

• 药剂与工艺 •

中成药均一化投料工艺研究——以芍药甘草汤为例

刘佳萌¹, 刘岩^{1,2}, 彭佳慧^{1,3}, 孙博⁴, 杨晶凡², 付钰², 马生军⁵, 朱广伟^{1,6*}

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700
2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046
3. 北京中医药大学, 北京 102488
4. 中国医学科学院 医药生物技术研究所, 北京 100050
5. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052
6. 中国中医科学院 博士后科研流动站, 北京 100700

摘要: 目的 以芍药甘草汤 (Shaoyao Gancao Decoction, SGD) 为例, 进行均一化投料工艺研究, 从均一化饮片、汤剂、中成药三重环节, 结合多成分含量、特征图谱、量值传递等数据, 完成 SGD 均一化投料工艺全流程, 探讨并确定 SGD 均一化投料工艺的质量范围, 实现批间质量均一稳定。方法 采用 UHPLC 法对多批次白芍、炙甘草饮片含量进行测定; 选取平均值作为饮片标准质量, 以此作为均一化标准饮片目标质量; 计算各批饮片均一化投料比例, 完成投料, 制备 SGD 均一化标准汤剂、中成药; 设定质量浓度范围, 建立均一化标准汤剂、中成药特征图谱。将饮片分级后, 新制备 15 批均一化汤剂及中成药, 验证质量浓度范围的合理性, 综合评价均一化工艺。结果 设置均一化标准饮片中芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数分别为 2.236%~2.506%、0.500%~0.680%、1.870%~2.215%; 均一化标准汤剂中各成分矫正质量浓度分别为芍药苷 2.014~2.522 mg/mL、甘草苷 0.170~0.282 mg/mL、甘草酸 0.489~0.718 mg/mL; 均一化标准中成药中各成分矫正质量浓度分别为芍药苷 1.950~2.391 mg/mL、甘草苷 0.159~0.269 mg/mL、甘草酸 0.453~0.673 mg/mL; 均一化标准汤剂、中成药特征图谱中共匹配 16 个特征峰, 通过对照品共指认出 8 个特征峰。新制备的均一化汤剂及中成药中各成分均在设置的质量浓度范围内; 将各组特征图谱与均一化标准汤剂、中成药对照特征图谱进行对比, 相似度均大于 0.995。结论 以饮片标准质量为目标, 通过均一化投料得到质量均一的饮片, 降低了投料饮片的质量波动, 最终得到批间质量均一稳定的 SGD 汤剂及中成药, 为中成药质量一致性工艺研究提供可行性方案。

关键词: 中成药; 芍药甘草汤; 均一化投料; 质量控制; 经典名方; 特征图谱; 芍药苷; 甘草苷; 甘草酸

中图分类号: R283.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)05-1534-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.006

Homogenization feeding process of Chinese patent medicine—taking Shaoyao Gancao Decoction as an example

LIU Jiameng¹, LIU Yan^{1,2}, PENG Jiahui^{1,3}, SUN Bo⁴, YANG Jingfan², FU Yu², MA Shengjun⁵, ZHU Guangwei^{1,6}

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China
2. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China
4. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100050, China
5. College of Food Sciences and Pharmacy, Xinjiang Agriculture University, Urumqi 830052, China
6. Postdoctoral Research Station of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

收稿日期: 2024-10-28

基金项目: 国家科技重大专项“重大新药创制”(2018ZX09721005); 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A04506); 中国中医科学院科技创新工程项目(CI2023E001TS); 2023年全国中药特色技术传承人才培训项目(ZXKT23025)

作者简介: 刘佳萌, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准研究及经典名方研究。E-mail: jiamengliu521008@163.com

*通信作者: 朱广伟, 副研究员, 硕士研究生导师, 从事中药分析及中成药开发应用研究。E-mail: gwzhu@icmm.ac.cn

Abstract: Objective Taking Shaoyao Gancao Decoction (SGD, 芍药甘草汤) as an example, the homogenization feeding process was studied. From the triple links of homogenization decoction pieces, decoction and Chinese patent medicine, combined with multi-component content, characteristic spectrum, value transfer and other data, the whole process of homogenization feeding process of SGD was completed, and the quality range of homogenization feeding process of SGD was discussed and determined, so as to achieve uniform and stable quality between batches. **Methods** UHPLC method was used to determine the content of multiple batches of Baishao (*Paeoniae Radix Alba*) and Zhigancao (*Glycyrrhizae Radix Preparata*). The average value was selected as the standard quality of decoction pieces, which was used as the target quality of normalized standard decoction pieces. Calculate the proportion of homogenization of each batch of decoction pieces, complete the feeding, and prepare the SGD homogenization standard decoction and Chinese patent medicine; the mass concentration range was set, and the characteristic chromatograms of normalized standard decoction and Chinese patent medicine were established. After the decoction pieces were graded, 15 batches of homogenized decoctions and Chinese patent medicines were newly prepared to verify the rationality of the mass concentration range and comprehensively evaluate the homogenization process. **Results** The mass fractions of paeoniflorin, liquiritin and glycyrrhizic acid in normalized standard decoction pieces were 2.236%—2.506%, 0.500%—0.680% and 1.870%—2.215%, respectively. The corrected mass concentrations of each component in the normalized standard decoction were 2.014—2.522 mg/mL for paeoniflorin, 0.170—0.282 mg/mL for liquiritin, and 0.489—0.718 mg/mL for glycyrrhizic acid, respectively. The corrected mass concentrations of each component in the standard Chinese patent medicine were 1.950—2.391 mg/mL for paeoniflorin, 0.159—0.269 mg/mL for liquiritin, and 0.453—0.673 mg/mL for glycyrrhizic acid, respectively. A total of 16 characteristic peaks were matched in the characteristic chromatograms of homogenized standard decoctions and Chinese patent medicines, and eight characteristic peaks were identified by reference substances. The components in the newly prepared homogenized decoction and Chinese patent medicine were within the set mass concentration range. The characteristic chromatograms of each group were compared with the characteristic chromatograms of homogenized standard decoction and Chinese patent medicine, and the similarity was greater than 0.995. **Conclusion** Taking the standard quality of decoction pieces as the goal, the decoction pieces with uniform quality are obtained by homogenizing the feeding, which reduces the quality fluctuation of the feeding decoction pieces, and finally obtains the SGD and Chinese patent medicine with uniform and stable quality between batches, which provides a feasible scheme for the study of the quality consistency process of Chinese patent medicine. **Key words:** Chinese patent medicine; Shaoyao Gancao Decoction; homogenized feeding; quality control; classic prescription; feature map; paeoniflorin; liquiritin; glycyrrhizic acid

中成药作为中药产业发展的重要支柱之一,其质量的优劣对临床用药至关重要。市面上各类中成药质量波动较大,不同厂家、即使同厂家生产的同种合格中成药依然存在批内、批间质量不一致问题,极大影响药效与安全性,成为行业痛点^[1-3]。影响中成药制剂质量一致性的因素有投料饮片质量、企业生产管理与工艺、质控法规评价等方面^[4-8]。中成药质控法规不健全,易片面化评价中成药制剂质量,降低检测准确性。目前,较多文献已关注到质量评价的全面性问题^[9-11]。然而,从投料饮片角度提高质量稳定性的研究鲜有报道,在实际生产中,药企投料直接使用单批次饮片,忽视不同批饮片质量差异性,加剧了中成药质量波动。为提高中成药批间质量稳定性,依据《中药均一化研究技术指导原则(试行)》,可采用刘佳萌等^[4]提出的均一化投料工艺,控制投料饮片质量,优化生产工艺,保证投料饮片质量均一性,以此降低批间质量波动幅度,推进中成药质量一致性发展。

芍药甘草汤(Shaoyao Gancao Decoction, SGD)

为古代经典名方目录(第一批)中录入的方剂,具有养血敛阴、调和肝脾、缓急止痛之功效,用于血虚津伤和筋脉失濡所致的腿脚挛急、脘腹疼痛^[12]。在现代研究中,多以传统镇痛、解痉、抗炎功效为主,并通过加味、结合其他方剂、联合针灸等治疗方式广泛应用于临床中,深受医家推崇^[13-22]。SGD药性平和,药味简单,仅白芍饮片与炙甘草饮片等比例投料,关键指标性成分明确,可以SGD为例,进行中成药均一化投料工艺研究,探究均一化投料工艺对提高中成药制剂批间质量一致性的效果,以期推进中成药稳定性及安全性研究,促进中医药传承创新与中医药高质量发展。

1 仪器与材料

1.1 仪器

安捷伦 1290 Infinity II 超高效液相色谱仪(UHPLC), G7167B 型自动给样系统, G7166B 型柱温箱, G7117A 型 DAD 检测器, 美国安捷伦科技有限公司; 色谱柱为 Thermo-C₁₈ 柱(150 mm×2.1 mm, 2.6 μm), 赛默飞世尔科技(中国)有限公司;

Sartorius-BS 210S 型电子分析天平, 北京市赛多利斯天平有限公司; KQ-100E 型超声波清洗器, 昆山超声仪器有限公司; LD510-2 型电子天平, 沈阳市龙腾电子有限公司; H1650-W 型高速离心机, 湖南省湘仪实验室仪器开发有限公司; MIX-25P 型混合仪, 杭州市米欧仪器有限公司; LGJ-10E 型冷冻干燥机, 四环福瑞科仪科技发展(北京)有限公司; HDZ20 型智能煎药壶 (2L), 美味世家。

1.2 试药

从不同中药饮片企业采购多产地、多规格白芍 (*Paeoniae Radix Alba*, PRA) 和炙甘草 (*Glycyrrhizae Radix Preparata*, GRP) 饮片各 15 批, 产地及批次见表 1。饮片经新疆农业大学食品科学与药学学院马生军副教授鉴定, 饮片所用药材基原分别为毛茛科芍药属植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根, 豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎, 饮片外观信息见图 1、2。

1.3 试剂

对照品芍药苷 (批号 110736-202044, 质量分数 96.8%)、甘草苷 (批号 111610-20198, 质量分数 95.0%)、甘草酸铵 (批号 110731-202021, 质量分数 96.2%), 中国食品药品检定研究院; 对照品氧化芍

