

本文引用: 彭志荣, 王旭易, 欧阳威, 雷雨菁, 李爽, 夏新华, 颜红. 经典名方沙参麦冬汤颗粒制备工艺及质量标准研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(7): 1181-1192.

经典名方沙参麦冬汤颗粒制备工艺及质量标准研究

彭志荣^{1,2}, 王旭易¹, 欧阳威¹, 雷雨菁¹, 李爽¹, 夏新华^{1*}, 颜红^{1*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学高等专科学校附属第一医院(湖南省直中医医院), 湖南株洲 412000

[摘要] **目的** 制备经典名方沙参麦冬汤颗粒, 并建立沙参麦冬汤颗粒的质量标准。**方法** 以熵权法及正交实验优选沙参麦冬汤回流提取工艺, 与古法煎煮工艺进行对比, 并进一步筛选颗粒的成型工艺。采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)建立沙参麦冬汤颗粒的指纹图谱和甘草苷、甘草酸的含量测定方法, 并考察基准样品(煎液、冻干粉)、颗粒剂生产各环节(提取液、中间体、成品)指纹图谱的相似度和甘草苷的转移率。采用薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)对方中麦冬、桑叶、天花粉、白扁豆、甘草5味药材进行鉴别。**结果** 优化的回流提取工艺为浸泡0 h, 提取两次, 加水量分别为10、8倍, 提取时间分别为2.0、1.5 h; 成型工艺为以90%乙醇为润湿剂, 加入20%的糊精制软材, 经16目筛挤压制粒, 60℃下干燥, 过80筛整粒制备沙参麦冬汤颗粒。10批沙参麦冬汤颗粒、基准样品与颗粒剂生产各环节的指纹图谱相似度均大于0.90; 基准煎液、冻干粉、提取液、中间体、成品的甘草苷转移率分别为75.60%、75.24%、91.67%、90.22%、73.57%。5味中药的TLC特征斑点清晰, 且阴性无干扰。**结论** 指纹图谱相似度结果表明, 各批次、各生产环节沙参麦冬汤颗粒的质量相对稳定, 且与基准样品保持一致。经回流提取、浓缩、干燥、制粒后, 甘草苷的转移率有所下降, 颗粒的甘草苷转移率与原方汤剂的较为接近。本研究所建立的沙参麦冬汤颗粒制备工艺稳定可靠, 质量标准检测方法简便可行, 重复性好, 以为沙参麦冬汤颗粒的规模生产及其质量控制提供参考。

[关键词] 经典名方; 沙参麦冬汤; 颗粒剂; 指纹图谱; 制备工艺; 质量标准

[中图分类号] R283.6

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.07.006

Preparation technology and quality standards of the classic formula, Shashen Maidong Granule

PENG Zhirong^{1,2}, WANG Xuyi¹, OUYANG Wei¹, LEI Yujing¹, LI Shuang¹, XIA Xinhua^{1*}, YAN Hong^{1*}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan Chinese Medical College (Hunan Province Directly Affiliated TCM Hospital), Zhuzhou, Hunan 412000, China

[Abstract] **Objective** To prepare the classic formula Shashen Maidong Granule (SSMDG) and establish its quality standards.

Methods The reflux extraction process of Shashen Maidong Decoction was optimized by entropy weight method and orthogonal experiment, compared with the traditional decoction process, and the molding process of granules was further screened. High

[收稿日期] 2023-11-10

[基金项目] 湖南中医药大学重点学科中药学科(校行发规字[2023]2号); 湖南省重点研发计划项目(2018SK2114); 湖南省自然科药联合基金项目(2023JJ60133)。

[通信作者] *颜红, 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: yh8632@126.com; 夏新华, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: xiaxinhua001@163.com。

performance liquid chromatography (HPLC) was used to establish the fingerprint of SSMDG and the content determination method of liquiritin and acid glycyrrhizinate. The similarity of fingerprint and transfer rate of liquiritin in the reference sample (decoction, freeze-dried powder) and each link of granule production (extract, intermediate, finished product) were investigated. Thin layer chromatography (TLC) was used to identify Maidong (*Ophiopogonis Radix*), Sangye (*Mori Folium*), Tianhuafen (*Trichosanthis Radix*), Baibiandou (*Lablab Semen Album*), and Gancao (*Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma*). **Results** The optimized reflux extraction process involved soaking for 0 h, extracting twice, adding 10 and 8 times of water, and extracting for 2.0 h and 1.5 h, respectively. The molding process was as follows: 90% ethanol was used as wetting agent, 20% dextrin for soft material, extruded and granulated by 16 mesh sieve, dried at 60 °C, and granulated by 80 mesh sieve to prepare SSMDG. The similarity of fingerprints of 10 batches of SSMDG, reference samples, and each link of granule production was greater than 0.90. The transfer rates of liquiritin in the standard decoction, freeze-dried powder, extract, intermediate, and finished product were 75.60%, 75.24%, 91.67%, 90.22%, and 73.57%, respectively. The TLC characteristic spots of 5 Chinese medicines were clear and negative without interference. **Conclusion** The results of fingerprint similarity showed that the quality of SSMDG in each batch and each production link was relatively stable and consistent with the reference sample. After reflux extraction, concentration, drying, and granulation, the transfer rate of liquiritin decreased, and the transfer rate of liquiritin in granules was close to that of the original decoction. The preparation process of SSMDG established in this study is stable and reliable, and the quality standard detection method is simple, feasible, and reproducible, hoping to provide reference for the scale production and quality control of SSMDG.

[**Keywords**] classic formula; Shashen Maidong Granule; granules; fingerprint; preparation technology; quality standard

沙参麦冬汤载于清朝名医吴瑭所著《温病条辨·上焦》，具有清养肺胃、生津润燥之功效，为治疗肺胃阴伤的名方。其收录于国家中医药管理局 2018 年颁布的 100 首经典名方，为第 75 方^[1]，由北沙参、麦冬、玉竹、天花粉、白扁豆、桑叶、甘草 7 味药材组方而成。北沙参、麦冬归肺、胃经，具有养阴、润肺、生津之功效，为方中君药^[2-3]；玉竹、天花粉亦归肺、胃经，有清热、生津之功效，为臣药^[4-5]；白扁豆健脾补气、桑叶轻宣燥热，为佐药^[6-7]；甘草调和诸药列为使药。

作为中医治疗疾病的主要剂型，汤剂组方灵活、可随证加减用药，且起效较为迅速，但存在临用前需煎煮制备、口感欠佳、携带不便等缺点^[8-9]。颗粒剂冲服既保存了汤剂吸收快等优点，又方便制剂储存、携带和服用，口感也更好^[10]。中药经典名方颗粒作为经典名方的传承和创新，临床应用前景广阔。本课题开展了经典名方沙参麦冬汤颗粒剂的制备工艺及质量标准研究，旨在为沙参麦冬汤现代制剂的开发提供参考。

1 材料

1.1 仪器

安捷伦 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技

有限公司);XB 220A 型电子天平(广州广电计量检测股份有限公司);BMMW-V-M-9 型微波真空干燥器(河南勃达微波设备有限责任公司);标准筛(浙江上虞市道墟五四仪器沙筛厂);SJKW 数显控温电热套(北京市永光明医疗仪器有限公司);RE-2000B 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SB-5200D 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

