

中图分类号: R932; R284.1; R286.0
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2026.05.015

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2026)05-0072-06



健脾止泻标准汤剂提取工艺优化与质量控制*

陈素英, 李月琴[△]

(江苏省泰州市姜堰中医院, 江苏 泰州 225500)

摘要:目的 优选健脾止泻标准汤剂的提取工艺,并建立指纹图谱及同时测定其中4种成分含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 以煎煮次数、加水量、煎煮时间为考察因素,以提取液中木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚含量和出膏率的综合评分为评价指标,采用单因素试验结合 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺,并进行验证。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)进行相似度评价,建立15批样品的HPLC叠加指纹图谱,与对照指纹图谱比对,标定并指认共有成分;采用HPLC法测定制剂中指认出的共有成分的含量,并计算转移率。结果 最佳提取工艺为加8倍量水,煎煮2次,每次30 min。此工艺条件下,提取液中木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量分别为19.45, 16.82, 1.82, 15.69 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$),出膏率为7.91% ($n=3$),综合评分为98.90。15批样品的HPLC叠加指纹图谱共标定20个共有峰,指认出4种成分,分别为木香烃内酯(峰17)、去氢木香内酯(峰18)、和厚朴酚(峰19)、厚朴酚(峰20);相似度为0.915~1.000。3批样品中上述4种成分的转移率分别为10.39%, 9.88%, 8.78%, 22.74%,出膏率为7.91%。结论 该提取工艺稳定、可行,HPLC含量测定和指纹图谱评价方法可用于健脾止泻方标准汤的质量控制。

关键词:健脾止泻标准汤剂; $L_9(3^4)$ 正交试验法;高效液相色谱法;指纹图谱;提取工艺;质量控制

Optimization of Extraction Process and Quality Control for the Standard Decoction of Jianpi Zhixie Formula

CHEN Suying, LI Yueqin[△]

(Jiangyan Traditional Chinese Medicine Hospital of Taizhou City, Taizhou, Jiangsu 225500, China)

Abstract: Objective To optimize the extraction process of the standard decoction of Jianpi Zhixie Formula, and to establish a high-performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint and HPLC method for the simultaneously determination of four components. **Methods** With decoction times, water addition, and decoction duration as the investigated factors, and with the comprehensive scores of the contents of costunolide, dehydrocostuslactone, magnolol, and honokiol in the extract and the extract yield as evaluation indexes, the extraction process was optimized by the single-factor test combined with the $L_9(3^4)$ orthogonal test, and the verification test was conducted. The similarity evaluation was performed by the *Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System for Traditional Chinese Medicine* (Version 2012). The HPLC overlay fingerprints of 15 batches of samples were established and compared with the reference fingerprint to identify and calibrate common components. The contents of the identified common components in the preparation were determined by the HPLC method, and the transfer rate was calculated. **Results** The optimal extraction process was as follows: adding eight times the amount of water, and decocting twice with 30 min for each decoction. Under these process conditions, the contents of costunolide, dehydrocostuslactone, magnolol, and honokiol in the extract were 19.45, 16.82, 1.82, and 15.69 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$) respectively, the extract yield was 7.91% ($n=3$), and the comprehensive score was 98.90. The HPLC overlay fingerprints of fifteen batches of samples identified twenty common peaks and calibrated four components, namely costunolide (peak 17), dehydrocostuslactone (peak 18), magnolol (peak 19), and honokiol (peak 20), and the similarity was in the range of 0.915 - 1.000. The transfer rates of the above four components in three batches of samples were 10.39%, 9.88%, 8.78%, and 22.74%, with an extract yield of 7.91%. **Conclusion** The extraction process is stable and feasible, and the HPLC content determination and fingerprint evaluation methods can be used for the quality control of the standard decoction of Jianpi Zhixie Formula.