表 1 白芍和炙甘草饮片信息

Table 1 Information of PRA and GRP decoction pieces

白芍			炙甘草			
编号	生产批号	等级 产地	编号	生产批号	等级	产地
BS01	221108002	特优 安徽	ZGC01	230630004	优	新疆
BS02	230617005	优 安徽	ZGC02	230717001	优	新疆
BS03	2307100132	统货 安徽	ZGC03	2307170102	统货	甘肃
BS04	2302090103	统货 安徽	ZGC04	2307100272	统货	甘肃
BS05	2302030031	统货 安徽	ZGC05	2306120283	统货	甘肃
BS06	B23061301-01	统货 浙江	ZGC06	2212150151	统货	甘肃
BS07	B23072801-01	统货 浙江	ZGC07	G04221230-01	圆片, 一级	甘肃
BS08	B23080502-01	统货 浙江	ZGC08	G04230808	蜜炙, 选片	甘肃
BS09	B23082401-01	统货 浙江	ZGC09	G04221231	三级	甘肃
BS10	B23082801-01	统货 浙江	ZGC10	G04230104	三级	甘肃
BS11	230201	统货 安徽	ZGC11	G04221225	蜜炙, 片	甘肃
BS12	230502	统货 安徽	ZGC12	230801	统货	甘肃
BS13	230601	统货 安徽	ZGC13	230802	统货	甘肃
BS14	230801	统货 安徽	ZGC14	230803	统货	甘肃
BS15	2309001	统货 安徽	ZGC15	220801	统货	甘肃

药苷 (批号 JOT-10609)、芍药内酯苷 (批号 JOT-10459)、芍药苷 (批号 JOT-10063)、甘草苷 (批号 JOT-10084)、芹糖基甘草苷 (批号 JOT-11390)、苯甲酰芍药苷 (批号 JOT-10610)、异甘草素 (批号 JOT-

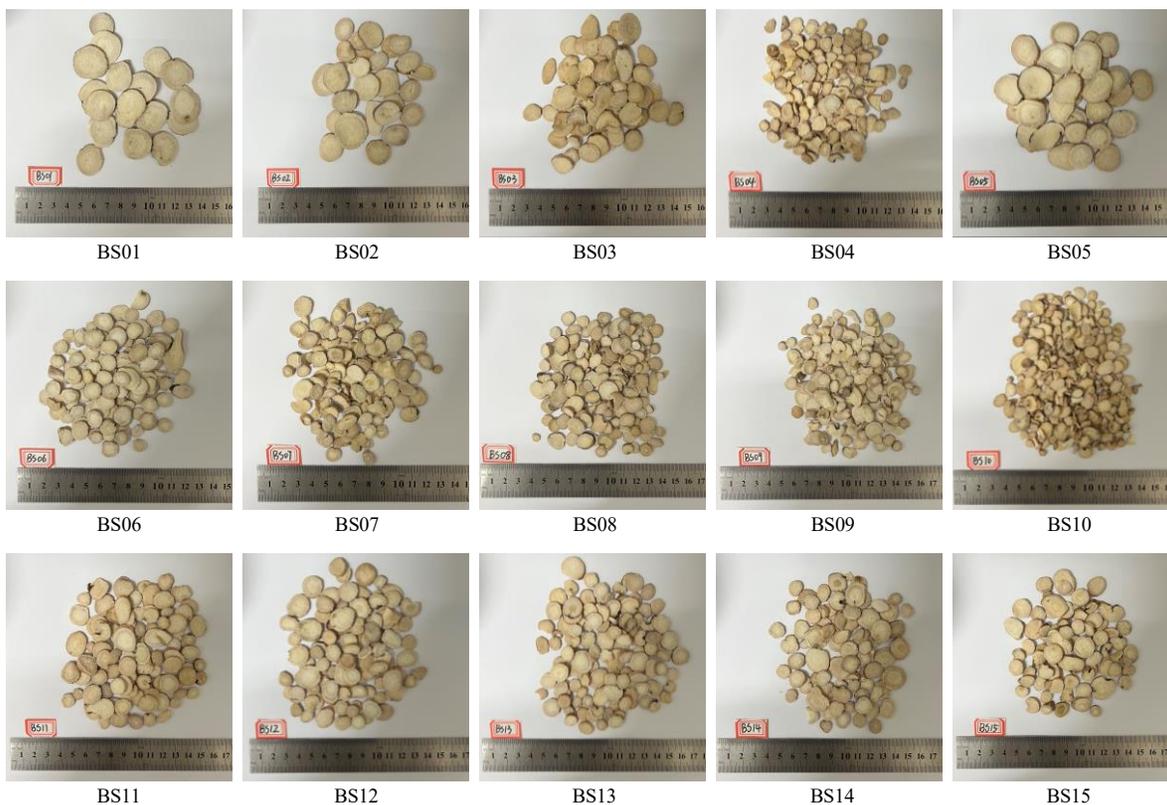


图 1 15 批白芍饮片外观信息

Fig. 1 Appearance information of 15 batches of PRA decoction pieces

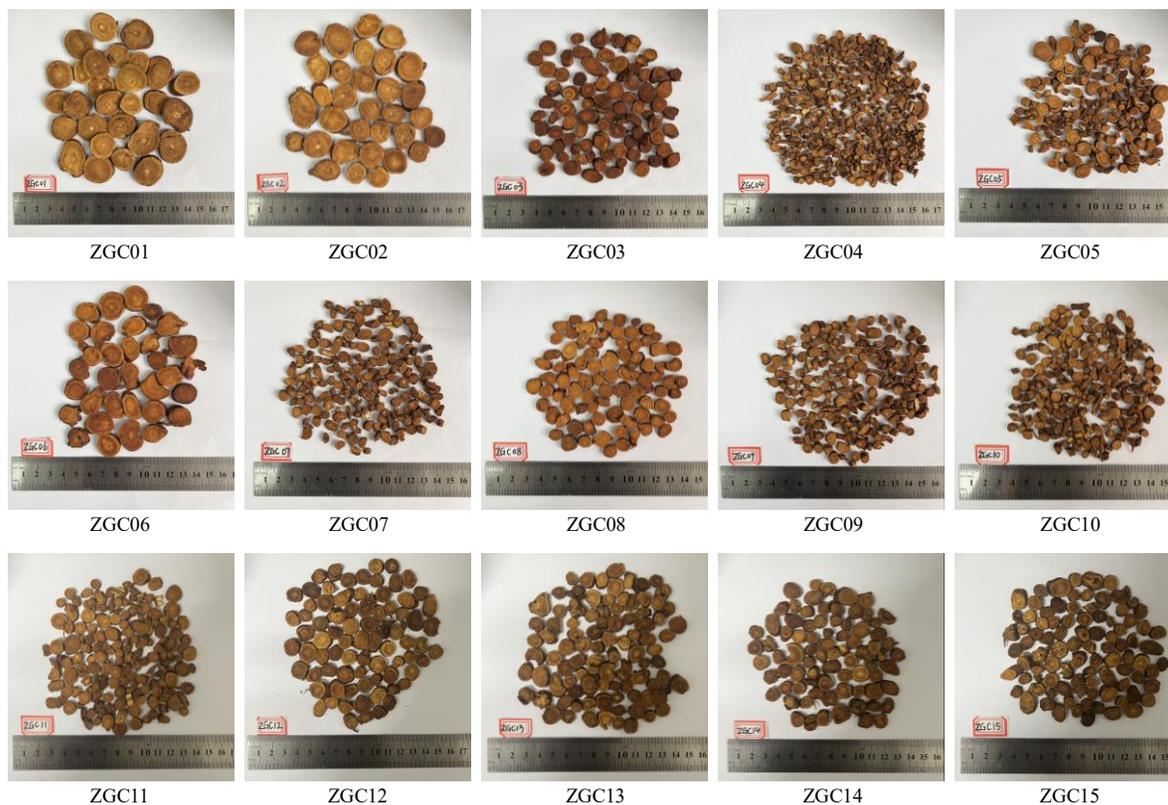


图 2 15 批炙甘草饮片外观信息

Fig. 2 Appearance information of 15 batches of GRP decoction pieces

10441)、甘草酸(批号 JOT-10082), 质量分数均 $\geq 98.0\%$, 成都普菲德生物技术有限公司; 甲醇、乙腈为色谱纯, 美国 Fisher 公司; 水为娃哈哈纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 中成药均一化投料工艺全流程

本研究聚焦于中成药均一化投料工艺研究, 基于 2020 年国家药品监督管理局药品审评中心发布的《中药均一化研究技术指导原则(试行)》, 刘佳萌等^[4]提出《中成药均一化投料研究策略》, 据此设计本实验工艺方案, 并开展实验验证。经官方文件、学术探讨到实验操作, 最终确定均一化投料工艺全流程(图 3)涵盖 2 部分: 均一化投料标准制定(图 3-A)与均一化投料案例(图 3-B)研究^[4]。

2.2 SGD 均一化投料比例设计

2.2.1 均一化标准饮片投料比例计算公式

(1) 白芍:

$$k_1Sc_1 \text{芍药苷} + k_2Sc_2 \text{芍药苷} + k_3Sc_3 \text{芍药苷} = X_{Bs}$$

S 代表饮片质量, C 代表指标性成分含量, 此研究中用成分含量代表质量, k 为计算所得投料比例; $0 \leq k < 1$, $k_1 + k_2 + k_3 = 1$, C1~C3 指 3 批饮片成分含量, 3 组中至少含 1 组高于和 1 组低于饮片标准质量 X_{Bs}

(2) 炙甘草:

$$k_1S_{Ch} \text{甘草苷} + C_1 \text{甘草酸} + k_2S_{Cl} \text{甘草苷} + Ch \text{甘草酸} = X_{ZGc}$$

$$k_1S_{Ch} \text{甘草苷} + Ch \text{甘草酸} + k_2S_{Cl} \text{甘草苷} + C_1 \text{甘草酸} = X_{ZGc}$$

$0 < k < 1$, Ch、C1 指饮片成分含量高于、低于饮片标准质量 X_{ZGc}

将含量与饮片标准质量分别输入二元与三元一次方程组计算器 (<https://www.imathtool.com/jisuanqi/eryuanyicifc/> 与 <https://www.99cankao.com/algebra/unknwn3.php>) 即可获得均一化 k 值。

