

引用:贾媛,周洪亮,管敏,王晓涵,韩旭.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.

# 基于一致性内涵的参黄颗粒提取工艺研究\*

贾媛<sup>1</sup>,周洪亮<sup>2</sup>,管敏<sup>2</sup>,王晓涵<sup>3</sup>,韩旭<sup>2</sup>

(1.中国药科大学附属江宁中医院,江苏 南京 211100;

2.南京中医药大学附属医院,江苏 南京 210029;

3.南京中医药大学第一临床医学院,江苏 南京 210046)

[摘要] 目的:基于物质基础一致性的内涵,采用质量源于设计(QbD)理念研究确定参黄颗粒的提取工艺参数。方法:采用失效模型与影响分析(FMEA)筛选关键工艺参数,以浸膏得率和指标成分二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇和淫羊藿苷含量为关键质量属性,以临床汤剂中各指标范围为目标,采用Box-Behnken响应面法建立模型,构建多指标重叠的设计空间,优选关键工艺参数,并进行验证。结果:(1)FMEA筛选获得的关键工艺参数为:加水倍数、浸泡时间及提取时间;(2)优化的参黄颗粒提取工艺为:加水8.4~9.9倍,浸泡96~156 min,提取31~41 min。该参数下的浸膏得率24.23%~34.99%,二苯乙烯苷含量1.058‰~1.528‰,金丝桃苷含量0.131‰~0.189‰,白藜芦醇含量0.077‰~0.112‰,淫羊藿苷含量0.229‰~0.331‰。结论:QbD理念有助于参黄颗粒提取工艺的提,该条件下获得的参黄颗粒物质基础与临床汤剂一致。

[关键词] 参黄颗粒;物质基础一致性;质量源于设计;提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)06-0094-07

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.06.016

## Study on the Extraction Process of Shenhuang Granules (参黄颗粒) Based on the Connotation of Material Basis Consistency

JIA Yuan<sup>1</sup>, ZHOU Hongliang<sup>2</sup>, GUAN Min<sup>2</sup>, WANG Xiaohan<sup>3</sup>, HAN Xu<sup>2</sup>

(1.Jiangning Hospital of Chinese Medicine Affiliated to China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

211100, China; 2.Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing Jiangsu 210029,

China; 3.The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine,

Nanjing Jiangsu 210046, China)

[Abstract] Objective: To determine the extraction process parameters of Shenhuang Granules (参黄颗粒) based on the concept of material basis consistency and Quality by Design (QbD). Methods: Failure Mode and Effects Analysis (FMEA) was employed to screen critical process parameters (CPPs). With the extract yield and contents of marker compounds (including stilbene glycoside, hyperoside, resveratrol, and icariin) as critical quality attributes (CQAs), and the ranges of these indicators in clinical decoctions as targets, Box-Behnken response surface methodology was used to establish models and construct a multi-index overlapping design space for optimizing CPPs, followed by validation. Results: (1)The CPPs screened by FMEA were water volume, soaking time, and extraction time; (2)The optimized extraction process for Shenhuang Granules was as follows: water volume 8.4-9.9 times, soaking time 96-156 min, and extraction time 31-41 min. Under these conditions, the extract yield was 24.23%-34.99%, with contents of stilbene glycoside 1.058‰-1.528‰, hyperoside 0.131‰-0.189‰, resveratrol 0.077‰-0.112‰, and icariin 0.229‰-0.331‰. Conclusion: The QbD concept facilitates the improvement of the extraction process for Shenhuang Granules, and the material basis obtained under these conditions is consistent with that of clinical decoctions.

[Keywords] Shenhuang Granules; material basis consistency; quality by design; extraction process

\*基金项目:南京市医疗机构中药传统制剂研究A类项目(NJCC-ZJ-202306)

通信作者:韩旭,男,主任中医师,研究方向为中医内科老年病

参黄方为国医大师周仲瑛教授的经验方,由党参、黄精、熟地黄、菟丝子、淫羊藿、制何首乌、虎杖、石菖蒲八味药组成,具有滋阴补阳、充髓益智、化瘀去毒之功效,常用于老年痴呆的治疗,可延缓衰老进展<sup>[1-3]</sup>。该方目前仍停留在汤剂形式的应用阶段,煎煮方法主要依据《医疗机构中药煎药室管理规范》的相关规定进行,但该方法只适用于小剂量的药物煎煮,应用规模有限。随着人口老龄化的加剧,该方的临床需求量急剧增加。为满足临床需求,江苏省中医院拟将其开发成医疗机构制剂。而参黄颗粒制剂开发过程中,如何科学合理地确定提取工艺参数是保证制剂质量首先要解决的问题。

中药制剂所含的化学成分是其发挥疗效的内在基础,目前大部分中药制剂的提取工艺研究大多以一个或数个指标性成分的含量为指标<sup>[4-9]</sup>,优选含量最高的提取工艺参数。该方法有一定的科学性但忽略了成分之间的配伍或协同作用<sup>[10-12]</sup>。临床应用的汤剂因物质基础相对固定,且长时间的临床应用表明,该方法煎煮的制剂形式疗效确切,安全性高,因此该提取方法具有一定的参考性。但临床汤剂的工艺参数亦不能简单复制于大生产,其原因在于汤剂煎煮设备的工作原理与大生产所用的相去甚远,简单复制会存在较大的偏离。因此,本研究尝试基于临床汤剂中的关键成分的含量范围对参黄颗粒的提取工艺进行优化,筛选出与临床长期应用的汤剂物质基础一致的,且适合工业化生产的工艺参数。从而开发出与临床汤剂物质基础一致的,符合大生产工艺的参数,为应用传统工艺配制的医疗机构制剂——参黄颗粒的提取工艺开发提供新的尝试。