Key words: standard decoction of Jianpi Zhixie Formula; $L_9(3^4)$ orthogonal test; HPLC; fingerprints; extraction process; quality control

健脾止泻方为全国名老中医王玉玲教授治疗小儿泄泻的经典验方,由苍术、藿香、薏苡仁、茯苓、山楂、神曲、厚朴、木香8味中药材组方^[1]。方中,苍术味苦、性温燥、运脾醒胃,藿香化湿、升清降浊,共为君药;薏苡仁、茯苓健脾渗湿,为臣药;山楂、神曲消食化积,为佐药;

厚朴、木香行气宽中,为使药。全方共奏健脾化湿、调中止泻功效。此方辨证精准,尤擅处理小儿泄泻病情急骤、传变迅速的特点,体现“急症缓调、标本兼顾”的儿童用药特点,且临床疗效显著。但该方在临床使用过程中的煎煮工艺长期依赖经验操作,存在加水量模糊、煎

*基金项目:江苏省泰州市中医药科技项目[TZ202311]。

第一作者:陈素英,女,硕士,副主任中药师,研究方向为院内制剂研发,(电子信箱)Suyingchen03@163.com。

[△]通信作者:李月琴,女,大学本科,主任中药师,研究方向为院内制剂的生产,(电子信箱)1243985286@qq.com。

煮时间波动大、质控指标缺失等问题,严重影响临床疗效的一致性^[2]。在保留传统煎煮工艺核心要素的基础上,通过量化工艺参数,建立标准汤剂的特征图谱,筛选影响其质量的主要指标性成分,可解决经典验方产业化过程中存在的质量传递断点问题^[3-4]。也有助于标准化生产过程,规范技术标准,精准临床用量,建立具有中医药“整体观”特色的中药煎煮流程,确保临床用药品质稳定,为标准汤剂质量标准的制订提供理论依据^[5-7],为名老中医经验方的现代化传承与发展提供可复制的技术路线。故本研究中采用单因素试验结合 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选了健脾止泻标准汤剂的提取工艺,并建立了高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 Infinity 型 HPLC 系统(美国 Agilent 公司);MS105DU 型精密电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司,精度为 0.1 mg);FW135 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);5430R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);LDZ5-2 型低速自动平衡离心机(北京京力仪器有限公司);KQ-500B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 500 W,频率为 40 kHz)。

1.2 试药

苍术(批号为 230101),藿香(批号为 230601),薏苡仁(批号为 240201),茯苓(批号为 231002),厚朴(批号为 240201),木香(批号为 230701),山楂(批号为 240201),均购自洪雅县瓦屋山药业有限公司;神曲(河北康益强药业有限公司,批号为 23080701);木香桉内酯对照品(批号为 O12HB197202),去氢木香内酯对照品(批号为 D22GB172194),厚朴酚对照品(批号为 J22HB189358),和厚朴酚对照品(批号为 J0HB179506),均购自上海源叶生物科技有限公司,纯度均不低于 98%;甲醇为色谱纯,水为纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 标准汤剂浸膏制备

按处方比例称取健脾止泻方饮片 3 g,采用水煎法,煎煮后趁热过 80 目纱布,保留滤液,滤液放冷,水浴蒸干后置烘箱中,烘成浸膏,称定质量,即得。

2.2 HPLC 法测定多指标成分含量

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent HC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~3 min 时 10%B→70%B,3~22 min 时 70%B→75%B,22~32 min 时 75%B→80%B,32~35 min 时 80%B→10%B);流速:0.8 mL/min;柱温:30℃;检测波长:225 nm;进样

量:10 μL。

2.2.2 溶液制备

混合对照品溶液:精密称取各对照品适量,分别加甲醇制成木香桉内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚质量浓度分别为 480,326,394,320 μg/mL 的对照品贮备液。精密移取上述对照品贮备液适量,加甲醇稀释成质量浓度分别为 96.0,65.2,78.8,64.0 μg/mL 的混合对照品溶液。

