

基于 UPLC 特征图谱和 Q-Marker 量值传递评价经典名方半夏白术天麻汤颗粒剂的关键生产工艺

徐 男¹, 王 平¹, 王淑玲², 时海燕^{3*}

1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

2. 杭州师范大学医学院, 浙江 杭州 310012

3. 山东第一医科大学第一附属医院 (山东省千佛山医院), 山东 济南 250014

摘要: 目的 基于特征图谱相关性和质量标志物 (quality markers, Q-Marker) 转移率评价半夏白术天麻汤 (Banxia Baizhu Tianma Decoction, BBTD) 颗粒剂的生产环节, 明确关键控制点。方法 采用 Acclaim™ RSLC Lot Validation-120 C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 2.2 μm) 进行分离, 流动相为乙腈-水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 0.3 mL/min, 检测波长 235 nm, 柱温 30 ℃。以 BBTD 基准样品为参比, 建立 3 批中试样品的 UPLC 指纹图谱, 并进行相似度评价, 分析 Q-Marker 在各生产环节的损失, 评价生产工艺的合理性。结果 与 BBTD 基准样品相比, 提取液、浓缩液、干膏粉、颗粒剂中均存在对应特征峰, 以 10 种指标性成分及其总量表征的 3 批 BBTD 中试样品关键质量属性与其基准样品基本保持一致。结论 基于特征图谱和 Q-Marker 在各环节之间的量值传递, 为经典名方 BBTD 制备工艺评价和质量控制提供了理论依据。

关键词: 半夏白术天麻汤; UPLC; 特征图谱; 关键生产工艺; 质量标志物; 量值传递; 经典名方; 颗粒剂; 天麻素; 芸香柚皮苷; 柚皮苷; 橙皮苷; 新橙皮苷; 甘草素; 橙皮素; 异甘草素; 川陈皮素; 橘红素; 关键质量属性; 基准样品

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)24-7455-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.007

Evaluation of key production process of Banxia Baizhu Tianma Decoction Granules based on UPLC characteristic chromatogram and Q-Marker quantitative transfer relationship

XU Nan¹, WANG Ping¹, WANG Shu-ling², SHI Hai-yan³

1. Shandong Research Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. Medicine College of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, China

3. The First Affiliated Hospital of Shandong First Medical University & Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Jinan 250014, China

Abstract: Objective Based on the correlation of characteristic chromatogram and the transfer rate of quality markers (Q-Marker), the production process of Banxia Baizhu Tianma Decoction (半夏白术天麻汤, BBTD) Granules was evaluated, and the critical control points were identified. **Methods** The separation was carried out on an Acclaim™ RSLC Lot Validation-120 C₁₈ column (100 mm × 2.1 mm, 2.2 μm). The mobile phase was acetonitrile-aqueous solution for gradient elution, with flow rate of 0.3 mL/min, detection wavelength of 235 nm, column temperature of 30 ℃. Taking the reference sample of BBTD as a reference, the UPLC fingerprints of three batches of pilot samples were established, and the similarity was evaluated. The loss of Q-Marker in each production process was analyzed and the rationality of the production process was evaluated. **Results** Compared with the reference sample, there were corresponding characteristic peaks in extract, concentrated solution, dry paste powder and granules. The key

收稿日期: 2021-06-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82074052); 山东省自然科学基金重点项目 (ZR2020KH017); 山东省高校中药质量控制与全产业链建设协同创新中心项目 (CYLXTCX2020-03); 山东省高校中药质量控制与全产业链建设协同创新中心项目 (CYLXTCX2021-02); 济南市科技计划项目 (202001006); 杭州市农业与社会发展科研自主申报项目 (20191203B17); 山东省中医药科技发展计划项目 (2019-0368); 山东省中医药科技发展计划项目 (2017-136); 山东省重大科技创新工程 (2018CXGC1310)

作者简介: 徐 男, 博士, 副研究员, 从事中药新药开发与药效物质研究。E-mail: 93679706@qq.com

***通信作者:** 时海燕, 博士, 副主任药师, 从事中药药效物质与药代动力学研究。E-mail: shihaiyan123@163.com

quality attributes of three batches of pilot samples characterized by gastrodin, rutin, hesperidin, glycyrrhizin and 10 index components were basically consistent with the reference samples. **Conclusion** This study is based on the characteristic chromatogram and the value transfer of Q-Marker between each link, which provides a theoretical basis for the preparation process evaluation and quality control of classical prescriptions BBTD.

Key words: Banxia Baizhu Tianma Decoction; UPLC; characteristic chromatogram; key production processes; Q-Marker; quantity value transmission; classic famous prescriptions; granule; gastrodin; narirutin; naringin; hesperidin; neohesperidin; glycyrrhizin; hesperidin; isoliquiritigenin; nobiletin; tangeratin; key quality attributes; reference sample

半夏白术天麻汤 (Banxia Baizhu Tianma Decoction, BBTD) 于 1732 年清·程国彭撰《医心悟》中首次出现, 现收录于国家中医药管理局 2018 年发布的《古代经典名方目录 (第一批)》, 由半夏、天麻、白术、橘红、茯苓、甘草 6 味中药组成, 化学成分包括生物碱、有机酸类、黄酮类、甾醇类、氨基酸、芳香族成分、半夏淀粉、半夏蛋白以及多种微量元素等成分^[1], 主治风痰上扰所致眩晕头痛、胸闷呕恶、舌苔白腻、脉弦滑等证, 是息风化痰的代表方剂。临床常用于治疗高血压病、美尼尔氏综合征、椎-基底动脉供血不足性眩晕、偏头痛、脑梗死等痰湿壅盛证^[2]。

