅^{1,2Δ}

(1. 北京中医药大学孙思邈医院, 陕西 铜川 727031; 2. 北京中医药大学第一临床医学院, 北京 100029)

摘要:目的 优选健脾益气膏提取工艺。方法 以浸泡时间、煎煮次数、煎煮时间、加水倍数为考察因素,以干膏得率和枸橼酸含量的综合评分为评价指标,采用 $L_{18}(3^4)$ 正交试验法优选健脾益气膏的提取工艺,并验证。结果 最优提取工艺为,浸泡时间为4 h,加9.34倍量水,煎煮3次,每次60 min。验证试验中,6批样品的枸橼酸平均含量为0.249 mg/mL, RSD为0.68%;平均干膏得率为33.63%, RSD为0.04%($n=6$)。结论 优选的提取工艺合理、稳定,可为健脾益气膏的制备提供参考。

关键词:健脾益气膏;提取工艺;枸橼酸;干膏得率; $L_{18}(3^4)$ 正交试验法

Optimization of Extraction Process of Jianpi Yiqi Ointment by $L_{18}(3^4)$ Orthogonal Test

ZHANG Shuling¹, LIU Wenwen¹, MENG Lingjun¹, CHEN Yujing¹, FENG Tongtong¹, WANG Yaya^{1,2}

(1. Sun Simiao Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Tongchuan, Shaanxi, China 727031; 2. The First School of Clinical Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, China 100029)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of Jianpi Yiqi Ointment. **Methods** The extraction process of Jianpi Yiqi Ointment was optimized by the $L_{18}(3^4)$ orthogonal test with the soaking time, decoction frequency, decoction time, and water addition amount as the investigation factors, and with the comprehensive score of yield of dry extract and citric acid content as the evaluation indicator. Then, the verification test was conducted. **Results** The optimal extraction process was to soak for 4 h, add 9.34 times the amount of water, decoct three times, each time for 60 min. In the verification test, the average content of citric acid

*基金项目:陕西省中医药管理局科研项目[SZY-NLTL-2022-030]。

第一作者:张淑玲,女,硕士研究生,副主任药师,研究方向为中药临床应用,(电子信箱)815410896@qq.com。

Δ通信作者:汪亚娅,女,在读博士研究生,工程师,研究方向为中药临床应用、中西医结合防治甲状腺疾病基础理论,(电子信箱)1002074368@qq.com。

- (2010-03-03)[2023-12-06]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s3590/201810/6103f922f61440d1b48ba1571b6b6b72.shtml>.
- [8] 吴艺燕,李彦萍. 某院门急诊麻醉药品不合理处方帕累托图分析[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(15): 164-167.
- [9] 杨仁智,黄国强,羊才进. 双黄连颗粒联合孟鲁司特钠和常规治疗对支原体肺炎患者的临床疗效[J]. 中成药, 2020, 42(10): 2631-2634.
- [10] 杨芳,刘兰彬,苏丹. 双黄连颗粒对大鼠肺炎支原体肺炎模型中TNF- α 、IL-6和NF- κ B的影响[J]. 儿科药理学杂志, 2020, 26(9): 4-7.
- [11] 曹博雅,陈家黎,石晓溪,等. 复方丹参滴丸调控LOX-NF- κ B炎症途径治疗心肌缺血的机制研究[J]. 中草药, 2023, 54(1): 151-159.
- [12] 徐文,陈朝聪,徐文娟. 复方丹参滴丸联合坎地沙坦酯片对老年慢性心力衰竭患者的临床疗效[J]. 中成药, 2023, 45(8): 2797-2800.
- [13] 吕睿婷,马聪,吕睿倩. 糖尿病肾病应用厄贝沙坦联合复方丹参滴丸的疗效分析[J]. 中国现代药物应用, 2023, 17(7): 136-138.
- [14] 国家中医药管理局. 中药处方格式及书写规范[A/OL]. (2010-10-22)[2023-12-06]. <http://www.natcm.gov.cn/yizhengsi/gongzuodongtai/2018-03-24/3056.html>.
- [15] 保琦,胡琳,胡华杰,等. 超说明书用药医疗损害责任纠纷判决与循证证据的相关性分析[J]. 中国药房, 2022, 33(15): 1810-1813.
- [16] 刘畅,李想. 2018年辽宁省肿瘤医院门诊中成药不合理处方分析[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(8): 2530-2533.
- [17] 李哲,罗晓,史丽敏,等. 中成药与西药联合使用的现状、问题及建议[J]. 临床药物治疗杂志, 2015, 13(4): 65-69.
- [18] 李为,刘宇,郭敏,等. 某院处方审核中重复用药假阳性问题的分析及审方系统的改进[J]. 医药导报, 2021, 40(12): 1757-1760.
- [19] 金锐,赵奎君,郭桂明,等. 中成药临床合理用药处方点评北京共识[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(5): 1049-1053.
- [20] 河北省医疗保障局. 河北省基本医疗保险、工伤保险和生育保险药品目录(2021年版)[EB/OL]. (2021-12-31)[2023-12-06]. <http://ylbzj.hebei.gov.cn/content/1836>.
- [21] 廖丽娜,刘玲,陈潞梅,等. 处方前置审核系统在提高中成药临床合理用药中的作用[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(19): 2069-2072.
- [22] 时琳,薛颖,吴剑坤. 处方点评软件在医院中成药点评中的应用情况[J]. 中成药, 2020, 42(10): 2817-2819.