## 1 材 料

1.1 药物与试剂 党参(批号:20231001-01)、虎杖(批号:20230802-01)、制何首乌(批号:20230502-01)、菟丝子(批号:20230901-02)、黄精(批号:20231005-01)均购自贵州同德药业有限公司;石菖蒲(批号:231001)、熟地黄(批号:231002)均购自马鞍山井泉中药饮片有限公司;淫羊藿(批号:23102001)购自安徽江中州中药饮片有限公司。上述饮片经江苏省中医院药学部黄亚威副主任鉴定,均符合2020年版《中华人民共和国药典》一部相关项下的要求。白藜芦醇(批号:230721)、淫羊藿苷(批号:230618)、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷,批号:230709)、金丝桃苷(批号:201225)均购自南京聚康医药化工有限公司,纯度均大于98%;乙腈(23096017)购自天地科技股份有限公司,为色谱纯;超纯水(4101JY)购自杭州娃哈哈集团有限公司;甲醇(2024011001)、磷酸(2023081501)均购自成都市科隆化学品有限公司,为分析纯。

1.2 主要仪器 Waters2695高效液相色谱仪(美国Waters公司);BP211D十万分之一分析天平(德国Sartorius公司);HH-6数显恒温水浴锅(常州国华仪器制造有限公司);1 500 L真空浓缩罐(浙江温兄机械阀业有限公司)。

## 2 方法与结果

2.1 参黄提取液的制备 称取10 d处方量(每天92 g)的参黄方饮片,按试验设计加入对应体积(6~12倍)的水,加热回流提取2次,合并2次滤液并混合均匀,即得。

2.2 提取工艺关键工艺参数筛选 采用失效模型与影响分析(failure mode and effects analysis, FMEA)对参黄颗粒提取过程中涉及的关键工艺进行筛选,根据江苏省中医院中药复方提取经验及文献报道,对提取过程中所涉及的潜在关键工艺参数(potential critical process parameters, pCCPs)——饮片、溶媒、提取、过滤进行风险评估,计算风险优先度(risk priority number, RPN)。RPN=S×O×D。其中S为严重度, O为失效发生频度, D为不可探测度<sup>[13]</sup>。RPN值越高表明该因素风险越大,针对高风险因素进行单因素试验,最后选择溶媒倍数、浸泡时间、提取时间为关键工艺参数(critical process parameters, CCPs)。(见表1)

2.3 关键质量属性(critical quality attributes, CAQs)的测定与分析方法

2.3.1 浸膏得率的测定 精密量取参黄提取液5 mL至恒重蒸发皿中,水浴蒸干,置105℃烘箱中干燥至恒定质量(3 h),取出后干燥器中冷却30 min,迅速精密称定质量,计算浸膏得率。浸膏得率=(浸膏质量×提取液总体积)/(处方饮片质量×取样体积)×100%。

2.3.2 含量测定 (1)对照品储备液的制备。取二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷对照品适量,分别置于25 mL量瓶中,加甲醇分别制备成质量浓度为372.0 μg/mL、361.0 μg/mL、412.8 μg/mL及414.0 μg/mL的对照品贮备液,4℃保存,备用。

(2)供试品溶液制备。精密量取参黄提取液2 mL于10 mL量瓶中,加甲醇适量,摇匀,定容至规定体积,过滤即得。

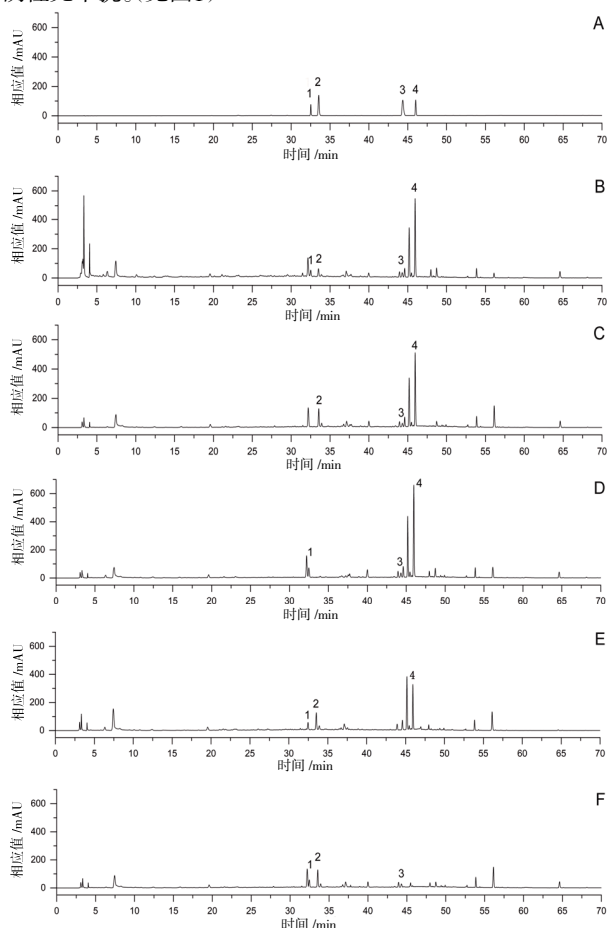
(3)色谱条件。采用Agilent Polaris 3 C<sub>18</sub>-A色谱柱(250.0 mm×