1.2 试药

北沙参为伞形科植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq. 的干燥根，麦冬为百合科植物麦冬 *Ophiopogon japonicus* (L.f) Ker-Gawl. 的干燥根，天花粉为葫芦科植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim. 的干燥根，玉竹为百合科植物玉竹 *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce. 的干燥根，白扁豆为豆科植物扁豆 *Dolichos lablab* L. 的干燥成熟种子，桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* L. 的叶，甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎，经湖南中医药大学中药鉴定教研室主任刘塔斯教授鉴定，均符合 2020 年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)标准，药材的产地、采收期以及炮制方法详见表 1。甘草酸铵对照品(批号:110731-202021)、芦丁对照品(批号:100080-201811)、甘草

表1 药材产地、采收期及炮制方法

Table 1 Origin, harvesting period and processing method of medicinal materials

药材	产地	采收期	炮制方法
北沙参	内蒙古大碾子村	2019年9月	取原药材,除去杂质,润透软化,切厚片,80℃干燥
麦冬	四川省里程镇	2019年3月	取原药材,除去杂质,润透,轧扁,干燥,80℃干燥
天花粉	河北省东付村	2020年6月	取原药材,除去杂质,洗净,蒸法软化,切厚片,80℃干燥
玉竹	湖南省安化县	2018年9月	取原药材,除去杂质,洗净,蒸法软化,切厚片,80℃干燥
白扁豆	云南省光明村	2019年9月	取原药材,除去杂质,置沸水中煮至皮微鼓起松软时,捞出,去皮,80℃干燥
桑叶	安徽省霜山市	2019年12月	取原药材,除去泥沙等杂质和叶柄,稍搓碎,筛去灰屑
甘草	内蒙古土默特左旗	2019年8月	取原药材,去除杂质,置于蒸锅中蒸软制,切厚片

昔对照品(批号:111610-201908),均购自中国食品药品检定研究院;磷酸(批号:20200603,国药集团化学试剂有限公司);乙腈(批号:21125090,美国天地公司)。

2 方法与结果

2.1 沙参麦冬汤基准样品的制备及其指纹图谱的建立

本研究借鉴《温病条辨》^[11]中的记载以及度量衡考据,前期已完成沙参麦冬汤原方基准煎液及冻干粉制备,确定的基准煎液制法为:称取北沙参、麦冬各 11.19 g,桑叶、天花粉、白扁豆各 5.60 g,玉竹 7.46 g,甘草 3.73 g,加水 1 000 mL,武火煮沸后转文火熬煮,至浓缩液体积约 400 mL,过滤即得沙参麦冬汤煎液。建立了 15 批沙参麦冬汤的 HPLC 指纹图谱^[12],相似度均大于 0.90,表明样品及其所用饮片的整体质量相对稳定。

2.2 沙参麦冬汤的甘草苷含量测定

本方君药为北沙参、麦冬的成分均难以使用高效液相色谱法进行检测。玉竹、天花粉及白扁豆的有效成分不适用于高效液相检测^[13-14],桑叶中芦丁含量较低,故选择方中含量较高的甘草中主要有效成分甘草苷含量作为评价指标。

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Zorbax C₁₈(250 mm×4.6 mm,5.0 μm),流动相为乙腈(A)-0.2%磷酸水(B),柱温为 30℃,体积流量为 1.0 mL/min,进样量为 20 μL;沙参麦冬汤的甘草苷含量测定梯度洗脱程序为 0~5 min,5%~15% A;5~15 min,15%~23% A;15~20 min,23%~35% A;20~25 min,35%~45% A。检测波长程序为 0~5 min,354 nm;5~25 min,230 nm。

2.2.2 对照品溶液、供试品溶液的制备及含量测定

精密称定甘草苷对照品 11.095 6 mg 于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容至刻度线,精密移取 1 mL,甲醇定容至 10 mL,即得浓度为 0.103 3 mg/mL 的甘草苷对照品溶液。精密移取基准煎液 2 mL 至 5 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度线即得供试品溶液。注入 HPLC 色谱仪测定甘草苷含量,并按下式计算甘草苷转移率。甘草苷转移率=供试液甘草苷含量/甘草饮片甘草苷含量×100%。

2.3 沙参麦冬汤的提取工艺研究

2.3.1 提取工艺的单因素考察 采用回流提取法,以共有峰总面积、甘草苷转移率及浸膏得率为评价指标,对提取工艺中的浸泡时间(A)、加水量(B)及提取时间(C)进行单因素考察,考察因素水平详见表2。

表2 考察因素水平表

Table 2 Level table of factors examined

考察因素	考察水平			
	1	2	3	4
A/h	0	0.5	1.0	1.5
B/倍	6(4)	8(6)	10(8)	12(10)
C/h	1.0(0.5)	1.5(1.0)	2.0(1.5)	2.5(2.0)

运用熵权法计算综合评分^[15],筛选正交实验设计因素水平。各评价指标熵值越小,则熵权系数越大,指标传递的信息量越多,其权重值也越大。设给 m 个评价指标, n 个评价对象的原始数据的矩阵为 $A=(a_{ij})_{m,n}$, a_{ij} 为第 j 个指标下第 i 个项目的评价值,按照公式 1 对其归一化得到 $R=(X_{ij})_{m,n}$ 。 X_{ij} 表示为第 i 次试验时第 j 个评价指标的取值, $i=1,2,3,\dots,m;j=$

1,2,3,⋯,n。

$$X_{ij} = (x_j - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min}) \quad (1)$$

$P_i(0 \leq P_i \leq 1)$ 为某个信息的概率,需将矩阵 $(X_{ij})_{nm}$ 按公式(2)做归一化处理,则可视作评价指标的概率矩阵 $(P_{ij})_{nm}$ 。

$$P_{ij} = X_{ij} / \sum_{j=1}^n X_{ij} \quad (2)$$

P_{ij} 表示第 i 次试验在第 j 个评价指标下的概率。根据公式(3)、(4)确定各个评价指标的信息熵值 H_j 及权重系数 W_j ,结果见表 3。

表 3 各评价指标熵值与熵权系数计算结果

Table 3 Calculation results of entropy and entropy weight coefficient of each evaluation index

指标	H_j	W_j
共有峰总面积/(mAU*s)	0.893 1	0.318 0
甘草苷转移率/%	0.854 7	0.432 2
浸膏得率/%	0.916 0	0.249 8

$$H_j = -k \sum_{j=1}^n P_{ij} \cdot \ln P_{ij}, k = \ln m \quad (3)$$

$$W_j = (1-H_j) / \sum_{j=1}^m (1-H_j) \quad (4)$$

单因素实验结果表明,浸泡时间 0 h 得分最高,1 h 得分最低,故选择 0、0.5、1 h 进行正交设计;加水量 6(4)倍量水得分最低,10(8)倍量水得分最高,故选择 6(4)、8(6)、10(8)倍量水进行正交设计;提取时间 1.0(0.5) h 得分最低,2.0(1.5) h 得分最高,选择 1.0

(0.5) h、1.5(1.0) h 及 2.0(1.5) h 进行正交设计。

2.3.2 沙参麦冬汤提取工艺的正交优化 对提取工艺单因素考察的优选因素水平进行正交试验,采用与“2.3.1”项相同的评价指标与赋权方式。正交因素水平详见表 4,正交实验安排及结果见表 5,正交实验方差分析详见表 6。