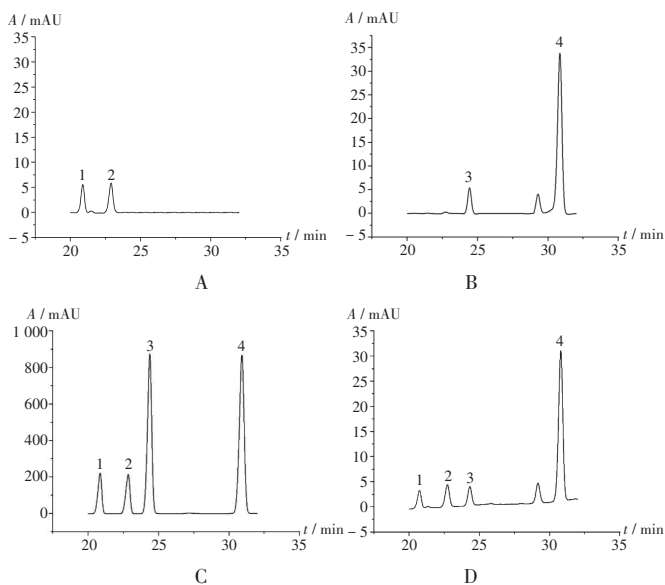
供试品溶液:精密称取标准汤剂浸膏 0.07 g,置 10 mL 容量瓶中,加水定容,超声提取(功率为 360 W,频率为 40 kHz)30 min,取出,冷却至室温,再次加水定容,0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

阴性对照品溶液:按 2.1 项下方法分别制备缺木香和缺厚朴的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取 2.2.2 项下阴性对照品溶液、混合对照品溶液、供试品溶液各适量,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有对应色谱峰出现,各成分的分离度均大于 1.5,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。详见图 1。

线性关系考察:精密吸取 2.2.2 项下混合对照品适



1. 木香桉内酯 2. 去氢木香内酯 3. 和厚朴酚 4. 厚朴酚
A - B. 阴性对照品溶液(分别缺厚朴、木香) C. 混合对照品溶液
D. 供试品溶液

图1 高效液相色谱图

1. Costunolide 2. Dehydrocostuslactone 3. Magnolol 4. Honokiol
A - B. Negative reference solution (lacking Magnoliae Officinalis Cortex and Aucklandiae Radix, respectively) C. Mixed reference solution
D. Test solution

Fig. 1 HPLC chromatograms

量,采用逐级稀释法加甲醇制成木香烃内酯质量浓度分别为96,48,24,12,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$,去氢木香内酯质量浓度分别为65.20,32.60,16.30,8.15,4.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$,和厚朴酚质量浓度分别为78.80,39.40,19.70,9.85,4.93 $\mu\text{g}/\text{mL}$,厚朴酚质量浓度分别为64,32,16,8,4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列标准溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,分别以标准溶液的质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g}/\text{mL}$)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程分别为 $Y_{\text{木}} = 33.854 X_{\text{木}} + 23.478 (r = 0.9997, n = 5)$, $Y_{\text{去}} = 35.422 X_{\text{去}} + 15.073 (r = 0.9998, n = 5)$, $Y_{\text{和}} = 145.85 X_{\text{和}} + 91.749 (r = 0.9995, n = 5)$, $Y_{\text{厚}} = 164.95 X_{\text{厚}} + 95.353 (r = 0.9996, n = 5)$ 。结果表明,木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的质量浓度分别在6~96 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4.08~65.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4.93~78.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4~64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与各自的峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的RSD分别为1.13%,0.62%,1.41%,1.21% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,分别于室温放置0,2,4,6,8,12,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的RSD分别为0.86%,1.10%,1.06%,0.70% ($n = 7$),表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:精密称取2.1项下标准汤剂浸膏适量,平行6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的RSD分别为2.70%,1.02%,2.25%,1.83% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的标准汤剂浸膏0.035 g,精密称定,以样品中4个成分含量1:1的比例分别加入各对照品,平行6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的平均回收率分别为98.40%,95.92%,100.61%,102.93%,RSD分别为0.92%,0.37%,2.16%,1.11% ($n = 6$),表明方法准确度良好。

2.2.4 样品含量测定

取2.1项下标准汤剂浸膏适量,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算含量。

2.3 出膏率测定

按处方比例称取健脾止泻方饮片3 g,采用水煎法,

煎煮后趁热过80目纱布,保留滤液,滤液放冷,水浴蒸干后置烘箱中,烘成浸膏,称定质量,计算出膏率。出膏率($\%$) = (干膏质量 / 饮片总质量) $\times 100\%$ 。