表1 参黄颗粒提取工艺中 CCPs 的风险评估

类别	因素	S	O	D	RPN	备注
饮片	质量	3	3	1	9	采用符合药典标准的饮片进行投料
溶媒	种类	3	3	2	18	医疗机构应用传统工艺配制,提取所用溶媒与临床一致,不改变物质基础
	倍数	3	3	2	18	影响有效成分的溶出及后续的浓缩效率、生产成本等
提取	浸泡时间	3	3	2	18	浸泡时间影响饮片浸润程度并进一步影响有效成分的提取
	提取时间	3	3	2	18	影响有效成分的提取量和效率,影响生产成本,过长时间的加热提取还会产生热破坏效应。预试验中90 min的提取效率已达最大提取效果
	温度	2	2	2	8	采用蒸汽加热回流提取,控制蒸汽压力,煮沸后保持微沸
	次数	3	3	1	9	临床应用中提取2次,结合生产实际,不作变更
滤过	筛网目数	2	2	2	8	考虑过滤效果及过滤效率,并结合实际,选择100目筛网
	滤过温度	2	2	2	8	温度过低有效成分可能形成沉淀,造成较大损耗,因此采用趁热过滤(60℃左右)

4.6 mm, 3.0  $\mu$ m); 以乙腈(A)–0.1%磷酸水溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~7 min, 7%A; 7~25 min, 7%~20%A; 25~40 min, 20%~30%A; 40~55 min, 30%~60%A; 55~65 min, 60%~80%A; 65~75 min, 80%A), 检测波长 260 nm, 流速 1.0 mL/min, 柱温 25  $^{\circ}$ C, 洗脱程序后运行时间为 10 min。

(4) 系统适应性及专属性考察。在(3)所述色谱条件下, 供试品溶液中二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷与对照品色谱峰的保留时间一致, 各色谱峰均能较好分离, 且阴性无干扰。(见图 1)



注: 1 二苯乙烯苷; 2 金丝桃苷; 3 白藜芦醇; 4 淫羊藿苷。

图 1 混合对照品(A)、参黄方供试品(B)、缺制何首乌阴性供试品(C)、缺菟丝子阴性供试品(D)、缺虎杖阴性供试品(E)、缺淫羊藿阴性供试品(F)HPLC 色谱图

(5) 线性关系考察。取不同质量浓度的混合对照品溶液, 照(3)项下色谱条件进样, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。分别得回归方程: 二苯乙烯苷(20.668~309.999  $\mu$ g/mL):  $Y=4\ 132X-31\ 474$  ( $R^2=0.999\ 9$ ); 金丝桃苷(2.007~30.099  $\mu$ g/mL):  $Y=24\ 994X-13\ 794$  ( $R^2=0.999\ 9$ ); 白藜芦醇(0.663~9.342  $\mu$ g/mL):  $Y=10\ 838X-2084.3$  ( $R^2=0.999\ 8$ ); 淫羊藿苷(5.520~82.800  $\mu$ g/mL):  $Y=17\ 590X-29\ 425$  ( $R^2=0.999\ 9$ )。结果表明二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷在该浓度范围内线性关系良好。

(6) 精密度试验。取同一供试品溶液, 照(3)项下条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积并计算含。二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷峰面积 RSD 值分别为 3.02%、2.85%、

1.47%、0.90%, 表明仪器精密度良好。

(7) 稳定性试验。按(2)项下方法制备供试品溶液, 分别于制备后的 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 记录峰面积并计算含量。二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷峰面积 RSD 值分别为 2.14%、0.64%、1.50%、1.04%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(8) 重复性试验。取同一参黄提取液, 照(2)项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 进样测定, 记录峰面积并计算含量。二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷含量 RSD 值分别为 1.83%、1.16%、3.14%、1.81%, 表明该方法重复性良好。

(9) 加样回收率试验。精密量取已知含量的参黄提取液 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加入含二苯乙烯苷 226.66  $\mu$ g、金丝桃苷 50.165  $\mu$ g、白藜芦醇 4.18  $\mu$ g 及淫羊藿苷 198.12  $\mu$ g 的对照品溶液, 照供试品溶液制备方法平行制备 6 份, 进样测定, 计算回收率。二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷的平均加样回收率分别为 104.24%、99.67%、102.05%、104.05%, RSD 值分别为 0.88%、3.04%、3.31% 及 1.37%。

2.4 临床汤剂中各指标的测定 按处方剂量称取参黄方饮片 92 g, 共 10 份。煎煮方法: 加水浸泡 30~60 min; 第一煎加水超过药面 3~5 cm; 第二煎加水至药面。浸泡后的中药一煎先用武火煮沸, 后改用文火煎煮 30 min; 二煎武火煮沸后, 文火煎煮 20 min。合并两次煎液并定容至 300 mL 得参黄临床汤剂样品, 照“2.3”项下方法对浸膏得率、二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷含量进行测定。结果见表 2。