表 4 正交因素水平表

Table 4 Level table of orthogonal factors

水平	因素		
	A/h	B/倍	C/h
1	0	6(4)	1.0(0.5)
2	0.5	8(6)	1.5(1.0)
3	1.0	10(8)	2.0(1.5)

由方差分析可知,浸泡时间及加水量对甘草苷的转移率影响显著,加水量及提取时间对浸膏得率影响显著,而浸泡时间、加水量及提取时间对共有峰的总峰面积影响并不显著。从方差分析可知,共有峰总峰面积影响因素 $B>A>C$,甘草苷转移率影响因素 $B>A>C$,浸膏得率影响因素 $C>B>A$,从综合评分来看,影响提取效果的因素 $B>A>C$,综上,确定优选工艺为 $A_1B_3C_3$,即浸泡 0 h,第 1 次加 10 倍量水提取 2 h,第 2 次加 8 倍量水提取 1.5 h,合并两次提取液,70 °C 减压旋蒸至相对密度 1.25,得沙参麦冬汤提取液。

2.3.3 验证性实验 称取 2 倍处方量沙参麦冬汤药材,平行 3 份,按 $A_1B_3C_3$ 提取方案进行实验,测得平

表 5 正交实验安排及结果

Table 5 Orthogonal experiment arrangement and results

试验号	A	B	C	D 空白	共有峰总面积/(mAU*s)	甘草苷转移率/%	浸膏得率/%	综合评分/分
1	1	1	1	1	10 448.21	75.45	36.00	42.61
2	1	2	2	2	10 871.15	78.04	41.57	68.09
3	1	3	3	3	12 002.30	88.41	43.77	100.00
4	2	1	2	3	9 913.41	58.02	39.01	24.33
5	2	2	3	1	10 731.28	73.66	41.89	62.04
6	2	3	1	2	10 754.16	79.66	39.54	62.49
7	3	1	3	2	8 847.58	55.02	40.00	12.81
8	3	2	1	3	9 140.34	56.65	38.45	12.92
9	3	3	2	1	11 384.48	77.23	42.63	75.65
K1	210.70	79.75	118.02	180.30				
K2	148.86	143.05	168.07	143.39				
K3	101.38	238.14	174.85	137.25				
R	109.32	158.39	56.83	43.05				

表6 正交实验方差分析

Table 6 Orthogonal experimental analysis of variance

指标	误差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	P值
共有峰总面积	A	2 600 039.16	2	1 300 019.58	3.35	>0.05
	B	4 246 828.41	2	2 123 414.21	5.47	>0.05
	C	579 426.95	2	289 713.48	0.75	>0.05
	D	776 279.32	2	388 139.66		
甘草苷转移率	A	471.83	2	235.91	9.82	<0.05
	B	554.12	2	277.06	11.54	<0.05
	C	5.02	2	24.02	0.055	>0.05
	D	91.05	2	45.53		
浸膏得率	A	0.14	2	0.07	1.49	>0.05
	B	20.37	2	10.18	211.53	<0.05
	C	25.24	2	12.62	262.17	<0.05
	D	0.10	2	0.05		
综合评分	A	2 003.27	2	1 001.63	5.54	>0.05
	B	4 237.38	2	2 118.69	11.72	>0.05
	C	642.29	2	321.15	1.78	>0.05
	D	361.48	2	180.74		

注: $F_{0.05(2,4)}=6.94$; $F_{0.05(2,2)}=19.0$; $F_{0.01(2,4)}=18.0$; $F_{0.01(2,2)}=99.0$ 。

均共有峰总面积为 12 574.67 mAU*s, RSD=1.63%; 平均甘草苷转移率为 91.67%, RSD=0.43%; 平均浸膏得率为 44.81%, RSD=0.94%, 结果表明该提取工艺稳定可行。

2.3.4 古法煎煮与现代提取工艺比较 沙参麦冬汤经由现代工艺回流提取后, 将其与古法煎煮所得冻干粉以指纹图谱共有峰总面积、甘草苷转移率、浸膏得率为指标进行比较, 详见表 7。结果表明, 现代提取工艺的指纹图谱共有峰总面积范围、甘草苷转移率范围、浸膏得率范围均与古法煎煮工艺有所重合, 可视为等同于古法煎煮工艺。

表7 沙参麦冬汤古法煎煮与现代提取工艺的比较

Table 7 Comparison between ancient decocting and modern extraction technology of Radix satenophiopogon decoction

组别	甘草苷转移率范围/%	浸膏得率范围/%
冻干粉	67.72~82.76	43.15~52.73
提取液	82.50~100.84	40.33~49.29

2.4 沙参麦冬汤颗粒的成型工艺研究

按“2.3.2”项优选的工艺条件制备沙参麦冬汤提取液, 将提取液浓缩至密度为 1.25 的浓缩液, 经由 50 °C 微波真空干燥 11 min 得沙参麦冬浸膏粉。以 45% 用量的 90% 乙醇为润湿剂, 以制软材情况、制粒

情况、颗粒性状、颗粒收率、溶化性及休止角等为评价指标, 采用单因素试验法筛选稀释剂的种类及用量。

2.4.1 单一稀释剂品种及用量筛选 分别加入 30%, 20%, 10% 的稀释剂(淀粉、糊精、乳糖), 以 45% 用量的 90% 乙醇为润湿剂, 制软材, 挤压过 16 目筛网, 60 °C 下干燥 15 min, 过 80 目筛整粒, 详见表 8。

单一稀释剂的成型结果表明, 20% 糊精的颗粒收率最高, 流动性较好, 而乳糖制得的颗粒略有黏性, 且流动性差, 并进一步考察糊精与淀粉的混合配比。

2.4.2 混合稀释剂配比筛选 考察糊精与淀粉的不同配比, 以 45% 用量 90% 乙醇为润湿剂, 按 20% 的稀释剂加入量制软材, 挤压过 16 目筛网, 60 °C 下干燥 15 min, 过 80 目筛整粒。结果表明, 糊精单用优于糊精、淀粉的混合稀释剂, 详见表 9。

2.5 沙参麦冬汤颗粒的薄层色谱研究

本研究质量标准部分分别建立了方中麦冬、桑叶、天花粉、白扁豆及甘草五味药材的薄层色谱法, 沙参麦冬汤颗粒剂的指纹图谱及有效成分甘草苷、甘草酸的高效液相色谱法, 可较全面地控制沙参麦冬汤颗粒剂的整体质量^[16]。

2.5.1 麦冬 分别称取全方颗粒和麦冬阴性颗粒 4.0 g, 加水 15 mL, 称取麦冬对照药材 4.0 g, 加水 30 mL, 分别加入盐酸 0.5 mL, 置水浴中加热回流

表8 单一稀释剂品种及用量考察($n=3, \bar{x} \pm s$)Table 8 Variety and dosage of single diluent($n=3, \bar{x} \pm s$)

稀释剂种类	制软材情况	制粒情况	颗粒性状	颗粒收率/%	溶化性	休止角/(°)
淀粉(10%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	83.12±0.76	合格	21.42±0.27
糊精(10%)	成团,能制粒	较易过筛	棕色,大小均匀	72.63±0.53	合格	16.86±0.19
乳糖(10%)	成团,能制粒	易过筛	有黏性,大小不均	78.80±0.48	合格	20.86±0.21
淀粉(20%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	85.84±0.87	合格	19.49±0.23
糊精(20%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	91.51±0.64	合格	16.86±0.19
乳糖(20%)	微结块,成团,能制粒	易过筛	有黏性,大小不均	84.42±0.82	合格	21.42±0.13
淀粉(30%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	80.22±0.71	合格	18.29±0.20
糊精(30%)	不成团,不能制粒	—	—	—	—	—
乳糖(30%)	结块,成团,能制粒	较易过筛	有黏性,大小不均	51.51±0.98	合格	23.05±0.12