2020 年 9 月 28 日, 国家药品监督管理局发布《中药注册分类和申报资料要求》(2020 年第 68 号), 明确中药 3.1 类“应提供按照国家发布的古代经典名方关键信息及古籍记载进行研究的工艺资料”, 需要在国家发布的古代经典名方目录和关键信息基础上开展研发工作。2021 年 4 月 26 日, 国家药品监督管理局发布《按古代经典名方目录管理的中药复方制剂药学研究技术指导原则 (征求意见稿)》(以下简称《指导原则》)。由于古代医籍记载的传统煎煮工艺多以水分蒸发量控制煎煮时间, 而现代中药制药过程包括提取、浓缩、干燥、制粒等多个工艺步骤^[3], 经典名方复方制剂是否与传统汤剂的质量保持一致性是评价工艺合理性的关键所在^[4]。

刘昌孝院士^[5]提出中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 新概念, 以及从质量传递与溯源、成分特有性、有效性、可测性、复方配伍环境出发的复方中药 Q-Marker 研究和发现“五原则”, 为评价经典名方复方制剂制备工艺合理性和建立全程质量控制及质量溯源体系提供了高效可靠的解决方案^[6]。本项目组在 Q-Marker 初步辨识研究的基础上^[7], 研究发现多酚类物质组是 BBTD 主要药效成分^[8], 其中天麻素、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、异甘草素、甘草素、川陈皮素、橘红素、新橙皮苷、芸香柚皮苷分别是天麻、橘红、甘草中的指标成分,

峰面积归一化法计算各峰面积之和占总峰面积的 70% 以上。本研究采用 UPLC, 建立 BBTD 颗粒剂的特征图谱, 以 UPLC 特征图谱相关性及天麻素、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、异甘草素、甘草素、川陈皮素、橘红素、新橙皮苷、芸香柚皮苷转移率对 BBTD 颗粒剂生产过程中各个环节进行评价, 既保证成品颗粒剂与传统汤剂的一致性, 又能快速、准确地评估各生产环节对成品颗粒剂质量的影响, 明确关键环节, 对生产过程实施更为精准有效的控制, 使 BBTD 颗粒剂的质量更加稳定可控。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

UtiMate300 超高效液相色谱仪, 美国 Thermo Fisher 公司; AE224C 型分析天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; KQ-250DA 型超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; RE-52 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; DZF-6050 型真空干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; GLZ2-25 型干法制粒机, 江苏国朗机械制造有限公司。

1.2 材料

对照品柚皮苷 (批号 wkq21020606)、橙皮苷 (批号 wkq20030407)、新橙皮苷 (批号 wkq16041804)、甘草素 (批号 wkq18030505)、异甘草素 (批号 wkq18033006)、川陈皮素 (批号 wkq18020111)、橘红素 (批号 wkq18022705)、天麻素 (批号 wkq18020505)、芸香柚皮苷 (批号 wkq20060103)、橙皮素 (批号 wkq21030807), 购于四川省维克奇生物科技有限公司, 所有对照品经 HPLC 峰面积归一化法检测, 质量分数均在 98% 以上; 麦芽糊精, 批号 20190119, 河南万邦实业有限公司; 乙腈 (色谱纯)、甲醇 (分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 纯净水, 广州屈臣氏食品饮料有限公司。

半夏为天南星科半夏属植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎, 产地山西绛县、甘肃西和、山东济南; 天麻为兰科天麻属植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎, 产地四川、贵州;

橘红为芸香科柑橘属植物橘 *Citrus reticulata* Blanco 及其栽培变种的干燥外层果皮, 产地广东化州、浙江、四川; 白术为菊科苍术属植物白术 *Atractylodes macrocephala* Koidz. 的干燥根茎, 产地安徽亳州、河北、浙江; 茯苓为多孔菌科茯苓属真菌茯苓 *Poria cocos* (Schw.) Wolf 的干燥菌核, 产地安徽金寨、安徽安庆、湖南邵阳; 甘草为豆科甘草属多年生草本植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎, 产地分别为内蒙古鄂尔多斯、内蒙古赤峰、内蒙古包头。以上药材经山东省中医药研究院靳光乾研究员鉴定, 符合《中国药典》2020 年版标准。半夏(清)饮片、天麻饮片、白术(麸炒)饮片、橘红饮片、茯苓饮片、甘草(炒)饮片均为实验室自制, 批号及产地信息见表 1。

2 方法与结果

2.1 BBTD 颗粒剂的制备

2.1.1 基准样品制备工艺 通过对古今文献的分

析, 对 BBTD 的经方来源、处方剂量及制法进行考证^[9], 确定全方的煎煮方法为半夏饮片 9 g、天麻饮片 6 g、茯苓饮片 6 g、橘红饮片 6 g、白术饮片 15 g、甘草饮片 4 g, 加 500 mL 水, 煎煮(武火煮沸、文火慢煎) 2 次, 每次 0.5 h, 合并滤液。取 10 mL 水煎液于 25 mL 西林瓶中, 放入-18 ℃冰箱中预冷冻 24 h 后, 置于-80 ℃预冷 2 h 的冷冻干燥机, 冻干温度为-80 ℃, 真空度为(5±1) Pa, 干燥 72 h。

采用 $L_{18}(3^7)$ 随机数表法对 6 味饮片(表 1) 进行随机组合及排序, 重复上述操作, 即得 18 批 BBTD 基准样品(S1~S18)^[10]。

2.1.2 中试提取工艺^[11] 选取半夏饮片 450 g、天麻饮片 300 g、茯苓饮片 300 g、橘红饮片 300 g、白术饮片 750 g、甘草饮片 200 g, 加 12 倍水, 加热回流提取 2 次, 第 1 次加入 8 倍量水, 第 2 次加入 4 倍量水, 每次提取 1 h, 趁热滤过, 合并 2 次提取液, 即得(批号分别为 210326、210328、210330)。

表 1 BBTD 基准样品的药材饮片产地及批号

Table 1 Origin and batch numbers of medicinal herbs of BBTD reference samples

序号	半夏		天麻		白术		橘红		茯苓		甘草	
	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号	产地	批号
1	山西绛县	181101	四川	180101	安徽亳州	181001	广东化州	180701	安徽金寨	181101	内蒙古鄂尔多斯	180501
2	甘肃西和	181102	安徽安庆	181101	安徽涡阳	180801	广东新会	180501	安徽安庆	181201	内蒙古赤峰	181001
3	甘肃陇南	180702	安徽六安	181201	河北	180401	广西	181201	湖南邵阳	181101	内蒙古包头	180801