表 2 临床汤剂中各指标测定结果

编号	浸膏得率/%	二苯乙烯苷/%	金丝桃苷/%	白藜芦醇/%	淫羊藿苷/%
1	26.95	1.193	0.149	0.084	0.242
2	25.42	1.225	0.141	0.080	0.258
3	27.83	1.164	0.154	0.098	0.267
4	27.98	1.144	0.141	0.076	0.261
5	25.17	1.150	0.142	0.082	0.257
6	26.23	1.165	0.147	0.086	0.247
7	26.86	1.166	0.146	0.096	0.251
8	27.94	1.162	0.144	0.082	0.272
9	26.38	1.178	0.142	0.078	0.245
10	28.43	1.211	0.149	0.096	0.246
平均值	26.919	1.176	0.145	0.086	0.255

2.5 CCPs 与 CQAs 的相关性研究 为探讨 CPPs(A 浸泡时间、B 溶媒倍数、C 提取时间)与 CQAs(浸膏得率、二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷含量)的相关性, 通过 Design-Expert 12 设计 3 因素 3 水平的 Box-Behnken 试验, 试验设计与结果见表 3, 方差分析结果见表 4。结果表明, 试验设计关键工艺参数范围设置较为合理。浸膏得率二次项回归总模型方差显著 ( $P<0.01$ ), 失拟值不显著; 二苯乙烯苷二次项回归总模型方差显著 ( $P<0.001$ ), 失拟值不显著; 金丝桃苷二次项回归总模型方差显著 ( $P<0.05$ ), 失拟值不显著; 淫羊藿苷二次项回归总模型方差显著 ( $P<0.01$ ), 失拟值不显著; 上述分析表明浸膏得率、二苯乙烯苷、金丝桃苷、淫羊藿苷二次项回归总模型拟合度好, 可用于预测和优化。

表3 Box-Behnken 设计与结果

编号	工艺条件			关键质量属性				
	浸泡时间/min	加水倍数	提取时间/min	浸膏得率/%	二苯乙烯苷/ $\%$	金丝桃苷/ $\%$	白藜芦醇/ $\%$	淫羊藿苷/ $\%$
1	60	6	60	27.315	1.359	0.139	0.051	0.303
2	180	6	60	30.217	1.372	0.146	0.080	0.306
3	60	12	60	32.097	1.463	0.173	0.094	0.325
4	180	12	60	33.066	1.689	0.186	0.080	0.417
5	60	9	30	31.317	1.295	0.158	0.089	0.288
6	180	9	30	34.981	1.341	0.156	0.091	0.301
7	60	9	90	34.905	1.540	0.161	0.094	0.340
8	180	9	90	35.312	1.853	0.167	0.080	0.428
9	120	6	30	28.569	0.863	0.095	0.078	0.192
10	120	12	30	34.333	1.269	0.159	0.080	0.238
11	120	6	90	33.726	1.547	0.169	0.073	0.383
12	120	12	90	39.510	1.787	0.171	0.095	0.352
13	120	9	60	32.329	1.461	0.168	0.081	0.326
14	120	9	60	34.606	1.557	0.173	0.063	0.346
15	120	9	60	33.506	1.500	0.160	0.076	0.332
16	120	9	60	33.099	1.592	0.179	0.080	0.374
17	120	9	60	34.452	1.547	0.163	0.089	0.342

表4 Box-Behnken 设计方差分析

变量	浸膏得率	二苯乙烯苷	金丝桃苷	白藜芦醇	淫羊藿苷
模型常量	+33.60	+1.53	+0.168 6	+0.077 8	+0.344 0
<i>P</i>	0.005 2	0.001 1	0.025 6	0.144 8	0.007 3
A浸泡时间	+0.992 8	+0.074 8	+0.003 0	+0.000 4	+0.024 5
<i>P</i>	0.057 2	0.031 3	0.483 6	0.906 5	0.037 2
B加水倍数	+2.40	+0.133 4	+0.017 5	+0.008 4	+0.018 5
<i>P</i>	0.000 9	0.002 0	0.003 5	0.029 8	0.093 9
C提取时间	+1.78	+0.244 9	+0.012 5	+0.000 5	+0.060 5
<i>P</i>	0.004 7	<0.000 1	0.017 8	0.875 6	0.000 4
AB	-0.483 3	+0.053 2	+0.001 5		+0.022 3
<i>P</i>	0.459 6	0.218 2	0.801 2		0.143 4
AC	-0.814 3	+0.066 8	+0.002 0		+0.018 7
<i>P</i>	0.228 9	0.133 8	0.737 6		0.207 5
BC	+0.005 0	-0.041 5	-0.015 5		-0.019 2
<i>P</i>	0.993 8	0.326 8	0.030 5		0.197 0
A <sup>2</sup>	-1.42	+0.040 0	+0.002 2		+0.020 9
<i>P</i>	0.051 0	0.331 3	0.705 6		0.156 7
B <sup>2</sup>	-1.51	-0.100 7	-0.009 8		-0.027 1
<i>P</i>	0.040 5	0.034 2	0.123 1		0.078 3
C <sup>2</sup>	+1.95	-0.064 2	-0.010 3		-0.025 6
<i>P</i>	0.014 4	0.138 2	0.108 0		0.092 6
失拟值	0.313 6	0.100 7	0.109 5	0.638 9	0.123 3