表9 混合稀释剂不同配比考察($n=3, \bar{x} \pm s$)Table 9 Investigation of different ratios of mixed diluents ($n=3, \bar{x} \pm s$)

稀释剂种类	制软材情况	制粒情况	颗粒性状	颗粒收率/%	溶化性	休止角/(°)
糊精:淀粉(13%:7%)	成团,能制粒	较易过筛	棕色,大小不均匀	59.45±0.86	合格	20.32±0.21
糊精:淀粉(10%:10%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	76.26±0.56	合格	21.60±0.17
糊精:淀粉(7%:13%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	88.56±0.55	合格	21.04±0.20
糊精:淀粉(5%:15%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	89.68±0.50	合格	21.42±0.15
糊精(20%)	成团,能制粒	易过筛	棕色,大小均匀	91.51±0.36	合格	16.86±0.13

10 min,放冷。分别加入 20 mL 三氯甲烷振摇 1 h,取三氯甲烷部分并蒸干,加乙醇 1 mL 溶解,制得供试品溶液、麦冬阴性对照溶液和麦冬对照药材溶液。将上述 3 种溶液分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-丙酮(4:1)为展开剂展开,取出晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰,365 nm 紫外光检视。

2.5.2 桑叶 分别称取全方颗粒、桑叶阴性颗粒及桑叶对照药材 2.0 g,照 2020 年版《中国药典》一部“桑叶”鉴别项下制备供试品溶液、桑叶阴性对照溶液及桑叶对照药材溶液。将上述 3 种溶液分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:2:1)的上层溶液为展开剂,置于用展开剂预饱和 10 min 的展开缸内,展开,取出,晾干,312 nm 紫外光检视。

2.5.3 天花粉 分别称取全方颗粒、天花粉阴性颗粒及天花粉对照药材 2.0 g,照 2020 年版《中国药典》一部“天花粉”鉴别项下制备天花粉供试品溶液、天花粉阴性溶液及天花粉对照药材溶液。称取适量瓜氨酸对照品,加入 50%乙醇溶液,制成 1 mg/mL 的瓜氨酸对照品溶液。将上述 4 种溶液分别点于同

一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(10:3:1)为展开剂,展开完成后取出,晾干,喷以茚三酮试液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰。

2.5.4 甘草 分别称取全方颗粒、甘草阴性颗粒及甘草对照药材 2.0 g,照 2020 年版《中国药典》一部“甘草”鉴别项下制备供试品溶液、甘草阴性对照溶液及甘草对照药材溶液。称取适量甘草苷及甘草酸铵对照品,加甲醇分别制成 1 mg/mL 的溶液,作为甘草苷及甘草酸铵对照品溶液。将上述 5 种溶液溶液分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰,365 nm 紫外光检视。

2.5.5 白扁豆 分别称取全方颗粒、白扁豆阴性颗粒及白扁豆对照药材 3.0 g,加 25 mL 乙醇 80 °C 加热回流 30 min,放冷,滤过,滤液蒸干,加甲醇 2 mL 溶解即得供试品溶液、白扁豆阴性对照溶液及白扁豆对照药材溶液。白扁豆分别取甲苯 10 mL、乙酸乙酯 2 mL、88%甲酸 0.25 mL 与甲苯 10 mL、乙酸乙酯 2 mL、98%甲酸 0.25 mL,置于同一展开缸的

两个展开槽内,饱和展开缸 15 min,再将薄层板置于展开缸内饱和 10 min,以甲苯 10 mL,乙酸乙酯 2 mL 及 98%甲酸 0.25 mL 为展开剂,点硅胶 G 板,展开,晾干,喷以 10%的硫酸乙醇溶液作为显色剂,105 °C 加热至斑点清晰,取出薄层板,置于 312 nm 紫外光检视。

2.5.6 薄层色谱结果 麦冬、天花粉、桑叶、白扁豆及甘草 5 味药材的薄层色谱图详见图 1。结果表明,以上五味药材,在供试品色谱中与对照药材或对照品色谱相应的位置上,均显相同颜色的斑点且阴性无干扰。

2.6 沙参麦冬汤颗粒指纹图谱

2.6.1 色谱条件 色谱柱为 Zorbax C₁₈(250 mm×4.6 mm,5.0 μm),流动相为乙腈-0.2%磷酸水,柱温为 30 °C,体积流量为 1.0 mL/min,进样量为 20 μL,梯度洗脱程序为 0~70 min,设置 5 min 时间间隔,乙腈比例为 5%~15%、15%~23%、23%~35%、35%~45%、45%~55%、55%~60%、60%~80%、80%~100%。检测波长程序为 0~5 min,354 nm;5~30 min,230 nm,30~40 min,203 nm;41~50 min,230 nm;50~70 min,203 nm。

2.6.2 供试品溶液的制备 精密称定颗粒剂 0.2 g,置于 100 mL 锥形瓶中,加入 70%甲醇 30 mL,密塞,称重,超声 45 min,取出放冷,70%甲醇补足缺失重量,过膜,得供试品溶液。

2.6.3 精密度、重复性、稳定性试验 将供试品溶液,连续测定 6 次,以甘草苷为参照峰,测得各共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RSD 值均小于

3%,相似度均大于 0.990,表明该方法精密度良好。平行制备 6 份供试品溶液,以甘草苷为参照峰,测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3%,相似度均大于 0.990,表明该方法重复性良好。将供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 定时进样,以甘草苷为参照峰,测得各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 值均小于 3%,相似度均大于 0.990,表明该方法稳定性良好。

2.6.4 沙参麦冬汤颗粒的共有峰总峰面积测定 取 3 批沙参麦冬汤颗粒,按“2.6.2”项制备供试品溶液,测定记录共有峰总峰面积。3 批颗粒剂共有峰总峰面积平均面积为 2 015.475,3 批颗粒剂共有峰总峰面积的 RSD 为 0.37%,无明显差异,说明该制备工艺稳定可行。

2.6.5 10 批沙参麦冬汤颗粒的相似度评价 记录 10 批沙参麦冬汤颗粒的指纹图谱,并以甘草苷为参照峰,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2012A 版》^[17]对 10 批颗粒指纹图谱进行相似度分析。结果表明,10 批颗粒剂相似度均大于 0.990,表明各批次制得的颗粒质量相对稳定,详见图 2。

2.7 沙参麦冬汤颗粒基准样品与各个生产环节指纹图谱相似度评价

通过对沙参麦冬汤颗粒的基准煎液、冻干粉、提取液、中间体(浸膏粉)和成品(颗粒剂)之间的相似度进行评价,得基准样品与颗粒剂生产各环节样品的指纹图谱,结果详见图 3。以基准煎液(1.000)为参照,冻干粉(0.973)、提取液(0.916)、中间体(浸膏粉)(0.947)、成品(颗粒剂)(0.967)的相似度结果均大于

