

基于多成分质量控制的温经汤制备工艺研究

陈健^{1,2}, 张越^{1,2}, 崔小兵¹, 狄留庆^{1,2}, 王洪兰^{1,2*}, 李俊松^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药高效给药系统工程技术研究中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 制备经典名方温经汤标准汤剂, 进行制备工艺优化和质量控制研究, 评价其科学性与合理性。 **方法** 按古籍方法, 采用传统煎药锅的方式制备温经汤标准汤剂, 通过中药质量标志物理论筛选温经汤活性成分, 以9种指标成分(芍药苷、甘草苷、阿魏酸、芹糖异甘草苷、异甘草苷、桂皮醛、甘草酸铵、丹皮酚、藁本内酯)转移率或出膏率、指纹图谱物质群变化为指标, 分别考察粉碎粒度、浸泡时间、火力方式对煎煮工艺的影响, 追踪不同浓缩方式、干燥工艺下成分变化。 **结果** 浓缩工艺对温经汤成分影响较大, 冷冻干燥对温经汤成分影响较小, 故最终确定温经汤标准汤剂最佳制备工艺为按处方配比粉碎后, 过1号筛, 取20g, 加水150mL, 浸泡1h, 武火煮沸, 文火保持微沸, 至药液约120mL, 即得。 **结论** 本实验优选的制备工艺, 合理可行, 为温经汤及其相关制剂的开发奠定了基础。

关键词: 温经汤; 标准汤剂; 制备工艺; 指标成分; 质量控制; 中药质量标志物; 芍药苷; 甘草苷; 阿魏酸; 芹糖异甘草苷; 异甘草苷; 桂皮醛; 甘草酸铵; 丹皮酚; 藁本内酯; 指纹图谱; 转移率; 出膏率; 物质群

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)02-0404-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.013

Preparation technology study of classical famous prescription of Wenjing Decoction based on multi-component quality control

CHEN Jian^{1,2}, ZHANG Yue^{1,2}, CUI Xiao-bing¹, DI Liu-qing^{1,2}, WANG Hong-lan^{1,2}, LI Jun-song^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Engineering Research Center for Efficient Delivery System of TCM, Nanjing 210023, China

Abstract: **Objective** To prepare standard decoction of Wenjing Decoction (温经汤), and study the quality control by optimizing the preparation process and evaluate its scientificity and rationality. **Methods** According to the methods of ancient books, the standard decoction of Wenjing Decoction was prepared by the way of traditional decocting pot. Active ingredients of Wenjing Decoction were screened by theory of quality markers of traditional Chinese medicine to get nine indicators, and the transfer rate or extract rate, fingerprint change of compound groups of nine indicators (paeoniflorin, liquiritin, ferulic acid, isoliquiritin-apioside, isoliquiritin, cinnamaldehyde, ammonium glycyrrhizate, paeonol, and ligustilide) were analyzed to investigate the effects of pulverizing size, soaking time and fire power on the cooking process. The composition changes under different concentration and drying processes were also detected. **Results** Concentrate technology had a greater influence on the composition and freeze drying technology had a slight influence, therefore, the best preparation process for the standard decoction of Wenjing Decoction was as follows: Crush according to the prescription ratio, pass through the No. 1 sieve, take 20 g, add 150 mL water, immerse for 1 h, bring to a boil over a gentle fire, and keep a slight boil over a gentle fire until the liquid was about 120 mL. **Conclusion** The optimized preparation process is reasonable and feasible, which lays a foundation for the development of Wenjing Decoction and its related preparations.

Key words: Wenjing Decoction; standard decoction; preparation technology; index component; quality control; Q-marker;

收稿日期: 2020-06-15

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目(ZYBZH-C-JS-30); 江苏省科技成果转化专项资金项目(BA2016104)

作者简介: 陈健(1994—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药新剂型与新技术。Tel: (025)85811517 E-mail: cj1611816726@yeah.net

*通信作者: 王洪兰(1977—), 副教授, 博士, 研究方向为中药及复方药效物质基础。

Tel: (025)85811512 E-mail: honglanwang2004@163.com

李俊松(1964—), 男, 博士研究生, 教授, 研究方向为中药新制剂与新技术。

Tel: (025)85811517 E-mail: Lijunsong1964@163.com

paeoniflorin; liquiritin; ferulic acid; isoliquiritin-apioside; isoliquiritin; cinnamaldehyde; ammonium glycyrrhizate; paeonol; ligustilide; fingerprint; transfer rate; paste yield; substance groups

温经汤为《古代经典名方目录(第一批)》中编号 39 的方剂,目录给出温经汤出处为宋·陈自明《妇人大全良方》,原文记载^[1]:“当归、川芎、芍药、桂心、牡丹皮、莪术各半两,人参、牛膝、甘草各一两。右咬咀。每服五钱,水一盏半,煎至八分,去滓温服。”本方为煮散剂,具有温经散寒、通利血脉、活血化瘀、气血双补、肝脾兼调的特点^[2]。方中桂心温经通脉,人参甘温补气,莪术、牡丹皮、牛膝的活血祛瘀作用可增强当归、川芎、芍药行血养血调经功效,芍药、甘草配伍可缓急止痛,全方从活血、行气、温通 3 方面使瘀血得出路而去^[1]。