(收稿日期:2023-12-12;修回日期:2024-05-17)

in six batches of samples was 0.249 mg / mL with an *RSD* of 0.68%; the average yield of dry extract was 33.63% with an *RSD* of 0.04% ($n = 6$). **Conclusion** The optimal extraction process is rational and stable, which can provide a reference for the preparation of Jianpi Yiqi Ointment.

Key words: Jianpi Yiqi Ointment; extraction process; citric acid; yield of dry extract; $L_{18}(3^4)$ orthogonal test

膏方又称膏滋、煎膏,是指中药饮片加水煎煮后,经浓缩、收膏等步骤制成的半流体制剂^[1]。健脾益气膏为我院自拟膏方,具有益气养血、健脾醒胃、消食化滞之功效^[2-5],临床用于慢性胃炎、失眠、气虚等症的治疗。膏方提取工艺较繁杂,且无统一的质量标准^[4-5],很难保证成膏的质量和疗效^[6]。本研究中以方中君药焦山楂主要活性成分枸橼酸含量和干膏得率的综合评分为评价指标,以浸泡时间、煎煮次数、煎煮时间、加水倍数为考察因素,采用 $L_{18}(3^4)$ 正交试验法优选健脾益气膏提取工艺。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

华普 S3000 型高效液相色谱仪(华谱科仪 <北京> 科技有限公司); MX-S 型可调式混匀仪(大龙兴创实验仪器 <北京> 股份公司); TG-21 型台式高速离心机(四川蜀科仪器有限公司); LD-UPW-30 型超纯水机(上海砾鼎水处理设备有限公司); D5 型煎药紫砂锅(潮州市潮安区康雅顺电器有限公司); YZN30C 型液体真空浓缩机(北京东华原医疗设备有限责任公司); AUW120D 型微量电子天平(岛津企业管理 <中国> 有限公司,精度为 0.01 mg)。

1.2 试剂

枸橼酸对照品(上海诗丹德标准技术服务有限公司,批号为 13397,含量 100%); 磷酸二氢铵(天津欧博凯化工有限公司,批号为 20211125,含量 $\geq 99.0\%$); 水为一级水(实验室自制)。焦山楂、麸炒白术、陈皮、炙甘草、茯苓、黄芪、党参、丹参、炼蜜、生地黄、熟地黄、麸炒山药,均购自安徽普仁中药饮片有限公司,经北京中医药大学孙思邈医院张淑玲副主任中药师鉴定均为正品。饮片信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 含量测定

2.1.1 色谱条件

色谱柱:恒谱生 USHA C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相:0.5% 磷酸二氢铵水溶液(用磷酸调 pH 至 2.8) - 甲醇(90:10, V/V); 流速:1.0 mL/min; 检测波长:210 nm; 柱温:25 $^{\circ}$ C; 进样量:10 μ L。

2.1.2 溶液制备

取枸橼酸对照品 10.00 g,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,混匀,即得对照品溶液。取样