2.2.2 均一化标准饮片投料比例计算公式说明
多次混批计算发现, 炙甘草 2 批次投料比例计算结果多为比例系数和约等于 1 的情况 ($k_1 + k_2 \approx 1$), 原因在于兼顾 2 个指标性成分(甘草苷、甘草酸), 二者之和恰好等于 1 的概率较低(当比例系数之和为 1, 即 $k_1 + k_2 = 1$, 指 2 批次饮片混合投药量恰好为 55.2 g), 为优化计算, 设置两/多指标性成分的药材饮片允许取药量在一定范围内, 因此在 SGD 均一化投料中, 炙甘草投料量范围设定为 (55.2 ± 3.0) g [投料量范围由计算过程中炙甘草多批药材、多次计算、多种组合总结而得, 故而取值范围受实际情况影响, 如所选样本实际质量、样本数量等因素而具有不确定性。](55.2 \pm 3.0) g 源于: 表 3 中 15 组

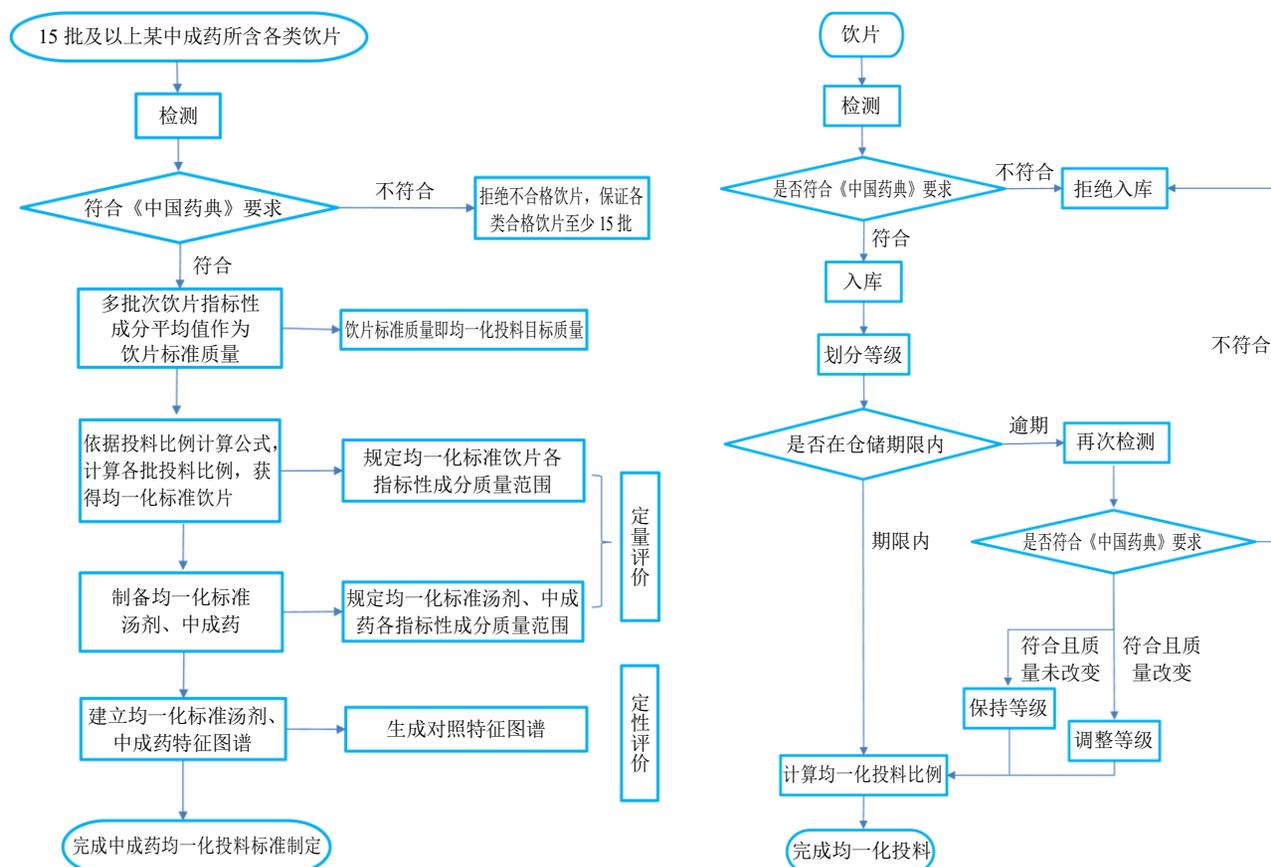


图3 均一化投料工艺全流程

Fig. 3 Whole process of homogenization feeding process

炙甘草投料量的标准差 (SD) 为 1.073 608 512, 一般研究中将 $\bar{x} \pm n \times SD$ (n 取值为正整数) 作为质量范围, 而 55.2 g 是规定投料量, 所以 $55.2 \pm n \times SD$ 可作为质量范围。在混批比例计算过程中, n 取值为 3, 可包括大部分投料量且不至于范围过大, 为简约运算, SD 取 1, 故炙甘草质量范围定为 (55.2 ± 3.0) g]。

除此之外, 炙甘草 3 批次投料比例计算结果, 比例系数易为负值, 原因在于兼顾 2 个指标性成分 (甘草苷、甘草酸), $0 < k < 1$ 的概率降低 (若 k_1 、 k_2 、 k_3 之中存在负数, 代表投料过程中还从中取出饮片, 不符合实际情况), 为优化计算, 设置两/多指标性成分的药材饮片只取 2 批次饮片进行均一化。因此在 SGD 均一化投料中, 白芍可 2、3 批次混批, 炙甘草仅 2 批次混批。在均一化投料标准制定研究中, 以饮片标准质量为界限, 高低组合随机混批。

2.2.3 投料案例等级划分 在实际生产中, 为提升效率, 应优先均一化处理差异性较大饮片, 避免品质相差不大的饮片组合, 故引入饮片分级环节。《中

国药典》中规定检测单/无指标成分的饮片 (无规定指标成分可用大类成分、浸出物含量代替), 以饮片标准质量 $X \pm A\% X$ (A 为常数) 为临界值, 划分高、中、低等级; 对于多指标饮片, 为简化计算, 以饮片标准质量 X 为临界值, 划分高、低等级。

2.2.4 投料案例等级投料比例计算公式 设置单/无指标成分饮片均一化批次数为 2、3, 高 (h)、中 (m)、低 (l) 各等级限出 1 次, S 代表饮片质量, C 代表成分含量, 用指标性成分质量代替饮片质量, $S_h = C_h$, $S_m = C_m$, $S_l = C_l$ 。 X 为饮片标准质量, 各等级饮片均一化系数为 k_h , k_m , k_l 。均一化后饮片需在规定的质量范围内, 均一化投料案例中白芍投料比例计算公式如下:

$$k_h S_h + k_m S_m + k_l S_l = XBS$$

$0 \leq k < 1$, $k_h + k_m + k_l = 1$, $S_h = C_h$ 芍药苷, $S_m = C_m$ 芍药苷, $S_l = C_l$ 芍药苷, 均一化后饮片中芍药苷含量 $k_h S_h + k_m S_m + k_l S_l$ 需在规定的范围内

设置两/多指标成分饮片均一化批次数为 2, 各成分高 (h)、低 (l) 组合, S 代表饮片质量, C 代表成分含量, 指标性成分项 n 个, 用指标性成分质

量代替饮片质量, $S=C_{多成分}$, 第1个均一化成分 C_{h1} 与 C_{l1} 组合; 第2个均一化成分 C_{h2} 与 C_{l2} 组合... 第 n 个均一化成分 C_{hn} 与 C_{ln} 组合。根据多成分等级特点进行均一化。 X 为饮片标准质量, 饮片均一化系数为 k_1, k_2 。均一化后饮片需在规定的质量范围内, 均一化投料案例中炙甘草投料比例计算公式如下。

$$k_1 S_{Ch_{甘草苷+Cl_{甘草酸}}} + k_2 S_{Cl_{甘草苷+Ch_{甘草酸}}} = X_{ZGC}$$

$$k_1 S_{Ch_{甘草苷+Ch_{甘草酸}}} + k_2 S_{Cl_{甘草苷+Cl_{甘草酸}}} = X_{ZGC}$$

$0 < k < 1$, Ch、Cl 指饮片成分含量高于、低于饮片标准质量 X_{ZGC} , 均一化后饮片中甘草苷、甘草酸含量需在规定的范围内

将含量与饮片标准质量分别输入二元与三元一次方程组计算器 (<https://www.imathtool.com/jisuanqi/eryuanycifc/> 与 <https://www.99cankao.com/algebra/unknwn3.php>) 即可获得 k 值。

2.3 SGD 均一化投料标准制定

2.3.1 白芍和炙甘草饮片标准质量

(1) 供试品溶液的制备: ①白芍: 取本品中粉约 0.10 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入 50%乙醇 35 mL, 密塞, 超声处理 30 min, 放冷, 用 50%乙醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

②炙甘草: 取本品粉末约 0.20 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%乙醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 70%乙醇补足缺失的质量, 摇匀, 离心, 滤过, 取续滤液, 即得。

(2) 对照品溶液的制备: ①芍药苷: 取芍药苷对照品 (96.8%) 10.1 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 即得芍药苷对照品溶液; ②甘草苷: 取甘草苷对照品 (95.0%) 10.5 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 即得甘草苷对照品溶液; ③甘草酸: 取甘草酸铵对照品 (96.2%) 9.2 mg, 精密称定, 置于 10 mL 量瓶中, 甲醇溶解, 定容, 即得甘草酸对照品溶液。

(3) 色谱条件: ①白芍饮片: 色谱柱为 Thermo Accucore C₁₈ 柱 (150 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为 0.1%磷酸水溶液-乙腈, 等度洗脱: 0~15 min, 14%乙腈; 柱温 30 °C; 体积流量 0.4 mL/min; 检测波长 230 nm; 进样量 3.0 μL。②炙甘草饮片: 色谱柱为 Thermo Accucore C₁₈ 柱 (150 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为 0.1%甲酸水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~10%乙腈; 5~15 min, 10%~15%乙腈; 15~20 min, 15%~36%乙腈; 20~30 min, 36%~37%乙腈; 30~35 min, 37%~95%乙腈; 35~