2.1.3 浓缩工艺 取提取液进行减压浓缩, 温度 60~65 ℃, 真空度-0.08 MPa, 浓缩至密度为 1.18~1.20 (25 ℃), 以浸膏不黏壁, 流动性好为宜, 得浓缩液。

2.1.4 干燥工艺 取浓缩液进行真空干燥, 温度为 70 ℃, 真空度-0.08 MPa, 得干膏粉。

2.1.5 制粒工艺 取干膏粉适量, 加入甜菊素 17 g 及适量麦芽糊精调整粉末总量为 158 g/kg, 混合均匀后将干膏粉装入干法制粒机, 固定垂直給料速度 25 r/min, 水平送料速度 40~45 r/min, 调整压辊转速 5~7 r/min, 压辊压力 10~13 MPa, 制得颗粒, 过筛, 收集 10~40 目颗粒^[12], 即得 BBTD 颗粒剂。

2.2 BBTD 基准样品特征图谱的建立及比较分析

2.2.1 色谱条件 AcclaimTM RSLC Lot Validation-120 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.2 μm); 柱温 30 ℃; 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~12%乙腈; 5~20 min, 12%~26%乙腈; 20~30 min, 26%~80%乙腈; 30~35 min, 80%~

100%乙腈; 体积流量 0.30 mL/min; 检测波长 235 nm; 进样量 5.0 μL。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密称取 BBTD 颗粒剂 0.80 g, 置于锥形瓶中, 加入甲醇 25 mL, 密闭, 称定重量后超声处理(250 W、40 kHz) 30 min, 静置, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足损失的质量, 摇匀, 经 0.22 μm 滤膜滤过, 取续滤液即得供试品溶液。

2.2.3 混合对照品溶液的制备 精密称取对照品天麻素 2.64 mg、柚皮苷 2.20 mg、橙皮苷 1.67 mg、橙皮素 1.65 mg、异甘草素 2.34 mg、甘草素 1.92 mg、川陈皮素 1.31 mg、橘红素 1.37 mg、新橙皮苷 1.49 mg、芸香柚皮苷 1.43 mg, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液。

2.2.4 精密度考察 精密吸取同一供试品溶液(S1), 依照上述色谱条件连续进样 6 次, 按《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求》, 以保留时间和峰面积均适中的柚皮苷为参照峰, BBTD 颗粒剂特征峰相对保留时间 RSD 均小于 0.80%, 相对峰面积

RSD 均小于 2.90%，表明本方法精密度良好。

2.2.5 重复性考察 取同一批样品 (S1) 6 份，按照“2.2.2”项方法制备供试品溶液，并按照“2.2.1”项色谱条件进行检测，以柚皮苷为参照峰，BBTD 颗粒剂特征峰相对保留时间 RSD 均小于 0.88%，相对峰面积 RSD 均小于 2.80%，表明方法重复性良好。

2.2.6 稳定性考察 取同一供试品溶液 (S1)，分别于制备后 0、4、8、12、16、24 h 进行检测，记录指纹图谱，以柚皮苷为参照峰，各特征峰相对保留时间 RSD 均小于 0.98%，相对峰面积 RSD 均小于 2.60%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 特征图谱的建立及相似度计算 将 18 批不

同批次 BBTD 的基准样品图谱数据导入国家药典委员会的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 (2012 版)》。参照图谱设为 S1，对照图谱生成方法为平均数，时间窗宽度设为 0.10 s，多点校正，自动匹配，生成对照指纹图谱，计算相似度。得到 18 批 BBTD 基准样品的指纹图谱，见图 1。

S1~S18 批 BBTD 基准样品的相似度分别为 0.989、0.900、0.988、0.982、0.987、0.920、0.964、0.992、0.991、0.974、0.984、0.990、0.992、0.967、0.986、0.989、0.983、0.984，表明各批次间的一致性良好，能作为衡量 BBTD 相关制剂的标准参照物，可为 BBTD 颗粒剂制备过程质量控制提供参考。

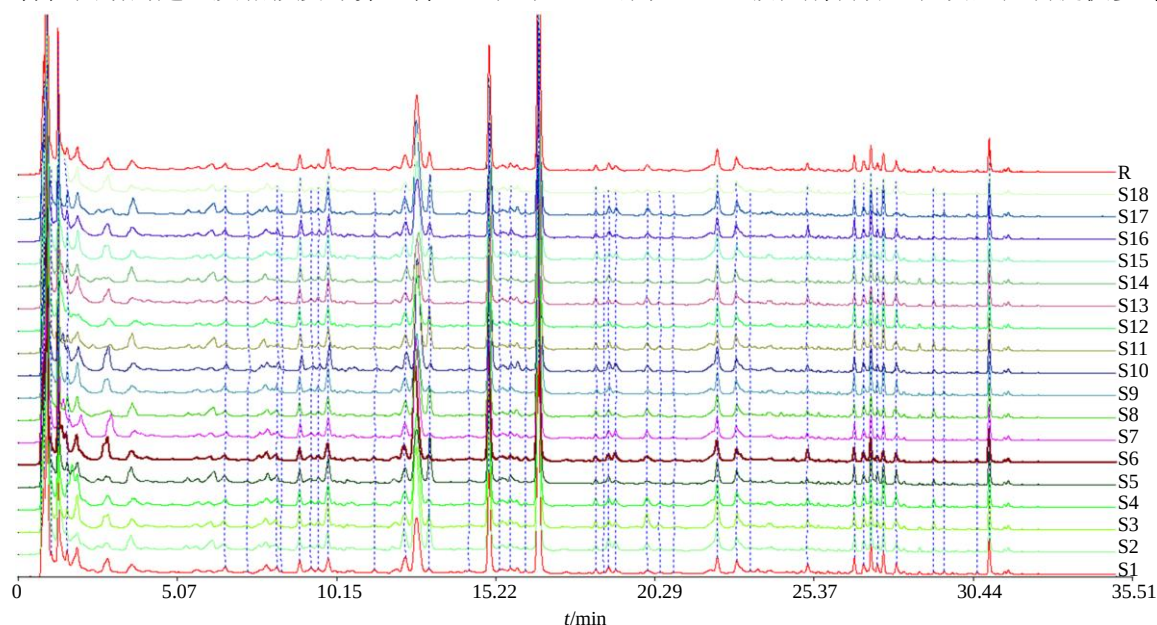


图 1 18 批 BBTD 基准样品指纹图谱和对照指纹图谱 (R)