表 1 饮片信息

Tab. 1 Information of decoction pieces

品名	饮片类型	产地	批号	生产日期	有效期至
焦山楂	厚片	山东	2209022	2022-09-02	2025-08-02
麸炒白术	厚片	安徽	2110112	2021-10-11	2024-09-11
陈皮	丝	浙江	2205183	2022-05-18	2025-04-18
炙甘草	厚片	甘肃	2207281	2022-07-28	2025-06-28
茯苓	块	安徽	2208211	2022-08-21	2025-07-21
黄芪	厚片	甘肃	2202191	2022-02-19	2025-01-19
党参	厚片	甘肃	2208291	2022-08-29	2025-07-29
丹参	厚片	山东	2209051	2022-09-05	2025-08-05
生地黄	块	安徽	2208143	2022-08-14	2025-07-14
熟地黄	块	安徽	2207202	2022-07-20	2025-06-20
麸炒山药	厚片	甘肃	2206072	2022-06-07	2025-05-07

品 5 g, 置 25 mL 容量瓶中,加水定容,混匀,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按健脾益气膏处方及工艺制备缺焦山楂的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

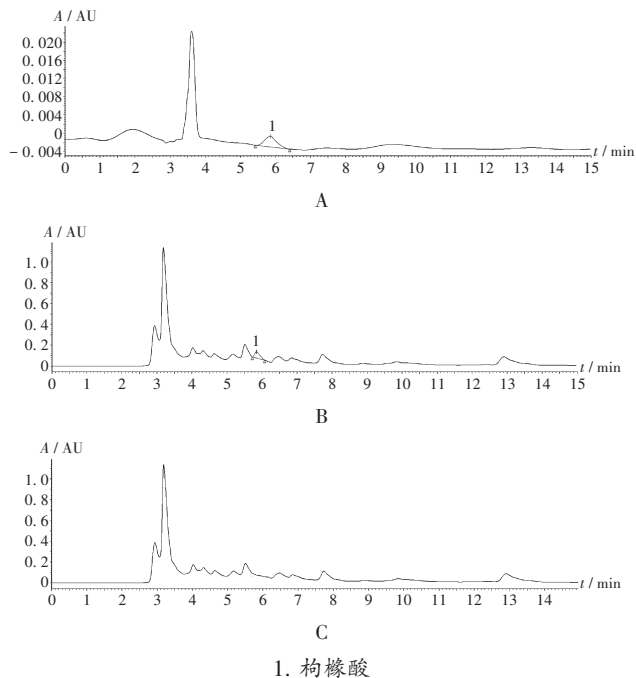
2.1.3 方法学考察

系统适用性试验及专属性考察:精密吸取 2.1.2 项下 3 种溶液各 10 μ L,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液在与对照品溶液色谱中相应位置有吸收峰,各色谱峰分离度大于 1.5,理论板数按枸橼酸峰计应不低于 5 000,阴性对照无干扰。详见图 1。

线性关系考察:精密量取对照品溶液适量,加甲醇制成枸橼酸质量浓度分别为 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50 mg/mL 的系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以枸橼酸质量浓度(X , mg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 693\ 250.0X + 794.984\ 9$ ($R^2 = 0.999\ 6$, $n = 6$)。结果表明,枸橼酸质量浓度在 0.05 ~ 0.50 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取质量浓度为 0.40 mg/mL 的对照品溶液 10 μ L,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果的 *RSD* 为 0.59% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品溶液适量,分别于室温下放置 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 *RSD* 为 1.30% ($n = 6$),表明供试品溶液室温放置 12 h 内基本稳定。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Citric acid

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

Fig. 1 HPLC chromatograms

重复性试验:取样品6份,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果枸橼酸平均含量为0.249 mg/mL, RSD为1.00%(n=6),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量样品6份,分别加入枸橼酸对照品15 mg,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,按2.1.1项下色谱条件下进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表2。

表2 加样回收试验结果(n=6)

Tab. 2 Results of the recovery test (n=6)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
48.075	15.000	62.0149	92.93	94.53	1.87
48.075	15.000	62.0240	92.99		
48.075	15.000	62.1790	94.03		
48.075	15.000	62.5488	96.49		
48.075	15.000	62.6238	96.99		
48.075	15.000	62.1401	93.77		

2.2 干膏得率测定

将成膏置已干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,置105℃干燥箱中干燥3 h,后取出,冷却至室温,迅速称定质量,精密称定,计算干膏得率。干膏得率(%) = 干膏质量 / 药材质量 × 100%。