自 2018 年 4 月国家相关部门颁布《古代经典名方目录》以来,经典名方开发迎来热潮,目前关于温经汤的文献研究多是药理及临床相关,而对其质量分析相关的文献寥寥无几,结合国家出台的相关申报资料的要求。其中,经典物质基准的研究是其中最关键的环节,后续一切相关制剂的开发都需以此为依据^[3-4]。因此,确保物质基准制备过程的工艺合理性至关重要,兼顾“遵古”的原则,本研究严格按照文献考证结果,采用传统煎药锅的制备方法,通过指纹图谱的整体观察及指标成分的变化,考察制备过程中饮片粉碎粒度、浸泡时间、火力大小以及浓缩干燥对温经汤标准汤剂的影响,初步筛选出温经汤最佳煎煮工艺、浓缩工艺、干燥工艺,为后续经典名方温经汤物质基准及其相关制剂的研究提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;XP-6 型百万分之一精密天平,瑞士梅特勒-托利多公司;Sartorius CPA225D 电子天平,德国赛多利斯集团;KH-500DE 型数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;TGL-18C-C 型台式高速离心机,上海安亭科学仪器厂;HGZF-II-101-2 型电热恒温鼓风干燥箱,上海跃进器械医疗有限公司;Lab-1A-50 型真空冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;Buchi B290 型喷雾干燥仪,瑞士步琦有限公司;DZ-2BCIV 型真空干燥箱,天津泰斯特有限公司;RE-2000A 型旋转蒸发仪,巩义市予华仪器有限公司。

1.2 材料

对照品阿魏酸(批号 110773-201614,质量分数 99.0%)、芍药苷(批号 110736-201842,质量分数 97.4%)、丹皮酚(批号 110708-201407,质量分数 99.9%)、桂皮醛(批号 110710-201821,质量分数 99.6%)、甘草苷(批号 111610-201607,质量分数 93.1%)、甘草酸铵(批号 110731-201720,质量分数 97.7%)、没食子酸(批号 110831-201605,质量分数 90.8%)均购自中国食品药品检定研究院;对照品异甘草苷(批号 18101805,质量分数 $\geq 98\%$)、芹糖异甘草苷(批号 18121104,质量分数 $\geq 98\%$)、苯甲酰芍药苷(批号 38642-49-8,质量分数 $\geq 98\%$)、洋川芎内酯 A(批号 JBZ-1466,质量分数 $\geq 98\%$)、藁本内酯(批号 19041506,质量分数 $\geq 98\%$)、L-色氨酸(批号 171013,质量分数 $\geq 98\%$)均购于南京金益柏有限公司;乙腈、甲醇均为色谱纯,美国天地有限公司;磷酸,分析纯,国药集团化学试剂有限公司;水为超纯水,Synergy UV 超纯水机(美国 Millipore 公司)制备。前期实验进行炮制获得炒当归、川芎、白芍、牡丹皮、肉桂、醋莪术、人参、炒甘草、酒牛膝,9 味药材批号及产地见表 1,实验用温经汤药材经南京中医药大学药学院刘训红教授鉴定,均符合《中国药典》2020 年版要求。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱程序见表 2,柱温 25 $^{\circ}$ C,体积流量 0.80 mL/min,检测波长:0~4 min, 228 nm; 4~31 min, 47~65 min, 220 nm; 31~38 min, 320 nm; 38~46 min, 380 nm; 65~94 min, 280 nm; 进样量 10 μ L。在此条件下供试品中的芍药苷、甘草苷、阿魏酸、芹糖异甘草苷、异甘草苷、桂皮醛、甘草酸铵、丹皮酚、藁本内酯与其他成分分离良好,色谱图见图 1。

2.2 标准汤剂制备

分别取炒当归、川芎、芍药、肉桂、牡丹皮、醋莪术饮片各 20 g,人参、炒甘草、酒牛膝饮片各 40 g,粉碎,过筛。取 20 g,加水 150 mL,浸泡,煮至药液约 120 mL,停止加热,趁热滤过,精确定容至 120 mL,即得温经汤标准汤剂。

表 1 温经汤对应药材信息

Table 1 Wenjing Decoction corresponds to information of medicinal materials

药材	批号	基原	产地	商品规格	采收时间	产地加工
当归	DG1	<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels	岷县秦许乡大族沟	统货	2018-10	晒干
川芎	CX1	<i>Ligusticum chuamxiong</i> Hort.	四川什邡市隐峰镇	选个	2018-04	晒干
白芍	BS1	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	安徽亳州十九里镇	中等大	2018-09	煮后去皮烘干
牡丹皮	MDP1	<i>P. suffruticosa</i> Andr.	安徽亳州十九里镇	90 率选货	2018-11	晒干
肉桂	RG1	<i>Cinnamomum cassia</i> Presl.	广西梧州岑溪市马路镇	桂皮筒统货	2018-04	晒干
莪术	EZ1	<i>Curcuma kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang	云南楚雄	统货	2018-11	晒干
人参	RS1	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	吉林省白山市抚松县	40 支全须生晒参	2019-02	烘干
甘草	GC1	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	甘肃省民勤县泉山镇	条草	2018-10	晒干
牛膝	NX1	<i>Achyranthes bidentata</i> Bl.	河南武陟县大封镇驾部四村	中统	2018-11	晒干