2.6 模型的建立及评价 采用二项式回归对评价指标及关键工艺参数分别进行拟合得到对应的回归方程:浸膏得率=33.60+0.992 8A+2.40B+1.78C-0.483 3AB-0.814 3AC+0.005 0BC-1.42A<sup>2</sup>-1.51B<sup>2</sup>+1.95C<sup>2</sup>;二苯乙烯苷=1.53+0.074 8A+0.133 4B+0.244 9C+0.053 2AB+0.066 8AC-0.041 5BC+0.040 0A<sup>2</sup>-

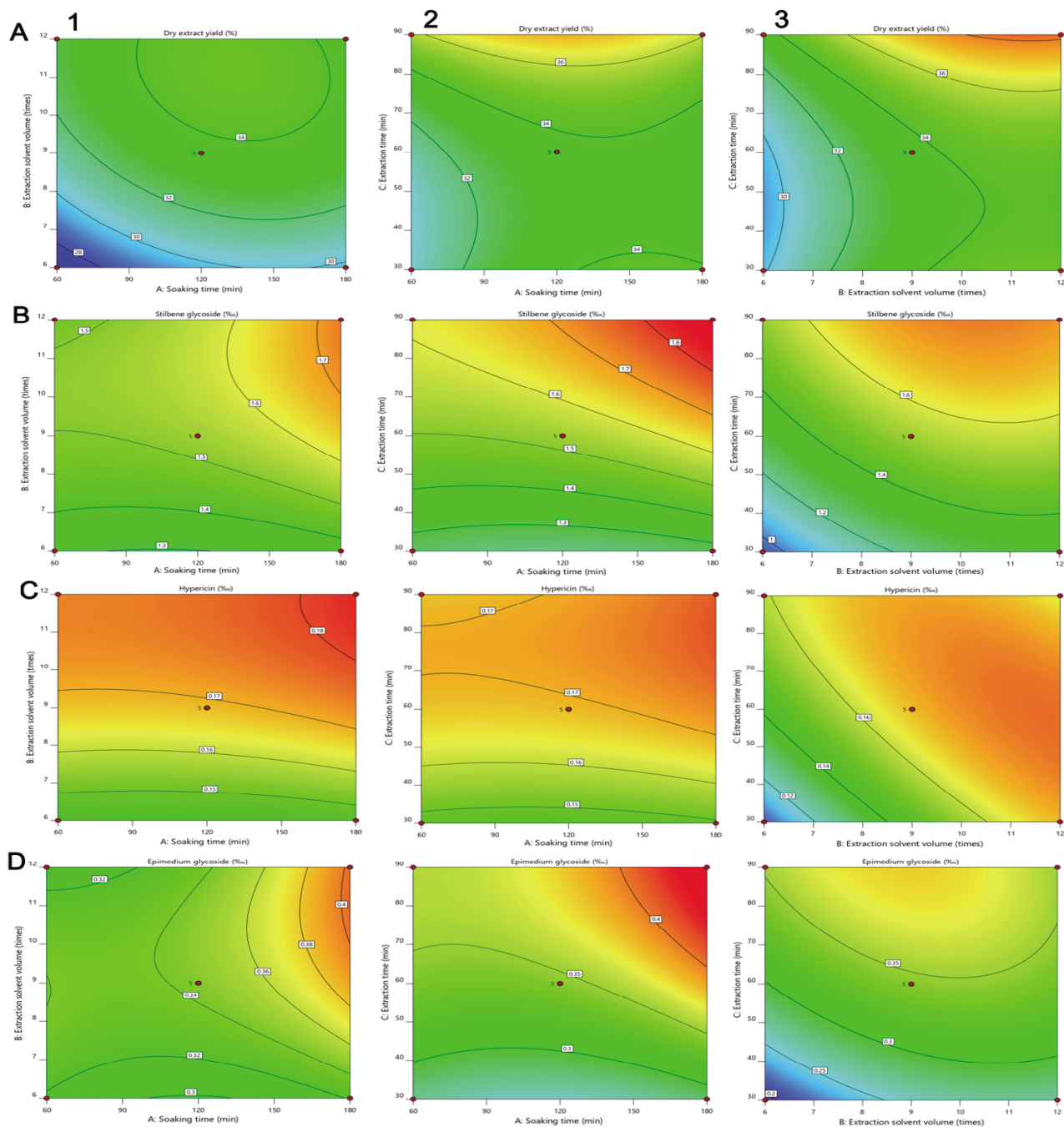
0.100 7B<sup>2</sup>-0.064 2C<sup>2</sup>;金丝桃苷=0.168 6+0.003 0A+0.017 5B+0.012 5C+0.001 5AB+0.002 0AC-0.015 5BC+0.002 2A<sup>2</sup>-0.009 8B<sup>2</sup>-0.010 3C<sup>2</sup>;淫羊藿苷=0.344 0+0.024 5A+0.018 5B+0.060 5C+0.022 3AB+0.018 7AC-0.019 2BC+0.020 9A<sup>2</sup>-0.027 1B<sup>2</sup>-0.025 6C<sup>2</sup>。浸膏得率、二苯乙烯苷、金丝桃苷和淫羊藿苷的拟合相关系数 $R^2$ 分别为0.915 2、0.946 6、0.860 1和0.906 1, Radj<sup>2</sup>分别为0.806 3、0.878 0、0.680 1和0.785 3,表明该模型拟合度较好,该模型可接受。白藜芦醇拟合相关系数 $R^2$ 为0.4418,拟合度较差。