37 min, 95%~95%乙腈; 柱温 30 °C; 体积流量 0.4 mL/min; 检测波长 237 nm; 进样量 3.0 μL。

(4) 方法学考察: ①线性关系考察: 配制系列芍药苷、甘草苷、甘草酸对照品溶液, 以对照品溶液进样质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得各成分回归方程分别为芍药苷 $Y=11\ 145.000 X-32.836$, $r=0.999\ 4$, 线性范围 19.553 6~117.321 6 μg/mL; 甘草苷 $Y=14\ 391.000 X-11.160$, $r=0.999\ 8$, 线性范围 4.987 5~79.800 0 μg/mL; 甘草酸 $Y=4\ 769.500 X-98.357$, $r=0.999\ 6$, 线性范围 34.683 648~121.392 770 μg/mL。

②仪器精密度试验: 取同一批白芍 (BS01)、炙甘草 (ZGC01) 粉末供试品溶液, 连续进样测定 6 次, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.13%、0.36%、0.22%, 结果表明该仪器精密度良好。

③稳定性试验: 取同一批白芍 (BS01)、炙甘草 (ZGC01) 粉末供试品溶液, 分别于配制后 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.20%、1.06%、0.26%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

④重复性试验: 精密称取同一批白芍 (BS01)、炙甘草 (ZGC01) 粉末, 分别按照“2.3.1 (1)”项下方法平行制备 6 批次供试品溶液, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数的 RSD 分别为 0.51%、0.61%、1.87%, 结果表明该方法重复性良好。

⑤准确度试验: 精密称取已测知各指标性成分含量的白芍 (BS01, 0.05 g)、炙甘草 (ZGC01, 0.10 g) 粉末各 6 份, 精密称定, 分别加入一定量 (中药材粉末为之前的一半量, 再加入约一半粉末含量的芍药苷、甘草苷、甘草酸) 芍药苷、甘草苷、甘草酸对照品, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸的平均加样回收率分别为 99.35%、98.68%、98.63%, RSD 分别为 0.23%、0.63%、0.56%, 结果表明此方法具有良好的回收率。

(5) 饮片测定结果: 按照“2.3.1 (1)”项下方法分别制备 15 批白芍和炙甘草饮片供试品溶液, 按“2.3.1 (3)”项下色谱条件对白芍饮片 (芍药苷) 和炙甘草饮片 (甘草苷、甘草酸) 进行测定, 结果见表 2。选取饮片指标性成分平均值, 芍药苷质量分数为 2.323%, 甘草苷质量分数为 0.600%, 甘草酸质量分数为 2.124%, 作为白芍、炙甘草饮片标准质量。

表 2 白芍和炙甘草饮片测定结果

Table 2 Determination results of PRA and GRP decoction pieces

白芍编号	芍药苷/%	白芍编号	芍药苷/%	炙甘草编号	甘草苷/%	甘草酸/%	炙甘草编号	甘草苷/%	甘草酸/%
BS01	2.543	BS10	2.133	ZGC01	0.566	2.022	ZGC10	0.635	2.356
BS02	2.383	BS11	2.099	ZGC02	0.630	2.071	ZGC11	0.720	2.282
BS03	2.704	BS12	2.349	ZGC03	0.526	2.006	ZGC12	0.518	2.008
BS04	2.380	BS13	2.056	ZGC04	0.646	2.126	ZGC13	0.652	2.207
BS05	2.248	BS14	2.120	ZGC05	0.528	2.004	ZGC14	0.549	2.033
BS06	2.435	BS15	2.684	ZGC06	0.589	1.927	ZGC15	0.554	2.050
BS07	2.299	\bar{x}	2.323	ZGC07	0.660	2.332	\bar{x}	0.600	2.124
BS08	1.979	RSD/%	9.500	ZGC08	0.604	2.181	RSD/%	9.840	6.390
BS09	2.439			ZGC09	0.622	2.257			

2.3.2 白芍和炙甘草均一化标准饮片 将上述各批饮片含量数据带入“2.2.1”项下计算公式，得均一化标准饮片具体投料比例，结果见表3。根据表3中数据投料并按“2.3.1(1)”项下方法分别制备15批均一化白芍、炙甘草标准饮片供试品溶液。将白芍均一化标准饮片(芍药苷)和炙甘草均一化标准饮片(甘草苷、甘草酸)进行含量测定，结果见表4。以此15组均一化标准饮片的 $\bar{x} \pm 2SD$ (即BS' $\pm 2SD$ 、ZGC' $\pm 2SD$)作为均一化标准饮片各指标性成分质量范围。规定均一化标准饮片中芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数分别为2.236%~2.506%、0.500%(0.495%<《中国药典》2020年版规定甘草酸质量分数不低于0.500%)~0.680%、1.870%~2.215%。将“2.3.1(5)”项内未进行均一化的15批

白芍和炙甘草饮片中各指标性成分的含量与上述规定范围比较发现：芍药苷有8个批次超出范围；甘草苷有1个批次超出范围；甘草酸有4个批次超出范围。从2组质量波动角度分析发现，芍药苷RSD从9.500%降到2.850%，甘草苷从9.840%降到7.860%，甘草酸从6.390%降到4.230%，均一化后各成分RSD与均一化前RSD相比均下降。绘制2组饮片各成分含量雷达图，以二者覆盖轮廓平滑程度直观评价均一化前后的质量均一性，结果见图4，发现均一化后饮片含量轮廓较平滑，面积较集中，质量波动较缓，均一性较好。将均一化标准饮片指标性成分含量平均值与饮片标准质量进行比较，芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数分别相差0.048%、0.012%、0.081%，差值较小。

表 3 白芍和炙甘草均一化标准饮片组成比例

Table 3 Proportion of PRA and GRP homogenized standard decoction pieces

白芍均一化标准饮片编号	白芍投料比例	白芍实际用量/g	白芍质量/g
BS01'	$BS01 \times 0.504\ 500 + BS11 \times 0.495\ 500 = X_{BS}$	BS01, 27.85 + BS11, 27.35	55.20
BS02'	$BS01 \times 0.609\ 930 + BS08 \times 0.390\ 070 = X_{BS}$	BS01, 33.67 + BS08, 21.53	55.20
BS03'	$BS04 \times 0.568\ 180 + BS05 \times 0.431\ 820 = X_{BS}$	BS04, 31.36 + BS05, 23.84	55.20
BS04'	$BS06 \times 0.176\ 470 + BS07 \times 0.823\ 530 = X_{BS}$	BS06, 9.74 + BS07, 45.46	55.20
BS05'	$BS14 \times 0.640\ 070 + BS15 \times 0.359\ 930 = X_{BS}$	BS14, 35.33 + BS15, 19.87	55.20
BS06'	$BS13 \times 0.353\ 125 + BS14 \times 0.246\ 875 + BS15 \times 0.400\ 000 = X_{BS}$	BS13, 19.49 + BS14, 13.63 + BS15, 22.08	55.20
BS07'	$BS09 \times 0.643\ 137 + BS10 \times 0.156\ 863 + BS11 \times 0.200\ 000 = X_{BS}$	BS09, 35.50 + BS10, 8.66 + BS11, 11.04	55.20
BS08'	$BS07 \times 0.500\ 000 + BS08 \times 0.100\ 000 + BS09 \times 0.400\ 000 = X_{BS}$	BS07, 27.60 + BS08, 5.52 + BS09, 22.08	55.20
BS09'	$BS04 \times 0.143\ 182 + BS05 \times 0.556\ 818 + BS06 \times 0.300\ 000 = X_{BS}$	BS04, 7.90 + BS05, 30.74 + BS06, 16.56	55.20
BS10'	$BS06 \times 0.320\ 000 + BS09 \times 0.342\ 588 + BS11 \times 0.337\ 412 = X_{BS}$	BS06, 17.66 + BS09, 18.91 + BS11, 18.63	55.20
BS11'	$BS02 \times 0.555\ 560 + BS05 \times 0.444\ 440 = X_{BS}$	BS02, 30.67 + BS05, 24.53	55.20
BS12'	$BS02 \times 0.851\ 490 + BS08 \times 0.148\ 510 = X_{BS}$	BS02, 47.00 + BS08, 8.20	55.20
BS13'	$BS01 \times 0.098\ 360 + BS07 \times 0.901\ 640 = X_{BS}$	BS01, 5.43 + BS07, 49.77	55.20
BS14'	$BS01 \times 0.046\ 875 + BS02 \times 0.453\ 125 + BS05 \times 0.500\ 000 = X_{BS}$	BS01, 2.59 + BS02, 25.01 + BS05, 27.60	55.20
BS15'	$BS03 \times 0.442\ 368 + BS02 \times 0.057\ 632 + BS08 \times 0.500\ 000 = X_{BS}$	BS03, 24.42 + BS02, 3.18 + BS08, 27.60	55.20

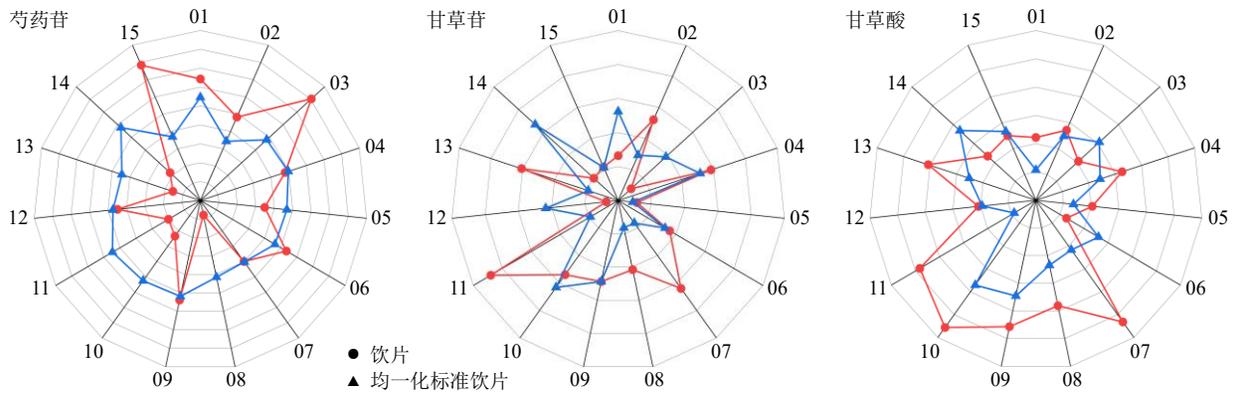
表3 (续)