表 2 流动相梯度洗脱程序

Table 2 Gradient table

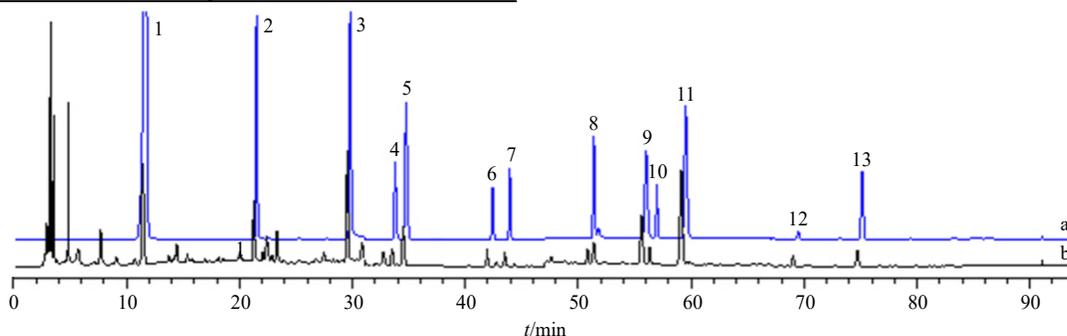
t_R /min	乙腈/%	0.1%磷酸水溶液/%	t_R /min	乙腈/%	0.1%磷酸水溶液/%
0	3	97	56	45	55
4	3	97	72	65	35
17	15	85	82	95	5
21	15	85	87	95	5
27	21	79	90	3	97
31	21	79	94	3	97

2.3 对照品溶液制备

取芍药苷、甘草苷、阿魏酸、芹糖异甘草苷、异甘草苷、桂皮醛、甘草酸铵、丹皮酚、藁本内酯适量，精密称定，置于 10 mL 量瓶，加适量甲醇定容，制成质量浓度分别约为 30、10、60、5、20、20、40、10、30 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备

精密吸取标准汤剂 1 mL，分别精密加入甲醇，至最终含甲醇量分别为 0%、50%、70%、90%，混匀，14 000 r/min 离心 15 min，取上清液，将检测到



1-没食子酸 2-色氨酸 3-芍药苷 4-甘草苷 5-阿魏酸 6-芹糖异甘草苷 7-异甘草苷 8-苯甲酰芍药苷 9-桂皮醛 10-甘草酸铵 11-丹皮酚 12-洋川芎内酯 A 13-藁本内酯
1-gallic acid 2-tryptophan 3-paeoniflorin 4-liquiritin 5-ferulic acid 6-isoliquiritin-aposide 7-isoliquiritin 8-benzoylpaeoniflorin 9-cinnamaldehyde 10-ammonium glycyrrhizate 11-paeonol 12-ligusticolactone A 13-ligustilide

图 1 混合对照品 (a) 和温经汤样品 (b) 的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC fingerprints of mixed reference substances (a) and Wenjing Decoction samples (b)

的 9 种指标成分进行整理分析，计算处方中指标成分的质量分数（以处方中药材总量为基准），见表 3 和图 2，结果发现最终含甲醇量 50% 时，各指标成分质量分数最高，故最终选择含甲醇量 50%。

2.5 煎煮工艺研究

2.5.1 粉碎粒度考察 按方中配比分别称取 9 味中药饮片粗颗粒（过 1 号筛、豆粒大小、饮片），加水

150 mL，浸泡 1 h，武火煮沸，文火保持微沸，至药液约 120 mL 左右，停止加热，趁热滤过（200 目），即得。按上述方法处理进样，结果可知各样品指纹图谱无明显变化，随着粉碎度增加，各指标性成分的溶出增加，运用综合评分法，综合评分 = $0.1 X_1/X_{1\max} + 0.1 X_2/X_{2\max} + \dots + 0.1 X_9/X_{9\max} + 0.1 Y/Y_{\max}$ ($X_{1\sim 9}$ 分别为芍药苷、甘草苷、阿魏酸、芹糖异甘草

表3 不同溶剂对指标成分溶出的影响 (n = 3)

Table 3 Effects of indicator components with different solvents (n = 3)

溶剂	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯
纯水	164.19	54.35	7.85	6.06	8.54	12.63	128.41	46.62	2.77
50%甲醇	165.89	61.35	9.51	8.47	12.36	38.61	156.22	81.61	17.31
70%甲醇	105.52	40.06	6.02	5.63	8.28	25.11	101.18	53.12	11.81
90%甲醇	37.91	14.65	2.15	2.06	3.03	9.03	34.84	19.21	4.37