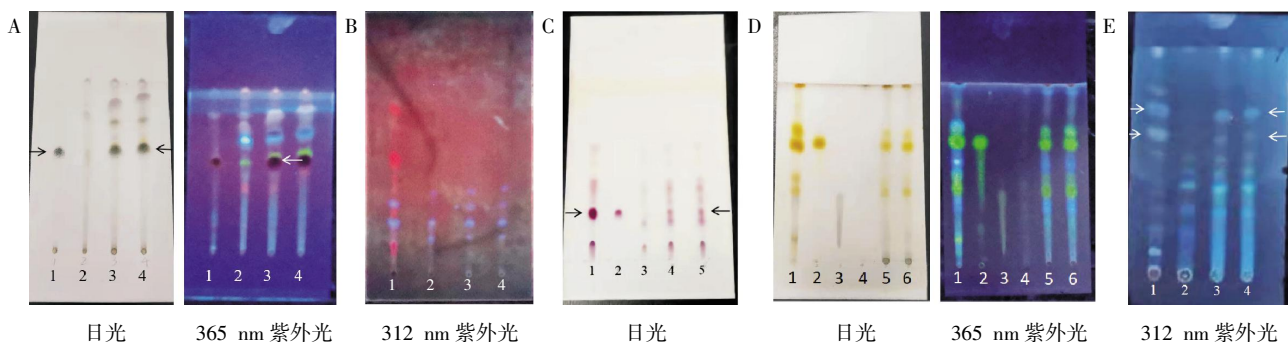


图 1 麦冬(A)、桑叶(B)、天花粉(C)、甘草(D)、白扁豆(E)的薄层色谱图

Fig.1 Thin-layer chromatogram of Ophiopogon (A), mulberry leaf (B), trichosanthin (C), Licorice (D), white lentil (E)

注: A.1.麦冬对照药材溶液;2.麦冬阴性对照溶液;3.4.供试品溶液。B.1.桑叶对照药材溶液;2.桑叶阴性对照溶液;3.4.供试品溶液。C.1.天花粉对照药材溶液;2.瓜氨酸对照品溶液;3.天花粉阴性对照溶液;4.5.供试品溶液。D.1.甘草对照药材溶液;2.甘草苷对照品;3.甘草酸铵对照品;4.甘草阴性对照溶液;5.6.供试品溶液。E.1.白扁豆对照药材溶液;2.白扁豆阴性对照溶液;3.供试品溶液。

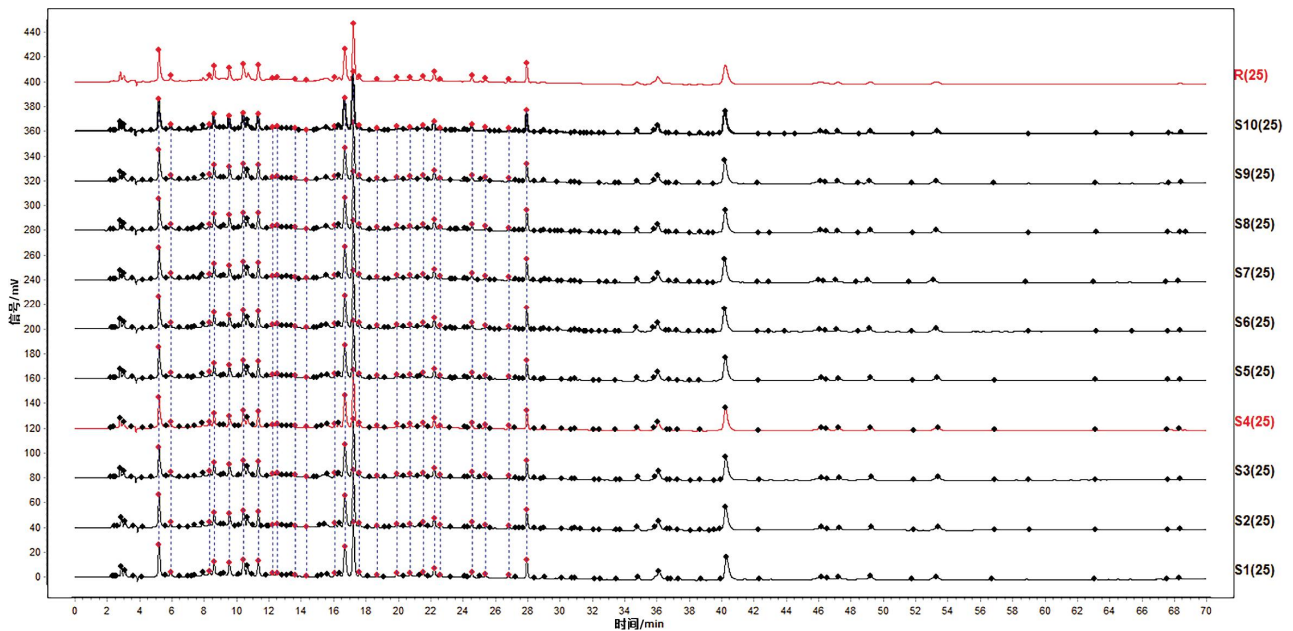


图2 10批沙参麦冬汤颗粒指纹图谱

Fig.2 The fingerprints of 10 batches Shashen Maidong Granules

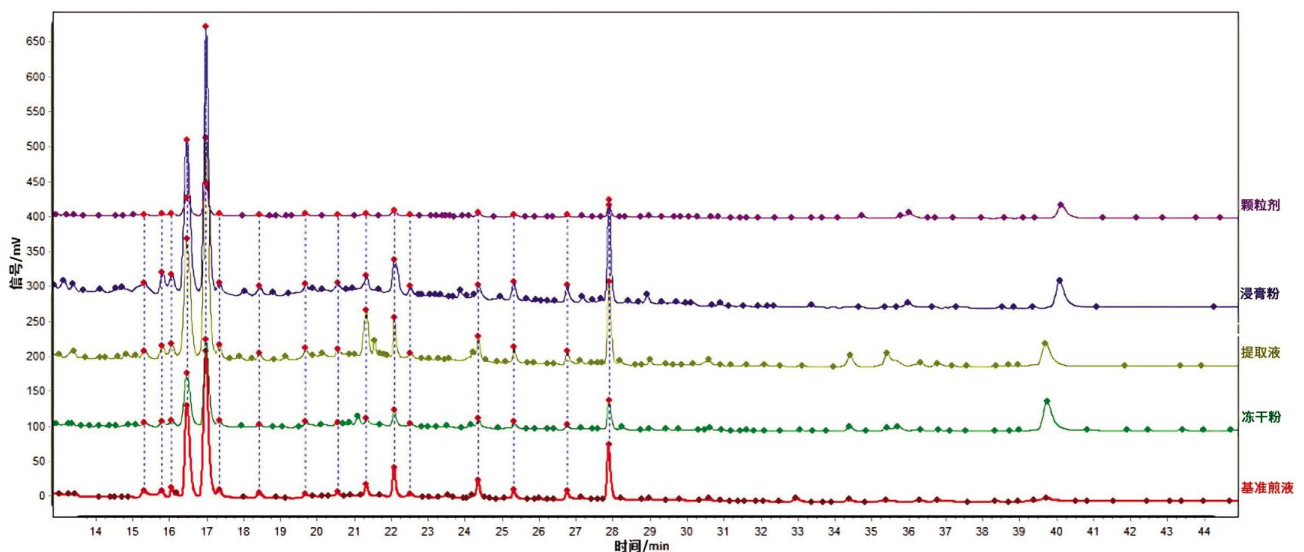


图3 基准样品与颗粒剂生产各环节指纹图谱相似度比对

Fig.3 Comparison of fingerprint similarity between the benchmark sample and every link of granule production