炙甘草均一化标准饮片编号	炙甘草投料比例	炙甘草实际用量/g	炙甘草质量/g
ZGC01'	$ZGC01 \times 0.937\ 880 + ZGC04 \times 0.107\ 060 = X_{ZGC}$	ZGC01, 51.77+ZGC04, 5.91	57.68
ZGC02'	$ZGC03 \times 0.543\ 380 + ZGC04 \times 0.486\ 350 = X_{ZGC}$	ZGC03, 29.99+ZGC04, 26.85	56.84
ZGC03'	$ZGC06 \times 0.212\ 960 + ZGC08 \times 0.785\ 710 = X_{ZGC}$	ZGC06, 11.76+ZGC08, 43.37	55.13
ZGC04'	$ZGC11 \times 0.396\ 570 + ZGC12 \times 0.607\ 090 = X_{ZGC}$	ZGC11, 21.89+ZGC12, 33.51	55.40
ZGC05'	$ZGC13 \times 0.471\ 790 + ZGC14 \times 0.532\ 590 = X_{ZGC}$	ZGC13, 26.04+ZGC14, 29.40	55.44
ZGC06'	$ZGC13 \times 0.467\ 900 + ZGC15 \times 0.532\ 360 = X_{ZGC}$	ZGC13, 25.83+ZGC15, 29.39	55.22
ZGC07'	$ZGC12 \times 0.365\ 370 + ZGC13 \times 0.629\ 970 = X_{ZGC}$	ZGC12, 20.17+ZGC13, 34.77	54.94
ZGC08'	$ZGC03 \times 0.656\ 100 + ZGC11 \times 0.354\ 020 = X_{ZGC}$	ZGC03, 36.22+ZGC11, 19.54	55.76
ZGC09'	$ZGC04 \times 0.470\ 360 + ZGC05 \times 0.560\ 890 = X_{ZGC}$	ZGC04, 25.96+ZGC05, 30.96	55.92
ZGC10'	$ZGC06 \times 0.395\ 390 + ZGC10 \times 0.578\ 130 = X_{ZGC}$	ZGC06, 21.83+ZGC10, 31.91	53.74
ZGC11'	$ZGC01 \times 0.974\ 740 + ZGC11 \times 0.067\ 080 = X_{ZGC}$	ZGC01, 53.81+ZGC11, 3.70	57.51
ZGC12'	$ZGC01 \times 0.876\ 640 + ZGC13 \times 0.159\ 230 = X_{ZGC}$	ZGC01, 48.39+ZGC13, 8.79	57.18
ZGC13'	$ZGC03 \times 0.412\ 490 + ZGC13 \times 0.587\ 470 = X_{ZGC}$	ZGC03, 22.77+ZGC13, 32.43	55.20
ZGC14'	$ZGC05 \times 0.672\ 650 + ZGC11 \times 0.340\ 060 = X_{ZGC}$	ZGC05, 37.13+ZGC11, 18.77	55.90
ZGC15'	$ZGC05 \times 0.429\ 180 + ZGC13 \times 0.572\ 690 = X_{ZGC}$	ZGC05, 23.69+ZGC13, 31.61	55.30

表4 白芍和炙甘草均一化标准饮片测定结果

Table 4 Determination results of PRA and GRP homogenized standard decoction pieces

白芍均一化标准饮片编号	芍药苷/%	白芍均一化标准饮片编号	芍药苷/%	炙甘草均一化标准饮片编号	甘草苷/%	甘草酸/%	炙甘草均一化标准饮片编号	甘草苷/%	甘草酸/%
BS01'	2.446	BS11'	2.447	ZGC01'	0.631	1.907	ZGC11'	0.548	1.890
BS02'	2.243	BS12'	2.374	ZGC02'	0.573	2.048	ZGC12'	0.609	1.994
BS03'	2.380	BS13'	2.345	ZGC03'	0.596	2.107	ZGC13'	0.547	2.052
BS04'	2.398	BS14'	2.476	ZGC04'	0.629	2.043	ZGC14'	0.667	2.168
BS05'	2.368	BS15'	2.269	ZGC05'	0.522	1.936	ZGC15'	0.553	2.066
BS06'	2.364	\bar{x}	2.371	ZGC06'	0.581	2.060	\bar{x}	0.588	2.043
BS07'	2.302	SD	0.068	ZGC07'	0.541	2.017	SD	0.046	0.086
BS08'	2.315	RSD/%	2.850	ZGC08'	0.541	2.035	RSD/%	7.860	4.230
BS09'	2.419	$\bar{x} - 2SD$	2.236	ZGC09'	0.622	2.146	$\bar{x} - 2SD$	0.495	1.870
BS10'	2.425	$\bar{x} + 2SD$	2.506	ZGC10'	0.658	2.171	$\bar{x} + 2SD$	0.680	2.215



01~15-饮片编号。

01-15-numbers of decoction pieces.

图4 饮片与均一化标准饮片各成分含量雷达图

Fig. 4 Radar chart of each component content of decoction pieces and homogenized standard decoction pieces

2.3.3 SGD 均一化标准汤剂、中成药定量研究

(1) SGD 均一化标准汤剂的制备: 依据《古代经典名方关键信息表(25首方剂)》^[23]中对 SGD 的投料量描述[芍药 4 两, 甘草(炙) 4 两, 上 2 味, 以水 3 升, 煮取 1 升 5 合, 去渣, 分温再服], 取白芍、炙甘草均一化标准饮片各 55.20 g, 置于煎药壶中, 加水 600 mL 并将煎药壶置于加热盘上, 调整功率 500 W 煎煮至微沸(约 17 min), 调整功率至 300 W, 保持微沸继续煎煮 30 min, 用 150 目筛网滤过, 得药液 1 升 5 合(300 mL), 即得 SGD 均一化标准汤剂。按以上方法重复制备 15 批 SGD 均一化标准汤剂(分别编号 S01'~S15'), 具体各批投料饮片比例及用量见表 3。

(2) 供试品溶液的制备: 精密吸取 SGD 均一化标准汤剂 1 mL, 置于 5 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至刻度, 涡旋, 充分混匀, 10 000 r/min 离心操作(离心半径 60.32 mm) 5 min, 滤过, 取续滤液, 即得 SGD 均一化标准汤剂供试品溶液。

分别精密吸取 15 批 SGD 均一化标准汤剂(S01'~S15') 2 mL 至 10 mL 螺口瓶中, 放置冷冻干燥机中, 冻干后, 用 80% 甲醇复溶, 并转移至 10 mL 量瓶中, 超声溶解, 冷却, 定容, 10 000 r/min 离心 5 min, 滤过, 取续滤液, 即得 SGD 均一化标准汤剂中成药(分别编号 Z01'~Z15') 供试品溶液。

(3) 对照品溶液的制备: 精密称取各对照品适量, 加甲醇制成含芍药苷、甘草苷、甘草酸对照品质量浓度分别为 1.14、0.42、0.86 mg/mL 的混合对照品溶液。

(4) 色谱条件: 色谱柱为 Thermo Accucore C₁₈ 柱(150 mm×2.1 mm, 2.6 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水溶液-乙腈; 梯度洗脱: 0~5 min, 5%~10% 乙腈; 5~15 min, 10%~15% 乙腈; 15~23 min, 15%~20% 乙腈; 23~30 min, 20%~25% 乙腈; 30~40 min, 25%~40% 乙腈; 40~41 min, 40%~95% 乙腈; 41~51 min, 95% 乙腈; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.40 mL/min; 检测波长 230 nm(芍药苷)、237 nm(甘草苷、甘草酸); 进样量为 3 μL。

(5) 方法学考察: ①线性关系考察: 取混合对照品溶液, 逐级稀释, 得到 6 个系列质量浓度溶液, 以混合对照品溶液的质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y) 进行线性回归, 得各成分回归方程分别为芍药苷 $Y=9916.3X+7.7315$, $r=0.9999$, 线性范围 69.882~1 118.112 μg/mL; 甘草苷 $Y=17 738$

$X+3.2743$, $r=0.9997$, 线性范围 24.9375~399.000 μg/mL; 甘草酸 $Y=4 022.2X-16.88$, $r=0.9997$, 线性范围 53.5995~857.592 μg/mL。

②精密度试验: 取 S01' 供试品溶液, 按照“2.3.3 (4)”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.09%、0.11%, 结果表明该仪器精密度良好。

③稳定性试验: 取 S01' 供试品溶液, 分别于制备后 0、2、4、8、12、24 h, 按照“2.3.3 (4)”项下色谱条件进样测定, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.42%、0.75%、0.43%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

④重复性试验: 按照“2.3.3 (2)”项下方法平行制备 6 批 S01' 供试品溶液, 按照“2.3.3 (4)”项下色谱条件进样测定, 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数的 RSD 分别为 0.87%、0.87%、1.16%, 结果表明该方法重复性良好。

⑤准确度试验: 精密吸取 S01' 0.5 mL, 加入一定量芍药苷、甘草苷、甘草酸混合对照品(是指约一半汤剂所含的芍药苷、甘草苷、甘草酸含量), 测得芍药苷、甘草苷、甘草酸的平均加样回收率分别为 96.74%、101.65%、99.08%, RSD 分别为 1.39%、1.72%、1.47%, 结果表明该方法具有良好的回收率。

(6) SGD 均一化标准汤剂、中成药测定结果: 根据表 3 所示投料, 制备 15 批 SGD 均一化标准汤剂、中成药及其供试品溶液, 按“2.3.3 (4)”项下色谱条件, 对各供试品溶液进行含量测定, 结果见表 5。根据结果, 设置均一化标准汤剂校正质量浓度($\bar{x} \pm 2SD$, 即芍药苷、甘草苷、甘草酸的校正质量浓度分别为 2.014~2.522、0.170~0.282、0.489~0.718 mg/mL) 作为均一化标准汤剂质量浓度范围。同法设置均一化标准中成药校正质量浓度($\bar{x} \pm 2SD$, 即芍药苷、甘草苷、甘草酸校正质量浓度分别为 1.950~2.391、0.159~0.269、0.453~0.673 mg/mL) 作为均一化标准中成药质量浓度范围。

(7) SGD 汤剂的制备及测定结果: 选取白芍和炙甘草饮片 4 组, 各取 55.20 g, 煎煮制成汤剂, 计算指标性成分含量, 结果见表 6。其中 4 组中有 3 组汤剂指标性成分含量不满足均一化标准汤剂质量浓度范围, 原因是这 3 组汤剂中的部分饮片(BS03、BS08、BS11 与 ZGC07、ZGC11) 指标性成分含量不在规定的均一化标准饮片质量范围内, 且未进行均一化处理, 所以煎煮所得 SGD 汤剂批间质量差异