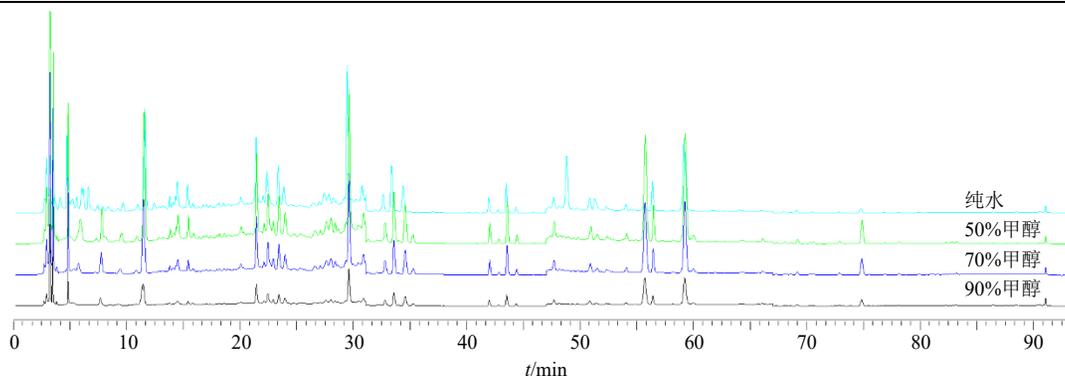


图2 不同含醇量对成分的影响

Fig. 2 Effects of different alcohol content on composition

苷、异甘草苷、桂皮醛、甘草酸铵、丹皮酚、藜本内酯, Y为得膏率), 由表4和图3可知, 粉碎过1号筛评分最高, 故最终选择粉碎过1号筛。

2.5.2 浸泡时间考察 按方中配比分别称取9味药饮片1号筛粉末, 加水150 mL, 分别浸泡(0、0.5、1.0 h), 武火煮沸, 文火保持微沸, 至药液120 mL

左右, 停止加热, 趁热滤过(200目), 即得。

按上述方法处理进样, 由图4结果可知, 各样品指纹图谱无明显变化, 随着浸泡时间增加, 各个成分的溶出率增加并趋于平缓, 运用综合评分法, 由表5可知, 浸泡1.0 h评分最高, 故最终选择浸泡1.0 h。

表4 不同粉碎粒度考察结果 (n = 3)

Table 4 Results of pieces of crushing degree (n = 3)

粉碎粒度	质量分数/(mg·g ⁻¹)									得膏率/%	综合评分
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯		
过1号筛	186.29	63.44	10.30	8.74	12.59	44.03	163.81	82.78	17.82	24.05	0.995
豆粒大小	173.15	50.45	10.22	6.37	9.28	27.36	122.23	87.03	11.10	22.50	0.811
饮片	129.87	28.10	7.01	4.76	4.98	16.01	86.46	65.98	5.87	17.92	0.548

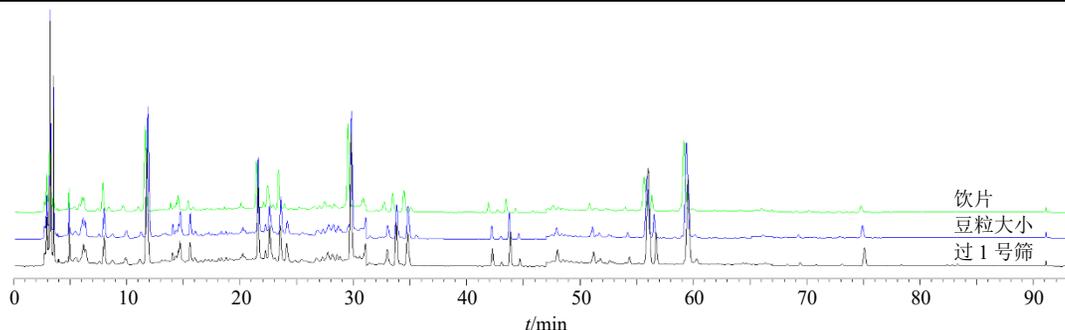


图3 不同粉碎粒度指纹图谱

Fig. 3 Fingerprints of pieces of crushing degree

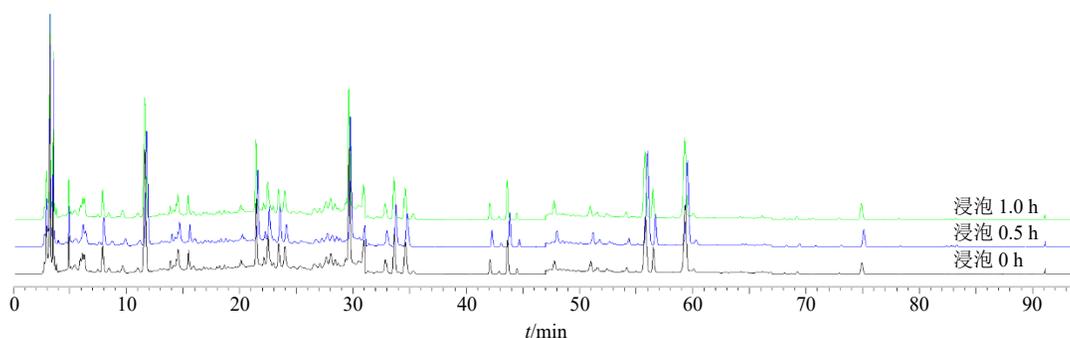


图4 不同浸泡时间指纹图谱

Fig. 4 Fingerprints of different soaking time

表5 不同浸泡时间考察结果 (n = 3)