2.4 提取工艺优化

2.4.1 单因素试验

浸泡时间:按处方比例精密称取健脾止泻方饮片3 g,平行4份,加8倍量水,分别浸泡0,20,40,60 min,煎煮至沸腾后保持微沸30 min,煎煮2次,煎煮后趁热过80目纱布,合并滤液,80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴蒸干,得浸膏,按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率。结果浸泡40 min后,出膏率及木香烃内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量基本稳定,故浸泡时间选择40 min。详见表1。

表1 单因素试验结果

Tab. 1 Results of the single - factor test						
考察因素	试验项目	出膏率 (%)	含量($\mu\text{g}/\text{g}$)			
			A'	B'	C'	D'
浸泡时间	0 min	3.778	18.34	11.00	1.024	12.35
	20 min	3.722	18.78	12.04	1.234	12.32
	40 min	3.778	18.12	16.95	1.590	12.25
	60 min	3.778	18.45	17.68	1.680	11.92
加热方式	武火	2.944	17.98	15.66	1.478	12.30
	文火	3.834	17.28	16.66	1.627	12.61
	文武火	4.342	18.29	17.46	1.705	12.82
煎煮次数	1次	1.944	16.76	10.66	1.160	7.58
	2次	3.556	17.13	13.76	1.320	8.48
	3次	4.388	18.53	15.25	1.526	11.72
加水量	6倍	3.222	16.42	11.67	1.194	11.22
	8倍	3.556	12.12	17.00	1.585	13.42
	10倍	3.612	8.63	13.00	1.341	12.18
	12倍	3.834	5.06	12.54	1.258	10.75
煎煮时间	14倍	4.112	4.99	11.45	1.038	8.07
	10 min	2.888	13.79	5.75	0.565	6.88
	15 min	3.444	15.19	10.89	0.980	7.02
	20 min	3.834	18.65	11.32	1.104	12.29
	25 min	4.166	18.62	14.51	1.417	13.60
	30 min	4.222	19.77	18.44	1.803	15.34
	40 min	3.967	14.49	10.64	1.220	10.34

注:A'为木香烃内酯,B'为去氢木香内酯,C'为和厚朴酚,D'为厚朴酚。表3、表5、表6同。

Note:A' refers to costunolide,B' refers to dehydrocostuslactone,C' refers to magnolol,and D' refers to honokiol (for Tab. 1,Tab. 3,and Tab. 5 - 6).

加热方式:按处方比例精密称取健脾止泻方饮片3 g,平行3份,加8倍量水,浸泡40 min,分别通过武火(功率为500 W)、文火(功率为250 W)、文武火(功率为350 W)煎煮至沸腾后保持微沸30 min,煎煮2次,煎煮后趁热过80目纱布,合并滤液,80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴蒸干,得浸膏,

按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率。结果在文武火加热方式下,出膏率及木香炔内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量均最高,故加热方式选择文武火。详见表1。

煎煮次数:按处方比例精密称取健脾止泻方饮片3 g,平行3份,加8倍量水,浸泡40 min,文武火(功率为350 W)煎煮至沸腾后保持微沸30 min,分别煎煮1次、2次、3次,煎煮后趁热过80目纱布,合并滤液,80℃水浴蒸干,得浸膏,按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率。结果煎煮3次时出膏率及木香炔内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量均最高,故煎煮次数选择3次。详见表1。

加水量:按处方比例精密称取健脾止泻方饮片3 g,平行5份,分别加6倍、8倍、10倍、12倍、14倍量水,浸泡40 min,文武火(功率为350 W)煎煮至沸腾后保持微沸30 min,煎煮3次,煎煮后趁热过80目纱布,合并滤液,80℃水浴蒸干,得浸膏,按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率。结果加8倍量水时出膏率及木香炔内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量较高,故加水量选择8倍。详见表1。