表5 SGD均一化标准汤剂、中成药指标性成分含量

Table 5 SGD homogenization standard decoction and index component content in Chinese patent medicine

编号	矫正质量浓度/(mg·mL ⁻¹)			编号	矫正质量浓度/(mg·mL ⁻¹)		
	芍药苷	甘草苷	甘草酸		芍药苷	甘草苷	甘草酸
S01'	2.178	0.247	0.573	Z01'	2.216	0.253	0.569
S02'	2.091	0.235	0.646	Z02'	2.041	0.225	0.639
S03'	2.338	0.219	0.577	Z03'	2.278	0.213	0.555
S04'	2.314	0.222	0.558	Z04'	2.187	0.209	0.517
S05'	2.062	0.226	0.604	Z05'	1.999	0.219	0.577
S06'	2.146	0.216	0.586	Z06'	2.014	0.204	0.556
S07'	2.362	0.193	0.542	Z07'	2.189	0.176	0.481
S08'	2.289	0.182	0.519	Z08'	2.184	0.172	0.486
S09'	2.299	0.262	0.734	Z09'	2.204	0.237	0.665
S10'	2.259	0.220	0.618	Z10'	2.165	0.208	0.581
S11'	2.359	0.260	0.663	Z11'	2.238	0.244	0.601
S12'	2.147	0.286	0.672	Z12'	2.043	0.267	0.615
S13'	2.487	0.200	0.549	Z13'	2.356	0.186	0.490
S14'	2.224	0.220	0.624	Z14'	2.117	0.208	0.577
S15'	2.467	0.204	0.588	Z15'	2.332	0.193	0.530
\bar{x}	2.268	0.226	0.604	\bar{x}	2.171	0.214	0.563
SD	0.127	0.028	0.057	SD	0.110	0.027	0.055
$\bar{x} + 2SD$	2.522	0.282	0.718	$\bar{x} + 2SD$	2.391	0.269	0.673
$\bar{x} - 2SD$	2.014	0.170	0.489	$\bar{x} - 2SD$	1.950	0.159	0.453

表6 SGD汤剂指标性成分测定结果

Table 6 Determination results of index components of SGD decoction

编号	饮片组合	矫正质量浓度/(mg·mL ⁻¹)		
		芍药苷	甘草苷	甘草酸
汤剂1	BS03+ZGC11	2.765	0.284	0.796
汤剂2	BS08+ZGC12	1.879	0.198	0.490
汤剂3	BS15+ZGC05	2.313	0.194	0.566
汤剂4	BS11+ZGC07	1.909	0.267	0.768

明显, 较易超出质量浓度范围。

2.3.4 SGD均一化标准汤剂、中成药的UHPLC-DAD特征图谱定性研究

(1) 供试品溶液的制备: 精密吸取SGD均一化标准汤剂2.5 mL, 置于5 mL量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 涡旋, 充分混匀, 10 000 r/min离心5 min, 滤过, 取续滤液, 即得SGD均一化标准汤剂特征图谱供试品溶液。

精密吸取均一化标准汤剂5 mL至10 mL螺口瓶中, 放置冷冻干燥机中, 冻干后, 用50%甲醇复溶, 并转移至10 mL量瓶中, 超声溶解, 冷却, 定容, 10 000 r/min离心5 min, 滤过, 取续滤液, 即

得SGD均一化标准中成药特征图谱供试品溶液。

(2) 参照物溶液的制备: 取氧化芍药苷、芍药内酯苷、芍药苷、甘草苷、芹糖基甘草苷、苯甲酰芍药苷、异甘草素、甘草酸对照品适量, 加甲醇配制成一定质量浓度的混合对照品溶液。

(3) SGD均一化标准汤剂、中成药特征图谱建立: 根据表3所示投料制备SGD均一化标准汤剂、中成药及其特征图谱供试品溶液。按照“2.3.3(4)”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 将15批均一化标准汤剂、中成药的UHPLC-DAD检测结果导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 A版), 分别设定S01'与Z01'样品的色谱图为参照图谱, 利用多点校正方式, 时间窗宽度为0.1 min, 平均数法分别生成均一化标准汤剂、中成药特征图谱叠加图与对照特征图谱(SR'和ZR'), 结果见图5-A、B。选择特征明显、稳定性好、重复性好的色谱峰为共有峰, 标定16个共有峰, 通过对照品指认出8个共有峰, 分别为3号峰(氧化芍药苷)、4号峰(芍药内酯苷)、5号峰(芍药苷)、7号峰(甘草苷)、8号峰(芹糖基甘草苷)、11号峰(苯甲酰芍药苷)、12号峰(异甘草素)、15号峰(甘草酸)。以7号峰(甘草苷)为参照峰(7号峰在中间部位, 虽然不是最高峰, 但也排前四, 并且还是指标性成分, 综合比较它作为参考峰最合适), 各共有峰的相对保留时间的RSD值均小于2%。

2.3.5 SGD均一化标准汤剂、中成药的量值传递研究 根据均一化标准汤剂中各指标性成分含量及均一化标准汤剂的体积和含量测定结果, 计算各组饮片、汤剂所含指标性成分总量, 得芍药苷、甘草苷、甘草酸在均一化标准汤剂至SGD均一化标准汤剂的转移率分别为47.334%~59.087%、17.670%~24.744%、13.710%~18.360%; 根据SGD均一化标准汤剂与中成药含量测定结果, 得芍药苷、甘草苷、甘草酸在均一化标准汤剂至均一化标准中成药的转移率分别为92.701%~101.726%、90.377%~102.369%、88.808%~99.352%。

2.4 SGD均一化投料案例研究

2.4.1 饮片入库检验 SGD投料饮片为白芍和炙甘草, 饮片入库需重新抽样检测指标性成分含量(白芍中芍药苷≥1.200%, 炙甘草中甘草苷≥0.500%, 甘草酸≥1.000%)、水分、总灰分、二氧化硫残留量、浸出物等检测项均需符合药典要求。

2.4.2 饮片等级划分 白芍饮片以临界值 $X \pm 3\% X$

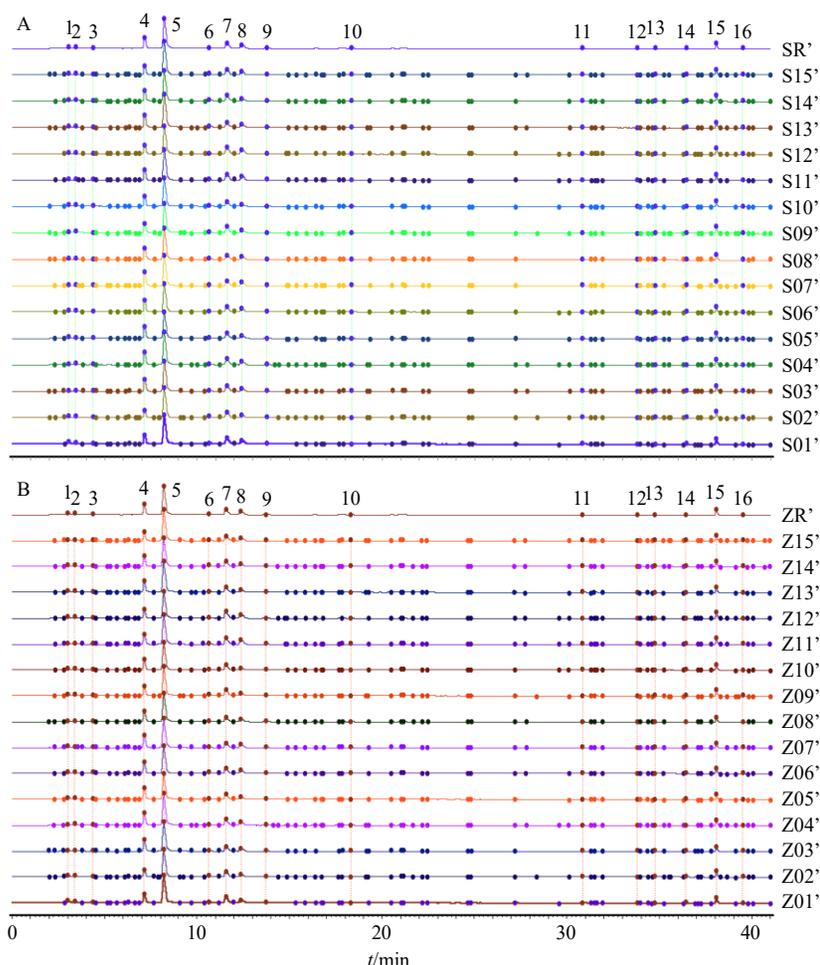


图5 15批均一化标准汤剂(A)和中成药(B)的特征图谱与对照特征图谱(SR'和ZR')

Fig 5 Characteristic chromatograms of 15 batches of homogenized standard decoction (A) and Chinese patent medicine (B) and control characteristic chromatograms (SR' and ZR')

(A=3) 划分等级:《中国药典》2020年版规定值≤低等级(1) < 97% X_{BS} 芍药苷 ≤ 中等级(m) ≤ 103% X_{BS} 芍药苷 < 高等级(h), 即 $1.200\ 000 \leq$ 低等级(1) < $2.253\ 310 \leq$ 中等级(m) ≤ $2.392\ 690 <$ 高等级(h), 将15批饮片分为5批高等级、4批中等级、6批低等级。

炙甘草饮片以临界值X划分等级:《中国药典》2020年版规定值≤低等级(1) < X_{ZGC} 甘草苷 ≤ 高等级(h), 《中国药典》2020年版规定值≤低等级(1) < X_{ZGC} 甘草酸 ≤ 高等级(h), 炙甘草饮片共得7批高高等级、1批高低等级, 0批低高等级批, 7批低低等级。注意, 在均一化投料工艺中, 多指标饮片, 如炙甘草需按照饮片成分特点, 高高与低低、高低与低高随机组合。入库后饮片如上划分等级, 饮片等级信息见表7。