0.90。指纹图谱的相似度结果表明,沙参麦冬汤颗粒各生产环节的质量与基准样品可保持一致性。

2.8 沙参麦冬汤颗粒甘草苷含量测定

2.8.1 供试品溶液制备、甘草阴性对照溶液的制备

精密称定颗粒剂 0.2 g,置于 100 mL 锥形瓶中,加入 70%甲醇 30 mL,密塞,称重,超声 45 min,取出放冷,70%甲醇补足减失重量,过膜,得供试品溶液。取缺甘草沙参麦冬汤颗粒 0.2 g,精密称定,按上述方法制备甘草阴性对照溶液。

2.8.2 专属性试验 取 70%空白甲醇溶液、甘草苷

对照品溶液、甘草阴性对照溶液及供试品溶液,按“2.2.1”色谱条件进行检测,详见图 4,结果表明甘草苷色谱峰峰形较对称,分离度 1.95,阴性对照无干扰,该方法能够用于甘草苷的含量测定。

2.8.3 线性考察、精密性、重复性、稳定性、加样回收率实验 取甘草苷对照品溶液,分别精密取 2.500、1.665、1.250、1.000、0.850、0.715 mL 移至 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度线,摇匀,进样检测,甘草苷峰面积与浓度的回归方程为: $Y=43\ 889X+19\ 018$, $r=0.999\ 9$,可知甘草苷在 0.148 0~0.516 0 μg 范围内有良好的线性关系。

取供试品溶液,连续测定6次,记录甘草苷峰面积,RSD为0.65%,表明仪器精密度良好。平行制备6份供试品溶液,进样测定,记录甘草苷峰面积,RSD为0.76%,表明该方法重复性良好。将供试品溶液分别于0、2、4、8、12、24 h定时进样,记录甘草苷峰面积,RSD为0.74%,表明供试品溶液在24 h内稳定。精密称取含量为1.432 6 mg/g的颗粒0.1 g,加入甘草苷对照品溶液(0.103 3 mg/mL)1.450 mL于100 mL锥形瓶中,加入70%甲醇30 mL,密塞,称重,超声45 min,补足减失的重量,平行6份,进样检测,测得平均加样回收率为99.30%,RSD为2.52%。

2.8.4 沙参麦冬汤颗粒的甘草苷含量测定 取3批沙参麦冬汤颗粒,按“2.8.1”项下操作,制备供试品溶

液,进样检测,测定甘草苷的含量,结果详见表10,3批颗粒剂甘草苷平均含量1.432 5 mg/g,RSD为0.09%,说明该制备工艺稳定可行。

2.8.5 沙参麦冬汤基准样品与颗粒生产各环节甘草苷转移率对比 基准样品与颗粒剂生产各环节甘草苷转移率结果详见表11。基准样品煎液及其冻干粉的甘草苷转移率基本保持一致,表明冷冻干燥工艺并未对甘草苷造成破坏。现代工艺经回流提取、浓缩、干燥、制粒后,甘草苷的转移率有所下降,颗粒的甘草苷转移率与原方汤剂的较为接近,可为沙参麦冬汤开发成现代制剂提供参考依据。

2.9 沙参麦冬汤颗粒甘草酸含量测定

2.9.1 色谱条件 色谱柱为Zorbax C₁₈(250 mm×

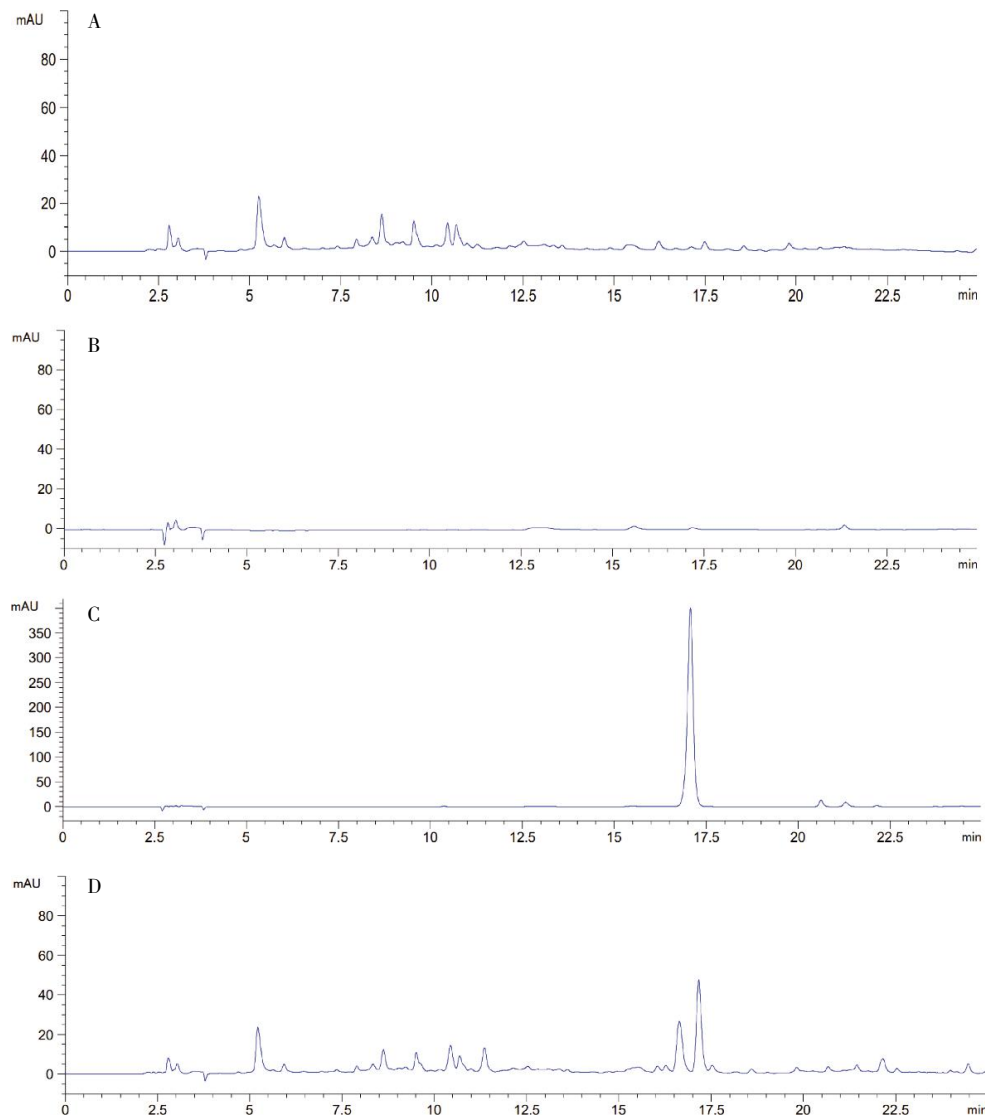


图4 甘草苷含量测定的专属性考察

Fig.4 Investigation of specificity in determination of licoritin content

注:A.70%空白甲醇溶液;B.甘草阴性对照溶液;C.甘草苷对照品溶液;D.供试品溶液。

表 10 3批颗粒剂的甘草苷含量测定

Table 10 Determination of liquiritin content in 3 batches of granules

批号	甘草苷含量/(mg/g)	平均含量/(mg/g)	\bar{x} /(mg/g)	RSD/%
20210110	1.430 7	1.431 8		
20210110	1.432 8			
20210111	1.432 6	1.433 9	1.432 5	0.09
20210111	1.435 1			
20210112	1.431 1	1.431 7		
20210112	1.432 2			