煎煮时间:按处方比例精密称取健脾止泻方饮片3 g,平行6份,加8倍量水,浸泡40 min,文武火(功率为350 W)煎煮至沸腾后分别保持微沸10、15、20、25、30、40 min,煎煮3次,煎煮后趁热过80目纱布,合并滤液,80℃水浴蒸干,得浸膏,按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率。结果煎煮30 min时出膏率及木香炔内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚的含量均最高,故煎煮时间选择30 min。详见表1。

2.4.2 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺

试验设计与结果:基于单因素试验结果,结合文献[8-9],以煎煮次数(因素A)、加水量(因素B)、煎煮时间(因素C)为考察因素,以出膏率及木香炔内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚含量的综合评分为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选提取工艺。采用加权评分法计算综合评分,权重系数分别为0.40、0.15、0.15、0.15、0.15,综合评分=[(出膏率/出膏率_{max})×0.40+(木香炔内酯含量/木香炔内酯含量_{max})×0.15+(去氢木香内酯含量/去氢木香内酯含量_{max})×0.15+(和厚朴酚含量/和厚朴酚含量_{max})×0.15+(厚朴酚含量/厚朴酚含量_{max})×0.15]×100。因素与水平见表2,试验设计与结果见表3。

方差分析:结果见表4。可见,3个影响因素对试验结果均无显著影响($P>0.05$)。由极差分析结果(表3)可见,各因素影响由大至小依次为 $B>C>A$,最佳提取工艺为 $A_3B_1C_3$ 。综合考虑临床实际可操作性及经济成本,最终确定提取工艺为 $A_2B_1C_3$,即加8倍量水,煎煮2次,每次30 min。

验证试验:按处方比例精密称取健脾止泻方各药材

表2 因素与水平

Tab. 2 Factors and their levels

水平	因素A(次)	因素B(倍)	因素C(min)
1	1	8	20
2	2	10	25
3	3	12	30

表3 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果

Tab. 3 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	因素A	因素B	因素C	因素D (误差)	出膏率 (%)	含量(μg/g)				综合 评分
						A'	B'	C'	D'	
1	3	3	1	2	5.95	21.30	15.66	2.04	12.01	83.95
2	1	2	3	1	4.78	10.04	7.66	0.28	1.94	41.32
3	3	1	3	3	7.86	19.38	16.77	1.91	15.76	96.08
4	1	3	2	1	6.66	20.89	14.02	1.55	11.80	82.04
5	2	3	3	2	2.98	11.56	8.47	0.61	4.35	38.55
6	3	2	2	3	3.58	15.97	10.51	0.96	8.28	52.48
7	2	2	1	3	4.43	24.15	13.91	1.45	12.44	72.49
8	2	1	2	2	5.85	14.26	10.75	1.22	10.23	66.95
9	1	1	1	1	3.81	13.23	7.55	0.75	7.12	46.65
K_1	171.30	211.63	205.21	191.56						
K_2	179.62	167.63	203.33	205.68						
K_3	234.97	206.63	177.35	188.65						
k_1	57.10	70.54	59.12	63.85						
k_2	59.87	55.88	67.78	68.56						
k_3	78.32	68.88	68.40	62.88						
R	171.30	211.63	205.21	191.56						

表4 方差分析结果

Tab. 4 Results of the ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
A	798.50	2.000	399.30	14.440	0.065
B	386.90	2.000	193.40	6.994	0.125
C	161.63	2.000	80.82	2.922	0.255
D(误差)	55.32	2.000	27.66	1.000	0.500

表5 验证试验结果

Tab. 5 Results of the verification test

批号	出膏率 (%)	含量(μg/g)				综合评分
		A'	B'	C'	D'	
240701	7.86	19.71	16.98	1.86	15.91	99.50
240702	7.92	19.29	16.81	1.78	15.61	98.40
240703	7.96	19.36	16.68	1.82	15.55	98.81
$\bar{X}$	7.91	19.45	16.82	1.82	15.69	98.90

饮片,加8倍量水,浸泡40 min,文武火(功率为350 W)煎煮2次,每次30 min,趁热过80目纱布,合并滤液,80℃水浴蒸干,得标准汤剂浸膏(批号分别为240701,240702,240703),按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率,并计算综合评分。结果综合评分的RSD为0.56%($n=3$),表明该提取工艺稳定可靠、重复性好。详见表5。