Table 5 Results of pieces of different soaking time (n = 3)

浸泡时间/h	质量分数/(mg·g ⁻¹)										得膏率/%	综合评分
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯			
0	178.18	61.85	10.26	7.67	12.81	26.78	147.04	66.07	12.52	23.25	0.837	
0.5	186.29	63.44	10.30	8.74	12.59	44.03	163.81	82.78	17.82	24.05	0.954	
1.0	181.75	65.90	10.08	8.90	15.08	32.18	176.87	79.92	18.95	26.77	0.965	

2.5.3 火力方式考察 按方中配比分别称取9味药饮片1号筛粉末,加水150 mL,浸泡1 h,武火煮沸,文火保持微沸(或一直文火),至药液约120 mL,停止加热,趁热滤过(200目),即得。按上述方法处理进样,运用综合评分法,由表6和图5结果可知,先武火后文火评分最高,表明文火效率低,时间长,挥发性成分损失大,最终选择武火加文火的方式。

2.5.4 最佳煎煮工艺 最终得到最佳煎煮工艺为按

方中配比分别称取9味药饮片1号筛粉末,加水150 mL,浸泡1 h,先武火煮沸,文火保持微沸,至药液120 mL左右,停止加热,趁热滤过(200目),即得。

2.6 浓缩工艺研究

按上述最佳煎煮工艺条件制备标准汤剂适量,取100 mL煎液,分别常压浓缩(水浴锅)、减压浓缩(60 °C)至1/3,按上述条件制备进样。比较2种浓缩方式对方中各个指标成分及图谱的影响,

表6 火力方式考察结果 (n = 3)

Table 6 Results of different duration (n = 3)

火力方式	质量分数/(mg·g ⁻¹)										得膏率/%	综合评分
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯			
武火+文火	178.18	61.85	10.26	7.67	12.81	26.78	147.04	66.07	12.52	23.25	0.995	
一直文火	168.55	57.41	9.82	6.21	10.81	15.59	126.68	46.71	8.92	24.49	0.835	

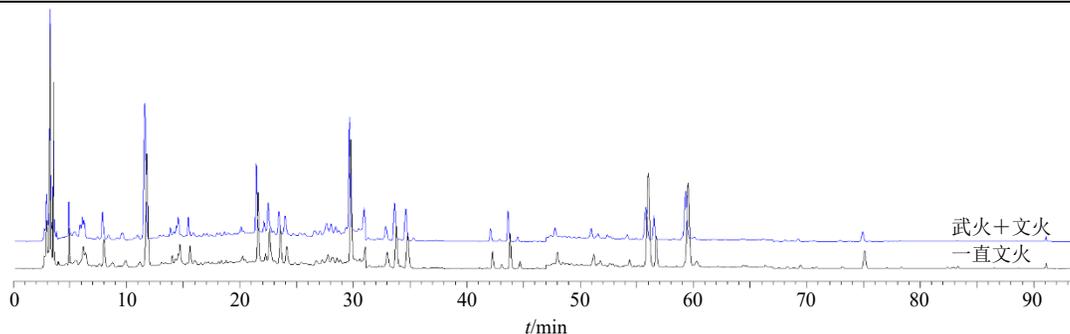


图5 不同火力方式指纹图谱

Fig. 5 Fingerprints of different duration

结果见表 7、8 和图 9，结果表明，浓缩工艺对有效成分损失较大，尤其是挥发性成分，且减压浓缩损失量大于常压浓缩，故最终选择不浓缩。

2.7 干燥工艺研究

按上述条件制备标准汤剂适量，取 100 mL 煎液，分别进行冷冻干燥、真空干燥、喷雾干燥，即

表 7 不同浓缩方式考察结果 (n = 3)

Table 7 Results of different concentration methods (n = 3)

浓缩方式	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藁本内酯
未浓缩	154.09	49.75	8.55	6.92	11.14	30.93	125.75	67.08	13.13
常压浓缩	156.53	48.91	8.32	5.78	9.56	4.67	118.64	15.13	2.66
减压浓缩	149.11	45.85	8.12	6.00	9.71	5.95	115.24	2.03	0.00

表 8 不同浓缩方式对指标成分保留率的影响 (n = 3)

Table 8 Effects of different concentration methods on compounds (n = 3)

浓缩方式	保留率/%								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藁本内酯
常压浓缩	101.59	98.31	97.36	83.53	85.82	15.08	94.35	22.55	20.26
减压浓缩	96.77	92.16	95.01	86.71	87.14	19.24	91.64	3.02	0.00