Fig. 1 Fingerprints of 18 batches of BBTD reference sample and reference fingerprint (R)

2.2.8 特征峰的确定及药材归属研究 BBTD 颗粒剂 (S1) 的特征图谱见图 2，图中标记的 10 个特征峰均为 BBTD 颗粒剂中多酚类成分，分离度较好，保留时间分布均匀。精密吸取“2.2.3”项下的混合对照品溶液，按照“2.2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，见图 2。经对照品比较鉴定出共有峰中 10 个特征峰，每个特征峰的保留时间分别为 1.887 min (天麻素)、15.003 min (芸香柚皮苷)、15.890 min (柚皮苷)、16.570 min (橙皮苷)、17.410 min (新橙皮苷)、20.007 min (甘草素)、24.500 min (橙皮素)、25.287 min (异甘草素)、26.653 min (川陈皮素)、27.590 min (橘红素)。

对各特征峰进行归属研究，结果见图 3。其中天麻素 (1 号峰) 归属于天麻饮片，芸香柚皮苷 (2

号峰)、柚皮苷 (3 号峰)、橙皮苷 (4 号峰)、新橙皮苷 (5 号峰)、橙皮素 (7 号峰)、川陈皮素 (9 号峰)、橘红素 (10 号峰) 峰归属于橘红饮片，其余甘草素 (6 号峰)、异甘草素 (8 号峰) 峰归属于甘草 (炒) 饮片。

2.2.9 BBTD 颗粒剂各生产环节样品特征图谱相关性分析 通过对 BBTD 的提取液、浓缩液、干膏粉、颗粒剂和基准样品之间的一致性进行评价，得到 BBTD 颗粒剂各环节样品的特征图谱，结果见图 3。以基准样品为参照的相似度计算结果分别为提取液 (0.865)、浓缩液 (0.845)、干膏粉 (0.833)、颗粒剂 (0.809)、基准样品 (1.000)。从各环节特征图谱的相似度结果来看，虽然工业化生产过程中制备工艺包括提取、浓缩、干燥、制粒，与传统汤剂不同，但在

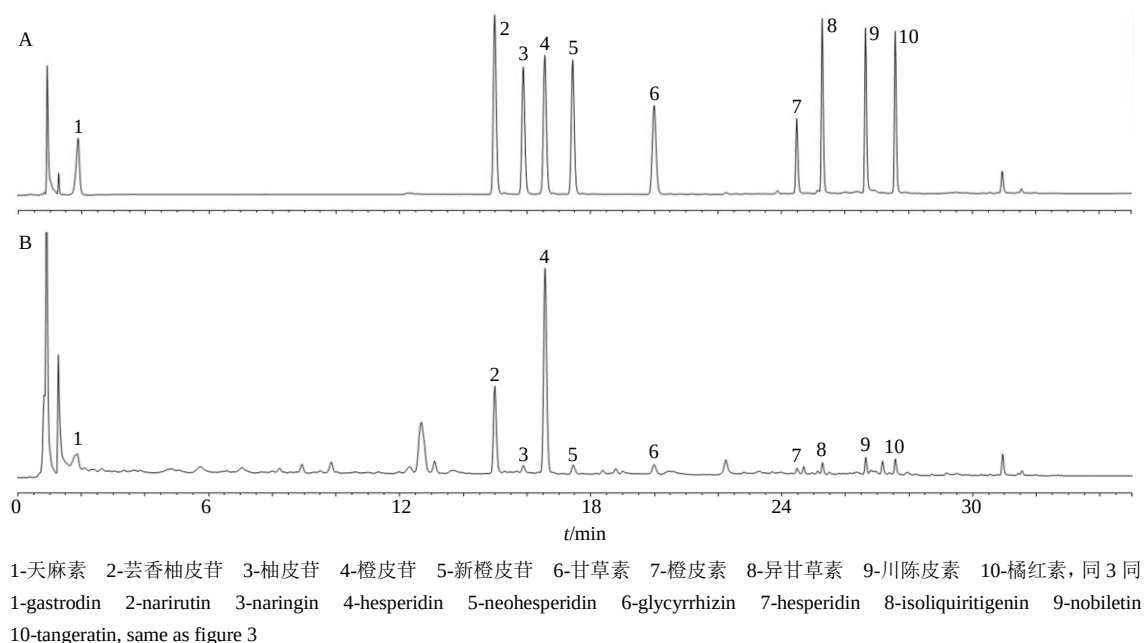


图 2 混合对照品 (A) 和供试品溶液 (S1, B) 的 UPLC 图

Fig. 2 UPLC diagram of mixed reference substance (A) and sample solution (S1, B)