2.4.3 白芍和炙甘草均一化饮片 将饮片各指标性成分含量带入“2.2.4”项下计算公式, 计算均一化

表7 白芍和炙甘草饮片等级划分

Table 7 Grade of PRA and GRP decoction pieces

白芍 编号	等级	白芍 编号	等级	炙甘草 编号	等级	炙甘草 编号	等级
BS01	高	BS09	高	ZGC01	低低	ZGC09	高高
BS02	中	BS10	低	ZGC02	高低	ZGC10	高高
BS03	高	BS11	低	ZGC03	低低	ZGC11	高高
BS04	中	BS12	中	ZGC04	高高	ZGC12	低低
BS05	低	BS13	低	ZGC05	低低	ZGC13	高高
BS06	高	BS14	低	ZGC06	低低	ZGC14	低低
BS07	中	BS15	高	ZGC07	高高	ZGC15	低低
BS08	低			ZGC08	高高		

饮片投料比例, 结果见表8, 根据表中数据投料并按“2.3.1(1)”项下方法分别制备15批白芍、炙甘草均一化饮片供试品溶液, 并按照“2.3.1(3)”项下色谱条件测定各成分含量, 发现芍药苷质量分数为2.237%~2.485%、甘草苷质量分数为0.543%~

表 8 白芍和炙甘草均一化饮片组成比例

Table 8 Proportion of PRA and GRP homogeneous decoction pieces

白芍均一化 饮片编号	白芍投料比例	白芍实际用量/g	白芍 质量/g
BS01''	高BS01×0.254 240+低BS05×0.745 760= X_{BS}	BS01, 14.03+BS05, 41.17	55.20
BS02''	高BS01×0.463 410+低BS10×0.536 590= X_{BS}	BS01, 25.58+BS10, 29.62	55.20
BS03''	高BS06×0.411 765+中BS07×0.488 235+低BS08×0.100 000= X_{BS}	BS06, 22.73+BS07, 26.95+BS08, 5.52	55.20
BS04''	低BS08×0.154 348+高BS09×0.345 652+中BS12×0.500 000= X_{BS}	BS08, 8.52+BS09, 19.08+BS12, 27.60	55.20
BS05''	中BS02×0.502 475+低BS08×0.297 525+高BS15×0.200 000= X_{BS}	BS02, 27.74+BS08, 16.42+BS15, 11.04	55.20
BS06''	高BS01×0.548 250+低BS13×0.451 750= X_{BS}	BS01, 30.26+BS13, 24.94	55.20
BS07''	高BS01×0.479 910+低BS14×0.520 090= X_{BS}	BS01, 26.49+BS14, 28.71	55.20
BS08''	高BS03×0.474 480+低BS08×0.525 520= X_{BS}	BS03, 26.19+BS08, 29.01	55.20
BS09''	中BS12×0.886 460+低BS14×0.113 540= X_{BS}	BS12, 48.93+BS14, 6.27	55.20
BS10''	中BS04×0.797 150+低BS11×0.202 850= X_{BS}	BS04, 44.00+BS11, 11.20	55.20
BS11''	中BS07×0.828 570+高BS09×0.171 430= X_{BS}	BS07, 45.74+BS09, 9.46	55.20
BS12''	高BS01×0.157 500+中BS02×0.542 500+低BS11×0.300 000= X_{BS}	BS01, 8.69+BS02, 29.95+BS11, 16.56	55.20
BS13''	高BS01×0.238 125+中BS02×0.461 875+低BS13×0.300 000= X_{BS}	BS01, 13.14+BS02, 25.50+BS13, 16.56	55.20
BS14''	高BS03×0.109 259+中BS04×0.190 741+低BS05×0.700 000= X_{BS}	BS03, 6.03+BS04, 10.53+BS05, 38.64	55.20
BS15''	低BS11×0.372 000+中BS12×0.428 000+高BS15×0.200 000= X_{BS}	BS11, 20.53+BS12, 23.63+BS15, 11.04	55.20
炙甘草均一 化饮片编号	炙甘草投料比例	炙甘草实际用量/g	炙甘草 质量/g
ZGC01''	低低ZGC01×0.937 880+高高ZGC04×0.107 060= X_{ZGC}	ZGC01, 51.77+ZGC04, 5.91	57.68
ZGC02''	低低ZGC03×0.543 380+高高ZGC04×0.486 350= X_{ZGC}	ZGC03, 29.99+ZGC04, 26.85	56.84
ZGC03''	低低ZGC06×0.252 880+高高ZGC09×0.725 160= X_{ZGC}	ZGC06, 13.96+ZGC09, 40.03	53.99
ZGC04''	低低ZGC12×0.492 620+高高ZGC04×0.533 780= X_{ZGC}	ZGC12, 27.19+ZGC04, 29.46	56.65
ZGC05''	低低ZGC14×0.660 340+高高ZGC04×0.367 610= X_{ZGC}	ZGC14, 36.45+ZGC04, 20.29	56.74
ZGC06''	低低ZGC14×0.758 880+高高ZGC11×0.254 690= X_{ZGC}	ZGC14, 41.89+ZGC11, 14.06	55.95
ZGC07''	低低ZGC15×0.658 750+高高ZGC04×0.363 860= X_{ZGC}	ZGC15, 36.36+ZGC04, 20.09	56.45
ZGC08''	低低ZGC15×0.755 910+高高ZGC11×0.251 700= X_{ZGC}	ZGC15, 41.72+ZGC11, 13.89	55.61
ZGC09''	低低ZGC01×0.974 740+高高ZGC11×0.067 080= X_{ZGC}	ZGC01, 53.81+ZGC11, 3.70	57.51
ZGC10''	低低ZGC01×0.876 640+高高ZGC13×0.159 230= X_{ZGC}	ZGC01, 48.39+ZGC13, 8.79	57.18
ZGC11''	低低ZGC03×0.412 490+高高ZGC13×0.587 470= X_{ZGC}	ZGC03, 22.77+ZGC13, 32.43	55.20
ZGC12''	低低ZGC05×0.672 650+高高ZGC11×0.340 060= X_{ZGC}	ZGC05, 37.13+ZGC11, 18.77	55.90
ZGC13''	低低ZGC05×0.429 180+高高ZGC13×0.572 690= X_{ZGC}	ZGC05, 23.69+ZGC13, 31.61	55.30
ZGC14''	高高ZGC04×0.470 360+低低ZGC05×0.560 890= X_{ZGC}	ZGC04, 25.96+ZGC05, 30.96	56.92
ZGC15''	低低ZGC06×0.395 390+高高ZGC10×0.578 130= X_{ZGC}	ZGC06, 21.83+ZGC10, 31.91	53.74

0.667%、甘草酸质量分数为 1.890%~2.188%，均在规定的饮片标准质量范围内。

2.4.4 SGD 均一化汤剂、中成药含量评价 根据表 8 所示，按“2.3.3 (1)”项下方法制备 15 批 SGD 均一化汤剂、中成药及其供试品溶液，并进行含量测定，计算发现均一化汤剂中芍药苷、甘草苷、甘草酸的矫正质量浓度分别为 2.083~2.467、0.192~0.247、0.500~0.688 mg/mL；中成药中芍药苷、甘草苷、甘草酸的矫正质量浓度分别为 1.953~2.368、0.181~0.244、0.482~0.650 mg/mL；均在规定的质

量浓度范围内。

2.4.5 SGD 均一化汤剂、中成药的 UHPLC-DAD 特征图谱评价 根据表 8 所示，按“2.3.4 (1)”项下方法制备 15 批 SGD 均一化汤剂 (S01''~S15'')、中成药 (Z01''~Z15'') 及其特征图谱供试品溶液。按“2.3.4 (3)”项下方法建立均一化汤剂、中成药特征图谱叠加图 (图 6-A、B)，并导入图 5-A、B 中生成的均一化标准汤剂、中成药对照特征图谱 (SR' 和 ZR') 作为参照图谱，将均一化汤剂、中成药特征图谱与 SR' 和 ZR' 比较，结果相似度均在 0.995 之

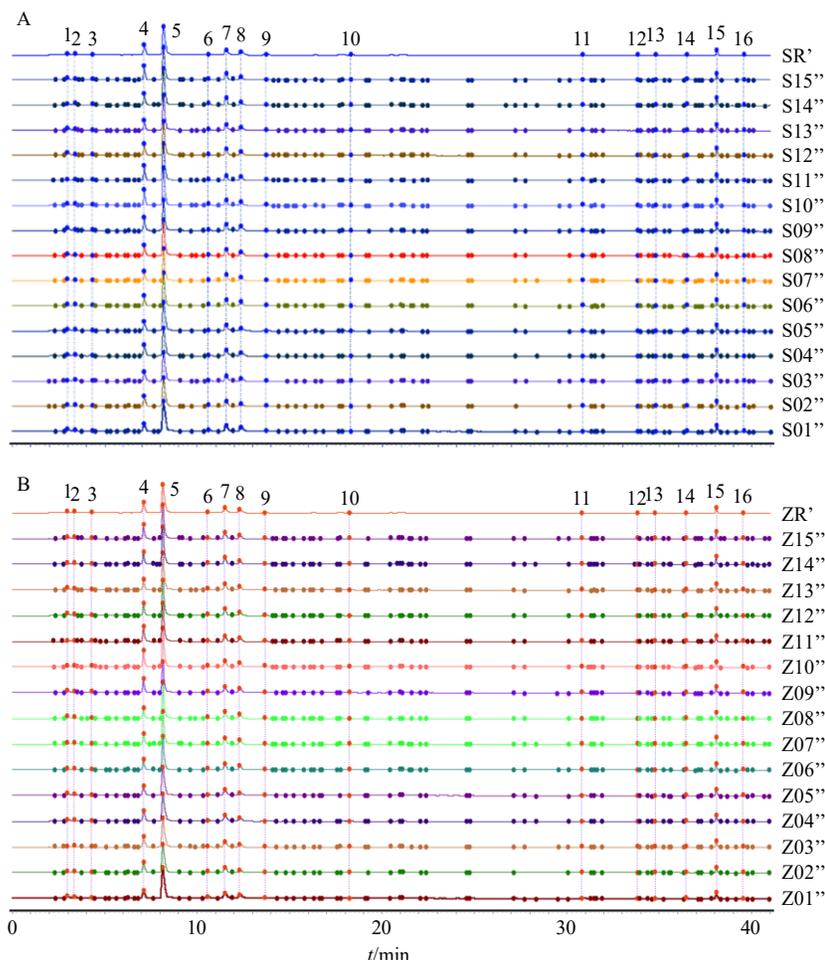


图 6 15 批均一化汤剂 (A) 和中成药 (B) 的特征图谱

Fig. 6 Characteristic chromatograms of 15 batches of homogenized decoction (A) and Chinese patent medicine (B)