2.7 响应面分析 根据各指标的回归方程绘制三维响应面图,图中从蓝到红颜色的变化表示指标从少到多进行变化,颜色变化越显著表示数值变化越剧烈,即该指标对结果的影响越显著。综合各图可知,相对于浸膏得率,二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇受工艺参数影响更为明显,而同一指标中提取时间和溶剂体积对指标性含量的影响更为显著。(见图2)

2.8 设计空间的建立<sup>[3]</sup> 取10批参黄方临床汤剂中各指标均值的90%~130%作为参黄颗粒提取工艺优化目标,即:浸膏得率24.23%~34.99%,二苯乙烯苷含量1.058‰~1.528‰,金丝桃苷含量0.131‰~0.189‰,白藜芦醇含量0.077‰~0.112‰,淫羊藿苷含量0.229‰~0.331‰。在设定的工艺参数空间内选取符合条件的子集,通过Design-Expert 12构建参黄颗粒提取工艺设计空间,以Overlay Plot展示。(见图3)其中不符合要求的空间表示为灰色区域,符合要求的为黄色区域。该空间内,参黄提取液的各项指标均符合设定目标。在设计空间时,为确保制剂质量,同时结合我院生产实际情况,适当缩小设计空间,即红线框部分,最终确定的参黄颗粒提取工艺参数为加8.4~9.9倍水,浸泡96~156 min,提取31~41 min。

2.9 设计空间的验证性试验<sup>[13]</sup>

2.9.1 小试规模下的验证 取同一批次的饮片对获得的工



注: 1. 提取时间 60 min; 2. 加水倍数 9 倍; 3. 浸泡时间 120 min。

图 2 浸膏得率(A)、二苯乙烯苷(B)、金丝桃苷(C)、淫羊藿苷(D)的响应面图

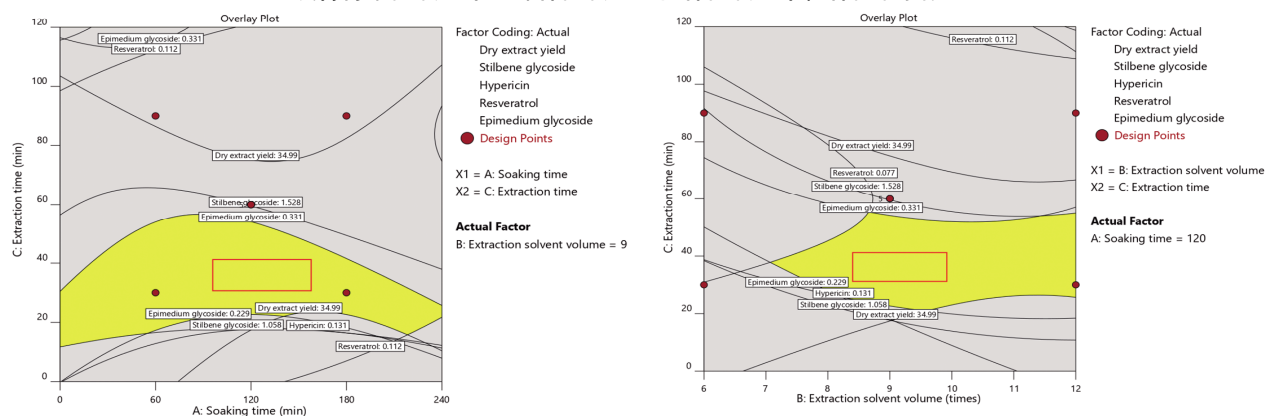


图 3 参黄颗粒提取工艺的设计空间



表5 小试规模下设计空间验证结果

编号	工艺参数					
	(加水倍数/倍,浸泡时间/min,提取时间/min)	浸膏得率/%	二苯乙烯苷/%	金丝桃苷/%	白藜芦醇/%	淫羊藿苷/%
1(空间外)	6.0,100,30	27.86	0.947	0.112	0.077	0.238
2(空间内)	8.6,120,34	31.20	1.251	0.146	0.083	0.268
3(空间内)	9.0,130,36	32.44	1.295	0.152	0.081	0.279
4(空间内)	9.5,140,38	33.67	1.347	0.158	0.082	0.293
5(空间外)	11.2,160,50	35.17	1.497	0.174	0.081	0.341

表6 中试规模下的设计空间验证结果

编号	工艺参数					
	(加水倍数/倍,浸泡时间/min,提取时间/min)	浸膏得率/%	二苯乙烯苷/%	金丝桃苷/%	白藜芦醇/%	淫羊藿苷/%
1空间内	8.6,100,35	31.15	1.302	0.151	0.083	0.279
2空间内	9.0,100,40	33.47	1.348	0.152	0.080	0.303
3空间内	9.5,145,35	32.80	1.313	0.147	0.079	0.281

艺参数进行小试(1 d处方量)验证。在设计空间图中选取5个不同区域的点(3个位于设计空间内,2个位于设计空间外)进行工艺验证。(见表5)结果表明设计空间内的点均满足预期目标:浸膏得率24.23%~34.99%,二苯乙烯苷含量1.058‰~1.528‰,金丝桃苷含量0.131‰~0.189‰,白藜芦醇含量0.077‰~0.112‰,淫羊藿苷含量0.229‰~0.331‰,而空间外的点不能同时满足这5个目标,表明在设计空间内操作能保证提取工艺达到预期目标。