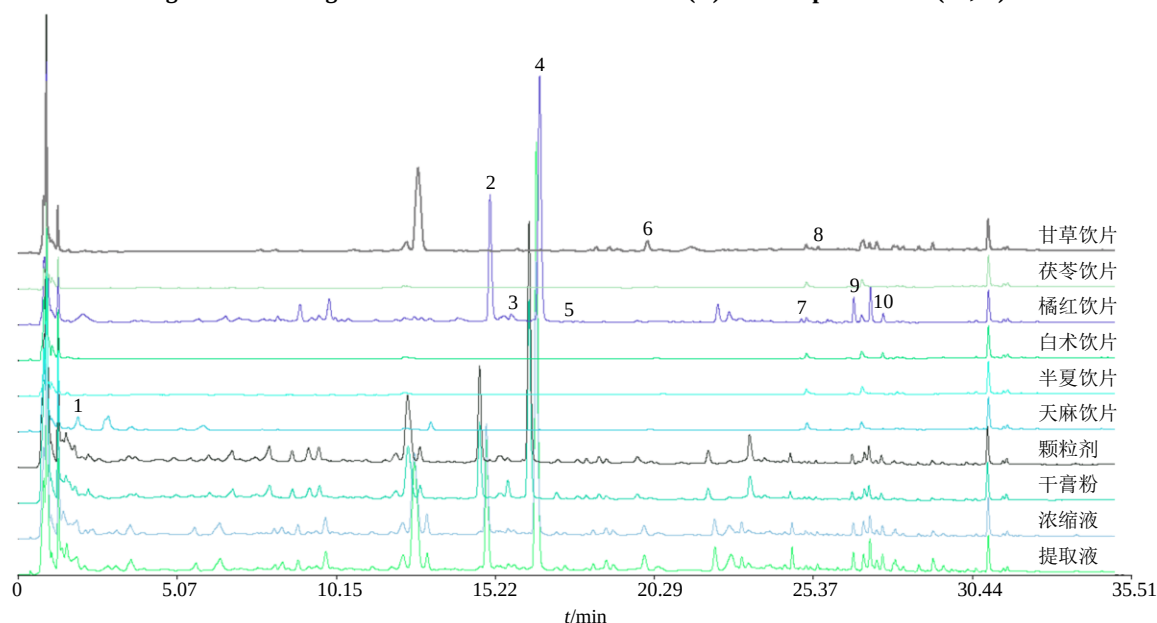


图 3 BBTD 颗粒剂各生产环节样品特征图谱相关性色谱图

Fig. 3 Correlation chromatogram of characteristic chromatogram of each link sample of BBTD granules

严格控制生产工艺的前提下, 提取液、浓缩液、干膏粉和颗粒剂的质量与基准样品可以保持一致性。

2.3 基于 Q-Marker 的 BBTD 颗粒剂各生产环节样品的量值传递分析^[13]

2.3.1 Q-Marker 的确定^[14] 基于 Q-Marker 的五原则, 结合 Q-Marker 初步辨识研究结果^[7], 重点关注特有性和可测性, 选定“2.2.8”项下归属的 10 个特征峰所对应的成分天麻素、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草素、橙皮素、异甘草素、

川陈皮素、橘红素为 BBTD 颗粒剂 Q-Marker。

2.3.2 线性关系考察 精密称取“2.2.3”项下的混合对照品溶液, 加甲醇稀释不同质量浓度的指标性成分对照品溶液, 采用“2.2.1”项下色谱条件进样, 以质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线并进行线性回归, 计算回归方程, 结果分别为天麻素 $Y=21.3860X-24.9920$, $r=0.9990$, 线性范围 $1.9\sim132.5\mu\text{g/mL}$; 芸香柚皮苷 $Y=6.3174X-1.3150$, $r=0.9993$, 线性范围 $2.0\sim138.6$

$\mu\text{g/mL}$; 柚皮苷 $Y=8.053\ 9\ X+0.674\ 9$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 $2.0\sim139.8\ \mu\text{g/mL}$; 橙皮苷 $Y=7.154\ 6\ X-0.362\ 6$, $r=0.999\ 1$, 线性范围 $1.9\sim132.5\ \mu\text{g/mL}$; 新橙皮苷 $Y=5.123\ 3\ X+0.720\ 1$, $r=0.999\ 5$, 线性范围 $1.4\sim94.5\ \mu\text{g/mL}$; 甘草素 $Y=2.348\ 5\ X+0.148\ 5$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 $0.5\sim36.6\ \mu\text{g/mL}$; 橙皮素 $Y=17.871\ 0\ X-1.322$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 $1.8\sim125.8\ \mu\text{g/mL}$; 异甘草素 $Y=4.749\ 6\ X-0.319\ 3$, $r=0.999\ 7$, 线性范围 $1.1\sim74.2\ \mu\text{g/mL}$; 川陈皮素 $Y=2.890\ 1\ X-0.068\ 9$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 $0.6\sim41.5\ \mu\text{g/mL}$; 橘红素 $Y=3.063\ 3\ X-0.700\ 7$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 $0.6\sim43.4\ \mu\text{g/mL}$; 结果表明天麻素、柚皮苷、橙皮苷、橙皮素、异甘草素、甘草素、川陈皮素、橘红素、新橙皮苷和芸香柚皮苷在各自的线性范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 精密吸取 BBTD 颗粒剂 (批号 210326) 供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 计算其 RSD, 结果供试品溶液中天麻素的 RSD 为 0.70%, 芸香柚皮苷的 RSD 为 1.20%, 柚皮苷的 RSD 为 2.87%, 橙皮苷的 RSD 为 2.28%, 新橙皮苷的 RSD 为 2.11%, 甘草素的 RSD 为 3.05%, 橙皮素的 RSD 为 0.83%, 异甘草素的 RSD 为 2.95%, 川陈皮素的 RSD 为 0.44%, 橘红素的 RSD 为 2.47%, 表明仪器精密度良好。

2.3.4 稳定性试验 取供试品溶液 (批号 210326), 室温放置, 按照“2.1”项下色谱条件分别于 0、4、8、12、16、24 h 进行测定, 计算峰面积的 RSD。结果天麻素的 RSD 为 0.75%, 芸香柚皮苷的 RSD 为 2.23%, 柚皮苷的 RSD 为 3.02%, 橙皮苷的 RSD 为 3.76%, 新橙皮苷的 RSD 为 0.98%, 甘草素的 RSD 为 1.11%, 橙皮素的 RSD 为 0.20%, 异甘草素的 RSD 为 4.25%, 川陈皮素的 RSD 为 2.45%, 橘红素的 RSD 为 1.20%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.5 重复性试验 取同一 BBTD 颗粒剂 (批号 210326), 平行制备 6 份供试品溶液, 采用“2.2.1”项下色谱条件分别进样, 记录峰面积, 计算各成分质量分数的 RSD, 结果样品中天麻素的 RSD 为 4.42%, 芸香柚皮苷的 RSD 为 2.24%, 柚皮苷的 RSD 为 0.70%, 橙皮苷的 RSD 为 4.70%, 新橙皮苷的 RSD 为 0.38%, 甘草素的 RSD 为 4.68%, 橙皮素的 RSD 为 3.66%, 异甘草素的 RSD 为 1.65%, 川陈皮素的 RSD 为 3.11%, 橘红素的 RSD 为 5.15%, 表