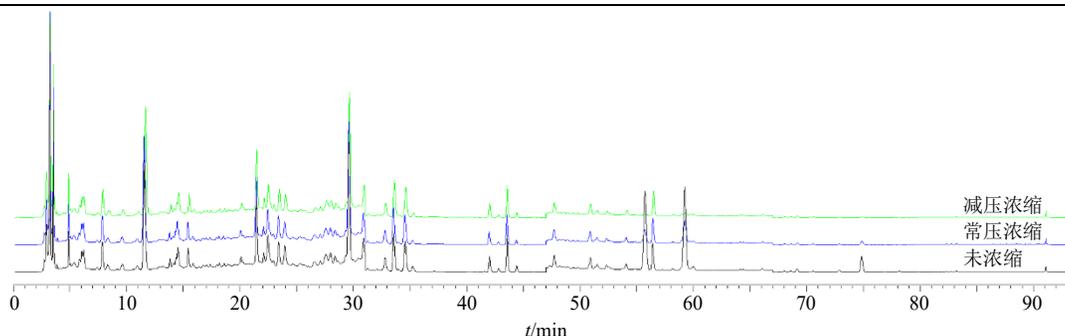


图 9 不同浓缩方式考察指纹图谱

Fig. 9 Fingerprints of different concentration methods

得样品。按上述条件制备进样。比较 3 种干燥方式对方中各个指标成分及图谱的影响，结果表 9、10 和图 10，结果表明，不同干燥工艺对有效成分损失不一，真空干燥对稳定成分的保留率最高(80%~95%)，但对易挥发、不稳定的成分几乎不保留；冷冻干燥对各个成分的保留率均较高(60%~80%)；喷雾干燥对稳定成分的保留率同冷冻干燥(60%~

80%)，但对易挥发、不稳定的成分保留极低(0~20%)。故可考虑冷冻干燥。

2.8 温经汤最优工艺确定

分别取炒当归、川芎、芍药、肉桂、牡丹皮、醋莪术饮片各 20 g，人参、炒甘草、酒牛膝饮片各 40 g，粉碎，过 1 号筛。取 20 g，加水 150 mL，浸泡 1 h，武火煮沸，文火保持微沸，至药液 120 mL

表 9 不同干燥工艺考察结果 (n = 3)

Table 9 Results of different drying methods (n = 3)

干燥方式	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藁本内酯
干燥前	154.09	49.75	8.55	6.92	11.14	30.93	125.75	67.08	13.13
真空干燥	147.77	47.10	7.74	5.53	8.57	0.00	107.45	0.00	0.00
喷雾干燥	127.56	40.01	6.83	5.09	7.95	0.00	93.43	5.15	1.65
冷冻干燥	127.78	40.73	6.85	5.16	8.15	18.53	92.91	44.49	7.57

表 10 不同干燥工艺对指标成分保留率的影响 (n = 3)

Table 10 Effects of different drying methods on retention rate of compounds (n = 3)

干燥方式	保留率/%								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯
真空干燥	95.90	94.68	90.61	79.80	76.89	0.00	85.45	0.00	0.00
喷雾干燥	82.78	80.42	79.88	73.57	71.36	0.00	74.30	7.67	12.59
冷冻干燥	82.92	81.87	80.18	74.50	73.19	59.92	73.88	66.33	57.65

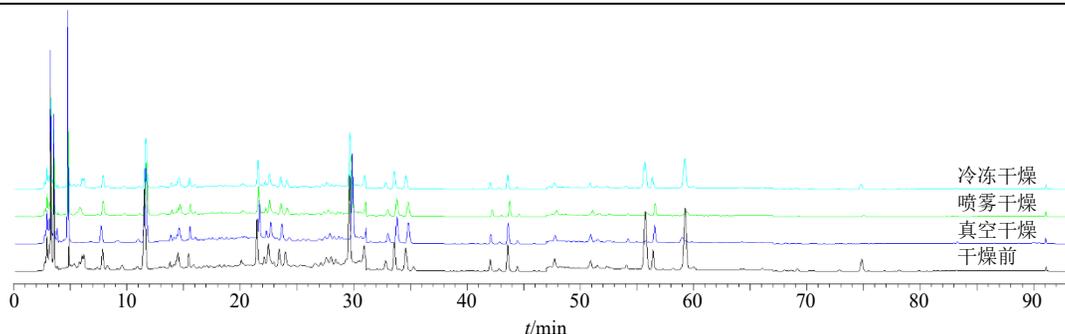


图 10 不同干燥工艺指纹图谱

Fig. 10 Fingerprints of different drying methods

左右，停止加热，趁热滤过，即得温经汤。

2.9 多批次物质基制备

采用随机数法制备 10 批温经汤物质基准，并按“2.4”项下方法制备供试品溶液，进样测定，结果见表 11。以 (1±30%) 平均值为限度，对各个成分含量进行标准化规范，最终确定温经汤物质基准中各成分质量分数为芍药苷 101.60~188.69 mg/g、

甘草苷 40.63~75.46 mg/g、阿魏酸 7.19~13.35 mg/g、芹糖异甘草苷 9.74~18.10 mg/g、异甘草苷 8.18~15.19 mg/g、桂皮醛 19.50~36.21 mg/g、甘草酸铵 109.42~203.20 mg/g、丹皮酚 36.18~67.20 mg/g、藜本内酯 10.25~19.03 mg/g。