表 11 基准样品与颗粒剂生产各环节甘草苷平均转移率($n=3$)Table 11 Average transfer rate of liquiritin in reference sample and granule production process ($n=3$)

样品	剂型	甘草苷平均转移率/%
基准样品	煎液	75.60
	冻干粉	75.24
	提取液	91.67
颗粒剂	中间体(浸膏粉)	90.22
	成品	73.57

4.6 mm, 5.0 μ m), 流动相为乙腈(A)-0.2%磷酸水(B), 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 体积流量为 1.0 mL/min, 进样量为 20 μ L。沙参麦冬汤颗粒的甘草酸含量测定梯度洗脱程序为 0~5 min, 5%~15% A; 5~15 min, 15%~23% A; 15~20 min, 23%~35% A; 20~25 min, 35%~45% A; 25~40 min, 45%~55% A。检测波长程序为 0~5 min, 354 nm; 5~30 min, 230 nm; 30~40 min, 203 nm。

2.9.2 对照品溶液、供试品溶液的制备 精密称定甘草酸铵对照品 9.25 mg 于 100 mL 容量瓶中, 甲醇定容, 即得浓度为 0.092 5 mg/mL 的甘草酸铵对照品溶液。精密称定颗粒 0.5 g, 置于 100 mL 锥形瓶中, 加入 70% 甲醇 30 mL, 密塞, 称重, 超声 45 min, 取出放冷, 70% 甲醇补足缺失重量, 过膜, 得供试品溶液。取缺甘草沙参麦冬汤颗粒 0.5 g, 按上述方法制备甘草阴性对照溶液。测定甘草酸铵含量, 按“甘草酸重量=甘草酸铵重量/1.020 7”计算甘草酸含量。

2.9.3 专属性试验 取 70% 空白甲醇溶液、甘草酸铵对照品溶液、甘草阴性对照溶液及供试品溶液, 按甘草酸含量测定色谱条件进行检测, 见图 5, 结果表明甘草酸铵色谱峰峰形较对称, 分离度 4.05, 阴性对照无干扰, 该方法可用于甘草酸的含量测定。

2.9.4 线性考察、精密度、重复性、稳定性、加样回收

率实验 取甘草酸铵对照品溶液(0.737 mg/mL), 精密移取 5.000、3.750、2.500、1.250、0.625 mL 至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度线, 摇匀, 进样检测, 甘草酸铵峰面积与浓度的回归方程为: $Y=1\ 899.2X-6.752\ 3$, $r=0.995\ 8$, 可知甘草酸铵在 0.92~7.37 μ g 范围内有良好的线性关系。

取供试品溶液, 连续测定 6 次, 记录甘草酸铵峰面积, RSD 为 1.04%, 表明仪器精密度良好。平行制备 6 份供试品溶液, 进样测定, 记录甘草酸铵峰面积, RSD 为 2.34%, 表明该方法重复性良好。将供试品溶液分别于 0、2、4、8、12、24 h 定时进样, 记录甘草酸铵峰面积, RSD 为 1.32%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。精密称取含量为 3.117 6 mg/g 的颗粒 0.1 g, 加入甘草酸铵对照品溶液(0.092 5 mg/mL) 3.50 mL 于 50 mL 锥形瓶中, 加入 6.5 mL 的 70% 甲醇, 密塞, 称重, 超声 45 min, 补足缺失的重量, 平行 6 份, 进样检测, 测得平均加样回收率为 98.21%, RSD 为 1.28%。

2.9.5 沙参麦冬汤颗粒的甘草酸含量测定 取 3 批沙参麦冬汤颗粒, 按“2.9.1”项下操作, 制备供试品溶液, 进样检测, 测定甘草酸的含量, 结果见表 12, 3 批颗粒剂甘草酸平均含量 3.166 9 mg/g, RSD 为 2.29%, 说明该制备工艺稳定可行。

3 讨论

经典名方作为中医理论的载体, 其有着丰富的文化底蕴及临床经验, 是中医药传承发展的基础。经典名方大部分剂型为汤剂, 作为传统中药剂型汤剂存在需煎煮制备、口感欠佳、使用不便等缺点。本研究将经典名方沙参麦冬汤制成颗粒剂, 并开展了其制备工艺与质量标准的研究。制备工艺的干燥环节, 因处方中多糖类成分过多、药液黏性大, 传统的真空干燥耗时长且干燥效果不理想, 尝试采用喷雾干燥, 浸膏粉黏壁严重, 浸膏得率过低。微波真空干燥热传导速度快, 干燥周期短^[8], 所得浸膏粉性状良好, 故选择该法作为干燥方法。成型工艺研究中, 考虑到浸膏粉黏性大, 故未加入黏合剂而采用 90% 乙醇进行湿法制粒。对比了不同种类的稀释剂及用量, 结果表明, 加入 20% 糊精易制粒, 制得的颗粒收率高、流动性好。为了对沙参麦冬汤颗粒进行有效、可控、全面地质量评价, 采用了薄层色谱法对方中的各味