2.5 量值传递规律研究

取2.4项下3批(批号分别为240701, 240702, 240703)标准汤剂浸膏,按2.2.4项下方法测定含量,按2.3项下方法测定出膏率,并计算转移率,转移率(%)=(标准汤剂中各成分的含量/饮片中成分的含量)×出膏率×100%。结果3批样品的出膏率及转移率均在 $\bar{X} \pm 3SD$ 范围内^[10],表明健脾止泻标准汤剂的质量及制备工艺稳定、可靠。详见表6。

表6 健脾止泻方指标性成分の出膏率与转移率测定结果(%)

Tab.6 Determination results of the extract yield and transfer rates of the indicator components in Jianpi Zhixie Formula (%)

批号	出膏率	转移率			
		A'	B'	C'	D'
240701	7.86	10.45	9.91	8.91	22.90
240702	7.92	10.31	9.88	8.60	22.64
240703	7.96	10.40	9.86	8.83	22.67
$\bar{X}$	7.91	10.39	9.88	8.78	22.74
SD	0.05	0.07	0.03	0.16	0.14
$\bar{X} \pm 3SD$	7.76~8.06	10.17~10.60	9.81~9.96	8.30~9.26	22.31~23.16

2.6 HPLC 指纹图谱研究

2.6.1 色谱条件

色谱柱:Agilent HC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:水(A)-甲醇(B),梯度洗脱(0~5 min时5%B,5~55 min时5%B→50%B,55~60 min时50%B→60%B,60~85 min时60%B→85%B,85~90 min时85%B→5%B);其余条件同2.2.1项下。

2.6.2 方法学考察

精密度试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,按2.6.1项下色谱条件连续进样测定6次,以5号峰为参照峰,记录色谱图。结果共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%(n=6),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,分别

于室温放置0,2,4,8,12,16,24 h时按2.6.1项下色谱条件进样测定,以5号峰为参照峰,记录色谱图。结果共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD均小于3%(n=7),表明供试品溶液室温放置24 h内稳定性良好。

重复性试验:取标准汤剂浸膏适量,平行6份,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.6.1项下色谱条件进样测定,以5号峰为参照峰,记录色谱图。结果木香烯内酯、去氢木香内酯、和厚朴酚、厚朴酚共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD分别为2.70%,1.02%,2.25%,1.83%(n=6),表明方法重复性良好。

2.6.3 指纹图谱建立与相似度评价

按2.4项下优选提取工艺制备15批(编号为S1-S15)健脾止泻标准汤剂浸膏,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.6.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图,将数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)^[10],采用平均数法和多点校正法,时间宽度设为0.1 min,生成HPLC叠加指纹图谱。详见图2。可见,共标定20个共有峰。通过与HPLC对照指纹图谱(图3)比对,指出4种成分,分别为木香烯内酯(峰17)、去氢木香内酯(峰18)、和厚朴酚(峰19)、厚朴酚(峰20)。各批样品指纹图谱与对照图谱的相似度分别为0.999,0.998,0.998,0.915,0.999,0.997,0.999,0.999,0.999,0.999,1.000,1.000,0.998,1.000,0.999,均在0.9~1.0范围内,表明样品批间质量差异小。

3 讨论

课题组前期通过比例缩放试验发现,3 g样本在浸膏得率和指标性成分含量上与全方煎煮结果高度一致,能减少实验室的物料消耗,因溶剂量少可提高浓缩效率。虽然3 g样本量与全方煎药质量属性一致,在实验室层面验证可行,但产业化仍需关注工艺参数,不能简单复制于工业化大生产。如盛放3 g样本的玻璃烧杯无法比拟工业化大生产中的提取罐导致的温度梯度,小