明该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取已测定各成分量的 BBTD 颗粒剂 6 份 (批号 210326), 每份 0.50 g, 精密称定, 分别加入混合对照品溶液 (含天麻素 0.039 mg/mL、芸香柚皮苷 0.026 mg/mL、柚皮苷对照品 0.022 mg/mL、橙皮苷对照品 0.017 mg/mL、橙皮素 0.017 mg/mL、异甘草素 0.023 mg/mL、甘草素 0.019 mg/mL、川陈皮素 0.013 mg/mL、橘红素 0.014 mg/mL、新橙皮苷 0.015 mg/mL) 5 mL, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.2.1”项色谱条件下进行测定, 计算各成分的平均加样回收率和 RSD 值, 天麻素、芸香柚皮苷、柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷、甘草素、橙皮素、异甘草素、川陈皮素、橘红素平均加样回收率依次为 99.03%、100.87%、96.68%、96.13%、97.38%、98.18%、98.17%、95.91%、98.75%、97.63%, RSD 值分别为 1.53%、2.10%、0.09%、4.86%、0.10%、0.19%、0.08%、2.25%、1.67%、0.23%, 表明该方法的回收率良好。

2.3.7 BBTD 颗粒剂各生产环节样品的量值传递分析 经典名方复方制剂制备工艺研究应以基准样品为参照, 含量、转移率均需满足基准样品范围^[15]。本研究根据规范要求制备了 18 批 BBTD 基准样品, 指标成分含量及转移率结果见表 2。其中天麻素质量分数为 2.887~10.112 mg/g, 转移率为 19.86%~50.23%; 芸香柚皮苷质量分数为 5.43 0~8.027 mg/g, 转移率为 51.67%~54.11%; 柚皮苷质量分数为 0.075~1.808 mg/g, 转移率为 48.39%~55.79%; 橙皮苷质量分数为 5.389~10.571 mg/g, 转移率为 58.16%~65.26%; 新橙皮苷质量分数为 0.13 6%~0.311 mg/g, 转移率为 38.97%~55.94%; 甘草素质量分数为 0.181~0.566 mg/g, 转移率为 18.52%~25.59%; 橙皮素质量分数为 0.131~0.697 mg/g, 转移率为 23.52%~48.61%; 异甘草素质量分数为 0.045~0.328 mg/g, 转移率为 8.38%~18.99%; 川陈皮素质量分数为 0.210~0.421 mg/g, 转移率为 42.32%~45.16%; 橘红素质量分数为 0.154~0.574 mg/g, 转移率为 37.65%~40.26%。

选取大生产饮片进行中试生产制得 3 批 BBTD 颗粒剂, 计算 3 批颗粒剂的含量及转移率, 结果见表 3、4。从表中可以看出, 橙皮苷从饮片 (质量分数 9.326 mg/g) 转移到提取液 (质量分数 8.975 mg/g) 的转移率最高, 达到 96.24%, 橘红素从饮片 (质量分数 0.154 mg/g) 转移到提取液 (质量分数

表 2 BBTB 基准样品中指标成分含量及转移率

Table 2 Index component content and transfer rate of BBTB reference sample

样品	天麻素		芸香柚皮苷		柚皮苷		橙皮苷		新橙皮苷	
	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %
S1	4.575	31.47	5.617	53.45	0.075	48.39	5.827	62.89	0.136	38.97
S2	4.770	32.81	6.722	52.08	0.345	48.90	7.571	59.60	0.200	49.90
S3	4.953	34.07	7.706	51.94	1.808	55.79	9.983	61.63	0.260	46.71
S4	6.558	27.12	5.682	54.07	0.083	53.37	6.022	64.99	0.143	41.01
S5	6.788	28.07	6.707	51.96	0.382	54.13	8.047	63.34	0.205	51.12
S6	7.052	29.16	8.027	54.11	1.616	49.85	10.571	65.26	0.311	55.94
S7	7.240	35.96	5.515	52.48	0.080	51.43	6.004	64.80	0.194	55.51
S8	7.364	36.58	6.755	52.34	0.351	49.75	8.104	63.79	0.201	50.05
S9	10.112	50.23	7.660	51.64	1.714	52.87	9.863	60.89	0.242	43.54
S10	2.887	19.86	5.507	52.40	0.084	54.14	5.627	60.73	0.185	53.02
S11	3.709	25.52	6.963	53.95	0.364	51.63	8.262	65.03	0.216	53.87
S12	4.262	29.32	7.959	53.65	1.588	49.01	10.013	61.82	0.242	43.58
S13	5.178	21.41	5.495	52.29	0.078	50.39	5.389	58.16	0.160	45.76
S14	5.543	22.92	6.933	53.72	0.344	48.84	8.138	64.06	0.197	49.16
S15	6.206	25.66	7.967	53.71	1.688	52.09	9.560	59.02	0.276	49.73
S16	7.412	36.82	5.430	51.67	0.082	52.91	5.904	63.71	0.171	48.88
S17	7.562	37.57	6.820	52.84	0.373	52.91	8.071	63.53	0.186	46.44
S18	8.004	39.76	7.980	53.79	1.732	53.44	10.161	62.73	0.291	52.34