上 (汤剂各样品相似度分别为 0.997、1.000、1.000、0.999、1.000、0.999、0.999、0.999、0.996、0.997、0.998、0.999、0.998、0.999、0.999、1.000; 中成药各样品相似度分别为 0.997、1.000、1.000、0.998、1.000、0.999、0.999、0.999、0.995、0.997、0.998、0.999、0.998、0.999、0.999、1.000)。

2.4.6 SGD 均一化汤剂、中成药的量值传递研究
 根据均一化饮片各指标性成分含量及均一化汤剂的体积和含量测定结果, 计算各组饮片、汤剂所含指标性成分总量, 得芍药苷、甘草苷、甘草酸在均一化饮片至 SGD 均一化汤剂的转移率为 49.035%~57.763%、16.993%~23.215%、13.162%~18.991%; 根据对应 SGD 均一化汤剂与中成药含量测定结果, 得芍药苷、甘草苷、甘草酸在均一化汤剂至均一化中成药的转移率为 86.059%~99.913%、84.880%~100.905%、83.879%~96.416%。

2.5 均一化投料工艺综合评价与总结

2.5.1 定量评价 在 SGD 均一化投料案例中, 白芍

和炙甘草均一化饮片中芍药苷、甘草苷、甘草酸质量分数均在规定的质量范围内。将均一化饮片中各成分质量分数波动范围 (芍药苷 2.237%~2.485%, 甘草苷 0.543%~0.667%, 甘草酸 1.890%~2.188%) 与饮片中各成分质量分数波动范围 (芍药苷 1.979%~2.704%, 甘草苷 0.518%~0.720%, 甘草酸 1.927%~2.356%) 比较, 发现均一化后饮片质量分数波动显著变缓, 质量分数范围显著缩小, 符合均一化投料工艺预期。

SGD 均一化汤剂、中成药中芍药苷、甘草苷、甘草酸含量, 均在规定的质量浓度范围内, 满足均一化投料工艺要求。将均一化汤剂中各成分矫正质量浓度波动范围 (芍药苷 2.083~2.467 mg/mL, 甘草苷 0.192~0.247 mg/mL, 甘草酸 0.500~0.688 mg/mL) 与“2.3.3 (7)”项下 4 组 SGD 汤剂中各成分矫正质量浓度波动范围 (芍药苷 1.879~2.765 mg/mL, 甘草苷 0.194~0.284 mg/mL, 甘草酸 0.490~0.796 mg/mL) 比较, 发现均一化投料工艺

可降低质量差异,提高批间质量一致性。

2.5.2 定性评价 将SGD均一化汤剂、中成药的特征图谱分别与均一化标准汤剂、中成药对照特征图谱比较,通过对比特征峰大小、形状,综合判断质量均一性。发现各组与之相似度均达到0.995及以上,各共有峰的相对保留时间的RSD值均小于2%,证明均一化投料工艺所得制剂,批间质量稳定性较高。

3 讨论

均一化投料工艺研究重点是计算饮片各批次的均一化投料比例,混批即可获得均一化饮片。在均一化投料标准制定研究中,仅以饮片标准质量为界限,随机高、低混批投料,多种混批结果使标准设定更具普遍性与适用性。在均一化投料案例研究中,模拟实际生产过程,为提高所有合格批次使用率,对饮片划分等级。单/无指标饮片以饮片标准质量 $X \pm A\%X$ (A 为常数)划分3等级,两/多指标饮片为简化计算,保持以饮片标准质量 X 为界限划分两等级,按等级特点随机混批投料。将单/无指标成分饮片分成3等级,多指标成分饮片划分2等级,选取2~3批(2~3等级)进行均一化投料,原因在于:①混批次数相对较多(大于3批)与2~3批混合质量差距不大,对生产没有实际意义。②多批饮片均一化比例计算时,比例易出现负值。而2~3批饮片计算简洁明了,可迅速得出结果。③每个中药企业对于所需药材规格及联系的供应商相对稳定,药企采购原料饮片时,采购2~3批饮片符合现实情况。

临界值的选择对等级划分至关重要,饮片标准质量 X 是由多产地、多规格、多途径随机采购饮片($n \geq 15$ 批)检测均值所得,此数值较客观全面,精准地反映该饮片在市场上的整体质量状况。因此,设定临界值时,饮片标准质量 X 是首选的基准,可确保评估标准的科学性和公正性。由于单/无指标成分饮片需划分3等级,故以 $X \pm A\%X$ (A 为常数)作为临界值,两/多指标成分饮片仅划分2等级,则以 X 作为临界值。其中 A 取值意义是将饮片批次数约均分3份,各等级批次数相似。所以本研究中白芍饮片选择 $A=3$,将15批次饮片约等分。另外,基于实验结果发现,均一化标准汤剂中有2组数据超出规定质量范围,等级划分后的15批均一化汤剂均在范围内;未划分等级(均一化标准汤剂)较划分等级(均一化汤剂)的波动略大,说明设定的均一

化质量范围客观可靠。均一化工艺旨在稳定中成药批间质量,质量范围设定需适中,过窄则无灵活性,过宽则失去均一化意义。目前均一化投料工艺也存在一定局限性,此工艺多应用于植物药,但对于以挥发性成分作为指标的饮片,应用有一定难度。

本研究提出的中成药均一化投料方案中均一化评价体系的设置是合理全面的。基于均一化饮片质量、均一化汤剂、中成药的定量与定性评价,多重环节、定量定性、多层次、全流程的分段式均一化评价方法可高效全面判断中成药制剂质量一致性。均一化投料工艺稳定可靠,不仅适用SGD,其他含植物药的中成药、涉及植物饮片提取的相关类产品,根据具体复方或配方特点,全部或部分应用均一化投料工艺,可不同程度提高产品均质性。均一化工艺能够普遍适用于当前市场上绝大多数中成药的生产流程中,一旦针对每种中药品种成功建立起均一化的生产方法,这些标准化流程便能够跨越不同生产厂商与设备之间的界限被灵活运用,有利于推进中成药产业规范化、国际化发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 柴玉爽,曾珊瑚,何源峰,等. 安宫牛黄丸的UPLC特征指纹图谱与化学模式识别[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 565-571.
- [2] 赵燮熠. 以复方丹参制剂等三种制剂为示范的中成药“一致性”质量评价策略及应用研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2021.
- [3] 劳永真,章军,刘艳萍,等. 基于高效液相色谱结合化学计量学方法评价六味地黄浓缩丸质量一致性[J]. 药物分析杂志, 2024, 44(3): 532-541.
- [4] 刘佳萌,刘岩,彭佳慧,等. 中成药均一化投料研究策略[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(16): 4537-4544.
- [5] 魏引平,闫花丽. 从高质量发展谈中药制剂原料的监管[J]. 中国药事, 2023, 37(1): 18-22.
- [6] 唐少杰. 中药制剂和饮片质量管理存在的问题与对策[J]. 临床研究, 2022(6): 40-42.
- [7] 陈霞,阳长明,陈浩,等. 基于中药复方制剂特点的中药复方制剂生产工艺研究[J]. 中草药, 2021, 52(19): 5807-5813.
- [8] 田友清,丁平. 2020年版《中国药典》一部中药制剂质量控制项目分析[J]. 中成药, 2023, 45(7): 2327-2332.
- [9] 刘艳,郭丛,章军,等. 基于全流程控制的中成药优质评价标准改进研究[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(6): 1700-1704.
- [10] 韩立峰,付志飞,阮静雅,等. 中成药上市后质量控制

- 研究进展 [J]. 中国医药导刊, 2022, 24(4): 342-348.
- [11] 张海力, 刘斌, 王巍力, 等.《多维度多准则中成药综合评价技术指导原则》解读: 评价指标权重 [J]. 中国药房, 2024, 35(7): 773-777.
- [12] 曲缘章, 马生军, 朱广伟, 等. 芍药甘草汤的历史沿革与现代研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 216-225.
- [13] 高源, 郭琴, 王欢欢, 等. 基于中药大分子探讨芍药甘草汤镇痛的物质基础及作用机制 [J]. 药学学报, 2023, 58(5): 1138-1148.
- [14] 杨浩, 刘婷婷, 曾熒, 等. 芍药甘草汤通过 JAK2/STAT3 信号通路对神经病理性疼痛大鼠的镇痛及对免疫调节机制影响 [J]. 中国中医急症, 2024, 33(4): 595-600.
- [15] 续艳丽, 李少泓, 李坚, 等. 经典名方芍药甘草汤解痉功效的关键质量属性研究 [J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(6): 721-729.
- [16] 贺伟, 贾叶雯, 焦紫曼, 等. 芍药甘草汤治疗炎症性疾病研究进展 [J]. 甘肃科技, 2023, 39(4): 102-105.
- [17] 王岳. 芍药甘草汤治疗中风偏瘫痉挛的临床效果 [J]. 临床合理用药, 2023, 16(4): 52-54.
- [18] 马腾茂, 高熒, 于宜平, 等. 基于炎症角度浅析芍药甘草汤对类风湿关节炎的治疗作用 [J]. 基层中医药, 2023, 2(4): 116-120.
- [19] 陈萌, 蔡淦, 龚彪, 等. 芍药甘草汤对 ERCP 术后胰腺炎大鼠胰腺自噬水平的影响 [J/OL]. 中成药, (2024-03-07) [2024-11-04] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20240229.1739.002.html>.
- [20] 金艺波, 蔡斯琦, 钱苏海, 等. 芍药甘草汤修复 PM_{2.5} 暴露系统性红斑狼疮小鼠的作用机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(1): 367-371.
- [21] 程慧, 白玉, 郑伟, 等. 芍药甘草汤加味联合针灸对骨质疏松性椎体压缩性骨折术后 Oswestry 功能障碍指数的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2024, 41(5): 1167-1174.
- [22] 胡吉升, 王鹏. 芍药甘草汤加味治疗皮肤病临证辨治 [J]. 湖北中医药大学学报, 2024, 26(2): 97-99.
- [23] 国家中医药管理局办公室, 国家药品监督管理局综合和规划财务司. 关于发布《古代经典名方关键信息表(25首方剂)》的通知 [EB/OL]. (2022-09-27) [2024-11-4]. <http://www.natcm.gov.cn/kejisi/gongzuodongtai/2022-09-27/27803.html>.

[责任编辑 郑礼胜]