由表 11 可知，部分成分含量低于均值的 70%，推测原因，可能为各个批次药材来源、产地不一，

表 11 10 批次温经汤测定结果

Table 11 Results of 10 batches of Wenjing Decoction

样品	质量分数/(mg·g ⁻¹)								
	芍药苷	甘草苷	阿魏酸	芹糖异甘草苷	异甘草苷	桂皮醛	甘草酸铵	丹皮酚	藜本内酯
S1	146.36	18.99	8.55	8.53	4.91	51.02	77.55	47.08	12.28
S2	119.13	63.27	8.39	16.14	12.58	2.21	178.03	44.16	11.91
S3	124.48	58.93	8.86	14.26	11.42	20.26	160.02	39.65	11.23
S4	160.53	81.00	12.01	20.03	16.19	31.90	218.61	63.61	16.15
S5	154.97	78.31	11.13	18.54	15.45	46.00	204.80	63.85	15.70
S6	150.65	27.36	10.63	10.59	6.89	48.12	104.32	60.47	14.47
S7	153.65	73.65	11.07	17.80	14.77	17.40	203.17	55.49	17.00
S8	134.54	21.47	10.27	9.29	5.68	22.31	86.80	53.50	17.89
S9	155.13	132.54	11.00	15.37	23.22	17.54	240.70	46.16	14.93
S10	152.02	24.89	10.76	8.68	5.76	21.78	89.09	42.96	14.79
平均值	145.15	58.04	10.27	13.92	11.69	27.85	156.31	51.69	14.64
RSD/%	9.74	62.02	12.07	31.21	50.85	57.29	39.49	17.24	15.16
70%平均值	101.60	40.63	7.19	9.74	8.18	19.50	109.42	36.18	10.25
130%平均值	188.69	75.46	13.35	18.10	15.19	36.21	203.20	67.20	19.03

成分含量存在差异,又因为煎煮时间较短,部分成分未完全溶出,且溶出速率可能存在一定差异。

3 分析与讨论

3.1 波长选择

本方为复方水煎液,成分复杂且各成分最大吸收波长不一,故以色谱峰分离为基础,通过比较不同波长下溶剂峰大小、各色谱峰大小,来最大限度保证指纹图谱整体美观性,最终选择了5个波长段(228、220、320、380、280 nm)。

3.2 粒度分析

本方为煮散剂,“煮散”一词始见于唐代孙思邈《备急千金要方》,其常有2种形式,本方为其中之一:由饮片碎为粗末后水煎去滓温服。“咬咀”为汤剂最早的煎法之一,最早以前人们以牙齿咬碎药物得适宜大小称之“咬咀”;战国时期《灵枢·寿夭则柔》中记载,所谓“咬咀”,就是把药材加工破碎;汉代《金匱至函经》也有“凡咬咀药,欲如大豆,粗则药力不尽。”的论述,到宋、金、元时,煮散颇为盛行,即是把药材锉末,水煎服^[5-7]。咬咀,可引申为在不同历史时期,采用不同工具加工药物的制药方法,粒度的描述多为黄豆大小、末。

有研究者提出,《太平惠民合剂局方》中“粗散”为过现今10目筛的最粗粉^[8-9]。药物粉碎过粗,则有效成分不易完全溶出,粉碎过细,挥发性成分易损失或糊底,同时,古代工艺未达到过细的标准,综合考虑,遵循古法同时兼顾临床用药调配及企业制备的方便,本方可选择1号筛、黄豆大小为饮片粒度进行考察。

3.3 加水量分析

宋代体积容量普遍以“盏”来计,部分方剂中的升,多是前代大小制的遗迹,北宋末陈师道实测,以汉升工计则古时1L为200 mL^[10];《太平圣惠方》中规定^[10]：“凡煮汤：云用水一大盏者，约一升也；一中盏者，约五合也；一小盏者，约三合也。”明确指出古今剂量换算为：古时1L为宋时一大盏，古时五合为宋时一中盏，古时三合为宋时一小盏，故可认为宋代一大盏即古时1L为200 mL^[11-13]；《圣济总录》也规定^[14]：“古今升斗大小不同，盖古之三升为今一升，凡方中用水言升合者，今以中盏为率，庶与世俗相通，无多少之惑。其他如酒醉乳蜜之类，凡言升合者，亦合以盏为则。”明确指出水煎液一般以中盏剂量，故温经汤中一盏指中盏即100 mL，一盏半煎至八分，即一次服用量为120 mL。

3.4 指标成分归属

对照品中各成分(没食子酸、色氨酸、芍药苷、阿魏酸、芹糖异甘草苷、异甘草苷、甘草苷、苯甲酰芍药苷、甘草酸铵、桂皮醛、丹皮酚、洋川芎内酯A、藁本内酯)均能在全方物质基准对应实物图谱中出峰。其中没食子酸、芍药苷、苯甲酰芍药苷来源于白芍和牡丹皮,色氨酸、阿魏酸、藁本内酯来源于当归和川芎^[15-16],可加和处理作为温经汤指标;洋川芎内酯A只来源于川芎,桂皮醛只来源于肉桂^[17],丹皮酚来源于牡丹皮和白芍,但通过前期特征图谱比对,发现白芍中丹皮酚丹皮酚含量较低,且几乎未在全方中体现,故可认为本方中丹皮酚只来源于牡丹皮,芹糖异甘草苷、异甘草苷、甘草苷、甘草酸铵来源于甘草,这7个成分无干扰即专属性良好,也可作为温经汤物质基准特征峰。