样品	甘草素		橙皮素		异甘草素		川陈皮素		橘红素	
	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	转移率/ %
S1	0.208	21.28	0.233	41.83	0.051	9.50	0.224	45.26	0.156	38.14
S2	0.274	23.66	0.200	33.02	0.147	9.12	0.262	46.27	0.318	38.40
S3	0.429	19.39	0.697	48.61	0.209	12.13	0.413	44.31	0.564	39.56
S4	0.436	19.73	0.208	37.29	0.211	12.21	0.215	43.39	0.158	38.52
S5	0.181	18.52	0.247	40.85	0.094	17.50	0.257	45.35	0.318	38.46
S6	0.245	21.19	0.368	25.63	0.219	13.65	0.416	44.65	0.565	39.61
S7	0.248	21.46	0.255	45.73	0.286	17.79	0.222	44.77	0.154	37.65
S8	0.469	21.22	0.282	46.67	0.328	18.99	0.262	46.34	0.326	39.42
S9	0.227	23.19	0.300	20.92	0.045	8.38	0.421	45.16	0.574	40.26
S10	0.287	24.78	0.221	39.73	0.259	16.13	0.220	44.27	0.163	39.79
S11	0.428	19.37	0.291	48.07	0.267	15.47	0.257	45.44	0.333	40.26
S12	0.245	25.00	0.355	24.73	0.085	15.86	0.405	43.48	0.548	38.42
S13	0.451	20.38	0.195	35.00	0.190	11.02	0.223	44.94	0.162	39.55
S14	0.242	24.73	0.280	46.35	0.093	17.33	0.263	46.49	0.321	38.78
S15	0.288	24.90	0.418	29.17	0.097	6.03	0.405	43.51	0.556	39.01
S16	0.237	24.22	0.131	23.52	0.102	18.91	0.210	42.32	0.154	37.76
S17	0.260	22.48	0.254	41.98	0.109	6.81	0.254	44.82	0.325	39.33
S18	0.566	25.59	0.497	34.66	0.301	17.43	0.414	44.46	0.572	40.11

表 3 3 批 BBTD 颗粒样品各环节指标成分含量

Table 3 Index composition of three batches of each link sample of BBTD granules

样品	批号	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
		天麻素	芸香柚皮苷	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	甘草素	橙皮素	异甘草素	川陈皮素	橘红素
饮片		3.836	4.010	0.606	9.326	0.089	0.254	0.251	0.151	0.192	0.154
提取液	210326	2.925	2.966	0.574	8.975	0.071	0.179	0.190	0.127	0.146	0.103
	210328	2.783	2.966	0.580	8.993	0.069	0.179	0.194	0.131	0.151	0.095
	210330	2.406	2.684	0.529	8.959	0.076	0.184	0.190	0.129	0.158	0.097
浓缩液	210326	2.634	2.525	0.44	7.377	0.052	0.128	0.154	0.064	0.104	0.076
	210328	2.610	1.938	0.445	7.668	0.049	0.178	0.219	0.063	0.113	0.080
	210330	2.253	2.400	0.500	8.238	0.049	0.179	0.127	0.061	0.119	0.069
干膏粉	210326	2.399	2.126	0.336	6.053	0.034	0.086	0.149	0.052	0.093	0.072
	210328	2.336	2.075	0.350	5.566	0.031	0.097	0.119	0.043	0.096	0.066
	210330	1.907	2.175	0.397	6.202	0.029	0.100	0.099	0.051	0.100	0.062
颗粒剂	210326	1.927	2.104	0.298	5.821	0.033	0.083	0.122	0.046	0.086	0.062
	210328	1.538	2.072	0.293	5.424	0.028	0.077	0.098	0.049	0.090	0.061
	210330	1.762	2.170	0.338	6.086	0.027	0.085	0.109	0.051	0.091	0.058

表 4 3 批 BBTD 颗粒剂样品从饮片到各环节指标成分的转移率

Table 4 Transfer rate of index components of three batches of BBTD granule samples from prepared slices to each link

样品	批号	转移率/%									
		天麻素	芸香柚皮苷	柚皮苷	橙皮苷	新橙皮苷	甘草素	橙皮素	异甘草素	川陈皮素	橘红素
提取液	210326	76.25	73.96	94.72	96.24	79.78	70.47	75.70	84.36	76.04	66.88
	210328	72.55	73.96	95.71	96.43	77.53	70.47	77.29	86.59	78.64	61.69
	210330	67.72	66.93	87.29	96.06	85.39	72.44	75.70	85.47	82.29	62.99
浓缩液	210326	68.66	62.97	72.61	79.10	58.43	50.39	61.35	42.40	54.17	49.35
	210328	68.04	48.33	73.43	82.22	55.06	70.08	87.25	41.90	58.85	51.95
	210330	58.73	59.85	82.51	88.33	55.06	70.47	50.60	40.17	61.98	44.80
干膏粉	210326	62.54	53.01	55.44	64.90	38.20	34.01	59.36	34.58	48.44	46.75
	210328	60.9	51.74	57.76	59.68	35.09	38.19	47.41	28.49	50.00	42.86
	210330	49.71	54.24	65.51	66.50	32.58	39.37	39.44	33.46	52.08	40.26
颗粒剂	210326	50.23	52.47	49.17	62.42	37.08	32.50	48.60	30.46	44.79	40.26
	210328	40.09	51.67	48.35	58.16	31.84	30.47	39.04	32.14	46.88	39.61
	210330	45.93	54.11	55.78	65.26	30.09	33.59	43.50	33.49	47.40	37.66

0.127 mg/g) 的转移率最低, 仅为 66.88%。但经过浓缩、干燥最后到制得的颗粒剂后普遍损失较大, 3 批颗粒剂中橙皮苷质量分数分别为 5.821、5.424、6.086 mg/g, 由饮片到颗粒的平均转移率为 61.95%, 转移率最高。异甘草素质量分数分别为 0.046、0.049、0.051 mg/g, 由饮片到颗粒的平均转移率为 32.03%, 转移率最低。

3 讨论

3.1 基于传递与溯源的 Q-Marker 参数范围制定

《指导原则》指出, 应按照国家发布的古代经典

名方关键信息及古籍记载, 研究、制备基准样品。应固定炮制、前处理、煎煮、滤过、浓缩、干燥等制备方法和工艺参数, 制备不少于 15 批基准样品。应开展基准样品的质量研究, 采用专属性鉴别和多成分、整体质量评价指标表征其质量。