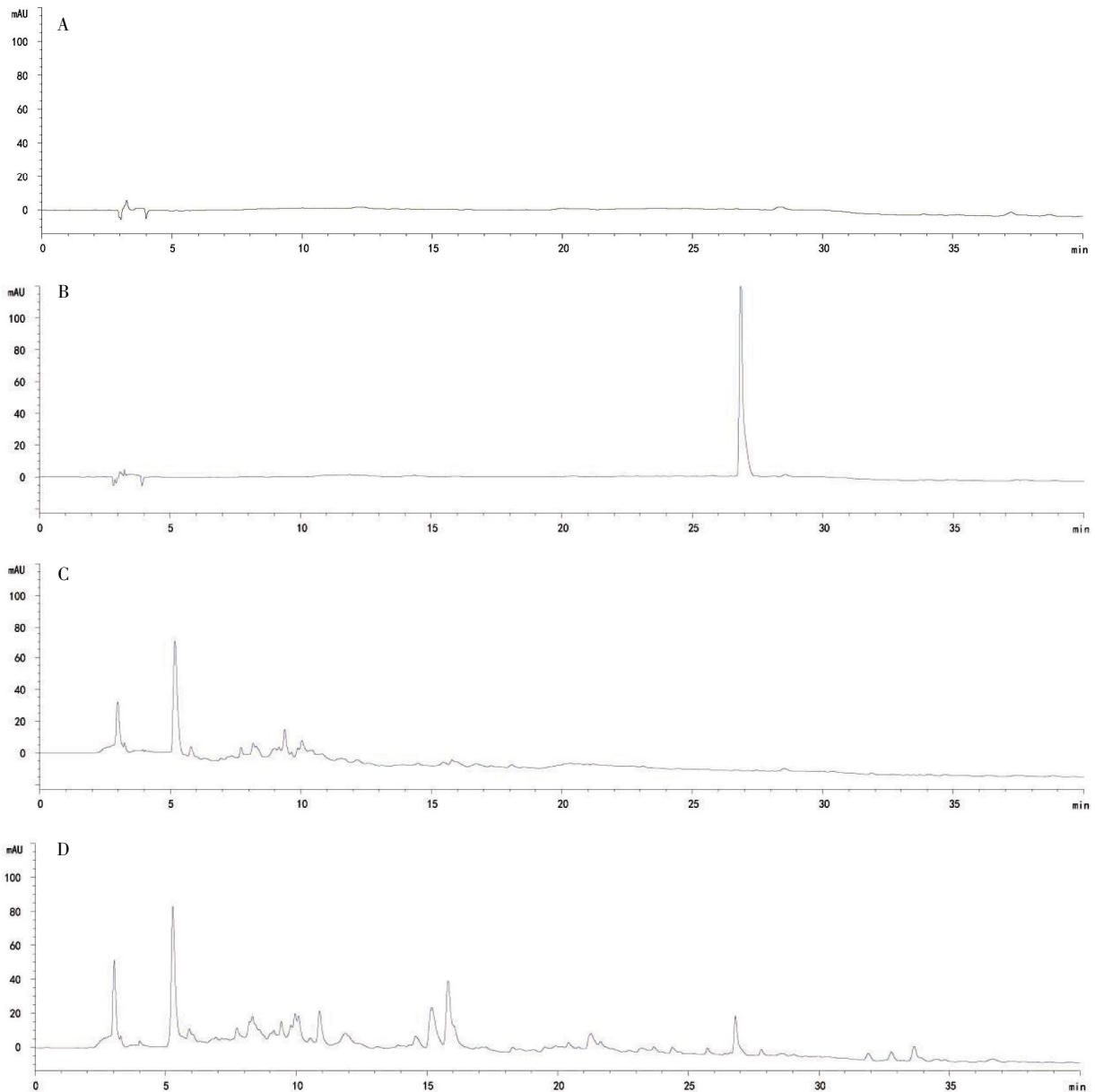


图5 甘草酸含量测定的专属性考察

Fig.5 Study on the specificity of glycyrrhizin content determination

注:A.70%空白甲醇溶液;B.甘草阴性对照溶液;C.甘草酸铵对照品溶液;D.供试品溶液。

表 12 3批颗粒剂的甘草酸含量测定

Table 12 Determination of ammonium glycyrrhizinate content in 3 batches of granules

批号	甘草酸含量/(mg/g)	平均含量/(mg/g)	\bar{x} /(mg/g)	RSD/%
20210110	3.012 3	3.010 1	3.071 9	2.13
20210110	3.007 9			
20210111	3.054 4	3.052 8	3.071 9	2.13
20210111	3.051 1			
20210112	3.152 4	3.152 9	3.071 9	2.13
20210112	3.153 3			

药材进行了定性鉴别。麦冬、桑叶、天花粉、白扁豆及甘草5味中药特征斑点清晰,且阴性无干扰,可用

于沙参麦冬汤颗粒的质量控制。北沙参的薄层色谱无特征斑点,玉竹薄层色谱的特征斑点有阴性干扰。

本研究以指纹图谱中共有峰总峰面积作为评价指标,可较全面控制复方整体质量。本方君药为北沙参及麦冬,由于北沙参专属性不强,难以进行检测,而麦冬在2020版《中国药典》中是以紫外测其鲁斯可皂苷元含量作为其总皂苷量,不适用于高效液相,其他文献以高效液相测定麦冬皂苷D含量作为指标,但麦冬皂苷D为末端吸收波长^[19],在全方中受干扰较大,亦难以检测。玉竹、天花粉及白扁豆有效成分不适用于高效液相检测,桑叶中芦丁含量较低,故

本实验选择方中含量较高的甘草苷(甘草主要成分)含量作为评价指标。浸膏得率对于颗粒剂制备有较大影响,与疗效亦密切相关,故亦为评价指标。

经典名方的现代制剂开发须建立在与传统制剂等质的基础上^[20-21],其制备全过程的质量控制以及各指标与基准样品的一致性至关重要,因此,对沙参麦冬汤颗粒生产各环节的指纹图谱进行了相似度评价及甘草苷转移率的对比,与基准样品进行比较,本研究所制得的颗粒剂基本与原方保持一致,符合国家规定的经典名方开发制剂的要求。本研究所制得的沙参麦冬汤颗粒成型性良好,制备工艺及质量稳定可靠,为后续沙参麦冬汤开发成现代制剂以及大规模生产提供了参考。

参考文献

- [1] 李吉,孙楠,钟岱晔,等. 基于沙参麦冬汤研发解暑护脾胃的代茶饮[J]. 中国食品, 2020(14): 98-99.
- [2] 王晓琴,苏柯萌. 北沙参化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国现代中药, 2020, 22(3): 466-474.
- [3] 谈梦霞,陈佳丽,邹立思,等. 不同加工麦冬中多元活性成分的含量测定及多元统计分析[J]. 药物分析杂志, 2019, 39(6): 992-1002.
- [4] 赖隽晖,李秀霞. 药用植物玉竹药理作用研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2021(2): 132-135.
- [5] 陈锦霞,史紫娟,陈伟钢. 天花粉(栝楼)标准汤剂的 UPLC 指纹图谱研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(3): 419-422.
- [6] 尹术华. 白扁豆非淀粉多糖的提取、理化性质及免疫活性的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [7] 孙伟,叶润,蔡静,等. 桑叶多糖的分离纯化及其抑菌活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 149-155.
- [8] 陈少芳,梁惠卿. 中药汤剂掩味探讨[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(6): 2348-2350.
- [9] 姚静,施钧瀚,桂新景,等. 中药汤剂掩味技术发展现状、存在问题及应对策略研究[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2023, 29(10): 1726-1730.
- [10] 王优杰,李益萍,沈岚,等. 中药临方颗粒剂的特点与发展设想[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(15): 3746-3752.
- [11] 吴塘著. 温病条辨[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2013: 15.
- [12] 颜红,彭志荣,高司琪,等. 沙参麦冬汤的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 华西药学杂志, 2021, 36(4): 433-438.
- [13] 何海永,罗芸芳,杨雨环,等. 不同玉竹种质资源多糖含量检测及 ISSR 分析[J]. 种子, 2022, 41(10): 19-24, 33.
- [14] 陈汇鸿,向玲玲,梁韵诗,等. 天花粉中瓜氨酸含量的荧光检测[J]. 中南药学, 2021, 19(11): 2403-2405.
- [15] 刘淑兰,周艺林,林鹏,等. Box-behnken 响应面法优化紫红生肌软膏的醇提工艺[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(4): 528-535.
- [16] 丁然然,杨明霞,何承辉,等. 消渴健脾胶囊制备工艺、质量标准研究[J]. 中成药, 2023, 45(9): 2852-2859.
- [17] 聂格,李晓玲,石雨荷,等. 健脾扶正颗粒 HPLC 指纹图谱的建立及 8 个化学成分含量测定[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(9): 1609-1616.
- [18] 徐菲,李顺祥,周晋,等. 药食果蔬褐变机制及其干燥工艺研究现状[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(11): 79-81.
- [19] 李红彦,蔡晓洋,杨瑞山,等. 川麦冬药材商品等级标准及质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(2): 641-646.
- [20] 刘艳,章军,陈士林,等. 经典名方复方制剂研发策略[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24): 166-172.
- [21] 李玲,季光,张彤,等. 经典名方苓桂术甘汤复方制剂的研制[J]. 中成药, 2023, 45(10): 3165-3172.

(本文编辑 苏维)