2.3 正交试验

根据前期单因素试验,并参考文献[7-9],以浸泡

时间(因素A)、煎煮次数(因素B)、煎煮时间(因素C)、加水倍数(因素D)为影响因素,采用 $L_{18}(3^4)$ 正交试验法进行考察。因素与水平见表3。以枸橼酸含量和干膏得率的综合评分为评价指标,采用SPSSAU软件对健脾益气膏的提取工艺进行分析。综合评分 = $(X_i / X_{max} \times 0.6 + Y_i / Y_{max} \times 0.4) \times 10$ 。其中, X_i 为当次枸橼酸含量, X_{max} 为枸橼酸含量最大值, Y_i 为当次干膏得率, Y_{max} 为干膏得率最大值。正交试验设计与结果见表4。方差分析结果见表5。由表4可知,最佳提取工艺为 $A_3B_3C_3D_3$;由表5可知,3个因素对提取工艺的影响大小依次为 $B > C > D > A$;仅因素B、C对结果有显著影响($P < 0.05$)。故优选的最佳提取工艺为即浸泡4 h,加9.34倍量水煎煮3次,每次60 min。

表3 因素与水平

Tab. 3 Factors and their levels

水平	因素A(h)	因素B(次)	因素C(min)	因素D(倍)
1	1	1	30	3.28
2	2	2	45	6.31
3	4	3	60	9.34

表4 正交试验设计与结果

Tab. 4 Design and results of the orthogonal test

试验号	因素				枸橼酸含量 (mg/mL)	干膏得率 (%)	综合评分 (分)
	A	B	C	D			
1	1	1	1	1	0.098	7.24	3.16
2	1	1	2	2	0.109	13.91	4.16
3	1	2	1	3	0.136	23.09	5.82
4	1	2	3	1	0.186	21.77	6.88
5	1	3	2	3	0.239	29.81	9.05
6	1	3	3	2	0.241	31.88	9.32
7	2	1	1	3	0.112	10.02	3.80
8	2	1	3	1	0.178	15.37	5.98
9	2	2	2	2	0.22	33.65	9.01
10	2	2	3	3	0.226	29.79	8.73
11	2	3	1	2	0.241	25.66	8.64
12	2	3	2	1	0.202	22.71	7.37
13	3	1	2	3	0.114	14.07	4.30
14	3	1	3	2	0.211	17.14	6.97
15	3	2	1	2	0.108	18.46	4.64
16	3	2	2	1	0.181	27.58	7.40
17	3	3	1	1	0.177	19.56	6.42
18	3	3	3	3	0.249	36.27	10.00

2.4 验证试验

称取焦山楂(37.5 g)、麸炒白术(19.5 g)、陈皮(7.5 g)、炙甘草(4.5)、茯苓(22.5 g)、黄芪(22.5 g)、党参(22.5 g)、丹参(15 g)、生地黄(12 g)、熟地黄(12 g)、麸炒山药(22.5 g)药材饮片各6份,精密称定,按最佳

表5 方差分析结果

Tab. 5 Results of the analysis of variance

方差来源	离差平方和	n	均方	F值	P值
A	2.374	2	1.187	1.295	0.320
B	42.819	2	21.41	23.364	0.000
C	19.927	2	9.963	10.873	0.004
D	2.869	2	1.434	1.565	0.261
误差	8.247	9	0.916		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

Note: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

提取工艺提取。将提取液分别置电磁炉中进行加热浓缩,加入30~50 g炼蜜,搅拌加速浓缩,浓缩至相对密度为1.05~1.11(20℃)时,停止加热,收膏完成^[10-11],置高温消毒处理的陶瓷碗中,凉膏12~16 h。测得枸橼酸的平均含量为0.249 mg/mL, RSD为0.68%(n=6);平均干膏得率为33.63%, RSD为0.04%(n=6)。结果表明,该优选工艺合理,提取方法可行。

3 讨论

健脾益气膏为我院自拟膏方,方中重用焦山楂、麸炒白术为君药,消食导滞,健脾益气^[12-13];以陈皮、茯苓、麸炒山药为臣药,燥湿健脾、补脾止泻^[14];以黄芪、党参补气益肺,以丹参、生地黄清热养阴,熟地黄补血滋阴^[15],共为佐药;以炙甘草为使药,补脾和胃,调和诸药。全方合用,共奏益气养血、消食化滞之功。山楂炒焦后酸味减弱,缓和了对胃的刺激性,增强了消食导滞之功,主要用于肉食积滞,泻痢不爽。孙飞等^[16]采用偏小二乘法建立焦山楂化学成分与消食健脾功效的“谱效”关系模型,结果表明,山楂中的香草酸、枸橼酸等8种成分含量与消食健脾功效呈正相关,其中以枸橼酸表现较突出,故将枸橼酸作为健脾益气膏发挥消食健脾功效的主要评价指标。此外,本研究中在制订健脾益气膏“一方一质标”时,严格膏方质量评价标准执行^[17],将干膏得率纳入评价范畴。