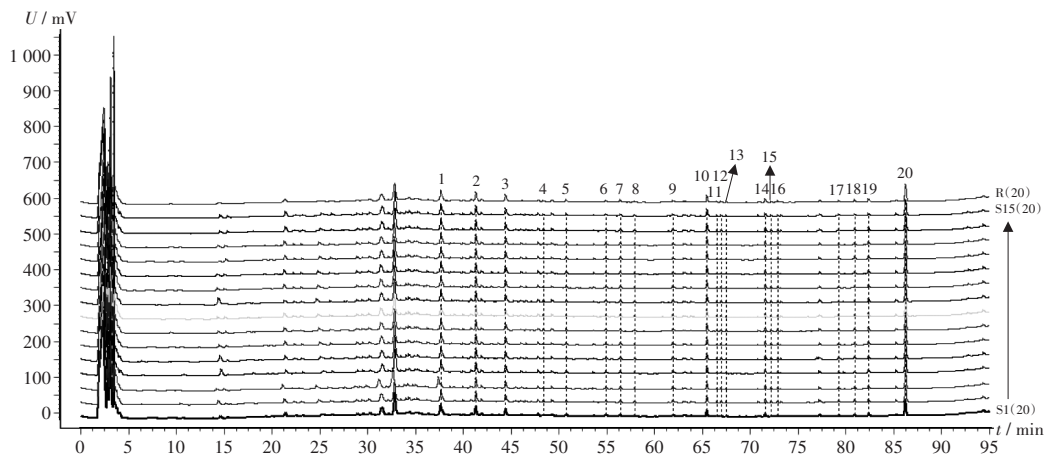


图2 15批健脾止泻方标准汤剂高效液相色谱叠加指纹图谱

Fig.2 HPLC overlap fingerprints of 15 batches of standard decoction of Jianpi Zhixie Formula

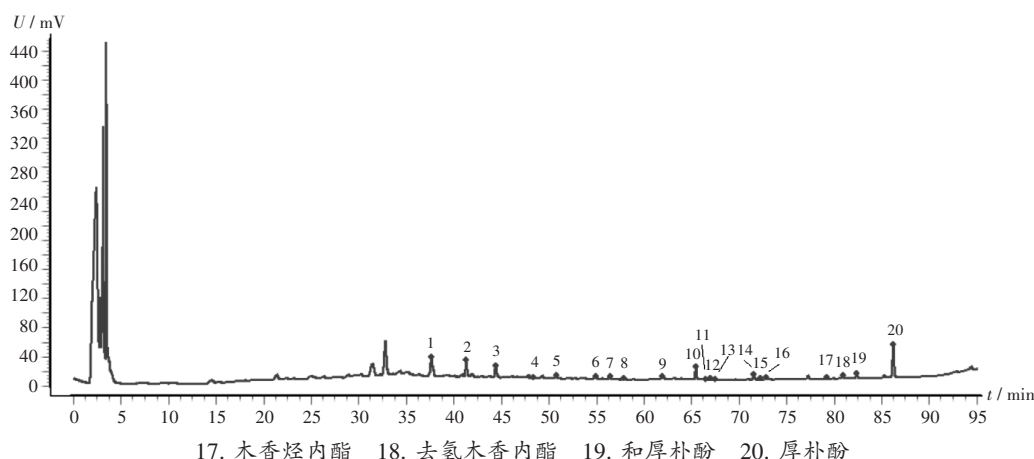


图3 高效液相色谱对照指纹图谱

17. Costunolide 18. Dehydrocostuslactone 19. Magnolol 20. Honokiol

Fig. 3 HPLC reference fingerprint

样本也无法模拟出工业化大生产药材沉于提取罐底部导致浸泡不充分等问题,后续还需通过中试及规模化生产研究,进一步验证工艺参数的适用性^[11-12]。

本研究中遵循中医药传承创新的“遵古”原则,采用水提法进行提取。方中,木香的指标性成分木香烯内酯和去氢木香内酯均属倍半萜类,厚朴的指标性成分和厚朴酚、厚朴酚均属苯丙素类,具有疏水特性,在水提体系中的提取率低^[13-14]。但本研究结果显示,与单因素试验最佳组(煎煮时间30 min组)比较,优选提取工艺提取液中4个指标性成分的含量虽无显著差异,但出膏率明显升高,3批验证试验证实批次间具有高稳定性($RSD < 5\%$)^[15-17]。进一步建立的HPLC叠加指纹图谱共标定20个共有峰(其中4种成分被指认),15批标准汤剂的相似度均大于0.9,表明优选提取工艺能稳定传递复方的整体物质基础。这种“多成分定量-指纹图谱整体监控-转移率工艺评价”三位一体质控体系,共同保障了标准汤剂的质量可控性与临床适用性。