2.9.2 中试规模下的验证 分别取与小试同批次饮片在中试条件(46 kg/批,1500L真空浓缩主罐)下进行中试规模下的验证。工艺条件及结果见表6。结果表明,空间内的三批参黄颗粒中试条件下所得的提取液各项指标均符合预期目标。

### 3 讨论

3.1 指标成分的选择 参黄颗粒组方药味众多,成分复杂,其指标性成分的选择直接决定了制剂工艺参数研究结果及制剂质量。传统的含量测定一般以君药或臣药中的主要成分为指标进行工艺筛选,但本研究中并未采用该方法,在选择指标性成分时,首先对复方中的成分进行了定性,共使用对照品鉴别出了5-羟甲基糠醛、绿原酸、党参炔苷、淫羊藿苷、金丝桃苷等12个成分,指标性成分选择太多会弱化功效相关的主要活性成分在工艺筛选过程中的作用,因此,我们基于复方中药质量标志物(Q-marker)研究路径的“五原则”,筛选出了参黄方中与抗衰老关系密切的金丝桃苷<sup>[14-15]</sup>、淫羊藿苷<sup>[16-18]</sup>、二苯乙烯苷<sup>[19-21]</sup>、白藜芦醇<sup>[22-25]</sup>作为参黄颗粒工艺研究的评价指标。这样的指标成分筛选模式更贴近复方中药的功能主治,具有一定的科学性。

3.2 液相色谱分析条件的确定 色谱条件的确定过程中,我们对参黄提取液的分析方法进行了充分的分析比较。乙腈具有较强的洗脱能力,可极大减少分析时间,而0.1%的磷酸水溶液可有效抑制金丝桃苷峰的拖尾现象,因此最终选择了乙腈-0.1%磷酸水溶液作为流动相。由于色谱图中的白藜芦醇色谱峰周围存在较多的干扰峰,我们通过比较发现,25℃的柱温相较于常规的30℃的柱温可使该部位的色谱峰实现更好的分离,满足分离度大于1.5的要求。

3.3 参黄颗粒提取工艺优化目标的确定 中药汤剂临床应

用多年,该处方量下的饮片经煎煮所得的中药汤剂的安全性及有效性已经得到了充分的证实,因此我们在设定大生产条件下的参黄颗粒提取工艺优化目标时,对10批参黄方临床汤剂的浸膏得率、二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷进行了测定,同时考虑到上述指标在后续的浓缩、纯化过程中分别损失18.6%、16.0%、20.8%、20.6%、14.1%,因此,最终将临床汤剂中各项指标均值的90%~130%作为参黄颗粒提取工艺优化目标,分别为:浸膏得率24.23%~34.99%,二苯乙烯苷含量1.058‰~1.528‰,金丝桃苷含量0.131‰~0.189‰,白藜芦醇含量0.077‰~0.112‰,淫羊藿苷含量0.229‰~0.331‰。

3.4 小结 本研究基于拟开发的颗粒剂与临床汤剂物质基础相一致性的科学内涵,采用失效模型与影响分析对影响参黄颗粒提取过程的各关键工艺参数及关键质量属性进行筛选,同时通过质量标志物研究路径“五原则”筛选出了参黄方中与抗衰老关系更为密切的二苯乙烯苷、金丝桃苷、白藜芦醇、淫羊藿苷作为指标性成分,采用Box-Behnken设计优化得到参黄颗粒的提取工艺为:加水8.4~9.9倍,浸泡时间96~156 min,提取时间31~41 min。验证结果表明该工艺稳定、可靠,该工艺参数在大生产条件下可得到与临床汤剂物质基础一致的参黄颗粒样品。该策略可最大限度地保证参黄颗粒的安全性与有效性,为中药复方制剂的提取工艺优化提供参考。

### 参考文献

- [1] 毕雪梦,韩旭.韩旭教授应用参黄冲剂治疗老年性痴呆经验探析[J].中国民族民间医药,2023,32(9):96-99.
- [2] 刘晶,毕雪梦,吕静萱,等.基于p16通路探索参黄冲剂对Aβ25-35诱导的SH-SY5Y细胞凋亡和细胞周期的影响[J].中国病理生理杂志,2022,38(9):1569-1576.
- [3] 吕静萱,陈致远,韩旭.基于态靶辨证探析参黄冲剂治疗老年性痴呆[J].光明中医,2024,39(10):2094-2097.
- [4] 刘丽桃,傅春燕,刘诗薇,等.响应面法优化降脂通脉方多糖的提取工艺研究[J].中医导报,2024,30(12):58-62.
- [5] 陈锋,黄蓓,韦金彩,等.烫疗药提取工艺及质量标准提升研究[J].中医导报,2024,30(1):42-45,54.