膏方营养价值高,口感良好,使用携带方便,但制作工艺烦琐,成膏质量受多种因素的影响^[18]。为保证膏方质量,多以中药煎剂的影响因素作为参考^[19],同时考察收膏用辅料、浓缩液相对密度等因素。本研究中4个考察因素对成膏率均有显著影响,但仅煎煮次数和煎煮时间对枸橼酸含量有显著影响。在收膏工艺研究中发现,仅以“滴水成珠”“夏天挂旗”判断成膏,缺乏重复性和标准性,本研究中将20℃条件下检测膏方相对密度作为收膏标准,发现相同条件下干膏得率和枸橼酸含量重现性较好。

综上所述,本研究中建立的健脾益气膏方提取工

艺合理、可行,适用于工业化生产,可为健脾益气膏的进一步推广和研究奠定基础,为其他传统膏方的制备和应用提供参考。

参考文献

- [1] 杨倩,沈洪. 膏方及其在脾胃疾病中的应用概述[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(2): 377-381.
- [2] 朱赞斐,谭善忠,王洪兰,等. 基于UPLC-Q-TOF-MS/MS技术的益气健脾颗粒化学成分分析[J]. 中草药, 2022, 53(12): 3601-3613.
- [3] LUO L, CAI J, ZHOU Z, et al. Polysaccharides from *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae*: A Review on Their Extraction, Purification, Structure, and Bioactivities [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 2338533.
- [4] 朱晓春,徐玲玲,黄瑾,等. 中药膏方质量标准初探[J]. 上海医药, 2023, 44(13): 90-94.
- [5] 王俊杰,林晓,沈岚,等. 中药临方制剂生产规范与质量管理体系的思考[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(3): 580-586.
- [6] 周玮君,韩月娇,曹芸. 健脾和胃膏方制备工艺及指标成分含量控制方法研究[J]. 中药材, 2023, 46(4): 965-968.
- [7] 张敬璋. 医院中药膏方的制备工艺要点及应用情况分析[J]. 临床合理用药杂志, 2022, 15(8): 161-163.
- [8] 陈凯,张岩,王正乾,等. 琼玉润肺膏的提取工艺优选及质量标准研究[J]. 西部中医药, 2020, 33(10): 46-50.
- [9] 宣志红,李小芳,宣碧霞,等. 益心健脑膏方的制备工艺研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2024, 22(10): 142-145.
- [10] 朱峰,吴淮. 膏方规范化特色技术在我院工作中的应用[J]. 中医药管理杂志, 2020, 28(18): 225-227.
- [11] 楼招欢,张光霖,石森林. 中药膏方制备工艺传承与发展[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4161-4163.
- [12] 张礼林. 山楂炒焦增强消食导滞的炮制机理研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2023.
- [13] 张维霞,苏萍,赵爱军. 白术的炮制方法及其药理作用研究进展[J]. 中医药导报, 2022, 28(5): 110-115.
- [14] 苏旭,高长玉,陈敏,等. 古代经典名方养胃汤的历史溯源与考证[J/OL]. 辽宁中医药大学学报, 1-14[2024-07-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20240415.1540.021.html>.
- [15] 王明丽,赵卫国,宋鹏程,等. 黄芪建中汤通过PPAR γ 信号对脾胃虚寒大鼠结肠屏障的影响及机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(8): 1911-1917.
- [16] 孙飞,吴相亲,戚悦,等. 基于偏小二乘算法探究山楂和焦山楂消食健脾功效成分[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(4): 958-965.
- [17] 郑敏霞,丰素娟. 膏滋药的制备和创新[J]. 浙江中医药大学学报, 2008, 32(5): 679.
- [18] 黄雨威,张义生,徐惠芳,等. 膏方制备工艺与质量标准研究[J]. 中国药房, 2017, 28(22): 3157-3160.
- [19] 林艳,盛淑芬,项微微,等. 金水膏滋的配方及制备工艺探讨[J]. 浙江中医杂志, 2019, 54(2): 153.

(收稿日期:2024-04-23;修回日期:2024-08-09)