基于上述要求, 本研究综合考察了 18 批 BBTD 基准样品的饮片-基准样品相关性, 以 Q-Marker 均值的 ±30% 为波动范围, 建立全程可追溯的质量控制体系^[16]。18 批基准样品中天麻素、芸香柚皮苷、橙皮苷和甘草素含量在其均值 ±30% 范围内, 柚皮

昔、橙皮素、异甘草素、川陈皮素、橘红素和新橙皮昔在饮片中含量较低,再叠加实验误差,导致个别批次在此范围外。18 批基准样品中 10 种成分总量的平均值为 5.16 mg/g,均在±30%范围内(2.32~6.16 mg/g)。提示 10 种指标成分及其总量可以作为评价工艺和质量一致性的考核标准。

3.2 关键生产工艺评价

《指导原则》要求,应对中试规模以上生产的中间体、制剂及所用的药材饮片进行相关性研究,并与基准样品的质量标准进行对比,说明生产全过程的量质传递情况。因此,需要对颗粒生产环节的整体性进行评价^[17],建立“饮片-各关键工艺中间体-颗粒”整个流程的质量控制策略^[17]。

本研究通过天麻素、柚皮昔、橙皮昔、橙皮素、异甘草素、甘草素、川陈皮素、橘红素、新橙皮昔、芸香柚皮昔的含量确定各环节量值传递关系,利用 UPLC 特征图谱整体性对饮片、提取液、浓缩液、干膏粉、颗粒剂与基准样品间的一致性进行评价,确定经典名方 BBTD 颗粒剂的关键生产工艺,对生产上遇到的问题既能实现从整体上分析,又能实现分步骤还原,实现全面系统的工艺与质量控制。结果发现,浓缩与干燥是 BBTD 颗粒剂能否与传统汤剂保持质量一致性的关键。

在 BBTD 颗粒剂制备过程中,浓缩、干燥由于较长时间的热处理过程,加热时间过长或加热温度过高,会造成药效成分量或各成分的组成发生变化,引起 BBTD 颗粒剂配伍环境发生变化,可能会影响药效。目前冷冻干燥被认为是干燥的最佳选择方法,能最大程度保留物品的属性,但是冷冻干燥的成本是传统干燥方法的 5 倍左右,在要求降低群众药费负担、保障廉价药生产供应的背景下,并不是最理想的选择。而在选择其他干燥方式时,就要特别注意要针对 BBTD 提取液中已知多酚类药效物质的理化性质,严格控制工艺参数^[18],才能有效保证经方制剂的有效性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fu Y, Shan M, Hu M, et al. Chemical profiling of Banxia-Baizhu-Tianma decoction by ultra-fast liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 174: 595-607.
- [2] Jiang Y H, Zhang P, Tao Y, et al. Banxia Baizhu Tianma decoction attenuates obesity-related hypertension [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113453.
- [3] 王奕博, 黄平情, 杜媛媛, 等. 基于第一批经典名方的分析与思考 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(11): 2191-2196.
- [4] 徐男, 孙蓉, 黄欣, 等. 基于“效-毒”相关的经典名方复方制剂质量及制药过程一致性评价的研究思路探讨 [J]. *中国医院药学杂志*, 2019, 39(20): 2118-2125.
- [5] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. *中草药*, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [6] 刘昌孝. 中药质量标志物(Q-Marker)研究发展的 5 年回顾 [J]. *中草药*, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [7] 徐男, 孙蓉, 朱晓明, 等. 基于多元统计方法和成分差异分析辨识半夏白术天麻汤的质量标志物(Q-marker) [J]. *中草药*, 2019, 50(19): 4595-4602.
- [8] 徐男, 时海燕, 王淑玲, 等. 基于正交试验配合多药效指标综合评价半夏白术天麻汤治疗痰湿壅盛型高血压的有效组分配伍 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(21): 7-13.
- [9] 薛昊, 陈仁寿. 经典名方半夏白术天麻汤源流与应用考 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(15): 14-19.
- [10] 王淑玲, 杨慧敏, 李敏慧, 等. 半夏白术天麻汤物质基准 HPLC 指纹图谱及多成分定量分析 [J]. *中国当代医药*, 2021, 28(8): 4-8.
- [11] 徐男, 孙蓉, 崔焕月, 等. 化学计量学结合信息熵赋权优选半夏白术天麻汤提取工艺 [J]. *中草药*, 2020, 51(4): 995-1002.
- [12] 况弯弯, 伍振峰, 万娜, 等. 中药干法制粒的研究思路探讨: 基于干法制粒技术研究的国内外研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(15): 3195-3202.
- [13] 齐琪, 赵(王)月瑛, 张晴, 等. 经典名方小承气汤的物质基准量值传递研究 [J]. *中草药*, 2021, 52(10): 2927-2937.
- [14] 李泽, 杜鹤, 解玉军, 等. 基于多元统计分析和网络药理学的炒酸枣仁饮片质量标志物预测分析 [J]. *中草药*, 2021, 52(16): 4811-4824.
- [15] 代云桃, 靳如娜, 吴治丽, 等. 基于标准汤剂(物质基准)的经典名方制备工艺和质量标准研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(2): 164-174.
- [16] 张慧, 陈燕, 汪佳楠, 等. 指纹图谱技术在中药配方颗粒质量评价及过程控制中的应用 [J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(19): 3822-3827.
- [17] 姜慧洁, 顾唯芝, 许鑫, 等. 含挥发性成分牡丹皮标准汤剂及配方颗粒的制备工艺研究 [J]. *中国药学杂志*, 2018, 53(21): 1869-1875.
- [18] 李远辉, 李慧婷, 李延年, 等. 高品质中药配方颗粒与关键制造要素 [J]. *中草药*, 2017, 48(16): 3259-3266.

[责任编辑 郑礼胜]