- [6] 张淑玲,刘文文,孟令军,等.L18(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.
- [7] 谢璐瑶,杨正腾,刘君君,等.Box-Behnken响应面法优选透骨酊提取工艺[J].广西中医药大学学报,2024,27(6):52-58.
- [8] 李丹,万蒞,张莎莎,等.响应面法优化黄参肠舒洗剂的提取工艺[J].医药导报,2024,43(11):1844-1848.
- [9] 彭紫薇,杨艳玲,李花花,等.基于网络药理学结合层次分析法-熵权法和正交实验研究正骨洗药提取工艺[J].中国新药杂志,2024,33(17):1813-1823.
- [10] 孙华燕,谢紫烨,王欢欢,等.复方连翘膏改良制剂与中药提取液配伍相容性研究[J].中成药,2024,46(8):2742-2745.
- [11] 杨雪晶,孙阿莉,常艳旭,等.炮制、配伍对栀子豉汤有效成分的影响[J].中成药,2024,46(7):2343-2346.
- [12] 孙小燕,王爽,席啸虎.星点设计-效应面法优化柴胡和白芍配伍比例和提取工艺[J].山西医科大学学报,2023,54(4):521-528.
- [13] 姜慧洁,黄薇,胡林水,等.基于质量源于设计(QbD)理念的延胡索醇提工艺质量控制研究[J].中草药,2020,51(2):372-380.
- [14] 刘不悔.金丝桃苷调控AMPK-ULK1介导自噬改善D-半乳糖诱导肾脏衰老与损伤的作用和机制[D].南京:南京中医药大学,2019.
- [15] 高健美,牛爽,李柯,等.金丝桃苷对D-半乳糖衰老模型小鼠的抗衰老作用[J].中药药理与临床,2017,33(1):57-59.
- [16] 徐家宁.淫羊藿苷延缓骨髓间充质干细胞衰老的机制研究[D].上海:中国人民解放军海军军医大学,2023.
- [17] 周勇,刘晶,陈刚.淫羊藿苷对D-半乳糖诱导的脑衰老模型小鼠p53/p21信号通路的影响[J].中华中医药学刊,2019,37(9):2159-2162,2316.
- [18] 金垚,徐鹏辉,卞泗善,等.淫羊藿通过ICA-miR-335-5p轴缓解骨质疏松症的生物信息学分析及实验研究[J].中医药导报,2023,29(2):1-7,13.
- [19] 周暄宣.高纯度二苯乙烯苷制备工艺及其抗衰老机制研究[D].西安:第四军医大学,2013.
- [20] 李亦晗,王跃飞,朱彦.何首乌二苯乙烯苷抗衰老研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(2):182-185.
- [21] 李亦晗.何首乌二苯乙烯苷对衰老指征的影响及作用机制[D].天津:天津科技大学,2015.
- [22] 庞婉霞,朱泽兵,侠晨辉,等.白藜芦醇联合二苯乙烯苷通过抗衰老延缓糖尿病肾病进展的研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2019,20(5):383-386.
- [23] 邓招惠,李超,郑桂贤,等.白藜芦醇对烟草烟雾提取物诱导的骨骼肌细胞衰老的保护作用及机制[J].中国老年学杂志,2021,41(9):1881-1885.
- [24] 梁冬冬,刘少奎.白藜芦醇激活SIRT1对抗年龄相关性疾病机制的研究[J].中西医结合心血管病电子杂志,2018,6(9):31-32.
- [25] GÓMEZ-LINTON D R, ALAVEZ S, ALARCÓN-AGUILAR A, et al. Some naturally occurring compounds that increase longevity and stress resistance in model organisms of aging[J]. Biogerontology, 2019,20(5):583-603.

(收稿日期:2024-11-26 编辑:时格格)

(上接第80页)

- [29] WANG Z Q, LAI Z D, ZHANG X X, et al. Altered gut microbiome compositions are associated with the severity of asthma[J]. J Thorac Dis, 2021,13(7):4322-4338.
- [30] LEE-SARWAR K, DEDRICK S, MOMENI B, et al. Association of the gut microbiome and metabolome with wheeze frequency in childhood asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2022,150(2):325-336.
- [31] ZHOU Y M, HU L H, ZHANG H L, et al. Guominkang formula alleviate inflammation in eosinophilic asthma by regulating immune balance of Th1/2 and Treg/Th17 cells[J]. Front Pharmacol, 2022,13:978421.
- [32] FENG Y H, WANG Y, WANG P, et al. Short-chain fatty acids manifest stimulative and protective effects on intestinal barrier function through the inhibition of NLRP3 inflammasome and autophagy[J]. Cell Physiol Biochem, 2018,49(1):190-205.
- [33] SUN J, SHEN X, LI Y, et al. Therapeutic potential to modify the mucus barrier in inflammatory bowel disease[J]. Nutrients, 2016,8(1):44.
- [34] TROMPETTE A, GOLLWITZER E S, YADAVA K, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis[J]. Nat Med, 2014,20(2):159-166.
- [35] ZHANG Y J, WANG M L, LI Y L, et al. Probiotic effects of Clostridium cellabutyricum YQ-FP-027T on DSS-induced colitis mice via modulating gut microbiota and preventing inflammation[J]. Int Immunopharmacol, 2025,155:114642.
- [36] ZHANG L, LIU Z X, LIU Y H, et al. Auricularia auriculaPolysaccharides exert anti-inflammatory effects in hepatic fibrosis by the gut-liver axis and enhancing SCFA metabolism[J]. J Agric Food Chem, 2025,73(8):4617-4629.
- [37] 刘明,郭洁,赵丹,等.过敏性哮喘患者肠道菌群特征分析[J].中国呼吸与危重监护杂志,2024,23(1):1-6.
- [38] 杨涛,何思芹,何雨佳,等.粪拟杆菌IM01抗哮喘功能的临床前研究[J/OL].疾病监测,2025:1-13[2025-04-16]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2928.R.20250416.0949.002.html>.

(收稿日期:2025-01-26 编辑:蒋凯彪)