综上所述,本研究中建立的“成分可量化-工艺可重复-质量可追溯”标准化体系可为复方制剂产业化提供参考,不仅为临床用药的精准实施提供了技术保障,更为后续新型中药制剂(如颗粒剂、片剂等)的剂型转化研究奠定了可量化的工艺基础,对推动中药现代化进程具有实践价值。但课题组在后续中试放大试验中需验证小试工艺在煎煮设备中的参数适应性,还需通过代谢组学等技术建立“工艺参数-物质基础-药效表达”的完整证据链。

参考文献

[1] 花蕾. 泰州名中医传[M]. 南京:江苏人民出版社,2019: 227-235.
[2] 安雅婷,任锐洁,王雷,等.《中药汤剂煎煮规范》解读[J]. 医药导报,2023,42(11):1648-1652.

[3] 宛鑫,李得堂,张丽娟,等. 健脾益肺鼻炎方标准汤剂特征图谱的建立及4种指标成分的含量测定[J]. 中国药房, 2022,33(16):1980-1985.
[4] 张志鹏,徐杰,刘佩仪,等. 基于标准汤剂的鲜地黄配方颗粒质量标准研究[J]. 中草药,2023,54(4):1127-1137.
[5] 管咏梅,万鑫浩,吴文婷,等. 经典名方桂枝加葛根汤标准汤剂HPLC指纹图谱研究[J]. 中草药,2021,52(18):5535-5542.
[6] 张芹,钱芳. 垂盆草水提工艺及产地优选[J]. 中国药业, 2022,31(12):68-72.
[7] 刘华明,林小钰,张辉,等. 基于标准汤剂的水蛭、烫水蛭配方颗粒UPLC特征图谱建立[J]. 中成药,2025,47(1): 211-216.
[8] 张淑玲,刘文文,孟令军,等. $L_{18}(3^4)$ 正交试验法优选健脾益气膏提取工艺[J]. 中国药业,2024,33(22):55-58.
[9] 杜义龙,高静云,刘文通,等. 山楂叶标准汤剂制备工艺优化[J]. 中成药,2023,45(11):3724-3728.
[10] 杨国春,杨亚芳,徐素娥,等. 鸡根标准汤剂提取工艺优化及其质量标准建立[J]. 中成药,2024,46(6):1773-1781.
[11] 贾媛,周洪亮,管敏,等. 基于一致性内涵的参黄颗粒提取工艺研究[J]. 中医药导报,2025,31(6):94-100.
[12] 林欣荣,高紫薇,束雅春,等. 运脾消食方提取工艺放大影响因素研究[J]. 中成药,2024,46(2):391-396.
[13] 李慧敏,马具森,王淑萍,等. 木香提取物中木香烯内酯和去氢木香内酯的平衡溶解度和油水分配系数的测定[J]. 药物评价研究,2020,43(2):242-247.
[14] 黄红琴,冉小青,杨欢,等. 厚朴中厚朴酚与和厚朴酚的超临界 CO_2 提取工艺优化[J]. 中成药,2024,46(5):1636-1639.
[15] 张荣华,靳梓微,邱智东,等. 基于基准关联度和AHP-熵权法优化经典名方达原饮的提取工艺[J]. 时珍国医国药, 2024,35(3):612-615.
[16] 张磊. 去氢木香内酯的提取分离及其多官能团拼接衍生物的制备与生物活性研究[D]. 贵阳:贵州大学,2023.
[17] 王龙,闫子轩,杨应莲,等. 半夏厚朴汤基准样品量值传递研究[J]. 分析测试学报,2024,43(11):1774-1783.

(收稿日期:2025-05-23;修回日期:2025-12-19)