3.5 特殊炮制工艺考察^[18-19]

本实验前期已经单独进行各药味炮制工艺研究,并确定最优工艺如下:

炒当归:取药材适量,抢水洗净(3 min内),将洗净后的当归放入托盘,用湿润的纱布覆盖,采用闷润法浸润药材,闷润时间为(6±1)h,喷水量约为(0.20±0.03) mL/g,切薄片(1~2 mm),直片,50~60℃干燥(2.0±0.5)h,堆积厚度约1 cm,每隔半小时翻动,取出,即得生当归饮片;取生当归片适量,至炒药机中文火(140±3)℃清炒20~25 min,即得。

炒甘草:取药材适量,抢水洗净(3 min);将洗净后的甘草放入托盘,用湿润的纱布覆盖,采用闷润法浸润药材,闷润时间为(24±1)h,喷水量约为(0.20±0.03) mL/g,切厚片(2~4 mm), (60±3)℃干燥(1.00±0.25)h,堆积厚度约1 cm,每隔半小时翻动,取出,即得生甘草饮片。取生甘草片300 g,至炒药机中,文火(160±3)℃清炒(15±3) min,即得。

醋莪术:取药材适量,抢水洗净(3 min);将洗净后的莪术放入煎煮锅,加3倍量水和10%米醋,煮至米醋被吸尽,内无干心;取出,晾凉,切厚片(2~4 mm);于(60±3)℃干燥(4.0±0.5)h,堆积厚度约2 cm,每隔半小时翻动,取出,即得。

经典名方的开发依循“遵古”的原则,本研究严格按照文献考证结果,采用传统煎药锅的制备方法,煎煮工艺中,粉碎粒度、火力方式对有效成分影响较大,其次为火力方式,浸泡时间影响最小;

浓缩工艺中,减压浓缩对有效成分影响大于常压浓缩,其原因可能为减压浓缩时间较长,对挥发性、不稳定性成分影响较大;干燥工艺中,真空干燥对稳定性成分保留最高,对不稳定性成分保留低,冷冻干燥对各成分保留均较高,喷雾干燥保留效果最差。同时,传统工艺中以药液体积规定煎煮程度,较难控制,因此在实践中应当从时间、空间等其他角度考虑,以保证温经汤质量的稳定,为温经汤物质基准及其制剂的研究奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 马佳维,叶明,李荣群.《金匱要略》与《妇人大全良方》温经汤之异同 [J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(4): 82-84.
- [2] 徐鸿燕. 温经汤综述 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(7): 272-274.
- [3] 国家药品监督管理局. 古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定 [S]. 2018.
- [4] 周菲,林美斯,王琳,等. 经典名方百合地黄汤物质基准制备及过程质量控制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3824-3832.
- [5] 中医研究院中药研究所. 中药汤剂粗末煎药的初步介绍 [J]. 中医杂志, 1961(4): 9-11.
- [6] 罗佳波. 袋泡剂及其浸出特点 [J]. 中成药研究, 1983, 5(12): 45.
- [7] 孙守祥. 中药汤剂的历史发展与未来改进探讨 [J]. 时珍国药研究, 1997, 8(2): 169-170.
- [8] 邢丹,贺莹,郑虎占. 从《太平惠民和剂局方》论中药煮散技术规范 [J]. 中国临床医生, 2012, 40(11): 73-75.
- [9] 范佳佳,刘阳,刘旒,等.《太平惠民和剂局方》中煮散剂的使用特点 [J]. 中医杂志, 2019, 60(4): 291-294.
- [10] 张瑞贤,芦琴,张卫,等. 宋代药物非衡量计量单位的考察 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2574-2576.
- [11] 傅延龄,张林. 历代麻黄临床用量评述 [J]. 世界中医药, 2014, 9(1): 3-7.
- [12] 张瑞贤,芦琴,张卫,等. 宋代药物衡量单位的考察 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2267-2270.
- [13] 倪文婷. 宋金元药物剂量研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2014: 12.
- [14] 赵佶. 圣济总录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1962.
- [15] Chen J, Jiang Q D, Wu Y M, *et al.* Potential of essential oils as penetration enhancers for transdermal administration of ibuprofen to treat dysmenorrhoea [J]. *Molecules*, 2015, 20(10): 18219-18236.
- [16] 郝敏,陆兔林,毛春琴,等. 基于中药质量标志物的饮片质量控制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(9): 1699-1708.
- [17] Jahangirifar M, Taebi M, Dolatian M. The effect of cinnamon on primary dysmenorrhea: A randomized, double-blind clinical trial [J]. *Complementary Ther Clin Pract*, 2018, 33: 56-60.
- [18] 蔡宝昌,秦昆明,吴皓,等. 中药炮制过程化学机理研究 [J]. 化学进展, 2012, 24(4): 637-649.
- [19] 秦昆明,曹岗,金俊杰,等. 中药饮片炮制工艺现代研究中存在的问题与对策 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(18): 3795-3800.

[责任编辑 郑礼胜]